

werden, die deaktivierende sterische Wechselwirkungen vermeiden und durch Ausrichtung von Dipolen Reagentien dirigieren. Die bei der Addition an das Bisacetal **15** beobachtete Diastereoselektivität illustriert die dirigierende Kraft starker Dipolmomente. Weitere Anwendungen dieses Prinzips in der organischen Synthese, insbesondere für die Totalsynthese des Diepoxins **σ**, sind das nächste Ziel.

Eingegangen am 3. September,  
veränderte Fassung am 25. November 1996 [Z 9522]

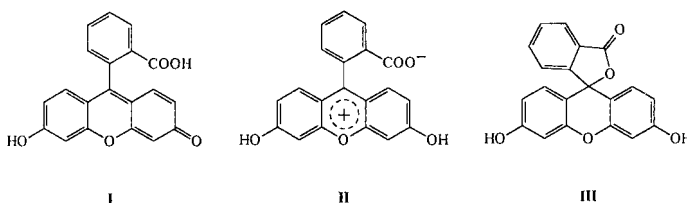
**Stichworte:** Asymmetrische Synthese • Chirale Auxiliare • Elektrostatische Effekte • Nucleophile Additionen • Solvenseffekte

- [1] D. J. Cram, D. J., F. A. A. Elhagez, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 5828–5835.
- [2] V. Prelog, *Helv. Chim. Acta* **1953**, *36*, 308–319.
- [3] J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, K. K. Mathew, *J. Chem. Soc.* **1959**, 112–127.
- [4] a) M. Cherest, H. Felkin, N. Prudent, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 2199–2204; b) N. T. Anh, O. Eisenstein, *Nouv. J. Chim.* **1977**, *1*, 61–70.
- [5] A. S. Cieplak, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4540–4552.
- [6] Neuerer Überblick: B. W. Gung, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5263–5301.
- [7] a) W. G. Dauben, G. J. Fonken, D. S. Noyce, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2579–2582; b) J.-C. Richer, *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 324–325; c) G. J. Karabatsos, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1367–1371; d) J. Klein, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3349–3353; e) M. R. Giddings, J. Hudec, *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 459–467; f) E. M. Burgess, C. L. Liotta, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1703–1708; g) L. A. Paquette, L.-H. Hsu, J. C. Gallucci, J. D. Korp, I. Bernal, T. M. Kravetz, S. J. Hatheway, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5743–5744; h) S. S. Wong, M. N. Paddon-Row, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 456–458; i) H. Li, W. J. le Noble, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1992**, *111*, 199–210; j) Y.-D. Wu, K. N. Houk, M. N. Paddon-Row, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1087–1089; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1019–1021; k) B. Ganguly, J. Chandrasekhar, F. A. Khan, G. Mehta, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1734–1739; l) X. L. Huang, J. J. Dannenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6017–6024; m) G. Frenking, K. F. Kohler, M. T. Reetz, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1167–1670; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1146–1149; n) J. M. Coxon, K. N. Houk, R. T. Luibrand, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 418–427; o) N. T. Anh, F. Maurel, J.-M. Lefour, *New. J. Chem.* **1995**, *19*, 353–364; p) M. Kaselj, J. L. Adcock, H. Luo, H. Zhang, H. Li, W. J. le Noble, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7088–91; q) E. M. Gonikberg, W. J. le Noble, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7751–7755; r) T. Sato, M. Kido, J. Otera, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2459–2461; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2254–2256.
- [8] a) S. S. Wong, M. N. Paddon-Row, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 327–330; b) S. S. Wong, M. N. Paddon-Row, *Aust. J. Chem.* **1991**, *44*, 765–770; c) Y.-D. Wu, J. A. Tucker, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5018–5027; d) M. N. Paddon-Row, Y.-D. Wu, K. N. Houk, *ibid.* **1992**, *114*, 10638–10639; e) Y.-D. Wu, Y. Li, J. Na, K. N. Houk, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4625–4628; f) W. Adcock, J. Cotton, N. A. Trout, *ibid.* **1994**, *59*, 1867–1876; g) D. K. Jones, D. C. Liotta, W.-B. Choi, R. P. Volante, P. J. Reider, I. Shinkai, H. R. O. Churchill, J. E. Lynch, *ibid.* **1994**, *59*, 3749–3751; h) R. K. Boeckman, B. T. Connell, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12368–12369; i) A. Ohno, A. Tsutsumi, N. Yamazaki, M. Okamura, Y. Mikata, M. Fujii, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 1679–1685.
- [9] P. Wipf, Y. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11678–11688.
- [10] a) G. Schlingmann, R. R. West, L. Milne, C. J. Pearce, G. T. Carter, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7225–7228; b) M. Chu, I. Truumees, M. G. Patel, V. P. Gullo, M. S. Puar, A. T. McPhail, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1222–1223; c) R. Thiergardt, G. Rihs, P. Hug, H. H. Peter, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 733–742.
- [11] G. Schlingmann, S. Matile, N. Berova, K. Nakanishi, G. T. Carter, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 435–446.
- [12] Wir danken Dr. Steven Geib, Universität Pittsburgh, für die Einkristall-Röntgenstrukturanalysen von **11** und **26**. Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen werden separat publiziert: P. Wipf, J.-K. Jung, S. J. Geib, unveröffentlicht.
- [13] J. Gao, X. Xia, *Science* **1992**, *258*, 631–635, zit. Lit.
- [14] (2*R*,4*S*)-**19** wurde aus Ethyltrifluoroacetat durch Reduktion mit NaBH<sub>4</sub>, Verseifung, Wiederauflösen nach Seebach et al., Monomethylierung mit MeLi, syn-selektive DIBAL-H-Reduktion und C4-selektive Mitsunobu-Inversion hergestellt. M. Acs, C. von dem Bussche, D. Seebach, *Chimia* **1990**, *44*, 90–92.
- [15] P. Wipf, Y. Kim, P. C. Fritch, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7195–7203, zit. Lit.

## Pulver-Röntgenstrukturanalyse von rotem Fluorescein, einer relativ komplexen organischen Verbindung; Strukturlösung mit einer allgemein anwendbaren Monte-Carlo-Methode\*\*

Maryjane Tremayne, Benson M. Kariuki und  
Kenneth D. M. Harris\*

Fluorescein findet seit seiner ersten Darstellung vor mehr als 100 Jahren<sup>[1]</sup> breite Anwendung, unter anderem in den Biowissenschaften und der Augenheilkunde. Es gibt mehrere feste Formen von Fluorescein, die sich in ihren Eigenschaften, vor allem in ihrer Farbe, unterscheiden. Ein besseres Verständnis der Eigenschaften von Fluorescein im besonderen und von kristallinen Substanzen im allgemeinen hängt maßgeblich von der Kenntnis ihrer Kristallstrukturen ab. Die verschiedenen Formen des festen Fluoresceins sind nur als mikrokristalline Pulver erhältlich, was eine konventionelle Einkristall-Röntgenstrukturanalyse unmöglich macht. Anhand von Infrarot-<sup>[2]</sup> und Festkörper-<sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Daten<sup>[3]</sup> lassen sich drei Fluoresceinformen unterscheiden (Schema 1): 1) rotes Fluorescein mit Chinoidstruktur **I**, 2) gelbes Fluorescein mit zwitterionischer Struktur **II** und 3) farbloses Fluorescein mit Lactonstruktur **III**. Wir berichten hier über eine Kristallstruktur-



bestimmung des roten Fluoresceins durch Pulver-Röntgenbeugungsanalyse. Es ist bekannt,<sup>[2,4]</sup> daß auf unterschiedliche Art und Weise hergestellte Proben von rotem Fluorescein verschiedene Pulver-Röntgenbeugungsdaten ergeben, und es wurde viel über die Anordnung der Fluoresceinmoleküle in diesen unterschiedlichen Materialien spekuliert.<sup>[3]</sup>

Neben Fluorescein gibt es viele andere wichtige organische Verbindungen, von denen keine Einkristalle ausreichender Größe und Qualität für Röntgenstrukturanalysen erhältlich sind und über deren Struktur nur Pulver-Röntgenbeugungsdaten Aufschluß geben können.<sup>[5]</sup> Kristallstrukturbestimmung durch Pulver-Röntgenbeugungsanalyse bringt jedoch intrinsische Probleme mit sich, die vor allem auf starke Signalüberlappungen in den Pulver-Beugungsdiagrammen zurückzuführen sind. Diese Signalüberlappungen beeinträchtigen die Zuverlässigkeit der dem Pulver-Beugungsdiagramm direkt entnehmbaren Intensitätsinformation. Da die traditionellen

[\*] Prof. K. D. M. Harris, Dr. B. M. Kariuki  
School of Chemistry, University of Birmingham  
Edgbaston, Birmingham, B15 2TT (Großbritannien)  
Telefax: Int. +121/414-7473

Dr. M. Tremayne  
Department of Chemistry, University College London  
20 Gordon Street, London, WC1H 0AJ (Großbritannien)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch den Engineering and Physical Sciences Research Council (Postdoktoranden-Stipendium an M. T.), die Firma Ciba-Geigy (Postdoktoranden-Stipendium an B. M. K.) und die Nuffield Foundation (Forschungsstipendium an K. D. M. H.) gefördert. Wir danken dem Daresbury Laboratory für Meßzeit am Synchrotron und dem ULIRS für die Erlaubnis zur Nutzung eines Festkörper-NMR-Spektrometers.

Techniken der Strukturlösung (direkte und Schweratommethode) auf genaue Intensitätsdaten angewiesen sind, können dem Erfolg dieser Methoden enge Grenzen gesetzt sein. Die Lösung der Kristallstruktur organischer Verbindungen mit aus kristallographischer Sicht „gleichen Atomen“ (d. h. sie enthalten nur C, H, N oder O) anhand von Pulver-Röntgenbeugungsdaten ist eine große Herausforderung, da die Anzahl genügend intensiver Intensitäten im Bereich hoher Beugungswinkel stark abnimmt, und da bei diesen Verbindungen ein hoher Prozentsatz (mindestens 50 %) der Atome bereits im Stadium der Strukturlösung gefunden werden muß, damit die nachfolgende Strukturverfeinerung erfolgreich durchgeführt werden kann. Aufgrund dieser Schwierigkeiten gibt es nur wenige „gleichatomige“ Verbindungen, deren Strukturen unbekannt waren und erst anhand von Pulver-Beugungsdaten ermittelt werden konnten.<sup>[6–11]</sup> Mit einer Ausnahme<sup>[6]</sup> hat man sich in allen diesen Fällen die vorherige Kenntnis der Molekülstruktur zu Nutze gemacht, indem man sie als *starres Molekülfragment* in die Strukturlösung integriert hat. Sicherlich ist die Erweiterung auf flexible Molekülfragmente essentiell, um eine generelle Anwendung dieser Methode auf alle Typen organischer Verbindungen zu gewährleisten.

Zur Lösung „gleichatomiger“ Strukturen anhand ihrer Pulver-Beugungsdaten eignet sich die Monte-Carlo-Methode,<sup>[11–17]</sup> die keine Intensitätsinformationen direkt aus dem Pulver-Beugungsbild benötigt. Damit wird das Hauptproblem der Strukturlösung anhand von Pulver-Beugungsdaten umgangen. Die Kristallstrukturbestimmung des roten Fluoresceins ist die erste Anwendung unserer Monte-Carlo-Methode zur Strukturlösung, in der das Molekül nicht als starres Strukturfragment behandelt wird. Es ist darüber hinaus die erste Kristallstrukturbestimmung anhand von Pulver-Beugungsdaten für eine „gleichatomige“ organische Verbindung mit mehr als zwanzig Nicht-Wasserstoffatomen in der asymmetrischen Elementarzelle.

Das Pulver-Röntgenbeugungsdiagramm des roten Fluoresceins wurde mit Synchrotron-Röntgenstrahlung aufgenommen,<sup>[18]</sup> und die Zellparameter sowie die Raumgruppe wurden direkt aus dem Beugungsdiagramm bestimmt.<sup>[20]</sup> Die Strukturlösung durch Monte-Carlo-Rechnung erfolgte mit dem Programm OCTOPUS,<sup>[22]</sup> wobei das komplette Fluoresceinmolekül (ohne Wasserstoffatome) als Strukturfragment fungierte. Dieses wurde unter Verwendung von Standardbindungsängen und -winkeln konstruiert; alle C-O-Bindungsängen wurden als gleich lang angenommen. Die Benzoesäure- und die Hydroxyxanthenon-Einheiten wurden beide als planare starre Gruppen behandelt, der a priori unbekannte Interplanarwinkel zwischen den beiden Einheiten wurde in der Monte-Carlo-Rechnung durch Rotation der C-C-Bindung variiert. Bei der Erzeugung von Strukturmodellen gemäß dem Monte-Carlo-Algorithmus wurden unter Variation dieses Winkels gleichzeitig Translation und Rotation des Strukturfragments innerhalb der Elementarzelle durchgeführt. Die Ausgangswerte aller die Position, Orientierung und Molekülgeometrie des Strukturelements definierenden Freiheitsgrade waren willkürlich. Die beste Strukturlösung (d. h. der niedrigste  $R_{wp}$ -Wert) entsprach einem  $R_{wp}$  von 31.6 %; typischerweise betrugen die mit Monte-Carlo-Rechnung erhaltenen (und zu „falschen“ Positionen des Strukturfragments gehörenden)  $R_{wp}$ -Werte ca. 54 %. Einige wenige andere Strukturen hatten  $R_{wp}$ -Werte von <39.4 % und lagen dicht bei der besten Lösung; die „korrekte“ Strukturlösung läßt sich nach den  $R_{wp}$ -Werten klar von den „falschen“ Positionen des Strukturfragments unterscheiden.

Die beste nach der Monte-Carlo-Rechnung erhaltene Strukturlösung wurde als Ausgangsmodell für die Rietveld-Verfeine-

rung unter Verwendung des Programms SR15LS<sup>[23]</sup> herangezogen. Die Positionen aller Atome wurden unter Auferlegung geometrischer Restriktionen verfeinert, und die isotropen Atom-Auslenkungsparameter wurden auf physikalisch plausible Werte fixiert (und nicht verfeinert). Alle C-O-Bindungsängen wurden zunächst auf 1.30 Å festgesetzt; bei fortschreitender Verfeinerung ergaben sich aber klare Unterschiede in diesen Bindungsängen: Einige Bindungen wurden länger als 1.30 Å, sie wurden C–OH-Bindungen zugeordnet, und andere wurden kürzer als 1.30 Å, sie wurden C=O-Bindungen zugeordnet. Nur diese Zuordnung führt auch zu „vernünftigen“ intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Die C-O-Bindungen wurden in der Folge gemäß ihrer neuen Zuordnung zu C–OH bzw. C=O fixiert, und zwar auf 1.35 bzw. 1.23 Å. Schließlich wurden dem Modell unter Zugrundelegung von Standardgeometrien Wasserstoffatome (mit Ausnahme der der C-OH-Gruppen) hinzugefügt. Die endgültige Rietveld-Verfeinerung (Abb. 1) lieferte

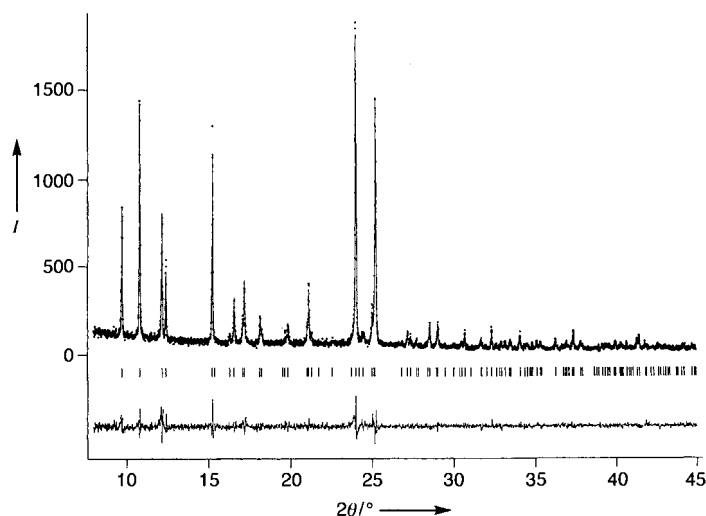


Abb. 1. Experimentelle (Punkte) und berechnete (durchgezogene Linie) Pulver-Röntgenbeugungsprofile für die Rietveld-Verfeinerung von rotem Fluorescein sowie deren Differenz (untere Linie). Die Reflexpositionen sind gekennzeichnet. Das berechnete Pulver-Beugungsprofil entspricht der Endverfeinerung der Kristallstruktur. Weitere Einzelheiten dazu sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Übereinstimmungswerte von  $R_{wp} = 13.7\%$ ,  $R_e = 10.6\%$ ,  $R_p = 10.7\%$ ,  $R_b = 7.8\%$  und  $\chi^2 = 1.66$ , für 138 Reflexe, 127 verfeinerte Parameter und 99 geometrische Restriktionen. Einzelheiten zur Endverfeinerung der Kristallstruktur sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Folgende Befunde sind interessant: 1) Die Lagen der Atome der Hydroxyxanthenon-Einheit in der Strukturlösung entsprechen eher ihren verfeinerten Positionen als die der Benzoesäure-Gruppe, was vermutlich auf das größere Gesamtstreuvermögen der Hydroxyxanthenon-Einheit zurückzuführen ist; 2) der Winkel zwischen der Hydroxyxanthenon- und der Benzoesäure-Ebene ist in der Strukturlösung ( $87.1^\circ$ ) und in der verfeinerten Struktur ( $82.2^\circ$ ) sehr ähnlich.

Die Kristallstruktur zeigt ein Netzwerk aus intermolekularen  $C=O \cdots H-O$ -Wasserstoffbrückenbindungen, wobei jedes Fluoresceinmolekül an vier derartigen Wasserstoffbrücken beteiligt ist. Die Struktur besteht folglich aus Schichten parallel zur *ac*-Ebene (siehe Abb. 2 oben), mit zwei Schichten (entlang der *b*-Achse) pro Elementarzelle. Innerhalb jeder Schicht (siehe Abb. 2 unten) sind die Moleküle säulenförmig mit nahezu parallel ausgerichteten Hydroxyxanthenon-Einheiten angeordnet, wenngleich der Beitrag der  $\pi \cdots \pi$ -Überlappung zwischen benachbarten Hydroxyxanthenon-Einheiten in diesen Stapeln

Tabelle 1. Atomkoordinaten der Nicht-Wasserstoffatome in der verfeinerten Kristallstruktur des roten Fluoresceins [ $Pn2_1a$ ;  $a = 10.4595(4)$ ,  $b = 13.2191(4)$ ,  $c = 10.5664(4)$  Å]. Für jedes Atom ist unter  $\Delta$  die Abweichung seiner Position in der Endverfeinerung von der in der Monte-Carlo-Lösung angegeben.

Atom	$x/a$	$y/b$	$z/c$	$\Delta/\text{\AA}$
C1	0.890(3)	0.306(4)	0.233(2)	0.25
C2	0.790(3)	0.261(2)	0.299(2)	0.18
C3	0.707(4)	0.194(3)	0.236(1)	0.20
C4	0.526(4)	0.086(3)	0.246(1)	0.26
C5	0.441(3)	0.032(3)	0.323(2)	0.25
C6	0.349(4)	-0.032(4)	0.267(2)	0.25
C7	0.342(3)	-0.037(3)	0.135(2)	0.26
C8	0.426(3)	0.019(2)	0.058(2)	0.28
C9	0.523(3)	0.078(3)	0.114(1)	0.24
C10	0.605(2)	0.140(2)	0.041(1)	0.28
C11	0.702(3)	0.193(3)	0.103(1)	0.20
C12	0.789(3)	0.254(2)	0.035(1)	0.16
C13	0.882(3)	0.311(3)	0.100(2)	0.15
C14	0.619(2)	0.123(2)	-0.098(1)	0.23
C15	0.704(3)	0.047(3)	-0.139(2)	0.21
C16	0.734(4)	0.036(4)	-0.268(2)	0.57
C17	0.673(4)	0.098(3)	-0.357(2)	0.77
C18	0.577(4)	0.165(2)	-0.318(2)	0.72
C19	0.548(4)	0.177(2)	-0.188(2)	0.51
C20	0.458(4)	0.261(3)	-0.150(2)	0.78
O1	0.976(2)	0.364(2)	0.298(2)	0.26
O2	0.613(3)	0.148(3)	0.303(1)	0.23
O3	0.277(2)	-0.082(2)	0.333(2)	0.26
O4	0.385(3)	0.309(2)	-0.235(2)	1.03
O5	0.453(2)	0.290(2)	-0.039(2)	0.93

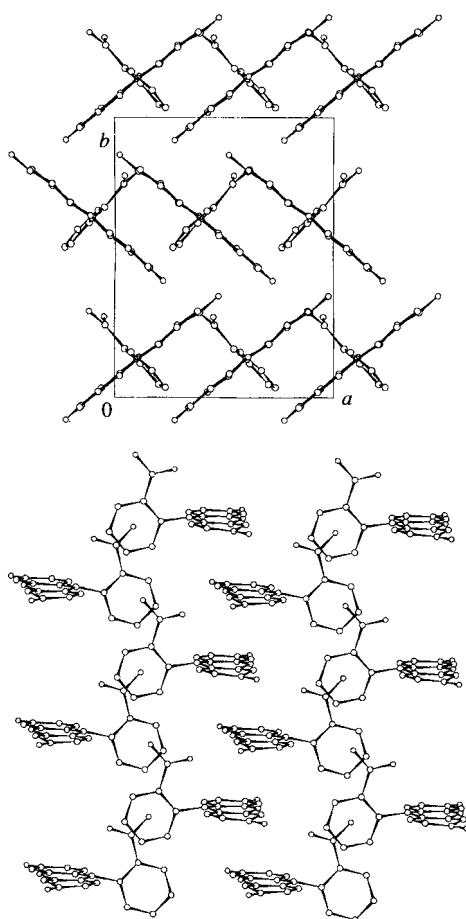


Abb. 2. Oben: Die verfeinerte Kristallstruktur von rotem Fluorescein (Wasserstoffatome sind nicht gezeigt) mit Blickrichtung entlang der kristallographischen  $c$ -Achse. Unten: Eine Schicht aus der Struktur des roten Fluoresceins, ungefähr entlang  $[2 \bar{1} 0]$  und parallel zur  $c$ -Achse.

nicht besonders hoch ist. Folgt man einem dieser Hydroxyxanthenon-Stapel, so erkennt man, daß die Benzoesäure-Gruppen abwechselnd auf der einen und der anderen Seite der Säule liegen. Der Interplanarwinkel zwischen den Hydroxyxanthenon-Einheiten benachbarter Schichten beträgt ca.  $77^\circ$ . Zwei der

vier von jedem Molekül ausgehenden intermolekularen  $C=O \cdots H-O$ -Wasserstoffbrücken werden zu benachbarten Molekülen in derselben Ebene ausgebildet, und die beiden anderen verbinden zwei Moleküle benachbarter Schichten. Dabei wird jeweils eine Wasserstoffbrückenbindung zu beiden Nachbarnschichten gebildet.

Das Pulver-Röntgenbeugungsdiagramm der hier verwendeten Probe des roten Fluoresceins zeigt die gleichen  $d$ -Spacings wie das Beugungsdiagramm einer aus Wasser kristallisierten Probe.<sup>[4]</sup> Außerdem ist die hier beschriebene Struktur des roten Fluoresceins wichtig für die Interpretation der Zersetzung der 1:1-Komplexe von Fluorescein mit Aceton und Methanol.<sup>[12,4]</sup>

Die Ergebnisse zeigen, daß die Kristallstruktur von organischen „gleichatomigen“ Verbindungen durch Pulver-Röntgenbeugungsanalyse unter Verwendung eines flexiblen Strukturfragments mit der Monte-Carlo-Methode gelöst werden kann. Dieses Potential der Monte-Carlo-Methode bedeutet einen wichtigen Fortschritt im Hinblick auf eine generelle Möglichkeit zur Lösung von Strukturen mit a priori nicht bekannter Molekülgeometrie anhand von Pulver-Beugungsdaten. Prinzipiell läßt sich jedes Strukturproblem in einer Monte-Carlo-Strukturberechnung über ein flexibles Strukturmodell mit einer ausreichenden Zahl intermolekularer Freiheitsgrade beschreiben.

Eingegangen am 18. September 1996 [Z 9566]

**Stichworte:** Fluorescein • Monte-Carlo-Methoden • Pulverdiffraktometrie • Strukturaufklärung • Synchrotronstrahlung

- [1] A. Baeyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, 4, 555.
- [2] R. Markuszewski, H. Diehl, *Talanta* **1980**, 27, 937.
- [3] U. Anthoni, C. Christophersen, P. H. Nielsen, A. Puschl, K. Schaumburg, *Struct. Chem.* **1995**, 6, 161.
- [4] I. N. Polyakova, Z. A. Starikova, B. V. Parusnikov, I. A. Krasavin, G. M. Dobryakova, B. V. Zhadanov, *J. Struct. Chem. (Engl. Transl.)* **1984**, 25, 752.
- [5] K. D. M. Harris, M. Tremayne, *Chem. Mater.* **1996**, 8, 2554.
- [6] P. Lightfoot, M. Tremayne, K. D. M. Harris, P. G. Bruce, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1012.
- [7] G. Reck, R.-G. Kretschmer, L. Kutschabsky, W. Pritzkow, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1988**, 44, 417.
- [8] K. Honda, M. Goto, M. Kurahashi, *Chem. Lett.* **1990**, 13.
- [9] D. Louër, M. Louër, V. A. Dzyabchenko, V. Agafonov, R. Ceolin, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1995**, 51, 182.
- [10] J. Cirujeda, L. E. Ochando, J. M. Amigo, C. Rovira, J. Rius, J. Veciana, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 99; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 55.
- [11] M. Tremayne, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, *J. Mater. Chem.* **1996**, 6, 1601.
- [12] K. D. M. Harris, M. Tremayne, P. Lightfoot, P. G. Bruce, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3543.
- [13] J. M. Newsam, M. W. Deem, C. M. Freeman, *NIST Spec. Publ.* **1992**, 846, 80.
- [14] B. M. Kariuki, D. M. S. Zin, M. Tremayne, K. D. M. Harris, *Chem. Mater.* **1996**, 8, 565.
- [15] M. Tremayne, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, *J. Appl. Crystallogr.* **1996**, 29, 211.
- [16] D. Ramprasad, G. P. Pez, B. H. Toby, T. J. Markley, R. M. Pearlstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 10694.
- [17] Y. G. Andreev, P. Lightfoot, P. G. Bruce, *Chem. Commun.* **1996**, 2169.
- [18] Eine polykristalline Probe des roten Fluoresceins wurde direkt (wie von der Firma Aldrich erhältlich) verwendet. Ein hochaufgelöstes Festkörper- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum [19] bestätigte die chinoide Form der Fluoresceinmoleküle. Für die Pulver-Röntgenbeugungsmessungen wurde die Probe in eine Kapillare (1.0 mm Durchmesser) transferiert und auf das hochauflösende Pulver-Diffraktometer an der Station 2.3 der Synchrotron-Strahlungsquelle des Daresbury Laboratory montiert. Die Pulver-Röntgenbeugungsdaten wurden bei einer Wellenlänge von 1.4000 Å mit 20 im Bereich von  $5^\circ$  bis  $60^\circ$  in  $0.001^\circ$ -Schritten aufgenommen. Die vollständige Datensammlung dauerte 90 min. Die Intensitäten bei hohen Beugungswinkeln hoben sich nur unwesentlich vom Untergrund ab; für die Strukturberechnungen wurden daher nur die Intensitäten im Bereich  $5^\circ < 2\theta < 45^\circ$  herangezogen.
- [19] A. E. Aliev, M. Tremayne, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [20] Das Pulver-Röntgenbeugungsbild wurde mit dem Programm TREOR [21] nach Maßgabe der ersten zwanzig beobachteten Signale indiziert. Daraus ergab sich eine Elementarzelle mit folgenden Abmessungen:  $a = 10.456$ ,  $b = 13.219$ ,  $c = 10.569$  Å,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ , mit Güten von  $M_{20} = 30$  und  $F_{20} = 40$  (0.005861, 86). Die systematischen Auslöschungen entsprachen den

beiden Raumgruppen *Pnma* und *Pn2<sub>1</sub>a*. Aufgrund von Dichtebetrachtungen sollten sich vier Moleküle in der Elementarzelle befinden. Für die Raumgruppe *Pnma* hieße das, daß das Fluoresceinmolekül entweder auf einer Spiegelebene liegen müßte oder daß zwei Molekülhälften über ein Inversionszentrum miteinander korreliert wären. Da keine dieser beiden Annahmen für die chinoide Form des Fluoresceins plausibel ist, wurde die Raumgruppe auf *Pn2<sub>1</sub>a* festgesetzt.

- [21] P.-E. Werner, L. Eriksson, M. Westdahl, *J. Appl. Crystallogr.* **1985**, *18*, 360.  
 [22] M. Tremayne, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, OCTOPUS96 (Monte Carlo Technique For Powder Structure Solution), **1996**.  
 [23] W. I. F. David, R. M. Ibberson, J. C. Matthewman, *Rutherford Appleton Laboratory Report*, RAL-92-032, **1992**.  
 [24] Fluorescein bildet mit Methanol [4] und Aceton [25] 1:1-Komplexe; die Einkristall-Röntgenstrukturanalysen dieser Komplexe ergaben, daß das Fluorescein in der Lactonform vorliegt. Aceton und Methanol werden aus diesen Komplexen langsam abgegeben, wobei auf der Oberfläche ein roter, pulveriger Überzug von Fluorescein entsteht.  
 [25] R. S. Osborn, D. Rogers, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1975**, *31*, 359.

## 6-Guanidiniopyranosen – neuartige Peptidmimetika auf Kohlenhydratbasis\*\*

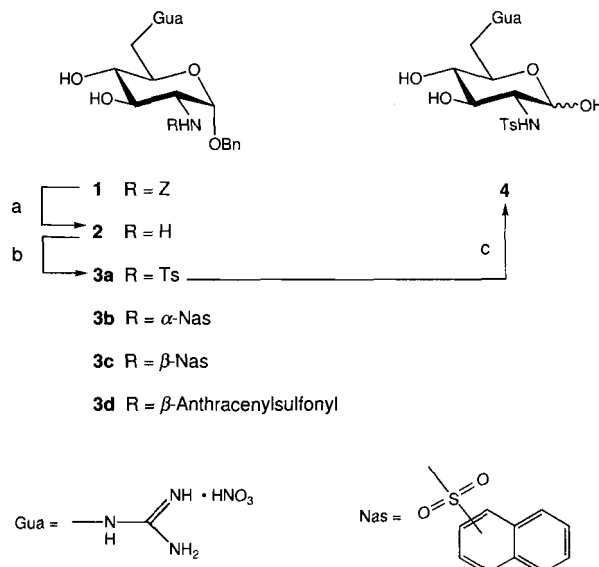
Hans Peter Wessel,\* David Banner, Klaus Gubernator, Kurt Hilpert, Klaus Müller und Thomas Tschopp

Professor Hans Paulsen zum 75. Geburtstag gewidmet

Ein klassischer Ansatz zur Entwicklung von Medikamenten ist die Nachahmung von biologisch aktiven Peptiden, die Substrate für Enzyme oder Liganden von Rezeptoren sind, insbesondere durch nichtpeptidische Substanzen. Wir berichten nun über solche Peptidmimetika auf der Basis von Kohlenhydraten, die bei der Suche nach Thrombin-Inhibitoren entdeckt wurden. Thrombin ist ein Schlüsselenzym der Koagulationskaskade. Es spaltet Fibrinogen zu Fibrin, aktiviert die Koagulations-Cofaktoren V und VIII, ist ein Hauptstimulator in der Aktivierung der Blutplättchen und spielt damit eine zentrale Rolle sowohl bei der physiologischen Hämostase als auch bei der pathologischen Thrombose.<sup>[1]</sup> Die direkte Hemmung von Thrombin scheint daher ein attraktiver Weg zu einem neuen Antithrombotikum zu sein, und einige synthetische Thrombin-Inhibitoren<sup>[2, 3]</sup> sind bereits in klinischer Erprobung.<sup>[4]</sup>

Thrombin ist eine Serin-Protease mit großer Spezifität für Peptidsequenzen, die einen Argininrest enthalten.<sup>[5]</sup> In bekannten Thrombin-Inhibitoren liegen daher Argininreste vor (z. B. in Argatroban<sup>[6]</sup>), oder aber Guanidin- (z. B. in Ro 46-6240<sup>[7]</sup>) oder Amidinreste (z. B. in NAPAP<sup>[8]</sup>) als Argininmimetika. Wir haben 6-Guanidiniohexosen untersucht, die formal als konformativ eingeschränkte Argininmimetika angesehen werden können. Einpassungen dieser Verbindungen in ein Enzymmodell führten zu der Voraussage, daß solche Verbindungen in der Thrombin-Erkennungstasche Platz finden sollten.

Der gute präparative Zugang zu 6-Guanidiniohexosen aus den entsprechenden 6-Aminoderivaten mit 3,5-Dimethylpyrazolylformamidinium-nitrat (DPFN) wurde bereits beschrieben.<sup>[9]</sup> Wir sind für unsere Versuche von Benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2,6-dideoxy-6-guanidinio- $\alpha$ -D-glucopyranosid-nitrat **1**<sup>[9]</sup> ausgegangen, das an Palladium auf Kohle selektiv zum Glucosaminderivat **2** hydriert wurde (Schema 1). Die freie



Schema 1. a)  $\text{H}_2$ , Pd/C, MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  2/1, Raumtemperatur (RT), 4 h, quantitativ; b) **3a**: TsCl, THF/ $\text{H}_2\text{O}$  2/3,  $\text{NEt}_3$ , 0 °C, 6 h, 36%; **3b**:  $\alpha$ -NasCl,  $\text{H}_2\text{O}$ /Pyridin 5/3,  $\text{NEt}_3$ , RT, 5 h, 95%; **3c**:  $\beta$ -NasCl,  $\text{H}_2\text{O}$ /Pyridin 5/3,  $\text{NEt}_3$ , RT, 5 h, 79%; **3d**:  $\beta$ -Anthracenylchlorid,  $\text{H}_2\text{O}$ /Pyridin 1/1,  $\text{NEt}_3$ , RT, 20 h, 78%; c)  $\text{H}_2$ , Pd/C, EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  1/1, RT, 18 h, quantitativ.

Aminogruppe konnte anschließend problemlos zu Amid- oder Sulfonamideinheiten umgesetzt werden; eine Reaktion der Hydroxygruppen wurde durch Wasser verhindert, und bei richtig gewähltem pH-Wert lag ein Guanidiniumsalz vor, d. h. Protonen dienten als „Schutzgruppe“ der Guanidinfunktion. So führte die Reaktion von **2** mit aromatischen Sulfonylchloriden zu den Sulfonamiden **3**.

Während Amidderivate von **2** keine nennenswerte biologische Aktivität zeigten, wurde mit dem Tosylderivat **3a** ein im  $\mu\text{M}$ -Bereich aktiver Thrombin-Inhibitor erhalten. Die  $\alpha$ -Naphthylsulfonylverbindung **3b** erwies sich dagegen als inaktiv, während die analoge  $\beta$ -Naphthylsulfonylverbindung **3c**<sup>[10]</sup> und die  $\beta$ -Anthracenylsulfonylverbindung **3d** eine noch etwas bessere Thrombinhemmung zeigten (Tabelle 1). Um die Selektivität

Tabelle 1. Thrombinhemmung durch einige Guanidiniohexosen und deren Selektivitäten für Thrombin gegenüber Trypsin [a].

Verbindung	$K_i$ [ $\mu\text{M}$ ]	Selektivität
<b>1</b>	410	–
<b>3a</b>	4	19
<b>3c</b>	1.1	109
<b>3d</b>	0.9	> 227
<b>8</b>	1.4	143

[a] Selektivität =  $K_i(\text{Trypsin})/K_i(\text{Thrombin})^{-1}$ .

tät der Thrombinhemmung abschätzen zu können, wurde parallel die Hemmung der verwandten, aber weniger diskriminierenden<sup>[11]</sup> Serin-Protease Trypsin untersucht (Tabelle 1). Da nach dem Enzymmodell eine Wechselwirkung des anomeren Zentrums mit dem aktiven Zentrum von Thrombin möglich schien, wurde die 1-Benzylgruppe von **3a** hydrogenvolytisch entfernt. Die resultierende freie Pyranose **4** (Schema 1) erwies sich aber als inaktiv, so daß davon ausgegangen werden kann, daß das anomere Zentrum nicht mit dem Serinrest der katalytischen Triade der untersuchten Serin-Proteasen interagiert.

[\*] Dr. H. P. Wessel, Dr. D. Banner, Dr. K. Gubernator, Dr. K. Hilpert, Prof. K. Müller, Dr. T. Tschopp  
 Pharma Division, Präklinische Forschung  
 F. Hoffmann-La Roche AG  
 CH-4070 Basel (Schweiz)  
 Telefax: Int. + 61/688-64-59  
 E-mail: hans\_p.wessel@roche.com

[\*\*] Wir danken Rudolf Minder und Roland Keller für experimentelle Arbeiten.