

116.7, 120.5, 121.0, 121.3, 121.6, 126.9, 128.4, 134.7, 136.2, 140.7, 148.1, 155.1; IR (KBr):  $\nu = 3336, 2965, 1589, 1571, 1441, 1390, 1358, 739 \text{ cm}^{-1}$ ; MS:  $m/z = 280, 223, 196$ .

Eingegangen am 11. März 1998 [Z11576]

**Stichwörter:** Cycloadditionen · Heterocyclen · Kombinatorische Chemie · Mehrkomponentenreaktionen

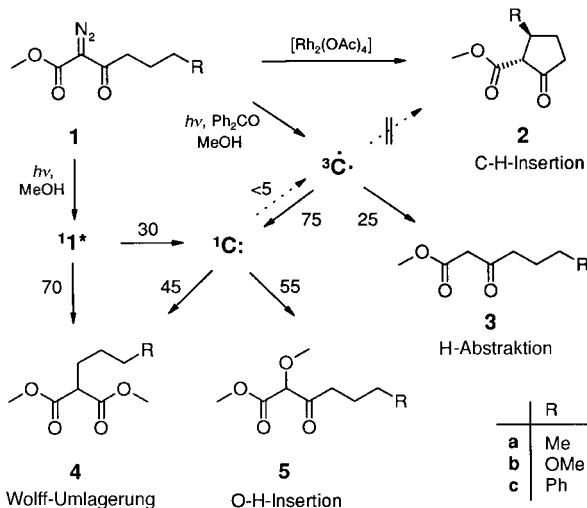
- [1] a) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 3–145; b) P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5643–5678; c) F. Balkenhohl, C. von den Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436–2487; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288–2337; d) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555–600; e) E. M. Gordon, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, M. A. Gallop, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1233–1251; 1385–1401.
- [2] a) R. W. Armstrong, A. P. Combs, P. A. Tempst, S. D. Brown, T. A. Keating, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 123–131; b) L. F. Tietze, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 115–136.
- [3] a) I. Ugi, M. Goebel, B. Gruber, M. Heilingbrunner, C. Heib, W. Hörl, O. Kern, M. Starnecker, *Res. Chem. Intermed.* **1996**, *22*, 625–644; b) I. Ugi, A. Dömling, W. Hörl, *Endeavour* **1994**, *18*, 115–122; c) C. Hulme, M. M. Morissette, F. A. Volz, C. J. Burns, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1113–1116.
- [4] Ausgewählte Beispiele: a) H. Bienaymé, K. Bouzid, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2735–2738; b) A. S. Kiselyov, R. W. Armstrong, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6163–6166; c) A. Gopalsamy, P. V. Pallai, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 907–910; d) S. Sarshar, D. Siev, A. M. M. Mjalli, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 835–838; e) O. Lack, L. Weber, *Chimia* **1996**, *50*, 445–447; f) P. Wipf, A. Cunningham, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7819–7822.
- [5] Vor dem Hintergrund, Diversität zu erzielen, und angesichts intensiver industrieller Konkurrenz könnte dies eine große Bedeutung erlangen.
- [6] C. G. Newton, *Exp. Opin. Ther. Patents* **1997**, *7*, 1183–1194.
- [7] Auch andere Mehrkomponentenreaktionen können von entropischer Aktivierung durch eine „Verbrückungsstrategie“ profitieren. Interessanterweise sind solche Reaktionen ebenfalls zuverlässig und liefern die Produkte in hohen Ausbeuten: a) A. Demharter, W. Horl, E. Herdtweck, I. Ugi, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 185–187; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 173–175; b) I. Ugi, A. Demharter, W. Hörl, T. Schmid, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 11657–11664.
- [8] Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-101255“ beim Cambridge Crystallographic Data Center hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [9] Ein ähnlicher Mehrkomponentenweg zu 3-Aminimidazo[1,2-*a*]pyridinen wurde kürzlich beschrieben: a) C. Blackburn, B. Guan, P. Fleming, K. Shiosaki, S. Tsai, *Tetrahedron Lett.*, im Druck. Für andere Wege siehe: b) J.-L. Moutou, M. Schmitt, V. Collot, J.-J. Bourguignon, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1787–1790; c) J. C. Teulade, R. Escalle, H. Viols, J. P. Chapat, G. Grassy, A. Carpy, J. M. Léger, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1983**, 2663–2667; d) G. Saint-Ruf, B. Loukalou, C. N’Zouzi, *J. Heterocycl. Chem.* **1981**, *18*, 1565–1570; e) N. W. Bristow, P. T. Charlton, D. A. Peak, W. F. Short, *J. Chem. Soc.* **1954**, 616–629.
- [10] Die [4+1]-Cycloadditionen von Isonitrilen mit verschiedenen Heterodienen sind bekannt, obgleich keine der beschriebenen Methoden für Synthesen mit hohem Durchsatz von Wert ist: a) S. Marcaccini, *Org. Prep. Proced. Int.* **1993**, *25*, 141–208, zit. Lit.; b) C. Buron, L. El Kaïm, A. Uslu, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8027–8030; c) J. A. Deyrup, M. M. Vestling, W. V. Hagan, H. Y. Yun, *Tetrahedron* **1969**, *25*, 1467–1478.
- [11] a) P. A. Grieco, A. Bahsas, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5855–5858; b) J. M. Mellor, G. Merriman, H. Rataj, G. Reid, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2615–2618, zit. Lit.
- [12] Über die Synthese der Substanzbibliotheken und ihre Reinigung wird an anderer Stelle berichtet.

## Reaktivität von Triplett-Carbonylcarbenen bei intramolekularen Reaktionen

Johannes Fien und Wolfgang Kirmse\*

$\alpha$ -Diazocarbonylverbindungen haben in der organischen Chemie zahlreiche nützliche Anwendungen gefunden.<sup>[1]</sup> Die intramolekulare Insertion in C-H-Bindungen und die Addition an  $\pi$ -Systeme wird durch Übergangsmetallkatalysatoren wie  $[\text{Rh}_2\text{L}_4]$  vermittelt.<sup>[2]</sup> Diese Reaktionen verlaufen über Metallcarbene und ermöglichen bei Verwendung chiraler Katalysatoren asymmetrische Synthesen. Die Hauptreaktion bei Photo- oder Thermolysen von  $\alpha$ -Diazoketonen ist die Wolff-Umlagerung.<sup>[1,3]</sup> Die 1,2-Verschiebung zu Ketenen erfolgt während oder nach der Stickstoffabspaltung im Singulett-Zustand. Der Grundzustand von Carbonylcarbenen ist ESR-spektroskopischen Untersuchungen zufolge ein Triplett-Zustand.<sup>[4]</sup> Die Reaktivität von Triplett-Carbonylcarbenen hat wenig Beachtung gefunden – mit Ausnahme der nicht stereospezifischen Addition an Alkene und der Wasserstoffabstraktion aus dem Lösungsmittel, die bei Photolysen von Diazomalonsäureestern unter Zusatz von Sensibilisatoren festgestellt wurden.<sup>[5]</sup> Unsere Arbeiten an funktionalisierten Arylcarbenen ergaben, daß die Geometrie den Beitrag von Singulett- und Triplett-Carbenen beeinflußt.<sup>[6]</sup> Diese Ergebnisse veranlaßten uns, die Reaktivität von Triplett-Carbonylcarbenen bei intramolekularen Reaktionen zu untersuchen.

Die Photolyse von 2-Diazo-3-oxoheptansäuremethylester **1a**<sup>[7]</sup> in Methanol lieferte **4a** (86 %, Wolff-Umlagerung) und **5a** (14 %, O-H-Insertion).<sup>[8]</sup> Bei Zusatz von Benzophenon als Sensibilisator wurde **3a** neben **4a** und **5a** gebildet (Schema 1). Weder die direkte Photolyse noch die Photolyse unter Zusatz von Benzophenon bewirkten eine Cyclisierung zu **2a**, obwohl **2a** aus **1a** unter Rh<sup>II</sup>-Katalyse leicht zugänglich ist.<sup>[7]</sup> Um die



Schema 1. Reaktionswege bei der Zersetzung von 2-Diazo-3-oxocarbon-säuremethylestern in Methanol. Die Zahlenangaben sind Durchschnittswerte für **1a–c**.

[\*] Prof. Dr. W. Kirmse, Dr. J. Fien  
Fakultät für Chemie der Universität  
Universitätsstraße 150, D-44780 Bochum  
Fax: (+49) 234-7094-353  
E-mail: kirmse@xenon.orch.ruhr-uni-bochum.de

intramolekulare Wasserstoffabstraktion zu erleichtern, wurden Methoxy- und Phenylgruppen eingeführt; **1b** bzw. **1c** verhielten sich jedoch weitgehend wie **1a**.<sup>[9]</sup> Bei Sensibilisierung nahmen **3** (ein Triplet-Produkt) und **5** (ein Singulett-Produkt) auf Kosten von **4** zu, wie es für das Edukt **1a** in Abbildung 1 dargestellt ist.<sup>[10]</sup> Diesen Befunde zufolge geht

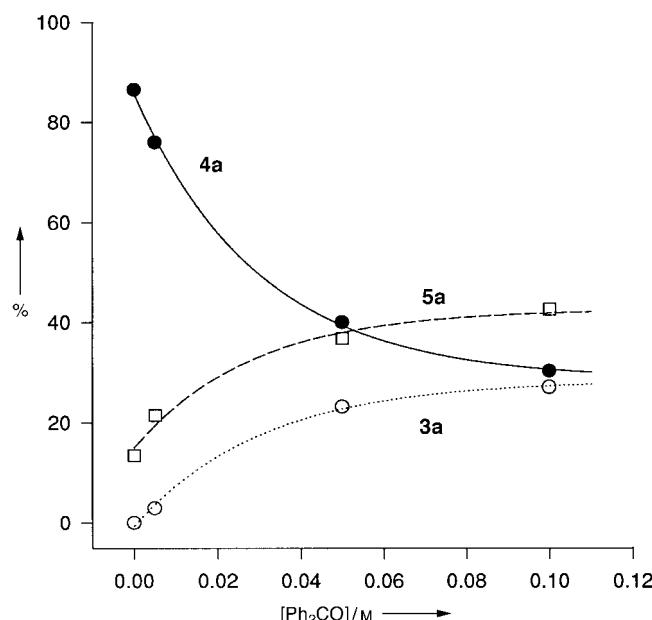
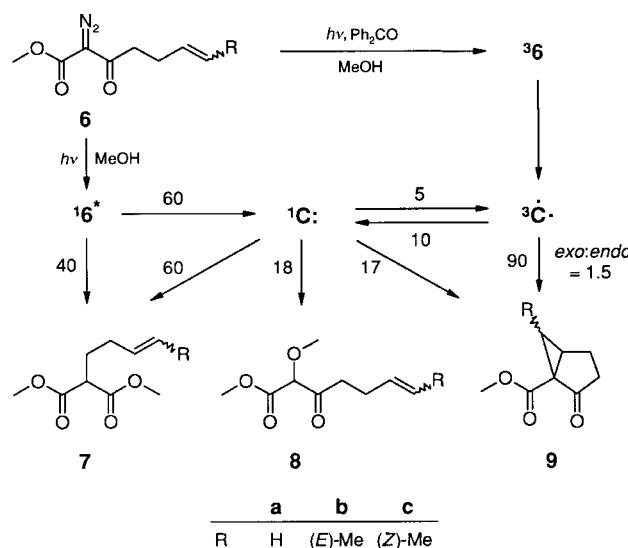


Abb. 1. Photolyse von **1a** in Methanol mit Benzophenon als Sensibilisator. Die Produktverteilungen (%) sind als Funktion der Benzophenon-Konzentration [Ph<sub>2</sub>CO] dargestellt.<sup>[8,10]</sup>

1. bei direkter Photolyse ein großer Anteil von **4** aus der angeregten Diazoverbindung **1\*** hervor und verläuft 2. die Spinumkehr des Triplet-Carbens rascher als die Wasserstoffabstraktion aus dem Lösungsmittel, d.h.  $k_{TS} > k_T$ . Schema 1 enthält eine quantitative Auswertung der Produktverteilung: Die Zahlenangaben sind Mittelwerte für **1a–c**; die Daten der individuellen Verbindungen weichen um  $\pm 2$  ab. Konformativ-effekte ließen schon früher vermuten, daß die Wolff-Umlagerung und Stickstoffabspaltung konzertiert verlaufen können.<sup>[11]</sup> Dies wird durch unseren (vollkommen anderen) Ansatz bestätigt.

Bei ungesättigten Analoga von **1** wie 2-Diazo-3-oxo-6-heptensäuremethylester **6a**<sup>[12]</sup> entsteht **9a** durch intramolekulare Addition des Triplett-Carbens an die Doppelbindung (Schema 2). Wie Abbildung 2 zeigt, minimiert die Sensibilisierung die Wolff-Umlagerung ( $\rightarrow 9\%$ ) und O-H-Insertion ( $\rightarrow 3\%$ ), demnach ist hier  $k_{TS} < k_T$ . Relativ zur intramolekularen Addition ist die Wasserstoffabstraktion aus dem Lösungsmittel in Methanol vernachlässigbar ( $< 0.01$ ), in Ethanol ähnlich (0.68) und in 2-Propanol vorherrschend (1.8). Der stereochemische Verlauf der Cyclopropanierung wurde an **6b**<sup>[12]</sup> und **6c**<sup>[13]</sup> untersucht. Bei der direkten Photolyse blieb die Konfiguration unvollständig erhalten, während die Sensibilisierung zu annähernd übereinstimmenden *exo:endo*-Verhältnissen führte (Tabelle 1). Aus den Daten ergeben sich kleine Anteile von Spinumkehr in beiden Richtungen;<sup>[14]</sup> die Zahlenangaben in Schema 2 sind Mittelwerte für **6b** und **6c**.



Schema 2. Reaktionswege bei der Photolyse von **6** in Methanol. Die Zahlenangaben sind Durchschnittswerte für **6b** und **6c**.

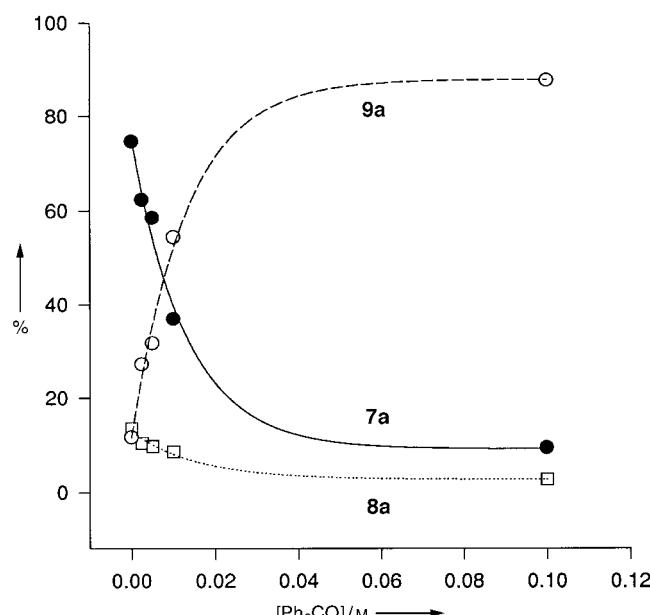


Abb. 2. Photolyse von **6a** in Methanol mit Benzophenon als Sensibilisator. Die Produktverteilungen (%) sind als Funktion der Benzophenon-Konzentration [Ph<sub>2</sub>CO] dargestellt.<sup>[8,10]</sup>

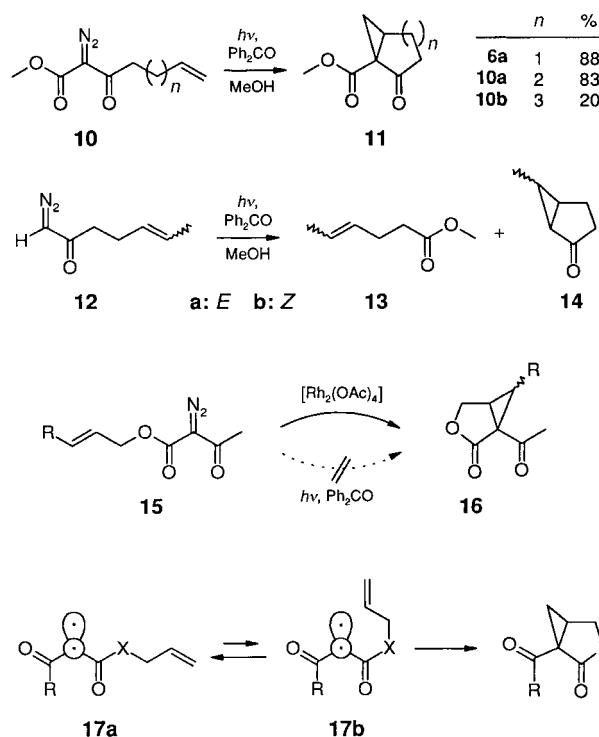
Tabelle 1. Photochemisch induzierte intramolekulare Additionen von Carbonylcarbenen.<sup>[a]</sup>

Edukt	Produkt	[Ph <sub>2</sub> CO]=0 [%]	[Ph <sub>2</sub> CO] $\rightarrow\infty$ <i>exo:endo</i>	[Ph <sub>2</sub> CO]=0 [%]	[Ph <sub>2</sub> CO] $\rightarrow\infty$ <i>exo:endo</i>
<b>6b</b>	<b>9</b>	11.3	15	91.3	1.6
<b>6c</b>	<b>9</b>	13.8	0.14	92.8	1.4
<b>12a</b>	<b>14</b>	2.5	11	46.7	2.3
<b>12b</b>	<b>14</b>	3.0	0.30	51.4	1.7

[a] Lösungsmittel: Methanol. Produktverteilungen extrapoliert auf  $t=0$ .

Wenn vier statt drei Kohlenstoffatome die Doppelbindung vom Carben trennen, wird die intramolekulare Addition kaum beeinflusst (**10a**<sup>[15]</sup> $\rightarrow$ **11a** gegenüber **6a** $\rightarrow$ **9a**). Liegen fünf Atome dazwischen, sinkt die Ausbeute am bicyclischen

Produkt auf 20% (**10b**<sup>[9]</sup> → **11b**). Außerdem erfolgt Wasserstoffabstraktion aus dem Lösungsmittel (11%) und, nach Spinumkehr, O-H-Insertion (37%) sowie Wolff-Umlagerung (32%; Schema 3). Die Methoxycarbonylgruppe in **6** und **10**



Schema 3. Einfluß von strukturellen und konformativen Effekten auf die Reaktivität von Triplet-Carbonylcarbenen bei intramolekularen Reaktionen.

fördert die intramolekulare Addition, ist aber nicht unbedingt erforderlich. Triplet-Carbonylcarbene, die durch Photolyse von 1-Diazo-5-hepten-2-on **12**<sup>[16]</sup> und seinen Derivaten unter Zusatz von Benzophenon als Sensibilisator gebildet werden, cyclisieren weniger effizient als entsprechende Dicarbonylcarbene (Tabelle 1). Ca. 50% Wolff-Umlagerung und abweichende Stereoselektivitäten von **12a** und **12b** weisen auf erhebliche Triplet → Singulett-Umwandlung hin ( $k_{\text{TS}} \approx k_{\text{T}}$ ).

Photolysen von 2-Diazo-3-oxobutansäure-2-alkenylestern **15**<sup>[17]</sup> unter Zusatz von Benzophenon führen nicht zu den bicyclischen Lactonen **16** (die aber unter Cu<sup>-[17]</sup> oder Rh<sup>II</sup>-Katalyse entstehen). Die aus **15** erhaltenen Produktverteilungen ähneln denen aus **1**, nicht denen aus **6**. Daß die intermediären Triplet-Carbene nicht an die Doppelbindung addieren können, führen wir auf konformative Effekte zurück. Die X-C-Bindung in **17** muß die s-(E)-Konformation ( $X = O$ ,  $\not\propto O-C-O-C = 180^\circ$ ) oder die gestaffelte Konformation **17b** ( $X = CH_2$ ,  $\not\propto O-C-C-C = 120^\circ$ ) einnehmen, damit sich die Doppelbindung dem halbbesetzten  $\sigma$ -Orbital, der reaktiven Stelle des Triplet-Carbens, nähern kann. Der Energieunterschied zur stabilsten s-(Z)-Konformation **17a** ( $\not\propto O-C-X-C = 0^\circ$ ) ist für Ketone (z.B. 2-Butanon,  $\Delta E \approx 8 \text{ kJ mol}^{-1}$ )<sup>[18]</sup> viel kleiner als für Ester (z.B. Methylacetat,  $\Delta E \approx 35 \text{ kJ mol}^{-1}$ )<sup>[19,20]</sup>.

Im Unterschied zu 2-Alkylarylcyclen<sup>[6]</sup> abstrahieren Triplet-Carbonylcarbene keinen Wasserstoff von  $\delta$ - oder  $\epsilon$ -

C-H-Bindungen. Die intramolekulare Addition an Doppelbindungen, die zur Bildung fünf- und sechsgliedriger Ringe führt, findet bei Dicarbonylcarbenen  $RCO-C-CO-CH_2(CH_2)_nCH=CHR'$  und (weniger leicht) bei Carbonylcarbenen  $H-C-CO-CH_2(CH_2)_nCH=CHR'$  statt, nicht aber bei (Alkenyloxycarbonyl)carbenen  $RCO-C-CO-O-(CH_2)_nCH=CHR'$ . Der Übergang in den Singulett-Zustand ist eine Hauptreaktion aller Triplet-Carbonylcarbene, die nicht rasch intramolekular abgefangen werden. Von den genannten Ausnahmen abgesehen, wird die Lebensdauer der Carbonylcarbene von der Geschwindigkeit der Spinumkehr bestimmt, nicht von der Reaktivität des Triplet-Grundzustands.

Eingegangen am 10. März 1998 [Z11568]

**Stichwörter:** Carbene • Cyclisierungen • Diazoverbindungen • Umlagerungen

- [1] Übersichten: a) H. Zollinger, *Diazo Chemistry II*, VCH, Weinheim, 1995; b) M. Regitz, G. Maas, *Diazo Compounds*, Academic Press, London, 1986; c) *The Chemistry of Diazonium and Diazo Groups* (Hrsg.: S. Patai), Wiley, Chichester, 1978.
- [2] Übersichten: a) M. P. Doyle, M. A. McKervey, *Chem. Commun.* 1997, 983–989; b) A. Padwa, D. J. Austin, *Angew. Chem.* 1994, 106, 1881–1899; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, 33, 1797–1814; c) T. Ye, M. A. McKervey, *Chem. Rev.* 1994, 94, 1091–1160; d) M. P. Doyle, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 1991, 110, 305–316; e) J. Adams, D. M. Spero, *Tetrahedron* 1991, 47, 1765–1808; f) G. Maas, *Top. Curr. Chem.* 1987, 137, 75–253; g) M. P. Doyle, *Chem. Rev.* 1986, 86, 919–939.
- [3] Übersicht: H. Meier, K.-P. Zeller, *Angew. Chem.* 1975, 87, 52–63; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1975, 14, 32–43.
- [4] Übersicht: W. Sander, G. Bucher, S. Wierlacher, *Chem. Rev.* 1993, 93, 1583–1621.
- [5] a) M. Jones, Jr., W. Ando, M. E. Hendrick, A. Kulczycki, Jr., P. M. Howley, K. F. Hummel, D. S. Malament, *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94, 7469–7479; b) W. Ando, T. Hagiwara, T. Migita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1975, 48, 1951–1952; c) H. Tomioka, M. Itoh, S. Yamakawa, Y. Izawa, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1980, 603–609.
- [6] a) G. Hömberger, A. E. Dorigo, W. Kirmse, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 475–477; b) W. Kirmse, G. Hömberger, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 3925–3934; c) M. Guth, W. Kirmse, *Acta Chem. Scand.* 1992, 46, 606–613; d) W. Kirmse, I. S. Özkar, D. Schnitzler, *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 792–793; e) W. Kirmse, D. Schnitzler, *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 1699–1702; f) W. Kirmse, W. Konrad, D. Schnitzler, *J. Org. Chem.* 1994, 59, 3821–3829; g) M. Dorra, K. Gomann, M. Guth, W. Kirmse, *J. Phys. Org. Chem.* 1996, 9, 598–610; h) F. Gotzhein, W. Kirmse, *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 1373–1376; 1377–1380; i) W. Kirmse, W. Konrad, I. S. Özkar, *Tetrahedron* 1997, 53, 9935–9964; k) W. Kirmse, B. Krzossa, *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 799–802.
- [7] a) S. Hashimoto, N. Watanabe, S. Ikegami, *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 5173–5174; b) H. Brunner, K. Wutz, M. P. Doyle, *Monatsh. Chem.* 1990, 121, 755–764.
- [8] Um den Einfluß von Sekundärphotolysen auszuschließen, wurden in dieser Arbeit alle Produktverteilungen auf  $t=0$  extrapoliert.
- [9] Auf die Alkylierung des Dianions von Acetessigsäuremethylester (S. N. Huckin, L. Weiler, *J. Am. Chem. Soc.* 1974, 96, 1082–1087) folgte eine Diazogruppen-Übertragung mit  $TsN_3/Et_3N$  (M. Regitz, A. Liedhegener, *Chem. Ber.* 1966, 99, 3128–3147), wodurch schließlich  $\alpha$ -Diazo- $\beta$ -oxoester erhalten wurden.
- [10] Die Abhängigkeit der Produktverteilung von der Benzophenon-Konzentration  $[Ph_2CO]$  wird gut durch Exponentialfunktionen approximiert,  $f = a \pm b \exp(-c[Ph_2CO])$  (Kurven in Abb. 1 und Abb. 2). Die Werte für vollständige Sensibilisierung  $[Ph_2CO] \rightarrow \infty$  wurden durch Extrapolation erhalten; z.B. entstehen aus **1a** 28% **2a**, 29% **4a** und 43% **5a**.

- [11] a) F. Kaplan, M. L. Mitchell, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 759–762; b) H. Tomioka, H. Okuno, Y. Izawa, *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 5278–5283; c) V. A. Nikolaev, V. V. Popik, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 4483–4486.
- [12] D. F. Taber, J. C. Amedio, R. G. Sherill, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3382–3384.
- [13] D. F. Taber, J. C. Amedio, K. Raman, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2984–2990.
- [14] Schon früher wurde bei der direkten Photolyse von Diazomalonsäuredimethylester ein kleiner Anteil von Singulett-Triplett-Umwandlung festgestellt: Bei der Addition des Carbens an Alkene blieb die Konfiguration nur zu ca. 90% erhalten.<sup>[5a]</sup>
- [15] D. F. Taber, E. H. Petty, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 4808–4809.
- [16] R. Malherbe, H. Dahn, *Helv. Chim. Acta* **1974**, 57, 2492–2503.
- [17] S. Julia, G. Cannic, G. Linstrumelle, *C. R. Séances Acad. Sci. Ser. C* **1967**, 264, 1890–1892.
- [18] a) K. B. Wiberg, E. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 5035–5041; b) J. R. Durig, F. S. Feng, A. Wang, H. V. Phan, *Can. J. Chem.* **1991**, 69, 1827–1844; c) siehe auch: J. P. Bowen, A. Pathiaseril, S. Profeta, N. L. Allinger, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 5162–5166.
- [19] a) X. Wang, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1870–1872; b) K. B. Wiberg, K. E. Laidig, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1872–1874.
- [20]  $\Delta E$  von Methylacetat wird durch polare Lösungsmittel herabgesetzt:  
a) K. B. Wiberg, M. W. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1078–1084; b) J. D. Evanseck, K. N. Houk, J. M. Briggs, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 10630–10638.

## Kationische Zwischenstufen und fehlerhafte Kontrolle während der enzymatischen Cyclisierung von Squalen zu Hopanoiden\*\*

Catherine Pale-Grosdemange,\* Corinna Feil,  
Michel Rohmer\* und Karl Poralla

Triterpene gehören zu einer Gruppe von Naturstoffen, in der viele Verbindungen durch enzymatische Cyclisierungen von Polyenen entstehen, die auf sehr unterschiedliche Weise verlaufen können. Solche Cyclisierungen bringen zusammen mit der Bildung der übrigen cyclischen Isoprenoide eine außergewöhnliche Vielfalt höchst unterschiedlicher Naturstoffe hervor.<sup>[1, 2]</sup> Allein in der Gruppe der Triterpene kommen etwa 100 verschiedene Grundgerüste in der Natur vor.<sup>[3]</sup> Dank molekularbiologischer Techniken und neuer Reinigungsmethoden ist jetzt eine hochreine Squalen-Hop-22(29)-en-Cyclase (SHC) verfügbar, die frei von Verunreinigungen

durch zelluläre Lipide ist.<sup>[4]</sup> Diese Cyclase, wie auch die Lanosterin- und Cycloartenol-Cyclase, katalysiert die komplexeste bekannte Ein-Schritt-Reaktion der Biochemie.<sup>[5]</sup> Zur Bildung des Hopangerüstes werden dreizehn kovalente Bindungen gelöst oder gebildet, neun chirale Zentren etabliert und fünf Ringe synthetisiert. Man muß annehmen, daß reaktive carbokationische Zwischenstufen entstehen, wodurch Nebenreaktionen ablaufen könnten, die unterdrückt werden müssen.<sup>[6]</sup> Darüber hinaus ist der Ausschluß von Wasser aus dem aktiven Zentrum ein Problem für die SHC, wie man aus der gleichzeitigen Bildung von Hopan-22-ol **3** (Diplopteron) und Hop-22(29)-en **2** (Diplopten) ersieht.<sup>[6]</sup>

Einige Nebenprodukte fallen in geringen Mengen bei der enzymatischen Cyclisierung von Squalen **1** zu Diplopten **2** an. Das Vorkommen dieser Nebenprodukte kann mit tetra- und pentacyclischen carbokationischen Zwischenprodukten erklärt werden und macht somit den Mechanismus der Bildung des Hopangerüstes deutlicher. Bei der gaschromatographischen Analyse der Produkte der enzymatischen Cyclisierung von Squalen **1** wurden Nebenprodukte gefunden, deren Peaks im Spektrum zwischen denen der Squalen- und der Diploptenfraktion lagen und die mengenmäßig jeweils 0.9–2 % der Diploptenfraktion ausmachten. Die gleiche Produktverteilung wurde auch bei der Untersuchung einer hochreinen SHC ohne Poly(His)-Anhang (His tag) erhalten, der sonst für die schnelle Reinigung an einer Nickel-Affinitätssäule erforderlich ist. Vorläufigen Ergebnissen aus GC-MS-Messungen zufolge haben alle Nebenprodukte eine relative Molekülmasse von 410 und sind daher isomer zu Squalen und Diplopten.

Diese Verbindungen wurden durch eine Dünnenschichtchromatographie (DC) auf mit Silbernitrat imprägniertem Kieselgel getrennt und jeweils durch GC-MS identifiziert. Neohop-13(18)-en **4** und Eupha-7,24-dien **8** wurden als Reinsubstanzen erhalten. Ihre <sup>1</sup>H-NMR- sowie ihre MS-Daten waren mit Literaturwerten identisch.<sup>[7–9]</sup> Die Struktur von **8** wurde letztlich durch den direkten Vergleich (GC, GC-MS, <sup>1</sup>H-NMR) mit aus Butyrospermol synthetisiertem **8** bestätigt. Neohop-13(18)-en **4** wurde durch Coinjektion zusammen mit einer Referenzprobe gaschromatographisch und durch GC-MS-Analyse eindeutig identifiziert. Die zwei isomeren Kohlenwasserstoffe **6** und **7** konnten nicht voneinander getrennt werden. <sup>1</sup>H-NMR- und MS-Daten von **6** waren identisch mit den Literaturwerten für Dammara-13(17),24-dien aus *Polyodium fauriei*; diese Struktur wurde durch Vergleich mit den hydrierten Cyclisierungsprodukten von 2,3-Dihydrosqualen (s. unten) bestätigt.<sup>[10]</sup> Verbindung **7** wurde als 17-Isodammar-12,24-dien anhand des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums des 24,25-Dihydroderivats identifiziert; 17-Isodammar-12-en wurde durch enzymatische Cyclisierung von 2,3-Dihydrosqualen mit einem zellfreien Extrakt von *Alicyclobacillus acidocaldarius* erhalten.<sup>[11]</sup> Die katalytische Hydrierung einer Mischung aus **6** und **7** reduzierte selektiv die Doppelbindung in der Seitenkette unter Bildung eines Gemisches von 17-Isodammar-12-en und Dammar-13(17)-en; dies wurde durch einen Vergleich (GC-MS, <sup>1</sup>H-NMR) mit früher beschriebenen Referenzverbindungen nachgewiesen.<sup>[11]</sup> Die chemischen Verschiebungen der Methylgruppen des tetracyclischen Gerüsts von **6** waren annähernd identisch mit denen der 24,25-Dihydroverbindung. Die ungesättigte Seitenkette mit einer

[\*] Prof. Dr. M. Rohmer, Dr. C. Pale-Grosdemange  
Institut Le Bel, Université Louis Pasteur  
4 rue Blaise Pascal, F-67070 Strasbourg (Frankreich)  
Fax: (+33) 3-88-41-61-01  
E-mail: mirohmer@chimie.u-strasbg.fr

Dr. C. Feil, Prof. Dr. K. Poralla  
Biologisches Institut der Universität  
Mikrobiologie/Biotecnologie  
Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen  
E-mail: poralla@uni-tuebingen.de

[\*\*] Wir danken Thomas Härtner für die Produktion und Isolierung des Rohgemisches der Triterpene, Jean-Daniel Sauer für die NMR-Messungen, Estelle Nastio und Jacques Blanzat für die Aufnahme von Massenspektren und Dr. Pierre Albrecht (ULP, Strasbourg) für eine Probe Neohopen. Unsere Zusammenarbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 323) und durch ein Stipendium der Alexander-von-Humboldt-Stiftung (M.R.) gefördert.