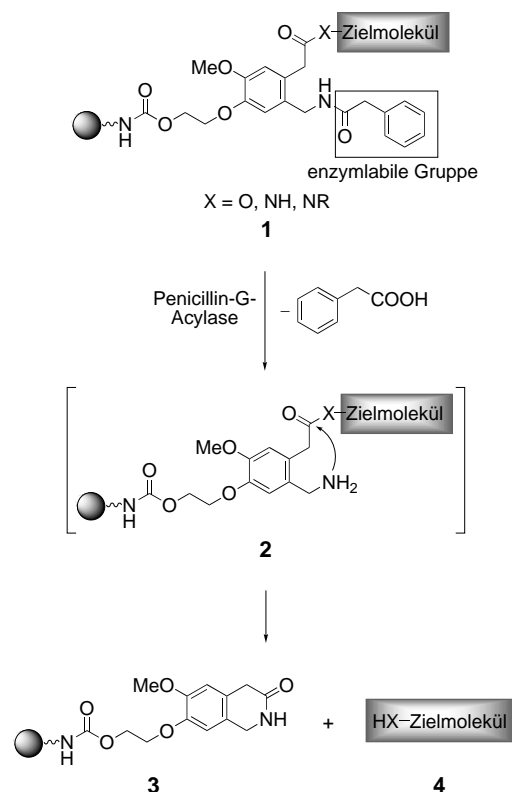


Ein enzymlabiler Safety-Catch-Anker für die kombinatorische Synthese an einem löslichen polymeren Träger**

Uwe Grether und Herbert Waldmann*

Die kombinatorische Chemie und die parallele Synthese von Verbindungsbibliotheken an polymeren Trägern sind äußerst wertvolle Methoden zur Auffindung neuer Substanzen mit einem vorgegebenen Eigenschaftsprofil.^[1] Hierbei werden geeignete Polymere und insbesondere flexibel und vielseitig einsetzbare Ankergruppen (Linker) für die Anbindung der gewünschten Verbindungen an den polymeren Träger benötigt. Aufgrund der stetig wachsenden Zahl von Reaktionstypen an fester Phase steigen die Anforderungen an die Ankergruppen hinsichtlich ihrer Stabilität unter verschiedensten Reaktionsbedingungen und ihrer selektiven Spaltbarkeit. Daher sind neue breit anwendbare Linker, die unter einer Vielzahl von Reaktionsbedingungen stabil sind, gleichzeitig jedoch die Abspaltung der synthetisierten Produkte unter möglichst milden Bedingungen ermöglichen, von großem Interesse für die organische Synthese und die kombinatorische Chemie.^[2] Enzymatische Methoden können wertvolle Alternativen zu klassisch-chemischen Verfahren eröffnen, da enzymkatalysierte Umsetzungen oft unter äußerst milden Bedingungen (pH 5–8, 25–37 °C) und mit sehr hoher Chemo-, Regio- und Stereoselektivität verlaufen.^[3] Wir berichten hier über die Entwicklung eines neuen enzymlabilen Safety-Catch-Ankers für die kombinatorische Chemie^[4] an einem löslichen polymeren Träger, der die Abspaltung der Zielmoleküle in hohen Ausbeuten und unter milden Bedingungen ermöglicht.

Die neue Ankergruppe wurde so konstruiert, dass durch die Verknüpfung einer biokatalysierten Umsetzung mit einer intramolekularen Cyclisierungsreaktion das Prinzip des „assisted removal“^[5] zur Abspaltung der Zielmoleküle genutzt wird. Hierfür enthält der Linker eine funktionelle Gruppe, die durch den Biokatalysator erkannt und angegriffen wird. Das Enzym setzt ein Intermediat frei, das unter Abspaltung der Zielmoleküle cyclisiert. Darüber hinaus weist der Linker eine zusätzliche funktionelle Gruppe für die Anbindung an den polymeren Träger auf. Die Verwirklichung dieses Prinzips ist in Schema 1 dargestellt. Die Ankergruppe wird als Urethan an einen aminofunktionalisierten Träger angebunden ($\rightarrow 1$). Über eine Carboxyfunktion ermöglicht sie die Anknüpfung von z.B. Alkylhalogeniden, Alkoholen und Aminen als Carbonsäureester bzw. -amide sowie deren anschließende Umsetzung zur Herstellung von Produktbibliotheken. Die



Schema 1. Funktionsprinzip des enzymlabilen Safety-Catch-Ankers.

enzymlabile Einheit, ein Phenyllessigsäureamid, ist räumlich weit von den Verbindungen entfernt, die bei der kombinatorischen Synthese gebildet werden. Dadurch werden sterische oder elektronische Wechselwirkungen des Biokatalysators mit den jeweiligen Syntheseprodukten, die zu einer Einschränkung der Substrattoleranz des Enzyms führen könnten, minimiert. Die Abspaltung der Zielmoleküle erfolgt nach dem Safety-Catch-Prinzip in einem zweistufigen Prozess. Im ersten Schritt hydrolysiert die Amidase Penicillin-G-Acylase mit sehr hoher Chemo- und Regioselektivität und unter ausgesprochen milden Bedingungen (pH 7.0, Raumtemperatur oder 37 °C) das Phenyllessigsäureamid.^[6] Das hierbei als aktivierte Zwischenstufe intermediär gebildete Benzylamin **2** cyclisiert zum polymergebundenen Lactam **3**, wobei das jeweilige Zielmolekül **4** freigesetzt wird.

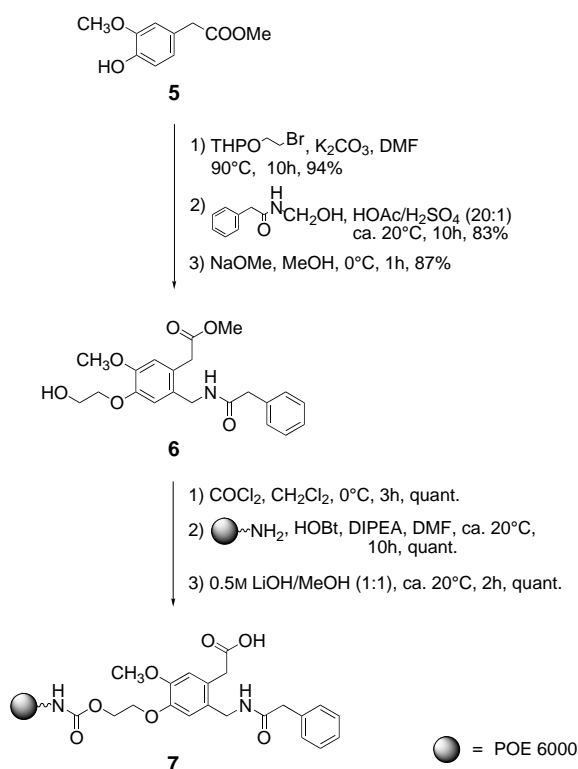
Der Anker wurde ausgehend von kommerziell erhältlichem Homovanillinsäuremethylester **5** aufgebaut (Schema 2). Nach Alkylierung der phenolischen Hydroxygruppe mit THP-geschütztem Bromethanol in hoher Ausbeute wurde das so erhaltene trisubstituierte Aren mit (*N*-Hydroxymethyl)phenyllessigsäureamid in einer vollständig regioselektiv verlaufenden elektrophilen Amidoalkylierung umgesetzt.^[7] Unter den sauren Reaktionsbedingungen wurde der THP-Ether gleichzeitig in das entsprechende Acetat überführt, das nachfolgend basisch verseift wurde. Durch diese dreistufige Sequenz ist der Linker **6** in einer Gesamtausbeute von 67 % zugänglich.

Als polymerer Träger, an den der Anker angebunden werden sollte, wurde ein lösliches, an beiden Termini aminofunktionalisiertes Polyethylenglycol mit einer durchschnittlichen relativen Molekülmasse von 6000 Da (POE 6000)

[*] Prof. Dr. H. Waldmann, Dipl.-Chem. U. Grether^[†]
Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie
Abteilung Chemische Biologie
Otto-Hahn-Straße 11, 44227 Dortmund (Deutschland)
und
Universität Dortmund, Fb. 3, Organische Chemie
Fax: (+49) 231-133-2499
E-mail: herbert.waldmann@mpi-dortmund.mpg.de

[†] Institut für Organische Chemie, Universität Karlsruhe
Richard Willstätter-Allee 2, 76128 Karlsruhe (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung und von der BASF AG gefördert.



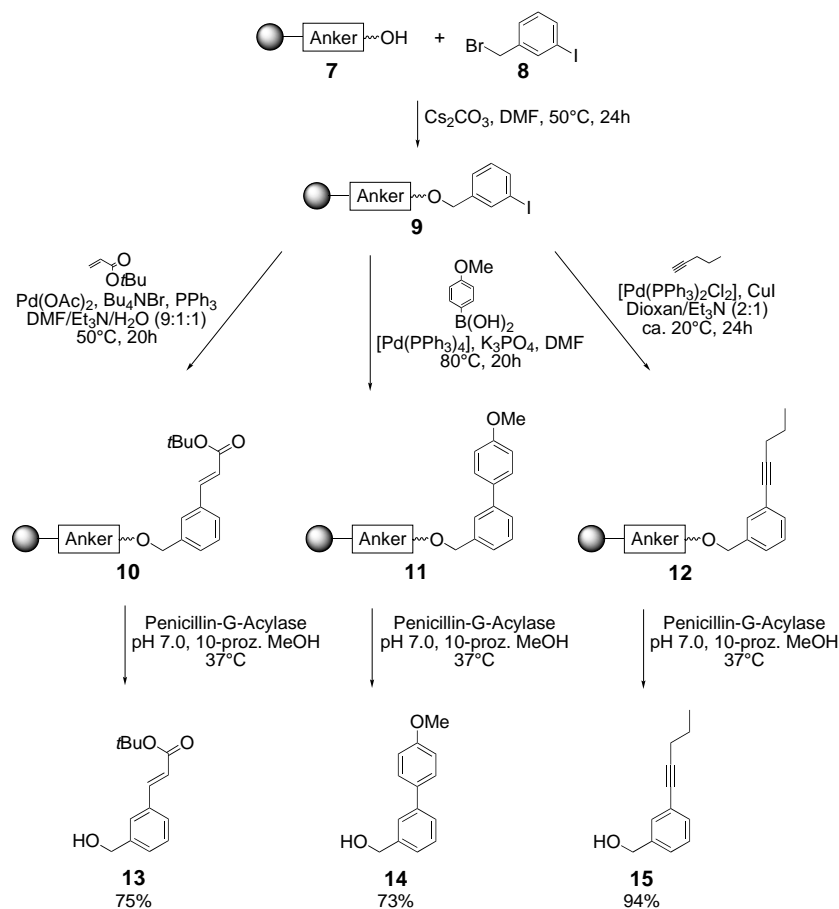
Schema 2. Synthese des Ankers sowie dessen Anbindung an das lösliche Polymer POE 6000. DIPEA=Diisopropylethylamin, HOBT=1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol, THP=Tetrahydropyran.

verwendet.^[8] POE 6000 ist in vielen organischen Lösungsmitteln löslich, kann durch Zugabe von Diethylether jedoch ausgefällt und dann durch Filtrieren abgetrennt und gewaschen werden. Hierdurch wird die Entfernung überschüssiger Reagentien und Nebenprodukte erleichtert. Die Verwendung dieses Trägers ermöglicht die NMR-spektroskopische Verfolgung der Umsetzungen und bietet wegen dessen guter Löslichkeit auch in Wasser für biokatalysierte Reaktionen den besonderen Vorteil, dass die Substrate in homogener Phase für den Biokatalysator zugänglich sind. Zur Anbindung des Ankers **6** an POE 6000 wurde die primäre Hydroxyfunktion zunächst mit Phosgen in den entsprechenden Chlorameisensäureester überführt und mit diesem das aminofunktionalisierte Polymer quantitativ acyliert.^[9] Die ebenfalls quantitativ verlaufende basische Hydrolyse des Methylesters lieferte schließlich das funktionalisierte Polymer **7**.

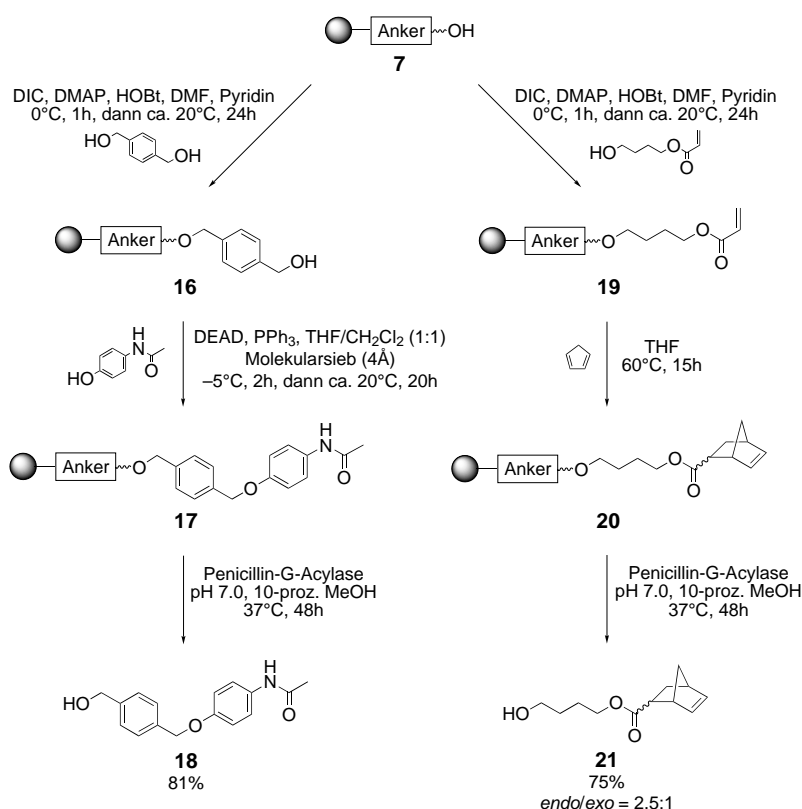
Die Eignung des Polymer-Anker-Konjugats **7** für kombinatorische Synthesen und damit auch seine Anwendungsbreite wurde anhand einer Reihe unterschiedlicher Umsetzungen geprüft. Hierzu wurde zunächst die Carboxyfunktion des Linkers mit *m*-Iodobenzylbromid **8** verestert und das so aufgebaute polymergebundene Aryliodid **9** dann in einer Heck-,^[10] einer Suzuki-^[11] und in einer Sonogashira-Reaktion^[12] weiter

umgesetzt (Schema 3). Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass diese Umsetzungen quantitativ verliefen. Die Verbindungen **10**–**12** wurden anschließend bei pH 7 und 37 °C mit Penicillin-G-Acylase inkubiert. Nach 48 h konnten die Benzylalkohole **13**–**15** durch einfache Extraktion mit Diethylether in sehr hohen Ausbeuten und mit einer Reinheit von jeweils >95% ohne jede weitere Reinigung isoliert werden (Phenyllessigsäure verbleibt in der wässrigen Phase).

In einer weiteren Serie von Experimenten wurden eine Mitsunobu-Veretherung und eine Diels-Alder-Reaktion untersucht (Schema 4). Für die Mitsunobu-Reaktion wurde das Polymer quantitativ mit 1,4-Bis(hydroxymethyl)benzol verestert. Der so erhaltene polymergebundene Benzylalkohol **16** reagierte dann quantitativ mit 4-Acetamidophenol in Gegenwart des Mitsunobu-Reagens zum Phenylether **17**. Dessen Behandlung mit Penicillin-G-Acylase lieferte den Arylbenzylether **18** in einer Ausbeute von 81%. Für die Diels-Alder-Reaktion wurde 4-Hydroxybutylacrylat an den Anker gekuppelt und der polymergebundene Acrylsäureester **19** mit Cyclopentadien umgesetzt. Diese Reaktion wurde sowohl bei 60 °C unter Normaldruck als auch bei 100 °C in einer Glasampulle durchgeführt, um die Druck- und Temperaturstabilität des polymergebundenen Ankers zu untersuchen. Laut NMR-spektroskopischer Analyse entstand das Cycloadditionsprodukt **20** quantitativ und mit einem *endo/exo*-Verhältnis von 2.5:1. Die enzymatische Spaltung lieferte dann den Alkohol **21** in hoher Ausbeute und Reinheit. Die in Schema 4



Schema 3. Palladium-katalysierte Reaktionen am polymeren Träger **7** und enzymkatalysierte Ablösung der Kupplungsprodukte.



Schema 4. Mitsunobu- und Diels-Alder-Reaktion am polymeren Träger **7** und Penicillin-G-Acylase-vermittelte Abspaltung der Zielmoleküle. DEAD = Diethylazodicarboxylat, DIC = Diisopropylcarbodiimid, DMAP = 4-(Dimethylamino)pyridin.

gezeigten Beispiele belegen die Chemoselektivität von Penicillin-G-Acylase besonders eindrucksvoll, da das Enzym nur die Phenylacetamid-Einheit, jedoch keine der zusätzlich vorhandenen Ester- und Amidgruppen angreift.

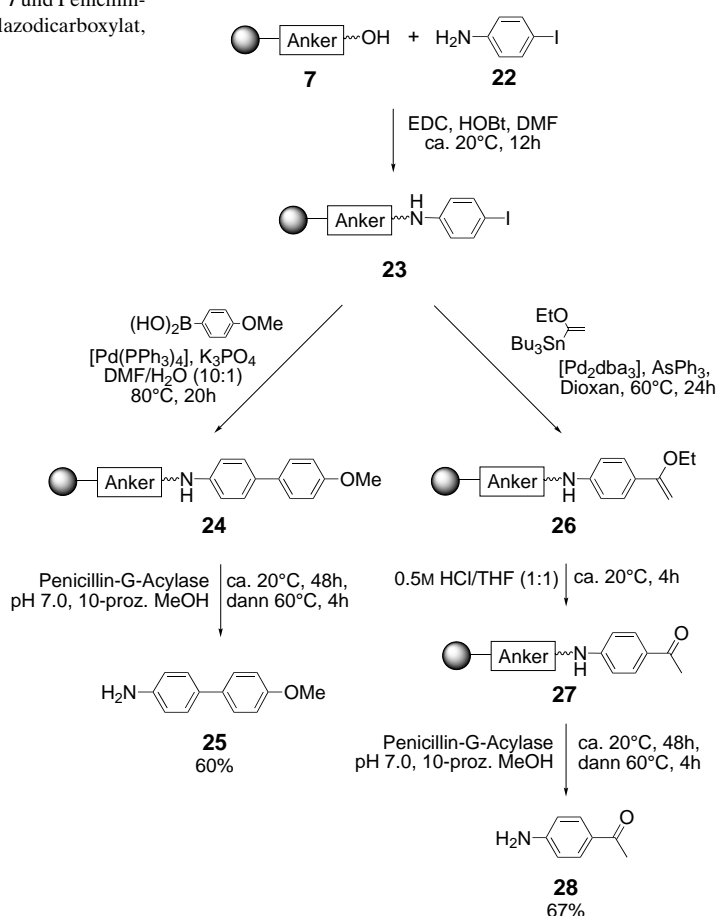
In einer dritten Versuchsreihe wurde geprüft, ob auch als Amide an den Anker angeknüpfte Zielmoleküle mit Hilfe des enzymatischen Verfahrens zugänglich gemacht werden können. Dafür wurde 4-Iodanilin **22** quantitativ an den Linker **7** gekuppelt und das so erhaltene polymerfixierte Aryliodid **23** in einer Suzuki-Reaktion^[11] mit 4-Methoxyphenylboronsäure und in einer Stille-Reaktion^[13] zum Enoether **26** weiter umgesetzt (Schema 5). Dieser lieferte beim Behandeln mit 0.5M Salzsäure schließlich das Acetophenon **27**, wodurch die Stabilität des Ankers gegenüber Säuren belegt wird. Zur Ablösung der Kupplungsprodukte wurden die Polymere **24** und **27** bei pH 7.0 und Raumtemperatur mit Penicillin-G-Acylase inkubiert. Hierbei fand wie erwartet die Hydrolyse des Phenylessigsäureamids statt. Aufgrund der höheren Stabilität von Amiden im Vergleich zu Estern fand bei Raumtemperatur aber noch nicht die gewünschte Cyclisierung statt. Bei Erwärmen des Reaktionsgemischs auf 60 °C bildete sich jedoch wie erwartet das Lactam, und die Amine **25** und **28** wurden vom Polymer abgelöst.

Diese Ergebnisse demonstrieren, dass der neue enzymlabile Safety-Catch-Anker die Synthese verschie-

dener Verbindungsklassen und die Durchführung sehr unterschiedlicher Reaktionen ermöglicht. Die Abspaltungen verlaufen unter besonders milden Bedingungen, mit ausgesprochener Selektivität sowie mit hohen Ausbeuten und liefern die gewünschten Produkte in hoher Reinheit. Der Linker ist unter sehr unterschiedlichen Bedingungen selbst bei höheren Temperaturen stabil. Über die Entwicklung eines neuen Linkersystems für die kombinatorische Chemie hinausgehend belegen unsere Ergebnisse, dass Enzyme generell wertvolle Reagentien für Umsetzungen an polymeren Trägern sind.

Eingegangen am 22. Dezember 1999 [Z14448]

- [1] a) F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436–2487; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288–2337; b) J. S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19–46; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 17–42; c) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555–600; d) D. Obrecht, J. M. Villalgorido, *Solid-Supported Combinatorial and Parallel Synthesis of Small-Molecular-Weight Compound Libraries*, Pergamon, New York, **1998**.
[2] a) I. W. James, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 4855–4946, zit. Lit.; b) für eine Übersicht über neue Entwicklungen siehe:



Schema 5. Palladium-katalysierte Synthese von Anilinen am polymeren Träger und deren enzymatische Abspaltung. dba = *trans,trans*-Dibenzylidenacetone, EDC = *N*'-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid.

- B. J. Backes, J. A. Ellman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 86–93; c) F. Stieber, U. Grether, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1142–1145; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1073–1077.
- [3] *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis* (Hrsg.: K. Drauz, H. Waldmann), VCH, Weinheim, **1995**.
- [4] Enzymlabile Ankergruppen für Synthesen an festen Trägern: a) B. Sauerbrei, V. Jungmann, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1187–1190; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1143–1146, zit. Lit.; b) G. Böhm, J. Dowden, D. C. Rice, I. Burgess, J.-F. Pilard, B. Guilbert, A. Haxton, R. C. Hunter, N. J. Turner, S. L. Flitsch, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3819–3822. Safety-Catch-Anker für die kombinatorische Chemie: siehe z. B. c) N. J. Osborn, J. A. Robinson, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2873–2884; d) X.-Y. Xiao, M. P. Nova, A. W. Czarnik, *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 379–382.
- [5] a) I. D. Entwistle, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4103–4106; b) F. Cubain, *Rev. Roum. Chim.* **1973**, *18*, 449–461; c) G. Just, G. Rosebery, *Synth. Commun.* **1973**, *3*, 447–451; d) B. F. Cain, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2029–2031; e) T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3. Aufl., Wiley, New York, **1999**, zit. Lit.
- [6] Zur Verwendung der Phenylacetyl-Gruppe beim Entschützen von Peptiden, Kohlenhydraten und Nucleosiden siehe: a) H. Waldmann, *Liebigs. Ann. Chem.* **1988**, 1175–1180, zit. Lit.; b) H. Waldmann, A. Heuser, A. Reidel, *Synlett* **1994**, 65–67; c) M. A. Dineva, B. Galunsky, V. Kasche, D. D. Petkov, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 2781–2784; d) H. Waldmann, A. Reidel, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 642–644; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 647–649.
- [7] a) D. Ben-Ishai, J. Sataty, N. Peled, R. Goldshare, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 439–450; b) H. E. Zaugg, *Synthesis* **1984**, 85–110.
- [8] a) E. Bayer, M. Mutter, *Nature* **1972**, *237*, 512–513; b) D. J. Gravert, K. D. Janda, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 489–509.
- [9] Das Polymer wurde in 1-proz. wässriger Ninhydrin-Lösung zum Sieden erhitzt, wobei keine Färbung der Lösung beobachtet wurde.
- [10] a) M. Hiroshige, J. R. Hauske, P. Zhou, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4567–4570; b) T. Jeffery, J.-C. Galland, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4103–4106.
- [11] S. R. Piettre, S. Baltzer, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1197–1200.
- [12] S. Berteina, S. Wendeborn, W. K.-D. Brill, A. De Mesmaeker, *Synlett* **1998**, 676–678.
- [13] K. A. Bearer, A. C. Siegmund, K. L. Spear, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1145–1148.

Der erste strukturell charakterisierte Metallkomplex mit dem Molekülbaustein $M=C=C=C=CR_2$ **

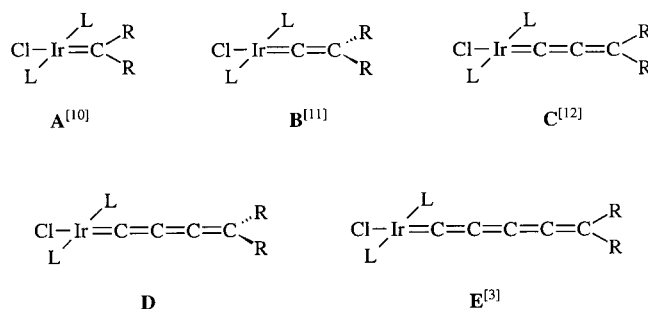
Kerstin Ilg und Helmut Werner*

Professor Henri Brunner zum 65. Geburtstag gewidmet

Metallacumulene der allgemeinen Zusammensetzung $[L_xM=C(=C)_nRR']$ beanspruchen als enge Verwandte der Metallcarbene nach wie vor eine große Aufmerksamkeit. Während die Systeme mit $n=1$ und 2 bereits sehr gut untersucht worden sind,^[1] ist über die Verbindungen mit $n=3$ und 4 nur wenig bekannt. Dixneuf und Mitarbeiter haben

erstmalig 1994 einen kationischen Komplex mit der Baueinheit $Ru=C=C=C=CPh_2$ hergestellt^[2] und wir haben etwas später eine Neutralverbindung mit dem Molekülbaustein $Ir=C=C=C=C=CPh_2$ beschrieben.^[3] Inzwischen ist das Gebiet der Metallahexapentaene $[L_xM=C(=C)_4RR']$ vor allem durch die Arbeiten von Fischer et al. weiter ausgebaut worden.^[4]

Um die Herstellung von *Metallapentatetraenen*, d. h. Verbindungen mit $n=3$ in der oben angegebenen Formel, haben sich als erste Lompfrey und Selegue^[5] und kurz danach Bruce und Mitarbeiter^[6] bemüht. Letzteren gelang es, ausgehend von $[(\eta^5-C_5H_5)Ru(PPh_3)_2(thf)]PF_6$ und Buta-1,3-dien einen kationischen Komplex mit dem Fragment $Ru=C=C=C=CH_2$ in situ zu bilden und seine Existenz durch Abfangreaktionen mit Nucleophilen wie $NHPh_2$, PPh_3 , H_2O und Iminen zu stützen. Dixneuf^[7] und Winter^[8] berichteten kürzlich ebenfalls über die In-situ-Bildung von kationischen Zwischenstufen mit der Baueinheit $Ru=C=C=C=CHR$ und zeigten, dass diese in Acylvinyliden-, Acylalkinyl-, Buteninyl- und Allenylidenkomplexe umgewandelt werden können. Die Isolierung einer kationischen Zweikernverbindung mit dem zentralen Molekülbaustein $[M]=C=C=C=CH[M']$ ($[M]=(\eta^5-C_5Me_5)Fe('P_2')$, $'P_2'=1,2$ -Bis(diphenylphosphanyl)ethan (dppe), 1,2-Bis(diisopropylphosphanyl)ethan (dippe); $[M']=(\eta^5-C_5Me_5)Fe(CO)_2$) gelang 1999 Lapinte und Mitarbeiter ausgehend vom Butadiindiyalkomplex $[M]C\equiv C\equiv C[M']$.^[9] Wir haben jetzt erstmalig eine stabile Neutralverbindung des Typs $[L_xM=C=C=C=CR_2]$ mit $M=Ir$ nicht nur isoliert, sondern auch strukturell charakterisiert und damit die Lücke im System der Metallacumulene **B–E** geschlossen ($L=PiPr_3$).



$L = PiPr_3$

Der Syntheseweg der Iridiumverbindung des Typs **D** lehnt sich an unsere Arbeiten über die entsprechenden Allenylidenkomplexe *trans*- $[IrCl(=C=C=CRR')(PiPr_3)_2]$ an.^[11d, 12] Da der C_3 -Ligand in den Verbindungen des Typs **C** aus Propargylalkoholen $HC\equiv CCRR'OH$ gebildet wird, galt es in Bezug auf die Herstellung einer Verbindung mit homologer C_4 -Einheit eine Vorstufe mit einem zusätzlichen Kohlenstoffatom in der Kette zu finden. Dazu bot sich das Alkinylketon $HC\equiv CC(O)CHPh_2$ ^[13] an. Setzt man dieses mit dem Dihydrid **1** um, so entsteht der Alkinyl(hydrido)-Komplex **2**, der in Lösung jedoch nicht sehr stabil ist und zur entsprechenden Vinylidenverbindung **3** isomerisiert. Der eindeutige Nachweis der Zwischenstufe **2** gelingt durch sofortiges Abfangen mit Pyridin, wobei sich der oktaedrische Komplex **4** bildet. Die 1H -NMR-Spektren von **2** und **4** zeigen im Unterschied zu dem

[*] Prof. Dr. H. Werner, Dipl.-Chem. K. Ilg
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Am Hubland, 97074 Würzburg (Deutschland)
Fax: (+49)931-888-4605
E-mail: helmut.werner@mail.uni-wuerzburg.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 347), vom Fonds der Chemischen Industrie (Doktorandenstipendium für K.I.) und von der BASF AG gefördert.