

Allylische Aminierung durch einen DNA-Dien-Iridium(I)-Hybridkatalysator**

Pierre Fournier, Roberto Fiammengio und Andres Jäschke*

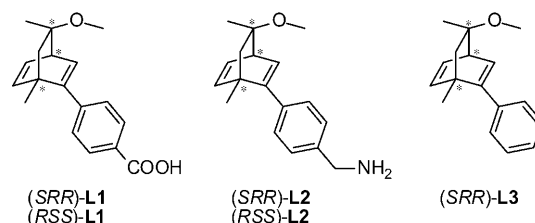
Das Konzept der Hybridkatalyse verspricht die Entwicklung neuer, selektiver Katalysatoren für organische Reaktionen durch die Kombination von homogenen chemischen Katalysatoren mit Biopolymeren. Während Proteine bereits in zahlreichen Übergangsmetallkatalysierten Reaktionen verwendet wurden,^[1] gibt es für Nucleinsäuren nur wenige veröffentlichte Beispiele.^[2] In diesen Arbeiten wurde hohe Stereoselektivität in Diels–Alder-Reaktionen, Michael-Additionen und Fluorierungen mit DNA als alleiniger Quelle von Chiralität erzielt. Allerdings basieren alle diese Umsetzungen auf Lewis-Säure-Katalyse durch Cu^{II}-Ionen. Unser Ziel ist hingegen die Anwendung von DNA-basierten Übergangsmetallkatalysatoren in der metallorganischen Katalyse, da diese zahlreiche präparativ nützliche Transformationen gestattet.

Hier stellen wir ein DNA-basiertes System vor, das eine allylische Substitution im wässrigen Medium durch Ir^I-Dien-Chemie katalysiert. Wir zeigen, dass Katalyse in der Gegenwart von DNA und deren zahlreichen funktionellen Gruppen stattfindet, und dass die räumliche Struktur der DNA das stereochemische Ergebnis der Reaktion beeinflusst.

Die ursprüngliche Idee, die dreidimensionale Struktur von Nucleinsäuren zur Erzeugung einer chiralen Umgebung um einen aktiven Metallkatalysator zu nutzen, brachte uns zum modularen Design von funktionalisierten Oligonucleotiden (ODNs): Diese kurzen ODNs tragen einen Dien-Liganden und wurden mit verschiedenen komplementären Strängen aus DNA (cDNA) oder RNA (cRNA) kombiniert. Die vollkommenen bzw. unvollkommenen Doppelstränge ermöglichen feine Änderungen in der Umgebung des Metallzentrums. Die kovalente Verknüpfung des Liganden garantiert dessen spezifische, reproduzierbare Positionierung innerhalb der Nucleinsäurestruktur.

Dien-Liganden haben unlängst beachtliches Interesse geweckt,^[3] trotzdem wurden sie bisher nicht als Ankerliganden in der Hybridkatalyse eingesetzt. Als Ligandengrundgerüst haben wir Bicyclo[2.2.2]octadien gewählt, das in Ir^I-ka-

talysierten allylischen Substitutionen gute Aktivität bewiesen hat^[4] und leicht zugängliche Positionen zur Derivatisierung aufweist. Von den Dien-Liganden **L1** und **L2** wurden jeweils



beide Enantiomere synthetisiert. Der Einsatz der beiden möglichen absoluten Konfigurationen sowie unterschiedlicher Linker erlaubt die gezielte Beeinflussung der Wechselwirkung zwischen dem Träger-ODN und dem Metallkomplex. Der Ligand (SRR)-**L3** dient hierbei als Referenz. Um die Liganden kovalent und ortsspezifisch mit DNA zu verknüpfen, wurde das aktivierte Nucleosid 4-Triazolyldesoxyuridin^[5] mittels automatisierter Festphasensynthese in ein 19-meres ODN eingebaut, das mit primären Aminen reagiert^[6] (Schema 1) und die Funktionalisierung der DNA mit dem gewünschten Dien-Liganden erlaubt.

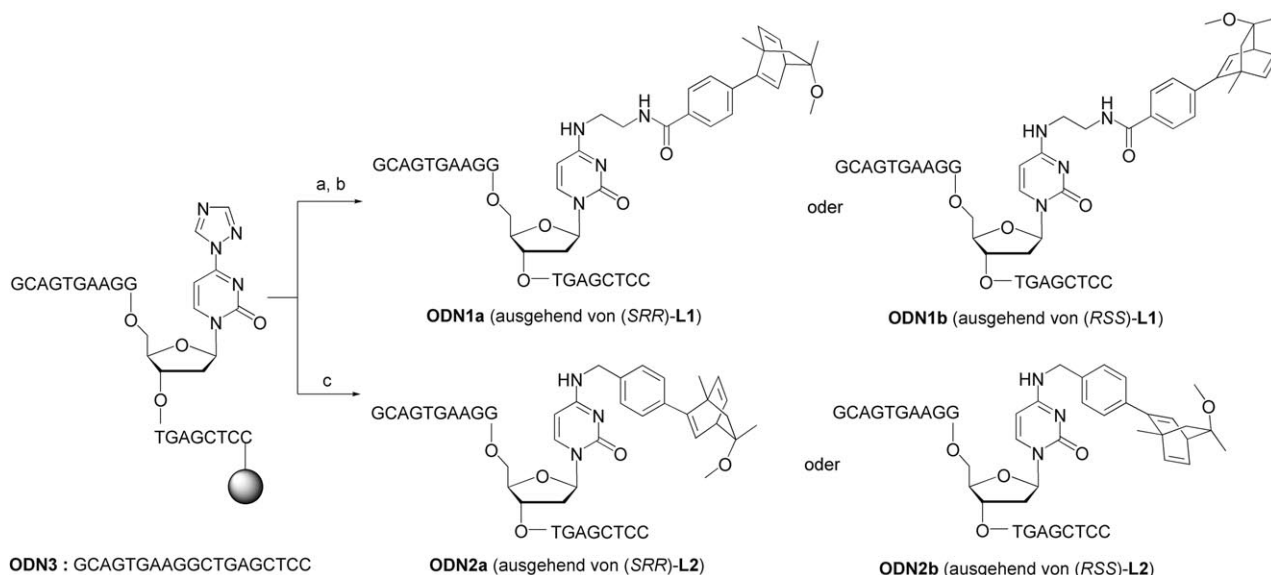
Für die Kupplung von Ligand **L1** wurde die modifizierte DNA zuerst mit Ethylendiamin derivatisiert und das entstandene primäre Amin mit der Carbonsäurefunktion von **L1** umgesetzt. **L2** konnte über seine primäre Aminofunktion in einem Schritt an die DNA gekuppelt werden. Die resultierenden Liganden wurden in der Ir-katalysierten allylischen Substitution^[8] von Phenylallylacetat **1** mit Morpholin im wässrigen Medium getestet (Tabelle 1).^[9] Zur Bildung der Nucleinsäurestrukturen wurde dem Reaktionsgemisch 100 mM NaClO₄ sowie 5 mM Mg(ClO₄)₂ zugegeben. (Die Strukturbildung konnte durch thermische Denaturierungsexperimente bestätigt werden, siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S2.)

Während sich der Präkatalysator [Ir(C₂H₄)₂Cl]₂ allein als inaktiv erwies (Tabelle 1, Nr. 1), zeigte der Komplex, der nach Zugabe von **L3** in Dioxan (2 h bei Raumtemperatur) entstand, hervorragende Aktivität. Nach 13 Stunden konnte trotz niedriger Konzentration der Ausgangsverbindung (50 mM) und geringer Katalysatorkonzentration (0.2 Mol-%) ein Umsatz von 81 % erreicht werden (Tabelle 1, Nr. 2). Dieser Wert besteht den Vergleich mit dem kommerziell erhältlichen Ir-Dien-Komplex [Ir(cod)Cl]₂ (Nr. 3). [Ir(cod)₂Cl]₂ war als Präkatalysator^[4] weniger effektiv (Tabelle 1, Nr. 4). Der geringe Umsatz der Reaktion in reinem

[*] P. Fournier, Dr. R. Fiammengio, Prof. Dr. A. Jäschke
Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie
Universität Heidelberg
69120 Heidelberg (Deutschland)
Fax: (+49) 6221-546-430
E-Mail: jaeschke@uni-hd.de
Homepage: <http://www.jaeschke.uni-hd.de>

[**] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 623) und den Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Die Autoren danken Dr. M. Caprioara und M. Dauner für experimentelle Unterstützung und hilfreiche Diskussionen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200900713> zu finden.



Schema 1. a) Ethylendiamin, H₂O, 4 h, RT; b) **L1**, EDC-HCl, NaHCO₃, H₂O/DMF, 8 h, 2 °C; c) **L2**, DMSO, 2 h, 60 °C.^[7] EDC = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid, DMSO = Dimethylsulfoxid.

Tabelle 1: Allylische Aminierung von Phenylallylacetat **1**.^[a]

Nr.	Katalysator	Ligand	Umsatz ^[b] [%]
1	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	–	3
2	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	L3	81
3	[{Ir(cod)Cl} ₂] ^[c]	–	71
4	[{Ir(coe)Cl} ₂] ^[c]	L3	72
5 ^[d]	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	L3	3
6 ^[e]	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	L3	80
7	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	ODN1a	88
8	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	ODN2a	85
9 ^[f]	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	ODN1a	87
10 ^[g]	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	ODN1a	92
11 ^[e]	[{Ir(C ₂ H ₄) ₂ Cl} ₂]	–	2

[a] Reaktionsbedingungen: 50 µM Katalysator, 100 µM Ligand, 50 mm **1**, 50 mm Morpholin, in Wasser/Dioxan (7:3) mit 100 mm NaClO₄ und 5 mm Mg(ClO₄)₂, 50 µL Reaktionsvolumen, 13 h, Raumtemperatur. [b] Gaschromatographische Bestimmung. [c] cod = 1,5-Cyclooctadien, coe = Cycloocten. [d] In 100% Dioxan. [e] In Gegenwart von 100 µM **ODN3**. [f] In Gegenwart von 100 µM komplementärer RNA. [g] 5 µM [{Ir(C₂H₄)₂Cl}₂], 10 µM Ligand, 50 mm **1**, 150 mm Morpholin, 4 Tage Reaktion.

Dioxan (Tabelle 1, Nr. 5) zeigt, dass Wasser eine enorme Beschleunigung der allylischen Substitution bewirkt.^[10]

Die Zugabe von DNA zum Reaktionsgemisch verringerte die Aktivität des Katalysators nicht (Tabelle 1; Nr. 6 vs. 2). Die DNA-basierten Diene **ODN1a** und **ODN2a** bildeten Katalysatoren, die sogar eine leicht erhöhte Aktivität gegenüber dem Komplex mit freiem Dien **L3** (Tabelle 1, Nr. 7, 8 vs. 2) zeigten. Es wurde kein Unterschied in der Aktivität zwischen einzel- und doppelsträngigen Hybridkatalysatoren

(Tabelle 1, Nr. 9 vs. 7) beobachtet. Diese Daten belegen, dass DNA mit ihren zahlreichen Stickstoff-haltigen Heterocyclen in dem hier vorgestellten System nicht mit dem Dien-Liganden um die Iridium-Koordination konkurriert und die metallorganische Katalyse nicht behindert. Die Stabilität des Katalysators unter diesen Bedingungen ist bemerkenswert; bis zu 4600 Umsetzungen (Turnovers) konnten beobachtet werden (Tabelle 1; Nr. 10, Einsatz von 10 µM Iridium). In Gegenwart eines unmodifizierten DNA-Strangs zeigte sich der Iridium-Präkatalysator inaktiv (Tabelle 1, Nr. 11), somit kann angenommen werden, dass unspezifisches Binden der DNA an Iridium nicht zur Katalyse beiträgt.

Im Weiteren wurde die Stereoselektivität der Hybridkatalysatoren in der kinetischen Racematspaltung von Acetat **1** bestimmt. Die Dien-tragenden DNA-Oligonucleotide wurden mit verschiedenen komplementären DNA- und RNA-Strängen kombiniert, um die Form der direkten Umgebung des Iridium-Komplexes zu modulieren.

Wir wählten vollkommen komplementäre Sequenzen (**cdNA1** und **crNA1**) sowie Sequenzen, die in der Lage sind, eine Ausbuchtung („bulge“) am Dien-tragenden (**cdNA2** und **crNA2**) oder am gegenüberliegenden Strang auszubilden (**cdNA2** und **crNA2**) (Tabelle 2). Der Einsatz von 0.5 Äquivalenten Morpholin ermöglichte die Messung des Enantiomerenüberschusses (*ee*) bei einem 50-prozentigen Umsatz von **1**.^[4,11] Obwohl die bisher erzielten *ee*-Werte und Stereoselektivitätsfaktoren^[12] moderat blieben, konnte die Übertragung der Chiralität der Nucleinsäure auf den Iridium-Komplex eindeutig gezeigt werden. In Abwesenheit des komplementären Strangs erzielten die einzelsträngigen DNA-Dien-Iridium-Komplexe ähnliche *ee*-Werte wie das freie Dien **L3** (Tabelle 2, Nr. 1, 2 und 4), die Dien-Enantiomere zeigten zueinander umgekehrte *ee*-Werte (Tabelle 2, Nr. 2, 4 vs. 3, 5): Der Einfluss der an sie gebundenen DNA erscheint hier gering. Nach Zugabe der komplementären Sequenz dagegen veränderten sich die *ee*-Werte. Das deut-

Tabelle 2: Hybridkatalysatoren in der kinetischen Racematspaltung von Phenylallylacetat **1**.^[a]

Katalysator-Design ^[b]	Ligand	Komplementärstrang	Umsatz ^[c] [%]	<i>ee</i> ^[d] 1 [%]	<i>s</i> ^[e]	<i>ee</i> ^[d] 2 [%]
1	L3	–	48	23	2.0	28
2	ODN1 a	–	49	16	1.6	23
3	ODN1 b	–	47	–12	1.5	–24
4	ODN2 a	–	45	16	1.7	20
5	ODN2 b	–	46	–16	1.7	–18
6	ODN1 a	cDNA1	45	≤ 5	–	9
7	ODN1 b	cDNA1	47	≤ 5	–	≤ 5
8	ODN2 a	cDNA1	44	–7	1.3	–6
9	ODN2 b	cDNA1	43	≤ 5	–	≤ 5
10	ODN1 a	cRNA1	48	–19	1.8	–27
11	ODN1 b	cRNA1	45	≤ 5	–	≤ 5
12	ODN2 a	cRNA1	42	≤ 5	–	–13
13	ODN2 b	cRNA1	46	≤ 5	–	≤ 5
14	ODN1 a	cDNA2	49	9	1.3	15
15	ODN1 a	cRNA2	46	≤ 5	–	≤ 5
16	ODN1 a	cDNA3	40	≤ 5	–	–12
17	ODN1 a	cRNA3	49	≤ 5	–	≤ 5

[a] Reaktionsbedingungen: 50 μM $[\{\text{Ir}(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{Cl}\}_2]$, 100 μM Ligand, 50 mM **1**, 25 mM Morpholin, 50 μL Reaktionsvolumen, in Wasser/Dioxan (7:3) mit 100 mM NaClO_4 und 5 mM $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, 40 h, Raumtemperatur. [b] Schwarze Stränge: DNA, graue Stränge: RNA. [c] GC-Umsatz, bezogen auf **1**. [d] Enantiomerenüberschuss, bestimmt mit HPLC an chiraler Phase. Positive *ee*-Werte beziehen sich auf den Überschuss des zuerst eluierenden Enantiomers; „≤ 5“, bedeutet: absoluter *ee*-Wert kleiner als 5%. [e] *s* bezeichnet den Stereoselektivitätsfaktor, siehe Lit. [12]. Kursiv gedruckte Werte entsprechen den negativen *ee*-Werten von **1**.

lichste Beispiel hierfür ist die Zugabe von **cRNA1** zu **ODN1a** (Tabelle 2, Nr. 10), die eine Inversion der Stereoselektivität bewirkte: Die *ee*-Werte wechselten von +23% zu –27% mit entsprechender Veränderung des Stereoselektivitätsfaktors. Interessanterweise war dieser Effekt wesentlich geringer ausgeprägt, wenn es sich bei dem komplementären Strang um DNA handelte (Tabelle 2, Nr. 6). Die Unterschiede in der Selektivität der drei Konstrukte sind höchstwahrscheinlich auf die unterschiedlichen Helixstrukturen zurückzuführen (Einzelstrang: keine Helix, DNA/DNA-Doppelstrang: B-Helix, DNA/RNA-Doppelstrang: A-Helix). Diese Vorstellung konnte durch CD-Spektroskopie untermauert werden (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S3). Wie erwartet hatte die Art der Verknüpfung von DNA und Dien ebenfalls eine Auswirkung auf die Stereoselektivität (z.B. Nr. 10 vs. 12 in Tabelle 2). Die Einführung von Ausbuchtungen innerhalb der Nucleinsäurestruktur beeinflusste die Stereoselektivität in unvorhersehbarer Weise (Tabelle 2, Nr. 14–17), woraus sich schließen lässt, dass bereits kleine strukturelle Veränderungen große Auswirkungen haben können. Diese Ergebnisse verdeutlichen das Potenzial des Screenings großer Oligonucleotid-Bibliotheken.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass wir hier die erste Anwendung der DNA-Hybridkatalyse in der metallor-

ganischen Chemie beschreiben. Die kovalenten DNA-Dien-Konjugate bilden im wässrigen Medium hochaktive und stabile Ir^{I} -Komplexe, was durch Wechselzahlen von bis zu 4600 Umsetzungen pro Katalysatormolekül in der allylischen Aminierung nachgewiesen wurde. Wie erwartet beeinflusste die Nucleinsäurestruktur das stereochemische Ergebnis der Reaktion. Diese Ergebnisse bahnen den Weg für die gerichtete Evolution von Hybridkatalysatoren,^[13] bei der die einzigartigen Eigenschaften der Nucleinsäuren (z.B. ihre enzymatische Replizierbarkeit) genutzt werden, um aus kombinatorischen Nucleinsäurebibliotheken Katalysatoren mit höheren Aktivitäten und präparativ relevanten Selektivitäten zu isolieren.

Experimentelles

Allgemeiner Ablauf der allylischen Aminierung in Gegenwart von DNA: Die Reaktionen wurden unter Argon durchgeführt. Dioxan (p.a. Qualität) sowie die Stammlösungen von Phenylallylacetat **1** und Morpholin wurden vor Gebrauch entgast. In einem Plastik-Reaktionsgefäß von 200 μL wurde eine wässrige Lösung aus Dien-funktionalisiertem 19-mer und dem komplementären Strang vorgelegt (je 5 nmol), anschließend wurde die Lösung lyophilisiert. Dieses Gefäß, das die getrockneten ODNs enthält, wurde in einen Schlenk-Kolben überführt, der mit Argon befüllt wird. Die Oligonucleotide wurden in 8 μL einer wässrigen Salzlösung (143 mM NaClO_4 , 7 mM $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$) gelöst, und eine 1 mM Lösung von $[\{\text{Ir}(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{Cl}\}_2]$ (0.5 Äquiv. zum ODN) in Dioxan wurde zugegeben. Für die Komplexbildung wurde die Mischung bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Anschließend wurde Dioxan, die Na/Mg Salzlösung (in benötigter Menge, um ein Endvolumen von 50 μL in Wasser/Dioxan mit 7:3-Verhältnis zu erreichen), Phenylallylacetat **1**, Dodecan (5 μL einer Dioxan-Lösung, die 0.5M **1** und 0.4M Dodecan enthält) und schließlich Morpholin (0.5M Lösung in Dioxan) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur (23–25°C) gerührt. Nach Beenden der Reaktion wurde das Gemisch mit 3 × 100 μL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden durch eine geringe Menge Silica filtriert und mit 750 μL Diethylether eluiert. Die erhaltene Lösung wurde mittels GC und HPLC an chiraler Phase analysiert. Alle Experimente wurden 2 bis 3 Mal wiederholt, die Umsätze und *ee*-Werte wichen weniger als 3% voneinander ab.

Eingegangen am 5. Februar 2009

Online veröffentlicht am 8. Mai 2009

Stichwörter: Allylische Substitution · Dien-Liganden · DNA · Hybridkatalyse · Iridium

- [1] a) J. Steinreiber, T. R. Ward, *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 751–766; b) M. E. Wilson, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 306–307; c) M. T. Reetz, M. Rentzsch, A. Pletsch, M. Maywald, P. Maiwald, J. J. P. Peyralans, A. Maichele, Y. Fu, N. Jiao, F. Hollmann, R. Mondiere, A. Taglieber, *Tetrahedron* **2007**, 63, 6404–6414; d) A. Pordea, M. Creus, J. Panek, C. Duboc, D. Mathis, M. Novic, T. R. Ward, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8085–8088; e) J. Pierron, C. Malan, M. Creus, J. Gradinaru, I. Hafner, A. Ivanova, A. Sardo, T. R. Ward, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 713–717; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 701–705.
- [2] a) G. Roelfes, B. L. Feringa, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 3294–3296; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 3230–3232; b) N. S. Oltra, G. Roelfes, *Chem. Commun.* **2008**, 6039–6041; c) D. Coquière, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 9468–9471; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 9308–9311; d) N. Shibata, H. Yasui, S. Nakamura, T. Toru, *Synlett* **2007**, 1153–1157; e) U. Jakobsen, K. Rohr, S. Vogel, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2007**, 26, 1419–1422.
- [3] a) C. Defieber, H. Grützmacher, E. M. Carreira, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 4558–4579; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 4482–4502; b) T. Gendrineau, O. Chuzel, H. Eijsberg, J.-P. Genet, S. Darses, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 7783–7786; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 7669–7672; c) T. Nishimura, Y. Yasuhara, M. Nagaosa, T. Hayashi, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 1778–1783; d) K. Okamoto, T. Hayashi, V. H. Rawal, *Org. Lett.* **2008**, 10, 4387–4389.
- [4] C. Fischer, C. Defieber, T. Suzuki, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1628–1629.
- [5] Y. Z. Xu, Q. Zheng, P. F. Swann, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3839–3845.
- [6] M. Caprioara, R. Fiammengio, M. Engeser, A. Jäschke, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 2089–2095.
- [7] Für **L1**, **L2** und **L3** bedeutet (*SRR*) (*1S,4R,8R*) und (*RSS*) (*1R,4S,8S*).
- [8] G. Helmchen, A. Dahnz, P. Dübon, M. Schelwies, R. Weihofen, *Chem. Commun.* **2007**, 675–691.
- [9] Wie für Iridium-katalysierte allylische Substitutionen üblich, wurde nur das verzweigte Produkt gebildet.
- [10] a) D. Sinou, C. Rabeyrin, C. Nguefack, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 357–363; b) C. Chevrin, J. Le Bras, F. Henin, J. Muzart, A. Pla-Quintana, A. Roglans, R. Pleixats, *Organometallics* **2004**, 23, 4796–4799; c) H. Kinoshita, H. Shinokubo, K. Oshima, *Org. Lett.* **2004**, 6, 4085–4088.
- [11] Die Reaktionen liefen fast vollständig ab, trotz der Ansäuerung des Mediums durch Freisetzung von Essigsäure.
- [12] Der Stereoselektivitätsfaktor *s* wurde aus den *ee*-Werten der verbleibenden Eduktmenge berechnet, gemäß: H. B. Kagan, J. C. Fiaud, *Top. Curr. Stereochem.* **1988**, 18, 249–330.
- [13] a) G. F. Joyce, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6540–6557; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6420–6436; b) M. T. Reetz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 5716–5722.