

Kurze Mitteilungen

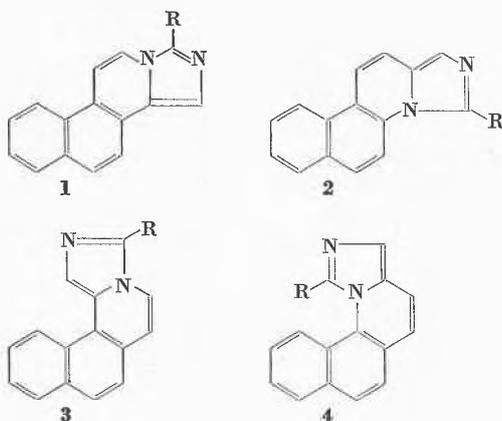
Bis am 15. des Monats bei der Redaktion eingehende Kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht. Es werden auch Manuskripte aus dem Ausland angenommen. Maximalumfang: 6 Schreibmaschinenseiten (alles inbegriffen)

Kondensierte Imidazole; Versuche zur Synthese des 13,16- und 14,16-Diazasterin-Gerüsts*

Summary

The synthesis of four novel condensed imidazoles is reported. Two of the compounds, benz [f]imidazo [5,1-a]isoquinoline and benz [f]imidazo [1,5-a]quinoline possess the fully aromatic 13,16- or 14,16-diazasteroid system.

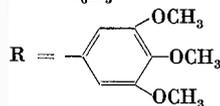
Kürzlich berichteten wir über die Synthese von Imidazo [5,1-a]isochinolinen durch dehydratisierenden Ringschluß von N-acylierten 1-Aminomethylisochinolinien mittels Phosphoroxychlorid oder Polyphosphorsäure¹. Die Anwendung dieser Methode auf N-acylierte Aminomethylbenzchinoline und -isochinoline lieferte die folgenden Systeme in glatter Reaktion: Benz [f]imidazo [5,1-a]isochinolin, **1**, Benz [f]imidazo [1,5-a]chinolin, **2**, Benz [h]imidazo [5,1-a]isochinolin, **3**, und Benz [h]imidazo [1,5-a]chinolin, **4**.



1a, 2a, 3a, 4a
1b, 2b, 3b, 4b
1c, 2c, 3c, 4c

R = H
R = CH₃
R = C₆H₅

1d, 2d, 3d, 4d



1e, 2e, 3e, 4e

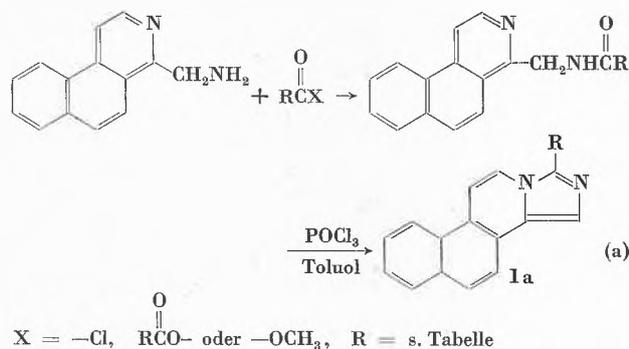
R = Adamantyl

1f, R =

2f, 3f, 4f R =

Die Verbindungen **1** und **2** stellen vollaromatische Analoge des 13,16- bzw. 14,16-Diazasterin-Systems² dar; die Verbindung **1f** trägt in 2-Stellung dieselbe Seitenkette wie Cholesterol in 17-Stellung, die mit der vorigen äquivalent ist.

Die Synthese dieser Ringsysteme ging von den entsprechenden Benzchinolinien bzw. Benzisochinolinien aus, die mittels CH₃CO₂H/H₂O₂^{3,4} N-oxidiert wurden. Die N-Oxide wurden durch Behandeln mit Kaliumcyanid und Benzoylchlorid in Reißert-Verbindungen überführt, die sofort zu 3-Cyanobenz [f] chinolin⁴, 2-Cyanobenz [h] chinolin⁴, 4-Cyanobenz [f] isochinolin, F. 206–208°, und 1-Cyanobenz [h] isochinolin, F. 149–151°, weiterverarbeitet wurden. Die beiden Chinolinabkömmlinge wurden in mit Ammoniak gesättigtem Alkohol gelöst und mit Raney-Nickel zu den Aminen hydriert; charakterisiert wurden sie als Salze; 2-Aminomethylbenz [f] chinolin-Hydrochlorid, F. 248–250°, und 2-Aminomethylbenz [h] chinolin-Hydrochlorid, F. 263–265°. Die Hydrierung der beiden Isochinolinabkömmlinge gelang in äthanolischer Lösung in Gegenwart von Salzsäure mit 10prozentigem Palladium auf Kohle als Katalysator. Charakterisiert wurden beide Amine auch als Salze; 1-Aminomethylbenz [f] isochinolin-Dihydrochlorid, F. 315–318°, und 1-Aminomethylbenz [h] isochinolin-Hydrochlorid, F. 240 bis 243°. Die zum Ringschluß benötigten Amide ließen sich in üblicher Weise aus den Aminen und Säurechloriden bzw. -anhydriden herstellen. Ameisensäure-Methylester wurde zur Herstellung der Formamide eingesetzt. Der Ringschluß und die Dehydrierung erfolgte durch 2stündiges Kochen der Amide in Toluol in Gegenwart von Phosphoroxychlorid oder Polyphosphorsäure. Die Reaktionsfolge ist am Beispiel der Synthese von **1a** schematisch in Gleichung (a) dargestellt.



* Eingegangen am 21. Januar 1972.

¹ HANS ZIMMER, D. C. GLASGOW, M. McCLANAHAN und T. NOVINSOHN, *Tetrahedron Letters* 1968, 2805.

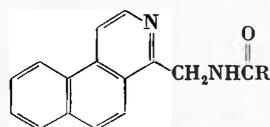
² L. E. KATZ und F. D. POPP, *J. Heterocyclic Chem.* 5 (1968) 249; über heterozyklische Sterinsysteme s. auch H. O. HUISMAN, *Angew. Chem.* 83 (1971) 511.

³ E. OCHAI, *J. Org. Chem.* 18 (1953) 534.

⁴ M. COLONNA und S. FATUTTA, *Gazz. Chim. Ital.* 83 (1953) 622.

Die Schmelzpunkte der Amide und der neuen Ring-systeme sind in den Tabellen (1 bis 3) mitgeteilt, auf die Wiedergabe der Elementaranalysen wird verzichtet; sie stimmen innerhalb der normalen Fehlergrenzen mit den

Tabelle 1



R	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
H	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	140–142 ^a	42
CH ₃	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O	159–161 ^b	80
	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O	160–162 ^c	72,5
	C ₂₄ H ₂₂ N ₂ O ₄	182–184 ^c	68,5
	C ₂₁ H ₁₃ J ₃ N ₂ O	265–267 ^d	65,2
Adamantyl	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O	190–192 ^b	84,5
(CH ₃) ₂ CH(CH ₂) ₃ CHCH ₃	C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O	136–138 ^b	58

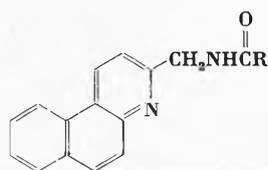
^a Umkristallisiert von Acetonitril

^b Isopropanol

^c Äthanol

^d Dimethylformamid

Tabelle 2



R	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
H	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	180–182 ^a	79,4
CH ₃	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O	197–199 ^b	60
	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O	197–203 ^c	69
	C ₂₄ H ₂₂ N ₂ O ₄	221–222 ^d	62
	C ₂₁ H ₁₃ J ₃ N ₂ O	280–283 (Zers.) ^e	54
Adamantyl	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O	211–213 ^f	88

^a Umkristallisiert von Äthanol

^b Methanol-Wasser

^c Äthanol-Wasser

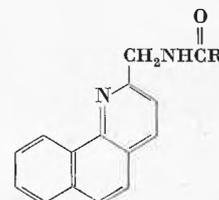
^d Chloroform

^e Dimethylformamid

^f Isopropanol

Bruttoformeln überein. Die bisher noch nicht beschriebenen Ausgangsmaterialien ergaben stimmende C, H, N-Analysen; außerdem stimmten von allen Verbindungen NMR-, UV- und IR-Spektren mit den angenommenen Strukturen überein.

Tabelle 3



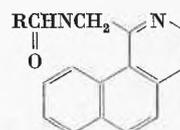
R	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
H	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	147–148 ^a	63,6
CH ₃	C ₁₆ N ₁₄ N ₂ O	173–175 ^a	64
	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O	141–143 ^a	72,2
	C ₂₄ H ₂₂ N ₂ O ₄	191–193 ^a	74,5
	C ₂₁ H ₁₃ J ₃ N ₂ O	Zers. 350 ^b	50,6
Adamantyl	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O	155–157 ^c	82,5

^a Umkristallisiert von Äthanol

^b Dimethylformamid

^c Isopropanol

Tabelle 4



R	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
H	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	139–141 ^a	53
CH ₂	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O	133–135 ^a	84
	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O	145–147 ^b	66
	C ₂₄ H ₂₂ N ₂ O ₄	160–162 ^c	61
	C ₂₁ H ₁₃ J ₃ N ₂ O	250–252 ^d	49
Adamantyl	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O	194–196 ^e	67,3

^a Umkristallisiert von Benzol

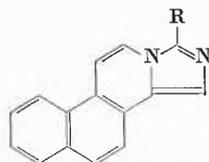
^b Äther

^c Benzol-Hexan

^d Tetrahydrofuran

^e Benzol-Hexan

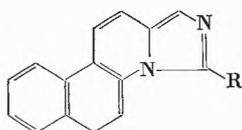
Tabelle 5



Nummer	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
1 a	C ₁₅ H ₁₀ N ₂	233–235 ^a	70
1 b	C ₁₆ H ₁₂ N ₂	223–225 ^b	80
1 c	C ₂₁ H ₁₄ N ₂	304–305 ^c	80
1 d	C ₂₄ H ₂₀ N ₂ O ₃	224–226 ^d	74
1 e	C ₂₃ H ₂₆ N ₂	163–165 ^b	56
1 f	C ₂₅ H ₂₄ N ₂	304–306 ^d	68

^a Umkristallisiert von Äthanol^b Methanol^c Dimethylformamid^d Benzol

Tabelle 6



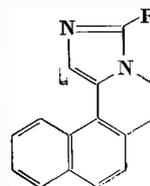
Nummer	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
2 a	C ₁₅ H ₁₀ N ₂	192–194 ^a	83,3
2 b	C ₁₆ H ₁₂ N ₂	168–170 ^b	86
2 c	C ₁₂ H ₁₄ N ₂	141,5–143 ^c	34
2 d	C ₂₄ H ₂₀ N ₂ O ₃	190–192 ^d	70
2 e	C ₂₁ H ₁₁ J ₃ N ₂	228–230 ^a	53,8
2 f	C ₂₅ H ₂₄ N ₂	198–200 ^e	44,5

^a Umkristallisiert von Benzol^b Äthanol^c Benzol-Cyclohexan^d Benzol-Cyclohexan, 1 : 5^e Hexan

Beschreibung der Versuche

Säureamide: Zu einer Suspension von 0,02 Mol des Amino-methylbenzochinolins in 1000 ml Methylenchlorid wurden 0,035 bis 0,04 Mol eines Säurechlorides oder Säureanhydrids gegeben. Danach wurde innerhalb 30 Minuten eine wäßrige Lösung von etwa 6 g Natriumbicarbonat zu der Suspension getropft und für weitere zwei Stunden gerührt. Jetzt wurde die organische Schicht mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und mit Tierkohle geklärt. Der nach dem Abdampfen verbleibende Rückstand konnte aus Dimethylsulfoxid oder Dimethylformamid-Wasser umkristallisiert werden. Die Ausbeuten waren gut.

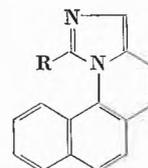
Tabelle 7



Nummer	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
3 a	C ₁₅ H ₁₀ N ₂	160–162 ^a	66
3 b	C ₁₆ H ₁₂ N ₂	119–121 ^a	51
3 c	C ₂₁ H ₁₄ N ₂	204–206 ^a	49,5
3 d	C ₂₄ H ₂₀ N ₂ O ₃	213–215 ^a	64
3 e	C ₂₅ H ₂₄ N ₂	197–199 ^a	55
3 f	C ₂₁ H ₁₁ J ₃ N ₂	> 300 ^b	30,5

^a Umkristallisiert von Benzol^b Tetrahydrofuran^c Zersetzt sich etwas beim Umkristallisieren

Tabelle 8



Nummer	Bruttoformel	Schmp.	Ausbeute
4 a	C ₁₅ H ₁₀ N ₂	143–144 ^a	72,3
4 b	C ₁₆ H ₁₂ N ₂	119–121 ^b	71,5
4 c	C ₂₁ H ₁₄ N ₂	143–144 ^b	31,8
4 d	C ₂₄ H ₂₀ N ₂ O ₃	136–138 ^c	43,8
4 e	C ₂₅ H ₂₄ N ₂	147,5–150	26
4 f	C ₂₁ H ₁₁ J ₃ N ₂	285–287 ^e	56

^a Umkristallisiert von Cyclohexan-Benzol^b Cyclohexan^c Äthanol^d Toluol^e Hexan

Imidazole: Zu 50 ml Toluol wurden 0,014 Mol eines der Amide und 0,080 Mol Phosphoroxchlorid gegeben und für etwa 18 bis 24 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Danach wurde auf Eis gegossen und mit Ammoniak neutralisiert. Nach dem Abtrennen der organischen Schicht wurde noch zweimal mit je 50 ml Toluol gewaschen. Die vereinigten Toluol-Lösungen wurden getrocknet und mit Tierkohle geklärt. Der nach dem Abdampfen hinterbleibende Rest ließ sich durch Umkristallisieren aus Dimethylformamid-Wasser-Gemischen reinigen. Die Ausbeuten waren, mit Ausnahme der 2,3,5-Trijodphenyl-derivate, die teilweise bei etwa 25% lagen, gut.

HANS ZIMMER und HARVEY D. BENSON

Department of Chemistry, University of Cincinnati
Cincinnati (Ohio) 45221 (U. S. A.)

Synthese von (+)-*cis*- und (+)-*trans*-3-Methoxy- α -jonon; ein weiterer experimenteller Beitrag zur Chiralität des natürlichen (+)-Xanthophylls (Luteins)*

Summary

The chirality of natural (+)-xanthophyll (lutein) has again been shown by chemical correlation with synthetic 3-methoxy- α -ionones of established stereochemistry to be (3R, 3'R, 6'R).

Wir haben vor einiger Zeit neue Abbaureaktionen an Xanthophylldimethyläther bekanntgegeben, die zu (+)-*trans*-3-Methoxy- α -jonon und (-)-3-Methoxy- β -jonon (5 bzw. 4) geführt hatten¹. Da wir diese Spaltstücke zur Festlegung der Chiralität des natürlichen (+)-Xanthophylls (= Lutein) benutzt haben¹, lag es nahe, solche Verbindungen zu Vergleichszwecken zu synthetisieren. Die zu diesem Zweck ausgeführten Reaktionen sind im Formelschema zusammengefaßt.

Ausgangsmaterial war Isophoroncarbonester (II)^{2,3}, welcher nach selektiver Reduktion der Ketogruppe die *cis*- und *trans*-Alkohole 10 lieferte⁴. Deren Trennung erfolgte säulenchromatographisch an Aluminiumoxid. Die eindeutige Zuordnung zur *cis*- oder *trans*-Reihe gelang am übersichtlichsten durch Zurückführung auf das bekannte Lacton 16⁵ mittels der im Schema angegebenen Schritte. Zusätzlich wurden auch noch die Verbindungen 12^{2,6} an das Lacton 16 angeschlossen und damit in bezug auf ihre Stereochemie festgelegt⁷.

Sämtliche Verbindungen der beiden sterischen Reihen lassen sich gaschromatographisch voneinander ohne Schwierigkeiten unterscheiden. Umlagerungen von einer sterischen Reihe in die andere wurden bei keiner der angeführten Reaktionen beobachtet; das gilt, was besonders hervorgehoben sei, auch für die Methylierungsreaktionen (vgl. die Diskussion am Ende von¹).

Eigenschaften von 5 (*cis/trans*): Sdp. 83 bis 84°/80 bis 85° (Kugelrohr, 0,3 Torr); Retentionszeit 15,0/14,6 min (Ucon-Kapillarkolonne HB 5100, 20 m, 0,38 mm D, Kolonnentemperatur 100°, Verdampferblocktemperatur 170°, $p = 0,15$ atm, H₂, FID; NMR: siehe⁸; IR (CCl₄) 1700 (m), 1677 (s), 997 (m bis s), 983 (m bis s)/1697 (m), 1677 (s), 990 (m bis s), 980 (m) usw., d. h. sehr geringe Unterschiede.

Wird Xanthophyll nach JENSEN und HERTZBERG partiell methyliert⁹ (S_N1-Bedingungen), so entsteht der 3'-Monomethyläther 3 als Epimerengemisch. Der oxydative Abbau führt demzufolge zu einem Gemisch von *trans*-5 und *cis*-5 (Verhältnis ca. 1:2). Beide Komponenten stimmten im gaschromatographischen Verhalten mit den synthetisch gewonnenen Verbindungen völlig überein. Daraus geht gleichzeitig hervor, daß *cis*-3-Methoxy- α -jonon [und vermutlich auch andere Derivate von 1,4-disubstituiertem 2,6,6-Trimethyl-cyclohexen-(2)] etwas stabiler ist als sein *trans*-Stereoisomer.

Reaktionsbedingungen

- ① K-*t*-Butylat, *t*-Butanol, Benzol, CH₃I, Raumtemperatur, oder: Ag₂O, CH₃I, MgSO₄, CHCl₃, oder: BaO, CH₃I, DMSO/DMF (1:1), Schütteln bei Raumtemperatur, Luftausschluß.
- ② Methanol, CHCl₃, CHCl₃ gesättigt mit HCl-Gas (10:2:1).
- ③ O₂, *h* ν , Sensibilisator oder: NiO₂ in Benzol-Äther, Schütteln bei Raumtemperatur bis zur Entfärbung.
- ④ CH₃MgI in Äther, 1 h Rückfluß, Hydrolyse mit Wasser während der Aufarbeitung.
- ⑤ (C₂H₅)₂P[⊖]-CHCN Na[⊕], hergestellt mit NaH in Diglym bei 0° durch Rühren während 1 h.
- ⑥ CrO₃-Pyridin in CH₂Cl₂ (Collins-Reagens), 3 h Schütteln bei Raumtemperatur.
- ⑦ LiAlH₄ in Äther, 3 bis 4 h Rückfluß, Isomerentrennung an Alox «Woelm» neutral, Aktivität II mit Diisopropyläther als Laufmittel.
- ⑧ NaBH₄ in Alkohol-Wasser (4:1), 2 h bei 70°; Isomerentrennung an Alox «Woelm», neutral, Aktivität I mit 1% Methanol in Diisopropyläther als Laufmittel.
- ⑨ LiAlH₄ in Äther, 4 h Rückfluß.
- ⑩ H₂/Rh 5% auf Alox in Alkohol-Wasser (3:1).
- ⑪ a) KOH in 90prozentigem Alkohol (1:2), Rückfluß während 12 bis 15 h,
b) CH₂N₂.
- ⑫ Wie 11, jedoch nur 5 h Rückfluß.
- ⑬ Lactonisierung der Säure durch Kochen in 30prozentiger H₂SO₄ während 10 bis 15 min.

Die Analyse des H-NMR-Spektrums von *cis*-5 steht in Einklang mit der angegebenen Stereochemie und zeigt überdies, daß *cis*-5 bei Zimmertemperatur eine andere Konformation bevorzugt als *trans*-5⁸.

Die hier beschriebenen Reaktionen¹⁰ bestätigen die von uns vor Jahresfrist¹ veröffentlichte Chiralität von Xanthophyll bezüglich des Zentrums an C-3' erneut: natürliches (+)-Xanthophyll ist (3R, 3'R, 6'R). Die von WEEDON und Mitarbeitern¹¹ angegebene Konfiguration (3R, 3'S, 6'R) ist demnach unrichtig.

* Eingegangen am 4. Februar 1972.

¹ R. BUCHECKER, P. HAMM und C. H. EUGSTER, *Chimia* 25 (1971) 192.

² J. D. SURMATHIS, A. WALSER, J. GIBAS und R. THOMMEN, *J. Org. Chem.* 35 (1970) 1053.

³ Die säurekatalysierte Kondensation von Acetessigestern und Mesityloxyd zu II ist in unserem Institut schon vor längerer Zeit durchgeführt worden; vgl. ULRICH BLASS, Dissertation, Universität Zürich, 1955.

⁴ Die Borhydridreduktion von II zum *cis-trans*-Gemisch 10 ist schon früher (U. BLASS, *l.c.*) sowie von DAVID ARIE BEN-EFRAIM (Dissertation, Universität Zürich, 1956) beschrieben worden.

⁵ G. MERLING und R. WELDE, *Liebigs Ann. Chem.* 366 (1909) 119.

⁶ Als *cis-trans*-Gemisch erstmals von U. BLASS (*l.c.*) beschrieben.

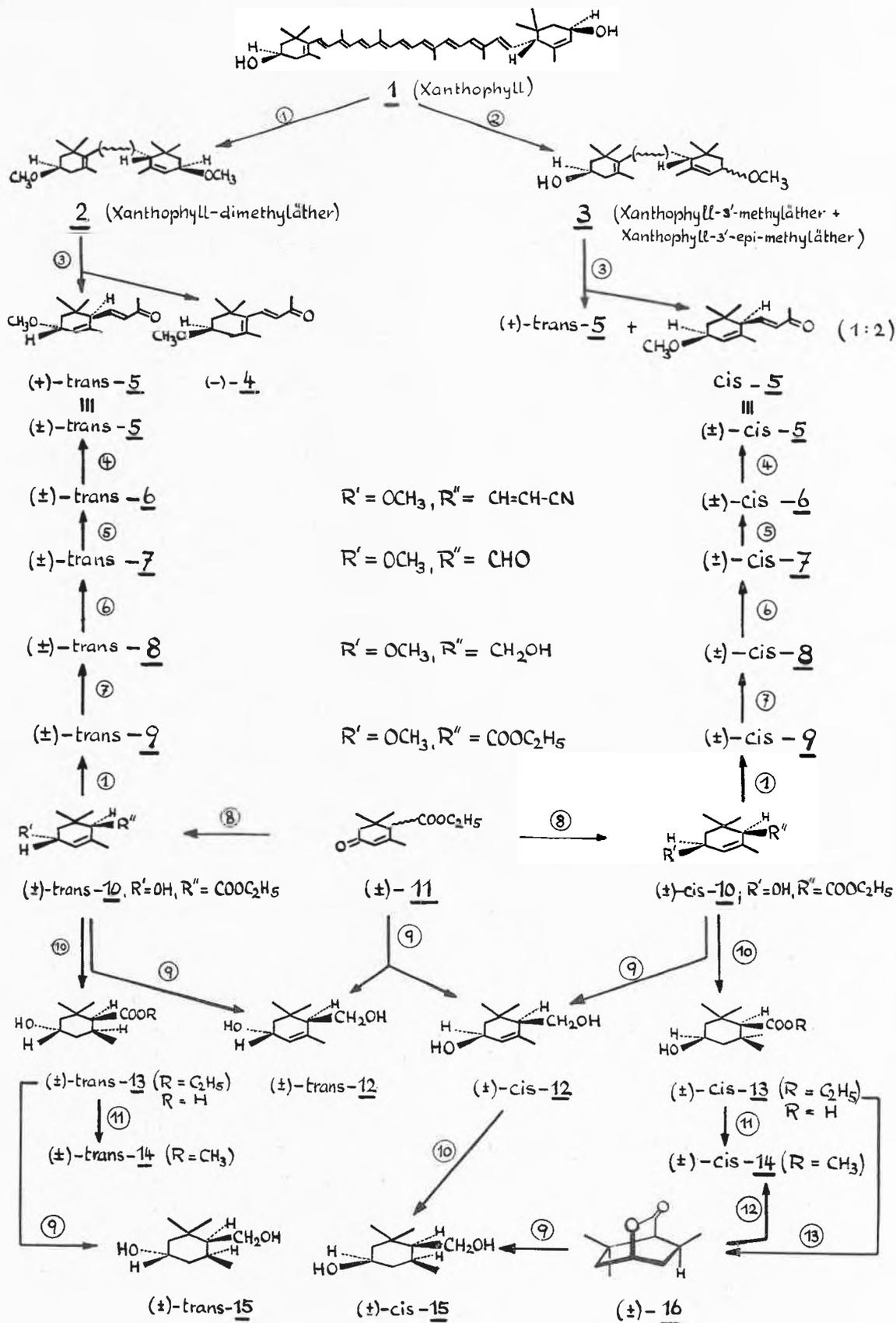
⁷ Unsere Zuordnung für die stereoisomeren Verbindungen 12 ist der in² angegebenen entgegengesetzt.

⁸ Die NMR-Analyse ist der ausführlichen Arbeit vorbehalten.

⁹ S. LIAAEN-JENSEN und S. HERTZBERG, *Acta Chem. Scand.* 20 (1966) 1703.

¹⁰ Die ausführliche Publikation ist für die *Helv. Chim. Acta* vorgesehen.

¹¹ D. GOODFELLOW, G. P. MOSS und B. C. L. WEEDON, *Chem. Comm.* 1970, 1578.



Gelänge es, die isolierte Doppelbindung in Xanthophyll ohne wesentliche Nebenreaktionen in Konjugation zu bringen¹², entstünde nicht natürliches (–)-Zeaxanthin, sondern *meso*-Zeaxanthin. Es wird damit immer deutlicher, daß die biogenetischen (und reaktiven) Unterschiede zwischen Carotinoiden mit α -Jonon-Ring einerseits und β -Jonon-Ring andererseits viel größer sind, als bisher angenommen worden ist¹³.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds (Gesuche Nr. 2.113.69 und 2.434.71) für die Finanzierung dieser Arbeit, Herrn Professor W. v. PHILIPSBORN für seine Ratschläge bei der NMR-Analyse, Herrn Professor K. GROB für seine stete

Hilfe bei der Gas-Chromatographie und Herrn Dr. SURMATIS (Hoffmann-La Roche, Nutley) für die Überlassung einer Vergleichsprobe von 12.

R. BUCHECKER, P. HAMM und C. H. EUGSTER
Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich
Rämistraße 76, CH-8001 Zürich

¹² Eine solche Reaktion ist von P. KARRER und E. JÜCKER (*Helv. Chim. Acta* 30 [1947] 266) durch Erhitzen mit Alkoholat ausgeführt worden. Unerwarteterweise stießen wir bei der Nacharbeitung auf große Schwierigkeiten.

¹³ Vgl. die Zusammenfassungen von T. W. GOODWIN in *Biochem. J.* 123 (1971) 293 und in *Carotenoids*, herausgegeben von O. ISLER, H. GUTMANN und U. SOLMS, Birkhäuser, Basel 1971.

PFT-¹³C-Kernresonanz von Ribofuranosiden und Ribopyranosiden*

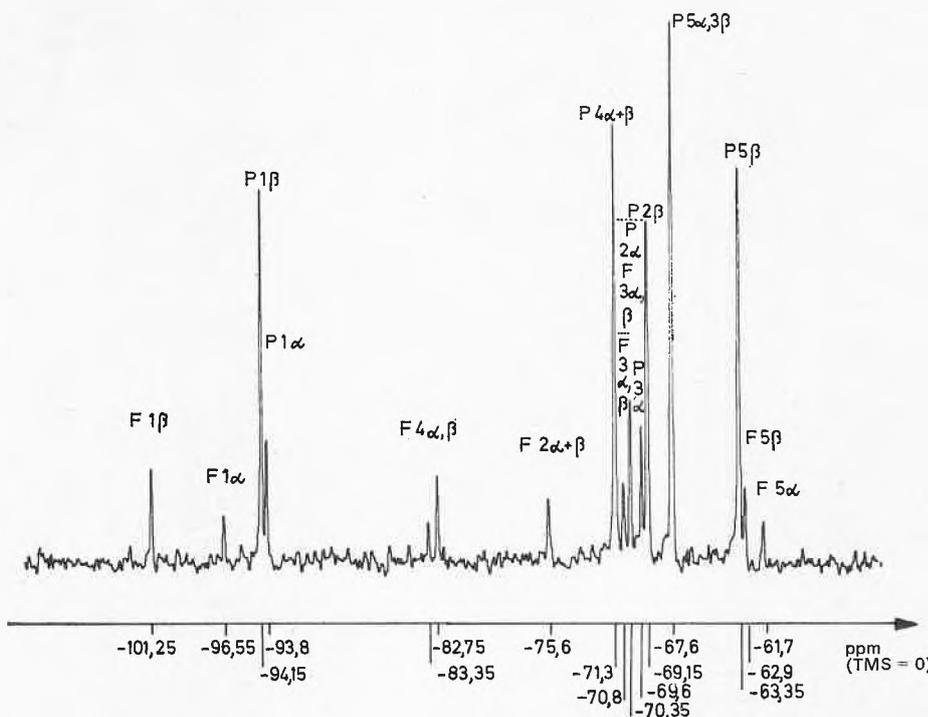
Summary

The ¹³C-signals due to the carbon atoms of the anomeric furanoses and pyranoses in the pulse FOURIER transform ** ¹³C-NMR spectra of D-ribose and 2-deoxy-D-ribose are assigned. The CH- and CH₂-carbons are characterized as doublets and triplets in the proton off-resonance decoupled PFT-¹³C-NMR spectra. Further assignment aids are the proton broad band decoupled PFT-¹³C-NMR spectra of nucleosides such as 2-deoxyribofuranosyl-adenine and ribofuranosyl- and ribopyranosyl-adenine as well as β -methyl-D-ribofuranoside and β -methyl-D-ribofuranoside as reference compounds.

D-Ribose und 2-Desoxy-D-Ribose sind die wichtigsten Zuckerkomponenten natürlicher Nucleoside. Infolgedessen sind Aussagen über das Kohlenstoffgerüst dieser Pentosen mit Hilfe der ¹³C-Resonanz wesentlich für die Struktur dieser Naturstoffe. Gegenstand dieser Arbeit

ist die ¹³C-Signalzuordnung in den ¹H-breitbandentkoppelten PFT-¹³C-NMR-Spektren von D-Ribose (Abb. 1), 2-Desoxy-D-Ribose (Abb. 2) sowie ihrer Methylglykoside und Adeninnucleoside (Tabelle).

Bei etwa gleichen longitudinalen Relaxationszeiten der Pyranose- und Furanose-C-Atome gibt bereits ein Intensitätsvergleich der Signale Hinweise zur Zuordnung. So sind die intensivsten Signale im ¹³C-NMR-Spektrum mutarotierter D-Ribose (Abb. 1) der stabileren β -D-Ribopyranose¹ zuzuordnen. Dagegen zeigt Abb. 2, daß α - und β -Pyranose etwa gleich stark am Mutarotationsgleichgewicht der 2-Desoxy-D-Ribose beteiligt sind. Die ¹³C-Signalzuordnung der bisher noch nicht vermessenen D-Ribose und 2-Desoxy-D-Ribose wird im folgenden erörtert.



* Fourier-Transform-¹³C-NMR-Spektroskopie, 12. Mitteilung. Eingegangen am 2. Februar 1972. – 11. Mitteilung: E. BREITMAIER, G. JUNG und W. VOELTER, *Chimia* 25 (1971) 362.

** abgekürzt PFT.

Abb. 1. ¹H-breitbandentkoppeltes PFT-¹³C-NMR-Spektrum von D-Ribose, 0,25 m in D₂O, 22,63 MHz, 1024 Impulse zu 0,82 sec, 50 Hz/cm, phasenkorrigiert

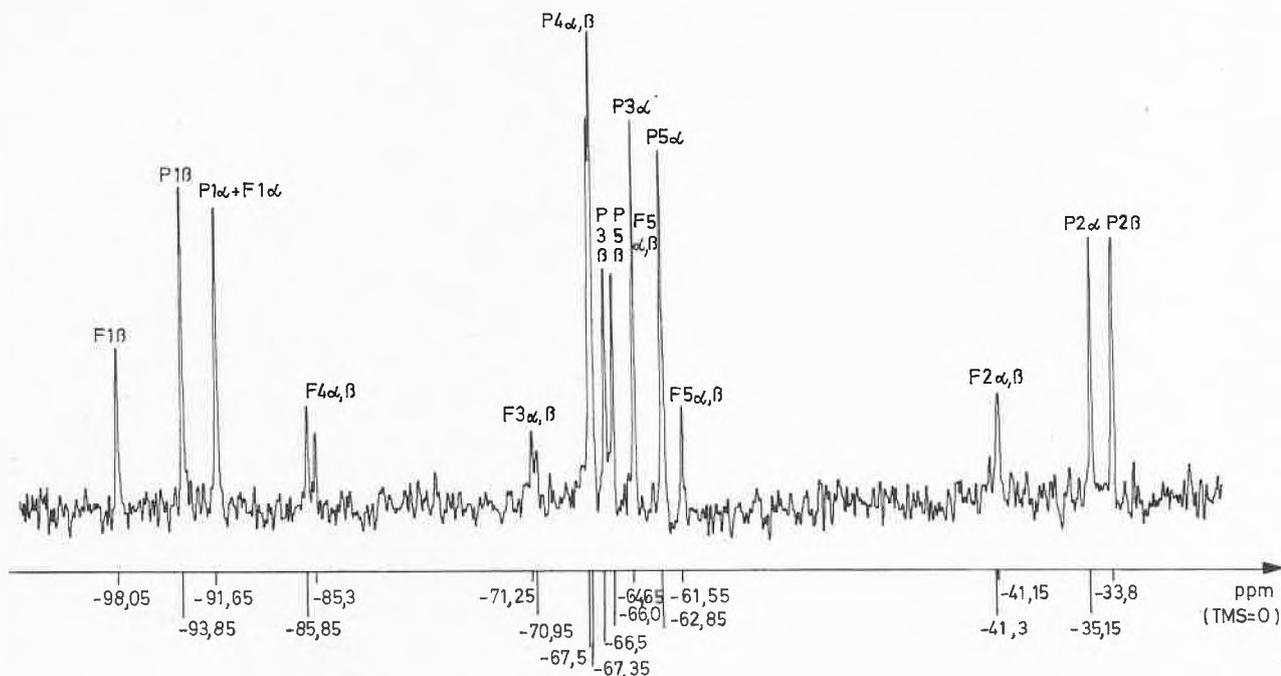


Abb. 2. ^1H -breitbandenkoppeltes PFT- ^{13}C -NMR-Spektrum von 2-Desoxy-D-ribose, 0,25 m in D_2O , 22,63 MHz, 1024 Impulse zu 0,82 sec, 50 Hz/cm, phasenkorrigiert

^{13}C -Chemische Verschiebungen von Ribose und ihren Derivaten
(TMS = 0)

C-Atom	d-Ribose	Methyl- β - D-ribo- pyranosid	9- β -D-Ribo- pyranosyl- adenin	Methyl- β - D-ribo- furanosid	Adenosin (9- β -D-ribo- furanosyl- adenin)	2-Desoxy- adenosin (9- β -2- Desoxy-D-ribo- furanosyladenin)	2-Desoxy- D-ribose
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
1 P* α	-93,8						-91,65
(1') β	-94,15	-103,85	81,15				-93,85
F* α	-96,55						-91,65
β	-101,25			-108,0	-88,45	-84,8	-98,05
4 P α	-71,3						-67,5
(4') β	-71,3	-72,65	-70,8				-67,35
F α	-82,75; -83,35			-82,95	-85,55	-87,5	-85,3; -85,85
β							
2 P α	-70,35						-35,15
(2') β	-69,15	-70,4	-68,6				-33,8
F α	-75,6			-74,35	-74,25	-39,15	-41,15; -41,30
β							
3 P α	-69,6						-64,65
(3') β	-67,6	-69,85	-66,05				-66,5
F α	-70,35; -70,8			-70,85	-70,25	-70,9	-70,95; -71,25
β							
5 P α	-67,6						-62,85
(5') β	-63,35	-65,55	-64,95				-66,0
F α	-61,7			-62,9	-61,3	-61,4	-61,55; -62,85
β	-62,9						
OCH_3		-58,3		-55,3			
A* 6			-150,2		-150,5	-150,1	
A 2			-148,4		-147,7	-147,5	
A 4			-144,9		-145,65	-145,2	
A 8			-143,15		-142,4	-142,3	
A 5			-118,8		-118,55	-118,25	

* A: Adenin

F: Furanose

P: Pyranose

C-1

Die ^{13}C -1-Signale erscheinen bei tiefstem Feld²⁻⁶. Intensitätsvergleiche in Abb. 1 und Abb. 2 zeigen, daß die C-1-Resonanzen der im Mutarotationsgleichgewicht dominierenden Pyranosen bei höherem Feld liegen als die entsprechenden Signale der Furanosen (Tabelle).

Da axiale OH- und OR-Gruppen die mit ihnen verknüpften C-Atome stärker abschirmen als äquatoriale⁵⁻⁸, können die C-1-Signale der D-Ribopyranose und 2-Desoxy-D-Ribopyranose den Anomeren zugeordnet werden: Das bei $-94,15$ ppm liegende intensive Signal im D-Ribose-Spektrum gehört zur stabileren β -D-Ribopyranose. Das bei $-93,8$ ppm zur α' -D-Ribopyranose. Das Signal bei $-93,85$ ppm im 2-Desoxy-D-Ribose-Spektrum entspricht der β -Pyranose mit äquatorialer OH-Gruppe, jenes bei $-91,65$ ppm der α -Pyranose mit axialer OH-Gruppe an C-1.

Im Methyl-D-ribofuranosid und -pyranosid verschiebt sich das C-1-Signal gegenüber der entsprechenden Furanose und Pyranose um 7 bis 10 ppm nach tieferem Feld (Tabelle). Dagegen liegt die C-1-Resonanz der Nukleoside 9- β -D-Ribofuranosyladenin, 9- β -D-Ribopyranosyladenin und 9- β -2-Desoxy-D-ribofuranosyladenin 12 bis 14 ppm bei höherem Feld als die entsprechenden β -Pyranose- und β -Furanose-Signale (Tabelle). Der Elektronenzug des Purinstickstoffs (Stellung 9) an C-1 ist ja viel schwächer als der einer OH- oder OR-Gruppe.

C-4

C-4 ist vom anomeren C-Atom weit entfernt. Entsprechend gering wirkt sich der Konfigurationswechsel an C-1 auf die ^{13}C -4-Verschiebung der anomeren Pyranosen und Furanosen aus. Dagegen müssen die C-4-Signale der Furanosen bei tieferem Feld liegen als jene der Pyranosen, denn der Elektronenzug an C-4 in Ribofuranosen ($-\text{CHOH}-\overset{4}{\text{C}}(\text{CH}_2\text{OH})-\text{O}-$) ist stärker als in Ribopyranosen ($-\text{CHOH}-\overset{4}{\text{C}}\text{OH}-\text{CH}_2-$). Aufgrund dieser Überlegungen gehören die Signale bei $-82,75$ ppm und $-83,35$ ppm zu C-4 der D-Ribofuranoseanomeren. Zwischen diesen Resonanzen, bei $-82,95$ ppm, liegt das C-4-Signal des β -Methyl-D-ribofuranosids. Demgegenüber verschiebt sich im Adenosin das C-4-Signal des D-Ribofuranosylrestes nach tieferem Feld ($-85,55$ ppm). Ebenfalls bei tieferem Feld liegen die C-4-Signale der α - und β -2-Desoxy-D-ribofuranose ($-85,3$ und $-85,85$ ppm). Im 2-Desoxyadenosin erscheint dieses Signal bei $-87,5$ ppm, gegenüber C-4 der 2-Desoxy-D-ribofuranose also um etwa 2 ppm nach tieferem Feld verschoben. Diese Zuordnung wurde durch die Dublettaufspaltung des C-4-Signals infolge ^{13}C - ^{31}P -Kopplung im ^{13}C -Spektrum des 2-Desoxyadenosinphosphats nachgewiesen^{9,10}.

Die C-4-Signale der anomeren D-Ribopyranosen, des β -Methyl-D-ribofuranosids und 9- β -D-Ribopyranosyladenins liegen zwischen $-70,8$ und $-72,65$ ppm. In der 2-Desoxy-D-ribofuranose verschieben sich die C-4-Si-

gnale der Anomeren infolge des geringeren Elektronenzugs nach höherem Feld, auf $-67,35$ bis $-67,5$ ppm. Die Anomerensignale sind gerade noch aufgelöst.

C-2

Die C-2-Zuordnung der anomeren Ribofuranosen und Pyranosen folgt aus dem ^{13}C -Spektrvergleich der Paare D-Ribose/2-Desoxy-D-ribose sowie Adenosin/2-Desoxyadenosin (Tabelle). In den ^{13}C -Spektrern der 2-Desoxy-D-ribose und des 2-Desoxyadenosins müssen sich die C-2-Signale wegen der fehlenden OH-Gruppen gegenüber den entsprechenden Signalen der D-Ribose und des Adenosins drastisch nach höherem Feld verschieben. Dies ist der Fall für die Signale bei $-74,35$ ppm (β -Methyl-D-ribofuranosid), $-74,25$ ppm (Adenosin) und $-75,6$ ppm (D-Ribofuranose). In diesem Bereich findet man bei 2-Desoxyadenosin und 2-Desoxy-D-ribose überhaupt keine Signale. Statt dessen erscheint für die 2-Desoxy-D-ribofuranose ein Signal bei $-41,15$ bis $-41,30$ ppm, das sich im Spektrum des 2-Desoxyadenosins um genau 2 ppm nach höherem Feld verschiebt ($-39,15$ ppm) (Tabelle). Dieser Bereich liegt weit außerhalb der Ribofuranose-Resonanzen. Die hier besprochenen Signale gehören also zu C-2 des D-Ribofuranosylrestes. Bisher wurde das Signal bei $-70,25$ ppm als C-2-Signal des D-Ribofuranosylrestes im Adenosin gedeutet^{9,10}.

Aufgrund analoger Überlegungen gehört das Signal bei $-69,15$ ppm im D-Ribose-Spektrum zu C-2 der β -D-Ribopyranose. Es erscheint im Spektrum des Methyl- β -D-ribofuranosids¹¹ ($-70,4$ ppm) etwas tiefer, verschiebt sich jedoch bei 9- β -D-Ribopyranosyladenin geringfügig nach höherem Feld ($-68,6$ ppm). Dagegen liegen zwischen $-68,5$ und $-70,5$ ppm bei 2-Desoxy-D-ribose keine Signale. Statt dessen findet man die C-2-Resonanzen der α - und β -2-Desoxy-D-ribofuranose bei $-33,8$ und $-35,15$ ppm (Tabelle).

C-3 und C-5

Die Signale von C-5 lassen sich in Ribopyranosen (Ring- CH_2-O -Ring) und Ribofuranosen (CH_2OH) in den ^1H -off-resonance-entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren als Triplets erkennen und so von den C-3-Signalen (Dubletts) unterscheiden. Dabei liegen die C-5-Signale der Ribofuranosen (CH_2OH) bei etwas höherem Feld (1 ppm) als jene der Ribopyranosen (CH_2OR -Typ). C-5 und C-4 des β -D-Ribofuranosylrestes wurden außerdem aufgrund der Dublettaufspaltung ihrer ^{13}C -Signale infolge ^{13}C - ^{31}P -Fernkopplung im ^1H -breitbandentkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum der Muskeladenylsäure identifiziert^{9,10}. Ein weiteres Unterscheidungskriterium zwischen C-3 und C-5 ist der an C-3 größere Elektronenzug (OH). Deshalb liegen die C-3-Signale der Ribofuranosen und Pyranosen bei tieferem Feld als C-5 (Abb. 1, 2; Tabelle).

Man findet das C-3-Signal des β -Methyl-D-ribofuranosids bei $-70,85$ ppm, das der α - und β -D-Ribofuranose

bei $-70,35$ und $-70,8$ ppm, das des Adenosins bei $-70,25$ ppm. Im selben engen Bereich liegen die C-3-Signale der α - und β -2-Desoxy-D-ribofuranose ($-70,95$ und $-71,25$ ppm) und des 2-Desoxyadenosins ($-70,9$ ppm).

Das C-3-Signal der β -D-Ribopyranose ($-67,6$ ppm) verschiebt sich im β -Methyl-D-ribofuranosid ($-69,85$ ppm) nach tieferem, im 9- β -D-Ribopyranosyladenin ($-66,05$ ppm) dagegen nach höherem Feld. Im Spektrum der 2-Desoxy-D-ribofuranose beobachtet man die C-3-Resonanz beider Anomere bei $-64,65$ und $-66,5$ ppm, gegenüber D-Ribopyranose also nach höherem Feld verschoben.

Die C-5-Resonanz der β -D-Ribopyranose ($-63,35$ ppm) findet man sowohl im 9- β -D-Ribofuranosyladenin ($-64,95$ ppm) als auch im β -Methyl-D-ribofuranosid ($-65,55$ ppm) bei tieferem Feld. Im Spektrum der 2-Desoxy-D-ribofuranose liegt das C-5-Signal des β -Anomeren im selben Bereich ($-66,0$ ppm), jenes des α -Anomeren bei etwas höherem Feld ($-62,85$ ppm).

Das C-5-Signal der β -D-Ribofuranose ($-62,9$ ppm) erscheint auch bei β -Methyl-D-ribofuranosid und verschiebt sich im Adenosin nach höherem Feld ($-61,3$ ppm). Das Fehlen der OH-Gruppe an C-2 in 2-Desoxy-D-ribose wirkt sich nur geringfügig auf die ^{13}C -5-Verschiebungen aus ($-61,4$ ppm bei 2-Desoxyadenosin, $-61,55$ bzw. $-62,85$ ppm in der 2-Desoxy-D-ribofuranose), wobei ein C-5-Anomerensignal der 2-Desoxy-D-ribofuranose am C-5-Pyranose-Signal ($-62,85$ ppm) als Schulter erkennbar ist.

In den Ribofuranosiden liegen die Signale von C-1, 2, 3 und 4 bei tieferem Feld als entsprechende der Ribopyranoside. C-5 verhält sich umgekehrt. Beim Übergang zu den Adeninnukleosiden beobachtet man für die Signale aller Pyranose- und Furanose-C-Atome bis auf C-4 eine Hochfeldverschiebung, die für C-1 größer als 10 ppm ist. Bei C-4 erfolgt dagegen Tieffeldverschiebung um 2 bis 3 ppm.

Das Vorliegen von Furanosen in den Mutarotationsgleichgewichten von D-Ribose und 2-Desoxy-D-ribose geht somit klar aus den ^1H -breitbandentkoppelten PFT- ^{13}C -NMR-Spektren hervor. Die Signale lassen sich größtenteils zuordnen. Schwierigkeiten bereitet mitunter die Zuordnung der C-Atome von Anomeren in Ribofuranosen und Ribopyranosen. In solchen Fällen wird die gezielte (Bio-)Synthese ^{13}C -angereicherter Anomere und anschließende ^{13}C -NMR-Spektroskopie eindeutige Signalzuordnungen aufgrund von Intensitätsvergleichen ermöglichen.

Da die β -C-1-Konformation der Ribopyranose nur eine axiale und drei äquatoriale Hydroxylgruppen besitzt, ist sie stabiler als die entsprechende β -1-C-Konformation und muß somit in Lösung vorliegen. Die α -C-1-Konformation hat ebenso wie die α -1-C-Konformation zwei axiale und zwei äquatoriale Hydroxylgruppen; hier ist ein Gleichgewicht zwischen beiden Konformationen zu erwarten. Am deutlichsten geht dies aus den ^{13}C -chemi-

schen Verschiebungsdifferenzen der anomeren C-Atome hervor. Die Differenz zwischen α -C-1 und β -C-1 beträgt normalerweise ungefähr 4 ppm², bei der Ribose jedoch nur 0,35 ppm.

Die 22,63-MHz-PFT- ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker HFX-90-18'-Multikern-NMR-Spektrometer gemessen. Die Pulsinterferogramme wurden bei einer Impulsbreite von 5μ sec und einem Intervall von 0,8 sec (entsprechend 50 Hz/cm-Sweep) in einem Fabritek-1074-Rechner (4 K) akkumuliert. Die Fourier-Transformation und Phasenkorrektur wurde mit einem PDP-8-I-Rechner (8 K) durchgeführt. Zur Messung wurden 1 ml Proben 0,25 molarer Lösungen der Ribosederivate in Deuteriumoxid (^2H -Stabilisation) verwendet. Bei dieser Konzentration genügte zur Aufnahme von PFT- ^{13}C -NMR-Spektren mit gutem Signal: Rauschen-Verhältnis die Akkumulation von 512 bis 1024 Impulsen. Lediglich bei β -Methyl-D-ribofuranosid mußten 36000 Impulse akkumuliert werden, da nur 50 mg dieser Verbindung zur Verfügung standen.

Als externer Standard diente reines 1,4-Dioxan. Die erhaltenen Verschiebungen wurden auf Tetramethylsilan umgerechnet.

Herrn Dr. H. B. WOOD, National Institutes of Health, Bethesda (Maryland, USA), danken wir für Nukleosidproben und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Sachbeihilfen.

EBERHARD BREITMAIER, GÜNTHER JUNG
und WOLFGANG VOELTER*

* Univ.-Doz. Dr. E. BREITMAIER, Priv.-Doz. Dr. G. JUNG und Univ.-Doz. Dr. W. VOELTER, Chemisches Institut der Universität, 74 Tübingen, Wilhelmstraße 33.

- S. J. AGYAL, *Angew. Chem.* 81 (1969) 172 und *internat. Edit.* 8 (1969) 157.
- a) A. S. PERLIN, B. CASU und H. J. KOCH, *Canad. J. Chem.* 48 (1970) 2596. b) A. S. PERLIN und B. CASU, *Tetrahedron Letters* [London] 1969, 2921.
- D. E. DORMAN und J. D. ROBERTS, *J. Amer. Chem. Soc.* 92 (1970) 1355.
- L. D. HALL und L. F. JOHNSON, *Chem. Comm.* 1969, 509.
- a) E. BREITMAIER, W. VOELTER, G. JUNG und C. TÄNZER, *Chem. Ber.* 104 (1971) 1147. b) W. VOELTER, E. BREITMAIER, R. PRICE und G. JUNG, *Chimia* 25 (1971) 168. c) E. BREITMAIER, G. JUNG und W. VOELTER, *Chimia* 25 (1971) 362.
- D. K. DALLING und D. M. GRANT, *J. Amer. Chem. Soc.* 89 (1967) 6612.
- G. W. BUCHANAN, D. A. ROSS und J. B. STOTHERS, *J. Amer. Chem. Soc.* 88 (1966) 4301.
- J. D. ROBERTS, F. J. WEIGERT, J. I. KROSCWITZ und H. J. REICH, *J. Amer. Chem. Soc.* 92 (1970) 1338.
- D. E. DORMAN und J. D. ROBERTS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 65 (1970) 19.
- a) A. J. JONES, M. W. WINKLEY, D. M. GRANT und R. K. ROBINS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 65 (1970) 27. b) A. J. JONES, D. M. GRANT, M. W. WINKLEY und R. K. ROBINS, *J. Amer. Chem. Soc.* 92 (1970) 4079.
- Darstellung nach E. L. JACKSON und C. S. HUDSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 63 (1941) 1229.

Zum Komplexeleichgewicht Häm/Cyanid im Hämoglobin-Haptoglobin-Assoziat*

Summary

The complexing of hemoglobin with haptoglobin alters the ligand binding properties of the heme iron. In order to obtain crystals of uniformly liganded cyanmethemoglobin-haptoglobin complex the ligand-heme equilibria were investigated. The concentration of cyanide required for keeping the complex fully liganded is higher as in free cyanmethemoglobin and depends on the way of complex formation.

Das Serumprotein Haptoglobin** bildet mit verschiedenen – wenn auch nicht allen – Formen von Hämoglobin einen ausgesprochen stabilen Komplex¹. In diesem Komplex zeigt Hb ein verändertes Bindungsvermögen und Verhalten gegenüber Liganden des Häm-Eisens; so ist z. B. die O₂-Bindungskurve im Komplex nicht mehr sigmoidal, der sogenannte Bohr-Effekt (Abhängigkeit des O₂-Aufnahmevermögens vom pH) fehlt, der für Halbsättigung benötigte O₂-Partialdruck ist erniedrigt², und auch die Redoxpotentiale liegen gegenüber dem freien Hb bei kleineren Werten³. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß die Autoxidation des Häm-Eisens vom ferro- zum ferri-Zustand im Hb-Hp-Komplex rascher verläuft als im freien Hb⁴.

Da für die geplante kristallographische Strukturbestimmung des Hb-Hp-Komplexes Kristalle einer einheitlichen Molekularart Vorbedingung waren, gingen wir dazu über, nicht den Komplex aus Hp und HbO₂, sondern denjenigen aus Hp und HiCN zu verwenden. Vorsichtshalber studierten wir jedoch zu Anfang die Ligandgleichgewichtsverhältnisse in diesem System.

Hp des genetischen Typs 1-1 wurde aus humaner Ascites-Flüssigkeit durch Ammoniumsulfatfällung und Chromatographie an DEAE-Cellulose und Sephadex G-200 gereinigt⁵. Die elektrophoretisch reinen Hp-Fractionen wurden durch Ultrafiltration konzentriert.

Pferdehämoglobin wurde in der Form von HbO₂ gewonnen⁶. Aus der konzentrierten Lösung von HbO₂ in 0,05 M Ammoniumphosphatpuffer, pH 7,0 mit einem Zusatz von 1 mM EDTA⁷ wurden alle übrigen benötigten Formen von Hb hergestellt: Durch Oxidation mit K₃Fe(CN)₆ und anschließende Chromatographie an Sephadex G-25 wurde Hi⁺ erhalten, während HiCN entweder durch Zufügen eines Überschusses an KCN zu einer Hi⁺-Lösung oder durch Behandeln von HbO₂ mit Drabkins Reagens⁸ dargestellt wurde.

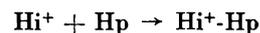
Zur Präparation des Komplexes wurde eine berechnete Menge Hp langsam und unter Rühren in einen geringen Überschuß der gewünschten Hb-Form (HbO₂, Hi⁺ oder HiCN) zugetropft⁹; das überschüssige Hb wurde sodann durch Chromatographie an Sephadex G-200 vom Komplex getrennt und der Komplex durch Druckdialyse konzentriert. Für die Versuche wurden die konzentrierten Lösungen jeweils mit Puffer auf die gewünschte Proteinkonzentration verdünnt.

Die Analyse der Häm-Ligand-Gleichgewichtslage erfolgte durch siebentägige Dialyse gegen mehrfach gewechselten Phosphatpuffer (0,1 M, pH 6,0), der die gewünschte Ligandkonzentration relativ zur Konzentration der Hämgruppen enthielt. Nach Abschluß der Gleichgewichtsdialyse wurde der relative Gehalt an HiCN spektrophotometrisch aufgrund des Quotienten aus den Extinktionswerten bei 544 und 500 nm anhand einer Eichkurve ermittelt.

Die damit gewonnenen Ergebnisse sind in Abb. 1 zusammengefaßt. Dabei erkennt man, daß nicht nur das Gleichgewicht Häm-Ligand in HiCN-Hp bei höheren relativen Cyanidkonzentrationen liegt, sondern daß es auch noch durch den Weg der Darstellung des betreffenden Komplexes beeinflusst wird. Wenn nämlich für die Gleichgewichtsdialyse ein Komplex eingesetzt wird, der nach der Gleichung



gewonnen wurde, so verschiebt sich zwar die zur Aufrechterhaltung eines bestimmten Ligandbindungszustandes benötigte Cyanidkonzentration nach etwas höheren Werten, doch lassen sich – wie in freiem HiCN – nur zwei der vier Liganden pro Molekül vollständig entfernen. Anders aber, wenn der Komplex HiCN-Hp durch die Reaktionsfolge



dargestellt wurde. Hier sind die Cyanidkonzentrationen nochmals nach höheren Werten verschoben, und außerdem lassen sich nun alle vier Liganden durch Dialyse entfernen.

Eine Erklärung dieses Phänomens muß von drei Punkten ausgehen. Erstens ist gezeigt worden, daß sich die

* Eingegangen am 11. Februar 1972 (NRCC 12488).

** Abkürzungen:

Haptoglobin: Hp

Hämoglobin: Hb

Methämoglobin: Hi⁺

Cyanmethämoglobin: HiCN

Oxyhämoglobin: HbO₂

Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex: Hb-Hp

¹ R. L. NAGEL, M. C. ROTHMAN, T. B. BRADLEY jr. und H. M. RANNEY, *J. Biol. Chem.* **240** (1965) PC 4543.

² R. L. NAGEL und Q. H. GIBSON, *J. Mol. Biol.* **22** (1966) 249.

³ M. BRUNORI, A. ALFSEN, U. SAGGESE, E. ANTONINI und J. WYMAN, *J. Biol. Chem.* **243** (1968) 2950.

⁴ H. HAMAGUCHI, *Amer. J. Hum. Genet.* **21** (1969) 440.

⁵ J. A. BLACK, G. F. Q. CHAN, C. L. HEW und H. H. DIXON, *Can. J. Biochem.* **48** (1970) 123.

⁶ M. F. PERUTZ, *J. Crystallogr. Growth* **2**(1968) 54.

⁷ A. M. SALVATI, M. T. AMBROGIONO und T. L. TENTORI, *Ital. J. Biochem.* **18** (1969) 1.

⁸ T. MATSUBARA und S. SHIBATA, *Clin. Chim. Acta* **23** (1969) 427.

⁹ M. WAKS, A. ALFSEN, S. SCHWAIGER und A. MAYER, *Arch. Biochem. Biophys.* **132** (1969) 268.

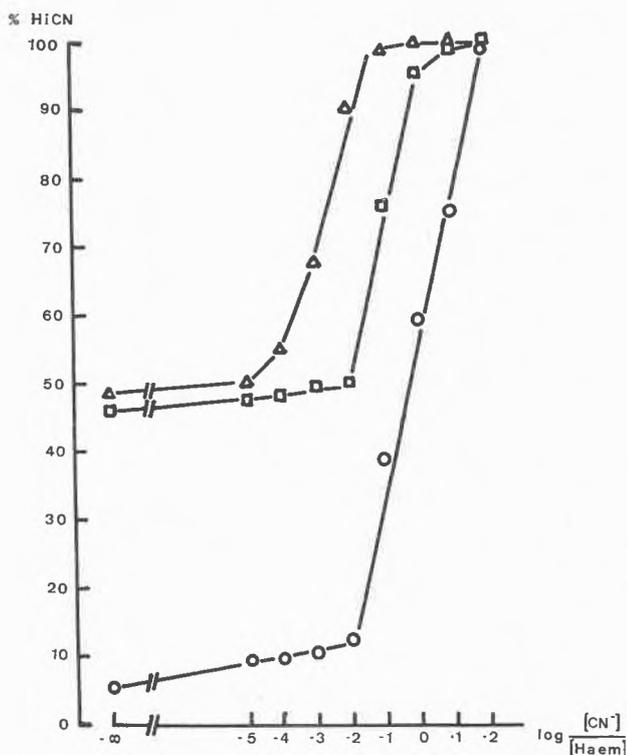


Abb. 1. Gleichgewichtsdialyse von HiCN und HiCN-Hp gegen Puffer verschiedener Cyanidkonzentration
Phosphatpuffer, 0,1M, pH 6,0, 4°C, 0,01 mM Protein

(Δ): HiCN
(\square): HiCN-Hp nach Reaktionsweg a
(\circ): HiCN-Hp nach Reaktionsweg b } (siehe Text)

elektronische Struktur des Fe(II)-Kations im Häm bei der Komplexbildung mit Hp ändert¹⁰; eine solche Veränderung ist natürlich auch für das Fe(III) zu erwarten und wird dort ebenfalls seine Auswirkungen auf das Ligandbindungsvermögen haben. Zweitens wird die Bindung von Liganden in freiem Hb von Konformations-

änderungen der β -Ketten bezüglich der Hämgruppen begleitet^{2,11}; solche Änderungen in der Tertiärstruktur dieser Peptidketten werden im Komplex behindert oder gar verunmöglicht sein, was sich wiederum auf die Bindungsfestigkeit der Liganden auswirkt. Drittens bestehen Unterschiede in der strukturellen Umgebung der Hämgruppe oder in der Festigkeit ihrer Bindung an das Globin (oder beides) zwischen freiem und komplexiertem Hb⁴. Daraus läßt sich zusammenfassend schließen, daß einerseits bei der Bindung von HiCN an Hp die durch die Komplexbildung hervorgerufenen Strukturveränderungen in der Nachbarschaft der Hämgruppe durch die Anwesenheit der Liganden behindert werden, weshalb in einem solchen Komplex nur zwei der vier Cyanidionen abdissoziieren können. Wird jedoch andererseits Hi^+ mit Hp zusammengebracht, kann die Bildung des Komplexes völlig unbeeinflusst vor sich gehen, die für eine optimale Bindung des Liganden erforderlichen Konformationsänderungen der β -Ketten können jedoch nicht mehr ausgelöst werden, wodurch alle vier Cyanidionen eines Komplexmoleküls labil bleiben und ausdialysiert werden können.

Für die anregenden Diskussionen danke ich Dr. M. PRZYBYLSKA und Dr. G. BIRNBAUM. Mein Dank gilt ebenfalls dem NRCC für die Gewährung des «postdoctoral fellowship», während dessen Dauer diese Arbeit ausgeführt wurde.

J. P. SEILER¹

Biochemistry Laboratories
National Research Council of Canada
Ottawa, Ontario (Canada)

¹ NRCC Postdoctorate Fellow

jetzige Adresse:
Eidgenössische Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau,
CH-8820 Wädenswil

¹⁰ A. TRAUTWEIN, H. EICHER, A. MAYER, A. ALFSEN, M. WAKS, J. ROSA und Y. BEUZARD, *J. Chem. Physics* 53 (1970) 963.

¹¹ R. L. NAGEL, J. B. WITTENBERG und H. M. RANNEY, *Biochim. Biophys. Acta* 100 (1965) 286.

Asymmetric Olefines Hydroformylation*

Summary

Optically active bis-(N- α -methylbenzylsalicylaldiminato)cobalt(II) and octacarbonylcobalt in the presence of optically active N- α -methylbenzylsalicylaldimine promote asymmetric hydroformylation of styrene and α -methylstyrene.

In spite of the large amount of work in progress in different laboratories on olefins hydroformylation, no report has appeared up to now on "asymmetric hydroformylation", that is on the synthesis of optically active aldehydes starting with non dissymmetric olefins**. As interesting indications on the nature of the catalytic complexes in the "oxo" reaction can arise from this research, we are investigating the hydroformylation of olefins using metal complexes, containing optically active ligands as catalyst or reactants.

In the present paper we report some preliminary results obtained in the hydroformylation of styrene and α -methyl styrene (scheme) in the presence of bis-(N- α -

* Received February 17, 1972.

** A different possibility of synthesizing optically active aldehydes from olefins consists in the preferential hydroformylation of one antipode of a racemic mixture (stereoselective hydroformylation). Experiments in progress on the hydroformylation of (R)(S)-3-methyl-1-pentene have shown that using Co(R*-Sal)₂ prepared from the (R) ligand ([α]_D²⁰-171¹), the (R) antipode is hydroformylated at a slightly higher rate as shown by the small positive optical activity of the recovered olefine² and by the negative rotation of the obtained 4-methyl hexanal³.

¹ A. P. TERENT'EV, G. V. PANOVA, and E. G. RUKHADZE, *Zhur. Obshchei Chim.* 34 (1964) 3019 [*Chem. Abstr.* 61 (1964) 16003].

² P. PINO, L. LARDICCI, and L. CENTONI, *J. Org. Chem.* 24 (1959) 1339.

³ L. LARDICCI, F. NAVARI, and R. ROSSI, *Tetrahedron* 22 (1966) 1991.

Table 1. Hydroformylation of α -methylstyrene and styrene at various olefin/catalyst ratios; olefinic substrate 0.1 mole; benzene 80 ml; initial $p_{CO} = p_{H_2} = 40$ atm. (at 20°C); temperature 120°C

Run	Olefinic substrate	Catalyst		Reaction time (hrs.)	Reaction products, % ^a		
		Type	mmoles		A	B	C
1	α -methylstyrene	Co (R*-Sal) ₂	2.68	13 ^b	6	traces	94
2	α -methylstyrene	[Co (CO) ₄] ₂ /R*-SalH	1.75/1.75	3.2	15	traces	85
3	α -methylstyrene	[Co (CO) ₄] ₂ /R*-SalH	1.85/3.71	3.5	12	traces	88
4	α -methylstyrene	[Co (CO) ₄] ₂ /R*-SalH	1.70/6.81	4	11	traces	89
5	styrene ^c	Co (R*-Sal) ₂	2.68	12 ^b	11	12	68
6	styrene ^d	[Co (CO) ₄] ₂ /R*-SalH	2.10/8.40	2.5	19	27	52

^a G.l.c. evaluation. ^b Induction period \approx 7 hours. ^c Unreacted olefin 9%. ^d Unreacted olefin 2%. A = "straight chain" aldehyde (3-phenylbutanal or 3-phenylpropanal resp.). B = "branched" aldehyde (2-methyl-2-phenylpropanal or 2-phenylpropanal resp.). C = hydrogenation product (cumene or ethylbenzene resp.).

Table 2. Optical purity and chirality of the asymmetric hydroformylation product obtained in the presence of (+)(S)-bis-(N- α -methylbenzylsalicylaldiminato)cobalt (II) or of [Co (CO)₄]₂ and (+)(S)-N- α -methylbenzylsalicylaldimine

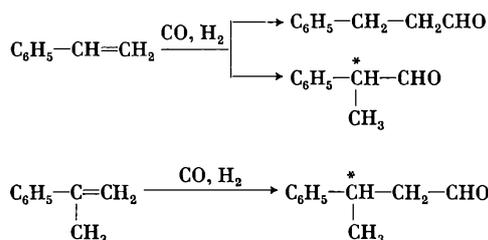
Run	Hydroformylation product considered	Product on which optical activity and chirality were determined	α_D^{25} ($l=1$) (neat)	Chirality	Hydroformylation product, minimum optical purity, %
1	3-phenylbutanal	{ 3-phenylbutanoic acid	+ 1.640	S	2.9 ^a
		{ 3-phenyl-1-butanol	+ 1.070	S	2.8 ^b
2	3-phenylbutanal	3-phenylbutanoic acid	- 0.395	S	0.7 ^a
3	3-phenylbutanal	3-phenylbutanoic acid	+ 0.920	S	1.6 ^a
4	3-phenylbutanal	3-phenylbutanoic acid	+ 1.400	S	2.5 ^a
5	2-phenylpropanal	2-phenyl-1-propanol	- 0.020 ^c	S	0.1 ^d
6	2-phenylpropanal	2-phenyl-1-propanol	- 0.335 ^c	S	1.9 ^d

^a Calculated taking for the optically pure (+)(S)-3-phenylbutanoic acid, α_D^{25} ($l=1$) 56.5.⁷

^b Calculated taking for the optically pure (+)(S)-3-phenyl-1-butanol, α_D^{25} ($l=1$) - 39.0.⁷

^c $t = 21^\circ\text{C}$.

^d Calculated taking for the optically pure (-)(S)-3-phenyl-1-propanol, $[\alpha]_D^{25} - 17.2$.⁸



methylbenzylsalicylaldiminato)cobalt (II) [Co (R*-Sal)₂] obtained from (S)-N- α -methylbenzylsalicylaldimine [R*-SalH] having $[\alpha]_D^{25} + 183$.

Operating with catalytic amounts of the above complexes (Co g-atoms/moles of starting olefin $\approx 3 \cdot 10^{-3}$) rather irreproducible results were obtained; at 120°C (with $p_{CO} = p_{H_2} = 40$ atm. at room temperature) the reaction starts after a very long period (some hours) and proceeds very slowly. The obtained aldehydes show a very low optical activity, the optical purity measured on the corresponding acids or alcohols being in the range of 0.01 to 0.1%. Reproducible results were obtained using larger amounts of the cobalt complexes (Co g-atoms/moles of starting olefine $\approx 3 \cdot 10^{-2}$); furthermore, the induction period could be completely avoided by starting the hydroformylation using [Co (CO)₄]₂ as catalyst and adding a benzene solution of the aforementioned ligand to the reaction mixture* (Table 1).

In the case of α -methylstyrene, as already known⁵, most of the substrate is hydrogenated under "oxo" conditions; however, the small amount of 3-phenylbutanal formed has an optical purity up to 2.9%, as shown, both by oxidation⁶ to the corresponding acid and by reduction with lithium aluminium hydride⁶ to the corresponding alcohol (Table 2).

In the case of styrene the 2-phenylpropanal obtained by hydroformylation in the presence of [Co (CO)₄]₂ and R*-SalH has optical purity up to 1.9%, as shown by reduction to the corresponding alcohol** (Table 2); however, this value must be regarded as a minimum one, as it is known that the aforementioned aldehyde very rapidly racemizes even under mild conditions⁹. The long

* The reaction between some tetradentate salicylaldimines and [Co (CO)₄]₂ in apolar solvent at room pressure giving rise to the corresponding tetracarbonylcobaltates has recently been investigated⁴.

** The reduction was carried out with lithium aluminium hydride in ether at 0°C.

⁴ F. CALDERAZZO, C. FLORIANI, R. HENZI, and F. L'EPPLATTENIER, *J. Chem. Soc. (A)* 1969, 1378.

⁵ J. FALBE, *Synthesen mit Kohlenmonoxyd*, Springer-Verlag, Berlin 1967, p. 31 and references therein.

⁶ R. ROSSI, P. PINO, F. PIACENTI, L. LARDICCI, and G. DEL BINO, *J. Org. Chem.* 32 (1967) 842.

⁷ D. J. GRAM, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 2137.

⁸ S. P. BAKSHI and E. E. TURNER, *J. Chem. Soc.* 1961, 171.

⁹ A. MCKENZIE, E. M. LUIS, and A. G. MITCHELL, *Chem. Ber.* 65 (1932) 798.

reaction time in the hydroformylation of styrene in the presence of large amount of $\text{Co}(\text{R}^*\text{-Sal})_2$ (Table 1) is therefore probably the cause of the very low optical activity obtained (Table 2).

In spite of the low optical purity of the obtained products (the enantiomeric excess found—in moles—being in all cases lower than the moles of the optically active ligand used) and in spite of the relatively high molar ratio of cobalt complex to synthesized aldehydes ($\frac{1}{2}$ to $\frac{1}{6}$ in the experiments in which the highest optical yield was obtained), the following facts have been ascertained:

- 1) Using proper conditions both the addition of hydrogen and of carbon monoxide to the olefinic substrate occur asymmetrically.
- 2) In the two cases investigated the chirality of the synthesized aldehyde corresponds to the chirality of the ligand originally present in the cobalt complex (Table 2).

The most important conclusion is that, in proper conditions, the asymmetric ligand used in our experiments must be, at least in part, present in the catalytic complex. The low asymmetric induction found up to now may be connected to an intrinsically low effect by the ligand used or/and to the presence under the reaction conditions of more than one type of catalytic complexes. In fact, if one or some of the catalytic complexes do not contain the asymmetric ligand, they can only give rise to racemic aldehyde, which dilutes the enantiomer previously produced by optically active catalytic complexes.

CARLO BOTTECHI, GIAMBATTISTA CONSIGLIO,
and PIERO PINO

Technisch-Chemisches Laboratorium der
Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich