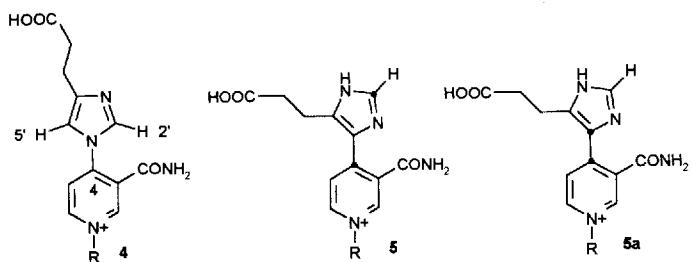
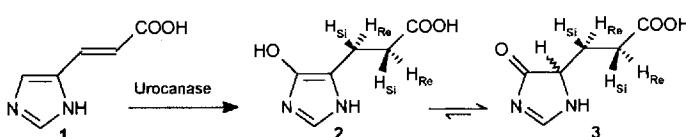


- [18] E. J. Moore, J. M. Sullivan, J. R. Norton, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2257–2263.
[19] W. J. Sartain, J. P. Selegue, *Organometallics* **1987**, *6*, 1812–1815. Die Metall-Acidität von $[(R_2N)_3Ti]^+$ lässt sich steigern, beispielsweise durch Verwendung von *N*-Silyl- und *N*-Arylamidoliganden: S. Friedrich, H. Memmeler, L. H. Gade, W.-S. Li, M. McPartlin, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 705–708; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 676–678.
[20] D. S. Williams, R. R. Schrock, *Organometallics* **1993**, *12*, 1148–1160.
[21] G. Parkin, A. van Asselt, D. J. Leahy, L. Winnery, N. G. Hua, R. W. Quan, L. M. Henling, W. P. Schaefer, B. D. Santarsiero, J. E. Bercaw, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 82–85.
[22] A. N. Chernega, M. L. H. Green, A. G. Suárez, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1993**, *3031*–3034.
[23] S. R. Huber, T. C. Baldwin, D. E. Wigley, *Organometallics* **1993**, *12*, 91–97.
[24] W. A. Nugent, R. J. McKinney, R. V. Kasdovski, F. A. Van-Catledge, *Inorg. Chim. Acta* **1982**, *65*, L91–L93.



Scheme 2. Strukturvorschläge für das NAD^+ -Imidazolpropionsäure-Addukt (^{13}C -Markierung durch Punkte angedeutet). R = ADP-Ribosyl.

In der durch UV-Spektroskopie gestützten Annahme^[1, 2], daß Urocaninsäure in den Anfangsschritten der Reaktion das analoge kovalente Addukt bildet, wurde für die Reaktion ein Mechanismus vorgeschlagen^[3], der aber das erwähnte chemische Problem nicht löste. Weiterhin fehlte in dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Adduktes ein Signal für die Imidazolprotonen, was die Autoren mit einem spontanen Austausch des 2'-H-Atoms mit Deuterium aus dem Lösungsmittel erklärten^[1]. Klepp et al.^[4] postulierten daraufhin Struktur 5 und belegten diese mit den experimentellen Befunden des in den Positionen 2' (Imidazol) und 4 (Nicotinamid) spezifisch ^{13}C -markierten Addukts. Somit konnte ein plausibler Mechanismus für die Urocanase-Reaktion formuliert werden (Schema 3).



Scheme 1. Sterischer Verlauf der Urocanase-Reaktion. Die Protonen aus dem Lösungsmittel werden an die *Re*-Positionen der Seitenkette addiert.

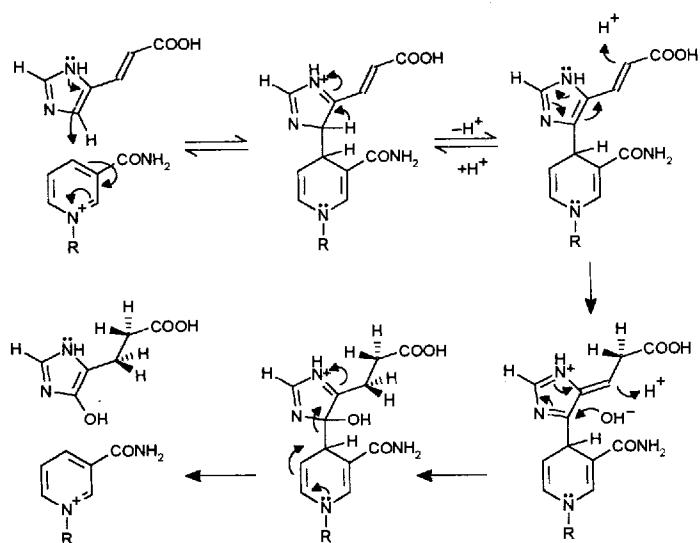
Zellen vor und katalysiert den zweiten Schritt im Abbau des Histidins. Dabei wird ein Wassermolekül auf eine ungewöhnliche Art an Urocaninsäure **1** addiert. Insbesondere die Anknüpfung eines OH^- -Ions an den elektronenreichen Imidazolring scheint chemisch unplausibel zu sein. Bei diesem Schritt spielt das fest an das Enzym gebundene NAD^+ eine entscheidende Rolle. Unter Einsatz des kompetitiven Inhibitors Imidazolpropionsäure **6** konnte nach Rearomatisierung ein NAD^+ -Inhibitor-Addukt isoliert werden, dem zunächst Struktur **4**^[1] zugeschrieben wurde. Die Bindung des NAD^+ an den Inhibitor sollte hierbei über das N1'-Atom der Imidazoleinheit erfolgen (Schema 2).

[*] Prof. Dr. J. Rétey, Dipl.-Chem. C. Schubert, Dr. Y. Zhao^[+], Prof. Dr. J.-H. Shin^[++]. Lehrstuhl für Biochemie im Institut für Organische Chemie der Universität Richard-Wilstätter-Allee, D-76128 Karlsruhe Telefax: Int. +721/608-4823

[+] Gegenwärtige Adresse: Xiao-qu-deng-tong 6, Dong-cheng-qu, 100010 Beijing (Volksrepublik China)

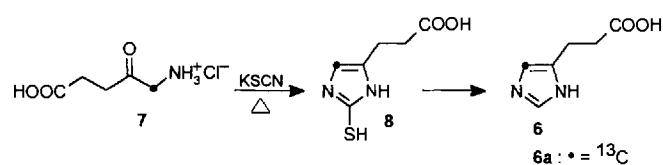
[+] Gegenwärtige Adresse: Department of Chemistry, Seoul National University Seoul 151-742 (Korea)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Für das 600 MHz $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum danken wir Dr. M. Spraul, Bruker Analytische Meßtechnik GmbH, Rheinstetten/Karlsruhe. Dr. H. Rötteler danken wir für das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum des Addukts, Frau J. Herman für die Hilfe bei der Enzymisolierung und Dr. M. Lenz für den überexprimierenden Urocanase-Klon aus *E. coli*.



Scheme 3. Vorgeschlagener Mechanismus für die Urocanase-Reaktion. R = ADP-Ribosyl.

Einen endgültigen Beweis für Struktur **5** würde ein Nachweis der direkten $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$ -Kopplung im doppelt ^{13}C -markierten Addukt **5a** liefern. Hier beschreiben wir die Synthese der [5'- ^{13}C]-Imidazolpropionsäure **6a** sowie die Isolierung und die NMR-spektroskopische Charakterisierung des daraus enzymatisch gebildeten Adduktes **5a**. Die bereits bekannte 5-Amino-[5- ^{13}C]-lävulinsäure · HCl **7** wurde als ein geeigneter Vorläufer von **6a**



nach der Vorschrift von Pfaltz et al.^[5] aus CuI [¹³C]JN (99% ¹³C)^[6] und 3-Chlorformylpropionsäuremethylester synthetisiert. Der Ringschluß zum Imidazolthiol **8** erfolgte durch Kondensation von **7** mit KSCN^[7]. Anschließende Oxidation mit Fe₂(SO₄)₃^[8] und Ionenaustauschchromatographie (Dowex 50W X 4, H⁺-Form) führten zum gewünschten Produkt **6a** (Tabelle 1). [4-¹³C]Nicotinsäure (99% ¹³C) wurde nach der Vorschrift von Oberfrank et al.^[9] synthetisiert und biosynthetisch in die Urocanase eingebaut^[4]. Die Fermentation von *Pseudomonas putida* nic II (eine Nicotinsäure-auxotrophe Mutante), die Isolierung des markierten Enzyms und die enzymatische Bildung des NAD⁺-Imidazolpropionsäure-Adduktes erfolgten wie von Klepp et al. beschrieben^[4]. 250 mg (2.03 μmol) ¹³C-markierte Urocanase und 48 mg (300 μmol) [5'-¹³C]Imidazolpropionsäure · HCl wurden dabei eingesetzt.

Tabelle 1. Spektroskopische Daten für die Verbindungen **5a** und **6a**. NMR-Spektren in D₂O, Natrium-3-trimethylsilyl-[²H₄]propionat (TSP) als Standard für ¹H-, externe Dioxan-Referenz ($\delta = 68.0$) als Standard für ¹³C-NMR-Spektren. A bezeichnet Positionen im Adeninrest, α und β beziehen sich auf die Positionen der Propionsäureseitenkette, die ungestrichenen und die gestrichenen Angaben auf den Pyridinium- bzw. Imidazolring. Wassersignal der ¹H-NMR-Spektren durch Vorsättigung unterdrückt.

5a: ¹H-NMR (600 MHz; D₂O, pD = 9.0): $\delta = 8.88$ (d, ³J(H2, ¹³C4) = 5.4 Hz, 1H, H2), 8.78 (t, ³J(H6, ¹³C4) = 6.2 Hz, ³J(H6, H5) = 6.8 Hz, 1H, H6), 8.33 (s, 1H, A8), 8.01 (s, 1H, A2), 7.93 (dd, ³J(H5, ¹³C5') = 6.7 Hz, ³J(H5, H6) = 6.8 Hz, 1H, H5), 7.61 (d, ³J(H2', ¹³C5') = 9.5 Hz, 1H, H2'); ¹H-NMR (400 MHz; D₂O, pD = 9.0): $\delta = 3.05$ (dt, ³J(β -H, α -H) = 7.0 Hz, ³J(¹H, ¹³C) ≈ 2 Hz, 2H, β -H), 2.47 (t, ³J(α -H, β -H) = 7.0 Hz, 2H, α -H); ¹³C-NMR (100 MHz; D₂O, pD = 8.0, ca. 320 μg): $\delta = 130.12$ (d, ¹J(¹³C5', ¹³C4) ≈ 70 Hz, 1C, C5'), 151.12 (d, ¹J(¹³C4, ¹³C5') = 70 Hz, 1C, C4).

6a: ¹H-NMR (400 MHz; D₂O, pD = 4.6): $\delta = 2.60$ (t, ³J(α -H, β -H) = 7.3 Hz, 2H, α -H), 2.96 (dtr, ³J(β -H, α -H) = 7.3 Hz, ³J(¹H, ¹³C) = 4.4 Hz, 2H, β -H), 7.20 (dd, ¹J(¹H, ¹³C) = 200.3 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H, HS'), 8.55 (dd, ³J = 5.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H, H2'); ¹³C-NMR (100 MHz; D₂O, pD = 3.9): $\delta = 20.99$ (β -C), 34.80 (α -C), 116.44 (C5'), 133.85 (C2'), 133.69 (C4'), 179.25 (COOH); MS (70 eV): *m/z*: 141.14 [M⁺].

Im ¹³C-NMR-Spektrum (Tabelle 1) des partiell gereinigten doppeltmarkierten Adduktes **5a** (Abb. 1) erkennt man zwei Dubletts bei $\delta = 130.12$ bzw. 151.12 mit einer Kopplungskonstante von 70 Hz, die einer direkten ¹³C-¹³C-Kopplung entspricht. Das Singulett bei $\delta = 144.04$ stammt von nichtumgesetztem [4-¹³C]NAD⁺. Im Tiefeldausschnitt des ¹H-NMR-Spektrums von **5a** (Abb. 2, Tabelle 1) entsprechen die meisten Signale denjenigen des Adduktes **5** aus [4-¹³C]NAD⁺ und [2'-¹³C]Imidazolpropionsäure. Eine zusätzliche Kopplung von ³J = 6.7 Hz erkennt man beim H5-Signal ($\delta = 7.93$) infolge der vicinalen Kopplung mit dem 5'-¹³C-Atom. Das H2'-Signal ($\delta = 7.61$) weist

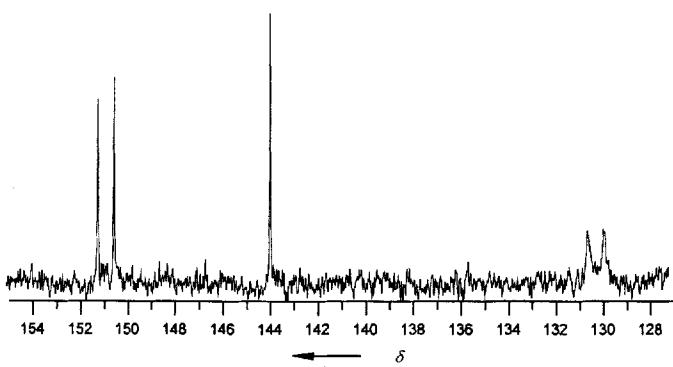


Abb. 1. Tiefeldausschnitt des ¹³C-NMR-Spektrums des [4-¹³C]NAD⁺-[5'-¹³C]-Imidazolpropionsäure-Adduktes **5a**.

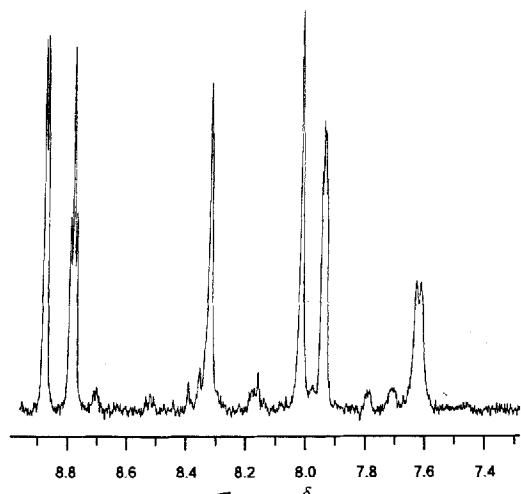


Abb. 2. Tiefeldausschnitt des ¹H-NMR-Spektrums des [4-¹³C]NAD⁺-[5'-¹³C]-Imidazolpropionsäure-Adduktes **5a**.

nur eine vicinale Kopplung mit ³J = 9.5 Hz auf, die direkte mit ¹J = 212 Hz wie im Spektrum von **5**^[4] fehlt hier. Eine zusätzliche vicinale ¹H-¹³C-Kopplung findet man auch im Signal der β -Methylengruppe der Seitenkette vom Imidazolpropionsäureteil des Adduktes **5a**. All diese Befunde erhärten den Vorschlag von Klepp et al.^[4], daß es sich beim isolierten NAD⁺-Imidazolpropionsäure-Addukt um Struktur **5** handelt. Der im Schema 3 wiedergegebene Mechanismus der Urocanase-Reaktion erscheint also um so wahrscheinlicher.

Eingegangen am 3. Februar 1994 [Z 6665]

- [1] L. H. Matherly, C. W. DeBrosse, A. T. Phillips, *Biochemistry* **1982**, *21*, 2789–2794.
- [2] L. H. Matherly, K. A. Johnson, A. T. Phillips, *Biochemistry* **1982**, *21*, 2795–2798.
- [3] R. M. Egan, L. H. Matherly, A. T. Phillips, *Biochemistry* **1981**, *20*, 132–137.
- [4] J. Klepp, A. Fallert-Müller, K. Grimm, W. F. Hull, J. Rétey, *Eur. J. Biochem.* **1990**, *192*, 669–676.
- [5] A. Pfaltz, S. Anwar, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2977–2980.
- [6] H. J. Barber, *J. Chem. Soc.* **1943**, 79.
- [7] R. W. Wynn, A. H. Corwin, *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 203–208.
- [8] T. Furuta, M. Katayama, H. Shibasaki, Y. Kasuya, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1992**, 1643–1648.
- [9] M. Oberfrank, W. E. Hull, J. Rétey, *Eur. J. Biochem.* **1984**, *140*, 157–161.

Erste Cycloadditionsreaktionen mit dimeren Arsenium-Ionen**

Neil Burford*, Trenton M. Parks, Pradip K. Bakshi und T. Stanley Cameron*

Kleine Moleküle mit koordinativ ungesättigten Zentren sind eine hervorragende Ausgangsbasis für die Entwicklung neuer Synthesestrategien. Carbene **1** sind das vielleicht bekannteste Beispiel^[1] für solche Moleküle, und erst kürzlich wurde über neuartige

[*] Dr. N. Burford, T. M. Parks, P. K. Bakshi, Dr. T. S. Cameron
Department of Chemistry, Dalhousie University
Halifax, Nova Scotia B3H 4J3 (Kanada)
Telefax: Int. + 902/494-1310

[**] In diesem Beitrag werden durchgehend die eingeführten Bezeichnungen Phosphonium- und Arsenium-Ion anstelle der IUPAC-konformen Namen Phosporylium- bzw. Arsanylium-Ion verwendet.