

gigen DNA des Fusionsprotein-Plasmids; c) die enzymatische In-vitro-Replikation des resultierenden doppelsträngigen Intermediats, wobei sowohl das mutierte als auch das native Gen des Fusionsproteins produziert wurden; und d) die Isolierung der mutierten DNA mit ersterer Sequenz und Bestimmung seiner Identität und Struktur durch die direkte DNA-Sequenzanalyse. Die beiden mutierten DNAs und die ursprüngliche native DNA wurden dann separat in parallel gezüchtete Bakterienkulturen eingeführt, um durch Überexpression die natürlichen bzw. mutierten Silicatein-Proteine, die durch die rekombinannten DNAs kodiert sind, herzustellen. Kontrollversuche bestätigten, daß ohne die rekombinante DNA von den Bakterien kein Silicatein produziert wird (d.h. keine Kieseläure-polymerisierende Aktivität hervorgerufen wird). Nach Lyse der Bakterien werden die Silicatein-MBP-Fusionsproteine durch Maltose-Affinitätschromatographie gereinigt;^[11] die Silicatein-Proteine wurden durch ortsspezifische Spaltung mit einem hochgradig gereinigten proteolytischen Enzym vom Träger MBP entfernt und die freien Silicateine und MBP einzeln mit konventionellen Methoden gereinigt. Durch Dialyse (bei 2 °C) aus gepuffertem Guanidinium-Hydrochlorid und Sulfanylethanol zur korrekten Faltung und Bildung intramolekularer Disulfidbrücken wurden die gereinigten Silicateine dann in ihre native Form gebracht. Die rekonstituierten Proteine wurden dann sofort auf die äquivalenten Protein-Konzentrationen eingestellt und dreifach unter den zuvor beschriebenen Bedingungen auf ihre Katalyse der Kieseläure-Synthese aus Tetraethoxsilan bei neutralem pH-Wert (1 h, 20 °C) geprüft.^[3] Das Kieseläure-Produkt wurde durch Zentrifugieren gewaschen, durch Verdampfen getrocknet und nach der alkalischen Hydrolyse colorimetrisch mit dem Molybdatreagens quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse werden als relative spezifische Aktivitäten der Alkoxy-silan-Polykondensation nach Korrektur der Ausbeute für die nicht-katalysierte Reaktion ausgedrückt. Unter diesen Bedingungen betrug die durchschnittliche spezifische Aktivität des natürlichen rekonstituierten Silicatein- α -Proteins 140.0 ± 6.2 nmol Kieseläure, die pro Stunde und pro 60 µg Protein synthetisiert wurde; der in Abwesenheit von Proteinen erhaltene Kontrollwert war 6.7 ± 2.1 nmol synthetisierte Kieseläure pro Stunde.

Eingegangen am 18. September 1998 [Z12429]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 780–782

Stichwörter: Enzymkatalyse • Kieseläure • Polymerisationen • Polysiloxane • Proteine

- [1] T. L. Simpson, B. E. Volcani, *Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems*, Springer, New York, **1981**.
- [2] K. Shimizu, J. N. Cha, G. D. Stucky, D. E. Morse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 6234–6238.
- [3] J. N. Cha, K. Shimizu, Y. Zhou, S. C. Christiansen, B. F. Chmelka, G. D. Stucky, D. E. Morse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 361–365.
- [4] R. K. Iler, *The Chemistry of Silica: Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties, and Biochemistry*, Wiley, New York, **1979**, S. 98–99.
- [5] A. Lehninger, D. Nelson, M. Cox, *Principles of Biochemistry*, Worth, New York, **1993**, S. 223–227.
- [6] P. Carter, J. A. Wells, *Nature* **1988**, *332*, 564–568.
- [7] G. Dodson, A. Wlodawer, *Trends Biochem. Sci.* **1998**, *23*, 347–352.
- [8] J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, **1987**.
- [9] D. E. Bollag, S. J. Edelstein, *Protein Methods*, Wiley-Liss, New York, **1991**.
- [10] W. P. Deng, J. A. Nickoloff, *Anal. Biochem.* **1992**, *200*, 81–88.
- [11] „Recombinant Protein Protocols: Detection and Isolation“: P. Riggs in *Methods in Molecular Biology*, Vol. 63 (Hrsg.: R. S. Tuan), Humana, Totowa, NJ, **1997**, S. 85–101.

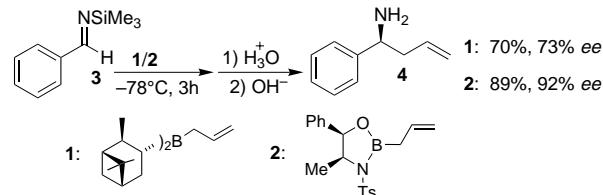
Wasser als kritische Größe in der asymmetrischen Allylboration von *N*-Trimethylsilylbenzaldiminen mit *B*-Allyldiisopinocampheylboran

Guang-Ming Chen, P. Veeraraghavan Ramachandran und Herbert C. Brown*

Professor Heinrich Nöth zum 70. Geburtstag gewidmet

Von den Methoden zur asymmetrischen Synthese unter Verwendung von α -Pinen,^[1] die wir in den letzten zehn Jahren entwickelt haben, wurde die Allylboration von Aldehyden mit *B*-Allyldiisopinocampheylboran (*D*-Ipc₂BAll) **1**^[2] in vielen Synthesen als Schlüsselschritt eingesetzt.^[3] Vor kurzem haben wir über eine effiziente Synthese *C₂*-symmetrischer Diole berichtet, bei der Dicarboxaldehyde mit **1** allylburiert werden und die mit sehr hoher Diastereo- (*de*) und Enantioselektivität (*ee*) abläuft.^[4]

Die allylische Borierung von Aldiminen wurde demgegenüber bisher nur selten beschrieben, was wahrscheinlich an der Instabilität solcher Imine sowie an der geringen Reaktivität der stabileren *N*-substituierten Imine liegt.^[5] Itsuno et al. berichteten über die asymmetrische Allylboration von *N*-geschützten Benzaldiminen (Schema 1), bei der eine Viel-



Schema 1. Asymmetrische Allylboration von **3** mit **1** oder **2**.

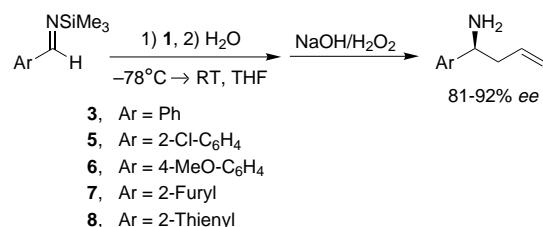
zahl allylbiorierender Reagenzien einschließlich **1** verwendet wurden.^[6] Sie kamen zu dem Ergebnis, daß *N*-Trimethylsilylaldimin die reaktivste Verbindung für diese Allylborationen ist. Die Reaktion kann bei –78 °C durchgeführt werden und liefert mit dem Norephedrin-Derivat **2** als chiralem Auxiliar die entsprechenden Homoallylamine mit bis zu 92 % *ee*. Villieras et al. haben Itsunos Methode zur Allylboration von *N*-Trimethylsilylaldiminen mit einem 2-Ethoxycarbonyl-substituierten Allylboronat verwendet.^[7]

Wie wir bereits beschrieben haben, verläuft die Allylboration von Aldehyden mit **1** bei –78 °C außerordentlich schnell und ist selbst bei –100 °C immer noch recht rasch.^[8] Es schien uns wünschenswert, ähnliche Angaben über die Allylboration von Iminen, besonders von Trimethylsilylaldiminen, zu erhalten, die laut Itsuno sehr leicht verlaufen sollte. So haben wir *N*-Trimethylsilylbenzaldimin **3** und **1** in THF bei –78 °C zusammengegeben und die Reaktionsgeschwindigkeit ¹¹B-NMR-spektroskopisch verfolgt. Zu unserer großen Über-

[*] Prof. H. C. Brown, Dr. G.-M. Chen, Prof. P. V. Ramachandran
H. C. Brown and R. B. Wetherill Laboratories of Chemistry
Purdue University
West Lafayette, IN 47907-1393 (USA)
Fax: (+1) 765-494-0239
E-mail: hcbrown@chem.psu.edu

raschung konnten wir keinerlei Reaktion beobachten – weder nach einigen Stunden noch nach einer Woche bei Raumtemperatur! Dieser Befund widerspricht offensichtlich der beschriebenen Reaktionszeit von 3 h bei -78°C im Falle von **1**.^[6] Auch das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum stützt diese Beobachtung: Es werden lediglich die nicht umgesetzten Ausgangsverbindungen detektiert. Interessanterweise führte die wäßrige Aufarbeitung des Reaktionsgemisches zu einer stark exothermen Reaktion, die das Amin-Produkt in 95% Ausbeute lieferte. Offensichtlich läuft die Reaktion während der wäßrigen Aufarbeitung ab, bei der möglicherweise durch die Wasserzugabe das Aldimin-Zwischenprodukt aus dem *N*-Trimethylsilylaldimin-Derivat rasch freigesetzt wird, woraufhin das Aldimin schnell mit **1** abreagiert.

Wir wiederholten die Reaktion durch tropfenweise Zugabe von einem Moläquivalent Wasser in THF zur Lösung von **3** und **1** bei -78°C (Tabelle 1). Tatsächlich erhielten wir als Produkt das Amin **4** mit 92% ee und in 90% Ausbeute (Schema 2). Dies ist erheblich besser ist als die bisher erzielte



Schema 2. Asymmetrische Allylboration von **3** sowie **5–8** mit **1**.

Ausbeute von 70% bei 73% ee.^[6] Eine Absenkung der Reaktionstemperatur auf -100°C verbesserte die chirale Induktion auf 94% ee. Möglicherweise hat bei Itsuno die exotherme Reaktion während der wäßrigen Aufarbeitung die Reaktionstemperatur schnell ansteigen lassen, was eine geringere Enantioselektivität zur Folge hatte.

Danach untersuchten wir die Allylborationen von 2-Chlor- (**5**) und 4-Methoxybenzaldimin (**6**), die wir nicht wie beschrieben mit 46 bzw. 52% ee^[6] erhielten, sondern mit 82 bzw. 92% ee (Tabelle 1). Des weiteren lieferte die Reaktion von **1** mit 2-Furfuraldimin **7** und mit 2-Thiophenaldimin **8** die entsprechenden Homoallylamine mit 86 bzw. 81% ee. Wir haben somit zeigen können, daß **1** in Gegenwart von einem

Tabelle 1. Asymmetrische Allylborationen einiger aromatischer Aldimine mit D-Ipc₂BAl.

Imin ^[a]	T [°C]	Ausb. [%] ^[b]	ee [%] ^[b,c]	Homoallylamin-Produkt Konfig. ^[d]	[α] _D ²² (c, CHCl ₃)
3	-78	90 (73)	92 (73)	S	-43.2 (1.9)
3	-100	87	94	S	-44.0 (1.3)
5	-78	69 (62)	82 (46)	S	-71.3 (1.5)
6	-78	74 (65)	92 (52)	S	-34.7 (1.2)
7	-78	86	86	S	-30.4 (1.5)
8	-78	72	81	S	-20.2 (1.5)

[a] Die *N*-Trimethylsilylaldimine wurden in 75–87% Ausbeute nach Lit. [9] hergestellt. [b] Die Angaben in Klammern stammen aus Lit. [6]. [c] Bestimmt durch HPLC-Analyse der Amin-Produkte auf einer Chiralcel-OD-H-Säule, Laufmittel: Hexan/iPrOH/Et₂NH (95/5/0.05). [d] Bestimmt durch Vergleich mit Literaturdrehwerten^[10] oder durch Analogie.

Moläquivalent H₂O ein erstklassiges Reagens für die Allylboration von Aldiminen ist.

N-Trimethylsilylimine weisen also keine Reaktivität gegenüber **1** auf. Allerdings deuten unsere Befunde darauf hin, daß durch Zugabe von einem Moläquivalent Wasser aus *N*-Trimethylsilyliminen *in situ* reaktive Aldimine kontrolliert hergestellt werden können, die dann vom Allylborationssreagens abgefangen werden. Wir glauben, daß diese Beobachtung für die Imin-Chemie von Bedeutung ist und verbreitet Anwendung in der organischen Synthese finden und so die Anwendungsbreite der Allylboration erheblich erweitern wird.

Experimentelles

Repräsentative Vorschrift: die asymmetrische Allylboration von **3** mit **1**. Alle Operationen wurden unter Stickstoff durchgeführt: Zu einer gerührten Lösung von **3** (0.89 g, 5.0 mmol) und **1** (1.79 g, 5.5 mmol) in THF (5 mL) bei -78°C wurde tropfenweise eine Lösung von H₂O (0.100 g, 5.5 mmol) in THF (0.50 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 0.5 h gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt und mit NaOH (6.0 mmol), H₂O₂ (12 mmol) und Diethylether (20 mL) aufgearbeitet. Das Produkt wurde mit 3 N HCl (3 × 10 mL) extrahiert. Die vereinigten wäßrigen Phasen wurden mit Diethylether gewaschen (2 × 10 mL), mit Na₂CO₃ neutralisiert und mit Diethylether extrahiert (3 × 10 mL). Die organische Phase wurde mit wäßriger Kochsalzlösung (2 × 10 mL) gewaschen und über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet. Abziehen des Lösungsmittels führte zum Rohprodukt, aus dem säulenchromatographisch (Hexan/iPrOH/Et₂NH 80/20/0.5) das Produkt 1-Phenyl-3-but enamin als farblose Flüssigkeit (0.66 g, 90%) erhalten wurde. Die HPLC-Analyse des Amins auf einer Chiralcel-OD-H-Säule ergab, daß es sich um das (S)-Isomer handelt (92% ee); $[\alpha]_D^{22} = -43.2^{\circ}$ ($c = 1.9$ in CHCl₃) ($[\alpha]_D^{22} = -42.6^{\circ}$ ($c = 0.5$ in CH₂Cl₂))^[10a].

Eingegangen am 19. Oktober 1998 [Z 12540]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 825–826

Stichwörter: Aldehyde • Asymmetrische Synthesen • Borane • Homoallylamine • Imine

- [1] a) H. C. Brown, P. V. Ramachandran, *Advances in Asymmetric Synthesis, Vol. 1* (Hrsg.: A. Hassner), JAI, Greenwich, CT, **1995**, Kap. 5; b) H. C. Brown, P. V. Ramachandran, *J. Organomet. Chem.* **1995**, 500, 1–19.
- [2] H. C. Brown, P. K. Jadhav, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 2092.
- [3] Beispiele für solche Anwendungen: a) S. D. Rychnovsky, U. R. Khire, G. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2058–2059; b) A. B. Smith, S. S.-Y. Chen, F. C. Nelson, J. M. Reichert, B. A. Salvatore, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 12013–12014; c) K. C. Nicolaou, M. E. Bunnage, K. Koide, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 8402–8403.
- [4] P. V. Ramachandran, G.-M. Chen, H. C. Brown, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2417–2420.
- [5] a) Y. Yamamoto, W. Ito, K. Maruyama, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1131–1132; b) Y. Yamamoto, T. Koshiaki, K. Maruyama, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3115–3121; c) Y. Yamamoto, S. Nishi, K. Maruyama, T. Komatsu, W. Ito, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 7778–7786.
- [6] a) K. Watanabe, K. Ito, S. Itsuno, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 6, 1531–1534; b) S. Itsuno, K. Watanabe, K. Ito, A. A. El-Shehawy, A. A. Sarhan, *Angew. Chem.* **1997** 109, 105–107; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 109–110.
- [7] I. Chataigner, F. Zammattio, J. Lebreton, J. Villieras, *Synlett* **1998**, 275–276.
- [8] H. C. Brown, U. S. Racherla, P. J. Pellechia, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 1868–1874.
- [9] D. J. Hart, K. Kanai, D. G. Thomas, T.-K. Yang, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 289–294.
- [10] a) T. Basile, A. Bocoum, D. Savoia, A. Umani-Ronchi, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7766–7773; b) S. Liu, A. Mi, L. Wu, Y. Jiang, *Synth. Commun.* **1993**, 23, 2485–2488.