

# Stabilisierung der Addukte von $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindungen an Amidin-Funktionen durch Borchelat-Bildung

Wolfgang Kliegel\* und Hans-Walter Motzkus

Institut für Pharmazeutische Chemie der Technischen Universität Braunschweig,  
Beethovenstraße 55, D-3300 Braunschweig

Eingegangen am 30. Mai 1988

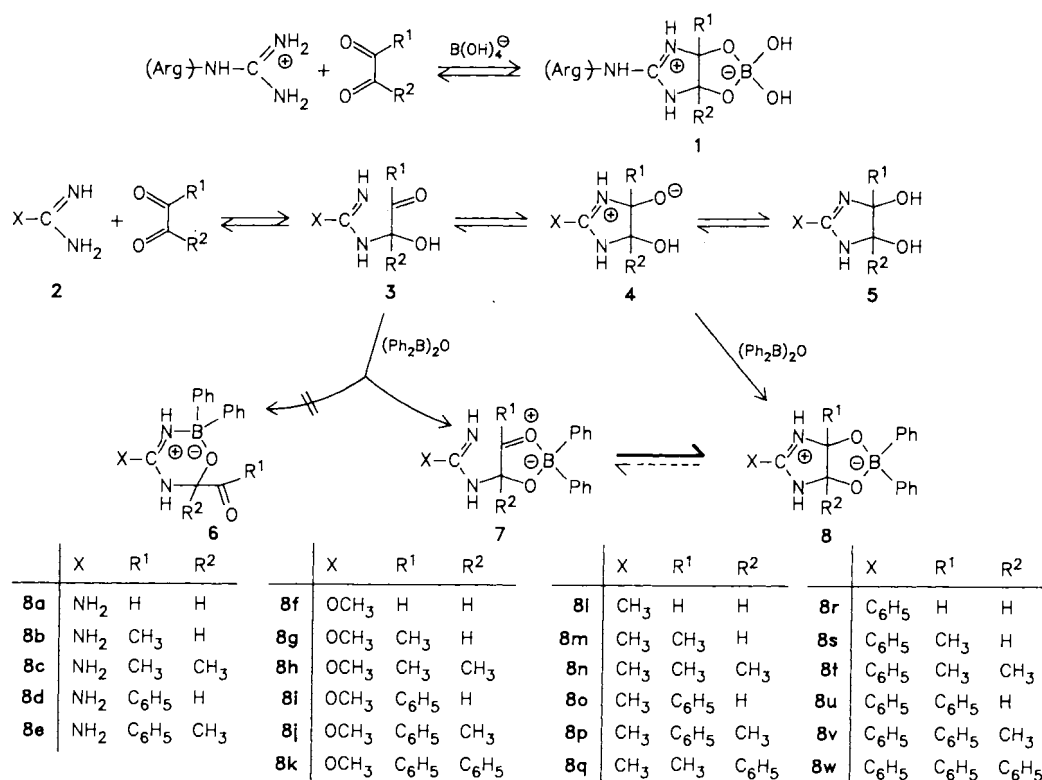
## Stabilization of Adducts of $\alpha$ -Dicarbonyl Compounds with Amidine Functions by Formation of Boron Chelates

The adducts of various  $\alpha$ -dicarbonyl compounds with guanidine, *O*-methylisourea, acetamidine, or benzamidine are trapped by the formation of diphenylboron chelates. The crystalline chelates **8** resulting from the three-component reaction of an amidine derivative, an  $\alpha$ -dicarbonyl compound, and oxybis(diphenylborane) confirm the bicyclic structure **1**, which has been suggested to represent the constitution of the final product in the reversible modification of arginine-containing enzyme proteins by 1,2-diketones in borate buffer.

Die chemische Abwandlung aktiver Arginin-Reste in Enzymproteinen stellt eine wichtige Methode zur Funktions- und Aktivitätsanalyse bei vielen Enzymen mit funktionell entscheidenden Arginin-Gruppen dar<sup>1)</sup>. Neben anderen Reagenzien werden seit einiger Zeit  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindungen in Gegenwart von Borat-Puffer als spezifisches Arginin-Modifikationssystem eingesetzt<sup>2)</sup>. Als Mechanismus der reversiblen Blockierung von Arginin-Resten wird eine Addition der  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindung an die Guanidino-Funktion angenommen, die durch Boratkomplex-Bildung des Primäradduktes beschleunigt wird. Ein derartiger Borat-Komplex vom Typ

**1** wurde erstmals von Riordan<sup>3)</sup> und wenig später auch von Patthy und Smith<sup>4)</sup> für die Stabilisierung der labilen Zwischenprodukte bei der Reaktion von 2,3-Butandion bzw. 1,2-Cyclohexandion mit Arginin-haltigem Protein postuliert.

Um den Mechanismus dieser Arginin-spezifischen Reaktion zu verstehen und die Struktur der Stabilisierungsprodukte besser zu definieren, schien es uns wünschenswert die vermutete Borchelat-Bildung zunächst an einfachen Modellverbindungen mit Amidin-Funktionen zu untersuchen und entsprechende Bor-Chelate zu isolieren. Dazu wurden neben Guanidin (**2**, X = NH<sub>2</sub>) *O*-Methylisourea (**2**, X = OCH<sub>3</sub>), Acetamidin (**2**, X = CH<sub>3</sub>) und Benzamidin (**2**, X = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) als Amidin-Komponenten gewählt und mit verschiedenen  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindungen umgesetzt. Die Reaktion von Amidinen (Guanidinen) mit  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindungen ist gut dokumentiert<sup>5)</sup>. Sie führt im allgemeinen über ein intermediäres 4,5-Dihydro-4,5-dihydroxyimidazol (**5**) zu unterschiedlichen Folgeprodukten. Um das primär gebildete Addukt als stabilen Borat-Komplex abzufangen, setzten wir Oxybis(diphenylboran) zu. Aus der Dreikomponentenreaktion von Amidin-Derivat,  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindung und Borchelat-Bildner resultierten entsprechende Diphenylbor-Chelate in kristalliner Form. Dies gelang nicht nur bei der Verwendung der einfachsten  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindung Glyoxal (R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H), deren Guanidin-Addukte kürzlich als schwefelsaure Salze isoliert wurden<sup>6)</sup>, sondern auch mit aliphatisch



oder/und aromatisch mono- und disubstituierten Derivaten wie Methylglyoxal ( $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ ), 2,3-Butandion ( $R^1 = R^2 = \text{CH}_3$ ), Phenylglyoxal ( $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{H}$ ), 1-Phenyl-1,2-propan-dion ( $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ ) oder Benzil ( $R^1 = R^2 = \text{C}_6\text{H}_5$ ). Die elementaranalytisch gesicherten 1:1:1-Reaktionsprodukte besitzen eine durch Diphenylcarbazon nachweisbare<sup>7)</sup> Diphenylbor-Gruppe. Die sechsgliedrige Ringstruktur **6**, die sich durch Borchelat-Bildung des Mono-Adduktes **3** ergeben könnte und die durch vergleichbare Bor-Chelate zahlreicher Amidin-Derivate von Monocarbonyl-Verbindungen bekannt ist<sup>8)</sup>, kann IR-spektroskopisch ausgeschlossen werden. Eine C=O-Absorption, die eine freie Carbonyl-Funktion, wie sie Struktur **6** aufweist, belegen könnte, fehlt in den Spektren aller isolierten Verbindungen.

Ähnliches gilt für die Fünfringstruktur **7**, von der außerdem eine durch den Lewisäure-Einfluß erhöhte Elektrophilie der Carbonylgruppe zu erwarten wäre, welche die intramolekulare Addition zu **8** begünstigen würde. **8** ist zugleich das Diphenylbor-Chelat des Primäradduktes **4** bzw. **5** und steht auch im Einklang mit den <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Daten, die durch das Auftreten identischer Signale für  $R^1$  und  $R^2$  (bei  $R^1 = R^2$ ) die Symmetrie der Struktur **8** bestätigen, wobei in der Formulierung **8** nur eine Grenzform der durch Elektronendelokalisierung innerhalb der jeweiligen Amidin-Funktion völlig symmetrischen zwitterionischen Verbindung ausgewählt wurde. Die mesomere Grenzform **8**, ein bicyclisches *B,N*-Betain, dient auch als Grundlage für die Nomenklatur dieses Verbindungstyps, der für Boratkomplex-Bildung (**1**) bei der Arginin-Modifikation in Proteinen spricht.

## Experimenteller Teil

<sup>1</sup>H-NMR-Spektren: Varian EM 390; Lösungsmittel [ $D_6$ ]DMSO (TMS als innerer Standard). Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Lin-ström-Block.

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der 1,5-unsubstituierten, 1-monosubstituierten, 1,5-disubstituierten 7-amino-, 7-methoxy-, 7-methyl- und 7-phenyl-substituierten 3,3-Diphenyl-2,4-dioxa-8-aza-6-azonia-3-boratabicyclo[3.3.0]oct-6-ene (**8**): 5.0 mmol Guanidin (**2**,  $X = \text{NH}_2$ ) als Carbonat oder *O*-Methylisoharnstoff (**2**,  $X = \text{OCH}_3$ ) als Hydrogensulfat oder Acetamidin (**2**,  $X = \text{CH}_3$ ) als Hydrochlorid oder Benzamidin (**2**,  $X = \text{C}_6\text{H}_5$ ) als Hydrochlorid werden zusammen mit 5.0 mmol einer  $\alpha$ -Dicarbonyl-Verbindung (Glyoxal, Methylglyoxal, 2,3-Butandion, Phenylglyoxal, 1-Phenyl-1,2-propan-dion oder Benzil) und 2.5 mmol Oxybis(diphenylboran) in 10 ml Ethanol gelöst und mit 5 ml *N* NaOH versetzt. Bei Raumtemp. kristallisiert nach kurzer Zeit eine farblose, schwerlösliche Substanz, die mit Ethanol und Ether gewaschen wird. Findet keine spontane Kristallisation statt, wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und der trockne Rückstand mit wasserfreiem, heißem Ethanol extrahiert und der Extrakt durch Abkühlen zur Kristallisation gebracht. Am Beispiel der gelben Lösungen von 2,3-Butandion bzw. 1-Phenyl-1,2-propan-dion läßt sich die Chelatbildung verfolgen: Die Gelbfärbung bleibt beim Zusatz eines Amidin-Derivates bestehen, verschwindet aber nach Zugabe von Oxybis(diphenylboran) in kurzer Zeit. Beim Einsatz von Amidin-Salzen wird die Lösung erst nach Zugabe der äquimolaren Menge NaOH entfärbt. Ausbeuten, Schmelzpunkte, Elementaranalysen und <sup>1</sup>H-NMR-Spektren siehe Tab. Alle Verbindungen ergeben eine blaue Farbreaktion<sup>7)</sup> mit Diphenylcarbazon in Methanol oder Ethanol.

## CAS-Registry-Nummern

**2** ( $X = \text{NH}_2$ ) ·  $x\text{H}_2\text{CO}_3$ : 100224-74-6 / **2** ( $X = \text{OCH}_3$ ) ·  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : 29427-58-5 / **2** ( $X = \text{CH}_3$ ) ·  $\text{HCl}$ : 124-42-5 / **2** ( $X = \text{Ph}$ ) ·  $\text{HCl}$ : 1670-14-0 / **8a**: 115438-19-2 / **8b**: 115438-20-5 / **8c**: 115438-21-6 / **8d**: 115438-22-7 / **8e**: 115438-23-8 / **8f**: 115438-24-9 / **8g**: 115438-25-0 / **8h**: 115438-26-1 / **8i**: 115438-27-2 / **8j**: 115438-28-3 / **8k**:

Tab. Ausbeuten, physikalische Daten und Elementaranalysen der Verbindungen **8**

Ausb. [%]	Schmp. (Zers.) [°C]	<sup>1</sup> H-NMR $\delta$ [ppm]	Summenformel (Molmasse)	Elementaranalyse			
				C	H	N	
<b>8a</b>	37	194	5.49 (s, 2 NCHO), 6.8–7.5 (m, BPh <sub>2</sub> )	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> BN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (281.1)	Ber. 64.09 Gef. 63.65	5.76 5.36	14.95 15.01
<b>8b</b>	37	180	1.45 (s, CH <sub>3</sub> ), 5.19 (s, NCHO), 6.9–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> )	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> BN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (295.2)	Ber. 65.11 Gef. 63.95	6.15 5.96	14.24 14.01
<b>8c</b>	45	203	1.36 (s, 2 CH <sub>3</sub> ), 6.8–7.5 (m, BPh <sub>2</sub> )	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> BN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (309.2)	Ber. Gef.		13.59 13.78
<b>8d</b>	44	170–172	51.18 (s, NCHO), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh)	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> BN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (357.2)	Ber. 70.61 Gef. 70.63	5.64 5.61	11.76 12.07
<b>8e</b>	33	200–205	0.89 (s, CH <sub>3</sub> ), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh)	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> BN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (371.3)	Ber. 71.18 Gef. 70.90	5.97 6.13	11.32 11.60
<b>8f</b>	65	171–172	3.54 (s, OCH <sub>3</sub> ), 5.66 (s, 2 NCHO), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> ), 9.4 (br. s, 2 NH)	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (296.1)	Ber. 64.90 Gef. 64.49	5.79 5.73	9.46 9.42
<b>8g</b>	80	171	1.51 (s, CH <sub>3</sub> ), 3.51 (s, OCH <sub>3</sub> ), 5.26 (s, NCHO), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> ), 9.5 (s, 2 NH)	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (310.2)	Ber. 65.83 Gef. 65.53	6.17 6.13	9.03 8.95
<b>8h</b>	59	187	1.45 (s, 2 CCH <sub>3</sub> ), 3.44 (s, OCH <sub>3</sub> ), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> ), 9.4 (s, 2 NH)	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (324.2)	Ber. 66.69 Gef. 66.13	6.53 6.46	8.64 8.55
<b>8i</b>	66	156–158	3.57 (s, OCH <sub>3</sub> ), 5.34 (s, NCHO), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 9.7, 10.0 (2 s, 2 NH)	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (372.2)	Ber. 70.99 Gef. 70.66	5.69 5.61	7.53 7.41
<b>8j</b>	71	187–188	0.98 (s, CCH <sub>3</sub> ), 3.53 (s, OCH <sub>3</sub> ), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 9.7 (s, 2 NH)	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (386.3)	Ber. 71.52 Gef. 71.47	6.00 5.95	7.25 7.06

Tab. (Fortsetzung)

	Ausb. [%]	Schmp. (Zers.) [°C]	<sup>1</sup> H-NMR $\delta$ [ppm]	Summenformel (Molmasse)	Elementaranalyse		
					C	H	N
<b>8k</b>	17	173–174 <sup>a)</sup>	3.60 (s, OCH <sub>3</sub> ), 6.9–7.8 (m, BPh <sub>2</sub> , 2 CPh), 9.9 (br. s, 2 NH); außerdem: 1.08 (t, $J = 7$ Hz, CCH <sub>3</sub> ), 3.2–3.7 (m, CH <sub>2</sub> , 2 H <sub>2</sub> O), 4.35 (t, $J = 5$ Hz, OH)	C <sub>30</sub> H <sub>35</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> (530.5)	Ber. 67.93 Gef. 68.36	6.65 6.34	5.28 5.40
<b>8l</b>	85	198	1.48 (s, CH <sub>3</sub> ), 5.62 (s, 2 NCHO), 6.7–7.5 (m, BPh <sub>2</sub> ), 9.8 (2 NH)	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (280.1)	Ber. 68.60 Gef. 67.76	6.12 5.99	10.00 9.82
<b>8m</b>	65	187–188	1.48 (s, N <sub>2</sub> CCH <sub>3</sub> ), 1.50 (s, CCCH <sub>3</sub> ), 5.23 (s, NCHO), 6.7–7.5 (m, BPh <sub>2</sub> ), 9.6 (s, 2 NH)	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (294.2)	Ber. 69.41 Gef. 68.70	6.51 5.76	9.52 9.11
<b>8n</b>	96	210–211	1.36 (s, N <sub>2</sub> CCH <sub>3</sub> ), 1.40 (s, H <sub>3</sub> CCCCH <sub>3</sub> ), 6.7–7.5 (m, BPh <sub>2</sub> )	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (308.2)	Ber. 70.15 Gef. 69.96	6.87 6.98	9.09 9.11
<b>8o</b>	93	187–189 <sup>b)</sup>	1.54 (s, CH <sub>3</sub> ), 5.32 (s, NCHO), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 9.9, 10.3 (2 s, 2 NH); außerdem: 1.06 (t, OCCH <sub>3</sub> ), 3.46 (m, OCH <sub>2</sub> C), 4.30 (t, OH)	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (402.3)	Ber. 71.65 Gef. 71.36	6.77 6.40	6.96 7.05
<b>8p</b>	90	205–206	0.95 (s, CCCH <sub>3</sub> ), 1.50 (s, N <sub>2</sub> CCH <sub>3</sub> ), 6.8–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> CPh), 9.8, 10.0 (2 s, 2 NH)	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (370.3)	Ber. 74.61 Gef. 74.49	6.26 6.35	7.57 7.55
<b>8q</b>	79	202–203	1.63 (s, CH <sub>3</sub> ), 6.8–7.7 (m, BPh <sub>2</sub> , 2 CPh), 10.0 (s, 2 NH)	C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (432.3)	Ber. 77.79 Gef. 77.11	5.83 5.81	6.48 6.44
<b>8r</b>	73	202–203	5.84 (s, 2 NCHO), 6.6–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 10.5 (s, 2 NH)	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (342.2)	Ber. 73.71 Gef. 73.42	5.60 5.49	8.19 8.11
<b>8s</b>	97	199	1.63 (s, CH <sub>3</sub> ), 5.47 (s, NCHO), 6.6–6.7 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 10.4 (s, 2 NH)	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (356.2)	Ber. 74.18 Gef. 73.80	5.94 5.95	7.86 7.87
<b>8t</b>	83	220	1.56 (s, 2 CH <sub>3</sub> ), 6.6–7.6 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 10.2 (s, 2 NH)	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (370.3)	Ber. 74.61 Gef. 73.67	6.26 6.24	7.57 7.43
<b>8u</b>	99	190–193	5.54 (s, NCHO), 6.6–7.7 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 10.7, 10.9 (2 s, 2 NH)	C <sub>27</sub> H <sub>23</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (418.3)	Ber. 77.53 Gef. 76.43	5.54 5.39	6.70 6.63
<b>8v</b>	93	198–199	1.10 (s, CH <sub>3</sub> ), 6.6–7.7 (m, BPh <sub>2</sub> , CPh), 10.6 (s, 2 NH)	C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (432.3)	Ber. 77.79 Gef. 77.65	5.83 5.77	6.48 6.45
<b>8w</b>	100	190–191	6.6–7.8 (m, BPh <sub>2</sub> , 2 CPh), 10.8 (s, 2 NH)	C <sub>33</sub> H <sub>27</sub> BN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (494.4)	Ber. 80.17 Gef. 79.86	5.50 5.33	5.67 5.64

<sup>a)</sup> Kristallisiert mit 1 EtOH und 2 H<sub>2</sub>O. — <sup>b)</sup> Kristallisiert mit 1 EtOH.

115438-29-4 / **8l**: 115438-30-7 / **8m**: 115438-31-8 / **8n**: 115438-32-9 / **8o**: 115438-33-0 / **8p**: 115438-34-1 / **8q**: 115438-35-2 / **8r**: 115438-36-3 / **8s**: 115438-37-4 / **8t**: 115438-38-5 / **8u**: 115438-39-6 / **8v**: 115438-40-9 / **8w**: 115438-41-0 / OHCCCHO: 107-22-2 / H<sub>3</sub>CCOCHO: 78-98-8 / H<sub>3</sub>CCOCOCH<sub>3</sub>: 431-03-8 / PhCOCHO: 1074-12-0 / PhCOCOCH<sub>3</sub>: 579-07-7 / PhCOCOPh: 134-81-6 / (Ph<sub>2</sub>B)<sub>2</sub>O: 4426-21-5 / Arginin: 74-79-3

<sup>5)</sup> J.-L. Imbach, R. Jacquier, J.-M. Lacombe, G. Maury, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1971**, 1052. — T. Nishimura, K. J. Kitajima, *J. Org. Chem.* **44** (1979) 818.

<sup>6)</sup> R. A. McClland, R. Panicucci, A. M. Rauth, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 4308.

<sup>7)</sup> R. Neu, *Z. Anal. Chem.* **176** (1960) 334. — B. Friese, F. Umland, *Anal. Chim. Acta* **96** (1978) 303.

<sup>8)</sup> V. A. Dorokhov, V. I. Seredenko, B. M. Mikhailov, *Zh. Obshch. Khim.* **45** (1975) 1772; *J. Gen. Chem. USSR (Engl. Transl.)* **45** (1975) 1737. — B. M. Mikhailov, V. A. Dorokhov, L. I. Lavrinovich, *Izv. Akad. Nauk. SSSR Ser. Khim.* **1978**, 2578. — Ähnliche Borchelate von 2-Aminopyridin-Derivaten: V. A. Dorokhov, B. M. Mikhailov, *Izv. Akad. Nauk. SSSR Ser. Khim.* **1972**, 1895; *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.)* **1972**, 1847. — R. B. Gragg, R. E. Handshoe, K. Niedenzu, *J. Organomet. Chem.* **116** (1976) 135. — V. A. Dorokhov, B. M. Zolotarev, O. S. Chizhov, B. M. Mikhailov, *Izv. Acad. Sci. SSSR, Ser. Khim.* **1977**, 1587; *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.)* **1977**, 1458.

<sup>1)</sup> L. Patthy, *Protein Structure and Evolution*, Intern. Union Biochem. Sympos. 1975, S. 91, Lawrence 1976. — J. F. Riordan, *Mol. Cell. Biochem.* **26** (1979) 71. — W. Kliegel, *Bor in Biologie, Medizin und Pharmazie*, S. 124, Springer-Verlag, Berlin 1980. — R. L. Lundblad, C. M. Noyes, *Chemical Reagents for Protein Modification*, Bd. II, S. 1, CRC Press, Boca Raton 1984.

<sup>2)</sup> B. L. Vallee, J. F. Riordan, *Brookhaven Symp. Biol.* **21** (1968) 91. — A. L. Grossberg, D. Pressman, *Biochemistry* **7** (1968) 272.

<sup>3)</sup> J. F. Riordan, *Biochemistry* **12** (1973) 3915.

<sup>4)</sup> L. Patthy, E. L. Smith, *J. Biol. Chem.* **250** (1975) 557.

[140/88]