

zwei Sorten von Oktaederlücken im Verhältnis 1:2. Die Oktaederlücken, die jeweils nur von einer der vier *tert*-Butylgruppen pro Tetrahedranmolekül umgeben sind, schließen die Gasmoleküle bzw. -atome ein. Die übrigen Lücken sind dafür zu klein. Im Packungsdiagramm (Abb. 1) sind

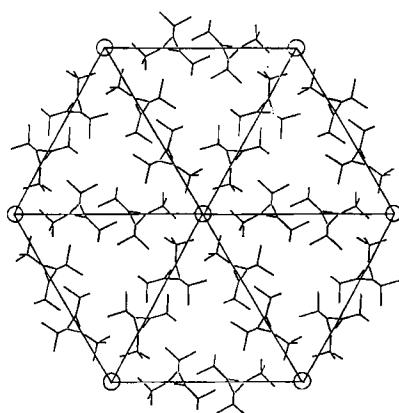


Abb. 1. Packungsdiagramm der Argon-Einschlußkristalle von 1 (Projektion entlang c); Argonatome durch Kreise markiert.

die Positionen der Argonatome durch Kreise markiert. Die Belegung im verwendeten Kristall betrug 26%. Beim Erwärmen der Kristalle in der Mutterlauge über 220 K beobachtet man unter dem Mikroskop, daß Gasblasen aus den Kristallen austreten und aus der Lösung herausperlen. Die Kristalle werden trüb: Ohne die stützenden Gaseinschlüsse bricht das Gitter zusammen. Auf der Basis der Tieftemperaturdaten können die beiden spiegelbildlichen Torsionsfehlordnungslagen der *tert*-Butylgruppen, die in die von Argonatomen belegten Lücken ragen, getrennt verfeinert werden. Der Torsionswinkel zwischen den beiden Fehlordnungslagen beträgt 26°. Aus den thermischen Parametern ergibt sich für die *tert*-Butylgruppen eine Torsionsschwingung von 9°, die sich durch dynamische Schwingung oder statische Fehlordnung erklären läßt. Im Vergleich zur Messung bei 213 K^[1] sind die Bindungslängen wegen der Verfeinerung mit Reflexen hoher Ordnung^[3] weitgehend frei von Effekten, die durch die Abweichung der Bindungselektronen von der kugelsymmetrischen Elektronendichte-Verteilung um die Atome entstehen^[2].

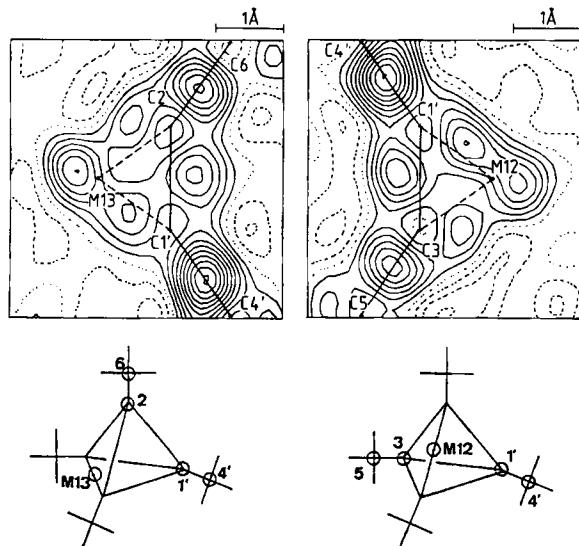


Abb. 2. Deformationsdichten von 1 [3]. Schnitte jeweils entlang einer Bindung und senkrecht zur gegenüberliegenden Bindung des Tetraeders. Die in den Formeln mit Kreisen markierten Atome und Bindungsmittelpunkte liegen in der jeweiligen Schnittebene. Kontur-Intervall 0.05 $e\text{\AA}^{-3}$.

Die Deformationsdichten wurden jeweils in Schnitten (Abb. 2) entlang einer Tetraederbindung und durch den Mittelpunkt der gegenüberliegenden Tetraederbindung berechnet. Schnitte mit Maxima in speziellen Lagen (Spiegel-Ebenen) haben wir wegen der größeren Standardabweichung ($\sigma(\rho)=0.06 e\text{\AA}^{-3}$ gegenüber $0.04 e\text{\AA}^{-3}$ in allgemeinen Lagen) nicht zur Diskussion herangezogen. Die Dichtemaxima der Tetraederbindungen sind um 0.37 Å von der Bindungssachse nach außen verschoben. Dies entspricht einer Biegung dieser Bindungen um 26°. Die Tetrahedranbindung ist somit eine der am stärksten gebogenen C-C-Bindungen^[5]. Theoretische Berechnungen^[6] ergeben Biegungen der gleichen Größenordnung. Ein Kreisbogen über das Dichtemaximum zwischen zwei Tetrahedran-C-Atomen ist 1.7 Å lang, während der Abstand zwischen den Atomen 1.497 Å beträgt. Die Dichtemaxima der Bindungen zwischen den Tetrahedran-C-Atomen und den quartären C-Atomen der *tert*-Butylgruppen (Abb. 2) liegen exakt auf den Verbindungslinien zwischen den Atomen. Dies gilt auch für die C_{quart}-C_{Methyl}-Bindungen der *tert*-Butylgruppen.

Eingegangen am 15. Dezember 1986,
veränderte Fassung am 22. Januar 1987 [Z 2011]

- [1] H. Irgartinger, A. Goldmann, R. Jahn, M. Nixdorf, H. Rodewald, G. Maier, K.-D. Malsch, R. Emrich, *Angew. Chem.* 96 (1984) 967; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 993.
- [2] P. Coppens, *Angew. Chem.* 89 (1977) 33; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 16 (1977) 32.
- [3] Kristallographische Daten des Argon-Clathraten von 1 bei 103 K: Kristallzüchtung bei 213 K aus Ethylacetat, gesättigt mit Argon: C₂₀H₃₆ + 0.086 Ar; $a = 15.732(2)$, $c = 13.923(1)$ Å; hexagonale Raumgruppe P₆/m; $Z = 6$; $\rho_{\text{her}} = 0.94 \cdot 10^6$ g/m³; drei unabhängige Datensätze mit insgesamt 12 515 Intensitäten (Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer, Mo_{Kα}-Strahlung, Graphit-Monochromator); $\sin(\theta/\lambda) = 0-0.60 \text{ \AA}^{-1}$: 1109 beobachtete Reflexe ($I > 3\sigma(I)$) zur Berechnung der Deformationsdichten; $\sin(\theta/\lambda) = 0.65-1.15 \text{ \AA}^{-1}$: 637 beobachtete Reflexe ($I > 2.5\sigma(I)$) für die Verfeinerung mit Reflexen hoher Ordnung (C anisotrop; Vollmatrix); $R = 0.06$. (Die Atomlagen und isotropen thermischen Parameter der H-Atome wurden mit Reflexen niedriger Ordnung ($\sin(\theta/\lambda) \leq 0.65 \text{ \AA}^{-1}$; $R = 0.04$) verfeinert.) Bindungslängen ($T = \text{Tetraeder}$): C_T-C_T 1.497, C_T-C_{Quart} 1.498, C_{Quart}-C_{Methyl} 1.529 Å; Standardabweichungen 0.003, 0.004, 0.006 Å. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Energie, Physik, Mathematik GmbH, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-52295, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.
- [4] J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol: *Inclusion Compounds*, Academic Press, Bristol (England) 1984.
- [5] H. Irgartinger, A. Goldmann, *Angew. Chem.* 94 (1982) 786; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 769.
- [6] a) T. Loerzer, R. Machinek, W. Lüttke, L. H. Franz, K.-D. Malsch, G. Maier, *Angew. Chem.* 95 (1983) 914; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 878; b) K. Kovačević, Z. B. Maksic, *J. Org. Chem.* 39 (1974) 539.

ENDOR-Untersuchung biologisch relevanter organischer Radikale in inversen Micellen**

Von Norbert Bretz, Ingrid Mastalsky, Martin Elsner und Harry Kureck*

Das Interesse an *inversen Micellen* („mit dem Wasser innen“) nimmt aus mehreren Gründen zu:

a) Enzyme können üblicherweise nur in wäßrigem Milieu eingesetzt werden, da sie durch hydrophobe Wechsel-

* Prof. Dr. H. Kureck, Dipl.-Biochem. N. Bretz,
I. Mastalsky, Dipl.-Chem. M. Elsner
Institut für Organische Chemie der Freien Universität
Takustraße 3, D-1000 Berlin 33

** Wir danken Herrn Dr. B. Kirse für hilfreiche Diskussionen und Unterstützung bei den Spektrensimulationen. N. B. dankt Herrn Prof. F. Müller, Universität Wageningen, für einen anregenden Forschungsaufenthalt in dessen Laboratorium. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

wirkungen denaturieren. Gelöst im Wasser innerhalb inverser Micellen sind sie jedoch gegenüber hydrophoben Lösungsmitteln stabilisiert und so als Biokatalysatoren einsetzbar, um schlecht wasserlösliche Substrate in der nichtwäßrigen Phase zu den gewünschten Produkten umzusetzen^[1, 2].

b) Proteinfreie, modifizierte Cofaktoren von Enzymen wie die der Flavoproteine sind wegen unerwünschter Eigenschaften, die beim intakten nativen Material nicht beobachtet werden, oft keine „guten“ Modellverbindungen. Der Einbau der Flavin-Coenzyme in inverse Micellen könnten möglicherweise diese Eigenschaften, z. B. Aggregationsbildung durch Stapelung, Lichtempfindlichkeit oder – im Falle der semichinoiden Stufen – Disproportionierung und Dimerisierung, unterdrücken.

c) Für die Spektroskopie freier Radikale mit den magnetischen Resonanztechniken EPR (Elektronenspinresonanz) und ENDOR (Elektron-Kern-Doppelresonanz) ist Wasser wegen seiner hohen dielektrischen Verluste im Mikrowellenbereich besonders ungeeignet. Andererseits sind gerade wäßrige Pufferlösungen für die Einstellung physiologischer Bedingungen unabdingbar. Wenn die paramagnetischen Spezies jedoch im Innern inverser Micellen erzeugt werden, sollte ihre Untersuchung in wäßrigen Kompartimenten der weiterhin vorwiegend hydrophoben Lösung möglich sein.

Die EPR-Spektroskopie Spin-markierter Moleküle („reporter group technique“^[3]), die Aussagen über die Radikalumgebung ermöglicht^[4], erbrachte bei inversen Micellen interessante Ergebnisse z. B. über die micellare Mikroviskosität. Allerdings sind Informationen über die wichtigen Hyperfeindaten wegen des begrenzten Auflösungsvermögens der EPR-Spektroskopie nur unzureichend zugänglich. Deutlich besser ist das Auflösungsvermögen der Doppelresonanzmethode ENDOR, die heute bei organischen Radikalen viel angewendet wird^[5-7]. Die erste ENDOR-Untersuchung in inversen Micellen wurde am Fremyschen Salz, einem *anorganischen* Radikal ($\text{ON}(\text{SO}_3\text{K})_2$), durchgeführt. Dabei wurden das Dodecylammonium-propionat/Toluol- und das Natrium-1,2-bis(2-ethylhexyloxy carbonyl)-1-ethansulfonat (AOT)/Toluol-System verwendet^[8]. Aus der Temperaturabhängigkeit der Signalintensität des hochfrequenten ^{14}N -ENDOR-Signals konnte geschlossen werden, daß das micellare Wasser ein für das Radikalsalz polareres und viskoseres Milieu ist als reines Wasser. Außerdem ist der Einfluß von Luftsauerstoff auf den ENDOR-Effekt geringer, und auch die bei höheren Konzentrationen zu beobachtende Aggregation des Fremyschen Salzes ist unterdrückt. (Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit dem Verhalten von in Micellen eingebauten Porphyrienen, bei denen die sonst übliche Aggregation ebenfalls nicht auftritt^[9, 10].)

Hier berichten wir über das erste erfolgreiche ENDOR-Experiment an in inversen Micellen eingebauten *organischen* Radikalen mit den Radikal anionen von Lumiflavin, Riboflavin, FMN (Flavinmononucleotid) und FAD (Flavin-adenindinucleotid) als Beispiele. Flavine treten als ubiquitäre Redox-Cofaktoren in nahezu allen biologischen Elektronentransportketten auf; die chemischen, biochemischen und biologischen Aspekte des Flavin-Systems werden z. B. in^[11, 12] behandelt. Obwohl durch UV- und EPR-Untersuchungen in wäßrigen Lösungen stabile Radikal anionen von Flavinen nachgewiesen werden konnten^[13], waren ENDOR-Signale bisher nur von gefrorenen wäßrigen Lösungen erhältlich. Dagegen sind die Radikal anionen der Flavine der ENDOR-Spektroskopie zugänglich, wenn sie elektrochemisch in nichtwäßrigen Lösungsmitteln wie CH_2Cl_2 oder Hexamethylphosphorsäuretriamid

(HMPT) mit Tetra-*n*-butylammoniumtetrafluoroborat als Leitsalz erzeugt werden^[14, 15]. Auch kationische paramagnetische Derivate der Flavin-Modellverbindungen konnten ENDOR-spektroskopisch untersucht werden, allerdings ebenfalls in nichtwäßrigen Lösungsmitteln, z. B. in Mischungen von Toluol und Trifluoressigsäure^[16]. ENDOR-Untersuchungen an Radikalen von Flavoproteinen sind bisher nur in gefrorenen wäßrigen Lösungen möglich (vgl. [7, 16]).

Es ist uns gelungen, bemerkenswert stabile Lösungen von Flavin-Radikal anionen in Hexan/Hexanol-Mischungen mit Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) als Amphiophil zu erzeugen. Abbildung 1 zeigt die ^1H - und ^2H -

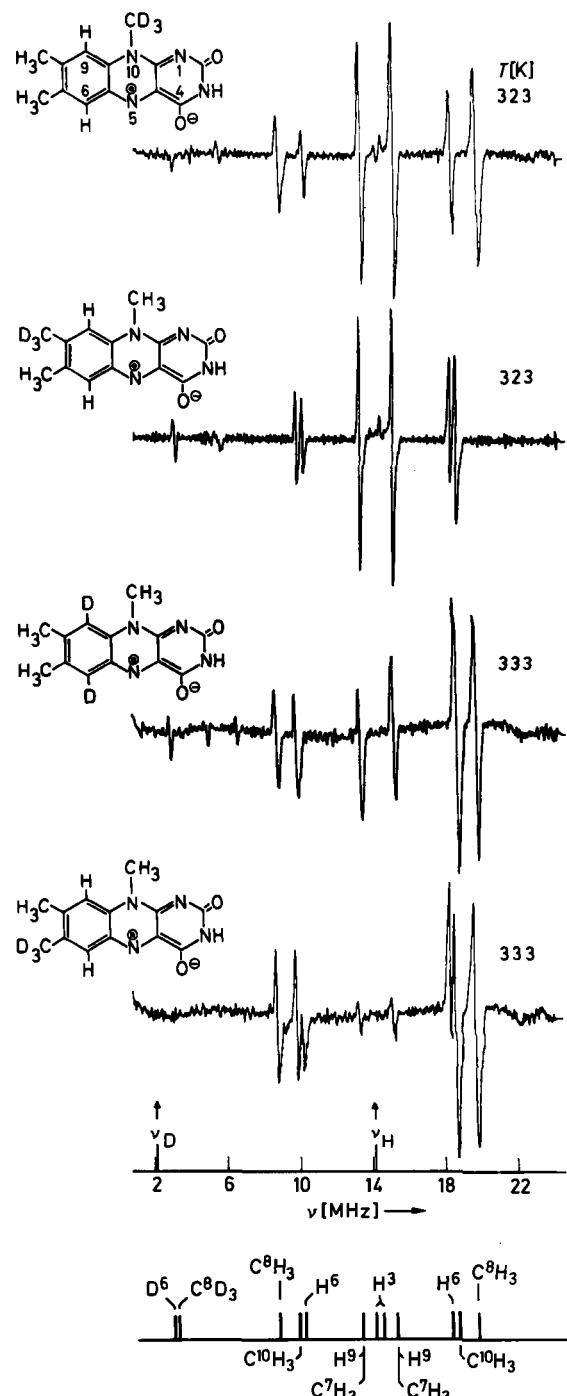


Abb. 1. ^1H - und ^2H -ENDOR-Spektren der Radikal anionen selektiv deuterierter Lumiflavine in inversen Micellen. Die Zuordnung der Signale (unten) ist eindeutig, da die Signale der selektiv ausgetauschten Protonen im ^1H -ENDOR-Spektrum jeweils fehlen.

ENDOR-Spektren^[17] der Radikalionen selektiv deuterierter Lumiflavine^[18] in diesen inversen Micellen (ähnliche ENDOR-Spektren wurden für die Radikalionen von Riboflavin, FMN und FAD erhalten). Die Spektren zeigen ein gutes Signal/Rausch-Verhältnis und eine gute Auflösung mit Linienbreiten von etwa 150 kHz. Wir führen dies darauf zurück, daß Austauschprozesse („chemischer Austausch“ und „Heisenberg-Austausch“) weitgehend unterdrückt werden; dies ist unter der Annahme plausibel, daß eine Micelle maximal ein Radikalion enthält. Derartige Austauschprozesse würden den ENDOR-Effekt drastisch reduzieren^[7]; es ist wahrscheinlich, daß gerade wegen dieser Effekte bei den in flüssigem Wasser erforderlichen hohen Radikalkonzentrationen ENDOR-Signale nicht nachgewiesen werden können.

Während Neutralradikale in flüssiger wäßriger Lösung nicht in für ENDOR-Messungen ausreichender Konzentration zu erzeugen sind (um Flavin-Neutralradikale untersuchen zu können, muß N5 des Isoalloxazinrings alkyliert werden^[19]), können sie in inversen Micellen angereichert werden. Offensichtlich dimerisieren oder disproportionieren sie in diesem Milieu nicht. In orientierenden Versuchen konnten wir das ENDOR-Spektrum des Neutralradikals von Lumiflavin-3-acetat in Hexan mit AOT als Tensid problemlos aufnehmen^[20]. Es gelang auch, EPR-Spektren invers-micellarer Lösungen von Flavoproteinen wie den Radikalen von Flavodoxinen und der Glucoseoxidase aufzunehmen. Bisher konnten allerdings von diesen Lösungen keine ENDOR-Signale erhalten werden.

Arbeitsvorschrift

Eine 0.3 molare Lösung von CTAB (umkristallisiert aus Ethanol und über Silicagel im Vakuum getrocknet) in Hexan/Hexanol (6/1 v/v), w_0 -Wert [2d] ($[H_2O]/[CTAB]$) von 15, wurde hergestellt durch Zugabe des berechneten Volumens an Pufferlösung (typische Zusammensetzung: 25 mM Flavin-Derivat, 75 mM Ethyleniamintetraacetat (EDTA) und 50 mM 2-Amino-2-hydroxy-methyl-1,3-propandiol (Tris; pH 10) oder Pyrophosphat (pH 11) oder NaOH (pH 12)). Die durch kräftiges Schütteln (ca. 1 min) und durch Beschallung (2 × 25 s) homogenisierte, phasenstabile Lösung wurde in das EPR/ENDOR-Probenröhrchen überführt, entgast und unter Hochvakuum abgeschmolzen. Die Probe wurde im EPR-Resonator so lange bestrahlt (Halogenlampe 250 W, 15-s-Intervalle, 313 K), bis eine optimale EPR-Signalintensität der gebildeten Radikalionen erreicht war. Für die ENDOR-Messungen wurde das Probenröhrchen in einen ENDOR-Resonator überführt (mit unseren Geräten ist eine in-situ-Erzeugung der Radikale im ENDOR-Resonator nicht möglich).

Eingegangen am 5. November,
veränderte Fassung am 30. Dezember 1986 [Z 1981]

- [1] H. H. Weetall, W. P. Vann, *Biotechnol. Bioeng.* 18 (1976) 105; K. Martinek, A. V. Levashov, N. L. Klyachko, V. I. Pantin, I. V. Berezin, *Biochim. Biophys. Acta* 657 (1981) 277; F. M. Menger, K. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6731; P. Lüthi, P. L. Luisi, *ibid.* 106 (1984) 7285; C. Laane, R. Hilhorst, R. Spruijt, K. Dekker, C. Veeger in R. C. Bray, P. C. Engel, S. G. Mayhew (Hrsg.): *Flavins and Flavoproteins*, Walter de Gruyter, Berlin 1984.
- [2] a) M. H. Hilhorst, *Dissertation*, Universität Wageningen, Niederlande 1984; b) R. Hilhorst, C. Laane, C. Veeger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982) 3927; c) *FEBS Lett.* 159 (1983) 225; d) P. L. Luisi, *Angew. Chem. 97* (1985) 449; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 439.
- [3] L. J. Berliner (Hrsg.): *Spin Labeling. Theory and Applications*, Vol. 1, Academic Press, New York 1976.
- [4] Yau Yan Lim, J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 7490.
- [5] L. Kevan, L. D. Kispert: *Electron Spin Double Resonance Spectroscopy*, Wiley, New York 1976.
- [6] H. Kurreck, B. Kirste, W. Lubitz, *Angew. Chem.* 96 (1984) 171; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 173.
- [7] H. Kurreck, B. Kirste, W. Lubitz in A. P. Marchand (Hrsg.): *Electron Nuclear Double Resonance Spectroscopy of Radicals in Solution* (ein Band der Reihe *Methods in Stereochemical Analysis*), VCH Publishers, Deerfield Beach, FL, im Druck.
- [8] E. G. Janzen, Y. Kotake, G. A. Coulter, U. M. Oehler, *Chem. Phys. Lett.* 126 (1986) 205.

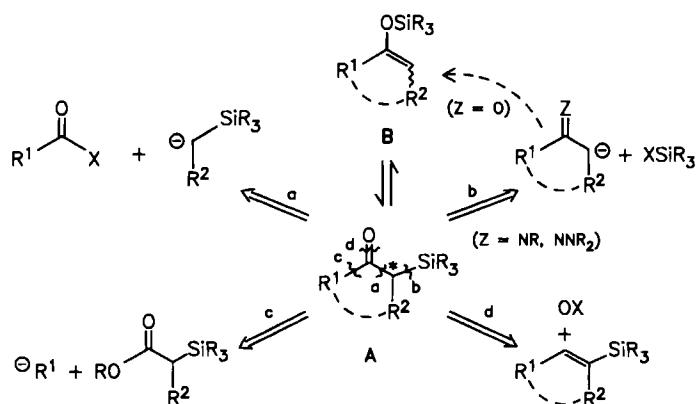
- [9] J. H. Fuhrhop, M. Baccouche, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 1976, 2058.
- [10] J. H. Fuhrhop, T. Lehmann in G. Blauer, H. Sund (Hrsg.): *Optical Properties and Structure of Tetrapyrroles*, Walter de Gruyter, Berlin 1985, S. 19f.
- [11] F. Müller, *Top. Curr. Chem.* 108 (1983) 71.
- [12] D. E. Edmondson, G. Tollin, *Top. Curr. Chem.* 108 (1983) 109.
- [13] A. Ehrenberg, F. Müller, P. Hemmerich, *Eur. J. Biochem.* 2 (1967) 286.
- [14] Vergleichende ENDOR-Untersuchung der SpindichteVerteilung in unterschiedlich protonierten Flavin-Radikalen, die einerseits in Lösungsmitteln wie Toluol/Trifluoressigsäure, HMPT oder CH_2Cl_2 , andererseits in inversen Micellen erzeugt wurden: E. Weilbacher, N. Helle, R. D. Allendoerfer, H. Kurreck, unveröffentlicht.
- [15] Auch Dimethylformamid ist in einer früheren ENDOR-Untersuchung des Lumiflavin-Radikalions als Lösungsmittel verwendet worden: L. E. G. Eriksson, J. S. Hyde, A. Ehrenberg, *Biochim. Biophys. Acta* 192 (1969) 211.
- [16] H. Kurreck, M. Bock, N. Bretz, M. Elsner, H. Kraus, W. Lubitz, F. Müller, J. Geissler, P. M. H. Kroneck, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 737.
- [17] Die EPR- und ENDOR-Spektren wurden mit einem Bruker-EPR-Spektrometer als Grundgerät (ER-220-D mit Bruker-Resonator ER 200-ENB) und NMR-Zusatzelektronik aufgenommen, vgl. [6, 7]. Die Mikrowellenleistung betrug 130–160 mW, die Radiofrequenzleistung ca. 250 W (Feldstärke ca. 0.6 mT im rotierenden Koordinatensystem).
- [18] Synthese selektiv deuterierter Lumiflavine: M. Elsner, H. Kurreck, unveröffentlicht; über eine andere Synthese deuterierter Flavine berichten H. J. Grande, C. G. van Schagen, T. Jarbandhan, F. Müller, *Helv. Chim. Acta* 60 (1977) 348.
- [19] F. Müller, P. Hemmerich, A. Ehrenberg, G. Palmer, V. Massey, *Eur. J. Biochem.* 14 (1970) 185.
- [20] N. Bretz, H. Kurreck, unveröffentlicht.

Enantioselektive Synthese von α -Trialkylsilylketonen und -aldehyden**

Von Dieter Enders* und Braj Bhushan Lohray

Professor Gerhard Quinkert zum 60. Geburtstag gewidmet

Silylenolether **B**^[1] und die isomeren α -Silylketone (β -Ketosilane) **A**^[2] lassen sich ineinander überführen^[3]. Sie gehören zu den Verbindungsklassen der modernen Carbonylchemie, die bei Synthesen am vielseitigsten einsetzbar sind. Während die *O*-silylierten Verbindungen **B** einfach durch Silylierung der Ketone zugänglich sind ($Z=O$), muß man zur Synthese der *C*-silylierten Isomere **A** entsprechende Azaenolate ($Z=NR$, NNR_2)^[4a–d] oder andere Verknüpfungsmuster heranziehen (siehe Retrosynthese-Schema 1)^[4e–h].



Schema 1.

[*] Prof. Dr. D. Enders, Dr. B. Bhushan Lohray
Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Professor-Pirlet-Straße 1, D-5100 Aachen

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und den Firmen BASF AG und Degussa AG gefördert. Wir danken Herrn Dr. H. Wetter, Ciba-Geigy, Basel, für Chlordimethylhexylsilan.