

Schema 1. Stereochemie der S_N2'-Reaktion.

3 (R = iPr) erhalten. Offensichtlich verläuft hier die Fragmentierung im Gegensatz zur Corey-Winter-Reaktion nicht stereospezifisch, oder das gebildete Cumulen isomerisiert durch Koordination an Nickel.

Arbeitsvorschriften

1 (X = OTs, R = H, Me, iPr): Zu einer 10proz. Lösung von 19.1 g (0.1 mol) Tosylchlorid in Diethylether gibt man 0.04 mol Diol **1** (X = OH), gelöst in möglichst wenig Ether oder THF und kühl das Reaktionsgemisch auf -15°C ab. Anschließend gibt man 20 g (0.36 mol) fein gepulvertes Kaliumhydroxid in kleinen Portionen (1 g pro min) unter kräftigem Rühren hinzu, wobei die Temperatur -5°C nicht übersteigen darf. Zur vollständigen Umsetzung führt man die Lösung noch 1-2 h bei 0-5°C. Danach gießt man auf Eiswasser und extrahiert die wäßrige Phase mehrere Male mit Diethylether oder Dichlormethan. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Solvens im Vakuum entfernt und der Rückstand umkristallisiert. Ausbeuten nach Kristallisation 80-90%. Die weißen kristallinen Bistosylate lassen sich bei -30°C mehrere Monate unzersetzt lagern.

2 (R = H, Me, iPr): Zu einer Suspension von 2.0 g (11 mmol) wasserfreiem Kaliumtrithiocarbonat in 100 mL absolutem Dichlormethan gibt man unter Schutzgasatmosphäre 10 mmol des Bistosylats **1** (X = OTs und 10 mg (0.04 mmol) [18]Krone-6. Nach 12 h Behandeln bei 20°C im Ultraschallbad ist der größte Teil des suspendierten roten Kaliumtrithiocarbonats umgesetzt. Vom hellgelben Niederschlag wird abfiltriert, das Filtrat auf 20 mL im Vakuum eingeengt und die gelbe Lösung über Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff chromatographiert (zum Abtrennen kleiner Mengen polymeren Materials und des Kronenethers). Die erhaltenen gelben Öle sind laut Dünnschichtchromatographie (DC) sowie ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie rein, polymerisieren aber sehr schnell, vor allem unter Luft-, Licht- und Sauerstoffeinfluß. 10proz. Lösungen in Dichlormethan sind dagegen bei -30°C einige Wochen haltbar. Für die Desulfurierung kann das Rohprodukt vor der chromatographischen Reinigung verwendet werden.

3 (R = H, Me, iPr): 10 g Raney-Nickel (Fluka, suspendiert in Wasser) werden im Hochvakuum getrocknet und durch 20 min Röhren mit 30 mL Acetophenon desaktiviert (im Fall von R = iPr verwendet man wegen des höheren Siedepunktes zum Desaktivieren eine Lösung von Benzophenon in Ether). Nach Abfiltrieren vom Acetophenon unter Schutzgas suspendiert man das behandelte Raney-Nickel in 40 mL trockenem Dimethylformamid (*N*-Formylmorpholin im Fall von R = iPr). Man erwärmt auf 60-70°C und lässt langsam eine Lösung von 5 mmol Dithiolan **2** in 10 mL Dimethylformamid (bzw. *N*-Formylmorpholin) zutropfen. Das kontinuierlich entstehende Produkt wird bei 20 Torr (10⁻² Torr im Fall von R = iPr) aus dem Reaktionsgemisch entfernt und in zwei hintereinandergeschalteten Kühlfallen bei -198°C ausgefroren. Durch Umkondensieren im Vakuum wird von gleichzeitig entstandenen gerinchen Mengen Schwefelkohlenstoff abgetrennt. Die Stabilität der Butatriene gegenüber Reaktion mit Luftsauerstoff und Polymerisation nimmt von R = iPr über Me nach R = H ab. Während Butatrien schon bei 0°C in heftiger Reaktion polymerisiert, kann man das diisopropylsubstituierte Trien bei 10 Torr unter Schutzgas destillieren.

Eingegangen am 5. August 1992 [Z 5503]

- [1] H. Hopf in *The Chemistry of Ketenes, Allenes and Related Compounds, Part 2* (Hrsg.: S. Patai), Wiley, New York, 1980, S. 863-901.
- [2] M. Murray, *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)*, 4th Ed. 1952-, Bd. 5/2a (Alkine, Di- und Polyine, Allene, Kumulene), Thieme, Stuttgart, 1977, S. 913-1076.

- [3] W. M. Schubert, T. H. Liddicoet, W. A. Laska, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 1929.
- [4] P. P. Montijn, L. Brandsma, J. F. Arens, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1967**, 86, 129.
- [5] R. Herges, C. Hoock, *Synthesis* **1991**, 1151.
- [6] R. Herges, C. Hoock, *Science* **1992**, 255, 711.
- [7] Siehe z.B. a) J. Daub, V. Trautz, U. Ehrhardt, *Tetrahedron Lett.* **1972**, 4435; b) J. Daub, G. Endress, U. Erhardt, K. H. Jorgun, J. Kappler, A. Laumer, R. Pfiz, J. J. Stezowski, *Chem. Ber.* **1982**, 115, 1787; c) M. F. Semmelhack, R. D. Stauffer, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 2667; d) S. Sakai, N. Wada, Y. Todo, T. Shibata, T. Fujinami, *Nippon Kagaku Kaishi* **1985**, 282.
- [8] W. V. Ruyle, T. Y. Shen, A. A. Patchett, *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 4353.
- [9] W. Ziegenebein in *The Chemistry of Acetylenes* (Hrsg.: H. G. Viehe), Marcel Dekker, 1969, S. 169.
- [10] L. Brandsma, *Preparative Acetylenic Chemistry*, 2. Aufl., Elsevier, Amsterdam, 1988, S. 256.
- [11] C. Copeland, R. J. Conway, J. J. Patroni, R. V. Stick, *Aust. J. Chem.* **1981**, 34, 555.
- [12] A. Lüttringhaus, J. Grohmann, *Z. Naturforsch. B* **1955**, 10, 365.
- [13] D. Braun, M. Kiessl, *Monatsh. d. Chemie* **1965**, 96, 631.
- [14] N. J. Koole, M. J. A. de Bie, P. E. Hansen, *Org. Magn. Reson.* **1984**, 22, 146.
- [15] a) W. Krestinski, W. Marjin, *Chem. Ber.* **1927**, 60, 867; b) J. Huang, V. Goedken, H. M. Walborsky, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4128.
- [16] Das stimmt auch mit den Ergebnissen theoretischer Untersuchungen von Epotis et al. und experimentellen Beobachtungen von Stork et al. überein, wonach bei negativ geladenem Nucleophil und Austrittsgruppe vermutlich wegen der Coulombschen Abstoßung der Ladungen die *anti*-Eliminierung bevorzugt wird: a) R. L. Yates, N. D. Epotis, F. Bernardi, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6615; b) G. Stork, A. F. Kreft, *ibid.* **1977**, 99, 3850; *ibid.* 3852.
- [17] W. R. Roth, H.-D. Exner, *Chem. Ber.* **1976**, 109, 1158.
- [18] H. Kleijn, M. Tigchelaar, R. J. Bullee, C. J. Elsevier, J. Meijer, P. Vermeer, *J. Organomet. Chem.* **1982**, 240, 329.

Gasphasenreaktionen von M⁺ und [CpM]⁺ (M = Fe, Co, Ni) mit 1,3,5-Trisilacyclohexan: erste Hinweise auf die Bildung von 1,3,5-Trisilabenzol**

Von Asgeir Bjarnason* und Ingvar Arnason

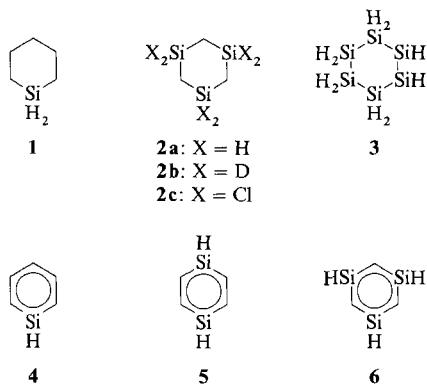
Vor einigen Jahren erschien ein umfassender Überblick über die Carbosilan-Chemie^[1], und eine Reihe von Silacyclohexanen sind schon länger bekannt, darunter C₅H₁₂Si **1**^[2], C₃H₁₂Si₃ **2a**^[3] und Si₆H₁₂ **3**^[4]. Die metallkatalysierte dreifache Dehydrierung des Kohlenstoff-Analogs Cyclohexan unter Bildung von Cyclohexatrien (Benzol) ist ebenfalls wohlbekannt. Dessen Monosila-Analogon, C₅H₆Si **4**, wurde bei tiefer Temperatur in einer Argonmatrix isoliert und charakterisiert, das gleiche gilt für 1,4-Disilabenzol **5**^[5], während unseres Wissens aber bisher weder C₃H₆Si₃ **6** noch Si₆H₆ nachgewiesen werden konnten. Wir berichten nun über C₃H₆Si₃, C₃H₈Si₃ und C₃H₁₀Si₃, die als Liganden bei Reaktionen von Fe⁺, Co⁺, Ni⁺, [CpFe]⁺, [CpCo]⁺ und [CpNi]⁺ mit **2a** entstanden sind. Die Summensformeln der Liganden wurden zweifelsfrei bestimmt, über die Strukturen aber, besonders über die von C₃H₆Si₃, kann nur spekuliert werden, doch handelt es sich dabei möglicherweise um Trisilabenzol **6**.

[*] Dr. A. Bjarnason¹⁺¹, Prof. Dr. I. Arnason
Science Institute, University of Iceland
Dunhaga 3, IS-107 Reykjavik (Island)

[+] A. Bjarnason ist auch Adjunct Associate Professor am Department of Chemistry der University of Delaware, Newark, DE (USA).

[**] Diese Arbeit wurde vom University of Iceland Research Fund und von der Icelandic Science Foundation gefördert. Wir danken Prof. D. P. Ridge dafür, daß er uns Geräte zur Benutzung überlassen hat, und für hilfreiche Diskussionen.

Gasphasenreaktionen zwischen Metall-Ionen und organischen Verbindungen sind in den letzten Jahren von mehreren Forschungsgruppen ausführlich untersucht worden^[6]. Über Dehydrierungen von Cyclohexan durch Fe^{+} ^[7-9], Co^{+} ^[8-10], Ni^{+} ^[8, 9], $[\text{CpCo}]^{+}$ ^[11] und $[\text{CpNi}]^{+}$ ^[12] ist berichtet worden, und in allen Fällen – außer mit Ni^{+} – wurde die Eliminierung von bis zu drei H_2 -Molekülen festgestellt, wobei sich Benzol als Ligand bildete. Reaktionen zwischen Me-



tall-Ionen und Siliciumverbindungen in der Gasphase sind noch nicht ausführlich untersucht worden. Von besonderem Interesse für uns war die Arbeit von Beauchamp et al. über Methylsilane^[13], bei der die Eliminierung von molekularem Wasserstoff von einem einzelnen Siliciumatom nachgewiesen und deshalb eine Metall-Silicium-Doppelbindung im Produkt angenommen wurde. Die Bildung von koordiniertem Benzol aus Cyclohexan bei Reaktionen mit Metall-Ionen und ionischen Metallkomplexfragmenten veranlaßte uns zur Untersuchung der Reaktionen solcher Ionen mit **2a** in der Gasphase, da alle Versuche zur Erzeugung von **6** bislang fehlgeschlagen waren.

Die Produktverteilung bei Dehydrierungen von **2a** mit M^{+} und $[\text{CpM}]^{+}$ zeigt Tabelle 1. Es ist interessant,

Tabelle 1. Produktverteilung [%] bei Dehydrierungen von 1,3,5-Trisilacyclohexan **2** in Gegenwart von M^{+} und $[\text{CpM}]^{+}$.

| Reaktant-Ion | H_2 | Eliminierung von 2H_2 | 3H_2 |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|---------------|
| Fe^{+} | 86 | 13 | 1 |
| Co^{+} | 16 | 81 | 3 |
| Ni^{+} | 66 | 33 | 1 |
| $[\text{CpFe}]^{+}$ | 25 | 63 | 12 |
| $[\text{CpCo}]^{+}$ | 7 | 71 | 22 |
| $[\text{CpNi}]^{+}$ | 10 | 37 | 53 |

dass die Ionen $[\text{CpM}]^{+}$ besser geeignet sind, mehr als ein H_2 -Molekül aus **2a** abzuspalten, als die „nackten“ Metall-Ionen. $[\text{CpNi}]^{+}$ ist am effektivsten, was etwas überraschend ist: Wenn nämlich Struktur und Bindungsverhältnisse in $[\text{CpMC}_3\text{H}_6\text{Si}_3]^{+}$ analog zu denen in $[\text{CpMC}_6\text{H}_6]^{+}$ sind, wäre das Ion im Fall $M = \text{Ni}$ eine 20-Elektronen-, im Fall $M = \text{Co}$ eine 19-Elektronen- und im Fall $M = \text{Fe}$ eine 18-Elektronen-Spezies. Unter diesem Gesichtspunkt würde man erwarten, dass die Bildung des Eisenkomplexes gegenüber der des Nickelkomplexes begünstigt wäre.

Um herauszufinden, ob die Wasserstoffabspaltung nur aus dem Carbosilan erfolgt oder ob auch der Cp-Ligand an

dem Vorgang beteiligt ist, wurde isotopenmarkiertes $[[\text{D}_5]\text{CpFe}]^{+}$ mit **2a** umgesetzt. Dabei wurden zwar geringe Produktanteile (<5%) nachgewiesen, bei denen Deuterium abgespalten worden war, doch ließ die vorherrschende Eliminierungsreaktion den Cp-Liganden intakt.

Eine andere Frage, die sich angesichts der Ergebnisse von Beauchamp et al.^[13] stellte, war, ob eventuell Wasserstoff ausschließlich von Si eliminiert wird und ob das Metall dann möglicherweise eine Doppelbindung zu Si bildet. Die Dissoziationsenergien für Si-H- und C-H-Bindungen betragen 314 bzw. 414 kJ mol⁻¹^[11]. Da weniger Energie aufzubringen ist, um eine Si-H-Bindung aufzubrechen, und da weiterhin bei der Bindung zwischen dem Metall-Ion und Si die Möglichkeit zur Rückbindung besteht, war es von entscheidender Bedeutung festzustellen, welche Wasserstoffatome bei den Reaktionen eliminiert werden.

Dazu ließen wir **2b** mit M^{+} und $[\text{CpM}]^{+}$ reagieren und erhielten folgende Ergebnisse: Ni^{+} eliminiert nur D_2 (1 und 2 Äquivalente); Fe^{+} eliminiert H_2 , HD und D_2 im Verhältnis 0.2:0.6:1.0, doch die Eliminierung von zwei Äquivalenten molekularen Wasserstoffs tritt nur in geringem Umfang auf (Tabelle 1); bei Co^{+} dagegen ist die Abspaltung von nur einem Äquivalent molekularen Wasserstoffs von untergeordneter Bedeutung, und bei der Reaktion mit **2b** entstehen zwei Äquivalente molekularen Wasserstoffs als H_2 , HD oder $\text{H}_2 + \text{D}_2$, $\text{HD} + \text{D}_2$ und D_2 im Verhältnis 0.05:0.1:0.8:1.0. Diese Ergebnisse legen nahe, daß Ni^{+} Wasserstoff nur von Si abstrahiert und somit eventuell nur Bindungen zu den Siliciumatomen im Ring bildet. Fe^{+} und Co^{+} fördern nicht so ausschließlich die Wasserstoffabspaltung von den Siliciumatomen; die Eliminierung von HD weist hier auf die Bildung von Doppelbindungen zwischen C und Si hin. Bei den dreifachen Dehydrierungen mit $[\text{CpM}]^{+}$ konnte gezeigt werden, daß hauptsächlich Eliminierung von drei Äquivalenten HD und in geringerem Umfang von 2 $\text{HD} + \text{D}_2$ eintritt. Die Eliminierung von drei Äquivalenten D_2 wurde nur in Spuren festgestellt. Diese Beobachtungen stützen die Hypothese, daß das Hauptprodukt der dreifachen Dehydrierung drei Kohlenstoff-Silicium-Doppelbindungen enthält, d.h. 1,3,5-Trisilabenzol **6** (ligandiert) ist.

Die Untersuchung der kollisionsinduzierten Dissoziation (CID) kann wertvolle Informationen über die Struktur von Ionen in der Zelle eines FT-Massenspektrometers liefern; Jacobson und Freiser etwa wendeten diese Technik erfolgreich zur Untersuchung der Produkte der Reaktion von $[\text{CpCo}]^{+}$ mit Cyclohexan an^[11]. Sie fanden zum Beispiel, daß $[\text{Co}(\text{Cp})(\text{Benzol})]^{+}$ bei CID-Experimenten Benzol verliert, was mit einer stärkeren Co-Cp- als Co-Benzol-Bindung in Einklang ist. Wir führten nun CID-Untersuchungen an $[\text{CpNiC}_3\text{H}_6\text{Si}_3]^{+}$ (beschleunigt auf 90 eV E_{kin} der Ionen) mit Ar als Kollisionsgas durch. Neben den durch Abspaltung von einem, zwei und drei Wasserstoffmolekülen gebildeten Fragment-Ionen traten drei weitere bei m/z 123 (45%), 58 (35%) und 93 (20%) auf, die $[\text{CpNi}]^{+}$, $[\text{Ni}]^{+}$ bzw. $[\text{C}_5\text{H}_5\text{Si}]^{+}$ entsprechen. Das letzte Ion entsteht wahrscheinlich in einer Reaktionskaskade, denn bei Mehrfachkollision (höherer Argondruck) war es das vorherrschende Fragment-Ion, während die Intensität seines Signals unter Einfachkollisionsbedingungen relativ zu der des Signals für $[\text{CpNi}]^{+}$, das schließlich zum dominierenden Fragment-Ion wurde, geringer wurde. Diese Beobachtungen sind mit der vorgeschlagenen Struktur von $[\text{CpNiC}_3\text{H}_6\text{Si}_3]^{+}$ in Einklang.

Aus den Ergebnissen der CID-Experimente sowie der Deuterium-Markierungsuntersuchungen schließen wir, daß

bei den hier beschriebenen Umsetzungen Trisilabenzol **6** als Ligand entstanden ist. Angesichts dieser vielversprechenden Ergebnisse untersuchen wir derzeit weitere Reaktionen von Metall-Ionen und ionischen Metallkomplexfragmenten mit anderen siliciumhaltigen Verbindungen.

Experimentelles

Die Arbeits- und Meßmethode ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben worden [14] und sei deshalb hier nur kurz zusammengefaßt: Die Experimente wurden mit einem EXTREL-FTMS-2000-Fourier-Transformations-Massenspektrometer mit Doppelzellkonfiguration [15] durchgeführt. Fe^+ und $[\text{CpFe}]^+$ wurden aus $[\text{CpFe}(\text{CO})_2\text{I}]$ erzeugt, das in einem Probenschiffchen über das Direkteinlaßsystem in das Massenspektrometer gebracht wurde. Die Ionen wurden durch Elektronenstoß in der Ionenquelle erzeugt und in den Analysatorteil überführt. Die interessierenden Ionen wurden mit Doppelresonanztechniken [16] isoliert und dann mit **2a** oder **2b**, die durch zwei gepulst betriebene Ventile des diskontinuierlich arbeitenden Einlaßsystems in den Analysator eingelassen wurden, umgesetzt. Co^+ und $[\text{CpCo}]^+$ wurden analog aus $[\text{CoCp}_2]$, Ni^+ und $[\text{CpNi}]^+$ aus $[\text{CpNi}(\text{CO})_2\text{I}]$ erzeugt. Nur $[\text{CpNi}]^+$ mit dem Isotop ^{58}Ni wurde abgetrennt und mit dem Carbosilan umgesetzt. Der Reaktionsverlauf wurde durch Aufnahme von Massenspektren nach unterschiedlich langen Wartezeiten und/oder bei unterschiedlichen Probendrücken im Expansionsteil des diskontinuierlich arbeitenden Einlaßsystems verfolgt. Für die CID-Untersuchungen wurde über einen zweiten Satz von gepulst betriebenen Ventilen das Kollisionsgas Ar in den Analysatorteil eingelassen, nachdem die interessierenden Ionen isoliert und auf Geschwindigkeiten (90 eV) gebracht worden waren, die für ihre Dissoziation nach Kollision mit den Ar-Atomen ausreichten.

2a wurde nach einer Literaturvorschrift [3] aus **2c** hergestellt. **2b** wurde auf die gleiche Art synthetisiert, aber unter Verwendung von LiAlD_4 statt LiAlH_4 , und NMR-spektroskopisch charakterisiert.

Eingegangen am 14. Mai,
ergänzte Fassung am 22. August 1992 [Z 5346]

CAS-Registry-Nummern:

2a, 291-27-0; **2b**, 144436-83-9; **6**, 143587-15-9; Fe^+ , 14067-02-8; Co^+ , 16610-75-6; Ni^+ , 14903-34-5; $[\text{CpFe}]^+$, 61827-27-8; $[\text{CpCo}]^+$, 79075-58-4; $[\text{CpNi}]^+$, 52668-78-7.

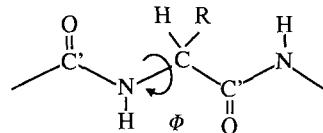
- [1] G. Fritz, E. Matern, *Carbosilanes: Syntheses and Reactions*, Springer, Berlin, 1986.
- [2] R. West, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 6012.
- [3] G. Fritz, H. Fröhlich, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1971**, *382*, 9.
- [4] a) E. Hengge, D. Kovar, *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 417; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1977**, *16*, 403; b) *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1979**, *459*, 123.
- [5] a) G. Maier, G. Mihm, H. P. Reisenauer, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 58; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 52; b) G. Meier, G. Mihm, R. O. W. Baumgartner, H. P. Reisenauer, *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 2337; c) G. Maier, K. Schöttler, H. P. Reisenauer, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4079.
- [6] Einige ausgewählte, typische Arbeiten auf diesem Gebiet: a) P. B. Armentrout, J. L. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 784; b) J. Wronka, D. P. Ridge, *ibid.* **1984**, *106*, 67; c) S. K. Huang, J. Allison, *Organometallics* **1983**, *2*, 883; d) Y. Huang, B. S. Freiser, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 387; e) A. K. Chowdhury, C. L. Wilkins, *ibid.* **1987**, *109*, 5336; f) N. Aristov, P. B. Armentrout, *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 6178; g) H. Schwarz, *Acc. Chem. Res.* **1989**, *22*, 282; h) A. Bjarnason, J. W. Taylor, *Organometallics* **1989**, *8*, 2020; i) A. Bjarnason, *ibid.* **1991**, *10*, 1244; ein neuer Übersichtsartikel ist: j) K. Eller, H. Schwarz, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1121.
- [7] G. D. Byrd, R. C. Burnier, B. S. Freiser, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3565.
- [8] D. B. Jacobson, B. S. Freiser, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7492.
- [9] D. B. Jacobson, B. S. Freiser, *Organometallics* **1984**, *3*, 513.
- [10] P. B. Armentrout, J. L. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6628.
- [11] D. B. Jacobson, B. S. Freiser, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7399.
- [12] a) J. Müller, W. Goll, *Chem. Ber.* **1973**, *106*, 1129; b) R. R. Cordeerman, Dissertation, California Institute of Technology, Pasadena, CA, USA, 1977.
- [13] H. Kang, D. B. Jacobson, S. K. Shin, J. L. Beauchamp, M. T. Bowers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5668.
- [14] a) A. Bjarnason, J. W. Taylor, J. A. Kinsinger, R. B. Cody, D. A. Weil, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1889; b) A. Bjarnason, J. W. Taylor, *Organometallics* **1990**, *9*, 1493.
- [15] R. B. Cody, Jr., J. A. Kinsinger, S. Ghaderi, J. J. Amster, F. W. McLafferty, C. E. Brown, *Anal. Chim. Acta* **1985**, *178*, 43.
- [16] a) M. B. Comisarow, V. Grassi, G. Parisod, *Chem. Phys. Lett.* **1978**, *57*, 413; b) A. G. Marshall, M. B. Comisarow, G. Parisod, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4434.

Bestimmung der $\text{H}^N\text{-H}^\alpha$ -Kopplungskonstanten in großen, isotopenmarkierten Proteinen**

Von Stephan Seip, Jochen Balbach und Horst Kessler*

Neue multidimensionale Pulsmethoden der NMR-Spektroskopie in Kombination mit vollständiger Isotopenanreicherung der wichtigen Kerne ^{15}N und ^{13}C ermöglichen die Strukturbestimmung von immer größeren Proteinen mit einem Molekulargewicht $> 30 \text{ kDa}$ ^[1–3]. Neben den NOE-Effekten gewinnen Kopplungskonstanten für die Konformationsbestimmung durch Moleküldynamikrechnungen immer mehr an Bedeutung^[4, 5]. Eine wichtige Rolle für die Definition der Rückgratkonformation kommt hierbei der $\text{H}^N\text{-H}^\alpha$ -Kopplungskonstanten zu (vgl. z.B. Lit. ^[6]), die den Wertebereich des Winkels ϕ des Peptidgerüsts einschränkt (Abb. 1). Sie kann bei kleinen Peptiden aus dem eindimen-

Abb. 1. Ausschnitt aus einer Poly-peptidkette mit Definition des Winkels ϕ . Dessen Wertebereich kann unter Einbeziehung der $\text{H}^N\text{-H}^\alpha$ -Kopplungskonstanten eingeschränkt werden.



sionalen Protonenspektrum abgelesen werden. Für kleine bis mittelgroße Proteine haben sich Methoden etabliert, die Kopplungskonstante aus Antiphasesignalen im COSY-Spektrum zu bestimmen^[7, 8]. Diese setzen allerdings voraus, daß ein Magnetisierungstransfer über eine homonukleare *J*-Kopplung möglich ist. Bei den größten NMR-spektroskopisch untersuchbaren, isotopenmarkierten Proteinen ($> 30 \text{ kDa}$) ist dies nicht mehr gegeben, sondern es muß eine Methode gewählt werden, die neben hoher Empfindlichkeit und ausreichender spektraler Dispersion die Heterokernkopplungen für den Magnetisierungstransfer nutzt. Zudem ist es wünschenswert, die gesuchte Kopplungskonstante unabhängig von der Signalbreite bestimmen zu können.

Für die Bestimmung dieser Kopplungskonstanten in isotopenangereicherten Molekülen wurden bereits mehrere Pulsmethoden vorgestellt^[9–11]. Sie basieren alle auf der Erzeugung von „E. COSY“-Mustern in der *F1/F3*-Ebene des dreidimensionalen Spektrums, in denen in der indirekt detektierten Dimension (*F1*) eine große Kopplung des direkt an das Proton gebundenen Heterokerns ($^1J_{\text{C},\text{H}}$) zur Trennung der Multiplettkomponenten verwendet wird. Durch die Separation in *F1* wird eine gegenseitige Beeinflussung der Multiplett-signale und eine damit verbundene Verfälschung der abgelesenen Kopplungskonstanten verhindert. Die interessierende $^3J_{\text{HN},\text{H}^\alpha}$ -Kopplung erzeugt eine Verschiebung der Multiplettsignale in der direkt detektierten Dimension und wird daher in *F3* (der Dimension mit der besten Auflösung) abgelesen.

Wir schlagen zwei Pulsmethoden vor, die nach demselben Prinzip arbeiten und mit denen, unter Optimierung der genannten Verfahren, die $^3J_{\text{HN},\text{H}^\alpha}$ -Kopplung mit hoher Empfindlichkeit auch bei sehr großen ($> 30 \text{ kDa}$) Proteinen bestimmt werden kann. Die Pulsmethoden (Abb. 2) korrelieren unter Verwendung der 1J -Kopplungen $^1J_{\text{N},\text{H}}$ (ca. 90 Hz) und $^1J_{\text{C},\text{H}}$ (ca. 11 Hz) die Kerne C^α , N und H^N (Abb. 1).

Die Pulsmethoden in Abbildung 2 regen über das NH-Proton und den Relay-Kern Stickstoff den α -Kohlenstoffkern an,

[*] Prof. Dr. H. Kessler, Dr. S. Seip, Dipl.-Chem. J. Balbach
Organisch-chemisches Institut der Technischen Universität München
Lichtenbergstraße 4, W-8046 Garching

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Die Autoren danken Prof. Dr. B. Erni und K. Flükiger für die Bereitstellung der $^{13}\text{C}/\text{U}^{15}\text{N}$ -markierten Probe der P13-Domäne. Stephan Seip dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Stipendium.