

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.  $\text{Fe}^+$  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.  $\text{Co}^+$  und  $[\text{CpCo}]^+$  wurden analog aus  $[\text{CoCp}_2]$ ,  $\text{Ni}^+$  und  $[\text{CpNi}]^+$  aus  $[\text{CpNi}(\text{CO})_2\text{I}]$  erzeugt. Nur  $[\text{CpNi}]^+$  mit dem Isotop  $^{58}\text{Ni}$  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  $\text{LiAlD}_4$  statt  $\text{LiAlH}_4$ , 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;  $\text{Fe}^+$ , 14067-02-8;  $\text{Co}^+$ , 16610-75-6;  $\text{Ni}^+$ , 14903-34-5;  $[\text{CpFe}]^+$ , 61827-27-8;  $[\text{CpCo}]^+$ , 79075-58-4;  $[\text{CpNi}]^+$ , 52668-78-7.

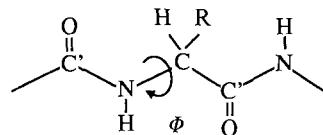
- [1] G. Fritz, E. Matern, *Carbosilanes: Syntheses and Reactions*, Springer, Berlin, 1986.
- [2] R. West, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 6012.
- [3] G. Fritz, H. Fröhlich, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1971**, *382*, 9.
- [4] a) E. Hengge, D. Kovar, *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 417; *Angew. Chem. 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  $^{15}\text{N}$  und  $^{13}\text{C}$  ermöglichen die Strukturbestimmung von immer größeren Proteinen mit einem Molekulargewicht  $> 30 \text{ kDa}$ <sup>[1–3]</sup>. Neben den NOE-Effekten gewinnen Kopplungskonstanten für die Konformationsbestimmung durch Moleküldynamikrechnungen immer mehr an Bedeutung<sup>[4, 5]</sup>. Eine wichtige Rolle für die Definition der Rückgratkonformation kommt hierbei der  $\text{H}^N\text{-H}^\alpha$ -Kopplungskonstanten zu (vgl. z.B. Lit. <sup>[6]</sup>), die den Wertebereich des Winkels  $\phi$  des Peptidgerüsts einschränkt (Abb. 1). Sie kann bei kleinen Peptiden aus dem eindimen-

Abb. 1. Ausschnitt aus einer Poly-peptidkette mit Definition des Winkels  $\phi$ . 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<sup>[7, 8]</sup>. 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<sup>[9–11]</sup>. 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  $\text{C}^\alpha$ ,  $\text{N}$  und  $\text{H}^N$  (Abb. 1).

Die Pulsmethoden in Abbildung 2 regen über das NH-Proton und den Relay-Kern Stickstoff den  $\alpha$ -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.

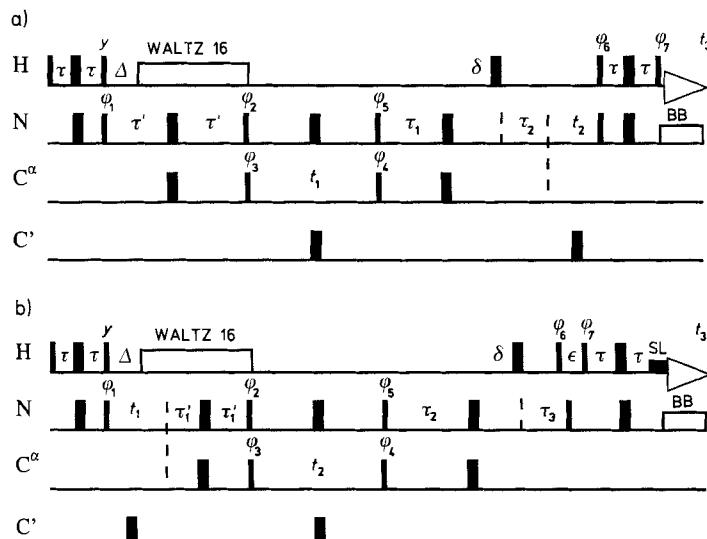


Abb. 2. Pulssequenzen zur Bestimmung der  $H^N$ - $H^a$ -Kopplungskonstanten in großen Proteinen. Beide Pulsfolgen korrelieren  $^{15}N$  mit  $^{13}C^a$  und  $H^N$ . Um eine selektive Anregung der  $C^a$ -Kohlenstoffkerne zu erreichen, wird die Pulsleistung des X-Senders auf 4 kHz reduziert, wodurch die erste Nullstelle der Anregungsfunktion im Bereich der Resonanz der  $C^a$ -Kohlenstoffkerne ist. Um die  $C^a$ -Spins selektiv zu invertieren, ohne die Transmitterfrequenz zu schalten, werden die 180°-Pulse auf  $C^a$  phasenmoduliert [2,3]. - a) Gekoppeltes HNCA (A steht für  $\alpha$ ) mit „constant-time“-Evolution der Stickstoff-Verschiebung und Jump-Return-Puls [13] zur selektiven Anregung der Amidprotonen.  $\tau = 2.25$ ,  $\Delta = 4.5$ ,  $\tau' = 13$ ,  $\tau_1 = 10$ ,  $\delta = 7.75$ ,  $t_2 = 2.25$  ms.  $\tau_1$  wird um die zunehmende  $t_2$ -Zeit dekrementiert. Die WALTZ-Entkopplung wird mit einem 8 kHz-Feld durchgeführt. Während des Relaxationsdäschens wird die Wasserlinie mit schwacher Leistung gesättigt. b) Gekoppelte HNCA mit „constant-time“-Evolution der Stickstoff-Verschiebung. Die Protonenfrequenz wird bei der Wasserresonanz in der Mitte des Spektrums eingestrahlt. Der Jump-Return-Puls bewirkt in dieser Sequenz eine sinusförmige Anregung des Spektrums. Damit werden zum einen die  $H^a$ -Protonen so gut wie nicht angeregt (Bedingung für das „E.COSY“-Muster), zum anderen wird die Wasserresonanz wirkungsvoll unterdrückt. Die Sequenz b) ist der Sequenz a) vorzuziehen, wenn eine Voraussetzung der Wasserresonanz nicht wünschenswert ist. Alle Parameter wie unter a) sowie:  $\tau_2 = 10$ ,  $\tau_3 = 2.25$  ms,  $\epsilon = 60 \mu s$  (für 600 MHz Protonenfrequenz),  $\tau'_1$  wird mit zunehmendem  $t_1$ -Zeit dekrementiert. - Der Phasencyclus für beide Experimente lautet:  $\phi_1 = x, x, -x, -x, \phi_2 = x, x, -x, -x, \phi_3 = x, \phi_4 = 8(x), 8(-x), \phi_5 = 16(x), 16(-x), \phi_6 = x, -x, \phi_7 = -x, x$ , Empfänger =  $x, -x, -x, x, x, x, -x, 2(-x, x, x, -x, -x, -x, x), x, -x, -x, x, -x, x$ . Alle anderen Pulse kommen aus  $x$ .

der in  $F1$  als Antiphasenmagnetisierung zu  $^{15}N$  unter Kopplung mit dem Proton evolviert. Nach Evolution von  $^{15}N$  in  $t_2$  wird die Magnetisierung auf Protonen übertragen und nach der Refokussierung unter  $^{15}N$ -Entkopplung detektiert. Das „E.COSY“-Muster der  $C^a(F1)$ - $H^N(F3)$ -Kreuzpeaks wird dadurch erreicht, daß die Spinzustände des passiv koppelnden  $H^a$ -Protonen nicht gemischt werden<sup>[12]</sup>. Dazu wird eine „Jump-Return“-Pulsfolge am Ende des Experiments verwendet, die einen  $H^N$ -selektiven 90°-Puls erzeugt<sup>[13]</sup>.

Bei der Anwendung auf große Proteine kommt der sorgfältigen Wahl der Parameter Pulslängen und Wartezeiten eine besondere Bedeutung zu. Die Wartezeiten müssen unter expliziter Berücksichtigung des Relaxationsverhaltens der einzelnen Kerne optimiert werden. Für  $2\tau'$  gilt Gleichung (a), für  $\tau_1 + \tau_2 + \delta$  Gleichung (b), d.h.  $\tau_1 + \tau_2 + \delta$  sollte kürzer gewählt werden als  $2\tau'$ , da die  $2N_{x,y}H_z$ -Antiphasenmagnetisierung aufgrund der starken dipolaren Relaxation mit dem Proton eine kürzere  $T_2$ -Zeit aufweist als die  $^{15}N$ -In-Phase-Magnetisierung, die während  $2\tau'$  vorliegt<sup>[14]</sup>.

$$A(\tau') = \sin(\pi^1 J_{N,C} 2\tau') \cos(\pi^2 J_{N,C} 2\tau') \exp(2\tau'/T_{2,N(SQ)}) \quad (a)$$

$$A(\tau_1, \tau_2, \delta) = \sin(\pi^1 J_{N,C} (\tau_1 + \tau_2 + \delta)) \cdot \cos(\pi^2 J_{N,C} (\tau_1 + \tau_2 + \delta)) \exp((\tau_1 + \tau_2 + \delta)/T_{2,NH}) \quad (b)$$

Die  $T_2$ -Zeiten können aus HSQC- oder refokussierten HSQC-Spektren ermittelt werden (HSQC = Heteronuclear Single Quantum Correlation)<sup>[15]</sup>.

Die Extraktion der Kopplungskonstanten erfolgt in der  $F1/F3$ -Ebene. Die Dispersion der  $^{15}N$ -Dimension ( $F2$ ) hebt die bei Proteinen dieser Größe unvermeidlichen Überlagerungen in zweidimensionalen  $^{13}C$ , Heterokern-Korrelationspektren auf.

Am Beispiel des  $C^a$ - $H^N$ -Kreuzpeaks von  $Leu^{25}$  in der vollständig  $^{13}C$ / $^{15}N$ -markierten Mannose-Permease-Domäne P13<sup>[16]</sup> (31 kDa) wird die Auswertung eines  $H^a$ -gekoppelten HNCA-Spektrums gezeigt (Abb. 3). Aufgrund der relativ schlechten Digitalisierung des 3D-Spektrums wird die Kopplungskonstante, analog wie bei der DISCO-Prozedur<sup>[17]</sup>, am besten an herausgelesenen Reihen bestimmt. Mit der Pulsfolge aus Abbildung 2b konnte in unserem Fall ein nahezu identisches Spektrum erhalten werden, wobei hier die Auswertung in der  $F2/F3$ -Ebene erfolgt.

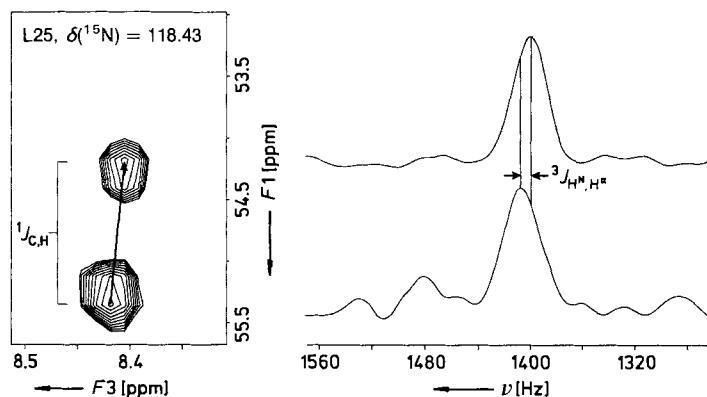


Abb. 3. Anwendung der in Abbildung 2a gezeigten Pulssequenz auf eine 1 mM Lösung der doppelmarkierten P13-Domäne, einer homodimeren Untereinheit der Mannose-Permease von *E. coli*. Das Experiment wurde an einem Bruker-AMX600-Spektrometer, ausgerüstet mit einem Dreikanal-Interface und einem Tripleresonanzprobenkopf, durchgeführt. Es wurden mit 32 Durchläufen  $128 \times 54 \times 512$  reelle Punkte in  $F1$ ,  $F2$  und  $F3$  aufgenommen. Die gesamte Meßzeit betrug 74 Stunden. Das Spektrum wurde in allen Dimensionen mit einer um 70° verschobenen  $\sin^2$ -Funktion apodisiert. Die Datenmatrix hatte die Größe von  $128 \times 64 \times 512$  reellen Punkten. Links: Schnitt aus dem 3D-Spektrum bei einer Stickstoff-Verschiebung von  $\delta = 118.43$ . Der  $C^a$ - $H^N$ -Kreuzpeak von  $Leu^{25}$  ist gezeigt. Das „E.COSY“-Muster ist deutlich zu erkennen. Zur Bestimmung der Kopplungskonstanten wurden zwei Reihen entlang der Maxima in  $F1$  herausgelesen und invers Fourier-transformiert. Nach Auffüllung mit Nullen auf 8192 Punkte wurde zurücktransformiert. Die Verschiebung beider Signalmaxima relativ zueinander ergibt die gesuchte Kopplungskonstante (rechts). Sie beträgt im Fall von  $Leu^{25}$  8.0 Hz. Der Fehler wird zu  $\pm 1$  Hz geschätzt.

Die hier vorgestellten Experimente ermöglichen es, die homonukleare  $^3J_{HN,Ha}$ -Kopplungskonstante auch in großen Proteinen zu bestimmen, in denen wie in dem hier untersuchten eine direkte Korrelation der Protonen über COSY oder TOCSY nicht mehr möglich ist. Die Kopplungskonstanten sind zusammen mit Abständen aus NOESY-Spektren eine wesentliche Grundlage für die NMR-spektroskopische Bestimmung von Proteinstrukturen in Lösung.

Eingegangen am 12. August 1992 [Z 5514]

CAS-Registry-Nummer:  
Mannose-Permease, 99442-22-5.

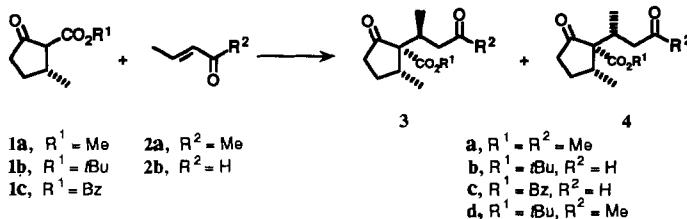
- [1] M. Ikura, L. E. Kay, A. Bax, *Biochemistry* **1990**, *29*, 4659–4667.
- [2] G. M. Clore, A. M. Gronenborn, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1991**, *23*, 43–92.
- [3] L. E. Kay, M. Ikura, R. Tschudin, A. Bax, *J. Magn. Reson.* **1991**, *91*, 422–428.
- [4] Y. Kim, J. H. Prestegard, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1990**, *8*, 377–382.

- [5] D. M. Mierke, H. Kessler, *Biopolymers* **1992**, *32*, 1277–1282.  
[6] M. Kurz, P. Schmieder, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1341–1342; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1329–1331.  
[7] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507–554; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 490–536.  
[8] Y. Kim, J. H. Prestegard, *J. Magn. Reson.* **1989**, *84*, 9–13.  
[9] G. T. Montelione, G. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5474–5475.  
[10] G. T. Montelione, G. Wagner, *J. Magn. Reson.* **1990**, *87*, 183–188; G. Wagner, P. Schmieder, V. Thanabal, *ibid.* **1991**, *93*, 436–440.  
[11] O. W. Sørensen, *J. Magn. Reson.* **1990**, *90*, 433–438.  
[12] C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1987**, *75*, 474–492.  
[13] L. Mueller, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4481–4484.  
[14] S. Campbell-Burk, P. Domaille, L. Mueller, *J. Magn. Reson.* **1991**, *93*, 171–176.  
[15] A. Bax, M. Ikura, L. E. Kay, D. A. Torchia, R. Tschudin, *J. Magn. Reson.* **1990**, *86*, 304–318.  
[16] B. Erni, B. Zanolari, H. P. Kocher, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 5238–5247.  
[17] H. Kessler, A. Müller, H. Oschkinat, *Magn. Reson. Chem.* **1985**, *23*, 844–852.

## K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>- oder Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-katalysierte diastereoselektive Drei-Zentren-Michael-Addition von β-Ketoestern an prosterioreogene α,β-ungesättigte Carbonylverbindungen\*\*

Von Nicole Ouvrard, Jean Rodriguez\* und Maurice Santelli

Bei unseren Arbeiten<sup>[1]</sup> zur Synthese des Prelog-Djerassi-Lactons<sup>[2]</sup> kam uns die Idee, daß die Michael-Addition<sup>[3]</sup> eines β-Ketoesters an eine α,β-ungesättigte Carbonylverbindung ein weiterer attraktiver und direkter Weg zu dem entscheidenden Zwischenprodukt sein könnte. Die (2S,3R)-β-Ketoester **1**<sup>[4]</sup> dienten als Modellsubstrate für unsere Untersuchung (Schema 1). Das richtige (2R,3S)-Enantiomer kann aus leicht zugänglichem (S)-(–)-Pulegon erhalten werden<sup>[1]</sup>.



Schema 1. Michael-Addition von β-Ketoestern an α,β-ungesättigte Carbonylverbindungen.

Die diastereoselektive Michael-Addition wurde in den letzten Jahren intensiv untersucht und ist eine der nützlichsten Methoden zur C-C-Verknüpfung<sup>[5]</sup>. Hier berichten wir über eine hochdiastereoselektive Drei-Zentren-Michael-Addition<sup>[6]</sup> durch Umsetzung von einfachen chiralen β-Ketoestern mit einer prosterioreogenen α,β-ungesättigten Carbonylverbindung, die einen stereokontrollierten Zugang zu drei benachbarten stereogenen Zentren ermöglicht<sup>[7]</sup>.

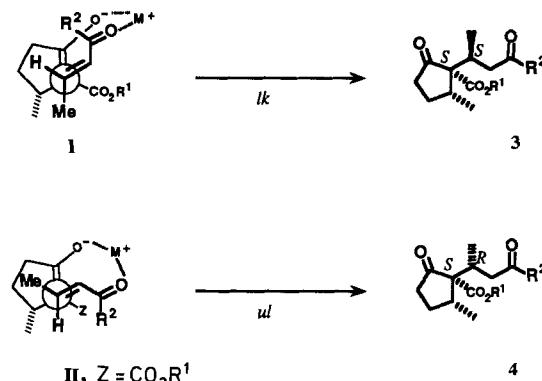
Bei der K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>- oder Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-katalysierten Reaktion von **1** mit den Michael-Aczeptoren **2** in Aceton wird von den vier möglichen Diastereomeren hochselektiv **3**<sup>[8]</sup> gebildet (Reaktion 1–7 in Tabelle 1)<sup>[10]</sup>. **3** entsteht in einer Reaktion mit

Tabelle 1. Michael-Addition von **1** an **2** in Gegenwart von 0,5 Äquivalenten Kalium- oder Caesiumcarbonat.

Reak-	1	2	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Bedingungen [a]	Ausb.	3:4 [c] [%]
1	a	a	Me	Me	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 40 °C, 6 h	[b]	70:30
2	a	a	Me	Me	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 20 °C, 7 d	52	80:20
3	a	b	Me	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 20 °C, 15 h	78	85:15
4	b	b	tBu	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 20 °C, 15 h	65	>95:5
5	b	b	tBu	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 57 °C, 3 h	67	77:23
6	c	b	Bz	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 20 °C, 15 h	65	>95:5
7	b	b	tBu	H	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , –30 °C, 5 h	70	>95:5
8	b	b	tBu	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> [d], –30 °C, 5 h	84	15:85
9	b	b	tBu	H	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> [e], –50 °C, 7 h	30	35:65
10	b	b	tBu	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> [f], –20 °C, 5 h	58	20:80
11	c	b	Bz	H	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> [f], –20 °C, 5 h	56	15:85
12	b	a	tBu	Me	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> [f], –20 °C, 72 h	87	<5:95

[a] Die Reaktionen 1–9 wurden in wasserfreiem Aceton durchgeführt. [b] Quantitativ, Bestimmung durch Gaschromatographie mit einer 20 m SE-30-Säule. [c] <sup>1</sup>H-NMR-Analyse (200 oder 400 MHz). [d] 0,25 Äquiv. [18]Krone-6. [e] 0,25 Äquiv. Dibenzoz[24]Krone-8. [f] Gemisch von Hexamethylphosphorsäuretriamid(HMPA)/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5:1) als Lösungsmittel und 0,25 Äquiv. 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan (Kryptofix 222).

relativer lk-Topizität<sup>[9]</sup> über einen cyclischen, synclinalen Übergangszustand **I**<sup>[5b]</sup> (Schema 2).



Schema 2. Mögliche cyclische Übergangszustände **I** und **II**.

Die Untersuchung von Molekülmodellen zeigt, daß im Übergangszustand **II** eine starke nichtbindende Wechselwirkung zwischen der Estergruppe des Michael-Donors und dem Carbonylteil der α,β-ungesättigten Verbindung besteht (Schema 2). Der Einfluß von R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> auf die Diastereoselektivität der Reaktion bei Raumtemperatur oder darunter unterstreicht diesen Befund. So beträgt das Verhältnis 3:4 nur 85:15 für R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = H (Reaktion 3), während mit R<sup>1</sup> = tBu oder Bz und R<sup>2</sup> = H fast ausschließlich **3** erhalten wird (Reaktion 4, 6 und 7).

In allen Fällen ist die diastereofaciale Kontrolle vollständig; dies ist wahrscheinlich eine Folge der fast planaren Struktur des Enolats von **1**. Aufgrund der Analogie mit verwandten Systemen kann man erwarten, daß dieses endocyclische Enolat ausschließlich von der dem Methylsubstituenten gegenüberliegenden Seite angegriffen wird<sup>[11]</sup>. Die höchste Diastereoselektivität erhält man mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bei Raumtemperatur (Reaktion 4 und 6) oder bei –30 °C mit Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> als Katalysator (Reaktion 7). Interessanterweise war bei einer früheren Untersuchung nur geringe oder keine Stereoselektivität bei der Addition eines einfachen cyclischen oder acyclischen β-Ketoesters an Ethylen-Malonsäuredimethylester mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> als Base gefunden worden<sup>[7a]</sup>. Unsere Ergebnisse scheinen das erste Beispiel für eine Drei-Zen-

[\*] Dr. J. Rodriguez, N. Ouvrard, Prof. Dr. M. Santelli

Laboratoire de Synthèse Organique associé au CNRS Centre de St-Jérôme boîte D12, F-13397 Marseille Cedex 13 (Frankreich)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von Rhône-Poulenc-Rorer (Vitry, Frankreich) gefördert. Dr. J. C. Barrière (Rhône-Poulenc-Rorer) danken wir für hilfreiche Diskussionen.