

[9] Kristallstrukturanalyse von **5**: Ein geeigneter Einkristall wurde aus einer Lösung in Toluol erhalten. $C_{22}H_{18}N_4S_2$, $M = 392.4 \text{ g mol}^{-1}$, Kristallgröße $0.3 \times 0.3 \times 0.6 \text{ mm}^3$, monoklin, Raumgruppe $C2/c$ (Nr. 15), $a = 1435.4(3)$, $b = 942.6(2)$, $c = 1311.4(4) \text{ pm}$, $\beta = 93.61(2)^\circ$, $V = 1.7707 \text{ nm}^3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.472 \text{ g cm}^{-3}$. Enraf-CAD-4-Diffraktometer, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 3.02 \text{ cm}^{-1}$, $T = 296 \text{ K}$, ω -Scan, 20-Bereich, $4-46^\circ$, maximale Meßzeit 120 s, Scanbreite $(1.2 + 0.35 \tan \theta)^\circ$, 1356 Reflexe gemessen, 1183 symmetrieeinabhängige, davon 1108 beobachtet [$I > 3\sigma(I)$]. Lösung mit SHELXS-86, Verfeinerung mit SHELXTL-PLUS, $R = 0.0392$, $R_w = 0.0413$, maximale Restelektronendichte $0.22/-0.27 \cdot 10^{-6} \text{ e pm}^{-3}$.

[10] a) K. Uchida, Y. Nakayama, M. Irie, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, *63*, 1311; b) A. Pawlick, W. Grahn, A. Reisner, P. G. Jones, L. Ernst, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2058; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1958.

[11] N. R. Krishnaswamy, C. S. S. R. Kumar, *Indian J. Chem. Sect. B* **1992**, *31*, 449.

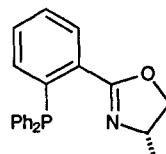
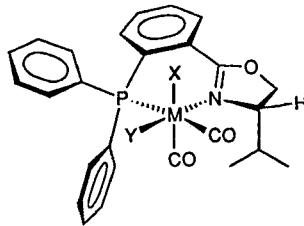
[12] Kristallstrukturanalyse von **7**: Ein geeigneter Einkristall wurde durch Umkristallisieren aus Ethanol erhalten. $C_{22}H_{18}N_4S_2$, $M = 394.48 \text{ g mol}^{-1}$, Kristallgröße $0.4 \times 0.47 \times 0.53 \text{ mm}^3$, monoklin, Raumgruppe $P2_1/c$ (Nr. 14), $a = 1264.1(3)$, $b = 908.3(2)$, $c = 1621.5(4) \text{ pm}$, $\beta = 98.33(2)^\circ$, $V = 1.8421 \text{ nm}^3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.422 \text{ g cm}^{-3}$. Enraf-CAD-4-Diffraktometer, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 2.909 \text{ cm}^{-1}$, $T = 294 \text{ K}$, ω -Scan, 20-Bereich $4-46^\circ$, maximale Meßzeit 60 s, Scanbreite $(0.9 + 0.35 \tan \theta)^\circ$, 2843 Reflexe gemessen, 2495 symmetrieeinabhängige, davon 2368 beobachtet [$I > 3\sigma(I)$]. Lösung mit SHELXS-86, Verfeinerung mit SHELXTL-PLUS, $R = 0.0291$, $R_w = 0.0310$, maximale Restelektronendichte $0.22/-0.19 \cdot 10^{-6} \text{ e pm}^{-3}$.

[13] V. S. Velezheva, V. P. Sevodin, V. Y. Erofeev, N. K. Genkina, T. A. Kozik, V. V. Vampilova, N. N. Suvorov, *Khim. Geterosikl. Soedin.* **1977**, 360; *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 102257c.

[14] F. D. Marsh, M. E. Hermes, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 4506.

[15] Wir danken Herrn Dr. U. Thibaut, Fa. Byk-Gulden, Konstanz, für die Durchführung der AM1-Rechnungen.

[16] W. Schroth, persönliche Mitteilung, **1990**; W. Schroth, E. Hintzsche, M. Felicetti, R. Spitzner, J. Sieler, R. Kempe, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 808; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 739; W. Schroth, E. Hintzsche, H. Viola, R. Winkler, H. Klose, R. Boese, R. Kempe, J. Sieler, *Chem. Ber.* **1993**, *127*, 401; W. Schroth, M. Felicetti, E. Hintzsche, R. Spitzner, M. Pink, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1977.



2a $R = i\text{Pr}$

2b $R = \text{Me}$

2c $R = \text{CH}_2\text{Ph}$

2d $R = \text{Ph}$

2e $R = t\text{Bu}$

2f $R = i\text{Bu}$

1a $M = W, X = \text{Cl}, Y = \text{Allyl}$

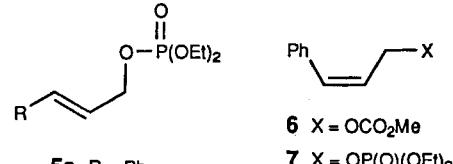
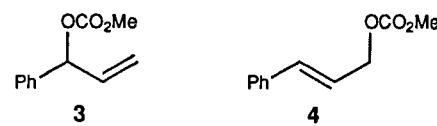
1b $M = W, X = \text{Br}, Y = 1\text{-Phenylallyl}$

1c $M = W, X = \text{CH}_3\text{CN}, Y = \text{CO}$

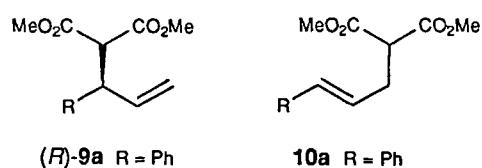
1d $M = W, X = \text{CO}, Y = \text{CO}$

1e $M = \text{Mo}, X = \text{CH}_3\text{CN}, Y = \text{CO}$

In ersten Versuchen wurde das racemische Carbonat **3** mit $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ (2.6 Äquiv.) als Nucleophil in Gegenwart von 9 Mol-% **1a** in THF bei 60°C umgesetzt. Dabei wurden (*S*)-**9a** und **10a** in 71 % Gesamtausbeute mit ermutigender Regioselektivität (**9a**:**10a** = 78:22) erhalten; die Enantioselektivität lag jedoch bei enttäuschenden 5 % ee. In Abwesenheit des Katalysators wurde keine Reaktion beobachtet. Die primären Carbonate



5a $R = \text{Ph}$ **6** $X = \text{OCO}_2\text{Me}$
7 $X = \text{OP}(\text{O})(\text{OEt})_2$ **8** $X = \text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$



(R)-9a $R = \text{Ph}$ **10a** $R = \text{Ph}$

4 und **6** reagierten nicht; das entsprechende Diethylphosphat **5a** hingegen wurde glatt zu einem 23:77-Gemisch von (*R*)-**9a** (82 % ee) und **10a** in 75 % Gesamtausbeute umgesetzt. Ausgehend vom (*Z*)-Isomer **7** wurden (*S*)-**9a** (17 % ee) und **8** in 55 % Gesamtausbeute erhalten (**9a**:**8** = 18:82). Kontrollexperimente zeigten, daß die Regioselektivitäten, nicht aber die Enantioselektivitäten durch die entsprechenden unkatalysierten Reaktionen beeinträchtigt werden^[17]. Stöchiometrische Umsetzungen der Komplexe **1a** oder **1b** mit einem Überschuß an $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ führten überraschenderweise lediglich zur Freisetzung des Liganden **2a** und nicht zu den erwarteten Alkylierungsprodukten. Nach Zugabe von **5a** zum Reaktionsgemisch wurde hingegen eine langsame Bildung von **9a** und **10a** beobachtet.

Ein sowohl reaktiver als auch selektiver Katalysator wurde nach folgendem Verfahren erhalten: $[\text{W}(\text{CO})_3(\text{CH}_3\text{CN})_3]$ oder $[\text{W}(\text{cycloheptatrien})(\text{CO})_3]$ (10 Mol-%) wurden zunächst mit **2a** umgesetzt (60°C , THF, 30 min), dann mit $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ (2.6 Äquiv., THF, 60°C , 2 h) und schließlich mit dem

Chirale Phosphonodihydrooxazole in der asymmetrischen Katalyse: Wolfram-katalysierte allylische Substitution**

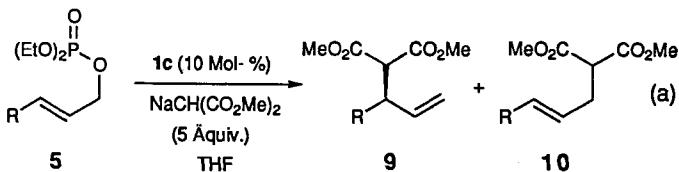
Guy C. Lloyd-Jones und Andreas Pfaltz*

Die enantioselektive Pd-katalysierte allylische Substitution ist in den letzten Jahren sehr intensiv und mit beachtlichem Erfolg erforscht worden^[1-3], und in bestimmten Fällen lassen sich heute sehr hohe Enantioselektivitäten erzielen. Andere Übergangsmetallkatalysatoren für diese Reaktion haben weit weniger Beachtung gefunden. Aus der Gruppe 6 sind Allylmolybdänkomplexe von Faller et al.^[4] als Substrate für stöchiometrische stereoselektive Alkylierungen untersucht worden, während Trost et al.^[5] als erste achirale Molybdän- und Wolframkatalysatoren beschrieben haben, die oft mit umgekehrter Regioselektivität reagieren wie die entsprechenden Palladiumkatalysatoren. Wir berichten hier über die Eigenschaften von Wolframkomplexen (**1**) chiraler Phosphonodihydrooxazole **2**^[2c, d, 3b] als Katalysatoren für die enantioselektive allylische Substitution^[6].

[*] Prof. Dr. A. Pfaltz, Dr. G. C. Lloyd-Jones
Institut für Organische Chemie der Universität
St.-Johanns-Ring 19, CH-4056 Basel (Schweiz)
Telefax: Int. + 61/322-6966

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung und von der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, gefördert. G. C. L.-J. dankt der Royal Society (London) für ein Postdoktorandenstipendium. Wir danken Herrn Jürg Lehmann für die Synthese der Substrate **5a-e**.

entsprechenden Allylphosphat bei Temperaturen von -30 bis 60°C . Die Reihenfolge der Zugabe^[8] sowie der sorgfältige Ausschluß von Sauerstoff waren dabei entscheidend. Ausgehend von **5a** kann nach dieser Vorschrift (*R*)-**9a** in guter Ausbeute und mit hoher Enantioselektivität erhalten werden (-10°C : 95% Ausbeute an **9a** + **10a** (72:28), 96% *ee*; 25°C : 97% Ausbeute (69:31), 92% *ee*). Die gleichen Selektivitäten bei etwas höherer Reaktionsgeschwindigkeit lassen sich mit **1c** als Katalysatorvorläufer erzielen [Tabelle 1, Gl.(a)][¹⁹]. Andere Arylprope-



nylphosphate **5b**–**e** ergeben ähnlich hohe Regio- und Enantioselektivitäten^[10]. (*E*)-2-Butenylphosphat **5f** jedoch reagiert mit umgekehrter Regioselektivität und mäßiger Enantioselektivität. Der analoge Mo-Komplex **1e** ergibt keine brauchbaren Ergebnisse unter diesen Bedingungen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Enantioselektive allylische Alkylierung mit **1c** als Katalysator [Gl.(a)][a].

Substrat R	T [°C]	t [h]	Ausb.[b] (9 + 10)[%]	9 : 10	<i>ee</i> von 9 [%] [c]
5a Ph	-10	71	89	74:26	96 (<i>R</i>)
5b 4-MeC ₆ H ₄	-13	208	92	80:20	95 (<i>R</i>)
	25	136	86	80:20	94 (<i>R</i>)
5c 4-ClC ₆ H ₄	-13	214	95	80:20	89 (<i>R</i>)
	25	136	94	78:22	88 (<i>R</i>)
5d 4-PhC ₆ H ₄	-13	228	98	79:21	90 (<i>R</i>)
	25	136	98	79:21	91 (<i>R</i>)
5e 1-Naphthyl	-13	228	80	96:4	87 (<i>R</i>)
	25	136	93	95:5	86 (<i>R</i>)
5f Me	25	19	77	27:73	65
5a Ph[d]	25	71	28	12:78	61 (<i>R</i>)
7	25	84	84[e]	66:34[e]	30 (<i>S</i>)

[a] 10 Mol-% **1c**; Bedingungen: vgl. Experimentelles. [b] Ausbeuten an **9** und **10** nach säulenchromatographischer Aufarbeitung. [c] Bestimmt durch HPLC (Chiralcel OJ). Bestimmung der absoluten Konfiguration: (*S*)-(*–*)-**9a** wurde in (*S*)-(+)-Phenylbersteinsäuredimethylester überführt. Dies bestätigte die frühere Zuordnung, die auf mechanistischen Annahmen beruhte[4c]. (*R*)-(+)-**9b**–**d**: durch CD-Vergleich mit (*R*)-(+)-**9a**. (*R*)-(+)-**9e**: durch Vergleich des CD-Spektrums des entsprechenden 5,6,7,8-Tetrahydronaphthylpropyl-Derivats (hergestellt durch Hydrierung an Pt/Al₂O₃, 50 bar H₂, AcOH) mit dem Spektrum des Phenylpropyl-Derivats aus der Hydrierung von (*R*)-(+)-**9a**. [d] Als Katalysator wurde der *in situ* hergestellte Mo-Komplex **1e** verwendet. [e] Als Produkte wurden (*S*)-**9a** und **8** erhalten (das (*E*)-Isomer **10a** wurde nicht beobachtet).

Wolframkomplexe der Phosphanodihydrooxazole **2b**,**c** zer- setzen sich bei der Herstellung, während sterisch anspruchsvollere Liganden (**2d**–**f**) die Reaktivität und Selektivität des Katalysators drastisch herabsetzen. (*E/Z*)-Isomerisierungs- oder Epimerisierungsreaktionen, wie sie in analogen Pd-katalysierten Prozessen beobachtet werden^[11], treten mit den hier beschriebenen W-Katalysatoren nicht auf; dies ist in Einklang mit den Erfahrungen von Trost et al.^[5b]. So liefert **7**, im Gegensatz zum (*E*)-Isomer **5a**, das (*S*)-Enantiomer von **9a** in 30% *ee*. Daneben wird das (*Z*)-Olefin **8**, jedoch kein (*E*)-Isomer **10a** gebildet.

Der aus **1c** generierte aktive Komplex ist das erste Beispiel eines enantioselektiven Wolframkatalysators für die allylische Alkylierung. Die Regio- und Enantioselektivitäten, die mit

Arylpropenylphosphaten **5a**–**e** erhalten werden, sind umgekehrt wie bei der Verwendung analoger Pd(phosphanodihydrooxazol)-Katalysatoren^[11]. Unsere Ergebnisse sind ein weiterer Beleg für die Nützlichkeit von Phosphano-dihydrooxazol-Liganden^[2c, d, 3b] in der asymmetrischen Katalyse.

Experimentelles

Alle Arbeiten wurden an einer Vakuumlinie unter Argon mit entgasten Lösungsmitteln durchgeführt.

1c: Eine Suspension von $[\text{W}(\text{CO})_3(\text{CH}_3\text{CN})_3]$ [12] (0.767 mmol) in THF (15 mL) und **2a** (1.34 mmol) wurde unter kräftigem Rühren 3 h auf 60°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 25°C abgekühlt, filtriert und die dunkelrote Lösung vorsichtig mit 20 mL Hexan überschichtet. Nach vollständiger Diffusion (9 d) wurden die gebildeten dunkelroten Quadrate durch Filtration abgetrennt, mit 2×20 mL THF/Hexan (1:1) gewaschen und im Vakuum getrocknet (364 mg **1c** als 1:1-Komplex mit THF; 63%)[6]. Korrekte Elementaranalyse für $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_1\text{O}_5\text{PW}$; IR(KBr): $\tilde{\nu}_{\text{CO}} = 1907\text{cm}^{-1}$, 1792cm^{-1} .

Allylische Substitution: In einem Handschuhkasten unter N_2 wurde **1c** (0.026 mmol) in einer Ampulle mit Magnetrührer und Young-Teflon-Drehverschluß gefüllt. An einer Vakuumlinie wurden 2 mL THF zugegeben und das Gemisch unter Argon bei 25°C 2 h gerührt. Die erhaltenen tief purpurroten Lösung wurde mit $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ versetzt (1.36 mmol in 1.4 mL THF). Nach weiteren 2 h bei 25°C wurde die rote Katalysatorlösung eingefroren (flüssiger N_2) und mit einer Lösung von **5b** (0.26 mmol) in 2 mL THF überschichtet. Die Ampulle wurde verschlossen und rasch auf -13°C aufgewärmt. Nach 208 h bei -13°C wurden 3 mL 2.8 M wäßrige NH_4Cl -Lösung zugegeben und das Gemisch mit CH_2Cl_2 extrahiert. Trocknen über Na_2SO_4 , Einengen und anschließende Reinigung des Rohprodukts (¹H-NMR: **9b**:**10b** = 80:20) durch Säulenchromatographie (Kieselgel, 2.5 \times 25 cm; Hexan/EtOAc 9:1) lieferte (*R*)-**9b** (52 mg, 73%) als farbloses Öl. $[\alpha]_D = +40.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3 , 24°C); HPLC (Chiralcel OJ; 0.46 \times 25 cm, 0.5 mL min^{-1} , Hexan/iPrOH 93:7, Detektion bei 220 nm): $t_{\text{R}} = 42.8$ min (*R*), $t_{\text{R}} = 48.5$ min (*S*). Ein Ansatz mit der zehnfachen Menge **5a** lieferte ähnliche Ergebnisse.

Ein eingegangen am 1. September 1994 [Z 7284]

Stichworte: Alkylierungen · Asymmetrische Synthesen · Dihydrooxazole · Katalyse · Wolframverbindungen

[1] Übersichten: G. Consiglio, R. M. Waymouth, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 257; C. G. Frost, J. Howarth, J. M. J. Williams, *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, *3*, 1089; T. Hayashi in *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Hrsg.: I. Ojima), VCH, New York, **1993**, *S*, 325–365.

[2] Vergleiche beispielsweise a) T. Hayashi, *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 7; b) B. M. Trost, R. C. Bunt, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4089; c) J. Sprinz, M. Kiefer, G. Helmchen, M. Reggelin, G. Huttner, O. Walter, L. Zsolnai, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1523; d) G. J. Dawson, C. G. Frost, J. M. J. Williams, S. J. Coote, *ibid.* **1993**, *34*, 3149; e) J. M. Brown, D. I. Holmes, P. J. Guiry, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4493; f) A. Togni, C. Breutel, A. Schnyder, F. Spindler, H. Landert, A. Tijani, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4062; g) D. Tanner, P. G. Andersson, A. Harden, P. Somfai, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4631.

[3] a) A. Pfaltz, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 339; b) P. von Matt, A. Pfaltz, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 614; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 566; P. von Matt, O. Loiseleur, G. Koch, A. Pfaltz, C. Lefèbvre, T. Feucht, G. Helmchen, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 573.

[4] a) J. W. Faller, M. R. Mazzieri, J. T. Nguyen, J. Parr, M. Tokunaga, *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 1463; b) J. W. Faller, K.-H. Chao, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3893; c) J. W. Faller, C. Lambert, M. R. Mazzieri, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *383*, 161.

[5] a) Molybdän: B. M. Trost, M. Lautens, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5543; *ibid.* **1983**, *105*, 3344; *ibid.* **1987**, *109*, 1469; *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4817; B. M. Trost, C. A. Merlic, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9590; b) Wolfram: B. M. Trost, M.-H. Hung, *ibid.* **1983**, *105*, 7757; *ibid.* **1984**, *106*, 6837; B. M. Trost, G. B. Tometzki, M.-H. Hung, *ibid.* **1987**, *109*, 2176.

[6] Synthesen und Röntgenstrukturanalysen der Komplexe **1a**–**d**: G. C. Lloyd-Jones, A. Pfaltz, *Z. Naturforsch. B*, im Druck.

[7] Die unkatalysierten Reaktionen (c Substrat) = 0.09 M in THF, 2.6 Äquiv. $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$, 60°C) führen ausschließlich zu den achiralen Regioisomeren (81% **10a** ausgehend von **5a** nach 18 h; 58% **8** ausgehend von **7** nach 24 h). Bei -13°C : ca. 1% Umsetzung in 2 Wochen (0.07 M **5a**, 5.5 Äquiv. $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$).

[8] Behandelt man $[\text{W}(\text{CO})_3(\text{CH}_3\text{CN})_3]$ mit $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ in Gegenwart von **2a**, ergibt dies einen Katalysator mit viel geringerer Aktivität. In Abwesenheit von $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ reagiert $[\text{W}(\text{CO})_3(\text{CH}_3\text{CN})_3]$ mit **2a** und **5a** bzw. **7** vermutlich zu Komplexen vom Typ **1b**, was sich negativ auf die Reaktivität und

- die Regioselektivität auswirkt. Die Erfahrung, daß $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2$ vor dem Substrat zugegeben werden sollte, wurde auch mit W(bpy)-Katalysatoren gemacht (Lit.[5b]).
- [9] $[\text{W}(\text{CO})_3(\text{CH}_3\text{CN})_3]$ reagiert mit **2a** (laut ^1H - und ^{31}P -NMR-Spektrum, in $[\text{D}_8]\text{THF}$) zu einem Gemisch von **1c**, **1d** und $[(\text{2a})_2\text{W}(\text{CO})_3]$, dessen Zusammensetzung vom Verhältnis der Edukte abhängt (Lit.[6]). **1d** zeigt keine katalytische Aktivität.
- [10] Die Substrate **5a–e** wurden aus den entsprechenden aromatischen Aldehyden hergestellt: 1) $\text{CH}_2=\text{CHMgCl}$, THF , 25°C , $60\text{--}83\%$; 2) Ac_2O , Et_3N , DMAP , CH_2Cl_2 , 25°C , $86\text{--}96\%$; 3) $[\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_2\text{Cl}_2]$ (1 Mol-%), THF , 25°C , $68\text{--}97\%$; 4) MeOH , K_2CO_3 (katal.), 25°C , $47\text{--}81\%$; 5) $(\text{EtO})_2\text{POCl}$, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, DMAP , CH_2Cl_2 , 25°C , $50\text{--}80\%$.
- [11] P. von Matt, Dissertation, Universität Basel, 1993.
- [12] D. P. Tate, W. R. Knipple, J. M. Augl, *Inorg. Chem.* **1962**, *1*, 433.

Spektrum unsichtbar, und auch die Signale anderer Amidprotonen können durch Vorsättigung abgeschwächt werden.

Kürzlich wurde darauf hingewiesen^[2, 3], daß die Signale schnell austauschender Amidprotonen nicht nur durch Vorsättigung, sondern auch durch andere Methoden der Wassersignal-Unterdrückung, wie Spin-lock-Pulse^[7] oder gepulste Feldgradienten^[8], abgeschwächt werden, sofern das Wassersignal vor der Akquisition gesättigt wird. Wasserprotonen haben eine deutlich längere T_1 -Relaxationszeit (4–5 s) als Proteinprotonen. Da die Wartezeit zwischen zwei Scans auf Proteinprotonen-Relaxationszeiten optimiert ist, können die Wasserprotonen nicht annähernd zum thermischen Gleichgewicht relaxieren und verbleiben in einem semigesättigten Zustand, in dem die Magnetisierung vor dem nächsten Scan typischerweise weniger als 30 % der Gleichgewichtsmagnetisierung beträgt.

Zur Lösung dieses Problems sind mehrere Methoden beschrieben worden, die eine Sättigung des Wassersignals umgehen, es aber dennoch unterdrücken. Diese Methoden verwenden selektive Pulse auf die Wasserresonanz^[2], einen verbesserten Phasencyclus für die Protonenpulse^[3, 4] oder Strahlungsdämpfung als konstruktiven Baustein der Pulssequenz^[4]. Alle Methoden führen dazu, daß die Wassermagnetisierung vor oder kurz nach der Akquisition entlang der z -Achse wieder nahe dem thermischen Gleichgewicht ist. Selektive Pulse können wegen ihres Anregungsprofils unerwünscht sein^[9], und keine der beiden anderen Methoden beschreibt die Möglichkeit, Protonen über eine Composite-pulse-Sequenz zu entkoppeln, wenn der gewünschte Kohärenztransfer auf Kohlenstoff oder Stickstoff ist. Eine solche Art der Entkopplung ist wegen des günstigeren Relaxationsverhaltens zu bevorzugen^[10]. Allerdings ist nicht sofort einsichtig, wie eine Composite-pulse-Sequenz angewendet werden kann, wenn die Wassermagnetisierung vor der Akquisition in einem definierten Zustand (d. h. auf der $+z$ -Achse) enden soll: Zum einen muß scheinbar die Entkopplungszeit ein ganzzahliges Vielfaches eines Entkopplungscycles sein. Dies ist aber nicht praktikabel, wenn die Entkopplungszeit eine inkrementierte Wartezeit, z.B. die t_1 -Zeit, enthält. Zum anderen stören B_0 -Feldgradienten die Entkopplung und können nicht zur gleichen Zeit angewendet werden.

Die von uns hier vorgeschlagene Pulssequenzmodifizierung ermöglicht die Verwendung von Composite-pulse-Sequenzen beliebiger Länge, während die Empfindlichkeitssteigerung für schnell austauschende Amidprotonen beibehalten wird, weil die Wassermagnetisierung vor der Akquisition zurück ins thermische Gleichgewicht gebracht wird. Die Modifizierung wird am Beispiel des HNCA- und des HN(CO)CA-Experiments^[11, 12] in Abbildung 1 erläutert, kann aber auch auf eine Vielfalt anderer NMR-Experimente angewendet werden.

Die Pulssequenz des Constant-time(CT)-HNCA-Experiments (Abb. 1a) beginnt mit einer Anregung der Amidprotonen, deren Magnetisierung im darauffolgenden INEPT-Schritt auf ^{15}N übertragen wird. Während der Wartezeit, die zur Entwicklung der Kopplung von ^{15}N zu $^{13}\text{C}^2$ benötigt wird, refokussiert die Kopplung von ^{15}N zu ^1H und ist nach $1/2\cdot J(\text{N},\text{H})$, ungefähr 5.5 ms, vollständig refokussiert. Nach dieser Zeit sollte die Protonenentkopplung starten. Die Entkopplungsphase ist für die Proteinprotonen irrelevant, ist aber entscheidend, um die Wassermagnetisierung in einem definierten Zustand zu halten. Diese wurde durch den ersten 90° -Puls mit Phase x auf die $-y$ -Achse gebracht und verbleibt dort, weil ihre Resonanz der Sendefrequenz entspricht und durch die sich anschließenden Protonenpulse mit Phase y oder $-y$ nicht beeinflußt wird. Protonenentkopplung kann jetzt mit einer Entkopplungssequenz durchgeführt werden, die Pulse nur entlang einer Achse, nämlich der y -Achse, anwendet. Die DIPSI-2-Sequenz^[13] beispielsweise

Modifizierte Tripelresonanz-NMR-Experimente mit erhöhter Empfindlichkeit für schnell austauschende Protonen**

Wolfgang Jahnke und Horst Kessler*

Die mehrdimensionale NMR-Spektroskopie hat sich zur führenden Methode entwickelt, um Molekülstrukturen in Lösung hochauflöst zu bestimmen. Bei der Entwicklung neuer Pulssequenzen muß besonders auf eine hohe Empfindlichkeit der NMR-Experimente geachtet werden^[11]. Die schwächsten Signale in einem NMR-Spektrum stammen häufig von Amidprotonen, die schnell mit Protonen des Lösungsmittels Wasser austauschen, und oft sind bei der Untersuchung von Proteinen gerade diese schwachen Signale der Engpaß bei der Signalzuordnung und der Strukturaufklärung. Die Signale solcher schnell austauschender Amidprotonen können verstärkt werden, wenn das Wassersignal während der Pulssequenz nicht gesättigt wird^[2–4]. Wir beschreiben hier eine Modifizierung von Tripelresonanzexperimenten, bei der dieses Prinzip mit einer Protonenentkopplung durch Composite-pulse-Sequenzen kombiniert wird. Solche modifizierten Pulssequenzen verstärken die sonst schwachen Signale schnell austauschender Amidprotonen bis zu 50 %.

Biologische Makromoleküle wie Proteine oder Nucleinsäuren werden meist in wässriger Lösung und unter semiphysiologischen Bedingungen, d. h. bei etwa neutralem pH, untersucht. Unter diesen Bedingungen tauschen Protonen der untersuchten Substanz (z.B. ein Protein) und des Lösungsmittels Wasser aus. Neben den Protonen ionisierbarer Gruppen in den Seitenketten tauschen Amidprotonen des Proteinrückgrates mit den Wasserprotonen aus, wobei die Austauschgeschwindigkeit von reziproken Millisekunden bis reziproken Monaten reicht. Der Protonenaustausch war das Thema zahlreicher Studien^[5, 6], und es ist abzusehen, daß dieses dynamische Phänomen zum besseren Verständnis der Struktur und Dynamik von Proteinen und Nucleinsäuren beitragen kann. Protonenaustausch hat jedoch auch seine schlechten Seiten. Sehr rasch austauschende Protonen, z.B. von Hydroxygruppen der Proteinseitenketten und Amidprotonen am N-Terminus eines Proteins, sind in der Regel im

[*] Prof. Dr. H. Kessler, Dipl.-Chem. W. Jahnke
Institut für Organische Chemie und Biochemie der
Technischen Universität München
Lichtenbergstraße 4, D-85747 Garching
Telefax: Int. + 89/3209-3210

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie (H. K.) sowie durch ein Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes (W. J.) unterstützt. Wir danken Dr. Gerd Gemmecker für anregende Diskussionen.