

tion in t_2 (Abb. 2). Die Experimente an einem Komplex aus vollständig $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -markiertem Calmodulin und C20W, einer Calmodulinerkennungssequenz der Plasmamembran-Calciumpumpe^[10], wurden mit gleicher Meßzeit durchgeführt. Wir wählten als Bezugspunkt für das Signal/Rausch-Verhältnis Experiment a mit $1/\sqrt{2}$ (entsprechend Abb. 1 b). Bei Mittelung über elf 1D-Spuren findet man für Experiment b (entsprechend Abb. 1 a) ein relatives Signal/Rausch-Verhältnis von 0.78 und für c (entsprechend Abb. 1 c) eines von 1.1. Der Verstärkungsfaktor für Experiment b gegenüber a von 1.10 ist gegenüber dem erwarteten Wert von $\sqrt{2}$ zu klein. Daß der theoretische Faktor nicht erreicht wird, liegt daran, daß im Experiment b Signalintensität durch Sättigungstransfer auf die Amidprotonen während der Wasservorsättigung verloren geht, Experiment a dagegen ohne Wasservorsättigung auskommt. Auch Experiment c erreicht mit einem relativen Signal/Rausch-Verhältnis von 1.55 nicht den theoretischen Verstärkungsfaktor von 2 gegenüber Experiment a, weil die Sequenz c länger ist und somit Signalintensität durch Relaxation verlorengeht. Immerhin ist c mit Abstand das empfindlichste Experiment. Im Vergleich zum nächst empfindlicheren Experiment b ist für ein gleiches Signal/Rausch-Verhältnis eine Meßzeitreduktion um 50 % möglich.

Wir haben eine phasenmodulierende 3D-Triple-resonanz-NMR-Sequenz mit B_0 -Gradienten ausgestattet und am Beispiel eines Sensitivity-enhanced-Gradienten-CT-HNCO-Experiments an einem Protein-Peptid-Komplex die Empfindlichkeit der Methode demonstriert. Der phasenmodulierende heteronukleare Rücktransfer kann in alle gängigen 3D-Sequenzen mit H^N -Detektion eingebaut werden und ermöglicht optimale Empfindlichkeit bei wirkungsvollstem Einsatz von Gradientenpulsen zur Unterdrückung von Artefakten.

Eingegangen am 6. April,
ergänzte Fassung am 5. Juni 1993 [Z 5984]

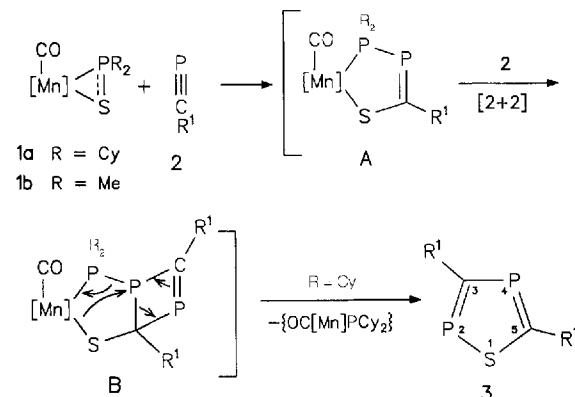
- [1] a) A. Bax, P. G. De Jong, A. F. Mehlkopf, J. Smidt, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *69*, 567–570; b) P. Barker, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **1985**, *64*, 334–338; c) R. E. Hurd, *ibid.* **1990**, *87*, 422–428; d) A. L. Davis, E. D. Laue, J. Keeler, D. Moskau, J. Lohman, *ibid.* **1991**, *94*, 637–644; e) B. K. John, D. Plant, S. L. Heald, R. E. Hurd, *ibid.* **1991**, *94*, 664–669; f) G. W. Vuister, R. Boelens, R. Kaptein, M. Burgering, P. C. M. van Zijl, *J. Biomol. NMR* **1992**, *2*, 301–305.
- [2] A. A. Maudsley, A. Wokaun, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* **1978**, *55*, 9–14.
- [3] a) R. E. Hurd, B. K. John, *J. Magn. Reson.* **1990**, *91*, 648–653; b) G. W. Vuister, R. Boelens, R. Kaptein, R. E. Hurd, B. K. John, P. C. M. van Zijl, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9688–9690; c) A. L. Davis, J. Keeler, E. D. Laue, D. Moskau, *J. Magn. Reson.* **1992**, *98*, 207–216; d) J. R. Tolman, J. Chung, J. H. Prestegard, *ibid.* **1992**, *98*, 462–467; e) J. Boyd, N. Soffe, J. Boban, D. Plant, R. E. Hurd, *ibid.* **1992**, *98*, 660–664; f) J. Ruiz-Cabello, G. W. Vuister, C. T. W. Moonen, P. van Geldern, J. S. Cohen, P. C. M. van Zijl, *ibid.* **1992**, *100*, 282–302; g) A. L. Davis, R. Boelens, R. Kaptein, J. Biomol. NMR **1992**, *2*, 395–400.
- [4] G. Bodenhausen, H. Kogler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1984**, *58*, 370–388.
- [5] D. J. States, R. A. Haberkorn, D. J. Ruben, *J. Magn. Reson.* **1982**, *48*, 286–292.
- [6] a) J. Cavanagh, A. G. Palmer III, P. E. Wright, M. Rance, *J. Magn. Reson.* **1991**, *91*, 429–436; b) A. G. Palmer III, J. Cavanagh, P. E. Wright, M. Rance, *ibid.* **1991**, *93*, 151–170; c) O. W. Sørensen, *ibid.* **1992**, *100*, 431–436.
- [7] D. Marion, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *113*, 967–974.
- [8] L. E. Kay, P. Keifer, T. Saarinen, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10663–10665.
- [9] a) M. Ikura, L. E. Kay, A. Bax, *Biochemistry* **1990**, *29*, 4659–4667; b) L. E. Kay, M. Ikura, R. Tschudin, A. Bax, *J. Magn. Reson.* **1990**, *89*, 496–514; c) S. Grzesiek, A. Bax, *ibid.* **1992**, *96*, 432–440.
- [10] a) T. Vorherr, P. James, J. Krebs, A. Enyedi, D. J. McCormick, J. T. Penniston, E. Carafoli, *Biochemistry* **1990**, *29*, 355–365; b) M. Kataoka, J. F. Head, T. Vorherr, J. Krebs, E. Carafoli, *ibid.* **1990**, *30*, 6247–6251; c) M. Sattler, P. Schulte, R. Wechselberger, T. Vorherr, J. Krebs, E. Carafoli, C. Griesinger, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [11] L. Emsley, G. Bodenhausen, *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *165*, 469–576.

Sterisch kontrollierte, metallinduzierte Synthese eines 1-Thia-2,4-diphosphols**

Von *Ekkehard Lindner**, *Cornelius Haase*,
Hermann A. Mayer, *Martin Kemmler*,
Riad Fawzi und *Manfred Steimann*

Professor Jochen Ellermann zum 60. Geburtstag gewidmet

Cyclooligomerisierungen von Phosphaalkinen in der schützenden Koordinationsphäre von Übergangsmetallkomplexen sind gut untersucht^[11]. Ein an $[\text{Cp}_2\text{Zr}]$ gebundenes Diphosphabicyclobutan verwendeten Regitz et al. für die gezielte Synthese von cyclischen Phosphorverbindungen^[2] und von Tetraphosphacuban^[3]. Die thermische Cyclotetramerisierung von $i\text{BuC}\equiv\text{P}$ verläuft dagegen wenig selektiv und liefert das Cuban nur in geringer Ausbeute^[4]. Bei einer AlCl_3 -unterstützten Spirocyclotrimerisierung von $i\text{BuC}\equiv\text{P}$ isolierte die gleiche Arbeitsgruppe Derivate des Triphospha-Dewar-Benzols^[5]. Die metallinduzierte, regioselktive Cyclocotrimerisierung der alkinähnlichen Anionen $\text{R}_2\text{P}=\text{S}^-$ mit elektronenarmen Acetylenen führt zu sonst schwer zugänglichen Thiophenen, Phospholkomplexen und Furanen^[6]. Uns ist es nun gelungen, durch Umsetzung des (η^2 -Thiophosphinito)mangan-Komplexes **1a** mit *tert*-Butylphosphaacetylen **2** gezielt und direkt das 1-Thia-2,4-diphosphol **3** in hohen Ausbeuten herzustellen (Schema 1).



Schema 1. $[\text{Mn}] = \text{Mn}(\text{CO})_3$, $\text{R}^1 = i\text{Bu}$.

Vor kurzem berichteten wir, daß bei der Einwirkung von **2** auf die sterisch stark belasteten Nickelkomplexe $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\text{-Ni}(\eta^2\text{-R}_2\text{P}\cdots\text{S})]$ ($\text{R} = m\text{-Xylol, Mesityl}$) vom Typ **1**, die $\text{P}\cdots\text{S}$ -Bindung unter Bildung der zu **A** analogen, stabilen, röntgenographisch charakterisierten Nickelverbindungen gespalten wird^[7]. Das Thiadiphosphol **3** entsteht dabei nur in Spuren. Reduziert man den sterischen Anspruch des Organometallrests in **1** durch Verwendung einer $\text{Mn}(\text{CO})_4$ -Einheit in Verbindung mit Cyclohexylresten am Phosphor ($\rightarrow \mathbf{Aa}$), so ist anzunehmen, daß sich eine $[2 + 2]$ -Cycloaddition zu **Ba** anschließt. Dieses zerfällt sich unter Abspaltung des thermodynamisch stabilen, als farblose Flüssigkeit anfallenden Heterocycles **3**^[8] (Ta-

[*] Prof. Dr. E. Lindner, Dipl.-Chem. C. Haase, Dr. H. A. Mayer, Dipl.-Chem. M. Kemmler, Dr. R. Fawzi, M. Steimann
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-72076 Tübingen
Telefax: Int. + 7071/29-5246

[**] Darstellung und Eigenschaften von und Reaktionen mit metallhaltigen Heterocyclen, 84. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Volkswagen-Stiftung und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Der BASF AG und der Schering AG danken wir für die Überlassung von Ausgangsmaterialien, Herrn Priv.-Doz. Dr. J. Hahn, Universität Köln, für die Aufnahme von selektiv ^{31}P -entkoppelten $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR-Spektren. – 83. Mitteilung: [6d]

Tabelle 1. Ausgewählte spektroskopische Daten von **3**, $[(OC)_3(HPCy_2)Mn(\eta^2-PCy_2\cdots S)]$, **4** und **5** [a].

3: $^{13}C\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 209.61$ (dd, $^1J(P,C) = 66.1$, $^2J(P,C) = 4.2$ Hz, C5), 220.92 (dd, $^1J(P,C) = 69.6$, 78.0 Hz, C3); $^{31}P\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 251.2$ (d, $^2J(P,P) = 49.9$ Hz, P4), 262.4 (d, $^2J(P,P) = 49.9$ Hz, P2); MS (EI, 70 eV): m/z 232 (M^+ , 100%).

$[(OC)_3(HPCy_2)Mn(\eta^2-PCy_2\cdots S)]$: IR(CH₂Cl₂): $\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 1895$ s, 1921 vs, 2011 m (CO); 1H -NMR: $\delta = 4.55$ (dm, $^1J(P,H) = 319.2$ Hz, HPCy₂); $^{31}P\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 56.75$ (s, HPCy₂), 95.25 (s, PCy₂ \cdots S); MS (FD, 8 kV, 65 °C): m/z 565.5 (M^+).

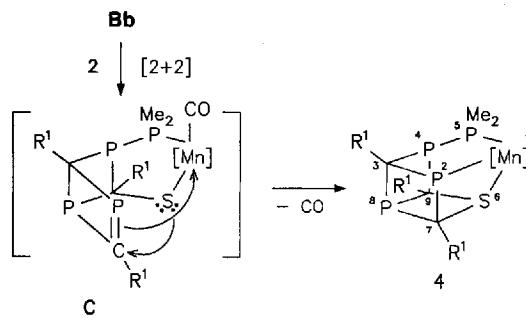
4 [b]: IR(*n*-Hexan): $\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 1923$ s, 1939 s, 2004 vs (CO); $^{13}C\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 17.76$ (ddd, $^1J(P,C) = 10.0$, 16.2, 36.4, $^2J(P,C) = 17.3$ Hz, C3), 33.60 (ddd, $^1J(P,C) = 8.9$, 16.5, $^3J(P,C) = 7.2$ Hz, C7), 46.41 (ddd, $^1J(P,C) = 10.5$, 30.5, $^2J(P,C) = 5.2$ Hz, C9); $^{31}P\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 73.82$ (ddd, $^1J(P,P) = 207.1$, $^2J(P,P) = 21.8$, 21.8 Hz, P4), 116.74 (ddd, $^1J(P,P) = 207.1$, $^2J(P,P) = 7.6$, $^3J(P,P) = 10.5$ Hz, P5), 156.62 (ddd, $^2J(P,P) = 6.5$, 21.8, $^3J(P,P) = 10.5$ Hz, P8), 175.73 (ddd, $^2J(P,P) = 6.5$, 7.6, 21.8 Hz, P2); MS (FD, 8 kV, 33 °C): m/z 532.4 (M^+).

5: $^{13}C\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 67.40$ (ddd, $^1J(P,C) = 15.3$, 23.2, 55.5 Hz, C5), 195.38 (dd, $^1J(P,C) = 66.5$, $^3J(P,C) = 8.5$ Hz, C3), 205.28 (ddd, $^1J(P,C) = 45.2$, 57.4, $^3J(P,C) = 6.2$ Hz, C7); $^{31}P\{^1H\}$ -NMR: $\delta = 66.49$ (ddd, $^2J(P,P) = 19.0$, 54.0, $^1J(P,C) = 15.3$, 45.2 Hz, P1), 219.65 (dd, $^2J(P,P) = 19.0$, 45.0, $^1J(P,C) = 55.5$, 66.5, $^3J(P,C) = 6.2$ Hz, P4), 330.20 (dd, $^2J(P,P) = 45.0$, $^1J(P,C) = 23.2$, 57.4, $^3J(P,C) = 8.5$ Hz, P6); MS (FD, 8 kV, 32 °C): 332.0 (M^+).

[a] 1H - (250.13 MHz, interner Standard: auf TMS bezogenes CHCl₃), $^{13}C\{^1H\}$ - (62.90 MHz, interner Standard: auf TMS bezogenes CDCl₃ oder [D₆]DMSO für **3**), $^{31}P\{^1H\}$ -NMR-Spektren (32.44 MHz, 1proz. H₃PO₄/[D₆]Aceton) in THF für **3**, in *n*-Hexan für $[(OC)_3(HPCy_2)Mn(\eta^2-PCy_2\cdots S)]$, in CDCl₃ für **4** und in CHCl₃ für **5**. [b] Zur Atomnumerierung siehe Schema 2.

belle 1). Das verbleibende Metallkomplexfragment reagiert mit weiterem **1a** zu $[(OC)_3(HPCy_2)Mn(\eta^2-PCy_2\cdots S)]$ (Tabelle 1) und einem schwer löslichen, Mn(CO)_x-haltigen Feststoff (IR-Spektrum), der nicht charakterisiert werden konnte.

Nochmalige Reduzierung des sterischen Anspruchs durch Austausch der Cyclohexyl- gegen Methylgruppen in **1** (\rightarrow **Ab**) führt zu einer [2 + 2]-Cycloaddition von **Bb** an **2**, die über **C** den thermodynamisch stabilen, orangefarbenen Pentacyclus **4** als Endprodukt liefert (Tabelle 1, Schema 2).



Das $^{31}P\{^1H\}$ -NMR-Spektrum von **4** in CDCl₃ zeigt vier Signalgruppen, wobei alle vier Phosphoratome miteinander koppeln. Da die Röntgenstrukturanalyse von **4** bezüglich der Positionen der dreibindigen P- und S-Atome drei Möglichkeiten offen lässt, wurde zusätzlich ein ^{31}P -Festkörper-NMR-Spektrum aufgenommen. Man erhielt ebenfalls vier Signale, deren chemische Verschiebungen mit denen im $^{31}P\{^1H\}$ -NMR-Lösungsspektrum übereinstimmen. Zwei Signale im ^{31}P -CP/MAS-NMR-Spektrum weisen eine beträchtliche Linienbreite und hohe Anisotropie der chemischen Verschiebung auf. Diese Effekte lassen sich nur durch das Vorliegen einer Mn-P-Quadrupolwechselwirkung erklären^[19] (^{55}Mn -Kern: $I = 5/2$, 100%). Damit liegen in **4** zwei Mn-P-Bindungen vor.

Im Einklang mit den NMR-Daten kann das Schwefelatom im Kristall (Abb. 1)^[10] die Positionen P3 und P4

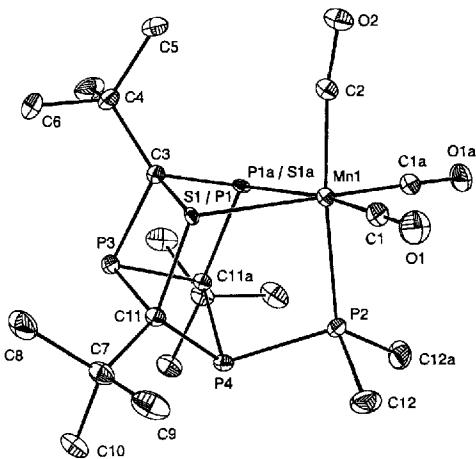
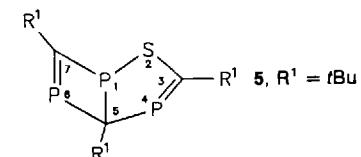


Abb. 1. Struktur von **4** im Kristall. Ausgewählte Abstände [\AA] und Winkel [$^\circ$]: Mn1-P2 2.255(1), P2-P4 2.189(1), P4-C11 1.859(2), C11-P3 1.894(2), P3-C3 1.878(2), P3-P4 2.655(1); Mn1-P2-P4 105.8(1), P2-P4-C11 108.1(1), P4-C11-P3 90.0(1), C11-P3-C3 85.2(1). Die Atomnumerierung weicht von der in Schema 2 ab.

(große $^1J(P,P)$ -Kopplung zwischen P2 und P4) von **4** nicht besetzt. Das Molekül hat eine kristallographische *m*-Symmetrie; da seine Konstitution eine solche Symmetrie nicht zulässt, bedeutet dies, daß im Kristall eine Fehlordnung in Bezug auf diese Spiegelebene vorliegt und somit nicht zwischen S1 und P1 unterschieden werden kann. Der Pentacyclus weist die Hälfte des Tetraphosphacubangertüts auf^[3, 4], wobei ein P-Atom durch S ersetzt ist und eine Kante aus einer Mn(CO)₃-PMe₂-P-Einheit besteht. Die Strukturparameter des Cubanausschnitts ähneln denen der Stammverbindung^[3, 4]. P4 ist aufgrund der PMe₂-Brücke aus der idealen Würfelposition herausgerückt (der Interplanarwinkel zwischen C11-P3-C11a und C11-P4-C11a beträgt 147.7°). Der P2-P4-Kontakt ist gegenüber einer Einfachbindung etwas verkürzt.

Bewegt man sich im sterischen Anspruch von R zwischen Methyl und Cyclohexyl und startet die Reaktion ausgehend von **1** mit R = Ph, so erhält man neben **3** und dem entsprechenden Pentacyclus **4** mit Ph statt Me auch die metallfreie, intensiv gelbe, bicyclische Verbindung **5** (Tabelle 1).



Die beschriebene Reaktion lässt sich auch auf andere Phosphhaalkine wie Adamantyl- und Methylcyclohexylphosphphaacetylen übertragen ($\delta^{31}\text{P}$ von **3**, R¹ = Adamantyl (in Dimethoxyethan): 245.04 und 256.24, $^2J(P,P) = 48.7$ Hz; von **3**, R = MeC₆H₁₀ (in C₆D₆): 255.26 und 265.16, $^2J(P,P) = 49.7$ Hz).

Experimentelles

3: Eine Lösung von 535 mg (1.35 mmol) **1a** und 340 mg (3.40 mmol) **2** erwärmt man 5 h in THF (50 mL) auf 66 °C. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei 50 mbar digeriert man mit Petrolether 60/90 (20 mL) und reinigt über eine kurze Kieselgelsäule. Die Haupttrennung erfolgt durch Mitteldruckflüssigkeitschromatographie mit Petrolether 60/90 an einer Kieselgelsäule. 1. Fraktion: **3** (122 mg, 78 % bezogen auf 0.675 mmol **1a**) korrekte Elementaranalyse, Schmp. 10 °C; 3. Fraktion: $[(OC)_3(HPCy_2)Mn(\eta^2-PCy_2\cdots S)]$ (310 mg, 81 % bezogen auf 0.675 mmol **1a**; H stammt aus Spuren von Luftfeuchtigkeit), gelbes Pulver, korrekte Elementaranalyse, Schmp. 123 °C.

4: 470 mg **1b** (0.90 mmol), liegt als Dimer vor [6c] erhitzt man 22 h mit 640 mg (6.40 mmol) **2** in 50 mL THF unter Rückfluß. Die Aufarbeitung erfolgt wie bei

3 aber mit Petrolether/Essigester 3/1 als Laufmittel. 3. Fraktion: 4 (420 mg, 44%), orangefarbene Einkristalle aus *n*-Hexan, korrekte Elementaranalyse, Schmp. 210 °C.

5: 263 mg (0.34 mmol) 1, R = Ph, werden mit 200 mg (2.00 mmol) 2 in THF (40 mL) 44 h auf 50 °C erwärmt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird mit 20 mL Petrolether/Essigester 10/1 digeriert, filtriert (P4) und mit dem gleichen Laufmittel an einer Kieselgelsäule getrennt. 1. Fraktion: 5 (12.4 mg, 11%), gelber Feststoff.

Für die Zuordnung der ^{31}P - und ^{13}C -NMR-Signale wurden 3, 4 und 5 mit ^{13}C -markiertem 2 synthetisiert.

Eingegangen am 2. Juni 1993 [Z 6116]

- [1] M. Regitz in *Organic Synthesis via Organometallics* (Hrsg.: D. Enders, H.-J. Gais, W. Keim), Vieweg, Braunschweig, 1993, S. 93, zit. Lit.
- [2] P. Binger, T. Wetting, R. Schneider, F. Zurmühlen, U. Bergsträßer, J. Hoffmann, G. Maas, M. Regitz, *Angew. Chem.* 1991, 103, 208–211; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991, 30, 207–210.
- [3] M. Birkel, J. Schulz, U. Bergsträßer, M. Regitz, *Angew. Chem.* 1992, 104, 870–873; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992, 31, 879–882.
- [4] T. Wetting, J. Schneider, O. Wagner, C. G. Kreiter, M. Regitz, *Angew. Chem.* 1989, 101, 1035–1037; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1989, 28, 1013–1014.
- [5] B. Breit, U. Bergsträßer, G. Maas, M. Regitz, *Angew. Chem.* 1992, 104, 1043–1046; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992, 31, 1055–1058.
- [6] a) E. Lindner, *Adv. Heterocycl. Chem.* 1986, 39, 237–279; b) E. Lindner, V. Käss, W. Hiller, R. Fawzi, *Angew. Chem.* 1989, 101, 460–462; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1989, 28, 448–450; c) E. Lindner, V. Käss, H. A. Mayer, *Chem. Ber.* 1990, 123, 783–790; d) E. Lindner, T. Schlenker, R. Fawzi, C. Maichle, *J. Organomet. Chem.* 1993, im Druck.
- [7] E. Lindner, A. Nothdurft, R. Fawzi, C. Maichle, *J. Organomet. Chem.* 1992, 435, 213–224.
- [8] A. Schmidpeter, K. Karaghiosoff in *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorous Chemistry*, 1. Aufl., (Hrsg.: M. Regitz, O. J. Scherer) Thieme, Stuttgart, 1990, S. 279, zit. Lit.
- [9] E. Lindner, R. Fawzi, H. A. Mayer, K. Eichele, K. Pohmer, *Inorg. Chem.* 1991, 30, 1102–1107.
- [10] Kristallstrukturanalyse (Siemens-P4-Diffraktometer): 4 kristallisiert aus *n*-Hexan, $C_{20}\text{H}_{33}\text{MnO}_3\text{P}_2\text{S}$, $M = 532.3$, Kristallgröße $0.2 \times 0.5 \times 0.5 \text{ mm}^3$, orthorhombisch, Raumgruppe *Pma* (Pna_2_1 wurde überprüft), $a = 984.7(2)$, $b = 1463.6(3)$, $c = 1744.6(3)$ pm, $V = 2514.3(8) \times 10^6 \text{ pm}^3$, $\rho_{\text{ver}} = 1.406 \text{ g cm}^{-3}$, $Z = 4$ (Meßtemperatur 173 K), $\text{Mo}_{\text{K}\alpha}$ -Strahlung ($\mu = 0.881 \text{ mm}^{-1}$), $2\theta = 4–45^\circ$, Gesamtzahl der Reflexe 12462, Zahl der symmetrieeinabhängigen Reflexe mit $I \geq 2\sigma(I)$ 1623, verfeinerte Parameter 160, Absorptionskorrektur Ψ -Scan, $R = 0.022$, $R_s = 0.026$, $S = 0.94$, Restelektronendichte $0.23 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$, Lösung und Verfeinern mit dem Programmssystem SHELXTL-PC. Die Lagen von S1/P1 und P1a/S1a wurden jeweils mit dem Besetzungsfaktor 0.5 verfeinert. Die H-Atome wurden geometrisch positioniert (riding model). Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57374, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

Die relative Bedeutung elektrostatisch und hydrophob induzierter pK_a -Verschiebungen in Modellproteinen: der Asparaginsäuretest**

Von Dan W. Urry*, Shao Q. Peng, Timothy M. Parker, D. Channe Gowda und Roland D. Harris

Die Biologie befaßt sich heute unter anderem mit Proteinfunktionen, die auf einzelnen Aminosäuren mit ungewöhnlichen pK_a -Werten beruhen. So zeigt in Thioredoxin Asp 26 einen pK_a -Wert von 7.5^[1, 2], im Hühnereiweiß-Lysozym findet man für Glu 35 einen pK_a -Wert von 6.1^[3], in der Phosphofructokinase beträgt der pK_a -Wert von Asp 127 in zwei

[*] Prof. D. W. Urry, S. Q. Peng, T. M. Parker

Laboratory of Molecular Biophysics

The University of Alabama at Birmingham
VH300 Birmingham, AL 35294-0019 (USA)

D. C. Gowda, R. D. Harris
Bioelastics Research, Ltd., Alabama (USA)

[**] Diese Arbeit wurde teilweise vom Department of the Army, Army Research Office (DAAL03-92-C-0005 für R. D. H.) und vom Department of the Navy, Office of Naval Research (N00014-89-J-1970 für D. W. U.) gefördert.

verschiedenen funktionellen Zuständen 6.6 bzw. > 9.6 ^[4], und im bakteriellen Photosynthese-Reaktionszentrum findet man für Glu 212 einen pK_a -Wert von etwa 9^[5]. Üblicherweise werden diese Verschiebungen durch elektrostatische Wechselwirkungen erklärt^[6, 7], jedoch beginnt man, die Bedeutung hydrophober Effekte zunehmend zu berücksichtigen^[3, 8]. In dieser Zuschrift werden sowohl elektrostatisch als auch hydrophob induzierte Verschiebungen des pK_a -Wertes beschrieben und, basierend auf einer Familie von Asparaginsäure-haltigen Polypentapeptiden, vergleichend diskutiert. Dabei wollen wir zeigen, daß die effektivste Möglichkeit, eine pK_a -Verschiebung in Wasser zu induzieren, letztlich aus einer Konkurrenz hydrophober (apolarer) und geladener (polarer) Gruppen um Hydratation resultiert, wobei diese Gruppen keine gemeinsame Hydratationshülle haben können. Dies steht im Gegensatz zu der Vorstellung, daß die elektrostatisch bedingte Coulomb-Wechselwirkung hierfür entscheidend ist. Unsere Argumentation führt zu einer apolar-polaren, repulsiven Gibbs-Hydratationsenergie, die aus der Größe der pK_a -Verschiebung in einer hydrophoben Domäne berechnet werden kann.

In Abbildung 1 ist f_D , der Molenbruch des Asparaginsäurehaltigen Pentamers in den proteinartigen Polymeren poly[$f_V(\text{IPGVG})_f_D(\text{IPGDG})$], gegen pK_a aufgetragen. Es gilt $f_V + f_D = 1$, weiterhin ist I = Ile, P = Pro, G = Gly und V = Val. Den kleinsten pK_a -Wert erhält man für $f_D = 0.5$ in Wasser und für $f_D = 1.0$ in einer Kochsalzlösung; er beträgt in etwa 3.9, was dem normalen pK_a -Wert der Carboxygruppe eines Asparaginsäurerestes entspricht^[9].

Für Wasser als Solvens zeigt die Kurve einen parabolischen Verlauf bezüglich der f_D -Achse; bei $f_D = 1.0$ beträgt der pK_a -Wert 4.6 und fällt stetig bis zu einem Minimum von etwa 3.9 bei $f_D = 0.5$; für Werte von $f_D < 0.5$ steigen die pK_a -Werte wieder stetig an, bis bei $f_D = 0.06$ der Wert 6.0 erreicht wird. Da die Verschiebung zu kleineren pK_a -Werten geringer wird mit abnehmender „Dichte“ der Asparaginsäurereste (abnehmender Zahl negativer Ladungen) bis zu einem Wert von einem pro zehn Resten ($f_D = 0.5$) und da zudem diese Verschiebung vollständig durch die Zugabe von 0.15 M NaCl, das Ladungs-Ladungs-Wechselwirkungen abschirmt kann, verhindert wird, ist der durch $f_D > 0.5$ definierte Bereich eindeutig durch elektrostatische oder Ladungs-Ladungs-Abstoßung charakterisiert. Für $f_D < 0.5$ vergrößert sich der pK_a -Anstieg, je weniger Asparaginsäurereste vorhanden sind. Demzufolge kann diese Verschiebung nicht auf Ladungs-Ladungs-Abstoßung zurückgeführt werden; vielmehr ist sie proportional zum Anstieg der Hydrophobie, der aus dem Ersatz

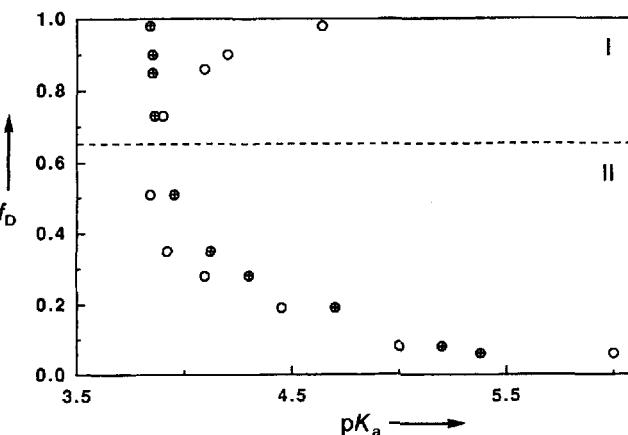


Abb. 1. Die pK_a -Werte wurden über klassische Säure-Base-Titrationen von poly[$f_V(\text{IPGVG})_f_D(\text{IPGDG})$] mit f_D im Bereich von 1.00 bis 0.06 in Typ-1-Wasser, d. h. Wasser mit einem Widerstand $> 11 \text{ M}\Omega$, (o) und in 0.15 M NaCl (●) bestimmt (siehe auch Text). I = durch elektrostatische, II = durch hydrophobe Wechselwirkungen dominierter Bereich.