

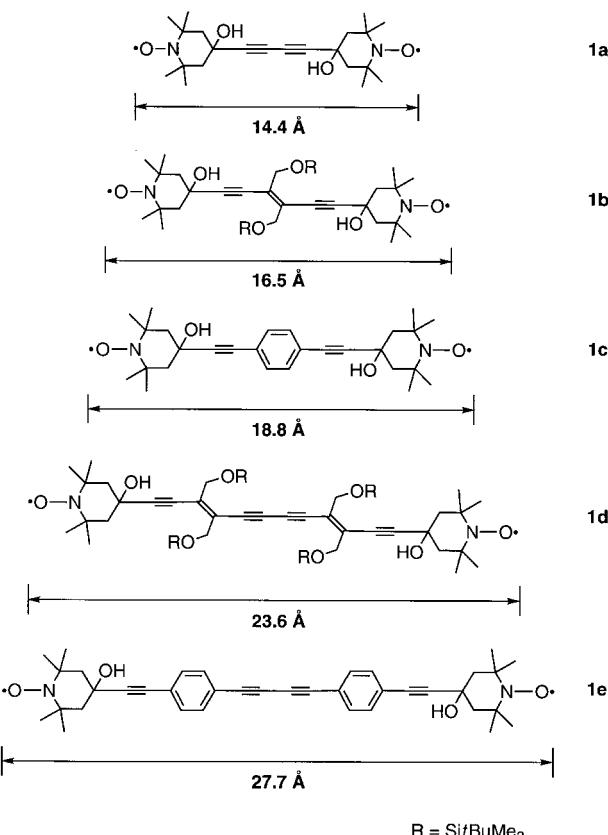
## Bestimmung der Länge von bis zu 2.8 nm langen TEMPO-Diradikalen mit einem neuen Vier-Puls-Doppel-Elektron-Elektron-Resonanz-Experiment\*\*

Rainer E. Martin, Matthias Pannier,  
François Diederich,\* Volker Gramlich,  
Michael Hubrich und Hans W. Spiess\*

Organische Di- und Polyyradikale mit zwei oder mehreren schwach miteinander wechselwirkenden Elektronen haben während der letzten Jahre aufgrund ihrer vielversprechenden Materialeigenschaften beträchtliches Interesse als organische molekulare Ferromagneten oder Supraleiter gefunden.<sup>[1]</sup> Sterisch abgeschirmte Nitroxidradikale weisen dabei im Vergleich zu vielen anderen freien Radikalen eine oft bemerkenswerte chemische Reaktionsträgheit auf, was sie zum Gegenstand intensiver theoretischer und experimenteller Untersuchungen macht. Die Verwendung solcher freier Radikale als Reportergruppen hat sich rasch als eines der bedeutendsten und vielseitigsten Werkzeuge der Biophysik für das Studium biologischer Systeme entwickelt.<sup>[2-4]</sup> Speziell die Bestimmung von Abständen zwischen funktionellen Gruppen und den sich daraus ergebenden Topologien in biologischen Systemen<sup>[5]</sup> und amorphen Festkörpern oder der Größe und Gestalt von ionischen Multiplets in Ionomeren<sup>[6-8]</sup> ist von grundlegender Bedeutung und ist als herausforderndes und attraktives Forschungsgebiet von weitreichendem Interesse. Durch das Fehlen von periodischen Strukturen in solchen Systemen wird dabei die Verwendung klassischer Streutechniken leider sehr oft eingeschränkt oder sogar gänzlich unmöglich.

Freie Radikale können durch paramagnetische Elektronenresonanz(EPR)-Spektroskopie bequem untersucht werden.<sup>[9]</sup> Diese Technik nutzt die schwachen dipolaren Kopplungen zwischen Spinsonden zur Bestimmung interatomarer Abstände bis in den Nanometerbereich. Dabei führt die Kopplung zu kürzeren longitudinalen Relaxations- ( $T_1$ ) und Phasengedächtniszzeiten ( $T_m$ ), was zu Abstandsbestimmungen in spinmarkierten Eisenporphyrinen verwendet wurde.<sup>[10]</sup> Die quantitative Bestimmung von Abständen hingegen bedarf anspruchsvollerer Methoden, wie etwa der durch die grundlegenden Arbeiten von Milov und Tsvetkov<sup>[11]</sup> eingeführten sowie von Larsen und Singel<sup>[12]</sup> weiterentwickelten gepulsten Doppel-Elektron-Elektron-Resonanz(DEER)-Spektroskopie.

Unserer Kenntnis zufolge wurde diese Methode bisher noch nicht zur quantitativen Bestimmung von Abständen in unbekannten Strukturen herangezogen. Allein über erste Ansätze zum Studium von Abständen zwischen dem einen und dem anderen Ende bei einer Serie aliphatischer Kohlenwasserstoffe wurde berichtet.<sup>[13]</sup> Dies mag einerseits auf technische Limitierungen der gepulsten EPR-Methode (Totzeit)<sup>[14]</sup> und andererseits auf das Fehlen solcher Messungen an einer Serie mit wohldefinierten End-Zu-End-Abständen bis in den Nanometerbereich zurückzuführen sein. Im folgenden möchten wir daher einen solchen Datensatz zur Verfügung stellen, wobei eine Erweiterung der Drei-Puls-DEER-Sequenz<sup>[13]</sup> auf eine Vier-Puls-Sequenz angewendet wird, die durch Echobildung die Totzeitproblematik überwindet. Untersucht wurden die 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-N-oxyl(TEMPO)-Diradikale **1a-e**, bei welchen die beiden TEMPO-Einheiten durch starre, konjugierte Spacer verbunden sind und damit große, wohldefinierte End-End-Abstände ermöglichen. Solche Verbindungen sind auch in Hinblick auf



$\text{R} = \text{Si}(\text{BuMe}_2)_2$

[\*] Prof. Dr. F. Diederich, Dipl.-Chem. R. E. Martin  
Laboratorium für Organische Chemie, ETH-Zentrum  
Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)  
Fax: (+41) 1-632-1109  
E-mail: diederich@org.chem.ethz.ch

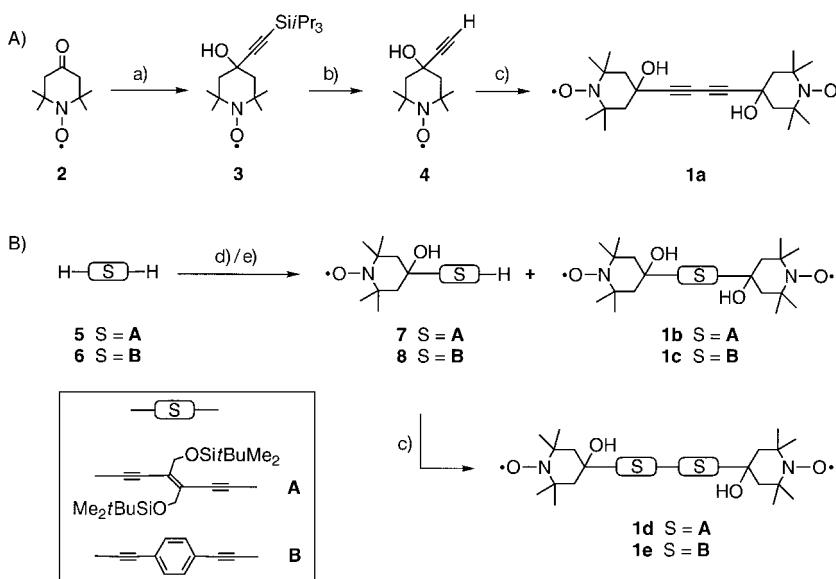
Prof. Dr. H. W. Spiess, Dipl.-Phys. M. Pannier, Dr. M. Hubrich  
Max-Planck-Institut für Polymerforschung  
Postfach 3148, D-55021 Mainz  
Fax: (+49) 6131-379-100  
E-mail: spiess@mpip-mainz.mpg.de

Prof. Dr. V. Gramlich  
Laboratorium für Kristallographie, ETH-Zentrum  
Sonneggstrasse 5, CH-8092 Zürich (Schweiz)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Forschungskommission der ETH gefördert. Herrn Dr. G. Jeschke danken wir für hilfreiche Diskussionen.  
– TEMPO = 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-N-oxyl.

hochkonjugierte Polymere für elektronische, photonische und andere optische Anwendungen von besonderem Interesse.<sup>[15]</sup>

4,4'-(Butadiin-1,4-diyl)bis(4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxyl) (BIPO) **1a**<sup>[16]</sup> wurde über eine neue, einfache und kurze Syntheseroute hergestellt (Schema 1 A). Langsame Zugabe von lithiertem Triisopropylsilylacetylen in THF mit einer Spritzenpumpe zu 2,2,6,6-Tetramethyl-4-oxopiperidin-N-oxyl **2**<sup>[17]</sup> in THF bei 0 °C führte in 64 % Ausbeute zu **3**. Interessanterweise zeigte die Röntgenstrukturanalyse von **3**, daß die Triisopropylsilylacyleneinheit und nicht etwa die Hydroxygruppe die axiale Position einnimmt (Abb. 1).<sup>[18]</sup>



Schema 1. Herstellung der TEMPO-Diradikale **1a**–**e**. Reagentien und Reaktionsbedingungen: a)  $iPr_3C\equiv CH$ ,  $nBuLi$ , THF,  $0^\circ C$ , 1 h, dann  $20^\circ C$ , 2 h, 64%; b)  $nBu_4NF$ , wasserhaltiges THF, 96%; c)  $CuCl$ ,  $N,N,N',N'$ -Tetramethylethylenediamin (TMEDA),  $O_2$ ,  $CH_2Cl_2$ , 4-Å-Molekularsieb, 3 h, **1a**: 79%, **1d**: 55%, **1e**: 86%; d) **5**,  $nBuLi$  (2 Äquiv.), wasserfreies LiBr (10 Äquiv.), **2**, THF,  $0^\circ C$ , 1 h, dann  $20^\circ C$ , 2 h, **7**: 28%, **1b**: 39%; e) **6**,  $nBuLi$  (2 Äquiv.), wasserfreies LiBr (1 Äquiv.), **2**, THE,  $0^\circ C$ , 1 h, dann  $20^\circ C$ , 2 h, **8**: 25%, **1c**: 9%.

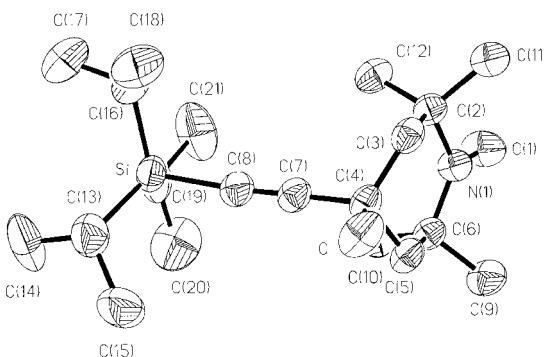


Abb. 1. Molekülstruktur des TEMPO-Radikals **3**. Die ORTEP-Darstellung zeigt thermische Ellipsoide für 30 % Aufenthalts wahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°]: O(1)-N(1) 1.283(4), N(1)-C(2) 1.494(5), C(2)-C(3) 1.520(6), C(3)-C(4) 1.516(6), C(4)-C(7) 1.465(7), C(7)-C(8) 1.208(6); O(1)-N(1)-C(2) 115.5(3), N(1)-C(2)-C(3) 109.6(3), C(2)-C(3)-C(4) 117.9(3), C(3)-C(4)-C(7) 113.9(3), C(4)-C(7)-C(8) 176.5(4).

Weiter ergab eine Untersuchung des Kristallgitters, daß in der bevorzugten Konformation keine intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung gebildet wird, da der Abstand zwischen dem Sauerstoffatom der Nitroxylgruppe und dem Wasserstoffatom der Hydroxyruppe eines benachbarten Moleküls 4.57 Å beträgt. Nachfolgende Entfernung der Silylschutzgruppe von **3** mit *n*Bu<sub>4</sub>NF in wasserhaltigem THF lieferte die eine freie Acetylengruppe aufweisende Verbindung **4** (96% Ausbeute), die unter Hay-Bedingungen<sup>[19]</sup> oxidativ zu **1a**<sup>[16a]</sup> in 79% Ausbeute umgesetzt wurde. Die Synthese der Diradikale **1b–e** (Schema 1B) erfolgte durch Zugabe von dilithiertem (*E*)-3,4-Bis[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl]-hex-3-en-1,5-dien **5**<sup>[20]</sup> oder *p*-Diethinylbenzol **6**<sup>[21]</sup> zu **2** (2 Äquiv.) in THF bei hohen LiBr-Konzentrationen (bis zu 10 Äquiv.)<sup>[22]</sup> und lieferte sowohl Mono- als auch Bisadditionsprodukte (**7**: 28%, **1b**: 39% und **8**: 25%, **1c**: 9%). Durch oxidative Hay-Kupplung von **7** und **8** wurden schließlich die Diradikale **1d** und **1e** erhalten (Tabelle 1).

Das DEER-Signal wurde im wesentlichen wie beim konventionellen Drei-Puls-DEER-Experiment ausgewertet, wel-

Tabelle 1. Ausgewählte physikalische Daten von **1b–e**.<sup>[a]</sup>

**1b:** Schmp.: 124–125 °C; UV/Vis (EtOH):  $\lambda_{\text{max}} (\varepsilon) = 270$  (25 400), 277 nm (22 600, sh); FT-IR (CHCl<sub>3</sub>):  $\tilde{\nu} = 3689\text{m}, 3589\text{m}, 3300\text{m}, 3000\text{m}, 2958\text{s}, 2933\text{s}, 2856\text{s}, 2356\text{m}, 2322\text{m}, 1600\text{m}, 1494\text{w}, 1472\text{m}, 1463\text{m}, 1433\text{w}, 1421\text{w}, 1379\text{w}, 1361\text{m}, 1343\text{m} (\text{N=O}^{\bullet}), 1261\text{m}, 1237\text{w}, 1183\text{m}, 1100\text{s}, 1006\text{m}, 939\text{w}, 915\text{w}, 891\text{w}, 839\text{s cm}^{-1}$ ; FAB-MS:  $m/z$ : 707.5 (100, [MH<sub>2</sub><sup>+</sup>]), 706.4 (90, [MH<sub>2</sub><sup>+</sup>]), 705.4 (37, [MH<sup>+</sup>]), 704.4 (33, [M<sup>+</sup>]), 692.4 (16, [MH<sub>3</sub> – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 691.4 (36, [MH<sub>2</sub> – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 690.4 (53, [MH – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 689.4 (84, [M – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>); Elementaranalyse: ber. für C<sub>38</sub>H<sub>68</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub> (705.15): C 64.73, H 9.72, N 3.97; gef. C 64.73, H 9.50, N 3.74

**1c:** Schmp.: 182–183 °C; UV/Vis (EtOH):  $\lambda_{\text{max}} (\varepsilon) = 212$  (18400), 217 (18100), 270 (42100), 282 nm (41700); FT-IR ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\tilde{\nu} = 3622\text{cm}^{-1}$ , 3467m, 3011s, 2978s, 2889m, 2467w, 1600w, 1483w, 1444w, 1396w, 1373w, 1342w ( $\text{N}-\text{O}'$ ), 1250w, 1044s, 878nm  $\text{cm}^{-1}$ ; FAB-MS:  $m/z$ : 469.3 (100,  $[\text{MH}_3]^+$ ), 468.3 (28,  $[\text{MH}_2]^+$ ), 467.3 (10,  $[\text{MH}]^+$ ), 466.3 (5,  $[\text{M}]^+$ ); HR-FAB-MS:  $m/z$ : gef.: 469.3077 ( $[\text{MH}_3]^+$ ,  $^{12}\text{C}_8\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_4^+$ ), ber.: 469.3066; Elementaranalyse: ber. für  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$  (475.63): C 70.71, H 8.26, N 5.89; gef.: C 70.30, H 8.04, N 5.70

**1d:** Schmp.: 114°C (Zersetzung); UV/Vis (EtOH):  $\lambda_{\text{max}} (\varepsilon) = 267$  (26600), 280 (27200), 294 (25600), 314 (21600), 343 (25800), 367 nm (22700); FT-IR (CHCl<sub>3</sub>):  $\tilde{\nu} = 3689\text{w}$ , 3589m, 3360w, 3000m, 2959s, 2933s, 2856s, 2356m, 2332m, 1600m, 1472m, 1463m, 1379w, 1361m, 1343w (N=O<sup>+</sup>), 1256m, 1237w, 1100s, 1042w, 1020w, 1006w, 939w, 916w, 891w, 839s cm<sup>-1</sup>; FAB-MS: *m/z*: 1053.4 (16, [MH<sub>3</sub>-O<sup>+</sup>]), 1052.4 (31, [MH<sub>2</sub>-O<sup>+</sup>]), 1051.4 (38, [MH-O<sup>+</sup>]), 1050.4 (29, [-M-O<sup>+</sup>]), 632.2 (100); HR-FAB-MS: *m/z*: gef.: 1051.6842 [M-H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>]<sup>12</sup>C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sup>28Si</sup>], ber.: 1051.6842.

**1e:** Schmp.: 169–170 °C (Zersetzung); UV/Vis (EtOH):  $\lambda_{\max}$  ( $\varepsilon$ ) = 224 (17100), 233 (15100), 261 (17000), 277 (18400), 292 (24600), 310 (33400), 332 (41000), 356 nm (35000); FT-IR ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\tilde{\nu}$  = 3622s, 3467m, 3022s, 2974s, 2889m, 1444w, 1389w, 1342w (N–O<sup>–</sup>), 1250m, 1044s, 878cm<sup>-1</sup>; EI-MS: *m/z*: 593.2 (3,  $[\text{MH}_3]^+$ ), 592.2 (6,  $[\text{MH}_2]^+$ ), 591.1 (10,  $[\text{MH}]^+$ ), 590.2 (3,  $[\text{M}]^+$ ), 559.2 (92,  $[\text{M} - \text{HNO}]^+$ ), 140.0 (100); HR-EI-MS: *m/z*: gef.: 590.3136 ( $M^+$ ,  $^{12}\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_4^+$ ), ber.: 590.3144

[a] Alle neuen hier beschriebenen Verbindungen wurden vollständig durch Schmelzpunkt, FT-IR- und UV/VIS-Spektren, EI- oder FAB-Massenpektren sowie hochauflöste Massenspektren und/oder korrekte Elementaranalyse charakterisiert.

ches von den Gruppen Tsvetkov<sup>[11]</sup> und Singel<sup>[12]</sup> beschrieben wurde. Das Signal  $I_{Ap}(\text{DEER})$  in der Zeitdimension besteht aus zwei unmittelbar aufeinanderfolgenden Exponentialfunktionen, die durch eine Modulation entsprechend [Gl. (1) – (4)] überlagert werden, wobei  $C$  die Konzentration ungepaarter

$$I_{4p}(\text{DEER})(\Delta t) = \cos(\omega_{AB}\Delta t)\exp(kCF_B\Delta t) \quad (1)$$

$$\omega_{AB} = \omega_{DD}(3\cos^2\theta_{AB} - 1) \quad (2)$$

$$k = \frac{8\pi^2\mu_B^2 g_A g_B}{9\hbar\sqrt{3}} \quad \omega_{DD} = \frac{\mu_B^2 g_A g_B}{\hbar} \frac{1}{r_{AB}^3} \quad (3, 4)$$

Elektronenspins,  $F_B$  der Bruchteil der durch den Mikrowellenpuls bei der Frequenz  $\nu_2$  angeregten Elektronenspins (Abb. 2),  $\mu_B$  das Bohrsche Magneton,  $g_A$  und  $g_B$  die  $g$ -Faktoren der entsprechenden Elektronen und  $r_{AB}$  der Elektron-Elektron-Abstand ist. Weiterhin ist  $\Delta t = t_B - 2\tau$  (Abb. 2),  $\theta_{AB}$  der Winkel zwischen dem Magnetfeld  $B_0$  und der Dipolachse, die die beiden Elektronen miteinander verbindet, und  $\omega_{DD}$  die Dipol-Kopplungskonstante in Winkelfrequenzeinheiten. Gleichung (1) beschreibt entsprechend der dipolaren Kopplung beider ungepaarter Elektronen innerhalb des Diradikals eine Oszillation mit der Frequenz  $\nu_{AB} = \omega_{AB}/2\pi$ , welche aufgrund der wesentlich schwächeren Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen verschiedenen Diradikalen zusätzlich von einem exponentiellen Zerfall überlagert wird.<sup>[23, 24]</sup>

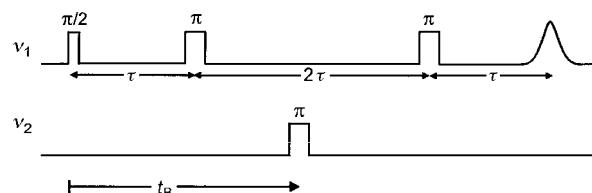


Abb. 2. Die neu entwickelte Vier-Puls-DEER-Sequenz setzt sich aus einem refokussierten Echo der Mikrowellenfrequenz  $\nu_1$  und einem  $\pi$ -Puls bei  $\nu_2$  zusammen, der im Verlauf des Experiments zeitlich verschoben wird. Unter der Zeit  $t_B$  wird die inkrementierte Zeit verstanden, welche bei  $t_B = \tau$  beginnt und bei  $t_B = 3\tau$  endet.  $\tau$  ist die feste Evolutionszeit der refokussierten Hahn-Echo-Pulssequenz. Alle eingesetzten Mikrowellenpulse wiesen eine Dauer von 32 ns und eine Frequenzdifferenz von  $\Delta\nu = 60$  MHz auf.

Die Information über die End-End-Abstände  $r_{AB}$  liegt verschlüsselt in  $\omega_{AB}$  vor. Für Pulver werden diese Abstände über eine Mittelung der verschiedenen Orientierungsvektoren bestimmt, die ein Spektrum mit zwei Singularitäten bei  $\theta_{AB} = 90^\circ$  ergeben und dem in der kernmagnetischen Resonanz wohlbekannten Pake-Spektrum eines Spinpaars entsprechen.<sup>[25]</sup>

Das symmetrische Vier-Puls-DEER-Signal in der Zeitdimension des in dieser Serie längsten Diradikals **1e** in einer Polystyrolmatrix wurde bei 15 K aufgenommen und ist in Abbildung 3a dargestellt. Sowohl der exponentielle Zerfall als auch die überlagerte Modulation sind deutlich erkennbar. Nach Subtraktion des Zerfalls und Fourier-Transformation wird ein Pake-ähnliches Spektrum erhalten (Abb. 3b). Im Unterschied zum klassischen DEER-Experiment, welches nur die Beobachtung von Singularitäten ermöglicht, können mit der Vier-Puls-DEER-Sequenz auch breite Anteile der Linienform erfaßt werden.<sup>[12, 13]</sup> Das Fehlen einer Totzeit beim Vier-Puls-DEER-Experiment ist somit ein wesentlicher Vorteil und ermöglicht nun erstmals die Messung breiter Verteilungen von dipolaren Kopplungen.

In der hier vorgestellten Arbeit weisen die Singularitäten, welche die Dipol-Kopplungskonstante und damit den Elek-

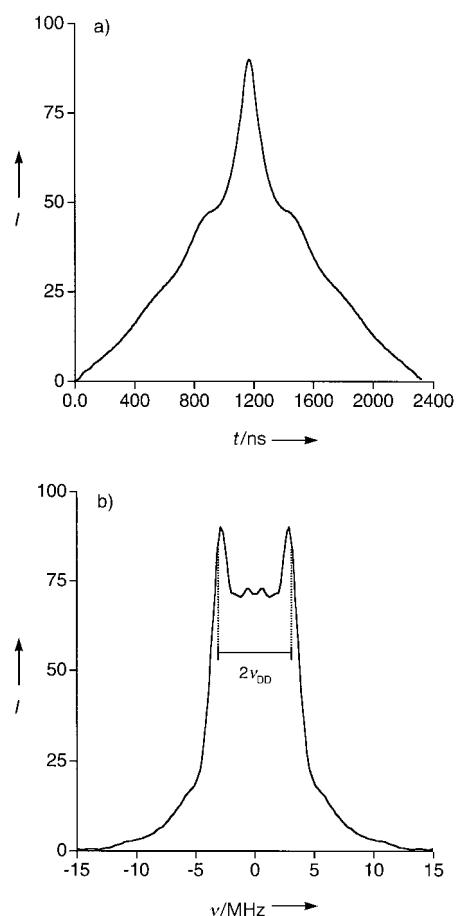


Abb. 3. a) Vier-Puls-DEER-Zeitbereichssignal des in eine Polystyrolmatrix gelösten Diradikals **1e** bei 15 K. Alle Pulse hatten eine Dauer von  $t_p = 32$  ns und die Evolutionszeit  $\tau$  betrug 1200 ns. b) Vier-Puls-DEER-Spektrum von **1e** nach Subtraktion zweier Exponentialfunktionen, Auffüllen mit Nullen und anschließender Fourier-Transformation der Zeitbereichsdaten. Der Balken zeigt die Distanz  $2\nu_{DD}$  zwischen den beiden Singularitäten des unverbreiterten Pake-Musters, das die beste Anpassung an das experimentelle Spektrum ergibt.

tron-Elektron-Abstand definieren, eine sehr enge Verteilung auf und sind klar erkennbar. Nur der „Fuß“ des Pake-Spektrums ist nicht sichtbar, wie die Orientierungsselektion aufgrund nur teilweise erfolgter Anregung des inhomogen verbreiterten <sup>14</sup>N-Nitroxid-EPR-Spektrums erwarten läßt.<sup>[12]</sup> Die gemessenen Kopplungskonstanten und die berechneten Elektron-Elektron-Abstände der Serie **1a–e** sind in Tabelle 2 aufgeführt und den durch Moleküldynamiksimulationen ermittelten Abständen im Bereich von 1.5 (**1a**) bis 2.8 nm (**1e**) gegenübergestellt.<sup>[26]</sup>

Die Unsicherheit von etwa  $\pm 1$  Å ist dabei nicht etwa auf spektroskopische Limitierungen zurückzuführen, sondern spiegelt die konformative Freiheit der Nitroxidgruppen wider, die sowohl durch eine axiale/äquatoriale Position der Alkin-substituenten an den Sechsringen als auch durch C(sp)-C(sp<sup>3</sup>)-Bindungsrotationen zustandekommt. Für das kürzeste Diradikal **1a** konnte experimentell keine Kopplungskonstante erhalten werden, da Mikrowellen- $\pi$ -Pulse von einer kürzeren Dauer als 32 ns, wie sie für eine Anregung des Dipol-Subspektrums erforderlich gewesen wären, nicht erzeugt werden konnten. Diese Einschränkung der Bandbreite

Tabelle 2. Dipol-Kopplungskonstanten  $\nu_{DD}$  und Interradikalabstände  $r_{AB}$  für **1a–e**, erhalten durch Moleküldynamiksimulationen und experimentell ermittelte Daten.

Verb.	$\nu_{DD}$ [MHz]	$\Delta\nu_{DD}^{[a]}$ [MHz]	$r_{AB}^{\text{th}}^{[b]}$ [Å]	$r_{AB}^{\text{exp}[c]}$ [Å]
<b>1a</b>	–	–	$14.4 \pm 1.0$	–
<b>1b</b>	14.16	0.49	$16.5 \pm 1.0$	$15.4 \pm 0.2$
<b>1c</b>	10.25	0.49	$18.8 \pm 1.0$	$17.2 \pm 0.3$
<b>1d</b>	4.88	0.49	$23.6 \pm 1.0$	$22.0 \pm 0.7$
<b>1e</b>	3.05	0.49	$27.7 \pm 1.0$	$25.7 \pm 1.4$

[a] Experimenteller Fehler der Dipol-Kopplungskonstante. [b] Gemittelte O-O-Abstände zwischen terminalen N-OH-Gruppen, abgeschätzt durch Moleküldynamiksimulationen.<sup>[26]</sup> [c] Experimentell erhaltene Abstände.

führte zu einer unteren Grenze meßbarer Interradikalabstände von etwa 1.5 nm. Dagegen sollten mindestens fünf vollständige Schwingungen mit der den Singularitäten im Pake-Muster entsprechenden Frequenz in einem Intervall der Länge  $\tau$  beobachtet werden können, um eine präzise Distanzermittlung zu ermöglichen (siehe Abb. 3b). Aus Empfindlichkeitsgründen sollte die Länge der gesamten Sequenz ( $4\tau$ ) die Phasengedächtniszeit  $T_m$  nicht wesentlich überschreiten. Diese beiden Bedingungen lassen erwarten, daß die Methode bis zu einem Distanzlimit von etwa 8 nm anwendbar ist. Die experimentellen und abgeschätzten Abstände sind in guter Übereinstimmung, wenn man bedenkt, daß die DEER-Experimente in einer Matrix bei 15 K, die Moleküldynamiksimulationen hingegen für Moleküle in Gasphase bei Raumtemperatur durchgeführt wurden. Für die experimentell ermittelten Abstände wurden systematisch Abweichungen von etwa 8 % hin zu kürzeren Distanzen erhalten, aber wir möchten daraus keine weitergehenden Schlüsse ziehen.

Mit der Diradikalserie **1a–e** haben wir die Möglichkeit aufgezeigt, mit einer weiterentwickelten Fourier-Transformations-Elektron-Elektron-Doppelresonanz-Spektroskopie Abstände von Elektronen im Bereich von 1.6 bis 2.8 nm zu messen. Dadurch wird die Voraussetzung geschaffen, diese Technik an komplexeren Systemen anzuwenden, deren Abstände zwischen den Gruppen nicht so genau definiert sind. Derzeit untersuchen wir die praktischen Grenzen des Vier-Puls-DEER-Experimentes für die Bestimmung von Abstandsverteilungen bis hin zur erwarteten theoretischen Grenze, die bei etwa 8 nm liegen sollte.

### Experimentelles

Typische Arbeitsvorschrift für die Kupplung von lithiierten Acetylenen und dem TEMPO-Radikal **2**. Verbindungen **1b** und **7**: Zu einer Lösung von **5** (0.050 g, 0.138 mmol) und wasserfreiem LiBr (0.12 g, 1.38 mmol) in wasserfreiem THF (30 mL) unter  $N_2$  bei 0°C wurde langsam *n*BuLi (0.17 mL, 0.28 mmol, 1.6 M Lösung in *n*-Hexan) zugegeben und die Mischung 30 min gerührt. Daraufhin wurde **2** (0.12 g, 0.69 mmol), gelöst in wasserfreiem THF (4 mL, über 4-Å-Molekularsieb), in 1 h mit einer Spritzenpumpe zugefügt und die Lösung 2 h bei 20°C gerührt. Die Mischung wurde anschließend mit gesättigter, wäßriger  $NH_4Cl$ -Lösung (100 mL) verdünnt, mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert und die organische Phase getrocknet ( $MgSO_4$ ). Flash-Chromatographie ( $SiO_2$ , *n*-Hexan/AcOEt, 5/1) lieferte **7** (0.021 g, 28 %) als einen leicht orangefarbenen Festkörper, und durch präparative Dünnschichtchromatographie ( $SiO_2$ , *n*-Hexan/AcOEt,

1/1) des Rückstandes wurde **1b** (0.038 g, 39 %) in Form eines orangefarbenen Feststoffes erhalten.

Typische Arbeitsvorschrift für oxidative Hay-Kupplungen. Verbindung **1d**: Zu **7** (0.042 g, 0.079 mmol) in wasserfreiem  $CH_2Cl_2$  (5 mL) über 4-Å-Molekularsieb wurden in 5 min CuCl (0.003 g, 0.03 mmol) und TMEDA (0.016 mL, 0.11 mmol) bei 20°C gegeben. Nach 3 h Rühren an der Luft wurde eine EDTA-Lösung (EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure, pH 8) zugefügt und die Mischung mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert, bis die Extrakte farblos blieben. Die organische Phase wurde mit gesättigter, wäßriger  $NaCl$ -Lösung gewaschen und getrocknet ( $MgSO_4$ ). Flash-Chromatographie ( $SiO_2$ , *n*-Hexan/AcOEt, 3/1) gab **1d** (0.023 g, 55 %) als orangefarbigen Feststoff.

Abstandsbestimmungen: Die Vier-Puls-DEER-Messungen wurden mit einem modifizierten Bruker-ESP380E-X-Band-FT-ESR-Spektrometer durchgeführt. Ein Kanal der Pulsformereinheit wurde für eine zweite Mikrowellenfrequenz verwendet. Ein HP-86290B-RF-Einschubmodul in einem HP-8350B-Frequenzgenerator wurde als Quelle für die zweite Frequenz verwendet. Die vom HP-86290B-RF-Einschubmodul abgebene Mikrowellenleistung wurden mit einem Miteq-AMF-5S-8012-18-Verstärker erhöht. Der verwendete Probenkopf war ein kommerziell erhältlicher Elektron-Kern-Doppelresonanz(ENDOR)-Resonator von Bruker (EN4118X-MD4), der überkoppelt wurde, um eine breite Resonatorlinie zu erhalten. Die Auflösung des Vier-Puls-DEER-Experimentes hängt von der Länge des konstanten Zeitintervals  $2\tau$  ab. Für die genaue Bestimmung von großen Distanzen verwenden wir  $\tau = 1200$  ns. Dadurch wird allerdings auch eine Meßtemperatur von 15 K notwendig, um trotz Phasenrelaxation eine genügend hohe Signalintensität nach einer Zeitspanne von 4.8  $\mu$ s zu gewährleisten. Die Wahl einer Frequenzdifferenz von 60 MHz zwischen den beiden Mikrowellen ermöglichte das Arbeiten mit einem Resonator mit nur einer Mode, wobei gleichzeitig Übergänge der zwei Nitroxidgruppen gerade noch selektiv angeregt werden konnten.

Eingegangen am 21. April 1998 [Z11762]

**Stichwörter:** Diradikale • Doppel-Elektron-Elektron-Resonanz-Spektroskopie • EPR-Spektroskopie

- [1] a) A. Rajca, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 871–893; b) J. S. Miller, A. J. Epstein, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 399–432; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 385–415; c) J. S. Miller, *Adv. Mater.* **1992**, *4*, 435–438; d) J. H. Zhang, A. J. Epstein, J. S. Miller, C. J. O'Connor, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1989**, *176*, 271–276; e) D. W. Wiley, J. C. Calabrese, J. S. Miller, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1989**, *176*, 277–288.
- [2] J. F. W. Keana, *Chem. Rev.* **1978**, *78*, 37–64.
- [3] *Spin Labeling Theory and Applications* (Hrsg.: L. J. Berliner), Academic Press, London, **1976**.
- [4] „Resolved Electron-Electron Spin-Spin Splittings in EPR Spectra“: G. R. Eaton, S. S. Eaton in *Biological Magnetic Resonance*, Vol. 8 (Hrsg.: L. J. Berliner, J. Reuben), Plenum, New York, **1989**, S. 339–398.
- [5] Y.-K. Shin, C. Levinthal, F. Levinthal, W. L. Hubbel, *Science* **1993**, *259*, 960–963.
- [6] *Ionomers, Characterization, Theory, and Applications* (Hrsg.: S. Schlick), CRC, New York, **1996**.
- [7] V. Schädler, A. Franck, U. Wiesner, H. W. Spiess, *Macromolecules* **1997**, *30*, 3832–3838.
- [8] V. Schädler, V. Kniese, T. Thurn-Albrecht, U. Wiesner, H. W. Spiess, *Macromolecules* **1998**, eingereicht.
- [9] J. E. Wertz, J. R. Bolton, *Electron Spin Resonance*, McGraw-Hill, New York, **1972**.
- [10] M. H. Rakowsky, K. M. More, A. V. Kulikov, G. R. Eaton, S. S. Eaton, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2049–2057.
- [11] a) A. D. Milov, K. M. Salikhov, M. D. Shirov, *Fiz. Tverd. Tela* **1981**, *23*, 975–982; b) A. D. Milov, A. B. Ponomarev, Y. D. Tsvetkov, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *110*, 67–72.
- [12] R. G. Larsen, D. J. Singel, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5134–5146.
- [13] V. Pfannebecker, H. Klos, M. Hubrich, T. Volkmer, A. Heuer, U. Wiesner, H. W. Spiess, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13428–13432.

- [14] *Modern Pulsed and Continuous-Wave Electron Spin Resonance* (Hrsg.: L. Kevan, M. K. Bowman), Wiley, New York, **1990**.
- [15] *Electronic Materials: The Oligomer Approach* (Hrsg.: K. Müllen, G. Wegner), Wiley-VCH, Weinheim, **1997**.
- [16] a) P. G. Hamill, A. E. Yost, J. D. Sandman, *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol. Sect. A* **1992**, *211*, 339–346; b) J. S. Miller, D. T. Glatzhofer, J. C. Calabrese, A. J. Epstein, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 322–323; c) Yu. V. Korshak, T. V. Medvedeva, A. A. Ovchinnikov, V. N. Spector, *Nature (London)* **1987**, *326*, 370–372.
- [17] a) M. B. Neiman, E. G. Rozantsev, Yu. G. Mamedova, *Nature (London)* **1962**, *196*, 472–474; b) G. Sosnovsky, M. Konieczny, *Synthesis* **1976**, 735–736; c) Übersichtsartikel zur Chemie gehinderter Piperidine: M. Dagonneau, E. S. Kagan, V. I. Mikhailov, E. G. Rozantsev, V. D. Sholle, *Synthesis* **1984**, 895–916.
- [18] Röntgenstrukturanalyse von **3** bei 293 K:  $C_{20}H_{38}NO_2Si$ ,  $M_r = 352.6$ , triklin, Raumgruppe  $P\bar{1}$ ,  $\rho_{ber.} = 1.056 \text{ g cm}^{-3}$ ,  $Z = 4$ ,  $a = 7.741(9)$ ,  $b = 8.516(10)$ ,  $c = 33.80(3) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 91.84(8)$ ,  $\beta = 92.46(8)$ ,  $\gamma = 94.41(9)^\circ$ ,  $V = 2218(4) \text{ \AA}^3$ . Die Daten wurden auf einem Syntex-P21-Diffraktometer mit  $Mo_K\alpha$ -Strahlung ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) und  $\omega$ -Scans aufgenommen. Die Struktur wurde mit Direkten Methoden gelöst und ergab nach Verfeinerung mit dem Volle-Matrix-V erfahren (SHELXTL-PLUS; Schweratome anisotrop, H-Atome aufgrund stereochemischer Überlegungen lokalisiert)  $R1 = 0.0663$ ,  $wR2 = 0.1711$  für 4142 unabhängige beobachtete Reflexe und 570 Variable ( $I \geq 2.0\sigma(I)$ ,  $2.4 \leq \theta \leq 20.0^\circ$ ). Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-101294“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [19] A. S. Hay, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3320–3321.
- [20] R. R. Tykwiński, M. Schreiber, R. Pérez Carlón, F. Diederich, V. Gramlich, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 2249–2281.
- [21] S. Takahashi, Y. Kuroyama, K. Sonogashira, N. Hagihara, *Synthesis* **1980**, 627–630.
- [22] P. E. van Rijn, S. Mommers, R. G. Visser, H. D. Verkruissse, L. Brandsma, *Synthesis* **1981**, *116*, 459–460.
- [23] K. M. Salikhov, S. A. Dzuba, A. M. Raitsimring, *J. Magn. Reson.* **1981**, *42*, 255–276.
- [24] V. V. Kurshev, A. M. Raitsimring, Y. D. Tsvetkov, *J. Magn. Reson.* **1989**, *81*, 441–454.
- [25] A. Abragam, *The Principles of Nuclear Magnetism*, Clarendon, Oxford, **1983**.
- [26] CVFF-Kraftfeld, Insight II (Version 95.0), Biosym Technologies, San Diego, **1995**. Anstelle von  $N-O^\bullet$  wurde der Parametersatz der  $N-OH$ -Gruppe für die Simulationen verwendet. Hartman et al. empfahlen als Ersatz für die Nitroxyleinheit  $N-O^\bullet$  bei Simulationen die  $C=O$ -Gruppe (D. Hartmann, R. Philipp, K. Schmadel, J. J. Birktoft, L. J. Banaszak, W. E. Trommer, *Biochemistry* **1991**, *30*, 2782–2790). Der Fehler in den End-End-Abständen, bedingt durch die Verwendung von  $N-OH$  anstelle von  $C=O$  und durch das Ausführen der Simulationen ohne Lösungsmittelmoleküle, wird jedoch durch die konformative Freiheit der Nitroxidgruppen aufgrund der sowohl axialen als äquatorialen Position der Acetylensubstituenten an den Sechsringen und durch  $C(sp)-C(sp^3)$ -Bindungsrotationen mehr als ausgewogen.

## Erweiterung der Bindungs- und Katalyse-eigenschaften von DNA: hochfunktionalisierte dUTP-Derivate als Substrate für thermostabile DNA-Polymerasen\*\*

Kandasamy Sakthivel und Carlos F. Barbas III\*

Nucleinsäurebibliotheken bieten außerordentliche Möglichkeiten zur Selektion neuartiger Liganden und Katalysatoren, da mit der Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) Bibliotheken mit mehr als  $10^{14}$  verschiedenen Molekülen synthetisiert und selektiert werden können. Es gibt mittlerweile viele ausgewählte Nucleinsäuren, die Proteine und niedermolekulare Verbindungen binden und eine begrenzte Zahl von Reaktionen katalysieren.<sup>[1–3]</sup> Der katalytische und mechanistische Anwendungsbereich von Nucleinsäuren ist begrenzt, da die natürlichen Nucleotidmonomere im Vergleich zu den in der Natur vorherrschenden Biokatalysatoren, den Proteinen, nur eine sehr begrenzte Funktionalität aufweisen. Daher war man sehr daran interessiert, funktionalisierte Nucleotide, die sich für die In-vitro-Selektion eignen, zu entwickeln, in der Hoffnung, die Möglichkeiten der Nucleinsäuren zur Bindung und Katalyse zu erweitern.<sup>[4]</sup> Funktionalisierte Nucleotidtriphosphate wurden als Substrate für RNA-Polymerasen<sup>[4d,h]</sup> eingesetzt, und von den dabei erhaltenen RNAs wurden katalytisch aktive Spezies selektiert, deren Aktivität von der modifizierten Base<sup>[5]</sup> abhängig ist. Wie RNA ist auch DNA in der Lage, Proteine und niedermolekulare Verbindungen zu binden und Reaktionen zu katalysieren.<sup>[1–3]</sup> Das Fehlen der 2'-Hydroxygruppe verleiht zwar der DNA eine größere Stabilität im Vergleich zur RNA, ist aber auch für die geringere Funktionalität verantwortlich. Im Unterschied zum erfolgreichen Einsatz modifizierter Nucleotidtriphosphate beim Aufbau von RNA-Bibliotheken gibt es nur ein Desoxynucleotidtriphosphat, 5-(1-Pentinyl)-2'-desoxyuridintriphosphat, das sich als brauchbares Substrat für eine thermostabile DNA-Polymerase erwiesen hat und in einer In-vitro-Selektionsstudie eingesetzt worden ist.<sup>[6]</sup> Die Schwierigkeiten, geeignete modifizierte Desoxynucleotidtriphosphate als Substrate thermostabiler Polymerasen für die PCR zu finden, führte zur Entwicklung neuer Methoden zur In-vitro-Selektion ohne enzymatische Amplifikation.<sup>[7]</sup> Das größte Hindernis bei der Entwicklung neuer, funktionell modifizierter DNAs ist daher die Ermittlung der Strukturen der Substrate, die von thermostabilen Polymerasen erkannt und umgesetzt werden. Mit der systematischen Synthese und Untersuchung von Desoxyuridintriphosphat-Derivaten zeigen wir hier eine Lösung dieses

[\*] Prof. C. F. Barbas III, Dr. K. Sakthivel

The Skaggs Institute for Chemical Biology  
and the Department of Molecular Biology  
The Scripps Research Institute  
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)  
Fax: (+1) 619-784-2583  
E-mail: carlos@scripps.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Skaggs Institute gefördert. Wir danken R. Fuller und S. Gramatikova für die technische Hilfe.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.