

Konformation der Phenylringe unterscheiden. Es liegen ähnliche Verhältnisse wie im kristallinen *tert*-Butoxycarbonylphenylalanin (Boc-Phe-OH)^[2] vor, dessen Elementarzelle ebenfalls zwei Konformere enthält, die zu einer Aufspaltung sämtlicher ¹³C-Resonanzsignale führen. Ungewöhnlich ist jedoch, daß in **3** bereits ein geringer Konformationsunterschied eine relativ große Signalaufspaltung bewirkt.

Eingegangen am 25. März,
in veränderter Fassung am 7. Juni 1985 [Z 1236]

- [1] D. L. van der Hart, W. L. Earl, A. N. Garroway, *J. Magn. Reson.* **44** (1981) 361; C. S. Yannoni, *Acc. Chem. Res.* **15** (1982) 201.
- [2] H. Kessler, G. Zimmermann, H. Förster, J. Engel, G. Oepen, W. S. Sheldrick, *Angew. Chem.* **93** (1981) 1085; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20** (1981) 1053.
- [3] A. Naito, S. Ganapathy, K. Akasaka, C. A. McDowell, *J. Chem. Phys.* **74** (1981) 3190.
- [4] A. Naito, S. Ganapathy, C. A. McDowell, *J. Chem. Phys.* **74** (1981) 5393; *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 367.
- [5] J. G. Hexem, M. H. Frey, S. J. Opella, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 224.
- [6] A. Bruns, W. Hiller, U. Kunze, *Z. Naturforsch. B* **39** (1984) 14.
- [7] U. Kunze, A. Bruns, W. Hiller, J. Mohyla, *Chem. Ber.* **118** (1985) 227.
- [8] K. Issleib, G. Harzfeld, *Chem. Ber.* **97** (1964) 3430.
- [9] Maßbedingungen: Gerät CxP 300, Feld 7 T, Entkopplungsfeldstärke 0.0015–0.0020 T, Rotationsgeschwindigkeit 3.5–5 kHz, Kontaktzeit 1 ms, Wiederholrate 4 s, Anzahl der Scans 500–1000.
- [10] Röntgen-Strukturanalyse von **3**: P_2/n , $a = 1688.2(2)$, $b = 978.6(2)$, $c = 1712.8(2)$ pm, $\beta = 107.66(2)^\circ$, $V = 2696.3 \cdot 10^6$ pm³, $Z = 8$; $R_1 = 0.065$, $R_{\text{w}} = 0.078$ für 2426 beobachtete Reflexe mit $I > 3\sigma(I)$ (20°C , $3 \leq 2\theta \leq 52^\circ$, CAD4, $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung). Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Energie Physik Mathematik, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD 51263, der Autoren und des Zeitschriftentitels angefordert werden.

Spektrenvereinfachung zur Ermittlung von Kopplungskonstanten aus homonuclear-korrelierten 2D-NMR-Spektren**

Von Horst Kessler* und Hartmut Oschkinat

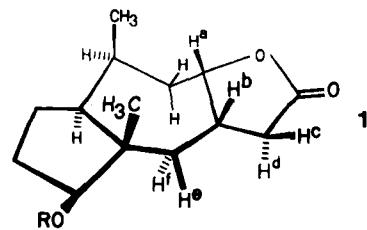
Einer der wichtigsten Parameter in der NMR-Spektroskopie ist die indirekte Spin-Spin-Kopplung (J-Kopplung). Es ist oft schwierig, aus komplizierten ¹H-NMR-Spektren die zur Strukturdiskussion wichtigen Kopplungskonstanten zu ermitteln, weil die zu analysierenden Protonensignale eine komplexe Multiplettstruktur aufweisen oder von anderen Signalen überlagert sind.

Wir wollen zeigen, wie Kopplungskonstanten mit Hilfe eines speziellen Verfahrens (Differenzen und Summen innerhalb von COSY-Spektren, DISCO) aus phasensensitiven homonuclear-korrelierten Protonenspektren (¹H,¹H-COSY)^[1] ohne zusätzlichen Meßaufwand gewonnen werden können. Schwierigkeiten, die bei konventionellen Verfahren wie Doppelresonanzspektroskopie^[2] und 2D-J,δ-Spektroskopie^[3] durch Verfälschung der Kopplungswerte („boosting“^[2]) oder bei der Zuordnung der ermittelten Werte auftreten können, werden vermieden.

Als Beispiel für die Möglichkeit, mit der DISCO-Technik komplexe Multiplettstrukturen zu vereinfachen^[4,5], untersuchen wir die in einer Naturstoffsynthese angefallene Verbindung **1**, $R = t\text{BuMe}_2\text{Si}$ ^[6].

[*] Prof. Dr. H. Kessler, Dipl.-Chem. H. Oschkinat
Institut für Organische Chemie der Universität
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt am Main 50

[**] Wir danken Prof. Dr. G. Quinkert und Dipl.-Chem. H. G. Schmalz für die Substanz und wertvolle Diskussionen. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.



Es stellte sich die Frage, inwiefern die Protonen-Kopplungskonstanten zusammen mit Kern-Overhauser-Effekt(NOE)-Werten zur Aufklärung der Struktur an der Ringverknüpfungsstelle Siebenring/Fünfring-Lacton herangezogen werden können. In diesem Zusammenhang interessieren vor allem die fünf Kopplungskonstanten, die in Signal b bei $\delta = 2.89$ enthalten sind. Das H,H-COSY-Spektrum (Abb. 1) gibt Aufschluß über die Lage der Kopplungskonstanten.

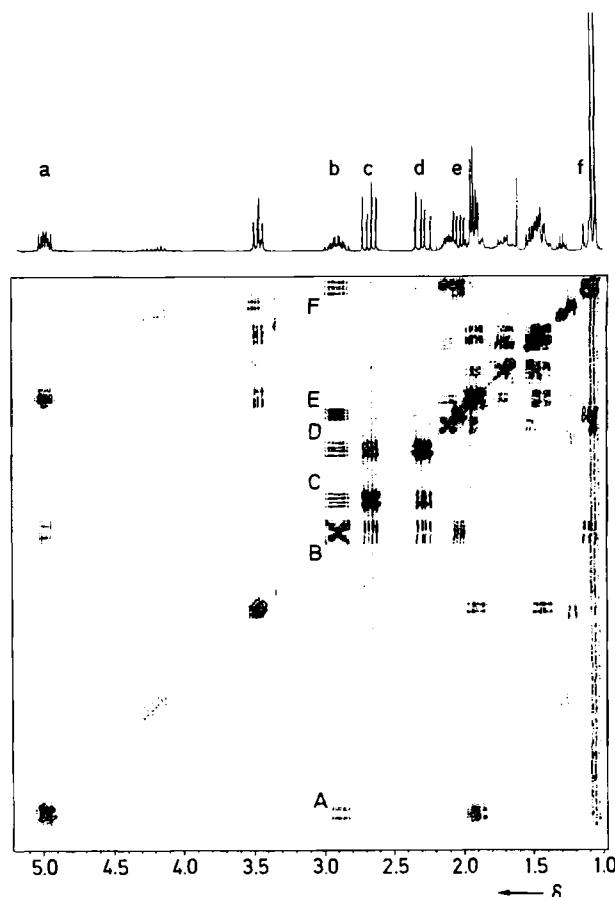


Abb. 1. Ausschnitt aus dem phasensensitiven H,H-COSY-Spektrum mit Doppelquantenfilter [7] von **1** bei 300 MHz in CDCl_3 , aufgenommen nach der TPPI-Methode [8]. Es wurden 616 Inkremente mit je 16 Scans à 8 K in t_2 aufgenommen. In t_1 wurden vor der Fourier-Transformation auf 2 K Datenpunkte mit Nullen ergänzt. Die gesamte Aufnahmezeit betrug 14 h, die Rechenzeit ca. 30 min.

lungspartner. Alle zehn erwarteten Kreuzsignale, die Kopplungen von b zu a, c, d, e und f anzeigen, sind zu sehen. In keinem Fall liegt eine starke Kopplung zu b und zwischen den Signalen a, c, d, e und f vor. Die Kopplungen, die jeweils die Ursache für die einzelnen Kreuzsignale sind, rufen auch die sogenannte Anti-Phase-Struktur der Kreuzsignale hervor^[1,4,5]. Das heißt, daß innerhalb eines Querschnittes durch ein Kreuzsignal Linien mit positiver und negativer Intensität erscheinen. Die Differenz des Schwerpunktes der jeweils positiven oder negativen Signallinien innerhalb dieses Querschnittes ist gleich der „aktiven“ Kopplungskonstante. Eine direkte Auswertung

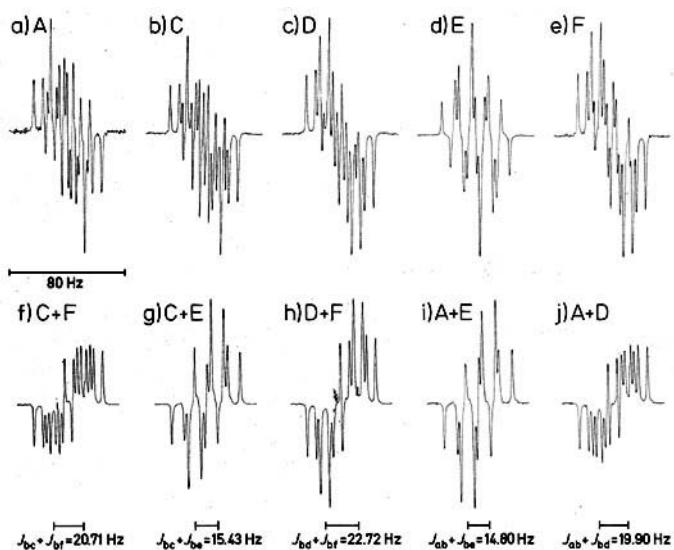


Abb. 2. a-e) Pseudo-1D NMR-Spektren aus den Kreuzsignalen zu b. Die Spektren wurden durch Coaddition der einzelnen Spuren des jeweiligen Kreuzsignals erhalten. Ihre Auflösung wurde durch Retro-Fourier-Transformation, Nullenergänzung auf 32K-Datenpunkte, Lorentz-Gauß-Transformation und erneute Fourier-Transformation verbessert. Die Auflösung betrug vorher 0.4 und nachher 0.2 Hz. f-j) DISCO-Spektren durch Addition der unbehandelten 8K-pseudo-1D-Spektren. Die Auflösung der so erhaltenen Spektren wurde wie oben beschrieben verbessert.

ist jedoch oft durch Auslöschungseffekte stark erschwert (Abb. 2a-e) oder unmöglich.

Durch einen einfachen Trick kann man die Struktur des in einem Querschnitt sichtbaren Musters vereinfachen. Addiert man die Querschnitte zweier verschiedener Kreuzsignale, so erhält man im Ergebnis ein Muster mit nur noch halb so vielen Linien wie ursprünglich. Die nach wie vor vorhandene Anti-Phase-Struktur ist nun weniger störend, da jetzt der Abstand der beiden Signalgruppen mit positiver oder negativer Intensität die Summe der beiden aktiven Kopplungskonstanten beträgt (Abb. 2f,g).

Daher erhält man die gewünschten Kopplungskonstanten nicht direkt, sondern durch Lösen eines linearen Gleichungssystems mit n Unbekannten, wobei n die Anzahl der beteiligten Kreuzsignale ist. Hat man beispielsweise drei Kreuzsignale A, B, C und kombiniert sie zu A+B, A+C, B+C, so erhält man aus der Differenz der Schwerpunkte der positiven und negativen Signalgruppen in den einzelnen DISCO-Spektren die Summe der Kopplungskonstanten, die in beiden Kreuzsignalen die aktive war. Man erhält ein lineares Gleichungssystem mit drei Unbekannten, das gerade ausreichend bestimmt ist ($J_A + J_B = X$, $J_A + J_C = Y$, $J_B + J_C = Z$) und gelöst werden kann. Hat man vier Kreuzsignale, kann man sechs DISCO-Spektren aufnehmen, und das System ist bereits überbestimmt. Das eröffnet die Möglichkeit, die Fehler zu minimieren und auf solche DISCO-Spektren zu verzichten, in denen die Lage der Schwerpunkte der In-Phase-Multipletts nicht eindeutig feststellbar ist.

Nun ist es erstrebenswert, möglichst Querschnitte mit gutem Signal/Rausch-Verhältnis zu kombinieren. Dies kann man erreichen, indem man alle Spuren eines Kreuzsignals entsprechend dem Vorzeichen einzelner Linien so addiert, daß für die Signale die Intensität maximal wird und sich das Signal/Rausch-Verhältnis entsprechend verbessert^[9]. Auf diese Weise lassen sich etwa vorhandenes T₁-Rauschen und Dispersionsanteile von Diagonalsignalen reduzieren. Aus den in Abbildung 1 mit A, C, D, E, F bezeichneten Kreuzsignalen wurden solche „pseudo-1D-Spektren“ hergestellt (Abb. 2a-e) und entspre-

chend kombiniert. Von den zehn möglichen Kombinationen sind fünf in Abbildung 2f-j dargestellt. Teilweise auftretende Auslöschungseffekte stören nicht die Schwerpunkte dieser Liniengruppen. Die Werte für die Summen der entsprechenden Kopplungskonstanten sind ebenfalls in Abbildung 2f-j angegeben; nach Lösung des linearen Gleichungssystems mit fünf Unbekannten erhält man $J_{ab} = 8.3$, $J_{bc} = 9.2$, $J_{bd} = 11.3$, $J_{be} = 6.2$ und $J_{bf} = 11.4$ Hz. Die gleichen Werte für die Kopplungskonstanten J_{bc} und J_{bd} lassen sich aus dem eindimensionalen Spektrum ableSEN.

Die Zuordnung der diastereotopen Methylenprotonen e, f und c, d wird durch ein intensives Kreuzsignal zwischen den Signalen d und f im phasensensitiven NOESY-Spektrum^[10,11] geliefert. Zu diesen Signalen wird eine große Kopplungskonstante von 11.3 bzw. 11.4 Hz gefunden, wodurch die antiperiplanare Stellung ihrer Protonen zu Proton b bewiesen wird. Die Kopplung von Proton b zu e liegt im erwarteten Bereich, während diejenige zu c erstaunlich groß erscheint. Die Kopplungskonstante zwischen b und a (8.3 Hz) ist mit einer nahezu ekliptischen Anordnung vereinbar. Wegen des starken NOE-Effektes zwischen a und b sowie von a zu beiden Methylgruppen ist die *cis*-Ringverknüpfung belegt. Proton b weist nur einen NOE-Effekt zu der Methylgruppe am quartären C-Atom auf. Daraus folgt eine nicht völlig ekliptische Anordnung von a und b sowie Konfiguration und Konformation an der Ringverknüpfungsstelle (siehe Formelzeichnung).

Der Wert dieser Methode besteht darin, daß aus einem routinemäßig aufgenommenen, phasensensitiven H,H-COSY-Spektrum mit oder ohne Doppelquantensfilter auch die Werte für die Kopplungskonstanten entnommen werden können, ohne daß weitere Experimente nötig sind. In unserem Beispiel benötigte man für alle möglichen zehn DISCO-Spektren ca. 15 min an einer Datenstation ASPECT 3000 mit Array-Processor. Addiert man die Rechenzeit für die Fourier-Transformation der gespeicherten FID's von ca. 30 min, so ist das Verfahren immer noch schneller als konventionelle Experimente am Spektrometer mit erneuter Messung der Probe. Da zur Anwendung der DISCO-Technik nur eine gute Auflösung in ω_2 erforderlich ist, verlangt die benötigte bessere Auflösung keine verlängerte Aufnahmezeit. Diese Methode ist auch anwendbar, wenn im eindimensionalen Spektrum die auszuwertenden Signale von anderen verdeckt sind. Sind jedoch die Diagonalsignale frei, so lassen sich auch durch DISCO-Spektren zwischen Kreuzsignalen und auf Absorptionsphase gerechneten Diagonalsignalen die Kopplungskonstanten ermitteln^[5].

Eingegangen am 15. April,
in veränderter Fassung am 24. Mai 1985 [Z 1266]

- [1] W. P. Aue, E. Bartoldi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 2229; A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 44 (1981) 542.
- [2] R. A. Hoffmann, S. Forsen, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 1 (1966) 15.
- [3] W. P. Aue, J. Karhan, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 4226; G. Bodenhausen, R. Freeman, G. A. Morris, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* 31 (1978) 75.
- [4] H. Oschkinat, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 60 (1984) 164.
- [5] H. Kessler, A. Müller, H. Oschkinat, *Magn. Reson. Chem.* 23 (1985), im Druck.
- [6] G. Quirk, H. G. Schmalz, unveröffentlicht.
- [7] M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 117 (1983) 479.
- [8] D. Marion, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 113 (1983) 967.
- [9] Software wird von der Firma Bruker seit kurzem bereitgestellt.
- [10] D. J. States, R. A. Haberkorn, D. J. Ruben, *J. Magn. Reson.* 48 (1982) 286.
- [11] Aufgenommen nach dem TPPI-Verfahren [7].