

Von Joachim Buddrus\* und Hans Bauer

Bei der Aufklärung der Struktur organischer Verbindungen spielt die NMR-Spektroskopie eine bedeutende Rolle. Wichtige Parameter sind dabei die chemischen Verschiebungen der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Kerne und die Spin-Spin-Kopplungen zwischen  $^1\text{H}$ -Kernen sowie zwischen  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Kernen. Kopplungen zwischen  $^{13}\text{C}$ -Kernen wurden bis vor wenigen Jahren kaum beachtet, weil sie aufgrund der geringen natürlichen Häufigkeit von  $^{13}\text{C}$  nur schwer zu beobachten waren. Gerade diese Kopplungen geben aber direkte Hinweise auf die Verknüpfungen im Kohlenstoffgerüst. Durch eine spezielle Pulsfolge in der NMR-Spektroskopie lassen sich diese Kopplungen jetzt besser sichtbar machen. Man erhält  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren, aus denen das jeweilige Kohlenstoffgerüst direkt abgelesen werden kann. Insbesondere zweidimensionale Spektren sind sehr einfach zu interpretieren. Die Pulsfolge hört auf den Namen INADEQUATE, sie erzeugt Doppelquanten-Kohärenzen, aus denen schließlich die NMR-Signale der koppelnden  $^{13}\text{C}$ -Kerne hervorgehen. Dieser Beitrag erläutert das Prinzip der Doppelquanten-Kohärenz, bringt zahlreiche Anwendungsbeispiele aus dem Repertoire des präparativ orientierten Organikers und aus dem des Naturstoffchemikers, einige Beispiele aus dem Gebiet der Biosynthese und weist auf die Möglichkeit hin, auch andere Kerne als  $^{13}\text{C}$  mit INADEQUATE-NMR-Spektroskopie zu untersuchen.

## 1. Einleitung

Nicht selten stößt man auf Kohlenstoffverbindungen, die das Geheimnis ihrer Struktur oder eines Strukturdetails nicht preisgeben. Beispiele sind polycyclische Kohlenwasserstoffe, Verbindungen mit mehreren benachbarten H-freien C-Atomen oder Polyhalogenverbindungen. Vergeblich hat man die  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und gegebenenfalls auch  $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektroskopie bemüht; die Röntgen-Strukturanalyse scheitert daran, daß die interessierende Verbindung entweder nicht kristallisiert oder nur ungeeignete Kristalle bildet. Bei ausreichender Substanzmenge ( $\geq 200$  mg bei einem Molekulargewicht von ca. 300) sollte man erneut die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie bemühen, dabei aber solange Spektren akkumulieren, bis sich Moleküle mit zwei benachbarten  $^{13}\text{C}$ -Kernen (tritt nur in einem von ca. 10000 Molekülen auf) zu erkennen geben. Das kann mit der herkömmlichen Technik oder (besser) mit der Pulsfolge INADEQUATE geschehen, die die störenden Signale isolierter, d.h. nur an  $^{12}\text{C}$ -Kerne gebundener  $^{13}\text{C}$ -Kerne durch Subtraktion eliminiert. Aus den  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungskonstanten erhält man die miteinander verbundenen Molekülfragmente ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$ ,  $\text{C}$ ,  $\text{CX}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  usw.) und damit das Kohlenstoffgerüst.

## 2. Isotopomere Kohlenstoffverbindungen

Das Element Kohlenstoff besteht zu 98,9% aus dem Isotop  $^{12}\text{C}$  (Spinquantenzahl  $I=0$ ) und zu 1,1% aus dem Isotop  $^{13}\text{C}$  ( $I=1/2$ ). Eine Kohlenstoffverbindung setzt sich deshalb aus einer Vielzahl von Isotopomeren zusammen.

Bereits für 1-Propanol erhält man acht Isotopomere, wenn man die mit H und O bezeichneten Atome jeweils als einheitlich ansieht:

$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ 96,73%	$\text{H}_3^{13}\text{C}-^{13}\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ 0,01%
$\text{H}_3^{13}\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ 1,08%	$\text{H}_3^{13}\text{C}-\text{CH}_2-^{13}\text{CH}_2-\text{OH}$ 0,01%
$\text{H}_3\text{C}-^{13}\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ 1,08%	$\text{H}_3\text{C}-^{13}\text{CH}_2-^{13}\text{CH}_2-\text{OH}$ 0,01%
$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-^{13}\text{CH}_2-\text{OH}$ 1,08%	$\text{H}_3^{13}\text{C}-^{13}\text{CH}_2-^{13}\text{CH}_2-\text{OH}$ 0,0001%

Der Anteil eines Isotopomers mit einem  $^{13}\text{C}$ -Atom in einer bestimmten Position beträgt  $0,011^1 \cdot 0,989^{n-1}$  ( $n$  = Anzahl der C-Atome in einem Molekül), mit zwei  $^{13}\text{C}$ -Atomen in definierten Positionen (gleichgültig, ob diese benachbart sind oder nicht)  $0,011^2 \cdot 0,989^{n-2}$  usw. Das bedeutet, daß sich unter ca. 10000 Molekülen nur ein einziges Molekül befindet, das an einer bestimmten Stelle zwei benachbarte  $^{13}\text{C}$ -Atome aufweist.

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von Isotopomeren mit einem einzigen  $^{13}\text{C}$ -Kern enthalten nach Breitbandentkopplung der Protonen nur Singulettsignale (A-Spinsysteme, herkömmliches  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum). Isotopomere mit zwei  $^{13}\text{C}$ -Kernen verhalten sich analog denen mit einem  $^{13}\text{C}$ -Kern, sofern beide Kerne durch mehrere Bindungen getrennt sind. Sind die beiden  $^{13}\text{C}$ -Kerne dagegen nur durch wenige Bindungen (eine Bindung bis ca. drei Bindungen) getrennt, koppeln sie miteinander und ergeben, sofern sie nicht isochron sind, AB- oder AX-Spinsysteme mit zwei Dubletts. Die Größe der Kopplungskonstante über eine Bindung ( $^1J_{\text{C,C}}$ ) hängt von der Hybridisierung der C-Orbi-

[\*] Priv.-Doz. Dr. J. Buddrus, Dr. H. Bauer  
Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie  
Bunsen-Kirchhoff-Straße 11, D-4600 Dortmund 1

Tabelle 1.  $^1J(\text{C},\text{C})$ -Kopplungen in Abhängigkeit von der Hybridisierung der C-Orbitale und vom Substituenten X im Fragment  $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}-\text{X}$ ; Substituenteneffekte in Klammern [a].

Verbindung	Hybridisierung	X = H	X = CH <sub>3</sub>	X = Cl	X = O-Alkyl
H <sub>3</sub> C-CH <sub>2</sub> -X	sp <sup>3</sup> -C, sp <sup>3</sup> -C	34.6	34.6 (0)	36.1 (1.5)	38.9 (4.3)
H <sub>3</sub> C=CH-CH <sub>2</sub> -X	sp <sup>2</sup> -C, sp <sup>3</sup> -C	41.9	41.8 (0)	45.2 (3.3)	46.7 (4.3)
H <sub>2</sub> C=C(CH <sub>3</sub> )-X	sp <sup>2</sup> -C, sp <sup>3</sup> -C	41.9	41.9 (0)	48.5 (6.6)	51.8 (9.9)
H <sub>3</sub> C <sub>6</sub> -X	sp <sup>2</sup> -C, sp <sup>2</sup> -C	56.0 [b]	57.1 (1.1) [b]	65.2 (9.2) [b]	67.0 (11.0) [b]
H <sub>2</sub> C=CH-X	sp <sup>2</sup> -C, sp <sup>2</sup> -C	67.6	70.0 (2.4)	77.6 (10.0)	78.1 (10.5)
HC≡C-X	sp-C, sp-C	171.5	175.0 (3.5)	207 [c] (35.5)	216.5 (45.0) [5]
H <sub>3</sub> C-CO-X	sp <sup>3</sup> -C, sp <sup>2</sup> -C	39.7	40.1 (0.7)	56.1 (16.7)	58.8 (19.4)
HCO-CH <sub>2</sub> -X	sp <sup>3</sup> -C, sp <sup>2</sup> -C	39.7	38.3 (-1.4)		

[a] Werte zum Teil aus [1], zum Teil aus eigenen Messungen. [b]  $^1J(\text{C}_1, \text{C}_2)$ . [c] Berechnet [5].

tale und vom Substituenten X im Fragment  $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}-\text{X}$  ab und erstreckt sich über einen Bereich von ca. 35 bis 220 Hz (Tabelle 1)<sup>[1-4]</sup>. Kopplungskonstanten über zwei oder drei Bindungen sind weitaus kleiner, typischerweise zwischen 0 und 5 Hz. Der Anteil an Isotopomeren mit drei (und mehr)  $^{13}\text{C}$ -Kernen ist verschwindend gering; daher können diese Isotopomere heute NMR-spektroskopisch noch nicht erfaßt werden, es sei denn, ihr  $^{13}\text{C}$ -Gehalt ist durch  $^{13}\text{C}$ -Markierung erhöht<sup>[6,7]</sup>.

In  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren mit einem ausreichend großen Signal/Rausch-Verhältnis (> 500/1) kann man neben den intensitätsstarken Singulettsignalen der isolierten  $^{13}\text{C}$ -Kerne auch die intensitätsschwachen Signale der koppelnden  $^{13}\text{C}$ -Kerne erkennen (Abb. 1). Das Singulettsignal ist

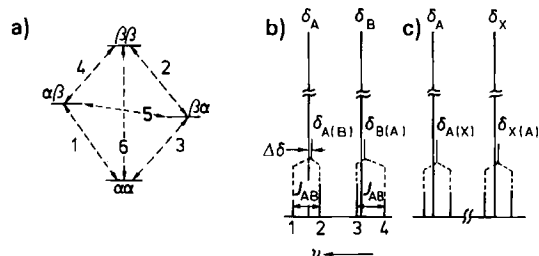


Abb. 1. Termschema und NMR-Spektrum eines  $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$ -Fragments. a) Termschema: 1, 2, 3 und 4 sind erlaubte Einquanten-Übergänge, 5 und 6 verbotene Null- bzw. Doppelquanten-Übergänge. b) und c) NMR-Spektrum eines AB- bzw. AX-Spinsystems. Die chemischen Verschiebungen der koppelnden  $^{13}\text{C}$ -Kerne sind um 0 bis 0.03 ppm zu niedrigeren Frequenzen verschoben (Isotopeneffekt auf die chemische Verschiebung).

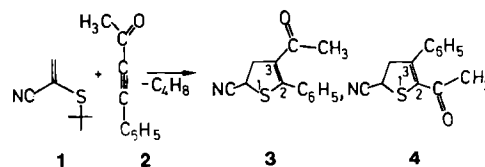
ca. 200mal intensiver als eines der vier Signale der koppelnden Kerne. Aus den Kopplungskonstanten aller  $^{13}\text{C}$ -Kerne in einem Molekül läßt sich unter der Voraussetzung unterschiedlicher Kopplungskonstanten das Kohlenstoffgerüst des Moleküls ableiten.

### 3. Herkömmliche $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie

Die herkömmliche  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie, darunter wird in diesem Beitrag die Sequenz Puls - Datenaufnahme verstanden, wurde mehrfach zur Bestimmung von Kopp-

lungskonstanten benachbarter  $^{13}\text{C}$ -Kerne herangezogen<sup>[8-10]</sup>. Die Kopplungskonstanten dienen teils der sicheren Zuordnung von  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen, teils der Aufklärung von Biosynthesewegen (ausgehend von  $^{13}\text{C}$ -markierten Vorläuferverbindungen).

Wie man aus den  $^1J_{\text{C,C}}$ -Werten eines herkömmlichen Spektrums auch die Konstitution unbekannter Verbindungen ablesen kann, sei an einem Beispiel erläutert: Beim gemeinsamen Erhitzen der ungesättigten Verbindungen 1



und 2 entsteht unter Isobuten-Abspaltung entweder das Dihydrothiophen 3 oder sein Isomer 4<sup>[11]</sup>. Eine Unterscheidung durch herkömmliche Spektroskopie ist schwierig, unter anderem weil in 2 keine H-Atome an die reagierenden C-Atome gebunden sind. Mit den  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungen gelingt eine Unterscheidung problemlos (Abb. 2). Das Singulett bei  $\delta = 154$ , das aufgrund seiner Lage dem zur Carbonylgruppe  $\beta$ -ständigen Olefin-C-Atom

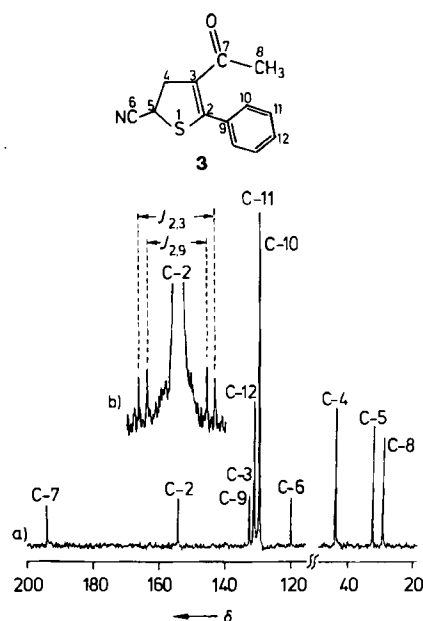


Abb. 2. 25MHz- $^{13}\text{C}[^1\text{H}]$ -NMR-Spektrum von 3 (0.5 g) + ca. 10 mg  $[\text{Cr}(\text{acac})_3]$  (acac = Acetylacetonat) in 1.5 mL  $\text{CDCl}_3$ . Digitale Auflösung = 0.5 Hz/Datenpunkt. a) Einzelakkumulation. b) 60000 Akkumulationen, Wiederholungsintervall 4 s (Ausschnitt).  $J_{2,3} = 72.9$ ,  $J_{2,9} = 57.7$  Hz.

zugeordnet werden muß, weist nur zwei Satellitenpaare im Verhältnis 1:1 auf. Folglich kann es sich nur um das Signal des C-2-Kerns in 3 handeln. Weitere C,C-Kopplungen, in Abbildung 2 aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht gezeigt, bestätigen die Konstitution<sup>[12]</sup>.

Das Beispiel zeigt, daß zur Entscheidung zwischen Konstitutionsalternativen schon die Auswertung der Satellitensignale eines einzigen Signals genügen kann. Bei einer gänzlich unbekannten Konstitution müssen jedoch die Satellitenpaare vieler Signale ausgewertet werden. Dies ist oft schwierig, da Satellitensignale a) vorgetäuscht (durch Rotationsseitenbanden oder durch Signale von Verunreinigungen) oder b) verdeckt sein können (durch andere Satellitensignale oder durch Signale isolierter <sup>13</sup>C-Kerne). Viele dieser Schwierigkeiten lassen sich beheben, wenn statt der herkömmlichen Aufnahmetechnik die Pulsfolge INADEQUATE (*Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment*) verwendet wird, die von *Freeman et al.* vorgeschlagen wurde<sup>[13]</sup>. Grundlage dieser speziellen Pulsfolge ist die von *Ernst et al.* entwickelte Multiquanten-NMR-Spektroskopie<sup>[14, 15]</sup> (Übersichten<sup>[16, 17]</sup>).

Die Wirkung von Hochfrequenzpulsen auf Kernspinsysteme kann auf mehrere Arten beschrieben werden: Vektormodell, Dichtematrixformalismus, Produktoperatorformalismus. Vektormodelle sind anschaulich, können jedoch meist nur auf Systeme aus isolierten Kernen angewendet werden. Der Dichtematrixformalismus gibt auch das Verhalten gekoppelter Spinsysteme richtig wieder, wird allerdings bei großen gekoppelten Spinsystemen unübersichtlich. Zur Beschreibung letzterer eignet sich der auf dem

Dichtematrixformalismus basierende Produktoperatorformalismus<sup>[18]</sup>. Im folgenden wird der bei 2-Spinsystemen noch übersichtliche Dichtematrixformalismus benutzt (siehe Anhang) und das Ergebnis der Berechnung in Vektordiagrammen dargestellt.

#### 4. Eindimensionale INADEQUATE-<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie

Die INADEQUATE-Pulsfolge wird in der einfachsten Version zweimal durchgeführt („2-Schritte-Cyclus“); dabei unterscheiden sich die Richtungen (Phasen) des letzten 90°-Pulses und des Detektors (Datenaufnahmesystem) in den beiden Schritten. Man erhält zwei Interferogramme, deren Addition zur Eliminierung der intensitätsstarken Signale der isolierten <sup>13</sup>C-Kerne führt.

90°<sub>x</sub> - τ - 180°<sub>y</sub> - τ - 90°<sub>x</sub> - Δ - 90°<sub>x</sub> - Datenaufnahme(x) Schritt 1  
90°<sub>x</sub> - τ - 180°<sub>y</sub> - τ - 90°<sub>x</sub> - Δ - 90°<sub>y</sub> - Datenaufnahme(-y) Schritt 2

Die Wirkung auf ein C<sub>2</sub>-Fragment ist in Abbildung 3 dargestellt. Der erste Teil der INADEQUATE-Pulsfolge (90°<sub>x</sub> - τ - 180°<sub>y</sub> - τ) ist identisch mit einem homonuclearen Spin-Echo-Experiment (Übersicht über moderne Pulsfolgen und ihre Wirkung<sup>[19]</sup>) und bewirkt bei einer Gesamtdauer von 2τ = 1/(2J<sub>CC</sub>) eine Separierung der Magnetisierungen der isolierten <sup>13</sup>C-Kerne (M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub>) von den Magnetisierungen der miteinander koppelnden Kerne (m<sub>1</sub> bis m<sub>4</sub>) auf orthogonale Achsen des rotierenden Koordinaten-

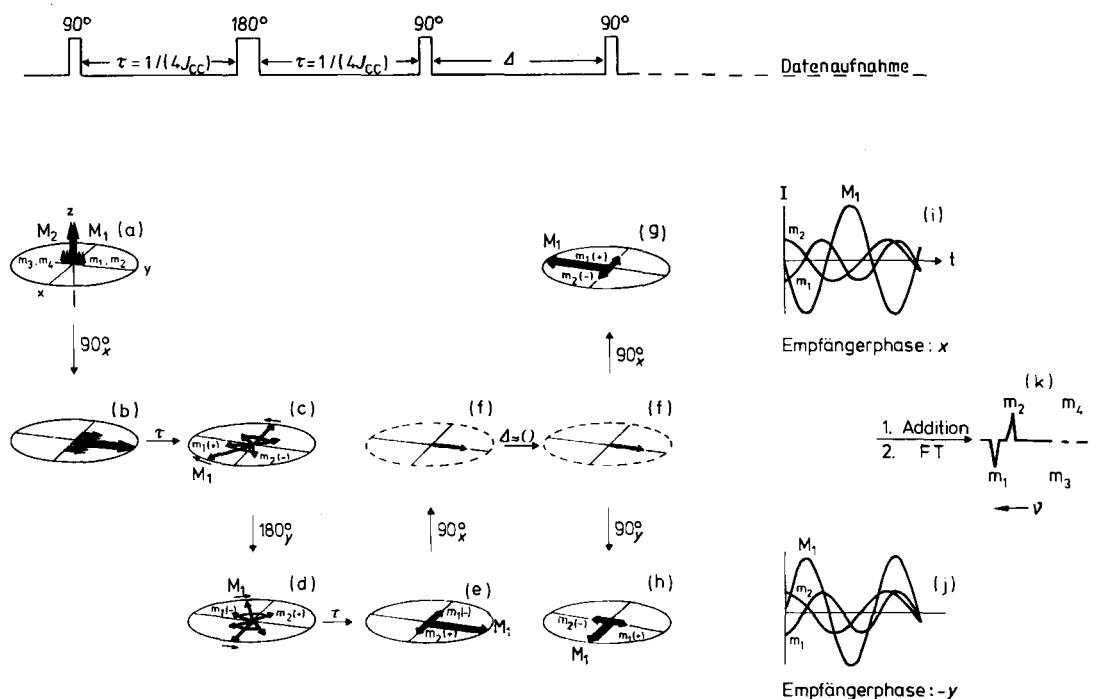


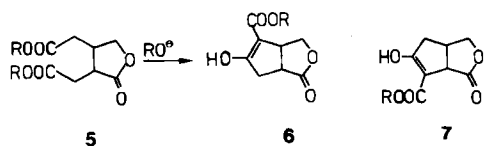
Abb. 3. INADEQUATE-Pulsfolge und Wirkung auf ein C<sub>2</sub>-Fragment. M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, m<sub>1</sub> bis m<sub>4</sub>: Magnetisierungen der isotopomeren Fragmente <sup>13</sup>C, <sup>12</sup>C, <sup>12</sup>C-<sup>13</sup>C bzw. <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C. τ (Wartezeit) und Δ (Schaltzeit ca. 10 μs) sind nicht maßstäblich zueinander gezeichnet. M<sub>1</sub>, m<sub>1</sub> (+), m<sub>2</sub> (-): Die Larmor-Frequenz von m<sub>1</sub> ist größer, die von m<sub>2</sub> kleiner als die von M<sub>1</sub>. Koordinatensysteme von Einquanten-Übergängen und Doppelquanten-Übergängen durchgehend bzw. gestrichelt umrandet. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind in (b)–(e) und (h) die Bezeichnungen M<sub>2</sub>, m<sub>3</sub> und m<sub>4</sub> weggelassen und in (i) und (j) auch deren Fourier-Komponenten. Ebenfalls aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Magnetisierungen M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> nach dem dritten und vor dem vierten Puls nicht dargestellt, da dazu ein gesondertes Koordinatensystem (für Einquanten-Kohärenz) erforderlich wäre. Man erkennt aber unschwer, daß M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> durch den dritten und vierten Puls, wie in (g) und (h) dargestellt, in -y-Richtung (90° + 90°) bzw. x-Richtung (90° + 90°) gelangen.

systems (Abb. 3e). Durch den anschließenden  $90^\circ$ -Puls werden die Magnetisierungen  $M_1$  und  $M_2$  aus der  $y$ -Richtung in die  $-z$ -Richtung gedreht, während die Magnetisierungen  $m_1$  bis  $m_4$  aus der  $\pm x$ -Richtung in die „Doppelquanten-Kohärenz“, ausgerichtet entlang der  $y$ -Richtung des rotierenden Doppelquanten-Koordinatensystems, umgewandelt werden (Abb. 3f). Die Doppelquanten-Kohärenz ist im Gegensatz zur Einquanten-Kohärenz ( $M_1$ ,  $M_2$ ) keine beobachtbare Magnetisierung. Sie kann daher auch nicht im Koordinatensystem rotierender Einquanten-Kohärenzen dargestellt werden und erhält ein separates rotierendes Koordinatensystem (Abb. 3f). Die Rotation von  $M_1$  und  $M_2$  ist klassisch zu verstehen. Die Umwandlung von  $m_1$  bis  $m_4$  in Doppelquanten-Kohärenz und die Phasenlage letzterer folgt aus dem Dichtematrixformalismus (siehe Anhang).

Der letzte Puls („Lesepuls“) kommt im ersten Schritt aus der  $x$ -Richtung, im zweiten aus der  $y$ -Richtung. Er wandelt die Doppelquanten-Kohärenz in Einquanten-Kohärenzen um, wobei  $M_1$  und  $M_2$  sowie  $m_1$  bis  $m_4$  die in Abbildung 3g bzw. 3h gezeigten Richtungen einnehmen. Die Phase des Detektors wird anschließend so geschaltet, daß sie nur den interessierenden Magnetisierungen  $m_1$  bis  $m_4$  folgt: im ersten Schritt in  $x$ -Richtung, im zweiten Schritt in  $-y$ -Richtung. Man registriert zwei Interferogramme mit den in den Abbildungen 3i und 3j dargestellten Fourier-Komponenten der Magnetisierungen  $M_1$ ,  $M_2$  und  $m_1$  bis  $m_4$ . Addition der Interferogramme führt zur Addition von  $m_1$  bis  $m_4$  und bei perfekten Hochfrequenzpulsen zugleich zur *Eliminierung von  $M_1$  und  $M_2$* . Fourier-Transformation (FT) liefert schließlich das Frequenzspektrum (Abb. 3k), das nur die beiden Dubletts (jeweils in Antiphase) des AX-Spinsystems enthält.

Ein eindimensionales INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum besteht praktisch ausschließlich aus den Signalen koppelter  $^{13}\text{C}$ -Kerne. Es fehlen die störenden Signale isolierter  $^{13}\text{C}$ -Kerne sowohl in den Hauptkomponenten als auch in Verunreinigungen sowie die Rotationsseitenbanden dieser Signale.

Die Aussagekraft der eindimensionalen INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie demonstriert das folgende Beispiel: Bei der Dieckmann-Kondensation des Diesters **5** entsteht eine Verbindung, die laut  $300\text{MHz-}^1\text{H-NMR}$ -Spektrum Konstitution **6** oder **7** hat<sup>[20]</sup>. Eine Unterschei-



dung gelingt über die  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungen (Abb. 4). Wiederkehrende  $J$ -Werte ergeben die Konnektivität  $\text{O}=\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2$  und damit die Alternative **6**. Weitere Konnektivitäten bestätigen die Konstitution<sup>[12]</sup>. Eine Unterscheidung anhand der Satellitensignale eines herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums wäre schwierig: **6** ist durch eine Verbindung verunreinigt, deren NMR-Signale die aussagekräftigen Satellitensignale des Signals von C-6a verdecken. Generell stören Verunreinigungen bis zu ca. 20% bei der Konstitutionsermittlung aus einem INADEQUATE-Spektrum nicht.

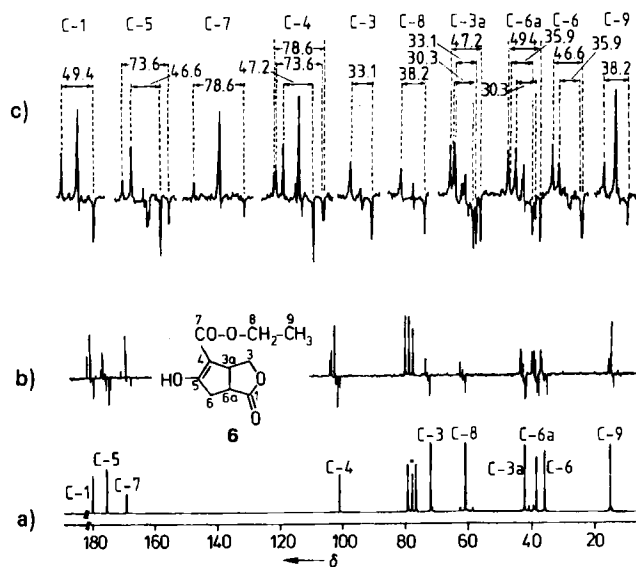


Abb. 4.  $25\text{MHz-}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **6** (1.2 g) + 20 mg  $[\text{Cr}(\text{acac})_3]$  in 1.0 mL  $\text{CDCl}_3$ . a) Herkömmliches Spektrum. 1000 Akkumulationen. b) Eindimensionales INADEQUATE-Spektrum. Digitale Auflösung = 0.5 Hz/Datenpunkt,  $\tau = 1/(4J)$  ( $J = 50\text{ Hz}$ ), 122000 Akkumulationen, Wiederholungsintervall 4s (Gesamtmeßzeit 135 h). c) Gedehntes INADEQUATE-Spektrum. \* = Lösungsmittelsignale.

Die Herleitung des Kohlenstoffgerüsts aus  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungskonstanten gelingt auch mit einem Computer-Programm: Zunächst werden die Frequenzen der Satellitensignale abgelesen (die Automatisierung dieses Vorganges scheitert noch an Signalüberlappungen) und gespeichert. Anschließend wird nach wiederkehrenden Kopplungskonstanten gesucht<sup>[21]</sup>.

## 5. Zweidimensionale INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie

Unterscheiden sich die C,C-Kopplungskonstanten nur wenig, können wie bereits erwähnt Überlagerungen der Satellitensignale (im AX-Fall) oder Mehrdeutigkeiten bei der Erkennung des Kopplungspartners auftreten. Diese Probleme lassen sich durch die zweidimensionale INADEQUATE-Pulsfolge lösen. Sie stimmt mit der für das eindimensionale Experiment überein, nur daß an die Stelle der kurzen Schaltzeit  $\Delta$  in Abbildung 3 die Zeit  $t_1$  tritt, die schrittweise vergrößert wird.

Zur Zeit  $t_1 = 0$  ist die nicht beobachtbare Doppelquanten-Kohärenz entlang der  $y'$ -Achse des Doppelquanten-Koordinatensystems ausgerichtet (Abb. 5a). Sie rotiert danach mit der Doppelquanten(DQ)-Frequenz  $\nu_{\text{DQ}}$  in der  $x', y'$ -Ebene dieses Koordinatensystems und weist nach den

$$\nu_{\text{DQ}} = \nu_A + \nu_X - 2\nu_0$$

$\nu_A$ ,  $\nu_X$ : Resonanzfrequenz der Kerne A bzw. X;

$\nu_0$ : Anregungsfrequenz

exemplarisch gewählten Evolutionszeiten  $t_1 = n/(4\nu_{\text{DQ}})$ ,  $n = 1-4$  in die in Abbildung 5 gezeigten Richtungen. Umwandlung in Einquanten-Kohärenzen durch den  $90^\circ$ -Lesepuls und anschließende Fourier-Transformation ergibt die Satellitensignale, deren Intensitäten jetzt durch  $\nu_{\text{DQ}}$  moduliert sind. Eine zweite Fourier-Transformation – nunmehr der Intensitätsänderung der Satellitensignale – liefert die

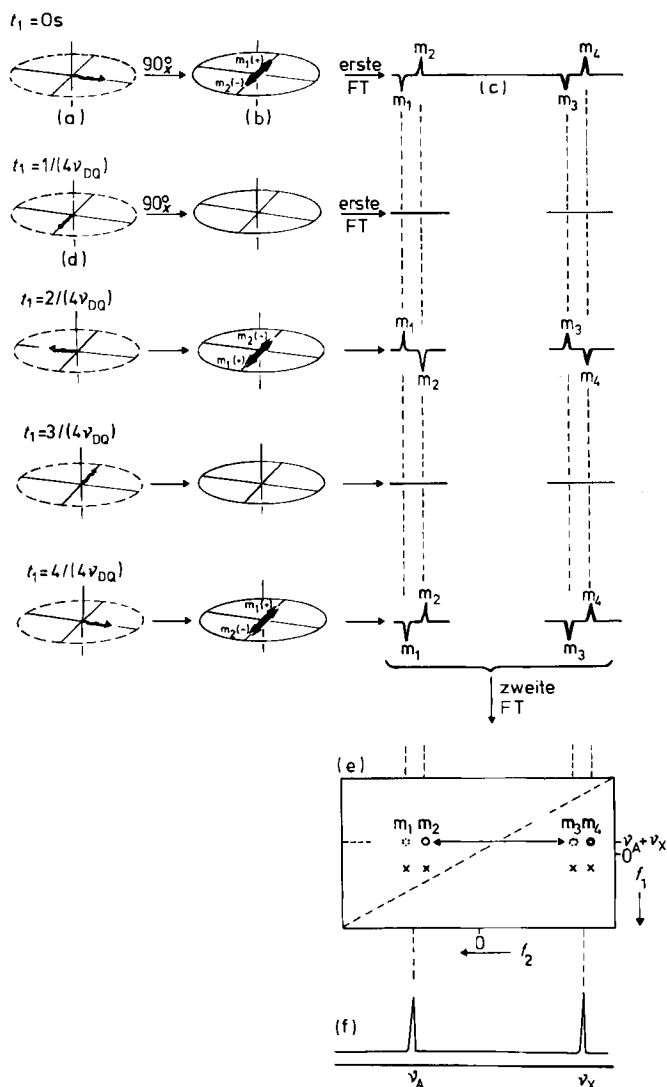
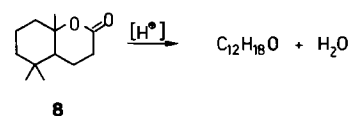


Abb. 5. Einfluß der Entwicklungszeit  $t_1$  (tritt an die Stelle von  $\Delta$  in Abb. 3) auf die Magnetisierungen eines  $C_2$ -Fragments. Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist nur die Wirkung des Lesepulses  $90^\circ$  (Schritt I in Abschnitt 4) auf die Magnetisierungen  $m_1$  bis  $m_4$  wiedergegeben, und die Bezeichnungen  $m_3$  und  $m_4$  sind weggelassen. Man beachte die weitgehende Übereinstimmung der Darstellungen (a), (b), (c) mit 3f, 3g, 3k. (e) zeigt die Konturen (durchgezogener und gestrichelter Kreis: oberhalb bzw. unterhalb der Papierebene) der vier Signale  $m_1$  bis  $m_4$  eines AX-Spinsystems. Die Mittelpunkte zusammengehörender Konturen liegen auf der Frequenzdiagonalen  $f_1 = 2f_2$  ( $f_1, f_2$ : Doppel- bzw. Einquanten-Frequenzen). Die mit  $\times$  markierten Stellen geben die Positionen der Spiegelfrequenzen (siehe Abschnitt 7.3) an. (f) = Herkömmliches  $^{13}C$ -NMR-Spektrum des  $C_2$ -Fragments.

Doppelquanten-Frequenz  $\nu_{DQ}$  des AX-Spinsystems. Da diese für alle vier Signale eines AX-Spinsystems gleich ist, erscheinen die Satellitensignale alle in einer Reihe ( $f_1 = \text{konstant}$ ) des zweidimensionalen Spektrums, wenn auch mit unterschiedlicher Phase. Analoges gilt für jedes weitere AX-Spinsystem.

Die Projektion der Konturen eines zweidimensionalen INADEQUATE-Spektrums auf die  $x$ -Achse eines Koordinatensystems ( $f_2$ ) gibt die chemischen Verschiebungen der Satellitensignale wieder, die auf die  $y$ -Achse die Doppelquanten-Frequenzen der verschiedenen AX-Spinsysteme. Die verglichen mit dem eindimensionalen INADEQUATE-Spektrum größere Aussagekraft ist darauf zurückzuführen, daß selbst bei gleichen  $^1J_{C,C}$ -Werten keine Überlagerungen auftreten, da die Doppeldubletts verschiedener AX-Spinsysteme in verschiedenen Reihen erscheinen<sup>[22]</sup>.

Die zweidimensionale Variante des INADEQUATE-Verfahrens wurde angewendet, um die Konstitution des tricyclischen Ketons der Zusammensetzung  $C_{12}H_{18}O$  aufzuklären, das bei der säurekatalysierten Wasser-Eliminierung aus dem bicyclischen Lacton **8** entsteht. Abbildung



6b zeigt das zweidimensionale INADEQUATE-Spektrum, das nur über den Bereich der aliphatischen C-Atome aufgenommen wurde, um eine hohe digitale Auflösung in  $f_2$

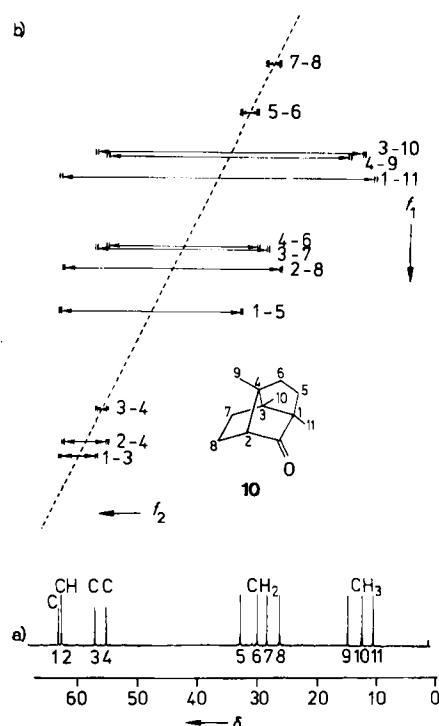
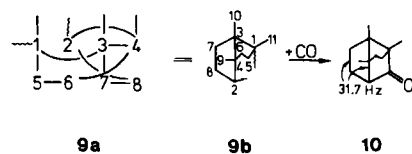


Abb. 6. 100MHz- $^{13}C$ -NMR-Spektrum (aliphatische C-Atome von **10** (1.2 g) + 10 mg  $[Cr(acac)_3]$  in 1.5 mL  $CDCl_3$ ). a) Herkömmliches Spektrum. b) Zweidimensionales INADEQUATE-Spektrum.  $\tau = 1/(4J)$  ( $J = 35$  Hz),  $f_2 = 8771$  Hz/(8 K Datenpunkte),  $f_1 = 8771$  Hz/(512 Datenpunkte). Es wurden 113 Reihen mit je 128 Akkumulationen aufgenommen, Wiederholungsintervall 4s (Gesamtmeßzeit 16 h). Die Datenmatrix wurde durch Einfüllen von Nullen auf 16 K · 512 aufgefüllt und nach Gauß-Multiplikation in  $f_1$  und  $f_2$  Fourier-transformiert.

zu erreichen. Zur Erkennung des Kohlenstoffgerüsts versteht man die Signale mit fortlaufenden Zahlen, verbindet korrespondierende Zahlen gemäß **9a** und ersetzt anschließend die Zahlen durch die entsprechenden  $CH_n$ -Fragmente, die man separat, z. B. durch off-Resonanz-Entkopplung, erhält. Es ergibt sich **9b** und nach Einfügen der Ketogruppe ( $\delta(^{13}C) = 229.5$ ) die gesuchte Konstitution **10**<sup>[23]</sup>. Ein herkömmliches  $^{13}C$ -NMR-Spektrum oder ein



eindimensionales INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum hätte hier nicht zum Erfolg geführt, da einige Kopplungskonstanten gleich oder ähnlich sind. So ließe die Kopplungskonstante von 31.7 Hz außer den beiden Konnektivitäten C-4–C-2 und C-7–C-8 auch die Konnektivitäten C-7–C-2 und C-8–C-4 zu.

Sind alle Konturen in einem 2D-INADEQUATE-Spektrum zu erkennen, bedarf die Auswertung keines besonderen Zeitaufwands und gelingt ohne besondere spektroskopische oder chemische Kenntnisse.

## 6. Weitere NMR-Methoden zur Bestimmung des Kohlenstoffgerüsts

Das Kohlenstoffgerüst eines Moleküls kann auch über Nullquanten-Kohärenzen bestimmt werden. Die Pulsfolge lautet:

$$90^\circ\phi_1 - \tau - 180^\circ\phi_2 - \tau - 45^\circ\phi_3 - t_1 - 90^\circ\phi_4 - \text{Aufnahme}(\phi_5)$$

(bezüglich der Phasen  $\phi_1$ – $\phi_5$  siehe<sup>[24a]</sup>). Die  $y$ -Achse des zweidimensionalen Spektrums enthält hier die Nullquanten-Frequenzen  $\nu_{0Q} = \nu_A - \nu_B - 2\nu_0$ , die  $x$ -Achse die chemischen Verschiebungen der Satellitensignale. Verglichen mit dem INADEQUATE-NMR-Spektrum liefert das Nullquanten-NMR-Spektrum allerdings nur die halbe Intensität<sup>[24b]</sup>.

Neben den direkten Methoden, das Kohlenstoffgerüst über die Kopplung zwischen  $^{13}\text{C}$ -Kernen zu bestimmen, gibt es indirekte, die auf der Kopplung zwischen Protonen oder zwischen Protonen und  $^{13}\text{C}$ -Kernen basieren (Tabelle 2). Die empfindlichste Aufnahmetechnik  $\text{H}_1\text{H-COSY}$ <sup>[14]</sup> (Correlation Spectroscopy) spürt Nachbarschaftsbeziehungen zwischen H-Atomen auf, während ein  $\text{H}_1\text{C-COSY}$ -Experiment<sup>[25]</sup> (via Polarisationstransfer) zeigt, welches H-Atom mit welchem C-Atom verbunden ist. Durch ein H-relayed  $\text{H}_1\text{C-COSY}$ -Experiment<sup>[26]</sup> kann in günstigen Fällen das Verknüpfungsmuster von  $\text{CH}_n$ - oder  $\text{CH}_n\text{-XH}_m$ -Gruppen aufgestellt werden. Nachbarschaftsbeziehungen zu quartären C-Atomen werden durch eine  $\text{H}_1\text{C-Korrelation}$  über kleine Kopplungskonstanten ( $^3J_{\text{C,H}}$ ,  $^2J_{\text{C,H}}$ ) mit

der Pulssequenz  $\text{H}_1\text{C-COLOC}$  (Correlation Spectroscopy via Long Range Coupling) erhalten<sup>[27]</sup>. Die Zahl der Bindungen zwischen den koppelnden Kernen kann diesem Spektrum allerdings nicht entnommen werden. Eindeutige Aussagen über die Verknüpfung eines quartären C-Atoms mit einer  $\text{CH}_n$ -Gruppe erhält man aus einem C-relayed  $\text{H}_1\text{C-COSY}$ -Experiment<sup>[28]</sup>, bei dem die Information über die chemische Verschiebung des H-Atoms über  $^1J_{\text{C,H}}$  und  $^1J_{\text{C,C}}$  auf das quartäre C-Atom übertragen wird (zur Unterscheidung von Regioisomeren durch diese Methode siehe<sup>[28]</sup>).

Wie man Tabelle 2 entnimmt, ist die INADEQUATE-Methode die unempfindlichste der genannten Methoden und erfordert daher lange Meßzeiten. Deshalb wird man sich ihrer erst bedienen, wenn alle anderen Methoden versagt haben.

## 7. Praxis der INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie

### 7.1. Intensität des Restsignals

Durch den in Abschnitt 4 beschriebenen 2-Schritte-Cyclus werden in der Praxis die Signale isolierter  $^{13}\text{C}$ -Kerne nur unvollständig eliminiert. Ursache sind nicht ideale Spektrometerbedingungen wie Pulswinkel- und -phasenfehler, ferner Ungleichheit der beiden Aufnahmekanäle (Empfängersysteme) mit jeweils einem separaten Analog-Digital-Wandler und Verstärker. Mit erweiterten Phasencyclen gelingt es, die Restsignale weiter zu reduzieren (Tabelle 3).

Die mit der Pulssequenz  $90^\circ_x - \tau - 180^\circ_y - \tau - 90^\circ_x$  erzeugte Doppelquanten-Kohärenz kann außer durch einen  $90^\circ_x$ - und  $90^\circ_y$ - auch durch einen  $90^\circ_{-x}$ - und  $90^\circ_{-y}$ -Puls gelesen werden. Durch diesen 4-Schritte-Cyclus<sup>[13]</sup> wird die Ungleichheit der Aufnahmekanäle bezüglich der Satellitensignale ausgeglichen, nicht jedoch die bezüglich der Hauptsignale, da diese weiterhin unter Benutzung beider Aufnahmekanäle subtrahiert werden. Durch einen Phasencyclus für die Anregung der Doppelquanten-Kohärenz (d.h. gleiche Phasenänderung aller Pulse und des Empfängers)

Tabelle 2. Zweidimensionale NMR-Techniken zur direkten und indirekten Bestimmung von Kohlenstoffgerüsten.







Pulsfolge	Gerüst	Korrelation	relevante Kopplungen	Empfindlichkeit bezogen auf die INADEQUATE-Pulsfolge
INADEQUATE		$\delta(\text{C-1})$ mit $\delta(\text{C-2})$	$^1J(\text{C,C})$	1
C-relayed $\text{H}_1\text{C-COSY}$		z. B. $\delta(\text{C-1})$ mit $\delta(\text{H-2})$	$^1J(\text{C-1,C-2})$ , $^1J(\text{C-2,H-2})$	2 für $\text{CH-C}_q$
H-relayed $\text{H}_1\text{C-COSY}$		z. B. $\delta(\text{C-1})$ mit $\delta(\text{H-2})$	$^1J(\text{C-1,H-1})$ , $^1J(\text{H-1,H-2})$	20–200, je nach $J(\text{H,H})$
$\text{H}_1\text{C-COLOC}$		z. B. $\delta(\text{C-2})$ mit $\delta(\text{H-1})$	$^nJ(\text{C-2,H-1})$ ( $n \geq 2$ )	20–200
$\text{H}_1\text{C-COSY}$		z. B. $\delta(\text{C-1})$ mit $\delta(\text{H-1})$	$^1J(\text{C-1,H-1})$	~ 200
$\text{H}_1\text{H-COSY}$		z. B. $\delta(\text{H-1})$ mit $\delta(\text{H-2})$	$^nJ(\text{H,H})$	1000–10000

Tabelle 3. Phasencyklen bei INADEQUATE-NMR-Messungen mit der Pulsfolge  $90^\circ_x - \tau - 180^\circ_x - \tau - 90^\circ_x - \Delta - 90^\circ_x$ , Datenaufnahme (e).

Schritt [a]	a	b	c	d	e
1	x	y	x	x	x
2	x	y	x	y	-y
3	x	y	x	-x	-x
4	x	y	x	-y	y
5	y	-x	y	y	y
6	y	-x	y	-x	x
7	y	-x	y	-y	-y
8	y	-x	y	x	-x
9	-x	-y	-x	-x	-x
10	-x	-y	-x	-y	y
11	-x	-y	-x	x	x
12	-x	-y	-x	y	-y
13	-y	x	-y	-y	-y
14	-y	x	-y	x	-x
15	-y	x	-y	y	y
16	-y	x	-y	-x	x

[a] Schritte 1–2: 2-Schritte-Cyclus; Schritte 1–4: 4-Schritte-Cyclus; Schritte 1–16: 16-Schritte-Cyclus.

erhält man einen 16-Schritte-Cyclus, in dem sich die Ungleichheit der Aufnahmekanäle auch bei den Hauptsignalen nicht mehr bemerkbar macht. Dieser Cyclus ist der kleinste, der in der Praxis verwendet werden sollte. Der Einfluß von Pulswinkel- und Pulsphasenfehlern auf die Höhe des Restsignals kann durch weitere *separate* Phasencyklen für die einzelnen Pulse vermindert werden. Den größten Einfluß auf die Höhe des Restsignals hat der  $180^\circ$ -Puls. Durch Inversion der Phase dieses Pulses wird ein 32-Schritte-Cyclus erhalten, der in den meisten Fällen eine gute Signalunterdrückung liefert. Dieser Phasencyclus ist meist in der von den Geräteherstellern gelieferten Software für INADEQUATE-Messungen enthalten. Durch Variation der Phase des  $180^\circ$ -Pulses über alle vier Richtungen (64-Schritte-Cyclus), Inversion der Phase des ersten Pulses (128-Schritte-Cyclus)<sup>[29a]</sup> und Inversion der Phase des dritten Pulses (256-Schritte-Cyclus) kann das Restsignal praktisch auf null reduziert werden. Die Eliminierung der Restsignale gelingt allerdings nur bei ausreichend großem Wiederholungsintervall (Einstellung des Gleichgewichts der Längsmagnetisierung). Darauf ist besonders bei der Ermittlung von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Fernkopplungen zu achten.

## 7.2. Intensität der Satellitensignale

Nach Einwirkung der INADEQUATE-Pulsfolge werden nur Magnetisierungen beobachtet, die aus einer Doppelquanten-Kohärenz hervorgehen. Entscheidend für die Intensität der Satellitensignale ist demzufolge die Effektivität, mit der die Doppelquanten-Kohärenz gebildet wird.

Den größten Einfluß hat die Wartezeit  $\tau$ : Die Doppelquanten-Kohärenz wird nur dann optimal gebildet, wenn  $\tau$  und die Kopplungskonstante  $^1J_{\text{C,C}}$  nach Gleichung (a) verknüpft sind. Der Wert für die Ordnung  $n$  hängt vom Spin-

$$\tau = \frac{2n+1}{4 \cdot ^1J_{\text{C,C}}} \quad (n=0, 1, 2, 3, \dots) \quad (\text{a})$$

system ab<sup>[30]</sup>. Im AX-Fall ( $\delta/J > 3$ ) hat  $n$  keinen Einfluß auf die Intensität, in der Praxis verwendet man wegen des Einflusses der transversalen Relaxation (Zeitkonstante  $T_2^*$ )

$n=0$ . Im AB-Fall ( $\delta/J < 3$ ) ist  $n=1$  oder 2 vorteilhafter (Abb. 7). Gelegentlich liefert nur die herkömmliche  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie die gewünschten Satellitensignale. In

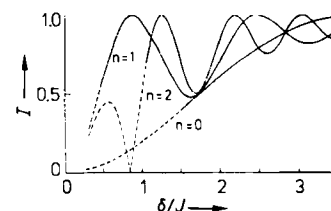


Abb. 7. Berechnete Gesamtintensität  $I$  der vier Signale eines  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Fragments als Funktion der Kopplungsstärke  $\delta/J$ . Für schwache Kopplungen ist  $\tau = 1/(4J)$  optimal; für starke Kopplungen ( $\delta/J < 2.8$ ) ist  $\tau = 3/(4J)$  bzw.  $5/(4J)$  vorteilhafter. Die gestrichelten Linien zeigen diejenigen Bereiche, in denen trotz optimal gewähltem  $\tau$ -Wert nur kleine Satellitenintensitäten erhalten werden [30].

Abbildung 8 werden beide Techniken am Beispiel von 11 verglichen<sup>[12]</sup>. Das INADEQUATE-Experiment liefert für C-1–C-5 keine Satellitensignale, da die in Unkenntnis des  $\delta/J$ -Verhältnisses festgelegte Ordnung  $n=0$  für die

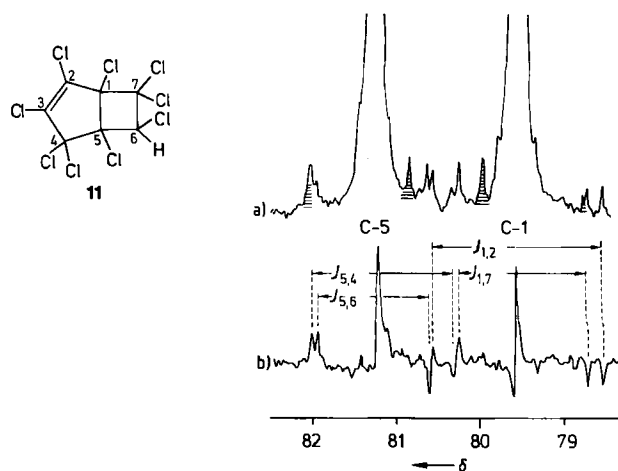


Abb. 8. 25MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum (Ausschnitt) von 11 in  $\text{CDCl}_3$ . a) Herkömmliches Spektrum. Die schraffierten Signale resultieren aus der C-1, C-5-Kopplung. b) Eindimensionales INADEQUATE-Spektrum.  $J_{5,4} = 42.4$ ,  $J_{5,6} = 33.8$ ,  $J_{1,2} = 51.2$ ,  $J_{1,7} = 38.1$ ,  $J_{1,5} = 30.4$  Hz.

C-1,C-5-Kopplung ungünstig ist (erst  $n=2$  hätte die Signale sichtbar gemacht). Im herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind die Signale (schraffiert) gut zu erkennen. Allgemein gilt: Nur die herkömmliche Technik liefert die maximale Intensität der Satellitensignale. (Zur Berechnung stark gekoppelter AB-Spinsysteme ( $\delta/J < 1$ ) aus den inneren Linien siehe<sup>[8a]</sup>.)

Weicht die tatsächliche Kopplungskonstante  $J_i$  von der in Gleichung (a) eingesetzten Kopplungskonstante  $J$  ab, vermindert sich im AX-Fall die Intensität  $I$  gemäß Gleichung (b), da die Magnetisierungen nicht mehr maximal

$$I = I_{\text{max}} \sin(2\pi J_i \tau) \quad (\text{b})$$

entlang der  $\pm x$ -Achse ausgerichtet sind (Abb. 3e). Die Folgen der Abweichung sind allerdings nicht gravierend.

Man registriert immerhin noch  $\geq 50\%$  der maximalen Intensität, wenn – bei  $n=0$  in Gl. (a) – gilt:

$$1/3J \leq J_1 \leq 5/3J$$

So sind die Satellitensignale der Kopplung C-1–C-6a (49.4 Hz) in 6 intensiver als die der Kopplung C-4–C-7 (78.6 Hz), wenn, wie geschehen, das NMR-Experiment auf  $J=50$  Hz eingestellt ist (Abb. 4). (Zur Verminderung der Intensität im AB-Fall siehe [30].)

Auch Imperfektionen der Pulse wie Inhomogenität des Hochfrequenzfeldes innerhalb des Meßvolumens (Pulswinkel nicht konstant) oder off-Resonanz-Effekte (effektive Hochfrequenz-Feldrichtung über den Meßbereich nicht konstant) reduzieren die Intensität der Satellitensignale. Off-Resonanz-Effekte treten besonders bei Geräten mit einem starken Magnetfeld auf und können zur Umkehr der Phase der Satellitensignale oder gar zum Verschwinden der letzteren führen. Die genannten Imperfektionen können durch keinen Phasencyclus vermieden werden, wohl aber durch die Verwendung zusammengesetzter Pulse [31–33].

Die Linienbreite der Satellitensignale in einem 1D-INADEQUATE-Spektrum stimmt mit der in einem herkömmlichen Spektrum überein. 2D-INADEQUATE-Spektren weisen dagegen in der Doppelquanten-Frequenzachse die doppelte, instrumentell verursachte Linienbreite auf [29b].

Alle bisher genannten Einflüsse führen dazu, daß bei gleicher Meßzeit das Signal/Rausch-Verhältnis (S/N) der Satellitensignale wie folgt abnimmt:

$$S/N_{\text{herkömmlich}} > S/N_{1\text{D-INADEQUATE}} > S/N_{2\text{D-INADEQUATE}}$$

In einem herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind die beiden Satellitenpaare eines AX-Spinsystems unterschiedlich intensiv, da sie unterschiedlichen Einflüssen wie NOE (Nuclear Overhauser Effekt) und  $T_1$  (Zeitkonstante der Längsmagnetisierung) unterliegen. Im INADEQUATE-Experiment werden die Magnetisierungen über die Doppelquanten-Kohärenz auf beide Kerne verteilt, so daß selbst in Extremfällen (z. B.  $\text{C}_{\text{quart.}}-\text{CH}_3$ ) gleiche Intensitäten der Satellitensignale beobachtet werden.

Koppelt ein C-Atom mit mehreren C-Atomen, sind die Satellitenpaare an diesem C-Atom auch unterschiedlich intensiv, wenn die Kopplungspartner unterschiedliche  $T_1$ -Zeiten aufweisen. Kopplungen zwischen quartären C-Atomen werden häufig nur beobachtet, wenn man entweder für ein großes Wiederholungsintervall sorgt ( $1.3 T_1$ ; optimales Wiederholungsintervall bei  $90^\circ$ -Beobachtungspulsen [34]), oder (Meßzeit sparend) Relaxationsreagentien wie  $[\text{Cr}(\text{acac})_3]$  zufügt.

### 7.3. Modifizierung der INADEQUATE-Pulsfolge

Sowohl die eindimensionale als auch die zweidimensionale Version der INADEQUATE-Pulsfolge wurde mehrfach modifiziert, um die Aussagekraft der Spektren zu erhöhen.

In der eindimensionalen Version können Signalauslöschungen auftreten, wenn zwei Satellitensignale sehr nahe benachbart sind und in Antiphase zueinander stehen. Man

vermeidet solche Auslöschungen, wenn man eine Wartezeit  $\tau = 1/(2J_{\text{C,C}})$  anfügt, die eine Refokussierung der Phasenlage der Satellitensignale bewirkt [13]. (Zu Intensitätsverzerrungen bei AB-Spinsystemen siehe [35].) Während dieser Refokussierungszeit können auch die in der herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie angewendeten Methoden zur Spektrenauswahl nach den CH-Multiplizitäten eingesetzt werden [36, 37]. Ein weiteres Verfahren zur Multiplizitätsauswahl, SEMINA genannt (Subspectral Editing using a Multiple Quantum Trap for INADEQUATE), teilt die Spektren nach der Summe der H-Atome in den  $\text{CH}_n-\text{CH}_m$ -Fragmenten auf: Alle Satellitensignale von  $\text{C}_2$ -Fragmenten mit geradzahlgiger Summe (z. B.  $\text{C}_{\text{quart.}}-\text{CH}_2$  oder  $\text{CH}-\text{CH}$ ) sind in dem einen Spektrum enthalten, alle mit ungeradzahlgiger Summe in dem anderen [38].

Vereinfachungen der eindimensionalen Spektren erhält man auch durch Variation der Zeit  $\Delta$  in der INADEQUATE-Pulsfolge. Will man die Signale eines bestimmten AX-Spinsystems eliminieren, stellt man die Zeit  $\Delta$  auf die betreffende Doppelquanten-Kohärenz gemäß  $\Delta = 1/(4\nu_{\text{DQ}})$  ein [39] (vgl. dazu Abb. 5d). Will man umgekehrt nur die Signale eines bestimmten AX-Spinsystems aufnehmen, setzt man die Sendefrequenz exakt zwischen die Einzelfrequenzen  $\nu_A$  und  $\nu_B$  und variiert  $\Delta$  nach dem Zufallsprinzip. Bei dieser DOUBTFUL genannten Methode [40–42] (Double Quantum Transition for Finding Unresolved Lines) verschwinden alle Signale mit einer von null verschiedenen Doppelquanten-Frequenz.

In der zweidimensionalen Version ergibt der  $90^\circ$ -Leseimpuls, wie Abbildung 5 zeigt, eine Amplitudenmodulation. Deren Fourier-Transformation liefert neben den gewünschten Signalen (Echos) der Doppelquanten-Frequenz  $\nu_{\text{DQ}}$  auch die unerwünschten Spiegelsignale (Antiechos) mit  $-\nu_{\text{DQ}}$  (Kreuze in Abb. 5e). Zur Eliminierung letzterer ist eine Phasenmodulation erforderlich. Diese erreicht man durch Erweiterung des 2-Schritte-Cyclus ( $\Delta = t_1$ ) um folgende Pulsfolge [43]:

$$90_x^\circ - \tau - 180_y^\circ - \tau - 90_x^\circ - 45_z^\circ - t_1 - 90_x^\circ - \text{Datenaufnahme}(y)$$

$$90_x^\circ - \tau - 180_y^\circ - \tau - 90_x^\circ - 45_z^\circ - t_1 - 90_y^\circ - \text{Datenaufnahme}(x)$$

Hierbei wird durch den  $45^\circ$ -Puls, der in der Praxis durch die Kombination  $90_x^\circ - 45_y^\circ - 90_x^\circ$  ersetzt wird, die Doppelquanten-Kohärenz um  $90^\circ$  gedreht und durch den Lesepuls ihr Imaginärteil in beobachtbare Magnetisierungen umgewandelt. Durch Phasenänderung des Empfängers um  $90^\circ$  werden diese Magnetisierungen als Imaginärteil zu den bereits gespeicherten Realteilen aus der Pulsfolge ohne  $45^\circ$ -Puls addiert. Dadurch erhält man eine Quadraturdetektion auch bezüglich der  $f_1$ -Achse.

Eine teilweise Phasenmodulation gelingt auch durch Einstellung des Lesepulswinkels auf  $135^\circ$  [44]:

$$90_x^\circ - \tau - 180_y^\circ - \tau - 90_x^\circ - t_1 - 135_x^\circ - \text{Datenaufnahme}(x)$$

$$90_x^\circ - \tau - 180_y^\circ - \tau - 90_x^\circ - t_1 - 135_y^\circ - \text{Datenaufnahme}(-y)$$

Man erreicht eine gute Unterdrückung des Antiechos und zugleich eine Erhöhung der Intensität des Echos. Das Verhältnis Echo zu Antiecho beträgt jetzt ca. 6:1 (statt 1:1 bei einem Lesepulswinkel von  $90^\circ$ ). Wenn man den dritten und vierten Puls der INADEQUATE-Pulsfolge auf  $120^\circ$  einstellt, wächst dieses Verhältnis auf ca. 9:1 [45].



Wird der Leseimpuls nach der Hälfte<sup>[46]</sup> der Evolutionszeit  $t_1$  eingebaut:

$$90^\circ_x - \tau - 180^\circ_y - \tau - 90^\circ_x - \frac{t_1}{2} - 135^\circ_z - \frac{t_1}{2} - \text{Datenaufnahme}$$

werden die Intensitäten der Satellitensignale mit der halben Frequenz des Kopplungspartners,  $(\nu + J/2)/2$ , statt mit der Doppelquanten-Frequenz phasenmoduliert<sup>[47]</sup>. Das daraus resultierende zweidimensionale Spektrum ähnelt einem COSY-Spektrum und kann daher auch mit Symmetrisierungsverfahren bearbeitet werden. Inwieweit diese Variante zu einer bedeutenden Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses führt, ist umstritten<sup>[47, 48]</sup>.

Die relative Unempfindlichkeit der INADEQUATE-Methode klang mehrfach an (vgl. Tabelle 2). Sie läßt sich durch die kombinierten Pulsfolgen INEPT-INADEQUATE (*Insensitive Enhancement by Polarisation Transfer*)<sup>[49]</sup> und DEPT-INADEQUATE (*Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer*)<sup>[50]</sup> verringern. Hierbei wird durch Polarisationstransfer von H auf C die Intensität der Satellitensignale erhöht (Faktor  $\geq 4/3$ ), außerdem erreicht man ein kürzeres Wiederholungsintervall, sofern die longitudinalen Relaxationszeiten  $T_1$  der  $^1\text{H}$ -Kerne kürzer sind als die der  $^{13}\text{C}$ -Kerne. Auch durch INSIPID (*INADEQUATE Sensitivity Improvement by Proton Indirect Detection*) wird die Intensität erhöht<sup>[51a]</sup>. Die INSIPID-Sequenz überträgt  $^{13}\text{C}$ -Kohärenzen, die mit der  $^1J_{\text{C,C}}$ -Kopplung moduliert sind, in Protonen-Kohärenzen und nutzt auf diese Weise die größere Empfindlichkeit der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie. Der theoretisch mögliche Empfindlichkeitsgewinn gegenüber der  $^{13}\text{C}$ -Detektion von  $(\gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{C}})^3 = 64$  wird allerdings nicht erreicht, da der inverse Polarisationstransfer von C nach H sowie Signalaufspaltungen durch  $^2J_{\text{H,H}}$  und  $^2J_{\text{C,H}}$  die Empfindlichkeit verringern. Die Autoren rechnen in der Praxis mit einer zehnfach höheren Empfindlichkeit als bei INADEQUATE-Messungen, doch sind die INSIPID-Experimente an kommerziellen Spektrometern erst nach entsprechender Umrüstung (pulsen auf die  $^{13}\text{C}$ -Kerne über den Entkopplerkanal; Aufnahme der  $^1\text{H}$ -Magnetisierung über den Empfängerkanal) durchführbar. (Zur Problematik der Unterdrückung der ca.  $10^4$ mal intensiveren H-Signale in den H- $^{12}\text{C}$ - $^{12}\text{C}$ -Fragmenten siehe <sup>[51b]</sup>.)

#### 7.4. Probleme bei überlagerten Signalen isolierter $^{13}\text{C}$ -Kerne

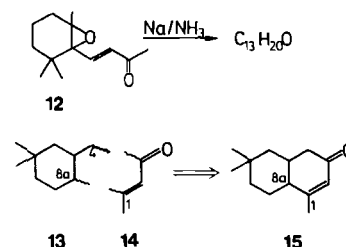
Sind die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale von zwei (oder mehr)  $\text{CH}_2$ -, CH- oder  $\text{C}_{\text{quart.}}$ -Fragmenten überlagert, ist eine Konstitutionsermittlung durch INADEQUATE-NMR-Spektroskopie nicht möglich. So läßt die Überlagerung der Signale von zwei  $\text{CH}_2$ -Gruppen bereits drei Verknüpfungsmöglichkeiten zu, zwischen denen nicht unterschieden werden kann. Fallen die Signale eines  $\text{CH}_2$ -Fragments mit einem  $\text{C}_{\text{quart.}}$ -Fragment zusammen, ist die Situation nicht ganz so aussichtslos. Durch Hinzufügen einer Wartezeit  $t = 1/(2J_{\text{C,H}})$ , in der der Protonenentkoppler ausgeschaltet ist, an die INADEQUATE-Pulsfolge werden die Satellitensignale aller H-tragenden C-Atome entfernt, nicht jedoch die quartäre C-Atome, vgl. 26 in Tabelle 4<sup>[36]</sup>.

Sind zwei  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale nicht überlagert, aber sehr nahe benachbart, tritt ein anderes Problem auf. Die zweidimensionale Variante erfordert hier in  $f_2$  eine besonders hohe digitale Auflösung, die mit der begrenzten Speicherkapazität oft nicht vereinbar ist. Die eindimensionale Variante kann am Auftreten ähnlicher  $^1J_{\text{C,C}}$ -Werte scheitern. Nachfolgend sind zwei selektive Experimente beschrieben, die den genannten Einschränkungen nicht unterliegen; dabei ist das zuerst behandelte Experiment kein INADEQUATE-Experiment.

Strahlt man selektiv mit der Resonanzfrequenz eines bestimmten  $^{13}\text{C}$ -Kerns und der Feldstärke  $B_2$  gemäß  $\gamma B_2/2\pi = 0.5 \cdot ^1J_{\text{C,C}}$  ein und läßt einen unselektiven Beobachtungspuls folgen, beobachtet man Satellitensignale nur an den Hauptsignalen von  $^{13}\text{C}$ -Kernen, die mit dem ausgewählten Kern verbunden sind<sup>[52a]</sup>. Zu beachten ist dabei, daß selektiver und unselektiver Puls eine Phasendifferenz von  $90^\circ$  aufweisen:

$135^\circ_{x,\text{selektiv}} - 90^\circ_y$ - Datenaufnahme(x)	Schritt 1
$135^\circ_{x,\text{selektiv}} - 90^\circ_{-y}$ - Datenaufnahme(x)	Schritt 2

Eine Anwendung zeigt das folgende Beispiel: Bei der Reduktion von 12 entsteht unter anderem eine Verbindung der Summenformel  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}$ , deren Untersuchung durch 2D-INADEQUATE-NMR-Spektroskopie die Bruchstücke 13 und 14, nicht aber deren Verknüpfung lieferte, da die



aussagekräftigen Signale von C-4 und C-8a fast die gleiche Resonanzfrequenz haben. Selektive Anregung mit der Frequenz von C-1 ergibt ein Satellitenpaar (Abb. 9), das dem

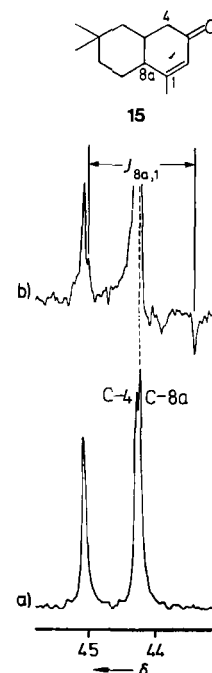
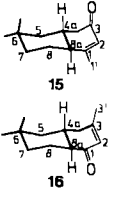
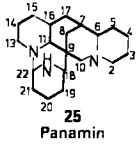
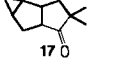
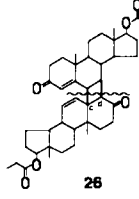
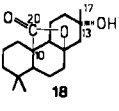
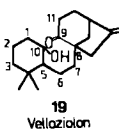
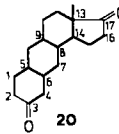
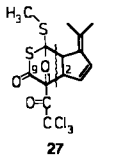
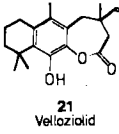
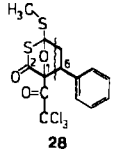
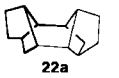
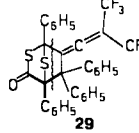
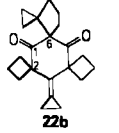
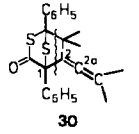
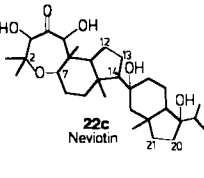
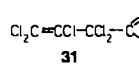
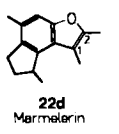
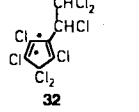
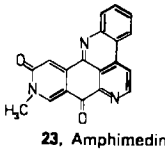
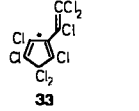
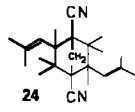
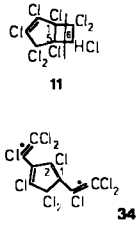


Abb. 9. 25 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von 15 (1.9 g) in 0.8 mL  $\text{CDCl}_3$  (Ausschnitt). a) Herkömmliches Spektrum. b) Spektrum erhalten mit der Pulsfolge nach [52a] unter selektiver Anregung von C-1, Leistung (entsprechend  $0.5 J(\text{C,C}) = 20$  Hz) und Phase mit einer „Spin-Lock“-Einheit eingestellt. Digitale Auflösung = 0.4 Hz/Datenpunkt, 14000 Akkumulationen, Wiederholungsintervall 6 s (Gesamtmeßzeit 23 h).  $J_{8a,1} = 40.5$  Hz.

Tabelle 4. Durch INADEQUATE-<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie aufgeklärte Verbindungen (Fettdruck in Formeln: nachgewiesene C-C-Verknüpfung).

Strukturformel	Anmerkungen zur INADEQUATE-NMR-Messung (1D, 2D = ein- bzw. zweidimensional)	Strukturformel	Anmerkungen zur INADEQUATE-NMR-Messung (1D, 2D = ein- bzw. zweidimensional)
	<p>25 MHz, 2D [53] Nur aliphatische C-Atome, je 1.5 g Substanz Crotlylfragmente aus herkömmlichen Spektren hergeleitet C-1–C-8a (in <b>15</b>) durch selektive Anregung erhalten (Abb. 9) Konfiguration aus H,H-Kopplung</p>	 <p><b>25</b> Panamin</p>	<p>50 MHz, 2D [73] 950 mg Substanz C-3–C-4 und C-15–C-16 nicht beobachtet, da stark gekoppelte AB-Spinsysteme vorliegen (<math>\Delta\delta = 0.33</math> bzw. 0.17 ppm) Das Ergebnis einer Kristallstrukturanalyse lag bereits vor</p>
 <p><b>17</b></p>	Nur aliphatische C-Atome [62]	 <p><b>26</b></p>	<p>50 MHz, 2D [36] 840 mg Substanz (Photodimer von 17-Propionyl-oxyandrost-4,6-dien-3-on) Neben den hervorgehobenen C,C-Bindungen wurden noch weitere beobachtet. Zur besseren Erkennung der Bindungspartner von C-c wurden die Satellitensignale des H-tragenden C-Atoms d, zufällig isochron zu C-c, durch die zusätzliche Wartezeit <math>\tau = 1/(2J(C,H))</math> bei geeigneter Schaltung des Entkopplers eliminiert Kristallstrukturanalyse gelang nicht</p>
 <p><b>18</b></p>	<p>100 MHz, 1D und 2D [63] Nur aliphatische C-Atome, 470 mg Substanz C-10–C-20 nicht nachgewiesen, da a) <sup>1</sup>J größer als der nach Gleichung (a) eingestellte Wert, b) T<sub>1</sub>-Zeiten verhältnismäßig groß, c) off-Resonanz-Effekte (<math>\delta = 140</math>) vorhanden Konfiguration an C-13 aus <math>\delta</math>-Wert von C-17</p>	 <p><b>19</b> Velozion</p>	<p>25 MHz, 1D [74] 900 mg Substanz + 10 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub> Zur Erkennung sämtlicher Verknüpfungen wurden zwei Experimente mit <math>\tau</math> entsprechend 38 bzw. 76 Hz (<math>J\tau = 1/4</math>) durchgeführt <i>endo</i>-Konfiguration aus <sup>3</sup>J(C-9,2-H) = 5.9 Hz hergeleitet</p>
 <p><b>20</b></p>	<p>100 MHz, 1D und 2D [65] Nur aliphatische C-Atome, 1.2 g Substanz C-2–C-3–C-4 aus <sup>2</sup>J<sub>2,4</sub> = 11.3 Hz C-13–C-17–C-16 aus <sup>2</sup>J<sub>13,16</sub> = 15.2 Hz Konfiguration aus <math>\delta</math>-Werten</p>	 <p><b>27</b></p>	<p>25 MHz, 1D [74] 900 mg Substanz + 15 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub> Konnektivitäten im Benzolring zum Teil nicht beobachtet, da stark gekoppelte AB-Spinsysteme vorliegen <i>endo</i>-Konfiguration aus <sup>3</sup>J(C-2,6-H) = 7.9 Hz hergeleitet</p>
 <p><b>21</b> Vellozolid</p>	<p>100 MHz, 1D [66] 500 mg Substanz T = 95°C (aus Gründen der Löslichkeit) Ursache nicht nachgewiesener C,C-Verknüpfungen: große <sup>1</sup>J(C,C)-Werte oder stark gekoppelte AB-Spinsysteme</p>	 <p><b>28</b></p>	<p>25 MHz, 1D [75a] 1 g Substanz + 10 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub> Weitere Konnektivitäten entzogen sich wegen Signalüberlagerungen und Fluorfernkopplung dem Nachweis</p>
 <p><b>22a</b></p>	<p>50 MHz, 2D [67] 30proz. Lösung in CDCl<sub>3</sub></p>	 <p><b>29</b></p>	<p>25 MHz, 1D und 2D [75b] 1 g Substanz + 10 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub> Halb markierte Bindungen: Kopplung wurde nur an einem C-Atom beobachtet C-2–C-2a nicht beobachtet, da Kopplung ca. doppelt so groß wie J = 45 Hz, eingesetzt in Gleichung (a) (n = 0)</p>
 <p><b>22b</b></p>	<p>100 MHz, 2D [68] 360 mg Substanz in 2.5 mL CDCl<sub>3</sub> C-2–C-1–C-6 aus <sup>2</sup>J<sub>2,6</sub> = 9.7 Hz Die Verbindung enthält eine Spiegelebene</p>	 <p><b>30</b></p>	<p>25 MHz, 1D und/oder 2D [12, 75b, 76] Jeweils 0.5–2 g Substanz + ca. 10 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub> * = Konnektivitäten aus den inneren Signalen der stark gekoppelten AB-Spinsysteme hergeleitet</p>
 <p><b>22c</b> Neviatin</p>	<p>90 MHz, 2D [69] 2.5 g Substanz Zwei Messungen durchgeführt (<math>\delta = 12</math>–217 und <math>\delta = 12</math>–89) C-12–C-13 und C-20–C-21 nicht nachgewiesen (stark gekoppelte AB-Spinsysteme) C-12–C-13 folgt aus 12-H–C-14-Korrelation, C-20–C-21 aus einem relay-Experiment. C-2–O–C-7 folgt aus 7-H–C-2-Korrelation Kristalle ungeeignet für Röntgen-Strukturanalyse</p>	 <p><b>31</b></p>	
 <p><b>22d</b> Marmekarin</p>	<p>75 MHz, 2D [70] 250 mg Substanz + einige mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in nur 1 mL CDCl<sub>3</sub> Lösung in 10 mm Glasrohr gefüllt und, um die Bildung eines Rotationskegels zu verhindern, mit Teflonstopfen abgedeckt C-1–C-2 nicht beobachtet</p>	 <p><b>32</b></p>	
 <p><b>23</b>, Amphimedine</p>	<p>75 MHz, 2D [71] 300 mg Substanz Ursache nicht nachgewiesener C,C-Verknüpfungen: große T<sub>1</sub>-Zeiten H-freier C-Atome</p>	 <p><b>33</b></p>	<p>C-1–C-5 (<math>\Delta\delta = 1.7</math> ppm) durch herkömmliche <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie (Abb. 8) festgestellt Konfiguration an C-6 aus <sup>3</sup>J(C,C) und <sup>3</sup>J(C,H) hergeleitet</p>
 <p><b>24</b></p>	<p>50 MHz, 1D [72] Konfiguration durch NOESY ermittelt</p>	 <p><b>34</b></p>	<p>C-1–C-2 nicht erkennbar, da <math>\Delta\delta = 0.8</math> ppm</p>

C-8a-Signal zuzuordnen ist. Bei einer Zuordnung zu C-4 würde sich ein unrealistisch großer Isotopeneffekt auf die chemische Verschiebung von  $-0.08$  ppm ergeben (vgl. auch Abb. 1). Isotopeneffekte von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  auf  $^{13}\text{C}$  betragen 0 bis  $-0.03$  ppm<sup>[52b]</sup>. Somit liegt Konstitution 15 vor<sup>[53]</sup>.

Führt man ein eindimensionales INADEQUATE-Experiment unter gleichzeitiger selektiver  $^{13}\text{C}$ -Sättigung durch, wird das Satellitenspektrum ebenfalls vereinfacht. Im Gegensatz zum vorstehend beschriebenen Experiment fehlen jetzt alle Satellitensignale, an denen der selektiv gesättigte  $^{13}\text{C}$ -Kern beteiligt ist<sup>[54]</sup>.

## 7.5. Hinweise zur Durchführung der INADEQUATE-NMR-Messung

Bei der INADEQUATE-NMR-Messung sollten folgende Punkte beachtet werden:

- 1) Die Lösung sollte so konzentriert sein, daß man bereits nach einem einzigen  $90^\circ$ -Puls ein brauchbares  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum erhält ( $\text{S/N} \geq 25$ ; zur Definition von  $\text{S/N}$  siehe <sup>[55]</sup>). 40000 Akkumulationen liefern dann ein NMR-Spektrum, dessen Satellitensignale ein ähnliches  $\text{S/N}$ -Verhältnis aufweisen (Sättigungseffekte nicht berücksichtigt).
- 2) Die  $T_1$ -Zeiten der isolierten  $^{13}\text{C}$ -Kerne sollten vor der INADEQUATE-Messung bestimmt werden und, wenn nötig, mit Hilfe von Relaxationsreagentien soweit gesenkt werden, daß die längsten  $T_1$ -Zeiten nur noch ca. 2–3 s betragen (Pulswiederholungsrate:  $1.3 T_1$ ).
- 3) Die Zeitdauer des  $90^\circ$ - und  $180^\circ$ -Pulses sollte an der Meßlösung bestimmt werden.
- 4) Bei Molekülen mit aliphatischen und olefinischen C-Atomen sollte die Wartezeit  $\tau$  ca. 5.5 ms betragen; dies entspricht nach Gleichung (a) einem  $J$ -Wert von etwa 45 Hz (vgl. Tabelle 1).
- 5) Bei der Aufnahme zweidimensionaler Spektren sollte das  $\text{S/N}$ -Verhältnis der einzelnen Reihen mindestens 5 sein. Die Zahl der Zeitinkremente und somit Reihen sollte so groß gewählt werden, daß alle vorkommenden Doppelquanten-Frequenzen hinreichend separiert sind. In der Praxis haben sich Auflösungen von 50–200 Hz/Datenpunkt bewährt.

## 8. Anwendungen

Aus den  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungen kann die Konstitution von Kohlenstoffverbindungen bestimmt werden, deren Strukturen durch andere NMR-Methoden (einschließlich zweidimensionaler) nur mit erheblichem Aufwand oder gar nicht aufzuklären sind:

- Kohlenwasserstoffe oder kohlenwasserstoffähnliche Verbindungen (im folgenden wasserstofffreie Kohlenstoffverbindungen genannt). Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren sind komplex, die herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aussagearm.
- Verbindungen, in denen an die für die Konstitution aussagekräftigen C-Atome kaum H-Atome, dafür aber weitere C-Atome oder Heteroatome gebunden sind. Diese

werden im folgenden wasserstoffarme Kohlenstoffverbindungen genannt, selbst wenn sie an der Peripherie  $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$  usw. enthalten. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie versagt mangels H-Atomen, die herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren sind vielfach nicht eindeutig interpretierbar.

- Verbindungen mit bestimmten Symmetrieeigenschaften, gleichgültig, ob die Verbindungen wasserstoffreich oder -arm im oben genannten Sinne sind.

### 8.1. Wasserstofffreie Kohlenstoffverbindungen

Polycyclische Kohlenwasserstoffe mit wenigen funktionellen Gruppen sind eine Herausforderung an den Strukturchemiker. So konnten von den tricyclischen Triquinanen einige Verbindungen strukturell überhaupt nicht<sup>[56–58]</sup>, andere erst nach Derivatisierung und anschließender Kristallstrukturanalyse aufgeklärt werden<sup>[59,60]</sup>. Wie die Beispiele 15–20, 22a–c, 25, 26 (Tabelle 4) und weitere Triterpene<sup>[61]</sup> belegen, läßt sich das Kohlenstoffgerüst wasserstoffreicher Verbindungen problemlos bestimmen, selbst wenn einige (oftmals redundante) Konnektivitäten im INADEQUATE-Spektrum fehlen. Bei Ketonen werden die häufig nicht sichtbaren Satellitensignale zwischen CO und den beiden dazu  $\alpha$ -ständigen C-Atomen – eine Folge des auf aliphatische C-Atome begrenzten Meßbereichs – durch das Ermitteln der Kopplung zwischen den beiden  $\alpha$ -C-Atomen über zwei Bindungen entbehrlich (10, 19, 20, 22b). Der Aggregatzustand der Kohlenwasserstoffe ist ohne Belang, es kann z. B. auch die Struktur unpolarer, ölig-er Terpene aufgeklärt werden. Da die  $J_{\text{C-C}}$ -Werte in Kohlenwasserstoffen alle ähnlich sind (35–40 Hz), ist die zweidimensionale Variante von INADEQUATE die Methode der Wahl.

### 8.2. Wasserstoffarme Kohlenstoffverbindungen

Die Strukturanalyse wasserstoffarmer Verbindungen durch INADEQUATE-NMR-Spektroskopie soll exemplarisch an zwei Verbindungstypen erläutert werden: an ausgewählten Cycloadditionsprodukten und an hochchlorierten Kohlenwasserstoffen.

Cycloadditionsprodukte enthalten in der Regel genügend H-Atome, so daß die Struktur durch  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie ohne Schwierigkeiten aufgeklärt werden kann. Fehlen allerdings an den aussagekräftigen C-Atomen die H-Atome, muß man zur INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie übergehen. Auf diese Weise konnten die Strukturen der Verbindungen 27, 28 und 30, die durch  $[3+2]$ -Cycloadditionen entstanden waren, und des Produkts einer  $[2+2]$ -Cycloaddition 11 direkt (d. h. ohne Vergleichsverbindungen) aufgeklärt werden (Tabelle 4). Auch bei 29 war die Aussage eindeutig, obwohl das eindimensional durchgeführte Experiment nur drei, allerdings entscheidende Konnektivitäten erkennen ließ (die anderen Signale überlagerten sich). INADEQUATE- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie ist die Methode der Wahl, wenn es um die Erkennung der Regiochemie von Cycloadditionen geht. Die Wellenlinien in den Formelbildern von 11 und 26–30 sollen die Ausgangsverbindungen erkennen lassen und damit das Problem der Regiochemie verdeutlichen.

Die Zahl hochchlorierter Kohlenwasserstoffe nahm in den fünfziger und sechziger Jahren stürmisch zu, ohne daß allerdings alle Strukturen aufgeklärt werden konnten<sup>[77]</sup>. Die Konstitutionsermittlung gelingt ohne Schwierigkeiten durch INADEQUATE-<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie, wie an den Verbindungen **31**<sup>[75b]</sup>, **32–34**<sup>[76]</sup> und **11**<sup>[12]</sup> demonstriert sei (Tabelle 4).

### 8.3. Symmetrisch substituierte Kohlenstoffringe

Symmetrisch substituierte Kohlenstoffringe sind oft schwer zu unterscheiden. Verhältnismäßig leicht erkennt man Moleküle mit einem Symmetriezentrum anhand ihrer IR- und Raman-Spektren („Alternativ-Verbot“, siehe aber <sup>[78]</sup>). Enthält das Molekül ausreichend H-Atome an die aussagekräftigen C-Atome gebunden, kann die Struktur durch Simulation des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums<sup>[79]</sup>, wenn auch nicht immer eindeutig<sup>[80]</sup>, aufgeklärt werden. Im folgenden wird gezeigt, daß man aus dem Intensitätsverhältnis der <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C-Satellitensignale bestimmte Symmetrieeigenschaften direkt ablesen kann<sup>[12]</sup>.

Ist ein <sup>13</sup>C-Kern mit einem Kern gleicher chemischer Verschiebung verbunden, beobachtet man keine Satellitensignale; ist er mit zwei Kernen verknüpft, die die gleiche chemische Verschiebung haben, treten Satellitensignale mit doppelter Intensität auf. Abbildung 10 zeigt, wie man aufgrund des Intensitätsverhältnisses Konstitutionen unterscheiden kann. Die Methode soll an zwei Cyclobutanen erläutert werden, einem planaren und einem nicht planaren. Größere Ringe wurden noch nicht untersucht.

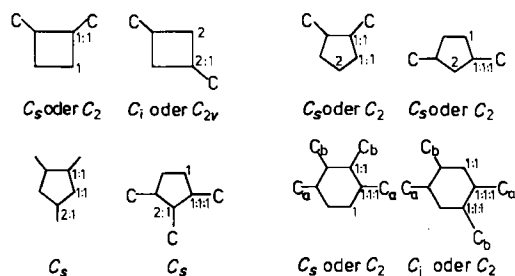


Abb. 10. Ableitung der Konstitution symmetrisch substituierter Kohlenstoffringe aus den relativen Intensitäten der <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C-Satellitensignale.

Bei der photochemischen Dimerisierung von **35** entsteht ein Produkt, für das aufgrund des herkömmlichen <sup>13</sup>C-NMR-Spektrums die Konstitutionen **36** (Kopf-Schwanz-Addukt) und **37** (Kopf-Kopf-Addukt) möglich sind<sup>[81]</sup>. Eine Unterscheidung gelingt durch Auswertung der <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C-Satellitensignale (Abb. 11). Das Signal bei  $\delta = 123.7$ , das nicht durch H- und F-Fernkopplungen auf-

gespalten wird und somit C-1 zuzuordnen ist, weist zwei Satellitenpaare im Verhältnis 2:1 auf. Dieses Verhältnis ist nur mit Struktur **36** in Einklang, für **37** würde es 1:1 betragen. Das gleiche Ergebnis sollten die Satellitenpaare des C-2-Signals bei  $\delta = 68$  liefern; diese sind aber wegen einer Verbreiterung durch H-Fernkopplung nicht zu erkennen. Die Entscheidung zugunsten **36** ist auch in Einklang mit dem Raman- und dem IR-Spektrum<sup>[12]</sup>.

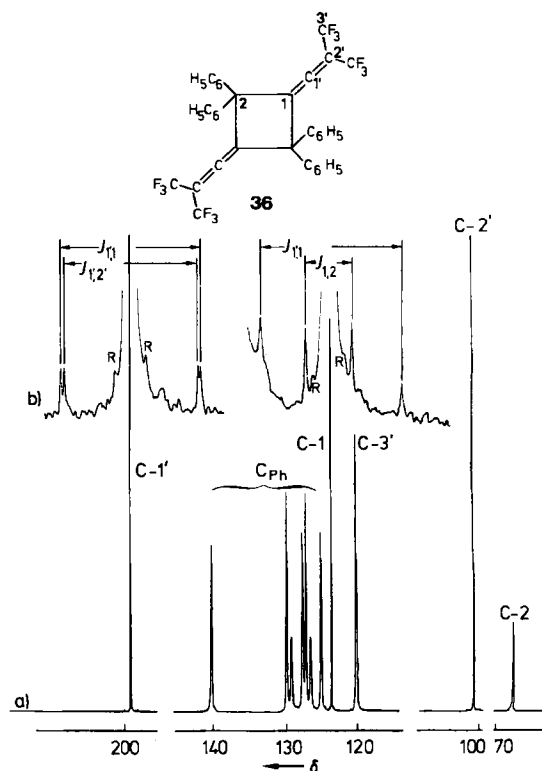
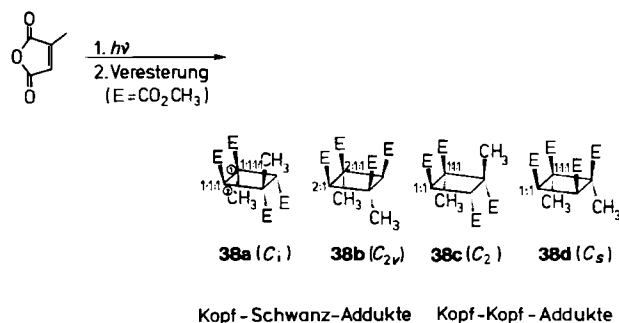


Abb. 11. a) Protonengekoppeltes 62.5 MHz-<sup>13</sup>C{<sup>19</sup>F}-NMR-Spektrum von **36** (0.6 g) + 10 mg [Cr(acac)<sub>3</sub>] in 1.5 mL CDCl<sub>3</sub>. Digitale Auflösung = 0.6 Hz/Datenpunkt, 35 200 Akkumulationen, Wiederholungsintervall 1.6 s. b) Spreizung der Signale von C-1 und C-1'.  $J_{1,2} = 38.2$ ,  $J_{1,1'} = 116.0$ ,  $J_{1,2'} = 111.1$  Hz. R = Rotationsseitenbanden.

Die photochemische Dimerisierung von Methylmaleinsäureanhydrid ergibt ein Produkt, dessen Struktur zunächst ebensowenig geklärt werden konnte wie die des aus diesem Produkt gebildeten Esters (eine der Verbindungen **38a–d**)<sup>[82]</sup>. Im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum des Esters weist das C-2-Signal Satellitenpaare im Verhältnis 1:1:1 auf. Daraus folgt Struktur **38a** mit *anti*-Kopf-Schwanz-Anordnung.



Die Satellitenpaare des C-1-Signals sind weniger aussagekräftig, da sie sich zum Teil überlagern. Zur Erhärtung wurde das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Gegenwart des optisch

aktiven Verschiebungsreagens  $[\text{Eu}(\text{hfbf}_3)_3]$  aufgenommen. Die Aufspaltung der beiden Methoxysignale jeweils in Dubletts beweist, daß die Methoxygruppen, wie für **38a** zu fordern, paarweise enantiotop sind (in **38b** sind die Methoxygruppen paarweise homotop). Das Ergebnis stimmt mit dem der Kristallstrukturanalyse überein<sup>[83,84]</sup>.

Beide Beispiele zeigen, daß man über die Anzahl und das Intensitätsverhältnis von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Satellitensignalen zwischen Kopf-Kopf- und Kopf-Schwanz-Produkten sehr einfach unterscheiden kann, unabhängig davon, welche Substituenten an den Cyclobutanring gebunden sind. Werden Satellitensignale durch Signale isolierter  $^{13}\text{C}$ -Kerne verdeckt, empfiehlt sich die 1D-INADEQUATE-Methode. Allerdings können hier Abweichungen vom geforderten Intensitätsverhältnis durch falsch gewählte  $\tau$ -Werte oder durch off-Resonanz-Effekte (Abschnitt 7.2) auftreten.

#### 8.4. Zuordnung von $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen

Zuordnungen von  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen bekannter Verbindungen sind für die Strukturbestimmung unbekannter Verbindungen von erheblicher Bedeutung. Kennt man die chemischen Verschiebungen der C-Atome einer Stammverbindung, lassen sich Veränderungen daran unschwer lokalisieren<sup>[85]</sup>. Weiterhin sind richtig zugeordnete Signale eine wichtige Voraussetzung für bestimmte Biosynthesestudien<sup>[86]</sup>.

Zuordnungen anhand der chemischen Verschiebungen und  $\text{C}_\text{H}$ -Kopplungen sind vor allem bei komplizierten Strukturen nicht frei von Unsicherheiten. Eindeutig dagegen ist die Auswertung der  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungen, am sichersten mit der zweidimensionalen INADEQUATE-Pulsfolge. Auf diese Weise wurden die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale mehrerer Verbindungen erstmals<sup>[87-92]</sup> oder unter Beseitigung von Irrtümern erneut<sup>[86,93-96]</sup> zugeordnet.

#### 8.5. Elektronenverteilung in Kohlenstoffverbindungen

Häufig werden  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungskonstanten auch bestimmt, um Einblick in die Bindungsverhältnisse eines Moleküls zu erlangen. Eine ausführliche Diskussion dieses Themas würde den Rahmen dieses Beitrags sprengen, so daß nur die wichtigsten Ergebnisse aufgeführt werden. Die  $^1J_{\text{C,C}}$ -Werte nehmen mit dem s-Anteil der C-Hybridorbitale<sup>[97]</sup> und der Elektronegativität der Substituenten an den beiden C-Atomen<sup>[98,99]</sup> (siehe Tabelle 1) sowie mit der  $\pi$ -Bindungsordnung (bei aromatischen Verbindungen)<sup>[100,101]</sup> (vgl. jedoch <sup>[102]</sup>) zu. In cyclischen Verbindungen mögliche Mehrwegkopplungen haben meist große  $^nJ$ -Werte zur Folge<sup>[103,104]</sup>. Die Isotopenstörungsmethode zur Unterscheidung zwischen klassischen und nichtklassischen Elektronenanordnungen läßt sich nicht nur auf deuterierte Verbindungen, sondern auch auf solche mit natürlicher Zusammensetzung anwenden. Dazu vergleicht man die chemischen Verschiebungen von Isotopomeren mit einem  $^{13}\text{C}$ -Kern und mit zwei  $^{13}\text{C}$ -Kernen<sup>[105]</sup>.

#### 8.6. Biosynthesestudien

Zur Aufklärung von Reaktionsabläufen bei der Biosynthese verwendet man seit langem  $^{13}\text{C}$ -markierte Vorläuferverbindungen<sup>[106]</sup>, z. B. Natriumacetat, das in 1- oder 2-

Stellung oder in beiden Stellungen markiert ist. Zugabe zu Nährlösungen von Bakterien- und Pilzkulturen oder in die Transportkanäle von Pflanzen ergibt Polyketide, die im Idealfall, d. h. wenn keine Verdünnung durch unmarkiertes Acetat eintritt, die in Abbildung 12 gezeigten  $^{13}\text{C}$ -Verteilungen aufweisen: Einfach markiertes Acetat liefert ein Polyketid, in dem die  $^{13}\text{C}$ -Kerne geminal angeordnet sind (Abb. 12a, b);  $[1-^{13}\text{C}]$ - und  $[2-^{13}\text{C}]$ Acetat als 1:1-Gemisch

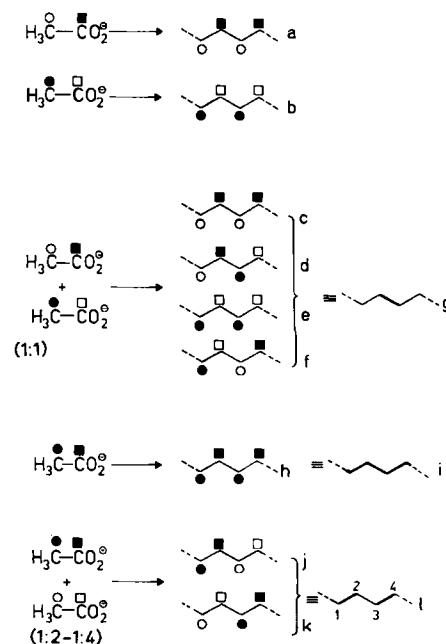


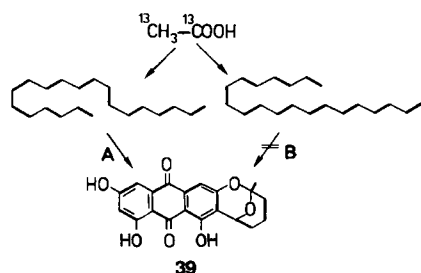
Abb. 12. Verteilung von  $^{13}\text{C}$ -Kernen in Polyketid-Ketten (Ausschnitt) nach Inkorporation unterschiedlich markierter Acetate. a)–l) siehe Text.  $^{12}\text{C}$  ist durch  $\square$  oder  $\circ$ ,  $^{13}\text{C}$  durch  $\blacksquare$  oder  $\bullet$  dargestellt.

eingesetzt ergibt ein Gemisch von Isotopomeren mit benachbarten (Abb. 12d), geminalen (Abb. 12c, e) und vicinalen  $^{13}\text{C}$ -Kernen (Abb. 12f); doppelt markiertes Acetat führt zu einem Polyketid, dessen C-Gerüst nur aus  $^{13}\text{C}$ -Kernen besteht (Abb. 12h); bei einer Verdünnung durch unmarkiertes Acetat liefert es eine Mischung aus Isotopomeren, in denen jeweils zwei  $^{13}\text{C}$ -Kerne benachbart sind (Abb. 12j, k).

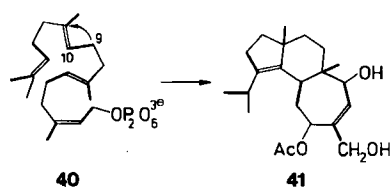
Isotopomere mit erhöhter Häufigkeit für benachbarte  $^{13}\text{C}$ -Kerne sind in Abbildung 12 zusätzlich mit dicken Strichen für die entsprechenden Bindungen dargestellt (Abb. 12g, i, l). Der Formelausschnitt in Abbildung 12l besagt, daß Doppelmarkierung an C-1 und C-2 oder C-3 und C-4 vorhanden ist. Dementsprechend beobachtet man  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Satellitensignale erhöhter Intensität zwischen C-1 und C-2 sowie zwischen C-3 und C-4, nicht aber zwischen C-2 und C-3.

Markierungen mit  $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ Acetat geben Auskunft darüber, wie sich Polyketidketten vor der Cyclisierung falten und ob dabei Umlagerungen auftreten. Zwei Beispiele sollen das verdeutlichen: Die intensiveren Satellitenpaare im herkömmlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von markiertem Averufin **39** führen zu dem Schluß, daß sich die  $\text{C}_{20}$ -Vorläuferverbindung gemäß **A** und nicht gemäß **B** faltet<sup>[107]</sup>.

Das herkömmliche  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von markiertem 11-O-Acetylcyathatriol **41** zeigt Satellitensignale erhöhter



Intensität nur für sieben statt acht C<sub>2</sub>-Fragmente<sup>[108]</sup>. Daraus folgt, daß **40** unter 1,2-Umlagerung cyclisiert. Dabei werden <sup>13</sup>C-9 und <sup>13</sup>C-10 voneinander gelöst und anschließend mit jeweils einem <sup>12</sup>C-Kern verknüpft.



Mit [<sup>13</sup>C]Acetat können nicht nur Reaktionsabläufe bei der Biosynthese, sondern auch Konstitutionen von Naturstoffen aufgeklärt werden. Wegen des erhöhten <sup>13</sup>C-Gehalts reichen jetzt schon verhältnismäßig kleine Substanzmengen aus (ca. 50 mg). Allerdings sind zwei Verfütterungsschritte erforderlich, wie die eleganten Untersuchungen von Seto et al.<sup>[109]</sup> zeigten. Im ersten Schritt wird ein Gemisch aus doppelt markiertem und unmarkiertem Acetat verfüttert. Aus dem herkömmlichen <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum des daraus gebildeten Naturstoffs erhält man die CC-Verknüpfungen *innerhalb* der C<sub>2</sub>-Bausteine (vgl. Abb. 12 I). Im zweiten Schritt wird ein 1:1-Gemisch der beiden einfach markierten Acetate verfüttert. Die NMR-Analyse liefert jetzt CC-Verknüpfungen *zwischen* den C<sub>2</sub>-Bausteinen (vgl. Abb. 12g). Wie Abbildung 13 zeigt, wurde auf diese Weise das gesamte Kohlenstoffgerüst des Pigments **42**, soweit es vom Acetat herrührte, bestimmt<sup>[(110)]</sup> (vgl. auch <sup>[(111)]</sup>).

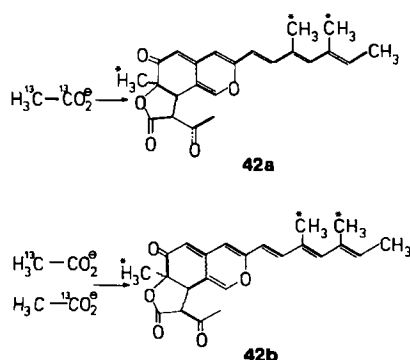


Abb. 13. Aufklärung der Struktur von **42**. Die mit \* markierten CH<sub>3</sub>-Gruppen stammen von Methionin. Die wellenförmig gezeichneten Verknüpfungen ergeben sich aus weiteren spektroskopischen Daten.

Die hier beschriebenen Untersuchungen wurden in den siebziger Jahren mit herkömmlicher <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie durchgeführt. Störungen wie in Abschnitt 3 beschrieben mußten in Kauf genommen werden. Seit Beginn

der achtziger Jahre bedient man sich zunehmend der INADEQUATE-Pulsfolge<sup>[4]</sup>. Mit der ein- oder zweidimensionalen Variante wurde die Biosynthese folgender Verbindungen untersucht (in Klammern <sup>13</sup>C-markierte Vorläuferverbindung): Mevinolin ([1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(112)]</sup>, Lignin (<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>)<sup>[(113)]</sup>, Antibioticum ICI 139 603 ([1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(114)]</sup>, Cationomycin ([1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(115)]</sup>, 24-Methylsterine ([1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(116)]</sup>, mehrere Verbindungen in den Zellen von *E. coli* ([U-<sup>13</sup>C]Glucose)<sup>[(117)]</sup>, Riboflavin ([U-<sup>13</sup>C]Glucose, [2,3-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Succinat)<sup>[(118)]</sup>, Ravidomycin ([1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(119a)]</sup>, Brevetoxin *B* (unter anderem [1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Acetat)<sup>[(119b)]</sup>. Zur Untersuchung von Brevetoxin *B* reichten trotz der großen Molmasse (Summenformel C<sub>50</sub>H<sub>70</sub>O<sub>14</sub>) bereits 1.5 mg aus.

## 9. INADEQUATE-NMR-Spektroskopie anderer Kerne

Mit der INADEQUATE-Pulsfolge können auch bestimmte anorganische Verbindungen von Elementen untersucht werden, die ein Isotop *geringer natürlicher Häufigkeit* (<15%) mit  $I = \frac{1}{2}$  aufweisen. Beispiele sind die Elemente Silicium (4.7% <sup>29</sup>Si), Zinn (7.6% <sup>117</sup>Sn, 8.6% <sup>119</sup>Sn) und Wolfram (14.3% <sup>183</sup>W). Die INADEQUATE-NMR-Spektren bestehen praktisch nur aus den Signalen von AX-Spinsystemen und lassen daher unschwer Atomgerüste erkennen. So ermöglicht es das zweidimensionale INADEQUATE-<sup>183</sup>W-NMR-Spektrum von Polywolframaten, das mit einer auf den <sup>2</sup>J<sub>W,W</sub>-Wert von W-O-W-Einheiten eingestellten Wartezeit  $\tau$  erhalten wird, bei bekannten Verbindungen die <sup>183</sup>W-NMR-Signale eindeutig zuzuordnen und bei unbekannten Verbindungen das Verknüpfungsmuster von W-O-W-O-Bausteinen zu erkennen<sup>[(120), (121)]</sup>.

Besteht ein Element zum überwiegenden Teil oder gar zu 100% aus einem Isotop mit  $I = \frac{1}{2}$  (letzteres ist der Fall bei H, P, F), sind in der Regel mehrere Doppelquanten-Übergänge möglich (Übersicht <sup>[(17)]</sup>). Das Termschema eines AMX-Spinsystems (Abb. 14) enthält sechs Doppelquanten-Kohärenzen:

$$\begin{aligned} \nu_{DQ} &= \nu_A + \nu_M \pm (J_{AX} + J_{MX})/2 - 2\nu_0 \\ \nu_{DQ} &= \nu_A + \nu_X \pm (J_{AM} + J_{MX})/2 - 2\nu_0 \\ \nu_{DQ} &= \nu_M + \nu_X \pm (J_{AM} + J_{AX})/2 - 2\nu_0 \end{aligned}$$

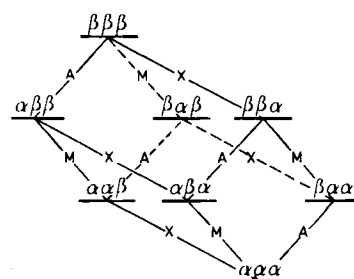


Abb. 14. Termschema eines AMX-Spinsystems mit sechs Nullquanten-Übergängen (je zwei AM-, MX- und AX-Übergänge), zwölf Einquanten-Übergängen (je vier A-, M- und X-Übergänge), sechs Doppelquanten-Übergängen (je zwei AM-, AX- und MX-Übergänge) und einem Tripelquanten-Übergang (AMX).

Das zweidimensionale INADEQUATE-NMR-Spektrum besteht somit aus sechs Reihen, und jede Reihe enthält alle

zwölf Signale (Konturen) eines AMX-Spinsystems. Acht der zwölf Konturen sind symmetrisch zu einer Frequenzdiagonalen angeordnet. Diese Konturen gehören zu den „aktiven Spins“, d.h. Spins, die die Doppelquanten-Frequenz bestimmen (z. B. AM). Die restlichen vier Konturen gehören zum „passiven Spin“ (z. B. X). Eine Vereinfachung gelingt, wenn man statt des 90°-Lesepulses einen 135°-Lesepuls einwirken läßt. Jede Reihe enthält dann praktisch nur noch acht Konturen, die symmetrisch zu einer Diagonalen angeordnet sind und so die Auswertung erleichtern. Abbildung 15 zeigt das zweidimensionale INADEQUATE-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2,3-Dibrompropionsäure mit zwei verschiedenen Lesepulswinkeln aufgenommen<sup>[122]</sup>. Wegen teilweiser Überlappung sind weniger Konturen als maximal (6 × 12 bzw. 6 × 8) zu erkennen.

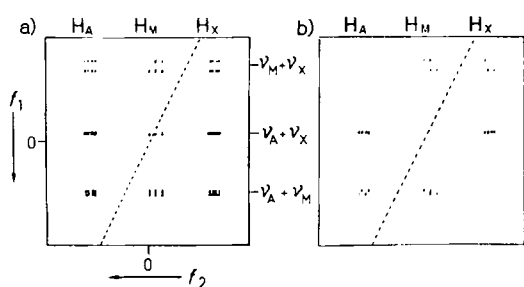


Abb. 15. Zweidimensionales INADEQUATE-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2,3-Dibrompropionsäure BrH<sub>M</sub>H<sub>X</sub>C-CH<sub>A</sub>Br-COOH (OH-Signal nicht gezeigt; Quadraturdetektion in f<sub>1</sub>). a) Lesepulswinkel 90°. b) Lesepulswinkel 135°. Der Vergleich beider Spektren zeigt, daß kein nennenswerter Kohärenztransfer auf die passiven Spins erfolgt ist [122].

<sup>1</sup>H-Spinsysteme sind mehrfach durch INADEQUATE-NMR-Spektroskopie untersucht worden mit dem Ziel, Protonensignale zuzuordnen. Vor- und Nachteile verglichen mit dem COSY-Verfahren werden diskutiert<sup>[123, 124]</sup>. Kürzlich wurde die Konstitution eines Naturstoffs durch zweidimensionale INADEQUATE-<sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelt<sup>[125]</sup>.

## 10. Zusammenfassung und Ausblick

Aus <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-Spin-Spin-Kopplungen kann das Kohlenstoffgerüst einer organischen Verbindung direkt bestimmt werden. Die Auswertung der Spektren, insbesondere der zweidimensionalen INADEQUATE-NMR-Spektren, ist einfach. Auf Vergleichsverbindungen, in der herkömmlichen spektroskopischen Strukturanalyse von zentraler Bedeutung, ist man nicht angewiesen. Die Zuverlässigkeit der Methode beruht darauf, daß <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-Spin-Spin-Kopplungen mit  $J > 35$  Hz fast immer von benachbarten C-Atomen



herrühren. Ausnahmen sind bestimmte substituierte Cyclobutenone (z. B. 43), in denen durch ungewöhnlich große geminale Kopplungen C,C-Verknüpfungen vorgetäuscht werden<sup>[126]</sup>.

Bei stark gekoppelten AB-Spinsystemen muß man Intensitätsverluste der Satellitensignale aufgrund nicht optimal gewählter Wartezeiten in Kauf nehmen<sup>[127]</sup>. Haben die NMR-Signale isolierter <sup>13</sup>C-Kerne dieselben chemischen Verschiebungen, treten Mehrdeutigkeiten bezüglich der Konnektivität auf. In beiden Fällen ist man an die Grenze der Methode gelangt.

Sind Heteroatome als Strukturfragment C-X-C (X = O, S, N) vorhanden, ergeben sich Lücken bei der Aufstellung des Kohlenstoffgerüsts. Manchmal kann man diese schließen, indem man die chemischen Verschiebungen der <sup>13</sup>C-Kerne berücksichtigt.

Konfigurationsbestimmungen mit Hilfe der Karplus-Beziehung gelingen nur in Ausnahmefällen<sup>[128a]</sup>. Wenn man aber die Konstitution einer Verbindung kennt und ihre <sup>1</sup>H-NMR-Signale richtig zuordnen kann (über eine C,H-Korrelation), wird man meist auch mit bewährten Methoden (H,H-Kopplung, NOE) die Konfiguration bestimmen können.

Einer breiten Anwendung der INADEQUATE-<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie steht die geringe Empfindlichkeit dieser Methode noch entgegen. Gegenwärtig benötigt man einige hundert mg (Molekulargewicht ca. 300) und Meßzeiten je nach Feldstärke des Magneten zwischen 10 und 50 h. Drastisch reduziert sich allerdings die Menge bei Naturstoffen, die teilweise aus <sup>13</sup>C-markierten Vorläuferverbindungen hervorgegangen sind. Bei einer Einbaurrate von 1% reichen schon einige mg, um bestimmte Konnektivitäten aufzuspüren<sup>[109, 119b, 128b]</sup>. Kombinierte Pulsfolgen zur Empfindlichkeitssteigerung (INEPT-INADEQUATE und DEPT-INADEQUATE, C-relayed H,C-COSY) erfordern ausreichend H-Atome an den C-Atomen, und die Ergebnisse warten teilweise noch auf eine Bestätigung durch Strukturanalysen. Im übrigen sei darauf hingewiesen, daß viele der Verbindungen von Tabelle 4 mehrere H-freie C-Atome hintereinander angeordnet enthalten. Abzuwarten bleibt auch, welche Verbesserung des S/N-Verhältnisses die mathematische Behandlung der NMR-Signale zweidimensionaler Spektren ergibt. Kürzlich wurde über eine Verkleinerung der Rauschsignale von 2D-INADEQUATE-NMR-Spektren berichtet, die das S/N-Verhältnis um den Faktor drei bis vier verbessert<sup>[51b]</sup>. Ein besseres S/N-Verhältnis bei gegebener Meßzeit erhält man in jedem Fall, wenn man in Gegenwart von Relaxationsreagentien mißt.

Erwägt man eine Konstitutionsermittlung über <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-Kopplungen, sollte man zunächst mit einem einzigen Puls ein herkömmliches <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum aufnehmen. Erscheinen dabei alle <sup>13</sup>C-NMR-Signale, sind die Voraussetzungen für eine Aufklärung über die <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-Kopplungen gegeben. Sind die NMR-Signale gut separiert und nicht von unerwünschten Signalen (Verunreinigungen) begleitet, sollte man sich der herkömmlichen <sup>13</sup>C-NMR-Technik bedienen, da sie die empfindlichste ist und sämtliche <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-Satellitensignale optimal erzeugt (vgl. Abb. 2, 11). Sind diese Voraussetzungen nicht gegeben, ist die INADEQUATE-Pulsfolge anzuwenden. Ihre zweidimensionale Variante ist ein gewisser Höhepunkt in der Konstitutionsermittlung von Kohlenstoffverbindungen, durch welche spektroskopische Methode auch immer: Die Aussagen sind an Einfachheit und Logik kaum zu überbieten.

## Anhang: Dichtematrixformalismus

Die modernen Mehrpuls-NMR-Experimente lassen sich mit dem Dichtematrixformalismus quantitativ erfassen<sup>[14, 29c, 129]</sup>. Die Grundlagen dieses Formalismus und seine Anwendung auf die INADEQUATE-Pulsfolge sind beschrieben<sup>[29c]</sup>.

Ein homonucleares AX-Spinsystem kann durch eine komplexe  $4 \times 4$ -Matrix  $\sigma$  beschrieben werden, die für das thermische Gleichgewicht durch (A1) gegeben ist. Die Diagonalelemente entsprechen den Populationen der vier Energieniveaus des Spinsystems (mit  $p$  gleich der Überschußpopulation des energieärmsten Niveaus), die Nebendiagonalelemente beschreiben die Wechselwirkungen zwischen den zugehörigen Energieniveaus, die „Kohärenzen“. Hat ein Matrixelement den Wert Null, ist die entsprechende Kohärenz nicht angeregt. Die vier Elemente  $\sigma_{12}$ ,  $\sigma_{13}$ ,  $\sigma_{24}$  und  $\sigma_{34}$  repräsentieren die beobachtbaren Magnetisierungen (Einquanten-Kohärenzen;  $\Delta m = 1$ ), die Elemente  $\sigma_{23}$  und  $\sigma_{14}$  die nicht beobachtbaren Null- bzw. Doppelquanten-Kohärenzen ( $\Delta m = 0$  bzw. 2). Die Intensität einer Kohärenz wird durch eine komplexe Zahl beschrieben, deren Realteil der Komponente in  $x$ -Richtung und deren Imaginärteil der Komponente in  $y$ -Richtung des rotierenden Koordinatensystems entspricht. Ein NMR-Experiment wird im Koordinatensystem der Einquanten-Kohärenzen beobachtet; für die Null- und Doppelquanten-Kohärenzen existiert jeweils ein separates Koordinatensystem<sup>[130]</sup>. Die zeitliche Änderung einer Kohärenz und die Wirkung von nichtselektiven Pulsen auf das Spinsystem läßt sich mit zwei einfachen Rechenregeln beschreiben.

$$\sigma = \frac{p}{4} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (\text{A1})$$

Die zeitliche Änderung einer Kohärenz (z. B. die Rotation einer Magnetisierung während einer Wartezeit) entspricht einer Multiplikation der Matrixelemente mit einer zeitabhängigen Funktion [Gl. (A2)]. Hierbei ist die Winkelgeschwindigkeit  $\omega_{kl}$  durch die Differenz der beiden Energieniveaus  $E_k$  und  $E_l$  gegeben. Relaxationseffekte werden nicht berücksichtigt. Durch die Multiplikation (sie entspricht einer Rotation in einem rechtwinkligen Koordinatensystem) ändern sich die Absolutwerte der Matrixelemente nicht.

$$\sigma_{kl}(t) = e^{i\omega_{kl}t} \cdot \sigma_{kl}(t=0) \quad (\text{A2})$$

$$e^{i\omega_{kl}t} = \cos \omega_{kl}t + i \sin \omega_{kl}t$$

Die Wirkung eines nichtselektiven Pulses (mit dem Winkel  $\alpha$ ) auf das Spinsystem erhält man durch Matrixmultiplikation mit der Rotationsmatrix  $R$  und der dazu inversen Matrix  $R^{-1}$  [Gl. (A3)].

$$\sigma(\alpha) = R^{-1}(\alpha) \cdot \sigma \cdot R(\alpha) \quad (\text{A3})$$

Für  $90^\circ$ -Pulse in einer der vier Richtungen des rotierenden Koordinatensystems ( $x, y, -x, -y$ ) lauten diese Rotationsmatrizen gemäß (A4)

$$R_x^{-1} = R_{-x} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & -i & -i & -1 \\ -i & 1 & -1 & -i \\ -i & -1 & 1 & -i \\ -1 & -i & -i & 1 \end{pmatrix}$$

$$R_x = R_{-x}^{-1} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & i & i & -1 \\ i & 1 & -1 & i \\ i & -1 & 1 & i \\ -1 & i & i & 1 \end{pmatrix} \quad (\text{A4})$$

$$R_y^{-1} = R_{-y} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ -1 & 1 & -1 & 1 \\ -1 & -1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & -1 & 1 \end{pmatrix}$$

$$R_y = R_{-y}^{-1} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 \\ 1 & -1 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

Für einen  $180^\circ_{-y}$ -Puls ( $= R_y(90^\circ) \cdot R_y(90^\circ)$ ) ergibt sich (A5).

$$R_y^{-1} = R_y = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{A5})$$

Mit diesen beiden Rechenregeln (Zeitabhängigkeit, Pulswirkung) läßt sich die Änderung der Dichtematrix während der INADEQUATE-Pulssequenz verfolgen.

Der erste Teil dieser Sequenz ( $90^\circ_x - \tau - 180^\circ_y - \tau$ ; Abb. 3a-e) entspricht einem Spinecho-Experiment. Mit einer Wartezeit von  $\tau = 1/(4J)$  ergibt sich am Ende dieser Sequenz die Dichtematrix von (A6). Hier sind nur die Matrixelemente,

$$\sigma = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & -1 & -1 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{A6})$$

die den Einquanten-Kohärenzen entsprechen, von null verschieden (z. B. Kern A:  $\sigma_{12} = 1$ ,  $\sigma_{34} = -1$ ), und ihre Zahlenwerte zeigen, daß diese Kohärenzen, wie in Abbildung 3e mit Hilfe des Vektormodells dargestellt ist, in der  $\pm x$ -Achse des rotierenden Koordinatensystems orientiert sind und eine Phasendifferenz von  $180^\circ$  aufweisen. Ein  $90^\circ$ -Puls in  $x$ -Richtung liefert dann die Dichtematrix von (A7).

$$\sigma = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & i \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -i & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{A7})$$

Sämtliche beobachtbaren Magnetisierungen sind nicht mehr vorhanden ( $\sigma_{12} = \sigma_{13} = \sigma_{24} = \sigma_{34} = 0$ ), weil sie in die Doppelquanten-Kohärenz ( $\sigma_{14}$ ) transferiert wurden. Der Wert des Matrixelements  $\sigma_{14}$  zeigt, daß der zugehörige Vektor in die  $y$ -Richtung des Doppelquanten-Koordinatensystems zeigt (Abb. 3f). Während einer Wartezeit  $t_1$  (in Abb. 3 ist  $t_1 = \Delta = 0$ ) nimmt die Dichtematrix die Form (A8) an.

$$\sigma = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & i \cdot a \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ i a^* & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{A8})$$

mit  $a = e^{i\omega_{14}t_1}$ ;  $a^* = e^{-i\omega_{14}t_1} = e^{-i\omega_{14}t_1}$



Tabelle 5. Dichtematrizen mit Orientierung der Einquanten-Kohärenzen nach Lsepulsen unterschiedlicher Phasenlagen.

Phase des Lsepulses	Dichtematrix $\sigma$ nach der variablen Zeit $t_1$ und dem 90°-Lsepuls		Orientierung der Magnetisierungen bei $t_1=0$ entsprechend den Kohärenzen	
	$t_1 [a]$	$t_1 = 0$	$\sigma_{24}, \sigma_{34}$	$\sigma_{12}, \sigma_{13}$
x	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} s & -c & -c & -s \\ -c & s & -s & c \\ -c & -s & -s & c \\ -s & c & c & s \end{pmatrix}$	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & -1 & -1 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 \end{pmatrix}$	x	-x
y	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} -s & ic & ic & -s \\ -ic & s & s & -ic \\ -ic & s & s & -ic \\ -s & ic & ic & -s \end{pmatrix}$	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & i & i & 0 \\ -i & 0 & 0 & -i \\ -i & 0 & 0 & -i \\ 0 & i & i & 0 \end{pmatrix}$	-y	y
-x	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} s & c & c & -s \\ c & -s & -s & -c \\ c & -s & -s & -c \\ -s & -c & -c & s \end{pmatrix}$	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & -1 & -1 & 0 \end{pmatrix}$	-x	x
-y	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} -s & -ic & -ic & -s \\ ic & s & s & ic \\ ic & s & s & ic \\ -s & -ic & -ic & -s \end{pmatrix}$	$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & -i & -i & 0 \\ i & 0 & 0 & i \\ i & 0 & 0 & i \\ 0 & -i & -i & 0 \end{pmatrix}$	y	-y

[a]  $c = \cos \omega_{14} t_1$ ;  $s = \sin \omega_{14} t_1$ .

Durch einen weiteren 90°-Puls (Lsepuls) ergeben sich je nach Pulsrichtung die in Tabelle 5 wiedergegebenen Dichtematrizen mit den daraus ableitbaren Orientierungen der beobachtbaren Magnetisierungen. Die Einquanten-Kohärenzen, die aus der Doppelquanten-Kohärenz entstehen, sind immer in Richtung derjenigen Achse orientiert, in der auch der Lsepuls wirkt. Wird die Phase dieses Pulses um einen bestimmten Betrag geändert, ändern sich die Phasen der entstehenden Einquanten-Kohärenzen um den doppelten Betrag. (Man beachte, daß  $m_2(-)$  in den Abbildungen 3g und 3h bezüglich der Lsepulsrichtung jeweils die entgegengesetzte Phase aufweist.) Diese Beschreibung ist äquivalent mit der Aussage, daß eine Phasenänderung im Einquanten-Koordinatensystem der doppelten Phasenänderung im Doppelquanten-Koordinatensystem entspricht.

Schaltet man die Detektorphase so, daß sie der Phase aus der Doppelquanten-Kohärenz entstehenden Magnetisierung folgt, werden diese Kohärenzen addiert, während die von den isolierten Kernen herrührenden Einquanten-Kohärenzen bereits nach zwei Durchgängen (2-Schritte-Cyclus) eliminiert werden (Abb. 3i, k), da beim zweiten Durchgang die Differenz zwischen Detektor- und Lsepulsphase 180° ist.

*Wir danken den Kollegen Prof. Dr. G. Bodenhausen (Lausanne), Dr. W. E. Hull (Heidelberg), Prof. Dr. H. Kessler (Frankfurt), Dr. T. Kämpchen (Marburg), Dr. J. Lambert (Dortmund) und Priv.-Doz. Dr. Uzar (Siegen) für wertvolle Hinweise.*

Eingegangen am 3. Juni,  
veränderte Fassung am 10. Dezember 1986 [A 624]

- [1] H. O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun: *<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie*, Thieme, Stuttgart 1984, S. 493.
- [2] V. Wray, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 13 (1979) 177.
- [3] Zusammenfassung von C,C-Spin-Spin-Kopplungskonstanten, ermittelt durch biogenetische Studien: P. E. Hansen, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* 11 (1981) 65; V. Wray, P. E. Hansen, *ibid.* 11 (1981) 99.
- [4] R. M. Horak, P. S. Steyn, R. Vleggaar, *Magn. Reson. Chem.* 23 (1985) 995.

- [5] K. Kamienska-Trela, R. Machinek (Göttingen), persönliche Mitteilung; vgl. auch K. Kamienska-Trela, Z. Biedrzycka, R. Machinek, B. Knierim, W. Lüttke, *Org. Magn. Reson.* 22 (1984) 317.
- [6] S. J. Gould, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 343.
- [7] T. Loerzer, R. Machinek, W. Lüttke, L. H. Franz, K.-D. Malsch, G. Maier, *Angew. Chem.* 95 (1983) 914; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 878.
- [8] a) A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5342; b) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1981, 1275.
- [9] F. Wehrli, T. Wirthlin: *Interpretation of Carbon-13-NMR-Spectra*, Heyden, London 1976, S. 121.
- [10] Bestimmung von <sup>1</sup>J(C,C)-Werten durch CW-NMR-Spektroskopie: F. J. Weigert, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 6021.
- [11] D. Döpp, H. Libera (Duisburg), persönliche Mitteilung.
- [12] J. Buddrus, H. Bauer, unveröffentlicht.
- [13] A. Bax, R. Freeman, S. P. Kempell, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 4849; A. Bax, R. Freeman, T. A. Frenkiel, *ibid.* 103 (1981) 2102.
- [14] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 2229.
- [15] A. Wokaun, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* 52 (1977) 407.
- [16] G. Bodenhausen, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 14 (1981) 137.
- [17] L. Braunschweiler, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* 48 (1983) 535.
- [18] O. W. Sørensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 16 (1983) 163.
- [19] R. Benn, H. Günther, *Angew. Chem.* 95 (1983) 381; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 350.
- [20] H. J. Gais, K. L. Lukas, *Angew. Chem.* 96 (1984) 140; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 142.
- [21] W. Amman, R. Richards, T. Wirthlin, *J. Magn. Reson.* 45 (1981) 270.
- [22] K. Roth, R. Richarz, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 30 (1982) 1015.
- [23] V. Jäger, W. Kühn, J. Buddrus, *Tetrahedron Lett.* 27 (1986) 2587.
- [24] a) L. Müller, *J. Magn. Reson.* 59 (1984) 326; b) L. Müller, A. Pardi, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 3484.
- [25] A. A. Maudsley, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* 50 (1977) 368.
- [26] G. Eich, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3731; P. H. Bolton, G. Bodenhausen, *Chem. Phys. Lett.* 89 (1982) 139; H. Kessler, M. Berndt, H. Kogler, J. Zarbock, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 6944.
- [27] H. Kessler, C. Griesinger, J. Zarbock, H. R. Loosli, *J. Magn. Reson.* 57 (1984) 331; H. Kessler, C. Griesinger, J. Lautz, *Angew. Chem.* 96 (1984) 434; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 444.
- [28] H. Kessler, W. Bermel, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* 62 (1985) 573; H. Kessler, W. Bermel, C. Griesinger, P. Hertl, E. Streich, A. Rieker, *J. Org. Chem.* 51 (1986) 596.
- [29] A. Bax: *Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance in Liquids*, Reidel, Dordrecht 1982 a) S. 159, b) S. 140, c) Anhang I (einige Vorzeichen daraus wurden geändert).
- [30] A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 41 (1980) 507.
- [31] M. H. Levitt, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* 50 (1983) 1109.
- [32] M. H. Levitt, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 18 (1986) 61.
- [33] K. V. Schenker, W. von Philipsborn, *J. Magn. Reson.* 66 (1986) 219.
- [34] R. R. Ernst, R. E. Morgan, *Mol. Phys.* 26 (1973) 49.

- [35] H. Kluge, *Dissertation*, Universität Braunschweig 1984.
- [36] R. Freeman, T. A. Frenkiel, M. B. Rubin, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 5545.
- [37] R. Benn, *J. Magn. Reson.* **55** (1983) 460.
- [38] O. W. Sørensen, U. B. Sørensen, H. J. Jakobsen, *J. Magn. Reson.* **59** (1984) 332; U. B. Sørensen, H. J. Jakobsen, O. W. Sørensen, *ibid.* **61** (1985) 382; P. E. Hansen, A. Lyčka, *Magn. Reson. Chem.* **24** (1986) 772.
- [39] P. Schmitt, H. Günther, *J. Magn. Reson.* **52** (1983) 497.
- [40] P. J. Hore, E. R. P. Zuiderweg, K. Nicolay, K. Dijkstra, R. Kaptein, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 4286.
- [41] A. D. Bain, D. W. Hughes, J. M. Loddington, R. A. Bell, *J. Magn. Reson.* **58** (1984) 490.
- [42] S. R. Johns, R. I. Willing, *Magn. Reson. Chem.* **23** (1985) 16.
- [43] A. Bax, R. Freeman, T. A. Frenkiel, M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* **43** (1981) 478.
- [44] T. H. Mareci, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 158.
- [45] D. Piveteau, M. A. Delsuc, E. Guittet, J. Y. Lallemand, *Magn. Reson. Chem.* **23** (1985) 127.
- [46] D. L. Turner, *Mol. Phys.* **44** (1982) 1051; *J. Magn. Reson.* **49** (1982) 175; *ibid.* **53** (1983) 259.
- [47] A. Bax, T. H. Mareci, *J. Magn. Reson.* **53** (1983) 360.
- [48] D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **58** (1984) 500.
- [49] O. W. Sørensen, R. Freeman, T. A. Frenkiel, T. H. Mareci, R. Schuck, *J. Magn. Reson.* **46** (1982) 180.
- [50] S. W. Sparks, P. D. Ellis, *J. Magn. Reson.* **62** (1985) 1.
- [51] a) P. J. Keller, K. E. Voge, *J. Magn. Reson.* **68** (1986) 389; b) P. H. Bolton, *ibid.* **68** (1986) 180.
- [52] a) D. M. Doddrell, W. Brooks, J. Field, *J. Magn. Reson.* **55** (1983) 481; b) P. E. Hansen, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **14** (1983) 181.
- [53] W. Kreiser, V. Rüschenbaum, H. Bauer, J. Buddrus, *Helv. Chim. Acta* **67** (1984) 2231.
- [54] C. J. Unkefer, W. L. Earl, *J. Magn. Reson.* **61** (1985) 343.
- [55] M. L. Martin, G. J. Martin, J. J. Delpuech: *Practical NMR Spectroscopy*, Heyden, London 1980.
- [56] F. Bohlmann, C. Zdero, *Phytochemistry* **18** (1979) 1747.
- [57] L. A. Paquette, R. A. Gallemmo, J. P. Springer, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 6976.
- [58] T. Tsunoda, Y. Kabasawa, S. Ito, *Tetrahedron Lett.* **25** (1984) 773.
- [59] L. H. Zalkow, R. N. Harris III, D. Van Derveer, J. A. Bertrand, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 456; L. H. Zalkow, R. N. Harris III, D. J. Van Derveer, *ibid.* **1978**, 420.
- [60] F. Bohlmann, N. Le Van, J. Pickardt, *Chem. Ber.* **110** (1977) 3777.
- [61] R. A. Komoroski, E. C. Gregg, J. P. Shockcor, J. M. Geckle, *Magn. Reson. Chem.* **24** (1986) 534.
- [62] A. J. Ragauskas, J. B. Stothers, *Can. J. Chem.* **63** (1985) 1250.
- [63] A. C. Pinto, W. S. Garcez, W. E. Hull, A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 464.
- [64] A. C. Pinto, S. K. Do Prado, R. B. Filho, W. E. Hull, A. Neszmelyi, G. Lukacs, *Tetrahedron Lett.* **23** (1982) 5267.
- [65] R. Jacquesy, C. Narbonne, W. E. Hull, A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 409.
- [66] A. C. Pinto, M. L. A. Gonçalves, R. B. Filho, A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 293.
- [67] V. V. Krishnamurthy, J. G. Shih, G. A. Olah, *J. Org. Chem.* **50** (1985) 3005.
- [68] L. Fitjer, D. Wehle, H. Bauer, J. Buddrus, unveröffentlicht.
- [69] S. Carmely, Y. Kashman, *J. Org. Chem.* **51** (1986) 784.
- [70] J. D. McChesney, E. R. Silveira, A. A. Craveico, J. N. Shoolery, *J. Org. Chem.* **49** (1984) 5154.
- [71] F. J. Schmitz, S. K. Agarwal, S. P. Gunasekera, P. G. Schmidt, J. N. Shoolery, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 4835.
- [72] E. Guittet, S. A. Julia, G. Linstrumelle, R. Lorne, *Tetrahedron* **40** (1984) 4267.
- [73] N. S. Bhacca, M. F. Balandrin, A. D. Kinghorn, T. A. Frenkiel, R. Freeman, G. A. Morris, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 2538.
- [74] H. Gotthardt, H. G. Kinzelmann, J. Buddrus, *Chem. Ber.* **119** (1986) 2317.
- [75] a) H. Gotthardt, R. Jung, *Chem. Ber.* **118** (1985) 3438; b) J. Buddrus, H. Bauer, H. Gotthardt, R. Jung, *Angew. Chem.* **95** (1983) 565; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **22** (1983) 548.
- [76] H. Bauer, J. Buddrus, W. Auf der Heyde, W. Kimpenhaus, *Chem. Ber.* **119** (1986) 1890.
- [77] G. E. Hawkes, R. A. Smith, J. D. Roberts, *J. Org. Chem.* **39** (1974) 1276.
- [78] H. Ziffer, I. W. Levin, *J. Org. Chem.* **34** (1969) 4056.
- [79] W. Metzner, D. Wendisch, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **730** (1969) 111.
- [80] H. Ulrich, D. V. Rao, F. A. Stuber, A. A. R. Sayigh, *J. Org. Chem.* **35** (1970) 1121.
- [81] H. Gotthardt, R. Jung (Wuppertal), persönliche Mitteilung.
- [82] G. O. Schenck, W. Hartmann, S.-P. Mannsfeld, W. Metzner, C. H. Krauch, *Chem. Ber.* **95** (1962) 1642.
- [83] D. Rabinovich, G. M. J. Schmidt, *J. Chem. Soc. B* **1967**, 144.
- [84] H. Ziffer, J. R. Williams, *J. Org. Chem.* **33** (1968) 920.
- [85] S. L. Platt, F. Sauriol, A. S. Perlin, *Carbohydr. Res.* **107** (1982) C1.
- [86] S. Rajan, H. Tsou, P. C. Mowery, M. W. Bullock, G. W. Stockton, *J. Antibiot.* **37** (1984) 1495.
- [87] P. Joseph-Nathan, R. L. Santillan, P. Schmitt, H. Günther, *Org. Magn. Reson.* **22** (1984) 450.
- [88] T. Kikuchi, S. Kadota, S. Matsuda, H. Suchara, *Tetrahedron Lett.* **25** (1984) 2565.
- [89] G. Buchbauer, A. Fischlmayr, E. Haslinger, W. Robin, H. Völlenkle, C. Wessmann, *Monatsh. Chem.* **115** (1984) 739.
- [90] M. J. Musmar, M. R. Willcott, G. E. Martin, R. T. Gampe, M. Iwao, M. L. Lee, R. E. Hurd, LeRoy F. Johnson, R. N. Castle, *J. Heterocycl. Chem.* **20** (1983) 1661.
- [91] J. A. Robinson, D. L. Turner, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 148.
- [92] A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 999.
- [93] A. Neszmelyi, W. E. Hull, G. Lukacs, *Tetrahedron Lett.* **23** (1982) 5071.
- [94] W. Ammann, R. Richarz, T. Wirthlin, D. Wendisch, *Org. Magn. Reson.* **20** (1982) 260.
- [95] C. Kruk, A. W. H. Jans, J. Lugtenburg, *Magn. Reson. Chem.* **23** (1985) 267.
- [96] D. H. Welty, *Magn. Reson. Chem.* **23** (1985) 872.
- [97] K. Frei, H. J. Bernstein, *J. Chem. Phys.* **38** (1963) 1216.
- [98] V. V. Krishnamurthy, P. S. Iyer, G. A. Olah, *J. Org. Chem.* **48** (1983) 3373.
- [99] M. Stöcker, *Monatsh. Chem.* **113** (1982) 1415.
- [100] P. E. Hansen, U. K. Poulsen, A. Berg, *Org. Magn. Reson.* **12** (1979) 43.
- [101] S. Berger, *Org. Magn. Reson.* **22** (1984) 47.
- [102] S. Berger, K. Zeller, *J. Org. Chem.* **49** (1984) 3725.
- [103] J. L. Marshall, L. G. Faehl, R. Kattner, *Org. Magn. Reson.* **12** (1979) 163.
- [104] M. Klessinger, H. von Megen, K. Wilhelm, *Chem. Ber.* **115** (1982) 50.
- [105] V. V. Krishnamurthy, G. K. Surya Prakash, P. S. Iyer, G. A. Olah, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 5015.
- [106] Übersicht: A. G. McInnes, J. L. C. Wright, *Acc. Chem. Res.* **8** (1975) 313.
- [107] C. P. Gorst-Allman, K. G. R. Pachler, P. S. Steyn, P. L. Wessel, B. De Scott, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1977**, 2181.
- [108] W. A. Ayer, S. P. Lee, T. T. Nakashima, *Can. J. Chem.* **57** (1979) 3338.
- [109] H. Seto, T. Sato, H. Yomehara, *J. Am. Chem. Soc.* **95** (1973) 8461.
- [110] H. Seto, M. Tanabe, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 651.
- [111] S. Omura, A. Nakagawa, Y. Tanaka, *J. Org. Chem.* **47** (1982) 5413.
- [112] R. N. Moore, G. Bigam, J. K. Chan, A. M. Hogg, T. T. Nakashima, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 3694.
- [113] E. Guittet, J. Y. Lallemand, *Tetrahedron Lett.* **26** (1985) 2671.
- [114] J. M. Bulsing, E. D. Laue, F. J. Leeper, J. Staunton, D. H. Davies, G. A. F. Ritchie, A. Davies, A. B. Davies, R. P. Mabelis, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1301.
- [115] M. Ubukata, J. Uzawa, K. Isono, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 2213.
- [116] S. Seo, A. Uomori, Y. Yoshimura, K. Takeda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1174.
- [117] E. Mackenzie, R. L. Baxter, A. I. Scott, P. E. Fagerness, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 145.
- [118] P. J. Keller, Q. Le Van, A. Bacher, *Tetrahedron* **39** (1983) 3471.
- [119] a) G. T. Carter, A. A. Fantini, J. C. James, D. B. Borders, R. J. White, *Tetrahedron Lett.* **25** (1984) 255; b) M. S. Lee, D. J. Repeta, K. Nakanishi, M. G. Zagorski, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 7855.
- [120] C. Brevard, R. Schimpf, G. Tourne, C. M. Tourne, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 7059.
- [121] P. J. Domaille, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 7677.
- [122] T. H. Mareci, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **51** (1983) 531.
- [123] R. Rösch, K. H. Gross, *Z. Naturforsch. C39* (1984) 738.
- [124] S. W. Fesik, T. J. Perun, A. M. Thomas, *Magn. Reson. Chem.* **23** (1985) 645.
- [125] G. M. Martin, R. Sanduja, M. Alam, *J. Org. Chem.* **50** (1985) 2383.
- [126] H. Bauer, J. Buddrus, W. Auf der Heyde, W. Kimpenhaus, *Angew. Chem.* **97** (1985) 860; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **24** (1985) 854.
- [127] T. Nishida, C. R. Enzell, G. A. Morris, *Magn. Reson. Chem.* **24** (1986) 179.
- [128] a) J. Marshall: *Carbon-Carbon and Carbon-Proton NMR Couplings: Applications to Organic Stereochemistry and Conformational Analysis (Methods in Stereochemical Analysis Vol. 2)*, Verlag Chemie Int., Deerfield Beach, FL, USA 1982. b) G. Müller, J. Schmiedl, E. Schneider, G. Wörner, A. I. Scott, H. J. Williams, P. J. Santander, N. J. Stolowich, P. E. Fagerness, N. E. Mackenzie, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 7875.
- [129] S. Schaublin, A. Höhener, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **13** (1974) 196.
- [130] R. M. Lynden-Bell, J. M. Bulsing, D. M. Doddrell, *J. Magn. Reson.* **55** (1983) 128.