

Abb. 1. Lineare Abhängigkeit des mittleren Volumens  $V$  der Wassertröpfchen von der Zeit in einer inversen Wasser-in-Fluorkohlenstoff-Emulsion (95% v/v Perfluoroctylbromid, 5% v/v Salzlösung, 2% (Perfluoroctyl)undecylmorpholinophosphat F8C11DMP) a) nach 15 min Erhitzen auf 121 °C und b) nach Filtration über eine 0.22-μm-Sterilisiermembran. Die Einschübe zeigen die Histogramme der Größenverteilung der erhitzen Emulsion, wie sie direkt nach der Herstellung (\*) und nach 140 Tagen bei 25 °C (\*\*) gemessen wurden.  $N$  = prozentualer Anteil der Partikel mit einem bestimmten Radius  $a$ . Die Werte  $0.29 \pm 0.02 \mu\text{m}$  und  $0.27 \pm 0.02 \mu\text{m}$  beziehen sich auf die mittleren Radien  $\bar{a}$ .

Eine Reihe von Medikamenten, darunter Antibiotika (Doxycyclin, Gentamycin, Erythromycin), vasoaktive Bronchodilatoren (Epinephrin, Tolazolin), mucolytische (Acetylcystein), Antituberkulose- (Ethambutol, Pyrazinamid), cholinergene (Acetylcholinchlorid), Glucocorticoid- (Prednison) und Antitumor-Wirkstoffe (Cyclophosphamid), konnten in inversen Fluorkohlenstoff-Emulsionen ohne signifikanten Verlust der Stabilität eingebaut werden. So wurde beispielsweise eine ähnliche wie die zuvor beschriebene inverse Fluorkohlenstoff-Emulsion mit 0.1 mL einer wäßrigen Lösung von Tolazolin (3% w/v in 2.5proz. NaCl-Lösung) hergestellt. Der mittlere Teilchendurchmesser, bestimmt durch Photosedimentationsmessungen, betrug nach der Präparation 0.15 μm, nach der Hitzesterilisation 0.17 μm und 0.23 μm nach einem Monat Lagerung bei 25 °C.

Erste toxikologische Daten von Wasser-in-Fluorkohlenstoff-Emulsionen sind ermutigend. Die intravenöse Verabreichung einer Dispersion von F8C11DMP in 0.9proz. NaCl-Lösung an Mäuse ergab bei Konzentrationen von bis zu 2 g kg<sup>-1</sup> Körpergewicht keine akute Toxizität (abgeschlossenes Versuchspraktikum; alle zehn behandelten Tiere überlebten), was auf einen intravenösen LD<sub>50</sub>-Wert von > 2 g kg<sup>-1</sup> hinweist. Intraperitoneale Verabreichung derselben, in Perfluoroctylbromid dispergierten Verbindung ergab einen intraperitonealen LD<sub>50</sub>-Wert von etwa 4 g kg<sup>-1</sup>. Im Falle des F8C2DMP überlebten alle zehn Tiere bei einer intraperitonealen Dosis von 2 g kg<sup>-1</sup> Körpergewicht. Auch zeigte keines dieser Tenside hämolytische Aktivität. Eine reverse Emulsion (Perfluoroctylbromid, 95% v/v; 0.9proz. wäßrige NaCl-Lösung in Wasser, 5% v/v; F8C11DMP, 1% w/v) wurde intraperitoneal in zehn Mäuse injiziert (25 mL kg<sup>-1</sup> Körpergewicht); nach einem Monat waren alle Tiere noch am Leben. Während dieser Zeit wurden keine signifikanten Störungen in ihrem Wachstum oder Verhalten festgestellt.

Eingegangen am 1. Februar,  
veränderte Fassung am 13. Mai 1996 [Z 8777]

**Stichworte:** Emulsionen · Fluorkohlenstoffe · Tenside

- [1] *Encyclopedia of Emulsion Technology*, Vol. 1 (Hrsg.: P. Becher), M. Dekker, New York, 1983.
- [2] R. E. Banks, in *Fluorine in Medicine* (Hrsg.: R. E. Banks, K. C. Lowe), Rapra Technology Ltd., Shawbury, 1994; B. Smart in *Organofluorine Chemistry: Principles and Commercial Applications* (Hrsg.: R. E. Banks), Plenum Press, New York, 1994; J. G. Riess, *New J. Chem.* **1995**, *19*, 893–911.
- [3] T. M. Reed III in *Fluorine Chemistry*, Vol. 5 (Hrsg.: J. H. Simmons), Academic Press, New York, 1964, S. 133; P. Mukerjee, T. Handa, *J. Phys. Chem.* **1981**, *85*, 2298–2303.

- [4] S. S. Davis, H. P. Round, T. S. Purewal, *J. Colloid Interface Sci.* **1981**, *80*, 508–511; A. S. Kabalnov, Y. D. Aprosin, O. B. Pavlova-Verevkin, A. V. Pertsov, E. D. Shchukin, *Kolloidn. Zh.* **1986**, *48*, 27–32; L. Trevino, L. Solé-Violan, P. Daumur, B. Devallez, M. Postel, J. G. Riess, *New J. Chem.* **1993**, *17*, 275–278.
- [5] I. M. Lifshitz, V. V. Slyozov, *Sov. Phys. JETP (Engl. Transl.)* **1959**, *35*, 331–339; L. C. Wagner, *Z. Elektrochem.* **1961**, *65*, 581–591.
- [6] Hildebrands Theorie erlaubt die qualitative Abschätzung der Löslichkeiten  $C_{1-2}$  und  $C_{2-1}$  zweier Flüssigkeiten ineinander anhand der folgenden vereinfachten Gleichungen:  $-RT \ln C_{1-2} \sim V_{m1} (\delta_1 - \delta_2)^2$  und  $-RT \ln C_{2-1} \sim V_{m2} (\delta_1 - \delta_2)^2$ , wobei  $\delta_1$  und  $\delta_2$  die Löslichkeitsparameter und  $V_{m1}$  und  $V_{m2}$  die molaren Volumina sind. Siehe: *Regular and Related Solutions* (Hrsg.: J. H. Hildebrand, J. M. Frausnitz, R. L. Scott), Van Nostrand Reinhold, New York, 1970.
- [7] Der Diffusionskoeffizient kann mit einer Version der Stokes-Einstein-Gleichung für kleine Moleküle abgeschätzt werden, z.B. mit der Hayduk-Laudie-Gleichung:  $D \sim V_m^{-0.589}$  (siehe: W. Hayduk, H. Laudie, *AIChE J.* **1974**, *20*, 611–615).
- [8] J. Greiner, J. G. Riess, P. Vierling in *Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications* (Hrsg.: R. Filler, T. Kobayashi, L. M. Yagupolski), Elsevier, Amsterdam, **1993**, S. 339; J. G. Riess, M. P. Kraft, L. Zarif, *Mater. Res. Soc. Bull.* **1996**, im Druck.
- [9] M. R. Wolfson, J. S. Greenspan, T. H. Shaffer, *Pediatr. Res.* **1992**, *29*, 336 A; T. H. Shaffer, M. R. Wolfson, J. S. Greenspan, S. D. Rubenstein, R. G. Stern in *Proceed. Vth Int. Symp. Blood Substitutes* (San Diego, March 1993), Vol. I (Hrsg.: T. M. S. Chang, J. G. Riess, R. M. Winslow) in *Artif. Cells Blood Subst. Immob. Biotech.* **1994**, *22*, 315–326.
- [10] S. Fukushima, M. Nishida, T. Shibuta, K. Juni, M. Nakano, N. Uchida, T. Ohkuma, Y. Yamashita, M. Takahashi, *J. Pharmacobio-Dyn.* **1986**, *9*, s-17.
- [11] R. B. Hirschl, T. Pranikoff, P. Gauger, R. J. Schreiner, R. Dechert, R. H. Bartlett, *Lancet* **1995**, *346*, 1201–1202.
- [12] P. E. Keipert, *Artif. Cells. Blood Subst. Immob. Biotech.* **1995**, *23*, 381–394; T. F. Zuck, J. G. Riess, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **1994**, 295–324; J. A. Wahr, A. Trouwborst, R. K. Spence, C. P. Henny, A. C. Cernaianu, G. P. Graziano, K. K. Tremper, K. E. Flaim, P. E. Keipert, N. S. Faithfull, J. J. Clymer, *Anesth. Analg. (Paris)* **1996**, *82*, 103–107.
- [13] M. P. Kraft, P. Vierling, J. G. Riess, *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 545–550.
- [14] F. Giulieri, M. P. Kraft, J. G. Riess, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1583–1584; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1514–1515.
- [15] H. Kunieda, K. Nakamura, U. Olsson, B. Lindman, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 9525–9531.

## LUCY – ein Programm zur Konstitutionsermittlung aus NMR-Korrelationsexperimenten\*\*

Christoph Steinbeck\*

Spätestens durch die Einführung der gradientenunterstützten NMR-Spektroskopie sind Meßzeit und Aufwand für die Aufnahme zweidimensionaler CH-Korrelationen für Routineanwendungen vertretbar. Damit steht auch die zur Konstitutionsermittlung seit langem als sehr wertvoll geschätzte langreichweite CH-Korrelation (HMBC<sup>[11]</sup>) weithin zur Verfügung. Der Gedanke, diese spektroskopischen Informationen in der computergestützten, automatisierten Strukturaufklärung zu verwenden, liegt nahe. Wenngleich Lindley et al. bereits 1983<sup>[12]</sup> die Verwendung von 2D-Information in einem Computerprogramm zur Strukturgenerierung aufzeigten, wurden erst zu Beginn der 90er Jahre brauchbare Ansätze in CASE-Systemen (Computer assisted structure elucidation) publiziert.

Mit LUCY wird nun ein Programm vorgestellt, mit dem auf einem gewöhnlichen PC die Konstitution einer unbekannten Verbindung auf der Basis des HMBC-Experimentes bestimmt werden kann. Benötigt werden die Summenformel, das breit-

[\*] Dr. C. Steinbeck  
Department of Chemistry, Tufts University  
62 Talbot Avenue, Medford, MA 02155 (USA)  
Telefax: Int. + 617/627-3443  
E-mail: stein@microvirus.chem.tufts.edu

[\*\*] Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. E. Breitmaier für die Idee und die Anregungen zu diesem Projekt.

bandentkoppelte  $^{13}\text{C}$ -, das DEPT-90-, das DEPT-135- sowie das C,H-COSY-Spektrum (HMQC<sup>[3]</sup>, HSQC<sup>[4]</sup>). Optional, aber hilfreich, ist das H,H-COSY-Diagramm. Hier werden ausschließlich  $^3J_{\text{H},\text{H}}$ -Kopplungen verwendet. Eine Auswertung des DEPT-Spektrums und des C,H-COSY-Diagramms ermöglicht dem Benutzer einen Ausschluß der geminalen Kopplungen im H,H-COSY-Spektrum bei diastereotopen Protonen von  $\text{CH}_2$ -Gruppen. Weiterhin können Angaben darüber gemacht werden, ob ein C-Atom an ein Heteroatom gebunden ist oder nicht, etwa wegen dessen chemischer Verschiebung oder CH-Kopplungskonstante.

Auch die Autoren von Programmsystemen, die zur Strukturaufklärung 1D-NMR-, Massen- und IR-Spektren nutzten, haben in neuerer Zeit über die Verwendung von HMBC-Daten berichtet<sup>[5, 6]</sup>. Es wurden jedoch immer neue Module den bereits existierenden Systemen hinzugefügt. LUCY wurde speziell zur Verwendung von HMBC-Daten entworfen.

Unser Verfahren verwendet diese zur Generierung größerer Kohlenstoffgerüsteile bereits im ersten Schritt der Strukturmöglichkeit. Die durch die DEPT-Experimente bekannten  $\text{CH}_x$ -Fragmente ( $x = 0-3$ ) sowie die Heteroatome werden in einem rekursiven Prozeß [analyse\_coloc()] zu sämtlichen möglichen Interpretationen der vorliegenden langreichweiten CH-Kopplung kombiniert. Durch den Einsatz von  $^3J_{\text{H},\text{H}}$ -Kopplungen verringert sich die Zahl der durchzuführenden Kombinationen deutlich. Der Algorithmus beruht auf der Annahme, daß die HMBC-Kreuzsignale Repräsentationen von  $^2J_{\text{C},\text{H}}$ - oder  $^3J_{\text{C},\text{H}}$ -Kopplungen sind. Zwei Atome C<sub>A</sub> und B – das Atom B kann ein Kohlenstoffatom oder ein protonentragendes Heteroatom sein – zwischen denen eine Korrelation C<sub>A</sub> → B – H besteht, werden also direkt ( $^2J_{\text{C},\text{H}}$ ) oder über ein beliebiges weiteres Schweratom der Matrix ( $^3J_{\text{C},\text{H}}$ ) miteinander verbunden.  $^4J_{\text{C},\text{H}}$ -Kopplungen werden nicht berücksichtigt, was bei der statistischen Seltenheit solcher Kreuzsignale und dem enormen Anstieg der Rechenzeit bei deren Berücksichtigung gerechtfertigt erscheint. Durch diese Fragmentgenerierung aus HMBC-Daten wird bereits eine außerordentlich effektive Einschränkung der Lösungsmenge erreicht und die zur Strukturgenerierung nötige Zeit im Vergleich zu einer auf HMBC-Daten basierenden Auswahl nach der Generierung signifikant gesenkt. Hierdurch kann auf eine Auswahl durch andere Regeln weitgehend verzichtet werden.

Immer wenn während der Auswertung der HMBC-Daten eine gültige Interpretation aller HMBC-Signale im Sinne der oben genannten Regeln gefunden wurde, wird der Strukturgenerator make\_bond() zur Vervollständigung der Konnektivitätsmatrix verwendet. Die entstandene Struktur wird von der Routine test\_global() noch einigen benutzerdefinierten Auswahlkriterien (z.B. Ausschluß bestimmter Ringgrößen) unterworfen und dann als Strukturformel angezeigt (zur Darstellung wird ein von Ugi entwickelter Algorithmus<sup>[8]</sup> verwendet).

Das Programmsystem besteht aus zwei Teilen (Abb. 1). Die Oberfläche LUCY (structure eLUCIdation), die unter MS-Windows 3.1, Windows 95 und Windows NT implementiert wurde, ermöglicht die komfortable Dateneingabe, während die Rechnung von dem Modul MOL durchgeführt wird. Jeder moderne PC (mindestens Intel-80486-Prozessor) ist verwendbar. Die Strukturmöglichkeit kann durch die Zweiteilung des Programmes auch auf einen anderen Rechner, z.B. eine Workstation, ausgelagert werden.

Die Leistungsfähigkeit des Systems wird an zwei Beispielen gezeigt. Munk und Christie<sup>[5]</sup> führten 1991 die Strukturmöglichkeit des Monochaetins ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$ ) unter Verwendung von DEPT-, H,H-COSY- sowie C,H-COSY-Spektren und CH-Weitbereichskorrelation mit dem System COCOA/INFER2D durch. Die Konstitution dieses Pilzmetaboliten war

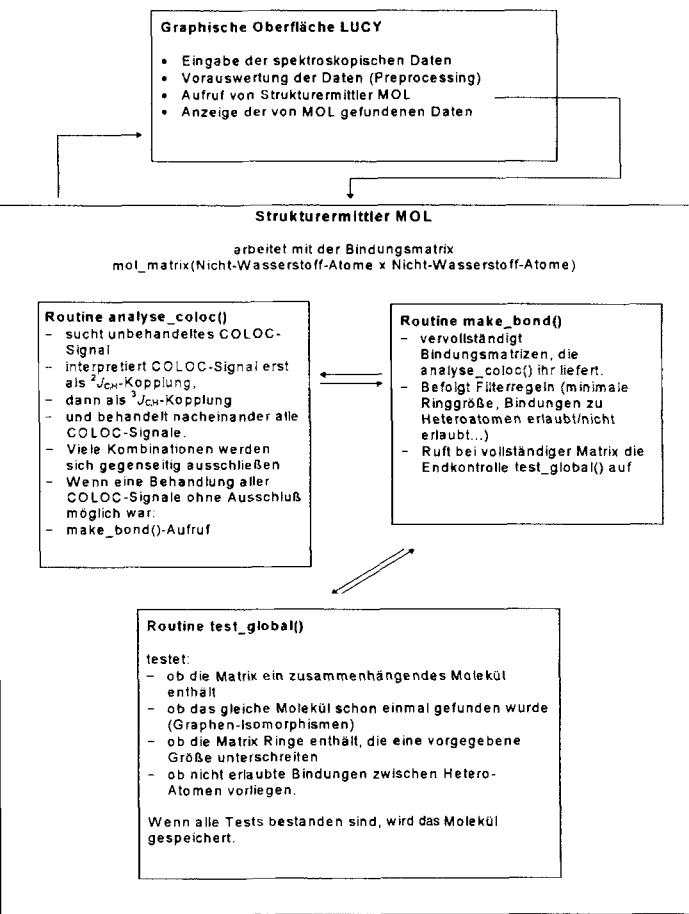


Abb. 1. Aufbau des Programmsystems LUCY.

bereits 1986 konventionell aufgeklärt worden<sup>[7]</sup>. Sie erhielten sechs Strukturen, darunter die korrekte.

Dieselben experimentellen Daten<sup>[5]</sup> wurden für eine Strukturmöglichkeit mit LUCY verwendet (Tabelle 1, Abb. 2). Das

Tabelle 1. Zur Berechnung der Monochaetinstruktur [a] verwendete Daten.

Atom	DEPT	$\delta_{\text{C}}$	C,H-COSY-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$	HMBC-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$	H,H-COSY-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$ [b]
C-1	C	205.94		4.05, 3.76, 1.11	
C-2	C	191.77		1.32	
C-3	C	169.10		4.05	
C-4	C	158.52		6.79, 6.02, 2.13	
C-5	C	145.52		6.79, 6.02	
C-6	CH	143.30	6.79	3.76	
C-7	C	116.22		6.79, 6.02, 5.29, 3.76	
C-8	CH	107.04	6.02	5.29, 2.13	
C-9	CH	105.73	5.29	6.02	
C-10	C	82.55		5.29, 3.76, 1.32	
C-11	CH	52.13	4.05	3.76	3.76
C-12	CH	46.70	3.19	1.11	1.81/1.48, 1.11
C-13	CH	43.66	3.76	4.05, 1.32	4.05
C-14	$\text{CH}_2$	26.27	1.81/1.48	1.11	3.19, 0.97
C-15	$\text{CH}_3$	19.49	2.13	6.02	
C-16	$\text{CH}_3$	18.92	1.32	3.76	
C-17	$\text{CH}_3$	14.39	1.11		3.19
C-18	$\text{CH}_3$	11.45	0.97		1.81/1.48

[a] Die Verschiebungen diastereotoper Protonen, die zur selben  $\text{CH}_2$ -Gruppe gehören, sind durch Schrägstrich getrennt. [b] Bei den  $\delta_{\text{H}}$ -Werten in der Spalte H,H-COSY handelt es sich um Kreuzsignal-Koordinaten, deren zugehörige Werte sich in der Spalte C,H-COSY befinden. Dies gilt auch für die Daten in Tabelle 2.

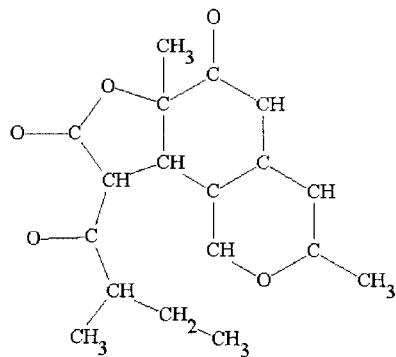


Abb. 2. Von LUCY berechnete Lösung des Monochaetin-Problems.

System vollzieht eine minimale Vorauswertung, in der es wegen der  $^{13}\text{C}$ -chemischen Verschiebung das Signal bei  $\delta_{\text{C}} = 169$  einem Carbonsäurederivat (COO-Funktion) und die Signale bei  $\delta_{\text{C}} = 205$  und  $\delta_{\text{C}} = 191$  zwei Ketofunktionen ( $>\text{C}=\text{O}$ ) zuordnet. Diese Vorauswertung ist zur Zeit noch nicht abschaltbar, kann aber korrigiert werden.

LUCY erhält unter Windows 95 auf einem mit 100 MHz getakteten Pentium-PC in etwa einer Minute die korrekte Struktur als einziges Ergebnis.

Das System wurde an vielen anderen Beispielen aus unserer täglichen Arbeit getestet<sup>[10]</sup>. Abbildung 3 zeigt die von LUCY errechneten mit den Daten aus Tabelle 2 kongruenten sechs Lösungen des Polycarpol-Problems<sup>[9]</sup>, die größte von uns bisher getestete Matrix. Das Programm benötigte unter den bereits genannten Bedingungen zwei Stunden für die Rechnung.

Eingegangen am 9. Februar 1996 [Z 8801]

**Stichworte:** Computerchemie · NMR-Spektroskopie · Strukturaufklärung

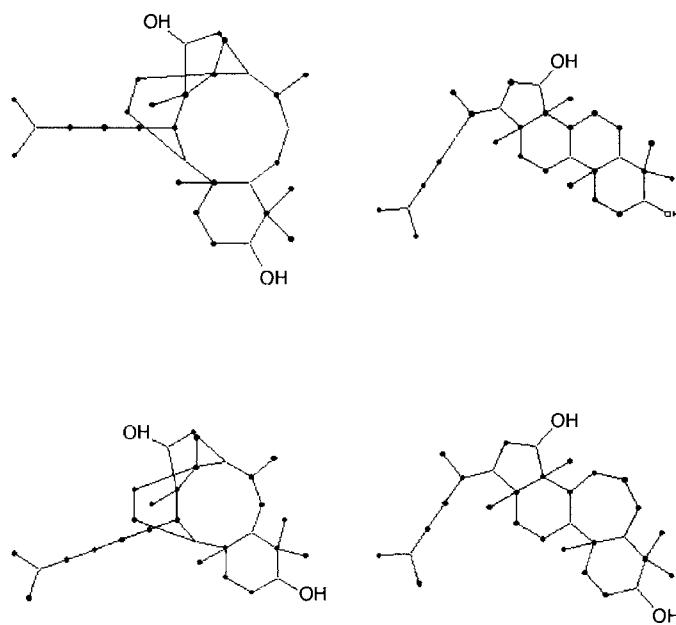


Abb. 3. Von LUCY berechnete Lösungen des Polycarpol-Problems. Es wurden nur Konnektivitäten gezeichnet, keine Bindungsordnungen.

Tabelle 2. Zur Berechnung der Polycarpolstruktur verwendete Daten.

Atom	DEPT	$\delta_{\text{C}}$	C-H-COSY-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$	HMBC-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$	H,H-COSY-Kreuzsignale mit $\delta_{\text{H}}$ [a]
C-1	C	146.0		6.00, 2.00/2.26, 1.01	
C-2	C	142.0		5.30, 1.04	
C-3	C	131.0		1.66, 1.60	
C-4	CH	125.5	5.20	1.66, 1.60	
C-5	CH	122.0	6.00	2.05/2.14	2.05/2.14
C-6	CH	116.3	5.30	2.00/2.26	2.00/2.26
C-7	CH	79.0	3.15		1.68
C-8	CH	74.8	4.30	1.04	1.83/1.93
C-9	C	52.5		1.04, 0.64	
C-10	CH	49.7	1.14	1.00, 1.01, 0.91	
C-11	CH	49.3	1.65	0.87, 0.64	1.83/1.93
C-12	C	44.4		5.30, 1.65, 1.04, 0.64	
C-13	CH <sub>2</sub>	39.8	1.83/1.93		4.30, 1.65
C-14	C	39.0		1.14, 1.00, 1.68, 0.91	
C-15	CH <sub>2</sub>	38.8	2.00/2.26	0.64	5.30
C-16	C	37.7		1.14, 1.68, 1.01	
C-17	CH <sub>2</sub>	36.8	1.07/1.45	0.87	
C-18	CH	36.4	1.32	0.87	0.87
C-19	CH <sub>2</sub>	36.3	1.38/1.92	1.01	1.68
C-20	CH <sub>3</sub>	28.3	1.00	0.91	
C-21	CH <sub>2</sub>	27.9	1.68		3.15, 1.38/1.92
C-22	CH <sub>3</sub>	25.9	1.66	1.60	
C-23	CH <sub>2</sub>	25.3	2.00		
C-24	CH <sub>2</sub>	23.3	2.05/2.14		6.00
C-25	CH <sub>3</sub>	23.0	1.01	1.14	
C-26	CH <sub>3</sub>	18.7	0.87		1.32
C-27	CH <sub>3</sub>	17.8	1.60	1.66	
C-28	CH <sub>3</sub>	17.5	1.04		
C-29	CH <sub>3</sub>	16.1	0.64	1.65, 2.00/2.26	
C-30	CH <sub>3</sub>	16.0	0.91	1.14, 1.00	

[a] Siehe Fußnote [b] in Tabelle 1.

- [1] M. F. Summers, L. G. Marzilli, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4285.
- [2] M. R. Lindley, J. N. Shoolery, D. H. Smith, C. Djerassi, *Org. Magn. Reson.* **1983**, *21*, 405.
- [3] A. Bax, R. Griffey, B. L. Hawkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7188; A. Bax, M. F. Summers, *ibid.* **1986**, *108*, 2093.
- [4] G. Bodenhausen, D. J. Ruben, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *69*, 185.
- [5] B. D. Christie, M. E. Munk, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3750.
- [6] C. Peng, S. Yuan, C. Zheng, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1995**, *35*, 539.
- [7] P. Steyn, R. J. Vleughaar, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1975.
- [8] K. Bley, J. Brandt, A. Dengler, R. Frank, I. Ugi, *J. Chem. Res.* **1991** (M), 2601.
- [9] V. Hellwig, Diplomarbeit, Universität Bonn **1994**.
- [10] E. Breitmaier, *Vom NMR-Spektrum zur Strukturformel organischer Verbindungen*, 2. Aufl., Teubner, Stuttgart, **1992**; Wiley, **1993** (englische Übersetzung); Maruzen, **1995** (japanische Übersetzung).