

Abb. 4. Korrigierte reziproke molare magnetische Suszeptibilität und magnetisches Moment von  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{CN})_4]$  als Funktion der Temperatur. Oberhalb von 140 K verläuft die  $\chi^{-1}(T)$ -Kurve linear und folgt der Curie-Weiß-Beziehung (mit  $\theta = -240 \text{ K}$ ).

sein als 41 K, also 93.5 K betragen, wie beim oktaedrischen  $\text{K}_2\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$  gemessen wurde. Weil nur das 1.58fache von 41 K erhalten wurde, muß  $J$  für  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{CN})_4]$  kleiner sein. Dies stimmt mit einer wesentlich längeren  $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-C}$ -Bindung (sie ist ca. 0.20 Å länger) überein, bei der  $J$  kleiner ist. Eine unabhängige Abschätzung von  $J$  erfordert ein Modell für ein Heisenberg-3D-System (mit  $S = 5/2$ ) vom Diamanttyp, was gegenwärtig nicht existiert.

Anders als  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{CN})_4]$  sollten die Komplexe  $\text{M}^{\text{II}}[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{CN})_4]$  (mit  $\text{M} \neq \text{Mn}$ ) unkompensierte Momente aufweisen und ferrimagnetisch geordnet sein.

Eingegangen am 25. August 1997 [Z10853]

**Stichwörter:** Diamant · Magnetismus · Mangan

- [1] W. E. Buschmann, A. M. Arif, J. S. Miller, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 813; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, Nr. 6.
- [2] B. F. Hoskins, R. Robson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1546.
- [3] a) V. Gadet, T. Mallah, I. Castro, M. Verdaguier, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9213; b) T. Mallah, S. Ferlay, C. Aubert, C. Helary, F. L'Hermitte, F. Ouahes, J. Vaissermann, M. Verdaguier, P. Veillet, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1995**, *273*, 141; c) S. Ferlay, T. Mallah, R. Ouahes, P. Veillet, M. Verdaguier, *Nature* **1995**, *378*, 701; d) W. R. Entley, G. S. Girolami, *Science* **1995**, *268*, 397; e) W. R. Entley, G. S. Girolami, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 5165; f) W. R. Entley, C. R. Treadway, G. S. Girolami, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1995**, *273*, 153.
- [4] Auf der Grundlage der korrigierten  $d$ -Abstände (mit Si als internem Standard) wurde ein vorläufiger Gitterparameter mit Peaks, die mit  $\text{Zn}(\text{CN})_2$  als Strukturmodell indiziert wurden, berechnet.<sup>[2]</sup> Mit dem Programm LATPARM und unter Annahme einer kubischen Symmetrie wurden die Reflexe sowie die  $d$ -Abstände verfeinert. Diese Verfeinerung konvergierte nach bereits vier Cyclen und lieferte einen neuen Gitterparameter sowie dessen Standardabweichung. In der Raumgruppe  $\bar{P}\bar{4}3m$  wird eine geordnete Anordnung der Cyanoliganden zugrundegelegt, die möglicherweise allerdings nicht sinnvoll ist. Bei willkürlicher Orientierung der Liganden (d.h.  $\text{Zn CN}_3$ ,  $\text{ZnC}_2\text{N}_2$ ,  $\text{ZnC}_3\text{N}$  und  $\text{ZnC}_4$ ) gelangt man, wie in Lit.<sup>[5]</sup> vorgeschlagen wurde, zu weniger symmetrischen Raumgruppen  $\text{Pn}\bar{3}m$ . Durch den Wechsel in der Raumgruppe ändern sich die berechneten Peakintensitäten nur geringfügig. Ein Pulver-Röntgendiffraktogramm wurde mit dem Programm CRYSTAL-DIFFRACT<sup>[6]</sup> aus dem verfeinerten Gitterparameter und den Atompositionen des isostrukturellen  $\text{Zn}(\text{CN})_2$  berechnet. Es war in hervorragender Übereinstimmung mit dem gemessenen Diffraktogramm.
- [5] T. Kitazawa, S. Nishikiori, R. Kuroda, T. Iwanoto, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1994**, 1029.
- [6] D. C. Palmer, CRYSTALDIFFRACT, Cambridge Technical Services Ltd., Cambridge (Großbritannien).

- [7] Der  $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-Mn}^{\text{II}}$ -Abstand konnte wegen der Lagen der Mn-Zentren (Mn-Wyckoff-Positionen: 1a  $\text{Mn}(1) 0,0,0$ ; 3d  $\text{M}(2) 0,0,1/2$ ) folgendermaßen berechnet werden:  $3^{1/2}a/2$ .
- [8] Die Dichte des Materials wurde unter Verwendung einer  $\text{CH}_2\text{I}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Mischung durch Wiegen eines Volumens von 1.00 mL bestimmt.
- [9] Die Verunreinigung (9.5%) ist kein einfacher Paramagnet, sondern weist eine gewisse antiferromagnetische Kopplung auf ( $\theta = -9 \text{ K}$ ). Dies deutet auf Wechselwirkungen nächster Nachbarn zwischen  $\text{Mn}^{\text{II}}$ -Zentren hin.

## SIAM, ein neues NMR-Experiment für die Bestimmung homonuclearer Kopplungskonstanten\*\*

Thomas Prasch, Peter Gröschke und Steffen J. Glaser\*

Kopplungskonstanten sind neben Kreuzrelaxationsraten die wichtigsten NMR-Parameter für die Bestimmung der Konformation gelöster Moleküle.<sup>[1]</sup> Vicinale Kopplungskonstanten ( $^3J$ ) liefern mit Hilfe empirischer Karplus-Beziehungen Informationen über Diederwinkel. Beispielsweise reflektiert in Peptiden und Proteinen die  $^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\text{a}})$ -Kopplung den Winkel  $\phi$  des Peptid-Rückgrats.<sup>[2]</sup> Die Messung von Kopplungskonstanten ist jedoch problematisch, wenn die Linienbreite nicht wesentlich kleiner als die gesuchte Kopplungskonstante ist (Abb. 1). Im Falle eines Inphase-Dubletts (z.B. in NOESY-<sup>[3]</sup> und TOCSY-Spektren<sup>[4]</sup>) führt die endliche Linienbreite zu einem Zusammenrücken der Maxima der

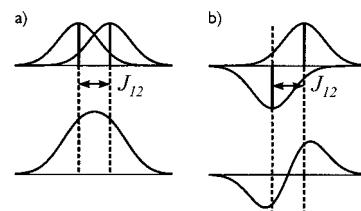


Abb. 1. Die scheinbaren Aufspaltungen von Inphase- (a) und Antiphase-Dubletts (b) weichen deutlich von der tatsächlichen Kopplungskonstanten  $J_{12}$  ab, wenn die Linienbreite nicht wesentlich kleiner als  $J_{12}$  ist.<sup>[6]</sup> Gezeigt sind die einzelnen Dublettkomponenten (oben) und ihre Überlagerung (unten). In diesem Beispiel ist beim überlagerten Inphase-Signal keine Aufspaltung zu erkennen (a), während die scheinbare Aufspaltung des überlagerten Antiphase-Signals wesentlich größer als die zugrundeliegende Kopplung  $J_{12}$  ist (b).

[\*] Priv.-Doz. Dr. S. J. Glaser, Dipl.-Chem. T. Prasch, Dipl.-Chem. P. Gröschke  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Marie-Curie-Straße 11, D-60439 Frankfurt  
Fax: (+49) 69-79829128  
E-mail: sg@org.chemie.uni-frankfurt.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Gr 203/2-1 und Gr 203/1-5) und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. T. P. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Promotionsstipendium und dem Graduiertenkolleg (Gr oIII Eg-52/3-3) für Unterstützung. Alle Messungen wurden an der Large Scale Facility „Center for Biomolecular NMR at the University of Frankfurt“ (ERBFMECT950034) durchgeführt.

beiden Dublettlinien (Abb. 1a). Umgekehrt rücken in Antiphase-Dubletts (z. B. in DQF-COSY-Spektren<sup>[5]</sup>) die Extrema auseinander, so daß die scheinbare Aufspaltung größer als die tatsächliche Kopplungskonstante ist (Abb. 1b).<sup>[6]</sup> Kopplungskonstanten können jedoch unabhängig von der experimentellen Linienform präzise bestimmt werden, wenn sowohl Inphase- als auch Antiphase-Multipletts zur Verfügung stehen.<sup>[7, 8]</sup>

Die hier vorgestellte experimentelle Methode zur gleichzeitigen Aufnahme von Inphase- und Antiphase-Multipletts liefert Spektren mit einem Minimum an Überlagerungen und deutlich besserer Empfindlichkeit als konventionelle Methoden. Das Verfahren basiert auf der Tatsache, daß in TOCSY-Experimenten mehrere Kohärenztransferprozesse gleichzeitig auftreten. Beispielsweise wird in einem Spinsystem, das aus zwei Spins 1/2 besteht, während der Mischperiode  $\tau$  Polarisation des ersten Spins ( $I_{1z}$ ) nicht nur in Polarisation des zweiten Spins ( $I_{2z}$ ) überführt, sondern es wird zusätzlich Nullquantenohärenz ( $ZQ_y = I_{1y}I_{2x} - I_{1x}I_{2y}$ ) zwischen den beiden Spins gebildet [Gl. (1)].<sup>[4]</sup>

$$I_{1z} \rightarrow I_{1z} \cos^2(\pi J_{12}\tau) + I_{2z} \sin^2(\pi J_{12}\tau) - ZQ_y \sin(2\pi J_{12}\tau) \quad (1)$$

In konventionellen TOCSY-Experimenten wird nur der Polarisationstransfer  $I_{1z} \rightarrow I_{2z}$  genutzt, der zu einem Kreuzsignal mit Inphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und  $\omega_2$  führt (Abb. 2a).

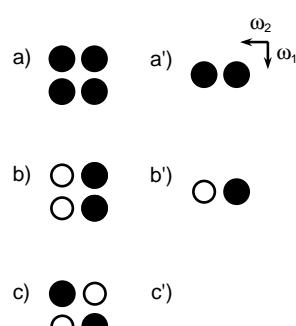


Abb. 2. Schematische Darstellung charakteristischer Multiplettstrukturen in 2D-NMR-Spektren: a) Inphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und  $\omega_2$  (z. B. NOESY, ROESY, TOCSY und ZQF-SIAM), b) Inphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und Antiphase-Aufspaltung in  $\omega_2$  (DQF-SIAM), c) Antiphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und  $\omega_2$  (z. B. DQF-COSY). Positive Signale sind weiß, negative schwarz dargestellt. a'-c') Die entsprechenden Multipletts bei Anwendung von  $\omega_1$ -Entkopplung. Dies führt in den ersten beiden Fällen zu einer Signalverstärkung und einer verbesserten Auflösung, im dritten Fall jedoch zu einer vollständigen Auslöschung der Kreuzsignale.

Der zweite Transfer ( $I_{1z} \rightarrow ZQ_y$ ), der zu einer Inphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und einer Antiphase-Aufspaltung in  $\omega_2$  führt (Abb. 2b), wurde bisher entweder ignoriert oder durch aufwendige Verfahren unterdrückt.<sup>[4]</sup> Tatsächlich bereitet die Trennung von Polarisation  $I_{2z}$  und Nullquantenohärenz  $ZQ_y$  Probleme, da beide Terme die gleiche Kohärenzordnung  $p=0$  aufweisen.<sup>[1]</sup> Wenn die beiden miteinander gekoppelten Spins jedoch wohl separierte chemische Verschiebungen haben, ist es mit Hilfe selektiver Pulse möglich, die Nullquantenohärenz  $ZQ_y$  gezielt in Doppelquantenohärenz ( $DQ_y = I_{1y}I_{2x} + I_{1x}I_{2y}$ ) mit Kohärenzordnung  $p=\pm 2$  zu überführen. Die beiden Terme  $I_{2z}$  und  $DQ_y$  können nun mit einem Nullquanten- (ZQF) oder einem Doppelquanten-Filter

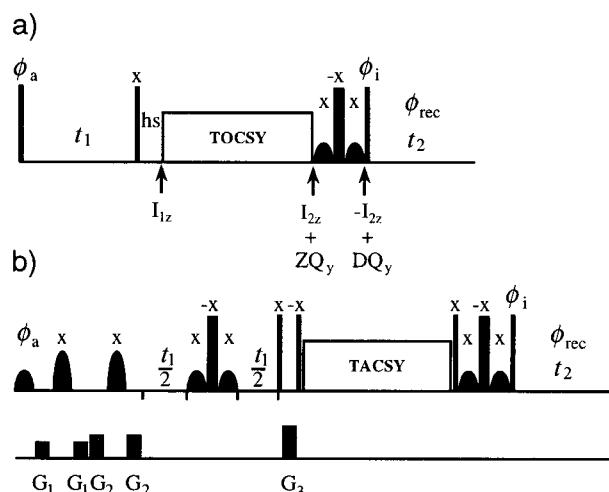


Abb. 3. a) Schematische Pulssequenz eines SIAM-Experiments. Dünne vertikale Linien: 90°-Pulse; breite vertikale Linien: 180°-Pulse; glokkenförmige Symbole: selektive 90°-Pulse, die nur auf Spin  $I_1$  wirken; hs: Homospoil-Gradient; Phasencyclus von  $\phi_a$ ,  $\phi_i$  und  $\phi_{rec}$ : siehe *Methoden*. Für ein Zwei-Spin-System sind die charakteristischen Operatoren angegeben, die während der Sequenz gebildet werden. b) Optimiertes SIAM-Experiment für die Messung von  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungen in Peptiden und Proteinen (siehe *Methoden*).

(DQF) selektiert werden (Abb. 3a). Es können sogar beide Filter durch unterschiedliche Prozessierung eines einzigen experimentellen Datensatzes realisiert werden (siehe *Methoden*). Wegen der dadurch erstmals möglichen simultanen Aufnahme von Inphase- und Antiphase-Multipletts bezeichnen wir die neue Methode kurz als SIAM-Experiment. Da sowohl im ZQF-SIAM- als auch im DQF-SIAM-Spektrum die Kreuzsignale in  $\omega_1$  eine Inphase-Aufspaltung aufweisen, können zusätzlich durch  $\omega_1$ -Entkopplung<sup>[9]</sup> die Auflösung und die Empfindlichkeit des Experiments gesteigert werden (siehe Abb. 2a', b'). Dies ist bei einem konventionellen DQF-COSY-Experiment mit Antiphase-Aufspaltung in  $\omega_1$  und  $\omega_2$  nicht möglich (siehe Abb. 2c, c'). Abbildung 3b zeigt ein zur quantitativen Bestimmung von  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungen in Peptiden und Proteinen optimiertes SIAM-Experiment, das neben der  $\omega_1$ -Entkopplung auch die Vorteile einer bandselektiven Anregung nutzt. Außerdem wurde anstelle einer unselektiven TOCSY-Sequenz (*total correlation spectroscopy*) eine bandselektive TACSY-Sequenz (*tailored correlation spectroscopy*)<sup>[10]</sup> mit deutlich effizienterem Kohärenztransfer verwendet (siehe *Methoden*).

Abbildung 4a, b zeigt einen Ausschnitt aus dem Fingerprint-Bereich des Proteins BPTI mit den  $H^N, H^a$ -Kreuzsignalen eines ZQF-SIAM- bzw. eines DQF-SIAM-Spektrums, die aus demselben experimentellen SIAM-Datensatz erhalten wurden. Zum Vergleich ist in Abbildung 4c die entsprechende Region eines konventionellen DQF-COSY-Spektrums dargestellt (gleiche Gesamtmeßzeit). Ein Vergleich der Abbildungen 4b und 4c zeigt die durch die  $\omega_1$ -Entkopplung verbesserte Auflösung des SIAM-Experiments. Das DQF-SIAM-Spektrum liefert außerdem wesentlich intensivere Antiphase-Signale als ein DQF-COSY-Experiment. So belegen die in Abbildung 5 dargestellten Schnitte durch die DQF-SIAM-Kreuzsignale von Ala 25, Ala 58 und Ile 18 bis zu viermal stärkere Signalintensitäten als bei den entsprechen-

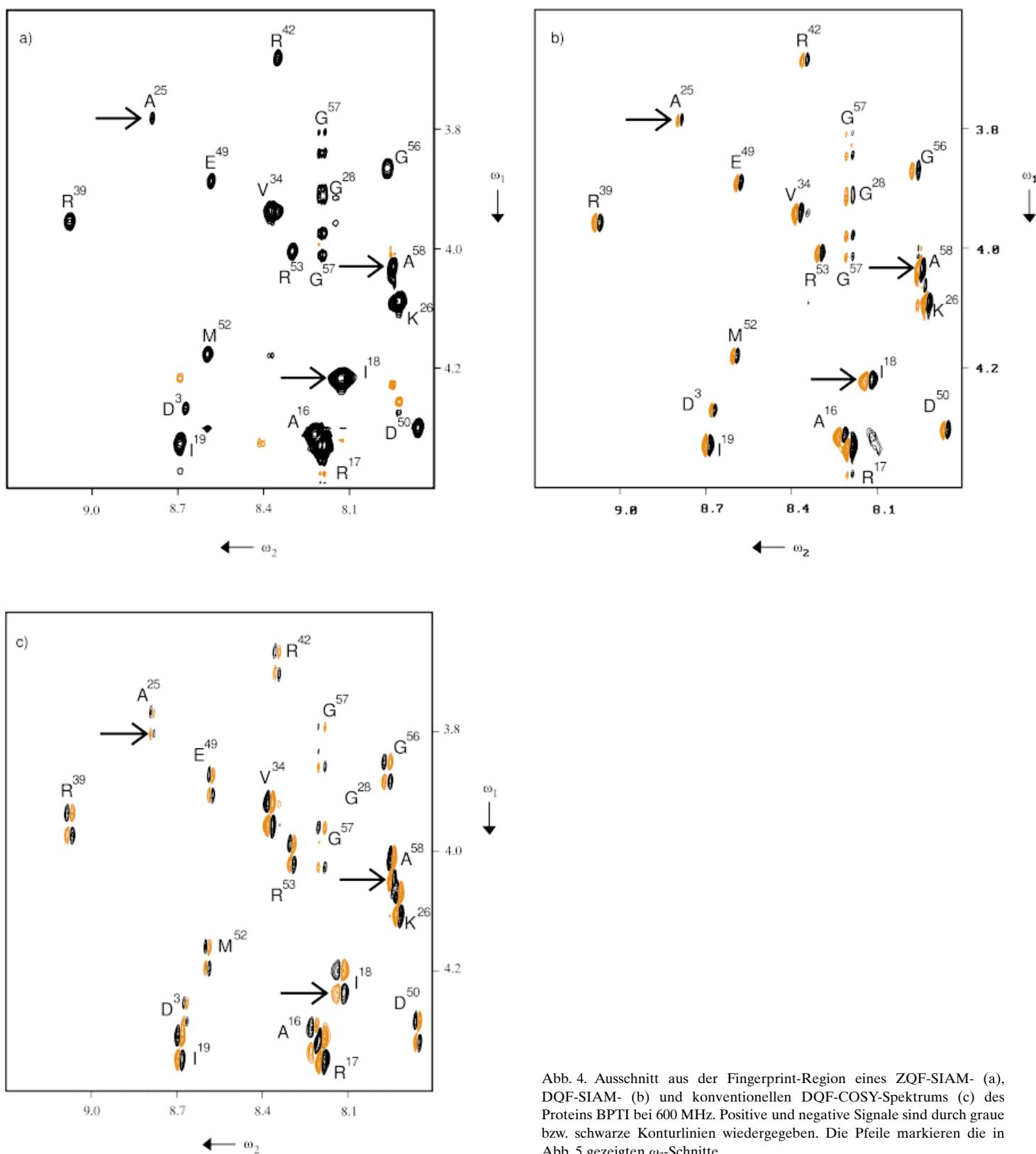


Abb. 4. Ausschnitt aus der Fingerprint-Region eines ZQF-SIAM- (a), DQF-SIAM- (b) und konventionellen DQF-COSY-Spektrums (c) des Proteins BPTI bei 600 MHz. Positive und negative Signale sind durch graue bzw. schwarze Konturlinien wiedergegeben. Die Pfeile markieren die in Abb. 5 gezeigten  $\omega_2$ -Schnitte.

den DQF-COSY-Kreuzsignalen. Die Möglichkeit, aus demselben Datensatz ein ZQF-SIAM- und ein DQF-SIAM-Spektrum mit Inphase- bzw. Antiphase-Signalen zu erhalten, spart nicht nur Meßzeit ein, sondern garantiert auch, daß die Inphase- und Antiphase-Multiplets identische Linienpositionen haben.

Dies ist bei zwei getrennten Experimenten (z. B. einem DQF-COSY- und einem TOCSY-Experiment) aufgrund unterschiedlicher Probenerwärmung nicht gewährleistet. Damit ist das neue SIAM-Experiment in fast idealer Weise für die Messung von  $^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\text{a}})$ -Kopplungskonstanten in Peptiden und Pro-

teinen geeignet. Aus den Inphase- und Antiphase-Signalen der ZQF-SIAM- bzw. DQF-SIAM-Spektren in Abbildung 5 wurden mit der Datenextraktionsmethode nach Keeler und Titman<sup>[8,13]</sup>  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungskonstanten von  $(3.6 \pm 0.25)$  Hz

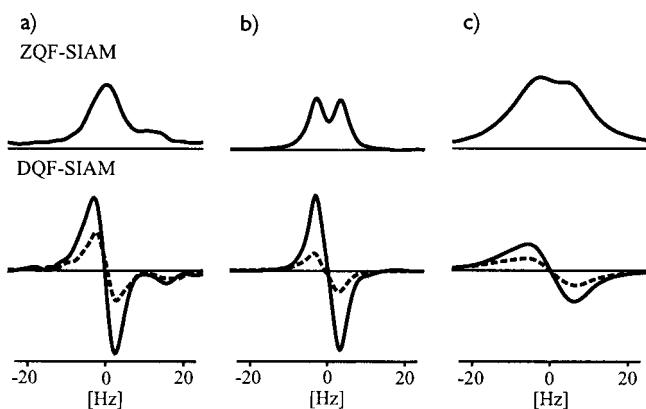


Abb. 5.  $\omega_2$ -Schnitte durch die  $(H^N, H^a)$ -Kreuzsignale von a) Ala25, b) Ala58 und c) Ile18 (siehe Pfeile in Abb. 4) mit typischen  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungskonstanten und Linienbreiten. Die Inphase-Signale des ZQF-SIAM-Spektrums sind jeweils oben, die Antiphase-Signale des DQF-SIAM-Spektrums unten dargestellt (durchgezogene Linien). Die gestrichelten Linien zeigen zum Vergleich die Antiphase-Signale des konventionellen DQF-COSY-Spektrums.

für Ala25,  $(6.1 \pm 0.25)$  Hz für Ala58 und  $(9.7 \pm 0.25)$  Hz für Ile18 bestimmt, die sich deutlich von den scheinbaren Inphase-Aufspaltungen von 0, 6.3 bzw. 6.5 Hz unterscheiden.

Die Anwendung der Methode ist aber weder auf die Messung von  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungen noch auf die Stoffklasse der Peptide und Proteine beschränkt. Die entscheidende Voraussetzung sind unterschiedliche chemische Verschiebungen der Kerne (hier  $H^N$  und  $H^a$ ), deren Kopplung bestimmt werden soll. Darüber hinaus muß sichergestellt werden, daß in größeren Spinsystemen keine zusätzlichen Signale die reinen Inphase- und Antiphase-Multiplets verfälschen. Eine hinreichende (jedoch nicht notwendige) Bedingung hierfür ist, daß der detektierte Kern (hier  $H^N$ ) keine weiteren Kopplungspartner hat. Die Methode ist daher komplementär zur wichtigen E.COSY-Technik,<sup>[11]</sup> für deren Anwendung ein weiterer gemeinsamer Kopplungspartner erforderlich ist.

## Methoden

Die für die Anwendung der SIAM-Technik erforderliche Umwandlung von Nullquantenohärenz  $ZQ_y$  in Doppelquantenohärenz  $DQ_y$  erfordert einen bandselektiven Inversionspuls bei gleichzeitiger Unterdrückung der Evolution der chemischen Verschiebung. Dies kann z. B. durch einen harten (unselektiven)  $180^\circ_x$ -Puls erreicht werden, der von zwei bandselektiven  $90^\circ_x$ -Pulsen flankiert wird (siehe Abb. 3). Ein ZQF- und ein DQF-SIAM-Spektrum können aus demselben Datensatz erhalten werden, wenn für jedes  $t_1$ -Inkrement zwei freie Induktionszerfälle,  $FID1(t_1, t_2)$  und  $FID2(t_1, t_2)$ , mit unterschiedlichen Phasencyclen aufgenommen und separat abgespeichert werden. Für den Phasencyclus  $\phi_i$  des letzten  $90^\circ$ -Pulses (Abb. 3) und die Phase  $\phi_{rec}$  des Empfängers gilt:  $\phi_i = x, -x, \phi_{rec} = x, -x$  für  $FID1(t_1, t_2)$  sowie  $\phi_i = y, -y, \phi_{rec} = y, -y$  für  $FID2(t_1, t_2)$ . Addition und Subtraktion von  $FID1(t_1, t_2)$  und  $FID2(t_1, t_2)$  liefern nach zweidimensionaler Fourier-Transformation ein ZQF- bzw. DQF-SIAM-Spektrum. Das DQF-SIAM-Spektrum erfordert lediglich eine zusätzliche  $90^\circ$ -Phasenkorrektur in  $\omega_2$ .

Die Spektren in Abbildung 4 und 5 wurden mit dem in Abbildung 3b dargestellten SIAM-Experiment erhalten, das für die Bestimmung von  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplungen in Peptiden und Proteinen optimiert wurde. Die Einstrahlfrequenz lag bei 6.2 ppm. Das Wassersignal wurde durch CW-

Einstrahlung (2 s) vorgesättigt (nicht in Abb. 3b gezeigt). Zur bandselektiven Anregung wurde ein  $H^a$ -selektiver  $90^\circ$ -Puls ( $Q5$ )<sup>[12]</sup> mit einer Dauer von 3.731 ms und einem Offset von  $-1.072$  kHz in Kombination mit zwei  $H^a$ -selektiven  $180^\circ$ -Pulsen ( $Q3$ )<sup>[12]</sup> mit einer Dauer von 3 ms und einem Offset von  $-1.072$  kHz verwendet. (Offset-Frequenz, Amplitude und Dauer der bandselektiven Pulse beziehen sich auf Experimente bei 600 MHz, können jedoch durch Skalierung auf andere Spektrometerfrequenzen übertragen werden.) Die beiden  $H^a$ -selektiven  $180^\circ$ -Pulse wurden von unterschiedlichen  $B_0$ -Gradienten ( $G_1 = 15, G_2 = 25$  G cm $^{-1}$ ) mit einer Dauer von jeweils 1 ms flankiert.<sup>[13]</sup> Die spektrale Breite in  $\omega_1$  konnte somit auf 1 kHz und die Zahl der  $t_1$ -Inkremente auf 200 reduziert werden (spektrale Breite in  $\omega_2$ : 4.194 kHz, 2048 komplexe Datenpunkte in  $t_2$ ). Zur Quadraturdetektion in  $\omega_1$  wurde die Phase  $\phi_a$  nach dem TPPI-Verfahren inkrementiert.<sup>[14]</sup> Ein aus zwei  $H^a$ -selektiven  $90^\circ_x$ -Pulsen ( $Q5$ ) und einem unselektiven  $180^\circ_x$ -Puls bestehender Baustein wurde sowohl für die  $\omega_1$ -Entkopplung in der Mitte von  $t_1$ , als auch für die Umwandlung von Nullquantenohärenz  $ZQ_y$  in Doppelquantenohärenz  $DQ_y$  am Ende der Sequenz verwendet. Vor der Mischperiode wurde mit Hilfe zweier unselektiver  $90^\circ_y$ -Pulse und einem  $B_0$ -Gradienten der Stärke  $G_3 = 35$  G cm $^{-1}$  transversale  $x$ -Magnetisierung selektiert. Für den Kohärenztransfer in der Mischperiode wurde die bandselektive HNHA-TACSY-Sequenz CABBY-1<sup>[10]</sup> verwendet, die mit einer Radiofrequenzamplitude von 4.4 kHz eine Bandbreite von etwa 3.4 kHz abdeckt und somit bei 600 MHz Kohärenz effizient zwischen  $H^a$  und  $H^N$  (im Bereich zwischen 3.4 und 9.0 ppm) transferiert. Die verwendete Mischzeit betrug 43 ms (gemäß Beziehung (1) ist die optimale Mischzeit  $\tau$  für die Erzeugung von Nullquantenohärenz  $ZQ_y$  zwischen  $H^N$  und  $H^a$  gegeben durch  $\tau = 1/(4J_{12})$  mit  $J_{12} = ^3J(H^N, H^a)$ ). Für die Anwendung der Methode ist entscheidend, daß bei der Umwandlung von  $ZQ_y$  in  $DQ_y$  die  $H^N$ -Spins invertiert werden, ohne die  $H^a$ -Spins zu stören. Dies ist wegen des Abstands zwischen den  $H^N$ - und  $H^a$ -Signalen in der Regel möglich. Überlagerungen zwischen  $H^a$ - und  $H^b$ -Signalen (z. B. von Ser oder Thr) sind unproblematisch. Sie führen zwar zu einem Empfindlichkeitsverlust (aufgrund unvollständiger  $\omega_1$ -Entkopplung der  $^3J(H^a, H^b)$ -Kopplungen und unselektiven TOCSY-Transfers), jedoch liefern die in der Mischperiode zusätzlich entstehenden Kohärenzterme (mit mehr als zwei Spins) keine beobachtbaren Signale, wenn nicht alle daran beteiligten Kerne mit dem detektierten ( $H^N$ ) gekoppelt sind. Da  $^4J(H^N, H^b)$ -Kopplungen vernachlässigbar sind, zeigen die  $H^a, H^N$ -Kreuzsignale in ZQF-SIAM- und DQF-SIAM-Spektren daher selbst bei überlagerten  $H^a$ - und  $H^b$ -Signalen rein absorptive Inphase- bzw. Antiphase-Aufspaltungen bezüglich der gesuchten  $^3J(H^N, H^a)$ -Kopplung. (Lediglich im Falle von Gly, bei dem  $H^N$  sowohl mit  $H^a$  als auch mit  $H^b$  gekoppelt ist, können die  $H^a, H^N$ -Kreuzsignale des ZQF-SIAM-Spektrums zusätzlich zu den gewünschten absorptiven Inphase-Signalen auch disperse Signale in doppelter Antiphase zu  $H^a$  und  $H^b$  enthalten.)

Am Protein BPTI wurde ein SIAM- und ein DQF-COSY-Experiment mit der gleichen bandselektiven Anregung und der gleichen Gesamtmeßzeit von 9.5 h bei insgesamt 64 Scans pro  $t_1$ -Inkrement (je 32 Scans für  $FID1(t_1, t_2)$  und  $FID2(t_1, t_2)$  im SIAM-Experiment) und einer Temperatur von 310 K durchgeführt. Mit Ausnahme der oben beschriebenen Addition und Subtraktion von  $FID1(t_1, t_2)$  und  $FID2(t_1, t_2)$  für das ZQF-SIAM- bzw. DQF-SIAM-Spektrum sowie einer zusätzlichen  $90^\circ$ -Phasenkorrektur (0. Ordnung) in  $\omega_2$  für das DQF-SIAM-Spektrum wurden die in Abbildung 4 dargestellten 2D-Spektren in identischer Weise prozessiert und skaliert (keine Apodisierung in  $\omega_2$ , Skewed-Sinebell mit einer Phase von  $90^\circ$  und einem Skew-Parameter von 0.8 in  $\omega_1$ , Polynom-Basislinienkorrektur in  $\omega_1$  und  $\omega_2$ ). Um die digitale Auflösung der Schnitte in Abbildung 5 zu erhöhen, wurde zunächst eine inverse Fourier-Transformation angewendet und die ersten 1024 Punkte der resultierenden Interferogramme durch Linear-Prediction mit 110 Polen auf 16384 Punkte erweitert. Nach Fourier-Transformation betrug die digitale Auflösung der Schnitte 0.25 Hz pro Punkt.

Eingegangen am 30 Juli,  
veränderte Fassung am 24. November 1997 [Z 10752]

**Stichwörter:** NMR-Spektroskopie • Peptide • Proteine • Strukturaufklärung

[1] a) K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, New York, 1986; b) H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 507–554; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 490–536; c) Two-

- Dimensional NMR Spectroscopy* (Hrsg.: W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson), VCH Publishers, New York, 1994.
- [2] A. Pardi, M. Billeter, K. Wüthrich, *J. Mol. Biol.* **1984**, *180*, 741–751.
- [3] a) J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546–4553; b) S. Macura, Y. Huang, D. Suter, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1981**, *43*, 259–281.
- [4] a) L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1983**, *53*, 521–528; b) A. Bax, D. G. Davis, *ibid.* **1985**, *65*, 355–360; c) S. J. Glaser, J. Quant in *Advances in Magnetic and Optical Resonance*, Vol. 19 (Hrsg.: W. Warren), Academic Press, San Diego, 1996, S. 59–252.
- [5] a) U. Piantini, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6800–6801; b) M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *117*, 479–485.
- [6] a) D. Neuhaus, G. Wagner, M. Vasak, J. H. R. Kägi, K. Wüthrich, *Eur. J. Biochem.* **1985**, *151*, 257–273; b) M. Eberstadt, G. Gemmecker, D. F. Mierke, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1813–1838; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1671–1695.
- [7] a) H. Oschkinat, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **1984**, *60*, 164–169; b) H. Kessler, S. Seip in Lit.<sup>[1e]</sup>, S. 619–654.
- [8] a) J. Titman, J. Keeler, *J. Magn. Reson.* **1990**, *89*, 640–646; b) P. Huber, C. Zwahlen, S. J. F. Vincent, G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson. A* **1993**, *103*, 118–121.
- [9] R. Brüschweiler, C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1988**, *78*, 178–185.
- [10] J. Quant, T. Prasch, S. Ihringer, S. J. Glaser, *J. Magn. Reson. B* **1995**, *106*, 116–121.
- [11] a) C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6394–6396; b) C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1986**, *85*, 6837–6852; c) C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1987**, *75*, 474–492.
- [12] L. Emsley, G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson.* **1992**, *97*, 135–148.
- [13] T. L. Hwang, A. J. Shaka, *J. Magn. Reson. A* **1995**, *112*, 275–279.
- [14] D. Marion, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *113*, 967–974.

## Stabilitäten supramolekularer wasserstoff-verbrückter Komplexe mit unterschiedlicher Zahl von Einfachbindungen – ein Versuch zur Quantifizierung eines Dogmas der Wirt-Gast-Chemie\*\*

Frank Eblinger und Hans-Jörg Schneider\*

Eine optimale Präorganisation bei der molekularen Erkennung erfordert eine optimale geometrische Passung zwischen komplementär und konvergierend angeordneten Bindungszentren A(H), A'(G), B(H) und B'(G) der Wirt- und Gastmoleküle H bzw. G.<sup>[1]</sup> Wenn die Bindungszentren A, B etc. sowie A', B' etc. innerhalb eines Wirt- oder Gastmoleküls ganz oder teilweise durch Einfachbindungen verknüpft sind, kann dies aus Enthalpiegründen oder im Hinblick auf die Spannungsenergie nachteilig sein, falls zur Passung z. B. ein

[\*] Prof. Dr. H.-J. Schneider, Dipl.-Chem. F. Eblinger  
FR 11.2 Organische Chemie der Universität des Saarlandes  
D-66041 Saarbrücken  
Fax: (+49) 681-302-4105  
E-mail: CH12hs@RZ.UNI-SB.DE

[\*\*] Supramolekulare Chemie, 76. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Prof. Dr. A. Yatsimirski, UNAM Mexico, für Literaturhinweise und fruchtbare Diskussionen. – 75. Mitteilung: A. Roigk, R. Hettich, H.-J. Schneider, *Inorg. Chem.* **1998**, im Druck.

transoides Fragment in eine *gauche*-Konformation übergehen muß. Gleichzeitig kann das Vorhandensein von Einfachbindungen, um die eine Rotation möglich ist, zu einem Verlust an Freiheitsgraden bei der Komplexbildung führen; dies wird allgemein als wesentlicher Nachteil offenkettiger im Vergleich zu makrocyclischen Rezeptoren angesehen. Die systematische Analyse von Komplexierungsenergien bei Verwendung von Kronenethern und entsprechenden offenkettigen Oligoethylenglycolethern ergibt jedoch, daß die Bindung durch den Makrocyclus zu einem wesentlichen Teil auch auf Enthalpievorteilen beruht.<sup>[2]</sup>

Entropische Nachteile bei der Bildung zwischenmolekularer Bindungen gehören zu den häufig genannten Problemen bei der molekularen Erkennung und sind gleichzeitig die bisher am wenigsten vorhersagbaren Faktoren. Die systematische Analyse von Freien Assoziationsenthalpien ( $\Delta G_{\text{ass}}$ ) zahlreicher supramolekularer Assoziate ergab bisher, daß Bindungen, um die frei gedreht werden kann, wenig Einfluß haben; daher sind die  $\Delta\Delta G_{\text{ass}}$ -Inkremeante auch weitgehend additiv.<sup>[3]</sup> Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die meisten der untersuchten Wirt- und Gastverbindungen relativ wenige solcher Bindungen enthielten. Dies gilt auch für die wenigen bisher untersuchten Verbindungen mit intramolekularen nichtkovalenten Wechselwirkungen, bei denen auch nur geringfügig verstärkte Wechselwirkungen durch Versteifung der Molekülgerüste gefunden wurden.<sup>[4]</sup> In der Gasphase erwartet man rotatorische Beiträge von  $\Delta S_{\text{rot}} = 13 - 21 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$  pro Einfachbindung.<sup>[5, 6]</sup> Für den Fall eines vollständigen Einfrierens der Rotation, was nur bei der Bildung einer kovalenten Bindung zu erwarten ist,<sup>[6]</sup> wird der Verlust der entsprechenden Freien Enthalpie bei Raumtemperatur auf  $\Delta\Delta G_{\text{rot}} = 3.9 - 6.4 \text{ kJ mol}^{-1}$  geschätzt. Williams et al. haben hierfür einen Wert zwischen 2 und 6  $\text{kJ mol}^{-1}$  vorgeschlagen.<sup>[7]</sup>

Unglücklicherweise ergeben diese Zahlen eine Unsicherheit der Vorhersage, welche bei Anwesenheit von z.B. nur zwei drehbaren Bindungen<sup>[8]</sup> in Wirt und Gast zu Unterschieden in der Assoziationskonstante  $K$  zwischen 2 und  $11 \text{ M}^{-1}$  führt. In Anbetracht dessen erscheint es überfällig, experimentell gesicherte Werte für die Änderung der Freien Assoziationsenthalpien ( $\Delta G_{\text{ass}}$ ) durch das Vorhandensein von Bindungen mit freier Drehbarkeit in Wirt-Gast-Systemen zu ermitteln. Erstaunlicherweise gibt es bisher keine Untersuchung, bei der die Zahl von Einfachbindungen in supramolekularen Komplexen systematisch variiert wurde. Wir haben für diesen Zweck eine Serie von  $\alpha, \omega$ -Diamiden und  $\alpha, \omega$ -Dicarboxylaten als Wasserstoffbrückenbindungsdonoren<sup>[9]</sup> bzw. -acceptoren<sup>[10]</sup> gewählt, die als Tetrabutylammoniumsalze in Chloroform löslich sind. Zwischen diesen funktionellen Gruppen wurden Spacer unterschiedlicher Länge und Flexibilität eingebracht (Schema 1). Der Vorteil dieser Systeme besteht darin, daß Probleme durch Selbstassoziation und Salzeffekte minimiert werden können, ebenso bei Messungen in Chloroform Wechselwirkungen anderer Art als Wasserstoffbrücken.

Die zunächst hergestellten Amide langkettiger Fettsäuren waren nahezu unlöslich in Chloroform, vermutlich infolge dispersiver Wechselwirkungen zwischen den Fettsäureketten. Daher wurden aus Adamantylcarbonsäurechlorid und Di-