

Dipolare Restkopplungen – ein wertvoller NMR-Strukturparameter für organische Moleküle

Ruth M. Gschwind*

Stichwörter:

Flüssigkristalle · Gele · NMR-Spektroskopie · Polymere · Strukturaufklärung

In den letzten zehn Jahren wurde die Strukturaufklärung von Biomakromolekülen mittels NMR-Spektroskopie durch die Entwicklung neuer aussagekräftiger Strukturparameter revolutioniert. Neben den klassischen Strukturparametern (NOE/ROE und skalare Kopplungen) können nun auch Abstands- und/oder Winkelinformationen aus kreuzkorrelierten Relaxationsinterferenzen, chemischen Verschiebungsisotropien oder dipolaren Restkopplungen (RDCs) gewonnen werden.^[1] Gera-
de RDCs, die auf einer partiellen Orientierung der Moleküle in der Probe beruhen, wurden wegen ihrer einfachen Messbarkeit und ihrer hohen strukturellen Aussagekraft zu einem dritten Standbein in der Strukturaufklärung von Biomakromolekülen.^[2a,b]

Um das enorme Potenzial von RDCs zu erfassen, ist das Verständnis ihrer physikalischen Grundlagen essenziell. Dipolare Kopplungen sind prinzipiell relativ starke Wechselwirkungen und bestens aus der Festkörper-NMR-Spektroskopie bekannt. Durch den Raum beeinflussen sich die individuellen Magnetfelder zweier NMR-aktiver Kerne wechselseitig und führen so zu unterschiedlichen effektiven Magnetfeldern an den Kernorten. Die Größe der resultierenden Kopplung ist abhängig vom Abstand der Kerne und der Richtung ihres Verbindungsvektors relativ

zum äußeren Magnetfeld (B_0). In einer isotropen Lösung mitteln sich die richtungsabhängigen dipolaren Kopplungen aufgrund der Gleichverteilung aller Orientierungen (Brownsche Rotationsdiffusion) exakt zu null. Als Resultat zeigen die Lösungs-NMR-Spektren schmale Linienbreiten, die die Zuordnung komplizierter Moleküle ermöglichen. Die wertvollen Strukturinformationen über die Orientierung der jeweiligen Vektoren gehen jedoch verloren.

Die Aufgabe ist nun, unter Erhaltung der schmalen Linienbreiten zusätzlich die vektoriellen Strukturinformationen der dipolaren Kopplungen zu gewinnen. Dies ist in partiell anisotropen Medien möglich, in denen die Beweglichkeit der gelösten Moleküle erhalten bleibt, aber einige Orientierungen der gelösten Substanz bevorzugt sind. Die im Mittel leicht anisotrope Ausrichtung der Moleküle wird durch einen Orientierungstensor beschrieben, mit dessen Hilfe die RDCs ausgewertet werden können. Im für die Auswertung idealen Fall werden durch die partielle Orientierung

tierung die dipolaren Kopplungen von vielen kHz im statischen Fall auf wenige Hz reduziert. In den resultierenden NMR-Spektren addieren sich die RDCs zu den zugehörigen skalaren Kopplungen und bewirken eine Aufspaltung $J + D$ (siehe Abbildung 1).

Obwohl RDCs ursprünglich von A. Saupe 1968 an kleinen Molekülen entdeckt und auch theoretisch erklärt wurden,^[2c] konnten sie (im Unterschied zu ihrer Verwendung in der NMR-Spektroskopie an Biomakromolekülen) bis vor kurzem für kleine Moleküle nur selten angewendet werden, da Medien mit entsprechend schwacher Orientierung hauptsächlich für wässrige Lösungen bekannt waren. In der aktuellen Forschung wurden jedoch die Anwendungsmöglichkeiten von RDCs für kleine Moleküle durch zwei Klassen von orientierenden Medien für organische Lösungsmittel erheblich vergrößert: flüssigkristalline Phasen^[3,4] sowie gestreckte oder gestauchte Polymergerüste.^[5] Flüssigkristalline Phasen haben im Allgemeinen den Nachteil, dass eine mini-

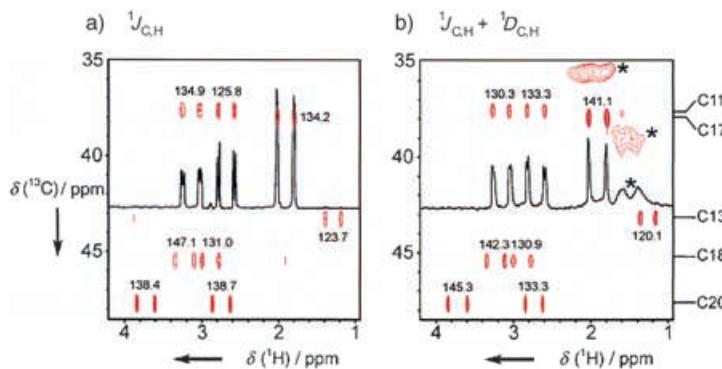


Abbildung 1. ^1H , ^{13}C -Aufspaltungsmuster in isotropen (a) und anisotropen (b) Medien, gezeigt an Ausschnitten gekoppelt gemessener ^1H , ^{13}C -HSQC-Spektren von Strychnin in CDCl_3 ohne (a) und mit (b) anisotropem Polystyrolgel.^[5a]

[*] Prof. Dr. R. M. Gschwind
Institut für Organische Chemie
Universität Regensburg
Universitätsstraße 31
93040 Regensburg (Deutschland)
Fax: (+49) 941-943-4617
E-mail:
ruth.gschwind@chemie.uni-regensburg.de

male Konzentration und damit eine minimale Orientierung nicht unterschritten werden kann, was zu Problemen bei der Auswertung von Standardspektren führen kann.^[4b] Diese Problematik kann durch die Skalierung der RDCs über Probenrotation mit variablem Winkel in einem Festkörper-NMR-Spektrometer elegant umgangen werden.^[7] Den derzeit flexibelsten Ansatz mit mehreren Lösungsmitteloptionen sowie skalierbarer Molekülorientierung ohne Einsatz eines Festkörper-Spektrometers bieten gestreckte oder gestauchte Polymergele. Diese Methode wird als „strain-induced alignment in a gel“ (SAG) bezeichnet und wurde bereits in wässriger Lösung an Biomakromolekülen erfolgreich eingesetzt. Zuerst werden dabei vernetzte Polymere (z.B. Polystyrol,^[5a] Poly(dimethylsiloxan),^[5b] Polyvinylacetat^[5c] oder Polyacrylamid^[5d]) hergestellt. Gibt man einen zylindrischen Stab aus Polymer zusammen mit einem organischen Lösungsmittel in ein NMR-Röhrchen, quillt das Polymer zum Gel. Wegen der Form des NMR-Röhrchens erfolgt das Quellen nicht isotrop, sondern anisotrop entlang der Glaswand des Röhrchens (Abbildung 2). Durch unterschiedliche

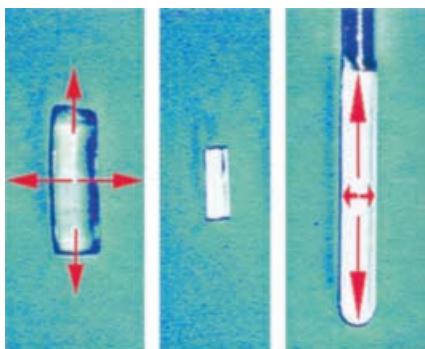


Abbildung 2. Isotrope (links) und anisotrope (rechts) Quellzustände eines Polystyrolstabs (Mitte: ungequollener Polymerstab).^[5a]

Vernetzungsgrade der Polymere sowie verschiedene Durchmesser der Polymerstäbe kann die partielle Orientierung der Moleküle in diesen Gelen in einfacher Weise eingestellt werden.

Mit der Verfügbarkeit anisotroper Gele stellt sich die Frage nach den Möglichkeiten, den Grenzen und den Anwendungen der RDCs als Strukturparameter für kleine organische Mole-

küle. Prinzipiell ist das Potenzial enorm: Durch die r^{-3} -Abhängigkeit der RDCs (verglichen mit r^{-6} für NOEs) können internukleare Wechselwirkungen über deutlich größere Distanzen beobachtet werden. Bei bekannten Abständen (z.B. in CH-Einheiten) können wertvolle Winkelinformationen eines Atompaares relativ zum statischen Magnetfeld erhalten werden. Das heißt, zur Strukturbestimmung in Lösung kann ein absolutes Referenzsystem verwendet werden. Dies ist besonders bei Molekülen mit niedriger Protonendichte von großer Bedeutung, bei denen mit NOEs und skalaren Kopplungen eine Bestimmung der Konfiguration nicht möglich war.

Die derzeitigen Voraussetzungen und Grenzen der Methode werden am heute üblichen Gang der Berechnungen deutlich. Als Erstes wird der Orientierungstensor, d.h. Grad und Richtung der mittleren partiellen Orientierung der Moleküle im Gel oder Flüssigkristall, anhand der experimentell bestimmten RDCs berechnet. Dafür sind ein hochwertiges Strukturmodell sowie mindestens fünf RDCs pro starre Einheit notwendig, die voneinander unabhängig sind, wie z.B. bei nicht parallelen C-H-Vektoren. Anhand des verwendeten Strukturmodells und des ermittelten Orientierungstensors werden die theoretischen RDCs rückberechnet und mit den experimentellen Daten verglichen. Dieser Zyklus wird für alle Strukturvorschläge wiederholt und die vorliegende Struktur anhand signifikanter Übereinstimmungsunterschiede zwischen berechneten und experimentellen RDCs identifiziert (Abbildung 3).

Die genannten Voraussetzungen sind gerade bei kleinen Molekülen nicht trivial. Erstens müssen verlässliche Strukturmodelle aus Kristallstrukturen oder Rechnungen bestehen. Zweitens führen Flexibilitäten zu einer Mittelung der richtungsabhängigen RDCs, und einzelne RDC-Werte sind nicht eindeutig, sondern können aus mehreren Vektororientierungen stammen. Dies bedeutet, dass nur in konformativ starren Molekülen oder durch Kombination unterschiedlicher RDC-Arten (z.B. ${}^1D_{C,H}$, ${}^2D_{C,H}$, ${}^1D_{C,C}$) aus mehreren Spektren die notwendige hohe Zahl unabhängiger RDCs pro starre Untereinheit erreicht wird. Sind diese Voraussetzungen jedoch erfüllt, eröffnen sich bisher

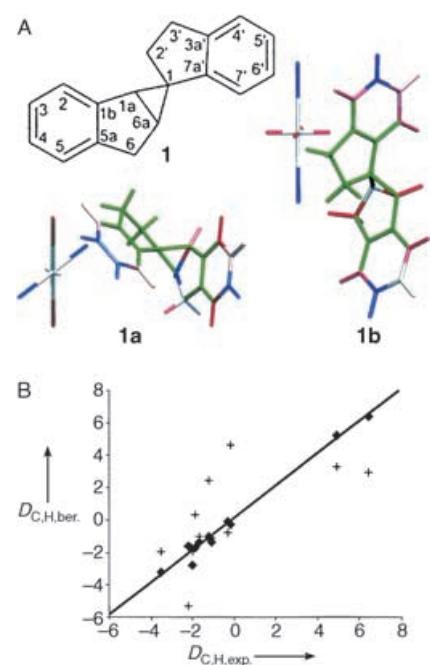


Abbildung 3. Unterscheidung der Diastereomere (1a und 1b) von Spiroinden (1) mittels RDCs (A; rot: negative RDCs, blau: positive RDCs, grün: keine RDCs oder RDCs nicht bei der Analyse verwendet). Ein Vergleich der experimentellen und berechneten RDCs (B) zeigt eine eindeutige Präferenz für 1b in einem Poly(dimethylsiloxan)-Gel (PDMS-Gel); + 1a, ◆ 1b.^[5b]

ungeahnte Möglichkeiten zur Bestimmung der Konfiguration kleiner organischer Moleküle, was mittels klassischer Strukturparameter oft nicht möglich ist.

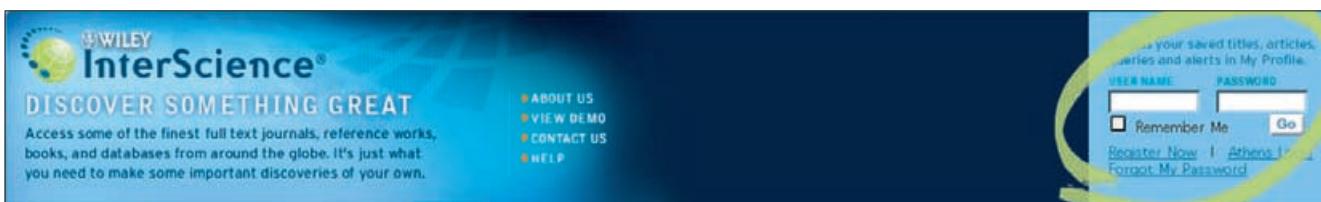
Als bisherige Anwendungen in chiralen orientierenden Medien wurden mit RDCs diastereotope Protonen zugeordnet, die relative Orientierung weit entfernter Protonen bestimmt sowie absolute Konfigurationen von Diastereomeren ermittelt. Zusätzlich ist in chiralen Gelen oder Flüssigkristallen auch die Diskriminierung von Enantiomeren möglich.^[6] Wegen der genannten Voraussetzungen wurden als Systeme bisher ausschließlich Moleküle mit starren Untereinheiten wie Zucker,^[8,9b] polycyclische Moleküle^[3,4b,5a–5c,9a] oder Systeme mit konformativ stabilen Ringen^[4a,c,5d] verwendet.

Auf den ersten Blick scheinen die Bestimmung des Orientierungstensors, die notwendige Rigidität der untersuchten Systeme und möglicherweise stärkere Wechselwirkungen kleiner Moleküle mit den orientierenden Medien die Anwendung der RDCs im Bereich kleiner

Moleküle einzuschränken. Andererseits stehen wir im Moment erst am Beginn der methodischen Entwicklung von RDCs für kleine Moleküle.^[10] So gibt es erste Ansätze, RDCs ohne Orientierungstensor auszuwerten;^[9b] des Weiteren reduziert die Verwendung mehrerer unabhängiger Orientierungsmedien die Mehrdeutigkeit der RDCs, und die Mitteilung der RDCs in flexiblen Bereichen wird bei Biomakromolekülen bereits zur Bestimmung dynamischer Prozesse im Bereich von Femto- bis Millisekunden verwendet.^[11] Gewinnt die Entwicklung der RDCs für kleine Moleküle auch nur annähernd die Dynamik der RDC-Entwicklung für Biomakromoleküle, wird dies die Strukturaufklärung und die Bestimmung der absoluten Konfiguration kleiner Moleküle in den nächsten Jahren revolutionieren.

Online veröffentlicht am 27. Juni 2005

-
- [1] O. Zerbe, *BioNMR in Drug Research, Bd. 16*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
 - [2] a) B. Simon, M. Sattler, *Angew. Chem. 2002*, **114**, 453; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, **41**, 437; b) J. H. Prestegard, C. M. Bougault, A. I. Kishore, *Chem. Rev. 2004*, **104**, 3519; c) A. Saupe, *Angew. Chem. 1968*, **80**, 99; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1968*, **7**, 97, zit. Lit.
 - [3] C. M. Thiele, *J. Org. Chem. 2004*, **69**, 7403.
 - [4] a) C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, J. Courtieu, D. Merlet, *Chem. Eur. J. 2003*, **9**, 4536, zit. Lit.; b) C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett. 2003*, **5**, 705; c) L. Verdier, P. Sakhaai, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson. 2003*, **163**, 353.
 - [5] a) B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. 2004*, **116**, 1112; *Angew. Chem. Int. Ed. 2004*, **43**, 1092; b) J. C. Freudenberger, P. Spitteler, R. Bauer, H. Kessler, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc. 2004*, **126**, 14690; c) J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. 2005*, **117**, 427; *Angew. Chem. Int. Ed. 2005*, **44**, 433; d) P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem. 2005*, **117**, 431; *Angew. Chem. Int. Ed. 2005*, **44**, 427.
 - [6] a) M. Sarfati, P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, *Chem. Commun. 2000*, 2069; b) K. Kobzar, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. 2005*, **117**, 3205; *Angew. Chem. Int. Ed. 2005*, **44**, 3145, zit. Lit.
 - [7] C. M. Thiele, *Angew. Chem. 2005*, **117**, 2847; *Angew. Chem. Int. Ed. 2005*, **44**, 2787.
 - [8] D. I. Freedberg, *J. Am. Chem. Soc. 2002*, **124**, 2358.
 - [9] a) J. L. Yan, F. Delaglio, A. Kaerner, A. D. Kline, H. P. Mo, M. J. Shapiro, T. A. Smitka, G. A. Stephenson, E. R. Zartler, *J. Am. Chem. Soc. 2004*, **126**, 5008; b) J. L. Yan, A. D. Kline, H. P. Mo, M. J. Shapiro, E. R. Zartler, *J. Org. Chem. 2003*, **68**, 1786.
 - [10] J. L. Yan, E. R. Zartler, *Magn. Reson. Chem. 2005*, **43**, 53.
 - [11] a) W. Peti, J. Meiler, R. Brüschweiler, C. Griesinger, *J. Am. Chem. Soc. 2002*, **124**, 5822; b) J. R. Tolman, *J. Am. Chem. Soc. 2002*, **124**, 12020.



Manage your access easily with "MY PROFILE"

Simply register. Registration is fast and free to all internet users.

Easy Access

- Save Titles, Articles & Queries for quick access
- Set up roaming access to access content outside of your institutions network
- Get free online sample copies
- Get free online trial subscriptions
- View a complete list of your subscriptions and accessible products

Enhanced Tools

- Receive E-Mail Alerts when new content is available
- Purchase Article Select Tokens online
- Purchase individual articles online with Pay-Per-View

www.interscience.wiley.com



17340502.v0