

CLIP-COSY: Reine Inphase-Signale und schnelle Akquisition COSY-artiger Korrelationen

Martin R. M. Koos, Grit Kummerlöwe, Lukas Kaltschnee, Christina M. Thiele und Burkhard Luy*

Abstract: Das COSY ist ein wichtiges homonukleares 2D-NMR-Experiment zur Zuordnung von Resonanzen. Die Multiplettstruktur seiner Kreuzsignale ist jedoch häufig kompliziert, bedingt eine geringe Signalintensität und erfordert lange Aufnahmezeiten. Wir stellen das CLIP-COSY vor, ein COSY-artiges Experiment, das reine Inphase-Signale erzeugt. Es verstärkt die Intensität der meisten Kreuzsignale und kann in wenigen Minuten aufgenommen werden. Durch Kombination mit nicht-äquidistantem Abtasten (NUS) kann die Messzeit weiter reduziert werden und die Inphase-Natur der Signale erlaubt den Einsatz homonuklearer Entkopplungsmethoden. Da beim CLIP-COSY keine Auslösung von Antiphase-Komponenten stattfindet, kann das CLIP-COSY auch bei Makromolekülen und anderen Systemen mit breiten Linien angewendet werden.

Das COSY-Experiment ist zwar das älteste 2D-NMR-Experiment,^[1] aber seine Bedeutung für die Strukturbestimmung kleiner Moleküle ist immer noch außerordentlich hoch, da mit seiner Hilfe die Signale benachbarter Protonen in einem kovalenten Bindungsnetzwerk zugeordnet werden können. Prinzipiell kann ein COSY als Sequenz mit oder ohne Phaseninformation eingesetzt werden. Aufgrund der geringeren Dauer des Experiments wird es in Routineanwendungen oft ohne Phaseninformation aufgezeichnet. Sequenzen mit Phaseninformation liefern eine deutlich bessere Auflösung, erfordern aber eine längere Messzeit, die im Routinebereich meist nicht verfügbar ist. Für kleine Moleküle und für Metabolomikanwendungen wäre es wünschenswert, ein phasenempfindliches COSY-artiges Experiment mit kurzer

Messzeit zur Verfügung zu haben. Das hier vorgestellte CLIP-COSY soll dies erfüllen. Es kann in kurzer Zeit aufgenommen werden, bietet die hohe Auflösung eines phasenempfindlichen Experiments und kann darüber hinaus mit homonuklearen Entkopplungsmethoden kombiniert werden.

Es wurden bereits COSY-Varianten mit verbesserten Phaseneigenschaften,^[2] erleichterter Kopplungsmessung,^[3] fester Sequenzzeit („Constant Time“)^[4] und weiterleitenden Transferschritten (RELAY)^[5] vorgestellt. Allen diesen Varianten, auch dem verbreiteten doppelquantengefilterten COSY (DQF-COSY),^[2a] ist gemein, dass so genannte Antiphase-Multiplettstrukturen erzeugt werden, deren Nachteile im Folgenden diskutiert werden.

Das Zeitsignal, der FID, eines Antiphase-Multipletts ist sinusmoduliert, es beginnt bei null und die Intensität muss für eine gewisse Zeit anwachsen (Abbildung 1A). Die digitale Auflösung muss daher ausreichend sein um die aktive Kopplung aufzulösen, da sich sonst positive und negative Komponenten des Antiphase-Multipletts auslöschen (Abbildung 1B). Bei typischen ^1H - ^1H -Kopplungskonstanten im Bereich von $J=4\text{--}10\text{ Hz}$ sind deshalb auf einem 600-MHz-Spektrometer ungefähr 1024 reelle Punkte in der indirekten Dimension erforderlich. Unabhängig von der eigentlichen Signalintensität führt dies meist zu mehr als 30 Minuten Messzeit pro Probe.

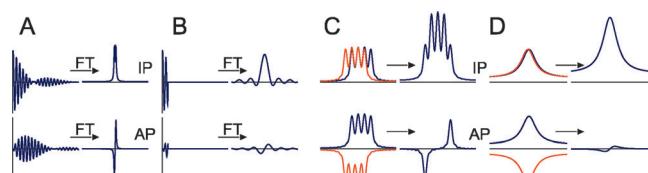


Abbildung 1. Vergleich von Inphase- (IP) und Antiphase (AP) Multiplettstrukturen: A) Ein cosinus- oder sinusmodulierter FID führt zu Inphase- bzw. Antiphase-Multipletts. B) Ein abgeschnittener FID begrenzt die Signalintensität vor allem im Antiphase-Fall. C) Teile des Antiphase-Signals werden durch überlappende Multiplettkomponenten (hier: Dublett von Dubletts) ausgelöscht. D) Antiphase-Signale werden bei Linienbreiten, die größer als das zugrundeliegende Multiplett sind, abgeschwächt.

Bei nicht-aufgelösten Multiplettkomponenten tritt ein weiterer Nachteil auf. Passive Kopplungen führen zur Überlagerung von positiven und negativen Anteilen und verringern die Empfindlichkeit (Abbildung 1C). Ähnlich werden auch Antiphase-Signale unterdrückt, deren Linien durch Feldinhomogenität, Austauscheffekte oder schnelle Relaxation verbreitert sind (Abbildung 1D). Die Vermeidung von

[*] M. R. M. Koos, Prof. Dr. B. Luy

Institut für Organische Chemie und Institut für Biologische Grenzflächen 4 – Magnetische Resonanz
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Fritz-Haber-Weg 6, 76131 Karlsruhe (Deutschland)
E-Mail: Burkhard.Luy@kit.edu
Homepage: <http://ioc.kit.edu/luy>

Dr. G. Kummerlöwe
Institut für Organische Chemie
Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85747 Garching (Deutschland)

L. Kaltschnee, Prof. Dr. C. M. Thiele
Clemens-Schöpf-Institut für Organische Chemie und Biochemie
Technische Universität Darmstadt
Alarich-Weiss-Straße 16, 64287 Darmstadt (Deutschland)

Hintergrundinformationen (Probenzusammensetzung, experimentelle Parameter und Quellcode der Pulsprogramme) und die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201510938> zu finden.

Signalauslösung erfordert deshalb eine Pulssequenz, welche zu Inphase-Multipletts führt.

Einige Inphase-Varianten des COSY sind bereits bekannt. Das SUPER-COSY^[6] und das ISECR-COSY^[7] liefern nur teilweise Signale mit der gewünschten Phase. Das DQF-ISECR-COSY^[7] erzeugt die gewünschte Linienform bei allen Signalen, erfordert aber eine große Zahl an aufsummierten Messungen pro t_1 -Punkt. Auch das IP-COSY^[8] liefert die gewünschte Linienform, es verwendet aber einen „Constant-Time“-Ansatz für die indirekte Dimension, wodurch die Auflösung eingeschränkt wird und Signalintensitäten verzerrt werden können.

Die neue Sequenz soll die schnelle Aufnahme von Spektren ermöglichen, dabei aber so wenig generelle Einschränkungen wie möglich mit sich bringen. Das hier vorgestellte Reine-Inphase-COSY („CLEan In-Phase COSY“, CLIP-COSY) basiert auf der Nullquantenkohärenzunterdrückung nach Thrippleton und Keeler^[9,12] in Kombination mit einer „Perfect-Echo“-Sequenz,^[13] die hier als Inphase-Inphase-Mischelement fungiert (Abbildung 2 A). Der von Thrippleton und Keeler vorgeschlagene z -Filter wird im CLIP-COSY zweimal eingesetzt. Die beiden Filterelemente umschließen das Transferelement und entfernen Antiphase- bzw. Nullquantenanteile aus der Gesamt magnetisierung.

Das bereits veröffentlichte IP-COSY kann als verschachtelte „Constant-Time“-Version des CLIP-COSY gelten. Das IP-COSY ist für Systeme optimiert, in denen die Auflösung durch die inhärente Linienbreite begrenzt ist. Das CLIP-COSY-Experiment kann dagegen mit unabhängig wählbaren Aufnahmeparametern in beiden Dimensionen sehr flexibel eingesetzt werden. Wasserunterdrückung kann entweder durch Vorsättigung oder durch ein angehängtes

WATERGATE-^[11,14], „Excitation-Sculpting“^[10] oder PE-WATERGATE-Element^[15] erreicht werden.

Die verwendeten Thrippleton-Keeler- z -Filter werden mit zunehmender Länge effektiver, gleichzeitig kann in dieser Zeit aber auch Polarisationstransfer durch den Kern-Overhauser-Effekt (NOE), chemischer Austausch, konformativ Umwandlung oder TOCSY-artiger Transfer zwischen stark gekoppelten Spins stattfinden, was zu Artefakten führen kann (siehe die Hintergrundinformationen). Es ist daher nötig, einen Kompromiss zwischen kurzen Elementen und guter Filterung zu finden. Die benötigte adiabatische Inversion kann entweder durch CHIRP^[16] oder BIP/BIBOP-artige Pulse^[17] oder durch spezielle, mittels Optimal-Control-Theorie (OC) optimierte Pulse umgesetzt werden. Simulationen zeigen, dass quasi-adiabatische Pulse für Pulslängen über 5 ms hocheffizient sind. Lediglich bei geringeren Pulslängen können OC-Pulse bessere Unterdrückung erreichen (unveröffentlichte Daten). Experimentell zeigt sich, dass gute z -Filterlängen für kleine Moleküle bei 10–20 ms liegen, während sie für große Moleküle wie Proteine sehr kurz, 0.25–0.5 ms, sein sollten.

In Abbildung 3 wird ein Ausschnitt des CLIP-COSY mit identischen Ausschnitten eines konventionellen DQF-COSY, einer Variante des IP-COSY mit Thrippleton-Keeler- z -Filter und einem TOCSY mit kurzer Mischzeit verglichen (die Gesamtspektren sind als Abbildung S4–S9 in den Hintergrundinformationen enthalten).

Unter den verglichenen Experimenten zeigt das DQF-COSY die niedrigste Signalintensität obwohl es mit ausreichender Auflösung in der indirekten Dimension aufgenommen wurde. Um zumindest alle wichtigen Signale zu sehen, wurde die Intensität hier um den Faktor 4 im Vergleich zu den anderen Spektren skaliert. Das IP-COSY hat deutlich höhere Intensität. Es wurde mit der Gesamtmischzeit von $2(T_c + T_m) = 52$ ms als Kompromiss zwischen effizientem Transfer und ausreichender Auflösung durchgeführt. Das CLIP-COSY zeigt noch etwas höhere Intensität, da hier die Mischzeit unabhängig von der Auflösung einstellbar ist. Das DIPSI-2-TOCSY-Experiment mit 35 ms Mischzeit liefert hohe Signalintensität, zeigt jedoch auch viele Kreuzsignale über mehrere Bindungen hinweg. Diese weitreichenden Korrelationen sind bei COSY-Anwendungen nicht erwünscht.

Der Vergleich zeigt auch den dramatischen Messzeitgewinn ohne große Nachteile in der F_1 -Auflösung. Das CLIP-COSY kann ohne weiteres mit nicht-äquidistanter Abtastung („Non-Uniform Sampling“, NUS)^[18] kombiniert werden. In diesem Fall ist es ausreichend, 76 Datenpunkte für t_1 zu messen, mittels „Compressed Sensing“ einen FID aus 256 Punkten zu rekonstruieren und mittels „Linear Prediction“ zu 512 Punkten zu verlängern. Dies entspricht einer Abtastdichte von lediglich 30%. In Abbildung 3D ist ein solches CLIP-COSY, das in 3 Minuten aufgezeichnet wurde, abgebildet. Des Weiteren kann die Erholzeit zwischen zwei Messungen beim CLIP-COSY im Vergleich zum DQF-COSY erheblich reduziert werden, worauf aber in Abbildung 3 zu gunsten der Vergleichbarkeit verzichtet wurde (siehe hierzu etwa das Spektrum von Rebaudiosoid A in Abbildung S10A).

Die Inphase-Multipletts des CLIP-COSY erlauben auch die Anwendung homonuklearer Entkopplungsmethoden um

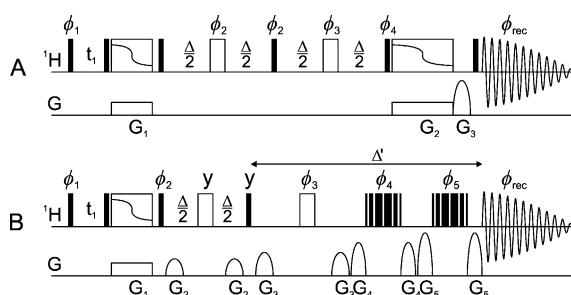


Abbildung 2. A) CLIP-COSY-Pulssequenz. Das Experiment kann mit einem einzigen Messdurchlauf pro F_1 -Punkt aufgenommen werden; die Pulsphasen für weitere Durchläufe sind $\phi_1 = (x)_4(-x)_4$; $\phi_2 = y, -y, -y, y$; $\phi_3 = -y, -x, -y, -x$; $\phi_4 = x, x, -x, -x$; $\phi_{rec} = x, -x, -x, x, x, -x$. Für ϕ_1 wird zudem States-TPPI-Inkrementierung zur phasenempfindlichen Detektion verwendet. Nicht bezeichnete Pulsphasen sind x -Pulse. Gefüllte Rechtecke stehen für 90°, un gefüllte Rechtecke mit geschwungener Linie und gleichzeitiger Anwendung eines Gradienten zeigen z -Filter^[9] an. Eine Version mit robusten Breitbandpulsen ist in den Hintergrundinformationen zu finden. B) CLIP-COSY-Pulssequenz modifiziert für Wasserunterdrückung und optimiert für große Moleküle, wie etwa Proteine in H_2O . Das zweite z -Filterelement wurde durch ein „Excitation-Sculpting“-Element^[10] mit 3-9-19-Sequenz^[11] ersetzt; Pulsphasen wurden angepasst, um $-z$ -Magnetisierung zu vermeiden, $\phi_1 = x$; $\phi_2 = x, -x$; $\phi_3 = y, -y$; $\phi_4 = (x)_4(y)_4(-x)_4(-y)_4$; $\phi_5 = (x)_2(y)_2(-x)_2(-y)_2$; $\phi_{rec} = x, -x$. Für ϕ_1 wird zudem States-TPPI-Inkrementierung verwendet.

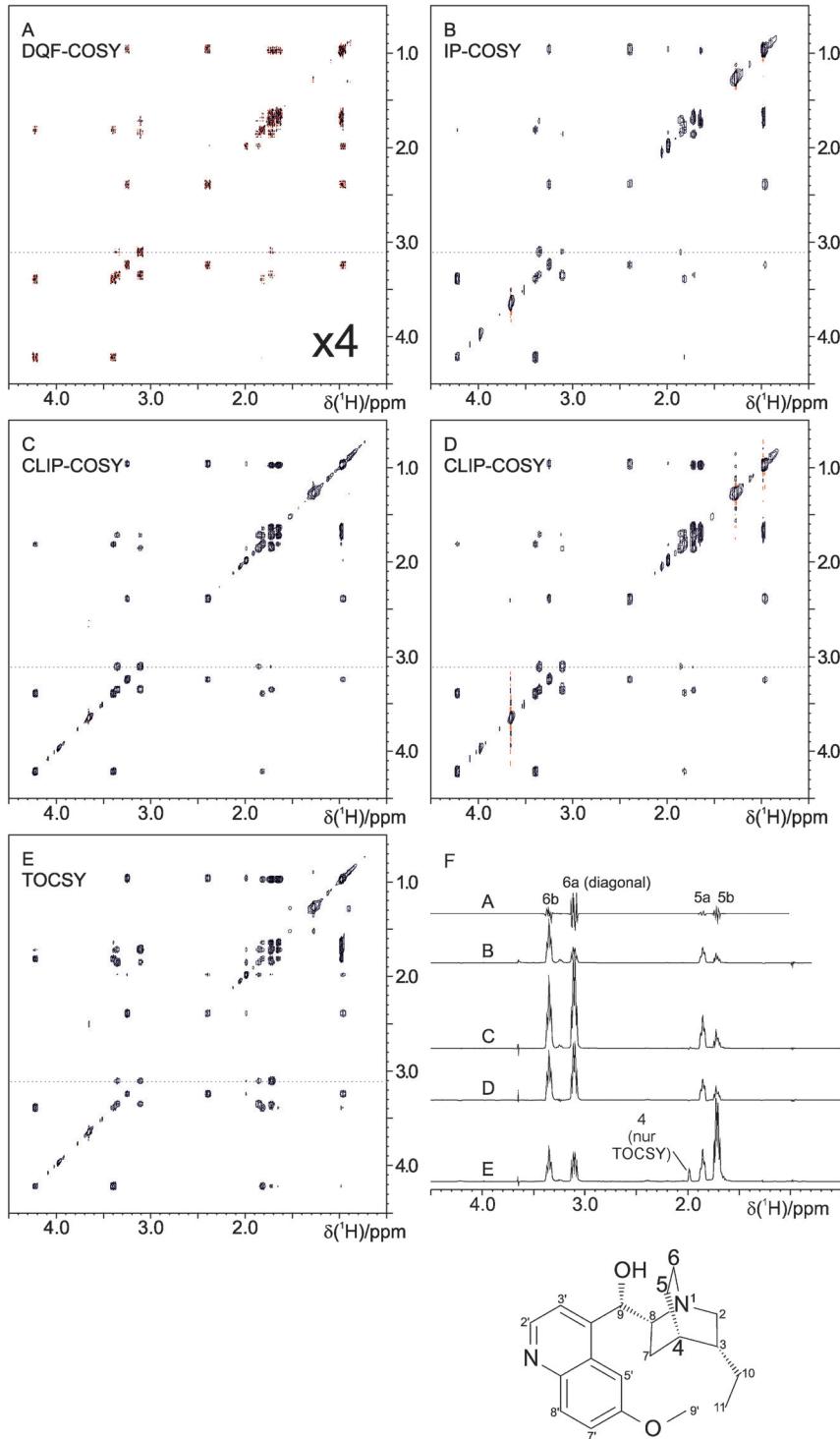


Abbildung 3. Vergleich der aliphatischen Region verschiedener Spektren von 13.7 mm Hydrochinidin in CDCl_3 . A) Konventionelles DQF-COSY, 4096×1024 Punkte in 32 min 46 s aufgenommen. Signalintensitäten wurden um den Faktor 4 verstärkt um alle wichtigen Signale zu zeigen. B) IP-COSY mit Thrippleton-Keeler-z-Filter, 4096×384 Punkte in 13 min 3 s aufgenommen. Die F_1 -Auflösung ist beschränkt durch die verschachtelte t_1 - und Gesamtzeit von 52 ms. C) CLIP-COSY, 4096×1024 Punkte in 34 min 18 sec aufgenommen mit einer Gesamtzeit von $2\Delta = 33.33$ ms. D) CLIP-COSY, 4096×76 nicht-äquidistante Zeitpunkte (30% NUS) in 2 min 59 sec aufgenommen und mittels „Compressed Sensing“ sowie „Linear Prediction“ zu 4096×512 Punkten rekonstruiert. Gesamtzeit $2\Delta = 33.33$ ms. E) TOCSY mit Thrippleton-Keeler-z-Filter, 4096×1024 Punkte in 34 min 24 sec aufgenommen. Die DIPSI-2-Mischzeit war 34.5 ms. F) F_2 -Schnitte aus den Spektren A–E bei der Frequenz 3.11 ppm, die durch die gestrichelte graue Linie angegeben sind. Spektren A, C und E haben dieselbe Auflösung. Volle Spektren und Zuordnung sind in den Hintergrundinformationen enthalten.

reine Verschiebungsspektren zu erhalten („Pure-Shift“-Spektren).^[19] Prinzipiell ist dies in beiden Dimensionen möglich, als Machbarkeitsnachweis ist ein CLIP-COSY-Spektrum mit F_2 -PSYCHE-Entkopplung^[19b] an Menthol in Abbildung S12 enthalten.

Mit den vorgeschlagenen Wasserunterdrückungsmethoden kann das CLIP-COSY auch bequem auf Moleküle in wässriger Lösung angewendet werden. Für Proteine kann außerdem der zweite z -Filter durch ein „Excitation-Sculpting“-Element ersetzt werden, da bei großen Molekülen mit hoher Linienbreite Nullquantenartefakte deutlich schwächer ausgeprägt sind (Abbildung 2B). Abbildung 4 zeigt die H^{α} - H^{α} -Fingerabdruckregion des aus 129 Aminosäureresten bestehenden Proteins Lysozym zur Veranschaulichung.

Die Stärke der Inphase-COSY-Experimente zeigt sich vor allem, wenn Linien durch Austausch oder Relaxation stark verbreitert sind. Das DQF-COSY zeigt in diesem Fall sehr starke Signalintensitätsverluste. In Abbildung 5 ist dieser Effekt für *N*-Methyl-4-piperidinol, bei dem Ringinversion zur Austauschverbreiterung führt,^[20] gezeigt (Gesamtspektren in Abbildung S11). Inphase-Experimente ermöglichen hier einen enormen Intensitätsgewinn.

Für eine kritische Betrachtung des CLIP-COSY soll im Weiteren auch auf zwei potentielle Nachteile des CLIP-COSY eingegangen werden: Der zentrale Inphase-Inphase-Transfer hängt von der Mischzeit Δ und dem jeweils vorliegenden Spinsystem ab. Im schwachen Kopplungsfall unter Vernachlässigung von Relaxation wird die integrierte Kreuzsignalintensität beschrieben durch Gleichung (1) mit der aktiven Kopplung

$$I_{12} = \sin^2 \pi J_{12} \Delta \prod_{i \neq 1,2}^n \cos \pi J_{1i} \Delta \prod_{j \neq 1,2}^m \cos \pi J_{2j} \Delta \quad (1)$$

J_{12} sowie den passiven Kopplungen J_{1i} und J_{2j} zwischen den ($n-2$) und ($m-2$) benachbarten Spins im jeweiligen Spinsystem.

Theoretisch sollten in einem Zweispinsystem Mischzeiten bis zu 50 ms praktikabel sein. In den Experimenten erwiesen sich aber $\Delta = 15$ bis $\Delta = 25$ ms in größeren Kopplungsnetzwerken als guter Kompromiss. Speziell, wenn vor allem

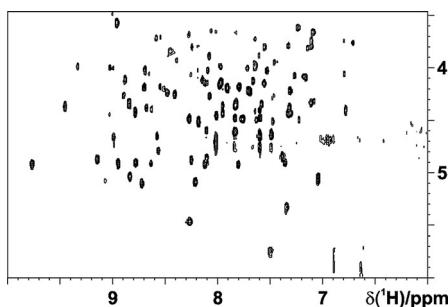


Abbildung 4. $\text{H}^{\text{N}}\text{-H}^{\alpha}$ -Fingerabdruckregion eines CLIP-COSY-Spektrums von 1 mm Lysozym in 90% H_2O + 10% D_2O , aufgenommen mit der Pulssequenz aus Abbildung 2B. Mischzeiten waren $\Delta = 16.7$ ms und $\Delta' = 25$ ms. 4096×512 Punkte in 1 h 27 min mit 4 aufsummierten Messdurchläufen pro F_1 -Punkt aufgenommen.

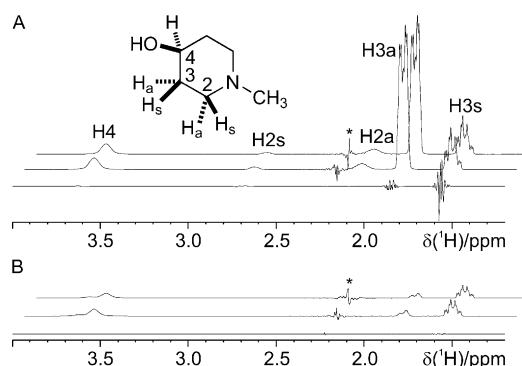


Abbildung 5. F_2 -Schnitte aus CLIP-COSY (obere Kurven), IP-COSY (mittlere Kurven) und DQF-COSY (untere Kurven); aufgenommen mit *N*-Methyl-4-piperidinol bei 283 K. Die Schnitte stammen von den F_1 -Frequenzen A) H^3 's und B) H^4 . Alle Schnitte sind auf gleiches Rauschniveau skaliert. CLIP- und IP-COSY wurden mit 64 F_1 -Punkten und der Gesamtzeit $2\Delta = 2(T_c + T_m) = 52$ ms aufgenommen. Das DQF-COSY wurde mit 512 F_1 -Punkten bei achtfacher Experimentaldauer aufgenommen um Intensitätsverluste durch unzureichende Aufnahmezeit auszuschließen (siehe Abbildung 1). Bei den mit einem Stern markierten Signalen handelt es sich um Ausläufer des t_1 -Rauschens bei der $\text{N}-\text{CH}_3$ -Frequenz.

Kopplungen mit $J > 3$ Hz von Interesse sind, ist $\Delta = 15$ ms vorteilhaft. Im Unterschied zu „Constant-Time“-Experimenten wie dem IP-COSY, begrenzt diese kurze Mischzeit nicht die Auflösung des Spektrums.

Neben abweichenden Signalintensitäten kann die eingestellte Mischzeit auch zu weitergeleiteten („relayed“) Kreuzsignalen führen, wenn mindestens zwei der Spins im Spinsystem zueinander stark gekoppelt sind. Dieser Effekt tritt allerdings bei allen Inphase-COSY-Ansätzen auf und wurde bereits diskutiert (siehe Lit. [8] und die Hintergrundinformationen). Abschließend ist zu erwähnen, dass die Leistung eines Thrippleton-Keeler- z -Filters nahe der Diagonalen stark abnimmt^[9] und entsprechende Multipletts verzerrt werden können. Ähnliche Artefakte treten jedoch bei stark gekoppelten Spins in allen COSY-Experimenten auf.

Das CLIP-COSY ist ein leicht handhabbares COSY-Experiment, das hochwertige Inphase-Multipletts erzeugt. Der Hauptvorteil ist die schnelle Aufnahme von Spektren mit rein absorptiven Inphase-Signalen in wenigen Minuten, was mit-

tels NUS noch deutlicher wird. Im Vergleich zum DQF-COSY kann besonders bei verbreiterten Signalen an Empfindlichkeit gewonnen werden. Die Sequenz begrenzt nicht die F_1 -Auflösung und kann mit modernen homonuklearen Entkopplungsmethoden kombiniert werden, ähnlich wie bei TOCSY/NOESY-Experimenten.^[19a,21] Durch die verkürzte Messzeit werden hochaufgelöste COSY-artige Spektren auch für die Routine-NMR zugänglich und werden voraussichtlich auch in Metabolomikstudien und der Qualitätskontrolle Anwendung finden.

Danksagung

B.L. und M.R.M.K. danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (LU 835/6-2, LU 835/13-1, NMR-Gerätezentrum Pro²NMR), dem HGF-Programm BIFTM und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung. C.M.T. und L.K. danken dem ERC (grant no. 257041) und der Merck'schen Gesellschaft für Kunst und Wissenschaft für finanzielle Unterstützung.

Stichwörter: Analytische Methoden · COSY · NMR-Spektroskopie · Perfect Echo · Schnelle Akquisition

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 7655–7659
Angew. Chem. **2016**, *128*, 7785–7789

- [1] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2229–2246.
- [2] a) U. Piantini, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6800–6801; b) D. Marion, A. Bax, *J. Magn. Reson.* **1988**, *80*, 528–533; c) M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *117*, 479–485; d) H. Oschkinat, A. Pastore, P. Pfändler, G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson.* **1986**, *69*, 559–566; e) A. J. Pell, R. A. E. Edden, J. Keeler, *Magn. Reson. Chem.* **2007**, *45*, 296–316.
- [3] a) C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1987**, *75*, 474–492; 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. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6394–6396; d) L. Mueller, *J. Magn. Reson.* **1987**, *72*, 191–196; e) A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **1981**, *44*, 542–561.
- [4] a) S. Berger, *Spectrosc. Lett.* **2000**, *33*, 1–8; b) M. E. Girvin, *J. Magn. Reson. Ser. A* **1994**, *108*, 99–102; c) M. Rance, G. Wagner, O. W. Sørensen, K. Wüthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1984**, *59*, 250–261; d) J. A. Aguilar, A. A. Colbourne, J. Cassani, M. Nilsson, G. A. Morris, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 6460–6463; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 6566–6569.
- [5] G. Eich, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3731–3732.
- [6] A. Kumar, R. V. Hosur, K. Chandrasekhar, *J. Magn. Reson.* **1984**, *60*, 143–148.
- [7] S. Talluri, H. A. Scheraga, *J. Magn. Reson.* **1990**, *86*, 1–10.
- [8] Y. Xia, G. Legge, K.-Y. Jun, Y. Qi, H. Lee, X. Gao, *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 372–379.
- [9] M. J. Thrippleton, J. Keeler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3938–3941; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4068–4071.
- [10] T.-L. Hwang, A. J. Shaka, *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *112*, 275–279.
- [11] M. Liu, X. Mao, C. Ye, H. Huang, J. K. Nicholson, J. C. Lindon, *J. Magn. Reson.* **1998**, *132*, 125–129.

- [12] K. E. Cano, M. J. Thripleton, J. Keeler, A. J. Shaka, *J. Magn. Reson.* **2004**, *167*, 291–297.
- [13] a) L. Kaltschnee, A. Kolmer, I. Timári, V. Schmidts, R. W. Adams, M. Nilsson, K. E. Kövér, G. A. Morris, C. M. Thiele, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 15702–15705; b) A. M. Torres, G. Zheng, W. S. Price, *Magn. Reson. Chem.* **2010**, *48*, 129–133; c) P. C. M. van Zijl, C. T. W. Moonen, M. von Kienlin, *J. Magn. Reson.* **1990**, *89*, 28–40; d) K. Takegoshi, K. Ogura, K. Hikichi, *J. Magn. Reson.* **1989**, *84*, 611–615.
- [14] M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenář, *J. Biomol. NMR* **1992**, *2*, 661–665.
- [15] R. W. Adams, C. M. Holroyd, J. A. Aguilar, M. Nilsson, G. A. Morris, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 358–360.
- [16] a) J.-M. Böhlen, I. Burghardt, M. Rey, G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson.* **1990**, *90*, 183–191; b) J.-M. Böhlen, M. Rey, G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson.* **1989**, *84*, 191–197.
- [17] a) K. Kobzar, T. E. Skinner, N. Khaneja, S. J. Glaser, B. Luy, *J. Magn. Reson.* **2008**, *194*, 58–66; b) K. Kobzar, T. E. Skinner, N. Khaneja, S. Glaser, B. Luy, *J. Magn. Reson.* **2004**, *170*, 236–243; c) M. A. Smith, H. Hu, A. J. Shaka, *J. Magn. Reson.* **2001**, *151*, 269–283.
- [18] M. Mobli, J. C. Hoch, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2014**, *83*, 21–41.
- [19] a) N. H. Meyer, K. Zangger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7143–7146; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7283–7286; b) M. Foroozandeh, R. W. Adams, N. J. Meharry, D. Jeannerat, M. Nilsson, G. A. Morris, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6990–6992; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7110–7112; c) K. Zangger, H. Sterk, *J. Magn. Reson.* **1997**, *124*, 486–489; d) J. R. Garbow, D. P. Wetekamp, A. Pines, *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *93*, 504–509; e) T. Reinsperger, B. Luy, *J. Magn. Reson.* **2014**, *239*, 110–120; f) I. Timári, L. Kaltschnee, A. Kolmer, R. W. Adams, M. Nilsson, C. M. Thiele, G. A. Morris, K. E. Kövér, *J. Magn. Reson.* **2014**, *239*, 130–138.
- [20] a) C.-Y. Chen, R. J. W. Le Fèvre, *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 4057–4063; b) T. A. Crabb, A. R. Katritzky, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1984**, *36*, 1–173.
- [21] a) G. A. Morris, J. A. Aguilar, R. Evans, S. Haiber, M. Nilsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12770–12772; b) J. J. Koivisto, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 96–98; c) M. Foroozandeh, R. W. Adams, M. Nilsson, G. A. Morris, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11867–11869; d) L. Castañar, P. Nolis, A. Virgili, T. Parella, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 17283–17286.

Eingegangen am 25. November 2015,
veränderte Fassung am 5. Februar 2016
Online veröffentlicht am 19. Mai 2016