

40 Jahre kernmagnetische Resonanz: Anwendung moderner Messmethoden auf stereochemische Probleme am Beispiel Brevicommin

Peter Bigler* und Matthias Kamber

Abstract: Development of modern techniques in NMR spectroscopy has been so rapid in recent years, that the spectroscopist now has a wide «spectrum» of informative methods at his disposal. The application of two selected pulse techniques to *exo*-brevicommin demonstrates the high power of modern NMR spectroscopy in solving stereochemical problems.

* *Korrespondenz:* Dr. P. Bigler
Institut für Organische Chemie
Universität Bern
Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

Dr. M. Kamber
Analytische Forschung und Koordination FO 3.2
Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel

Auch 40 Jahre nach der Entdeckung^[1,2] der grundlegenden Phänomene ist die NMR-Spektroskopie noch in lebhafter Entwicklung begriffen. Grosse technologische Fortschritte insbesondere im Magnet- und Probenkopfbau, die Einführung zunehmend leistungsfähiger Gerätecomputer

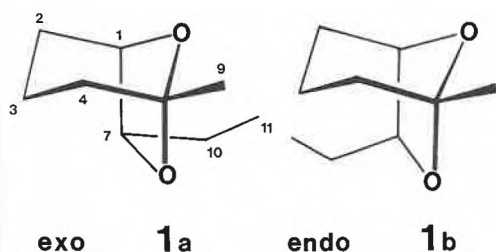
sowie nicht zuletzt eine wachsende Zahl von raffinierten Messtechniken machten die NMR-Spektroskopie zu einer der populärsten und erfolgreichsten spektroskopischen Methoden der chemischen Analytik. Neben diesem traditionellen Anwendungsbereich haben sich der Kernspinresonanz aber immer weitere Gebiete erschlossen, erwähnt sei einerseits die Entwicklung der hochauflösenden Festkörper-NMR-Spektroskopie und andererseits die Kernspin-Tomographie (spin imaging), welche dem Mediziner gefahrlos röntgenbildähnliche Einblicke in das Körperinnere verschafft. Die *in-vivo*-Spektroskopie (topical NMR) könnte zum Studium biochemischer Prozesse von grossem Nutzen werden.

Die «klassische» NMR-Spektroskopie in der Chemie stagniert dennoch keineswegs, wovon ein Blick in die einschlägige Literatur überzeugen mag. Angesichts der vielen bewährten und neu auftauchenden Messverfahren wird es selbst für den Spezialisten schwierig, sowohl den Überblick zu wahren als auch die Spreu vom Weizen

zu trennen (Orientierungshilfen bieten einige, auch für den auf andern Gebieten tätigen Chemiker empfehlenswerte Übersichtsartikel^[1-7]).

Im folgenden wollen wir an einem aktuellen chemischen Strukturproblem die Leistungsfähigkeit zweier ausgewählter, sehr aussagekräftiger Messmethoden demonstrieren und die Eleganz von sogenannten Multiplexexperimenten verdeutlichen.

Bei der Suche nach Synthesewegen zu enantiomerenreinen Pheromonen wurden an unserem Institut *exo*- und *endo*-Brevicomine (**1a** und **1b**) hergestellt^[8].



Diskussionen über die Struktur der Brevicomine führten zu folgenden Fragen: Kann mit NMR-Experimenten eine zuverlässige Information über die Konfiguration am Kohlenstoffatom C(7) erhalten werden, die für die Zuordnung *endo/exo* entscheidend ist? Kann die Konformation des Sechsrings (Sessel oder Boot) ermittelt werden? Am Beispiel des *exo*-Brevicomins **1a** soll nun gezeigt werden, wie solche Fragen durch Anwendung moderner Messmethoden eindeutig beantwortet werden können.

Das ¹H-NMR-Spektrum, gemessen bei 400 MHz, enthält neben gut separierten Multipletts auch Bereiche mit starken Signalüberlappungen. Deshalb wurde auf eine Interpretation von Proton-Proton-Kopplungskonstanten vorerst verzichtet. Dieses Vorgehen, das wegen einer grossen Zahl von Referenzdaten und diversen qualitativen und semi-quantitativen Beziehungen (Kopplungskonstante ↔ stereochemische Parameter) sehr beliebt ist und auch mit Erfolg benutzt wird, ist nicht generell anwendbar. Sind wie im vorliegenden Fall starke Signalüberlappungen und damit eventuell stark gekoppelte Spinsysteme vorhanden, können einerseits nicht alle relevanten Multipletts überlagerungsfrei betrachtet werden; andererseits ist das unkritische Herauslesen von Kopplungskonstanten aus Linienabständen gerade unter diesen Umständen nicht mehr zulässig (aufgrund starker Kopplungswechselwirkungen können sich Effekte höherer Ordnung selbst in gut separierten Multipletts niederschlagen).

Bei eng beieinanderliegenden Multipletts sind auch einfache homonucleare Entkopplungsexperimente zur Spektrenvereinfachung und zur Klärung von Nachbarschaftsbeziehungen nicht mehr durchgehend möglich. Allein schon wegen der kleinen Differenz zwischen Entkoppler- und Absorptionsfrequenz des beobachteten Protons treten an dessen Multiplett

Störungen und damit oft bloss scheinbare Entkopplungseffekte auf. Deshalb wurde versucht, die stereochemischen Probleme auf andere Weise unter Zuhilfenahme neuester Messtechniken zu lösen.

Zunächst wurde ein heteronucleares Shiftkorrelationsexperiment durchgeführt. Bei diesem zweidimensionalen (2D-)Experiment^[9] werden sowohl die ¹H- als auch die ¹³C-Atome eines Moleküls einer komplizierten Folge von Radiofrequenzimpulsen ausgesetzt (Fig. 1), wodurch eine «Spingymnastik» ausgelöst wird.

Als Resultat eines solchen Experimentes erhält man ein dreidimensionales Spektrum mit den chemischen Verschiebungen der Protonen auf der einen, den chemischen Verschiebungen der ¹³C-Atome auf der zweiten und den Intensitäten der sogenannten «cross peaks» auf der dritten Achse. Meistens werden solche Spektren als «contour plots», das heisst als Schnitte durch das dreidimensionale Spektrum bei ausgewählten Signalthöhen, dargestellt. Die Koordinaten der dabei erhaltenen «contours» liefern die chemischen Verschiebungen direkt gebundener ¹³C-¹H-Paare. Erst kürzlich konnte die Empfindlichkeit dieses Verfahrens durch Einbau zusätzlicher Radiofrequenzimpulse weiter gesteigert werden^[10-12]. Damit konnte zugleich die oftmals verwirrende Zahl zusätzlicher, aufgrund von Proton-Proton-Kopplungen auftretender Signale drastisch reduziert werden. Ein mit dieser neuesten Messtechnik registriertes Spektrum der Verbindung **1a** ist in Fig. 2 ausschnittsweise wiedergegeben.

Wie aus diesem 2D-Spektrum hervorgeht, liefert das Experiment nicht nur ¹H/¹³C-Shiftkorrelationen, sondern auch Informationen über die verschiedenen Kohlenstoff-Multiplizitäten (CH, CH₂, CH₃) im Molekül. Kohlenstoff-Signale von Methylengruppen, deren Protonen unterschiedliche chemische Verschiebungen aufweisen, lassen sich leicht identifizieren. Sie rufen im 2D-Spektrum zwei, wegen Pro-

ton-Proton-Kopplung jeweils als Dublett auftretende «cross peaks» hervor. Im vorliegenden Fall sind exemplarisch dafür die Signale von C(2), C(3) und C(10). Methylengruppen, deren Protonen gleiche chemische Verschiebungen aufweisen, sowie natürlich alle Methin- und Methylgruppen verursachen nur einen «cross peak» im 2D-Spektrum. Die individuellen Kohlenstoff-Multiplizitäten dieser letztgenannten Gruppen lassen sich anhand der Integrale der zugehörigen Protonen-Signale und allenfalls unter Benutzung von chemischen Verschiebungsargumenten zumeist ohne weiteres bestimmen. Auf diese Weise konnten in unserem Beispiel das restliche Methylensignal von C(4), die Methylsignale von C(9) und C(11) sowie die Methinsignale von C(1) und C(7) identifiziert werden. Die Signale von C(1), C(7) und C(11) liegen ausserhalb der für das 2D-Experiment gewählten Spektralbereiche.

Solche Datenkombination, ergänzt durch Feinstrukturinformation aus dem hochaufgelösten ¹H-NMR-Spektrum, ermöglicht nun in den meisten Fällen sichere Zuordnungen. Damit können NMR-Signale viel zuverlässiger mit atomaren Zentren im Molekül verknüpft werden, als dies allein anhand eines ¹H- oder ¹³C-Spektrums möglich wäre. So liessen sich beim *exo*-Brevicomine beispielsweise die ¹H- und ¹³C-Signale der Methylengruppen mit C(2), C(3) und C(4) aufgrund der δ(¹³C)-Werte und der charakteristischen Feinstrukturen der Protonen-Multipletts sofort zuordnen. Diese aus dem vorgestellten 2D-Experiment gewonnenen Informationen lösen zwar die anfangs erwähnten stereochemischen Probleme noch nicht, sind aber Voraussetzung für den Erfolg eines zweiten Experiments.

Im weiteren Verfahren wird der NOE-Effekt^[13] ausgenutzt, also von der Tatsache Gebrauch gemacht, dass sich räumlich benachbarte Atomkerne innerhalb eines Moleküls «spüren»; zwischen diesen Kernen muss nicht unbedingt eine skalare Kopp-

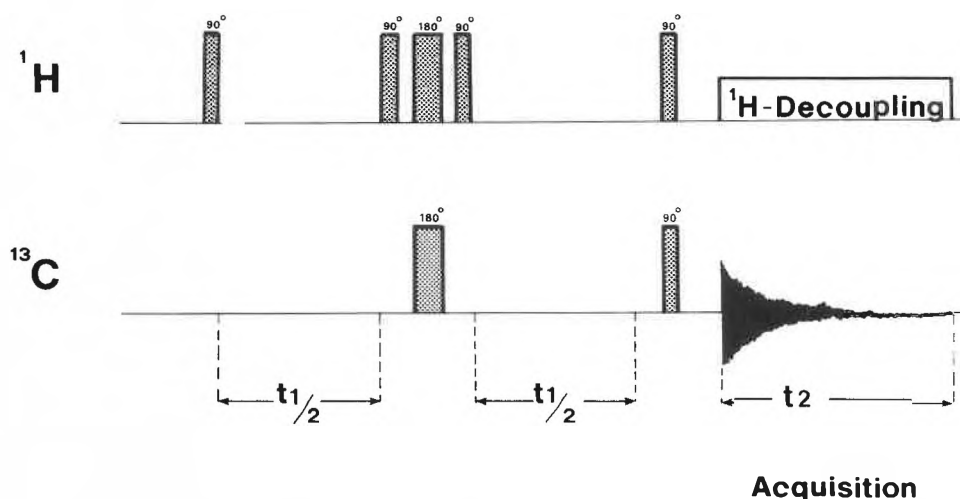


Fig. 1. Schema des NMR-Multiplexexperimentes zur Erzeugung eines 2D-¹H/¹³C-Shiftkorrelationsspektrums.

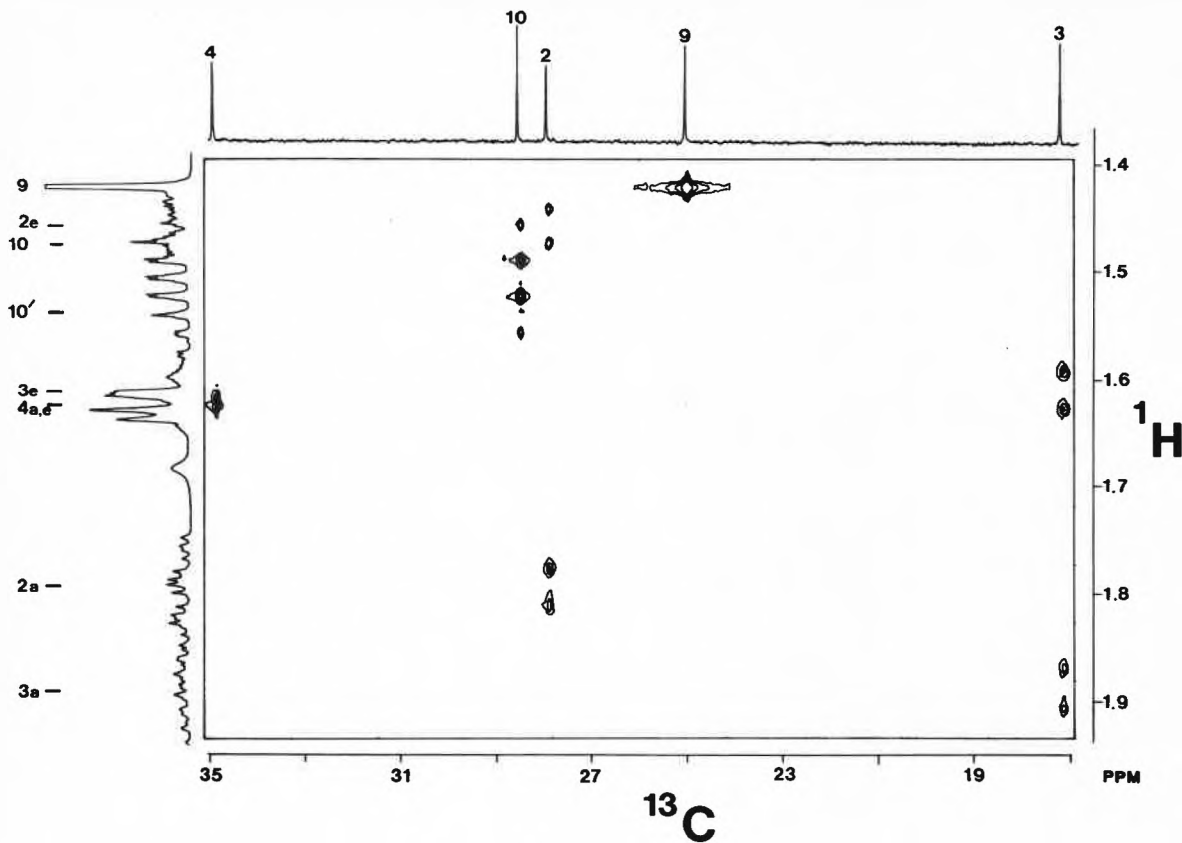


Fig. 2. 2D-¹H/¹³C-Shiftkorrelationsspektrum der Verbindung 1a (Ausschnitt). «Cross peaks» verknüpfen die chemischen Verschiebungen (¹H und ¹³C) direkt gebundener ¹³C-¹H-Paare. Die exakten chemischen Verschiebungen können den abgebildeten 1D-Spektren entnommen werden.

lungswchselwirkung bestehen. Das gegenseitige «Spüren», die Spektroskopiker nennen es dipolare Wechselwirkung, äussert sich in einer Intensitätsveränderung etwa eines Protonensignals, falls ein räumlich benachbartes Proton zuvor mit einer zweiten Radiofrequenz bestrahlt wird.

Dieser Effekt, welcher gewöhnlich nur wenige Prozente der normalen Si-

gnalintensität ausmacht und mit zunehmendem Abstand der betrachteten Kerne rasch verschwindet, lässt sich am besten durch Differenzspektren nachweisen^[14]. Dabei subtrahiert man das nach Bestrahlung eines ausgewählten Protons gemessene Spektrum vom sogenannten Referenzspektrum, bei dem die zweite Radiofrequenz zwar eingeschaltet, aber mit kei-

nem Proton in Resonanz gebracht wurde. Aus Fig. 3 ist der Ablauf dieses Experimentes ersichtlich. Die im Differenzspektrum registrierten Signale «entlarven» die nächsten Nachbarn des bestrahlten Protons. Das weitaus intensivste, hier negativ dargestellte Signal markiert natürlich das zuvor bestrahlte Proton.

Das Ausmass der NOE-Effekte kann unter bestimmten Voraussetzungen auch in quantitative Information über Abstandsverhältnisse umgemünzt werden. Allerdings sind dann mehrere Einstrahllexperimente erforderlich. Zur Lösung der Strukturprobleme unseres Beispiels war aber, wie in vielen andern Fällen auch, eine qualitative Betrachtung ausreichend.

So wurden nun die beiden zwischen $\delta(^1\text{H}) = 1.75$ und 1.95 absorbierenden Protonen für zwei Bestrahlungsexperimente ausgewählt. Nach Entkopplungsexperimenten handelt es sich dabei um die axial (a) angeordneten Protonen der Methylengruppen von C(2) und C(3). Die Resultate sind in Fig. 4 dargestellt. Nach Bestrahlung des Protons H_a-C(2) (Fig. 4c) registriert man den erwarteten grossen NOE-Effekt am nächstliegenden geminalen H_c-C(2) sowie kleinere Effekte an den Protonen H_c-C(1) und H_c-C(3). Die Bestrahlung des Protons H_a-C(3) (Fig. 4b) bewirkt hingegen neben dem wiederum dominanten NOE-Effekt am geminalen Proton H_c-C(3) sowie kleineren Effekten an H_c-C(2) und H_c-C(4) einen zusätzlichen, für die Lösung der ste-

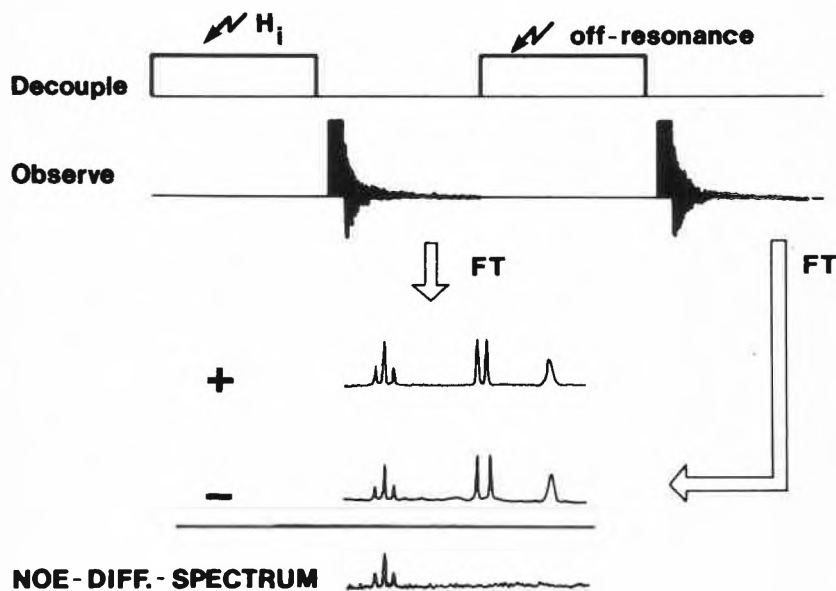


Fig. 3. Schema zur Registrierung von NOE-Effekten nach dem Differenzverfahren.

reochemischen Probleme relevanten Effekt am Proton H-C(7). Die daraus abgeleitete räumliche Nachbarschaft von H-C(7) und H_a-C(3), welche übrigens auch durch das Gegenexperiment – Bestrahlung des Protons H-C(7), Beobachtung eines NOE-Effekts an H_a-C(3) – erkannt werden kann, legt nun sowohl die Konfiguration an C(7) als auch die Konformation des Sechsrings eindeutig fest. Die Resultate des homonuclearen NOE-Experiments beweisen somit einerseits die *endo*-Position des Protons H-C(7) und daher das Vorliegen von *exo*-Brevicomine **1a** und andererseits das Überwiegen der Sesselkonformation.

Die gleichen Experimente wurden auch an *endo*-Brevicomine **1b** durchgeführt. Die Analyse der NOE-Effekte und der skalaren Kopplungswechselwirkungen bestätigte sowohl die Konfiguration an C(7) als auch die Sesselkonformation.

Wie dieses Beispiel zeigt, können heute mit modernen NMR-Messtechniken komplizierte chemische Strukturprobleme rasch und eindeutig gelöst werden. Durch geeignete, das heisst auf das vorliegende Problem abgestimmte Kombination mehrerer Verfahren kann die Leistungsfähigkeit der einzelnen Methoden weiter gesteigert werden. Der richtigen Auswahl der Experimente kommt angesichts der immer grösser werdenden messtechnischen Vielfalt und eingedenk der stets kostbaren Messzeit grösste Bedeutung zu.

Experimentelles

exo- und *endo*-Brevicomine (**1a**, **1b**) wurden uns von Herrn H. R. Ruf zur Verfügung gestellt. Alle NMR-Experimente wurden mit einem 400MHz-Spektrometer der Firma Bruker (AM 400, ausgerüstet mit Computer Aspect 3000) durchgeführt.

Eingegangen am 27. Januar 1986 [FC 53]

- [1] F. Bloch, W.W. Hansen, M. Packard, *Phys. Rev.* 69 (1946) 127.
- [2] E.M. Purcell, H.C. Torrey, R.V. Pound, *Phys. Rev.* 69 (1946) 37.
- [3] R. Benn, H. Günther, *Angew. Chem.* 95 (1983) 381; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 350.
- [4] A. Bax: *Topics in ¹³C-NMR*, Vol. 4, Wiley, New York (1984).
- [5] C.J. Turner, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 16 (1984) 311.
- [6] G. Englert, *Pure Appl. Chem.* 57 (1985) 801.
- [7] H. Günther, P. Schmitt, *Kontakte (Merck)* (1985) (2) 3.
- [8] R. Scheffold, *Chimia* 39 (1985) 203.
- [9] W.P. Aue, E. Bartholdi, R.R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 2229.
- [10] A. Bax, *J. Magn. Reson.* 53 (1983) 517.
- [11] V. Rutar, *J. Magn. Reson.* 58 (1984) 306.
- [12] J.A. Wilde, P.H. Bolton, *J. Magn. Reson.* 59 (1984) 343.
- [13] NOE ist das Akronym für «Nuclear Overhauser Enhancement»; vgl. J.H. Noggle, R.E. Schirmer: *The Nuclear Overhauser Effect, Chemical Applications*, Academic Press, New York (1971).
- [14] J.K.M. Sanders, J.D. Mersh, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 15 (1982) 353.

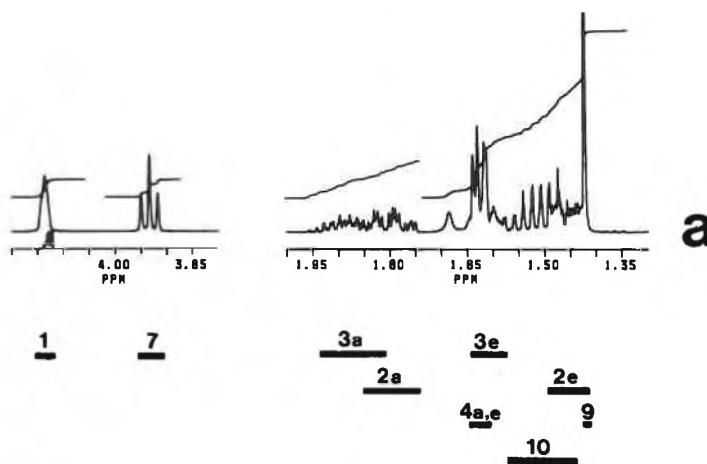
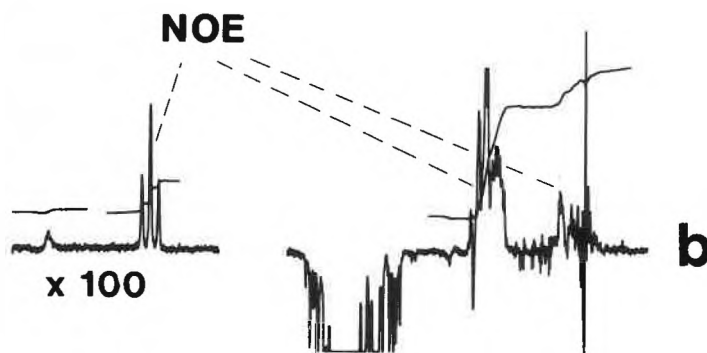
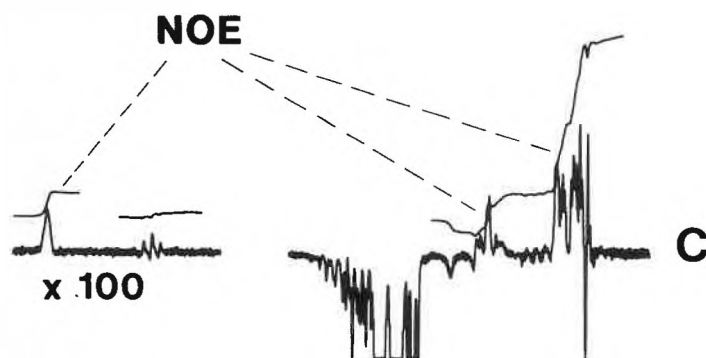


Fig. 4. Ausschnitte des ¹H-NMR-Spektrums von **1a**: a) normales Spektrum; b) NOE-Differenzspektrum nach Bestrahlung von H_a-C(3), NOE-Effekte an H-C(7), H_c-C(3), H_c-C(2) und H_c-C(4); c) NOE-Differenzspektrum nach Bestrahlung von H_a-C(2), NOE-Effekte an H-C(1), H_c-C(3) und H_c-C(2).