

- [7] Wichtige Arbeiten hierzu siehe: S. R. Cooper, *Acc. Chem. Res.* **1988**, 21, 141; J. M. Desper, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4321.
- [8] J. Fried, C. H. Chin, J. C. Sih, P. Dalven, G. F. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 4342; B. M. Trost, M. Ochiai, P. G. McDougal, *ibid.* **1978**, 100, 7113.
- [9] J. E. Bäckvall, J. O. Våberg, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 5695.
- [10] S. Ikegami, J.-I. Ohishi, Y. Shimizu, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 3923; C. Leroy, M. Martin, L. Bassery, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1974**, 590; S. Ikegami, T. Asai, K. Tsunooka, S. Matsumura, S. Akaboshi, *Tetrahedron* **1974**, 30, 2087.
- [11] E. Hamanaka (Pfizer Inc.), US-A 4619924; *Chem. Abstr.* **1987**, 107, 23172z. Ähnliche Anwendung eines intermediären Wechsels der Oxidationsstufe des Schwefels zur Vermeidung von Nebenreaktionen siehe: E. Block, E. R. Corey, R. E. Penn, T. L. Renken, P. F. Sherwin, H. Bock, T. Hirabayashi, S. Mohmand, B. Solouki, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 3119.
- [12] G. A. Olah, S. C. Narang, B. G. B. Gupta, R. Malhotra, *Synthesis* **1979**, 61.
- [13] 2: Schmp. (umkrist. aus EtOH) 69–70 °C; FT-IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2912, 1420, 1204, 1176, 1136, 722, 683 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.35 (dt, J = 13.2, 12.2 Hz, 1H), 2.15 (s, 6H), 2.38 (ddt, J = 13.3, 3.0, 1.5 Hz, 1H), 2.57 (dd, J = 13.6, 11.5 Hz, 2H), 2.7–2.9 (m, 10H), 3.00 (tt, J = 11.9, 3.3 Hz, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 44.5, 40.3, 34.5, 33.9, 30.1, 15.6; EI-MS: 314.0331 (ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{S}$, 314.0325). 3: Schmp. (umkrist. durch Dampfdiffusion von CH_3OH in $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$) 97–99 °C; FT-IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2914, 1425, 1204, 1160, 950, 730, 688, 537 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.8–2.0 (m, 2H), 2.1–2.3 (m, 2H), 2.14 (s, 6H), 2.5–2.9 (m, 10H), 3.0–3.3 (m, 4H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 46.6, 40.2, 34.3, 30.7, 30.3, 15.6; EI-MS: m/z 328.0477 (ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{S}$, 328.0482).
- [14] P. W. R. Corfield, C. Ceccarelli, M. D. Glick, I. W.-Y. Moy, L. A. Ochrymowycz, D. B. Rorabacher, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 2399.
- [15] Frühere Arbeiten über schwefelhaltige Cryptanden: B. Dietrich, J. M. Lehn, J. P. Sauvage, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1970**, 1055; A. H. Alberts, R. Annunziata, J.-M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 8502; O. Kahn, I. Morgenstern-Badarau, J. P. Audiere, J. M. Lehn, S. A. Sullivan, *ibid.* **1980**, 102, 5936; H. L. Ammon, S. K. Bhattacharjee, S. Shinkai, Y. Honda, *ibid.* **1984**, 106, 262; P. Osvath, A. M. Sargeson, B. W. Skelton, A. H. White, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1036; P. Osvath, A. M. Sargeson, *ibid.* **1993**, 40.
- [16] Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, GB-Cambridge CB2 1EZ, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.

FAST NOESY – ein Ansatz zur schnelleren Strukturbestimmung**

Matthias Köck und Christian Griesinger*

Die NMR-spektroskopische Bestimmung von Kreuzrelaxationsraten^[1] liefert interatomare Abstände zwischen den Protonen einer chemischen Verbindung. Zweidimensionale Verfahren wie NOESY^[2] und ROESY^[3] (Abb. 1) sind dabei gegenüber den klassischen eindimensionalen Sättigungs-NOE-Verfahren auf dem Vormarsch, da mit ihnen gleichzeitig alle Abstände in einem Molekül, ungeachtet ihrer Zahl bestimmt werden können. Die zum Teil langen longitudinalen Relaxationszeiten (T_1)

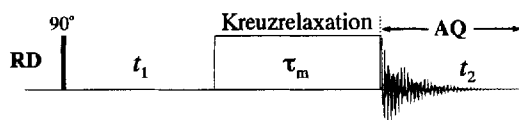


Abb. 1. Pulssequenz eines NOESY- oder ROESY-Experiments mit der Wartezeit RD, der Mischzeit τ_m und der Akquisitionszeit AQ = $t_2(\text{max})$.

[*] Prof. Dr. C. Griesinger, Dr. M. Köck
Institut für Organische Chemie der Universität
Marie-Curie-Straße 11, D-60439 Frankfurt
Telefax: Int. + 69/5800-9128

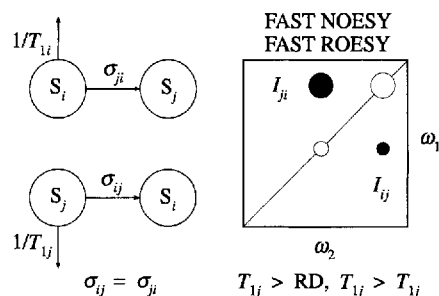
[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Dr. M. Reggelen für hilfreiche Diskussionen, V. Apelt und O. Schedletzky für die Unterstützung bei der Erstellung von Abbildung 3. M. K. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für Postdoc-Stipendien.

sind dabei der die Meßzeit bestimmende Faktor. Üblicherweise setzt man als Wartezeit zwischen den Transienten (Scans) etwa das Zwei- bis Dreifache der T_1 -Zeit der Protonen mit den längsten T_1 -Zeiten an^[4]. Gerade bei Molekülen mit extrem langen T_1 -Zeiten („extreme narrowing“, Molekulargewicht $\lesssim 1500$ D; „Mikromoleküle“) führt dies dazu, daß ein Großteil der Gesamtmeßzeit für die Relaxationswartezeit aufgewendet wird. Wir stellen nun eine nachträgliche Prozessierung für NOESY- und ROESY-Spektren vor, die eine enorme Beschleunigung der Aufnahme dieser 2D-Spektren mit einem marginalen Verlust an Signal/Rausch-Verhältnis und an Genauigkeit der Integration ermöglicht. Ein ähnliches Verfahren für die beschleunigte Messung von heteronuclearen T_1 -Zeiten wurde schon 1975 beschrieben^[4].

NOESY- und ROESY-Spektren liefern Kreuzsignale, deren Integrale in der linearen Näherung („initial rate approximation“)^[5] die Kreuzrelaxationsraten zwischen den magnetisch aktiven Kernen widerspiegeln. Diese sind wiederum von der Korrelationszeit τ_c und mit r^{-6} vom Abstand r der wechselwirkenden Kerne abhängig. Dies gilt allerdings nur, wenn das Spinsystem am Anfang eines jeden Scans ins thermische Gleichgewicht zurückgekehrt ist. Eine exakte Lösung der Liouville-von-Neumann-Gleichung^[1a, 6] der unvollständigen Relaxation zum Gleichgewicht im FAST-NOESY-Experiment ergibt für die Intensität des Kreuzsignals zwischen den Spins i und j (I_{ij}^F) in Abhängigkeit von der Wartezeit RD (relaxation delay) zwischen den Scans, der Mischzeit τ_m , der Akquisitionszeit AQ und der Relaxationsmatrix F Gleichung (a).

$$I_{ij}^F = [\exp(-F\tau_m)]_{ij} \sum_{k=1}^N [I - \exp(-F(RD + AQ))]_{jk} = \sum_{k=1}^N [I - \exp(-F(RD + AQ))]_{jk} \quad (a)$$

Der erste Faktor I_{ij} stammt von der Kreuzrelaxation während der Mischzeit τ_m , der zweite von der Relaxation der Spins während der Relaxationswartezeit und der Akquisitionszeit. Ist die T_1 -Zeit eines Kernels ungefähr gleich der Wartezeit oder länger als diese, so sind die Integrale im NOESY-Spektrum wegen unvollständiger Relaxation zu klein. Der zweite Term ist im Gegensatz zum ersten außerdem unsymmetrisch bezüglich eines Vertauschens der Indizes i und j . Somit sind die Kreuzsignalintegrale in NOESY- oder ROESY-Spektren bei kurzem RD wegen der unterschiedlichen Relaxationszeiten ober- und unterhalb der Diagonalen verschieden (Schema 1). Diese Unsymmetrie ist be-



Schema 1. Darstellung der Kreuzrelaxation σ zwischen den Spins S_i und S_j und Verdeutlichen der Tatsache, daß trotz der Identität der Kreuzrelaxationsraten σ_{ij} und σ_{ji} bei kurzen RD-Werten unsymmetrische NOESY- oder ROESY-Spektren resultieren, wenn sich die T_1 -Zeiten der Spins S_i und S_j unterscheiden.

sonders stark bei Kreuzpeaks zwischen Kernen mit sehr verschiedenen T_1 -Zeiten ausgeprägt. Sie wurde bisher für eine quantitative Analyse von NOESY-Spektren mit einer kurzen Relaxationswartezeit als hinderlich eingestuft^[7].

Eine exakte Berücksichtigung der unvollständigen Relaxation im FAST-NOESY-Experiment unter Einbeziehung der Spindiffusion in sogenannten IRMA-Rechnungen^[8] haben wir an anderer Stelle präsentiert^[9]. Hier wollen wir ein Verfahren vorstellen, das die Integrale eines FAST-NOESY-Experiments, I_{ij}^F , auf die eines bei vollständiger Relaxation erhaltenen NOESY-Spektrums, I_{ij} , umrechnet. Die multiexponentielle Relaxation $\sum_{k=1}^N [1 - \exp(-F(RD + AQ))]_{jk}$ für kleine Moleküle, bei denen die Diagonalelemente von F für die T_1 -Relaxation ausschlaggebend sind, läßt in guter Näherung eine Vereinfachung gemäß Gleichung (b) zu.

$$\sum_{k=1}^N [1 - \exp(-F(RD + AQ))]_{jk} = 1 - \exp(-(RD + AQ)/T_1) \quad (b)$$

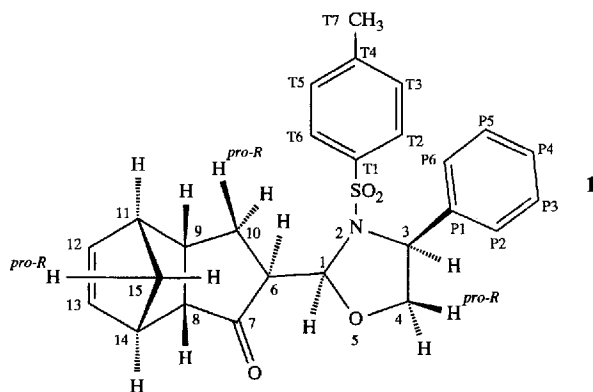
Die T_1 -Zeiten der Protonen in einem Molekül lassen sich durch eine T_1 -Zeitmessung („Inversion-Recovery“) vor der Aufnahme des Kreuzrelaxationsspektrums leicht bestimmen (Tabelle 1). Die Auswertung aller T_1 -Zeiten ist natürlich nur bei aufgelösten eindimensionalen Spektren möglich.

Tabelle 1. T_1 -Relaxationszeiten der Protonen von Verbindung 1 [a].

Proton	T_1	Proton	T_1
1	1.684 (<0.1%)	12	2.533 (<0.1%)
3	1.724 (<0.1%)	13	3.041 (<0.1%)
4 ^{pro-R}	0.782 (0.2%)	14	2.070 (<0.1%)
4 ^{pro-S}	0.665 (1.6%)	15 ^{pro-R}	0.758 (0.1%)
6,8	1.593(0.1%)	15 ^{pro-S}	0.611(1.8%)
9	1.064 (0.1%)	P2-P6, T3, T5	3.200 (<0.1%)
10 ^{pro-R}	0.598 (0.9%)	T2, T6	2.375 (<0.1%)
10 ^{pro-S}	0.603 (0.8%)	T7	1.184 (0.5%)
11	1.794 (0.2%)		

[a] Die Atombezeichnungen sind Schema 2 zu entnehmen. Die T_1 -Relaxationszeiten sind in s angegeben, die jeweiligen Fehler in Klammern. Das Inversion-Recovery-Experiment wurde mit 79 verschiedenen Wartezeiten durchgeführt und mit der T_1 -Routine des Bruker-UXNMR-Programms ausgewertet.

Wir zeigen dieses Verfahren an einem komplexen organischen Molekül (1, Molekulargewicht 450 D, Schema 2) mit positiven NOEs^[10]. Eine Serie von 400 MHz-¹H-NOESY-Spektren mit Wartezeiten von 5.0, 3.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5 und 0.25 s wurde bei 300 K in CDCl₃ mit AQ = 0.53 s und τ_m = 0.5 s, d. h. im linearen Bereich des NOE-Aufbaus (vgl. Lit.^[10]) aufgenommen^[11].



Schema 2. Strukturformel von 1.

Abbildung 2 zeigt Ausschnitte aus diesen Spektren mit den Kreuzsignalen zwischen H-12/H-13 und H-15^{pro-R}/H-10^{pro-S}. Bei RD = 5 s (a und b) sind die Absolutwerte der Integrale ober- und unterhalb der Diagonale fast gleich, bei RD = 0.25 s (c und d) dagegen bis zu einem Faktor drei verschieden. Oberhalb der Diagonale (a und c) stimmen die Kreuzsignalintensitäten überein, weil die T_1 -Relaxationszeiten der Protonen H-10^{pro-S} und H-15^{pro-R} in der Größenordnung von RD + AQ liegen (siehe Tabelle 1).

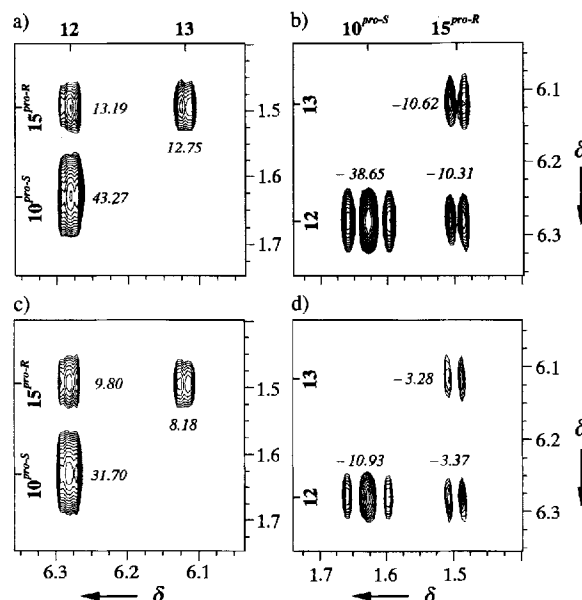


Abb. 2. Kreuzsignale in NOESY- (a und b, RD = 5 s) und FAST-NOESY-Spektren von 1 (c und d, RD = 0.25 s) zwischen H-12/H-13 und H-15^{pro-R}/H-10^{pro-S} ober- (a und c) und unterhalb (b und d) der Diagonale. Die Intensitäten der Kreuzsignale sind kursiv angegeben.

Abbildung 3a zeigt eine statistische Auswertung der Integrale in Abhängigkeit von der Wartezeit RD. Dabei sind für jedes Kreuzsignal die Integralverhältnisse $I_{ij}^F(RD)/I_{ij}(RD = 5 \text{ s})$ aufgetragen. Die Abweichung der Integrale in den FAST-NOESY-Experimenten von den Integralen im Experiment mit RD = 5 s nimmt mit kleiner werdendem RD drastisch zu.

Die Messung der Protonen- T_1 -Zeiten und die Kompensation der Integrale aus dem FAST-NOESY-Experiment gemäß Gleichung (c) liefert die Integrale des bei voller Relaxation erhaltenen

$$I_{ij} = I_{ij}^F / [1 - \exp(-(RD + AQ)/T_1)] \quad (c)$$

nen NOESY-Spektrums, I_{ij} , aus denen des FAST-NOESY-Spektrums, I_{ij}^F . Dies ist in Abbildung 3b gezeigt, für die die FAST-NOESY-Integrale entsprechend umgerechnet wurden. Sie stimmen nun mit denen des NOESY-Experiments weitgehend überein, obwohl für das Experiment mit RD = 0.25 s gegenüber dem Experiment mit RD = 5 s nur 1/20 der Wartezeit aufgewendet werden mußte. Die Abstände, die sich aus den unkorrigierten FAST-NOESY-Integralen I_{ij}^F ergeben, weichen bis zu 15% von den aus dem konventionellen NOESY-Spektrum ermittelten ab. Mit T_1 -Kompensation der FAST-NOESY-Integrale sind die Abstände dagegen innerhalb von $\pm 2\%$ reproduzierbar.

Die hier beschriebene Verkürzung der Meßzeiten für NOESY- und ROESY-Experimente um einen Faktor fünf bis zehn bei annähernd gleicher Genauigkeit in der Abstandsbe-

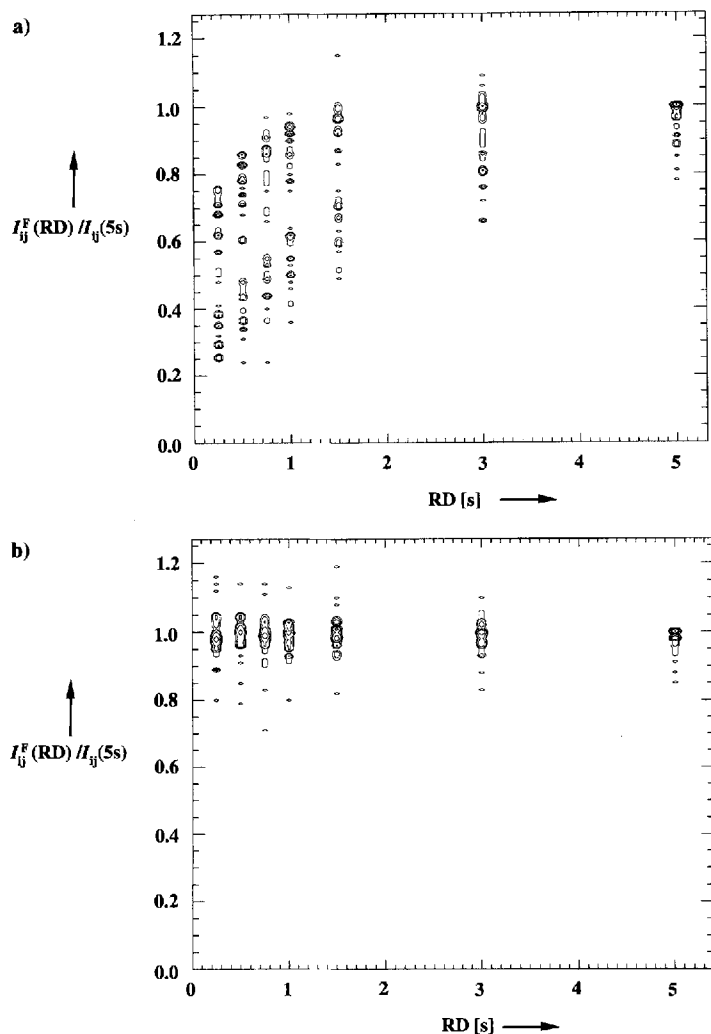


Abb. 3. a) Integralverhältnisse der Kreuzpeaks aus FAST-NOESY-, $I_{ij}^F(RD)$, und NOESY-Experimenten mit $I_{ij}(RD = 5\text{ s})$, in %. Eine Konturliniendarstellung mit einem Faktor zwei zwischen den Konturlinien wurde gewählt, um die Zahl der Integrale innerhalb eines gegebenen Prozentbereichs abzubilden. Ein einmalig vorkommender $I_{ij}^F(RD)/I_{ij}(5\text{ s})$ Wert ist durch genau eine Konturlinie dargestellt, ein n -fach vorkommender durch $\text{trunc}(\lg_2 n)$. Es wurden nur die nichtüberlagerten Kreuzsignale ausgewertet. Insgesamt sind für jeden RD-Wert 46 Intensitäten aufgetragen. Die Integrale in den FAST-NOESY-Experimenten sind zum Teil bis auf 1/5 derer bei vollständiger Relaxation reduziert, was einem Fehler von $\pm 15\%$ in den Abständen entspricht. b) Gleiche Darstellung wie in a), aber unter Berücksichtigung der unvollständigen Relaxation während RD + AQ gemäß Gleichung (c). Die Abweichungen der Integrale sind jetzt nur noch $\pm 10\%$, was einem Fehler in den Abständen von $\pm 2\%$ entspricht.

stimmung gegenüber NOESY-Spektren bei voller Relaxation ermöglicht eine rationellere Nutzung der Spektrometerzeit und damit eine Beschleunigung der Stukturbestimmung. Bei einer Verkürzung der Wiederholungsintervalle des Experiments (RD + AQ) bis zur oder unter die Relaxationszeit T_2 sollte man B_0 -Gradienten in RD verwenden.

Eingegangen am 16. August 1993 [Z 6287]

- [1] a) R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, Clarendon, Oxford, **1987**; b) H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507–554; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 490–536.
- [2] 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.

- [3] a) A. A. Bothner-By, R. L. Stephens, J. Lee, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 811–813; b) A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *63*, 207–213; c) C. Griesinger, R. R. Ernst, *ibid.* **1987**, *75*, 261–271.
- [4] D. Canet, G. C. Levy, I. R. Peat, *J. Magn. Reson.* **1975**, *18*, 199–204.
- [5] D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, VCH, New York, **1989**.
- [6] J. Bremer, G. L. Mendz, W. J. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4691–4696.
- [7] a) H. L. Eaton, N. H. Andersen, *J. Magn. Reson.* **1987**, *74*, 212–225; b) N. H. Andersen, H. L. Eaton, X. Lai, *Magn. Reson. Chem.* **1989**, *27*, 515–528.
- [8] a) R. Boelens, T. M. G. Koning, R. Kaptein, *J. Mol. Struct.* **1988**, *173*, 299–311; b) R. Boelens, T. M. G. Koning, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, R. Kaptein, *J. Magn. Reson.* **1989**, *82*, 290–308.
- [9] M. Köck, C. Griesinger, Vortrag beim 5th Chianti Workshop on Magnetic Resonance, 1993, Pisa, Italien; eine Veröffentlichung ist in Vorbereitung.
- [10] M. Reggelin, H. Hoffmann, M. Köck, D. F. Mierke, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3272–3277.
- [11] Die Spektren wurden mit 16 Scans und 384 reellen Punkten in t_1 (TPPI) und 4 K Punkten in t_2 mit einer spektralen Breite von 3846.15 Hz aufgenommen und auf $1\text{ K} \times 2\text{ K}$ Punkte prozessiert. Vor der Fourier-Transformation wurde eine Apodisierung mit einer quadrierten Cosinusfunktion, nach ihr eine Basislinienkorrektur mit einem Polynom 5. Grades durchgeführt.

Selektive Messung der Zeitabhängigkeit des transienten Overhauser-Effekts in NMR-Spektren; Anwendung auf Oligonucleotide**

Sébastien J. F. Vincent, Catherine Zwahlen und Geoffrey Bodenhausen*

Seit Anil Kumar, Wagner, Ernst und Wüthrich^[1] mit zweidimensionalen NOESY-Spektren^[2] Kreuzpeakamplituden a_{AX} als Funktion der Mischzeit τ_m bestimmt haben, ist bekannt, daß Kreuzrelaxation in Makromolekülen irreführend sein kann und daß die korrekte Interpretation von NOESY-Spektren Spindiffusionseffekte berücksichtigen muß^[3–6]. Spindiffusion kann bei sehr kurzen Mischzeiten τ_m vermieden werden, aber in diesem Fall sind die weitreichenden Overhauser-Effekte, die von entscheidender Bedeutung sind, um Strukturinformationen abzuleiten, zu schwach, um beobachtet zu werden. Wählt man längere Mischzeiten, um schwächere Wechselwirkungen zu erkennen, so werden die stärksten Dipol-Dipol-Kopplungen so dominant, daß die Magnetisierung sofort zwischen den nächsten Nachbarn durch Spindiffusion übertragen wird. Eine korrekte Interpretation ist nur möglich, wenn man den Gesamteffekt aller Kreuzrelaxationsgeschwindigkeiten σ_{ij} in Betracht zieht, so daß alle direkten und indirekten Transfers der longitudinalen Magnetisierung angemessen berücksichtigt werden. Diese Beschreibung ist als Methode der vollen Relaxationsmatrix bekannt geworden^[7]. Obwohl einige Autoren^[8–10] glauben, daß ein einziges NOESY-Spektrum von hoher Qualität, das mit einer passend ausgesuchten Mischzeit erhalten wurde, ausreicht, scheint die Mehrheit der Forscher überzeugt, daß nur die Aufnahme umfassender Aufbauplots sinnvolle Vergleiche zwischen Molekülmodellen und Experimenten ermöglicht. Kürzlich wurde gezeigt, daß durch die „Linear-prediction“-Methode und die Einzelwertzerlegung^[11] eine Aufbaukurve, die einem

[*] Prof. Dr. G. Bodenhausen, S. J. F. Vincent, C. Zwahlen
Section de Chimie, Université de Lausanne
Rue de la Barre 2, CH-1005 Lausanne (Schweiz)
Telefax: Int. + 21/316-3728

[**] Wir danken Dr. Philip Bolton (Wesleyan, Connecticut) und Dr. Jane Withka (Pfizer, New London, Connecticut) für eine DNA-Probe, anregende Diskussionen und Berechnungen. Diese Arbeit wurde vom Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) und von der Commission pour L'Encouragement de la Recherche Scientifique (CERS) gefördert.