

203. Kombinierte Anwendung von NOE-Experiment und Molekül-Mechanik-Rechnungen zur Lösung eines stereochemischen Problems

von Peter Bigler*

Institut für organische Chemie der Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

und Marina Tintelnot

Victorian College of Pharmacy, 381 Royal Parade, Parkville, Victoria/Australia 3052

(10.VIII.87)

Combined Application of NOE Experiment and Force-Field Calculations for the Solution of a Stereochemical Problem

The determination of NO effects using modern NMR techniques yields valuable information on internuclear distances in molecules. The correct interpretation of these effects in highly flexible molecules with anisotropic internal motions can be improved in reliability and efficiency by the concomitant application of force field calculation. The evaluation of an additional parameter from the results of such a calculation, which can directly be correlated with the experimental data, is demonstrated. Nevertheless, inherent problems in both the NOE measurements and molecular mechanics should be taken into account for a careful interpretation of the results.

1. Einleitung. – NOE-Daten [1] gehören neben Kopplungskonstanten zu den wohl wichtigsten NMR Parametern zur Strukturbestimmung von Molekülen in Lösung. Aufgrund unterschiedlicher (Kern-Kern)-Wechselwirkungsmechanismen haben diese beiden Parameter in bezug auf die Molekülstruktur komplementären Charakter. Moderne Messmethoden haben sowohl die Selektivität als auch die Genauigkeit bei der Erfassung von NOE-Parametern verbessert. Preiswerte und leistungsstarke Kleinrechner ermöglichen heute andererseits die vermehrte Anwendung von Computerprogrammen, zur Bestimmung von Konformationen mittels Molekül-Mechanik- oder Kraftfeld-Rechnungen [2].

In der vorliegenden Arbeit soll am Beispiel eines einfachen, in seiner Dynamik allerdings schon komplizierteren Moleküls gezeigt werden, wie mit solchen Kraftfeld-Rechnungen zusätzliche Parameter gewonnen und mit den experimentellen NOE-Daten korreliert werden können. Die rechnerischen und experimentellen Resultate sollen kritisch gewertet und die Probleme dieses Verfahrens aufgezeigt werden.

Da bei den isolierten diastereoisomeren (4*R*,1'*S*)- und (4*R*,1'*R*)-4-(1'-Iodoethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolanen (**1** bzw. **2**) (*Fig. 1*)¹⁾ sowohl die unterschiedlichen chemischen Verschiebungen in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren als auch die Unterschiede bei den skalaren (¹H,¹H)-Kopplungskonstanten zur zweifelsfreien Abklärung nicht ausreichten, wurden moderne NOE-Experimente [3] eingesetzt. Obschon solche Messungen heute relativ einfach durchzuführen sind, ist bei der Interpretation der Resultate grösste Vor-

¹⁾ Die C-Atom-Numerierung in *Fig. 1* entspricht nicht den IUPAC-Regeln.

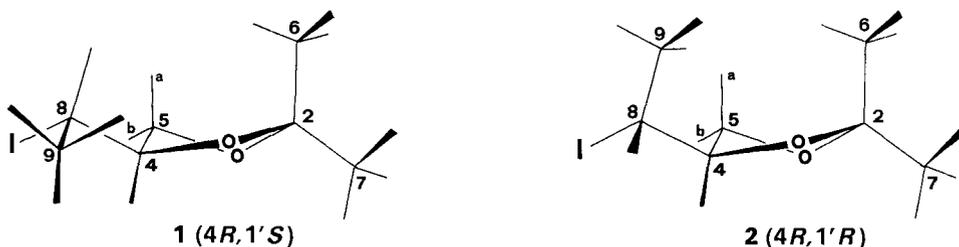


Fig. 1. Modelle der Dioxolane **1** (4R,1'S) und **2** (4R,1'R). Es ist das jeweils stabilste Rotamere (Rotationsachse C(4)–C(8)) dargestellt. Um den Eindruck für die räumlichen Verhältnisse zu verbessern, sind die (C–H)-Bindungen durch Striche markiert.

sicht am Platz. So sind zuverlässige quantitative Aussagen über (Kern-Kern)-Abstände, etwa aus 'steady-state'-NOE-Daten [1], nur in einfachen Fällen und unter Einhaltung einer ganzen Reihe von Voraussetzungen [4] möglich. Das vielfältige Zusammenwirken mehrerer Kerne und die gerade bei flexiblen Molekülen stark anisotropen Relativbewegungen der Kerne untereinander sind die Ursachen für die schon bei kleinen Molekülen extrem komplexen Ausdrücke für das Relaxationsverhalten und die damit ausgelösten NOE-Effekte. Andererseits liegen, bedingt durch die oft langen Messzeiten, häufig bloss Einzelmessungen vor, und sogenannte 'long-range'-Effekte sind meist klein. Diese Tatsachen bewegen uns, zur Beantwortung der vorliegenden strukturellen Fragestellung bewusst von einer Überinterpretation der Messresultate abzusehen. Nur signifikante und gesicherte Unterschiede im NOE-Verhalten der beiden Moleküle sollten betrachtet werden. Weiter sollte auf der anderen Seite auf eine mehr oder weniger gefühlsmässige Gewichtung all der interatomaren Wechselwirkungen verzichtet und stattdessen die Konformationen mittels Molekül-Mechanik-Rechnungen analysiert werden.

2. Resultate. – Die theoretische Bestimmung der Konformation erfolgte mittels Molekül-Mechanik-Berechnungen, die mit Hilfe des SYBYL-Programmpaketes [6] ausgeführt wurden. Die zu untersuchenden Verbindungen wurden zunächst unter Verwendung von Standard-Bindungslängen und -Bindungswinkeln aufgebaut. Die Geometrie der so erhaltenen groben Ausgangsstruktur wurde mittels MAXIMIN optimiert, einer Methode im SYBYL-Programm, die eine Minimierung aufgrund des Simplex-Algorithmus durchführt und bestimmte Optionen wie Fixierung von Geometrien oder Teilstrukturen, Spezifizierung drehbarer Bindungen, Vorgabe fester Abstände und ähnliches erlaubt. Ausgehend von dieser geometrie-optimierten Struktur wurden systematische Konformationsuntersuchungen mit Hilfe von SEARCH für die Lage der Seitenkette durchgeführt. Durch Drehung um die Bindung C(4)–C(8) in 15°-Schritten wurden dabei alle nach *van-der-Waals-Kriterien* möglichen Konformationen und deren Energien berechnet. Die Strukturen der dabei erhaltenen drei günstigen Konformationen wurden wiederum mittels MAXIMIN optimiert. Die Resultate dieser Rechnungen sind in Fig. 2 wiedergegeben. Die dabei errechnete Energie setzt sich aus einem Potential für die Bindungslängenspannung, die Winkelspannung, die Torsionsspannung und für nicht-bindenden Wechselwirkungen zusammen (ausgezogene Quadrate; Tab. 1). Die zusätzliche Berücksichtigung der elektrostatischen Wechselwirkung, basierend auf Partiaalladungen, die nach der topologischen Methode von Gasteiger und Marsili [6] berechnet wurden, führte zu den

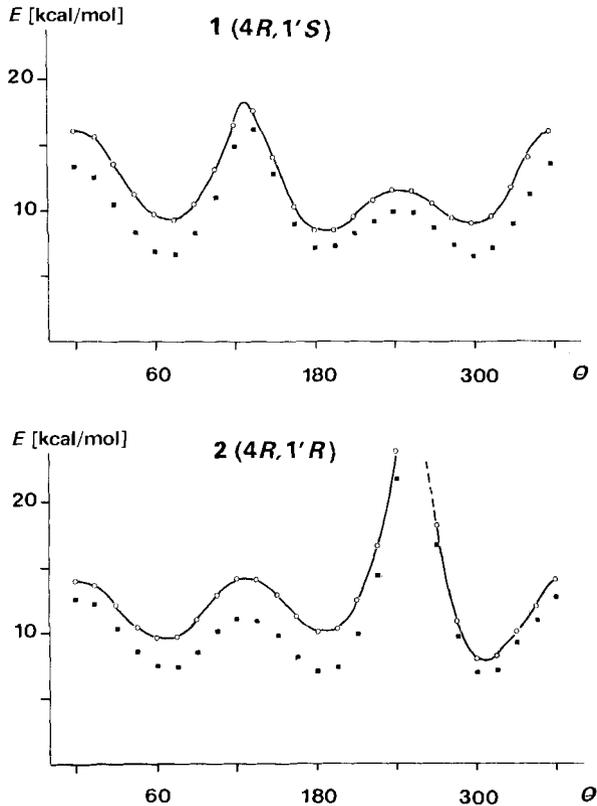


Fig. 2. Energieprofile für **1** und **2** bei Rotation der Seitenkette um die Achse C(4)–C(8). Die Energie ist in Abhängigkeit des Diederwinkels θ (Winkel zwischen den Verbindungsvektoren C(4)–C(5) und C(8)–C(9), im Uhrzeigersinn (cw) gemessen) aufgetragen. Die Energie setzt sich aus Potentialen für Bindungslängen-, Winkel- und Torsionsspannung sowie für nicht-bindende Wechselwirkungen zusammen (ausgezogene Quadrate). Die ausgezogene Kurve resultiert die zusätzlicher Berücksichtigung der elektrostatischen Wechselwirkung.

Tab. 1. Resultate der Molekül-Mechanik-Rechnung für **1** und **2**; Energien für die drei Rotamere ohne und mit Berücksichtigung des elektrostatischen Wechselwirkungsterms; relative Populationen

	θ	1 (4R,1'S)	2 (4R,1'R)
Energie ohne el. stat. Term [kcal/mol]	60	6,50	7,20
	180	7,10	6,85
	300	6,55	6,80
Energie mit el. stat. Term [kcal/mol]	60	9,05	9,25
	180	8,05	9,90
	300	8,90	7,75
Populationen [%]	60	13	7
	180	71	2
	300	16	91

ausgezogenen Potentialkurven. Aus den Energiedifferenzen zwischen den drei bevorzugten Rotameren wurden mit Hilfe des Boltzmann'schen Verteilungsgesetzes die relativen Populationen dieser drei Rotameren bestimmt. Daraus und aus den für die drei bevorzugten Rotameren erhaltenen interatomaren Abständen zwischen den Protonen H₁ und H₅ wurden gewichtete Abstände $\overline{r_{IS}}$ berechnet:

$$\overline{r_{IS}} = [p(1) \cdot r_{IS}^{-6}(1) + p(2) \cdot r_{IS}^{-6}(2) + p(3) \cdot r_{IS}^{-6}(3)]^{-1/6} \quad (1)$$

Die Gewichtung berücksichtigt die relativen Populationen p(1), p(2), p(3) der drei Rotamere und die Tatsache, dass NOE zwischen zwei Kernen I und S im Abstand r_{IS} eine r⁻⁶-Abhängigkeit zeigen [1]. Zur Erfassung des kumulativen Effektes der H-Atome H_{S1}-H_{S3} einer CH₃-Gruppe wurde für jedes Rotamere zuerst über alle Abstände r_{IS1}, r_{IS2} und r_{IS3} summiert:

$$r_{IS}^{-6} = \sum_{i=1}^3 r_{IS_i}^{-6} \quad (2)$$

Die damit erhaltenen gewichteten Abstände sind in Tab. 2 wiedergegeben. Dieser reduzierte Datensatz erleichtert den Vergleich der theoretischen Daten und die Interpretation bei der Gegenüberstellung mit den experimentellen NOE-Werten (Tab. 3). Es muss aber hier ausdrücklich davor gewarnt werden, aus der Abstandstabelle (Tab. 2) NOE-Werte zu berechnen. Bedingt durch die Flexibilität des Moleküls (Drehung der Seitenkette,

Tab. 2. Resultate der Molekül-Mechanik-Rechnung für 1 und 2: Gewichtete (Proton-Proton)-Abstände (Abstände [Å])

H-C(1)	1 (4R,1'S)						2 (4R,1'R)							
	H-C(4)	H _a -C(5)	H _b -C(5)	H-C(6)	H-C(7)	H-C(8)	H-C(9)	H-C(4)	H _a -C(5)	H _b -C(5)	H-C(6)	H-C(7)	H-C(8)	H-C(9)
H-C(4)	2,3	2,9	3,6	3,3	2,8	2,6		2,3	2,9	3,6	3,3	2,5	3,0	
H _a -C(5)		1,8	3,6	3,2	3,4	3,0			1,8	3,6	3,2	3,9	2,9	
H _b -C(5)			2,4	3,9	2,5	2,2				2,4	3,9	3,1	1,8	
H-C(6)				2,2	2,6	2,2					2,2	3,4	1,7	
H-C(7)					4,2	4,0						4,4	3,9	
H-C(8)						2,1							2,1	
H-C(9)														

Tab. 3. Gemessene 'steady-state'-NOE-Werte (in %) für die Fraktionen A und B. Die Werte wurden auf 100%-Sättigung des bestrahlten Kernes umgerechnet und auf die Intensität des entsprechenden Protons im Referenz-Spektrum bezogen.

H-C(1)	A							B						
	H-C(4)	H _a -C(5)	H _b -C(5)	H-C(6)	H-C(7)	H-C(8)	H-C(9)	H-C(4)	H _a -C(5)	H _b -C(5)	H-C(6)	H-C(7)	H-C(8)	H-C(9)
Bestrahlt														
H-C(4)		+ ^{a)}	2,3		0,4	-0,6	0,7	+ ^{a)}	3,3 ^{b)}	0,6 ^{b)}	0,7 ^{b)}	?)	2,4 ^{b)}	
H _a -C(5)	+ ^{a)}		26,5		0,3			+ ^{a)}	17,2		0,6			
H _b -C(5)	2,8	24,0		0,3		3,6		+	16,6		0,3		3,3	0,9
H-C(6)	1,2		3,3		1,7	4,6		1,4		1,7		1,4		0,5
H-C(7)	4,9	3,8		1,6				4,1	2,9		1,3			
H-C(8)	-1,8		3,8	0,4			1,3	? ^{a)}	+	3,3 ^{b)}	0,6 ^{b)}	0,7 ^{b)}		2,4 ^{b)}
H-C(9)	6,6					14,8		4,6		5,4	0,7		2,1	

^{a)} Unterschied der chemischen Verschiebung zwischen bestrahltem und beobachtetem Proton klein. +: positiver NOE sichtbar, ?: keine Aussage möglich.

^{b)} Sehr kleiner Unterschied der chemischen Verschiebungen der Protonen H-C(4) und H-C(8). Keine selektive Bestrahlung möglich.

Rotation der CH_3 -Gruppen, Dynamik im Fünfring), ist mit unterschiedlichen Korrelationszeiten für die verschiedenen Verbindungsvektoren individueller Kernpaare zu rechnen. Die Werte dieser Korrelationszeiten sind nicht bekannt, beeinflussen aber andererseits die NOE's.

Zur Bestimmung der steady-state NOE-Daten wurde das kürzlich vorgeschlagene Verfahren der Einzellinienbestrahlung [3] eingesetzt. Dabei werden die einzelnen Linien eines Protonenmultipletts in rascher Folge nacheinander und mehrmals wiederholt mit sehr kleiner Entkoppler-Leistung bestrahlt. Im Anschluss an diese NOE-Aufbauperiode wird das gesamte Spektrum nach Applikation eines Beobachtungsimpulses detektiert. Während der Datenaufnahme wird der Entkoppler ausgeschaltet. Das Verfahren zeichnet sich damit durch hohe Selektivität, hohe Effizienz und die Unterdrückung von störenden SPT-Effekten [7] aus. Die NOE-Effekte werden zudem im Differenz-Verfahren [4] gemessen, womit auch kleinste Effekte noch gut sichtbar werden. Die Differenz-Signale sowohl der bestrahlten als auch der NOE-Effekte zeigenden Kerne werden integriert, die Intensitätswerte wie üblich auf 100% Sättigung des bestrahlten Kerns korrigiert und auf das entsprechende Signal im Referenz-Spektrum bezogen. Die damit erhaltenen NOE-Werte (in %) sind in *Tab. 3* aufgeführt.

Zur Interpretation wurden zudem die vicinalen Kopplungskonstanten $^3J(\text{H}-\text{C}(4), \text{H}-\text{C}(8))$ für beide Isomere mit Hilfe einer Computerspinsystem-Analyse [8] bestimmt. Die Werte für die Isomeren A und B betragen 8,9 Hz bzw. 5,4 Hz.

3. Diskussion und Interpretation. – Die experimentellen Resultate (*Tab. 3*) widerspiegeln die normalerweise beobachtete grosse Band-Breite der NOE-Daten. Den relativ grossen Wert für geminale stehen Werte unter einem Prozent für 'long-range'-Wechselwirkungen gegenüber. Letztere sind mit grösseren Fehlern behaftet, insbesondere wenn bloss Einzelmessungen vorliegen. Werden, wie in diesem Fall, zudem Resultate von Messungen an verschiedenen Proben verglichen, ist zusätzliche Vorsicht am Platz. Eine exakte quantitative, allein auf diesen Daten basierende Analyse ist in dieser Situation unmöglich. Dazu müssten insbesondere die Messungen mehrmals wiederholt und somit wesentlich längere Messzeiten in Kauf genommen werden. Wir verzichteten deshalb auf eine streng quantitative Interpretation auf dieser Stufe, zumal dazu natürlich auch Mehrspin-Effekte [1] [4] mitberücksichtigt werden müssen. Wir suchten stattdessen unter den für die Lösung des Problems relevanten NOE-Wechselwirkungen zwischen Protonen der Seitenkette und des Fünfrings signifikante und gesicherte Unterschiede für entsprechende Kernpaare in den Diastereoisomeren A und B. In diesem einfachen Molekül genühten bloss drei solche Unterschiede diesen Kriterien. Diese sind in der dritten Spalte, die daraus gezogenen Folgerungen in der vierten Spalte der *Tab. 4* angegeben.

Tab. 4. Signifikante Unterschiede der NOE-Werte (Tab. 3). Folgerungen und Zuordnung aufgrund eines Vergleichs mit den berechneten Daten (Tab. 2).

Bestrahlt H-C(I)	Beobachtet H-C(S)	NOE		Folgerungen Abstand H-C(I)-H-C(S)	Zuordnung
		A	B		
H _b -C(5)	H-C(9)	nein	ja		A: 4R,1'S
H-C(9)	H _b -C(5)	nein	ja	A > B	B: 4R,1'R
H-C(6)	H-C(8)	ja	nein	A < B	A: 4R,1'S B: 4R,1'R

Das verwendete Programm-Paket für Molekül-Mechanik-Rechnungen zeichnet sich durch die Vorteile Geschwindigkeit, Einfachheit, gute Wiedergabe der Energie-Minima und gute Übereinstimmung mit experimentellen (Röntgenstruktur-Analyse) Daten aus. Andererseits sind die berechneten Energien bloss relative Grössen, sind Molekül-Deformationen, bedingt durch elektronische Effekte, nicht nachvollziehbar und wird bei der Energie-Minimierung stets nur das nächste Minimum gefunden.

Fig. 2 zeigt die Resultate der Molekül-Mechanik-Rechnungen einerseits ohne, andererseits mit Berücksichtigung eines Potentials für elektrostatische Wechselwirkungen. Für beide Isomere und beide Berechnungsarten treten wie erwartet Energie-Minima bei Diederwinkeln nahe bei 60, 180 und 300 Grad auf (*Tab. 1*). Es fällt sofort auf, dass einerseits die Unterschiede dieser Energie-Minima, wie vermutet, und nach beiden Berechnungsarten klein sind (< 1 kcal/mol). Andererseits werden die Energien der drei stabilsten Rotamere durch den elektrostatischen Zusatzterm unterschiedlich beeinflusst. Dies macht die Berechnung von relativen Populationen unsicher, zumal auftauchende Fragen nach der Güte und Zuverlässigkeit des gewählten Rechenprogramms oder auch des tatsächlichen Gewichtes des elektrostatischen Zusatzterms nicht einfach zu beantworten sind. Ein weiterer Unsicherheitsfaktor, angesichts der doch eher kleinen Energie-Unterschiede, stellen zusätzliche, von solchen Modellen unberücksichtigte (z. B. intermolekulare) Wechselwirkungen dar. Trotz dieser Probleme, oder vielleicht gerade wegen ihrer Manifestation bei diesem Vorgehen, sind wir überzeugt, dass solche Rechnungen durchaus sinnvoll und nützlich sind. Erst ihre Kenntnis lässt die nötige Sorgfalt und Vorsicht bei der Interpretation der Resultate walten. Da eine elektrostatische Wechselwirkung insbesondere zwischen I- und den Ring-O-Atomen angenommen werden muss, beschränkten wir uns auf die Resultate mit Berücksichtigung dieses Terms (ausgezogene Kurven in *Fig. 2*). Er ist bei beiden Isomeren letztlich für die Populationsverhältnisse entscheidend und jeweils für das stabilste Rotamere minimal. Dieses stabilste Rotamere ist in beiden Fällen mit derjenigen Anordnung identisch, in welcher der Abstand zwischen I- und den beiden O-Atomen im Fünfring maximal ist (*Fig. 1*). Der Diederwinkel zwischen den beiden Verbindungsvektoren C(8)–I und C(4)–C(5) beträgt 60° (cw)². Es scheint, dass die elektrostatische Abstossung zwischen den freien Elektronenpaaren an I- und den O-Atomen diese Rotamere begünstigt. Für die unterschiedlich hohen Rotationsbarrieren ist der elektrostatische Term zwar mitbestimmend, aber nicht entscheidend. Es fällt auf, dass die Barrieren bei Rotation um die Bindung C(4)–C(8) hoch sind, wenn die CH₃-Gruppe der Seitenkette, insbesondere aber das I-Atom, nahe an die CH₂-Protonen von C(5) zu liegen kommen. Besonders hoch ist die Barriere für **2**, wenn das I-Atom in Nachbarschaft zu diesen CH₂-Protonen zu liegen kommt und die CH₃-Gruppe der Seitenkette gleichzeitig in Wechselwirkung mit einem der O-Atome tritt. Soweit erscheinen die Resultate der Rechnung durchaus plausibel. Stellt man nun die daraus abgeleiteten Parameter (doppelt gewichtete (Kern-Kern)-Abstände) der *Tab. 2* den Folgerungen aus den experimentellen Resultaten in *Tab. 4* gegenüber, so lässt sich doch, trotz der erwähnten Probleme, eine vorsichtige Zuordnung treffen. Die zwar wenigen Daten weisen immerhin alle auf eine Zuordnung der Komponenten A zu **1** und von B zu **2** hin. Diese wird durch die vicinalen Kopplungskonstanten $^3J(\text{H}-\text{C}(4), \text{H}-\text{C}(8))$ von 8,9 Hz für A und

²) Im Uhrzeigersinn ('clockwise') gemessen.

5,4 Hz für B gestützt. Mit Hilfe der Molekül-Mechanik-Rechnungen erhaltene gewichtete Diederwinkel zwischen den Verbindungsvektoren H–C(4) und H–C(8) betragen für **1** 145° (cw) und für **2** 69° (cw). Bei Zuordnung von A zu **1** und von B zu **2** kommen damit die entsprechenden Wertepaare (Diederwinkel, vicinale Kopplungskonstante) in die nach der *Karplus-Conroy*-Beziehung erwarteten Bereiche zu liegen.

Die vorliegende Arbeit zeigt die kombinierte Anwendung von modernen NMR-Experimenten zur Bestimmung von 'steady-state'-NOE-Werten und Molekül-Mechanik-Rechnungen zur Lösung eines stereochemischen Problems an einem einfachen, allerdings flexiblen Molekül. Die Berechnung von zusätzlichen, direkt mit den experimentellen Daten zu korrelierenden Parametern wird aufgezeigt. Eine kritische Wertung der Resultate zeigt, dass zwar der Einsatz von Molekül-Mechanik-Rechnungen durchaus nützlich und sinnvoll ist, dass aber bei der Interpretation ihrer Resultate aus verschiedenen Gründen Vorsicht am Platz ist. Das gleiche gilt für die experimentellen Resultate, wo die Probleme durch verbesserte Messmethoden zwar entschärft aber nicht beseitigt werden konnten. Für einigermaßen gesicherte Aussagen können deshalb auf NOE-Daten abgestützte Resultate in solchen Fällen bloss ein wichtiges aber nicht hinreichendes Kriterium sein.

Prof. R. Scheffold und Dr. P. Stamouli sei an dieser Stelle für die zur Verfügung gestellten Substanzen gedankt.

Experimentelles. – *Probenzubereitung.* Die Verbindungen (*4R,1'S*)- und (*4R,1'S*)-4-(*Iodoethyl*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane (**1** (36 mg) bzw. **2** (90 mg)) wurden in je 0,5 ml CDCl₃ gelöst. Die Lsg. wurden je einige min mit trockenem N₂ gespült.

Gerät und Messparameter. Die ¹H-NMR-Spektren wurden bei 20° auf einem 400-MHz-Bruker-AM-400-Spektrometer ausgerüstet mit *Aspect 3000* und 'Process-Controller' gemessen. Die Spektralbreite betrug 2160 Hz und die Transformationsgrösse war 32 K, entsprechend einer digitalen Auflösung von 0,132 Hz/Punkt. Bei 8 Einzelexperimenten mit verschiedenen Einstrahlfrequenzen wurden insgesamt 1280 (8 × 160) Durchgänge akkumuliert (Messzeit 6,3 h). NOE-Bestrahlungszeit = 10 s, partielle Bestrahlungszeit pro Einzellinie = 0,2 s, Entkopplerleistung = 50 L. Pulswinkel des Beobachtungsimpuls = 14 µs (90° Impuls).

Molekül-Mechanik-Rechnung. Es wurde das 'Molecular-Modeling'-Programmpaket SYBYL [6] und dessen MAXIMIN-Option (Minimisierung aufgrund des SIMPLEX Algorithmus) verwendet. Die systematische Konformationsuntersuchung erfolgte mittels SEARCH aufgrund von *van-der-Waals*-Kriterien und ist im Text beschrieben. Die Berechnungen wurden an einem VAX-11/730-Computer in Kombination mit einem *E-α-S-PS-300*-Graphik-System am Pharmazeutischen Institut der Universität Bern durchgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. H. Noggle, R. F. Schirmer, 'The Nuclear Overhauser Effect', Academic Press, New York, 1971.
- [2] D. B. Boyd, K. B. Lipkowitz, *J. Chem. Educ.* **1982**, *59*, 269; E. Osawa, H. Musso, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 1.
- [3] D. Neuhaus, *J. Magn. Reson.* **1983**, *53*, 109; D. Neuhaus, R. N. Sheppard, I. R. C. Bick, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5996; M. Kinns, J. K. M. Sanders, *J. Magn. Reson.* **1984**, *56*, 518.
- [4] J. K. M. Sanders, J. D. Mersh, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1983**, *15*, 353; J. K. M. Sanders, B. K. Hunter, 'Modern NMR Spectroscopy', Oxford University Press, Oxford, 1987.
- [5] *Tripos Associates*, Inc. St. Louis, Missouri, USA.
- [6] J. Gasteiger, M. Marsili, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 3219.
- [7] K. G. R. Pachler, P. L. Wessel, *J. Magn. Reson.* **1973**, *12*, 337.
- [8] *Bruker Aspect 3000 Software Manual* 1985, NMR Simulation and Iteration.