

Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften des PBLGs und PBDGs



TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
DARMSTADT

Vom Fachbereich Chemie
der Technischen Universität Darmstadt

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

genehmigte

kumulative Dissertation

eingereicht von

Dipl.-Chem. Andreas Marx
aus Köthen (Anhalt)

Referent:	Dr. Christina M. Thiele
Korreferenten:	Prof. Dr. Gerd Buntkowsky, PD Dr. B. Luy
Tag der Einreichung:	22.Oktober.2009
Tag der mündlichen Prüfung:	07.Dezember.2009

Darmstadt 2009

D17



Gewidmet meinen wichtigsten Lehrern

Bärbel Schmidchen

und Manfred Hampe



Die vorliegende Arbeit wurde am Clemens-Schöpf-Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität Darmstadt unter der Leitung von Frau Dr. Christina Thiele in der Zeit von Oktober 2005 bis April 2009 durchgeführt.

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht oder zur Veröffentlichung eingereicht:

- [1] A. Marx, C. M. Thiele, *Orientalional Properties of Poly- γ -benzyl-L-glutamate: Influence of Molecular Weight and Solvent on Order Parameters of the Solute*, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 254.

- [2] A. Marx, V. Schmidts, C.M. Thiele, *How different are diastereomorphous orientations of enantiomers in the liquid crystalline phases of PBLG and PBDG: A case study*, *J. Magn. Res.* **2009**.

- [3] A. Marx, B. Böttcher, C. M. Thiele, *Enhancing the orienting properties of PBLG by means of additives*, *Chem. Eur. J.* **2009**, DOI: 10.1002/chem.200902287.



Danksagung

Mein besonderer Dank gilt **Dr. Christina M. Thiele** für ihre schier unendliche Geduld, das große in mich gesetzte Vertrauen, die vielen Freiheiten bei der Bearbeitung des Themas und den steten Rückhalt über den gesamten Zeitraum meiner Arbeit – tiefsten Dank für die insgesamt schöne und lehrreiche Zeit!

Ein großer Dank gilt ebenfalls meinen Arbeitskreiskollegen **Benjamin Böttcher**, **Volker Schmidts** und **Tobias Montag** für den vielen Spaß, die gute Atmosphäre, den vielen hilfreichen und anregenden Diskussionen sowie den stets geduldigen Erklärungen der NMR-Spektroskopie (Benjamin Böttcher) sowie Kommandozeilen-basierten Software-Anwendungen (Volker Schmidts).

Mein tiefster Dank gilt ebenfalls **Prof. Dr. Michael Reggelin** für sein stetes Interesse an meiner Arbeit und die Überlassung einen seiner Arbeitsplätze. Neben den fachlichen Dingen danke ich ihm ebenfalls von tiefstem Herzen für die unvergesslichen Abende voller Punk, Trash und Skurrilem.

Dem gesamten Arbeitskreis Reggelin danke ich für die freundliche Aufnahme den vielen Spaß und die stete Unterstützung. Besonderen Dank gilt meinen ehemaligen Laborkollegen **Nils C. Meyer**, **Vibeke Petersen**, **Jakob Schilling** und **Jochen Kühl**. Nicht minder möchte ich alle restlichen Arbeitskreismitglieder danken: **Manuel Hamburger**, **Jan Philipp Kaiser**, **Johannes Scholz**, **Anna Karina Möller**, **Nina Zipf**, **Lena Arnold**, **Oliver Müller**, **Frank Gerstmann**, **Christian Mehler**, **Hannes Koolman**, **Dr. Stefan Immel**, **Volker Spohr**, **Thomas Hirn**, **Timo Hoffart**, **Stefan Slavik**, **Philipp Viehmann**, **Gregor Nemecek**, **Julia Fuchs** und **Alexis Krupp**. Nicht zu vergessen **Philipp Czechowski** und **Ulrike Rosenträger** für die Unterstützung in Sachen Analytik.

Ein weiterer Dank geht ebenfalls an die Serviceabteilungen für die Aufnahmen der NMR-Spektren (**Herr Dr. R. Meusinger**, **Frau K. Jungk**, **Herr K. Runzheimer**), der Elementaranalysen (**Frau Foro**) sowie der Massenspektren (**Frau C. Rudolph**).

Für die kräftige und unkomplizierte Unterstützung vor allem in der Anfangsphase dieser Arbeit möchte ich ganz herzlich dem Analytik-Service-Team des MPI für Polymerforschung in Mainz, im Speziellen **Frau C. Rosenauer** und **Frau S. Seywald**, sowie **Herrn F. Gores** vom Polymer Standard Service (PSS) in Mainz danken.

Für die vielen hilfreichen Diskussionen und Erläuterungen, ohne die wichtige Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen wären, danke ich ebenfalls **Herrn Prof. Dr. T. J. Deming**, **Herrn Prof. Dr. E. Samulski** sowie **Herrn Prof. Dr. H. Schlaad**.

Für das in mich gesetzte Vertrauen, die ideelle sowie auch finanzielle Unterstützung in Form von Studiums- und Promotionsstipendien danke ich recht herzlich dem gesamten Team der **Degussa-** bzw. **Evonik-Stiftung** sowie dem **Fond der chemischen Industrie** (FCI).

Meine ehemaligen Leipziger Kollegen möchte ich für den – trotz spärlicher Zeit meinerseits – immer noch währenden Kontakt danken. Danke an **Andreas Tschöp**, **Jörg Hanrieder**, **Daniel Knappe**, **Carolin Limburg**, **Enzo Mai**, **Michael Riedel**, **Steffen Wolf** und **Marcel Sieckert**.

Außerhalb der Chemie blieb in den vergangenen vier Jahren eher wenig Zeit. Umso tiefer danke ich **Hagen Glatzel** und **Christoph Götze** für ihre Geduld und ihre Freundschaft!

Zum Schluss danke ich vom tiefsten Herzen meiner Freundin **Regina Sander**, die auch in frustrierenden Abschnitten meiner Arbeit mich fortwährend unterstützt und aufgemuntert hat.



*Die Langsamen der Erkenntnis
glauben, die Langsamkeit gehöre
zur Erkenntnis.*

Friedrich Nietzsche,
„Die fröhliche Wissenschaft“



1. Einleitung	1
2. Die Bestimmung der Struktur organischer Moleküle mit Hilfe der NMR-Spektroskopie	
2.1 Die Bestimmung der Konnektivität (Konstitution)	3
2.2 Die Bestimmung der räumlichen Struktur (Konfiguration/Konformation)	5
2.3 Konventionelle konformations- und konfigurationsrelevante NMR-Parameter	
2.3.1 Winkelinformationen aus skalaren Kopplungen (3J und 2J)	6
2.3.2 Abstandsinformationen aus dem Nuclear Overhauser Effekt (NOE)	7
2.3.3 Projektionswinkelinformationen aus dipolar-kreuzkorrelierter Relaxation (CCR)	9
2.4 Residuale Dipolare Kopplungen (RDCs)	11
2.4.1 Anwendungsbeispiele von RDCs in der Strukturbestimmung	19
3. Orientierungsmedien	
3.1 Flüssigkristalline Phasen (LC Phasen)	22
3.1.1 Definition und Eigenschaften flüssigkristalliner Phasen	22
3.1.2 Die kritische Konzentration lyotroper flüssigkristalliner Phasen	30
3.1.3 Nicht-wässrige LC Phasen als Orientierungsmedium	36
3.1.4 Wässrige LC Phasen als Orientierungsmedium	42
3.2 Gestreckte und gestauchte Gele (SAG)	43
4. Aufgabenstellung	49
5. Kumulativer Teil der Dissertation	
5.1 Synthese und Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften von PBLG	51
5.2 Quantitative Bestimmung des Unterschieds in der Orientierung im Falle des Isopinocampheols in der LC Phase des PBLGs und PBDGs	59
5.3 Der Einfluss von Additiven auf die Orientierungseigenschaften des PBLGs sowie den Grad der Enantiodifferenzierung des IPCs	67
6. Zusammenfassung	85

7. Ausblick	89
8. Literatur	92

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Übersicht über die wichtigsten NMR-Experimente zur Bestimmung der Konstitution.
- Abbildung 2:** Die Abhängigkeit der 3J -Kopplungskonstante vom Diederwinkel θ entsprechend der klassischen Karplus-Beziehung $^3J_{\text{HH}} = A + B\cos(\theta) + C\cos(2\theta)$
- Abbildung 3:** Schematische Darstellung eines Zweispinsystems. Links: Orientierungsabhängigkeit der dipolaren Kopplung zweier Kernspins. Rechts: Energiediagramm eines Zweispinsystems, mit den für den NOE-Effekt essentiellen ZQ- und DQ-Übergängen.
- Abbildung 4:** Schematische Darstellung von zwei dipolar gekoppelten Spinpaaren und der Winkelinformation, die aus kreuzkorrelierter Relaxation gewonnen werden kann.
- Abbildung 5:** Simulierte Linienform einer $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ -DQ-Kohärenz, welche von einem C-H und einem N-H-Vektor erzeugt wurde. Die Multipllettform wird durch die $^1J_{\text{HN}}$ - und $^1J_{\text{HC}}$ -Kopplung verursacht. A) Linienform ohne die Wirkung der dipolaren kreuzkorrelierten Relaxation. B) Veränderte Linienform infolge dipolarer kreuzkorrelierter Relaxation.
- Abbildung 6:** Schematische Darstellung eines dipolar gekoppelten Spinpaars IS mit der für die Größe der dipolaren Kopplung entscheidenden Winkelbeziehung θ und dem Abstand r_{IS} .
- Abbildung 7:** Zugänglichkeit der dipolaren Kopplung aus dem Spektrum. A) Durch die starke Orientierung ist die dipolare Kopplung nur durch Simulation des gesamten Spektrums zugänglich. B) Im Falle der ausreichend schwachen Orientierung ist die dipolare Kopplung direkt aus der Linienaufspaltung zugänglich.
- Abbildung 8:** Schematische Darstellung eines IS-Kernspinpaares im Hauptachsensystem des Wahrscheinlichkeitstensors.
- Abbildung 9:** Typischer Gang einer Strukturanalyse mittels SVD. Zunächst erfolgt die Berechnung des Alignment-Tensors aus experimentell bestimmten RDCs (RDC^{exp}) und einem Strukturvorschlag. Anschließend werden mit Hilfe des Alignment-Tensors die aus dem Strukturvorschlag erwarteten RDCs (RDC^{theo}) berechnet. Eine Korrelation von RDC^{exp} mit RDC^{theo} spiegelt die Güte des Strukturvorschlags wider.
- Abbildung 10:** Zuordnung der relativen Konfiguration durch Ausnutzen der Tatsache, dass parallele Bindungen in einem starren Molekül gleichgroße RDCs zur Folge haben.
- Abbildung 11:** Übersicht über starre Moleküle bei denen entweder diastereotope Gruppen/Protonen (a, b, c, d, h) oder relative Konfiguration (e, f, g, h) eindeutig bestimmt wurden.
- Abbildung 12:** Übersicht über die Anwendung von RDCs zur Bestimmung der relativen Konfiguration flexibler Moleküle.

-
- Abbildung 13:** Schematische Darstellung der drei Phasen: fest, flüssigkristallin und flüssig. Im Falle des Kristalls sind sowohl Positions- als auch Orientierungsfernordnung und im Falle der Flüssigkeit keine von beiden vorhanden. In der abgebildeten LC Phase ist nur die Orientierungsfernordnung vorhanden.
- Abbildung 14:** Die geometrische Form von Mesogenen kann in zwei Gruppen eingeteilt werden: kalamitsch und diskotisch.
- Abbildung 15:** Schematische Darstellung der Ordnungsprinzipien in der smektischen C- (SmC), der smektischen A- (SmA) und der nematischen (N) Phase. Die SmC-Phase wird durch den Tiltwinkel θ zwischen dem Direktor und der Schichtnormalen charakterisiert.
- Abbildung 16:** Übersicht über die verschiedenen LC Phasen. Eine mögliche Einteilung kann über die geometrische Form und die Positionsfernordnung gemacht werden. Die nematische, SmA und SmC sind die häufigsten und wichtigsten Vertreter der LC Phasen.
- Abbildung 17:** Schematische Darstellung der helikalen Makrostruktur der cholesterischen LC Phasen. Die helikale Überstruktur wird senkrecht zum Direktor ausgebildet
- Abbildung 18:** Verschiedene Arten der Einbindung eines Mesogens in ein Polymer.
- Abbildung 19:** Wichtige Größen des Mesogens im Rahmen der theoretischen Behandlung des Übergangs von der isotropen Flüssigkeit zur LC Phase. Die Stäbchen bzw. Sphärozyylinder werden als nicht-deformierbar (hart) betrachtet.
- Abbildung 20:** Die Terme $\sigma(f(\theta))$ und $\rho(f(\theta))$ in Gleichung 16 beschreiben zwei unterschiedliche Arten der Entropie. $\sigma(f(\theta))$ stellt den Entropieverlust dar, der durch die Orientierung der Mesogene hervorgerufen wird. $\rho(f(\theta))$ hingegen beschreibt den Entropiegewinn, der durch die Minimierung des Ausschlussvolumens eines Mesogens hervorgeht.
- Abbildung 21:** Die zwei verschiedenen Modelle zur Beschreibung von Flexibilität eines stäbchenförmigen Mesogens. Im *freely-jointed-chain*-Modell wird das Polymer in hypothetische Segmente (Kuhn-Segmente) unterteilt, die frei miteinander verbunden sind. Im *persistent-chain*-Modell wird die Flexibilität homogen über das ganze Polymer verteilt.
- Abbildung 22:** Struktur von PBLG.
- Abbildung 23:** Anisotropes ^1H -Spektrum von Benzol in einer Mischung aus 40% 4,4'-Di-*n*-heptyloxyazoxybenzol und 60% 4,4'-Di-*n*-hexyloxyazoxybenzol bei 50°C.
- Abbildung 24:** ^1H -NMR-Spektrum von Cyclopropan und *p*-Brombiphenyl in den thermotropen LC Phasen von 4,4'-Di-*n*-hexyloxyazoxybenzol (Cyclopropan) und Merck ZLI 1132 (*p*-Brombiphenyl).

-
- Abbildung 25:** 250 MHz ^1H -NMR Spektrum einer racemischen Mischung aus 1,1,1-Trichlor-2,3-Epoxypropan (oben) und Epoxypropan (unten) in einer homogen ausgerichteten cholesterischen Phase bestehend aus Cholesterylpropionat und Merck ZLI 2806.
- Abbildung 26:** Protonenkoppeltes ^2H -NMR Spektrum einer racemischen Mischung (oben) sowie einer 40% ee Mischung aus 1-((2-Methyl)-phenyl)ethanol- d_1 in einer homogen ausgerichteten cholesterischen Phase bestehend aus Cholesterylpropionat und Merck ZLI 2806.
- Abbildung 27:** Struktur des PCBLL und PELG.
- Abbildung 28:** Ausschnitte aus HSQC-Experimenten zur Bestimmung der RDC des Menthols (oben) bzw. des Strychnins (unten).
- Abbildung 29:** Auswirkungen eines externen Stresses auf die Hohlräume eines quervernetzten elastomeren Gels. Durch Stauchung erhalten die Hohlräume einen oblaten und durch Streckung einen prolatischen Charakter.
- Abbildung 30:** Verlauf der Quadrupolaufspaltung des Benzol- d_6 in Abhängigkeit des Streckungsfaktors λ . Der Streckungsfaktor λ gibt das Verhältnis der Länge des gequollenen Polymerstabs im gestreckten zu dem ungestreckten Zustand an.
- Abbildung 31:** Verlauf der Quadrupolaufspaltung in Abhängigkeit der Konzentration des Quervernetzlers Divinylbenzol (DVB) (links) sowie der Konzentration des Initiators Dibenzoylperoxid (DBP) (rechts).
- Abbildung 32:** Ausschnitt aus dem ω_2 -gekoppelten HSQC des Sphaeropsidin A, welches in einem DMSO/PVAC-Gel gelöst ist. Man sieht deutlich die Polymerrestsignale (*) sowie im Gel eingeschlossenes, nicht-umgesetztes Monomer (#).

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Persistenzlängen einiger ausgewählter Polymere, die nach dem *persistent-chain* Modell beschrieben werden können.

Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolutiert
Äq.	Äquivalente
ber.	berechnet
beob.	beobachtet
br	breit
CSA	Chemical Shift Anisotropy
COSY	Correlation Spectroscopy
DCM	Dichlormethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimethylsulfoxid- <i>d</i> ₆
DVB	Divinylbenzol
E	Diethylether (Ether)
EE	Ethylacetat (Essigester)
ges.	gesättigt
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
INADEQUATE	Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment
IPC	Isopinocampheol
m	Multiplett
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Enhancement
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PAA	Polyacrylamid
PBLG	Poly- γ -benzyl-L-glutamat
PCBLL	Poly-carbobenzyloxy-L-lysin
PDMS	Polydimethylsiloxan
PE	Petrolether
PELG	Poly- γ -ethyl-L-glutamat
PS	Polystyrol
PVAC	Polyvinylacetat
RDC	residual dipolar coupling
ROESY	Rotating frame Overhauser Enhancement Spectroscopy

RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SAG	strain induced alignment in a gel
SVD	Singular value decomposition
t	Triplett
THF	Tetrahydrofuran
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
z.B.	zum Beispiel





1. Einleitung

Seit der Formulierung des Schlüssel-Schloss-Prinzips von Emil Fischer^[1] 1894 hat sich die Theorie der molekularen Erkennungsprozesse deutlich weiterentwickelt. Heutzutage ist es unumstritten, dass die Eigenschaften und Funktionen von Materialien vorwiegend durch die räumliche Struktur der ihnen zugrunde liegenden Moleküle sowie deren evtl. übergeordneten Struktur bestimmt wird.

Von besonderem Interesse ist häufig die biologische und pharmakologische Aktivität gelöster Substanzen. In diesem Zusammenhang ist das Schlüssel-Schloss-Prinzip, bei der die Substanz statisch, in *einer* vorgegebenen Konformation mit beispielsweise Enzymen oder Rezeptoren wechselwirkt, der dynamischen Induced-Fit-Theorie^[2, 3] gewichen. In der letzteren Theorie kann eine Strukturänderung der gelösten Substanz notwendig sein, damit eine Wechselwirkung mit beispielsweise dem Rezeptor ermöglicht wird und somit die gewünschte Funktion erfüllt werden kann. Neuere Erkenntnisse gehen davon aus, dass die notwendige Strukturänderung nicht unbedingt durch den Binder, zum Beispiel dem Rezeptor, induziert wird, sondern dass das aktive Konformer eventuell bereits im Ensemble an Konformeren vorhanden ist.^[4]

Um ein tieferes Verständnis über die Funktionsweise oder den Wirkungsmechanismus von zum Beispiel biologisch oder pharmakologisch aktiven Substanzen zu gewinnen, ist die Untersuchung der räumlichen Struktur sowie ihrer zeitlichen Änderung unter möglichst realen Bedingungen, d.h. in Lösung, daher unerlässlich. In diesem Zusammen stellt die hochauflösende Flüssigkeits-NMR-Spektroskopie eine besonders geeignete Methode dar.

Bei der Bestimmung der räumlichen Struktur müssen stets Konformation und Konfiguration des Moleküls gleichzeitig bestimmt werden. Dies ist für starre Verbindungen häufig mit Hilfe konventioneller konfigurations- und konformationsrelevanter NMR-Observablen wie der 3J -Kopplung oder dem NOE-Effekt möglich, da sie nur eine beobachtbare Vorzugskonformation besitzen. Probleme treten jedoch auf, wenn Lücken im 3J -Kopplungspfad, beispielsweise durch hochsubstituierte Kohlenstoffzentren, oder in den NOE-Kontakten, zum Beispiel durch zu große Entfernung der stereogenen Zentren, auftreten. In diesem Zusammenhang stellt eine zusätzliche, anisotrope NMR-Observable, die dipolare Kopplung, eine wichtige Ergänzung dar. Der bedeutendste Unterschied zu den kurzreichweitigen Informationen der 3J -Kopplung und des NOE-Effekts ist der globale Charakter der dipolaren Kopplung, der es erlaubt, konfigurations- und konformationsrelevante Informationen auch zwischen nicht wechselwirkenden Kernspins zu erhalten. Somit kann die räumliche Struktur von starren Verbindungen im Allgemeinen trotz Lücken im 3J -Kopplungspfad oder dem NOE-Effekt bestimmt werden.

Ein deutlich schwierigerer Fall tritt auf, wenn das Molekül flexibel ist und somit nicht mehr *eine* Vorzugskonformation sondern vielmehr ein Ensemble an Konformeren aufweist. Als Folge hiervon sind häufig nur zeitlich gemittelte NMR-Observablen zugänglich, aus denen die Bestimmung der räumlichen

Struktur sehr komplex werden kann. Um flexible Verbindungen mit ihren vielen Freiheitsgraden dennoch strukturell beschreiben zu können, wird eine möglichst große Anzahl an konfigurations- und konformationsrelevanten NMR-Observablen benötigt. Auch in diesem Zusammenhang stellt die dipolare Kopplung eine essentielle Ergänzung zu den konventionellen Parametern dar.

Obwohl die dipolare Kopplung als anisotrope NMR-Observable mit ihrem hohen strukturellen Informationsgehalt bereits seit den 60er Jahren bekannt war, blieb ihre Anwendung in der Strukturaufklärung bis Mitte der 90er Jahre vorwiegend einem sehr kleinen Kreis von Spezialisten vorbehalten. Der Grund hierfür lag in den verfügbaren anisotropen Medien, die zur Bestimmung der dipolaren Kopplung notwendig sind. Diese induzierten einen sehr hohen Ordnungsgrad, wodurch dipolare Kopplungen von mehreren kHz erhalten wurden. Erst gegen Mitte der 90er Jahre wurden anisotrope Medien entwickelt, die die dipolare Kopplung in vergleichbarer Größe zur skalaren Kopplung brachten und somit die Bestimmung dieser residualen dipolaren Kopplung (RDC) sehr stark vereinfachten. Hierdurch wurde eine deutlich breitere Anwendung ermöglicht. Heutzutage ist im Bereich der Strukturbestimmung von Biomakromolekülen die Bestimmung von RDCs nahezu zu einem Standardverfahren geworden, was vorwiegend an der großen Fülle geeigneter wasserbasierter, anisotroper Medien begründet liegt. Für nicht-wässrige Systeme hingegen ist die Anzahl an verfügbaren anisotropen Medien, die einen sehr geringen Ordnungsgrad induzieren, noch sehr begrenzt. Dies gilt insbesondere für Systeme, die auf flüssigkristallinen Phasen (LC-Phasen) beruhen. Um die RDC-basierte Strukturaufklärung auch für nicht-wasserlösliche Verbindungen zu etablieren, ist es daher unerlässlich, das Portfolio an Orientierungsmedien, die einen ausreichend niedrigen und einstellbaren Grad an Anisotropie besitzen, zu erweitern.

Für nicht-wässrige Orientierungsmedien, die auf LC-Phasen beruhen, werden vorwiegend die lyotropen Phasen der Homopolypeptide verwendet. Der bekannteste Vertreter dieser Klasse ist das Poly- γ -benzyl-L-glutamat (PBLG). Eine wichtige Eigenschaft dieser LC Phasen ist deren Homochiralität.

Bei der Verwendung homochiraler Orientierungsmedien sind die Wechselwirkungen des Orientierungsmediums mit einer Verbindung und seines Enantiomers diastereomorph und somit differenzierbar. Demnach sollten die Enantiomere unterschiedliche RDCs aufweisen. Dies sollte es prinzipiell erlauben, die absolute Konfiguration einer Verbindung mit Hilfe von RDCs bestimmen zu können.

Zu Beginn dieser Dissertation gab es für LC-basierte, nicht-wässrige Orientierungsmedien nur sehr wenige Untersuchungen über Faktoren, die die Orientierungseigenschaften bestimmen. Diese Erkenntnisse sind jedoch für eine breitere Anwendung dieser Orientierungsmedien unerlässlich. Aus diesem Grund war das Ziel dieser vorliegenden Arbeit, Faktoren zu finden, die es einerseits erlauben, den induzierten Ordnungsgrad sowie die induzierte mittlere Orientierung und andererseits den Grad der Enantiodifferenzierung gezielt zu verändern.

2. Die Bestimmung der Struktur organischer Moleküle mit Hilfe der NMR-Spektroskopie

In diesem Kapitel werden die notwendigen Schritte der Strukturbestimmung mit Hilfe der NMR-Spektroskopie dargestellt. Diese können in zwei Bereiche aufgeteilt werden, wobei an erster Stelle immer die Bestimmung der Konnektivität (Konstitution) und im Anschluss die Bestimmung der räumlichen Anordnung (Konfiguration/Konformation) der einzelnen Atome bzw. Atomgruppen im Molekül steht. Aufgrund der hohen Anzahl an Pulssequenzen, die zur eindeutigen Bestimmung der Konstitution entwickelt wurden, werden lediglich einige typische Vertreter erläutert (Kapitel 2.1).^[5] Im zweiten Teil wird kurz der theoretische Hintergrund sowie die Vor- und Nachteile der klassischen Konfigurations- und Konformationsrelevanten NMR-Observablen (³*J*-Kopplung, Kern-Overhauser-Effekt (NOE) und Kreuzkorrelierte Relaxation (CCR)) sowie der residualen dipolaren Kopplungen (RDC, residual dipolar coupling) erläutert (Kapitel 2.2).

2.1 Die Bestimmung der Konnektivität (Konstitution)

Die Bestimmung der Konstitution erfolgt mit Hilfe zahlreicher zweidimensionaler Korrelationsexperimente, die alle auf der skalaren Kopplung (*J*) zweier wechselwirkender Kernspins beruhen. Diese Wechselwirkung wird über die chemische Bindung vermittelt,^[6] wobei die Größe der Wechselwirkung u.a. von der Anzahl der chemischen Bindungen^[7] zwischen den wechselwirkenden Kernspins aber auch von elektronischen Effekten neben und entlang des Kopplungspfad abhängig ist. Somit ist es möglich die Konnektivität der Kernspins eindeutig zu bestimmen.

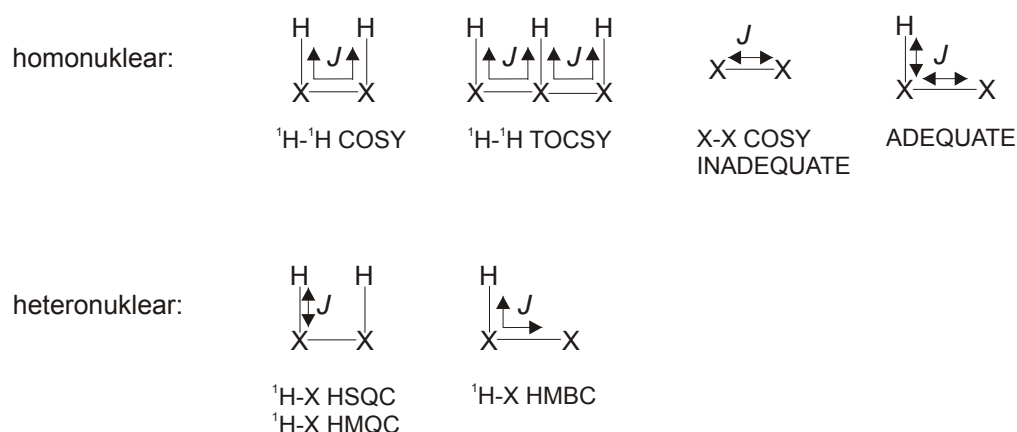


Abbildung 1: Übersicht über die wichtigsten NMR-Experimente zur Bestimmung der Konstitution.

Die skalare Kopplung wird in homonukleare Kopplungen, d.h. Wechselwirkungen von Kernspins, die der gleichen Kernart angehören, und heteronukleare Kopplungen, d.h. Wechselwirkungen von Kerns-

pins, die unterschiedlichen Kernarten angehören, unterteilt. Abbildung 1 zeigt einen schematischen Überblick über die wichtigsten Korrelationsexperimente.

Mit Hilfe der homonuklear-korrelierten NMR Experimente können zusammenhängende Kopplungspfade und somit Strukturfragmente identifiziert werden. Das wichtigste und häufigste homonuklear-korrelierte NMR Experiment ist das ^1H - ^1H -COSY-Experiment^[8, 9], bei dem miteinander skalar kopplende ^1H -Kernspins Kreuzsignale erzeugen. Das COSY-Experiment ist auf jeden NMR-aktiven Kern (typischerweise $I=1/2$) mit hoher natürlicher Häufigkeit anwendbar (beispielsweise ^{19}F oder ^{31}P). Ein weiteres wichtiges Experiment ist das TOCSY-Experiment^[10, 11], bei dem sämtliche Kernspins, die sich innerhalb eines Spinsystems befinden, Kreuzsignale verursachen. Somit erzeugt jedes Teilfragment insgesamt einen zusammenhängenden Kreuzsignalsatz. Homonukleare Korrelationen zwischen Kernen geringerer natürlicher Häufigkeit, wie zum Beispiel zwischen ^{13}C -Isotopen des Kohlenstoffs, können durch Mehrquantenspektroskopie wie dem INADEQUATE^[12-14] erhalten werden. Hiermit ist es möglich, das Kohlenstoffgerüst einer organischen Verbindung eindeutig zu bestimmen. Auf Grund der äußerst geringen Empfindlichkeit ist dieses Experiment jedoch nicht routinemäßig anwendbar. Als Alternative dient das ADEQUATE-Experiment^[15], bei dem ^1H sowohl angeregt als auch detektiert wird und somit eine deutlich höhere Empfindlichkeit besitzt.

Mit Hilfe der heteronuklear-korrelierten NMR-Experimente kann die Konnektivität von Kernspins unterschiedlicher Kernart eindeutig zugeordnet werden. Somit können ebenfalls Strukturfragmente erhalten werden, die die aus homonuklear-korrelierten NMR-Experimenten vervollständigen, bestätigen oder miteinander verbinden. Bei den heteronuklear-korrelierten Experimenten wird die starke Abhängigkeit der Größe der skalaren Kopplung von der Anzahl der chemischen Bindungen zwischen den wechselwirkenden Kernspins ausgenutzt. So liegen skalare Kopplungen von direkt gebundenen ^1H - ^{13}C -Kernspins im Bereich von $^1J_{\text{CH}} \approx 120\text{-}250$ Hz, die über zwei oder drei Bindungen im Bereich von $^{2,3}J_{\text{CH}} \approx 2\text{-}15$ Hz. Dieser deutliche Unterschied kann genutzt werden, um mittels HSQC^[16] oder HMQC-Experimenten^[17] die direkt gebundenen Kernspins, zum Beispiel ^1H - ^{13}C , eindeutig zu identifizieren. Mit Hilfe von HMBC-Experimenten^[18] können Informationen über die weitere Umgebung eines Kernspins (typischerweise 2 bis 3 Bindungen) erhalten werden. Da jedoch die $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstante sehr ähnliche Werte besitzen, kann mittels des HMBC-Experiments nicht eindeutig zwischen Korrelationen über 2 oder 3 Bindungen unterschieden werden. Diese Differenzierung kann entweder mit Hilfe des 1,1-ADEQUATE-Experiments oder des H2BC-Experiments^[19] geschehen.

Mit den dargestellten Experimenten sowie ihrer zahlreichen Varianten, ist es möglich, die Konstitution einer Verbindung eindeutig zu bestimmen.

Nachdem die Konstitution des Moleküls geklärt ist, muss nun dessen räumliche Struktur bestimmt werden. Ein dreidimensionales Objekt kann durch ein Ensemble von Abständen und Winkeln eindeutig beschrieben werden. Die einzige Ausnahme ist das Enantiomer einer Verbindung. Dieses besitzt die gleichen interatomaren Abstände und Winkel. Eine Differenzierung zwischen zwei Enantiomeren kann in der NMR-Spektroskopie nur durch eine interne oder externe Referenz bekannter absoluter Konfiguration, d.h. durch Überführung in Diastereomere (intern) bzw. diastereomorphe Komplexe (extern), erfolgen.

Somit werden zur Bestimmung der räumlichen Struktur NMR-Observablen benötigt, die entweder Winkel- oder/und Abstandsinformationen enthalten. In den nachfolgenden Kapiteln werden die wichtigsten dieser Observablen kurz vorgestellt.

2.2 Die Bestimmung der räumlichen Struktur (Konfiguration/Konformation)

Bei der Bestimmung der räumlichen Struktur einer Verbindung muss beachtet werden, dass die Konfiguration und die Konformation eines Moleküls stets gleichzeitig zu bestimmen sind. Diese Bedingung kann in Abhängigkeit von der Flexibilität einer Verbindung die Strukturbestimmung sehr schnell sehr komplex oder sogar nahezu unmöglich machen.

Der einfachste Fall liegt vor, wenn eine Verbindung nicht-flexibel ist und somit in nur einer nahezu ausschließlich populierten Konformation vorliegt. In diesem Fall können die vorhandenen stereogenen Elemente (zum Beispiel mehrere stereogene Zentren) durch einen einzigen Strukturvorschlag zueinander in Beziehung gesetzt und somit die relative Konfiguration bestimmt werden. Beim Auftreten konformationeller Flexibilität kann das Molekül formal in seine starren Untereinheiten aufgeteilt werden. Dies bedeutet, dass im Grenzfall der konformationellen Flexibilität eine starre Untereinheit die Dimension eines einzelnen stereogenen Elements annehmen kann. Zur Beschreibung der Gesamtstruktur müssen dann alle starre Untereinheiten zueinander in Beziehung gesetzt werden, wobei zu beachten ist, dass konformationelle Flexibilität i.d.R. schnell relativ zur Zeitskala des NMR-Experiments ist. Folglich sind bei flexiblen Verbindungen nur die zeitlich gemittelten Observablen zugänglich. Konsequenterweise darf eine flexible Verbindung daher nicht durch einen einzigen Strukturvorschlag, sondern muss vielmehr durch ein Ensemble an Strukturvorschlägen beschrieben werden.

Diese zwei Faktoren – Verkleinerung der starren Untereinheiten und die zeitliche Mittelung ihrer relativen Orientierung zueinander – führen dazu, dass die Strukturbestimmung von Verbindungen mit steigender Flexibilität sehr schnell sehr komplex wird. Aus diesem Grund ist der Zugang zu einer möglichst großen Anzahl an konfigurations- und konformationsrelevanten NMR-Observablen äußerst wichtig.

Weiterhin ist für die Strukturbestimmung von flexiblen Verbindungen der Zugang zu globalen Parametern wie beispielsweise der dipolaren Kopplung (Kapitel 2.4) wichtig. Mit Hilfe globaler Parameter können Strukturinformationen zwischen nicht-wechselwirkenden Kernspins bzw. Kernspinpaaren erhalten werden, was bei der relativen Orientierung starrer Untereinheiten essentiell ist. Im Gegensatz dazu sind die Winkelinformationen der skalaren Kopplung (Kapitel 2.3.1) sowie der kreuzkorrelierten Relaxation (Kapitel 2.3.3) und die Abstandsinformationen aus dem NOE-Effekt (Kapitel 2.3.2) lokale Parameter. Dies bedeutet, dass die Strukturinformationen nur zwischen wechselwirkenden Kernspins bzw. Kernspinpaaren zugänglich ist.

2.3 Konventionelle konformations- und konfigurationsrelevante NMR-Parameter

2.3.1 Winkelinformationen aus skalaren Kopplungen (3J und 2J)

Einer der bekanntesten NMR Parameter, der konfigurations- und konformationsrelevante Winkelinformationen enthält, ist die skalare Kopplungskonstante J . Mitte der 50er Jahre fand Karplus^[20] einen empirischen Zusammenhang (Abbildung 2) zwischen der Größe der 3J -Kopplungskonstante und dem Diederwinkel der wechselwirkenden Kernspins.

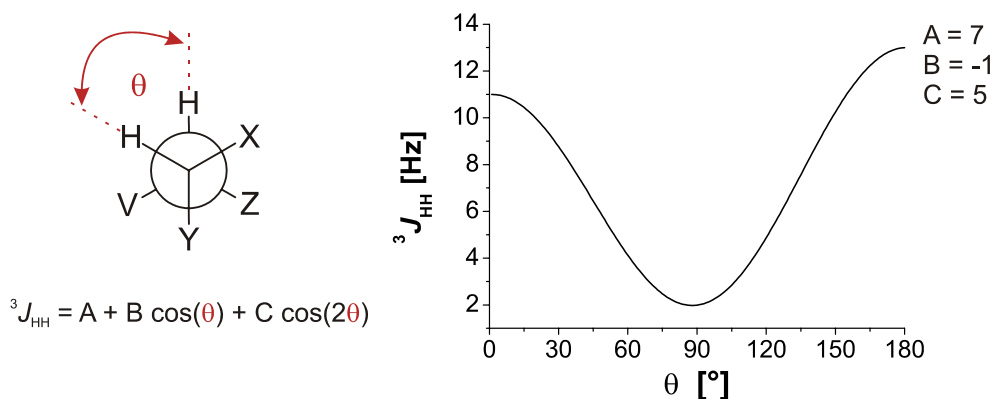


Abbildung 2: Die Abhängigkeit der 3J -Kopplungskonstante vom Diederwinkel θ entsprechend der klassischen Karplus-Beziehung $^3J_{\text{HH}} = A + B\cos(\theta) + C\cos(2\theta)$.^[20]

Hierbei ist θ der Diederwinkel zwischen den koppelnden Kernen und die Parameter A, B und C empirische Konstanten, die für unterschiedliche Substanzklassen unterschiedliche Werte annehmen.

Die Größe der 3J -Kopplungskonstante hängt vom Substitutionsmuster an den Kohlenstoffzentren ab. Viele weitere empirische Gleichungen auf Basis der Karplus-Beziehung wurden im Laufe der Zeit ermittelt, die die elektronischen Einflüsse – vor allem von elektronegativen Substituenten – berücksichtigen.^[21] Karplusartige Beziehungen gelten nicht nur für homonukleare, sondern auch für hetero-

nuklear-gekoppelte Kernspins, jedoch findet auf Grund fehlender Parametrisierung (zum Beispiel für $^3J_{\text{CH}}$) nahezu ausschließlich die $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplungskonstante Verwendung. Die Analyse basierend auf 3J -Kopplungen gehört zu den Standardverfahren, um die relative Konfiguration von (1,2) und (1,3)-stereogenen Zentren zu bestimmen.^[22] Aufgrund der Abhängigkeit der 3J -Kopplungskonstante vom Substitutionsmuster, können jedoch genaue Vorhersagen über den Diederwinkel nur für bekannte und gut untersuchte Substanzklassen, für die eine Parametrisierung existiert, getroffen werden. Dies ist zum Beispiel in der Konformationsanalyse von Biomakromolekülen der Fall.

Bei neuartigen Substanzklassen oder ungewöhnlichen Substituenten am Kohlenstoffzentrum, für die keine Parametrisierung existiert, können die vorhergesagten Diederwinkel deutlich von den realen abweichen und somit die Konfigurations- bzw. Konformationsanalyse erschweren oder unmöglich machen. Des Weiteren kodiert eine 3J -Kopplungskonstante meist für vier Diederwinkel, was wiederum zu einer nicht eindeutigen Konfigurationsbestimmung führen kann.

Eine weitere Möglichkeit Diederwinkel aus skalaren Kopplungen zu erhalten, besteht in der Verwendung der $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstante.^[23, 24] Diese Methode ist deutlich weniger verbreitet, da sie nur anwendbar ist, wenn das Kohlenstoffzentrum, welches mit dem Proton koppelt, einen elektronegativen Substituenten wie *O*, *N*, *F* oder *Cl* trägt. Ist dies der Fall, so kann aus der gemessenen Kopplungskonstante der Diederwinkel zwischen dem Proton und dem elektronegativen Substituenten vorhergesagt werden. Auch hier schränkt die Parametrisierung die breite Anwendung dieser Methode ein.

Ist die mittlere Bindung zwischen den Kernen, die den Diederwinkel aufspannen, teilweise oder sogar frei rotierbar, so kann nur die gemittelte Kopplungskonstante beobachtet werden, was wiederum eine zuverlässige Strukturbestimmung deutlich erschwert.

Prinzipiell können auch aus weiteren skalaren Kopplungskonstanten wie $^1J_{\text{HX}}$ oder $^4J_{\text{XY}}$ Winkelinformationen gewonnen werden.^[24] Da sie jedoch nur für sehr spezielle Fragestellungen Anwendung finden, wird hierauf nicht weiter eingegangen.

2.3.2 Abstandsinformationen aus dem Nuclear Overhauser Effekt (NOE)

Distanzinformationen werden meist durch die Anwendung des *Nuclear-Overhauser-Enhancement*-Effekts (NOE-Effekt) gewonnen. Die Grundlage für diesen Effekt ist das Vorhandensein einer dipolaren Kopplung zwischen den betrachteten Kernspins. Die dipolare Kopplung ist eine direkte Wechselwirkung von Kernspins über den Raum und wird im übernächsten Kapitel näher erläutert. Sie ist abhängig vom Abstand der beiden Kerne sowie deren relativer Orientierung zum äußeren Magnetfeld (siehe Abbildung 3). Der NOE-Effekt ist ein Relaxationsphänomen der dipolaren Kopplung.

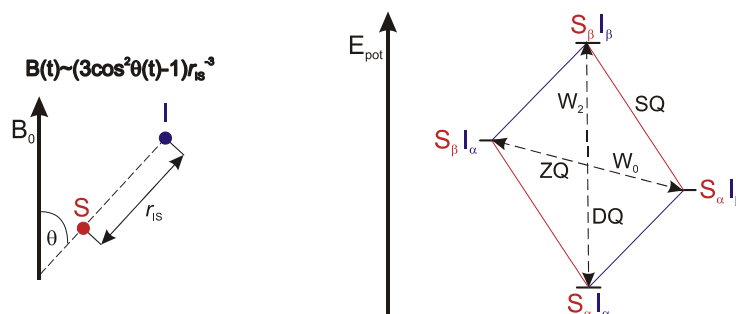


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines Zweispinsystems. Links: Orientierungsabhängigkeit der dipolaren Kopplung zweier Kernspins. Rechts: Energiediagramm eines Zweispinsystems, mit den für den NOE-Effekt essentiellen ZQ- und DQ-Übergängen.

Für die Beobachtbarkeit des NOE sind ausschließlich die in Abbildung 3 eingezeichneten Nullquanten-(ZQ) und Doppelquanten-(DQ)-Relaxationsraten (W_0 und W_2) und deren Übergangswahrscheinlichkeiten von Bedeutung.^[25] Diese sind bei isotroper Reorientierung durch Gleichung 1 und 2 gegeben.^[26, 27]

$$W_0 = \frac{1}{10} \frac{\gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2}{r_{IS}^6} \frac{\tau_c}{1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_c^2} \quad (1)$$

$$W_2 = \frac{3}{5} \frac{\gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2}{r_{IS}^6} \frac{\tau_c}{1 + (\omega_I + \omega_S)^2 \tau_c^2} \quad (2)$$

Hierbei ist $\gamma_{I,S}$ das gyromagnetische Verhältnis des Kerns I bzw. S, \hbar das Plancksche Wirkungsquantum geteilt durch 2π , τ_c die Korrelationszeit des Moleküls, r_{IS} der Abstand der beiden dipolar koppelnden Kerne und $\omega_{I,S}$ die Larmorfrequenz des Kerns I bzw. S. Wie in Gleichung 1 und 2 zu erkennen ist, besitzen die Relaxationsraten eine Abstandsabhängigkeit proportional zu r_{IS}^{-6} . Somit können Spinpaare, die eine ausreichende räumliche Nähe zueinander besitzen, Verstärkungen in 1D-NOE-Spektren oder Kreuzsignale im NOESY-Experiment^[28] hervorrufen. Aus deren Intensitäten können Abstandsinformationen (nach Kalibrierung) gewonnen werden.^[29] Durch die Abstandsabhängigkeit proportional zu r_{IS}^{-6} können nur Spinpaare mit einem Abstand von bis zu ca. 4\AA zu einem quantifizierbaren NOE-Effekt führen.

Besonders problematisch ist die Extraktion von Distanzen in Molekülen hoher Flexibilität. Die Mittelung über r_{IS}^{-6} führt dazu, dass kurze Distanzen überproportional gewichtet werden. Der via NOE-Effekt ermittelte Abstand zweier Kernspins kann in diesem Fall deutlich kürzer sein als der realen zeitlich-gemittelte Abstand.

Die Beobachtbarkeit des NOE-Effekts beruht auf der Kreuzrelaxationsrate σ_z der ZQ- und DQ-Übergänge, $\sigma_z = W_2 - W_0$. Wenn W_2 und W_0 etwa die gleiche Größenordnung besitzen^[30], was häufig bei Molekülen mit einem Molekulargewicht zwischen 1000 bis 2000 gmol⁻¹ der Fall ist, so ist der NOE-Effekt nahezu null. In solchen Fällen sind keine Abstände durch NOESY-Experimente zugänglich. Als Alternative dient in diesen Fällen das ROESY-Experiment^[31]. Da hier der „Informationsaustausch“ nicht über longitudinale Relaxation (T_1 -Relaxation), sondern über transversale Relaxation (T_2 -Relaxation) erfolgt, zeigt die Kreuzrelaxationsrate σ_{xy} eine andere Abhängigkeit, $\sigma_{xy} = W_2 + W_0$. Sie besitzt keinen Nulldurchgang und ist immer positiv. Die Abstandsbestimmung mittels ROESY erfolgt analog zum NOESY-Experiment, wobei jedoch zwei Nachteile im Vergleich zum NOESY-Experiment zu erwähnen sind, die zu Artefakten führen. Zum einen ist das ROESY-Experiment anfällig für COSY- und TOCSY-Artefakte und zum anderen ist die Intensität des ROESY-Kreuzsignals abhängig von *offset* Ω ($I = f(\Omega)$). Neuere Entwicklung wie das EASY-ROESY^[32] unterdrücken jedoch diese unerwünschten Artefakte effizient.

2.3.3 Projektionswinkelinformationen aus dipolar-kreuzkorrelierter Relaxation (CCR)

Mit Hilfe der dipolaren Relaxation ist es nicht nur möglich, intramolekulare Abstandsinformationen, sondern auch intramolekulare Winkelinformationen zu gewinnen. Hierbei wird jedoch nicht die Kreuzrelaxation zweier dipolar gekoppelter Spins ausgenutzt, sondern die Kreuzkorrelation der jeweiligen dipolaren Relaxationsraten zweier Spinpaare. Die Kreuzkorrelierte Relaxationsrate Γ hängt von der relativen Orientierung dieser Spinpaare zueinander ab (siehe Abbildung 4). Es ist ebenfalls möglich, Winkelinformationen aus der Kreuzkorrelation einer dipolaren Relaxationsrate mit einer chemischen Verschiebungsanisotropie-Relaxationsrate zu gewinnen.

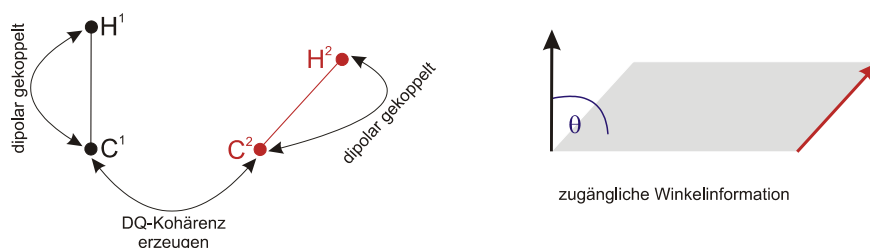


Abbildung 4: Schematische Darstellung von zwei dipolar gekoppelten Spinpaaren und der Projektionswinkelinformation, die aus kreuzkorrelierter Relaxation gewonnen werden kann.

Angenommen werden, wie in Abbildung 4 gezeigt, zwei Spinpaare: C^1-H^1 und C^2-H^2 , wobei C^1-H^1 miteinander dipolar gekoppelt sind, genauso wie C^2-H^2 . C^1-H^1 und C^2-H^2 sollen jeweils als Vektoren betrachtet werden, deren relative Orientierung zueinander bestimmt werden soll. Durch die schnelle Umorientierung des Moleküls in Lösung wird ein zeitlich veränderliches Magnetfeld von Spin C^1 (C^2)

am Ort von H^1 (H^2) erzeugt, was zur dipolaren Relaxation führt. Da sich die beiden Vektoren im gleichen Molekül befinden, ist das zeitlich veränderliche Magnetfeld und somit auch die dipolare Relaxation gekreuzkorreliert. Um diese Kreuzkorrelation zu beobachten und auszunutzen, müssen die beiden Vektoren in „Kontakt“ gebracht werden, zum Beispiel durch die Erzeugung von Doppelquantenkohärenzen (DQ-Kohärenzen) zwischen einem Spin des C^1-H^1 Vektors und einem Spin des C^2-H^2 Vektors. Die gekreuzkorrelierte Relaxationsrate Γ^{CC} wird durch Gleichung 3 beschrieben^[33]

$$\Gamma_{C^1-H^1, C^2-H^2}^{cc} = \frac{2}{5} \frac{\gamma_H^2 \gamma_C^2}{r_{C^1-H^1} r_{C^2-H^2}} \left(\frac{\hbar \mu_0}{4\pi} \right)^2 (3 \cos^2 \theta - 1) \cdot \tau_c \quad (3)$$

Hierbei ist Γ^{cc} die dipolar-gekreuzkorrelierte Relaxationsrate, θ der Projektionswinkel zwischen den beiden Vektoren (siehe Abbildung 4) und τ_c die Korrelationszeit des Moleküls, wobei eine konstante τ_c für das gesamte Molekül angenommen wird.

Die gekreuzkorrelierte Relaxation manifestiert sich in den Linienbreiten der entsprechenden DQ-Kohärenzen, wie in Abbildung 5 am Beispiel der $^{13}C, ^{15}N$ -DQ-Kohärenz eines Peptids gezeigt ist.

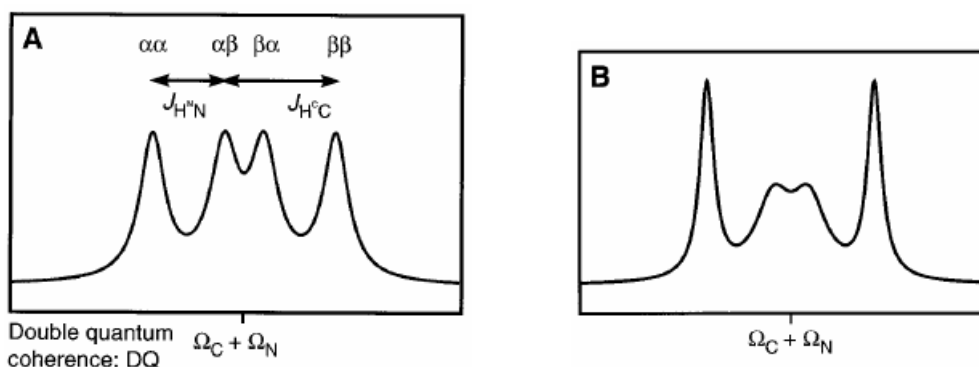


Abbildung 5: Simulierte Linienform einer $^{13}C, ^{15}N$ -DQ-Kohärenz, welche von einem C-H und einem N-H-Vektor erzeugt wurde. Die Multipllettform wird durch die $^1J_{HN}$ - und $^1J_{HC}$ -Kopplung verursacht. A) Linienform ohne die Wirkung der dipolaren gekreuzkorrelierten Relaxation. B) Veränderte Linienform infolge dipolarer gekreuzkorrelierter Relaxation ($\Theta = 90^\circ$). Abbildung aus B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, 276, 1230 entnommen. Abgebildet mit Erlaubnis von AAAS.

Wie in Gleichung 3 ersichtlich ist, benötigt man die gyromagnetischen Verhältnisse der beteiligten Kerne, die Bindungsabstände der beteiligten Vektoren (zum Beispiel über Röntgenstrukturanalyse zugänglich) sowie die Korrelationszeit des Moleküls, um Γ^{cc} bestimmen zu können. Der große Vorteil dieser Methode ist, dass sie keine Parametrisierung benötigt, um intramolekulare Winkelinformationen zu gewinnen. Diesem Vorteil stehen jedoch einige Anforderungen gegenüber, die diese Methode sehr stark in ihrer Anwendbarkeit einschränken. Theoretisch können die beiden Vektoren im Molekül beliebig weit voneinander entfernt sein. Es müssen allerdings Kohärenzen zwischen ihnen erzeugt und

wieder refokussiert werden, d.h. die Spinpaare müssen skalar gekoppelt sein. Somit liegt die typische Entfernung bei 2 bis 3 Bindungen.^[34] Neben der Anregbarkeit von DQ-Kohärenzen muss auch die skalare Kopplung der jeweiligen Vektoren ausreichend aufgelöst sein, um eine Linienformanalyse zu erlauben. Des Weiteren sollten sich die Vektoren in einem möglichst starren Molekülteil befinden, da bei erhöhter Flexibilität die Kreuzkorrelation stark vermindert wird und die Annahme einer konstanten τ_c nicht mehr haltbar ist. Weiterhin muss der Hauptrelaxationsweg für C^1 (C^2) die dipolare Kopplung zu H^1 (H^2) sein. Ein weiterer limitierender Faktor liegt darin, dass diese Methode bisher ausschließlich für isotonenmarkierte Verbindungen anwendbar ist.

Auf Grund dieser limitierenden Faktoren gibt es nur sehr wenige Anwendungen der kreuzkorrelierten Relaxation in der Flüssigkeits-NMR-Spektroskopie.^[35]

2.4 Residuale dipolare Kopplungen (RDCs)

Theoretische Grundlagen

Die dipolare Kopplung zwischen zwei Kernspins mit Spin $I=1/2$ gewinnt seit Mitte der 90er Jahre immer mehr an Bedeutung, da sie im Gegensatz zu den kurzreichweitigen Informationen, die aus den NMR Wechselwirkungen der vorangegangenen Kapitel gewonnen werden können, globale Strukturinformationen enthalten. Um die folgenden Kapitel besser nachvollziehen zu können, wird der theoretische Hintergrund der dipolaren Kopplung ausführlicher behandelt, wobei zunächst der statische Fall, wie er im Festkörper vorliegt, erläutert und anschließend intermolekulare Beweglichkeit durch Übergang vom Festkörper zur flüssigkristallinen Phase eingeführt wird. Abschließend werden die Auswirkungen von konformationeller Flexibilität erläutert.

Betrachten wir zunächst den statischen Fall der dipolaren Wechselwirkung zweier isolierter Kernspins I und S. Für diesen Fall ist der vollständige Hamilton-Operator der direkten Dipol-Dipol-Wechselwirkung gemäß Gleichung 4 gegeben.^[36]

$$\hat{H}_{D_{IS}} = b_{IS} \left(3 \left(\hat{I} \cdot \mathbf{e}_{IS} \right) \left(\hat{S} \cdot \mathbf{e}_{IS} \right) - \hat{I} \hat{S} \right) \quad \text{mit } b_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4\pi r_{IS}^3} \quad (4)$$

Hierbei sind \hat{I} und \hat{S} die Kernspindrehimpulsoperatoren der Kerne I bzw. S und \mathbf{e} ein Einheitsvektor entlang der Kernverbindungsachse von I und S (siehe Abbildung 6). Bringt man diese Spins in ein starkes, homogenes Magnetfeld (B_0), das entlang der z-Richtung ausgerichtet ist, kann der Hamilton-Operator für die direkte Dipol-Dipol-Wechselwirkung im Rahmen der säkularen Näherung für den homonuklearen Fall mittels Gleichung 5 und für den heteronuklearen Fall mittels Gleichung 6 angegeben werden.^[36]

$$\hat{H}_{IS} = b_{IS} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} \cdot \left(3 \hat{I}_z \hat{S}_z - \hat{I} \hat{S} \right) \quad (5)$$

$$\hat{H}_{IS} = b_{IS} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} \cdot \left(2 \hat{I}_z \hat{S}_z \right) \quad (6)$$

Hierbei ist θ der Winkel zwischen dem homogenen Magnetfeld B_0 und der Kernverbindungsachse, wie in Abbildung 6 dargestellt. Der Vorfaktor $b_{IS} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2}$ in Gleichung 5 und 6 ist die säkulare Dipol-Dipol-Kopplung D_{IS} oder auch kurz dipolare Kopplung genannt, die im NMR-Experiment beobachtet werden kann (Gleichung 7).

$$D_{IS} = b_{IS} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} = - \frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4\pi r_{IS}^3} \cdot \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} \quad (7)$$

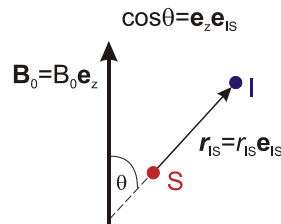


Abbildung 6: Schematische Darstellung eines dipolar gekoppelten Spinpaars IS mit der für die Größe der dipolaren Kopplung entscheidenden Winkelbeziehung θ und dem Abstand r_{IS} .

Wenn wir nun vom statischen zum dynamischen Fall, wie er in Lösung vorliegt, übergehen, so hat dies in Bezug auf die Spin-Spin-vermittelten Kopplungswchselwirkungen folgende Konsequenzen:

1. Durch die Translation der Moleküle in der Lösung werden die *intermolekularen* dipolaren Wechselwirkungen ausgemittelt.^[37]
2. Durch die Rotationsbewegung der Moleküle werden die *intramolekularen* dipolaren Wechselwirkungen gemittelt.

Die Mittelung der *intermolekularen* Wechselwirkungen führt dazu, dass nur noch die Wechselwirkungen der Kernspins innerhalb eines Moleküls beobachtbar sind. Die Mittelung der *intramolekularen* Wechselwirkungen sorgt dafür, dass die Größe der dipolaren Kopplung skaliert wird. In isotropen Lösungen, bei der die Rotation nicht eingeschränkt ist, mittelt sich die dipolare Kopplung zu null aus.^[37]

In anisotropen Medien, in denen die freie Rotationsbewegung teilweise eingeschränkt ist, bleibt im Allgemeinen ein von null verschiedener Anteil der dipolaren Kopplung übrig, wobei die Größe der dipolaren Kopplung von dem Maß abhängig ist, in der die freie Rotation eingeschränkt wird. Dies bietet die Möglichkeit, dipolare Kopplungen von vergleichbarer oder geringerer Größe als die skalare Kopplung zu erzeugen. Damit wird die dipolare Kopplung direkt aus der Linienaufspaltung im Spektrum zugänglich (siehe Abbildung 7). Wie wir in Kapitel 3 sehen werden, ist genau diese Bedingung, den induzierten Grad der Orientierung ausreichend gering zu halten, um einfach-auswertbare Spektren zu erhalten, die Ursache, warum die dipolare Kopplung erst seit Mitte der 90er Jahre eine breitere Anwendung in der Flüssigkeits-NMR findet.

Jedes anisotrope Medium, das zur Bestimmung von dipolaren Kopplungen eingesetzt wird, bezeichnet man im Allgemeinen als Orientierungsmedium oder auch als Alignmentmedium. Dipolare Kopplungen zwischen Kernspins, die in ihrer Größe vergleichbar oder geringer mit den jeweiligen skalaren Kopplungen sind, nennt man residuale dipolare Kopplungen oder kurz RDCs.

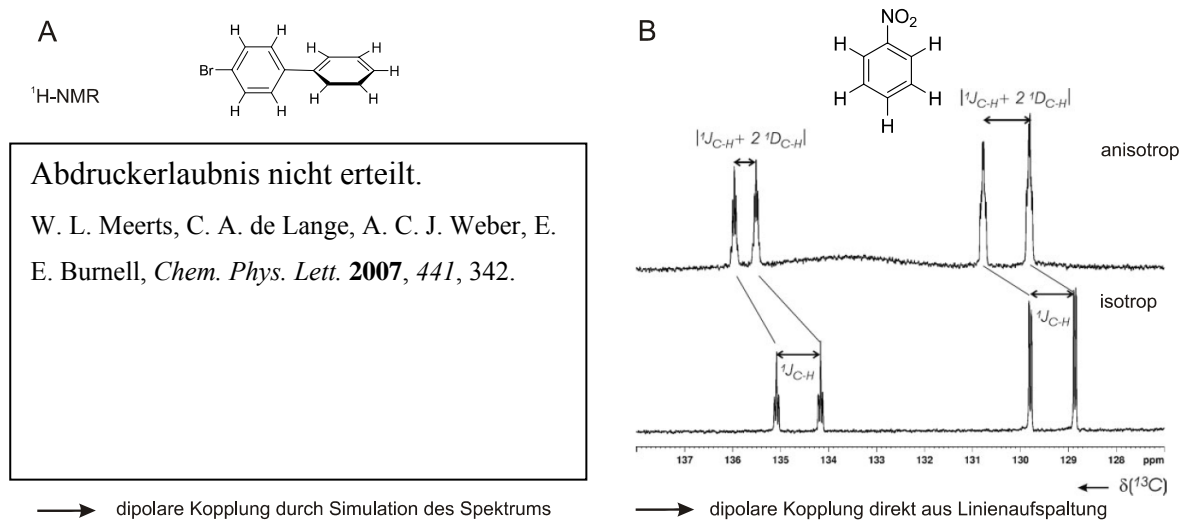


Abbildung 7: Zugänglichkeit der dipolaren Kopplung aus dem Spektrum. A) Durch die starke Orientierung ist die dipolare Kopplung nur durch Simulation des gesamten Spektrums zugänglich. Abbildung aus Lit.^[38] B) Im Falle der schwachen Orientierung ist die nun residuale, dipolare Kopplung direkt aus der Linienaufspaltung zugänglich.^[39] Abbildung aus C. M. Thiele, *Conc. Magn. Reson. Part A* **2007**, 30A, 65 entnommen. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduziert mit Erlaubnis.

Wie bereits oben erwähnt, wird die freie Rotation der Moleküle durch das Orientierungsmedium teilweise eingeschränkt, so dass bestimmte Orientierungen des Moleküls relativ zum Magnetfeld B_0 mit einer höheren Wahrscheinlichkeit auftreten. Da die Rotation der Moleküle sehr schnell im Vergleich zum NMR-Experiment ist, kann nur das zeitliche Mittel der Orientierungen beobachtet werden, wodurch die beobachtbare dipolare Kopplung für starre Moleküle nach Gleichung 8 gegeben ist. Die eckigen Klammern stehen für die Mittelung über alle Orientierungen.^[40]

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar}{4\pi} \frac{\gamma_I \gamma_S}{r_{IS}^3} \cdot \frac{\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle}{2} \quad (8)$$

Aus Gleichung 8 ist ersichtlich, dass die dipolare Kopplung sowohl vom Abstand der wechselwirkenden Kernspins als auch vom Winkel θ des Kernspinpaars zum Magnetfeld abhängig ist.

Da die dipolare Kopplung keinerlei empirische Daten enthält, sondern nur Naturkonstanten, Kerneigenschaften, Abstände und einen Winkel zum Magnetfeld, ist die dipolare Kopplung parametrisierungsfrei – ein entscheidender Vorteil gegenüber der 3J -Kopplung. Die Winkelinformation θ steht in Bezug zu einer externen Referenz (Magnetfeld B_0) und ist somit global. Um einen Winkel zwischen zwei Kernspinpaaren zu bestimmen, müssen diese nicht direkt wechselwirken. Dies ist ein entscheidender Vorteil gegenüber der CCR und der 3J -basierten Konfigurationsanalyse, bei der eine skalare Kopplung zwischen den Kernspinpaaren notwendig ist.

Der Alignmenttensor

Um aus einer gemessenen dipolaren Kopplung eine Strukturinformation zu erhalten, müsste Gleichung 8 ausgewertet werden, jedoch ist erstens über die gemittelte Orientierung *a priori* nichts bekannt und zweitens die Separation der Beiträge von θ und r_{IS} zur dipolaren Kopplung nicht ohne weiteres möglich. Eine Lösung dieses Problems lieferte Saupe et al.^[41] durch Einführung des Saupe-Tensors S , mit dessen Hilfe die gemittelte Orientierung beschrieben werden kann. Ein weiterer Tensor zur Beschreibung der mittleren Orientierung ist der Alignment-Tensor A , auf den wir uns im nachfolgenden immer beziehen werden und der zum Saupe-Tensor proportional ist. Für eine mathematische Ableitung des Alignment-Tensors sei auf Lit.^[42] und für den Saupe-Tensor auf Lit.^[41] verwiesen. Kramer et al.^[42] zeigen eine eher intuitiv-geometrische Herleitung des Alignment-Tensors auf, wovon die wichtigsten Grundkonzepte im Nachfolgenden kurz vorgestellt werden.

In einem Gedankenexperiment wird von einem laborfesten Koordinatensystem zu einem molekülfesten Koordinatensystem gewechselt. Somit betrachtet man nicht mehr die Rotationsbewegung des Moleküls in der Lösung ($\theta(t)$) in einem statischen Magnetfeld, sondern man verankert das Molekül fest im Koordinatenursprung und betrachtet die Änderung des Magnetfeldes ($B_0(t)$) um das Molekül. In diesem molekülfesten Koordinatensystem kann ein Wahrscheinlichkeitstensor P angegeben werden. Dieser ist im Hauptachsensystem von P mit der mittleren Orientierung der wechselwirkenden Kernspinpaare zum äußeren Magnetfeld nach Gleichung 9 verknüpft.

$$\langle \cos^2 \theta \rangle = P_{xx} r_x^2 + P_{yy} r_y^2 + P_{zz} r_z^2 \quad (9)$$

Hierbei sind P_{xx} , P_{yy} und P_{zz} die Eigenwerte des Wahrscheinlichkeits-Tensors, die der Wahrscheinlichkeit entsprechen, das Magnetfeld B_0 entlang der entsprechenden Achse im Hauptachsensystem des Tensors zu finden und r_x , r_y und r_z die kartesischen Koordinaten des Kernspinvektors IS im Hauptachsensystem des Wahrscheinlichkeits-Tensors (siehe Abbildung 8).

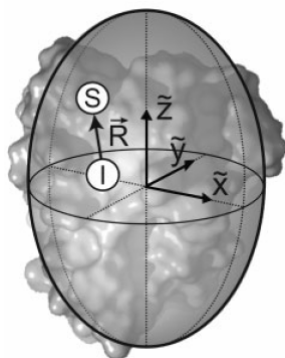


Abbildung 8: Schematische Darstellung eines IS-Kernspinpaares im Hauptachsensystem des Wahrscheinlichkeitstensors. Abbildung aus F. Kramer, M. V. Deshmukh, H. Kessler, S. J. Glaser, *Conc. Magn. Reson.* **2004**, 21A, 10 entnommen. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduziert mit Erlaubnis.

Der Alignment-Tensor A ist die spurlose Form des Wahrscheinlichkeits-Tensors P und über Gleichung 10 leicht zugänglich.

$$A = P - \frac{1}{3}I \quad (10)$$

Hierbei ist I der Einheitstensor. Mit Hilfe des Alignment-Tensors kann die mittlere Orientierung der wechselwirkenden Kernspinpaare zum äußeren Magnetfeld im Hauptachsensystem von A jetzt nach Gleichung 11 ausgedrückt werden.

$$\left\langle \cos^2 \theta - \frac{1}{3} \right\rangle = A_{xx}r_x^2 + A_{yy}r_y^2 + A_{zz}r_z^2 \quad (11)$$

Hierbei sind A_{xx} , A_{yy} und A_{zz} die Eigenwerte des Alignment-Tensors und r_x , r_y und r_z die kartesischen Koordinaten des Kernspinvektors IS im Hauptachsensystem des Alignment-Tensors.

Somit kann die beobachtete dipolare Kopplung im Sinne der Eigenwerte des Alignment-Tensors wie folgt angegeben werden.

$$D_{IS} = b_{IS} \left(A_{xx}r_x^2 + A_{yy}r_y^2 + A_{zz}r_z^2 \right) \quad (12)$$

Gemäß Gleichung 12 kann der Alignment-Tensor aus den gemessenen dipolaren Kopplungen erhalten werden, welcher die Information über die gemittelte Orientierung und somit die gewünschte Strukturinformation enthält (siehe Gleichung 11).

Um nun zu verstehen, wie die gewünschte Strukturinformation mit Hilfe des Alignment-Tensors aus den experimentell bestimmten RDCs erhalten wird, muss auf einige Eigenschaften des Alignment-Tensors eingegangen werden. Der Alignment-Tensor ist eine reelle, spurlose, symmetrische (3x3)-Matrix und wird somit allgemein von fünf unabhängigen Elementen definiert. Aus diesem Grund müssen mindestens fünf linear unabhängige RDCs, deren zugehörige internukleare Vektoren möglichst wenig kollinear sind, experimentell bestimmt werden. Des Weiteren wird zur Bestimmung des Alignment-Tensors gemäß Gleichung 8 noch der Abstand der wechselwirkenden Kernspins benötigt. Dieser Abstand muss durch einen Strukturvorschlag vorgegeben werden. Im Falle einer Kopplung zwischen direkt gebundenen Kernen wie zum Beispiel C und H ($^1D_{CH}$) wäre dies der C-H-Bindungsabstand.^[43] Für starre Moleküle ist der Abstand zwischen den wechselwirkenden Kernspins auch über größere Entfernungen relativ leicht durch *einen* Strukturvorschlag zugänglich. Welche Probleme bei intramolekularer Flexibilität auftreten, wird im Anschluss besprochen. Mittels der experimentell bestimmten RDCs und den dazugehörigen Abständen der Kernspins kann nun der Alignment-Tensor über ein Gleichungssystem bestimmt werden (für eine detailliertere mathematische Ableitung sei auf Lit.^[44-46] verwiesen). Da i.d.R. mehr als fünf RDCs bestimmbar sind, muss ein überbestimmtes Gleichungssystem gelöst werden, was im Allgemeinen durch eine Singulärwertzerlegung (*singular value decomposition*, SVD) geschieht. Als Ergebnis der SVD erhält man die fünf Elemente des Alignment-Tensors, dessen Eigenwerte und Eigenvektoren und Gütekriterien, die Aussagen über die Lösbarkeit des Gleichungssystems erlauben. Gleichzeitig erhält man die $RDCs^{theo}$, die die beste Lösung des Gleichungssystems für den Strukturvorschlag darstellen. Eine Korrelation der experimentell bestimmten (RDC^{exp}) mit den berechneten (RDC^{theo}) RDCs spiegelt dann die Güte des Strukturvorschlags wider.

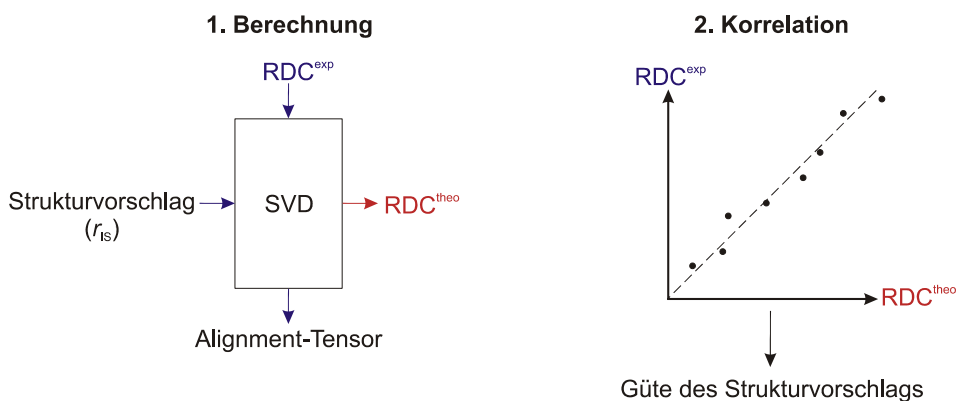


Abbildung 9: Typischer Gang einer Strukturanalyse mittels SVD. Zunächst erfolgt die Berechnung des Alignment-Tensors aus experimentell bestimmten RDCs (RDC^{exp}) und einem Strukturvorschlag. Gleichzeitig werden die erwarteten RDCs (RDC^{theo}) erhalten. Eine Korrelation von RDC^{exp} mit RDC^{theo} spiegelt die Güte des Strukturvorschlags wider.

Es ist in diesem Zusammenhang wichtig anzumerken, dass fünf RDCs immer einen eindeutig bestimmten Alignment-Tensor ergeben unabhängig vom Strukturvorschlag, so dass aus verschiedenen Strukturvorschlägen nicht derjenige ermittelt werden kann, der den Satz der dipolaren Kopplungen am besten repräsentiert. Erst ab der sechsten RDC erhält man aus dem überbestimmten Gleichungssystem – abhängig vom Strukturvorschlag – unterschiedlich gut definierte Alignment-Tensoren und somit Korrelationen von RDC^{exp} gegen RDC^{theo} unterschiedlicher Güte.

Die inhärenten Strukturinformationen der RDCs werden also dazu benutzt, um die Güte eines Strukturvorschlages zu bestimmen, wobei jener Vorschlag die „wahre“ Struktur am besten repräsentiert, der die beste Korrelation von RDC^{exp} gegen RDC^{theo} zeigt.

Für die Bestimmung der Konfiguration hat dies zur Konsequenz, dass alle denkbaren Diastereomere und dazugehörigen Konformere als Strukturvorschlag angegeben werden müssen, um eine eindeutige Aussage treffen zu können. Der Hauptnachteil dieser Methode ist, dass in der Menge der Strukturvorschläge der korrekte Vorschlag enthalten sein muss.

Eine weitere Möglichkeit, Strukturinformationen zu erhalten, besteht darin, dass nicht alle experimentell bestimmten RDCs für die Berechnung des Alignment-Tensors mit einbezogen werden, sondern nur eine Auswahl an RDCs (mindestens 5). Aus dem somit erhaltenden Alignment-Tensor werden dann die restlichen RDCs vorhergesagt und mit den experimentell gewonnenen verglichen.

Behandlung konformationeller Flexibilität

Intramolekulare Flexibilität führt wie oben beschrieben (Kapitel 2.2) zur Mittelung aller NMR-Observablen – auch der RDCs. Bei der Verwendung von RDCs zur Strukturbestimmung von flexiblen Molekülen müssen zwei Mittelungsprozesse gleichzeitig berücksichtigt werden. Zum einen erfolgt eine Mittelung infolge der Rotation und Translation des Moleküls im Orientierungsmedium und zum anderen tritt eine Mittelung auf Grund konformationeller Flexibilität auf. Der erste Mittelungsprozess ist identisch zu dem starrer Moleküle, der zweite Prozess jedoch führt zur Mittelung von Winkeln und Abständen. Die dipolare Kopplung ist nun nach Gleichung 13 gegeben.

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \hbar}{4\pi} \frac{\gamma_I \gamma_S}{2} \cdot \left\langle \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{r_{IS}^3} \right\rangle \quad (13)$$

Da die Beiträge der Mittelungsprozesse zur dipolaren Kopplung *a priori* nicht separierbar sind, ist die Interpretation der erhaltenen RDCs deutlich schwieriger.

Um ein flexibles Molekül exakt zu behandeln, müssten alle Freiheitsgrade beschrieben werden. Dies würde eine sehr große Anzahl an RDCs nötig machen. Die Anzahl an experimentell zugänglichen

RDCs ist jedoch i.d.R. zu gering. Um dennoch Strukturinformationen zu gewinnen, werden zwei verschiedene Verfahren angewendet, die alle als Vereinfachung diskrete Konformere annehmen. Dies sind zum einen eher rein physikalische Verfahren, die versuchen, das flexible System näherungsweise zu beschreiben, wie etwa die *rotational isomeric state* (RIS) Näherung^[47] oder die *additive potential* (AP) Theorie^[48]. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Anwendung der *maximum entropy* (ME) Methode,^[49] bei der die wahrscheinlichste Verteilung an Konformeren gesucht wird. Eine Kombination der AP Theorie mit der ME Methode ist ebenfalls beschrieben (APME)^[50]. Zum anderen sind auch Methoden beschrieben, die das in Abbildung 9 angelehnte Verfahren für die Strukturbestimmung starrer Moleküle benutzen.^[51-55] Hierfür wird für die SVD nur eine eingeschränkte Anzahl an diskreten Konformeren berücksichtigt. Hierbei ist jedoch die Kenntnis über die beitragenden Konformere nötig, die entweder mittels ³J-Analyse oder NOE-Abständen ermittelt oder aus quantenmechanischen Rechnungen erhalten werden. Als Strukturvorschlag dient dann entweder die gemittelte Struktur aller Konformere oder ein Ensemble an Konformeren, gewichtet nach ihrer Population. Für das Ensemble an Konformeren wird wiederum eine Näherung angewendet, nämlich die Beschreibung der diskreten, beitragenden Konformere durch den gleichen Alignment-Tensor (*single tensor fit*). Eine physikalisch bessere Beschreibung ist, jedes diskrete, beitragende Konformer durch einen eigenen diskreten Alignment-Tensor zu beschreiben (*multi tensor fit*). Hierfür sind jedoch für jedes Konformer mindestens fünf linear unabhängige RDCs nötig. Bei einer höheren Anzahl an beitragenden Konformeren kann dies jedoch dazu führen, dass die Anzahl an experimentell zugänglichen RDCs zu gering ist.

Eine weitere Möglichkeit, Strukturinformationen von flexiblen Molekülen zu gewinnen, besteht in der Unterteilung des gesamten Moleküls in diskrete Untereinheiten. Für jede diskrete Untereinheit wird dann ein Alignment-Tensor bestimmt. Anschließend müssen diese einzelnen *lokalen* Alignment-Tensoren zueinander in Beziehung gesetzt werden.^[56] Hierbei repräsentiert derjenige Strukturvorschlag die „wahre“ Struktur am besten, der die Eigenvektoren der einzelnen Alignment-Tensoren kollinear zueinander orientiert. Dieses Verfahren, welches von Prestegard et al.^[57, 58] erstmals beschrieben wurde, ist jedoch nur anwendbar, wenn die diskreten Untereinheiten signifikant kreuzkorreliert sind, d.h. eine ähnliche Korrelationszeit τ_c besitzen. Da sich mit steigender Flexibilität die Kreuzkorrelation zwischen den diskreten Untereinheiten verringert, ähneln sich die Eigenvektoren der einzelnen Alignment-Tensoren ebenfalls weniger, wodurch sie nicht mehr kollinear orientiert sein müssen. Als Folge hiervon ergeben sich weniger gut definierte Strukturen. Mit erhöhter Flexibilität steigt i.d.R. die Anzahl an diskreten Untereinheiten. Da wie oben beschrieben mindestens 5 RDCs für die Bestimmung des Alignment-Tensors notwendig sind, kann die Anzahl an verfügbaren RDCs auch hier schnell zu gering werden.

Neben einer erhöhten Flexibilität gibt es weitere Faktoren, die die Anwendbarkeit dieser Methode zur Bestimmung der Relativkonfiguration einschränken. Zum einen ist die Orientierung der Alignment-Tensoren vierfach entartet. Dies kann zu nicht-eindeutigen Strukturlösungen führen. Einen Ausweg hierfür bietet die Verwendung von mindestens zwei Orientierungsmedien, die auf verschiedenen Orientierungsmechanismen beruhen.^[58, 59] Des Weiteren sind RDCs unempfindlich gegenüber Inversion. Somit kann die relative Konfiguration zwischen stereogenen Zentren nur dann bestimmt werden, wenn die stereogenen Zentren in irgendeiner Weise in Beziehung gesetzt werden können. Für sehr flexible Verbindungen, bei denen die stereogenen Zentren weit voneinander entfernt sind, muss eine andere Methode gewählt werden.

2.4.1 Anwendungsbeispiele von RDCs in der Strukturbestimmung

Die konzeptionell einfachste Anwendung von RDCs zur Strukturbestimmung von Molekülen nutzt die Tatsache aus, dass kollineare Bindungen in einem starren Molekül die gleiche gemittelte Orientierung zum Magnetfeld B_0 und somit gleichgroße RDCs haben. Somit müssen für die Strukturbestimmung keine Alignment-Tensoren bestimmt werden. Die beiden bisher publizierten Beispiele sind in Abbildung 10 gezeigt.

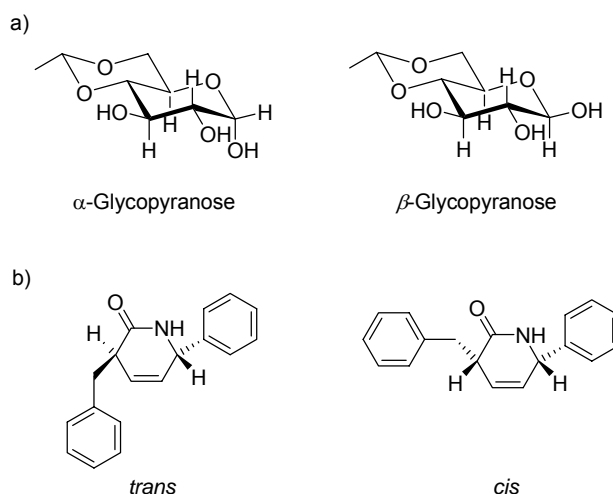


Abbildung 10: Zuordnung der relativen Konfiguration durch Ausnutzen der Tatsache, dass parallele Bindungen in einem starren Molekül gleichgroße RDCs zur Folge haben.

Shapiro et al.^[60] konnte auf diese Weise zeigen, dass das α - und β -Anomer der Glycopyranose (Abbildung 10 a)) zugeordnet werden kann. Courtieu et al.^[61] konnten mit dieser Methode die relative Konfiguration eines Dihydropyridon-Derivats erfolgreich bestimmen, was auf Grund der Entfernung der stereogenen Zentren weder mit einer J -Kopplungsanalyse noch mit NOE-Messungen möglich war (Abbildung 10 b)).

Das gängigste Verfahren zur Strukturbestimmung von Molekülen mit Hilfe von RDCs basiert auf der im vorangegangenen Kapitel besprochenen Bestimmung des Alignment-Tensors und der Korrelation der experimentell bestimmten mit den berechneten RDCs für verschiedene Strukturvorschläge. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnten diastereotopie Gruppen und diastereotopie Protonen eindeutig zugeordnet und relative Konfigurationen bestimmt werden. Einige Beispiele sind in Abbildung 11 aufgeführt. Es wurden zunächst als *proof of principle* für diese Methode die diastereotopie Protonen der strukturell gut charakterisierten Verbindungen Strychnin^[62, 63] (Abbildung 11 a)), Menthol^[64] (Abbildung 11 b)) und Norbornen^[65] (Abbildung 11 c)) eindeutig zugeordnet. Für die beiden Verbindungen Sphaeropsidin A^[66] (Abbildung 11 d)) und Ludartin^[67] (Abbildung 11 h)) konnten erst mit Hilfe von RDCs eine eindeutige Zuordnung diastereotoper Gruppen/Protonen erfolgen.

Das erste Beispiel einer relativen Konfigurationsbestimmung auf Basis dieser Methode war das Natriumcholat^[68] (Abbildung 11 g)). Doch die relative Konfiguration der weiteren in Abbildung 11 dargestellten Moleküle Spiroinden^[69] (Abbildung 11 e)), eines bicyclischen Glutaminsäure-Analogons^[70] (Abbildung 11 f)) und von Ludartin^[71] (Abbildung 11 h)) konnte erst durch Verwendung von RDCs bestimmt werden.

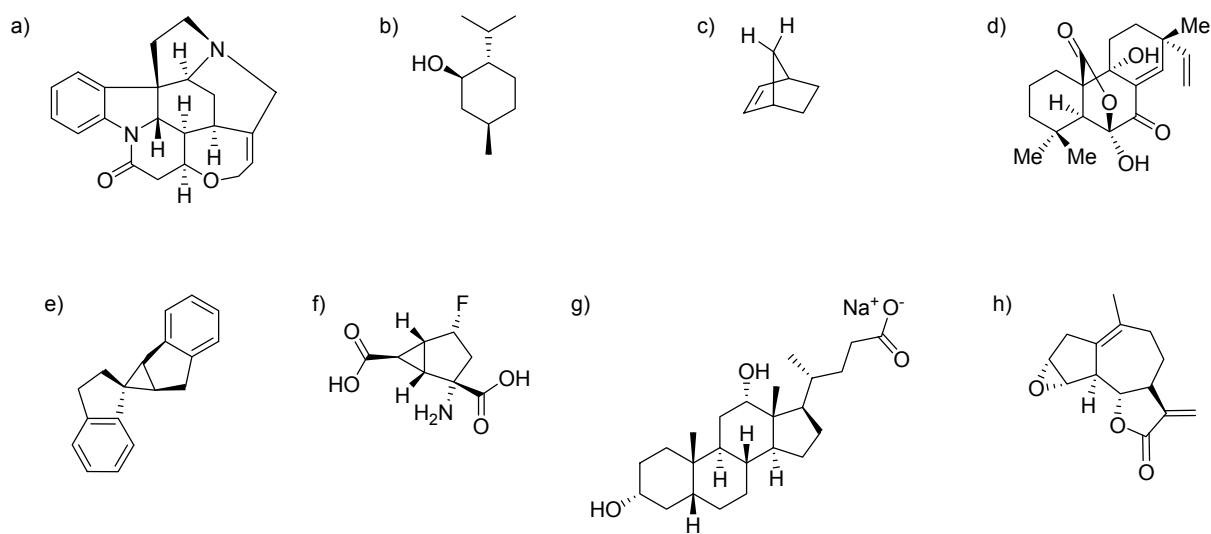


Abbildung 11: Übersicht über starre Moleküle bei denen entweder diastereotopie Gruppen/Protonen (a, b, c, d, h) oder relative Konfiguration (e, f, g, h) eindeutig bestimmt wurde.

Alle oben genannten Moleküle sind starr, d.h. sie besitzen nur eine beobachtbare Vorzugskonformation. Auf Grund der im vorangegangenen Kapitel besprochenen Probleme bei der Behandlung von flexiblen Molekülen wurden bisher nur wenige Anwendungsbeispiele für konformationell flexible Verbindungen publiziert (siehe Abbildung 12). Die Strukturbestimmung erfolgte entweder durch die Erzeugung einer gemittelten Struktur, wie im Falle des α -Methylen- γ -butyrolactons^[51] (Abbildung 12

a)), oder durch Erzeugung eines Ensembles an Konformeren für jedes Diastereomer, wie im Falle des Sucro-Neolambertellin^[53] (Abbildung 12 b)), Archazolide A^[54] (Abbildung 12 c)), Jaborosalactol^[72] (Abbildung 12 d)) oder des Sagittamide A^[52] (Abbildung 12 f)). Bei allen Beispielen wurden entweder zusätzlich Abstände aus NOE-Messungen und Winkel aus $^3J_{\text{HH}}$ -Analyse oder quantenmechanische Rechnungen verwendet, um die Anzahl an relevanten Konformeren einzuschränken.

Bei allen oben genannten Beispielen (Abbildung 12 a)^[55] bis Abbildung 12 f)^[73]) wurde die konformationelle Flexibilität mit Hilfe der *single tensor* Näherung behandelt. Hierfür wurde für alle Konformere stets der gleiche Alignment-Tensor verwendet. Zusätzlich wurde im Falle des α -Methylen- γ -butyrolactons^[55] ebenfalls das *multiple tensor* Verfahren angewendet, bei der jedes Konformer durch einen Alignment-Tensor beschrieben wird. Darüber hinaus konnten im Falle des α -Methylen- γ -butyrolactons ebenfalls die Konformerenpopulation aus den gemessenen RDCs bestimmt werden. Hierbei zeigte sich, dass die aus den RDC-Daten gewonnene Konformerenpopulation identisch mit der aus J -Kopplungen und der aus quantenmechanischen Rechnungen erhalten Populationen ist. Demnach konnte in diesem Fall ein Einfluss des Orientierungsmediums auf das Konformergleichgewicht ausgeschlossen werden.

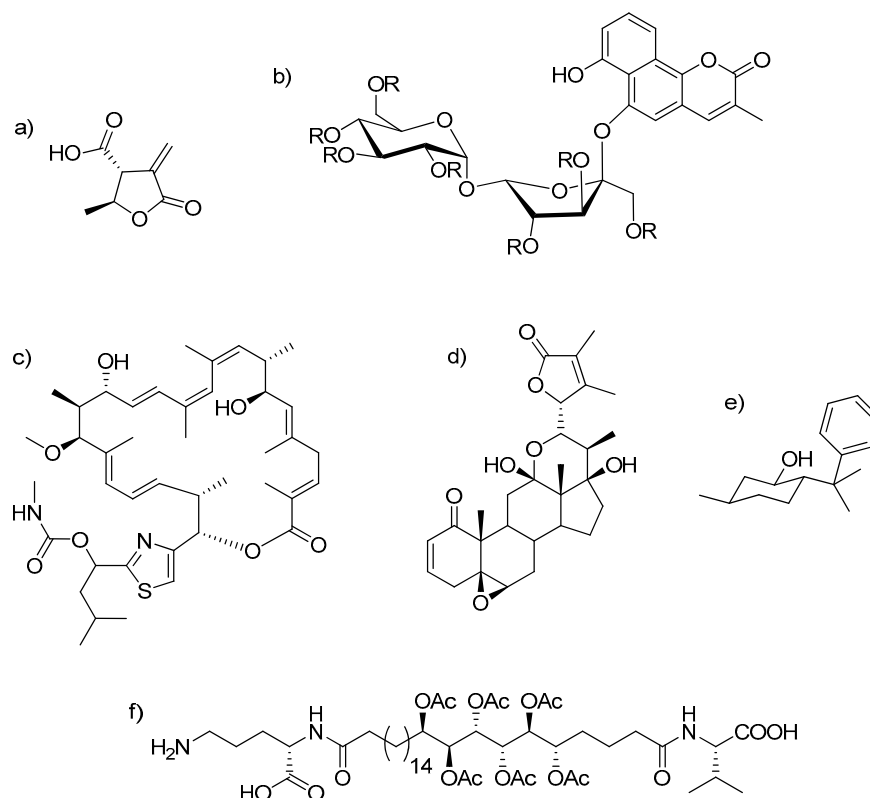


Abbildung 12: Übersicht über die Anwendung von RDCs zur Bestimmung der relativen Konfiguration flexibler Moleküle.

3. Orientierungsmedien

Der Begriff „Orientierungsmedium“ wurde bereits im vorangegangenen Kapitel eingeführt und bezeichnet allgemein jedes Medium, das zur Messung anisotroper NMR Observablen eines darin gelösten Moleküls eingesetzt wird. Allgemein sind drei Klassen an Orientierungsmedien bekannt:

- 1) flüssigkristalline Phasen (LC-Phasen)
- 2) gestreckte und gestauchte Gele (SAG)
- 3) paramagnetische Tags^[74]

3.1 Flüssigkristalline Phasen (LC-Phasen)

LC-Phasen können als Orientierungsmedium dienen, da ihre inhärente Anisotropie auf Analytmoleküle übertragen werden kann und somit anisotrope NMR-Observablen, wie die residuale dipolare Kopplung (RDC), beobachtbar sind. Die mittlere induzierte Orientierung des Moleküls wird durch Einschränkung der freien Rotation hervorgerufen. Wie bereits im Kapitel 2.4 besprochen, sollte der Grad der induzierten Orientierung, möglichst gering sein, damit die dipolare Kopplung aus der Linienaufspaltung entnommen werden kann. Dieses Kriterium ist im Hinblick auf die standardmäßige Verwendung von RDCs in der Flüssigkeits-NMR von entscheidender Bedeutung. Eine weitere Bedingung für die weitreichende Verwendung des Orientierungsmediums liegt in der Kompatibilität mit organischen Lösungsmitteln, da viele niedermolekulare Verbindungen nur in diesen löslich sind.

Da zu erwarten ist, dass Moleküle, die sich in ihren physikalischen Eigenschaften wie zum Beispiel der Polarität signifikant unterscheiden, unterschiedlich stark mit der LC Phase wechselwirken und somit auch unterschiedlich stark orientiert werden, sollte die LC Phase einen Freiheitsgrad besitzen, der es erlaubt, den Grad der Orientierung zu regulieren.

3.1.1 Definition und Eigenschaften flüssigkristalliner Phasen

Unter einem Kristall versteht man einen Feststoff mit fester dreidimensionaler Positionsfernordnung, wobei das Kristallgitter die Anordnung der Gitterbausteine beschreibt. Besitzen die Gitterbausteine eine von der Kugel abweichende Form (Anisometrie), so nehmen sie im Gitter aus Packungsgründen eine wohldefinierte Orientierung ein (siehe Abbildung 13). Durch diese Orientierungsfernordnung resultieren anisotrope Eigenschaften.

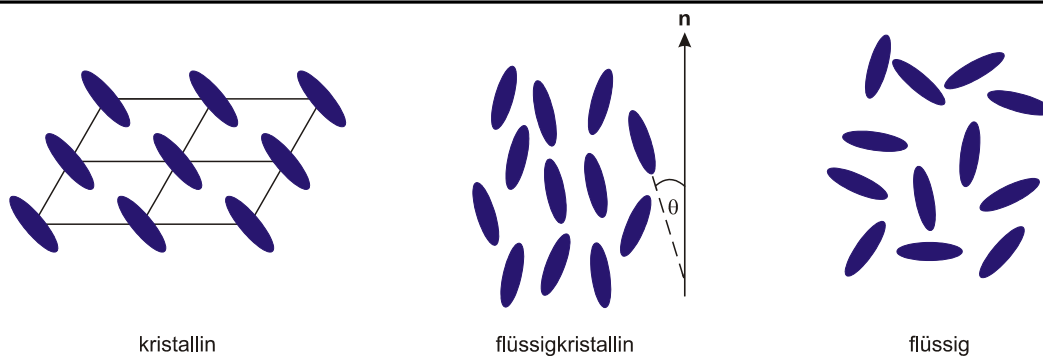


Abbildung 13: Schematische Darstellung der drei Phasen: fest, flüssigkristallin und flüssig. Im Falle des Kristalls sind sowohl Positions- als auch Orientierungsfernordnung und im Falle der Flüssigkeit keine von beiden vorhanden. In der abgebildeten LC Phase ist nur die Orientierungsfernordnung vorhanden.

Eine Flüssigkeit ist durch freie Rotation und Translation der Teilchen charakterisiert. Als Folge davon besitzen Flüssigkeiten weder eine feste 3D-Positions- noch eine Orientierungsfernordnung.^[75] Da beide Typen von Fernordnung voneinander unabhängig sind, können zwei weitere Kombinationen auftreten.

1. feste 3D-Positionsfernordnung ohne Orientierungsfernordnung
2. Orientierungsfernordnung ohne feste 3D-Positionsfernordnung

Im ersten Fall liegt ein Kristallgitter mit statistisch orientierten Molekülen vor, somit ist diese Phase fest und isotrop. Die entsprechende thermodynamisch stabile Phase wird als *plastischer Kristall* bezeichnet und von isometrischen Molekülen gebildet, d.h. von Molekülen, die nicht zu sehr von der Kugelform abweichen, wie zum Beispiel Fulleren oder Adamantan. Im zweiten Fall liegt freie Beweglichkeit zusammen mit einer insgesamt einheitlichen Vorzugsorientierung der Moleküle vor. Somit ist die Phase flüssig und anisotrop und die thermodynamische stabile Phase ist die der flüssigen Kristalle. Die Entdeckung von flüssigkristallinen Phasen geht auf Friedrich Reinitzer und Otto Lehmann im Jahr 1888 zurück.^[76, 77] Reinitzer beobachtete beim Schmelzen von Cholesterylacetat und -benzoat das Auftreten einer zunächst trüben Flüssigkeit, die erst beim weiteren Erwärmen optisch klar wurde (Klärpunkt). Zusammen mit Lehmann fand er heraus, dass die trübe, flüssige Phase anisotrope Eigenschaften wie die Doppelbrechung zeigte, was bis dahin nur an Kristallen beobachtet wurde. Lehmann erkannte, dass es sich um eine thermodynamisch stabile Phase mit Eigenschaften zwischen dem festen und flüssigen Zustand handelte und nannte diese Mesophase *flüssige Kristalle* (liquid crystals, LC). Die Strukturbausteine der LC-Phasen werden als Mesogene bezeichnet, wobei Mesogene einzelne Moleküle oder Molekülaggregate sein können. Die einheitliche Vorzugsorientierung der Mesogene wird als Direktor bezeichnet. Da die LC Phase ein dynamisches System ist, bei dem die Mesogene der thermischen Bewegung sowie der Schwankung um den Direktor \mathbf{n} unterliegen (siehe Abbildung 13),

ist es sinnvoll, ein quantitatives Maß für die Orientierungsfernordnung zu definieren. Für Mesogene mit nur einem Direktor, kann hierfür der durch Zwetkoff^[78] eingeführte Ordnungsparameter S (Gleichung 14) benutzt werden.

$$S = \left\langle \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} \right\rangle \quad (14)$$

Hierbei ist θ der Winkel zwischen der Längsachse eines Mesogens und dem Direktor (siehe Abbildung 13). Die eckigen Klammern deuten auf die Mittelung über ein statistisches Ensemble an Mesogenen hin. Es ist genau dieses Konzept des Ordnungsparameters, das Saupe später für die Beschreibung der Vorzugsorientierung eines in der LC Phase gelösten Analyten verwendete und das im Kapitel 2.4 in Form des Alignment-Tensors bereits beschrieben wurde.

a) Einteilung LC-Phasen

Die von Reinitzer gefundenen LC-Phasen entstehen durch Schmelzen eines Feststoffs, d.h. infolge einer Temperaturänderung. Diese Art der LC Phase wird als thermotroper LC bezeichnet. Eine weitere Art der LC Phase wurde erstmals in Tensidlösungen gefunden. Hierin können sich die amphiphilen Tensidmoleküle zu physikalisch gebundenen Aggregaten, den Mizellen, zusammenschließen, wobei die Form der Mizellen konzentrationsabhängig ist. Anisometrische Mizellen sind mesogene Bausteine und können daher LC-Phasen ausbilden. Da in diesem System die LC Phase infolge einer Konzentrationsänderung entsteht, werden sie als lyotrope LC bezeichnet.

Während die dynamischen, hochflexiblen Molekülaggregate amphiphiler Moleküle in den lyotropen LC-Phasen die mesogenen Bausteine darstellen, sind es in den thermotropen LC-Phasen die einzelnen Moleküle selbst. Die notwendige Anisometrie der Moleküle bzw. Molekülaggregate kann auf zwei verschiedenen Wegen realisiert werden (siehe Abbildung 14): der prolaten (Stäbchenform) oder oblaten Form (Scheibchenform), wobei die Mesogene der ersten Form calamitisch und Mesogene der zweiten Form diskotisch genannt werden.

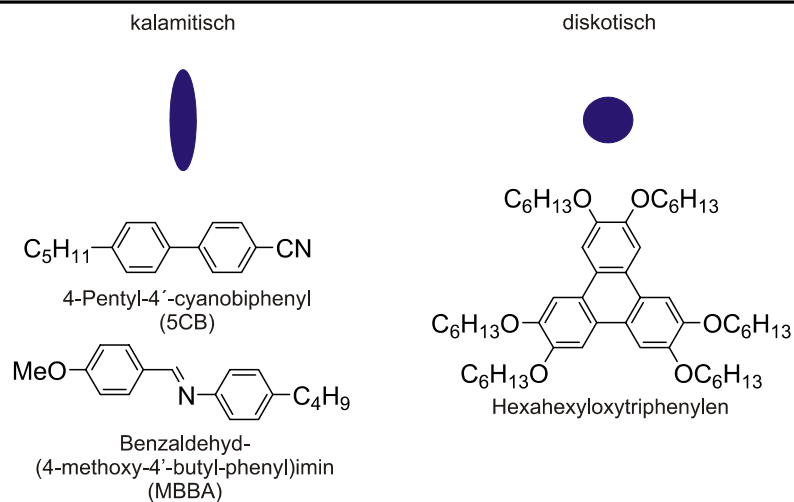


Abbildung 14: Die geometrische Form von Mesogenen kann in zwei Gruppen eingeteilt werden: kalamitisch und diskotisch.

Kalamitische Mesogene bestehen aus einem starren Kern, der typischerweise durch 2 oder 3 aromatische Ringe aufgebaut ist und zusätzlich über zwei langkettige, flexible oder polare Flügelgruppen. Die flexiblen Flügelgruppen dienen zum einen der Unterdrückung der Kristallisation und zum anderen der Erniedrigung der Schmelztemperatur bei thermotropen und der Löslichkeitssteigerung bei lyotropen LC. Diskotische Mesogene sind typischerweise aus kondensierten Aromaten wie dem Triphenylen aufgebaut. Auch sie tragen mehrere lange flexible oder polare Gruppen um die Schmelztemperatur oder die Löslichkeit zu regulieren.

Die weitere Einteilung der LC-Phasen erfolgt nach dem Grad der Positionsfernordnung der Mesogene. Mesogene, die keine Positionsfernordnung besitzen, werden als nematische (N) Phasen bezeichnet. Diese treten sowohl bei kalamitischen als auch bei diskotischen Mesogenen auf. Sie besitzen nur die Orientierungsfernordnung und somit den niedrigsten Ordnungsgrad unter den LC-Phasen.

Treten in kalamitischen LCs ein- oder höherdimensionale Positionsfernordnungen auf, so werden die LC als smektische (Sm) Phasen bezeichnet, wobei besonders häufig die smektische A- und C-Phase (SmA und SmC) vorkommen. Beide besitzen eine eindimensionale Positionsfernordnung in Form von Schichten, wobei die Mesogene innerhalb der Schichten frei beweglich sind (siehe Abbildung 15).

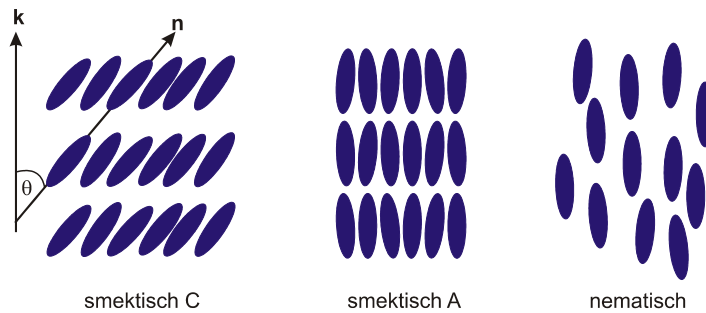


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Ordnungsprinzipien in der smektischen C- (SmC), der smektischen A- (SmA) und der nematischen (N) Phase. Die SmC-Phase wird durch den Tiltwinkel θ zwischen dem Direktor und der Schichtnormalen charakterisiert.

Diskotische Mesogene können neben der nematischen Phase ebenfalls ein- oder höherdimensionale Positionsfernordnungen einnehmen, die lamellaren oder columnaren Phasen.

Bei lyotropen LC-Phasen treten neben den für thermotropen Phasen beschriebenen zusätzlich noch mizellare Phasen auf. Bei diesen, aus Aggregaten aufgebauten LCs, erfolgt die Einteilung in nematische, lamellare (eindimensionale Positionsfernordnung), hexagonale (zweidimensionale Positionsfernordnung) oder kubische (dreidimensionale Positionsfernordnung) Phasen. Für eine detailliertere Betrachtung der Phasenmorphologien sei auf die Literatur^[79] verwiesen.

In Abbildung 16 ist eine Übersicht über die Einteilung der LC-Phasen gegeben.

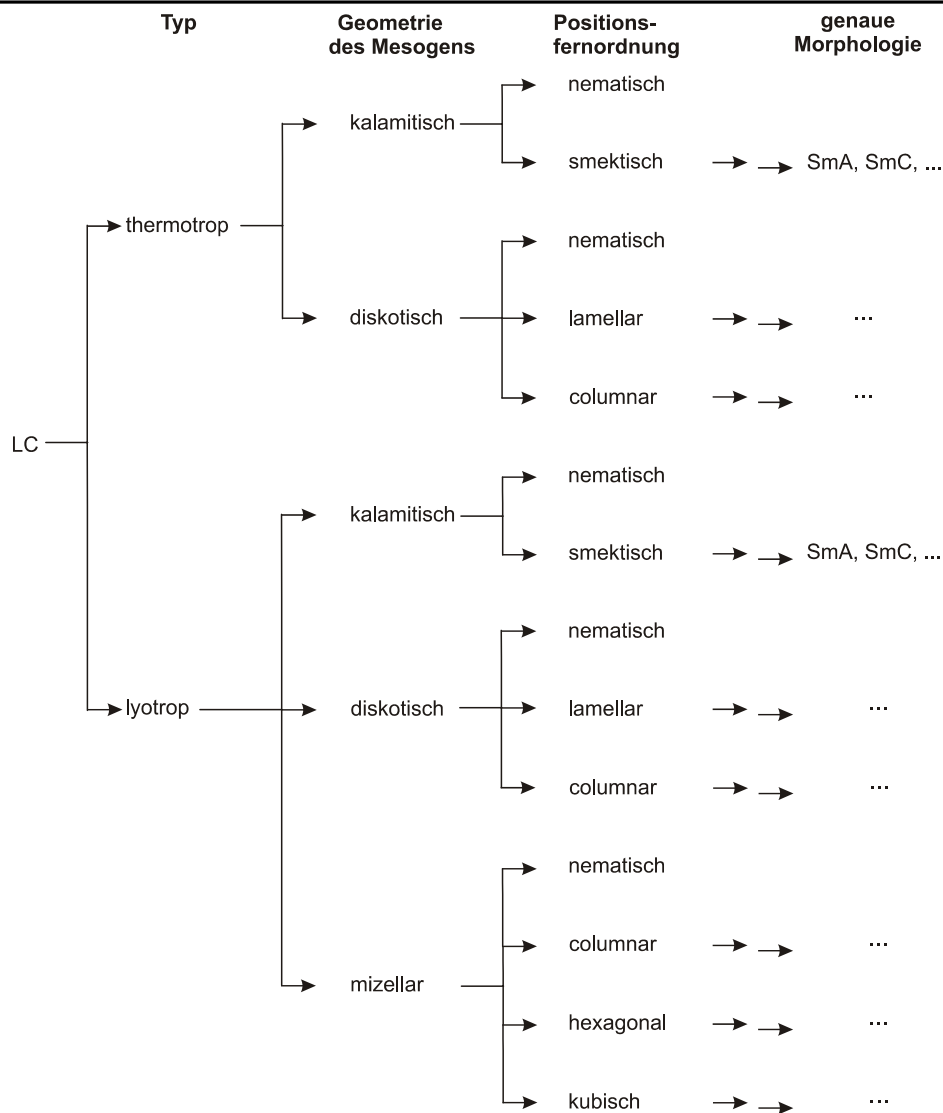


Abbildung 16: Übersicht über die verschiedenen LC-Phasen. Eine mögliche Einteilung kann über die geometrische Form und die Positionsfornordnung gemacht werden. Die nematische, SmA und SmC sind die häufigsten und wichtigsten Vertreter der LC-Phasen.

Ein Sonderfall bilden die cholesterischen Phasen. Sie werden entweder von homochiralen Mesogenen oder eher seltener von LC-Phasen, die mit homochiralen Dotierstoffen versetzt werden, ausgebildet. Diese chiralen, nematischen Phasen besitzen eine makroskopische, helikale Überstruktur, welche senkrecht zum Direktor ausgerichtet ist. Diese Überstruktur entsteht indem einzelne Schichten der nematischen Phase um einen kleinen Winkel verdrillt werden, so dass der Direktor eine kontinuierliche Änderung erfährt (siehe Abbildung 17). Aus der einhändig helikalen Makrostruktur ergeben sich besondere Eigenschaften: hohe optische Rotation, zirkularer Dichroismus und Selektivreflektion von Licht. Bei letzterer ist die Wellenlänge des zirkularpolarisierten, reflektierten Lichtes proportional zur Ganghöhe (pitch) der Helix. Eine Veränderung der Ganghöhe durch thermische, magnetische oder elektrische Einflüsse spiegelt sich in einer Änderung der optischen Eigenschaften wider.^[80] Die helikale

Überstruktur kann durch starke Magnetfelder gänzlich entwunden werden, wobei eine nematische Phasenmorphologie erhalten wird.^[81]

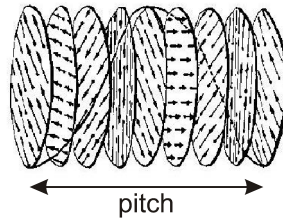


Abbildung 17: Schematische Darstellung der helikalen Makrostruktur der cholesterischen LC-Phasen. Die helikale Überstruktur wird senkrecht zum Direktor ausgebildet.^[82]

b) polymerbasierte LC-Phasen

Alle bisher besprochenen Phasen wurden am Beispiel niedermolekularer Mesogene gezeigt. Neben diesen gibt es mittlerweile auch eine Vielzahl an Polymeren, die LC-Phasen bilden können. Allerdings wurde erst gegen Ende der 70er Jahre ein rationales Design für polymerbasierte thermotrope und lyotrope LC gefunden.^[83, 84]

Die Einbindung des Mesogens in ein Polymer kann auf verschiedenen Wegen realisiert werden (Abbildung 18). Zum einen können die Mesogene in die Polymerhauptkette eingebaut werden, wobei sie entweder über einen flexiblen Spacer (a) oder direkt (rigid-rod) (b) miteinander verknüpft sein können. Eine zweite Möglichkeit besteht darin, die Mesogene in die Seitenketten einzubauen (c). Eine Kombination beider Varianten ist ebenfalls realisierbar (d).

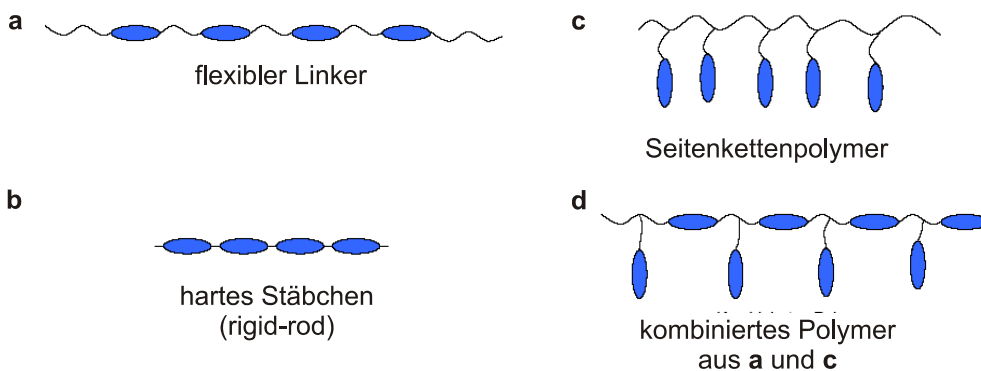


Abbildung 18: Verschiedene Arten der Einbindung eines Mesogens in ein Polymer.

Ein entscheidender Vorteil der polymerbasierten LCs ist, dass deren Eigenschaften sehr gezielt durch Wahl des Spacers im Hauptkettenpolymer oder des polymeren Rückgrats im Seitenkettenpolymer eingestellt werden können. Verwendet man bei den Seitenkettenpolymeren ein flexibles Rückgrat (Alkylketten, Oligoethylenoxide, usw.), so kommt es zur Entkopplung zwischen der Polymerkette und den Mesogenen.^[85] Dadurch hat die Konformation des Polymers nur einen geringen Einfluss auf die Bildung der LC Phase und das Polymer weist sehr ähnliche LC Eigenschaften auf wie das isolierte Meso-

gen. Bei der Wahl eines starren Spacers im Hauptkettenpolymer oder eines *rigid-rod* Polymers sind Materialien mit völlig neuartigen Eigenschaften zugänglich.

Eine weitere Möglichkeit, die Eigenschaften des LC Polymers gezielt zu verändern, besteht in der Copolymerisation mit weiteren mesogenen oder nicht-mesogenen Monomeren. Die Synthese eines Seitenkettenpolymers, das durch Copolymerisation mit einem nicht-mesogenen Monomer aufgebaut wurde, führt zu einer verringerten Konzentration an Mesogenen verglichen zum Homopolymer, wodurch die Viskosität deutlich verringert werden kann. Sind die beiden copolymerisierten Monomere inkompatibel (zum Beispiel hydrophil und hydrophob), so kommt es zur Mikrophasenseparation in der polymeren LC Phase.^[86] Hierdurch können geordnete Mikrostrukturen infolge der Selbstorganisation der Polymere aufgebaut werden.^[87]

In allen bisher besprochenen Beispielen von LC Polymeren wurden stets Mesogene als Monomere verwendet. Dies ist jedoch nicht zwingend erforderlich. Die Verwendung nicht-mesogener Monomere (zum Beispiel Aminosäuren) kann trotzdem zu LC Polymeren führen, wobei ausschließlich die Eigenschaften des Polymers für den mesogenen Charakter verantwortlich sind. Auf Grund der notwendigen Anisotropie eines Mesogens müssen die Polymere einen ausreichenden Grad an Steifigkeit besitzen und dürfen daher nicht in einer *random-coil* Konformation vorliegen. Für polymerbasierte calamitische Mesogene kann dies zum Beispiel durch ein helikales Strukturmotiv erreicht werden.

Aus den in diesem Kapitel vorgestellten Arten und Eigenschaften von LC-Phasen erfüllen nematische lyotrope LC die gestellten Anforderungen an das Orientierungsmedium am besten. Nematische LC besitzen ausschließlich eine Orientierungsfernordnung und haben somit unter allen LC-Phasen den niedrigsten inhärenten Ordnungsgrad, wodurch der induzierte Ordnungsgrad auf in ihr gelöste Moleküle ebenfalls am geringsten ist. Im Gegensatz zu den thermotropen LC Systemen sind lyotrope LC-Phasen Mehrkomponentensysteme. Somit können sowohl Lösungsmittel als auch die Konzentration des Mesogens in bestimmten Grenzen variiert werden. Diese Möglichkeiten stellen die gewünschten Freiheitsgrade dar, um das Maß der induzierten Orientierung an das Molekül anpassen zu können. Da die LC Phase jedoch erst oberhalb einer spezifischen Konzentration (kritische Konzentration) eintritt, sollte diese bei dem Mesogen möglichst gering sein, damit die Variation über einen großen Konzentrationsbereich erfolgen kann. Die Faktoren, die die kritische Konzentration maßgeblich beeinflussen, werden im nachfolgenden Kapitel erläutert. Somit lassen sich die Anforderungen an ein polymerbasiertes LC Orientierungsmedium wie folgt zusammenfassen:

- niedrige kritische Konzentration
- Kompatibilität mit organischen Lösungsmitteln
- wenig Polymerrestsignal (kurze Relaxationszeiten, hochmolekular)
- Homochiralität

3.1.2 Die kritische Konzentration lyotroper flüssigkristalliner Phasen

In diesem Kapitel werden Faktoren beschrieben, die die kritische Konzentration (c_{krit}) der lyotropen LC Phase bestimmen, wobei auf detaillierte Ableitungen der einzelnen Theorien verzichtet wird.

LC-Phasen, die von hochmolekularen Mesogenen ausgebildet werden, sind bereits seit vielen Jahrzehnten bekannt. Die ersten erwähnten Vertreter waren Polyelektrolyte wie der Tabakmosaik-Virus.^[88] Elliot und Ambrose^[89] beschrieben 1950 mit Poly- γ -benzyl-L-glutamat (PBLG) den ersten nicht-ionischen Vertreter eines hochmolekularen Mesogens, dessen LC Eigenschaften von Robinson^[90] untersucht wurden. Nach diesen ersten Berichten folgten viele weitere polymerbasierte Mesogene, die alle ein starres Polymerrückgrat als Gemeinsamkeit aufweisen. Diese molekulare Rigidität ist essentiell, um die im vorangegangenen Kapitel vorgestellte notwendige Anisotropie des Mesogens zu erfüllen.

Bereits wenige Jahre nach der Entdeckung hochmolekularer Mesogene entwickelte Onsager^[91] eine Theorie, die den Übergang von der isotropen Flüssigkeit zur geordneten LC Phase auf Basis der Asymmetrie des Mesogens beschreibt. Im Rahmen dieses Modells sowie allen folgenden wird das Mesogen als Stäbchen bzw. Sphärozyylinder behandelt und keine weitere molekulare Feinstruktur berücksichtigt. Die entscheidende strukturelle Eigenschaft des Mesogens ist das axiale Verhältnis x ($x = L/D$), welches das Verhältnis der Länge L des Stäbchens zu dessen Durchmesser D darstellt (Abbildung 19).

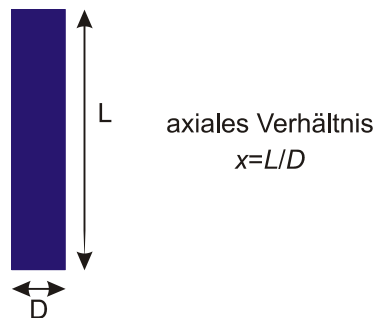


Abbildung 19: Wichtige Größen des Mesogens im Rahmen der theoretischen Behandlung des Übergangs von der isotropen Flüssigkeit zur LC Phase. Die Stäbchen bzw. Sphärozyylinder werden als nicht-deformierbar (hart) betrachtet.

Die Mesogene werden als nicht-deformierbar betrachtet (harte Stäbchen). Die einzige Wechselwirkung untereinander ist rein sterischer Natur (Nichtdurchdringbarkeit der Mesogene). Eine Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel wird ebenfalls nicht berücksichtigt. Da zwischen den Mesogenen ausschließlich die repulsiv-sterische Wechselwirkung angenommen wird, kann der Phasenübergang zur LC Phase als rein entropisch angenommen werden.^[92] Im Rahmen dieser Näherungen konnte Onsager die freie Energie A der Lösung, deren Minimierung die Triebkraft des Phasenübergangs darstellt, als Virial-Entwicklung gemäß Gleichung 15 angeben.^[91, 93]

$$\frac{A}{Nk_B T} = \frac{\mu_0}{k_B T} + \ln\left(\frac{N}{V}\right) - 1 + \sigma(f(\theta)) + b \cdot \rho(f(\theta)) \cdot \frac{N}{V} \quad (15)$$

Hierbei ist N die Anzahl der Stäbchen, V das Volumen, T die Temperatur, μ_0 das chemische Potential, k_B die Boltzmannkonstante und b das Ausschlussvolumen ($b = (\pi/4)L^2D$). Die Größen $\sigma(f(\theta))$ und $\rho(f(\theta))$ sind Funktionale der Orientierungsverteilungsfunktion $f(\theta)$ der Mesogene bezüglich des Direktors. Die Größe $\sigma(f(\theta))$ beschreibt die Orientierungsentropie des Mesogens. Beim Übergang von der isotropen Lösung zur LC Phase kommt es auf Grund der verringerten Anzahl an Orientierung in der geordneten LC Phase zum Entropieverlust. Andererseits wird beim Übergang zur LC Phase das Ausschlussvolumen des Mesogens minimiert, wodurch in einem definierten Volumen mehr Mesogene vorhanden sein können, was einen Entropiegewinn zur Folge hat. Dies wird durch den Term $(b \cdot \rho(f(\theta)) \cdot N/V)$ beschrieben.

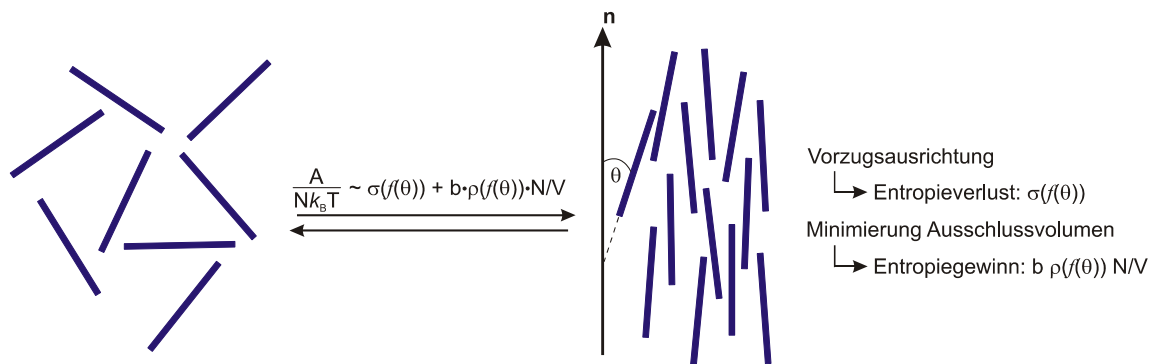


Abbildung 20: Die Terme $\sigma(f(\theta))$ und $(b \cdot \rho(f(\theta)) \cdot N/V)$ in Gleichung 15 beschreiben zwei unterschiedliche Arten der Entropie. $\sigma(f(\theta))$ stellt den Entropieverlust dar, der durch die Orientierung der Mesogene hervorgerufen wird. $(b \cdot \rho(f(\theta)) \cdot N/V)$ hingegen beschreibt den Entropiegewinn, der durch die Minimierung des Ausschlussvolumens eines Mesogens hervorgeht.

Die Notwendigkeit einer kritischen Konzentration wird durch folgende mikroskopische Betrachtung erklärt. Da nur der Packungsentropie-Term konzentrationsabhängig ist, wird die freie Energie bei niedrigen Konzentrationen zunächst von der Orientierungsentropie (Entropieverlust) dominiert. Erst ab einer ausreichend hohen Konzentration wird die freie Energie vorwiegend durch die Packungsentropie (Entropiegewinn) bestimmt, wodurch der Übergang zur LC Phase erfolgt.

Onsager konnte weiterhin ableiten, dass es zwei kritische Konzentrationen gibt, die beide eine Funktion des axialen Verhältnisses sind (Gleichung 16a,b).

$$c_{krit}^{i,a} = \frac{3,34}{x} \quad c_{krit}^a = \frac{4,49}{x} \quad (16a,b)$$

Ab der ersten kritischen Konzentration $c_{krit}^{i,a}$ kommt es zur Ausbildung eines Zweiphasengebiets ($\sigma(f(\theta)) \approx \rho(f(\theta))$), bei dem die isotrope und anisotrope Phase im Gleichgewicht stehen. Erst durch eine weitere Erhöhung der Konzentration kommt es zur Ausbildung einer homogenen LC Phase (c_{krit}^a) ($\sigma(f(\theta)) < \rho(f(\theta))$). Gemäß Gleichung 17a,b sinkt die kritische Konzentration mit steigendem axialem Verhältnis. Dies bedeutet auf das Mesogen bezogen, dass sich die kritische Konzentration des LC-Polymers mit steigender Kettenlänge erniedrigt.

Experimentelle Untersuchungen zur kritischen Konzentration der LC Phase in Abhängigkeit des axialen Verhältnisses konnten den qualitativen Verlauf der kritischen Konzentration basierend auf der Onsager Theorie zwar bestätigen, jedoch lieferten die realen Systeme stets signifikant höhere kritische Konzentrationen als vorhergesagt.^[93] Die Ursache hierfür liegt darin, dass das Mesogen bis dahin als starres, nicht-verformbares Stäbchen betrachtet wurde. Nahezu alle Polymere weisen jedoch mit zunehmender Kettenlänge ein erhöhtes Maß an Flexibilität auf. Diese beiden Grenzfälle flexibler Polymere können auf zwei verschiedenen Wegen theoretisch behandelt werden (siehe Abbildung 21)^[94].

1. *freely-jointed-chain*-Modell
2. *persistent-chain*-Modell (*wormlike-chain*-Modell)

Im Modell der *freely-jointed-chain* wird das Polymer in diskrete, hypothetische Segmente, die Kuhn-Segmente K , aufgeteilt. Innerhalb eines Kuhn-Segments ist das Polymer starr. Die einzelnen Kuhn-Segmente sind über völlig flexible, frei rotierbare Punkte (*freely-joints*) verbunden. Diese Einführung von Flexibilität ist geeignet, um Hauptkettenpolymere zu beschreiben, bei denen die niedermolekulare Mesogene über flexible Spacer verbunden sind (siehe Abbildung 18). In dem *persistent-chain*-Modell oder auch *wormlike-chain*-Modell wird die Flexibilität homogen über die gesamte Konturlänge L des Polymers verteilt und ist somit für Polymere geeignet, bei denen die Flexibilität aus Verbiegung und Torsion des Polymerrückgrats resultiert.

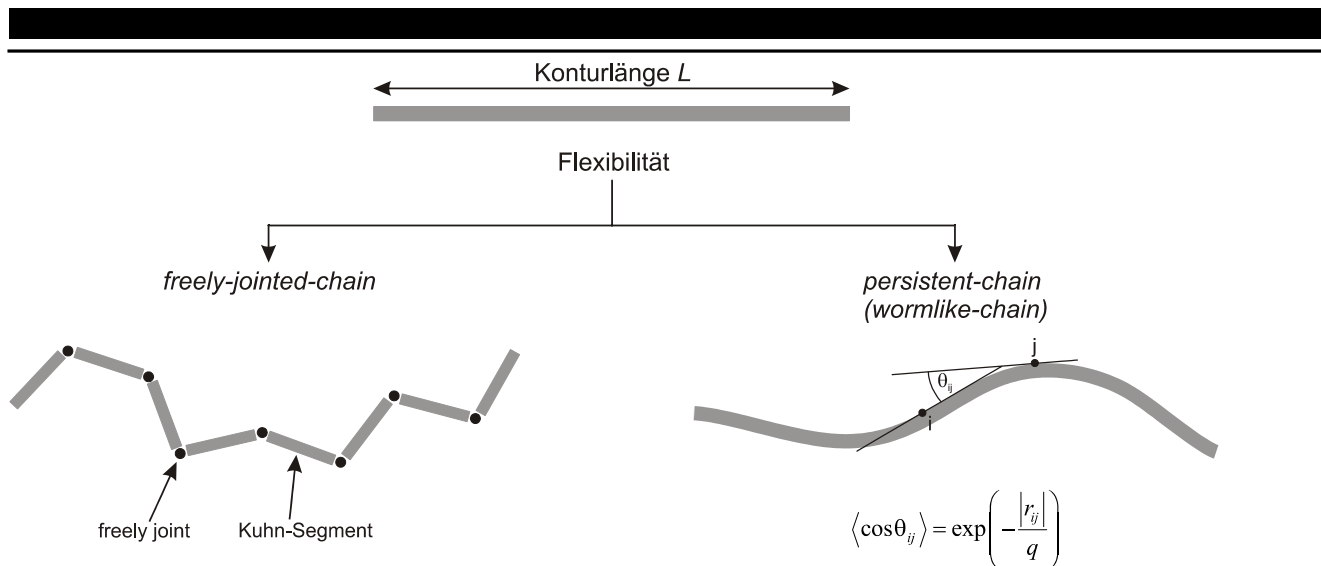


Abbildung 21: Die zwei verschiedenen Modelle zur Beschreibung von Flexibilität eines stäbchenförmigen Mesogens. Im *freely-jointed-chain*-Modell wird das Polymer in hypothetische Segmente (Kuhn-Segmente) unterteilt, die frei miteinander verbunden sind. Im *persistent-chain*-Modell wird die Flexibilität homogen über das ganze Polymer verteilt.

Eine wichtige Kenngröße im Rahmen des *persistent-chain*-Modell ist die Persistenzlänge q des Polymers. Sie ist allgemein nach Gleichung 17 definiert (siehe auch Abbildung 21).^[94]

$$\langle \cos \theta_{ij} \rangle = \exp\left(-\frac{|r_{ij}|}{q}\right) \quad (17)$$

Die Persistenzlänge ist somit die mittlere Strecke r_{ij} entlang eines Polymers, bei dem zwei tangential zum Polymerrückgrat orientierte Vektoren noch eine Richtungskorrelation aufweisen, d.h. in eine gemeinsame Vorzugsrichtung zeigen. Je starrer ein Polymer, desto höher ist dessen Persistenzlänge. Kuhn konnte ableiten, dass bei einem Polymer mit $L \gg q$ die Persistenzlänge und das Kuhn-Segment über Gleichung 18 verbunden sind.^[95, 96]

$$K = 2q \quad (18)$$

Als Folge der Flexibilität muss das oben eingeführte axiale Verhältnis $x=L/D$ durch ein effektives axiales Verhältnis $x'=K/D$ als wichtige Kenngröße des Polymers ersetzt werden.

Khokhlov^[97] und Semenov^[98, 99] konnten in Anlehnung an die Onsager Theorie einen Ausdruck für die freie Energie herleiten, der die Flexibilität des Polymers berücksichtigt. Sie konnten zeigen, dass der essentielle Unterschied zu der Onsager Theorie in der Orientierungsentropie $\sigma(f(\theta))$ liegt. Durch die Flexibilität ist der Entropieverlust auf Grund der größeren Anzahl an Freiheitsgraden bei dem Übergang zur LC Phase deutlich höher, da sich zusätzlich zum gesamten Mesogen auch die flexiblen Bereiche ausrichten müssen. Dieser erhöhte Entropieverlust verursacht einen Anstieg der kritischen Kon-

zentration. Die Abhängigkeit der kritischen Konzentration für die Ausbildung einer homogenen LC Phase vom effektiven axialem Verhältnis x' ist in Gleichung 19 für das *freely-jointed-chain*-Modell^[97] und in Gleichung 20 für das *persistent chain*-Modell^[98] (*wormlike-chain*-Modell) für den Fall $L \gg q$ angegeben.

$$c_{krit}^a = \frac{4,86}{x'} \quad (\textit{freely-jointed-chain}) \quad (19)$$

$$c_{krit}^a = \frac{11,39}{x'} \quad (\textit{persistent-chain}) \quad (20)$$

Man erkennt, dass auch bei Berücksichtigung von Flexibilität die kritische Konzentration mit dem zunehmenden effektiven axialen Verhältnis sinkt. Dies hat jedoch andere Konsequenzen als im Rahmen der Onsager Theorie. So sinkt die kritische Konzentration durch Erhöhung der Kettenlänge nicht beliebig weiter, sondern sie ist durch die Länge des Kuhnsegments und somit durch die Persistenzlänge des Polymers bestimmt. Dupré^[100] hat theoretisch vorhergesagt, dass für den Fall $L < q$ und $L \approx q$ die kritische Konzentration solange abnimmt, bis die Kettenlänge des Polymers etwa der Persistenzlänge entspricht ($L/q \approx 1$). Bei weiterer Erhöhung der Kettenlänge verringert sich die kritische Konzentration nicht mehr signifikant.

Aus Gleichung 19 und 20 folgt, dass bei gleicher Länge des Kuhn-Segments die kritische Konzentration für Polymere, die dem *freely-jointed-chain*-Modell entsprechen, deutlich niedriger ist. Für Hauptkettenpolymere, bei denen niedermolekulare Mesogene über flexible Spacer verbunden sind, bedeutet dies, dass die Länge des Kuhn-Segments der Länge des niedermolekularen Mesogens entspricht (typisch ≈ 1 nm). Für Polymere, die nach dem *persistent-chain*-Modell beschrieben werden, können die Persistenzlängen jedoch wesentlich größere Werte annehmen (siehe Tabelle 1), so dass die praktisch erreichbare kritische Konzentration deutlich niedriger als die der *freely-jointed-chain*-artigen Polymere ist.

Tabelle 1: Persistenzlängen einiger ausgewählter Polymere, die nach dem *persistent-chain* Modell beschrieben werden können.

Polymer	Lösungsmittel	Temperatur [°C]	Persistenzlänge q [nm]	Literatur
Tabakmosaik Virus	Wasser	25	∞	[101]
Imogolite	Wasser	25	∞	[102]
PPIC ^[a]	THF	25	220	[103]
Schizophyllan	Wasser	25	200	[104, 105]
PBLG	DMF	25	150	[106]
PH2MBS ^[b]	Isooctane	25	85	[107]
DNA	Wasser	25	62	[108]
Poly- <i>p</i> -benzamid	90% H ₂ SO ₄	25	50	[109]
PPEMG ^[c]	Toluol	25	42	[110]
PHIC ^[d]	Toluol	25	40	[111]
PHIC	CH ₂ Cl ₂	25	21	[111]

[a] Poly((decyl-2-acetamidopropansäure)phenylisocyanat) [b] Poly(*n*-hexyl-[(*S*)-2-methylbutyl]silylene) [c] Poly(phenylethyl-methyl-guanidin) [d] Poly(hexylisocyanat)

Wie im vorangegangenen Kapitel besprochen, sind hochmolekulare, lyotrope LC-Phasen mit einer möglichst geringen kritischen Konzentration besonders attraktive Orientierungsmedien. Um dies zu erreichen, benötigt man Polymere, die über ein sehr starres Polymerrückgrat verfügen und somit eine hohe Persistenzlänge besitzen. Viele Polymere, die diese Anforderungen erfüllen, sind natürlichen Ursprungs und somit fast ausschließlich für wässrige Systeme geeignet. Im Bereich der synthetischen Polymere, die mit organischen Lösungsmitteln kompatibel sind und über eine hohe Persistenzlänge verfügen, nehmen Polypeptide eine besondere Stellung ein.

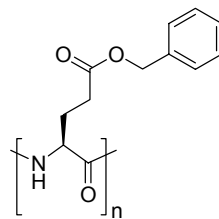


Abbildung 22: Struktur von PBLG.

Der bekannteste Vertreter ist das Poly- γ -benzyl-L-Glutamat (PBLG) (siehe Abbildung 22) mit einer Persistenzlänge von ca. 150 nm^[106] in DMF als Lösungsmittel. Die hohe Rigidität wird durch eine α -helikale Struktur, die über Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert ist, erreicht. Auf Grund ihrer hohen Persistenzlängen stellen α -helikale Polypeptide ein viel versprechendes Orientierungsmedium dar. Im Folgenden werden nun die verschiedenen Klassen von Alignmentmedien beschrieben. Hierbei wird besonderes Gewicht auf die in dieser Dissertation bearbeiteten α -helikalen Polypeptide gelegt.

3.1.3 Nicht-wässrige LC-Phasen als Orientierungsmedium

a) stark orientierende Phasen

Die erste Anwendung einer LC Phase zur Messung anisotroper NMR Observablen eines in ihr gelösten Moleküls wurde 1963 von Saupe et al. berichtet.^[112] Ein Jahr später lieferte Saupe den theoretischen Hintergrund, der es ermöglichte, Strukturinformationen aus den gemessenen Observablen zu erhalten (siehe hierfür Kapitel 2.4).^[41] In Abbildung 23 ist das von Saupe publizierte Spektrum von Benzol in einer LC Phase aus 40% 4,4'-Di-*n*-heptyloxyazoxybenzol und 60% 4,4'-Di-*n*-hexyloxyazoxybenzol abgebildet.

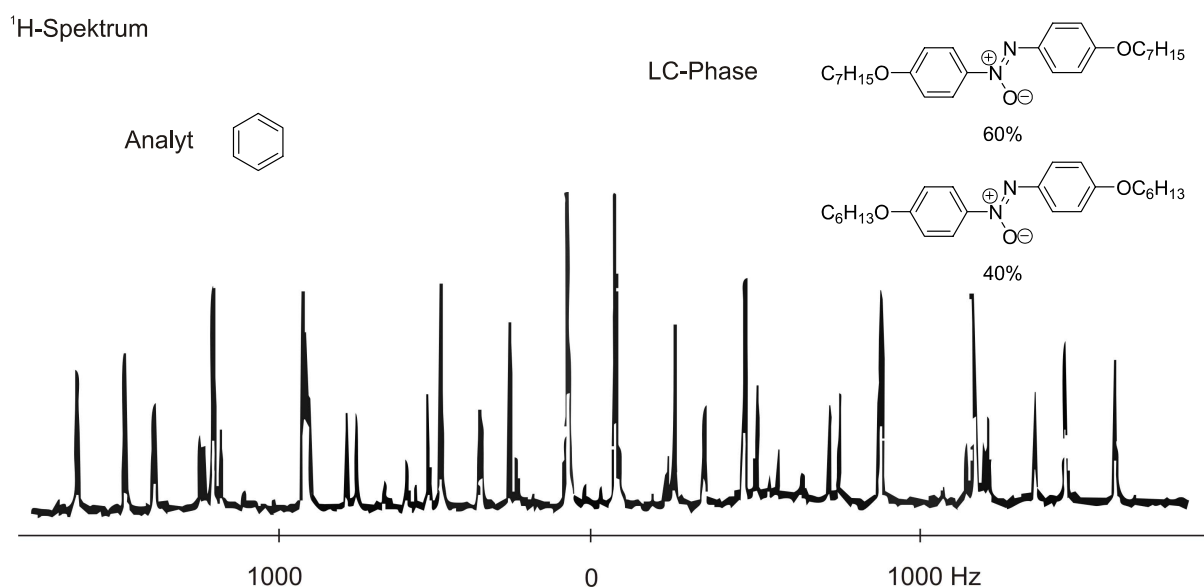


Abbildung 23: Anisotropes ^1H -Spektrum von Benzol in einer Mischung aus 40% 4,4'-Di-*n*-heptyloxyazoxybenzol und 60% 4,4'-Di-*n*-hexyloxyazoxybenzol bei 50°C.^[113] Abbildung aus A. Saupe, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 99 entnommen. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduziert mit Erlaubnis.

Als Orientierungsmedium diente eine thermotrope, nematische LC Phase basierend auf niedermolekularen, calamitischen Mesogenen. Anhand des Spektrums in Abbildung 23 kann man erkennen, dass der Analyt Benzol, der im isotropen Fall nur *ein* Signal liefert, sehr stark durch die LC Phase orientiert wird und somit ein sehr komplexes ^1H -Spektrum aufweist. Die Bestimmung der dipolaren Kopplungen kann in diesem Fall nur durch Simulation des gesamten Spektrums erfolgen. Nachdem Saupe den theoretischen Hintergrund beschrieben hatte, folgten viele weitere Publikationen, die sich mit der Bestimmung anisotroper NMR Observablen wie der chemischen Verschiebungsanisotropie (CSA), der Anisotropie der *J*-Kopplung, der quadrupolaren Kopplung ($\Delta\nu_Q$) oder der dipolaren Kopplung von Molekülen, die in LC-Phasen gelöst sind, beschäftigten.^[114-119] Allen ist gemeinsam, dass sie thermotrope LC-Phasen verwenden, die den Analyten sehr stark orientieren und somit hochkomplexe Spektren liefern, die nur computergestützt ausgewertet werden können. Auf Grund der starken Orien-

Abbildung 24 zeigt, wie schnell die Komplexität der Spektren ansteigt, wenn man die Anzahl an nicht-äquivalenten ^1H -Kernspins erhöht.

^1H -NMR-Spektrum

Abdruckgenehmigung nicht erteilt.

L. C. Snyder, S. Meiboom, *J. Chem. Phys.* **1967**, *47*, 1480;

W. L. Meerts, C. A. de Lange, A. C. J. Weber, E. E. Burnell, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *441*, 342.

Abbildung 24: ^1H -NMR-Spektrum von Cyclopropan, und *p*-Brombiphenyl in den thermotropen LC-Phasen von 4,4'-Di-*n*-hexyloxyazoxybenzol (Cyclopropan) und Merck ZLI 1132 (*p*-Brombiphenyl). Abbildung aus Lit.^[120] (Cyclopropan) und Lit.^[38] (*p*-Brombiphenyl).

b) chirale Phasen: Enantiodifferenzierung

1990 berichteten Courtieu et al.^[121] eine weitere Anwendung von thermotropen LC-Phasen, die auf Beobachtungen von Pirkle und Beare^[122] sowie Sackmann, Meiboom und Snyder^[115] basiert. Courtieu et al. benutzten eine Mischung bestehend aus dem chiralen Mesogen Cholesterylpropionat und dem achiralen Mesogen Merck ZLI 2806, um eine cholesterische LC Phase zu induzieren. Die helikale Überstruktur dieser cholesterischen Phase (siehe Kapitel 3.1.1) kann im Magnetfeld des NMR-Spektrometers homogen ausgerichtet werden.^[123] Auf Grund der verwendeten Mesogene ist diese LC Phase homochiral. Das führt zu diastereomorphen Wechselwirkungen der gelösten Substanz mit der LC Phase. Somit konnte für jedes Enantiomer ein diskreter Signalsatz beobachtet werden. In Abbildung 25 sind die von Courtieu et al.^[121] publizierten ^1H -NMR-Spektren einer racemischen Mischung aus 1,1,1,-Trichlor-2,3-Epoxypropan sowie Epoxypropan in der oben beschriebenen cholesterischen LC Phase abgebildet.

Abdruckerlaubnis nicht erteilt.

E. Lafontaine, J. M. Pechine, J. Courtieu, C. L. Mayne, *Liq. Cryst.* **1990**, 7, 293.

Abbildung 25: 250 MHz ¹H-NMR Spektrum einer racemischen Mischung aus 1,1,1,-Trichlor-2,3-Epoxypropan (oben) und Epoxypropan (unten) in einer homogen ausgerichteten cholesterischen Phase bestehend aus Cholesterylpropionat und Merck ZLI 2806. Abbildung aus Lit.^[121]

Durch die starke Orientierung sind die Spektren selbst bei geringer Anzahl an ¹H-Kernspins bereits hochkomplex. Somit sind dipolare Kopplungen in derart stark-orientierenden Medien nicht dazu geeignet, Enantiomerendifferenzierungen zu visualisieren. Sie fanden einen Ausweg, indem sie eine andere anisotrope NMR-Observable, die quadrupolare Kopplung $\Delta\nu_Q$, verwendeten. Diese führt zur Aufspaltung des Deuteriumsignals in Form eines Dubletts (Quadrupolaufspaltung). Löst man ein racemisches Gemisch sowie eine Mischung mit 40% *ee* des (*R*)-Enantiomers von 1-((2-Methyl)phenyl)ethanol-*d*₁ in der oben beschriebenen cholesterischen Phase, so kann man beobachten, dass die quadrupolare Kopplung ($\Delta\nu_Q$) beider Enantiomere verschieden ist. Somit ist $\Delta\nu_Q$ ebenfalls zur Visualisierung von Enantiomerendifferenzierung geeignet (siehe Abbildung 26). Mittels Integration der beiden Signalsätze konnte der Enantiomerenüberschuss bestimmt werden.^[121]

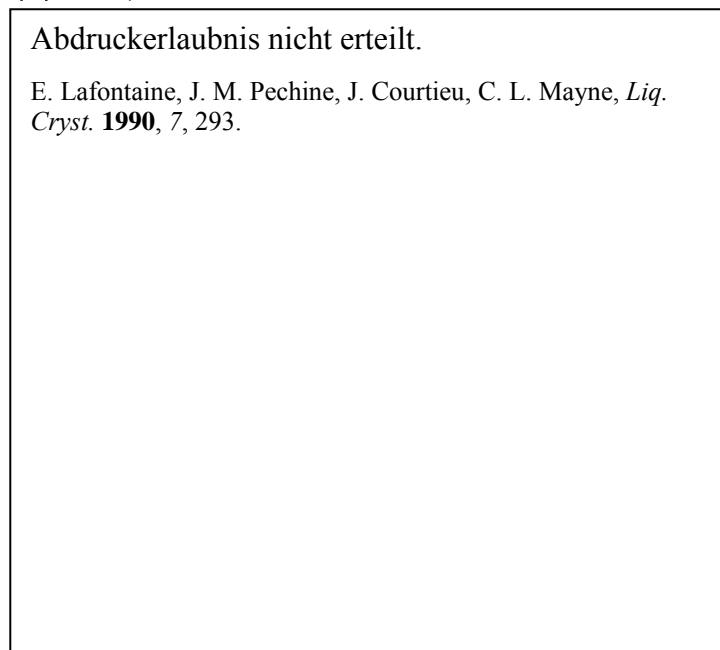


Abbildung 26: Protonenkoppeltes ^2H -NMR Spektrum einer racemischen Mischung (oben) sowie einer 40%ee (*R*) Mischung aus 1-((2-Methyl)-phenyl)ethanol- d_1 in einer homogen ausgerichteten cholesterischen Phase bestehend aus Cholesterylpropionat und Merck ZLI 2806. Abbildung aus Lit.^[121]

Da zur Enantiodifferenzierung lediglich ein Deuteriumatom im Molekül benötigt wird, sind die erhaltenen Spektren sehr einfach. Somit ist die Methode unabhängig von der Komplexität oder der Stärke der Orientierung des Analyten. Die verwendete thermotrope LC Phase muss jedoch sehr sorgfältig als 1,35:1-Mischung aus chiralem und achiralem Mesogen hergestellt werden, damit die helikale Überstruktur im Magnetfeld homogen ausgerichtet wird und hochauflösende Spektren liefert.

Diesen Hauptnachteil konnten Courtieu et al. durch Verwendung der lyotropen LC Phase des PBLGs vermeiden,^[124, 125] in der von Samulski et al.^[126] bereits 1981 die Differenzierung enantiotoper Protonen des Benzylalkohols beobachtet hatte. Wie am Ende des vorangegangenen Kapitels erwähnt, bildet PBLG eine α -helikale Struktur aus, die durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Monomeren stabilisiert ist. Bringt man die chirale LC Phase in ein starkes Magnetfeld, so entwindet sich die Überstruktur der cholesterischen Phase und man erhält die Morphologie einer nematischen Phase, bei der der Direktor der LC Phase parallel zur Magnetfeldrichtung orientiert ist.

Durch die Verwendung der lyotropen LC Phase des PBLGs konnten Courtieu und Lesot et al. die Enantiodifferenzierung mit Hilfe der Deuteriumspektroskopie zu einer wichtigen und prinzipiell routinemäßig anwendbaren Methode für die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses deuterierter Analyten entwickeln.^[127, 128] Sie konnten ferner zeigen, dass die Differenzierung auf der unterschiedlichen mittleren Orientierung der Enantiomere beruht.^[129] Die Monodeuterierung des Analyten stellt jedoch einen großen Nachteil dar. Courtieu und Lesot et al.^[130, 131] haben zwar gezeigt, dass es möglich ist, Deuteriumspektren mit natürlicher Häufigkeit des Deuteriums zu erhalten, jedoch erfordert dies den

Einsatz eines Cryo- ^2H -Probenkopfs. Auch wird die Komplexität der Spektren bei erhöhter Anzahl an ^2H -Kernspins groß werden, wodurch mehrdimensionale ^2H -NMR-Experimente notwendig werden.^[132] Neben der Differenzierung von Enantiomeren nutzten Courtieu und Lesot et al. die Chiralität der LC Phase ebenfalls zur Differenzierung enantiotoper Gruppen^[133] sowie enantiotoper Richtungen.^[134] Hierbei konnten sie neben PBLG zwei weitere Homopolypeptide als Orientierungsmedium etablieren, das Poly-carbobenzyloxy-L-Lysin (PCBLL, Abbildung 27, links)^[135, 136] und Poly- γ -ethyl-L-glutamat (PELG, Abbildung 27, rechts).^[137]

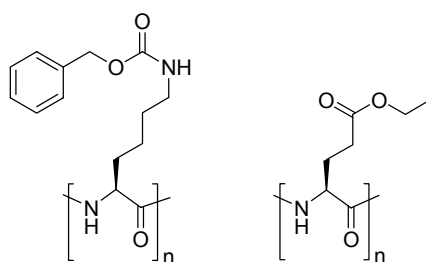
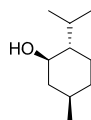


Abbildung 27: Struktur des PCBLL (links) und PELG (rechts).

c) schwach orientierende Medien

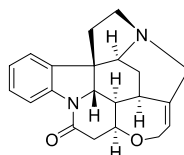
Für die Anwendung der RDCs in der Strukturbestimmung komplexer Moleküle ist es nötig, den Grad der Orientierung des Analyten ausreichend gering zu halten, so dass die dipolare Kopplung direkt aus der Linienaufspaltung entnommen werden kann (siehe Abbildung 28). Dieser entscheidende Unterschied zu den thermotropen LC-Phasen erlaubt es, die dipolaren Kopplungen mit Hilfe von Standard-NMR-Experimenten zu bestimmen, wodurch eine routinemäßige Anwendung der dipolaren Kopplung in der Strukturaufklärung möglich ist. Somit können auch komplexe Strukturen mit niedriger Symmetrie und hoher Anzahl an wechselwirkenden Kernspins untersucht werden.

Alle bisher aufgeführten Anwendungen der LC-Phasen des PBLGs, PELGs bzw. PCBLLs dienen vorwiegend der Differenzierung zwischen Enantiomeren mit Hilfe der quadrupolaren Kopplung zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses. Die Verwendung der LC Phase des PBLGs zur Bestimmung von RDCs sowie deren Anwendung in der Strukturaufklärung wurde unabhängig von mehreren Gruppen erst 2003 berichtet. Thiele et al.^[62] gelang es, diastereotope Protonen des Strychnins eindeutig zuzuweisen. Griesinger et al.^[64] konnten diastereotope Gruppen des Menthols zuordnen. Courtieu et al.^[61] konnten die relative Konfiguration eines Dihydropyridon-Derivats bestimmen.



Abdruckerlaubnis nicht erteilt.

L. Verdier, P. Sakhaii, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* **2003**, *163*, 353.



ω_1 -coupl. HSQC

Abdruckerlaubnis nicht erteilt.

C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7403.

Abbildung 28: Ausschnitte aus HSQC-Experimenten zur Bestimmung der RDC des Menthols (oben) bzw. des Strychnins (unten). Obere Abbildung aus Lit.^[64] und untere Abbildung aus Lit.^[63].

Nach diesen ersten Berichten folgten zahlreiche weitere Beispiele (siehe auch Kapitel 2.4.1) bei denen sich jedoch auch zeigte, dass der Grad der Orientierung durch die LC Phase des PBLGs häufig unerwünscht hoch ist, wodurch i.d.R. nicht alle RDCs aus den Linienaufspaltungen bestimmbar sind. Thiele^[63] konnte zeigen, dass durch Verwendung von Poly- γ -ethyl-L-glutamat die induzierte Orientierung des Analyten bei gleicher Konzentration der LC Phase signifikant niedriger als bei Verwendung von PBLG ist. Eine andere Möglichkeit, den beobachtbaren Grad an Anisotropie zu verändern, stellt das *variable angle sample spinning* dar.^[138, 139] Thiele^[139] konnte somit die Größe der $^1D_{CH}$ -Kopplung des Strychnins über einen weiten Bereich skalieren.

Zu Beginn meiner Promotion stellten PBLG, PELG sowie PCBLG die einzigen Alignment Medien dar, die auf organisch-lösungsmittelbasierten lyotropen Phasen beruhen. Die Etablierung weiterer ly-

otroper LC als Orientierungsmedium ist in Hinblick auf eine breite Anwendbarkeit der RDC-basierten Strukturaufklärung wünschenswert. Des Weiteren gibt es bisher wenig systematischen Untersuchungen, welche Einflussfaktoren den Grad der Orientierung bzw. die Orientierung an sich in einer LC Phase beeinflussen.

Die Chiralität der lyotropen LC Phase des PBLGs wurde bisher vorwiegend zur Differenzierung zwischen zwei Enantiomeren ausgenutzt. Wenn jedoch die Wechselwirkungen der Enantiomere mit dem chiralen Flüssigkristall bekannt sind, können die Enantiomere nicht nur differenziert, sondern auch deren absolute Konfiguration bestimmt werden. Da bei der Verwendung einer homochiralen LC Phase keine Derivatisierung des Analyten notwendig ist, könnte die absolute Konfiguration prinzipiell auch von Substanzklassen, die über keine funktionellen Gruppen verfügen (zum Beispiel Alkane), mittels NMR bestimmt werden. Eine erste Anwendung hierzu wurde von Courtieu und Lesot et al. berichtet,^[140] die auf einem rein empirischen Vergleich der quadrupolaren Kopplung eines Analyten unbekannter Konfiguration mit den quadrupolaren Kopplungen strukturell sehr ähnlichen Verbindungen bekannter Konfiguration beruht.

3.1.4 Wässrige LC-Phasen als Orientierungsmedium

Im Bereich der wasserbasierten Orientierungsmedien gibt es eine große Anzahl an lyotropen LC-Phasen, die über sehr niedrige kritische Konzentrationen verfügen. Diese LC-Phasen erlauben es somit, den gewünschten Grad an Orientierung des Analyten einzustellen und folglich einfach auswertbare Spektren zu erhalten. Auf Grund der Fülle an wasserbasierten Orientierungsmedien^[141] hat sich die Bestimmung von RDCs für die Strukturaufklärung von Peptiden und Proteinen sowie DNA, RNA und Oligosacchariden beinahe zu einem Standardverfahren etabliert.

Die Verwendung wasserbasierter lyotroper LC-Phasen zur Bestimmung von RDCs wurde erstmals 1997 von Bax et al. berichtet.^[142] Sie konnten mit Hilfe einer LC Phase bestehend aus diskotischen phospholipidischen Bizellen die dipolaren Kopplungen bestimmen. Ein Nachteil stellt jedoch die Instabilität dieser LC Phase dar. So können Proteine durch ihre hydrophoben Bereiche die Stabilität der Bizellen, die ähnlich wie Micellen (siehe Kapitel 3.1.1) dynamische Molekülaggregate darstellen, herabsetzen und letztendlich eine Phasenseparation induzieren. Des Weiteren sind die LC-Phasen nur in einem schmalen Temperatur- und pH-Bereich stabil. Prosser et al.^[143] konnten durch Verwendung von Cetylpyridiniumchlorid/Hexanol Mischungen mizellare LC-Phasen erhalten, deren Temperatur- sowie pH-Stabilität deutlich höher sind. Wenig später konnten ebenfalls Bax et al.^[144] ihr Bizellensystem durch leichte strukturelle Veränderungen der Amphiphile über einen großen pH-Bereich (pH 1,0 – 12,5) stabilisieren.

Pardi et al.^[145] konnten zeigen, dass eine wässrige Lösung an *Pfl* filamentösen Bakteriophagen ebenfalls ein geeignetes Orientierungsmedium darstellen. Sie konnten somit RDCs von DNA-Duplex, RNA Haarnadeln sowie mehreren Proteinen wie Thioredoxin oder *apo*-Calmodulin bestimmen und für die Strukturaufklärung verwenden. Sie konnten ferner zeigen, dass der Mechanismus der Orientierung des Analyten in dieser Phase auf rein sterischen Wechselwirkungen beruht. Über weitere LC-Phasen, die durch kolloidale Suspensionen an Bakteriophagen ausgebildet werden, wurden von Clore et al.^[146] berichtet. Diese LC-Phasen bestehen aus dem *fd* Bakteriophag bzw. dem Tabakmosaik-Virus und induzieren eine Ausrichtung des Analyten auf Basis der Coulomb-Wechselwirkung, da diese Bakteriophagen eine hohe positive Oberflächenladung besitzen. Die Stabilität dieser LC-Phasen bezüglich Temperatur und pH-Wert ist deutlich höher als bei den bizellenbasierten.

Flemming et al.^[147] konnten eine weitere wasserbasierte LC Phase als Orientierungsmedium etablieren. Mit Hilfe einer Suspension aus Zellulose-Kristalliten konnten sie das Protein *Int190* orientieren und die dipolaren Kopplungen bestimmen. Dies war mit den oben aufgeführten Orientierungsmedien bis dahin nicht möglich gewesen, da das Protein sowohl über stark hydrophobe als auch stark positiv geladene Bereiche verfügt. Die hydrophoben Bereiche erniedrigen die Stabilität der Micellen bzw. Bizellen und führen zur Phasenseparation. Durch die hohe Oberflächenladung kommt es bei den Bakteriophagen-basierten LC-Phasen zu einer sehr starken Orientierung des Proteins, wodurch keine auswertbaren Spektren erhalten werden können. Die Zellulose-Kristallite haben keine geladene Oberfläche, wodurch die Ausrichtung des Moleküls durch rein sterische Wechselwirkung erfolgt. Des Weiteren sind sie Kristallite Festkörper und keine dynamischen Molekülaggregate wie die Micellen bzw. Bizellen, so dass die stark hydrophoben Bereiche des Proteins die Struktur des Mesogens nicht beeinflussen oder destabilisieren können.

Für die Strukturbestimmung membran-gebundener Proteine wurden in den letzten Jahren ebenfalls geeignete Orientierungsmedien entwickelt, die mit den nötigen Detergenzien zur Löslichkeitssteigerung kompatibel sind. 2007 gelang es Douglas et al.^[148] eine LC Phase bestehend aus DNA-Nanoröhren zu entwickeln, die mit den eingesetzten Detergenzien kompatibel ist. Eine weitere DNA-basierte LC Phase wurde von Bax et al.^[149] entwickelt, die im Gegensatz zu den Nanoröhren einen deutlich geringeren Synthesaufwand benötigt.

3.2 Gestreckte und gestauchte Gele (SAG)

Die zweite wichtige Klasse der Orientierungsmedien stellen die gestreckten oder gestauchten Gele dar. Da mittlerweile für jedes gängige NMR-Lösungsmittel ein kompatibles Gel existiert, finden SAG Orientierungsmedien bereits eine breite Anwendung in der Strukturaufklärung. Ihr Hauptvorteil liegt in der Möglichkeit, den Grad der Anisotropie beliebig zu skalieren, da im Gegensatz zu den LC-

Phasen keine Mindestkonzentration für das Auftreten anisotroper Eigenschaften notwendig ist. Die Hauptnachteile sind vorwiegend die deutlichen ^1H -Restsignale des Polymergels, lange Quellzeiten sowie freie radikalische Zentren im Gelnetzwerk. Letztere resultieren aus der verwendeten Methode der Quervernetzung, diese erfolgt i.d.R. radikalisch oder durch Bestrahlung mit beschleunigten Elektronen.

1969 berichtete Gent,^[150] dass nach Streckung eines gequollenen Poly(isopren)-Gels anisotrope Eigenschaften wie die Doppelbrechung beobachtbar sind. Die Hohlräume eines elastomeren, quervernetzten Polymers besitzen eine zufällige Form, die durch Einwirken eines externen Stresses einen oblaten (Stauchung) oder prolaten (Streckung) Charakter annehmen können (siehe Abbildung 29). Dieser anisotrope Charakter der Hohlräume wird auf Moleküle, die sich innerhalb dieser befinden, übertragen und induziert somit eine zeitlich gemittelte Vorzugsorientierung. Dieser Effekt wird im Allgemeinen als *strain-induced alignment in a gel* (SAG) bezeichnet.

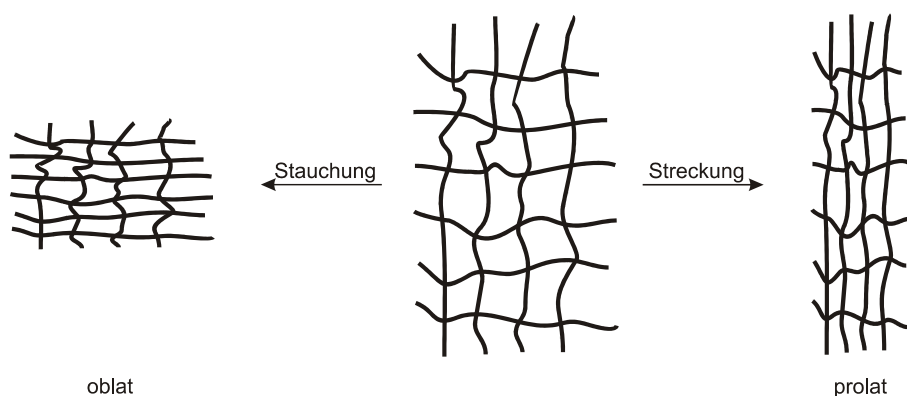


Abbildung 29: Auswirkungen eines externen Stresses auf die Hohlräume eines quervernetzten elastomeren Gels. Durch Stauchung erhalten die Hohlräume einen oblaten und durch Streckung einen prolaten Charakter.

Deloche und Samulski^[151] konnten zeigen, dass quervernetzte Poly(isopren)- und Poly(dimethylsiloxan)-Stäbchen, die innerhalb eines NMR-Röhrchens gequollen werden, eine Quadrupolaufspaltung des Lösungsmittels zur Folge haben (Abbildung 30). Ist der Durchmesser des gequollenen Gels größer als der des NMR-Röhrchens, so werden Scherkräfte entlang des NMR-Röhrchens induziert, die zur uniaxialen Streckung des Gels führen. Die Größe der Quadrupolaufspaltung ist von dem Verhältnis der Länge des gestreckten Gels (L_{stretch}) zur Länge des nichtgestreckten Gels (L_0) abhängig. Aus diesem Grund kann der gewünschte Grad an Anisotropie frei wählbar eingestellt werden.

Abdruckerlaubnis nicht erteilt.

B. Deloche, E. T. Samulski, *Macromolecules* **1981**, *14*, 575.

Abbildung 30: Verlauf der Quadrupolaufspaltung des Benzol-*d*₆ in Abhängigkeit des Streckungsfaktors λ . Der Streckungsfaktor λ gibt das Verhältnis der Länge des gequollenen Polymerstabs im gestreckten zu dem ungestreckten Zustand an. Abbildung aus Lit.^[151]

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen berichteten unabhängig voneinander Tycko et al.^[152] und Grzesiek et al.^[153] im Jahre 2000 die erste Anwendung des SAG zur Bestimmung von RDCs in wässrigen Medien. Beide Gruppen konnten mit Hilfe eines gestauchten und gestreckten, quervernetzten Poly(acrylamid)-Gels die dipolaren Kopplungen des Proteins GB1 (Tycko et al.) bzw. HIV-1 Nef (Grzesiek et al.) bestimmen. Ein großer Vorteil dieses wasserbasierten Gels liegt in der Kompatibilität mit Detergenzien, wie sie zur Löslichkeitssteigerung von membrangebundenen Proteinen verwendet werden. Wie im vorherigen Kapitel besprochen, gibt es erst seit jüngerer Zeit (2007) LC-Phasen, die mit Detergenzien kompatibel sind, wobei der hohe Synthesaufwand der Mesogene die breite Anwendbarkeit dieser LC-Phasen stark einschränkt.

Im Jahr 2004 haben Luy et al.^[154] als erste gezeigt, dass gestrecktes, quervernetztes Polystyrol (PS) zur Bestimmung von RDCs in organischen Lösungsmitteln geeignet ist. Sie haben ferner gezeigt, dass der induzierte Grad der Orientierung bei gleicher Streckung mit steigendem Quervernetzungsgrad sowie mit steigender mittlerer Kettenlänge zunimmt (siehe Abbildung 31).^[155]

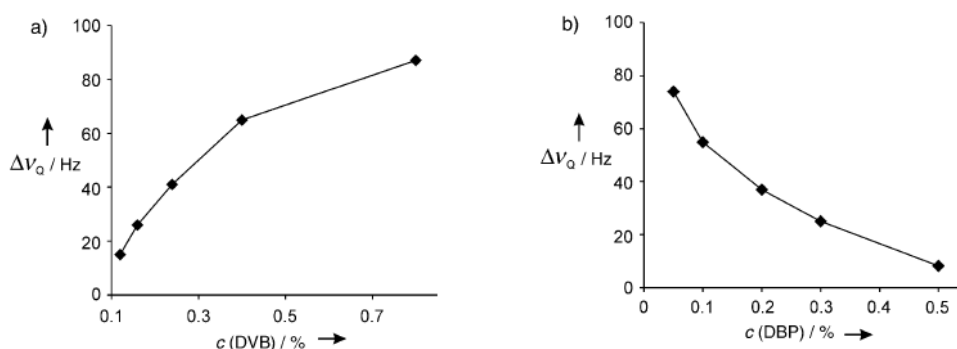


Abbildung 31: Verlauf der Quadrupolaufspaltung in Abhängigkeit der Konzentration des Quervernetzungs Divinylbenzol (DVB) (links) sowie der Konzentration des Initiators Dibenzoylperoxid (DBP) (rechts). Abbildung aus B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2004**, *43*, 1092 entnommen. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduziert mit Erlaubnis.

Neben Chloroform kann quervernetztes PS in weiteren unpolar-aprotischen Lösungsmitteln wie Benzol, Dioxan oder THF gequollen werden. Der Hauptnachteil besteht in den deutlichen ^1H -Restsignalen des Polymergels sowohl im aromatischen als auch aliphatischen Bereich. Diese können zwar durch Verwendung eines *spinlocks* in der Pulssequenz^[155] oder durch diffusionsgefilterte Spektren^[156] deutlich reduziert werden, jedoch nicht vollständig unterdrückt werden. Dies kann bei geringen Analytkonzentrationen zur Überdeckung der relevanten Signale durch die Polymerrestsignale führen. Einen Ausweg hierfür konnten Luy et al. durch Verwendung perdeuterierte PS-Gele liefern.^[157]

Eine weitere Alternative lieferten Luy et al. durch Verwendung quervernetzter Poly(dimethylsiloxane)^[69]. Da nur ein Restsignal nahe 0 ppm beobachtet wird, kommt es in der Regel zu keiner Überlagerung mit Analytsignalen.

Ein Gel, welches für polar-aprotische Lösungsmittel geeignet ist, wurde von Gil et al.^[158] in Form von quervernetztem Poly(methylmethacrylat) berichtet.

Eine Erweiterung bezüglich der Kompatibilität mit polaren Lösungsmitteln konnten unabhängig voneinander Griesinger et al.^[67] sowie Luy et al.^[66] erreichen. Griesinger et al. konnten durch Verwendung von quervernetztem Poly(acrylamid) ein DMSO-kompatibles Gel erhalten. Luy et al. konnten zeigen, dass quervernetztes Poly(vinylacetat) neben aprotischen Lösungsmitteln ebenfalls in polar-aprotischen wie DMSO oder Acetonitril sowie in polar-protischen Lösungsmitteln wie Methanol gequollen werden kann. In beiden Fällen sind jedoch deutliche ^1H -Restsignale des Polymers im Spektrum vorhanden, die zu Überlagerungen mit den Analyten führen können (siehe Abbildung 32). Des Weiteren ist auch bei diesen Gelen eine Hydrophobisierung der Glaswand des NMR-Röhrchens auf Grund der starken Adhäsion des Polymers notwendig.

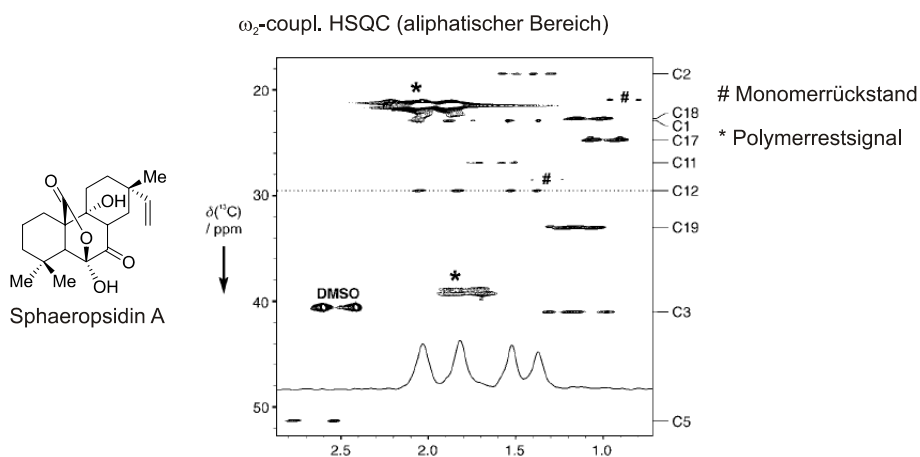


Abbildung 32: Ausschnitt aus dem ω_2 -gekoppelten HSQC des Sphaeropsidin A, welches in einem DMSO/PVAC-Gel gelöst ist. Man sieht deutlich die Polymerrestsignale (*) sowie im Gel eingeschlossenes, nicht-umgesetztes Monomer (#). Abbildung aus J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 423 entnommen. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduziert mit Erlaubnis.

Ein weiteres DMSO-kompatibles Gel stellt das Poly(acrylonitril) (PAN) dar, welches von Luy et al.^[159] berichtet wurde. Ein wichtiger Vorteil gegenüber dem Poly(vinylacetat)-Gel liegt in der Möglichkeit, cyclische Peptide untersuchen zu können, da diese nicht in die Hohlräume des Poly(vinylacetat)-Gelnetzwerks diffundieren.^[159] Des Weiteren gelang Luy et al. ebenfalls die Synthese eines perdeuterierten PAN Gels, wodurch Artefakte durch Polymerrestsignale nahezu eliminiert werden.^[160]

Alle bisher aufgeführten Gele sind achiral und somit für die Enantiodifferenzierung sowie die Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration mit Hilfe von RDCs nicht geeignet. Es gibt bisher nur zwei chirale SAG-basierte Orientierungsmedien. Luy et al.^[161] haben gezeigt, dass gequollene Gelatine zwischen den Enantiomeren des Alanins differenzieren kann. Ein weiteres ebenfalls auf Collagen basierendes Gel wurde von Tjandra et al.^[162] entwickelt. Beide Gele sind jedoch ausschließlich für wässrige Medien geeignet. Luy et al. konnten kürzlich zeigen, dass quervernetzte Gelatine ebenfalls mit DMSO kompatibel und zusätzlich bei erhöhten Temperaturen stabil ist.^[163] Ein allgemeiner Nachteil aller Collagen-basierten Gele besteht darin, dass die enantiomere Form nicht zugänglich ist, da es sich um Biopolymere handelt.

Wie am Anfang des Kapitels bereits erwähnt, finden SAG-basierte Orientierungsmedien bereits eine breite Anwendung, da für alle gängigen Lösungsmittel ein kompatibles Gel existiert.

Weitere Anforderungen an neuen SAG-basierten Alignmentmedien stellen ebenfalls Minimierung von Polymerrestsignalen sowie Verkürzung von Quellzeiten dar.



4. Aufgabenstellung

Wie in Kapitel 3.1.2 dargestellt, nehmen Homopolypeptide unter den synthetischen, LC-bildenden Polymeren eine Sonderstellung ein. Der bekannteste Vertreter, das PBLG, besitzt eine der höchsten Persistenzlängen und ist somit als Orientierungsmedium zur Bestimmung von RDCs besonders attraktiv.

PBLG war das erste synthetische Polymer, welches LC Phasen ausbildete. Auf Grund seiner guten Löslichkeit in vielen organischen Lösungsmitteln ist es mittlerweile das Standardpolymer für nicht-wässrige LC Phasen sowie Modellverbindungen für α -helikale Strukturen geworden. Trotz der zahlreichen Anwendungen ist wenig über das Potential von PBLG als Orientierungsmedium zur Bestimmung von RDCs bekannt. PBLG ist zwar kommerziell erhältlich, jedoch ist der induzierte Orientierungsgrad häufig zu hoch. Es gab vor Beginn dieser Dissertation nur wenige Untersuchungen über die Faktoren, die die Orientierungseigenschaften beeinflussen.

Wie in Kapitel 3.1.3 gezeigt, kann die Homochiralität der LC Phase des PBLGs zur Differenzierung zwischen Enantiomeren ausgenutzt werden. Neben der bloßen Bestimmung des enantiomeren Überschusses kann die Homochiralität der LC Phase jedoch auch prinzipiell zur Bestimmung der absoluten Konfiguration des Analyten ausgenutzt werden. Eine Methode, die nicht auf rein-empirischen Vergleich basiert, könnte mit Hilfe von RDCs entwickelt werden. Hierzu muss mit Hilfe der theoretischen Chemie die Wechselwirkung Analyt-LC Phase simuliert und daraus die Orientierungseigenschaften abgeleitet werden. Diese können dann mit den experimentell Bestimmten verglichen werden.

Um einen Grundstein für die Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration mit Hilfe von RDCs zu legen, sollte im Rahmen dieser Dissertation grundlegende Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften von PBLG erfolgen. Diese umfassen folgende Aufgaben:

- 1) **Synthese** von PBLG und dessen Enantiomer PBDG. Hierbei sollte ein Polymerisationsprotokoll erarbeitet werden, mit dessen Hilfe ein breiter Molekulargewichtsbereich leicht und effizient zugänglich ist.
- 2) **Evaluierung** der kritischen Konzentration und der Quadrupolaufspaltung, sowie **Charakterisierung** der Orientierungseigenschaften als Funktion des Molekulargewichts von PBLG. Hierbei soll der Schwerpunkt darin liegen, den Grad der induzierten Orientierung auf ein Minimum zu reduzieren.

-
- 3) **Quantitative Bestimmung** der Orientierungseigenschaften sowie des Grads der Enantiodifferenzierung für die Enantiomere des IPCs. **Untersuchungen** bezüglich der relativen Affinität von IPCs zu PBLG bzw. PBDG.

 - 4) **Bestimmung** von Faktoren, die gezielt den Grad der Orientierung sowie die Vorzugsorientierung verändern.

5. Kumulativer Teil der Dissertation

5.1 Synthese und Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften von PBLG

Der Inhalt dieses Kapitels ist bereits veröffentlicht:

A. Marx, C.M. Thiele, Orientational Properties of Poly- γ -benzyl-L-glutamate: Influence of Molecular Weight and Solvent on Order Parameters of the Solute, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 254.

In diesem Kapitel werden die ersten grundlegenden Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften als Funktion des Molekulargewichts von PBLG, der Konzentration der LC Phase, sowie des verwendeten Lösungsmittels beschrieben.

Hierzu wurde PBLG in unterschiedlichsten Kettenlängen synthetisiert und die flüssigkristallinen Eigenschaften sowie die Orientierungseigenschaften untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die kritische Konzentration (c_{krit}) der LC Phase als Funktion der Kettenlänge des PBLGs einen asymptotischen Verlauf aufweist. Hierbei sinkt c_{krit} zunächst mit steigender Kettenlänge des PBLGs stark ab und nähert sich anschließend, wenn die Kettenlänge die Persistenzlänge überschreitet,^[100] einem Grenzwert von ca. 6% an. Sowohl durch die Messung der Quadrupolaufspaltung des deuterierten Lösungsmittels CDCl_3 als auch durch Messung der RDCs beider enantiomeren Formen des Isopinocampheols (IPC) bei verschiedenen Kettenlängen wurde festgestellt, dass die Stärke der Orientierung mit abnehmender Konzentration der LC Phase abnimmt.

Durch die Verwendung von hochmolekularem PBLG konnten somit die Orientierungseigenschaften erheblich verbessert werden. Dies führte auch dazu, dass die Spektrenqualität signifikant verbessert und somit die RDCs mit einem deutlich geringeren Fehler bestimmt werden konnten.

Es wurde ebenfalls untersucht, ob die Richtung des Orientierungstensors für die Enantiomere des IPC und somit das Ausmaß der Enantiodifferenzierung von der Polymerkettenlänge abhängt und ob die Natur des organischen Lösungsmittels einen Einfluß auf die Orientierung hat.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ausschließlich die Stärke der Orientierung, nicht aber deren Richtung (bzw. das Ausmaß der Enantiodifferenzierung) von der Polymerkettenlänge abhängig ist. Hieraus konnte geschlussfolgert werden, dass zwei verschiedene Mechanismen vorhanden sein müssen: einer der die Stärke der Orientierung und einer der die Enantiodifferenzierung beeinflusst. Keine konsistenten Schlüsse konnten bezüglich des Lösungsmiteleinflusses gezogen werden.

Orientalional Properties of Poly- γ -benzyl-L-glutamate: Influence of Molecular Weight and Solvent on Order Parameters of the Solute

Andreas Marx and Christina Thiele*^[a]

Abstract: Residual dipolar couplings (RDCs) have recently become increasingly important in organic structure determination due to their unique information content. One main limitation for the use of RDCs in organic compounds, however, is that the compound in question needs to be oriented with respect to the magnetic field in order to measure RDCs. So far, there are very few possibilities for modulating the induced degree of orientation. The situation is even worse when chiral orienting media are considered, which

could allow absolute configuration determination in the future. We have conducted a systematic investigation into modulating the orientation induced by one chiral orienting medium, namely organic solutions of PBLG (poly- γ -benzyl-L-glutamate), as a function of its molecular weight and the organic co-solvent used, and have obtained sig-

nificant insights into factors that influence the order induced. With increasing molecular weight of the polypeptide the orientation of the solutes decreases, leading to well-resolved spectra with improved line shapes. This can be attributed exclusively to the fact that the critical concentration of the liquid-crystalline phase decreases with increasing molecular weight (pure dilution effect). Any influence of increasing flexibility on the orientation can be ruled out.

Keywords: enantiodiscrimination · NMR spectroscopy · peptides · polymers · residual dipolar coupling

Introduction

Although NMR spectroscopy in ordered media (alignment media) has been used since 1963,^[1–4] applications of dipolar couplings in organic structure determination are still rather scarce.^[5,6] This is due to the high degree of solute orientation induced by most applied liquid-crystalline (LC) phases, which dominate the spectra ($D \gg J$, strong alignment) and quickly result in spectra too complex to be interpreted by the non-specialist. Applications of dipolar couplings have therefore, until recently, been limited to small, mostly symmetric compounds. Lately, impressive studies partly using sophisticated computer programs for spectral assignments have appeared, making full use of all the obtainable information from dipolar couplings.^[7–9]

With the advent of orienting media (diluted lyotropic LC phases with water as co-solvent),^[10–16] which induce a low degree of orientation, the observed dipolar couplings could be scaled down from many kHz to a few Hz (weak alignment),^[17,18] then called residual dipolar coupling (RDC). These media are water-based orienting media suitable for the orientation of biomolecular macromolecules. They are, however, not suitable for use with most water-insoluble organic compounds.

It has been shown that if suitable orientation of the organic compound in question can be achieved, RDCs yield information complementary to the distance information obtained from the NOE^[19] or angular information from J couplings^[20] or cross-correlated relaxation,^[21–23] even allowing the determination of the relative configuration in (moderately) flexible compounds.^[6,24]

One of the crucial limiting factors in using RDCs for organic structure determination is the availability of organic-solvent-based orienting media inducing a small degree of order. So far, there are two main methods: strain-induced alignment in a gel (SAG)^[25–31] and LC phases. The main advantage of the former technique is that it allows, in principle, an unrestricted scaling of the orientational order over a wide range by use of different degrees of cross-linking of

[a] Dipl.-Chem. A. Marx, Dr. C. M. Thiele
Technische Universität Darmstadt
Clemens Schöpf Institut für Organische Chemie und Biochemie
Petersenstr. 22, 64287 Darmstadt (Germany)
Fax: (+49)341-165-531
E-mail: cmt@puk.oc.chemie.tu-darmstadt.de

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/chem.200801147> It contains all experimental details, measured coupling constants, and orienting tensor properties as provided by PALES.

the gel. One major drawback, however, is that so far, no chiral, organic, solvent-based cross-linked gel is available.

The second, conceptually different method for partial alignment is the use of organic-solvent-based LC phases; these, however, often orient too strongly. So far, only lyotropic LC phases made of dilute solutions of homo-polypeptides, namely poly- γ -benzyl-L-glutamate (PBLG), poly- γ -ethyl-L-glutamate (PELG), and poly- ϵ -carbobenzyloxy-L-lysine (PCBLL) have proven to be suitable LC media for the orientation of organic compounds.^[32–48] The main advantages are their ready availability (commercial suppliers) and chemical inertness. Another advantage is the chirality of the LC phases made of homo-polypeptides, which forms the basis for the impressive work on enantiodiscrimination done by the Courtieu and Lesot group.^[38–48] Besides enantiodiscrimination, the chirality of the LC phase would, in principle, allow the determination of the absolute configuration without any derivatisation if the interaction of solute and liquid crystal were known precisely. A first result in this field, based on comparison of a chiral compound of unknown configuration with chemically similar compounds of known configuration, has been reported by Lesot et al.^[49] The main disadvantage of the LC-based strategy of orienting compounds is the necessity of a minimum concentration in order for the LC phase to be formed, resulting in a minimum anisotropy, which can only be dropped further by applying variable angle sample spinning (VASS).^[50,51]

PBLG was the first synthetic polymer to exhibit an LC phase,^[52] and due to its good solubility in many organic solvents, it has become a standard when LC polymers are considered. In many organic solvents it adopts an α -helical structure, making it also a standard when model compounds for α -helices are required. PBLG is well investigated and has widespread applications, but so far little is known about its potential as an orienting medium for the measurement of RDCs and the possibilities for influencing orientational order and preferred orientation.^[53] We^[33] and others^[34,41–43,54] have applied PBLG LC phases for measuring RDCs. The order induced in commercial PBLG, however, is often too high, leading to complications in the interpretation of spectra.

Since information about factors modulating the degree of order and the preferred orientation introduced are sparse, we have started a systematic investigation into the factors influencing the orienting properties of PBLG, the two most obvious being its molecular weight and the solvent used.

For the applicability of PBLG LC phases, the induced degree of order, which can be described by an order parameter, should be scalable over a wide range. It is known that the order parameter of the PBLG LC phase is closely related to the volume fraction of PBLG.^[55,56] Furthermore, for rod-like molecules like PBLG it is known that the concentra-

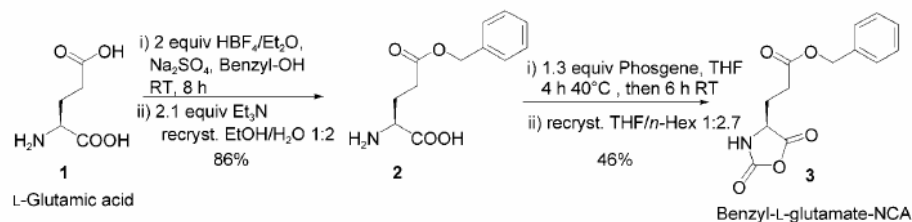
tion range in which the LC phase is stable widens with increasing axial ratio L/D (in which L is the length of the rod and D its corresponding diameter) and thus with increasing molecular weight (MW) as D stays constant.^[55,57,58] From the results of DuPré et al. it can be anticipated that this is true only when L is smaller than the persistence length (P) of the polymer ($L < P$).^[59] Persistence lengths reported for PBLG, however, vary significantly in the literature (70–150 nm). Starting from this point, we synthesised several PBLGs with various chain lengths (axial ratios) and investigated the orientational properties of isopinocampheol (IPC) as the solute.

Results and Discussion

Synthesis of PBLGs of different MW: PBLG was synthesised by ring-opening polymerisation of the corresponding N -carboxyanhydride (NCA). Out of the three possible methods^[60] we used the living polymerisation catalysed by transition metals (Deming protocol),^[61–63] as it has several advantages over the two conventional methods using initiation by bases or nucleophiles. It allows controlled polymerisation of both low- and high-MW polymers with narrow molecular weight distributions (MWD) simply by choice of the ligand attached to the metal centre or the solvent.

The monomer **3** was synthesised by adapted procedures from Albert et al.^[64] and Goodman et al.^[65] as depicted in Scheme 1. In the first step, L-glutamic acid **1** is reacted with benzyl alcohol in the presence of two equivalents of tetrafluoroboric acid (HBF₄) to exclusively give the γ -ester **2**. The NCA **3** is obtained by reaction of **2** with phosgene in dry THF.

Table 1 shows selected samples of PBLG covering a broad range of MW, and hence axial ratios, of the resulting α -helical rodlike polymers. In Table 1, the number averaged MWs (M_n) and the molecular weight distributions (MWDs) are reported, which were determined by gel permeation chromatography (GPC) against polystyrene standard samples (for more details see Experimental Section). All entries in Table 1 were synthesised by the Deming protocol except sample **4b**, which is a commercial sample (Sigma–Aldrich). The rather broad MWDs are unusual, since the polymerisation has living character. To date, we cannot exclude the possibilities that the broad MWD might be either an artefact (adsorption phenomenon onto the stationary phase) from the gel permeation chromatography (GPC), since the



Scheme 1. Synthesis of monomer **4** by adapted procedures of Albert et al.^[64] and Goodman et al.^[65]

Table 1. PBLGs of different MW synthesised using the Deming protocol.^[61–63]

PBLG	X	3		PBLG 4		
		$[M]/[I]^{[a]}$	$M_n^{[b]}$ [g mol ⁻¹]	MWD	Yield [%]	
4a	bpy ^[c]	50:1	20 100	2.28	71	
4b ^[d]	–	–	32 000	3.41	–	
41c	bpy	75:1	58 000	2.91	74	
4d	tmeda ^[e]	100:1	106 000	1.65	72	
4e	dmp ^[f]	125:1	167 000	1.66	85	
4f ^[g]	dmp ^[f]	150:1	384 000	2.97	97	
4g	tmeda	200:1	404 000	2.22	85	
4h ^[g]	tmeda	200:1	602 000	2.57	84	

[a] Monomer-to-initiator ratio. [b] Number averaged molar mass, $M_n = \sum x_i M_i$ (for $i=1 \rightarrow n$), with x_i as the mole fraction of M_i and M_i as the molar mass of the i -mer. [c] 2,2'-Bipyridine. [d] Sample from commercial supplier (Sigma–Aldrich). [e] *N,N,N',N'*-Tetramethylethylenediamine. [f] Bis(dimethylphosphino)ethane. [g] Not living throughout polymerisation time, as indicated by decolourisation of the reaction solution.

peaks show pronounced tailing, or a result of small impurities in the monomer leading to partial abortion of the living polymerisation. We have not observed any influence of the MWD (in the region of the samples synthesised by us) on the line width of the NMR signals and hence on the resolution of spectra.

Dependence of the degree of order on MW as monitored by $\Delta\nu_Q$: As shown by Samulski et al.,^[66,67] the quadrupolar splitting ($\Delta\nu_Q$) can be used as an indicator for the degree of order of the LC phase. It should be emphasised, however, that it is only a qualitative measure for the order induced in the solute. There is no direct connection between the absolute degree of orientation and $\Delta\nu_Q$, as shown, for example, by comparison of the orientational properties of strychnine in PELG and PBLG, for which at the same $\Delta\nu_Q$ the values of the RDCs were significantly lower (by a factor of ≈ 3) in PELG.^[35]

As clearly seen when comparing the entries in Table 2, the critical concentration of the LC phase, that is, the concentration at the phase boundary between the stable LC phase and the LC/isotropic biphasic region (as monitored by recording ²H spectra), decreases with increasing MW. The effect is much more pronounced in the low-MW region, for which a steep decrease is present, whereas in the high-MW region the critical concentration asymptotically approximates to a final value (this behaviour is in accordance with observations reported by Robinson et al.^[58] for entrance of birefringence). From the good qualitative agreement of our results with the theoretical predictions of DuPré^[59] it seems to be a sensible assumption that the length L of the high-MW PBLGs (4f–i) is larger than the persistence length P of the polymer ($L > P$).

The absolute value of the minimal quadrupolar splitting ($|\Delta\nu_{Q,\min}|$), that is, the quadrupolar splitting of the [D₁]chloroform signal at the critical concentration, shows identical behaviour (Figure 1). Table 2 clearly shows the concentration dependence of $|\Delta\nu_{Q,\min}|$, with $|\Delta\nu_{Q,\min}|$ ap-

Table 2. Selected examples of PBLG with various MWs and their corresponding minimal quadrupolar splittings at the critical concentration of the LC phase at 303 K.

PBLG	$M_n^{[a]}$ [g mol ⁻¹]	MWD	$L^{[b]}$ [nm]	(w/w) ^[c] [%]	$ \Delta\nu_{Q,\min} ^{[d]}$ [Hz]	$\Delta\nu_{1/2}^{[e]}$ [Hz]
4a	20 100	2.28	12	19.8	828	22.0
4b ^[f]	32 000	3.41	20	12.0	407	5.8
4c	58 000	2.91	36	9.7	301	5.7
4d	106 000	1.65	65	8.5	243	7.2
4e	167 000	1.66	104	8.6	246	5.6
4f	384 000	2.97	237	7.3	192	4.6
4g	404 000	2.22	249	7.0	180	2.2
4h	602 000	2.57	372	6.2	170	11.7

[a] Number averaged molar mass, $M_n = \sum x_i M_i$ (for $i=1 \rightarrow n$), with x_i as the mole fraction of M_i , and M_i as the molar mass of the i -mer. [b] Length of rod-like polymer chain. Calculated using $L/\text{monomer} = 0.15 \text{ nm}$.^[79] [c] Mass concentration of polymer in [D₁]chloroform. [d] Absolute value of the minimal quadrupolar splitting, that is, splitting of the deuterium signal of [D₁]chloroform (without isotropic signal being present). [e] Peak width at half height of the [D₁]chloroform signal. The rather large line width of the samples made out of PBLG 4a and 4h might be due to inhomogeneities. [f] Sample from commercial supplier (Sigma–Aldrich).

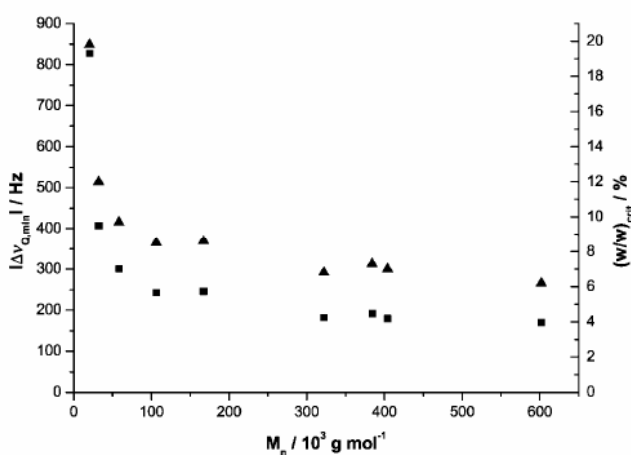
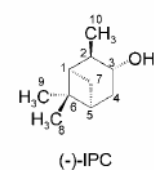


Figure 1. Dependence of the absolute value of the minimal quadrupolar splitting $|\Delta\nu_{Q,\min}|$ (■), and the critical concentration of the LC phase (▲, in w/w%) on the MW of PBLG. The measurements were carried out at 303 K with CDCl₃ as the organic co-solvent.

proaching a final value of about 170 Hz. By use of very high MW PBLG it was possible to decrease the critical concentration to about 6% w/w, but due to the asymptotical behaviour of the critical concentration (Figure 1) as a function of MW (in the region $L > P$) no further drop by even higher MW PBLG was possible. If one wanted to reduce $|\Delta\nu_{Q,\min}|$ and therefore the degree of orientation of the solute even further other strategies would be required, a subject which we are currently working on.

Orientational properties as studied by the orienting tensor of the solute isopinocampheol (IPC): To study the orientational properties of PBLGs with different MWs, we use IPC as a solute, since it is a rigid compound and provides a sufficiently large number of RDCs to be able to determine



the orienting tensor reliably. All experiments using IPC as solute were carried out slightly above the critical concentration to ensure a stable LC phase. The stability of the LC phase was confirmed by equilibrating the NMR sample in the magnetic field for about 30 min and recording ^2H spectra immediately before and after every HSQC experiment. The orienting tensors were obtained from all extractable $^1D_{\text{CH}}$ values using the program PALES.^[68] The input geometry for PALES was provided by computing the equilibrium structure of one enantiomer on the density functional theory (DFT) level by using the hybrid functional B3LYP^[69] as implemented in the program Gaussian03^[70] and employing the 6-311+G(d) basis set. The other enantiomer was obtained by inverting all z coordinates in the coordinate file, leading to an identical initial molecular axis frame. The axis frame in the pdb file was used as the initial molecular axis frame when determining the orienting tensor. Euler angles are reported as z, y', z'' rotations with respect to this molecular axis frame.^[71]

The properties of the orienting tensors for (+)-IPC in selected PBLGs of different MW are summarised in Table 3 (for an excellent article describing the properties of the

Table 3. Orienting tensor properties of (+)-IPC in PBLG/ CDCl_3 LC phases.

PBLG	IPC	$ \Delta\nu_{\text{O}} ^{[a]}$ [Hz]	$n(\text{RDC})^{[b]}$	$D_a^{[c]}$ [10^{-4}]	$R^{[d]}$	$\alpha^{[e]}$	$\beta^{[e]}$	$\gamma^{[e]}$	$R^{2[g]}$
4b ^[6]	(+)	470	11	10.5	0.57	105	100	140	0.995
4c	(+)	352	11	6.9	0.57	105	101	136	0.993
4f	(+)	218	11	4.7	0.60	106	104	131	0.997

[a] Quadrupolar splitting of the solvent signal in the liquid crystal. [b] Number of $^1D_{\text{CH}}$ used for calculation of the parameters $D_a, R, \alpha, \beta, \gamma$ with PALES. [c] Axial component of the orienting tensor. [d] Rhombicity. [e] The three Euler angles relating the principle axis system and the initial molecular axis frame. Only one out of the four possible orientations is reported as the remaining three orientations can be constructed by symmetry operations. [f] Correlation factor for fit of calculated versus measured RDCs. [g] Commercially available PBLG from Sigma-Aldrich

alignment/orienting tensor see reference [72]). The absolute value of the axial component of the orienting tensor D_a ($D_a = S_{zz}/2$) is a quantitative measure for the degree of order induced. As seen from Table 3, the absolute value of D_a decreases with decreasing $\Delta\nu_{\text{O}}$, which demonstrates that not only the order induced in the solvent, but also the degree of order of the solute, is reduced.

By application of very high MW PBLG, it is possible to lower the values of the RDCs to a reasonable order of magnitude of about 10 Hz for IPC. Additionally, due to the diminished degree of orientation, the line widths become significantly smaller (as also ^1H - ^1H RDCs decrease significantly) and the line shapes and signal-to-noise ratios are much better (Figure 2). The resolution of the spectra is so good for the very high MW PBLG that all RDCs were extractable from ω_2 -coupled HSQC experiments.

The decrease of D_a for the solute at the critical concentration is in clear contrast with the observation reported by Abe et al.^[56] for PBLG itself. Abe et al. showed that the

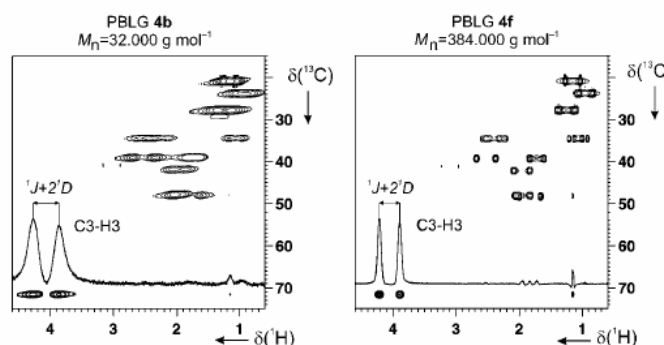


Figure 2. ω_2 -coupled HSQCs of (–)-IPC in PBLGs of different MW. The trace of the C3–H3 correlation is extracted to show the improved line-width, signal-to-noise ratio, and resolution for the very high MW PBLG 4f.

order parameter for PBLG itself (as monitored by deuteration of the polymer backbone) near the critical concentration is independent of the MW (even when $L < P$).

Another very interesting finding is that the three Euler angles (α, β, γ), which define the orientation of the solute with respect to the static magnetic field B_0 ,^[73] are independent of the concentration of the LC phase and the MW of the PBLG (within experimental error). An important conclusion from this finding is that there must be two independent mechanisms of solute orientation, one determining the degree of orientation (concentration dependent) and another one responsible for the orientation itself. First hints in this direction can be found in publications of the Lesot/Courtieu group.^[43,47]

The RDCs measured (see the tables in the Supporting Information) for (+)-IPC and (–)-IPC in PBLG are clearly different, thus demonstrating that enantiodiscrimination is taking place (in accordance with the results reported by Courtieu's group^[39,42]). Since the orientation of the solute is independent of the concentration and MW of PBLG, the degree of enantiodiscrimination is the same in all experiments. Note, however, that it might be that differences due to chemical shift anisotropy (CSA) are no longer observable, leading to non-resolved lines for the two enantiomers.

Flexibility and concentration dependence of the degree of order:

One question may arise: what factors are mainly responsible for the decrease of the order induced (as monitored by D_a)? Is it solely due to the higher dilution of the LC phase or is the increased flexibility of the polymer chain responsible for the diminished degree of orientation? In so-called helicogenic solvents, PBLG has both a rigid backbone and a rather conformationally fixed side chain.^[74,75] With increasing axial ratio L/D , the PBLG chain is believed to become more and more flexible, and is treated by theoretical models either as a transition from a rigid rod to a semi-flexible wormlike chain polymer,^[76] or by incorporation of some random coil segments leading to an interrupted helical rod.^[77] Increased flexibility would result in a broader distribution of orientations of the solute along the polymer chain and hence in a decreased observed degree of orientation.

Table 4. Comparison of the alignment properties of (-)-IPC in PBLGs of different MW.

PBLG	M_n [g mol ⁻¹]	$ \Delta\nu_O ^{[a]}$ [Hz]	$n(\text{RDC})^{[b]}$	$D_a^{[c]}$ [10 ⁻⁴]	$R^{[d]}$	$R^{2[e]}$
4b ^[f]	32000	451	11	-8.6	0.65	0.995
4f	384000	449	11	-8.7	0.64	0.991
4f	384000	231	11	-4.4	0.47	0.978

[a] Quadrupolar splitting of the solvent signal in the liquid crystal. [b] Number of ¹D_{CH} used for calculation of the parameters D_a and R with PALES. [c] Axial component of the orienting tensor. [d] Rhombicity. [e] Correlation factor for fit of calculated versus measured RDCs. [f] Commercially available PBLG from Sigma-Aldrich.

Table 4 shows the order parameters of IPC in PBLGs with different MWs (axial ratios). For entry 1 (PBLG **4b**, M_n = 32 kDa) and entry 2 (PBLG **4f**, M_n = 384 kDa) the concentration of the LC phase was kept constant, and for entry 3 (PBLG **4f**, M_n = 384 kDa) it was slightly diluted. As clearly seen, the increased MW (axial ratio) and therefore also increased flexibility from **4b** to **4f** has no effect on the degree of orientation, at least not a measurable one. This is again in clear contrast with the observation reported by Abe et al.^[56] for PBLG itself. Abe et al. reported that for a given concentration the order parameter increases with increasing axial ratio. The slightly diluted LC phase of entry 3 clearly has a lower degree of orientation, as indicated by the drop in D_a . As a consequence, the decrease of D_a is a pure dilution effect.

Solvent dependence: In the next series, we checked the alignment properties of (+)-IPC in different helicogenic solvents (Table 5). Among the tested halogenated solvents, [D₂]dichloromethane (CD₂Cl₂) shows a significantly lower degree of orientation (compared to CDCl₃), although the critical concentration for the LC phase is higher. This is rather surprising, as the chemical difference to CDCl₃ is very small. The most evident difference is the polarity, which is significantly higher for CD₂Cl₂. If 1,1,2,2-[D₂]tetrachloroethane (C₂D₂Cl₄), which has comparable polarity to CDCl₃, is used as the solvent, the critical concentra-

Table 5. Comparison of the alignment properties of (+)-IPC in the LC phase of PBLG in different solvents.

PBLG	Solvent	(w/w) ^[a] [%]	IPC	$ \Delta\nu_O ^{[b]}$ [Hz]	$n(\text{RDC})^{[c]}$	$D_a^{[d]}$ [10 ⁻⁴]	$R^{[e]}$	$\alpha^{[f]}$	$\beta^{[f]}$	$\gamma^{[f]}$	$R^{2[g]}$
4g	CDCl ₃	7.1	(+)	208	11	5.1	0.53	110	101	136	0.999
4g	CD ₂ Cl ₂	8.3	(+)	105	11	3.8	0.63	102	101	131	0.994
4g	C ₂ D ₂ Cl ₄ ^[h]	6.5	(+)	183	11	5.1	0.51	113	99	132	0.992
4g	[D ₈]THF	12.4	(+)	75 ^[i]	11	5.0	0.60	99	87	136	0.997
4g	[D ₇]DMF	13.6	(+)	22 ^[j]	8 ^[k]	18.5	0.12	73	79	132	0.997

[a] Mass concentration of PBLG in the organic co-solvent. [b] Quadrupolar splitting of the solvent signal in the liquid crystal. [c] Number of ¹D_{CH} used for calculation of the parameters D_a , R , α , β , γ with PALES. [d] Axial component of the orienting tensor. [e] Rhombicity. [f] The three Euler angles relating the principle axis system and the initial molecular axis frame. Only one out of the four possible orientations is reported as the remaining three orientations can be constructed by symmetry operations. [g] Correlation factor for fit of calculated versus measured RDCs. [h] [D₂]-1,1,2,2-Tetrachloroethane. [i] Quadrupolar splitting of the O-CD₂ group. [j] Quadrupolar splitting of the D-C(=O)-deuterium. [k] Measurement was conducted at 315 K due to high viscosity (gel-like behaviour) of the LC phase.

tion and degree of orientation are practically the same as for CDCl₃.

When using more polar helicogenic solvents, for example, [D₈]THF or [D₇]DMF, we expected the effect to be even more pronounced. For [D₈]THF this is truly the case, as seen from Table 5; although the critical concentration of the LC phase is twice as high as for CDCl₃, the absolute value of D_a is the same. Unfortunately, this trend does not continue with [D₇]DMF, although it is by far the most polar solvent. The critical concentration is even higher than for [D₈]THF and the value of D_a indicates that the degree of orientation is significantly increased.

The orientation of the solute is nearly the same for all halogenated solvents and changes only slightly for [D₈]THF and slightly more for [D₇]DMF.^[78] This behaviour is quite different from that of the cross-linked polystyrene gels (PS gel) as reported by Luy et al.,^[27] in which the solute orientation changes more significantly with the solvent.

Thus it seems to be rather complicated to rationalise the orienting properties of PBLG in different solvents, as many factors (solute-solvent electrostatics, shape-specific interactions, different solvation of PBLG, etc.) contribute to the solute's orientation.

Conclusions

Although PBLG is a well-known chiral LC-forming polymer, its use as an orienting medium in organic structure determination is still not widespread. This is due to the fact that commercial PBLG orients most compounds too strongly, leading to serious problems in the interpretation of spectra. To gain a deeper insight into the factors modulating the induced degree of order and the resulting preferred orientation, we have started a systematic investigation into the LC phases of PBLG. In the first step, we synthesised PBLG covering a broad range of MW (axial ratios) and determined the critical concentrations for the phase transition LC to biphasic LC/isotropic as a function of the MW. The critical concentration shows asymptotical behaviour (decreasing steeply in the low-MW region), and reaches a final value (about 6%) in the high-MW region. The quadrupolar splitting ($\Delta\nu_O$), which can be used as a qualitative indicator for the degree of orientation, shows identical behaviour. With the high MW samples it is possible to improve spectral quality significantly.

In the next step, the alignment properties of IPC, which we chose as a model compound, in PBLG samples of different MW were investigated. The axial component of the orienting tensor (D_a), which is

a quantitative measure for the degree of orientation, decreased significantly for PBLG samples with higher MW. It was shown that the decrease in D_a is solely due to the higher achievable dilution of the LC phase and not an additional consequence of the increased flexibility of the polymer chain with increasing length. Furthermore, it was shown that the orientation of the solute is independent of the concentration of the LC phase and the MW of the polymer, which indicates that two different mechanisms are operative: one modulating the degree of order and one responsible for the orientation of the solute (with respect to the magnetic field).

Experimental Section

Gel permeation chromatography: Gel permeation chromatography (GPC) was performed in DMF+0.5% LiBr with a flow rate of 1.0 mL min⁻¹ at 70 °C on two 300 × 8 mm PSS GRAM 10 μm columns (100, 3000 Å) (Polymer Standard Service GmbH, Mainz, Germany). The detector employed was an RI ERC-7510 (Erma Inc.). The reported number-averaged MWs as well as the MWDs were determined against standard polystyrene samples from Polymer Standard Service GmbH, Mainz (Germany). The chromatograms were analysed using the software package WinGPC from Polymer Standard Service GmbH, Mainz (Germany).

NMR spectra: All spectra of IPC in isotropic and oriented samples were recorded on a 500 MHz spectrometer (Bruker DRX-500) with a triple resonance inverse probe equipped with a z -gradient. All measurements were carried out without sample spinning at 303 K unless otherwise stated. The total coupling constants (1J) and scalar coupling constants (1J) were measured by ω_2 - and ω_1 -coupled HSQC experiments by using an INEPT delay corresponding to 145 Hz. ω_2 -coupled HSQCs were recorded without decoupling during acquisition by using the Echo/Anti-echo selection scheme. A total of 8192 data points were sampled in the direct dimension over a spectral width of 10 ppm to give an FID resolution of 0.61 Hz. In the indirect dimension 256 data points were sufficient to prevent signal overlap. The spectra were processed with use of an exponential window function with 1 Hz line broadening in the direct dimension. In the indirect dimension a $\pi/2$ -shifted sine-squared window function and zero filling by a factor of 4 was applied. ω_1 -coupled HSQCs were recorded by removing the 180° proton pulse in the centre of the t_1 evolution period. A total of 1024 data points were sampled in the direct dimension over a spectral width of 10 ppm to give an FID resolution of 4.88 Hz. In the indirect dimension 2048 data points were sampled over a spectral width of 65 ppm to give an FID resolution of 3.99 Hz. The spectra were processed by using an exponential window function with 3 Hz line broadening and zero filling to 2048 data points in the direct dimension. In the indirect dimension a $\pi/2$ -shifted sine-squared window function and zero filling by a factor of 2 was applied.

The dipolar coupling was calculated from the difference of the total coupling (anisotropic sample) and the scalar coupling (isotropic sample) by dividing by two, according to $^1T = ^1J + 2^1D$.^[35] For the methyl groups, the measured $^1D_{CH}$ was converted to the corresponding $^1D_{CC}$ according to the literature.^[34] Only the latter was used for the determination of the orienting tensor using PALES.^[68] The module bestFit within PALES was used for determination of the orienting tensor properties and the Euler angles. The measured RDCs were scaled by a factor of -2 prior to calculation in order to gain the correct eigenvalues and Saupe order parameters (see Supporting Information), as PALES defines the dipolar coupling as $D = J - T$, whereas we chose to use a different definition, namely $T = J + 2D$ (leading to $D = (T - J)/2$).

NMR sample preparation: The LC phases were prepared directly in the NMR tube (5 mm o.d.). For high-MW polymers ≈ 50 mg or for low-MW polymers ≈ 80 mg of PBLG (with the MW corresponding to the letters

4a–h in Table 1 and Table 2) were weighed directly into the NMR tube, which contained a [D₆]DMSO capillary to provide the lock signal. For the NMR samples, which were prepared to examine the dependence of critical concentration and quadrupolar splitting on the molecular weight of PBLG, the organic co-solvent was added in small portions, the sample was centrifuged to achieve homogeneity, and ²H spectra were recorded. The critical concentration was determined (from the corresponding masses of PBLG and co-solvent) at the last concentration at which no signal of the isotropic solvent (which indicates the onset of the biphasic region) was observed.

For the NMR samples prepared to study the influence of the MW (and concentration) on the order of the solute, new samples were prepared by weighing the corresponding amount of PBLG 4b–f into the sample tube (again ≈ 50 mg for high-MW and ≈ 80 mg for low-MW PBLGs). Afterwards, IPC (≈ 30 mg) and the organic co-solvent were added (for exact amounts see Supporting Information). The polymer was allowed to dissolve overnight and the sample centrifuged back and forth until the ²H signals were sharp and the line widths constant. When [D₇]DMF was used as solvent, the sample had to be heated to about 315 K, as below 310 K the sample behaved like a gel. All reported concentrations of the LC phases were calculated from the mass of the polymer weighed into the NMR tube and the mass of solvent necessary to provide the desired LC phase.

Acknowledgements

We are very grateful to the polymer analytics group of the MPI for polymer research in Mainz, particularly to Christine Rosenauer and Sandra Seywald, as well as to Friedhelm Gores from Polymer Standard Service GmbH Mainz for their uncomplicated and very kind help in the analysis of the PBLG samples. Furthermore, we want to thank Timothy J. Deming, Helmut Schlaad and Ed Samulski for very helpful discussions. Michael Reggelin is acknowledged for his support and Steffen Glaser for providing the POV-Ray tool with which the TOC graphic was made. We would like to thank Robert Berger for providing the input structures of IPC. A.M. and C.M.T. acknowledge the Fonds der Chemischen Industrie (Kekulé fellowship) and the DFG (TH115/1-1) for financial support.

- [1] A. Saupe, G. Englert, *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *11*, 462–464.
- [2] A. Saupe, *Z. Naturforsch. A* **1964**, *19*, 161–171.
- [3] J. W. Emsley, J. C. Lindon, *NMR Spectroscopy using Liquid Crystal Solvents*, Pergamon, Oxford, **1975**.
- [4] E. E. Burnell, C. A. de Lange, *NMR of Ordered Liquids*, Kluwer Academic, Dordrecht, **2003**.
- [5] C. M. Thiele, *Concepts Magn. Reson. Part A* **2007**, *30*, 65–80.
- [6] C. M. Thiele, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5673–5685.
- [7] W. L. Meerts, C. A. de Lange, A. C. J. Weber, E. E. Burnell, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *441*, 342–346.
- [8] G. De Luca, M. Longeri, G. Pileio, P. Lantto, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 2086–2098.
- [9] B. Stevansson, D. Sandstrom, A. Maliniak, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 2738–2746.
- [10] N. Tjandra, A. Bax, *Science* **1997**, *278*, 1111–1114.
- [11] M. R. Hansen, L. Mueller, A. Pardi, *Nature Struct. Biol.* **1998**, *5*, 1065–1074.
- [12] J. H. Prestegard, *Nature Struct. Biol.* **1998**, *5*, 517–522.
- [13] H.-J. Sass, G. Musco, S. J. Stahl, P. T. Wingfield, S. Grzesiek, *J. Biomol. NMR* **2000**, *18*, 303–309.
- [14] R. Tycko, F. J. Blanco, Y. Ishii, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9340–9341.
- [15] M. Ruckert, G. Otting, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7793–7797.
- [16] K. Fleming, D. Gray, S. Prasannan, S. Matthews, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5224–5225.
- [17] W. J. Harrison, D. L. Mateer, G. J. T. Tiddy, *Faraday Discuss.* **1996**, *104*, 139–154.

- [18] C. R. Sanders, J. P. Schwonek, *Biochemistry* **1992**, *31*, 8898–8905.
- [19] D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [20] a) M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11–15; b) G. Bifulco, P. Dambrosio, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3744–3779.
- [21] B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, *276*, 1230–1233.
- [22] S. Ravindranathan, X. Feng, T. Karlsson, G. Widmalm, M. H. Levitt, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1102–1115.
- [23] B. Reif, H. Steinhagen, B. Junker, M. Reggelin, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2006–2009; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1903–1906.
- [24] C. M. Thiele, A. Marx, R. Berger, J. Fischer, M. Biel and A. Giannis, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4566–4571; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4455–4460.
- [25] B. Deloche, E. T. Samulski, *Macromolecules* **1981**, *14*, 575–581.
- [26] J. C. Freudenberger, P. Spittler, R. Bauer, H. Kessler, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14690–14691.
- [27] B. Luy, K. Kobzar, S. Knor, J. Furrer, D. Heckmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6459–6465.
- [28] G. Kummerlöwe, J. Auernheimer, A. Lendlein, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6080–6081.
- [29] B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2004**, *43*, 1092–1094.
- [30] J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 423–426.
- [31] P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 431–433; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 427–429; corrigendum P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **2005**, *119*, 7874; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *46*, 7730.
- [32] M. Sarfati, C. Aroulanda, J. Courtieu, P. Lesot, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 737–744.
- [33] C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 705–708.
- [34] C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, J. Courtieu, D. Merlet, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4536–4539.
- [35] C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7403–7413.
- [36] P. Lesot, M. Sarfati, J. Courtieu, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1724–1745.
- [37] C. Aroulanda, M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Enantiomer* **2001**, *6*, 281–287.
- [38] J.-L. Canet, A. Fadel, J. Salaun, I. Canet-Fresse, J. Courtieu, *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *4*, 31–34.
- [39] A. Meddour, I. Canet, A. Loewenstein, J. M. Pechine, J. Courtieu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9652–9656.
- [40] I. Canet, J. Courtieu, A. Loewenstein, A. Meddour and J. M. Pechine, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6520–6526.
- [41] P. Lesot, D. Merlet, A. Meddour, J. Courtieu, A. Loewenstein, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1995**, *91*, 1371–1375.
- [42] P. Lesot, Y. Gounelle, D. Merlet, A. Loewenstein, J. Courtieu, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 14871–14875.
- [43] P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, J. Emsley, T. T. Rantala, J. Jokisaari, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 5719–5724.
- [44] D. Merlet, A. Loewenstein, W. Smadja, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 963–969.
- [45] C. Aroulanda, D. Merlet, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12059–12066.
- [46] M. Rivard, F. Guillen, J.-C. Fiaud, C. Aroulanda, P. Lesot, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1141–1152.
- [47] J. W. Emsley, P. Lesot, D. Merlet, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 522–530.
- [48] A. Solgadi, L. Jean, M.-C. Lasne, J. Rouden, J. Courtieu, A. Meddour, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1511–1516.
- [49] L. Ziani, P. Lesot, A. Meddour, J. Courtieu, *Chem. Commun.* **2007**, 4737–4739.
- [50] J. Courtieu, J. P. Bayle, B. M. Fung, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1994**, *26*, 141–169.
- [51] C. M. Thiele, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2847–2850; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2787–2790.
- [52] A. Elliott, E. J. Ambrose, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 246–251.
- [53] P. Lesot, O. Lafon, C. Aroulanda, R. Y. Dong, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4082–4092.
- [54] L. Verdier, P. Sakhaii, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* **2003**, *163*, 353–359.
- [55] P. Flory, *Adv. Polym. Sci.* **1984**, *59*, 1–36.
- [56] A. Abe and T. Yamazaki, *Macromolecules* **1989**, *22*, 2145–2149.
- [57] L. Onsager, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 627–659.
- [58] C. Robinson, J. C. Ward, R. B. Beevers, *Discuss. Faraday Soc.* **1958**, *25*, 29–42.
- [59] D. B. DuPré, S.-j. Yang, *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 7466.
- [60] T. J. Deming, *Adv. Polym. Sci.* **2006**, *202*, 1–18.
- [61] T. J. Deming, *Nature* **1997**, *390*, 386–389.
- [62] T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4240–4241.
- [63] T. J. Deming, S. A. Curtin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5710–5717.
- [64] R. Albert, J. Danklmaier, H. Hönig, H. Kandolf, *Synthesis* **1987**, 635–637.
- [65] M. William D. Fuller, S. Verlander, M. Goodman, *Biopolymers* **1976**, *15*, 1869–1871.
- [66] K. Czarniecka, E. T. Samulski, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1981**, *63*, 205–214.
- [67] M. D. Poliks, Y. W. Park, E. T. Samulski, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1987**, *153*, 321–345.
- [68] M. Zweckstetter, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3791–3792.
- [69] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623–11627.
- [70] Gaussian 03 (Revision C.02), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **2003**.
- [71] M. Zweckstetter, *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 679–690.
- [72] F. Kramer, M. V. Deshmukh, H. Kessler, S. J. Glaser, *Concepts Magn. Reson.* **2004**, *21A*, 10–21.
- [73] The complete set of data describing the orientation (orienting parameters, eigenvalues, and eigenvectors) can be found in the Supporting Information. The Euler angles were chosen here to make the comparison easier. Note that sometimes very different orientations can also result from two minima in the fitting process, such that by changing one coupling slightly two different orientations can be obtained. Therefore a thorough comparison of the observed coupling constants might be more helpful in examining the enantiodiscrimination properties of LCs than the comparison of Euler angles or eigenvalues and eigenvectors. This is work currently in progress.
- [74] R. W. Duke, D. B. DuPré, W. A. Hines, E. T. Samulski, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3094–3101.
- [75] A. Abe, T. Yamazaki, *Macromolecules* **1989**, *22*, 2138–2145.
- [76] Y. Muroga, M. Nagasawa, *Biopolymers* **1998**, *45*, 281–288.
- [77] B. H. Zimm, J. K. Bragg, *J. Chem. Phys.* **1959**, *31*, 526–535.
- [78] For [D₇]DMF only eight RDCs were obtained, making a thorough comparison inappropriate.
- [79] T. J. McMaster, H. J. Carr, M. J. Miles, P. Cairns, V. J. Morris, *Macromolecules* **1991**, *24*, 1428–1430.

Received: June 11, 2008

Published online: November 26, 2008

5.2 Quantitative Bestimmung des Unterschieds in der Orientierung im Falle des Isopinocampheols in der LC-Phase des PBLGs und PBDGs

Der Inhalt dieses Kapitels ist bereits veröffentlicht:

A. Marx, V. Schmidts, C.M. Thiele, How different are diastereomorphous orientations of enantiomers in the liquid crystalline phases of PBLG and PBDG: A case study, *J. Magn. Res.* **2009**, *47*, 734-740.

Aus den Arbeiten der Gruppe um Courtieu ist bekannt, dass die LC Phasen des PBLGs enantiodifferenzierend wirken^[128] und dass die Enantiodifferenzierung auf einer unterschiedlichen Orientierung der beiden Enantiomere (und somit auf unterschiedliche Wechselwirkungen der Enantiomere mit dem Flüssigkristall) zurückzuführen ist.^[129, 164]

In Rahmen dieser Publikation wurde die Enantiodifferenzierung des IPCs in den LC Phasen des PBLGs und PBDGs (Poly- γ -benzyl-D-glutamat) quantitativ bestimmt. Ferner wurde untersucht, ob eine Bevorzugung von einer der beiden diastereomorphen Orientierungen beobachtbar ist. Diese Untersuchungen dienen als Grundlage für die Entwicklung einer Methode für die Bestimmung der absoluten Konfiguration organischer Verbindungen mittels RDCs.

Hierfür wurden die beiden Enantiomere von IPC in verschiedensten Molfraktionen der enantiomeren Flüssigkristalle PBLG und PBDG vermessen. Es konnte der Übergang zwischen den beiden diastereomorphen Orientierungen des IPCs direkt beobachtet werden.

Es wurde festgestellt, dass der Unterschied in den beiden diastereomorphen Orientierungen sehr klein ist und nur einer der drei Euler Winkel, nämlich β , signifikant verschieden ist (Unterschied von 5 Grad).

Wäre eine der beiden diastereomorphen Orientierungen klar bevorzugt werden, so würde man ein „nicht-lineares Verhalten“ des Verlaufs der RDCs in Abhängigkeit von der Molfraktion PBLG/PBDG erwarten. Einige RDCs zeigten zwar ein sigmoidales Verhalten, jedoch kein typisches Verhalten wie man es bei einem nicht-linearen Effekt erwarten würde. Somit kann mit den hier verwendeten Methoden keine klare Bevorzugung einer der beiden diastereomorphen Orientierungen detektiert werden.

How different are diastereomorphous orientations of enantiomers in the liquid crystalline phases of PBLG and PBDG: a case study

Andreas Marx, Volker Schmidts and Christina M. Thiele*

The orientational properties of the two enantiomers of an example compound, namely isopinocampheol [(+)- and (-)-IPC] in the two enantiomers of a liquid crystalline phase, namely Poly- γ -benzyl-L/D-glutamate (PBLG/PBDG) with the organic cosolvent CDCl₃, were investigated. The interactions can be either enantiomorphous, leading to equal orientations and residual dipolar couplings (RDCs), or diastereomorphous, leading to different orientations and RDCs. The difference between the two diastereomorphous orientations was determined to be rather small (5° in the Euler angle β). Furthermore, we investigated whether one of the two diastereomorphous interactions is favored. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

Supporting information may be found in the online version of this article.

Keywords: alignment medium; liquid crystal; residual dipolar coupling; configuration determination; NMR spectroscopy

Introduction

NMR spectroscopy has become an indispensable tool in structure elucidation of organic compounds. The determination of their connectivity (constitution) and their spatial arrangement (configuration/conformation) is typically accomplished by a vast set of one- and multidimensional correlation experiments.^[1] Despite the large portfolio of correlation experiments, the determination of the spatial structure is by far not trivial and requires accessible angular and distance information. The angular information can be provided by ³J-coupling data using the Karplus relation^[2] and by cross-correlated relaxation of coupled spins,^[3–5] whereas the distance information is usually provided by the nuclear overhauser effect (NOE).^[6]

In the last decade residual dipolar couplings (RDCs) have gained much interest. This can be attributed to the fact that RDCs can provide both angular and distance information and contain long-range information. RDCs have proven to be valuable and complementary NMR parameters that can lift structural ambiguities, occurring when conventional NMR restraints fail.

Since RDCs are orientation-dependent interactions, an anisotropic environment must be present in order to be able to observe them. The anisotropic environment is achieved by use of so-called *orienting media*, which are typically either liquid crystalline (LC) phases^[7–9] or stretched gels.^[10–15] The degree of orientation of these orienting media should be small because otherwise the spectra quickly become too complex to be interpreted by the nonspecialist, impeding routine use. Water-based orienting media inducing a low degree of orientation are well known.^[16–22] Organic-solvent-based orienting media with a low and tuneable degree of orientation are rather rare; nevertheless, there are numerous applications reported^[23,24] dealing with differentiation of diastereotopic sites,^[7,25–28] determination of

relative configuration,^[11,29–32] and, more currently, also taking into account increasingly flexible structures.^[33–36]

In this paper we will consider the organic-solvent-based LC phases of poly- γ -benzyl-L-glutamate (PBLG) and its enantiomer poly- γ -benzyl-D-glutamate (PBDG), which are the most prominent members of α -helically homopolypeptides. The major advantage of these LC phases compared to the so far available organic-solvent-based gels is their homochirality that allows differentiating between enantiomers. This forms the basis for the impressive work on enantiodiscrimination done by Courtieu and Lesot *et al.*^[8,26,27,37–42] who established an analytical method based on the measurement of another anisotropic NMR parameter, namely, the *quadrupolar coupling* ($\Delta\nu_Q$), for the determination of the enantiomeric excess for a broad range of organic compounds. The same group also showed that the differentiation between enantiomers is based on different average orientations of the both enantiomers.^[8,37,39]

Additionally, the homochirality of the LC phases could, in principle, also allow the determination of the absolute configuration of a compound without the necessity of derivatization. To achieve this goal, the interaction of the molecule of interest and the LC phase has to be known precisely. A first, very promising result in the field of absolute configuration determination, which is based on comparison of a chiral compound of unknown configuration with chemically similar compounds of known configuration, has recently been reported by Lesot *et al.*^[43]

* Correspondence to: Christina M. Thiele, Technische Universität Darmstadt, Clemens Schöpf Institut für Organische Chemie und Biochemie, Petersenstr. 22, 64287 Darmstadt, Germany. E-mail: cmt@puk.oc.chemie.tu-darmstadt.de

Technische Universität Darmstadt, Clemens Schöpf Institut für Organische Chemie und Biochemie, Petersenstr. 22, 64287 Darmstadt, Germany

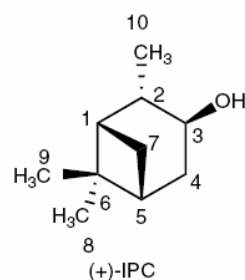
We have recently shown that the degree of orientation of (+)-isopinocampheol [(+)-IPC] in PBLG LC phases can be controlled by the volume fraction of the polymer, which in turn depends on the molecular weight of the polymer, while the orientation of (+)-IPC and hence the degree of enantiodiscrimination remains equal.^[44] In order to get a better understanding about the processes involved in enantiodiscrimination and to make progress toward a method for the determination of absolute configuration, we have started a systematic investigation of the orientational properties of both enantiomers of IPC in the LC phases of PBLG, PBDG, and mixtures of PBLG and PBDG.

By combining both enantiomers of the solute with both enantiomers of the LC phase, two different interactions can be obtained with the stereochemical relations depicted in Fig. 1. The enantiomorphous interactions should lead to identical orientations and therefore also to identical dipolar couplings. For the diastereomorphous combinations, a difference in the orientation as well as dipolar couplings can be expected.^[8,37,39] In this investigation we want to quantify the difference between the diastereomorphous orientations of the two enantiomers in terms of order parameters and Euler angles.

In view of the determination of the absolute configuration, we were also interested in finding out whether we can detect a favored (diastereomorphous) interaction of one enantiomer toward either PBLG or PBDG (Fig. 1b). This was initiated by the very recent results of Lesot *et al.*^[42] who reported that when mixing PBLG and poly- ϵ -carbobenzyloxy-L-lysine (PCBLL), solutes exhibited different affinities toward the fibers of the two different LC phases. We were thus interested whether such a difference in affinities would also be detectable for the diastereomorphous interactions of the two enantiomers of the solute with the two enantiomers of the liquid crystal (PBLG and PBDG).

Results and Discussion

For the study of the orientational properties we used isopinocampheol (IPC) as the solute, since it is a rigid compound that provides



Scheme 1. (+)-Isopinocampheol and corresponding numbering of atoms.

a sufficiently large number of RDCs to be able to determine the order tensor reliably. All experiments were carried out slightly above the critical concentration to ensure a stable LC phase. To confirm the stability of the LC phase, a ^2H -spectrum was recorded right before and after every experiment. In Scheme 1 the numbering of IPC used throughout this work is given.

First, the course of the RDCs as a function of the molar fraction of PBLG will be discussed. From this, the stereochemical relations and the relative affinity of the solute toward PBLG and PBDG will be derived. The orientational properties and the direct observation of the changeover from one diastereomorphous orientations to the other will be presented thereafter. For this purpose we used the program hotFCHT^[45] which is currently being extended in our group for the analysis of RDCs.^[46]

RDCs of IPC as a function of molar fraction of PBLG

In order to get highly reliable RDCs, and hence in the next step reliable orientational properties, we put big efforts to determine the RDCs to the highest achievable accuracy. We have shown^[44] that the resolution of the NMR-spectra can be substantially improved by using very high molecular weight (MW) PBLG. The spectral quality and hence the resolution can even be significantly further improved by application of the CLIP/CLAP-HSQC^[47] experiment (for details see Experimental Section), allowing us to determine the $^1D_{\text{CH}}$ to an accuracy of approximately 0.2 Hz. Two

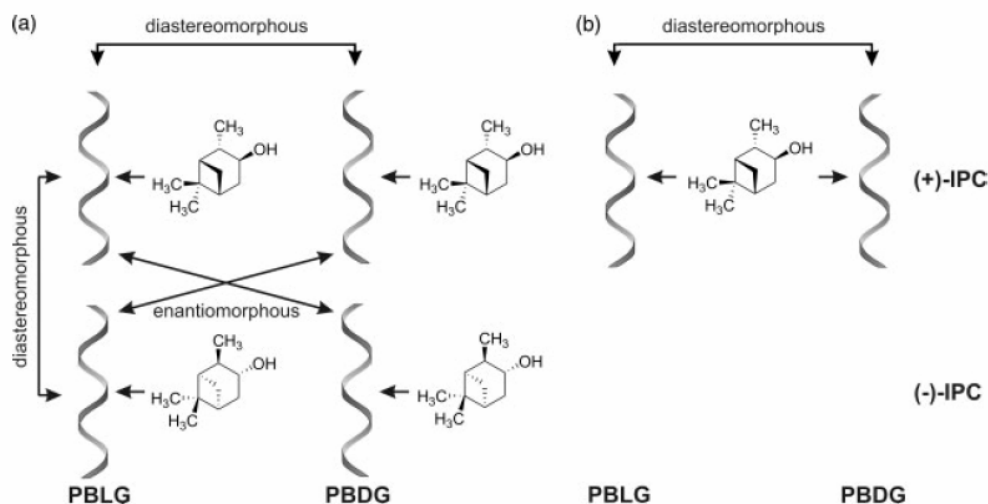


Figure 1. Possible stereochemical relations that can be constructed by combination of both enantiomers of IPC with PBLG and PBDG. (a) Complexes of either (+)-IPC or (-)-IPC in the pure homochiral LC phases of PBLG or PBDG. The combinations within one row or one column are diastereomorphous, e.g. (+)-IPC/PBLG and (-)-IPC/PBLG, whereas the combinations on the diagonal are enantiomorphous, e.g. (+)-IPC/PBLG and (-)-IPC/PBDG. (b) (+)-IPC in a mixed LC phase of PBLG and PBDG. Here two diastereomorphous interactions are possible.

notes should also be pointed out. First, for the mixed LC phases consisting of PBLG and PBDG, both polymers should have very similar MW. The PBLG used in this study has a number-averaged mass of M_n 320 kDa with a molecular weight-distribution (MWD) of 2.20, whereas the PBDG has a number-averaged mass of M_n 322 kDa with a MWD of 2.27. These polymers are as identical as possible. Furthermore, we have shown^[44] that the degree of orientation is independent of the MW above M_n 200 kDa, which is also the case for these polymers. Both polymers were synthesized in our laboratory according to the published procedure.^[44] Second, it has been shown that even for samples with very similar composition (but not identical concentration), nonlinear effects can be present when considering anisotropic data determined in mixtures of PBLG and PBDG compared to the neat LC phases.^[48] To rule out

these concentration effects, all RDCs were normalized to the value of the quadrupolar splitting of the solvent CDCl_3 .

For sake of simplicity and clear presentation, we will exemplarily show the course of the RDCs graphically for selected couplings; the complete dataset of RDCs and their graphical illustration can be found in the Supporting Information. Figure 2 shows selected normalized RDCs for (+)-IPC (left column) and (-)-IPC (right column) as a function of the molar fraction of PBLG (for numbering see Scheme 1). When first considering (+)-IPC, one can see that for most RDCs the value is different for the neat LC phases of PBLG and PBDG (borders of the graphs), which is what one would expect since these interactions are diastereomorphous. This demonstrates that enantiodifferentiation is taking place. The change in the values of the RDCs in between the LC phases is

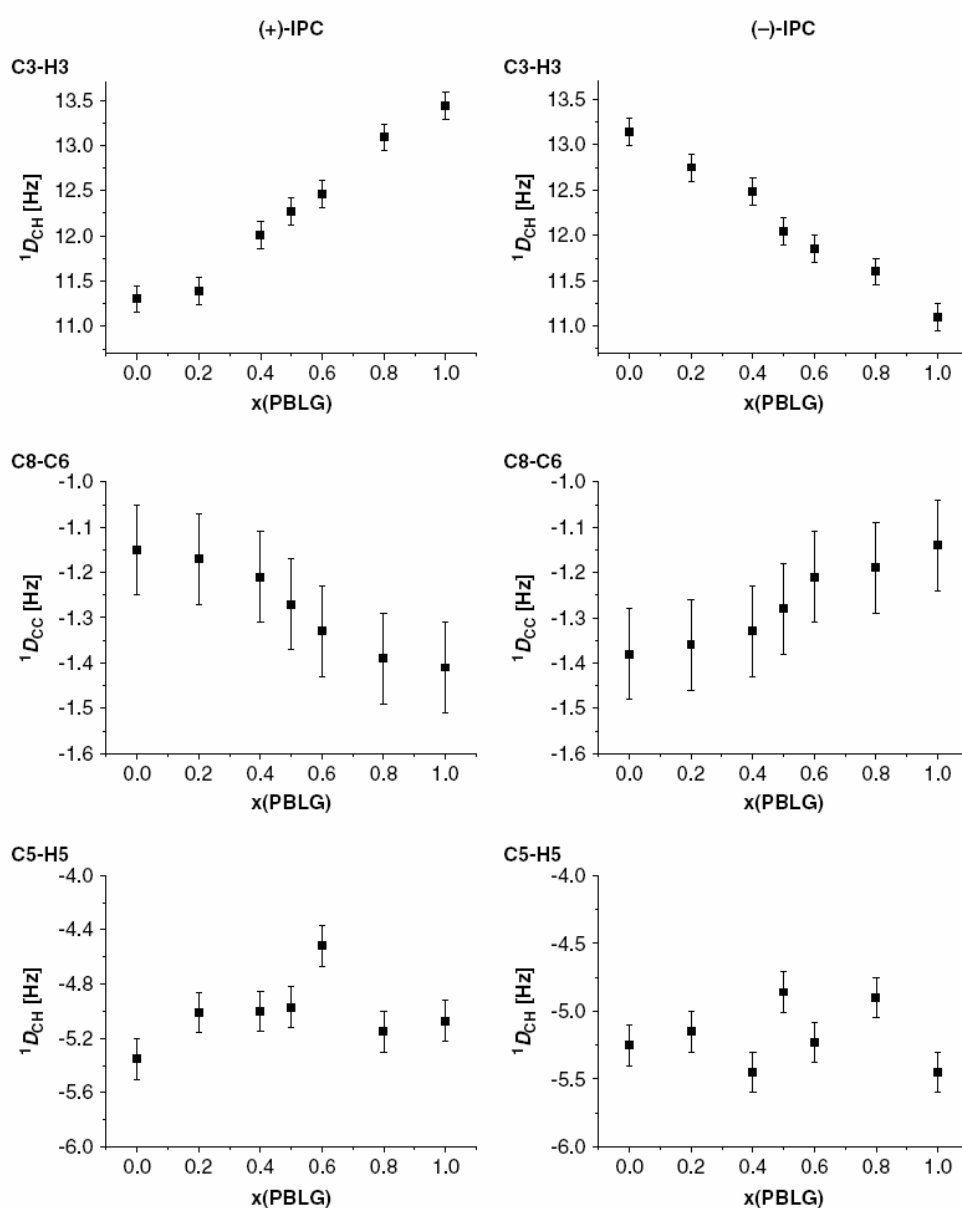


Figure 2. The course of selected normalized $^1D_{\text{CH}}$ of (+)-IPC (left column) and (-)-IPC (right column) as a function of the molar fraction of PBLG (the whole dataset can be found in the Supporting Information). All couplings were determined by the CLIP/CLAP-HSQC experiment and normalized to the value of the quadrupolar splitting.

continuous and smooth and also is a direct observation of the passage from one diastereomorphous state to the other. There are also some couplings, e.g. C5-H5 in Fig. 2, where the values of the RDCs in the LC phases of PBLG and PBDG are essentially equal.

We have also determined the RDCs of (–)-IPC as a function of the molar fraction of PBLG. From a stereochemical point of view this is rather interesting since it allows us to construct enantiomorphous combinations, e.g. (+)-IPC/PBLG and (–)-IPC/PBDG, which should be indistinguishable from one another. As can be seen from the right column of Fig. 2, this is truly the case and the RDCs of (–)-IPC are mirror images of (+)-IPC. The only exception is the course of the RDCs of C2-H2 (see Supporting Info). Here the RDCs are mirror images but the magnitudes of the RDCs show a deviation of up to 1 Hz for (+)-IPC and (–)-IPC. This deviation is within the experimental error.

Beside the fact that the diastereomorphous complexes are distinguishable and give rise to different RDCs, it is also of interest to know if one of the diastereomorphous complexes is clearly favored over the other. This could be deduced from the mixed LC phases, since the solute is distributed among PBLG and PBDG. If one diastereomorphous interaction is clearly favored, the resulting value of the RDCs should be shifted toward the value of the corresponding neat LC phase. Hence the passage from one neat LC phase to the other should proceed in a nonlinear effect fashion, as was shown for two chemically different orienting media by Lesot *et al.*^[42] All RDCs (see Fig. 2 and Supporting Information), which differ in value for the neat PBLG and PBDG LC phases show either a linear or a slightly s-shaped dependence on the molar fraction of PBLG. What we would have expected in the case of a favored orientation, however, would have been a deviation from the straight line to one direction only and not an s-shape. Thus, we do not have an indication for one of the diastereomorphous interaction being significantly favored. Consequently, the solute seems to be equally distributed between PBLG and PBDG (at least within experimental errors).

A second way to verify this finding is to compare the values of the RDCs of both enantiomers of IPC in the achiral LC phase of PBG with the values of the RDCs of a racemic mixture of IPC in PBG. Since in the latter case no net chiral information is present, the values of the RDCs correspond exactly to an equal distribution between both polymers. In Table 1, the determined normalized values of the RDCs are listed for the three cases given above. As can be seen, the values of the RDCs for both enantiomers of IPC do indeed coincide with the values of the RDCs of the racemic mixture of IPC (again with C2-H2 being the exception). Again, we cannot detect a significantly favored diastereomorphous interaction.

Orientalional properties of IPC as a function of molar fraction of PBLG

In the next step, the determined RDCs were used for the calculation of the orientational properties. Therefore, the program hotFCHT, originally developed by Berger *et al.*,^[45] was extended in our group to meet the requirements for a comprehensive analysis of RDCs in terms of orientational properties and determination of uncertainties of the eigenvalues and Euler angles.^[46] The Cartesian coordinates of the input geometry for hotFCHT were provided by computing the equilibrium structure of one enantiomer on the density functional theory (DFT) level by using the hybrid functional B3LYP^[49] as implemented in the program Gaussian 03^[50] and employing the 6-311+G(d) basis set. The other enantiomer was obtained by inverting all z-coordinates leading to an identical

Table 1. Overview of the determined RDCs of both enantiomers of IPC and a racemic mixture of IPC in the achiral LC phase of PBG. The uncertainties of the RDCs are approximately 0.2 and 0.5 Hz for C2-H2

Entry	x(PBLG) ^b	Coupling	Normalized ¹ D _{CH} ^a and ¹ D _{CC} in (Hz) for the following solutes		
			(+)-IPC	(–)-IPC	rac-IPC
1	0.5	C1-H1	13.6	13.6	13.6
2	0.5	C2-H2	–6.7	–5.9	–6.7
3	0.5	C3-H3	12.3	12.0	12.0
4	0.5	C4-H4s ^c	12.7	12.6	12.6
5	0.5	C4-H4a ^d	–4.2	–4.3	–4.2
6	0.5	C5-H5	–5.0	–4.9	–4.9
7	0.5	C7-H7s ^c	2.9	2.8	2.9
8	0.5	C7-H7a ^d	–16.5	–17.0	–16.9
9	0.5	C8-C6	–1.3	–1.3	–1.3
10	0.5	C9-C6	0.9	1.0	0.9
11	0.5	C10-C2	0.03	0.07	0.06

^a RDCs which were normalized to the value of the quadrupolar splitting of the solvent signal.

^b Molar fraction of PBLG.

^c s stands for *syn* to the dimethylmethylene bridge in IPC (see Scheme 1).

^d a stands for *anti* to the dimethylmethylene bridge in IPC.

initial axis frame. The axis frame obtained by the DFT calculation was used as the initial molecular axis frame when determining the orienting tensor. Euler angles are reported as α , β , γ rotations with respect to the molecular axis frame.

Figure 3 shows the course of the Euler angles as a function of the molar fraction of PBLG (the complete dataset that describes the orientation can be found in the Supporting Information). Interestingly, only one angle, namely the β angle, shows a clear dependence on the molar fraction of PBLG. The α and γ angles remain rather constant, changing only by about 1° and showing no significant trend.

The continuous change in the β angle from 77° to 82° demonstrates that here really two diastereomorphous orientations are observed. We note in passing that a slight change in some RDCs, which might occur when RDCs cannot be determined as reliably as in this case, can result in an abrupt change in the orientation obtained from the fitting process. This corresponds to a second minimum of the singular value decomposition (SVD) process and is not indicative of very different orientations of the two enantiomers. Consequently, one has to determine not only the orientations of a solute in PBLG and PBDG but additionally two or more orientations of the mixed LC phases in order to rule out the possibility of comparing different local minima, when using order parameters to judge on enantiodiscrimination.

Another interesting finding is that the degree of enantiodiscrimination in terms of different orientations is rather small. The β angle does change only by 5° from the neat LC phases of PBLG to PBDG. In order to establish whether this is a significant change compared to the uncertainty of the value of the angle, we have implemented an error calculation routine (based on a Monte-Carlo simulation^[51]) in hotFCHT allowing us to calculate the uncertainties of the eigenvalues and the Euler angles (all values are given in the Supporting Info). As can be seen from Fig. 3, the uncertainties are about one order of magnitude lower than the changes in the orientation (except for the γ angle). Consequently, the change of the β angle is significant and represents a direct observation of the crossover between two diastereomorphous

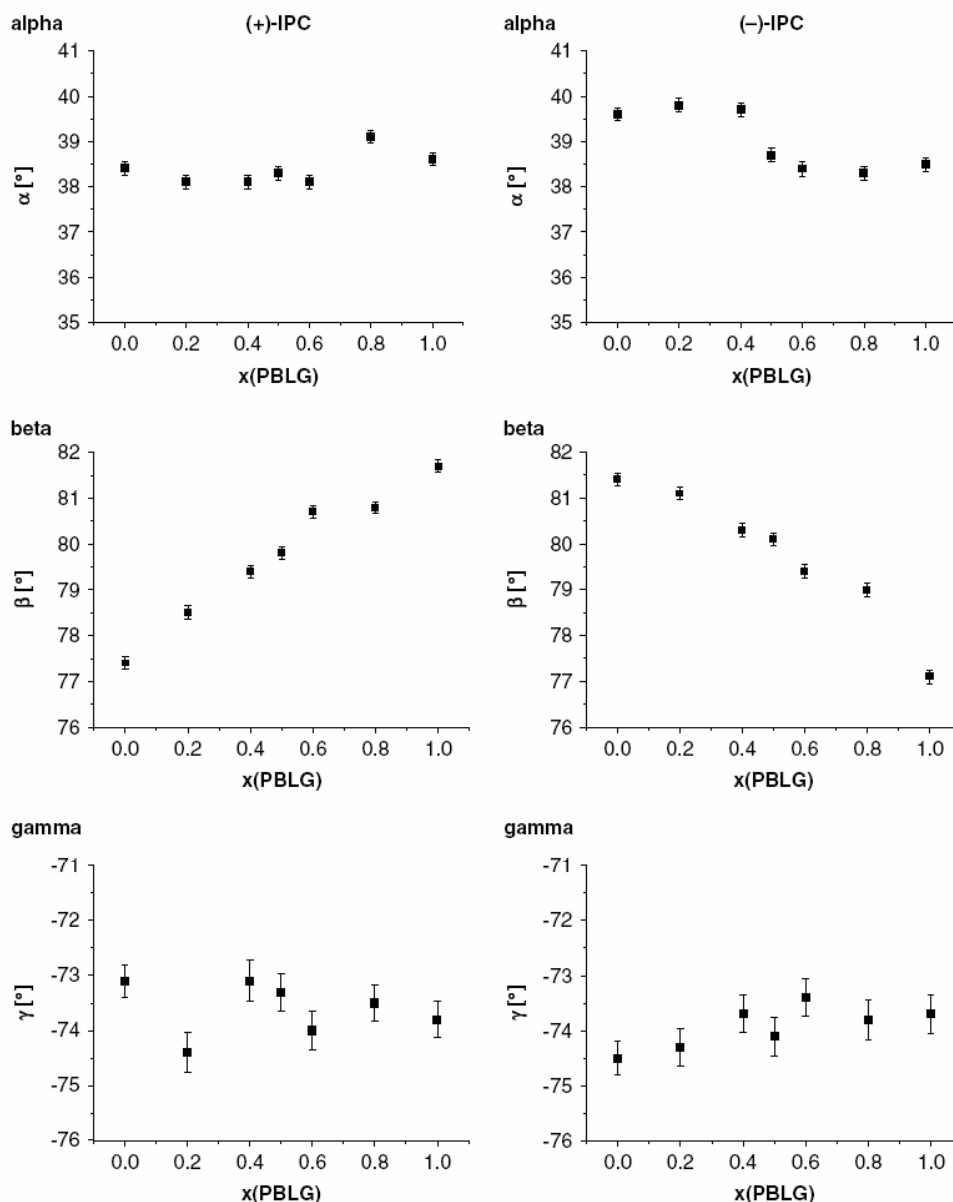


Figure 3. Evolution of the Euler angles as a function of the molar fraction of PBLG. The Euler angles and their corresponding uncertainties were calculated by the program hotFCHT.^[45,46] For calculation of the uncertainties, a Monte-Carlo simulation based method^[51] was used. Only one of the four possible orientations was chosen here for the sake of clarity.

orientations. Although the changes in orientations are very small, they can nevertheless be determined reliably.

Beside the Euler angles, which are usually used to represent the solutes' orientation in the LC phase, we have also looked at the course of the eigenvectors of the Saupe matrix. In Fig. 4 the eigenvectors of the Saupe matrix for (–)-IPC are graphically illustrated for three different molar fractions of PBLG. As can be seen, the behavior of the eigenvectors are consistent with the behavior of the Euler angles. Firstly, the eigenvectors are well defined since their distribution on the surface of a unit sphere, which corresponds to the uncertainty of the vector, is rather small. Secondly, only the values of the eigenvector of the S_{zz} -component do change significantly, while the eigenvectors for S_{yy} and S_{xx} stay practically constant for all molar fractions. In

the z, y', z'' -convention of the Euler angles, this would result in a change of the *beta* angle only. Thirdly, the eigenvectors of the S_{zz} -component differ only slightly for the different diastereomorphous interactions, indicating that the change in the orientations is small.

Conclusion

We have investigated the course of the RDCs of both enantiomers of IPC as a function of the molar fraction of PBLG. The stereochemical relations that can be constructed from the set (+)-IPC, (–)-IPC, PBLG, and PBDG showed consistent behavior. The diastereomorphous combinations gave rise to different RDCs while the enantiomorphous combinations, e.g. (+)-IPC/PBLG and (–)-IPC/PBDG, were indistinguishable.

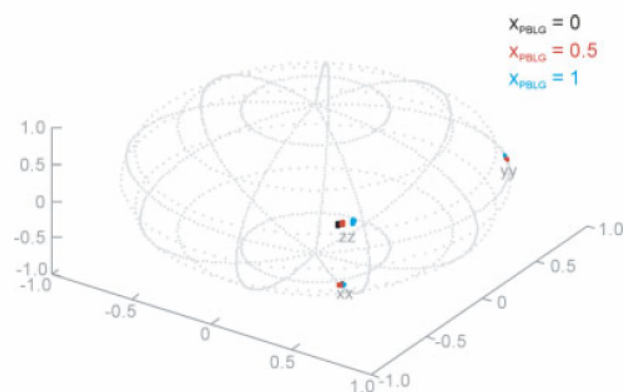


Figure 4. Graphical illustration of the eigenvectors of the Saupe matrix for (–)-IPC for three molar fractions of PBLG. The intersections of the eigenvector with a sphere of radius unity are depicted. The uncertainties of the eigenvectors were determined by the Monte-Carlo-based method. For the sake of clarity, one of the four possible orientations is depicted here.

The RDCs observed can be divided into two groups, one group where the values of the RDCs differ for the neat LC phases of PBLG and PBDG and another group where the values of the RDCs remain rather constant. For the first group, the RDCs showed either linear dependence on the molar fraction of PBLG or a slightly s-shaped dependence. We do not see a 'nonlinear effect' behavior, however, which we would have expected in the case of one diastereomorphous interaction being clearly favored. Thus we cannot detect a preference of one diastereomorphous interaction, e.g. (+)-IPC/PBLG or (+)/PBLG. This result was further confirmed by comparison of the RDCs of (+)-IPC and (–)-IPC in the achiral LC phase of PBG (50% PBLG and 50% PBDG) with the RDCs of a racemic mixture of IPC in PBG.

In order to get a quantitative measure for the differentiation of the enantiomers in terms of different orientations, the orientational properties of (+)-IPC and (–)-IPC were calculated by using the program hotFCHT. Interestingly, the difference between the two diastereomorphous orientations of, e.g. (+)-IPC/PBLG and (+)-IPC/PBDG is very small. There is only one Euler angle (z, y', z' convention), namely the *beta* angle that shows a clear linear dependence on the molar fraction of PBLG, while the other two Euler angles remain constant. Since the effect is rather small, the uncertainties of the Euler angles were determined, showing that the changes in the *beta* angles are significant and hence are a direct observation of the transition between the two diastereomorphous orientations.

Experimental

Preparation of NMR samples

The LC phases were prepared directly in the NMR tube (5 mm o.d.). A total amount of 50 mg polymer (for exact composition see Supporting Information) and 30 mg of IPC were weighted directly into the NMR tube, which contained a DMSO- d_6 capillary to provide the lock signal. After adding the solvent $CDCl_3$, the polymer was allowed to dissolve overnight and the sample centrifuged back and forth until the 2H -signals were sharp and the line widths constant.

NMR experiments

All spectra of IPC in isotropic and oriented samples were recorded on a 500 MHz spectrometer (Bruker DRX-500) with a triple resonance inverse probe equipped with a z-gradient. All measurements were carried out without sample spinning at 303 K unless otherwise stated. The total coupling constants (1T) and scalar coupling constants (1J) were measured by ω_2 coupled CLIP- and CLAP-HSQC^[47] experiments with the following phase cycle: $\phi_1 = x, -x, \phi_2 = 4(x), 4(-x), \phi_3 = x, x, -x, -x, \phi_{rec} = x, -x, -x, -x$. An INEPT delay corresponding to 145 Hz was used. A total of 8 k data points were sampled in the direct dimension over a spectral width of 8 ppm to give an FID resolution of 0.48 Hz. In the indirect dimension 256 data points were sufficient to prevent signal overlap. The spectra were processed using an exponential window function with 1 Hz line broadening and zero filling by a factor of 2 to give a digital resolution of 0.24 Hz in the direct dimension. In the indirect dimension, a $\pi/2$ shifted sine squared window function and zero filling by a factor of 4 was applied.

Calculation of orientational properties

The orientational properties were calculated by using the program hotFCHT.^[45,46] Therefore, the scalar coupling (1J) and the total coupling (1T) constants as well as the coordinates of IPC were provided as an input. The dipolar couplings used for the determination of the orientational properties were calculated by using $T = J + 2D$. The normalized RDCs were calculated from the measured RDCs according to $D_{norm} = (D_{meas}/\Delta\nu_Q) \times 216$. For the methyl groups, the measured $^1D_{CH}$ was converted to the corresponding $^1D_{CC}$ according to the literature;^[52] only the latter was used for the determination of the order tensor. All uncertainties were calculated using a Monte-Carlo simulation^[51] with sufficient steps to achieve convergence of the Saupe values and Euler angles. For our systems, these simulations required about 1500 steps until the change in the standard deviation was less than 1%. Contrary to Losonczi *et al.*^[53] we do not exclude steps from the averaging, for which the back-calculated RDCs do not fall within the experimental errors.

Supporting information

Supporting information may be found in the online version of this article.

Acknowledgements

We want to thank Dr Robert Berger and his group for the support and help in extending the program hotFCHT for the analysis of RDCs. Michael Reggelin is acknowledged for his support. A.M. and C.M.T. acknowledge the Fonds der Chemischen Industrie (Kekulé fellowship) and the DFG (TH1115/1–1) for financial support.

References

- [1] a) T. D. W. Claridge, *High-Resolution NMR-Techniques in Organic Chemistry*, 2nd Ed., Elsevier, Amsterdam, **2009**; b) G. Bifulco, P. Dambrosio, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3744.
- [2] (a) M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11; (b) C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783.
- [3] B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, *276*, 1230.
- [4] S. Ravindranathan, X. Feng, T. Karlsson, G. Widmalm, M. H. Levitt, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1102.

- [5] B. Reif, H. Steinhagen, B. Junker, M. Reggelin, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1903.
- [6] (a) F. A. L. Anet, A. J. R. Bourn, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5250; (b) D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis* (2nd edn), Wiley-VCH: New York, **2000**.
- [7] C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7403.
- [8] A. Meddour, I. Canet, A. Loewenstein, J. M. Pechine, J. Courtieu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9652.
- [9] C. Aroulanda, M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Enantiomer* **2001**, *6*, 281.
- [10] B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2004**, *43*, 1092.
- [11] J. C. Freudenberger, P. Spitteller, R. Bauer, H. Kessler, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14690.
- [12] B. Luy, K. Kobzar, S. Knor, J. Furrer, D. Heckmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6459.
- [13] J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 423.
- [14] P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 427.
- [15] G. Kummerlöwe, J. Auernheimer, A. Lendlein, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6080.
- [16] N. Tjandra, A. Bax, *Science* **1997**, *278*, 1111.
- [17] M. R. Hansen, L. Mueller, A. Pardi, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **1998**, *5*, 1065.
- [18] J. H. Prestegard, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **1998**, *5*, 517.
- [19] H.-J. Sass, G. Musco, S. J. Stahl, P. T. Wingfield, S. Grzesiek, *J. Biomol. NMR* **2000**, *18*, 303.
- [20] R. Tycko, F. J. Blanco, Y. Ishii, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9340.
- [21] M. Ruckert, G. Otting, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7793.
- [22] K. Fleming, D. Gray, S. Prasannan, S. Matthews, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5224.
- [23] C. M. Thiele, *Conc. Magn. Reson. Part A* **2007**, *30A*, 65.
- [24] C. M. Thiele, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *24*, 5673.
- [25] C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 705.
- [26] D. Merlet, A. Loewenstein, W. Smadja, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 963.
- [27] C. Aroulanda, D. Merlet, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12059.
- [28] D. Merlet, J. W. Emsley, J. Jokisaari, J. Kaski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 4918.
- [29] J. Yan, F. Delaglio, A. Kaerner, A. D. Kline, H. Mo, M. J. Shapiro, T. A. Smitka, G. A. Stephenson, E. R. Zartler, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5008.
- [30] A. Mangoni, V. Esposito, A. Randazzo, *Chem. Commun.* **2003**, *1*, 154.
- [31] R. R. Gil, C. Gayathri, N. V. Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 840.
- [32] C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, J. Courtieu, D. Merlet, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4536.
- [33] C. M. Thiele, A. Marx, R. Berger, J. Fischer, M. Biel, A. Giannis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4455.
- [34] A. Schuetz, T. Murakami, N. Takada, J. Junker, M. Hashimoto, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2032.
- [35] C. Farès, J. Hassfeld, D. Menche, T. Carlomagno, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3722.
- [36] A. Schuetz, J. Junker, A. Leonov, O. F. Lange, T. F. Molinski, C. Griesinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15114.
- [37] P. Lesot, Y. Gounelle, D. Merlet, A. Loewenstein, J. Courtieu, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 14871.
- [38] I. Canet, J. Courtieu, A. Loewenstein, A. Meddour, J. M. Pechine, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6520.
- [39] P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, J. Emsley, T. T. Rantala, J. Jokisaari, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 5719.
- [40] M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Chem. Commun.* **2000**, *13*, 1113.
- [41] P. Lesot, M. Sarfati, J. Courtieu, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1724.
- [42] P. Lesot, O. Lafon, C. Aroulanda, R. Y. Dong, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4082.
- [43] L. Ziani, P. Lesot, A. Meddour, J. Courtieu, *Chem. Commun.* **2007**, 4737.
- [44] A. Marx, C. M. Thiele, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 254.
- [45] R. Berger, C. Fischer, M. Klessinger, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 7157.
- [46] V. Schmidts, R. Berger, C. M. Thiele (manuscript in preparation).
- [47] A. Enthart, J. C. Freudenberger, J. Furrer, H. Kessler, B. Luy, *J. Magn. Reson.* **2008**, *192*, 314.
- [48] C. Canlet, D. Merlet, P. Lesot, A. Meddour, A. Loewenstein, J. Courtieu, *Tetrahedron: Asym.* **2000**, *11*, 1911.
- [49] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623.
- [50] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, *Gaussian 03, revision C.02*, Gaussian: Wallingford, CT, **2004**.
- [51] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, *Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing* (3rd edn), Cambridge University Press: **2007**.
- [52] L. Verdier, P. Sakhaii, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* **2003**, *163*, 353.
- [53] J. A. Losonczi, M. Andrec, M. W. F. Fischer, J. H. Prestegard, *J. Magn. Reson.* **1999**, *138*, 334.

5.3 Der Einfluss von Additiven auf die Orientierungseigenschaften des PBLGs sowie den Grad der Enantiodifferenzierung des IPCs

Der Inhalt dieses Kapitels wurde zur Veröffentlichung eingereicht:

A. Marx, B. Böttcher, C.M. Thiele, Enhancing the orienting properties of PBLG by means of additives, *Chem. Eur. J.* **2009**, eingereicht.

Aus Arbeiten von Samulski et al. war bekannt, dass durch den Zusatz von Trifluoressigsäure (TFA) zur LC Phase des PBLGs die beobachtbare Größe anisotroper Observablen deutlich reduziert werden kann.^[165]

Im Rahmen dieser Publikation konnte gezeigt werden, dass dieses Verhalten ebenfalls für die minimale Quadrupolaufspaltung beobachtbar ist. Im Gegensatz dazu zeigten die RDCs des (+)-IPCs jedoch einen deutlichen Anstieg durch den Zusatz von TFA und somit eine Erhöhung im Orientierungsgrad. Die Vorzugsorientierung des IPCs konnte durch den Zusatz von TFA zwar verändert werden, jedoch führte die verringerte Spektrqualität zu einem Verlust der Beobachtbarkeit der Enantiodifferenzierung. Weitere Säureadditive zeigten ein sehr ähnliches Verhalten.

DMSO als Additiv hingegen zeigte nur eine leichte Erhöhung des Orientierungsgrads. Eine Änderung der Vorzugsorientierung konnte ebenfalls beobachtet werden.

Mit THF als Additiv konnte neben einem gleich bleibenden Orientierungsgrad und einer veränderten Vorzugsorientierung ebenfalls ein abweichendes Verhalten in der Enantiodifferenzierung beobachtet werden. So konnte bei erhöhten THF-Konzentrationen neben einer sinkenden Differenzierung im β -Winkel auch eine Differenzierung im γ -Winkel beobachtet werden.

Weiterhin wurden unpolare Additive getestet, wobei sich CCl_4 als am besten geeignet herausstellte. Es konnte gezeigt werden, dass mit steigender CCl_4 -Konzentration der Orientierungsgrad sowie die kritische Konzentration verringert werden. Es konnte ferner gezeigt werden, dass der Grad der Enantiodifferenzierung mit steigender CCl_4 -Konzentration erhöht wird, wobei neben einer erhöhten Differenzierung im β -Winkel zusätzlich eine Differenzierung im α -Winkel beobachtet werden konnte.

Zum Abschluss konnte gezeigt werden, dass hochmolekulares PBLG stabile LC Phasen mit DMSO als Additiv bis zu einem $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}$ -Verhältnis von 2:1 ausbildet. Somit konnte die Lösungsmittelbreite erweitert werden. In dieser LC Phase war es möglich, ein in reinem CDCl_3 unlösliches Salz zu lösen und dessen RDCs zu bestimmen. Es konnte gezeigt werden, dass die RDCs der Enantiomere verschieden sind und somit auch mit DMSO als Co-Lösungsmittel eine Enantiodifferenzierung vorhanden ist.

Enhancing the orienting properties of PBLG by means of additives

by **Andreas Marx, Benjamin Böttcher, Christina M. Thiele***

Dipl.-Chem. Andreas Marx, Dipl.-Chem. Benjamin Böttcher, Dr. Christina M. Thiele

Technische Universität Darmstadt

Clemens Schöpf Institut für Organische Chemie und Biochemie

Petersenstr. 22

64287 Darmstadt (Germany)

email: cmt@punk.oc.chemie.tu-darmstadt.de

Abstract

Residual dipolar couplings (RDCs) are recently becoming increasingly important in organic structure determination due to their unique information content. One main limitation for the use of RDCs in organic compounds is still the orientation that needs to be induced in order to be able to measure RDCs. So far, there are very few possibilities to modulate the orientational properties of organic solutes and even less when chiral media are considered.

Based on our recent findings, that the critical concentration of the liquid crystalline phase of homopolypeptides depends on their molecular weight, we sought for further ways to modulate the orienting properties. We were especially interested in seeing whether we could not only influence the induced degree of orientation, but whether we could also change the solutes preferred orientation and even enhance enantiodifferentiation. We thus tried different aprotic and protic additives and were successful in all of the above mentioned aspects by using CCl_4 as additive.

Furthermore we consider DMSO to be a very useful additive. The LC phase of low MW PBLG is usually instable when DMSO is added. The high MW PBLG used in this study, however, remained stable up to a DMSO: CDCl_3 ratio of 1:2. Using this combination of solvents the alignment of the two enantiomers of a compound, which is insoluble in CDCl_3 , namely the HCl salt of a tryptophane ester, was possible leading to high quality spectra. The two enantiomers of the tryptophane ester showed different couplings, thus indicating that enantiodifferentiation is taking place.

Thus we were able to modulate the orienting properties (degree of orientation, preferred orientation and enantiodifferentiation) of PBLG by using additives and to increase the accessible solvent and solute range significantly.

Keywords

NMR spectroscopy, homopolypeptides, alignment media, liquid crystals, enantiodifferentiation

Introduction

The NMR spectroscopic determination of the three dimensional structures of molecules usually relies on angular as well as distance restraints,^[1] which are provided by 3J couplings,^[2, 3] NOEs^[4, 5] and cross-correlated relaxation.^[6-8] In contrast to these short-range NMR-parameters, residual dipolar couplings (RDCs) provide global information and thus have had massive impact on biomolecular structure determination^[9] and more recently also on organic structure determination.^[10-27]

As RDCs are anisotropic NMR parameters it is necessary to orient the compound in question with respect to the magnetic field. This is achieved by the use of orienting media. The two main classes of orienting media for the measurement of RDCs in organic compounds are liquid crystalline phases (LC phases) based on homopolypeptides,^[14, 28, 29] with poly- γ -benzyl-L-glutamate (PBLG) being the most prominent member, and stretched polymer gels.^[18, 30-34] The major advantage of the polypeptidic LC phases compared to so far available gels is their homochirality, which forms the basis for the excellent work on enantiodifferentiation done by Courtieu and Lesot *et al.*^[15, 16, 28, 35-40] One major drawback of these LC phases is the necessity of a certain minimum concentration (critical concentration) of the mesogen in order for the LC phase to be formed, which concomitantly results in a minimum degree of orientation that cannot be dropped down further.

In a first investigation towards the modulation of the orienting properties of PBLG we^[41] were able to show that by application of very high molecular weight (MW) PBLG the critical concentration can be reduced to about 6%, thereby significantly increasing the spectral quality and reducing the degree of order. We also showed that the degree of solute orientation can be varied by the concentration of the LC phase while the preferred orientation of the solute remains unchanged. In accordance with results by Courtieu *et al.*^[35, 37] we have also quantified the degree of enantiodifferentiation, showing that the difference in couplings and order tensors is only minute but nevertheless can be determined reliably.^[42] If enantiodifferentiation in homopolypeptidic liquid crystals shall be modulated two homopolypeptides can be mixed as was recently reported by Lesot *et al.*^[40]

In the present publication we describe further investigations into modulating the orienting properties of PBLG LC phases revealing that on the one hand the induced degree of solute orientation can be reduced even further and on the other hand the degree of enantiodifferentiation in terms of different orientations can be significantly increased by the use of additives, such as CCl_4 . Furthermore, a DMSO compatible LC phase will be presented, which allows the measurement of RDCs of highly polar substances such as hydrochlorides which are insoluble in CDCl_3 .

Results and Discussion

For the applicability of LC based orienting media, it is desirable to be capable of influencing the induced degree of solute orientation as far as possible. In a first step we were looking for ways to diminish the inherent anisotropy of the LC phase. A promising report in this direction was made some time ago by Samulski *et al.*^[43], who reported a significant decrease in the value of the anisotropy of the diamagnetic susceptibility of PBLG by addition of small quantities of trifluoroacetic acid (TFA) to the LC phase of PBLG. Encouraged by that finding we wanted to find out whether this can also be transferred to anisotropic observables like the quadrupolar splitting ($\Delta\nu_Q$) or RDCs.

The influence of protic additives

We started by preparing samples of PBLG with different amounts of TFA added (without solute). Figure 1 shows the course of $\Delta\nu_Q$ (●) as a function of the concentration of TFA. As can be seen, the value of $\Delta\nu_Q$ does indeed decrease significantly from ca. 210 Hz with no addition of TFA to about 40 Hz at a concentration of 20% TFA. When adding TFA the concentration of PBLG (▲) has to be raised to retain a stable and homogeneous LC phase. Above 20% TFA the LC phase is not stable, as a helix-to-random-coil transition of PBLG takes place.^[44] For other polypeptides with more fragile helix conformations as compared to PBLG it has been reported, that this occurs at much lower concentrations of TFA.^[45]

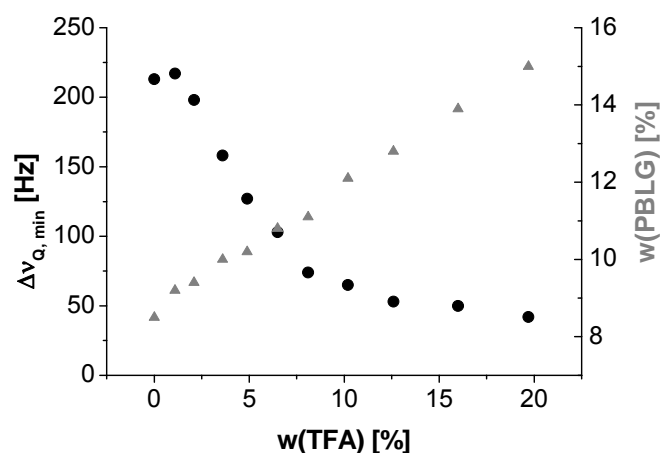


Figure 1: Course of the absolute value of the quadrupolar splitting ($\Delta\nu_{Q, \min}$) (●) of CDCl_3 and the concentration of the LC phase (▲) of PBLG (for exact sample compositions see supporting information) as a function of TFA concentration. All spectra were acquired at 300K. The PBLG used had a number-averaged molar mass of 420 kDa and a polydispersity index (PDI) of 2.17.

In the next step we determined the RDCs of (+)-isopinocampheol ((+)-IPC) as a function of the TFA concentration. As before, we used IPC as solute for the study of the orientational properties as it is a rigid compound that provides a sufficiently large number of RDCs to be able to determine the orienting tensor reliably.

In contrast to Δv_Q some of the RDCs show a significant increase when TFA is added to the LC phase, while others slightly decrease (all values are given in the supporting information). The unequal change in the values of the RDCs indicates a change in the solute orientation. From the calculated orienting properties (axial component of the Saupe tensor (D_a) and generalized degree of order (GDO)), which are given in Table 1 (entry 1–5), it is obvious that the degree of solute orientation is increased by the addition of TFA. Furthermore, the spectral quality is reduced when TFA is added to the LC phase and TFA undergoes a slow esterification with the solute IPC.^[46] As TFA is thus not the additive of choice, we have also tested other acids^[47] like e.g. perfluorobenzoic acid (Table 1, entry 6 and 7, for more details see supporting information), which does not form an ester with IPC on a timescale of several days. All tested acids showed a pronounced increase in solute orientation compared to the corresponding neat LC phase and a comparable decrease in spectral quality giving rise to significant increased uncertainties in the RDCs and in the orienting properties (see supporting information). Hence, by adding protic additives the solute orientation is changed, but the desired decrease in solute orientation is not possible, although one would have assumed that this is the case when looking at Δv_Q of the solvent.

Table 1. Overview of the orientational properties of (+)-IPC in the LC phase of PBLG at different acids concentration. All orienting properties were calculated using the program hotFCHT.^[48]

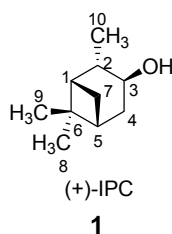
entry	additive	w(additive) ^[a] [%]	n(RDC) ^[b]	GDO ^[c] [10 ⁻⁴]	D_a ^[d] [10 ⁻⁴]	R ^[e]	RMSD ^[f]	Q ^[g]
1	TFA	0	9	12.1	5.36	0.383	0.239	0.029
2	TFA	2	9	18.1	8.66	0.331	0.677	0.053
3	TFA	4.5	7	17.7	8.20	0.486	0.267	0.019
4	TFA	7	7	18.0	7.79	0.475	0.253	0.018
5	TFA	10	7	17.5	8.07	0.481	0.231	0.016
6	PFBA ^[h]	2	9	15.2	7.31	0.314	0.836	0.078
7	PFBA ^[h]	4.5	6	19.5	9.56	0.236	0.104	0.008

[a] weight concentration of the additive. [b] number of $^1D_{CH}$ used for calculation of the parameters D_a , R , α , β , γ within hotFCHT. [c] generalized degree of order. [d] axial component of the order tensor. [e] rhombicity. [f] root mean square deviation of the calculated and measured RDCs. [g] quality factor of the fit calculated vs. measured RDCs as defined by Cornilescu^[49]. [h] Perfluorobenzoic acid.

It is known that PBLG forms aggregates in low polar solvents like chloroform.^[50, 51] These aggregates are destroyed by the addition of acids or highly polar solvents like e.g. DMF.^[52] Samulski et al.^[43] were able to show that the effect of adding TFA to the LC phase of PBLG is also to increase the side-chain flexibility by hydrogen-bonding of TFA to the ester side-chain. At higher TFA concentrations (above 20%) the hydrogen-bonding network within the α -helix is destroyed, leading to a helix-to-random-coil transition and therefore to a non-orienting medium. The origin of the increased solute orientation with TFA as the additive is most likely connected to the effects such as desaggregation and hydrogen-bonding to the ester side-chain. We therefore continued to investigate further additives, thereby reducing stepwise the polarity of the additive. By lowering the polarity the effects of desaggregation and interaction with the ester side-chains should be lowered. From this we hoped to find factors that would allow us to modulate the orienting properties in the desired way.

The influence of aprotic additives

As proposed by Gupta et al.^[52] PBLG aggregates that are present in solvents like chloroform, are gradually destroyed by the addition of highly polar solvents although compared to acids higher concentrations are necessary. Thus, we tested DMSO as an additive. In contrast to TFA, which is a strong hydrogen-bond donor, the interactions of DMSO with the ester side-chains should be drastically reduced and hence should allow us to investigate whether the increase in solute orientation is presumably due to the desaggregation or the interaction with the ester side-chain. The determined RDCs are summarized in Table 2 (entry 2–4, see also supporting information) and the calculated orienting properties are summarized in Table 3 (entry 1–4). As can be seen, the D_a values are only slightly raised by the addition of DMSO. This indicates that the significant increase in solute orientation which we observed for TFA as additive might be due to its hydrogen-bonding interaction.



Scheme 1.

Table 2. Overview of the determined RDCs of (+)-IPC in the LC phase of PBLG with different aprotic additives. The couplings of C7-H7a and C7-H7s are omitted due to possibility of strong coupling artefacts.

entry	additive	w(additive) ^[a] [%]	RDC [Hz]								
			C1-H1	C2-H2	C3-H3	C4-H4 _s ^[b]	C4-H4 _a ^[c]	C5-H5	C8-C6	C9-C6	C10-C2
1	DMSO	0	13.8±0.2	-6±0.2	12.45±0.2	13.3±0.2	-4.2±0.2	-4.8±0.2	-1.3±0.2	0.9±0.2	0.05±0.2
2	DMSO	4.5	15.3±0.5	-5.7±0.5	12.6±0.2	14.8±0.2	-3.8±0.5	-2.8±0.5	-1.5±0.5	1.0±0.2	0.2±0.2
3	DMSO	9	16.5±0.5	-5.0±0.5	12.4±0.2	16.0±0.2	-3.6±0.5	-0.7±0.5	-2.0±0.5	1.1±0.2	0.6±0.2
4	DMSO	13	— ^[d]	-4.45±0.5	14.0±0.5	17.4±0.5	-4.6±0.5	0.1±0.5	-2.2±0.5	1.2±0.5	0.7±0.5
5	THF	0	13.8±0.2	-6±0.2	12.45±0.2	13.3±0.2	-4.2±0.2	-4.8±0.2	-1.3±0.2	0.9±0.2	0.05±0.2
6	THF	5	14.7±0.2	-5.7±0.2	13.3±0.2	15.6±0.2	-4.0±0.2	-4.7±0.2	-1.6±0.2	1.1±0.2	0.1±0.2
7	THF	9	14±0.5	-4.9±0.2	12.7±0.2	15.9±0.2	-3.6±0.2	-4.3±0.5	-1.7±0.2	1.1±0.2	0.2±0.2
8	THF	13	14.0±0.5	-4.0±0.5	13.0±0.2	16.0±0.2	-3.1±0.2	-4.1±0.5	-1.9±0.2	1.1±0.2	0.3±0.2
9	CCl ₄	0	14.9±0.2	-6.4±0.2	13.8±0.2	15.1±0.2	-4.8±0.2	-5.1±0.2	-1.4±0.2	1.1±0.2	0.1±0.2
10	CCl ₄	9	15.4±0.2	-6.0±0.2	13.1±0.2	14.3±0.2	-4.3±0.2	-7.1±0.2	-1.3±0.2	1.0±0.2	-0.1±0.2
11	CCl ₄	16	15.1±0.2	-6.0±0.2	11.9±0.2	13.5±0.2	-3.6±0.2	-8.4±0.2	-1.0±0.2	0.8±0.2	-0.1±0.2
12	CCl ₄	21	15.5±0.2	-4.8±0.2	11.3±0.2	12.7±0.2	-3.2±0.2	-8.9±0.2	-0.9±0.2	0.8±0.2	-0.2±0.2
13	CCl ₄	30	15.6±0.2	-4.0±0.2	10.6±0.2	12.2±0.2	-2.5±0.2	-11.5±0.2	-0.7±0.2	0.7±0.2	-0.4±0.2
14 ^[e]	CCl ₄	30	15.2±0.2	-4.6±0.2	11.5±0.2	13.2±0.2	-2.9±0.2	-10.5±0.2	-0.8±0.2	0.8±0.2	-0.4±0.2

[a] mass concentration of the additive in the LC Phase of PBLG. [b] s stands for *syn* to the dimethylmethylene bridge in IPC (see Scheme 1). [c] a stands for *anti* to the dimethylmethylene bridge in IPC. [d] coupling is omitted due to possibility of strong coupling artefacts. [e] LC phase (including additive) having the same concentration as entry 9.

Again, there is an unequal change in the RDCs that indicates a change in the solute orientation.

Although the spectral quality is reduced at high DMSO concentrations, the difference in RDCs and hence in the Euler angles between (+)- and (-)-IPC is still significant (see supporting information). Nevertheless, compared to the neat LC phase the degree of enantiodifferentiation is lowered.

Table 3. Overview of the orientational properties of (+)-IPC in the LC phase of PBLG with different aprotic additives. All orienting properties were calculated using the program hotFCHT.

entry	additive	w(additive) ^[a] [%]	n(RDC) ^[b]	GDO ^[c] [10 ⁻⁴]	D _a ^[d] [10 ⁻⁴]	R ^[e]	RMSD ^[f]	Q ^[g]
1	DMSO	0	9	12.1	5.73	0.371	0.287	0.033
2	DMSO	4.5	9	12.4	6.00	0.304	0.229	0.026
3	DMSO	9	9	13.4	6.51	0.278	0.308	0.034
4	DMSO	13	8	13.4	6.53	0.258	0.129	0.016
5	THF	0	9	12.1	5.91	0.385	0.223	0.025
6	THF	5	9	12.3	5.88	0.365	0.138	0.016
7	THF	9	9	12.0	5.72	0.367	0.188	0.022
8	THF	13	9	12.3	5.89	0.352	0.218	0.025
9	CCl ₄	0	9	12.1	5.91	0.385	0.223	0.025
10	CCl ₄	9	9	11.9	5.56	0.453	0.256	0.029
11	CCl ₄	16	9	11.3	5.17	0.507	0.196	0.023
12	CCl ₄	21	9	10.8	4.59	0.595	0.446	0.053
13	CCl ₄	30	9	10.4	4.60	0.627	0.427	0.054
14 ^[h]	CCl ₄	30	9	10.9	4.85	0.580	0.469	0.054

[a] weight concentration of the additive. [b] number of $^1D_{CH}$ used for calculation of the parameters D_a , R , within hotFCHT. [c] generalized degree of order. [d] axial component of the orienting tensor. [e] rhombicity. [f] root mean square deviation of the calculated and measured RDCs. [g] quality factor of the fit calculated vs. measured RDCs as defined by Cornilescu^[49]. [h] LC phase (including additive) having the same concentration as entry 9.

When we applied THF as the additive we found a slightly different behaviour compared to DMSO. Firstly, the D_a values remain rather constant indicating that the degree of solute orientation is not raised. Secondly, the uncertainties of the RDCs are lower even at higher concentration and a different behaviour of enantiodifferentiation is present (see Figure 2). In the neat and DMSO containing LC phase the enantiodifferentiation of IPC is manifested by the difference in only one Euler angle, namely the β -angle. With THF as the additive a differentiation in the γ -Euler angle evolves at higher THF concentrations, while the difference in the β -Euler angle is reduced. Thus, the solute orientation can be modified by using THF as additive.

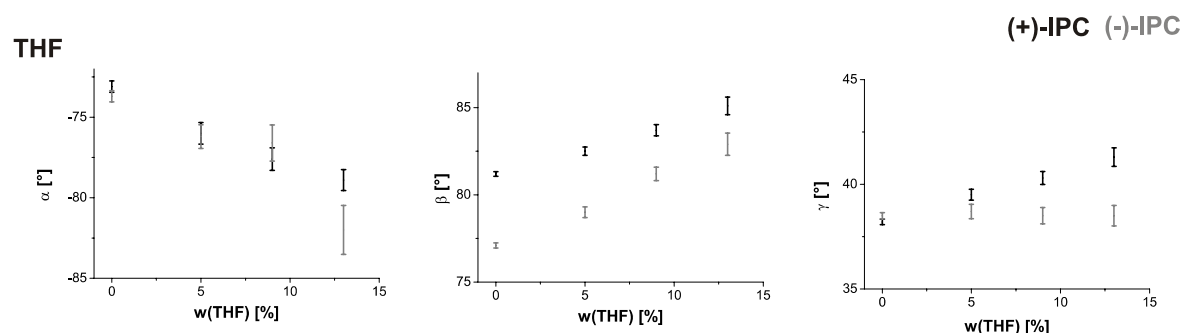


Figure 2: Evolution of the Euler angles of (+)-IPC and (-)-IPC as a function of the THF concentration. Interestingly, a differentiation in the γ -Euler angle evolves at higher THF concentrations, while the difference in β decreases.

In the last step we tested highly nonpolar additives. Most of these additives showed either phase separation (e.g. cyclohexane and other alkanes) or required a significant increase in the concentration of the LC phase. CCl₄, however, turned out to be a suitable nonpolar additive.

The determined RDCs for (+)-IPC are listed in Table 2 (entry 9–13). Nearly all RDCs showed a pronounced decrease with higher CCl_4 concentration and hence the desired decrease of the degree of solute orientation, which is also confirmed by the drop of the D_a value (see Table 3, entry 9–13 and also the supporting information). Interestingly, the critical concentration of the LC phase is reduced with the addition of CCl_4 from 7.9% (no CCl_4) to 6.5% (30% CCl_4), such that the decrease in RDCs and D_a could be due to dilution. Thus we compared the values of the RDCs of the neat LC phase with the LC phase containing 30% CCl_4 at identical concentration (Table 2, entry 14, for exact composition see supporting information). It can be seen that the decrease in RDCs and hence in the degree of solute orientation is not solely caused by dilution.

In an earlier investigation we found that with higher dilution of the neat LC phase the D_a value decreases while the rhombicity R and the orientation remained constant.^[41] For the LC phases containing CCl_4 the drop of the D_a value is accompanied by an increase in the rhombicity R of the alignment tensor. In our eyes this behaviour reflects a change in the interaction of the solute with PBLG caused by the additive CCl_4 . We can only hypothesize on the reasons. By the addition of CCl_4 , the overall polarity of the co-solvent of the LC phase is reduced. This is known^[52] to increase the intermolecular interactions of the PBLG strands and hence results in a pronounced formation of PBLG-aggregates. As a consequence, less PBLG surface is accessible to the solute IPC, which may be one reason for the observed decrease of solute orientation. Additionally, the reduction in the overall polarity of the co-solvent obviously also increases the intramolecular interaction of the ester-sidechain of PBLG, resulting in an increase in the stiffness of the polymer, as indicated by the drop of the critical concentration. When looking at the evolution of the Euler angles for (+)- and (–)-IPC (see Figure 3) one clearly sees that the degree of enantiodifferentiation is enhanced with the addition of CCl_4 . The difference in the β -Euler angles does increase significantly accompanied by an increasing differentiation in the α -Euler angle as a function of the CCl_4 concentration. Thus, CCl_4 leads to lower solute orientation and additionally to a more pronounced effect of enantiodifferentiation.

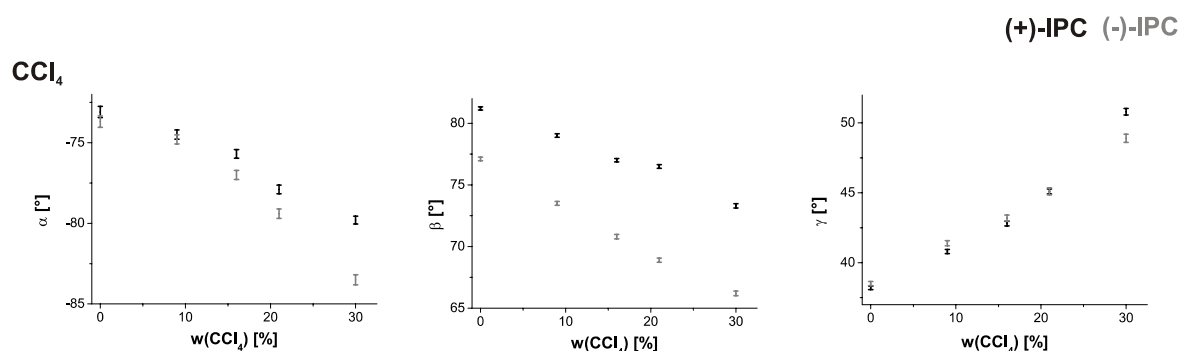


Figure 3: Evolution of the Euler angles of (+)-IPC and (–)-IPC as a function of the CCl_4 concentration.

Another finding is that as a consequence of the lower solute orientation and/or altered orientation of the solute homonuclear couplings of some of the signals are significantly reduced. Figure 4 shows the ω_2 trace of the CLIP-HSQC^[53] of the C7-H7-coupling of (+)-IPC (see Scheme 1 for numbering of atoms). The homonuclear coupling which causes a doublet-of-doublet-like pattern is significantly reduced by the addition of CCl₄. At a concentration of 21% both RDCs show a clean doublet coupling pattern. In the neat and all other LC phases the couplings of these diastereotopic protons are the only ones showing strong coupling artefacts due to large homonuclear couplings. As a consequence, these RDCs were not evaluable so far. By addition of CCl₄ these artefacts are significantly reduced making these RDCs accessible.

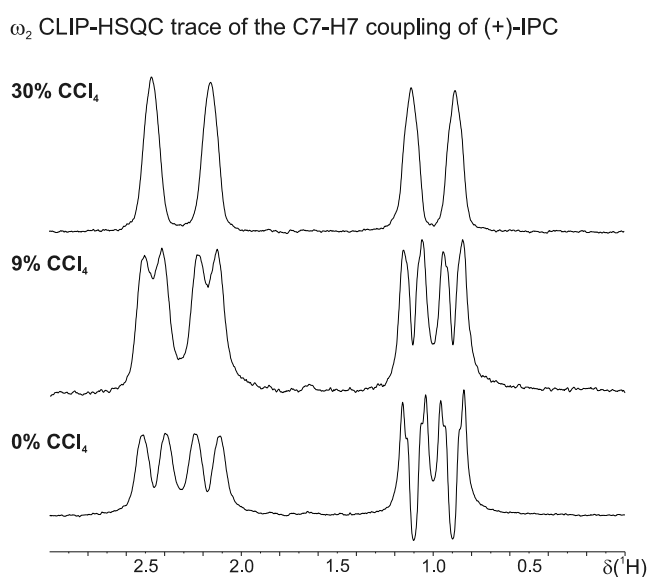
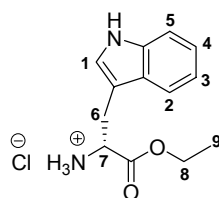


Figure 4. The ω_2 CLIP-HSQC^[53] trace of the C7-H7 coupling shows the much improved line-shape at higher CCl₄ concentration. Due to the decreased degree of solute orientation and/or the change in orientation the homonuclear dipolar couplings are also significantly reduced making the C7-H7 coupling now evaluable.

Determination of the RDCs of a highly polar substance by the use of DMSO as additive

Encouraged by the finding that the LC phase of the high MW PBLG is stable even at high DMSO concentrations, we additionally determined the RDCs of the hydrochloric salt of the tryptophan ester **2** (see Scheme 2), which is insoluble in pure chloroform.



D-Trp-OEt HCl

2

Scheme 2.

For natural products that are either isolated or for reasons of stability transformed to their salts like e.g. hydrochlorides or acetates, a highly polar solvent in which these compounds are soluble is required for the determination of the RDCs. In this context, DMSO is widely used. Consequently, a chiral alignment medium that is compatible with DMSO would be highly attractive. To the best of our knowledge, only a (so far not published) gelatine gel swollen in pure DMSO is available so far as a chiral DMSO alignment medium.^[54]

For low MW PBLG ($M_n < 100$ kDa) the addition of DMSO leads either to partial precipitation of the polymer or to substantial increase in the concentration of the LC phase in order to retain the stable homogenous LC phase. By application of high MW PBLG ($M_n > 300$ kDa) stable LC phases were obtained until a CDCl_3 -DMSO ratio of approximately 2:1 at a weight concentration of the LC phase of 8.9%. All LC phases were long term stable and no phase separation or precipitation occurred. Hence, the solvent mixture CDCl_3 -DMSO is a good alternative to the $\text{DMF-}d_7$ based LC phases of PBLG.

In the CDCl_3 -DMSO solvent mixture the hydrochloride **2** is well soluble and hence can be oriented. Figure 5 shows the ω_2 -coupled CLIP-HSQC of 7 mg of **2**. As can be seen, the spectral quality is excellent with no residual polymer signals or strong coupling artefacts being present.

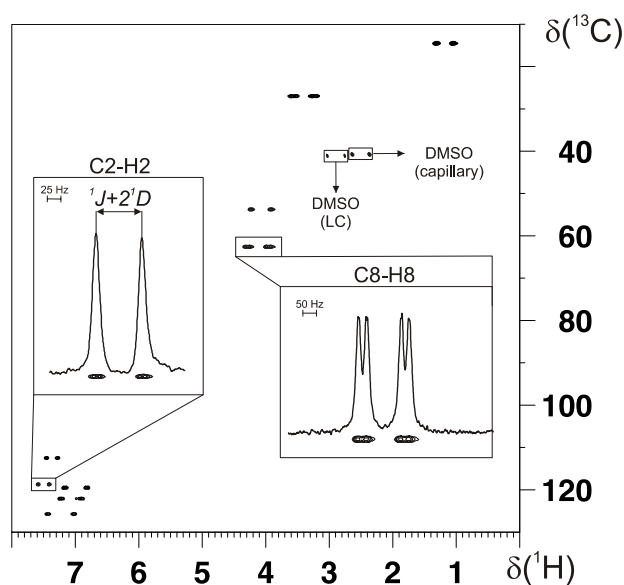


Figure 5. The ω_2 -coupled CLIP-HSQC of **2** (7 mg) oriented in the LC phase of PBLG in a 2.5:1 mixture of CDCl_3 and DMSO. As can be seen the overall spectral quality is very high and no residual polymer signals are present in the spectrum.

The normalized RDCs for both enantiomers of the tryptophane ester are listed in Table 4. The observed RDCs are relatively low in value (except for the collinear vectors C2-H2 and C5-H5) indicating that the degree of orientation is rather low. This is surprising as in our experience the degree of solute orientation is typically raised with increasing polarity of the solute in PBLG. The difference in the values of the normalized RDCs (see Table 4) indicates that enantiodifferentiation is taking place, although the difference in the values is rather small (as in the case of IPC).^[42] The diastereotopic protons at C6

and C8 are isochronous in the solvent mixture in both the isotropic and the anisotropic sample. As we thus have only limited data, we did not determine the order tensors of the two enantiomers. The enantiodifferentiation, however, is clearly visible from the difference in normalized RDCs.

Table 4. Overview of the normalized RDCs of **2** and *ent-2* in the LC phase of PBLG (60 mg) in CDCl₃ (390 mg)/DMSO (160 mg) solvent mixture. All RDCs for **2** were normalized to the value of $\Delta\nu_Q$ of *ent-2* according to $(\text{RDC}/141) \cdot 153$. For numbering see Scheme 2.

entry	$\Delta\nu_Q^{[a]}$ [Hz]	Compound	RDC _{norm} [Hz] ^[b]								
			C1-H1	C2-H2	C3-H3	C4-H4	C5-H5	C6-H6	C7-H7	C8-H8	C9-H9
1	153	<i>ent-2</i>	14.8±0.2	-41.4±0.5	9.2±1.0	2.3±1.0	-41.5±0.5	15.6±0.2	6.7±0.2	9.5±0.5	1.8±0.2
2	141	2	12.8±0.2	-36.2±0.5	7.0±1.5	-0.2±1.0	-36.2±0.5	14.4±0.2	5.4±0.2	7.2±0.5	1.9±0.2

[a] absolute value of the quadrupolar splitting of CDCl₃ in the LC phase. [b] normalized RDCs.

Conclusion

We have investigated the orientational properties of PBLG as a function of different additives. The main focus was to lower the induced degree of orientation, to modify the solute orientation and to enhance the degree of enantiodifferentiation. Therefore, we have started from the promising report by Samulski et al.^[43], who described a strong decrease in the value of the anisotropy of the diamagnetic susceptibility when TFA is added to the LC phase of PBLG. We have observed that by adding TFA the absolute value of the quadrupolar splitting does indeed show a strong decrease from around 210 Hz to as low as about 40 Hz. In contrast to this, some of the RDCs of (+)-IPC increased while other decreased and the overall degree of solute orientation was increased by addition of TFA.

When DMSO is applied as the additive the degree of solute orientation is only slightly increased. Since DMSO lacks a hydrogen-bond donor site, we concluded that the hydrogen-bond interaction with the ester side-chains is more likely the reason for the pronounced increase in the degree of solute orientation in case of protic additives.

We have found CCl₄ to be a very suitable highly non-polar additive. With increasing concentration of CCl₄ the RDCs are continuously lowered indicating the desired decrease in solute orientation compared to the neat LC phase. Furthermore, the critical concentration is lowered when CCl₄ is added. In addition to the lower degree of solute orientation the additive CCl₄ also had an advantageous effect on enantiodifferentiation, which is monitored by the use of Euler angles. Both the α - and β -Euler angles showed an increasing difference for the two enantiomers as a function of the additive concentration, indicating that the degree of enantiodifferentiation is clearly enhanced.

Furthermore, we have shown that highly polar substances such as hydrochloric salts can be dissolved and oriented in the LC phase of high MW PBLG by using the solvent mixture CDCl₃ and DMSO. The spectral quality of the oriented hydrochloride **2** was excellent with no residual polymer signals being

present. Despite the high polarity, the hydrochloride **2** showed a rather low degree of orientation. Thus we could significantly enhance the accessible solvent range for PBLG.

Experimental

For the sake of simplicity only coupling data and orienting properties necessary to illustrate the observed results were given in the main text. The comprehensive data, particularly all measured RDCs and the resulting orienting properties, are fully listed in the supporting information.

All experiments for the determination of RDCs were carried out slightly above the critical concentration to ensure a stable LC phase. To confirm the stability of the LC phase, a ^2H -spectrum was recorded right before and after every experiment. For all LC phases PBLG was synthesized according to literature^[41] having an averaged molar mass of M_n 420 kDa and a PDI of 2.17. All orienting properties were calculated by using the program hotFCHT originally developed by Berger et. al.^[48] which was extended for the analysis of RDCs.^[55]

Preparation of NMR samples

The LC phases were prepared directly in the NMR tube (5 mm o.d.). A total amount of 60 mg polymer and 30 mg of IPC were weighted directly into the NMR tube, which contained a DMSO- d_6 capillary to provide the lock signal. After adding the solvent CDCl_3 the polymer was allowed to dissolve overnight and the sample centrifuged back and forth until the ^2H -signals were sharp and the line widths constant. All additives were added after the homogeneous phase was obtained (for exact compositions see Supporting Information). For the LC phases containing high DMSO concentrations it is essential to first dissolve the polymer in CDCl_3 and then add DMSO in portions of approximately 80 mg. Otherwise a significantly longer time for the centrifugation procedure is necessary to obtain a stable phase. All concentrations reported are mass concentrations.

NMR Experiments

All spectra of IPC in isotropic and oriented samples were recorded on a 500 MHz spectrometer (Bruker DRX-500) with a triple resonance inverse probe equipped with a z-gradient. All measurements were carried out without sample spinning at 300 K. The total coupling constants (1T) and scalar coupling constants (1J) were measured from ω_2 coupled CLIP- and CLAP-HSQC^[53] experiments. An INEPT delay corresponding to 145 Hz was used. A total of 8 k data points were sampled in the direct dimension over a spectral width of 8 ppm to give a FID resolution of 0.48 Hz. In the indirect dimension 256 data points were sufficient to prevent signal overlap. The spectra were processed with the use of an exponential window function with 1 Hz line broadening and zero filling by a factor of 2 to give a

digital resolution of 0.24 Hz in the direct dimension. In the indirect dimension a $\pi/2$ shifted sine squared window function and zero filling by a factor of 4 was applied.

Calculation of orientational properties

The orientational properties were calculated by using the program hotFCHT.^[48, 55] Therefore, the scalar coupling (1J) and the total coupling (1T) constants as well as the coordinates of IPC were provided as an input.^[41] Euler angles are reported as z, y', z'' rotations with respect to the molecular axis frame. The dipolar couplings used for the determination of the orientational properties were calculated by using $T = J + 2D$. For the methyl groups, the measured $^1D_{CH}$ was converted to the corresponding $^1D_{CC}$ according to the literature,^[56] which was used for the determination of the orienting tensor. All uncertainties were calculated using a Monte Carlo simulation^[57, 58] with sufficient steps to achieve convergence of the Saupe values and Euler angles. For our systems these simulations required about 1500 steps until the change in the standard deviation was less than 1%. Contrary to Losonczi et al.^[57] we do not exclude steps from the averaging, for which the back calculated RDCs do not fall within the experimental errors.

Acknowledgements

We want to thank Dr. Robert Berger and his group for the support and help in extending his program hotFCHT for the analysis of RDCs. Michael Reggelin is acknowledged for his support. A.M., B.B. and C.M.T. acknowledge the Fonds der Chemischen Industrie (Kekulé fellowship to A.M.) and the DFG (TH1115/1-1, 2-1) for financial support.

Supporting Information

All sample compositions, measured coupling constants and orientational properties as provided by hotFCHT can be found in the supporting information.

References

- [1] G. Bifulco, P. Dambrosio, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3744.
- [2] M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11.
- [3] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. de Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783.
- [4] F. A. L. Anet, A. J. R. Bourn, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5250.
- [5] D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*, second ed., Wiley-VCH, New York, **2000**.
- [6] B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, *276*, 1230.
- [7] B. Reif, H. Steinhagen, B. Junker, M. Reggelin, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1903.
- [8] S. Ravindranathan, X. Feng, T. Karlsson, G. Widmalm, M. H. Levitt, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1102.

- [9] J. H. Prestegard, C. M. Bougault, A. I. Kishore, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3519.
- [10] C. M. Thiele, *Conc. Magn. Reson. Part A* **2007**, *30A*, 65.
- [11] C. M. Thiele, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5673.
- [12] G. Kummerlöwe, B. Luy, *Trends Anal. Chem.* **2009**, *28*, 483.
- [13] C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 705.
- [14] C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7403.
- [15] D. Merlet, A. Loewenstein, W. Smadja, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 963.
- [16] C. Aroulanda, D. Merlet, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12059.
- [17] D. Merlet, J. W. Emsley, J. Jokisaari, J. Kaski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 4918.
- [18] J. C. Freudenberger, P. Spiteller, R. Bauer, H. Kessler, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14690.
- [19] J. Yan, F. Delaglio, A. Kaerner, A. D. Kline, H. Mo, M. J. Shapiro, T. A. Smitka, G. A. Stephenson, E. R. Zartler, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5008.
- [20] A. Mangoni, V. Esposito, A. Randazzo, *Chem. Commun.* **2003**, 154.
- [21] R. R. Gil, C. Gayathri, N. V. Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 840.
- [22] C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, J. Courtieu, D. Merlet, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4536.
- [23] C. M. Thiele, A. Marx, R. Berger, J. Fischer, M. Biel, A. Giannis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4455.
- [24] A. Schuetz, T. Murakami, N. Takada, J. Junker, M. Hashimoto, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2032.
- [25] C. Farès, J. Hassfeld, D. Menche, T. Carlomagno, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3722.
- [26] A. Schuetz, J. Junker, A. Leonov, O. F. Lange, T. F. Molinski, C. Griesinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15114.
- [27] C. M. Thiele, V. Schmidts, B. Böttcher, I. Louzao, R. Berger, A. Maliniak, B. Stevansson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6708.
- [28] A. Meddour, I. Canet, A. Loewenstein, J. M. Pechine, J. Courtieu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9652.
- [29] C. Aroulanda, M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Enantiomer* **2001**, *6*, 281.
- [30] B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2004**, *43*, 1092.
- [31] B. Luy, K. Kobzar, S. Knor, J. Furrer, D. Heckmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6459.
- [32] J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 423.
- [33] P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 427.
- [34] G. Kummerlöwe, J. Auernheimer, A. Lendlein, B. Luy, *J Am Chem Soc* **2007**, *129*, 6080.
- [35] P. Lesot, Y. Gounelle, D. Merlet, A. Loewenstein, J. Courtieu, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 14871.
- [36] I. Canet, J. Courtieu, A. Loewenstein, A. Meddour, J. M. Pechine, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6520.
- [37] P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, J. Emsley, T. T. Rantala, J. Jokisaari, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 5719.
- [38] M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Chem. Commun.* **2000**, 1113.
- [39] P. Lesot, M. Sarfati, J. Courtieu, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1724.
- [40] P. Lesot, O. Lafon, C. Aroulanda, R. Y. Dong, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4082.
- [41] A. Marx, C. M. Thiele, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 254.
- [42] A. Marx, V. Schmidts, C. M. Thiele, *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 734.
- [43] R. W. Duke, D. B. DuPré, W. A. Hines, E. T. Samulski, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3094.
- [44] G. D. Fassman, *Poly- γ -amino acids, Vol. 1*, Marcel Dekker, New York, **1976**.
- [45] N. Do-Huc, H. Daoust, S. S. Pierre, *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 622.

-
- [46] The additive TFA slowly forms an ester with the alcohol IPC at higher concentrations. After approximately 10 h the ester gives rise to a second signal data set in the HSQCs. This side reaction had no impact on the current investigation, as the CLIP-HSQCs took only 30 minutes to be recorded.
- [47] Sulfuric and sulfonic acids, phosphoric and phosphonic acids, as well as HBF₄ lead to a fast decomposition of PBLG.
- [48] R. Berger, C. Fischer, M. Klessinger, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 7157.
- [49] G. Cornilescu, J. L. Marquardt, M. Ottiger, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6836.
- [50] P. Doty, J. H. Bradbury, A. M. Holtzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 947.
- [51] I. Tinoco, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4336.
- [52] A. K. Gupta, C. Dufour, E. Marchal, *Biopolymers* **1974**, *13*, 1293.
- [53] A. Enthart, J. C. Freudenberger, J. Furrer, H. Kessler, B. Luy, *J. Magn. Reson.* **2008**, *192*, 314.
- [54] B. Luy, et. al. *Chem Eur. J.* **2009**, in print..
- [55] V. Schmidts, C. M. Thiele, R. Berger, *manuscript in preparation*.
- [56] L. Verdier, P. Sakhaii, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* **2003**, *163*, 353.
- [57] J. A. Losonczi, M. Andrec, M. W. F. Fischer, J. H. Prestegard, *J. Magn. Reson.* **1999**, *138*, 334.
- [58] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, *Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing*, 3 ed., Cambridge University Press, **2007**.



6. Zusammenfassung

Die ersten NMR-spektroskopischen Untersuchungen von Molekülen, die in anisotropen Medien gelöst sind, wurden bereits in den 60er Jahren berichtet. Auf Grund des hohen Ordnungsgrads der verwendeten flüssigkristallinen Phasen (LC Phasen) und der daraus resultierenden Komplexität der erhaltenden Spektren blieb die Anwendung dipolarer Kopplungen in der Strukturbestimmung jedoch bis in die 90er Jahre auf kleine hochsymmetrische Verbindung beschränkt. Erst Mitte der 90er Jahre konnte durch Verwendung wasserbasierter flüssigkristalliner Phasen, die einen sehr geringen Ordnungsgrad induzieren, die Komplexität der Spektren drastisch reduziert und somit die (residuale) dipolare Kopplung (RDC) auch für die Strukturbestimmung komplexer Moleküle zugänglich gemacht werden. Heutzutage hat sich die Bestimmung von RDCs in der biomakromolekularen NMR-Spektroskopie nahezu zu einem Standardverfahren etabliert und ist aus der Konformationsbestimmung von Proteinen, DNA und RNA nicht mehr wegzudenken.

Überraschenderweise gab es zu Beginn dieser Doktorarbeit nur eine Klasse an nicht-wässrigen, LC-basierten Orientierungsmedien, nämlich die der Homopolypeptide (PBLG, PELG und PCBL). Des Weiteren gab es relativ wenige Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften oder Kenntnisse über Faktoren, die den Grad der Orientierung oder die Orientierung an sich beeinflussen. Um jedoch RDCs in einer Größenordnung zu erhalten, die die Verwendung von Routinemessverfahren ermöglicht, und um Artefakte zu verhindern, die durch Effekte höherer Ordnung hervorgerufen werden, ist es von großer Wichtigkeit, den Ordnungsgrad des Orientierungsmediums gut beeinflussen zu können. Zu Beginn dieser Doktorarbeit war dies jedoch nicht immer zufrieden stellend möglich.

Aus diesem Grund sollten im Rahmen dieser Arbeit grundlegende Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften der flüssigkristallinen Phase des PBLGs sowie seines Enantiomers PBDG vorgenommen werden. Hierbei lag der Schwerpunkt einerseits darin, den induzierten Ordnungsgrad soweit wie möglich zu reduzieren und andererseits Faktoren, die die Orientierung sowie den Grad der Enantiomerisierung beeinflussen, zu finden.

Zu Beginn dieser Arbeit wurde zunächst unter Verwendung des Deming-Protokolls ein Syntheseprotokoll etabliert, das es erlaubt, niedermolekulare bis sehr hochmolekulare PBLG-Proben zu synthetisieren. Es konnten PBLG-Proben mit einem zahlengemittelten Molekulargewicht (M_n) von ca. $M_n=10$ kDa (Polydispersitätsindex (PDI) 2.2) bis ca. $M_n=600$ kDa (PDI 2.6) hergestellt werden. Untersuchungen zur kritischen Konzentration der flüssigkristallinen Phase (c_{krit}) sowie der minimalen Quadrupolaufspaltung des Lösungsmittels ($\Delta\nu_{Q,min}$) als Funktion des Molekulargewichts des PBLGs zeigten eine asymptotische Annäherung beider Größen c_{krit} und $\Delta\nu_{Q,min}$ an einen Grenzwert. Dieses Verhalten ist

konsistent zu theoretischen Arbeiten von DuPré. Demnach sinkt zunächst die kritische Konzentration mit steigender Länge des Polymers, d.h. mit steigendem Molekulargewicht. Überschreitet die Länge des Polymers jedoch dessen Persistenzlänge, so verringert sich die kritische Konzentration nicht mehr signifikant. Durch Verwendung von sehr hochmolekularem PBLGs (>300kDa) konnte die Konzentration der flüssigkristallinen Phase bis auf ca. 6% abgesenkt werden und somit eine hochverdünnte flüssigkristalline Phase erhalten werden.

Die Charakterisierung der Orientierungseigenschaften der verschiedenen PBLG-Proben erfolgte mit Hilfe von Isopinocampheol (IPC) als Analyt. Durch die Verwendung des hochmolekularen PBLGs konnte die Spektrenqualität (Linienbreite, Signal-Rausch-Verhältnisses und Auflösung) deutlich verbessert werden. Es konnte gezeigt werden, dass der Grad der induzierten Orientierung durch Verwendung hochmolekularen PBLGs und der damit einhergehend niedrigeren Konzentration der flüssigkristallinen Phase signifikant verringert werden kann. Dieser Effekt konnte ausschließlich auf die höhere Verdünnung und nicht auf die erhöhte Flexibilität des PBLGs zurückgeführt werden. Die Vorzugsorientierung der Analyten in der flüssigkristallinen Phase war unabhängig von der Konzentration der LC Phase sowie dem Molekulargewicht des verwendeten PBLGs. Demnach müssen zwei unabhängige Mechanismen im Prozess der Ausrichtung des Analyten in der flüssigkristallinen Phase involviert sein: ein konzentrationsabhängiger, der den Grad der Orientierung und einen weiteren, der die Orientierung an sich bestimmt. Bei der Verwendung von polareren Lösungsmitteln wie THF und DMF stieg die kritische Konzentration der LC Phase und im Falle des DMFs ebenfalls der Grad der induzierten Orientierung deutlich an. Durch die Verwendung von unpolaren Additiven wie CCl₄ konnte eine weitere Verringerung des induzierten Grads an Orientierung erreicht werden. Damit einhergehend konnte ebenfalls die Spektrenqualität nochmals deutlich gesteigert werden.

Es wurden ebenfalls die Orientierungseigenschaften sowie der Grad der Enantiodifferenzierung für das IPC quantitativ bestimmt. Hierzu wurden (+)-IPC und (-)-IPC in den flüssigkristallinen Phasen des PBLGs, PBDGs sowie deren Mischungen orientiert. Es konnte gezeigt werden, dass sich in Abhängigkeit des Molenbruchs an PBLG die Werte nahezu aller RDCs kontinuierlich verändern. Diese kontinuierliche Änderung ist eine direkte Beobachtung des Übergangs zwischen den beiden diastereomorphen Orientierungen (zum Beispiel (+)-IPC/PBLG und (+)-IPC/PBDG). Die kontinuierliche Änderung der RDCs erfolgte entweder nahezu linear oder leicht s-förmig. Aus diesem Grund konnte im Falle des IPC keine signifikante Bevorzugung einer diastereomorphen Kombination, sondern eine vergleichbare Affinität bezüglich PBLG und PBDG festgestellt werden. Es konnte gezeigt werden, dass ausschließlich der β -Eulerwinkel (z , y' , z'' -Konvention) eine Veränderung von 5° in Abhängigkeit des Molenbruchs an PBLG erfährt, während der α und γ -Eulerwinkel konstant bleiben. Das quantitative Ausmaß der Enantiodifferenzierung im Sinne einer unterschiedlichen Orientierung ist somit sehr gering.

Durch den Zusatz von Additiven zu den flüssigkristallinen Phasen des PBLGs in CDCl_3 konnte die Vorzugsorientierung von IPC verändert werden. Die Verwendung der Additive THF und CCl_4 führten ferner zu einer veränderten Enantiodifferenzierung. Im Falle des CCl_4 konnte der Grad der Enantiodifferenzierung signifikant erhöht werden.

Des Weiteren konnte im Rahmen dieser Dissertation eine DMSO kompatible chirale flüssigkristalline Phase etabliert werden. Es konnte gezeigt werden, dass durch Verwendung von hochmolekularen PBLG stabile flüssigkristalline Phasen mit einem $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}$ -Verhältnis von 2:1 hergestellt werden können. Somit konnte die Lösungsmittel- und Analytbreite deutlich erweitert werden. Mit Hilfe dieser flüssigkristallinen Phase konnte eine in reinem CDCl_3 unlösliche Substanz orientiert und deren RDCs bestimmt werden. Es konnte ferner gezeigt werden, dass eine Enantiodifferenzierung vorliegt.

7. Ausblick

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse haben zu einem besseren Verständnis von Faktoren, die gezielt die Orientierungseigenschaften verändern, beigetragen und somit die Einsetzbarkeit von PBLG-basierten, flüssigkristallinen Phasen als Orientierungsmedium deutlich erweitert. Um jedoch allgemein die Anwendbarkeit von Orientierungsmedien, die auf flüssigkristallinen Phasen beruhen, zu verbessern und zu erweitern, sind noch viele weitere Entwicklungen notwendig.

1) Beeinflussung der kritischen Konzentration & Skalierung des induzierten Ordnungsgrads

Durch Absenken der kritischen Konzentration der flüssigkristallinen Phase konnte der induzierte Ordnungsgrad und damit einhergehend die Spektrenqualität signifikant verbessert werden. Die minimal-erreichbare kritische Konzentration der flüssigkristallinen Phase von PBLG ist jedoch durch die Persistenzlänge von PBLG bestimmt. Um die kritische Konzentration noch weiter zu verringern, müssen andere Ansätze verfolgt werden. Ein möglicher Ansatz wurde von Inomata et al.^[166] beschrieben. Er konnte zeigen, dass durch partiellen Austausch der Benzylseitenkette des PBLGs durch einen Polyethylenglykol-Rest (PEG-Rest) die Abstoßung zwischen den Mesogenen erhöht und somit die kritische Konzentration abgesenkt werden kann.

2) chirale SAG-basierte Orientierungsmedien

Eine der Hauptvorteile von gel-basierten Orientierungsmedien ist die nahezu beliebige Skalierbarkeit des induzierten Ordnungsgrads. Durch Quervernetzung von PBLG könnte dieser Vorteil zusammen mit der Homochiralität des PBLGs ausgenutzt werden. Ein weiterer großer Vorteil läge darin, dass beide enantiomeren Formen des homochiralen Gels leicht zugänglich wären. Die Quervernetzung von PBLG ist in der Literatur durch Ester-Amid-Austausch mittels 1, ω -Diaminen beschrieben.^[167, 168]

3) Orientierungseigenschaften weiterer Homopolypeptide

Neben Glutaminsäure gibt es ebenfalls weitere Aminosäuren, die als Homopolypeptid eine sehr starke Bevorzugung zu α -helikalen Strukturen besitzen und somit flüssigkristalline Phasen ausbilden können. Die bekanntesten Vertreter sind Lysin, Alanin und Leucin. Das Homopolypeptid Polycarbobenzyloxy-L-Lysin (PCBLL) wurde bereits von Courtieu und Lesot et al. als Orientierungsmedium zur Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen eingesetzt. Nähere Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften von PCBLL, Poly-alanin (Poly-Ala) und Poly-Leucin (Poly-Leu) würden zu einem besseren Verständnis des Einflusses der Seitenkette (PBLG: Ester, PCBLL: Carbamat, Poly-Ala und PolyLeu: aliphatisch) auf den induzierten Ordnungsgrad, die Orientierung an sich sowie den Grad der Enantiodifferenzierung führen. Des Weiteren ist zu erwarten, dass der Orientierungsmechanismus

für PBLG, PCBL und Poly-Ala, Poly-Leu verschieden ist. Dies wäre für die Bestimmung der Relativkonfiguration von flexiblen Molekülen essentiell, da dies die Aufhebung der vierfachen Entartung der aus RDCs erhaltenden Orientierung erlauben würde.

4) Erweiterung des Portfolios an LC-basierten Orientierungsmedien

Weitere potentielle Orientierungsmedien stellen die von Gellman et al. eingeführten flüssigkristallinen Phasen von homochiralen β -Peptiden dar.^[169] Diese zeichnen sich vor allem durch eine sehr niedrige kritische Konzentration von ca. 2% aus. Des Weiteren besitzen sie geladene Seitenketten, wodurch ein weiterer, von den Homopolypeptiden verschiedener Orientierungsmechanismus zugänglich wäre.

Bisher gibt es neben den Homopolypeptiden keine (publizierten) chiralen Orientierungsmedien für nicht-wässrige, flüssigkristalline Systeme. Synthetische Polymere wie zum Beispiel Polyguanidine, Polyisocyanate oder Polyphenylacetylene bilden ebenfalls helikale Strukturen aus und können somit flüssigkristalline Phasen bilden. Sie sind weiterhin homochiral zugänglich. Der Einsatz nicht-peptidischer Orientierungsmedien würde das Portfolio an LC-basierten, nichtwässrigen Orientierungsmedien stark erweitern.

Neben der Erweiterung des Portfolios an nicht-wässrigen Orientierungsmedien, speziell an LC-basierten Orientierungsmedien, und somit eine breitere Anwendbarkeit in der organischen Strukturklärung, würden die aufgeführten weitergehenden Untersuchungen ebenfalls zu einem besseren Verständnis des Orientierungsmechanismus beitragen. Dieses vertiefte Verständnis ist für die Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration unentbehrlich.





8. Literatur

- [1] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985.
- [2] D. E. Koshland, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1958**, 44, 98.
- [3] E. K. Daniel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 2375.
- [4] O. F. Lange, N.-A. Lakomek, C. Fares, G. F. Schroder, K. F. A. Walter, S. Becker, J. Meiler, H. Grubmuller, C. Griesinger, B. L. de Groot, *Science* **2008**, 320, 1471.
- [5] T. D. W. Claridge, *High-Resolution NMR-Techniques in Organic Chemistry*, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam, **1999**.
- [6] Die skalare Kopplung hat ebenfalls einen Beitrag durch Kern Austausch Wechselwirkung, d.h. durch die räumliche Überlappung zweier Kernwellenfunktionen. Dieser Beitrag ist für organische Verbindungen in den meisten Fällen vernachlässigbar klein.
- [7] In der Regel sind skalare Kopplungen über 4 bis 6 Bindungen beobachtbar.
- [8] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1976**, 64, 2229.
- [9] R. E. Hurd, *J. Magn. Reson.* **1990**, 87, 422.
- [10] L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1983**, 53, 521.
- [11] D. G. Davis, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 107, 2820.
- [12] A. Bax, R. Freeman, S. P. Kempell, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4849.
- [13] A. Bax, R. Freeman, S. P. Kempell, *J. Magn. Reson.* **1980**, 41, 349.
- [14] A. Bax, R. Freeman, T. A. Frenkiel, M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* **1981**, 43, 478.
- [15] B. Reif, M. Köck, R. Kerssebaum, H. Kang, W. Fenical, C. Griesinger, *J. Magn. Res. A* **1996**, 118, 282.
- [16] G. Bodenhausen, D. J. Ruben, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, 69, 185.
- [17] L. Mueller, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 4481.
- [18] A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2093.
- [19] N. T. Nyberg, J. O. Duus, O. W. Sorensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 6154.
- [20] M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, 30, 11.
- [21] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. de Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, 36, 2783.
- [22] G. Bifulco, P. Dambrosio, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 3744.
- [23] P. E. Hansen, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1981**, 14, 175.
- [24] R. H. Contreras, J. E. Peralta, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2000**, 37, 321.
- [25] Denn nur durch ZQ- und DQ-Relaxation führt eine Änderung der Besetzungszahlen des Spins I auch zu einer Änderung der Besetzungszahlen des Spins S, was ein Austausch an Spinpolarisierung bedeutet. Bei Einquanten-Relaxation (SQ) von I würde sich der Besetzungszahlenunterschied von S nicht ändern.

-
- [26] I. Solomon, *Phys. Rev.* **1955**, *99*, 559.
- [27] D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*, second ed., Wiley-VCH, New York, **2000**.
- [28] J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546.
- [29] Dies gilt nur, wenn die ZQ- und DQ-Relaxationsraten gegenüber der SQ-Relaxation und Spindiffusion sehr stark dominieren. Dies ist i.A. bei kleinen Mischzeiten im NOESY-Experiment der Fall, was in einem linearen Anstieg der Kreuzsignal-Intensität als Funktion der Mischzeit resultiert (initial-rate approximation).
- [30] Dies ist der Fall wenn der Kehrwert der Korrelationszeit eines Moleküls etwa $(2)^{-0.5}$ der Larmor-Frequenz des beobachteten Kernes ist.
- [31] A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *63*, 207.
- [32] Christina M. Thiele, K. Petzold, J. Schleucher, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 585.
- [33] B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, *276*, 1230.
- [34] Eine Ausnahme besteht, wenn ein verbrückender Kern wie z.B. ^{31}P zwischen den Vektoren vorhanden ist.
- [35] B. Bernhard, *Conc. Magn. Reson.* **2000**, *12*, 207.
- [36] M. H. Levitt, *Spin Dynamics - Basics of Nuclear Magnetic Resonances*, second edition ed., Wiley, **2008**.
- [37] Eine effektive Ausmittelung erfolgt nur in Lösungen mit ausreichender niedriger Viskosität. Beachte: Es werden nur die säkularen Anteile der dipolaren Kopplung ausgemittelt. Die nicht-säkularen Anteile bleiben noch in Form von Relaxation erhalten und manifestieren sich in den Linienbreiten.
- [38] W. L. Meerts, C. A. de Lange, A. C. J. Weber, E. E. Burnell, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *441*, 342.
- [39] C. M. Thiele, *Conc. Magn. Reson. Part A* **2007**, *30A*, 65.
- [40] Das zeitliche Mittel kann hier auf Grund der Ergodizität mit dem Ensemblemittel über alle Orientierungen (angedeutet durch die eckigen Klammer) gleichgesetzt werden.
- [41] A. Saupe, *Z. Naturforsch.* **1964**, *19a*, 161.
- [42] F. Kramer, M. V. Deshmukh, H. Kessler, S. J. Glaser, *Conc. Magn. Reson.* **2004**, *21A*, 10.
- [43] Die Fluktuation des Bindungsabstandes durch Schwingung wird allgemein vernachlässigt, da deren Auswirkung auf die dipolare Kopplung eher gering sind.
- [44] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, *Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing*, 3 ed., Cambridge University Press, **2007**.
- [45] J. A. Losonczi, M. Andrec, M. W. F. Fischer, J. H. Prestegard, *J. Magn. Reson.* **1999**, *138*, 334.
- [46] V. Schmidts, TU Darmstadt **2008**.
- [47] S. W. Sinton, D. B. Zax, J. B. Murdoch, A. Pines, *Mol. Phys.* **1984**, *53*, 333.

- [48] J. W. Emsley, G. R. Luckhurst, C. P. Stockley, *Proc. R. Soc. London, Ser. A* **1982**, 381, 117.
- [49] R. Berardi, F. Spinozzi, C. Zannoni, *Chem. Soc., Faraday Trans.* **1992**, 88, 1863.
- [50] B. Stevansson, D. Sandstrom, A. Maliniak, *J. Chem. Phys.* **2003**, 119, 2738.
- [51] C. M. Thiele, A. Marx, R. Berger, J. Fischer, M. Biel, A. Giannis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4455.
- [52] A. Schuetz, J. Junker, A. Leonov, O. F. Lange, T. F. Molinski, C. Griesinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 15114.
- [53] A. Schuetz, T. Murakami, N. Takada, J. Junker, M. Hashimoto, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 2032.
- [54] C. Farès, J. Hassfeld, D. Menche, T. Carlomagno, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3722.
- [55] C. M. Thiele, V. Schmidts, B. Böttcher, I. Louzao, R. Berger, A. Maliniak, B. Stevansson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6708.
- [56] C. M. Thiele, A. Maliniak, B. Stevansson, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 12878.
- [57] M. W. F. Fischer, J. A. Losonczi, J. L. Weaver, J. H. Prestegard, *Biochemistry* **1999**, 38, 9013.
- [58] H. M. Al-Hashimi, H. Valafar, M. Terrell, E. R. Zartler, M. K. Eidsness, J. H. Prestegard, *J. Magn. Reson.* **2000**, 143, 402.
- [59] B. E. Ramirez, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 9106.
- [60] J. Yan, A. D. Kline, H. Mo, M. J. Shapiro, E. R. Zartler, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 1786.
- [61] C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, J. Courtieu, D. Merlet, *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 4536.
- [62] C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett.* **2003**, 5, 705.
- [63] C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7403.
- [64] L. Verdier, P. Sakhaii, M. Zweckstetter, C. Griesinger, *J. Magn. Reson.* **2003**, 163, 353.
- [65] C. Aroulanda, P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 10911.
- [66] J. C. Freudenberger, S. Knör, K. Kobzar, D. Heckmann, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, 44, 423.
- [67] P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, 44, 427.
- [68] A. Mangoni, V. Esposito, A. Randazzo, *Chem. Commun.* **2003**, 154.
- [69] J. C. Freudenberger, P. Spiteller, R. Bauer, H. Kessler, B. Luy, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 14690.
- [70] J. Yan, F. Delaglio, A. Kaerner, A. D. Kline, H. Mo, M. J. Shapiro, T. A. Smitka, G. A. Stephenson, E. R. Zartler, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5008.
- [71] R. R. Gil, C. Gayathri, N. V. Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 840.
- [72] M. E. García, S. Pagola, A. Navarro-Vázquez, D. D. Phillips, C. Gayathri, H. Krakauer, P. W. Stephens, V. E. Nicotra, R. R. Gil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 5670.

- [73] V. Sanchez-Pedregal, R. Santamaria-Fernandez, A. Navarro-Vazquez, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1471.
- [74] Hierauf wird nicht weiter eingegangen, da diese Methode bisher ausschließlich zur Orientierung von Biomakromolekülen benutzt wird.
- [75] Reale Flüssigkeiten besitzen nur Nahordnungen.
- [76] F. Reinitzer, *Monatshefte Chemie* **1888**, *9*, 421.
- [77] O. Lehmann, *Z. Phys. Chem.* **1889**, *4*, 462.
- [78] W. Zwetkoff, *Acta Physicochim URSS* **1942**, *16*, 132.
- [79] H. Stegemeyer, *Lyotrope Flüssigkristalle: Grundlagen, Entwicklungen, Anwendungen*, Steinkopff Verlag, Darmstadt, **1999**.
- [80] H. d. Vries, *Acta Cryst.* **1951**, *4*, 219.
- [81] M. Panar, W. D. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 3880.
- [82] www.chemie.uni-kl.de/forschung/pc/kuball/kuball.html
- [83] H. Finkelmann, H. Ringsdorf, J. H. Wendorff, *Makromol. Chem.* **1978**, *179*, 273.
- [84] H. Finkelmann, B. Lühmann, G. Rehage, *Colloid Polym. Sci.* **1982**, *260*, 56.
- [85] C. B. M. Ardle, *Side Chain Liquid Crystal Polymers*, Springer, Glasgow, **1989**.
- [86] S. Diele, S. Oelsner, F. Kuschel, B. Hisgen, H. Ringsdorf, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1988**, *155*, 399.
- [87] G. Subramanian, R. P. Hjelm, T. J. Deming, G. S. Smith, Y. Li, C. R. Safinya, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 26.
- [88] J. D. Bernal, I. Fankuchen, *J. Gen. Physiol.* **1941**, *25*, 111.
- [89] A. Elliott, E. J. Ambrose, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 246.
- [90] C. Robinson, *Trans. Faraday Soc.* **1956**, *52*, 571.
- [91] L. Onsager, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 627.
- [92] Die freie Energie ist gegeben durch: $A=U-TS$. Da keinerlei Wechselwirkungen der Mesogene untereinander (außer der rein sterischen Abstoßung) oder mit dem Lösungsmittel berücksichtigt werden, ist die innere Energie des Systems gleich null. Daraus folgt: $A=-TS$.
- [93] J. P. Straley, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1973**, *22*, 333.
- [94] M. Rubinstein, R. H. Colby, *Polymer Physics*, Oxford University Press, **2003**.
- [95] W. Kuhn, *Kolloid. Z.* **1934**, *68*, 2.
- [96] W. Kuhn, *Kolloid. Z.* **1936**, *76*, 258.
- [97] A. R. Khokhlov, *Phys. Lett.* **1978**, *68*, 135.
- [98] A. R. Khokhlov, A. N. Semenov, *Phys. A: Stat. Theor. Phys.* **1981**, *108*, 546.
- [99] A. R. Khokhlov, A. N. Semenov, *Phys. A: Stat. Theor. Phys.* **1982**, *112*, 605.
- [100] D. B. DuPré, S.-j. Yang, *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 7466.

-
- [101] S. Fraden, G. Maret, D. L. D. Caspar, R. B. Meyer, *Phys. Rev. Lett.* **1989**, *63*, 2068.
- [102] K. Kajiwara, N. Donkai, Y. Fujiwara, Y. Hiraki, H. Urakawa, H. Inagaki, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.* **1985**, *63*, 320.
- [103] K. Okoshi, K. Nagai, T. Kajitani, S.-i. Sakurai, E. Yashima, *Macromolecules* **2008**, *41*, 7752.
- [104] T. Norisuye, T. Yanaki, H. Fujita, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.* **1980**, *18*, 547.
- [105] T. Yanaki, T. Norisuye, H. Fujita, *Macromolecules* **1980**, *13*, 1462.
- [106] S. Itou, N. Nishioka, T. Ncrisuye, A. Teramoto, *Macromolecules* **1981**, *14*, 904.
- [107] K. Terao, Y. Terao, A. Teramoto, N. Nakamura, I. Terakawa, T. Sato, M. Fujiki, *Macromolecules* **2001**, *34*, 2682.
- [108] J. E. Godfrey, H. Eisenberg, *Biophys. Chem.* **1976**, *5*, 301.
- [109] M. Arpin, C. Strazielle, *Polymer* **1977**, *18*, 591.
- [110] M. P. Nieh, A. A. Goodwin, J. R. Stewart, B. M. Novak, D. A. Hoagland, *Macromolecules* **1998**, *31*, 3151.
- [111] T. Itou, H. Chikiri, A. Teramoto, S. M. Aharoni, *Polym. J.* **1988**, *20*.
- [112] A. Saupe, G. Englert, *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *11*, 462.
- [113] A. Saupe, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 99.
- [114] L. C. Snyder, *J. Chem. Phys.* **1965**, *43*, 4041.
- [115] E. Sackmann, S. Meiboom, L. C. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5981.
- [116] C. S. Yannoni, G. P. Ceasar, B. P. Dailey, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2833.
- [117] G. R. Luckhurst, *Q. Rev. Chem. Soc.* **1968**, *22*, 179.
- [118] J. W. Emsley, J. C. Lindon, *NMR Spectroscopy using liquid crystal solvents*, Pergamon Press, Oxford, U.K., **1975**.
- [119] E. E. Burnell, C. A. d. Lange, *NMR of Ordered Liquids*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2003**.
- [120] L. C. Snyder, S. Meiboom, *J. Chem. Phys.* **1967**, *47*, 1480.
- [121] E. Lafontaine, J. M. Pechine, J. Courtieu, C. L. Mayne, *Liq. Cryst.* **1990**, *7*, 293.
- [122] W. H. Pirkle, S. D. Beare, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5485.
- [123] E. Lafontaine, J. P. Bayle, J. Courtieu, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8294.
- [124] J. P. Bayle, J. Courtieu, E. Gabetty, A. Loewenstein, J. M. Pechine, *New J. Chem.* **1992**, *16*, 837.
- [125] A. Meddour, I. Canet, A. Loewenstein, J. M. Pechine, J. Courtieu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9652.
- [126] K. Czarniecka, E. T. Samulski, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1981**, *63*, 205.
- [127] P. Lesot, M. Sarfati, J. Courtieu, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1724.
- [128] M. Sarfati, P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, *Chem. Commun.* **2000**, 2069.

- [129] P. Lesot, Y. Gounelle, D. Merlet, A. Loewenstein, J. Courtieu, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 14871.
- [130] P. Lesot, D. Merlet, A. Loewenstein, J. Courtieu, *Tetrahedron: Asym.* **1998**, *9*, 1871.
- [131] P. Lesot, J. Courtieu, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2009**, *55*, 128.
- [132] D. Merlet, W. Smadja, J. Courtieu, P. Lesot, B. Ancian, *Chem. Commun.* **1998**, 2301.
- [133] D. Merlet, A. Loewenstein, W. Smadja, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 963.
- [134] C. Aroulanda, D. Merlet, J. Courtieu, P. Lesot, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12059.
- [135] M. Sarfati, C. Aroulanda, J. Courtieu, P. Lesot, *Tetrahedron: Asym.* **2001**, *12*, 737.
- [136] M. Rivard, F. Guillen, J.-C. Fiaud, C. Aroulanda, P. Lesot, *Tetrahedron: Asym.* **2003**, *14*, 1141.
- [137] C. Aroulanda, M. Sarfati, J. Courtieu, P. Lesot, *Enantiomer* **2001**, *6*, 281.
- [138] J. Courtieu, J. P. Bayle, B. M. Fung, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1994**, *26*, 141.
- [139] C. M. Thiele, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2787.
- [140] L. Ziani, P. Lesot, A. Meddour, J. Courtieu, *Chem. Commun.* **2007**, 4737.
- [141] J. H. Prestegard, C. M. Bougault, A. I. Kishore, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3519.
- [142] N. Tjandra, A. Bax, *Science* **1997**, *278*, 1111.
- [143] R. S. Prosser, J. A. Losonczy, I. V. Shiyonovskaya, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11010.
- [144] M. Ottiger, A. Bax, *J. Biomol. NMR* **1999**, *13*, 187.
- [145] M. R. Hansen, L. Mueller, A. Pardi, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 1065.
- [146] G. M. Clore, M. R. Starich, A. M. Gronenborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10571.
- [147] K. Fleming, D. Gray, S. Prasannan, S. Matthews, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5224.
- [148] S. M. Douglas, J. J. Chou, W. M. Shih, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6644.
- [149] J. Lorieau, L. Yao, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7536.
- [150] A. N. Gent, *Macromolecules* **1969**, *2*, 262.
- [151] B. Deloche, E. T. Samulski, *Macromolecules* **1981**, *14*, 575.
- [152] R. Tycko, F. J. Blanco, Y. Ishii, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9340.
- [153] H.-J. Sass, G. Musco, S. J. Stahl, P. T. Wingfield, S. Grzesiek, *J. Biomol. NMR* **2000**, *18*, 303.
- [154] B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2004**, *43*, 1092.
- [155] B. Luy, K. Kobzar, S. Knor, J. Furrer, D. Heckmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6459.
- [156] B. Luy, Vortrag Tropea 2009, NMR in oriented liquids.
- [157] G. Kummerlowe, S. Knor, A. O. Frank, T. Paululat, H. Kessler, B. Luy, *Chem. Commun.* **2008**, 5722.
- [158] R. R. Gil, C. Gayathri, N. V. Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 840.
- [159] G. Kummerlöwe, J. Auernheimer, A. Lendlein, B. Luy, *J Am Chem Soc* **2007**, *129*, 6080.
- [160] B. Luy, Vortrag Tropea 2009, NMR in oriented liquids.

-
- [161] K. Kobzar, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **2005**, *44*, 3145.
- [162] J. Ma, G. I. Goldberg, N. Tjandra, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16148.
- [163] G. Kummerlöwe, M. U. Kiran, B. Luy, *Chem. Eur. J.* **2009**, *accepted*.
- [164] P. Lesot, D. Merlet, J. Courtieu, J. Emsley, T. T. Rantala, J. Jokisaari, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 5719.
- [165] R. W. Duke, D. B. DuPré, W. A. Hines, E. T. Samulski, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3094.
- [166] K. Inomata, H. Shimizu, T. Nose, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2000**, *38*, 1331.
- [167] Y. Yamane, M. Kanekiyo, S. Koizumi, C. Zhao, S. Kuroki, I. Ando, *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *92*, 1053.
- [168] R. Kishi, M. Sisido, S. Tazuke, *Macromolecules* **1990**, *23*, 3868.
- [169] W. C. Pomerantz, V. M. Yuwono, C. L. Pizzey, J. D. Hartgerink, N. L. Abbott, S. H. Gellman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1241.



Andreas Marx
Jahnstraße 38
D-64285 Darmstadt

Darmstadt, den 12.12.2009

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit Eides statt, dass ich meine Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

Unterschrift



Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Andreas Marx
Geburtsdatum/-ort: 13.01.1981
Anschrift: Jahnstraße 38
64285 Darmstadt

Schulbildung

08/1987 – 07/1991 Grundsule „J. F. Naumann“ in Köthen
09/1991 – 07/1999 Ludwigsgymnasium in Köthen
Abschluss: Abitur (Note 2,2)

Wehrdienst

07/1999 – 04/2000 Stabs- und Fernmelderegiment 410

Studium

10/2000 – 07/2005 Universität Leipzig
Diplom Chemiker
Diplomarbeit: „Untersuchungen zur katalytischen enantio-
selektiven Alkoholyse von meso-Epoxiden“
Abschluss: sehr gut

10/2005 – 12/2009 TU Darmstadt
Dissertation
Thema: „Untersuchungen zu den Orientierungseigenschaften des
Poly- γ -Benzyl-L-Glutamats (PBLG) und PBDG“

Darmstadt, den 12.12.2009
