核磁共振残留偶极耦合参数在有机分子结构鉴定中的应用

李高伟², 雷新响^{1*}

1. 中南民族大学药学院, 武汉 430074

2. 商丘师范学院化学化工学院, 商丘 476000

*通讯作者, E-mail: xxlei@mail.scuec.edu.cn

收稿日期: 2017-07-17; 接受日期: 2017-09-15; 网络版发表日期: 2017-11-24

国家自然科学基金(编号: 21572164)和中德中心科学基金(编号: GZ1289)资助项目

摘要 残留偶极耦合(residual dipolar coupling, RDC)作为核磁共振各向异性参数在解析有机分子构型及优势构象等方面的应用具有强有力的优势, 它能反映分子中原子在磁场中的空间距离与角度信息, 实现分子三维空间的构建. 本文对残留偶极耦合在有机分子结构鉴定方面的进展进行综述, 详细总结了测定RDC的定向介质和检测分析方法, 并利用实例展示RDC在天然产物、合成药物、有机反应中间体或络合物, 以及对映异构体等立体化学方面的分析与应用.

关键词 核磁共振波谱, 残留偶极耦合, 定向介质, 有机小分子, 结构分析

1 引言

天然或合成有机分子的结构鉴定, 特别是立体化学解析一直是有机化学和药物化学的核心任务之一, 而核磁共振波谱在其结构鉴定与分析方面具有不可替代的作用. 作为经典的核磁共振参数: 化学位移(δ), 耦合常数(J)以及奥弗豪塞尔核(nuclear overhauser effect, NOE)效应, 是有机化学家日常实验中用于鉴定有机小分子和生物大分子结构的常用信息. 由于化学位移 δ 受到周围化学环境的影响很大, 所以仅能有一个定性作用; 无论同核还是异核 J 耦合, 3J 耦合常数是结构计算的重要约束条件, 它通过Karplus经验公式与二面角联系起来, 然而 3J 耦合仅局限于不超过3个共价键所形成的二面角; 而NOE效应是空间距离较近的两个(组)

质子由于相互弛豫而形成的相互映照, 可以把相隔多个化学键的两个质子在一定的空间距离内关联起来, 对于 ^1H 核来说, 当距离大于5 Å时, NOE作用有限. 因此, 基于NOE和 3J 耦合常数提供的仅是局部结构信息, 对于分子中相距较远片段或被惰性核阻断后的相对构型分析则比较困难.

偶极耦合是两个磁性核通过空间传递的相互作用, 在固体核磁共振中, 偶极耦合的数值通常在数千赫兹, 偶极耦合作用太强使谱峰变得极宽, 分辨率差而无法解析; 而在溶液中, 由于分子的布朗运动, 偶极耦合作用又被平均为零, 尽管此时测得的谱图分辨率高却失掉了附加在偶极耦合中的结构信息. 然而, 当溶液中分子的运动受到限制的时候, 偶极耦合可能没有被完全平均掉, 而保留较小的残留值, 称为残留偶

引用格式: 李高伟, 雷新响. 核磁共振残留偶极耦合参数在有机分子结构鉴定中的应用. 中国科学: 化学, 2017, 47: 1401–1423
Li G, Lei X. Structural elucidation of organic molecule from residual dipolar couplings. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 1401–1423, doi: [10.1360/N032017-00124](https://doi.org/10.1360/N032017-00124)

极耦合(residual dipolar coupling, RDC)^[11-12]. RDC可以提供两个直接相连或者非直接相连的核之间的结构信息,其大小与两个核之间的距离以及两个核之间的键矢量相对于外加磁场的角度取向相关,其值通常用 D_{is} 表示,其中 μ_0 是空间的介电常数, h 为普朗克常数, γ 为磁旋比, r_{is} 表示两个自旋核之间的矢量距离, θ 表示 i 和 s 的核间矢量相对外加磁场之间的角度大小(图1).因此,RDC值与原子的空间排列相关,能反映分子的构型以及优势构象,是研究分子立体结构的一个重要核磁共振参数,与NOE和 3J 耦合常数的信息互补^[13,14].

近年来,随着该领域研究的深入,残留偶极耦合参数正逐渐在有机分子三维结构(构型和构象)测定中发挥重要作用,受到广泛关注^[15-20].本文综述了近十几年来发展的有机小分子残留偶极耦合测定的定向介质及脉冲方法,并总结利用该各向异性参数来解决天然产物立体结构、有机反应中间体测定及手性对映异构体区分等实例.

2 定向介质

准确测定RDC必须满足两个条件:一是通过一定的方法使分子的运动受限或约束其变为各向异性,使偶极耦合作用不能完全抵消,从而产生较弱的“残留偶极耦合”;二是偶极耦合作用不能太强,使得图谱质量要高分辨,线宽窄以便于提取RDC值.因此,必须将溶质分子置于一个非各向同性环境,即一种定向介质(alignment media)中,这是测定有机分子RDC的前提.目前,发展和构建结构新颖、简便实用并与有机溶剂兼容的RDC提取介质及方法成为有机化学工作者迫切追求的目标.

1963年,Saupe教授等^[21,22]报道了第一张液晶相中有机小分子氢谱:将苯溶于氧化偶氮苯甲醚液晶介质中得到H-H耦合高达2.5 kHz的多重态谱,遗憾的是,

耦合太强而无法实际应用.40年后,随着RDC理论的日臻完善,越来越多的定向介质被开发并加以实际应用^[23-26].目前用于测定有机分子的RDC主要有两类定向介质:能溶胀且可拉伸或挤压的凝胶(SAG),以及溶致液晶(LLC).凝胶介质的定向原理是先通过溶剂溶胀(一般时间较长),将待测分子机械地限定或约束于凝胶空腔内,使其各向同性的布朗运动受限;而具有一定排列取向的溶致液晶可使其取向性自发地部分转移到被分析物,从而具有约束.这些定向介质都可以在磁场中产生弱的定向排列,待测有机小分子通过与定向介质之间的相互作用会产生适度的定向性质,从而测定其残留的偶极-偶极相互作用(即RDC, D_{is}).

2.1 可拉伸或压缩凝胶

凝胶是胶体粒子或高分子在一定条件下互相结合形成的空间网状结构,结构空隙中可填充分散介质的一种特殊的分散体系.为了能准确测量RDC,同时获得分辨率尽可能高的谱图,需要对定向凝胶的强度进行调节.交联凝胶的定向强度与胶的本身性质(交联度)和棒状凝胶的直径有关.定向角度可以通过准备多个不同规格的凝胶样品,分别在核磁管内沿管壁轴向与横向自由溶胀后探究最优的定向条件^[27],也可以借助最早由德国Luy教授^[28,29]发明的拉伸装置工具,通过改变单个样品的排列强度找出适度的定向条件(图2).根据凝胶在有机溶剂中的溶解极性,将凝胶类定向介质分为以下3类定向胶.

$$D_{is} = -\frac{h\gamma_i\gamma_s\mu_0}{16\pi^2} \left\langle \frac{1}{r_{is}^3} (3\cos^2\theta - 1) \right\rangle$$

其中 i, s : H-H, C-H, C-C, N-H等

图1 两磁性核间的残留偶极耦合值计算原理及公式^[13,14](网络版彩图)

图2 核磁管内自由溶胀的凝胶^[27]和拉伸凝胶核磁装置^[28,29](网络版彩图)

2.1.1 非极性有机溶剂定向胶

交联聚苯乙烯胶(PS)是利用过氧二酰苯(DBP)引发二乙烯基苯(DVB)与苯乙烯发生聚合反应,得到可溶于常规非极性有机溶剂的胶,其定向排列能力通过改变单体的比例进行很好的控制^[27]. 由于PS胶的残留背景峰太多,增加了RDC的测量难度以及图谱解析困难. 为了解决背景峰干扰的问题,随后Luy等^[30]又发展了全氘代聚苯乙烯凝胶(dPS胶),大大降低了背景峰.

而利用10 MeV高压 β 射线激发得到不同聚合链长度及交联度的聚二甲基硅氧烷(PDMS)胶,在各种非极性有机溶剂中则表现出不同的定向能力. 通过对螺二茛类化合物两种相对构型的RDC分析与结构验证,从而确立了PDMS的实际应用价值. 然而交联过程需用到非常规的 β 射线仪,使PDMS胶不能商品化^[31]. 2017年, Thiele等改用化学合成的方法制备PDMS胶,以八甲基环四硅氧烷(D₄)为原料先分别合成交联剂(bis-D₄)和引发剂,然后三组分再聚合产生非活性的PDMS,最后150℃热处理除去催化剂组分NMe₃得到PDMS胶(图3). 合成的PDMS胶能在氯仿及四氢呋喃(THF)中产生定向作用,随后利用RDC在氯仿中测定了倍半萜类石竹烯(β -(-)-caryophyllene)的构象及有机亚磷酰胺与金属钯络合物中间体的构型,但是定向能力较弱^[32].

Gil教授等^[33]最初发展的交联聚甲基丙烯酸甲酯胶(PMMA)定向介质,在对天然产物ludartin的绝对构型分析中得到初步认定. PMMA在氯仿中的定向能力也与其交联度成正比,且采集图谱背景峰较弱. 由

于使用传统的自由溶胀制胶方法, PMMA胶的制备比较费时(需20~30 d), 测试分子均匀扩散进胶内也需要2~3 d. 随后Gil教授等^[34]通过在核磁管内植入Shigemitsu活塞,加入氯仿后挤压胶来快速制备不同定向能力角度的PMMA胶,修正了制胶繁琐等缺点,目前这种活塞挤压装置已实现了商品化(图4)^[35]. 另外,通过溶剂洗涤的方法实现对胶的回收,这些优点无疑拓宽了其适用性.

凝胶难于制备成手性定向介质,而众所周知的聚谷氨酸苄酯(PBLG)高分子具有螺旋结构. 为弥补这一缺憾,2013年, Thiele等^[36]在交联剂三乙烯四胺(TETA)的作用下合成了具有螺旋结构的手性PBLG胶(图5). 可以实现对异松蒎醇(IPC)和樟脑磺内酰胺(Cs)对映体的区分,其缺点是制胶及平衡过程需要较长时间(40℃下平衡1~2月),并且胶在应用过程中很容易碎裂.

2.1.2 极性有机溶剂定向胶

2005年, Griesinger教授等用单体2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸(AMPS)与*N,N*-二甲基丙烯酰胺(DMAA)在*N,N*-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)和引发剂过硫酸铵(APS)作用下发生聚合反应,得到交联的聚丙烯酰胺共聚物(PH胶或称PH-PDMAA胶)是第一个可溶于二甲亚砜(DMSO)的定向胶,它也可以与水、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)兼容. PH胶的定向能力适中,比PBLG定向能力小;氢谱线宽窄,有利于RDC的采集及分析^[37].

2012年Reinscheid等^[38]通过修饰PH胶单体(AMPS),采用(*R*)-APhES或(*S*)-APhES为单体按照上述Griesinger

图3 化学合成制备PDMS高分子胶^[32] (网络版彩图)

图4 商品化的挤压装置^[33,35]和经定向调节的PMMA胶^[34] (网络版彩图)

图5 交联剂作用下产生的手性PBLG胶^[36] (网络版彩图)

教授等的聚合方法, 发展了具有手性的PH胶, 在DMSO、甲醇和水溶剂中均适用, 能有效区分对映体薄荷醇, 对映体盐酸甲氟喹和马钱子碱盐酸盐等有机小分子(图6)。

Luy等^[39]发展的聚醋酸乙烯酯(PVAc)凝胶, 其合成过程与PS胶类似。PVAc胶具有广泛的溶剂普适性, 尤其在极性有机溶剂中增加了其实用性。通过对天然产物降樟脑norcamphor和抗生素sphaeropsidin A的RDC值分析, 验证了PVAc胶作为定向介质的实际应用价值。

通过电子能量激发丙烯腈产生交联的聚丙烯腈凝胶(PAN)可溶解于DMSO和DMF中, 可以调控为合适的定向排列($\Delta\nu_Q=10\sim 20$ Hz)。由于PAN胶不带电, 可以与多肽等分子相溶, 应用范围较广^[40]。受全氘代PS胶启发, 2010年, Luy等^[41]又发展了全氘代dPAN胶, 克服了背景峰干扰的缺点, 为解析样品量少且蕴含RDC信息较少的天然产物结构提供了可能。

2013年, Luy等^[42]报道了一种新型交联聚乙二醇胶(PEO)。根据合成方法可以将其分为两类: 一是利用 γ 射线激发交联的 γ -PEO凝胶; 另一种是化学修饰聚合

的PEOMMA胶。PEO能溶于水和各种有机溶剂以及混合溶剂中, 其广泛的溶解性几乎成为一种“万能的”定向胶。PEO胶也存在一些缺点: 在强酸环境下会变性; 高于50℃下会软化变质。另外, PEO胶不具有手性, 因此在进行对映异构体区分时需要加入足量的手性加合物才能实现(图7)。

最近, Gil教授等^[43,44]发展了聚甲基丙烯酸羟乙酯胶(p-HEMA)和聚乙二醇甲醚甲酰胺酯胶(p-DEGMEMA), 其物理特性及制备过程与PMMA胶类似, 是另外两种新型的、分别溶于DMSO和甲醇的极性凝胶定向介质。在采用JSB-HSQC实验对柔性分子薄荷醇(Menthol)及天然产物倒千里光碱(Retorsine)采集数据, 得到了质量更高、数据更优的图谱。

图6 非手性PH胶和手性APhES-PH胶单体^[38]

图7 两种交联的PEO在各种有机溶剂中溶胀产生的胶及相应的²H四极裂分 $\Delta\nu_Q$ ^[42] (网络版彩图)

2.1.3 水溶性定向胶

水溶性聚丙烯酰胺水凝胶(PAA)是最早应用于测定生物大分子结构的定向凝胶,在核磁管内通过压缩或拉伸进行定向角度调节^[45,46]. 2005年Luy教授等^[47]发现,一种含有明胶的德国糖果(Gummibärchen)在经过简单处理纯化后,经溶胀配制,四极氘谱 $\Delta\nu_Q$ 能产生 21 Hz 的裂分. 受此启发,随后对日常生活用的明胶(gelatin)进行研究,发现明胶不仅可以作为弱定向介质确定分子的相对构型,还可以作为手性定向介质区分对映异构体. 随后,通过电子加速使明胶交联成带负电荷的e⁻-gelatin也可以作为手性定向介质,利用RDC或RQCs(残留四极耦合)等各向异性参数可以对丙氨酸对映体有效识别^[48]. 与明胶类似,胶原蛋白(collagen)聚合物也可作为有效区分氨基酸异构体和测定生物大分子谷氨酰胺结合蛋白质GlnBP的各向异性参数的定向介质^[49,50].

表1详细总结了近年来发展的在不同溶剂中定向有机小分子的凝胶介质及其性质.

2.2 溶致液晶

液晶是一种介于液态与结晶态之间的物质状态,具有液体流动性和晶体各向异性的性质,在很多生物体系中都能观察到液晶,如脂质、纤维素和DNA都能

形成液晶相^[51]. 根据生成环境的条件不同可把液晶分为两大类:一是在某一温度范围内显现的液晶相物质称为热致液晶;二是某些物质溶解于水或有机溶剂后在某一浓度下呈现的液晶相称为溶致液晶. 溶致液晶的形貌与溶液的浓度、温度、pH和离子强度均有一定关系. 根据分子排列的方式,液晶也可分为近晶相液晶、向列相液晶和胆甾相液晶等^[52]. 与凝胶相比,液晶具有一个最重要的优点:它制样迅速,平衡时间短,因而受到广泛关注,从而拓宽了定向介质发展,为RDC的提取以及分子结构鉴定发挥了重要的作用. 根据溶致液晶的组成和性质,可以将液晶定向介质分为以下几种类型.

2.2.1 聚多肽类液晶

早在1954年, Doty等^[53]发现,聚L-谷氨酸 γ -卞酯(PBLG)可以形成向列相液晶. 随后法国Courtieu和Lesot教授等^[54-60]利用PBLG的定向作用在非极性有机溶剂中使用同位素标记分析物或氘谱实验等方法研究有机小分子异构体识别与区分,使PBLG的应用蓬勃发展. 2003年, Merlet, Thiele和Griesinger^[61-63] 3个独立课题组几乎同时报道了在PBLG中测定小分子的相对构型,成功开辟了RDC在有机分子及天然产物的立体结构解析方面的广阔天地,具有里程碑式意义. 随后更多的聚多肽 α -螺旋高分子被用作弱定向介质,主要

表1 可拉伸的凝胶定向介质溶剂的兼容性

凝胶	共存溶剂种类	手征性
Gelatin	D ₂ O	√
e ⁻ -Gelatin	D ₂ O, DMSO	√
Collagen	D ₂ O	√
PAA	D ₂ O	×
PH	D ₂ O, DMSO, DMF	×
APhES-PH	D ₂ O, DMSO, CH ₃ OH	√
PAN, dPAN	DMSO, DMF	×
PEO	D ₂ O, CD ₃ CN, CD ₃ OH, DMSO, DMAC, Acetone, THF, CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , C ₆ D ₆ , Dioxane, <i>n</i> -Hexane	×
PVAc	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , C ₆ D ₆ , CD ₃ OH, CD ₃ CN, DMSO, DMF, Acetone, EtOAc, Dioxane	×
PMMA	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , C ₆ D ₆ , CD ₃ CN, Acetone, EtOAc	×
PS, dPS	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , THF, C ₆ D ₆ , Dioxane	×
PDMS	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , THF, C ₆ D ₆ , Dioxane, <i>n</i> -Hexane	×
PBLG gel	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , THF, C ₆ D ₆ , Dioxane	√
p-HEMA	DMSO	×
p-DEGMEMA	CD ₃ OH	×

包括PBLG的对映体PBDG, PCBLL/PCBDL和PELG/PEDG等. 由于PBLG定向能力太强使耦合复杂, 造成图谱解析困难等缺点, 之后, Thiele教授等对此类液晶进行了更加详细的研究, 主要集中在降低其定向能力、改变溶质取向以及加强对映异构体识别能力方面, 目前PBLG液晶已发展为商品化的定向介质(图8). 通过增加聚合物的分子量, 使引入的聚合物链增长, PBLG能表现出更加均匀的液晶相, 同时降低了定向强度, 增强其适用性, 即使在临界浓度低于10 wt%时也可以产生很好的图谱. 这对于研究其他多肽共聚物的定向性能, 甚至其他类型高分子液晶形成机制提供了理论基础^[64-70].

相比聚多肽二级结构的 α -螺旋而言, β -聚多肽可以以更短的链长度形成液晶, 且临界浓度更低, 定向能力也相对弱一些, 更适合小分子RDC提取. 2011年, Thiele教授等^[71]发展了聚 β -ACH-多肽液晶. 此液晶在水中的临界浓度可低至1 wt%. 通过对脯氨酸的RDC

分析, 验证了聚 β -ACHC-多肽液晶作为定向介质的准确性和适用性. 此外在对映异构体识别能力方面表现显著(图9).

本课题组^[72]最新发展的AAKLTVFF多肽液晶(图10), 在低浓度的甲醇溶剂中能自组装成液晶, 也是首例甲醇体系中的液晶介质, 定向底物广谱. 具有不同官能团或芳香结构的Artemether, Ingenol, Gibberellin, Ginkgolide B, Actinomycin D, aristolochic acid A, indole-3-acetic acid等天然分子已被成功检测, 且底物提取相关RDC值的大小能通过液晶溶度的调节, 其低浓度、低黏度、易制备的特点, 增加了AAKLTVFF多肽液晶的实用性^[72], 它可以通过经典的固相合成实现商品化, 具有广泛的应用前景.

2.2.2 螺旋手性高分子液晶

2010年, Reggeli教授^[73]报道了聚苯乙基胍((R)-PPEMG)液晶, 其可在18.7 wt%的氯仿溶液中形成弱定

图8 PBLG的 α -螺旋二级结构示意图及聚多肽分子结构^[69]

图9 β -ACH-多肽结构及液晶自组装模型^[71] (网络版彩图)

图10 AAKLVFF多肽结构及在甲醇中的自组装模型^[72] (网络版彩图)

向的液晶,且能够实现对IPC的对映异构体区分。然而高浓度液晶会造成图谱半峰宽增加,限制了对RDC的准确分析;定向强度虽然比PBLG液晶小很多,但仍然达到1000 Hz,耦合作用过强;样品制备过程中纯化未形成液晶的高分子或未聚合的单体过程太繁琐(图11)。为寻找一种能代替聚脲的定向介质,一方面保留聚脲单手螺旋结构的优点,另一方面使定向能力更弱,更适宜提取RDC。2012年,Reggeline等^[74,75]和Berger等^[76]分别发展了手性氨基酸正癸酯类乙炔定向介质,它们的长链结构以及很高的分子量使其在较低的浓度下就能形成液晶相,降低了液晶的临界浓度。RDC值在-10~+15 Hz合适的范围内,且峰形窄,大大提高了提取RDC的准确度。

2012年, Berger等^[77]按照相似的思路合成了丙氨酸正癸酯聚异脲高聚物,聚异脲在氯仿、THF、二氯甲烷中均能形成液晶,在此液晶介质中的待测分子马钱子碱能呈现较弱的定向排列,但没有报道其手性识别性能(图12)。2017年, Reggeline教授^[78]通过热处理的方法对此高分子液晶进行优化,热处理后液晶性能更加稳定,并成功应用于区分对映体IPC。在此之前,本课题组^[79,80]已经相继合成出了缬氨酸正癸酯以及苯丙氨酸苄酯为侧链的螺旋聚异脲高聚物弱定向介质,通过采集相关残留偶极耦合值表明这类氨基酸类螺旋聚异脲高分子在手性模型化合物对映体区分方面都具有较好的识别性能(图12)。

本课题组^[81]还发展了一类新型二肽类聚异脲液晶(*L,L*-PIAF-OBn)弱定向介质,该结构在刚性异脲主链的螺旋外力作用下自组装为有序聚集体,且肽链侧基的引入产生的氢键作用可稳定这种生物模拟的螺旋优势构象,为构筑这种新型的定向介质提供协同效应,它可在较低浓度的氯仿溶液中自成液晶相。这一特征被成功用于马钱子碱、雷公藤甲素等复杂天然分子的立体化学研究; RDC计算结果与其单晶原子坐标的空间构型相吻合,且获得的图谱高分辨(图13)。

图11 手性螺旋聚脲和聚乙炔骨架高分子结构^[73-76]

2017年, Thiele教授等^[82]采用 C_3 对称的正十二烷基及手性癸烷基取代的苯三甲酰胺(BTA),利用其分子结构特殊的几何构型通过氢键和 π - π 堆积作用将分子扩展为三维超分子结构(图14),其非手性正十二烷基苯三甲酰胺聚合物可在弱极性溶剂 $CDCl_3$ 和 CCl_4 中组装成液晶相(临界浓度分别为26.0 wt%和14.9 wt%),可以准确采集双环戊二烯小分子的RDC值。而手性癸烷基苯三甲酰胺螺旋聚合物单独在有机溶剂中不能形成液晶相,但与非手性正十二烷基苯三甲酰胺组成的共聚物存在下会产生手性放大效应(该现象在共聚物超分子化学中称为典型的“军官-士兵效应”,即SaS),它们能在 $CDCl_3$ 和THF- d_8 中组装为手性螺旋液晶,据此他们研究了对映体 β -蒎烯在此液晶中的手性区分性能^[82]。

2.2.3 氧化石墨烯液晶

氧化石墨烯(GO)作为近年来科学界的研究热点,因其特性的理化性质:结构对称、刚性大、纵横比高和超高分子量,可在1 mg/mL浓度下形成液晶相。2014年,本课题组^[83]将GO液晶作为弱定向介质用于有机小分子的RDC的提取分析,相较于上述高分子聚合物液晶(PBLG、聚异脲、聚乙炔等),GO液晶配制过程更加快捷简单,只需将待测分子与适量氧化石墨烯以及溶剂装入核磁管中,摇晃混匀,离心平衡后即可应用,无需长时间平衡制备样品,整个过程几分钟内即可完成。而且GO具有较广的溶剂适用性,既可以溶于水,也可溶于混合溶液,如水-DMSO、水-乙腈、水-丙酮中。此外,GO液晶性质非常稳定,在pH 1~14以及温度5~80℃范围内均保持液晶相,测得的谱图无背景峰,这是

图 12 手性螺旋聚异腈骨架高分子结构^[77-80]

图 13 螺旋二肽聚异腈的结构, 液晶图片及 L,L -PIAF-OBn定向介质采集马钱子碱局部二维图谱(蓝色: 各向同性的核磁信号; 红色: 各向异性核磁信号)^[81] (网络版彩图)

图 14 超分子BTA的分子结构及自组装的SaS-液晶图片^[82] (网络版彩图)

其他定向介质所不具备的特征. GO定向能力适中, 提取的RDC值在适宜的范围内, 其 Δv_Q 随石墨烯液晶的浓缩呈现规律性变化, 可以通过改变其浓度来调控其定向能力(图15). 虽然GO作为定向介质具有如上众多优点, 但其仍然存在一些瑕疵: 不能全溶于有机溶剂, 由于 π - π 堆积效应的存在底物宽泛性受限, 黏度较高导致线宽较宽.

为解决GO液晶在常规纯有机溶剂的定向排列问题, 进一步探讨液晶形成机制及拓展其应用. 2016年, 本课题组^[84]通过自由聚合的方法把甲基丙烯酸三氟

乙酯(TFEMA)嫁接于GO表面, 得到具有二维分子刷结构的GO-g-TFEMA, 增加了GO在纯DMSO中的分散性, 成功观察到液晶相行为, 并被 ^1H NMR实验和同步辐射小角X射线散射(SAXS)技术所证实; 进而以抗疟疾药物双氢青蒿素和雌素酮为模式分子, 进行RDC的测定, 计算结果与其单晶原子坐标的空间构型相吻合(图16). 由于嫁接的氧化石墨烯液晶无背景信号, GO-g-TFEMA液晶定向介质目前受到德国Griesinger教授等^[85]的青睐, 该液晶在研究雌性激素药物乙炔雌二醇的构型、构象分析方面提供了一种新的定向方法.

图 15 浓度可调的GO液晶和有机分子在GO液晶中定向排列示意图^[83] (网络版彩图)

图 16 GO-g-TFEMA液晶制备相关图片(A)及双氢青蒿素和雌素酮RDC值的线性拟合关系(B). (a) 分子刷结构GO-g-TFEMA的合成示意图; (b) ^2H NMR实验测得的四极氘谱裂分 $\Delta\nu_Q$; (c) 核磁管内的液晶图片^[84] (网络版彩图)

2.2.4 其他水溶性液晶

早在20年前,棒状或纤维状的花叶病毒(TMV)、噬菌体(Pf1 phage)、圆盘状磷脂双分子层(bicelle)胶粒及著名的表面活性剂/醇体系形成的Otting介质相,被发现在水溶液体系中具有定向作用,随后广泛应用于生物大分子的结构测定.但是由于这些液晶对有机小分子的信号干扰太大而鲜有用于小分子结构的测定^[86,87].

兼溶于水和DMSO的五甘醇单十二烷基醚(C_{12}E_5)液晶,其定向能力可以通过调节温度和浓度来改变,可以适用于测定小极性有机分子氨基酸和五环内酯的残留偶极耦合值(图17)^[88,89].

2013年Berger等^[90]利用溴化N-十二烷基-N-甲基吡咯烷鎓盐(C_{12}MPB)离子型在水、醇或DMSO形成的三元体系液晶应用于测定葡萄糖RDC值(图17),以及

最近经上述吡咯盐结构改造的咪唑类的离子型液晶($\text{C}_{12}\text{MImBF}_4$),该液晶用于茶碱有机分子的同核RDC值测定^[91].

2014年Navarro-Vázquez教授等^[92]发现弱定向介质色甘酸二钠(DSCG),成功提取水溶性有机小分子的残留偶极耦合值,并且通过改变浓度、温度和加入盐水3种方法调节定向强度.加入盐水可减弱介质的定向程度,使残留偶极耦合值落在易控制的范围内,且可以通过控制温度在同一样品中采集到各向同性和各向异性的RDC值(图17).

2013年Suryaprakash教授等^[93]发展了一种新的核苷酸单磷酸盐手性液晶,该弱定向介质利用残留偶极耦合参数用于水溶性的脯氨酸异构体区分及三肽(Gly-Glu-Cys)化合物结构的测定(图18).

图 17 水溶性液晶介质结构^[88-92] 图 18 核苷酸单磷酸盐(5'-GMP: guanosine)结构及液晶模型^[93] (网络版彩图)

3 RDC测定有机立体化学分析方法的构建

RDC的提取是通过核磁共振二维实验获得的,一般测定同核或异核:如C-H, C-C, N-H和H-H核之间的残留耦合值,耦合值可以测定单键或者远程耦合值(nD , $n=1, 2, \dots$).原则上,大多数二维NMR脉冲实验技术可以用于测量提取偶极耦合标量耦合。然而,由于样品置于定向介质后,会使 T_2 缩小,尤其是黏度较大的液晶体系中,使得线宽增加,降低灵敏度,同时也影响核磁共振实验的演化延迟。与同位素标记生物大分子不同,有机分子,尤其是天然产物分子的样品量有限,为了提高灵敏度和精度, Luy, Thiele, Bax以及Griesinger等都致力于发展核磁共振脉冲技术应用于测定有机小分子和天然产物的各向异性参数,表2简单列出了部分用于RDC提取分析实验的各种脉冲序列及特点^[94-111]。由于在弱的定向介质中,同核偶极耦合及远程耦合的RDC值太小,精度不够,在实际应用中有局限,这里不作主要介绍。目前最受欢迎的是一键C-H RDCs,其测定方法主要是异核单量子相干实验(HSQC),常用的序列为Luy教授等发展的纯同相的脉冲(clean inphase, CLIP)和纯反相的脉冲(clean antiphase, CLAP)。常规的 F_2 -coupled HSQC由于非灵敏核间的不匹配性产生弛

豫延迟(INEPT)而造成较强的色散反相性,往往会使信号峰变形,灵敏度低,谱图质量达不到要求(图19(a))。若在常规HSQC脉冲序列的末期施加一个 ^{13}C 轴的 90° 脉冲用于补偿相应的延迟信号,即施加一个CLIP,可以得到清晰的谱图(图19(b)),对于重叠的信号,使用纯反相的脉冲序列(clean antiphase, CLAP)也可使信号加强,图谱简化,能得到较好的实验结果,为了提高精度, F_2 轴的点数在4k以上为宜^[94]。

但如果分子中有较多的H-H存在时,线宽会有所增加,分辨率可能会降低,尤其对于像甾体类、三萜类和复杂生物碱等含有较多的亚甲基情况下,可能会影响耦合增加导致谱线变宽,不能精准地测定RDC。最近, Luy, Thiele和Gil教授^[112-116]修正脉冲采集相位,通过 F_1 J -scaled HSQC, F_1 J -scaled BIRD HSQC (JSB-HSQC) (图20)或者homodecoupled J -resolved HSQC (HD- J -HSQC)等脉冲实验获得更加完美的图谱。

RDC值的计算应用以下原理:选择上述已见报道或新发展的、合适的定向介质(凝胶或液晶),经 ^2H NMR实验考察其空间定向排列能力后,将待测化合物扩散到定向介质中,利用合适的核磁脉冲实验,预先在各向同性条件下测定待测化合物的标量耦合(nJ);其次,在各向异性条件下(即弱定向介质中)测定标量耦

表 2 用于测定RDC的NMR脉冲序列简况

RDC	NMR脉冲实验	特点
$^1D_{C-H}$	CLIP/CLAP-HSQC, CLIP-ASAP-HSQC, CLIP/CLAP-RESET, J-X-BIRD ^{d,X} -HSQC, non-uniform sampling (NUS)	清晰 高信噪比
$^1D_{C-H}$, $^2D_{H-H}$	E.COSY, P.E.HSQC	单个实验
$^1D_{C-C}$	INADEQUATE, IP/AP-INADEQUATE	^{13}C 丰度低, 需高浓度
$^nD_{C-H}$	HETLOC, XLOC	不灵敏, 准确度高

图 19 常规F₂-coupled HSQC实验(a)和CLIP-HSQC实验采集图谱(b)核磁信号比较 图 20 F₁ JSB-HSQC采集亚甲基和次甲基RDC示意图^[115](网络版彩图)

合和偶极耦合的总和(即复合耦合值, nT), 残留偶极耦合由两者的差值得到($^nD = ^nT - ^nJ$, 一般测量5个以上正交 nD 值, 越多越好). 通过合适的软件计算实验提取的RDC与预测可能构型的RDC匹配性(SVD法拟合预测), 拟合结果一般通过 Q 值反映出来(Q 值为 nD 实验测定值和预测值的均方根, 最早由Cornilescu提出在液晶介质中验证蛋白结构有效性), Q 值越低, 说明建模预测的构型与其实构型一致, 从而建立运用RDC分析有机

小分子相对构型的方法(图21). 对于无法确定其构型的合成分子或天然产物, 运用上述模型方法的流程, 通过RDC提取分析, 或结合NOE相关谱、化合物的圆二色谱(CD)或旋光色谱(ORD)、密度泛函理论(density functional theory, DFT)计算等必要的三维模型构建手段, 就能清晰地给出化合物的构型(相对构型、构象, 甚至绝对构型)^[117-121].

利用残留偶极耦合参数识别与区分对映体的步骤为: 按照上述RDC值计算流程图, 将手性对映体分子分别在手性液晶检测上述NMR实验, 测定相应的RDC值, 然后将两个体系RDC值计算所得的定向排列张量按以下公式计算:

$$GCB = \cos\beta = \frac{\langle A^{(1)} | A^{(2)} \rangle}{\|A^{(1)}\| \|A^{(2)}\|} \quad (1)$$

$$\text{with } \langle A^{(1)} | A^{(2)} \rangle = \sum_{ij} A_{ij}^{(1)} A_{ij}^{(2)}$$

$$\text{and } \|A\| = \sqrt{\langle A | A \rangle} = \sqrt{\sum_{ij} A_{ij}^2}$$

其中 A 代表定向排列张量, $|A|$ 代表归一化的标量张量, GCB (the generalized cosine β) 为两个体系归一化标量

图 21 RDC分析确认立体构型流程图(网络版彩图)

张量的非相似性, 即该值越大, β 角度越小, 差异越小; 反之, 该值越小, β 角度越大, 差异越大。该方法早期主要用在蛋白的动力学研究中, 现引入到手性区分能力评价。当一对手性对映体分别检测得到两套RDC值, 进行计算, 若得到 β 角度越大时, 表示对映体在手性介质的作用下, 在磁场中的方位差异越大, 即体现该定向介质手性区分能力越强。手性识别模型的构建, 从理论上和实验上深入研究手性识别机制, 为RDC确立绝对构型奠定基础^[122-124]。

4 RDC在天然产物结构鉴定中的应用

残留偶极耦合已经在生物大分子如多糖、多肽、蛋白质以及核酸的结构鉴定等方面得到了成功应用, 目前也成功应用于许多有机小分子, 其测定范围十分广泛, 从简单结构分子到非常复杂分子, 从刚性分子到柔性分子陆续被报道, 尤其是近些年在多手性中心且灵活度高的天然产物绝对构型的测定方面有进一步新发展。本节全面汇总了近14年内(2003~2017年)利用RDC测定天然产物结构的实例(图22及表3), 包括利用RDC对天然产物进行构象、相对构型和绝对构型的分析测定。

5 RDC在有机合成结构分析中的应用

除在天然产物结构鉴定之外, 利用RDC技术开展有机合成化学立体化学结构的研究或反应机理中的络合物中间体优势构象的研究已经取得了一定成果,

如具有不同生理活性的合成药物分子的相对构型或绝对构型的测定; 涉及不同的有机反应类型: 光控反应产生的不同构象形式; 不对称烯丙基烷基化中的金属-配体络合物构象的研究; 过渡金属催化的Michael加成反应产物绝对构型的测定等(图23和表4)。

6 RDC在手性对映体区分中的应用

发展具有手性的定向介质对于拓展RDC各向异性参数的应用领域具有重要价值, 如手性小分子异构体的区别与分析。目前, PBLG/PBDG, PELG/PEDG, PCBL/PCBDL等均聚多肽定向介质是研究对映体识别使用最广泛的手性液晶, 早期的研究基本上是利用氘或 ^{13}C 的天然丰度来区分对映异构体, 该方法需要样品量较多, 且需耗费较长的采样时间, 后来侧重研究RDC各向异性参数在手性介质中的差异分析。目前, 对于手性异构体的研究仍然处于不断寻求和发展优秀的手性定向介质的阶段, 即一般使用较为常见的刚性结构的对映体模式分子(如IPC)作为分析物考察手性介质的区分性能, 而对于水溶性的定向介质一般使用L-或D-丙氨酸或脯氨酸等天然氨基酸作为研究对象(图24)。

2013年, Thiele等^[36]利用聚合的PBLG聚合胶定向介质, 通过 F_1 SB-HSQC实验记录异构体IPC和Cs二维谱, 计算它们的一键C-H残留偶极耦合值差别在7 Hz以上, 其中映对体IPC区分角度达 27° , 而在PBLG液晶中的区分角度仅为 8.1° , 成功实现了对映体的区分。2016年, Thiele教授^[170]通过提高聚多肽的分子量, 增加液晶

图 22 利用RDC参数成功解析的天然产物结构

续图22

表 3 RDC在天然产物结构解析中的应用

天然产物	定向介质	年份	应用	文献
Strychnine	PBLG/CDCl ₃ , PELG/CDCl ₃ , PS/CDCl ₃	2003, 2004, 2005	prochiral assignment	[61,66,132,133]
Sodium cholate	PAA/D ₂ O	2003	relative configuration	[25]
Cyclosporin A	PDMS/CDCl ₃	2005	conformation	[125]
Sphaeropsidin A	PVAc/DMSO	2005	prochiral assignment	[39]
γ -Butyrolactone	(C ₁₂ E ₃)/ <i>n</i> -Hexanol/D ₂ O	2006, 2009	relative configuration	[136~138]
Hormaomycin	PH-PDMAA /DMSO	2006	conformation	[127]
Sagittamide A	PH-PDMAA, PAN/DMSO	2007	relative configuration	[135]
Ludartin	PMMA/CDCl ₃	2008	relative configuration	[33]
Staurosporine	dPS/CDCl ₃	2008	relative configuration,	[30]
Cylindramide	PAN/DMSO	2008	conformation	[128]
Archazolid A	PH-PDMAA/DMSO	2008	relative configuration, conformation	[129]
Sucro-neolambertellin	PH-PDMAA, PAN/DMSO	2008	relative configuration	[141]
Withanolides	PMMA/CDCl ₃	2009	absolute configuration	[134]
Tricyclocohumol	dPAN/DMSO	2009	relative configuration	[145]
10- <i>epi</i> -8-Deoxycumambrin B	PMMA/CDCl ₃	2010	relative configuration	[34,114]
(-)-Dibromopalau'amine	PAN/DMSO	2010	absolute configuration	[142]
Parthenolide	PAN/DMSO	2010	conformation	[29]
Fibrosterol sulfate A	dPAN/DMSO	2011	relative configuration	[140]
Asperdimin analog	PDMS/CDCl ₃	2011	relative and absolute configuration	[144]
Vatiparol	PH/DMSO	2012	absolute configuration	[146]
19-OH-(-)-Eburnamonine	PMMA/CDCl ₃	2012	absolute configuration	[143]
4,6-Diacetylhygrophorone A ¹²	PBLG/CD ₂ Cl ₂	2013	relative configuration	[139]
Rifamycin-S	PDMS/CDCl ₃	2013	relative configuration, conformation	[126]
Cyclolinopeptide A	PDMS/CDCl ₃	2014	conformation	[130]
Melohenine B	PBLG/CDCl ₃	2015	conformation	[131]
α -Santonin	PAN/DMSO	2015	relative configuration	[147]
Retrorsine	p-HEMA, PMMA/DMSO	2016	conformation	[43,16]
Fusariumin A	PH/DMSO	2016	absolute configuration	[148]
Dihydroartemisin	GO-g-TFEMA/DMSO	2016	configuration	[84]
Homodimericin A	p-HEMA/DMSO	2016	relative configuration	[149]
β -(-)-Caryophyllene	PDMS/CDCl ₃	2017	conformation	[32]
Xylorumpiins	PMMA/CDCl ₃	2017	relative configuration	[150]
Methylgriselimycin	PDMS/CDCl ₃	2017	conformation	[151]
Cryptospirolepine	p-HEMA/DMSO	2017	relative configuration	[152]
Aquatolide	p-HEMA/DMSO	2017	relative configuration	[152]
Ecteinaamycin	PMMA/CDCl ₃	2017	relative configuration	[153]
β -Heptapeptide	PVAc/CD ₃ OH	2017	relative configuration	[154]

图 23 利用RDC参数成功解析的合成药物、有机反应中间体和反应产物的结构

表 4 RDC在合成药物或有机中间体结构分析中的应用

合成分子	定向介质	年份	应用	文献
Dihydropyridone (<i>cis/trans</i>)	PBLG-PBDG mix/ CDCl_3	2003	relative configuration	[63]
Spiroindene	PDMS/ CDCl_3	2004	relative configuration	[1,31]
Bicyclic glutamate analog	pfl phage-bicelles/ D_2O	2004	relative configuration	[155]
Phenylmenthol	PELG/ CDCl_3	2009	configuration	[156]
Benzazepine	PDMS/ CD_2Cl_2	2010	conformation	[157]
Pd-morphous complex	PELG/ CD_2Cl_2	2010	conformation	[158]
Salsolidine·HCl	CPCL/ D_2O	2010	conformation	[159]
Dextromethorphan	PS/ CDCl_3	2010	relative configuration	[160]
Tricyclic aziridine	PS/ CDCl_3	2011	constitution, configuration	[17,161]
Michael adduct	PAN//DMSO	2011	relative/absolute configuration	[162]
Mefloquine·HCl	(<i>S</i>)-APhES- PDMAA/ CD_3OD	2012	absolute configuration	[163]
Lorcaserin	AMPS-acrylamide copolymer/ D_2O	2013	conformation	[164]
Calix[4]arene	PBLG or polyacetylene/ CDCl_3	2014	conformation	[165]
Pd-complexesAandB	PDMS/THF- d_8	2015, 2017	constitution, conformation	[32,166]
Dithienylcyclopentene	PBLG gel/ CDCl_3	2015	conformation	[167]
Spiroepoxide	PELG/ CDCl_3	2015	constitution, relative configuration	[168]
β -Amino acid esters	PS/ CDCl_3	2015	relative configuration	[169]
Spiroketal	p-HEMA/DMSO	2017	relative configuration, conformation	[152]

图 24 RDC手性区分对映体代表性的有机分子结构

自组装长度, 合成了更高分子量的PBLG和PELG, 并比较了它们识别对映体IPC和蒎烯 β -pinene的能力: PELG液晶的识别性能要优于PBLG液晶. 2017年Thiele教授等^[171]又通过修饰PBLG或PELG的末端酯基结构, 引入(S)-手性异戊基辅基边链形成的手性液晶PSMBLG和PSMBDG (图25), 它们对(+)-IPC和(-)-IPC的手性识别 β 角度分别是16.6°和23.4°, 同时在PSMBDG液晶中也研究了天然产物(-)-curcumol的结构. 同年, Thiele教授等^[172]又发展了一种温控性手性聚谷氨酸苄酯PPLA和PPDA的四氯乙烷液晶, 对(+)-IPC和(-)-IPC的手性识别 β 角度分别达到43.4°和44.3°, 当液晶温度提高至120℃时, 其识别效果仍然可观(β =19.1°, 19.8°) (图25).

Kuchel等^[173]报道了拉伸或压缩聚多糖类的手性胶, 即Iota-和Kappa-carageenan定向介质(图26). Kappa-

图25 手性PSMBLG及PSMBDG与PPLA及PPDA液晶定向介质的结构^[171,172]

图26 聚多糖手性胶Iota-和kappa-carrageenan结构^[173]

carageenan胶在水溶液中能区分丙氨酸消旋体和确定甘氨酸的潜手性H原子, 而Iota-carageenan介质能观察到DMSO- d_6 溶剂中 CD_3 的氘裂分, 其性质与Luy等报道的明胶gelatin手性介质类似. 将缬氨酸的对映异构体按照L-缬氨酸/D-缬氨酸=1.2:1的比例扩散进手性明胶内, 成功实现了对映异构体的区分^[47]. 而Reinscheid等^[38]以聚丙烯酰胺为基础发展了(R)-APhES或(S)-APhES-PH胶手性介质(见2.1小节, 图6), 能溶解于水和有机溶剂二甲亚砜、甲醇中, 可实现对有机胺类的对映体区分. 能有效区分甲氟喹盐酸盐(β =11.3°)、马钱子碱盐酸盐(β =16.8°)、薄荷胺盐酸盐(β =40.5°)的对映异构体, 其机理可能是定向介质中含有酸性基团与待测化合物的氨基发生了弱的相互作用.

2007年, 通过相关RDC参数研究了(R)或(S)-布洛芬(ibuprofen)异构体在PBLG/ $CDCl_3$ 液晶中的不同, 这种方法对拥有一个或两个手性中心, 可溶于低黏度有机溶剂并且不会结晶析出的有机小分子也适用^[174]. 而Suryaprakash教授等^[175,176]利用二维C-HETSERF, INAD-EQUATE实验在PBLG/ $CDCl_3$ 手性液晶中, 提取同核或杂核 $^1D_{C-H}$, $^1D_{C-C}$ 和 $^1D_{H-H}$, 经过DFT模型计算, 清晰地确认了丙烯酸碳酸酯对映体.

7 总结与展望

利用残留偶极耦合构建分子的空间结构是核磁共振波谱学、生物大分子结构、有机分析研究领域的前沿和热点. RDC参数的测定方法及应用RDC解析相关分子结构的研究工作目前已呈现蓬勃发展之势. 而应用残留偶极耦合的先决条件是弱定向介质的构建, 因此随着性能优异的定向介质被不断开发, 更多结构复杂多变的有机分子的鉴定瓶颈问题被逐渐破除. 为实现这种方法在实验室的常规检测, 更优秀的手性定向介质开发是未来发展的一个重要方向, 为解决许多新结构的绝对构型或对映体过量分析的测定提供更多选择. 同时随着定向介质中检测脉冲技术不断优化与修正, 为解决远程残留各向异性参数的测定方面提供可能. 而柔性分子构象分布的计算目前仍具挑战, 限制了当前RDC主要用于刚性和半刚性分子, 或柔性大分子中的较大刚性片段的分析. 但计算机辅助的分子模拟构型和构象分析软件的发展, 为柔性有机分子的结构模型的建立提供便利. 更有想象空间的是随着人工智能的发展, 采用RDC全局约束的特征,

可能被用于有机分子结构的图谱自动归属及结构鉴定. 在若干年内, RDC可能成为实验室常用的结构鉴

定和推断方法, 实现RDC技术在有机化学领域的广泛应用.

参考文献

- 1 Yan J, Zartler ER. *Magn Reson Chem*, 2005, 43: 53–64
- 2 Gschwind RM. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 4666–4668
- 3 Luy B, Kessler H. *Modern Magn Reson*, 2006, 1279–1285
- 4 Thiele CM. *Eur J Org Chem*, 2008, 2008: 5673–5685
- 5 Annila A, Permi P. *Concepts Magn Reson*, 2004, 23A: 22–37
- 6 Thiele CM. *Concepts Magn Reson*, 2007, 30A: 65–80
- 7 Kummerlöwe G, Luy B. *TrAC Trends Anal Chem*, 2009, 28: 483–493
- 8 Kummerlöwe G, Luy B. *Annu Rep NMR Spectrosc*, 2009, 68: 193–232
- 9 Böttcher B, Thiele CM. *eMagRes*, 2012, 1: 169–180
- 10 Canales A, Jiménez-Barbero J, Martín-Pastor M. *Magn Reson Chem*, 2012, 50: S80–S85
- 11 Batista Jr JM, Blanch EW, Bolzani VS. *Nat Prod Rep*, 2015, 32: 1280–1302
- 12 Schmidts V. *Magn Reson Chem*, 2017, 55: 54–60
- 13 Gil RR, Griesinger C, Navarro-Vázquez A, Sun H. Structural elucidation of small organic molecules assisted by NMR in aligned media. In: Cid MM, Bravo J, Eds. *Structure Elucidation in Organic Chemistry: the Search for the Right Tools*: 1st Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2014. 279–323
- 14 Gil RR, Navarro-Vázquez A. Application of residual dipolar couplings to the structural analysis of natural products. In: Williams A, Martin G, Rovnyak D, Eds. *Modern NMR Approaches to the Structure Elucidation of Natural Products*. Vol. 2, Chapter 4. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2016. 117–176
- 15 Hellemann E, Teles RR, Hallwass F, Barros Jr W, Navarro-Vázquez A, Gil RR. *Chem Eur J*, 2016, 22: 16632–16635
- 16 Nath N, Schmidt M, Gil RR, Williamson RT, Martin GE, Navarro-Vázquez A, Griesinger C, Liu Y. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 9548–9556
- 17 Gil RR. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 7222–7224
- 18 Kummerlöwe G, Grage SL, Thiele CM, Kuprov I, Ulrich AS, Luy B. *J Magn Reson*, 2011, 209: 19–30
- 19 Hallwass F, Schmidt M, Sun H, Mazur A, Kummerlöwe G, Luy B, Navarro-Vázquez A, Griesinger C, Reinscheid UM. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 9487–9490
- 20 Wirz LN, Allison JR. *J Biomol NMR*, 2015, 62: 25–29
- 21 Saupe A, Englert G. *Phys Rev Lett*, 1963, 11: 462–464
- 22 Saupe A. *Z für Naturforschung A*, 1964, 19: 161–171
- 23 Tjandra N, Bax A. *Science*, 1997, 278: 1111–1114
- 24 Yan J, Kline AD, Mo H, Shapiro MJ, Zartler ER. *J Org Chem*, 2003, 68: 1786–1795
- 25 Mangoni A, Esposito V, Randazzo A. *Chem Commun*, 2003, 154–155
- 26 Prestegard JH, Bougault CM, Kishore AI. *Chem Rev*, 2004, 104: 3519–3540
- 27 Luy B, Kobzar K, Kessler H. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 1092–1094
- 28 Kummerlöwe G, Halbach F, Laufer B, Luy B. *Open Spectrosc J*, 2008, 2: 29–33
- 29 Kummerlöwe G, McCord EF, Cheatham SF, Niss S, Schnell RW, Luy B. *Chem Eur J*, 2010, 16: 7087–7089
- 30 Kummerlöwe G, Knör S, Frank AO, Paululat T, Kessler H, Luy B. *Chem Commun*, 2008, 12: 5722
- 31 Freudenberger JC, Spiteller P, Bauer R, Kessler H, Luy B. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 14690–14691
- 32 Moskalenko YE, Bagutski V, Thiele CM. *Chem Commun*, 2017, 53: 95–98
- 33 Gil RR, Gayathri C, Tsarevsky NV, Matyjaszewski K. *J Org Chem*, 2008, 73: 840–848
- 34 Gayathri C, Tsarevsky NV, Gil RR. *Chem Eur J*, 2010, 16: 3622–3626
- 35 Specialty NMR sample tubes, compression gel device. Vineland, NJ: New Era Enterprises, Inc. <http://www.newera-spectro.com>
- 36 Montag T, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2013, 19: 2271–2274
- 37 Haberz P, Farjon J, Griesinger C. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 427–429
- 38 Schmidt M, Sun H, Leonov A, Griesinger C, Reinscheid UM. *Magn Reson Chem*, 2012, 50: S38–S44
- 39 Freudenberger JC, Knör S, Kobzar K, Heckmann D, Paululat T, Kessler H, Luy B. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 423–426

- 40 Kummerlöwe G, Auernheimer J, Lendlein A, Luy B. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 6080–6081
- 41 Kummerlöwe G, Behl M, Lendlein A, Luy B. *Chem Commun*, 2009, 46: 8273
- 42 Merle C, Kummerlöwe G, Freudenberger JC, Halbach F, Stöwer W, Gostomski CL, Höpfner J, Beskers T, Wilhelm M, Luy B. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 10309–10312
- 43 Gil-Silva LF, Santamaria-Fernández R, Navarro-Vázquez A, Gil RR. *Chem Eur J*, 2016, 22: 472–476
- 44 García ME, Woodruff SR, Hellemann E, Tsarevsky NV, Gil RR. *Magn Reson Chem*, 2017, 55: 206–209
- 45 Tycko R, Blanco FJ, Ishii Y. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 9340–9341
- 46 Sass HJ. *J Biomol NMR*, 2000, 18: 303–309
- 47 Kobzar K, Kessler H, Luy B. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 3145–3147
- 48 Kummerlöwe G, Kiran MU, Luy B. *Chem Eur J*, 2009, 15: 12192–12195
- 49 Eliav U, Navon G. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 15956–15957
- 50 Ma J, Goldberg GI, Tjandra N. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 16148–16149
- 51 Broer DJ, Bastiaansen CMW, Debije MG, Schenning APHJ. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 7102–7109
- 52 Giese M, Blusch LK, Khan MK, MacLachlan MJ. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 2888–2910
- 53 Doty P, Holtzer AM, Bradbury JH, Blout ER. *J Am Chem Soc*, 1954, 76: 4493–4494
- 54 Meddour A, Canet I, Loewenstein A, Pechine JM, Courtieu J. *J Am Chem Soc*, 1994, 116: 9652–9656
- 55 Canet I, Meddour A, Courtieu J, Canet JL, Salaun J. *J Am Chem Soc*, 1994, 116: 2155–2156
- 56 Canet I, Courtieu J, Loewenstein A, Meddour A, Pechine JM. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 6520–6526
- 57 Lesot P, Merlet D, Loewenstein A, Courtieu J. *Tetrahedron-Asymmetry*, 1998, 9: 1871–1881
- 58 Merlet D, Ancian B, Courtieu J, Lesot P. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 5249–5258
- 59 Sarfati M, Lesot P, Merlet D, Courtieu J. *Chem Commun*, 2000: 2069–2081
- 60 Canlet C, Merlet D, Lesot P, Meddour A, Loewenstein A, Courtieu J. *Tetrahedron-Asymmetry*, 2000, 11: 1911–1918
- 61 Thiele CM, Berger S. *Org Lett*, 2003, 5: 705–708
- 62 Verdier L, Sakhaei P, Zweckstetter M, Griesinger C. *J Magn Reson*, 2003, 163: 353–359
- 63 Aroulanda C, Boucard V, Guibé F, Courtieu J, Merlet D. *Chem Eur J*, 2003, 9: 4536–4539
- 64 Aroulanda C, Sarfati M, Courtieu J. *Enantiomer*, 2001, 6: 281–287
- 65 Lesot P, Sarfati M, Courtieu J. *Chem Eur J*, 2003, 9: 1724–1745
- 66 Thiele CM. *J Org Chem*, 2004, 69: 7403–7413
- 67 Marx A, Schmidts V, Thiele CM. *Magn Reson Chem*, 2009, 47: 734–740
- 68 Marx A, Böttcher B, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2010, 16: 1656–1663
- 69 Luy B. *J Indiana Inst Sci*, 2012, 90: 119–132
- 70 Marx A, Thiele C. *Chem Eur J*, 2009, 15: 254–260
- 71 Thiele CM, Pomerantz WC, Abbott NL, Gellman SH. *Chem Commun*, 2011, 47: 502–504
- 72 Lei X, Qiu F, Sun H, Bai L, Wang WX, Xiang W, Xiao H. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 12857–12861
- 73 Arnold L, Marx A, Thiele CM, Reggeline M. *Chem Eur J*, 2010, 16: 10342–10346
- 74 Meyer NC, Krupp A, Schmidts V, Thiele CM, Reggeline M. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 8334–8338
- 75 Krupp A, Reggeline M. *Magn Reson Chem*, 2012, 50: S45–S52
- 76 Dama M, Berger S. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53: 6439–6442
- 77 Dama M, Berger S. *Org Lett*, 2012, 14: 241–243
- 78 Reller M, Wesp S, Koos MRM, Reggeline M, Luy B. *Chem Eur J*, 2017, 23: 13351–13359
- 79 刘亚婷. 新型残留偶极耦合提取介质的合成与应用. 硕士学位论文. 温州: 温州大学, 2015
- 80 李高伟. 残留偶极耦合参数在有机分子结构解析及NMR波谱在手性识别中的应用. 博士学位论文. 南京: 南京大学, 2017
- 81 Li GW, Cao JM, Zong W, Hu L, Hu ML, Lei X, Sun H, Tan RX. *Chem Eur J*, 2017, 23: 7653–7656
- 82 Leyendecker M, Meyer NC, Thiele CM. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 11471–11474
- 83 Lei X, Xu Z, Sun H, Wang S, Griesinger C, Peng L, Gao C, Tan RX. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 11280–11283
- 84 Zong W, Li GW, Cao JM, Lei X, Hu ML, Sun H, Griesinger C, Tan RX. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 3690–3693
- 85 França JAA, Navarro-Vázquez A, Lei X, Sun H, Griesinger C, Hallwass F. *Magn Reson Chem*, 2017, 55: 297–303
- 86 Hansen MR, Mueller L, Pardi A. *Nat Struct Mol Biol*, 1998, 5: 1065–1074
- 87 Rückert M, Otting G. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 7793–7797
- 88 Klochkov VV, Klochkov AV, Thiele CM, Berger S. *J Magn Reson*, 2006, 179: 58–63

- 89 Pham TN, Hinchley SL, Rankin DWH, Liptaj T, Uhrin D. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 13100–13110
- 90 Dama M, Berger S. *Carbohydr Res*, 2013, 377: 44–47
- 91 Di Pietro ME, Celebre G, De Luca G. *J Magn Reson*, 2016, 267: 63–67
- 92 Troche-Pesqueira E, Cid MM, Navarro-Vázquez A. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 1957–1965
- 93 Lokesh , Suryaprakash N. *Chem Commun*, 2013, 49: 2049
- 94 Enthart A, Freudenberger JC, Furrer J, Kessler H, Luy B. *J Magn Reson*, 2008, 192: 314–322
- 95 Kaltschnee L, Kolmer A, Timári I, Schmidts V, Adams RW, Nilsson M, Kövér KE, Morris GA, Thiele CM. *Chem Commun*, 2014, 50: 15702–15705
- 96 Timári I, Kaltschnee L, Kolmer A, Adams RW, Nilsson M, Thiele CM, Morris GA, Kövér KE. *J Magn Reson*, 2014, 239: 130–138
- 97 Zangger K. *Prog Nucl Magn Reson Spectr*, 2015, 86–87: 1–20
- 98 Becker J, Luy B. *Magn Reson Chem*, 2015, 53: 878–885
- 99 Wu Z, Bax A. *J Magn Reson*, 2001, 151: 242–252
- 100 Tian F, Bolon PJ, Prestegard JH. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 7712–7713
- 101 Yu B, van Ingen H, Freedberg DI. *J Magn Reson*, 2013, 228: 159–165
- 102 Schwalbe H, Marino JP, King GC, Wechselberger R, Bermel W, Griesinger C. *J Biomol NMR*, 1994, 4: 631–644
- 103 Martín-Pastor M, Canales-Mayordomo A, Jiménez-Barbero J. *J Biomol NMR*, 2003, 26: 345–353
- 104 Carlomagno T, Peti W, Griesinger C. *J Biomol NMR*, 2000, 17: 99–109
- 105 Tzvetkova P, Simova S, Luy B. *J Magn Reson*, 2007, 186: 193–200
- 106 Jin L, Uhrin D. *Magn Reson Chem*, 2007, 45: 628–633
- 107 Parella T, Espinosa JF. *Prog Nucl Magn Reson Spectr*, 2013, 73: 17–55
- 108 Nath N, d'Auvergne EJ, Griesinger C. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 12706–12710
- 109 Uhrin D, Batta G, Hruby VJ, Barlow PN, Kövér KE. *J Magn Reson*, 1998, 130: 155–161
- 110 Meissner A, Sørensen OW. *Magn Reson Chem*, 2001, 39: 49–52
- 111 Bax A, Freeman R, Kempell SP. *J Am Chem Soc*, 1980, 102: 4849–4851
- 112 Furrer J, John M, Kessler H, Luy B. *J Biomol NMR*, 2007, 37: 231–243
- 113 Thiele CM, Bermel W. *J Magn Reson*, 2012, 216: 134–143
- 114 Trigo-Mouriño P, Navarro-Vázquez A, Ying J, Gil RR, Bax A. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 7576–7580
- 115 Snider JD, Troche-Pesqueira E, Woodruff SR, Gayathri C, Tsarevsky NV, Gil RR. *Magn Reson Chem*, 2012, 50: S86–S91
- 116 Castañar L, Garcia M, Hellemann E, Nolis P, Gil RR, Parella T. *J Org Chem*, 2016, 81: 11126–11131
- 117 Zweckstetter M. *Nat Protoc*, 2008, 3: 679–690
- 118 Navarro-Vázquez A. *Magn Reson Chem*, 2012, 50: S73–S79
- 119 Berger R, Fischer C, Klessinger M. *J Phys Chem A*, 1998, 102: 7157–7167
- 120 Cornilescu G, Marquardt JL, Ottiger M, Bax A. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 6836–6837
- 121 Losonczi JA, Andrec M, Fischer MWF, Prestegard JH. *J Magn Reson*, 1999, 138: 334–342
- 122 Kramer F, Deshmukh MV, Kessler H, Glaser SJ. *Concepts Magn Reson*, 2004, 21A: 10–21
- 123 Sass J, Cordier F, Hoffmann A, Rogowski M, Cousin A, Omichinski JG, Löwen H, Grzesiek S. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 2047–2055
- 124 Berger R, Courtieu J, Gil RR, Griesinger C, Köck M, Lesot P, Luy B, Merlet D, Navarro-Vázquez A, Reggelen M, Reinscheid UM, Thiele CM, Zweckstetter M. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 8388–8391
- 125 Klages J, Neubauer C, Coles M, Kessler H, Luy B. *ChemBioChem*, 2005, 6: 1672–1678
- 126 Kakita VMR, Rachineni K, Bharatam J. *J Mol Struct*, 2013, 1053: 122–126
- 127 Reinscheid UM, Farjon J, Radzom M, Haberk P, Zeeck A, Blackledge M, Griesinger C. *ChemBioChem*, 2006, 7: 287–296
- 128 Cramer N, Helbig S, Baro A, Laschat S, Diestel R, Sasse F, Mathieu D, Richter C, Kummerlöwe G, Luy B, Schwalbe H. *ChemBioChem*, 2008, 9: 2474–2486
- 129 Farès C, Hassfeld J, Menche D, Carlomagno T. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 3722–3726
- 130 Huben K, Jewgiński M, Pabis A, Paluch P, Luy B, Jankowski S. *J Pept Sci*, 2014, 20: 901–907
- 131 Lancefield CS, Slawin AMZ, Westwood NJ, Lebl T. *Magn Reson Chem*, 2015, 53: 467–475
- 132 Luy B, Kobzar K, Knör S, Furrer J, Heckmann D, Kessler H. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 6459–6465
- 133 Thiele CM. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 2787–2790
- 134 García ME, Pagola S, Navarro-Vázquez A, Phillips DD, Gayathri C, Krakauer H, Stephens PW, Nicotra VE, Gil RR. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 5670–5674

- 135 Schuetz A, Junker J, Leonov A, Lange OF, Molinski TF, Griesinger C. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 15114–15115
- 136 Thiele CM, Marx A, Berger R, Fischer J, Biel M, Giannis A. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 4455–4460
- 137 Thiele CM, Maliniak A, Stevansson B. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 12878–12879
- 138 Thiele CM, Schmidts V, Böttcher B, Louzao I, Berger R, Maliniak A, Stevansson B. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 6708–6712
- 139 Schmidts V, Fredersdorf M, Lübken T, Porzel A, Arnold N, Wessjohann L, Thiele CM. *J Nat Prod*, 2013, 76: 839–844
- 140 Sun H, Reinscheid UM, Whitson EL, d’Auvergne EJ, Ireland CM, Navarro-Vázquez A, Griesinger C. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 14629–14636
- 141 Schuetz A, Murakami T, Takada N, Junker J, Hashimoto M, Griesinger C. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 2032–2034
- 142 Reinscheid UM, Köck M, Cychon C, Schmidts V, Thiele CM, Griesinger C. *Eur J Org Chem*, 2010, 2010: 6900–6903
- 143 Trigo-Mouriño P, Sifuentes R, Navarro-Vázquez A, Gayathri C, Maruenda H, Gil RR. *Nat Prod Commun*, 2012, 7: 735–738
- 144 Pérez-Balado C, Sun H, Griesinger C, de Lera AR, Navarro-Vázquez A. *Chem Eur J*, 2011, 17: 11983–11986
- 145 Intelmann D, Kummerlöwe G, Haseleu G, Desmer N, Schulze K, Fröhlich R, Frank O, Luy B, Hofmann T. *Chem Eur J*, 2009, 15: 13047–13058
- 146 Ge HM, Sun H, Jiang N, Qin YH, Dou H, Yan T, Hou YY, Griesinger C, Tan RX. *Chem Eur J*, 2012, 18: 5213–5221
- 147 Teles RR, França JAA, Navarro-Vázquez A, Hallwass F. *Quim Nova*, 2015, 38: 1345–1350
- 148 Liu LY, Sun H, Griesinger C, Liu JK. *Nat Prod Bioprospect*, 2016, 6: 41–48
- 149 Mevers E, Sauri J, Liu Y, Moser A, Ramadhar TR, Varlan M, Williamson RT, Martin GE, Clardy J. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 12324–12327
- 150 Waratchareeyakul W, Hellemann E, Gil RR, Chantapromma K, Langat MK, Mulholland DA. *J Nat Prod*, 2017, 80: 391–402
- 151 Fredersdorf M, Kurz M, Bauer A, Ebert MO, Rigling C, Lannes L, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2017, 23: 5729–5735
- 152 Liu Y, Sauri J, Mevers E, Peczu MW, Hiemstra H, Clardy J, Martin GE, Williamson RT. *Science*, 2017, 356: eaam5349
- 153 Cornilescu G, Ramos Alvarenga RF, Wyche TP, Bugni TS, Gil RR, Cornilescu CC, Westler WM, Markley JL, Schwieters CD. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 2157–2163
- 154 Rigling C, Ebert MO. *Magn Reson Chem*, 2017, 55: 655–661
- 155 Yan J, Delaglio F, Kaerner A, Kline AD, Mo H, Shapiro MJ, Smitka TA, Stephenson GA, Zartler ER. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 5008–5017
- 156 Sánchez-Pedregal VM, Santamaría-Fernández R, Navarro-Vázquez A. *Org Lett*, 2009, 11: 1471–1474
- 157 Gayathri C, de la Fuente MC, Luy B, Gil RR, Navarro-Vázquez A. *Chem Commun*, 2010, 46: 5879
- 158 Böttcher B, Schmidts V, Raskatov JA, Thiele CM. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 205–209
- 159 Trigo-Mouriño P, Santamaría-Fernández R, Sánchez-Pedregal VM, Navarro-Vázquez A. *J Org Chem*, 2010, 75: 3101–3104
- 160 Swarbrick JD, Ashton TD. *Chirality*, 2010, 22: 42–49
- 161 Kummerlöwe G, Crone B, Kretschmer M, Kirsch SF, Luy B. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 2643–2645
- 162 Sun H, d’Auvergne EJ, Reinscheid UM, Dias LC, Andrade CK, Rocha RO, Griesinger C. *Chem Eur J*, 2011, 17: 1811–1817
- 163 Schmidt M, Sun H, Rogne P, Scriba GKE, Griesinger C, Kuhn LT, Reinscheid UM. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 3080–3083
- 164 Trigo-Mouriño P, de la Fuente MC, Gil RR, Sánchez-Pedregal VM, Navarro-Vázquez A. *Chem Eur J*, 2013, 19: 14989–14997
- 165 Vrzal L, Flídrová K, Tobrman T, Dvořáková H, Lhoták P. *Chem Commun*, 2014, 50: 7590
- 166 Xie LG, Bagutski V, Audisio D, Wolf LM, Schmidts V, Hofmann K, Wirtz C, Thiel W, Thiele CM, Maulide N. *Chem Sci*, 2015, 6: 5734–5739
- 167 Fredersdorf M, Göstl R, Kolmer A, Schmidts V, Monecke P, Hecht S, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2015, 21: 14545–14554
- 168 Riveira MJ, Trigo-Mouriño P, Troche-Pesqueira E, Martin GE, Navarro-Vázquez A, Mischne MP, Gil RR. *J Org Chem*, 2015, 80: 7396–7402
- 169 Niklas T, Steinmetzger C, Liu W, Zell D, Stalke D, Ackermann L, John M. *Eur J Org Chem*, 2015, 2015: 6801–6805
- 170 Hansmann S, Larem née Montag T, Thiele CM. *Eur J Org Chem*, 2016, 2016: 1324–1329
- 171 Hansmann S, Schmidts V, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2017, 23: 9114–9121
- 172 Schwab M, Herold D, Thiele CM. *Chem Eur J*, 2017, 23: 14576–14584
- 173 Naumann C, Kuchel PW. *Chem Eur J*, 2009, 15: 12189–12191
- 174 Marathias VM, Tawa GJ, Goljer I, Bach AC. *Chirality*, 2007, 19: 741–750
- 175 Nath N, Suryaprakash N. *Chem Phys Lett*, 2010, 496: 175–182
- 176 Nath N, Suryaprakash N. *J Phys Chem B*, 2011, 115: 6868–6875

Structural elucidation of organic molecule from residual dipolar couplings

Gaowei Li², Xinxiang Lei^{1*}

¹ School of Pharmaceutical Sciences, South Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China

*Corresponding author (email: xxlei@mail.scuec.edu.cn)

Abstract: Residual dipolar coupling (RDC) has recently become increasingly important in organic structural determination due to their unique information content. This review provides a brief overview of the basic principle and general strategy in the application of RDC in the structure elucidation of organic molecule. The availability of various alignment media and pulse sequences were also described. In addition, the applications of RDCs for the constitution, configuration and conformation determination of natural or synthetic molecules were summarized to exemplify the practical application of the technique in recent years. Finally, the challenges and perspectives for future applications were also presented.

Keywords: NMR spectroscopy, residual dipolar couplings, alignment media, small organic molecule, structural analysis

doi: [10.1360/N032017-00124](https://doi.org/10.1360/N032017-00124)