

Vorlesung
„Moderne Methoden
der Strukturaufklärung -
NMR-Spektroskopie“
Teil III

Programm

Was haben wir uns letztes Mal angeschaut:

Wie beschreibt man Experimente mit Produktoperatoren

Wie funktioniert 2D-NMR

Was ist das COSY-Experiment

Programm

Was wollen wir uns heute anschauen:

INEPT

Empfindlichkeit heteronuklearer Experimente

Mehrdimensionale heteronukleare Experimente

Zuordnung eines kleinen Moleküls

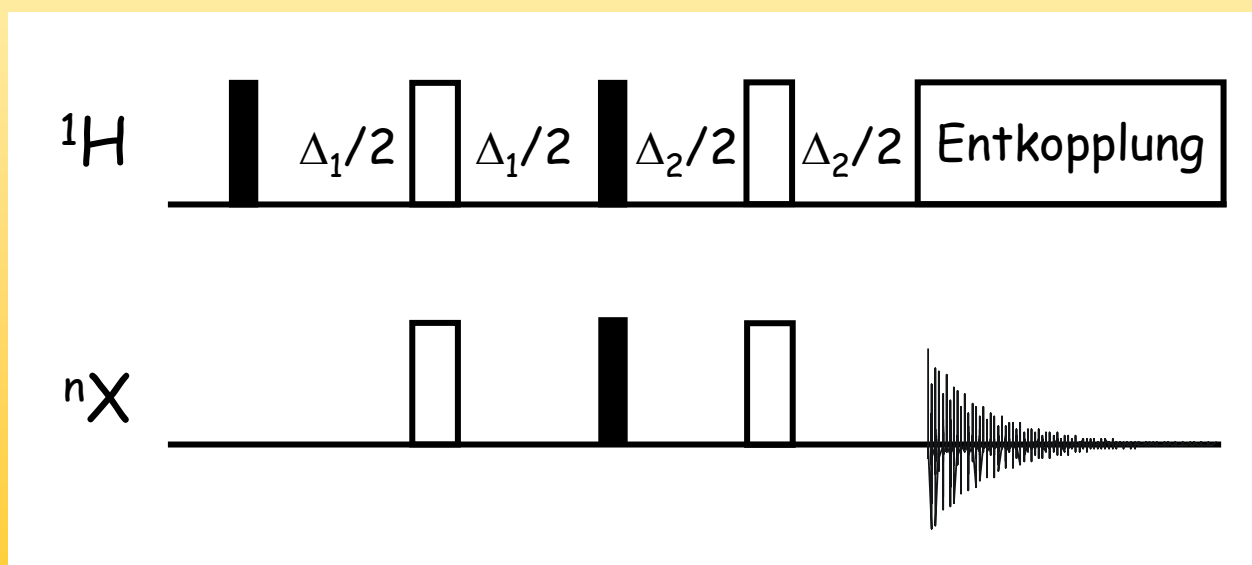
INEPT

(Insensitive Nuclei Enhancement by
Polarization Transfer)

Lit: G.A. Morris, R. Freeman, *J.Am.Chem.Soc.* **1979** (101) 760-762

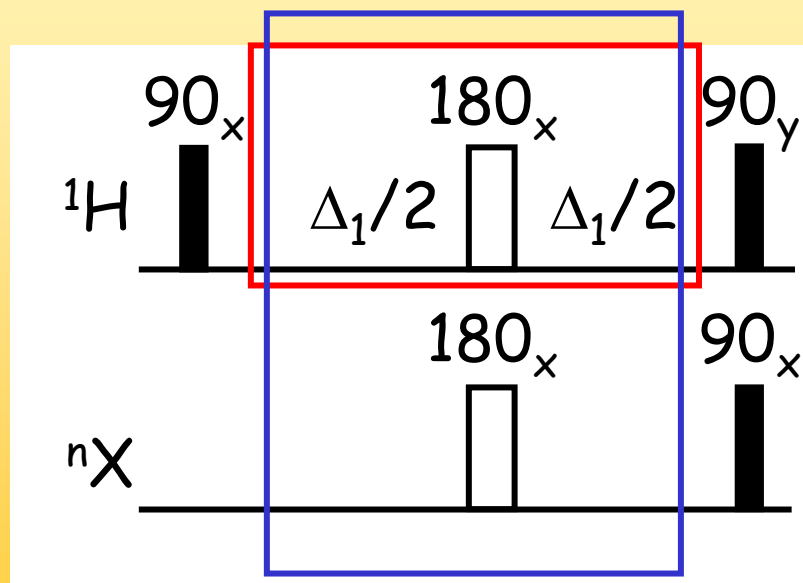
INEPT

Die **INEPT-Sequenz** ist eine der wichtigsten Bausteine von heteronuklearen Pulssequenzen und auch ein (heute allerdings kaum noch verwendetes) eigenständiges NMR-Experiment



INEPT

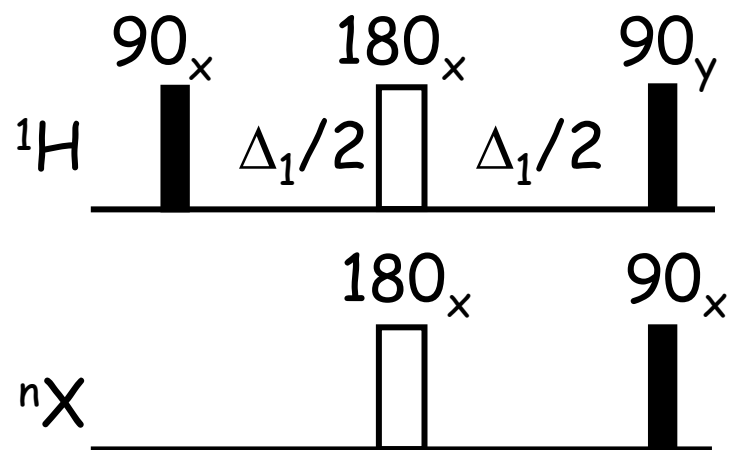
Wir wollen uns die Sequenz nun im Detail anschauen,
dabei kommen uns die „building blocks“ zu Hilfe



Kein δ_{H} , und J_{HH}
vernachlässigbar für
kurze Δ

J_{HX} entwickelt
sich während Δ_1

INEPT



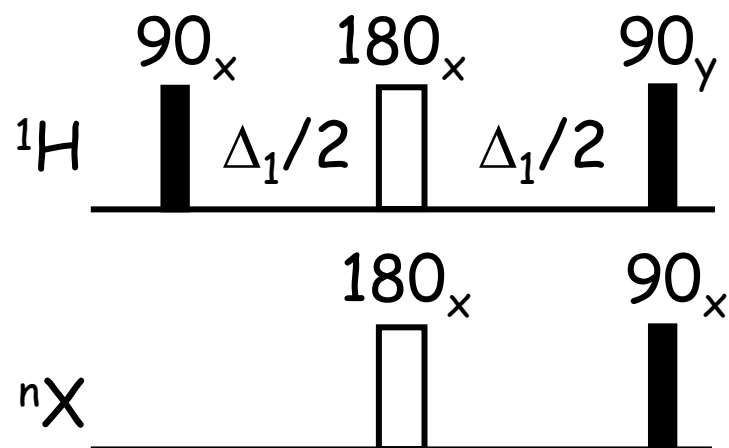
Unmittelbar vor den beiden 90° Pulsen haben wir also:

$$H_y \cos \pi J_{\text{HX}} \Delta_1 - 2H_x X_z \sin \pi J_{\text{HX}} \Delta_1$$

Wir wählen $\Delta_1 = 1/(2 J_{\text{HX}})$ (bei $= 140 \text{ Hz}$ sind das 3.6 msec) und erhalten

$$-H_y \cos \pi J_{\text{HX}} \Delta_1 + 2H_x X_z \sin \pi J_{\text{HX}} \Delta_1 = 2H_x X_z$$

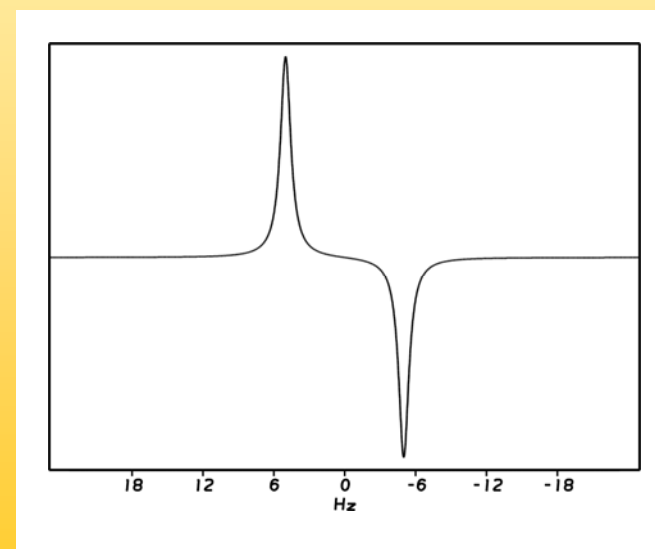
INEPT



Die beiden dann folgenden 90°
Pulse bewerkstelligen einen
Transfer von H nach X (!!!)

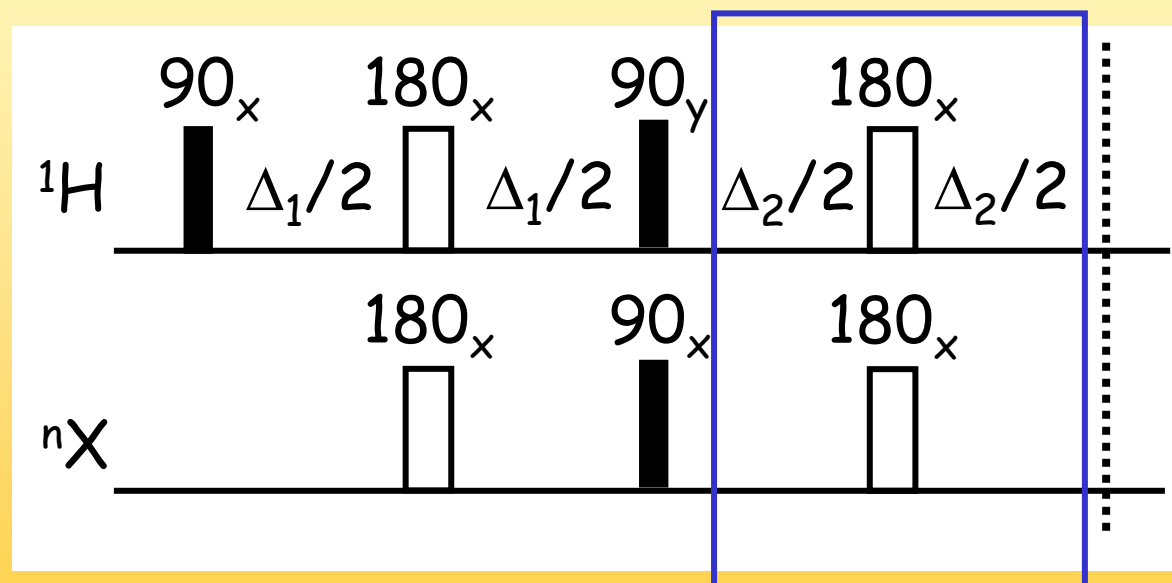
$$2H_x X_z \xrightarrow[90^\circ X_x]{90^\circ H_y} 2H_z X_y$$

Würde man jetzt detektieren
hätte man ein
X (!) anti-phase Signal



INEPT

Man detektiert aber nicht, sondern man „refokussiert“
dabei kann sich Δ_1 von Δ_2 unterscheiden



Kein δ_x und J_{HH} , aber J_{HX}

INEPT

$$2H_z X_y \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta_2} 2H_z X_y \cos \pi J_{HX}\Delta_2 - X_x \sin \pi J_{HX}\Delta_2$$

Wählt man nun $\Delta_2 = 1/2J_{HX}$, dann bekommt man

$$- X_x$$

Am Ende erhalten wir heteronukleare Magnetisierung wie auch beim herkömmlichen 1D. Wozu also der ganze Aufwand ?

Empfindlichkeit der Messung

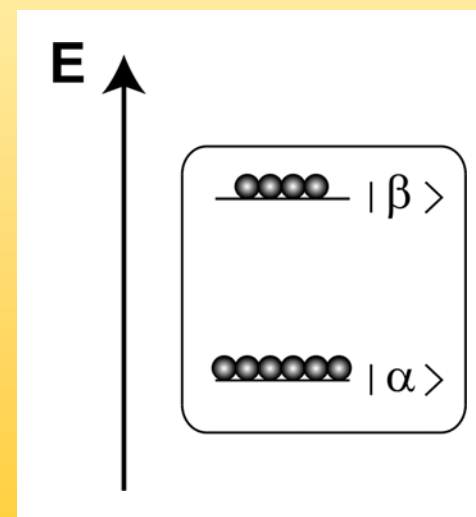
Die Empfindlichkeit der NMR-Messung hängt von verschiedenen Faktoren ab:

Der Unterschied in der Besetzung der Energieniveaus ergibt die Polarisation und damit die „Größe des Spins“

$$\Delta E = \hbar \gamma_p B_0$$

$$S/N \sim \gamma_p B_0$$

γ_p ist das gyromagnetische Verhältnis des Kerns, mit dem die Messung **begonnen** wird



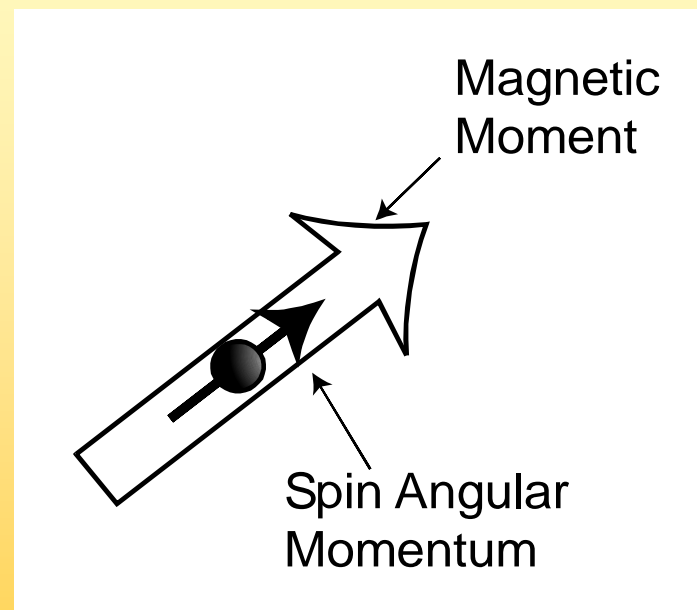
Empfindlichkeit der Messung

Für die Messung ist dann das magnetische Moment von Bedeutung

$$\mu = \gamma_d I$$

$$S/N \sim \gamma_d$$

γ_d ist das gyromagnetische Verhältnis des Kerns, der **detektiert** wird.



Empfindlichkeit der Messung

Das NMR ein magnetisches Phänomen ist, hängt das Signal von der Änderung in der Spule ab, also von der Messfrequenz

$$\omega_0 = \gamma_d B_0$$

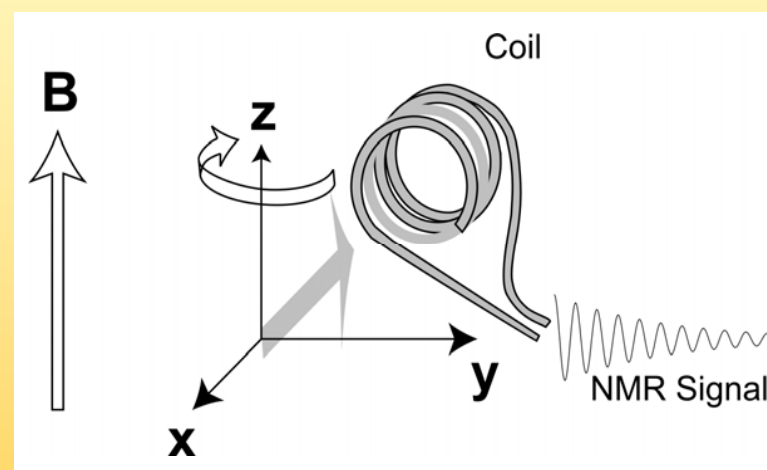
$$S \sim \omega_0$$

Beim Rauschen ist das nur die Wurzel

$$N \sim \sqrt{\omega_0}$$

$$\text{Zusammen } S/N \sim \sqrt{\gamma_d B_0}$$

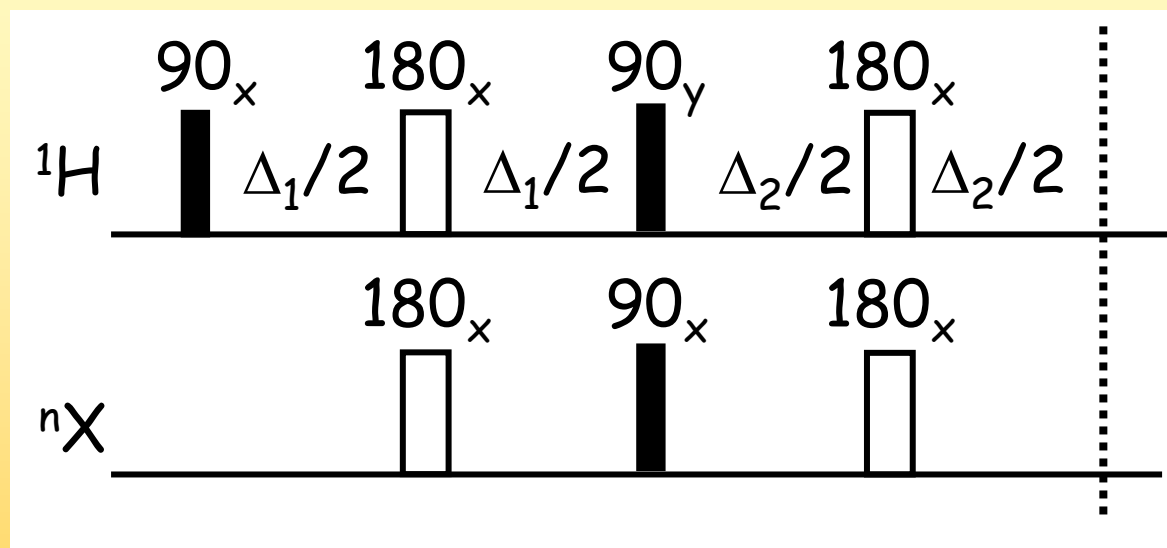
Insgesamt ergibt sich



$$S/N \sim (\gamma_p B_0) (\gamma_d) (\sqrt{\gamma_d B_0})$$

Empfindlichkeit der Messung

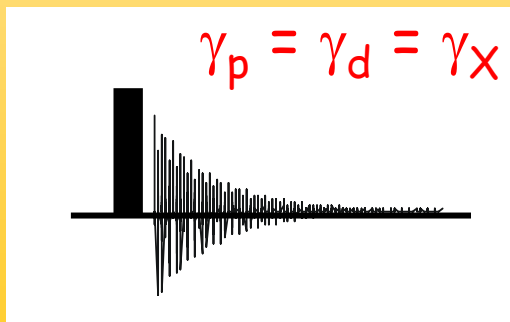
$$S/N \sim (\gamma_p B_0) (\gamma_d) (\sqrt{\gamma_d B_0})$$



$$\begin{aligned} \gamma_p &= \gamma_H & \gamma_H &\sim 4 \gamma_C \\ \gamma_d &= \gamma_X & \gamma_H &\sim 10 \gamma_N \end{aligned}$$

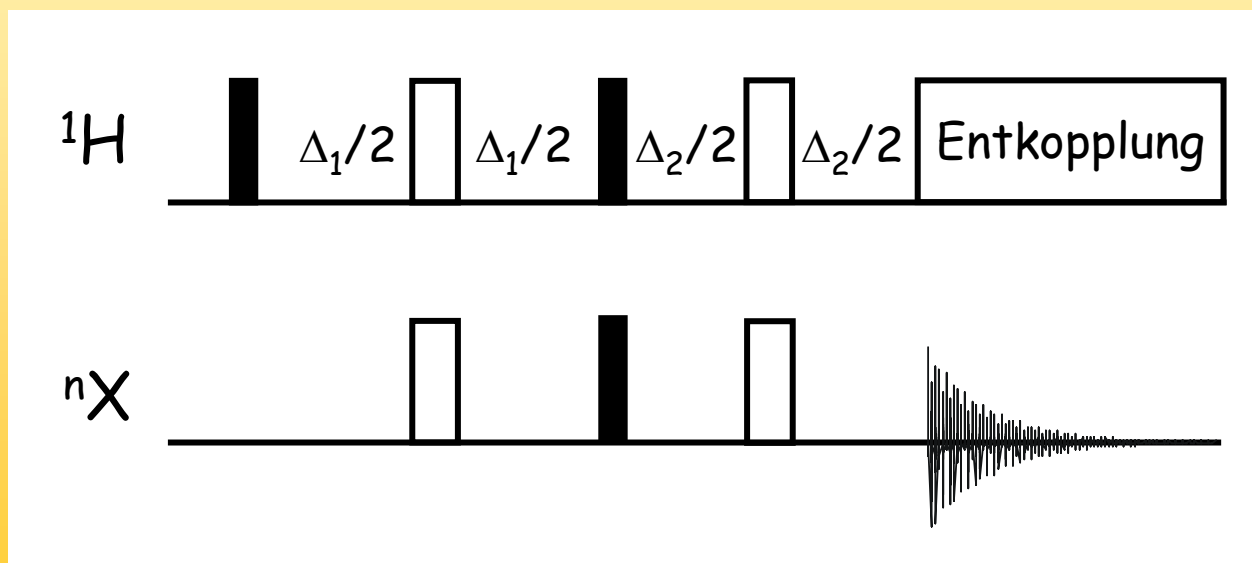


INEPT zeigt ein besseres
S/N aber keine X-Kerne
ohne Proton



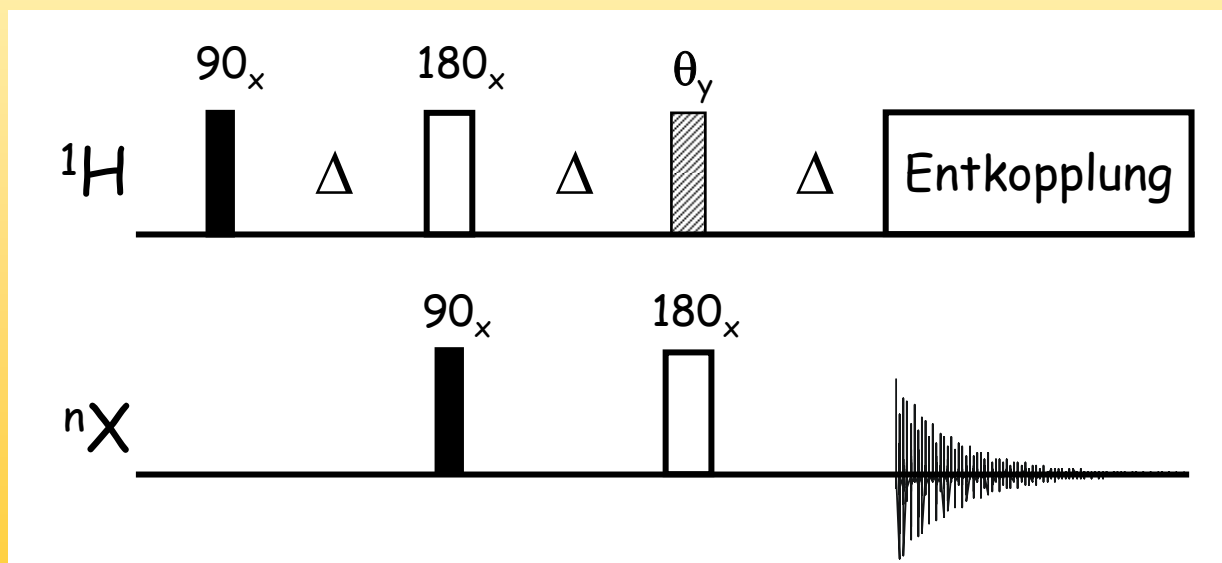
Empfindlichkeit der Messung

Zur Detektion fügt man zum INEPT noch eine Entkopplung hinzu, damit die heteronuklearen Kopplungen nicht mehr sichtbar sind, zudem kommt die Verstärkung durch den NOE hinzu



Empfindlichkeit der Messung

Ein enger Verwandter des INEPT ist die DEPT-Sequenz, die die gleiche Verstärkung des Signals bewirkt und zudem die Multiplizität erkennen lässt.



Empfindlichkeit der Messung

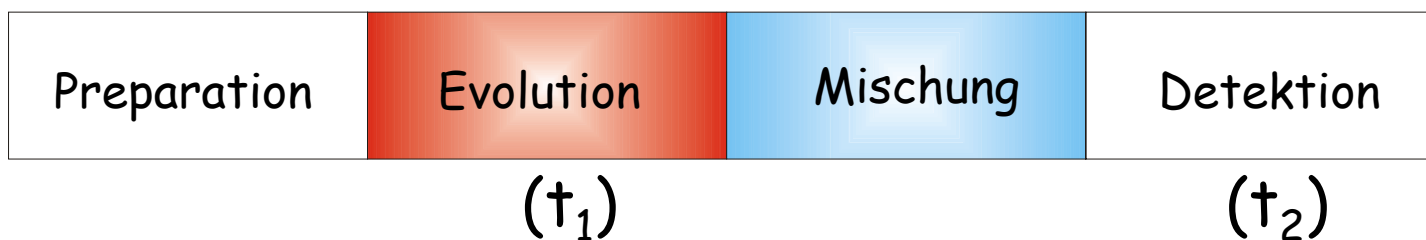
$$S/N \sim (\gamma_p B_0) (\gamma_d) (\sqrt{\gamma_d B_0})$$

Eine noch bessere Empfindlichkeit bekäme man aber, wenn man Protonen detektieren würde. Im eindimensionalen Spektrum bekommt man dann aber nicht die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffkerne, im mehrdimensionalen Spektrum kann das aber durchaus eine Option sein

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie (Teil 2)

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

2D-NMR Sequenzen enthalten
zwei neue Elemente:
Evolutionszeit und Mischzeit



Evolution:
Erzeugen einer weiteren
Frequenzachse durch
indirekte Detektion

Mischung:
Transfer von Magnetisierung von
Spin zu Spin über Wechsel-
Wirkungen zwischen Spins

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

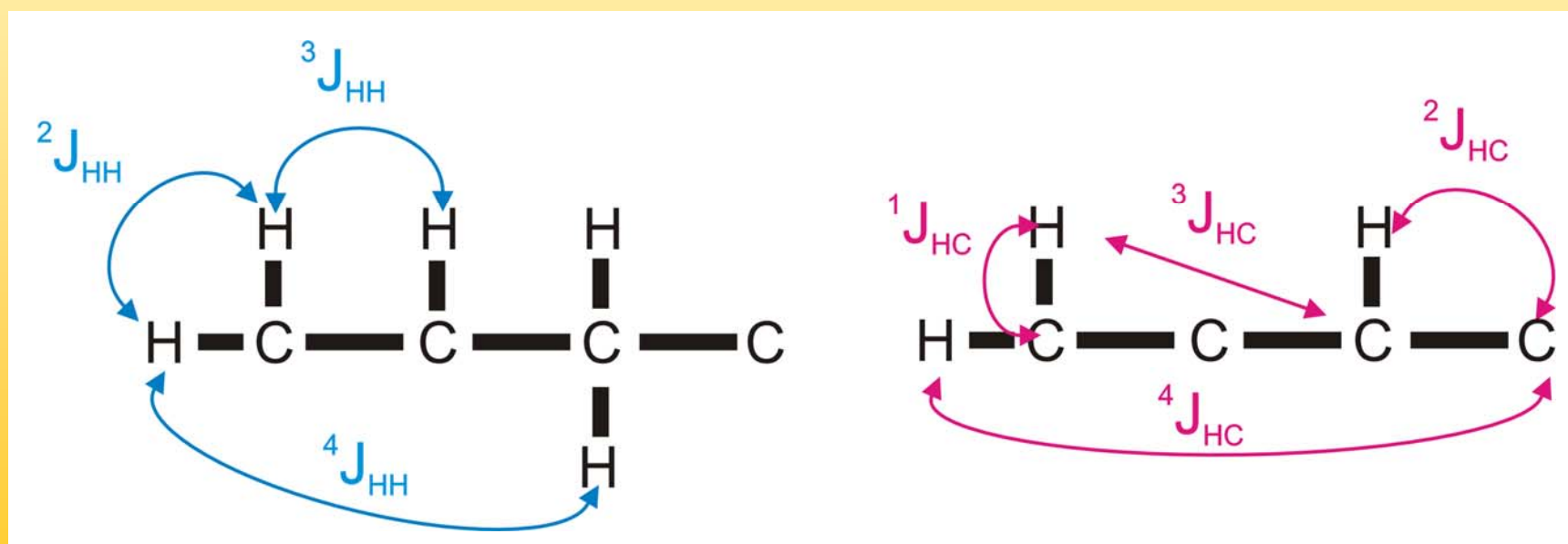
Zweidimensionale Experimente enthalten verglichen mit eindimensionalen zwei neue Elemente

In der **Evolutionzeit** wird durch systematische Variation einer Wartezeit eine weitere, „indirekte“ Zeitachse erzeugt, die sich durch FT in eine Frequenzachse umwandeln lässt

In der **Mischzeit** findet ein Transfer von Magnetisierung von einem Spin zum anderen statt. Je nach der Art des Transfers (homonukleare oder heteronukleare Kopplung, NOE) entstehen unterschiedliche Spektren

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Man unterscheidet Kopplung zwischen gleichartigen Kernen (homonukleare Kopplung) und zwischen unterschiedlichen Kernen (heteronukleare Kopplung)



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Direkte Kopplungen sind im allgemeinen eine Größenordnung größer als solche über mehrere Bindungen

$$^1J_{HH} = 276 \text{ Hz}$$

$$^1J_{HC} = 125 \text{ .. } 200 \text{ Hz}$$

$$^1J_{HN} = 60 \text{ .. } 100 \text{ Hz}$$

$$^2J_{HH} = 0 \text{ .. } 30 \text{ Hz}$$

$$^2J_{HC} = 0 \text{ .. } 20 \text{ Hz}$$

$$^2J_{HN} = 0 \text{ .. } 15 \text{ Hz}$$

$$^3J_{HH} = 0 \text{ .. } 20 \text{ Hz}$$

$$^3J_{HC} = 0 \text{ .. } 15 \text{ Hz}$$

$$^3J_{HN} = 0 \text{ .. } 8 \text{ Hz}$$

$$^4J_{HH} = 0 \text{ .. } 3 \text{ Hz}$$

$$^4J_{HC} = 0 \text{ .. } 2 \text{ Hz}$$

$$^4J_{HN} = 0 \text{ .. } 1 \text{ Hz}$$

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

homonukleare Spektren

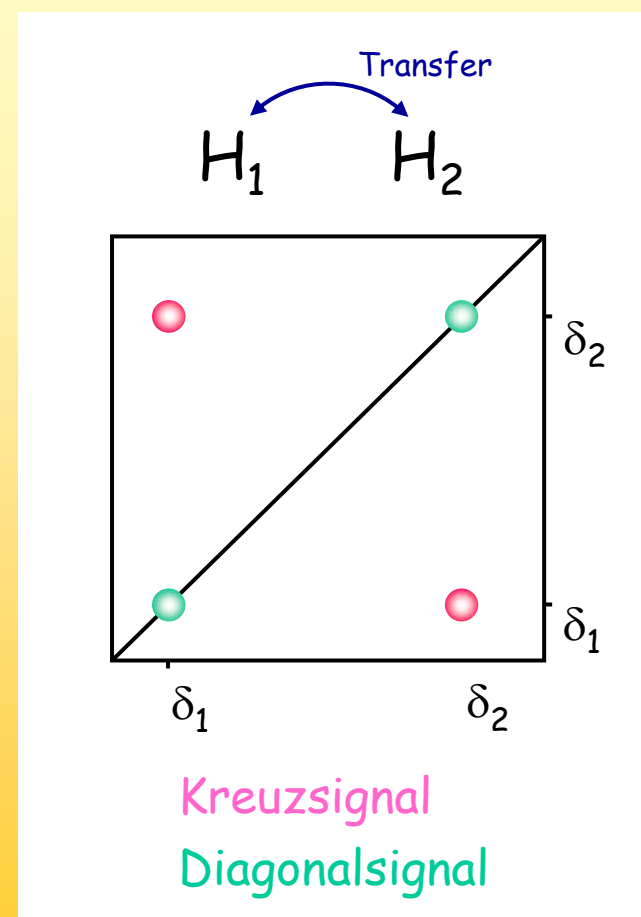
Transfer von Magnetisierung findet zwischen gleichartigen Kernen statt. Beide Frequenzachsen zeigen die chemischen Verschiebungen des gleichen Kerns.

Findet Transfer statt, ergibt sich in beiden Dimensionen eine unterschiedliche Verschiebung:

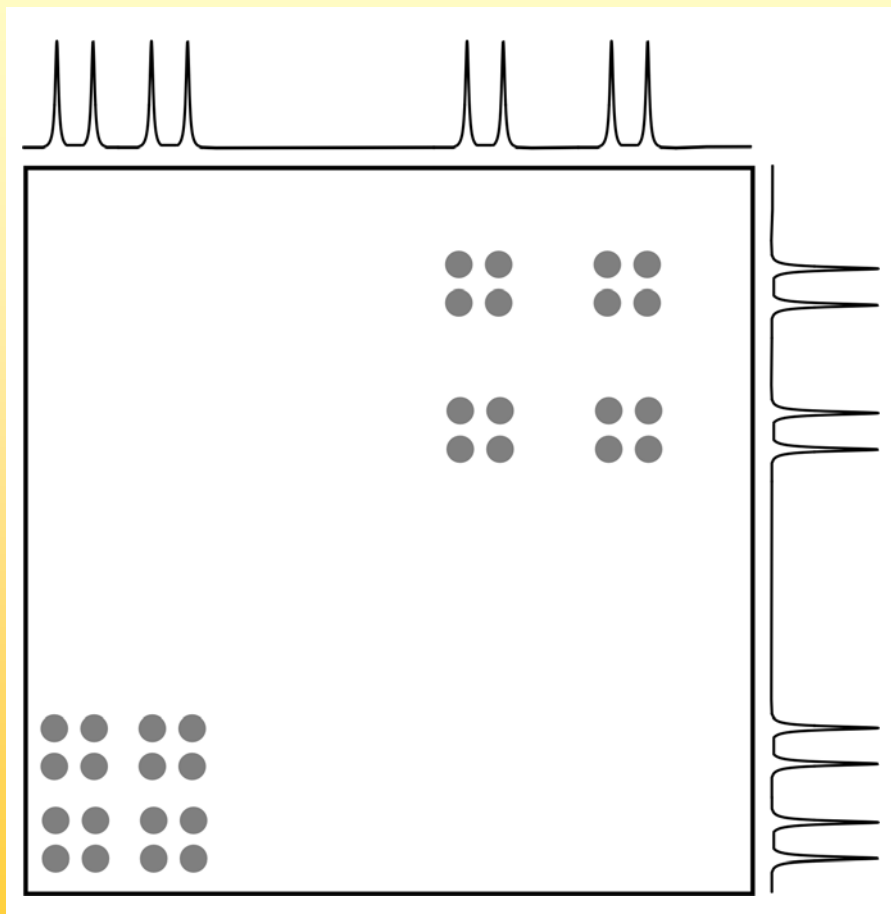
Kreuzsignal

Findet kein Transfer statt, dann ergibt sich in beiden Dimensionen die gleiche Verschiebung:

Diagonalsignal



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie



Ein Beispiel war das
COSY

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

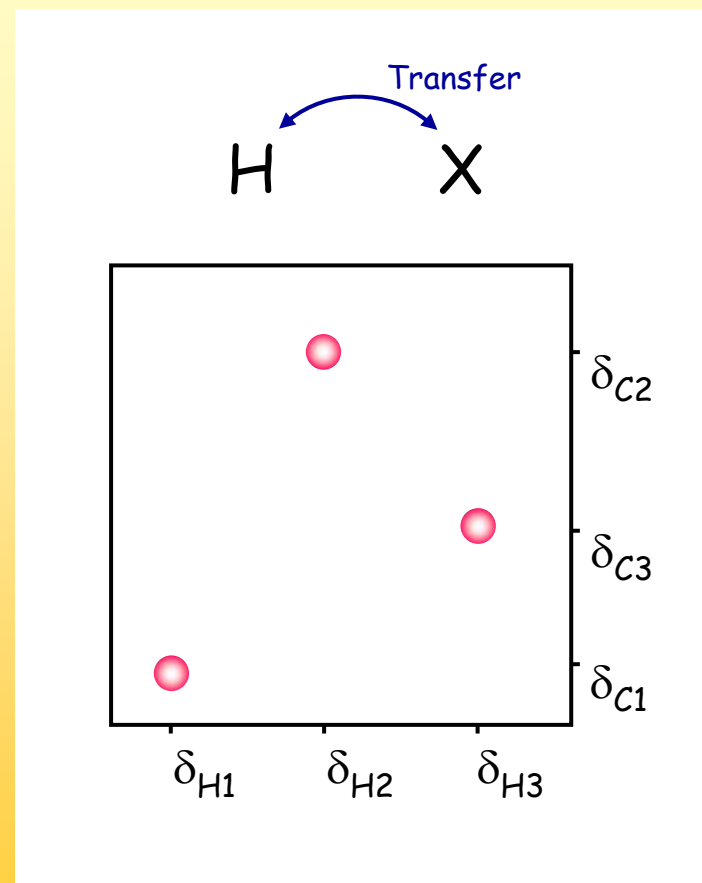
heteronukleare Spektren

Transfer von Magnetisierung findet zwischen unterschiedlichen Kernsorten statt.

Beide Frequenzachsen zeigen die chemischen Verschiebungen unterschiedlicher Kerne.

Findet Transfer statt, ergibt sich ein Signal am Schnittpunkt der chemischen Verschiebungen der involvierten Kerne.

Findet kein Transfer statt, dann ergibt sich kein Signal.



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Auf den beiden Frequenzachsen des zweidimensionalen Spektrums werden zwei unterschiedliche chemische Verschiebungen (δ_H , δ_X) dargestellt

Die Auflösung in den beiden Dimensionen ist nicht gleich, in der indirekten Dimension ist sie wesentlich schlechter als in der detektierten Dimension

Es macht also einen Unterschied, welche chemische Verschiebung in welcher Dimension detektiert wird:

Es gibt „herkömmliche“ und „inverse“ heteronukleare Spektren

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Man kann daher bei heteronuklearen Spektren zwischen Korrelationen über die direkte Kopplung über eine Bindung und über Weitbereichskopplungen unterscheiden

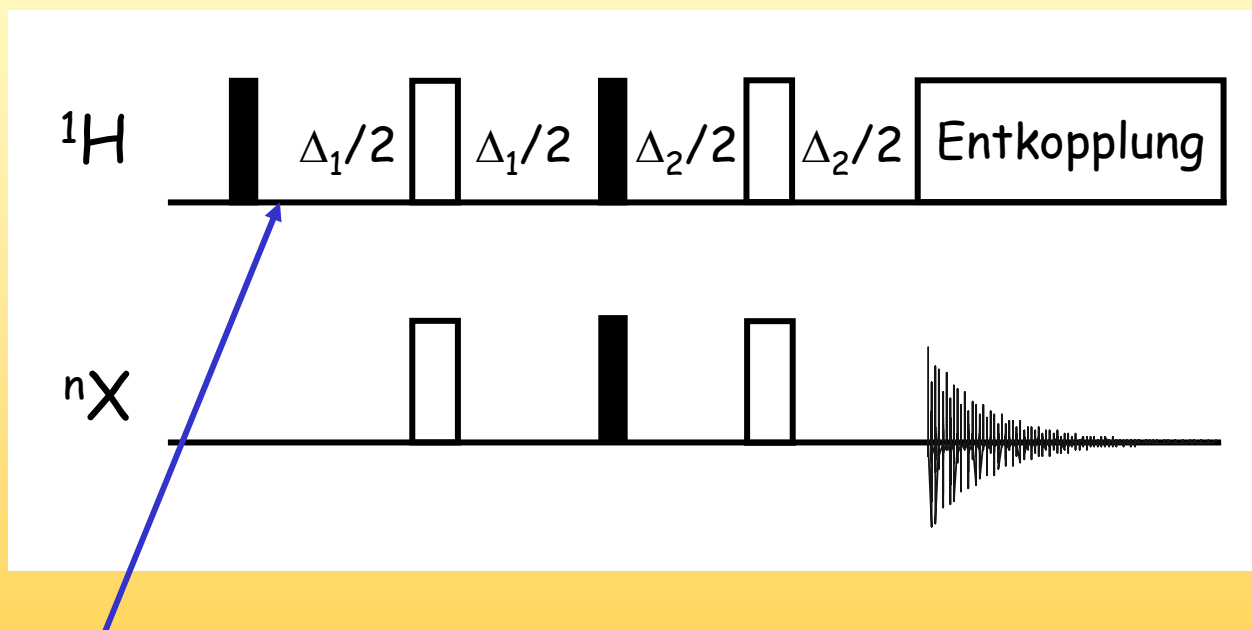
	C-Detektion	H-Detektion
Korrelation via $^1J_{XH}$	HETCOR	HMQC
Korrelation via $^nJ_{HX}$	COLOC	HMBC

herkömmliche

inverse

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

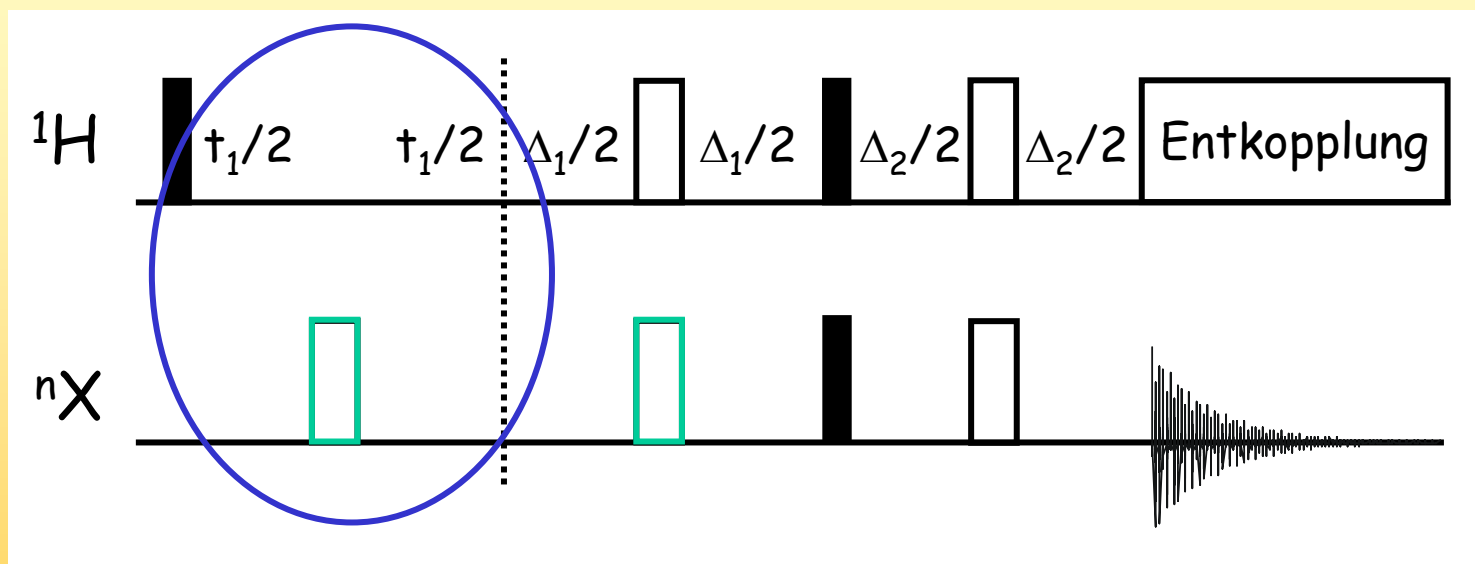
Ausgangspunkt für ein heteronukleares 2D
kann die INEPT-Sequenz sein



Hier liegt transversale Protonen-Magnetisierung vor,
man kann eine Evolutionszeit einbauen....

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

... und erhält das ^1H ,X-COSY oder HETCOR



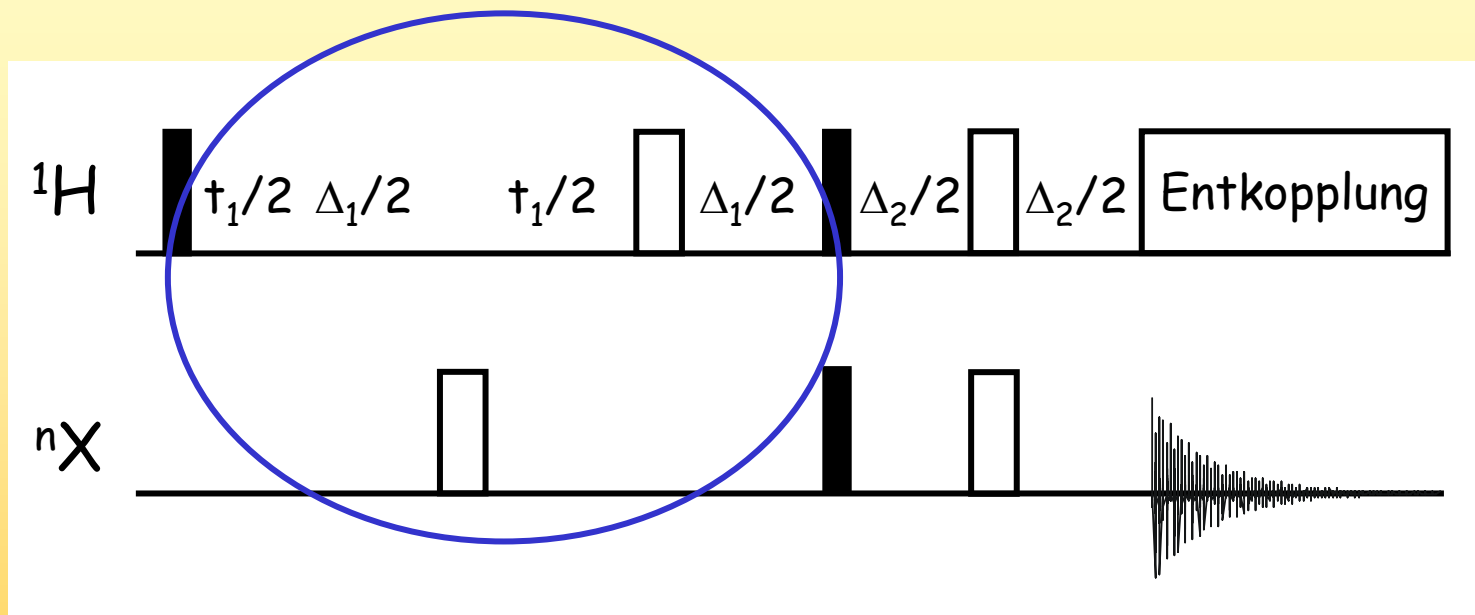
δ_{H} , J_{HH} aber kein J_{HX}

INEPT-Sequenz

$$\Delta_1 = 1/2^1J_{\text{HX}}, \Delta_2 = 1/3^1J_{\text{HX}}$$

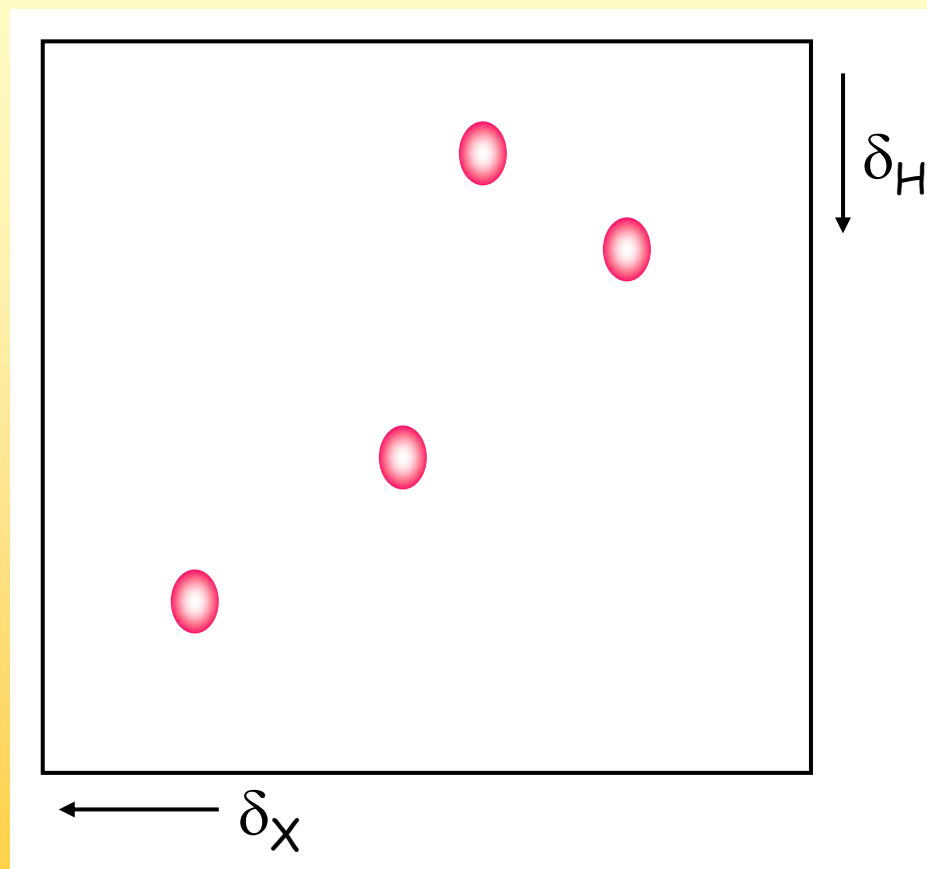
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

^1H ,X-COSY oder HETCOR



Die beiden Pulse kann man zu einem zusammenfassen,
Damit verringert man die Fehleranfälligkeit des
Experimentes

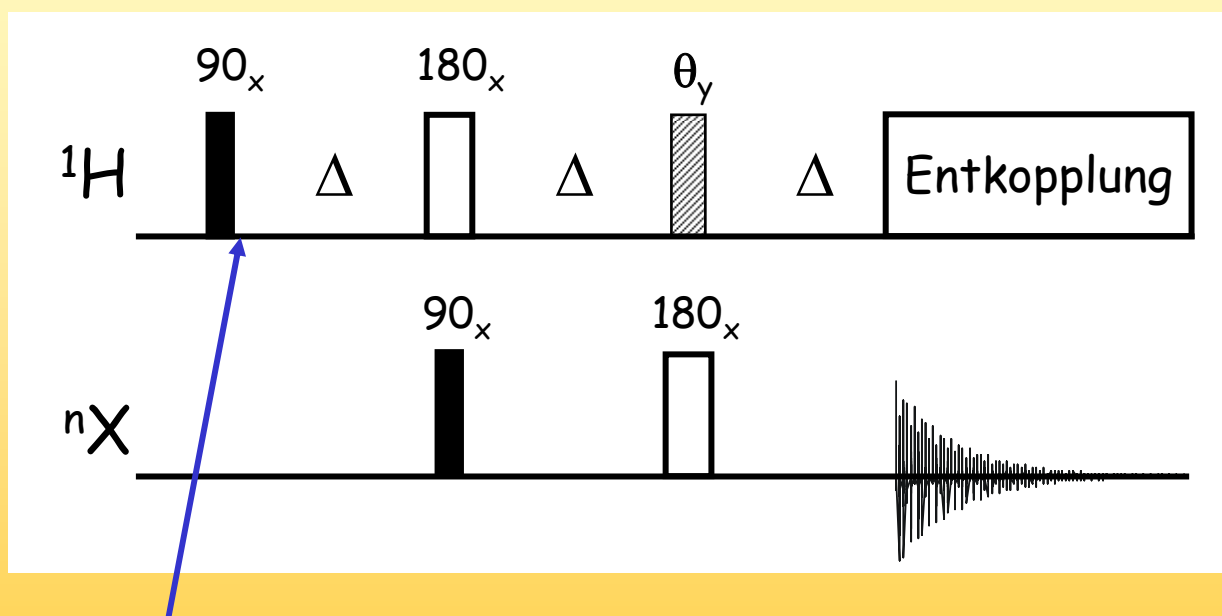
Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Im H,X-COSY (oder auch HETCOR) sind nur Korrelationen zwischen Protonen und direkt daran gebundenen Kohlenstoffen zu sehen, so wie im INEPT oder DEPT nur protonentragende Kohlenstoffe erscheinen

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

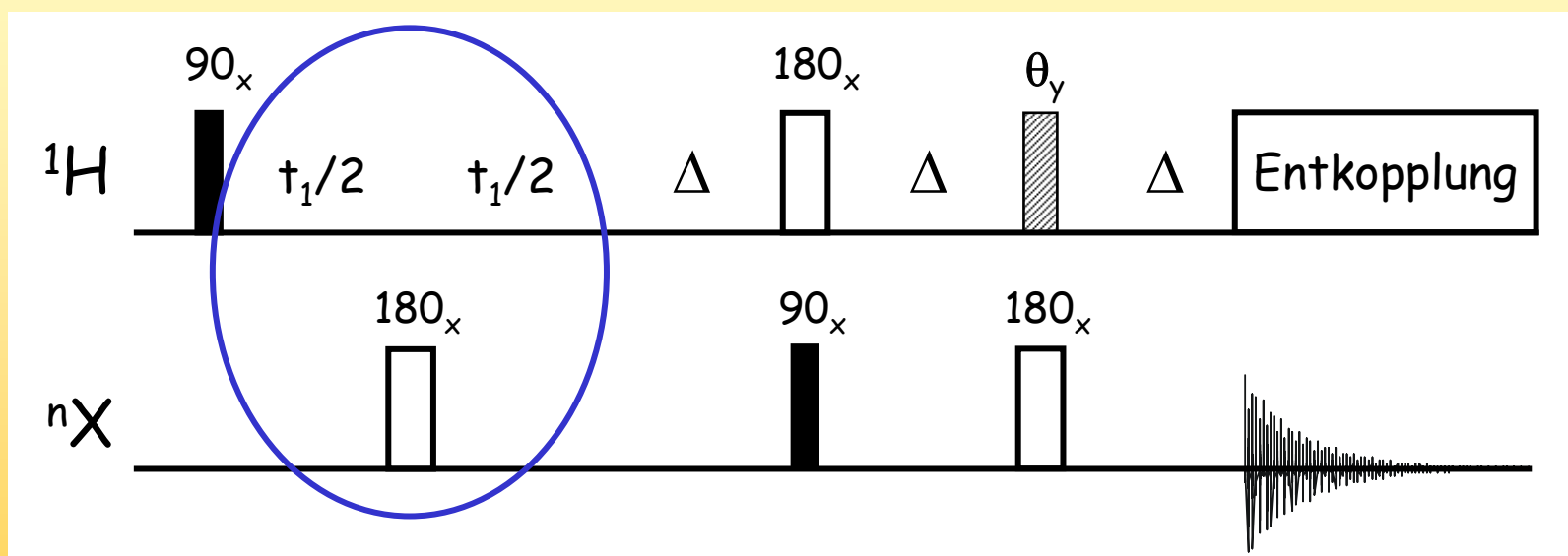
Das kann man auch ausgehend vom DEPT machen



Hier liegt transversale Protonen-Magnetisierung vor,
man kann eine Evolutionszeit einbauen....

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

..... und erhält das DEPT-COSY

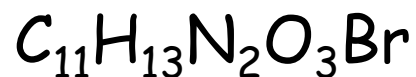
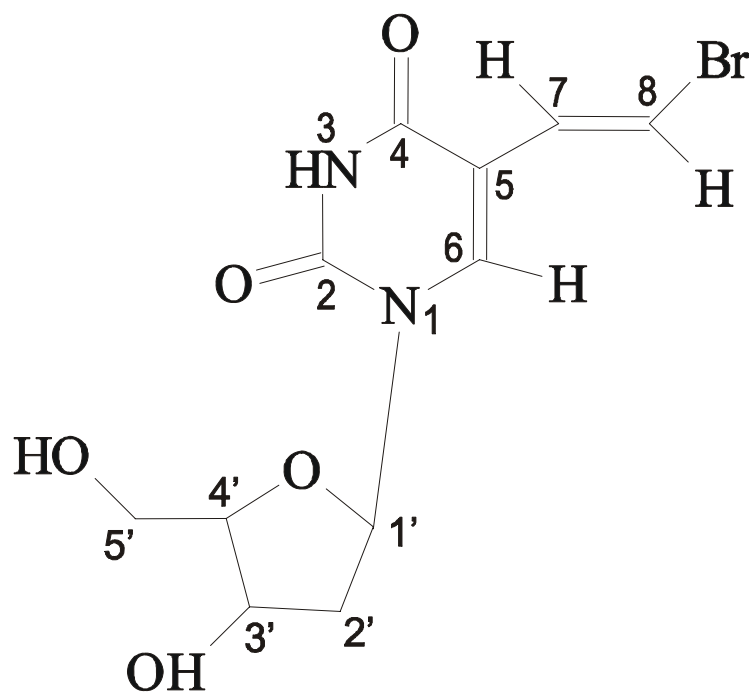


δ_H, J_{HH} aber kein J_{HX}

DEPT-Sequenz

$$\Delta = 1/2^1J_{HX}$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

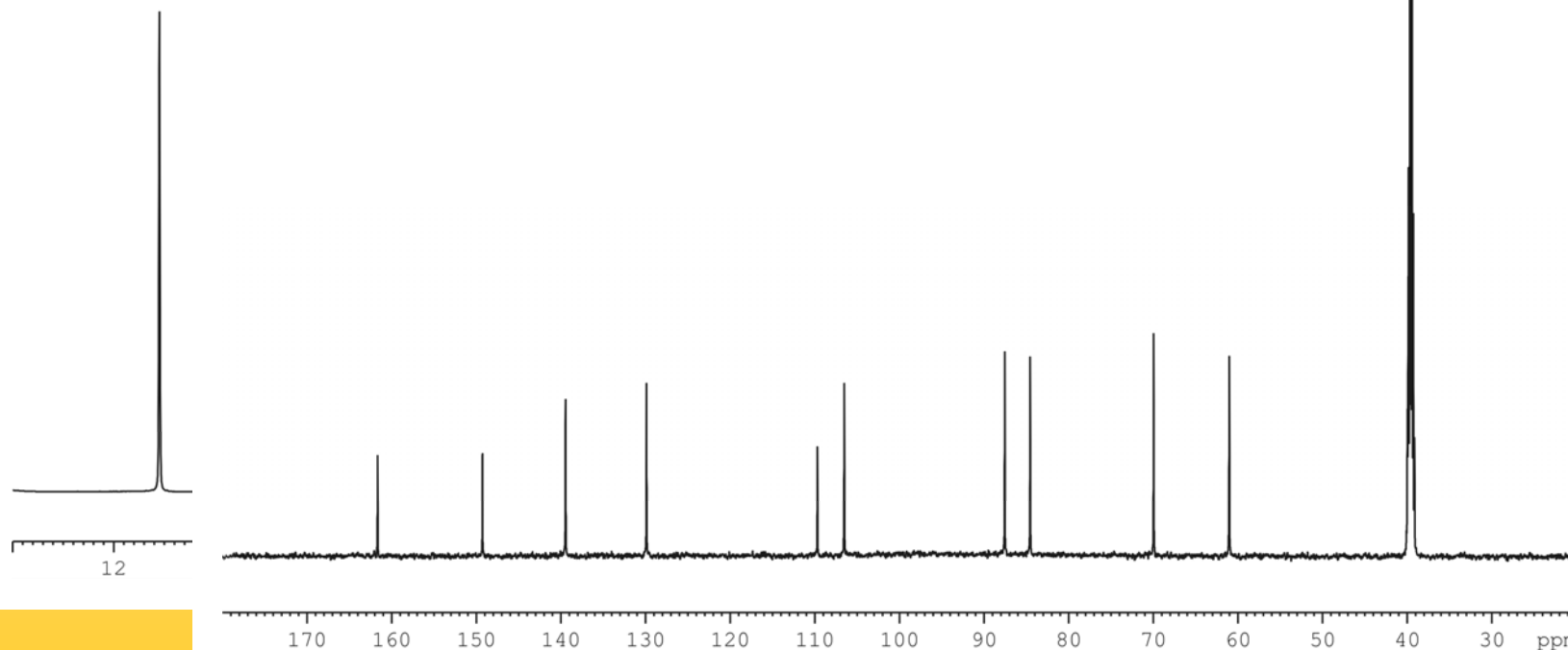


Das schauen wir uns
jetzt an einem kleinen
Beispiel an

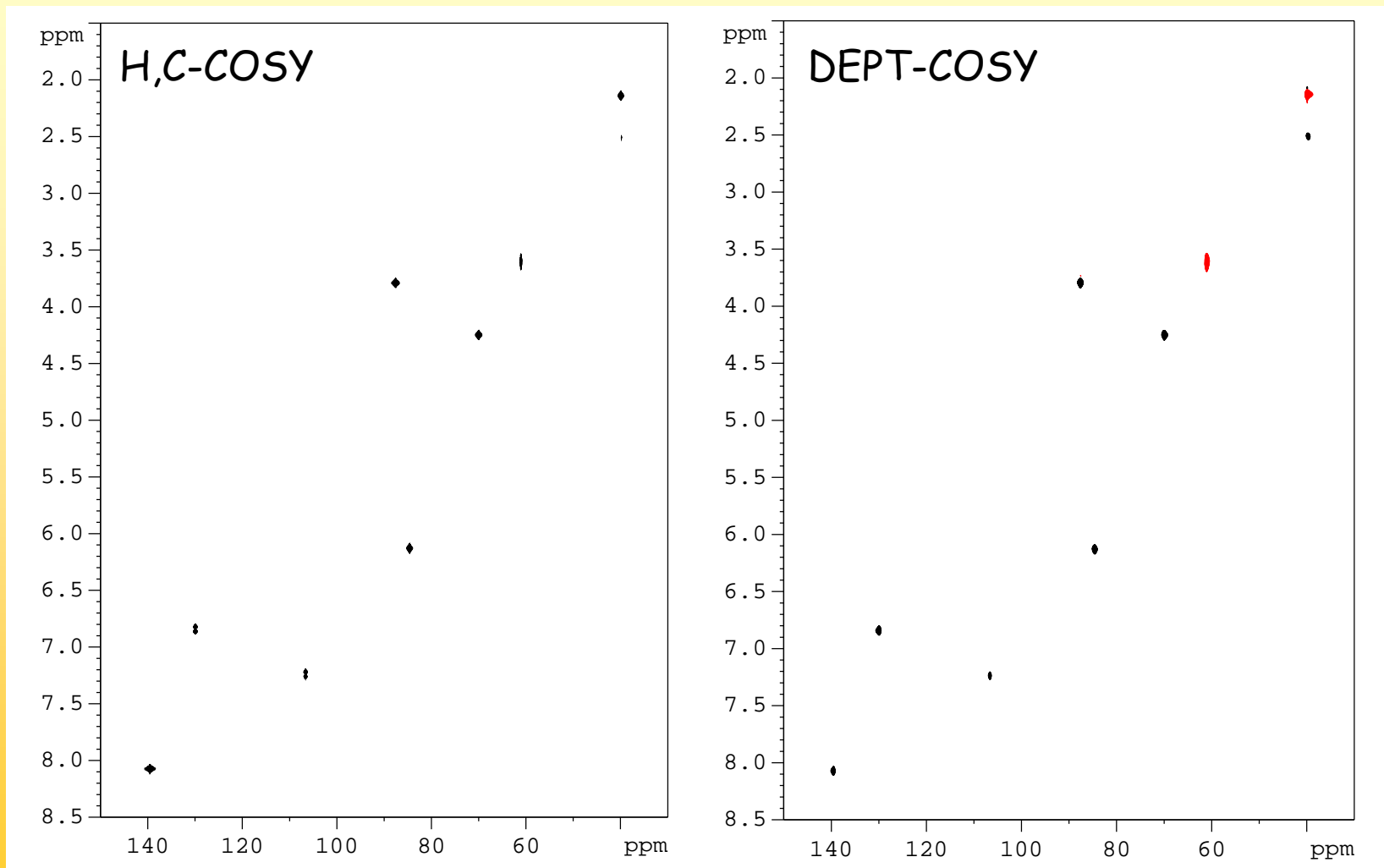
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

1D- ^1H -Spektrum

1D- ^{13}C -Spektrum

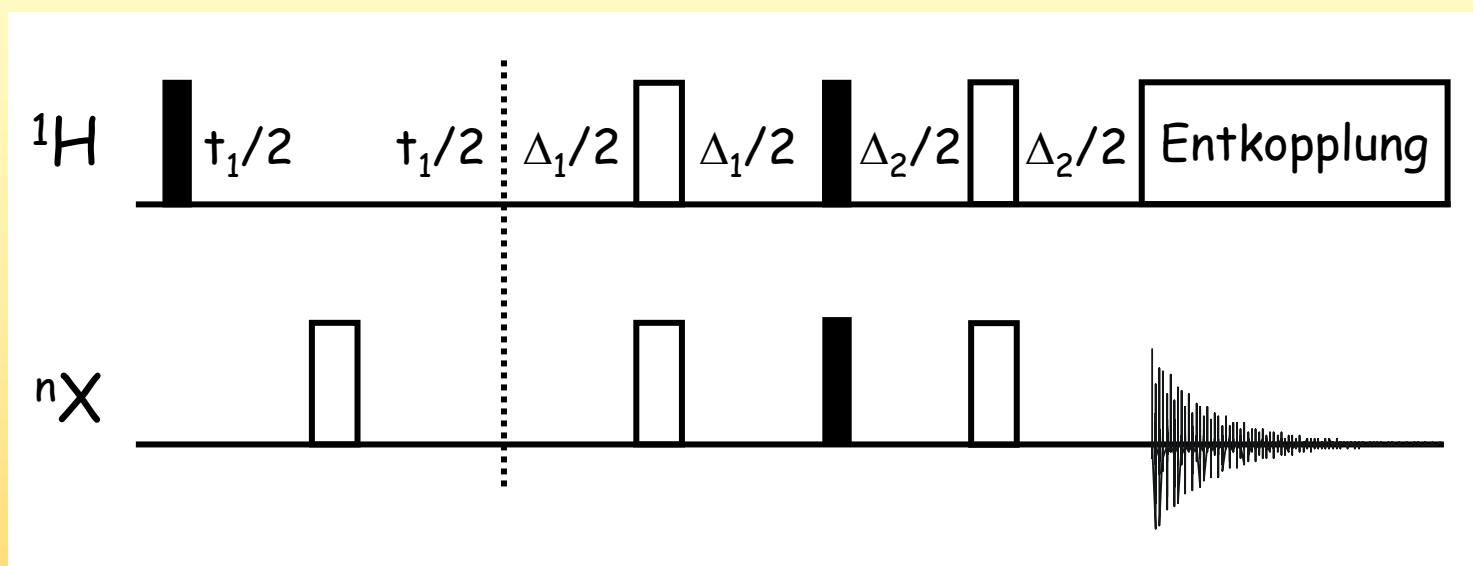


Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Weitbereichskorrelation



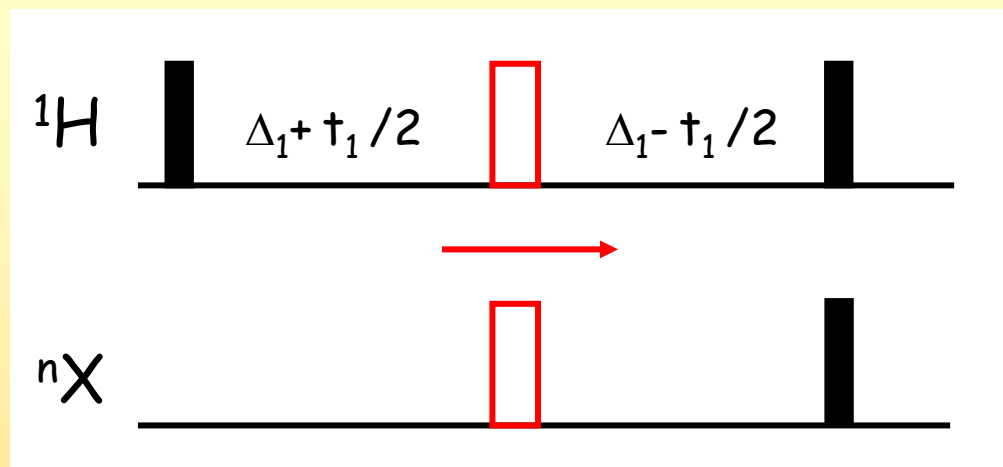
Um nicht nur Korrelationen via $^1J_{HX}$ zu bekommen muss man die Delays Δ_1 und Δ_2 länger machen, damit man in die Größenordnung von $1/2^n J_{HX}$ kommt

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Um die Pulssequenz nicht zu lang werden zu lassen und um die Zahl der Pulse zu reduzieren fasst man die Evolutionszeit (t_1) und die Entwicklung der Kopplung während des Delays Δ_1 zusammen. Es entsteht ein „constant time“

Experiment, das seinen Namen trägt, weil sich die Länge der Sequenz durch die Evolutionszeit nicht ändert. Wie bekommt man nun aber die fürs 2D notwendige Evolution ?

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



J_{HH} entwickelt sich ungestört: $(\Delta_1 + t_1/2) + (\Delta_1 - t_1/2) = \Delta_1$

Δ_1 muss kleiner $1/2 J_{\text{HH}}$ sein

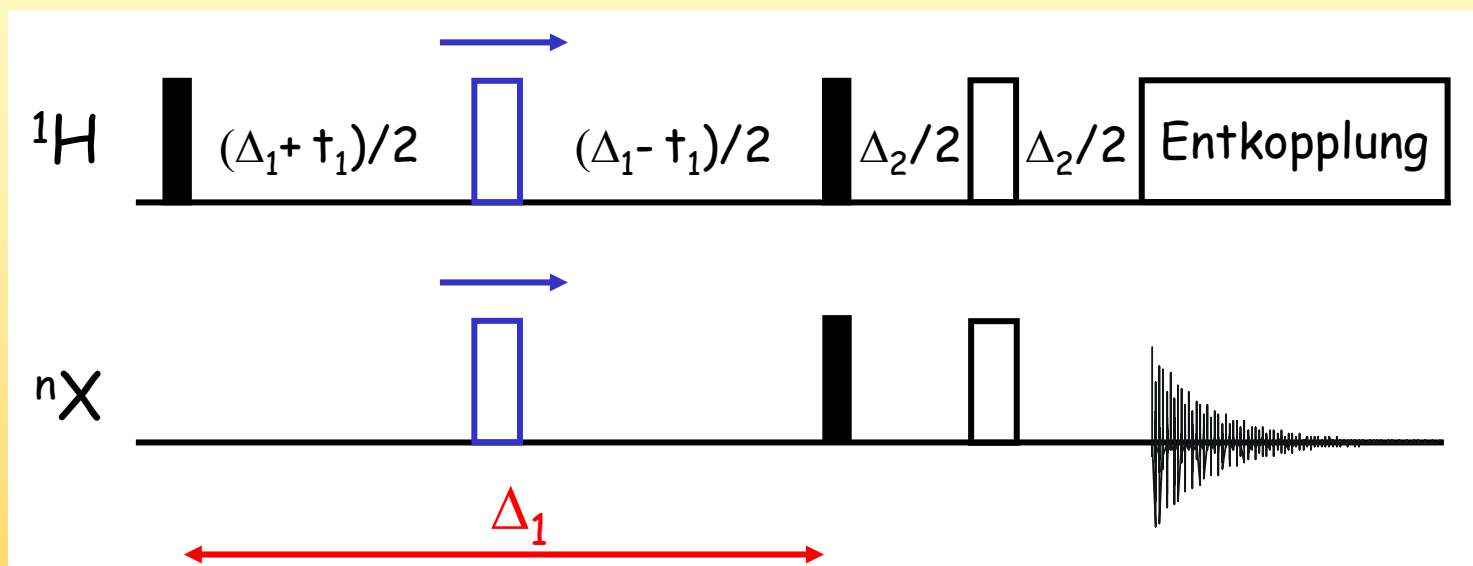
J_{HX} entwickelt sich ungestört: $(\Delta_1 + t_1/2) + (\Delta_1 - t_1/2) = \Delta_1$

Δ_1 sollte nah an $1/2^n J_{\text{HX}}$ sein

δ_{H} wird refocussiert, hier gilt $(\Delta_1 + t_1/2) - (\Delta_1 - t_1/2) = t_1$

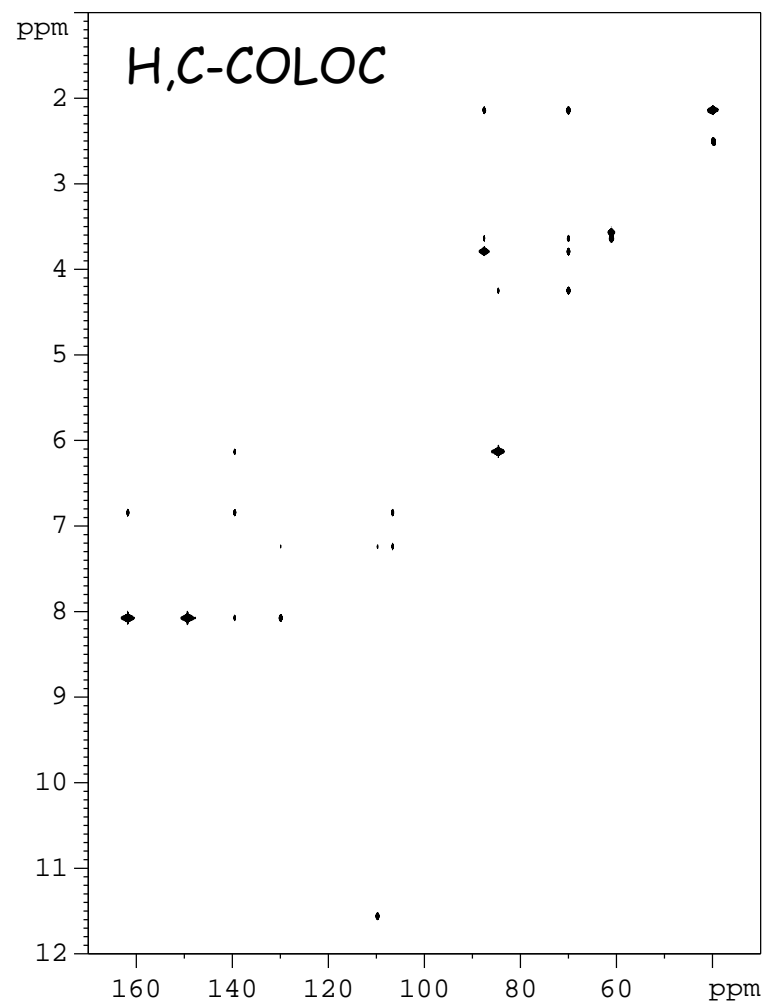
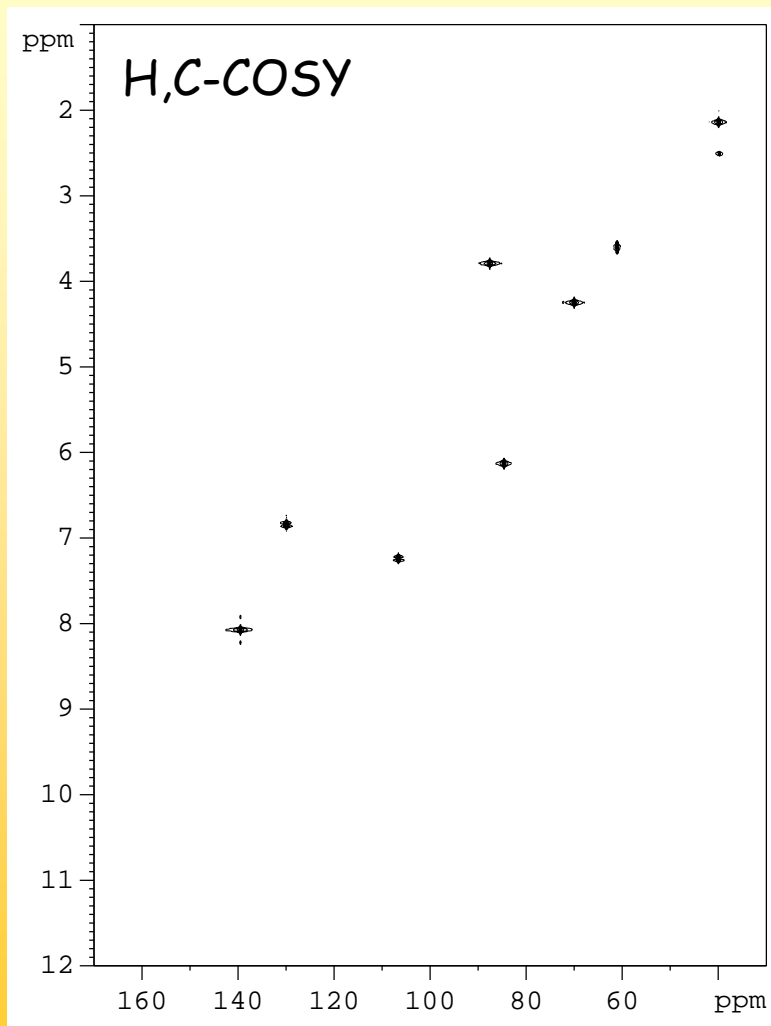
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

So entsteht das H,X-COLOC



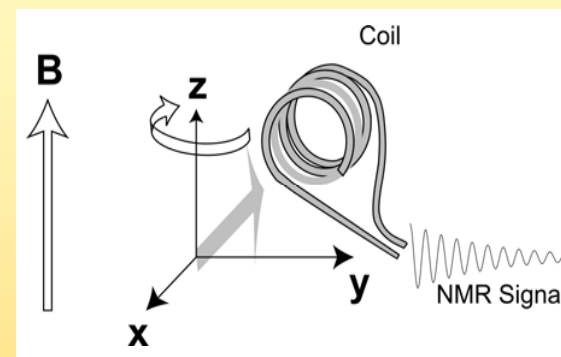
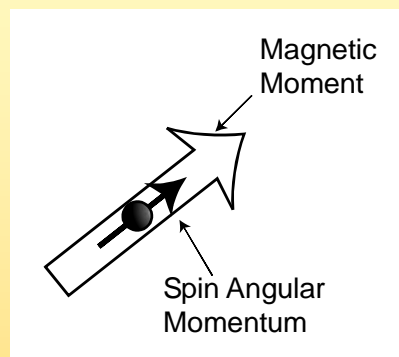
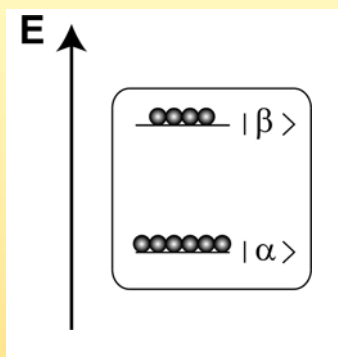
Für $X = ^{13}\text{C}$ sind gute Werte: $\Delta_1 = 25 \text{ msec}$, $\Delta_2 = 33 \text{ msec}$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Wir haben oben schon gesehen daß es noch besser wäre die Protonen auch zu detektieren



$$S/N \sim (\gamma_p B_0) (\gamma_d) (\sqrt{\gamma_d B_0})$$

$\gamma_H \sim 4 \gamma_C$, die Detektion auf Protonen bringt
also einen Faktor 8 !!

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

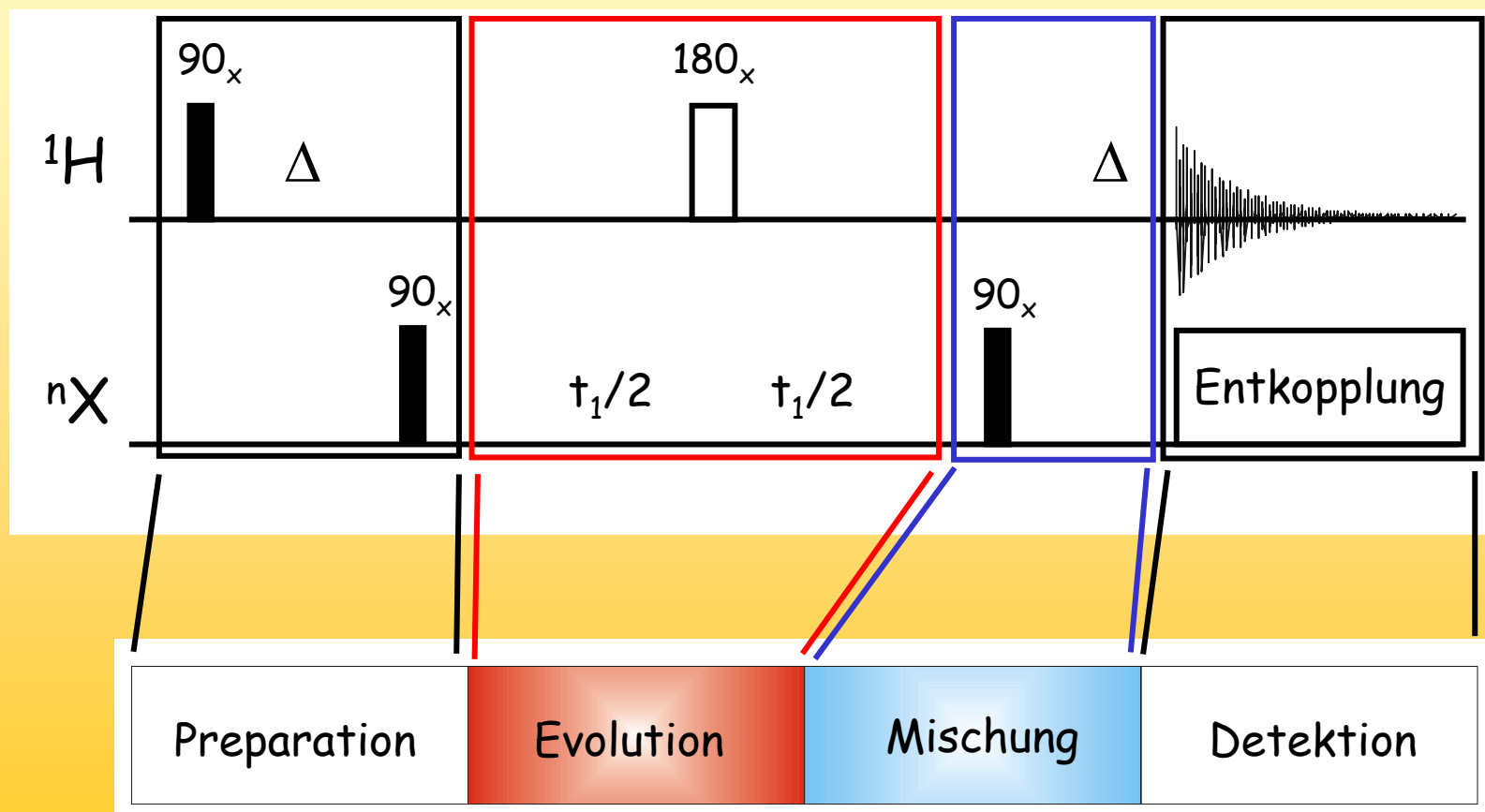
Aus diesem Grund werden das HETCOR und das COLOC heute kaum mehr verwendet. Sie sind fast vollständig von ihren sogenannten „inversen“ Analogon ersetzt worden.

Im Falle der 1D-Spektren sind dagegen ^{13}C -Spektren und DEPT heute noch sehr aktuell

Das HMQC

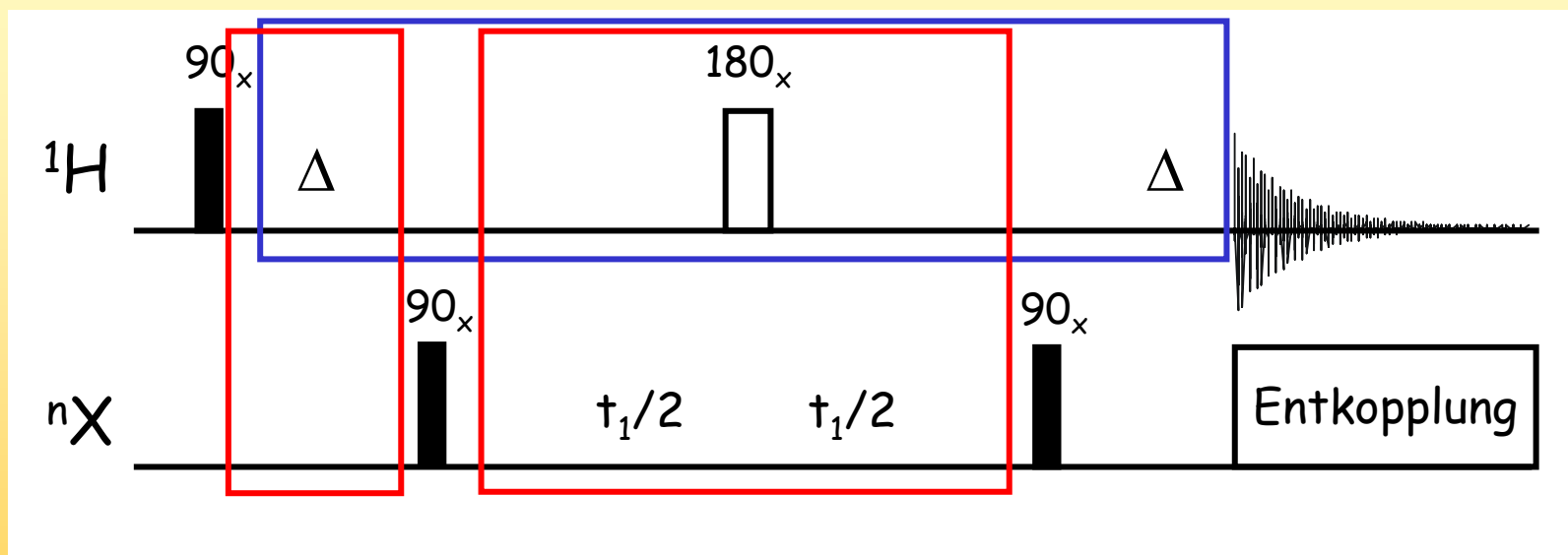
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMQC (inverses H,X-COSY)



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

keine chemische Verschiebung δ_H , Kopplung J_{HH} zu vernachlässigen: $\sin \pi J_{HH} \Delta = 0.06$ ($J=3$ Hz, $\Delta=3.5$ msec)



Kopplung $^1J_{HX}$

$$\Delta = 1/(2^1J_{HX})$$

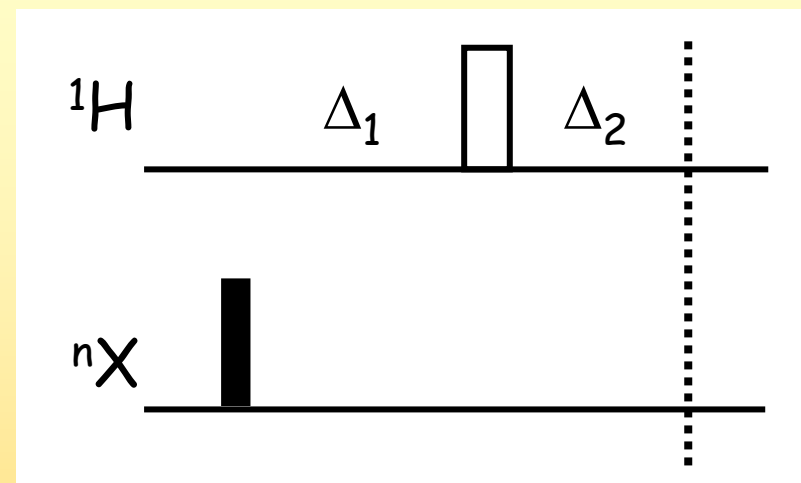
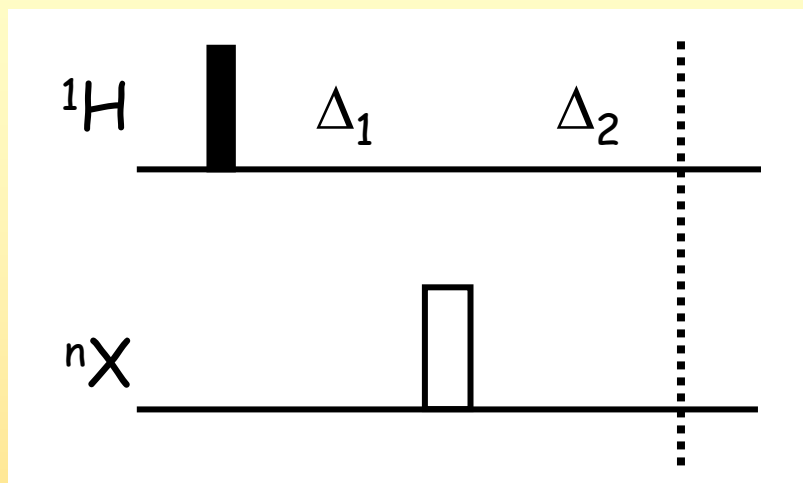
typisch bei ^{13}C 3.5 msec

chemische Verschiebung δ_X

keine chemische Verschiebung δ_H

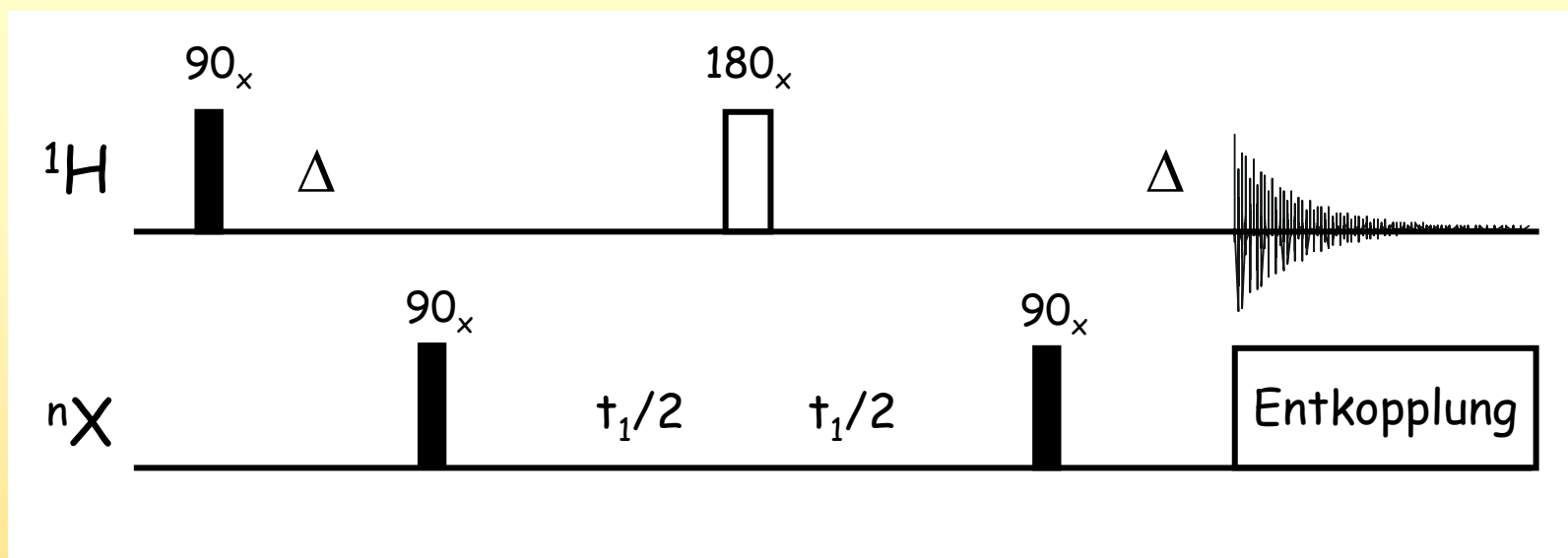
was ist mit der Kopplung J_{HX} ?

Produktoperatorformalismus



Diesen „building block“ haben wir schon anders herum berechnet, der 180° Puls entfernt die heteronukleare Kopplung, J_{HX} wird refocussiert

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



$$H_z \xrightarrow{90^\circ H_x} -H_y \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta} -H_y \cos \pi J_{HX}\Delta + 2H_x X_z \sin \pi J_{HX}\Delta$$

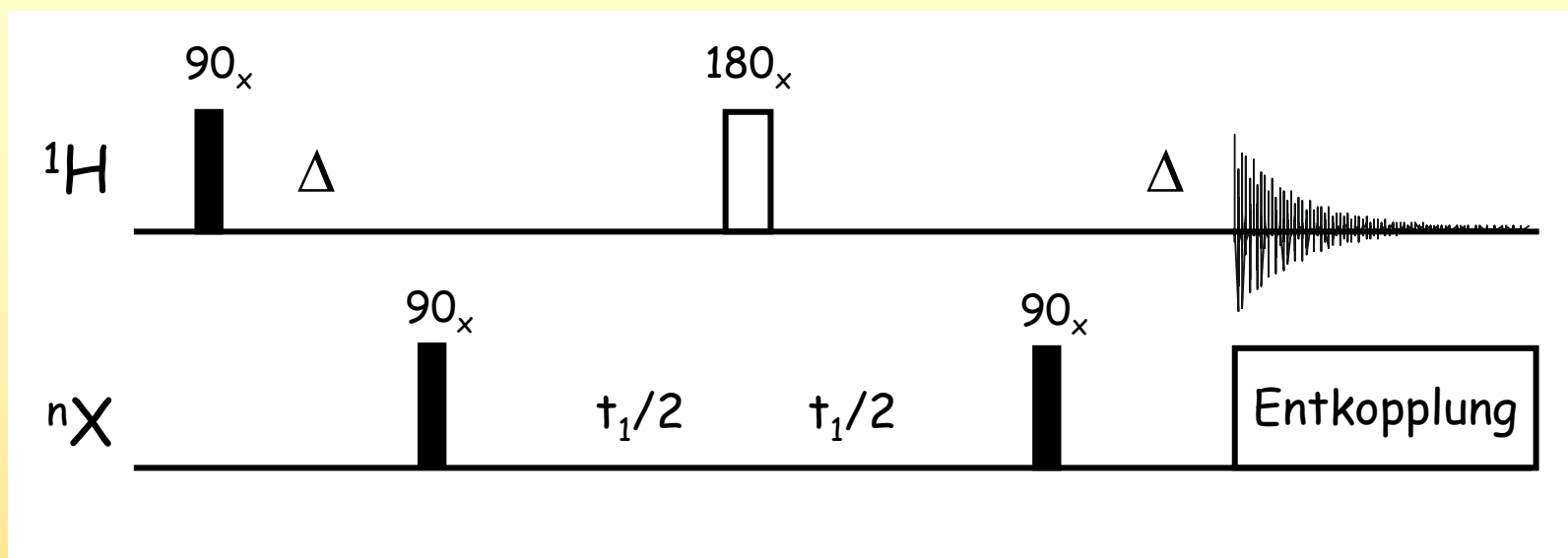
$$\Delta = 3.5 \text{ msec}, J_{HX} = 140 \text{ Hz} \longrightarrow J_{HX} * \Delta = 0.5$$

$$\cos \pi J_{HX}\Delta = \cos 0.5 \pi = 0, \sin \pi J_{HX}\Delta = \sin 0.5 \pi = 1$$

aber keine Weitbereichskopplung

$$\Delta = 3.5 \text{ msec}, J_{HX} = 5 \text{ Hz} \longrightarrow \sin \pi J_{HX}\Delta = \sin 0.0175 \pi = 0.05$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



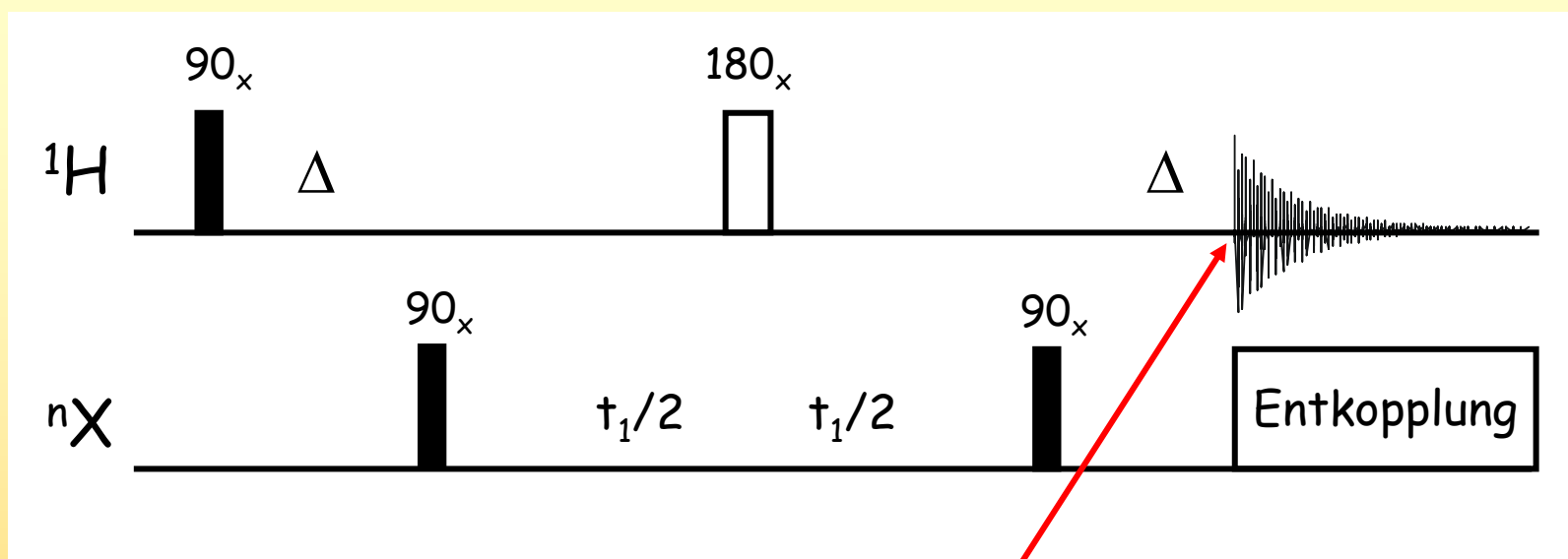
$$2H_x X_z \xrightarrow{90^\circ X_x} \textcircled{-2H_x X_y} \xrightarrow{\delta_c t_1} -2H_x X_y \cos \delta_x t_1 + 2H_x X_x \sin \delta_x t_1$$

Multiquanten

nicht detektierbar

$$\xrightarrow{90^\circ X_x} -2H_x X_z \cos \delta_x t_1 + \cancel{2H_x X_x \sin \delta_x t_1}$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

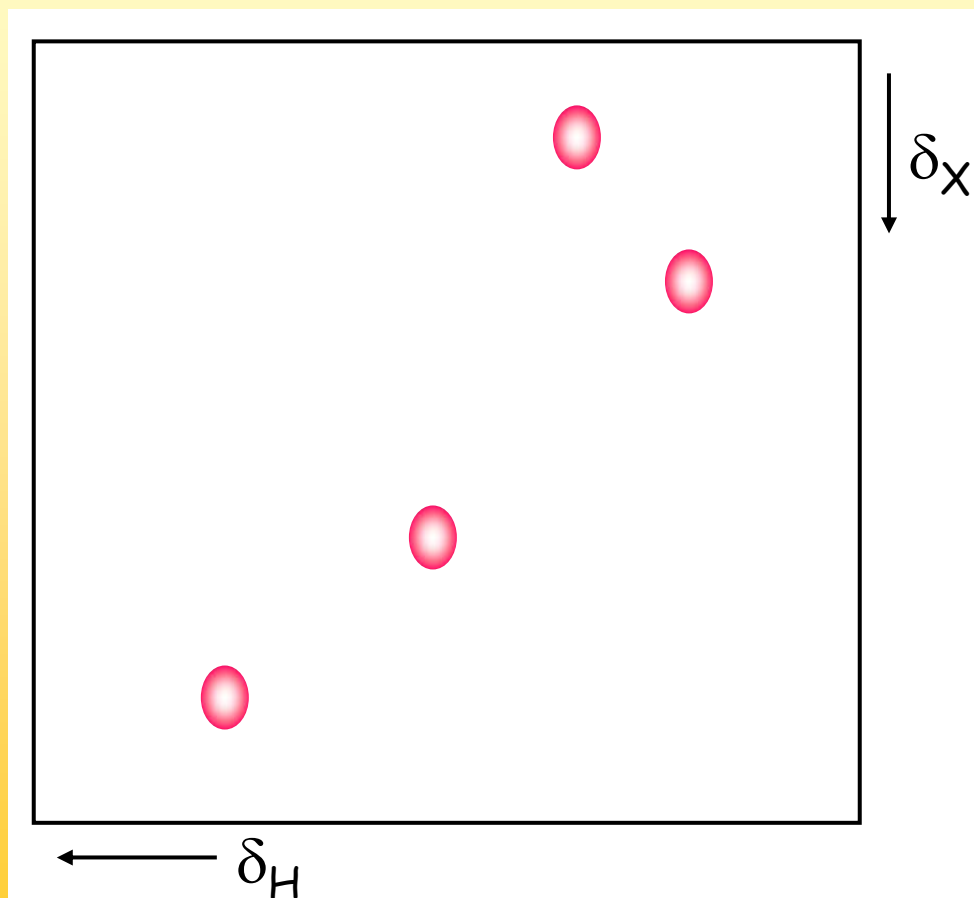


$$- 2H_x X_z \cos \delta_X t_1 \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta} - H_y \cos \delta_X t_1$$

zu Beginn der Acquisition liegt Protonenmagnetisierung vor, „moduliert“ mit der chemischen Verschiebung des direkt gebundenen Heterokerns

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMQC = Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

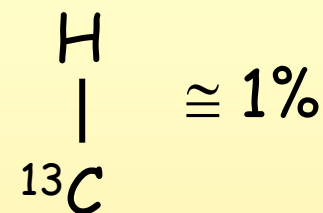
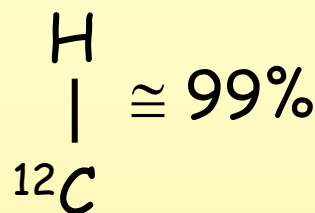


Ein Signal zeigt die direkte Bindung zwischen H und X an.

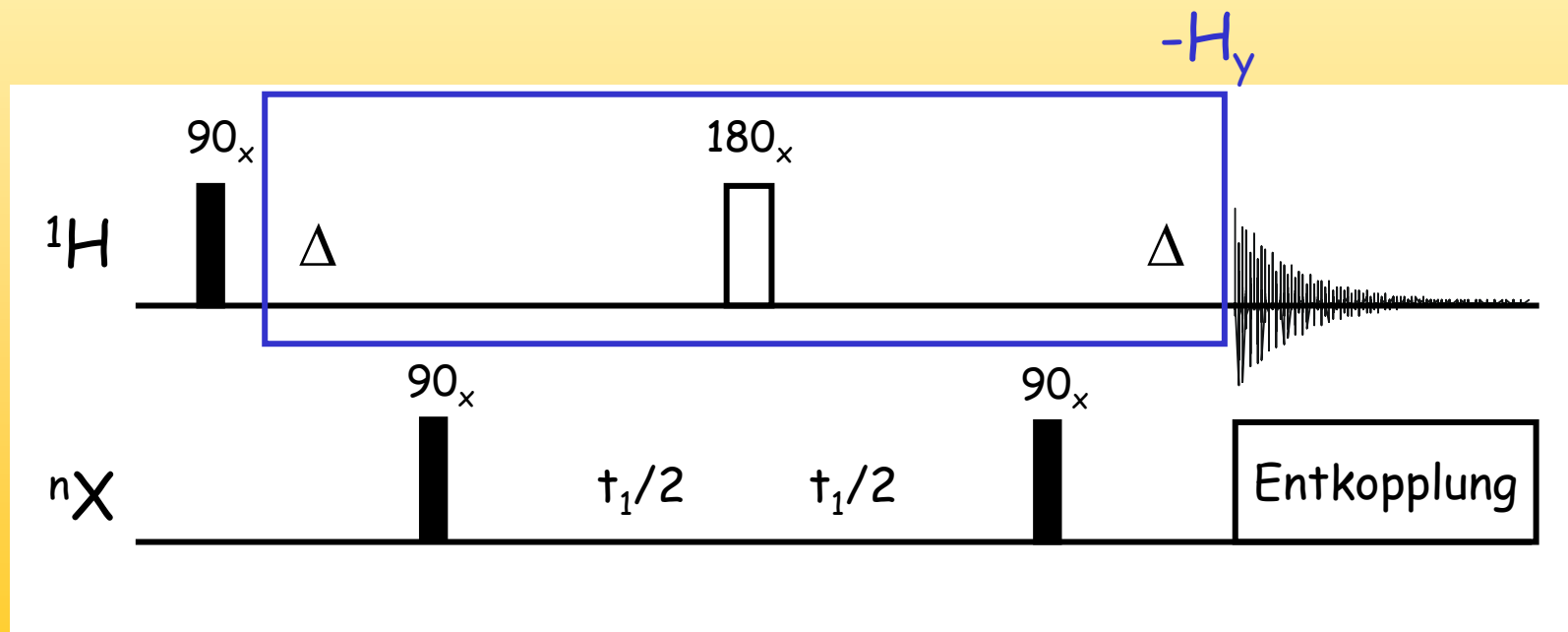
Die Kopplung zwischen H und X ist nicht zu sehen, während der Evolution und der Acquisition wird „entkoppelt“

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

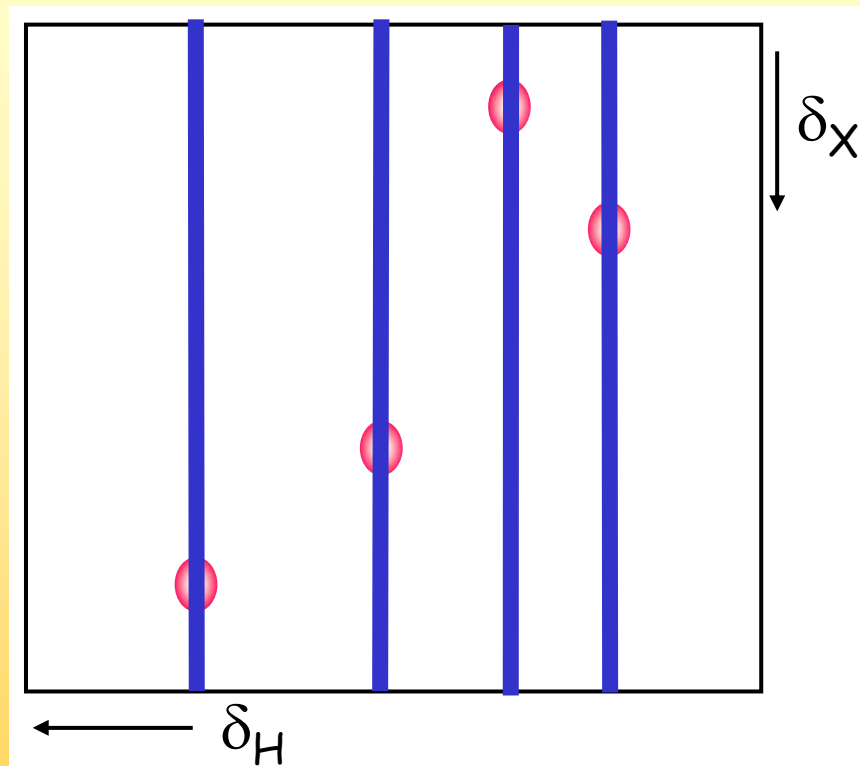
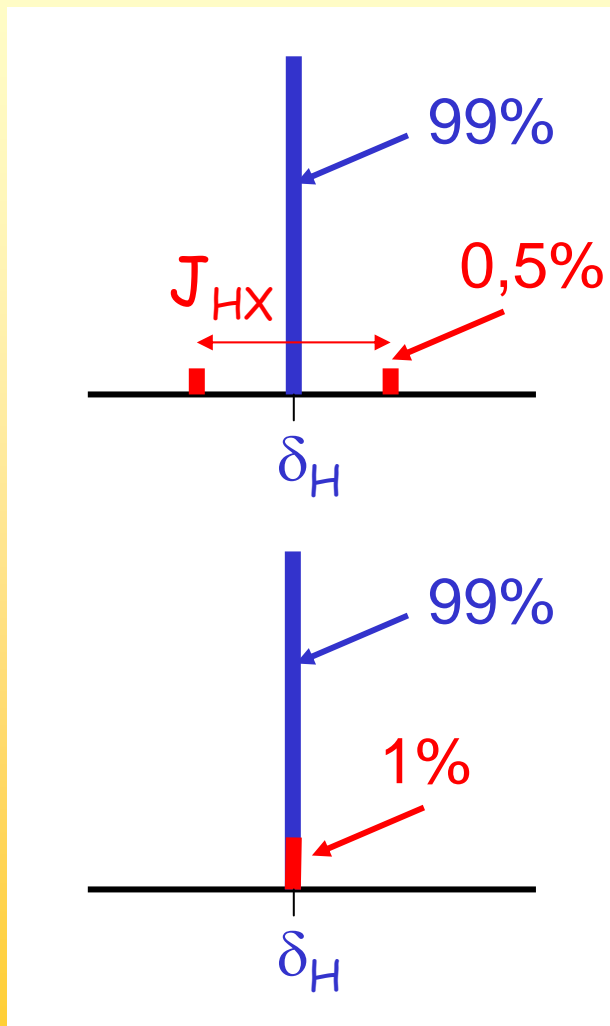
Was ist eigentlich mit
den Protonen die nicht an
den Kern gebunden sind,
z.B. an ^{12}C für $X = \text{C}$?



keine chemische Verschiebung δ_{H}
Kopplung J_{HH} zu vernachlässigen



Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Die Signale müssen irgendwie entfernt werden

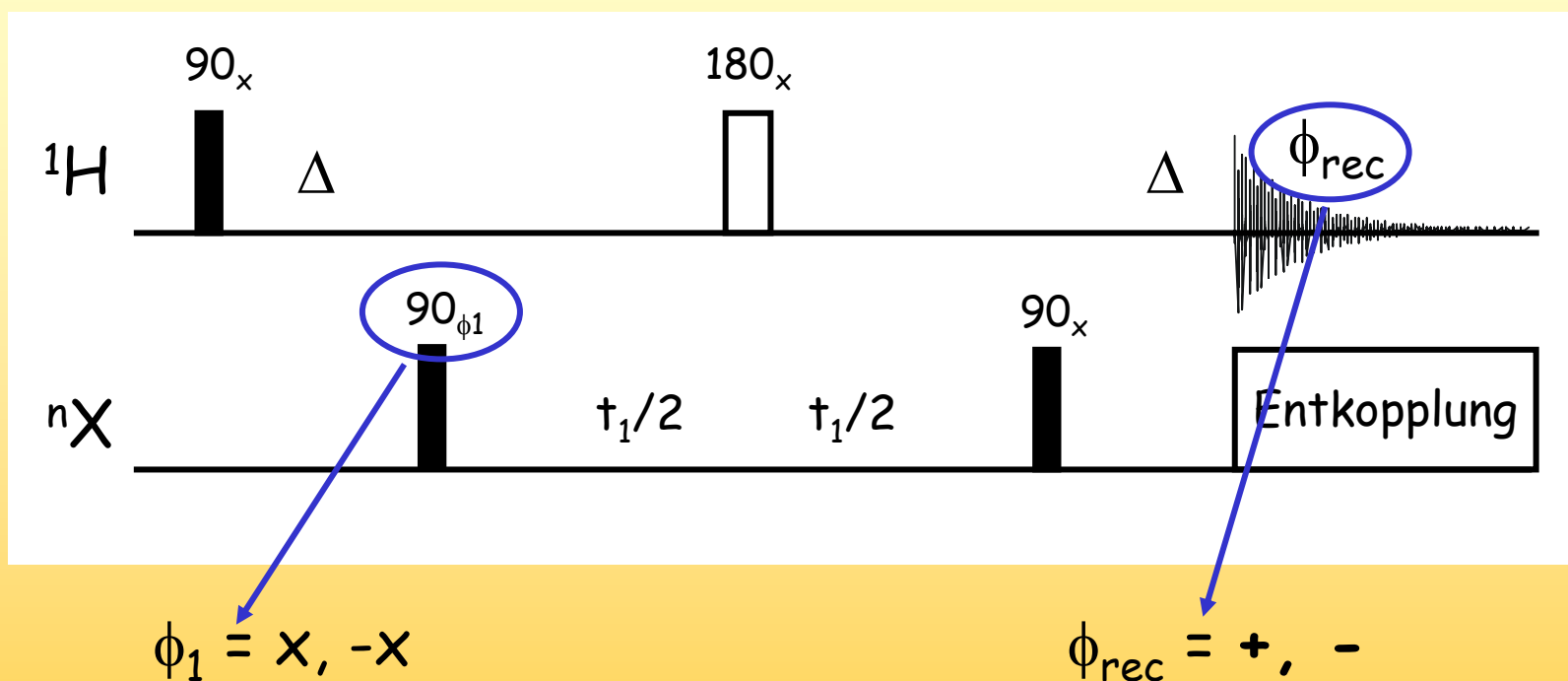
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Dazu gibt es eine ganze Reihe von Möglichkeiten

- Molekül mit ^{13}C markieren (unrealistisch)
 - Phasencyclus
 - BIRD-Puls
 - Gradienten
- } siehe andere Vorlesung !

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Phasencyclus



Das Experiment wird mehrmals mit unterschiedlichen Puls- und Receiverphasen durchgeführt

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

nicht an X-gebundene Protonen:

$$\begin{array}{ll} 1: \phi_1 = x & \longrightarrow H_y \\ 2: \phi_1 = -x & \longrightarrow H_y \end{array} \quad 1 - 2 = 0$$

n X-gebundene Protonen :

$$\begin{array}{ll} 1: \phi_1 = x & H_y \cos \delta_X t_1 \\ 2H_x X_z \xrightarrow{90^\circ X_x} -2H_x X_y & \\ 2: \phi_1 = -x & -H_y \cos \delta_X t_1 \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1: \phi_1 = x \\ 2: \phi_1 = -x \end{array}} \right\} 1 - 2 = 2 H_y \cos \delta_X t_1$$

$$2H_x X_z \xrightarrow{90^\circ X_{-x}} 2H_x X_y$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Allerdings hat die Unterdrückung mit dem Phasencyclus zwei Nachteile:

Es ist ein Differenzexperiment. Sollte die Subtraktion der beiden Spektren nicht ideal funktionieren, bleibt ein starkes Restsignal.

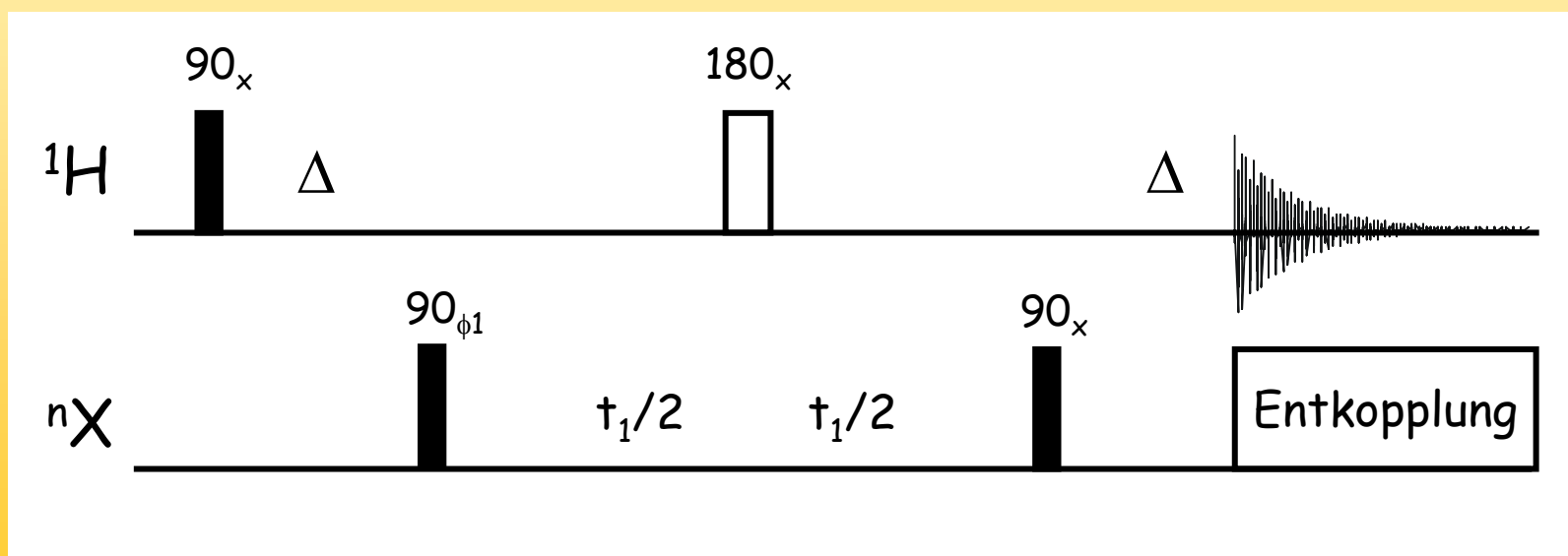
Man nimmt das starke Signal auf jeden Fall auf, der Empfänger muss dementsprechend weit geöffnet werden und es bleibt weniger „Platz“ für die gewünschten kleineren Signale.

Daher werden heute oft die Gradientenmethoden verwendet

Das HMBC

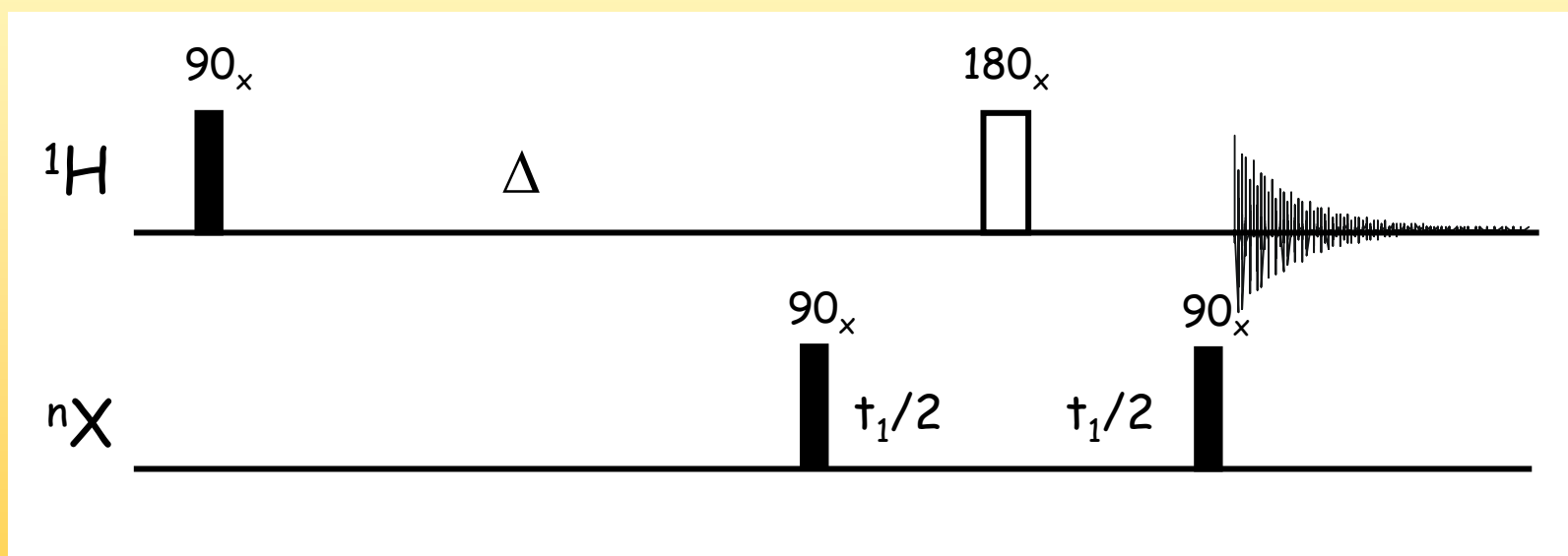
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Bislang haben wir aber nur Korrelationen zwischen Protonen und direkt gebundenen X-Kernen. Oft sind aber viele nicht-protonen tragende Kerne vorhanden und auch besonders interessant. Wie kann man das HMQC umbauen ?

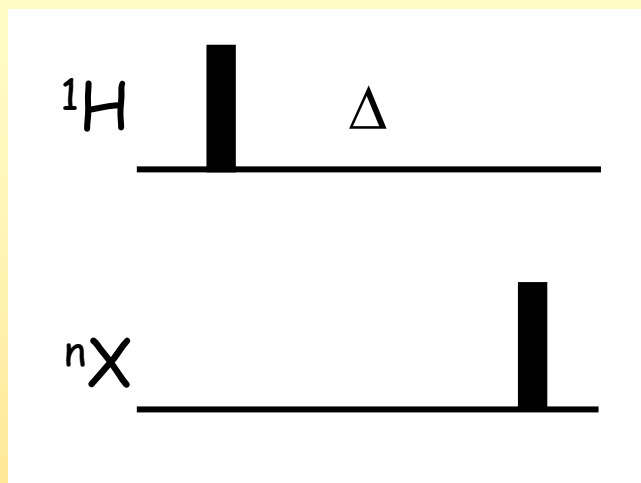


Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMBC (Weitbereichskorrelation)



Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Im ersten Teil der Pulssequenz werden die Multiquanten erzeugt, indem sich die heteronukleare Kopplung während Δ entwickelt.

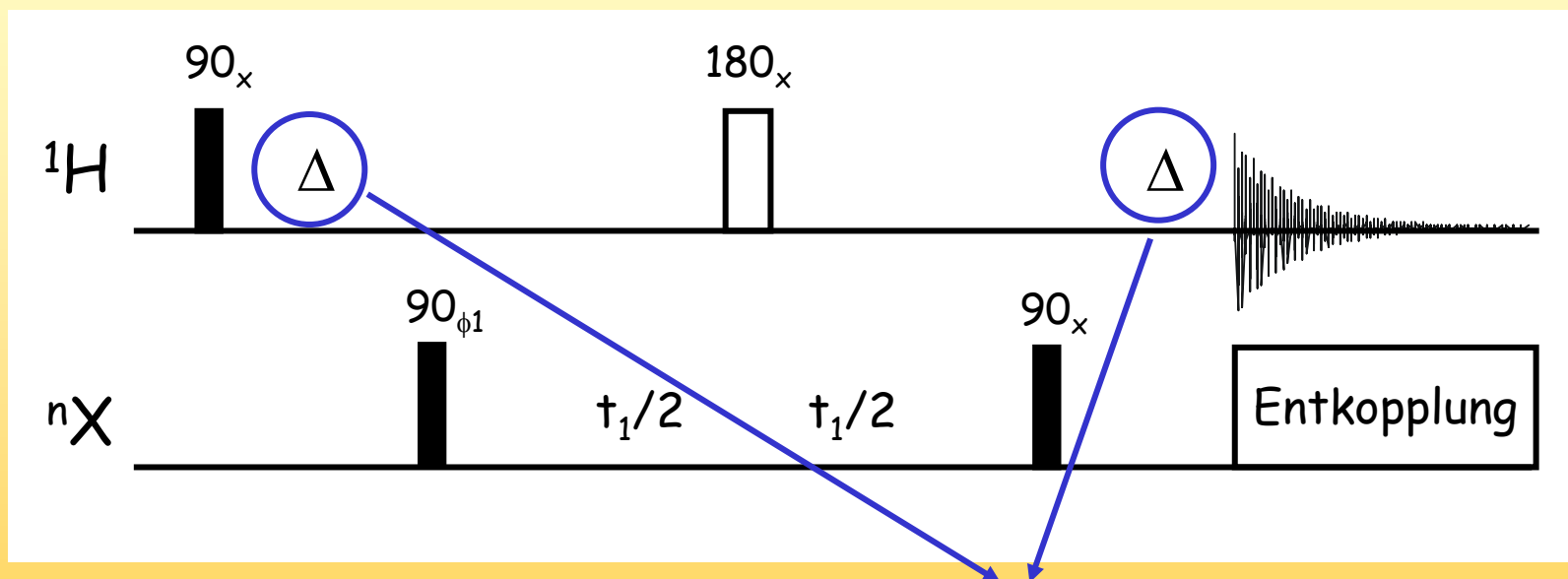
$$\begin{aligned}
 H_z &\xrightarrow{90^\circ H_x} -H_y \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta} -H_y \cos \pi J_{HX}\Delta + 2H_x X_z \sin \pi J_{HX}\Delta \\
 &\xrightarrow{90^\circ X_x} \cancel{-H_y \cos \pi J_{HX}\Delta} - 2H_x X_y \sin \pi J_{HX}\Delta
 \end{aligned}$$

wird mit dem Phasen-
cyclus entfernt

Multiquanten bilden sich optimal
für $\Delta = 1/2J$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Die optimale Länge hängt also von der Größe der Kopplung ab und lässt sich leicht berechnen



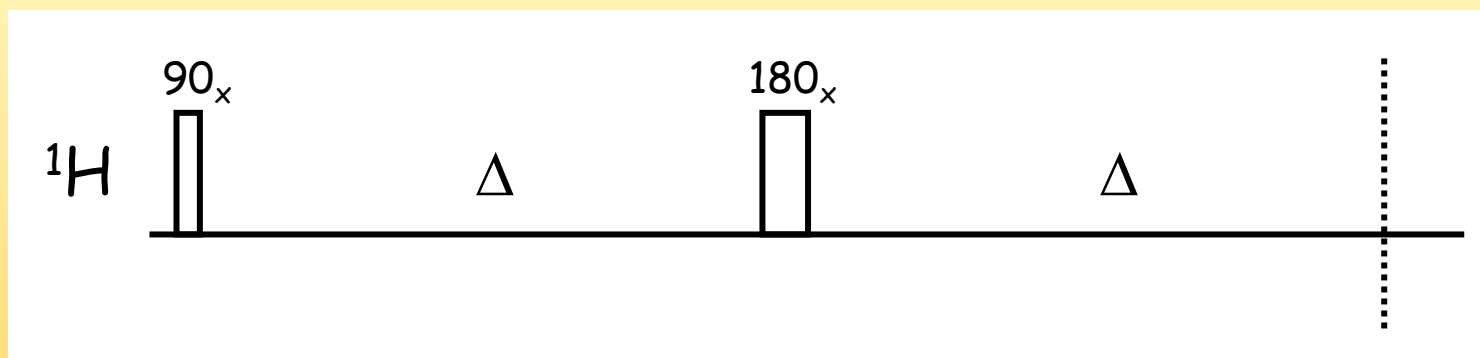
Eigentlich muss man also nur Δ länger machen

HMQC: $J = 140 \text{ Hz}$, $\Delta = 1/2J = 3.57 \text{ msec}$

HMBC: $J = 6 \text{ Hz}$, $\Delta = 1/2J = 83 \text{ msec}$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Dann treten aber zwei Probleme auf:
Entwicklung von J_{HH} -Kopplung
Relaxation

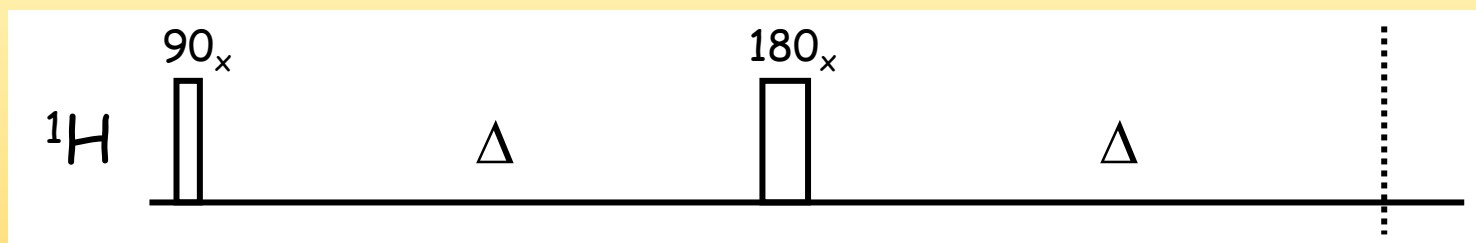


Die Relaxation bewirkt das Verschwinden des Signals,
Die Zeit vor der Acquisition sollte also so lang wie nötig
aber so kurz wie möglich sein, Δ möglichst klein

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Die Entwicklung von J_{HH} ist nicht mehr zu vernachlässigen, es entsteht eine Mischung von in-phase und anti-phase Magnetisierung

Eine Magnitude-Rechnung wird nötig sein !



$$H_{1y} \cos \pi J_{HH} 2\Delta - 2H_{1x} H_{2z} \sin \pi J_{HH} 2\Delta$$

$$\Delta = 3.5 \text{ msec}$$

$$\Delta = 40 \text{ msec}$$

$$J_{HH} = 3 \text{ Hz}$$

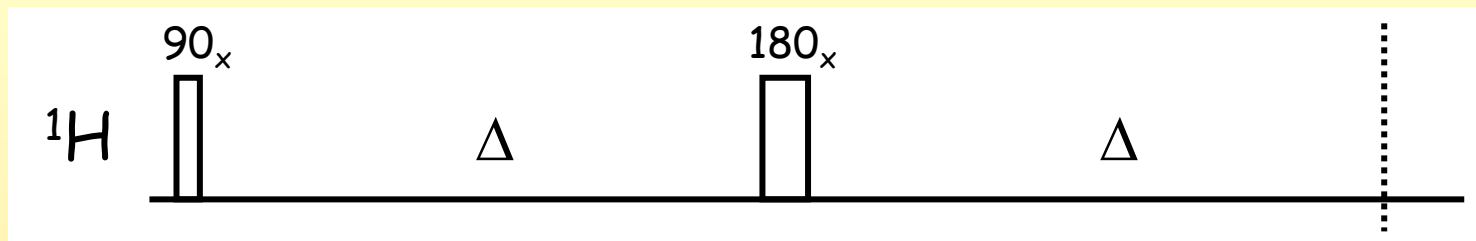
$$\text{„cos“} = 0.94$$

$$\text{„cos“} = 0.31$$

$$\text{„sin“} = 0.06$$

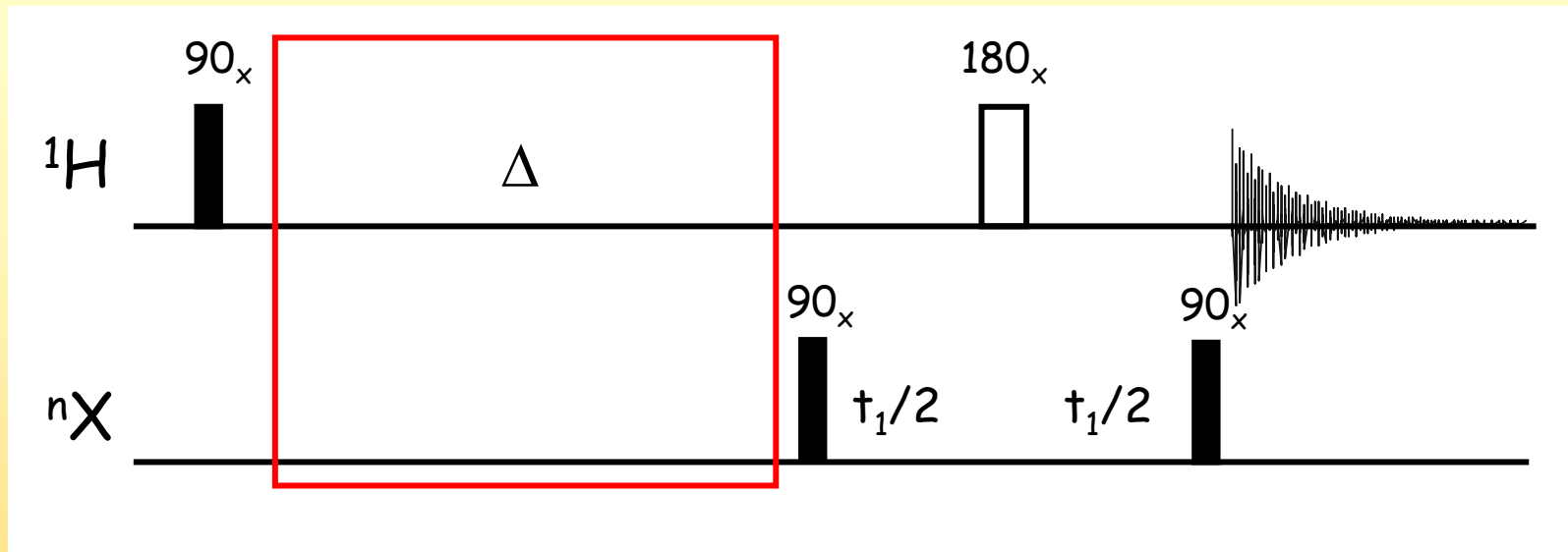
$$\text{„sin“} = 0.68$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



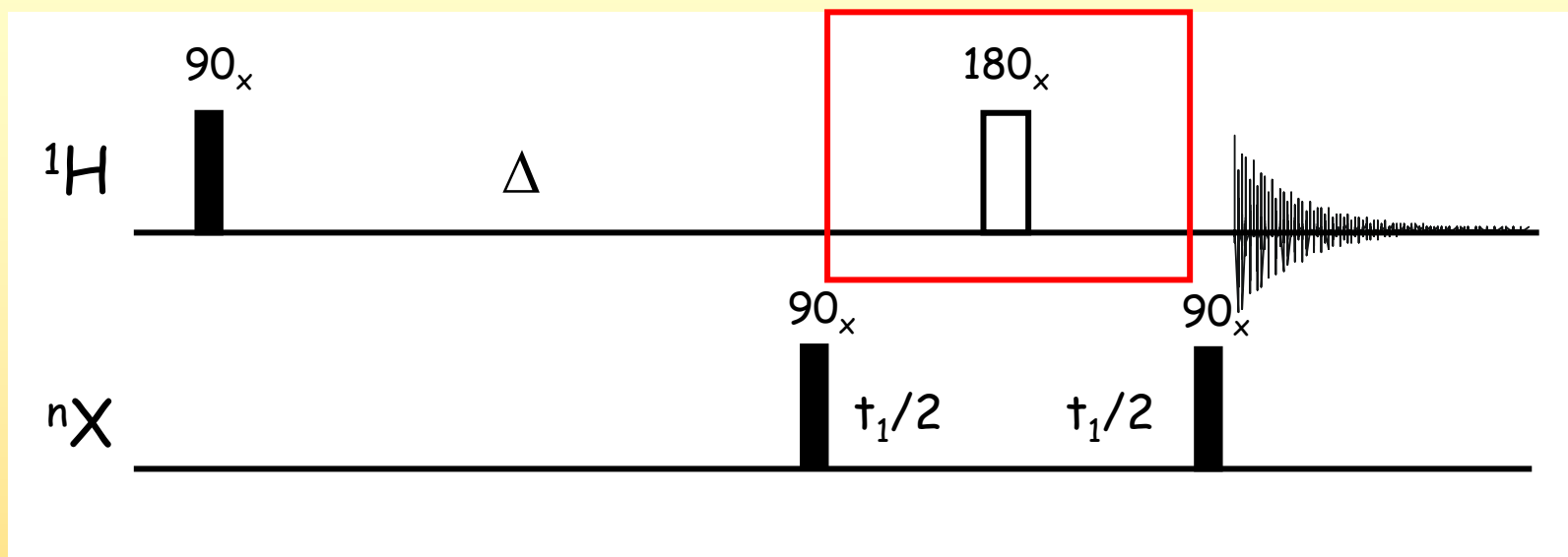
Zur Erinnerung: Der 180° Puls hat im HMQC die chemische Verschiebung refocussiert. Wäre das nicht passiert, wäre eine Phasenkorrektur ebenfalls unmöglich. J_{HH} war im HMQC nicht wichtig da Δ zu kurz war. Wenn nun aber wegen J_{HH} eine Magnitude-Rechnung gemacht werden muss, brauchen wir auch die chemische Verschiebung nicht mehr beachten.

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



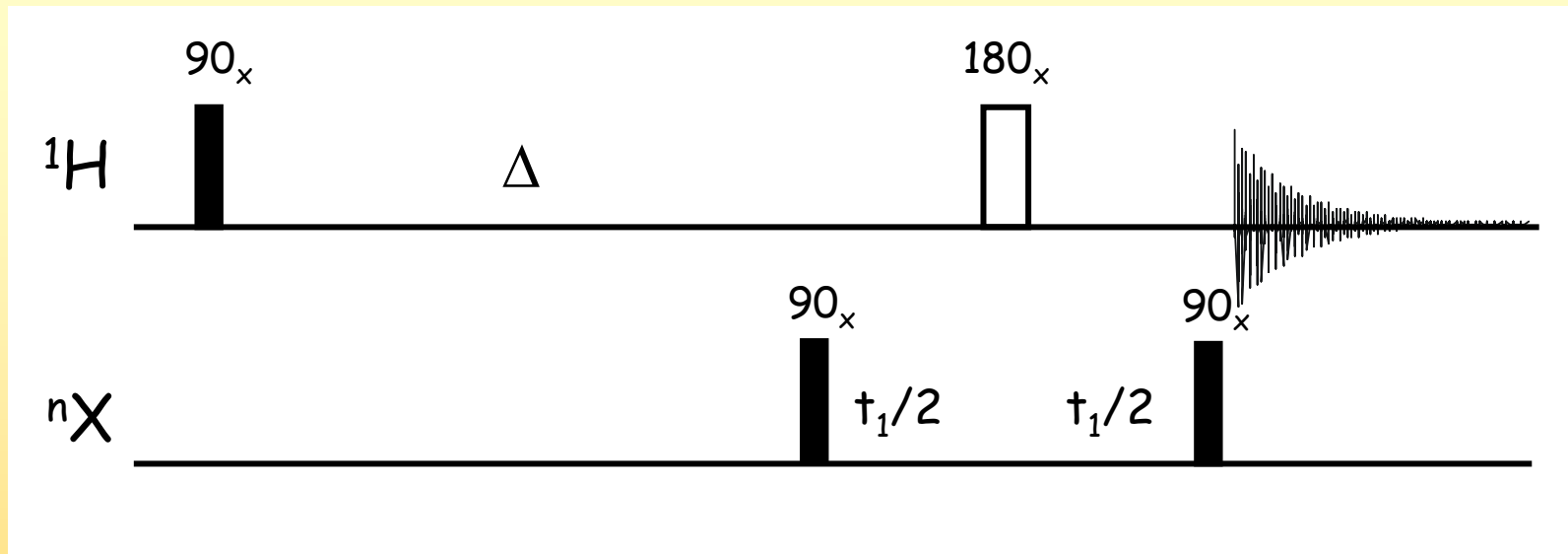
Man macht $\Delta = 60 - 80 \text{ msec}$ lang, dann entwickelt sich heteronukleare Weitbereichskopplung lange genug

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Wegen der nun auftretenden homonuklearen Kopplung muss eine Magnitude-Rechnung gemacht werden, wir lassen dann auch chemische Verschiebung während Δ zu, aber nicht während t_1 !!!

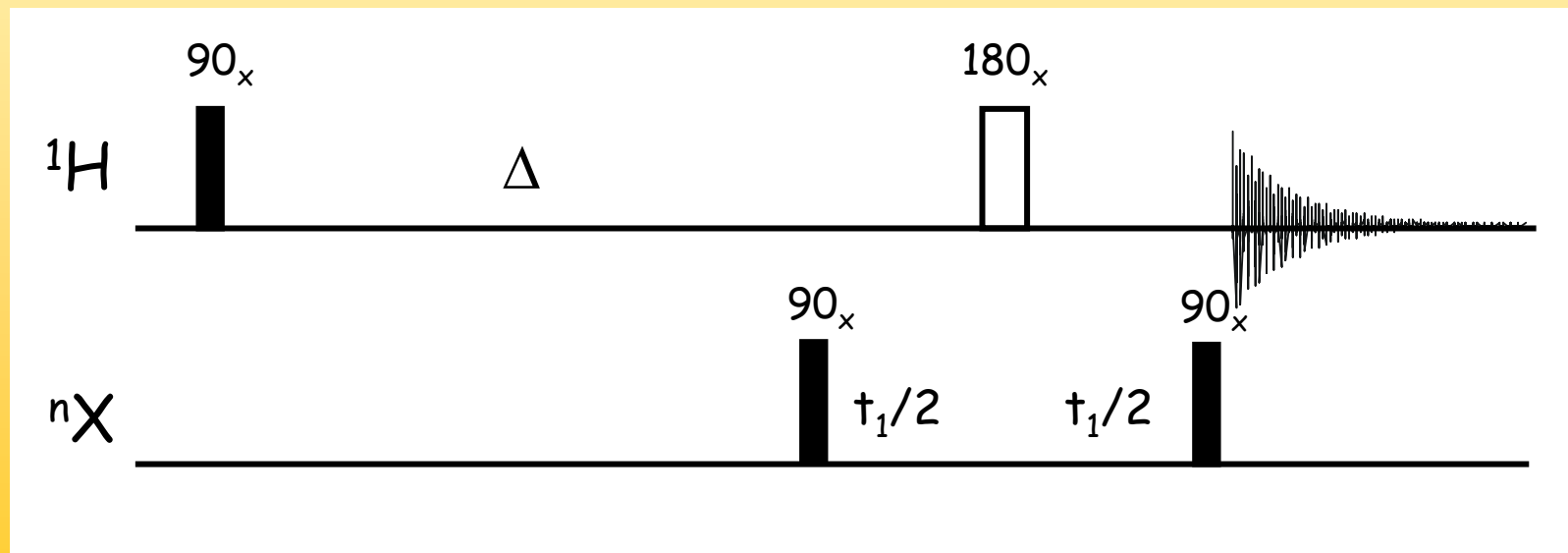
Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Die heteronukleare Kopplung wird auch nicht mehr refokussiert um Zeit zu sparen, die Entkopplung muss dann wegfallen, sonst bleibt kein Signal übrig.

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Zu Beginn der Acquisition liegt also ein wildes Gemisch von Magnetisierung vor, wichtig ist die Modulierung mit der chemischen Verschiebung in t_1 , den Rest erledigt die Magnitude-Rechnung.



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

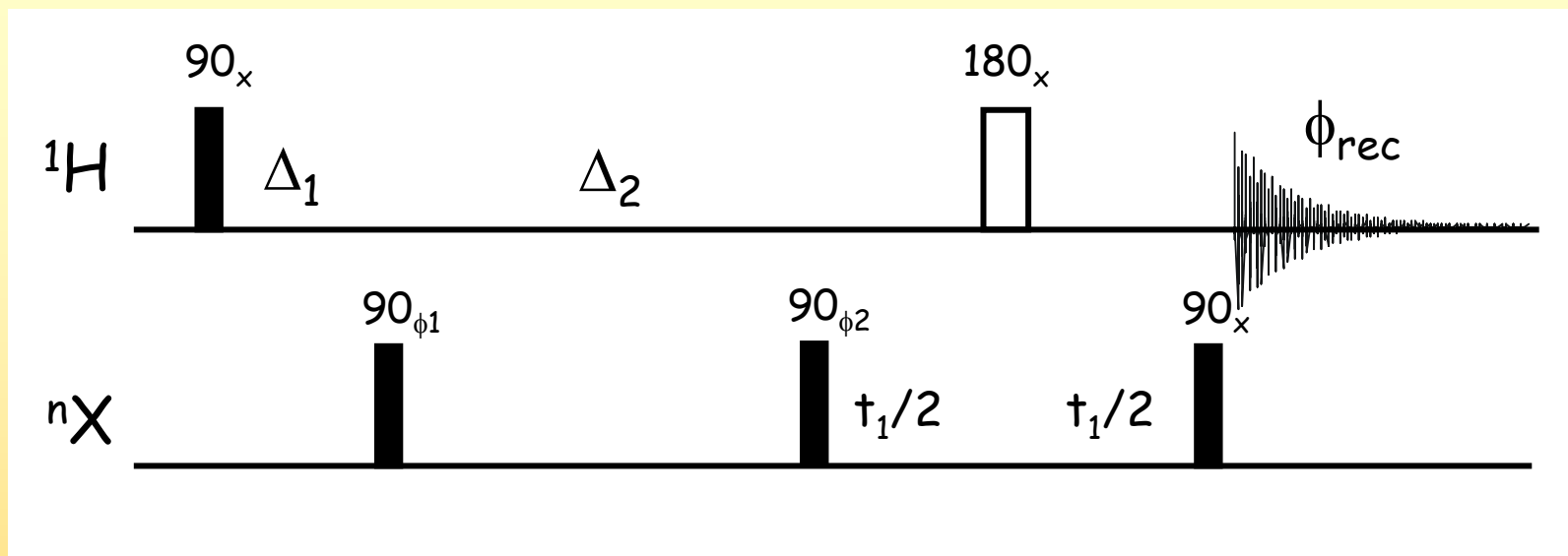
Was ist mit der $^1J_{HX}$ -Kopplung?

Die daraus resultierenden Signale kennt man schon,
wegen der fehlenden Entkopplung ergeben sich Doubletts
Man könnte entweder Δ auf $1/J$ setzten

$$H_y \cos \pi J_{HX} 2\Delta - 2H_x X_z \sin \pi J_{HX} 2\Delta \xrightarrow{\Delta=1/J_{HX}} H_{1y}$$

Oder man unterdrückt die Signale mit einem Phasecyclus

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



$$\Delta_1 = 3.6 \text{ msec}, \Delta_2 = 60 \text{ msec}$$

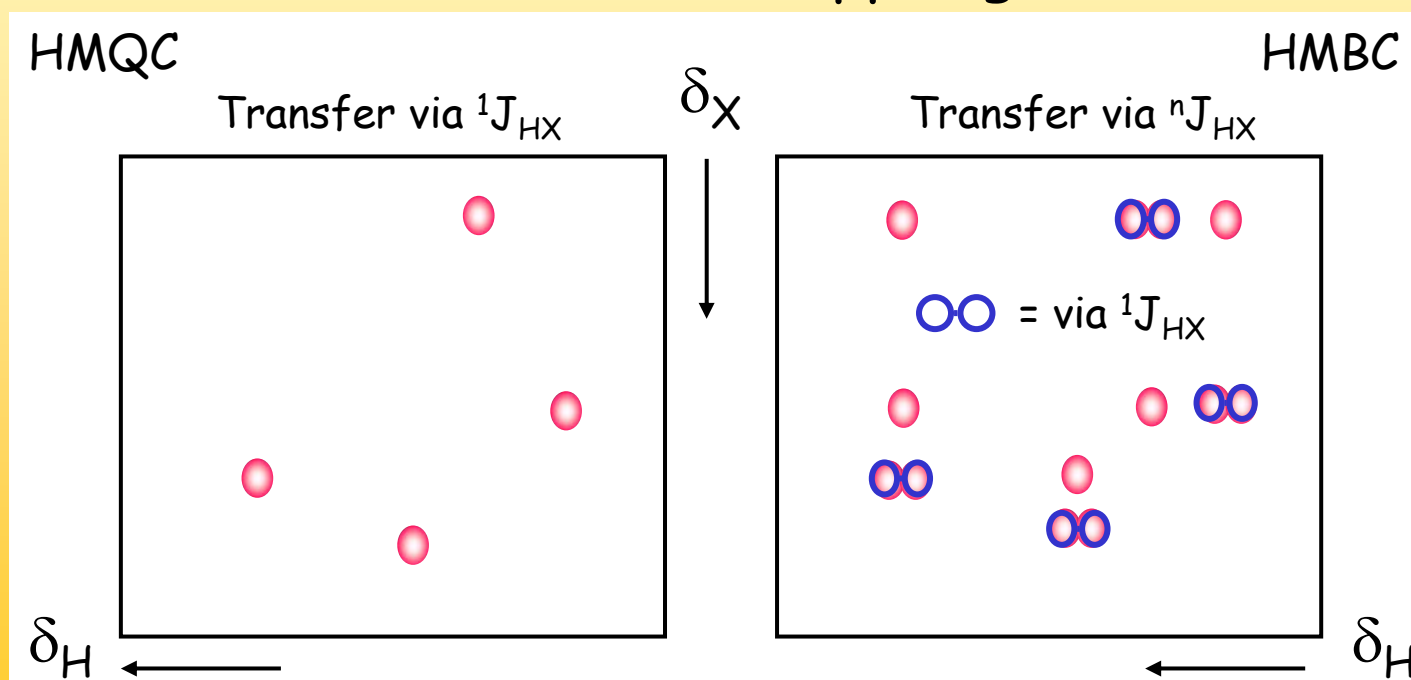
$$\phi_1 = x, x, -x, -x \longrightarrow \text{„low-pass-J“-Filter}$$

$$\left. \begin{array}{l} \phi_2 = x, -x, x, -x \\ \phi_{\text{rec}} = +, -, +, - \end{array} \right\} \text{„normaler“ Phasencyclus}$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMBC = Heteronuclear Multiple Bond Correlation

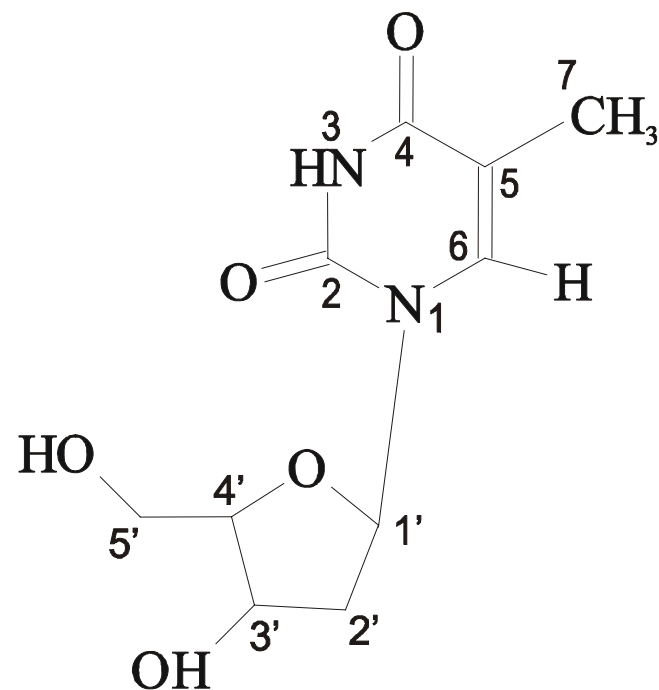
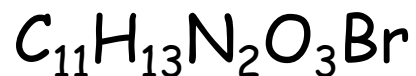
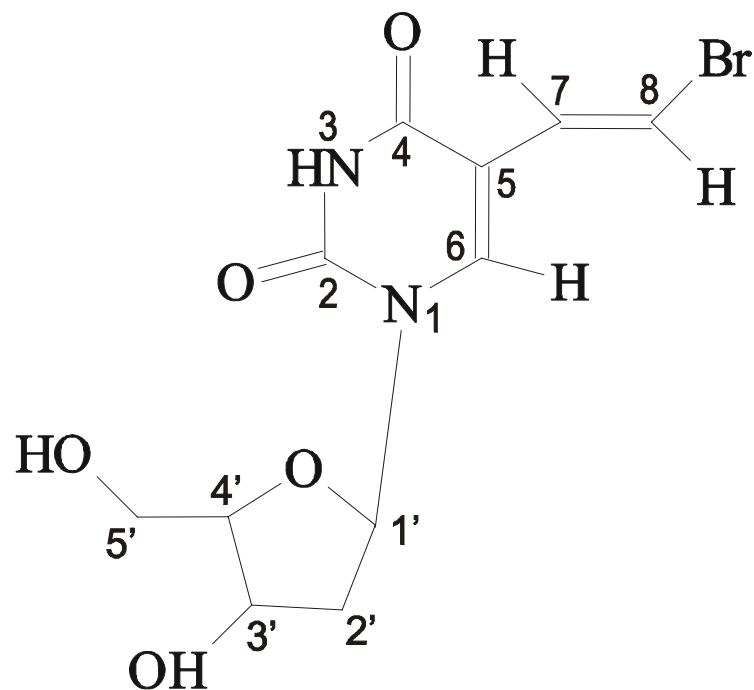
Es bleiben nicht unterdrückte Signale von den $^1J_{\text{HC}}$ übrig
als kleine Doubletts, andere Signale zeigen
Weitbereichskopplung an



Ein Beispiel

Ein Beispiel

Das Molekül

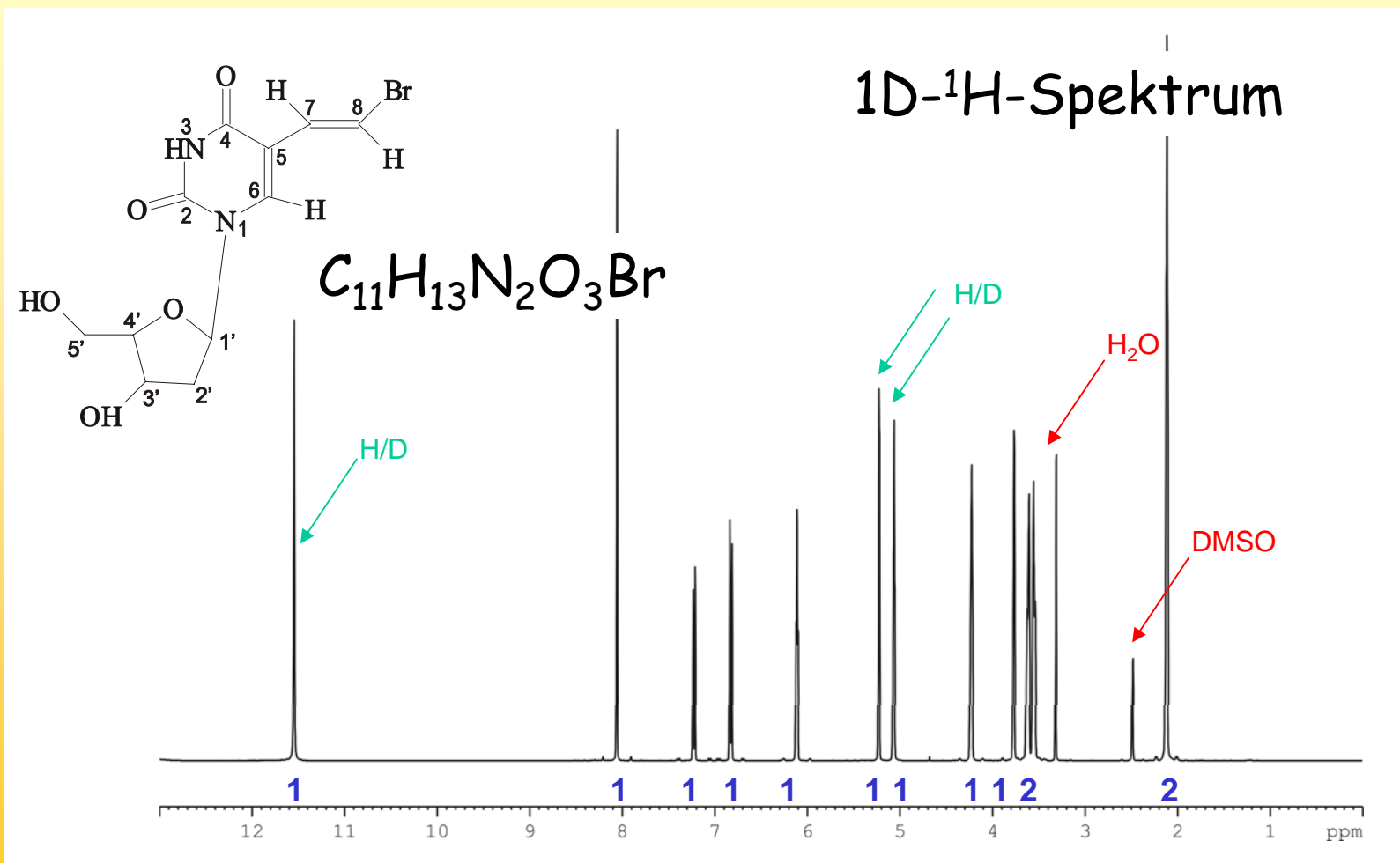


Ein Beispiel

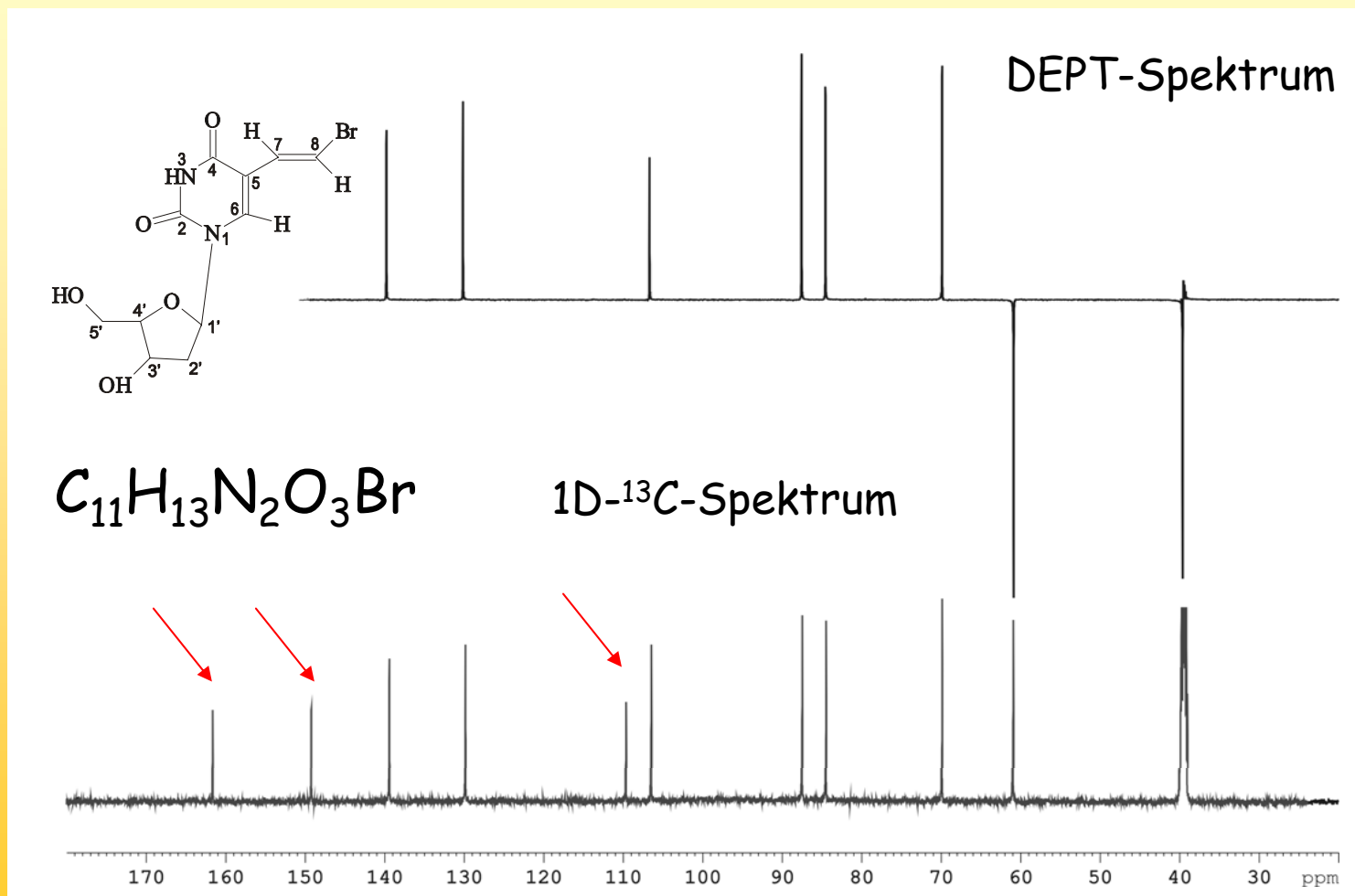
Die Experimente

$1\text{D-}^1\text{H}$	1 min
$1\text{D-}^{13}\text{C}$	1 h
DEPT	10 min
COSY	10 min
$^{13}\text{C-HMQC}$	10 min
$^{13}\text{C-HMBC}$	50 min
$^{15}\text{N-HMQC}$	3 h
$^{15}\text{N-HMBC}$	35 h

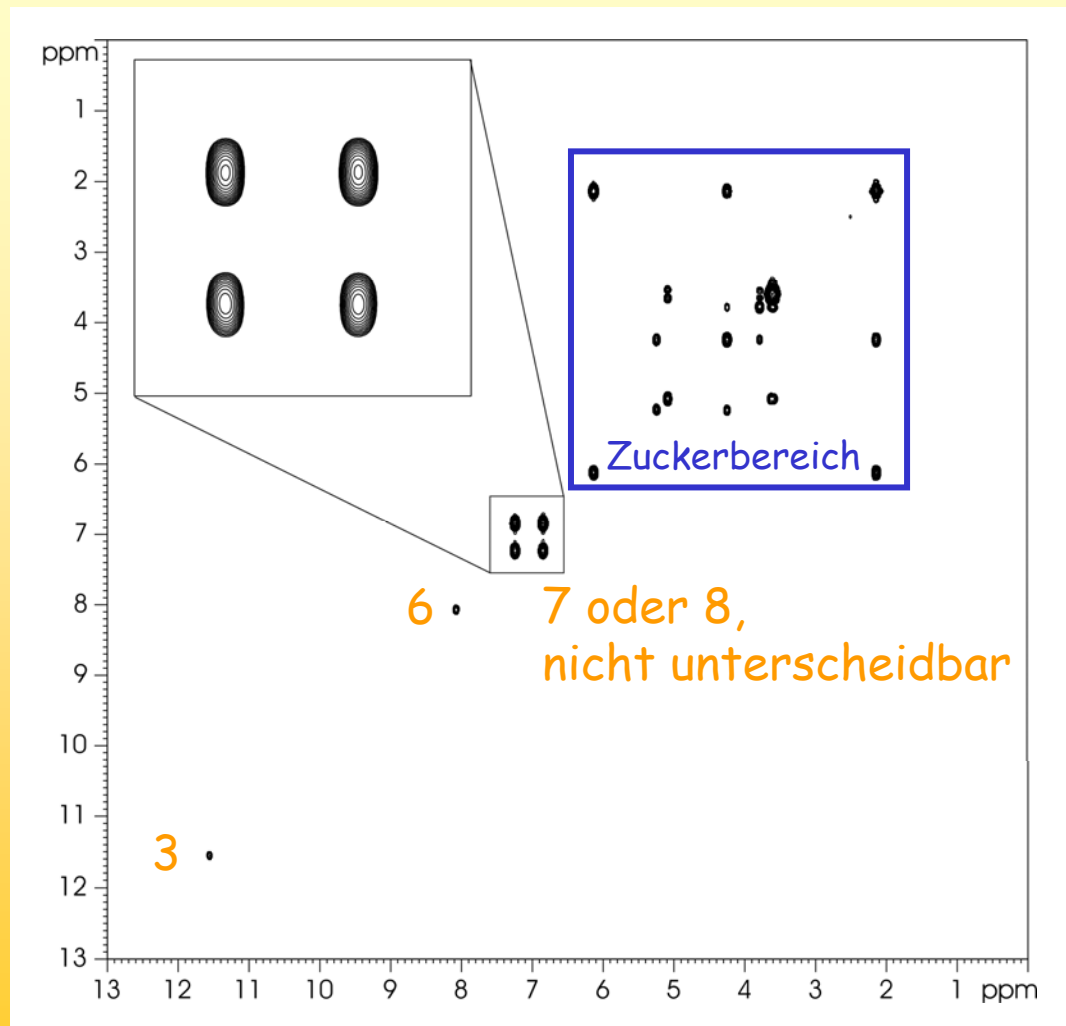
Ein Beispiel



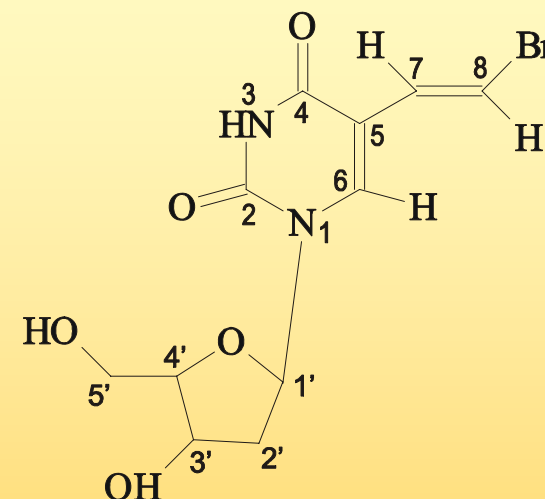
Ein Beispiel



Ein Beispiel

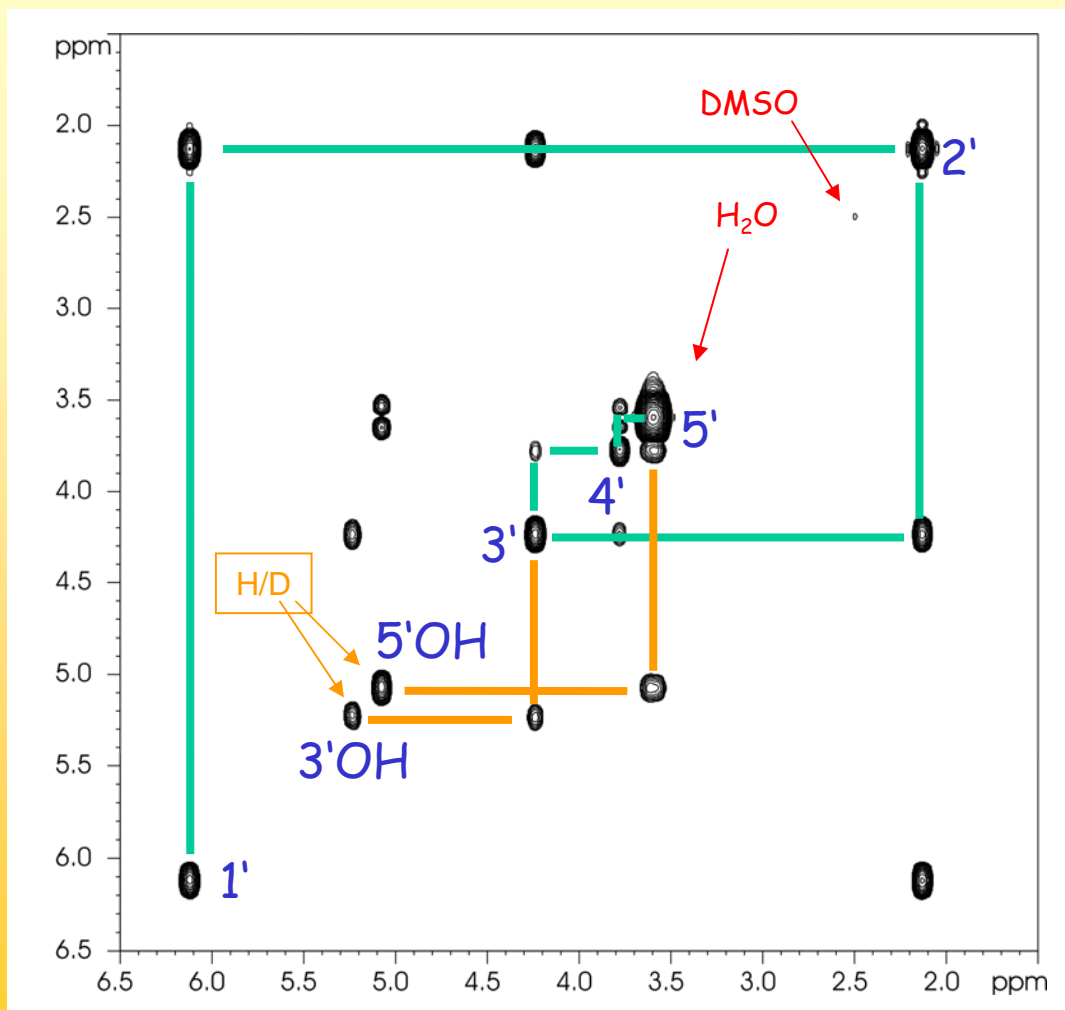


COSY

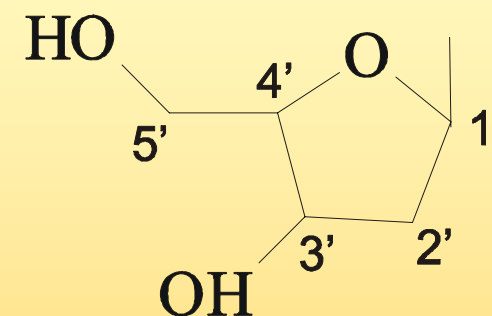


Korrelation von
Frequenzen via ^1H - ^1H -
Kopplung, i.a. nur zwei
oder drei Bindungen

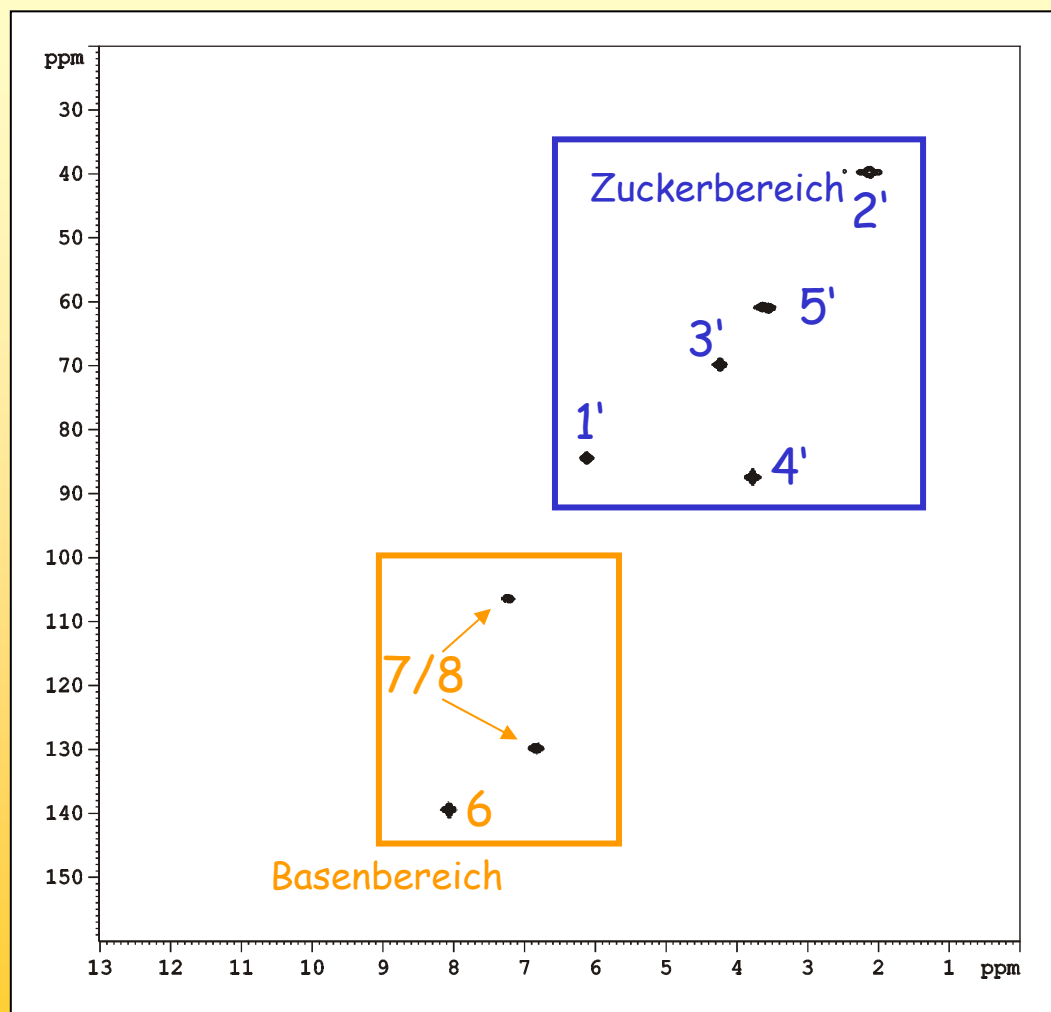
Ein Beispiel



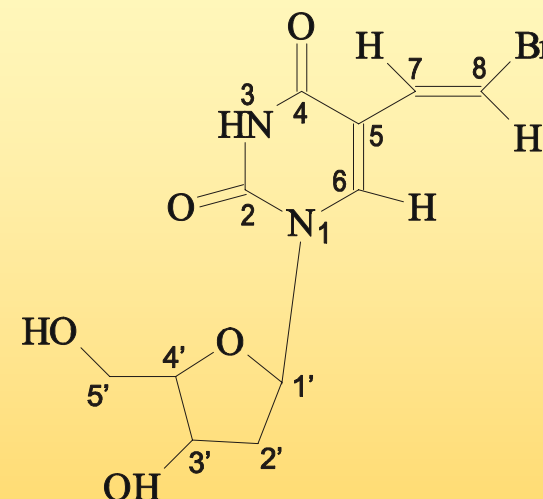
COSY



Ein Beispiel

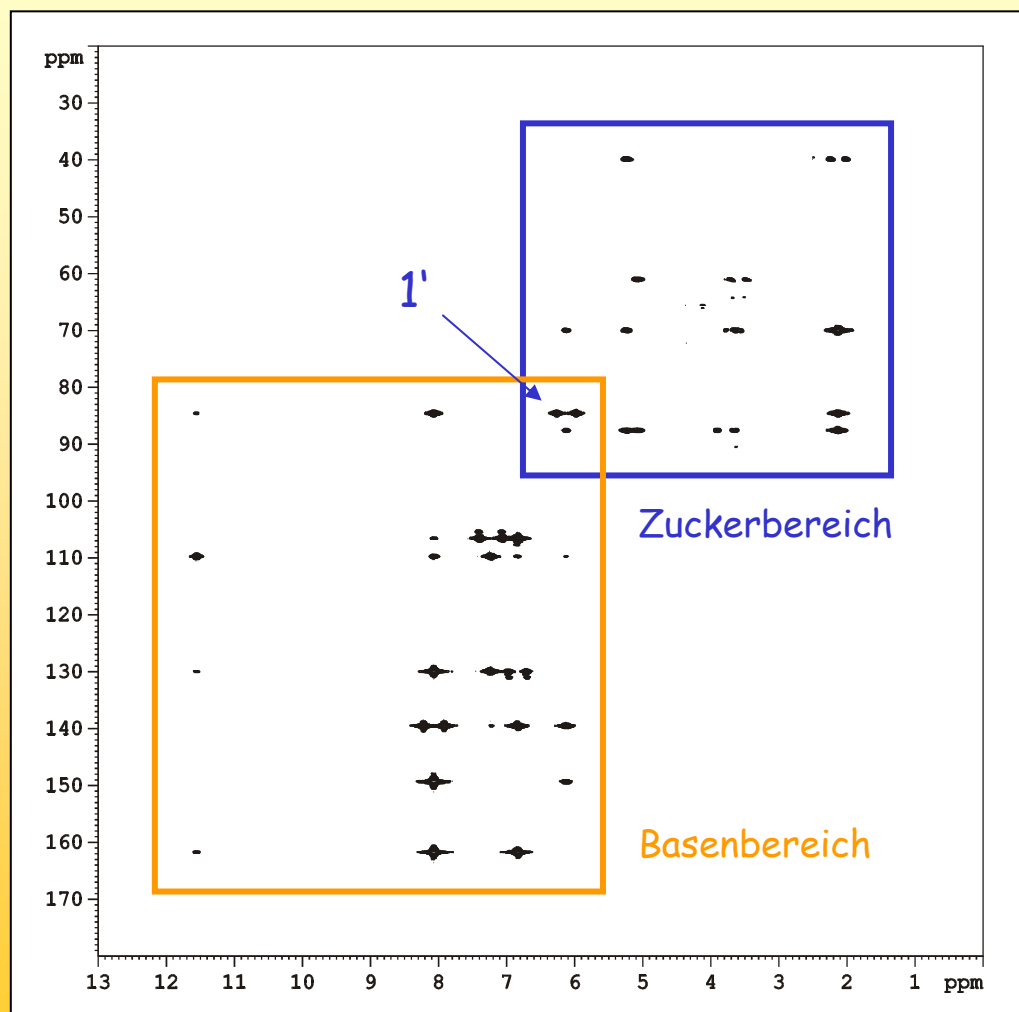


^{13}C -HMQC

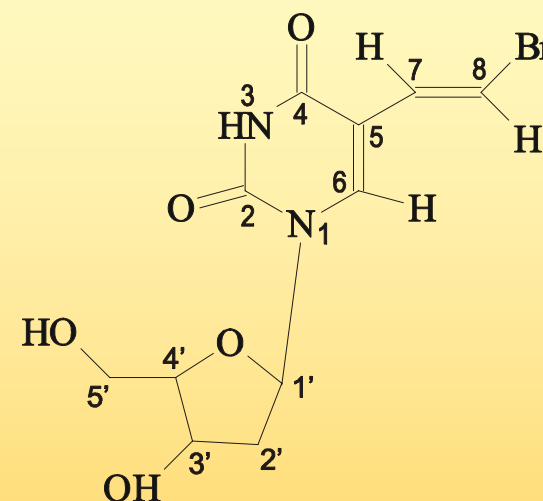


Korrelation von Frequenzen
via ^1H - ^{13}C -Kopplung, man
korreliert nur direkt
aneinander gebundene Kerne

Ein Beispiel

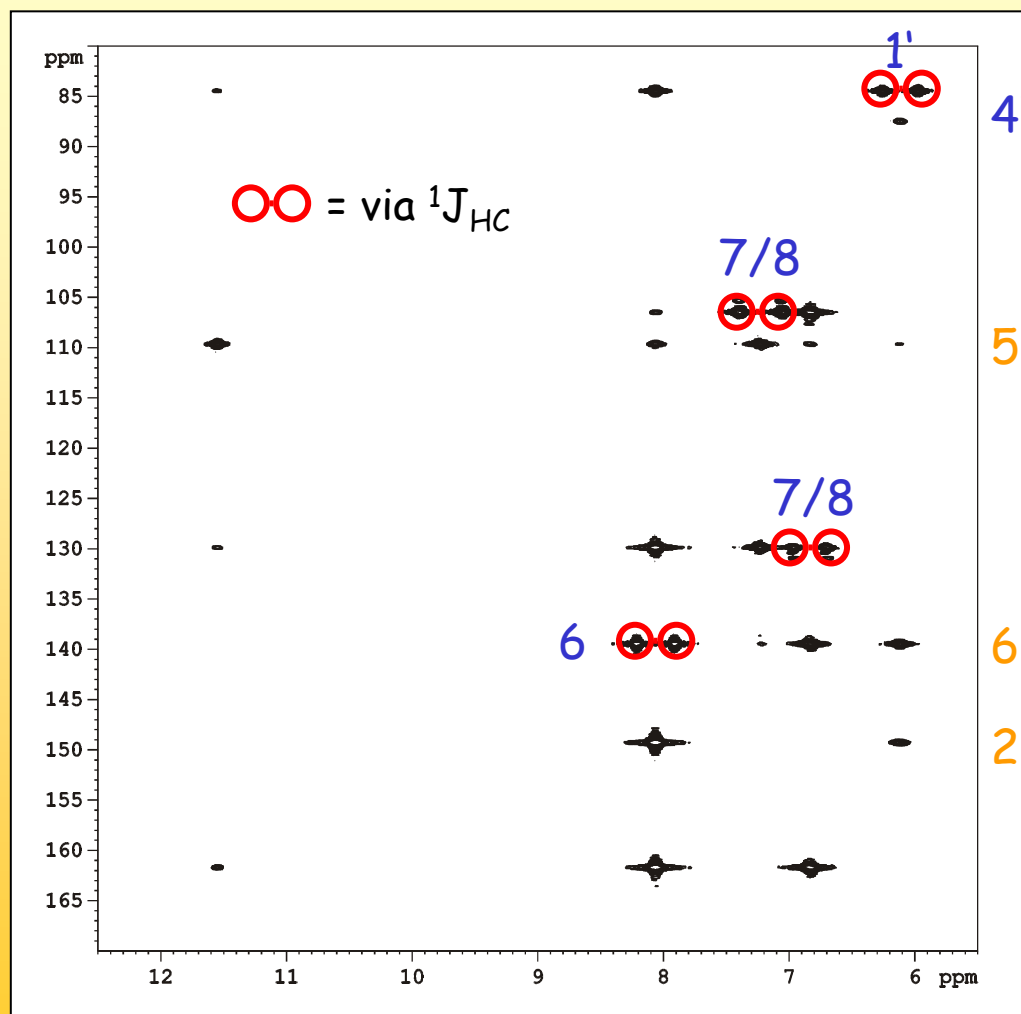


^{13}C -HMBC

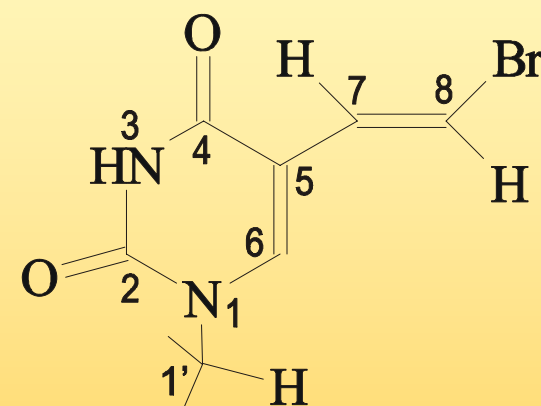


Korrelation von Frequenzen
via ^1H - ^{13}C -Kopplung, man
korreliert über bis zu 4
Bindungen ($^2J_{\text{HC}}$ bis $^4J_{\text{HC}}$),
 $^1J_{\text{HC}}$ gibt ein Dublett

Ein Beispiel

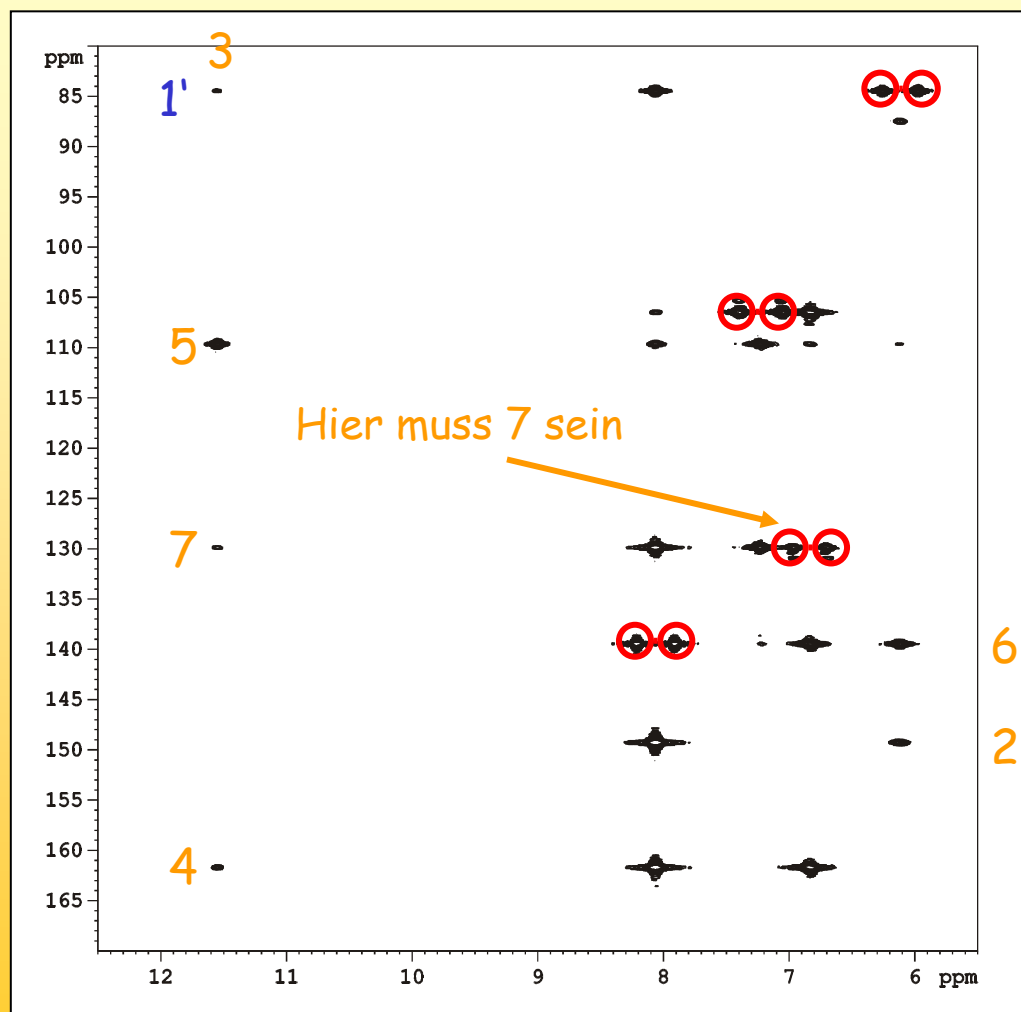


^{13}C -HMBC (Basenbereich)

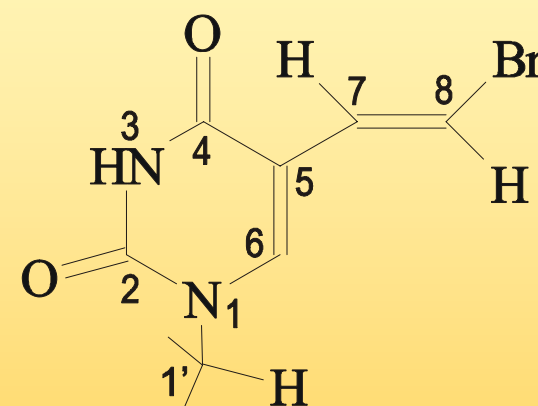


Korrelation ausgehend von
H1' Korrelation zu 5 ist
schwach und 5 ist von 7/8
aus zu sehen.

Ein Beispiel



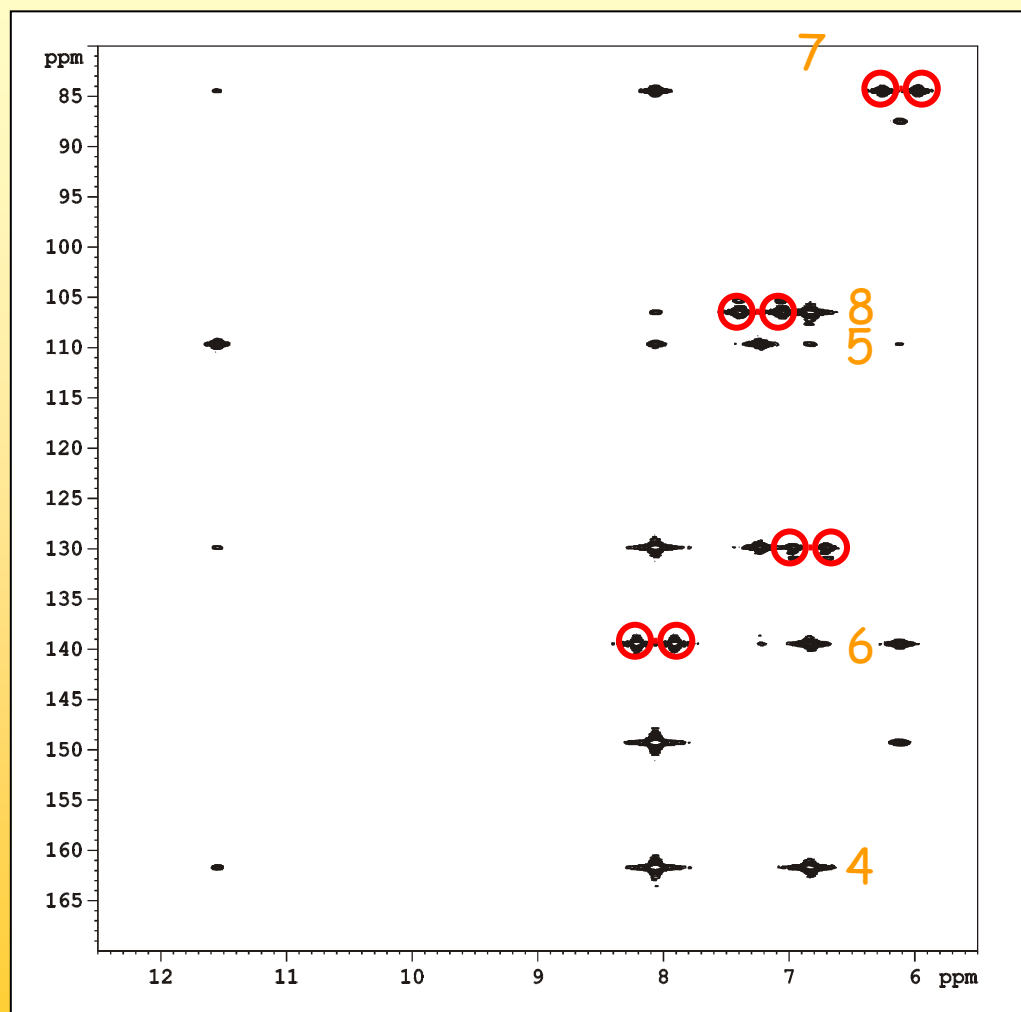
^{13}C -HMBC
(Basenbereich)



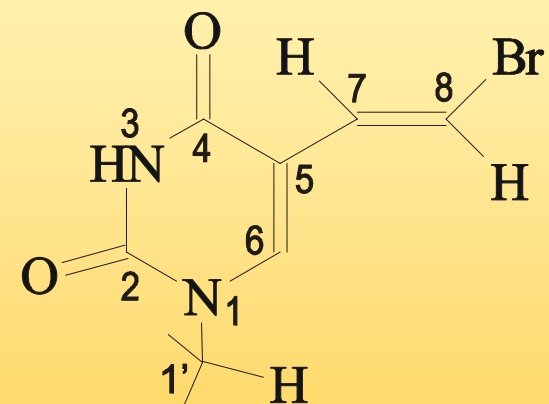
Korrelation ausgehend von H3

C2 fehlt !!

Ein Beispiel

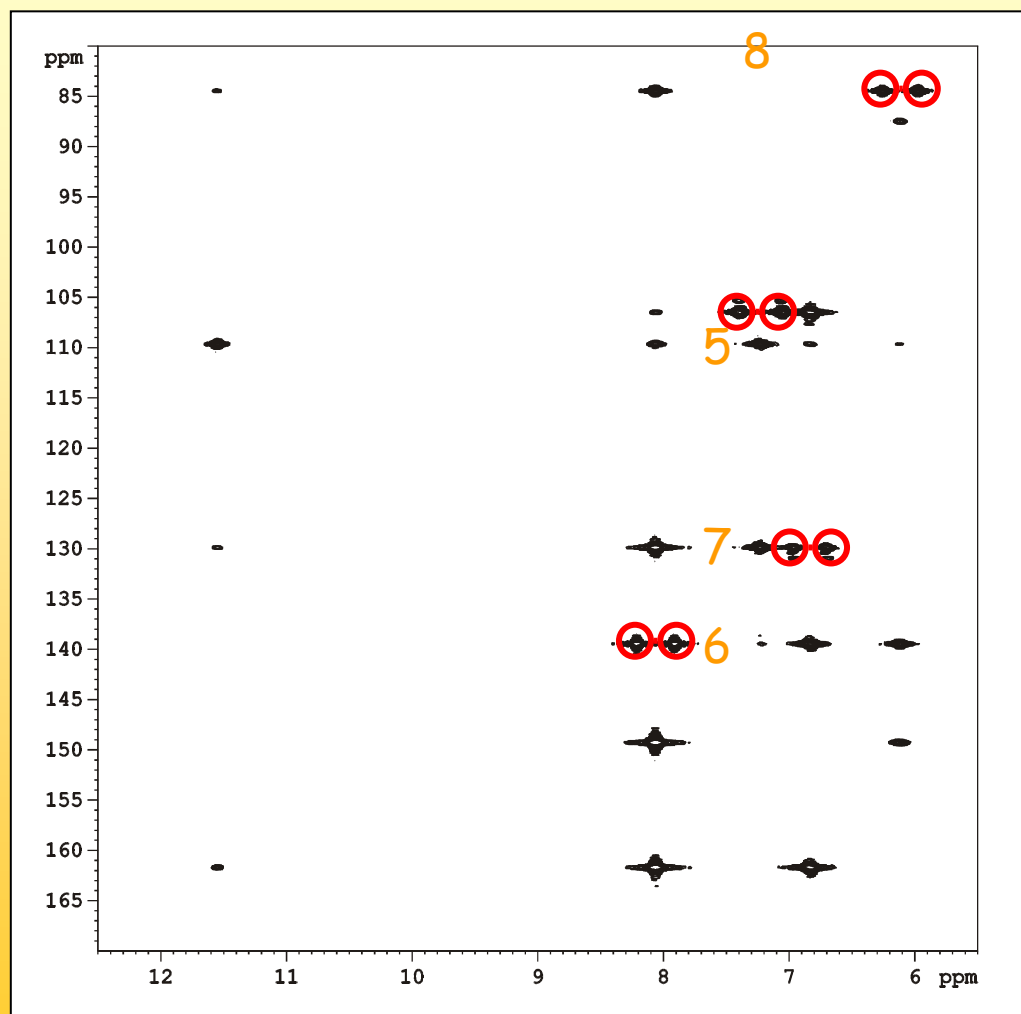


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

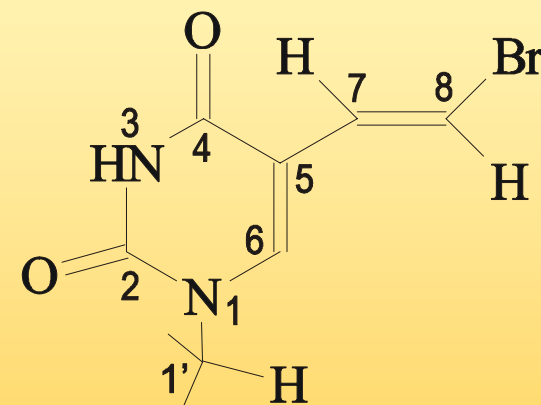


Korrelation ausgehend von H7,
das via H3 zugeordnet ist.

Ein Beispiel

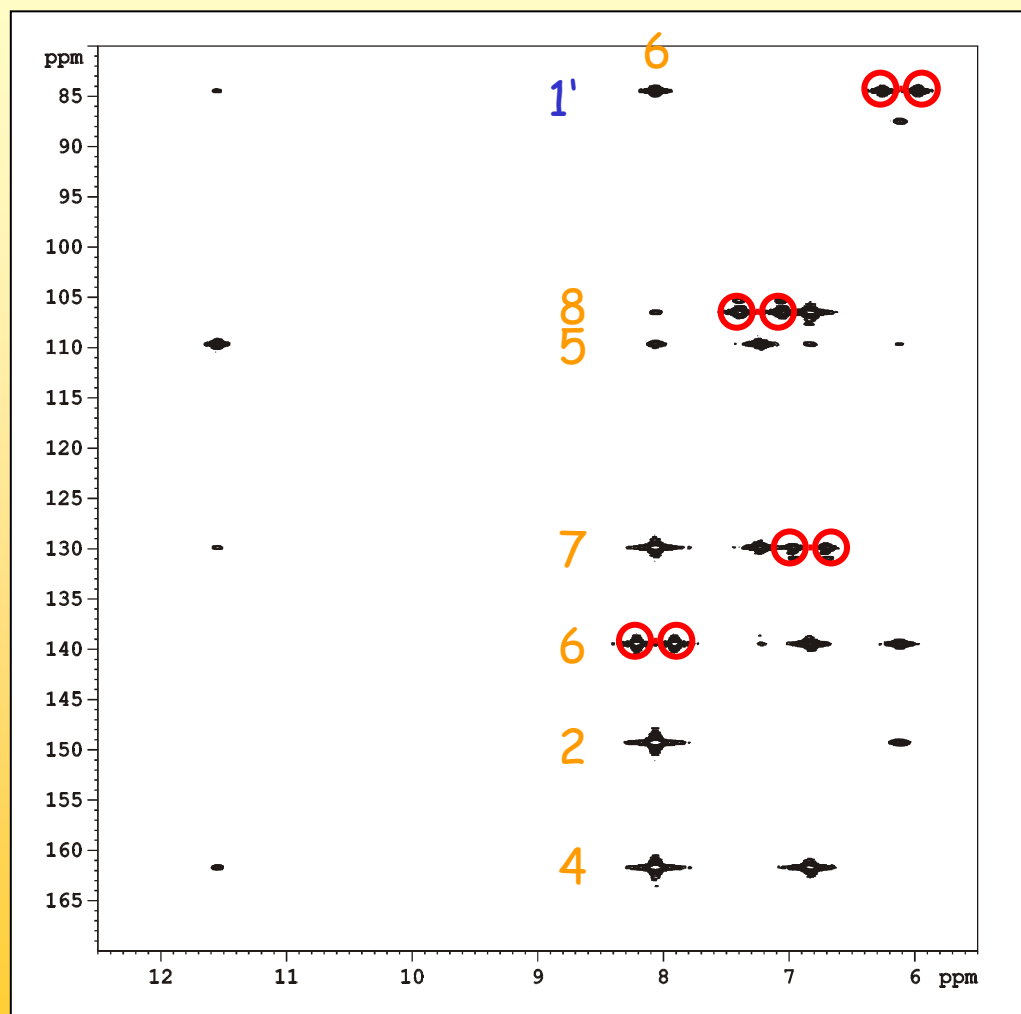


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

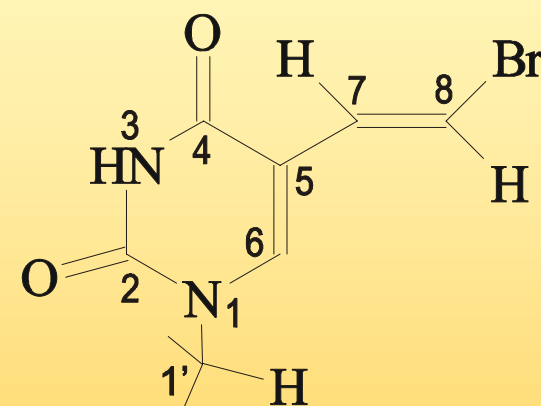


Korrelation ausgehend von H8,
das via H3/H7 zugeordnet ist.

Ein Beispiel

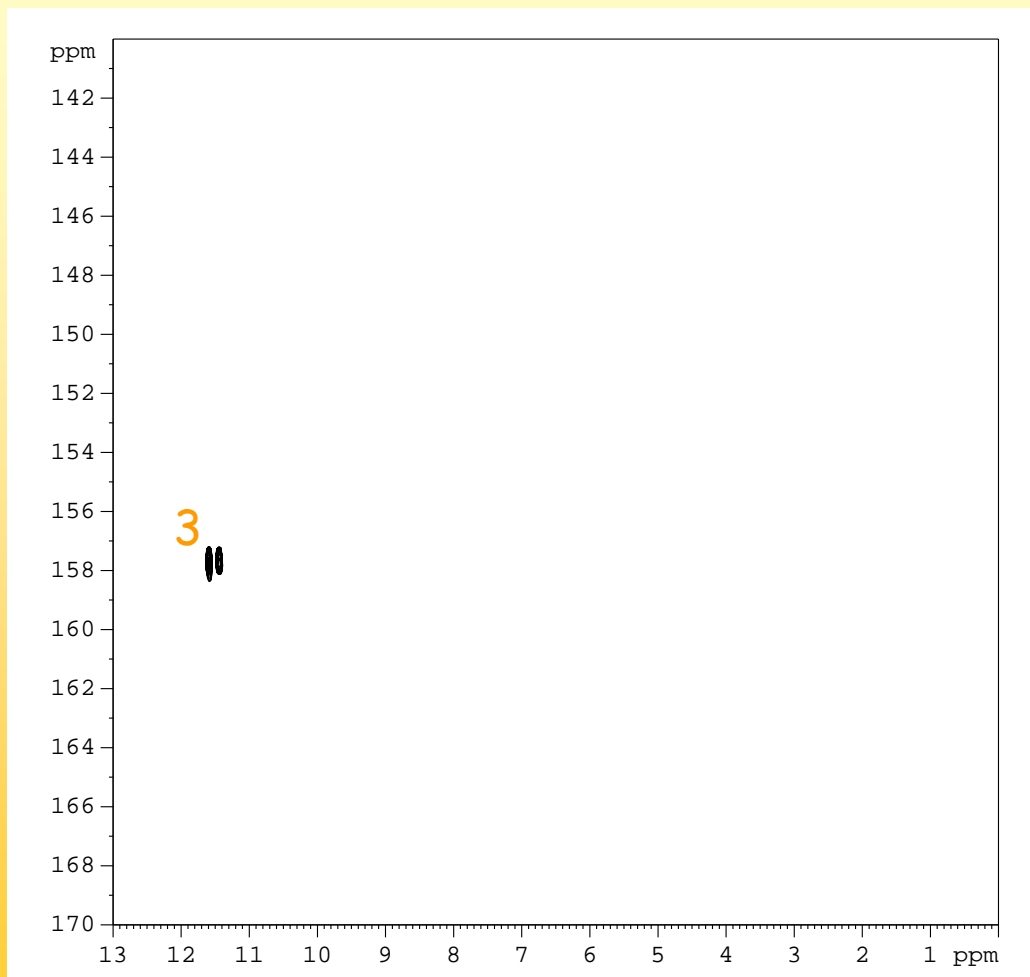


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

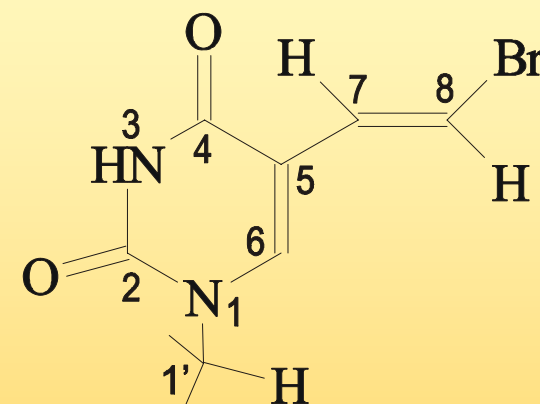


Korrelation ausgehend von
H6, alles ist zu sehen, das
hilft nicht beim Zuordnen,
es passt aber alles.

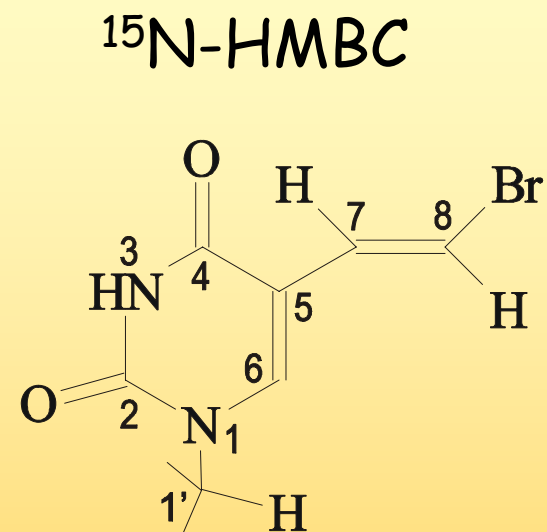
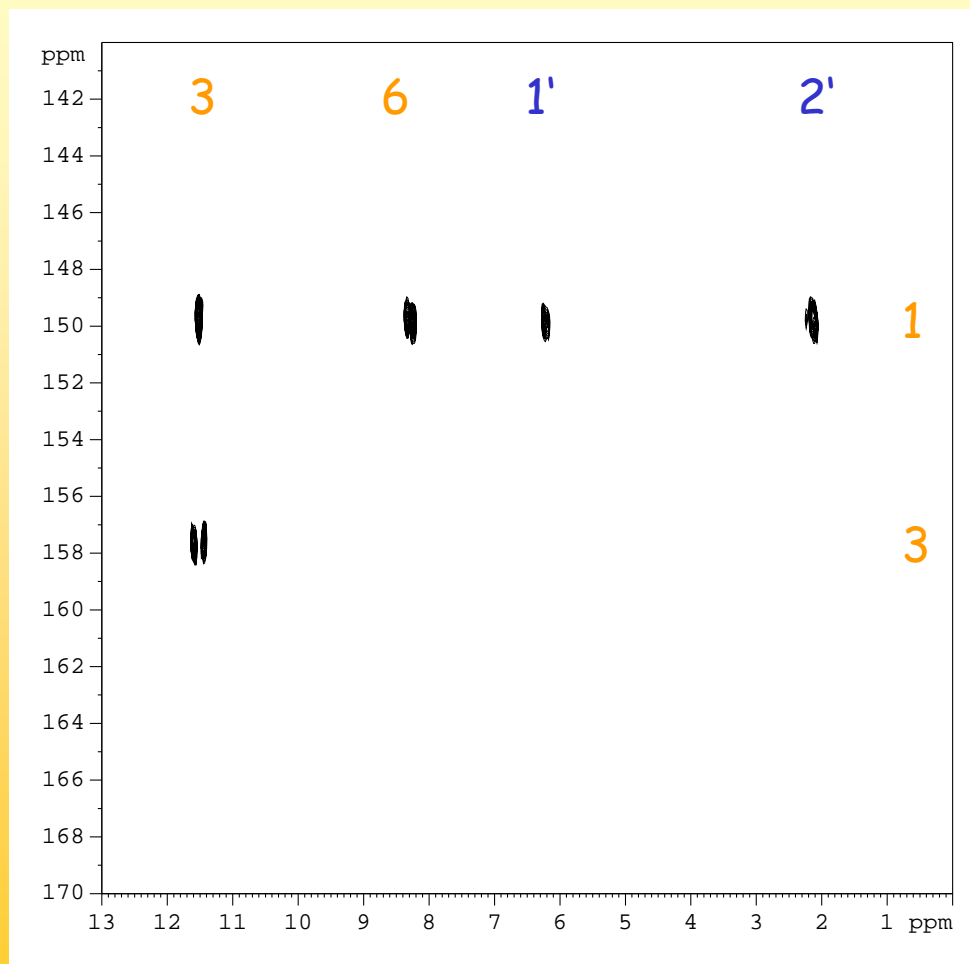
Ein Beispiel



^{15}N -HMQC



Ein Beispiel



Ein Beispiel

Zuordnung

	^1H [ppm]	^{13}C [ppm]	^{15}N [ppm]
1'	6,16	84,5	-
2'	2,17	39,8	-
3'	4,27	69,9	-
4'	3,79	87,5	-
5'	3,62	61	-
1	-	-	149,7
2	-	149,2	-
3	11,92	-	157,7
4	-	161,6	-
5	-	109,7	-
6	8,09	139,4	-
7	6,87	129,9	-
8	7,25	106,5	-

	^{13}C [ppm]	^{13}C [ppm]	^{15}N [ppm]
	predicted	dT	dT
1'	$77,8 \pm 8,2$	85,1	-
2'	$39,9 \pm 5,1$	40,4	-
3'	$68,7 \pm 1,6$	71,7	-
4'	$74,8 \pm 9,2$	88,4	-
5'	$63,8 \pm 0,3$	62,4	-
1	-	-	142,7
2	$156,8 \pm 10,6$	151,6	-
3	-	-	153,5
4	$135,7 \pm 6,9$	137,3	-
5	$117,5 \pm 3,1$	110,5	-
6	$135,7 \pm 11,4$	164,9	-
7	$132,6 \pm 6,9$	-	-
8	$89,4 \pm 15,8$	-	-

Zusammenfassung

Was haben wir uns heute angeschaut:

Was ist das INEPT

Was ist für die Empfindlichkeit heteronuklearer
Experimente von Bedeutung

Mehrdimensionale heteronukleare Experimente

Zuordnung eines kleinen Moleküls

That's it for today