

Strukturaufklärung in der Organischen Chemie II

2D-NMR-Spektroskopie

Inhalt

1. Theorie
 - 1.1. Kurze Wiederholung der OC3
 - 1.2. Vektormodell und Rotierendes Koordinatensystem
 - 1.3. Gerätetechnik und Aufnahmetechniken
 - 1.4. Auswertemethoden
 - 1.5. 2D-NMR-Spektroskopie
 - 1.6. Vorgehensweise zur Strukturaufklärung komplexer Verbindungen
2. Homonucleare 2D-NMR-Spektroskopie
 - 2.1. H,H-COSY 90
 - 2.2. H,H-COSY 45
 - 2.3. H,H-COSY 90 phasensensitiv
 - 2.4. H,H-DQF-COSY
 - 2.5. H,H-DQF-COSY phasensensitiv
 - 2.6. TOCSY

- 4. Heteronucleare 2D-NMR-Spektroskopie
 - 4.1. C,H-COSY
 - 4.2. HMQC
 - 4.3. HSQC
 - 4.4. HMBC
- 5. Homonucleare Kopplung durch den Raum
 - 5.1. NOESY
 - 5.2. ROESY

Literatur

1. *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, H. Friebolin, Wiley-VCH, 4.Aufl., 2006
2. *200 and more NMR Experiments*, S. Berger, S. Braun, Wiley-VCH, 3. Aufl., 2004
3. *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, T. D. W. Claridge, Elsevier, 3. Aufl. 2016
4. *Vom NMR-Spektrum zur Strukturformel organischer Verbindungen*, E. Breitmaier, Wiley-VCH, 3. Aufl., 2005
5. *Organic Structure Determination using 2D NMR Spectroscopy*, J. H. Simpson, Academic Press, 2008
6. *NMR Spectroscopy Explained*, N. E. Jacobsen, Wiley, 2007.
7. *NMR Data Interpretation Explained*, N. E. Jacobson, Wiley 2017
8. *Solving Problems with NMR Spectroscopy*, Atta-Ur-Rahman et al., 2. Aufl. 2016, Elsevier

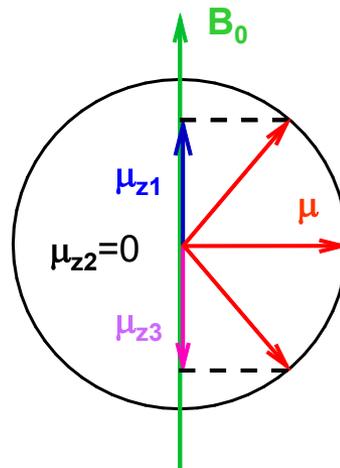
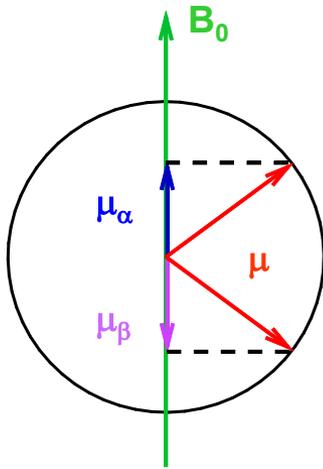
9. *Essential Practical NMR for Organic Chemistry*, S. A. Richards, J. C. Hollerton, Wiley, 1. Aufl., 2011
10. *Understanding NMR Spectroscopy*, J. Keeler, Wiley, 2. Aufl., 2010
11. *R. R. Ernst, Angew. Chem.* **122**, 8488-8493 (2010).
12. *H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, Angew. Chem.* **100**, 507-554 (1988).
13. *E. E. Kwan, S. G. Huang, Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2671-2688.
14. *W. F. Reynolds, R. G. Enriquez, J. Nat. Prod.* **65**, 221-244 (2002).
15. ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie, M. Findeisen, H.-U. Siehl, S. Berger, *ChiuZ* **2017**, *51*, 124-132.
16. COSY- und HSQC-NMR-Spektroskopie, M. Findeisen, H.-U. Siehl, S. Berger, *ChiuZ* **2017**, *51*, 264-271.
17. HMBC- und NOESY-NMR-Spektroskopie, M. Findeisen, H.-U. Siehl, S. Berger, *ChiuZ* **2017**, *51*, 392-400.
18. NMR-Skript FU Berlin von Peter Schmieder: http://schmieder.fmp-berlin.info/teaching/vorlesung_nmr.htm

1. Theorie

1.1. Kurze Wiederholung der OC03

- Kerne haben einen Eigendrehimpuls p , der durch die Spinquantenzahl I festgelegt ist: $p = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)}$ $I = \frac{1}{2}n$ $n \in N_0$
- Auf Grund der Rotation des Kerns (Eigendrehimpuls!) rotiert auch die Kernladung. Rotierende Ladung umgibt sich mit einem Magnetfeld, so dass jeder Kern mit $p > 0$ sich wie ein kleiner Elementarmagnet verhält, der durch sein magnetisches Moment μ charakterisiert wird. $\mu = \gamma \cdot p$
 γ ist das gyromagnetische Verhältnis, das eine für jede Kernsorte charakteristische Konstante ist.
- Das magnetische Moment μ kann sich in einem äußeren Magnetfeld mit der magnetischen Flussdichte B_0 nur in diskreten Orientierungen relativ zur Richtung von B_0 anordnen. Diese Orientierungen werden durch die magnetische Quantenzahl m bestimmt.

- m kann Werte zwischen +I und -I annehmen. Es gibt (2I+1) Einstellungsmöglichkeiten +I, +I-1, +I-2, ... m ..., -I+2, -I+1, -I
- Für jede dieser Einstellungsmöglichkeiten liegt dasselbe μ vor, jedoch jeweils andere Werte für μ_z . $\mu_z = \gamma \cdot p_z$ $p_z = \frac{h}{2\pi} \cdot m \Rightarrow \mu_z = \gamma \cdot \frac{h}{2\pi} \cdot m$
- Beispiele: a) ^1H mit $I = \frac{1}{2}$ und b) ^{14}N mit $I = 1$

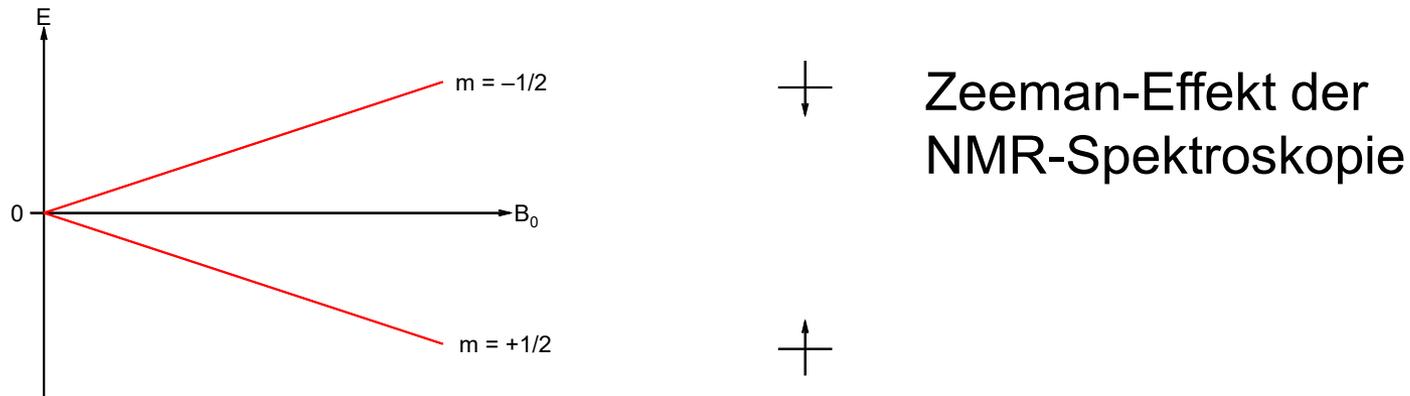


Wichtig: $\vec{\mu}$ präzediert um die z-Achse = Richtung von \vec{B}_0 .

- Von nun an Beschränkung auf $I = \frac{1}{2}$ (^1H und ^{13}C)!!! Mit den beiden Spinzuständen α und β sind entsprechende Energiewerte verknüpft.

$$E = -\mu_z B_0 = -\gamma \frac{h}{2\pi} m B_0$$

- Je stärker das äußere Magnetfeld, um so größer die Energiedifferenz zwischen den beiden Niveaus.



- Für die Energiedifferenz gilt dann: $\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0$ Um vom unteren Niveau ins obere anzuregen, benötigt man Strahlung mit der Frequenz $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$ (Larmor-Gleichung).

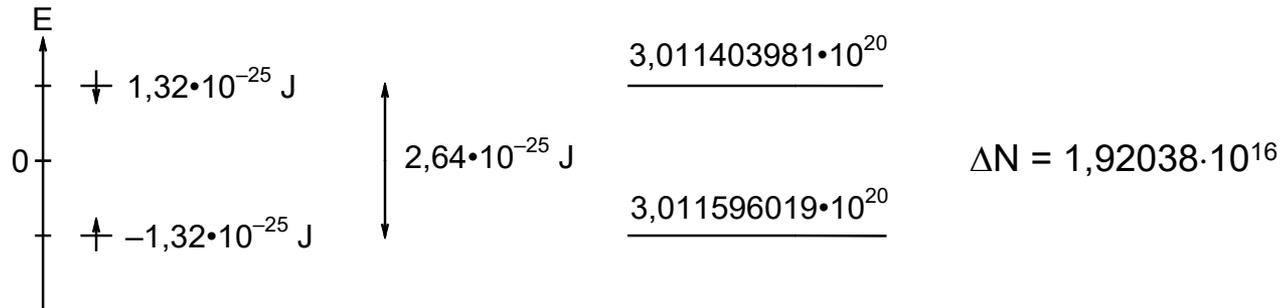
B_0 in T	5,87	9,39	11,74	14,09	17,62	21,14	23,49
$\nu(^1\text{H})$ in MHz	250	400	500	600	750	900	1000
ΔE in 10^{-25} J	1,66	2,65	3,31	3,97	4,97	5,96	6,62

- Wieviel Energie bei der Anregung tatsächlich absorbiert wird, hängt von den Besetzungszahlen der beiden Energieniveaus ab.

- Besetzungszahlen werden durch die Boltzmann-Verteilung bestimmt:

$$\frac{N_2}{N_1} = e^{-\Delta E/kT} \quad k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$$

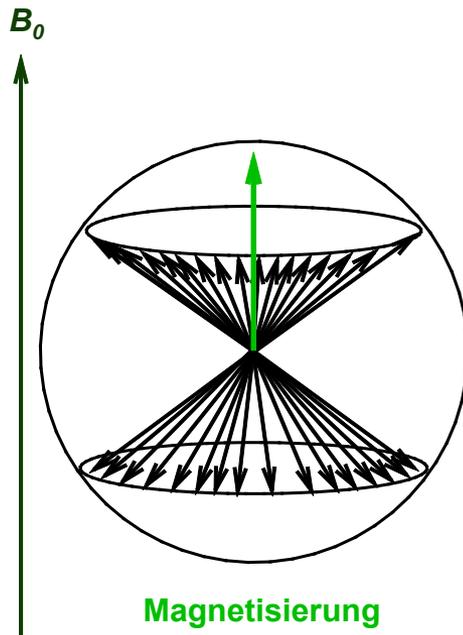
Bei Raumtemperatur (T = 298 K) ergibt sich: $N_2/N_1 = 0,999936234$ (für $\Delta E = 2,64 \cdot 10^{-25}$ J bzw. 400 MHz). Für 1 Millimol Kerne ergeben sich folgende Werte:



Wenn die Hälfte dieser Kerne angeregt wird, dann erreicht man Gleichverteilung. Dies entspricht einer absorbierten Energie von $2,535 \cdot 10^{-6}$ J. Um diese geringen Effekte zu verstärken, wird bei modernen NMR-Geräten die Strahlung als kurzer Strahlungspuls eingestrahlt, um alle Kerne gleichzeitig anzuregen und um mehrere Spektren aufzuaddieren (= Verbesserung des Signal-Rausch-Verh.)

1.2. Vektormodell von Bloch und rotierendes Koordinatensystem

- Die magnetischen Momente jeder Kernsorte präzedieren um die z-Achse (= Richtung von \vec{B}_0). Dadurch heben sich die zeitlich variierenden x- und y-Komponenten der magnetischen Momente auf und übrig bleibt die z-Komponente $\vec{\mu}_z$

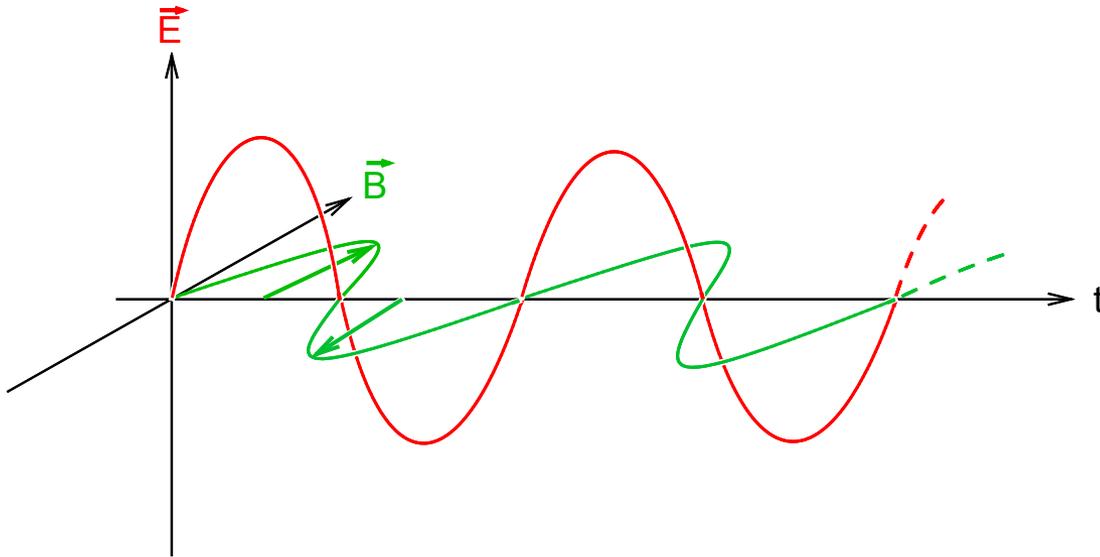


Die Magnetisierung einer Kernsorte ergibt sich als Vektorsumme aller $\vec{\mu}_z$.

Beträgt der Unterschied in den Besetzungszahlen der beiden Niveaus ΔN , dann ist $M_0 = \mu_z \Delta N$.

D.h. wir können die Betrachtung aller einzelnen magnetischen Momente durch die Betrachtung der Gesamtmagnetisierung einer Kernsorte ersetzen.

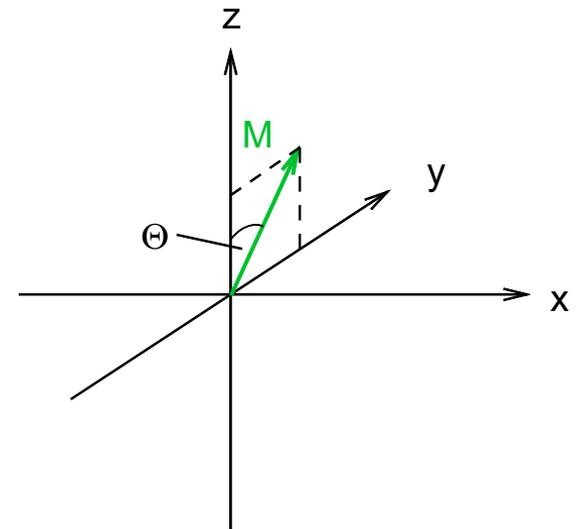
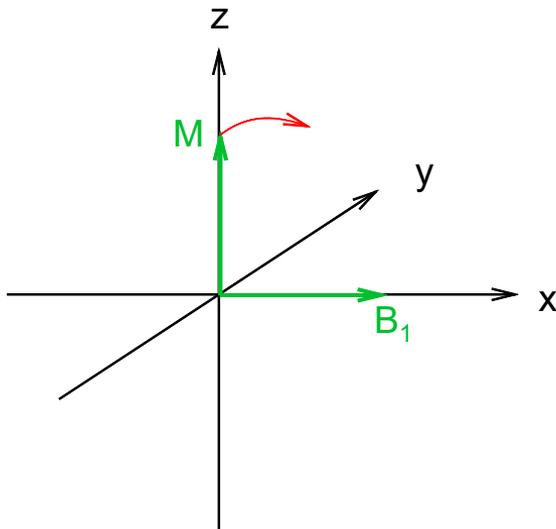
- Diese Gesamtmagnetisierung tritt bei der **Anregung** mit der magnetischen Komponente B_1 der eingestrahlten Strahlung in Wechselwirkung. Der E-Vektor spielt für die WW mit der Magnetisierung der Probe keine Rolle.



Der in der Strahlung **oszillierende** B_1 -Vektor kann durch 2 gegenläufig **rotierende** B_1 -Vektoren mit gleicher und konstanter Länge beschrieben werden.

- Wir können also die Anregung der Spins als WW der Magnetisierung mit 2 rotierenden B_1 -Vektoren auffassen. Dabei ist die Rotationsfrequenz gleich der Frequenz der Strahlung.
- Die Betrachtung kann durch Verwendung eines rotierenden Koordinatensystems vereinfacht werden.

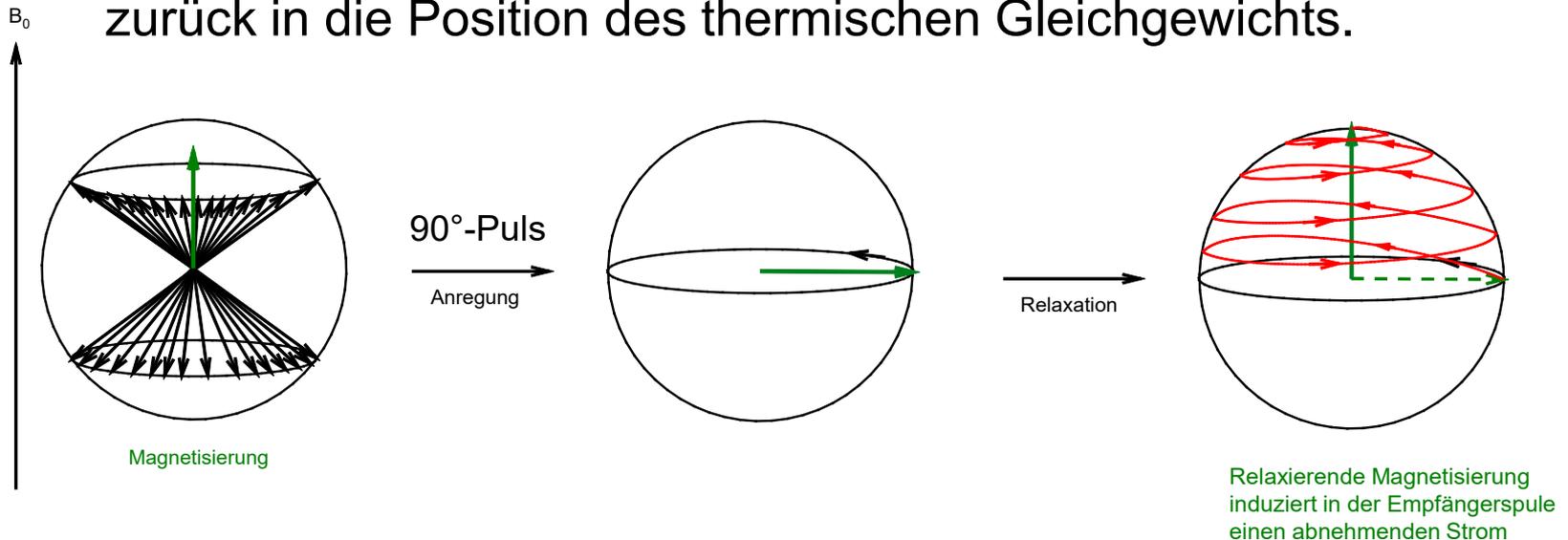
- Wenn das Koordinatensystem z.B. im Uhrzeigersinn mit der Frequenz ν rotiert, dann steht in diesem Koordinatensystem derjenige B-Vektor still, der im feststehenden Koordinatensystem auch im Uhrzeigersinn rotiert (weil ja sowohl der B_1 -Vektor als auch das Koordinatensystem mit derselben Frequenz rotieren). Der andere B-Vektor rotiert dagegen im rotierenden Koordinatensystem mit der Frequenz 2ν im Gegenuhrzeigersinn. Für diesen ist also die Resonanzbedingung **nicht** erfüllt, so dass man ihn nicht zu berücksichtigen braucht.



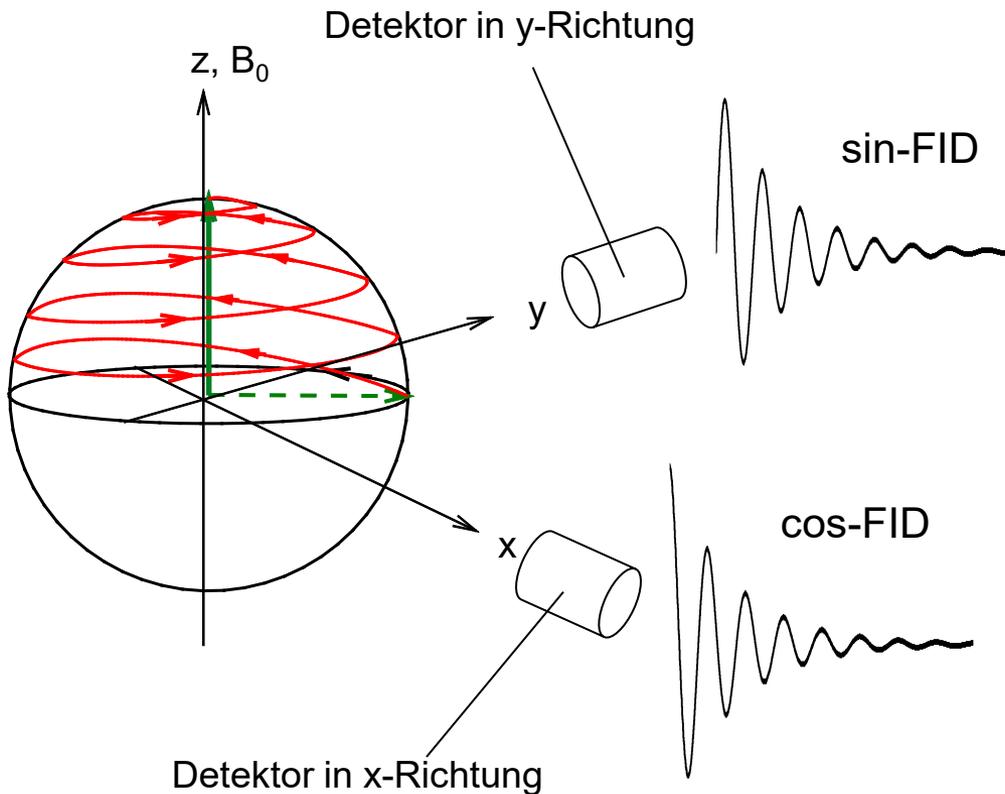
B_1 wirkt während des Strahlungspulses auf M ein \Rightarrow M wird um einen bestimmten Winkel Θ (Pulswinkel) um die x-Achse gedreht.

- Die Auslenkung der Magnetisierung aus der z-Achse (*Pulswinkel*) ist proportional zur Pulsdauer t_p und hängt von der Intensität der eingestrahlten Strahlung ab (Größe von B_1).
 - Man kann t_p so lang machen, dass $\Theta = 90^\circ$, dann spricht man von einem 90° -Puls t_{90} . $t_{90}/2$ ergibt einen 45° -Puls, $3t_{90}/2$ einen 135° -Puls, $2t_{90}$ einen 180° -Puls usw. Dies ist wichtig für kompliziertere NMR-Spektren, die aus *Puls-Sequenzen* bestehen.
 - $t_{90}(^1\text{H})$ und $t_{90}(^{13}\text{C})$ werden experimentell am NMR-Gerät bestimmt (Berger, Braun, Exp. 2.1) und betragen bei einem 400 MHz-Gerät ca. $12,5 \mu\text{sec}$ für ^1H und $7,5 \mu\text{sec}$ für ^{13}C .
 - Erfreulicherweise sind diese Werte in Einklang mit der Heisenberg'schen Unschärferelation, die die spektrale Breite sw (sweep width) bestimmt. $sw = \Delta\nu =$ Frequenzbreite des Strahlungspulses.
 - Heisenberg'sche Unschärferelation: $\Delta\nu \cdot \Delta t \geq \frac{1}{2\pi}$
- ^1H : $\Delta t = 12,5 \mu\text{sec} \Rightarrow \Delta\nu \geq 12732 \text{ Hz} = 31 \text{ ppm}$
 ^{13}C : $\Delta t = 7,5 \mu\text{sec} \Rightarrow \Delta\nu \geq 21220 \text{ Hz} = 212 \text{ ppm}$

- Nach der Anregung durch einen 90° -Puls rotiert die Magnetisierung in der x,y -Ebene um die z -Achse mit der Resonanzfrequenz der Kernsorte. Im Verlauf der Relaxation klappt der rotierende Magnetisierungsvektor wieder zurück zur z -Achse. Die Spitze des Magnetisierungsvektors läuft auf einer „Schneckenlinie“ wieder zurück in die Position des thermischen Gleichgewichts.



- Während der Relaxation wird durch den rotierenden Magnetisierungsvektor in zwei Spulen in der x,y -Ebene (eine in x -Richtung und eine in y -Richtung) ein Wechselstrom induziert, der immer kleiner wird und auf Null abfällt, sobald der Magnetisierungsvektor die z -Achse erreicht hat. Die Frequenz des Wechselstroms entspricht der Rotationsfrequenz von M .



Wichtig: Detektor \neq Meß-Spule!!!

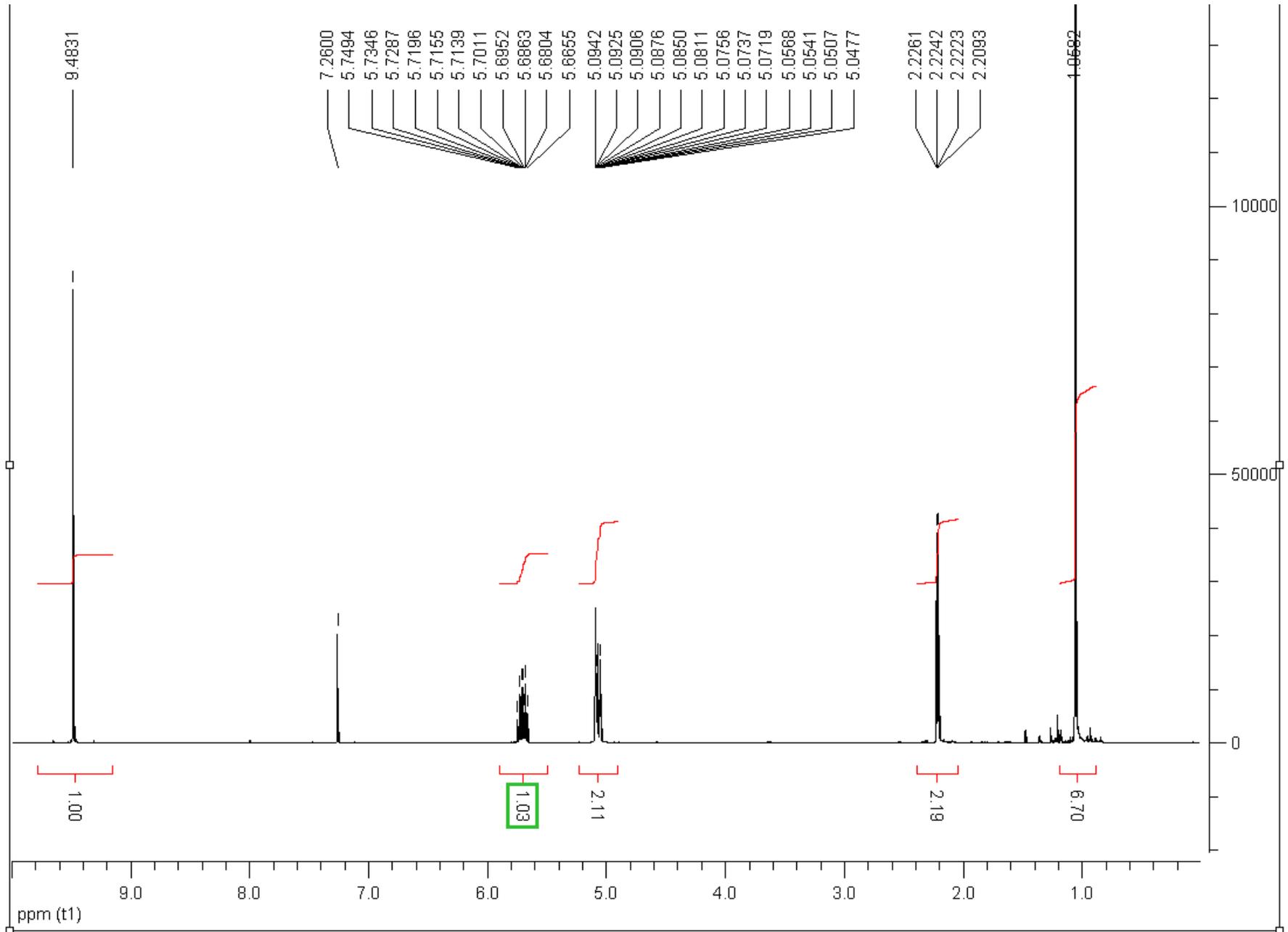
Wichtig! Die beiden FIDs sind um 90° phasenverschoben, haben aber dieselbe Frequenz!

Aus dem cos-FID wird durch Fourier-Transformation der *Realteil* des Spektrums.

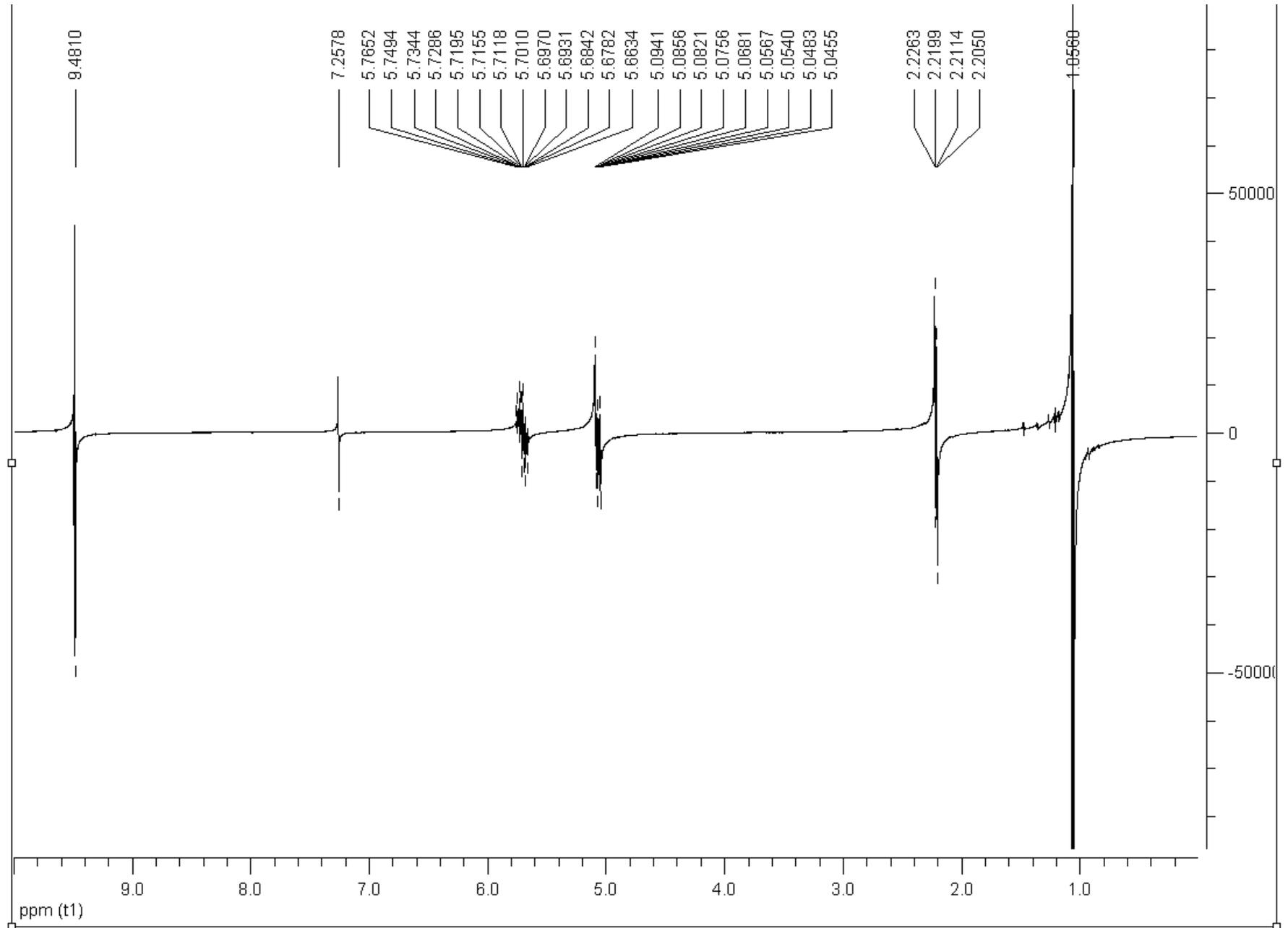
Aus dem sin-FID wird durch Fourier-Transformation der *Imaginärteil* des Spektrums.

- Diese Art der Detektion nennt man *Quadraturdetektion*. Alle modernen NMR-Geräte verwenden dieses Verfahren.

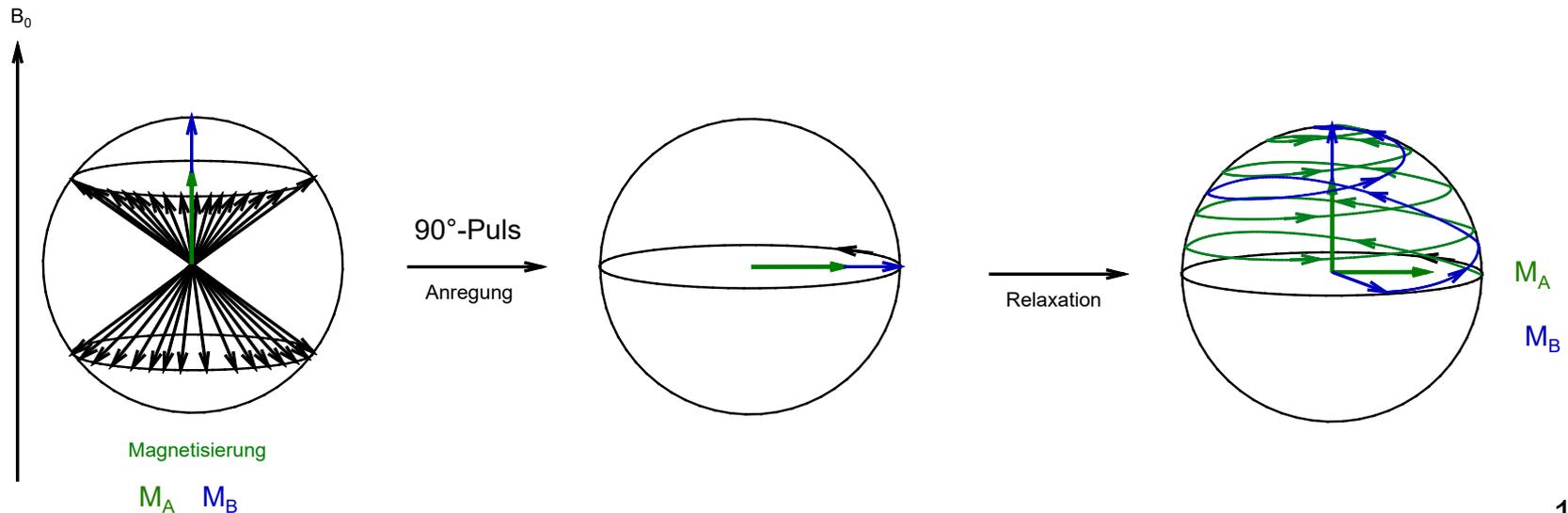
Beispiel: ^1H -NMR von 2,2-Dimethylpentenal



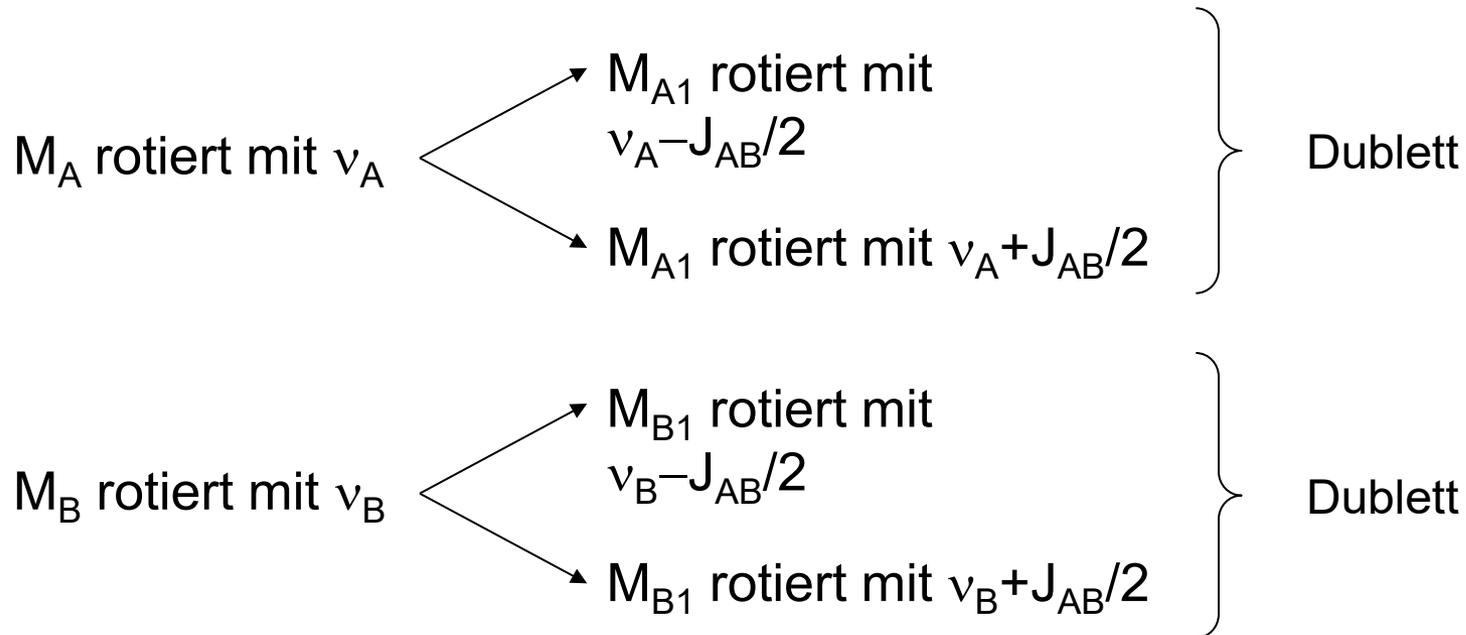
• Beispiel: ^1H -NMR von 2,2-Dimethylpentenal



- Bisherige Betrachtung: nur eine Kernsorte mit einer Resonanzfrequenz ν_A .
- Bei zwei verschiedenen Kernen A und B beträgt die Gesamtmagnetisierung vor dem Strahlungspuls $M = M_A + M_B$.
- Ein 90° -Puls klappt die Gesamtmagnetisierung in die x,y -Ebene.
- Während der Relaxation rotiert M_A mit ν_A und M_B mit ν_B . D.h., die Detektorspulen in der x,y -Ebene detektieren die beiden Magnetisierungen mit unterschiedlichen Frequenzen. \Rightarrow In den beiden FIDs sind beide Frequenzen enthalten \Rightarrow nach der Fourier-Transformation erhält man zwei Signale bei δ_A und δ_B .

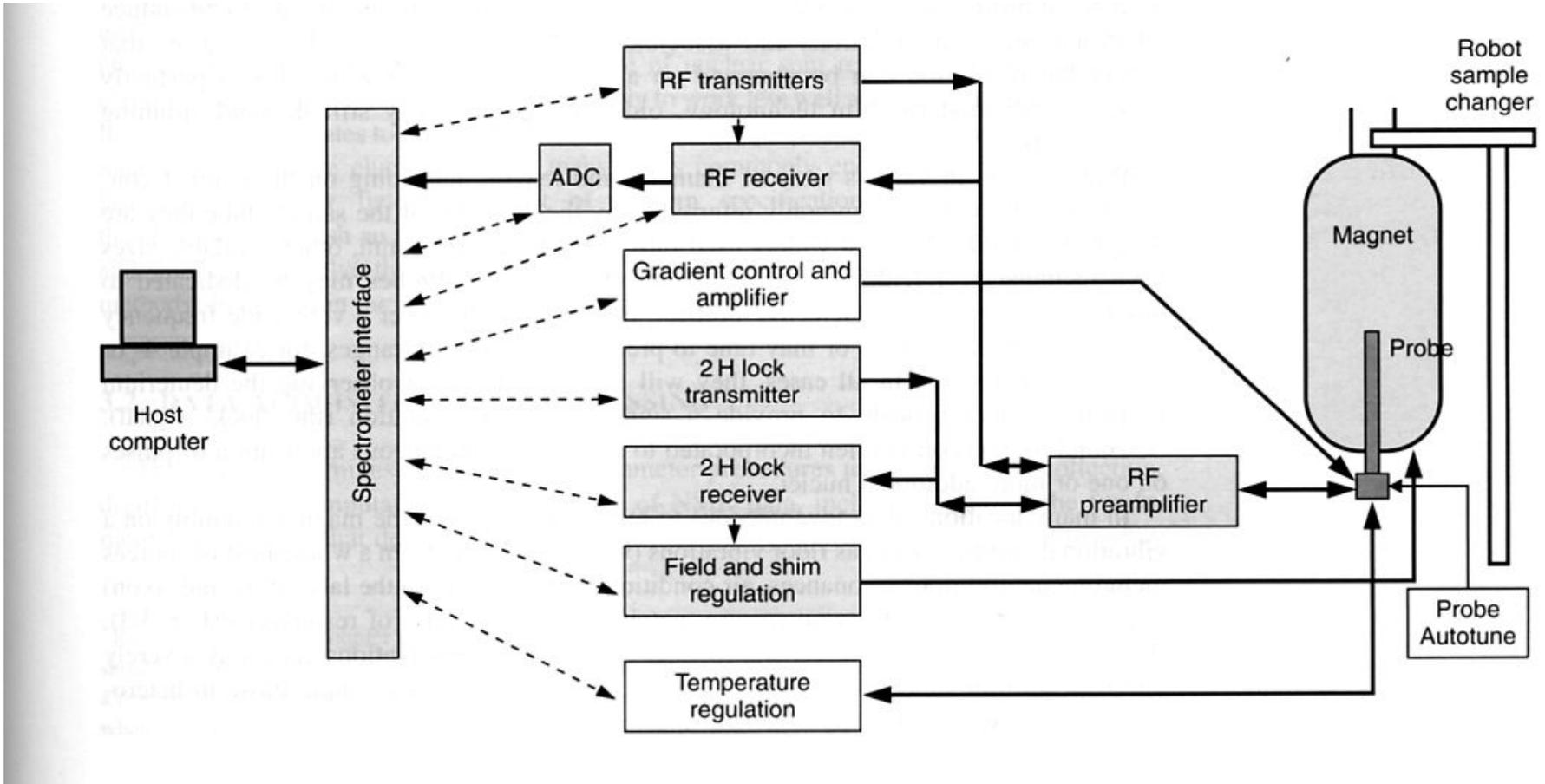


- Wenn beide Kerne miteinander koppeln, dann spaltet während der Relaxation jeder Magnetisierungsvektor in zwei Magnetisierungsvektoren auf, die mit unterschiedlicher Frequenz rotieren.

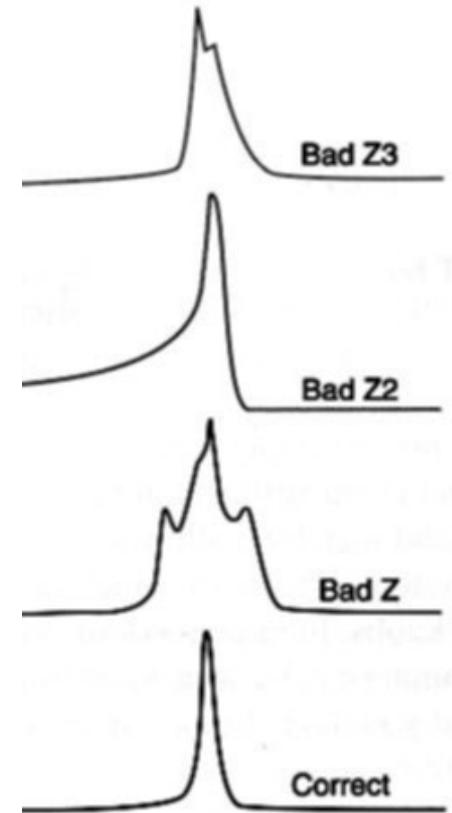


- Man kann das Verhalten der Magnetisierung im rotierenden Koordinatensystem auch mit Hilfe des sogenannten *Produktoperatorformalismus* berechnen (vgl. Lit. 10 und 18).

1.3. Gerätetechnik und Aufnahmetechniken

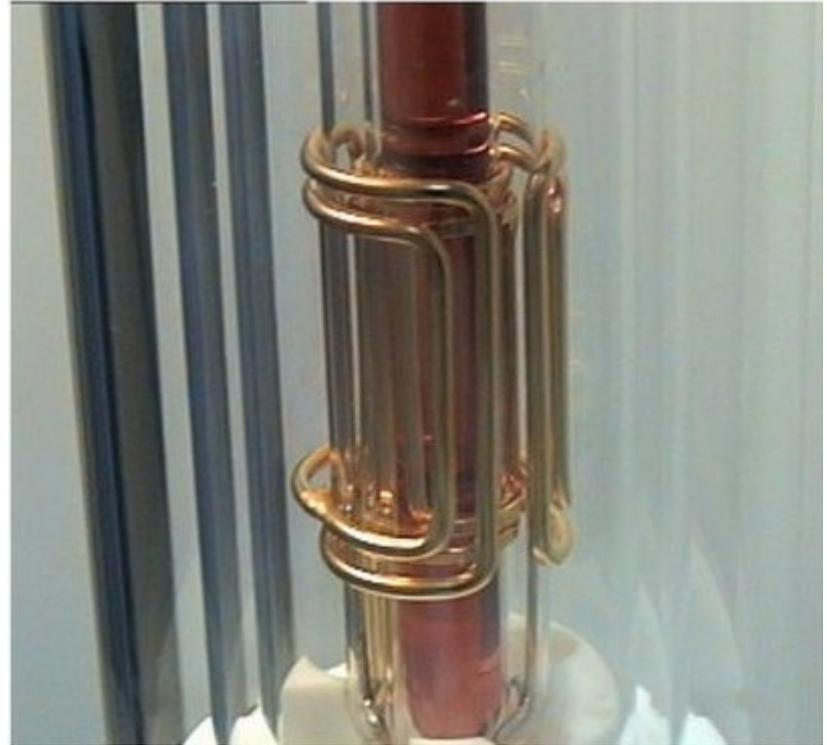


- **Supraleitender Elektromagnet:** wird mit flüssigem Helium gekühlt und kann Magnetfelder mit Flussdichten von 5 T bis ca. 24 T erzeugen (spezielle Metallegierungen erforderlich).
- **Shim:** Durch Zusatzspulen im Probenkopf eines NMR-Geräts können kleine Zusatzmagnetfelder erzeugt werden, die das starke Magnetfeld des supraleitenden Elektromagneten homogener machen (das B_0 -Feld darf höchstens um 0,1 ppb schwanken, weil sich sonst die Signalformen so verändern, dass man Spektren nur schwer auswerten kann). Das Optimieren der Magnetfeldhomogenität wird als „Shimmen“ bezeichnet und wird bei modernen NMR-Geräten computer-gesteuert durchgeführt. Dazu wird die Intensität des Deuteriumsignals des Lösungsmittels gemessen. Die Zusatzmagnetfelder werden so verändert, dass die Intensität des Deuteriumsignals maximal wird. Dies wird bei jeder Probe vor jedem NMR-Experiment gemacht.



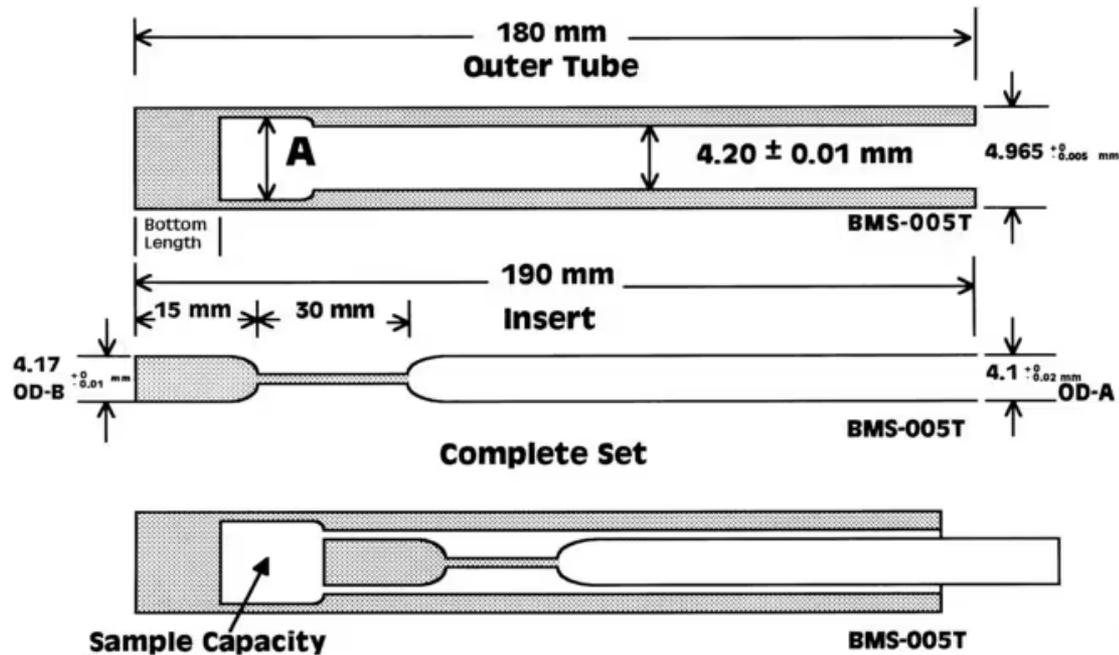
- **Probenkopf:** enthält alle Bauteile zur Aufnahme von NMR-Spektren: Sender-Spulen (Transmitter) zum Einstrahlen der Strahlungspulse, Lock-Spulen zum Einstrahlen von Deuteriumsfrequenzen, Meß-Spulen (Receiver) zum Registrieren der FIDs. Seit einigen Jahren haben NMR-Geräte keine separaten Meß-Spulen mehr, vielmehr werden die Sender-Spulen, nachdem sie einen Strahlungspuls abgegeben haben, als Meß-Spulen verwendet. Moderne NMR-Geräte haben üblicherweise 2 Sender-Spulen: eine Hochfrequenz-Spule für ^1H - und ^{19}F -Frequenzen und eine Breitband-Spule (hat *nichts* zu tun mit *Breitbandentkopplung*) für ^{31}P , ^{13}C , ^{15}N und andere Kerne. Es gibt „Normale Probenköpfe“, bei denen die Breitband-Spule näher am NMR-Röhrchen liegt als die Hochfrequenz-Spule, und „Inverse Probenköpfe“, bei denen die Anordnung der Sender-Spulen umgekehrt ist (^1H innen und z.B. ^{13}C außen). Beide Probenköpfe, sind in der Lage, mit 5mm-NMR-Röhrchen zu arbeiten (Routine, 0,6 ml Lösungsmittelbedarf). Falls man nur sehr wenig Substanz zur Verfügung hat, kann man auch einen sog. *Microprobenkopf* verwenden \Rightarrow Micro-NMR-Röhrchen mit nur 0,1 ml Inhalt. Aber: Microprobenkopf und Micro-NMR-Röhrchen sind sehr teuer. Billiger: normaler Probenkopf und Shigemi-Röhrchen.

- Probenkopf mit Spulen



- Fotos aus „NMR Spectroscopy, A short Introduction, Jeffrey Gardener, <https://slideplayer.com/slide/6504840/>

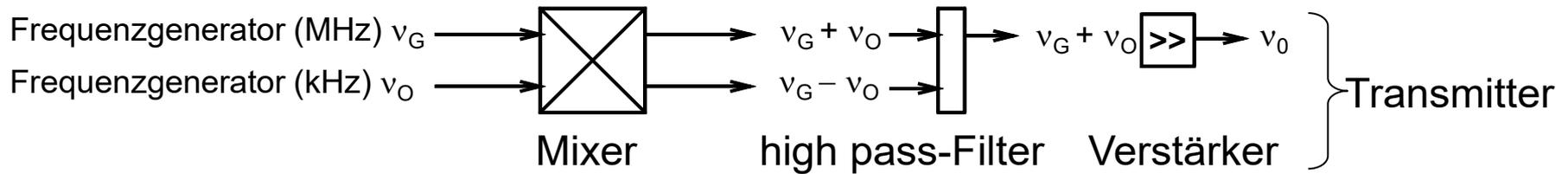
- Shigemi-Röhrchen



- Shigemi-Röhrchen sind für jedes NMR-Lösungsmittel anders. Das Glas hat dieselbe magnetische Suszeptibilität wie das Lösungsmittel, damit das Shimmen kein Problem macht, wenn das LM nicht im Bereich der Shim-Spulen ist. Dann muss die Probenlösung nur im Bereich der (kürzeren!) Sene/Meßspulen sein und man kann konzentriertere Probenlösungen verwenden. Nachteil: sehr teuer (150-300€ pro Röhrchen, normales NMR-Röhrchen ca. 5€).

- **Kryoprobenkopf:** Um das elektronische Rauschen aus den Meßspulen zu minimieren, werden zunehmend *Kryo-Probenköpfe* verwendet, bei denen die Meß- und Shim-Spulen noch mit fl. He gekühlt werden. ⇒ deutliche Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses und damit Empfindlichkeitsgewinn! (^{13}C geht schon mit weniger als 1 mg). Aber: fl. He ist teuer: Sonderpreis ca. 30-35€ pro Liter (Stand 1.10.2023). fl. N_2 ist deutlich billiger: ca. 0,55€ pro Liter (Stand 1.10.2023). Deshalb wurden in den vergangenen Jahren auch Kryoprobenköpfe entwickelt, die mit fl. N_2 gekühlt werden. Der Empfindlichkeitsgewinn ist kleiner als bei fl. He, aber die Anschaffungs- und Unterhaltskosten sind deutlich günstiger.
- **Deuterium-Lock:** Die magnetische Flussdichte von supraleitenden Elektromagneten verändert sich im Laufe der Messung (vor allem bei längeren Messungen). Deshalb wird im NMR-Gerät permanent während der Messung (alle $0,5 \mu\text{sec}$) die Resonanzfrequenz des deuterierten Lösungsmittels bestimmt. Wenn sich diese Resonanzfrequenz verändert, dann wird das Magnetfeld mit Hilfe von Zusatzspulen nachjustiert, bis die Deuteriumsfrequenz wieder dem Sollwert entspricht. Die Deuteriumsfrequenz dient auch zur Kalibrierung der eingestrahlten Strahlungspulse für die jeweilige Messung.

- Erzeugung von Strahlungspulsen:** Ein Frequenzgenerator erzeugt einen sinusförmigen Wechselstrom mit einer Frequenz ν_O von einigen kHz. Dieser wird zu einem „Mischer“ geleitet, der einen Strom mit der Gerätefrequenz ν_G (z.B. 400 MHz) zumischt. Der hochfrequente Wechselstrom wird zu einem Verstärker geleitet, der den Wechselstrom verstärkt und in Portionen (= Pulse) zerhackt und zu der Senderspule leitet, die eine gepulste elektromagnetische Strahlung abgibt.



Mixer sind Geräte, die formal Frequenzen miteinander multiplizieren.

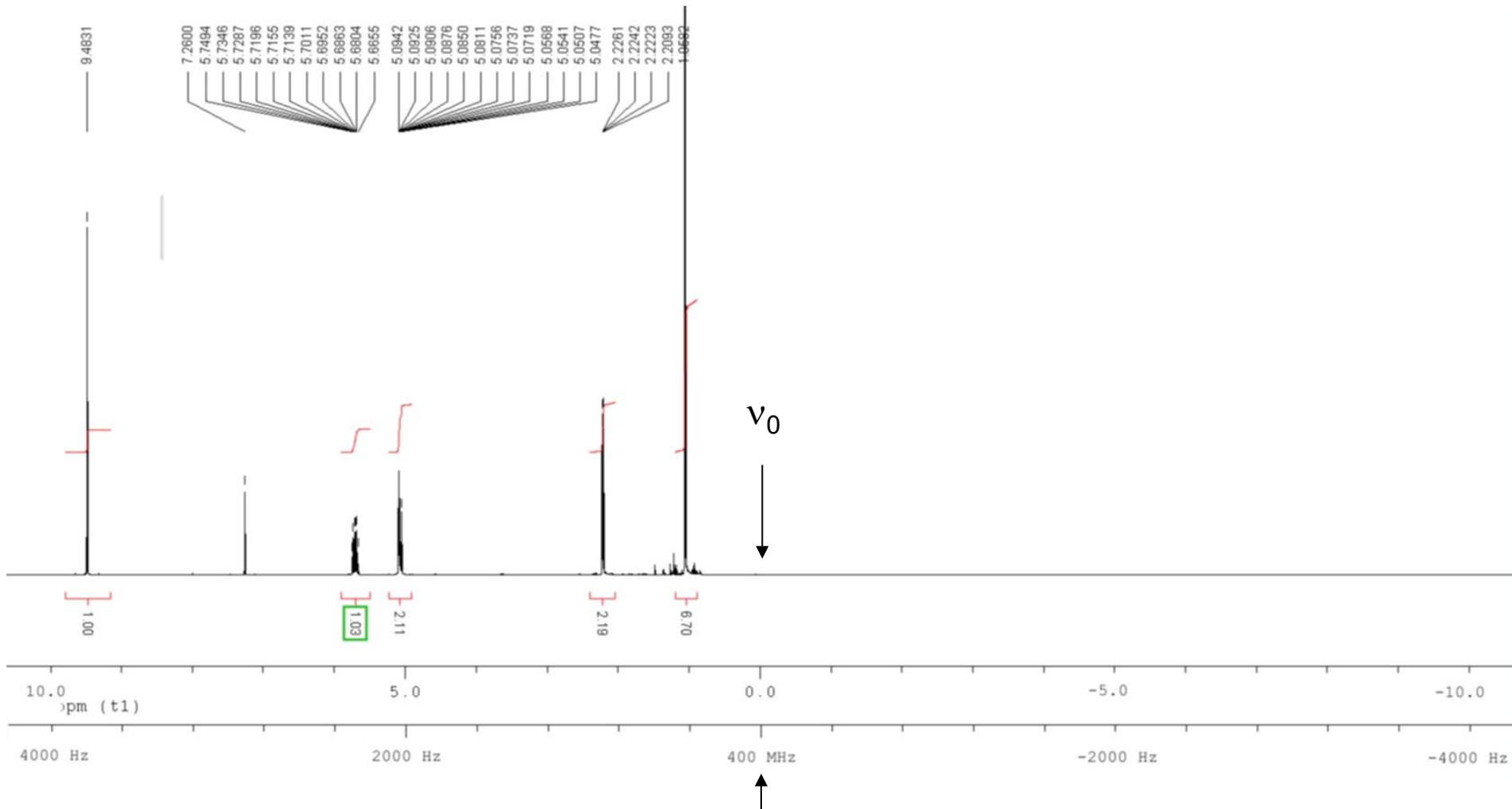
$$\cos(\omega_1 t) \cdot \cos(\omega_2 t) = \frac{1}{2} [\cos(\omega_1 - \omega_2)t + \cos(\omega_1 + \omega_2)t]$$

$$\sin(\omega_1 t) \cdot \sin(\omega_2 t) = \frac{1}{2} [\cos(\omega_1 - \omega_2)t - \cos(\omega_1 + \omega_2)t]$$

$$\sin(\omega_1 t) \cdot \cos(\omega_2 t) = \frac{1}{2} [\sin(\omega_1 - \omega_2)t + \sin(\omega_1 + \omega_2)t]$$

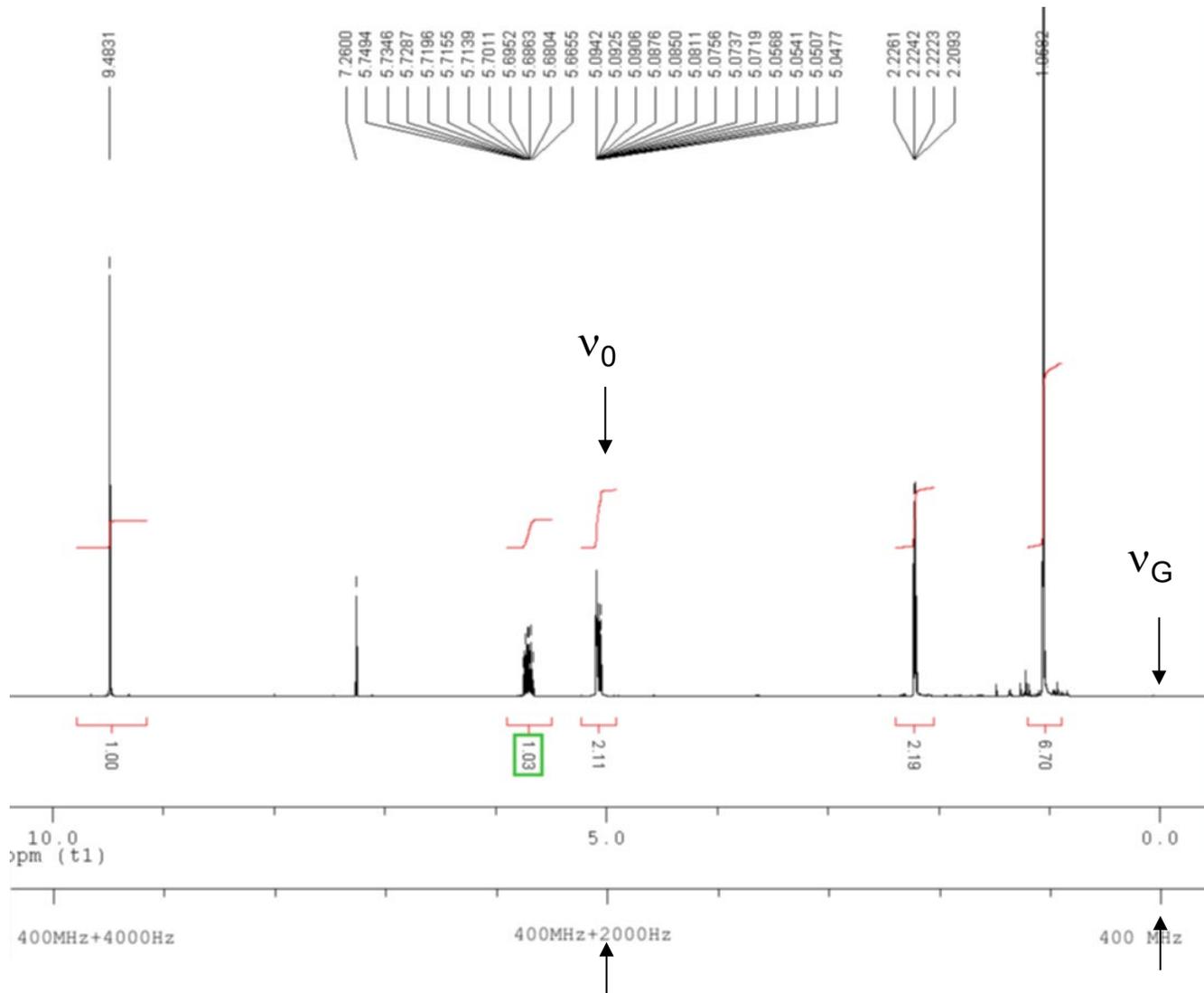
$$\cos(\omega_1 t) \cdot \sin(\omega_2 t) = \frac{1}{2} [\sin(\omega_1 + \omega_2)t - \sin(\omega_1 - \omega_2)t]$$

Wichtig: man hat prinzipiell zwei Möglichkeiten, Strahlungspulse zu erzeugen.



Wenn man bei 400 MHz einstrahlt, dann braucht man einen 8000 Hz breiten Strahlungspuls. Die Hälfte des Pulses bleibt ungenutzt.

Wenn man bei 400 MHz + 2000 Hz einstrahlt (in der Mitte des Spektrums), dann braucht man nur einen 4000 Hz breiten Strahlungspuls. Es geht keine Strahlungsenergie „verloren“.



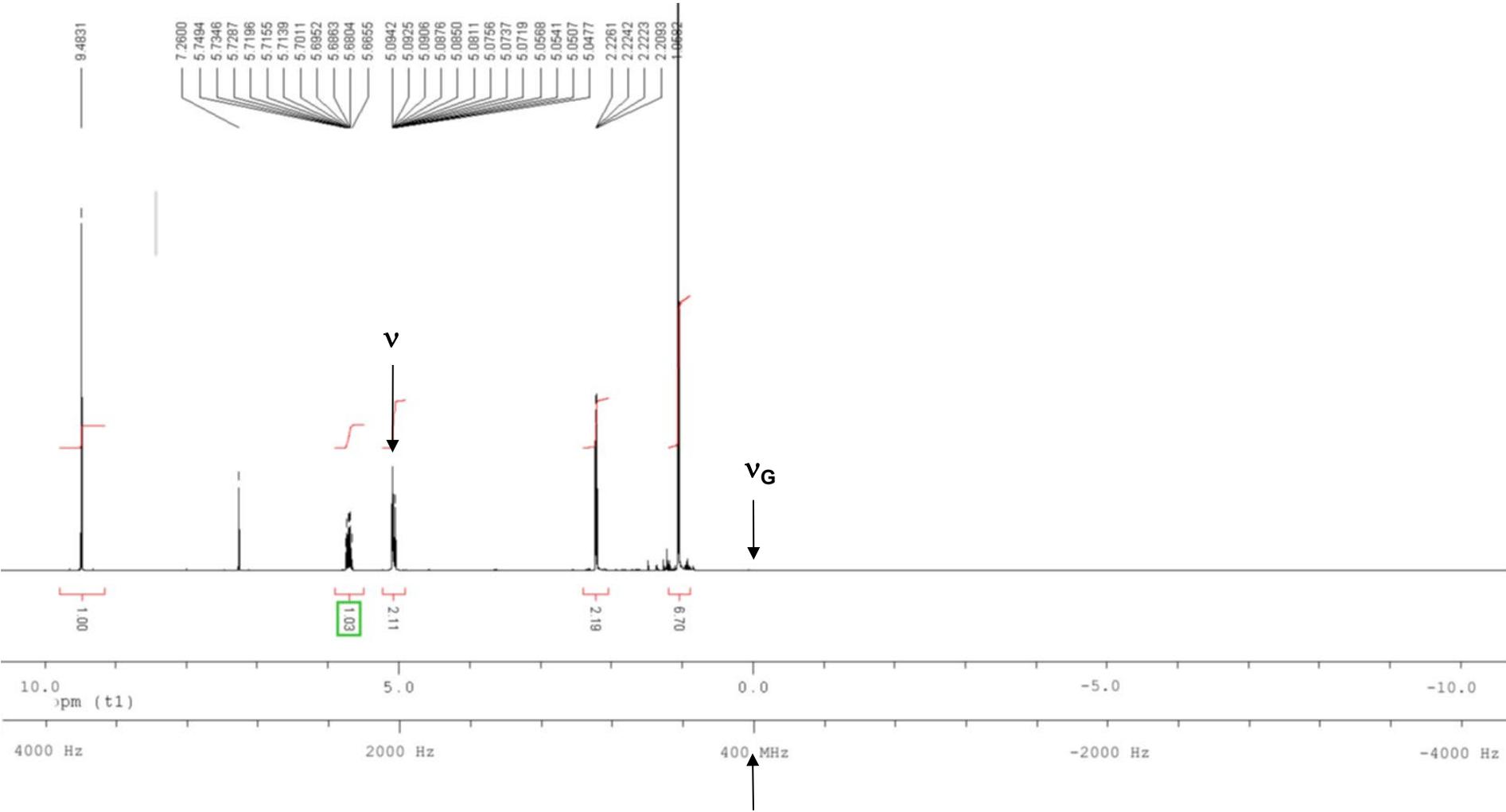
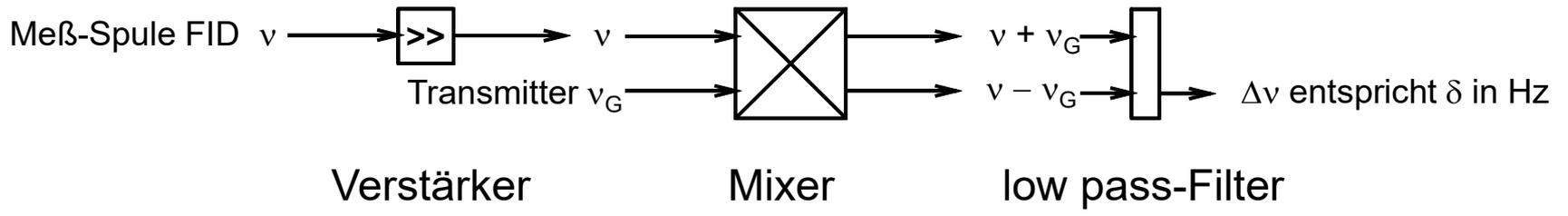
- Analoge Signaldetektion:** Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten der Signaldetektion: a) Ein-Kanal-Detektion und b) Zwei-Kanal-Detektion. a) und b) benötigen nur *eine* Meß-Spule!!!

a) Die Ein-Kanal-Detektion besteht aus drei Prozessen:

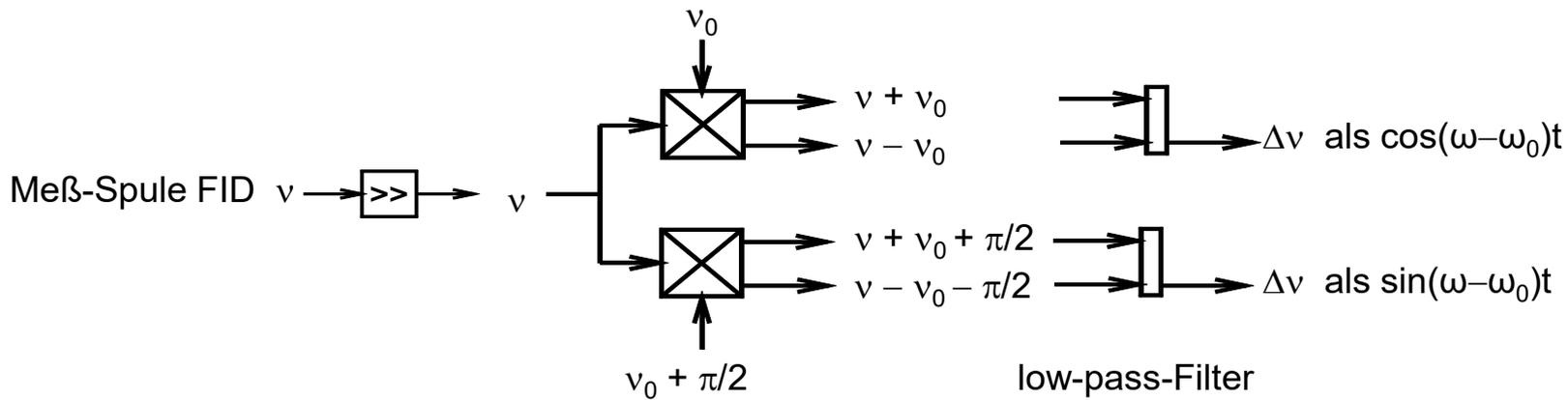
 - 1) der gemessene FID wird zu einem Verstärker geleitet und verstärkt.
 - 2) Das verstärkte Signal wird zu einem Mixer geleitet, der vom gemessenen Signal mit der Frequenz ν die Frequenz des eingestrahlten Pulses ($\nu_G + \nu_0$) abzieht (durch formale Multiplikation der beiden Wellen). Dadurch erhält man eine Welle mit der Frequenz $\nu + \nu_G + \nu_0$ und eine Welle mit der Frequenz $\nu - \nu_G - \nu_0$.
 - 3) $\nu + \nu_G + \nu_0$ wird durch einen Filter (low-pass-Filter) abgetrennt, $\nu - \nu_G - \nu_0$ liegt nur noch im kHz-Bereich und entspricht der Differenz der Resonanzfrequenz und der Transmitterfrequenz (= chemische Verschiebung in Hz) und wird weiter verarbeitet.

Damit man bei der Ein-Kanal-Detektion sinnvolle Ergebnisse bekommt, muss der eingestrahlte Puls $\nu_G + \nu_0$ an den rechten Rand des zu messenden Frequenzbereichs gelegt werden ($\nu_0 = 0$).

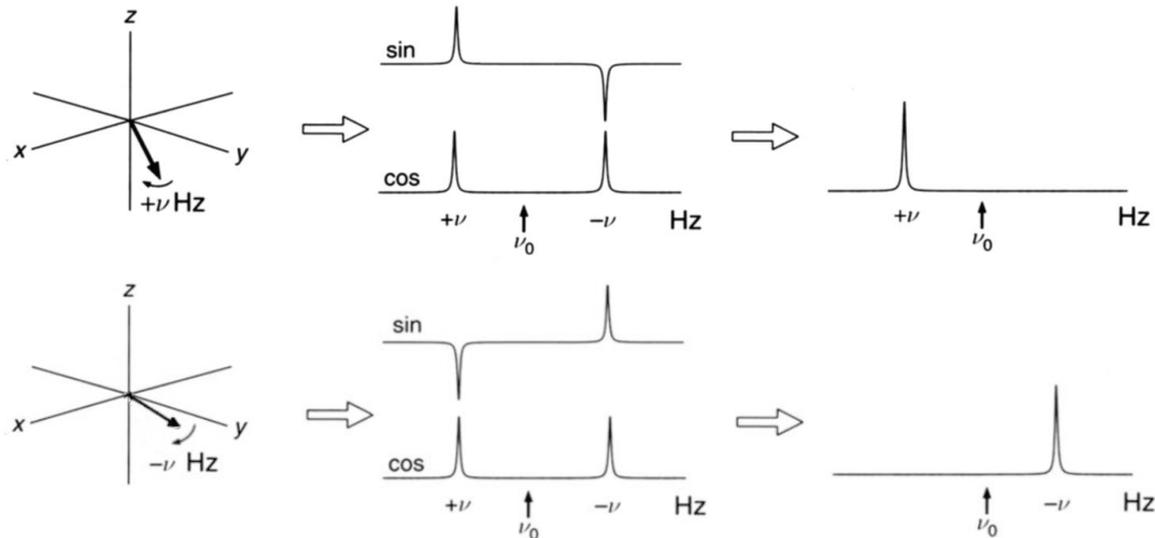
Nachteil: man muss mit höherer Leistung einstrahlen, die Hälfte der Strahlungsleistung heizt die Probe auf und das Rauschen wird verstärkt. Vorteil: der FID enthält nur positive Frequenzen.



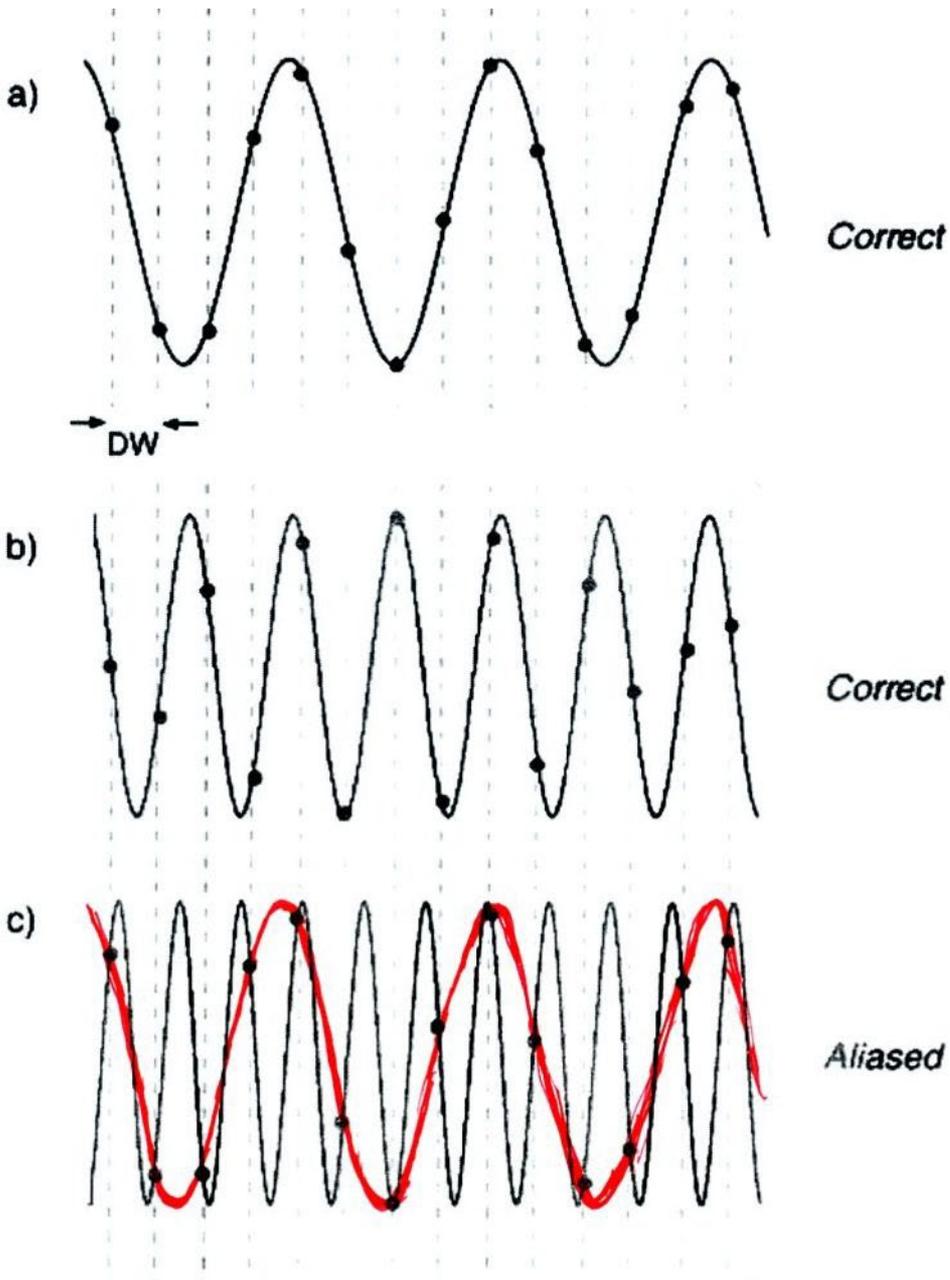
- b) Zwei-Kanal-Detektion (= Quadraturdetektion). Die Quadratur-Detektion besteht aus 5 Prozessen:
 - 1) Der gemessene FID wird zu einem Verstärker geleitet und verstärkt.
 - 2) Das verstärkte Signal wird in 2 identische Signale mit halber Intensität gesplittet.
 - 3) Jedes Signal aus 2) wird zu einem Mixer geleitet.
 - 4) Das eine Signal wird im zugehörigen Mixer mit ν_0 verrechnet, das andere Signal wird im anderen Mixer mit $\nu_0 + \pi/2$ verrechnet.
 - 5) Man erhält 4 Signale, von denen 2 durch 2 low-pass-Filter herausgefiltert werden. Diese beiden Signale sind der Realteil des Spektrums ($\cos(\omega - \omega_0)t$) und der Imaginärteil ($\sin(\omega - \omega_0)t$). D.h. durch Splitten des FIDs und Verrechnen der beiden Signale mit zwei um 90° ($\pi/2$) phasenverschobenen Transmitterfrequenzen erhält man die Signale, die man von zwei getrennten Meß-Spulen (eine in x- und eine in y-Richtung) erhalten würde. M. a. W.: durch Quadratur-Detektion simuliert man 2 Meß-Spulen. Man kann dadurch positive und negative Frequenzen unterscheiden (ist sinnvoll, weil ν_0 in der Mitte des Spektrums liegt).



- Warum kann man damit positive und negative Frequenzen unterscheiden? Die Fourier-Transformation einer \cos -Funktion hat 2 Lösungen: ein positives Signal bei $+\nu$ und ein positives Signal bei $-\nu$. Die Fourier-Transformation einer \sin -Funktion hat auch zwei Lösungen: ein positives Signal bei $+\nu$ und ein negatives Signal bei $-\nu$ (oder umgekehrt). Die Summe von beiden liefert nur ein positives Signal bei $+\nu$.



- **Signaldigitalisierung:** Das detektierte Analogsignal wird von einem A/D-Wandler digitalisiert, so dass ein PC die Daten verarbeiten kann. A/D-Wandler arbeiten mit einer definierten bit-Breite (heute: 16 bit) und einer durch die Bauart festgelegten Geschwindigkeit. Für A/D-Wandler gilt das *Nyquist-Theorem*: um ein periodisches Signal mit der Frequenz ν zu digitalisieren, muss der A/D-Wandler mit *mindestens* der doppelten Frequenz arbeiten. Für NMR-Signale im 400 MHz-Bereich müsste ein A/D-Wandler also mit mindestens 800 MHz arbeiten. In der Praxis hat man Werte, die das 5-10-fache der Signalfrequenz betragen. Die besten heute bekannten A/D-Wandler schaffen aber maximal 100 MHz. Damit kann man keine 400 MHz-FIDs digitalisieren. Deshalb muss bei der Signaldetektion des Analogsignals die Gerätefrequenz im Mixer subtrahiert werden, so dass ein FID im kHz-Bereich resultiert. Moderne NMR-Geräte besitzen A/D-Wandler, die mit 50-100 kHz arbeiten. Das Zeitintervall zwischen zwei Digitalisierungen eines kontinuierlichen FIDs heißt „dwell time t_2 “ bzw. bei Bruker DW. Wenn ein A/D-Wandler mit 100 kHz arbeitet, ist $t_2 = (100 \text{ kHz})^{-1} = 10 \text{ } \mu\text{sec}$. Die dwell time ist wichtig für alle 2D-NMR-Experimente.



Nyquist-Theorem erfüllt, d.h. nach der Digitalisierung erhält man die gleiche sin-Funktion wie vor der Digitalisierung.

Nyquist-Theorem **nicht** erfüllt, d.h. nach der Digitalisierung erhält man die **rote** sin-Funktion mit einer **zu kleinen Frequenz**.

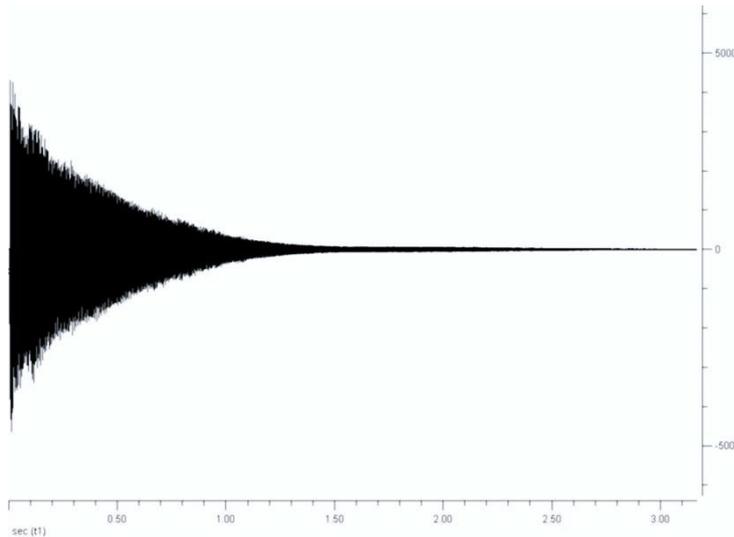
- **Signalspeicherung:** Die beiden Signale, die man bei der Quadraturdetektion erhält, kann man entweder gleichzeitig (simultaneous) oder nacheinander (sequential) digitalisieren. Bei gleichzeitiger Digitalisierung braucht man 2 A/D-Wandler, bei sequentieller Digitalisierung braucht man nur einen A/D-Wandler, der aber doppelt so schnell arbeitet. Die gleichzeitige Digitalisierung wird heute bevorzugt.
- **Quadraturartefakte:** Wenn bei der Quadraturdetektion die Phasendifferenzen nicht genau 90° betragen oder die Signalintensitäten der beiden Teilsignale nicht gleich sind, dann entstehen Geisterpeaks im Spektrum, die man *Quadraturartefakte* nennt. Um diese aus den Spektren zu eliminieren, werden bei jedem Scan 4 Pulse nacheinander eingestrahlt, die sich in der Phase unterscheiden (*Phase cycling*). Wenn man alle 8 Signale, die man so erhält, miteinander verrechnet, dann heben sich die Quadraturfehler gegenseitig auf. Das ist der Grund, warum die Zahl der Scans immer eine Potenz von 4 ist (Routine- ^1H : $\text{NS} = 16 = 4^2$
Routine- ^{13}C : $\text{NS} = 1024 = 4^5$). Wenn man ein ^1H -NMR nur mit 15 Scans aufnimmt, dann sieht man die Quadraturartefakte.

1.4. Auswertemethoden

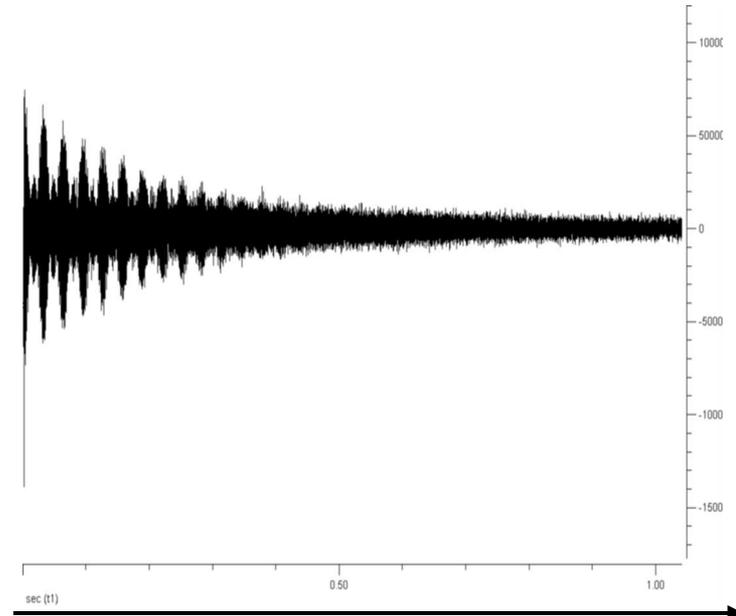
- Wenn das NMR-Gerät den FID aufgezeichnet und digitalisiert hat, dann muss man prinzipiell 3 verschiedene Schritte durchführen, um ein übliches Spektrum zu erhalten.

1) Apodisierung

FIDs enthalten Informationen über die Chemische Verschiebung, über die Kopplungskonstanten und elektronisches Rauschen.

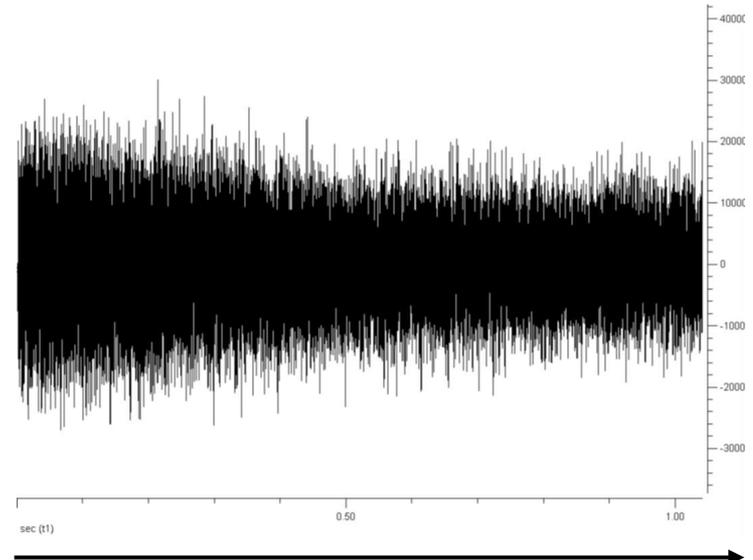


Rauschen nimmt zu
Informationsgehalt nimmt ab



Rauschen nimmt zu
Informationsgehalt nimmt ab

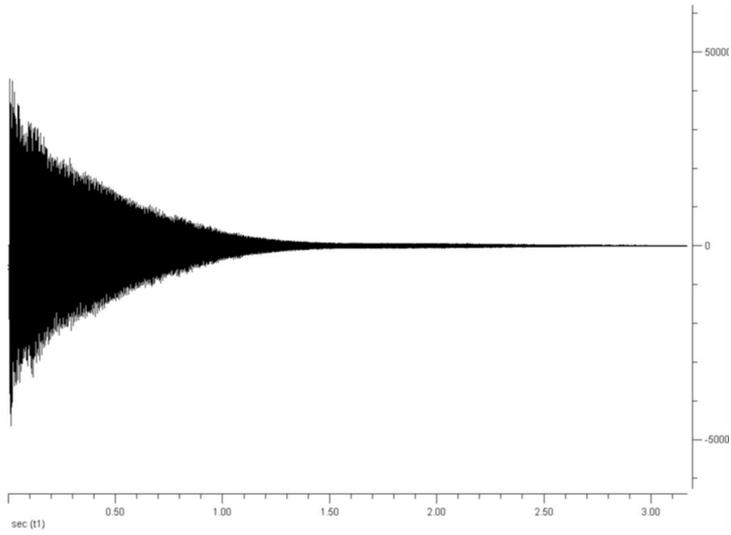
- Der FID enthält vorn und in der Mitte Info über chemische Verschiebung und Kopplung. Hinten ist nur Rauschen.
- Man kann das Rauschen verkleinern, wenn man den FID mit einer Exponentialfunktion multipliziert. S/N wird besser auf Kosten der Auflösung (Linienbreite wird größer \Rightarrow *line broadening*)



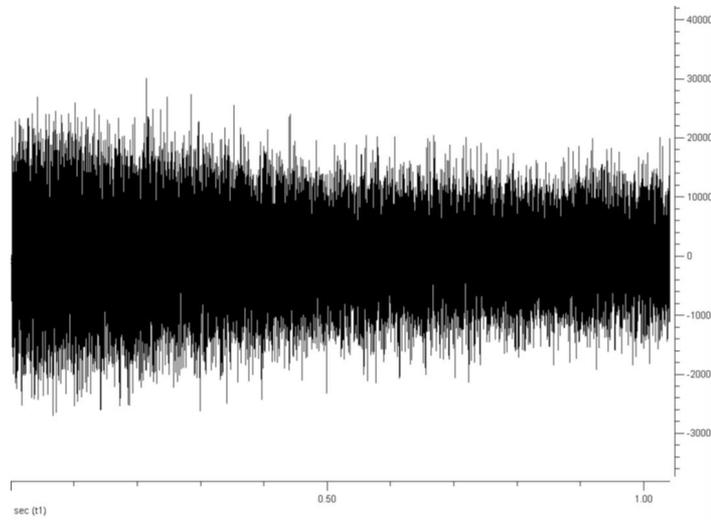
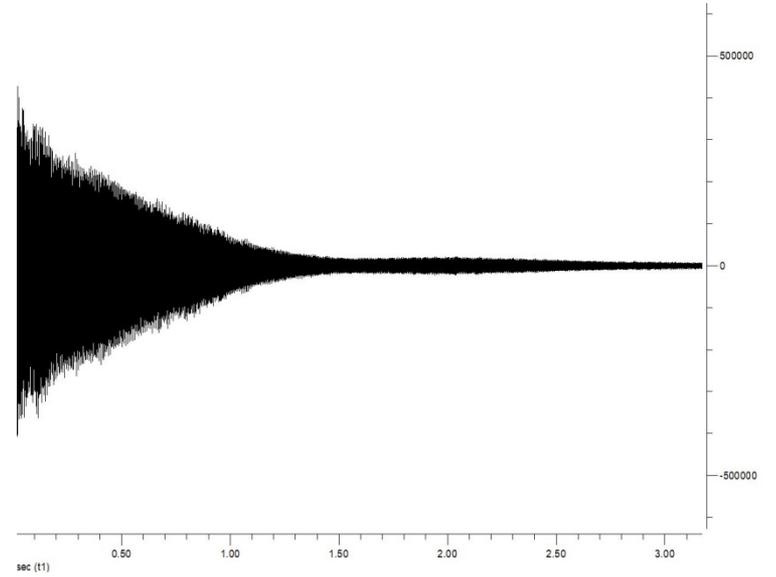
Rauschen nimmt zu
Informationsgehalt nimmt ab

Typische Werte für *line broadening* bei ^1H -NMR-Spektren: 0,1 bis 0,3; bei ^{13}C - und DEPT-Spektren: 3 bis 5.

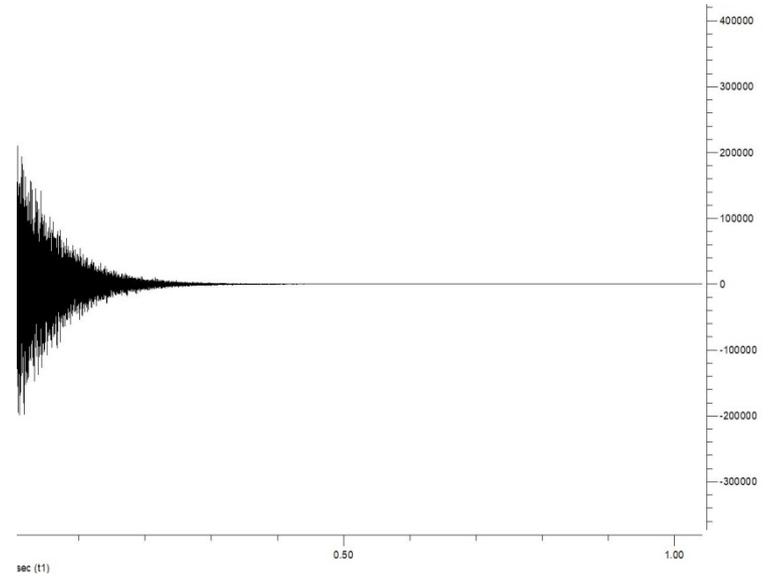
- Man kann die Auflösung verbessern, wenn man eine Lorentz-Gauss-Transformation macht. Auflösung wird verbessert auf Kosten von S/N.
Typische Werte für Lorentz-Gauss-Transformation: $l_b = -0,1$ bis $-0,3$ und $g_b = +0,1$ bis $+0,3$.
- **Wichtig:** Lorentz-Gauss-Transformation kann man auch bei $^{13}\text{C}_{37}$ und DEPT-Spektren machen.



$lb = -0,2$
 $gb = +0,3$



$lb = 5$

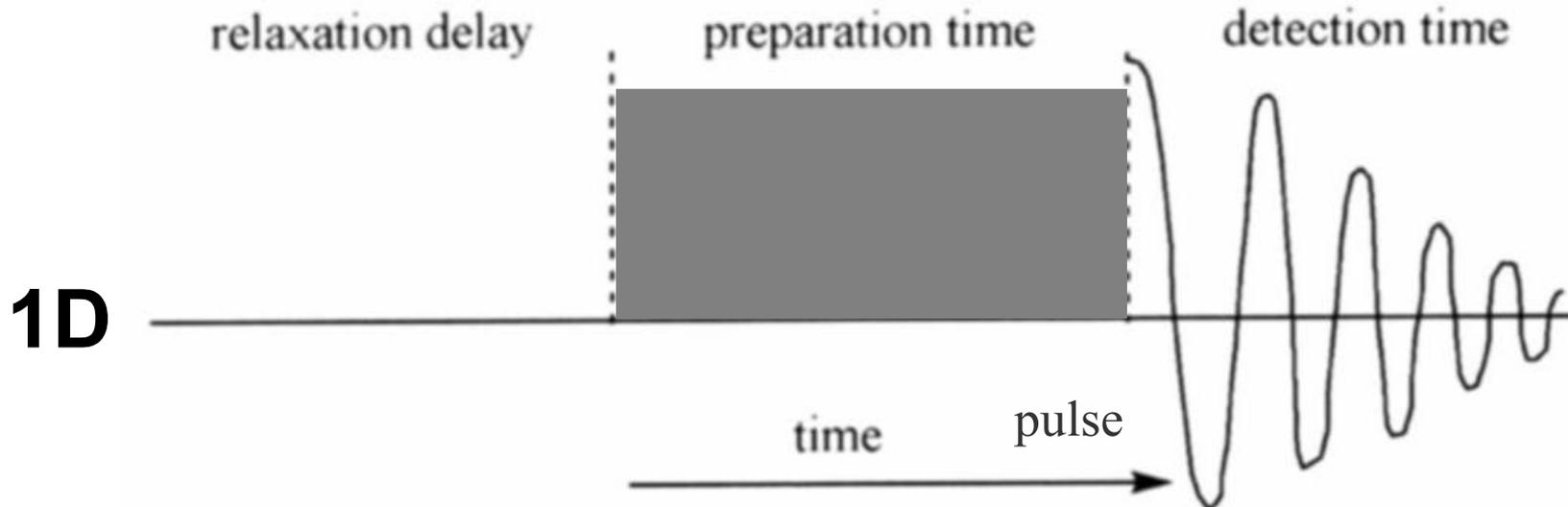


- Für 2D-Spektren werden oft sin- oder \sin^2 -Funktionen zur Apodisierung verwendet. Dadurch wird die Auflösung eher verschlechtert und die Linien verbreitert.
- Um die Auflösung von 2D-Spektren zu verbessern, verwendet man *linear prediction* (kann man auch bei ^{13}C und DEPT machen).
- 2) Fourier-Transformation
Es gibt reelle Fourier-Transformationen und komplexe Fourier-Transformationen. Das Auswerteprogramm erkennt bei 1D-Spektren automatisch, welche angewendet werden muss.
- 3) Phasenkorrektur
Die Phasenkorrektur muss so durchgeführt werden, dass man links und rechts von Signal die Baseline auf der gleichen Höhe hat (waagrechte Baseline). Phasenkorrektur 0.ter Ordnung korrigiert die Signale in der linken Spektrumshälfte, Phasenkorrektur 1. Ordnung korrigiert die Signale in der rechten Spektrumshälfte.
- **Wichtig:** Spielen Sie mit MestreC die verschiedenen Möglichkeiten an mehreren Spektren durch, damit Sie sehen, wie Sie die Routine-Spektren ggf. verbessern können!

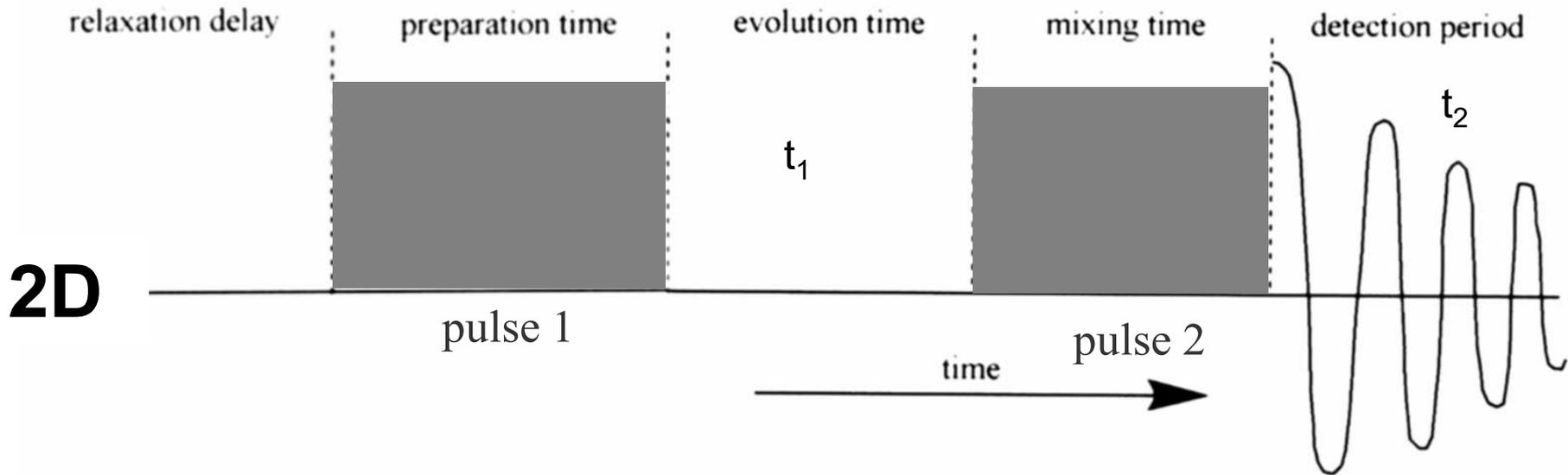
1.5. Grundlagen der 2D-NMR-Spektroskopie

1.5.1. Allgemeines zur Messung von 2D-Spektren

- Die 1. Dimension in 2D-NMR-Spektren ist immer eine Frequenz bzw. die entsprechende chemische Verschiebung. Die 2. Dimension in 2D-NMR-Spektren kann die Kopplungskonstante sein (wird eher selten angewendet, kann aber recht nützlich sein) oder die chemische Verschiebung (der häufigste Fall).
- Schematische Darstellung eines 1D-NMR-Experiments:



- Schematische Darstellung eines 2D-NMR-Experiments:



- Merken Sie sich die Bezeichnungen der einzelnen Abschnitte!
- Alle 2D-NMR-Experimente beginnen mit einem Relaxationsdelay. Während der Präparationsphase wird ein Puls (oder meist eine Sequenz von Pulsen) definierter Länge (meist 90° -Puls) eingestrahlt. Die Dauer der Evolutionsphase ist variabel in Vielfachen der DwellTime und in der Mixphase wird ein zweiter Puls (oder eine andere Pulssequenz) eingestrahlt. Nach einer kurzen Wartezeit (ring down-delay) wird der FID aufgezeichnet (also Abziehen der Einstrahlfrequenz, digitalisieren und abspeichern)⁴¹

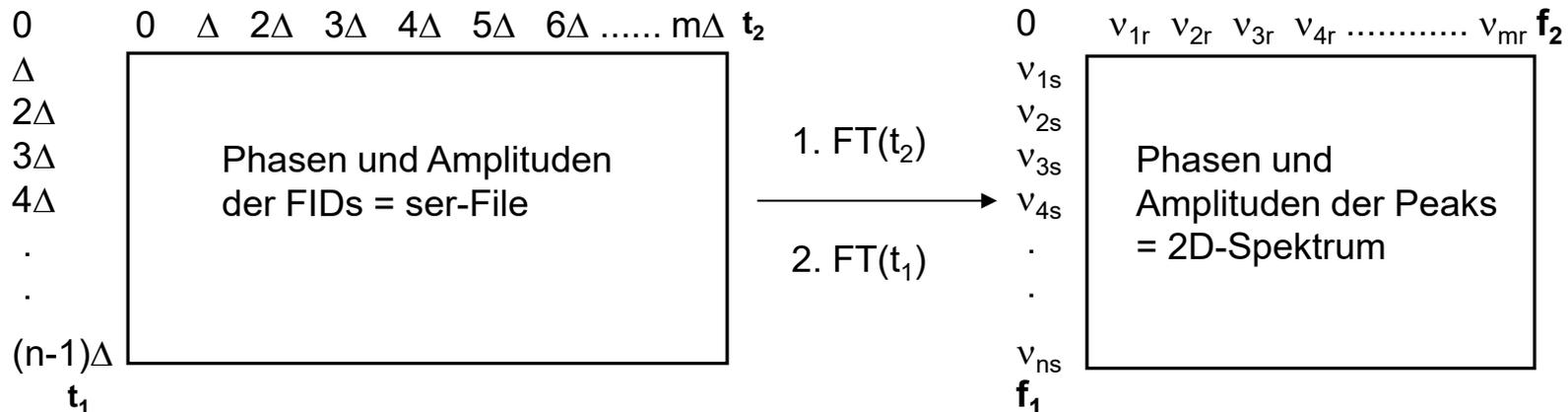
- Woher kommt die zweite Dimension? Die zweite Dimension kommt daher, dass die Evolutionsphase von scan zu scan vergrößert wird.

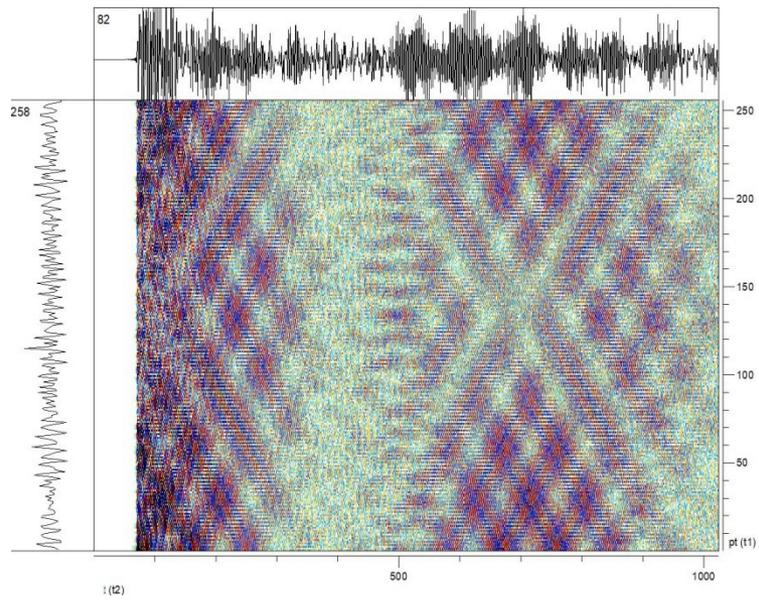
- 1.Scan: $t_1 = 0$; FID wird aufgezeichnet in Abhängigkeit von t_2
- 2.Scan: $t_1 = \Delta$; FID wird aufgezeichnet in Abhängigkeit von t_2
- 3.Scan: $t_1 = 2\Delta$; FID wird aufgezeichnet in Abhängigkeit von t_2
- 4.Scan: $t_1 = 3\Delta$; FID wird aufgezeichnet in Abhängigkeit von t_2

.....

n.ter Scan: $t_1 = (n-1)\Delta$; FID wird aufgezeichnet in Abhängigkeit von t_2

- Durch Digitalisierung der einzelnen FIDs erhält man eine Datenmatrix, die zweimal Fourier-transformiert wird.

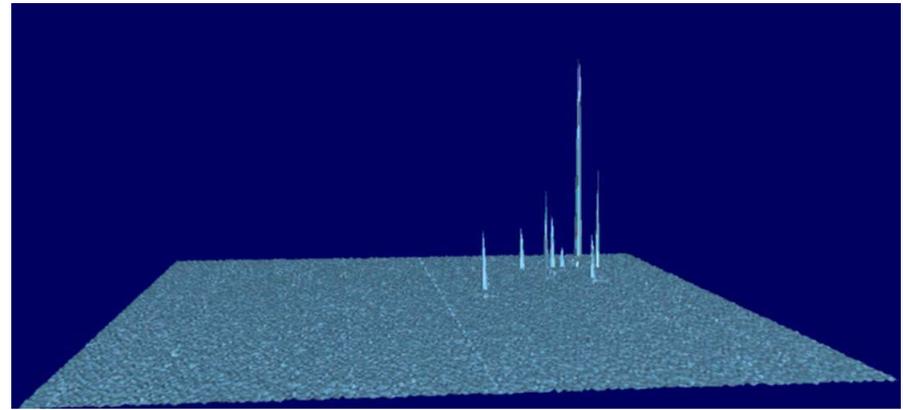
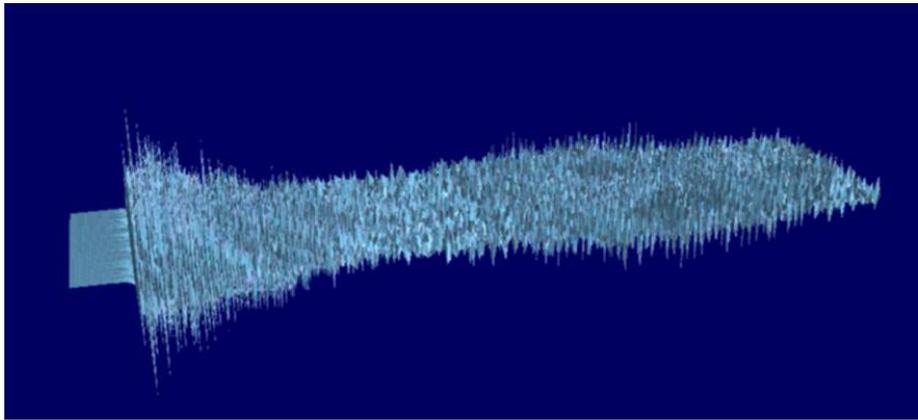
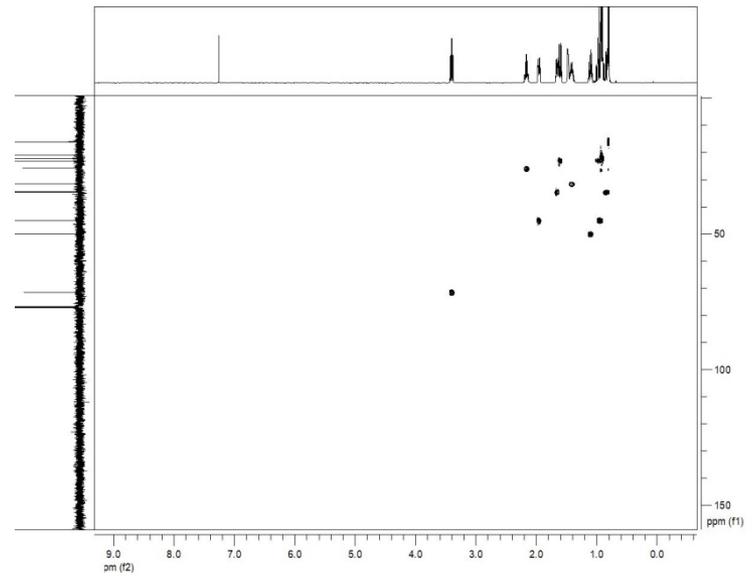


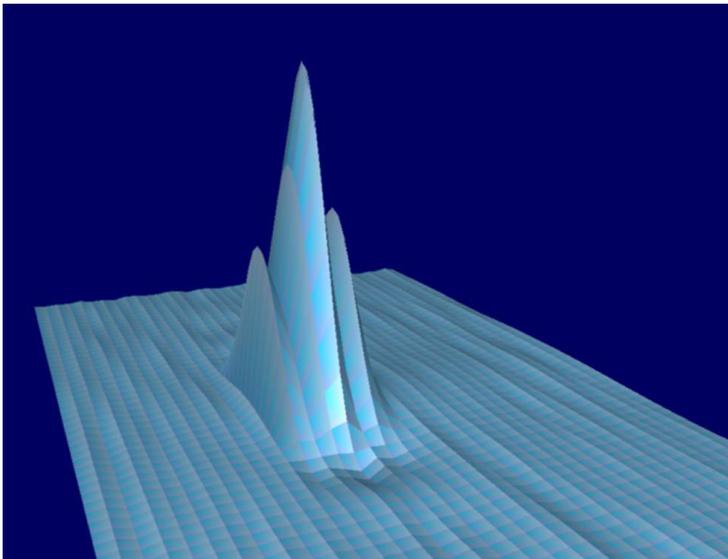


1. $FT(t_2)$

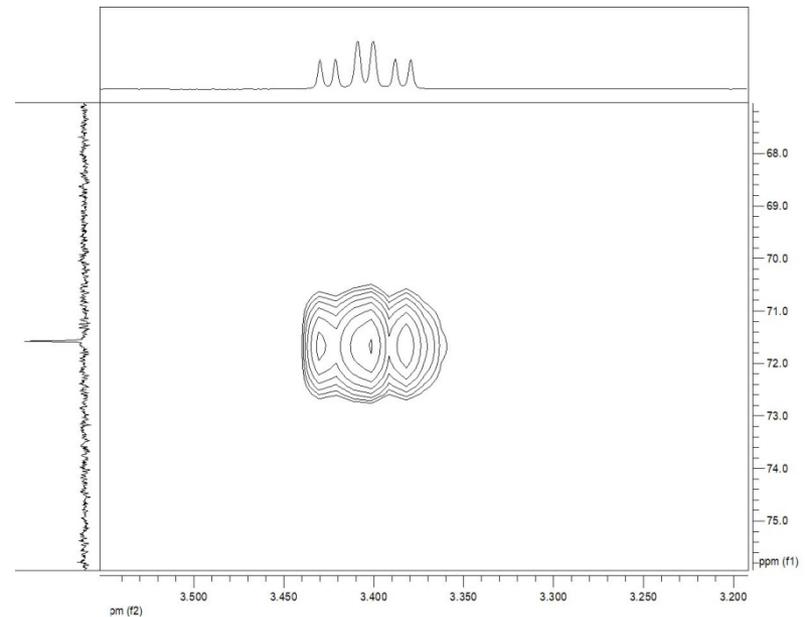
→

2. $FT(t_1)$





3D-Darstellung



Höhenliniendarstellung

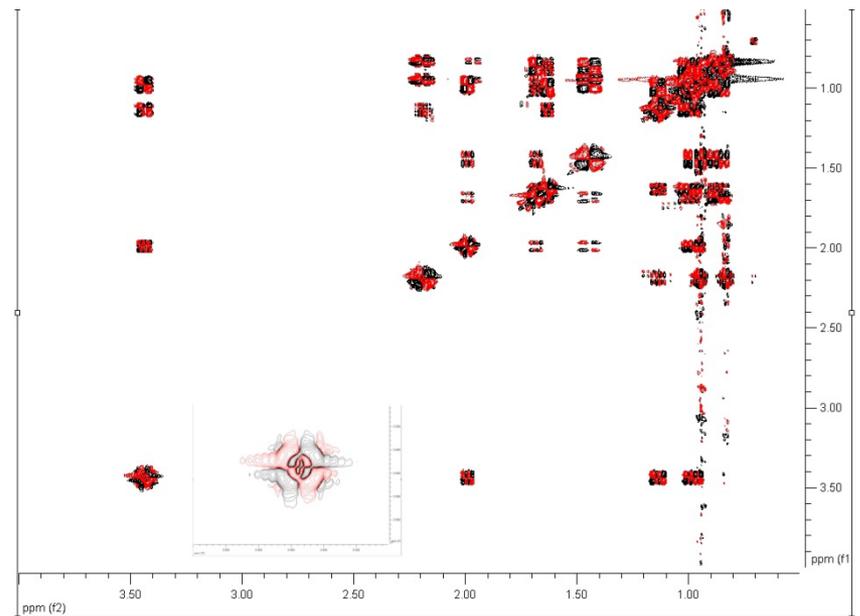
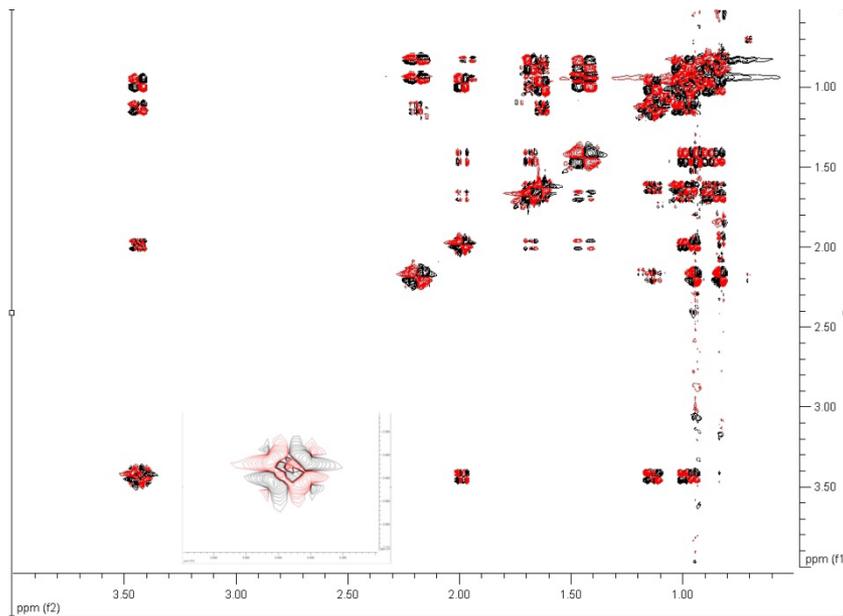
- Bei Standard-Experimenten wird jeder scan 4 mal mit anderen Phasen wiederholt (*Phase cycling*), so dass man insgesamt $4n$ scans misst. Ein einzelner Scan braucht bei 2D-Spektren deutlich länger als bei 1D-Spektren, so dass die Messzeit oft dadurch reduziert wird, dass man n relativ klein macht. n liegt meist bei 256 oder 512. n und m müssen nicht gleich sein.
- Um die Auflösung in f_1 zu verbessern, werden heute standardmäßig mittels *linear prediction* zusätzliche FIDs für nicht gemessene t_1 -Werte näherungsweise berechnet.

1.5.2. Auswertemethoden

- Analog zu 1D-NMR-Spektren kann man entweder die durch die Umrechenroutine des NMR-Geräts bereits umgerechneten 2D-Spektren öffnen oder man kann den ser-File des jeweiligen NMR-Experiments selbst bearbeiten (kann mit einiger Übung durchaus zu Verbesserungen in Auflösung und Aussehen führen).

1) Zero-Filling oder Linear Prediction in beiden Richtungen

Um die Auflösung und das Aussehen der Peaks zu verbessern, kann man die Datenmatrix (üblicherweise 0,5k x 0,5k) auf das vierfache erweitern. Nachteil: FT dauert länger.



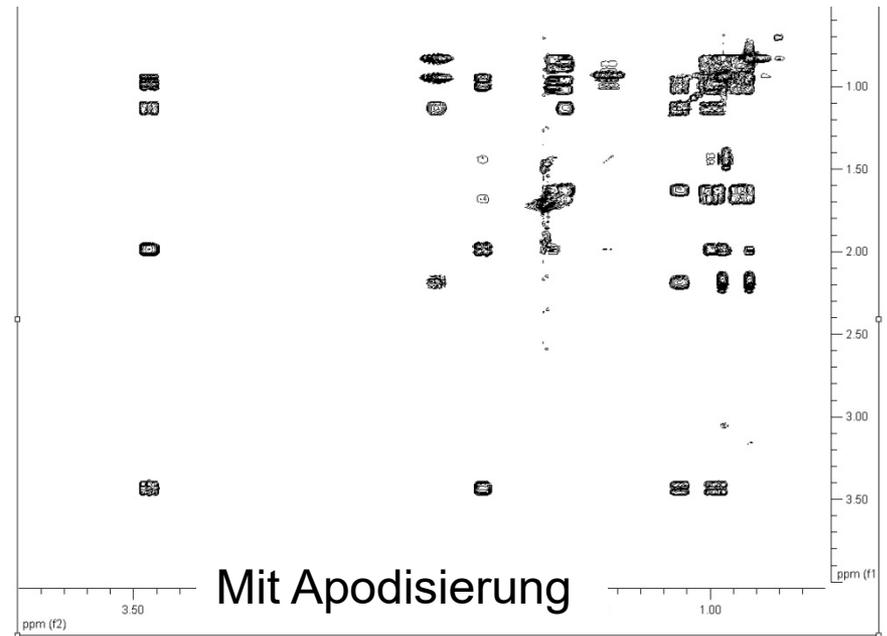
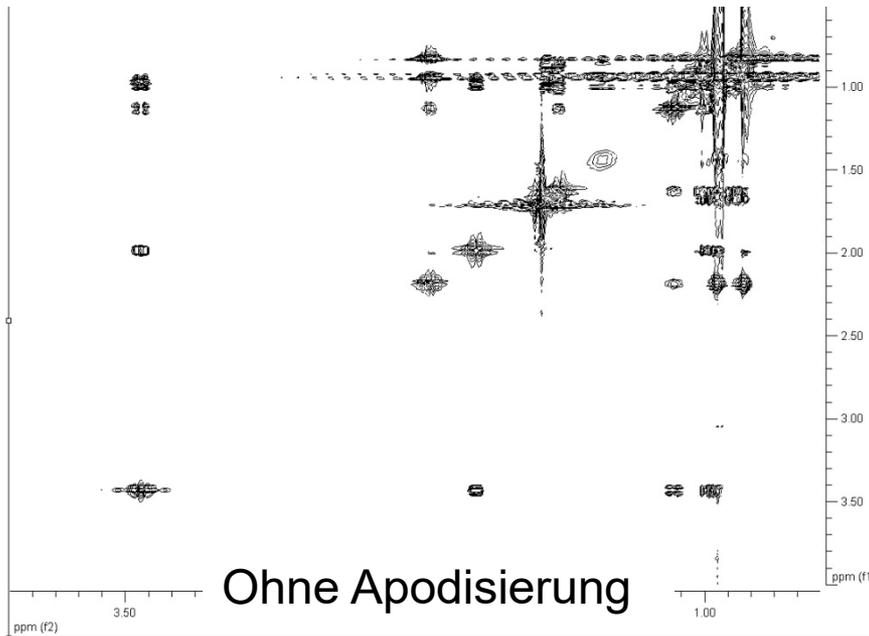
2) Apodisierung

Für 2D-NMR-Spektren üblich: sin- oder \sin^2 -Funktionen, die mehr oder weniger stark verschoben sein können. \sin^2 führt oft zu besserer Auflösung (ausprobieren!). Für quadratische 2D-Spektren sollte man in f_2 -Richtung die gleiche Apodisierungsfunktion wie in f_1 -Richtung verwenden. Für alle anderen kann man in beiden Dimensionen unterschiedliche Apodisierungsfunktionen verwenden.

Verschiedene Darstellungsmöglichkeiten:

Magnituden-Modus: $\sqrt{\text{Re}^2 + \text{Im}^2}$

Power-Modus: $\text{Re}^2 + \text{Im}^2$



3) Fourier-Transformation

I. d. R. kümmert sich die NMR-Software um die richtigen Parameter für die Fourier-Transformation.

4) Phasenkorrektur

Phasenkorrektur wird zunächst in f_2 -Richtung durchgeführt, dann in f_1 -Richtung. Beide werden ggf. so lange wiederholt, bis man vollständig Absorptionspeaks hat.

5) Entfernen von t_1 -Rauschen

Oft treten in 2D-NMR-Spektren „Geisterpeaks“ auf, die parallel zur f_1 -Achse auf einer Linie liegen. Dies kommt von zu wenig FIDs in f_1 -Richtung her. Die NMR-Software kann dies per Klick entfernen. Vorsicht! Gelegentlich werden dabei auch Peaks entfernt!!!

6) Symmetrisieren

Quadratische 2D-NMR-Spektren sind symmetrisch bzgl. der Diagonalen von links unten nach rechts oben. Dies kann man ausnutzen, um „Geisterpeaks“ zu eliminieren, die nur in einer Hälfte vorkommen.

FAZIT: mit ein wenig Übung kann man selbst Spektren produzieren, die gleich gut oder sogar besser als die der NMR-Routine sind.

1.6. Vorgehensweise bei der Strukturaufklärung komplexerer Verbindungen

- Man nimmt einen Satz 1D-NMR-Spektren auf (^1H , ^{13}C , DEPT135, evtl. noch DEPT90) und wertet diese so weit wie möglich aus.
- Man nimmt einen Satz 2D-NMR-Spektren auf (homonucleare Correlation, heteronucleare Correlation, Correlation über den Raum, evtl. Austauschcorrelation) und entnimmt diesen Spektren die noch fehlenden Strukturinformationen.
- Extrem wichtig: Genaue Buchführung!!! Am besten in Tabellenform.

	δ (H) in ppm	Integration	Multiplizität	Kopplungskonstanten in Hz	H,H-COSY	Zuordnung
1						
2						
3						
4						

	δ (C) in ppm	Multiplizität	CH-Korrelation	HMBC	Zuordnung
1					
2					
3					
4					

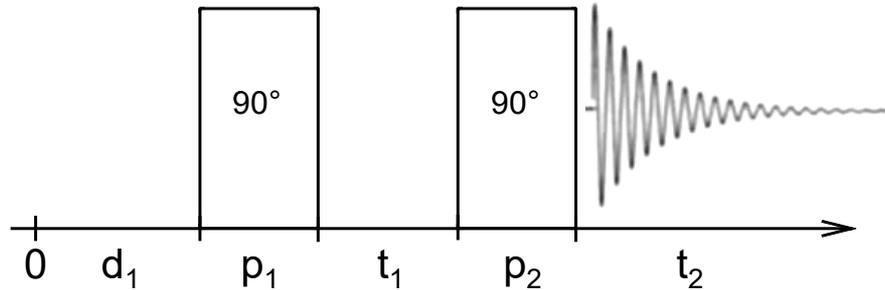
- Wenn man eine bekannte Struktur bestätigen will, dann zeichnet man das Molekül möglichst groß und trägt in die Zeichnung die vorhandenen Informationen ein.
- Bei der Strukturaufklärung von unbekanntem Verbindungen kommt es immer wieder vor, dass es für die Daten mehrere Interpretationsmöglichkeiten gibt. Faustregel: zunächst immer die einfachste Möglichkeit weiter verfolgen, bis sie sich als unbrauchbar erweist!
Keep things simple!!!

2. Homonucleare 2D-NMR-Spektroskopie

- Homonucleare 2D-NMR-Spektren haben in beiden Dimensionen dieselbe chemische Verschiebung: entweder ^1H und ^1H (sehr häufig) oder ^{13}C und ^{13}C (sehr selten, auch schwierig zu messen). Man spricht allgemein von Correlationspektroskopie (**C**orrelation **S**pectroscopy **C**OSY), weil dadurch H-Atome, die im Molekül miteinander wechselwirken, miteinander in Beziehung gebracht werden.
- H,H-COSY-Spektren sind immer quadratisch. Es gibt sogenannte *Diagonal-Peaks*, die das 1D- ^1H -NMR-Spektrum „von oben“ darstellen. Zusätzlich gibt es noch sogenannte *Kreuz-Peaks* (engl. *Cross Peaks*), die ausserhalb der Diagonalen liegen und nur zwischen solchen Hs auftreten, die irgendwie miteinander koppeln. Die Cross Peaks liefern also wertvolle Information für die Strukturaufklärung.
- Üblicherweise ist die Intensität der Cross Peaks um so größer, je stärker zwei Hs miteinander koppeln.

2.1. H,H-COSY 90

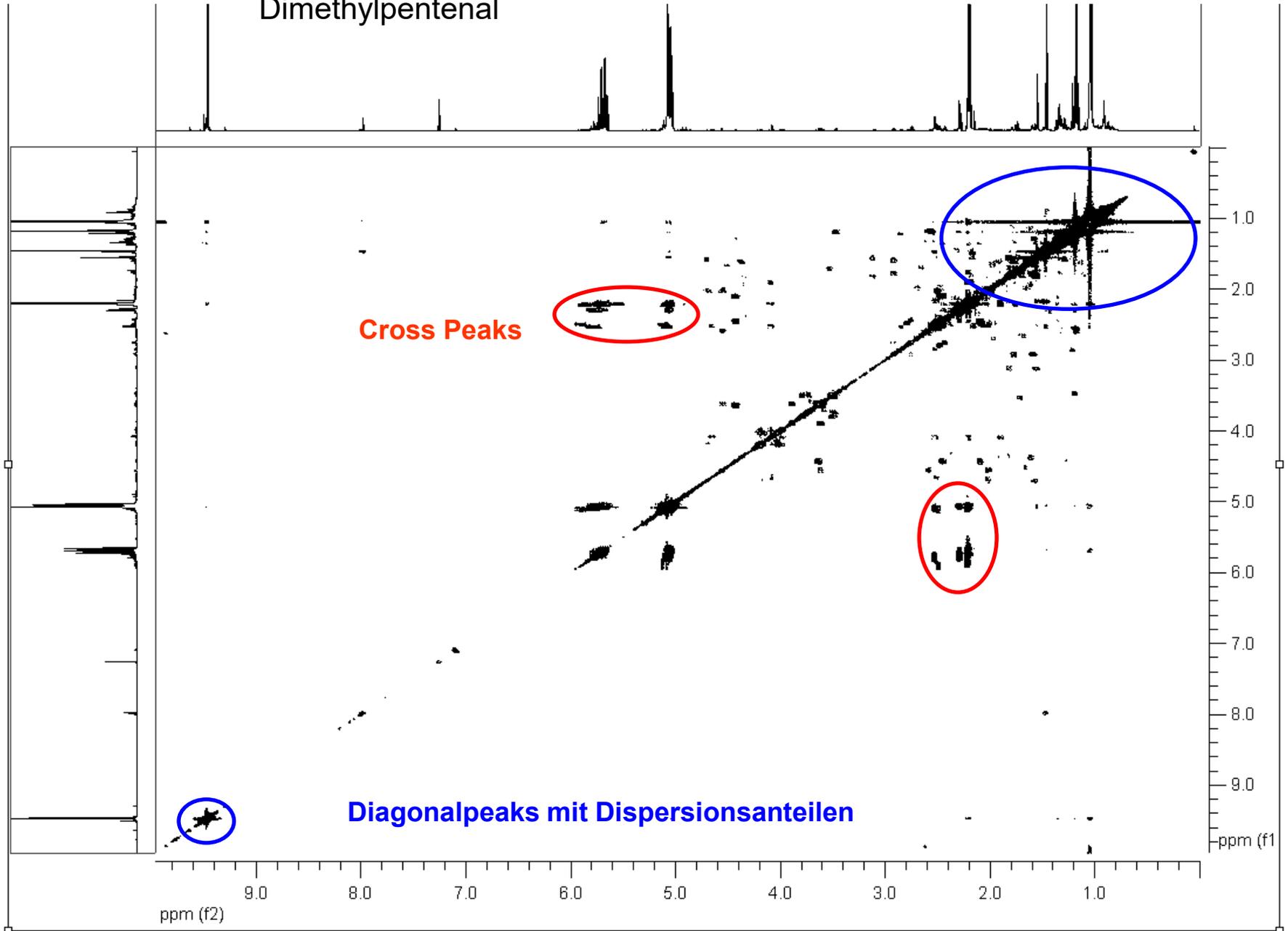
- Puls-Sequenz:



Für P_1 und P_2 wird jeweils ein Phasencyclus durchlaufen; f_2 wird mit Quadraturdetektion gemessen, f_1 nicht.

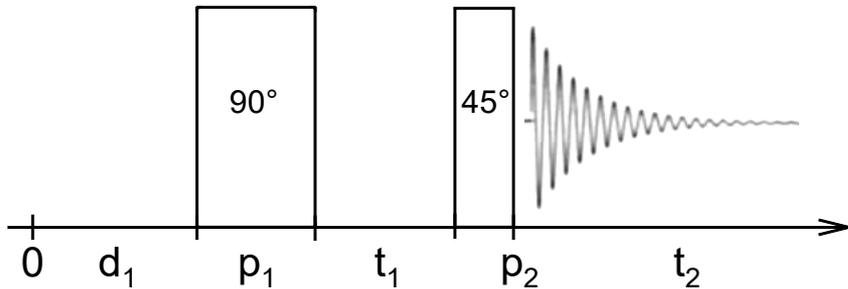
- Man sieht Cross Peaks zwischen Hs, die miteinander über 2, 3 oder 4 Bindungen (allylische Kopplung) koppeln. Je kleiner die Kopplungskonstante, um so kleiner ist der Cross Peak.
- H,H-COSY 90-Spektren werden üblicherweise nicht-phasensensitiv gemessen und im Magnituden- oder Power-Modus dargestellt.
- Zur Auswertung: FT in f_2 , dann entweder Zero-Filling in f_1 oder linear prediction in f_1 (jeweils bis zur quadratischen Datenmatrix), dann FT in f_1 , dann reduce t_1 noise, dann Spektrum symmetrisieren.
- Schnelles Routine-2D-Spektrum mit viel Informationsgehalt

Dimethylpentenal



2.2. H,H-COSY 45

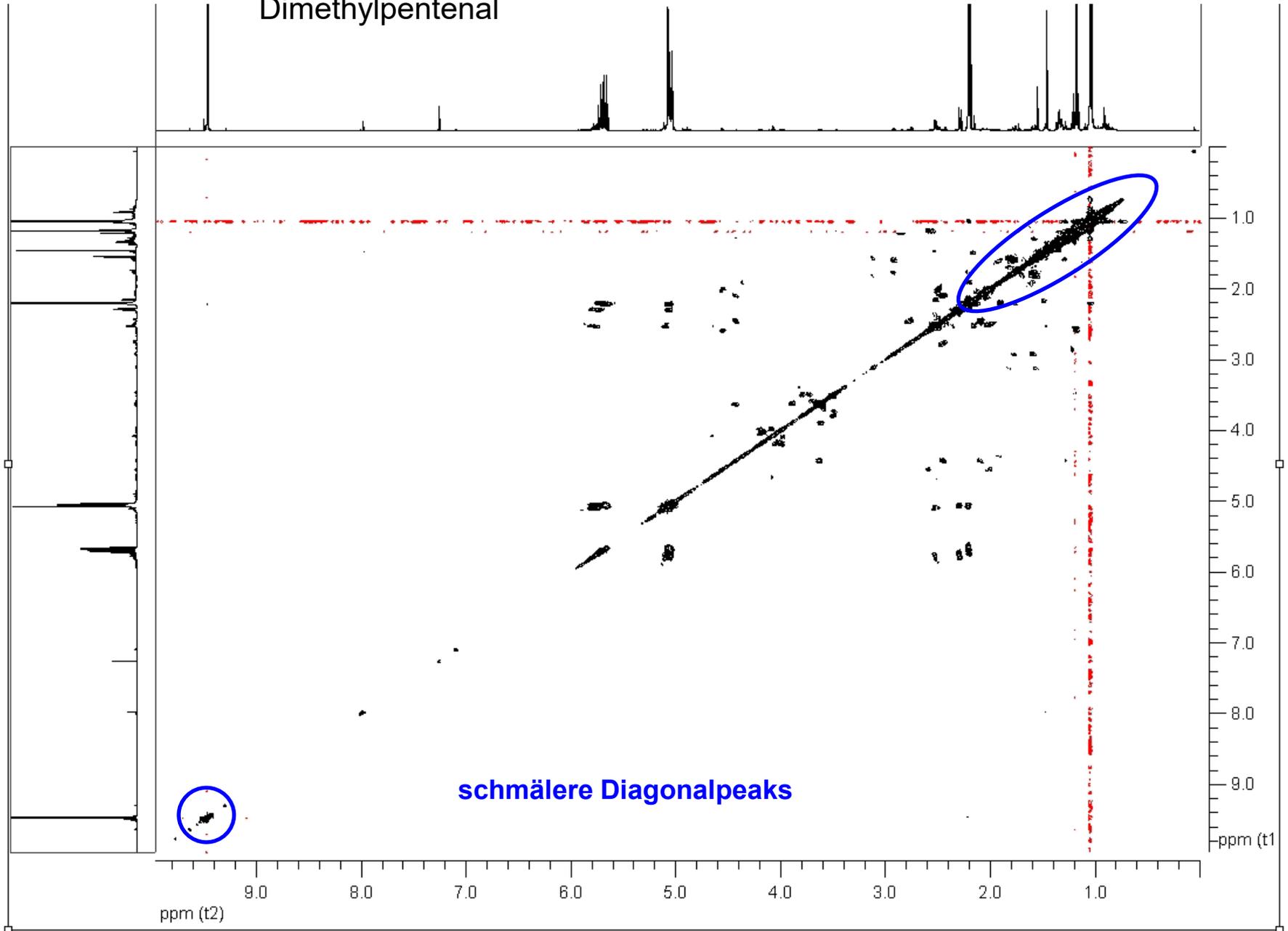
- Puls-Sequenz:



Für P_1 und P_2 wird jeweils ein Phasencyclus durchlaufen; f_2 wird mit Quadraturdetektion gemessen, f_1 nicht.

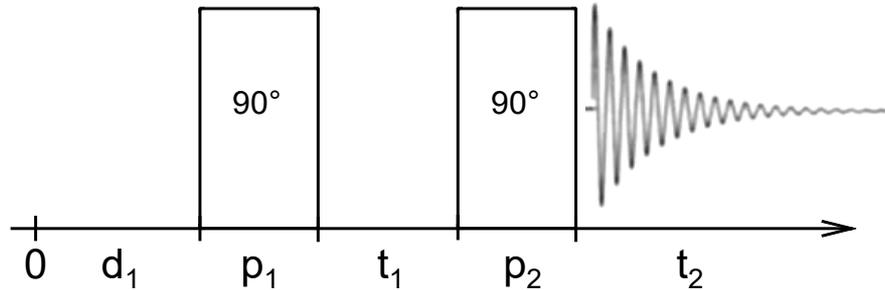
- Man sieht Cross Peaks zwischen Hs, die miteinander über 2, 3 oder 4 Bindungen (allylische Kopplung) koppeln. Je kleiner die Kopplungskonstante, um so kleiner ist der Cross Peak.
- H,H-COSY 45-Spektren werden üblicherweise nicht-phasensensitiv gemessen und im Magnituden- oder Power-Modus dargestellt.
- Zur Auswertung: FT in f_2 , dann entweder Zero-Filling in f_1 oder linear prediction in f_1 (jeweils bis zur quadratischen Datenmatrix), dann FT in f_1 , dann reduce t_1 noise, dann Spektrum symmetrisieren.
- Vorteil gegenüber COSY90: 1) schmalere Diagonalpeaks 2) man kann geminale von vicinalen Kopplungen leicht unterscheiden. 53

Dimethylpentenal



2.3. H,H-COSY 90 phasensensitiv

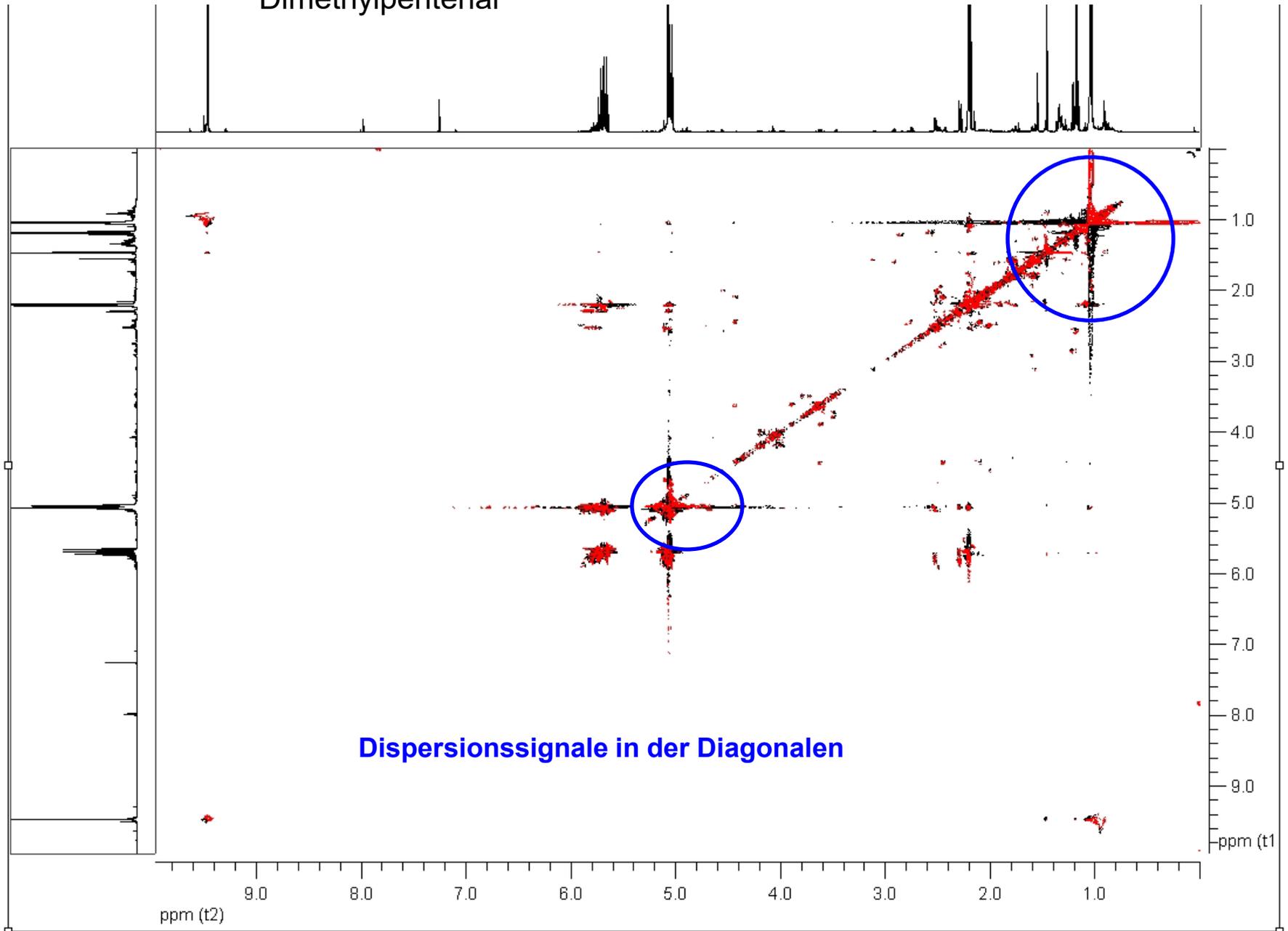
- Puls-Sequenz:



Für P_1 und P_2 wird jeweils ein Phasencyclus durchlaufen; f_2 und f_1 werden mit Quadraturdetektion gemessen.

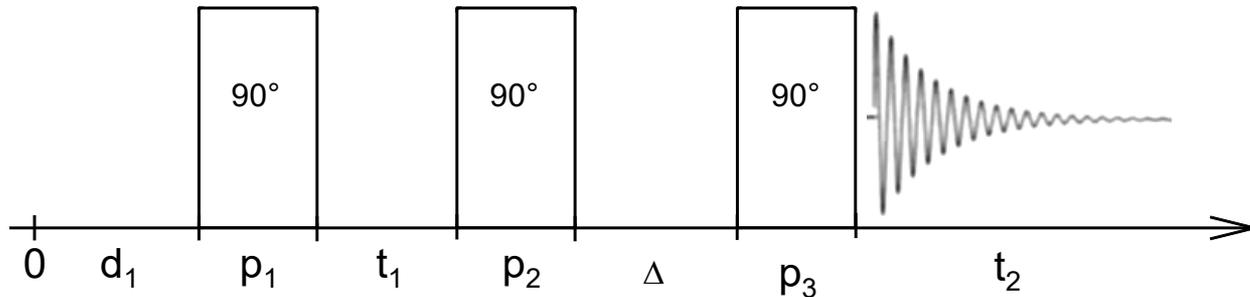
- Man sieht Cross Peaks zwischen Hs, die miteinander über 2, 3 oder 4 Bindungen (allylische Kopplung) koppeln. Je kleiner die Kopplungskonstante, um so kleiner ist der Cross Peak.
- Phasensensitive H,H-COSY 90-Spektren zeigen in der Diagonalen reine Dispersionssignale und als Cross Peaks reine Absorptionssignale. Für die Routine: *taugt nichts!*
- Man kann mit entsprechendem Aufwand Spektren erhalten, aus denen man auch Kopplungskonstanten ablesen kann. Erfordert aber Messungen mit hoher Auflösung, entsprechend lange Messzeit und *viel* Erfahrung bei der Umrechnung.

Dimethylpentenal



2.4. H,H-DQF-COSY

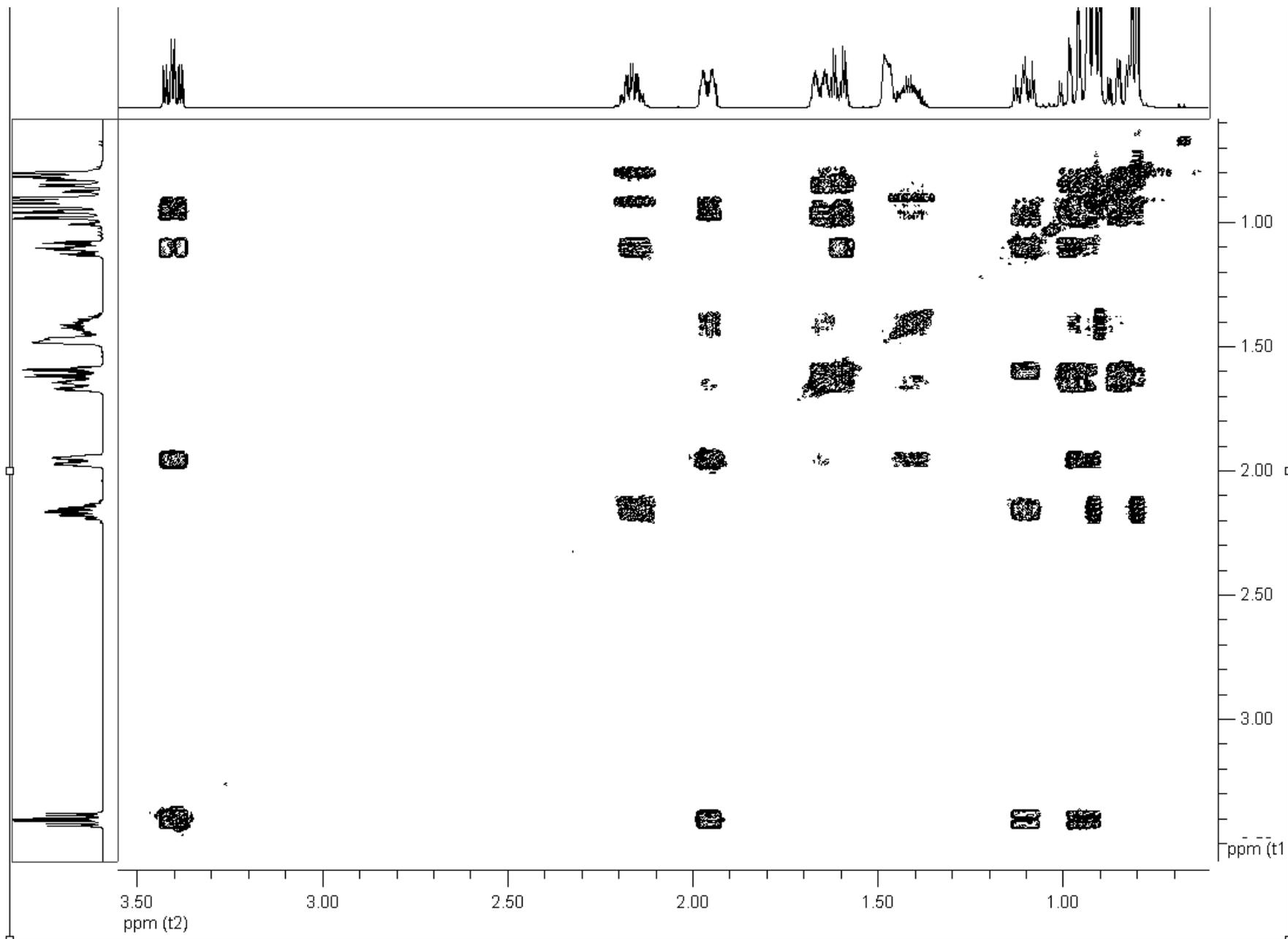
- Double-Quantum-Filtered COSY
- Puls-Sequenz:



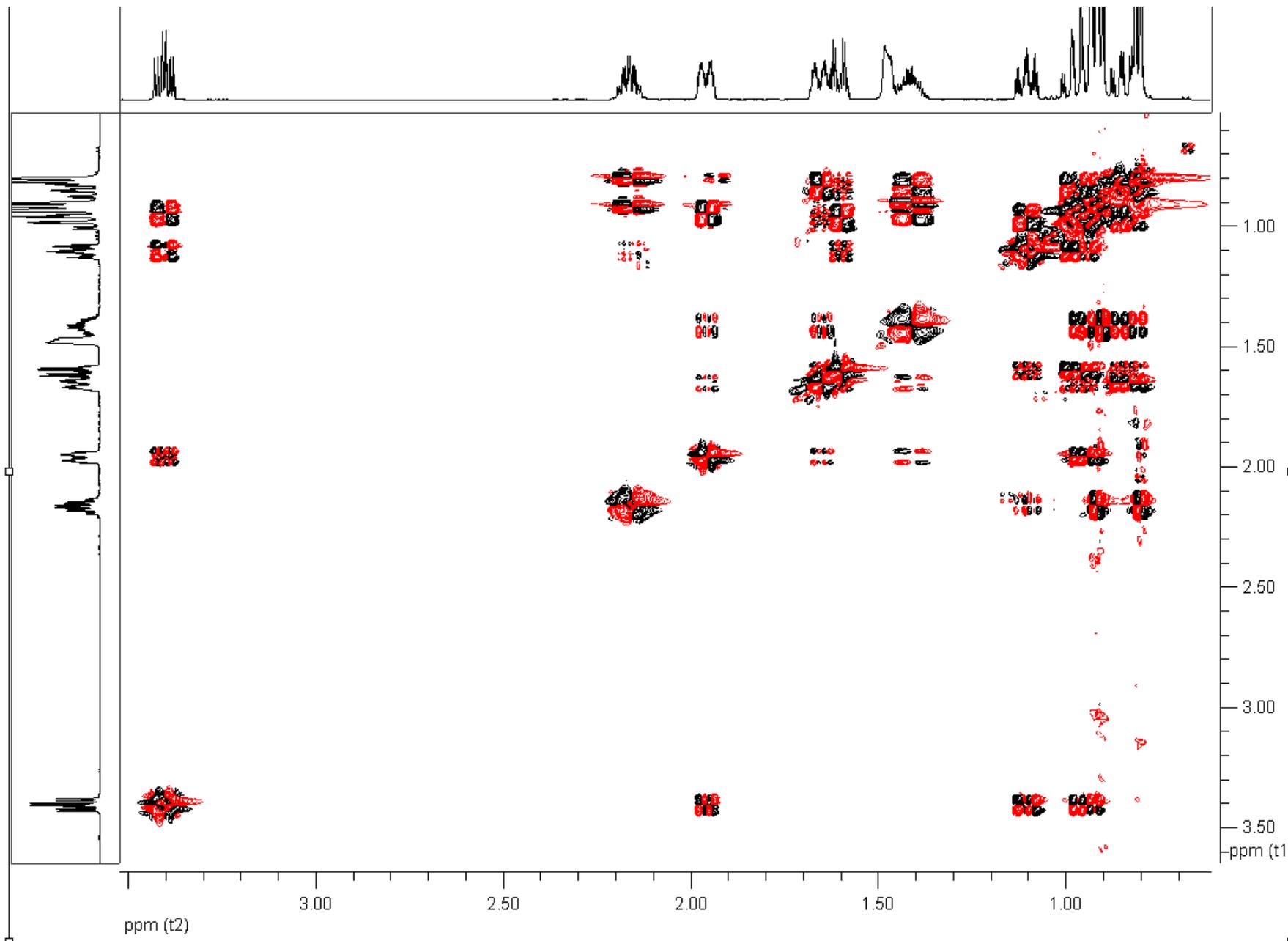
- Nach dem ersten 90° -Puls erhält man Magnetisierung in der x,y-Ebene, die in der Evolutionszeit t_1 entsprechend den chemischen Verschiebungen und der Kopplungskonstanten aufspaltet. Der zweite 90° -Puls liefert prinzipiell das gleiche Ergebnis, wie bei dem H,H-COSY 90° + zusätzlich sogenannte Doppelquantenmagnetisierung, die generell nicht direkt detektiert werden kann. In der Zeit Δ spaltet diese auch entsprechend der chemischen Verschiebung und der Spin-Spin-Kopplung auf. Der dritte 90° -Puls überführt diese Doppelquantenmagnetisierung wieder in detektierbare Magnetisierung, die dann während t_2 auch detektiert wird.

- Um nur die Doppelquantenmagnetisierung zu messen (und nicht auch noch zusätzlich die „normale“ Einquantenmagnetisierung), wird für jedes t_1 -Inkrement ein Phasencyclus von 4 Scans durchlaufen.
- Vorteil von H,H-DQF-COSY gegenüber H,H-COSY 90: scharfe, gut aufgelöste Cross-Peaks, schmale Diagonal-Peaks, hohe Auflösung zur Messung von Kopplungskonstanten, Unterdrückung von Lösungsmittelsignalen (vor allem Wasser)
- Nachteil: geringere Intensität der Signale als im H,H-COSY 90 erfordert längere Messzeit
- Deshalb moderne Variante: gs-DQF-COSY: **G**radient **s**electe**d** **D**ouble **Q**uantum **F**iltered COSY.
- Gradientenselektion bedeutet: Anlegen eines linearen Magnetfeldgradienten entlang der z-Richtung. Dadurch werden Geisterpeaks u. a. aus dem FID rausgefiltert. Effekt ist äquivalent zu einem Phasencyclus aus 4 Scans. ABER: man braucht nur einen Scan. Vorteil: entweder Messzeit auf $\frac{1}{4}$ reduzieren oder in derselben Messzeit 4 mal so viele Scans aufnehmen \Rightarrow Verbesserung von S/R um Faktor 2.

Menthol H,H-gsDQF-COSY

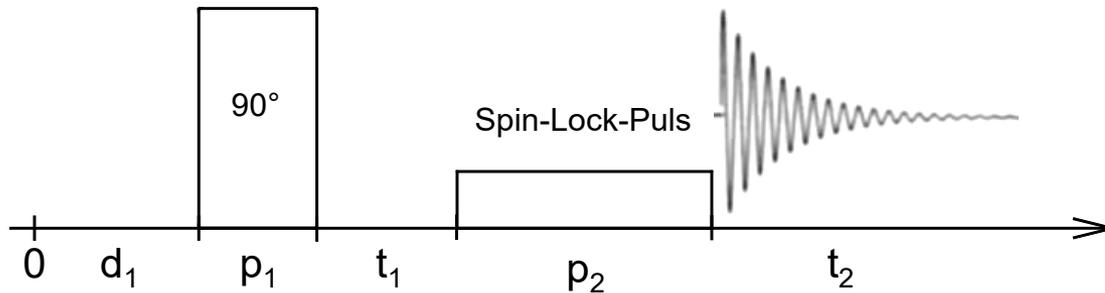


Menthol H,H-gsDQF-COSY phasensensitiv



2.5. TOCSY

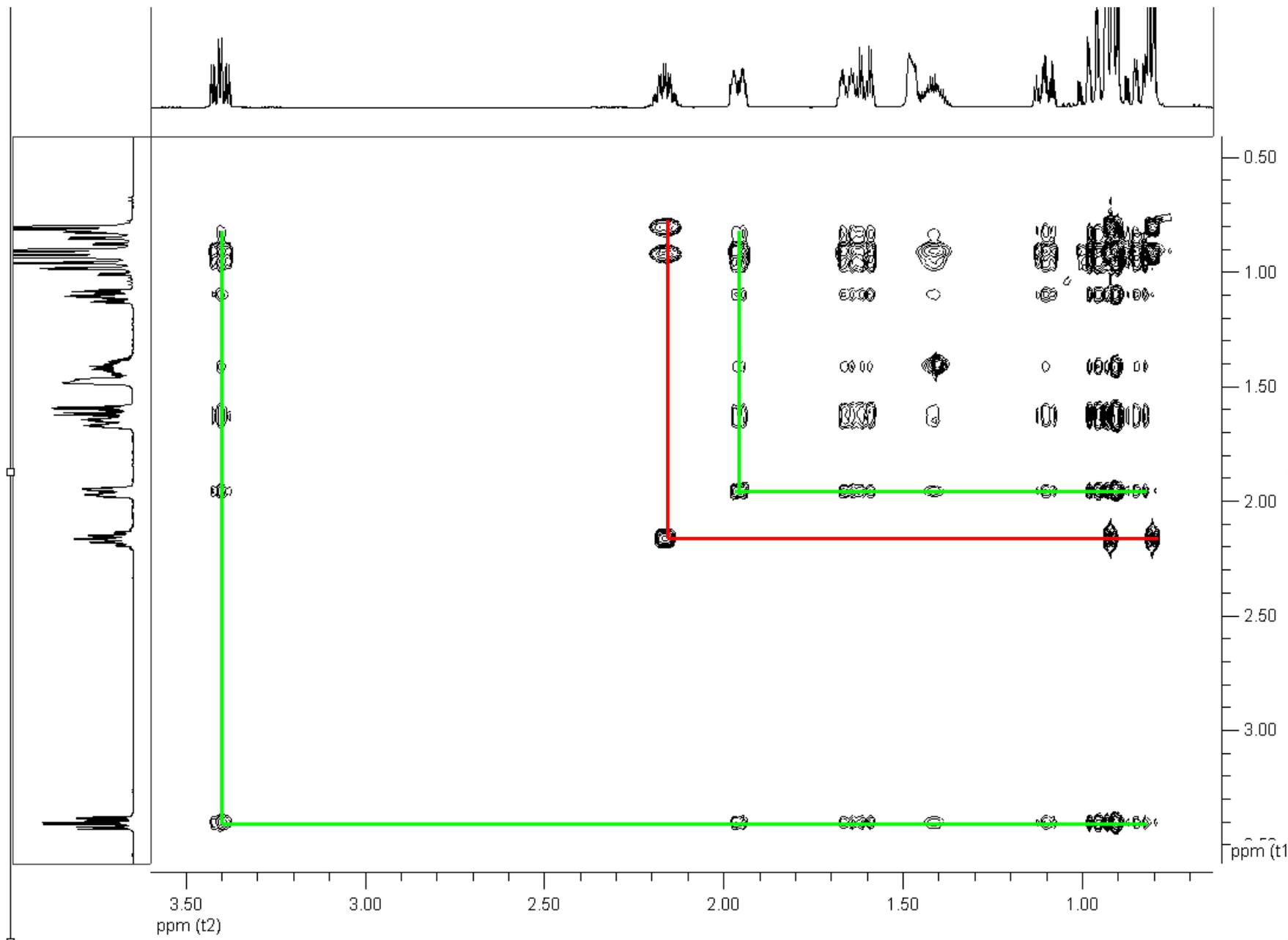
- **Total Correlation Spectroscopy**
- Puls-Sequenz:



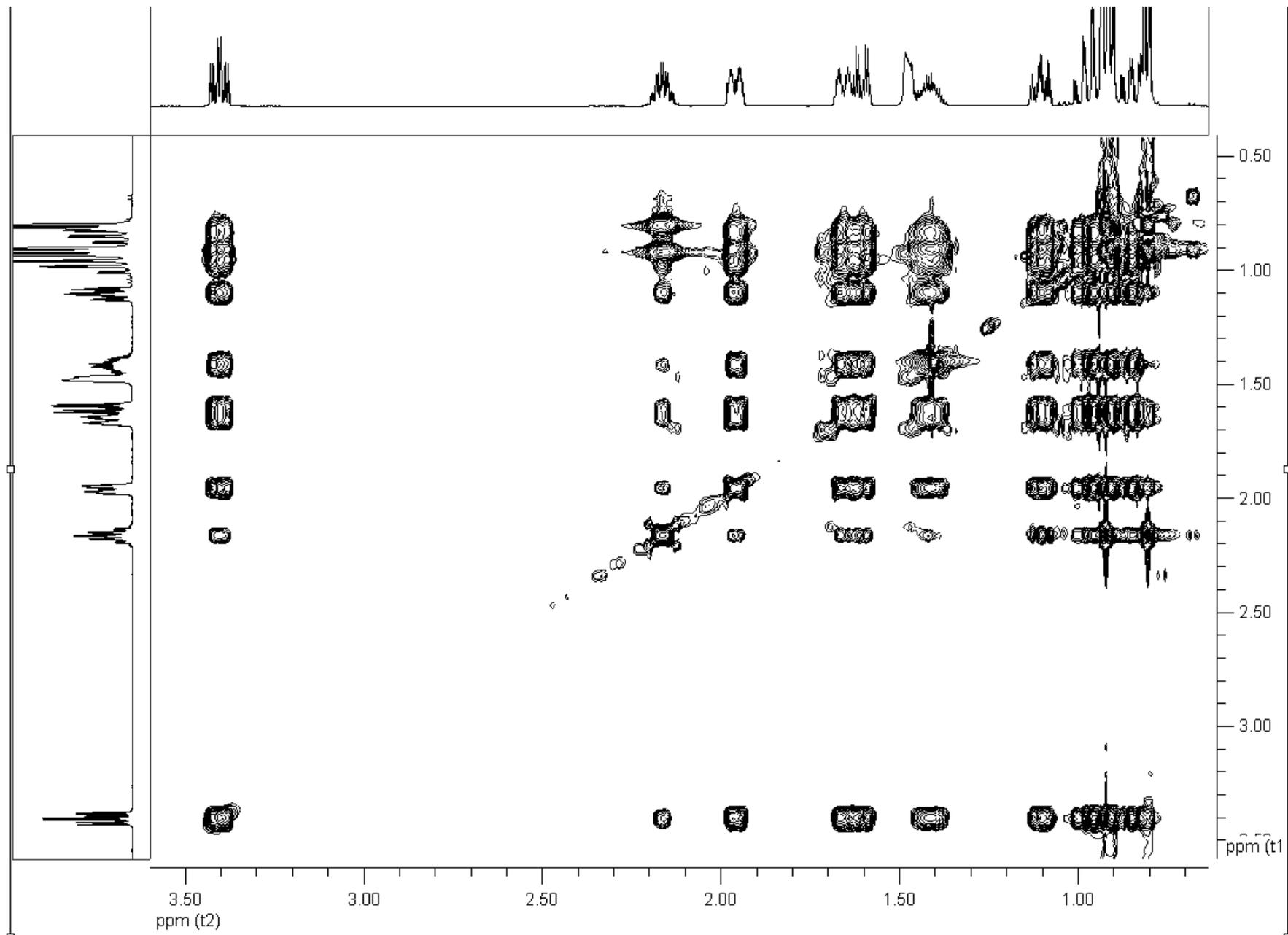
Durch den langen, schwachen Spin-Lock-Puls wird bewirkt, dass alle Kerne *desselben* Spinsystems Crosspeaks zueinander ausbilden.

- Man kann bei Molekülen mit mehreren Spinsystemen die einzelnen Spinsysteme als zusammengehörige Einheiten erkennen, die alle zueinander Crosspeaks ausbilden.
- Wichtig für Oligo- und Polysaccharide, Oligo- und Polypeptide, in denen jeder Zucker bzw. jede Aminosäure ein separates Spinsystem bildet.
- Auch bei kleineren Molekülen nützlich, z.B. Steroide o.ä.
- Nachteil: man kann oft die Reihenfolge der Hs eines Spinsystems nicht bestimmen.

Menthol TOCSY hohe Schnitt Ebene



Menthol TOCSY tiefe Schnittebene

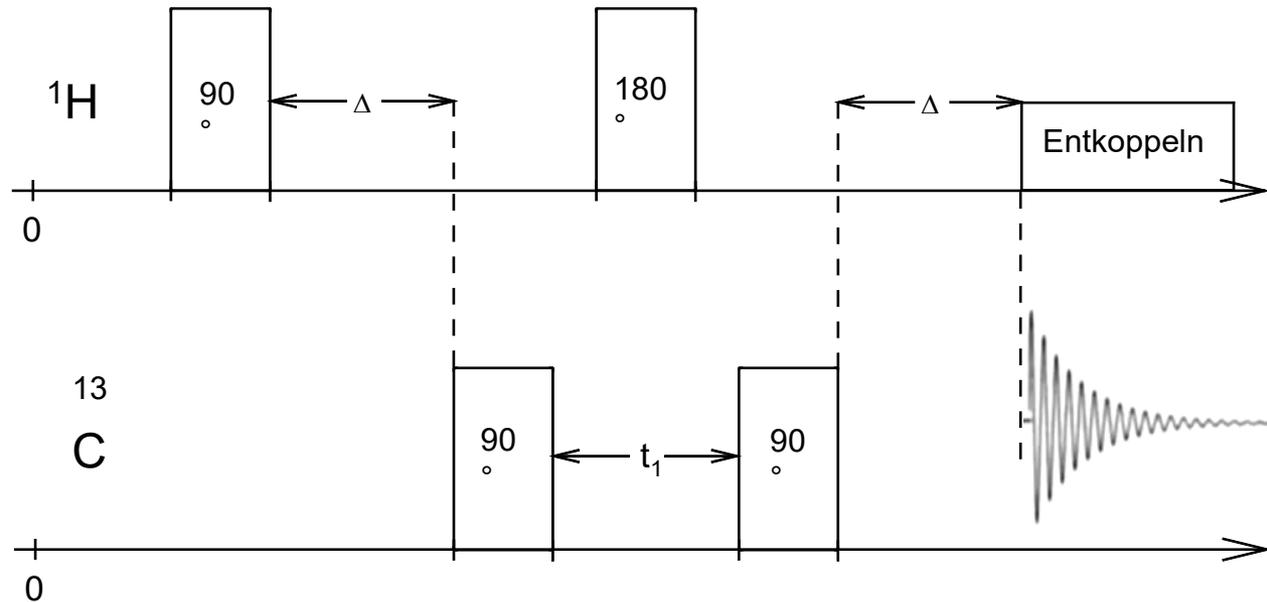


3. Heteronucleare 2D-NMR-Spektroskopie

- Die allerhäufigsten heteronuclearen 2D-NMR-Spektren korrelieren ^1H - mit den zugehörigen ^{13}C -Kernen. Man spricht ganz allgemein von C,H-Korrelation.
- In f_2 -Richtung (horizontal) hat man üblicherweise die ^1H -Signale und in f_1 -Richtung (vertikal) hat man die zugehörigen ^{13}C -Signale. Deshalb sind heteronucleare 2D-Spektren *nicht symmetrisch* bezüglich der Diagonalen. Crosspeaks treten zwischen den C-Atomen und den H-Atomen auf, die über eine Bindung (direkte C,H-Korrelation) oder über mehrere Bindungen miteinander koppeln (weitreichende C,H-Korrelation).
- Für die direkte C,H-Korrelation existieren zwei Routineverfahren, die gleichwertige Informationen liefern und sich nur in geringen Details unterscheiden: HSQC und HMQC.
- Für die weitreichende C,H-Korrelation gibt es nur ein Routineverfahren: HMBC

3.1. HMQC

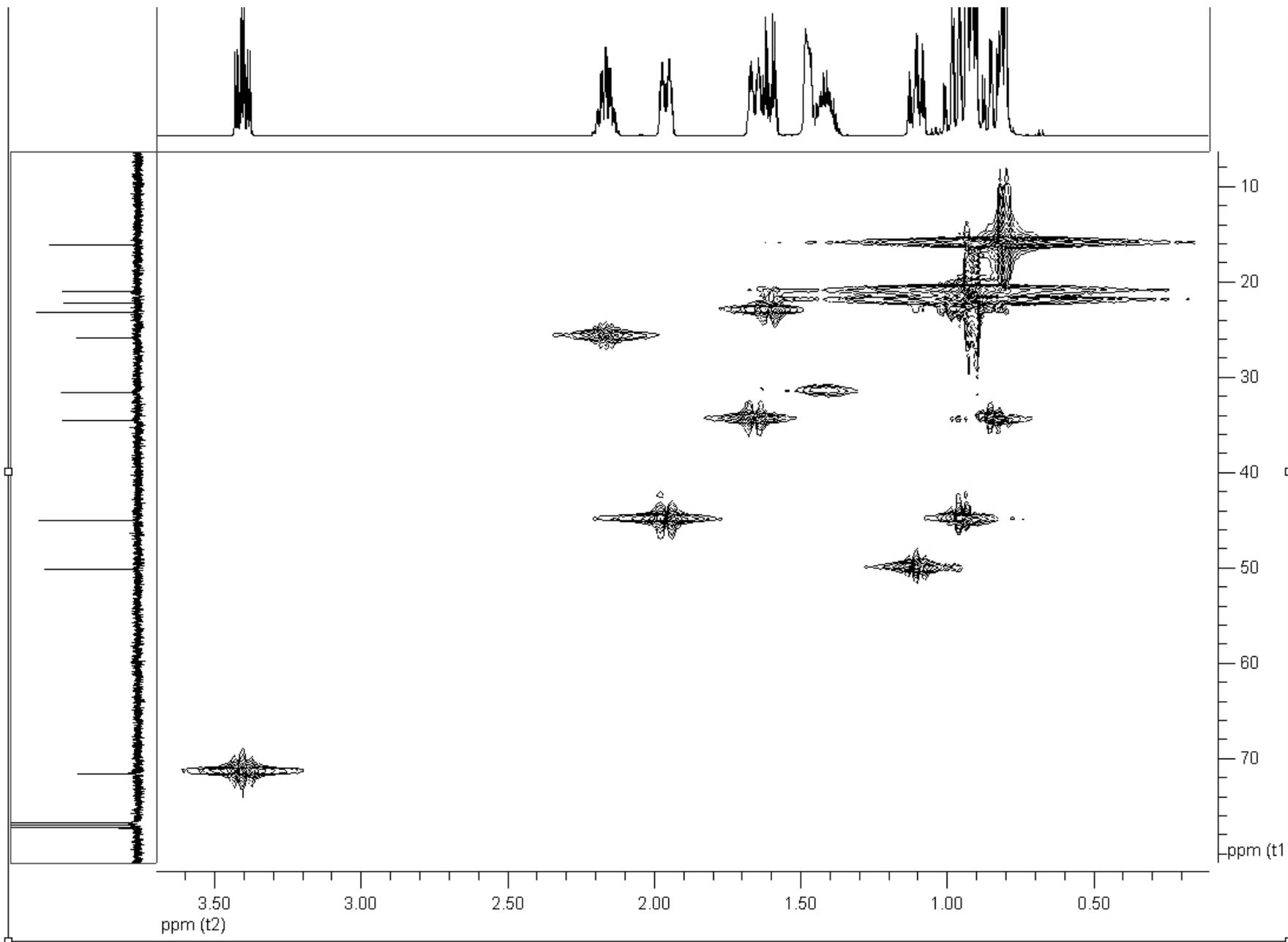
- Hetero Multiple Quantum Coherence
- Puls-Sequenz: Weil jetzt ^{13}C und ^1H miteinander korreliert werden, enthält die Puls-Sequenz Pulse für beide Kernsorten.



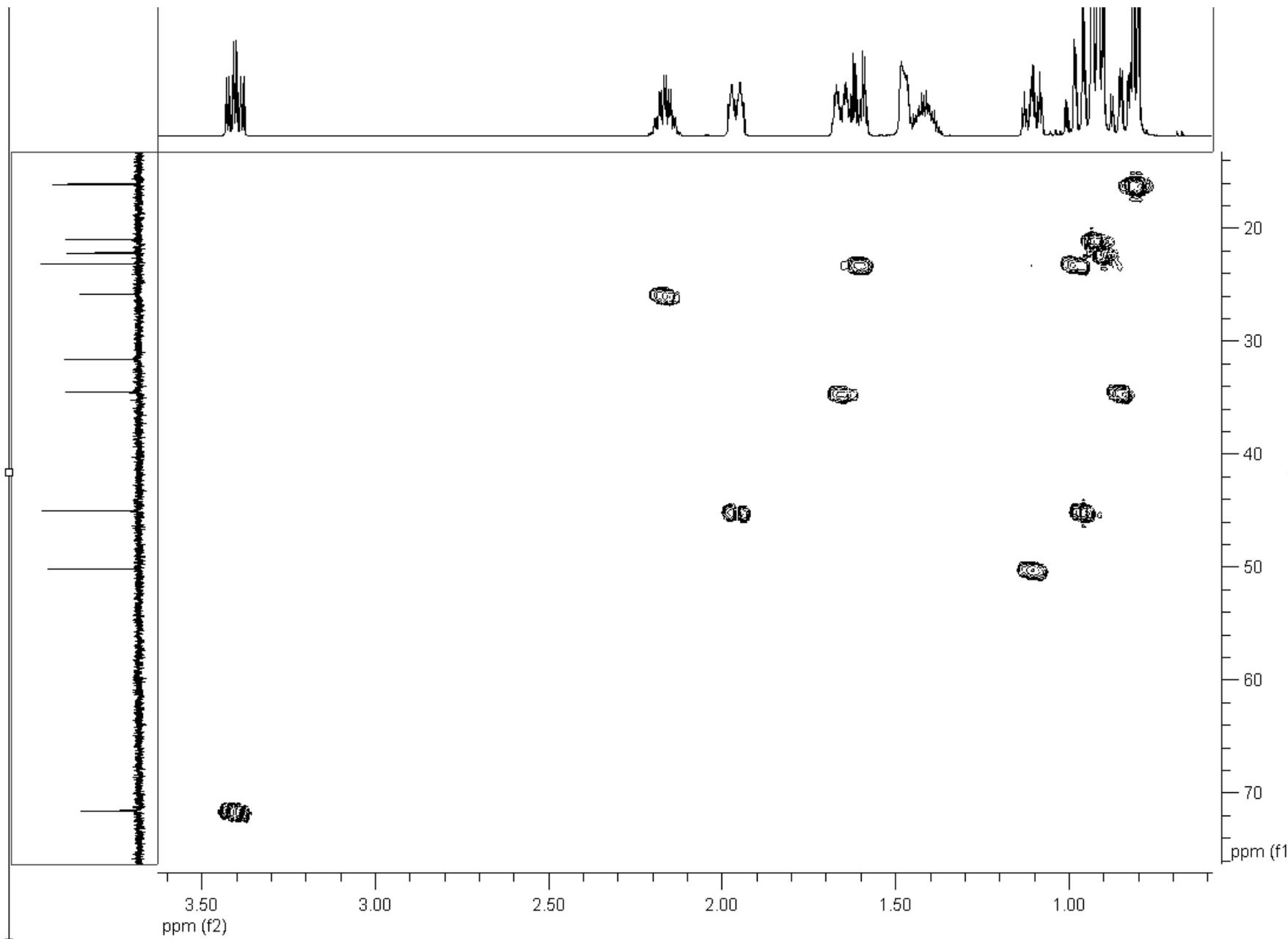
- Δ beeinflusst die Größe der Kopplungskonstante $^nJ_{\text{CH}}$, die bei der Messung erfasst wird. Für direkte C-H-Kopplungen (ca. 150 Hz) ist $\Delta = (2 J_{\text{CH}})^{-1} = 3,3 \text{ msec}$.
- $^1J_{\text{C-H}}$ liegt üblicherweise zwischen 100 und 250 Hz.

- $^1J_{C-H}$ in Abhängigkeit von der Struktur:

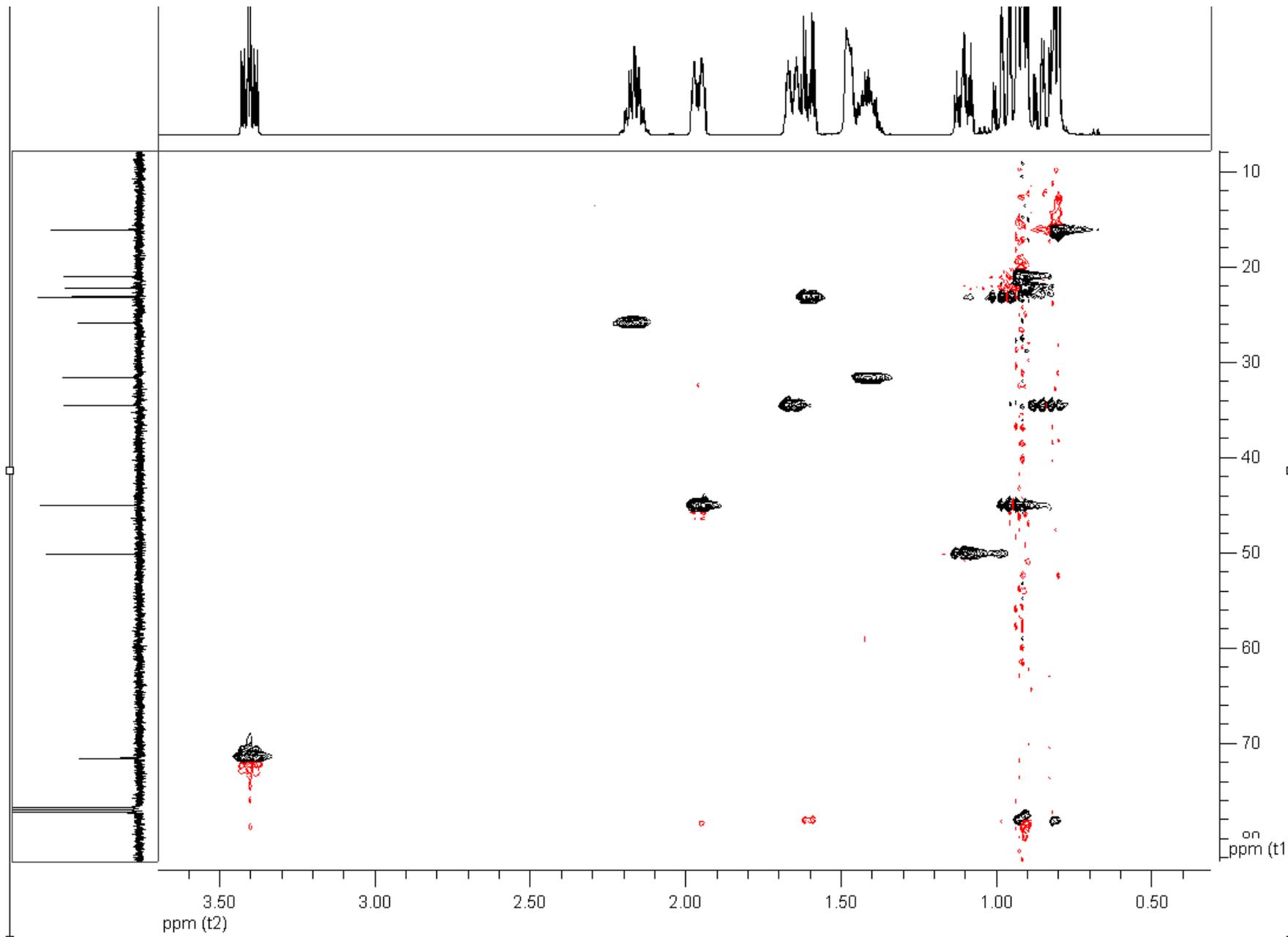
Menthol gsHMQC (von der NMR-Routine umgerechnet)



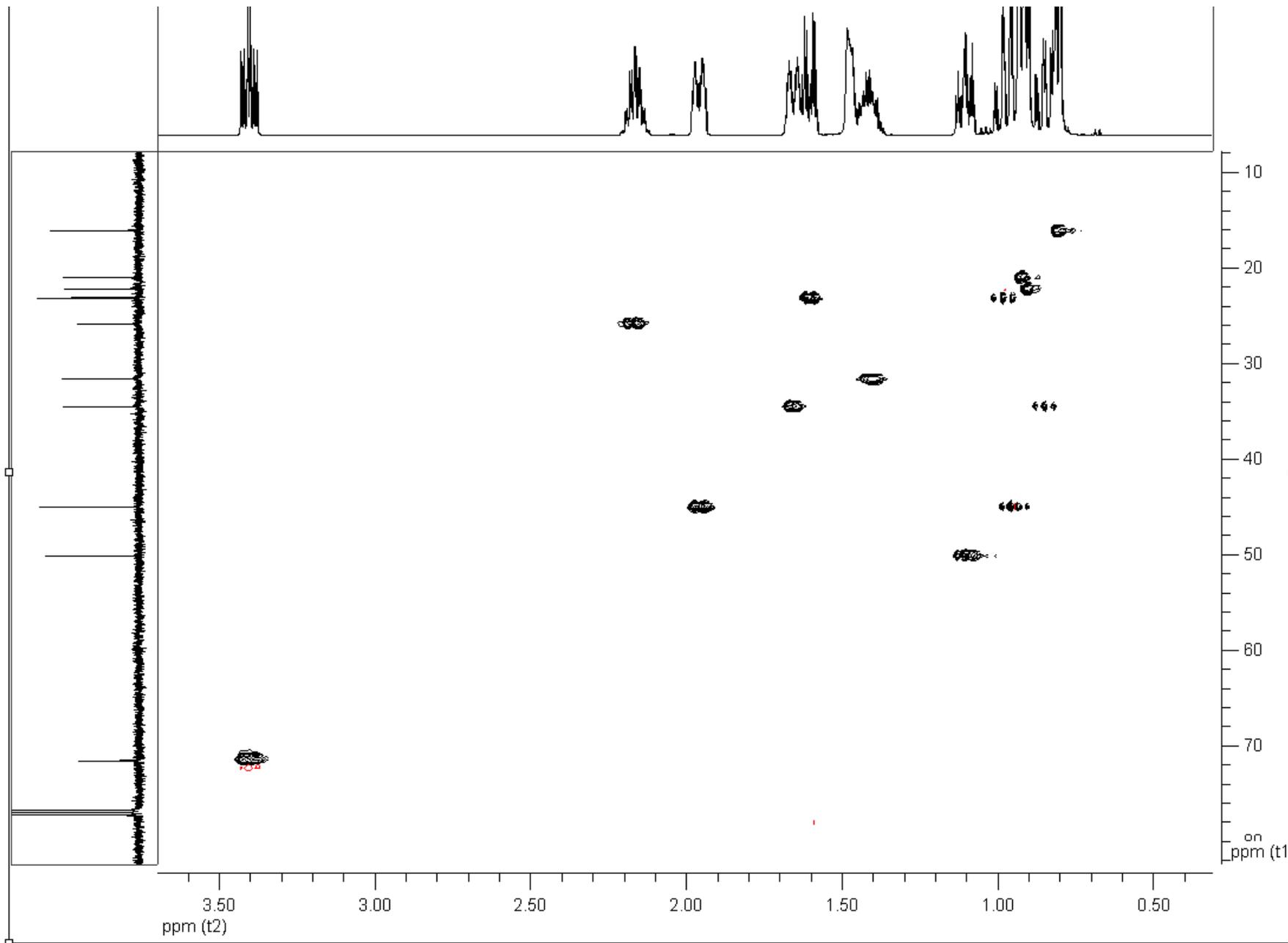
Menthol gsHMQC (von Hand umgerechnet)



Menthol gsHMQC phasensensitiv

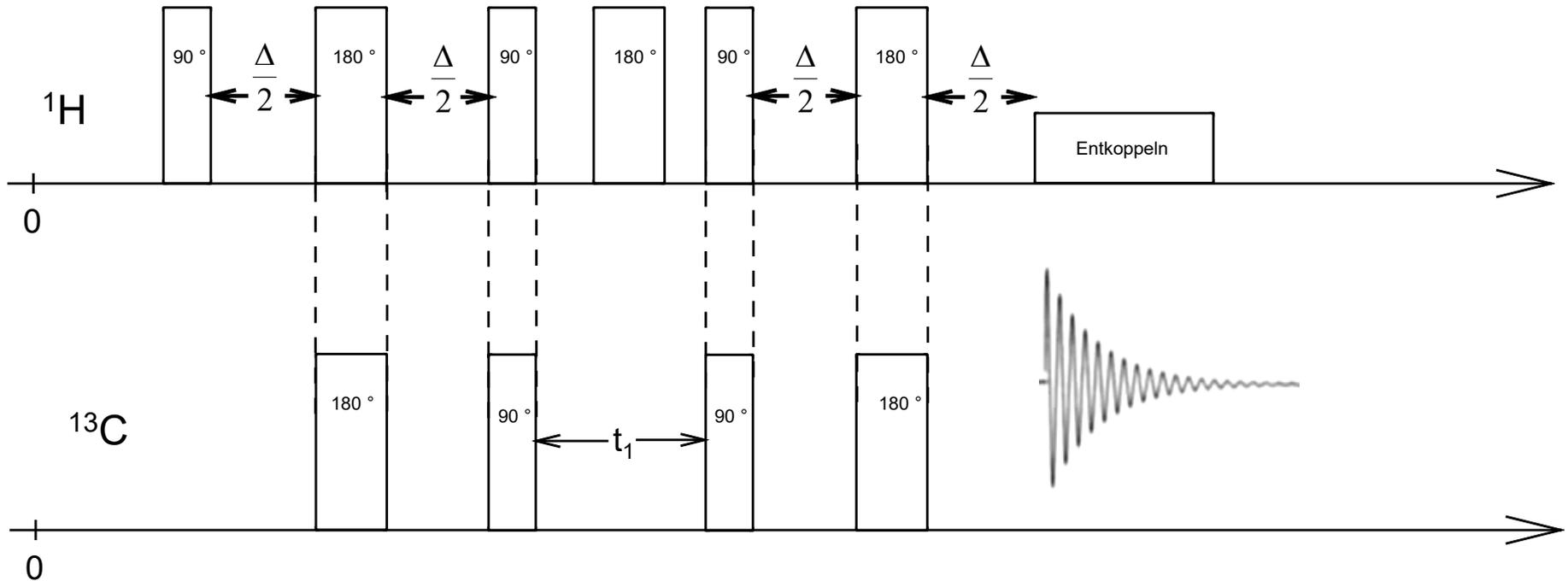


Menthol gsHMQC phasensensitiv (von Hand t_1 -Rauschen entfernt)



3.2. HSQC

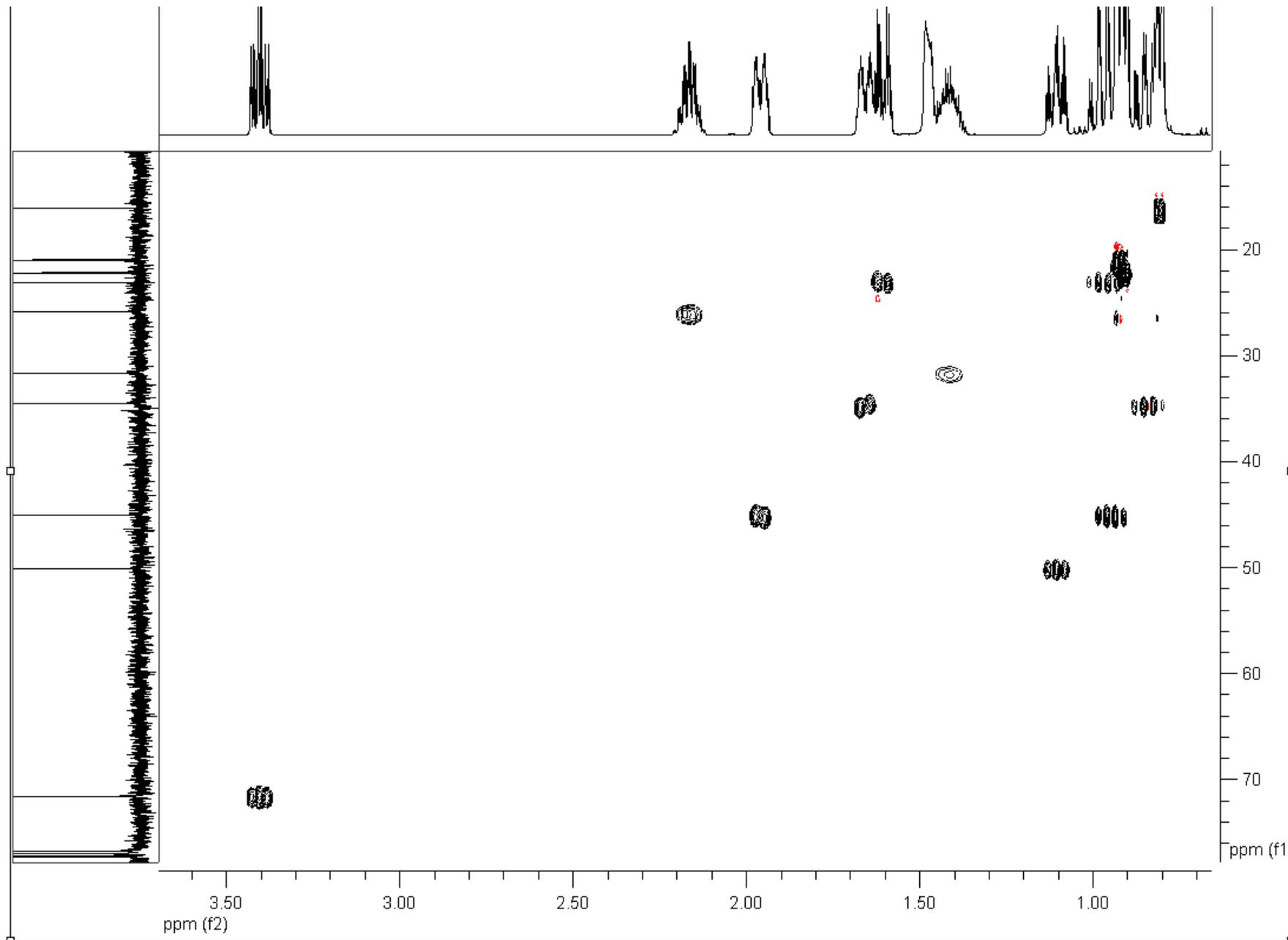
- Hetero Single Quantum Coherence
- Puls-Sequenz: Weil jetzt ^{13}C und ^1H miteinander korreliert werden, enthält die Puls-Sequenz Pulse für beide Kernsorten.



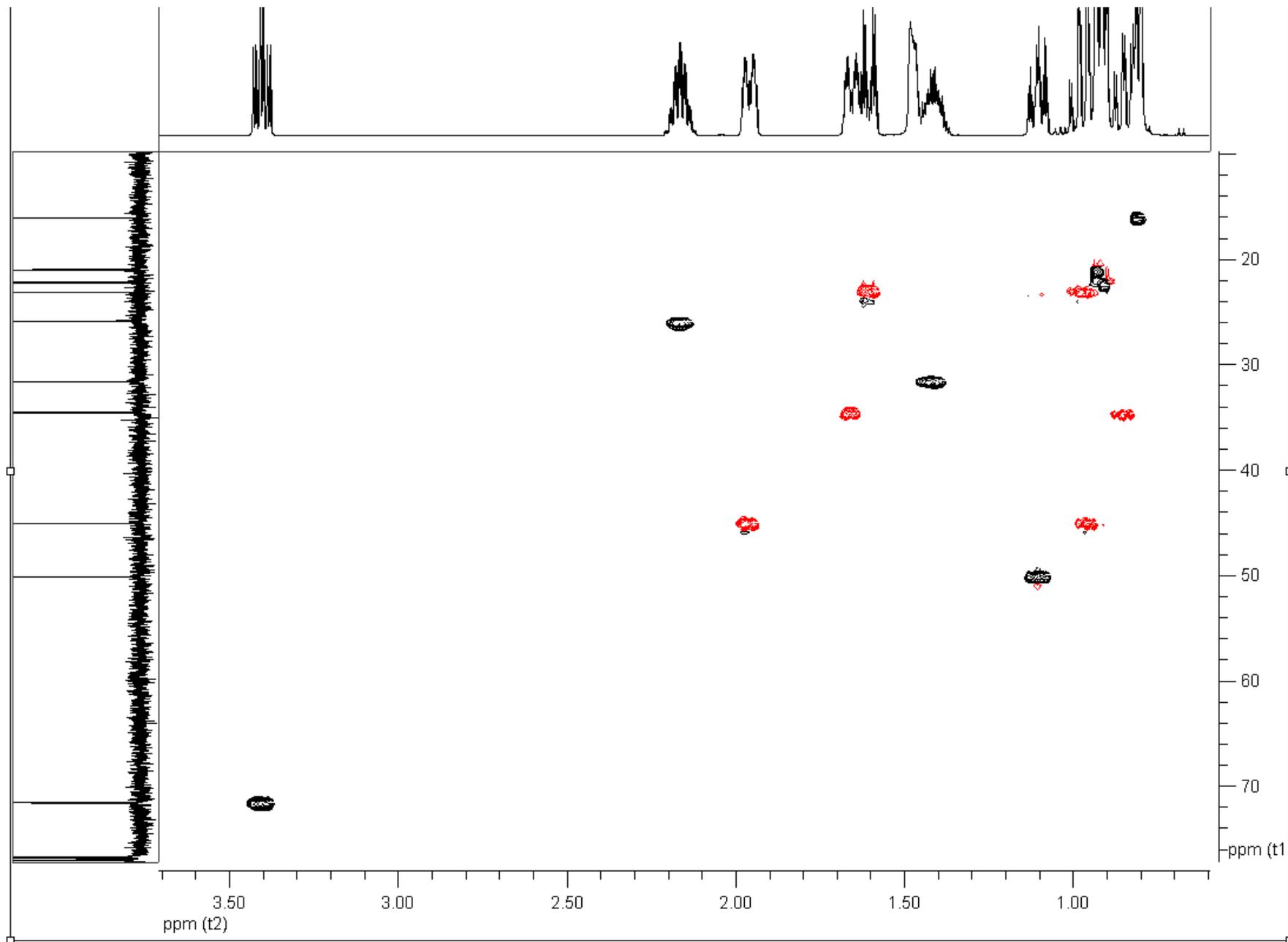
- Relativ komplizierte Pulssequenz wird benötigt, um die gewünschten Signale herauszufiltern.
- Phasencyclus würde die Messzeit extrem verlängern, deshalb wird HSQC üblicherweise gradientenselektiert gemessen.

- Unterschiede zwischen HMQC und HSQC:
 - a) Routine macht manchmal bei der Umrechnung Blödsinn. Falls schlechtes Spektrum erhalten wird \Rightarrow von Hand umrechnen *und* nachbearbeiten!!!
 - b) angeblich (laut Literatur) sollen bei HMQC die Crosspeaks in f_1 -Richtung (^{13}C) breiter sein und teilweise eine Feinstruktur aufweisen. Das ist in SB nicht der Fall (?).
 - c) HSQC-Spektren erfordern längere Messzeiten und zeigen geringere Intensität der Crosspeaks als HMQC-Spektren.
 - d) Man kann sowohl HMQC als auch HSQC noch mit einer DEPT135-Pulssequenz versehen, dann erhält man HMQC-DEPT- und HSQC-DEPT-Spektren, bei denen man CH_2 -Gruppen an den negativen Crosspeaks erkennen kann. ABER: Vorsicht bei überlagerten Crosspeaks; können sich teilweise oder auch vollständig auslöschen.
 - e) Man erkennt aber auch ohne DEPT-Edition bei chrialen Molekülen CH_2 -Gruppen daran, dass es zwei Crosspeaks von verschiedenen H-Signalen zum selben C-Signal gibt.

Menthol gsHSQC (von Hand umgerechnet)

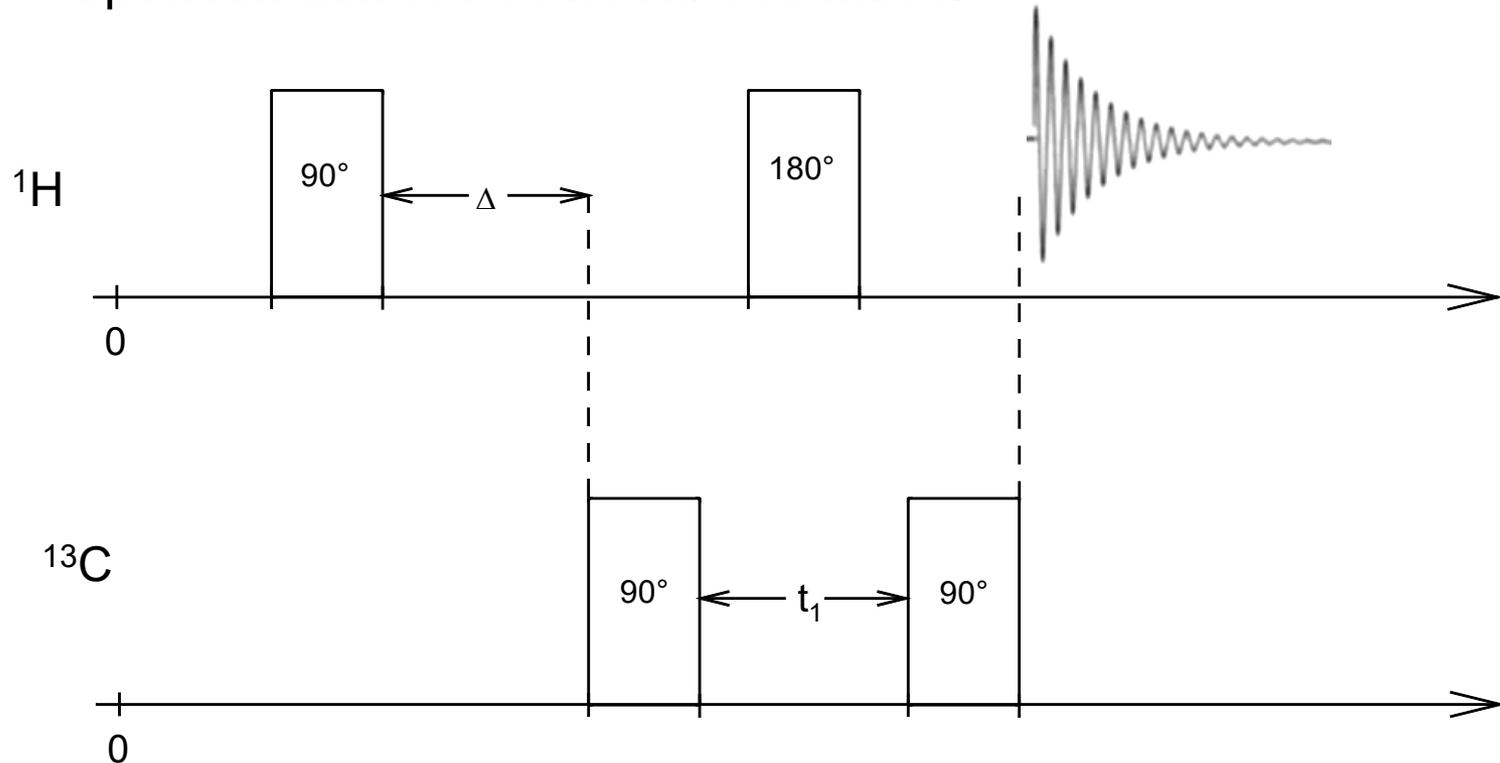


Menthol gsHSQC-DEPT



3.3. HMBC

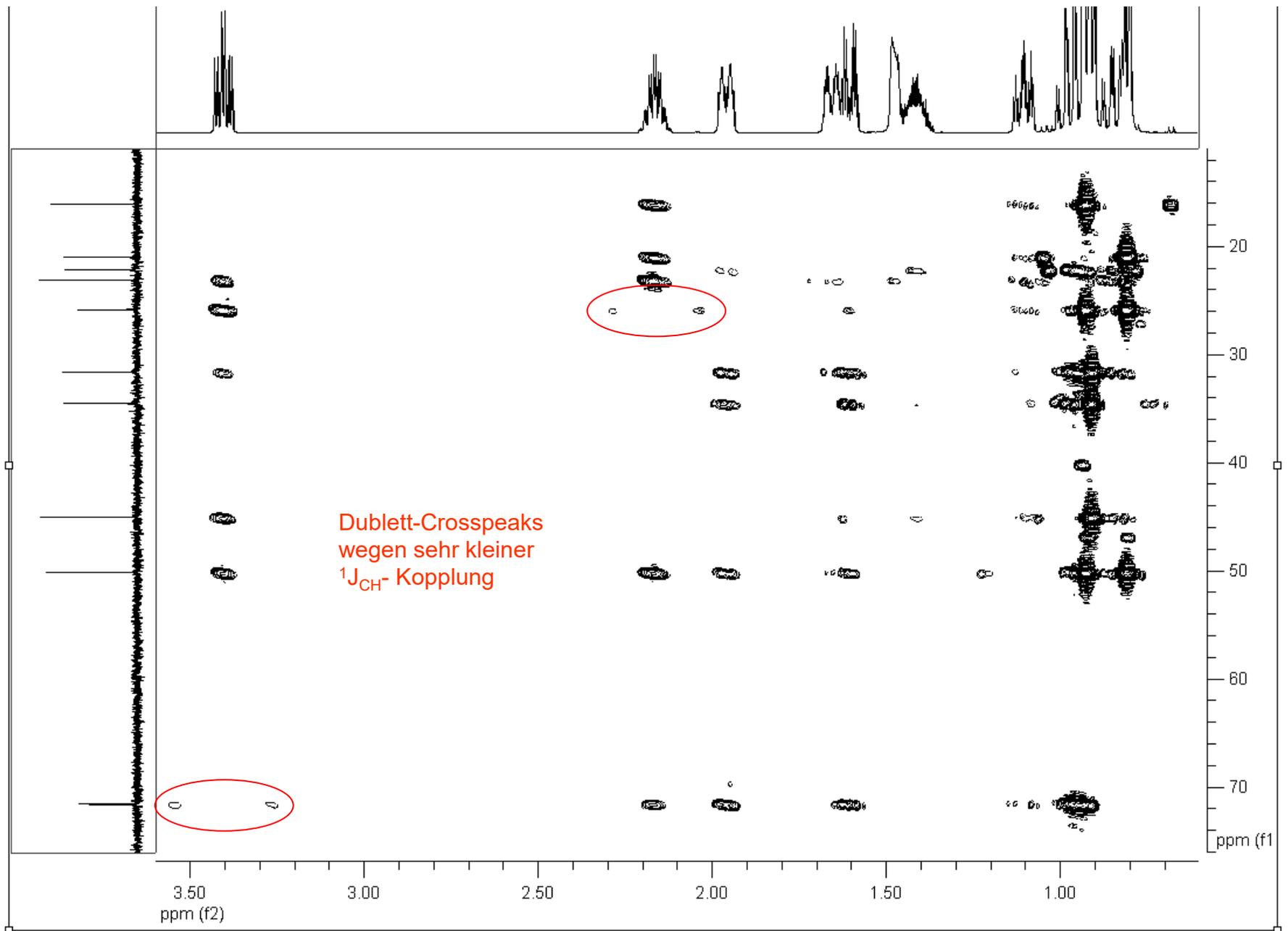
- **Hetero Multiple Bond Correlation**
- Puls-Sequenz: Weil jetzt ^{13}C und ^1H miteinander korreliert werden, enthält die Puls-Sequenz Pulse für beide Kernsorten. Die Pulssequenz entspricht derjenigen eines HMQC-Experiments. Allerdings wurde bei HMBC der Parameter Δ für die kleinen Kopplungskonstanten $^2J_{\text{CH}}$ und $^3J_{\text{CH}}$ angepasst. Δ hat bei HMBC-Spektren den Wert von ca. 100 msec.



- Die Cross-Peaks in HMBC-Spektren treten zwischen einem H und dem nächsten C (2J) oder einem H und dem übernächsten C (3J) auf und umgekehrt. Dadurch sieht man, was sich auf der anderen Seite von quartären C-Atomen oder Heteroatomen befindet.
- Kopplungskonstanten $^2J_{C-H}$ und $^3J_{C-H}$ in Abhängigkeit von der Struktur:

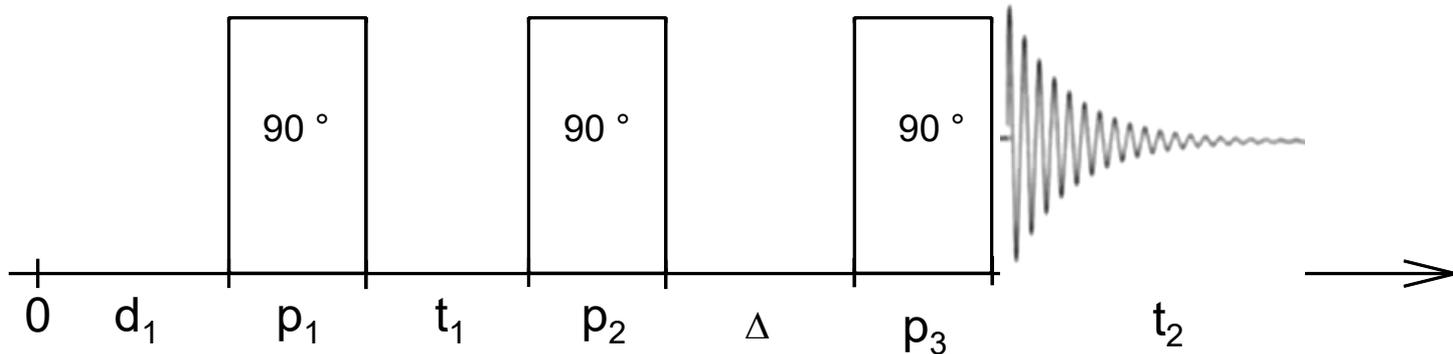
- HMBC dient auch zur Überprüfung der aus den homonuclearen und heteronuclearen Correlationen abgeleiteten Struktur.
- Wenn man Probleme hat, im ^{13}C -Spektrum sehr kleine Peaks von quartären C-Atomen zu detektieren, dann kann man die chemische Verschiebung der entsprechenden ^{13}C -Signale auch aus dem HMBC-Spektrum ablesen.
- **WICHTIG:** man sieht im HMBC-Spektrum gelegentlich eine Aufspaltung eines Crosspeaks in ein Dublett. Dadurch zeigen sich auch ab und zu die ^1J -Kopplungen zwischen C und H. Diese Peaks kann man zur Kalibrierung benutzen, wenn man sie in f_2 -Richtung (^1H) auf die ^{13}C -Satelliten eicht.

Menthol gsHMBC (von Hand umgerechnet)



4. Homonucleare 2D-Correlation durch den Raum – NOESY und ROESY

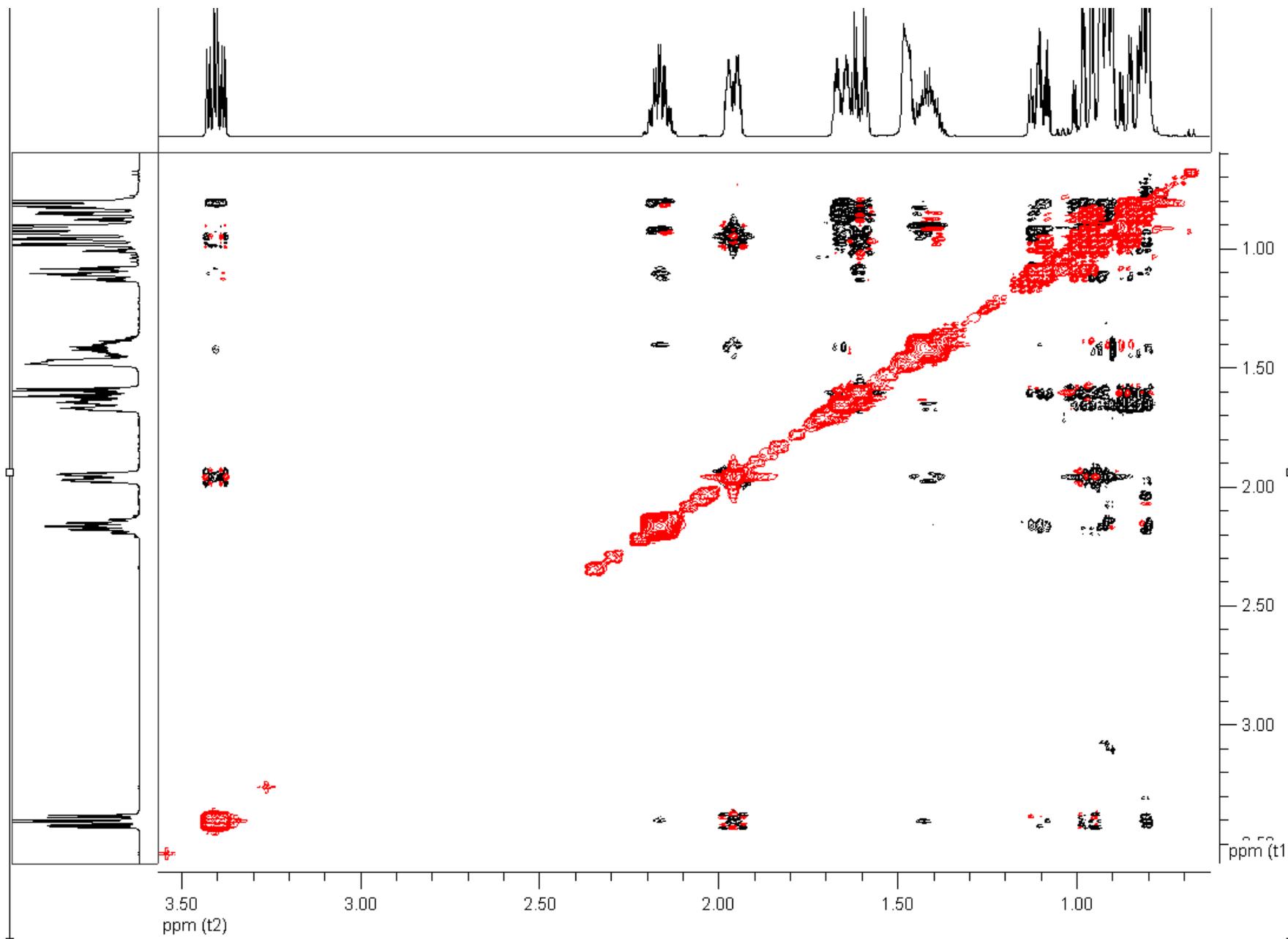
- Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
- Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy
- Pulssequenzen bei NOESY und ROESY:



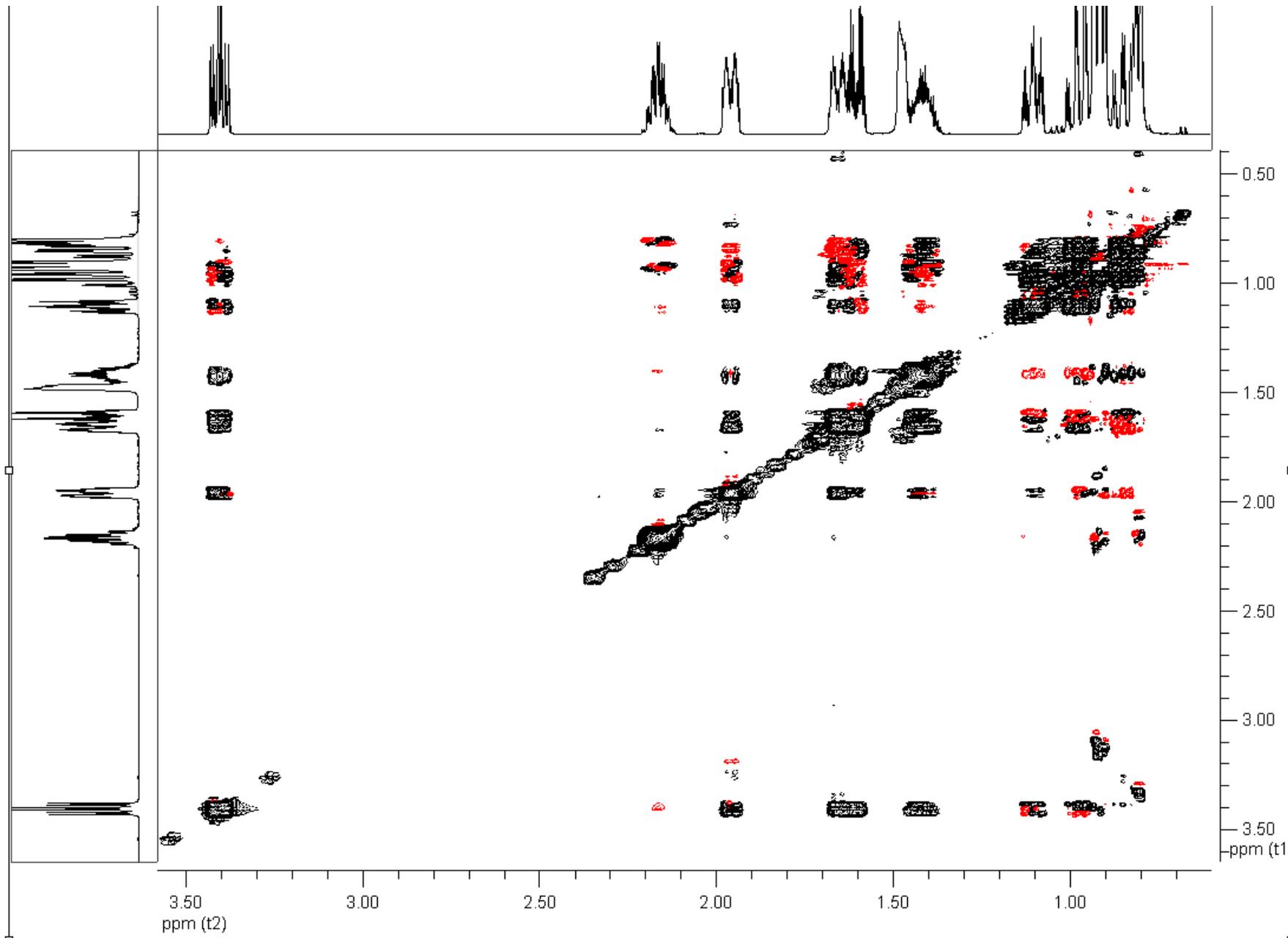
- Die Pulssequenz entspricht derjenigen vom H,H-DQF-COSY. Unterschied dazu: anderer Phasencyclus, um die gewünschten Signale herauszufiltern.
- NOESY-Crosspeaks basieren auf dipolaren Kopplungen der Hs durch den Raum und sind um so intensiver, je näher sich die Hs sind.

- Sowohl im NOESY als auch im ROESY-Spektrum treten zusätzlich zu den reinen NOESY/ROESY-Crosspeaks auch solche auf, die durch Kopplung über Bindungen zustande kommen. Reine NOESY/ROESY-Crosspeaks haben ein anderes Vorzeichen als die Diagonalpeaks. Crosspeaks, die durch direkte Kopplung über Bindungen zustande kommen, haben gemischte Phasen (bestehen aus positiven und negativen Teilsignalen).
- Bei NOESY ist die Intensität zusätzlich abhängig von der Molmasse. Bei $M \approx 1000$ geht die Intensität der Crosspeaks gegen Null, um danach wieder zuzunehmen. Für $M < 1000$ haben NOESY-Crosspeaks und Diagonalpeaks entgegengesetztes Vorzeichen, für $M > 1000$ haben sie gleiches Vorzeichen.
- Die Intensität von ROESY-Crosspeaks ist dagegen unabhängig von der Molmasse (besser!).
- NOESY und ROESY werden verwendet, um die relative räumliche Lage von Hs zu bestimmen (relative Konfiguration).

Menthol NOESY



Menthol ROESY



5. Welche 2D-Spektren braucht man?

- Nehmen Sie einen Satz von 1D- und 2D-Spektren auf.
- Wählen Sie für die homonucleare Correlation ein Spektrum aus, das keine Dispersionsanteile in den Signalen aufweist, z. B. DQF-COSY (nicht phasensensitiv oder phasensensitiv ist letztlich egal; phasensensitive Spektren erlauben gelegentlich auch die Bestimmung von Kopplungskonstanten)
- Wählen Sie für die heteronucleare Correlation ein HMQC- oder HSQC-Spektrum und für die Long-Range-Correlation ein HMBC-Spektrum.
- Zur Bestimmung der relativen Konfiguration nehmen Sie ein ROESY-Spektrum auf (oft zuverlässiger als NOESY).
- Falls die NMR-Routine-Spektren breite, schlecht aufgelöste Crosspeaks enthalten, kann es hilfreich sein, die ser-Files selbst umzurechnen, eine Phasenkorrektur in beiden Dimensionen durchzuführen (natürlich nur bei phasensensitiven Spektren) und ggf. noch nachzubearbeiten (Entfernen von t_1 -Rauschen, diagonalisieren der quadratischen Spektren).