

Vorlesung
„Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie-
Grundlagen und Anwendungen in der
Strukturaufklärung“
Teil V

Das Programm

Beim letzten Mal

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

COSY, DQF-COSY und Phasencyclen

DQF-COSY von Menthol

Das Programm

Heute

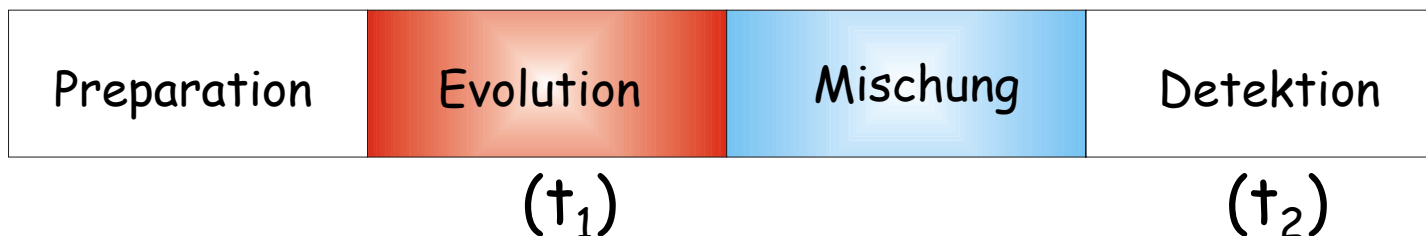
Heteronukleare NMR

Ein Beispiel

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

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

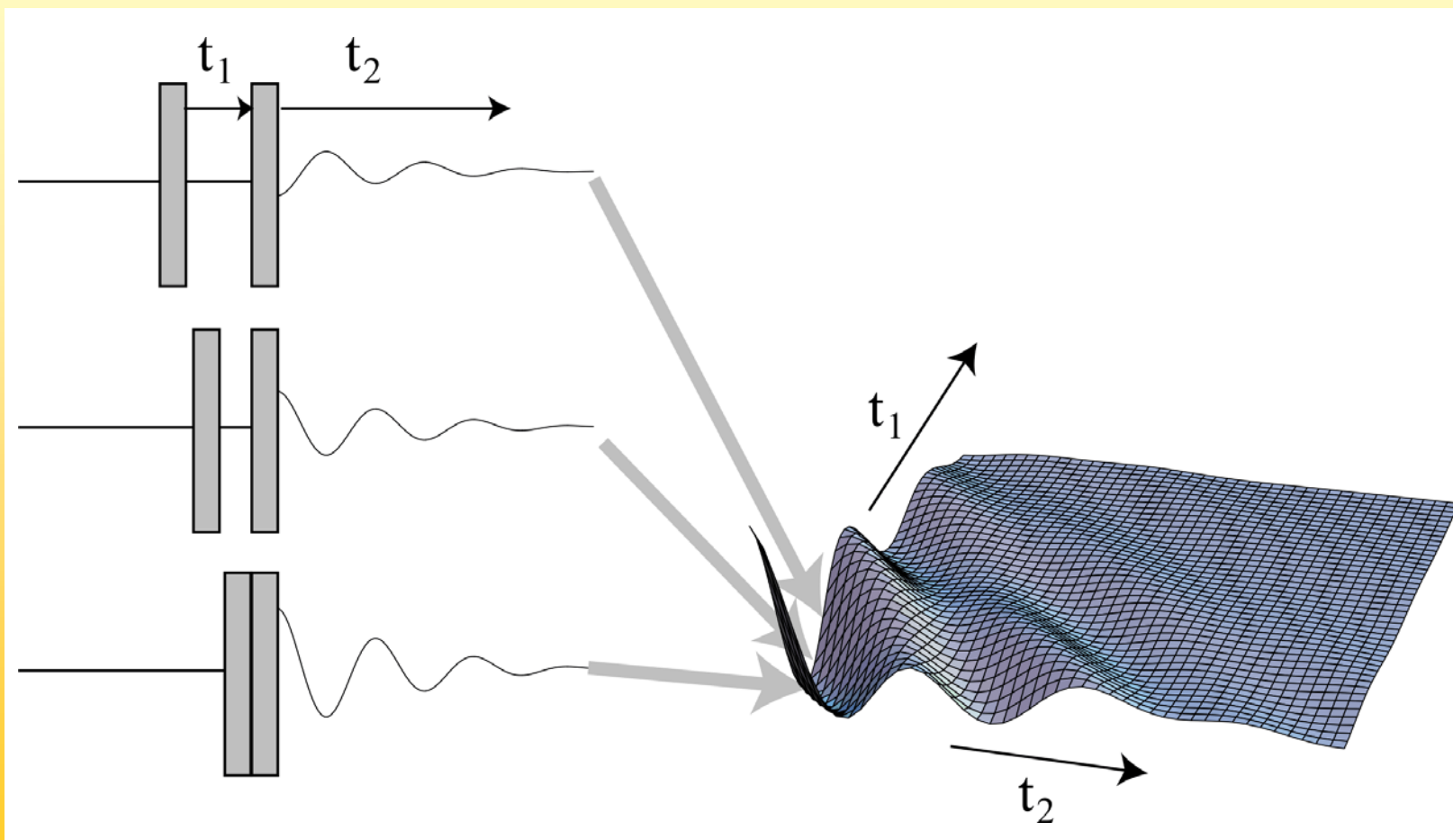


Evolution:
Erzeugen einer weiteren
Frequenzachse durch
indirekte Detektion

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

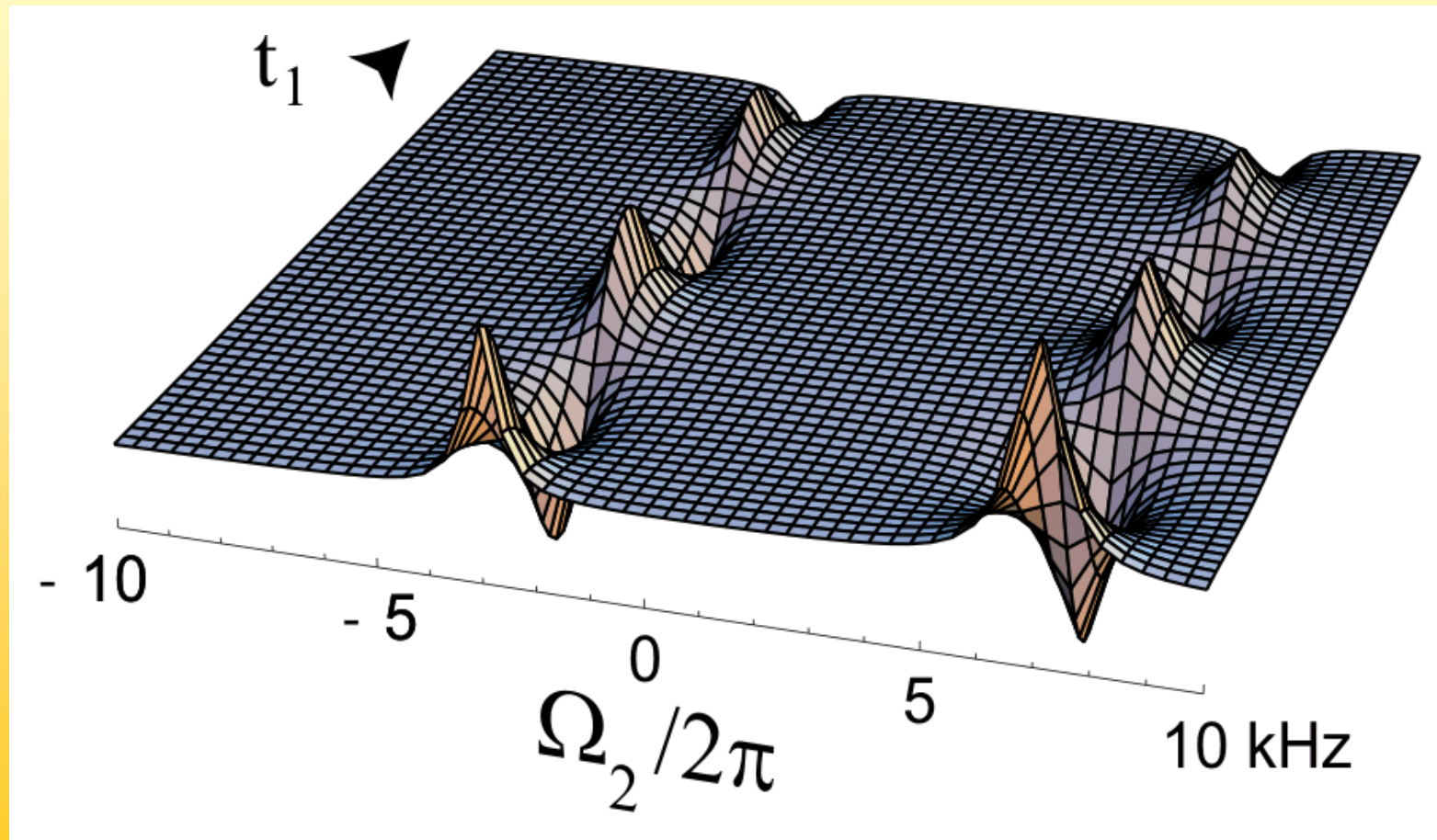
Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Man nimmt einen zweidimensionalen FID auf



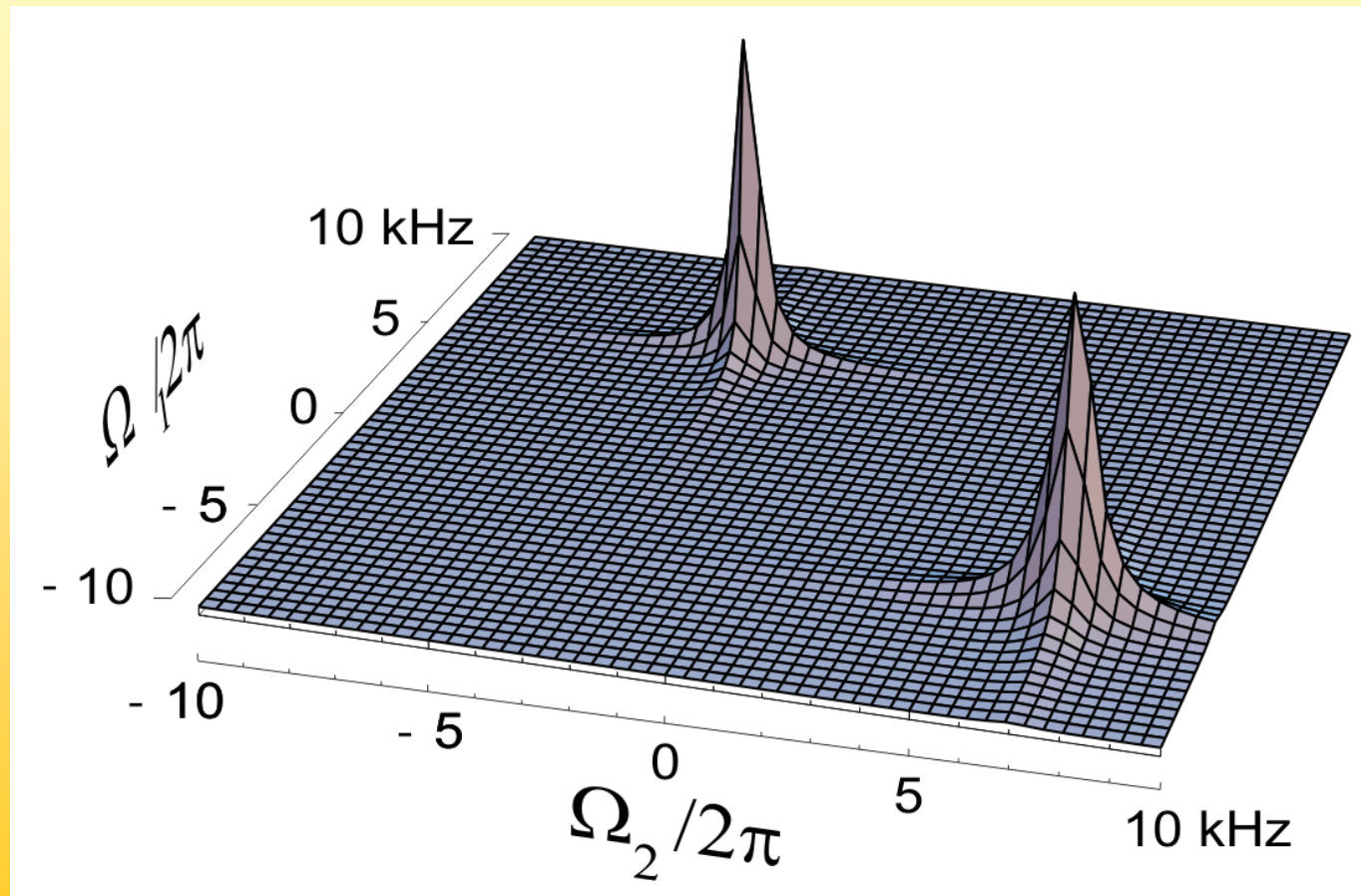
Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Die erste FT ergibt ein „Interferogram“

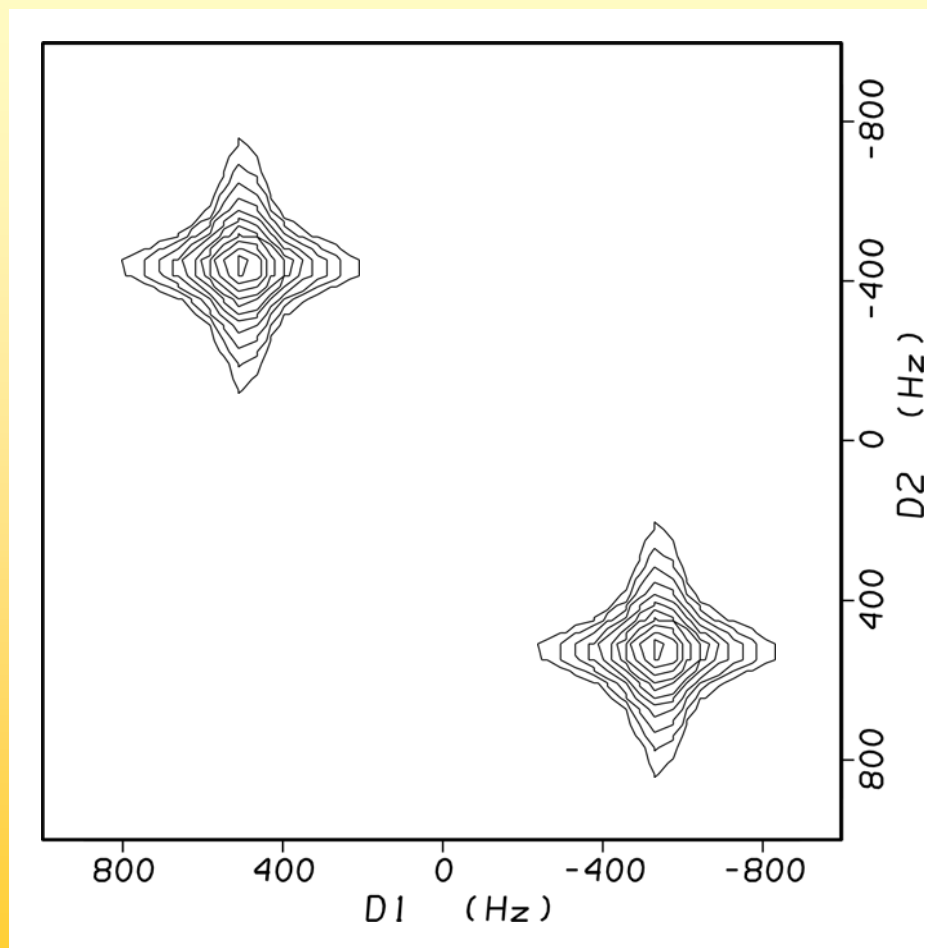


Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Die zweite FT ergibt ein zweidimensionales Spektrum



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie



Zur Auswertung betrachtet man Contour-Plots, die Peakintensität als Höhenlinien darstellen

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Zweidimensionale Experimente enthalten verglichen mit eindimensionalen zwei neue Elemente

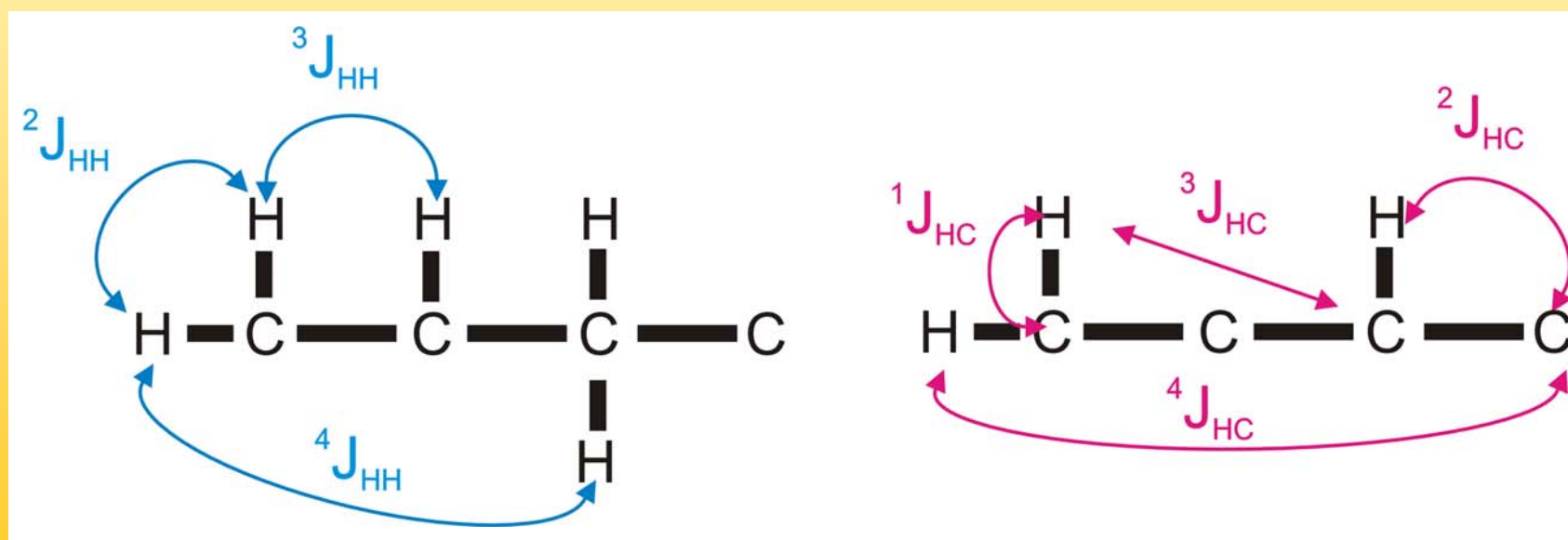
In der **Evolutionzeit** wird durch systematische Variation einer Wartezeit eine weitere, „indirekte“ Zeitachse erzeugt, die sich durch FT in eine Frequenzachse umwandeln lässt

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

Während der Mischzeit wird also Magnetisierung zwischen Spins ausgetauscht.

Hauptsächlicher Mechanismus ist die J-Kopplung, entweder zwischen gleichen Spins (homonukleare Kopplung) oder andersartigen Spins (heteronukleare Kopplung).



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

homonukleare Spektren

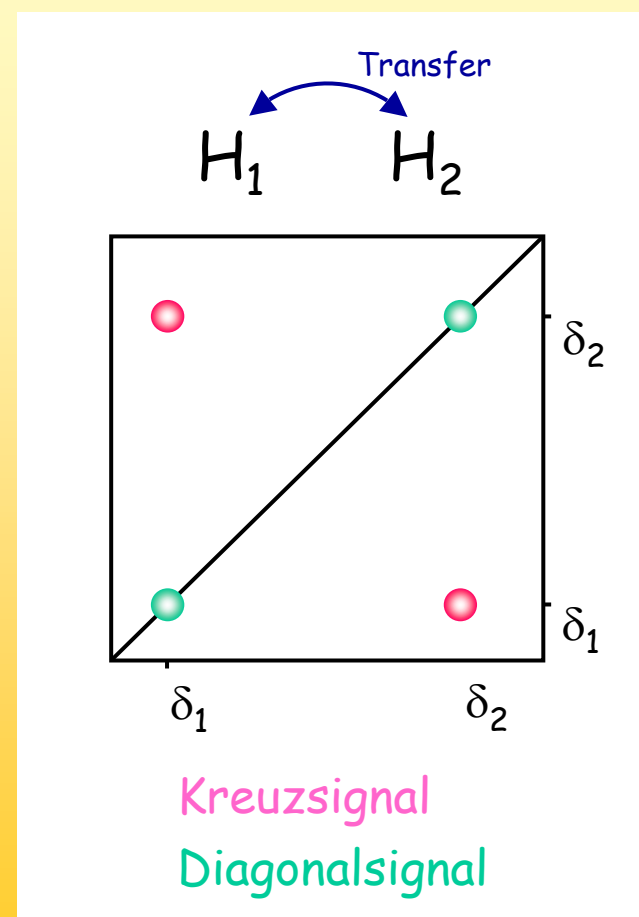
Transfer von Magnetisierung findet zwischen gleichartigen Kernen statt.

Beide Frequenzachsen zeigen die chemischen Verschiebungen des gleichen Kernels. Findet Transfer statt, ergibt sich in beiden Dimensionen eine unterschiedliche Verschiebung:

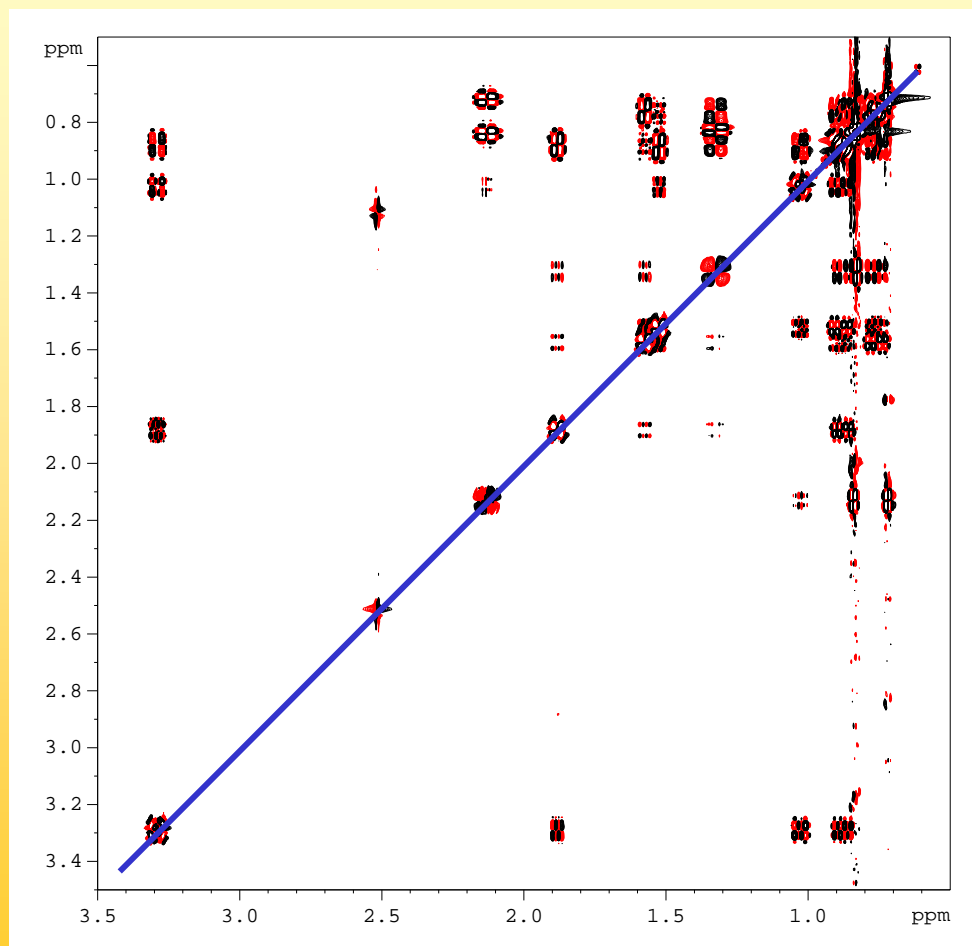
Kreuzsignal

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

Diagonalsignal



Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie



Ein Beispiel war
das DQF-COSY

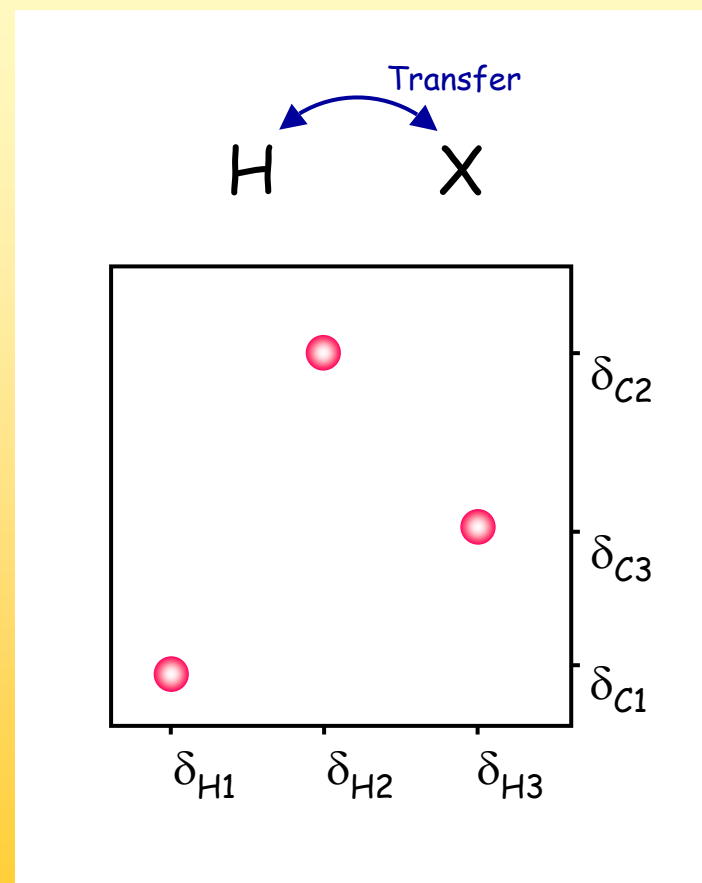
Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

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

Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie

Ob ein Transfer stattfindet hängt von der Größe der Kopplungskonstanten ab und kann auch durch die Pulssequenz beeinflusst werden

Mit Kopplungen < 1 Hz ist kein Transfer möglich
Kopplungen über eine Bindung sind größer als über mehrere Bindungen

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

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

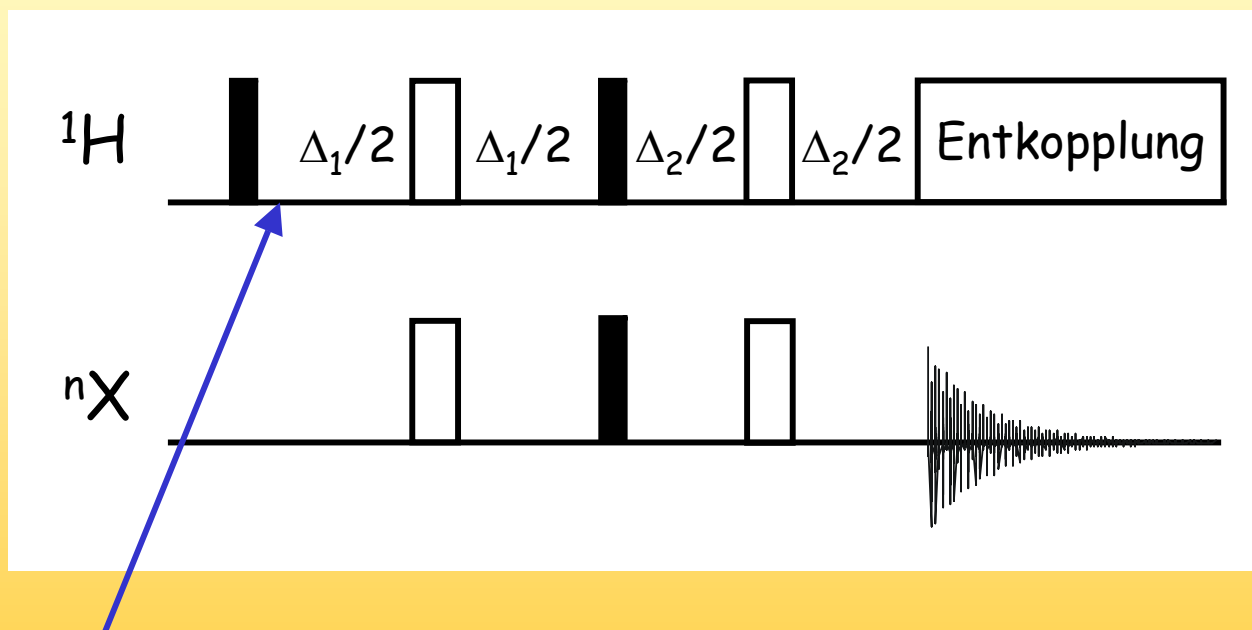
	C-Detektion	H-Detektion
Korrelation via $^1J_{XH}$	HETCOR	HMQC
Korrelation via $^nJ_{HX}$	COLOC	HMBC

herkömmliche

inverse

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

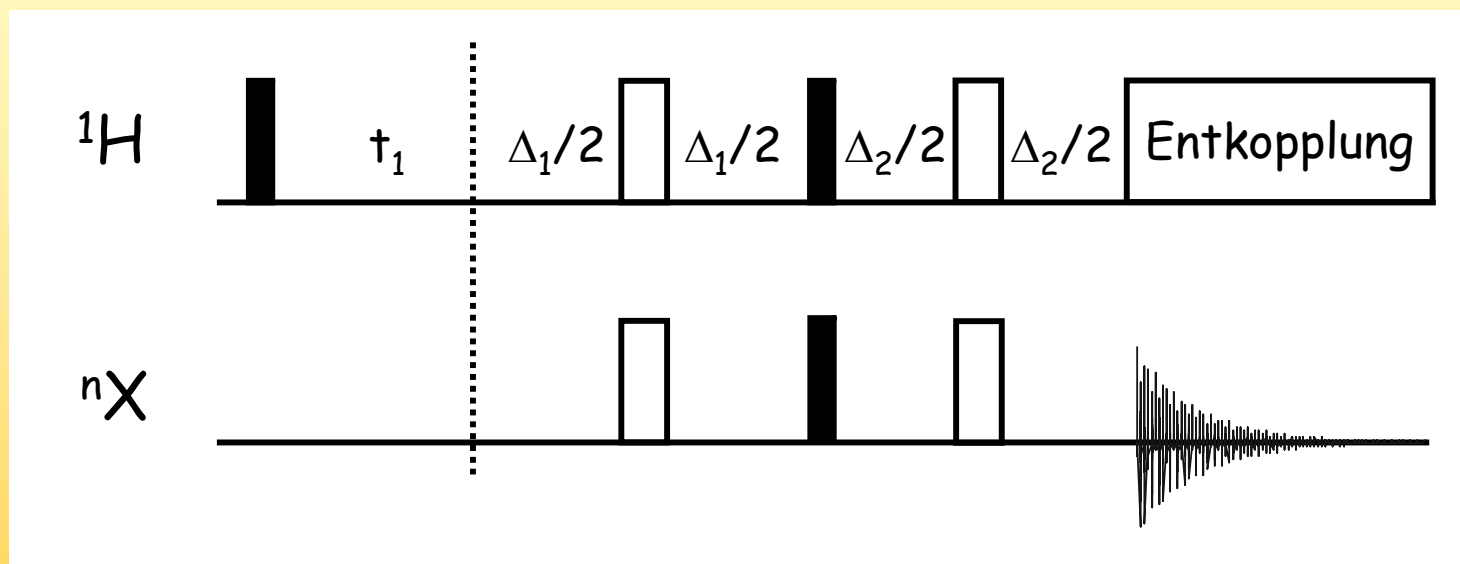
Ausgangspunkt für ein heteronukleares 2D
kann die INEPT-Sequenz sein



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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

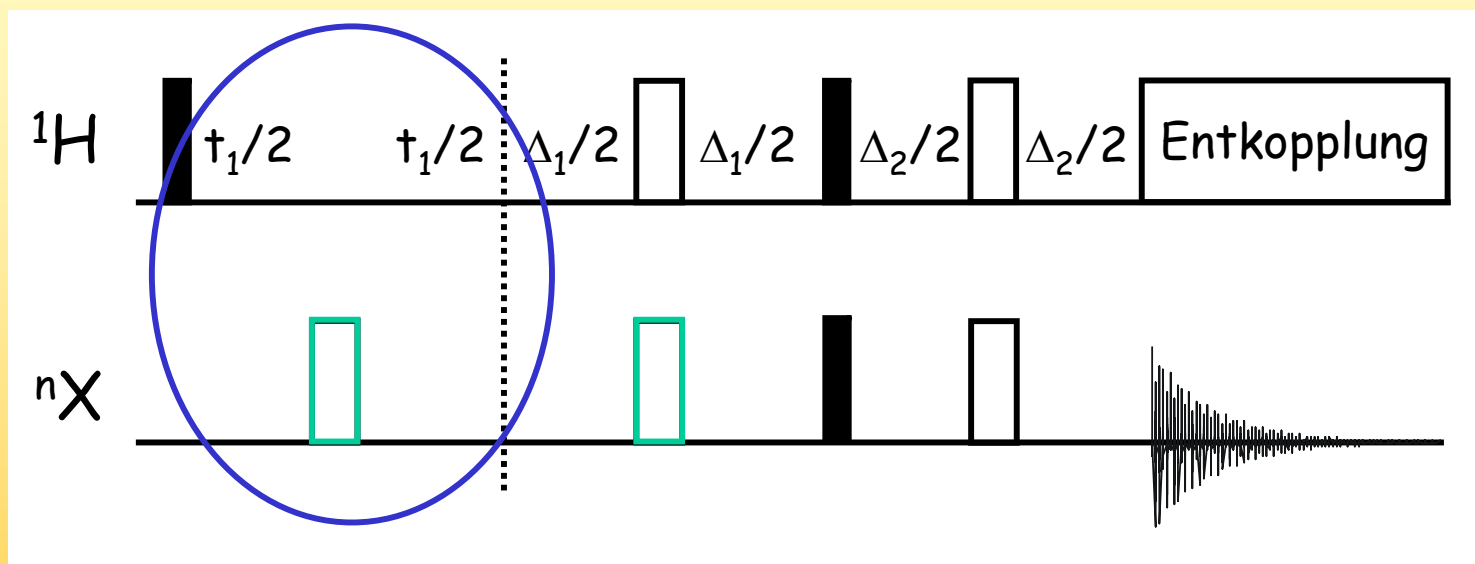
In der resultierenden Sequenz tritt in der Evolutionszeit heteronukleare Kopplung auf



Die ist natürlich nicht wünschenswert, wie kann man sie entfernen ?

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Mit einem 180° Puls im HETCOR



δ_H, J_{HH} aber kein J_{HX}

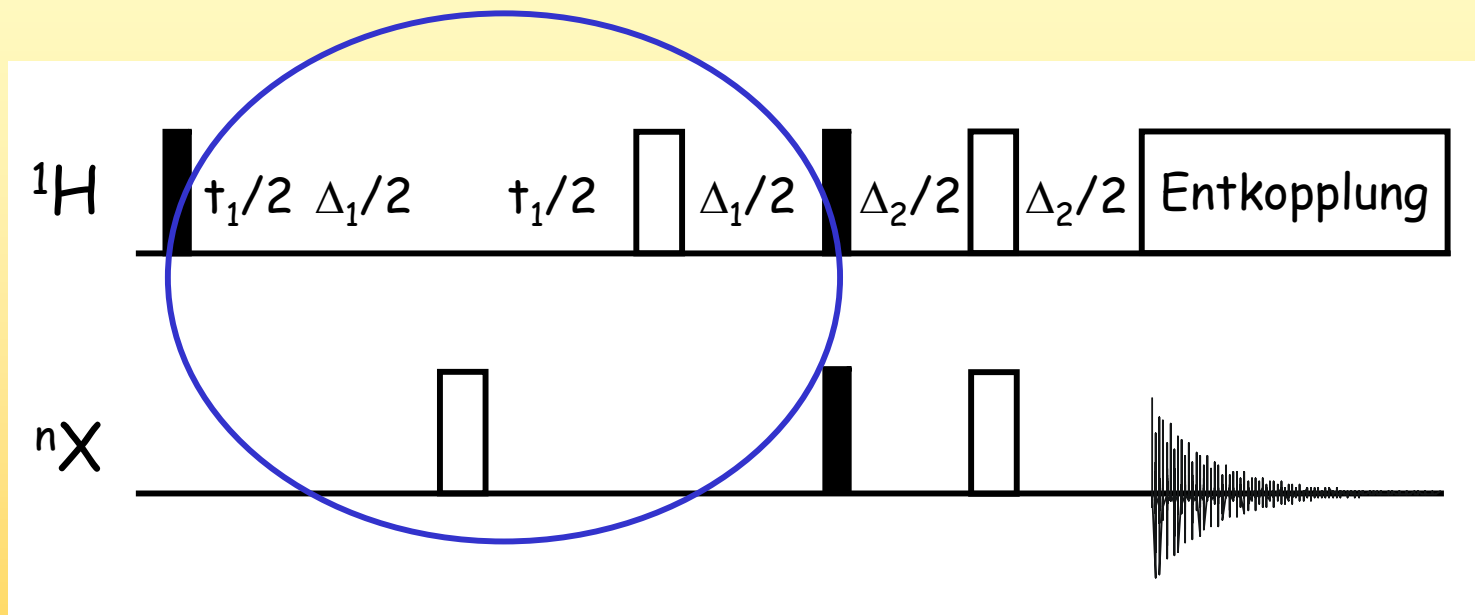


INEPT-Sequenz

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

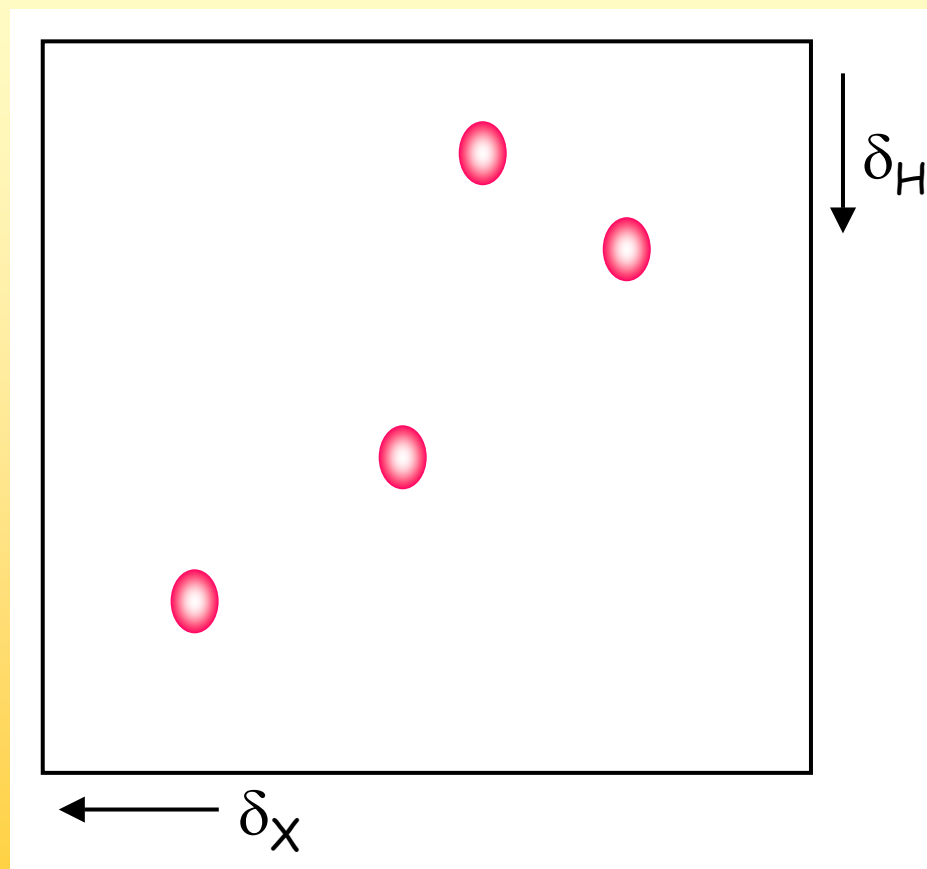
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HETCOR (oder H,C-COSY)



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

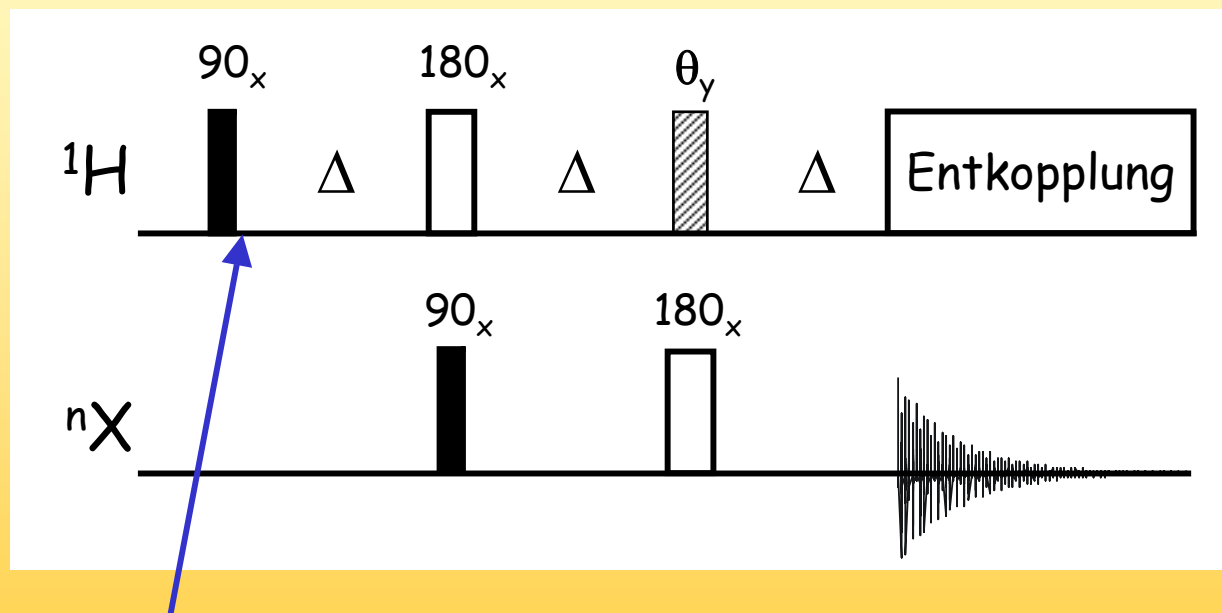
Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Im ^1H , ^{13}C -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

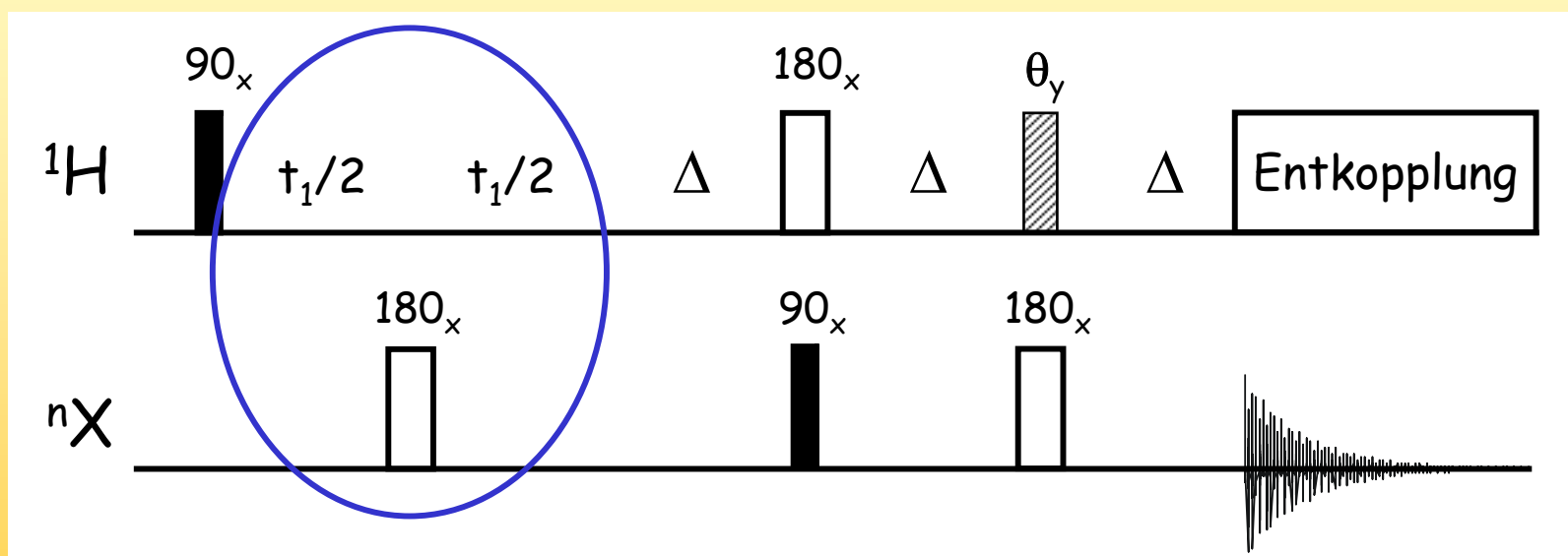
Das kann man auch ausgehend vom DEPT machen



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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

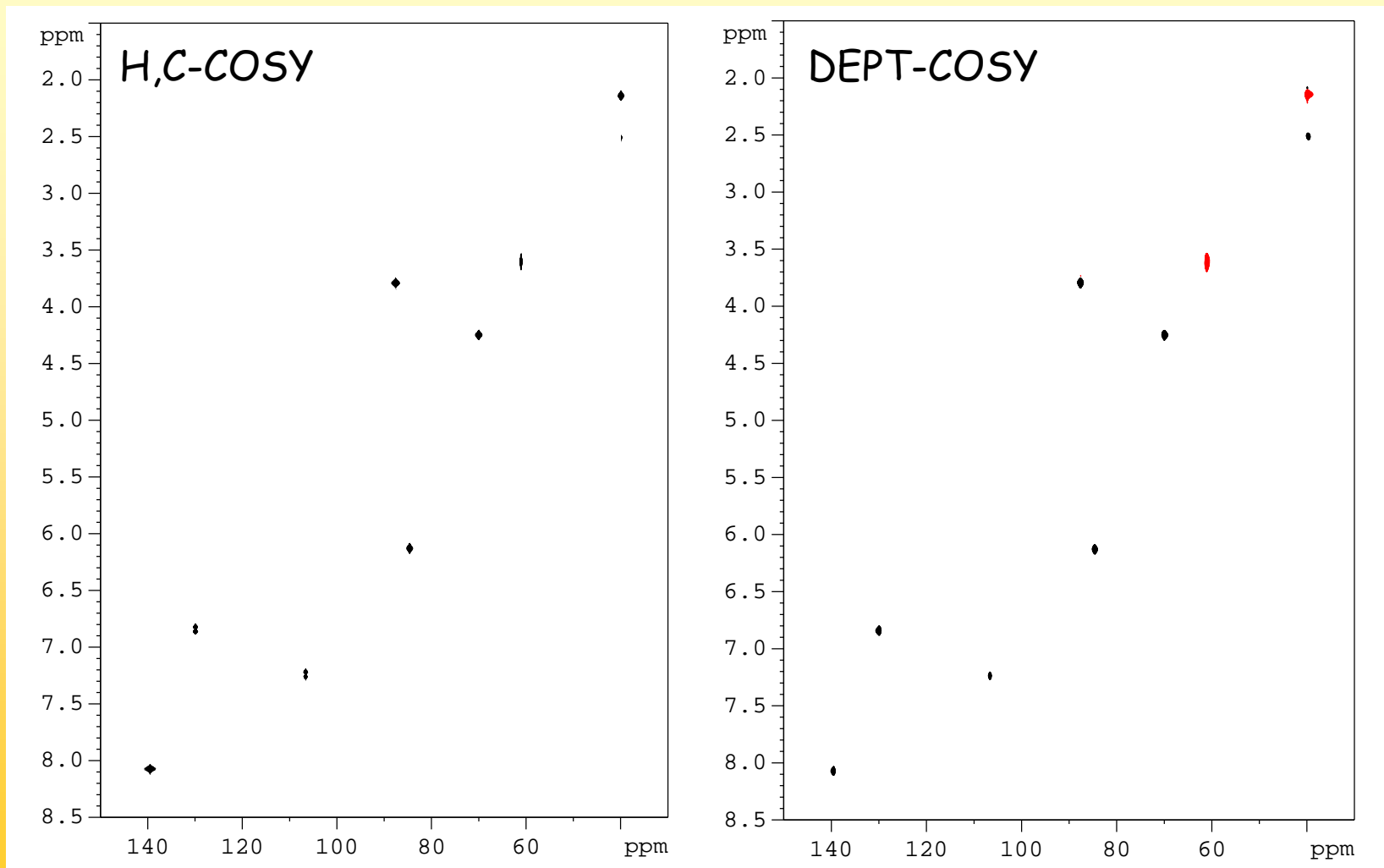
..... und erhält das DEPT-COSY



δ_H, J_{HH} aber kein J_{HX}

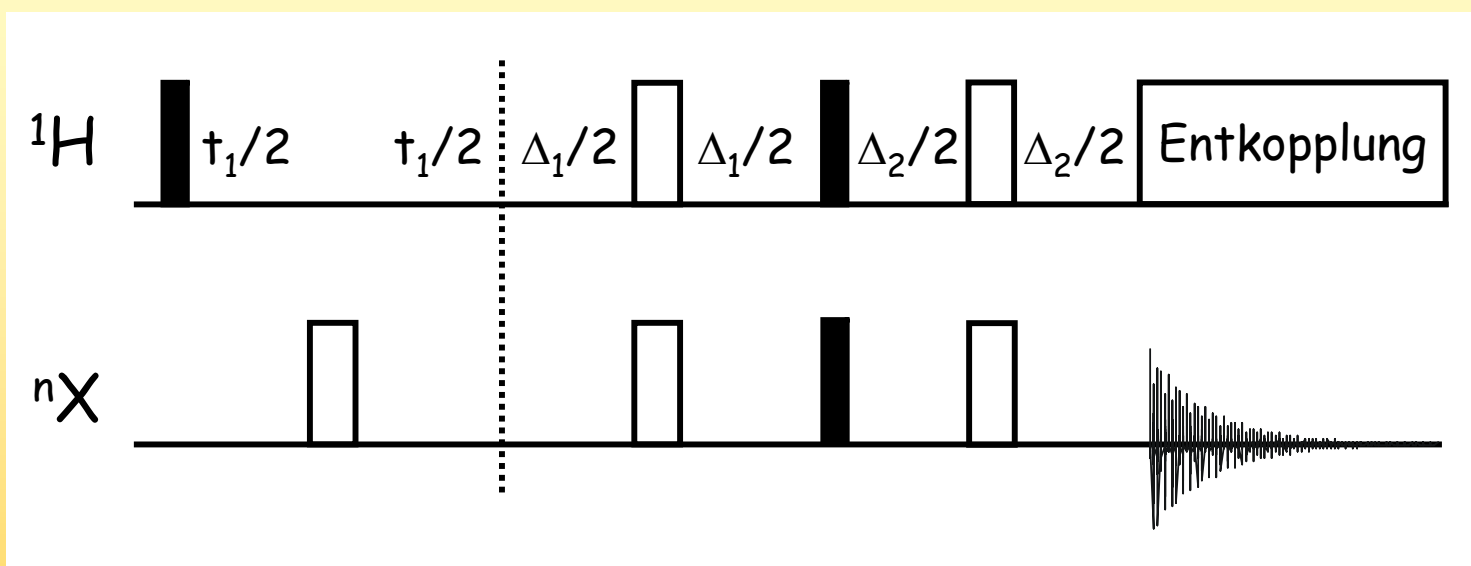
DEPT-Sequenz
 $\Delta = 1/2^1J_{HC}$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Weitbereichskorrelation



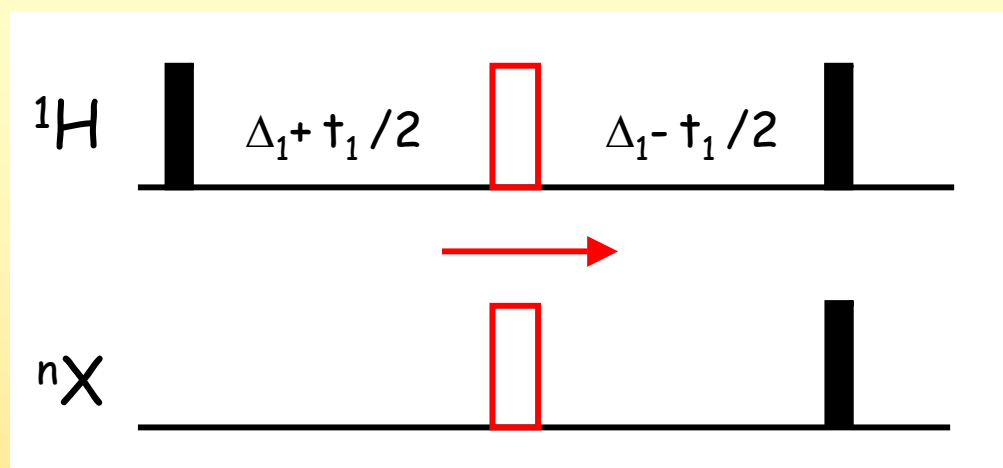
Um nicht nur Korrelationen via $^1J_{\text{HC}}$ zu bekommen muss man die Delays Δ_1 und Δ_2 länger machen, damit man in die Größenordnung von $1/2^n J_{\text{HC}}$ kommt

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 $1/2J_{\text{HH}}$ sein

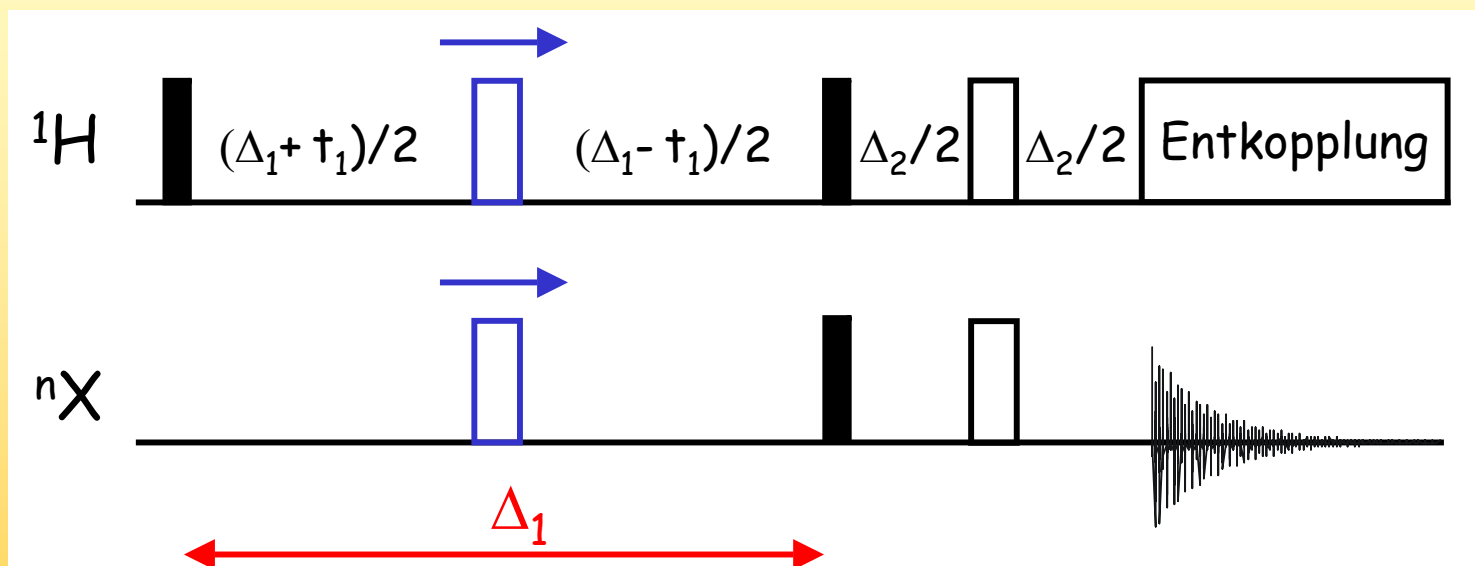
J_{HC} entwickelt sich ungestört: $(\Delta_1 + t_1/2) + (\Delta_1 - t_1/2) = \Delta_1$

Δ_1 sollte nah an $1/2^nJ_{\text{HC}}$ sein

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

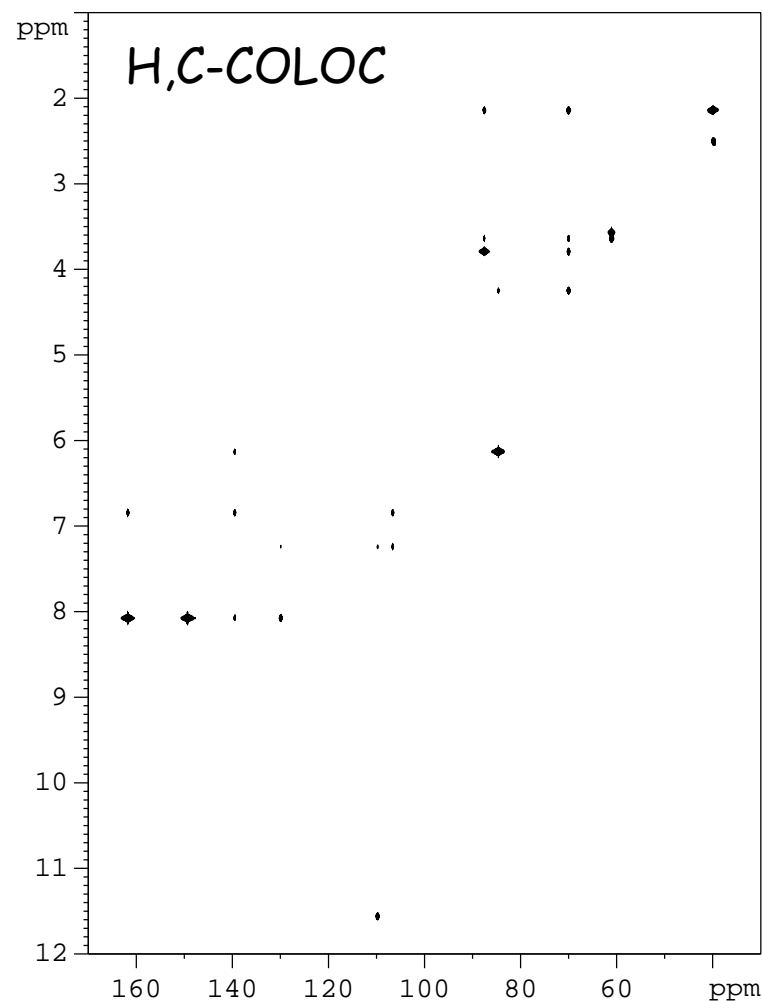
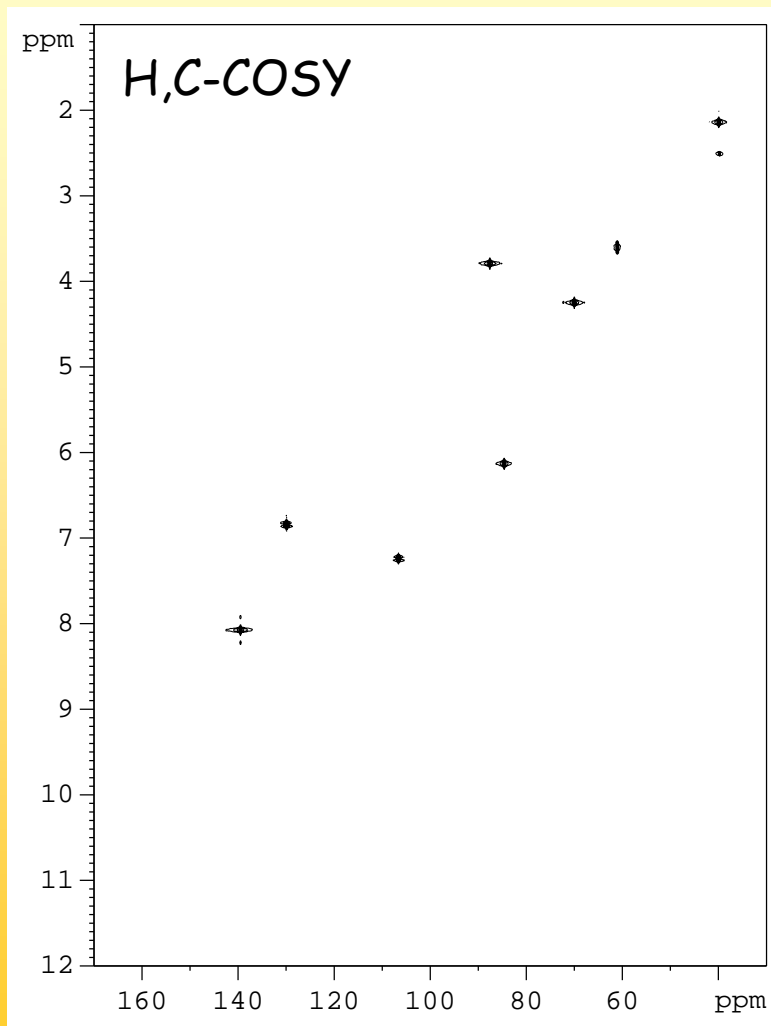
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

So entsteht das ^1H , ^{13}C -COLOC



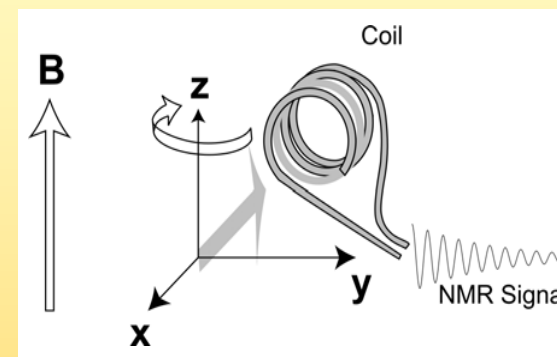
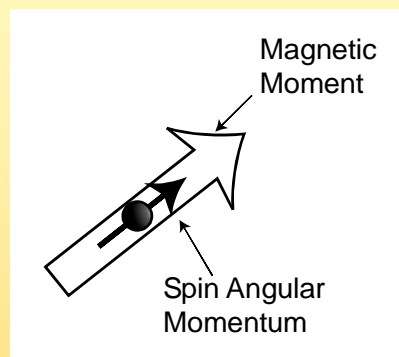
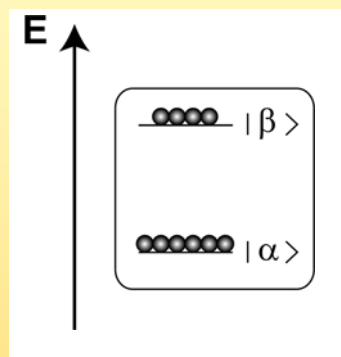
$$\Delta_1 = 25 \text{ msec}, \Delta_2 = 33 \text{ msec}$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Die Empfindlichkeit der Messung hängt von mehreren Faktoren ab



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

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

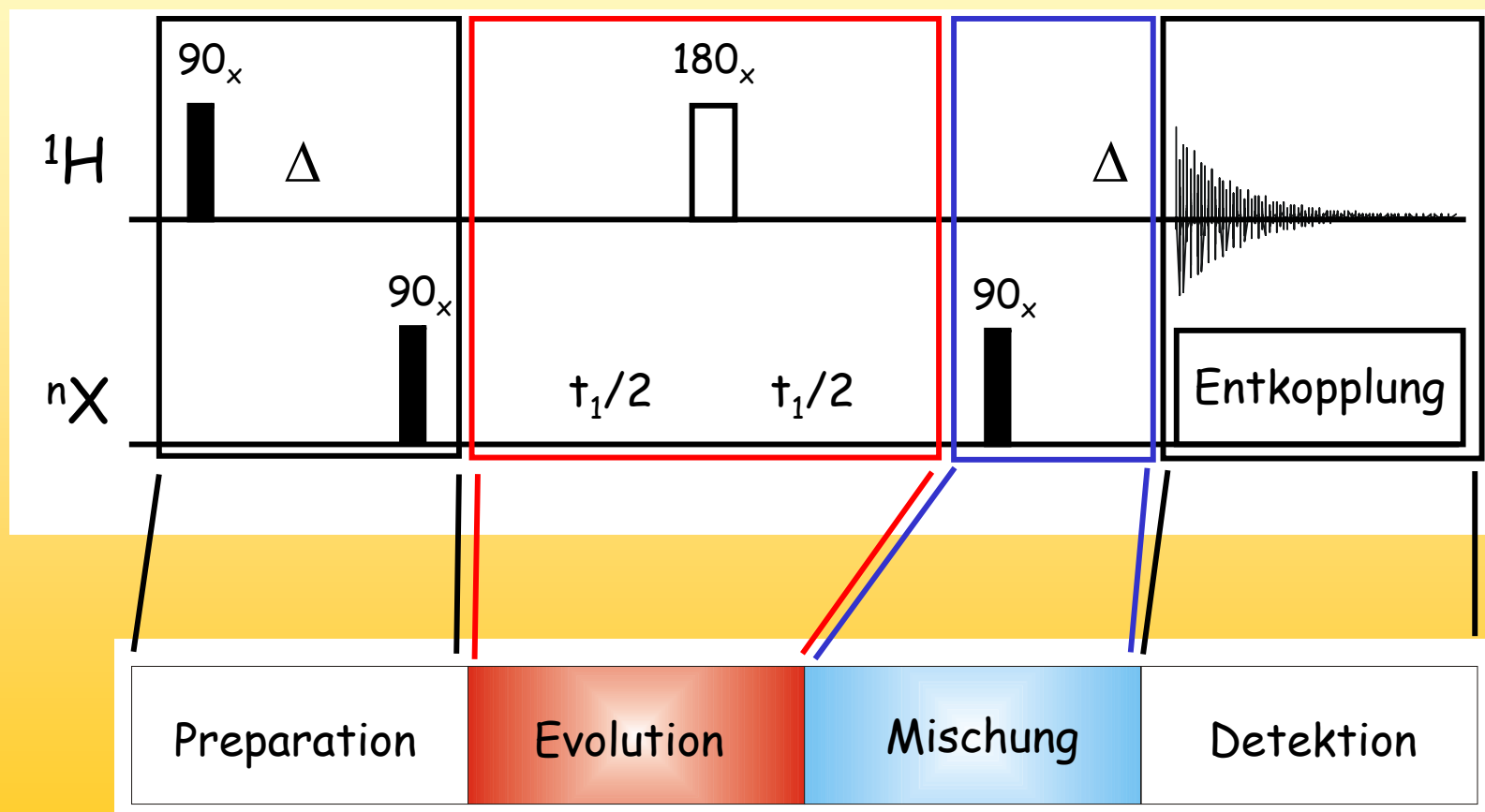
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

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

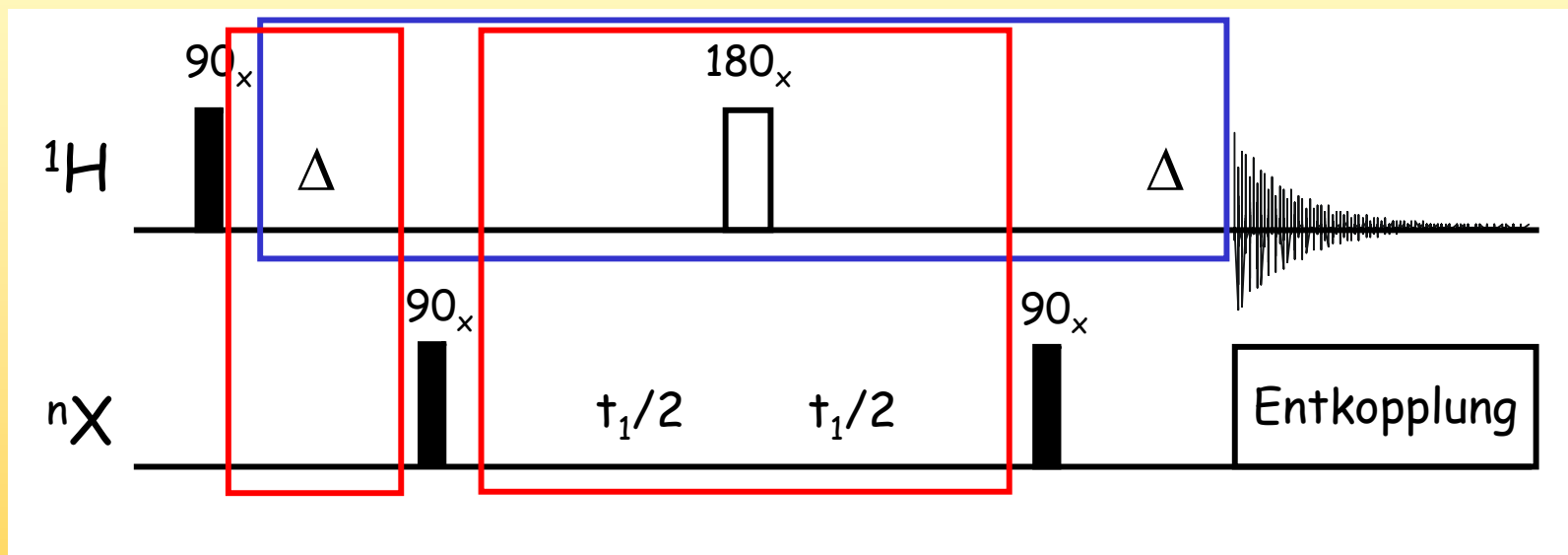
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

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 $^1J_{HX}$

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

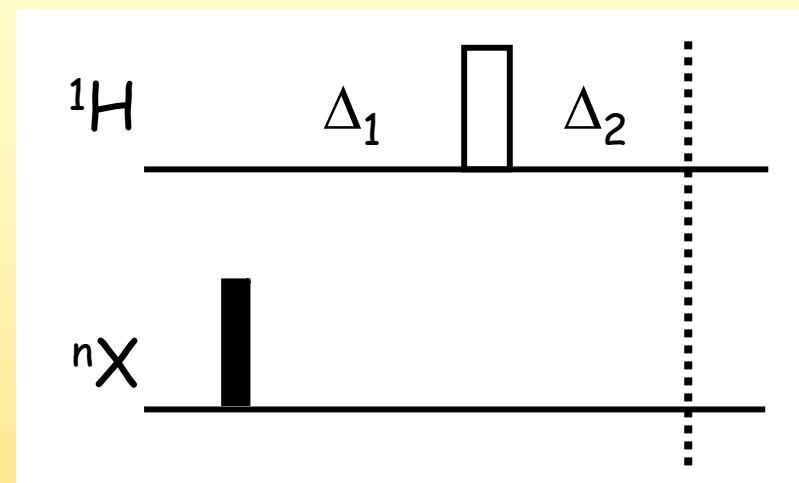
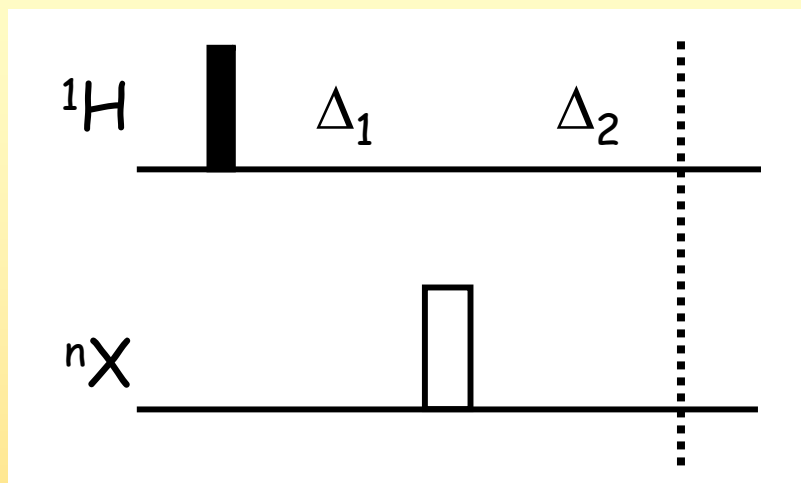
typisch bei ^{13}C 3.5 msec

chemische Verschiebung δ_X

keine chemische Verschiebung δ_H

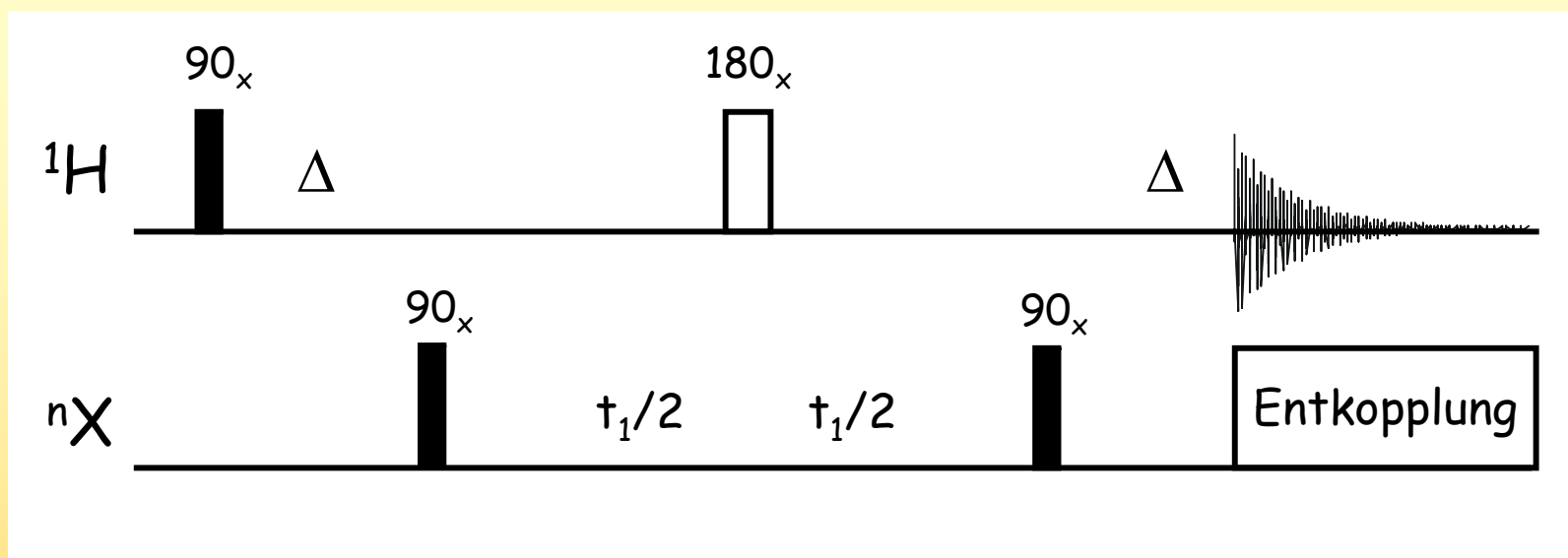
was ist mit der Kopplung J_{HX} ?

Produktoperatorformalismus



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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



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

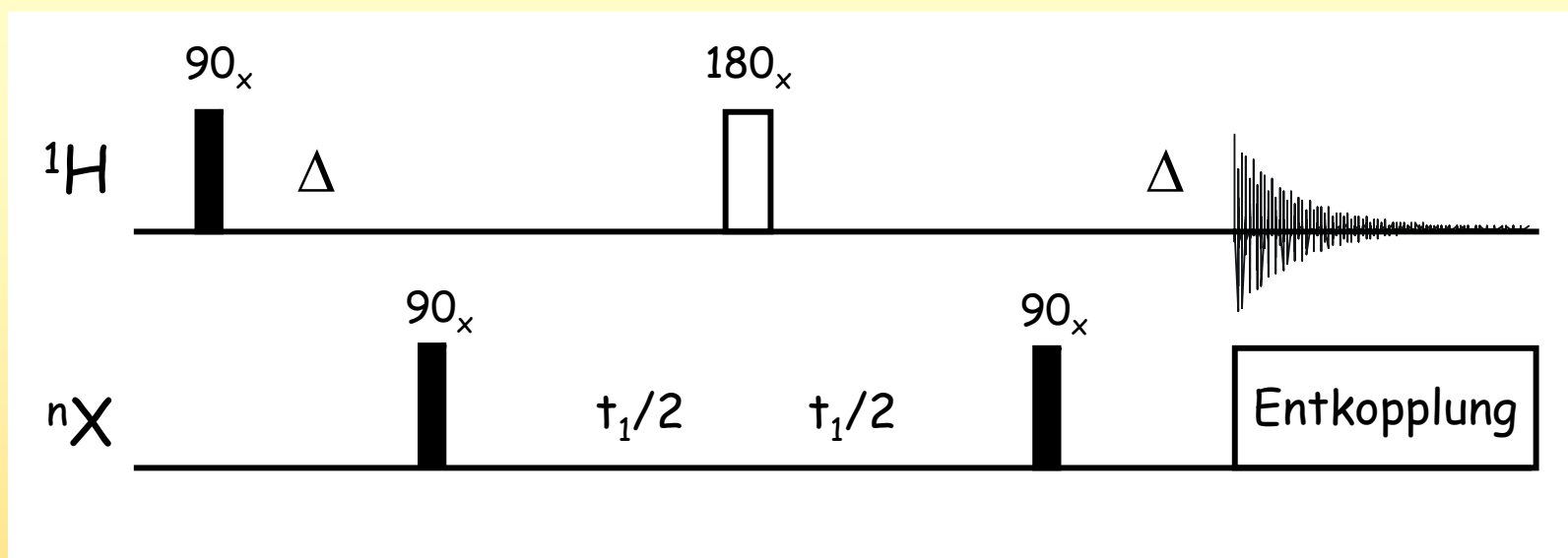
$$\Delta = 3.5 \text{ msec}, J_{HX} = 140 \text{ Hz} \longrightarrow J_{HX} * \Delta = 0.5$$

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

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



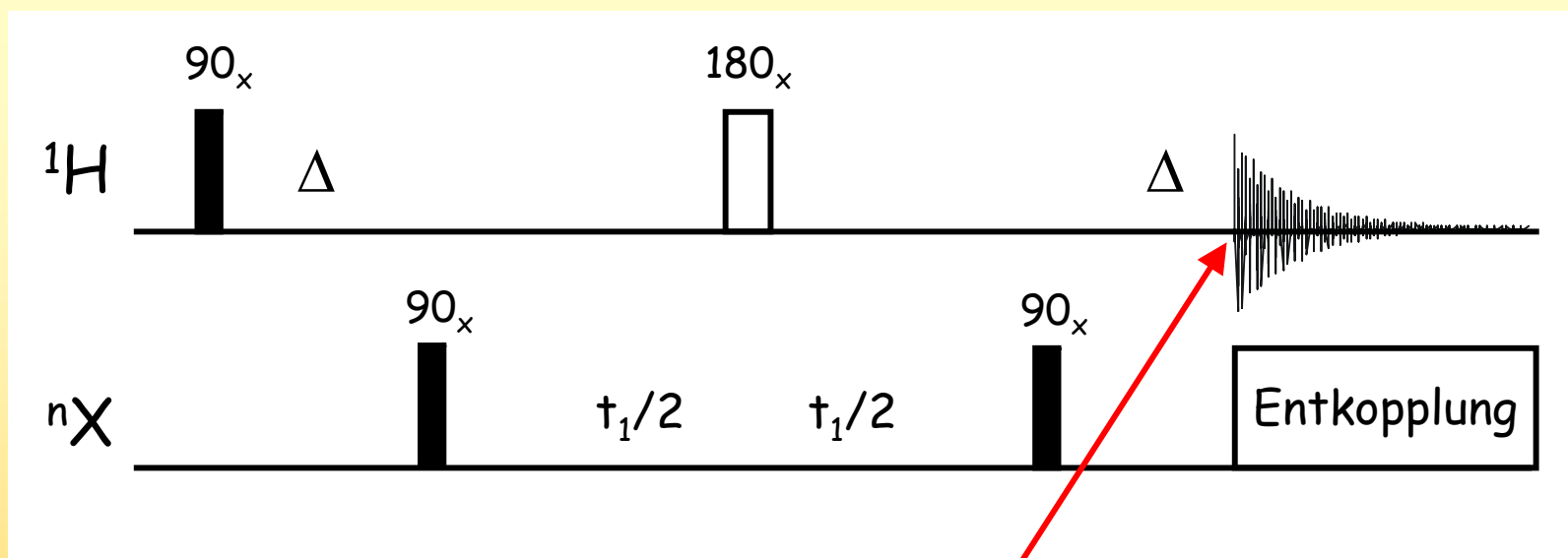
$$2H_x X_z \xrightarrow{90^\circ X_x} \textcircled{- 2H_x X_y} \xrightarrow{\delta_c t_1} - 2H_x X_y \cos \delta_x t_1 + 2H_x X_x \sin \delta_x t_1$$

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

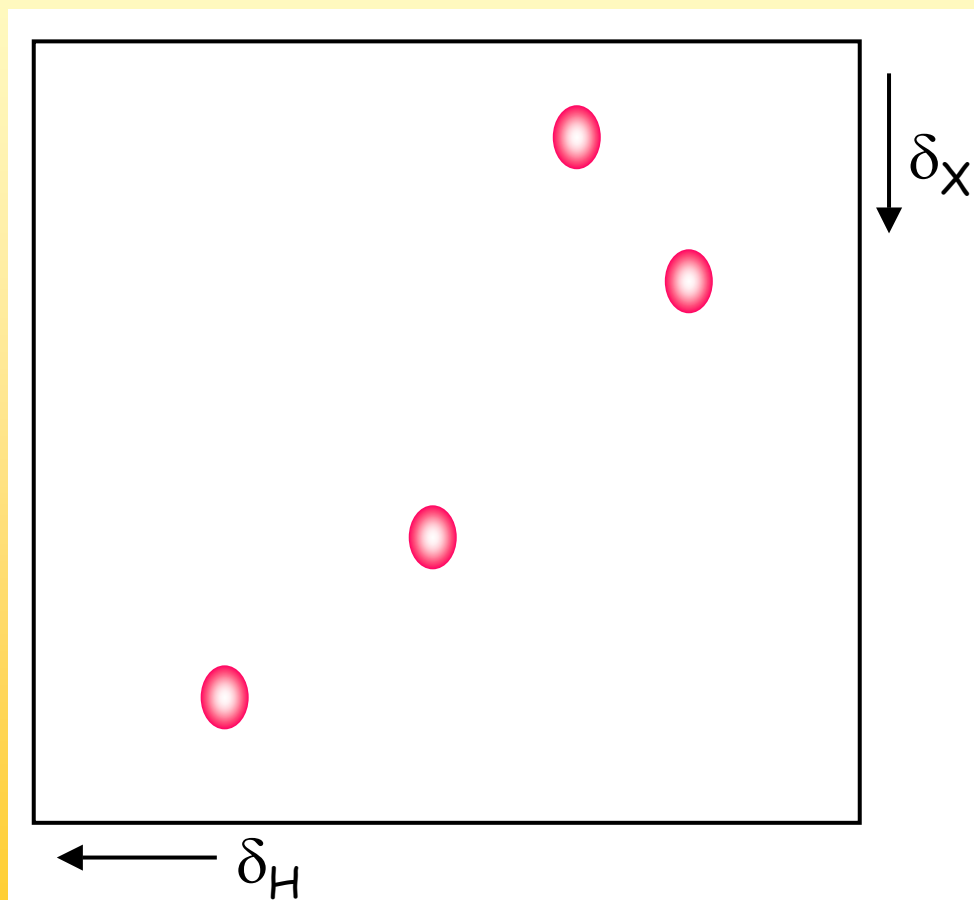


$$- 2H_x X_z \cos \delta_X t_1 \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta} - H_y \cos \delta_X t_1$$

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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMQC = Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

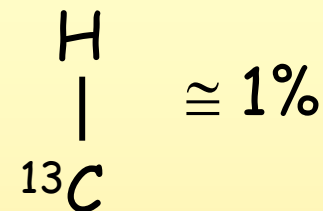
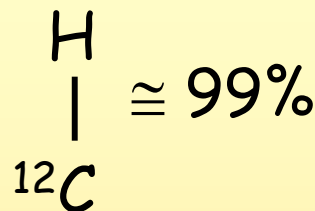


Ein Signal zeigt die direkte Bindung zwischen H und X an.

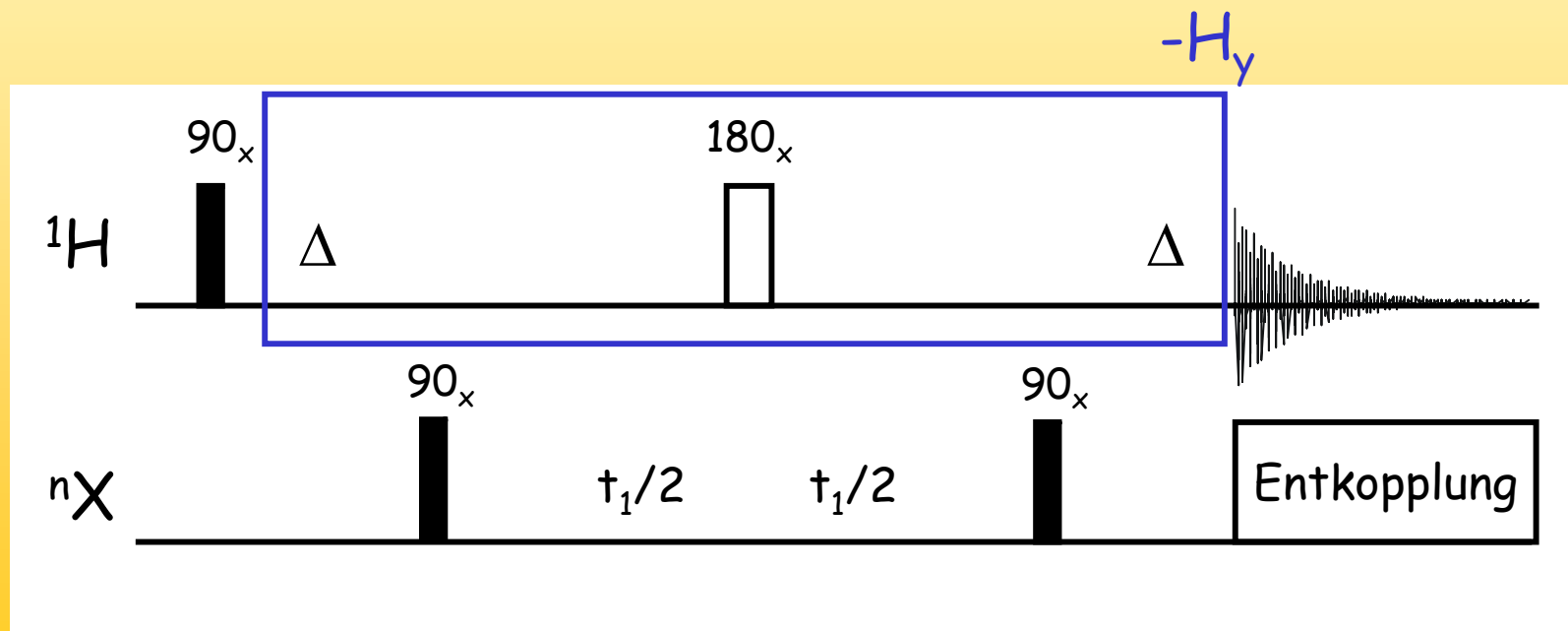
Die Kopplung zwischen H und X ist nicht zu sehen, während der Evolution und der Acquisition wird „entkoppelt“

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

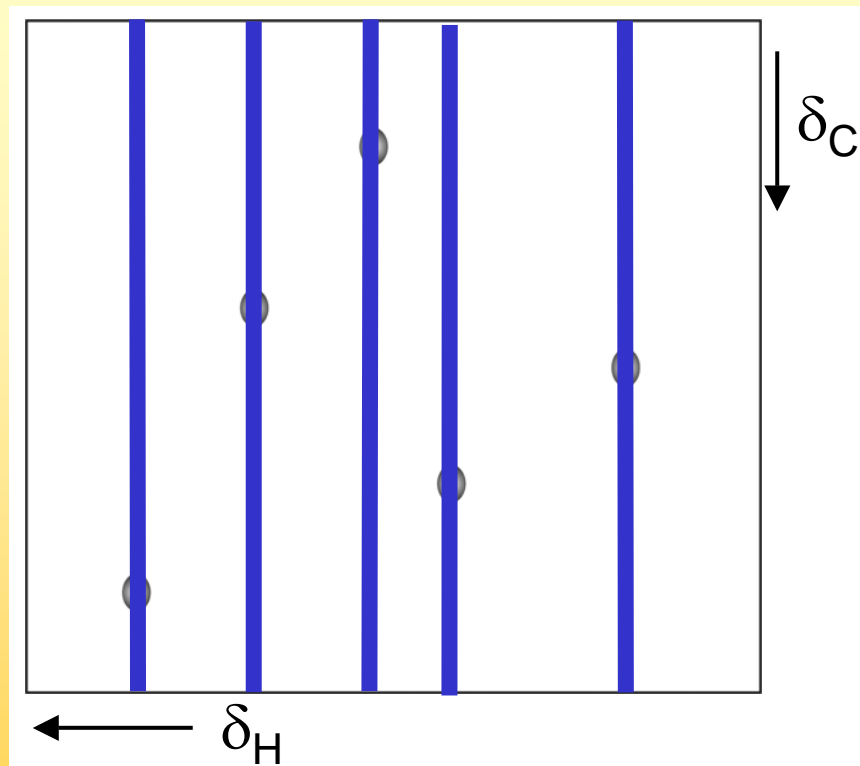
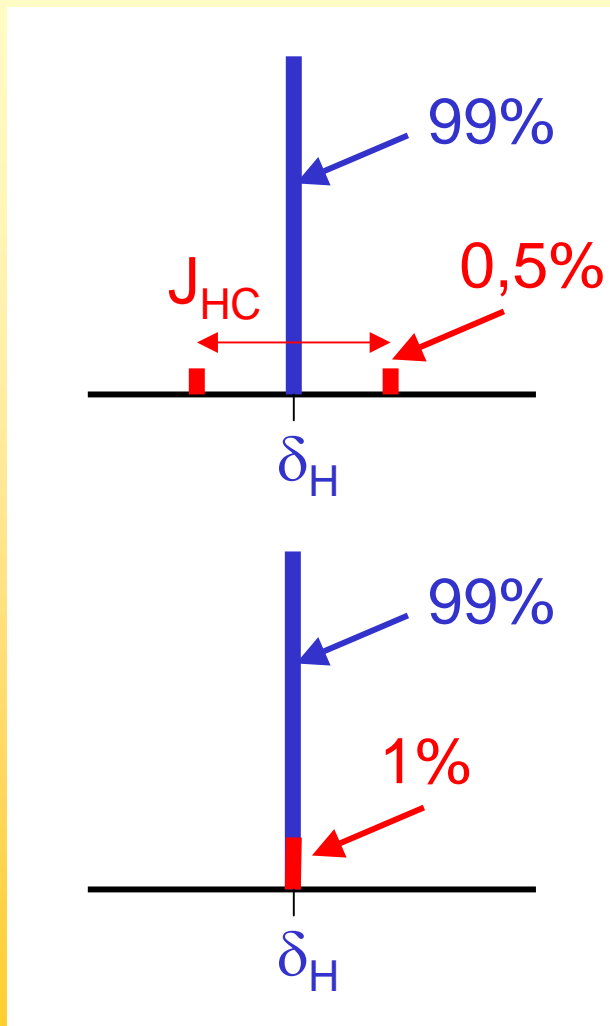
Was ist eigentlich mit den Protonen die nicht an den Kern gebunden sind, z.B. an ^{12}C für $X = \text{C}$?



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



Heteronukleare NMR-Spektroskopie



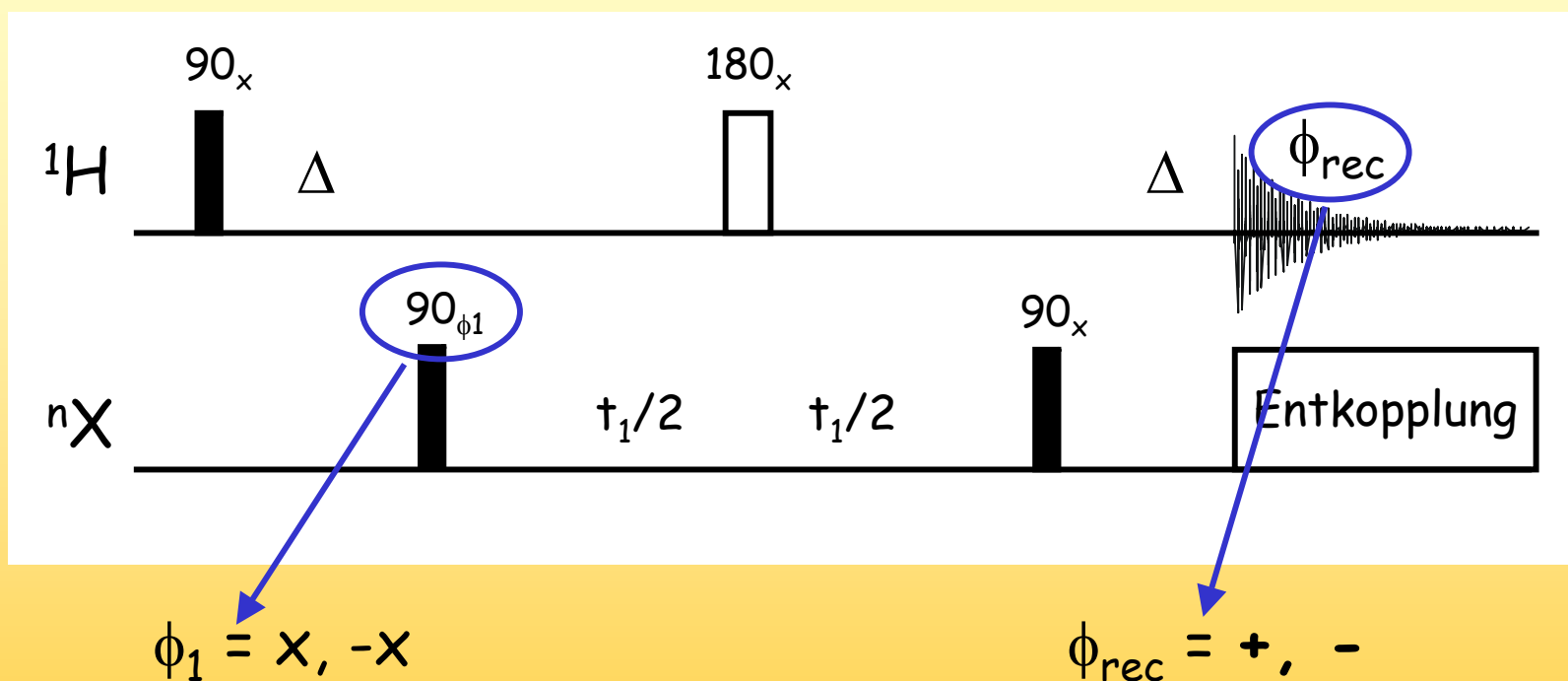
Die Signale müssen irgendwie entfernt werden

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

1. Molekül mit ^{13}C markieren
(unrealistisch)
2. Phasencyclus
3. Gradienten
4. BIRD-Puls
(später)

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Phasencyclus



Das Experiment wird mehrmals mit unterschiedlichen
Puls- und Receiverphasen durchgeführt

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

nicht an X-gebundene Protonen:

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

ⁿX-gebundene Protonen :

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

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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

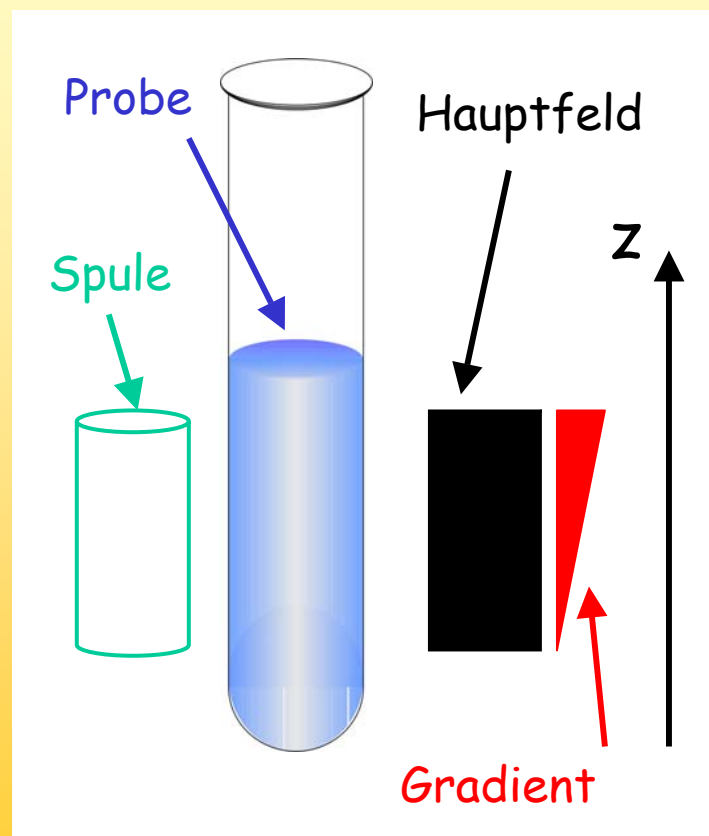
Allerdings hat die Unterdrückung mit dem Phasencyclus zwei Nachteile:

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.

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Gradienten

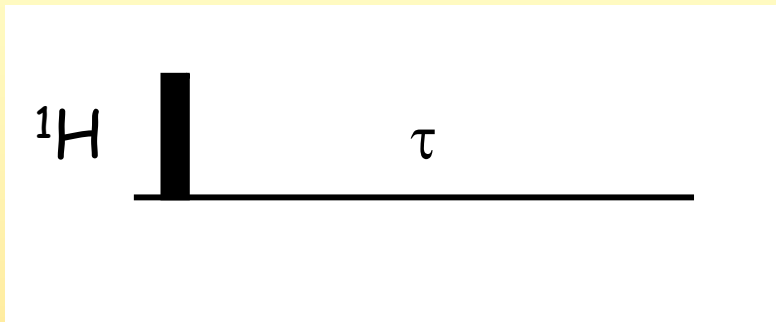


Gradienten stellen kontrollierte Störungen der Homogenität des Hauptmagnetfeldes dar
Die Stärke des Magnetfeldes und damit die Resonanzfrequenz wird damit von der Position des Moleküls in der Spule abhängig

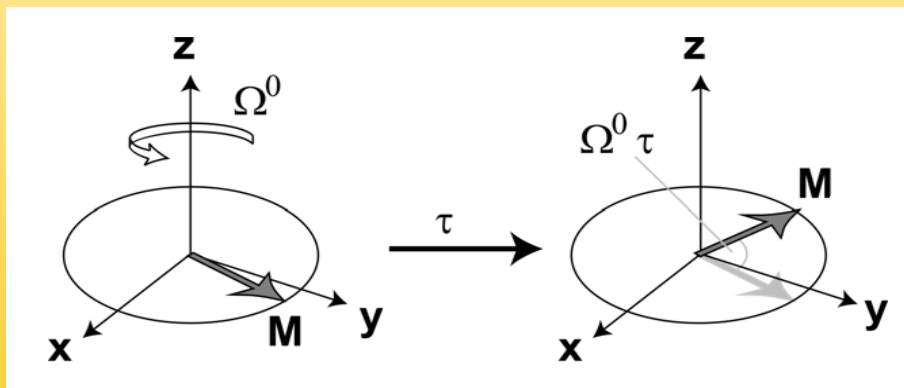
$$B = (1 + z) B_0$$

$$\omega = -\gamma B = -\gamma (1 + z) B_0$$

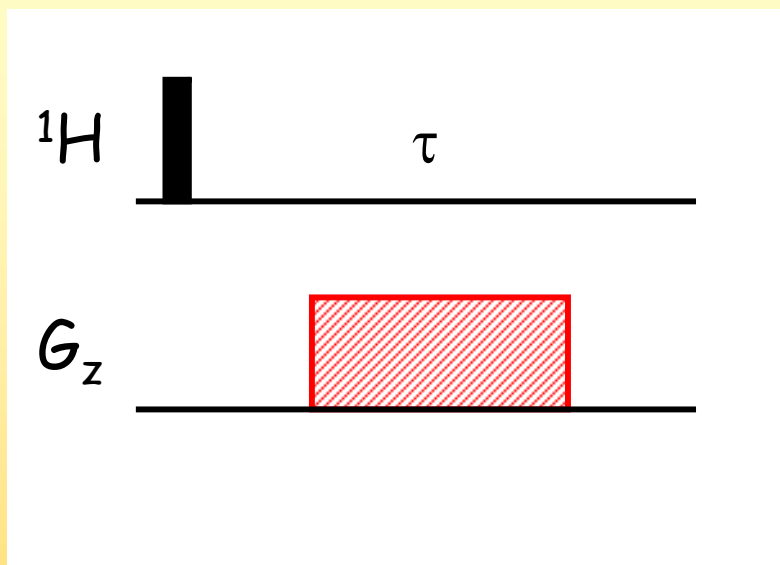
Heteronukleare NMR-Spektroskopie



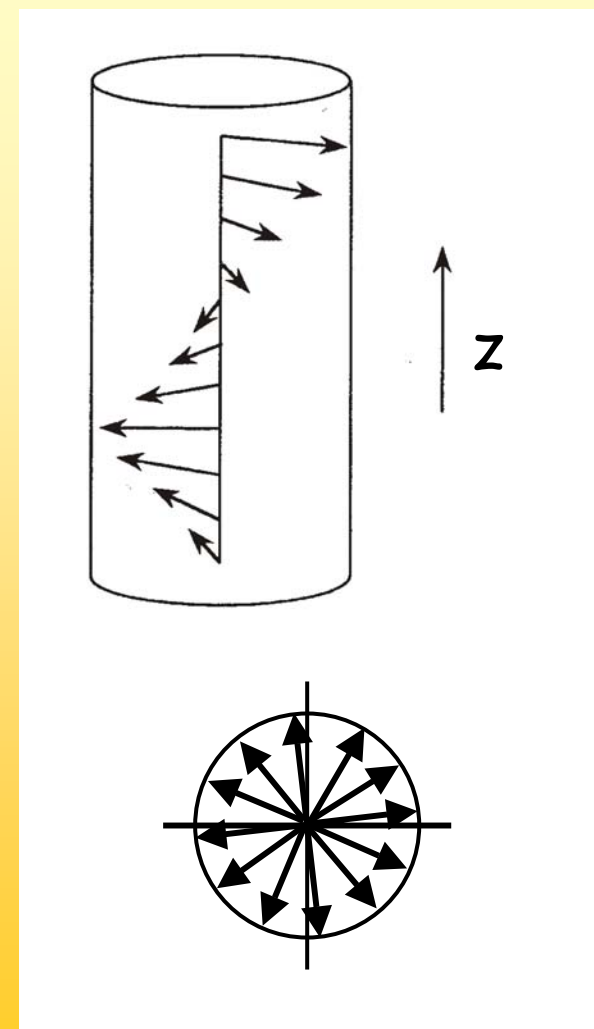
Normalerweise ist die chemische Verschiebung eines speziellen Kerns in allen Molekülen in der Probe gleich, alle Signale addieren sich auf



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

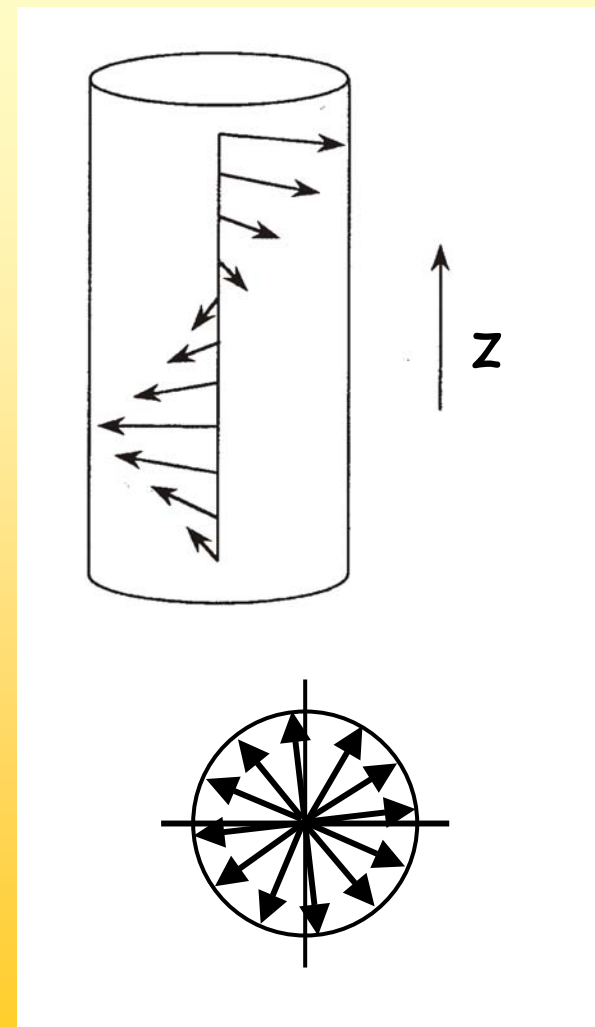


Im Falle eines Gradienten ist die chemische Verschiebung vom Ort abhängig, die Signale addieren sich zu 0



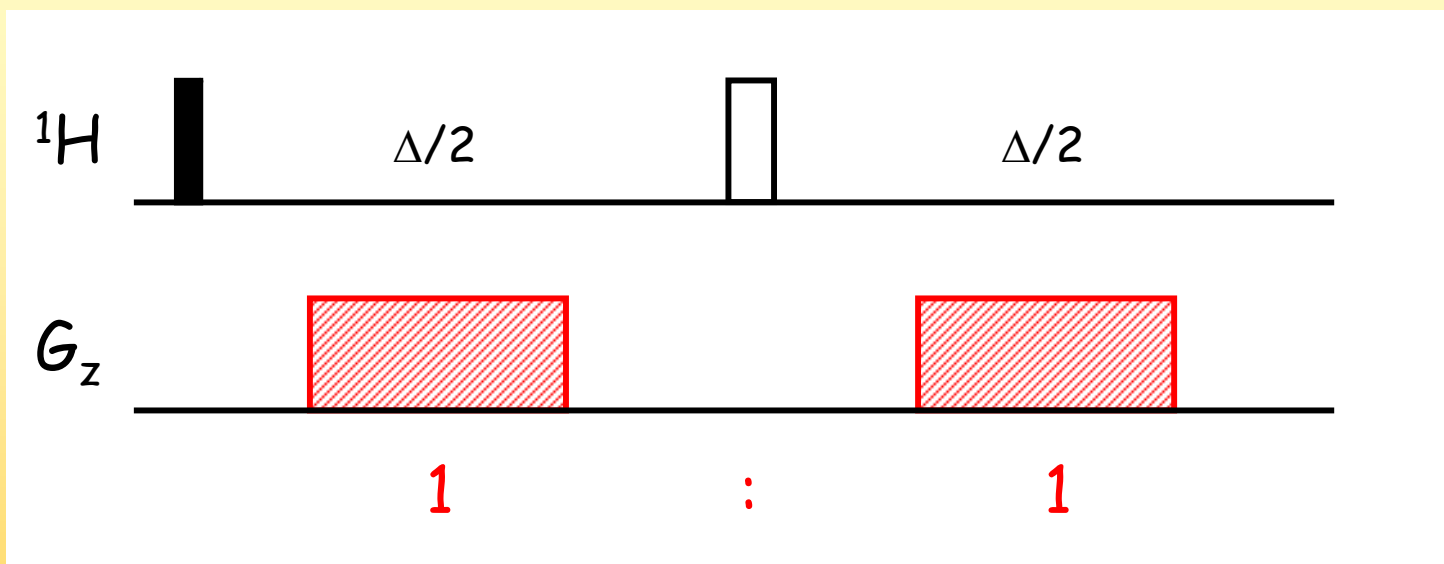
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Die chemische Verschiebung ist bei unterschiedlichen Kernsorten unterschiedlich. Wir erinnern uns auch, dass sie in mehrdimensionalen Experimenten von einer Kernsorte zur nächsten transferiert werden konnte.



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

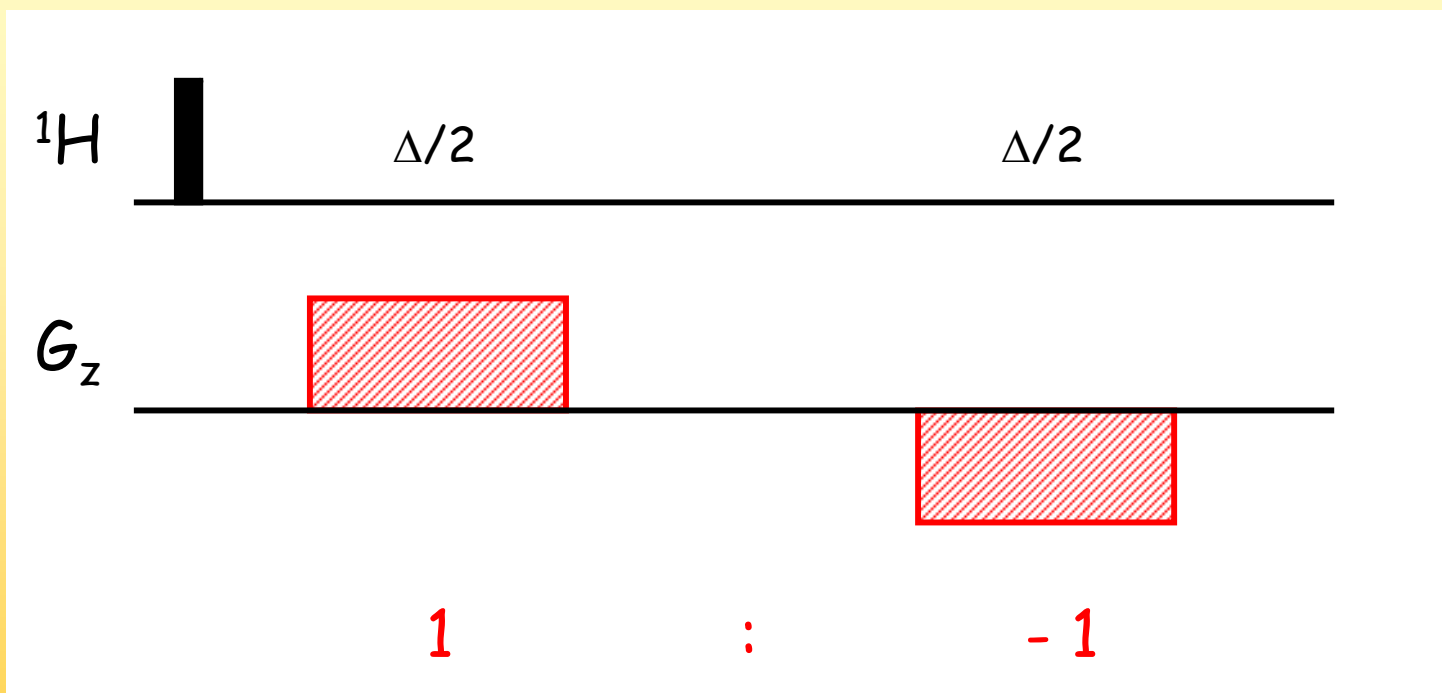
Wie kann man Gradienten konstruktiv einsetzen ?



Wir wissen, daß ein 180° Puls die chemische Verschiebung refocussiert, er beseitigt also auch den Effekt von zwei gleichen Gradienten

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

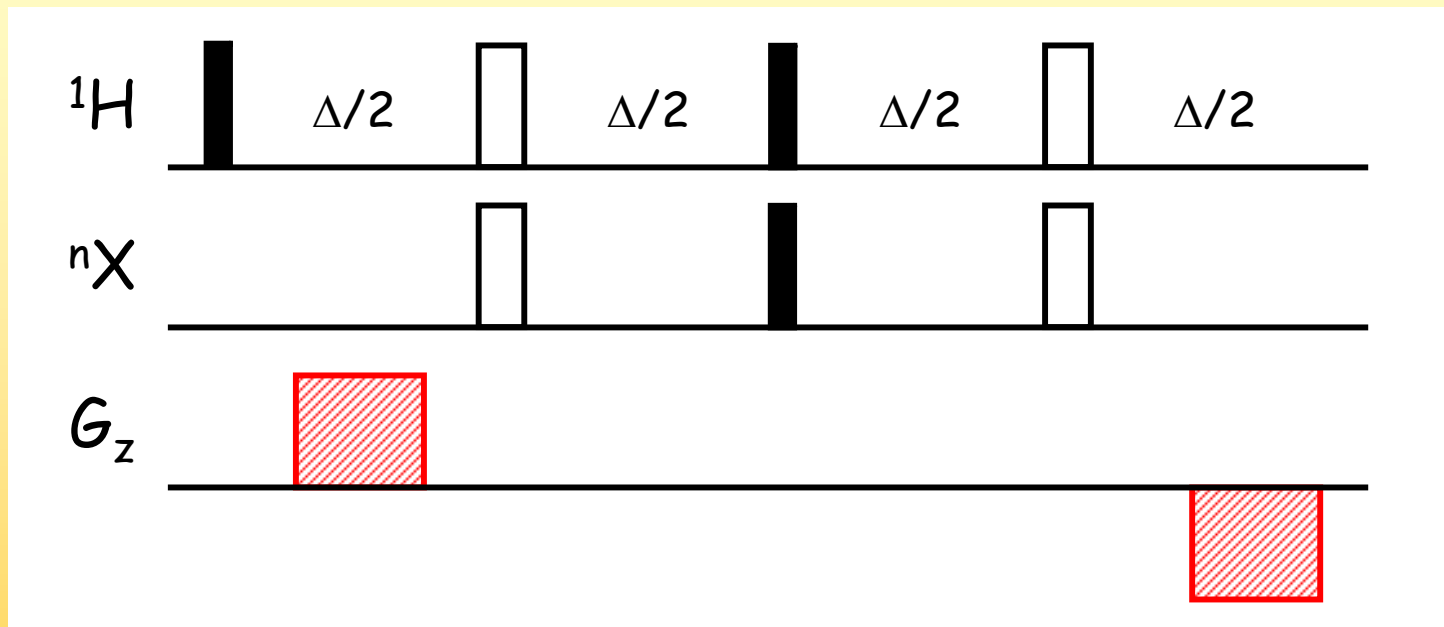
Wie kann man Gradienten konstruktiv einsetzen ?



Gradienten können aber auch umgekehrte Vorzeichen haben und sich dann gegenseitig aufheben

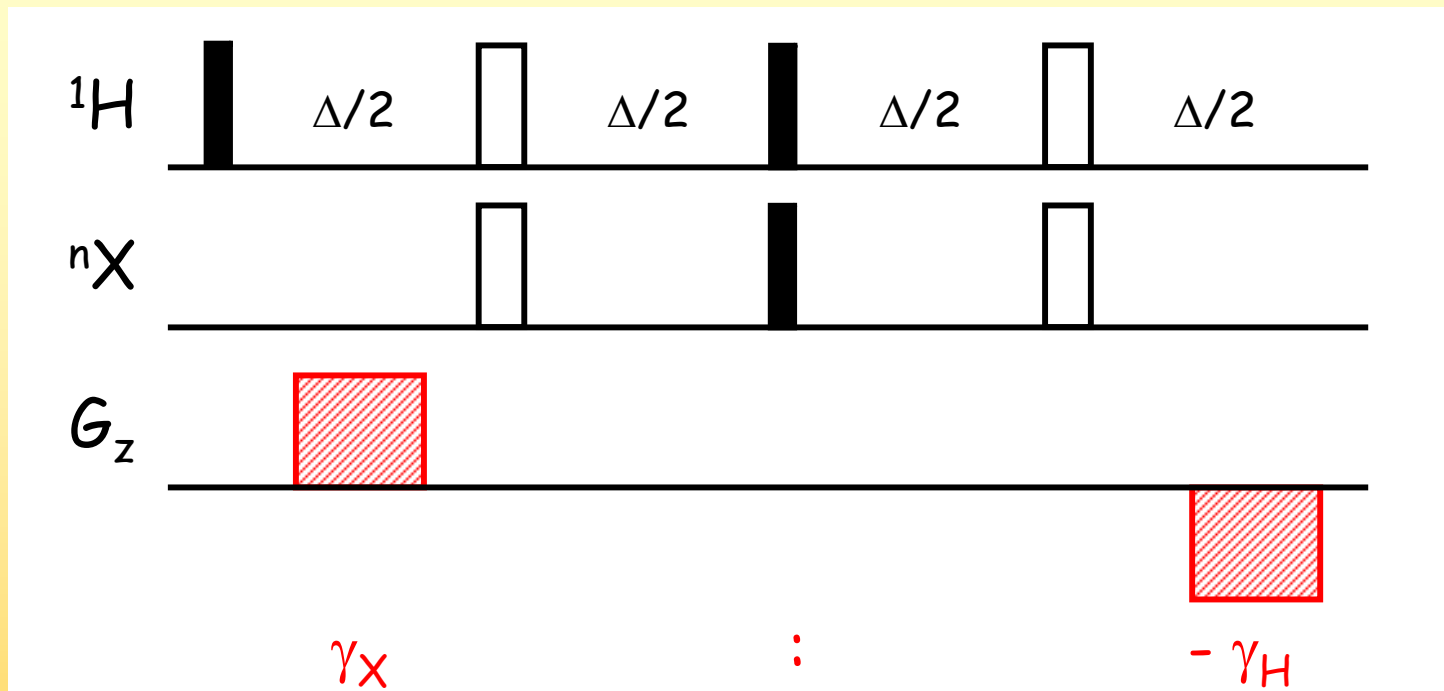
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Das funktioniert auch, wenn zwei Kernsorten involviert sind



Magnetisierung die den ersten Gradienten nicht erfahren hat
wird durch den zweiten zerstört und umgekehrt, es bleibt
nur was beide Gradienten „gespürt“ hat

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

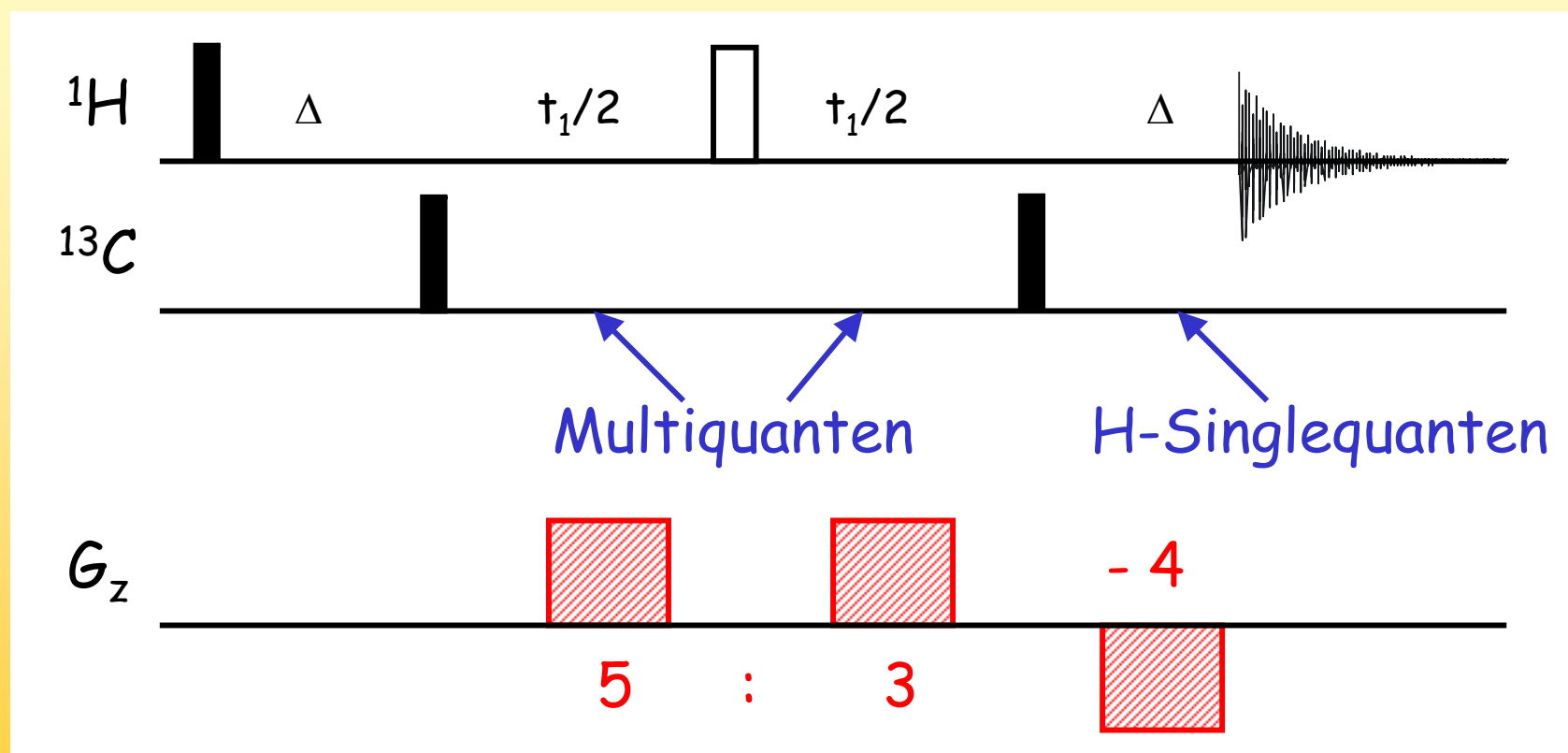


Während des ersten Gradienten ist chemische Verschiebung der Protonen aktiv, während des zweiten die von X-Kernen.

Dieser Unterschied wird durch einen entsprechenden Unterschied in der Stärke der Gradienten ausgeglichen.

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Im HMQC funktioniert das auch



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

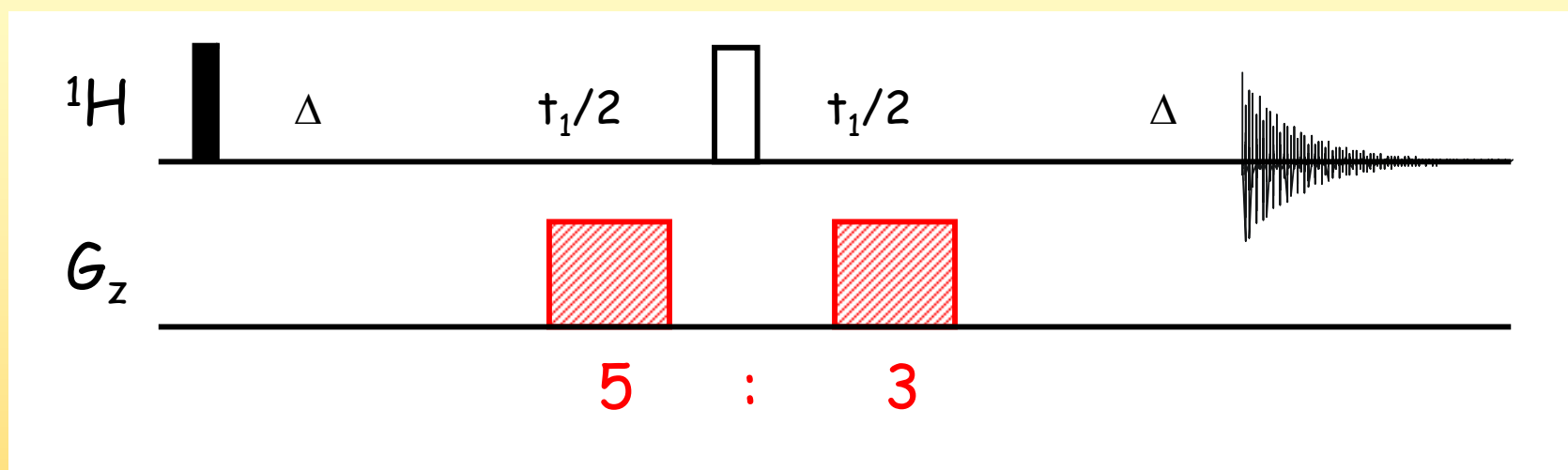
Bei der Wahl der drei Gradienten muss man die unterschiedlichen gyromagnetischen Verhältnisse berücksichtigen und die Magnetisierung die zur Zeit des Gradienten vorliegt.

Liegt einfache transversale Magnetisierung in x oder y Richtung vor (Singlequanten), so ist die chemische Verschiebung der jeweiligen Kernsorte relevant.

Bei Multiquanten addieren sich die chemischen Verschiebungen, man kann die Effekte getrennt betrachten, muss am Ende aber addieren.

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Für die Protonen sieht das so aus:

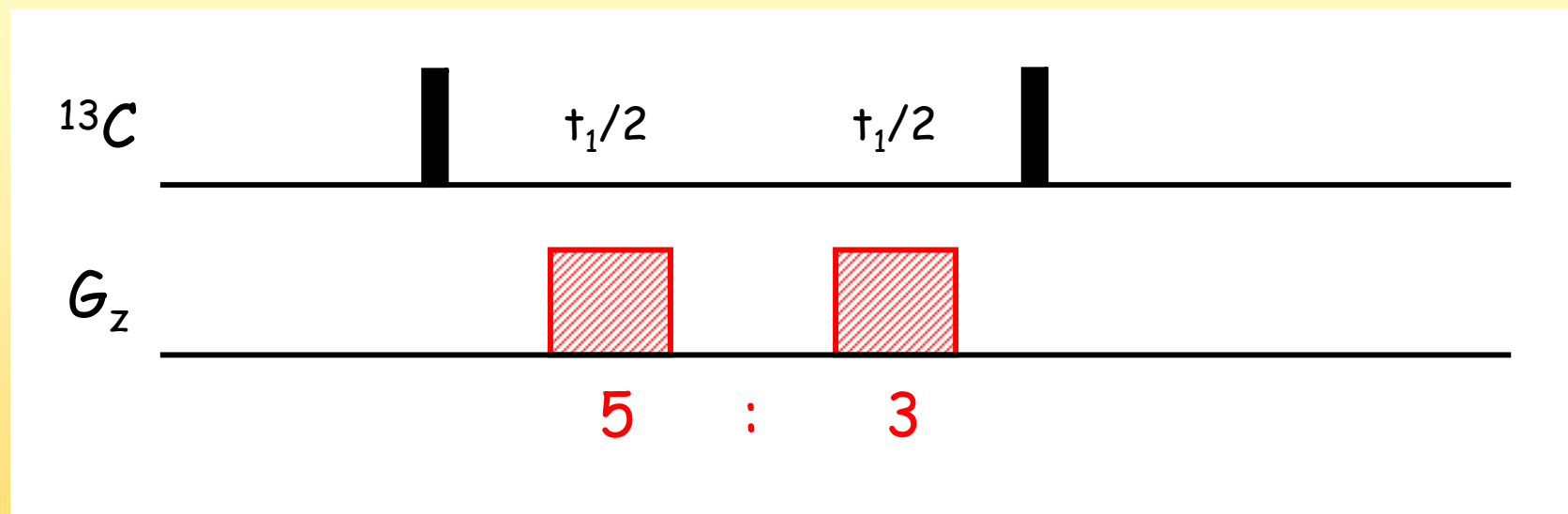


Der 180° Puls refocussiert chemische Verschiebung, die beiden Gradienten sind aber nicht gleich stark, es bleibt etwas zurück: $5 - 3 = 2$

Das ganze noch multipliziert mit γ_{H} !!

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Für die Kohlenstoffe ist es einfacher:

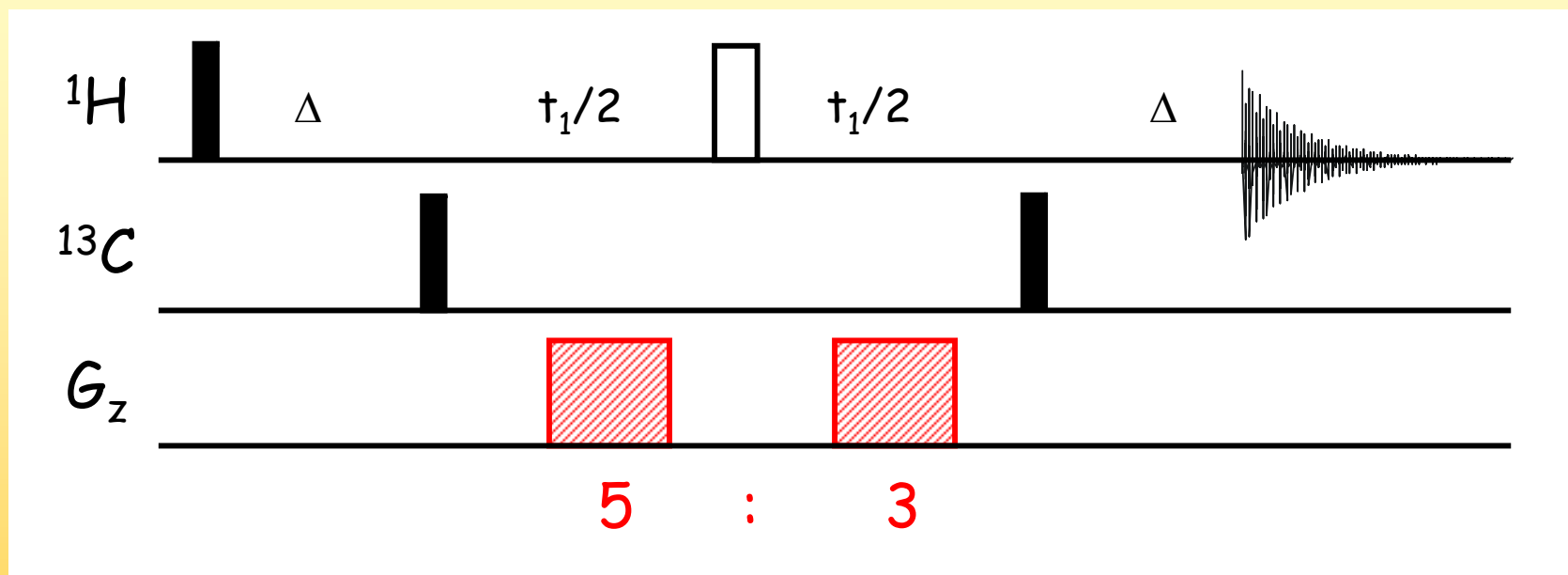


Hier wird nicht refocussiert, die beiden Gradienten
addieren sich auf: $5 + 3 = 8$

Diesmal noch multipliziert mit γ_C !!

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Damit sind wir bei

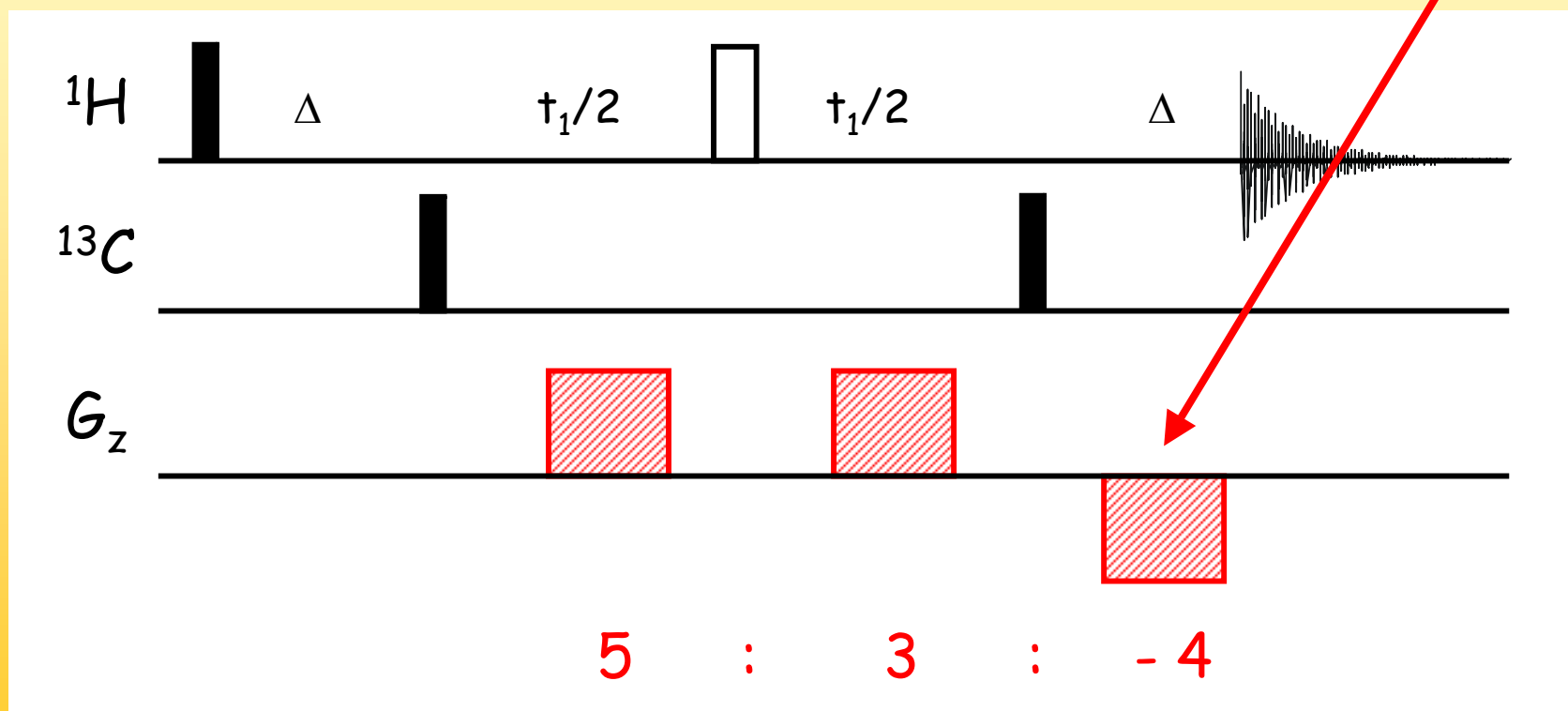


$$8*\gamma_C + 2*\gamma_H \xrightarrow{4*\gamma_C = \gamma_H} 4*\gamma_H$$

Wir haben nun alles in γ_H umgerechnet

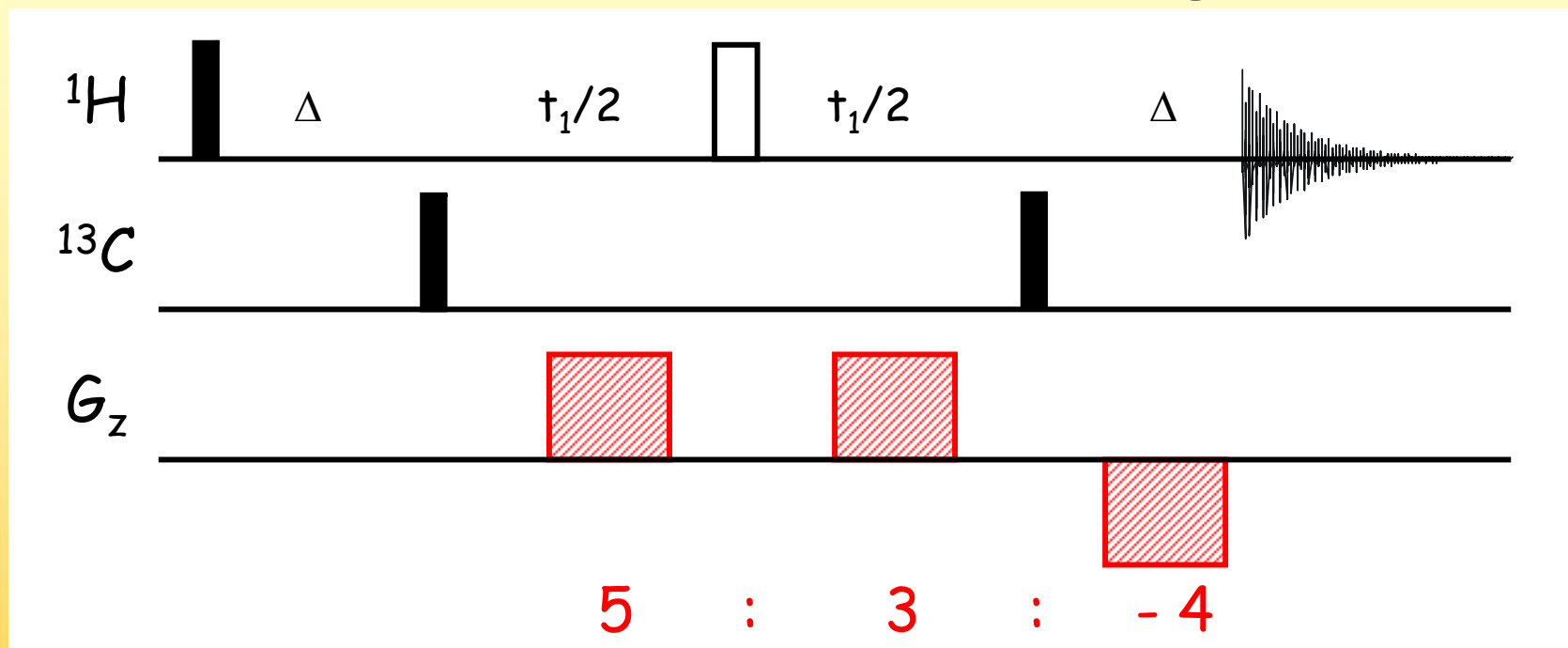
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Der dritte Gradient muss alles wieder rückgängig machen, hier sind nur die Protonen aktiv, also brauchen wir $-4 \cdot \gamma_H$



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Damit ist unser HMQC fertig



Da die Protonen an ^{12}C die Auffächerung aufgrund der Kohlenstoffmagnetisierung nicht erfahren, werden sie von den Gradienten vollständig gelöscht !

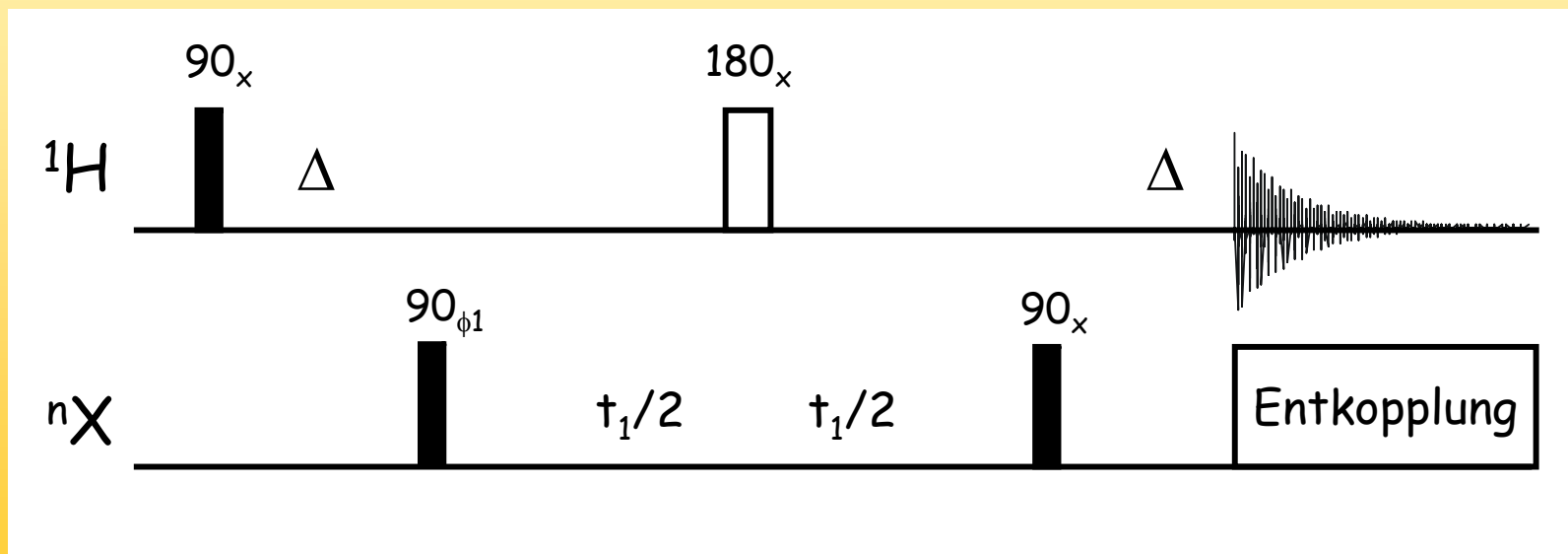
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Durch die Wahl unserer Wartezeiten ($\Delta = 1/2(^1J_{HX})$) haben wir nur Korrelationen über eine Bindung detektiert, solche über mehrere Bindungen sind aber auch von großer Bedeutung in der Strukturaufklärung.

Deshalb gibt es als inverses Analogon zum COLOC das HMBC, das die $^nJ_{HX}$ Kopplungen nutzt

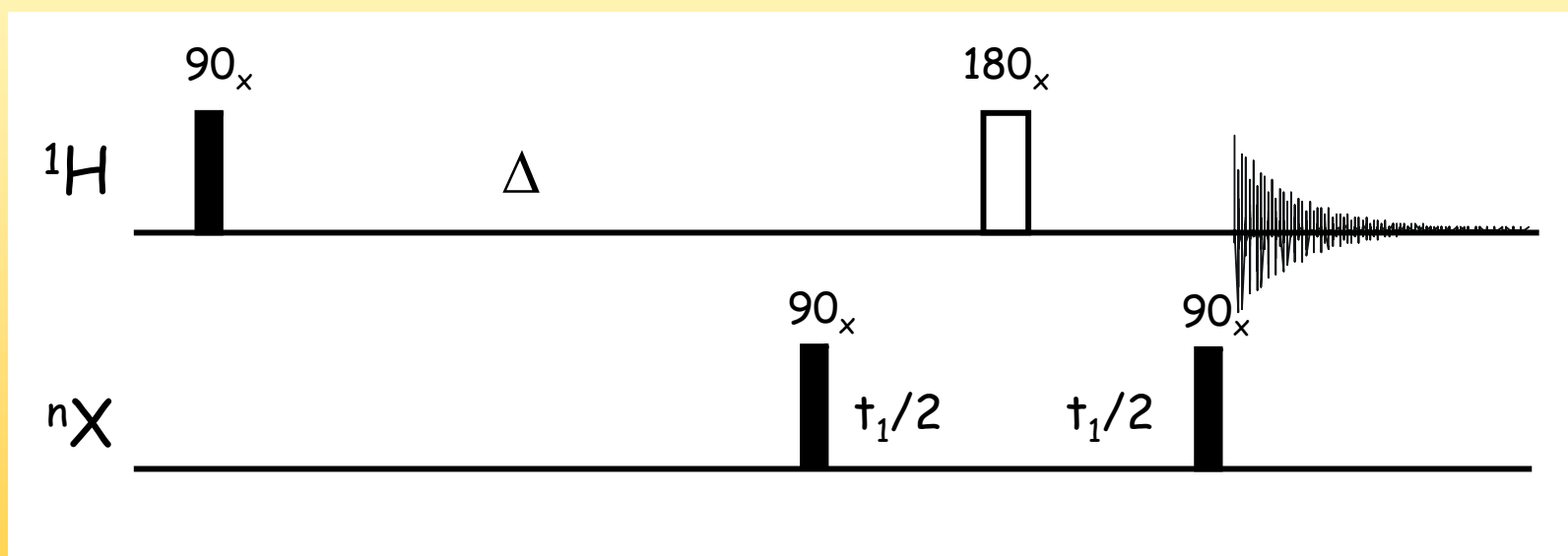
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

Wie kann man das HMQC das Kopplungen über mehrere Bindungen detektierbar werden umbauen, d.h. zum HMBC umbauen ?

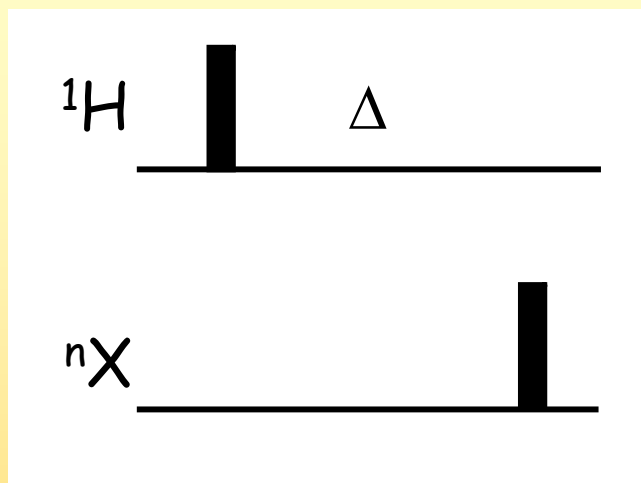


Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMBC (Weitbereichskorrelation)



Heteronukleare NMR-Spektroskopie



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

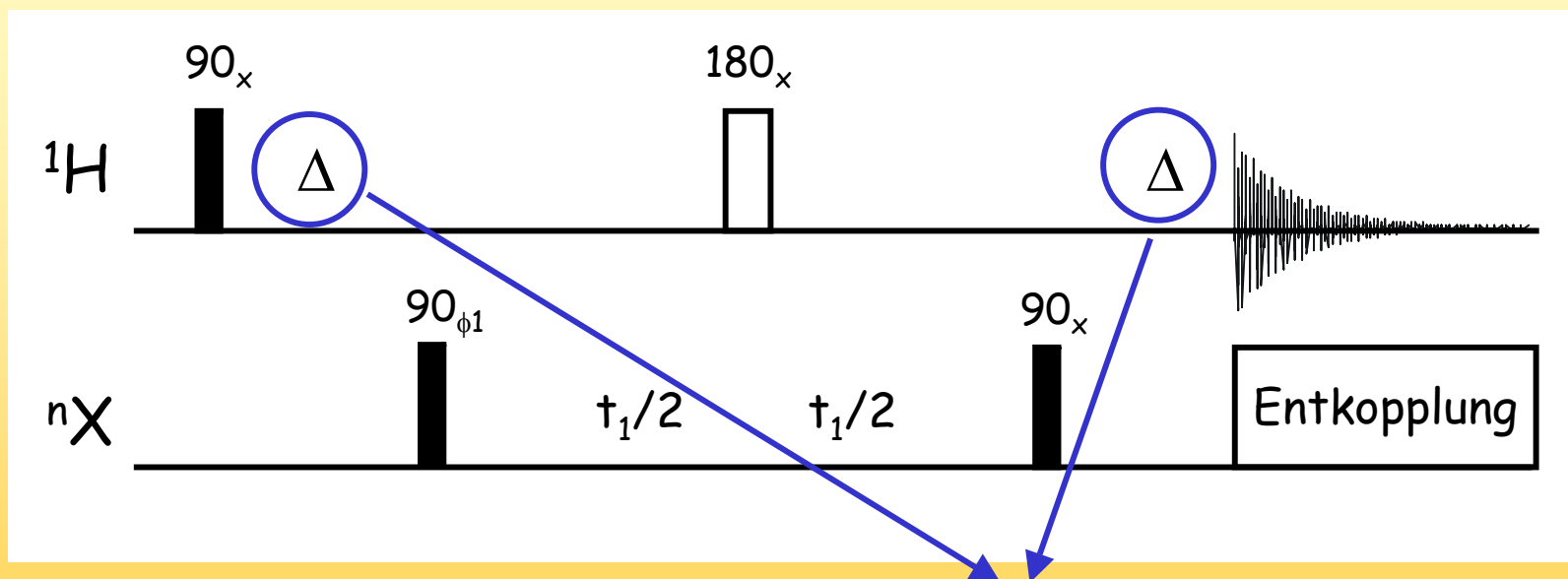
$$\begin{aligned}
 H_z &\xrightarrow{90^\circ H_x} -H_y \xrightarrow{\pi J_{HX}\Delta} -H_y \cos \pi J_{HX}\Delta + 2H_x X_z \sin \pi J_{HX}\Delta \\
 &\xrightarrow{90^\circ X_x} \cancel{-H_y \cos \pi J_{HX}\Delta} - 2H_x X_y \sin \pi J_{HX}\Delta
 \end{aligned}$$

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



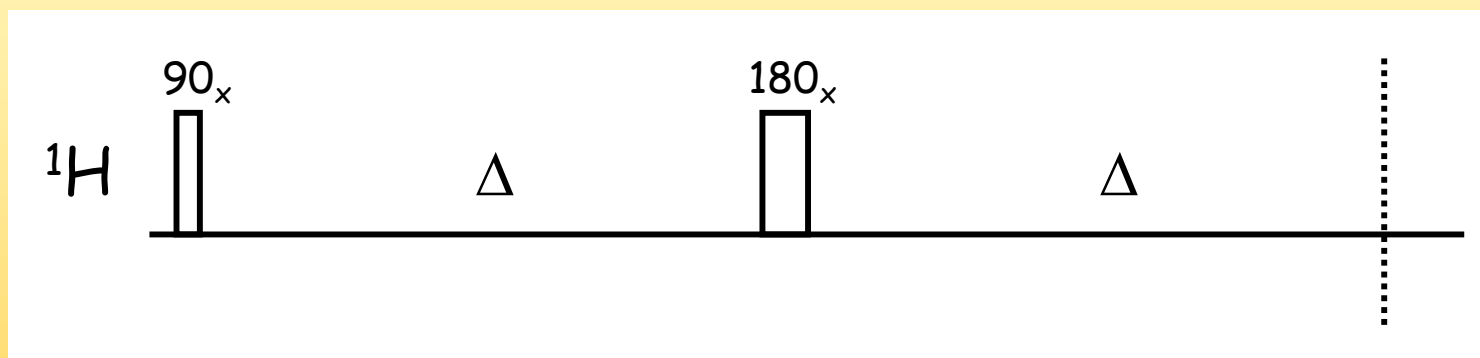
Eigentlich muss man also nur Δ länger machen

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

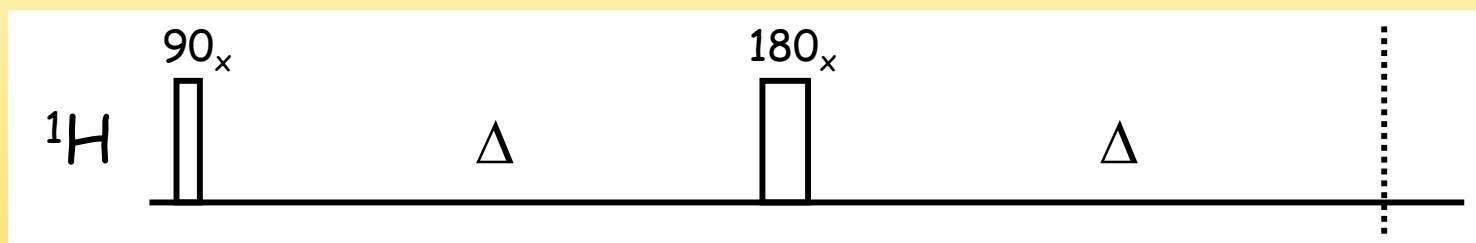


Die Relaxation bewirkt das Verschwinden des Signals,
Die Zeit vor der Acquisition sollte also so lang wie nötig
aber so kurz wie möglich sein, Δ möglichst klein

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 !



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

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

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

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

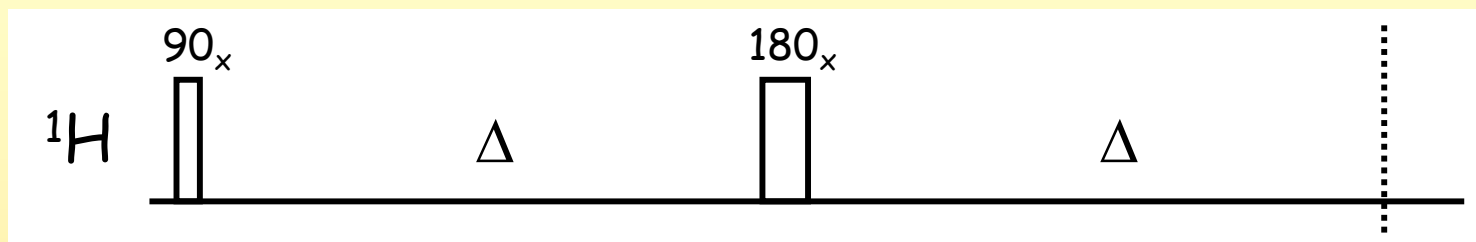
$$\text{„cos“} = 0.94$$

$$\text{„cos“} = 0.31$$

$$\text{„sin“} = 0.06$$

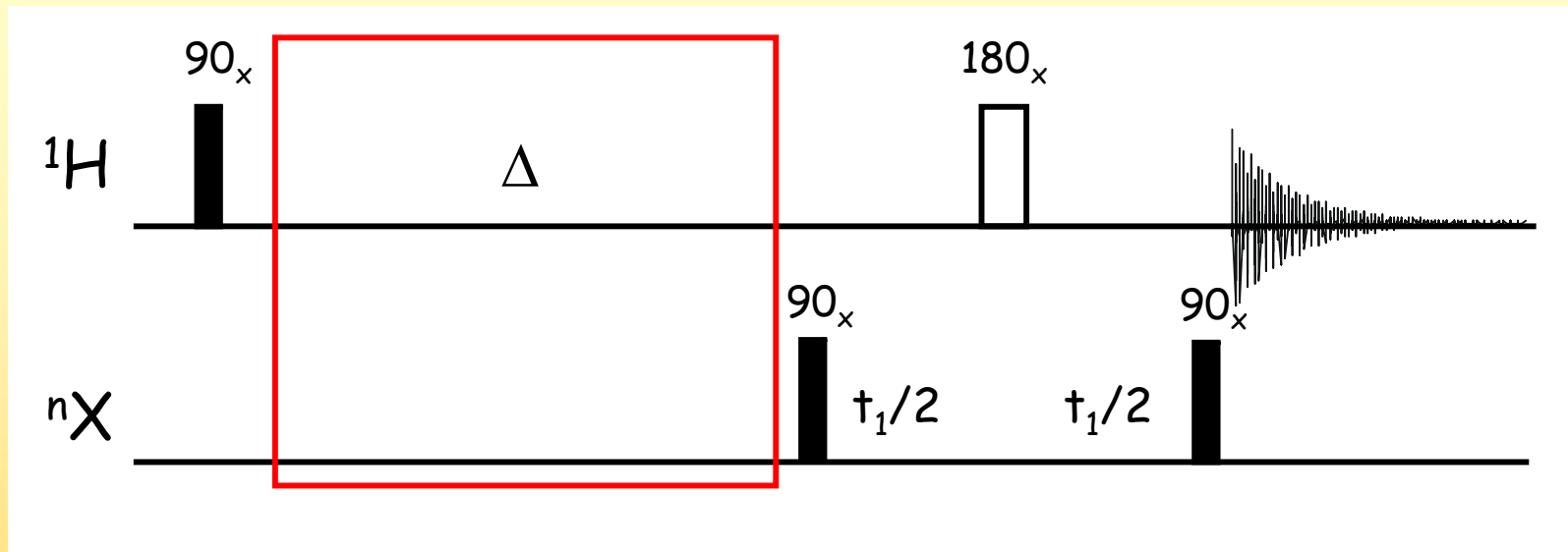
$$\text{„sin“} = 0.68$$

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



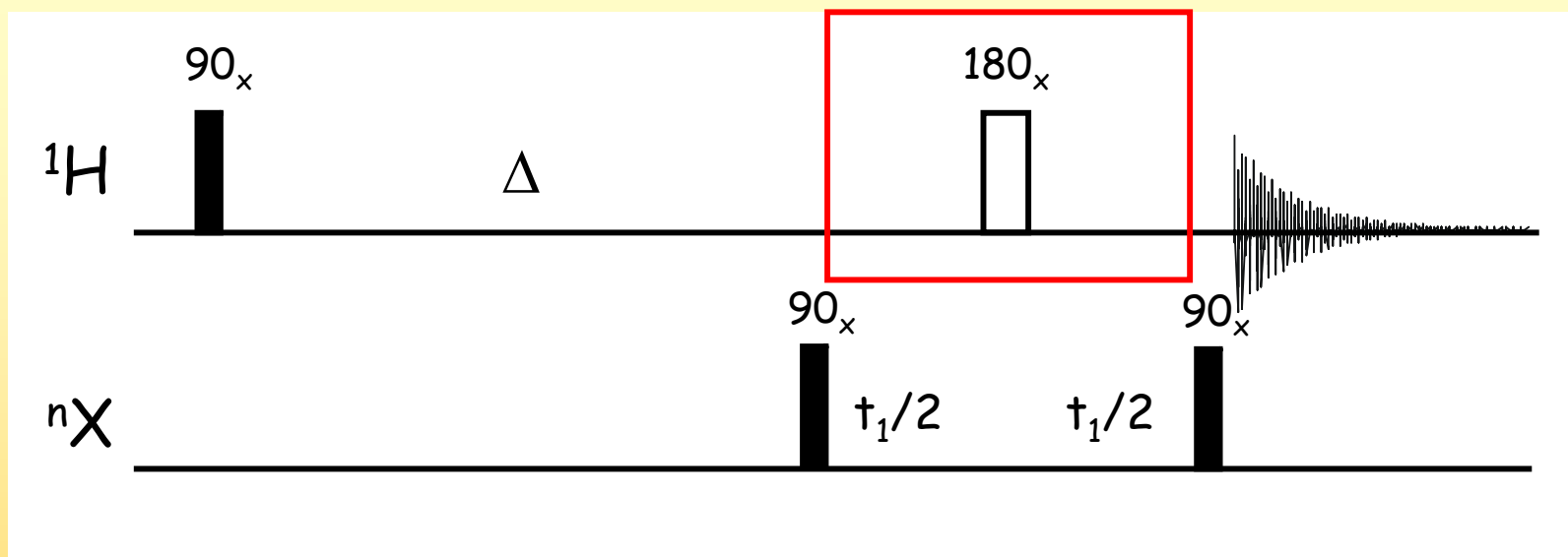
Zur Erinnerung: Der 180° Puls hat im HMQC die chemische Verschiebung refocussiert. Wäre das nicht passiert, wäre eine Phasenkorrektur ebenfalls unmöglich. J_{HH} war im HMQC nicht wichtig da Δ zu kurz war. Wenn nun aber wegen J_{HH} eine Magnitude-Rechnung gemacht werden muss, brauchen wir auch die chemische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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie



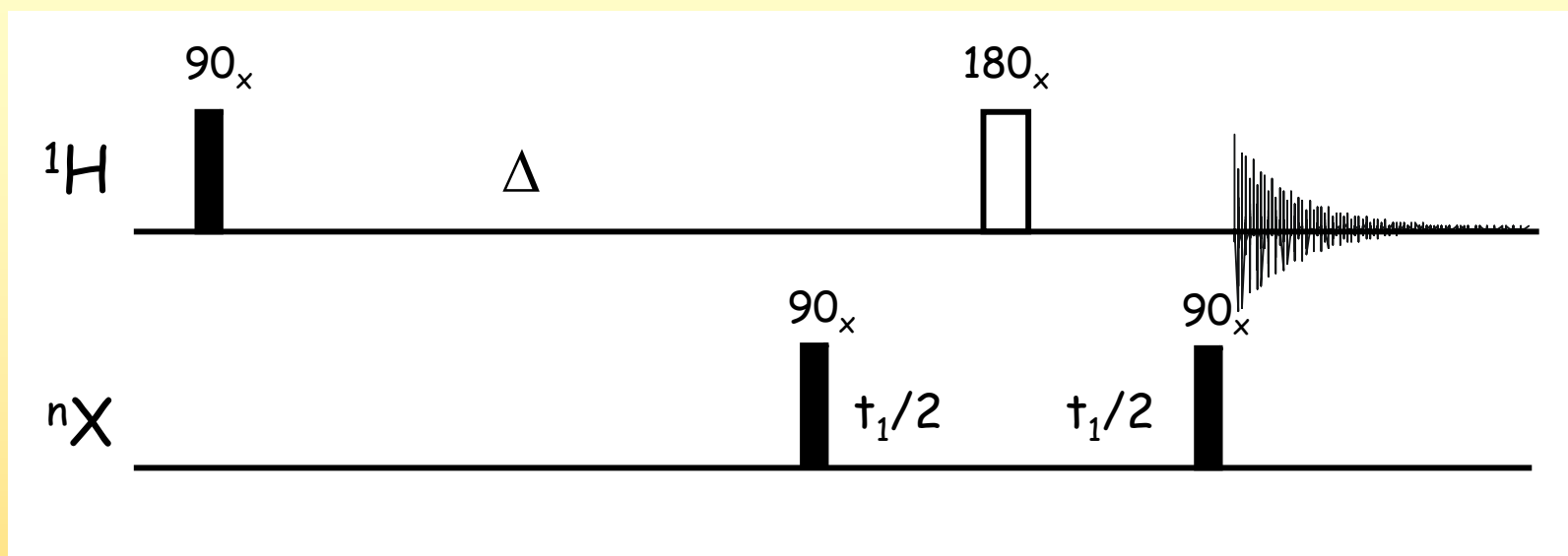
Man macht $\Delta = 60 - 80 \text{ msec}$ lang, dann entwickelt sich heteronukleare Weitbereichskopplung lange genug

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 !!!

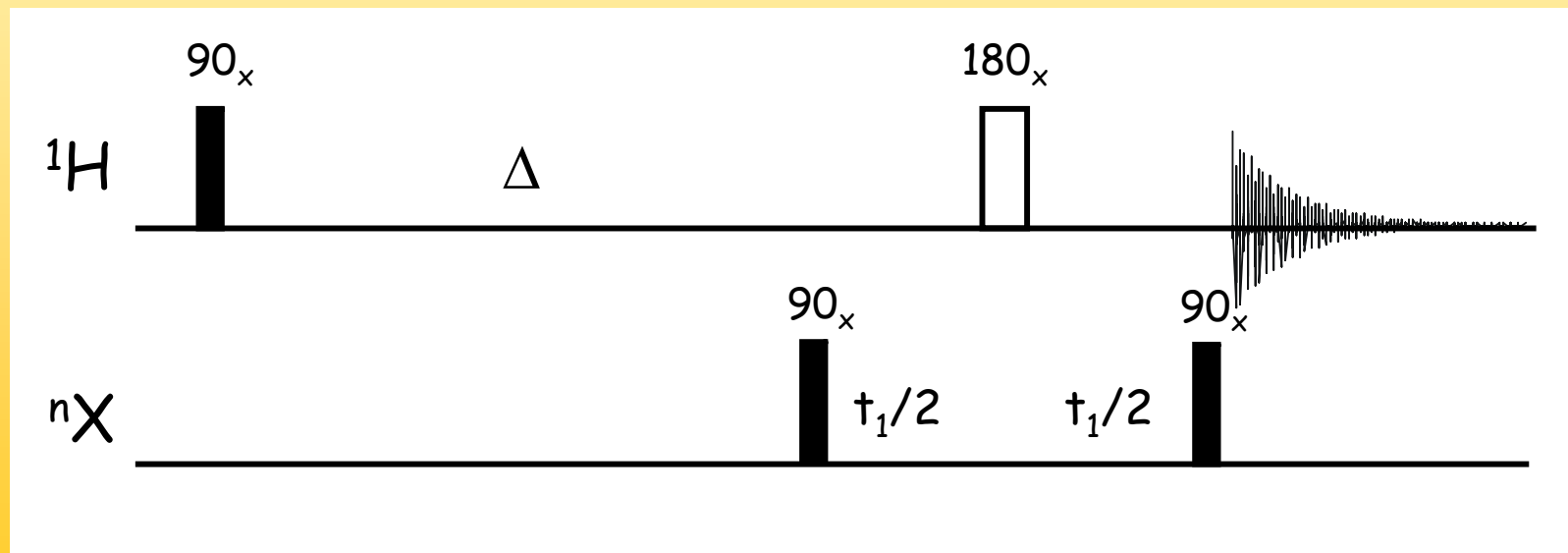
Heteronukleare NMR-Spektroskopie



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

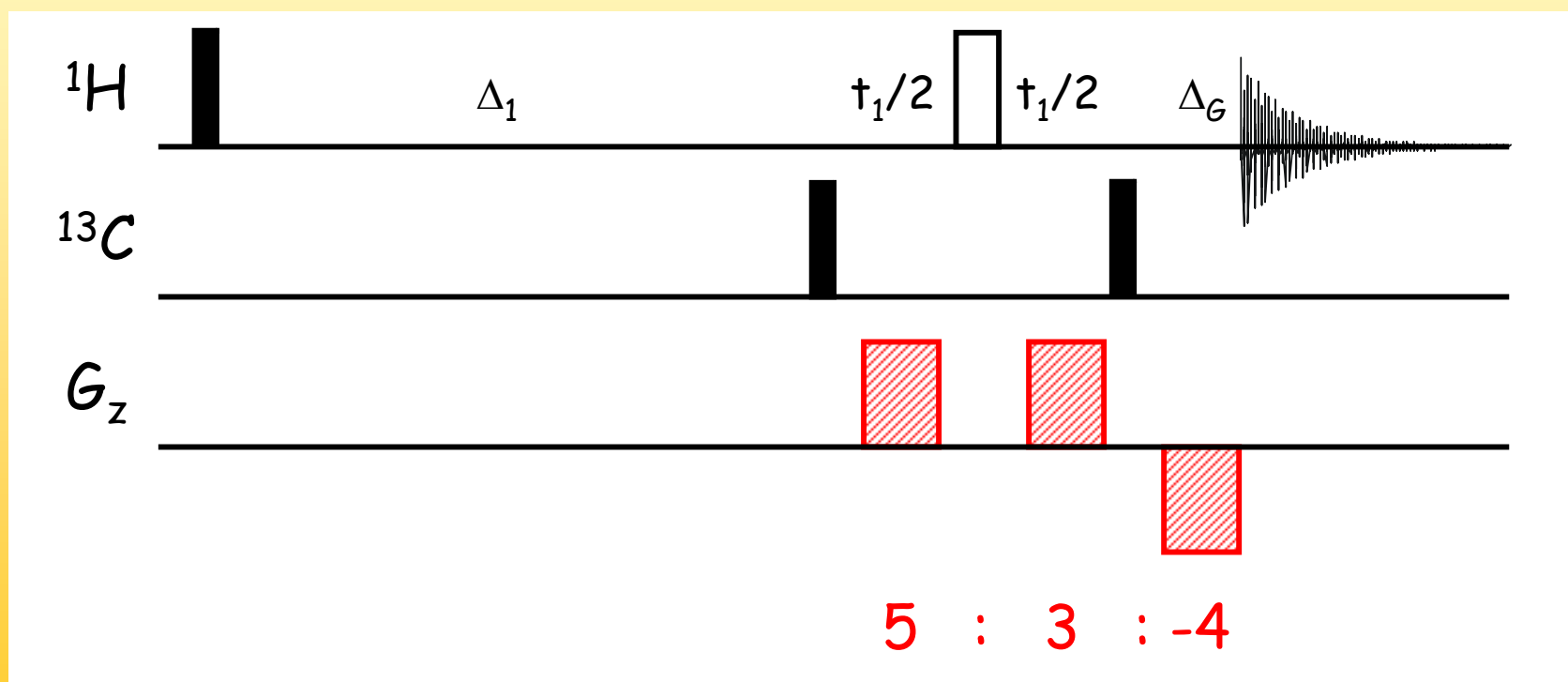
Heteronukleare NMR-Spektroskopie

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

Auch hier kann man wieder Gradienten benutzen um ^{13}C -gebundene Kerne zu selektieren



Heteronukleare NMR-Spektroskopie

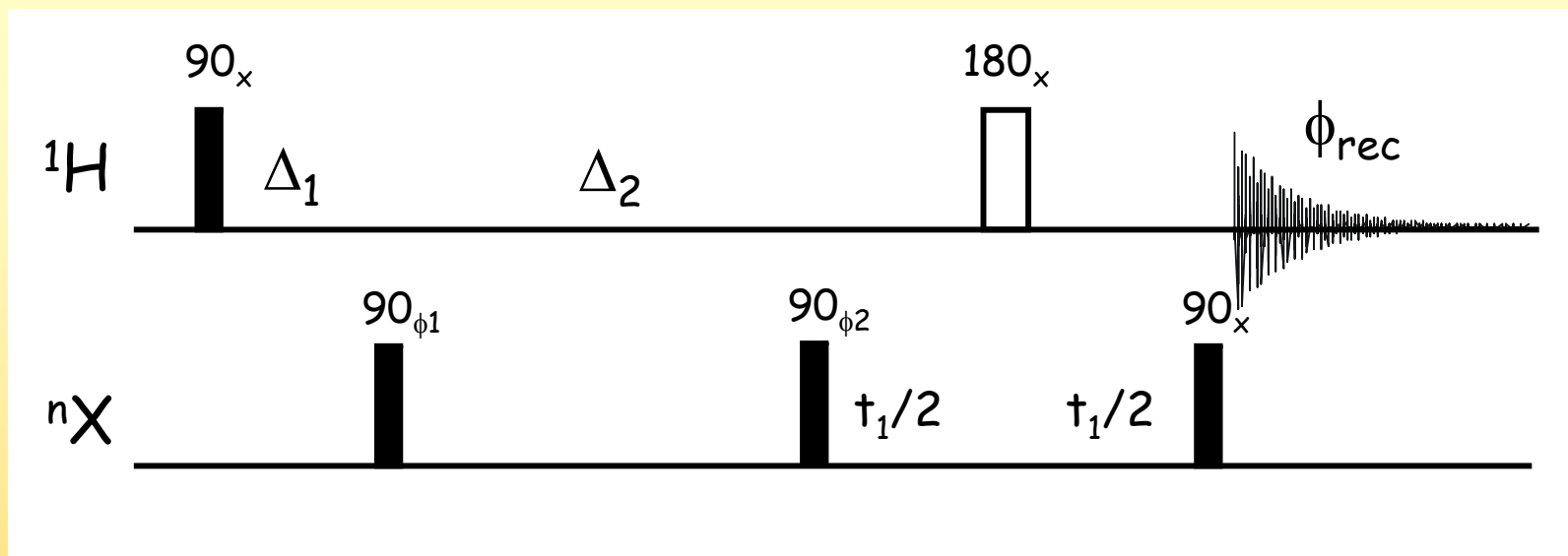
Was ist mit der $^1J_{HX}$ -Kopplung?

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



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

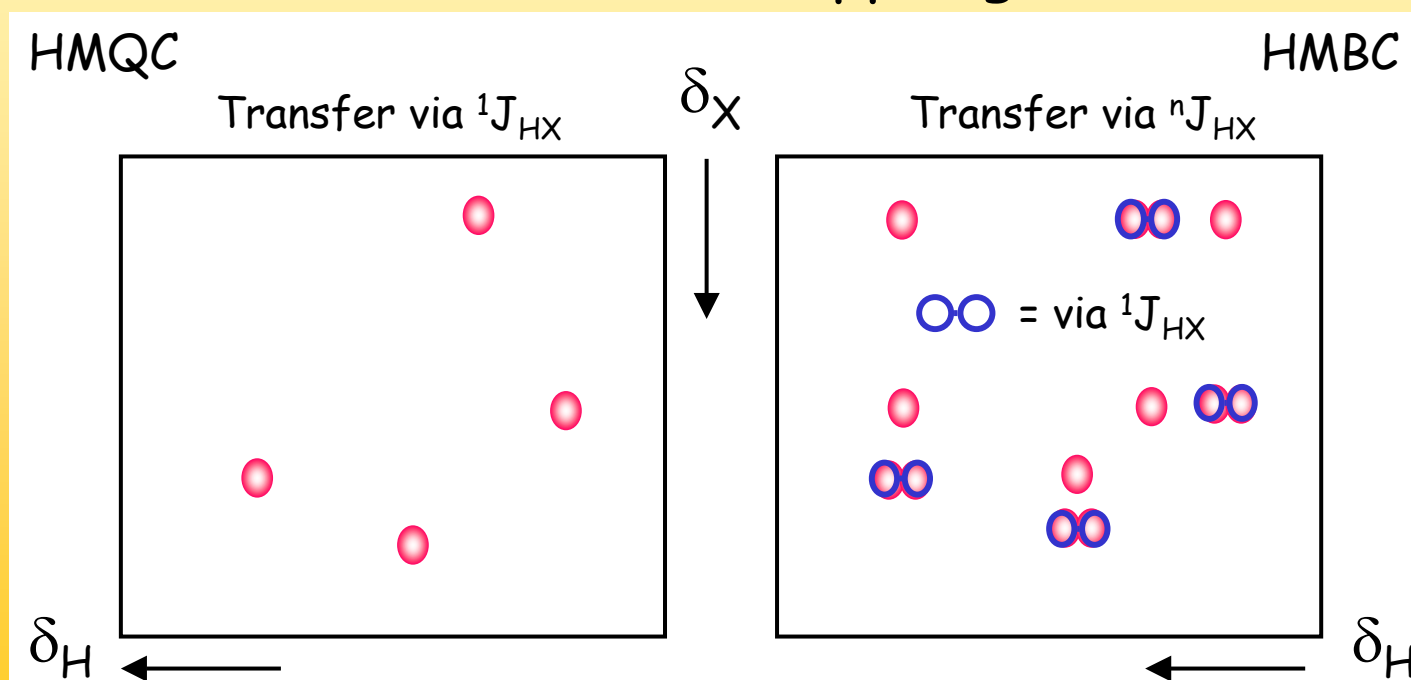
$$\phi_1 = x, x, -x, -x \longrightarrow \text{„low-pass-J“-Filter}$$

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

Heteronukleare NMR-Spektroskopie

HMBC = **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation

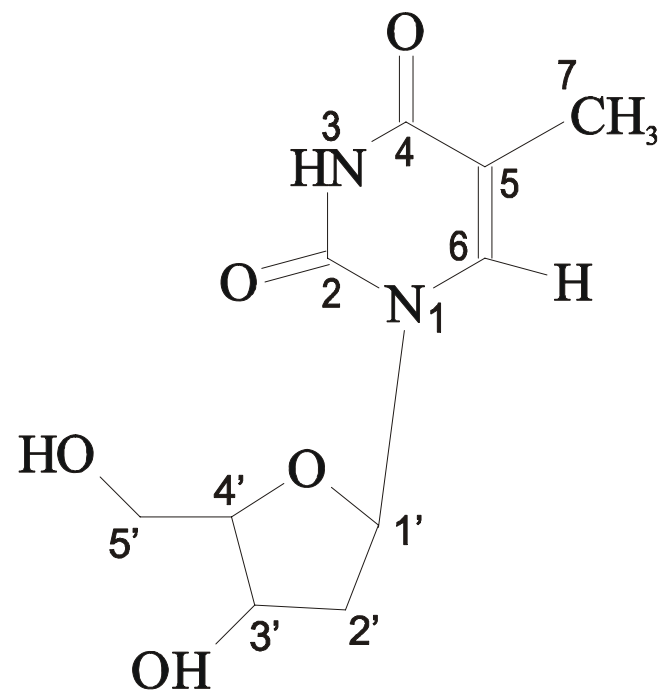
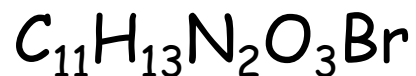
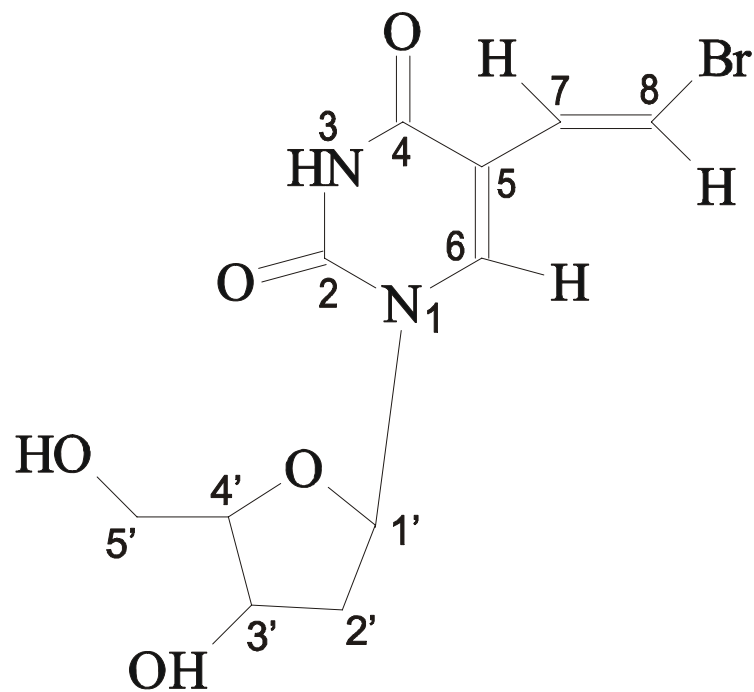
Es bleiben nicht unterdrückte Signale von den $^1J_{\text{HC}}$ übrig
als kleine Doubletts, andere Signale zeigen
Weitbereichskopplung an



Ein Beispiel

Ein Beispiel

Das Molekül



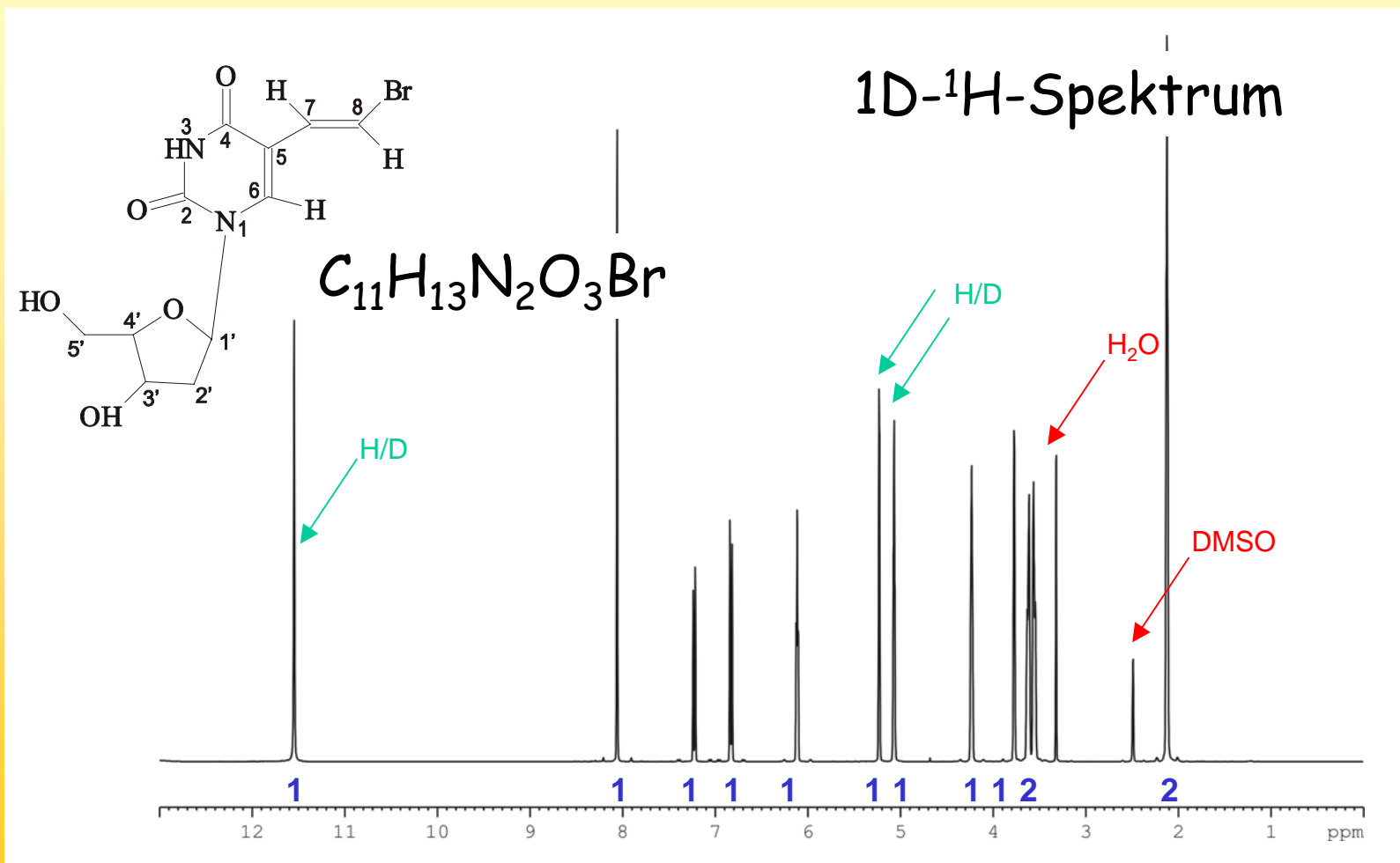
Desoxythymidin

Ein Beispiel

Die Experimente

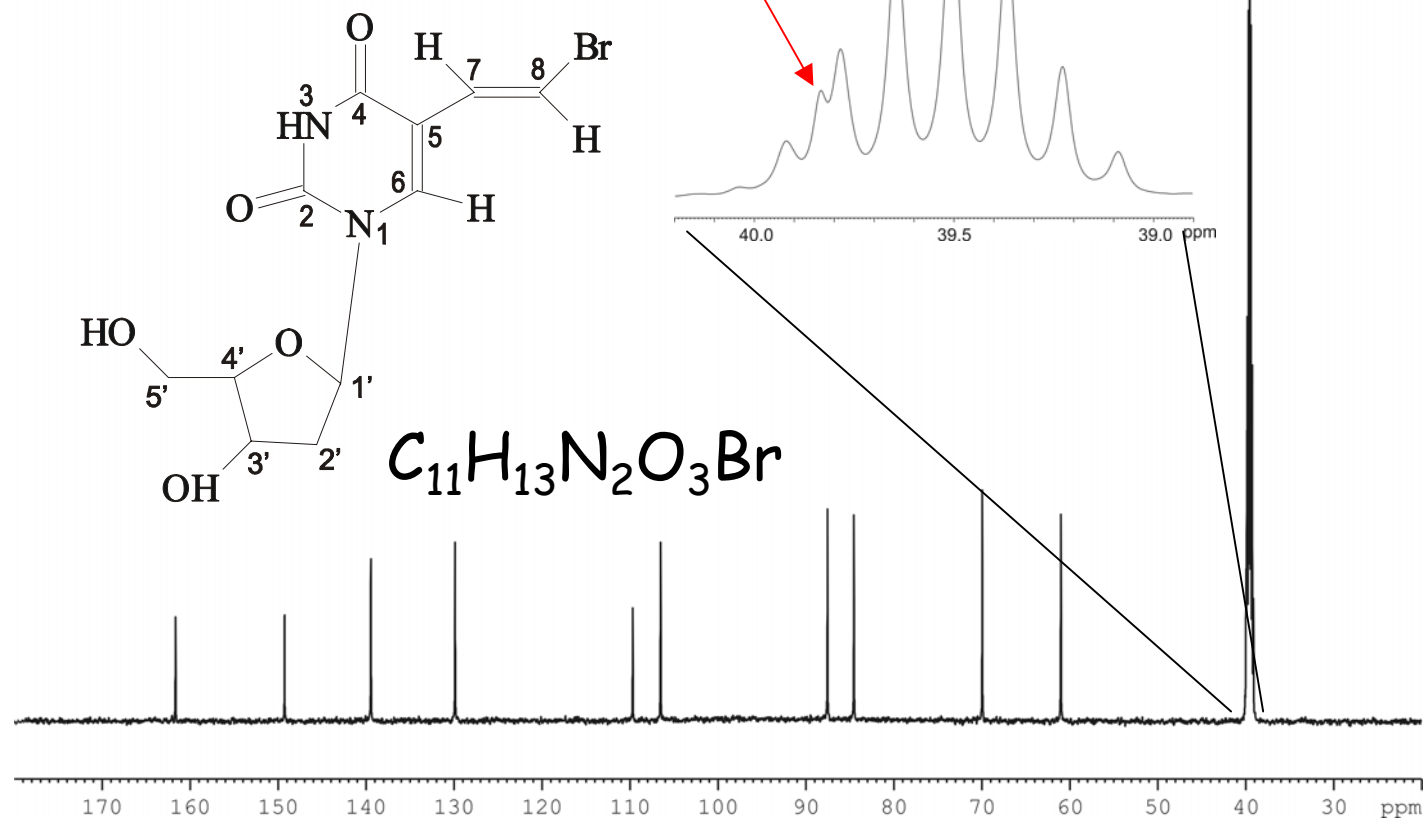
$1D-^1H$	1 min
$1D-^{13}C$	1 h
DEPT	10 min
COSY	10 min
^{13}C -HMQC	10 min
^{13}C -HMBC	50 min
^{15}N -HMQC	3 h
^{15}N -HMBC	35 h

Ein Beispiel

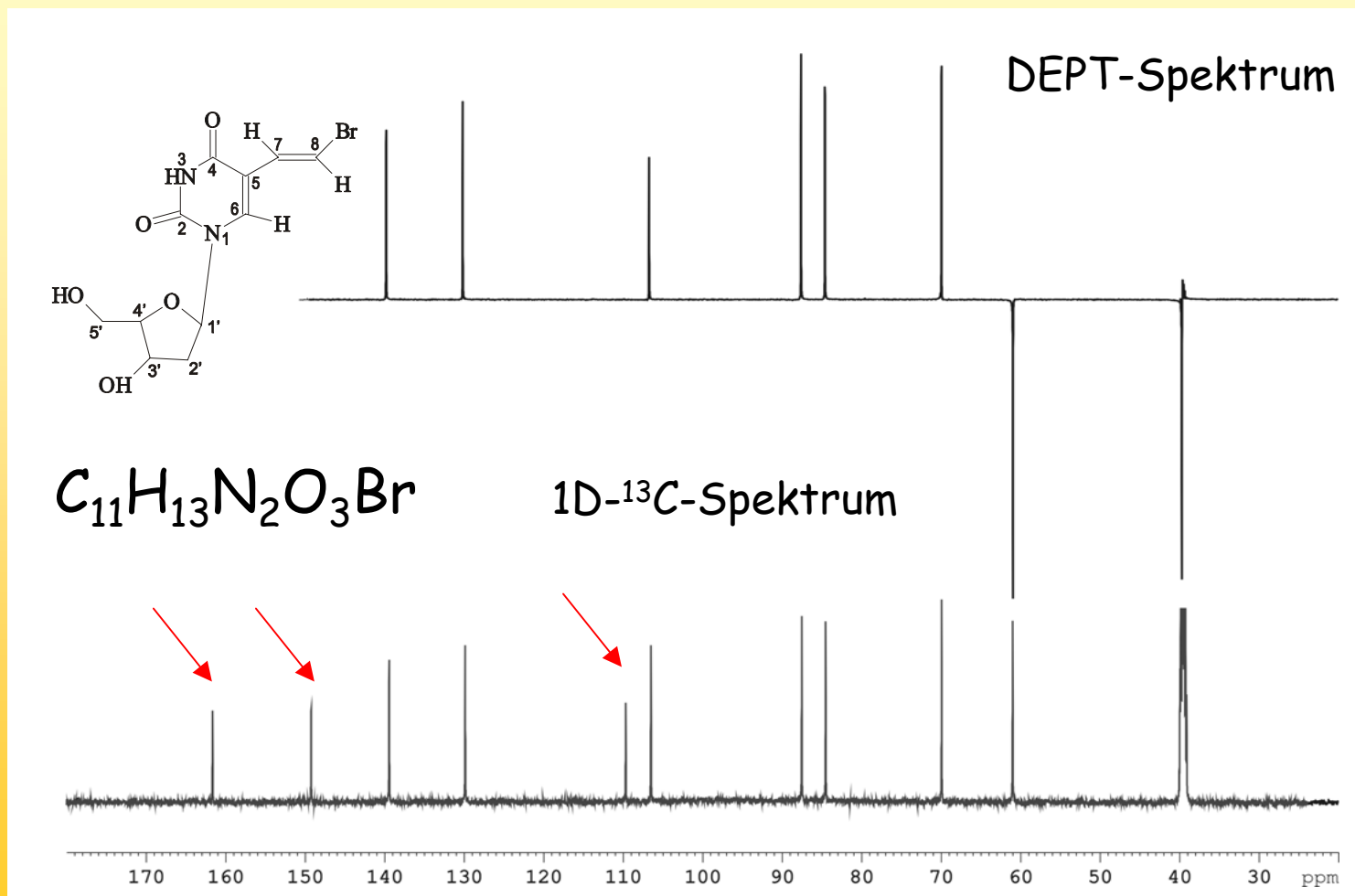


Ein Beispiel

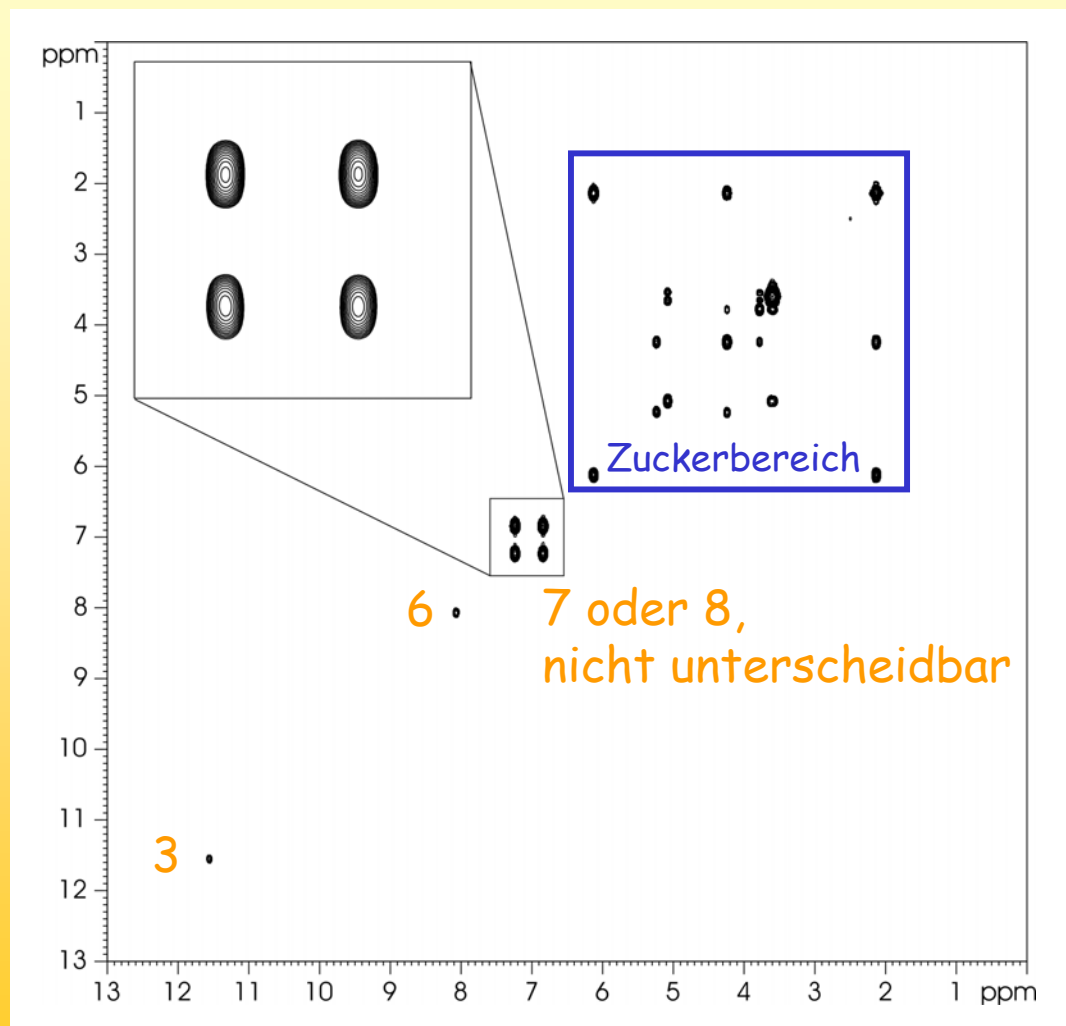
1D- ^{13}C -Spektrum



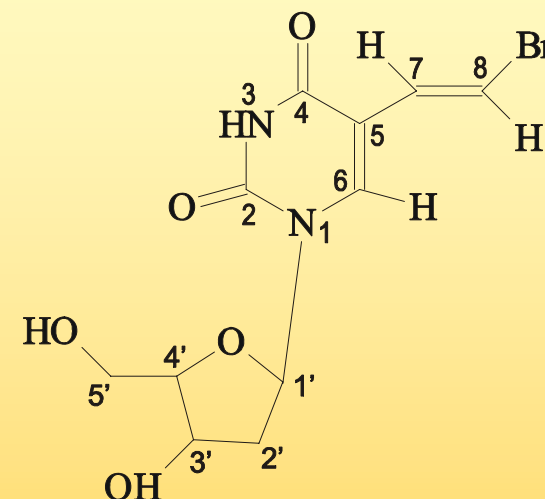
Ein Beispiel



Ein Beispiel

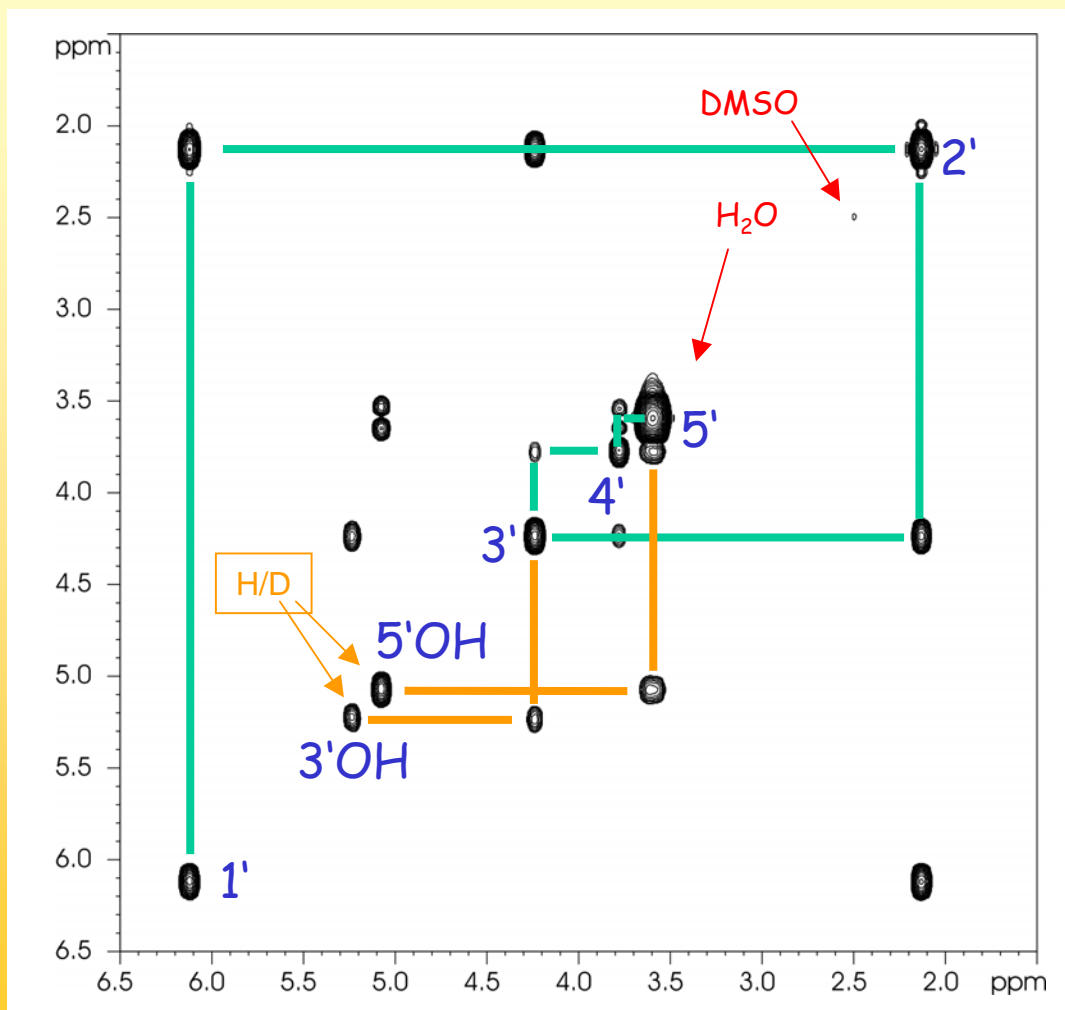


COSY

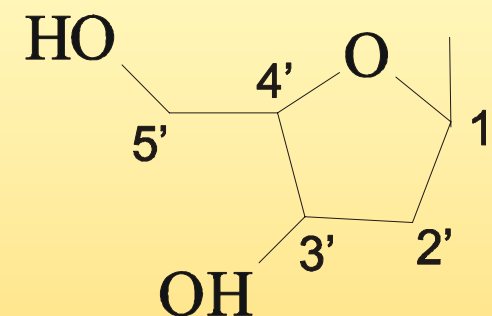


Korrelation von
Frequenzen via ^1H - ^1H -
Kopplung, i.a. nur zwei
oder drei Bindungen

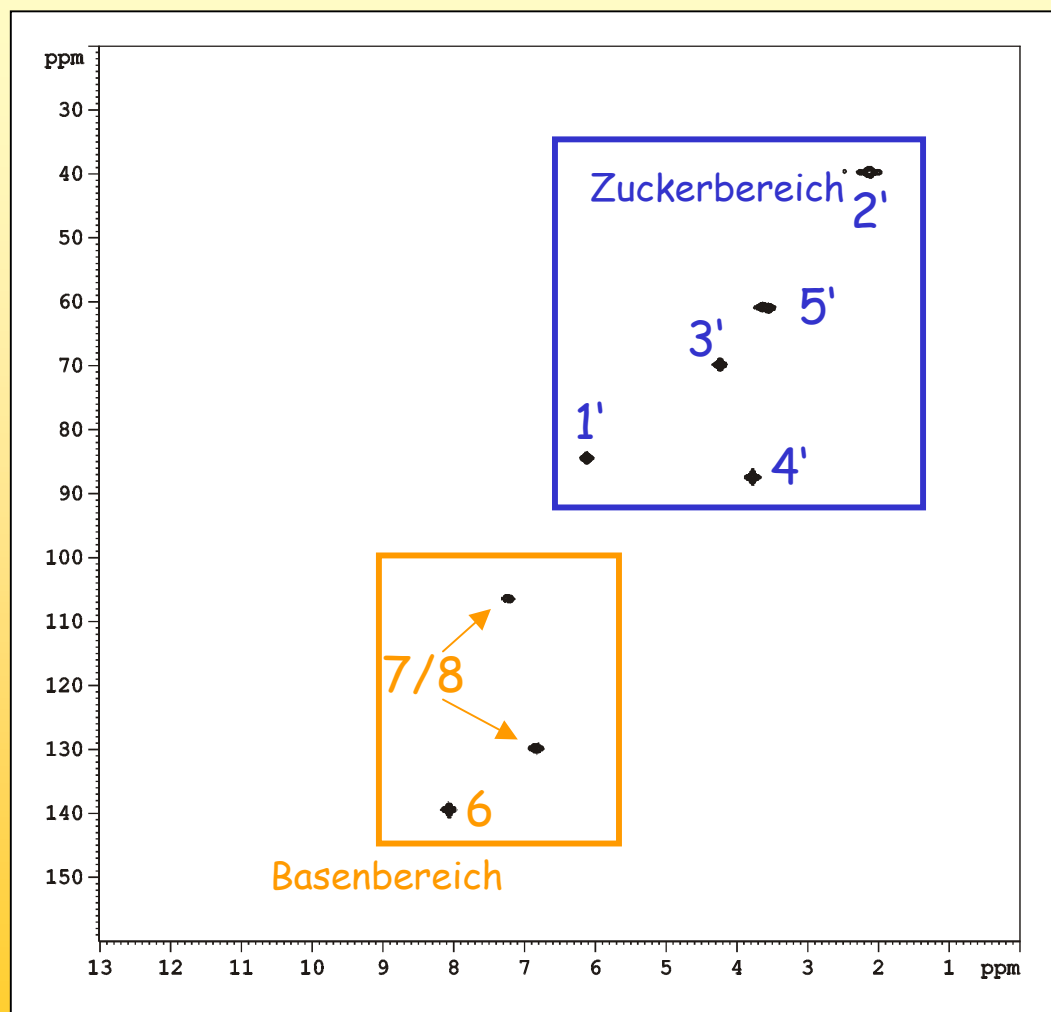
Ein Beispiel



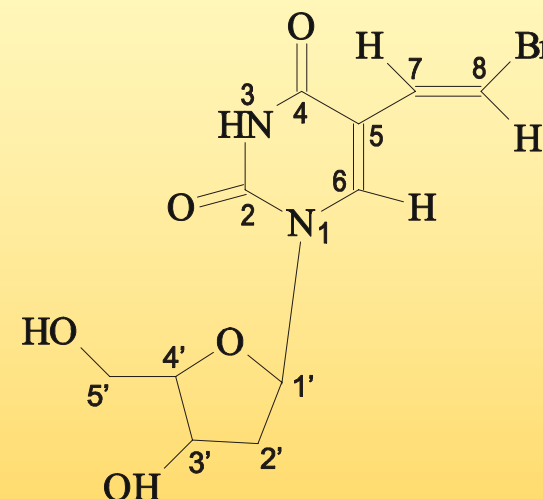
COSY



Ein Beispiel

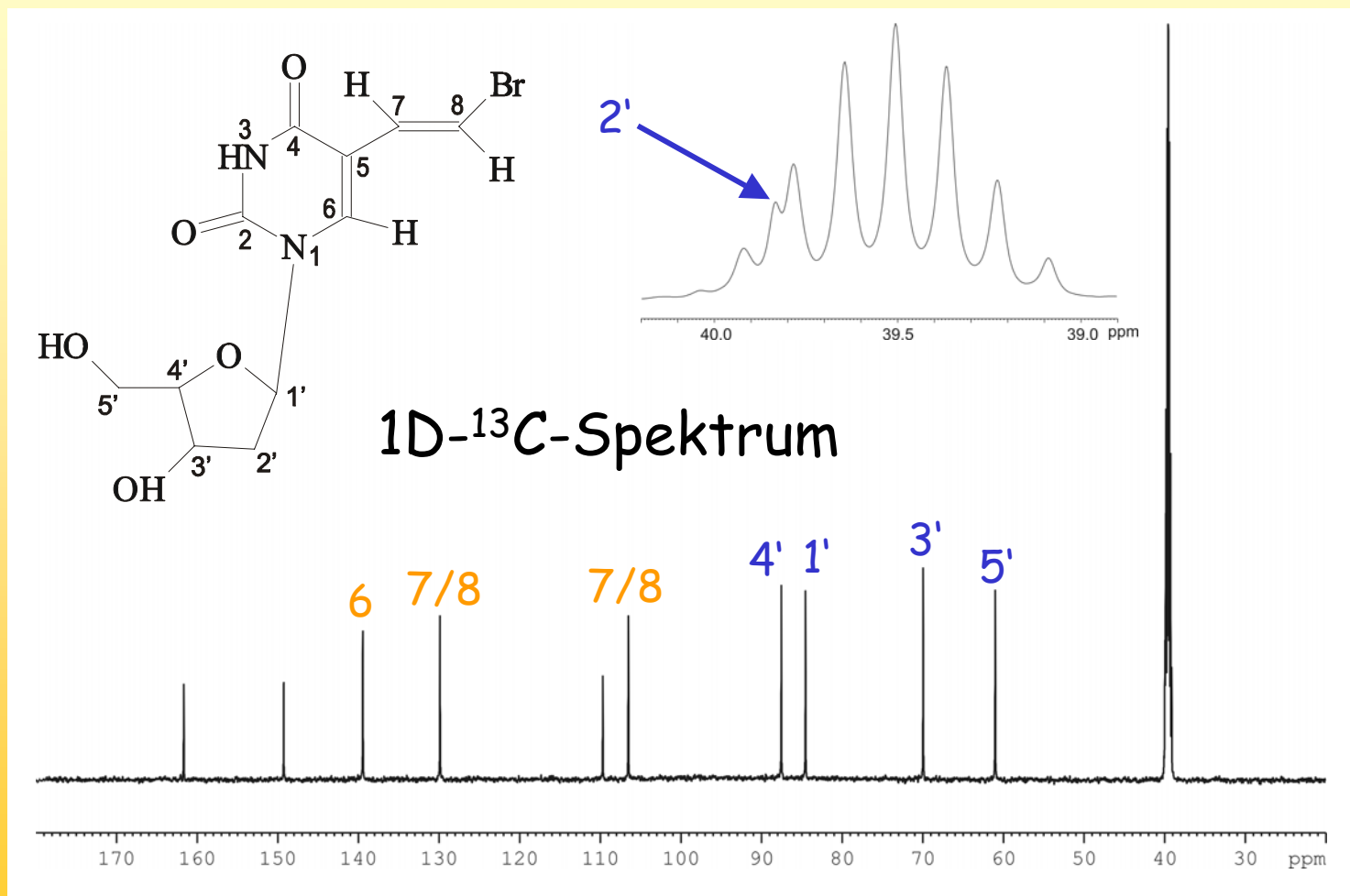


^{13}C -HMQC

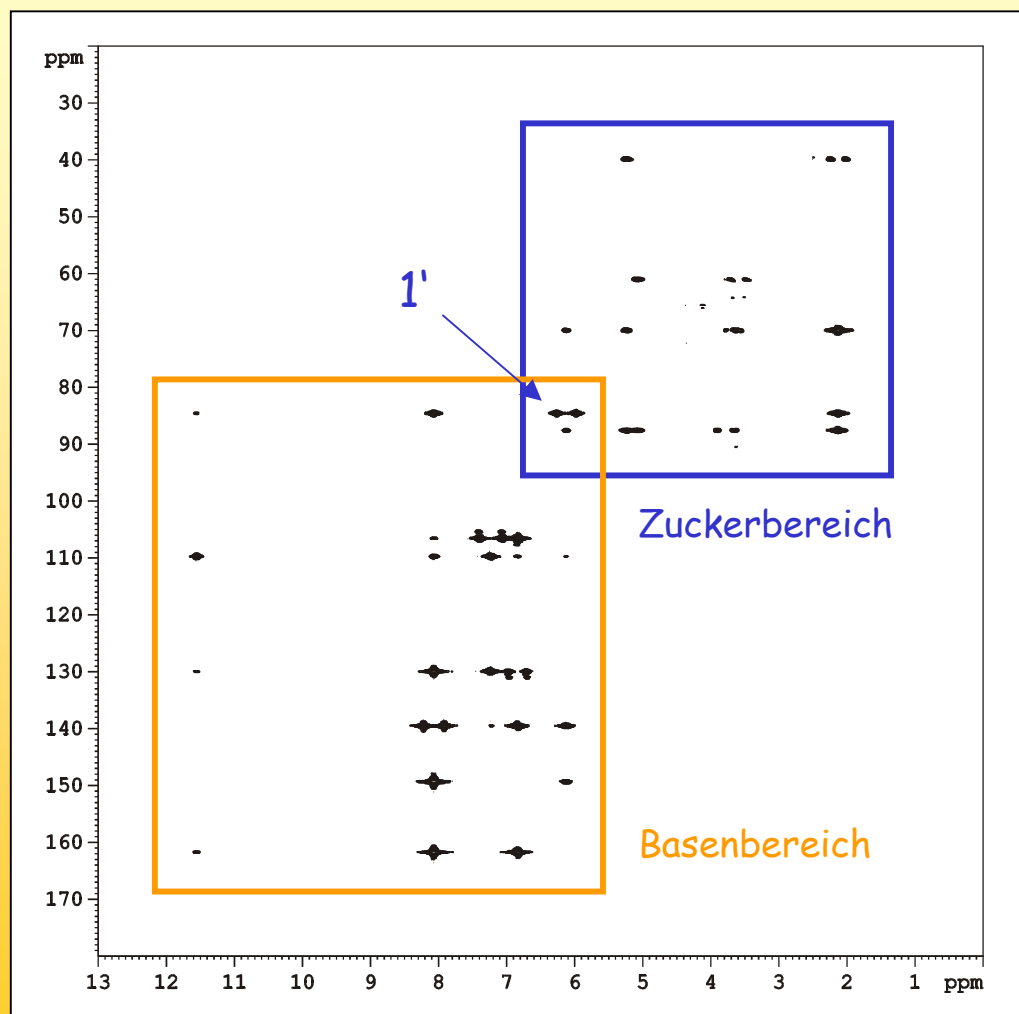


Korrelation von Frequenzen
via ^1H - ^{13}C -Kopplung, man
korreliert nur direkt
aneinander gebundene Kerne

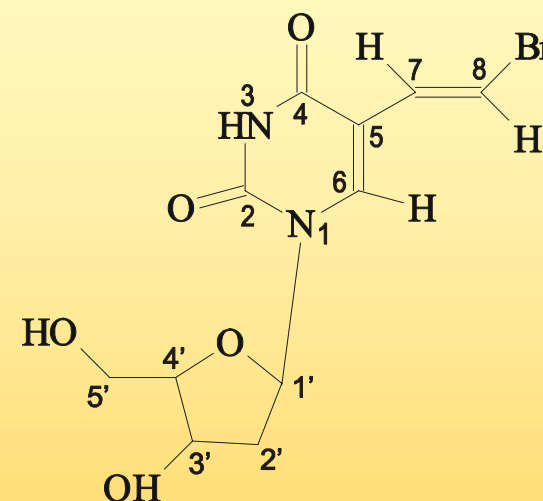
Ein Beispiel



Ein Beispiel

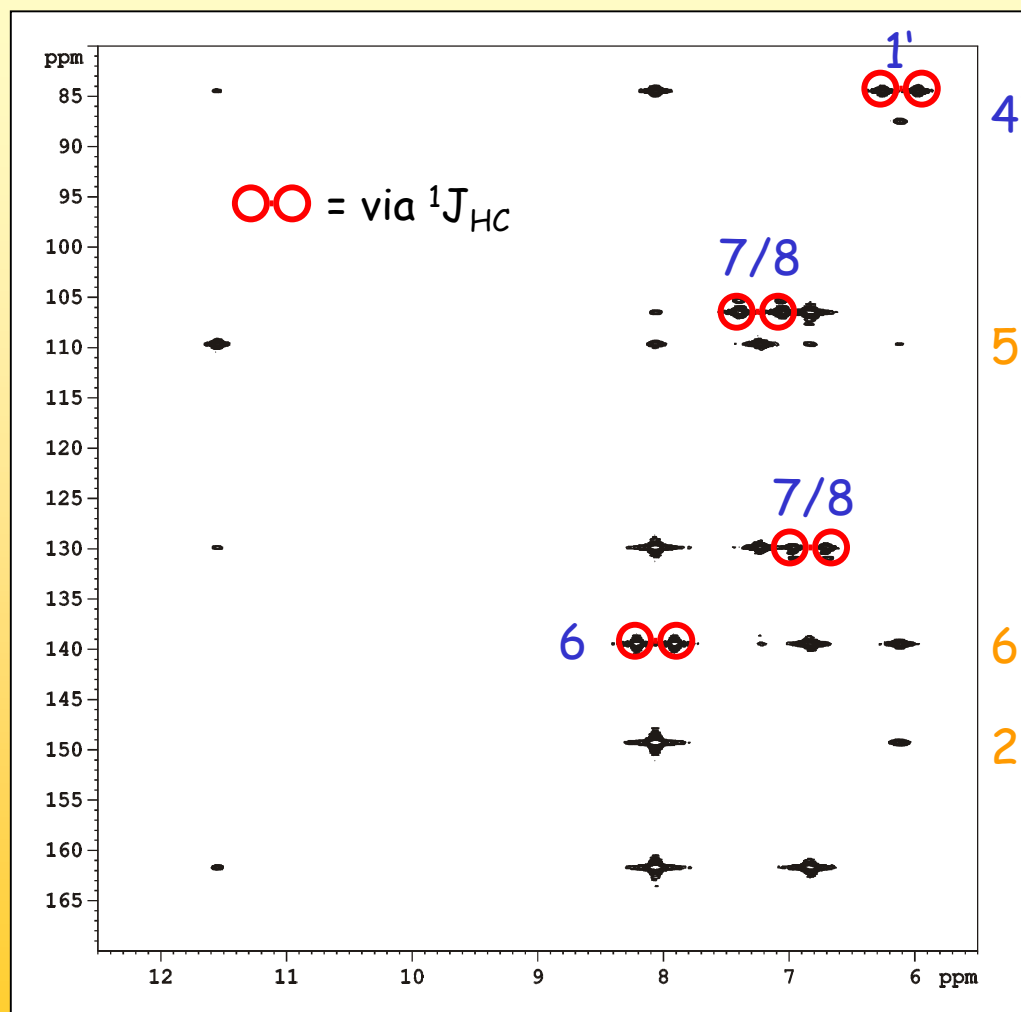


^{13}C -HMBC

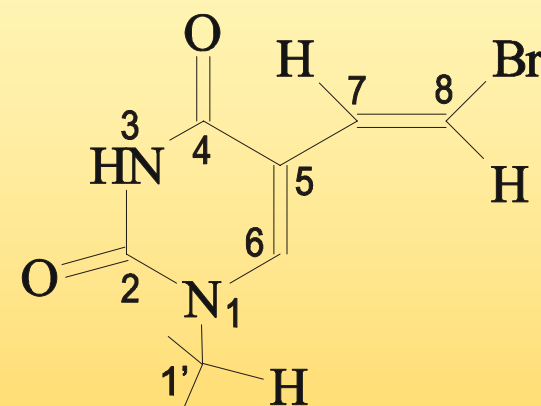


Korrelation von Frequenzen
via ^1H - ^{13}C -Kopplung, man
korreliert über bis zu 4
Bindungen ($^2J_{\text{HC}}$ bis $^4J_{\text{HC}}$),
 $^1J_{\text{HC}}$ gibt ein Dublett

Ein Beispiel

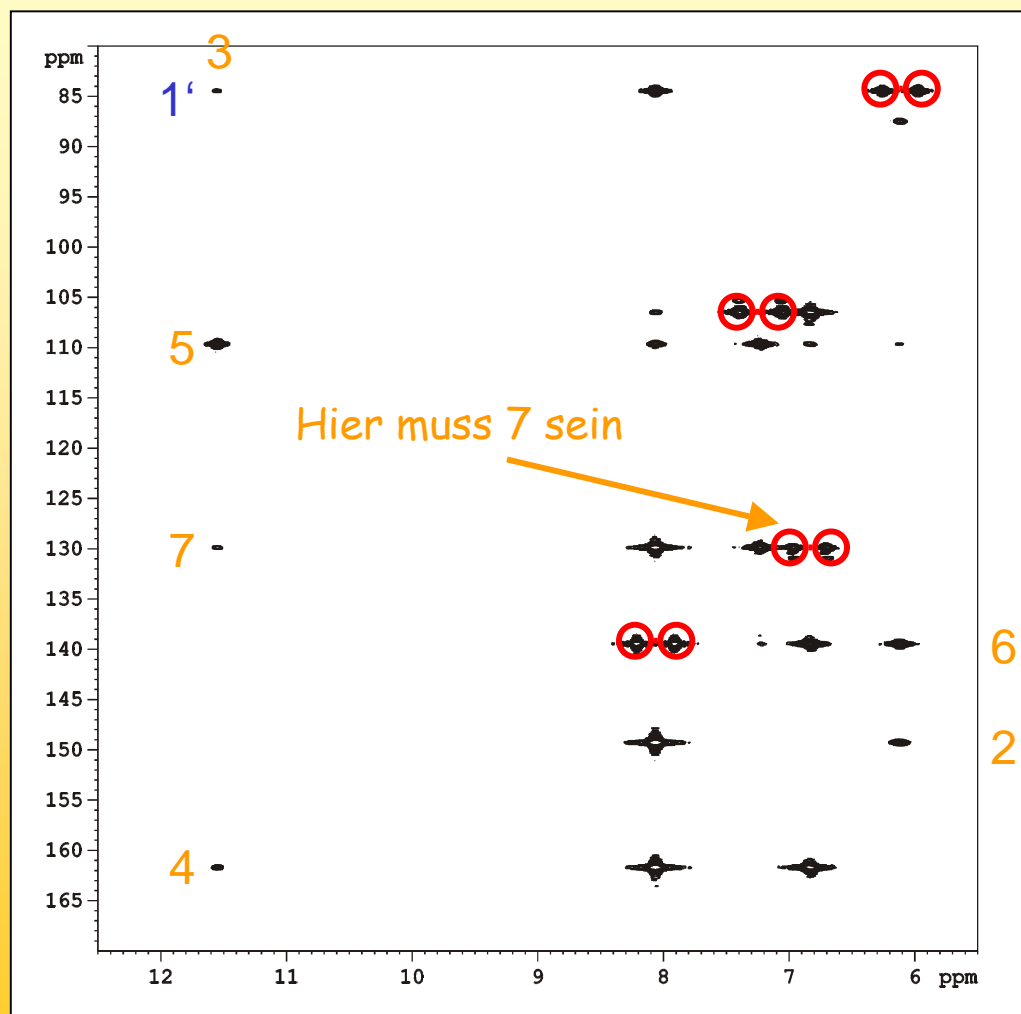


^{13}C -HMBC (Basenbereich)

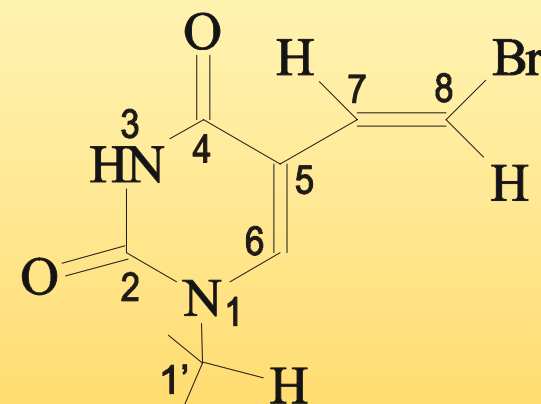


Korrelation ausgehend von
H1' Korrelation zu 5 ist
schwach und 5 ist von 7/8
aus zu sehen.

Ein Beispiel



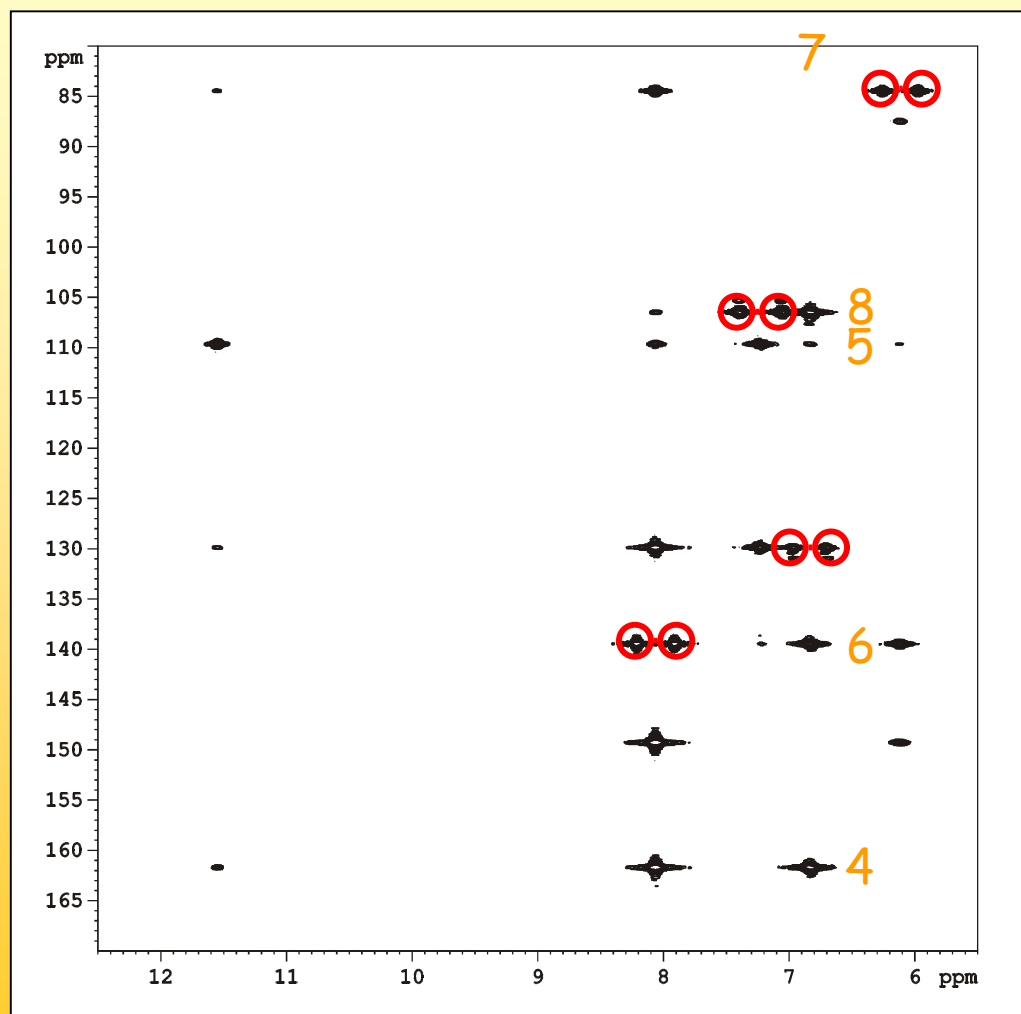
^{13}C -HMBC (Basenbereich)



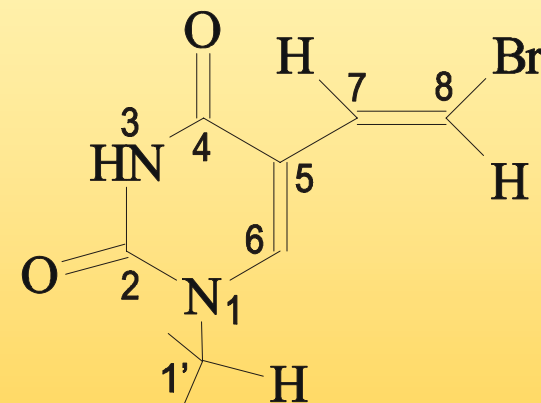
Korrelation ausgehend von H3

C2 fehlt !!

Ein Beispiel

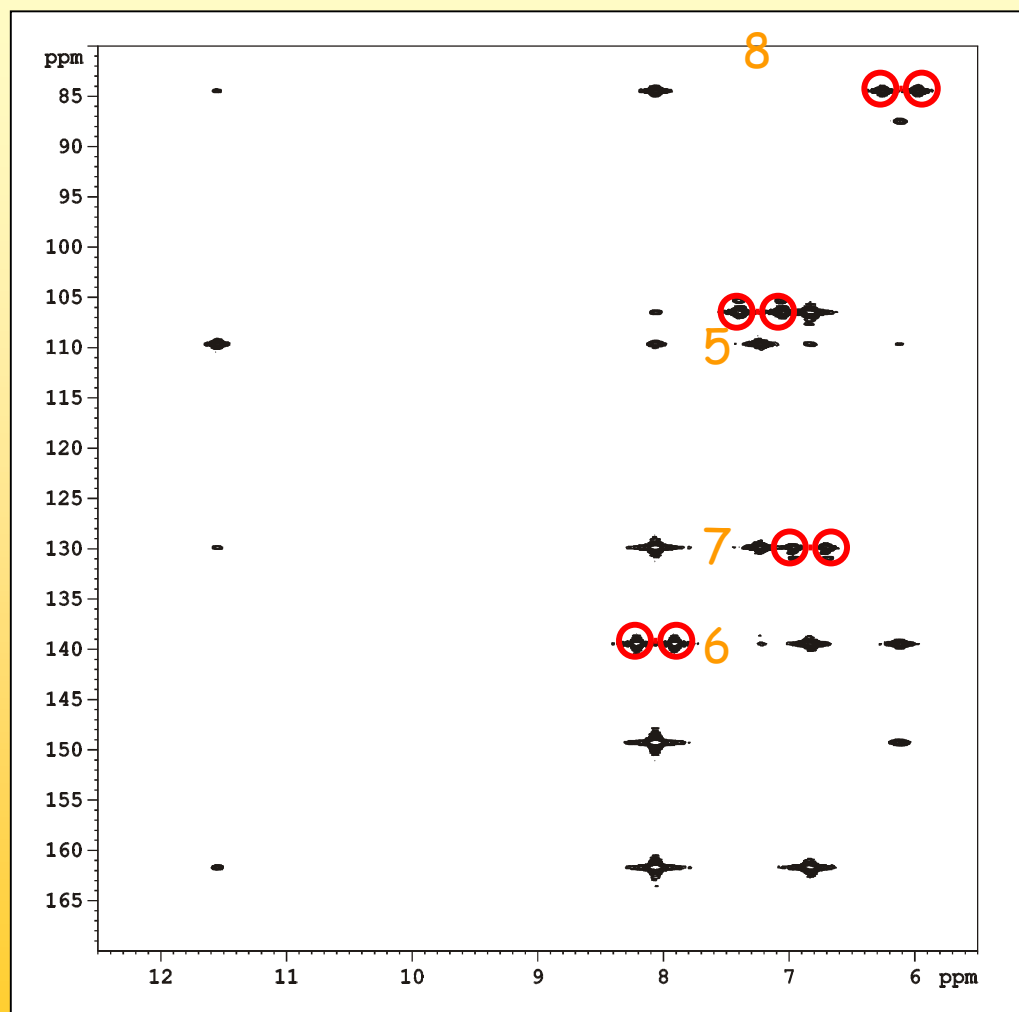


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

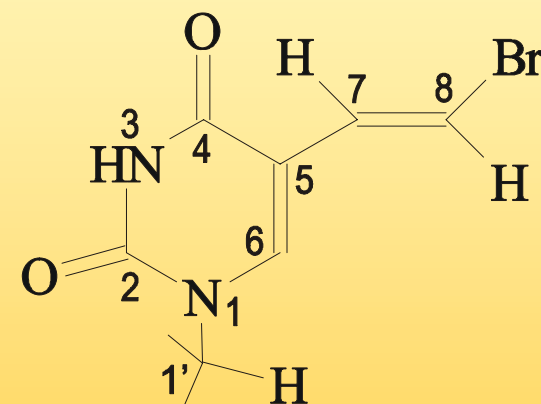


Korrelation ausgehend von H7,
das via H3 zugeordnet ist.

Ein Beispiel

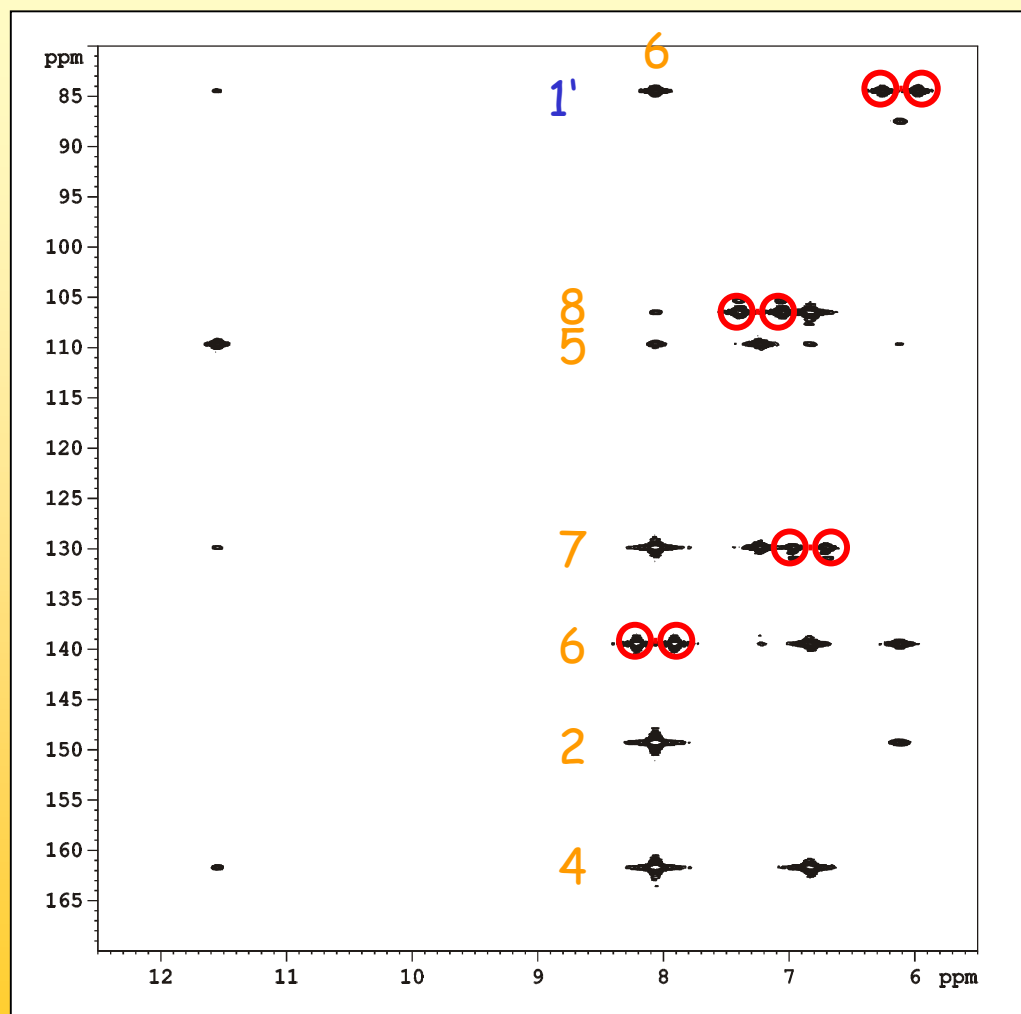


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

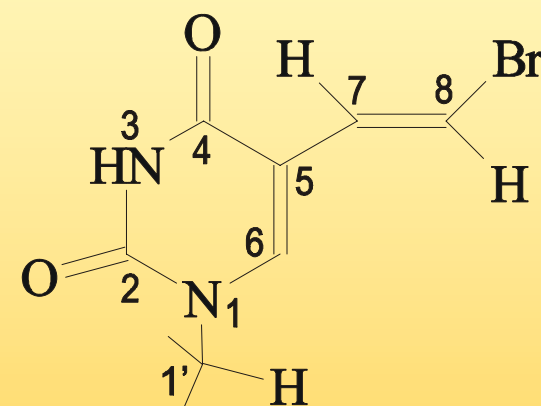


Korrelation ausgehend von H8,
das via H3/H7 zugeordnet ist.

Ein Beispiel

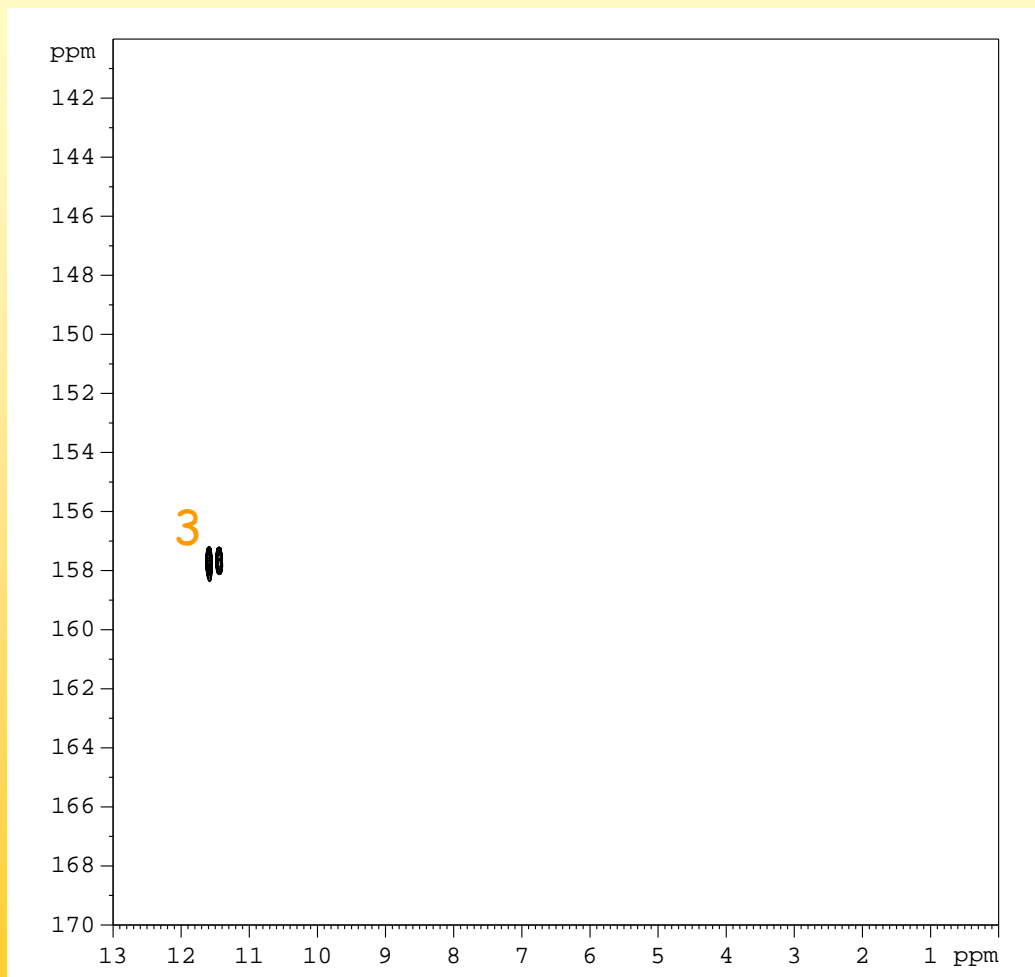


^{13}C -HMBC
(Basenbereich)

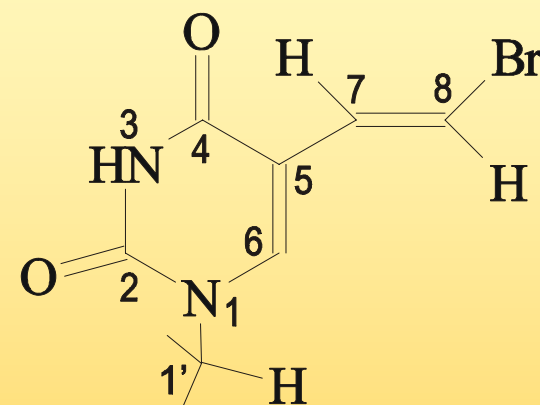


Korrelation ausgehend von
H6, alles ist zu sehen, das
hilft nicht beim Zuordnen,
es passt aber alles.

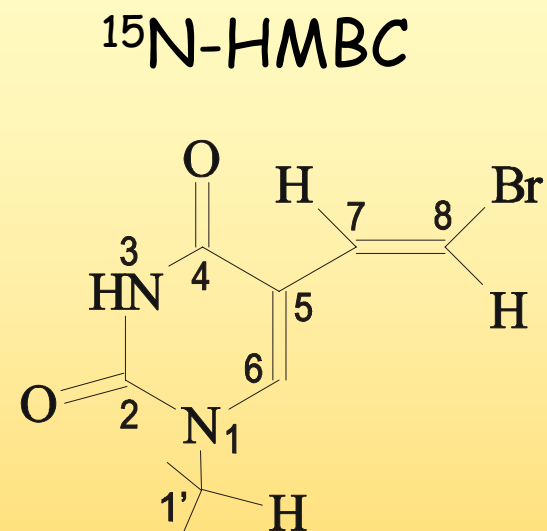
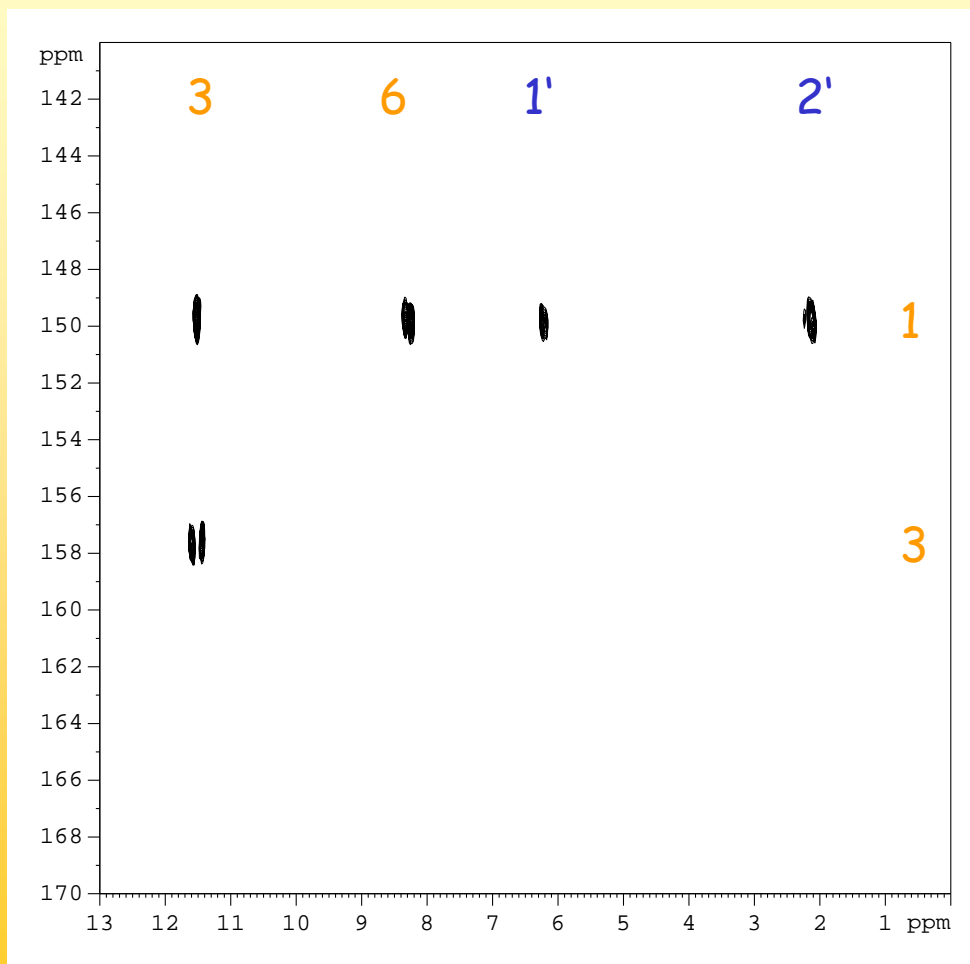
Ein Beispiel



^{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	$89,4 \pm 15,8$	-	-

That's it for today

Nächstes Mal:
NMR an Peptiden