

Bestimmung der Primärstruktur kleiner Moleküle mittels 1D-NMR-Spektroskopie

Zusammenfassung

Mit Hilfe von 1D ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren und gegebener Summenformel wird die Primärstruktur eines unbekanntes Moleküls bestimmt. Dabei werden Informationen aus J-Kopplung und chemischer Verschiebung genutzt.

Der Versuch findet am Campus Nord statt. Das Spektrometer hat eine Protonenresonanzfrequenz von 400MHz.

1 Theorie

1.1 Chemische Verschiebung

Die primäre Information, die die NMR-Spektroskopie in Flüssigkeiten liefert, ist die Resonanzfrequenzen der einzelnen Kerne, die Larmorfrequenz. Die Resonanzfrequenz ist direkt proportional zum umgebenden Magnetfeld $\omega = -\hbar \cdot \gamma \cdot \vec{B}$. Am Ort des Kerns wirkt allerdings nicht nur das äußere Magnetfeld. Die umgebenden Atome und Elektronen erzeugen Magnetfelder, die sich zum äußeren Feld hinzuaddieren. Jeder NMR-aktive Atomkern hat dadurch seine eigene charakteristische Resonanzfrequenz, die, dividiert durch eine Referenzfrequenz, als chemische Verschiebung dieses Kerns bezeichnet wird. Dies führt zu einer großen Bandbreite verschiedener Frequenzen, die meist im Spektrum aufgelöst werden können. Atome, mit ähnlicher chemischer Umgebung, zeigen dabei naturgemäß ähnliche chemische Verschiebungen. Zum Beispiel unterscheiden sich Wasserstoffprotonen, die Doppelbindungen benachbart sind, von solchen, die benachbart zu Einfachbindungen sind; Protonen in der Nähe elektronegativer Substituenten sind von denen in der Nähe elektropositiver Substituenten getrennt. So kann man für die organische Chemie einfache Regeln aufstellen, mit deren Hilfe sich die einzelnen Atome in einem Molekül bestimmten Frequenzbereichen zuordnen lassen. In vielen Lehrbüchern sind typische chemische Verschiebungen funktioneller Gruppen in Tabellarischer Form aufgeführt.

1.2 Kopplung zwischen Kernen

Während die chemische Verschiebung hauptsächlich durch die Elektronenhülle beeinflusst wird, führen NMR-aktive Kerne in der Umgebung zu einem weiteren Effekt, der als Kopplung bezeichnet wird. Bei der NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten ist

die sogenannte skalare Kopplung, traditionell als J -Kopplung bezeichnet, die wichtigste. Hierbei übertragen die Elektronen einer chemischen Bindung das magnetische Feld von einem Kern zum anderen. Das Resultat ist eine Aufspaltung der Signale gekoppelter Kerne; der Abstand (in Hz) wird Kopplungskonstante, J , genannt; Der Mittelpunkt der aufgespaltenen Signale wird weiterhin als chemische Verschiebung bezeichnet. Die Kopplungskonstante liefert wertvolle Informationen über die Art der Bindung zwischen Kernen sowie in manchen Fällen auch über den Winkel der Bindungen zueinander. Typische Kopplungskonstanten von H-H-Kopplungen sowie H-C-Kopplungen sind, ähnlich wie die chemischen Verschiebungen, in vielen Lehrbüchern zu finden. Die Kopplungskonstante zwischen zwei Kernen ist in beide Richtungen gleich groß, zwei Signale mit gleichen Kopplungskonstanten gehören oft zu benachbarten Kernen.

Bei Kernen mit $S = \frac{1}{2}$ führt jeder so gekoppelte Kern zu einer Verdoppelung der Linien. Wenn die Kopplungskonstanten zu mehreren Kernen gleich sind, überlagern sich die Linien und es werden $n + 1$ Linien durch n Nachbaratome beobachtet. Die relativen Intensitäten entsprechen der Summe der Überlagerung (vgl. Pascalsches Dreieck).

1.3 Kontrollfragen

- Was ist die Ursache der chemischen Verschiebung? Wodurch wird die jeweilige Multiplizität verursacht? Wie hängt das mit der Resonanzfrequenz des Kerns zusammen?
- Wie können wir von der Lage der Signale die Molekülstruktur bestimmen?
- Wie groß sind typischerweise Kopplungskonstanten von J Kopplungen?
- Was ist Tunen und Matchen? Was bedeutet Lock? Warum müssen wir Shimmen?
- Wie stehen Acquisition Time (aq), Dwell Time (dw), Sweep Width (sw) und Linienbreite miteinander in Zusammenhang?
- Wie berechnet man Doppelbindungsäquivalente?

2 Versuchsdurchführung

2.1 Vorbereitung

Die verwendeten Proben werden vom Assistenten in den Probenwechsler gestellt und in den Magneten geführt.

2.2 Spektrometereinstellungen

Tunen/Matchen Hierdurch wird die Radiofrequenz im Probenkopf auf die Probe eingestellt, um maximales Verhältnis von Signal zu Rauschen zu erhalten. Dafür werden jeweils eine Schraube für tune und match an der Unterseite des Probenkopfes bewegt. Bei dem verwendeten Spektrometer erfolgt dies elektronisch mit dem Befehl *atmm*.

Frequenzlock Um kleinere Schwankungen der Magnetfeldstärke auszugleichen wird im Hintergrund kontinuierlich ein Deuterium-Spektrum aufgenommen und automatisch ausgewertet. Bei Abweichungen wird das Magnetfeld durch eine kleine Spulen korrigiert. Die Aktivierung erfolgt durch den Befehl *lock*.

Shimmen Die räumliche Homogenität des Magnetfeldes ist meist der limitierende Faktor für die Auflösung eines Spektrums. Sie wird durch den Einsatz sogenannter Shimspulen verbessert. Hierfür wird das BSMS-Fenster (Befehl *bsmsdisp*), oder ein spezielles Programme verwendet (*topshim*). Es wird ein Spektrum vor und nach dem Shimmen aufgenommen um die Verbesserung der Auflösung bewerten zu können.

2.3 Bestimmung der Pulslänge

Für die Bestimmung der Pulslänge wird zunächst ein Spektrum mit einer typischen Pulslänge/-leistung aufgenommen ("9u", 7dB). Dann wird die Senderfrequenz, *o1p*, und die spektrale Breite, *sw*, eingestellt. Die Pulslänge wird nun auf das vierfache verlängert und erneut ein Spektrum aufgenommen. Danach wird die Pulslänge so verändert, dass die Signalintensität des zentralen Signals fast Null ist. Zum schnellen Ändern der Pulslänge kann der Befehl *p1* verwendet werden. Die ermittelte Pulslänge entspricht nun einem 360°-Puls und wird für den 90°-Puls durch vier geteilt.

2.4 weitere Parameter

Die weiteren Parameter wie Akquisitionszeit, Relaxationsdelay, Anzahl der Scans, etc. werden beim ersten Spektrum zusammen mit dem Assistenten eingestellt, danach durch kopieren des Datensatzes weiterverwendet.

2.5 Datenstruktur in Topspin (verwendete Software)

Spektren werden in Topspin in Datensätze gegliedert, die durchnummeriert sind (expno). Jeder Datensatz enthält einen FID und kann mehrere daraus prozessierte Spektren erhalten, die wiederum durchnummeriert sind (procno). *edc* legt einen neuen Datensatz an. Hierbei können die Einstellungen des aktiven Datensatzes kopiert werden. *wrp n* kopiert das aktuelle Spektrum in eine neue Prozessierungsnummer (procno). Der Befehl *zg* führt das aktive Experiment aus. Die Prozessierung erfolgt je nach verwendeter Fensterfunktion durch die Befehle *efp* oder *gfp*. Das Spektrum wird hierbei in die aktive Prozessierungsnummer geschrieben.

2.6 Spektren

Es wird ein eindimensionales Protonenspektrum sowie ein ¹³C-Spektrum aufgenommen.

3 Auswertung

3.1 Berechnung der Doppelbindungsäquivalente

Aus der Summenformel lässt sich die Anzahl geschlossener Strukturelemente berechnen. Dies können Ringe oder Mehrfachbindungen sein. Benzol z. B. hat 4 DBE, drei

Doppelbindungen und einen Ring. Aceton hat 1 DBE, eine C-O-Doppelbindung. Aus der Summenformel $C_cH_hN_n$ wird die Anzahl nach

$$\text{DBE} = \frac{2c - h + n + 2}{2} \quad (1)$$

berechnet.

3.2 Erstellen einer Peakliste

Aus den Spektren wird eine Peakliste erstellt (^1H und ^{13}C). Darin soll die chemische Verschiebung, die Struktur der Kopplungsaufspaltung (Multiplizität), die gemessenen HH-Kopplungskonstanten, die CH-Kopplungskonstante und das Integral des Signals. Teilweise können kompliziertere Kopplungsmuster mit mehreren Kopplungskonstanten auftreten, die jeweils notiert werden sollen. Für die Liste lohnt es sich, unterschiedlich bearbeitete Spektren zu verwenden.

Aus den Kopplungen werden nun mögliche Teile des Moleküls zusammengesetzt. Hierbei können auch Tabellen zu chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten genutzt werden. Wenn möglich werden Signale aus Protonen- und ^{13}C -Spektren einander zugeordnet. Wichtige Schritte, Überlegungen und Annahmen werden dabei notiert.

Mithilfe der Doppelbindungsäquivalente und Summenformel werden die Molekülfragmente zu einem Gesamtmolekül zusammengesetzt. Gegebenenfalls werden mehrere Kandidaten, jeweils mit Begründung, formuliert.

4 Protokoll

Das Protokoll soll folgende Punkte enthalten:

- Kurze Einleitung zur verwendeten Methode
- Beschreibung des durchgeführten Versuchs (was wurde getan?)
- Die erhaltenen Spektren (hierfür bitte einen USB-Stick mitbringen)
- Die Peakliste mit Zuordnung der Peaks zu den einzelnen Atomen. Dazu am besten die Molekülstruktur zeichnen.
- Stichwortartige Begründung der Zuordnung und Herleitung der Strukturbestimmung.
- Bewertung der Ergebnisse mit Fehlerdiskussion
- Quellen und Abbildungsverzeichnis

5 Literaturvorschlag

- Friebolin, H. (2013): *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*. WILEY-VCH, Weinheim
- Günther, H. (1992): *NMR-Spektroskopie*. Thieme, Stuttgart
- Keeler, J. (2010): *Understanding NMR Spectroscopy*. WILEY, Chichester
- Lottspeich, F., Engels, J.W. (2012): *Bioanalytik*. Springer, Heidelberg