

NMR-Strukturaufklärung

Theorie:

In diesem Versuch lernen Sie drei gebräuchliche 2D Experimente kennen, die zur Zuordnung der chemischen Verschiebungen in einem Molekül und zur Bestimmung der Raumstruktur genutzt werden das $^1\text{H}^1\text{H}$ -TOCSY, das $^1\text{H}^1\text{H}$ -NOESY und das $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC. Mit Hilfe dieser Experimente werden wir eine Zuordnung für das Molekül Vincamin erstellen.

Zweidimensionale (2D) NMR-Spektroskopie

Wird die Anzahl der Frequenzen in einem Molekül hoch oder überlagern sich die Frequenzen (z.B. weil zwei chemisch ähnliche Fragmente im Molekül vorkommen), so kann man die Peaks durch Aufnahme einer zweiten Dimension auflösen. Praktisch wird dies erreicht, indem man das normale eindimensionale (1D) NMR-Experiment wiederholt und dabei einen Zeitabschnitt innerhalb des Experiments variiert, i.d.R. gleichmäßig erhöht. Man nimmt auf diese Weise meist mehr als hundert 1D-Spektren auf, die dann zu einem 2D-Spektrum kombiniert werden. In einem homonuklearen 2D-Spektrum findet man das gewohnte 1D-Spektrum wieder: als Projektion sowohl in der direkten (x-Achse) als auch indirekten Dimension (y-Achse) sowie als Diagonale. Ober- und unterhalb der Diagonalen findet man die Kreuzpeaks, die die für Zuordnung und Strukturrechnung interessante Information bergen. Ein Kreuzpeak bedeutet, dass die dazugehörigen zwei Kernspins während des Experiments Magnetisierung ausgetauscht haben. Auf welche Weise dieser Magnetisierungsaustausch stattfindet, wird durch den Experimenttyp festgelegt. Kennt man die Zuordnung, kann man an den Frequenzwerten das Kernspinpaar ablesen. Kennt man die Frequenz eines bestimmten Spins, so liest man umgekehrt im 2D-Spektrum alle seine Partner ab und kann deren Frequenz somit bestimmen.

$^1\text{H}^1\text{H}$ -TOCSY

Hier erfolgt der Magnetisierungsaustausch durch die skalare Kopplung, d.h. über chemische Bindungen zwischen den Kernen. Da die skalare J-Kopplung bei mehr als drei Bindungen zwischen den beteiligten Spins sehr schwach wird, findet der Transfer i.d.R. nur zwischen Protonen statt, die über zwei oder drei chemische Bindungen miteinander verbunden sind. Ausgehend von jedem Spin wird die Magnetisierung während des Experiments von Spin zu Spin übertragen, sodass - bei ausreichender Zeit - alle Protonen eines Spinsystems miteinander korreliert werden.

$^1\text{H}^1\text{H}$ -NOESY

Im NOESY-Experiment treten Kernspins nicht über skalare, sondern über dipolare Kopplung in Wechselwirkung. Diese wirkt direkt durch den Raum und wird nicht durch chemische Bindungen vermittelt. Der Magnetisierungstransfer wird Kern-Overhauser-Effekt (englisch Nuclear Overhauser Effect, NOE) genannt.

Das NOESY-Spektrum sieht ähnlich wie das TOCSY aus, die Intensität der Kreuzpeaks ist hier aber nur von der räumlichen Entfernung zweier Spins abhängig. Der maximale Abstand ist abhängig von den Relaxationseigenschaften des Moleküls und meist mit 5–6 Å angegeben. Das NOESY-Experiment ermöglicht es, getrennte Spinsysteme, zwischen denen die skalare Kopplung zu klein für TOCSY-Transfer ist, zu verbinden. Der Transfer durch NOE zwischen zwei Spins ist proportional zu r^{-6} und wird zur präzisen Bestimmung relativer intramolekularer Entfernungen in der Struktur- und Konformationsaufklärung großer und kleiner Moleküle verwendet.

$^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC (multiplicity edited)

Das Prinzip der 2D NMR kann man auch auf heteronukleare Experimente übertragen. Im HSQC findet der Magnetisierungsaustausch über die skalare Kopplung zwischen einem Proton und dessen direkt gebundenen Kohlenstoff statt. Im HSQC sind somit Korrelationen für CH, CH₂ und CH₃-Gruppen zu sehen, während quartäre Kohlenstoffe nicht enthalten sind, da ein direkt gebundenes Proton fehlt. Ein Kreuzpeak zeigt auf der x-Achse die chemische Verschiebung des Protons und auf der y-Achse die des Kohlenstoffs. Anders als im homonuklearen Fall ist hier keine Diagonale zu erwarten. Im sogenannten „multiplicity edited“ HSQC kann zudem sehr einfach zwischen CH₂-Gruppen (negative Kreuzsignale) und CH/CH₃-Gruppen (positive Kreuzsignale) unterschieden werden.

Quellen und weiterführende Literatur:

- J. Keeler, Understanding NMR Spectroscopy (2nd edition, section 8.7 HSQC, section 8.11 TOCSY, section 9.7.4 NOESY) (oder in reduzierter Form: www-keeler.ch.cam.ac.uk/lectures/)
- http://nmrwiki.org/wiki/index.php?title=Materials_for_teaching_NMR
- Online NMR-Buch: J. P. Hornak: The Basics of NMR <http://www.cis.rit.edu/htbooks/nmr/>

Potentielle Fragen im Kolloquium: Chemische Verschiebungen, Kopplungsmechanismen, 2D-NMR, COSY, TOCSY, HSQC, NOESY. Was ist ein Spinsystem? Schauen Sie sich die Spinsysteme in Vincamin an.

Versuchsdurchführung

- Topspin öffnen (Icon auf Desktop)
- Experiment öffnen (Pfad anlagen und Experiment hinkopieren)
- Tabelle anlegen

Peak Nr.	Frequenz	HSQC	TOCSY	NOESY	Spinsystem	Zuordnung

Protonen-1D

- Integrieren Sie das ^1H -Spektrum. Welche Information beinhaltet das Integral?
- Wie viele Signale erwarten Sie für die aromatischen Protonen und in welchem ppm Bereich?
- Wo erwarten Sie die zwei Methylgruppen? (Hinweise: Betrachten Sie hierfür auch die Multiplizität, sowie das Integral der Signale)
- Welche zwei Protonen stecken vermutlich hinter den Signalen bei 4 und 4.7 ppm? (Hinweis: Das HSQC wird im späteren Verlauf eine genaue Zuordnung ermöglichen.)
- Um die CH₂-Gruppen zuzuordnen verwenden Sie das „multiplicity edited“ HSQC und im späteren Verlauf das ^1H - ^1H -TOCSY.

HSQC

- Bestätigen Sie zunächst Ihre Informationen aus dem Protonen 1D mit Hilfe des HSQCs (In welchem ppm Bereich erwarten Sie die Signale der aromatischen Kohlenstoffe bzw. der Methylgruppen?)
- Gelingt nun eine genaue Zurodnung der zwei Signale bei 4 und 4.7 ppm?
- Können Sie die CH₂-Gruppen identifizieren, wie viele sind es?
- Inwiefern unterscheiden sich die Signale der CH₂-Gruppen von denen der CH/CH₃-Gruppen? (Hinweis: Wie viele Protonen sind in einer CH₂-Gruppe und wie viele Kohlenstoffe?)
- Um die CH₂-Gruppen den drei Ringen im Vincamin zuzuordnen verwenden Sie das TOCSY.

TOCSY

- Stellen Sie fest welche Spins im TOCSY „total korrelieren“.
- Über die Integrale im 1D können Sie feststellen wie viele Protonen im jeweiligen „total korrelierten“ spin system beteiligt sind. Lässt sich nun eine genauere Aussage über die CH₂-Gruppen machen? (Hinweis: Wie viele CH₂-Gruppen sind denn in den jeweiligen Ringen zu finden?)

NOESY

- Betrachten Sie ausschließlich die NOESY-Signale der aromatischen Protonen. Welche Korrelationen zeigen sich? Benutzen Sie das gegebene Molekülgestell (bzw. Software → Avogadro) um die Kreuzsignale zu erklären.

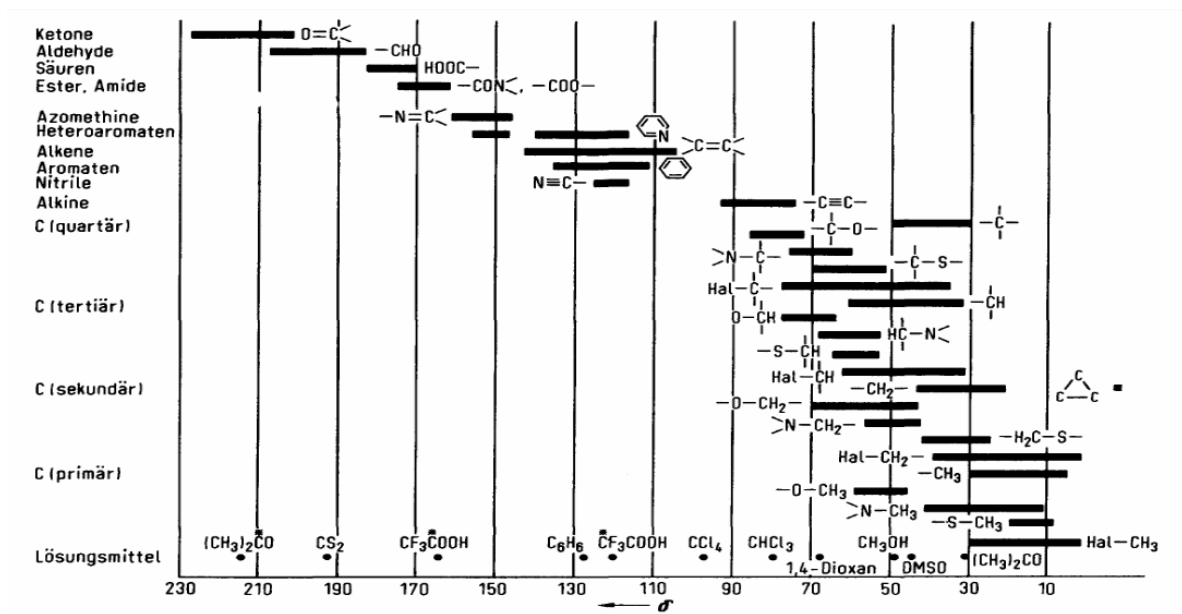


Abbildung 1: Auftragung der ¹³C chemische Verschiebung für verschiedene Substanzen (Quelle: H. Friebolin, Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie: Eine Einführung)