

Diffusionsuntersuchungen (Lösungs-NMR) mit Hilfe von NMR Spektroskopie

Inhaltsverzeichnis

Einführung

HPLC-NMR

Diffusion in Lösung

Technische Aspekte

PGSE Experiment

DOSY

Anwendungen

Einführung

- Schnelle NMR Messungen um
 - zu verifizieren ob die Reaktion stattgefunden hat
 - die Produkte der Reaktion zu bestimmen – Änderungen in den chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten
 - Die Kinetik der Reaktion zu verfolgen
- Im Fall, dass eine Verbindung in Lösung vorliegt –
Strukturauflösung, supramolekulare Organisation und molekulare Dynamik.
- Oft ist das Produkt der Reaktion eine Mischung und muss aufgetrennt werden.

Mischungsanalyse

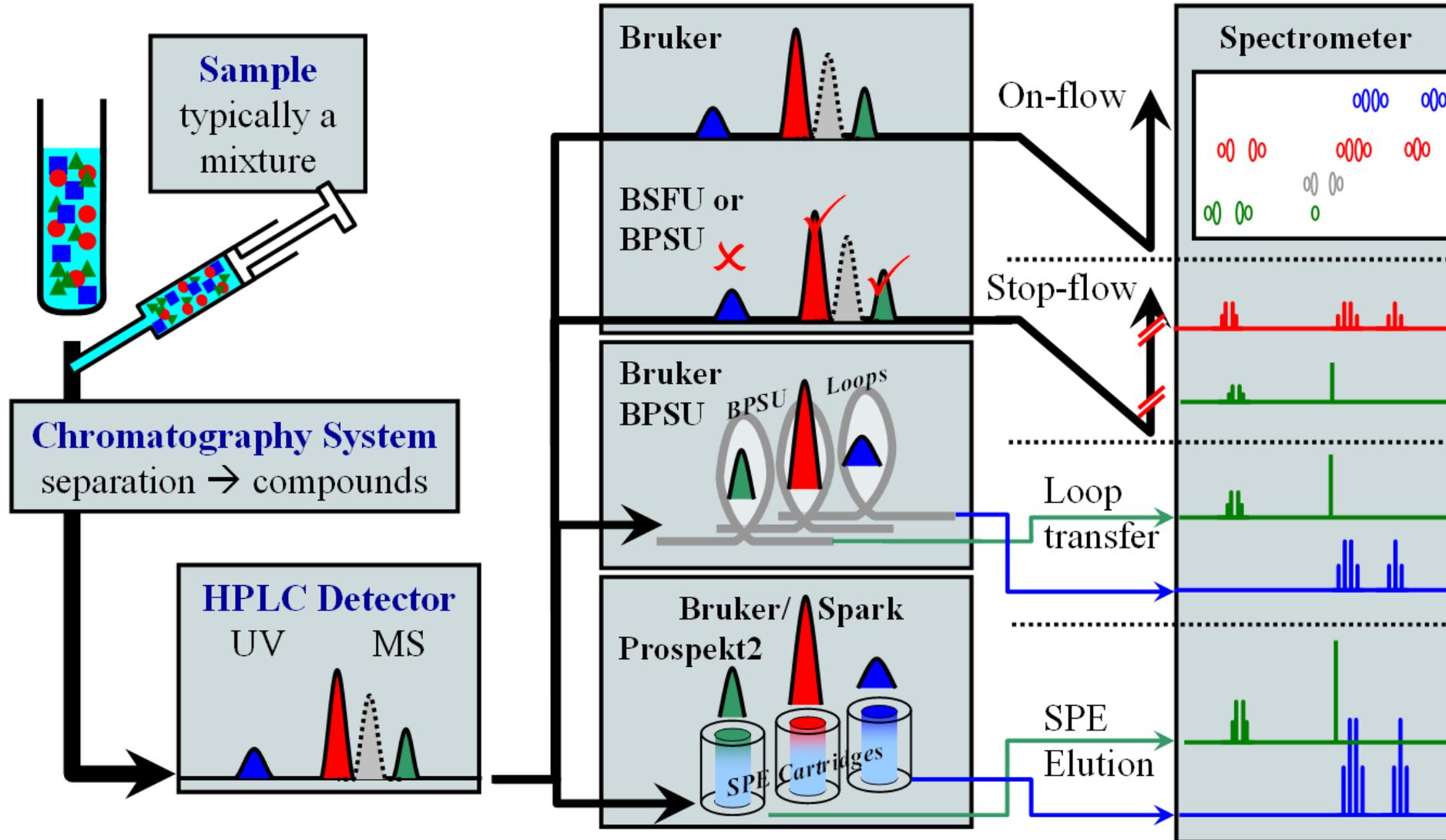
- Mischungs-Analyse – ein wichtiges Thema für die analytische Wissenschaft
 - Für Lösungen – HPLC oder UPLC erlauben Trennung der Komponenten von Mischungen aber keine Strukturinformationen
- Gekoppelt mit MS-Spektroskopie (HPLC-MS) oder Kernmagnetische Resonanz Spektroskopie(HPLC-NMR)
 - Relativ teuer und schwer zu implementieren
- Pulsed gradient spin echo (PGSE) (SE mit gepulsten Feldgradienten)
 - Basiert auf den verschiedenen Diffusionskoeffizienten der Komponenten der Mischung
 - Keine Probevorbereitung nötig; anwendbar bei allen Standard NMR Spektrometern

HPLC-NMR



HPLC-NMR

Measurements - Schematic view



Diffusions-NMR-Messungen

- **P**ulsed-**G**radient **S**pin **E**cho (PGSE) Methode
- **D**iffusion **O**rdere**S**pectroscop**Y** (DOSY) - graphische Repräsentation der Methode
- Bestimmung von Hydrodynamischen-Radien um Komplexbildungen zu detektieren
- Untersuchung von H-Brücken wenn polare Verbindungen mit Lösungsmittel-Molekülen oder Ionen wechselwirken
- Untersuchung von Wirt-Gast Wechselwirkungen
- Detektieren und Verstehen von Ionen-Paarbildung

Diffusion in Lösung - Grundlagen

➤ Moleküle in Lösung – Rotations- und Translationsbewegung

➤ Die Translationsbewegung (Selstdiffusion) wird durch

Diffusionskoeffizienten D (m²/s) ausgedrückt:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r_H} \quad \text{Stokes-Einstein Gleichung}$$

k (J/K) – Boltzmannkonstante

r_H (m) – hydrodynamischer Radius

η (Pa/s oder kg/m.s) - Viskosität

➤ Gültig für sphärische Teilchen

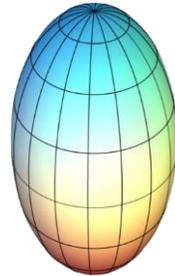
Diffusion in Lösung - Grundlagen

- die Stokes-Einstein Gleichung nimmt an, dass alle Moleküle in Lösung sphärisch sind – In der Realität sind Modifikationen nötig:

Für nichtsphärische Einheiten:

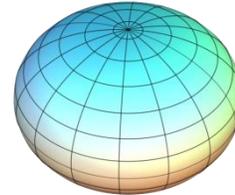
gestreckt (cigar-like) Ellipsoid

$$D = \frac{K_B T}{6\pi\eta\delta} \cdot \frac{\ln(\rho + \sqrt{\rho^2 - 1})}{\sqrt{\rho^2 - 1}}$$



gestaucht (disk-like) Ellipsoid

$$D = \frac{K_B T}{6\pi\eta\delta} \cdot \frac{\text{Arctan}(\sqrt{\rho^2 - 1})}{\sqrt{\rho^2 - 1}}$$



$$\rho = \frac{a}{b}$$

a – große semi-Achse
b – kleine semi-Achse

Diffusion in Lösung - Grundlagen

- die Stokes-Einstein Gleichung nimmt an, dass alle Moleküle in Lösung sphärisch sind – In der Realität sind Modifikationen nötig:

$$f = \frac{6\pi\eta R_H}{\left(\frac{3R_{solvent}}{2R_H}\right) + \left(\frac{1}{1 + R_{solvent}}\right) \frac{1}{R_H}}$$

$$f = \frac{6\pi\eta R_{solute}}{1 + 0.695 \left(\frac{R_{solvent}}{R_{solute}}\right)^{2.234}}$$

Die Lösung wird als eine Summe von Partikeln betrachtet und nicht als Medium mit einer definierten Viskosität

f – Reibungskoeffizient

Diffusion in Lösung - Grundlagen

- Die Strecke $z(m)$, welche ein Molekül in Lösung in einer Richtung während der Zeit $t(s)$ zurücklegt, ist

$$z = \sqrt{Dt}$$

Nicht jedes Molekül wird die gleiche Strecke zurücklegen – Gauß-Verteilung der unterschiedlichen Distanzen

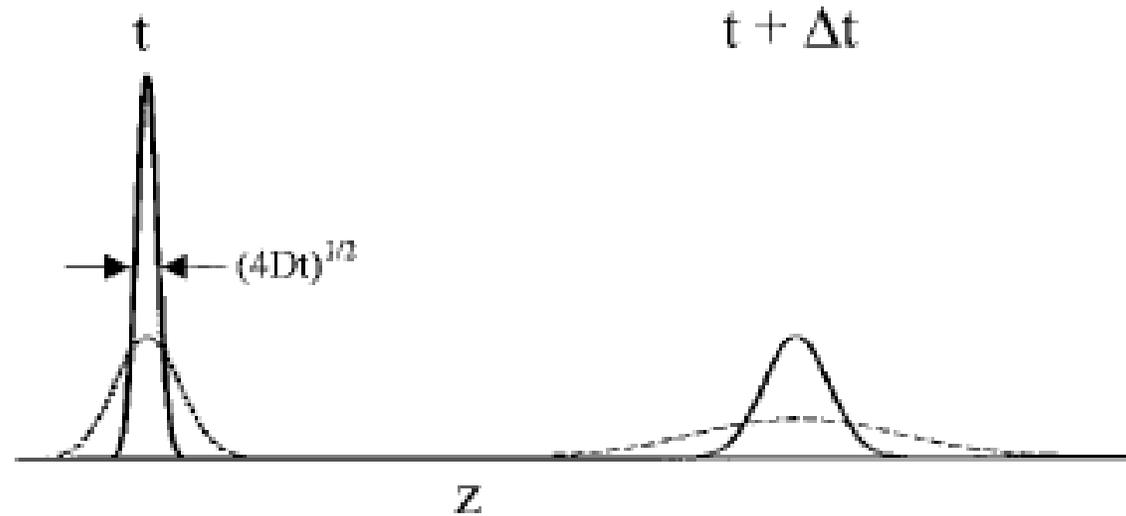
Die Wahrscheinlichkeitsfunktion P_s :

$$P_s = \sqrt{4\pi Dt} \exp \left[-\frac{(z - v_z t)^2}{4Dt} \right]$$

Beschreibt die mittlere Wahrscheinlichkeit, dass mehrere Moleküle die gleiche Veränderung in einer gewissen Zeit erfahren.

v_z (m/s) - Geschwindigkeit

Diffusion in Lösung - Grundlagen



- Zwei Besetzungen von Molekülen mit verschiedenen Diffusionskoeffizienten sind als normalisierte Gauß-Kurven dargestellt
- Nach einer zeitlichen Periode ($t + \Delta t$) wird die Verteilung verbreitert

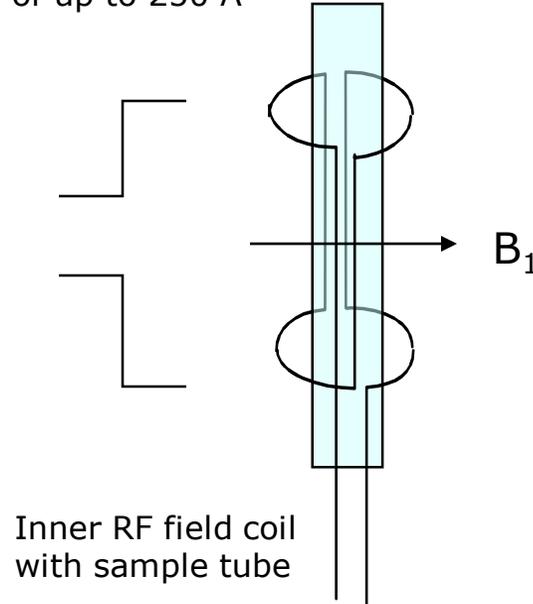
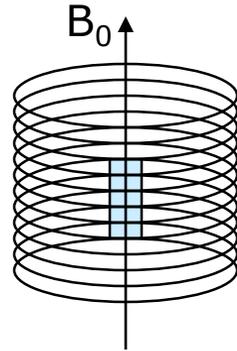
Diffusion in Lösung - Grundlagen

Bedingungen um die Translationsbewegung zu messen:

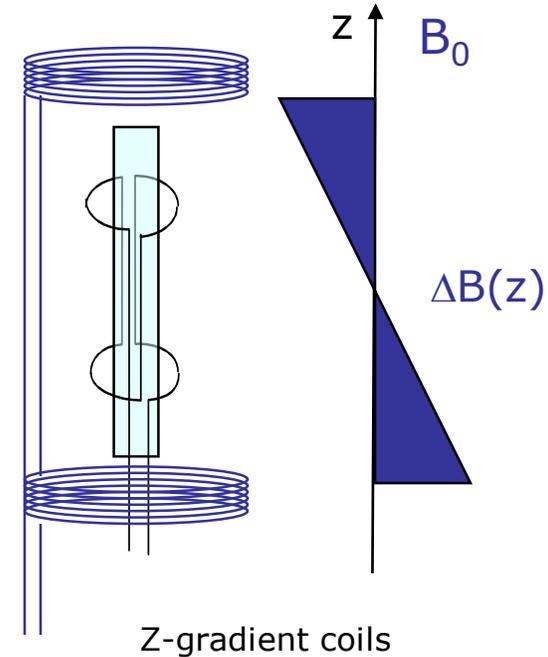
- $z \gg r_H$ (hohe Diffusionszeit) – wichtig für große Moleküle (z.B. Polymere mit Seitenketten) – wenn nicht könnte man die Rotationsbewegung der Seitenketten aber nicht die Translationsbewegung des Polymers messen
- Alle Geschwindigkeitskomponenten (von Konvektion) sollen kompensiert oder vermieden werden
 - Impulsfolgen mit Konvektionskompensierung
 - reduzieren der Lock Stärke

Technical realisation of RF pulses and PFGs

Static magnet: superconducting coil with electric currents of up to 250 A



Inner RF field coil with sample tube

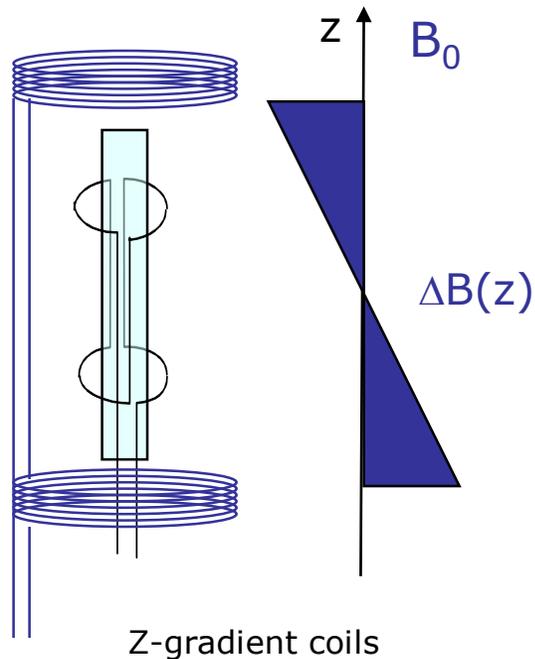


Z-gradient coils

The RF coil is used for application of strong RF pulses as well as for detection of the weak signal induced by precessing nuclear spins.

Der Feldgradient wird mittels einer anti-Helmholz Spule generiert. Die Feldstärke ist additiv im oberen Bereich und subtraktiv im unteren Bereich des Probenvolumens
Während eines Gradienten-Impulses wird das Magnetfeld des Probenvolumens linear geändert

Technical realisation of the PFGs



Probleme:

➤ Abschirmung

- Wegen des Wirbelstroms wird ein Feld nicht nur innerhalb, sondern auch außerhalb der Gradientenspule generiert
- Stört die FID Aufnahme

➤ Feld Linearität (Uniformität)

- Das Feld muss linear in die Z-Richtung geändert werden, d.h. eine konstante Änderung aller Punkte in Z-Richtung

➤ Temperatur (Konvektion) Gradienten

- Der Boden des NMR-Röhrchens wird beim Heizen oder Kühlen eine unterschiedliche Temperatur als der oberen Bereich des Röhrchens haben.

Wirkung auf die Larmor Frequenz

$$\omega_z = \gamma B_0 + \gamma g_z z$$

g_z (T.m⁻¹) – gradient applied in the z-direction

B_0 (T) – external magnetic field

Z (m) – the position of the spin (nucleus of interest)

γ (rad.T⁻¹.s⁻¹) – gyromagnetic ratio

$$\varphi_z = \delta \gamma g_z z$$

φ_z (rad) – position dependent phase angle of the spins

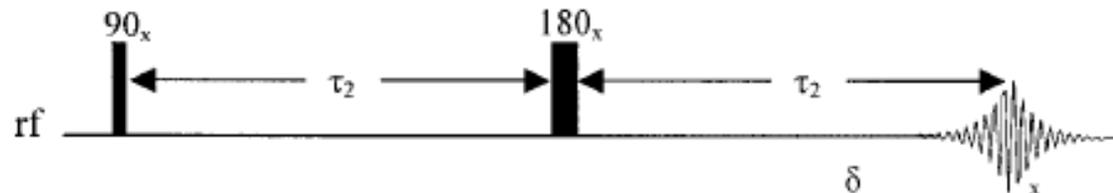
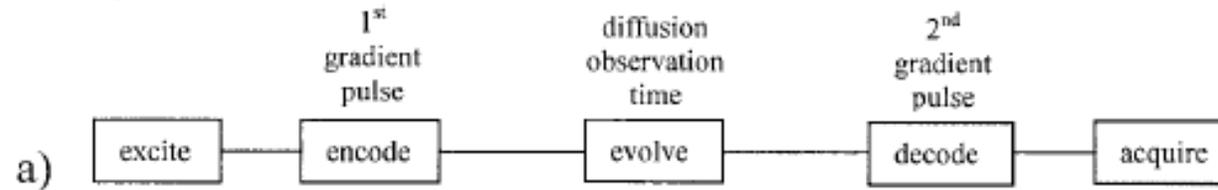
δ (s) – duration of the applied gradient pulse

Wie kann man nun Signalabgrenzung mit Hilfe von Translations-Dislokation erhalten? – PGSE Experiment

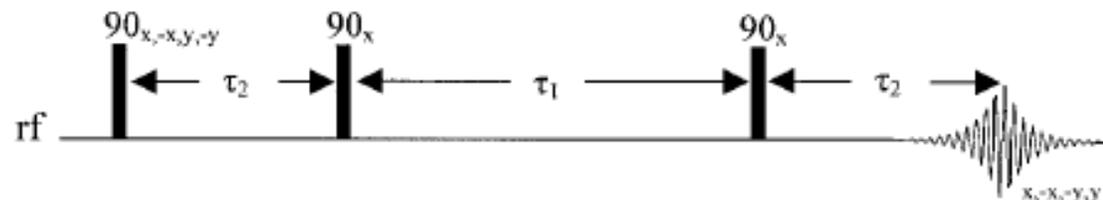
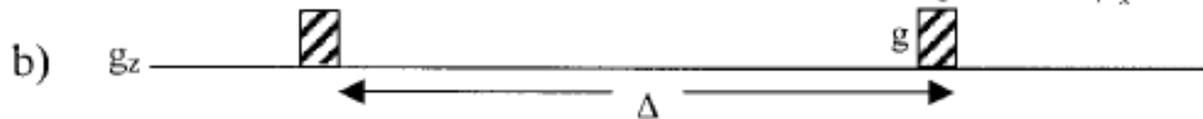
Diffusion in Lösung - PGSE

PGSE (Pulsed Gradient Spin Echo) – Stejskal und Tanner (1965)

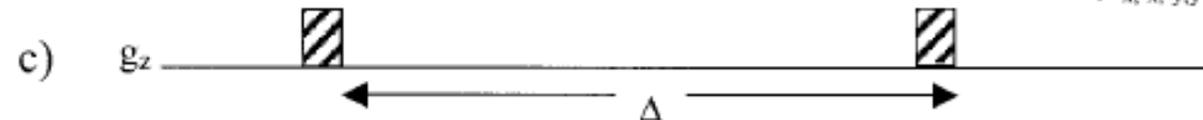
basiert auf dem Spin Echo Experiment von Hahn (1950) und Carr und Purcell (1954)



PG Spin Echo
Impulsfolge

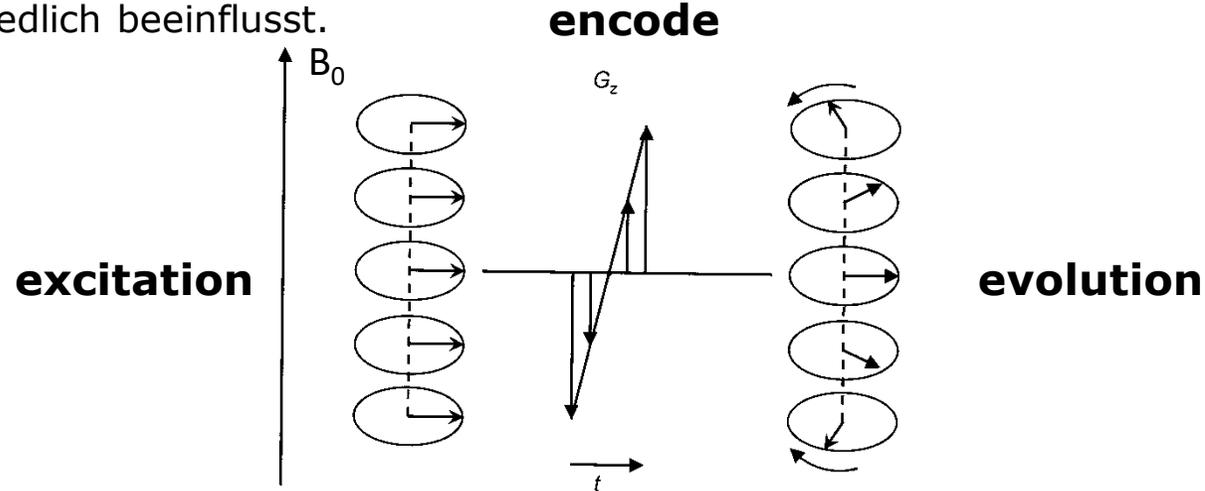


PG Stimulated Echo
Impulsfolge



Diffusion in Lösung - PGSE

1. Anregung – der 90° Impuls kippt die Magnetisierung in die x-y-Ebene; die Phase der Spins ist dabei kohärent
2. Kodierung – der Gradient markiert die Positionen der Spins durch das Erzeugen eines räumlich abhängigen Phasenwinkels – jede Ebene enthält Spins welche durch den Gradienten gleichmäßig beeinflusst werden. Spins in verschiedenen Ebenen sind jedoch unterschiedlich beeinflusst.



3. Entwicklung ($\Delta/2$) – zufällige Translationsbewegung; Eine gewissen Anzahl von Spins ändern ihre Position und Diffusion entlang der z-Richtung.
4. 180° Puls invertiert das Vorzeichen des Spin-Phasen-Winkels.
5. Decodierung – Die Phase der Spins, welche man durch den ersten Gradientenpuls erhält, wird von der des zweiten Gradientenpulses subtrahiert. – keine Diffusion, kein Signal Verlust; Diffusion resultiert in einer Signal Verringerung

Diffusion in solution - PGSE

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})}$$

$$I = I_0 e^{-DQ}$$

I – Beobachtete Signal Intensität

I_0 – Referenz (unbeeinflusst) Signal Intensität

Δ (s) – Diffusionszeit (die Zeit zwischen den unterschiedlichen Pulsen)

D – Diffusionskoeffizient

g, δ – Stärke und Länge des Gradienten

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3}) - R}$$

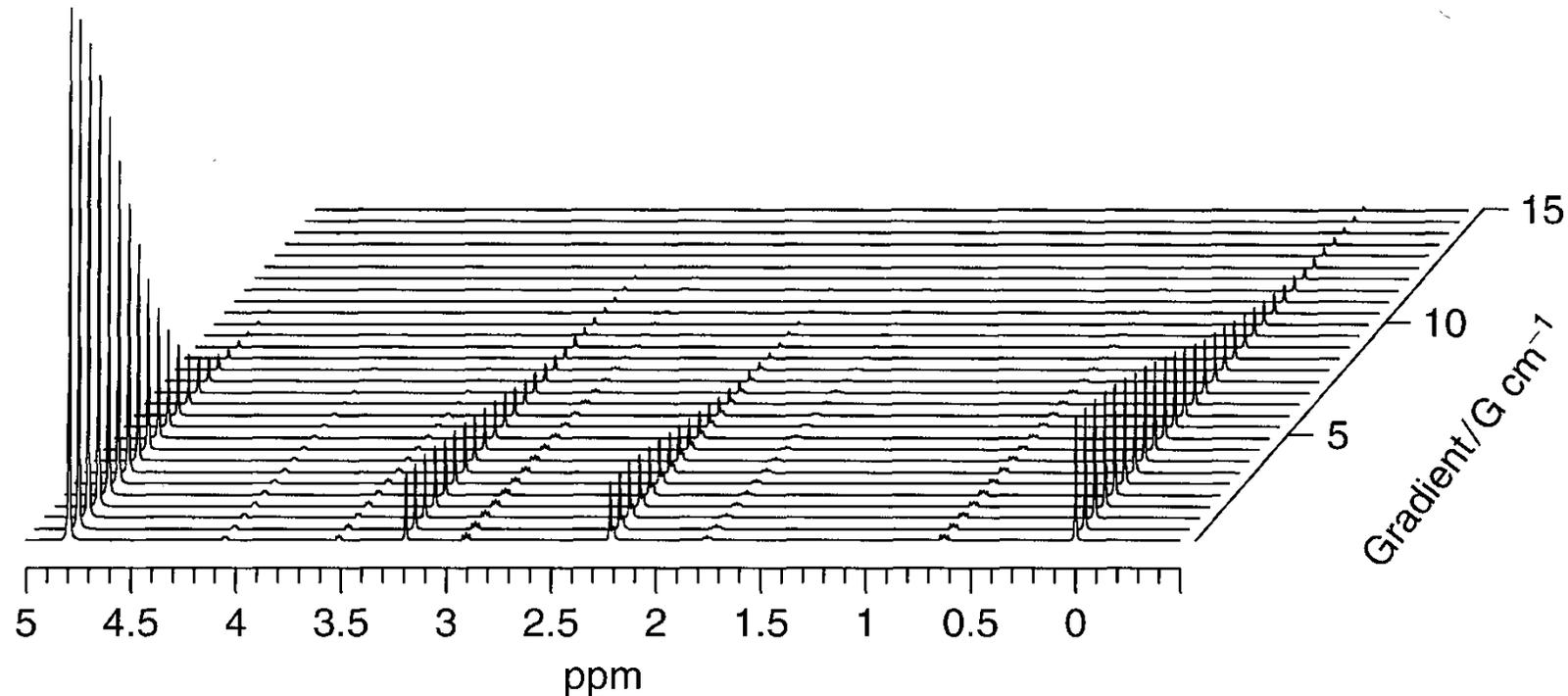
R – konst. (Bestimmt aus den Relaxationszeiten)

$$R = 2\tau_2 / T_2 \quad \text{for sequence b)}$$

$$R = 2\tau_2 / T_2 + \tau_1 / T_1 \quad \text{for c)}$$

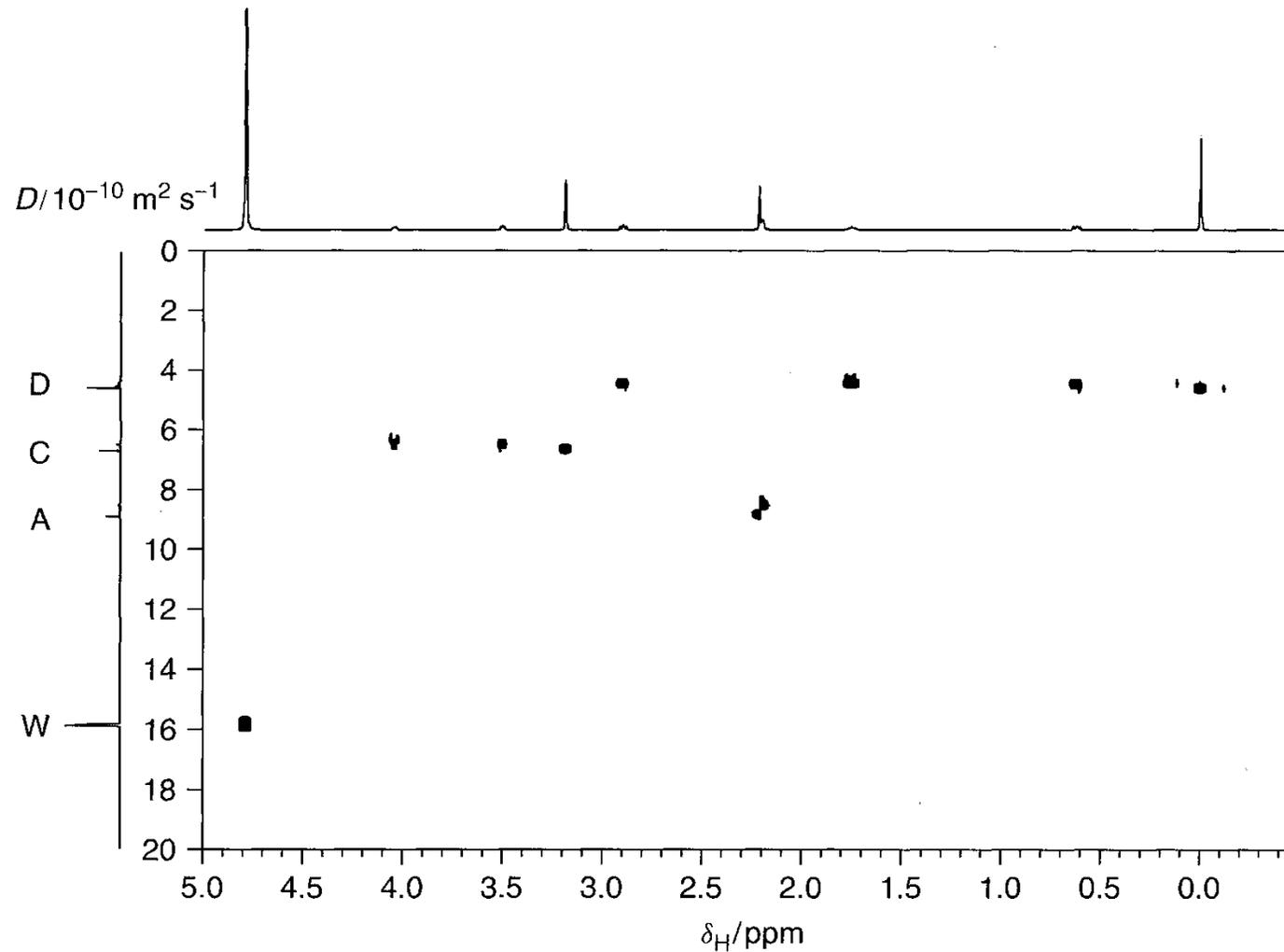
Diffusion in Lösung - DOSY

NMR Messreihe (DOSY, T_1 und T_2 , Kinetikstudien) – Reihe von Spektren, bei denen ein Parameter variabel ist (Gradienten Stärke, variable Zeitverzögerung).



PFGLED Experiment einer Mischung von Acetone, Choline, 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulphonat Natrium-Salz in D_2O ; 30 Experimente bei variabler Gradientenstärke (0.5 bis $15 G \cdot cm^{-1}$)

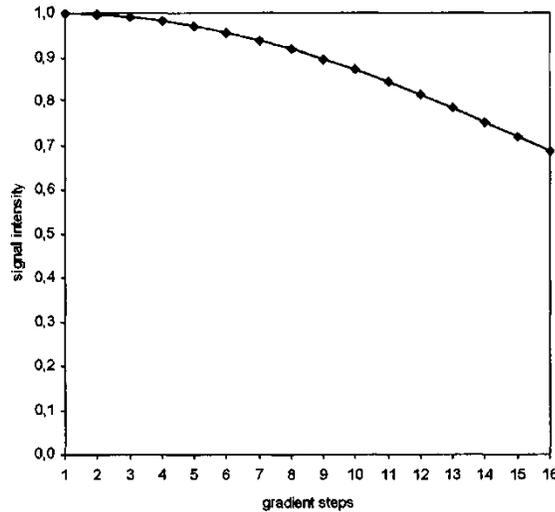
Diffusion in Lösung - DOSY



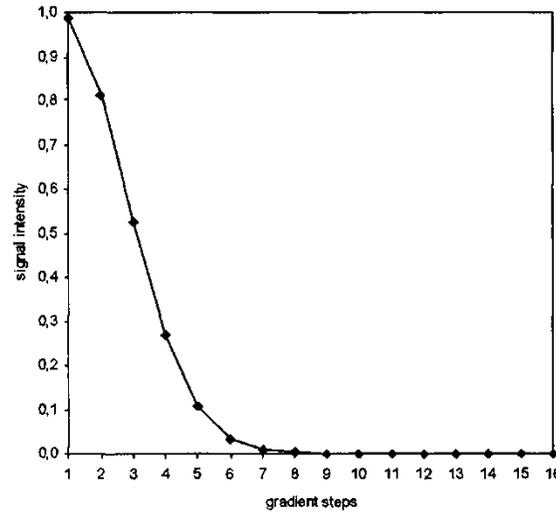
The calculated DOSY spectrum showing the signals of acetone (A), choline (C), 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulphonate sodium salt (D), water (W)

Messung von Diffusion

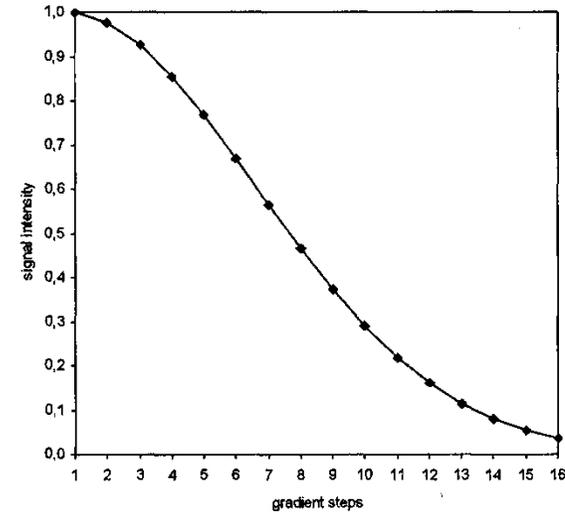
In einem Gradientenexperiment wird im Normalfall die Gradientenstärke (g) variiert und die Diffusionszeit (Δ) sowie die Länge des Gradientenimpulses (δ) konstant gehalten.



A



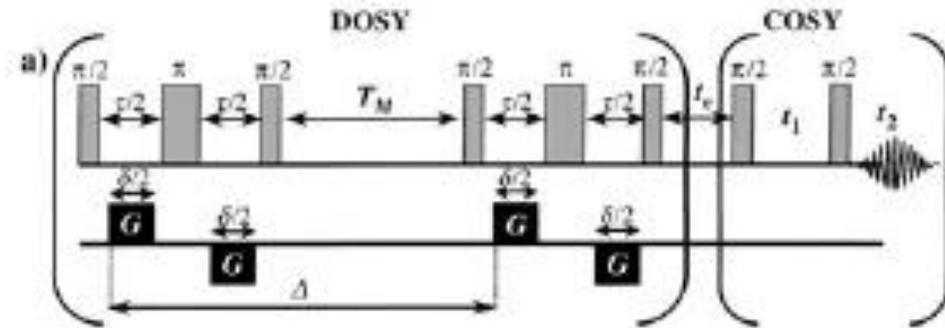
B



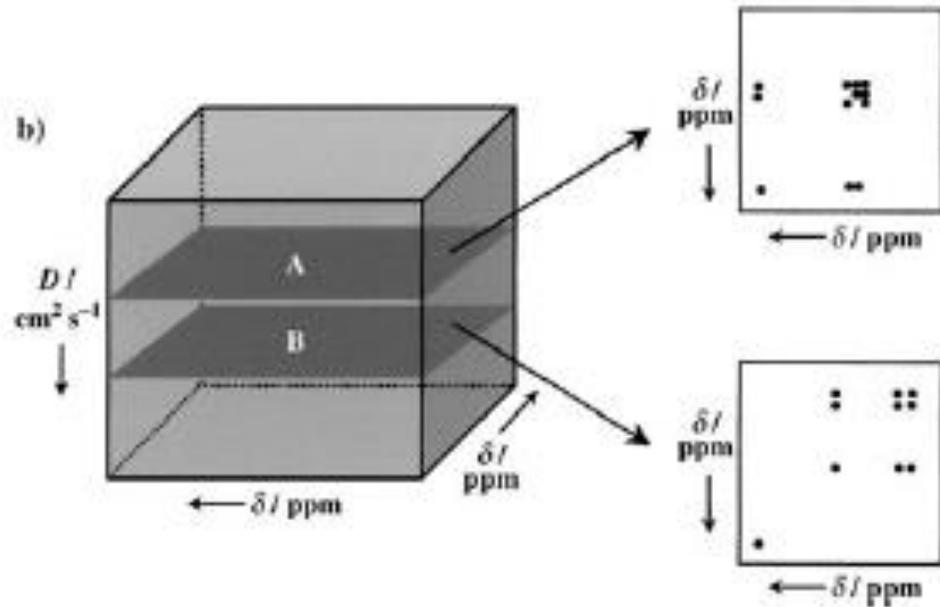
C

Simulierte, verzögerte Diffusionskurven durch Variation der Gradientenstärke (g) (2-95 %) in 16 Schritten für die gleiche Diffusionskonstante und variablen Diffusionszeiten (Δ) sowie Pulsgradienten (δ)
A – beide zu klein; B – beide zu groß; C - annehmbar

3D DOSY



Der zweite Block kann auch HMQC, TOCSY, NOESY, usw. sein



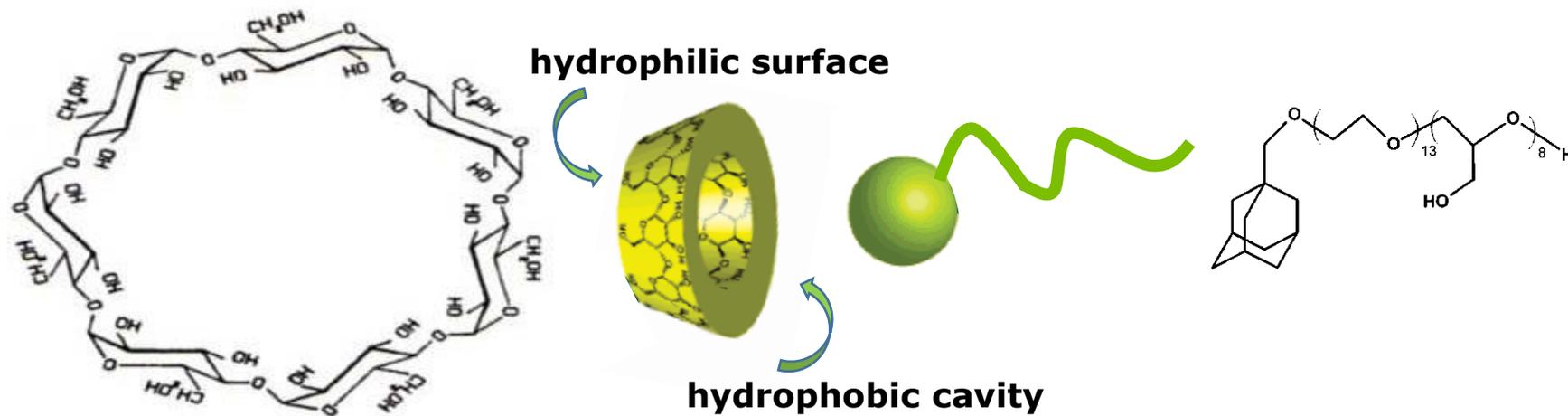
In xy-Ebene beobachten wir Korrelations-Spektren, die in der z-Dimension für den Diffusionskoeffizienten unterschiedlich aufgeteilt sind

Anwendungen

A1 – Untersuchung von Assoziation

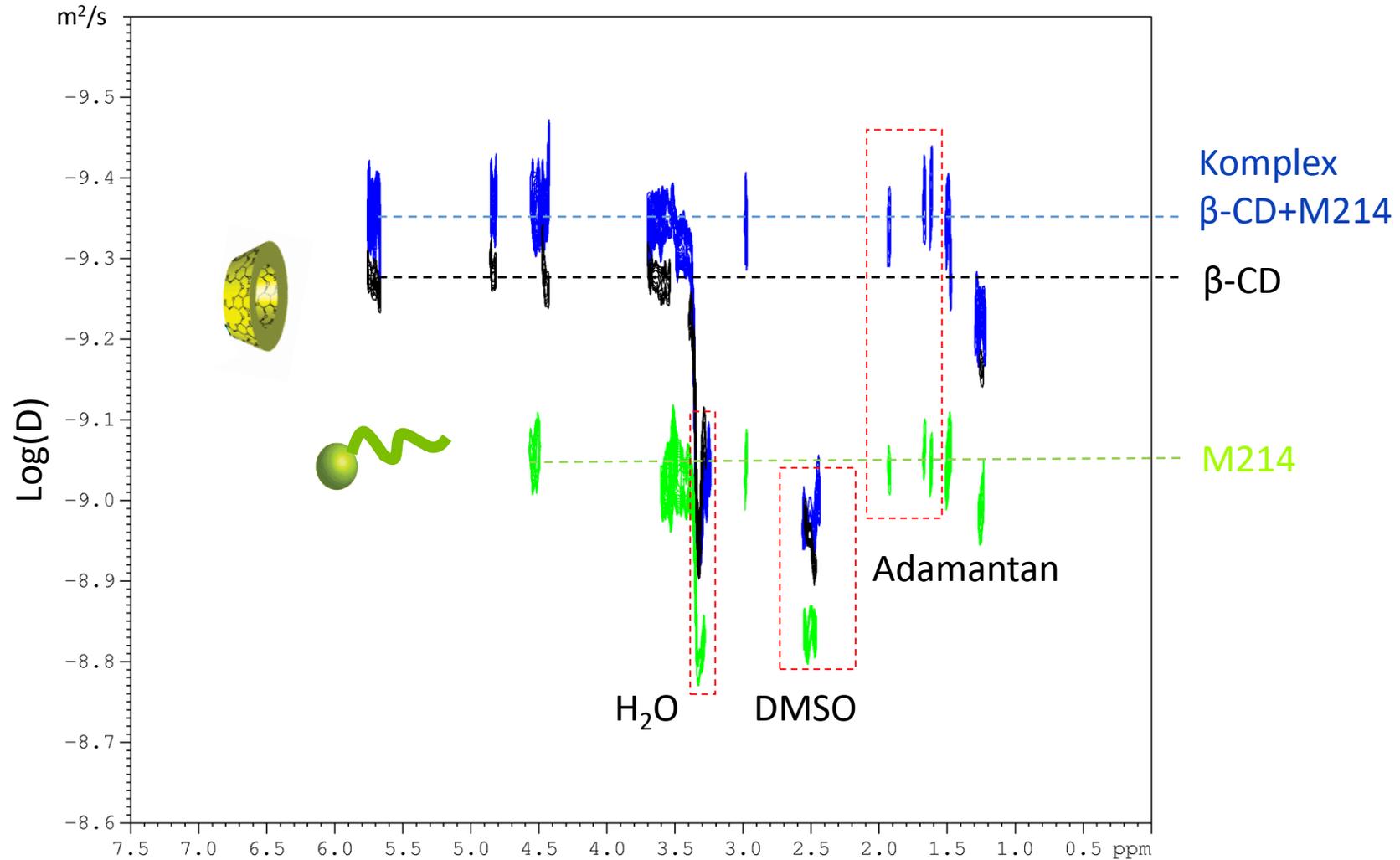
β -Cyclodextrin (β -CD)

Adamantan-funktionalisiertes Polymer



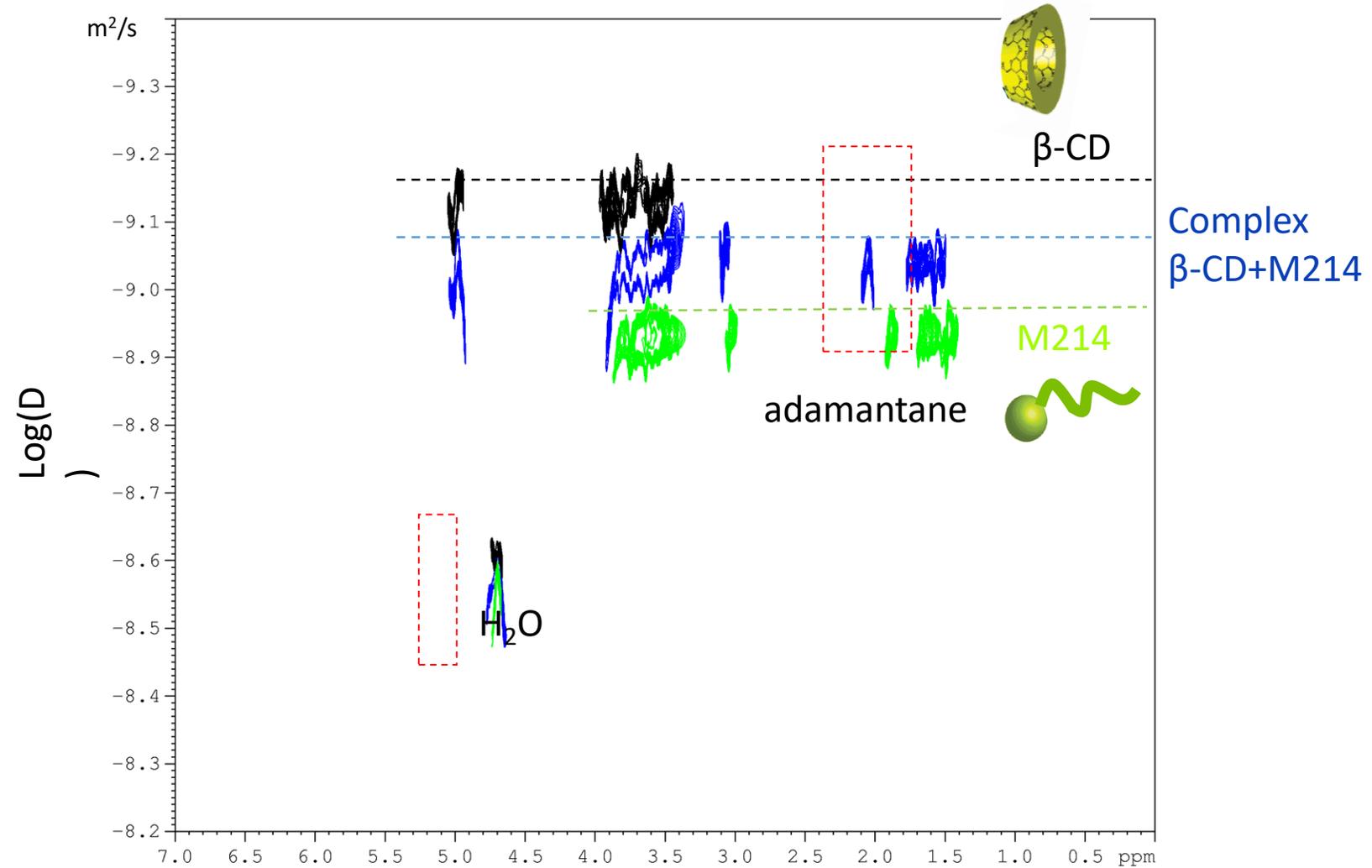
A1 – Untersuchung von Assoziation

DOSY Spektren von β -Cyclodextrin, Adamantan functionalisiertes Block-Copolymer und die 1:1 Mischung in DMSO

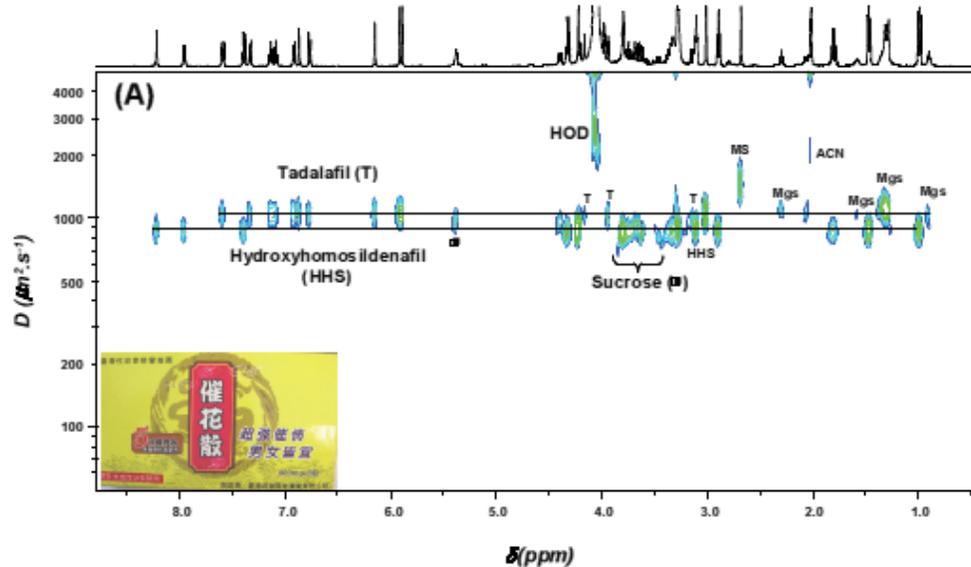


A1 – Untersuchung von Assoziation

DOSY Spektren von β -Cyclodextrin, Adamantan functionalisiertes Block-Copolymer und die 1:1 Mischung in D_2O



A2 – Medikamentenkontrol



DOSY NMR

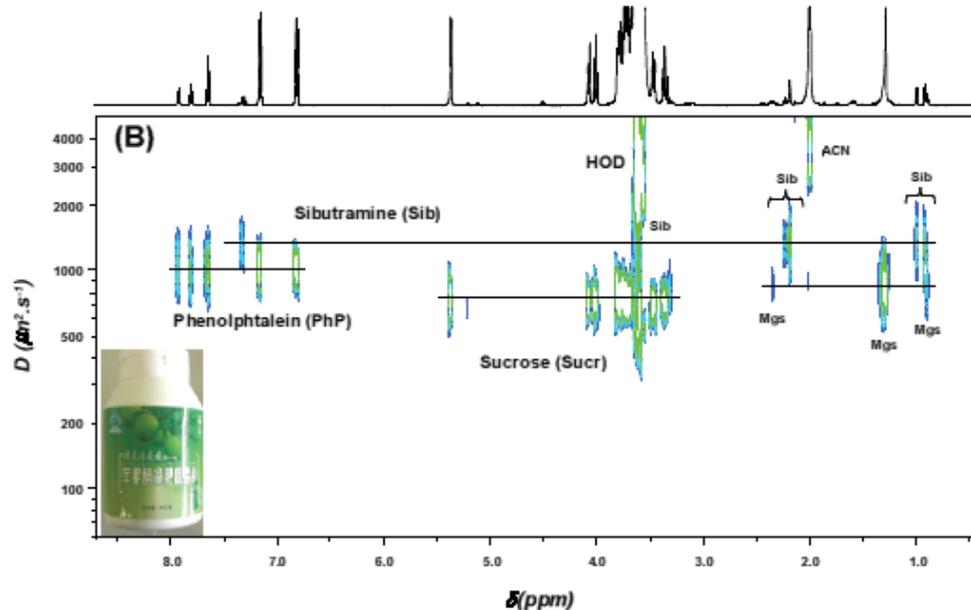
Ein neues Verfahren in der Analyse von falschen Medikamenten

DOSY Spektren von „herbal drugs“ in einer Mischung von $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}=1:4$ aufgenommen

Gelbe Kapseln (Taiwan herg.)

Tadalafil (verbotten in EU, UK, US)

Hydroxyhomosildenafil



Grüne Tablette (China herg.)

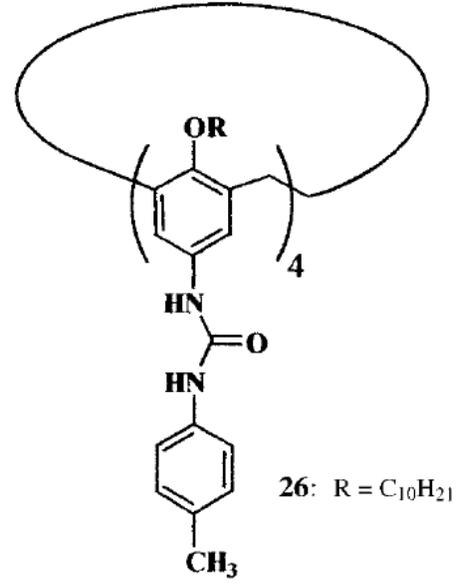
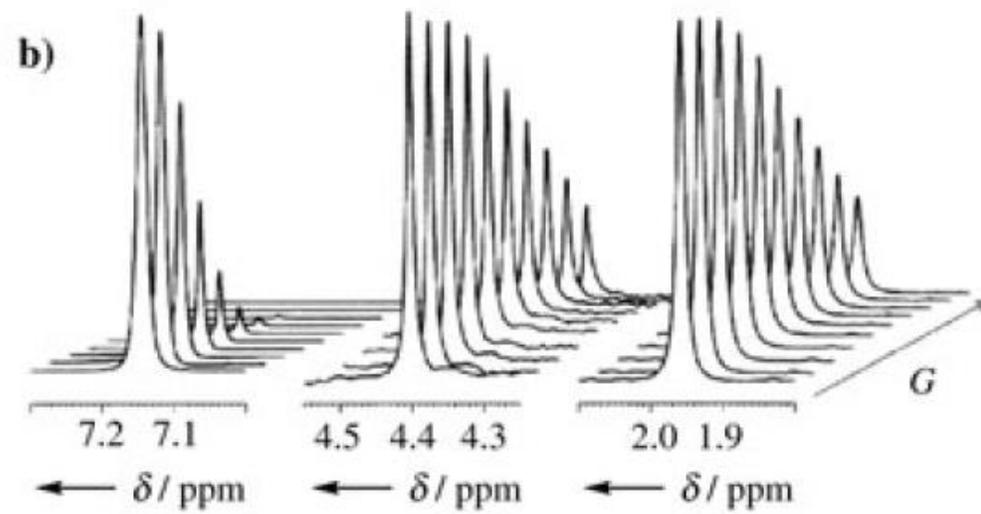
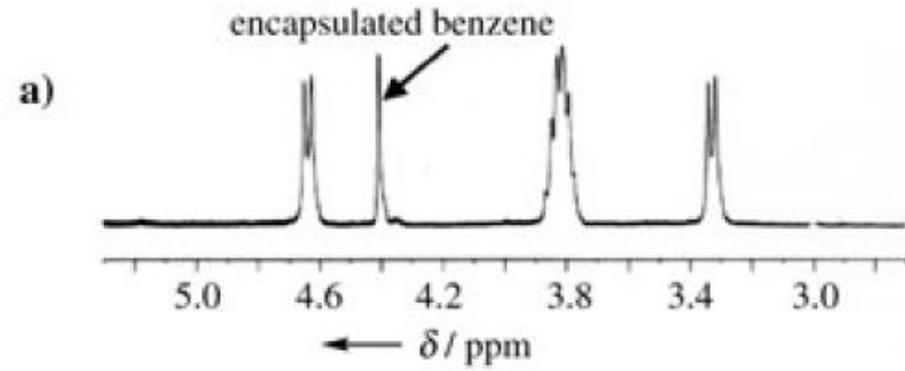
Sibutramin

Phenolphthalein

Mgs – Magnesium Stearat

MS – Methan Sulphonat

A3 – Einkapselung



“free” benzene

$D=2.21 \pm 0.02 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$



encapsulated benzene

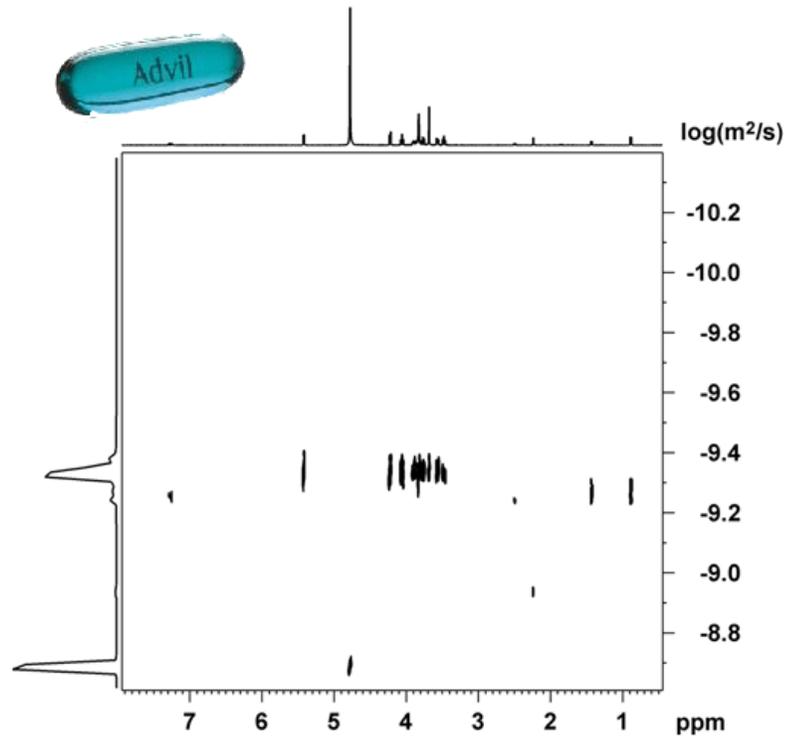
$D=0.34 \pm 0.01 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$



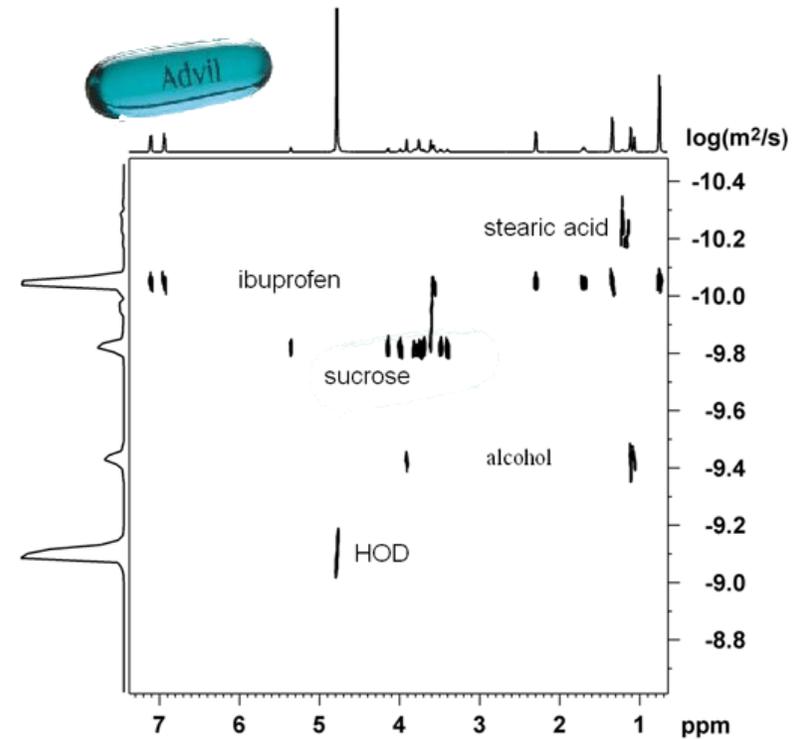
dimer

$D=0.34 \pm 0.01 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$

A4 – NMR "Chromatographie"



DOSY Spektrum von Advil zeigt geringe Trennung in die Diffusionsdimension

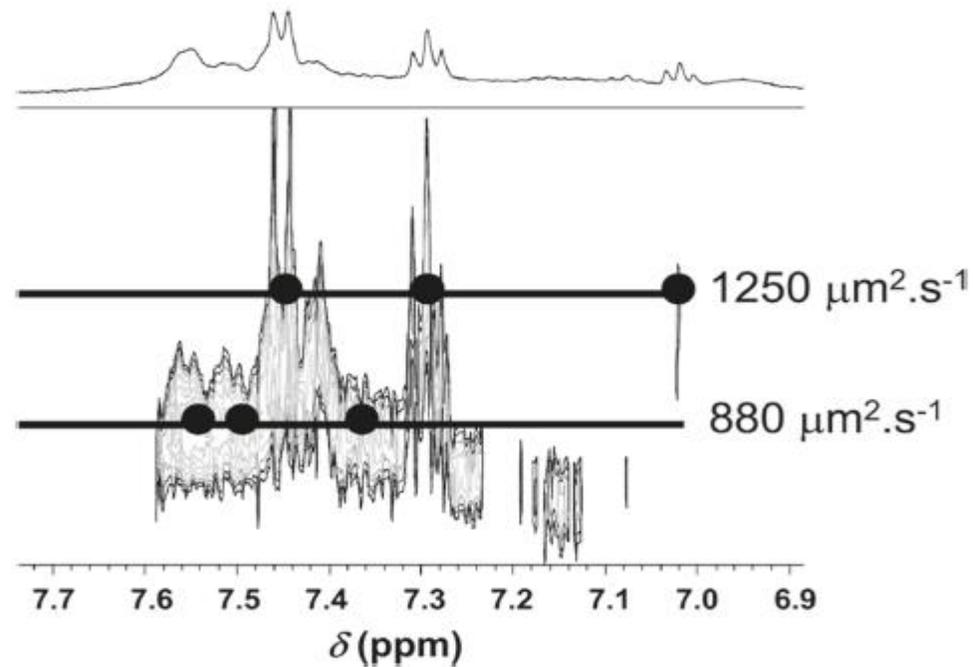
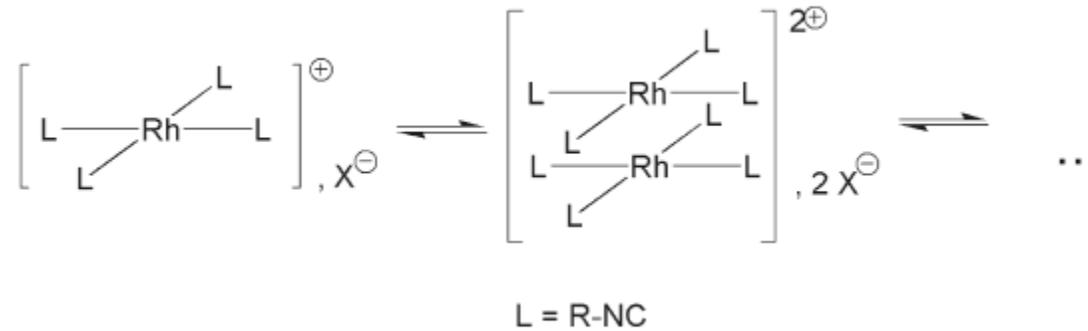


DOSY Spektrum von Advil nach der Addition von perfluorierten Mikroemulsion

Addition von SiO_2 -Partikeln führt zu einer verbesserten Trennung im Röhrchen sowie zu einer zusätzlichen Signalverbreiterung

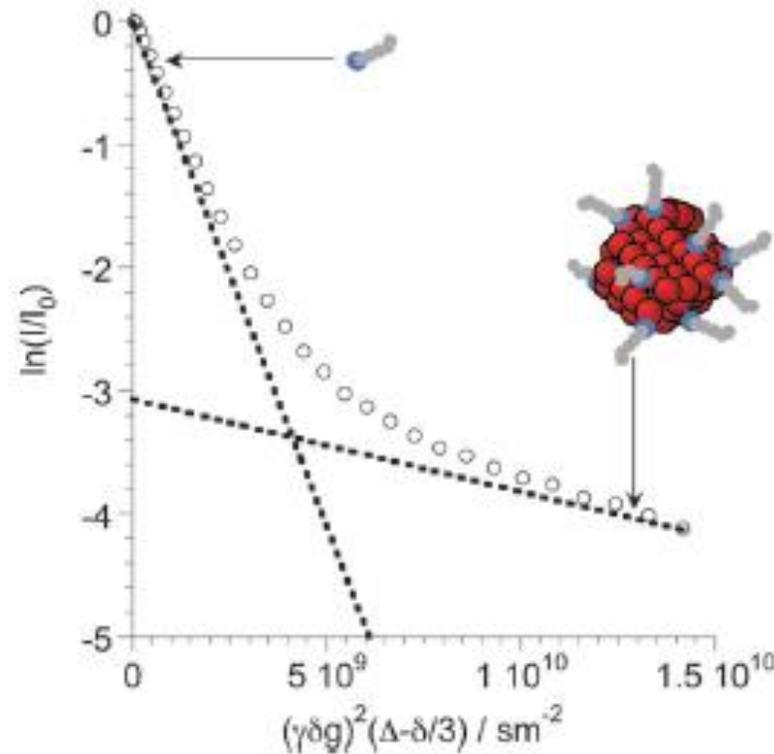
A5 – Ionenpaarung

Spontane Aggregation von Tetrakis-(Isonitril) Rhodium Ionen



A6 – Nanopartikel

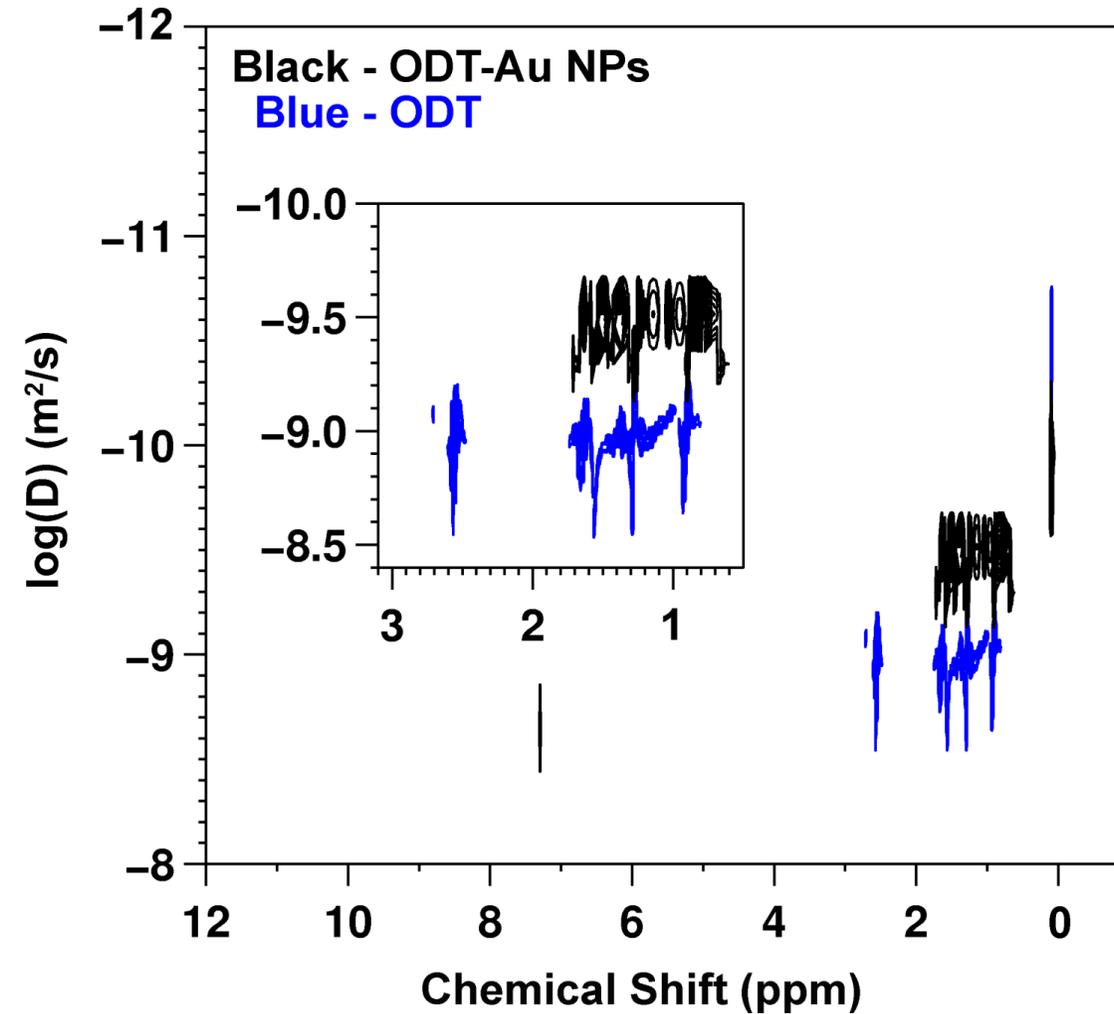
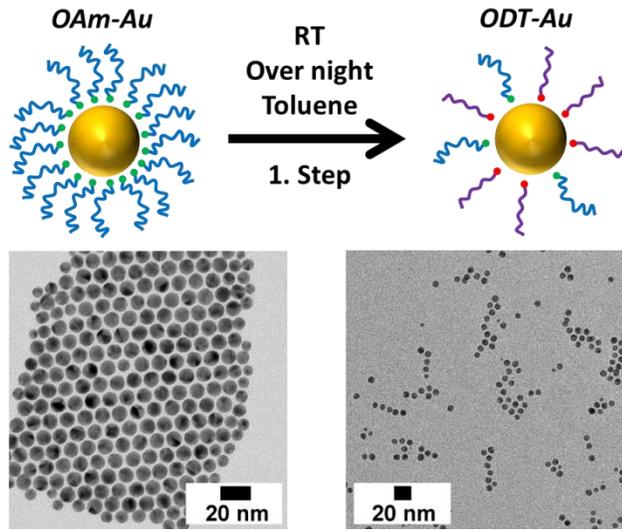
CeO₂ Nanopartikel funktionalisiert mit Laurin (n-Dodecanoic) Säure



Ein Plot $\ln(I/I_0)$ vs. g^2 für das Methylsignal der mit Laurinsäure funktionalisierten Nanopartikel

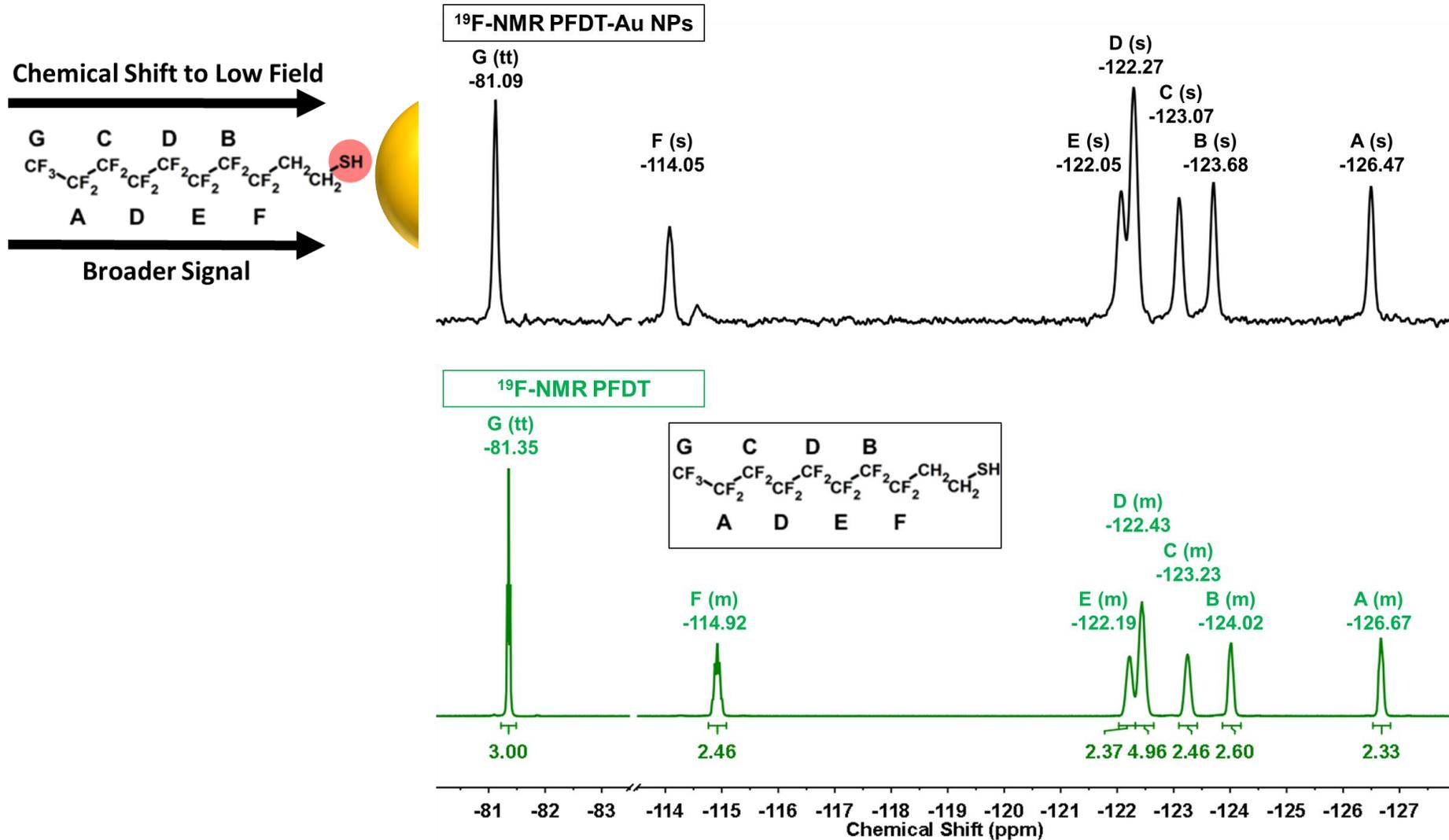
Zwei unterschiedliche Geraden, welche zwei verschiedenen Diffusionen beschreiben. (am Beispiel der Funktionalisierung von Nanopartikeln). (Schnelle Diffusion: freier Ligand, langsame Diffusion: funktionalisierter Nanopartikel.)

A6 – Nanopartikel

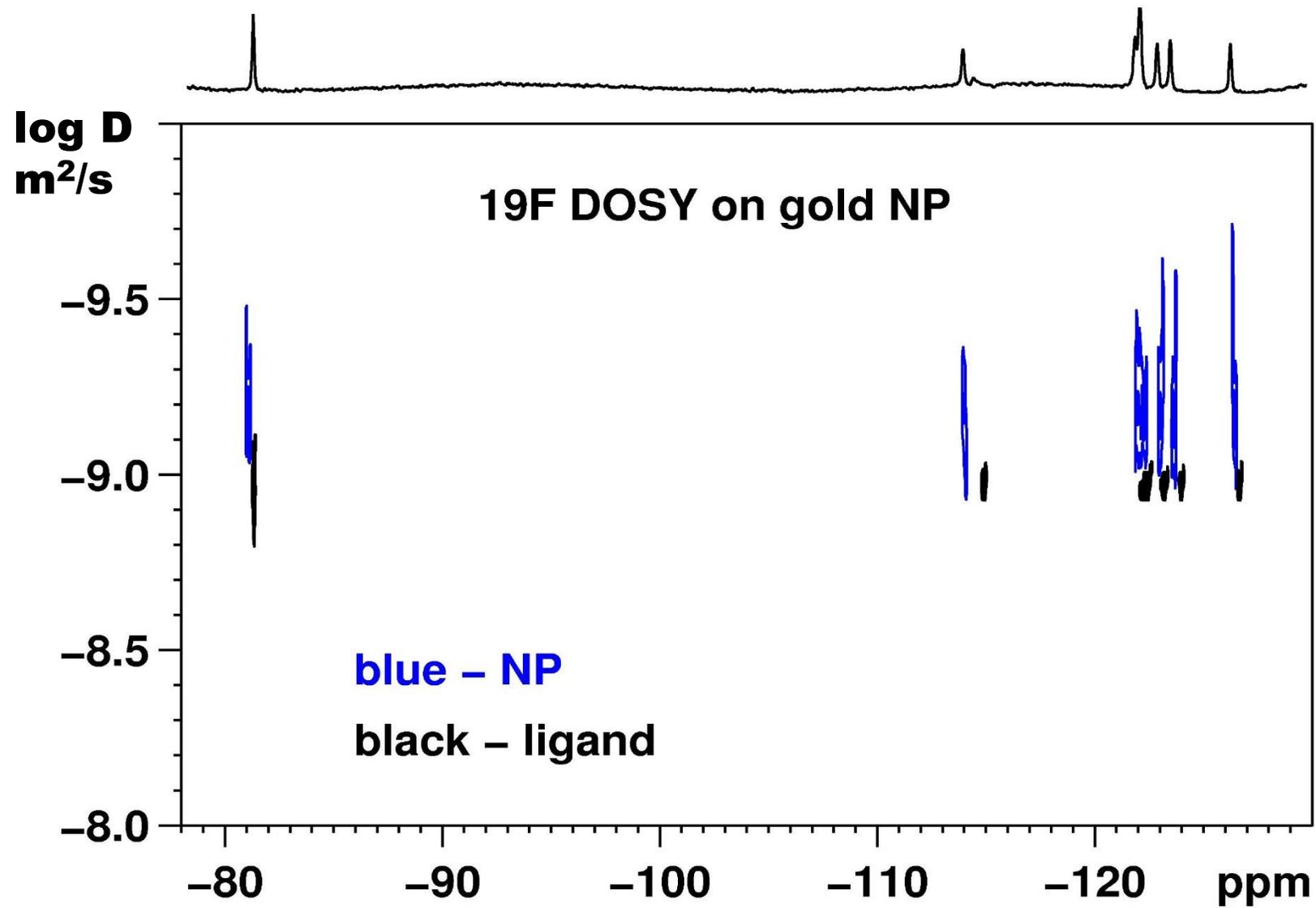


A6 – Nanopartikel

Austausch mit perfluorierten Liganden

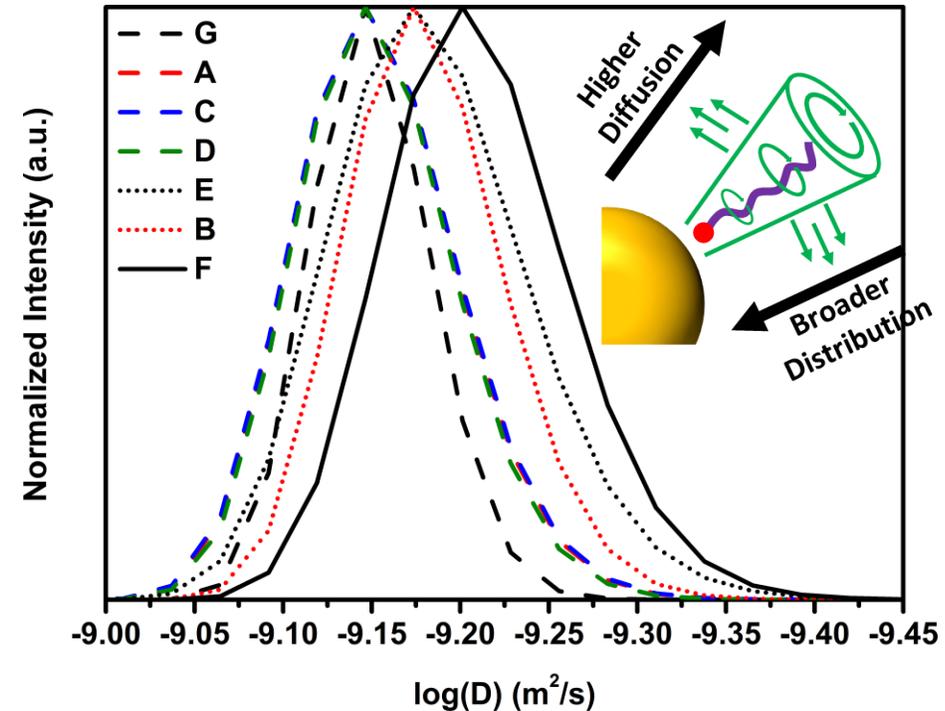
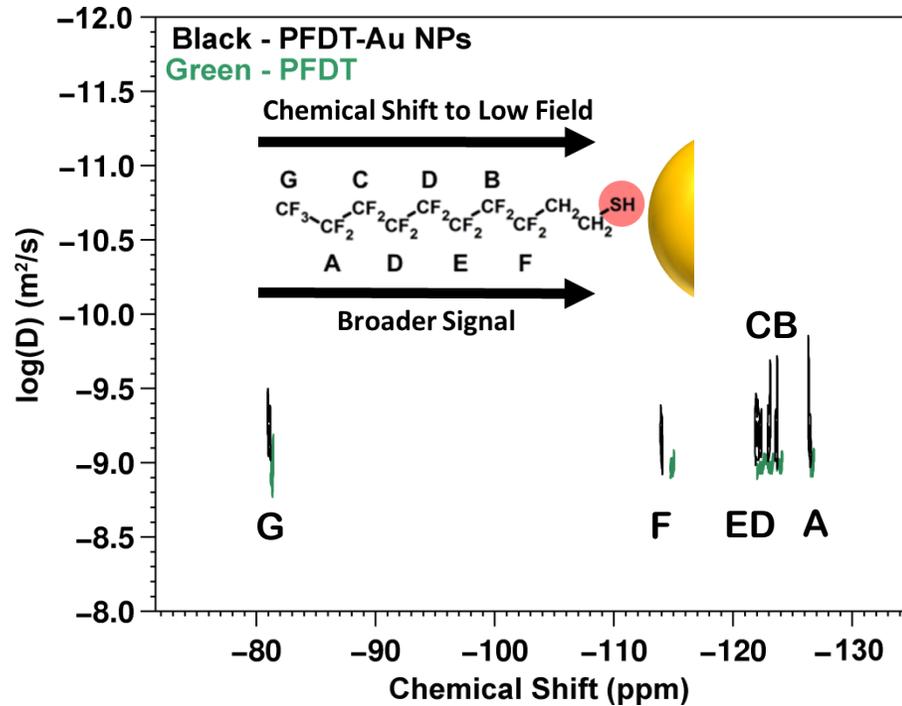


A6 – Nanopartikel



A6 – Nanopartikel

Nanopartikel – Informationen zur Dynamik mit Hilfe von ^{19}F DOSY



1. Charakterisierung von Chemisorption mittels ^{19}F CS und FWHM
2. Charakterisierung von NP Dynamik mittels ^{19}F DOSY

Literature

1. Antalek, B., Using Pulsed Gradient Spin Echo NMR for Chemical Mixture Analysis: How to Obtain Optimum Results, *Concepts in Magnetic Resonance*, 2002, 14(4), 225-258
2. Pemberton, C. et al, NMR Chromatography Using Microemulsion Systems, *Langmuir*, 2011, 27, 4497-4504
3. Klünker, M. et al, *Langmuir*, 2018, 34(4), 1700-1710
4. Grosso, D. et al, Molecular and supramolecular dynamics of hybrid organic-inorganic interfaces for rational construction of advanced hybrid nanomaterials, *Chem Soc Rev*, 2011, 40, 829-848
5. Moers, C. et al, *Macromolecules*, 2013, 46(24), 9544-9553
6. Balayssac, S. et al, DOSY NMR, a new tool for fake drug analyses, *Spectroscopy Europe*, 2009
7. Johnson, C., Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications, *Prog Nuc Magn Reson*, 1999, 34, 203-256

Dynamische NMR Spektroskopie

Inhaltsverzeichnis

Einführung

Linienformanalyse

Koaleszenztemperatur T_c und Geschwindigkeitskonstante k_c

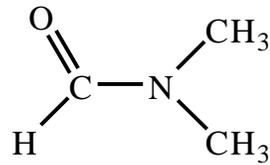
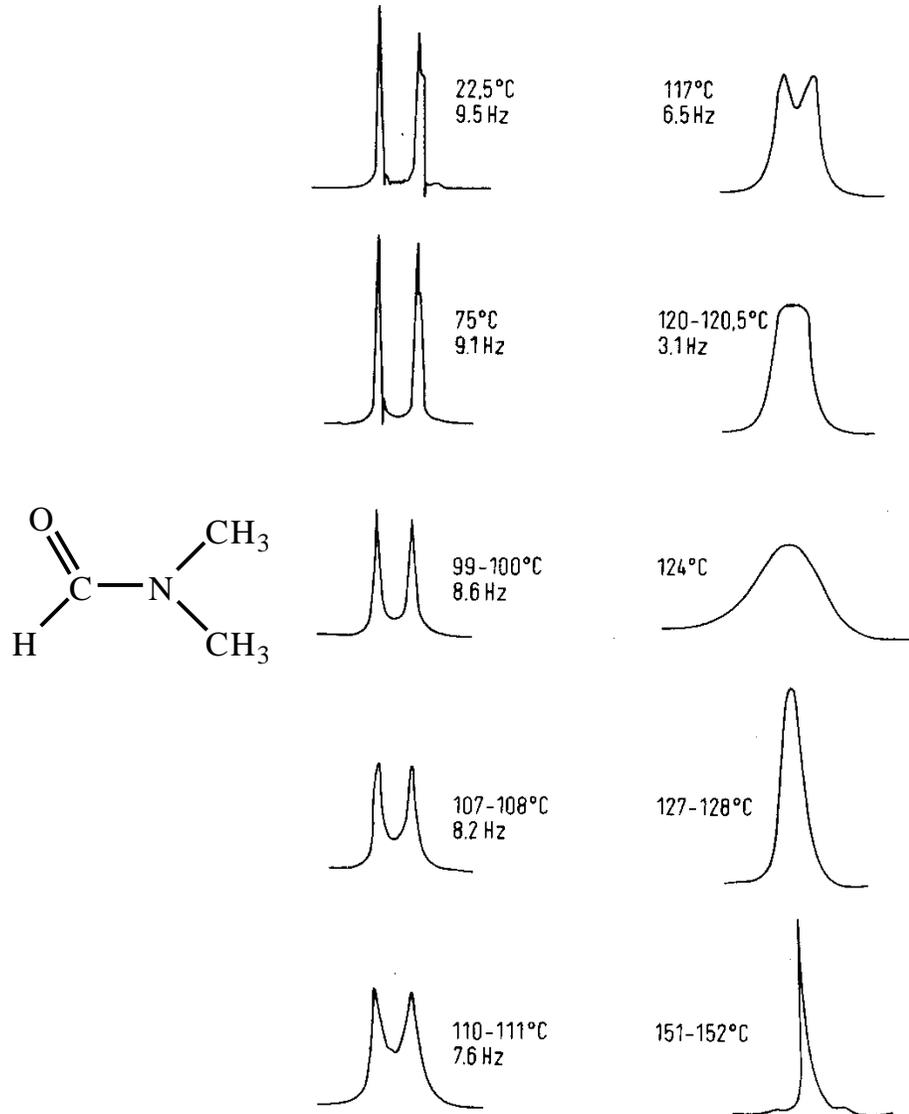
Aktivierungsparameter

- Arrhenius'sche Aktivierungsenergie E_A
- Freie Aktivierungsenthalpie ΔG^\ddagger

Anwendungen

- Rotationen um C-C Bindungen
- Ringinversion
- Valenztautomerie und Keto-Enol Tautomerie
- Intermolekularer Protonenaustausch
- Reaktionen und Äquilibrierungen
- Organo-metallische Komplexe
- Dynamik von Flüssig Kristalle in der FK Phase

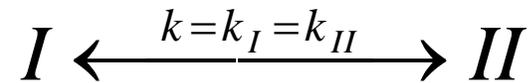
Einführung



1. Langsamer Austausch (2 Resonanzen)
2. Zwischenbereich (1 breite Resonanz)
3. Schneller Austausch (1 Resonanz)

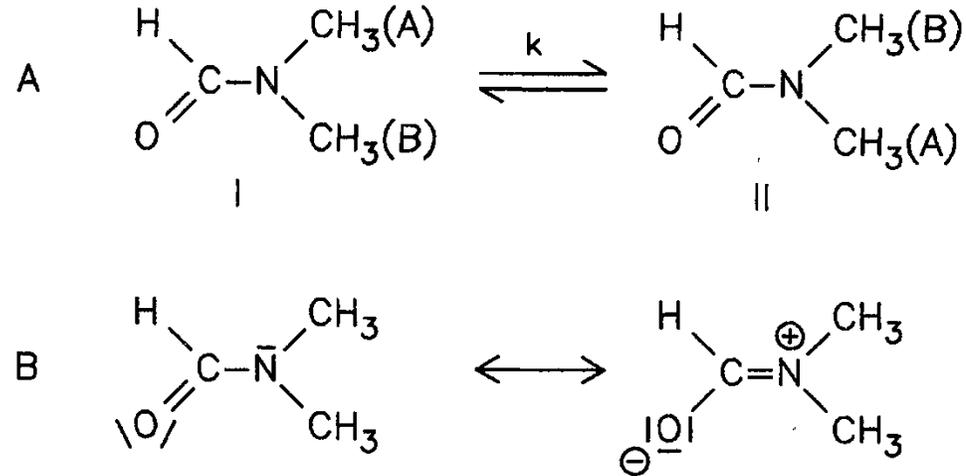
$$v = \frac{v_A + v_B}{2}$$

reversible Reaktion 1. Ordnung
beschrieben durch zwei
Geschwindigkeitskonstanten - k_I and k_{II}



Einführung

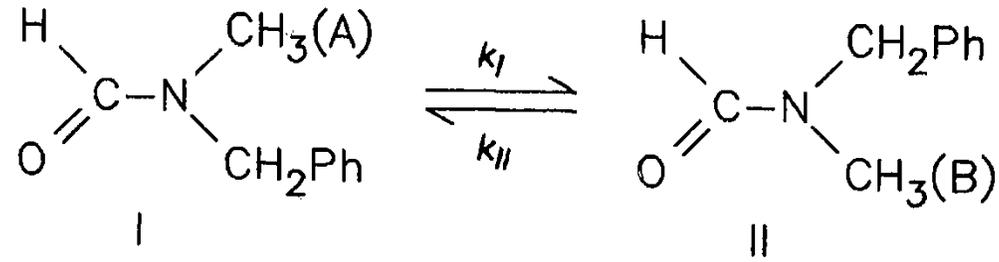
Wie ändert sich ein NMR Spektrum, wenn die Kerne zwischen zwei unterschiedlich abgeschirmten Positionen hin- und her- wechseln: DMF mit seinen zwei mesomeren Grenzstrukturen



Die C-N Bindung enthält einen hohen Doppelbindungsanteil, wodurch die Rotation verhindert ist und beide Methylgruppen sich in verschiedenen Umgebungen befinden.

Einführung

Wenn die Methylgruppe mit einer Benzylgruppe substituiert ist, sind die zwei Rotamere nicht mehr energiegleich und $k_I \neq k_{II}$



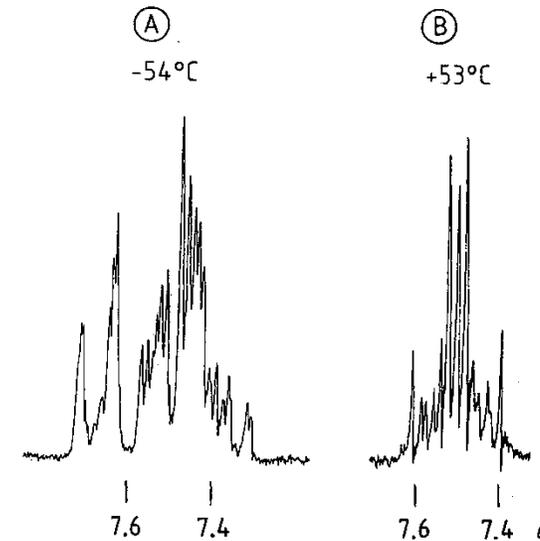
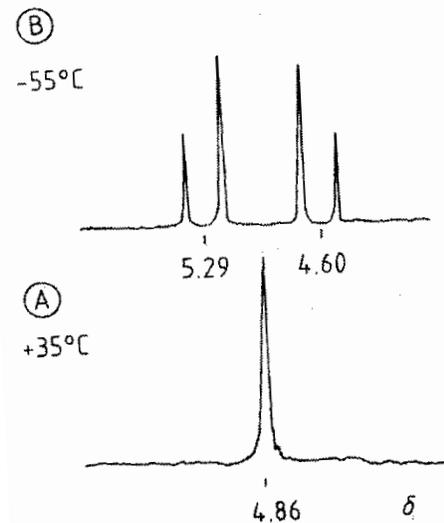
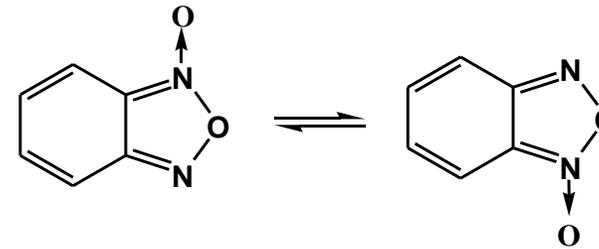
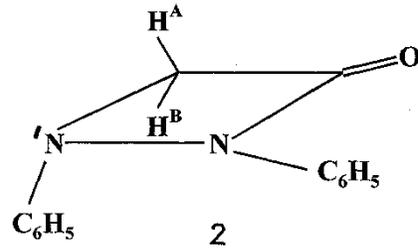
Temperaturerhöhung führt zu schnellen Platzwechseln und die Signale koaleszieren. Das Signal liegt im gemeinsamen Schwerpunkt.

$$V = x_I V_A + x_{II} V_B = x_I V_A + (1 - x_I) V_B$$

x_I und x_{II} sind die Stoffmengeanteile von I und II und $x_I + x_{II} = 1$

Einführung

Bei 1,2-Diphenyldiazetidinon ist ein typisches AB-Spektrum zu beobachten – die geminal gekoppelte Protonen sind unterschiedlich abgeschirmt bei niedrigen Temperaturen. Benzofuroxan (ABCD Spektrum bei niedrigen Temperaturen) und $([AB]_2)$ symmetrisches Spektrum beim schnellen Austausch



Linienformanalyse

Die Linienform sind von Austauschgeschwindigkeitskonstante k , bzw. von der Verweildauer τ_1 der Kerne in einer bestimmten Umgebung abhängig

Gang einer Analyse:

1. Mehrere Spektren abhängig von der Temperatur aufnehmen
2. Analyse der Spektren ohne Austausch um Verschiebungen, Kopplungskonstanten und Halbwertsbreite zu bestimmen – für komplexe Spektren nur möglich mit Programmen
3. Berechnung der Spektren für den Koaleszenzbereich – dabei verwendet man die Parameter beim zweiten Schritt bestimmt und variiert die Austauschgeschwindigkeitskonstante k
4. Berechnung der Spektren für schnelle Austausch – nur nötig für mehr komplexe Spin Systeme oder für Systeme mit mehreren Austauschorte mit verschiedenen Geschwindigkeitskonstanten

Koaleszenztemperatur T_c und Geschwindigkeitskonstante k_c

$$k_c = \frac{\pi \Delta \nu}{\sqrt{2}} = 2.22 \Delta \nu$$

Gilt wenn:

- der ablaufende dynamische Prozess ist kinetisch erster Ordnung
- die beiden Singulets sind gleich intensiv
- keine Kopplung zwischen den austauschenden Kernen

Für 2 j-gekoppelten austauschenden Kernen:

$$k_c = 2.22 \sqrt{\Delta \nu^2 + 6J_{AB}^2}$$

- Je höher die Messfrequenz des Spektrometers, desto höher die T_c
- Bei doppelter Messfrequenz liegt T_c um etwas 10°C höher

Aktivierungsparameter

Arrheniussche Aktivierungsenergie E_A

$$k = k_0 e^{-E_A / RT}$$

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_A}{RT}$$

T – Temperatur (K)

k_0 – Frequenzfaktor

R – allgemeine Gaskonstante, $R = 1.972 \text{ calK}^{-1}\text{mol}^{-1} = 8.3144 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$

Durch Auftragen von $\ln k$ gegen $1/T$ erhält man eine Gerade mit der Steigung E_A

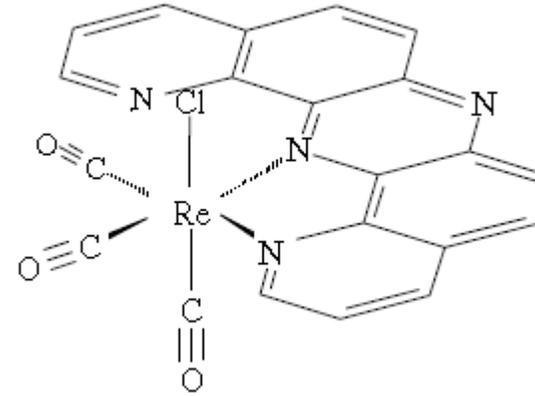
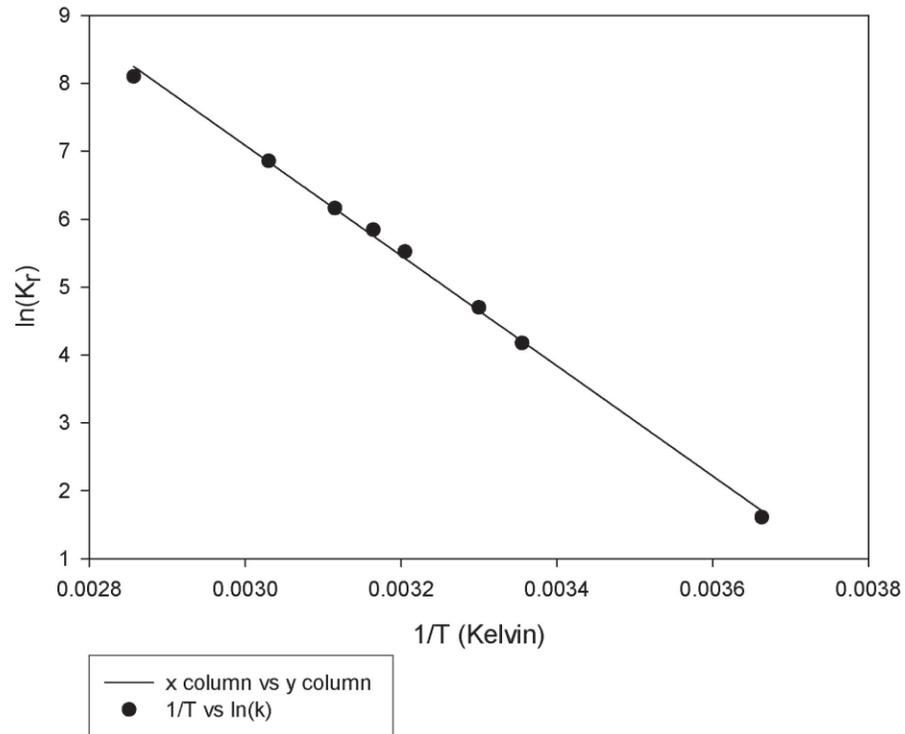
Bedingungen:

1. Möglichst viele Spektren über einen weiten Temperaturbereich aufzunehmen
2. k für diese Spektren durch eine vollständige Linienformanalyse berechnen

Aktivierungsparameter

Arrhenius'sche Aktivierungsenergie E_A

Re-DPOP, Arrhenius Plot
ln(K) vs. 1/T (Slope = $-E_a/R$)
Slope = -8117.0; $E_a = 16.1$ Kcal/Mol



Re- dpop' (dipyrido(2,3-a:3',2'-j)phenazine)

Aktivierungsparameter

Freie Aktivierungsenthalpie ΔG^\ddagger

$$k = x \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT} \quad \text{Eyring-Gleichung}$$

x – Transmissionskoeffizient, norm. 1

$$\Delta G_C^\ddagger = 4.58 T_C (10.32 + \log \frac{T_C}{k_C}) = 19.14 T_C (10.32 + \log \frac{T_C}{k_C}) \quad \text{cal.mol}^{-1}, \text{ J.mol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H - T\Delta S \quad \log \frac{k}{T} = 10.32 - \frac{\Delta H}{19.14 T} + \frac{\Delta S}{19.14}$$

Für mononukleare Reaktionen gilt:

$$\Delta H^\ddagger = E_A - RT$$

Für eine Mischung von 2 Isomere ist die Konzentration von [I] und [II] durch Integration zu bestimmen, wenn beide Isomere nicht energetisch gleich sind

$$K = \frac{[I]}{[II]}$$

I, II – relativ Konzentrationen der Isomeren in die Mischung

$$\Delta G_0^\ddagger = -RT \ln K$$

Anwendungen

Mit Hilfe von DNMR kann man:

1. zwischen Ausgangs- und Endprodukt der Reaktion unterscheiden
2. Änderungen in Reaktionen mit Geschwindigkeitskonstanten im Bereich von 10^{-1} to 10^{-3} sec, und mit ΔG^\ddagger Werte im Bereich von 5 to 25 kcal.mol⁻¹ (20-100 kJ.mol⁻¹) beobachten

Diese Grenzbedingungen sind vom technisch-erreichbaren Temperaturbereich sowie der Löslichkeit bei niedrigen Temperaturen abhängig

Rotation um die C-C Bindungen:

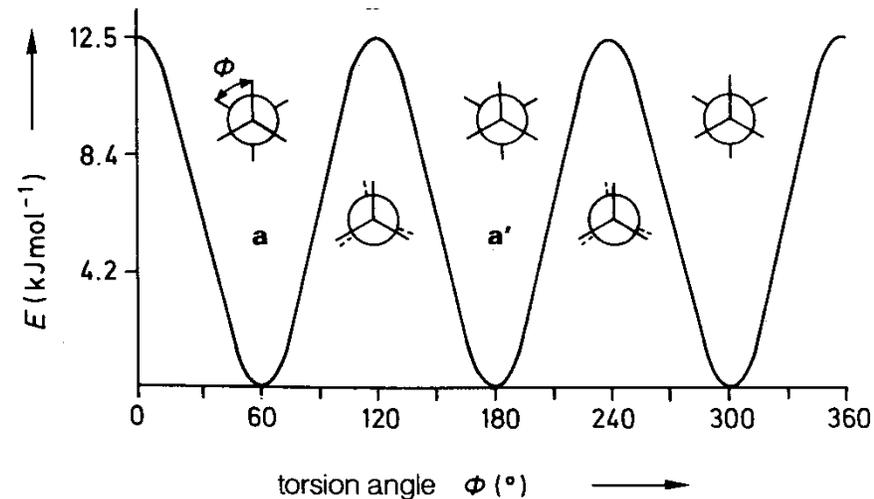
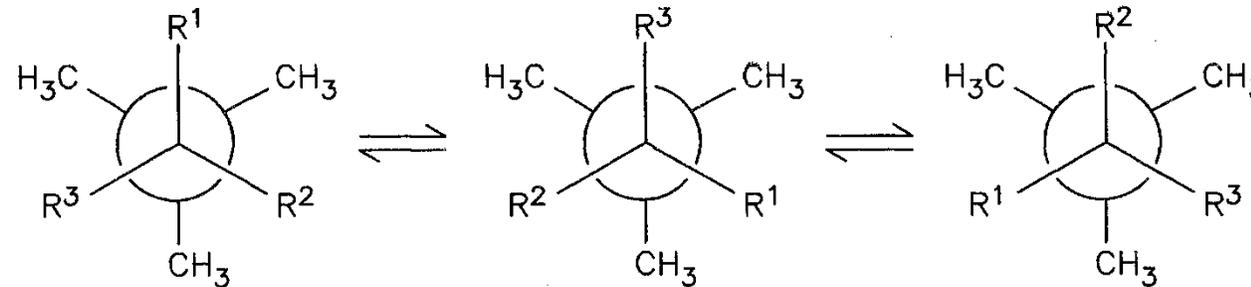
C (sp³) - C (sp³)

C (sp³) - C (sp²)

C (sp²) - C (sp²)

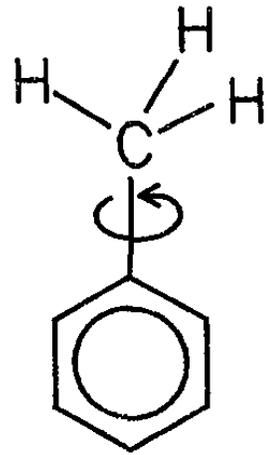
A1 – C(sp³)-C(sp³) Bindungen

Typisch Beispiel ist die Rotation um die C-C Einfachbindung im Fall vom Ethan und seine Derivaten

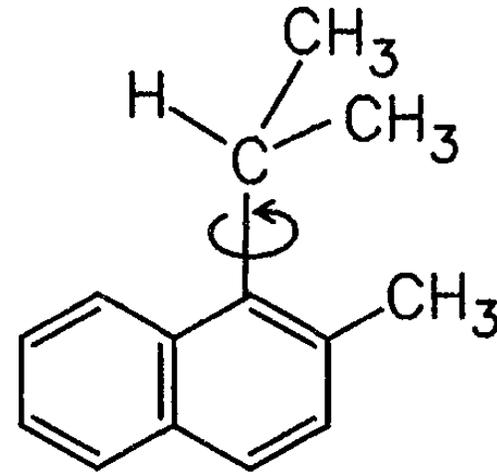


A1 – C(sp³)-C(sp²) Bindungen

Typisch Beispiel: die Rotation der Methylgruppe im Toluol – kann nicht eingefroren werden bei Temperaturen niedriger als -150°C.



toluene

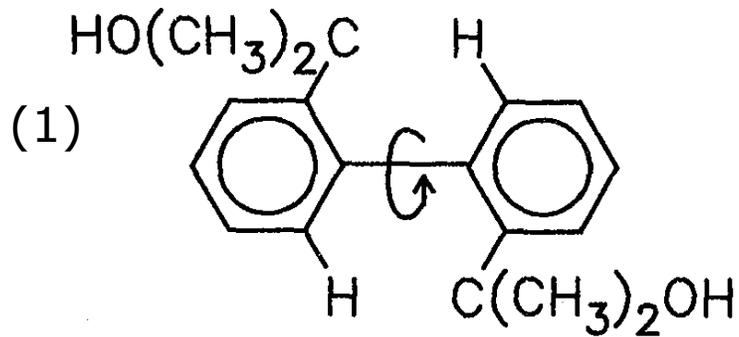


1-isopropyl-2-methylnaphthalene

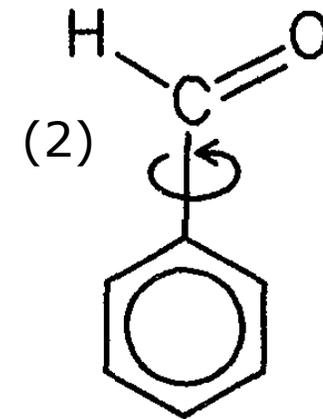
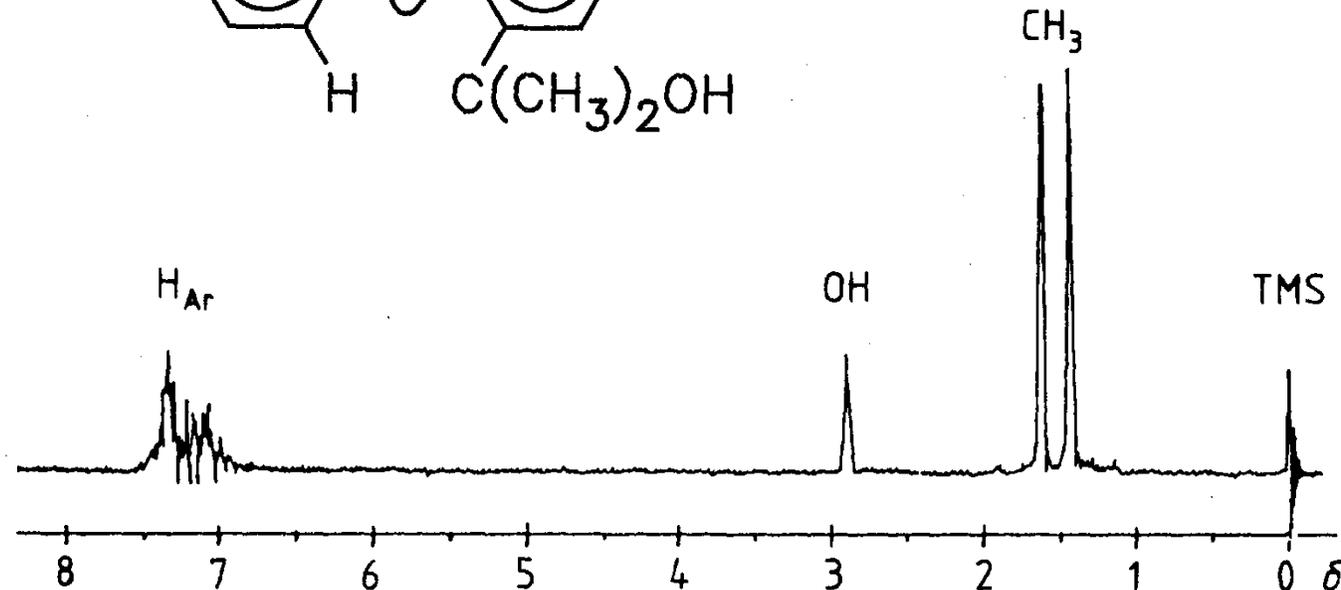
Das C (sp²) Atom ist ein Teil vom Arylring. Die Rotation wird aber eingeschränkt im Fall von C,C-Doppelbindungen oder Carbonylgruppen
Information über die günstigste Konformation

A1 – C(sp²)-C(sp²) Bindungen

Große Substituenten hindern die Rotation um die C,C-Bindung zwischen den beiden Phenylringen im Fall von Biphenylderivaten (Atropisomerie, Konformationsenantiomerie). (1) gehinderte Rotation von chiralen Derivaten von Butadien und aromatische Aldehyden (2) oder Ketonen.



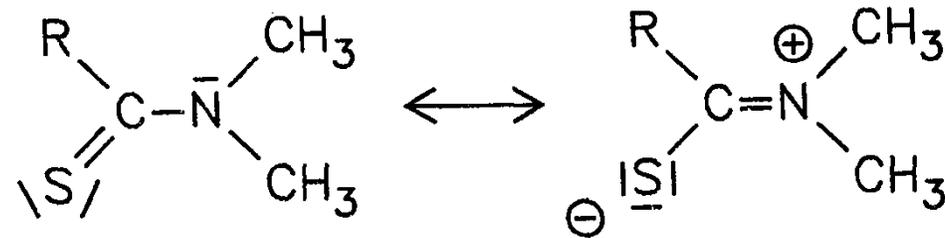
Die Rotationsbarriere ist auch von den elektronischen Effekten der Substituenten beeinflusst



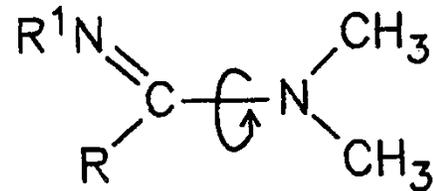
A2 – Rotation um partielle Doppelbindungen

Das klassische Beispiel - DMF

1. Rotation um die CN Bindung in Amiden
2. Rotation um die CN Bindung in Thioamiden (Die ΔG^\ddagger Werte sind ein bisschen höher als bei Amiden – die Überlappung zwischen den 2p und 3p Molekülorbitalen ist wenig effektiver als die zwischen den beiden 2p MO in den Amiden)

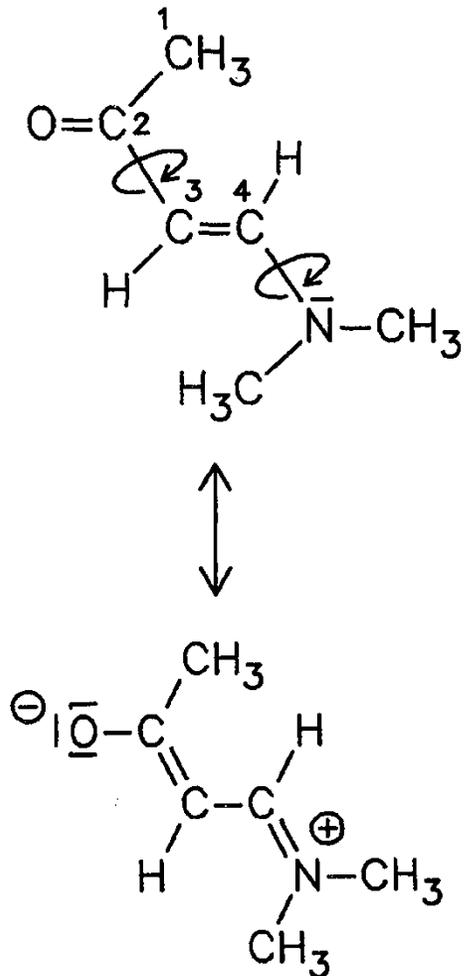


3. Amidine

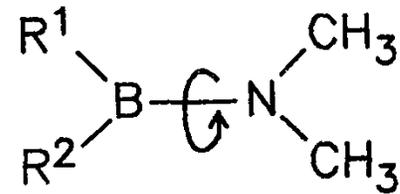


A2 – Rotation um partielle Doppelbindungen

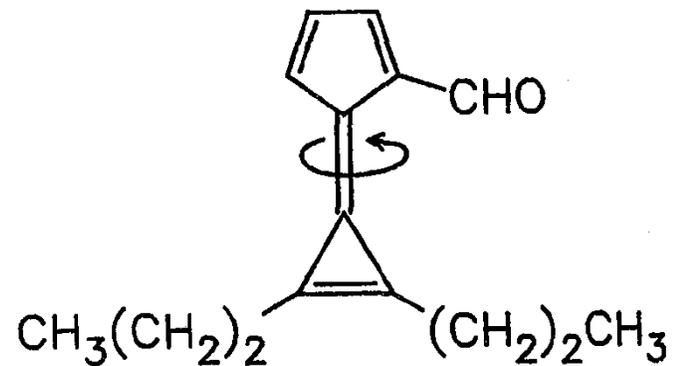
4. Enamine



5. Aminoborane

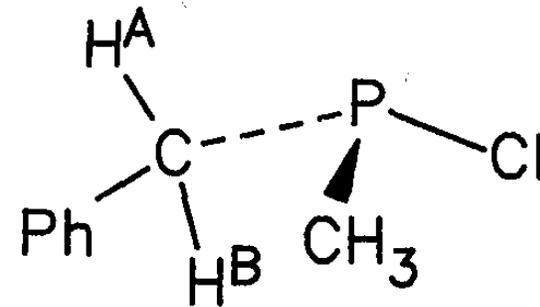
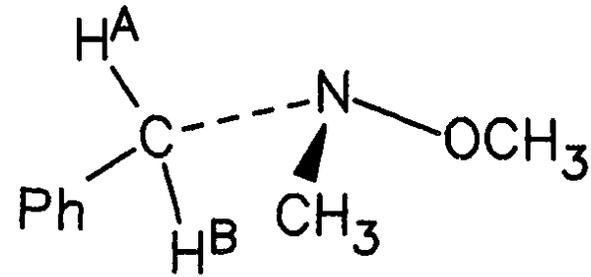
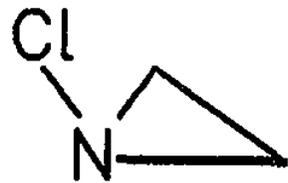
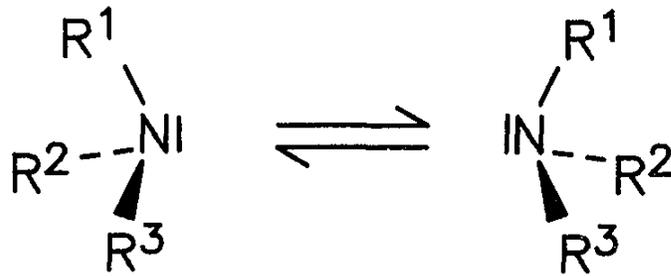


6. C,C-Doppelbindungen – die Energiebarriere ist normalerweise zu hoch um eine Rotation mit der Hilfe von NMR nachzuweisen

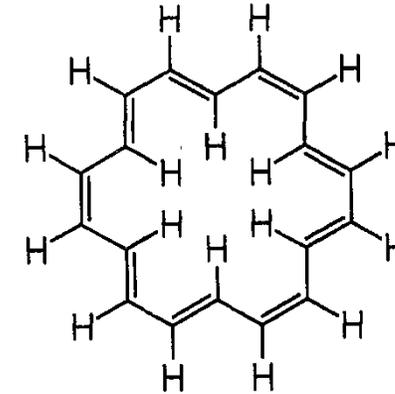
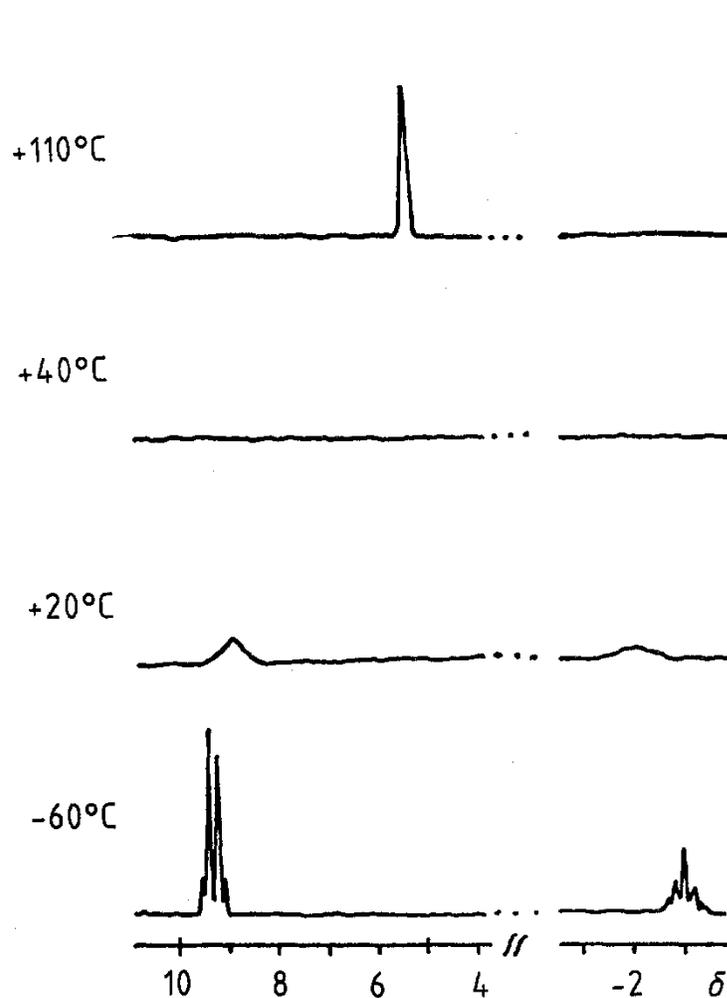


A3 – Inversion am N and P- Atome

1. Stickstoffverbindungen mit 3 verschiedenen Substituenten – 2 Enantiomere
2. Stickstoffatom in einen 3,4,5 und 6 Ringe
3. Inversion am drei valenten Phosphoratom



A4 – Ringinversion



[18-Annulen]

Beispiel für Ringstromeffekt

Bei -60°C – 2 Signale @ -3 und 9.3 ppm,
Aufspaltung wegen der J-Kopplung
detektiert, das Molekül hat aromatischen
Charakter

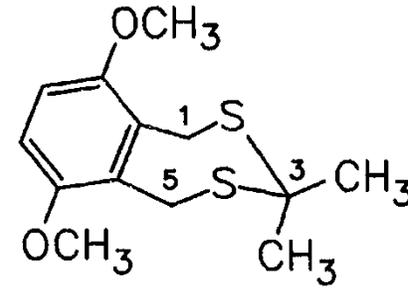
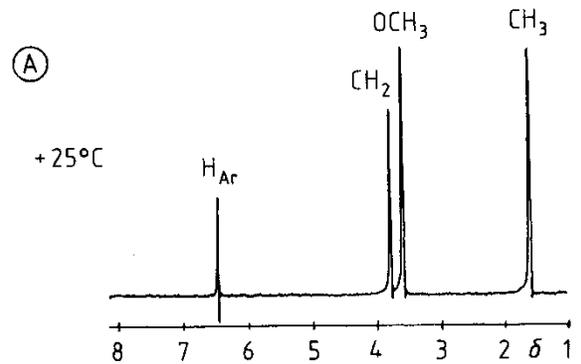
Raumtemperatur – Signalverbreitung

Bei 40°C – kein Signal detektiert

Bei 110°C – 1 Signal @ 5.3 ppm

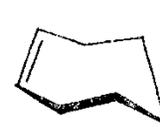
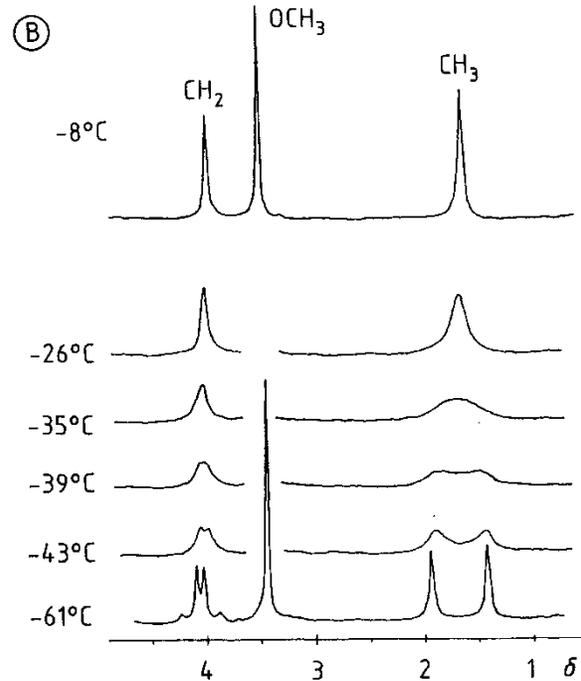
(Schwerpunkt), schneller Austausch von
inneren und äußeren Protonen

A4 – Ringinversion



Benzodithiepin-Derivat

1,5-dihydro-6,9-dimethoxy-3,3-dimethylbenzo[e][1,3]dithiopyne



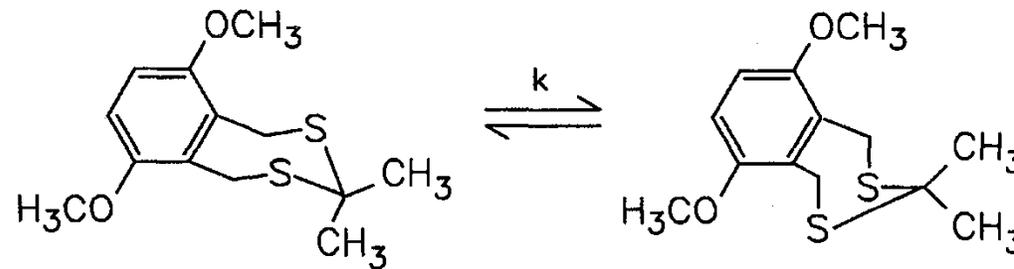
chair C



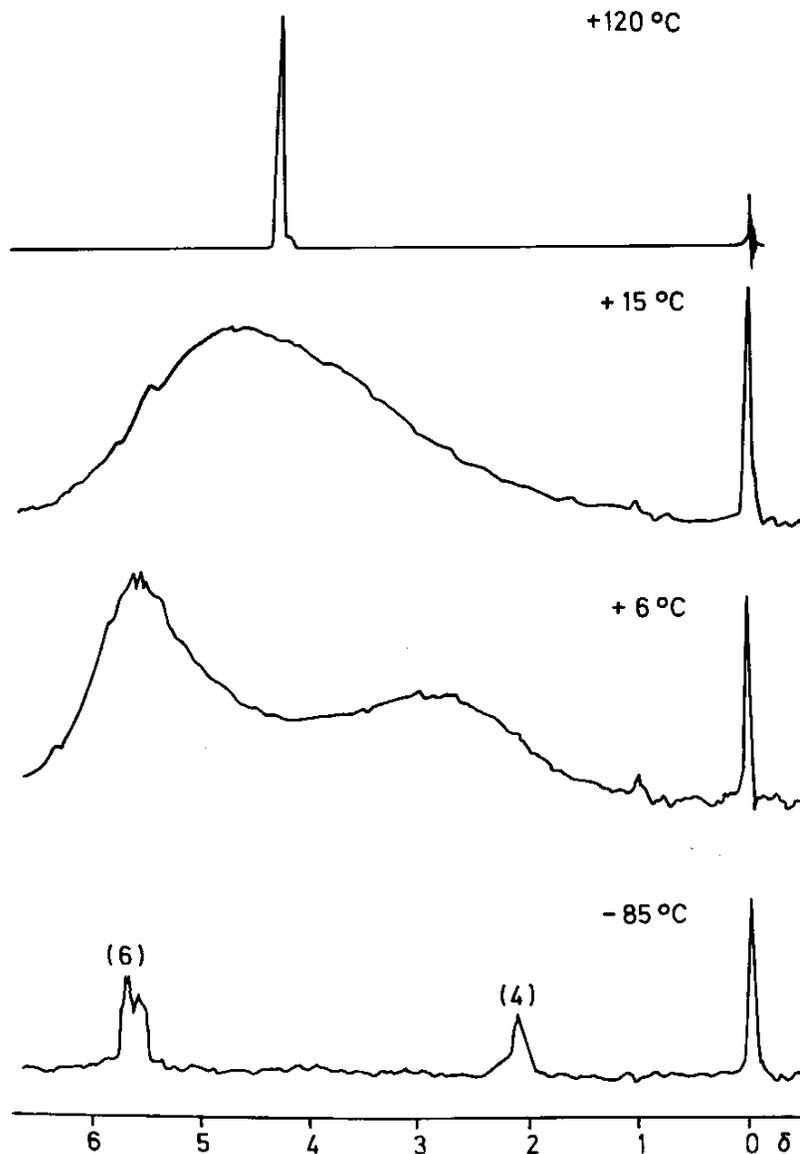
boat B



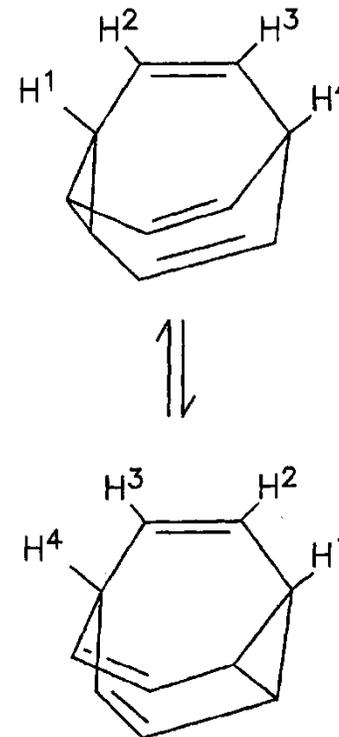
twisted boat TB



A5 – Valenztautomerie

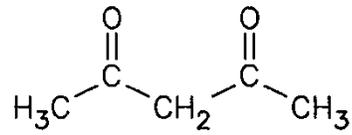


Bullvalen



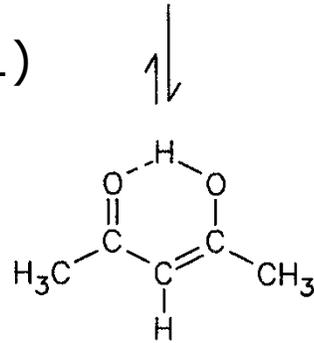
Bei höheren Temperaturen – Cope-
Umlagerung

A6 – Keto-Enol Tautomerie



β-Diketone (Acetylaceton)

(1)

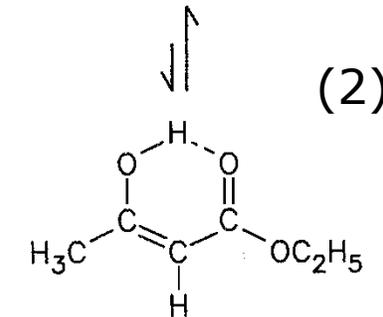
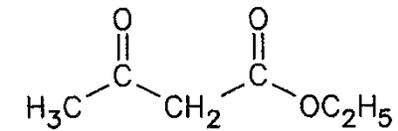
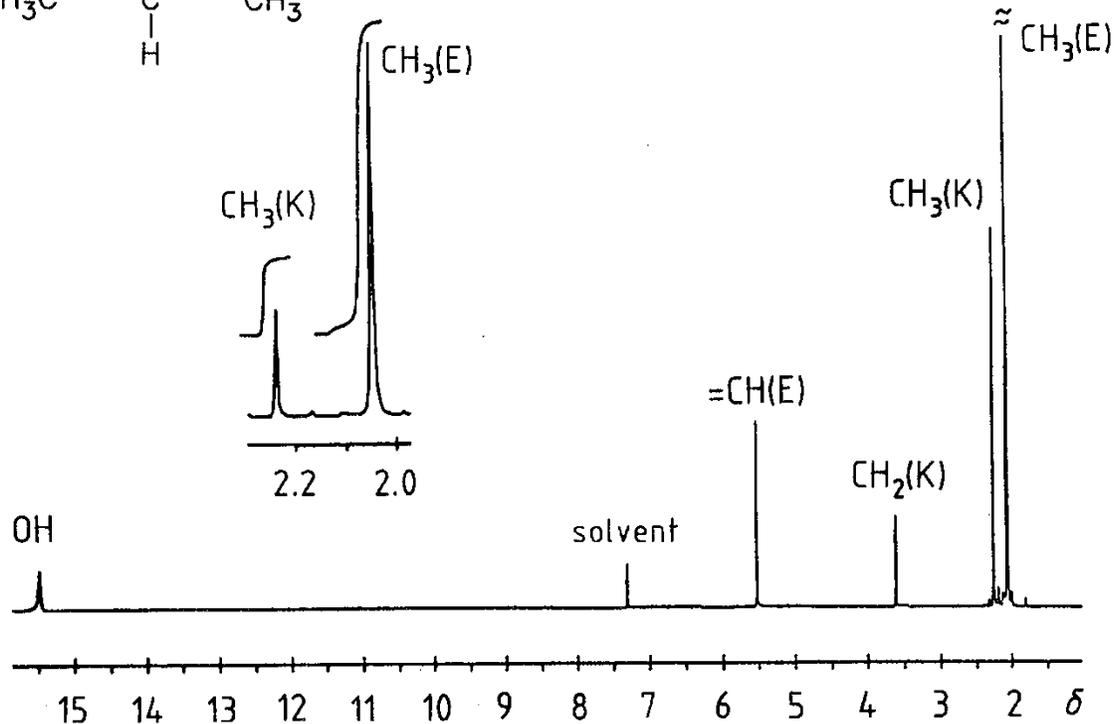


Tautomeren Verhältnis – Integration von Methylsignalen

Temperaturerhöhung oder Zugabe von Basen beschleunigt die

Umwandlung der Tautomeren – gemittelte Signale

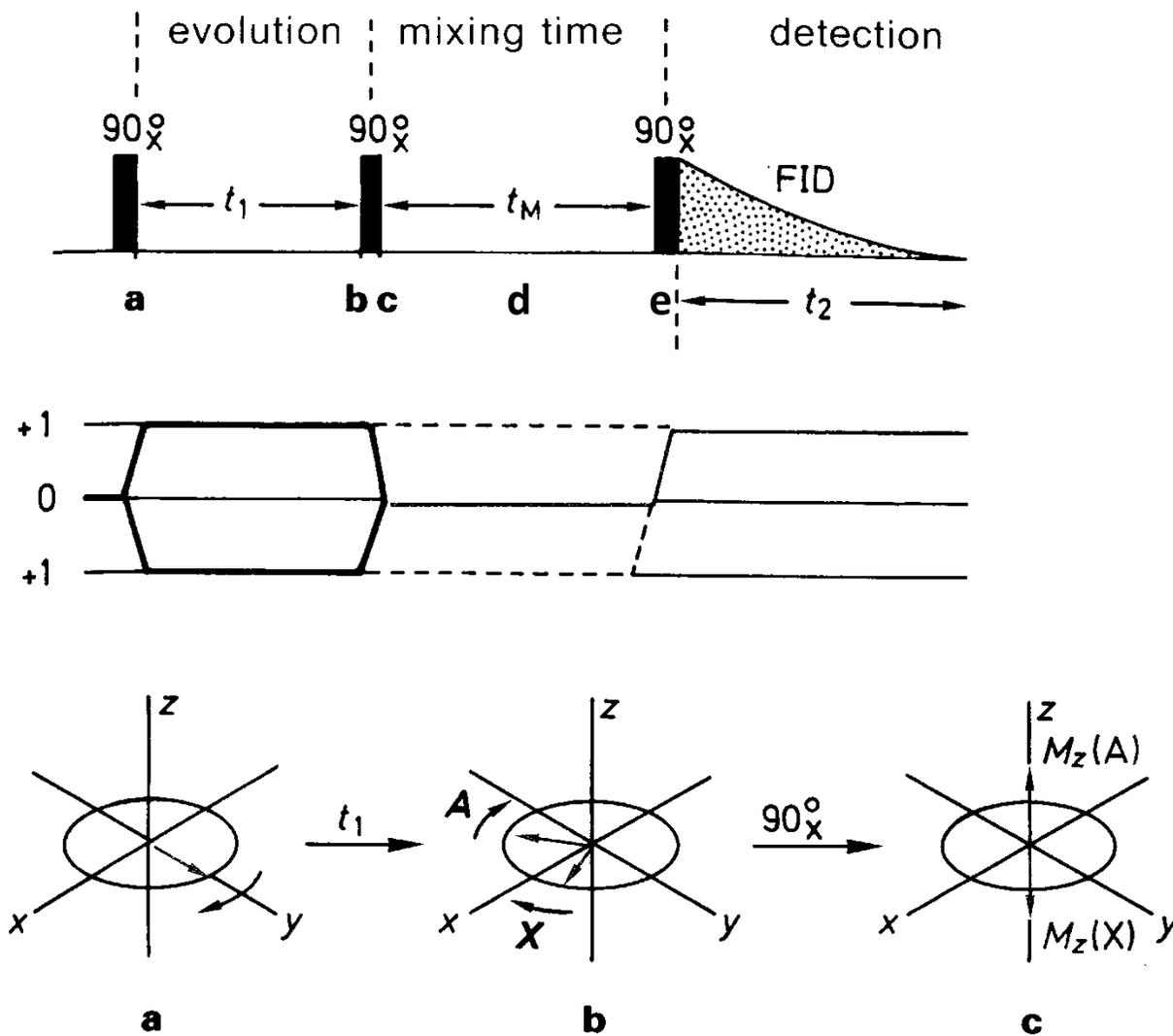
Im Fall von Acetessigester (2) – Enolform energetisch ungünstig



(2)

A7 – Intermolekularer Protonenaustausch

2D **EX**change **S**pectroscop**Y** (EXSY experiment)



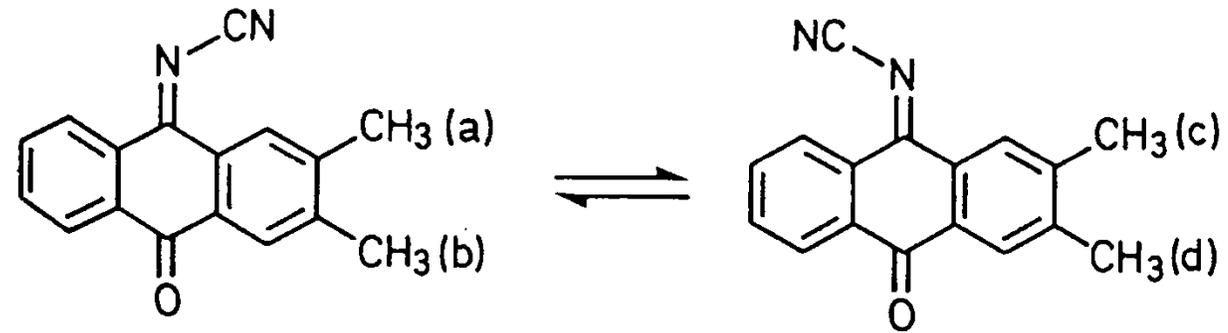
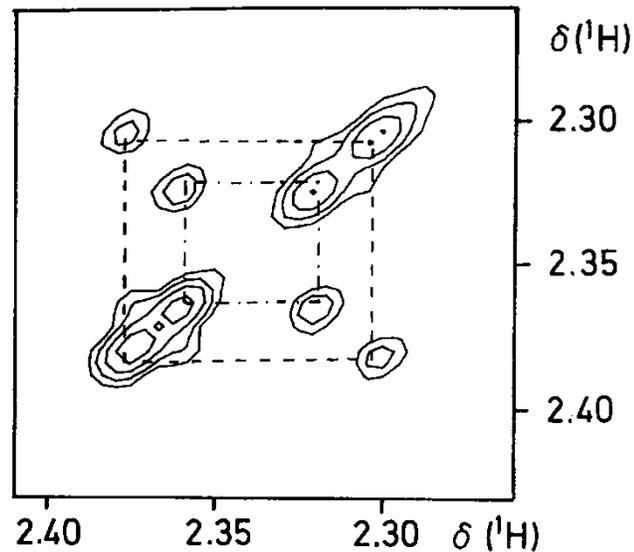
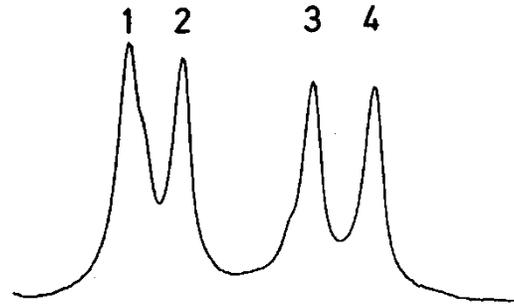
A7 – Intermolekularer Protonenaustausch

EXSY Experiment – Kreuzsignale sind beim langsamen Austausch für dynamische Systeme beobachtet

- a. Der 90° Impuls erzeugt die transversale Magnetisierungen $M_y(A)$ und $M_y(X)$ für beide Spins A und X die die Umgebung wechseln. $M_y(A)$ und $M_y(X)$ entweichen sich während die t_1 Periode abhängig von den Larmor Frequenzen (LF)
- b. Am Ende von t_1 haben die Resonanzsignale die Phasenkohärenz verloren (markiert nach seinen LF)
- c. Der zweite 90° Impuls erzeugt z-Magnetisierung (kann positiv oder negativ sein abhängig der Vektor-Orientierung und hat verschiedene Größen)
- d. Während der Mischzeit t_m (1-2 s) erzeugen die dynamische Prozesse Magnetisierungstransfer
- e. Der dritte 90° Impuls erzeugt wieder transversale Magnetisierung abhängig von t_1 und die Effizient des Magnetisierungstransfers während t_m . Die Geschwindigkeit vom Transfer ist von k (Geschwindigkeitskonstante) und von der Größe der Magnetisierung bei $t_m=0$ abhängig

A7 – Intermolekularer Protonenaustausch

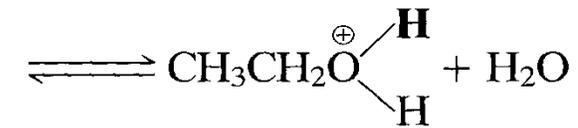
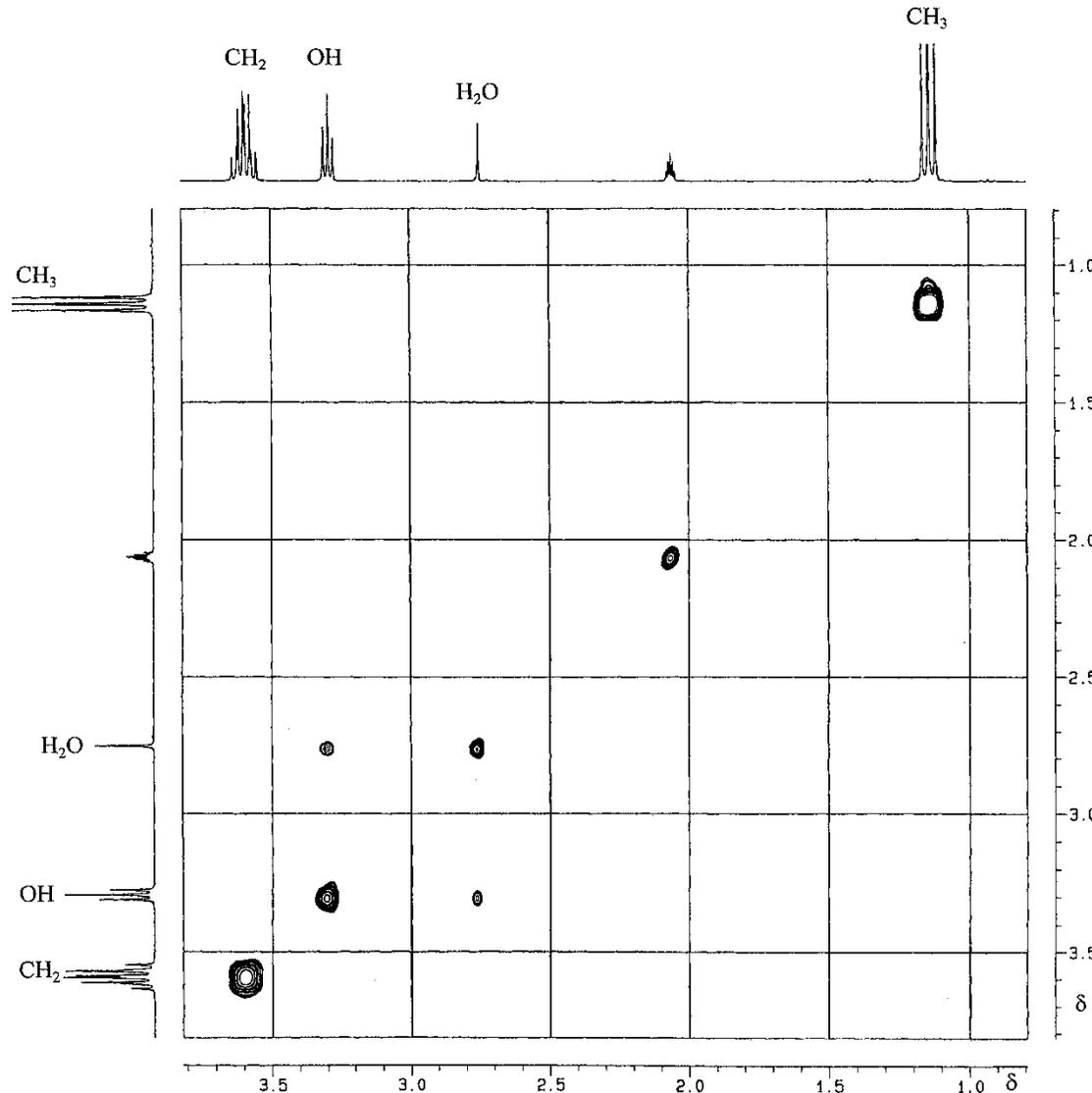
EXSY Spektrum in
 CD_2Cl_2 , -33°C , $t_{\text{mix}} = 1 \text{ s}$



2,3-Dimethylanthraquinon-9-cyanimin

A7 – Intermolekularer Protonenaustausch

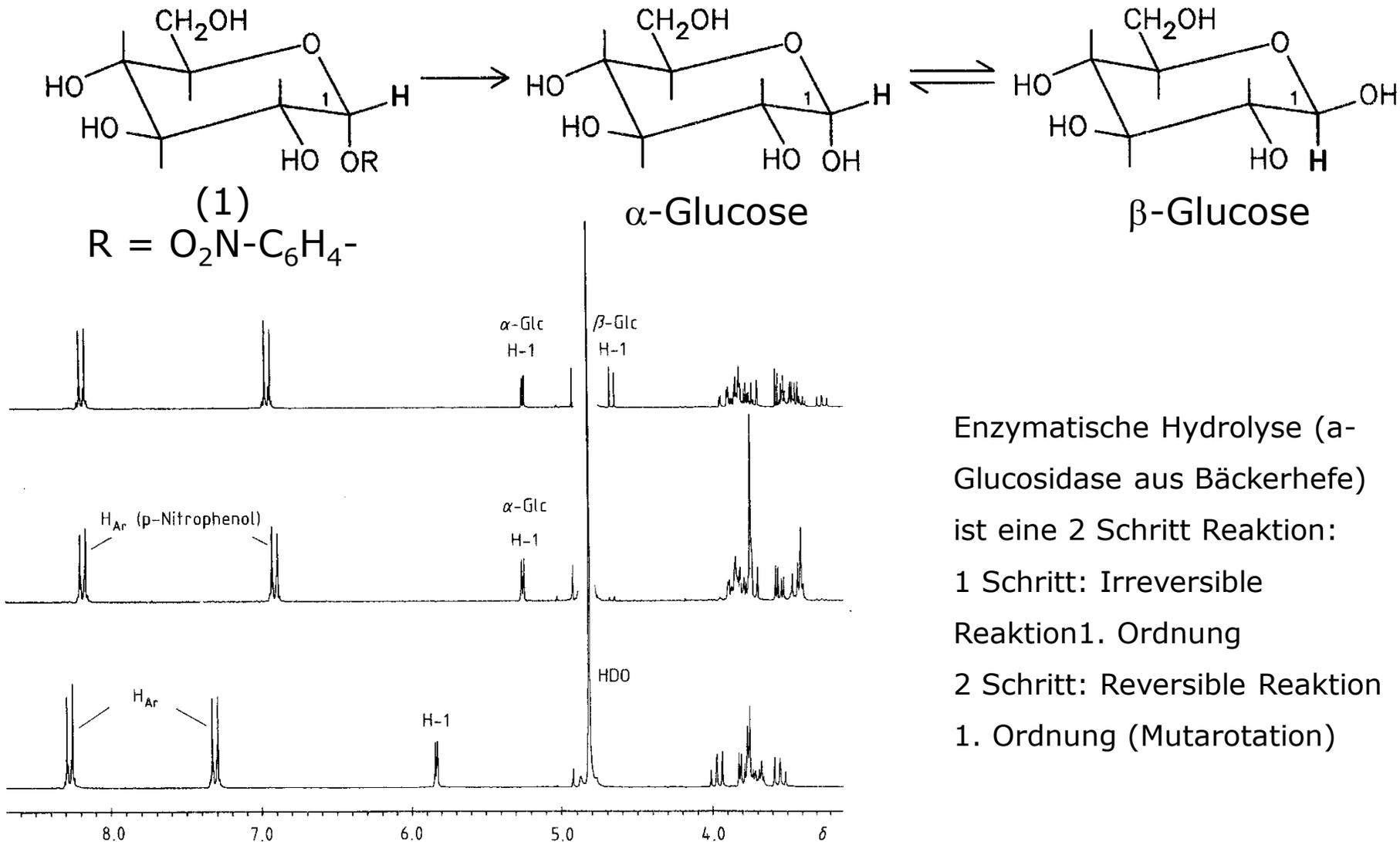
EXSY Spektrum von Ethanol in Aceton



Der Austausch ist langsamer als die NMR-Zeitmaßstab, bzw. bei Raumtemperatur ist die mittlere Lebensdauer der Protonen am Sauerstoff so groß, dass man die Kopplung zwischen den OH- und CH₂-Protonen sieht

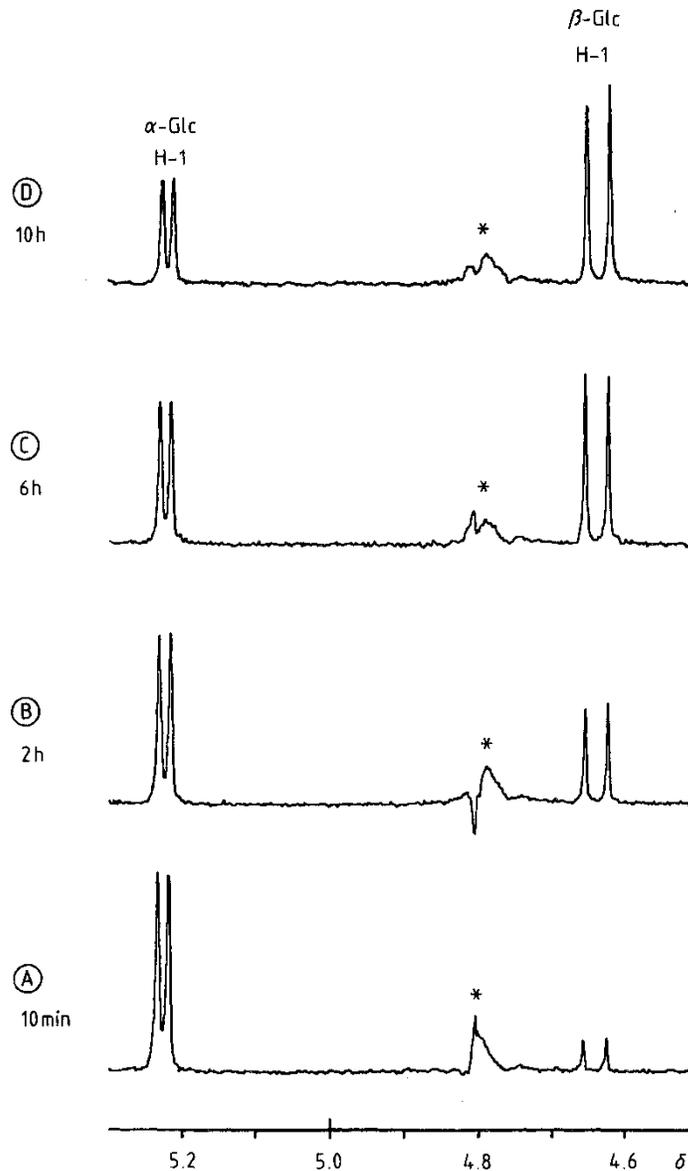
A8 – Reaktionen und Äquilibrierungen

Synthese von α - und β -Glucose aus 4-Nitrophenyl- α -D-Glucopyranosid



Enzymatische Hydrolyse (α -Glucosidase aus Bäckerhefe) ist eine 2 Schritt Reaktion:
 1 Schritt: Irreversible Reaktion 1. Ordnung
 2 Schritt: Reversible Reaktion 1. Ordnung (Mutarotation)

A8 – Reaktionen und Äquilibrierungen

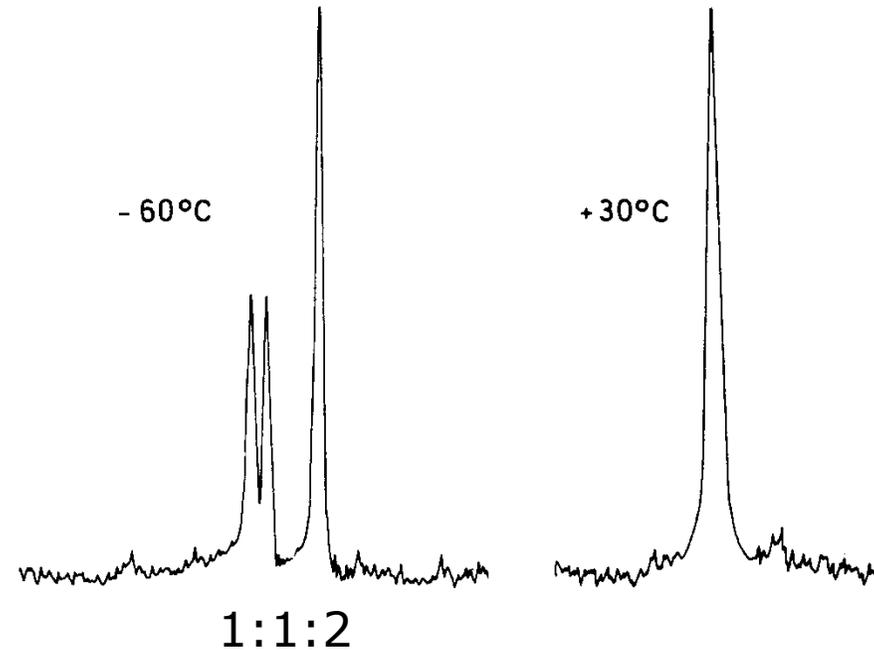
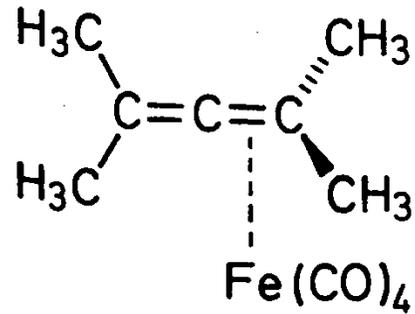


Mutarotation von Glucose

Integration der Signale ergibt das Verhältnis zwischen beiden Formen von Glucose (aufgenommen mit Lösemittelunterdrückung)

A9 – Dynamische Prozesse in Organometallische Chemie

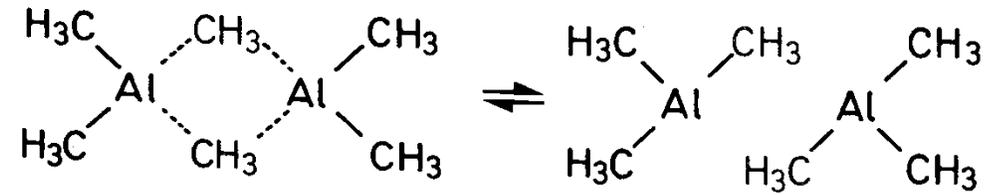
Metalkarbonyl Komplexe der Olefinen



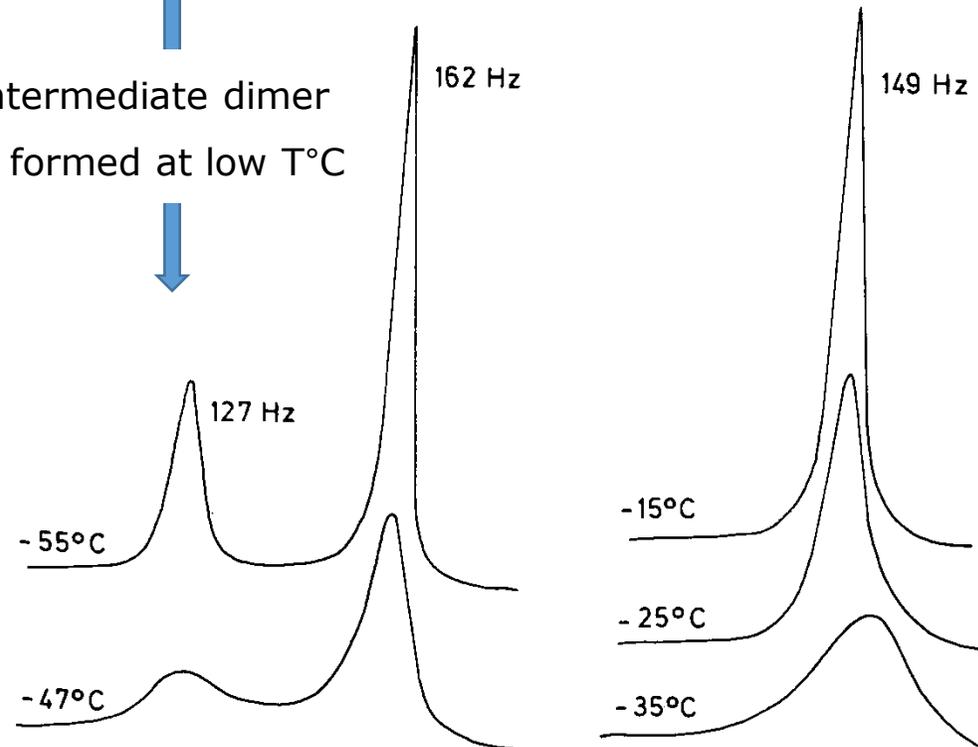
Bei niedrigen Temperaturen wies das Verhältnis der ^1H -Signalen eine gefrorene Struktur hin
Bei Raumtemperatur – gemitteltetes Signal wegen dem schnellen Austausch von $\text{Fe}(\text{CO})_4$
Im Fall von Überschuss von Tetramethylallen sind beide Signale separat im Spektrum zu beobachten

A9 – Dynamische Prozesse in Organometallischer Chemie

Intramolekularer Austausch in Trimethylaluminium

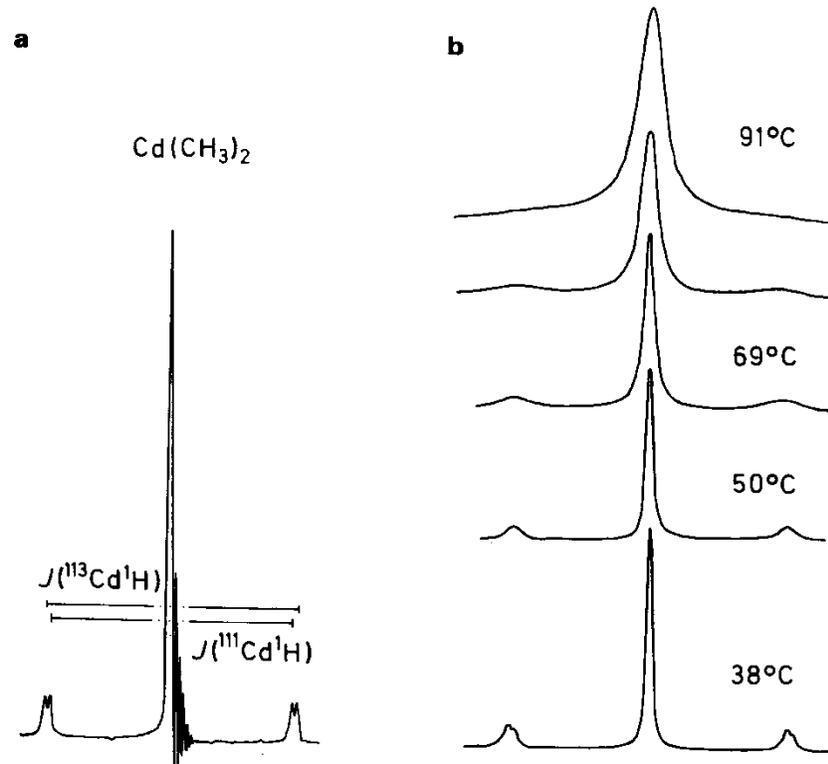


Intermediate dimer
is formed at low T°C



A9 – Dynamische Prozesse in Organometallische Chemie

Die Rolle der Kopplungskonstanten – Indikator von Austausch: $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$

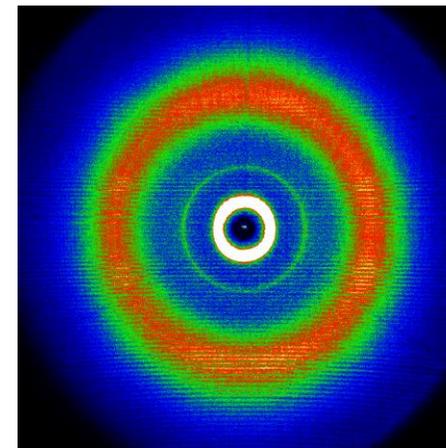
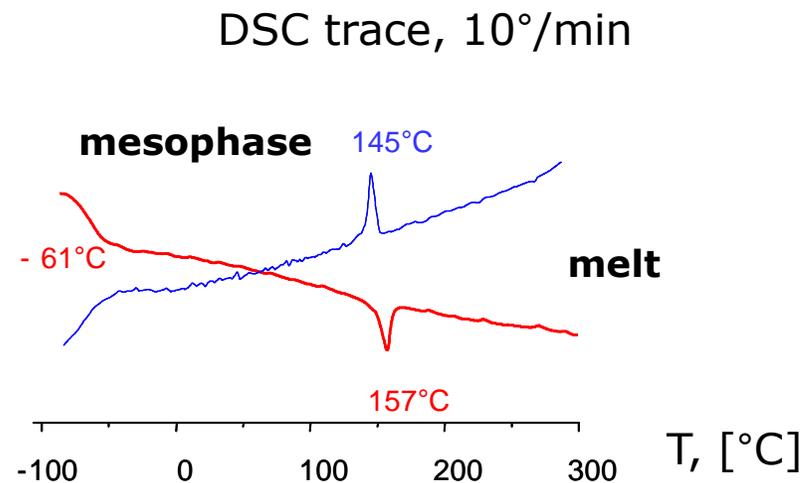
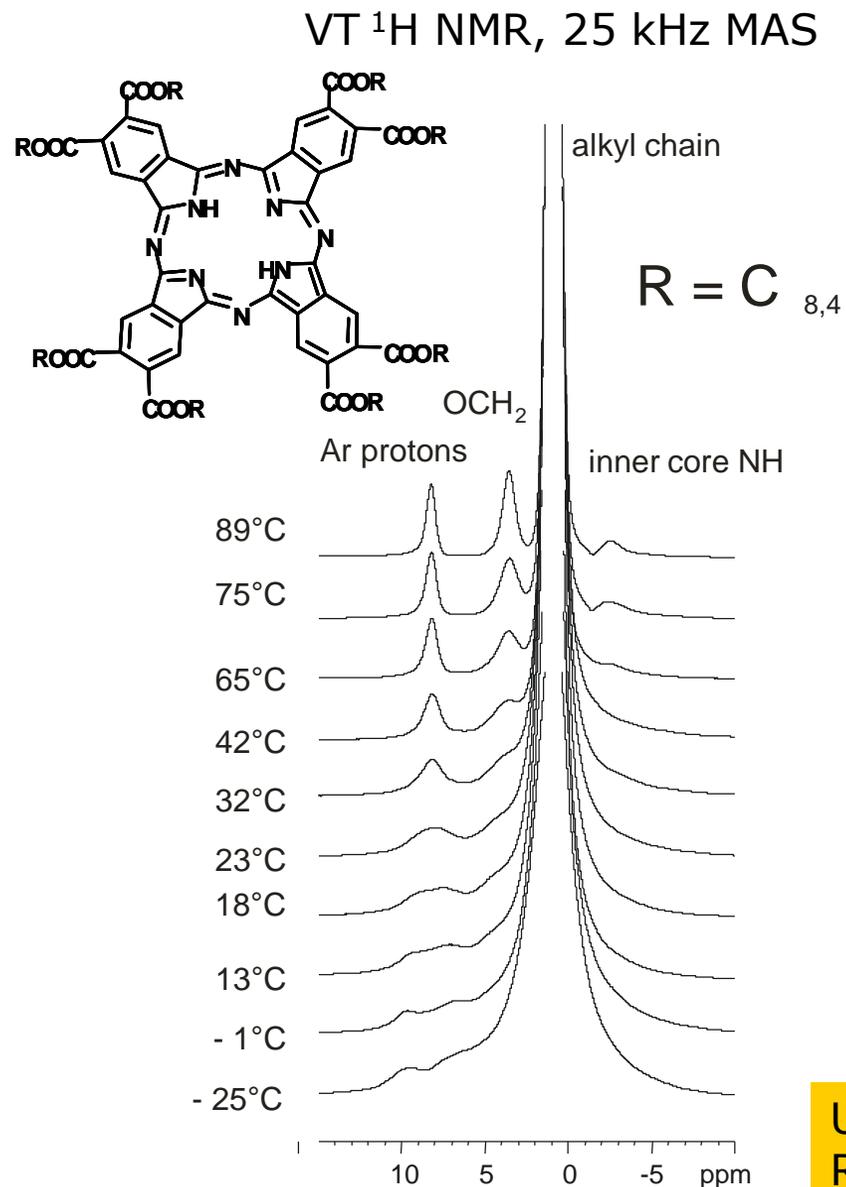


Cd kommt als Mischung aus ^{111}Cd (13%) und ^{113}Cd (12%) vor – beide haben einen Spin von $I = 1/2$; das magnetisch nicht aktive ^{112}Cd hat einen Spin von 0 ($I=0$)

Im ^1H Spektrum können wegen den J-Kupplungen des ^{111}Cd und ^{113}Cd Satelliten beobachtet werden.

Bei höherer Temperatur verschwinden die Satelliten wegen dem schnellen Austausch der CH_3 Gruppen.

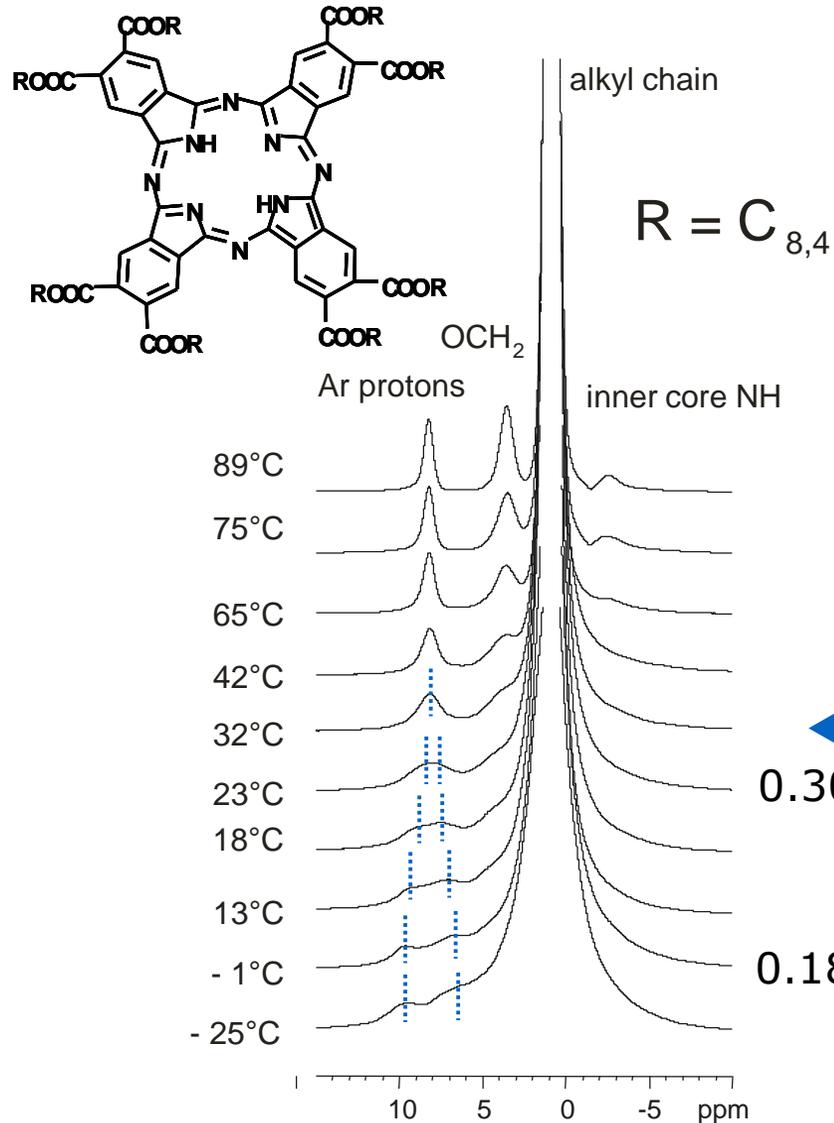
A10 – Dynamische Prozesse bei Flüssigkristallen



Ungeordnete Säulen wegen der höheren Raumforderung der verzweigten Ketten

A10 – Dynamische Prozesse bei Flüssigkristallen

VT ^1H NMR, 25 kHz MAS



Die Linienformanalyse zeigt langsame Taumelbewegung im Temperaturbereich -1°C : 23°C

Schnelle Rotation und verbesserte Stapelung bei höheren Temperaturen

$$\tau \sim 1/\Delta\nu^2$$

Koaleszenztemperatur

$$k_{\text{ex}} = \pi\Delta\nu\sqrt{2} = 2.22\Delta\nu$$

$$\tau \sim 1/\Delta\nu$$

0.30 ms

0.18 ms

Literature

1. H. Friebolin, Basic One and Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Wiley-VCH, 2005
2. H. Günther, NMR Spectroscopy – Basic principles, concepts and applications in chemistry, Wiley-VCH, 2001
3. L. Jackmann, F. Cotton Eds., Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Academic Press, 1975
4. R. Macomber, A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy, John Wiley & Sons, 1998, p. 158-175
5. K. Zimmer et al, Inorg. Chim. Acta, 2006, 359, p. 1478-1484
6. M. Mondeshki – PhD thesis

1. Kernspin im Magnetfeld

$$\hat{H} = -\gamma B_0 \hat{I}_Z$$

Die Eigenfunktionen von \hat{I}_Z sind mit $m=2nI+1$ charakterisiert. Für $I=1/2$:

$$\hat{I}_Z \Psi_{+1/2} = +\frac{1}{2} \hbar \Psi_{+1/2} \quad \hat{I}_Z \Psi_{-1/2} = -\frac{1}{2} \hbar \Psi_{-1/2} \quad \hat{I}_Z \Psi_m = m \hbar \Psi_m$$

Die Eigenfunktionen von \hat{I}_Z sind auch Eigenfunktionen von \hat{H}

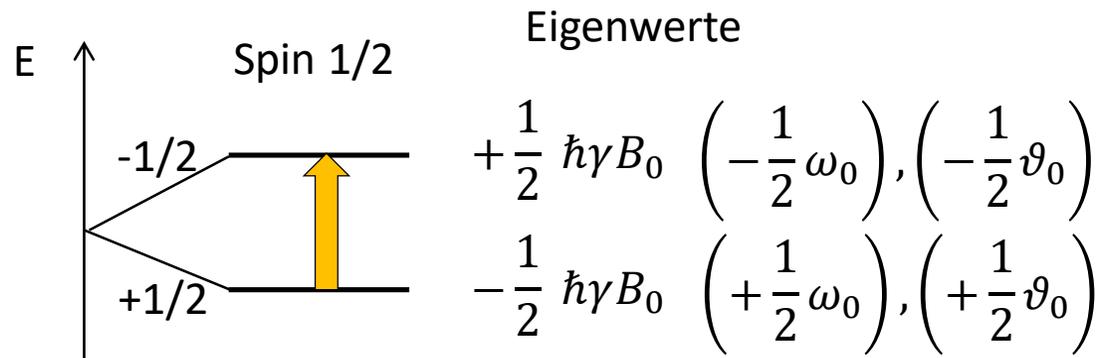
$$\hat{H} \Psi_{+1/2} = -\gamma B_0 [\hat{I}_Z \Psi_{+1/2}] = -\gamma B_0 \left[+\frac{1}{2} \hbar \Psi_{+1/2} \right] = -\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0 \Psi_{+1/2}$$

$$E_m = -m \hbar \gamma B_0 = -m \hbar \omega_0$$

$$\Delta E = \Delta m_I \cdot \hbar \omega_0 = \hbar \omega_0$$

$$\Delta m_I = \pm 1$$

$$\hat{H} = \omega_0 \hat{I}_Z$$



1. Produktoperator Formalismus

Die Produktoperator Methode ist eine Quantenmechanische Methode - vollständige Beschreibung des Systems

$\hat{\rho}(t) = a_X(t)\hat{I}_X + a_Y(t)\hat{I}_Y + a_Z(t)\hat{I}_Z$ Linearkombination von Kernspin Eigendrehimpuls Komponenten Operatoren

$$M_X(t) = a_X(t)$$

$$M_Y(t) = a_Y(t)$$

$$M_Z(t) = a_Z(t)$$

Die Entwicklung des Dichteoperators mit der Zeit ist:

$\hat{\rho}(t) = \exp(-i\hat{H}t)\hat{\rho}(0)\exp(i\hat{H}t)$ \hat{H} variabel während Impulsen und Zeitperioden

Freie Präzession: $\hat{H} = \Omega\hat{I}_Z$ Ω Offset in Rotierenden Koordinaten System

Hart Impulse um x: $\hat{H}_X = \omega_1\hat{I}_X$ ω_1 RF Feld

1. Produktoperator Formalismus

Beispiel $\hat{\rho}(0) = \hat{I}_X$ und $\hat{H} = \Omega \hat{I}_Z$

$$\hat{\rho}(t) = \exp(-i\hat{H}t)\hat{\rho}(0)\exp(i\hat{H}t) = \exp(-i\Omega\hat{I}_Zt)\hat{I}_X\exp(i\Omega\hat{I}_Zt)$$

$$\exp(-i\theta\hat{I}_Z)\hat{I}_X\exp(i\theta\hat{I}_Z) \equiv \cos\theta\hat{I}_X + \sin\theta\hat{I}_Y \quad \text{von der Theorie des Eigendrehimpulses}$$

$$\exp(-i\Omega\hat{I}_Zt)\hat{I}_X\exp(i\Omega\hat{I}_Zt) = \cos(\Omega t)\hat{I}_X + \sin(\Omega t)\hat{I}_Y \quad \text{Vergleich mit dem Vektor Model}$$

$$\hat{I}_X \xrightarrow{\Omega\hat{I}_Zt} \hat{I}_X \cos(\Omega t) + \hat{I}_Y \sin(\Omega t) \quad \text{Verkürzung}$$

$$\hat{\rho}(0) \xrightarrow{\hat{H}t} \hat{\rho}(t)$$

Der Dichteoperator und Hamiltonoperator sind mit \hat{I}_X , \hat{I}_Y und \hat{I}_Z repräsentiert und alle Gleichungen sind schon gelöst

1. Freie Präzession

Die Effekte von der Entwicklung des Offsets und der skalaren Kopplung während der Periode der freien Präzession

$$\begin{aligned}\hat{I}_Z &\xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} \hat{I}_Z && \Omega_I \text{ ist der Offset von Spin I} \\ \hat{I}_X &\xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} \hat{I}_X \cos(\Omega_I t) + \hat{I}_Y \sin(\Omega_I t) \\ \hat{I}_Y &\xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} \hat{I}_Y \cos(\Omega_I t) - \hat{I}_X \sin(\Omega_I t)\end{aligned}$$

Für zwei Spin-System ist der Hamilton Operator für die Entwicklung unter der skalaren Kopplung $H = 2\pi J_{IS} I_Z S_Z$

$$\begin{aligned}\hat{I}_Z &\xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z} \hat{I}_Z \\ \hat{I}_X &\xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z} \hat{I}_X \cos(\pi J_{IS} t) + 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS} t) \\ \hat{I}_Y &\xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z} \hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS} t) - 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS} t)\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}2\hat{I}_Z \hat{S}_Z &\xrightarrow{2\pi \hat{I}_Z \hat{S}_Z J_{IS}} 2\hat{I}_Z \hat{S}_Z \\ 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z &\xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z} 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z \cos(\pi J_{IS} t) - \hat{I}_X \sin(\pi J_{IS} t) \\ 2\hat{I}_X \hat{S}_Z &\xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z} 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\pi J_{IS} t) + \hat{I}_Y \sin(\pi J_{IS} t)\end{aligned}$$

1. RF Impulse und wichtige Regel

Die RF Impulse werden orthogonal zu einer zur Achse spezifisch induzierten Rotation eingestrahlt $\hat{H}t = \alpha \hat{I}_X$ oder $\alpha \hat{I}_Y$

$$\hat{I}_Z \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm X}} \hat{I}_Z \cos \alpha \mp \hat{I}_Y \sin \alpha$$

$$\hat{I}_Y \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm X}} \hat{I}_Y \cos \alpha \pm \hat{I}_Z \sin \alpha$$

$$\hat{I}_X \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm X}} \hat{I}_X$$

$$\hat{I}_Z \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm Y}} \hat{I}_Z \cos \alpha \pm \hat{I}_X \sin \alpha$$

$$\hat{I}_Y \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm Y}} \hat{I}_Y$$

$$\hat{I}_X \xrightarrow{\alpha \hat{I}_{\pm Y}} \hat{I}_X \cos \alpha \mp \hat{I}_Z \sin \alpha$$

Während einer freien Präzession für zwei Spin-Systeme I und S ist die Entwicklung des Spindichteoperators repräsentiert als:

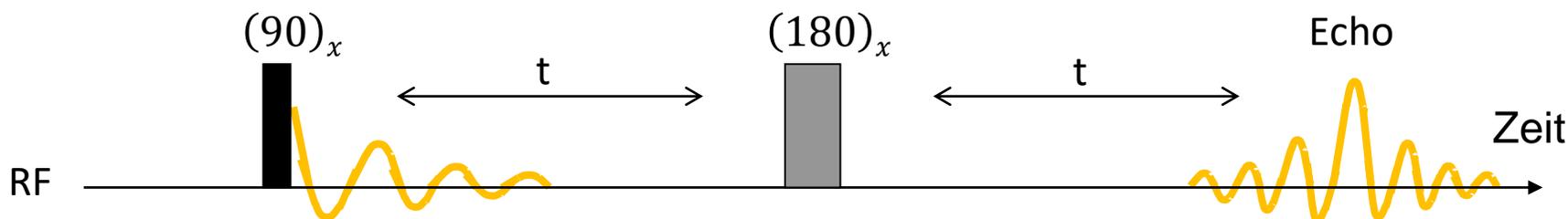
$$\hat{\rho}_1 \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t + \Omega_S \hat{S}_Z t + 2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z t} \hat{\rho}_4$$

$$\hat{\rho}_1 \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} \hat{\rho}_2 \xrightarrow{\Omega_S \hat{S}_Z t} \hat{\rho}_3 \xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_Z \hat{S}_Z t} \hat{\rho}_4$$

Der Effekt von non-selektiven Impulsen zu I und S Spins

$$\hat{\rho}_1 \xrightarrow{\alpha(\hat{I}_X + \hat{S}_X)} \hat{\rho}_3 \qquad \hat{\rho}_1 \xrightarrow{\alpha \hat{I}_X} \hat{\rho}_2 \xrightarrow{\alpha \hat{S}_X} \hat{\rho}_3$$

1. Spin Echo – Einzel Spin



$$\hat{I}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2} \hat{I}_X} -\hat{I}_Y \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} -\hat{I}_Y \cos(\Omega_I t) + \hat{I}_X \sin(\Omega_I t) \xrightarrow{\pi \hat{I}_X} \hat{I}_Y \cos(\Omega_I t) + \hat{I}_X \sin(\Omega_I t) \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t}$$

$$\longrightarrow \hat{I}_Y \cos^2(\Omega_I t) - \hat{I}_X \cos(\Omega_I t) \sin(\Omega_I t) + \hat{I}_X \sin(\Omega_I t) \cos(\Omega_I t) + \hat{I}_Y \sin^2(\Omega_I t)$$

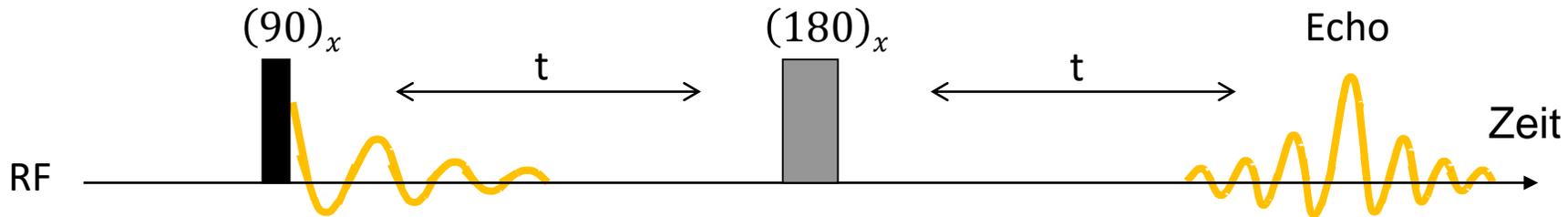
$$\cos^2(a) + \sin^2(a) = 1$$

$$\hat{I}_Y \cos(\Omega_I t) + \hat{I}_X \sin(\Omega_I t) \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_Z t} \hat{I}_Y$$

$$-\hat{I}_Y \xrightarrow{-t - \pi \hat{I}_X - t -} \hat{I}_Y$$

Keine Entwicklung unter Offset (CS) während der Spin Echo Sequenz.
Der Offset ist refokussiert

1. Spin Echo – 2 gekoppelte Spins (I, S - homonuklear)



$$\begin{aligned}
 \hat{I}_Z &\xrightarrow{\frac{\pi}{2}\hat{I}_X} -\hat{I}_Y \xrightarrow{2\pi\hat{I}_Z\hat{S}_Z t} -\hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS}t) + 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS}t) \xrightarrow{\pi\hat{I}_X} \\
 &\longrightarrow \hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS}t) + 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS}t) \xrightarrow{\pi\hat{S}_X} \hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS}t) - 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS}t) \xrightarrow{2\pi\hat{I}_Z\hat{S}_Z t} \\
 &\rightarrow \hat{I}_Y \cos^2(\pi J_{IS}t) - 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS}t) \cos(\pi J_{IS}t) - 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \cos(\pi J_{IS}t) \sin(\pi J_{IS}t) - \hat{I}_Y \sin^2(\pi J_{IS}t) \rightarrow
 \end{aligned}$$

$$\cos(2a) = \cos^2(a) - \sin^2(a)$$

$$\sin(2a) = 2\sin(a)\cos(a)$$

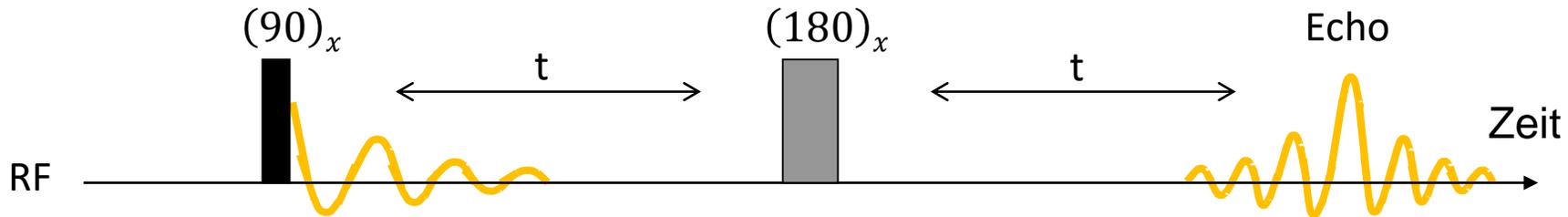
$$\rightarrow \hat{I}_Y \cos(2\pi J_{IS}t) - 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(2\pi J_{IS}t)$$

$$-\hat{I}_Y \xrightarrow{-t - \pi(\hat{I}_X + \hat{S}_X) - t} \hat{I}_Y \cos(2\pi J_{IS}t) - 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \sin(2\pi J_{IS}t)$$

$t=1/(4J_{IS})$ – generiert einen antiphasen Term $2I_X S_Z$

$t = 1/(2J_{IS})$ – generiert einen in-phasen Term $-I_Y$

1. Spin Echo – 2 gekoppelte Spins (I, S - heteronuklear)



$$\hat{I}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2} \hat{I}_X} -\hat{I}_Y \xrightarrow{2\pi \hat{I}_Z \hat{S}_Z t} -\hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS} t) + 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS} t) \xrightarrow{\pi \hat{I}_X} \\ \longrightarrow \hat{I}_Y \cos(\pi J_{IS} t) + 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS} t) \xrightarrow{2\pi \hat{I}_Z \hat{S}_Z t}$$

$$\rightarrow \hat{I}_Y \cos^2(\pi J_{IS} t) - 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J_{IS} t) \cos(\pi J_{IS} t) + 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\pi J_{IS} t) \sin(\pi J_{IS} t) + \hat{I}_Y \sin^2(\pi J_{IS} t) \rightarrow$$

$$\rightarrow \hat{I}_Y$$

$$\cos^2(a) + \sin^2(a) = 1$$

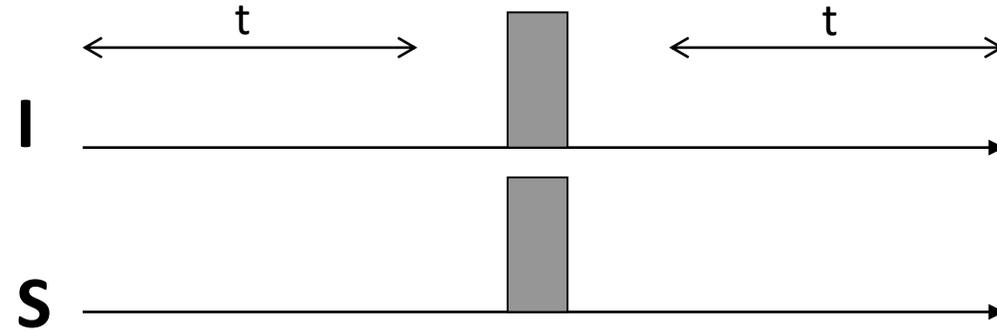
$$-\hat{I}_Y \xrightarrow{-t - \pi \hat{I}_X - t -} \hat{I}_Y$$

Die chemische Verschiebung und die heteronukleare Kopplung sind refokussiert;
Die S Spins sind von den I Spins entkoppelt

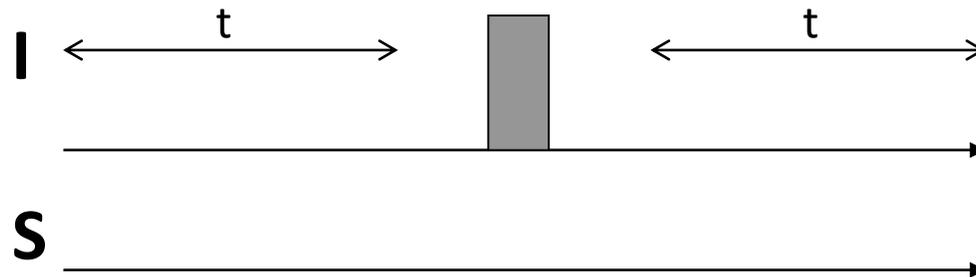
1. Spin Echo – Zusammenfassung

Homonuklearsystem: 180° an beiden Spins – Offset refokussiert, Verschiedene Optionen für

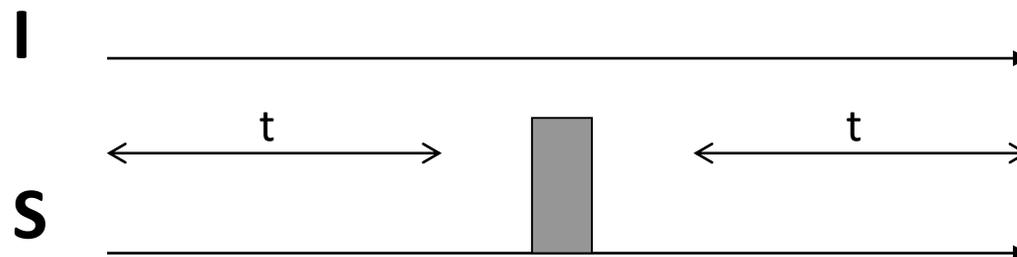
Heteronuklearsystem:



Offset refokussiert,
die Kopplung nicht



NUR I-Spin Offset refokussiert,
die Kopplung – refokussiert



NUR S-Spin Offset refokussiert,
die Kopplung – refokussiert

1. Kohärenztransfer und Multiplequantumkohärenz

Der Kohärenztransfer ist sehr wichtig für die 2D NMR Experimente;
kann mit dem Vektormodel nicht beschrieben werden

$$2\hat{I}_X\hat{S}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2}\hat{I}_Y} -2\hat{I}_Z\hat{S}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2}\hat{S}_Y} -2\hat{I}_Z\hat{S}_X$$

Die Kohärenz ist mittels RF Impulsen von einem zu einem anderen Spin transferiert

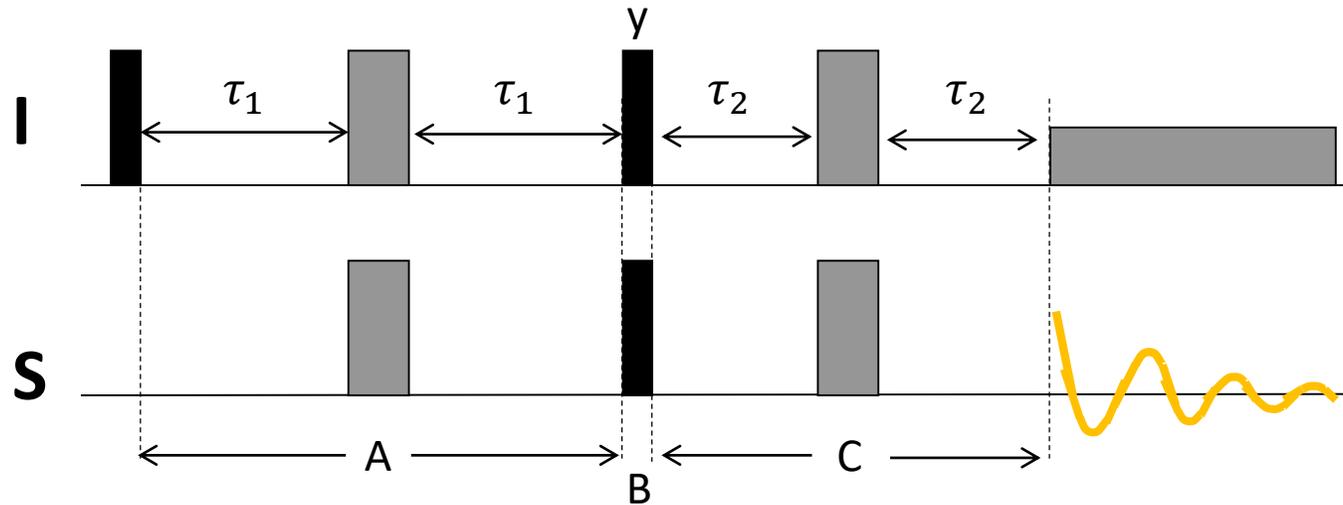
Generierung von Multipler Quantenkohärenz im Homonuklearen Fall

$$2\hat{I}_X\hat{S}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2}(\hat{I}_X+\hat{S}_X)} -2\hat{I}_X\hat{S}_Y$$

Generierung von Multiple Quantenkohärenz im Heteronuklearen Fall

$$2\hat{I}_X\hat{S}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2}\hat{S}_X} -2\hat{I}_X\hat{S}_Y$$

INEPT (insensitive nuclei enhanced by polarisation transfer)



Am Ende der Periode A $k_I \cos(2\pi J \tau_1) \hat{I}_Y - k_I \sin(2\pi J \tau_1) 2\hat{I}_X \hat{S}_Z$

Koheränztransfer findet nach dem zweiten 90° Impuls statt $-k_I 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(2\pi J \tau_1) \xrightarrow{(\pi/2)\hat{I}_Y}$

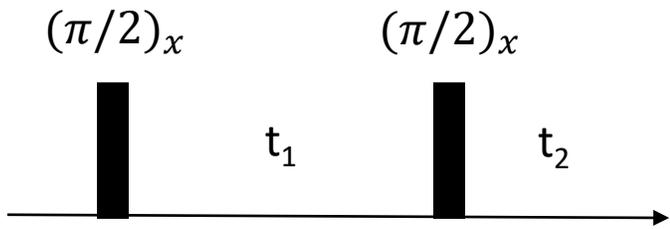
$\longrightarrow k_I 2\hat{I}_Z \hat{S}_Z \sin(2\pi J \tau_1) \xrightarrow{(\pi/2)\hat{S}_X} -k_I 2\hat{I}_Z \hat{S}_Y \sin(2\pi J \tau_1)$

Periode C – die Kopplung entwickelt sich; der Offset ist refokussiert

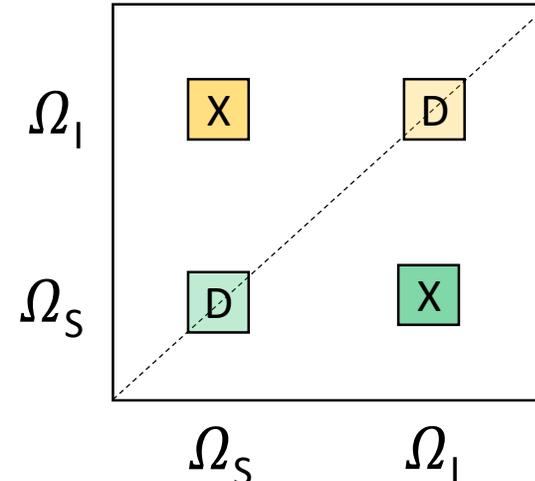
$-k_I 2\hat{I}_Z \hat{S}_Y \cos(2\pi J \tau_1) \sin(2\pi J \tau_2) + k_I \hat{S}_X \sin(2\pi J \tau_1) \sin(2\pi J \tau_2)$

Optimieren das in-phase Signal $\tau_1 = 1/4J$ $\tau_2 = 1/4J$

2. ^1H COSY: chemische Verschiebung und J-Kopplungen



Gleichzeitige Wirkung von der **freien Präzession** und den **j-Kopplungen**:



$$\hat{I}_Z \xrightarrow{\frac{\pi}{2} \hat{I}_X} -\hat{I}_Y \xrightarrow{t_1} -\hat{I}_Y \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) + 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\Omega_I t_1) \sin(\pi J t_1) + \hat{I}_X \sin(\Omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) + 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z \sin(\Omega_I t_1) \sin(\pi J t_1) \longrightarrow$$

$$\xrightarrow{\frac{\pi}{2} (\hat{I}_X + \hat{S}_X)} -\hat{I}_Z \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) - 2\hat{I}_X \hat{S}_Y \cos(\Omega_I t_1) \sin(\pi J t_1) +$$

$$+\hat{I}_X \sin(\Omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) - 2\hat{I}_Z \hat{S}_Y \sin(\Omega_I t_1) \sin(\pi J t_1)$$

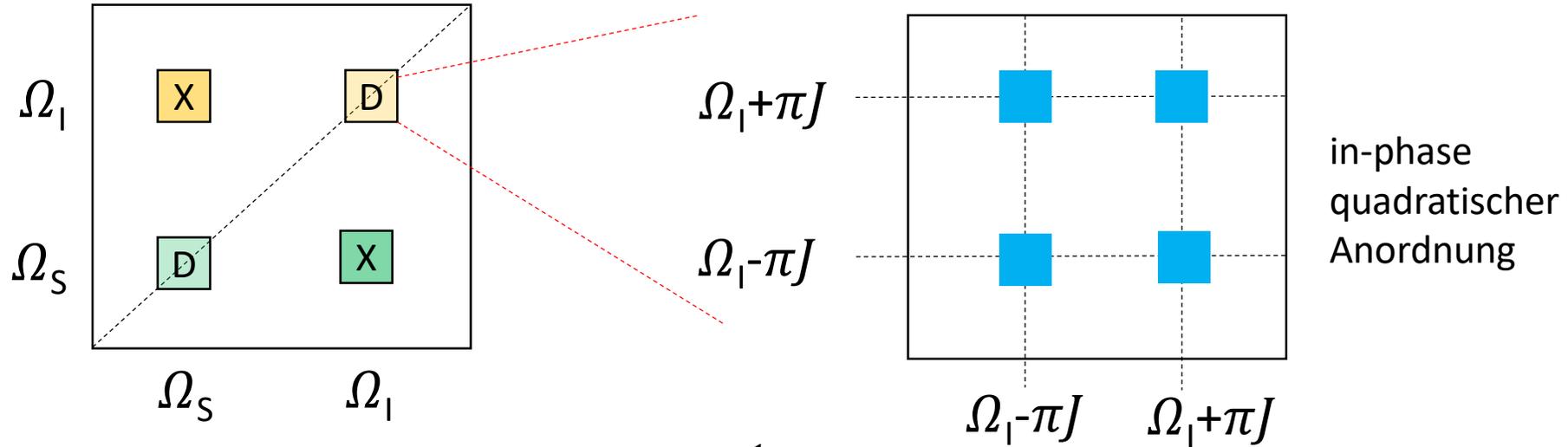
$$\hat{S}_Z \longrightarrow \dots \longrightarrow \hat{S}_X \sin(\Omega_S t_1) \cos(\pi J t_1) - 2\hat{S}_Z \hat{I}_Y \sin(\Omega_S t_1) \sin(\pi J t_1)$$

Fine Struktur von Diagonal- und Kreuzpeak - Multiplets

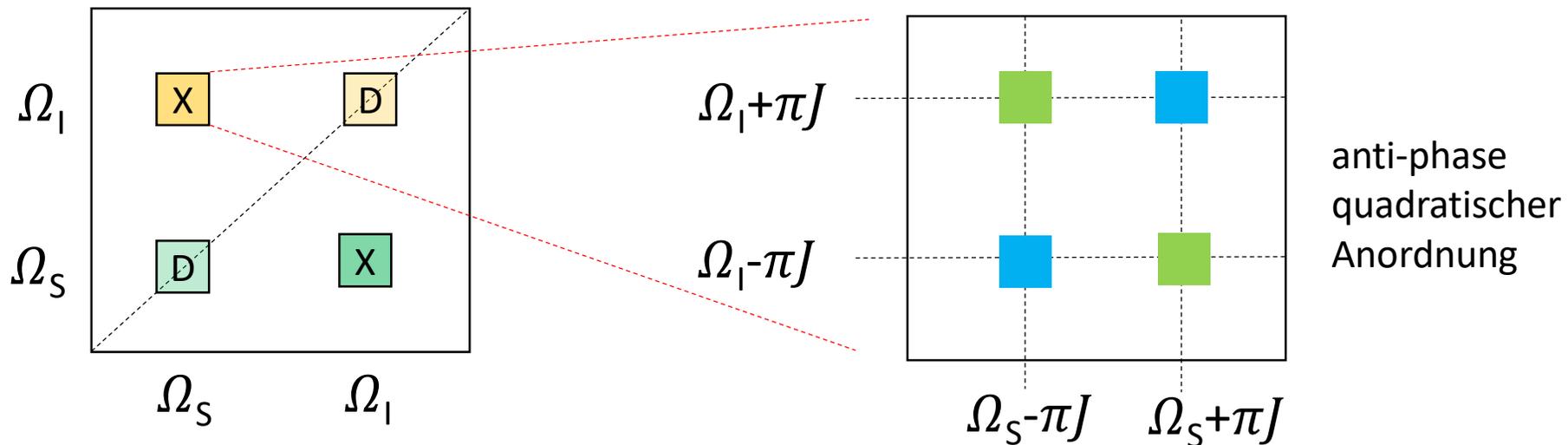
mischen von verschiedenen Phasen – magnitude calculation

2. ^1H COSY: fein Struktur der Diagonal- und Kreuzpeaks

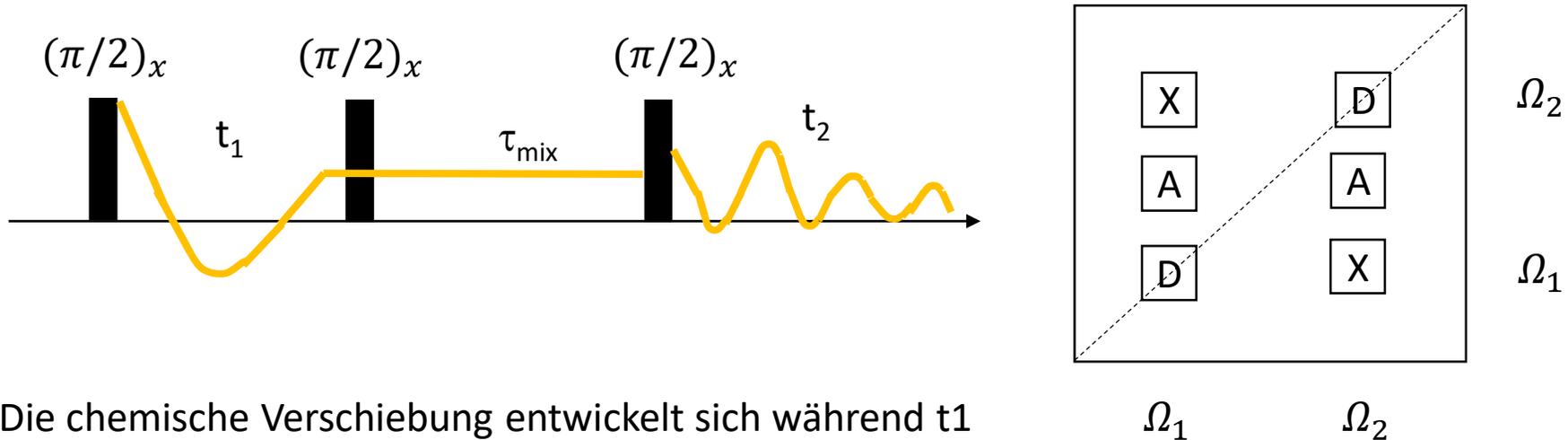
$$\hat{I}_X \sin(\Omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) \equiv \hat{I}_X \frac{1}{2} [\sin(\Omega_I t_1 + \pi J t_1) + \sin(\Omega_I t_1 - \pi J t_1)]$$



$$-2\hat{I}_Z \hat{S}_Y \sin(\Omega_I t_1) \sin(\pi J t_1) \equiv -2\hat{I}_Z \hat{S}_Y \frac{1}{2} [\cos(\Omega_I t_1 + \pi J t_1) - \cos(\Omega_I t_1 - \pi J t_1)]$$



2. NOESY



Die chemische Verschiebung entwickelt sich während t_1

Das zweite Impuls flippt die Magnetisierung in die z-Richtung

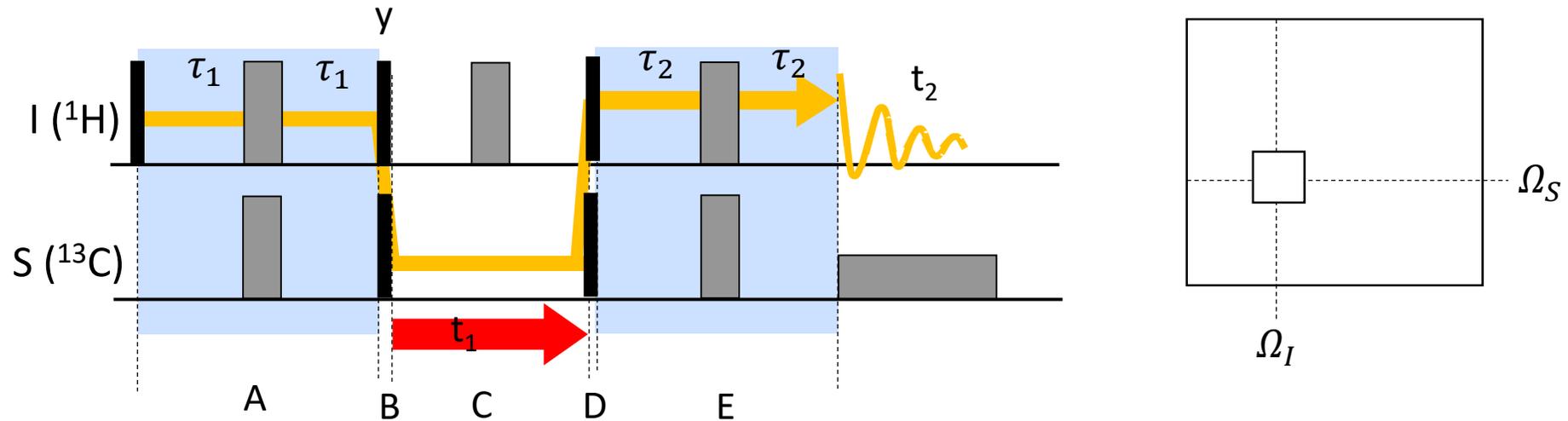
Während t_{mix} Kreuzrelaxation findet statt; Magnetisierung ist transferiert von einem zu einem anderen Spin; die Frequenzlabel ist behalten

Die Kreuzpeaks sind wegen Kreuzrelaxation; in COSY – Kohärenztransfer via J-Kopplung

$$-\cos(\Omega_1 t_1)(1 - R_Z \tau) + \cos(\Omega_2 t_1) \sigma \tau + (R_Z + \sigma) \tau$$

Diagonalpeak
Kreuzpeak
Axialpeak

2. ^1H detektiert HSQC



A: Spin Echo – am Ende: $\cos(2\pi J\tau_1) \hat{I}_Y - \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_X\hat{S}_Z$

B: Transfer von Antiphase zu Spin S:

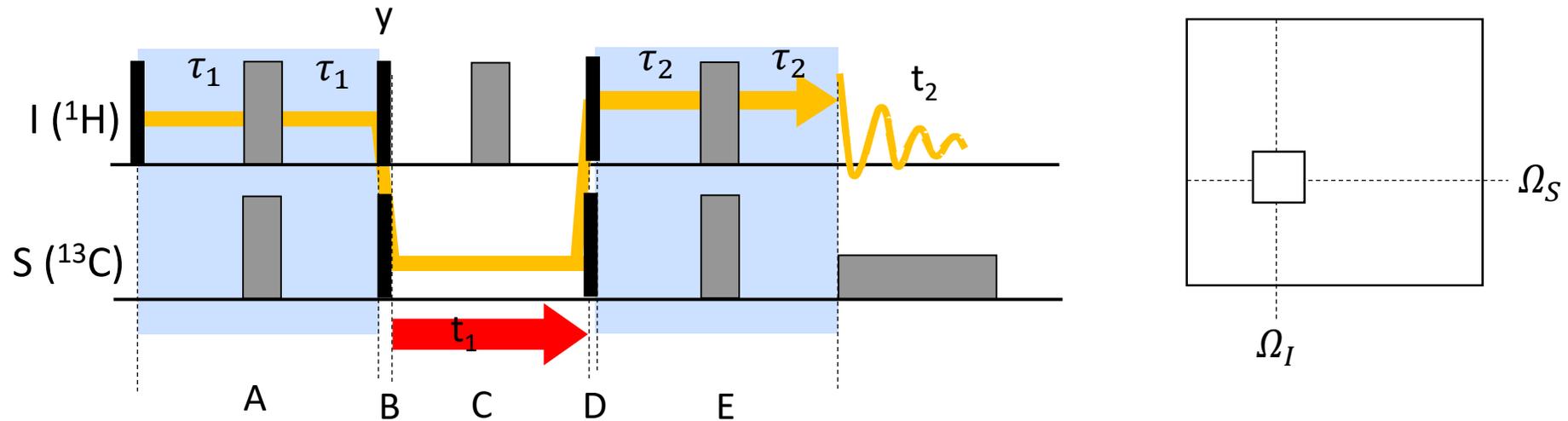
$$-\sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_X\hat{S}_Z \xrightarrow{(\pi/2)\hat{I}_Y} \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_Z \xrightarrow{(\pi/2)\hat{S}_X} -\sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_Y$$

C: Spin Echo, Entwicklung am Spin S, die Kopplung ist refokussiert

$$-\sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_Y \xrightarrow{\Omega_S t_1 \hat{S}_Z} -\cos(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_Y + \sin(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_X$$

$$\xrightarrow{\pi\hat{I}_X} \cos(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_Y - \sin(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J\tau_1) 2\hat{I}_Z\hat{S}_X$$

2. ^1H detektiert HSQC



D: Kohärenz Transfer von Antiphase Terme zurück zu I Spin; $2\hat{I}_Z\hat{S}_X$ wird $2\hat{I}_Y\hat{S}_X$

$$-\cos(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J \tau_1) 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z$$

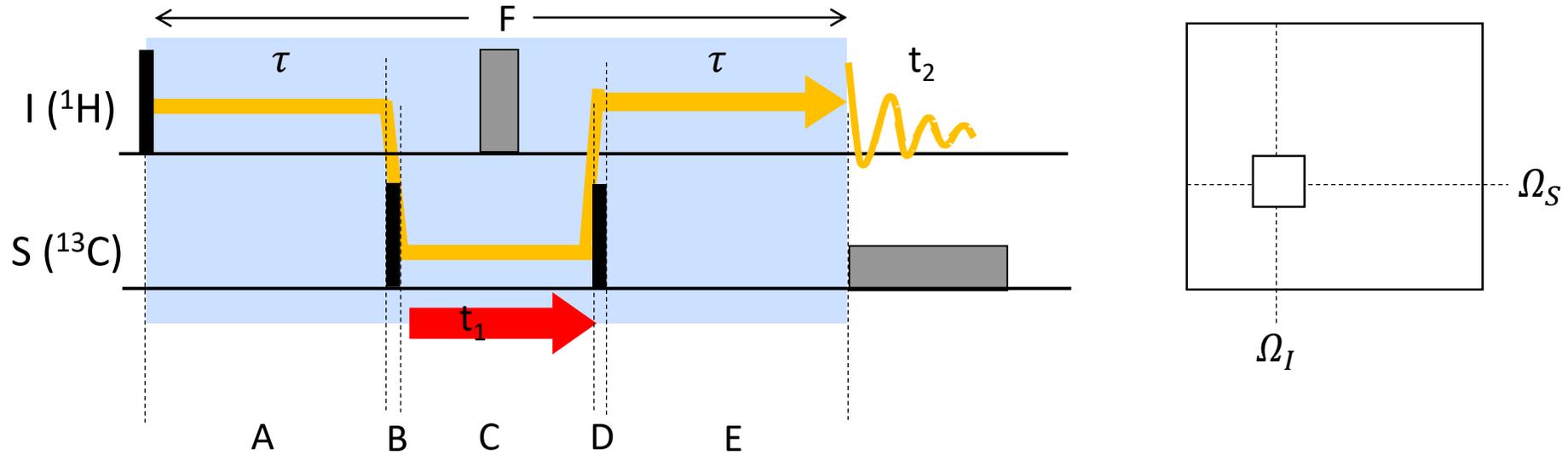
E: Spin Echo – die Antiphase am Spin I wird in-phase (Ix)

$$-\cos(2\pi J \tau_2) \cos(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J \tau_1) 2\hat{I}_Y \hat{S}_Z + \sin(2\pi J \tau_2) \cos(\Omega_S t_1) \sin(2\pi J \tau_1) \hat{I}_X$$

Die Aufnahme erfolgt mit Entkopplung, d.h. Der erste Term wird nicht beobachtet werden

Optimum $\tau_1 = \tau_2 = 1/4J$

2. ^1H detektiert HMQC



F: Spin Echo am I Spin – der I Spin Offset ist refokussiert

$$\text{A: } -\hat{I}_Y \cos(\pi J \tau) + 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J \tau)$$

B: 90° x S-Impuls wandelt den Antiphase Term zu zwei Multiple Quanten Terme um

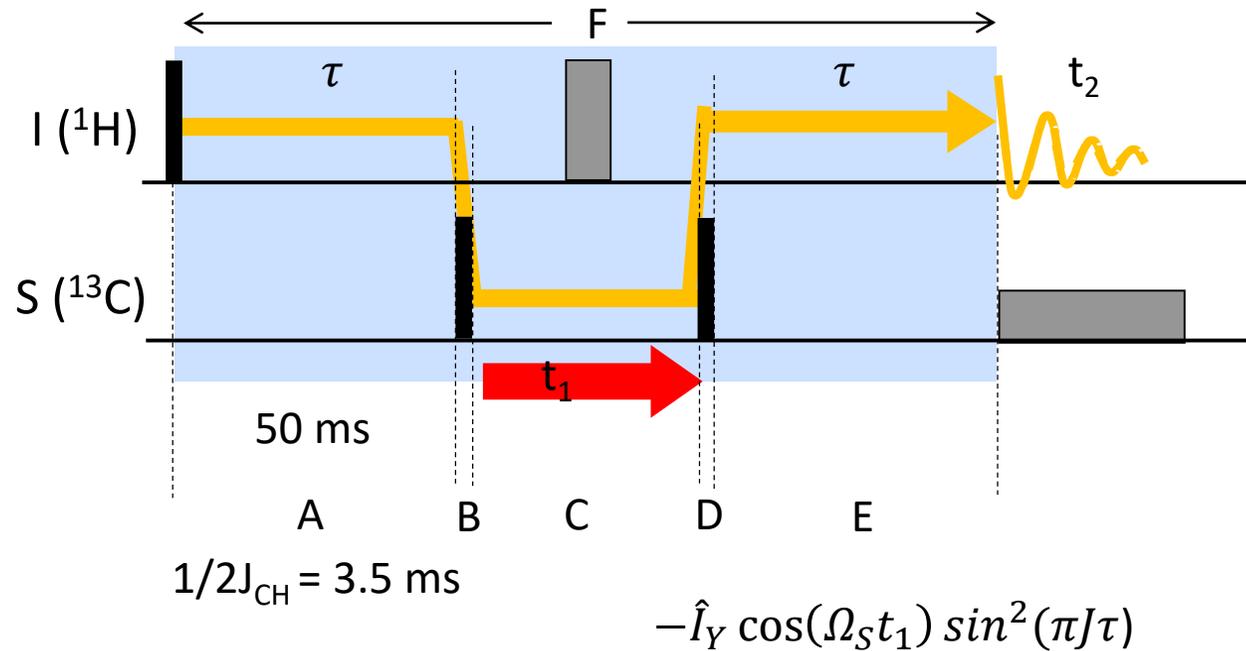
$$\text{C: } 2\hat{I}_X \hat{S}_Z \sin(\pi J \tau) \xrightarrow{\Omega_S \hat{S}_Z t_1} -2\hat{I}_X \hat{S}_Y \cos(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau) + 2\hat{I}_X \hat{S}_X \sin(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau)$$

D: 90° x S-Impuls wandelt nur den ersten Term um zu: $-2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau)$

$$\text{E: } -2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau) \xrightarrow{2\pi J \hat{I}_Z \hat{S}_Z \tau} \begin{aligned} & -2\hat{I}_X \hat{S}_Z \cos(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau) \cos(\pi J \tau) - \\ & -\hat{I}_Y \cos(\Omega_S t_1) \sin(\pi J \tau) \sin(\pi J \tau) \end{aligned}$$

2. HMBC (heteronuclear multiple bond correlation)

HMQC mit längerer τ , um Korrelationen durch kleineren Kopplungen zu beobachten



τ lang – mehr Relaxation ($\exp(-R\tau)$)

Intensität skaliert mit $\sin^2(\pi J \tau)$

Mehr HMBC Korrelationsexperimente aufnehmen um Korrelationen durch verschiedenen Kopplungen zu beobachten

Literature

1. J. Keeler, *Understanding NMR Spectroscopy*, 2010, Wiley
2. J. Cavanagh, N. Skelton, W. Fairbrother, M. Rance, A. Palmer, *Protein NMR Spectroscopy: Principles and Practice*, 2006, Academic Press
3. M. Levitt, *Spin Dynamics: basics of nuclear magnetic resonance*, 2002, Wiley