

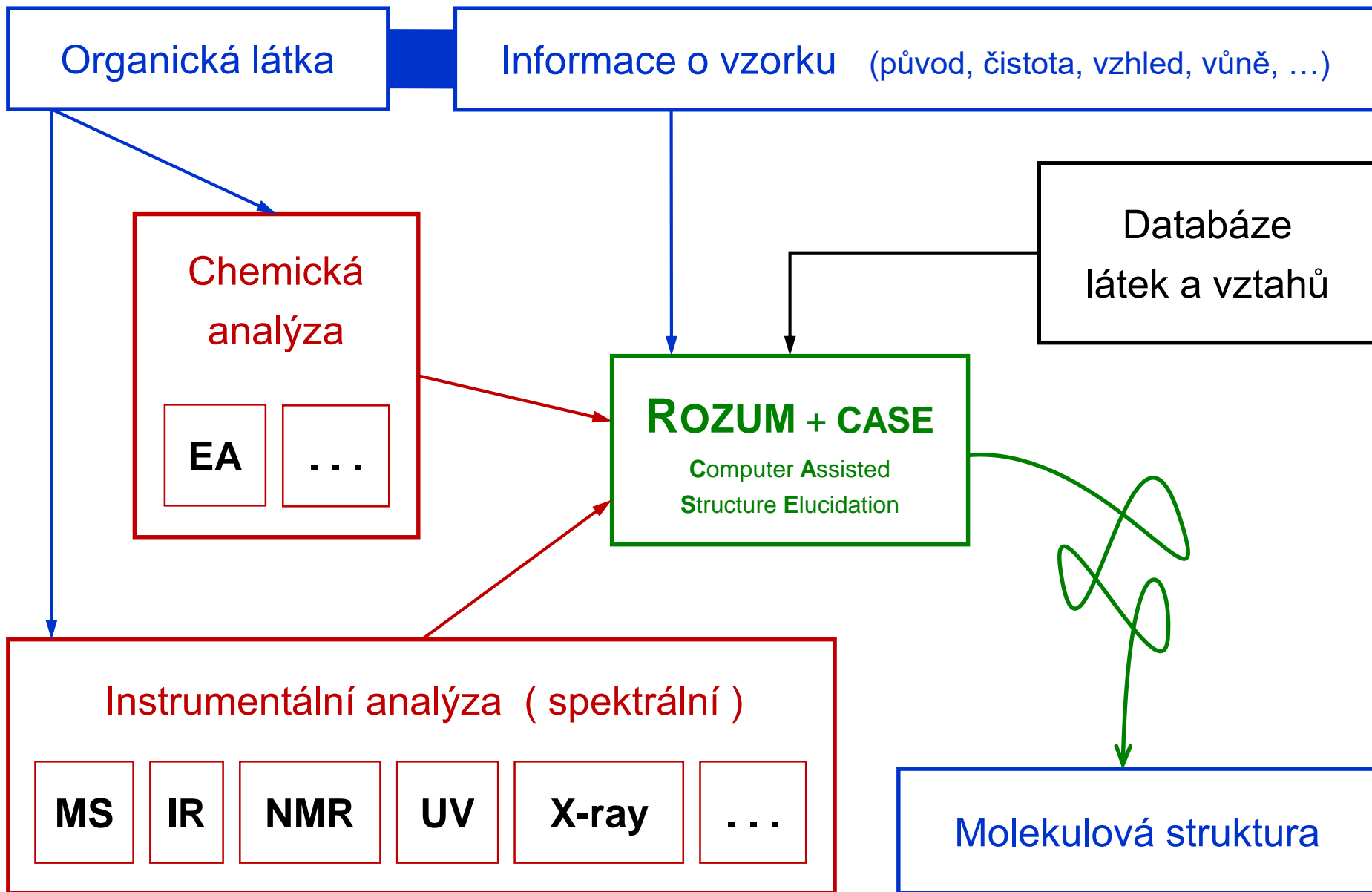
Strukturní analýzy organických sloučenin

Nukleární **M**agnetická **R**ezonance

NMR spektroskopie

doc. Ing. Bohumil Dolenský, Ph.D., VŠCHT Praha

Strukturní analýza organických látek a sloučenin



NMR spektroskopie

Nedestruktivní metoda vyžadující obvykle několik mg látky
pro vysoce citlivé přístroje zlomky μg látky

Umožňuje měření v plynné, kapalně i pevné fázi

Umožňuje stanovit kovalentní, sekundární, terciární i kvartérní strukturu

NMR je téměř nejsilnějším analytickým nástrojem k řešení struktury organických a bioorganických látek

Umožňuje studovat interakce molekul i biomolekul

V následujícím textu je zahrnuta řada zjednodušení a aproximací

NMR spektroskopie

Nukleární (jaderná)

Využívá vlastností atomových jader majících nenulový jaderný spin ($I \neq 0$)

Magnetická

Vyžaduje silné magnetické pole (standard ca. 11 Tesla)

lidský mozek 0,1-1 pT, Země 25-65 μ T, magnet na lednici 5-10 mT, permanentní 1,25 T, levitace žáby 16 T, SCM do 24 T, pulsní 100 T, jednorázový 2,8 kT, neutronová hvězda 1-100 MT, magnetar 0,1-100 GT

1 Tesla = 10000 Gauss

Resonance

Resonanční podmínka (Larmorova frekvence, MHz)

Spektroskopie

Interakce s elektromagnetickým zářením o frekvenci 10^6 až 10^{10} Hz
 10^{11} až $3 \cdot 10^7$ nm
 $4 \cdot 10^{-7}$ až $4 \cdot 10^{-3}$ kJ/mol

NMR spektroskopie

The Electromagnetic Spectrum

Radiation	Wavelength (nm) λ	Frequency (Hz) ν	Energy (kJ mol ⁻¹)
Cosmic rays	$<10^{-3}$	$>3 \times 10^{20}$	$>1.2 \times 10^8$
Gamma rays	10^{-1} to 10^{-3}	3×10^{18} to 3×10^{20}	1.2×10^6 to 1.2×10^8
X rays	10 to 10^{-1}	3×10^{16} to 3×10^{18}	1.2×10^4 to 1.2×10^6
Far ultraviolet rays	200 to 10	1.5×10^{15} to 3×10^{16}	6×10^2 to 1.2×10^4
Ultraviolet rays	380 to 200	8×10^{14} to 1.5×10^{15}	3.2×10^2 to 6×10^2
Visible light	780 to 380	4×10^{14} to 8×10^{14}	1.6×10^2 to 3.2×10^2
Infrared rays	3×10^4 to 780	10^{13} to 4×10^{14}	4 to 1.6×10^2
Far infrared rays	3×10^5 to 3×10^4	10^{12} to 10^{13}	0.4 to 4
Microwaves	3×10^7 to 3×10^5	10^{10} to 10^{12}	4×10^{-3} to 0.4
Radiofrequency (Rf) waves	10^{11} to 3×10^7	10^6 to 10^{10}	4×10^{-7} to 4×10^{-3}

Nukleární (jaderná)

Jednou z podmínek pro měření NMR je $I > 0$

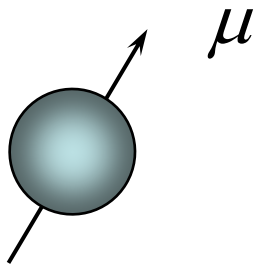
Spinové kvantové číslo jádra (I) = jaderný spin = spin

Spin je kvantově mechanická vlastnost mnoha fundamentálních částic

Jádro nemusí rotovat aby mělo nenulový spin

Spinem se nazývá neboť se jedná o typ momentu hybnosti
a platí pro něj vztahy týkající se momentu hybnosti

Jádra s nenulovým jaderným spinem mají nenulový magnetický moment



$$\mu = \gamma \sqrt{I(I+1)} h / 2\pi$$

$h = 6,626\ 068\ 96\ (33) \cdot 10^{-34}$ J.s Planckova konstanta

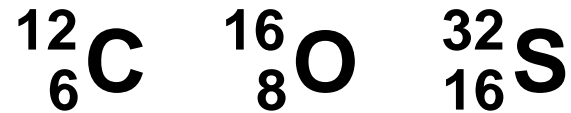
γ = gyromagnetický poměr (vlastnost jádra)

Jaderný magnetický spin isotopů

Jaderný magnetický spin isotopu (I) je důsledkem orientace magnetických spinů nukleonů (tj. neutronů a protonů) v jeho jádru

Jaderný magnetický spin isotopu I je za standardních podmínek neměnný
(viz Mössbauerova spektroskopie, absorpce gama záření)

Je-li hmotnostní i protonové číslo jádra
sudé je jaderný spin nulový



Je-li hmotnostní číslo liché je
jaderný spin poločíselný



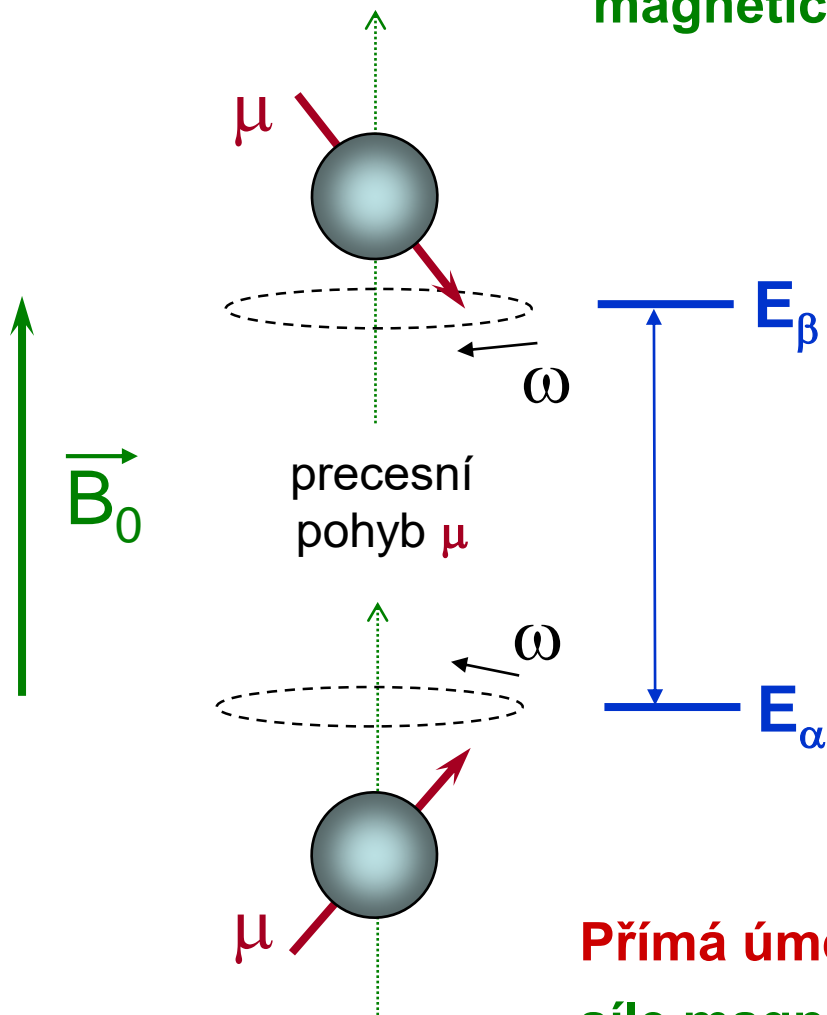
Je-li hmotnostní číslo sudé a protonové
číslo liché je spin celočíselný



Magnetická Resonance

pro $I = 1/2$

Energie stavu je nižší při stejné orientaci vektorů
magnetického pole a **magnetického momentu**



$$\Delta E = E_{\beta} - E_{\alpha} = \gamma \hbar B_0 \quad [\text{J}]$$

$$\Delta E = h\nu$$
$$\hbar = h / 2\pi$$

$$\omega = \gamma B_0 / 2\pi = \nu$$

ω - rezonanční frekvence [rad . s⁻¹]

LARMOROVA FREKVENCE

ν - rezonanční frekvence [s⁻¹ = Hz]

Přímá úměra !!!

síle magnetického pole B_0 a

gyromagnetickému poměru γ

NMR aktivní isotopy

přímo studovatelné isotopy

1	1 <u>H</u>																	2 <u>He</u>		
2	3 <u>Li</u>	4 <u>Be</u>										5 <u>B</u>	6 <u>C</u>	7 <u>N</u>	8 <u>O</u>	9 <u>F</u>	10 <u>Ne</u>			
3	11 <u>Na</u>	12 <u>Mg</u>										13 <u>Al</u>	14 <u>Si</u>	15 <u>P</u>	16 <u>S</u>	17 <u>Cl</u>	18 Ar			
4	19 <u>K</u>	20 <u>Ca</u>	21 <u>Sc</u>	22 <u>Ti</u>	23 <u>V</u>	24 <u>Cr</u>	25 <u>Mn</u>	26 <u>Fe</u>	27 <u>Co</u>	28 <u>Ni</u>	29 <u>Cu</u>	30 <u>Zn</u>	31 <u>Ga</u>	32 <u>Ge</u>	33 <u>As</u>	34 <u>Se</u>	35 <u>Br</u>	36 <u>Kr</u>		
5	37 <u>Rb</u>	38 <u>Sr</u>	39 <u>Y</u>	40 <u>Zr</u>	41 <u>Nb</u>	42 <u>Mo</u>	Tc	43 <u>Ru</u>	44 <u>Rh</u>	45 Pd	46 <u>Ag</u>	47 <u>Cd</u>	48 <u>In</u>	49 <u>Sn</u>	50 <u>Sb</u>	51 <u>Te</u>	52 <u>I</u>	53 <u>Xe</u>	54 Rn	
6	55 <u>Cs</u>	56 <u>Ba</u>	*	71 <u>Lu</u>	72 <u>Hf</u>	73 <u>Ta</u>	74 <u>W</u>	75 <u>Re</u>	76 <u>Os</u>	77 <u>Ir</u>	78 <u>Pt</u>	79 <u>Au</u>	80 <u>Hg</u>	81 <u>Tl</u>	82 <u>Pb</u>	83 <u>Bi</u>	Po	84 At	85 Rn	86 Fr
7	87 Fr	88 Ra	**	103 Lr	104 Unq	105 Unp	106 Unh	107 Uns	108 Uno	109 Mt	110 Uun	111 Uuu	112 Uub	113 Uut	114 Uuq	115 Uup	116 Uuh	117 Uus	118 Uuo	
*Lanthanides			*	57 <u>La</u>	58 Ce	59 <u>Pr</u>	60 <u>Nd</u>	61 Pm	62 <u>Sm</u>	63 <u>Eu</u>	64 <u>Gd</u>	65 <u>Tb</u>	66 <u>Dy</u>	67 <u>Ho</u>	68 <u>Er</u>	69 <u>Tm</u>	70 <u>Yb</u>			
**Actinides			**	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 <u>U</u>	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No			

Nuclear Spins 1/2 1 3/2 5/2 7/2 9/2

Isotopy mající nulový jaderný spin nelze měřit (např.: ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S , ...)

Isotopy mající velký elektrický kvadrupólový moment téměř nelze měřit

(např. ^{14}N , ^{35}Cl , ^{37}Cl , ^{79}Br , ^{81}Br , ^{127}I , ...)

Takové isotopy nebo fragmenty, které je obsahují, nazýváme NMR inaktivní či tiché

Komplikují až znemožňují využití NMR

NMR frekvence isotopů prvků I-IV periody

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

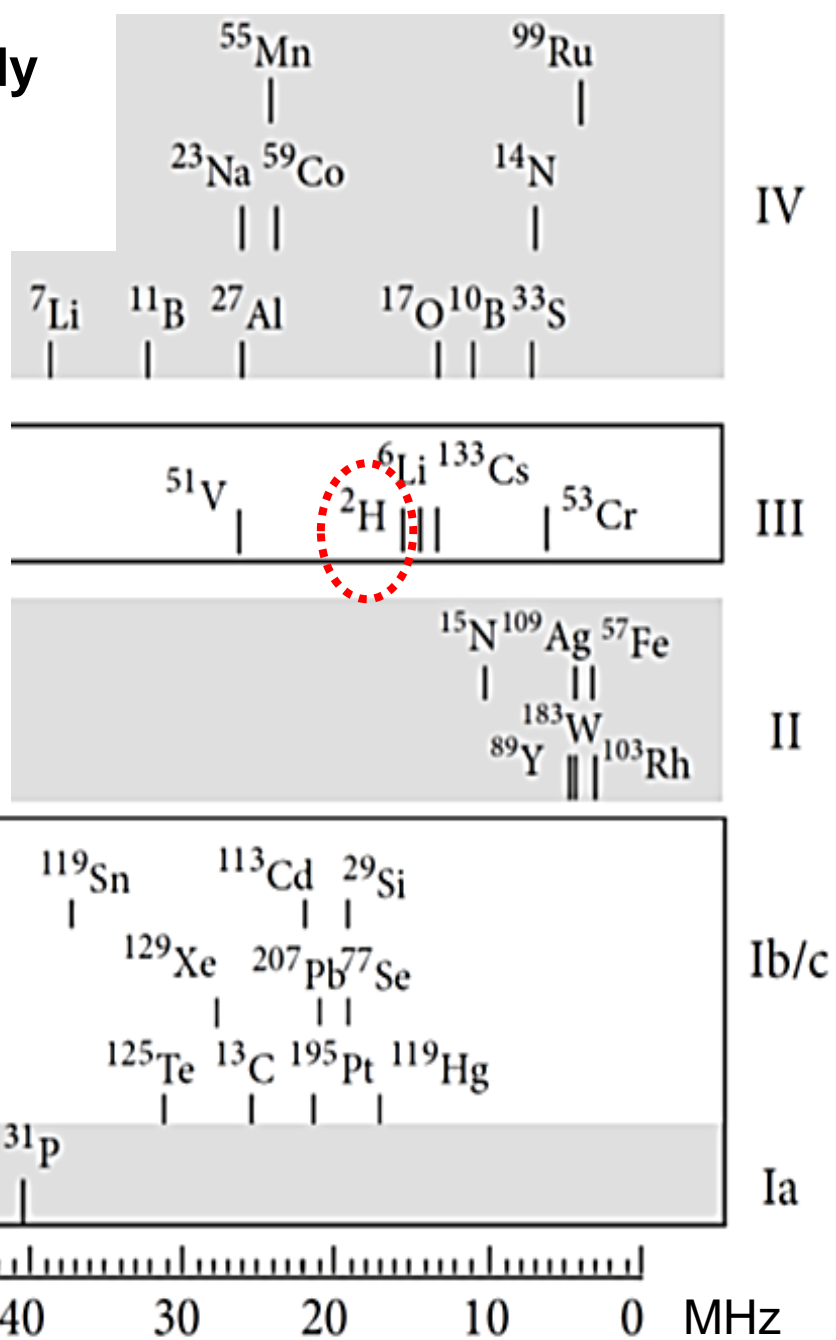
Spektra isotopů se nepřekrývají

pro $B_0 = 2,349 \text{ T}$

^1H 100,0 MHz (42,6 MHz/T)

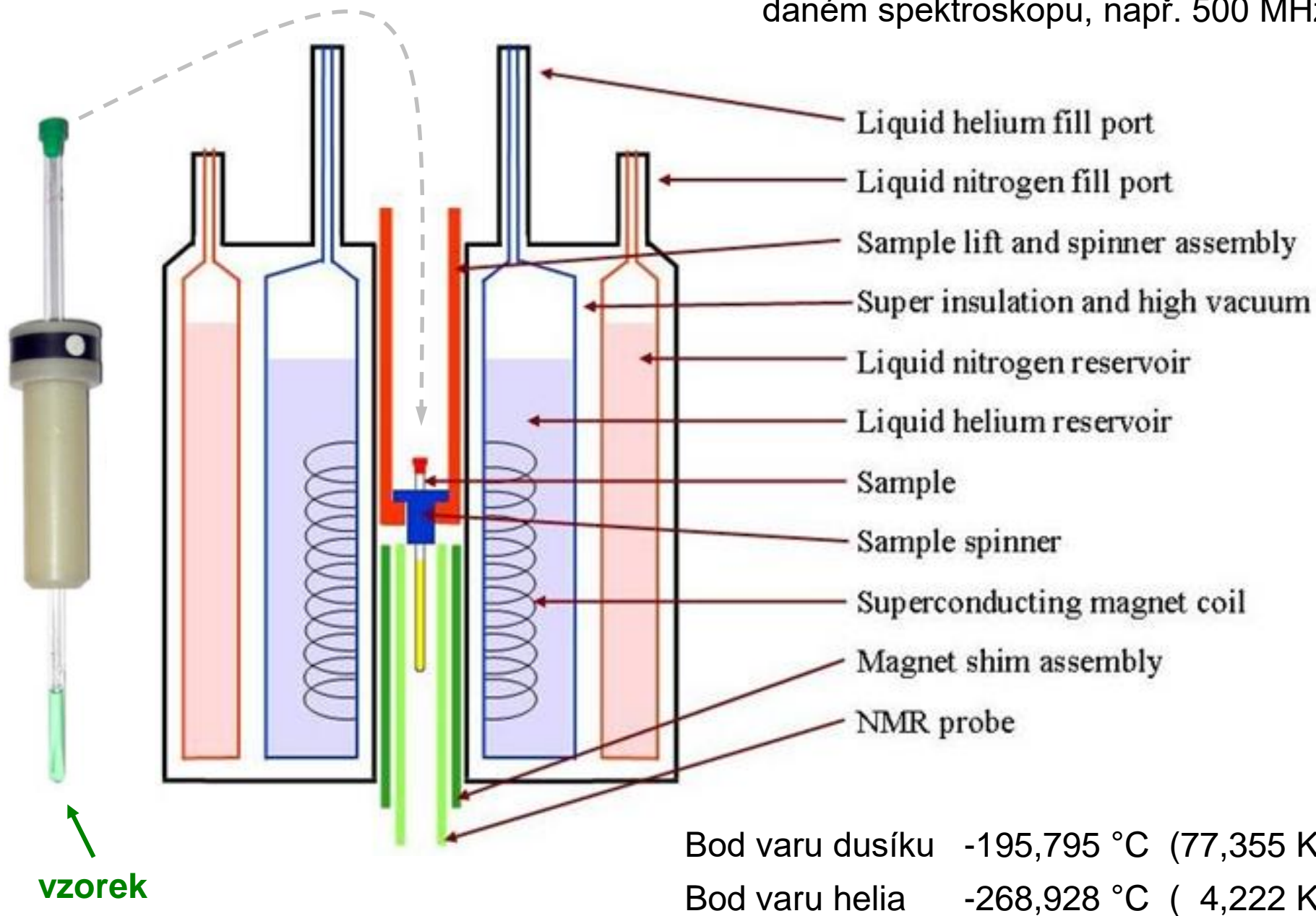
^2H 15,4 MHz (6,5 MHz/T)

^3H 106,7 MHz (45,4 MHz/T)



NMR spektroskop

Základní označení NMR spektroskopu je dle frekvence isotopu ^1H v MHz na daném spektroskopu, např. 500 MHz



Varian A-60 NMR

60 MHz (1,41 Tesla)

1961

the first NMR spectroscope designed for routine use



Varian Mercury Plus 300 MHz 7,05 Tesla

R2D2 type ;-)

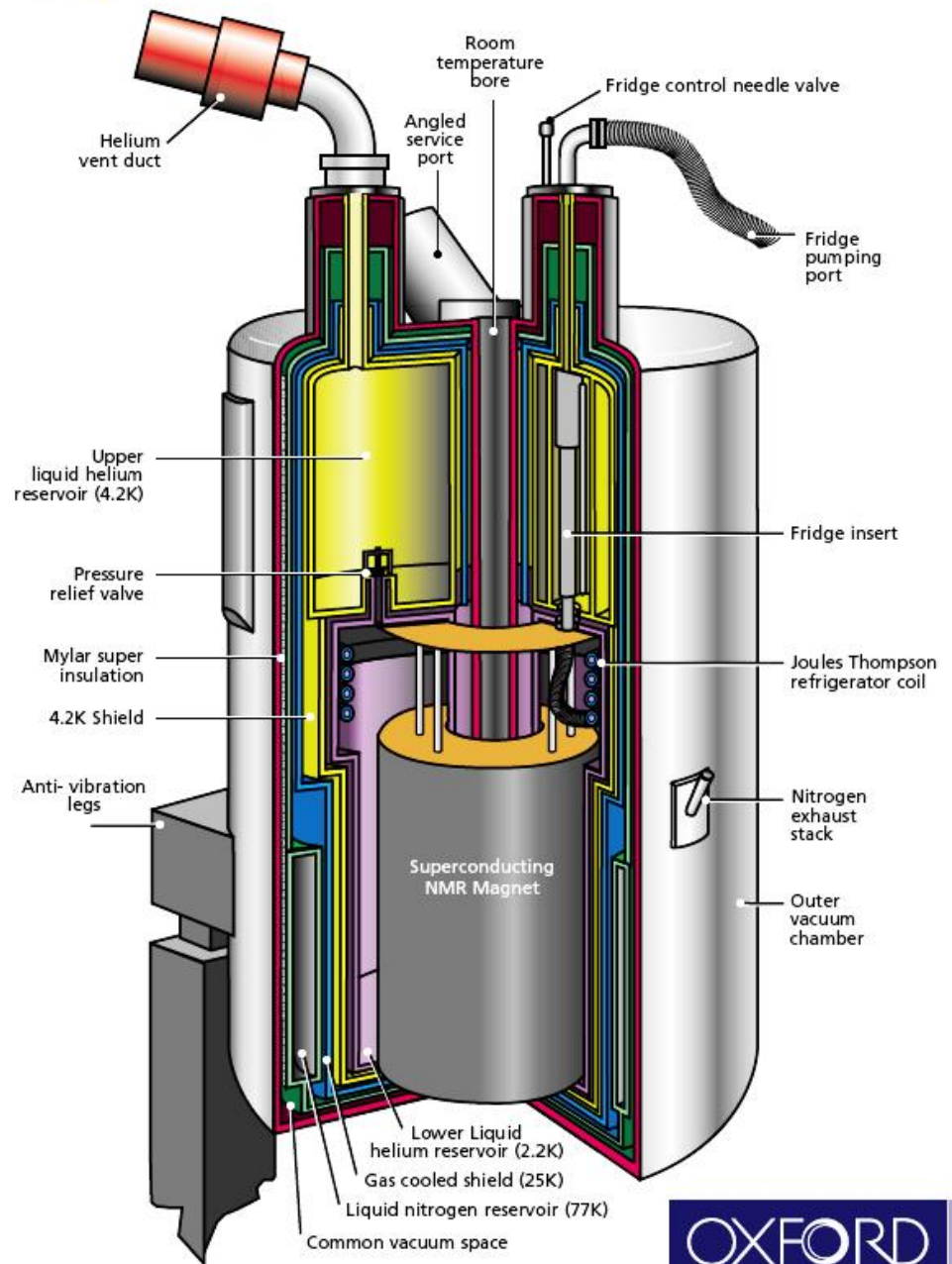


900 MHz 21,1 Tesla



Varian Mercury Plus 300 MHz 7,05 Tesla

800MHz 2.2K NMR Cryostat Schematic



23,5 Tesla

BRUKER
1000
UltraStabilized™

**523000-krát silnější pole
než magnetické pole Země**

**11,76
Tesla**

**JEOL
ECZ
500R**

**ÚACH
VŠCHT
Praha**

**261000-krát silnější pole
než magnetické pole Země**

1.2 GHz, 28.2 Tesla, 8 tun, > 310 mil Kč (instalace 2020)



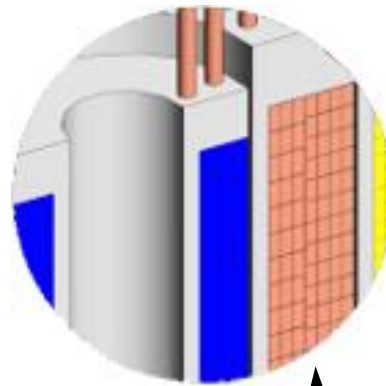
2020 první 1.2 GHz NMR (Bruker) CERM University of Florence (Itálie)

2020 první 1.2 GHz NMR pro pevnou fázi (Bruker) Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) Zürich (Švýcarsko)

2021 1.2 GHz NMR (Bruker) Max Planck Institute (MPI), Biophysical Chemistry in Göttingen (Německo)

UHF NMR magnet

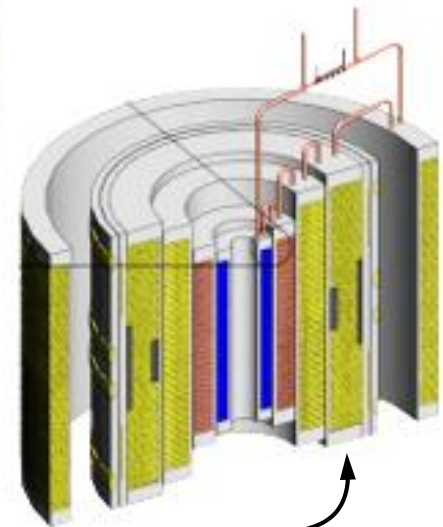
Solenoidový magnet je složen z několika soustředně uspořádaných sekcí magnetů z různých supravodivých materiálů



modrý

červený

HTS, Nb₃Sn
High-Temperature
Superconductor

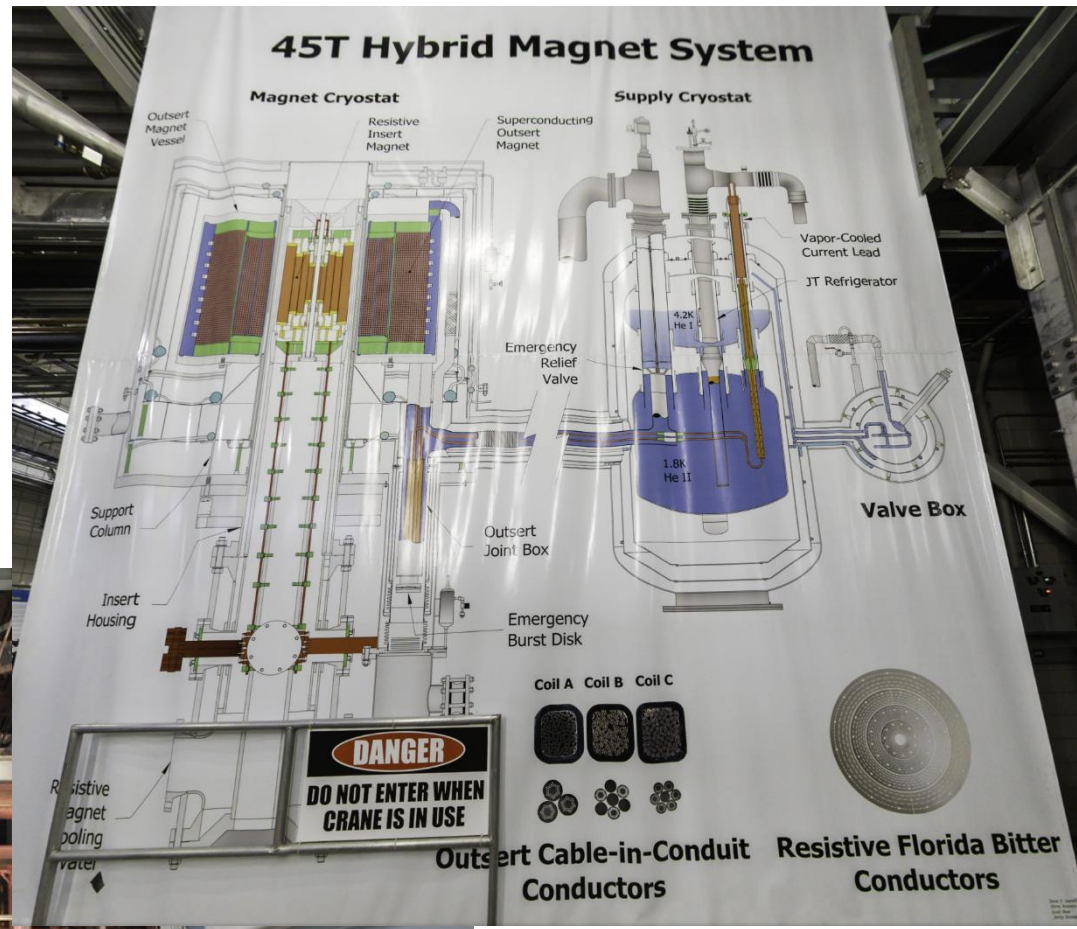


žlutý

LTS, NbTi
Low-Temperature
Superconductor

NATIONAL HIGH MAGNETIC FIELD LABORATORY

The lab's flagship magnet, the 45 Tesla hybrid is composed of a 33.5 Tesla resistive magnet nested in an 11.5 Tesla outsert.



Nejsilnější kontinuální zdroj magnetického pole experimentální magnet

45 T
1,9 GHz

DANGER
DO NOT ENTER WHEN CRANE IS IN USE

DANGER
HYBRID OPERATORS ONLY

NMR přístroj s nejvyšším polem B_0 v ČR

CEITEC Brno

Národní NMR centrum Josefa Dadoka



Národní NMR centrum Josefa Dadoka

950 MHz NMR spektrometr Bruker Avance III HD pro spektroskopii vysokého rozlišení v kapalinách, **4 RF kanály**, 5 mm **trojrezonanční** (1H-13C-15N) **inverzní kryosonda** s chlazenými předzesilovači (1H, 13C), rozsah teplot vzorku -40 oC až 80 oC.

850 MHz NMR spektrometr Bruker Avance III HD pro spektroskopii vysokého rozlišení v kapalinách, **4 RF kanály**, 5 mm **trojrezonanční** (1H/19F-13C-15N) **inverzní kryosonda** s chlazenými předzesilovači (1H, 13C), rozsah teplot vzorku 0 oC až 135 oC.

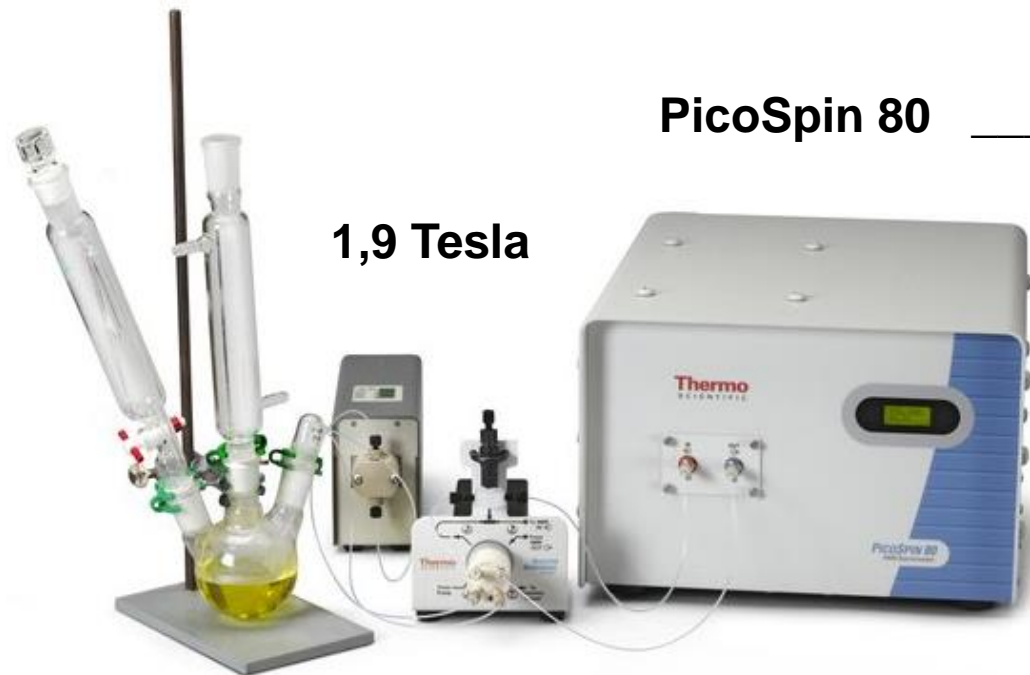
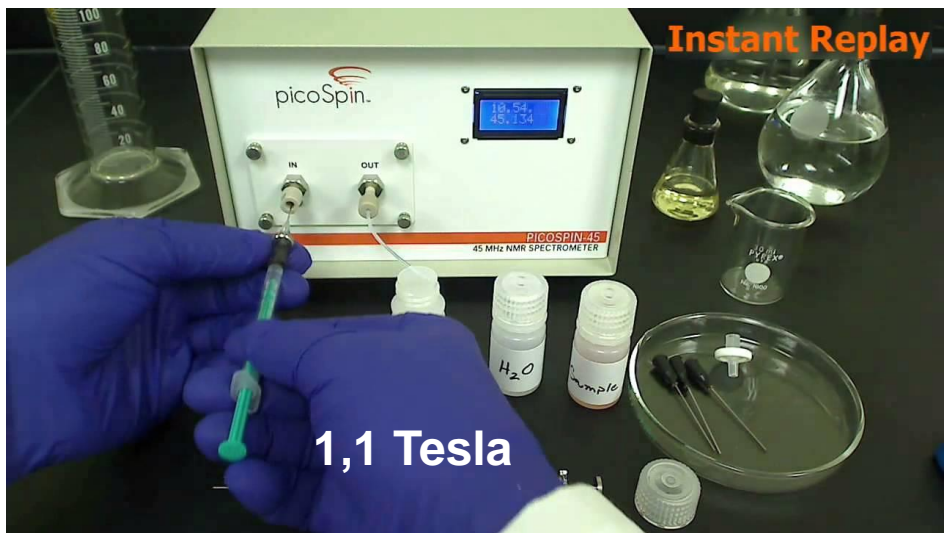
700 MHz NMR spektrometr Bruker Avance III HD pro měření spekter biomolekul, 4 RF kanály, 5 mm **trojrezonanční** (1H-13C-15N) **inverzní kryosonda** optimalizovaná pro 13C detekci s chlazenými předzesilovači (1H, 13C, 15N), rozsah teplot vzorku -40 oC až 80 oC.

700 MHz NMR spektrometr Bruker Avance III HD pro měření vzorků v kapalinách a pevné fázi, **4 RF kanály**, vybavený 5 mm **duální** širokopásmovou sondou, 5 mm **duální** inverzní širokopásmovou sondou, 1,7 mm **trojrezonanční** (1H-13C-15N) sondou, 3,2 mm **trojrezonanční** (1H-13C-15N) **MAS sondou** pro měření vzorků v pevné fázi a 4 mm duální CP/MAS sondou pro měření vzorků v pevné fázi.

600 MHz NMR spektrometr Bruker Avance III HD pro spektroskopii vysokého rozlišení v kapalinách, **5 RF kanálů**, 5 mm **čtyřrezonanční** (1H-13C-15N-31P) inverzní **kryosonda** s chlazenými předzesilovači (1H, 13C), rozsah teplot vzorku -40 oC až 80 oC.

500 MHz NMR spektrometr Bruker Avance pro měření vzorků v kapalinách a pevné fázi, **3 RF kanály**, vybavený 5 mm **duální** (BB-1H) **kryosondou** chlazenou dusíkem (Prodigy), 5 mm **trojrezonanční** (1H-13C-15N) sondou, 10 mm duální (1H-13C) sondou a 4 mm duální (BB-1H) **CP/MAS sondou** na měření vzorků v pevné fázi.

Stolní NMR přístroje s permanentními magnety (Benchtop NMR)



Larmor frequency	82 MHz (1,9 T)
Nucleus	^1H
Resolution	20 ppb
Magnet type	PERMANENT
Capillary	40 μL
Weight	19,5 kg
Dimensions	43 x 35 x 25 cm

Varian A-60 vs. NMReady-60



Achievement of 1020 MHz NMR (24.0 T)

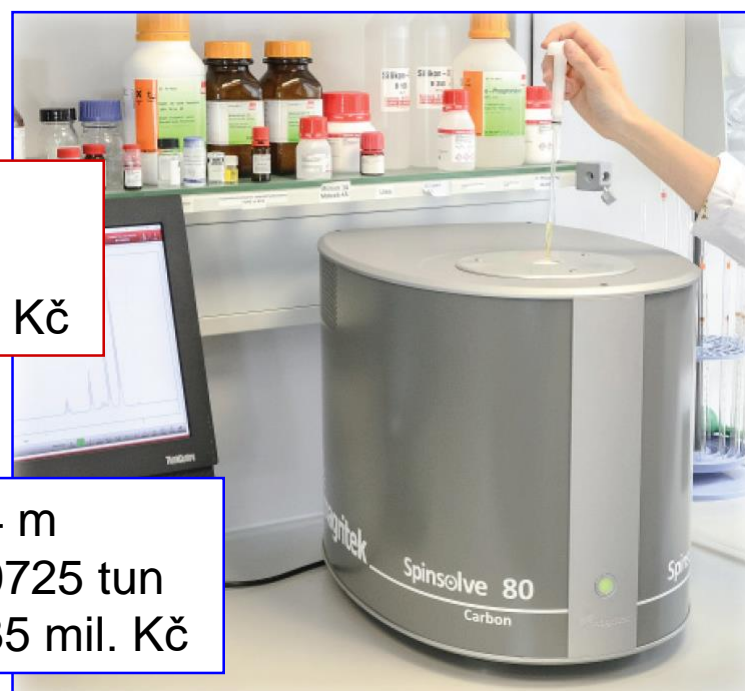
Journal of Magnetic Resonance, 2015; 256: 30.

DOI: [10.1016/j.jmr.2015.04.009](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2015.04.009)



Výška 5 m
Váha 15 tun
Cena 350 mil. Kč

Výška 0,4 m
Váha 0,0725 tun
Cena 0,35 mil. Kč



Specifications

- Nuclei: ^1H , ^{19}F , ^{13}C (Other Nuclei Available)
- Operating frequency: 80 MHz (^1H)
- ^1H 50% Linewidth: < 0.5 Hz
- ^1H 0.55% Linewidth: < 20 Hz
- ^1H Sensitivity (dual channel): >200:1 for 1% Ethyl Benzene
- Operating Temperature Range: 20° C to 25° C (68° F to 77° F)
- Dimensions: 58 x 43 x 40 cm (23" x 17" x 16")
- Weight: 72.5 kg (160 lb)
- Stray Field: < 2 G all around system
- Voltage Requirement: 100-240 VAC, 50/60 Hz

Proton	Fluorine	Carbon
1D	1D	1D
Paramagnetic	Paramagnetic	DEPT
2D COSY	2D F - COSY	HETCOR
2D TOCSY	2D F - JRES	HMBC
2D JRES	2D FH - COSY	HMQC
T_1 , T_2	Reaction Monitoring	HSQC
Reaction Monitoring		HSQC-ME

Nanalysis 100PRO

100 MHz (2,35 T, permanentní), standardní 5 mm NMR kyvety
Dvoukanálový, např.: ^1H - ^{13}C , ^1H - ^{31}P , ^1H - ^{19}F , ^1H - ^{11}B , ^{19}F - ^7Li , ...
Rozlišení < 1.0 Hz, citlivost 200:1 (1% EtBz), 16-28 °C



37.1 x 41.4 x 65.4 cm

97 kg

cena ca. 3 mil. Kč

Low-field benchtop NMR spectroscopy: status and prospects in natural product analysis

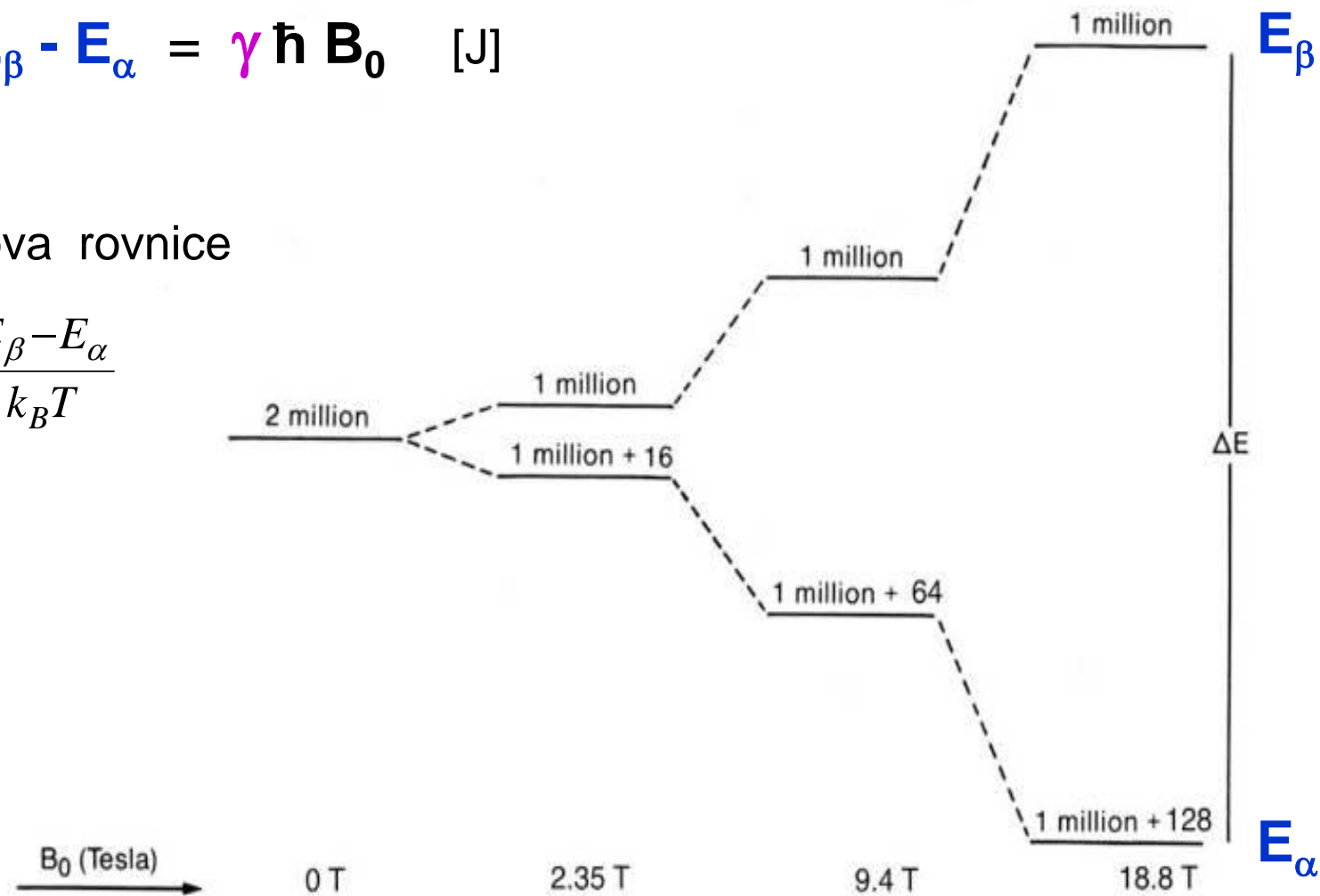
Teris André van Beek, *Phytochemical Analysis* **2021**, 32, 24-37, DOI: 10.1002/pca.2921

Citlivost NMR

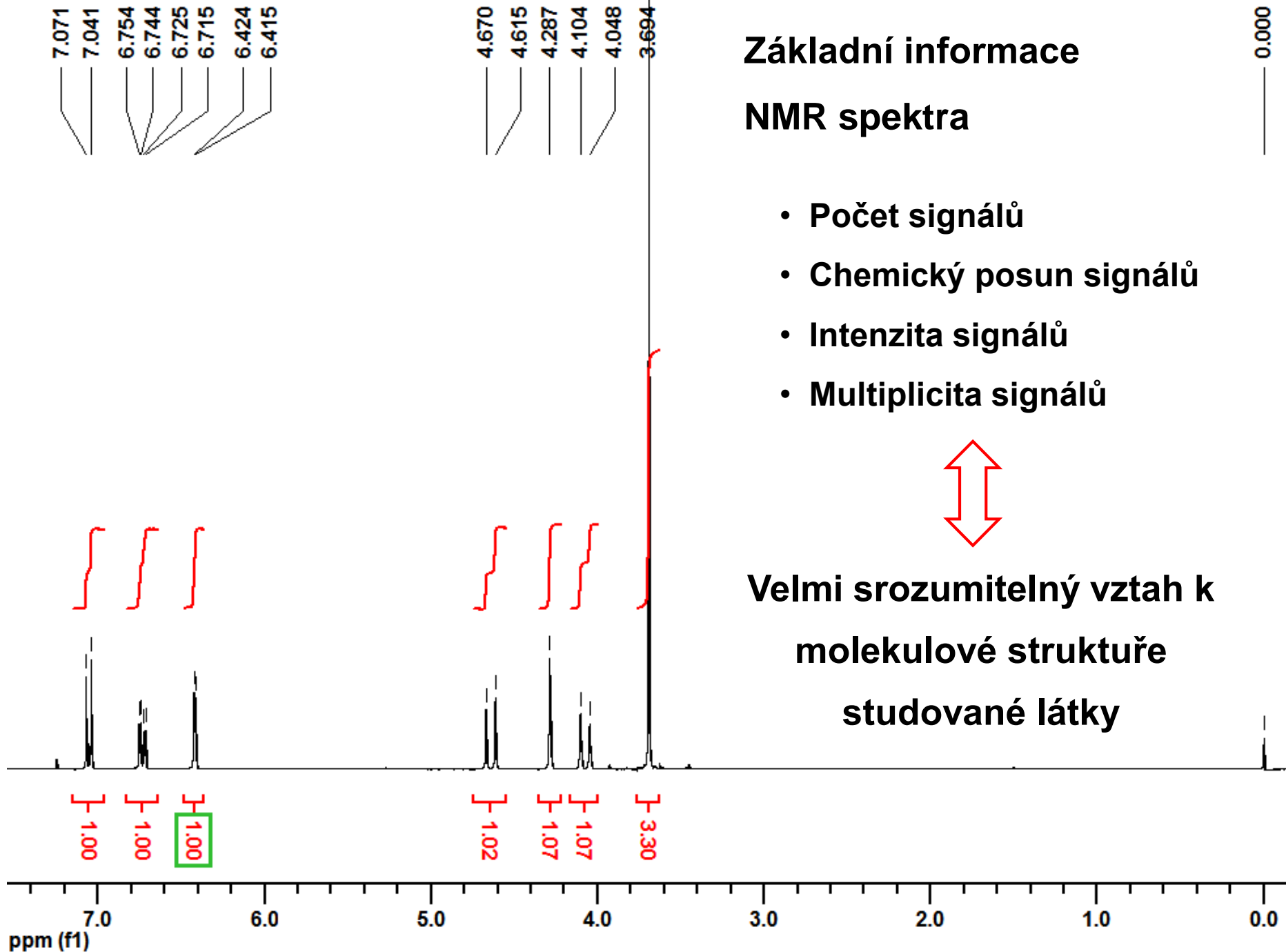
$$\Delta E = E_{\beta} - E_{\alpha} = \gamma \hbar B_0 \quad [\text{J}]$$

Boltzmannova rovnice

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = e^{\frac{E_{\beta} - E_{\alpha}}{k_B T}}$$



➡ větší B_0 = větší populační rozdíl = vyšší citlivost



Základní informace NMR spektra

- Počet signálů
- Chemický posun signálů
- Intenzita signálů
- Multiplicita signálů



**Velmi srozumitelný vztah k
molekulové struktuře
studované látky**

Základní informace z NMR spektra čisté látky

- **Počet signálů**

odpovídá počtu chemicky neekvivalentních jader v molekule
(omezíme na spektra látek při „vyšší teplotě“)

- **Intenzita signálů**

vypovídá o množství daných jader v molekule
(omezíme na spektra měřená za obvyklých „servisních“ podmínek)

- **Chemický posun signálů**

vypovídá o chemickém okolí jader daného signálu
(omezíme na běžná jádra a běžné organické látky)

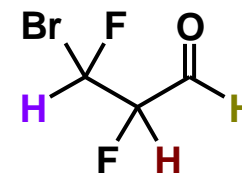
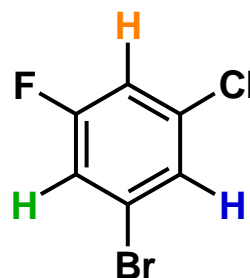
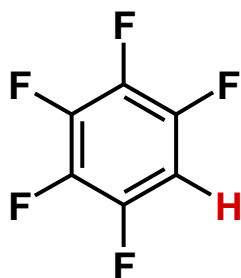
- **Multiplicita signálů**

vypovídá o přítomnosti jader s nenulovým magnetickým spinem (v molekule)
(omezíme na jádra s $I = \frac{1}{2}$, a na spektra prvního řádu)

Počet signálů v NMR spektru

Počet signálů v NMR spektru čisté látky odpovídá počtu

chemicky neekvivalentních jader, tedy jader s různým *chemickým okolím*



^1H NMR	1	3	3
^{13}C NMR	4	6	3
^{19}F NMR	3	1	2

Chemicky ekvivalentní (neboli *Homotopní*) jádra jsou taková,

kteřá jsou v důsledku symetrie nerozlišitelná, mají stejné *chemické okolí*

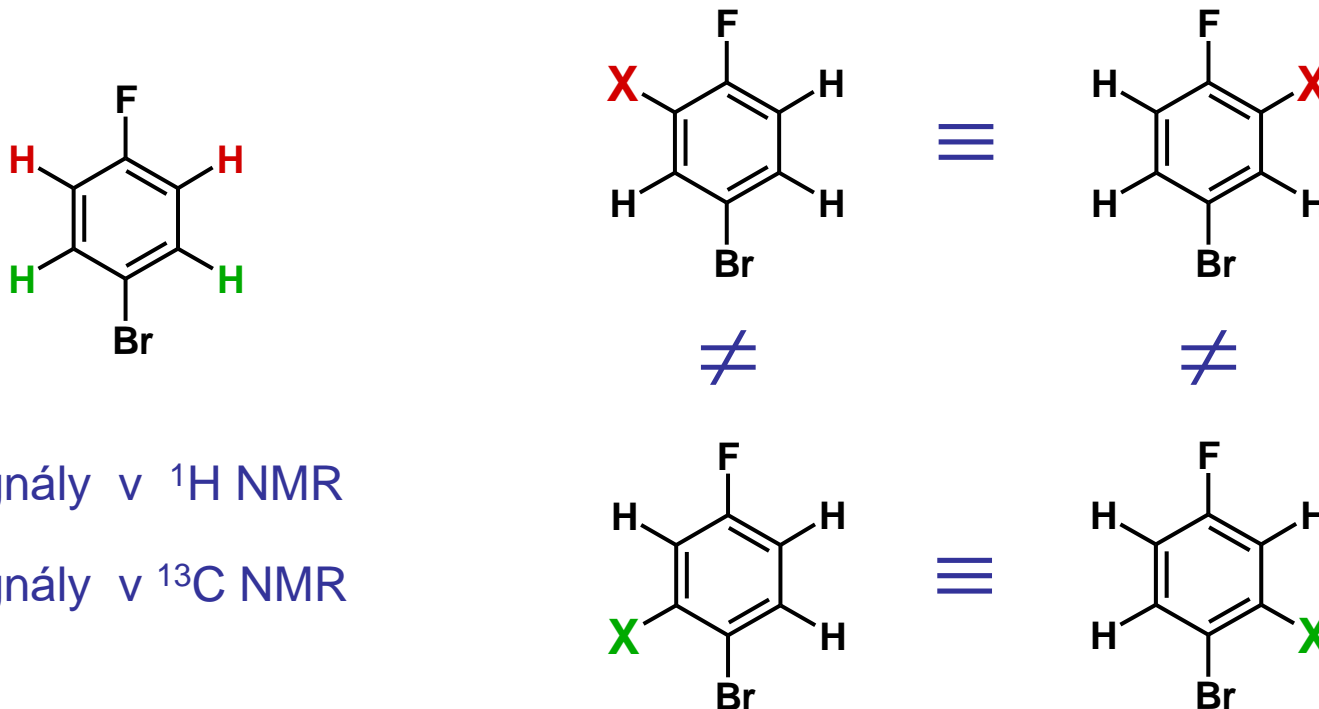
➔ **Počet signálů vypovídá o symetrii molekuly studované látky**

Počet signálů v NMR spektru

Chemicky ekvivalentní (neboli **Homotopní**) jádra jsou taková, která jsou v důsledku symetrie nerozlišitelná, mají stejné **chemické okolí**

Pro **chemicky ekvivalentní** jádra platí „**substituční test**“ :

→ Záměnou jednoho za X vzniká stejná látka jako záměnou druhého za X

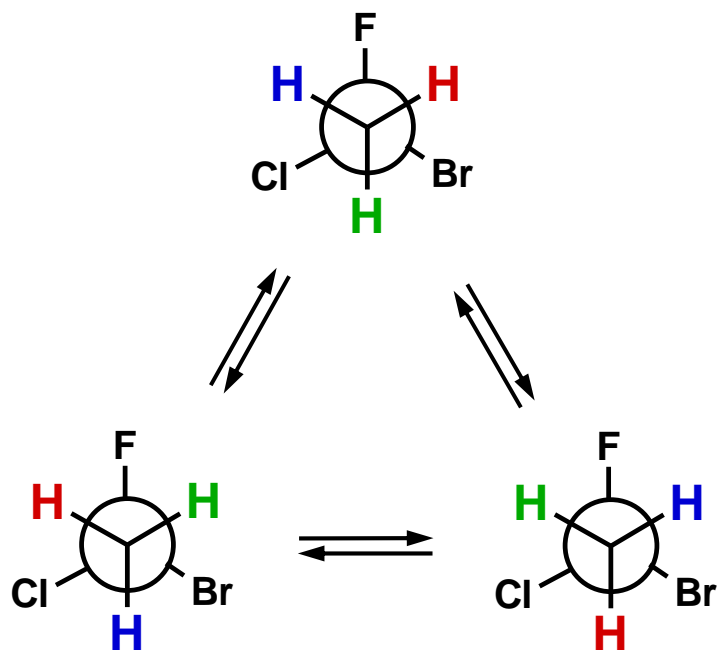


2 signály v ^1H NMR

4 signály v ^{13}C NMR

Počet signálů v NMR spektru

Za **chemicky ekvivalentní** lze považovat i jádra, která jsou ekvivalentní v důsledku **rychlé** rotace skupiny nebo jiné rychlé **chemické výměny**



Byla-li by rotace velmi **pomalá**,
vodíky by byly neekvivalentní

Měření NMR spektra trvá ca. 10^{-1} až 10^1 s

➔ Pro rychlé procesy je pozorována
jejich průměrná hodnota

Methyl se otočí mnohatisíckrát za sekundu

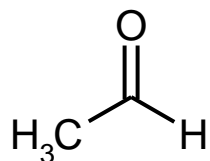
➔ Vodíky methyly jsou ekvivalentní

Obecně jsou rotace kolem jednoduché
vazby rychlé a vedou k ekvivalenci
jader rotujících skupin

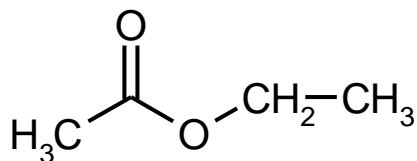
Pokud nejsou neekvivalentní z jiného
důvodu !!!

Počet signálů v NMR spektru

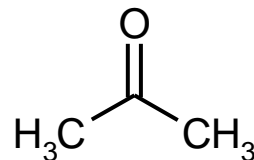
Uvažujte volnou rychlou rotaci kolem jednoduchých vazeb.



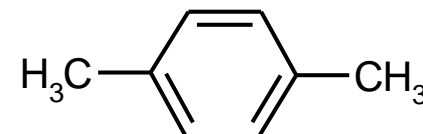
^1H : 2
 ^{13}C : 2



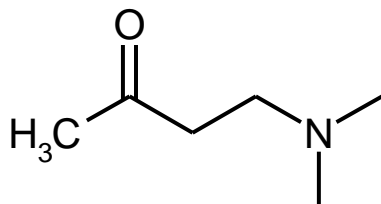
3
4



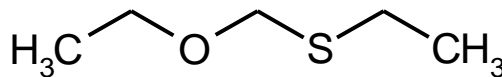
1
2



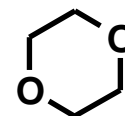
2
3



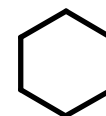
^1H : 4
 ^{13}C : 5



5
5



1
1



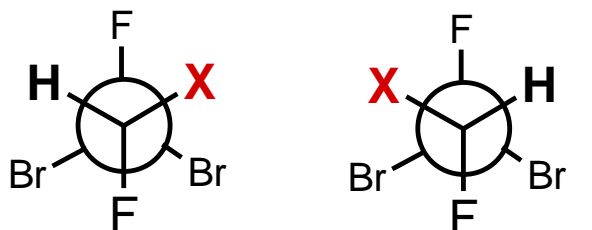
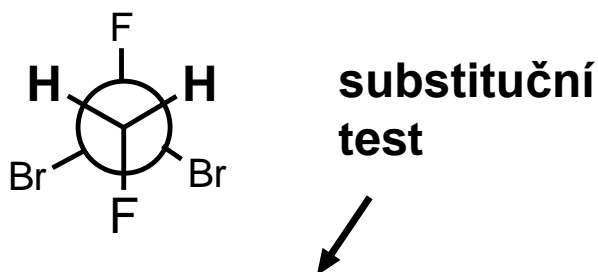
1
1

Počet signálů v NMR spektru

NMR není chiroptickou metodou

➔ **Standardním měřením enantiomery rozlišit nelze**

!!!! **Chiralita má však zásadní dopad na NMR spektra**



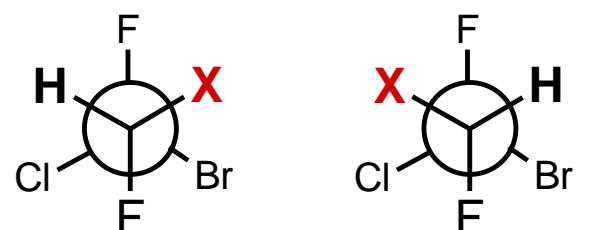
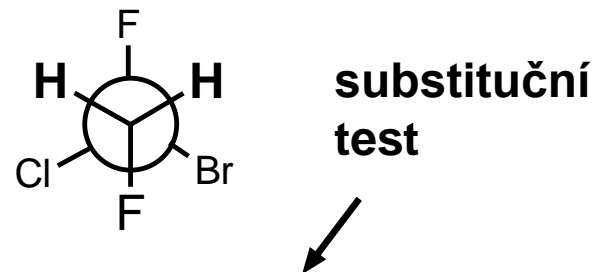
Enantiomery

jsou nerozlišitelné

vodíky jsou ekvivalentní

jeden signál v ^1H NMR

Enantiotopní jádra



Diastereomery

jsou rozlišitelné

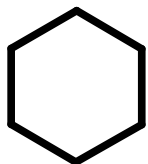
vodíky jsou neekvivalentní

dva signály v ^1H NMR

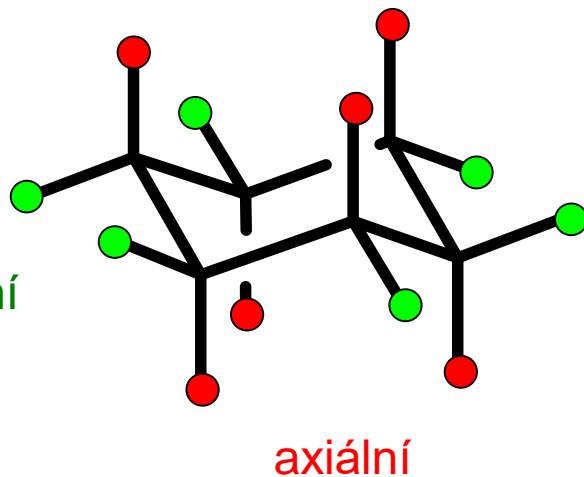
Diastereotopní jádra

Vliv teploty na počet signálů v NMR spektru

Cyklohexan



inverze kruhu



Při dostatečně nízké teplotě

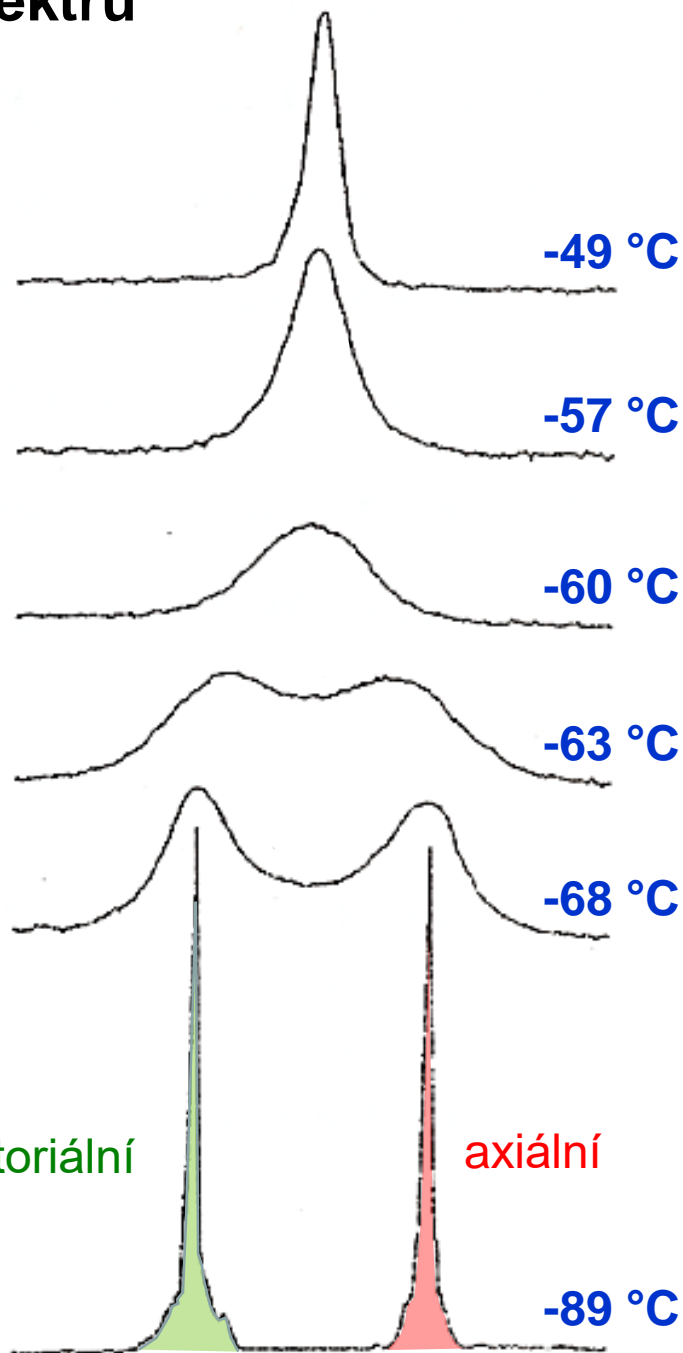
^1H NMR: 2 signály

^{13}C NMR: 1 signál

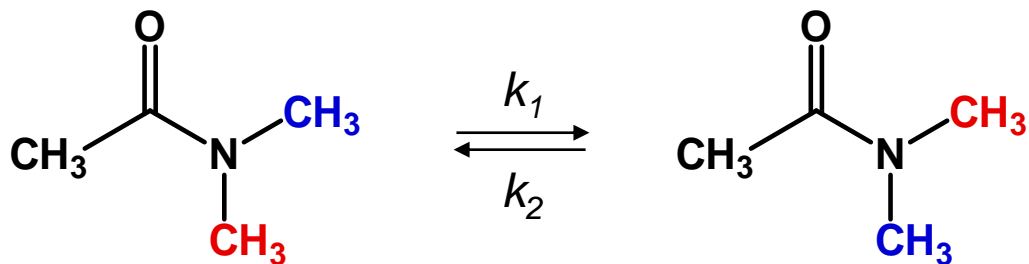
Při dostatečně vysoké teplotě

^1H NMR: 1 signál

^{13}C NMR: 1 signál



Vliv teploty na počet signálů v NMR spektru



- Amidová vazba má charakter parciální dvojné vazby
- Rotace je významně omezena
- Tyto rotamery jsou stejné látky

Při dostatečně nízké teplotě

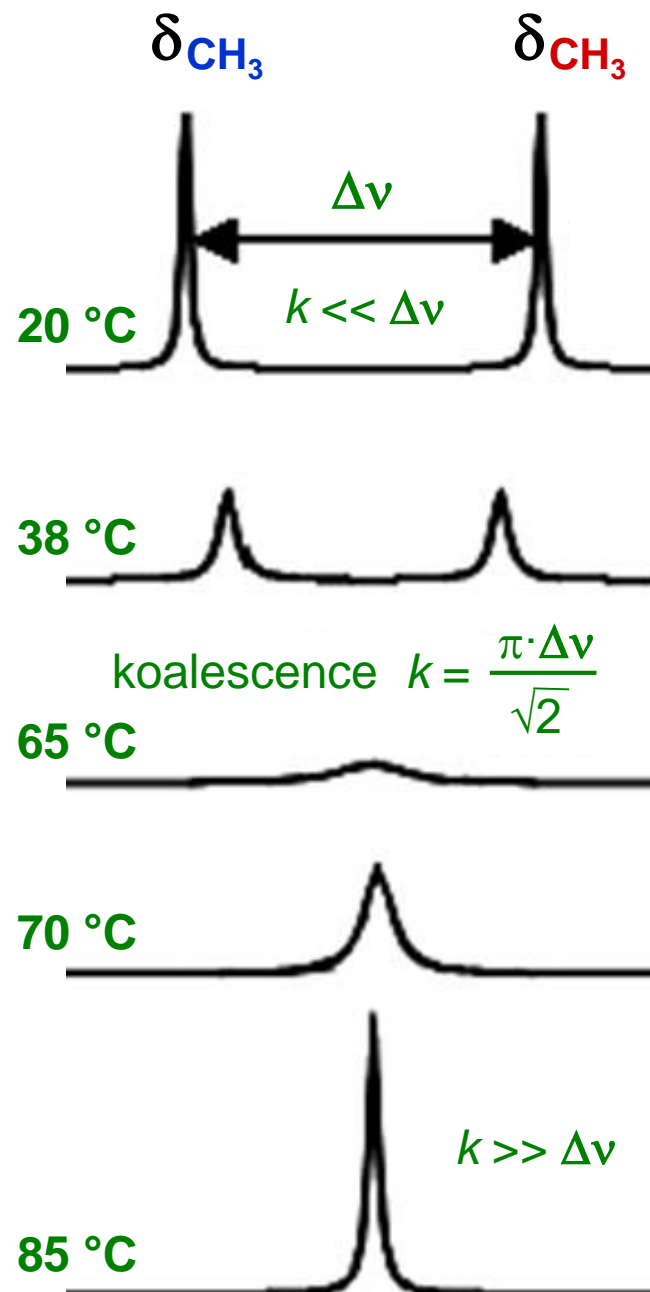
^1H NMR: 3 signály

^{13}C NMR: 4 signály

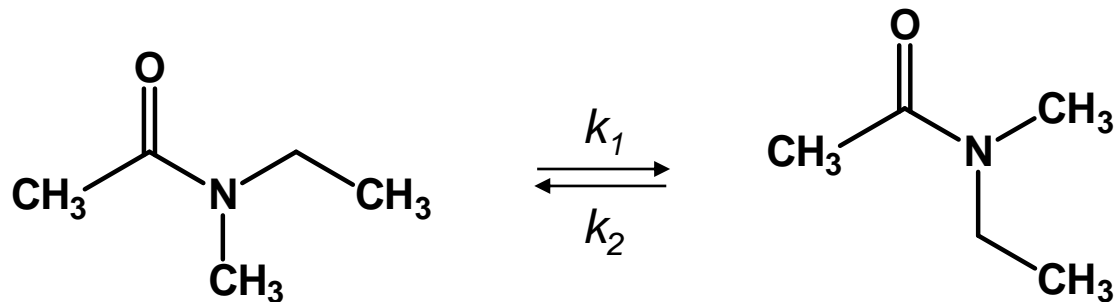
Při dostatečně vysoké teplotě

^1H NMR: 2 signály

^{13}C NMR: 3 signály



Vliv teploty na počet signálů v NMR spektru



Při dostatečně nízké teplotě

^1H NMR: 4 a 4 signály

^{13}C NMR: 5 a 5 signálů

Při dostatečně vysoké teplotě

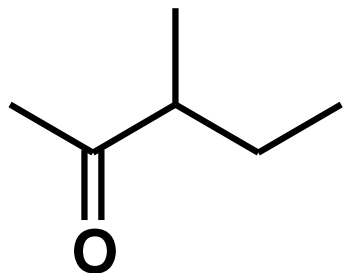
^1H NMR: 4 signály

^{13}C NMR: 5 signálů

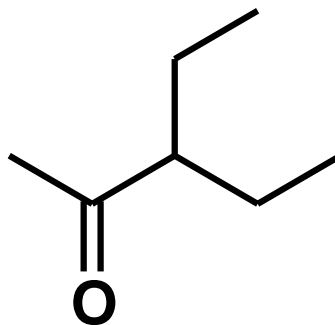
- Amidová vazba má charakter parciální dvojně vazby
- Rotace je významně omezena
- Tyto rotamery jsou **různé látky** = mají různou energii
- Budou v poměru $n_A : n_B \neq 1$ $x_A + x_B = 1$
- ^1H NMR: $x_A(3:3:2:3)$ a $x_B(3:3:2:3)$

Počet signálů v ^1H NMR

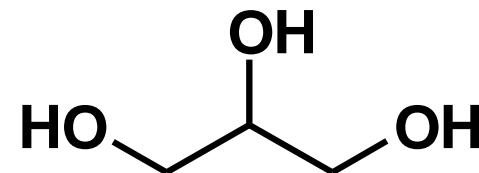
TIP: Proveďte substituční test CH_2 vodíků



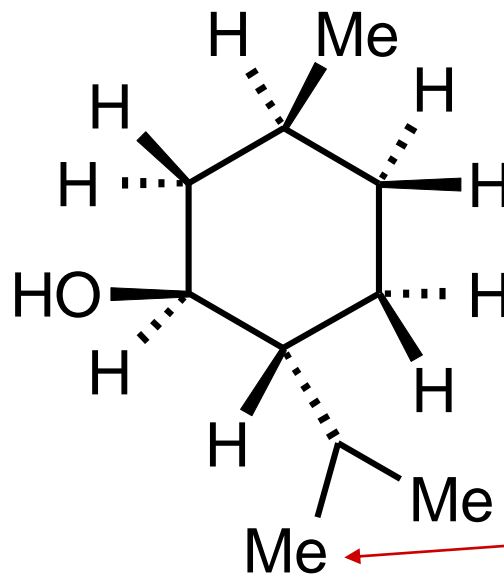
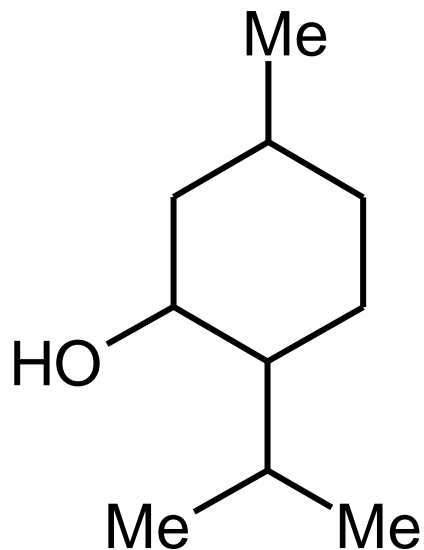
6 signálů ^1H
6 signálů ^{13}C



5 signálů ^1H
5 signálů ^{13}C



5 signálů ^1H
2 signály ^{13}C

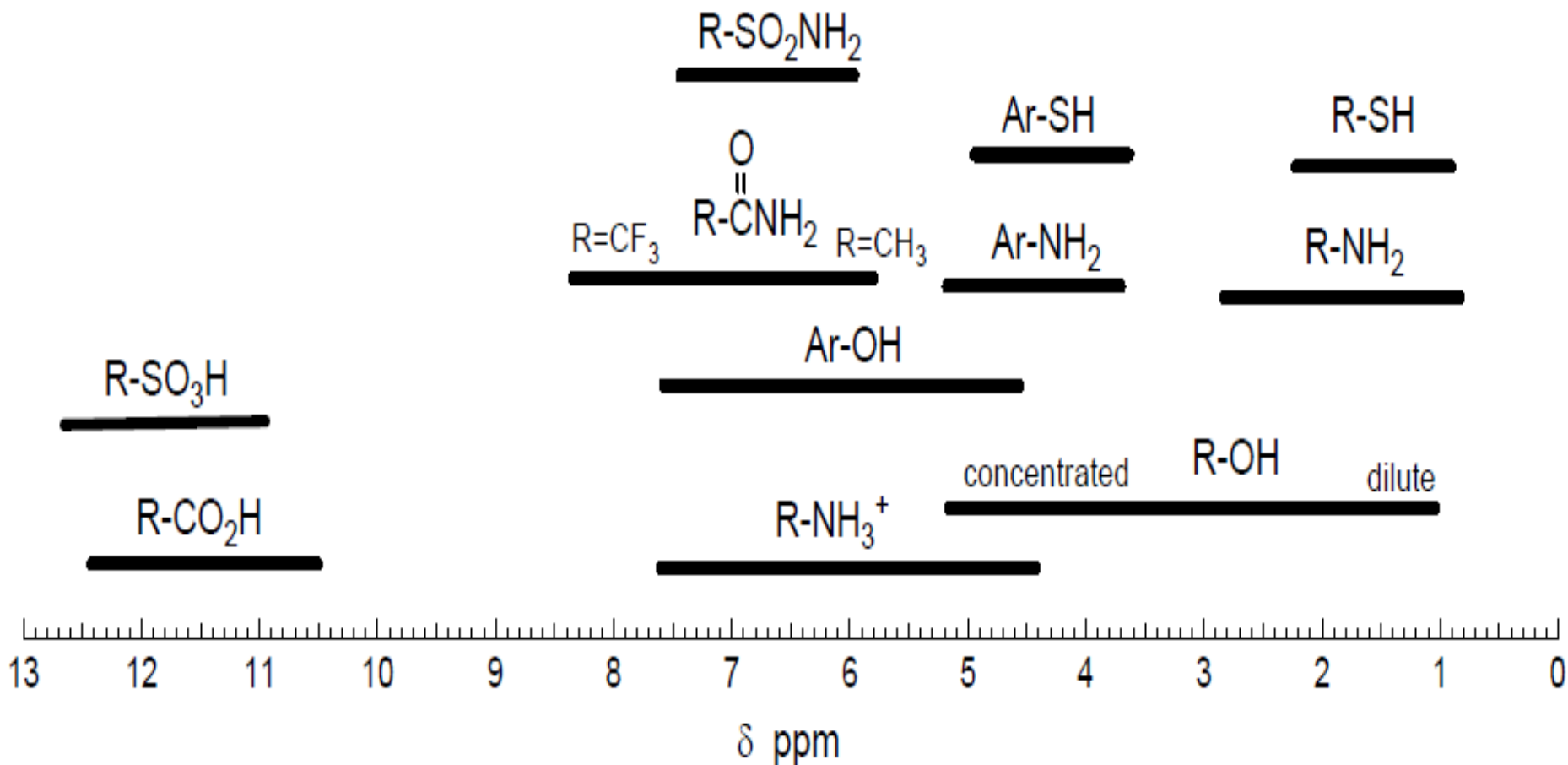


14 signálů ^1H
10 signálů ^{13}C

methylové skupiny
jsou diastereotopní

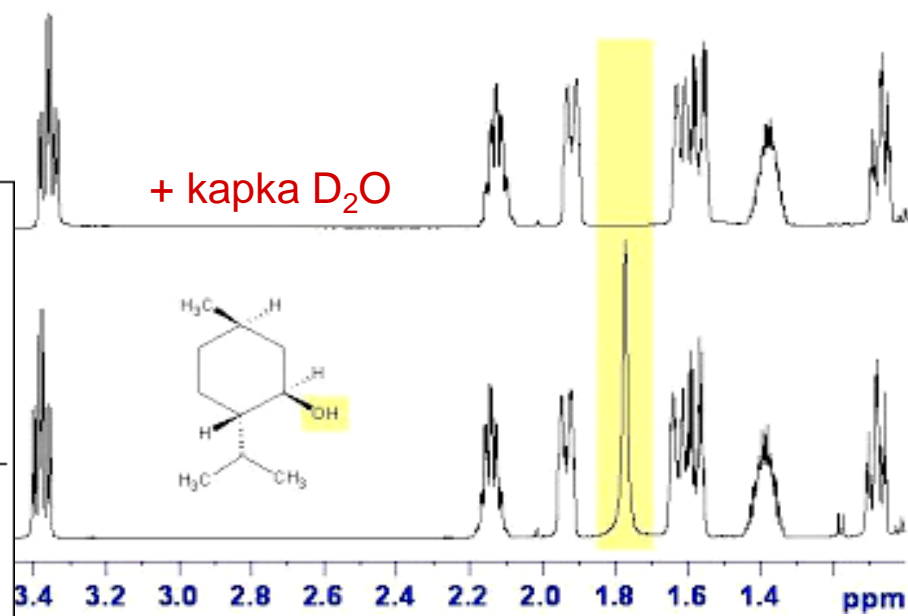
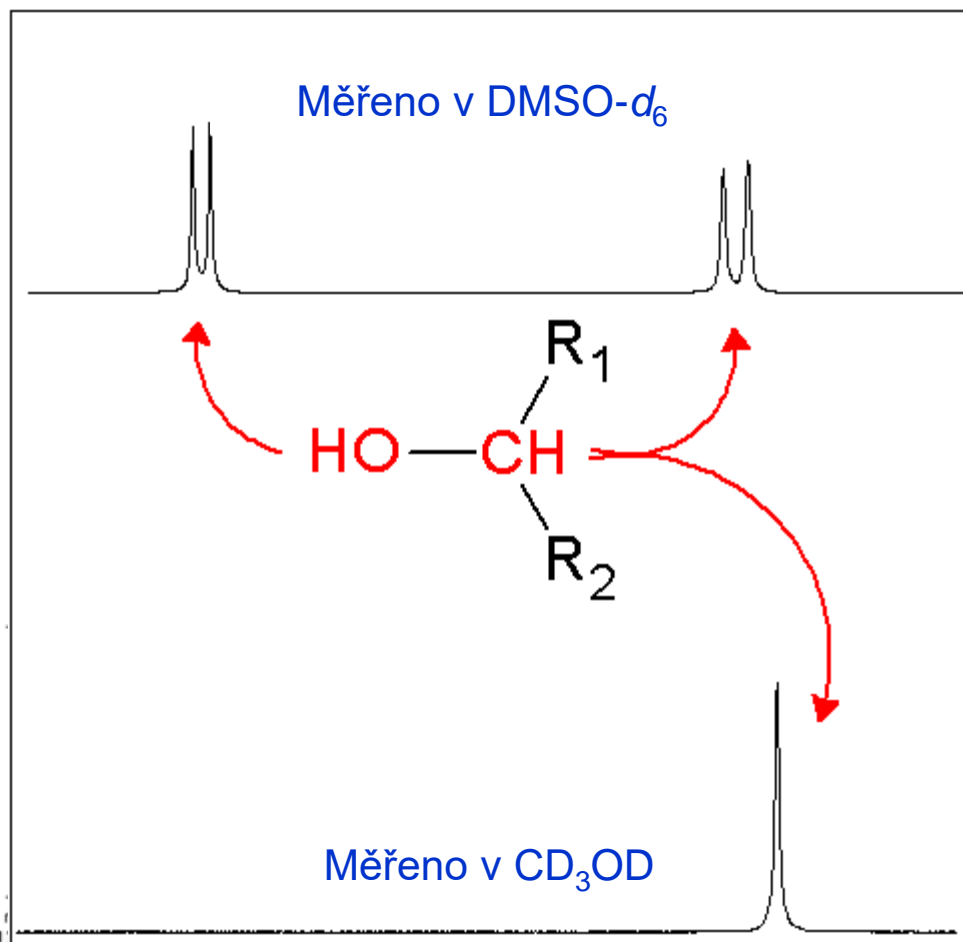
Tvar signálu – OH, NH, SH, ...

- * Široké signály jsou důsledkem pomalé chemické výměny
- * Jsou-li chemické výměny velmi rychlé nebo velmi pomalé pak jsou signály úzké
- * Chemický posun je silně závislý zejména na koncentraci, teplotě a pH

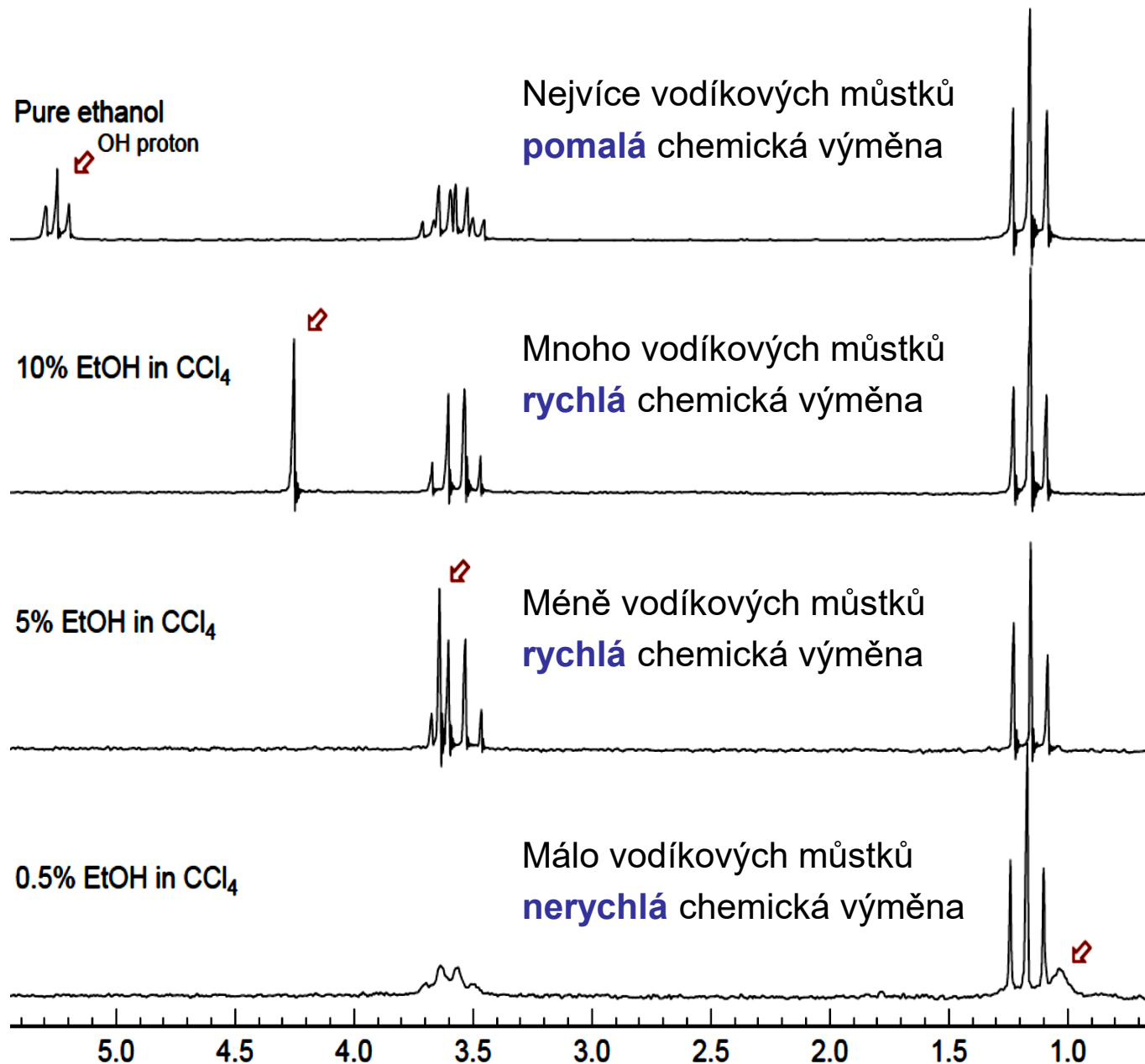


Identifikace signálů OH, NH, SH, ... využitím chemické výměny

Vyměnitelné s D_2O či s CD_3OD



Vliv koncentrace na signály skupin OH, NH, SH, ...



Dekapling
chemickou
výměnou

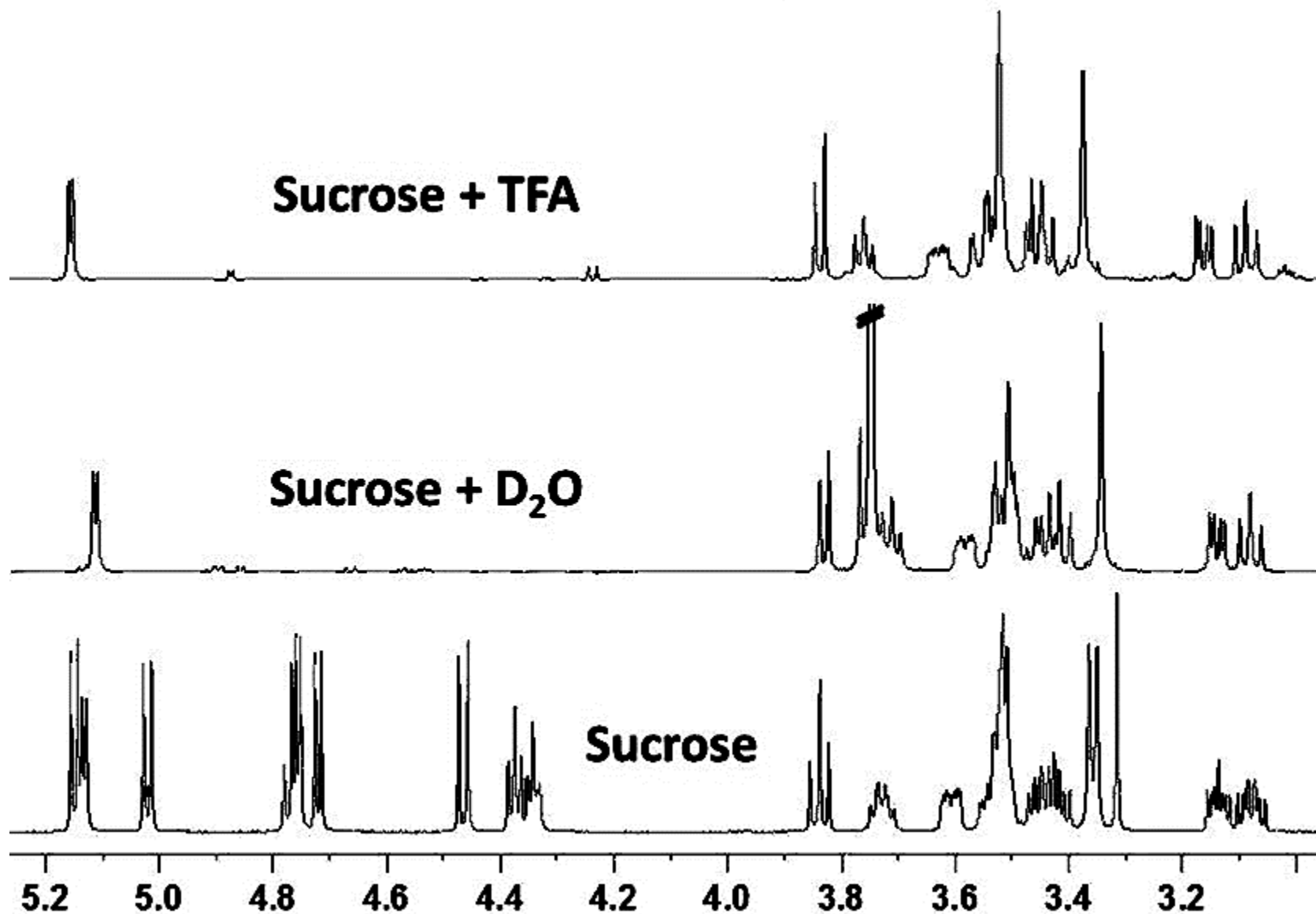
...

vodík se velmi
rychle vyměňuje
s jiným vodíkem,
který však má
zcela náhodný
stav α či β

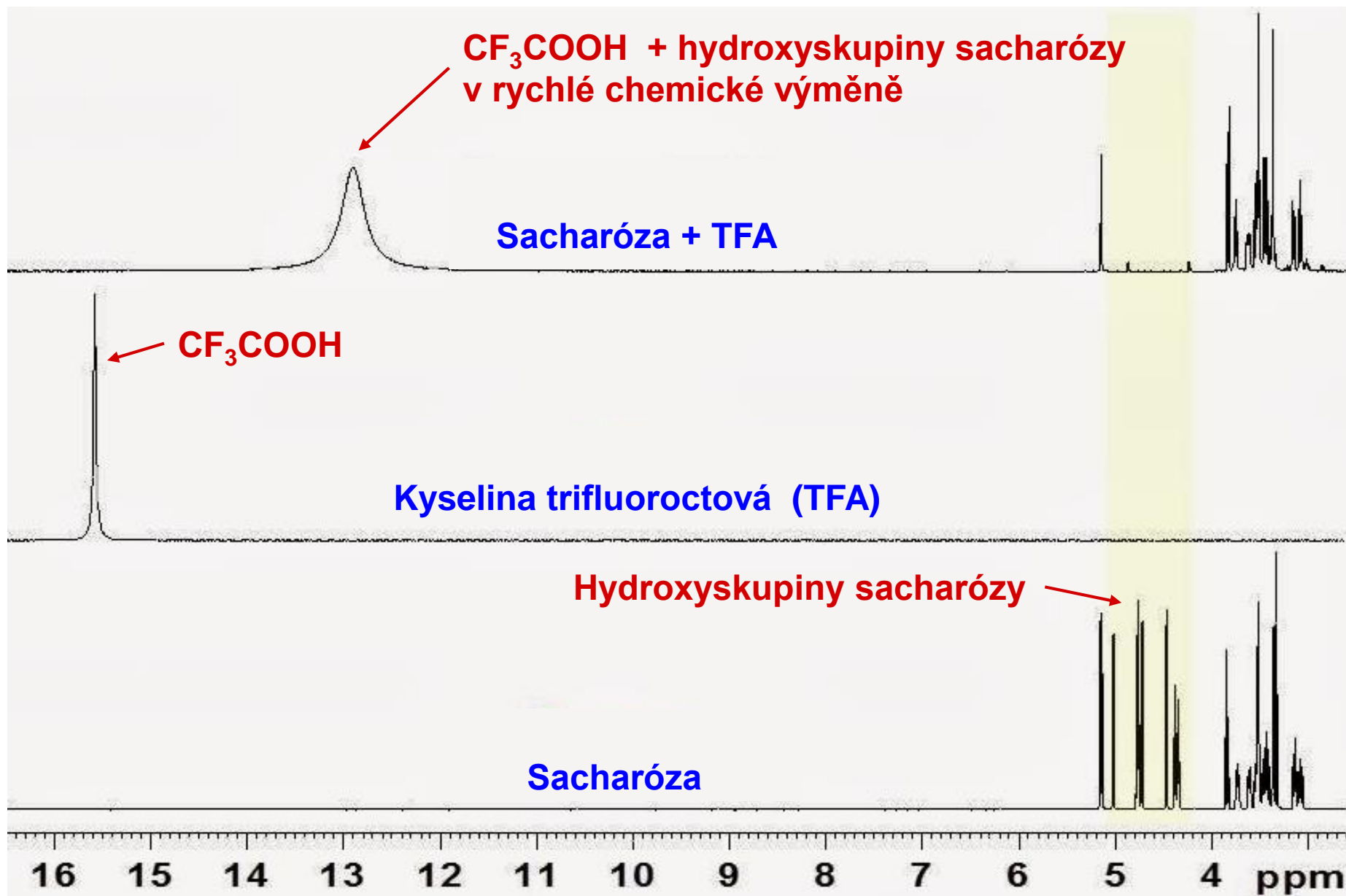
...

Při nižší
koncentraci
je chemická
výměna (reakce)
pomalejší

Identifikace signálů OH, NH, SH, ... využitím chemické výměny



Identifikace signálů OH, NH, SH, ... využitím chemické výměny



Rezonanční frekvence signálů v NMR spektru

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

Rezonanční frekvence TMS (tetramethylsilan, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, standard ^1H , ^{13}C i ^{29}Si NMR)

B_0 [T]	^1H jádra [MHz]	^{13}C jádra [MHz]	^{29}Si jádra [MHz]
1,41	60,0	15,1	11,9
7,05	300,1	75,5	59,6
9,4	400,1	100,6	79,5
11,75	500,1	125,8	99,4
14,1	600,1	150,9	119,2
18,8	800,1	201,2	159,0
23,5	1000,1	251,5	198,7

- ➔ Silnější magnetické pole = vyšší rezonanční frekvence
- ➔ Na každém přístroji absorbují stejná jádra při jiné frekvenci
- ➔ Pro přenositelnost nutno využít referenční látky (standardu)

Chemický posun signálů v NMR spektru

Chemický posun signálu δ je **bezrozměrné číslo**
nezávislé na síle použitého magnetického pole

Vzhledem k jeho obvyklé velikosti 10^{-6} až 10^{-4} udáváme jeho hodnotu v **ppm**

$$\delta_x = 10^6 * (\nu_x - \nu_{ref}) / \nu_{ref}$$

chemický posun
signálu x

faktor pro
přepočet
na **ppm**

rezonanční
frekvence
signálu x

rezonanční
frekvence signálu
referenční látky
(standardu)

blízká s tzv. pracovní
frekvencí přístroje

Vliv B_0 na NMR spektra

Signály druhého řádu

Pracovní
frekvence (B_0)

1 ppm =

60 MHz (1,4 T)

60 Hz

100 MHz (2,3 T)

100 Hz

300 MHz (7,0 T)

300 Hz

600 MHz (14,1 T)

600 Hz

Signály prvního řádu

800 MHz (18,8 T)

800 Hz

0.6 0.4 0.2 0.0 -0.2 -0.4 ppm

400 200 0 -200 -400 Hz

větší B_0 = větší disperze signálů = méně překryvů = nižší řád spektra

Chemický posun NMR signálů je závislý na složení roztoku

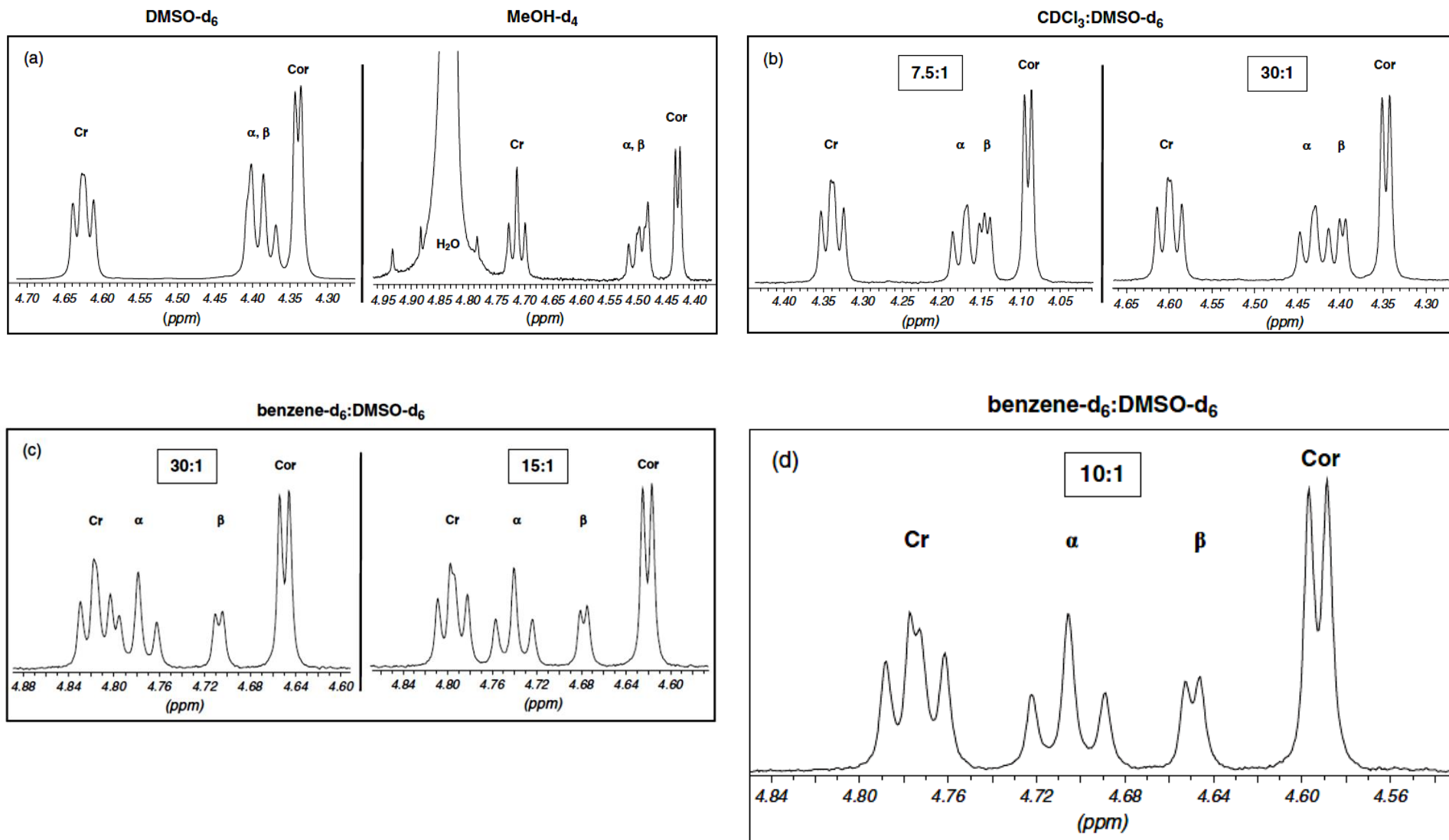
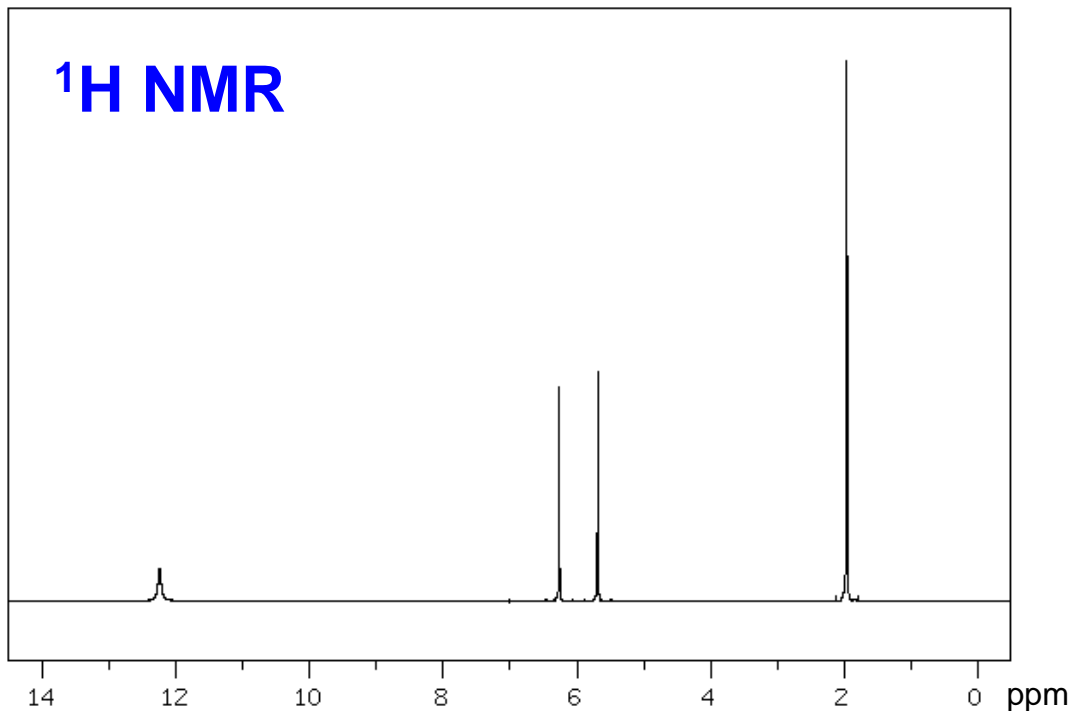
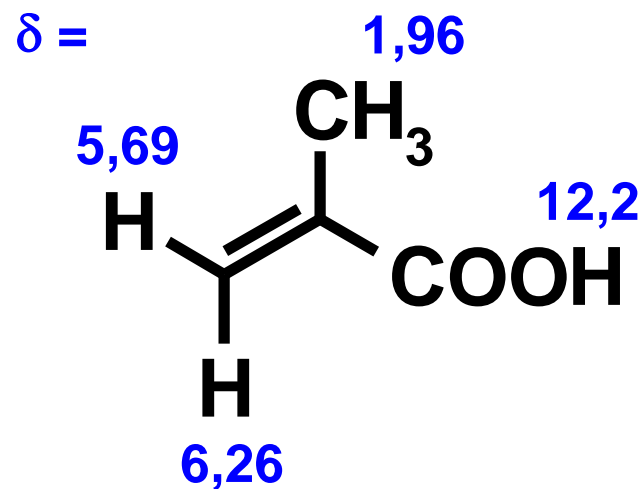


Table 2 Results obtained by the four applied methods – for each component of codergocrine mesylate, the relative amount is given in mass percentage: dihydroergocristine (Cr), dihydroergocomin (Cor), α-dihydroergocryptine (α), and β-dihydroergocryptine (β).

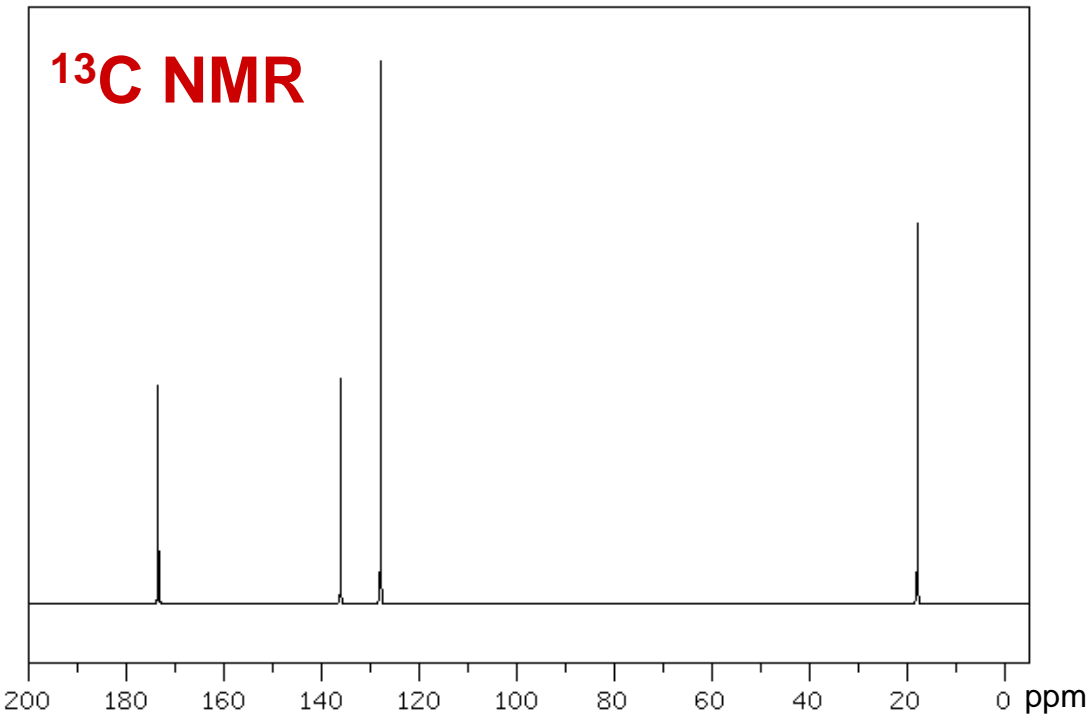
¹H NMR



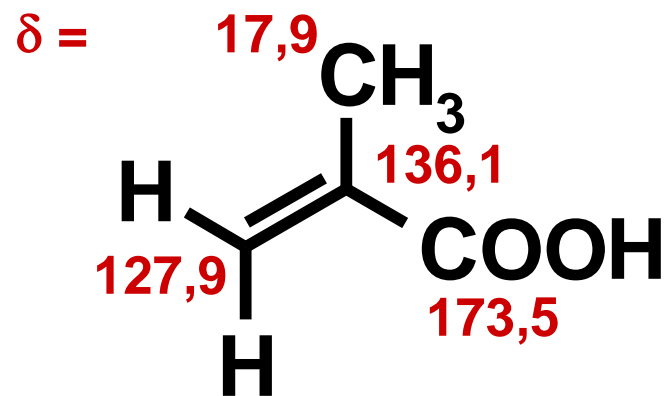
Chemické posuny ¹H v ppm



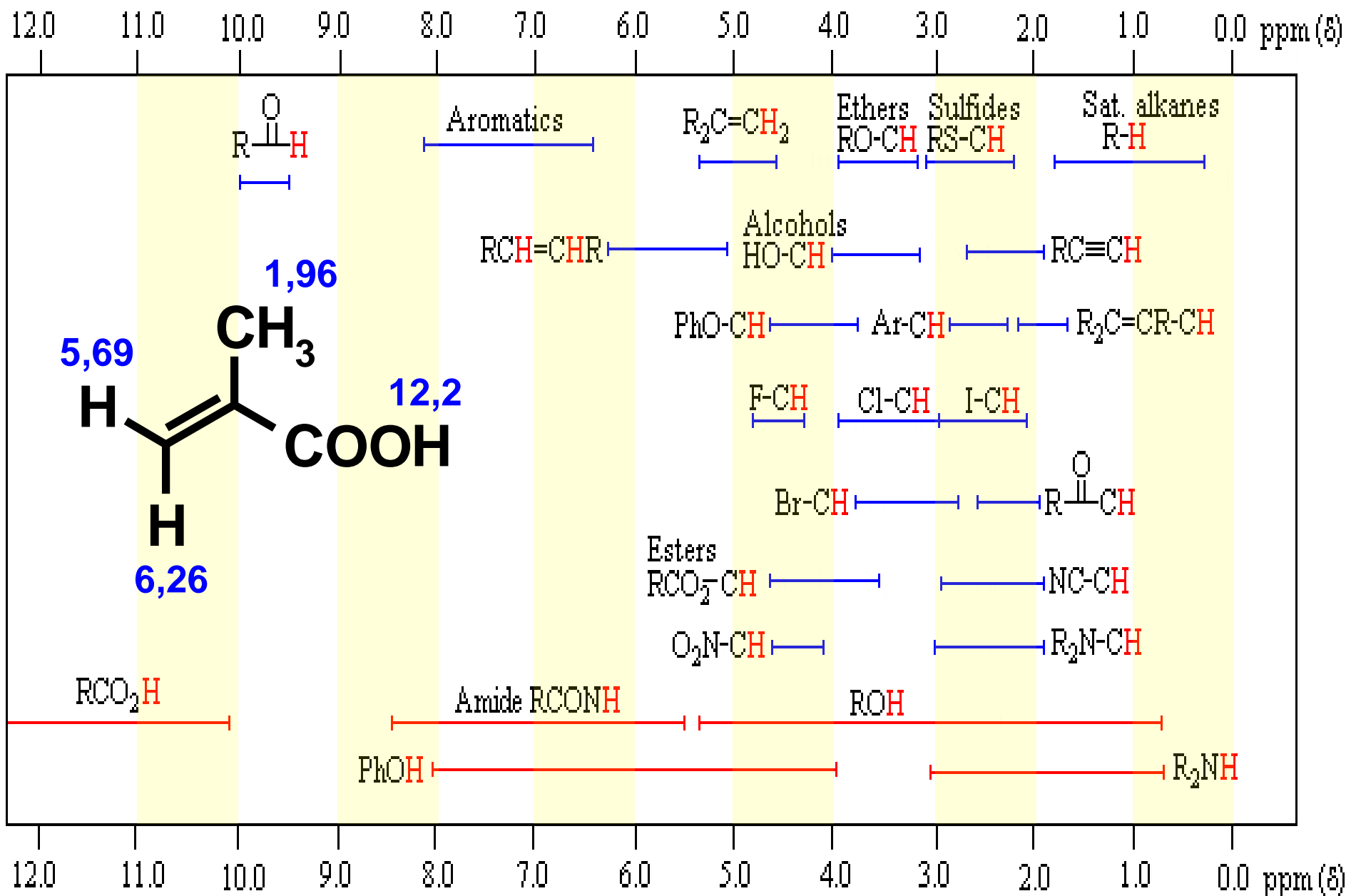
¹³C NMR



Chemické posuny ¹³C v ppm



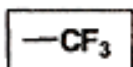
Chemické posuny v ^1H NMR spektrech



¹⁹F NMR

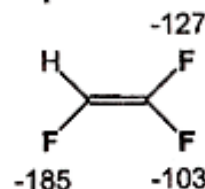
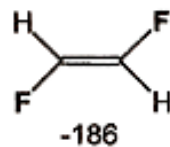
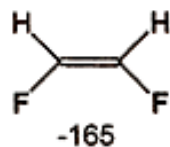
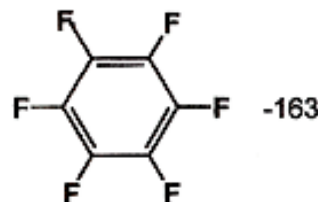
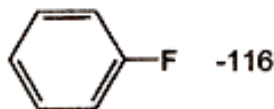
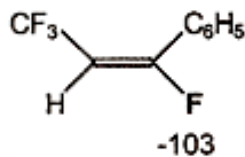
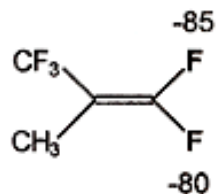
$I = 1/2$

přirozené zastoupení 100 %

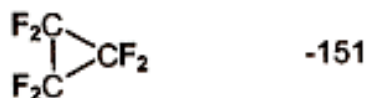
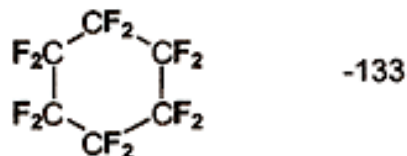


CF ₃ -OCFBr-CF ₂ Br	-55
CF ₃ -NHCONH-CF ₃	-56
CF ₃ -CH ₂ Si(CH ₃) ₃	-56
CF ₃ -CH ₂ C(CH ₃) ₃	-61
CF ₃ -H	-63
CF ₃ -C ₆ H ₅	-64
CF ₃ -(CH ₂) ₄ CH ₃	-65
CF ₃ -COOH	-77
CF ₃ -CO-CF ₃	-84
CF ₃ -CF ₂ COOH	-84

F—Aromát, F—Olefin



CF ₂ -Cl ₂	-17
C ₆ H ₅ -CF ₂ -Cl	-49
C ₆ H ₅ -CF ₂ -C ₆ H ₅	-89
CCl ₃ -CF ₂ -CCl ₃	-98
CF ₃ -CF ₂ -CFCl ₂	-114



Cl ₂ CF-CFCl ₂	-69
CH ₃ CHBr-CHFCH ₃	-171
<i>erythro-</i>	-171
<i>threo-</i>	-174

F ₂	+430
NF ₃	+142
HF	+40
PF ₃	-37
SF ₆	-57
CF ₄	-64
BF ₃	-131

PF

(CH ₃) ₂ N-P(=S)F	-49
(CH ₃ CH ₂) ₂ -P(=O)F	-84
(CH ₃ O) ₂ -P(=O)F	-87

SF

CF ₃ O-PSO ₂ F	+49
--------------------------------------	-----

OF

F ₂ C(OF) ₂	+49
-----------------------------------	-----

^{31}P NMR

$$I = \frac{1}{2}$$

přirozené
zastoupení 100 %

P (III)

PF_3	PCl_3	PBr_3	PI_3	PH_3
+97	+220	+29	+178	-238

$\text{PH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)$	$\text{PH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	$\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	$\text{PH}_2(\text{CH}_3)$	$\text{PH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{P}(\text{CH}_3)_3$
-122	-41	-8	-164	-99	-62

$\text{P}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)_3$	$\text{P}(\text{SCH}_3)_3$	$\text{P}(\text{OCH}_3)_3$
+122	+125	+141

P (IV)

$\text{O}=\text{PF}_3$	$\text{O}=\text{PCl}_3$	$\text{O}=\text{PBr}_3$
-36	+2	-103

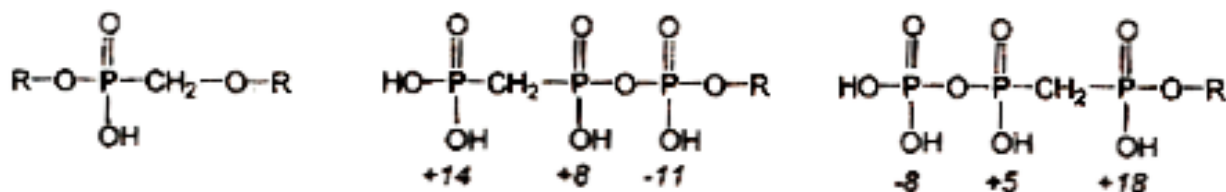
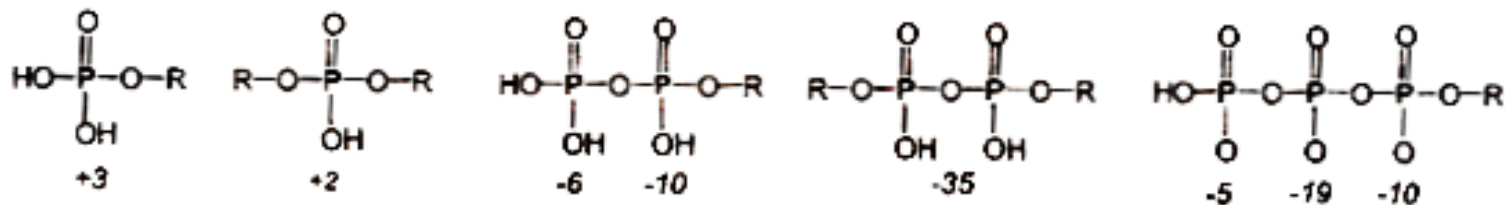
$\text{O}=\text{PH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	$\text{O}=\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	$\text{O}=\text{PH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{O}=\text{P}(\text{CH}_3)_3$
+23	+25	+63	+36
$\text{O}=\text{PH}_2(\text{OCH}_3)$	$\text{O}=\text{PH}(\text{OCH}_3)_2$	$\text{O}=\text{P}(\text{OCH}_3)_3$	$\text{O}=\text{P}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)_3$
+19	+11	-1	+27

P (V)

PF_5	PCl_5	PBr_5
-35	-80	-101

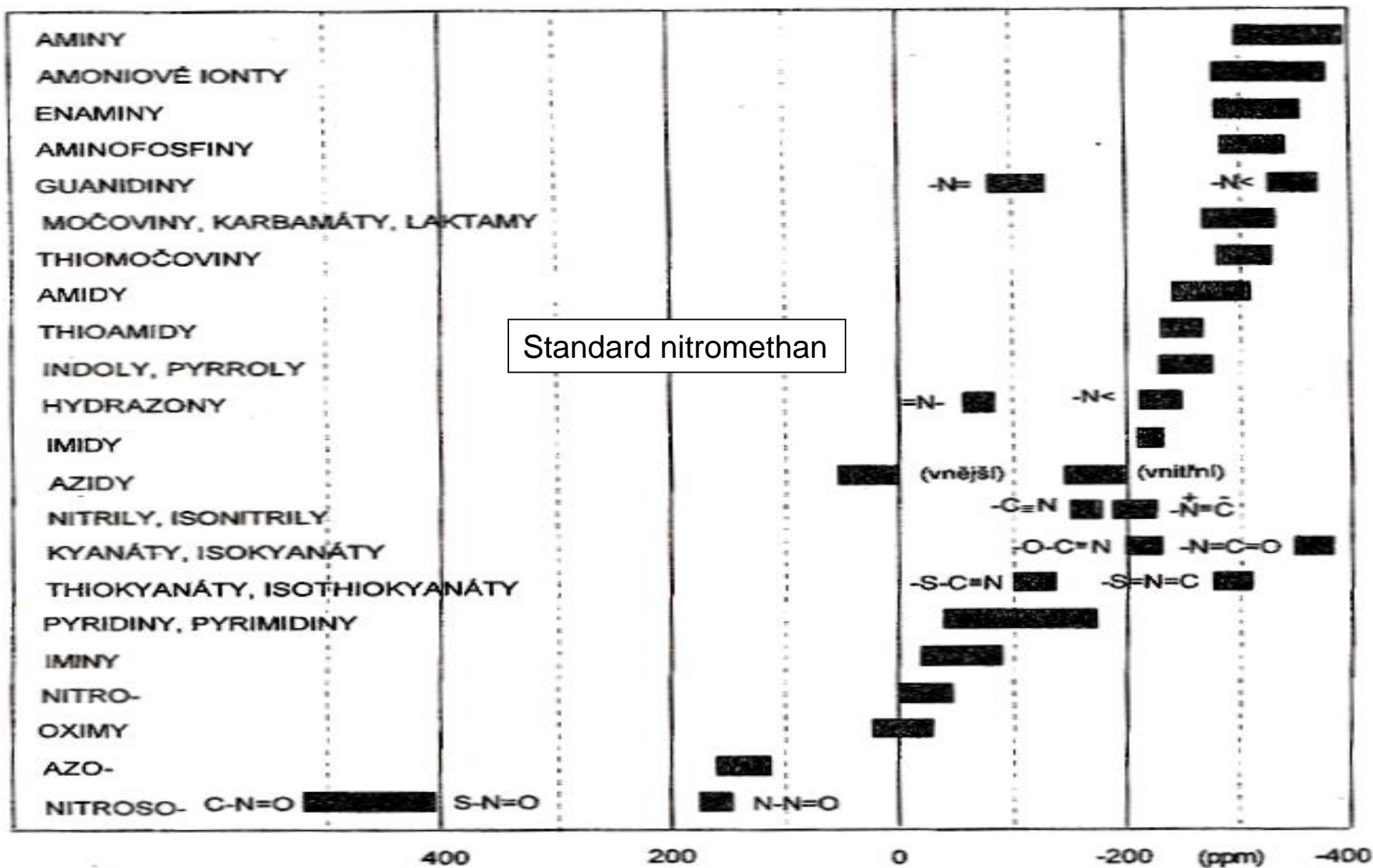
$\text{P}(\text{OEt})_5$	$\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_5$
-71	-89

$\text{S}=\text{PCl}_3$	$\text{S}=\text{PBr}_3$	$\text{S}=\text{P}(\text{CH}_3)_3$	$\text{S}=\text{P}(\text{OCH}_3)_3$
+29	-112	+59	+73



^{15}N NMR

$I = 1/2$ přirozené zastoupení pouze %

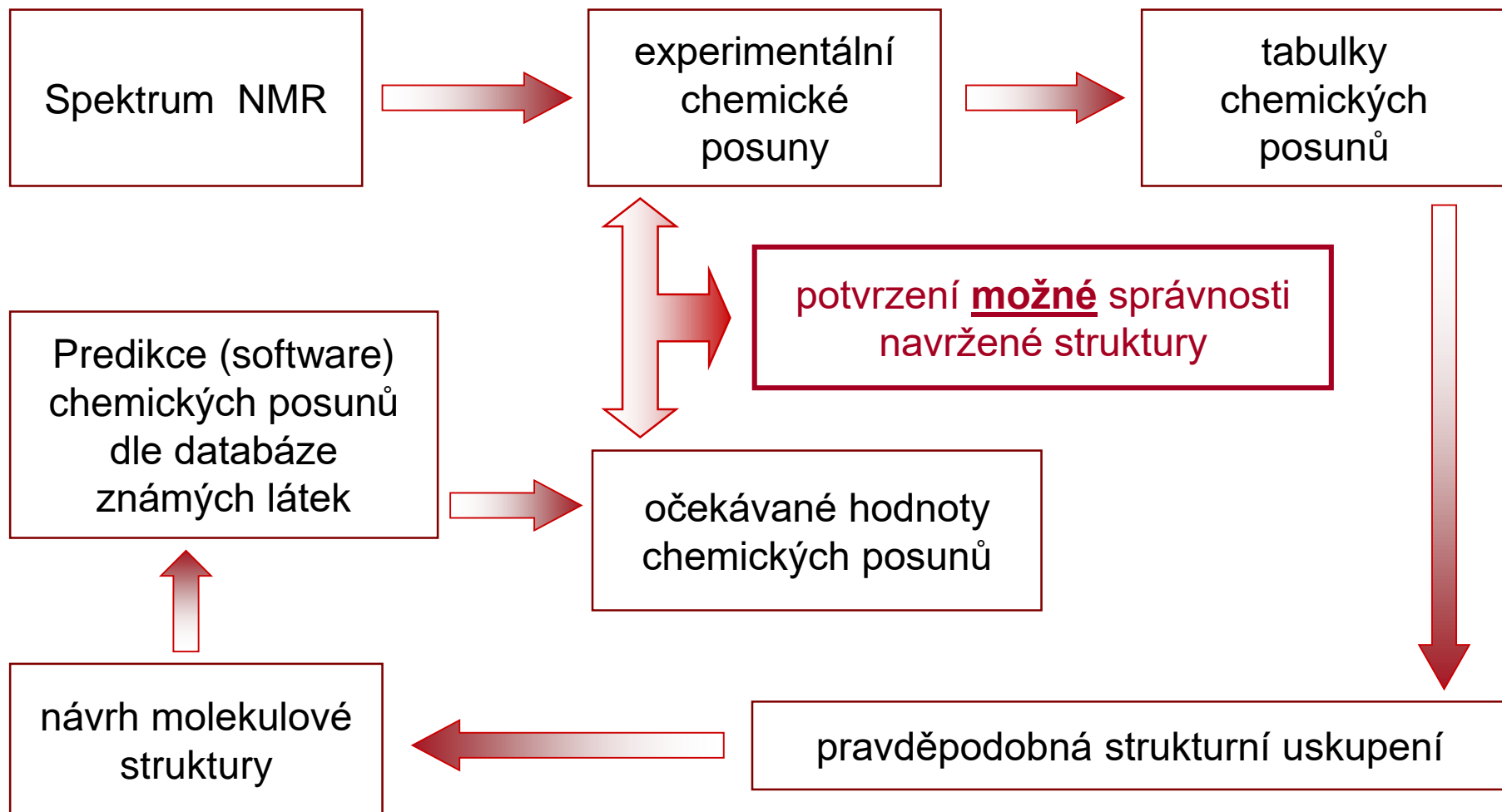


Chemický posun signálů v NMR spektru

Hodnota chemického posunu odráží chemické okolí atomů (stínění)

Z tabulek těchto hodnot lze navrhnout možné strukturální fragmenty neznámé látky

Pro známou molekulovou strukturu lze predikovat chemické posuny



Intenzita signálu v NMR spektrech

Integrální intenzita signálu je úměrná množství chemicky ekvivalentních jader daného isotopu v měřené části vzorku

Signály chemicky neekvivalentních jader se mohou náhodně překrývat tj., mohou být náhodně isochronní

Poměr integrálních intenzit signálů odpovídá poměru počtu ekvivalentních jader v molekule

Pokud není znám sumární vzorec pak je poměr pouze relativní

Při **standardním** měření lze integrálních intenzit využít při **kvalitativní** analýze u ^1H i ^{19}F NMR spekter, nikoli např. u ^{13}C NMR spekter

Intenzita signálů v ^1H a ^{19}F NMR spektrech je obvykle od 80 do 100 %

Intenzita signálů v ^{13}C NMR spekter je obvykle od 5 - 100 %

*Při časově náročném **kvantitativní** měření dosahuje intenzita signálů 99 – 100 %*

^1H NMR

integrální vlna (výška)

integrální normalizovaná hodnota (plocha)

14 12 10 8 6 4 2 0 ppm

^{13}C NMR

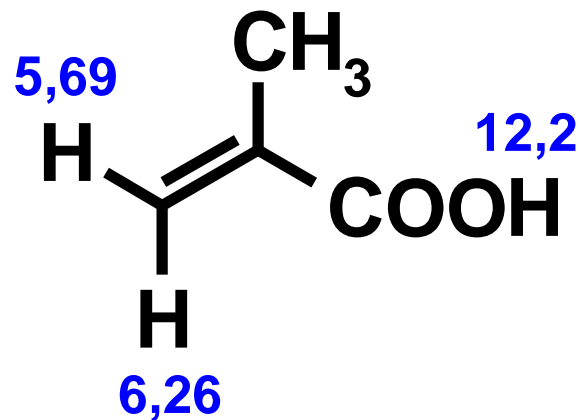
numerická integrace

402 414 1000 701

200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 ppm

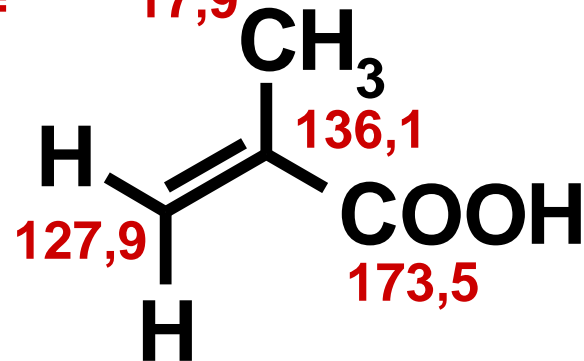
Chemické posuny ^1H v ppm

$\delta =$ 1,96



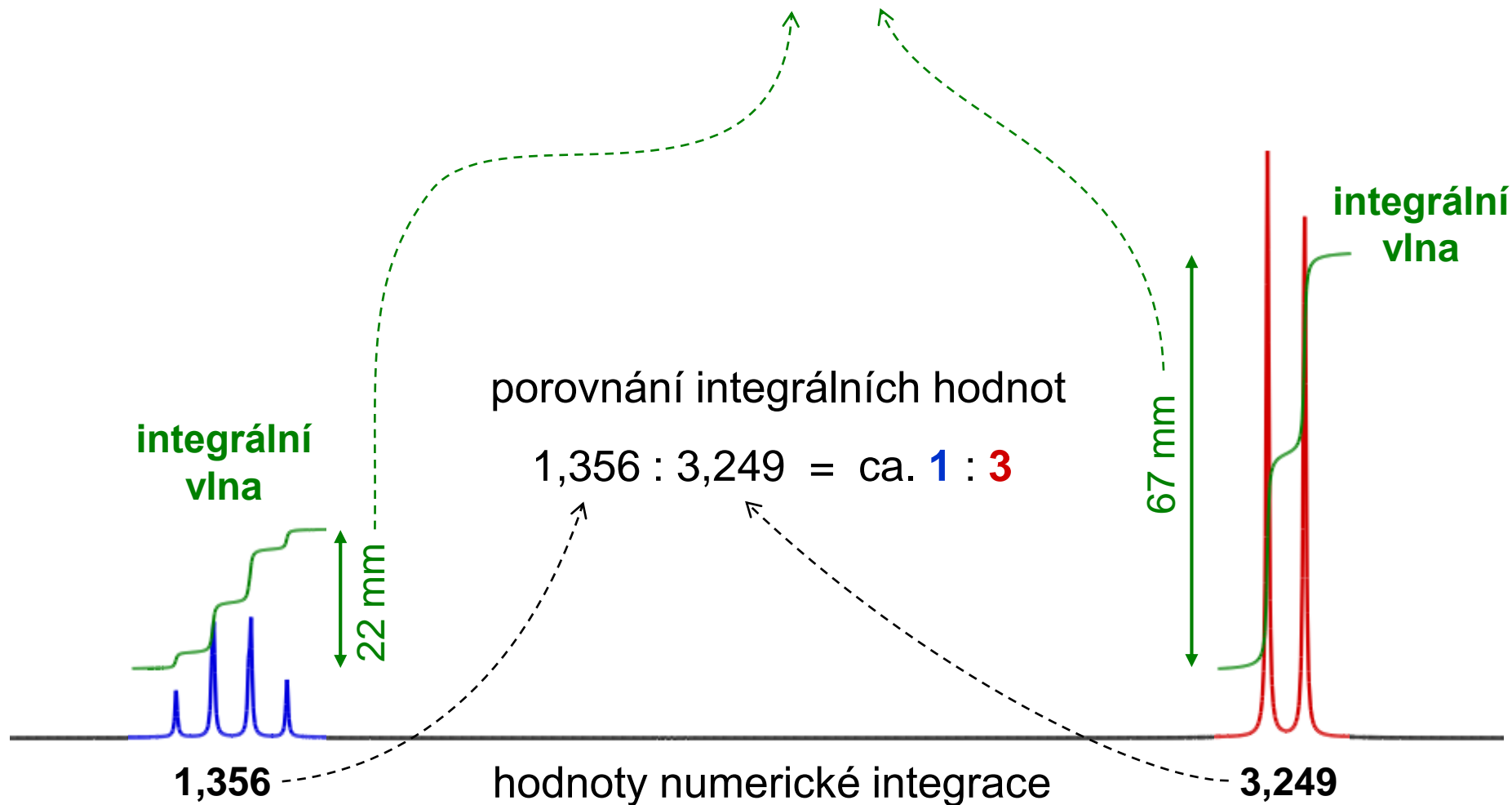
Chemické posuny ^{13}C v ppm

$\delta =$ 17,9 136,1



Intenzita signálu v NMR spektru

porovnání výšky integrálních vln $22 : 67 = \text{ca. } 1 : 3$

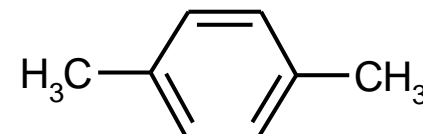
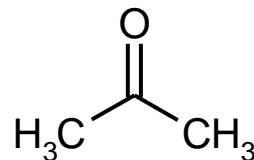
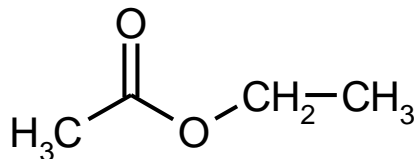
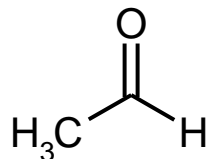


relativní integrální intenzita **1H**

relativní integrální intenzita **3H**

Počet a integrální intenzita signálů v NMR spektru

Uvažujte volnou rychlou rotaci kolem jednoduchých vazeb

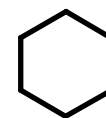
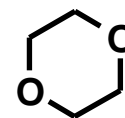
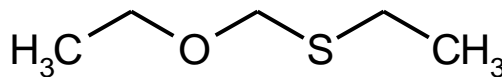
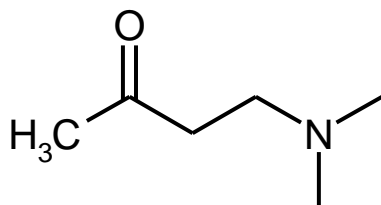


^{13}C : 2
 ^1H : 2 3:1

4
3 3:2:3

2
1

3
2 3:2



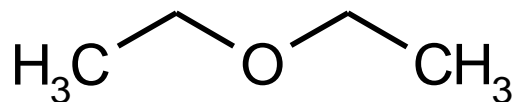
^1H : 4 3:2:2:6
 ^{13}C : 5

5 3:2:2:2:3
5

1
1

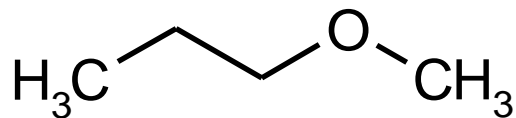
1
1

Počet signálů



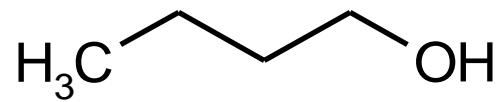
^1H : 2 (3:2)

^{13}C : 2



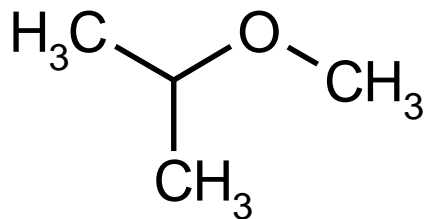
^1H : 4 (3:2:2:3)

^{13}C : 4



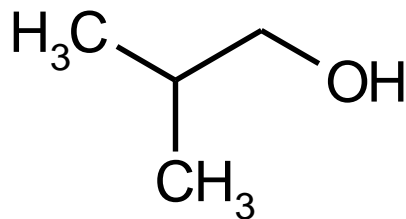
^1H : 5 (3:2:2:2:1)

^{13}C : 4



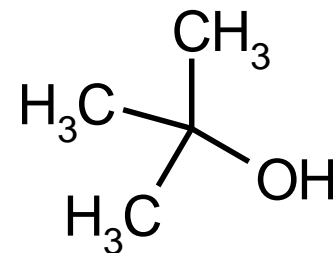
^1H : 3 (6:1:3)

^{13}C : 3



^1H : 4 (6:1:2:1)

^{13}C : 3



^1H : 2 (9:1)

^{13}C : 2

Tyto konstituční isomery lze snadno rozlišit pomocí NMR nikoli ze spekter IČ, Raman či MS

qNMR ... Kvantitativní NMR

Integrální plocha signálu $I_x = k \cdot N_x$

Vyžaduje měření spekter za podmínek kvantitativní odezvy

Molární poměr pozorovaných látek bez použití standardu $\frac{n_X}{n_Y} = \frac{I_X}{I_Y} \frac{N_Y}{N_X}$

Jsou-li všechny látky směsi pozorovány lze stanovit obsah libovolné z nich bez použití standardu $\frac{n_X}{\sum_{i=1}^m n_i} = \frac{I_X/N_X}{\sum_{i=1}^m I_i/N_i}$

Jsou-li pozorovány jen některé složky, pak jednobodová kalibrace s použitím standardu

$$P_X = \frac{I_X}{I_{Std}} \frac{N_{Std}}{N_X} \frac{M_X}{M_{Std}} \frac{m_{Std}}{m} P_{Std}$$

Pokus o stanovení molární hmotnosti neznámé látky !!! dvě neznámé (M_x a N_x)

$$\frac{I_X}{N_X} \cdot \frac{M_X}{m_X} = \frac{I_{Std}}{N_{std}} \cdot \frac{M_{Std}}{m_{Std}}$$

Multiplicita signálu v NMR spektrech

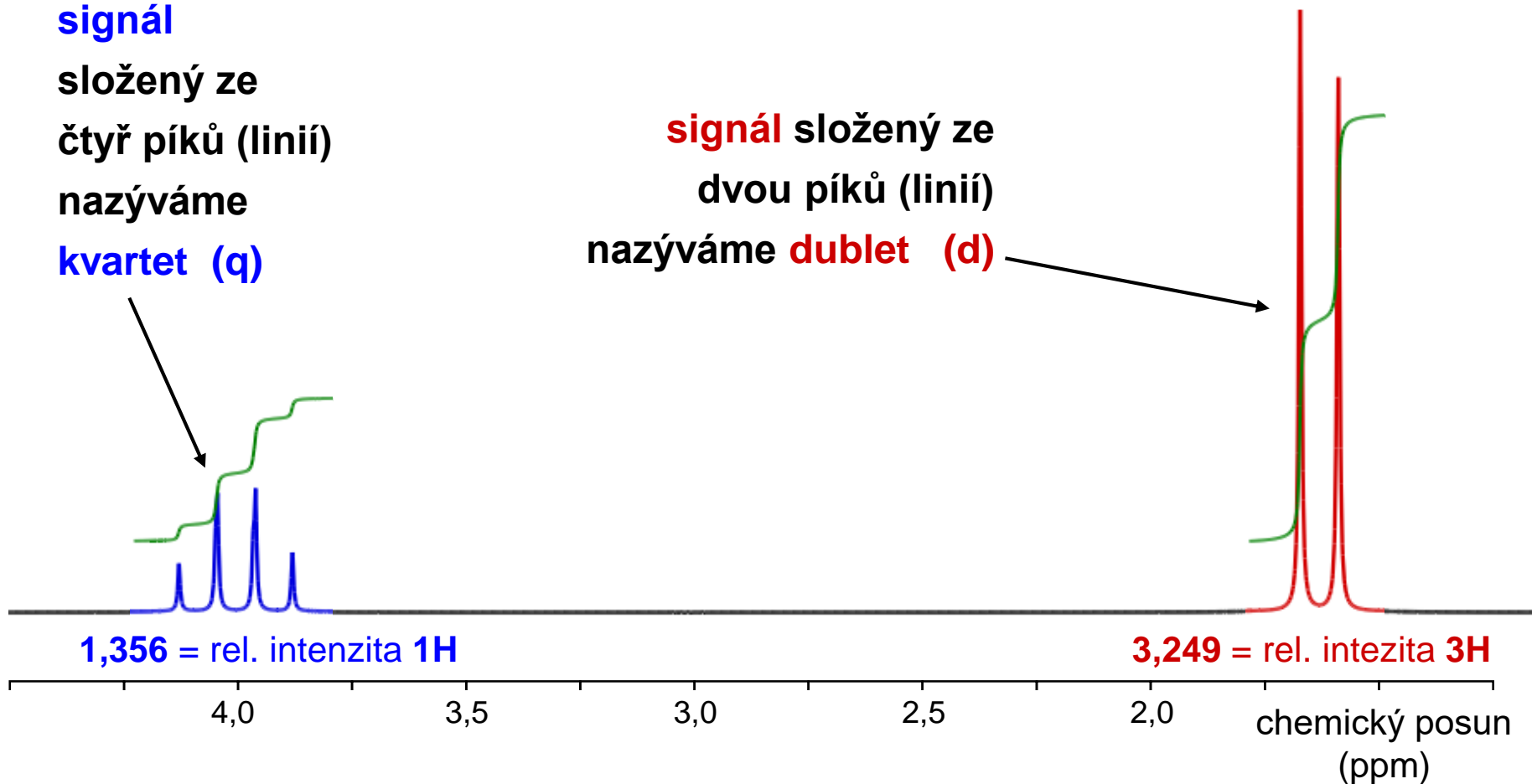
Signál mající jediný pík nazýváme **singlet** (s)

Signál, který je složen z více píků (má jemnou strukturu) nazýváme **multiplet**

Signál mající dva píky nazýváme **dublet** (d), tři píky **triplet** (t), čtyři píky **kvartet** (q), ...

signál
složený ze
čtyř píků (linií)
nazýváme
kvartet (q)

signál složený ze
dvou píků (linií)
nazýváme dublet (d)



Multiplicita signálu v NMR spektru

Multiplicita signálu je důsledek vzájemné interakce jader nenulového jaderného magnetického spinu prostřednictvím vazebných elektronů

Též nazývána interakcí přes vazby či skalární interakce či nepřímá spin-spinová interakce

Počet a intenzita **píků multipletu** má přímou spojitost s druhem a počtem okolních jader

Počet chemicky neekvivalentních jader (symetrie molekuly) → počet signálů

Počet chemicky ekvivalentních jader → intenzita signálu

Atomy a skupiny v okolí → chemický posun signálu

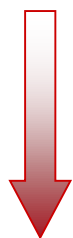
Jádra s nenulovým spinem v okolí → multiplicita signálu
= jemná struktura signálu
= signál je složen z více píků

Multiplicita signálu v NMR spektru



Protony CH_3 jsou chemicky ekvivalentní = budou mít jeden signál o intenzitě 3H

Jaderný spin CHR_2 může být vůči CH_3 buď \downarrow nebo \uparrow s pravděpodobností ca. 1:1

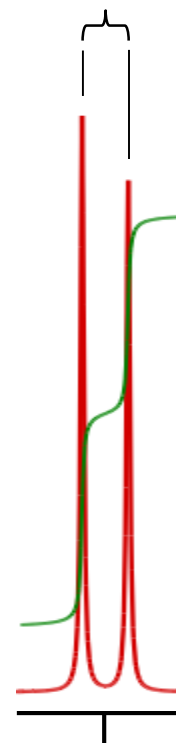


Protony CH_3 absorbují při dvou různých frekvencích, jejichž rozdíl je interakční konstantou uváděnou v Hz

Chemický posun leží v těžišti signálu (multipletu)

U spekter prvního řádu je těžiště shodné se středem

$${}^3J_{\text{HH}} = 7,0 \text{ Hz}$$



Multiplicita signálu – Interakční konstanta

Interakce přes vazby je charakterizována interakční konstantou J (Hz)

$${}^n J_{AB} \quad [\text{Hz}]$$

Hodnota může být kladná i záporná
(běžné měření \rightarrow absolutní hodnota)

n ... počet vazeb (nejčastěji 1 až 4) mezi interagujícími jádry
 A, B ... interagující jádra (homonukleární, heteronukleární)

Velikost interakční konstanty závisí zejména na:

- * druhu interagujících jader
- * počtu vazeb mezi nimi
- * jádrech, která je oddělují
- * prostorovém uspořádání



tabulky
predikce



návrh
struktury

Triplet – interakce s dvěma chemicky i magneticky ekvivalentními jádry

Mějme singletový signál o integrální intenzitě 8

8

Interakcí s **jedním** jádrem o **spinu** $\frac{1}{2}$ dojde k jeho rozštěpení na dva píky
Píky budou **symetricky** dle pozice původního píku ve vzdálenosti rovnající se hodnotě J

Každý z píků bude mít **polovinu intenzity** původního píku a tedy i výšku (neboť lze očekávat stejnou šířku píku jako u původního píku)

Vznikne dublet s intenzitou píků 4:4

4

4

Interakcí s druhým ekvivalentním jádrem (stejná J) dojde k rozštěpení každého píku dubletu na dublet zcela shodným způsobem
Vzhledem k tomu, že pozice dvou píků bude zcela totožná dojde k jejich součtu a vznikne triplet s intenzitou píků 2:4:2

2

2

2

2

2

4

2

Interakcí s dalším ekvivalentním jádrem by došlo ke vzniku kvartetu 1:3:3:1, atd.

Multiplicita signálu v NMR spektru

Mějme na počátku signál mající absolutní intenzitu 8

Interakcí s jedním jádrem mající jaderný spin $\frac{1}{2}$ dojde k rozštěpení tohoto signálu na dvě linie (píky) v poměru 4:4 (1:1 relativně), vzdálené o sebe o interakční konstantu J

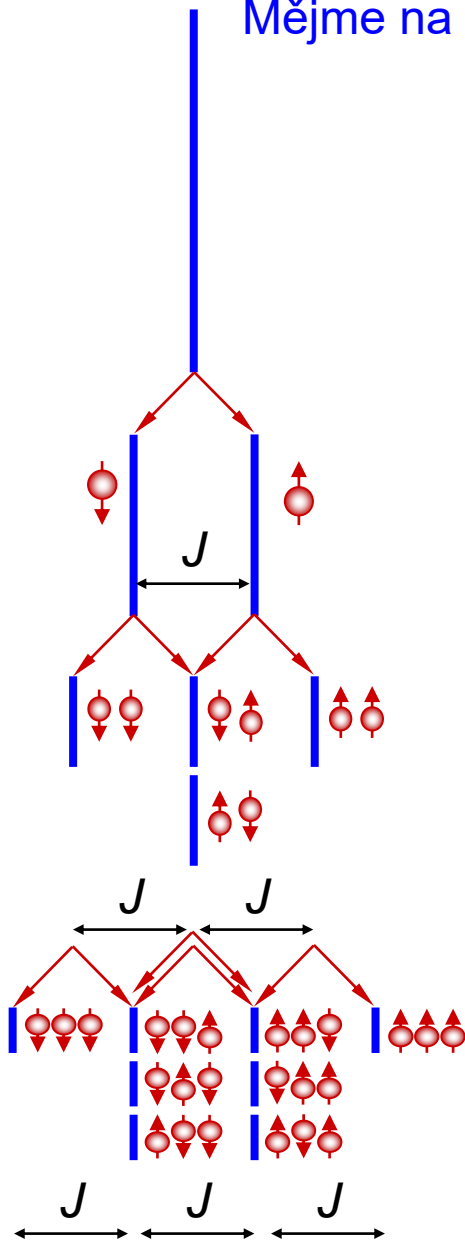
Interakcí s dalším **chemicky ekvivalentním** jádrem dojde ke stejnému rozštěpení (stejná J) každé linie na dvě v poměru 1:1, kde dvě linie jsou na stejné pozici – dojde k jejich součtu a dostáváme triplet 2:4:2 (1:2:1 relativně)

Interakcí s dalším chemicky ekvivalentním jádrem dojde ke stejnému rozštěpení (stejná J) každé linie na dvě o intenzitě 1:1, kde některé linie jsou na stejné pozici – dojde k jejich součtu a dostáváme kvartet 1:3:3:1

Integrální intenzita celého signálu je zachována, ale je rozdělena mezi jednotlivé linie (píky) multipletu

Vyšší multiplicita = nižší detekční limit

V těchto případech lze J odečíst mezi libovolnými sousedními píky multipletu

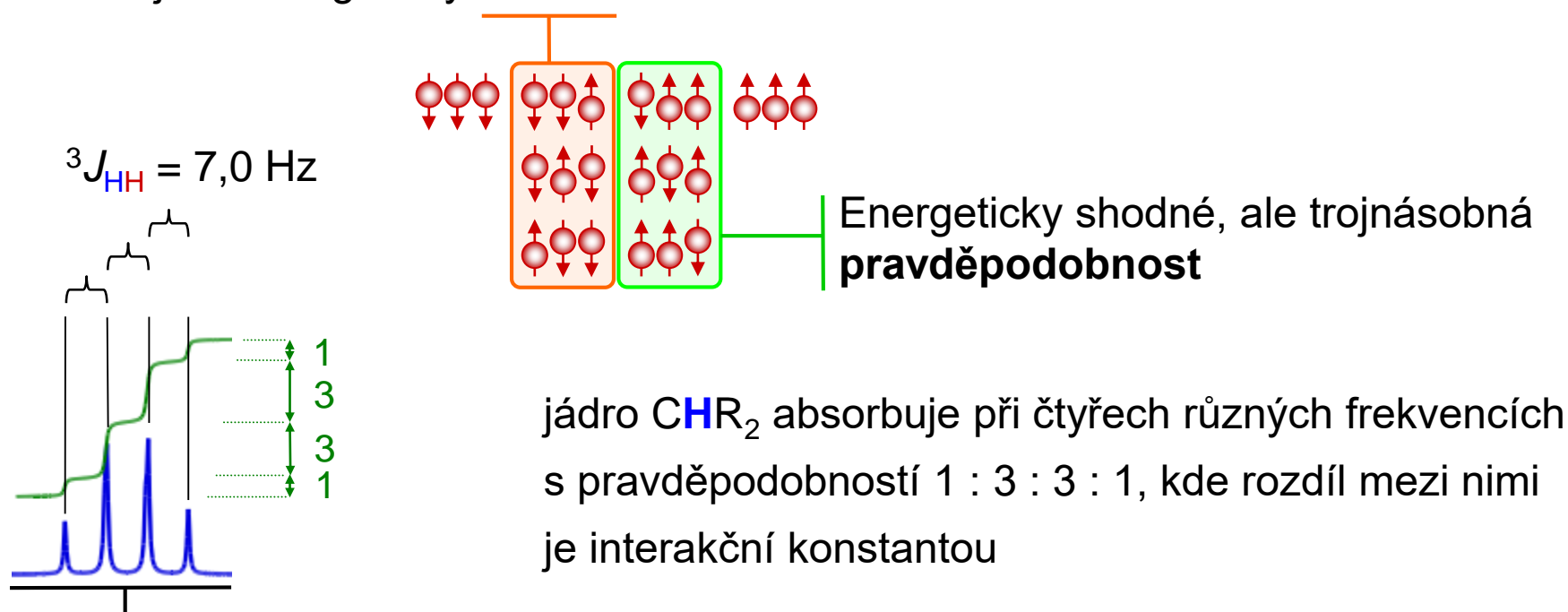


Multiplicita signálu v NMR spektru



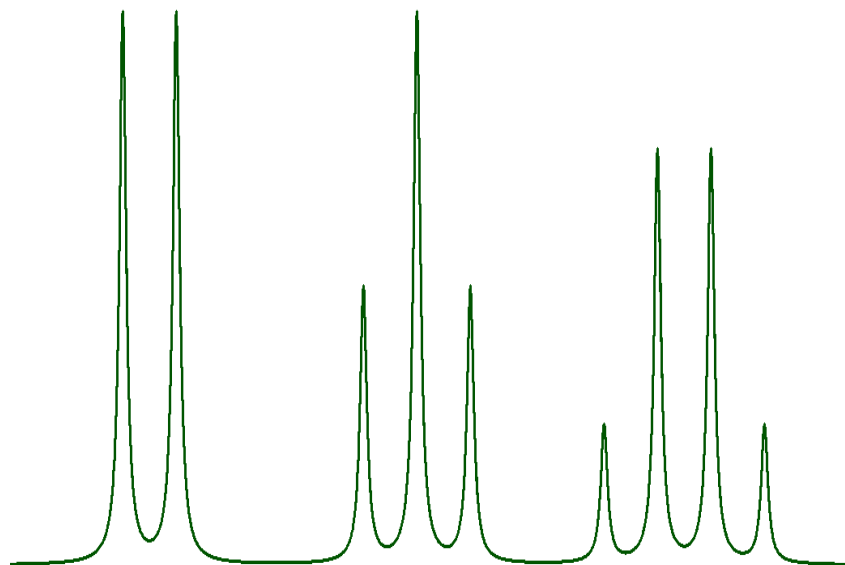
Signál protonu CHR_2 skupiny bude mít intenzitu 1H a důsledkem interakce s protony CH_3 skupiny bude mít čtyři linie ($2 \cdot \frac{1}{2} \cdot 3 + 1$)

Jaderné spiny CH_3 protonů mohou vůči CHR_2 zaujmout osm různých pozic, přičemž některé jsou energeticky shodné



Chemický posun leží v těžišti signálu (u spekter prvního řádu je těžiště shodné se středem)

Multiplicita signálu v NMR spektru



dublet

triplet

kvartet

1:1

1:2:1

1:3:3:1

Pravděpodobnost

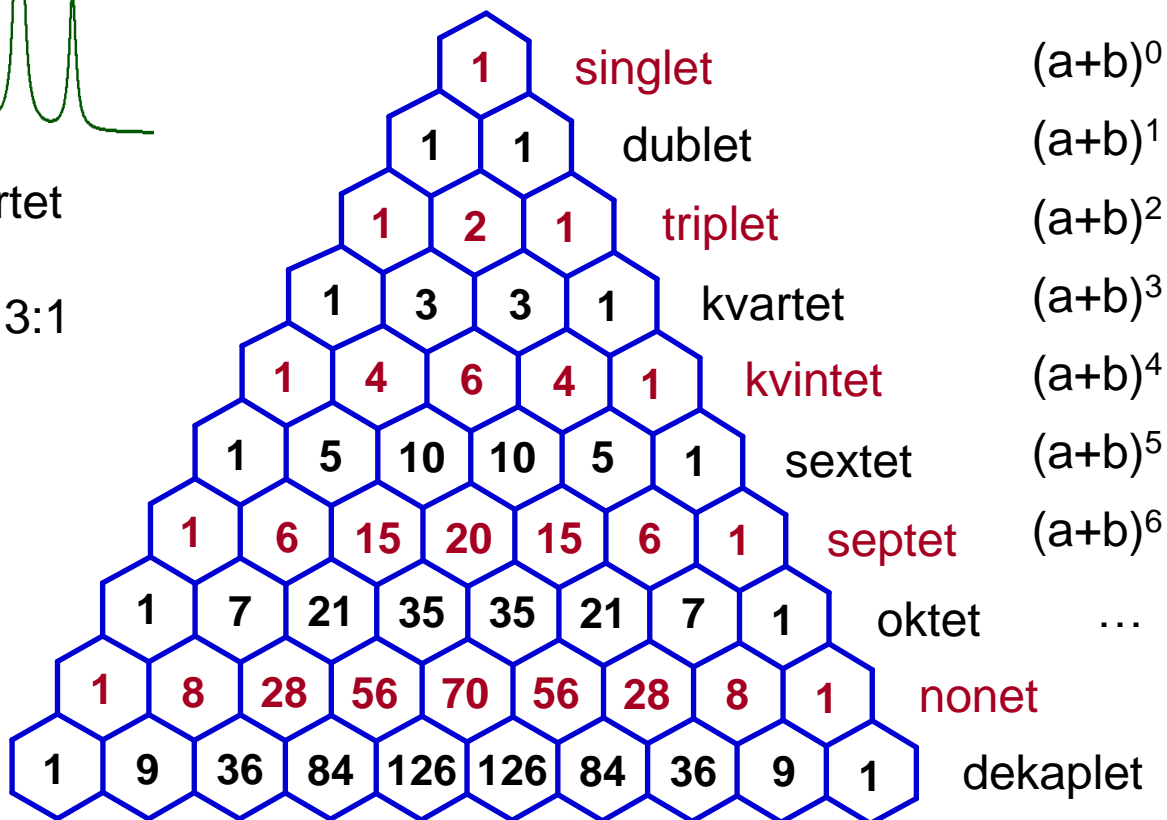
kombinační čísla

$$\binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!}$$

Pouze pro interakce s jádru $I = \frac{1}{2}$

Poměry píků multipletu se rovnají koeficientům binomického rozvoje

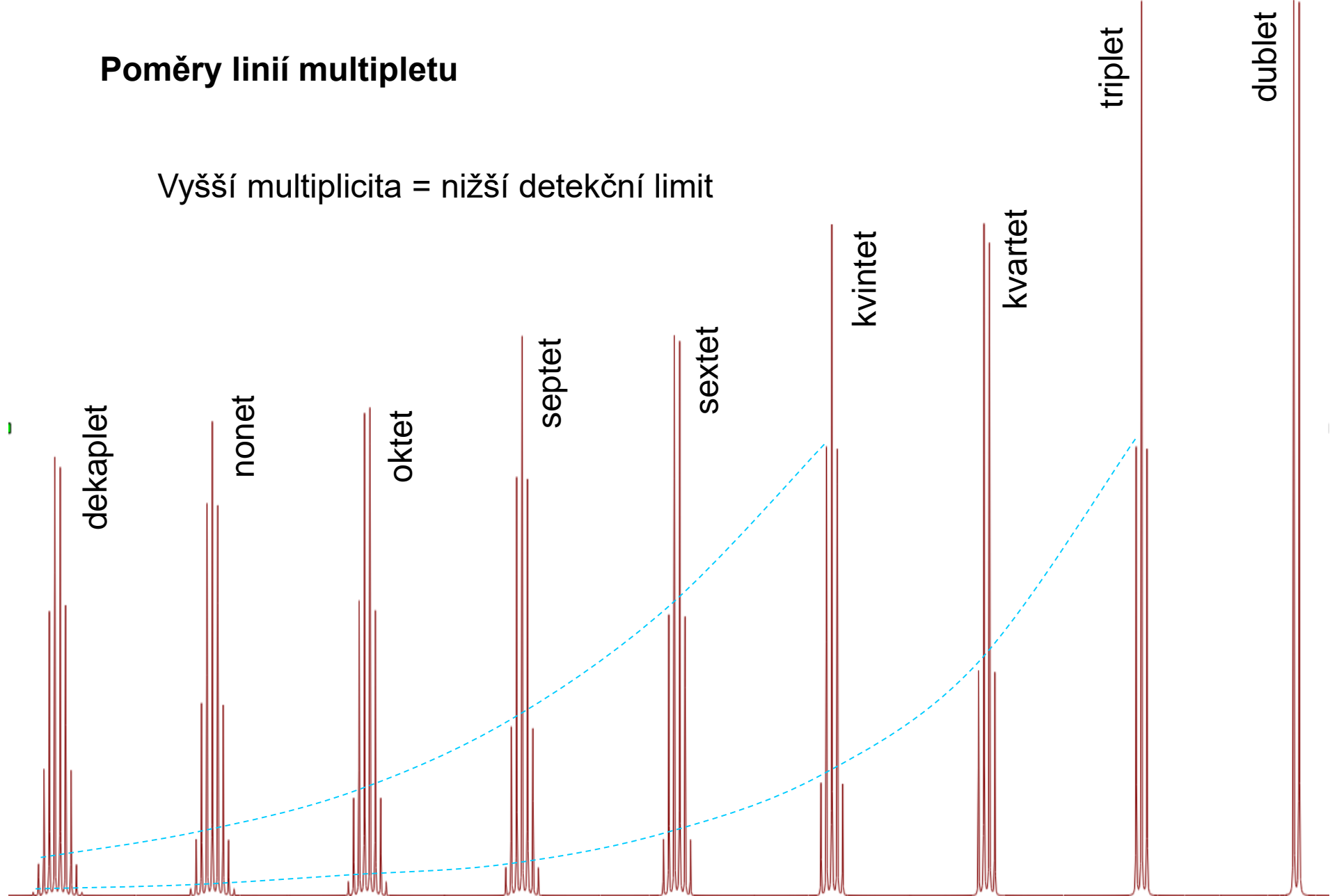
Pascalův trojúhelník



Multiplicita signálu v NMR spektru

Poměry linií multiplu

Vyšší multiplicita = nižší detekční limit



Multiplicita signálu prvního řádu v NMR spektru

Počet píků signálu jádra **A** je ve spektrech prvního řádu roven $(2 \cdot I \cdot n + 1)$, kde
n ... je počet interagujících jader **B** (chemicky ekvivalentních)
I ... je jaderný spin interagujících jader **B**

Pro jádra s jaderným spinem $\frac{1}{2}$ je počet linií roven $(n + 1)$

„n+1“ pravidlo

chemicky ekvivalentních

Počet linií multipletu = Počet interagujících jader + 1

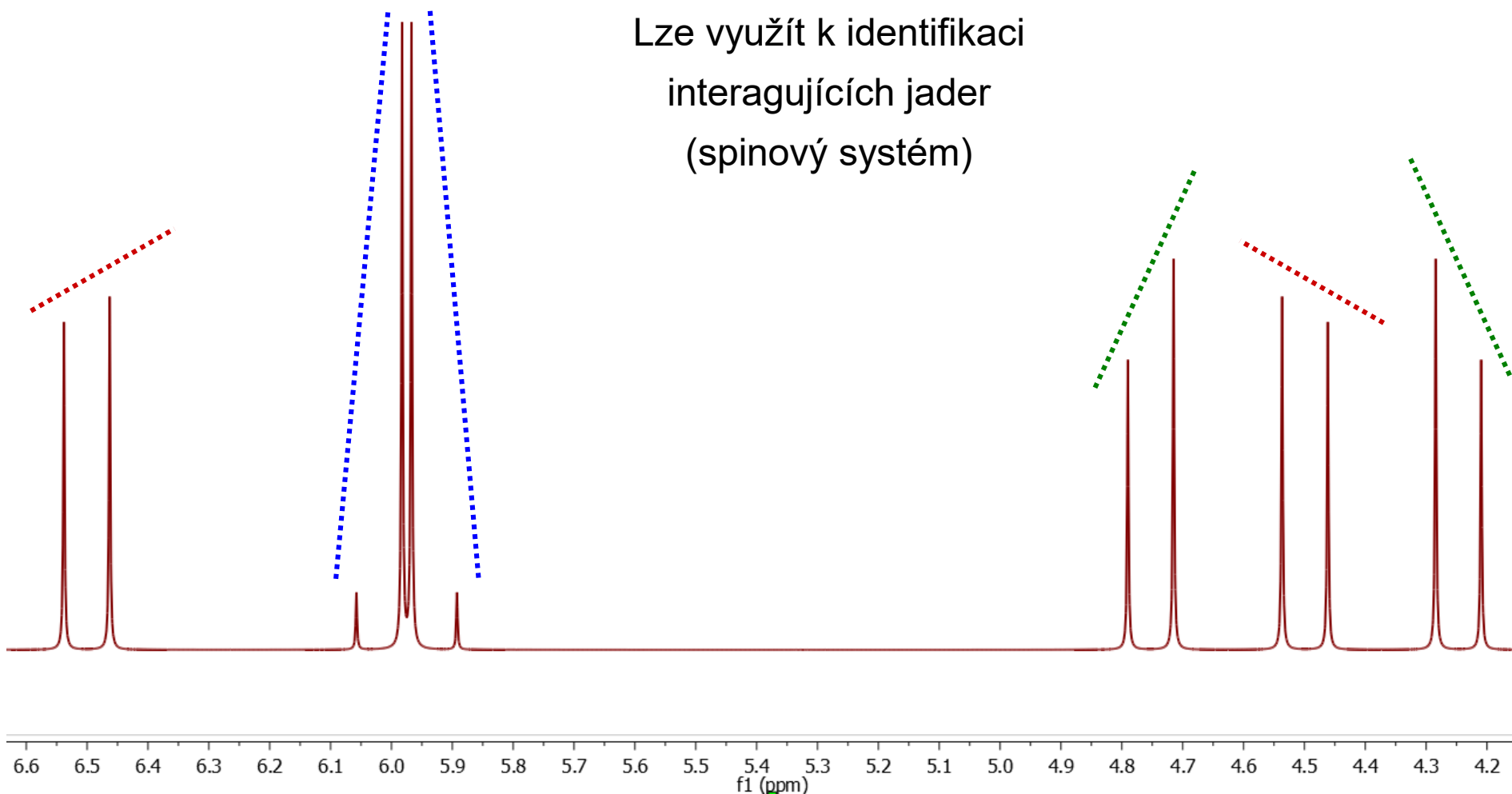
Počet interagujících jader = Počet linií multipletu - 1

chemicky ekvivalentních

Střechový efekt (stříškový efekt, Roof effect) efekt druhého řádu

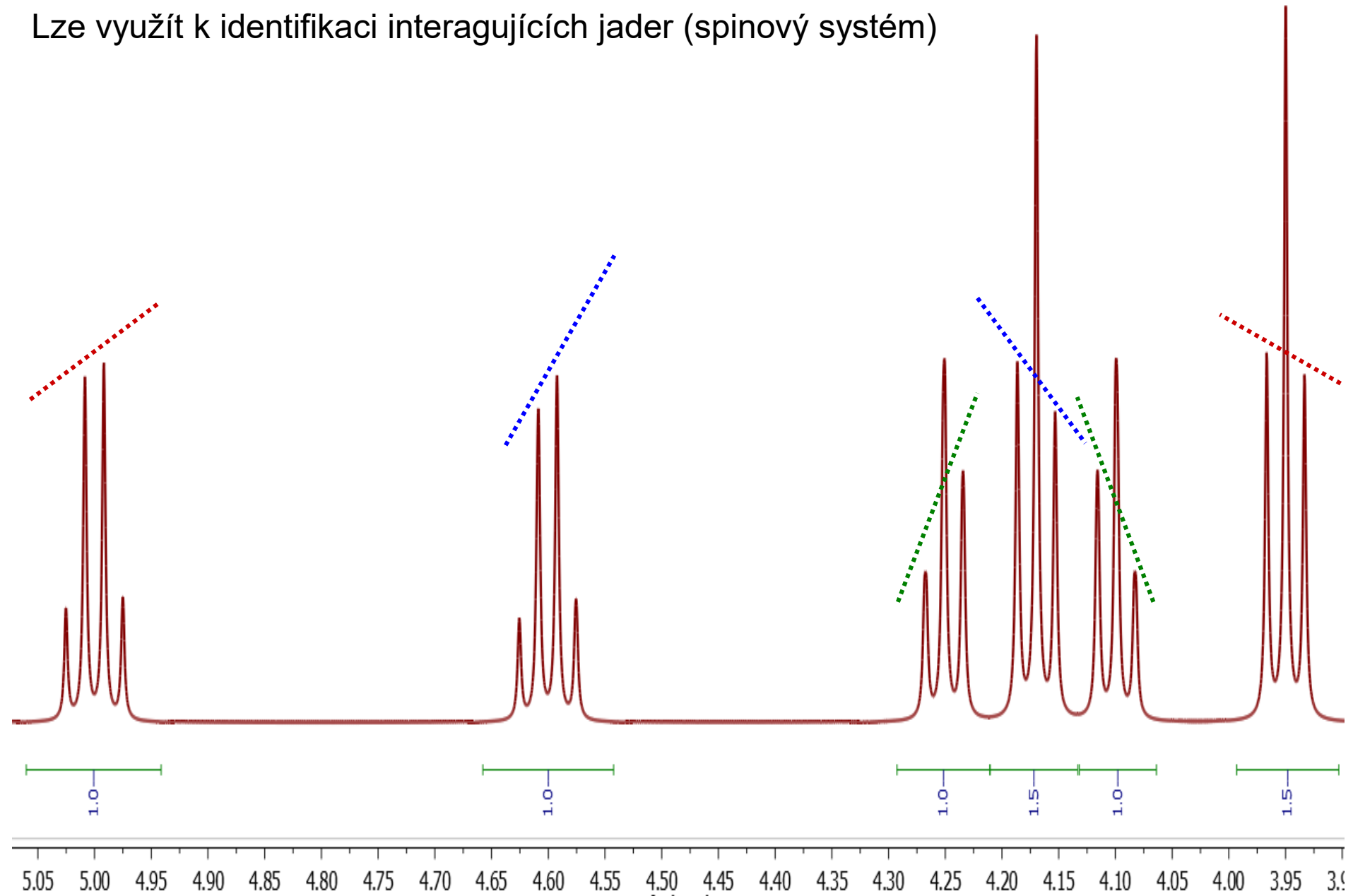
Bližší píky multipletů **interagujících** signálů mají zvýšenou intenzitu na úkor vzdálenějších

Lze využít k identifikaci interagujících jader (spinový systém)



Střechový efekt (stříškový efekt, Roof effect) efekt druhého řádu

Lze využít k identifikaci interagujících jader (spinový systém)



Multiplicita signálu - počet píků signálu

Počet a intenzita píků signálu chemicky a magneticky ekvivalentních jader **A** závisí na poměru frekvenčního rozdílu interagujících jader **M** a absolutní hodnoty jejich vzájemné interakční konstanty:

$$\frac{|\nu_A - \nu_M|}{|J_{AM}|}$$

Blízký **1** nebo menší

Tvrdé štěpení (*strong coupling*)
signály druhého řádu

- signál může být nesymetrický
- značný střechový efekt
- počet píků signálu $\neq 2 \cdot I \cdot n + 1$
- znaménko J má vliv
- analýza počítačovou simulací

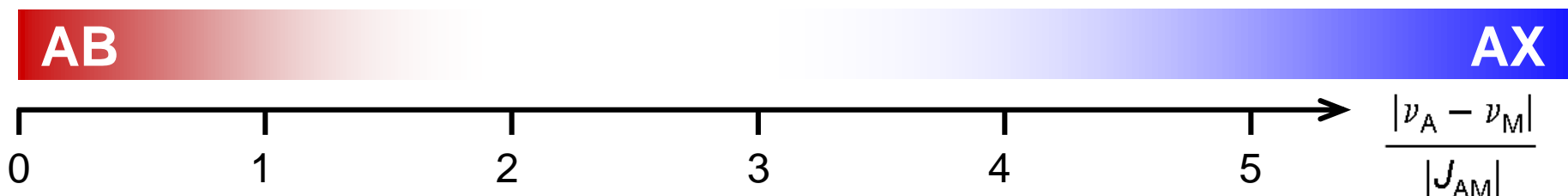
Alespoň **5** a více

Měkké štěpení (*weak coupling*)
signály prvního řádu

- signál je symetrický
- střechový efekt je zanedbatelný
- počet píků signálu = $2 \cdot I \cdot n + 1$
- znaménko J nemá vliv
- analýza nevyžaduje simulaci

signály pseudoprvního řádu

téměř symetrické, zanedbatelný střechový efekt, počet píků signálu = $2 \cdot I \cdot n + 1$



Spinové systémy a jejich značení – Pople notace

Spinovým systémem rozumíme soubor jader, které jsou vzájemně propojené spin-spinovými interakcemi

Podobné spinové systémy mají signály podobné multiplicity

K označení spinových systémů se používá **Pople notace**

Chemicky ekvivalentní jádra se označují velkým písmenem s dolním indexem udávajícím jejich počet. Např.: **A**, **A₂**, **A₃**, **M**, **X₆**, ...

Magneticky neekvivalentní jádra se označují stejným písmenem doplněným jedním či více apostrofy. Např.: **AA'**, **XX'X''**, ...

Chemicky neekvivalentní jádra se označují odlišným velkým písmenem s dolním indexem udávajícím jejich počet. Např.: **AX**, **A₂B₃**, **ABX₂**, **AA'BB'**, ...

Vzdálenost písmen v abecedě se volí dle poměru frekvenčního rozdílu signálů interagujících jader a absolutní hodnoty jejich vzájemné interakční konstanty. Čím je frekvenční rozdíl posunů větší než interakční konstanta, tím vzdálenější písmena v abecedě se pro jejich označení používají. Např. dvouspinové systémy **AB** či **AX**, nebo tříspinové systémy **AMX**, **ABX**, **ABM**, **ABC**, **A₂B**, **A₂X** či **AA'X**, ...

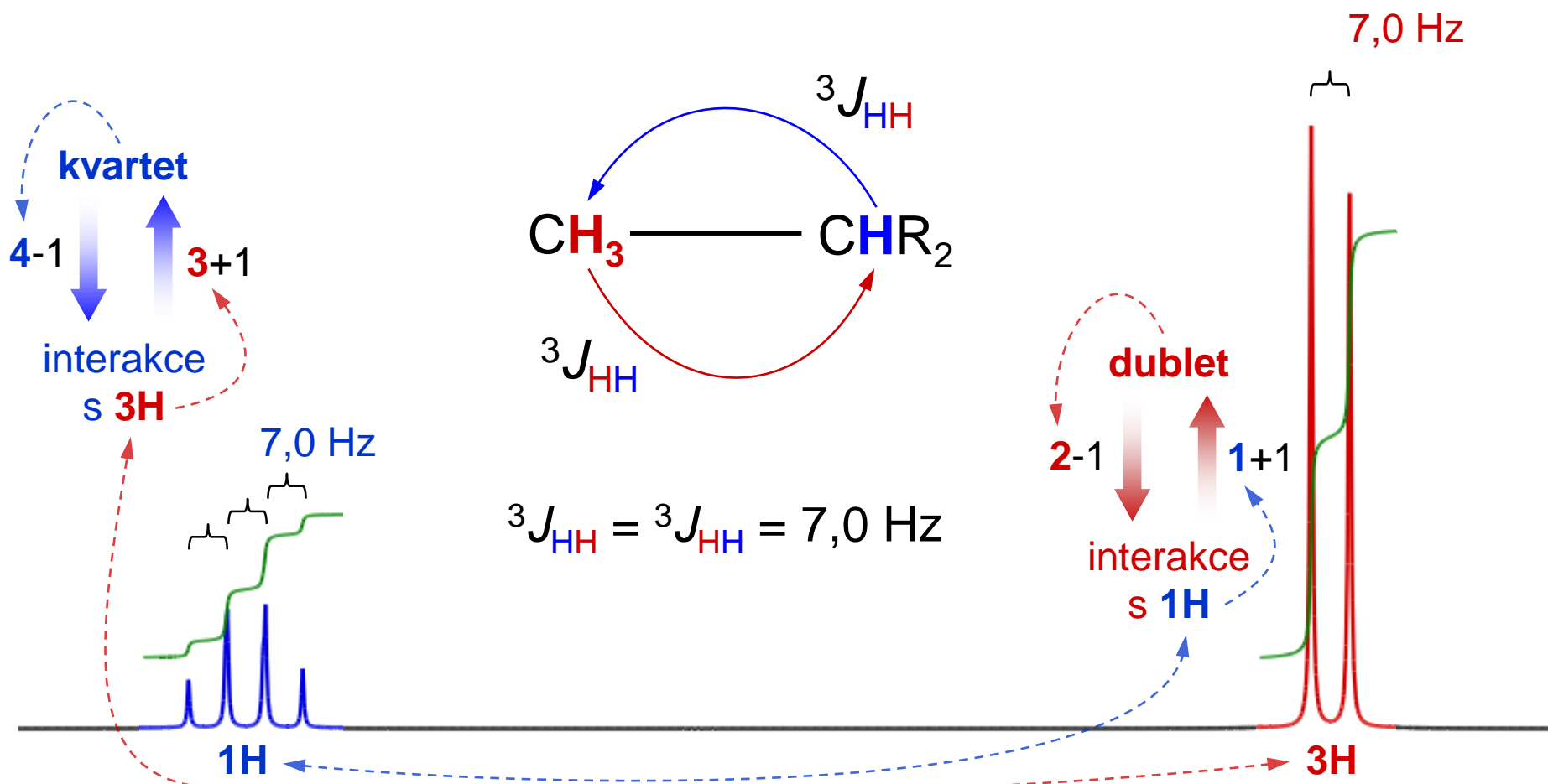
Multiplicita signálu v NMR spektru

$$2I + 1$$

$$\downarrow I = \frac{1}{2}$$

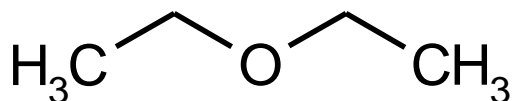
$$n + 1$$

- !!! Interakce jader A a B je vzájemná (angl. *coupling*)
- !!! Interakční konstanta $J_{AB} = J_{BA}$ (angl. *coupling constants*)
- !!! Multiplicita signálů A a B může být rozdílná
- !!! Integrální intenzita signálů A a B může být různá
- !!! Multiplicita a integrální intenzita signálů A a B jsou v přímém vztahu



počet signálů / **integrální poměr signálů** / **multiplicita**

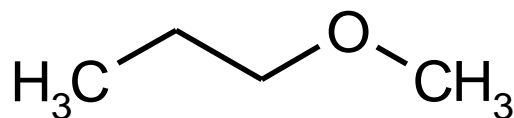
Uvažujeme interakce pouze přes 3 vazby a uvažujeme všechny interakční konstanty budou mít stejnou hodnotu, neuvažujeme interakci s protonem hydroxylové skupiny



2

3 : 2

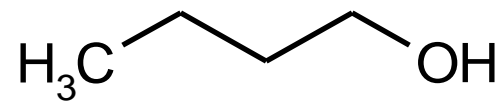
t q



4

3 : 2 : 2 : 3

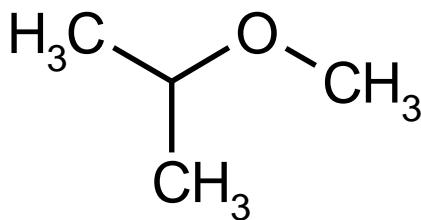
t sex t s



5

3 : 2 : 2 : 2 : 1

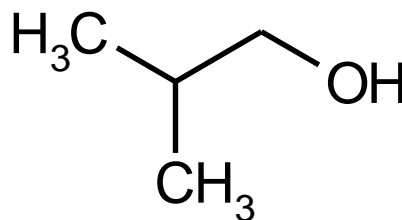
t sex qui t s



3

6 : 1 : 3

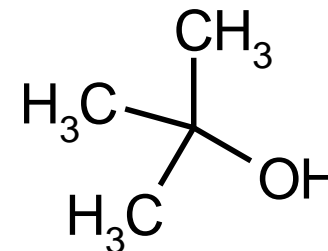
d sep s



4

6 : 1 : 2 : 1

d non d s

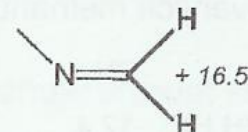
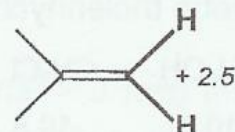
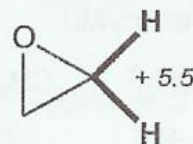
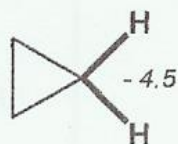
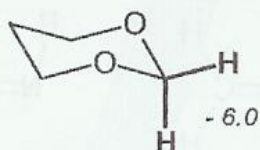
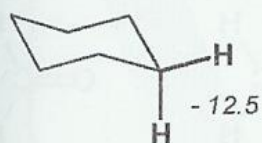
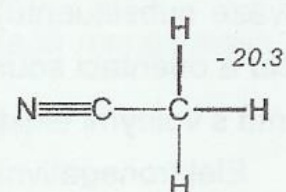
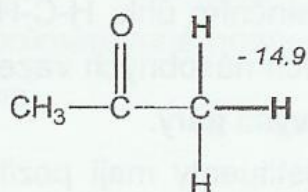
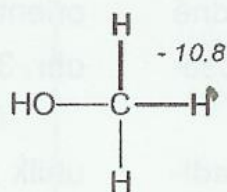
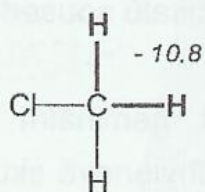
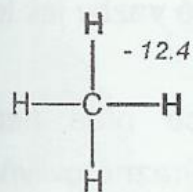


2

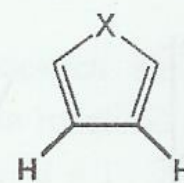
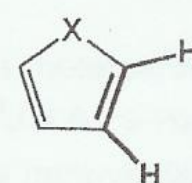
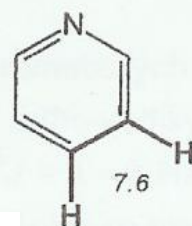
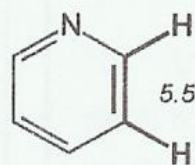
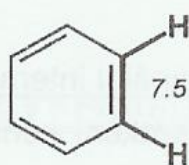
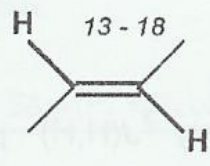
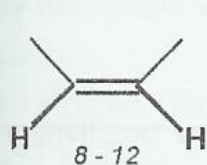
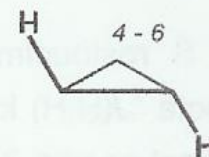
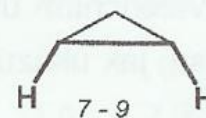
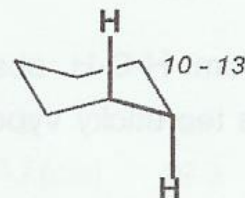
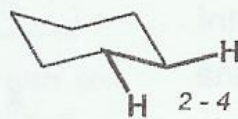
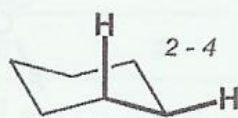
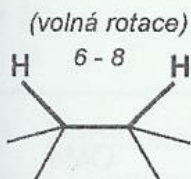
9 : 1

s s

2J(H,H)

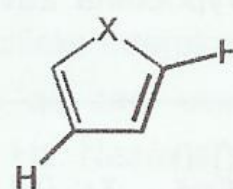
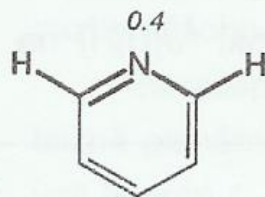
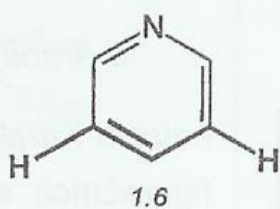
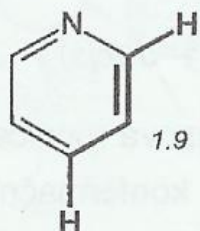
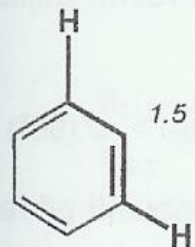
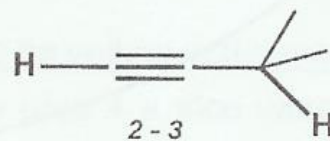
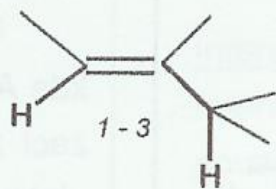
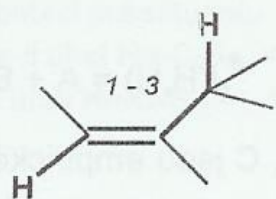
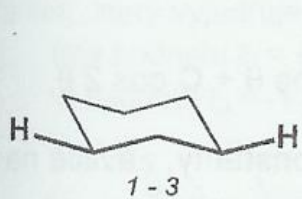


3J(H,H)

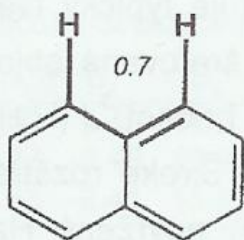
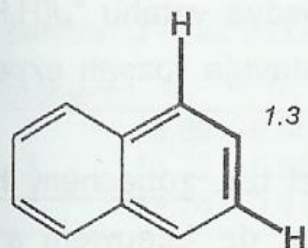


X	
1.8	O
2.6	NH
4.8	S

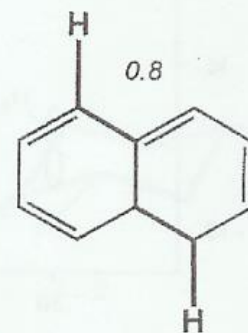
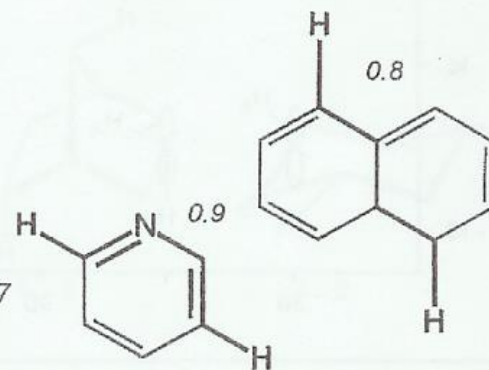
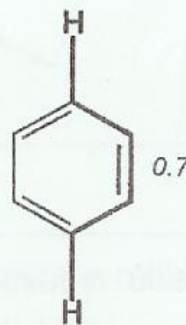
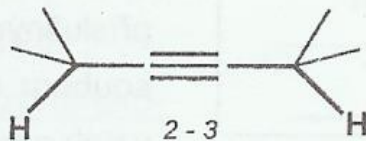
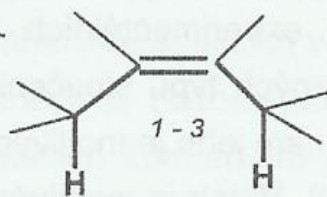
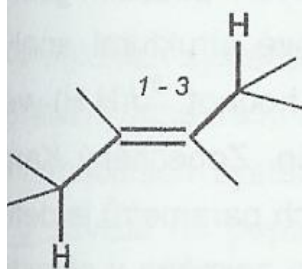
4J(H,H)



X		
0.9	O	1.5
1.3	NH	2.1
1.0	S	2.8



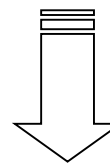
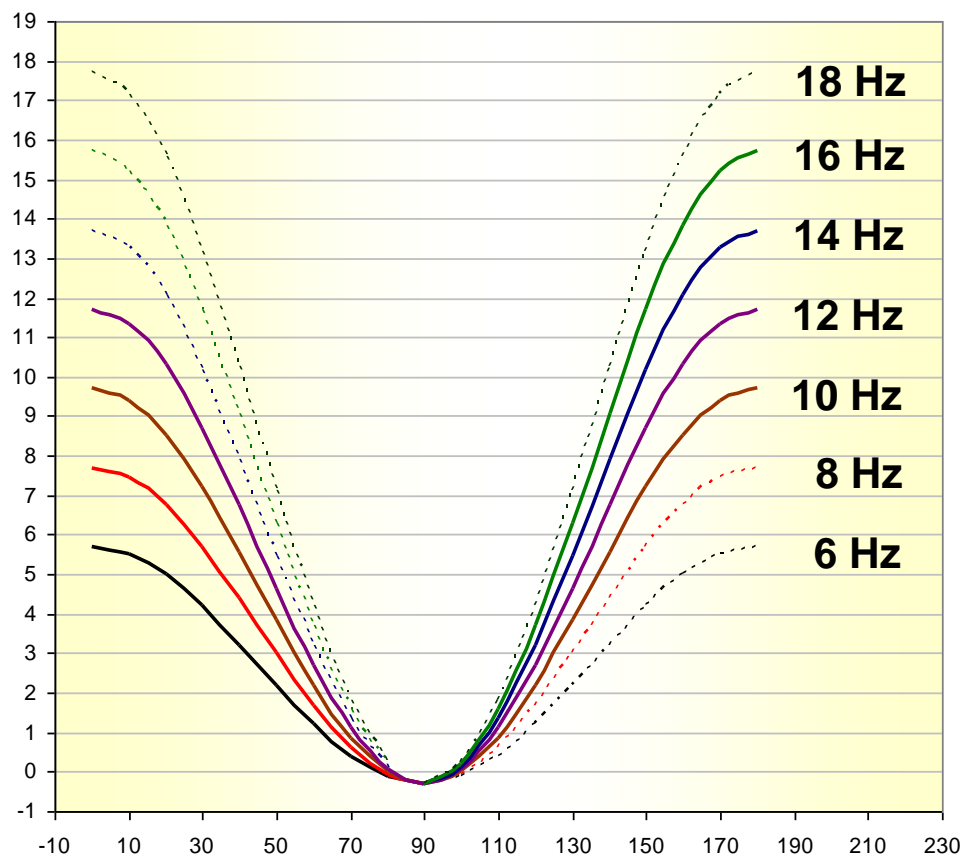
5J(H,H)



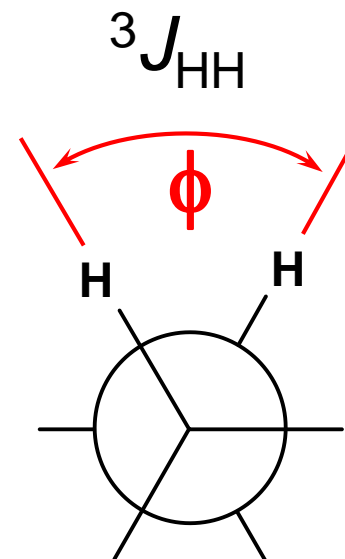
Interakční konstanty ${}^3J_{\text{HH}}$
mají velikost v závislosti na
dihedrálním úhlu ϕ .

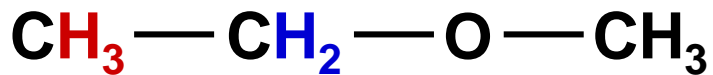
Karplusova rovnice

$${}^3J_{\text{HH}} = A + B \cos \phi + C \cos^2 \phi$$

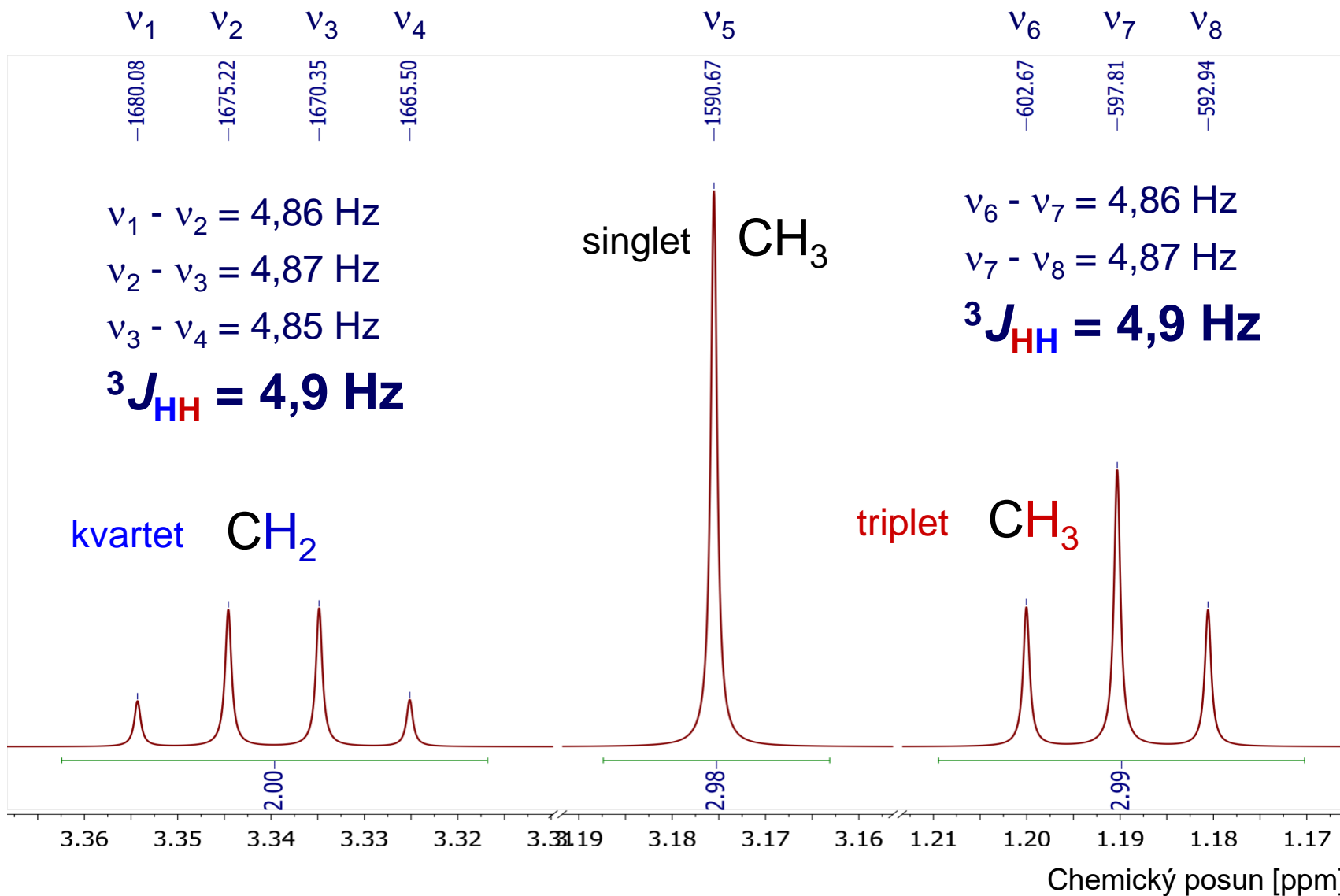


Konformační analýza





Frekvence [Hz] (relativně ke standardu)



Interakce jádra A s dvěma chemicky neekvivalentními jádry B a C

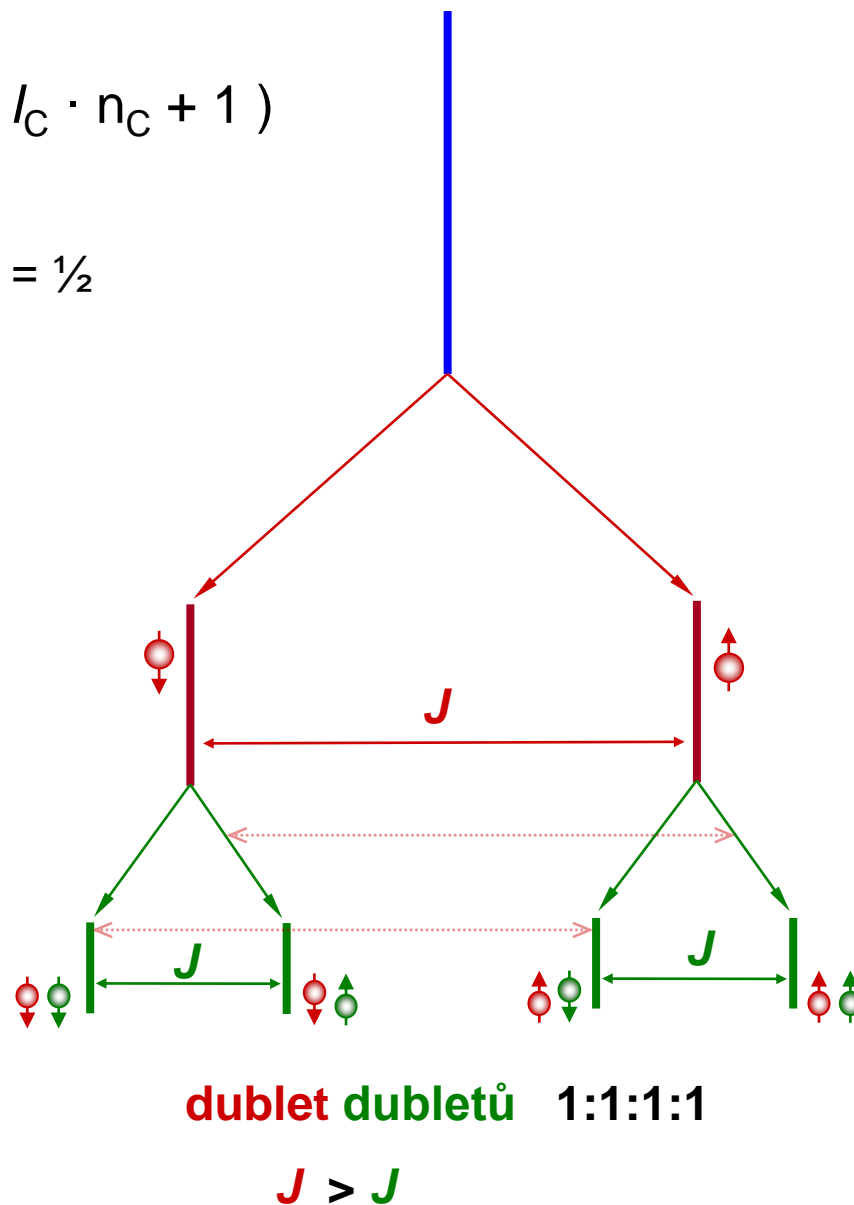
$$\text{Multiplicita A} = (2 \cdot I_B \cdot n_B + 1) \cdot (2 \cdot I_C \cdot n_C + 1)$$

pro jádra s jaderným spinem $I_B = I_C = \frac{1}{2}$

$$\text{Multiplicita A} = (n_B + 1) \cdot (n_C + 1)$$

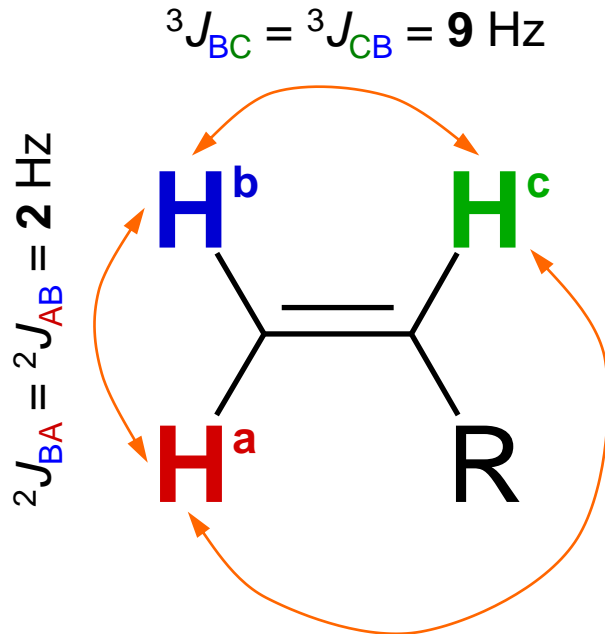
pro případ $n_B = n_C = 1$

$$\text{Multiplicita A} = 4$$



Multiplicita signálu v NMR spektru

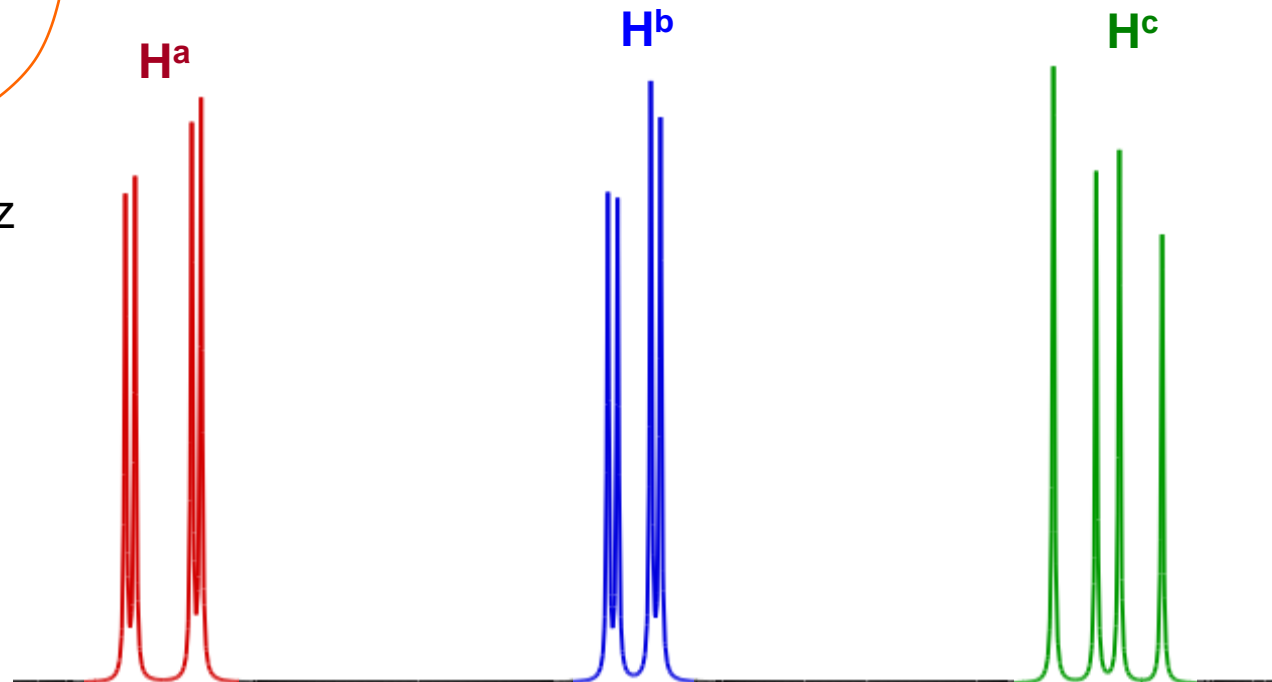
Interakce s různými jádry



Multiplicita $\text{H}^a = (n(\text{H}^b) + 1) \cdot (n(\text{H}^c) + 1) = 4$

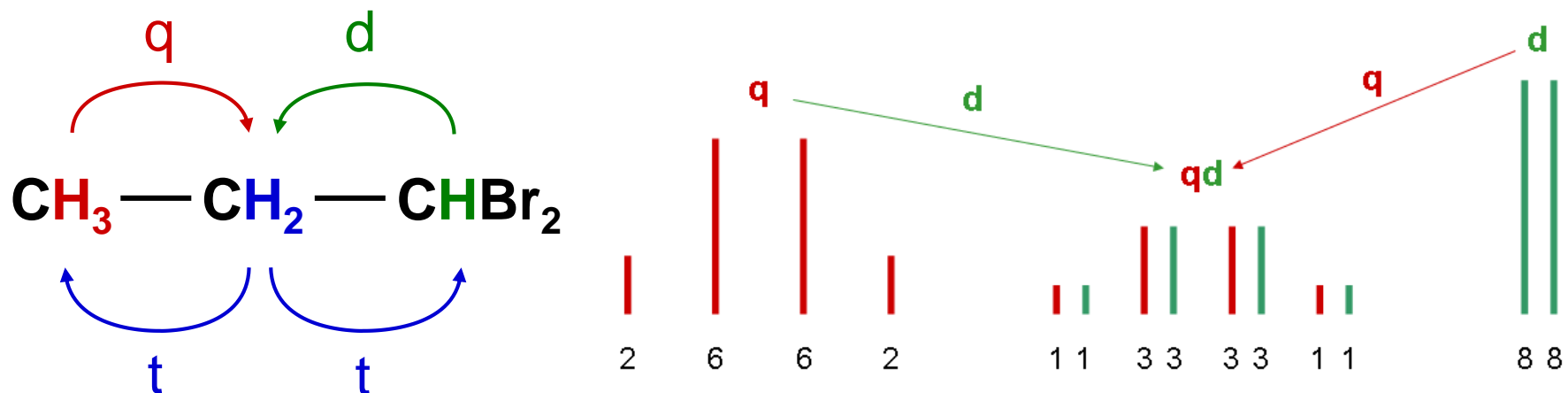
Multiplicita $\text{H}^b = (n(\text{H}^a) + 1) \cdot (n(\text{H}^c) + 1) = 4$

Multiplicita $\text{H}^c = (n(\text{H}^a) + 1) \cdot (n(\text{H}^b) + 1) = 4$



Multiplicita signálu

Interaguje-li jeden druh atomů s více než jedním typem atomů, pak je výsledná multiplicita rovna násobku multiplicit způsobených každým typem atomů zvlášť, tj. $(2 \cdot I_a \cdot n_a + 1) \cdot (2 \cdot I_b \cdot n_b + 1)$. Jinými slovy, každý pík multipletu vzniklého v důsledku interakce s jádrem A má multiplicitu způsobenou interakcí s jádrem B. Počet píků může být snížen v důsledku jejich překryvu.

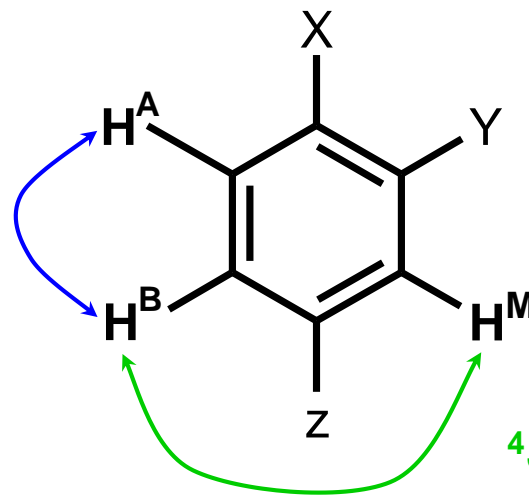


Multiplicita signálu spolu s velikostí interakční konstanty přímo souvisí s počtem a typem jader v molekule v nejbližším okolí, tj. přes jednu až tři vazby (přes více vazeb jsou interakce malé).

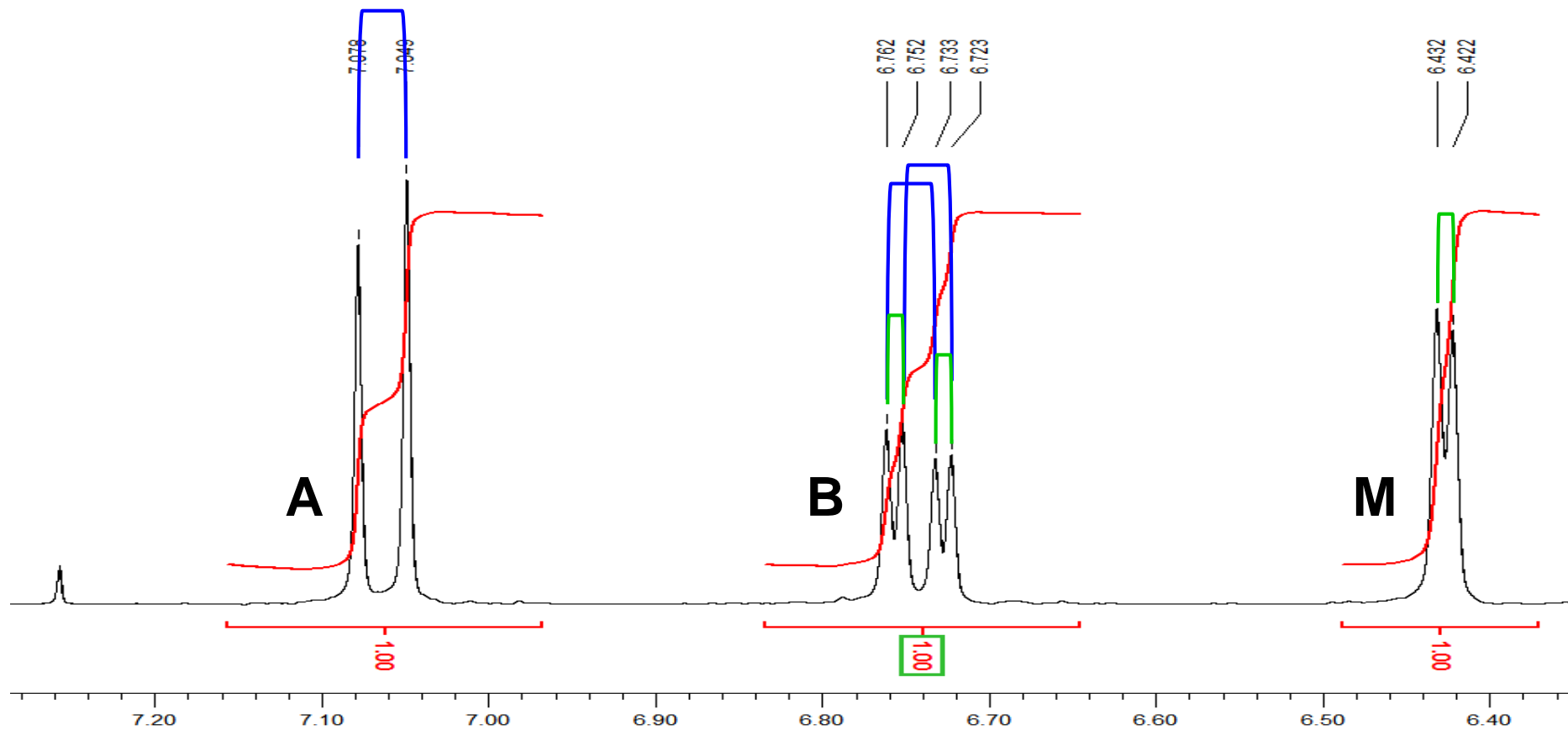
Multiplicita signálu

Tříspinový systém ABM

$${}^3J_{AB} = {}^3J_{BA} = 8,7 \text{ Hz}$$

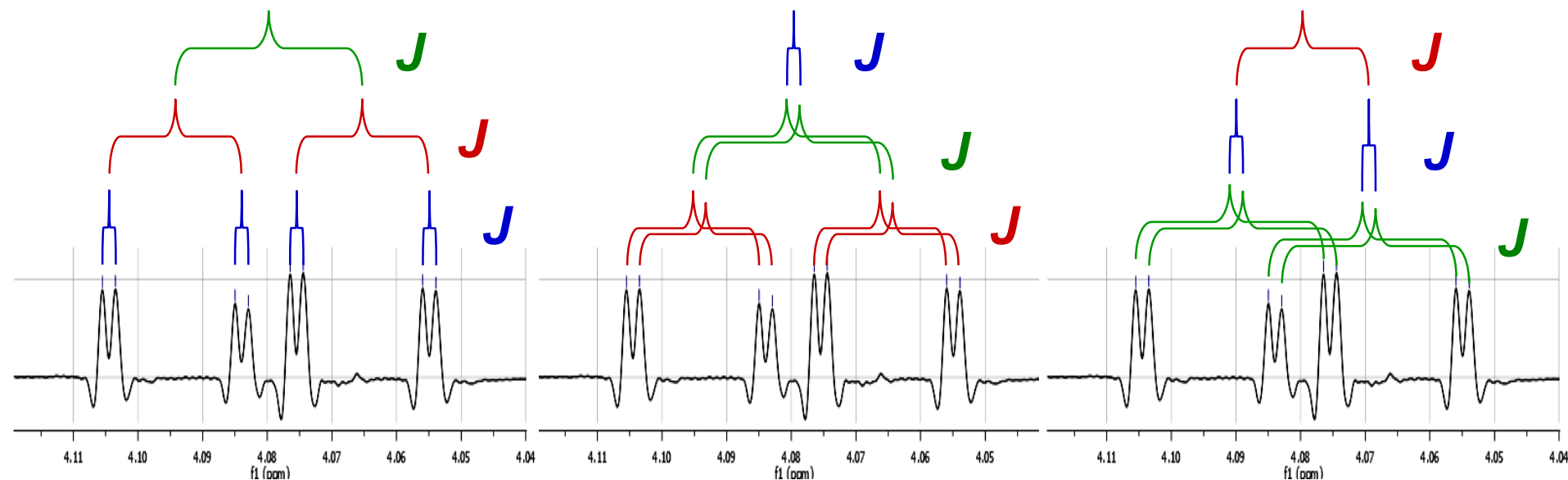


$${}^4J_{BM} = {}^4J_{MB} = 3,0 \text{ Hz}$$



Analýza multipletu postupným snižováním multiplicity

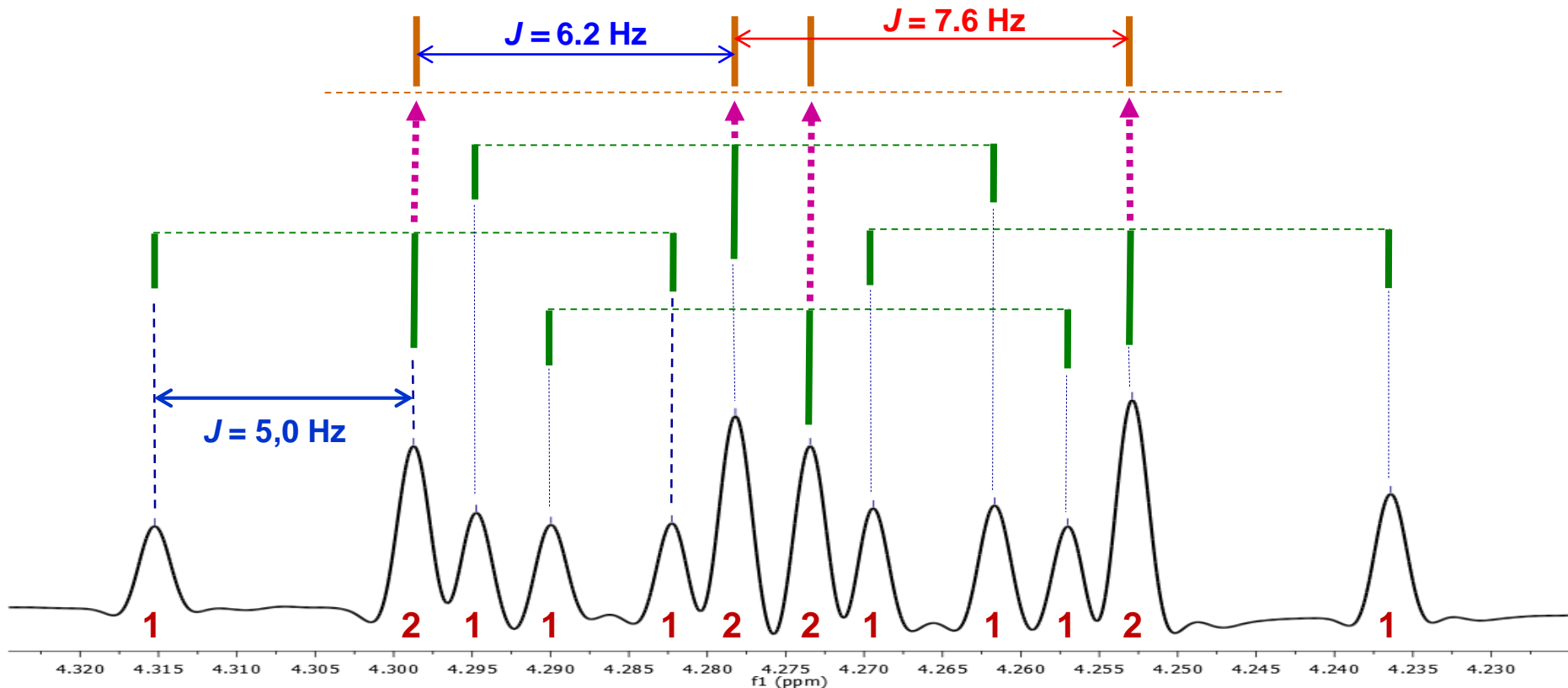
1. Rozdíl mezi prvním a druhým píkem je vždy nejmenší interakční konstantou multipletu
2. Poměr jejich intenzit odpovídá sub-multiplicitě způsobené touto interakcí
3. Po snížení multiplicity se postup opakuje až do snížení multiplicity na singlet



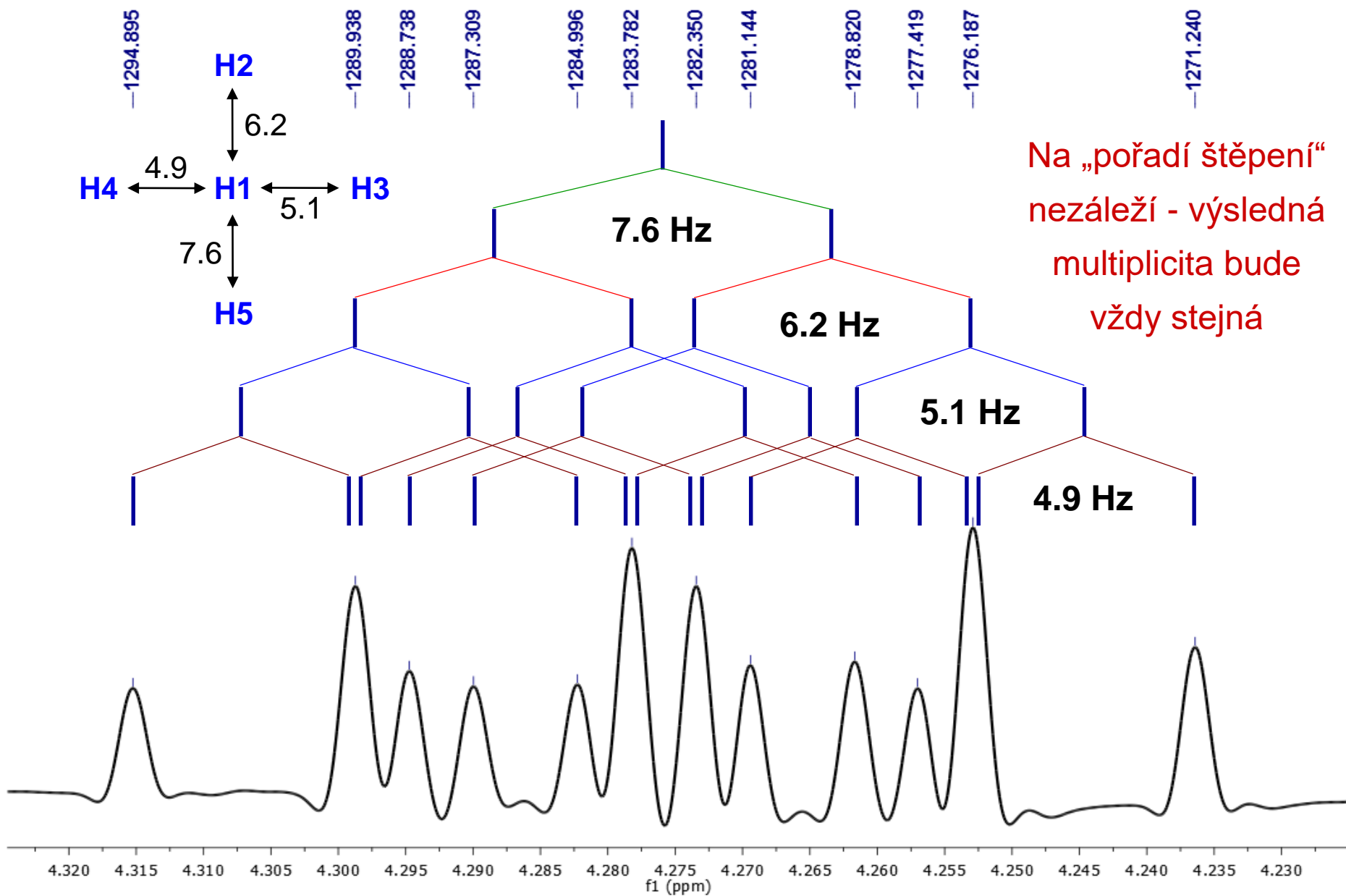
Analýza multipletu prvního řádu

Dublet dubletu tripletů

1. Signál prvního řádu je symetrický
2. Při štěpení jádry $I = \frac{1}{2}$ je počet komponent mocninou dvou $1+2+1+1+1+2+2+1+1+1+2+1 = 16 = 2^4$
3. Rozdíl mezi prvním a druhým píkem je nejmenší **interakční konstantou** multipletu $J = 5,0 \text{ Hz}$
4. Integrální poměr prvního a druhého píku udává **sub-multiplicitu** $1 : 2 = \text{triplet } 1 : 2 :$
5. Každý z píků multipletu musí být součástí stejného **sub-multipletu** nalezen **čtyřikrát**
6. Pomyslným **dekaplinkem sub-multipletu** zjednodušíme multiplet signálu **čtyři píky 1:1:1:1**
7. Postup opakujeme na **zjednodušeném multipletu signálu** až k známému multipletu **dublet dubletů**



Konstrukce multipletu

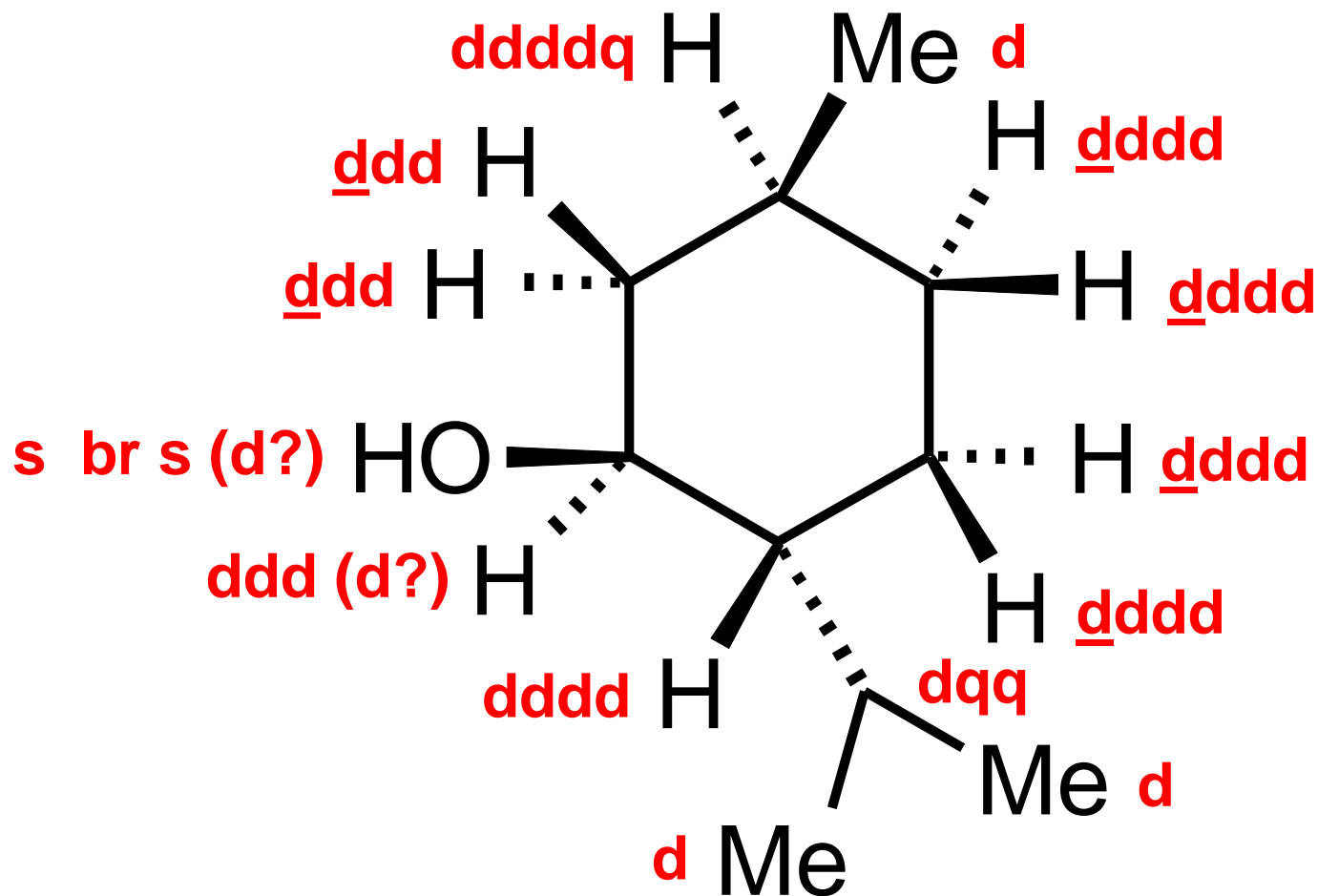


^1H NMR

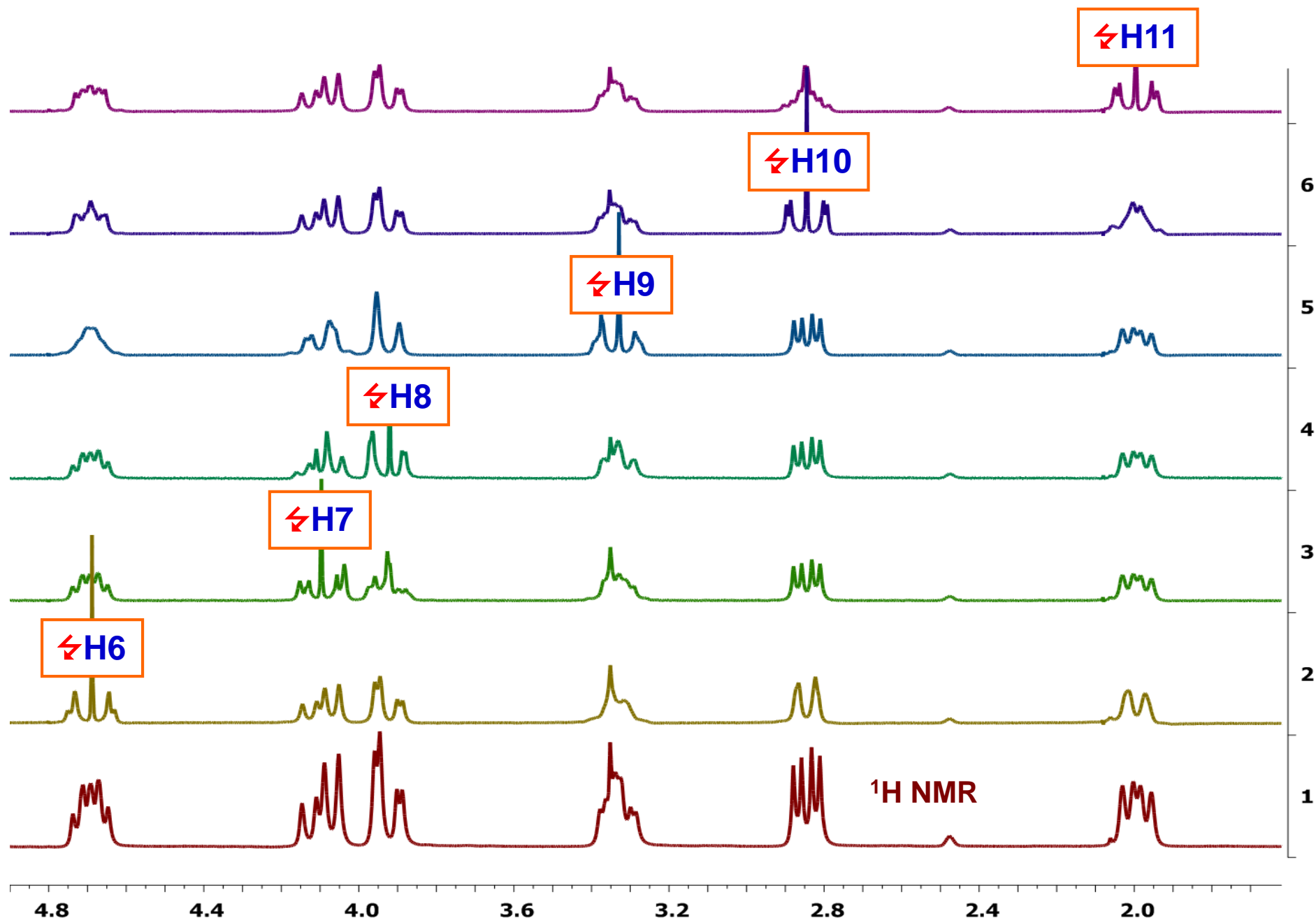
1. Počet signálů ?

2. Multiplicita signálů ?

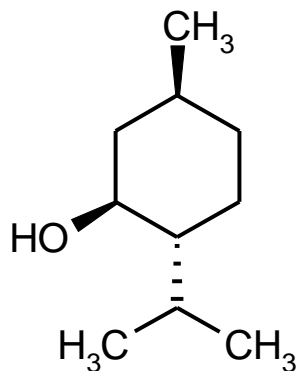
- Uvažujte pouze $^3J_{\text{HH}}$ interakce
- Uvažujme, že všechny J_{HH} chemicky neekvivalentních jader se liší
- Uvažujme interakce s OH skupinou



^1H Selektivní homonukleární dekapling



Počet signálů v ^{13}C NMR spektru



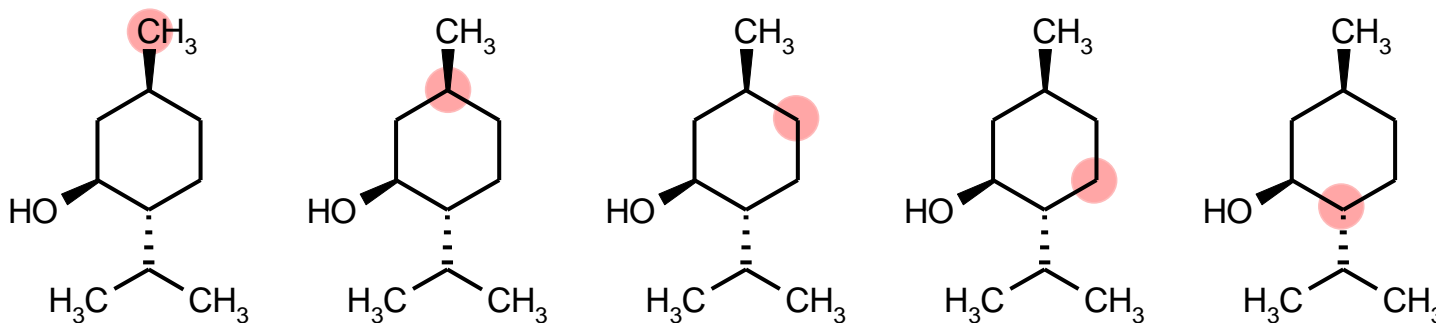
Kolik signálů bude mít látka v ^{13}C NMR spektru? **Deset**

Stejné principy jako u ^1H NMR; methyly *i*-Pr skupiny jsou diastereotopní

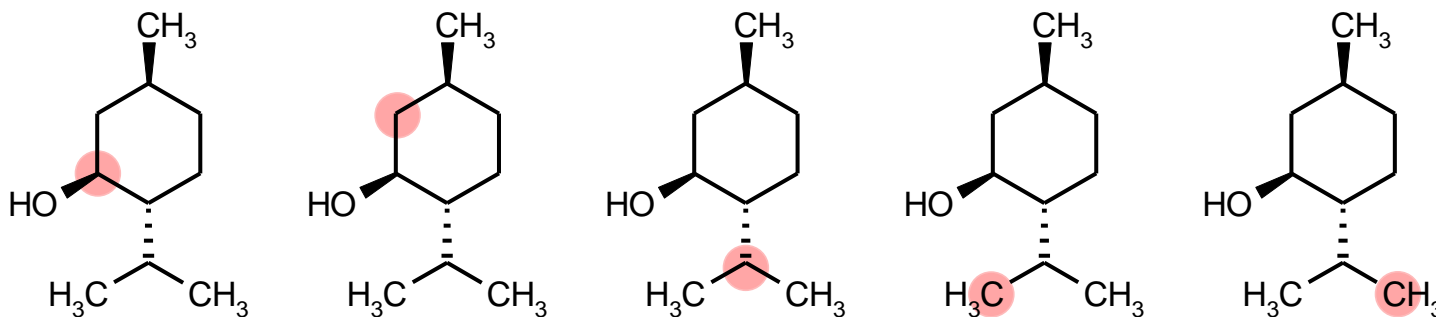
Budou všechny signály od jedné „látky“? **Ne** Přirozený výskyt

^{13}C je 1,07 %

Isotopomery $^{13}\text{C}_1$ isotopologu metholu



Isotopology
se liší
isotopovým
složením



Isotopomery
se liší pozicí
isotopů

NMR spektra jsou součtem spekter všech isotopomerů všech isotopologů

Většina isotopologů není pozorována pro nízké přirozené zastoupení ve vzorku

Jádro	Spin	Přirozený výskyt	γ [$10^7 \text{ radT}^{-1} \text{ s}^{-1}$]	NMR frekvence (11,74 T)	Citlivost
^1H	1/2	99,99	26,75	500,0 MHz	100
^2H	1	0,01	4,11	76,8 MHz	0,0001
^3H	1/2	-	28,54	533,3	0
^{12}C	0	98,93	-	-	-
^{13}C	1/2	1,07	6,73	125,7 MHz	0,02
^{14}N	1	99,63	1,93	36,1 MHz	0,1
^{15}N	1/2	0,37	-2,71	50,7 MHz	0,0004
^{16}O	0	99,96	-	-	-
^{19}F	1/2	100	25,18	470,4 MHz	83
^{31}P	1/2	100	10,84	202,4 MHz	6,6

Homonukleární interakce ^1H - ^1H (100 %), ^{19}F - ^{19}F (100 %), ^{31}P - ^{31}P (100 %)

^{13}C - ^{13}C (0,01 %), ^{15}N - ^{15}N (0,001 %)

obtížně
měřitelné

„neměřitelné“

Neplatí pro izotopově obohacené látky

Jádro	Spin	Přirozený výskyt	γ [$10^7 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$]	NMR frekvence (11,74 T)	Citlivost
^1H	1/2	99,99	26,75	500,0 MHz	100
^2H	1	0,01	4,11	76,8 MHz	0,0001
^3H	1/2	-	28,54	533,3	0
^{12}C	0	98,93	-	-	-
^{13}C	1/2	1,07	6,73	125,7 MHz	0,02
^{14}N	1	99,63	1,93	36,1 MHz	0,1
^{15}N	1/2	0,37	-2,71	50,7 MHz	0,0004
^{16}O	0	99,96	-	-	-
^{19}F	1/2	100	25,18	470,4 MHz	83
^{31}P	1/2	100	10,84	202,4 MHz	6,6

Heteronukleární interakce ^1H - ^{19}F (100 %), ^1H - ^{31}P (100 %), ^{31}P - ^{19}F (100 %)

v ^1H , ^{19}F a ^{31}P spektru je interakce s ^{13}C pouze u 1,07 % jader (s ^{15}N pouze 0,37 %)

→ signály $^{13}\text{C}_1$ či $^{15}\text{N}_1$ isotopologů často překryty šumem nebo jinými signály

ale v ^{13}C či ^{15}N spektru je interakce s ^1H , ^{19}F či ^{31}P vždy pozorována!

Interakce ^{13}C - ^{15}N je „neměřitelná“ (0,004 %)

Neplatí pro izotopově obohacené látky

^{13}C NMR ... Multiplicita ^{13}C signálů

Jaké nepřímé spin-spinové interakce lze očekávat?

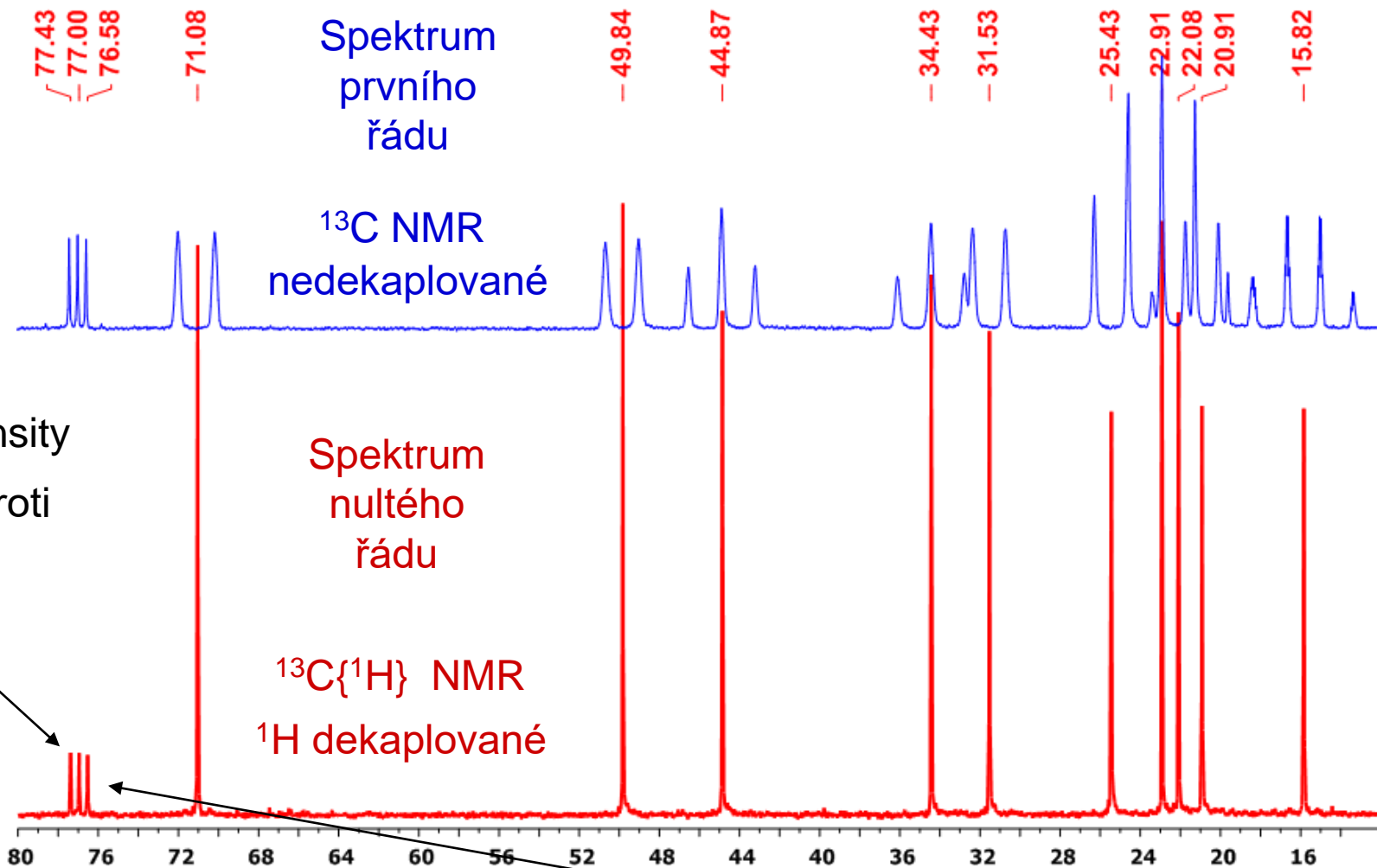
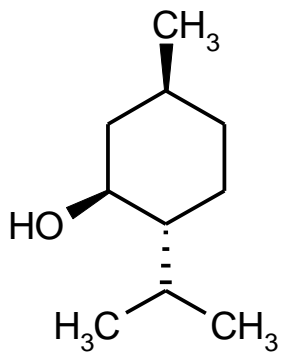
Pouze s jádry mající významné přirozené zastoupení izotopů mající jaderný magnetický spin $I = 1/2$.

Pozor na izotopově obohacené látky.

Jádro	Spin	Přirozený výskyt	Způsobí multiplicitu signálů ^{13}C jader ?
^1H	1/2	99,99	ANO
^2H	1	0,01	NE (DEUTEROVANÁ ROZPOUŠTĚDLA ANO)
^3H	1/2	-	NE (NEPATRNÝ VÝSKYT)
^{12}C	0	98,93	NE (NULOVÝ JADERNÝ MAGNETICKÝ SPIN)
^{13}C	1/2	1,07	NE (NÍZKÝ VÝSKYT)
^{14}N	1	99,63	NE (KVADRUPÓLOVÝ MOMENT)
^{15}N	1/2	0,37	NE (NÍZKÝ VÝSKYT)
^{16}O	0	99,96	NE (NULOVÝ JADERNÝ MAGNETICKÝ SPIN)
^{19}F	1/2	100	ANO
^{31}P	1/2	100	ANO

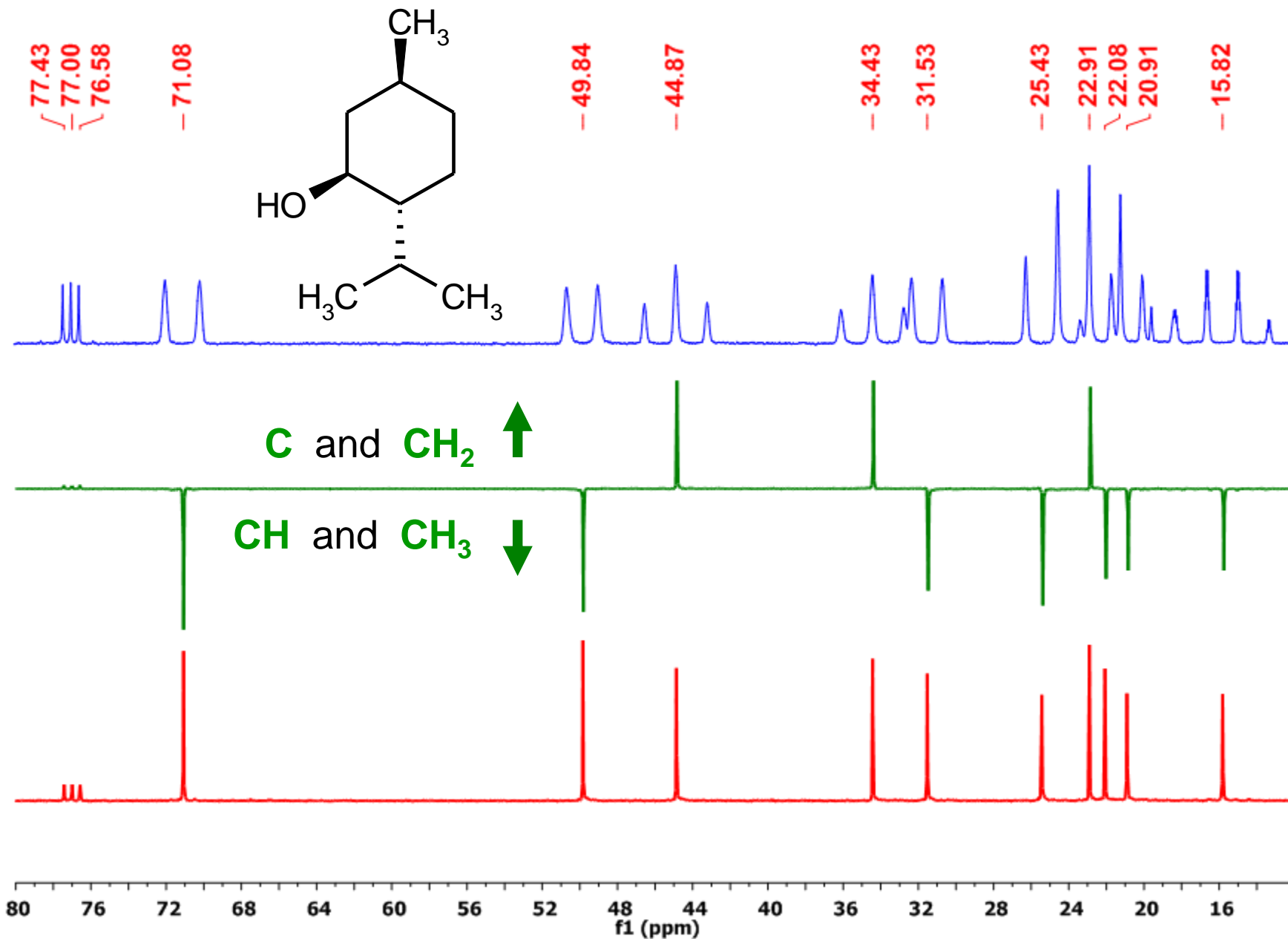
Standardně se ^{13}C NMR spektra měří s šumovým dekaplinkem ^1H

➔ Interakce s ^1H jsou potlačeny

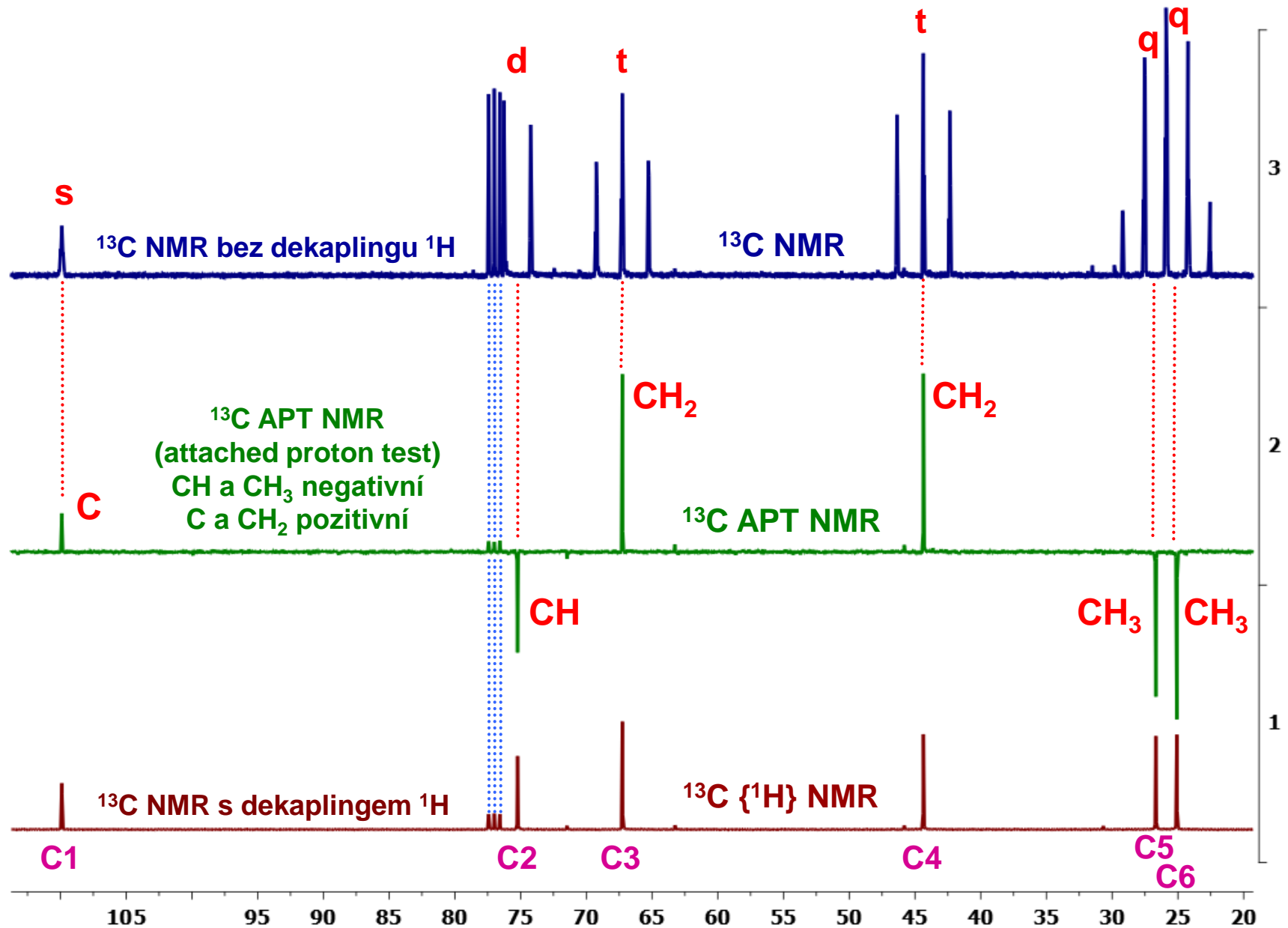


Při dekaplingu ^1H zůstanou ostatní interakce zachovány, např. s ^2H , ^{19}F či ^{31}P)

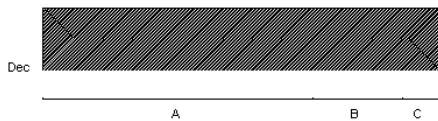
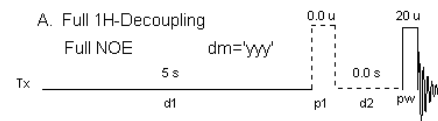
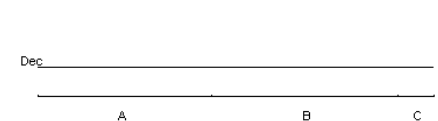
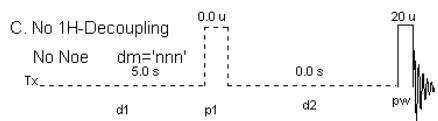
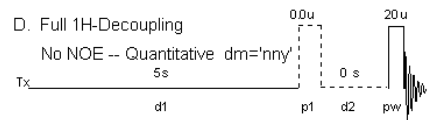
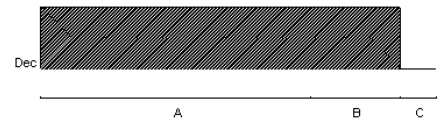
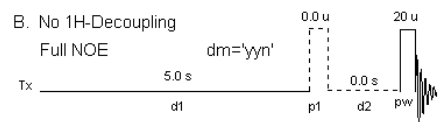
^{13}C NMR dekaplink **OFF** nebo **ON**, a **APT**



NMR ... ^{13}C versus ^{13}C APT versus $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra



^{13}C NMR ... Dekapling ^1H



D. Full Noe, No Decoupling

$\text{dm}='yyn'$

C. No Noe, Full Decoupling

$\text{dm}='nny'$

B. No Noe, No Decoupling

$\text{dm}='nnn'$

A. Full Noe, Full Decoupling

$\text{dm}='yyy'$



Multiplicita signálu prvního řádu - Interakce s jádrem se spinem $I = 1$

Spin-spinová interakce jádra ^{13}C ($I = 1/2$) s jádrem ^2H ($I = 1$)

^2H či ^{14}N



Dvospinový AX systém

$$^1J_{^{13}\text{C},^2\text{H}} = 32,0 \text{ Hz}$$

Multiplicita

(počet píků signálu)

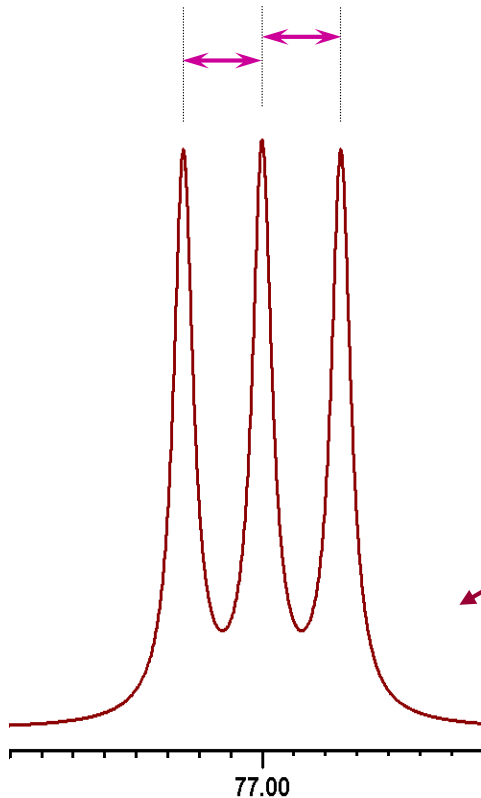
$$2 \cdot I \cdot n + 1 = 2 \cdot 1 \cdot 1 + 1 = 3$$

Populace stavů

$m = +1, 0$ a -1

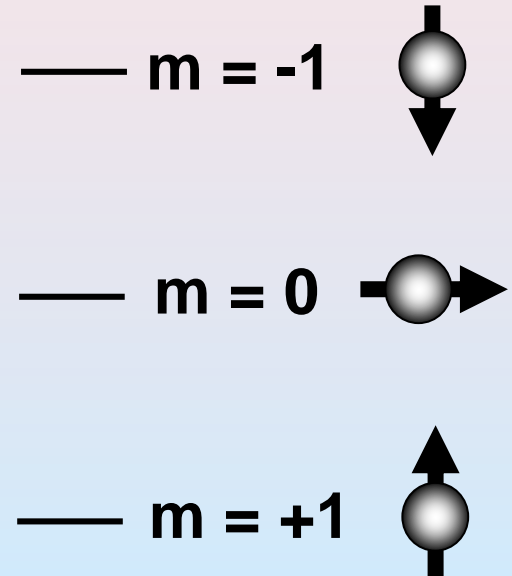
jsou téměř 1:1:1

Triplet 1:1:1



Signál v ^{13}C NMR spektru

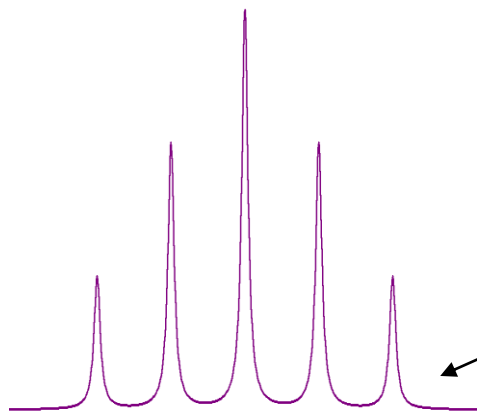
Preferovaná orientace spinů s $I = 1$ v magnetickém poli B_0



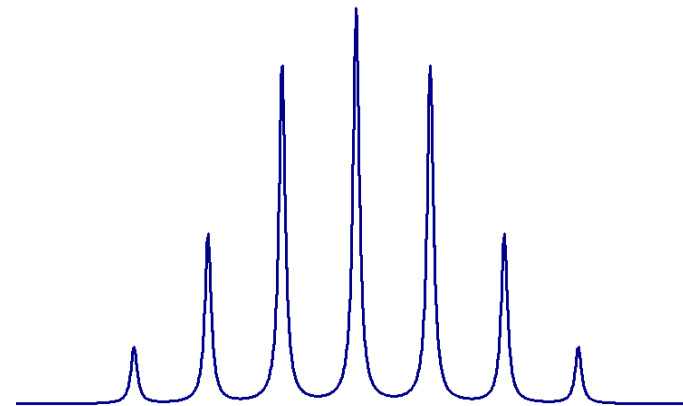
Signál v ^2H spektru je dublet 1:1 s $^1J_{\text{DC}} = \text{Hz}$

MULTIPLICITA (počet linií) pro $I_x = 1$

^2H , ^{14}N , ...



			1			
			1			
		1	1	1		
	1	1	1			
		1	1	1		
			1	1	1	
1	2	3	2	1		
	1	2	3	2	1	
		1	2	3	2	1
1	3	6	7	6	3	1



$$2 \cdot n_x \cdot I_x + 1$$

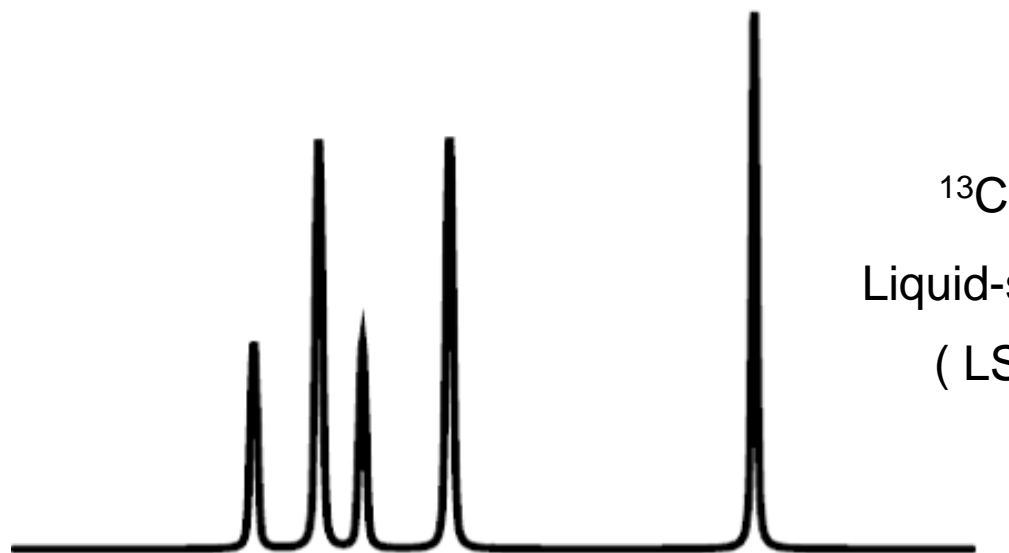
pro $I_x = 1$

$$2 \cdot n_x + 1$$

0	1	Singlet (s)
1	1 1 1	Triplet (t)
2	1 2 3 2 1	Kvintet (kv)
3	1 3 6 7 6 3 1	Septet (sep)

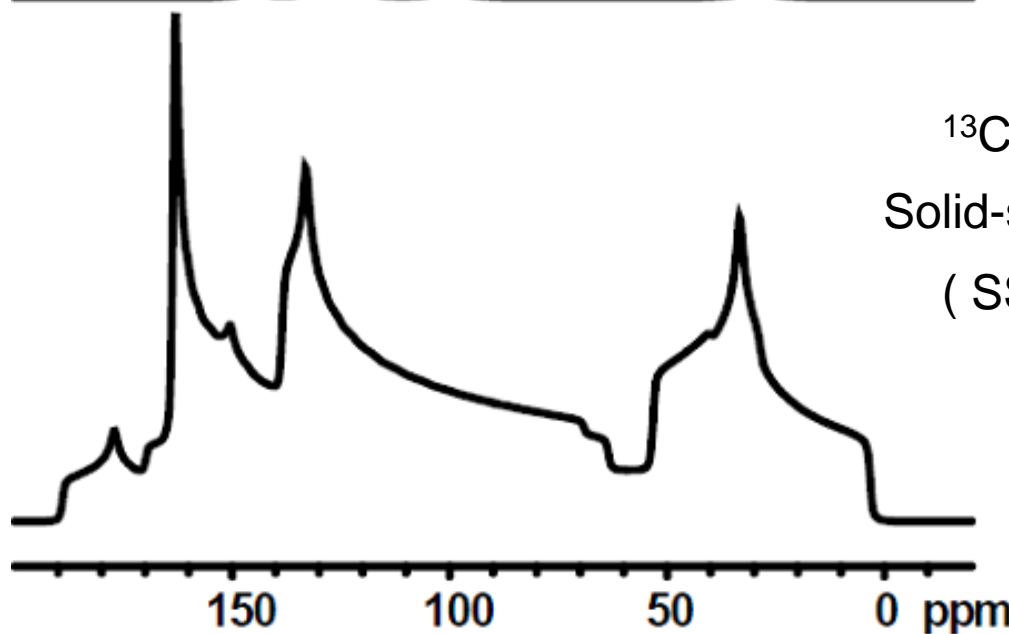
Solid-state NMR = NMR v pevné fázi

80 % farmaceutických produktů jsou pevné látky



Izotropní prostředí

Vývojem se rozdíly stále snižují

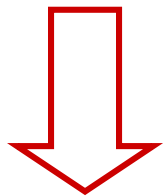


Důsledek anizotropie
chemického posunu
a dipolárních interakcí

NMR v pevné fázi

Anizotropie
chemického posunu
a dipolárních interakcí
mají geometrický člen

$$(3\cos^2\theta - 1)$$

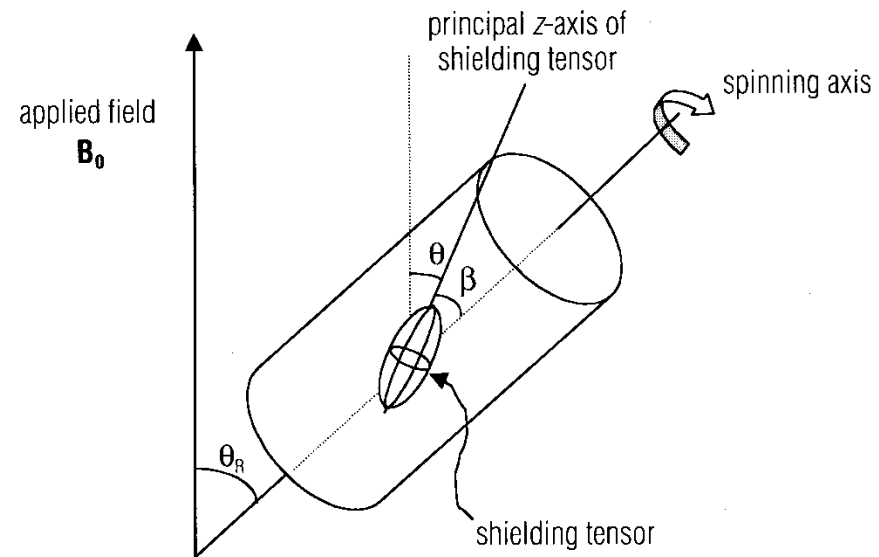


Magic

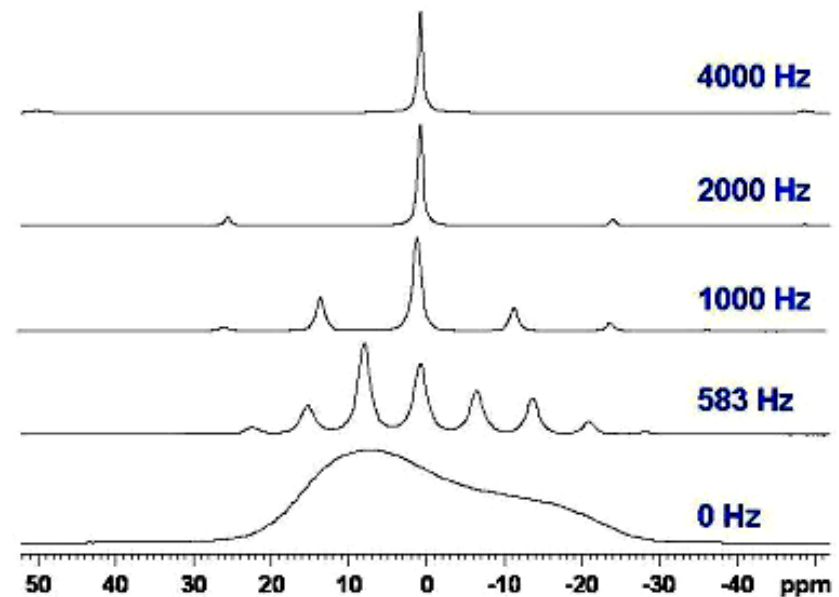
Angle

Spinning

54° 44'



³¹P CPMAS NMR NH₄H₂PO₄

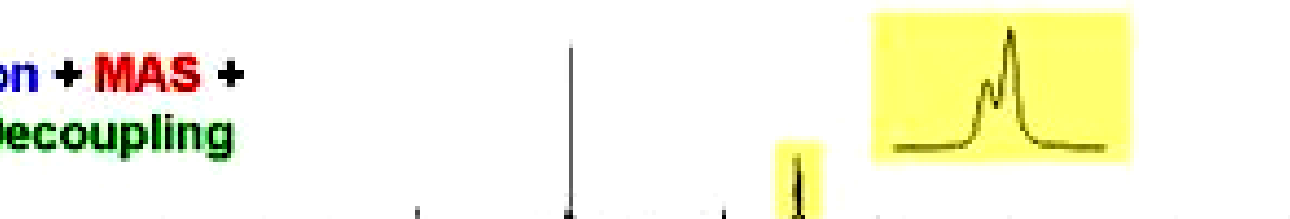


NMR v pevné fázi

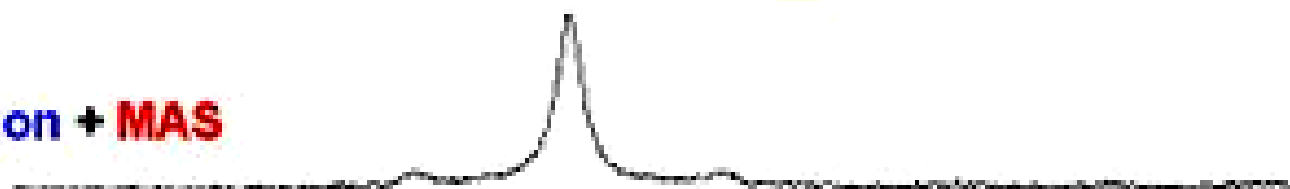
The Effect of Magic Angle Spinning and High Power ^1H Decoupling in ^{13}C Cross Polarization NMR Experiments

Solid State ^{13}C NMR of Glycine at 4.7 Tesla

Cross Polarization + **MAS** +
High Power ^1H Decoupling



Cross Polarization + **MAS**



Cross Polarization + High
Power ^1H Decoupling



Cross Polarization



400 300 200 100 0 -100 ppm

NMR v pevné fázi

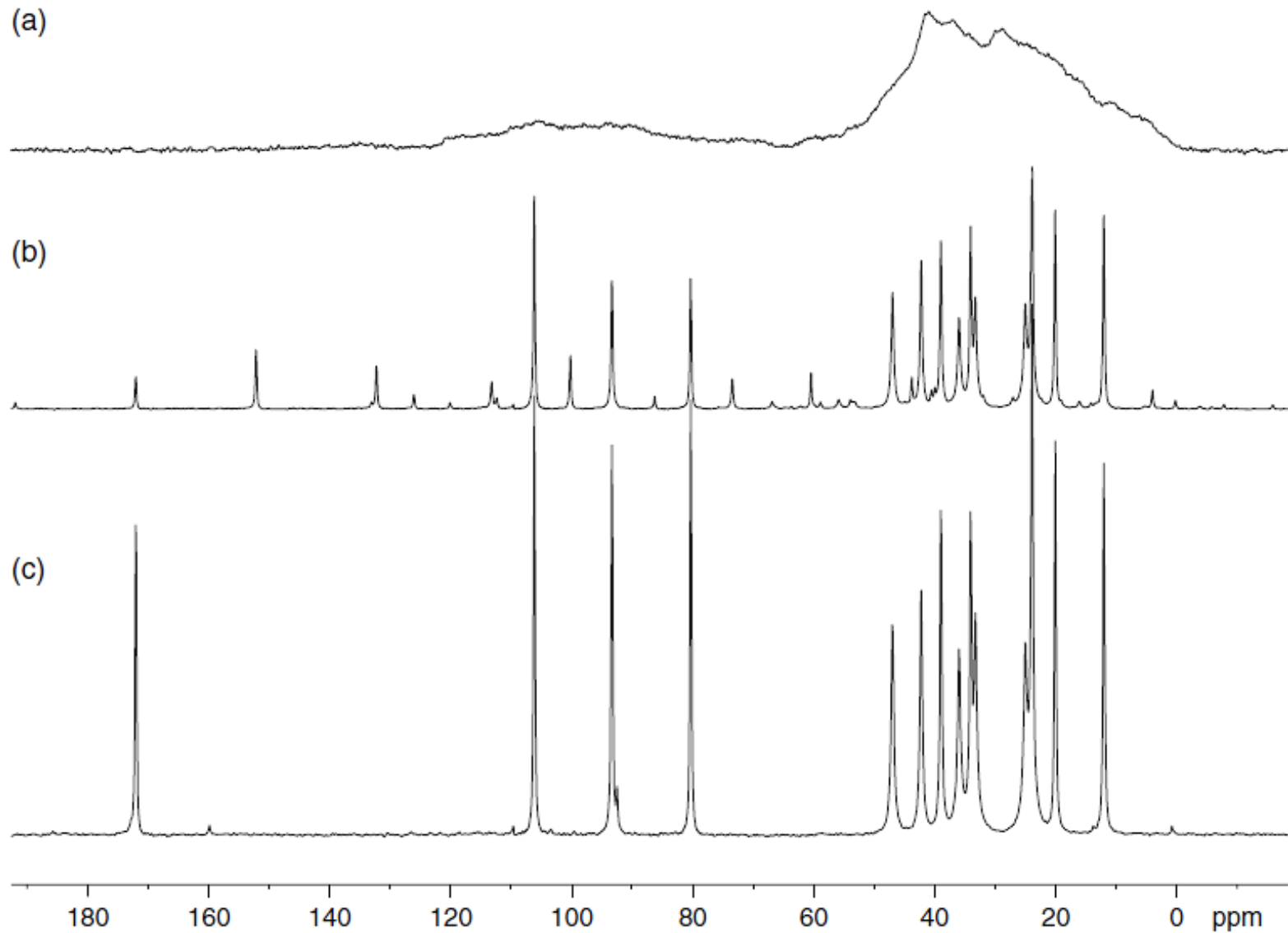
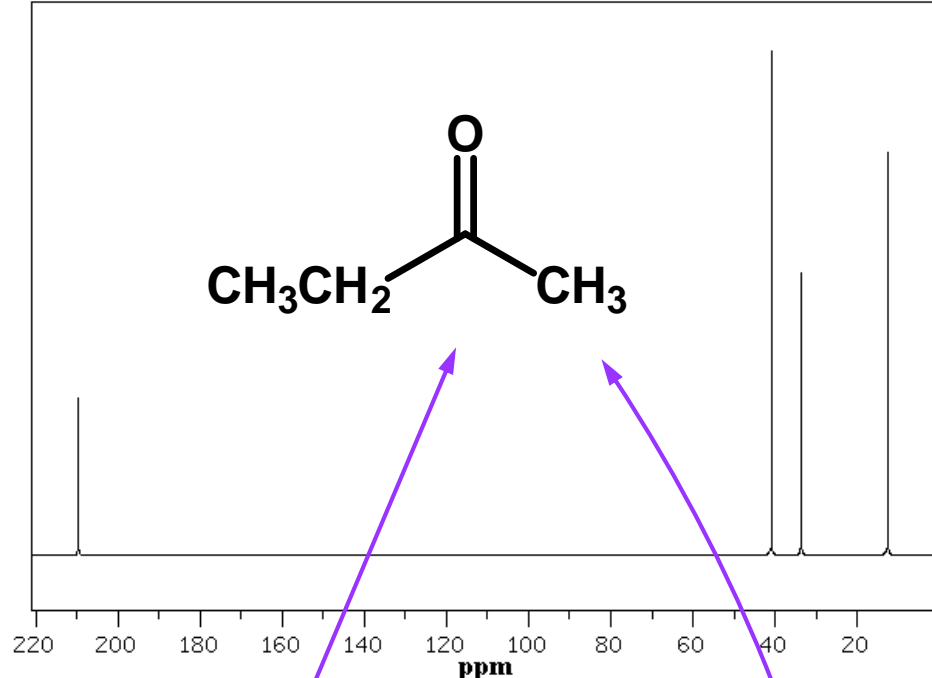
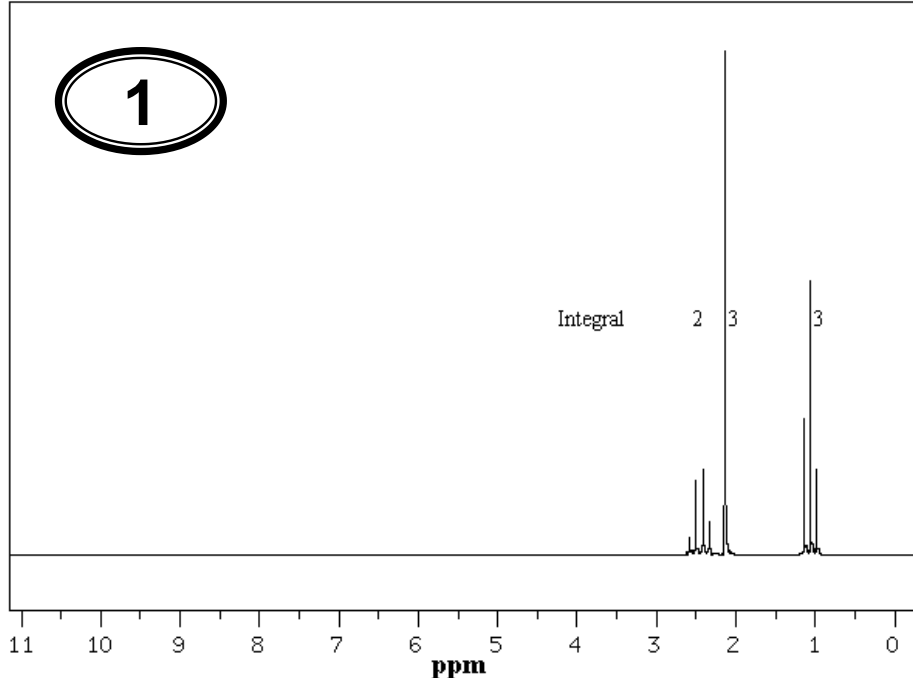


Figure 1 Solid-state ^{13}C NMR spectra of antimalarial drug artemisinin recorded (a) without sample rotation (static), (b) without PD, and (c) using MAS, PD, and CP techniques.

1



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = C_4H_8O

Jednovazné nahradíme vodíkem, dvojevazné odstraníme

Vícevazné odstraníme společně s počtem vodíků rovnajícím se VAZNOST - 2

Sumární vzorec C_4H_8O přejde na C_4H_8 , který přejde na alkan C_nH_{2n+2} adicí **jednoho** H_2

Stupeň nenasycenosti = **1** = v molekule je jedna dvojná vazba nebo jeden cyklus

1H NMR: tři signály v poměru 2 : 3 : 3 pro **osm** vodíků

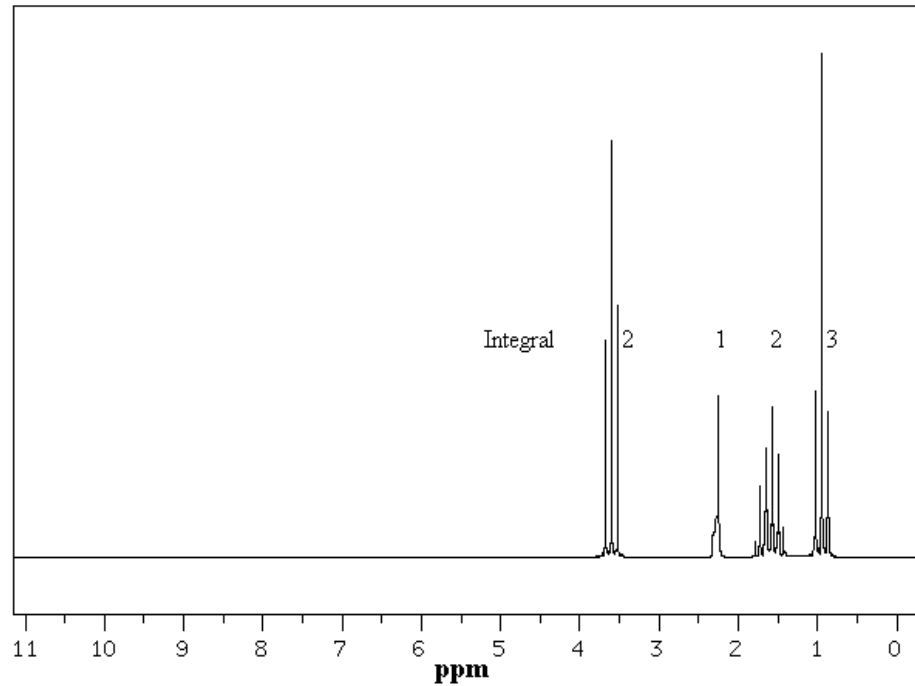
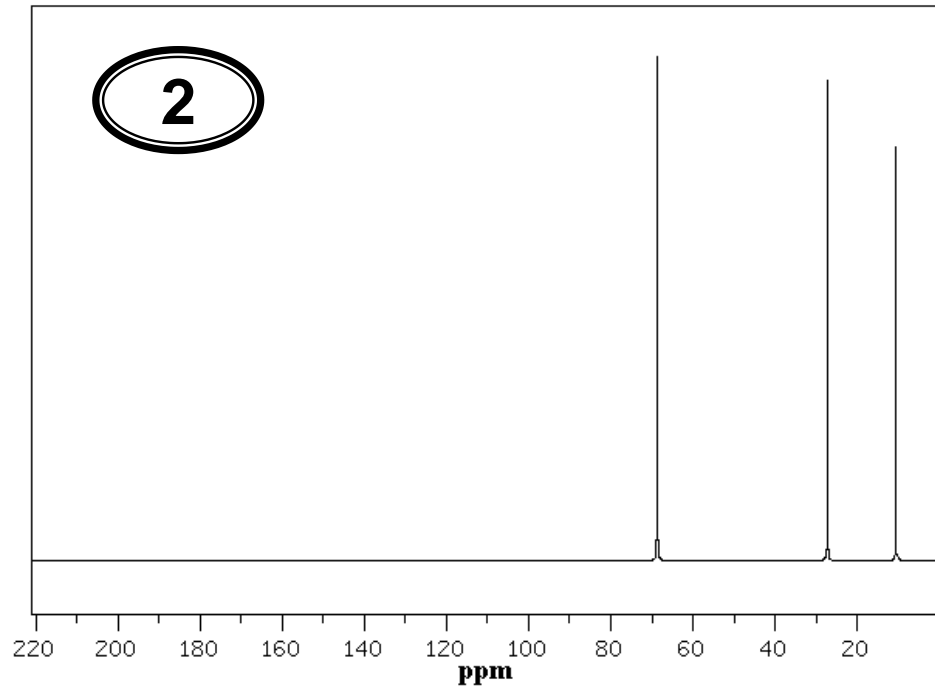
1H NMR: s multiplicitou kvartet, singlet, triplet

1H NMR: dle chemických posunů vodíky na uhlíku bez kyslíku

^{13}C NMR: **čtyři** signály, jeden v oblasti karbonylů

ethyl
methyl
karbonyl

2

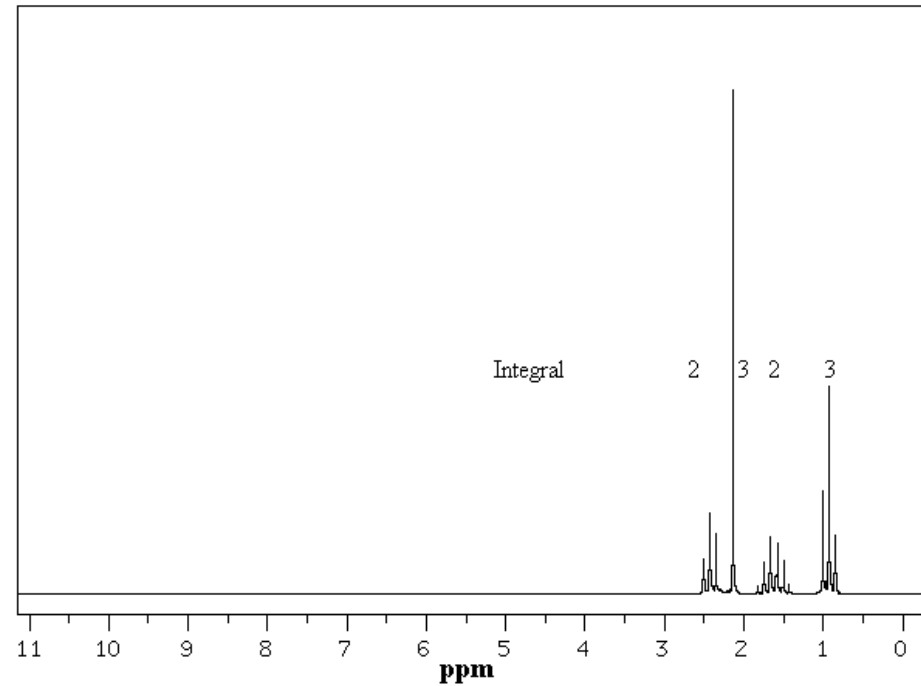
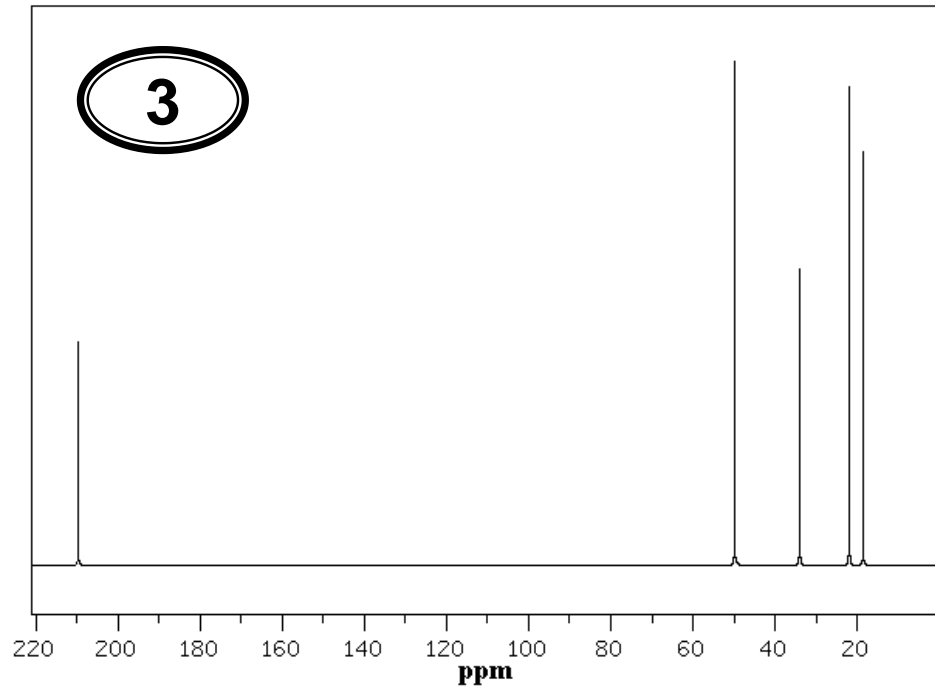


Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = C_3H_8O

Postupujte jako v příkladu 1

Výsledky jsou na konci prezentace

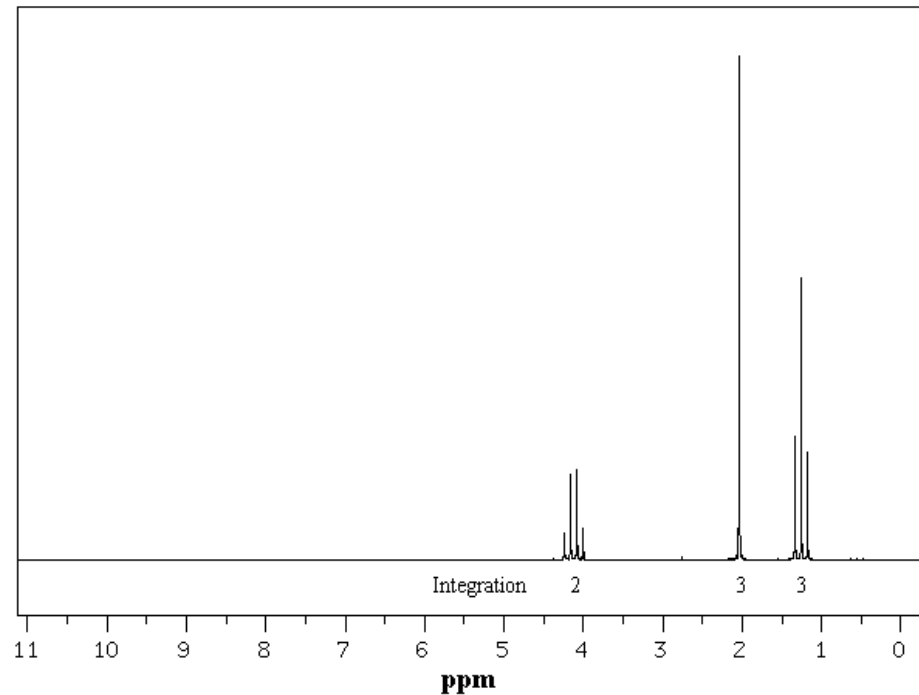
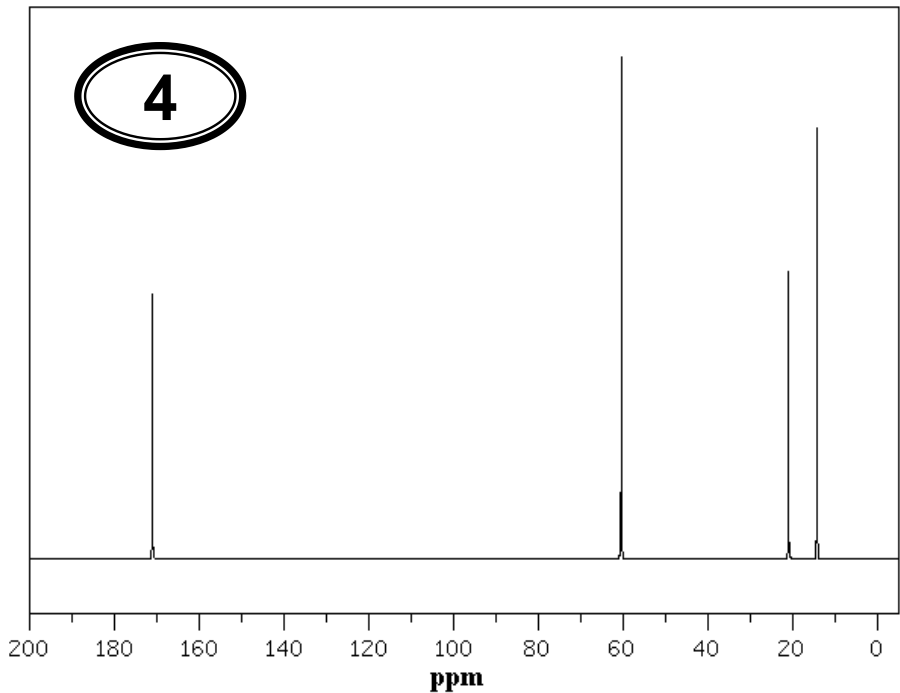
3



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_5H_{10}O$

Postupujte jako v příkladu 1

Výsledky jsou na konci prezentace

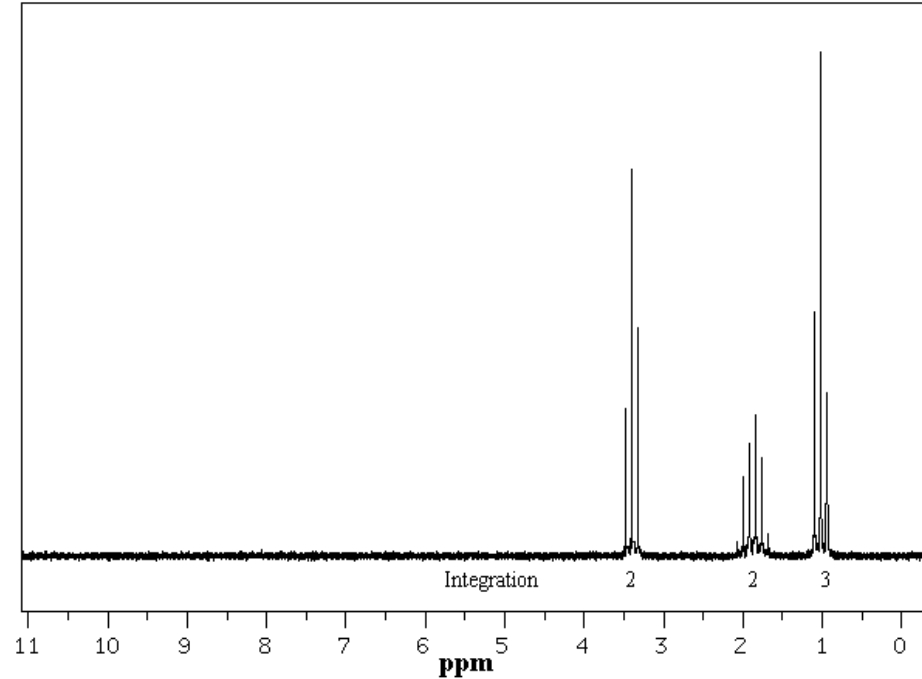
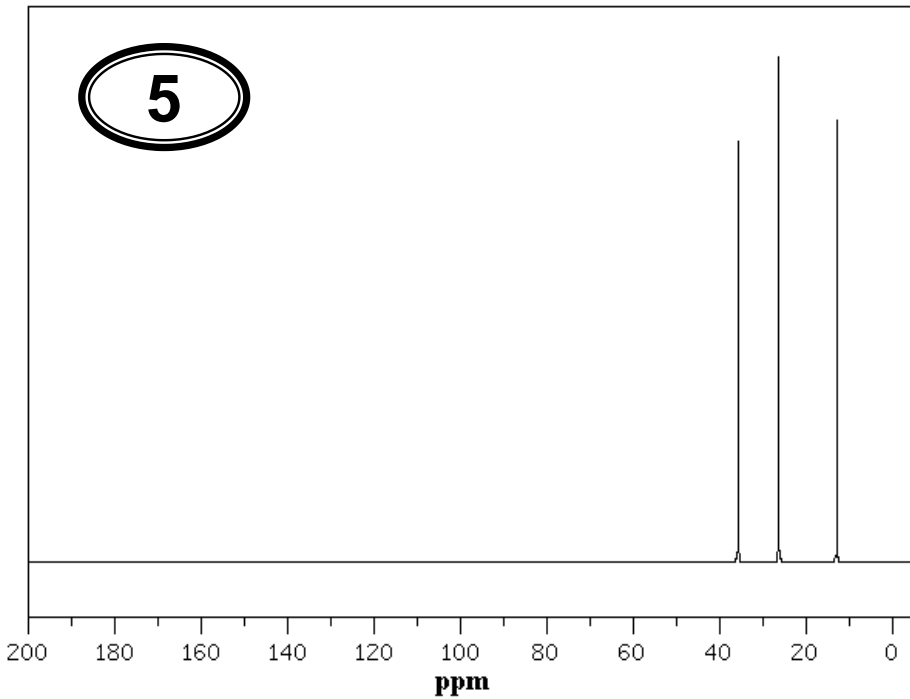


Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_4H_8O_2$

Postupujte jako v příkladu **1**

Výsledky jsou na konci prezentace

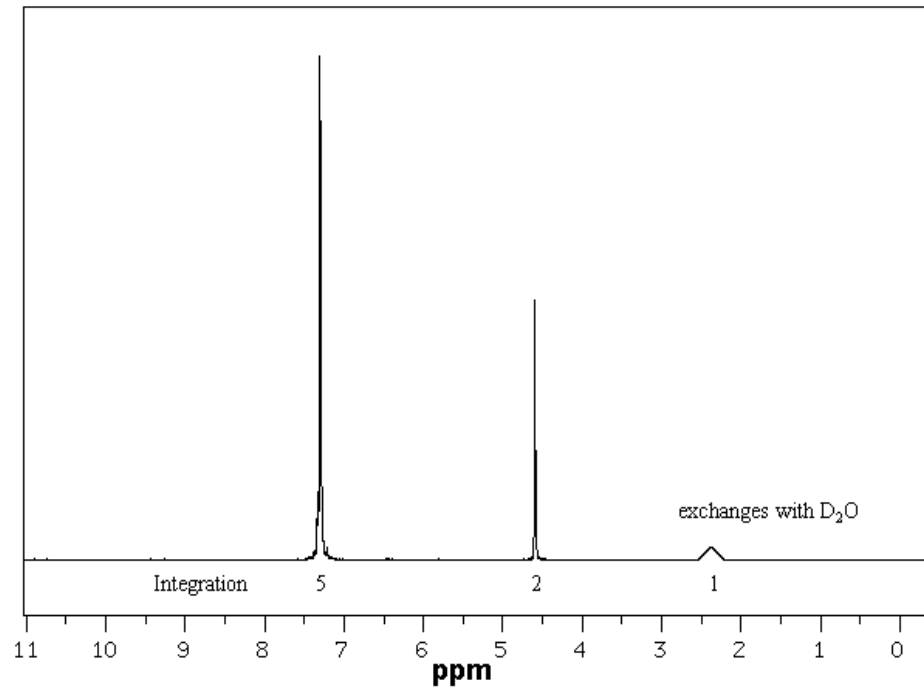
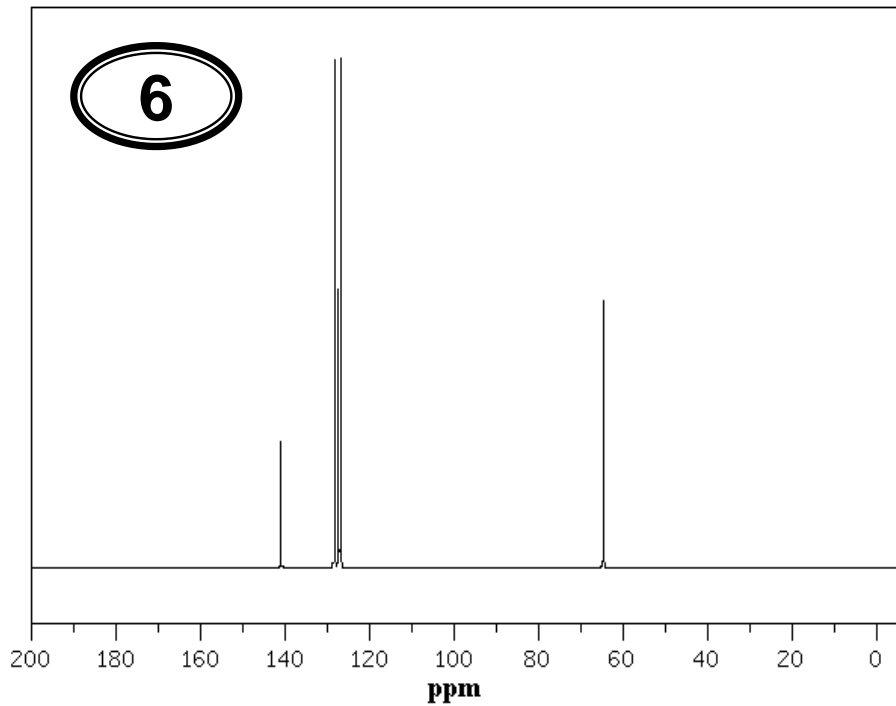
5



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = C_3H_7Br

Postupujte jako v příkladu **1**

Výsledky jsou na konci prezentace

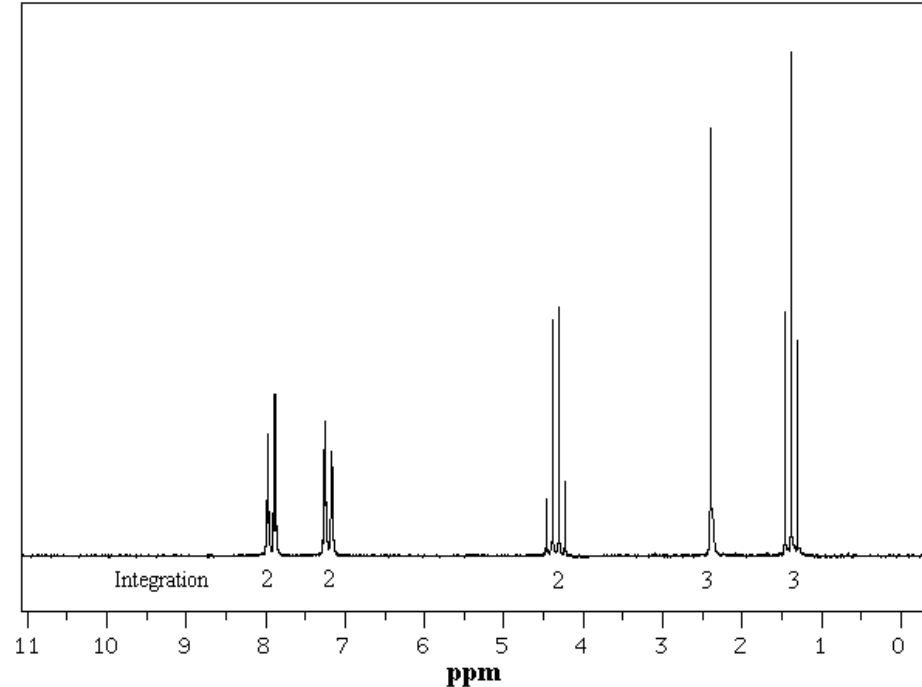
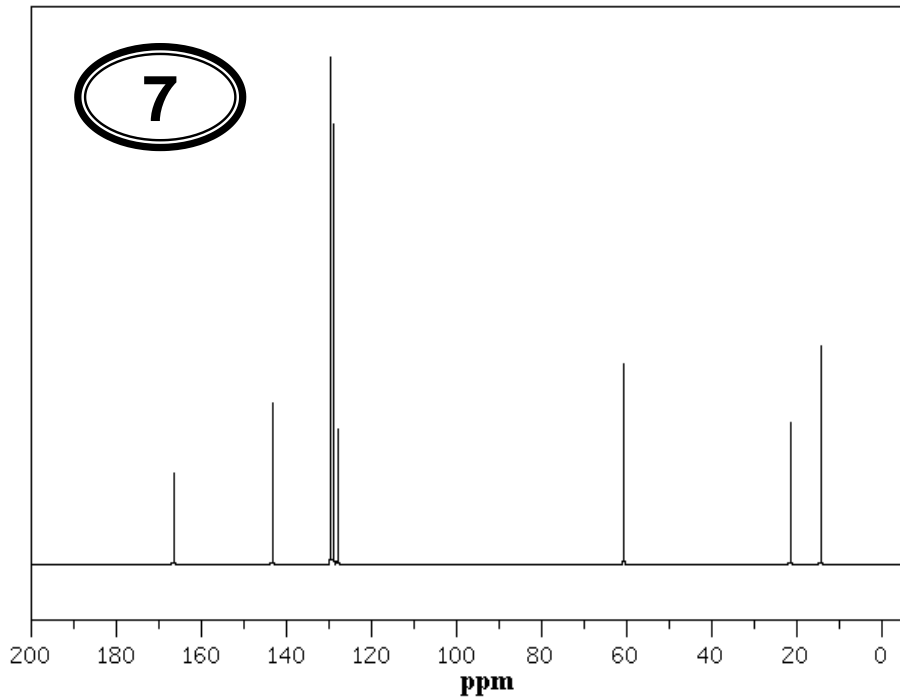


Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = C_7H_8O

Postupujte jako v příkladu **1**

Výsledky jsou na konci prezentace

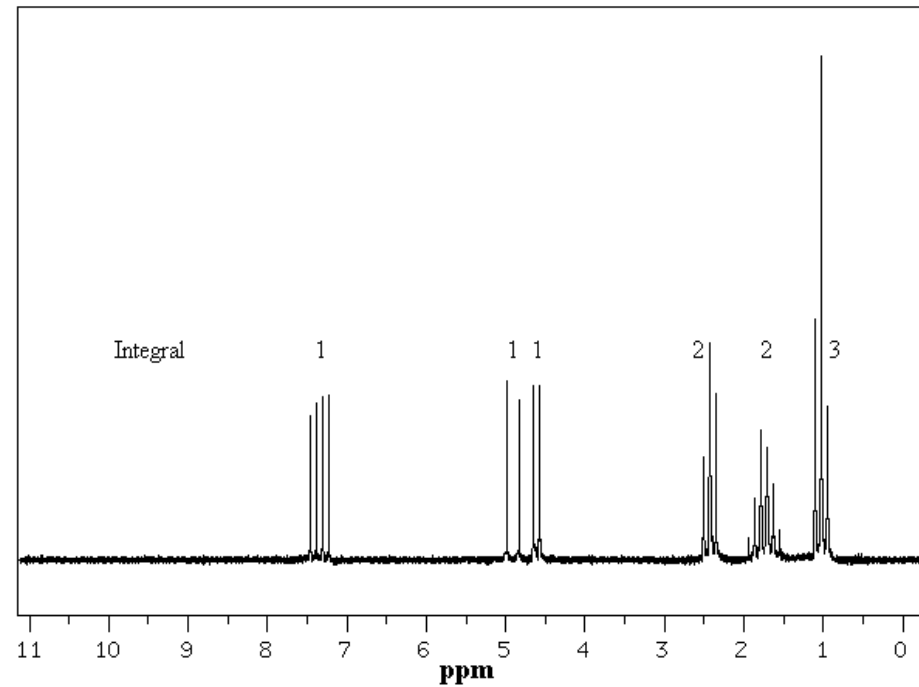
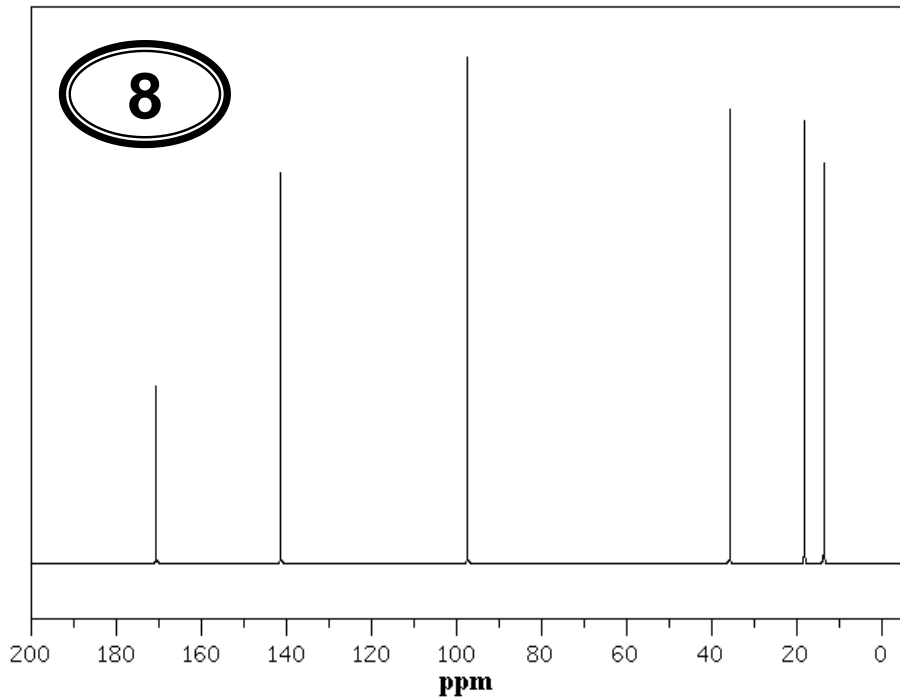
7



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_{10}H_{12}O_2$

Postupujte jako v příkladu 1

Výsledky jsou na konci prezentace

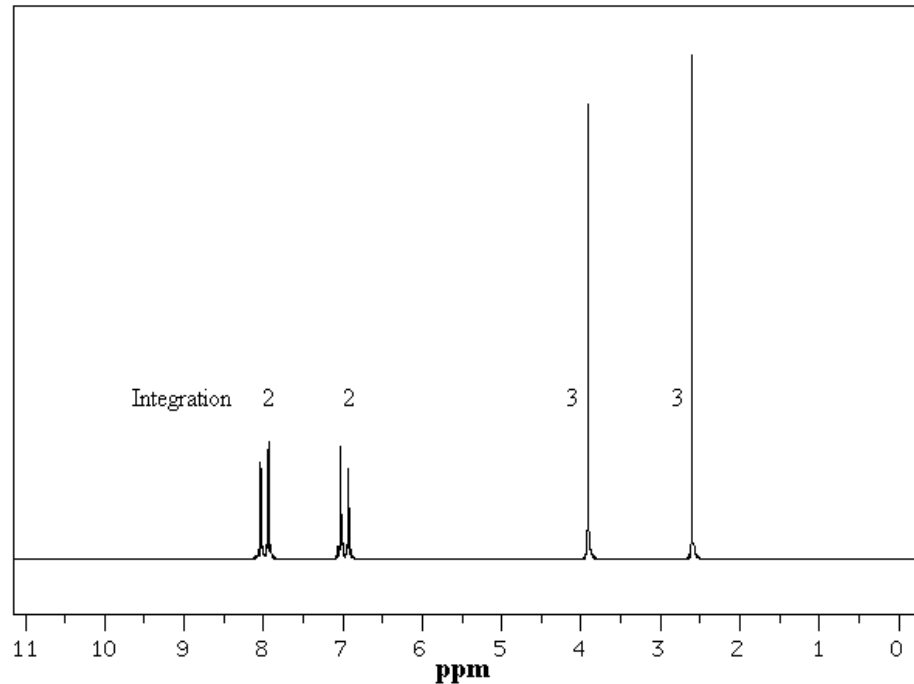
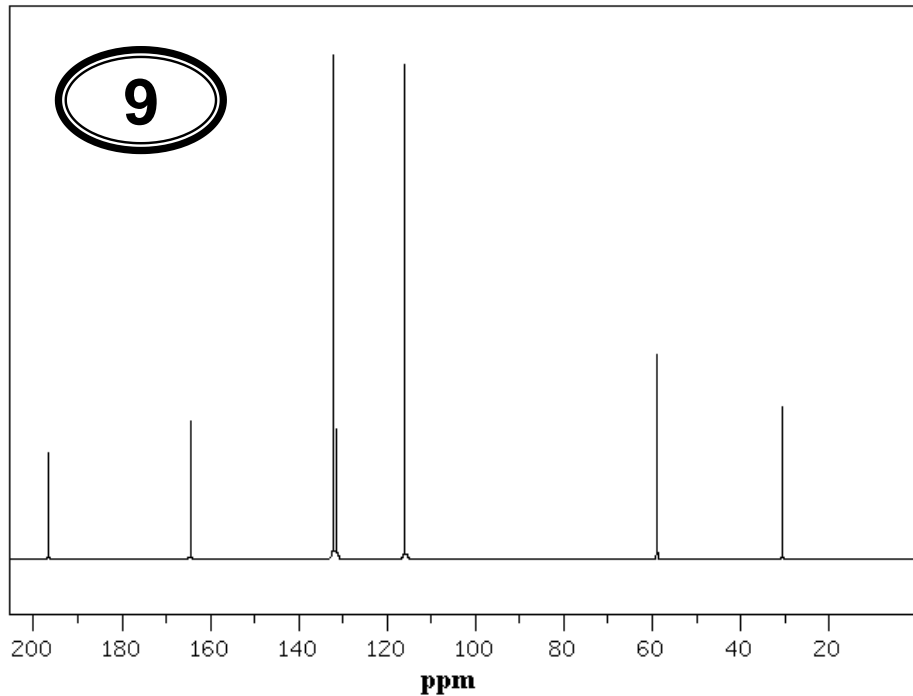


Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_6H_{10}O_2$

Postupujte jako v příkladu **1**

Výsledky jsou na konci prezentace

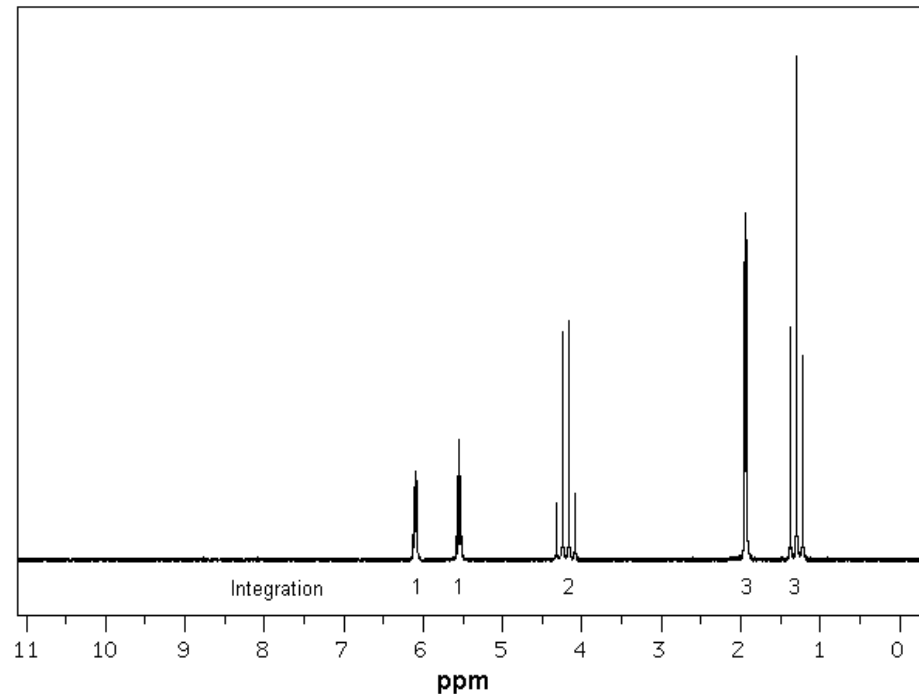
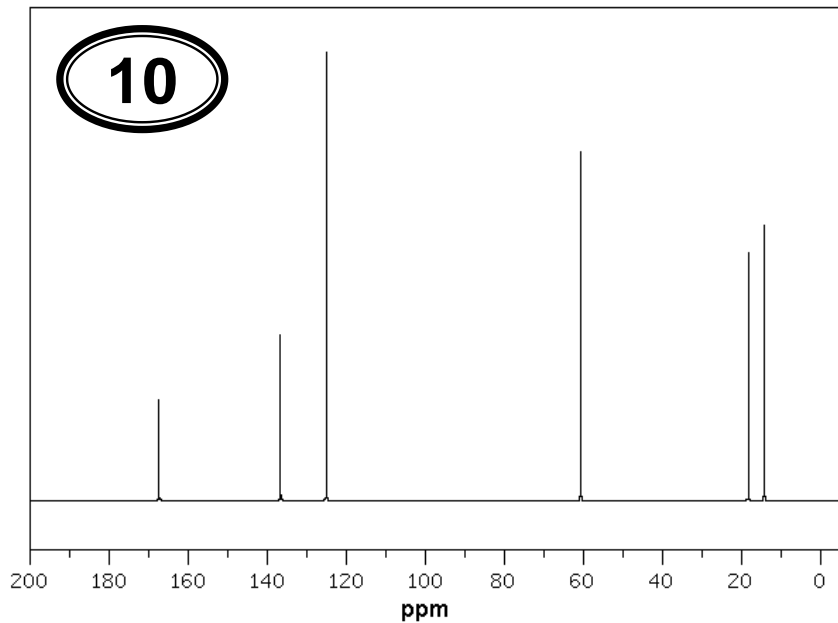
9



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_9H_{10}O_2$

Postupujte jako v příkladu 1

Výsledky jsou na konci prezentace



Sumární vzorec z kombinace EA a MS analýz = $C_6H_{10}O_2$

Postupujte jako v příkladu **1**

Výsledky jsou na konci prezentace

Základní 1D a 2D NMR techniky k řešení molekulární struktury

^1H NMR

Počet, intenzita, multiplicita, tvar signálů
→ symetrie molekuly, strukturní fragmenty, funkční skupiny

^1H - ^1H COSY a TOCSY

Krospíky mají signály jader atomů ^1H interagujících přes vazby, $^{2-4}J_{\text{HH}}$
→ Určení spinových systémů, strukturní fragmenty

^1H - ^1H NOESY

Krospíky mají signály jader atomů ^1H prostorově blízkých, $r_{\text{H-H}} < 0,5 \text{ nm}$
→ Prostorová vzdálenost ^1H atomů

^{13}C APT NMR

Počet uhlíkových signálů, počet připojených vodíků
→ symetrie molekuly, C, CH, CH_2 , CH_3 skupiny, strukturní typy, funkční skupiny

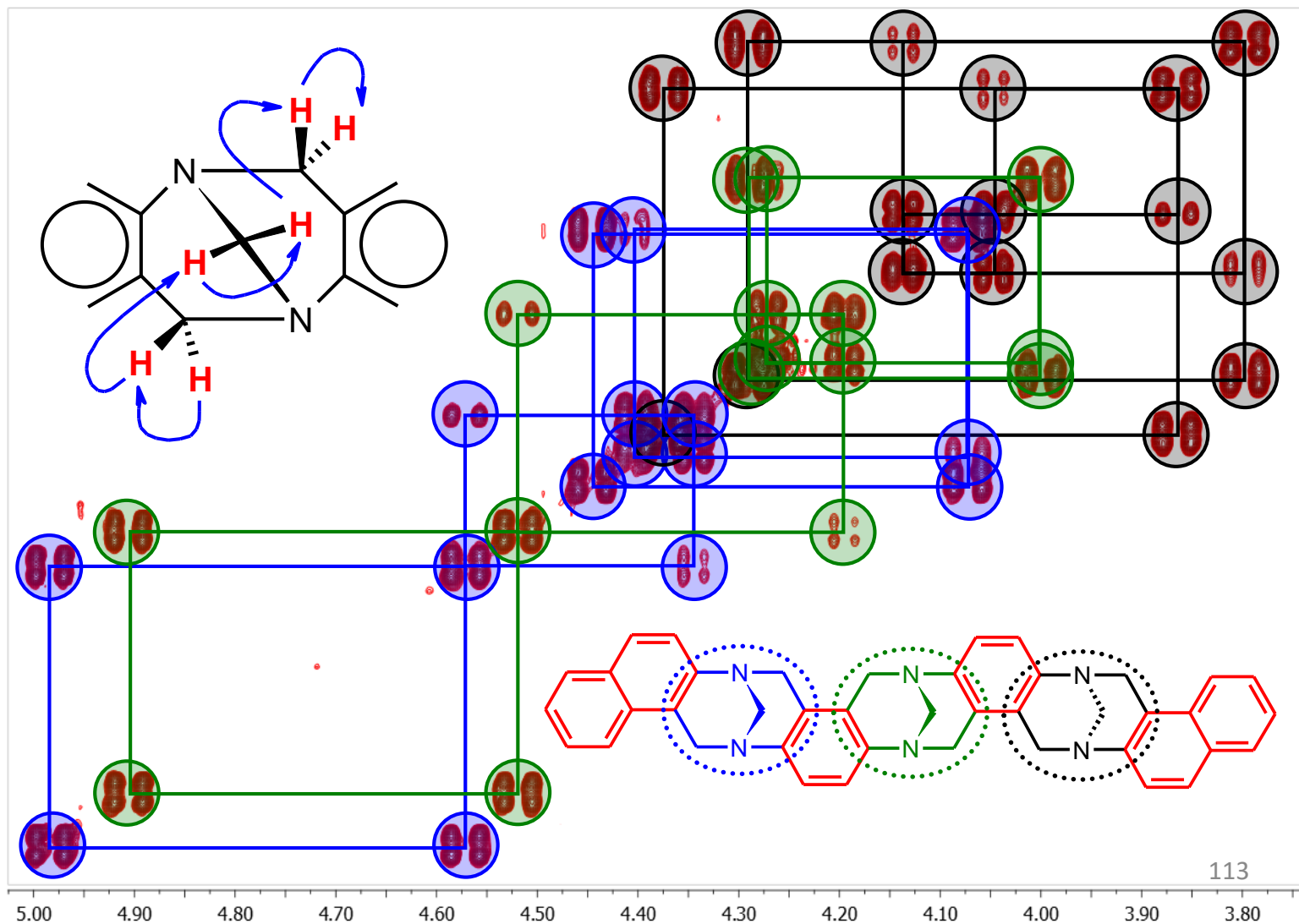
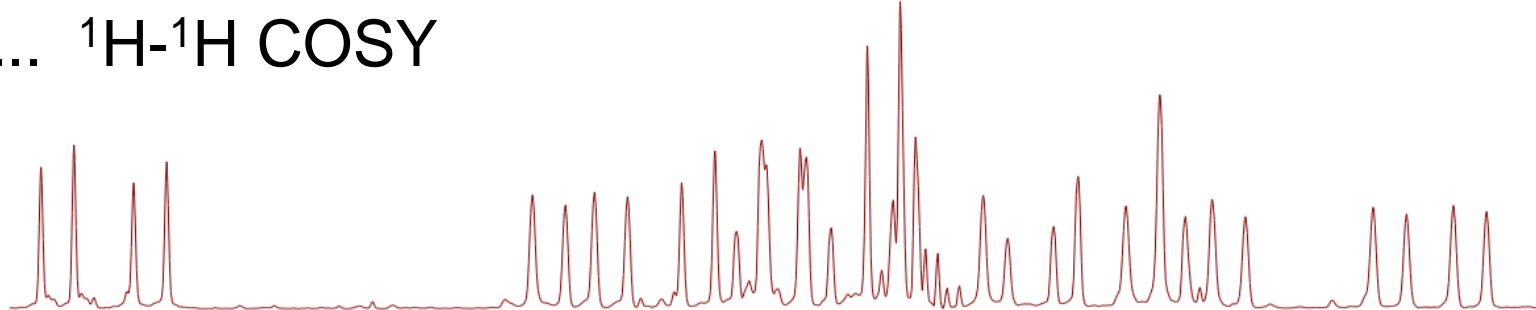
$^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ HSQC

Krospíky mezi signály jader ^1H a ^{13}C vázaných přes jednu vazbu, $^1J_{\text{CH}}$
→ Přiřazení signálů ^1H k ^{13}C na něž jsou vázány

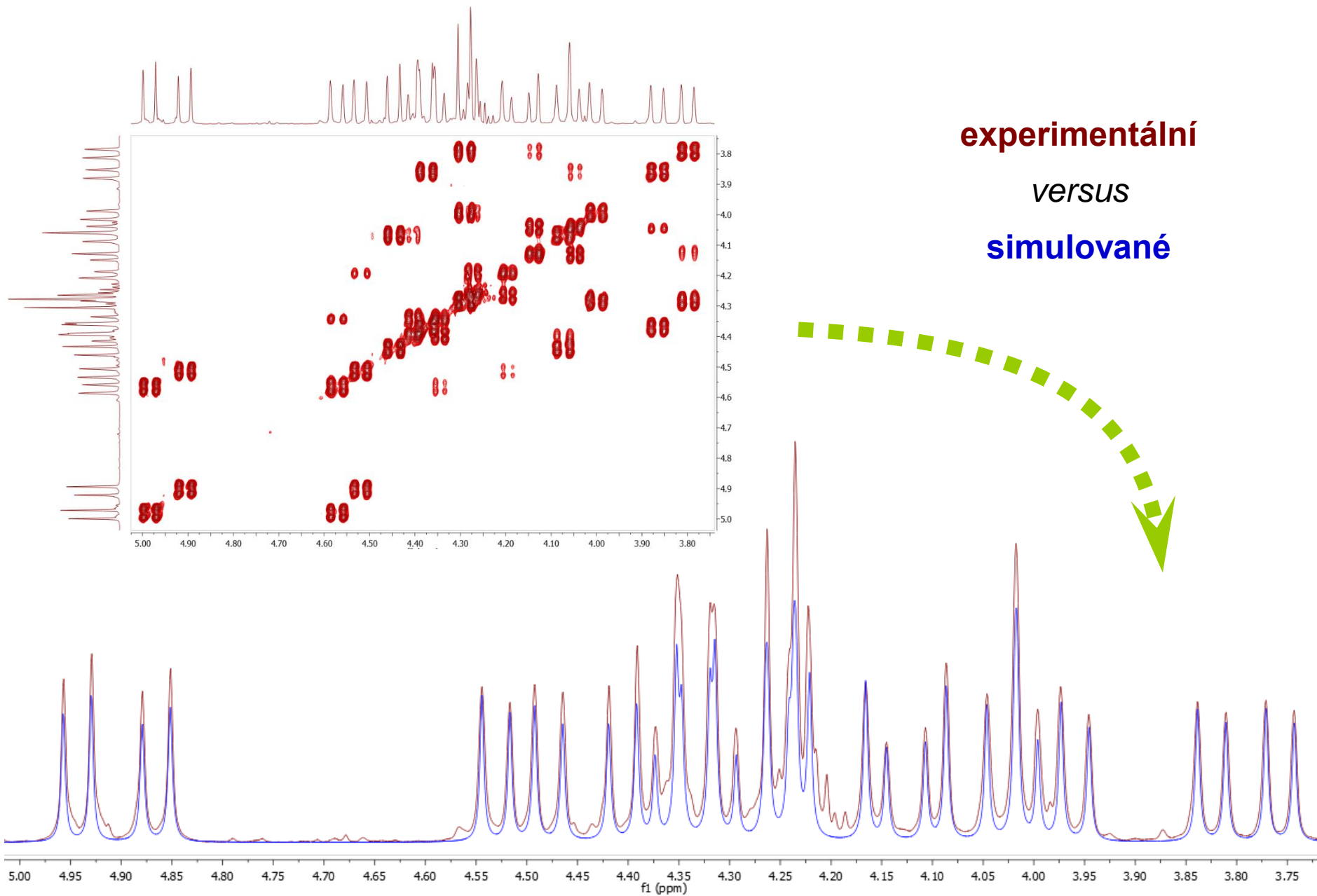
$^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ HMBC

Krospíky mezi signály jader ^1H a ^{13}C vázaných přes jednu vazbu, $^{2-3}J_{\text{CH}}$
→ Přiřazení signálů ^1H k ^{13}C , které jsou vázány přes 2-3 vazby

2D NMR ... ^1H - ^1H COSY

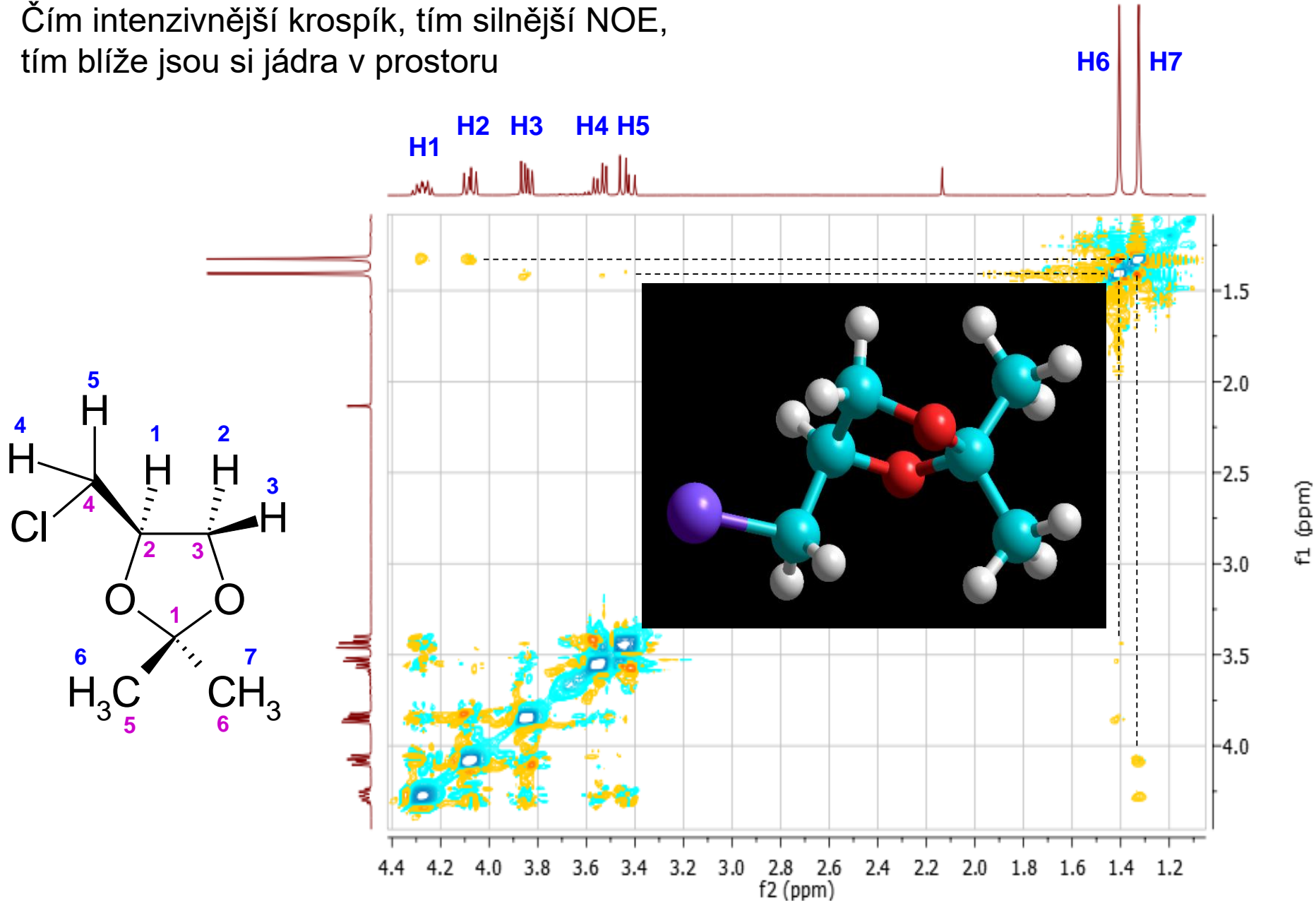


NMR ... ^1H - ^1H gCOSY, ^1H , spinová simulace

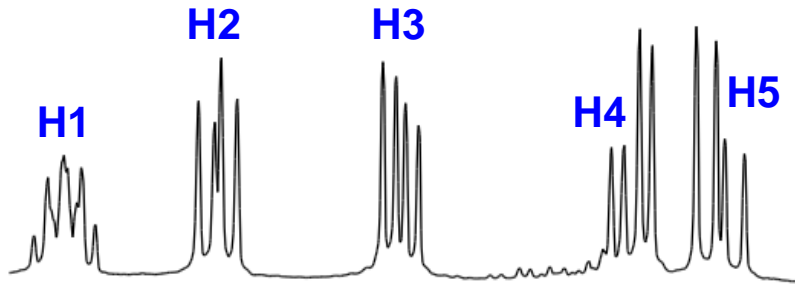


2D ROESY a NOESY

Čím intenzivnější krosník, tím silnější NOE, tím blíže jsou si jádra v prostoru

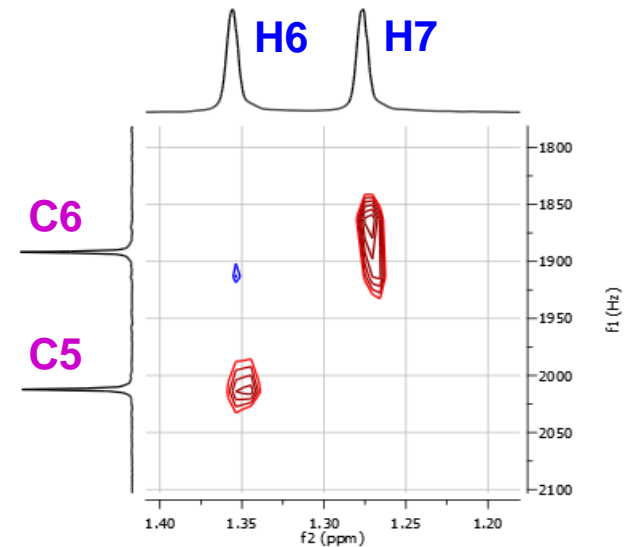
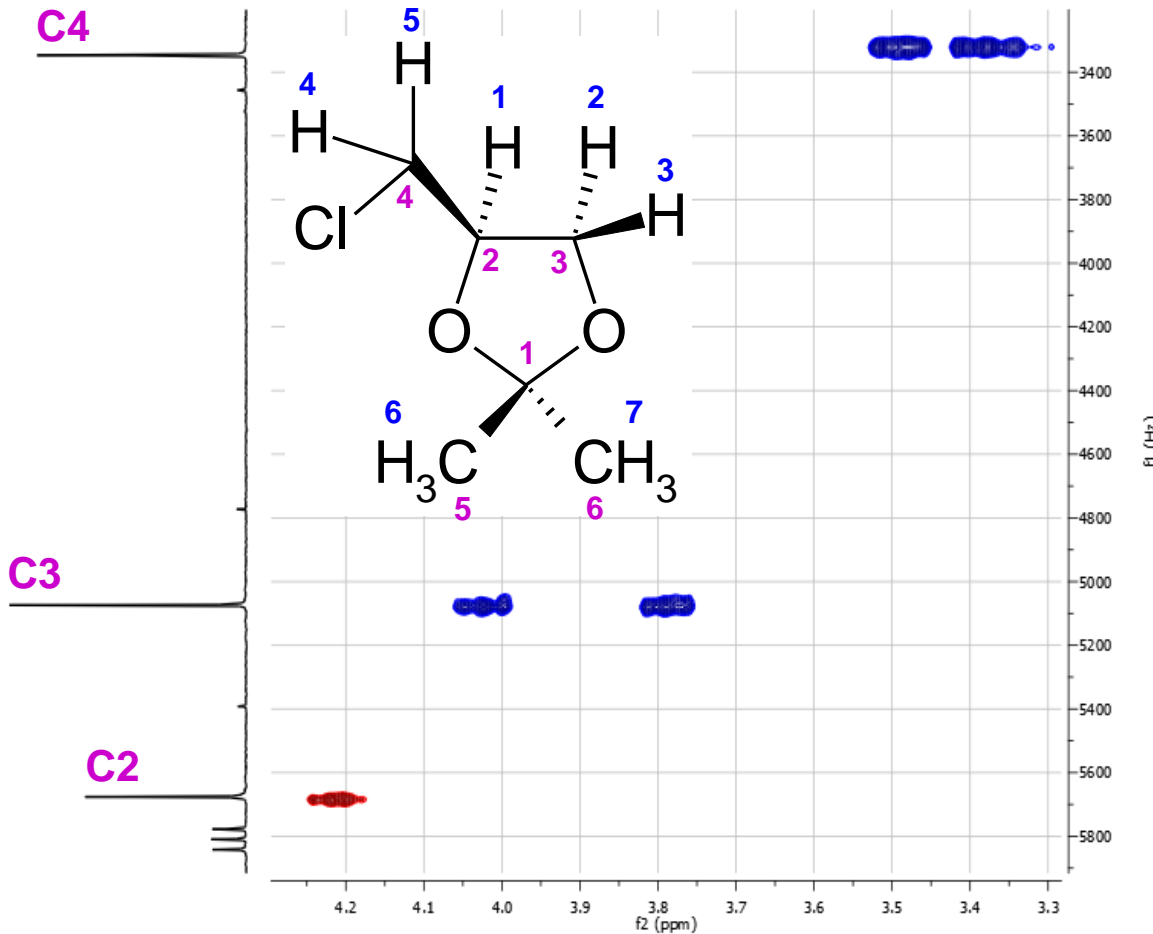


NMR ... ^1H - ^{13}C HSQC 2D NMR spektra (gHSQC, HMQC, ...)

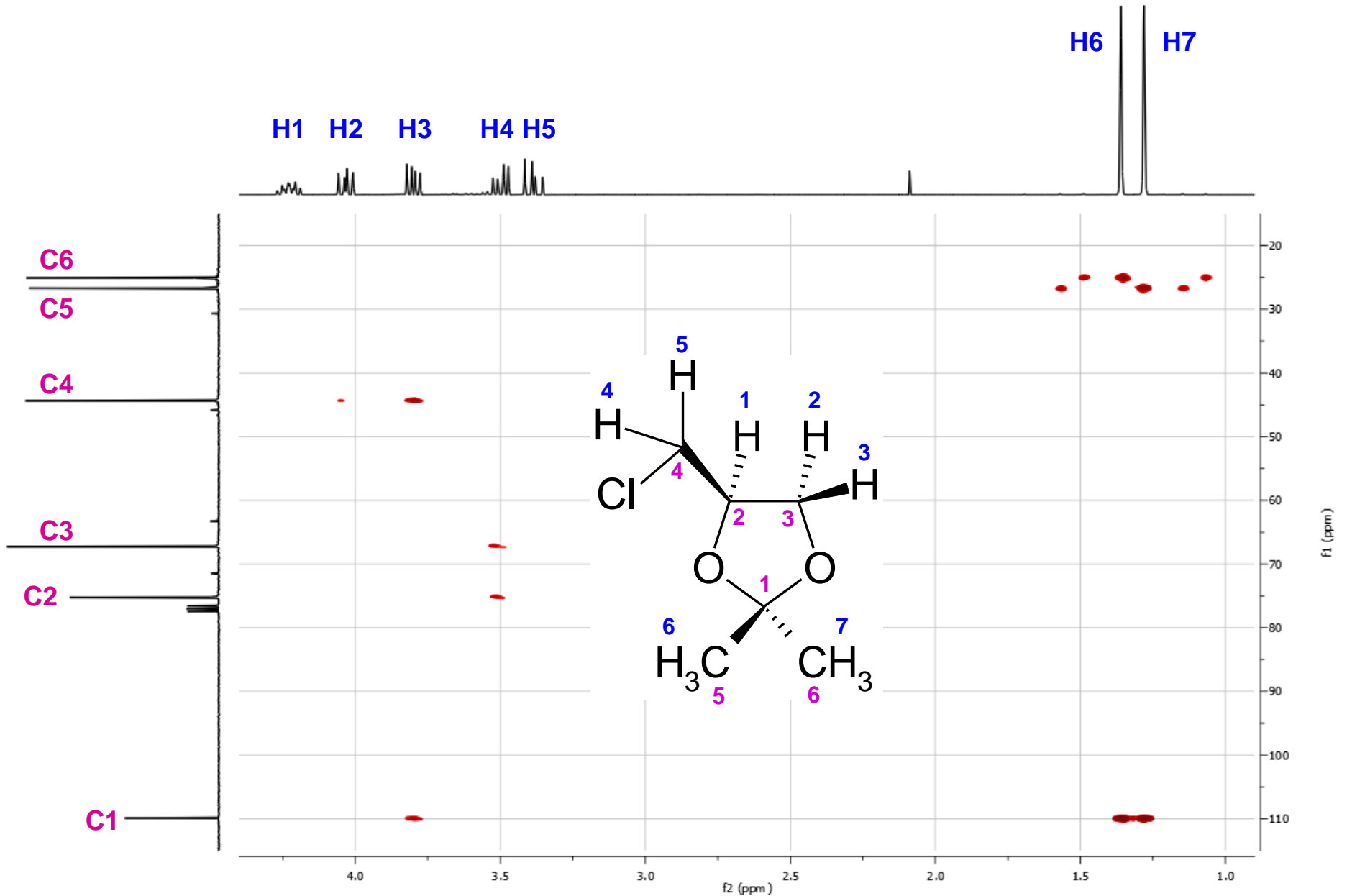


Krospíky mezi signály jader ^1H a ^{13}C vázaných přes jednu vazbu, $^1J_{\text{CH}}$

→ Přiřazení signálů ^1H k ^{13}C na něž jsou vázány



NMR ... HMBC



Molekulová struktura látek v příkladech 1 až 10

