

Měření a interpretace NMR spekter

Bohumil Dolenský

E-mail : dolenskb@vscht.cz

Telefon : (+420) 220 44 4110

Místnost : budova A, místnost A28

www : <http://www.vscht.cz/anl/dolensky/technmr/index.html>

Stanovení struktury látky $C_6H_{11}ClO_2$ pomocí NMR spekter

HMBC

1H - ^{13}C interakce $J_{HC} \sim 8$ Hz, tedy přes dvě a více kovalentních vazeb

verze 28. 1. 2022

HMBC Heteronuclear Multiple Bond Coherence

${}^nJ_{\text{HC}}$, spin-spin interakce přes více než 1 vazbu

${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ HMBC, ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ g -HMBC

Prefix g nebo ge znamená, že v sekvenci je použito gradientových pulsů = nižší citlivost, ale méně artefaktů

Krospíky ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ HMBC spektra jsou důsledkem spin-spinové interakce mezi ${}^1\text{H}$ a ${}^{13}\text{C}$ jádry o velikosti $J_{\text{CH}} \approx 8$ Hz, tj. důsledkem jejich interakce přes více než jednu vazbu

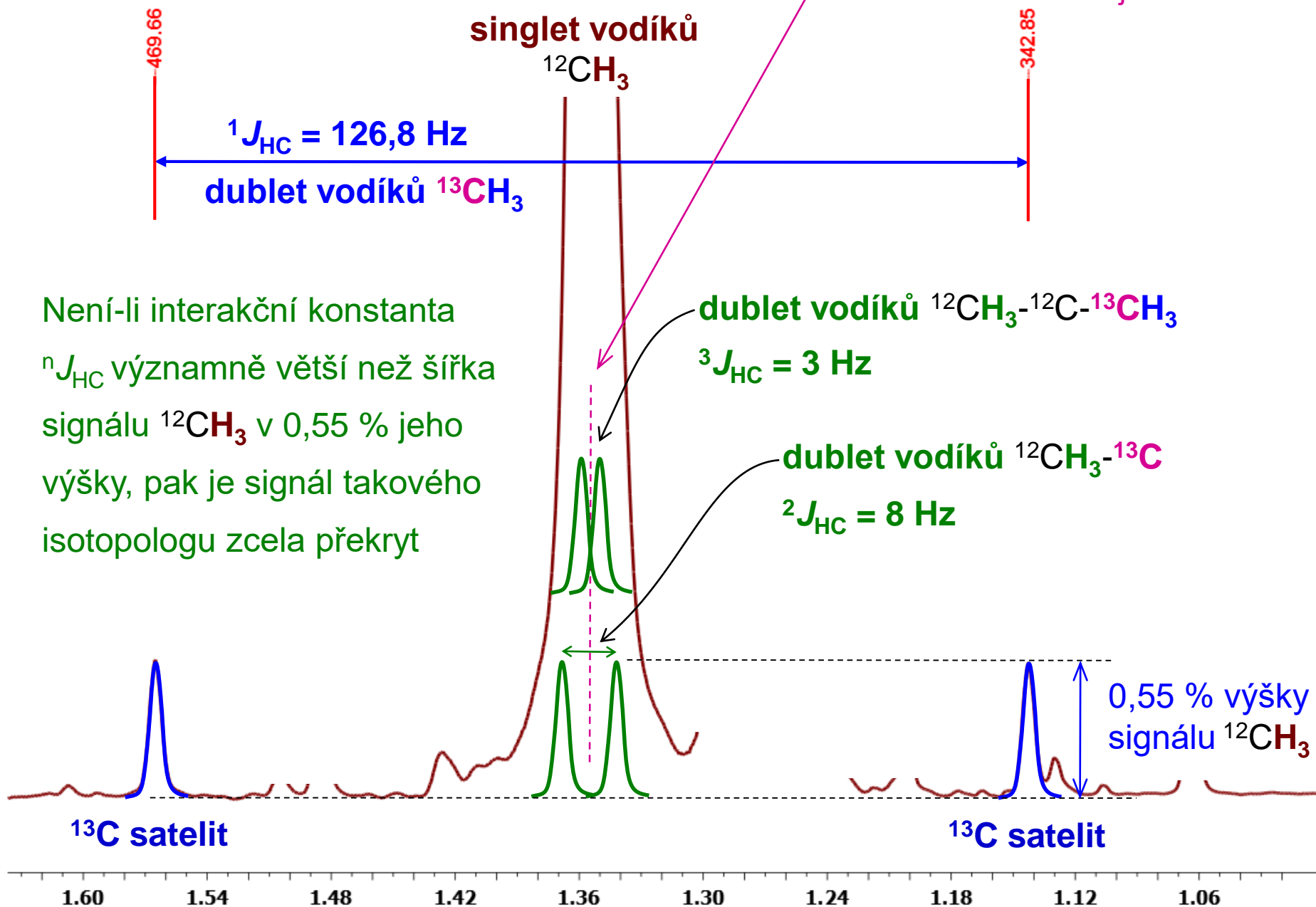
- Velikost detekované interakční konstanty lze měnit (tzv. optimalizace citlivosti)
- Intenzita krospíku je tím větší čím je J_{HC} blíže nastavené hodnotě (velmi zjednodušeno)
- Interakce s malou hodnotou J_{HC} jsou obvykle detekovány pomocí LR-HSQMBC
- HMBC spektra lze měřit mezi různými jádry, např.:

${}^{19}\text{F}$ - ${}^{13}\text{C}$ HMBC, ${}^1\text{H}$ - ${}^{15}\text{N}$ g HBMC, ${}^{19}\text{F}$ - ${}^{15}\text{N}$ g -HMBC, ${}^1\text{H}$ - ${}^{29}\text{Si}$ g HMBC

Znalost obvyklých hodnot interakčních konstant pro přítomné strukturní fragmenty je pro nastavení HMBC experimentu i pro interpretaci HMBC spekter nezbytná

Isotopology v ^1H , HSQC a HMBC

Isotopový efekt $^{12/13}\text{C}$ na chemický posun ^1H je zanedbatelný



Není-li interakční konstanta $^nJ_{\text{HC}}$ významně větší než šířka signálu $^{12}\text{CH}_3$ v 0,55 % jeho výšky, pak je signál takového isotopologu zcela překryt

^1H - ^{13}C HMBC Heteronuclear Multiple Bond Coherence

^1H - ^{13}C HMBC krosník mezi signály ^{13}C a ^1H znamená, že mezi jádry je spin-spinová interakce, jejíž J_{HC} má hodnotu blízkou nastavené hodnotě, obvykle ca. 8 Hz, tedy hodnotě typické pro interakce přes dvě a více vazeb

$^3J_{\text{HC}}$ Intenzita krosníku je závislá zejména na dihedrálním úhlu mezi interagujícími jádry

0-16 Hz

$$^3J_{\text{HC}} = 4.26 - \cos \Phi + 3.56 \cos 2\Phi$$

- Volná rotace kolem vazeb = HMBC krosník téměř vždy **intenzivní**
- Rotace kolem vazeb omezena a dihedrální úhel je blízký
 - 0° konfigurace cis, Z, synperiplanární
 - 180° konfigurace trans, E, antiperiplanární
 - 90° hodnota $^3J_{\text{HC}}$ blízká nule = HMBC krosník **malé až nulové intenzity**

$^2J_{\text{HC}}$ Velikost $^2J_{\text{HC}}$ (obvykle 0-61 Hz) závisí především na chemickém okolí a odhad její hodnoty není snadný = HMBC krosník **bud' intenzivní nebo nulové intenzity**

0-61 Hz

$^4J_{\text{HC}}$ Velikost interakce J_{HC} přes 4 či více vazeb je téměř vždy pod 3 Hz
< 3 Hz = HMBC krosník **malé až nulové intenzity**

- Molekulová struktura by měla vyhovovat všem těmto vztahům (řešeních může být více)
- Případné odchylky je nutné zdůvodnit analogií z literatury nebo podpořit jinými experimenty

Strukturní fragmenty zjištěné z ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC a dedukce

H4-C4-H5

|

C2-H1

|

H2-C3-H3

- a) Přiřazení vodíků k uhlíkům potvrzuje HSQC spektrum
- b) Spojení uhlíků potvrzují interakční konstanty ^1H - ^1H (viz ^1H , J -resolved a COSY)

C5(H6)₃

|

C1

|

C6(H7)₃

- a) Přiřazení vodíků k uhlíkům potvrzuje HSQC spektrum
- b) Spojení uhlíků potvrzují interakční konstanty ^1H - ^1H (viz ^1H , J -resolved a COSY spektra) a interakční konstanty ^1H - ^{13}C (viz ^1H a ^{13}C spektra)

Ze sumárního vzorce $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{ClO}_2$ zbývá **jeden chlor, dva kyslíky a jeden cyklus**

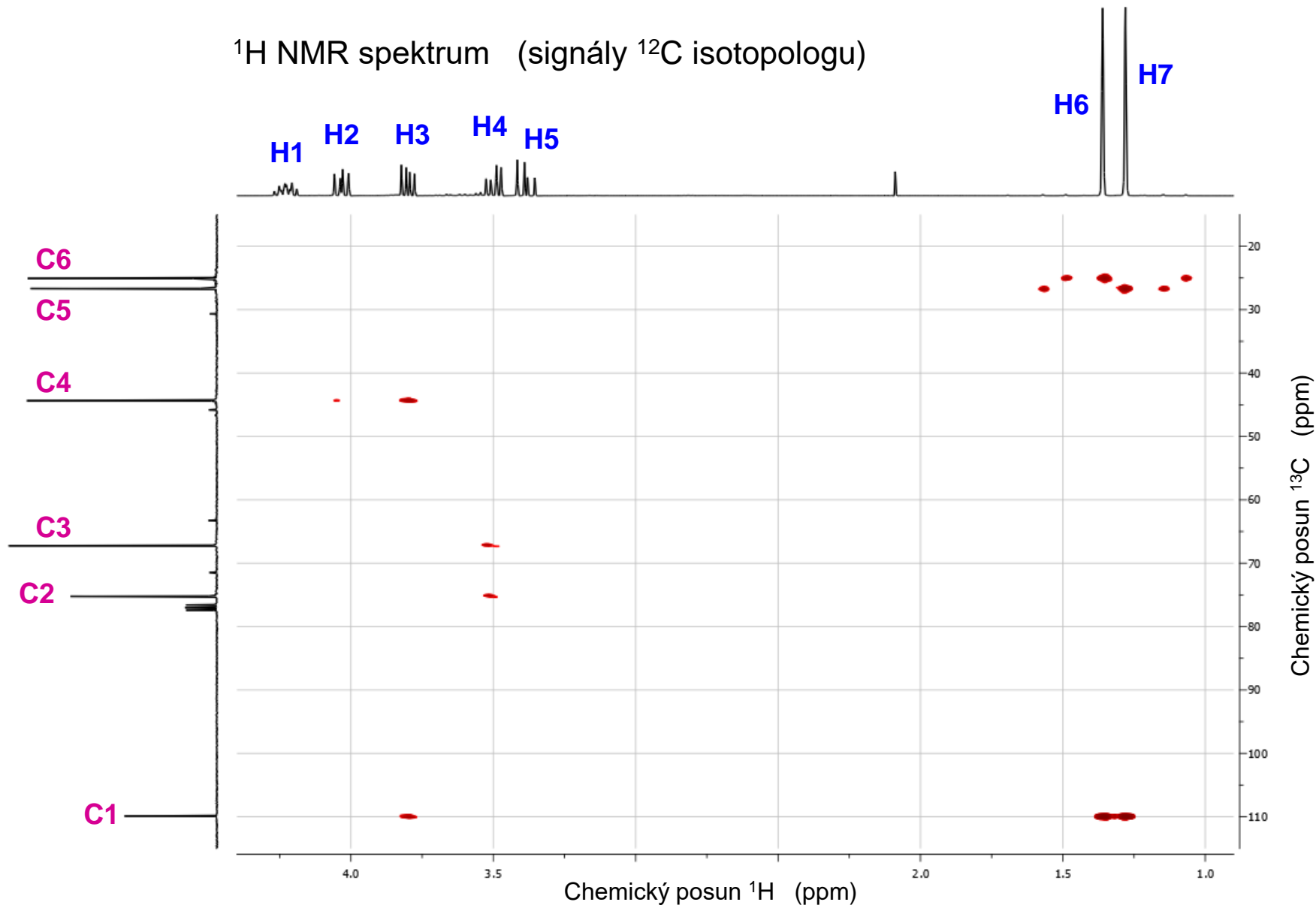
Analýzou HMBC spekter lze navržené strukturní fragmenty potvrdit,
ale zejména **odvodit spojení těchto fragmentů**

Obvykle je experiment HMBC nastaven tak, aby byly detekovány spin-spinové interakce ^1H - ^{13}C o velikosti kolem 8 Hz. To znamená, že intenzivní krosníky odpovídají spin-spinové interakci přes dvě nebo tři vazby.

^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR

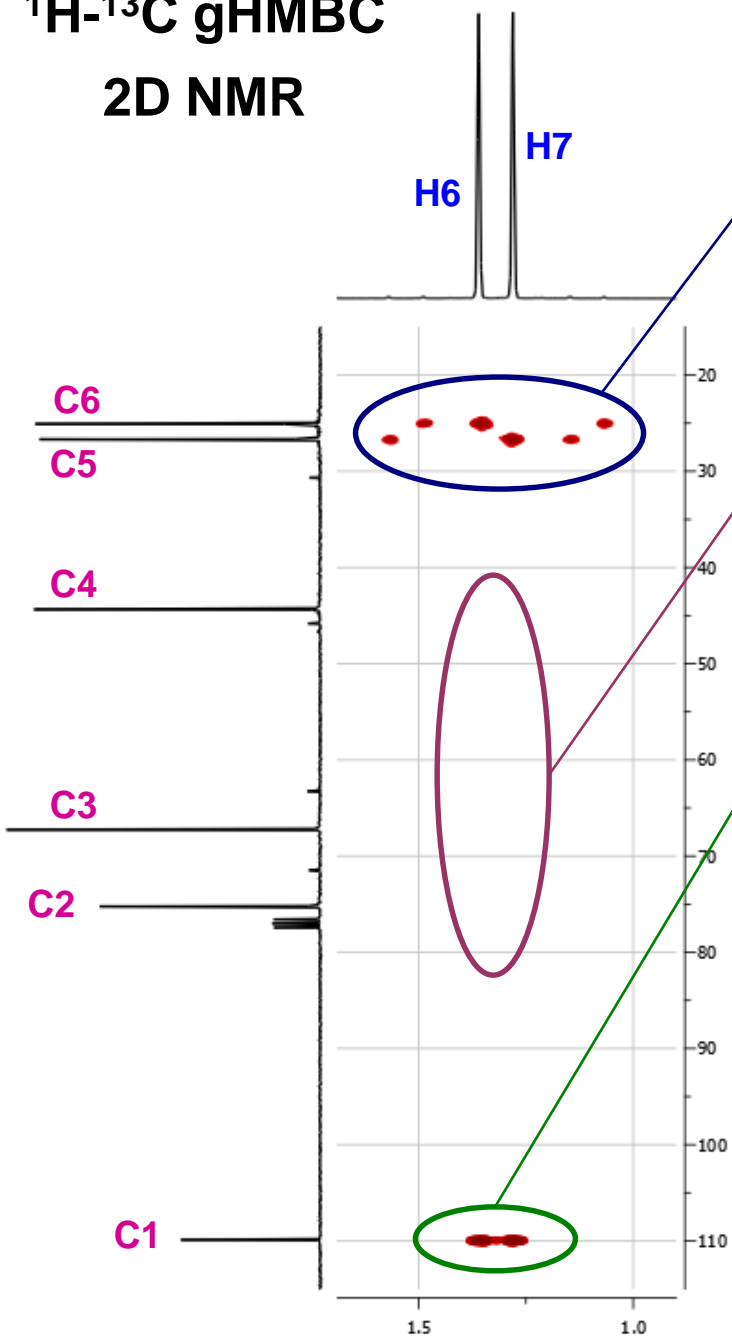
^1H NMR spektrum (signály ^{12}C isotopologu)

^{13}C NMR spektrum (signály $^{13}\text{C}_1$ -isotopologů)



^1H - ^{13}C gHMBC

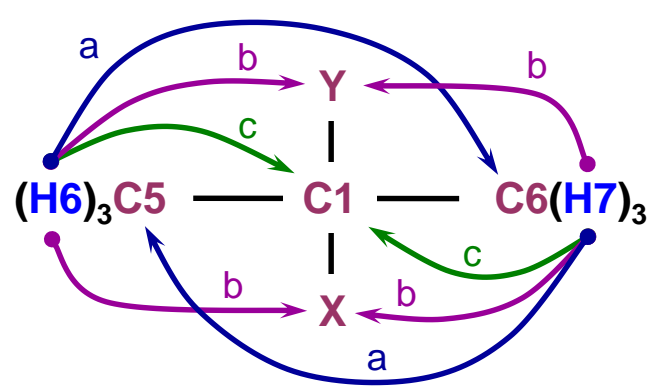
2D NMR



Čtyři krosníky na stranách jsou „artefakty“, viz porovnání HMBC s HSQC dále. Dva krosníky uprostřed potvrzují interakci přes tři vazby, tj. **C5-C1-C6-H7** a **C6-C1-C5-H6**. Intenzita krosníků je malá neboť interakční konstanta je malá (z ^{13}C NMR, $^3J_{\text{CH}} = 3 \text{ Hz}$). Malá je v důsledku přítomnosti elektron-akceptorních atomů vázaných na prostřední uhlík, tj. **C1**.

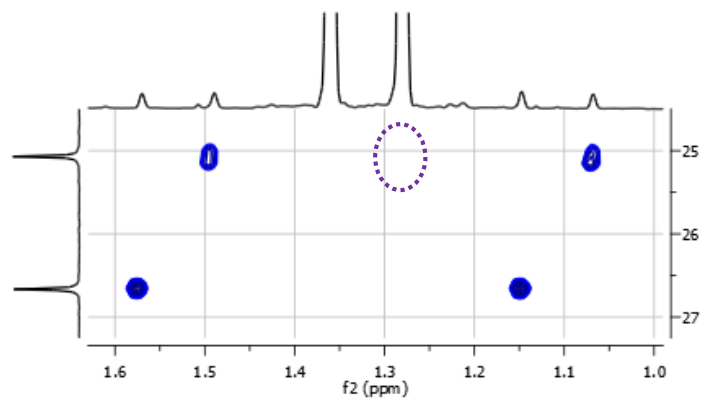
Nepřítomnost krosníků methylových protonů (volná rotace) s uhlíky **C2**, **C3** a **C4** potvrzují, že na uhlík **C1** není velmi pravděpodobně vázán žádný uhlíkový atom, tj. **X** \neq **C** a **Y** \neq **C**.

Značná intenzita krosníků protonů obou methylů s **C1** jsou v důsledku silné interakce přes dvě vazby. Interakce ^{13}C - ^1H přes dvě vazby bývají slabé (nepozorujeme krosník v HMBC spektru). Je-li ovšem na koncovém uhlíku **H-C-C** vázán elektronegativní prvek, pak je interakce naopak obvykle silná a tudíž pozorujeme krosník v HMBC.

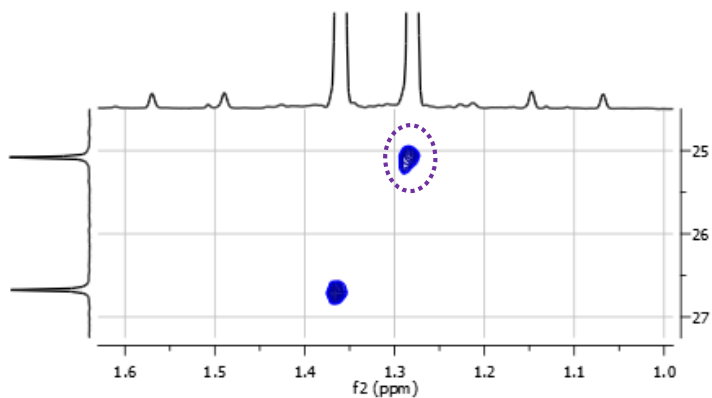


- a) $^2J_{\text{HC}}$ **velká**
X, Y je elektronegativní
- b) $^3J_{\text{HC}}$ **není**
X a Y není uhlík
- c) $^3J_{\text{HC}}$ **malá**
očekávána

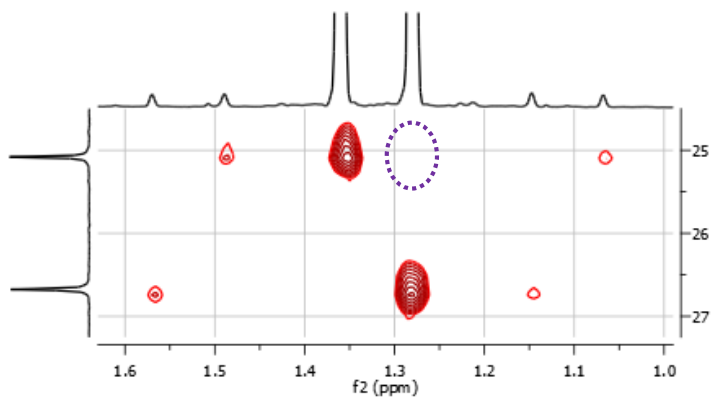
^1H - ^{13}C HSQC versus HMBC 2D NMR



Při měření HSQC či HMQC ukazují krosníky interakci přes jednu vazbu. Je-li měřeno bez dekaplingu ^{13}C , pak je zřejmá podstata experimentu, při kterém detekujeme pouze ty ^1H , které jsou přímo vázány na ^{13}C . V běžném ^1H spektru odpovídají tyto signály ^{13}C satelitům. Jejich vzdálenost pak odpovídá velikosti interakční konstanty $^1J_{\text{HC}}$.

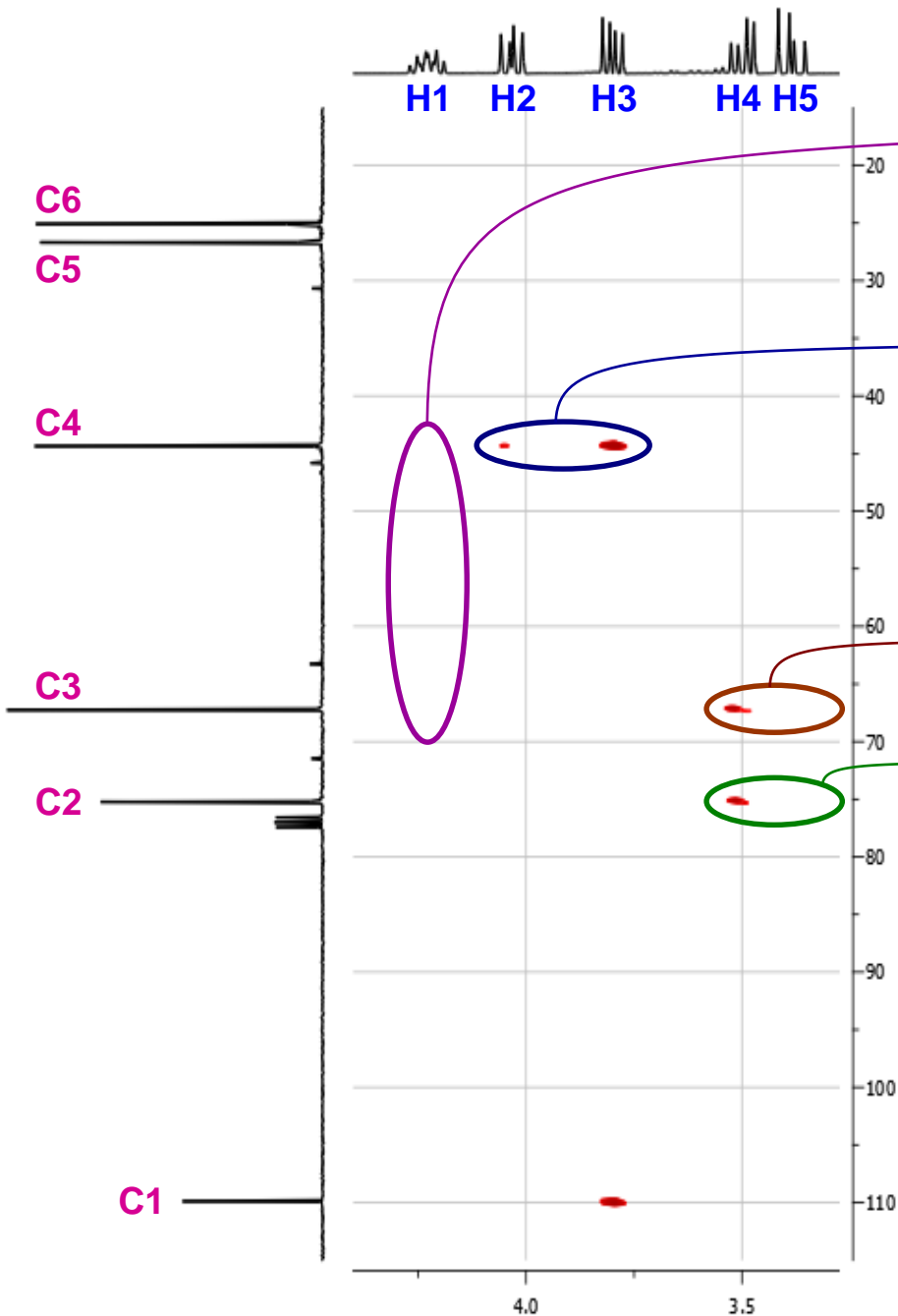


Obvykle se však HSQC měří s dekaplingem ^{13}C , čímž je multiplicita způsobená ^{13}C odstraněna a dublet přechází na singlet. Vzhledem k tomu, že chemický posun protonů ^1H - ^{12}C je velmi podobný protonům ^1H - ^{13}C dostáváme krosníky k protonům vázaným na ^{12}C , tj. k majoritním signálům ^1H spektra látky.



Při měření HMBC odpovídají krosníky interakcím přes 2 až 3 vazby ($J_{\text{HC}} \sim 8$ Hz), zatímco krosníky interakcí ^1H - ^{13}C přes jednu vazbu jsou potlačovány podstatou experimentu, tj. není používán ^{13}C dekapling. Často však dochází k neúplnému potlačení těchto signálů, a jsou pozorovány jako málo intenzivní „artefakty“, tj. HMQC krosníky k ^{13}C satelitům ^1H spektra.

^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR

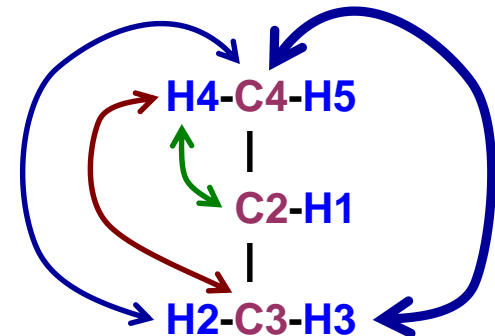


Proton **H1** je od uhlíků **C4** a **C3** vzdálen pouze přes dvě vazby, okolní substituenty obvyklou velikost této $^2J_{\text{CH}}$ patrně nezvyšují a proto nejsou pozorovány žádné krosníky.

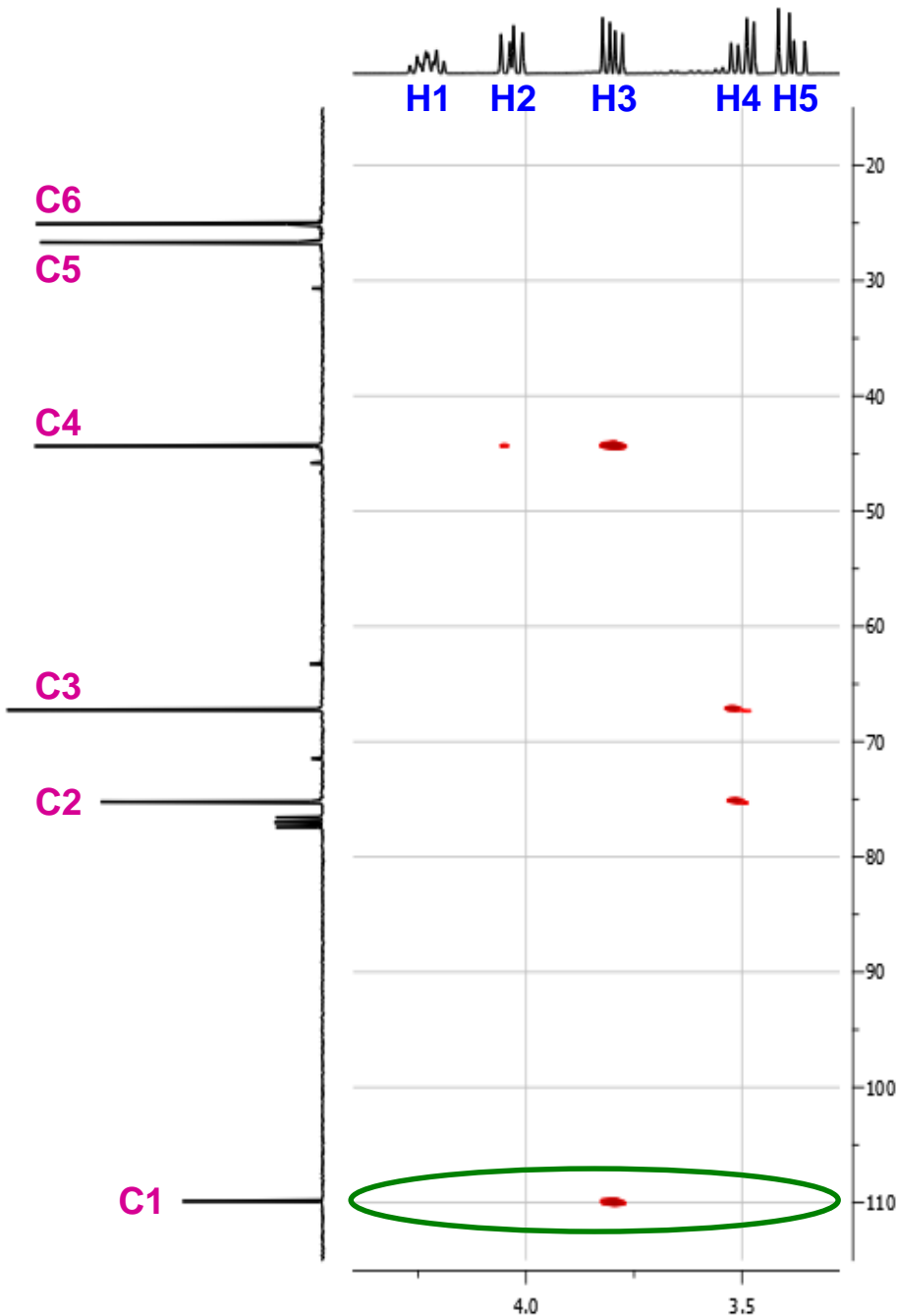
Protony **H2** a **H3** jsou vzdáleny od uhlíku **C4** tři vazby, a v HMBC jsou tedy pozorovány krosníky. Rozdílná intenzita signálů vypovídá o různých a víceméně fixních dihedralních úhlech **H2-C3-C2-C4** a **H3-C3-C2-C4** → bráněná rotace → cyklická struktura?

Analogická situace je pro vztah protonů **H4** a **H5** k uhlíku **C3** → bráněná rotace → cyklická struktura?

Interakce mezi **C2** a **H4**, která je pouze přes dvě vazby, je vlivem okolních substituentů zvýšena natolik, že je pozorován krosník. Všimněme, že krosník s **H5** pozorován není.



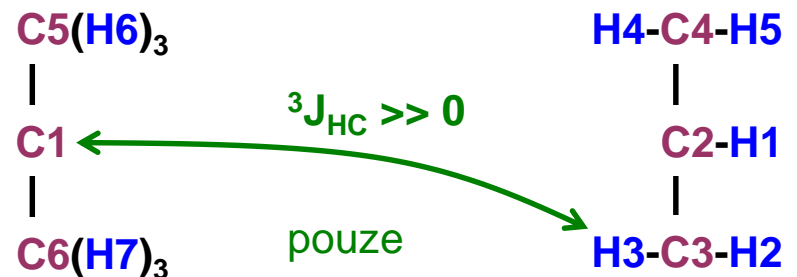
^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR



V kombinaci s indicií, že **C1** není vázán na jiný uhlíkový atom (krom **C5** a **C6**) je zřejmé, že pozorovaný krospek odpovídá interakci přes tři vazby. Skutečnost, že krospek je pozorován pouze s **H3** a nikoli i s **H2**, který je vázán na stejný uhlík jako **H3** (viz HSQC), a tudíž je také tři vazby vzdálen, ukazuje na bráněnou rotaci této skupiny, což má za následek fixní a v tomto případě i rozdílné dihedralní úhly **H2-C3-O-C1** a **H3-C3-O-C1**.

Lze tedy očekávat, že pokud by byl na atom kyslíku vázán uhlík **C4**, pak by alespoň jeden z jeho protonů (**H4** a **H5**) měl v HMBC krospek podobně protonům uhlíku **C3** (**H2** a **H3**). Jelikož tento krospek chybí, lze předpokládat, že tomu tak není, tj. vodíky **H4** a **H5** jsou vzdáleny čtyři či více vazeb.

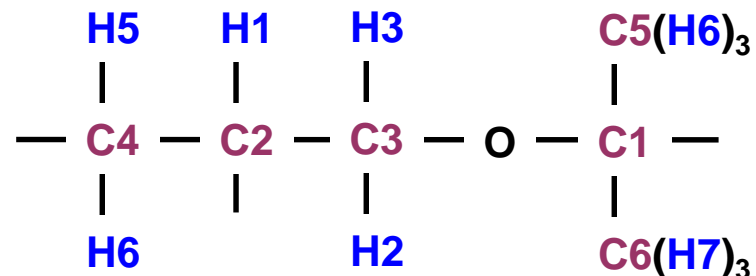
Naproti tomu je-li přes kyslík vázán uhlík **C2**, pak lze předpokládat, že krospek protonu **H1** s uhlíkem **C1** není v HMBC pozorován v důsledku fixního dihedralního úhlu. Lze předpokládat, že dihedralní úhel **H1-C2-O-C1** je podobný úhlu **H2-C3-O-C1**.



Možná spojení strukturních fragmentů

Spektrum HMBC

- nevyvrátilo fragment **C4-C2-C3**
- potvrdilo fragment **C5-C1-C6**
- podporuje přítomnost cyklu
- podporuje spojení fragmentů přes **C1-O-C3-H3**

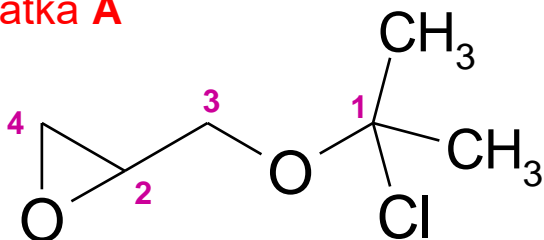


Ze sumárního vzorce tedy zůstává jeden **chlor**, který může být vázán pouze na **C1**, **C2** nebo **C4**, a jeden **kyslík**, který pak uzavírá kruh mezi zbývajícím valencemi

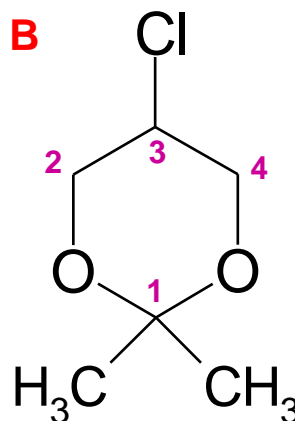
Dimery či vyšší symetrické ekvivalenty vylučuje sumární vzorec

Nabízí se tedy pouze látka **A**, látka **B** nebo látka **C**, přičemž látka **B** je symetrická a tudíž jí lze vyloučit neb experimentální spektra odpovídají nesymetrické látce

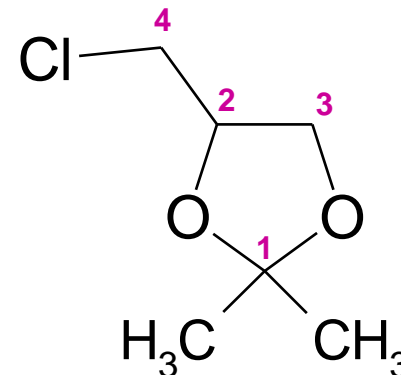
Látka A



Látka B



Látka C



NMR ... Počet signálů

-109.89

77.43

77.00

76.58

75.23

-71.46

-67.25

-63.26

-45.81

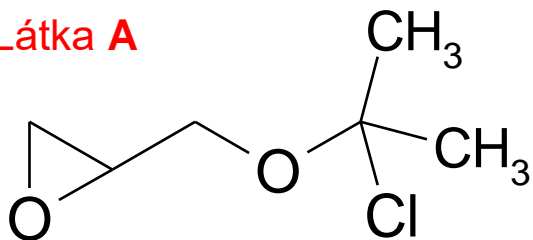
-44.36

-30.68

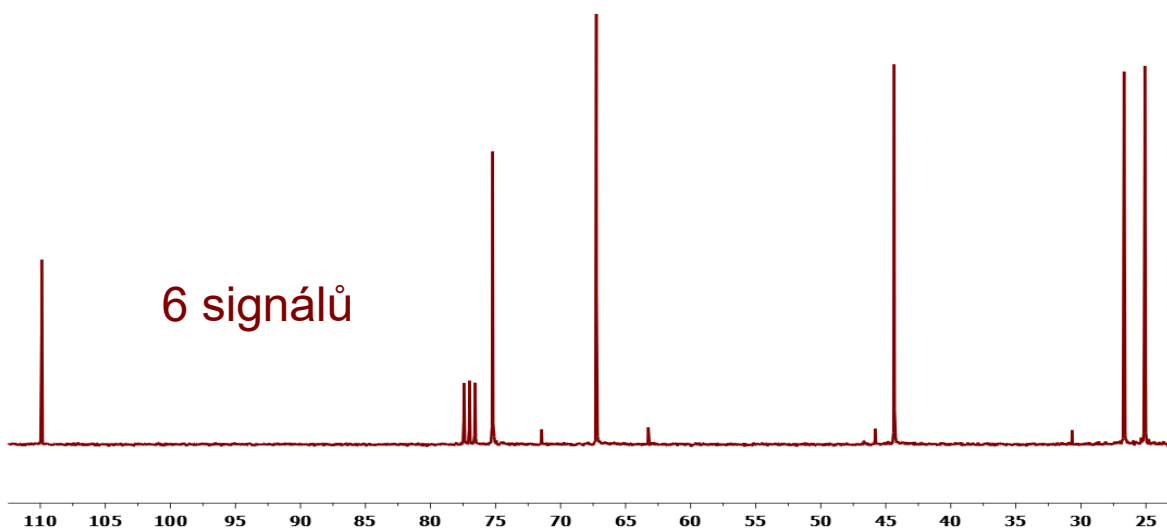
-26.68

-25.08

Látka A

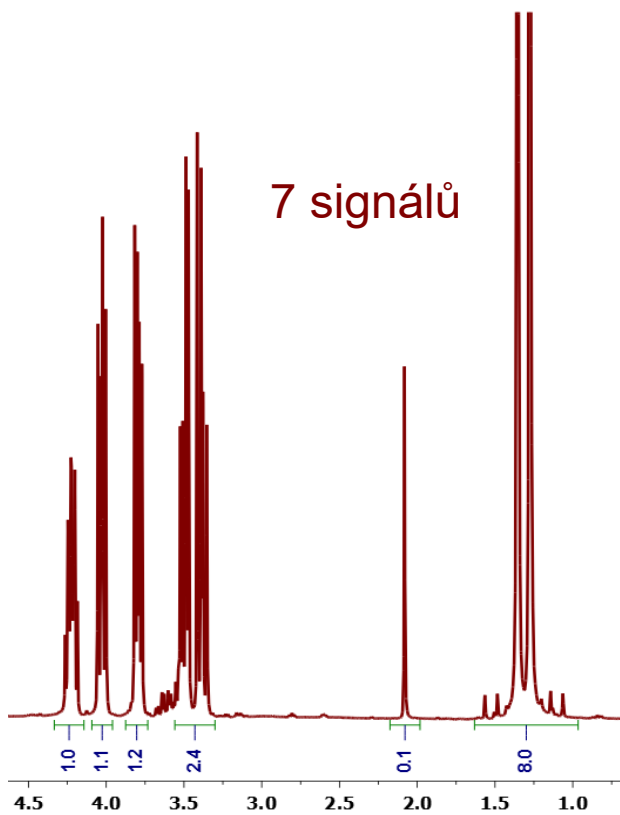


6 signálů v ^{13}C
7 signálů v ^1H

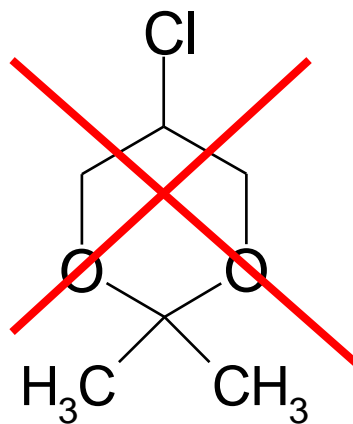


6 signálů

7 signálů



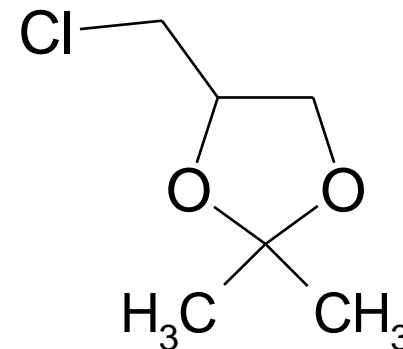
Látka B



5 signálů v ^{13}C
5 signálů v ^1H

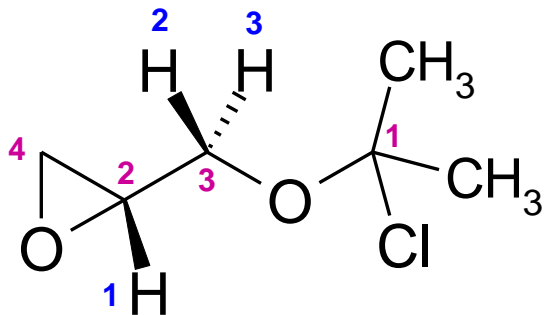
Methyl je *E/Z* k Cl, a vodíky CH_2 jsou diastereotopní

Látka C



6 signálů v ^{13}C
7 signálů v ^1H

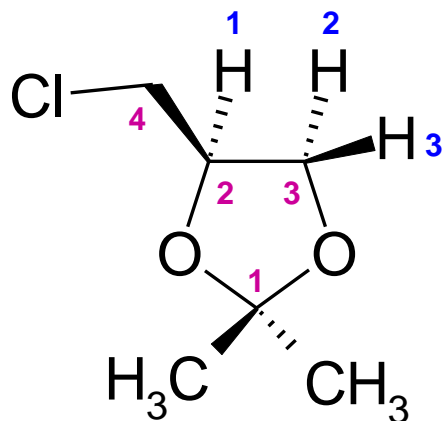
Možné molekulové struktúry *versus* experimentálné HMBC spektrum



Látka A

Uhlík **C1** a proton **H1** na uhlíku **C2** je vzdálen čtyři vazby a tudíž není krosník v HMBC očekávan – a pozorován není

Lze předpokládat, že v důsledku volné rotace budou v HMBC krosníky uhlíku **C1** s oběma vodíky **H2** a **H3** uhlíku **C3** – **Ale! pozorován je pouze s H3**



Látka C

Lze předpokládat, že dihedralní úhly **C1-O-C3-H3** a **C1-O-C3-H2** se mohou lišit a tudíž může být velikost jedné z interakčních konstant natolik malá, že nebude v HMBC pozorována – a pozorován je krosník **C1** pouze s **H3**

Dále lze předpokládat, že dihedralní úhly **C1-O-C3-H2** a **C1-O-C2-H1** budou podobné, a krosník v HMBC buď bude pozorován u obou a nebo ani s jedním – a pozorován není krosník **C1** ani s **H1** ani s **H2**

Lze očekávat rotaci kolem **C2-C4** a tedy krosníky **C3** s oběma vodíky na uhlíku **C4**, tj. **H4** a **H5** – **Ale! pozorován je pouze s H4**

Rozhodnut jednoznačně mezi látkami **A** a **C** pomocí HMBC nelze