

# Měření a interpretace NMR spekter

Bohumil Dolenský

E-mail : [dolenskb@vscht.cz](mailto:dolenskb@vscht.cz)

Telefon : (+420) 220 44 4110

Místnost : budova A, místnost 28

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

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

verze 20. 10. 2020

# Stupeň nenasycenosti – ekvivalent dvojných vazeb

Je-li sumární (nikoli empirický) vzorec správný a odpovídá-li pouze jedné látce, pak každý z atomů musí být nutně vázán alespoň k jednomu jinému atomu.

Prvky lze rozdělit na jednovazné (např.: H, F, Cl, Br, I, ...) a vícevazné (např.: C, O, ...). Zajímavým údajem je celkový počet valencí u každé z této skupiny prvků sumárního vzorce. U jednovazných je celkový počet valencí roven jejich počtu ( $C_6H_{11}ClO_2 = 12$ ). U vícevazných je potřeba počet jednotlivých atomů vynásobit jejich valencí ( $C_6H_{11}ClO_2 = 6 \cdot 4 + 2 \cdot 2 = 28$ ). Pozor na atomy, které mohou mít různou valenci (např.: N, P, S, ...); v takovém případě je nutno vždy zvažovat více možností výpočtu.

Pokud má sumární vzorec  $n$  vícevazných atomů ( $C_6H_{11}ClO_2 = 8$ ), pak mezi sebou musí mít alespoň  $n - 1$  jednoduchých vazeb. Těchto  $n - 1$  vazeb vyžaduje dvojnásobek valencí, tj.  $2 \cdot (8 - 1) = 14$ .

Odečteme-li od celkového počtu volných valencí vícevazných prvků počet valencí potřebných pro jejich spojení a počet jednovazných atomů, dostaneme celkový počet volných valencí, tj.  $28 - 14 - 12 = 2$ .

Jelikož na vytvoření vazby jsou potřeba dvě valence, pak vydělením počtu volných valencí dvěma dostaneme číslo, které se nazývá stupeň nenasycenosti či ekvivalent dvojných vazeb (double bond equivalent, DBE). Toto číslo je součtem počtu cyklů, dvojných vazeb a dvojnásobku trojných vazeb v molekule.

Pokud je stupeň nenasycenosti 0, pak látka neobsahuje žádné násobné vazby ani cykly. Pokud je stupeň nenasycenosti 1, pak látka obsahuje buď jednu dvojnou vazbu nebo jeden cyklus. Pokud je stupeň nenasycenosti 2, pak látka obsahuje buď jednu trojnou vazbu nebo dvě dvojně vazby nebo dva cykly nebo jednu dvojnou vazbu a jeden cyklus. Pokud je ... atd.

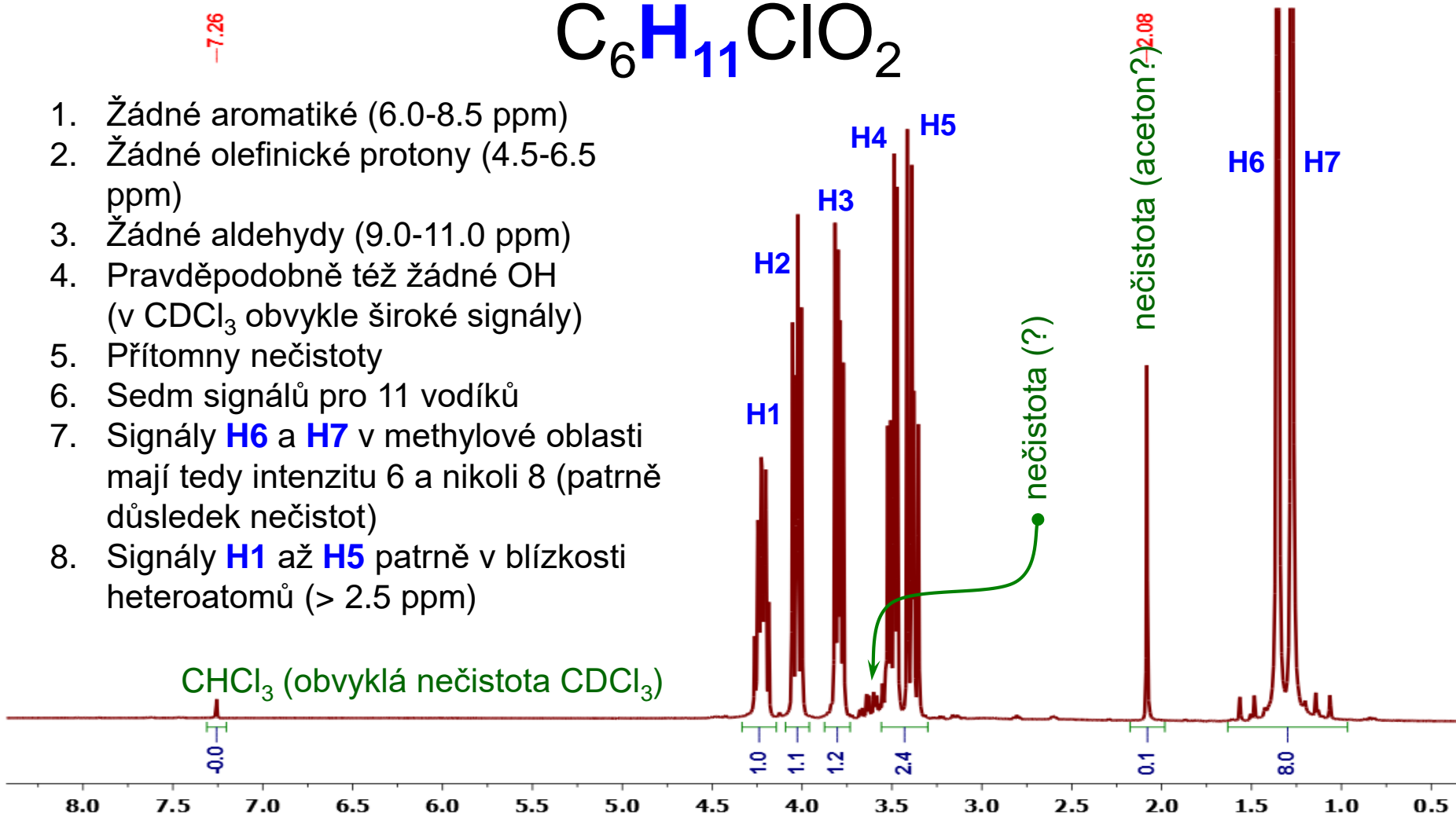
Pokud vyjde stupeň nenasycenosti jako necelé nebo záporné číslo, pak je sumární vzorec nesprávně.

Stupeň nenasycenosti  $C_6H_{11}ClO_2$  je roven jedné, což znamená, že látka obsahuje buď jednu dvojnou vazbu a nebo jeden cyklus.

# $^1\text{H}$ NMR

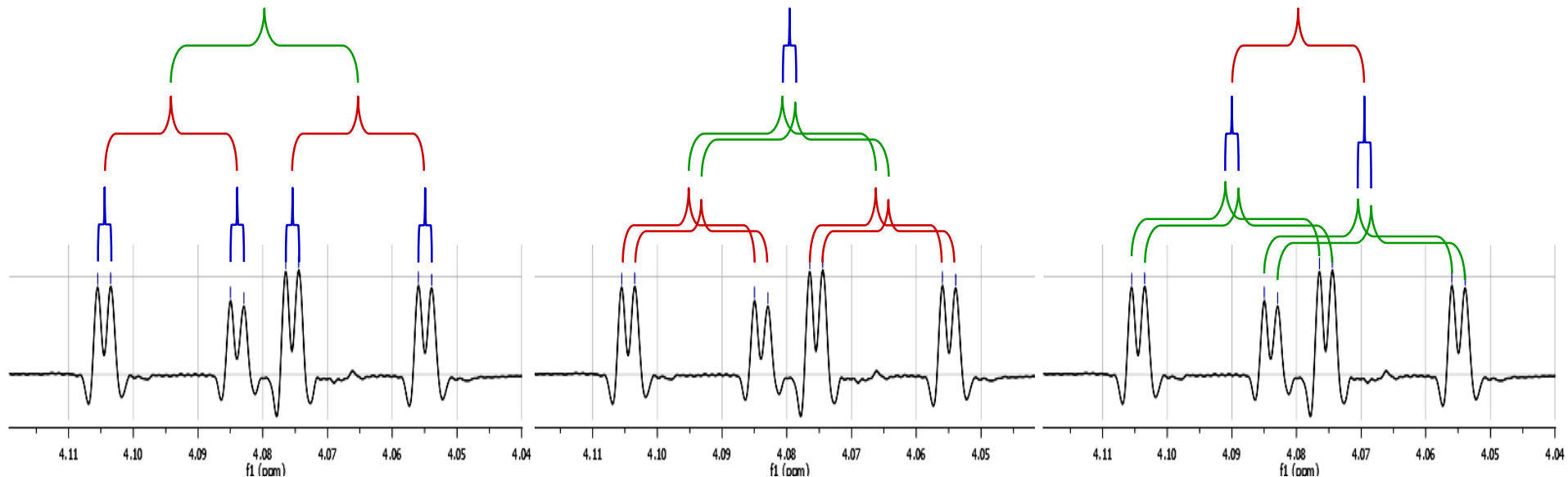


1. Žádné aromatické (6.0-8.5 ppm)
2. Žádné olefinické protony (4.5-6.5 ppm)
3. Žádné aldehydy (9.0-11.0 ppm)
4. Pravděpodobně též žádné OH (v  $\text{CDCl}_3$  obvykle široké signály)
5. Přítomny nečistoty
6. Sedm signálů pro 11 vodíků
7. Signály **H6** a **H7** v methylové oblasti mají tedy intenzitu 6 a nikoli 8 (patrně důsledek nečistot)
8. Signály **H1** až **H5** patrně v blízkosti heteroatomů (> 2.5 ppm)



Integrální intenzita signálů není rovna 11, ale 13. Je to důsledkem rutinního měření, při kterém je chyba integrace i více než 20 %. Značné zkreslení mohou vznést i přítomné nečistoty. Je proto vhodné normalizovat integrály na celkový součet 11H. Poměr 1,0 : 1,1 : 1,2 : 2,4 : 8,0 tak přejde na 0,8 : 0,9 : 1,0 : 1,9 : 6,4 tedy po zaokrouhlení na celá čísla 1 : 1 : 1 : 2 : 6.

# Analýza signálu **ddd** **dublet** **dubletů** **dubletů**

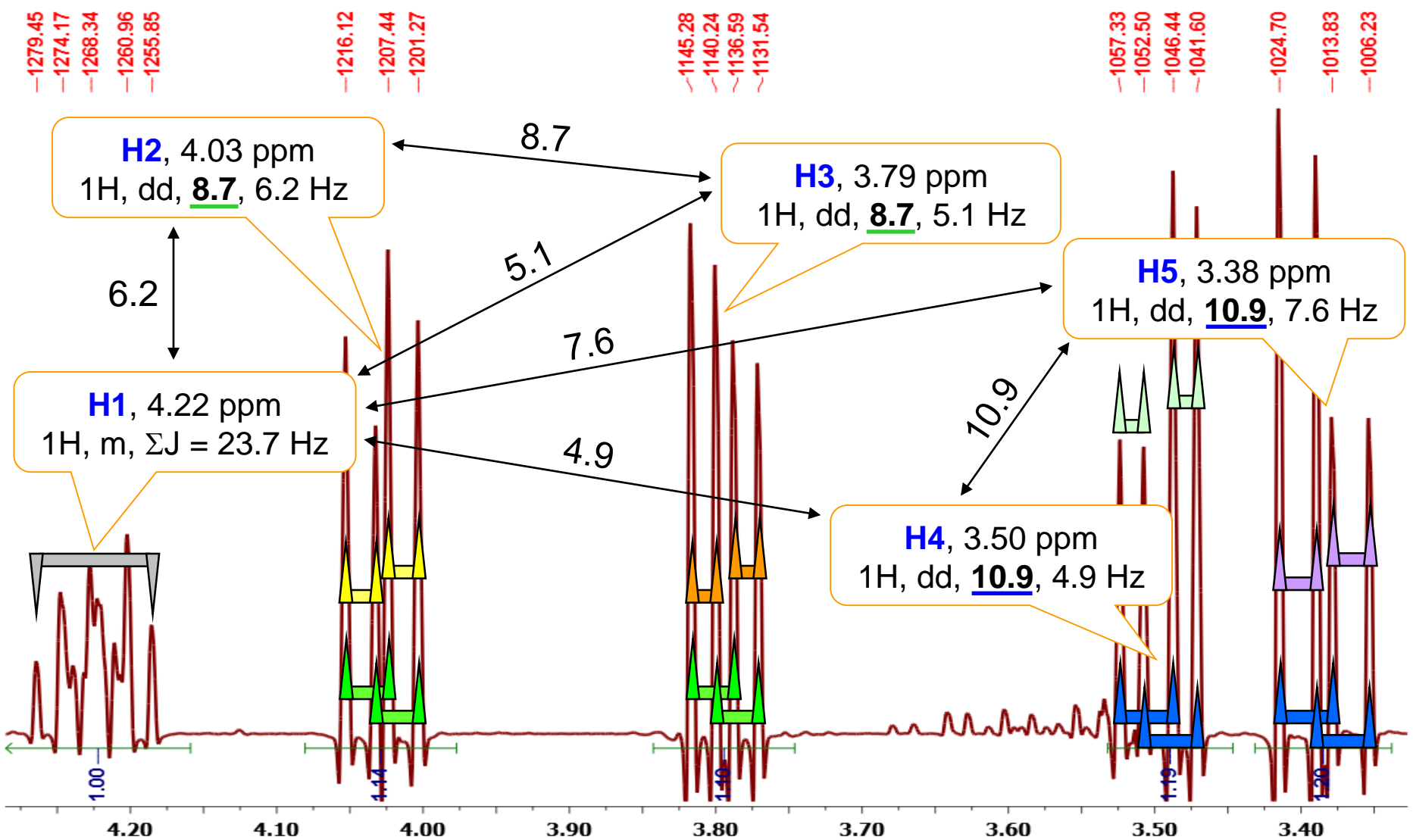


Na „pořadí štěpení“ nezáleží – výsledný multiplet bude vždy stejný

# $^1\text{H}$ NMR

a) Šířka signálu **H1** odpovídá součtu nepřiřazených interakčních konstant ostatních signálů  $5.1 + 7.6 + 4.9 + 6.2 = 23.8$  Hz.

b) U simulovaného spektra je dobrá shoda tvaru signálu **H1** a též střechových efektů na ostatních signálech.



# $^1\text{H}$ NMR Střechový efekt (tzv. střechy)

Vnitřní linie (píky) signálů (multipletů) interagujících jader jsou intenzivnější než vnější

Střechový efekt klesá s rostoucí vzdáleností signálů interagujících jader

„zelená střecha“ se vzdáleností od **H1** mírní sklon

Některé píky **H1** splývají

Naměřené šířky píků v polovině výšky

1.25

1.35

**H1**

**H2**

**H3**

**H4**

**H5**

širší signály **H2** než **H3**  
= nižší signály **H2** než **H3**

širší signály **H4** než **H5**  
= nižší signály **H4** než **H5**

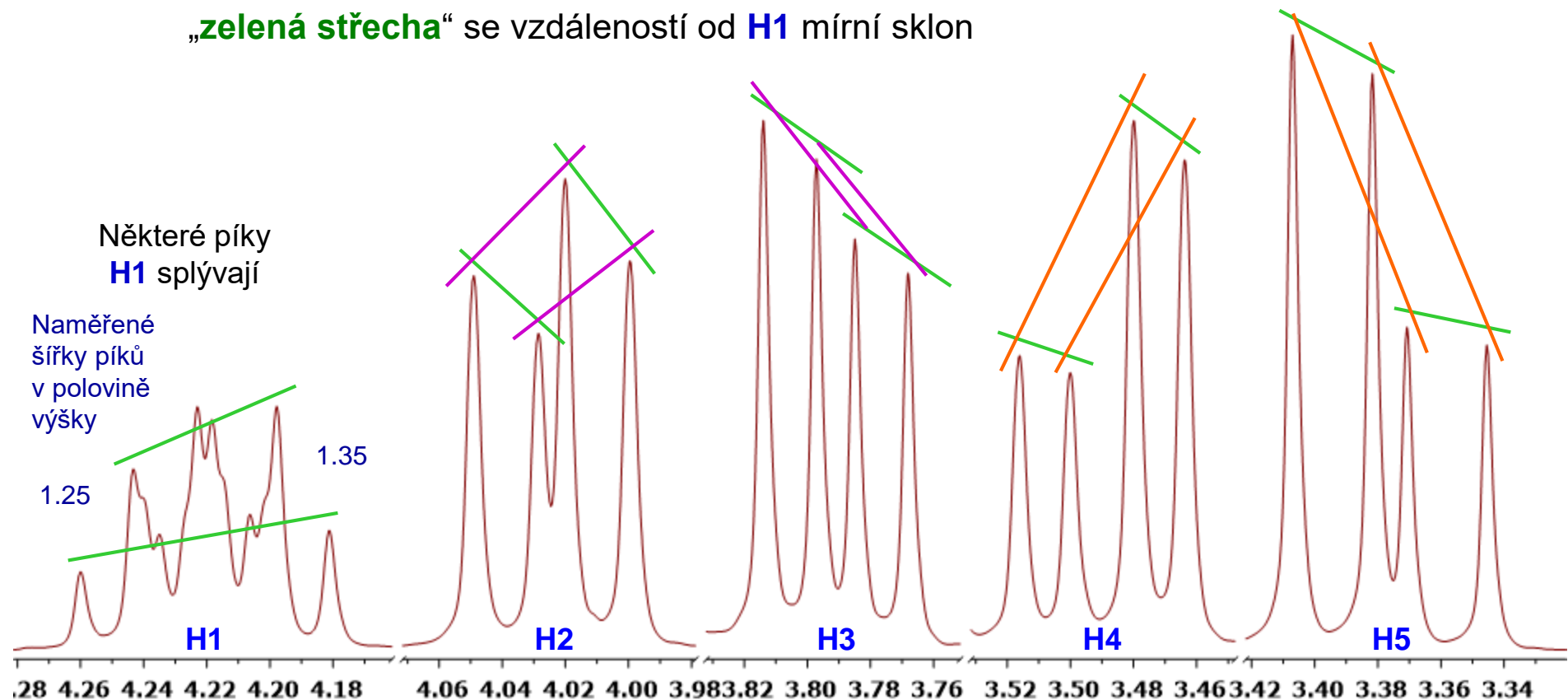
Naměřené šířky píků v polovině jejich výšky

1.23, 1.19, 1.18, 1.12

1.19, 1.17, 1.21, 1.16

1.42, 1.31, 1.49, 1.35

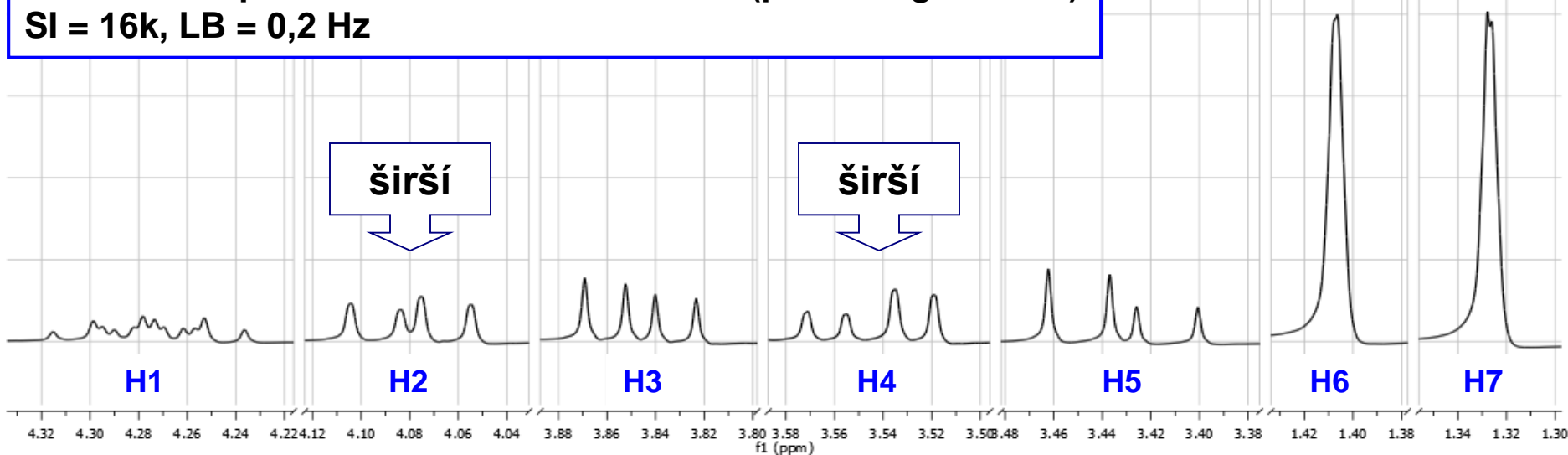
1.41, 1.49, 1.41, 1.34



# $^1\text{H}$ NMR – různé zpracování naměřených dat

Standardní zpracování – důraz na citlivost (poměr signál-šum)

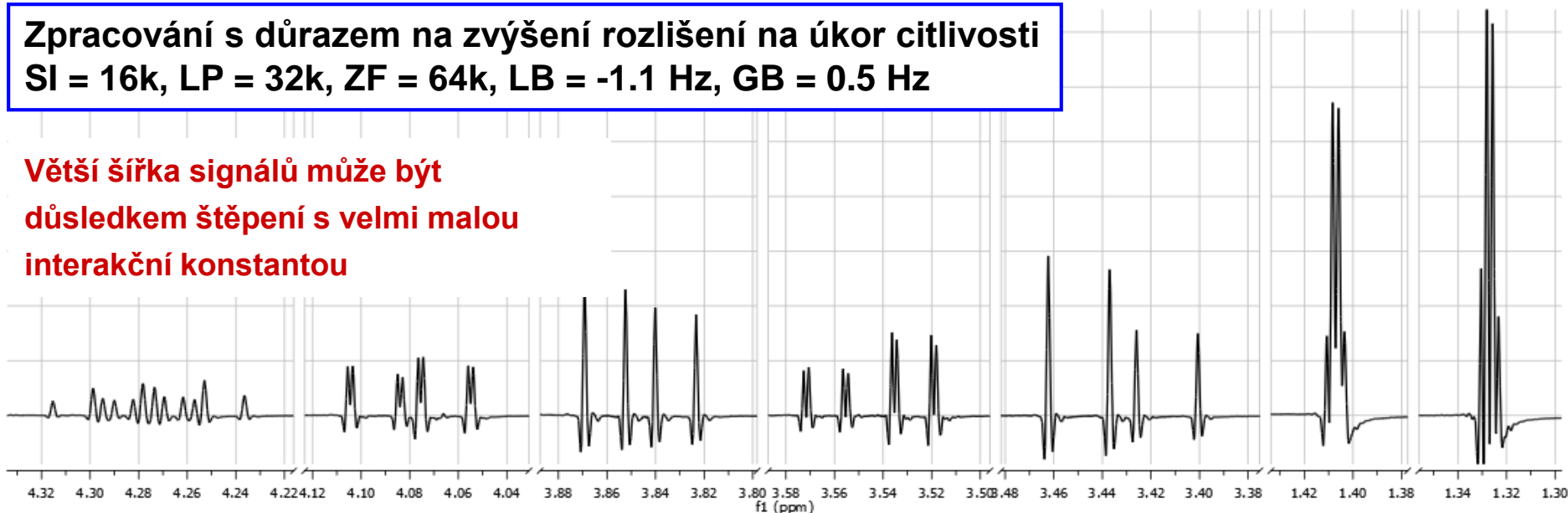
SI = 16k, LB = 0,2 Hz



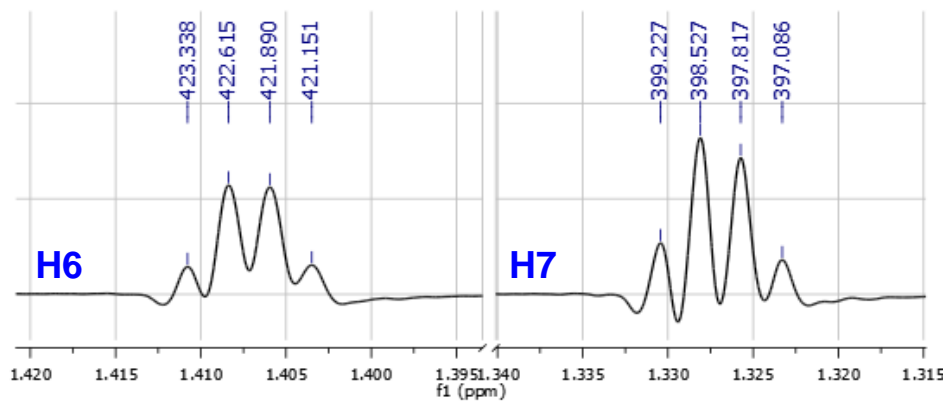
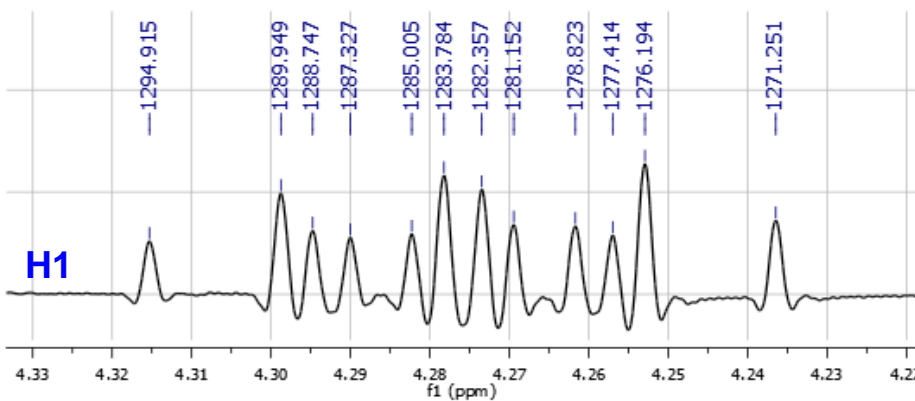
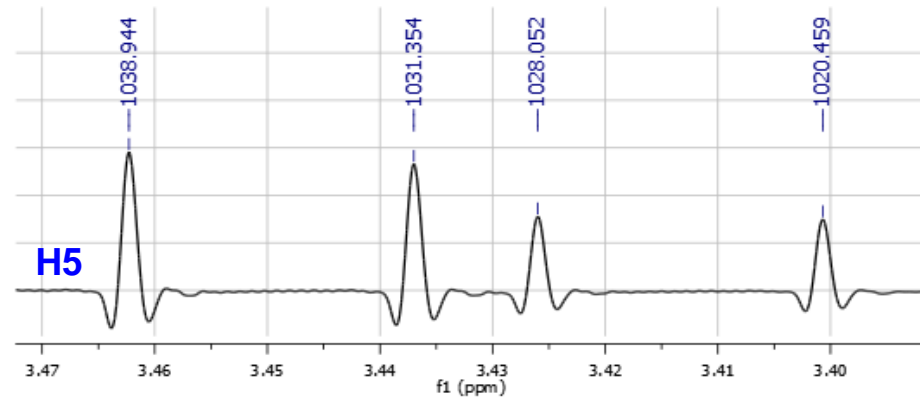
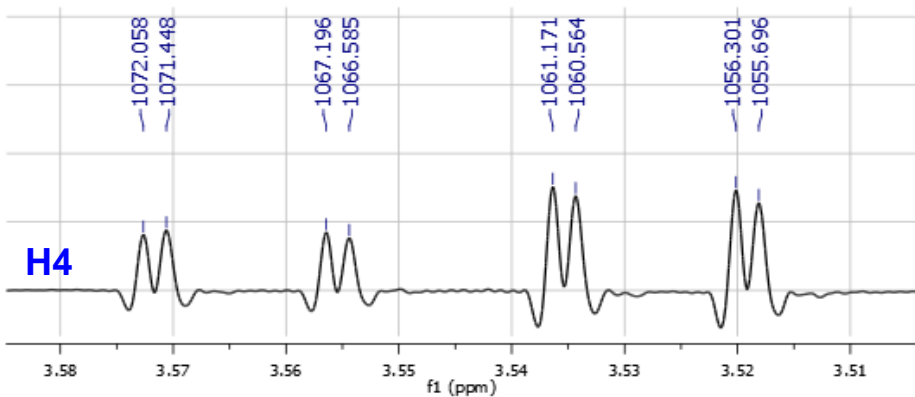
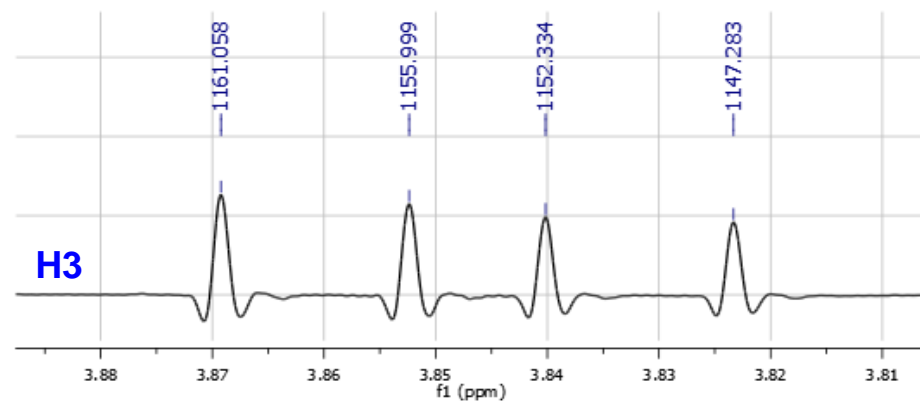
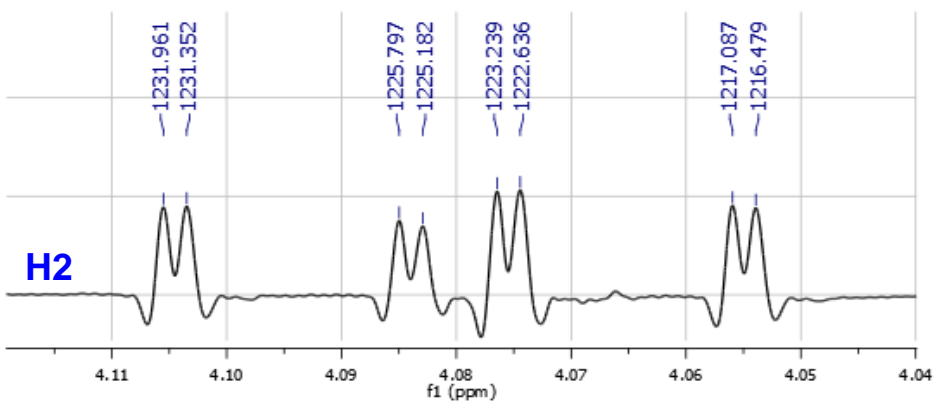
Zpracování s důrazem na zvýšení rozlišení na úkor citlivosti

SI = 16k, LP = 32k, ZF = 64k, LB = -1.1 Hz, GB = 0.5 Hz

Větší šířka signálů může být  
důsledkem štěpení s velmi malou  
interakční konstantou



# $^1\text{H}$ NMR Stanovte multiplicitu a velikost interakčních konstant





# $^1\text{H}$ NMR

H6

H7

H6, 1.36 ppm, 3H, q, 0,7  
H7, 1.28 ppm, 3H, q, 0,7

nebo

1.32 ppm, 6H, d, 23.9 Hz

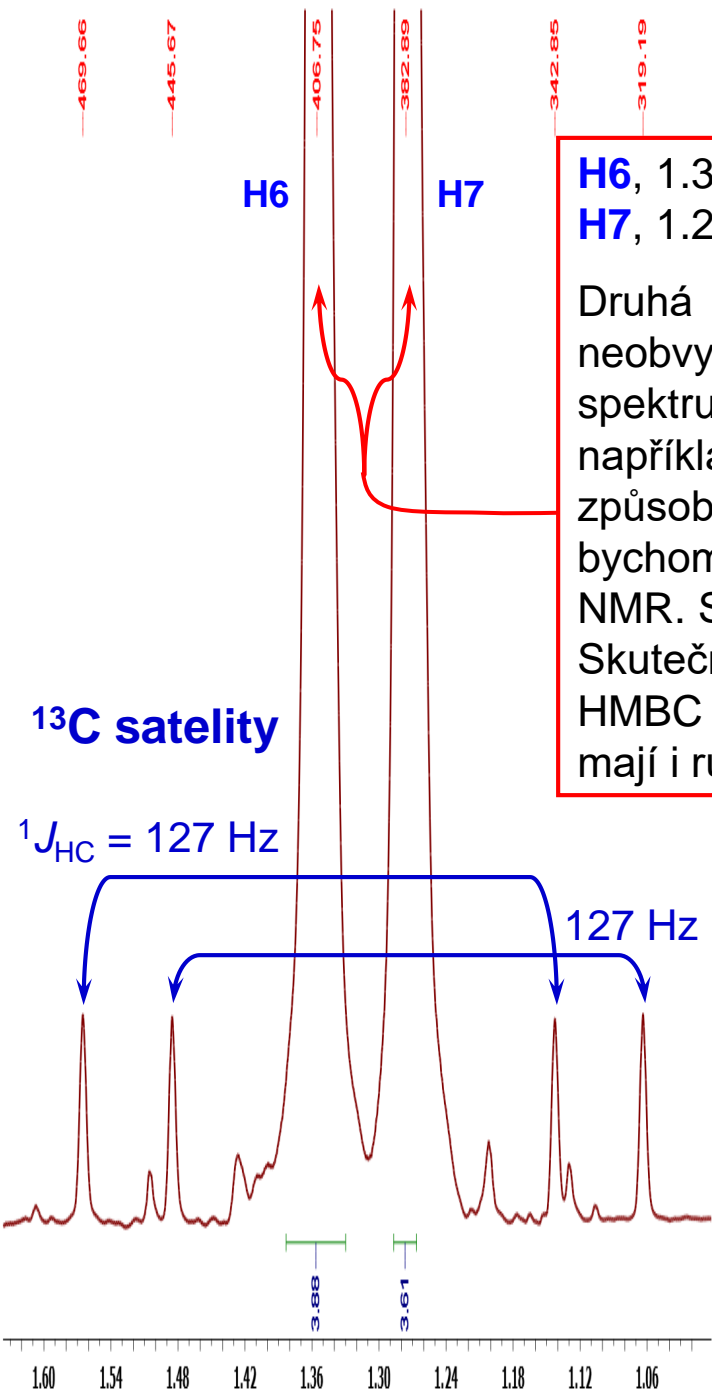
Druhá možnost by vyžadovala přítomnost dalšího signálu s takto neobvykle velkou interakční konstantou. Takový signál ale ve spektru již není. Další možností je přítomnost jiného jádra, jako například jednoho jádra  $^{31}\text{P}$  nebo  $^{19}\text{F}$ , které by dubletové štěpení způsobilo (oba mají spin  $\frac{1}{2}$  a 100% zastoupení). V takovém případě bychom však pozorovali zvýšenou multiplicitu signálů též v  $^{13}\text{C}$  NMR. Sumární vzorec však tuto možnost vylučuje předem.

Skutečnost, že signály jsou dva je dále potvrzena tím, že jak v HMBC tak v HSQC korelují linie s různými uhlíky. V neposlední řadě mají i různé odezvy v NOE experimentech.

$^{13}\text{C}$  satelity

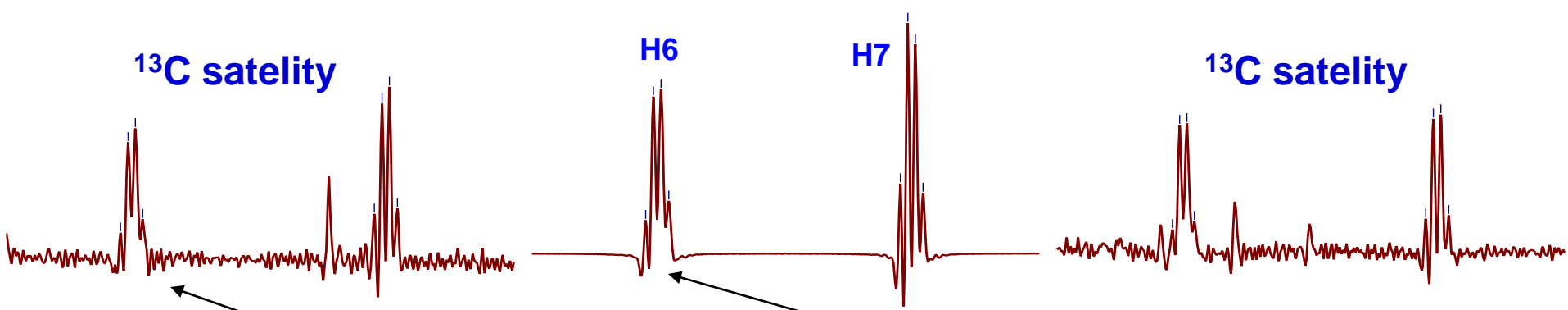
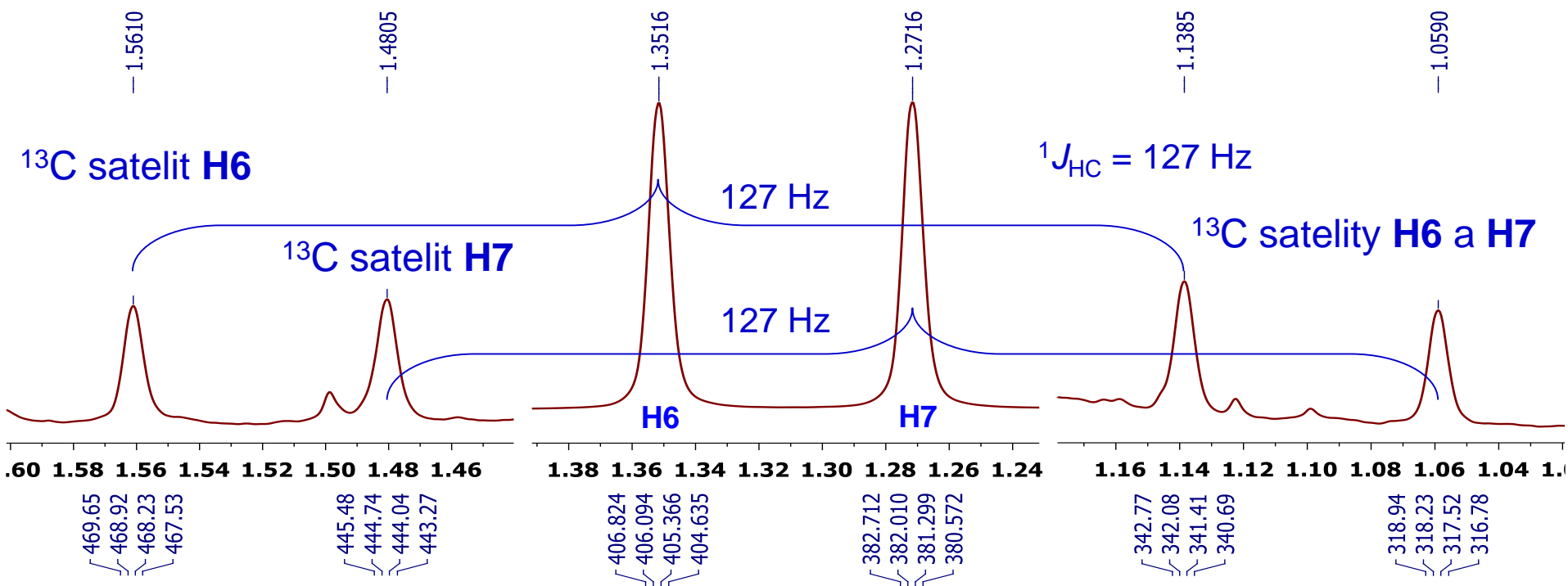
$^1J_{\text{HC}} = 127 \text{ Hz}$

127 Hz



$^{13}\text{C}$  satelity ... Pro látky s přirozeným zastoupením isotopů platí, že ca. 98,9 % molekul má vodík  $^1\text{H}$  vázaný na uhlík  $^{12}\text{C}$ , který má nulový magnetický spin a jeho přítomnost se ve spektru neprojeví multiplicitou. Avšak 1,1 % molekul má vodík  $^1\text{H}$  vázán na atom  $^{13}\text{C}$ , který má magnetický spin  $\frac{1}{2}$  a projeví se tedy zvýšením multiplicity signálu  $^1\text{H}$  na dublet. Velikost interakční konstanty  $^1J_{\text{HC}}$  závisí na hybridizaci uhlíku a na připojených atomech, a je tedy velmi dobrou indicií strukturní analýzy. Hodnota 127 Hz a chemický posun signálů napovídá na dvě neekvivalentní uskupení  $\text{CH}_3\text{-C}$ .

# $^1\text{H}$ NMR ... Multiplicita $^{13}\text{C}$ satelitů



Pokud má  $^{13}\text{C}$ -isotopolog stejnou symetrii molekuly jako  $^{12}\text{C}$ -isotopolog, má  $^{13}\text{C}$  satelit stejnou multiplicitu jako signál  $^{12}\text{C}$ -isotopologu

# Seznam signálů a indicie $^1\text{H}$ NMR spektra

- H1**, 4.22 ppm, 1H, m,  $\Sigma J = 23.7$  Hz
- H2**, 4.03 ppm, 1H, dd, 8.7, 6.2 Hz
- H3**, 3.79 ppm, 1H, dd, 8.7, 5.1 Hz
- H4**, 3.50 ppm, 1H, dd, 10.9, 4.9 Hz
- H5**, 3.38 ppm, 1H, dd, 10.9, 7.6 Hz
- H6**, 1.36 ppm, 3H, q, 0,6 Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz
- H7**, 1.28 ppm, 3H, q, 0,6 Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz

Stupeň nenasycenosti je roven jedné. Signály v oblasti typické pro olefinické protony (4.5 – 6.5 ppm) chybí – buď tedy na fragment  $\text{C}=\text{C}$  není vázán žádný proton nebo je z nějaké příčiny mimo svou typickou oblast nebo tento fragment ve struktuře není. Vzhledem k přítomnosti kyslíkových atomů nelze rovněž vyloučit přítomnost  $\text{C}=\text{O}$  skupiny. Nepřítomnost signálu v oblasti 8.5 – 11 ppm téměř vylučuje aldehyd, a nepřítomnost rozšířeného signálu v oblasti nad 10 ppm hovoří v neprospěch karboxylové kyseliny (může být však velmi široký). Naproti tomu přítomnost ketonu či esteru nic nevylučuje. Poslední možností k vysvětlení stupně nenasycenosti je přítomnost cyklu.

Nepřítomnost rozšířených signálů napovídá o nepřítomnosti OH, ale nevylučuje jí.

Chemické posuny signálů **H1** až **H5** v oblasti nad 3.5 ppm ukazují na blízkost elektron-akceptorní skupiny. Sumární vzorec tuto možnost potvrzuje (O, Cl). V tabulkách lze vyhledat, že protony na uhlíku připojeného na chlor mají typicky chemický posun v rozmezí 3,3 – 4,6 ppm. Pokud je uhlík připojen na kyslík pak je rozmezí 3,5 – 5,3 ppm.

Velikost interakční konstanty  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  přes tři vazby závisí především na okolních substituentech, na délce vazeb, na úhlech a na dihedrálním úhlu, a pohybuje se v rozmezí 0 až 18 Hz. Pro fragment s volnou rotací má obvykle hodnotu v rozmezí 6,0 – 8,0 Hz. Odchyly od tohoto rozmezí obvykle napovídají bráněné rotaci – například u cyklických struktur. Interakce nad 8 Hz jsou obvyklé při interakci olefinických protonů přes tři vazby ( $J_{cis} = 5\text{-}14$  Hz,  $J_{trans} = 12\text{-}18$  Hz, vždy  $J_{cis} < J_{trans}$ ), nebo pro interakce alifatických protonů přes dvě vazby, tj. pro neekvivalentní protony vázané na stejný uhlík – diastereotopní protony. Týká se to zejména protonů **H4** a **H5**, ale možná též **H2** a **H3**.

Šířka signálu **H1** odpovídá součtu nepřřazených interakčních konstant u signálů **H2** až **H5**. Multiplicita **H1** tedy není patrně způsobena interakcí s jinými jádry (jako například  $^{19}\text{F}$  či  $^{31}\text{P}$ ). Přítomnost takových jader by se navíc musela projevit i v ostatních spektrech (zejména  $^{13}\text{C}$ ).

# Seznam signálů a indicie $^1\text{H}$ NMR spektra

Chemický posun signálů **H6** a **H7** spolu s interakcí  $^1J_{\text{HC}}$  ukazuje jednoznačně na fragment  $\text{CH}_3\text{-C}$  (0,6-2,0 ppm,  $^1J_{\text{HC}} \sim 125$  Hz). Jelikož jsou oba signály singlety, nejsou na uhlíku, na který jsou vázány, přítomny žádné vodíky. Uhlík na který jsou methyly vázány může být stejný nebo různý.

Předpokládejme, že jsou-li  $\text{CH}_3$  skupiny (protony **H6** a **H7**) neekvivalentní (různý chemický posun), pak jsou vázány na různé uhlíky. V takovém případě by na zbývajících pět protonů **H1** až **H5** zbývaly (dle sumárního vzorce) pouze dva uhlíky. Jediným možným řešením by byl fragment  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , v kterém jsou všechny protony neekvivalentní (pro pět vodíků pozorujeme pět signálů). Neekvivalence protonů skupiny  $\text{CH}_2$  je běžná (diastereotopní protony) avšak neekvivalence protonů methylové skupiny by byla velmi překvapivá. Mohla by nastat v případě, že by byla rotace methylu velmi pomalá, což u běžných látek při laboratorní teplotě lze téměř vyloučit. Připojení methylů na dva různé uhlíky je tedy nemožné.

Naproti tomu, uvažujeme-li, že obě  $\text{CH}_3$  skupiny jsou vázány na stejný uhlík, a jsou v důsledku struktury neekvivalentní (chirální centrum poblíž, pozice na dvojně vazbě či na cyklu), pak pro pět různých protonů zbývají pouze tři uhlíky, což lze realizovat jednou  $\text{CH}$  skupinou a dvěma  $\text{CH}_2$  skupinami, přičemž obě  $\text{CH}_2$  mají chemicky neekvivalentní protony – molekula pravděpodobně obsahuje chirální centrum a protony  $\text{CH}_2$  skupin jsou tedy diastereotopní.

**H1**, 4.22 ppm, 1H, m,  $\Sigma J = 23.7$  Hz

**H2**, 4.03 ppm, 1H, dd, 8.7, 6.2 Hz

**H3**, 3.79 ppm, 1H, dd, 8.7, 5.1 Hz

**H4**, 3.50 ppm, 1H, dd, 10.9, 4.9 Hz

**H5**, 3.38 ppm, 1H, dd, 10.9, 7.6 Hz

**H6**, 1.36 ppm, 3H, q, 0,6 Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz

**H7**, 1.28 ppm, 3H, q, 0,6 Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz

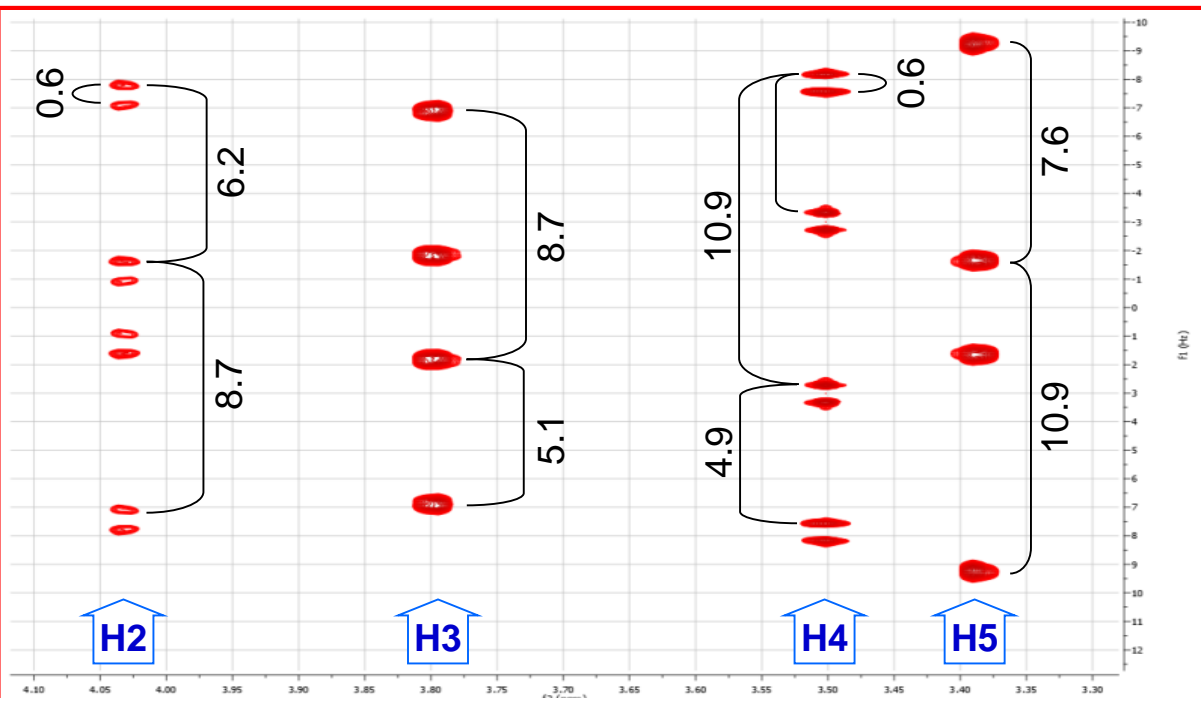
Lze tedy předpokládat, že ve struktuře molekuly jsou následující strukturní fragmenty:



Z toho je zřejmé, že v molekule není uskupení  $\text{C=O}$  (molekula není aceton ani neobsahuje aldehydický proton v  $^1\text{H}$  NMR).

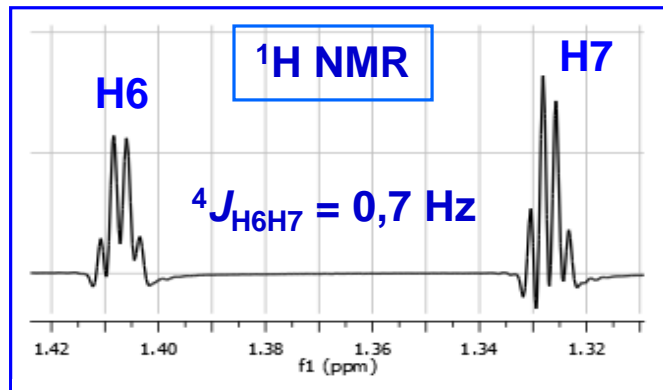
Z interakčních konstant a neekvivalence protonů lze odvodit, že jedna  $\text{CH}_2$  skupina obsahuje protony **H2** a **H3**, zatímco druhá skupina obsahuje protony **H4** a **H5**. Skupina  $\text{CH}$  obsahuje proton **H1**. Toto bude déle potvrzeno pomocí  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHSQC či gHMQC 2D NMR

# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ $J$ -resolved 2D NMR

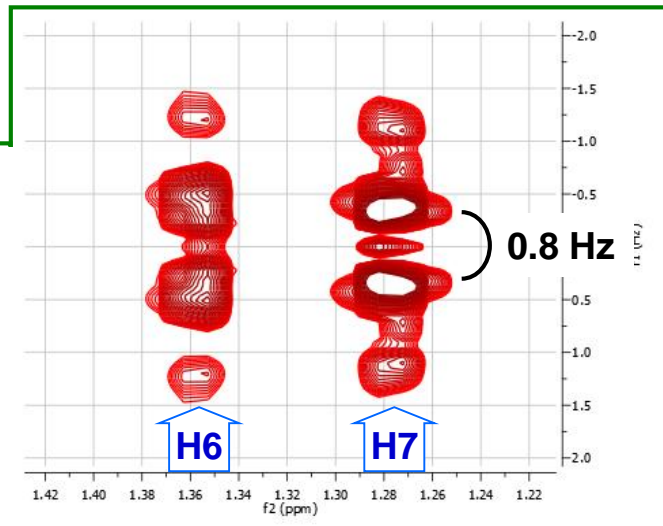


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$   $J$ -resolved 2D NMR spektrum potvrzuje počet signálů a jejich multiplicitu. Navíc ukazuje na malou interakci (0,6 Hz) mezi signály **H2** a **H4**. Patrně se jedná o interakci přes 4 vazby.

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$   $J$ -resolved 2D NMR spektrum ukazuje, že signály **H6** a **H7** jsou kvartety s interakční konstantou 0,8 Hz. Kvartet 1:3:3:1 je důsledkem přítomnosti tří ekvivalentních jader se spinem  $\frac{1}{2}$ , v našem případě protony sousední skupiny  $\text{CH}_3$ . Velikost konstanty odpovídá interakci přes 4 nebo více vazeb. Aby neměly signály methylů vyšší multiplicitu, „nesmí“ být žádný proton vzdálen přes méně než 4 vazby od protonů methylů. Jediným takovým strukturálním fragmentem může být v našem případě pouze  $\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$ .



Zpracováním NMR dat některou z window funkcí jako Lorentz-Gauss transformací nebo Sin-Bell funkcí, lze odhalit malé interakční konstanty. Vždy je však potřeba být velmi opatrný při jejich interpretaci neboť vznik artefaktů není neběžný.



# Upřesněný seznam signálů $^1\text{H}$ NMR spektra

**H1**, 4.22 ppm, 1H, m,  $\Sigma J = 23.7$  Hz

**H2**, 4.03 ppm, 1H, ddd, **8.7**, **6.2**, **0.6** Hz

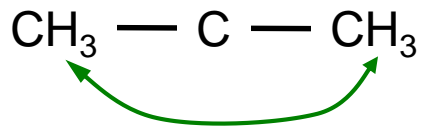
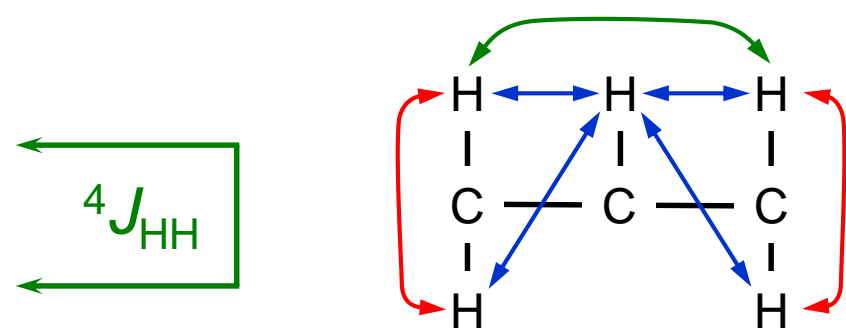
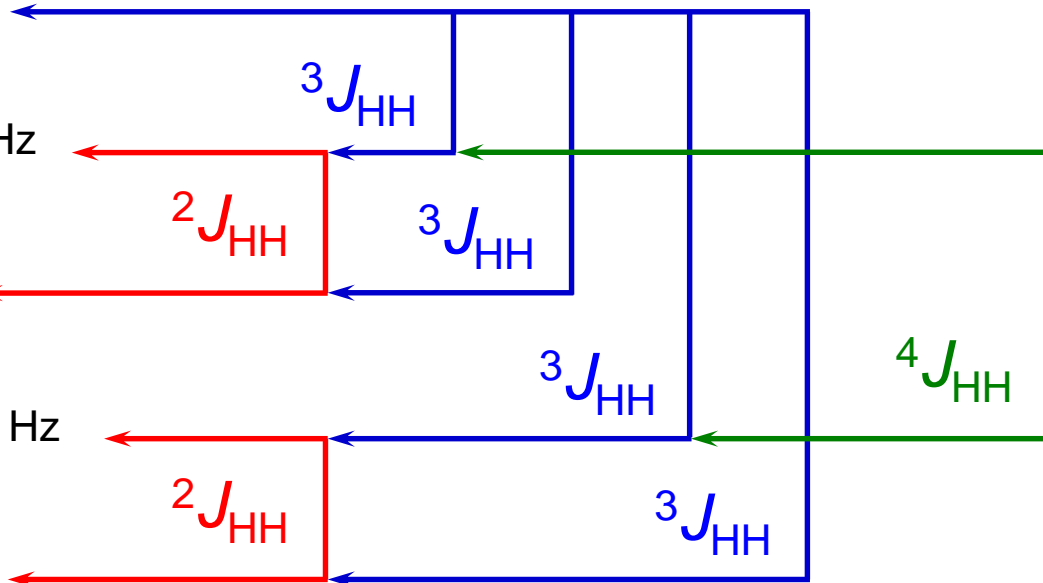
**H3**, 3.79 ppm, 1H, dd, **8.7**, **5.1** Hz

**H4**, 3.50 ppm, 1H, ddd, **10.9**, **4.9**, **0.6** Hz

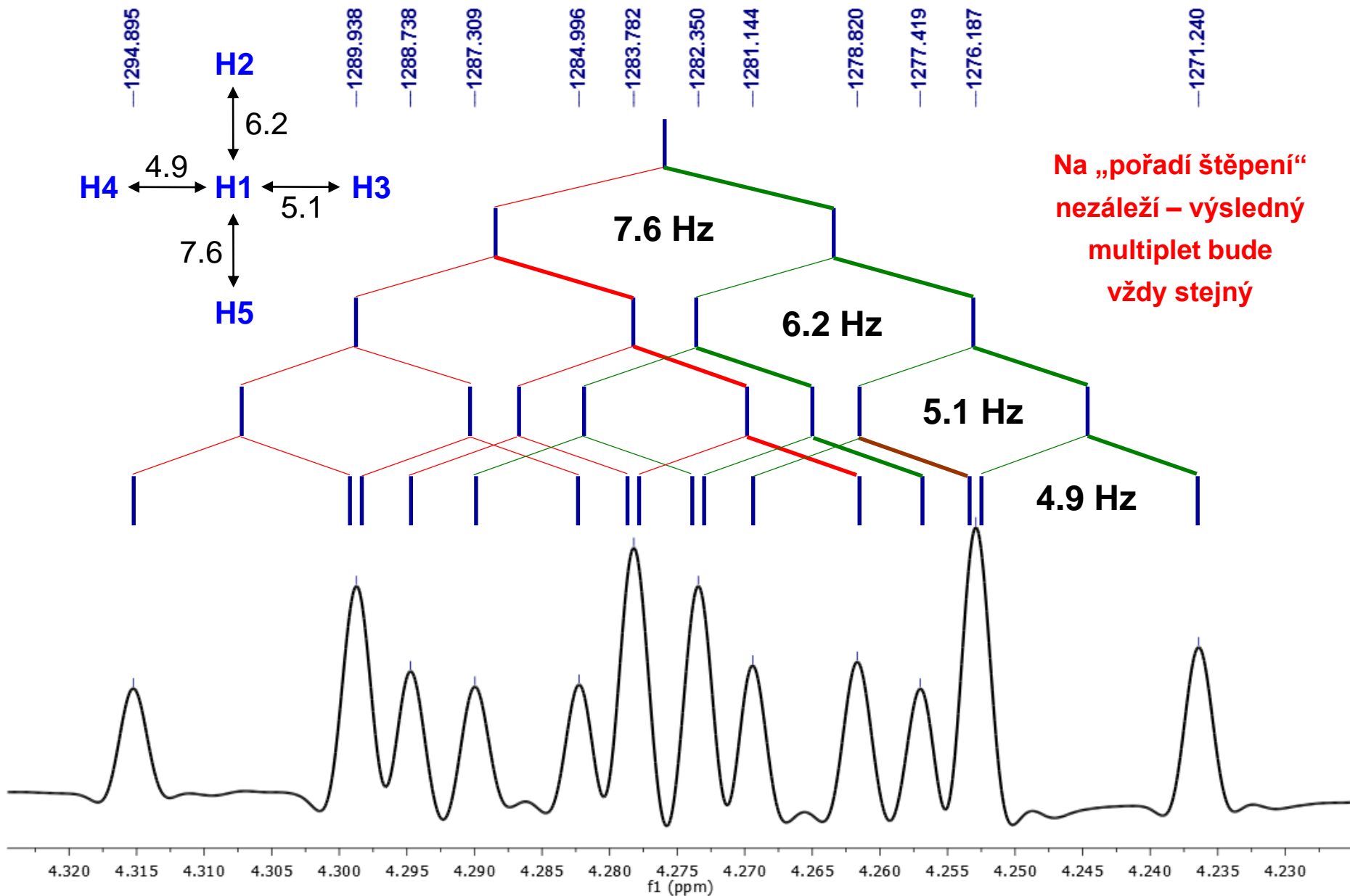
**H5**, 3.38 ppm, 1H, dd, **10.9**, **7.6** Hz

**H6**, 1.36 ppm, 3H, q, **0.7** Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz

**H7**, 1.28 ppm, 3H, q, **0.7** Hz,  $^{13}\text{C}$  satelit 127 Hz



# Analýza složitějšího signálu $^1\text{H}$ NMR spektra



# **Predikce *versus* Výpočet *versus* Simulace NMR spekter**

## **Predikce NMR spektra**

chemických posunů  
a interakčních konstant



obvykle **2D struktura molekuly**

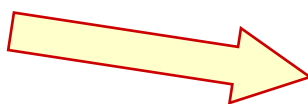
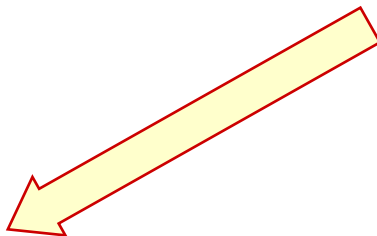


## **Databáze**

substruktur a jejich příspěvků (inkrementů)



**Chemické posuny**  
**Interakční konstanty**



## **Výpočet NMR spektra**

chemických posunů  
a interakčních konstant

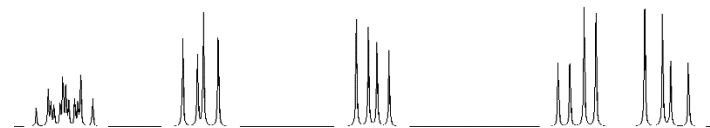


**3D struktura molekuly**  
optimalizována kvantově  
chemickými výpočty



## **Kvantově chemický výpočet**

chemických posunů  
a interakčních konstant



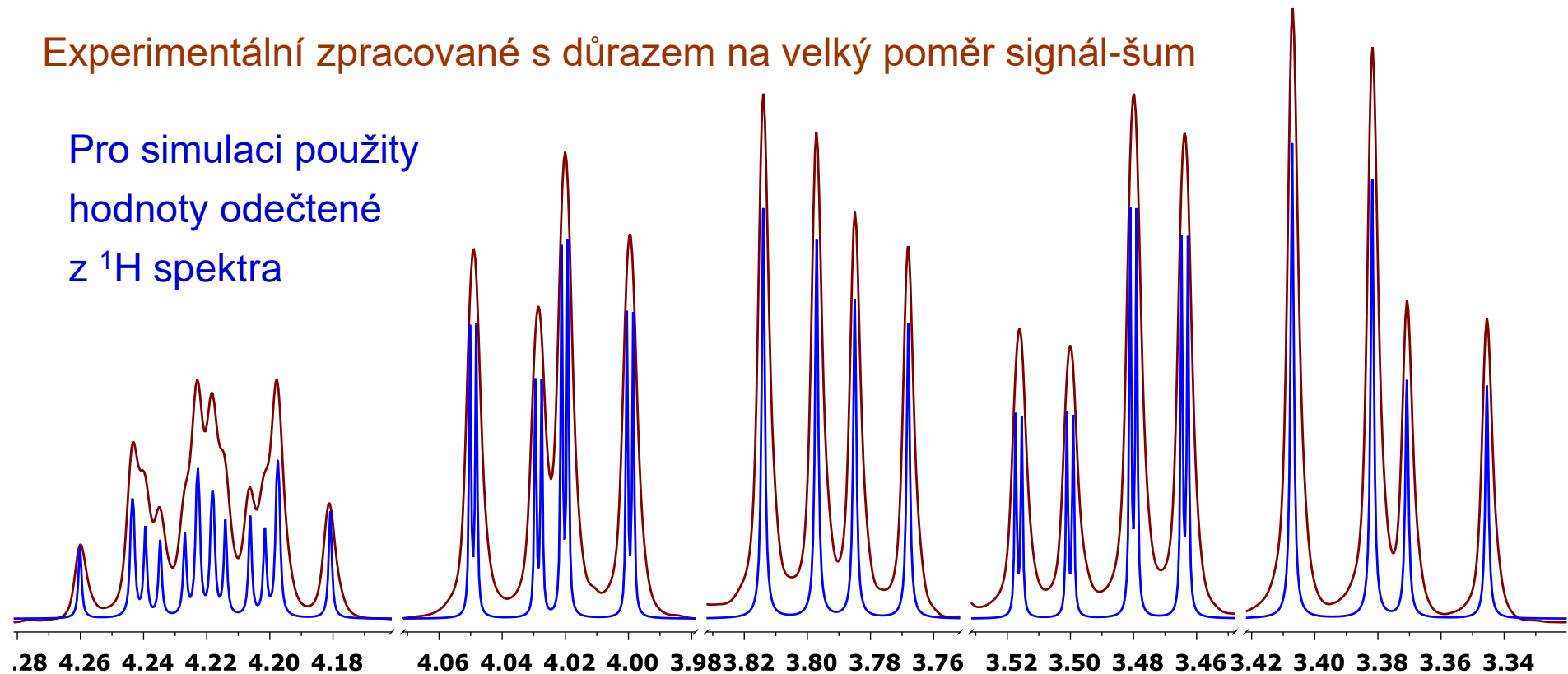
## **Simulace NMR spektra**



# Simulované *versus* experimentální spektrum

Experimentální zpracované s důrazem na velký poměr signál-šum

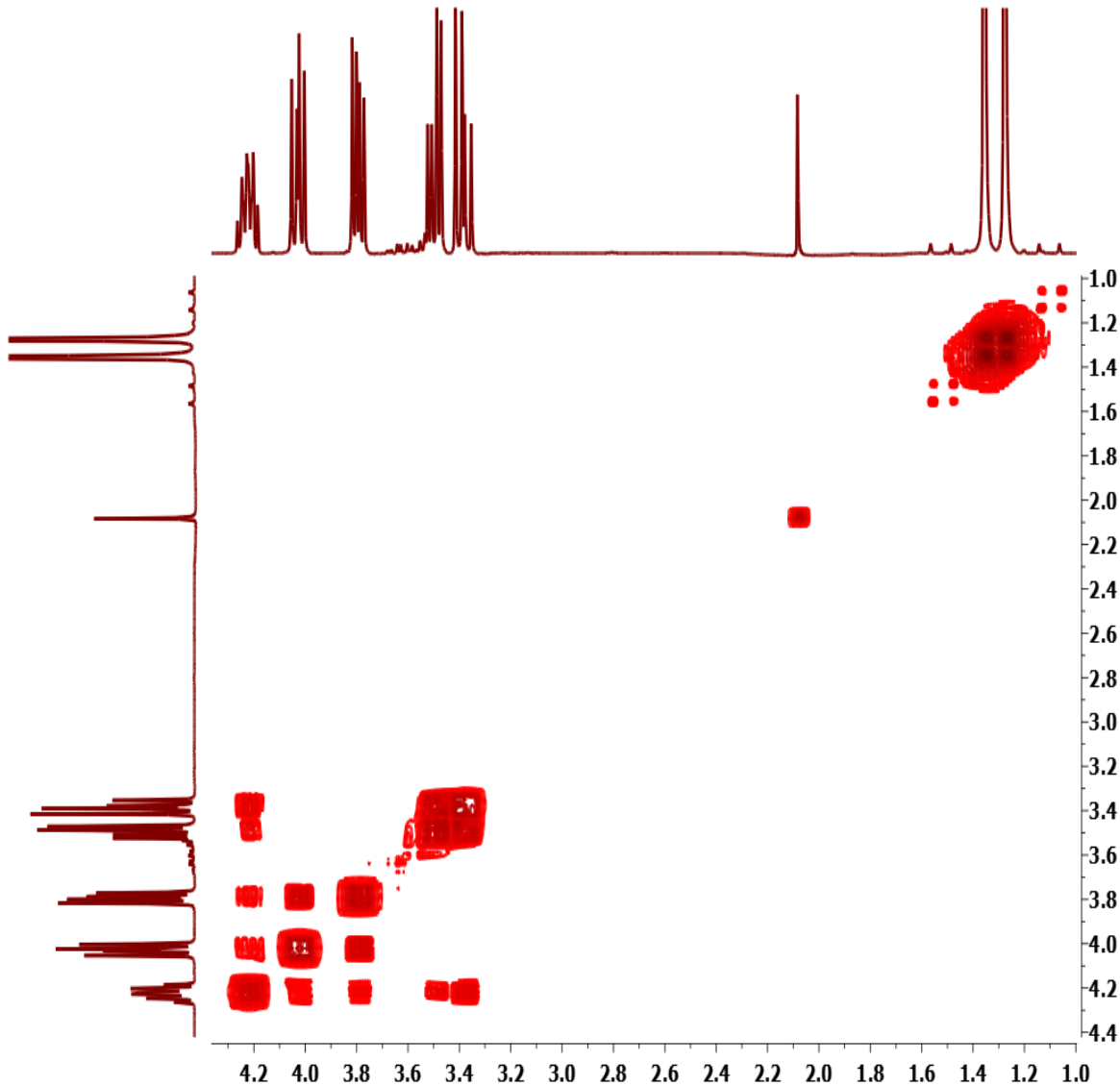
Pro simulaci použity  
hodnoty odečtené  
z  $^1\text{H}$  spektra



Experimentální zpracované s důrazem  
na vysoké rozlišení



# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY 2D NMR



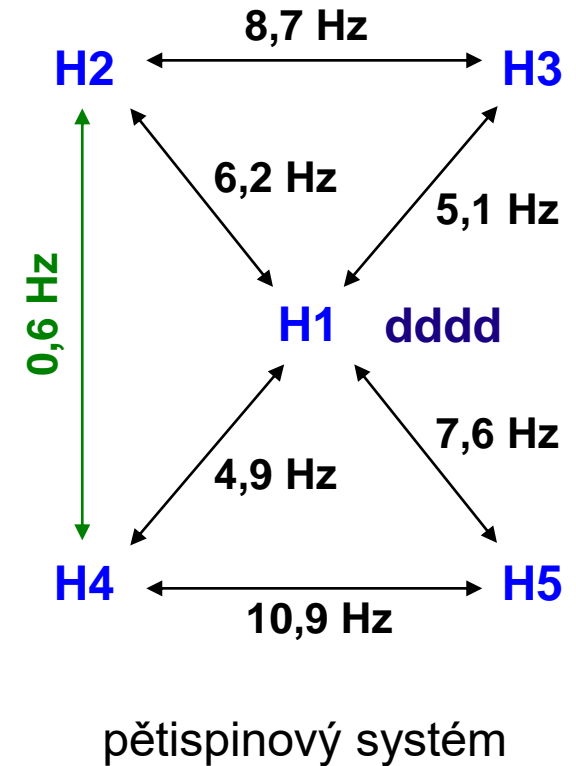
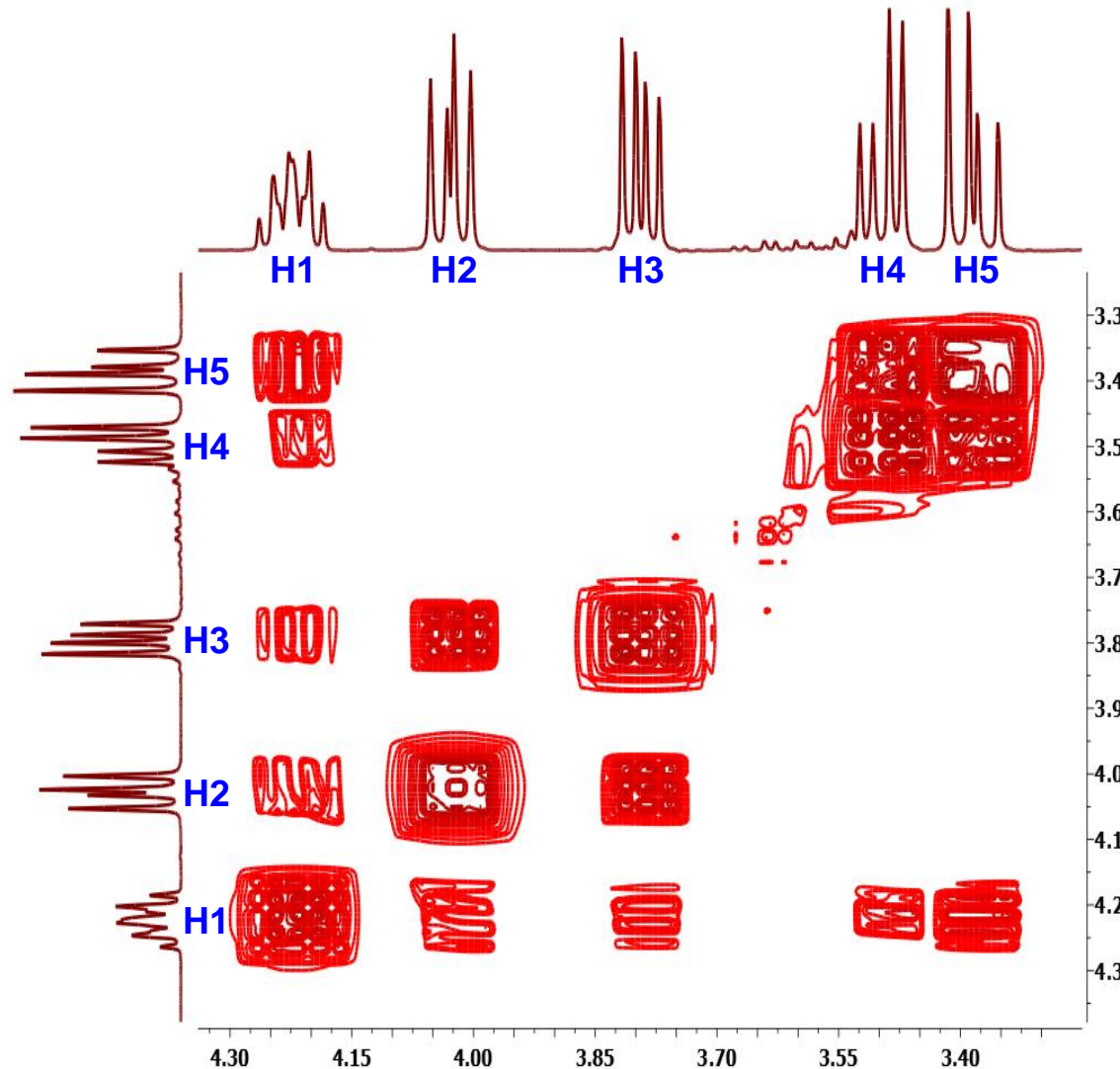
Na diagonále  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 2D NMR spektra lze rozpoznat běžné  $^1\text{H}$  NMR protonové spektrum.

Krospíky mimo diagonálu pak ukazují na spis-spinovou interakci protonů daných signálů, tedy na interakci, která se v běžném spektru projevuje multiplicitou.

Intenzita krospíků souvisí s velikostí interakční konstanty.

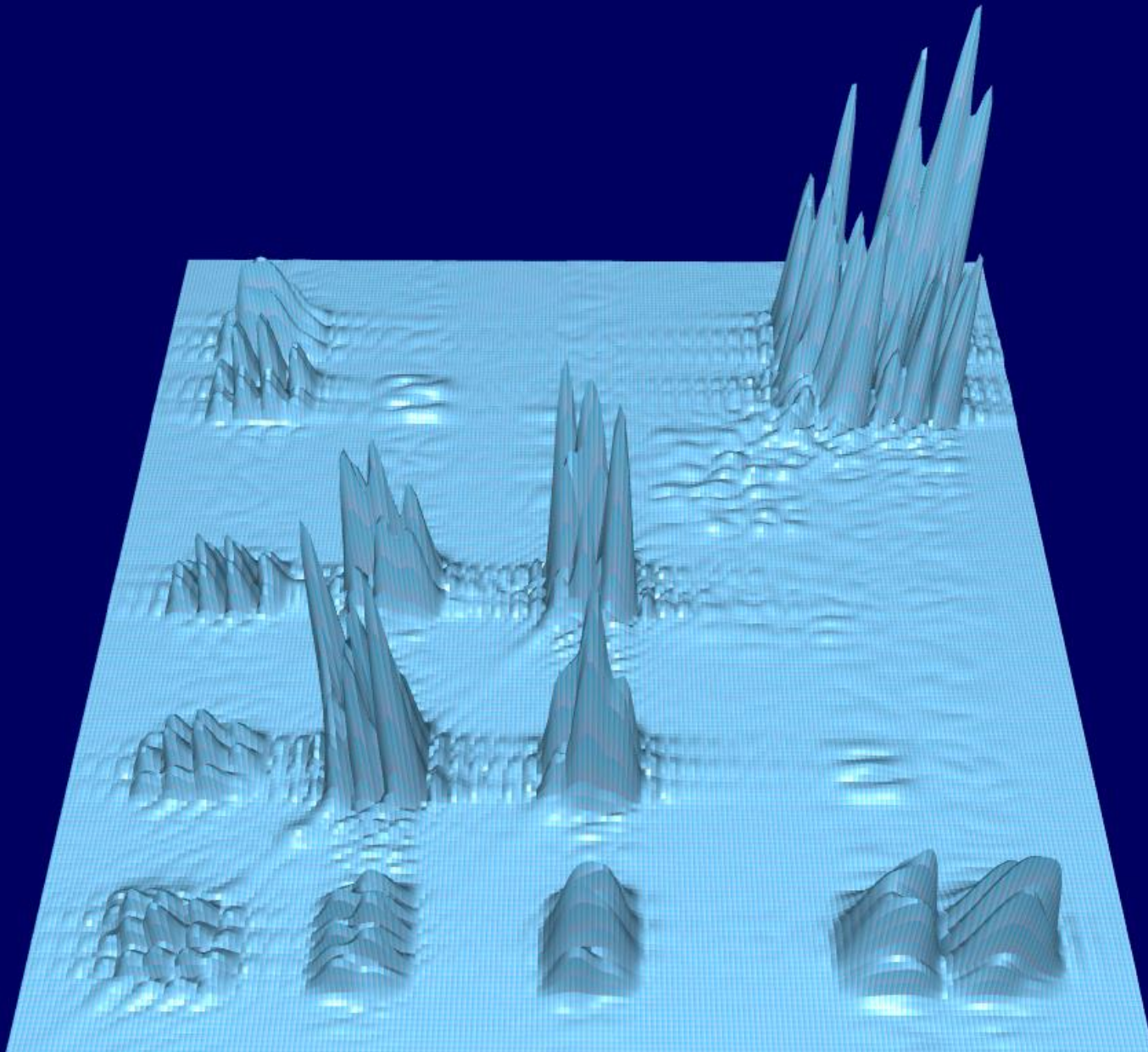
Z podstaty plyne, že  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 2D NMR spektrum musí být symetrické, a proto je matematická symetrizace často používána ke zlepšení kvality spektra. Tato operace však může vést ke vzniku artefaktů v podobě nových krospíků (často velmi pohledných). Je proto velmi žádoucí vždy zkontrolovat spektrum po symetrizaci se spektrem před ní.

# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY 2D NMR

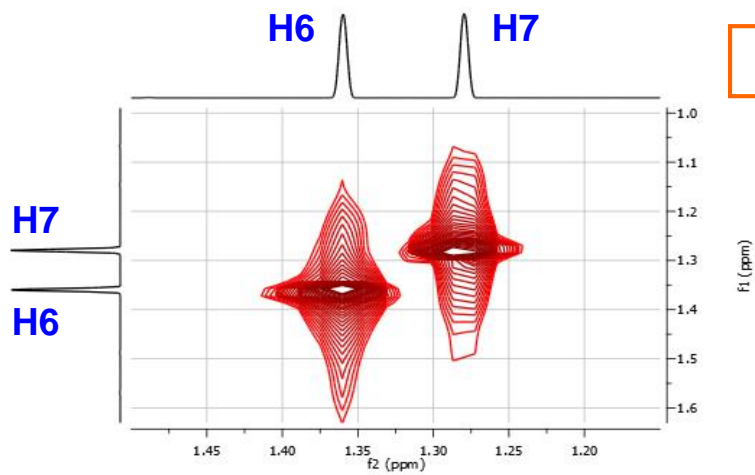


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 2D NMR spektrum svými krospeky ukazuje pětispinový systém, kde proton/signál **H1** interaguje s protony/signály **H2**, **H3**, **H4** a **H5**. Krospek mezi **H2** a **H3** potvrzuje spin-spinovou interakci odhalenou již díky stejné interakční konstantě (8,7 Hz) v  $^1\text{H}$  NMR spektru. Krospek mezi **H4** a **H5** potvrzuje spin-spinovou interakci odhalenou již díky stejné interakční konstantě (10,9 Hz) v  $^1\text{H}$  NMR spektru. Není pozorován krospek mezi **H2** a **H4**, který lze očekávat na základě  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  *J*-resolved 2D NMR a  $^1\text{H}$  NMR spekter. Vzhledem k její velikosti (0,7 Hz) je krospek velmi malé intenzity a může být tedy překryt šumem.

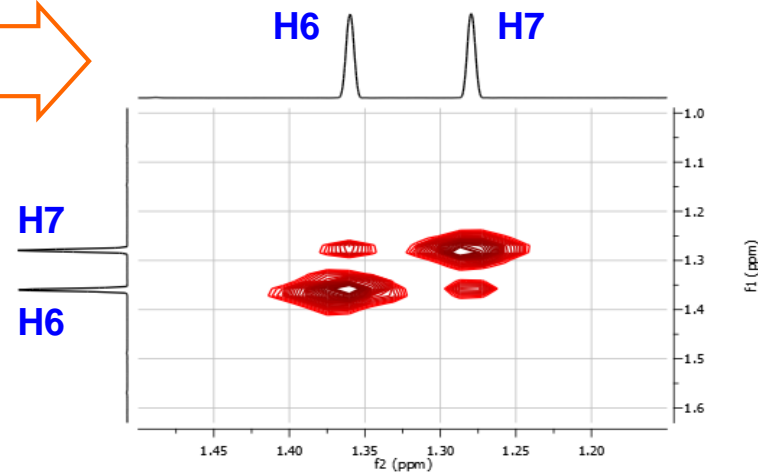
# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY 2D NMR



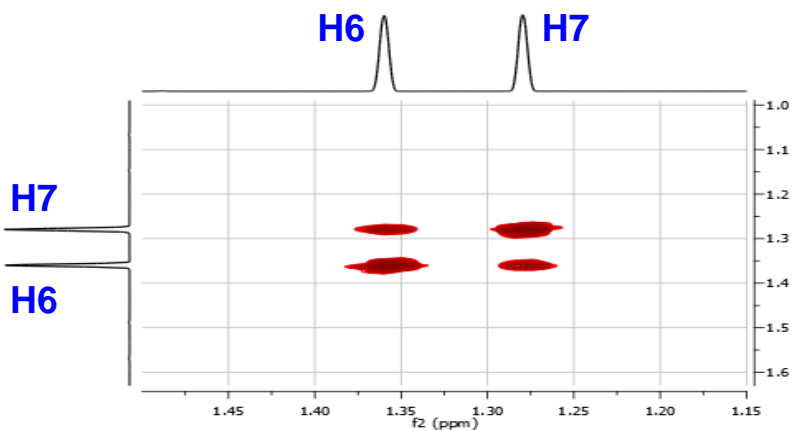
# $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY 2D NMR



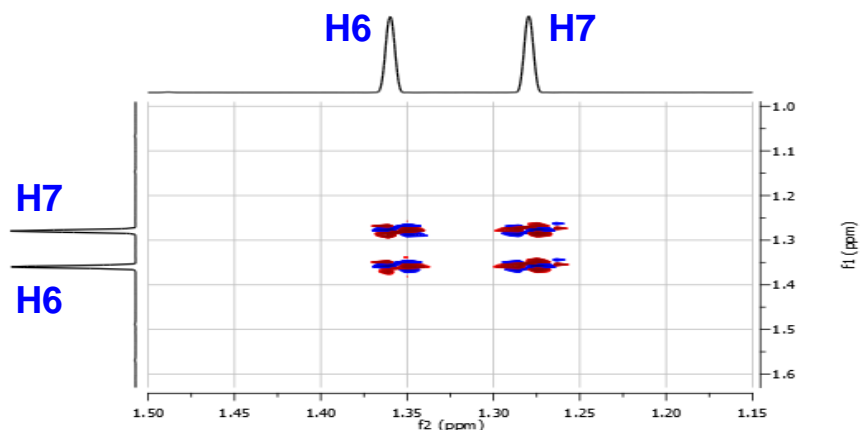
SYMETRIZACE



Symetrizací nedobře změřeného či nevhodně zpracovaného 2D spektra, obsahujícího v důsledku toho tzv. hřbety (ridges), mohou vzniknout artefakty. Pečlivěji provedené experimenty však očekávané krospektry methylových skupin potvrzují.



Lépe naměřené gCOSY spektrum stejného vzorku (bez symetrizace)

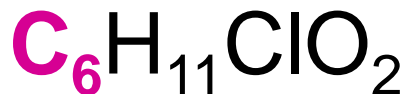


DQF-COSY spektrum stejného vzorku (bez symetrizace)

# $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ NMR

Šumový (též širokopásmový, nespecifický) dekapling určitých jader (zde  $^1\text{H}$ ) ruší jejich spin-spinové interakce s ostatními jádry (zde  $^{13}\text{C}$ )  
Interakce nedekaplovaných jader však zůstávají zachovány (zde  $^2\text{H}$ )

-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

- C1, 109.9
- C2, 75.2
- C3, 67.3
- C4, 44.4
- C5, 26.7
- C6, 25.1

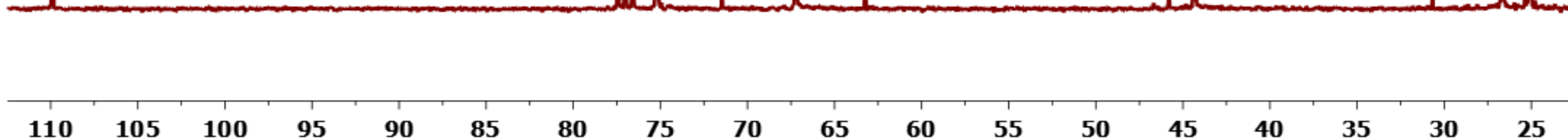
Skutečnost, že je každý uhlík jiný znamená, že se jedná o nesymetrickou molekulu

C1

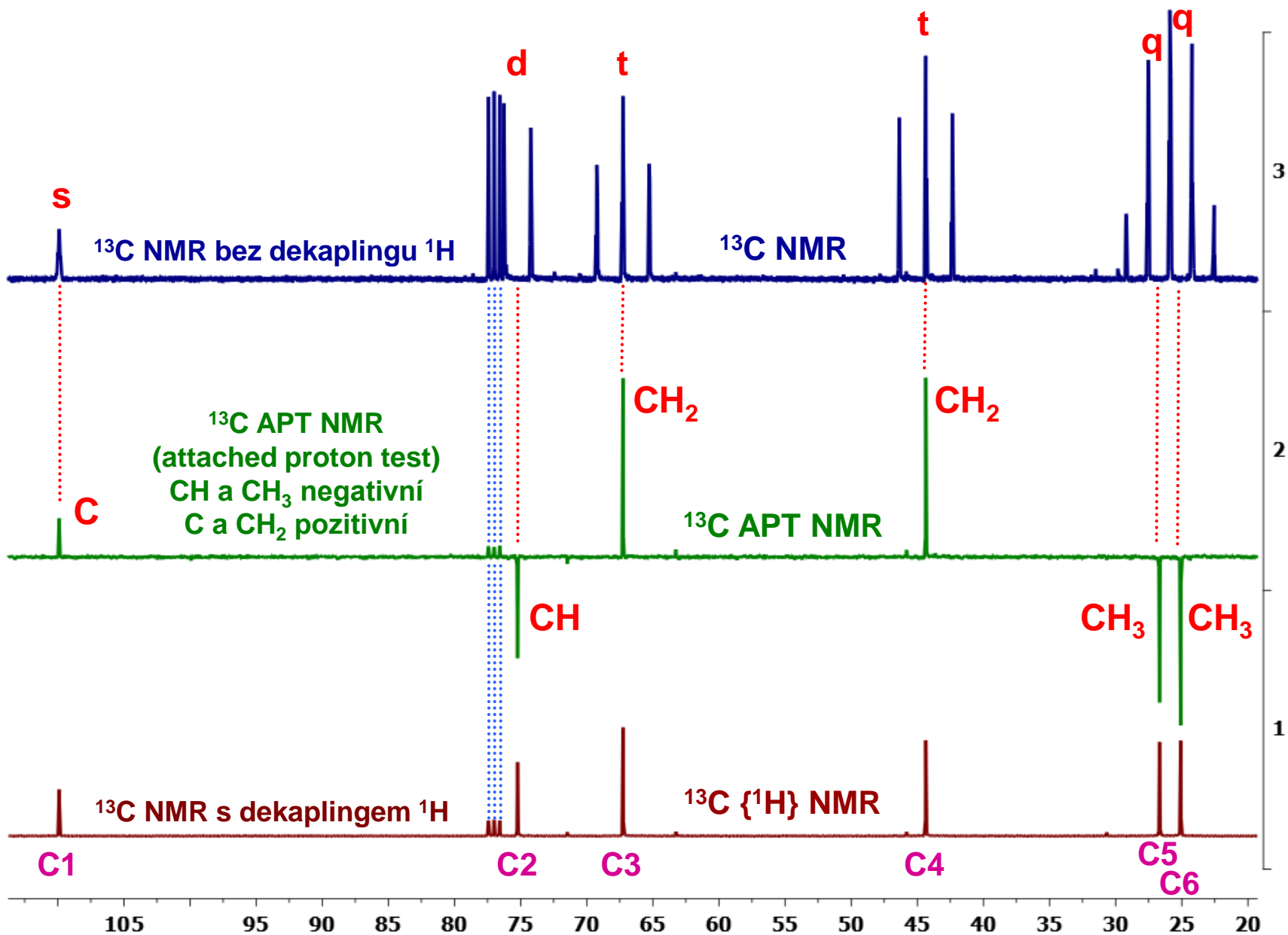
Signál rozpouštědla  $^{13}\text{C}^2\text{HCl}_3$   
Spin  $^2\text{H}$  je roven 1  
Multiplicita  $2 \cdot I + 1 = 3$   
Triplet 1:1:1  
 $77,43 - 77,00 = 0,43 \text{ ppm}$   
 $77,00 - 76,58 = 0,42 \text{ ppm}$   
 $0,42 \text{ ppm} \cdot 75,5 \text{ MHz} = 32 \text{ Hz}$

Nečistoty ?

Produkty rozkladu ?

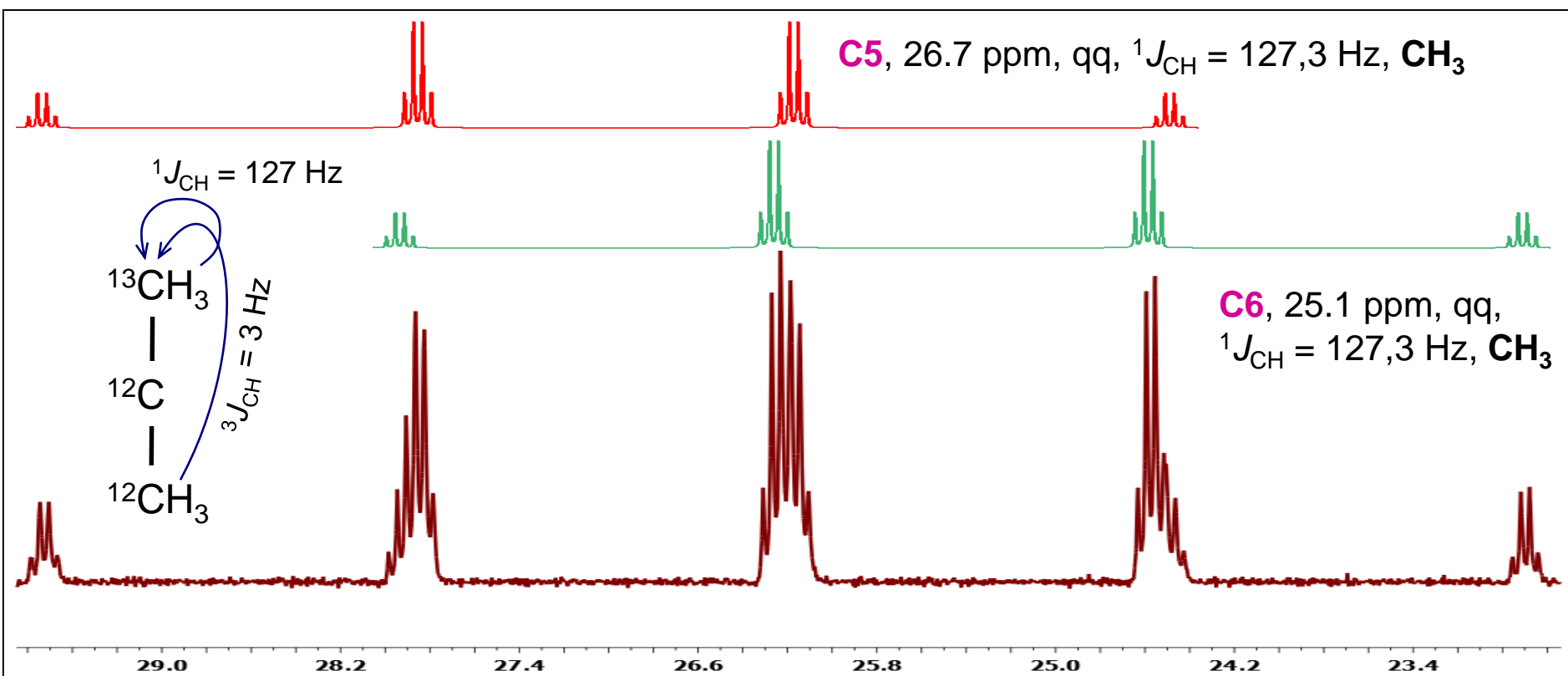
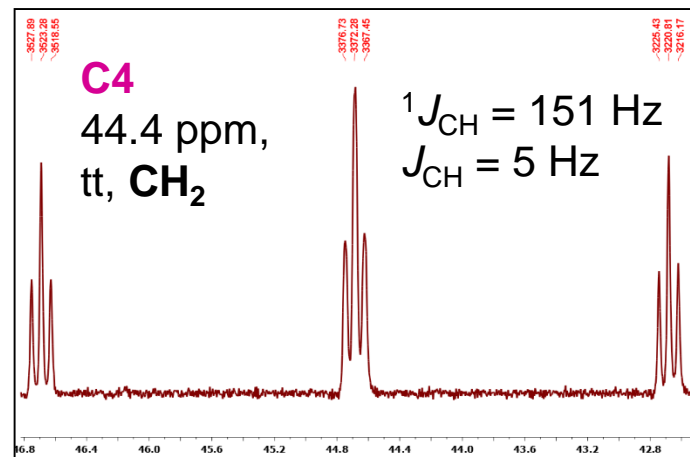
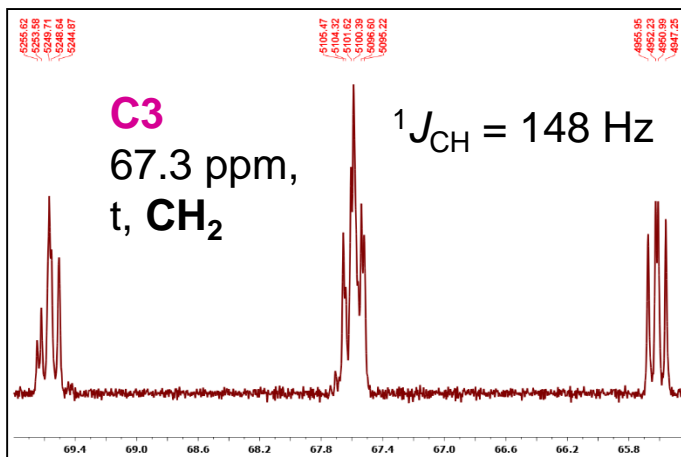
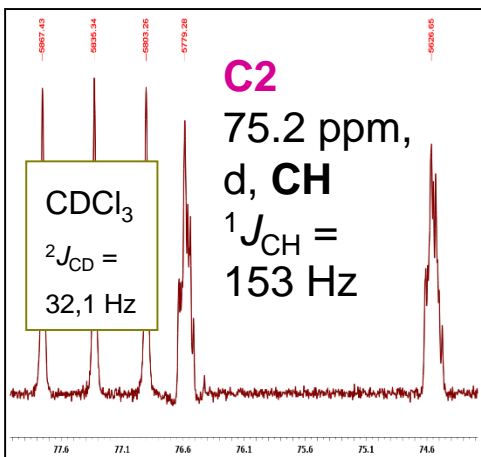


# $^{13}\text{C}$ NMR ( $^1\text{H}$ dec. off, APT, $^1\text{H}$ dec. On)



5867,43  
5835,34  
5803,26

# $^{13}\text{C}$ NMR ( $^1\text{H}$ dec. Off)





# Interakční konstanty $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ přes jednu vazbu

Korelace chemických posunů  $^1\text{H}$  versus  $^{13}\text{C}$   
interagujících přes jednu vazbu

$$^1J_{\text{HC}} = 110 - 320 \text{ Hz}$$

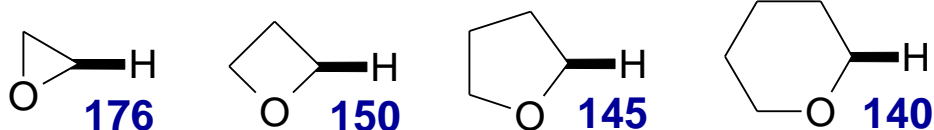
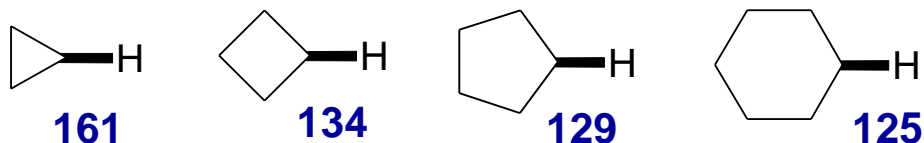
$\text{C}(\text{sp}^3)$  110-160

$\text{C}(\text{sp}^2)$  140-220

$\text{C}(\text{sp})$  250-320

Při měření bez **decouplingu**  $^{13}\text{C}$  zůstává zachována  
multiplicita s  $^1\text{H}$

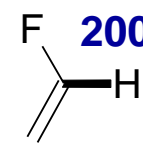
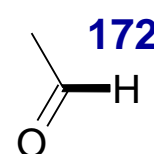
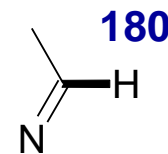
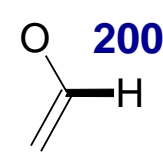
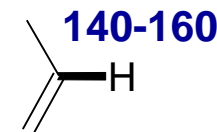
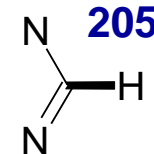
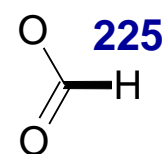
## vliv velikosti cyklu



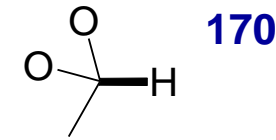
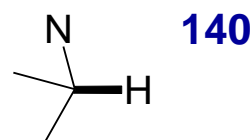
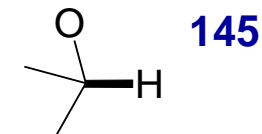
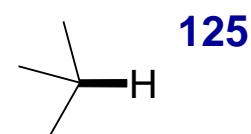
## hybridizace $\text{sp}$



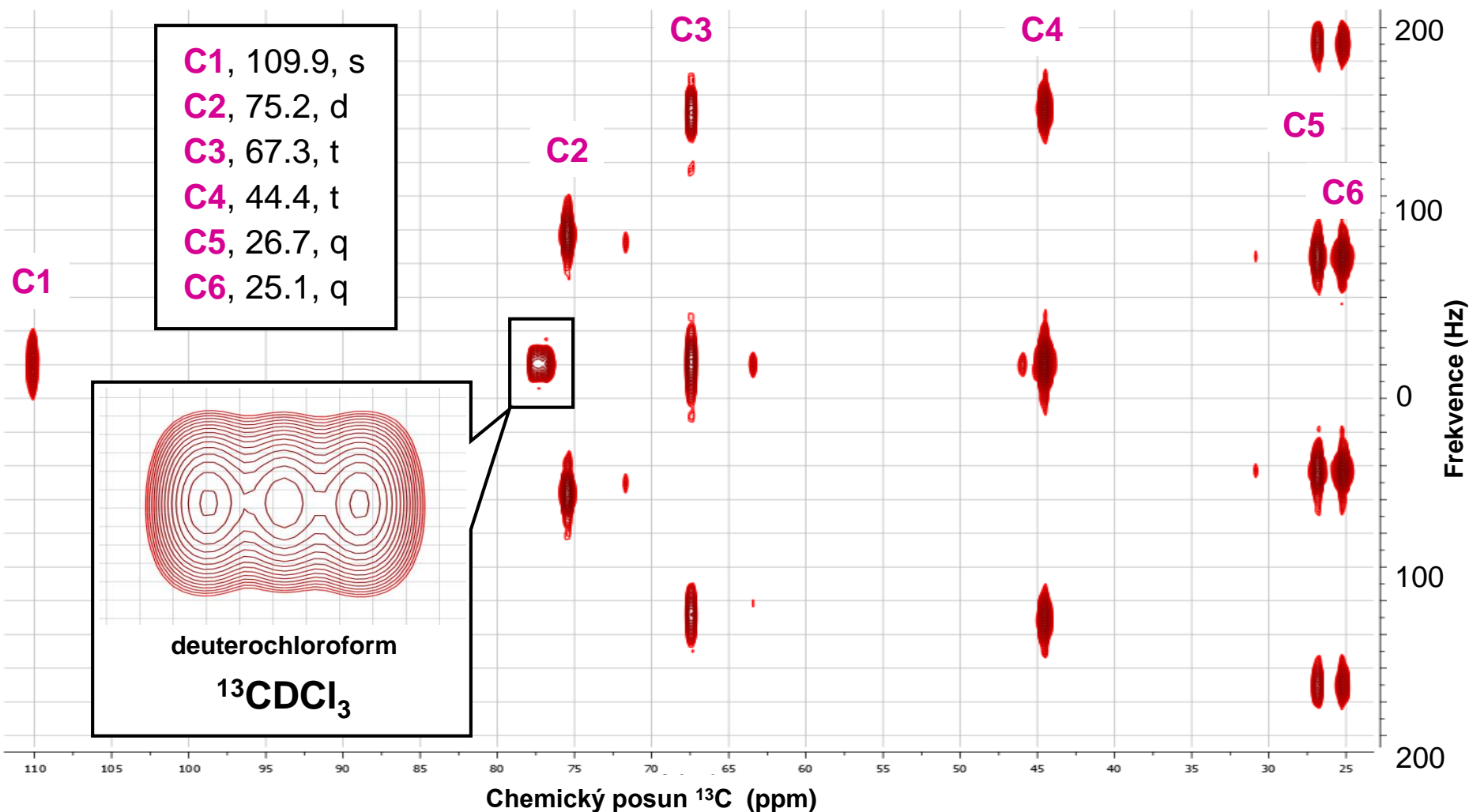
## hybridizace $\text{sp}^2$



## hybridizace $\text{sp}^3$



# $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ $J$ -resolved 2D NMR



$^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$   $J$ -resolved 2D NMR spektrum spojuje výhody uhlíkového  $^1\text{H}$  dekaplovaného a nedekaplovaného spektra. V jedné ose jsou chemické posuny uhlíkových atomů, zatímco v druhé je jejich multiplicita s protony. Jak je na signálu  $\text{CDCl}_3$  patrné, multiplicita s jinými jádry je zachována v ose chemických posunů.

# $^{13}\text{C}$ NMR

**C1**, 109.9, s, **C**

**C2**, 75.2 ppm, d, 153 Hz, **CH**

**C3**, 67.3 ppm, t, 148 Hz, **CH<sub>2</sub>**

**C4**, 44.4 ppm, tt, 151, 5 Hz, **CH<sub>2</sub>**

**C5**, 26.7 ppm, qq, 127, 3 Hz, **CH<sub>3</sub>**

**C6**, 25.1 ppm, qq, 127, 3 Hz, **CH<sub>3</sub>**

Nepřítomnost signálů v oblasti nad 150 ppm prakticky vylučuje přítomnost jakékoli obvyklé C=O skupiny (ester, keton, aldehyd, močovina, ...).

Nepřítomnost dvou signálů v oblasti olefinických uhlíků (90-150 ppm) prakticky vylučuje jakoukoli C=C skupinu.

Jediným pravděpodobným vysvětlením stupně nenasycenosti (DBE = 1) je tedy přítomnost cyklu.

Chemický posun signálu **C1** je velmi vysoký a není na něj vázán žádný proton. Dle sumárního vzorce lze předpokládat, že na tento uhlík jsou buď vázány oba kyslíky nebo jeden kyslík a chlor. V tabulkách lze dohledat, že typický chemický posun uhlíků skupin O-C-O je v oblasti 85-110 ppm.

Chemický posun signálů **C2** a **C3** je také vysoký a spadá do oblasti typické například pro uhlíky vázané na kyslík (58-90 ppm). Velikost interakční konstanty  $^1J_{\text{CH}}$  tomuto též vyhovuje (~145 Hz).

Chemický posun signálu **C4** je v oblasti typické například pro alkylchloridy (30-60 ppm). Velikost interakční konstanty  $^1J_{\text{CH}}$  tomuto též vyhovuje (~150 Hz).

Chemický posun signálů **C5** a **C6** je typický pro uhlíky methylových skupin alkanů (0-30 ppm). Velikost interakční konstanty  $^1J_{\text{CH}}$  tomuto též vyhovuje (~125 Hz).

# Heteronukleárně korelovaná 2D NMR spektra

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

**HSQC** Heteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**oherence

**HMQC** Heteronuclear **M**ultiple **Q**uantum **C**oherence

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHSQC,  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  gHSQC,

$^1J_{\text{HX}}$ , spin-spin interakce přes 1 vazbu (*one-bond correlations*)

Krospík mezi  $^{13}\text{C}$  a  $^1\text{H}$  znamená, že mezi jádry je spin-spinová interakce jejíž konstanta je blízká nastavené hodnotě  $^1J_{\text{HC}}$  ca. 125-165 Hz

Obvykle měřeno tzv. editované HSQC

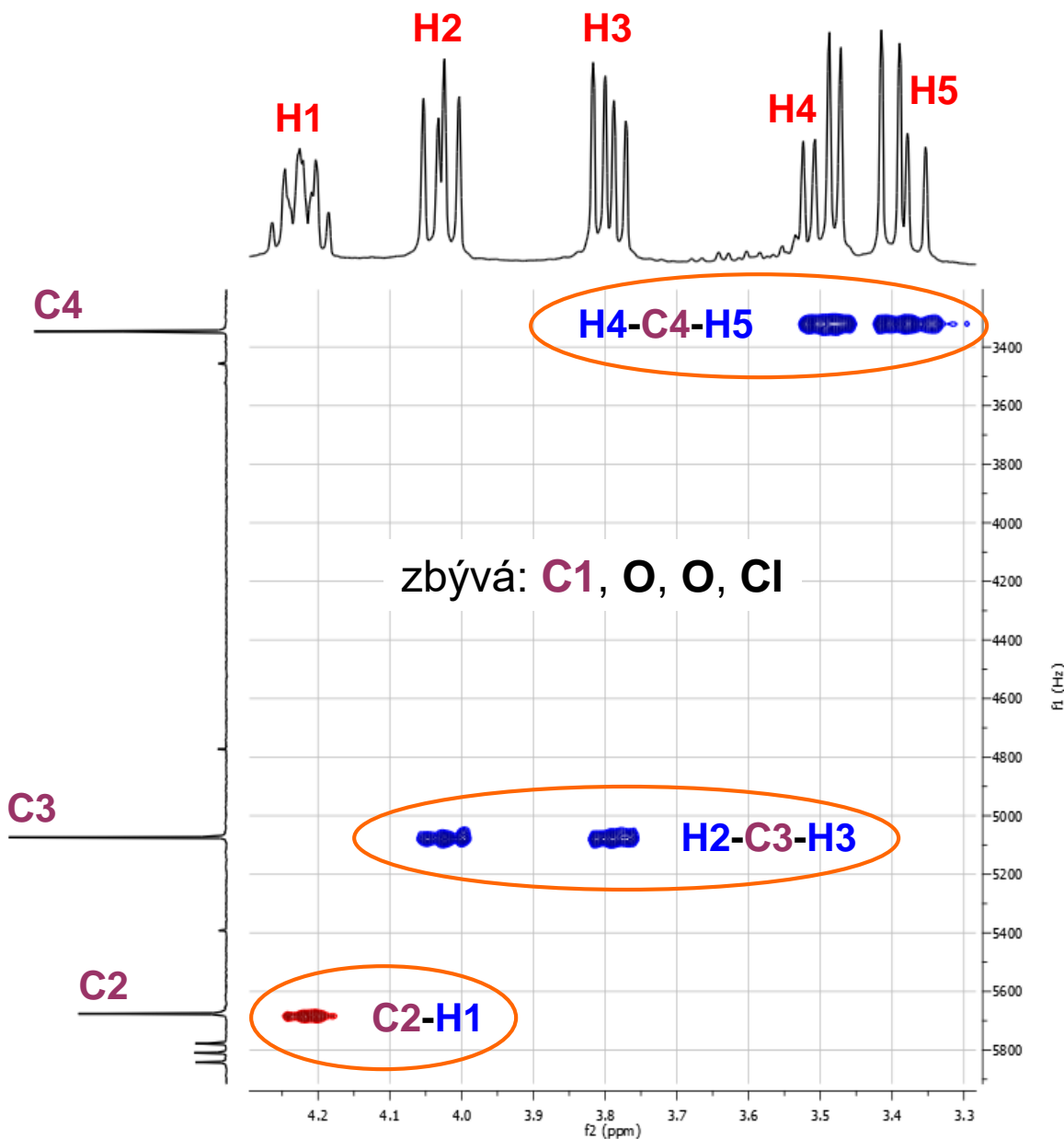
- krospíky skupin CH a CH<sub>3</sub> jsou pozitivní
- krospíky CH<sub>2</sub> skupin jsou negativní (platí i pro chemicky neekvivalentní jádra  $^1\text{H}$ )

Komplikaci způsobují např. alkiny, které mají

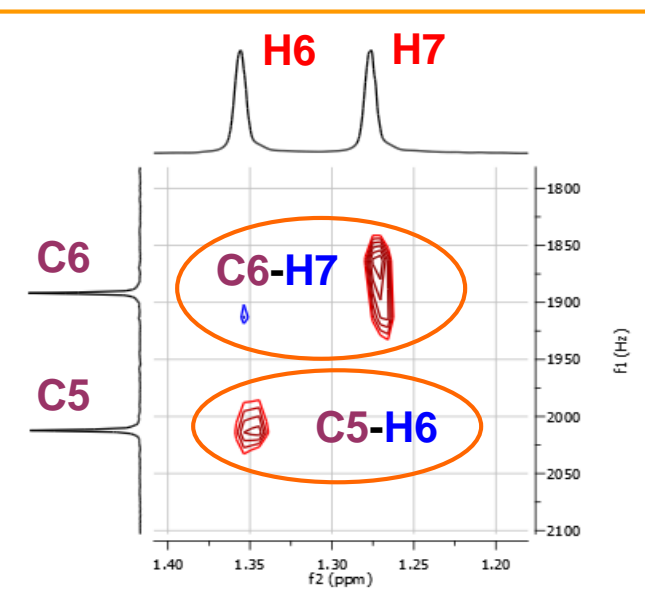
$^1J_{\text{HC}} \sim 250$  Hz = očekávaný krospík je často velmi málo intenzivní

$^2J_{\text{HC}} \sim 50$  Hz = neočekávaný, až středně intenzivní krospík

# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ gHSQC 2D NMR

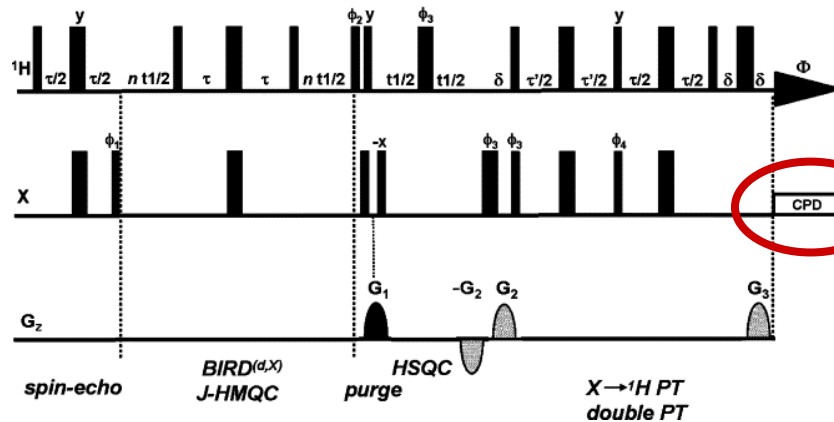
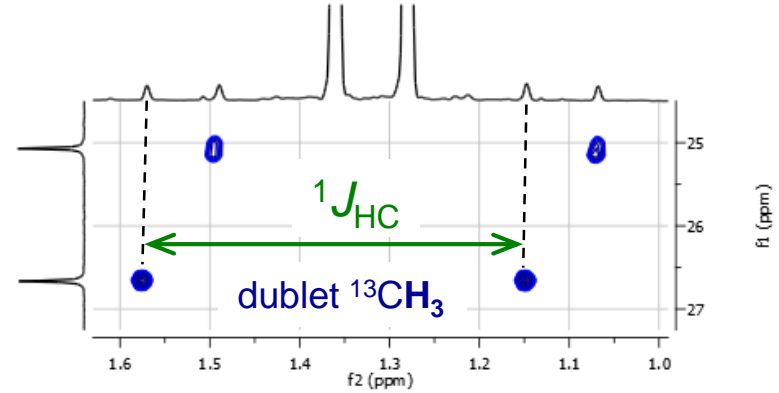


Krospíky v  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC či HMQC 2D NMR spektrech dokazují spin-spinovou interakci přes jednu vazbu,  $^1J_{\text{CH}}$ . Nebo-li C-H konektivitu. Uhlíky nemající žádné krospíky tedy nenesou žádné protony. Proton nemající žádný krospík není vázán na uhlík. Je-li měřeno tzv. editované HSQC, pak jsou krospíky skupin CH a  $\text{CH}_3$  pozitivní a krospíky  $\text{CH}_2$  skupin negativní, a to včetně těch, na kterých jsou chemicky neekvivalentní protony



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

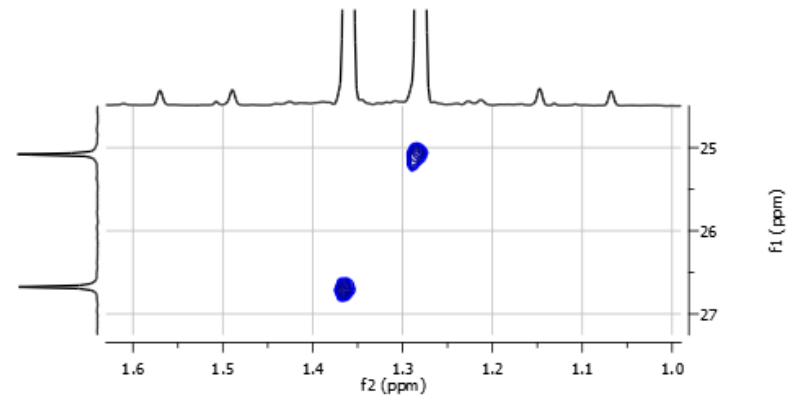
Při měření HSQC či HMQC ukazují krosníky interakci přes jednu vazbu. Je-li měřeno bez dekaplingu  $^{13}\text{C}$ , pak je zřejmá podstata experimentu, při kterém detekujeme pouze ty  $^1\text{H}$ , které jsou přímo vázány na  $^{13}\text{C}$ . V běžném  $^1\text{H}$  spektru odpovídají tyto signály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



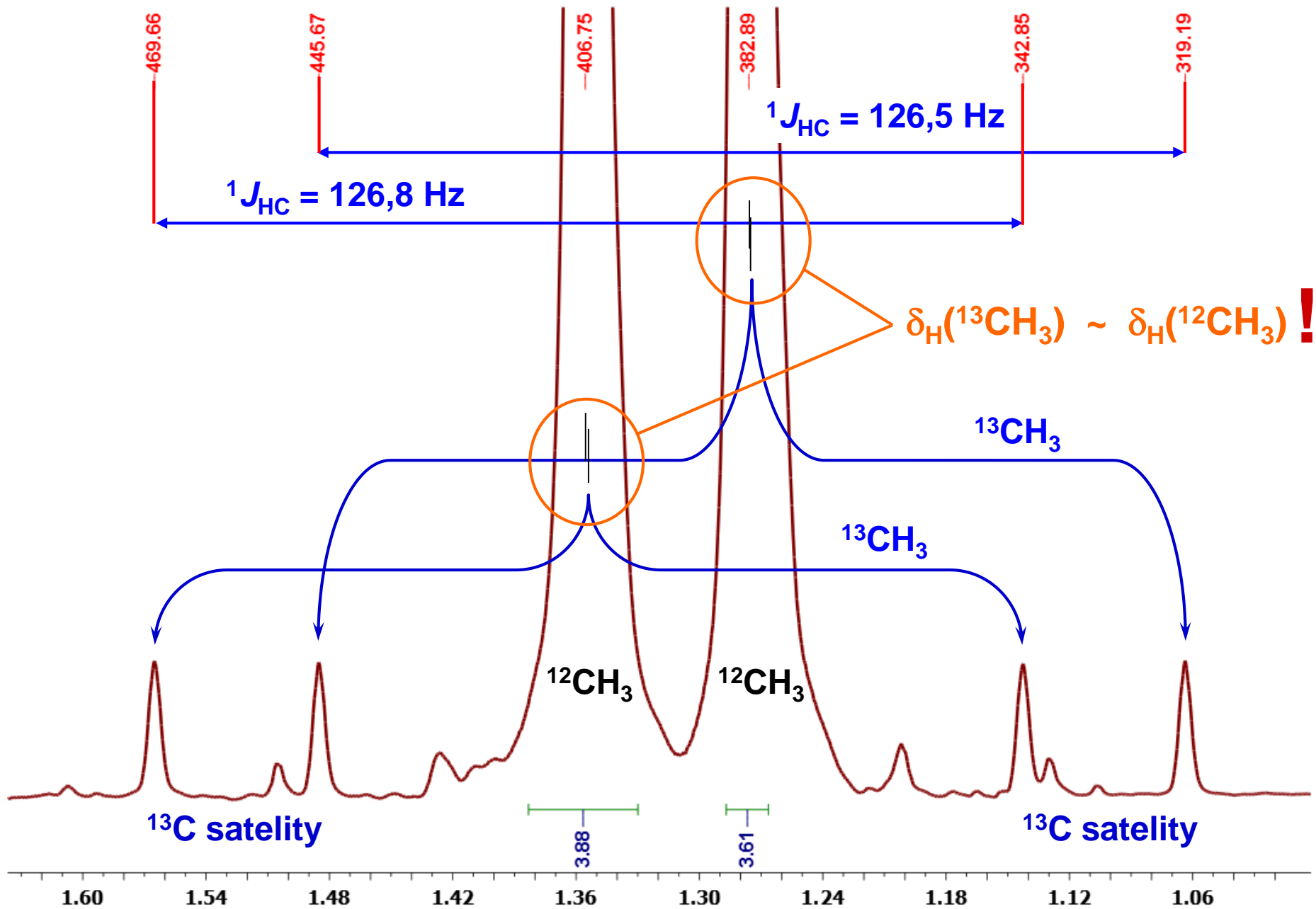
bez dekaplingu  $^{13}\text{C}$

s dekaplingem  $^{13}\text{C}$

Obvykle se však HSQC měří s dekaplingem  $^{13}\text{C}$ , čímž je multiplicita způsobená  $^{13}\text{C}$  odstraněna a dublet přechází na singlet. Vzhledem k tomu, že chemický posun protonů  $^1\text{H}$ - $^{12}\text{C}$  je velmi podobný protonům  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  dostáváme krosníky s přibližně stejnými chemickými posuny jako z běžného  $^1\text{H}$  spektra.



# $^{13}\text{C}$ NMR ... $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ versus $^1\text{H}$ - $^{12}\text{C}$ ... isotopový efekt



# HMBC Heteronuclear Multiple Bond Coherence

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHMBC,  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  gHBMC

$^n J_{\text{HX}}$ , spin-spin interakce přes více než 1 vazbu

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

**Krospíky HMBC spektra vypovídají o spin-spinové interakci  $^1\text{H}$  jader s  $^{13}\text{C}$  jádrem o velikosti kolem 8 Hz (lze změnit v nastavení experimentu), tj. interakci jader přes více než jednu vazbu**

$^3 J_{\text{HC}}$

Její velikost (obvykle 2-16 Hz) závisí na dihedrálním úhlu, který atomy svírají. Pokud je rotace kolem vazeb znemožněna či významně znesnadněna, a dihedrální úhel je blízký  $90^\circ$ , pak je tato interakce malá a obvykle není v HMBC spektru pozorována nebo jen kroskíkem malé intenzity.

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

$^2 J_{\text{HC}}$

Její velikost (obvykle 0-61 Hz) závisí především na chemickém okolí. Obvykle je dostatečně velká v případech, kdy na koncovém uhlíku je připojena elektronakceptorní skupina (CN, O, N, F, Br, Cl, ...) či mají-li uhlíky hybridizaci  $sp^2$ . HMBC kroskíky těchto interakcí mají tedy velmi proměnlivou intenzitu, od nulové až po velkou.

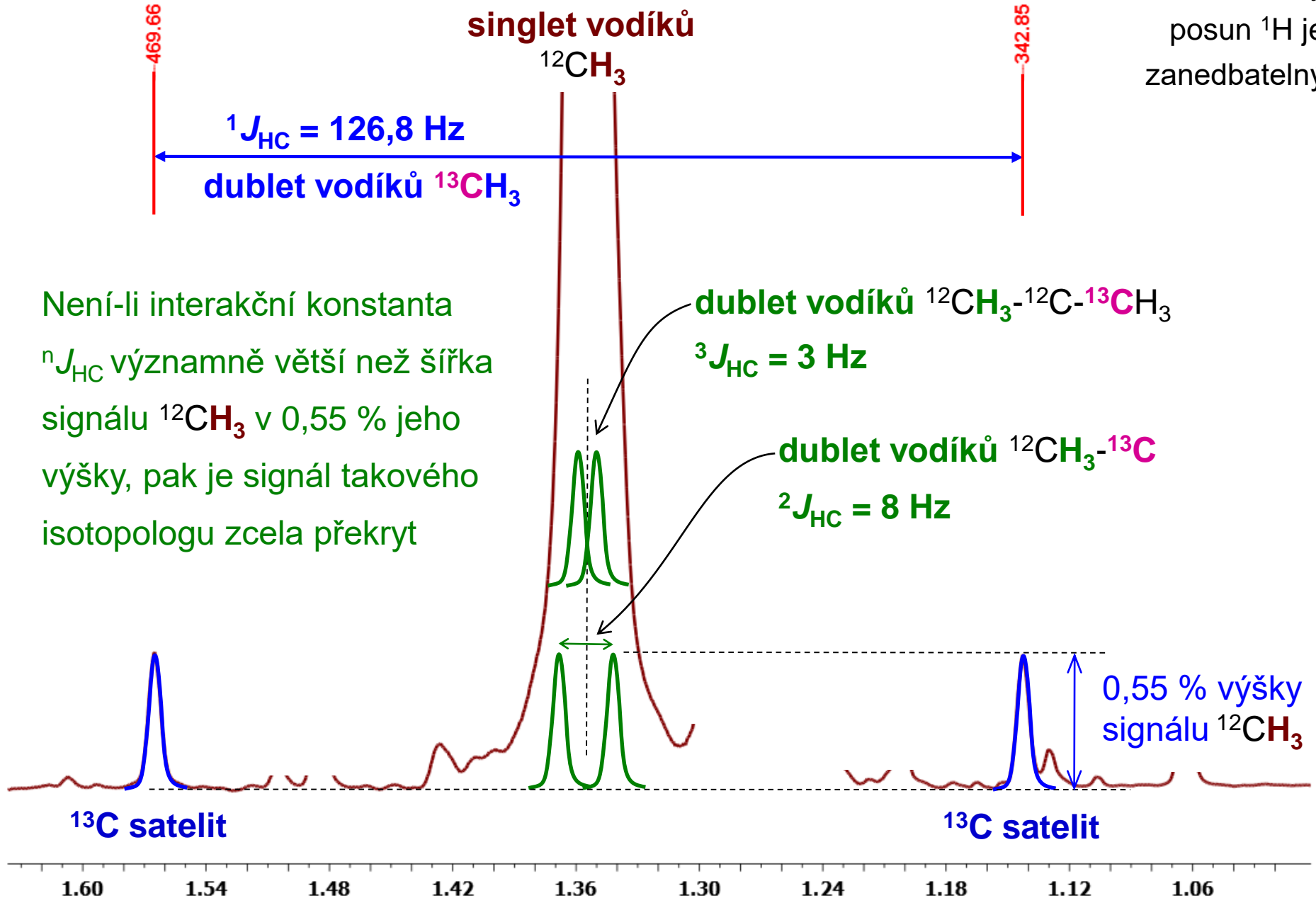
$^4 J_{\text{HC}}$

Velikost interakce přes 4 či více vazeb je téměř vždy pod 3 Hz a tudíž kroskík v HMBC obvykle nepozorujeme a nebo jen o velmi malé intenzitě (viz LR-HSQMBC)



# Isotopology v $^1\text{H}$ , HSQC a HMBC

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

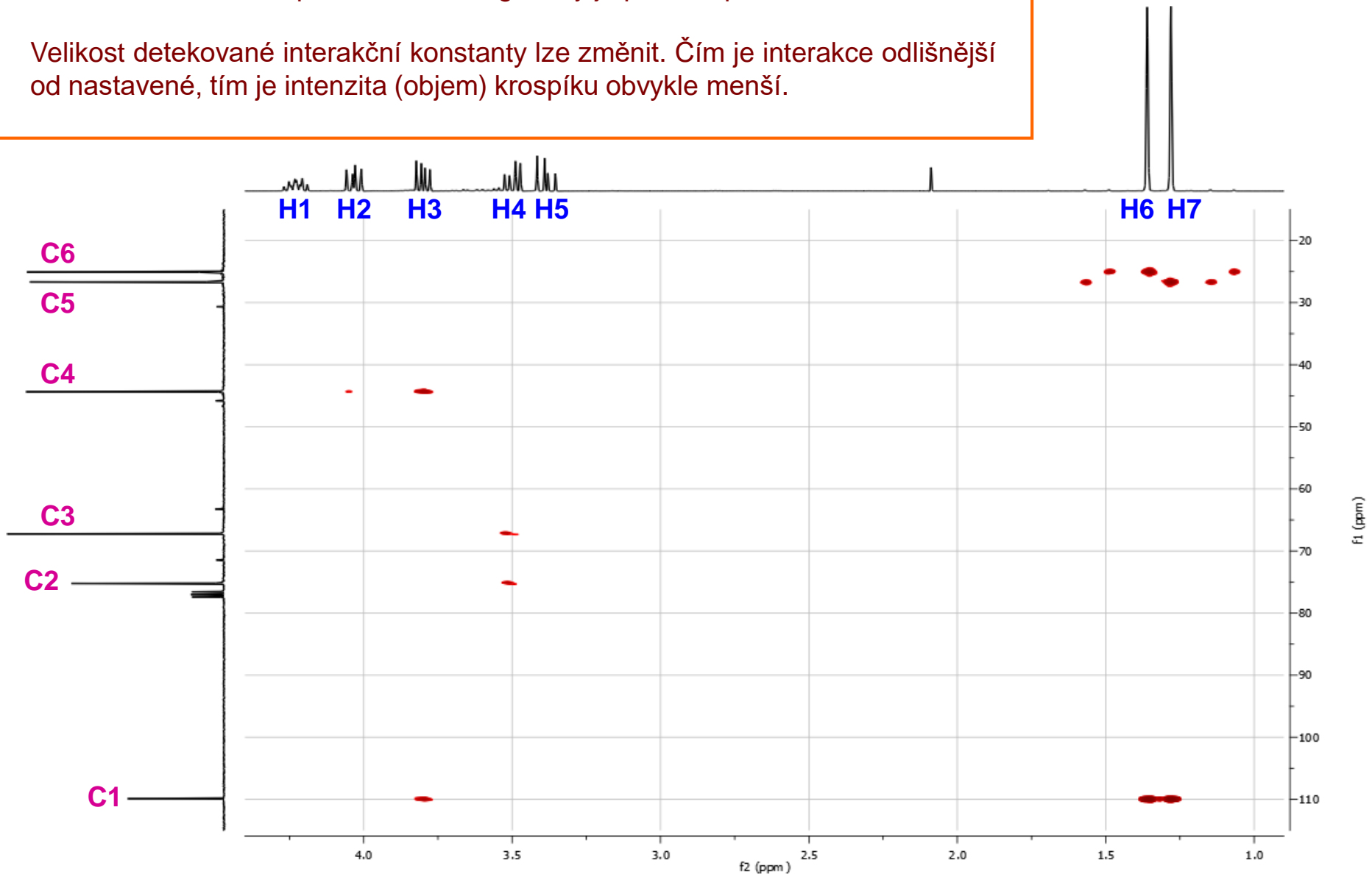


Není-li interakční konstanta  
 $^nJ_{\text{HC}}$  významně větší než šířka  
signálu  $^{12}\text{CH}_3$  v 0,55 % jeho  
výšky, pak je signál takového  
isotopologu zcela překryt

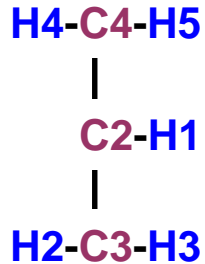
# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ gHMBC 2D NMR

Obvykle je experiment HMBC nastaven tak, aby byly detekovány spin-spinové interakce  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  o velikosti kolem 8 Hz. To znamená, že krosníky odpovídají spin-spinové interakci přes dvě nebo tři vazby. Znalost obvyklých  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  interakčních konstant pro strukturní fragmenty je pro interpretaci žádoucí.

Velikost detekované interakční konstanty lze změnit. Čím je interakce odlišnější od nastavené, tím je intenzita (objem) krosníku obvykle menší.



# Zjištěné strukturní fragmenty



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

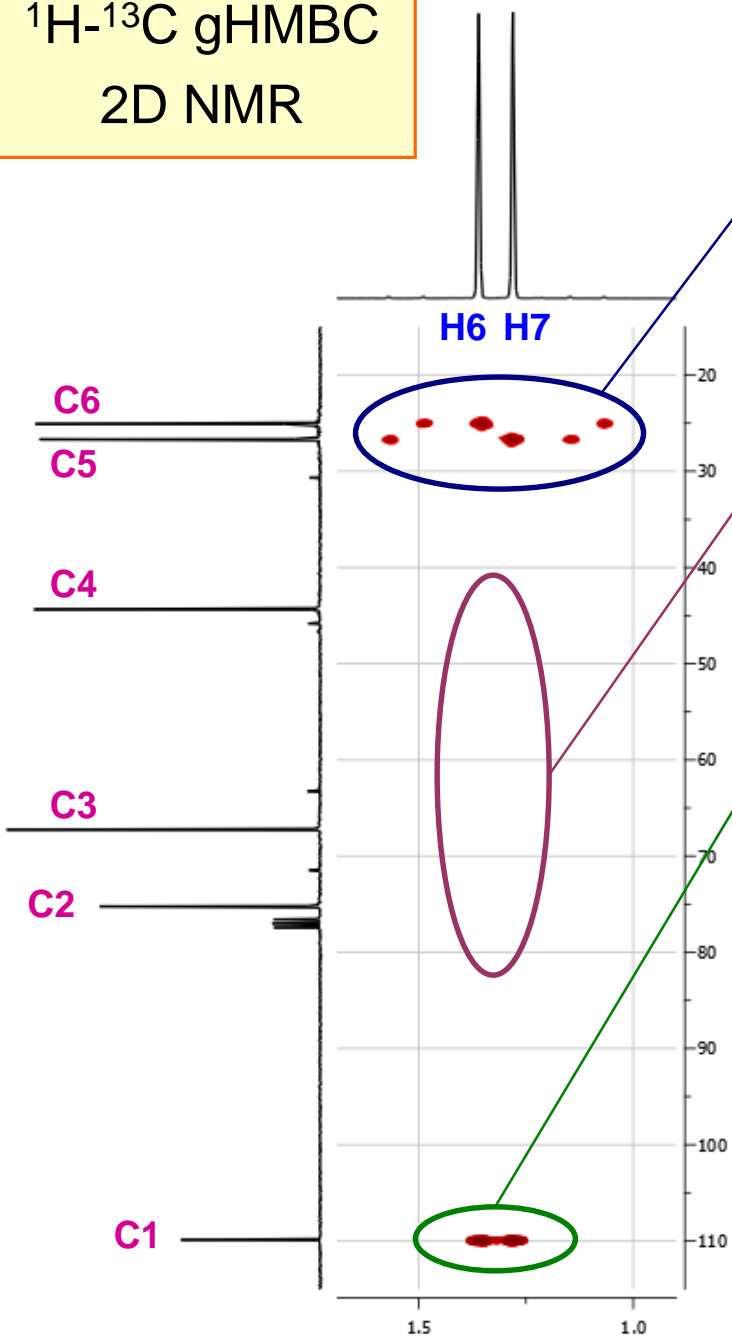


- a) Přiřazení vodíků k uhlíkům potvrzuje HSQC spektrum
- b) Spojení uhlíků potvrzují interakční konstanty  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$   
(viz  $^1\text{H}$ ,  $J$ -resolved a COSY spektra) a interakční konstanty  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (viz  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spektra)

Ze sumárního vzorce zbývá jeden **chlor**, **dva kyslíky** a **jeden cyklus**

**Následným rozbořením HMBC spekter lze jednak navržené strukturní fragmenty potvrdit, a jednak odhalit spojení těchto fragmentů**

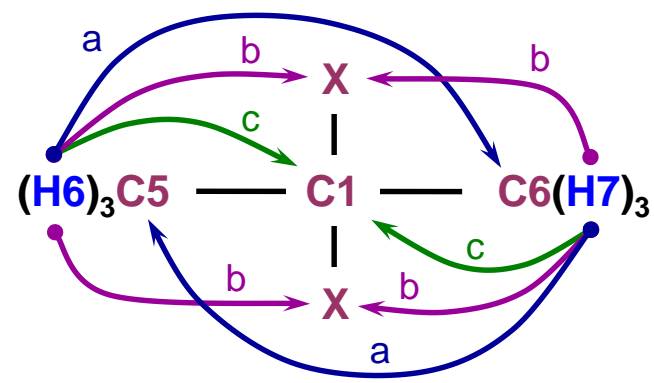
**$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHMBC  
2D NMR**



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  $^{13}\text{C}$  NMR,  $^3J_{\text{CH}} = 3 \text{ Hz}$ ). Malá je v důsledku přítomnosti elektron-akceptorních atomů vázaných na prostřední uhlík, tj. **C1**.

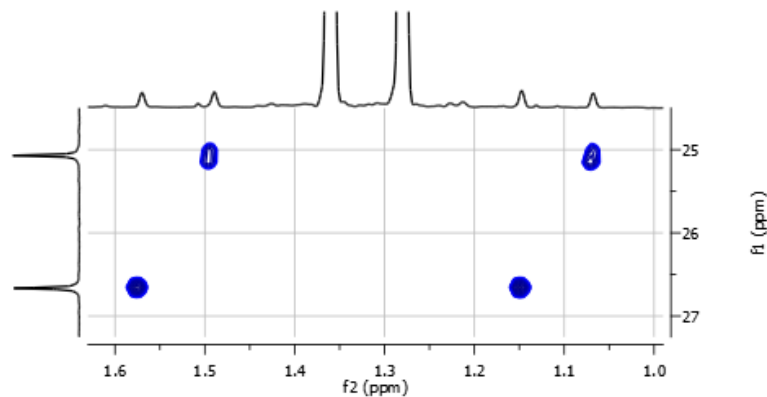
Nepřítomnost krosníků methylových protonů (volná rotace) s uhlíky **C2**, **C3** a **C4** potvrzují, že na uhlík **C1** není velmi pravděpodobně vázán žádný uhlíkový atom, tj. **X ≠ C**.

Značná intenzita krosníků protonů obou methylů s **C1** jsou v důsledku silné interakce přes dvě vazby. Interakce  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  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.

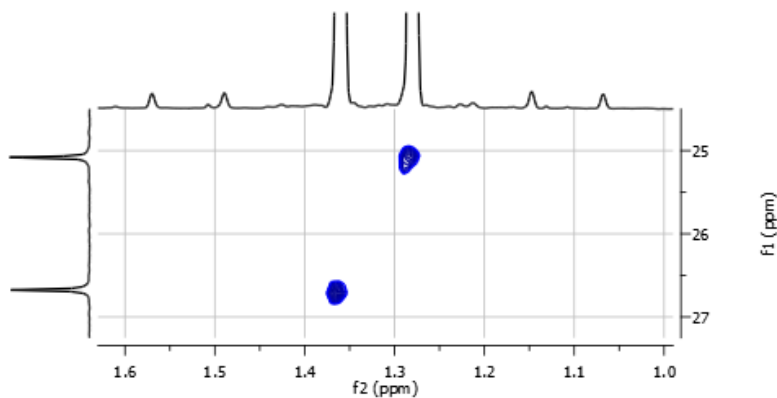


- a)  $^3J_{\text{HC}}$  **malá**  
X je elektronegativní
- b)  $^3J_{\text{HC}}$  **není**  
X není uhlík
- c)  $^2J_{\text{HC}}$  **velká**  
X je elektronegativní

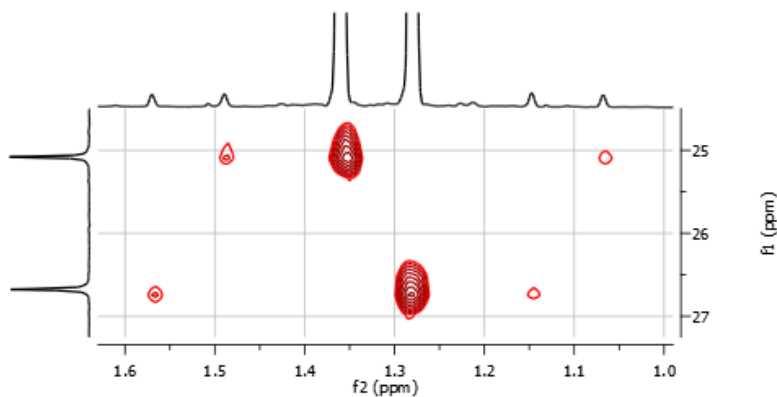
# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HSQC versus HMBC 2D NMR



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

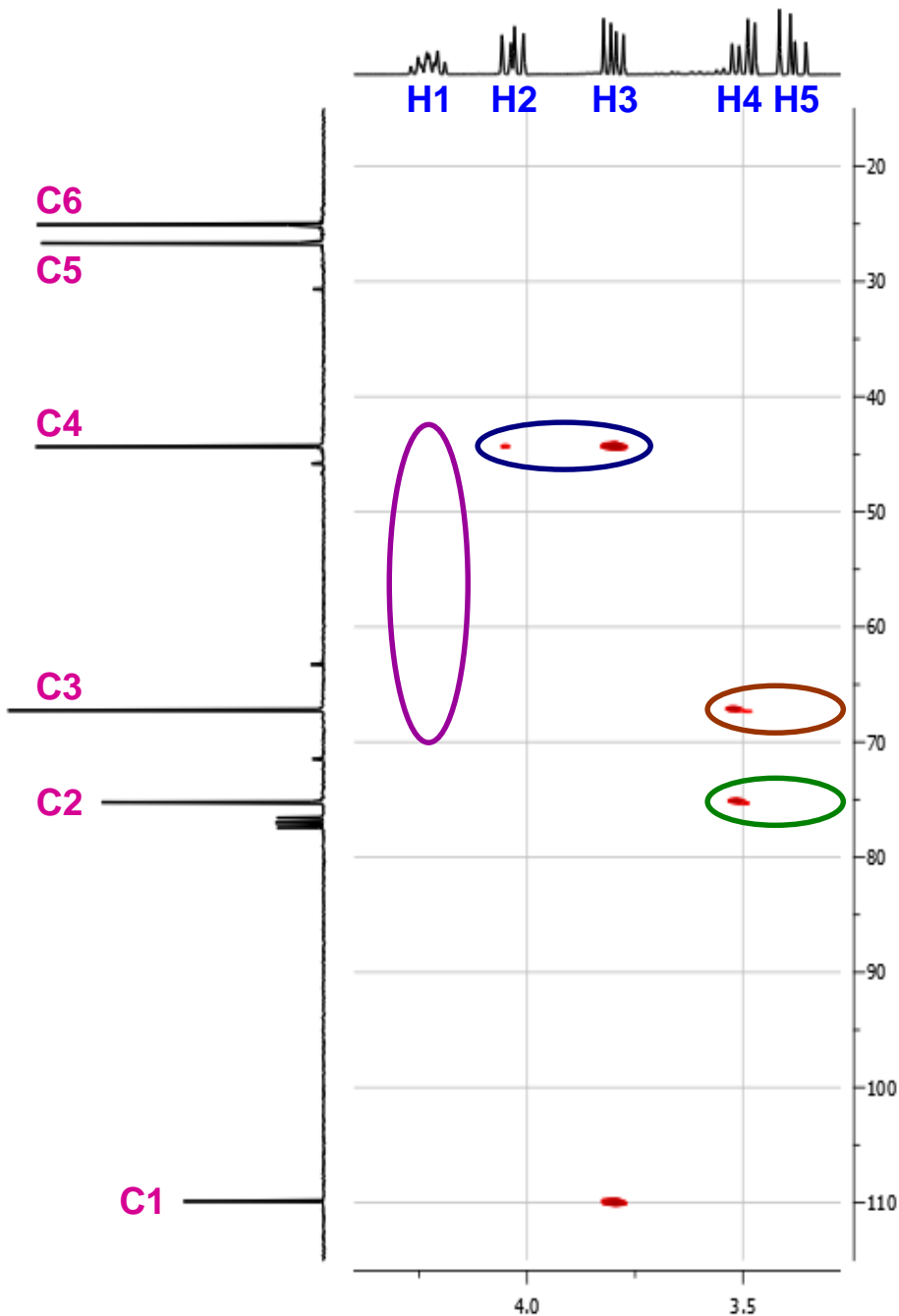


Obvykle se však HSQC měří s dekaplingem  $^{13}\text{C}$ , čímž je multiplicita způsobená  $^{13}\text{C}$  odstraněna a dublet přechází na singlet. Vzhledem k tomu, že chemický posun protonů  $^1\text{H}$ - $^{12}\text{C}$  je velmi podobný protonům  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  dostáváme krosníky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



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

# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ gHMBC 2D NMR

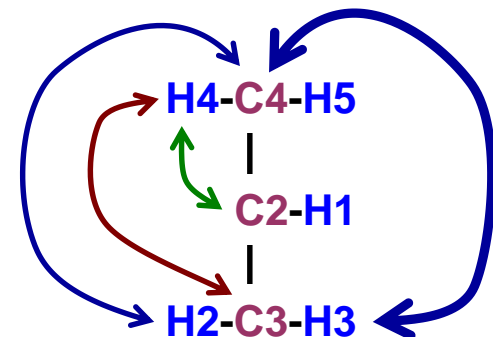


Proton **H1** je od uhlíků **C4** a **C3** vzdálen pouze přes dvě vazby, okolní substituenty obvyklou velikost této  $^2J_{\text{CH}}$  patrně nezvyšují a proto nejsou pozorovány žádné krosbíky.

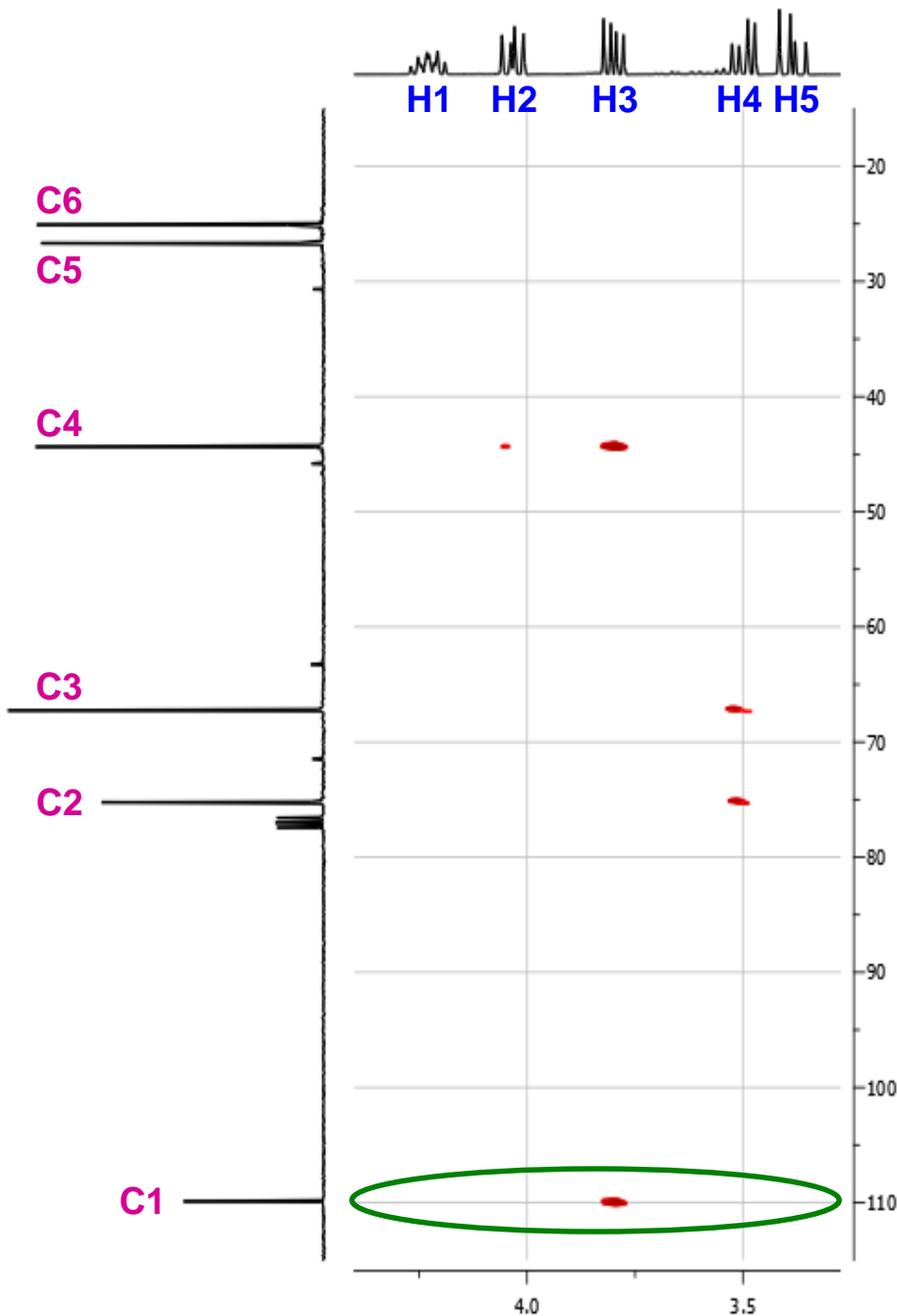
Naproti tomu interakce mezi **C2** a **H4**, která je také pouze přes dvě vazby, je vlivem okolních substituentů zvýšena natolik, že je pozorován krosbík. Všimněme, že krosbík s **H5** pozorován není.

Protony **H2** a **H3** jsou vzdáleny od uhlíku **C4** tři vazby, a v HMBC jsou tedy pozorovány krosbíky. 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?



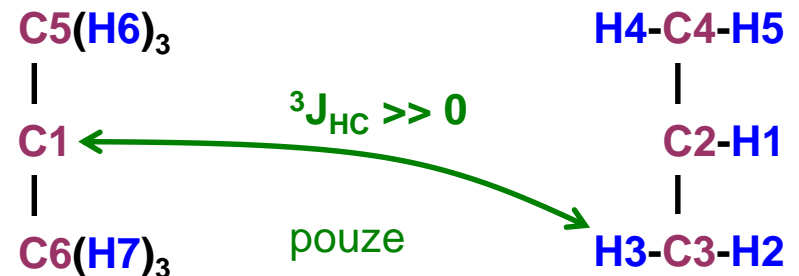
# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ gHMBC 2D NMR



V kombinaci s indicií, že **C1** není vázán na jiný uhlíkový atom (krom **C5** a **C6**) je zřejmé, že pozorovaný krosník odpovídá interakci přes tři vazby. Skutečnost, že krosník 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 částečně fixní dihedralní úhly **H2-C3-O-C1** a **H3-C3-O-C1**.

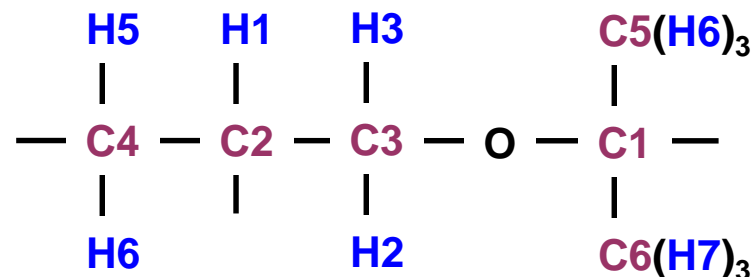
Lze tedy očekávat, že pokud by byl na atom kyslíku vázán uhlík **C4**, pak by alespoň jeden z jeho protonů (**H4** a **H5**) měl v HMBC krosník podobně protonům uhlíku **C3** (**H3** a **H4**). Jelikož tento krosník chybí, lze předpokládat, že tomu tak není, tj. vodíky **H4** a **H5** jsou vzdáleny čtyři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

Naproti tomu je-li přes kyslík vázán uhlík **C2**, pak lze předpokládat, že krosník 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**.



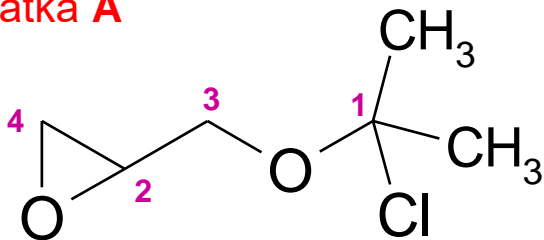
# Možná spojení strukturních fragmentů

Spektrum HMBC nevyvrátilo přítomnost strukturního fragmentu **C4-C2-C3** a potvrdilo přítomnost strukturního fragmentu **C5-C1-C6**. Dále HMBC podporuje přítomnost cyklu. V neposlední řadě odhalilo spojení fragmentů přes **C1-O-C3-H3**, což vede k následujícímu strukturnímu fragmentu.

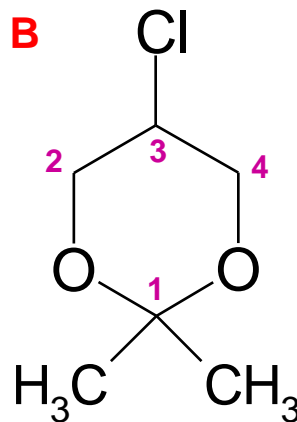


Ze sumárního vzorce již tedy zbývá pouze **chlor**, který může být vázán pouze na **C1**, **C2** nebo **C4**. Zbývající **kyslík** pak uzavírá kruh mezi zbývajících valencemi. Dimery či vyšší symetrické ekvivalenty vylučuje sumární vzorec. Nabízí se tedy pouze látka **A**, látka **B** nebo látka **C**, přičemž látka **B** je symetrická a tudíž jí lze vyloučit neb spektra odpovídají nesymetrické látce.

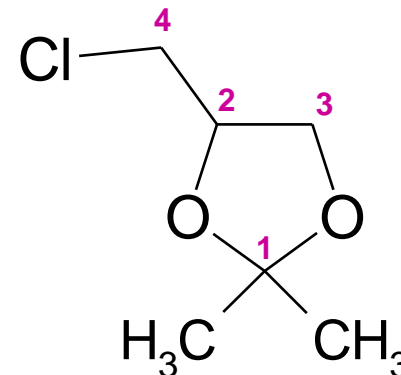
Látka A



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

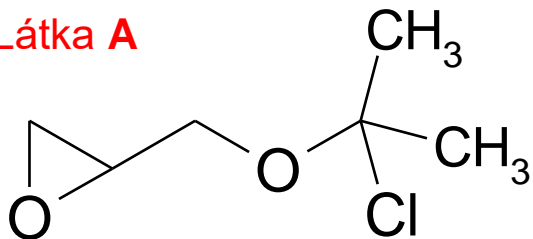
-44.36

-30.68

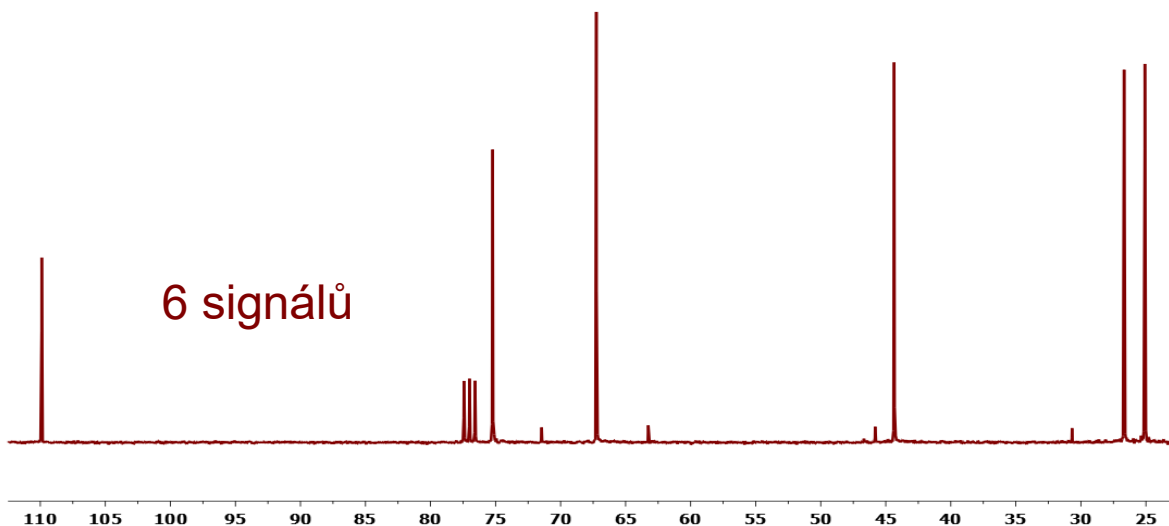
-26.68

-25.08

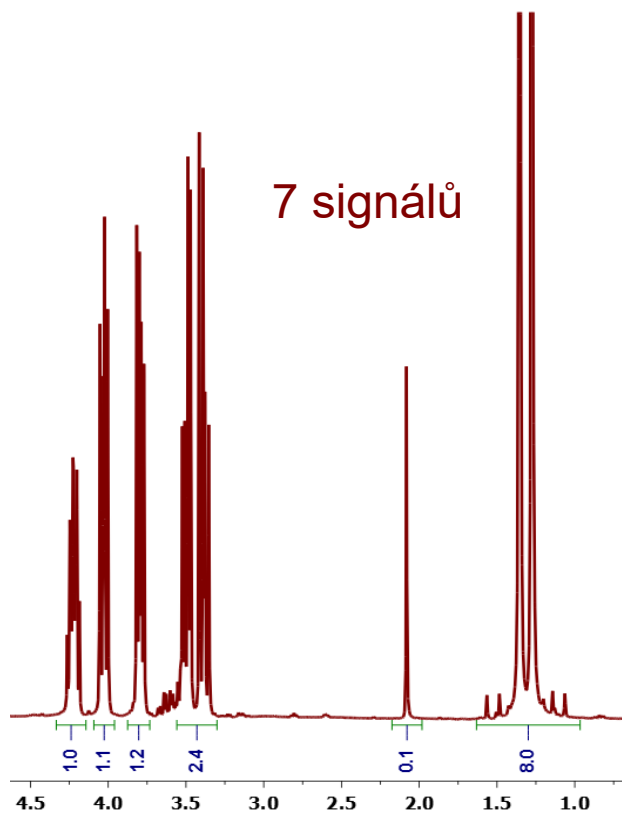
Látka A



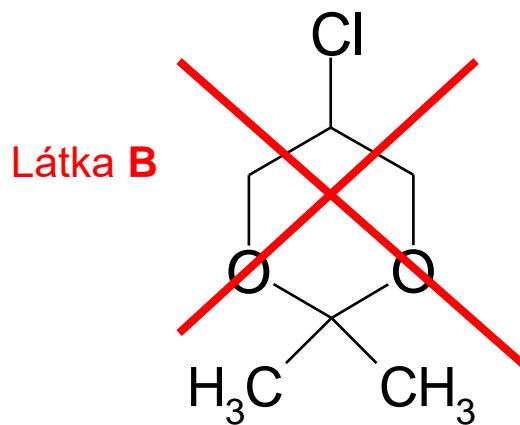
6 signálů v  $^{13}\text{C}$   
7 signálů v  $^1\text{H}$



6 signálů

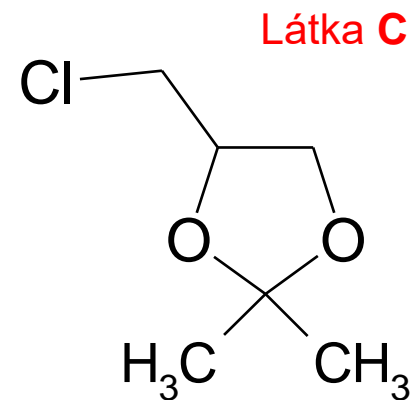


7 signálů



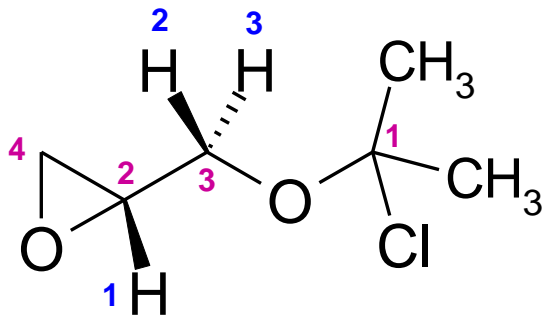
5 signálů v  $^{13}\text{C}$   
5 signálů v  $^1\text{H}$

Methyl je *E/Z* k Cl, a vodíky  $\text{CH}_2$  jsou diastereotopní



6 signálů v  $^{13}\text{C}$   
7 signálů v  $^1\text{H}$

# Možné látky a experimentální HMBC spektrum



## Látka A

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

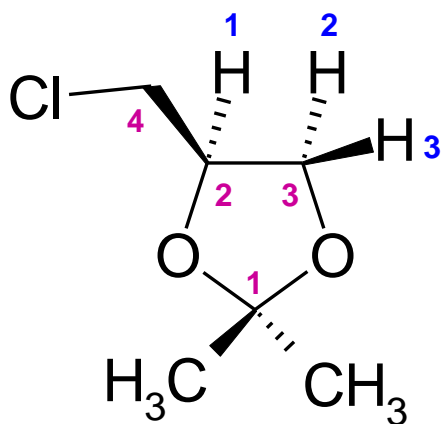
Lze předpokládat, že v důsledku volné rotace budou v HMBC krosníky uhlíku **C1** s oběma vodíky **H2** a **H3** uhlíku **C3** – **Ale! pozorován je pouze s H3**

## 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**

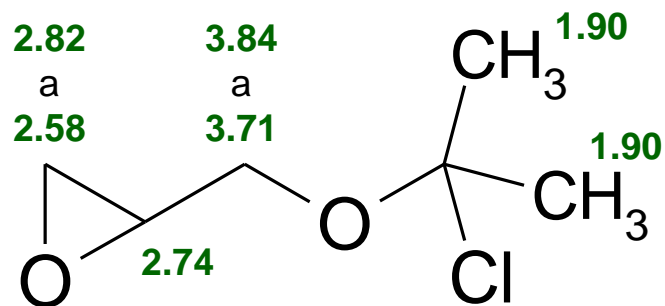
Dále lze předpokládat, že dihedralní úhly **C1-O-C3-H2** a **C1-O-C2-H1** budou podobné, a krosník v HMBC buď bude pozorován u obou a nebo ani s jedním – a **pozorován není krosník C1 ani s H1 ani s H2**

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**

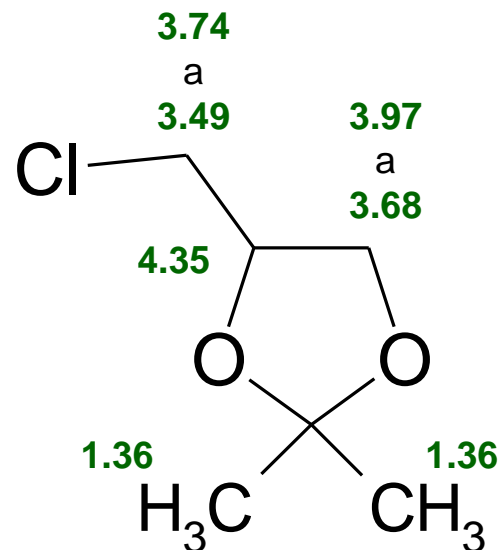


Rozhodnut jednoznačně mezi látkami **A** a **C** pomocí HMBC nelze. Na druhou stranu, látky mají velmi rozdílnou strukturu a lze tedy předpokládat, že jejich  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra budou velmi odlišná. Typické chemické posuny a interakční konstanty mnoha strukturálních fragmentů lze nalézt v tabulkách. Výrazně přesnější je však využití počítačových programů, které predikují chemické posuny porovnáním struktury s databázemi obsahujícími statisíce hodnot.

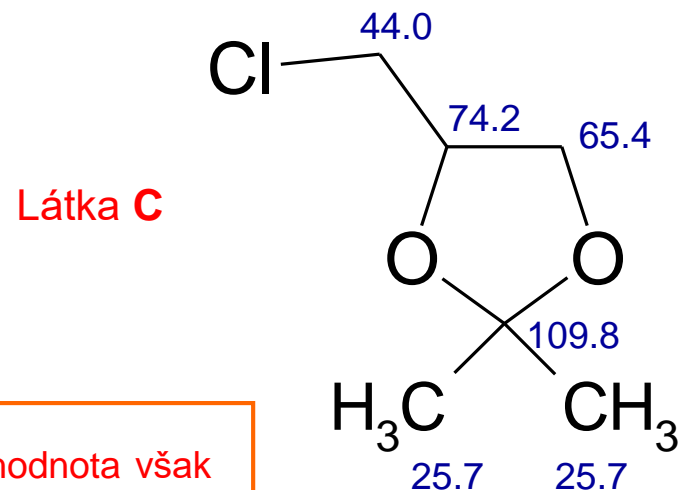
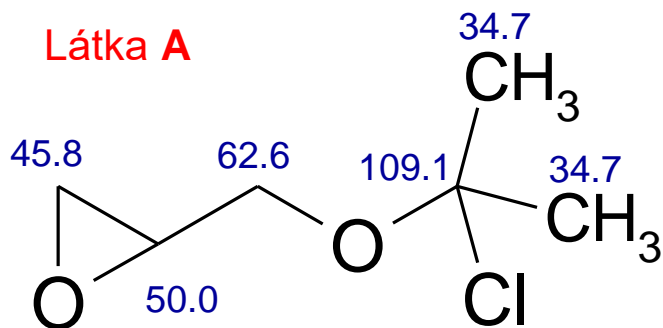
Látka A



Látka C



Chemické posuny [ppm] experimentální	4.22	4.03	3.79	3.50	3.38	1.36	1.28
predikováno pro C	4.35 (+0.13)	3.97 (-0.06)	3.68 (-0.11)	3.74 (+0.24)	3.49 (+0.11)	1.36 (0.00)	1.36 (+0.08)
predikováno pro A	2.74 (-1.48)	3.84 (-0.19)	3.71 (-0.08)	2.82 (-0.68)	2.58 (-0.80)	1.90 (+0.54)	1.90 (+0.62)

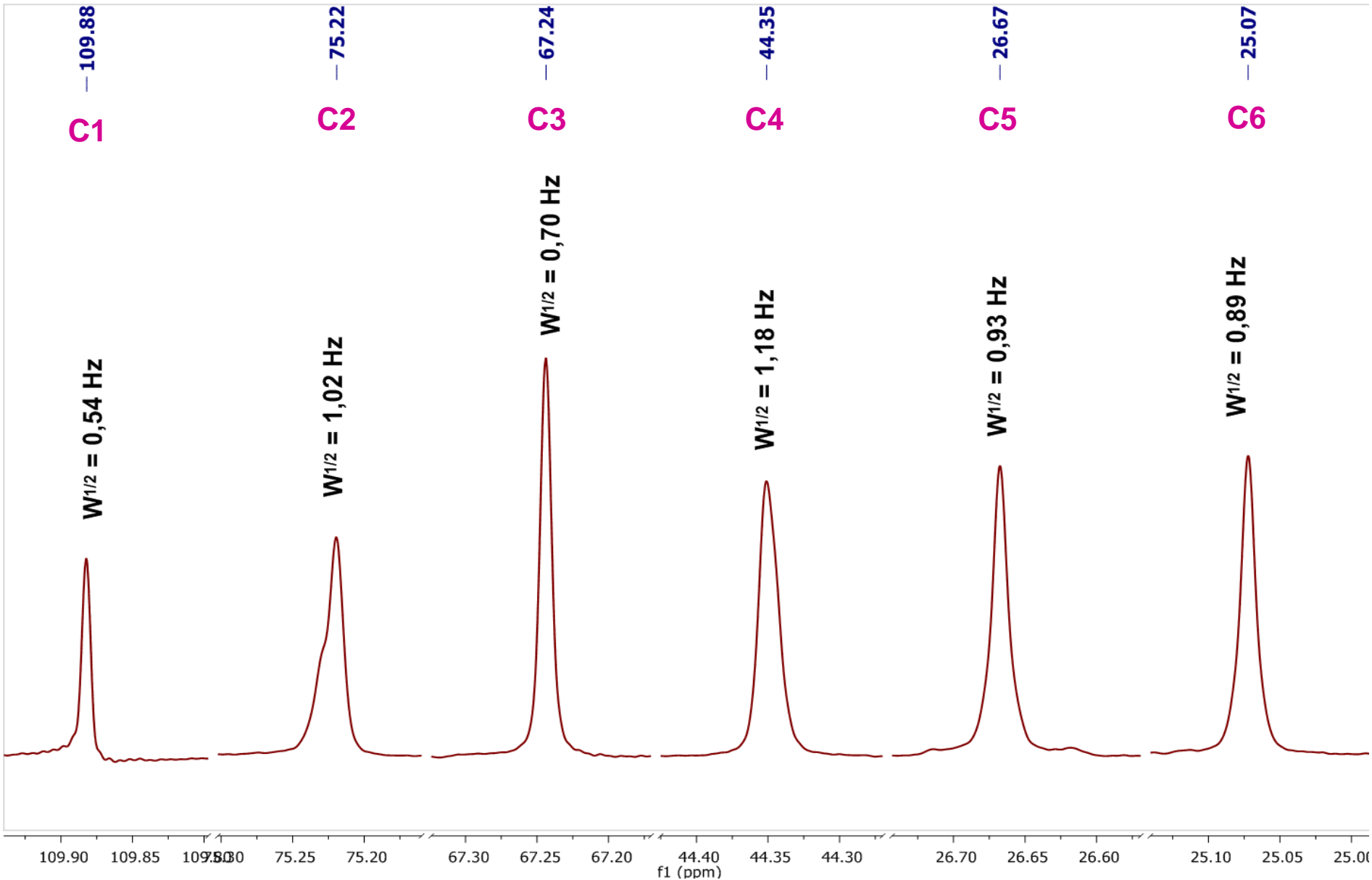


Typická velikost  $^1J_{\text{HC}}$  u epoxidů je ca. 176 Hz. Takto velká hodnota však nebyla naměřena ani u jednoho z uhlíků. Naměřené hodnoty kolem 150 Hz jsou naopak charakteristické pro pětičlenné cykly s kyslíkem.

Chemické posuny [ppm] experimentální	<b>109,9</b>	<b>75,2</b>	<b>67,3</b>	<b>44,4</b>	<b>26,7</b>	<b>25,1</b>
predikováno pro <b>C</b>	109,8 (-0,1)	74,2 (-1,0)	65,4 (-1,9)	44,0 (-0,4)	25,7 (-1,0)	25,7 (+0,6)
predikováno pro <b>A</b>	109,1 (-0,8)	50,0 (-25,2)	62,6 (-4,7)	45,8 (+1,4)	34,7 (+8,0)	34,7 (+9,6)

# Tvar signálů $^{13}\text{C}$ NMR spektra

Šířka píků v polovině výšky souvisí s rychlostí relaxace, avšak symetrie píku ...



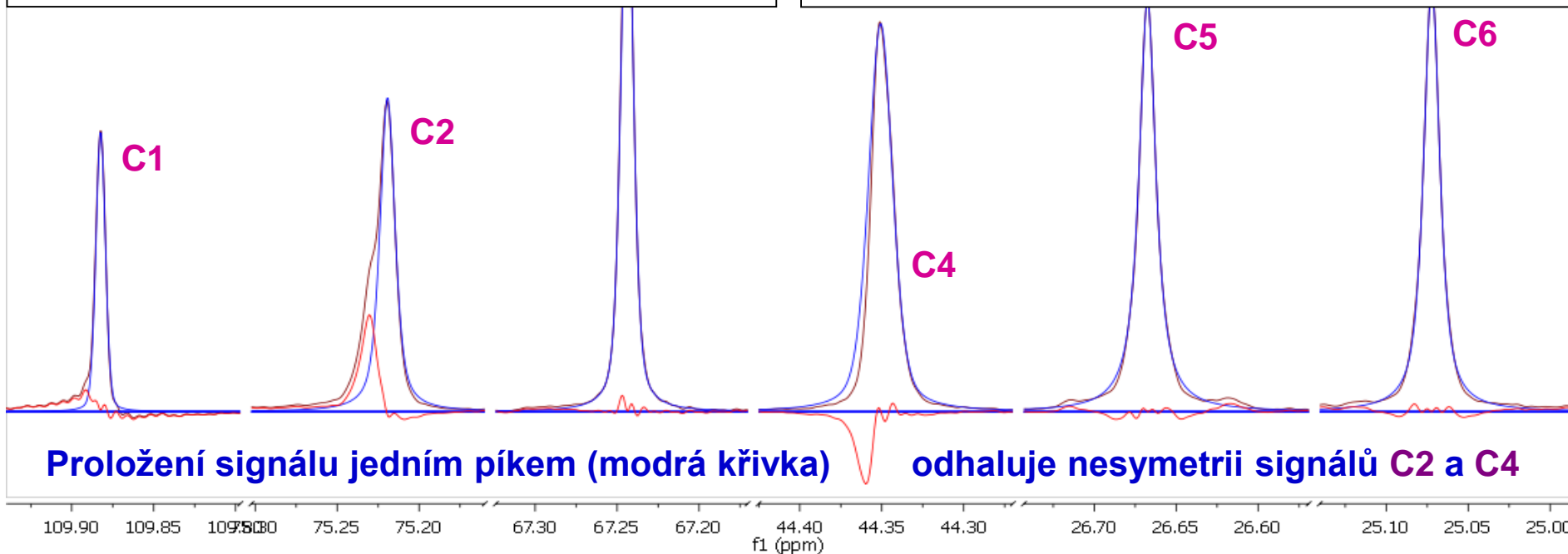
# Tvar signálů $^{13}\text{C}$ isotopologů studované látky

Dekonvoluce signálu (*line fitting*) **C2**

dva píky  
1 : 3,5

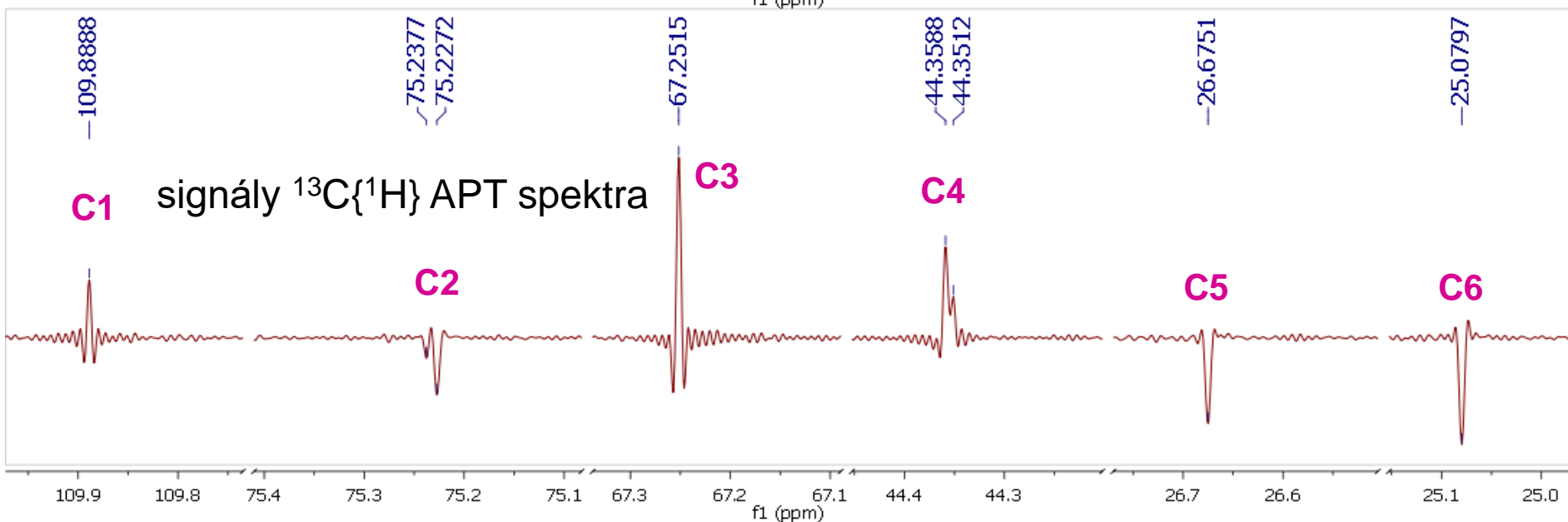
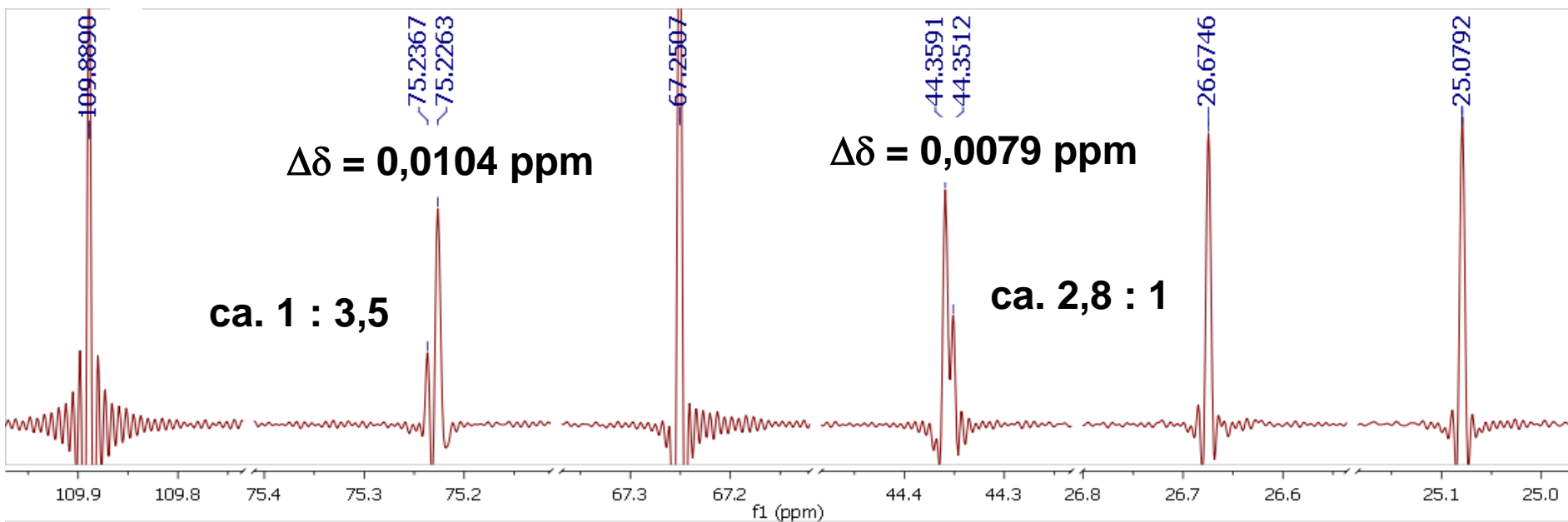
Dekonvoluce signálu (*line fitting*) **C4**

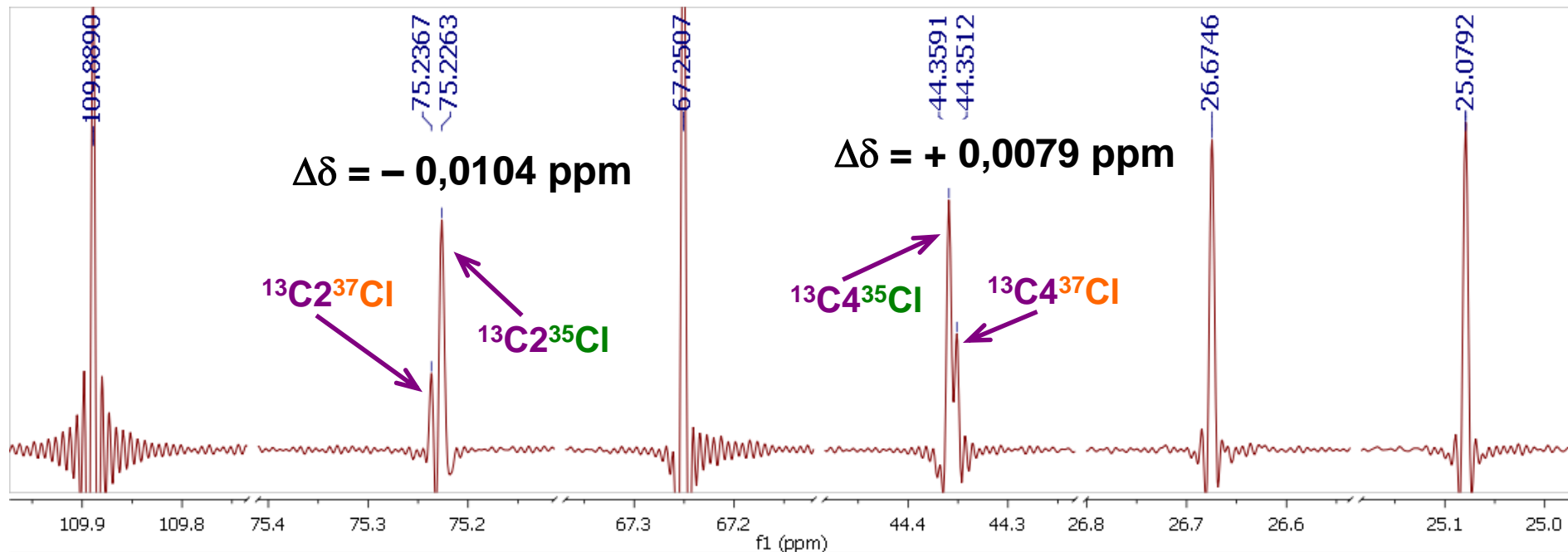
dva píky  
1 : 2,8



# Tvar signálů $^{13}\text{C}$ isotopologů studované látky $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{ClO}_2$

signály  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  spektra – zpracováno s důrazem na rozlišení





$^{35}\text{Cl}$   $I = 3/2$  Výskyt 75,78 %

$^{37}\text{Cl}$   $I = 3/2$  Výskyt 24,22 %

Výskyt  $^{35}\text{Cl} / ^{37}\text{Cl} = 3,1 : 1$

$A_r(^{35}\text{Cl}) = 34.968853$

$A_r(^{37}\text{Cl}) = 36.965903$

Hmotnost  $^{37}\text{Cl} = 106 \% ^{35}\text{Cl}$

**Isotopový efekt**

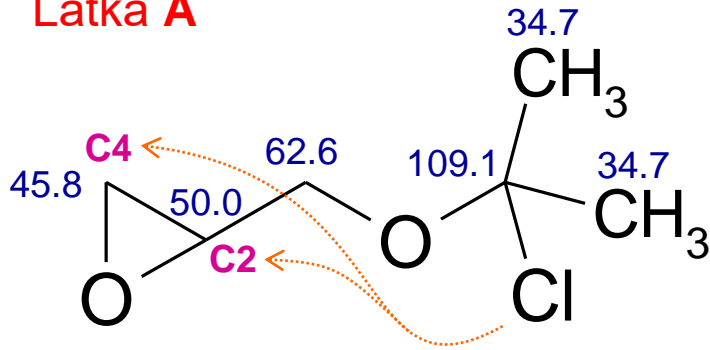


$^{13}\text{C}$  signály isotopologů  $^{13}\text{C}^{37}\text{Cl}$  a  $^{13}\text{C}^{35}\text{Cl}$  se obvykle překrývají (zde u C1, C3, C5 a C6), ale při vysokém rozlišení mohou být u některých pozorovány odděleně (zde u C2 a C4)



# Isotopový efekt $^{35/37}\text{Cl}$ na chemický posun $^{13}\text{C}$

Látka A



**Nepravděpodobné**

$$1,2,3\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

**0 ppb**

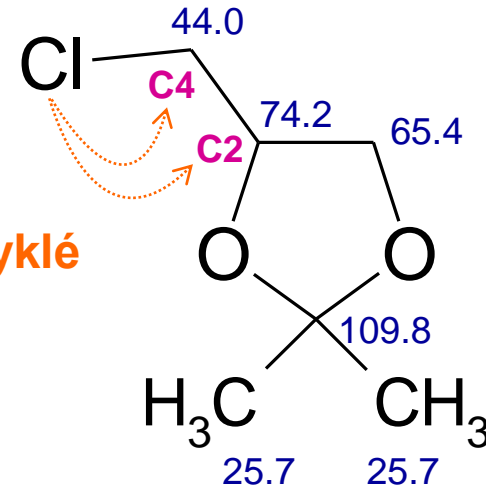
$$4\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

**-10,4 ppb**

$$5\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

**+7,9 ppb**

**Obvyklé**



Látka C

**Isotopový efekt**

**Důsledkem rozdílné rovibrační rovnováhy isotopologů mají rozdílná i spektra**

V literatuře se lze potkat s výpočtem isotopového efektu jako rozdílu vlastnosti nižšího isotopu od vyššího, ale i obráceně = pro posouzení znaménka efektu je nutné znát způsob jeho výpočtu

$$1\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

**+7,9 ppb**

$$2\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

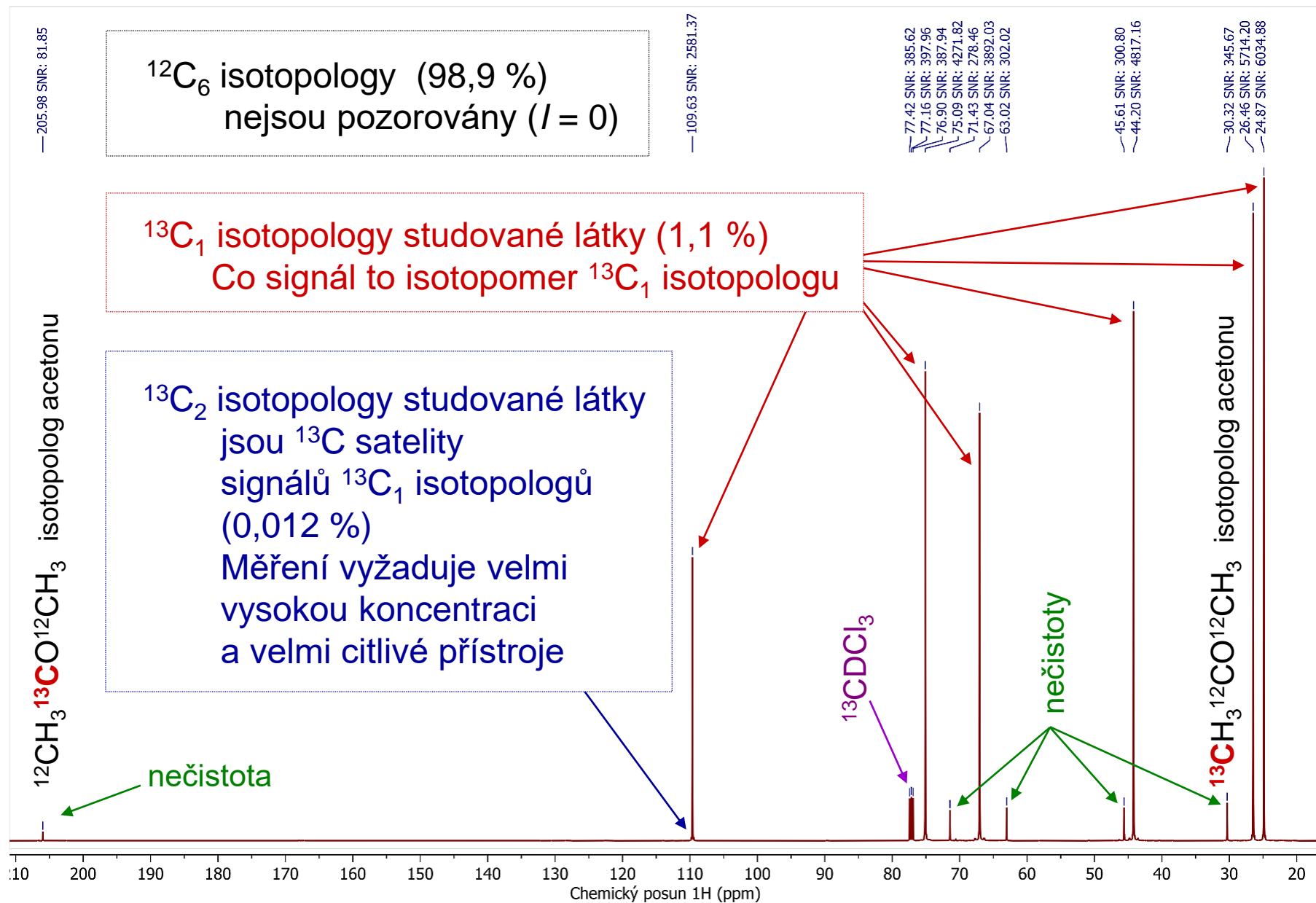
**-10,4 ppb**

$$3,4,5\Delta^{13}\text{C}(^{35/37}\text{Cl})$$

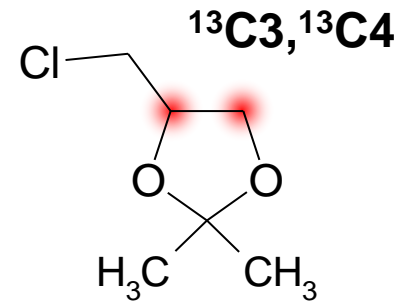
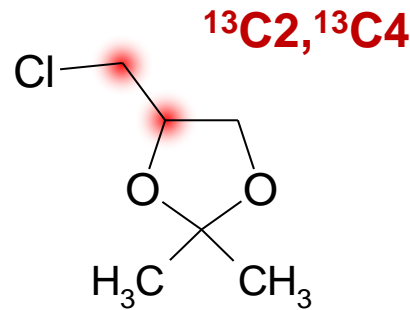
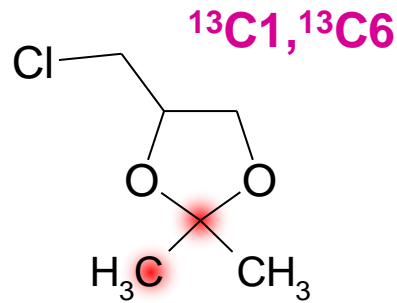
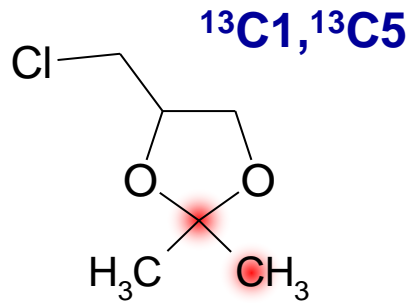
**0 ppb**

# $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ spektrum studované látky s vysokým SNR = 2581 – 6035

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  spektrum je součtem spekter isotopomerů  $^{13}\text{C}_1$  a  $^{13}\text{C}_2$  isotopologů (i nečistot)



# Isotopomery $^{13}\text{C}_2$ isotopologu mající mezi $^{13}\text{C}$ uhlíky vazbu

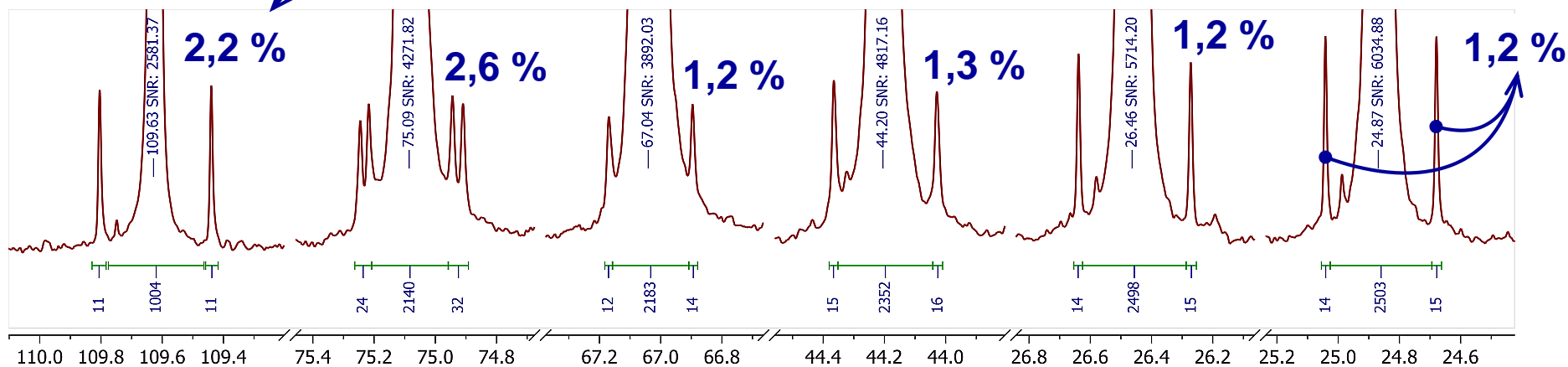


$^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$  spektrum jednoho  $^{13}\text{C}_2$  isotopomeru má právě dva dublety

překryv  
dvou signálů  
(dubletů) různých  
isotopomerů

Jeden signál (dublet)  $^{13}\text{C}_2$  isotopomeru je  
ca. 1,1 % intenzity signálu  $^{13}\text{C}_1$  isotologu  
(každý z  $^{13}\text{C}$  satelitů má ca. 0,55 %)

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



$^{13}\text{C}1, ^{13}\text{C}5$   
 $^{13}\text{C}1, ^{13}\text{C}6$

$^{13}\text{C}2, ^{13}\text{C}3$   
 $^{13}\text{C}2, ^{13}\text{C}4$

$^{13}\text{C}2, ^{13}\text{C}3$

$^{13}\text{C}2, ^{13}\text{C}4$

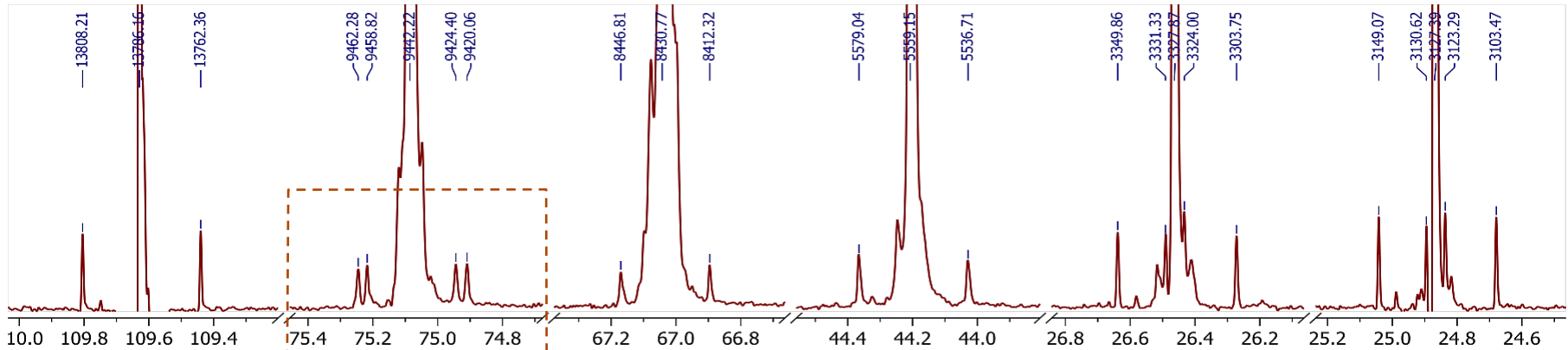
$^{13}\text{C}1, ^{13}\text{C}5$

$^{13}\text{C}1, ^{13}\text{C}6$

stejná barva = stejný isotopomer

# $^{13}\text{C}_2$ isotopology ... $^{13}\text{C}$ satelity v $^{13}\text{C}$ spektrech, interakční konstanty $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$

$^1J_{\text{CC}}$  obvykle 35 - 70 Hz



$^1J_{\text{C1C5/6}}$   
45,85 Hz

$^1J_{\text{C2C4}}$   
42,22 Hz

$^1J_{\text{C2C3}}$   
34,42 Hz

$^1J_{\text{C3C2}}$   
34,49 Hz

$^1J_{\text{C4C2}}$   
42,33 Hz

$^1J_{\text{C5C1}}$   
46,11 Hz

$^1J_{\text{C6C1}}$   
45,60 Hz

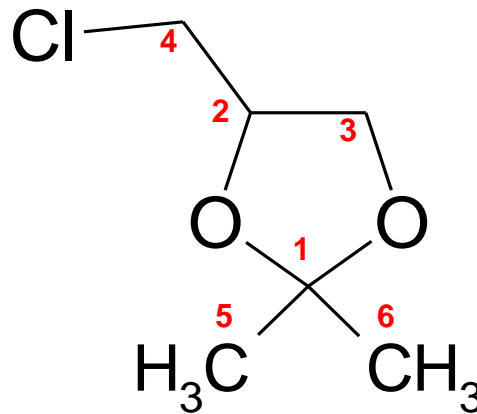
rozdíl 0,51 Hz  
průměr 45,86 Hz

$^2J_{\text{C5C6}}$   
7,33 Hz

$^2J_{\text{C6C5}}$   
7,32 Hz

$^1J_{\text{CC}} \gg ^nJ_{\text{CC}}$

varianta 37,88 a 38,76 Hz  
není správným řešením neb  
hodnoty nejsou do páru



Isotopový efekt  $^1\Delta^{13}\text{C}(^{12/13}\text{C})$

+7,0 ppb

+8,4 ppb  
+4,9 ppb

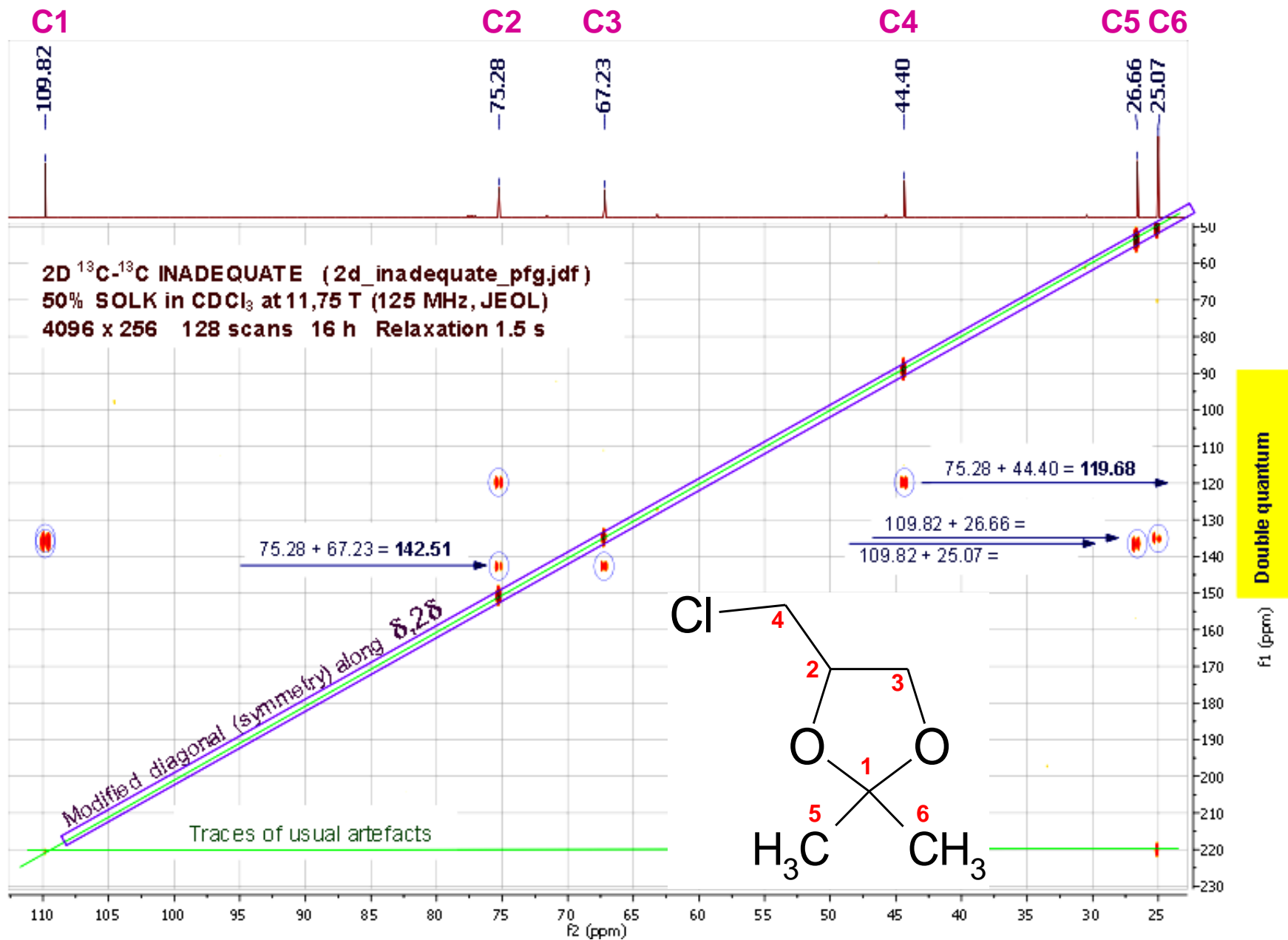
+9,6 ppb

+10,1 ppb

+8,5 ppb

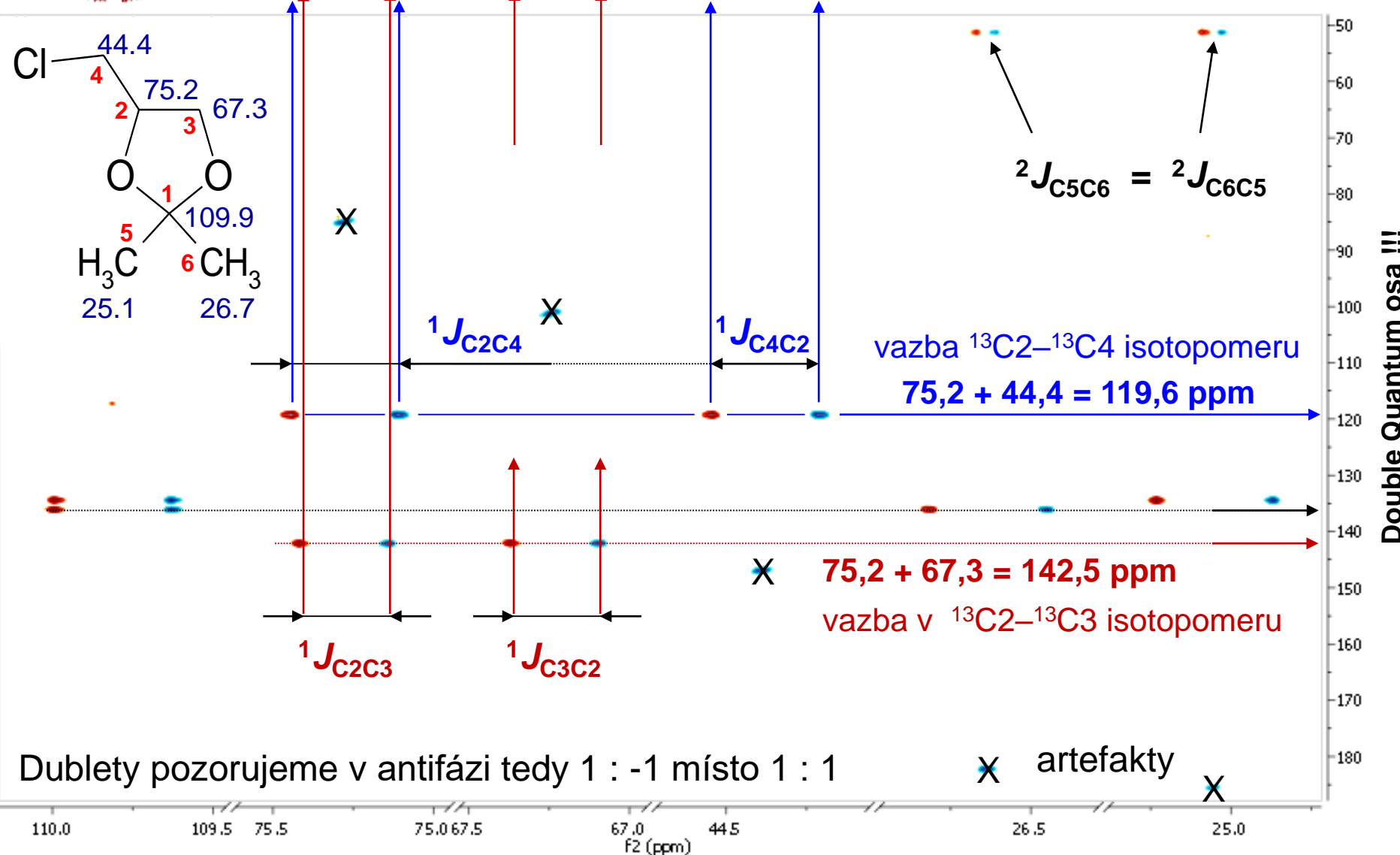
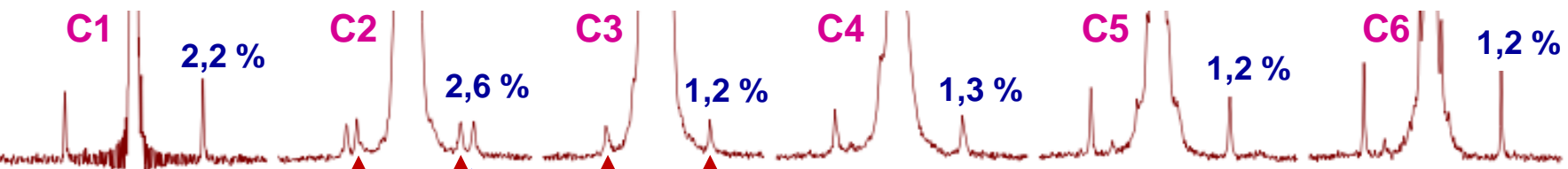
+8,9 ppb

# 2D $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ INADEQUATE - isotopomery $^{13}\text{C}_2$ isotopologu



# 2D <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C INADEQUATE AD Phase

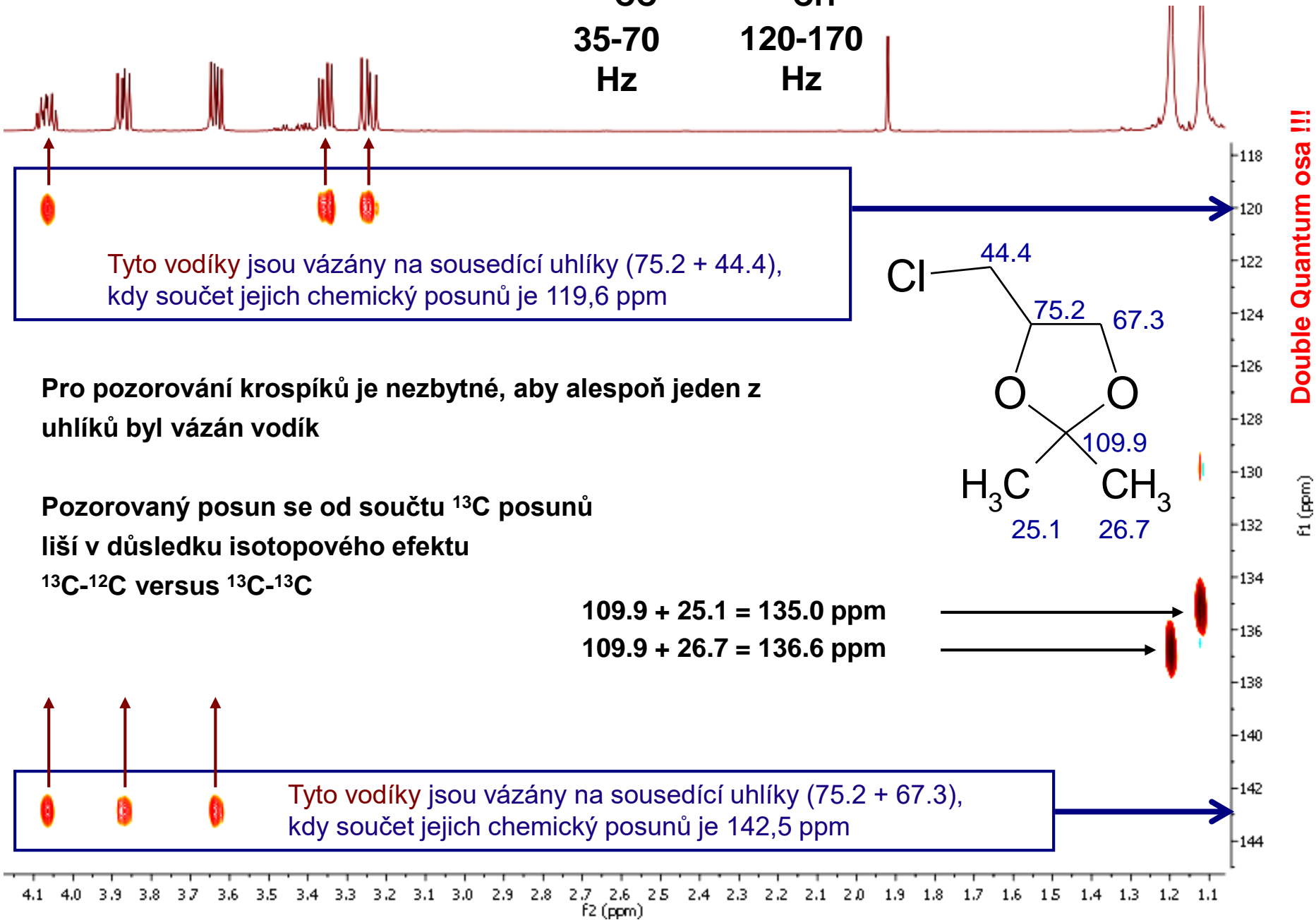
<sup>13</sup>C satelity <sup>13</sup>C signálu



# 2D $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ 1,1-DQ-ADEQUATE

$^1J_{\text{CC}}$  +  $^1J_{\text{CH}}$   
 35-70 Hz + 120-170 Hz

1024 \* 128, 32 skenů, 4 h



Tyto vodíky jsou vázány na sousedící uhlíky (75.2 + 44.4),  
 kdy součet jejich chemický posunů je 119,6 ppm

Pro pozorování krospliků je nezbytné, aby alespoň jeden z uhlíků byl vázán vodík

Pozorovaný posun se od součtu  $^{13}\text{C}$  posunů liší v důsledku isotopového efektu  
 $^{13}\text{C}$ - $^{12}\text{C}$  versus  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$

$$109.9 + 25.1 = 135.0 \text{ ppm}$$

$$109.9 + 26.7 = 136.6 \text{ ppm}$$

Tyto vodíky jsou vázány na sousedící uhlíky (75.2 + 67.3),  
 kdy součet jejich chemický posunů je 142,5 ppm

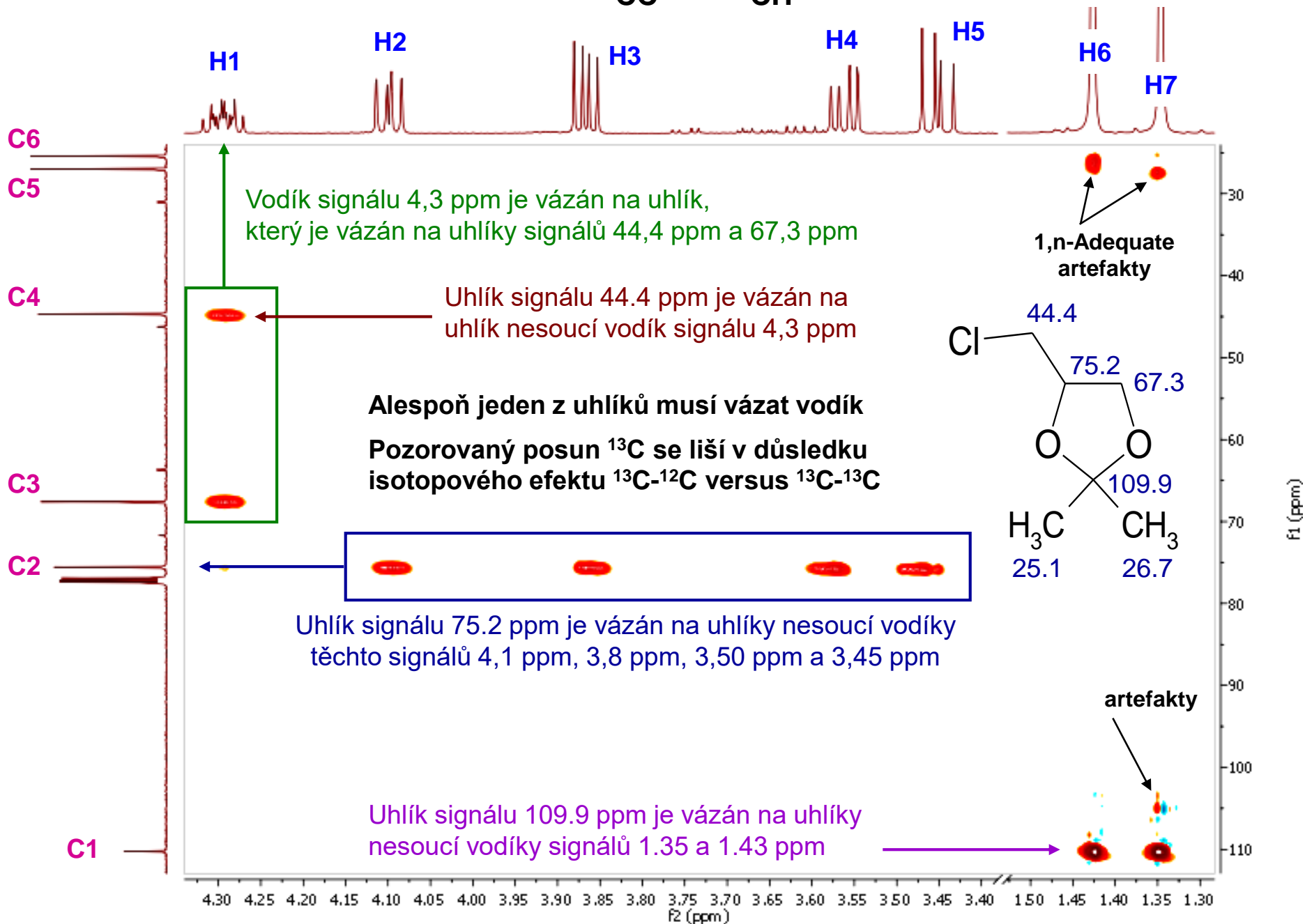
Double Quantum osa !!!  
 F1 (ppm)

F2 (ppm)

# 2D $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ 1,1-SQ-ADEQUATE

$$^1J_{\text{CC}} + ^1J_{\text{CH}}$$

1024 \* 128, 32 skenů, 4 h

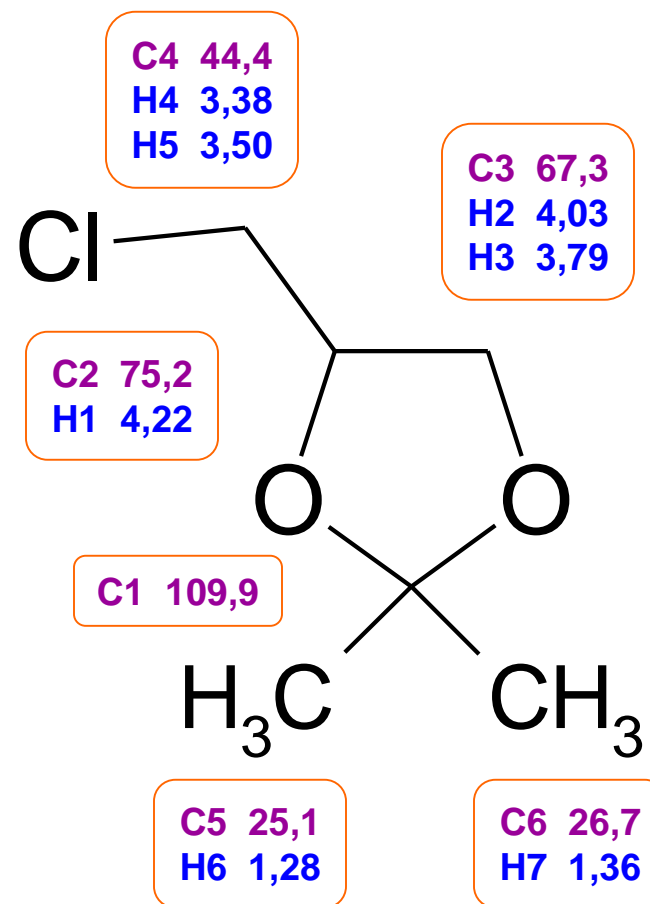
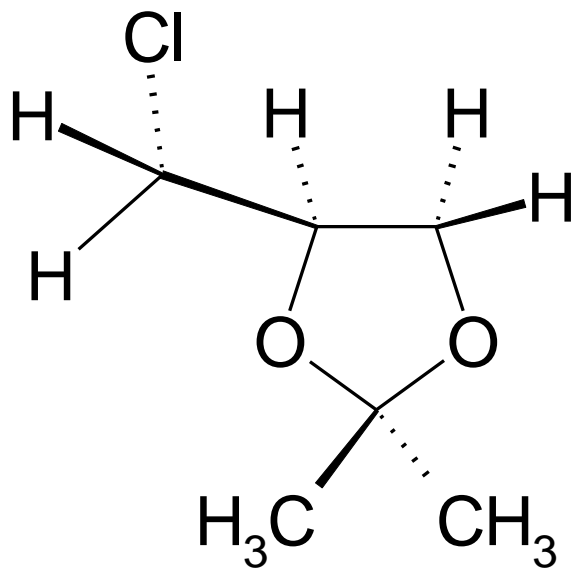




# Přiřazení chemických posunů $^1\text{H}$

## Látka C

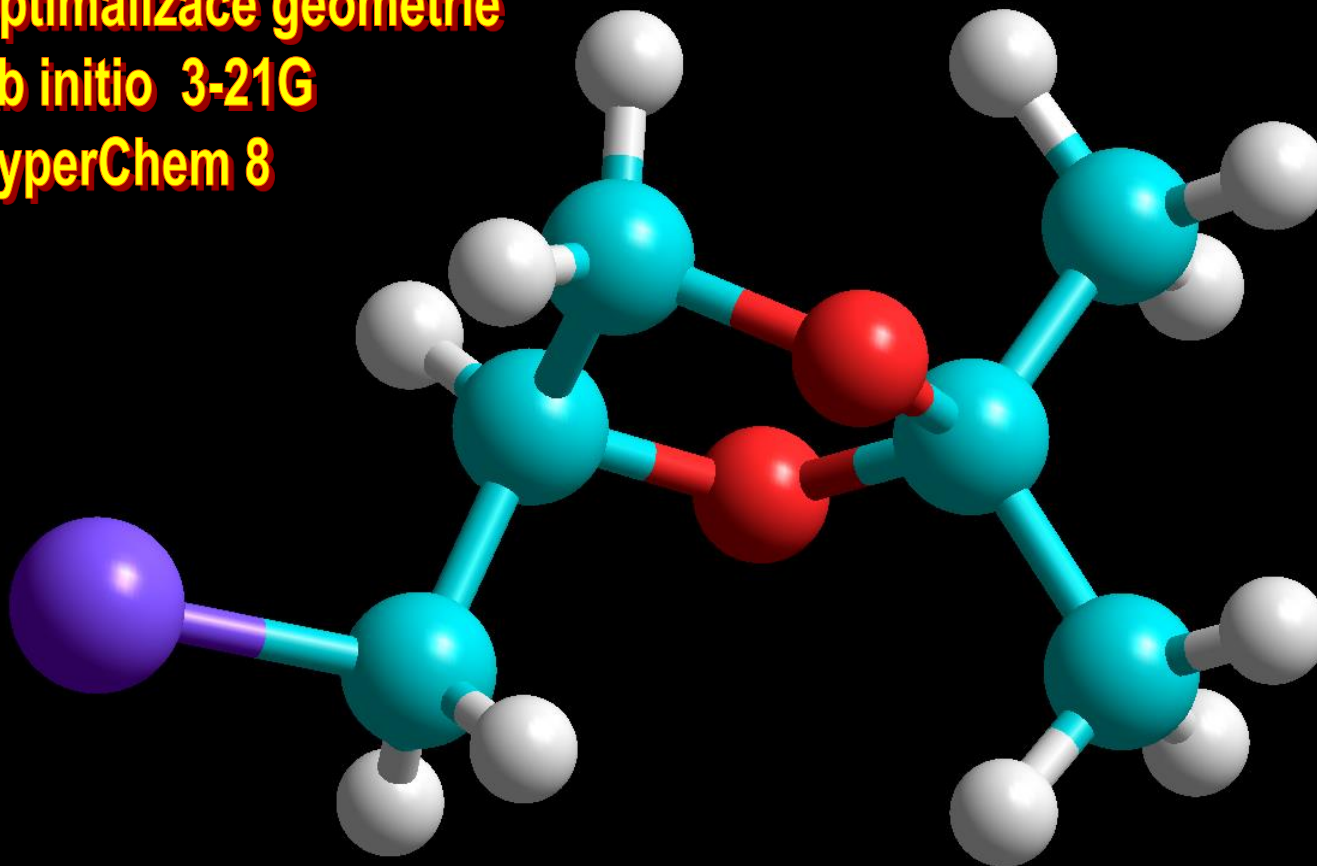
Chemické posuny neznámé látky se shodují s očekávanými pouze v případě látky C



# Přiřazení chemických posunů $^1\text{H}$

!!! POUZE JEDEN z MOŽNÝCH KONFORMERŮ !!!

**Optimalizace geometrie**  
**Ab initio 3-21G**  
**HyperChem 8**



# Interakce přes prostor – Nukleární Overhauserův Efekt

Intenzita signálů jader se zvyšuje pokud jsou v jejich blízkosti ozařována jiná jádra

Nukleární Overhauserův efekt (NOE) je **úměrný vzdálenosti jader  $\sim 1/r^6$**

Intenzita NOE vypovídá o **prostorovém** uspořádání jader

Pro jádra vzdálená více jak 5 Å (0,5 nm) je NOE neměřitelné velikosti

## Techniky měření NOE

**NOEDIF**

**NOESY1D**

**ROESY1D**

**2D NOESY**

**NOE Spectroscopy**

**2D ROESY**

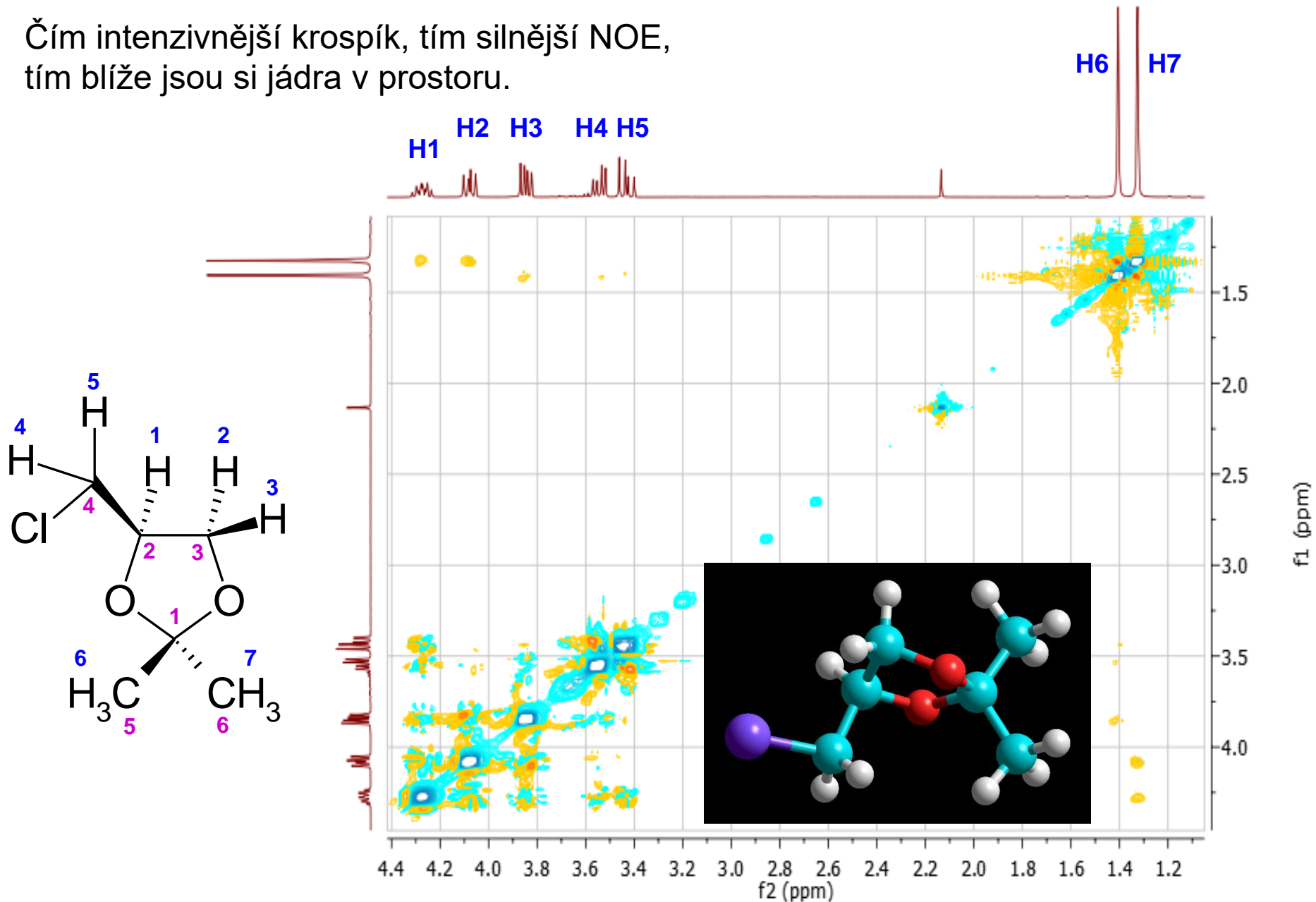
**Rotating frame NOE Spectroscopy**

**2D HOESY**

**Heteronuclear NOE Spectroscopy**

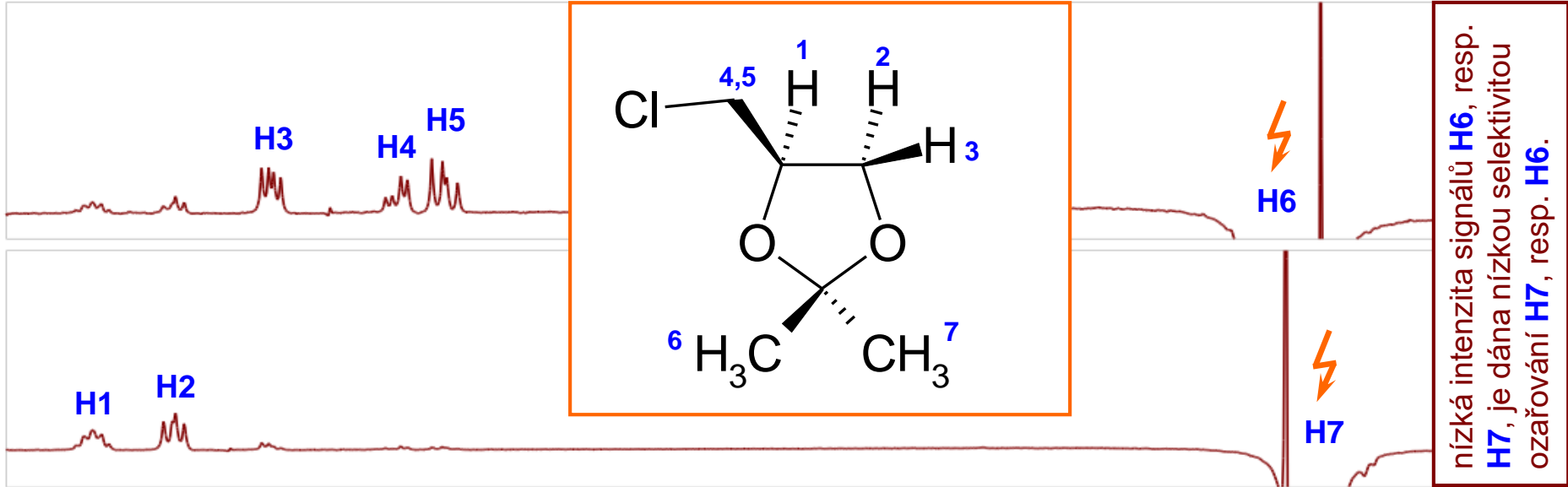
# 2D NOESY

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

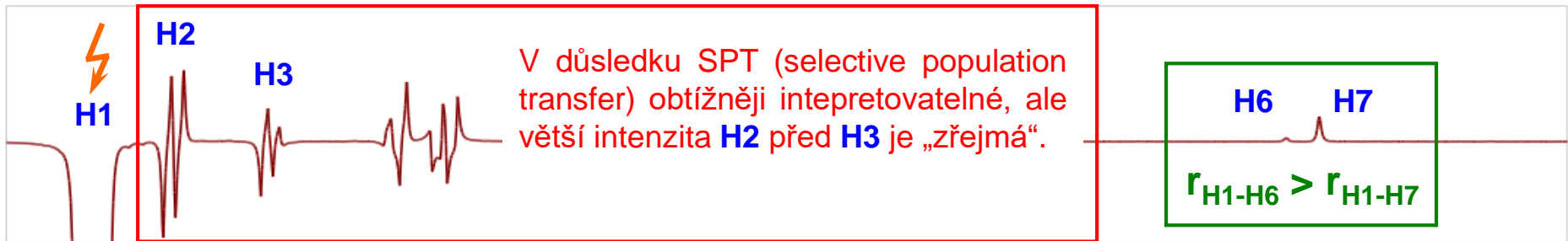


# NOESY1D

Intenzita pozitivních signálů NOE je úměrná vzdálenosti ( $\sim 1/r^6$ ) těchto atomů od atomů ozařovaných (negativní signál). NOE je měřitelné do ca. 5 Å (0,5 nm).

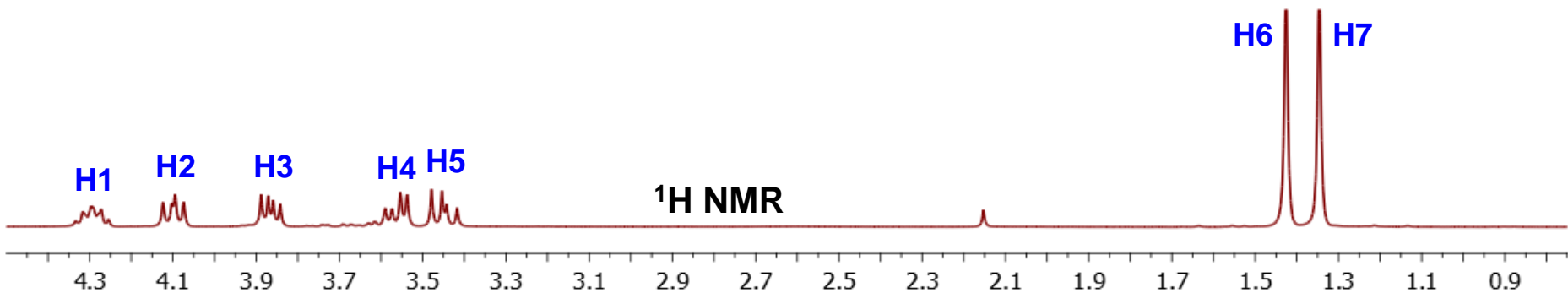


nízká intenzita signálů **H6**, resp. **H7**, je dána nízkou selektivitou ozařování **H7**, resp. **H6**.

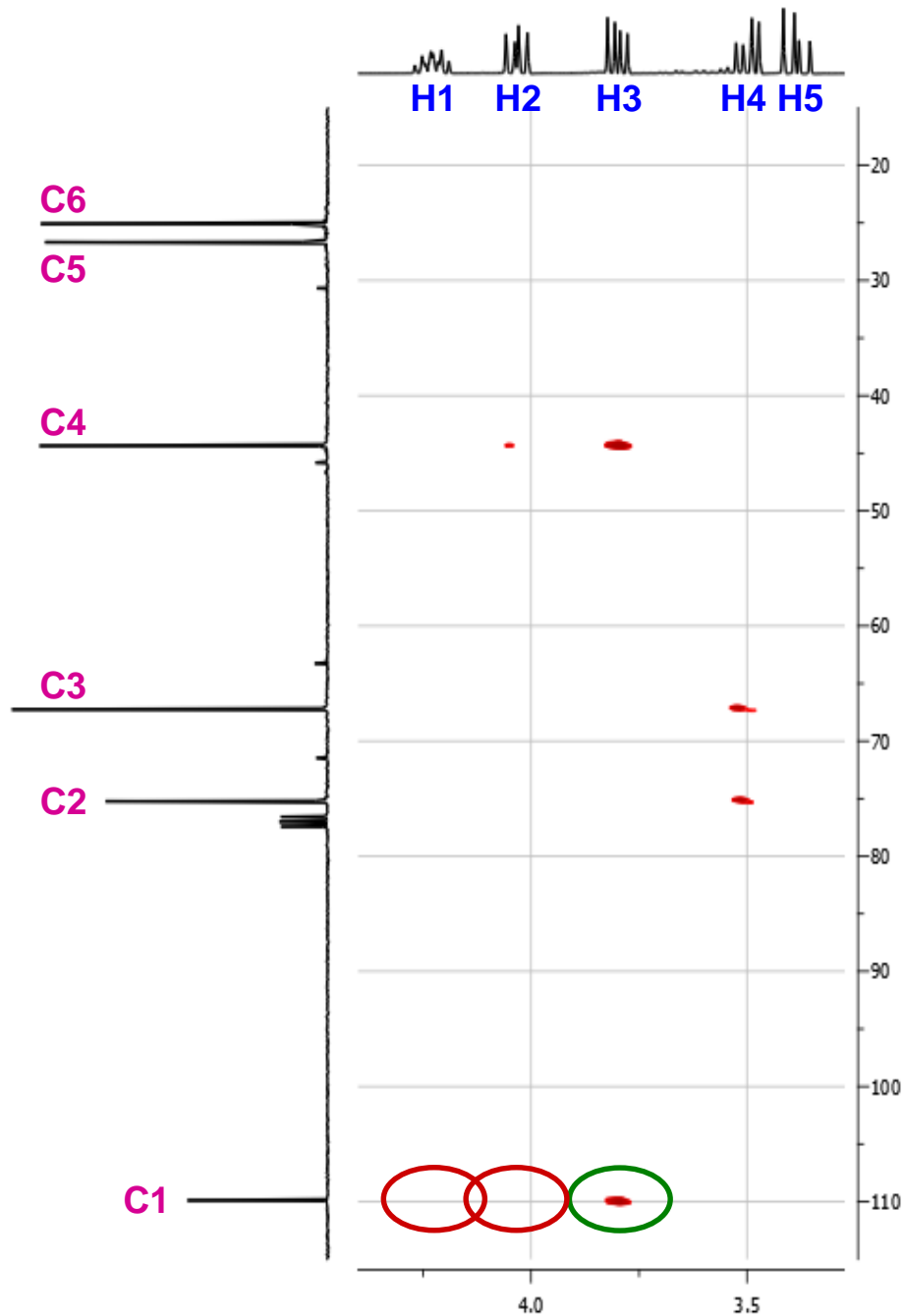


V důsledku SPT (selective population transfer) obtížněji interpretovatelné, ale větší intenzita **H2** před **H3** je „zřejmá“.

$$r_{H1-H6} > r_{H1-H7}$$



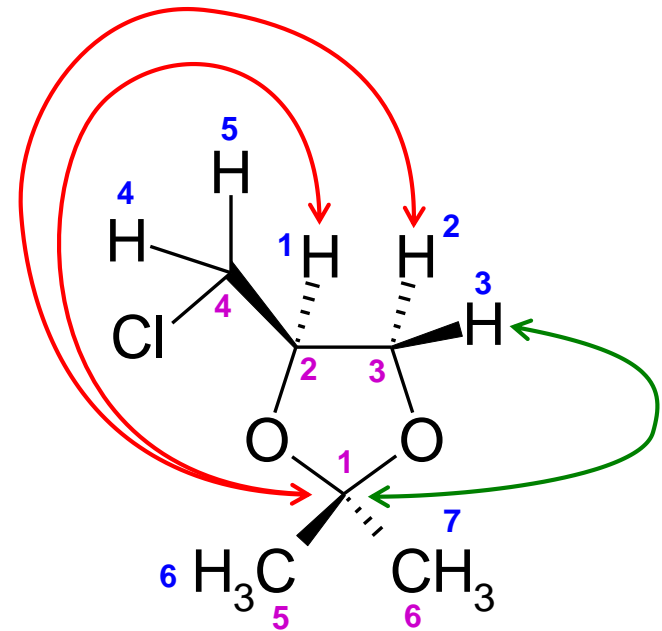
# $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ gHMBC 2D NMR



Není pozorován krospek v HMBC

→ malá interakční konstanta

→ podobné dihedrální úhly

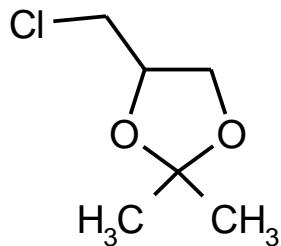


Je pozorován krospek v HMBC

→ velká interakční konstanta

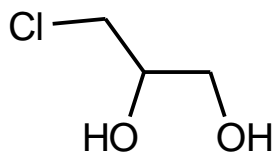
→ odlišný dihedrální úhel

# $^1\text{H}$ NMR stabilita studované látky

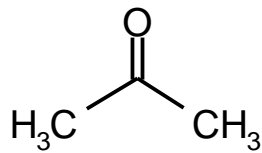


Opakované měření vzorku  
potvrdilo nárůst nečistot ...  
= **látka se rozkládá**

+  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}^+$  ... časté nečistoty  $\text{CDCl}_3$



+



$^{13}\text{C}$  signály

71.43 ppm

63.02 ppm

45.61 ppm

$^{13}\text{C}$  signály

205.98 ppm

30.32 ppm

$\text{CHCl}_3$  (obvyklá nečistota  $\text{CDCl}_3$ )

