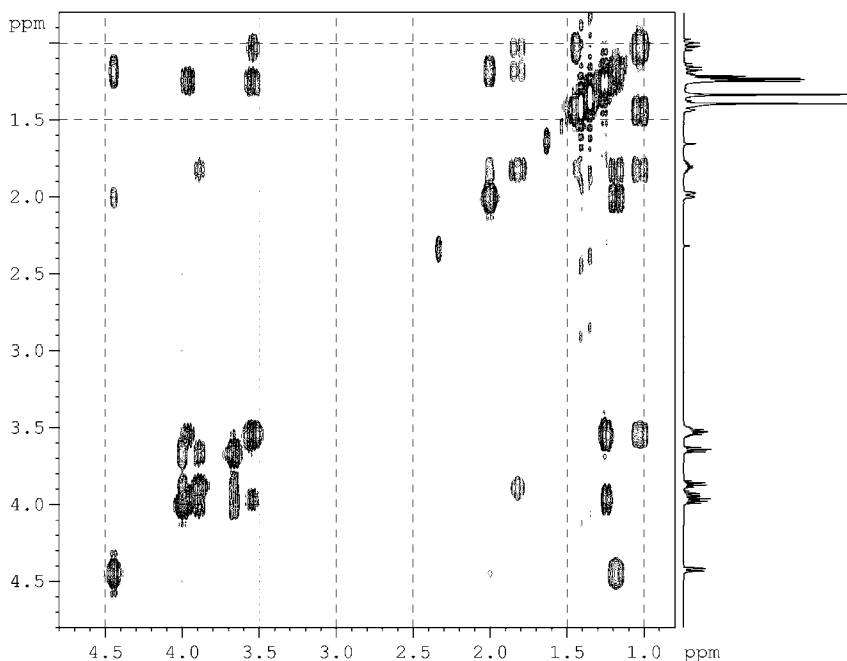
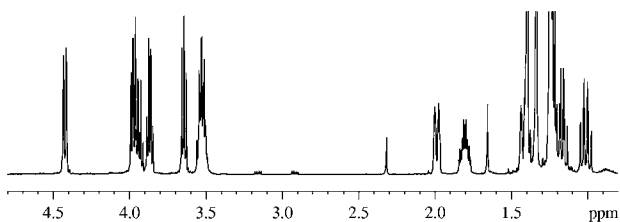


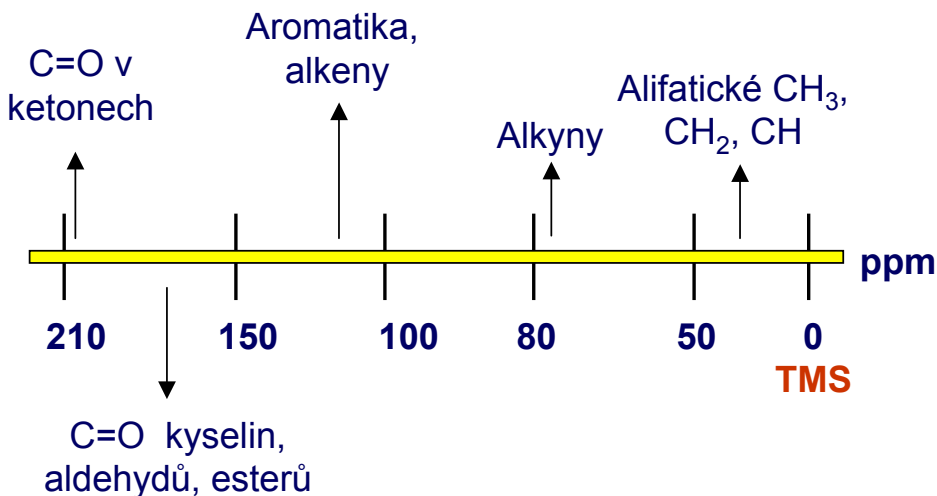
LEKCE 7

- Interpretace ^{13}C NMR spekter.
- Výpočty spekter, využití databází.
- Přiřazení signálů složitějších molekul, využití dvoudimensionálních experimentů (COSY, HMQC, HMBC).



Interpretace ^{13}C NMR spekter

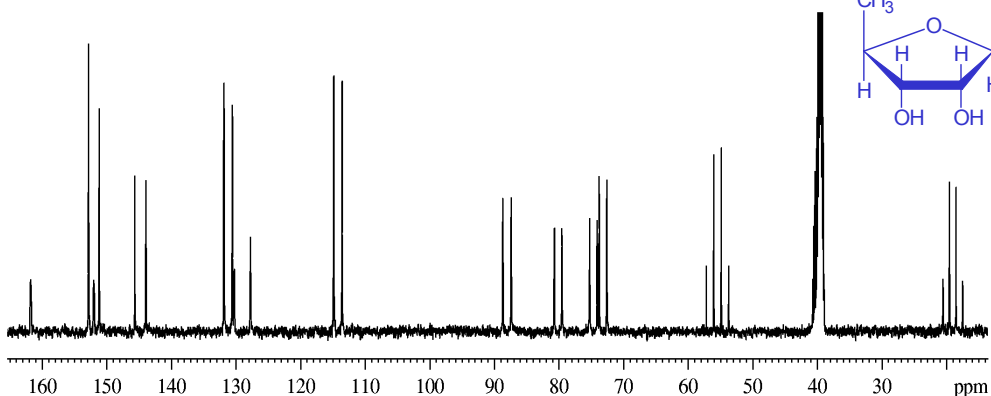
- **nízká citlivost** ^{13}C , $\gamma (^1\text{H}) \approx 4 \gamma (^{13}\text{C})$
 - ^1H je 64x citlivější jen z důvodu γ
- **přirozené zastoupení** ^{13}C : 1.11% (^1H : 99.98%)
 - ^1H je tedy 6400x citlivější, nutnost provádět měření na více akumulací (scanů)
 - vzájemné interakce ^{13}C - ^{13}C nepozorovatelné (1:10000)
 - lze sledovat interakce ^1H - ^{13}C - komplikují vzhled spektra
 - užití dekaplinku (odstranění interakce s protony)
- **rozsah chemických posunů**: 0 - 300 ppm
 - vzhledem k většímu rozsahu signály lépe rozlišitelné
 - chemické posuny závisí na hybridizaci daného C ($\text{sp}^3 < \text{sp} < \text{sp}^2$) a na povaze sousedních skupin



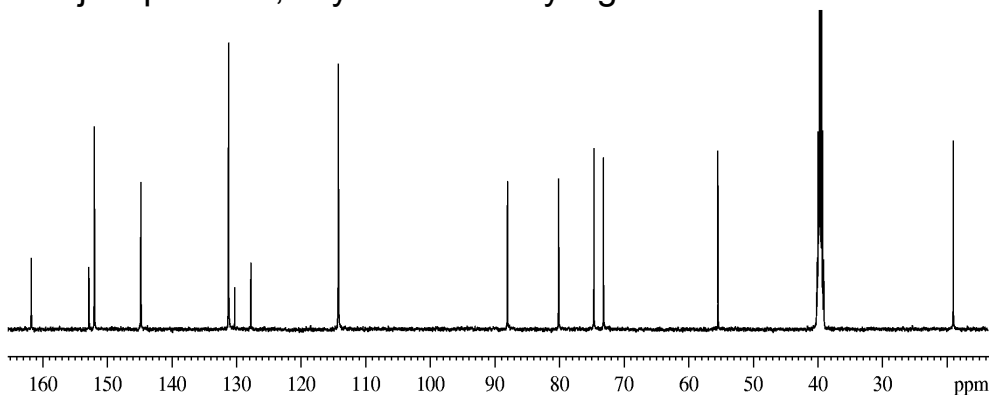
- **intenzity signálů**
 - v dekaplovaném spektru nejsou úměrné počtu odpovídajících jader C
 - vzhledem k NOE dochází až na 300% navýšení intenzity signálu: $\text{NOE} = 1 + \frac{\gamma_{^1\text{H}}}{2\gamma_{^{13}\text{C}}}$, uplatní se méně u kvarterních C

Různé modifikace ^{13}C spekter

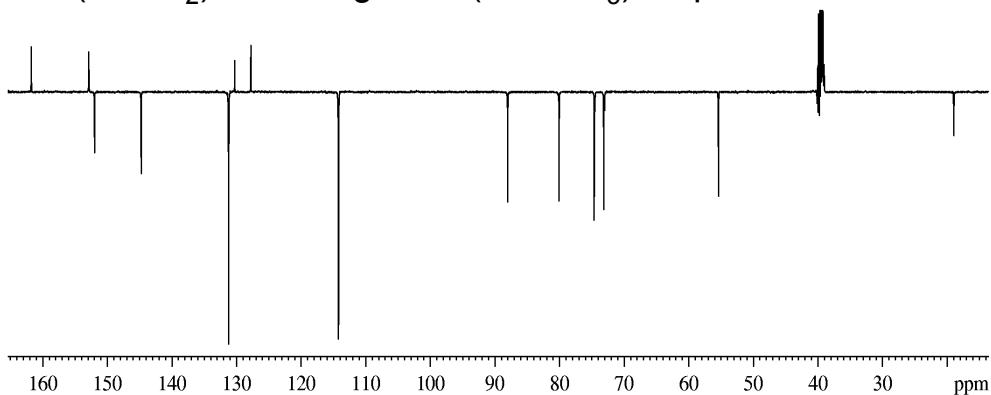
- **nedekaplovaná** - zachování multiplicity, ale značné snížení intenzity



- **dekuplovaná** - ozařování RF polem, odstranění interakce s protony, přehlednější spektrum, zvýšení intenzity signálů

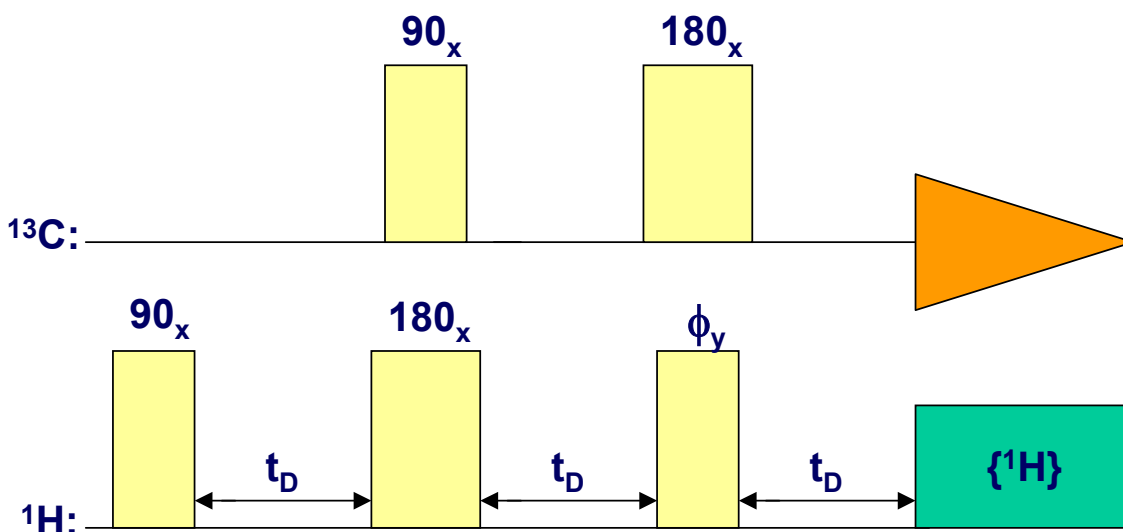


- **J-modulovaná (APT)** - podle počtu připojených protonů pozitivní (C , CH_2) nebo negativní (CH , CH_3) amplituda



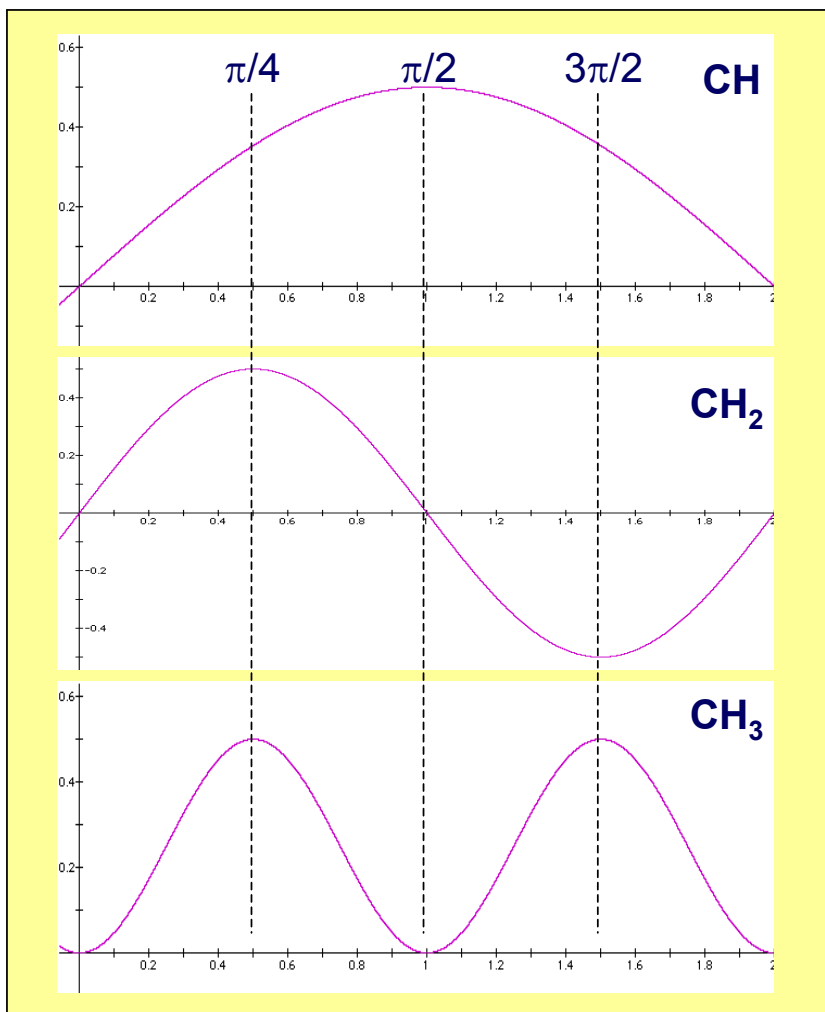
DEPT (*D*istortionless *E*nhancement by *P*olarization *T*ransfer)

- Využití **přenosu polarizace** (předání polarizace citlivého jádra (^1H) méně citlivému (^{13}C)).
- Možnost **editace** signálů; získáme separátní spektra pro primární (CH_3), sekundární (CH_2), a terciární (CH) uhlíky.
- Měří se 3 experimenty pro různé hodnoty úhlu ϕ (45, 90, 135).



DEPT

Závislosti intenzit signálů na úhlu ϕ ^1H pulsu:

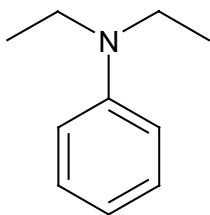


CH sub-spektrum: DEPT(90)

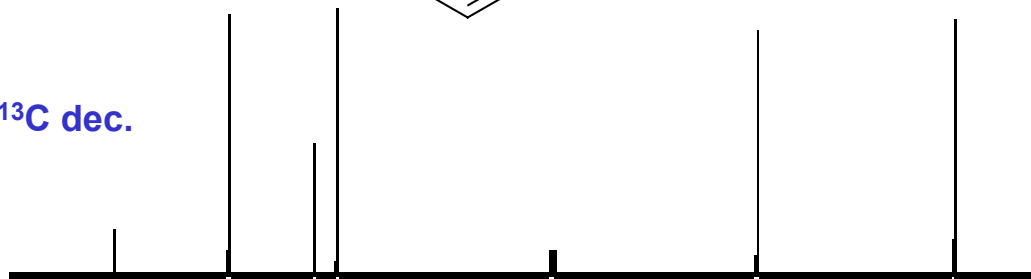
CH₂ sub-spektrum: DEPT(45) - DEPT(135)

CH₃ sub-spektrum: DEPT(45) + DEPT(135) - 0.707* DEPT(90)

DEPT



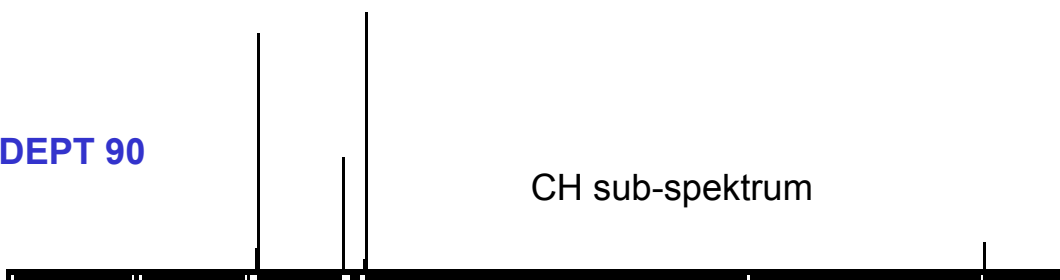
• ^{13}C dec.



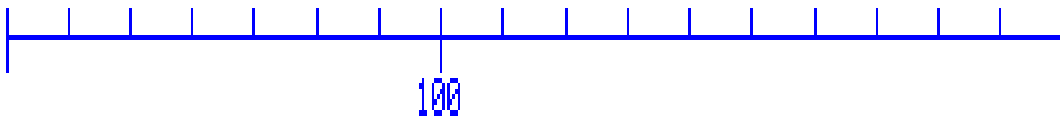
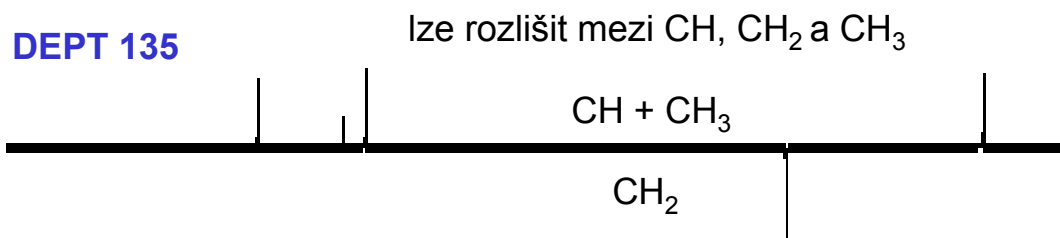
• DEPT 45



• DEPT 90



• DEPT 135



ACD/HNMR, ACD/CNMR

- Výpočet ^1H a ^{13}C NMR spekter v nepolárních nearomatických rozpouštědlech.

HNMR

- 800 000 experimentálních chemických posunů
- 180 000 experimentálních interakčních konstant
- interakce 2.řádu
- interakční konstanty dalekého dosahu
- parametry intramolekulárních interakcí pro 3000 fragmentů
- výpočet silně zkaplovaných systémů (až 8 magneticky neekvivalentních jader)
- využití Karplusovy rovnice
- simulace experimentálních podmínek (frekvence spektrometru, pološířka signálu)
- diastereotopické protony
- *cis* a *trans* izomery alkenů
- *syn* a *anti* izomery amidů, oximů, hydrazonů a nitrosaminů
- přepočítání spekter na základě vlastních posunů a int. konstant
- možnost vytvoření vlastní databáze (experimentální posuny a interakční konstanty) - program poté počítá spektrum s využitím obou databází

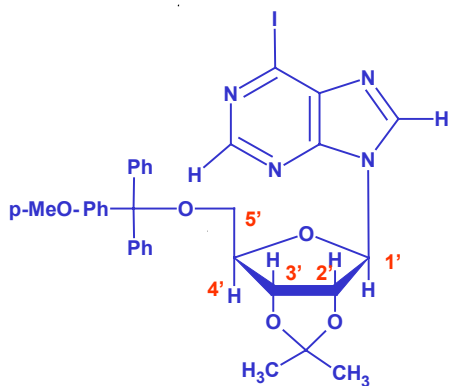
CNMR

- 1 200 000 experimentálních chemických posunů
- J modulovaná spektra
- nedekaplovaná spektra
- CH_3 , CH_2 , CH subspektra

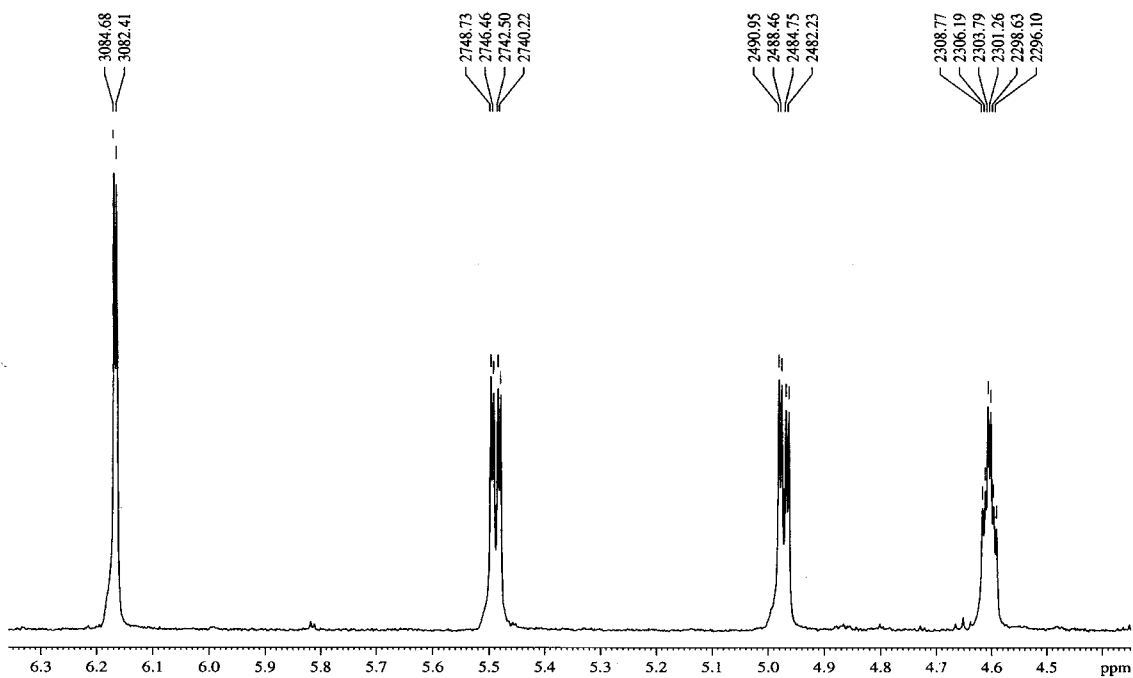
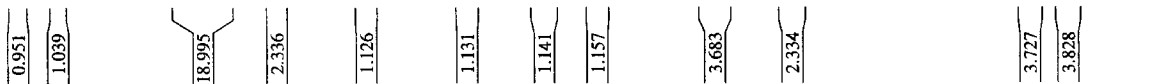
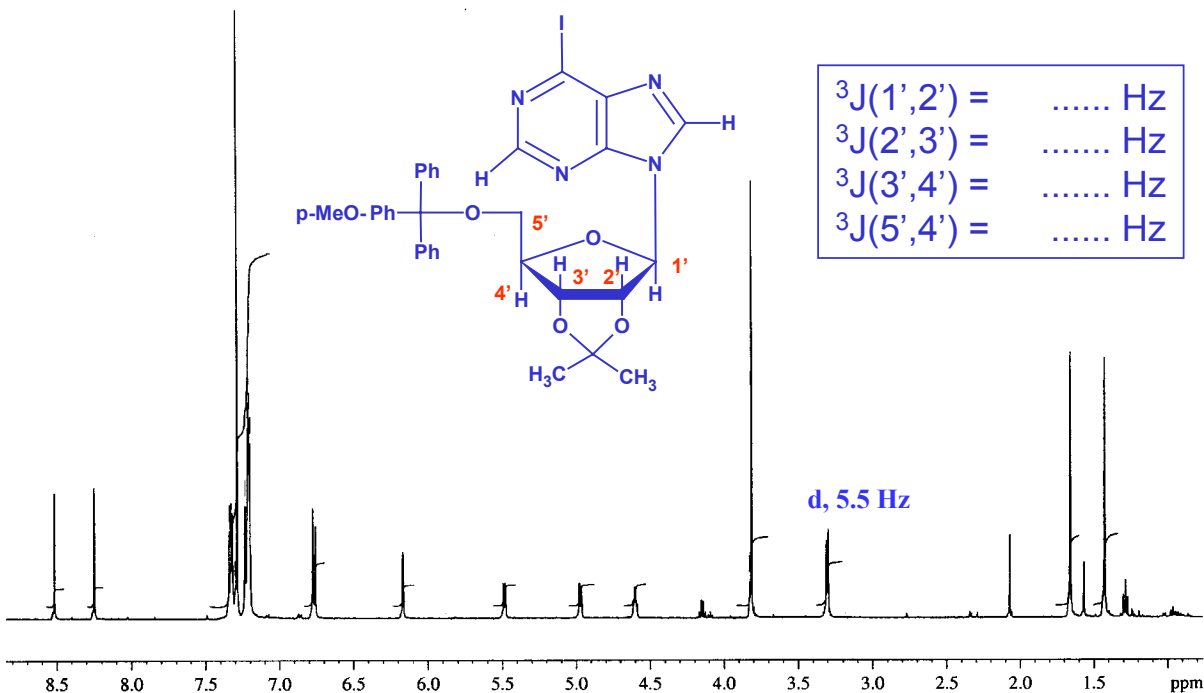
SDBS

Integrated Spectral Data Base System for Organic Compounds
<http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menu-e.html>

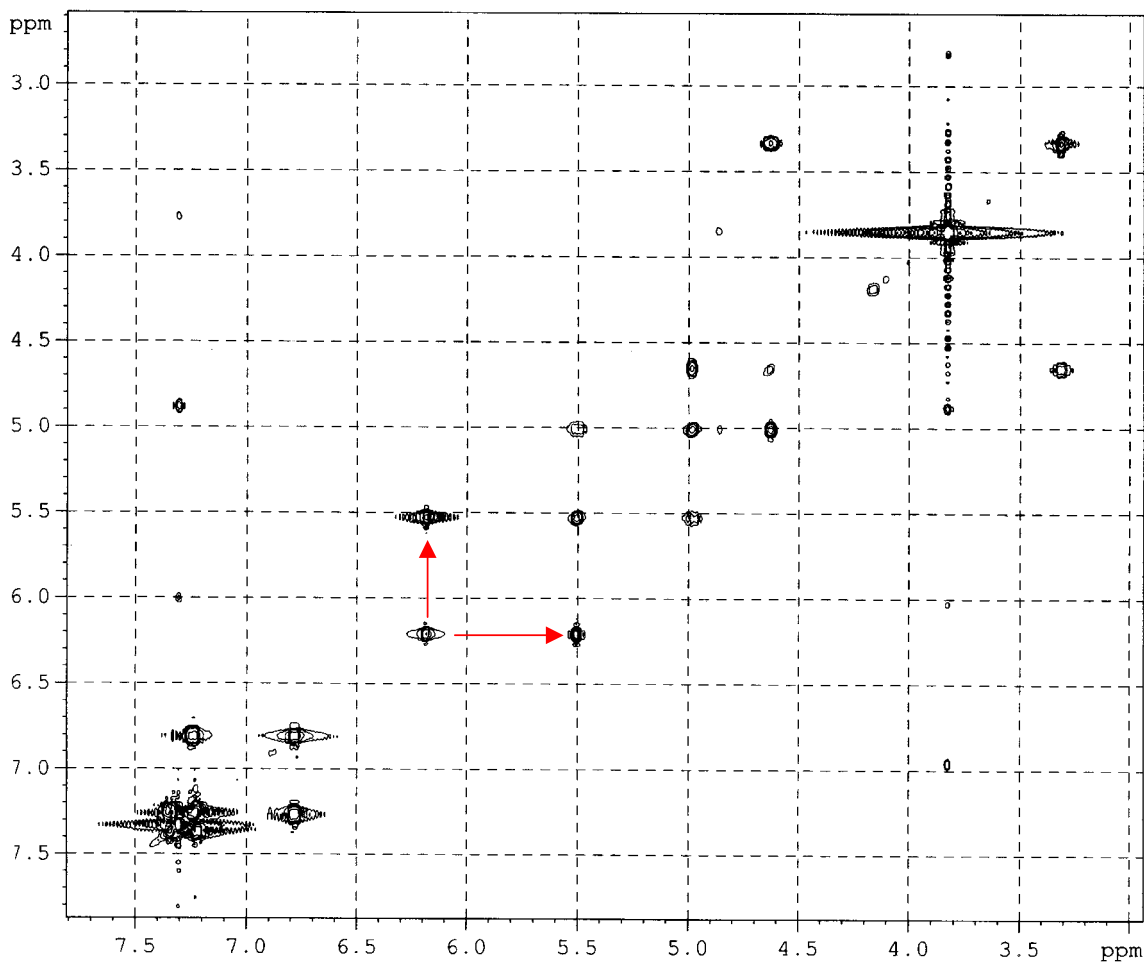
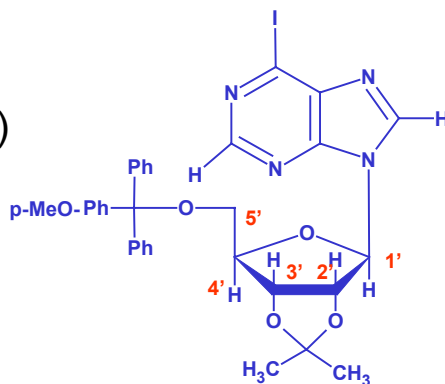
Přiřazení signálů složitějších molekul



$^3J(1',2')$	= Hz
$^3J(2',3')$	= Hz
$^3J(3',4')$	= Hz
$^3J(5',4')$	= Hz

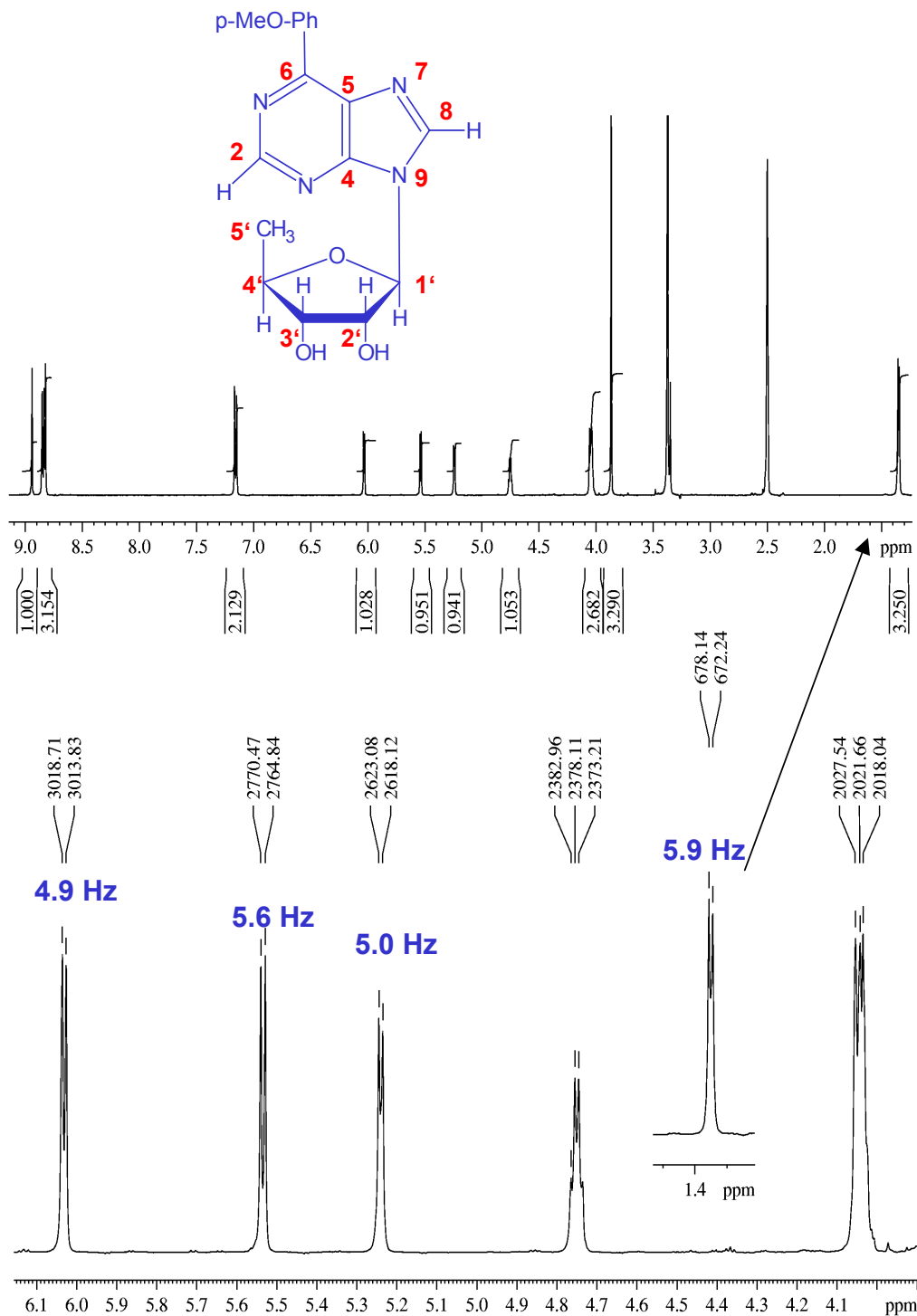


COSY (homonukleární korelace)

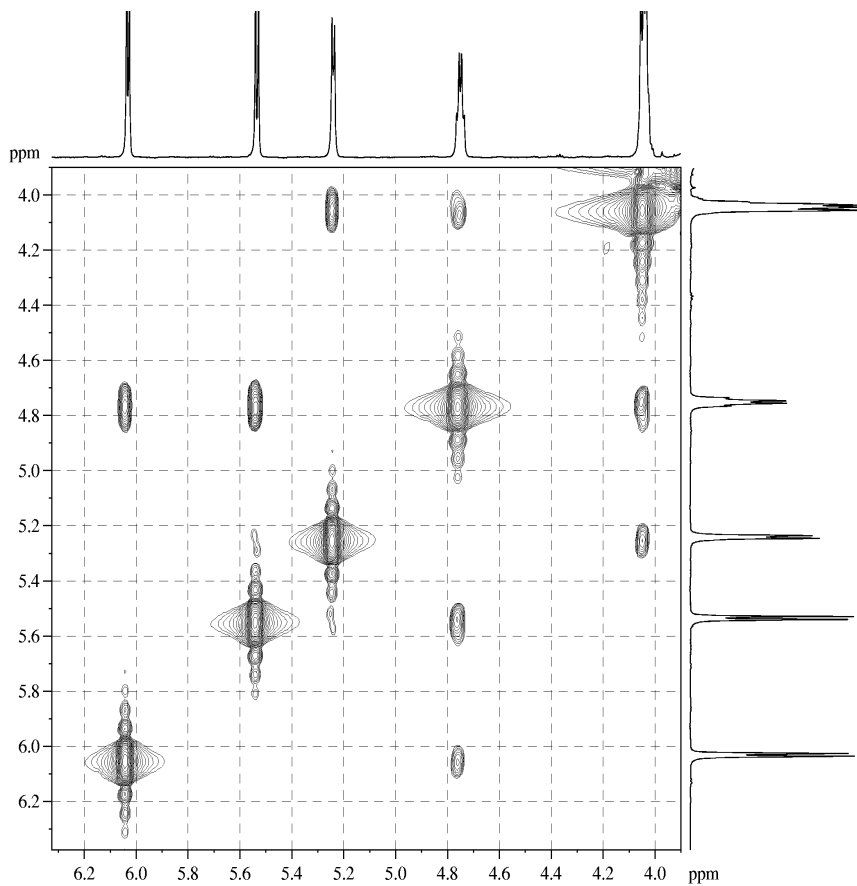
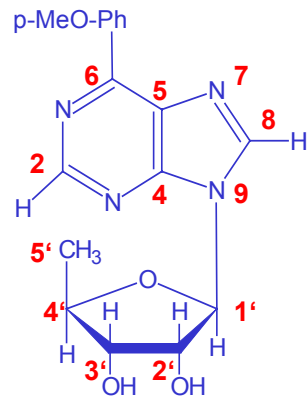
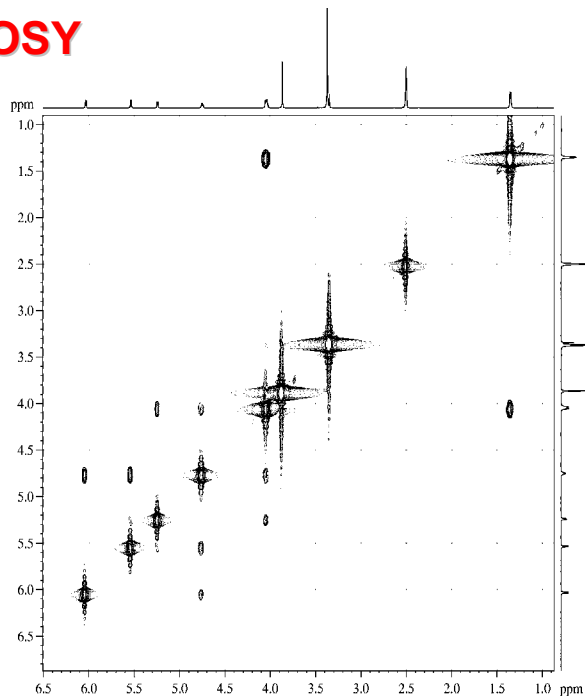


- diagonála - píky původního 1D spektra
- mimodiagonální píky (**krospíky**) - indikují spin-spinovou interakci mezi jádry ($J = 3 - 15$ Hz)
- interpretace: od krospíku se vede horizontální a vertikální linie, průsečíky na diagonále určují pozici interagujících jader

Kompletní přiřazení

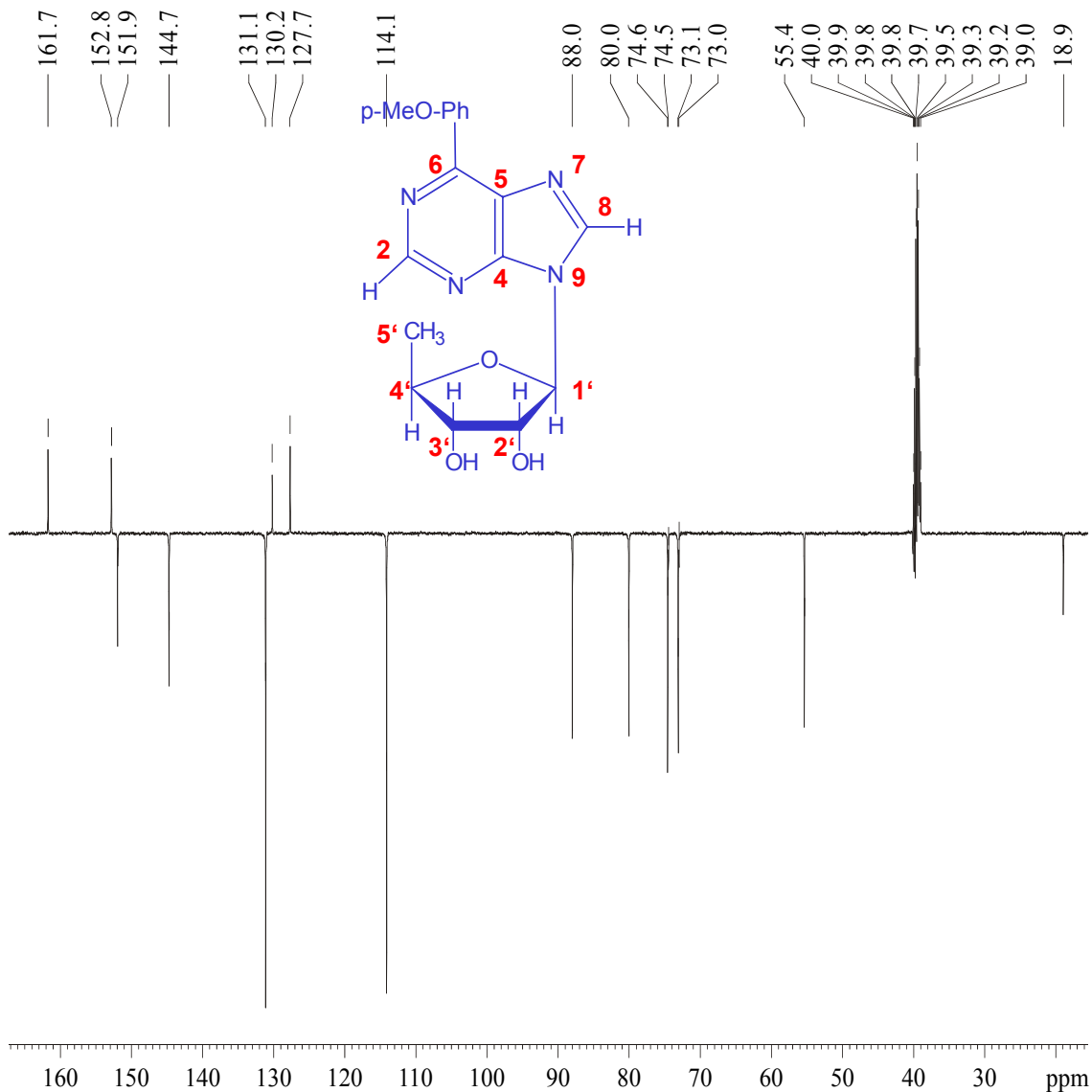


COSY



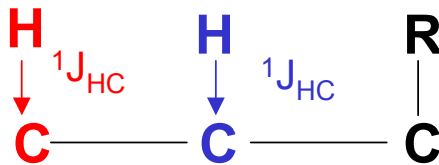
APT

("Attached Proton Test", spektra modulovaná podle J(C,H))



HMQC (heteronukleární korelace)

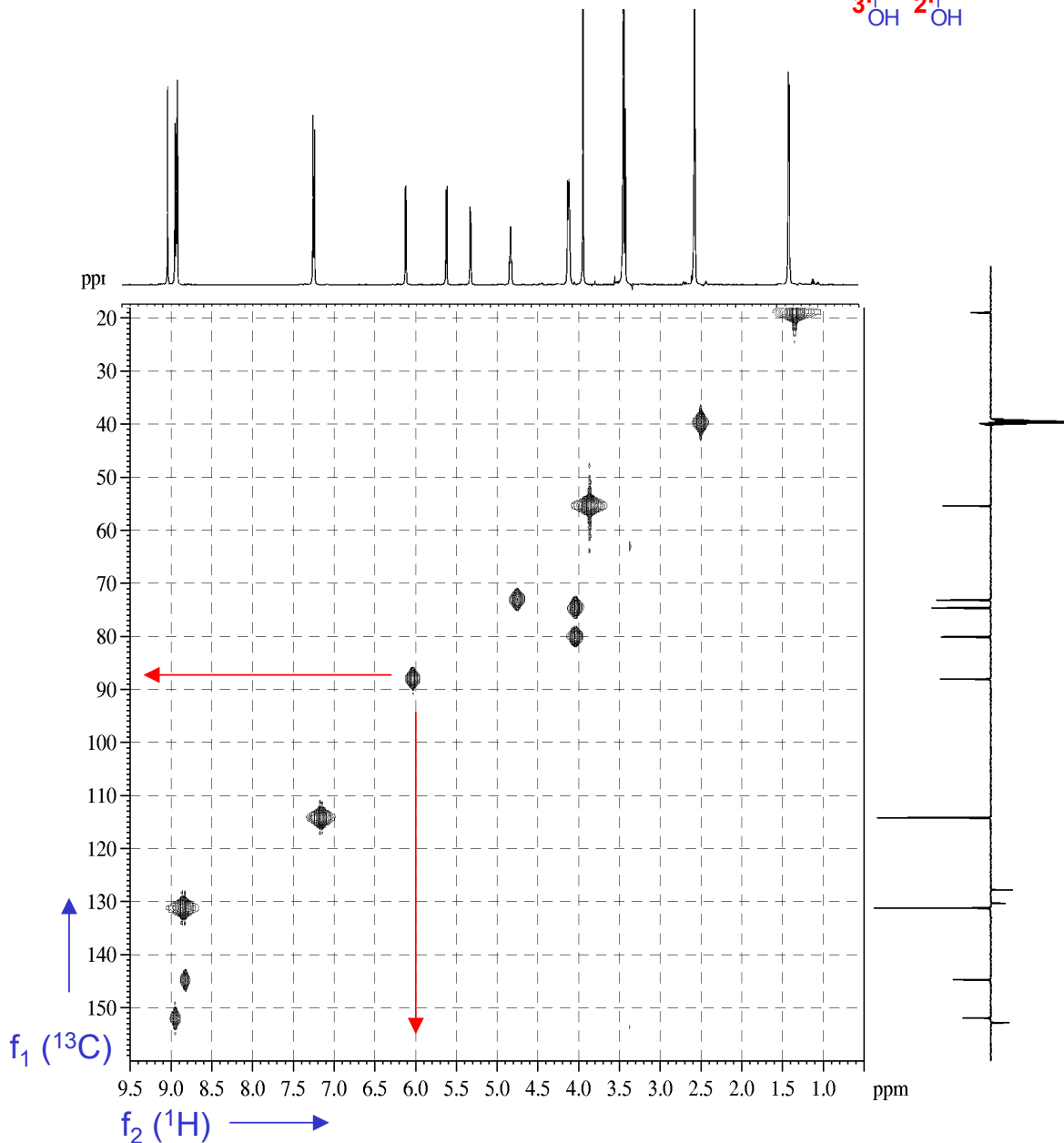
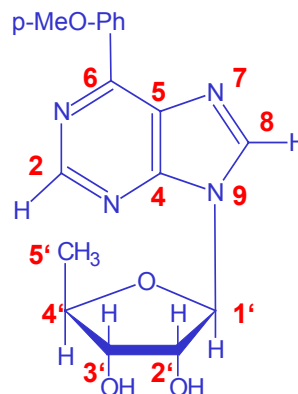
- nepřímá detekce: excitace ^1H , přenos polarizace na X jádro, detekce ^1H → **zvýšení citlivosti jader s nízkým γ**
- experimenty **HMQC** nebo **HSQC** poskytují korelace jader ^1H s X jádry (^{13}C , ^{15}N) přímo na ně vázanými, jinými slovy, přenos magnetizace se děje přes jednovazebnou interakční konstantu J_{HX} .



- ve spektrech se objeví pouze X jádra, která mají přímo vázaný atom ^1H . Nelze využít pro identifikaci kvarterních uhlíků!!!

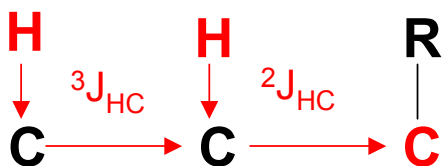
HMQC (heteronukleární korelace)

- asymetrické spektrum (na rozdíl od COSY)
- krosníky indikují přímé ^1H - ^{13}C interakce
- interpretace: od krosníku se vede horizontální a vertikální linie, průsečíky na osách určují pozice interagujících jader



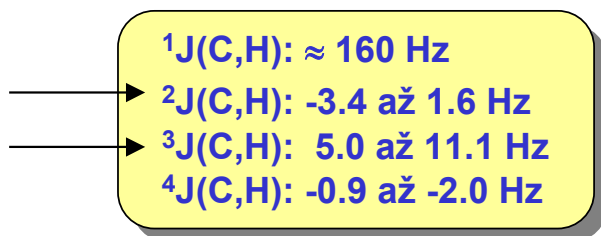
HMBC

- Experiment **HMBC** koreluje jádra ^1H s jádry X (^{13}C , ^{15}N) přes dvě nebo tři vazby (interakce dalekého dosahu). Přenos magnetizace se děje přes tří/dvou interakční konstantu J_{HX} .



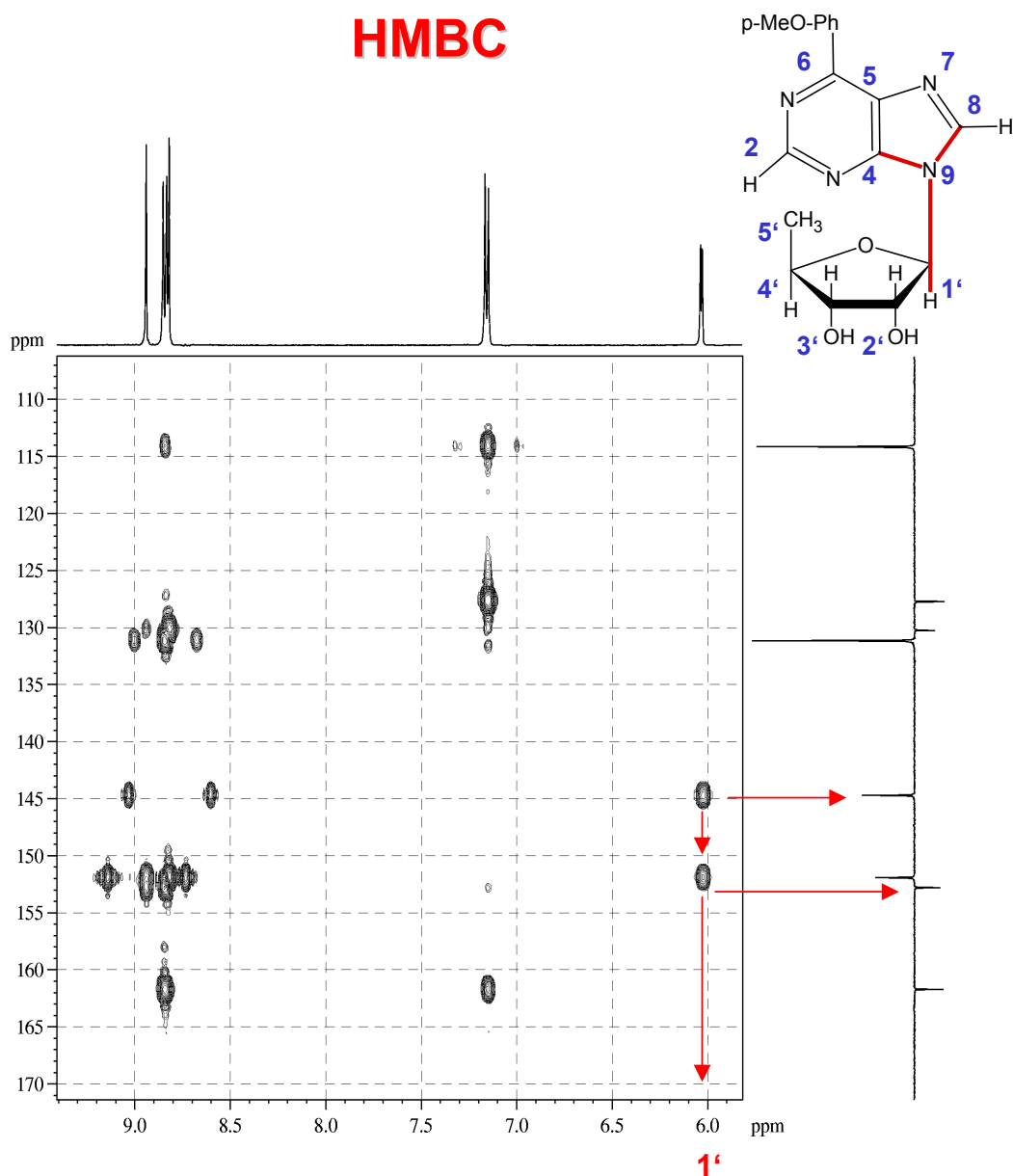
- Slouží téměř výhradně k identifikaci X jader, které nemají přímo vázaný atom ^1H , např. kvarterních uhlíků. Ve spektru se objeví i interakce ostatních X jader s atomy ^1H vzdálené o tři/dvě vazby.
- Využití při přiřazování aromatických systémů

Interakční konstanty $J(\text{C},\text{H})$ v aromatických systémech:



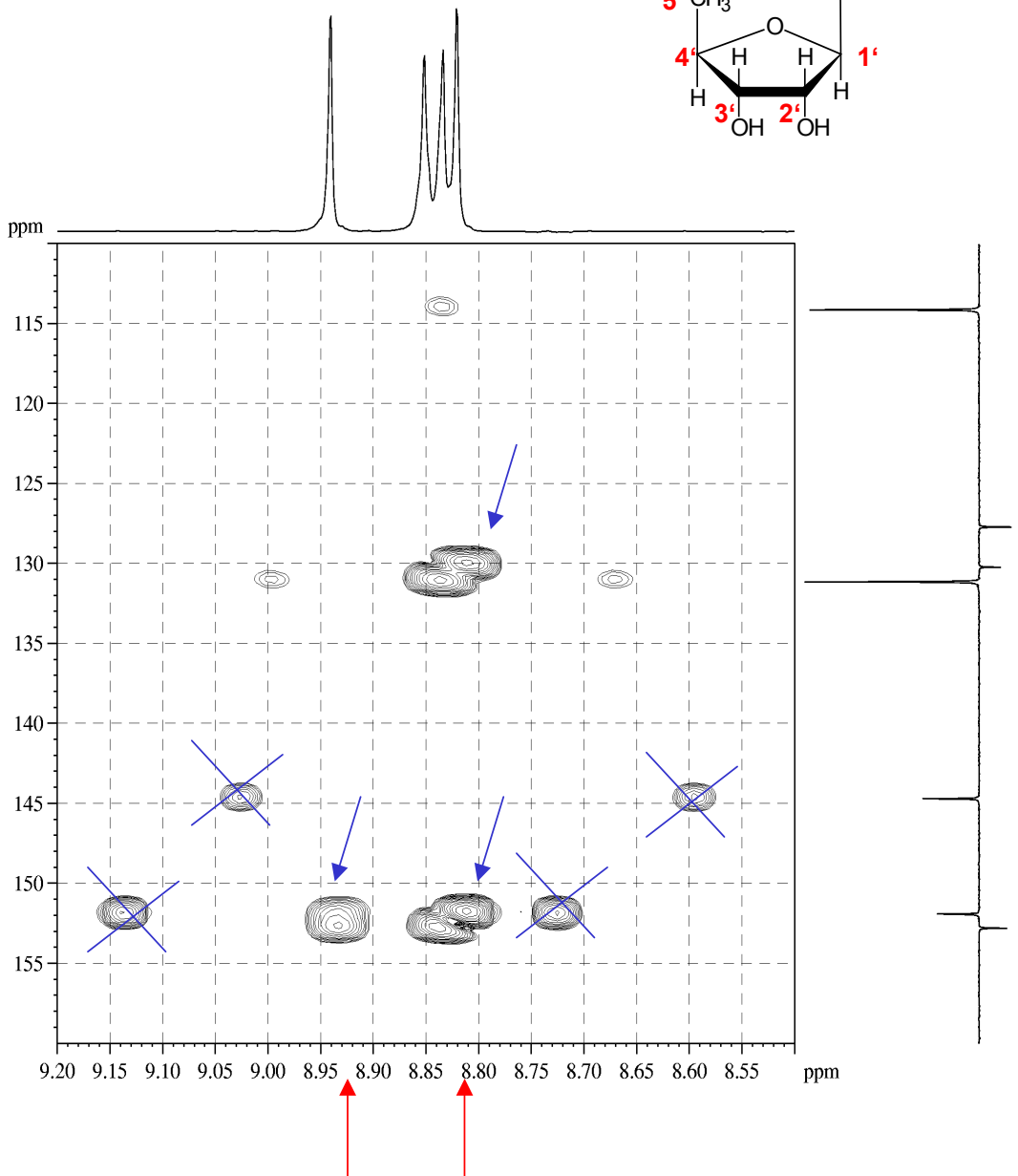
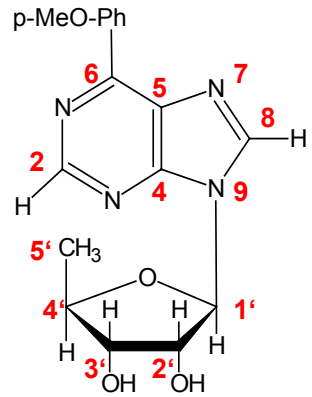
- V alifatických systémech – nejednoznačné výsledky vzhledem k většímu rozsahu interakčních konstant $^{2,3}J(\text{C},\text{H})$

HMBC

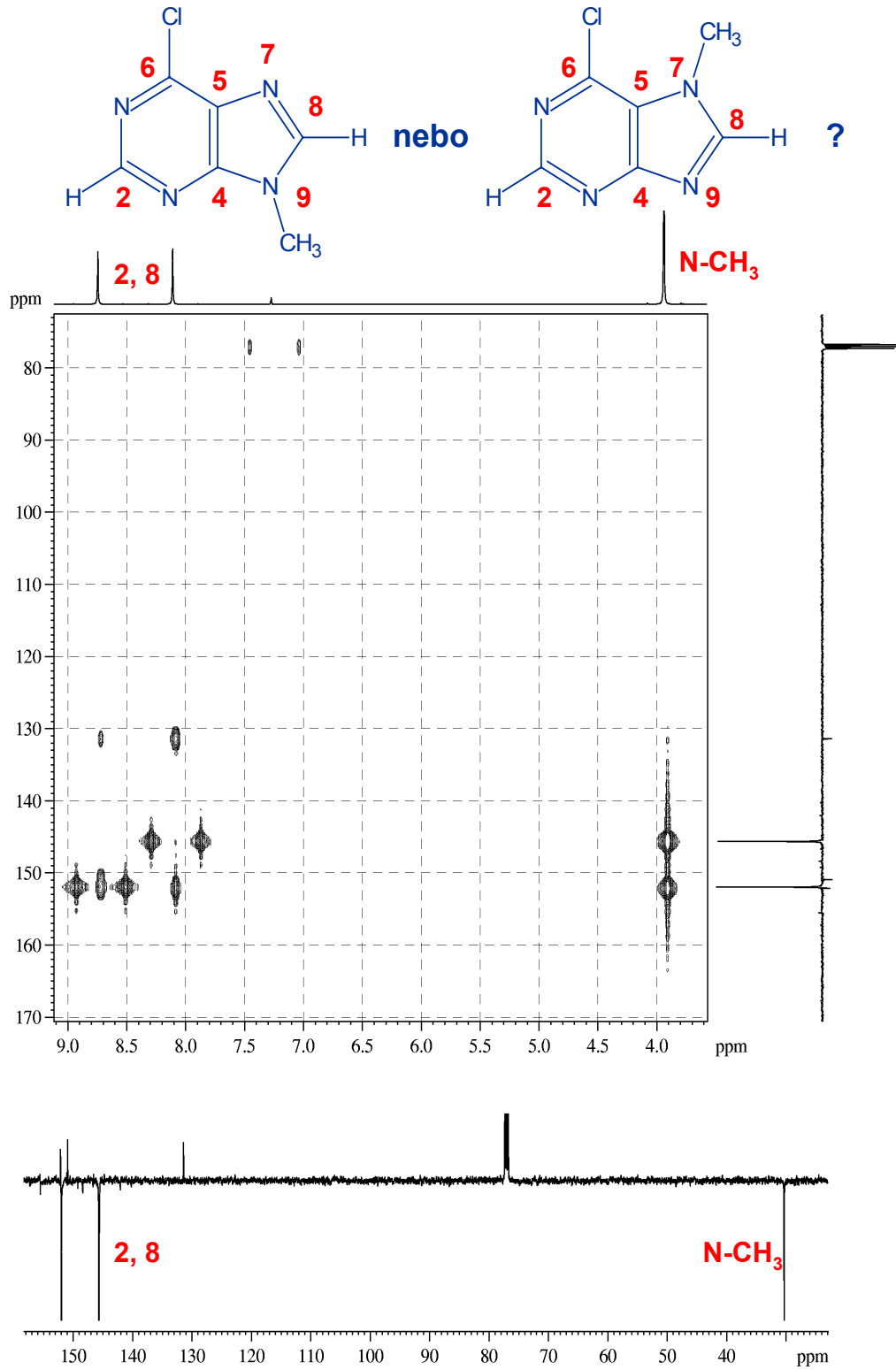


- nepřímá detekce, asymetrické spektrum
- krospeky indikují interakce ^1H - ^{13}C přes 3 a 2 vazby (4 vazby)
- krospeky také s kvarterními uhlíky !!!!
- interpretace: od krospeku se vede horizontální a vertikální linie, průsečíky na osách určují pozici interagujících jader
- někdy nejsou dokonale potlačeny $^1\text{J}(\text{H},\text{C})$

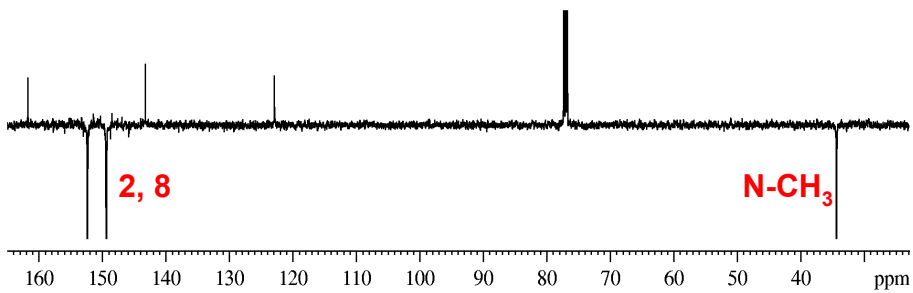
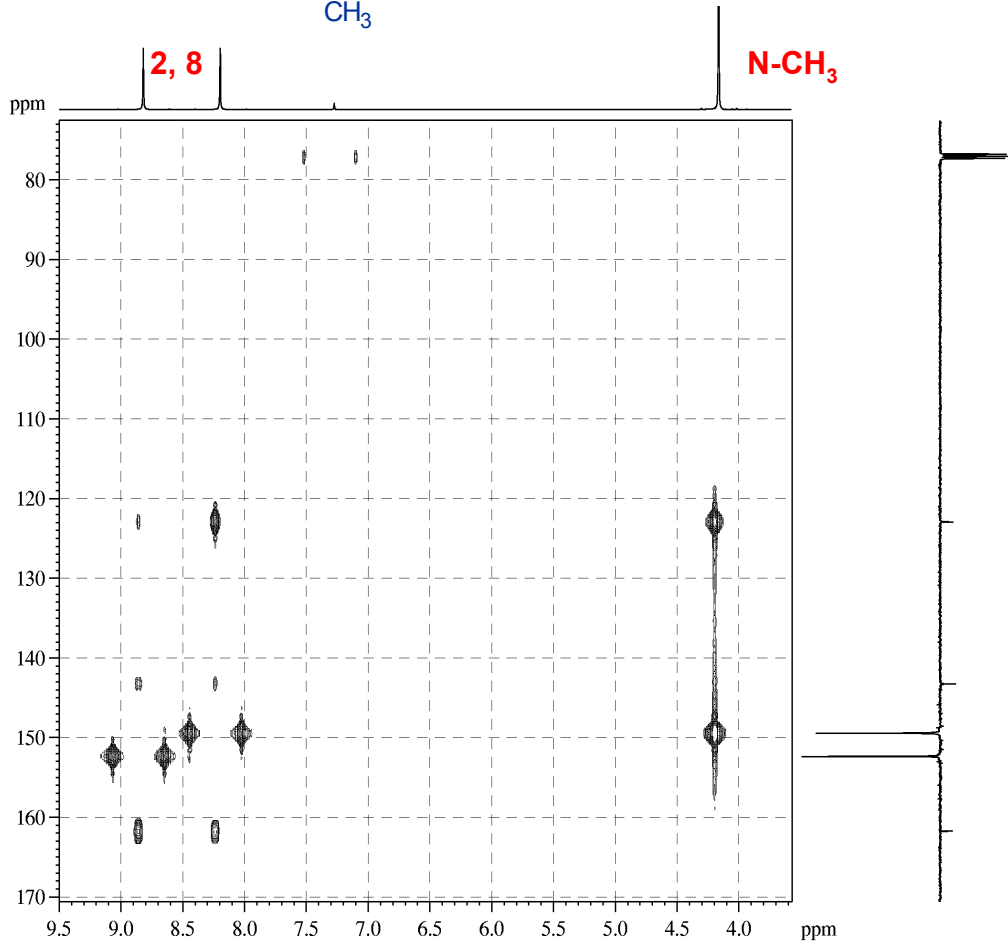
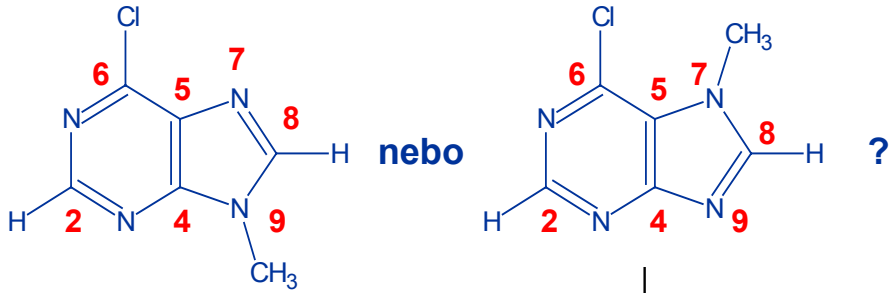
HMBC



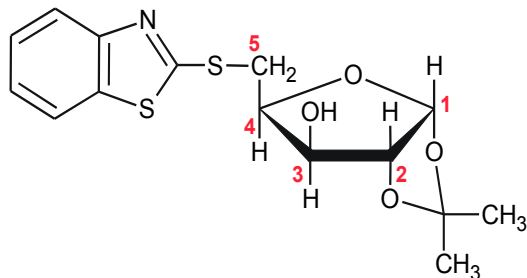
Využití HMBC k rozlišení N-9 a N-7 izomerů purinových bází



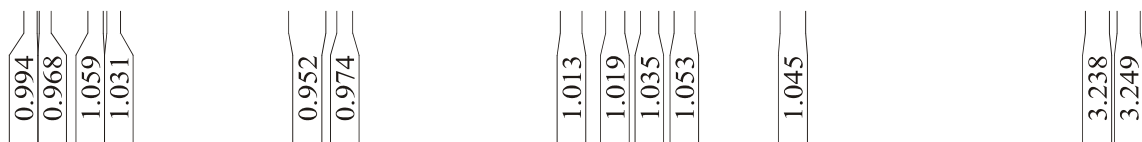
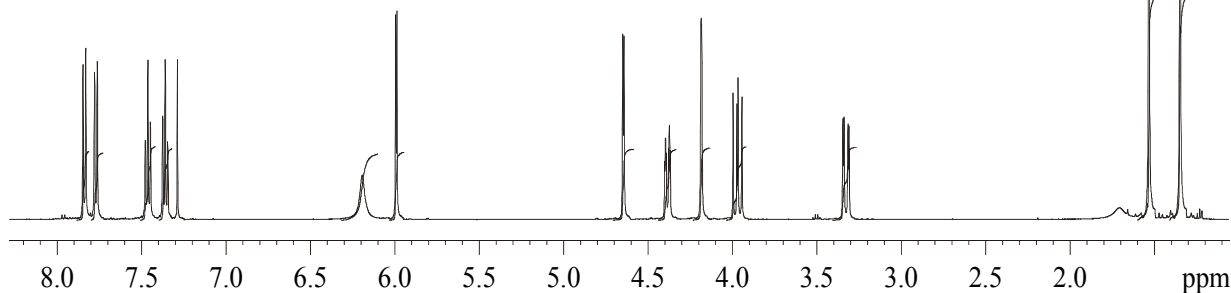
Využití HMBC k rozlišení N-9 a N-7 izomerů purinových bází



Přiřazení signálů složitějších molekul



$$\begin{aligned}
 {}^3J(1,2) &= \dots \text{ Hz} \\
 {}^3J(2,3) &= \dots \text{ Hz} \\
 {}^3J(3,4) &= \dots \text{ Hz} \\
 {}^3J(5a,4) &= \dots \text{ Hz} \\
 {}^3J(5b,4) &= \dots \text{ Hz} \\
 {}^2J(5a,5b) &= \dots \text{ Hz}
 \end{aligned}$$



3.6 Hz

2325.35
2321.76

11.3 Hz
2.6 Hz
2.6 Hz

2201.35
2198.67
2196.07
2190.04
2187.68
2184.75

1.3 Hz

2093.45
2092.16

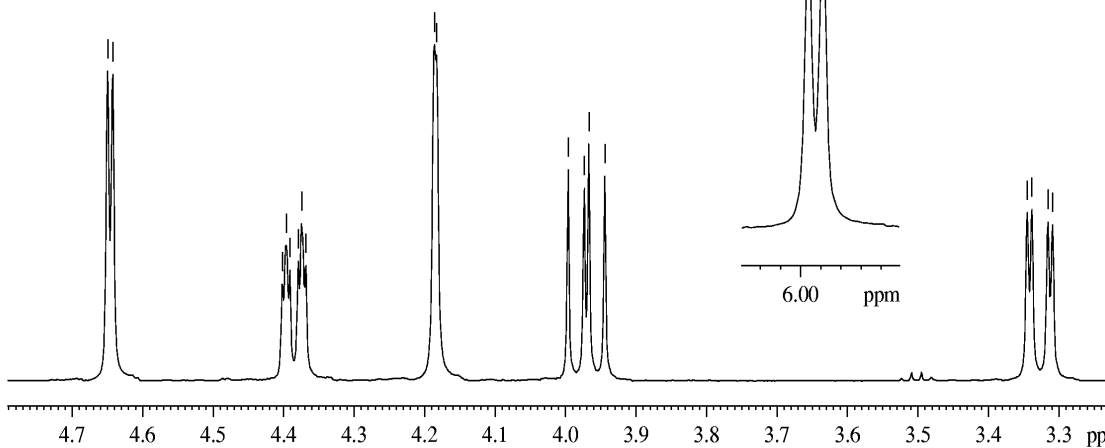
11.4 Hz
14.7 Hz

1998.54
1987.17
1983.87
1972.51

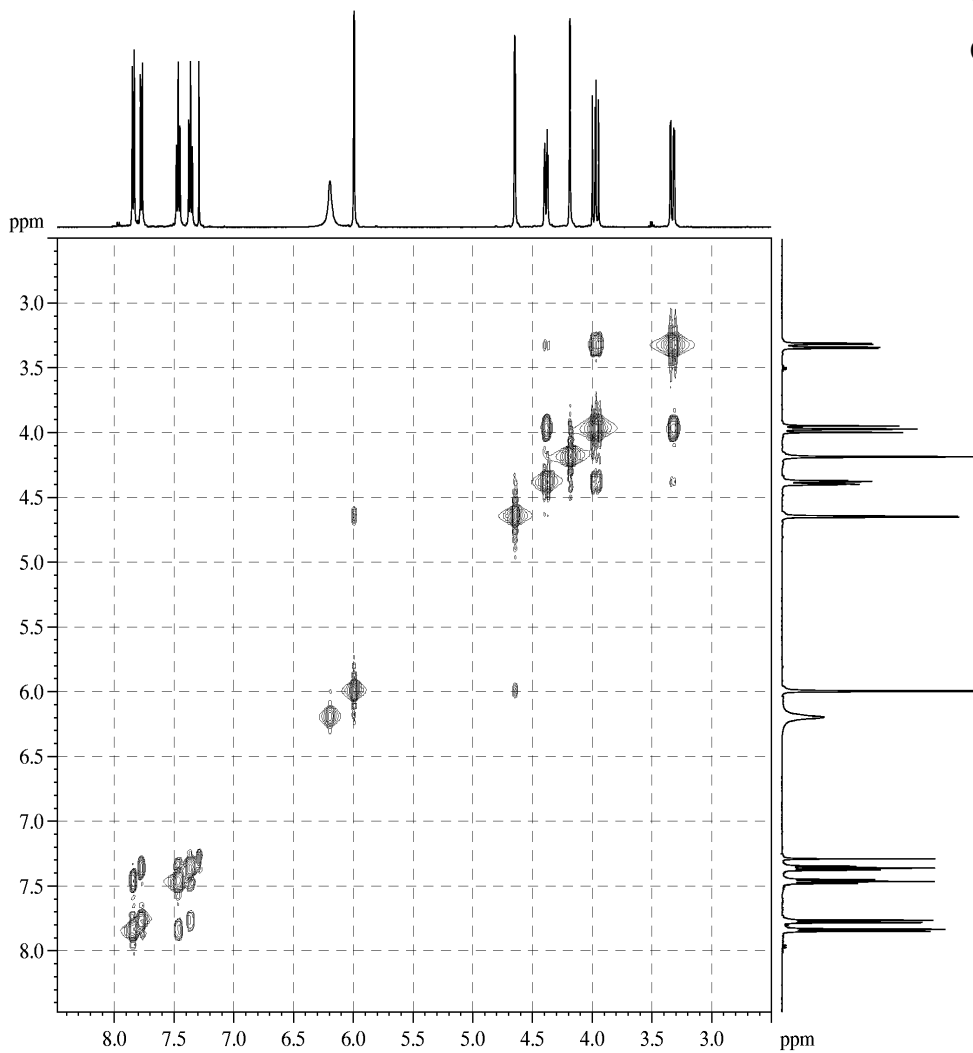
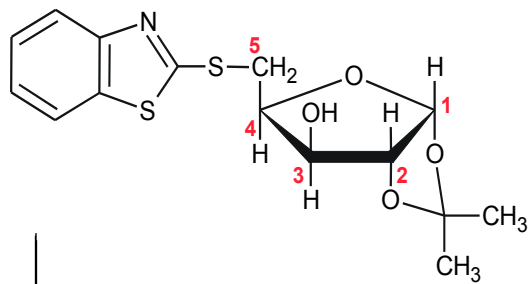
2998.82
2995.21
3.6 Hz

3.2 Hz
14.7 Hz

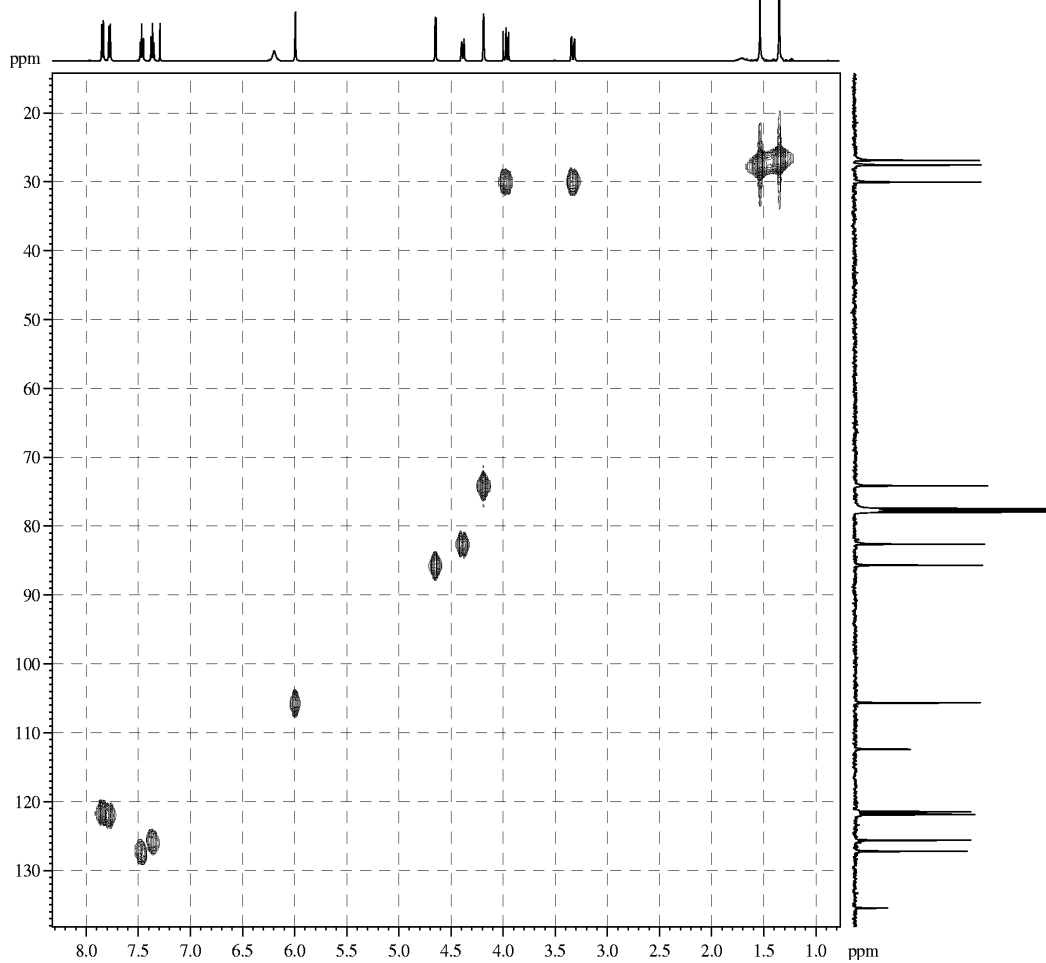
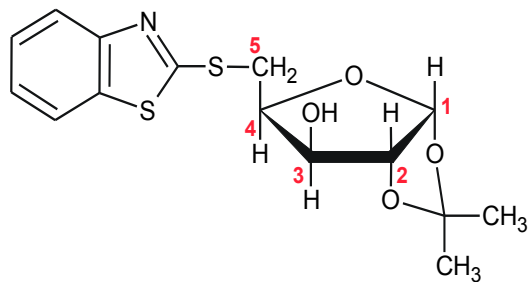
1672.81
1669.59
1658.13
1654.91



COSY



HMQC



^{13}C s širokopásmovým dekaplinkem

ozařování RF polem, které zahrnuje pásmo frekvencí splňující rezonanční podmínku všech jader ^1H (zánik všech ^{13}C - ^1H interakcí)

