

Vorlesung
Analytik
(für Biologen und Pharmazeuten)

**Einführung in spektroskopische Methoden
der Strukturaufklärung organischer Verbindungen**

Zusammenfassung

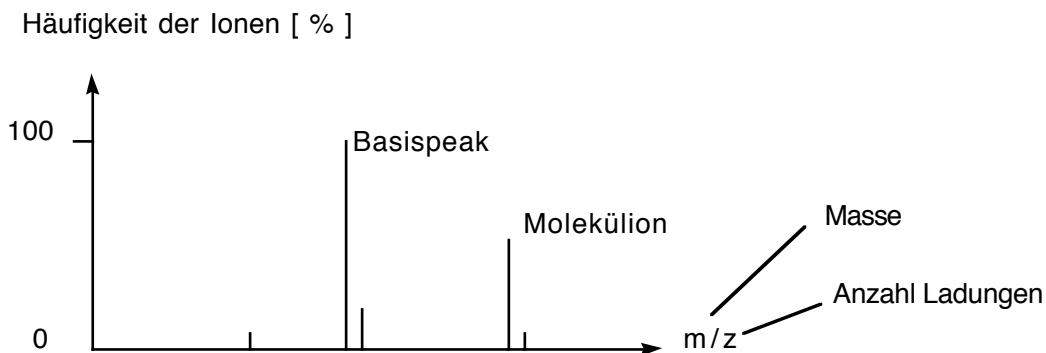
des Teils "Spektroskopie" für die Prüfung BSc

Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie ist keine Spektroskopie im herkömmlichen Sinn. Man bestrahlt die Probe nicht mit Photonen einer bestimmten Energie, um deren Absorption zu beobachten. Bei der Massenspektrometrie beschiesst man die Moleküle mit schnellen Elektronen, die sehr viel Energie besitzen. Dadurch werden die Moleküle nicht nur ionisiert, sie können auch sehr stark angeregt werden. Sie zerbrechen dadurch in kleinere Fragmente. Es gibt eine Vielfalt von chemischen Reaktionen, die meist im Detail nicht verstanden werden. Die entstehenden geladenen Bruchstücke werden in elektrischen und allenfalls magnetischen Feldern nach ihrer Masse getrennt, und ihre Häufigkeit wird bestimmt. Die weitaus meisten entstehenden Ionen sind einfach positiv geladen. Ein Massenspektrometer trennt die Ionen eigentlich nach dem Verhältnis von Masse zu Ladung m/z . Da aber die Ladung z fast ausschliesslich 1 ist, kann man annehmen, dass auf der Abszissenachse eines Massenspektrums die Masse aufgetragen ist. Dies gilt zumindest für die oben beschriebene klassische Elektronenstoss-Ionisation (EI), die hier ausschliesslich behandelt wird. Heutzutage gibt es eine Vielfalt von Möglichkeiten, Ionen zu bilden und zu trennen. Die Massenspektrometrie entwickelt sich stürmisch. Wir können hier nicht auf alle Möglichkeiten eingehen.

Damit von einer Probe ein Massenspektrum gemessen werden kann, muss die Substanz in die Gasphase gebracht werden können. Dies bedingt eine gewisse Flüchtigkeit.

Ein Massenspektrum wird meist als Strichdiagramm dargestellt. Die relative Häufigkeit der erzeugten Ionen wird gegen das Verhältnis von Masse zu Ladung aufgetragen. Dabei wird dem grössten Signal willkürlich die Häufigkeit 100% zugewiesen. Man bezeichnet dieses Signal als **Basispeak**.



Die meisten chemischen Elemente bestehen aus einem Gemisch von Isotopen. Was man als **Molekülion** M^{+} bezeichnet, ist das einfach positiv geladene Molekül, das aus den Isotopen mit der jeweils grössten natürlichen Häufigkeit besteht. Zufälligerweise sind die Isotopen mit der grössten Häufigkeit für die wichtigsten Elemente in der organischen Chemie gleichzeitig auch die leichtesten. Dies gilt für die Elemente H, C, N, O, F, Si, P, S, Cl, Br, I. (Die Elemente F, P, I sind monoisotopisch.) Die Signale von Spezies, die nicht durchwegs die Isotopen mit der höchsten Häufigkeit enthalten, werden als **Isotopen-signale** bezeichnet. Die Massen der Atome sind nahezu ganze Zahlen. Die aus diesen ganzen Zahlen zusammengesetzte Masse eines Ions bezeichnet man als **nominale Masse**. Sie ist also ebenfalls eine ganze Zahl. Die nominale Masse eines Ions ist daher nicht identisch mit der Summe der im Periodensystem der chemischen Elemente aufgeführten

Massen. Letztere stellen einen Mittelwert über die in der Natur vorkommenden Isotope der Elemente dar.

Aus der Höhe des Signals bei $M^{+\bullet}+1$ kann man die maximal mögliche Anzahl Kohlenstoffatome im Molekül berechnen:

$$\frac{I_{M^{+\bullet}+1}[\text{in } \% M^{+\bullet}]}{1,1 \%} = C_{\max}$$

Es handelt sich nur um die maximale Anzahl. In der Ionenquelle kann ein Proton von einem Molekül zu einem anderen übertragen werden, was dann ebenfalls zu einem Signal bei $M+1$ führt, das dem C-Isotopensignal überlagert ist.

Es gibt keine Garantie, dass das Molekülion im Spektrum sichtbar ist. Die Molekülionen einiger Verbindungen zerfallen so schnell, dass nur Fragmente im Spektrum erscheinen. Wenn man die Molmasse nicht kennt, ist man prinzipiell nie sicher, ob das Signal beim höchsten m/z (das nicht als Isotopensignal oder protoniertes Molekülion verstanden werden kann) wirklich das Molekülion ist. Es gibt allerdings einen Schnelltest, der allenfalls das Gegenteil nachweisen kann. Sämtliche Fragmente, die im Massenspektrum erscheinen, entstehen letztlich aus dem Molekülion. Sämtliche Massendifferenzen Δm zwischen Molekülion und den anderen Signalen (die nicht Isotopensignale sind) müssen daher chemisch sinnvoll sein. Als nicht sinnvoll gelten die folgenden Massendifferenzen:

- $\Delta m = 3$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt
- $\Delta m = 4$ bis $\Delta m = 14$
- $\Delta m = 21$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt
- $\Delta m = 22$ bis $\Delta m = 24$
- $\Delta m = 37$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt

Erkennung von bestimmten Elementen im Molekül

F ist erkennbar an $M^{+\bullet}-19$, $M^{+\bullet}-20$ und $m/z = 20$ ($\text{HF}^{+\bullet}$)

N $M^{+\bullet}$ ungerade bei ungerader Anzahl N

O $\Delta m = 18$ Wasser-Elimination, $M^{+\bullet} -18$ (auch bei sehr kleiner Intensität).
 $m/z = 31, 45, 59 \dots + n \cdot 14$ "O-Bruchstücke"
 $32, 46, 60 \dots + n \cdot 14$

S / Si / Cl / Br erkennt man an der Intensität von $M^{+\bullet}+2$, zu dem jedes Atom dieser Elemente 4,4 % (S), 3,4 % (Si), 32,4 % (Cl) und 98 % (Br) relativ zu ihrem Signal bei $M^{+\bullet}$ beitragen. Besonders die Halogene ergeben sehr auffallende Intensitätsverteilungen. Mehrere Halogenatome in einer Verbindung geben durch statistische Kombination sehr charakteristische Isotopenverteilungsbilder, aus denen die Zahl und Art dieser Elemente unmittelbar abgelesen werden können (vgl. Isotopenverteilungsmuster Seite T 2). Die Signale liegen jeweils um zwei Masseneinheiten auseinander.

- I** ist an der auffallend kleinen Intensität von $M^{+}+1$ gemessen an der grossen Masse M^{+} erkennbar, die durch die hohe Atommasse (127) des monoisotopischen Halogens verursacht wird.

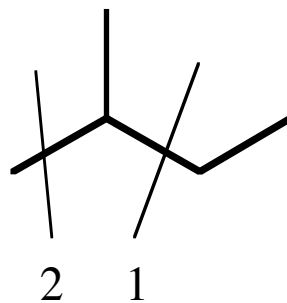
Fragmentierungsregeln

Zur Interpretation von Massenspektren sind eine Anzahl von Regeln für die direkte Fragmentierung von Einfachbindungen nützlich. Die Regeln dürfen nur auf das Molekülion und nur für die erste Fragmentierung angewandt werden.

- Regel I:** Die Stabilität des Fragment-Ions bzw. des neutralen Fragments bestimmt in der Regel den Verlauf der Fragmentierung.

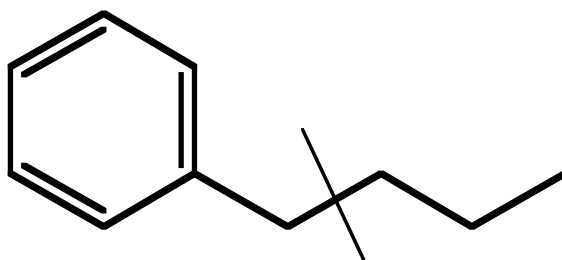
Regel I ist sehr allgemein gehalten. Die Regeln II-V sind Anwendungen davon.

- Regel II:** In Alkanketten fragmentieren Bindungen an verzweigten C-Atomen bevorzugt, wobei eine Präferenz für den Verlust des grössten Alkylradikals gefunden wird. Die Intensität von M^{+} nimmt mit zunehmender Verzweigung ab. Beispiel:

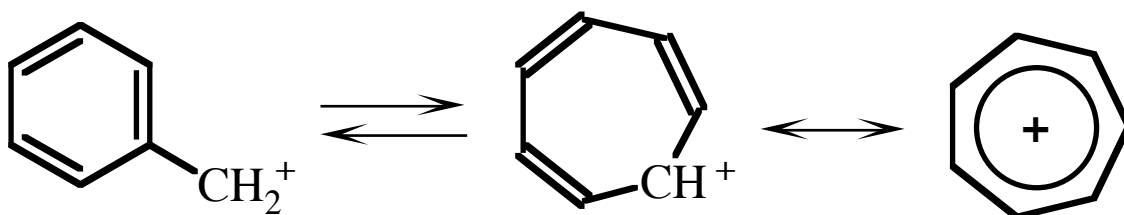


Bevorzugt sind die Spaltungen neben der CH-Gruppe. Die mit "1" bezeichnete Spaltung ist dabei zusätzlich bevorzugt, da sie zum grösseren Alkylfragment führt (Ethyl statt Methyl). Falls für einen Molekülteil zusätzlich auch eine der Regeln III – IV angewandt werden kann, hat jene Priorität.

- Regel III:** C=C-Doppelbindungen fördern die Spaltung der allylischen bzw. benzyli-schen Bindung (radikalinduzierte α -Spaltung). In einfachen Alkenen können die Doppelbindungen meistens massenspektrometrisch trotzdem nicht lokalisiert werden, da oft H-Verschiebungen (Isomerisierung der Doppelbindung) der Fragmentierung vorgelagert sind. Sehr viel zuverlässiger ist die Anwendung der Regel bei aromatischen Verbindungen, bei denen eine Isomerisierung energetisch ungünstig ist. Beispiel:

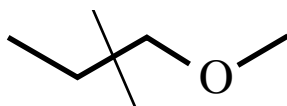


Bevorzugt ist die gezeigte Spaltung. Es wird also nicht direkt neben der Doppelbindung gespalten, sondern eine Einfachbindung weiter entfernt. In diesem ausgewählten Fall ist die Spaltung zusätzlich favorisiert, da ein besonders stabiles Kation entstehen kann:



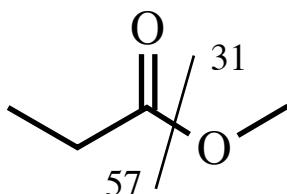
Das entstehende Tropylium-Kation ist ein Hückel-Aromat mit sechs Elektronen im Ring.

Regel IV: Elektronendonatoren (Heteroatome) fördern die Spaltung der Bindung zum C-Atom, welches das Heteroatom trägt. Es bricht also nicht die Bindung zum Heteroatom, sondern die daneben liegende.
Beispiel:



Es ist unklar, welches Bruchstück die positive Ladung mitbekommt und damit im Massenspektrum erscheint. Es ist möglich, dass nur eines der Fragmente sichtbar ist. Es können aber auch beide im Spektrum erscheinen. Das grössere der hier gezeigten Fragmente hat die Masse 45 und ist ein O-Indikator (siehe oben über das Erkennen von Elementen).

Regel V: Wenn die Bindung zu einem elektronegativen Heteroatom bricht, ist die Ladung bevorzugt auf der C-Seite lokalisiert (induktive Spaltung).
Beispiel:



Die Spaltung wird in diesem Fall nach Regel IV vom O-Atom der Carbonylgruppe gesteuert. Weil hier die Bindung zu einem Heteroatom bricht, findet man eher das Fragment mit der Masse 57 (statt 31) im Spektrum. Nur geladene Teilchen können im Spektrum erscheinen.

IR-Spektroskopie

Bei Infrarot-Spektren hat sich eingebürgert, die Absorption nicht gegen die Wellenlänge aufzutragen, sondern gegen den Kehrwert davon. Die Einheit ist cm^{-1} . Der diagnostisch brauchbare Bereich geht von 4000 cm^{-1} bis etwa 400 cm^{-1} .

Mit der infraroten Strahlung können die Moleküle in **Schwingung** versetzt werden. Die Absorption ist dort besonders gross, wo eine **Eigenfrequenz** des Moleküls getroffen wird. Die Schwingung kann aber nur angeregt werden, wenn funktionelle Gruppen mit starkem Dipolcharakter an der Schwingung beteiligt sind.

Die Interpretation von IR-Spektren ist im Allgemeinen nur oberhalb von 1500 cm^{-1} sinnvoll möglich. In diesem Bereich schwingen nur wohldefinierte kleine Teile des Moleküls. Das erlaubt die Identifikation von gewissen funktionellen Gruppen. Das Gebiet unterhalb von 1500 cm^{-1} heisst **Fingerprint-Bereich**. Grosse Teile des Moleküls schwingen in individueller Art. Dieser Bereich ist sehr wertvoll zur Überprüfung der Gleichheit zweier Spektren. Hat man das Spektrum eines Kandidaten in einer Datenbank gefunden, kann die Gleichheit anhand der übereinstimmenden Fingerprint-Bereiche erkannt werden.

Aufnahmebedingungen: Die Wahl des Lösungsmittels kann aufschlussreich sein. Man verwendet Chloroform als Lösungsmittel, wenn immer möglich. Chloroform beeinflusst die gelösten Moleküle nur wenig, macht sich also nicht bemerkbar. Als Nachteil muss man zwei Sperrgebiete im Fingerprintbereich in Kauf nehmen (siehe unten). Ist die Substanz in Chloroform unlöslich, muss auf Alternativen ausgewichen werden. Sehr polare Verbindungen werden oft als KBr-Pille oder Nujol-Suspension aufgenommen. Dabei überlagern sich die Spektren von Substanz und Suspensionsmittel. Die Spektren der Suspensionsmittel findet man auf der Seite T20.

Sperrgebiete: Das Spektrum des Lösungsmittels wird im Allgemeinen durch Kompensation eliminiert. Es gibt aber bei jedem gängigen Lösungsmittel Bereiche, die für infrarotes Licht praktisch vollständig undurchsichtig sind. Hier ist keine sinnvolle Kompensation möglich. In diesen Bereichen ist daher eine Interpretation des Spektrums unzulässig. Sperrgebiete erkennt man im Spektrum als perfekt horizontale Linien. Die Lage der Sperrgebiete kann man auf den Seiten T18-T19 nachschlagen.

Intensität der Banden: Die Intensität einer Bande ist gross, wenn sich das Dipolmoment während der Schwingung stark ändert. Dies ist im Allgemeinen dann der Fall, wenn sich starke lokale Bindungsdipole bewegen. Paradebeispiel ist die Carbonylgruppe $\text{C}=\text{O}$, die ihre Spuren im Bereich von $1650\text{-}1800 \text{ cm}^{-1}$ hinterlässt. Die intensive Bande der Carbonyl-Streckschwingung dominiert das Spektrum in diesem Bereich.

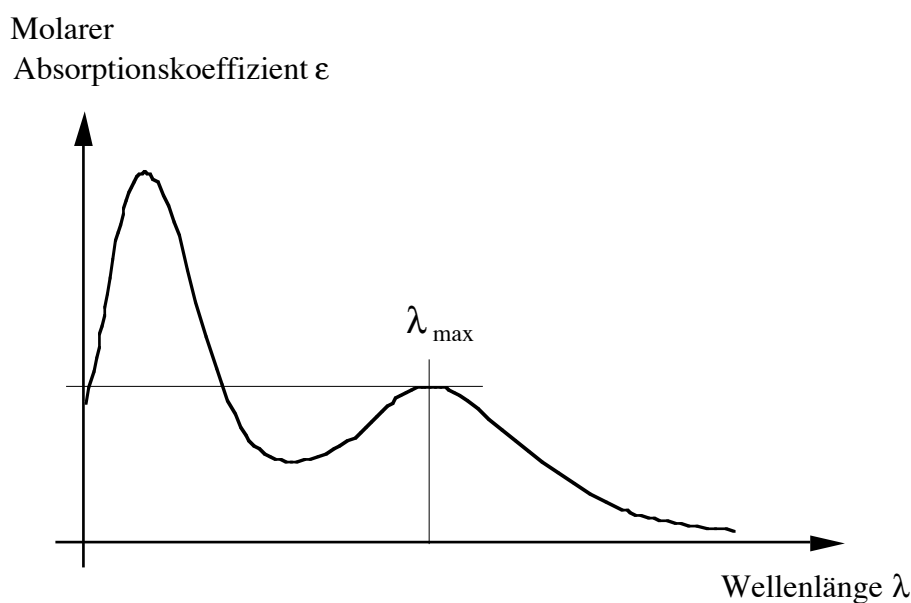
Schärfe der Banden: Einige Teile von Molekülen sind sehr flexibel, z. B. lange CH_2 -Ketten. Diese Teile ändern dauernd ihre Konformation, was zu einer Vielfalt von räumlichen Anordnungen führt. Zu jeder dieser Anordnungen gehört im Prinzip ein eigenes individuelles IR-Spektrum. Da die Änderungen der Konformation im Vergleich zu den angeregten Schwingungen langsam sind, sieht man eine Überlagerung von allen individuellen IR-Spektren. Das resultierende Spektrum weist daher zum Teil breite Banden auf, wenn die entsprechenden Molekülteile, die für die Schwingung verantwortlich sind, flexibel sind. Zusätzlich können protische funktionelle Gruppen miteinander in Wechselwirkung treten, auch intermolekular. Typisches Beispiel ist die Bildung von Dimeren über Wasserstoff-

brücken. So zeigen Carbonsäuren extrem breite Banden, wenn die OH-Gruppe der Carboxylgruppe an der Schwingung beteiligt ist.

Konzentrationseffekte: Wenn die Probemoleküle miteinander in Wechselwirkung treten können, ist das Spektrum von der Konzentration der Probe im Lösungsmittel abhängig. Typisch ist die Bildung von Dimeren über Wasserstoffbrücken, wie sie z. B. bei Carbonsäuren auftreten. In letzterem Fall tritt eine breite Bande bei 930 cm^{-1} auf, die nur von Dimeren stammt. Die Intensität und Lage der Bande ist von der Konzentration abhängig. In sehr verdünnten Lösungen wird die Bande schwach, da die wenig stabilen Dimere nicht lange bestehen bleiben und zwei Moleküle sich nur selten zur Bildung eines Dimers finden. Besonders stark sind die Effekte, wenn die Substanz als Flüssigkeitsfilm aufgenommen wird. Die Abwesenheit eines Lösungsmittels ermöglicht starke Interaktionen zwischen den Molekülen der Probe. Ebenfalls starke Effekte können auftreten, wenn die Substanz als Festkörper vorliegt, also bei der Nujol-Suspension und der KBr-Pille.

UV-Spektroskopie

Vom UV-Spektrum interessiert man sich im Allgemeinen nur für die Lage und die Intensität des längstwelligsten Absorptionsmaximums.

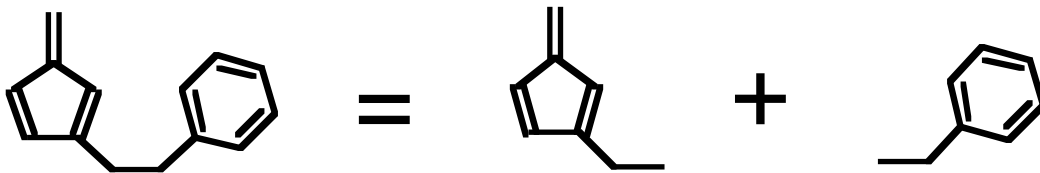


Die UV-Strahlung unterhalb von 180 nm wird von praktisch allen Substanzen, inklusive Lösungsmitteln, stark absorbiert. Daher sind die spektralen Anteile im sehr kurzwelligen Bereich für diagnostische Zwecke unbrauchbar. Die Energie eines UV-Photons in diesem Bereich ist derart gross, dass die meisten Moleküle sich unter Absorption des Photons elektronisch anregen lassen. Dabei können Einfachbindungen gebrochen werden, oder die Moleküle werden durch die Anregung sehr reaktiv. Es findet also eine chemische Reaktion statt (Photochemie, Sonnenbrand).

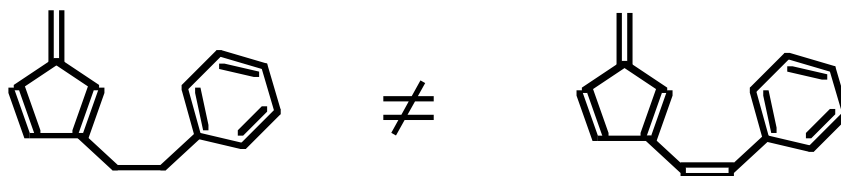
Die strukturellen Eigenheiten, die zur intensiven Absorption von UV-Strahlung führen, sind **konjugierte Doppelbindungen**, also ein System von alternierenden Doppel- und Einfachbindungen. Je mehr Doppelbindungen an einem konjugierten System beteiligt sind, desto grösser ist die Absorption von UV-Strahlung. Wichtiger aber ist die Verschiebung des Absorptionsmaximums zu grösseren Wellenlängen. Wenn mindestens 6 konjugierte

Doppelbindungen vorhanden sind, werden erstmals sichtbare Strahlen in nennenswertem Ausmass absorbiert. Dadurch wird die Substanz **gefärbt**. Die meisten Farbstoffe verfügen also über viele konjugierte Doppelbindungen.

Wenn zwei Systeme von konjugierten Doppelbindungen in einem Molekül vorhanden sind, die untereinander nicht verbunden sind, kann man annehmen, es handle sich um ein Gemisch von zwei Substanzen, von denen jede über eines der konjugierten Systeme verfügt:



Wenn jedoch die konjugierten Systeme verbunden werden, ändert sich das UV-Spektrum dramatisch. Die Lage des längstwelligen Maximums verschiebt sich zu höheren Wellenlängen.

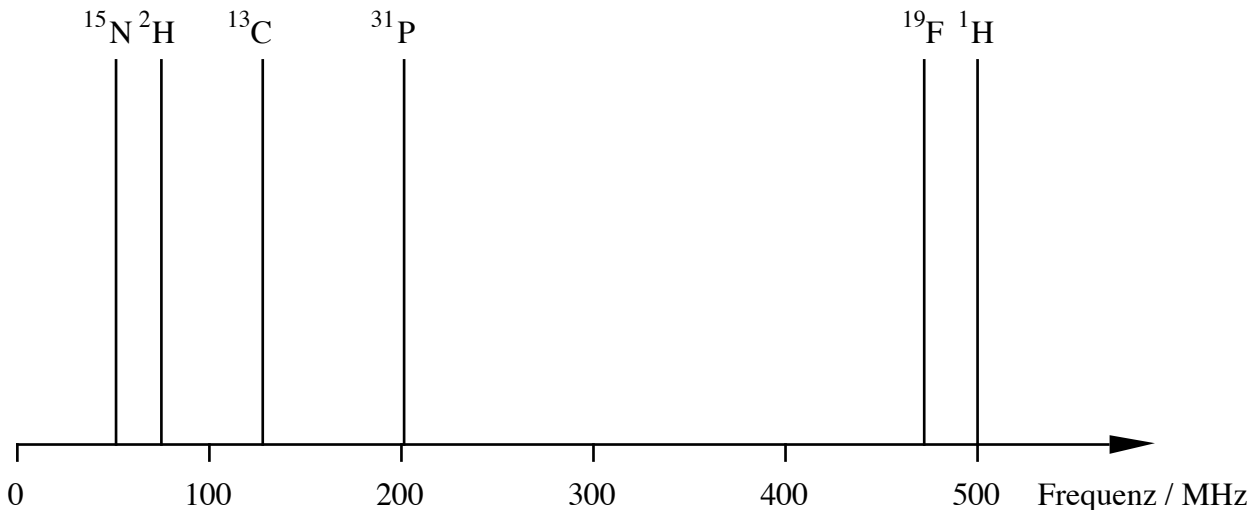


Ein UV-Spektrometer ist ein beliebter **Detektor** in der **Flüssigchromatographie**. Ein UV-Detektor ist unkompliziert und billig. Viele Verbindungen verfügen über mindestens eine Doppelbindung. Das genügt bereits für eine ausreichende Absorption im UV-Bereich bei einer Wellenlänge von 220 nm.

Als **Lösungsmittel** eignen sich Wasser, Methanol, Acetonitril, Hexan und ähnliche Verbindungen ohne konjugierte Doppelbindungen. Als **Fenstermaterial** eignet sich Quarzglas, das bis 180 nm durchsichtig ist.

NMR-Spektroskopie

Einige Atomkerne benehmen sich wie kleine Magnetchen. Sie richten sich in einem Magnetfeld aus. In der Quantenwelt können sie aber nicht jede beliebige Position einnehmen. Die für uns wichtigsten Kerne (Spinquantenzahl $I=1/2$) kennen nur zwei Richtungen, parallel und antiparallel zum Magnetfeld. Zwischen diesen beiden Zuständen gibt es einen extrem kleinen Energieunterschied, der mit einem Photon überwunden werden kann. Die Wellenlänge der entsprechenden Strahlung liegt im Bereich der Radiowellen. Ein möglichst grosser Energieunterschied wird gewünscht. Da dieser proportional zur Magnetfeldstärke ist, strebt man mit viel Aufwand nach möglichst starken Magneten. Die wichtigsten Nuklide und ihre Resonanzfrequenzen sind in der folgenden Graphik aufgetragen. Die Magnetfeldstärke beträgt 11.75 Tesla, was einem heutigen Routinegerät entspricht:



Chemische Verschiebung

Auf der Skala der obigen Figur ist ein NMR-Spektrum nicht sinnvoll darzustellen. Bei einem NMR-Experiment bringt man primär ein einziges Nuklid zur Resonanz. Wenn man die Skala extrem dehnt, erkennt man, dass die Kerne eines Nuklids nicht an der genau gleichen Stelle zu einem Signal führen. Kleine Effekte in der molekularen Umgebung der Kerne führen zu zusätzlichen magnetischen Feldern, die die Resonanzfrequenz um einen kleinen Betrag verschieben (chemische Verschiebung). Die Effekte sind aber so klein, dass sie in ppm (parts per million) der nominalen Frequenz gemessen werden, mithin auf der obigen Skala gar nicht zu erkennen sind. Wir beschränken uns hier auf Experimente mit den Kernen ^1H und ^{13}C . Als Nullpunkt der Skala wird willkürlich die Frequenz der Substanz **Tetramethylsilan (TMS)** definiert. Dies gilt für die ^1H -NMR- als auch für die ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Kerne mit gleicher chemischer Verschiebung bezeichnet man als **isochron**.

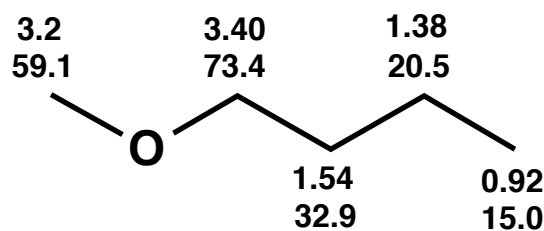
Die chemische Verschiebung ist **unabhängig von der Feldstärke** des Magneten, wenn sie in ppm der nominalen Frequenz angegeben wird.

Die chemische Verschiebung eines Kerns gibt Hinweise auf seine chemische Umgebung. Elektronegative Atome in der unmittelbaren Nachbarschaft können zu einer Verschiebung zu grösseren ppm-Zahlen führen (Verschiebung nach links). Es existieren umfangreiche Tabellenwerke und Computerprogramme zur Abschätzung der chemischen Verschiebung aufgrund der chemischen Umgebung. Es ist nicht sinnvoll, Substituenteneffekte auswendig zu lernen. Wichtig ist zu wissen, wo man allenfalls nachsehen kann.

Was man sich merken sollte:

- Die chemischen Verschiebungen von direkt aneinander gebundenen ^1H - und ^{13}C -Kernen sind stark korreliert. Ein Substituent, der die chemische Verschiebung im ^{13}C -NMR-Spektrum vergrössert, tut das im Wesentlichen auch für das entsprechende Signal im ^1H -NMR-Spektrum.
- Grosse Elektronendichte bei den ^1H - und ^{13}C -Atomen heisst Abschirmung des äusseren Feldes. Das führt zu einer kleinen chemischen Verschiebung.

- Die chemische Verschiebung von aliphatischen C-Atomen liegt grundsätzlich unterhalb von 100 ppm. Jene von H-Atomen, die an ein aliphatisches C-Atom gebunden sind, liegt grundsätzlich unterhalb von 5 ppm.
- Geht von einem C-Atom eine Doppelbindung aus, liegt die chemische Verschiebung grundsätzlich oberhalb von 100 ppm, jene direkt gebundener H-Atome oberhalb von 5 ppm.
- Im aliphatischen Bereich ziehen elektronegative Substituenten (O, N, niedere Halogene, NO₂) Elektronen zu sich. Diese Elektronen fehlen an den benachbarten ¹H- und ¹³C-Atomen. Deren chemische Verschiebung wird dadurch vergrößert. Dieser Effekt der Entschirmung wirkt besonders stark auf die unmittelbaren Nachbarn und abgeschwächt auf die weiter entfernten. Siehe untenstehende Figur.



Chemische Verschiebungen, oben ¹H, unten ¹³C, Angaben in ppm

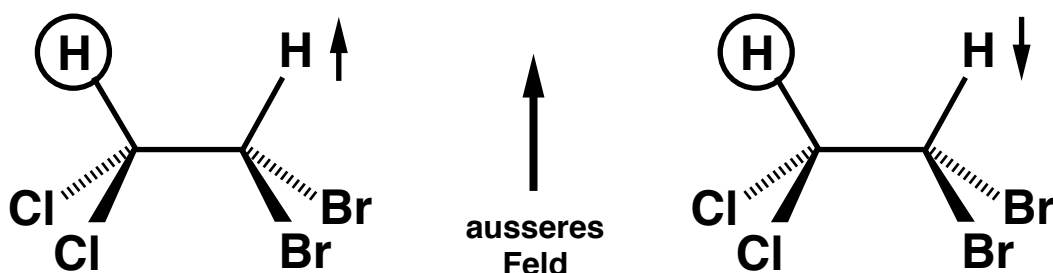
- Im Bereich der ungesättigten Kohlenstoffumgebungen kommen noch Effekte mit π -Elektronen dazu. So können O, N und Halogene die Elektronendichte am benachbarten ¹³C erhöhen, weil sie doppelt besetzte p-Orbitale besitzen. Typisches Beispiel: Carbonylgruppen



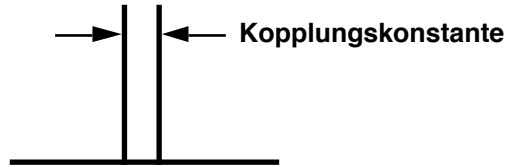
- Chemische Verschiebungen geben Hinweise auf die chemische Umgebung. Sie dürfen nie dogmatisch interpretiert werden. Man findet für fast jede Regel eine Ausnahme.

Kopplungsmuster

Die Signale eines ¹H-NMR-Spektrums sind in charakteristischer Weise aufgespalten. Die Muster geben Auskunft über die Anzahl Protonen in der Umgebung eines bestimmten Kerns. Da die Kerne entweder parallel oder antiparallel zum äusseren Magnetfeld ausgerichtet sind, gibt es Moleküle, in denen das äussere Feld durch die zusätzlichen Magneten in der Umgebung verstärkt wird. In anderen Molekülen wird das Feld geschwächt. Das NMR-Spektrometer sieht ein Gemisch von allen möglichen Anordnungen.



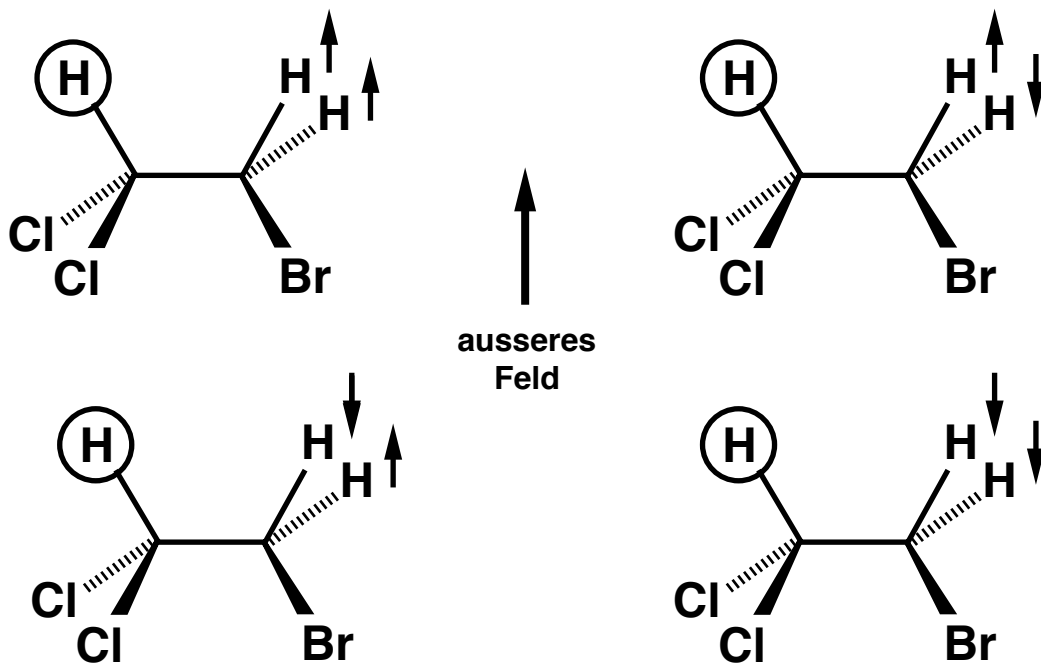
Das eingekreiste H spürt nicht nur das äussere Magnetfeld, sondern dazu noch das kleine Feld, das vom benachbarten Proton stammt. Bei der Hälfte aller Moleküle ist das Proton parallel zum äusseren Feld angeordnet (links), in der anderen Hälfte entgegengesetzt. Im Spektrum erscheinen daher zwei Linien gleicher Intensität, ein so genanntes Dublett. Den **Abstand der Linien** bezeichnet man als **Kopplungskonstante**.



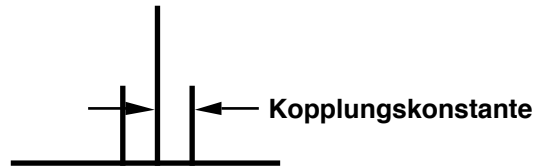
Damit die Kopplungskonstante **von der äusseren Feldstärke unabhängig** ist, misst man sie nicht auf der relativen ppm-Skala der chemischen Verschiebungen, sondern auf der absoluten Skala der Frequenz. Um Kopplungskonstanten aus dem Spektrum ablesen zu können, muss man also die Feldstärke kennen.

Kopplungen sind gegenseitig. Beobachtet man das benachbarte Proton, wird auch dessen Signal in zwei Linien aufgespalten. Die Linienabstände der beiden Dublette sind gleich gross.

Kompliziertere Aufspaltungsmuster ergeben sich, wenn mehrere Nachbarkerne vorhanden sind.



Schon bei zwei Nachbarn gibt es vier Möglichkeiten der Ausrichtung der Spins. Es gibt also im Prinzip vier Linien, für jede Anordnung eine. Die **Kopplungskonstanten** zu den beiden Protonen werden vorerst aber als **gleich** angenommen. Solche (isochronen) Protonen nennt man **magnetisch äquivalent**. Die Linien, die zu den Anordnungen oben rechts und unten links gehören, fallen damit zusammen. Es gibt daher nur 3 Linien mit gleichem Abstand, von denen die mittlere aber doppelt so intensiv ist. Diese Anordnung bezeichnet man als Triplet.



Allgemein ergeben sich bei der Kopplung mit n magnetisch äquivalenten Nachbarn $n+1$ Linien. Die Signalintensitäten entsprechen den Binominalkoeffizienten $(a+b)^n$, Sie lassen sich mit dem Pascal'schen Dreieck berechnen und darstellen:

Signalintensitäten									Bezeichnung Aufspaltungsmuster
				1					Singlett
			1		1				Dublett
		1		2		1			Triplet
	1		3		3		1		Quartett, Quadruplett
	1	4		6		4		1	Quintett
	1	5	10		10	5		1	Sextett
	1	6	15	20		15	6	1	Septett
	1	7	21	35	35	21	7	1	Oktett
1	8	28	56	70	56	28	8	1	Nonett

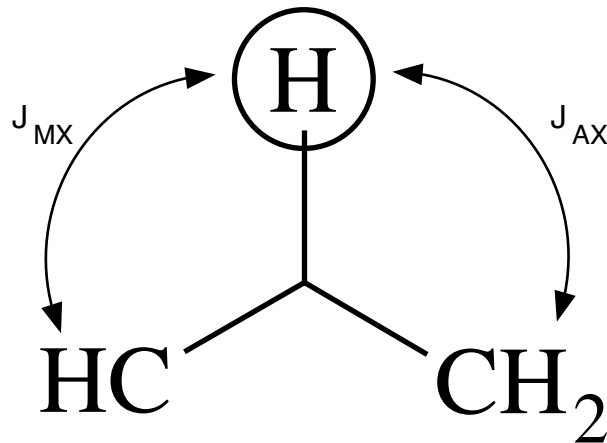
Jede Zahl entspricht der Summe der beiden darüber stehenden. Aufspaltungsmuster mit vielen Linien, die nicht notwendigerweise dem obigen Schema entsprechen müssen, bezeichnet man generell als **Multiplett**.

Es ist zu beachten, dass sich die Kopplungen der Kerne innerhalb einer Gruppe von magnetisch äquivalenten Kernen im Spektrum nicht äussern. Dies lässt sich mit einfachen Modellvorstellungen nicht verstehen.

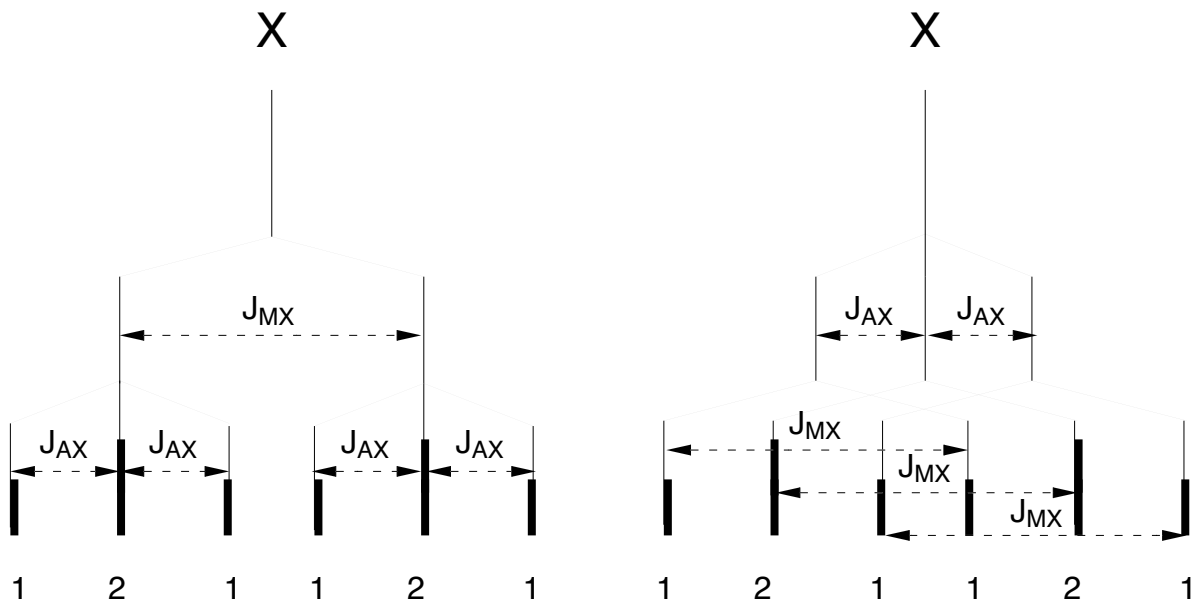
Bei Kopplungen mit mehreren nicht magnetisch äquivalenten Kopplungspartnern, also mit **unterschiedlichen Kopplungskonstanten**, ist das entstehende Aufspaltungsmuster komplizierter als im obigen Fall. Um die Lage der Signale und ihre Intensitäten zu bestimmen, kann folgendes Verfahren angewandt werden:

Man behandelt die Kopplungspartner nacheinander. Man beginnt mit einem beliebigen Kopplungspartner Nr. 1 (oder einer Gruppe von magnetisch äquivalenten Kopplungspartnern) und bestimmt das Kopplungsmuster Nr. 1 gemäss obigem Schema. Dann geht man zum Kopplungspartner Nr. 2 (oder einer Gruppe von magnetisch äquivalenten Kopplungspartnern) und spaltet **jede** Linie des Kopplungsmusters Nr. 1 gemäss dem Kopplungsmuster von Nr. 2 auf. So verfährt man mit weiteren Kopplungspartnern. Die Reihenfolge der Kopplungspartner spielt keine Rolle.

Das Vorgehen wird am besten anhand eines Beispiels erläutert.



Betrachtet wird das eingekreiste Proton in der Figur. Wir bezeichnen es mit X. Es gibt einen ersten Kopplungspartner M mit der Kopplungskonstanten J_{MX} . Zwei weitere Kopplungspartner A werden als Gruppe behandelt, weil die Kopplungskonstanten J_{AX} als gleich angenommen werden. Betrachtet wird der Fall $J_{MX} \gg J_{AX}$.



Links wird zuerst die grosse Kopplung J_{MX} betrachtet. Ohne weitere Kopplungspartner ergäbe sich ein Dublett. Aufgrund der zweiten Kopplung J_{AX} , die für sich allein zu einem Triplet führen würde, spalten beide Linien des Dubletts in ein Triplet auf. Es ergeben sich also 6 Linien mit dem Intensitätsverhältnis 1:2:1:1:2:1.

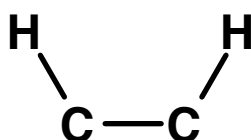
Rechts wird die Kopplung zu A zuerst behandelt. Es ergibt sich ein enges Triplet. Von diesem werden alle Linien in ein weites Dublett aufgespalten. Wie man sieht, führt dies zum gleichen Spektrum wie im Vorgehen links.

Dieses Verfahren ist nur gerechtfertigt, wenn es sich um ein System **erster Ordnung** handelt. Es muss also gewährleistet sein, dass die chemischen Verschiebungen von X, M und A, sowie von anderen möglichen Kopplungspartnern genügend unterschiedlich sind. Als genügend kann man einen Unterschied bezeichnen, wenn er mindestens das Zehnfache der Kopplungskonstanten beträgt. Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten

misst man aber auf unterschiedlichen Skalen, damit sie jeweils unabhängig von der Feldstärke sind. Man muss für einen Vergleich also eine der Grössen auf die andere Skala umrechnen. Dazu ist die Kenntnis der magnetischen Feldstärke bzw. der damit verknüpften nominalen Frequenz nötig. Ein Unterschied von 1 ppm in einem ^1H -NMR-Spektrum, das auf einem 500 MHz-Gerät registriert wird, beträgt also 500 Hz (ein Millionstel der nominalen Frequenz). Wie man sieht, kann man durch Erhöhen der Feldstärke bisweilen ein Spektrum höherer Ordnung in eines erster Ordnung überführen.

Die chemische Verschiebung eines Signals mit Feinstruktur entspricht dem Schwerpunkt der Signalgruppe.

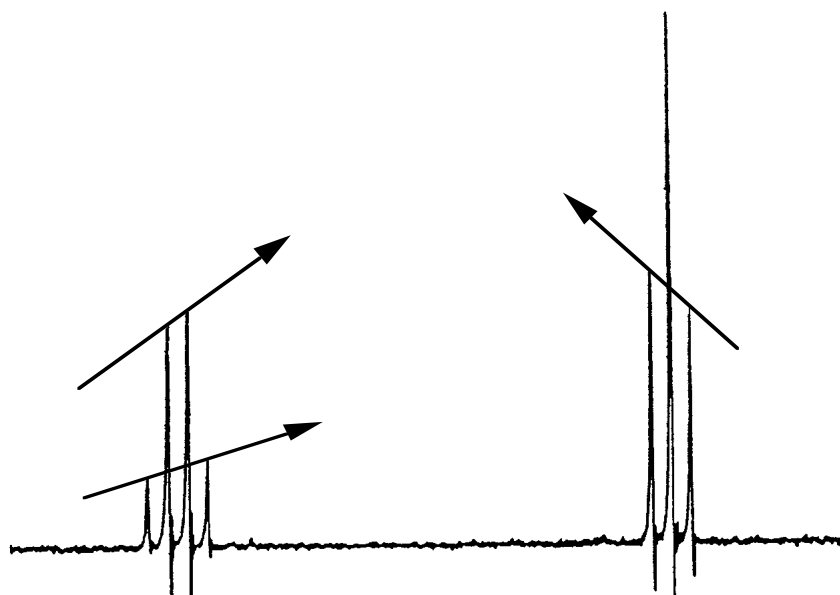
Aufgrund der natürlichen Linienbreite muss eine Kopplungskonstante genügend gross sein, damit man die Linien getrennt sehen kann. Auf heutigen Routinegeräten muss die Kopplungskonstante mindestens 1 Hz betragen. Kleinere Kopplungen nimmt man allenfalls als Linienverbreiterungen wahr. Der räumliche Abstand der Kerne spielt keine Rolle für die Kopplung. Protonen koppeln genügend stark, wenn sie drei oder weniger Bindungen Abstand haben. Das bedeutet, dass die entsprechenden Atome, an die sie gebunden sind, selbst unmittelbar aneinander gebunden sein müssen.



Es gibt Beispiele von kleinen Kopplungen über mehr als 3 Bindungen (Long-Range-Kopplungen), die im Spektrum sichtbar sind. Sie interessieren uns hier nur ausnahmsweise (meta-ständige Protonen in Benzolringen, siehe Übungen).

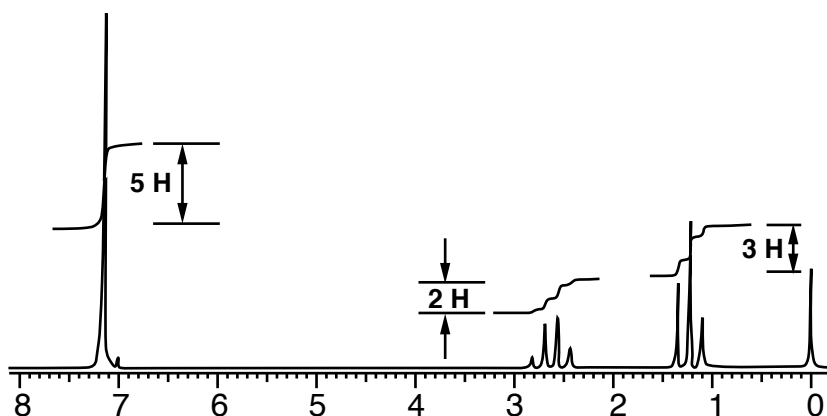
Dacheffekt

Man verbindet die Spitzen zweier Linien eines Multipletts, die aufgrund einer Kopplung in einem Spektrum erster Ordnung die gleiche Intensität hätten, mit einer Geraden. Zeichnet man nun auf dieser Geraden einen Pfeil nach oben, zeigt der Pfeil entweder nach links oder rechts. In dieser Richtung im Spektrum ist das Signal des Kopplungspartners zu suchen:



Integral

Die **Intensität** der Signale ist abhängig von der Anzahl Protonen, die für das Signal verantwortlich sind. Erhöht man die Konzentration der Probemoleküle, erhält man ein stärkeres Signal. Es kann vorkommen, dass zwei oder mehrere Protonen in einem Molekül die gleiche chemische Verschiebung haben. In diesem Fall ist es nützlich, die relative Intensität der Signale untereinander zu vergleichen. Da die Signale oft in mehrere Linien aufgespalten sind, ist es nicht so klar, was mit der Intensität eines Signals gemeint ist. Die Fläche unter der ganzen Signalgruppe, also das Integral, ist proportional zur Anzahl Protonen, die das Signal verursachen. Man kann aus einem Spektrum die Integralverhältnisse ablesen. Da es nicht so einfach ist, die Fläche unter einer Kurve abzulesen, wird über das eigentliche Spektrum eine Stammfunktion, also das Integral des Spektrums, gezeichnet. Durch Ausmessen der Differenz zwischen Anfang und Ende der Stammfunktion können die Integralverhältnisse einfach erhalten werden.



Die Integralverhältnisse geben noch nicht die wirkliche Anzahl Protonen an. Wenn man aber eine reine Probesubstanz hat, müssen die Integrale ganzen Zahlen entsprechen. Man findet daher die wirkliche Anzahl Protonen schnell, zumal bei kleinen Molekülen, die uns hier ausschliesslich interessieren.

Protonen an Heteroatomen

Protonen, die an Sauerstoff-, Stickstoff- oder andere Heteroatome gebunden sind, zeigen zusätzliche Effekte. Die Protonen von OH-Gruppen oder den NH-Gruppen von Aminen können von einem Molekül zu einem anderen hüpfen (chemischer Austausch). Dadurch kann eine an sich mögliche Kopplung zu anderen Protonen verschwinden, oder es können starke Linienverbreiterungen auftreten. Die NH-Gruppen von Amiden koppeln mit dem ^{14}N -Kern und können ebenfalls starke Linienverbreiterungen zeigen. Die auftretenden Effekte sind zudem von der Temperatur, von der Wahl des Lösungsmittels und von der Feldstärke abhängig.

^{13}C -NMR:

In der ^{13}C -NMR-Spektroskopie werden Integrale im Allgemeinen nicht interpretiert. Die Spektren werden nicht in einer Art und Weise aufgenommen, dass die Signalintensitäten mit der Anzahl Kerne zusammenhängen. Da die natürliche Häufigkeit von ^{13}C im Kohlenstoff nur 1.1% beträgt, sind die meisten C-Atome für das Spektrometer unsichtbar. Man betrachtet also ein Gemisch von Isotopomeren. Nur Moleküle, die an einer bestimmten C-

Position ein ^{13}C -Atom besitzen, tragen zum entsprechenden Signal bei. Kopplungen zwischen ^{13}C -Atomen sind im Allgemeinen nicht sichtbar. Dazu ist die Wahrscheinlichkeit zu klein, dass der Nachbar eines beobachteten ^{13}C -Atoms auch wieder ^{13}C ist. Kopplungen zu direkt gebundenen H-Atomen sind dagegen im Prinzip sichtbar. Das Signal einer Methylgruppe würde also in ein Quartett aufspalten. Diese Kopplungen sind aber unerwünscht, da sie das Spektrum enorm komplizieren. Man sorgt daher durch geeignete Aufnahmebedingungen dafür, dass Kopplungen zu Protonen unterdrückt werden (**breitband-entkoppeltes Spektrum**). In diesem Spektrum äussert sich jede Kernsorte als ein einziges Signal. Die Anzahl direkt an den Kohlenstoff gebundener H-Atome ermittelt man durch Zusatzexperimente, von denen die DEPT-Spektren in der Vorlesung vorgestellt wurden.

Vorgehen beim Auswerten der Spektren

Im ^1H -NMR-Spektrum werden zuerst die Integrale ausgemessen. Dabei sollen Verhältnisse mit ganzen Zahlen entstehen. Schwierigkeiten können bei sehr schmalen und sehr breiten Signalen auftreten. Schmale Signale haben manchmal ein zu kleines Integral. Breite Signale verschmelzen leicht mit anderen Signalen, was das Ausmessen der Integrale erschwert. Bei sehr breiten Signalen lässt sich Anfang und Ende des Peaks nicht leicht erkennen, was zu kleine Integrale bewirken kann. Feuchtigkeit in der Probe kann zu einem zusätzlichen Wasserpeak führen oder das Integral eines anderen Peaks (chemischer Austausch) vergrössern.

Die chemischen Verschiebungen reichen im ^1H -NMR-Spektrum etwa von 0–10 ppm, im ^{13}C -NMR-Spektrum etwa von 0–200 ppm, wobei ohne weiteres auch Signale ausserhalb dieses Bereiches gefunden werden können. Aliphatische Umgebungen (nur Einfachbindungen) äussern sich durch kleine chemische Verschiebungen, typischerweise unterhalb von 5 ppm (^1H) bzw. 100 ppm (^{13}C), wobei elektronegative Heteroatome in der Nachbarschaft zu grossen chemischen Verschiebungen führen. Oberhalb dieser Grenzen findet man hauptsächlich aromatische und olefinische Umgebungen (Doppelbindungen). Der Einfluss von Heteroatomen ist dabei schwieriger vorherzusagen.

Am wertvollsten in der NMR-Spektroskopie ist die Kopplungsinformation. Die Aufspaltungsmuster in einem ^1H -NMR-Spektrum sind aber nicht immer einfach zu interpretieren. Die Überlagerung von Signalen und Effekte höherer Ordnung können zu Schwierigkeiten führen. Dabei können mehrdimensionale Verfahren Abhilfe schaffen. In der Vorlesung wurden die Experimente H,H-COSY, HSQC und HMBC vorgestellt. Die Spektren sind zwar sehr einfach zu interpretieren, Effekte höherer Ordnung sowie Abweichungen von den vorausgesetzten experimentellen Parametern können jedoch zu Artefakten führen.