

# Moderne Pulsfolgen in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie

Von Reinhard Benn\* und Harald Günther\*

Die Einführung der Fourier-Transform-Technik hat nicht nur die Empfindlichkeit der hochauflösenden NMR-Spektroskopie wesentlich verbessert und somit Messungen an unempfindlichen Atomkernen des Periodensystems der Elemente ermöglicht, sondern auch eine Vielfalt neuer experimenteller Methoden initiiert. Einerseits können bereits bekannte Verfahren jetzt schneller und besser ausgeführt werden, andererseits sind prinzipiell neue Verfahrenswege eröffnet worden. Grundlage dieser Entwicklung ist die Benutzung programmierbarer Pulssender sowie die Einteilung des Experiments in eine Präparations-, Evolutions- und Detektionsphase. Insbesondere das Konzept der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie brachte Fortschritte, die sowohl der Analyse komplizierter Spektren zugute kommen als auch zu Informationen führen, die bisher nicht zugänglich waren. Wie überall, ist auch hier ein gutes Verständnis der physikalischen Hintergründe für die sinnvolle Anwendung der Meßtechniken und die sichere Interpretation der Resultate eine notwendige Voraussetzung. Dazu muß nicht unbedingt ein mathematisch aufwendiges Formelwerk bewältigt werden. Im folgenden wird versucht, die neuen Pulstechniken im Rahmen des Blochschen Vektorbildes anschaulich darzustellen. Zuerst werden eindimensionale Pulsverfahren beschrieben, die schon mit einfachen experimentellen Mitteln nutzbar gemacht werden können. Die Schwerpunkte ihrer Anwendung befinden sich auf dem Gebiet der Signalzuordnung in der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie, bei der Empfindlichkeitsverbesserung für die Messung seltener Kerne und bei der selektiven Anregung einzelner Resonanzen. Danach werden die Verfahren der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie geschildert, mit denen Verschiebungskorrelationen für verschiedene Kernsorten, die überlappungsfreie Registrierung einzelner Multipletts und die Analyse von Nachbarschaftsbeziehungen sowie von chemischen Austauschphänomenen gelingen.

## 1. Einleitung

Mit der Einführung der Fourier-Transform-(FT-)Technik begann ein neuer Abschnitt in der Entwicklung der NMR-Spektroskopie, der einen ungeahnten Ausbau der experimentellen Möglichkeiten mit sich brachte. Stand am Anfang der Aspekt der Empfindlichkeitsverbesserung und damit besonders die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie im Vordergrund, so können wir heute Fortschritte bei der NMR-Spektroskopie sogenannter seltener Kerne<sup>[1]</sup> und bei Festkörper-Spektren<sup>[2]</sup> zur Kenntnis nehmen, an die bis vor wenigen Jahren wohl niemand zu denken wagte. Daneben sind mit der NMR-Spektroskopie makroskopischer Systeme und der NMR-Tomographie ganz neue Anwendungsgebiete in Physiologie und Medizin erschlossen worden, deren Potential erst in Umrissen erkennbar wird<sup>[3]</sup>.

Diesem Zuwachs an neuen Anwendungen steht ein ebenso eindrucksvoller Zuwachs an neuen experimentellen Verfahren gegenüber, die das klassische Repertoire des NMR-Spektroskopikers beträchtlich erweitert und viele der älteren CW-Methoden (CW: Akronym für Continuous Wave) verdrängt haben. Insbesondere die zunehmende Integration des Rechners in das NMR-Experiment hat die Basis für eine Vielzahl von Untersuchungen geschaffen, die unter Computerkontrolle ablaufen, da Zeitfolgen im

$\mu\text{s}$ - und  $\text{ms}$ -Bereich auftreten und die Verarbeitung großer Datenmengen erforderlich wird.

So sind in den letzten Jahren auch in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie Pulsexperimente entwickelt worden, die einerseits das Empfindlichkeitsproblem bei der NMR-Messung unempfindlicher Kerne gelöst haben und andererseits neue oder bisher nur schwer zugängliche Informationen liefern können. Die Leistungsfähigkeit dieser Techniken, deren Kurznamen die Sprache der NMR-Spektroskopie für Außenstehende schwer verständlich zu machen drohen, wird jedoch beim Anwender noch nicht voll erkannt. Das mag sowohl auf ein ungenügendes Verständnis der physikalischen Hintergründe zurückzuführen sein als auch auf die Tatsache, daß die neuen Techniken häufig zunächst bei der NMR-Spektroskopie von Proteinen und anderen Makromolekülen angewendet wurden. Die komplexen Strukturen dieser Systeme und ihrer Spektren erschweren den Zugang zum Experiment, obwohl das Potential der neuen Meßverfahren gerade bei komplizierten Molekülen besonders deutlich zum Tragen kommt.

In unserem Fortschrittsbericht soll nun versucht werden, am Beispiel kleiner Moleküle die Wirkungsweise der modernen Pulsverfahren und die Informationen, die sie liefern können, transparenter zu machen<sup>[4]</sup>. Dabei soll die phänomenologische Darstellung der Prinzipien im Rahmen des Blochschen Vektorbildes bevorzugt werden. Auf eine komplette Literaturübersicht und eine lückenlose Schilderung der experimentellen Aspekte wird verzichtet. Abschnitt 2 behandelt *eindimensionale* Pulsfolgen mit unterschiedlichen Zielsetzungen (Signalzuordnung, Empfindlichkeitsverbesserung, selektive Anregung), Abschnitt 3

[\*] Prof. Dr. H. Günther  
FB 8, Organische Chemie II, Universität-Gesamthochschule  
Postfach 210209, D-5900 Siegen 21  
Dr. R. Benn  
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung  
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-4330 Mülheim a. d. Ruhr

zweidimensionale Pulsverfahren, insbesondere diejenigen Techniken, die eine Korrelation der spektralen Parameter (chemische Verschiebungen, Kopplungskonstanten) verschiedener Kerne, z. B.  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ , zum Zwecke einer überlappungsfreien Darstellung der spektralen Information ermöglichen.

### 1.1. Das FT-NMR-Experiment

Erinnert sei zunächst an die Grundlagen des Fourier-Transform-NMR-Experiments<sup>[5]</sup>. Für die interessierende Atomkernsorte bilden die im gewählten spektralen Bereich vorhandenen Resonanzsignale unterschiedlicher Larmorfrequenz die sogenannte *makroskopische Magnetisierung*  $M$  vom Betrag  $M_0$ , die im Koordinatensystem in der Feldrichtung  $B_0$  orientiert ist (Fig. 1a).

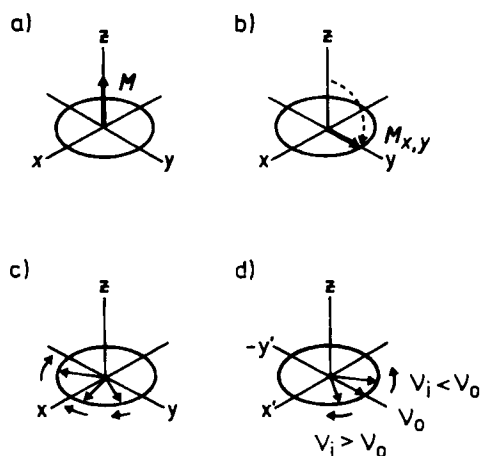


Fig. 1. a) Makroskopische Magnetisierung  $M$  im Laboratoriumssystem; b) transversale Magnetisierung  $M_{x,y}$  nach einem  $90^\circ$ -Impuls. – Für die Wirkung von Impulsen gilt die „Rechte-Hand-Regel“, nach welcher der Daumen die Impulsrichtung und die gebogenen Finger den Drehsinn des Magnetisierungsvektors angeben; c) Larmor-Präzession der individuellen Kernvektoren unterschiedlicher Larmorfrequenz im Laboratoriumssystem; d) wie c), jedoch im „rotierenden Rahmen“  $K'(x', y', z)$  (vgl. Text).

Ein starkes Hochfrequenzfeld  $B_1$ , ein sogenannter HF-Impuls<sup>[6]</sup>, der durch einen Hochfrequenzsender auf der x-Achse erzeugt wird, führt  $M$  von der z-Achse weg. Dauer und Leistung des HF-Impulses bestimmen die Lage von  $M$  nach dem Impuls. Bei einem sogenannten  $90^\circ$ - oder  $\pi/2$ -Impuls liegt  $M$  auf der positiven y-Achse (Fig. 1b). Aus der longitudinalen oder z-Magnetisierung ist jetzt die transversale oder Quermagnetisierung geworden. Für diesen Vorgang sind bei der heute üblichen Leistung der Pulssender ca. 5–20  $\mu\text{s}$  erforderlich.

Aufgrund der unterschiedlichen Larmor-Präzession der Kernmomente wird nun der Vektor  $M$  in seine Anteile zerlegt (Fig. 1c). Die in der x,y-Ebene rotierenden Vektoren erzeugen in der Empfängerspule auf der y-Achse eine Spannung, die als NMR-Signal registriert wird. Tragen wir für einen einzelnen Vektor die Intensität seiner y-Komponente, d. h. die in der Empfängerspule induzierte Signalspannung  $U$ , in Abhängigkeit von der Zeit auf und berücksichtigen die transversale Relaxation, d. h. die Abnahme des Betrages der Quermagnetisierung aufgrund von Relaxationsvorgängen, so erhalten wir eine gedämpfte Schwingung der Frequenz  $\nu_i$ , die als freier Induktionsabfall (FID; Akronym für *Free Induction Decay*) bekannt ist (Fig. 2).

Durch Fourier-Transformation entsteht daraus das klassische NMR-Signal oder -Spektrum. Die gemessene Frequenz  $\nu_i$  ist die Differenz zur Pulsfrequenz  $\nu_0$ , liegt also üblicherweise im kHz-Bereich.

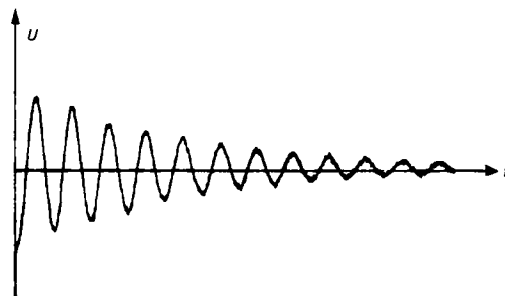


Fig. 2. Freier Induktionsabfall (FID) oder Zeitsignal eines NMR-Signals. Die Sinusschwingung klingt mit der Zeitkonstante  $T_2^*$  ab und hat die Frequenz  $\nu_i$ .  $T_2^*$  ist die effektive transversale Relaxationszeit, die neben der transversalen Relaxation auch Inhomogenitätsbeiträge enthält.

Für die Beschreibung von NMR-Experimenten erweist sich nun der bereits von Torrey<sup>[7]</sup> eingeführte „rotierende Rahmen“, ein mit der Frequenz  $\nu_0$  des Pulssenders rotierendes Koordinatensystem  $K'$ , als nützlich. Vektoren, die Signalen mit Frequenzen  $\nu_i > \nu_0$  entsprechen, laufen darin im Uhrzeigersinn um, während für Signale mit  $\nu_i < \nu_0$  der entgegengesetzte Drehsinn gilt; ein Signal mit  $\nu_i = \nu_0$  ist im rotierenden Rahmen ortsfest (Fig. 1d).

Es ist ferner wichtig festzuhalten, daß jeder Vektor durch seine Larmorfrequenz, seine Orientierung im rotierenden Rahmen und seine Lebensdauer charakterisiert ist. Seine Larmorfrequenz bestimmt die *Signallage* im Spektrum – also die chemische Verschiebung –, während seine Orientierung zum Zeitpunkt der Datenaufnahme die Phasendifferenz zum rotierenden Rahmen und damit die *Signalphase* festlegt (Fig. 3).

Da NMR-Spektrometer mit phasenempfindlichen Detektoren arbeiten, können die in Figur 3 gezeigten Dispersions-signale mit Phasenfehlern von  $90^\circ$  oder  $270^\circ$  unterdrückt werden. Dadurch wird in der Detektionsphase des Experiments eine Selektion interessierender Komponenten der transversalen Magnetisierung möglich, was bei vielen der modernen Pulsfolgen genutzt wird. Die effektive transversale Relaxationszeit  $T_2^*$  bestimmt schließlich die zeitliche Abnahme der transversalen Magnetisierung und nach  $\omega_{1/2} = 1/\pi T_2^*$  die Halbwertsbreite  $\omega$  der NMR-Linie.

### 1.2. Das Schicksal der transversalen Magnetisierung

Um die Prinzipien der neuen Pulsexperimente zu verstehen, ist es unerlässlich, die Zeitabhängigkeit der transversalen Magnetisierung näher zu untersuchen. Drei Einflüsse sind hierfür maßgebend: transversale Relaxation, Inhomogenität des äußeren Magnetfeldes  $B_0$  und Spin-Spin-Kopplung zu Nachbarkernen.

#### 1.2.1. Transversale Relaxation

Hier handelt es sich um einen echten Relaxationsvorgang, der der Tatsache Rechnung trägt, daß die transver-

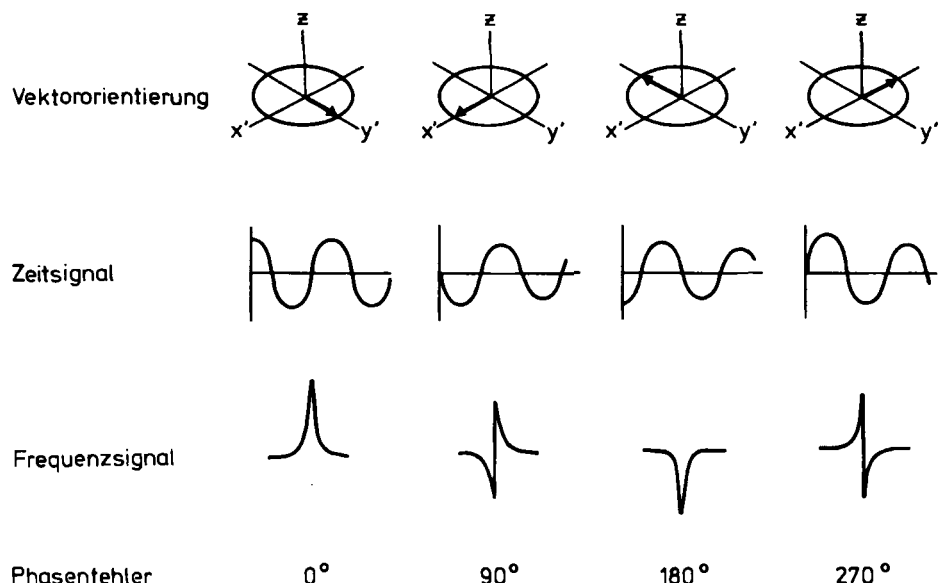


Fig. 3. Präzession der transversalen Magnetisierung: Zusammenhang zwischen Vektororientierung, Zeitsignal, Frequenzsignal und Phasenfehler.

sale Magnetisierung nach verschiedenen Mechanismen abgebaut werden kann. Transversale Relaxation geht nach  $\omega_{1/2}^T = 1/\pi T_2$  in die natürliche Halbwertsbreite  $\omega_{1/2}^N$  des NMR-Signals ein. Für die folgenden Betrachtungen wird transversale Relaxation als gegeben vorausgesetzt.

### 1.2.2. Inhomogenität des äußeren Magnetfeldes $B_0$

Bei der klassischen makroskopischen Betrachtung des NMR-Experiments ist nicht nur die makroskopische Magnetisierung  $M$  eine zusammengesetzte Größe, auch jeder individuelle Vektor  $v_i$  ist als Vektorsumme der einzelnen Kernmomente, die sich in gleicher chemischer Umgebung befinden, also die gleiche Larmor-Frequenz haben, aufzufassen. Infolge der praktisch unvermeidlichen Inhomogenität des äußeren Feldes  $B_0$  ist der Idealzustand, daß alle Kernmomente der gleichen Feldstärke  $B_0$  ausgesetzt sind, jedoch nicht erreichbar. Das lokale äußere Feld variiert vielmehr über das Probenvolumen ( $B_{\text{lokal}} = B_0 \pm \Delta B$ ). Nach der Anregung kommt es daher zu einem Auffächern der Vektoren  $v_i$ , da wegen der Resonanzbedingung  $v_i = \gamma B_{\text{lokal}}$  die Anteile im Probenbereich mit  $B_{\text{lokal}} > B_0$  schneller, die Anteile im Probenbereich mit  $B_{\text{lokal}} < B_0$  langsamer präzedieren. Dieser Vorgang kann schließlich das Verschwinden der Quermagnetisierung bewirken (Fig. 4). Man trägt diesem Phänomen durch Einführung der effektiven transversalen Relaxationszeit  $T_2^*$ , die den Beitrag der wahren Relaxation und den der Inhomogenität umfaßt, Rechnung. In der Praxis der hochauflösenden Kernresonanzspektroskopie liefert die Feldinhomogenität bei weitem den wichtigsten Beitrag zum Abbau der Quermagnetisierung und damit zur Linienbreite.

### 1.2.3. Spin-Spin-Kopplung

Wird für einen Kern A skalare Spin-Spin-Kopplung zu einem Nachbarkern X wirksam<sup>[8]</sup>, so beginnt nach der Anregung eine Auftrennung der Quermagnetisierung  $M_{x,y}^A$  in einzelne, den Multiplettkomponenten entsprechende Vek-

toren. In Figur 4c bzw. 4d sind die Verhältnisse für ein Dublett bzw. Triplet dargestellt. Durch Spin-Entkopplung kann man die Vektoren eines Multipletts im rotierenden Rahmen fixieren, wenn  $\nu_A = \nu_0$  gilt, da ihre Larmor-Frequenzen identisch werden. Die momentane y-Magnetisierung der Vektoren läßt sich daher durch Anschalten eines Entkopplerfeldes  $B_2$  „einfrieren“. Die bei  $\nu_A$  nachgewiesene Magnetisierung ist dann die Resultierende der y-Komponenten der einzelnen Vektoren.

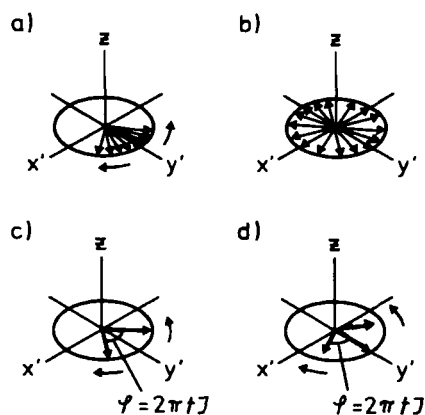


Fig. 4. a) Auffächern der Quermagnetisierung im rotierenden Rahmen  $K'$  infolge der Inhomogenität des äußeren Feldes  $B_0$ ; b) nach der Zeit  $T_2^*$  ist die Vektorsumme in der  $x,y$ -Ebene Null; c) die Quermagnetisierung eines Kernes A unter dem Einfluß der skalaren Spin-Spin-Kopplung zu einem Nachbarkern X (AX-System); d) die Quermagnetisierung eines Kernes A unter dem Einfluß der skalaren Spin-Spin-Kopplung zu zwei Nachbarkernen X ( $AX_2$ -System). Für c) und d) wurde als Frequenz des rotierenden Rahmens jeweils die Larmor-Frequenz des Kernes A benutzt, so daß die Präzessionsfrequenz der Multiplettkomponenten  $\pm \frac{1}{2}J$  bzw.  $+J, 0, -J$  beträgt.

### 1.3. Das Spinecho-Experiment

Für die meisten der neuen Pulsmethoden ist das Spinecho-Experiment<sup>[9]</sup> von zentraler Bedeutung.

Ist zur Zeit  $\tau$  nach einem  $90^\circ$ -Impuls die Quermagnetisierung um  $\pm \Delta\nu$  aufgefächert, so kann das Vektorsystem

durch einen  $180^\circ$ -Impuls invertiert werden. Da der Drehsinn der Vektorbewegung dadurch nicht verändert wird, kommt es zu einer Refokussierung auf der negativen y-Achse und nach der Zeit  $2\tau$  zum Spinecho-Signal, dessen Amplitude sich vom Ausgangswert jetzt nur noch durch den wahren Relaxationsverlust unterscheidet (Fig. 5).

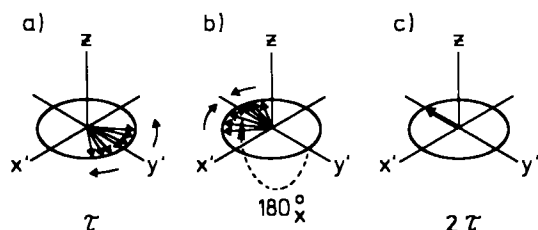


Fig. 5. Spinecho-Experiment: a) Zustand der transversalen Magnetisierung zur Zeit  $\tau$  nach dem  $90^\circ$ -Anregungsimpuls; b) Wirkung des  $180^\circ$ -Impulses; c) Zustand der transversalen Magnetisierung nach der Zeit  $2\tau$ . Da für die Impulsdauer  $t_p \ll \tau$  gilt (typische Werte sind etwa  $t_p = 20 \mu\text{s}$ ,  $\tau = 5 \text{ ms}$ ), können Änderungen des Spinsystems während  $t_p$  vernachlässigt werden.

Wir folgern daraus, daß es mit einem Spinecho-Experiment gelingt, sämtliche Effekte, die aufgrund unterschiedlicher Larmor-Frequenzen – also auch chemischer Verschiebungen – zu einem Auffächern der makroskopischen Quermagnetisierung nach dem Anregungsimpuls führen, rückgängig zu machen. Ein einfaches Experiment soll dies verdeutlichen.

Wir benutzen dazu den bekannten frequenzabhängigen Phasenfehler, der beim FT-Experiment auftritt, wenn die Aufnahme des FID nach dem Anregungsimpuls um  $t_0$  verzögert einsetzt<sup>[10]</sup>. Die Präzession der einzelnen Magnetisierungsvektoren ist dann im rotierenden Rahmen aufgrund unterschiedlicher Larmor-Frequenzen verschieden weit fortgeschritten, und die Phasen der einzelnen Signale differieren (Fig. 6a, b). Geben wir nun zum Zeitpunkt  $t_0$  einen  $180^\circ$ -Impuls ein und beginnen mit der FID-Aufnahme nach der Zeit  $2t_0$ , so ist die Phasendifferenz verschwunden, da die Vektoren in der zweiten  $t_0$ -Periode refokussieren (Fig. 6c, d).

Andere Verhältnisse liegen vor, wenn skalare Spin-Spin-Kopplung zu einem Nachbarkern vorhanden ist. Da die zu erörternden Pulsfolgen fast ausnahmslos auf dem Effekt der Spin-Spin-Kopplung beruhen, wollen wir diesen Aspekt jetzt am Beispiel eines Zweispinsystems isoliert betrachten. Hier sind mehrere Situationen zu unterscheiden.

Für ein *homonucleares* AX-System ist der  $180^\circ$ -Impuls nicht selektiv, d. h. er trifft den A-Kern ebenso wie den X-Kern. Im Vektordiagramm bedeutet dies, daß die Multiplettvektoren an der x,z-Ebene gespiegelt werden: Mit der Inversion geht auch eine Änderung des Drehsinns einher, da der  $180^\circ$ -Impuls die Spinzustände der Nachbarkerne vertauscht. Refokussierung zum Spinecho tritt nicht ein (Fig. 7a).

Im *heteronuclearen* Fall, z. B. für ein AX-System aus einem  $^1\text{H}$ - und einem  $^{13}\text{C}$ -Kern, sind zwei Varianten möglich. Beobachten wir die  $^{13}\text{C}$ -Resonanz und lassen hier einen  $180^\circ$ -Impuls einwirken, so resultiert – wie im allgemeinen Fall der chemischen Verschiebung – nach der Zeit  $2\tau$  Refokussierung zum Spinecho (Fig. 7b). Ein  $180^\circ$ -Impuls im Bereich des A-Kerns ändert andererseits nur den Dreh-

sinn der beiden X-Vektoren und führt nach der Zeit  $2\tau$  ebenfalls zu Refokussierung und Spinecho, dessen Phase jedoch um  $180^\circ$  differiert (Fig. 7c). Zwei gleichzeitige  $180^\circ$ -Impulse im A- und X-Bereich ergeben hingegen Verhältnisse, die dem homonuclearen Fall entsprechen.

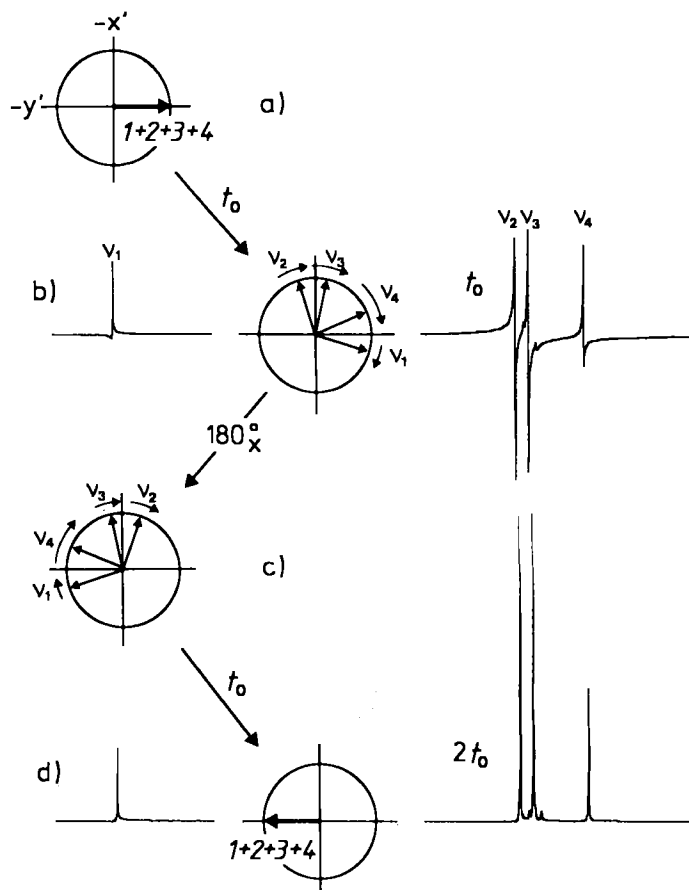


Fig. 6. Phasenkorrektur durch ein Spinecho-Experiment am Beispiel der Aren- $^{13}\text{C}$ -Resonanzen von Ethylbenzol: a) Situation nach dem Anregungsimpuls; b) nach einer Zeit  $t_0$  sind die einzelnen Anteile der makroskopischen Magnetisierung aufgrund ihrer unterschiedlichen Larmor-Frequenz in der Präzession um die Feldachse verschieden weit fortgeschritten. Datenaufnahme führt zu einem Spektrum mit frequenzabhängigen Phasenfehlern; c) ein  $180^\circ$ -Impuls zur Zeit  $t=t_0$  invertiert die Vektoren und führt nach der Zeit  $t=2t_0$  zu erneuter Überlagerung, dem Spinecho. Die Phasendifferenz im gemessenen Spektrum verschwindet (d). Um ein Absorptionsspektrum zu erhalten, wurde bei d) eine zusätzliche Phasenkorrektur von  $180^\circ$  vorgenommen.

Man kann diese Betrachtungen nun durch die Berücksichtigung des Inhomogenitätseffektes vervollständigen. Er bewirkt für jeden einzelnen Vektor in Figur 7 noch ein zusätzliches Auffächern, das nur durch einen selektiven  $180^\circ$ -Impuls auf den X-Kern rückgängig gemacht werden kann. Nur die Experimente in Figur 7a und 7b führen daher zur Refokussierung von Inhomogenitätseffekten oder Beiträgen chemischer Verschiebungen wie dem zuvor erwähnten frequenzabhängigen Phasenfehler, die analog zu behandeln sind. Dies ist ein für die Praxis wichtiger Aspekt, da die Pulsfrequenz  $\nu_0$  in der Regel nicht mit der Larmor-Frequenz des X-Kerns identisch ist, wie das bisher vereinfachend angenommen wurde.

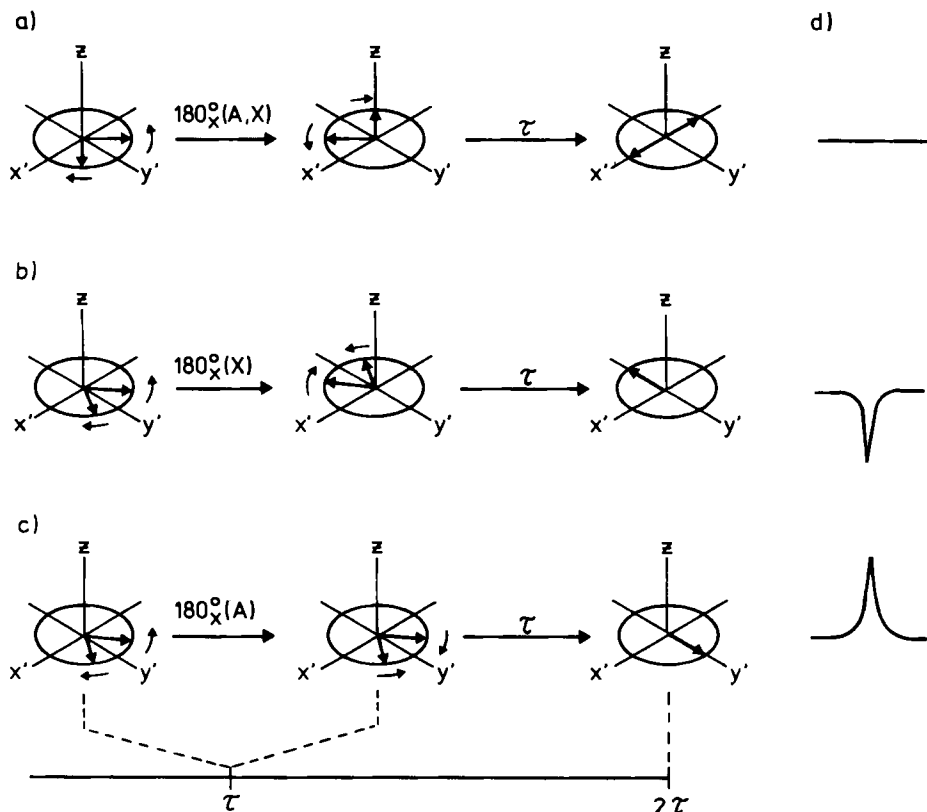


Fig. 7. Spinecho-Experiment am AX-System, Vektordiagramm für den X-Kern: a) homonuclearer Fall; b) heteronuclearer Fall mit  $180^\circ_X(X)$ -Impuls für den X-Kern; c) heteronuclearer Fall mit  $180^\circ_X(A)$ -Impuls für den A-Kern; d) X-Echo zum Zeitpunkt  $2\tau$  bei A-Entkopplung.

#### 1.4. Die Evolutionszeit

Wichtigstes Charakteristikum aller neuen Pulsexperimente ist die sogenannte *Evolutionszeit*  $t_1$ , in der sich das Spinsystem – gegebenenfalls unter der Einwirkung verschiedener Impulse – entwickeln kann. Für die Evolution muß das Spinsystem aber präpariert werden, so daß der Evolutionszeit die *Präparationszeit* vorgeschaltet ist. Die Datenaufnahme erfolgt erst nach dem Ende der Evolutionszeit in der *Detektionszeit* (Fig. 8)<sup>[11]</sup>.

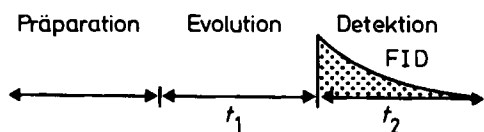


Fig. 8. Zeitfolge moderner Pulsexperimente [11].

Diese Zeitsequenz ermöglicht es, den Zustand des Spinsystems zu Beginn der Detektionsphase – und damit den Informationsgehalt des gesamten Experiments – zu variieren. Das kann durch geeignete Impulse, deren Wirkung auf die Magnetisierungsvektoren schon erörtert wurde, erreicht werden, aber auch skalare Spin-Spin-Wechselwirkungen, deren Effekte über den Entkopplerkanal zeitlich steuerbar sind, lassen sich dazu benutzen. Alternativ können dipolare Kopplungen oder der bei dynamischen Prozessen stattfindende Magnetisierungsaustausch zwischen Kernen verschiedener Larmor-Frequenz verwendet werden. Oft ist eine Spinecho-Sequenz direkter oder indirekter Teil des Experiments, der sicherstellt, daß am Ende der Evolutionszeit die Effekte der chemischen Verschiebung und der Feldinhomogenität refokussiert sind, diesbezüglich also eine Situation geschaffen ist, wie man sie im nor-

malen FT-Experiment direkt nach dem Anregungspuls antrifft.

## 2. Eindimensionale Pulsfolgen

### 2.1. SEFT<sup>[1]</sup>: Zuordnung von $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen

Die Modulation der Quermagnetisierung durch Spin-Spin-Kopplung<sup>[12,13]</sup> kann in der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie durch ein Spinecho-Experiment mit gepulster  $^1\text{H}$ -Entkopplung auf einfache Weise zur Unterscheidung der Signale von quartären C-Atomen,  $\text{CH}$ -,  $\text{CH}_2$ - und  $\text{CH}_3$ -Gruppen benutzt werden<sup>[14–23]</sup>. Dem üblichen „off-resonance“- $^1\text{H}$ -Entkopplungsverfahren erweist sich diese Methode bei größeren Molekülen, bei denen eine starke Überlagerung der partiell entkoppelten Multipletts die Zuordnung erschwert oder oft unmöglich macht, überlegen. In der einfachsten Form, die unter dem Namen SEFT<sup>[14]</sup> bekannt wurde, ergibt sie entkoppelte Singulets, die sich nur in ihrer Phase um  $180^\circ$  unterscheiden.

Die SEFT-Pulssequenz, die auf Spinecho-Modulation durch  $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Kopplung basiert, illustriert Figur 9. Der

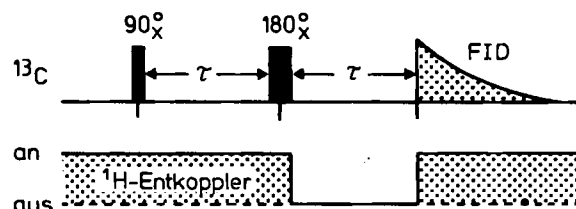


Fig. 9. Die SEFT-Pulssequenz [14].

[\*] SEFT: Akronym für Spin Echo Fourier Transform.

$^1\text{H}$ -Entkoppler ist während der ersten Hälfte der Spinecho-Sequenz und während der Datenaufnahme eingeschaltet. In der zweiten  $\tau$ -Periode wird die  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung durch Spin-Spin-Kopplung zu den Protonen moduliert. Die für die Wahl des Zeitintervalls  $\tau$  maßgebenden Vektordiagramme sind in Figur 10 zusammengefaßt. Die

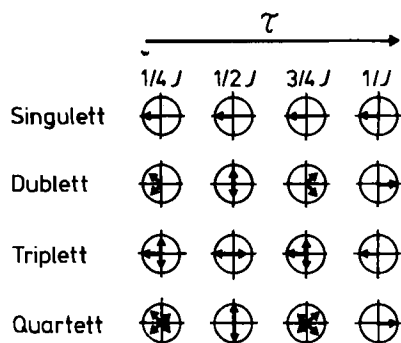


Fig. 10. Vektordiagramme für die transversale Magnetisierung einfacher Multipletts erster Ordnung für quartäre C-Atome, CH-, CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen in Abhängigkeit von der Evolutionsperiode  $2\tau$ . Die Diagramme zeigen den Zeitpunkt nach dem 180°-Impuls, zu dem der  $^1\text{H}$ -Breitbandentkoppler wieder eingeschaltet wird. Die Vektoren sind dann im rotierenden Rahmen fixiert, und im Empfänger wird nur die Summe ihrer y-Komponenten registriert. Für  $\tau = 1/J$  alterniert die Phase der Signale um 180°, für  $\tau = 1/2J$  liefern nur quartäre C-Atome ein Signal.

komplette Abhängigkeit des Empfängersignals  $I$  von  $\tau$  läßt sich für CH-, CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen unter Vernachlässigung von Relaxationseffekten in Form einer Cosinusreihe darstellen:

$$\begin{aligned} I(\text{CH}) &= I_0 \cos(\pi \tau J) \\ I(\text{CH}_2) &= \frac{1}{2} I_0 [1 + \cos(2\pi \tau J)] \\ I(\text{CH}_3) &= \frac{1}{4} I_0 [3 \cos(\pi \tau J) + \cos(3\pi \tau J)] \end{aligned}$$

Die graphische Auftragung (Fig. 11) erleichtert die Wahl eines geeigneten  $\tau$ -Wertes.

Wie der Figur 11 zu entnehmen ist, gelingt es für  $\tau = 1/J$  mit einem Experiment, die Signale von quartären und Methylen-C-Atomen einerseits von denen für Methin- und Methyl-C-Atome andererseits zu unterscheiden, da in diesem Fall für beide Gruppen von Resonanzen ein Phasenunterschied von 180° besteht. Die Signale quartärer C-Atome und die von CH<sub>2</sub>-Gruppen werden positiv, diejenigen von CH- und CH<sub>3</sub>-Gruppen negativ registriert. Ein weiteres Experiment mit  $\tau = 1/2J$  liefert nur die Signale quartärer C-Atome. Zur Unterscheidung von CH- und CH<sub>3</sub>-Resonanzen gibt es mancherlei Vorschläge<sup>[14-21]</sup>, von denen jedoch keiner bisher voll genügen kann, da unterschiedliche  $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Werte die Situation komplizieren.

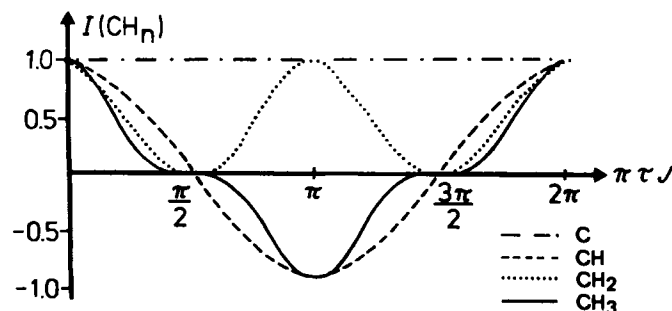


Fig. 11. Zeitabhängigkeit der durch  $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ -Kopplung modulierten  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung für quartäre C-Atome, CH-, CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen [21].

Nach Figur 11 muß man im Bereich  $\pi/2 \pm 20\%$  arbeiten, um CH-Resonanzen aufgrund erhöhter Intensität und positiver bzw. negativer Phase zu erkennen (Fig. 12).

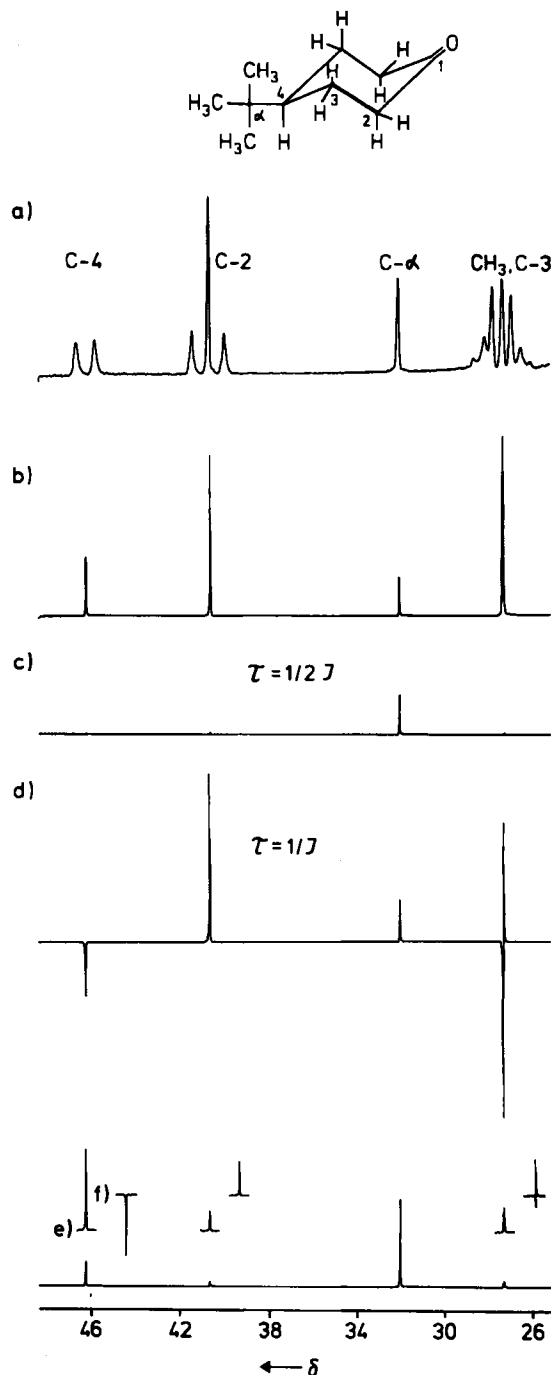


Fig. 12. SEFT-Experiment an 4-*tert*-Butylcyclohexanon;  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum bei 100.6 MHz, aliphatischer Bereich: a) „off-resonance“- $^1\text{H}$ -entkoppelt; die Resonanzen von C-3 und CH<sub>3</sub> sind bei  $\delta = 27$  überlagert. b)  $^1\text{H}$ -breitbandentkoppelt. c) SEFT-Spektrum mit  $\tau = 1/2J$  ( $J = 125$  Hz,  $\tau = 4$  ms) zum Nachweis der Resonanz des quartären Atoms C-4. d) SEFT-Spektrum mit  $\tau = 1/J$  (8 ms); neben der C-4-Resonanz zeigen nur die Signale der CH<sub>2</sub>-Gruppen positive Phasen; die bei  $\delta = 27$  überlagerten Signale sind wegen der Phasenselektion jetzt deutlich differenziert. e) SEFT-Spektrum zur Unterscheidung der CH- und CH<sub>3</sub>-Resonanzen mit  $\tau = 3.52$  ms; das entspricht einem Phasenwinkel von 79°, und nach Figur 11 muß das Signal mit der höchsten relativen Intensität der Methin-Resonanz zugeordnet werden. Ein Experiment mit  $\tau = 4.44$  ms ( $\alpha = 100^\circ$ ) bestätigt dies (f).

Ein praktischer Nachteil der SEFT-Sequenz mag in der durch das Spinecho-Experiment bedingten Anwendung von 90°-Impulsen gesehen werden, die ein relativ langes

Relaxationsintervall zwischen einzelnen Pulscyclen erfordern und daher nur geringe Repetitionsraten bei der Datenakkumulation zulassen, d.h. längere Meßzeiten zur Folge haben. *Patt* und *Shoolery*<sup>[22]</sup> überwinden diese Beschränkung durch eine zusätzliche  $\Delta$ -180°- $\Delta$ -Sequenz ( $\Delta \approx 1$  ms), die zur Inversion der bei kleineren Pulswinkeln auftretenden negativen z-Magnetisierung dient.

Die erweiterte Anwendung der SEFT-Pulssequenz auf deuterierte Moleküle bietet unter Benutzung von  $^1\text{H}$ - und  $^2\text{H}$ -Entkopplung eine interessante Möglichkeit, die oft störenden Signale der deuterierten Lösungsmittel in den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren vollständig zu eliminieren. Wie aus den entsprechenden Vektordiagrammen abzuleiten ist, addieren sich die y-Komponenten der Multiplettlinien für  $\text{CD}_2$ -,  $\text{CD}_2$ - und  $\text{CD}_3$ -Gruppen für  $\tau = 1/3 \, ^1J(^{13}\text{C}, ^2\text{H})$  zu Null, so daß Signale dieser Gruppen mit der SEFT-Pulssequenz und  $^2\text{H}$ -Entkopplung ausgelöscht werden können<sup>[24]</sup>. Ein Anwendungsbeispiel zeigt Figur 13. SEFT-Pulssequenzen können vorteilhaft in Kombination mit  $^2\text{H}$ - und/oder  $^1\text{H}$ -Entkopplung zur Analyse deuterierter und partiell deuterierter Verbindungen herangezogen werden, da sie eine Unterscheidung der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale von C-,  $\text{CH}$ -,  $\text{CH}_2$ -,  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CD}$ -,  $\text{CHD}$ -,  $\text{CD}_2$ -,  $\text{CH}_2\text{D}$ -,  $\text{CHD}_2$ - und  $\text{CD}_3$ -Gruppen ermöglichen<sup>[25,26]</sup>.

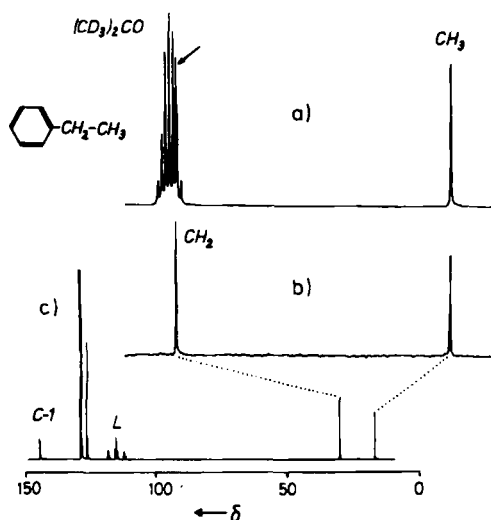


Fig. 13. Eliminierung des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signals von  $[\text{D}_6]\text{Aceton}$  im Spektrum von Ethylbenzol: a) Überlagerung des Lösungsmittelsignals mit dem Signal der  $\text{CH}_2$ -Gruppe; b) vollständige Auslöschung des Lösungsmittelsignals; c) Gesamtspektrum; bei L Signale der  $^{19}\text{F}$ -Locksubstanz 1,2-Dibromtetrafluoräthan [24].

*Bolton*<sup>[27]</sup> entwickelte eine Methode, mit der sich Protonenspektren so vereinfachen lassen, daß nur noch Singulets und die zentralen Linien von Triplets beobachtet werden. Wie Figur 10 zeigt, sind diese Linien im Spinecho-Experiment von der Evolutionsdauer unabhängig. Variiert man  $\tau$  in einer Reihe von n Experimenten und addiert die Zeitsignale, so sollten sich alle Absorptionen außer den genannten Linien herausmitteln. Das Experiment bestätigt dies schon für  $n=4$ .

## 2.2. Signalverstärkung durch Polarisationstransfer

Das Problem der geringen Empfindlichkeit, mit dem die NMR-Spektroskopie seit jeher zu kämpfen hat, kann heute bei Verwendung von hohen  $B_0$ -Feldern zusammen mit der Fourier-Transform-Technik und der Möglichkeit zur

schnellen Datenakkumulation für Protonen und andere Kerne mit relativ großen magnetischen Momenten ( $^{19}\text{F}$ ,  $^{203}\text{Tl}$ ,  $^{205}\text{Tl}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) für ungefähr 95% der in der Praxis auftretenden Fälle als gelöst gelten. Mit Ausnahme von  $^3\text{H}$  sind jedoch alle anderen NMR-aktiven Atomkerne weniger sensitiv als die genannten Kerne, und diese Situation wird oft durch geringes natürliches Vorkommen und lange Relaxationszeiten verschärft. Methoden zur Nachweisverbesserung haben daher weiterhin große Bedeutung.

### 2.2.1. Das SPI<sup>[\*]</sup>-Experiment

Betrachten wir ein Zweispinsystem aus einem empfindlichen und einem unempfindlichen Kern, z. B.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  oder  $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ , so werden die Besetzungen der Energieniveaus im Gleichgewichtszustand durch das Boltzmann-Gesetz

$$N_q/N_p = \exp(-\Delta E/kT) = \exp(-\gamma \hbar B_0/kT) \approx 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{kT}$$

geregelt. Für den Besetzungsunterschied zwischen zwei Zuständen  $E_q$  und  $E_p$  ist danach das gyromagnetische Verhältnis  $\gamma$  des betreffenden Kerns, der seine Spineinstellung beim Übergang  $E_p \rightarrow E_q$  ändert, maßgebend. Für Zustände, die den Übergängen eines empfindlichen Kerns (A, großes  $\gamma$ ) angehören, resultiert ein größerer Besetzungsunterschied als für solche, die den Übergängen eines unempfindlicheren Kerns (X, kleines  $\gamma$ ) angehören (Fig. 14).

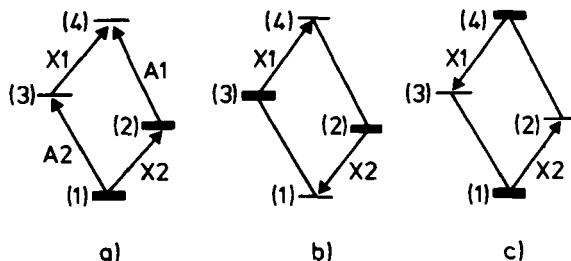


Fig. 14. Besetzung im Termschema eines AX-Systems aus einem empfindlichen Kern (A) und einem unempfindlichen Kern (X): a) Gleichgewichtszustand (die Besetzungsunterschiede für den X-Kern wurden vernachlässigt); b) gestörtes Gleichgewicht nach selektiver Populationsinversion zwischen den Zuständen (1) und (3), für die X-Linien resultiert verstärkte Absorption (X1) und Emission (X2); c) wie b), jedoch für die Zustände (2) und (4), X1 zeigt Emission und X2 verstärkte Absorption.

Gelingt es, durch eine selektive Populationsinversion für eine A-Linie im NMR-Spektrum die betreffenden Spinpopulationen zu vertauschen, so gilt das Termschema von Figur 14b, das nun für die X-Übergänge verstärkte Absorption und Emission erwarten läßt. Die vorher für den empfindlichen Kern maßgebende Populationsdifferenz gilt jetzt für den unempfindlichen Kern. Man bezeichnet dieses Phänomen als *Polarisationstransfer*.

Experimentell könnte die Populationsinversion durch einen selektiven 180°-Impuls auf eine A-Linie erreicht werden. Selektive Pulse bedürfen bei der Fourier-Transform-Methode allerdings einer besonderen Technik (vgl. Abschnitt 2.4). Die Realisierung eines solchen Experiments gelang jedoch unter Verwendung des Protonenentkoppers<sup>[28]</sup>.

[\*] SPI: Akronym für Selective Population Inversion.

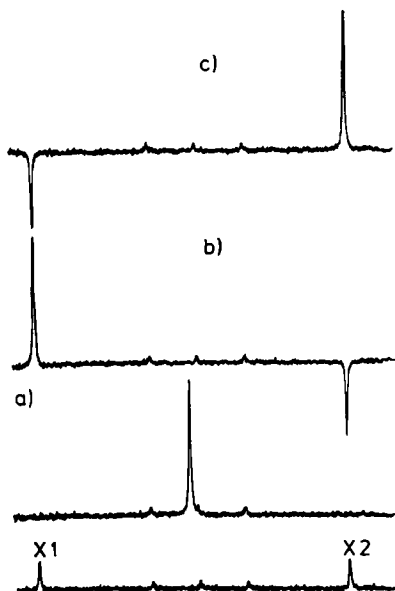


Fig. 15. SPI-Experiment an  $\text{CHCl}_3$  [28]: a)  $^1\text{H}$ -entkoppeltes und  $^{13}\text{C}$ -gekoppeltes  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum; b) und c) mit Populationsinversion gemäß Figur 14b bzw. 14c.

Dieses als SPI<sup>[28]</sup>- oder SPT<sup>[29]</sup>-Experiment<sup>[29]</sup> bekannte Verfahren wurde erstmals am  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spinsystem von Chloroform realisiert<sup>[28]</sup>. Es ist experimentell leicht nachzuvollziehen, wenn man vor der Aufnahme des  $^{13}\text{C}$ -Dubletts den  $^1\text{H}$ -Entkoppler kurzzeitig auf eine der beiden  $^{13}\text{C}$ -Satellitenlinien im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum einwirken läßt (Fig. 15). Der Entkopplungsimpuls führt dann zur Populationsinversion zwischen denjenigen  $^1\text{H}$ -Niveaus, die durch die betreffende Satellitenlinie verbunden sind.

Das SPI-Experiment hat sowohl für die Signalzuordnung<sup>[30]</sup> als auch für die Messung unempfindlicher Kerne<sup>[31–34]</sup> Bedeutung. Darüber hinaus kann es wie das INDOR-Experiment (INDOR: Akronym für *Inter Nuclear Double Resonance*) in der CW-NMR-Spektroskopie zur Vorzeichenbestimmung von Kopplungskonstanten und zur Spektralanalyse<sup>[35–40]</sup> benutzt werden. Von allgemeinstem Interesse ist sicherlich die Möglichkeit zur Empfindlichkeitsverbesserung bei  $^1\text{H}$ -gekoppelten Spektren unempfindlicher Kerne ( $^{13}\text{C}$ <sup>[31,33]</sup>,  $^{15}\text{N}$ <sup>[34]</sup>,  $^{29}\text{Si}$ <sup>[32]</sup>). Die Intensitätssteigerung, die man für  $A_nX$ -Spinsysteme erster Ordnung ( $A=^1\text{H}$ ,  $X=^{13}\text{C}$ ) erhält, kann man durch Vergleich mit dem Pascalschen Zahlendreieck, das den Normalfall beschreibt, ermessen (Fig. 16). Eine wichtige Beschränkung des SPI-Verfahrens ist jedoch darin zu sehen, daß in den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren jeweils nur eine Linie selektiv gestört werden kann.

a)	n	b)
1	0	1
1 1	1	-3 5
1 2 1	2	-7 2 9
1 3 3 1	3	-11 -9 15 13
1 4 6 4 1	4	-15 -28 6 36 17
1 5 10 10 5 1	5	-19 -55 -30 50 65 21
1 6 15 20 15 6 1	6	-23 -90 -105 20 135 102 25

Fig. 16. Linienzahl und relative Intensitäten für das  $X$ -Multipllett einer  $A_nX$ -Gruppe ( $A=^1\text{H}$ ) bei Boltzmann-Verteilung (a) und nach selektiver Populationsinversion über eine entartete  $A$ -Linie (b) [31].

## 2.2.2. Die INEPT<sup>[41]</sup>-Pulsfolge

Ein wichtiger Fortschritt ging von der Erkenntnis aus, daß Polarisationstransfer durch eine geeignete Pulsfolge auch *nicht-selektiv* erreicht werden kann<sup>[41]</sup>. Das von Morris und Freeman eingeführte INEPT-Verfahren<sup>[42]</sup> hat diesen Vorteil und führt daher über das SPI-Experiment hinaus.

Die dem INEPT-Verfahren zugrundeliegende Pulsfolge zeigt Figur 17 zusammen mit der Übertragung in ein Vektordiagramm.

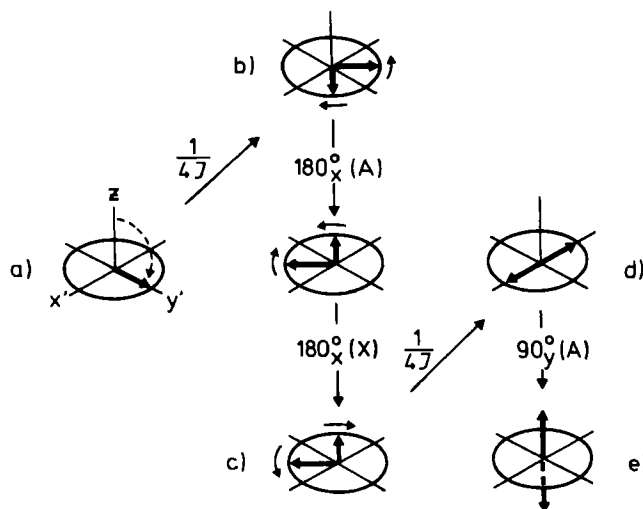
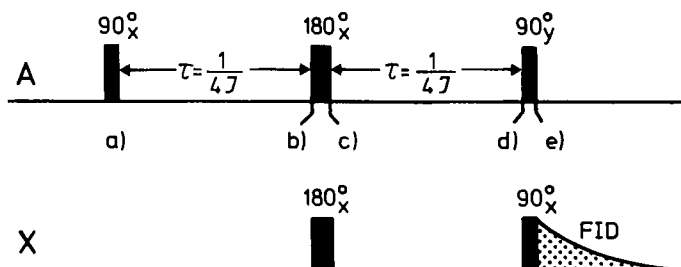


Fig. 17. Pulsfolge des INEPT-Verfahrens [42] für ein  $AX$ -System (z.B.  $A=^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  oder  $^{31}\text{P}$ ,  $X=^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  oder  $^{29}\text{Si}$ ). Im Vektordiagramm ist nur die  $A$ -Magnetisierung im rotierenden Rahmen ( $\nu=\nu_A$ ) dargestellt. Nach dem  $90^\circ_x$ -Anregungsimpuls (a) wird die Quermagnetisierung des Kerns  $A$  durch Spin-Spin-Kopplung zum unempfindlichen Kern  $X$  moduliert. Nach einer Zeit  $\tau=1/4J$  besteht zwischen den beiden Dublettvektoren eine Phasendifferenz von  $90^\circ$  (b). Ein  $180^\circ_x$ -Impuls im  $A$ - sowie im  $X$ -Bereich führt zum Vektorbild (c), so daß nach der Zeit  $2\tau$  der Zustand (d) erreicht ist. Ein  $90^\circ_y$ -Impuls invertiert die Magnetisierung für eine  $A$ -Linie (e). Dies entspricht einer selektiven Populationsinversion. Die Polarisation des Spinsystems wird durch einen  $90^\circ_y$ -Impuls im Frequenzbereich des unempfindlichen Kerns  $X$  nachgewiesen, dessen NMR-Linien nun verstärkte Emission und Absorption zeigen. Refokussierung gelingt mit einer zusätzlichen Spinecho-Sequenz, für ein Dublett z.B.  $1/4J-180^\circ_x(A,X)-1/4J$ . Die  $X$ -Resonanz kann dann als positiv polarisiertes Dublett oder – bei gleichzeitiger  $A$ -Entkopplung in der Detektionsphase – als Singulett nachgewiesen werden.

Wesentliche Elemente sind die Modulation der Quermagnetisierung des empfindlichen Kerns ( $A$ ) durch eine Kopplung zum unempfindlichen Kern ( $X$ ) und die gleichzeitige Anwendung von zwei  $180^\circ_x$ -Impulsen im  $A$ - und  $X$ -Bereich. Die nach der Evolutionszeit  $2\tau$  erreichte Vektoranordnung für die Dublettanteile des  $A$ -Kerns kann durch einen  $90^\circ_y$ -Impuls in die für ein selektiv invertiertes System charakteristische Anordnung umgewandelt wer-

[\*] SPT: Akronym für Selective Population Transfer.

[\*] INEPT: Akronym für *Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer*.



den. Dies entspricht im Energieniveauschema der Populationsinversion über eine A-Linie und führt zur Polarisation der X-Linien. Ein Beispiel zeigt Figur 18 mit dem  $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektrum von 9-Methylpurin. Die Evolutionszeit der INEPT-Pulsfolge basiert jeweils auf einer A,X-Kopplung und muß daher zunächst geschätzt werden, wenn  $J(\text{A},\text{X})$  nicht bekannt ist. In der  $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektroskopie ungesättigter Heterocyclen eignen sich z. B. die geminalen  $^{15}\text{N}$ , $^1\text{H}$ -Kopplungen mit Beträgen um 10 Hz ( $\tau = 1/40$  s) für den Nachweis<sup>[43,44]</sup>. Sind zusätzlich NH- oder NH<sub>2</sub>-Gruppen vorhanden, so ist eine zweite Aufnahme mit  $\tau = 1/4 J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$  ( $\approx 1/250$  s) erforderlich.

Tabelle 1. Signalverstärkungsfaktoren  $\eta_{\text{NOE}}$  und  $\eta_{\text{INEPT}}$  für Kern-Overhauser- bzw. INEPT-Experimente mit X( $^1\text{H}$ )-Kernpaaren.

X	$^{11}\text{B}$	$^{13}\text{C}$	$^{15}\text{N}$	$^{29}\text{Si}$	$^{57}\text{Fe}$	$^{103}\text{Rh}$	$^{109}\text{Ag}$	$^{119}\text{Sn}$	$^{183}\text{W}$
$\eta_{\text{NOE}}$	2.56	2.99	-3.94	-1.52	16.48	-16.89	-9.75	-0.41	13.02
$\eta_{\text{INEPT}}$ [a]	3.12	3.98	9.87	5.03	30.95	31.77	21.50	2.81	24.04

[a] Für  $^{19}\text{F}$  oder  $^{31}\text{P}$  als Polarisationsquelle (A) werden diese Daten um den Faktor 0.941 ( $\gamma_{\text{F}}/\gamma_{\text{H}}$ ) bzw. 0.407 ( $\gamma_{\text{P}}/\gamma_{\text{H}}$ ) reduziert.

Typisch für einfache INEPT-NMR-Spektren mit Spin-Spin-Kopplung ist die Null-Intensität für die zentrale Linie eines ungeradzahigen Multipletts sowie die Inversion von jeweils der Hälfte der Multiplettlinien (NH: -1, +1; NH<sub>2</sub>: -1, 0, +1; NH<sub>3</sub>: -1, -1, +1, +1). Die integrierte Gesamtintensität eines Multipletts im INEPT-Spektrum ist daher Null. Die Signale können aber auch durch eine ergänzende Pulsfolge refokussiert und mit positiver Phase als „normale“ Multipletts oder in Verbindung mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung als Singulets dargestellt werden<sup>[45,46]</sup>.

Der Erfolg eines Polarisationstransfer-Experimentes hängt entscheidend von der Relaxationszeit des empfindlichen Kerns ab. Sie bestimmt die Geschwindigkeit, mit der das gestörte Spinsystem den Gleichgewichtszustand wieder erreicht. Sie muß groß genug sein, um eine Rückentwicklung der Spinpopulation zum Gleichgewichtszustand während der Pulsfolge zu verhindern. Eine Verlängerung

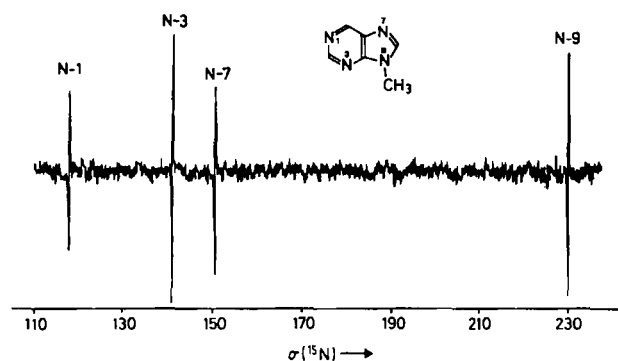


Fig. 18. INEPT- $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektrum von 9-Methylpurin [44]. Meßfrequenz 40.53 MHz, 6293 Durchgänge, Spektralbereich 6024 Hz, Meßzeit 4.75 h. Die  $\sigma$ -Skala bezieht sich auf ext. CD, $^{15}\text{NO}_3$ .

der Meßdauer, wie beim refokussierenden Experiment, geht daher eventuell mit Empfindlichkeitsverlusten einher und kann bei Makromolekülen mit kleinen  $^{13}\text{C}$ - $T_2$ -Werten und  $^{13}\text{C}$ - $T_1$ -Werten, die kleiner als die  $^1\text{H}$ - $T_1$ -Werte sind, zum Versagen der Methode führen<sup>[47]</sup>. Da empfindliche Kerne wie  $^1\text{H}$  oder  $^{19}\text{F}$  aber bedeutend kürzere Relaxationszeiten als z. B.  $^{13}\text{C}$  aufweisen, kann die Repetitionsrate bei der Datenakkumulation wesentlich höher sein als

es der unempfindliche Kern zulassen würde. Die Meßdauer wird daher verkürzt, bei  $^{15}\text{N}$ -NMR-Messungen z. B. um den Faktor 2–3.

Ein wichtiger Aspekt ist auch, daß die Intensitätssteigerungen in günstigen Fällen den bekannten Overhauser-Effekt wesentlich übertreffen können und negative  $\gamma$ -Faktoren sich nicht nachteilig auswirken. Für die Intensitätszunahme beim Overhauser-Effekt gilt die Summe  $1 + \gamma_{\text{A}}/2\gamma_{\text{X}}$ <sup>[48]</sup>, während für den Polarisationstransfer das Verhältnis  $\gamma_{\text{A}}/\gamma_{\text{X}}$  maßgebend ist<sup>[31,33,42]</sup> (Tabelle 1) und bei entarteten Linien zusätzlich ein kumulativer Effekt auftreten kann.

Interessante INEPT-Experimente an Metallkernen beschrieben Brevard et al.<sup>[49,50]</sup>. Dabei wurden Protonen (für  $^{103}\text{Rh}$  und  $^{109}\text{Ag}$ )<sup>[49]</sup>, aber auch  $^{31}\text{P}$ -Kerne (für  $^{57}\text{Fe}$ ,  $^{103}\text{Rh}$  und  $^{183}\text{W}$ )<sup>[50]</sup> als Polarisationsquelle benutzt. Über  $^{29}\text{Si}$ [ $^1\text{H}$ ]- und  $^{119}\text{Sn}$ [ $^1\text{H}$ ]-Experimente berichteten Doddrell et al.<sup>[51]</sup>.

### 2.2.3. Die DEPT- $^1\text{H}$ -Pulsfolge

Eine Pulssequenz, die weniger empfindlich für die Wahl der A,X-Kopplung ist und die X-Multipletts ohne Artefakte bezüglich relativer Intensität und Linienzahl liefert, wurde kürzlich von Doddrell et al. vorgeschlagen<sup>[52]</sup>. Das DEPT-Verfahren ist in Figur 19 skizziert. Es unterscheidet sich vom INEPT-Verfahren im  $\tau$ -Wert, der nunmehr  $1/2J$  beträgt, und in der variablen Länge  $t_p$  des letzten  $^1\text{H}$ -Impulses.

Polarisationstransfer-Methoden können auch zur Zuordnung von Resonanzsignalen benutzt werden<sup>[53]</sup>, und die DEPT-Sequenz scheint sich hierfür besonders gut zu eignen<sup>[54]</sup>. Für  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurde das Phasenverhalten der Magnetisierung für quartäre Kohlenstoffatome, CH-, CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen untersucht und gezeigt, daß mit Pulswinkeln  $\theta$  von  $\pi/4$ ,  $\pi/2$  bzw.  $3\pi/4$  für den letzten  $^1\text{H}$ -Impuls die Aufnahme von Teilspektren für CH-, CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen möglich wird. Für CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen müssen dabei Differenzspektren gebildet werden. Ein Beispiel zeigt Figur 20.

Auch über die Selektion von  $^{13}\text{C}$ -Satelliten in  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren<sup>[56]</sup> und von Signalen deuterierter C-Atome in  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren<sup>[57]</sup> anhand von Polarisationstransfer-Methoden wurde berichtet, ebenso wie über die Anwendung der INEPT-Sequenz bei der Spin-Gitter-Relaxationszeitmessung von  $^{13}\text{C}$ <sup>[58]</sup>,  $^{29}\text{Si}$ <sup>[59]</sup> und  $^{15}\text{N}$ <sup>[59,60]</sup> und bei Kernen mit Spinquantenzahlen  $I > 1/2$ <sup>[61,62]</sup>. Die Vor- und Nachteile der INEPT- und DEPT-Sequenzen sowie Verbesserungen dieser Pulsfolgen zur Aufnahme  $^1\text{H}$ -gekoppelter Multipletts in Absorption sind kürzlich von Sørensen und Ernst diskutiert worden<sup>[63]</sup>.

[\*] DEPT: Akronym für Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.

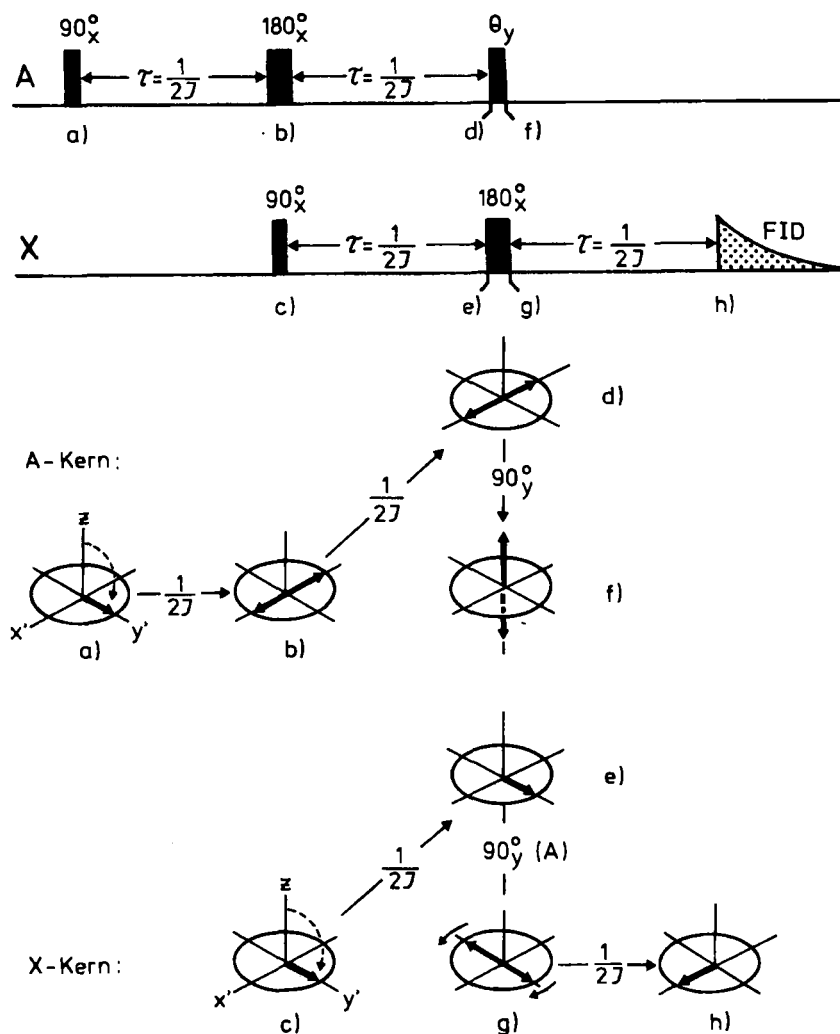


Fig. 19. DEPT-Pulsfolge [52] und Vektordiagramm für ein AX-System. Nach dem ersten  $90^\circ_x$ -Impuls (a) wird die Quermagnetisierung des A-Kerns durch Kopplung zum X-Kern moduliert. Nach einer Zeit  $\tau = 1/2J$  besteht zwischen den beiden Dublettvektoren eine Phasendifferenz von  $180^\circ$  (b). Ein  $180^\circ_x$ -Impuls im A-Bereich dient zur Refokussierung von Inhomogenitätseffekten. Gleichzeitig bringt ein  $90^\circ_x$ -Impuls im X-Bereich die  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung in die x,y-Ebene (c). Da weder A- noch X-z-Magnetisierung vorhanden ist, sind A und X praktisch entkoppelt. Während der nächsten Periode  $1/2J$  bleiben die Vektoren daher im rotierenden Rahmen ortsfest (d bzw. e). Zum Zeitpunkt  $2\tau$  führt ein  $90^\circ_y$ -Impuls im A-Bereich ( $\theta = 90^\circ$ ) zur Polarisierung der A-Magnetisierung (f). Dies bewirkt gleichzeitig eine Polarisierung der X-Magnetisierung (g). Die wieder vorhandene z-Magnetisierung im A-Bereich führt in der letzten  $1/2J$ -Periode durch Spin-Spin-Kopplung zur Refokussierung der X-Vektoren (h), die zum Zeitpunkt  $3\tau$  phasengleich als Dublett oder – bei gleichzeitiger A-Entkopplung – als Singulett nachgewiesen werden können. Beachtet man den  $90^\circ_y$ -Impuls im A-Bereich nicht, so besteht die DEPT-Pulssequenz aus zwei um die Periode  $\tau$  gegeneinander verschobenen Spincho-Sequenzen im A- bzw. X-Bereich. Eliminiert man jedoch die zweite  $\tau$ -Periode und die  $180^\circ_x$ -Refokussierungsimpulse, so erhält man die INEPT-Pulsfolge.

### 2.3. INADEQUATE<sup>[\*]</sup>:

**Ermittlung von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungskonstanten in Molekülen mit natürlichem  $^{13}\text{C}$ -Gehalt**

Für strukturelle und bindungstheoretische Fragestellungen in der organischen Chemie sind Kopplungskonstanten zwischen  $^{13}\text{C}$ -Kernen<sup>[64]</sup> von großem Interesse, da sie Direktinformationen über das Kohlenstoffgerüst der betreffenden Verbindungen liefern. Insbesondere die  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Daten verdienen wegen ihrer Abhängigkeit von

der Kohlenstoffhybridisierung<sup>[64, 65]</sup> und damit vom CC-Bindungstyp Beachtung. Sie können ferner dazu dienen, Nachbarschaftsbeziehungen zwischen C-Atomen aufzuklären<sup>[66]</sup>, ein für die Strukturbestimmung zentraler Aspekt, der erst relativ spät allgemein erkannt wurde, obwohl biochemische Studien mit  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Doppelmarkierung bereits früh erfolgreich waren<sup>[67]</sup>. Die Ursache dafür ist zweifellos in den experimentellen Schwierigkeiten zu sehen, die einer Routinebestimmung von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungskonstanten entgegenstehen.

Die notwendige Voraussetzung für die Beobachtung von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungen ist die Gegenwart von zwei anisochronen  $^{13}\text{C}$ -Atomen im Molekül. Wegen des geringen natürlichen Vorkommens von Kohlenstoff-13 (1.1%) ist diese

[\*] INADEQUATE: Akronym für *Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment*.



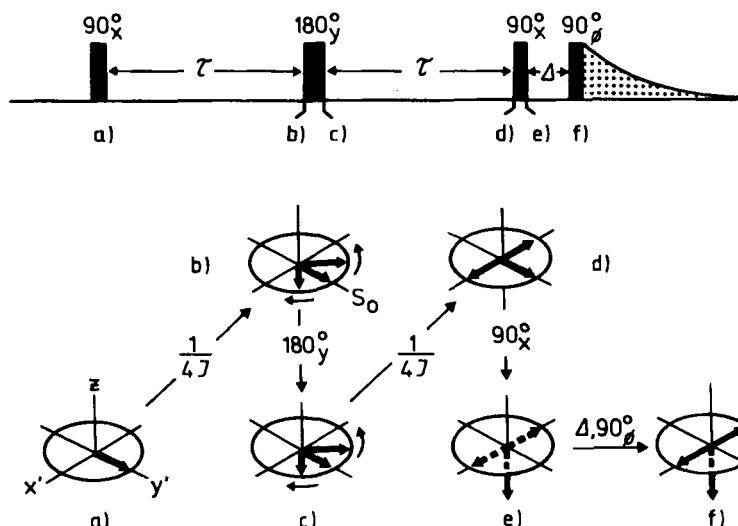


Fig. 21. Pulsfolge des INADEQUATE-Experiments [68]. Nach dem  $90^\circ$ -Anregungsimpuls (a) fächern die  $^{13}\text{C}$ -Satelliten des A-Kerns aufgrund der  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplung auf und erlangen nach  $\tau = 1/4J$  eine Phasendifferenz von  $90^\circ$ , während die Magnetisierung  $S_0$  des Hauptsignals der Moleküle mit nur einem  $^{13}\text{C}$ -Kern auf der y-Achse ortsfest ist (b). Der nicht selektive  $180^\circ$ -Impuls ändert den Drehsinn der Satelliten nicht (c), so daß nach der Zeit  $2\tau$  eine Phasendifferenz von  $180^\circ$  existiert (d). Das Hauptsignal  $S_0$  hat seine Lage entlang der y-Achse währenddessen nicht geändert, Inhomogenitätsanteile werden auch hier durch den  $180^\circ$ -Impuls refokussiert. Der zweite  $90^\circ$ -Impuls erzeugt die nicht direkt meßbare Doppelquantenkohärenz und bringt  $S_0$  in die  $-z$ -Richtung (e). Nach einem kurzen „delay“  $\Delta$  ( $10\ \mu\text{s}$ ) wird die Quermagnetisierung der  $^{13}\text{C}$ -Satelliten durch einen  $90^\circ$ -Impuls variabler Phase (vgl. Tabelle 2) sichtbar gemacht (f). Die Dublett Komponenten haben entgegengesetzte Phase. Eine zusätzliche Spinecho-Sequenz  $1/4J$ - $180^\circ$ - $1/4J$  kann zur Refokussierung benutzt werden. Während des ganzen Experiments wird  $^1\text{H}$ -Breitbandentkopplung angewandt.

Das Ergebnis eines INADEQUATE-Experiments zeigt Figur 22 am Beispiel des  $(\eta^5\text{-Cyclopentadienyl})\text{-}\eta^1, \eta^2\text{-2,2-dimethyl-3-butenyl-nickel}$ . Hier wurden durch eine zusätzliche  $1/4J$ - $180^\circ$ - $1/4J$ -Sequenz<sup>[68]</sup> Absorptionssignale er-

zeugt. Die Selektion der  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplung gelingt über die Variation des Zeitintervalls  $\tau$ , das durch  $\tau = 1/4J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$  festgelegt ist. Bei unbekannten Verbindungen muß  $\tau$  aufgrund von Vergleichsdaten geschätzt

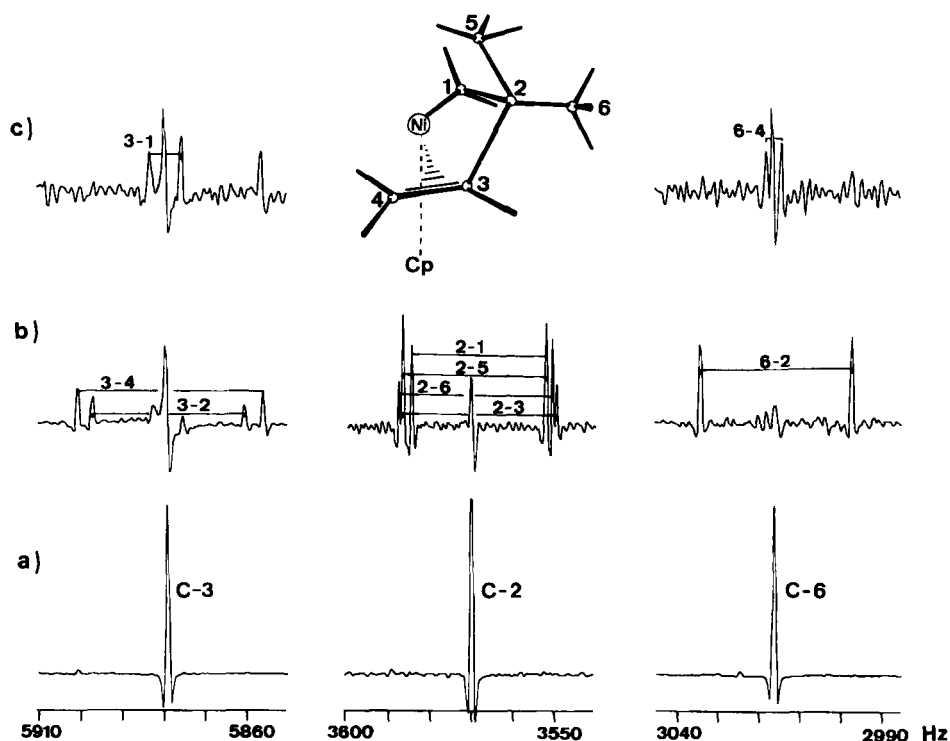


Fig. 22. Anwendung der INADEQUATE-Pulssequenz zur Bestimmung der  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungskonstanten im  $(\eta^5\text{-Cyclopentadienyl})\text{-}\eta^1, \eta^2\text{-2,2-dimethyl-3-butenyl-nickel}$  [72]: a) Signale der C-Atome 3, 2 und 6; b) INADEQUATE-Spektren mit  $\tau = 6.2\ \text{ms}$  optimiert für  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C}) \approx 40\ \text{Hz}$ ; c) wie b) mit  $\tau = 0.08\ \text{s}$  optimiert für geminale und vicinale  $J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Kopplungskonstanten; Spektralbereich 5000 Hz, 1600 Durchgänge, FID-Gauß-Multiplikation. Man fand  $^1J(1,2) = 32.1$ ,  $^1J(2,3) = 37.1$ ,  $^1J(2,5) = 34.7$ ,  $^1J(2,6) = 37.1$ ,  $^1J(3,4) = 44.7$ ,  $^2J(1,3) = 8.5$ ,  $^3J(4,6) = 3.2\ \text{Hz}$ .

werden. Für den Nachweis von  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungen unterschiedlicher Größe sind gegebenenfalls verschiedene Experimente mit differierenden  $\tau$ -Werten nötig, jedoch gelingt es oft, bereits mit einem  $\tau$ -Wert Kopplungen von unterschiedlichem Betrag zu registrieren, da für  $\tau$  der allgemeine Ausdruck  $(2n+1)/4J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$  gilt ( $n=0, 1, 2$ )<sup>[71]</sup>.

Gelingt es, für eine unbekannte Verbindung die  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Kopplungskonstanten zu messen, so lassen sich aufgrund wiederkehrender Beträge die Resonanzen benachbarter  $^{13}\text{C}$ -Atome im Spektrum erkennen. Für die Analyse der Meßdaten setzt man dabei vorteilhaft einen Rechner<sup>[73]</sup> ein. Da die C-Atome aufgrund der charakteristischen Lage ihrer Resonanzsignale bezüglich ihres Bindungstyps ausgewiesen sind, ermöglicht eine Verknüpfung über die  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Daten wertvolle Rückschlüsse auf die Struktur. Die Ermittlung der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Verknüpfung (carbon-carbon connectivity)<sup>[74]</sup> ist daher ein wichtiges Anwendungsgebiet der INADEQUATE-Pulsfolge, obwohl ein Empfindlichkeitsgewinn mit ihr nicht erreicht wird. Der zunehmende Einsatz von Hochfeldgeräten hat sich in dieser Hinsicht jedoch positiv ausgewirkt und die Anforderungen an Substanzbedarf und Meßzeit günstig beeinflusst.

Behandelt man das in Figur 21 angegebene Intervall  $\Delta$  als zusätzliche Evolutionszeit, so lassen sich einzelne AX-Systeme selektiv nachweisen, da unterschiedliche Doppelquantenfrequenzen für die gezielte Detektion ausgenutzt werden können<sup>[75]</sup>. Auf diese Art gelingt die Zuordnung von  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen und eventuell noch auftretenden Kopplungen zu anderen Kernen. Die Methode der Selektion von AX-Systemen und anderen Signalen durch das Phänomen der Doppelquantenkohärenz ist auch für Protonenspektren realisiert worden<sup>[76–78]</sup>.

Für AB-Systeme ist das INADEQUATE-Verfahren weniger gut geeignet, und dieser Fall ist gesondert behandelt worden<sup>[79]</sup>. Auch über die Kombination von INADEQUATE mit INEPT, die aus Gründen der Empfindlichkeitssteigerung interessant ist, wurde berichtet<sup>[80]</sup>, ebenso wie über Signalselektion mit  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung<sup>[81]</sup>. Schließlich ist das eindimensionale INADEQUATE-Experiment durch die Anwendung einer variablen Evolutionszeit in ein zweidimensionales Experiment umgewandelt worden (vgl. Abschnitt 3.5).

#### 2.4. DANTE<sup>[\*]</sup>: Selektive Anregung von $^{13}\text{C}$ -Resonanzen

Die polychromatische Pulsanregung der FT-Technik hat den Nachteil, daß sie die selektive Beobachtung spektraler Bereiche erschwert oder unmöglich macht. Frequenzfaltungen verursachen Probleme, und intensitätsstarke Lösungsmittelsignale, die den Datenspeicher füllen oder schwächere, aber interessante Signale verdecken, lassen sich nicht ohne weiteres eliminieren. Die Möglichkeit, den Aufnahmebereich durch entsprechende Frequenzfilter einzuengen, sind begrenzt, und schon früh hat man daher versucht, geeignete Methoden für die selektive Anregung zu finden. Die zunächst unter dem Namen „tailored excitation“ vorgeschlagenen Techniken<sup>[82]</sup>, bei denen die Mög-

lichkeiten der Fourier-Synthese für problemadaptierte Anregungsfunktionen genutzt wurden, haben jedoch wegen der relativ aufwendigen Pulsprogramme nur begrenzte praktische Anwendung gefunden.

Ein interessanter Weg zur Selektion einzelner Resonanzen, der sich besonders für die Analyse  $^1\text{H}$ -gekoppelter  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren, bei denen häufig eine starke Überlagerung der einzelnen Multipletts beobachtet wird, eignet, ist von Freeman et al. beschrieben worden<sup>[83]</sup>. Die Idee dabei ist, daß man durch eine geeignete Pulsmodulation eine einzelne  $^{13}\text{C}$ -Resonanz, deren Frequenz zunächst im  $^1\text{H}$ -entkoppelten Spektrum bestimmt wird, selektiv anregt.  $^1\text{H}$ -Kopplung wird dann während der FID-Aufnahme zugelassen, so daß auf diese Weise das vollständige Multiplett des betreffenden  $^{13}\text{C}$ -Kerns ohne störende Überlagerung mit anderen Resonanzen registriert wird.

Grundlage des Verfahrens, das den Namen *Dantes* trägt<sup>[84]</sup>, ist die Signalanregung durch eine Folge gleichartiger Impulse, die durch kleine Impulsabstände  $t_r$  und kleine Impulswinkel  $\alpha$  charakterisiert ist. Einer derartigen Pulsmodulation der Radiofrequenz entspricht ein Frequenzspektrum mit Seitenbanden im Abstand  $1/t_r$ , die relativ zur Pulsfrequenz  $\nu_0$  bei  $\nu_0 \pm 1/t_r$ ,  $\nu_0 \pm 2/t_r$  etc. liegen und die als selektive Pulssender aufgefaßt werden können. Geeignete Wahl der Pulsfrequenz  $\nu_0$  und der Repetitionsrate  $t_r$  ermöglicht die selektive Anregung einzelner Resonanzen (Fig. 23).

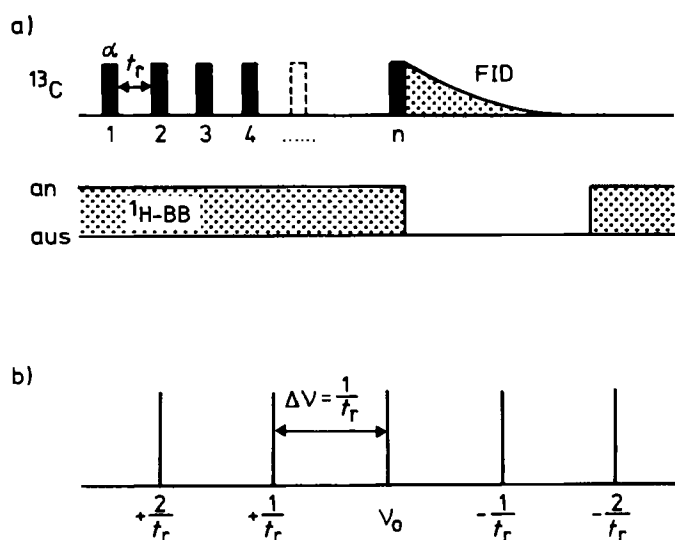


Fig. 23. DANTE-Pulssequenz zur selektiven Anregung von  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen [83]. Kleine Impulsabstände  $t_r$ , (a) liefern nach der Fourier-Transformation das in (b) gezeigte Frequenz-Spektrum. Mit dem Zentralband oder der ersten Seitenbände können  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen unter  $^1\text{H}$ -Entkopplung selektiv angeregt werden;  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung wird während der Detektion zugelassen, so daß man gekoppelte NOE-verstärkte Multipletts erhält. Die Impulszahl  $n$  wird so gewählt, daß für den Impulswinkel  $\alpha = 90^\circ/n$  gilt, am Ende der Pulssequenz also ein  $90^\circ$ -Impuls erreicht ist und die Intensität des Signals zu Beginn der Datenaufnahme ein Maximum hat. Typische Werte sind  $t_r = 2 \mu\text{s}$ ,  $n = 200$ ,  $\alpha = 0.45^\circ$ .

Eine Anwendung der DANTE-Technik zeigt Figur 24 mit dem  $^1\text{H}$ -gekoppelten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum der aromatischen C-Atome des Triptycens<sup>[85]</sup>. Bei 100.6 MHz Meßfrequenz sind die Hoch- bzw. Tieffeldkomponenten der Multiplettsignale von C- $\beta$  bzw. C- $\alpha$  überlagert (Fig. 24a). Nach selektiver Anregung läßt sich jedes Multiplett ungestört beobachten und analysieren (Fig. 24b).

[\*] DANTE: Akronym für Delays Alternating with Nutation for Tailored Excitation.

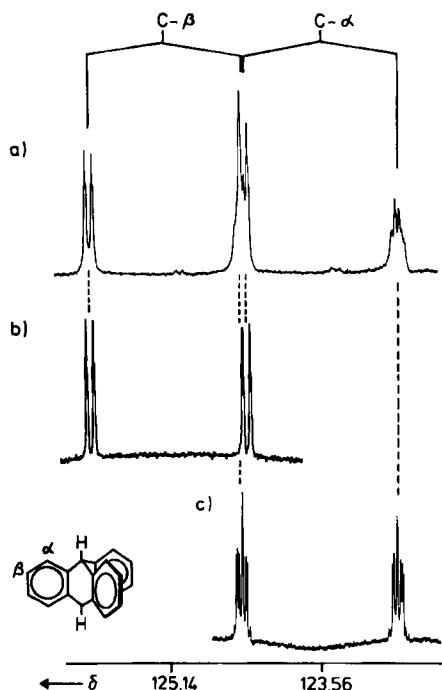


Fig. 24.  $^1\text{H}$ -gekoppeltes 100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum der Aren-C-Atome in Triptycyl [85]: a) normales Spektrum mit partieller Multipllett-Überlagerung; b) und c) selektiv angeregte Resonanz von C- $\beta$  bzw. C- $\alpha$  mit selektiver Entkopplung der benzyliischen Protonen. Die Spektrenanalyse lieferte folgende  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten: C- $\alpha$ :  $^1J = 158.63$ ,  $^2J = 1.54$ ,  $^3J = 8.13$ ,  $^4J = -1.20$  Hz; C- $\beta$ :  $^1J = 159.15$ ,  $^2J_\alpha = 1.13$ ,  $^2J_\beta = 1.32$ ,  $^3J = 7.32$  Hz.

Neben derartigen Anwendungen in der Spektrenanalyse ist die DANTE-Sequenz insbesondere für kinetische Messungen bei Gleichgewichtsreaktionen nach dem Sättigungstransfer-Verfahren von Hoffmann und Forsén<sup>[86]</sup> von Interesse<sup>[87]</sup>. Eine ausführliche Diskussion dazu liefert Freeman<sup>[83b]</sup>.

## 2.5. Super-Pulszyklen zur Breitbandentkopplung

Protonen-Breitbandentkopplung ist heute ein notwendiges Requisite zur Spektrenvereinfachung und Intensitätssteigerung in der NMR-Spektroskopie von Heterokernen. Der zunehmende Einsatz von Hochfeldgeräten ist dabei nicht ohne Problematik, da der vergrößerte spektrale  $^1\text{H}$ -Bereich leistungsfähigere  $^1\text{H}$ -Entkoppler erfordert.

Eine kürzlich von Freeman et al.<sup>[88]</sup> vorgeschlagene Methode, die es erlaubt, die Leistung des Entkopplers über einen großen spektralen Bereich zu verteilen, verdient daher Interesse. Grundlage ist wiederum das Spinecho-Experiment (vgl. Figur 25). Wie Figur 25a an einem einfachen Diagramm für ein  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kernpaar zeigt, liefert die Detektion der  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung zum Zeitpunkt  $2\tau$ ,  $4\tau$ ,  $6\tau$ , etc. Daten eines entkoppelten Multipliketts, wenn bei  $\tau$ ,  $3\tau$ ,  $5\tau$ , etc.  $180^\circ$  ( $^1\text{H}$ )-Impulse angewendet werden. Zwar besitzen die beiden Dublett Komponenten unterschiedliche Larmorfrequenz, doch wird dies im Empfänger nicht sichtbar, da die Magnetisierung gerade dann gemessen wird, wenn sich beide Vektoren überlagern. Wie Figur 25 verdeutlicht, registriert der Empfänger lediglich das Spinecho als nicht-gekoppeltes Zeitsignal.

Der wichtige praktische Aspekt dieser „spin-flip“-Methode ist, daß der entkoppelte Bereich im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum den der herkömmlichen, bei der Breitbandentkopp-

lung verwandten Modulationstechniken (Rauschmodulation, Rechteckmodulation etc.) bei gleicher Senderleistung um das Dreifache übertrifft (Fig. 25b). Damit wird die Methode besonders auch für die  $^{19}\text{F}$ - oder  $^{31}\text{P}$ -Breitbandentkopplung wichtig, da für diese Kerne ein wesentlich größerer Bereich der chemischen Verschiebung gilt. Ferner kann bei gleichem Frequenzbereich die Leistung des  $B_2$ -Feldes reduziert und damit die Gefahr der Erwärmung der Probe vermindert werden. Der Kern-Overhauser-Effekt wird vor der  $^{13}\text{C}$ -Anregung erzeugt. Die Methode ermöglicht auch eine partielle Entkopplung und damit eine Skalierung der betreffenden Kopplungskonstanten.

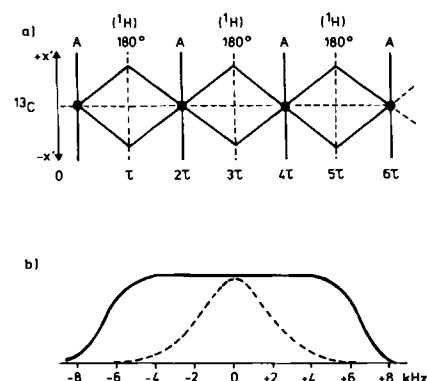


Fig. 25. a) Zeitliche Änderung der transversalen  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierungsvektoren eines CH-Fragments bei Anwendung einer Folge von  $180^\circ$ -Impulsen auf die  $^1\text{H}$ -Resonanz. Die Daten werden bei A gesammelt, so daß komplette  $^1\text{H}$ -Entkopplung erreicht wird. b) Vergleich der Bandbreite des Entkopplerfeldes bei konventioneller Modulationstechnik (Kurve ---) und der beschriebenen Pulsmethode (Kurve —). In der Praxis wird bei dem beschriebenen Verfahren, das unter dem Namen MLEV bekannt ist, eine cyclische Vertauschung der Pulsphasen angewandt. Die Wahl der günstigsten Phasencyklen ist zur Zeit noch Gegenstand von experimentellen Untersuchungen [88].

## 3. Zweidimensionale (2D-)NMR-Spektroskopie

Grundlage der bisher geschilderten Experimente war die in Figur 8 dargestellte Zeitfolge Präparation – Evolution – Detektion, bei der das Empfängersignal  $S(t_2)$  eine Funktion der Zeit  $t_2$  ist. Das gleiche Zeitdiagramm dient auch als Basis der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie<sup>[89,90]</sup> – allerdings mit dem wichtigen Unterschied, daß die Evolutionszeit nun in einer Folge von Pulszyklen als Variable behandelt wird. Verlängern wir bei  $n$  Experimenten die Evolutionszeit  $t_1$  jeweils um einen konstanten Betrag  $\Delta t_1$ , so wird das Empfängersignal auch von  $t_1$  abhängig. Es ist somit eine Funktion von  $t_1$  und  $t_2$ :  $S(t_1, t_2)$ . Zwei Zeitvariable bedeuten aber, daß die Meßdaten zweimal, und zwar bezüglich  $t_2$  und  $t_1$  transformiert werden können, also auch zwei Frequenzvariable  $F_1$  und  $F_2$  erhalten werden.

Zweidimensionale FT-NMR-Spektroskopie ist immer dann möglich, wenn durch die systematische Variation der Evolutionszeit eine periodische Änderung einer Eigenschaft des Spinsystems zum Zeitpunkt  $t_1$  erzeugt wird<sup>[11]</sup>. Ursache dafür kann z. B. die skalare Spin-Spin-Kopplung zu einem anderen Kern sein, die man durch Steuerung des Entkopplers während der Evolutionszeit „an- und abschalten“ kann<sup>[11,91]</sup>. Für das in der Detektionsperiode wieder entkoppelte Signal resultiert dann eine Modulation der Amplitude oder Phase. Wie Figur 26 zeigt, liefert die erste Fourier-Transformation bezüglich  $t_2$   $n$  konventionelle Spektren, deren Punkte in der Zeitachse  $t_1$  nun die Modu-

lationsfrequenz definieren, die durch eine zweite Fourier-Transformation ermittelt werden kann. Wird also beispielsweise aufgrund der skalaren Spin-Spin-Wechselwirkung während der Evolutionszeit durch die Variation von  $t_1$  eine Amplituden- oder Phasenmodulation erreicht, so lassen sich die Frequenzparameter chemische Verschiebung und Spin-Spin-Kopplung durch ein zweidimensionales Experiment separieren, da die erste Fourier-Transformation bezüglich  $t_2$  die Resonanzfrequenz und die zweite Fourier-Transformation bezüglich  $t_1$  die Modulationsfrequenz, d. h. die Kopplungskonstante liefert.

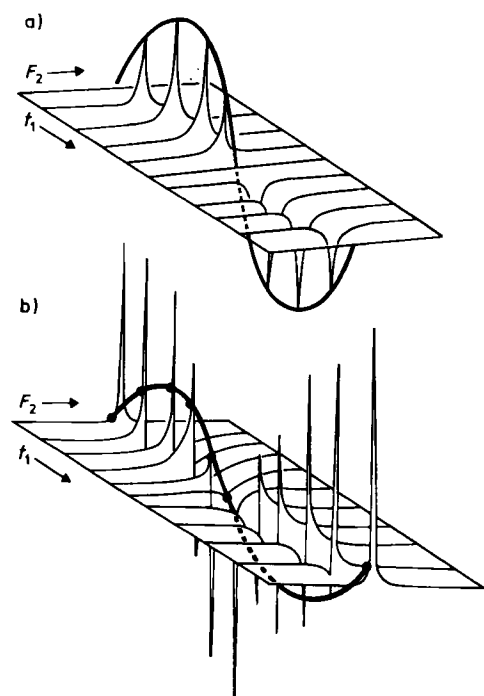


Fig. 26. Zweidimensionale NMR-Spektroskopie durch Amplituden- und Phasenmodulation (a bzw. b). Das Bild zeigt den Zustand nach der ersten Fourier-Transformation. Die Modulation der Signale entsteht durch die periodische Störung des Spinsystems während der Evolutionszeit. Erneute Fourier-Transformation des Zeitsignals  $S(t_1)$  liefert die Frequenz  $F_1$ .

Diese Zusammenhänge sollen für den konkreten Fall eines  $\text{CH}_n$ -Fragments nochmals erläutert werden. Wir regen die  $^{13}\text{C}$ -Resonanz mit einem  $90^\circ_x$ -Impuls an und sammeln die Signalinformation nach variabler Evolutionszeit  $t_1$  unter vollständiger Protonenentkopplung<sup>[91]</sup>. Die Spinentwicklung in Abhängigkeit von  $t_1$  für ein CH- bzw.  $\text{CH}_2$ -Fragment (Dublett bzw. Triplet) zeigt Figur 27. Der wesentliche Aspekt ist, daß trotz der Protonenentkopplung die Kopplungsinformation in der Detektionsphase erhalten bleibt, da die Kopplung während der Evolutionszeit zu einer periodischen Veränderung der Amplitude der transversalen  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung führt. Die Zeitfunktionen des Dubletts und Triplets unterscheiden sich dadurch, daß die des Triplets mit doppelter Frequenz oszilliert<sup>[92]</sup> und um einen konstanten Betrag, der von der zentralen Tripletlinie herrührt, positiv verschoben ist. Fourier-Transformation liefert im ersten Fall ein Dublett mit je einer Linie bei  $-J/2$  und  $+J/2$ , im zweiten Fall ein Triplet, dessen äußere Linien bei  $\pm J$  liegen. Dieses Beispiel zeigt, daß die  $t_1$ -Dimension als unabhängigen spektralen Parameter die skalare Kopplungskonstante enthält, während in der  $t_2$ -Dimension die chemische Verschiebung gespeichert ist.

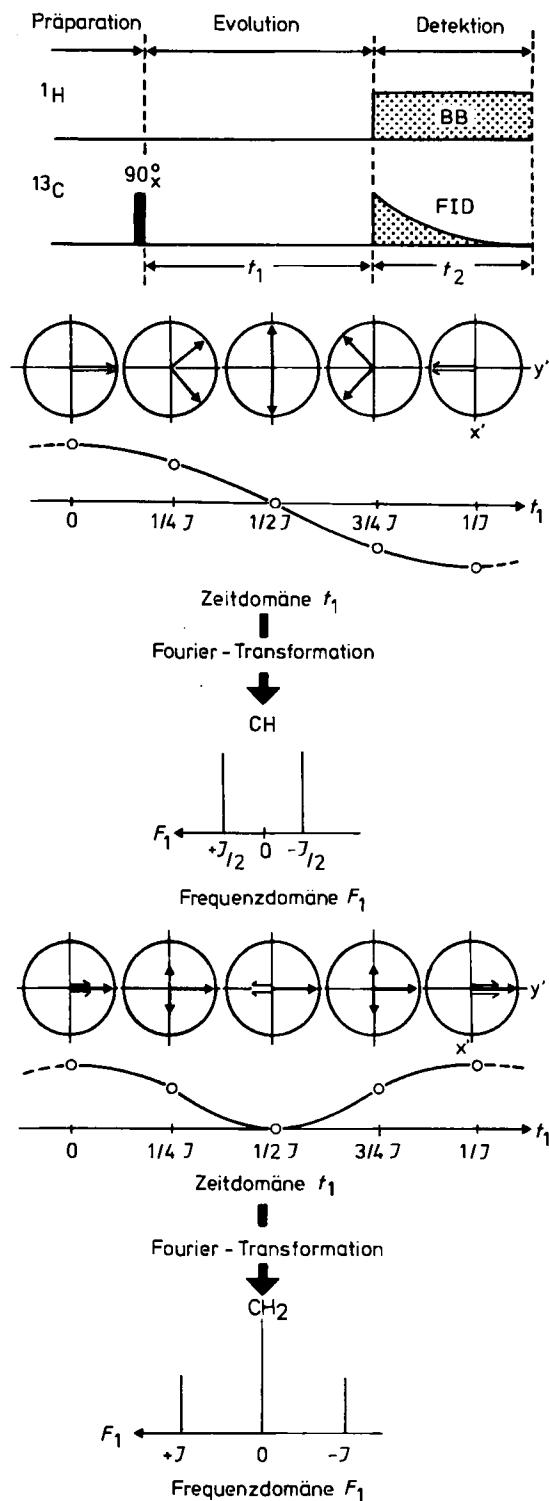


Fig. 27. Vereinfachte Zeitsequenz und Vektordiagramme für ein  $J$ -aufgelöstes 2D-NMR-Experiment am Beispiel eines CH- und  $\text{CH}_2$ -Fragments. Die Vektordiagramme im rotierenden Rahmen, der hier die Larmorfrequenz des  $^{13}\text{C}$ -Kerns besitzt, zeigen den Zustand der transversalen  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung am Ende der Evolutionszeit.  $^1\text{H}$ -Entkopplung während der Detektion führt zum Nachweis der  $y$ -Komponenten, deren Amplituden im Falle der CH-Gruppe wie  $\cos(\pi J t_1)$ , im Falle der  $\text{CH}_2$ -Gruppe wie  $\frac{1}{2}[\cos(2\pi J t_1) + 1]$  moduliert sind. Fourier-Transformation der damit definierten Zeitfunktionen  $S(t_1)$  liefert in der  $F_1$ -Achse die Frequenzen  $\pm J/2$  bzw.  $+J$ ,  $0$ ,  $-J$ , d. h. ein Dublett bzw. Triplet, da die amplitudenmodulierten Signale als Summe zweier phasenmodulierter Signale mit unterschiedlichen Vorzeichen im Phasenwinkel dargestellt werden können; z. B. gilt für das Dublett  $\cos(\pi J t_1) = \frac{1}{2}\exp(-i\pi J t_1) + \frac{1}{2}\exp(i\pi J t_1)$ . Dies bedeutet die Zerlegung der Summe  $J$  (bzw.  $2J$ ) in ihre Anteile  $\pm J/2$  (bzw.  $\pm J$ ). Die Zeitfunktion  $S(t_1)$  des  $\text{CH}_2$ -Fragments ist um den konstanten Betrag der zentralen Tripletlinie positiv verschoben. Fourier-Transformation dieser Konstanten liefert das Signal im Zentrum der  $F_1$ -Achse.

### 3.1. Klassifizierung von 2D-Pulsexperimenten

Grundsätzlich unterscheidet man zwei Arten von zweidimensionalen Experimenten: *J-aufgelöste* und *korrelierte* 2D-Spektren. Erstere, zu denen auch das oben geschilderte Beispiel gehört, zeichnen sich dadurch aus, daß die eine Frequenzachse ( $F_1$ ) die Kopplung und die andere Frequenzachse ( $F_2$ ) die chemische Verschiebung enthält. Im zweiten Fall enthalten beide Frequenzachsen chemische Verschiebungen. Als Bindeglied zwischen den beiden Frequenzachsen kann entweder die skalare Kopplung – und zwar die homonucleare ebenso wie die heteronucleare – oder die dipolare Kopplung dienen.

Da die zweidimensionale NMR-Spektroskopie eine logische Weiterentwicklung der in Abschnitt 2 beschriebenen eindimensionalen Technik ist – denn die meisten 1D-Experimente können durch Variation der Evolutionszeit in ein 2D-Experiment überführt werden – haben fast alle zweidimensionalen Experimente ihr eindimensionales Analogon. In Tabelle 3 sind die wichtigsten 2D-Techniken, die im folgenden geschildert werden, zusammen mit den jeweils verwandten 1D-Experimenten am Beispiel eines  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kernpaars aufgeführt.

Tabelle 3. Vergleich zweidimensionaler und eindimensionaler Pulsfolgen und ihrer Anwendungsmöglichkeiten in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie (Abkürzungen vgl. Text).

2D-NMR-Experiment	Variable $F_1$ $F_2$		1D-NMR-Experiment	Anwendungen, Aussagen
homoskalar- <i>J</i> -aufgelöst heteroskalar- <i>J</i> -aufgelöst	$J(\text{H,H})$ $J(\text{X,H})$	$\delta(^1\text{H})$ $\delta(\text{X})$	— gepulste Entkopplung, selektive Entkopplung, SEFT, INEPT, DEPT	große Moleküle, Isomere, Mischungen, X,H-Kopplungen
heteroskalar-korreliert	$\delta(\text{X})$	$\delta(^1\text{H})$	selektive Entkopplung, SPI	Zuordnungen von $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -Resonanzen
homoskalar-korreliert COSY SECSY 2D-INADEQUATE	$\delta(^1\text{H})$ $\Delta\delta(^1\text{H})$ $\nu_{\text{DQ}}$	$\delta(^1\text{H})$ $\delta(^1\text{H})$ $\delta(^{13}\text{C})$	homonucleare Entkopplung homonucleare Entkopplung 1D-INADEQUATE	Protonensequenzen Protonensequenzen CC-Verknüpfung
Austauschspektren NOESY chemischer Austausch	$\delta(^1\text{H})$ $\delta(\text{X})$	$\delta(^1\text{H})$ $\delta(\text{X})$	NOE DANTE, DNMR	räumliche Nachbarschaft Mechanismus und Kinetik reversibler Reaktionen

### 3.2. Datenverarbeitung und graphische Darstellung von 2D-NMR-Spektren

Auf einige wichtige experimentelle Aspekte der 2D-NMR-Spektroskopie gehen wir in Abschnitt 3.7 ein. Hier sollen als Basis für die folgenden Betrachtungen lediglich einige Bemerkungen zur Datenverarbeitung und zur graphischen Darstellung<sup>[93]</sup> von 2D-NMR-Spektren gemacht werden.

Die Verarbeitung der bei 2D-Experimenten anfallenden Daten stellt Anforderungen an die im Spektrometer integrierten EDV-Anlagen, die über das für 1D-Experimente Übliche hinausgehen. Um auch in der  $t_1$ -Dimension eine hinreichende digitale Auflösung zu erhalten, darf die Zahl der Einzelexperimente, die ja die Datenzahl in  $t_1$  bestimmt, nicht zu klein sein. Für *J*-aufgelöste Spektren genügen oft schon 32 Zeitsignale  $S(t_2)$ , die bei  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren natürlich unter den üblichen Bedingungen der Datenakkumulation aufgenommen werden müssen. Das bedeutet andererseits, daß die Meßzeit für das einzelne  $S(t_2)$ -Signal

0.5 h nicht überschreiten sollte, bei unempfindlichen Kernen also relativ konzentrierte Proben erforderlich sind<sup>[94]</sup>.

Die Zeitsignale in der  $t_2$ -Dimension,  $S(t_2)$ , werden durch die erste Fourier-Transformation bezüglich  $t_2$  in die Datenmatrix  $S(t_1, F_2)$  überführt, in der korrespondierende Punkte auf der  $F_2$ -Achse die Zeitsignale  $S(t_1)$  definieren. Die zweite Fourier-Transformation bezüglich  $t_1$  beendet dann den Prozeß  $S(t_1, t_2) \rightarrow S(F_1, F_2)$  (Fig. 28).

Da schon die einfache Fourier-Transformation einen Cosinus- und einen Sinusanteil liefert, erweist sich die Phasenselektion bei 2D-Experimenten als relativ schwierig. Man umgeht dieses Problem oft mit der Absolutwertdarstellung, die auch für 1D-Spektren bekannt ist<sup>[5]</sup>. Hier gilt für die Signalintensität als Funktion der Frequenz  $F_1$

$$S(F_1) = (u^2 + v^2)^{1/2}$$

wobei  $u$  und  $v$  dem Cosinus- bzw. Sinusanteil der transformierten Zeitfunktion entsprechen. Für 2D-Spektren gilt dann<sup>[90]</sup>

$$S(\pm F_1, F_2) = [(u u \mp v v)^2 + (u v \pm v u)^2]^{1/2}$$

Dieses Vorgehen hat allerdings den Nachteil der Signalverbreiterung an der Basis, die die Auswertung beeinträchtigt, wenn Signale geringer Intensität neben starken Absorptionen vorliegen. Hier kann eine Veränderung der Signalfunktion durch FID-Multiplikation mit einer geeigneten Zeitfunktion<sup>[95]</sup> hilfreich sein.

Für die graphische Darstellung der 2D-NMR-Spektren sind zwei Verfahren üblich: Das *gestaffelte Diagramm* („stacked plot“) (Fig. 30b)<sup>[91,93]</sup>, wie es bereits für  $T_1$ -Messungen benutzt wird<sup>[96]</sup>, und das *Konturdiagramm* („contour plot“) (Fig. 30c)<sup>[97]</sup>. Die gestaffelte Darstellung ist zwar meist ästhetisch ansprechend, aber oft unübersichtlich und deshalb schlecht auswertbar. In der Regel liefert jedoch das Profil eines Querschnitts<sup>[98]</sup> durch das 2D-Diagramm bereits die gewünschte Information.

Beim Konturdiagramm handelt es sich um einen zur x,y-Ebene der gestaffelten Darstellung parallelen Schnitt, dessen Höhe gewählt werden kann. Man erhält dann ein übersichtliches Höhenliniendiagramm des „Signalgebirges“, das sich für die Auswertung, insbesondere bei Korrela-



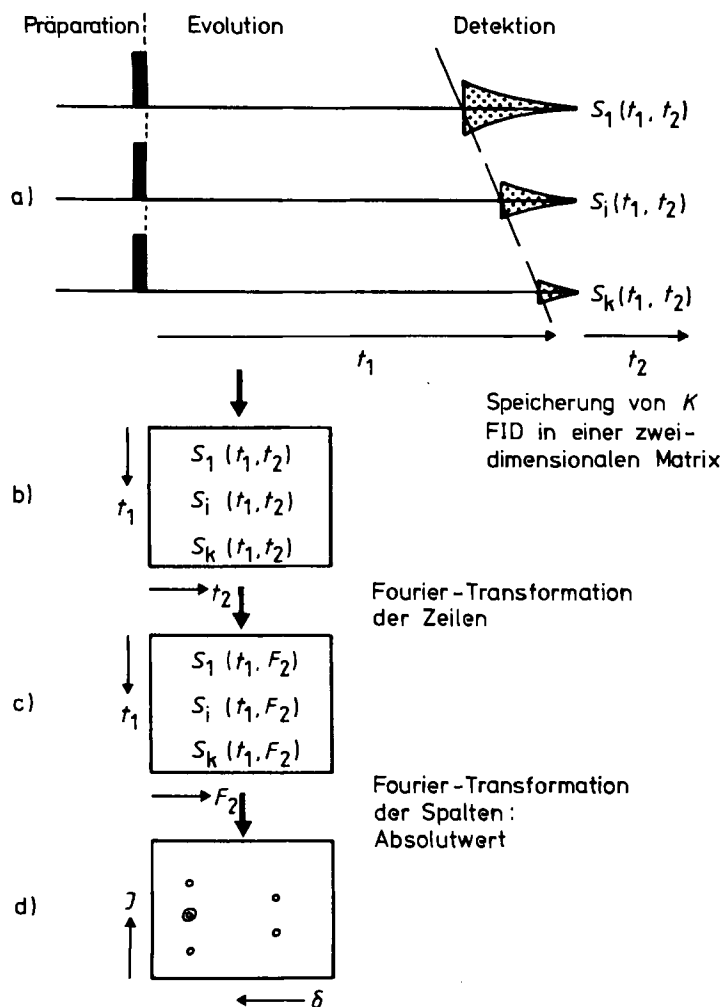


Fig. 28. Datenfluß in der 2D-NMR-Spektroskopie.

tionsspektren, gut eignet. Die Verwendung moderner Datenverarbeitungsgeräte (Bildschirm, Digitalplotter) beschleunigt und erleichtert die Analyse von 2D-Spektren beträchtlich.

### 3.3. $J$ -aufgelöste 2D-NMR-Spektren

Wie das obige Beispiel gezeigt hat, genügen ein  $90^\circ$ - $^{13}\text{C}$ -Impuls, eine variable Evolutionszeit und die Datensammlung unter  $^1\text{H}$ -Breitbandentkopplung, um ein heteronucleares 2D- $J$ -aufgelöstes Experiment durchzuführen<sup>[91]</sup>. Wie bei den eindimensionalen Pulsfolgen erwähnt, erreicht man mit zusätzlichen  $180^\circ$ -Impulsen nach Ablauf der halben Evolutionsperiode eine Refokussierung von divergierenden Isochromaten. Dies macht man sich auch in der 2D-NMR-Spektroskopie zunutze. Infolge der unterschiedlichen Wirkung eines  $180^\circ$ -Impulses auf ein hetero- bzw. homonucleares Spinsystem (vgl. Abschnitt 1.2.3) unterscheiden sich die Pulsfolgen für  $J$ -aufgelöste  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren, bei denen die  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung gefragt ist, von den entsprechenden  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren, bei denen es auf die  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung ankommt.

#### 3.3.1. $J$ -aufgelöste 2D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren

Die im Abschnitt 3.2 beschriebene Pulsfolge wurde erstmals von Müller, Kumar und Ernst<sup>[91]</sup> zur Separierung der Parameter  $\delta(^{13}\text{C})$  und  $J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$  benutzt<sup>[99]</sup>. Von den Vari-

anten<sup>[93, 100, 101]</sup> ist die Methode der gepulsten Entkopplung<sup>[101]</sup> am einfachsten und universellsten (Fig. 29). Die Basis dieser Pulsfolge für ein  $^{13}\text{C}$ , A-Kernpaar ist ein Spin-echo-Experiment im  $^{13}\text{C}$ -Bereich mit A-Entkopplung während einer halben Evolutionsperiode. In der Präparationsperiode kann auf dem A-Kanal Breitbandentkopplung eingeschaltet werden, um eine optimale Overhauser-Verstärkung zu erreichen. Die Pulsfolge gleicht vollkommen derjenigen beim SEFT-Experiment (vgl. Abschnitt 2.1), mit dem einen wichtigen Unterschied, daß die Evolutionszeit  $t_1$  nun variiert wird. Im Falle eines  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Fragments liefert zweifache Fourier-Transformation unmittelbar die vollständige Separation der beiden Parameter  $\delta(^{13}\text{C})$  und  $J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ .

Für die praktische Anwendung dieses Experiments ist die Möglichkeit, überlagerte Multipletts zu trennen, wohl der wichtigste Aspekt. Dies sei am einfachen Beispiel einer Mischung  $\alpha$ -deuterierter Toluole demonstriert. Wie Figur 30 zeigt, sind hier selbst bei 100 MHz Meßfrequenz die  $^1\text{H}$ -entkoppelten  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen der  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CH}_2\text{D}$ -,  $\text{CHD}_2$ - und  $\text{CD}_3$ -Gruppe noch stark überlagert. Anwendung der SEFT-Sequenz mit variabler  $t_1$ -Zeit und gepulster  $^2\text{H}$ -Entkopplung liefert über die  $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ -Kopplungskonstante die gewünschte Amplitudenmodulation der  $^{13}\text{C}$ -Signale und nach zweifacher Fourier-Transformation das  $J(^{13}\text{C}, ^2\text{H})$ -aufgelöste 2D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum, das in Figur 30b gestaffelt und in Figur 30c als Konturdiagramm dargestellt ist. Zu beachten ist, daß die Kopplungskonstanten auf der  $F_1$ -Achse auf den halben Betrag reduziert sind, da bei gepulster Entkopplung die Spin-Multipletts nur während der halben Evolutionsperiode divergieren.

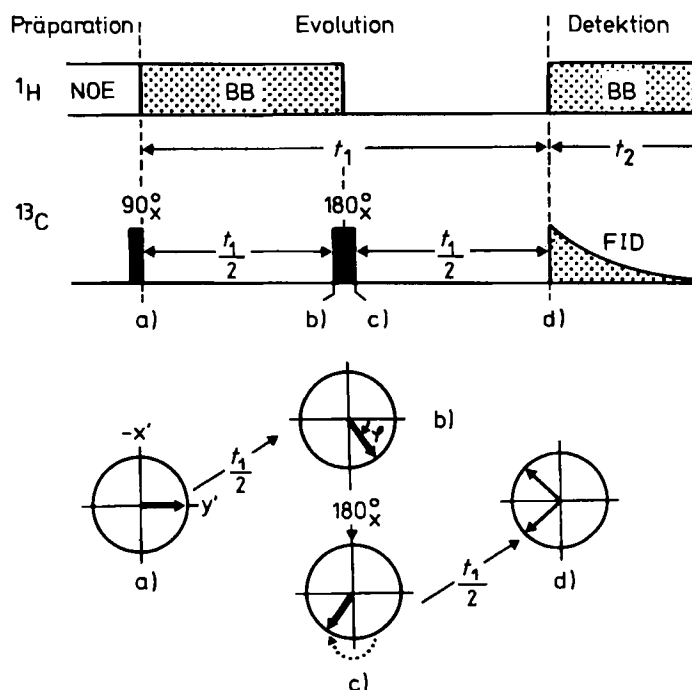


Fig. 29. Pulsfolge und Vektordarstellung für  $J$ -aufgelöste 2D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren nach der Methode der gepulsten Entkopplung am Beispiel eines CH-Fragments mit  $\nu_1 > \nu_0$  (vgl. Fig. 1d). Zur Zeit  $t_1/2$  hat die  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung den Winkel  $\phi$  zurückgelegt (b). Der  $180^\circ$ -Impuls lenkt den Vektor in die Position (c) und sorgt für Refokussierung der Inhomogenitätseffekte zum Zeitpunkt  $t_1$ . Während der zweiten  $t_1/2$ -Periode wird  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung zugelassen. Die zum Zeitpunkt  $t_1$  (d) nachgewiesene y-Magnetisierung ist  $t_1$ -abhängig. Der  $^1\text{H}$ -Entkoppler sorgt in der Präparationszeit für den Kern-Overhauser-Effekt.

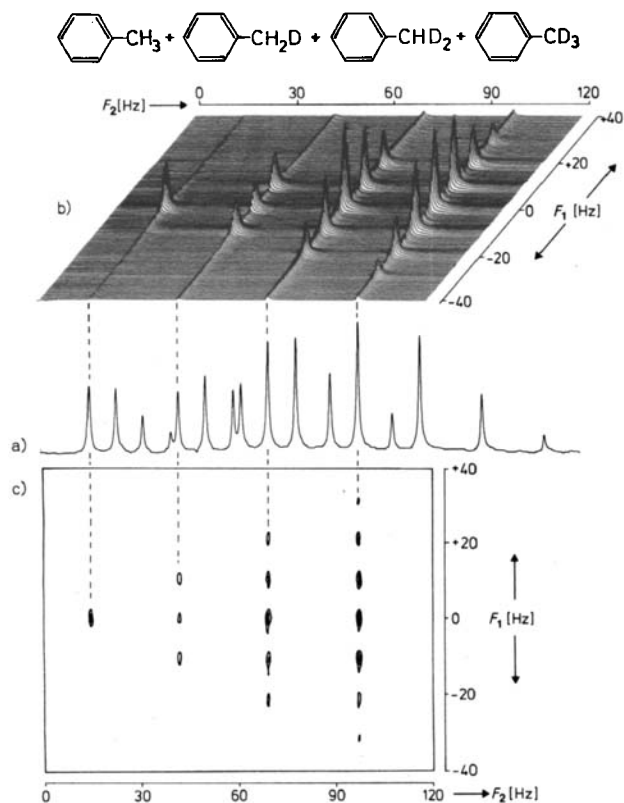


Fig. 30. 100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren einer Mischung von Toluol,  $[\alpha\text{-D}_2]\text{Toluol}$ ,  $[\alpha\text{-D}_3]\text{Toluol}$  und  $[\alpha\text{-D}_3]\text{Toluol}$ : a)  $^1\text{H}$ -entkoppeltes 1D-Spektrum; b) gestaffelte Darstellung des mit gepulster  $^2\text{H}$ -Entkopplung erhaltenen  $J(^{13}\text{C},^2\text{H})$ -aufgelösten 2D-Spektrums [24]; c) wie b), jedoch als Konturdiagramm.

Ein einfaches  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Anwendungsbeispiel aus der metallorganischen Chemie zeigt Figur 32. Es handelt sich um das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum einer Mischung aus vier alkylsubstituierten  $(\eta^3\text{-Allyl})(\eta^5\text{-cyclopentadienyl})\text{nickel}$ -Isomeren<sup>[102]</sup>. Die 2D-Spektren sind als Konturdiagramm (a) und gestaffelt (b) dargestellt. Zum Vergleich sind die 1D-Spektren ( $^1\text{H}$ -entkoppelt (c),  $^1\text{H}$ -gekoppelt (d)) ebenfalls abgebildet. Die gewünschte spektrale Information kann dann auf einfache Weise dem Konturdiagramm, in dem die Parameter  $\delta(^{13}\text{C})$  und  $J(^{13}\text{C},^1\text{H})$  auf zueinander orthogonalen Achsen separiert sind, entnommen werden. Die Multiplizitäten ebenso wie die  $J(^{13}\text{C},^1\text{H})$ -Daten lassen sich sofort ablesen und Unterschiede zwischen  $\text{sp}^2$ - und  $\text{sp}^3$ -hybridisierten C-Atomen (z. B. C-31 und C-34) können leicht erkannt werden. In krassm Gegensatz dazu steht die starke Überlagerung der Signale im konventionellen  $^1\text{H}$ -gekoppelten Spektrum (d). Ein wichtiger Gesichtspunkt ist ferner, daß das Ergebnis des Experiments nicht von Vorinformationen über Kopplungskonstanten abhängt, wie sie bei Anwendung eindimensionaler Pulsfolgen zur optimalen Gestaltung der Evolutionsperiode unerlässlich sind (vgl. SEFT, INEPT und DEPT, Abschnitt 2.1, 2.2.2 bzw. 2.2.3).

Ein weiteres Charakteristikum dieser Art von 2D-Spektren ist, daß die interessierenden Multipletts nicht mehr von den Restsignalen des deuterierten Lösungsmittels verdeckt werden, da diese Signale wie Singulets mit unterschiedlicher Resonanzfrequenz behandelt werden. Die Verwendung der Spinecho-Technik führt ferner dazu, daß die Linienbreiten in der  $F_2$ -Dimension von der Magnetfeldinhomogenität unabhängig sind und den natürlichen

Linienbreiten der Signale entsprechen. Die Auflösung für chemische Verschiebungen ist daher im Gegensatz zu eindimensionalen Experimenten verbessert. Die Methode der gepulsten Entkopplung hat überdies den Vorteil, daß Multipletts stark gekoppelter Spinsysteme unverfälscht wiedergegeben werden können<sup>[101b]</sup>. Dieser Gesichtspunkt ist wichtig, denn stark gekoppelte Spinsysteme<sup>[103]</sup>, aber auch experimentelle Unzulänglichkeiten, wie Rotationsseitenbanden<sup>[104]</sup>, Ungenauigkeiten in den Pulszeiten oder ungenügende Pulsleistung<sup>[105]</sup> über den spektralen Bereich – eine besonders bei Hochfeldgeräten auftretende Schwierigkeit – führen in der 2D-NMR-Spektroskopie zu Artefakten.

Eine interessante Variante des heteroskalar  $J$ -aufgelösten 2D-NMR-Experiments ist die „Protonen-Flip“-Methode mit einem selektiven  $180^\circ$ -Impuls, der nur bestimmte

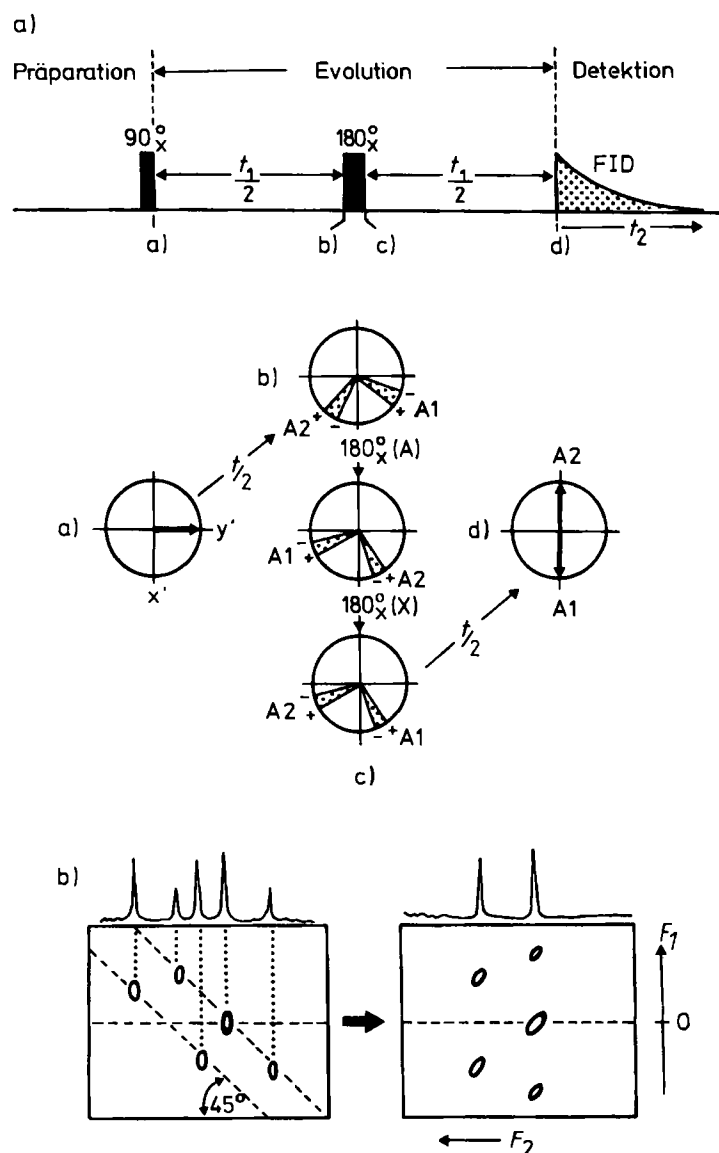


Fig. 31. a) Pulsfolge und Vektordarstellung für  $J$ -aufgelöste 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektren am Beispiel des A-Kerns eines homonuclearen AX-Systems mit  $\nu_A > \nu_X$ . In der Zeit  $t_1/2$  haben die Dublett Komponenten A1 und A2 unterschiedliche Phasenwinkel zurückgelegt und zeigen gleichzeitig Inhomogenitätsverbreiterung. Der  $180^\circ$ -Impuls invertiert A1 und A2 um die x-Achse, vertauscht aber auch die Spinzustände des X-Kerns, so daß sich die Larmorfrequenzen der Vektoren entsprechend ändern (vgl. Fig. 7a). Lediglich der Inhomogenitätseffekt refokussiert in der zweiten  $t_1/2$ -Periode. Die zum Zeitpunkt  $t_1$  empfangene y-Magnetisierung ist  $t_1$ -abhängig. b) Separation der Parameter  $\delta$  und  $J$  durch Drehung der Datenmatrix um  $45^\circ$ .

$^{13}\text{C}$ -Satelliten im  $^1\text{H}$ -Spektrum invertiert<sup>[106]</sup>. Auf diese Weise lassen sich  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Fernkopplungen exakt messen.

### 3.3.2. $J$ -aufgelöste 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektren

Für diese Art von zweidimensionalen NMR-Spektren wird wiederum das Spinecho-Experiment benutzt<sup>[107]</sup>. Wie bereits in Abschnitt 1.3 erwähnt, ist dabei im homonuclearen Fall die Signalamplitude eine Funktion der Kopp-

lungskonstante  $J(\text{H}, \text{H})$ . Pulsfolge und Vektordiagramm zeigt Figur 31.

Da  $^1\text{H}$ -Entkopplung hier naturgemäß entfallen muß, sind beide Spins auch während der Detektionsperiode gekoppelt. Während die  $F_1$ -Dimension wie bisher nur die Kopplungsinformation enthält, ist die zweite Frequenzvariable  $F_2$  jetzt eine Funktion der chemischen Verschiebung und der Kopplungskonstanten  $J(\text{H}, \text{H})$ . Eine einfache Separation dieser Variablen auf zwei Frequenzachsen gelingt daher bei  $J$ -aufgelösten 2D-Spektren von homonuclearen

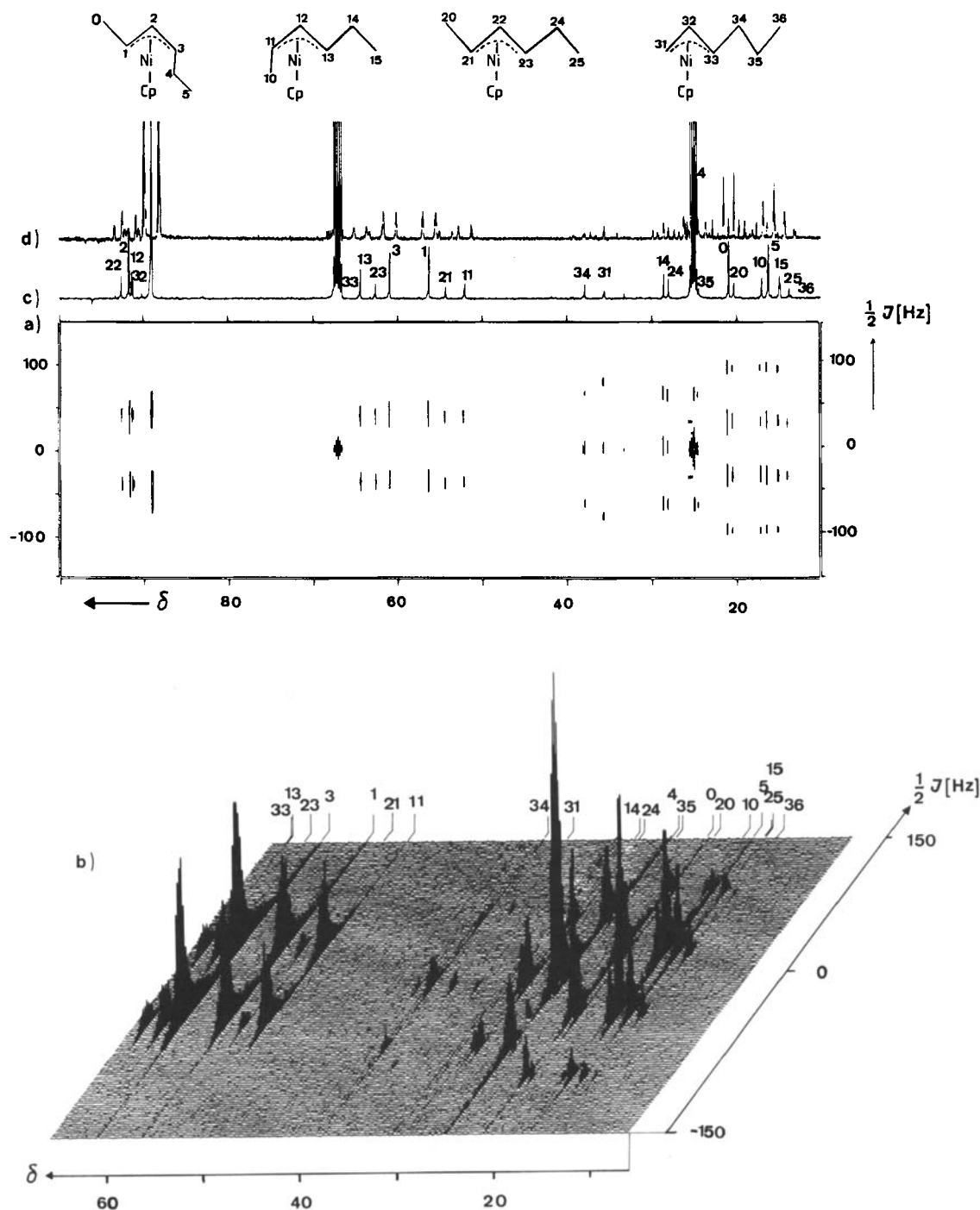


Fig. 32.  $J$ -aufgelöstes 100.6 MHz-2D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum einer Mischung von alkylsubstituierten  $(\eta^3\text{-Allyl})(\eta^5\text{-cyclopentadienyl})$ nickel-Isomeren [102]: a) Konturdiagramm; b) gestaffelte Darstellung; c)  $^1\text{H}$ -entkoppeltes 1D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum; d)  $^1\text{H}$ -gekoppeltes 1D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum.

Spinsystemen nicht. Wie in Figur 31 schematisch dargestellt wird, liegen die einzelnen Multipletts vielmehr auf einer um  $45^\circ$  geneigten Diagonalen der zweidimensionalen Matrix. Eine Drehung des Absolutwert-Spektrums um diesen Winkel bietet jedoch die Möglichkeit zur Separation von  $\delta$  und  $J$ , da die Projektion auf die  $F_1$ -Achse nun die Multiplizität und die Kopplungskonstanten ergibt, während die Projektion auf die  $F_2$ -Achse die chemischen Verschiebungen liefert<sup>[107, 108]</sup>.

Eine herausragende Eigenschaft der  $J$ -aufgelösten 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektren ist die Tatsache, daß durch Projek-

tion auf die  $F_2$ -Achse ein quasi „ $^1\text{H}$ -entkoppeltes  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum“ erhalten wird. Derartige homonuclear vollständig entkoppelte Spektren<sup>[109]</sup> sind eine wesentliche Hilfe bei der Spektrenanalyse, da Symmetrieargumente aufgrund von Intensität und Linienzahl sofort zur Interpretation benutzt werden können und bei großen Molekülen eine überlappungsfreie Darstellung ermöglicht wird. Auch hier ist die Entflechtung überlagernder Signalgruppen das Hauptanwendungsgebiet. Profile geeigneter Querschnitte durch das 2D-Spektrum parallel zur  $F_1$ -Achse ermöglichen es dann, einzelne Multipletts separat darzustellen, wie es Figur 33 für die bereits erwähnte Mischung der isomeren Allylnickelverbindungen demonstriert.

Auch bei Mischungen von Stereoisomeren<sup>[110]</sup> liegen oft Multipletts erster Ordnung vor, die durch diese Technik getrennt werden können. Andere Anwendungsbereiche bilden biologische Makromoleküle<sup>[111–113]</sup>, bei denen sich etwa eng benachbarte Methylresonanzen stellungsisomerer Aminosäuren identifizieren lassen, ebenso wie die relativ komplizierten  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von Steroiden, anhand derer die Leistungsfähigkeit der Methode eindrucksvoll demonstriert wurde<sup>[114]</sup>. Das Experiment kann aber auch mit Erfolg zur Trennung und Zuordnung homonuclearer und heteronuclearer Kopplungskonstanten angewendet werden<sup>[110, 115, 116]</sup>. Grundlage hierfür ist, daß die heteronuclearen Kopplungen durch die Pulsfolge nicht berührt werden und in der  $F_2$ -Dimension voll erhalten bleiben. Dies ist am Beispiel der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ - und  $^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplung in  $(\eta^5\text{-Cyclopentadienyl})\text{bis}(\text{triphenylphosphan})\text{vinylruthenium}$  gezeigt<sup>[117]</sup> (Fig. 34).

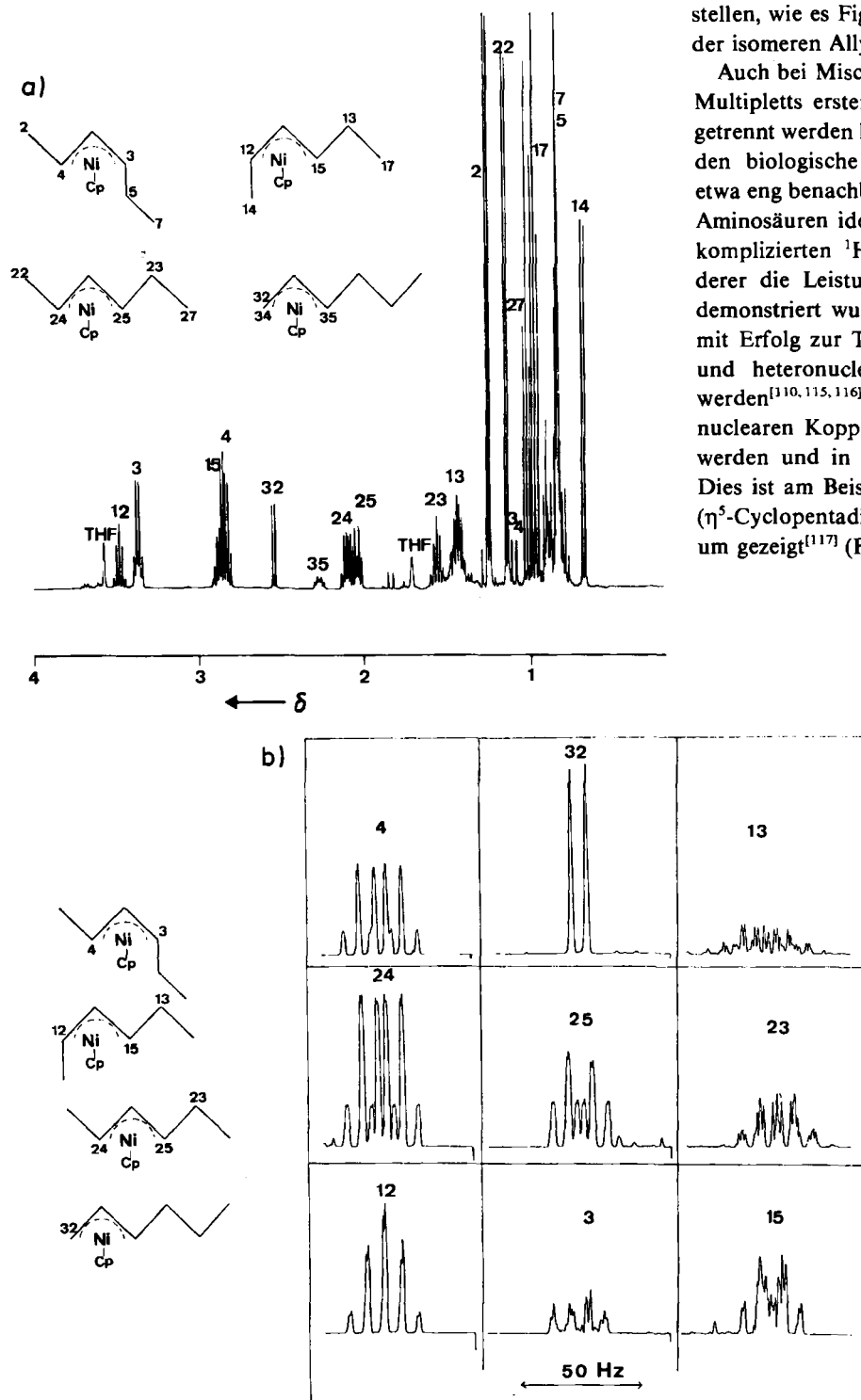


Fig. 33. a) 400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der alkylsubstituierten  $(\eta^3\text{-Allyl})(\eta^5\text{-cyclopentadienyl})\text{nickel}$ -Isomere; b) ausgewählte Profile von Querschnitten durch das  $J$ -aufgelöste 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum, die eine überlappungsfreie Darstellung einzelner Multipletts ermöglichen (vgl. z. B. die Signale von  $\text{H}^4$  und  $\text{H}^{15}$  oder  $\text{H}^{24}$  und  $\text{H}^{25}$ ).

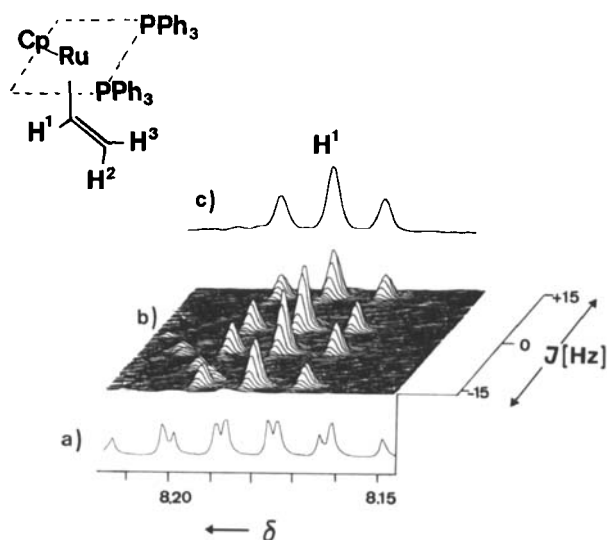


Fig. 34.  $J$ -aufgelöstes 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des vinylischen Protons  $\text{H}^1$  von  $(\eta^5\text{-Cyclopentadienyl})\text{bis}(\text{triphenylphosphan})\text{vinylruthenium}$  [117]: a) Multiplett im 1D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum; b)  $J$ -aufgelöstes 2D-Spektrum; c) Projektion des 2D-Spektrums auf die  $F_2$ -Achse liefert ein Triplet infolge der Kopplung mit zwei äquivalenten Phosphoratomen. In der  $F_1$ -Achse erkennt man deutlich die durch  $\text{H}_1\text{H}_2$ -Kopplung zum *cis*- und *trans*-Proton bedingte Aufspaltung in ein Dublett von Dubletts.

### 3.4. Korrelierte 2D-NMR-Spektren

Sogenannte korrelierte 2D-NMR-Spektren zeichnen sich dadurch aus, daß beide Frequenzachsen chemische Verschiebungen enthalten. Experimentell erfordern sie in der Pulssequenz eine zusätzliche feste Zeitperiode, die als sogenannte *Mischzeit*<sup>[98, 118]</sup> zwischen der Evolutions- und Detektionsperiode liegt. *Maudsley* und *Ernst*<sup>[41]</sup> waren die ersten, die ein derartiges Experiment vorgeschlagen und realisiert haben. Man unterscheidet mehrere Arten 2D-korrelierter Spektren: Die beiden Dimensionen können entweder über einen kohärenten Transfer von transversaler Magnetisierung (skalar-korreliert)<sup>[89, 41]</sup> oder über einen inkohärenten Transfer von Magnetisierung (2D-Kern-Overhauser-Spektren, zweidimensionale chemische Austausch-spektroskopie)<sup>[118]</sup> verbunden sein.

#### 3.4.1. Skalar-korrelierte 2D-NMR-Spektren

##### 3.4.1.1. Heteroskalar-korrelierte 2D-NMR-Spektren

Werden die Larmor-Frequenzen zweier verschiedener Kernsorten, z. B.  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ , über ihre skalare Kopplung miteinander in Beziehung gesetzt, so spricht man von heteroskalar-korrelierten 2D-NMR-Spektren. Diese Methode ist besonders nützlich bei der Signalzuordnung, da sie es gestattet, aus einer bekannten Zuordnung für eine Kernsorte (z. B.  $^1\text{H}$ ) die der anderen Kernsorte (z. B.  $^{13}\text{C}$ ) abzulesen. Die zur Erzeugung von heteroskalar-korrelierten Spektren üblicherweise verwendete Pulssequenz beinhaltet zudem wie die INEPT- oder DEPT-Methode einen Polarisationstransfer und liefert daher neben der Zuordnung zugleich eine Empfindlichkeitssteigerung. Die Grundidee ist, die Evolutionsperiode  $t_1$  für die Präzessionsbewegung der  $^1\text{H}$ -Spins zu benutzen und das Ausmaß dieser Präzession auf dem  $^{13}\text{C}$ -Kanal zu messen. Die Übertragung der Infor-

mation zwischen Protonen und Kohlenstoff- $^{13}\text{C}$ <sup>[119]</sup> geschieht in der Mischperiode, die zwischen Evolutions- und Detektionsphase eingeschoben wird. Im 2D-Spektrum erhält man für koppelnde Kerne ein Signal mit den Koordinaten  $\delta(\text{A})$ ,  $\delta(\text{X})$ .

Die Pulsfolge zur Erzeugung heteroskalar-korrelierter 2D-NMR-Spektren zeigt Figur 35<sup>[119, 120]</sup>. Nach dem  $90^\circ_x$ - $^1\text{H}$ -Impuls rotieren die beiden Komponenten eines CH-Dubletts in der  $x, y$ -Ebene mit unterschiedlicher Larmorfrequenz. Der Auffächerungswinkel  $\phi$  ist durch die Größe der CH-Kopplung bestimmt, während der überstrichene Winkel  $\varphi$  durch die chemische Verschiebung des Protons festgelegt ist (a-c). Der  $180^\circ_x$ -Impuls auf dem  $^{13}\text{C}$ -Kanal (d) vertauscht die Spinzustände der Protonen und damit die Präzessionsfrequenzen der Vektoren, so daß am Ende der Evolutionszeit  $t_1$  beide zusammengelaufen sind (e). Die Verschiebungsinformation steckt im Phasenwinkel  $\varphi$ . Nach der Zeit  $\Delta_1 = 1/2J$  gilt  $\phi = 180^\circ$ . Beide Vektoren sind antiparallel und können durch einen  $90^\circ_y$ -Impuls in die  $\pm z$ -Richtung gebracht und damit polarisiert werden. Die Information bezüglich der chemischen Verschiebung ist nun im Betrag der  $z$ -Komponenten enthalten, der vom Phasenwinkel  $\varphi$  abhängt, da der  $90^\circ_y$ -Impuls nur auf die  $x$ -Komponenten der Vektoren wirkt. Für  $\varphi = (2n+1)\frac{\pi}{2}$  ist die longitudinale Magnetisierung der Kernsorte A Null, während sie für  $\varphi = 2n\frac{\pi}{2}$  ihren Maximalwert erreicht. Wie beim

SPI-Experiment führt eine Polarisierung der Protonen auch hier gleichzeitig zur Polarisierung der  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung, die nun durch einen  $90^\circ_x$ -Impuls in  $\pm y$ -Magnetisierung umgewandelt werden kann (h). Im Intervall  $\Delta_2 = 1/2J$  refokussieren beide  $^{13}\text{C}$ -Vektoren und können nach Einschalten der  $^1\text{H}$ -Entkopplung als Singulett nachgewiesen werden. Die erreichte Polarisierung und damit gemessene Intensität ist vom Phasenwinkel  $\varphi$  abhängig und somit eine reine Funktion der Larmorfrequenz des Protons. Variation der Evolutionszeit  $t_1$  führt also auch hier zu einer Amplitudenmodulation, die allerdings jetzt keine Funktion der Kopplung, sondern eine Funktion der Larmorfrequenz eines anderen Kernels ist. Der Unterschied zum eindimensionalen SPI-Experiment besteht darin, daß die Anregung nichtselektiv alle Resonanzen des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums erfaßt und der Polarisationstransfer  $t_1$ -abhängig ist.

Die Eleganz dieser 2D-Korrelation ist darin zu sehen, daß hier mit *einem* Experiment Nachbarschaftsbeziehungen zwischen zwei Kernsorten aufgeklärt werden können, was bisher nur durch eine Serie selektiver Doppelresonanz-Experimente mit oft schwer deutbaren Resultaten möglich war. Die geeignete Wahl der Mischperiode erlaubt es z. B., sämtliche  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Gruppierungen eines Moleküls nachzuweisen, wobei das Problem der Linienüberlagerung elegant eliminiert wird. Besonders bei großen Molekülen ist dieser Aspekt von Bedeutung<sup>[121, 122]</sup>. Wie Figur 36 zeigt, kann aber auch bei kleineren Molekülen mit weniger als 20 nichtäquivalenten C-Atomen die Zuordnung der Resonanzfrequenzen eindeutig und oft schneller als mit jeder anderen Methode getroffen werden.

Der Korrelationscharakter der Methode bringt es mit sich, daß die für eine Kernsorte getroffene Zuordnung ohne weiteres auf die andere Kernsorte übertragbar ist.

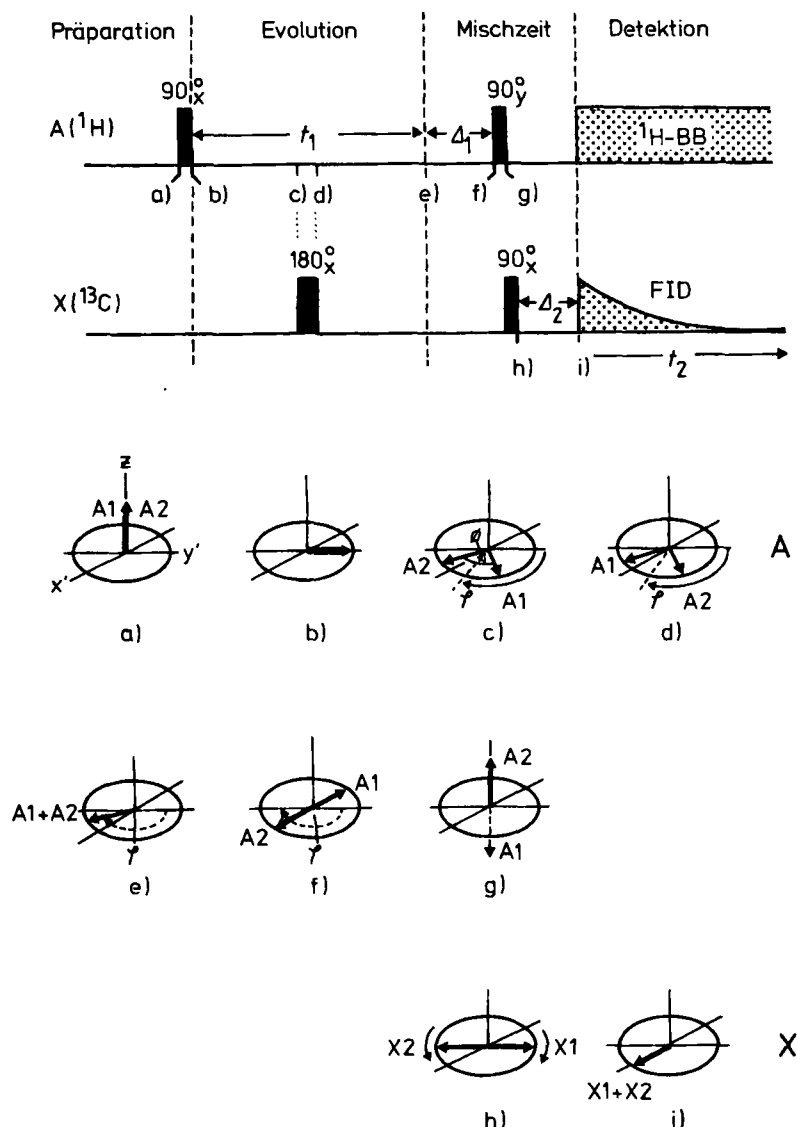


Fig. 35. Pulsfolge und Vektordarstellung für ein heteroskalar-korreliertes 2D-NMR-Experiment am Beispiel eines CH-Fragments ( $A = ^1\text{H}$ ,  $X = ^{13}\text{C}$ ). Nach einem  $90^\circ$ - $^1\text{H}$ -Impuls rotieren die beiden Komponenten des  $^1\text{H}$ -Dubletts in der x,y-Ebene gemäß ihrer Differenz zur Frequenz des Anregungsimpulses (a-c). Durch den  $180^\circ$ - $^{13}\text{C}$ -Impuls (d) tritt zum Zeitpunkt (e) Refokussierung ein;  $\delta(^1\text{H})$  bleibt in Form des Winkels  $\varphi$  erhalten und wird im Mischintervall über die  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -Spin-Spin-Kopplung auf die  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung übertragen, die durch einen  $90^\circ$ - $^{13}\text{C}$ -Impuls in die x,y-Ebene gebracht wird. Nach  $\Delta_2$  s kann die  $^{13}\text{C}$ -Magnetisierung unter  $^1\text{H}$ -Entkopplung detektiert werden. Sie ist in Abhängigkeit von  $\varphi$  amplitudenmoduliert.

Von besonderem Vorteil ist ferner – wie bei allen zweidimensionalen Techniken – die überlappungsfreie Darstellung, insbesondere, da die Protonenmultipletts mit Hilfe der größeren Dispersion der  $^{13}\text{C}$ -Signale stärker aufgelöst werden können. Grundsätzlich lassen sich alle Kerne der Spinquantenzahl  $I = 1/2$  in heteroskalar-korrelierten 2D-NMR-Experimenten miteinander verknüpfen. Besonders effektiv wird diese Technik immer dann, wenn die Protonen möglichst zahlreiche gleich große skalare Kopplungskonstanten zu den weniger empfindlichen Kernen aufweisen. Demnach sind für die organische Chemie die  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -<sup>[121, 122]</sup>,  $^{15}\text{N}$ ,  $^1\text{H}$ -<sup>[124]</sup> und  $^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}$ -Korrelationen<sup>[125]</sup> von besonderer Bedeutung. In der metallorganischen Chemie spielen Phosphorliganden eine große Rolle, so daß hier zusätzlich auch Phosphor-Metall-Korrelationen, wie  $^{103}\text{Rh}$ ,  $^{31}\text{P}$  oder  $^{183}\text{W}$ ,  $^{31}\text{P}$  zunehmendes Interesse finden werden.

### 3.4.1.2. COSY<sup>[\*]</sup> und SECSY<sup>[\*\*]</sup>:

#### Homoskalar-korrelierte 2D-NMR-Spektren

Eng verwandt mit dem SPI- und INEPT-Verfahren sowie mit der in Abschnitt 3.4.1.1 besprochenen heteroskalar-korrelierten NMR-Spektroskopie sind zweidimensionale Korrelationen für homonucleare Spinsysteme (z. B.  $A = X = ^1\text{H}$ ), die unter den Bezeichnungen COSY<sup>[126]</sup> und SECSY<sup>[127]</sup> bekannt sind. Beide Frequenzachsen  $F_1$  und  $F_2$  enthalten dann die Larmor-Frequenzen des gleichen Korns, z. B. die  $\delta(^1\text{H})$ -Werte.

Die Basis für COSY-Spektren bildet die klassische Jeener-Sequenz<sup>[11, 89]</sup> (Fig. 37a), die ebenfalls einen Magnetisierungstransfer bewirkt. Nach der Präparationsperiode erzeugt ein  $90^\circ$ -Impuls die Quermagnetisierung. Die Magne-

[\*] COSY: Akronym für Correlated Spectroscopy.

[\*\*] SECSY: Akronym für Spin Echo Correlated Spectroscopy.

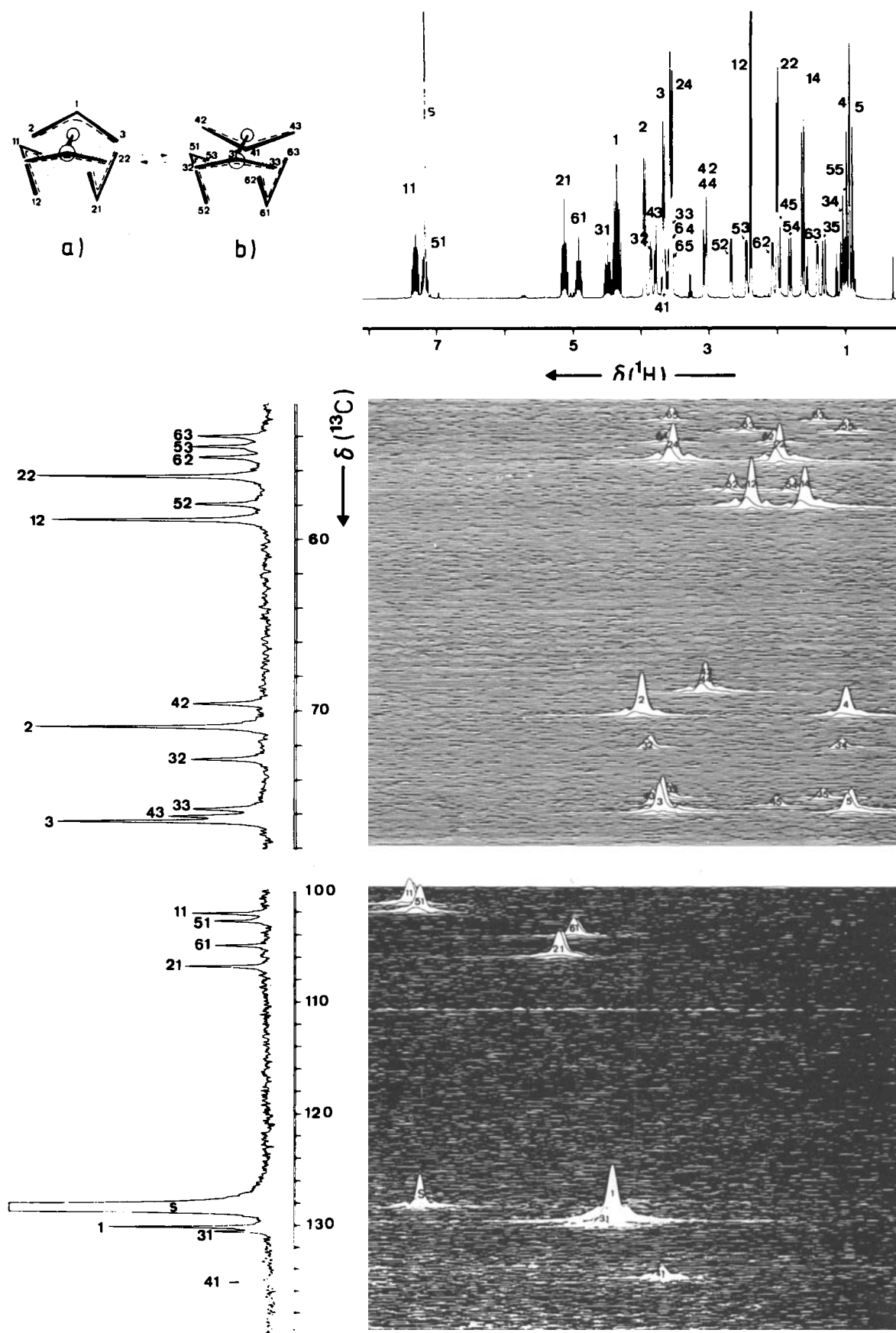


Fig. 36. 2D-<sup>13</sup>C,<sup>1</sup>H-Korrelationsdiagramm von *cis*-( $\eta^3$ -Allyl)<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub> (a, Signale 1–25) und *trans*-( $\eta^3$ -Allyl)<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub> (b, Signale 31–65) in [D<sub>6</sub>]Benzol bei 30 °C. In der Abszisse ist die  $\delta(^1\text{H})$ , in der Ordinate die  $\delta(^{13}\text{C})$ -Skala aufgetragen. Das 1D-<sup>1</sup>H- und das <sup>1</sup>H-entkoppelte 1D-<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum sind längs der jeweiligen Frequenzachse abgebildet. Die vollständige Zuordnung des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums ist beschrieben [123]. Das 2D-Spektrum bestätigt diese Zuordnung und ermöglicht zugleich die eindeutige Zuordnung aller <sup>13</sup>C-Signale. Die 2D-Aufnahme erfolgte unter Bedingungen, unter denen die <sup>1</sup>H-Multiplettstruktur weitgehend in der digitalen Auflösung verschwindet. Besonders deutlich läßt sich der Korrelationscharakter des Experiments an der Signalgruppe der CH-Fragmente 11, 51, 61 und 21 mit  $\delta(^{13}\text{C}) = 100$ –110 und  $\delta(^1\text{H}) = 4.8$ –7.3 erkennen (<sup>13</sup>C-Meßfrequenz 100.6 MHz, Meßzeit ca. 4 h, Matrixgröße 256 × 4096, Transformationsgröße 1024 × 4096).

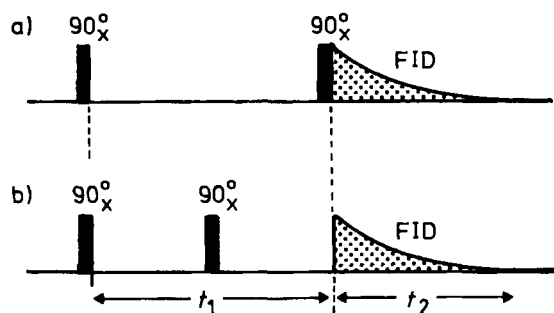


Fig. 37. Pulsfolgen für die homokolar-korrelierte 2D-NMR-Spektroskopie: a) COSY-Sequenz [126]; b) SECSY-Sequenz [127]. Mit dem ersten  $90^\circ_X$ -Impuls wird transversale Magnetisierung erzeugt. Der zweite  $90^\circ_X$ -Impuls bewirkt als Mischimpuls den Austausch von Magnetisierung zwischen gekoppelnden Kernen. Die zweidimensionale Darstellung der COSY- und SECSY-Spektren unterscheidet sich (vgl. Fig. 38).

tisierungsvektoren präzedieren in der  $x,y$ -Ebene gemäß ihrer Larmor-Frequenz und der Spin-Spin-Kopplung  $J$ . Analog zum heteroskalar-korrelierten 2D-Experiment kann der zweite  $90^\circ_X$ -H-Impuls als Mischimpuls aufgefaßt werden. Da die Protonen ständig miteinander gekoppelt sind, entfallen jedoch zusätzliche Mischzeiten.

Der zweite  $90^\circ_X$ -Impuls führt für einen nichtgekoppelten A-Kern ( $J(A,X)=0$ ) zu einer  $t_1$ -abhängigen Modulation der Quermagnetisierung, die nur von  $\nu_A$  abhängt. Im 2D-Spektrum erhält man daher ein Signal auf der Diagonalen  $F_1=F_2$  („dia peak“). Im Falle  $J(A,X) \neq 0$  hängt die A-Magnetisierung über die skalare A,X-Wechselwirkung in der  $x,y$ -Ebene zusätzlich von der Larmor-Frequenz  $\nu_X$  ab. Im

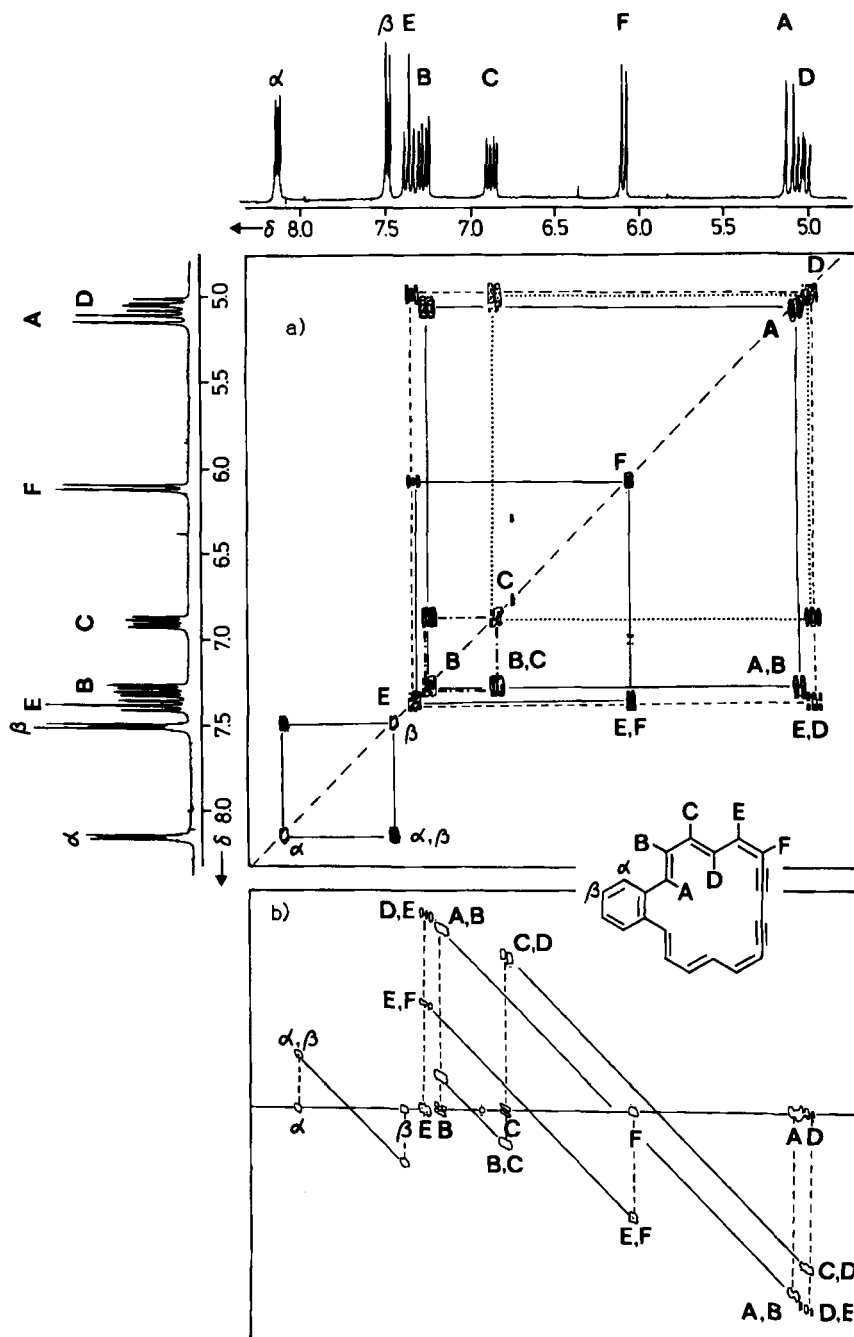


Fig. 38. Homoskalar-korreliertes 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 9,11-Bisdehydrobenzo[18]annulen: a) Ergebnis eines COSY-Experimentes. Aus den Kreuzsignalen läßt sich die Protonensequenz im Annulenring [128] sofort ablesen. Als Interpretationshilfe ist das 1D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ebenfalls abgebildet (Meßfrequenz 400 MHz, Meßzeit für das 2D-Experiment ca. 4 h, Matrixgröße  $256 \times 1024$ , Transformationsgröße  $256 \times 1024$ ). b) Ergebnis eines SECSY-Experimentes (Meßzeit ca. 4 h, Matrixgröße  $256 \times 1024$ , Transformationsgröße  $256 \times 1024$ ).



2D-Spektrum erhält man dann die charakteristischen Nebendiagonalsignale („cross peaks“) mit den Koordinaten  $\delta_A$ ,  $\delta_X$  und  $\delta_X$ ,  $\delta_A$ , die eine skalare Wechselwirkung zwischen A und X anzeigen. Ein Anwendungsbeispiel aus der Annulenchemie zeigt Figur 38 mit dem Korrelationsdiagramm für die Protonen im 9,11-Bisdehydrobenzo[18]annulen<sup>[128]</sup>.

Für die Jeener-Pulssequenz existieren mehrere Varianten. COSY45<sup>[126b]</sup> benutzt einen 45°-Mischimpuls statt des 90°-Mischimpulses und erreicht damit eine Unterdrückung von Signalen, die auf oder nahe der Diagonalen liegen. Nebendiagonalsignale können bei dieser Methode in Abhängigkeit vom relativen Vorzeichen der Kopplungskonstanten verändert werden. Experimentell wurde zuerst die SECSY-Sequenz<sup>[127]</sup> realisiert, bei der der Mischimpuls die Evolutionsperiode halbiert (vgl. Fig. 37b). Hier liegen die Verschiebungen  $\delta_A$  und  $\delta_X$  des normalen eindimensionalen Spektrums auf der Mittellinie des zweidimensionalen Diagramms, und die zugehörigen Kreuzsignale haben die Koordinaten  $\delta_A$ ,  $(\delta_A - \delta_X)/2$  und  $\delta_X$ ,  $(\delta_X - \delta_A)/2$  (Fig. 38b).

Die SECSY-Sequenz stellt in der  $F_1$ -Dimension Frequenzdifferenzen dar und vermag daher die zweidimensionale Matrix zu reduzieren. Voraussetzung hierfür ist jedoch, daß die Larmor-Frequenzen das „spektrale Fenster“ nicht überschreiten, d. h.  $\delta_A - \delta_X$  muß für alle koppelnden Kerne wesentlich kleiner als der spektrale Bereich sein.

Für die Anwendung der zweidimensionalen Jeener-Spektroskopie anstelle der klassischen homonuclearen Entkopplung spricht neben dem geringeren Zeitbedarf auch bei kleineren Molekülen, daß die bei Entkopplung oft beobachtete Beeinflussung von Signalen, die der Einstrahlfrequenz nahe benachbart sind, nicht auftreten. Darüber hinaus werden die gekoppelten Multipletts überlappungsfrei (vgl. z. B. das Konturdiagramm in Fig. 38) dargestellt. Das entsprechende eindimensionale Experiment – homonucleare Entkopplung im Differenzverfahren – kann durch Bloch-Siegert-Effekte<sup>[129]</sup> erschwert werden. Ein weiterer Vorteil ist, daß weitreichende Kopplungen, die aus eindimensionalen Experimenten nur schwer oder gar nicht zu ermitteln sind, mit der 2D-Methode oft einfach nachgewiesen werden können. Durch die Einführung eines kurzen konstanten Intervalls von etwa 0.5 s am Anfang der Evolutionsperiode können Fernkopplungen betont werden, wenn die digitale Auflösung in vergleichbarer Größenordnung zu diesen Kopplungen ist<sup>[126b, 130]</sup>. Ein Nachteil der 2D-Korrelation ist, daß die Konturdiagramme bei großen Molekülen schnell sehr komplex werden, da auch bei der COSY45-Variante sehr viele Absorptionen auf oder nahe der Diagonalen liegen und sich damit selbst bei hohen Magnetfeldstärken nur schwer interpretieren lassen. Abhilfe können hier 2D-Korrelationsdiagramme auf Mehrquantenbasis<sup>[11, 71, 131, 132]</sup> schaffen, die es erlauben, die störenden Diagonalabsorptionen vollständig zu unterdrücken.

Besonderes Interesse verdient die Kombination des Jeener-Experiments mit der heteroskalaren Korrelation, denn die aus beiden Telexperimenten erhältliche Information liefert das Kohlenstoffgerüst eines organischen Moleküls. Beide Experimente lassen sich entweder zeitlich nacheinander oder im sogenannten 2D-Experiment mit korrelierter Kohärenz (2D-Relay-NMR<sup>[133]</sup>) ausführen. Im letzten Fall wird wie bei der Jeener-Pulsfolge zunächst Magneti-

sierung von Protonen zu Protonen transferiert. In einem zweiten Schritt wird diese Magnetisierung dann auf skalar-gekoppelte Kohlenstoffatome übertragen. Da das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum detektiert wird, nutzt man somit die größere Dispersion dieser Kernsorte aus, um über die Kopplung der Protonen untereinander Bindungsbeziehungen im Molekül abzutasten. Die durch Häufung von Absorptionen nahe der Diagonalen entstehenden Probleme entfallen damit.

### 3.5. 2D-INADEQUATE:

#### Die direkte Ermittlung des Kohlenstoffgerüsts

Wie bereits im Abschnitt 2.3 erwähnt, ermöglicht die Ermittlung der  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Daten eines Moleküls die Zuordnung benachbarter Kohlenstoffatome. Besonders elegant läßt sich dieses Verfahren in der zweidimensionalen Variante der INADEQUATE-Pulssequenz ausführen. Hierbei nutzt man die Tatsache aus, daß die Doppelquantenfrequenz  $\nu_{\text{DQ}}$  für ein AX-System von der Frequenz  $\nu_0$  des Anregungsimpulses abhängt:  $\nu_{\text{DQ}} = \nu_A + \nu_X - 2\nu_0$ <sup>[11, 69]</sup>. Wird die Zeit  $t_1$  zwischen dem zweiten 90°-Impuls, der zusammen mit dem ersten zur Erzeugung der Doppelquantenübergänge notwendig ist, und dem 90°-Analysatorimpuls so variiert, daß  $1/t_1$  alle Doppelquantenfrequenzen  $\nu_{\text{DQ}}$  eines Spektrums überstreicht, so erhält man die spektrale Information als Funktion von  $t_1$  und  $t_2$  (Fig. 39).

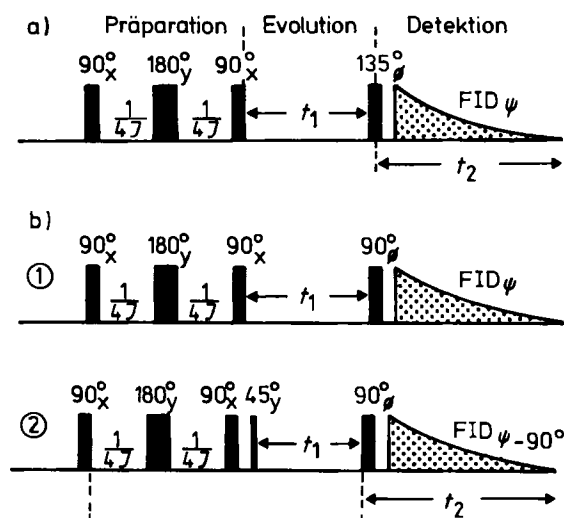


Fig. 39. Pulssequenzen für das zweidimensionale INADEQUATE-Experiment mit Quadraturdetektion. Bei a) wird durch den 135°-Impuls zwischen positiven und negativen Frequenzen unterschieden [135]. In b) dient der 45°-Impuls bei alternierender Anwendung der Sequenzen ① und ② dem gleichen Zweck [134], die Zeitspanne  $\Delta$  ist gegenüber  $t_1$  vernachlässigbar.

Fourier-Transformation ergibt in  $F_1$  die Doppelquantenfrequenzen  $\nu_{\text{DQ}}$  und in  $F_2$  die normalen  $^{13}\text{C}$ -Verschiebungen. Da die  $^{13}\text{C}$ -Satellitenspektren detektiert werden, liefern bei natürlicher Isotopenhäufigkeit nur etwa 0.01% der vorhandenen Moleküle solche NMR-Absorptionen, und selbst bei Substanzmengen von mehreren 100 mg sind lange Meßzeiten erforderlich. Daher ist es wichtig, daß die zweidimensionale Matrix durch die Datenaufnahme in Quadraturdetektion möglichst klein gehalten wird. Hierzu wurden mehrere Varianten der INADEQUATE-Pulsfolge vorgeschlagen<sup>[134, 135]</sup>.

Ein Anwendungsbeispiel der 2D-INADEQUATE-Technik zeigt Figur 40. In (–)Bis[(1R,3R,4S)menthyl]methyl-

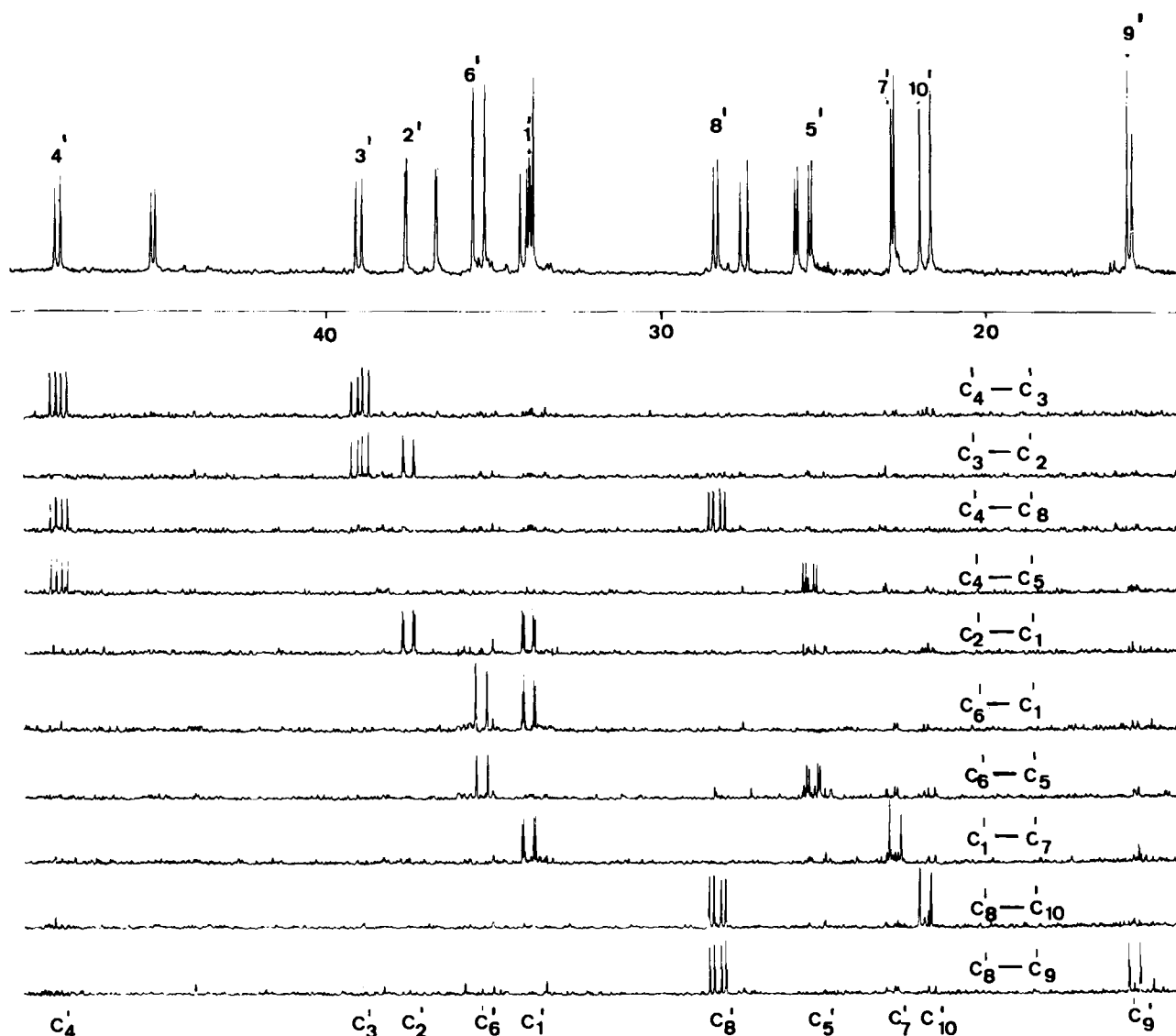
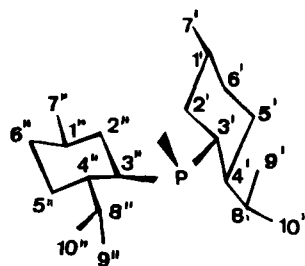


Fig. 40. Zweidimensionales INADEQUATE-Experiment für das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von  $(-)\text{Bis}[(1R,3R,4S)\text{menthyl}]methylphosphan$  in  $[\text{D}_6]\text{Benzol}$  bei  $27^\circ\text{C}$  [136]. In der obersten Spur sind die 20 verschiedenen  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen des  $^1\text{H}$ -entkoppelten Spektrums mit Ausnahme des Dubletts der *P*-Methylgruppe dargestellt. Die restlichen Spektren sind  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Satellitenspektren eines Menthylrestes, wie sie dem 2D-Doppelquantendiagramm entnommen werden können. Die  $^{13}\text{C}$ -Hauptsignale für Moleküle mit nur einem  $^{13}\text{C}$ -Kern sind vollständig unterdrückt. Die Zuordnung aller Signale zum jeweiligen Menthylrest ist durch die Doppelquantenfrequenz der einzelnen A,X-Systeme eindeutig gegeben und basiert nicht auf dem Betrag oder der genauen Kenntnis der  $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ -Kopplungskonstanten. Die  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ -Kopplungskonstanten bleiben in der  $F_2$ -Dimension, die auch die chemischen Verschiebungen enthält, erhalten (Meßfrequenz 100.6 MHz, Meßzeit ca. 36 h, Substanzbedarf ca. 0.5 g).



phosphan sind die beiden Menthylreste diastereotop und liefern in  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren zehn Signalpaare. Mit dem 2D-INADEQUATE-Experiment gelingt es, die  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen individueller Menthylreste eindeutig zuzuordnen<sup>[136]</sup>. Anschließend kann man die  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Kopplungen benutzen, um die Vorzugskonformation dieses Moleküls bei verschiedenen Temperaturen zu ermitteln. Letztere ist in Zusammenhang mit der Verwendung dieses Phosphans bei katalytischen asymmetrischen CC-Verknüpfungen von Interesse.

Die im Vergleich zum 1D-INADEQUATE-Experiment längere Meßzeit für das 2D-Experiment wird durch eine Reihe von Vorteilen aufgehoben: So wirkt sich bei den 2D-Spektren starke Kopplung in den Satellitenspektren<sup>[79]</sup> ebenso wie die ungenügende Unterdrückung des Hauptsignals weniger störend aus. Auch kann, und das ist zweifellos der wichtigste Vorteil, die Analyse der CC-Verknüpfung ohne spezielle Vorinformation erfolgen, selbst dann, wenn  $^1J(\text{C}, \text{C})$  von 30–70 Hz variiert und Spektralbreiten von 20 kHz erforderlich sind<sup>[137]</sup>. Voraussetzung hierfür sind allerdings gelöste Substanzmengen von ca. 0.5 g.

### 3.6. 2D-Austausch-Spektroskopie

Die zweidimensionale Austausch-Spektroskopie<sup>[118]</sup> basiert auf einem Transfer von Magnetisierung, wie er beim Kern-Overhauser-Effekt<sup>[48]</sup> (NOE) oder im Falle von chemischen Austauschvorgängen<sup>[138]</sup> stattfindet. Experimente



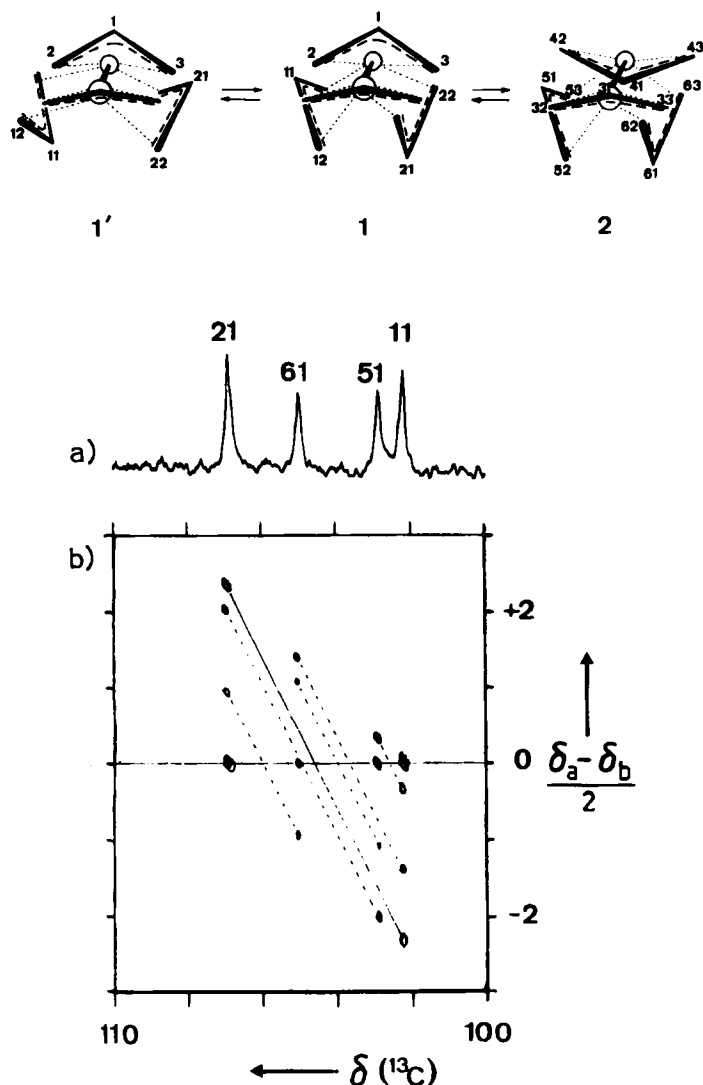


Fig. 42. 2D- $^{13}\text{C}$ -Austausch-NMR-Spektren für  $(\eta^3\text{-Allyl})_4\text{Cr}_2$  in  $[\text{D}_6]\text{Benzol}$  [146]: a) 1D- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum, Meßfrequenz 100.6 MHz; b) das mit der Pulsfolge  $90^\circ_t\text{-}t_1/2\text{-}90^\circ_A\text{-}t_1/2\text{-}90^\circ_F$ -FID aufgenommene Korrelationsdiagramm;  $t_1$  wurde von 0–25.6 ms über 256 Inkremente variiert, die Mischzeit betrug 2 s. In der horizontalen Achse ( $F_2$ -Dimension) sind die  $^{13}\text{C}$ -Resonanzen, in der vertikalen Achse ( $F_1$ -Dimension) sind Verschiebungsdifferenzen dargestellt.  $^{13}\text{C}$ -Atome, die sich im chemischen Austausch befinden, liefern Kreuzsignale.

Molekülen, als das am besten geeignete Verfahren zur qualitativen Untersuchung von chemischen Austauschmechanismen. Ein Beispiel aus der metallorganischen Chemie zeigt Figur 42.

### 3.7. Experimentelle Aspekte der 2D-NMR-Spektroskopie

Die Absolutwertdarstellung der 2D-Spektren löst zwar das Problem der Phasenkorrektur und führt zugleich zu einer Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses, hat aber den Nachteil, daß die Signale an der Basis verbreitert sind. Dies gilt besonders für  $J$ -aufgelöste 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektren, da aufgrund der Drehung der Datenmatrix die Absorptions- und Dispersionskomponenten überlappen. Infolgedessen lassen sich in der Absolutwert-Darstellung Multipletts von Komponenten geringer Konzentration neben intensiven Linien schwer identifizieren. Neben speziellen Aufnahmetechniken<sup>[147]</sup>, Phasenprogrammen<sup>[148]</sup> und Projektionsarten<sup>[149]</sup> spielen Filterfunktionen<sup>[95]</sup> bei 2D-

Spektren zur Lösung solcher Probleme eine besondere Rolle. Sicherlich ist die richtige Wahl der Präparationszeit und geeigneter Filterfunktionen von entscheidendem Einfluß für das Gelingen eines 2D-Experiments. Filterfunktionen, die symmetrisch zum Mittelpunkt der Zeitvariablen  $t_2$  sind, sogenannte Pseudoechos<sup>[150]</sup>, kommt dabei besondere Bedeutung zu, denn sie eliminieren die symmetrischen Dispersionsanteile vollständig und liefern eine zentrosymmetrische Signalform. Nachteil dieser Filterfunktionen ist ein Empfindlichkeitsverlust, so daß in vielen Fällen phasenverschobene Sinusfunktionen einen guten Kompromiß zwischen Empfindlichkeit, Auflösung und Linienform ergeben.

Die Kopplungskonstanten bestimmt man in 2D-Spektren anhand von Querschnitten durch das 2D-Profil. Die Verwendung von Filterfunktionen, die Absolutwert-Darstellung oder Spektren höherer Ordnung können dazu führen, daß die so gewonnenen Kopplungskonstanten gelegentlich geringfügig von den aus 1D-Spektren erhaltenen Werten abweichen. Im allgemeinen ergeben phasenkorrigierte Spektren aus phasenempfindlichen Querschnitten vollständige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen beider Methoden<sup>[151]</sup>. Mehrere Verfahren zur Darstellung  $J$ -aufgelöster 2D-Absorptionsspektren sind bekannt<sup>[149, 152]</sup>.

Weitere Verbesserungen der Pulsfolge zur Aufnahme  $J$ -aufgelöster 2D-Spektren haben die schnellere Wiederholbarkeit des Experiments zum Ziel<sup>[153]</sup>. Dies ist für die Anwendung bei kleineren Molekülen mit kurzen Relaxationszeiten besonders wichtig. Wenn schnelle und genügend große Massenspeicher vorhanden sind, kann die direkte Aufnahme von vollständigen Spinechoserien vorteilhaft sein<sup>[154, 155]</sup>. Diese Technik erlaubt zudem eine einfache Darstellung der Signale in Absorption, kurze Aufnahmezeiten und eine Datenverarbeitung sowohl zu 2D- als auch zu 1D-Spektren<sup>[155]</sup>. Letzteres ist von Interesse, wenn kleine Moleküle in Gegenwart von großen Molekülen nachgewiesen werden müssen.

Ebenso wie für die konventionellen 1D-Spektren ist es bei den 2D-heteroskalar-korrelierten Spektren von Vorteil, neben dem  $^{13}\text{C}$ -Impuls auch den  $^1\text{H}$ -Impuls in die Mitte des Spektralbereichs zu legen. Quadraturdetektion in der  $F_1$ - und  $F_2$ -Dimension bedingt, daß zwischen positiven und negativen Frequenzen unterschieden werden kann. Vorteile der Quadraturdetektion sind die gleichmäßigere Anregung aller Signale einer Kernsorte und die Verringerung des Spektralbereichs. Dies bedeutet, daß die Größe der 2D-Matrix um die Hälfte reduziert wird, das Signal/Rausch-Verhältnis in der  $F_1$ -Dimension um den Faktor  $\sqrt{2}$  steigt und die Meßzeit etwa um den Faktor 4 abnimmt. Um dies zu erreichen, werden die Phasen der beiden Protonenimpulse und die des Empfängers cyclisch vertauscht<sup>[156]</sup>, wodurch die in der Evolutionszeit erzeugte Amplitudenmodulation in eine Phasenmodulation umgewandelt wird. Üblicherweise<sup>[157]</sup> werden heteroskalar-korrelierte 2D-Experimente mit acht Phasencyclen durchgeführt, die Quadraturdetektion in beiden Dimensionen ermöglichen und eine gute Unterdrückung von Fehlersignalen („phantom“ und „ghost peaks“) bewirken.

Ähnliche Überlegungen gelten auch für  $J$ -aufgelöste<sup>[158]</sup> und skalar-korrelierte 2D-Spektren, wie COSY<sup>[126b]</sup>, SECSY und NOESY. Hier erlauben 16 Phasencyclen Qua-

draturdetektion und eine gute Unterdrückung von Fehlersignalen. Da in diesen Spektren die Kreuzsignale jeweils zweimal auftauchen, ist eine Symmetriekorrelation dieser Daten zur Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses und zur Identifizierung von Fehlersignalen hilfreich<sup>[159, 160]</sup>.

Bei <sup>13</sup>C-INADEQUATE-Experimenten werden nur die Satelliten detektiert und die 200mal stärkeren Hauptsignale unterdrückt. In der Praxis sind dafür 32 Phasencyklen nötig, optimale Hauptsignalunterdrückung erreicht man jedoch mit 256 Phasencyklen<sup>[80, 130]</sup>. Für 2D-INADEQUATE-Experimente bilden 64 Phasencyklen einen guten Kompromiß. Insgesamt haben die Phasencyklen für die Zerstörung der Restmagnetisierung, die Unterdrückung von Fehlersignalen und die schnellere Wiederholbarkeit des Experiments große Bedeutung.

#### 4. Ausblick für die Praxis

Die Vielfalt der heute zur Verfügung stehenden NMR-Meßmethoden bringt es mit sich, daß die Entscheidung darüber, mit welchem Verfahren das betreffende Problem am besten gelöst werden kann, oft schwierig ist. In vielen Fällen erzwingt die vorhandene Geräteausrüstung eine Vorauswahl. Aus diesem Grund, aber auch aus anderen Gründen, werden die 1D-Verfahren ihren Platz neben den 2D-Methoden behaupten. 1D-Spektren erfordern in der Regel weniger Meßzeit, lassen sich schon mit einfachen Pulssendern durchführen und haben bei den heute verfügbaren Datenspeichern eine höhere digitale Auflösung. 2D-Experimente profitieren ferner bezüglich Meßzeit und Interpretationsaufwand von 1D-Information, die deshalb voll ausgeschöpft werden sollte. Die praktische Erfahrung wird dann schnell zeigen, wie 2D-Experimente für den jeweiligen Problemkreis optimal genutzt werden können und wo sie den 1D-Methoden überlegen sind. Dabei sollte nicht übersehen werden, daß 2D-Experimente auch mit herkömmlichen Spektrometern bei Elektromagnetfeldstärken erfolgreich durchgeführt werden können, also in Situationen, in denen 1D-Methoden häufiger versagen als bei hohen Feldern. Bei 2D-Experimenten ist man heute weniger auf die hohe Feldstärke als auf gut lösliche Proben, d.h. hohe Konzentrationen, angewiesen.

Polarisationstransfer, heteronucleare Verschiebungskorrelationen und *J*-aufgelöste 2D-NMR-Spektroskopie sind zweifellos die wichtigsten neuen Techniken, die sowohl für die NMR-Spektroskopie seltener Kerne als auch für die komplizierter Naturstoffe einen wesentlichen Fortschritt gebracht haben. Die 2D-<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-Verschiebungskorrelation ist hier bereits heute – auch hinsichtlich des Zeitbedarfs – den 1D-Techniken der selektiven Doppelresonanz überlegen. Die 2D-NOE-Korrelation verbessert ferner die Möglichkeit, Nachbarschaftsverhältnisse in Molekülen nicht nur entlang der Bindungen, sondern auch über den Raum hinweg zu verfolgen, ein wichtiger Schritt auf dem Wege zur kompletten Strukturaufklärung gelöster Moleküle.

Man geht sicher nicht fehl in der Annahme, daß in den nächsten Jahren neben der Entwicklung weiterer Meßverfahren – etwa auf dem Gebiet der Mehrquantenspektren – Verbesserungen der existierenden Methoden hinsichtlich Meßzeit und Substanzbedarf im Vordergrund der Bemü-

hungen stehen werden. Dazu wird nicht zuletzt der zunehmende Umgang mit den neuen Techniken, zu dem unser Artikel ermuntern soll, beitragen. Soviel steht jetzt schon fest: Die faszinierende Physik der Spinsysteme mit ihren zahlreichen Praxisbezügen stellt ein wichtiges Kapitel moderner Grundlagenforschung dar.

*Dipl.-Chem. P. Schmitt und Dipl.-Chem. J. R. Wesener, Siegen, danken wir für die Durchführung einer Reihe von Experimenten. Für die Unterstützung eigener Arbeiten gilt unser Dank der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie. R. B. dankt Prof. Dr. G. Wilke, Mülheim, für die stete Förderung seiner Untersuchungen.*

Eingegangen am 25. Januar 1983 [A 454]

- [1] R. K. Harris, B. E. Mann: *NMR and the Periodic Table*, Academic Press, London 1978; C. Brevard, P. Granger: *Handbook of High-Resolution Multinuclear NMR*, Wiley, New York 1981.
- [2] R. E. Wasylishen, C. A. Fyfe, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* 12 (1982) 1.
- [3] R. E. Gordon, P. E. Hanley, D. Shaw, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 15 (1982) 1; R. A. Iles, A. N. Stevens, J. R. Griffiths, *ibid.* 15 (1982) 49; P. Diehl, E. Fluck, R. Kosfeld: *NMR – Basic Principles and Progress*, Bd. 19, Springer, Berlin 1981; A. M. Gronenborn, K. Roth, *Chem. Unserer Zeit* 16 (1982) 1, 35.
- [4] Ob das immer gelungen ist, muß dahingestellt bleiben. Bodenhausen [69] hat die Situation für eine Reihe von Fällen bereits treffend mit dem Zitat „l'essentiel n'est pas visible“ (Saint-Exupéry: *Le Petit Prince*) charakterisiert.
- [5] a) T. C. Farrar, E. D. Becker: *Pulse and Fourier-Transform NMR*, Academic Press, New York 1971; b) D. Shaw: *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, Elsevier, Amsterdam 1976; c) H. Günther: *NMR Spectroscopy*, Wiley, Chichester 1980.
- [6] Unter einem *Impuls* versteht man in der Hochfrequenztechnik ein starkes Hochfrequenzfeld kurzer Dauer; eine periodische Folge von Impulsen wird als *Puls* bezeichnet (vgl. z. B. O. Zilke, H. Brunswig: *Lehrbuch der Hochfrequenztechnik*, Springer, Berlin 1974, Bd. 2, S. 348). Entsprechend verwenden wir hier den Begriff Impuls immer dann, wenn das Einzelereignis im Vordergrund steht.
- [7] H. C. Torrey, *Phys. Rev.* 76 (1949) 1059.
- [8] Wir verwenden hier und im folgenden immer  $\nu_A > \nu_X$ ; bei einem heteronuclearen Spinsystem gilt also  $\gamma_A > \gamma_X$ , d.h. der Kern A ist der empfindlichere von beiden Kernen.
- [9] E. L. Hahn, *Phys. Rev.* 80 (1950) 580.
- [10] Vgl. z. B. [5b], S. 139; [5c], S. 321.
- [11] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 2229.
- [12] E. L. Hahn, D. E. Maxwell, *Phys. Rev.* 88 (1952) 1070.
- [13] a) W. Stempfle, E. G. Hoffmann, *Z. Naturforsch. A* 25 (1970) 2000; b) I. D. Campbell, C. M. Dobson, R. J. P. Williams, P. F. Wright, *FEBS Lett.* 57 (1975) 96.
- [14] D. W. Brown, T. T. Nakashima, D. L. Rabenstein, *J. Magn. Reson.* 45 (1981) 302; D. L. Rabenstein, T. T. Nakashima, *Anal. Chem.* 51 (1979) 1465 A.
- [15] M. H. Levitt, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 39 (1980) 533.
- [16] C. LeCocq, J.-Y. Lallemand, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1981, 150.
- [17] D. J. Cookson, B. E. Smith, *Org. Magn. Reson.* 16 (1981) 111.
- [18] M. R. Bendall, D. M. Doddrell, D. T. Pegg, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 4603.
- [19] J. C. Beloeil, C. LeCocq, J.-Y. Lallemand, *Org. Magn. Reson.* 19 (1982) 112.
- [20] Pei Feng-hui, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 48 (1982) 318.
- [21] H. J. Jakobsen, O. W. Sørensen, W. S. Brey, P. Kanyha, *J. Magn. Reson.* 48 (1982) 328.
- [22] S. L. Patt, J. N. Shoolery, *J. Magn. Reson.* 46 (1982) 535.
- [23] K.-F. Elgert, R. Kosfeld, *J. Magn. Reson.*, im Druck.
- [24] P. Schmitt, J. R. Wesener, H. Günther, *J. Magn. Reson.* 52 (1983) 511.
- [25] J. R. Wesener, H. Günther, *Org. Magn. Reson.*, im Druck.
- [26] J. R. Wesener, H. Günther, *J. Am. Chem. Soc.*, im Druck.
- [27] P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* 45 (1981) 418.
- [28] K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *J. Magn. Reson.* 12 (1973) 337.
- [29] S. Sørensen, R. S. Hansen, H. J. Jakobsen, *J. Magn. Reson.* 14 (1974) 243.
- [30] A. A. Chalmers, K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *Org. Magn. Reson.* 6 (1974) 445.
- [31] H. J. Jakobsen, S. Aa. Linde, S. Sørensen, *J. Magn. Reson.* 15 (1974) 385.
- [32] S. Aa. Linde, H. J. Jakobsen, B. J. Kimber, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 3219.
- [33] K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *Org. Magn. Reson.* 9 (1977) 557.

- [34] H. J. Jakobsen, W. S. Brey, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 774.
- [35] A. A. Chalmers, K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *J. Magn. Reson.* 15 (1974) 415.
- [36] S. Aa. Linde, H. J. Jakobsen, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 1041.
- [37] K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *Org. Magn. Reson.* 13 (1980) 100.
- [38] M. L. Martin, M. Trierweiler, V. Galasso, F. Fringuelli, A. Taticchi, *J. Magn. Reson.* 42 (1981) 155.
- [39] M. Barfield, S. R. Walter, K. A. Clark, G. W. Gribble, K. W. Haden, W. J. Kelly, C. S. Le Houllier, *Org. Magn. Reson.* 20 (1982) 92.
- [40] Für speziellere Aspekte vgl. H. J. Jakobsen, H. Bildsøe, *J. Magn. Reson.* 26 (1977) 183; H. Bildsøe, *ibid.* 27 (1977) 393; K. G. R. Pachler, P. L. Wessels, *ibid.* 28 (1977) 53; O. W. Sørensen, H. Bildsøe, H. J. Jakobsen, *ibid.* 45 (1981) 325; J. Voigt, J. P. Jakobsen, *ibid.* 45 (1981) 510.
- [41] A. A. Maudsley, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* 50 (1977) 368.
- [42] G. A. Morris, R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 760.
- [43] W. Städeli, P. Bigler, W. von Philipsborn, *Org. Magn. Reson.* 16 (1981) 170.
- [44] M. Schumacher, H. Günther, *Chem. Ber.* 116 (1983) 2001.
- [45] D. P. Burum, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 39 (1980) 163.
- [46] G. A. Morris, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 428.
- [47] P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* 41 (1980) 287.
- [48] J. H. Noggle, R. E. Schirmer: *The Nuclear Overhauser Effect*, Academic Press, New York 1971; vgl. auch [5c], S. 302.
- [49] C. Brevard, G. C. van Stein, G. van Koten, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 6746.
- [50] C. Brevard, R. Schimpf, *J. Magn. Reson.* 47 (1982) 528.
- [51] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, W. Brooks, M. R. Bendall, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 727.
- [52] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, M. R. Bendall, *J. Magn. Reson.* 48 (1982) 323; D. T. Pegg, D. M. Doddrell, M. R. Bendall, *J. Chem. Phys.* 77 (1982) 2745.
- [53] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 6388.
- [54] M. R. Bendall, D. T. Pegg, D. M. Doddrell, D. H. Williams, *J. Org. Chem.* 47 (1982) 3021; M. R. Bendall, D. M. Doddrell, D. T. Pegg, W. E. Hull: *DEPT-Bruker-Informationsbroschüre*, Bruker Analytische Meßtechnik, Karlsruhe 1982; M. R. Bendall, D. T. Pegg, D. M. Doddrell, S. R. Jones, R. I. Willing, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1982, 1138.
- [55] R. Köster, W. Dahlhoff, S. Penades, R. Benn, unveröffentlicht.
- [56] R. Freeman, T. H. Mareci, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* 42 (1981) 341.
- [57] P. L. Rinaldi, N. J. Baldwin, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5791.
- [58] G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* 41 (1980) 185.
- [59] J. Kowalewski, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* 47 (1982) 331.
- [60] D. Marion, C. Garbay-Jauregniberry, B. P. Roques, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5573.
- [61] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, M. R. Bendall, W. M. Brooks, D. M. Thomas, *J. Magn. Reson.* 41 (1980) 492.
- [62] D. T. Pegg, D. M. Doddrell, W. M. Brooks, M. R. Bendall, *J. Magn. Reson.* 44 (1981) 32.
- [63] O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 51 (1983) 477.
- [64] P. E. Hansen, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* 11A (1981) 66; V. Wray, P. E. Hansen, *ibid.* 11A (1981) 99; J. Kowalewski, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 11 (1977) 1.
- [65] K. Frei, H. J. Bernstein, *J. Chem. Phys.* 38 (1963) 1216; J. M. Schulman, M. D. Newton, *J. Am. Chem. Soc.* 96 (1974) 6295; J. Wardener, W. Lüttke, R. Bergholz, R. Machinek, *Angew. Chem.* 94 (1982) 873; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 872.
- [66] F. W. Wehrli, T. Wirthlin: *Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra*, Heyden, London 1976, S. 121.
- [67] H. Seto, T. Sato, H. Yonehara, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 8461.
- [68] A. Bax, R. Freeman, S. P. Kempell, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 4849.
- [69] G. Bodenhausen, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 14 (1980) 113.
- [70] A. Wokaun, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* 52 (1977) 407.
- [71] L. Müller, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 4481.
- [72] R. Benn, A. Rufinska, *J. Organomet. Chem.* 238 (1982) C27.
- [73] R. Richarz, W. Ammann, T. Wirthlin, *J. Magn. Reson.* 45 (1981) 270.
- [74] R. Richarz, T. Wirthlin: *Varian Informationsblatt Z13*, Zug 1981.
- [75] P. Schmitt, H. Günther, *J. Magn. Reson.* 52 (1983) 497.
- [76] G. Bodenhausen, C. M. Dobson, *J. Magn. Reson.* 44 (1981) 212.
- [77] P. J. Hore, E. R. P. Zuiderweg, K. Nicolay, K. Dijkstra, R. Kaptein, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 4286.
- [78] P. J. Hore, R. M. Scheck, A. Volbeda, R. Kaptein, J. H. van Boom, *J. Magn. Reson.* 50 (1982) 328.
- [79] A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 41 (1980) 507.
- [80] O. W. Sørensen, R. Freeman, T. Frenkiel, T. H. Mareci, R. Schuck, *J. Magn. Reson.* 46 (1982) 180.
- [81] R. Benn, *J. Magn. Reson.*, im Druck.
- [82] B. L. Tomlinson, H. D. W. Hill, *J. Chem. Phys.* 59 (1973) 1775.
- [83] a) G. Bodenhausen, R. Freeman, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* 23 (1976) 171; b) G. A. Morris, R. Freeman, *ibid.* 29 (1978) 433.
- [84] Zum literarischen Bezug vgl. [83b].
- [85] P. Schmitt, H. Günther, unveröffentlicht.
- [86] S. Forsén, R. A. Hoffmann, *J. Chem. Phys.* 39 (1963) 2892; R. A. Hoffmann, S. Forsén, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 1 (1966) 15.
- [87] E. E. Wille, D. S. Stephenson, P. Capriel, G. Binsch, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 405.
- [88] R. Freeman, S. P. Kempell, M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* 35 (1979) 447; M. H. Levitt, R. Freeman, *ibid.* 43 (1981) 502; M. H. Levitt, R. Freeman, T. Frenkiel, *ibid.* 47 (1982) 328; 50 (1982) 157; R. Freeman, T. Frenkiel, M. H. Levitt, *ibid.* 50 (1982) 345. – Zur Theorie der Breitbandentkopplung vgl. auch J. S. Waugh, *J. Magn. Reson.* 49 (1982) 517; J. W. M. Jacobs, J. W. M. van Os, W. S. Veeman, *ibid.* 51 (1983) 56.
- [89] Die Idee der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie stammt von J. Jeener (Vortrag, Ampère Int. Summer School, Basko Polje 1971) und wurde in ihrer allgemeinen Bedeutung zuerst von R. R. Ernst erkannt (vgl. *Chimia* 29 (1975) 179 sowie [11]). Eine Schilderung der Entwicklung findet man in [90a].
- [90] Zusammenfassende Beschreibungen der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie: a) R. Freeman, G. A. Morris, *Bull. Magn. Reson.* 1 (1979) 5; b) G. A. Morris in A. G. Marshall: *Fourier, Hadamard and Hilbert Transformations in Chemistry*, Plenum, New York 1982; c) R. Freeman, *Proc. R. Soc. London* 373 (1980) 149; d) A. Bax: *Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance in Liquids*, Reidel, Dordrecht 1982.
- [91] L. Müller, A. Kumar, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 63 (1975) 5490.
- [92] Hier beträgt die Aufspaltung relativ zum Zentrum  $\pm J$ , beim Dublett nur  $\pm J/2$ .
- [93] G. Bodenhausen, R. Freeman, R. Niedermeyer, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* 26 (1977) 133.
- [94] Eine vergleichende Diskussion des Zeitbedarfs für 1D- und 2D-NMR-Experimente findet man bei W. P. Aue, P. Bachmann, A. Wokaun, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 40 (1980) 175.
- [95] J. C. Lindon, A. G. Ferrige, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 14 (1980) 27.
- [96] R. R. Ernst, R. Freeman, W. A. Anderson, *J. Chem. Phys.* 46 (1967) 1125.
- [97] R. K. Hester, J. L. Ackerman, B. L. Neff, J. S. Waugh, *Phys. Rev. Lett.* 36 (1976) 1081.
- [98] K. Nagayama, P. Bachmann, K. Wüthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 31 (1978) 133.
- [99] Die Verwendung von  $\delta$ -Werten impliziert die Umrechnung des Frequenzparameters  $\nu$  [Hz] auf die entsprechende  $\delta$ -Skala [ppm].
- [100] G. Bodenhausen, R. Freeman, R. Niedermeyer, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* 24 (1976) 291; L. Müller, A. Kumar, R. R. Ernst, *ibid.* 25 (1977) 383.
- [101] a) G. Bodenhausen, R. Freeman, D. L. Turner, *J. Chem. Phys.* 65 (1976) 839; b) R. Freeman, S. P. Kempell, M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* 34 (1979) 663.
- [102] R. Benn, *Z. Naturforsch. B37* (1982) 1054.
- [103] R. Freeman, G. Morris, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* 26 (1977) 373.
- [104] G. Bodenhausen, S. P. Kempell, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* 35 (1979) 337.
- [105] G. Bodenhausen, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* 41 (1981) 200; M. H. Levitt, R. Freeman, *ibid.* 43 (1981) 65.
- [106] A. Bax, R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 1099.
- [107] W. P. Aue, J. Karhan, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 4226.
- [108] Voraussetzung für diese und die folgenden Betrachtungen sind Spektren von Spinsystemen erster Ordnung. Zum Einfluß starker Kopplung vgl. z. B. [11] oder G. Wider, R. Baumann, K. Nagayama, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *J. Magn. Reson.* 42 (1981) 73.
- [109] Analoge Informationen erhält man nur aus den  $^1\text{H}$ -entkoppelten  $^2\text{H}$ -NMR-Spektren von Molekülen mit natürlichem Deuteriumgehalt (0,015%).
- [110] R. Benn, W. Riemer, *Z. Naturforsch. B36* (1981) 488.
- [111] K. Nagayama, K. Wüthrich, P. Bachmann, R. R. Ernst, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 78 (1977) 1.
- [112] K. Nagayama, K. Wüthrich, *Eur. J. Biochem.* 114 (1981) 365.
- [113] K. Nagayama, *Adv. Biophys.* 14 (1981) 139.
- [114] L. D. Hall, J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 5703; D. Leibfritz, E. Haupt, M. Feigel, W. E. Hull, W.-D. Weber, *Liebigs Ann. Chem.* 1982, 1971.
- [115] L. D. Hall, S. Sukumar, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 3120.
- [116] J. R. Everett, D. W. Hughes, A. D. Bain, R. A. Bell, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6776.
- [117] H. Lehmkuhl, J. Grundke, R. Benn, G. Schroth, R. Mynott, *J. Organomet. Chem.* 217 (1981) C5.
- [118] B. H. Meier, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6441; J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 71 (1979) 4546; S. Macura, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* 41 (1980) 95; A. Kumar, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 95 (1980) 1; A. Kumar, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *ibid.* 96 (1980) 1156.
- [119] A. A. Maudsley, L. Müller, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 28 (1977) 463; G. Bodenhausen, R. Freeman, *ibid.* 28 (1977) 471; *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 320.
- [120] R. Freeman, G. A. Morris, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1978, 684.

- [121] G. A. Morris, L. D. Hall, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 4703.
- [122] D. C. Finster, W. C. Hutton, R. N. Grimes, *J. Am. Chem. Soc.* **102** (1980) 400.
- [123] R. Benn, A. Rufinska, G. Schroth, *J. Organomet. Chem.* **217** (1981) 91.
- [124] H. Kessler, E. Hehlein, R. Schuck, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 4534.
- [125] P. H. Bolton, G. Bodenhausen, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 1080.
- [126] a) A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **42** (1981) 164; b) *ibid.* **44** (1981) 542.
- [127] K. Nagayama, A. Kumar, K. Wüthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **40** (1980) 321.
- [128] N. Darby, T. M. Cresp, F. Sondheimer, *J. Org. Chem.* **42** (1977) 1960; H. Günther, M.-E. Günther, D. Mondeshka, H. Schmickler, F. Sondheimer, N. Darby, T. M. Cresp, *Chem. Ber.* **112** (1979) 71.
- [129] J. D. Mersh, J. K. M. Sanders, *J. Magn. Reson.* **50** (1982) 289.
- [130] W. E. Hull: *Two-Dimensional NMR*, Bruker Analytische Meßtechnik, Karlsruhe 1982; hier findet man zahlreiche experimentelle Hinweise, Anwendungsbeispiele und eine Literaturübersicht.
- [131] T. H. Mareci, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 158; *Abstr. 6<sup>th</sup> EENC Super-Nendaz*, Valais 1982, S. 64.
- [132] G. Eich, L. Braunschweiler, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *Abstr. 6<sup>th</sup> EENC Super-Nendaz*, Valais 1982, S. 14; G. Eich, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, unveröffentlicht; U. Piantini, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 6800.
- [133] P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 336; P. H. Bolton, G. Bodenhausen, *Chem. Phys. Lett.* **89** (1982) 139.
- [134] A. Bax, R. Freeman, T. A. Frenkiel, M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* **43** (1981) 478.
- [135] T. H. Mareci, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 158.
- [136] R. Benn, *Org. Magn. Reson.* **21** (1983) 60.
- [137] R. Jacquesy, C. Narbonne, W. E. Hull, A. Neszmelyi, G. Lukacs, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1982, 409.
- [138] G. Binsch, H. Kessler, *Angew. Chem.* **92** (1980) 445; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **19** (1980) 411.
- [139] W. von Philipsborn, *Angew. Chem.* **83** (1971) 470; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **10** (1971) 472.
- [140] W. E. Hull: *Bruker Report Nr. 1*, Bruker Analytische Meßtechnik, Karlsruhe 1978.
- [141] S. Macura, Y. Huang, D. Suter, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **43** (1981) 259.
- [142] C. Bösch, A. Kumar, R. Baumann, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *J. Magn. Reson.* **42** (1981) 159; G. Wagner, K. Wüthrich, *Eur. J. Biochem.* **114** (1981) 375; R. Baumann, A. Kumar, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *J. Magn. Reson.* **44** (1981) 76; S. Macura, K. Wüthrich, R. R. Ernst, *ibid.* **46** (1982) 269.
- [143] M. S. Broido, D. R. Kearns, *J. Magn. Reson.* **41** (1980) 496.
- [144] H. Kessler, W. Bermel, A. Friedrich, G. Krack, W. E. Hull, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 6297.
- [145] Y. Huang, S. Macura, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 5327.
- [146] R. Benn, *Angew. Chem.* **94** (1982) 633; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **21** (1982) 626.
- [147] R. Baumann, W. P. Aue, L. Müller, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **28** (1977) 29.
- [148] M. H. Levitt, R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **34** (1979) 675.
- [149] B. Blümich, D. Ziessow, *J. Magn. Reson.* **49** (1982) 151.
- [150] A. Bax, R. Freeman, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* **43** (1981) 333; A. de Marco, K. Wüthrich, *ibid.* **24** (1976) 201.
- [151] D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **39** (1980) 391.
- [152] L. D. Hall, S. Sukumar, *J. Magn. Reson.* **38** (1980) 555, 559.
- [153] W. Jin-Shan, Z. De. Zheng, J. Tao, H. Xiu-Wen, G. Guo-Bao, *J. Magn. Reson.* **48** (1982) 216.
- [154] A. Bax, A. F. Mehkopf, J. Smidt, *J. Magn. Reson.* **40** (1980) 213.
- [155] L. D. Hall, S. Sukumar, *J. Magn. Reson.* **40** (1980) 405.
- [156] Moderne NMR-Spektrometer ermöglichen die Anwendung unabhängiger Sender- und Entkopplerimpulse in 90°-Schritten längs der +x-, +y-, -x- und -y-Achse sowie die Wahl der Detektorphase. Wiederholt sich das Phasenprogramm nach n Schritten, so spricht man von einem n-fachen Phasencyclus. Für Mehrquanten-Untersuchungen sind kleinere Phasenverschiebungen von Interesse, die allerdings weiterer Hardware-Modifikationen bedürfen (vgl. M. Hintermann, L. Braunschweiler, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **50** (1982) 316).
- [157] A. Bax, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* **42** (1981) 501.
- [158] G. Bodenhausen, R. Freeman, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **27** (1977) 511.
- [159] R. Baumann, G. Wider, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *J. Magn. Reson.* **44** (1981) 76, 402.
- [160] J. D. Mersh, J. K. M. Sanders, *J. Magn. Reson.* **50** (1982) 171.