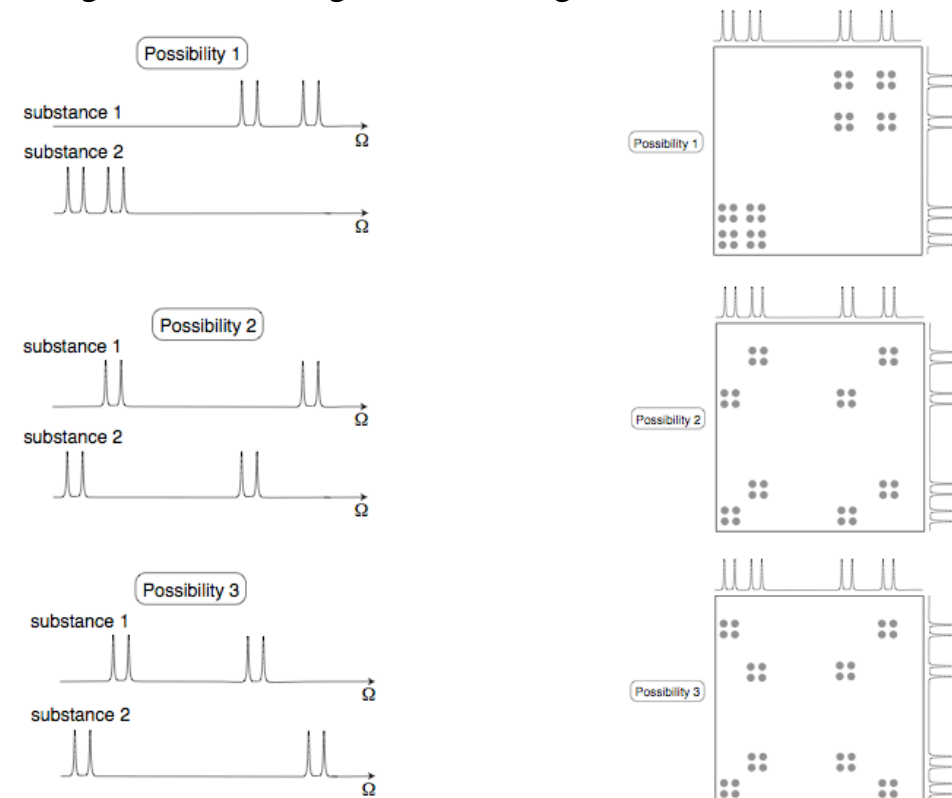


### 3.8 Mehrdimensionale NMR

Als einführendes Beispiel betrachten wir eine Mischung aus zwei Substanzen mit unterschiedlichen AX-Spinsystemen aber gleichen J-Kopplungskonstanten. Das zugehörige NMR-Spektrum besteht aus zwei überlagerten AX-Spektren mit jeweils zwei Doublets von Resonanzlinien (siehe 3.7.5). Die Gleichheit der Kopplungskonstanten für beide Substanzen führt

dazu, dass die Aufspaltungen der Doublets identisch sind und daher ist eine eindeutige Zuordnung der Resonanzen zu den beiden Substanzen nicht ohne weiteres möglich. In den meisten Fällen hilft sogar die Kenntnis der chemischen Verschiebungen nicht für eine eindeutige Identifizierung. Wenn es möglich wäre eine Art zweidimensionaler Korrelationskarte zu bekommen, aus der hervorgeht welche Linien zueinander gehören, dann könnte man die richtige Zuordnung vornehmen. Das ist in der Tat möglich mit einem zweidimensionalen NMR Experiment namens COSY. Die Idee dabei ist, Kohärenzen anzuregen, evolvieren zu lassen und dann zu übertragen. Da ein Kohärenztransfer nur zwischen gekoppelten Spins möglich ist, bekommt man eine Art Korrelationskarte, die die Zuordnung von Resonanzen zu den verschiedenen Molekülen



zu bekommen, aus der hervorgeht welche Linien zueinander gehören, dann könnte man die richtige Zuordnung vornehmen. Das ist in der Tat möglich mit einem zweidimensionalen NMR Experiment namens COSY. Die Idee dabei ist, Kohärenzen anzuregen, evolvieren zu lassen und dann zu übertragen. Da ein Kohärenztransfer nur zwischen gekoppelten Spins möglich ist, bekommt man eine Art Korrelationskarte, die die Zuordnung von Resonanzen zu den verschiedenen Molekülen

zulässt.

(Abbildungen siehe Malcolm H. Levitt: Spin dynamics. John Wiley & Sons 2001)

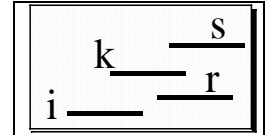
#### 3.8.1 2D Spektroskopie: Motivation und Grundlagen

Wenn man spektrale Information als Funktion von zwei unabhängigen Frequenzvariablen darstellt, erhält man ein zweidimensionales oder 2D Spektrum. Zweidimensionale Spektren bieten interessante Möglichkeiten für die Verbesserung der Auflösung oder um Informationen zu erhalten, welche auf andere Weise nicht zugänglich sind. In den meisten Fällen ist das Ziel eines 2D Experimentes die Verteilung der Information in eine Ebene statt auf einer Achse wie bei einem 1D Spektrum. Dadurch erhält man die Möglichkeit

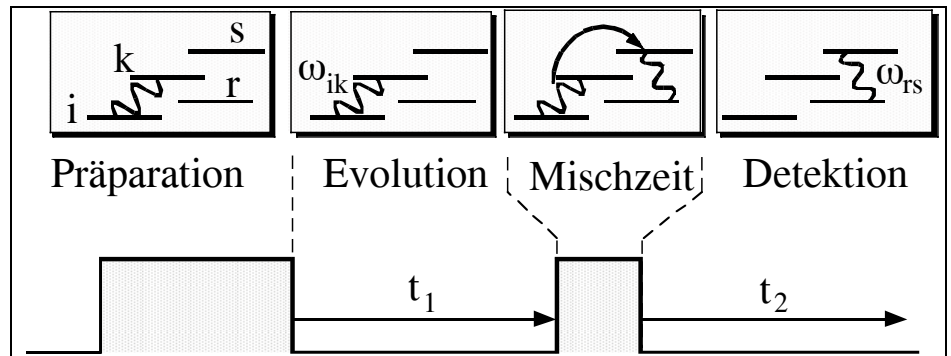
- die vorhandene Information leichter zu analysieren und / oder
- mehr Information ins Spektrum zu bringen.

Zweidimensionale Spektren werden praktisch ausschließlich im Zeitbereich aufgenommen. Man misst in diesem Fall das Signal zunächst als Funktion von zwei unabhängigen Zeiten und führt dann eine zweidimensionale Fouriertransformation bezüglich dieser beiden Zeiten durch, um das entsprechende Spektrum im Frequenzbereich zu erhalten.

Um zu sehen wie ein 2D Spektrum entsteht betrachten wir zunächst ein abstraktes quantenmechanisches System mit stationären Zuständen welche mit den Indizes i, k, r, s bezeichnet werden.



Man unterscheidet bei 2D Experimenten unterschiedliche Zeiten. Zunächst wird während der Präparationszeit im System eine Kohärenz erzeugt, also z.B. eine transversale Magnetisierung. Dies beinhaltet i. A. zunächst auch eine Relaxationszeit, während der durch Spin-Gitter Relaxation eine longitudinale Magnetisierung erzeugt wird. Anschließend wird durch einen RF Puls transversale Magnetisierung erzeugt, d.h. Kohärenz zwischen den Zuständen i, k, ... . In der Figur ist eine solche Kohärenz zwischen den Zuständen i und k mit einer Wellenlinie bezeichnet.



In der anschließenden Evolutionszeit entwickelt sich diese Kohärenz während einer Zeit  $t_1$  unter dem Einfluss des Hamiltonoperators  $\mathcal{H}_E$ . Die Kohärenz zwischen den Zuständen i und k erwirbt dabei einen Phasenfaktor

$$\rho_{ik}(t_1) = \rho_{ik}(0) e^{-i\omega_{ik}t_1} \quad \omega_{ik} = (\mathcal{E}_i - \mathcal{E}_k)/\hbar .$$

Berücksichtigen wir auch die Relaxation so erhalten wir den Endzustand als

$$\rho_{ik}(t_1) = \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik} + \gamma_{ik})t_1} .$$

Diese Evolution der Kohärenz entspricht im normalen eindimensionalen Experiment einem FID. Im 2D Experiment kann die Kohärenz aber auch Komponenten enthalten, welche nicht der Auswahlregel  $\Delta m = \pm 1$  gehorchen und damit nicht beobachtbarer Magnetisierung entsprechen. Unabhängig davon wird diese Kohärenz nicht gemessen.

An die Evolutionszeit schließt im Allgemeinen eine Mischzeit an, während der Kohärenz zwischen unterschiedlichen Übergängen ausgetauscht werden kann. Die Kohärenz kann während dieser Zeit auch als longitudinale Magnetisierung gespeichert werden, welche z.B. durch chemischen Austausch zwischen verschiedenen Spins übertragen werden kann. Im gezeichneten Beispiel nehmen wir an, dass die Kohärenz während der gesamten Mischzeit vom Übergang i-k nach r-s übertragen wird. Dabei bleiben sowohl der Absolutbetrag wie

auch die Phaseninformation  $e^{-i\omega_{ik}t_1}$  erhalten, d.h. die Kohärenz im Übergang r-s hat zu Beginn der Detektionszeit die Form

$$\rho_{rs}(t_1;0) = \sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik}+\gamma_{ik})t_1} .$$

Die Übertragung von Kohärenz zwischen unterschiedlichen Übergängen während der Mischzeit wird hier durch die Matrix  $\eta_{rs,ik}$  zusammengefasst.

Während der Detektionszeit findet wiederum eine freie Evolution unter dem entsprechenden Hamiltonoperator statt.

$$\rho_{rs}(t_1;t_2) = \sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik}+\gamma_{ik})t_1} e^{-(i\omega_{rs}+\gamma_{rs})t_2} .$$

Wir schreiben  $a_{rs}$  für den Beitrag dieses Dichteoperatorelementes zum beobachtbaren Signal

$$s(t_1, t_2) = \sum_{rs} a_{rs} \rho_{rs}(t_1;t_2) = \sum_{rs} a_{rs} \sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik}+\gamma_{ik})t_1} e^{-(i\omega_{rs}+\gamma_{rs})t_2} .$$

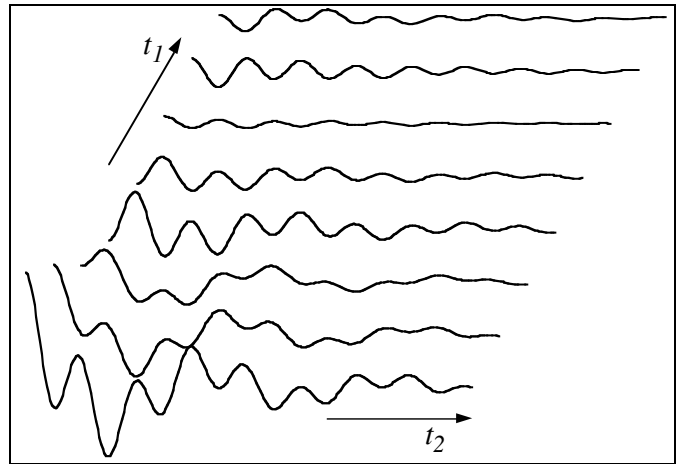
Dies ist das Signal, welches in einem 2D Experiment als Funktion der beiden Zeiten  $t_1, t_2$  gemessen wird.

### 3.8.2 Datenverarbeitung

Das Signal hängt somit von beiden Zeiten  $t_1$  und  $t_2$  ab. Dabei bezeichnet  $t_2$  die Zeit während der das Signal effektiv gemessen wird, während  $t_1$  die Dauer der Evolutionszeit bezeichnet. Man erhält eine zweidimensionale Datenmatrix indem man für eine Reihe von unterschiedlichen Evolutionszeiten jeweils einen FID misst.

In der Figur ist ein Beispiel für eine solche Datenmatrix gezeigt. Jede Spur entspricht dem FID für eine bestimmte Evolutionszeit  $t_1$ , welche von vorn nach hinten zunimmt. Die horizontal verlaufende Variable  $t_2$  ist die Zeit, welche während der Datenaufnahme läuft.

Für dieses Beispiel wurden nur zwei Übergänge berücksichtigt, nämlich i-k und r-s. Wir nehmen außerdem an, dass die transversale Relaxation für beide Übergänge identisch ist und schreiben dafür die Relaxationsrate  $\gamma_0$ .



Der FID ist dann

$$s_{fid}(t_1,t_2) = e^{-\gamma_0(t_1+t_2)} [\eta_{rs,ik} a_{rs} \cos(\omega_{ik}t_1) \cos(\omega_{rs}t_2) + \eta_{rs,rs} a_{rs} \cos(\omega_{rs}t_1) \cos(\omega_{rs}t_2) + \eta_{ik,ik} a_{ik} \cos(\omega_{ik}t_1) \cos(\omega_{ik}t_2) + \eta_{ik,rs} a_{ik} \cos(\omega_{rs}t_1) \cos(\omega_{ik}t_2)] .$$

Der erste Term entspricht einer Kohärenz, welche während der Evolutionszeit im Übergang  $ik$  lokalisiert war, während der Detektionszeit im Übergang  $rs$ . Der zweite Term befand sich während beiden Perioden im Übergang  $rs$ . Der dritte blieb im Übergang  $ik$  und der vierte wurde von  $rs$  nach  $ik$  übertragen.

Um diese Daten zu analysieren führt man eine zweidimensionale Fourier-Transformation bezüglich der beiden Variablen  $t_1$  und  $t_2$  durch:

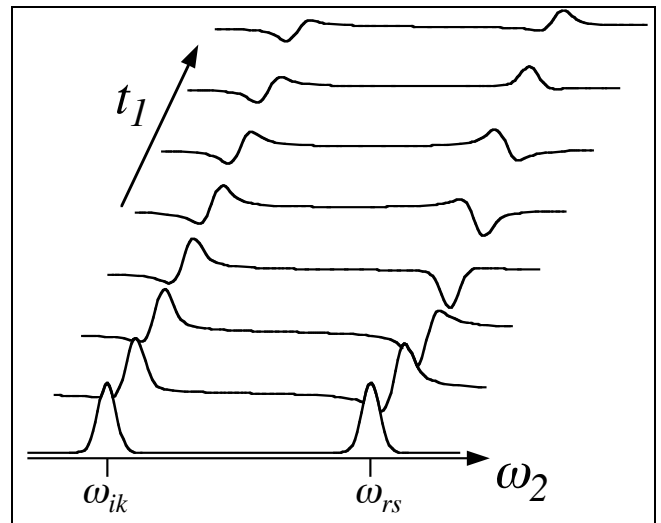
$$f(\omega_1, \omega_2) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{i\omega_1 t_1} \int_{-\infty}^{\infty} dt_2 e^{i\omega_2 t_2} s(t_1, t_2) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{i\omega_1 t_1} sf(t_1, \omega_2) .$$

Die innere Transformation  $t_2 \rightarrow \omega_2$  ist identisch zur Transformation der einzelnen FID's in eindimensionale Spektren. Wir erhalten damit Spektren zu jedem Wert der Evolutionszeit  $t_1$ :

$$sf(t_1, \omega_2) = e^{-\gamma_0 t_1} \{ [\eta_{rs,ik} e^{i\omega_{ik} t_1} + \eta_{rs,rs} e^{i\omega_{rs} t_1}] a_{rs} g(\omega_2 - \omega_{rs}) + a_{ik} [\eta_{ik,ik} e^{i\omega_{ik} t_1} + \eta_{ik,rs} e^{i\omega_{rs} t_1}] g(\omega_2 - \omega_{ik}) \} .$$

Hier stellt  $g(\omega_2 - \omega_{\alpha\beta})$  eine komplexe Lorentzlinie dar, welche um die Frequenz  $\omega_{\alpha\beta}$  zentriert ist.

Die Figur stellt den Realteil des Signals nach der ersten Fouriertransformation  $t_2 \rightarrow \omega_2$  dar. In horizontaler Richtung bildet es ein Spektrum als Funktion der Variablen  $\omega_2$ , welches Resonanzlinien bei den beiden Frequenzen  $\omega_{ik}$  und  $\omega_{rs}$  enthält. Amplitude und Phase dieser beiden Resonanzlinien ändern als Funktion der Evolutionszeit  $t_1$ , wobei das Verhalten für die beiden Linien unterschiedlich ist. Dies zeigt bereits dass die beiden detektierten Kohärenzen unterschiedliche Entwicklungen während der Evolutionszeit erfahren haben.

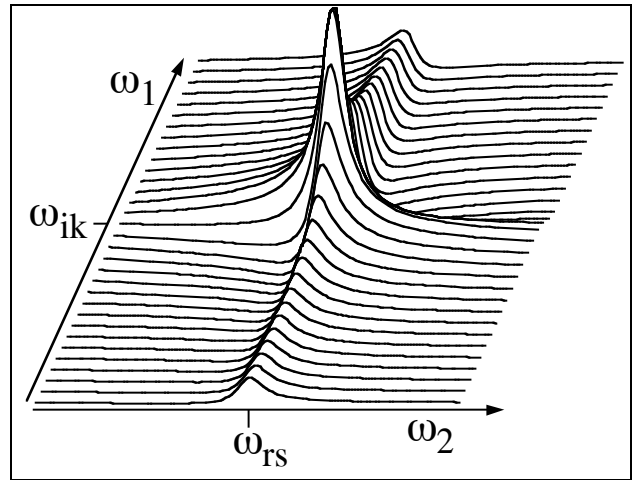


Das zweidimensionale Spektrum erhalten wir nach einer zweiten Fouriertransformation  $t_1 \rightarrow \omega_1$ . Die vier Signalkomponenten können jeweils durch eine zweidimensionale Linienform der Art

$$s(\omega_1, \omega_2) = g_2(\omega_1 - \omega_{ik}, \omega_2 - \omega_{rs})$$

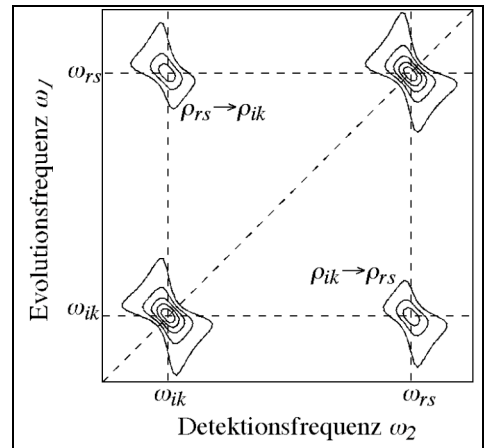
beschrieben werden.  $g_2$  ist eine zweidimensionale Lorentzlinie, welche um die Position  $(\omega_1 = \omega_{ik}, \omega_2 = \omega_{rs})$  zentriert ist.

Eine solche Resonanzlinie ist in der Figur dargestellt. Die Details der Linienform werden durch die Relaxation bestimmt. Allerdings kann man auch andere Varianten der Fouriertransformation verwenden. Bei der hier verwendeten "gewöhnlichen" Fouriertransformation entstehen lange "Rücken" entlang der beiden Frequenzachsen, welche anzeigen dass hier Absorption und Dispersion gemischt werden. Reine Absorptionslinien sind kreisförmig und führen zu besser aufgelösten Spektren. Man erhält sie durch eine geeignete Linearkombination von sin/cos transformierten Spektren.



### 3.8.3 Interpretation der Spektren

Das zweidimensionale Spektrum ist in der Figur in Höhenkurvendarstellung gezeigt. Die beiden Resonanzfrequenzen  $\omega_{ik}$ ,  $\omega_{rs}$  ergeben im zweidimensionalen Spektrum vier Linienpositionen. Die Linien auf der Diagonalen rühren von Kohärenzen her, welche während der Evolutionszeit und der Detektionszeit in den gleichen Übergängen waren. Diese sogenannten Diagonalpeaks enthalten die gleiche Information wie die Linien im eindimensionalen Spektrum.



Die Linien außerhalb der Diagonalen, die sogenannten Kreuzpeaks an den Positionen  $(\omega_1 = \omega_{ik}, \omega_2 = \omega_{rs})$  und  $(\omega_1 = \omega_{rs}, \omega_2 = \omega_{ik})$  zeigen an, dass hier ein Austausch von Kohärenz stattgefunden hat. Die Amplituden der Kreuzpeaks sind ein Maß für die Elemente  $\eta_{\alpha\beta, \nu\mu}$  der Austauschmatrix. Im Allgemeinen ist der Austausch in beide Richtungen gleich stark,  $\eta_{\alpha\beta, \nu\mu} = \eta_{\nu\mu, \alpha\beta}$ , so dass beide Kreuzpeaks gleich hoch sind und das Spektrum bezüglich der Diagonale symmetrisch ist.

Hier ist als Beispiel ein Proton-Proton COSY Spektrum von *galactose- $\alpha$ 1-2-methyl- $\alpha$ -mannoside* dargestellt (S. W. Homans: A Dictionary of Concepts in NMR, Oxford University Press 1989. Stichwort: Correlated Spectroscopy (COSY)). Oben ist das eindimensionale NMR-Spektrum zu sehen, darunter das zwei-dimensionale als Kontourplot. Die geraden Striche im 2D-Spektrum deuten an wie man, ausgehend von den aufgelösten Protonenresonanzen der beiden Monosaccharid-Ringe, die Identifizierung der skalar gekoppelten Protonen vornehmen kann.

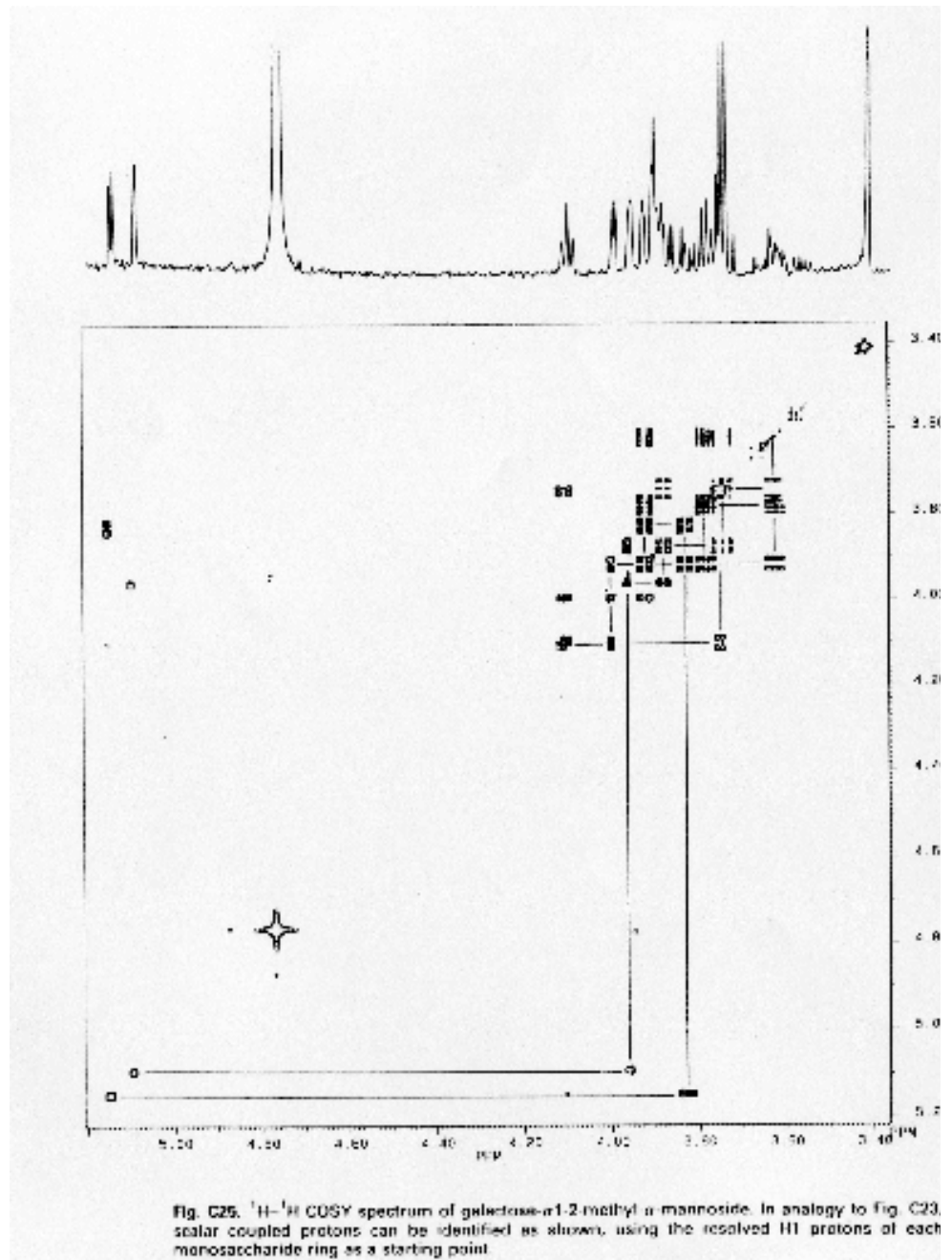


Fig. C25.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of galactose- $\alpha$ 1-2-methyl- $\alpha$ -mannoside. In analogy to Fig. C23, scalar coupled protons can be identified as shown, using the resolved H1 protons of each monosaccharide ring as a starting point.

### 3.8.4 Spektren mit mehr als 2 Dimensionen

Natürlich ist das Konzept der 2D Spektroskopie praktisch beliebig erweiterbar auf 3 und mehr Dimensionen. Bei der Spektroskopie der Proteine sind 3 Dimensionen heute sehr wichtig, während mehr Dimensionen aus Gründen der Messzeit praktisch nicht verwendet werden.

