

核磁共振二维 (2DNMR) 及解析方法

2. 化学位移相关谱

黎明 孙平川 何炳林

(南开大学 吸附分离功能高分子材料国家重点实验室 天津 300071)

摘要 本文介绍了同核化学位移相关谱的另一类 INADEQUATE (^{13}C - ^{13}C 相关谱) 谱、异核化学位移相关谱和基于多量子跃迁的逆检测异核化学位移相关谱 HMQC 和 HMBC, 并介绍了 INADEQUATE 谱在化合物结构测定及 ^{13}C 谱峰归属的研究中的重要应用价值; 以及 ^{13}C - ^1H 化学位移相关谱、HMQC 和 HMBC 谱的特点及解析方法。

关键词 INADEQUATE 谱, ^{13}C - ^1H 位移相关谱, 多量子相干, HMQC 谱, HMBC 谱

1 引言

在前文^[1]中我们介绍了 2DNMR 的基本原理、常用的一些重要概念, 并介绍了 J 耦合分解谱和 ^1H - ^1H COSY 的解析方法以及在分析化合物结构中的应用。这些 2DNMR 谱在提高谱的分辨率^[2], 提供核自旋之间的耦合信息^[2~5]等方面有着非常重要的意义。但是对于分析化合物的结构, 尤其是一些复杂化合物, 仅仅这些谱所提供的信息还远远不够, 特别是 ^1H - ^1H COSY 谱, 当化合物结构较为复杂时, 它本身的解析都变得十分困难, 更不用说为化合物的结构分析提供足够的信息了。好在 2DNMR 不仅仅局限于此, 它的灵活多变给了它充分的活力, 使其得到广泛的应用。在进行 2DNMR 实验时, 人们可根据自己的需要, 设计各种脉冲序列, 以获取所需的不同信息。象本文将要介绍的 INADEQUATE、 ^{13}C - ^1H 化学位移相关、HMQC 和 HMBC 等二维谱就在建立化合物 C-C 骨架结构及 C-H 键连接关系等方面有独到的长处。

2 天然丰度样品的双量子 ^{13}C 谱 (INADEQUATE) (Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment)^(6,7)

INADEQUATE 谱和前文^[1]中介绍过的 cosy 谱一样, 是一种同核化学位移相关谱, 只不过它是 ^{13}C - ^{13}C 化学位移相关谱, 而后者则是 ^1H - ^1H 化学位移相关谱。

众所周知, 确定化合物的 ^{13}C 谱的归属往往不是一件容易的事。目前常用的办法是, 选取一

定的模型化合物, 利用经验公式进行归属; 利用双共振方法, 供助弛豫信息等, 或者综合上述结果来分析。INADEQUATE 实验的出现, 给 ^{13}C 谱的归属提供了一种非常有效的方法。在质子去耦的碳谱中, 除了通常观察到的强 ^{13}C 信号外, 还有比它弱 200 倍的 ^{13}C - ^{13}C 卫星峰(由相邻的 ^{13}C 核相互耦合而产生。因 ^{13}C 的天然丰度仅为 1.1%, 出现 ^{13}C - ^{13}C 峰的几率只有 0.01% 所以 ^{13}C - ^{13}C 卫星峰比 ^{13}C 峰弱得多)。INADEQUATE 利用双量子跃迁的特性, 可以压住强的 ^{13}C 峰, 而突出弱的 ^{13}C - ^{13}C 卫星峰, 从而找到 J_{CC} , 并根据 J_{CC} 确定其近邻, 以确定化合物的骨架结构。 ^{13}C - ^{13}C 同核耦合构成二核体系, 孤立的 ^{13}C 不能产生双量子跃迁, 而两个耦合的 ^{13}C 则能产生一个双量子, 其频率等于两个相互耦合的 ^{13}C 核的化学位移之和。二维 INADEQUATE 技术可检测这种耦合碳的双量子跃迁频率。所以在 INADEQUATE 谱中如果两个碳有相同的双量子跃迁频率, 即可断定它们是邻居。

在 INADEQUATE 谱中, F_1 维是双量子跃迁频率, F_2 是 ^{13}C 化学位移, 分子中直接相连的碳原子在谱中都显示出相关信号。如果两个 ^{13}C 核有同样的双量子跃迁频率 (即在 2D INADEQUATE 谱中与 F_2 轴平行的水平线上出现一对峰), 就可判断这两个核为一对耦合对, 也就是说在化合物中它们是直接键连的邻居, 由此可以找出化合物中所有 ^{13}C 原子的连接顺序。图 1 是 1, 8-萘二烯的 ^{13}C 2D INADEQUATE 谱^[2], 上

面是一维质子去耦碳谱,由位于最低场的双键碳 C_7 作为“起始点”,可以找到 C_4 和 C_9 ,从化合物的结构可知, C_4 的化学位移应略大于 C_9 ,因此与 C_7 相连的两条水平线中,下面一条才代表 C_4 与 C_7 的相关;然后从 C_4 同样可找到 C_3 和 C_5 ,又由 C_3 可找到 C_2 ,由 C_5 找到 C_6 , C_6 找到 C_1 , C_1 找到 C_{10} ,余下一个便为 C_8 ,这样就很容易地将该化合物的碳谱进行了归属。

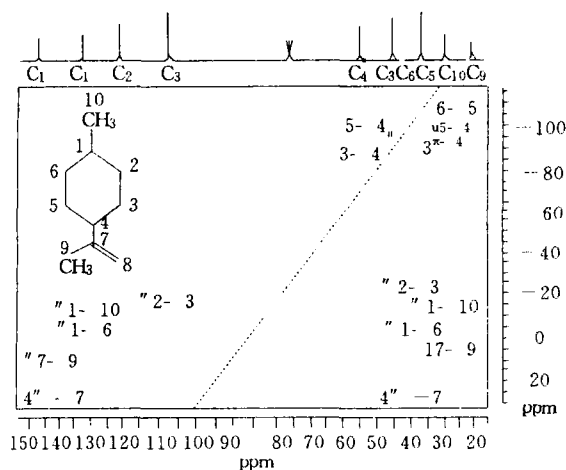


图1 1,8- 萘二烯的2D INADEQUATE谱

由上例可知,2D INADEQUATE 谱用于 ^{13}C 谱峰归属非常有效。但是由于 ^{13}C 的天然丰度较低,想要得到一张满意的2D INADEQUATE 谱需要耗费相当长的实验时间(一般约24h)而且要求样品浓度较高(数百mg/0.5ml以上)。尽管如此,人们还是不断地想办法,克服这些缺陷,以充分利用它在谱峰归属中的巨大作用。

3 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 异核化学位移相关谱^{8,9)} ($^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY) ($^{13}\text{C}-^1\text{H}$ Heteronuclear Chemical Shift Coherence Spectroscopy)

前在介绍的 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 2D INADEQUATE 谱建立的都是同种核(^1H 或 ^{13}C 核)之间的相关谱,而异核化学位移相关谱是两种不同核的 Larmor 频率通过标量耦合建立起来的相关谱,以 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 异核相关谱应用最广。

3.1 基本 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱^{12,13)}

常规的 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱是指直接键连的 $\text{C}-\text{H}$ 间的耦合相关 ($^1J_{\text{CH}}$),谱中质子多重线按照 ^{13}C 化学位移很好地分开了,它在同一实验中把两种核的所有关系都建立起来了,得到直接耦合的 ^1H 和 ^{13}C 之间的化学位移相关关系。 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱 F_2 维为 ^{13}C 化学位移, F_1 维

为 ^1H 化学位移,没有对角峰,谱中出现的峰皆为交叉峰,显示出 $\text{C}-\text{H}$ 耦合信息。图2 是乙醇的2D $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱¹⁰⁾,谱中两维分别给出 ^{13}C 和 ^1H 的化学位移。该谱共给出两个交叉相关峰,它们分别表示:化学位移约为18ppm的 ^{13}C 核是与化学位移约为1.2ppm的 ^1H 核相连,而化学位移约为57ppm的 ^{13}C 的核是与化学位移约为3.7ppm的 ^1H 核相连。对于乙醇这样简单的分子来说,这种 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 相关关系当然比较清楚了;而对于复杂分子的NMR谱,这种相互关系显然是十分重要的。

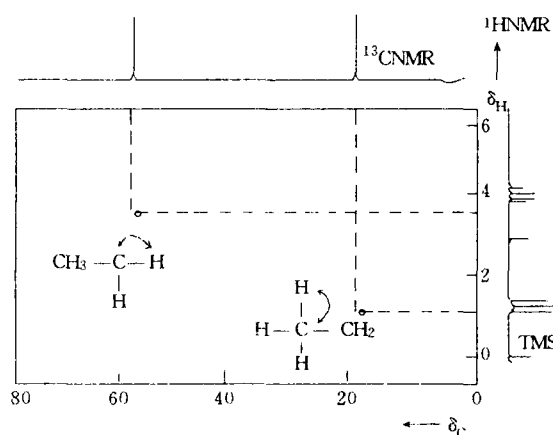


图2 乙醇的2D $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY谱

基本的异核位移相关谱(如 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY) 与同核 COSY 是二维谱中两个最基本、最重要的方法。由 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱,可以方便地得到全部 $\text{C}-\text{H}$ 耦合信息,若由 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱已得到了 ^1H 谱线归属,则可由 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 归属 ^{13}C 谱线,反之,若可以确定一条或几条 ^{13}C ,由 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 交叉峰打到相应的 ^1H 谱线;自 $^1\text{H}-^1\text{H}$ cosy 找到 $^1\text{H}-^1\text{H}$ 耦合网络,反过来可再由 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 交叉峰找到全部 ^{13}C 谱线归属。如图3 给出了一种 O_5 络合物的 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱(左)和 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱(右)¹²⁾。在 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱中,从一已知的“起始点” H_a 开始,根据谱中给出的 $^1\text{H}-^1\text{H}$ 耦合网络和化合物结构,可较容易地对化合物的 ^1H 谱进行归属,归属结果如图3 所示。然后两从 ^1H 谱的归属出发,结合 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY (右)所给出的 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 交叉峰,可对该化合物的 ^{13}C 谱进行归属。交叉峰(1)对应的 F_1 维是 H_a 的化学位移,那么它所对应的 F_2 维即是 H_a 所连接的 C_a 核的化学位移;交叉峰(2)对应

的 F_1 维即是 H_b 的化学位移,那么它所对应即是 H_b 所连接的 C_b 的化学位移;依此类推,可将化合物中所有的 ^{13}C 核都进行归属,结果如图 3。

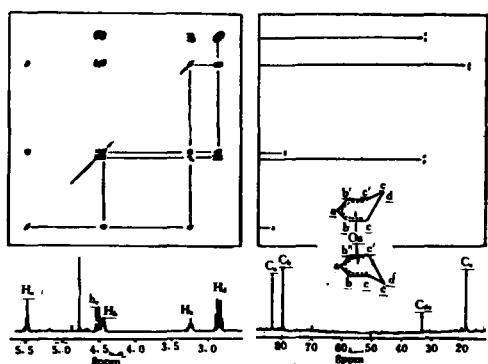


图 3 某 O₆ 络合物的 $^1H-^1H$ COSY 谱 (左) 和 $^{13}C-^1H$ COSY 谱 (右)

除了能建立 $^{13}C-^1H$ 间的键合关系外,基本 ^{13}C 与 1H COSY 谱还能提供额外的信息,那就是能给出较精确的 $^1H-^1H$ 耦合信息。因为在基本 $^{13}C-^1H$ COSY 谱中,去掉的是 $^{13}C-^1H$ 间的耦合,而保留了 $^1H-^1H$ 间耦合,而且质子多重谱峰按照 ^{13}C 的化学位移很好地分开了。由于 ^{13}C 的化学位移范围比 1H 的宽得多,因此即使是相当大的分子,也很少出现谱峰重叠。这就提供了用异核共振谱线的分散性来分析谱 1H 谱,特别是重叠 1H 谱线的可能性。如图 3 中,不论是 1D 1H 谱,还是 2D $^1H-^1H$ COSY,位于 4.5ppm 附近的 H_a 和 H_b 质子谱峰都靠得很近,它们的耦合信息也看不太清楚;而在 $^{13}C-^1H$ COSY 谱中(右) H_b 和 H_c 按 C_b 和 C_c 的化学位移分得很开,这样一来,想要看 H_b 和 H_c 的 $^1H-^1H$ 耦合信息,只要分别通过 C_b-H_b 和 C_c-H_c 交叉峰画出平行于 F_1 轴的投影图,即可得到 H_b 和 H_c 各自清晰的 $^1H-^1H$ 耦合信息。很明显,对于一些复杂分子体系,这种由 $^{13}C-^1H$ COSY 谱所提供的较清晰的 $^1H-^1H$ 耦合信息显得尤为重要了。

在一般情况下,结合 $^1H-^1H$ COSY 和 $^{13}C-^1H$ COSY 的解析就比较容易确定一个化合物的结构。对于复杂结构分子的鉴定,也必须从 $^1H-^1H$ COSY 和 $^{13}C-^1H$ COSY 谱入手,逐个推出各功能团之间的关联,得到不同的分子结构,再利用其它的 2D 谱如 INADEQUATE 等进一步确定化合物结构。

在基本的 $^{13}C-^1H$ COSY 脉冲序列基础上

进行一些改进,可得到一些新的脉冲序列,从而提供一些新的结构信息或改进谱图质量。例如宽带去偶 $^{13}C-^1H$ 相关谱 (Broad Band Decoupling $^{13}C-^1H$ COSY)^(2,3) 将基本 $^{13}C-^1H$ COSY 在 F_1 域保留的 $^1H-^1H$ 耦合也去掉了,从而提高了谱中 F_1 域的灵敏度和分辨率。又如远程 $^{13}C-^1H$ 化学位移相关谱 (Long Range $^{13}C-^1H$ COSY)^(2,3) 能提供通过一维以上的 $^{13}C-^1H$ 耦合相关信息,成为推导结构,归属同碳质子,确定 1H (或取代基) 取向等立体结构分析,以及解决那些由于屏蔽效应难以解决的季碳归属问题的强有力工具。

3.2 异核接力相干转移谱 (RELAY) (Heteronuclear Relayed Coherence Transfer Spectroscopy)⁽²⁾

相关谱的突出优点是,在一个实验中能建立很多核之间的连接关系。但相关谱通常都很复杂,最好能将同核与异核相关谱的信息联合起来分析,这样可以进一步解决有机分子的碳骨架问题。

前面讲的两类相关谱 $^1H-^1H$ COSY 和 $^{13}C-^1H$ COSY 均基于两个耦合核之间的一次性传递。例如,在异核相关谱中是把碳看成一个“侦探”,让它告诉我们,邻近的氢是哪一个。这种方法只能起辨别耦合通道的作用。但是如果磁化矢量的传递不限制在一次,而且让它继续传递,就可以得到新的信息。例如,首先磁化矢量从一个 1H 传到与之有耦合的邻位 1H ,然后再由该邻位 1H 传递给与之直接相连的 ^{13}C 核,即 $^1H \rightarrow ^1H \rightarrow ^{13}C$,于是,通过这一确定的 1H ,就能对相邻 ^{13}C 核的化学位移进行归属,如此即可得到分子骨架的 $^{13}C-^{13}C$ 连接信息。这种接力实验在确定分子骨架结构方面与 INADEQUATE 实验有一定相似之处,但灵敏度要高得多。

图 4 比较了一个耦合系统 $H_A-C_A-C_B-H_B$ 的 $^{13}C-^1H$ COSY 谱 (左) 和 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱 (右)。在 $^{13}C-^1H$ COSY 谱中,在 $(\delta_{HA}, \delta_{CA})$ 和 $(\delta_{HB}, \delta_{CB})$ 处有交叉峰 (N); 而在接力谱中,除了这两个峰外,还多出了 $(\delta_{HA}, \delta_{CB})$ 和 $(\delta_{HB}, \delta_{CA})$ 这两个交叉峰,它们来自间接极转移,称作接力峰 (或 R 峰)。由此可得到有关分子骨架的信息,说明 C_A 和 C_B 是相连的。

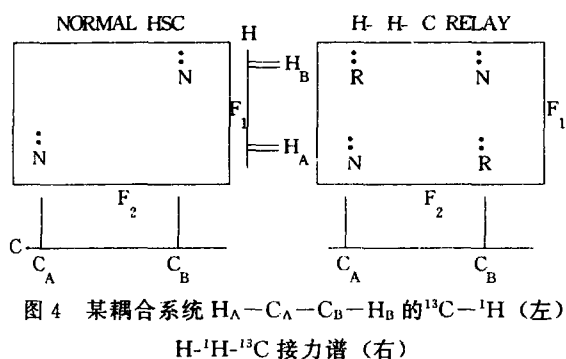


图4 某耦合系统 $H_A-C_A-C_B-H_B$ 的 $^{13}C-^1H$ (左) $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱 (右)

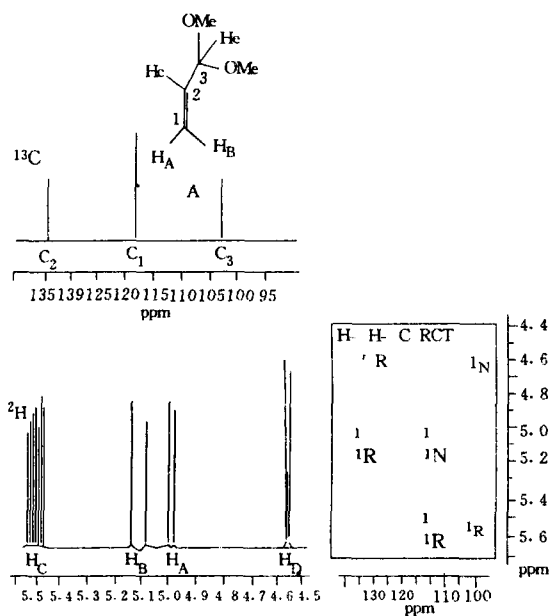


图5 某化合物 A 的 1H 、 ^{13}C 和 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱

图5是某化合物A的 1H 、 ^{13}C 和 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱^[3]，图中直接相连的 $^{13}C-^1H$ 交叉峰可由 $^{13}C-^1H$ COSY谱很容易地看出，在图中以“N”标识，而接力交叉峰则以“R”标识。由此接力谱可方便地归属四个 1H 的谱线和 $^{13}C-^{13}C$ 的连接关系，同样，先选取一个“起始点”，由一般NMR常识可知， C_3 和与之直接相连的 H_D 应在 F_1 域(1H 化学位移)和 F_2 域(^{13}C 化学位移)的高场处出现 $^{13}C-^1H$ COSY交叉峰(以下称N峰)，该峰在 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱(右)中位于(102ppm, 4.5ppm)处附近，即选该峰为“起始点”。由图可见，在(135ppm, 4.5ppm)附近有一接力交叉峰(以下称R峰)，说明该峰的 F_2 域对应的是与 C_3 相邻的 C_2 的化学位移；而在(135ppm, 5.15ppm)和(135ppm, 5.05ppm)附近处又有两个R峰，表明它们的区域 F_1 域分别对应着与 C_2 相邻的 C_1 上 H_B 和 H_A 的化学位

移；位于(118ppm, 5.15ppm)和(118ppm, 5.05ppm)附近的N峰则是 C_1 和与之直接相连的 H_B 、 H_A 形成的 $^{13}C-^1H$ COSY交叉峰，说明 C_1 化学位移位于118ppm处，同样，由位于(118ppm, 5.05ppm)的R峰可以判定与 C_1 相邻的 H_C 的化学位移位于5.5ppm处；而(102ppm, 5.5ppm)附近的R峰再次证明与 C_2 相邻的 C_2 上 C_3 的化学位移确在较高场102ppm附近，这样通过此接力谱就把化合物A的 1H 和 ^{13}C 谱线进行了归属。

又如图6是2-乙酰基奈芳烃部分的 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱。图中用星号标出的是直接相连的 $^{13}C-^1H$ 相关峰，容易从 $^{13}C-^1H$ COSY谱中认出。由图可知， C_3 、 C_4 是相邻的，因为 C_3 间接耦合于与 C_4 直接相连的 H_4 ，反之亦然。对于 C_5 、 C_6 等，碳的相邻关系可用同样的方法确定。当质子谱有重叠时，本方法的优越性就尤为突出。例如图6中的 H_4 、 H_5 重叠较严重，但对应的 C_4 、 C_5 都可以完全确定，因为它们分别和 H_3 、 H_6 有着间接的耦合。

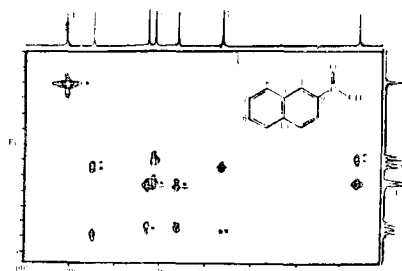


图6 2-乙酰基奈芳烃部分的 $^1H-^1H-^{13}C$ 接力谱 * 标记直接相连的 $^{13}C-^1H$ 相关峰

总的来说，尽管接力谱的灵敏度比异核相关谱低3~10倍，但由于它能提供类似INADEQUATE的信息，而且比它的灵敏度高得多，因此接力实验受到人们普遍的重视，在分子骨架结构确定中得到广泛应用。

4 1H 检测的异核多量子相干相关谱 HMQC^[13] (1H Detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) 及 1H 检测的异核多键相关谱 HMBC (1H Detected Heteronuclear Multiple Bond Connectivity)^[13,14]

普遍NMR是研究选择定则 $\Delta m = \pm 1$ 的量子跃迁(其中 m 表示体系的总磁量子数)，而多量子跃迁指的是不满足选择定则 $\Delta m = \pm 1$ 的

跃迁,这种跃迁在普通 NMR 中是禁阻的,而利用二维谱间接检测发展期信息的特点,可以观测禁阻跃迁,这方面的研究丰富了谱的分析方面的内容,在实验中往往得到非常好的效果。

在前面文中已经介绍了异核相关谱,知道它们在确定化合物结构方面的神奇作用。这些实验都是以天然丰度很低的¹³C 核为检测对象,是满足选择定则的单量子跃迁实验,不论是基本¹³C-¹H COSY 谱还是¹H-¹H-¹³C 接力谱都存在检测灵敏度低的问题,在实际实验中耗费机时较多,因此在一定程度上限制了它们的应用。

HMQC^[13]和 HMQC^[13,14]是近年来开发的利用多量子相干,通过天然丰度高的核(如¹H)间接检测低丰度的核(如¹³C)的新技术(称为逆检测技术)。实际上 HMQC 所给出的信息与常规¹³C-¹H COSY 谱相似,而 HMBC 则与远程¹³C-¹H COSY 谱相似。只有 F₁ 和 F₂ 维的数据刚好相反,在 HMQC 和 HMBC 谱中 F₁ 轴给出的是¹³C 的化学位移,而 F₂ 轴则给出¹H 的化学位移。由于利用了多量子相关转移,使检测灵敏度大大提高。与其它正检测碳的二维技术比较,对于分子量约为 500 的样品,测定时间相同的条件下所需的样品量为:

INADEQUATE	200 (ppm)	(400mM)
¹³ C- ¹ H COSY	5~10mg	(20mM)
HMQC	2~3mg	(7mM)
HMBC	1mg	(5mM)

因此,这两种方法为分子量大的微量样品的测定提供了广阔的前景,在现代 NMR 实验中受到人们越来越多的青睐。

参考文献

- [1] 黎明等,现代仪器及维修,NO. 4 (1998).
- [2] A. E. Derome, Mordern NMR Techniques for Chemistry Research, Pergamon Press (1987).
- [3] 韩秀雯. 二维核磁共振实验,大连化物所,河南化学所编,1990.
- [4] A. Bax and R. Freeman, J. Magn. Reson., 44, 542 (1981).
- [5] A. Bax, J. Magn. Reson., 53, 517 (1983).
- [6] A. Bax et al. J. Magn. Reson., 43, 478 (1981).
- [7] A. Bax, R. Freeman and T. A. Frekiel, J. Am. Chem. Soc., 103, 2102 (1981).
- [8] A. A. Maudsley and R. R. Ernst, Chem. Phys. Lett., 50, 368 (1977).
- [9] R. Freeman and G. A. Merris, J. Chem. Soc. Commun., 684 (1978).
- [10] 唐恢同. 有机化合物的光谱鉴定,北京大学出版社,1992.
- [11] 裴祖文. 裴奉奎,核磁共振波谱,科学出版社,1989.
- [12] 杨崇仁等. 云南植物研究,昆明植物所,1990.
- [13] M. F. Summers et al, J. Am. Chem. Soc., 108, 4285 (1986).
- [14] G. Gruesinger et al, J. Am. Chem. Soc., 109, 7227 (1987).

Two-dimensional Nuclear Magnetic Resonant Spectroscopy (2DNMR) and Its Analzing Method

2. Chemical Shift Correlated Spectroscopy

Li Ming Sun Pingchuan He Binglin

(The State Key Laboratory of Functional Polymeric Materials for Adsorption and Separation Nankai University Tianjin 30071)

Abstract Another kind of homonuclear COSY-INADEQUATE (¹³C-¹³C correlated spectroscopy) spectroscopy, heteronuclear COSY and the indirect detected heteronuclear COSY HMQU and HMBC based on multiple-quantum coherence are introduced. The important applied Value and the analyzing method of these spectra are also described.

Key word INADEQUATE spectroscopy, ¹³C-¹H chemical shift correlated spectroscopy, multi-quantum coherence, HMQC spectroscopy, HMBC spectroscopy