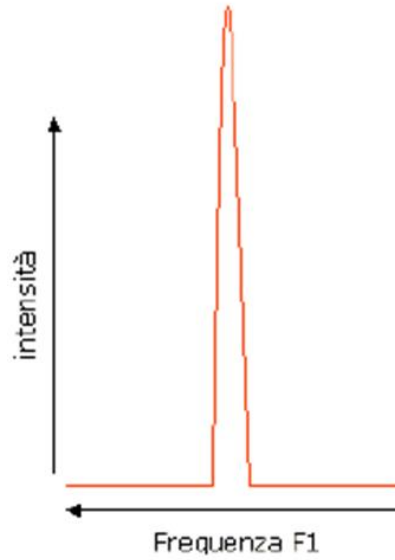


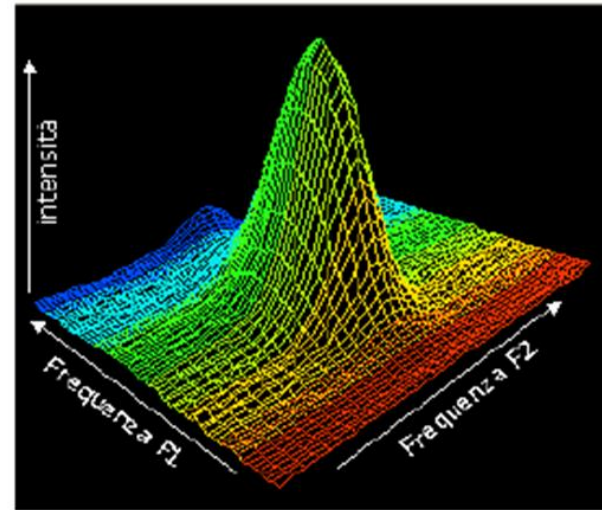
# Spettroscopia NMR bidimensionale (2D)

Spettroscopia NMR di correlazione

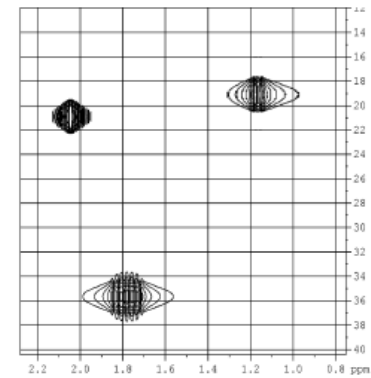
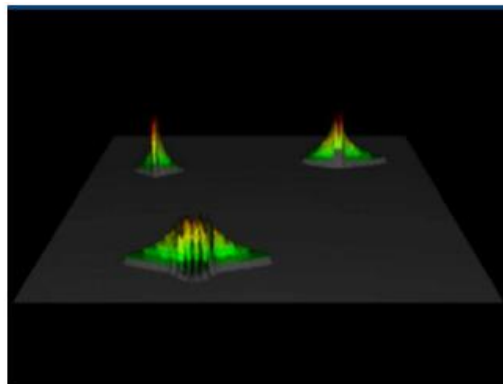
# NMR - 2D



Spettro monodimensionale  
INTENSITA VS FREQUENZA

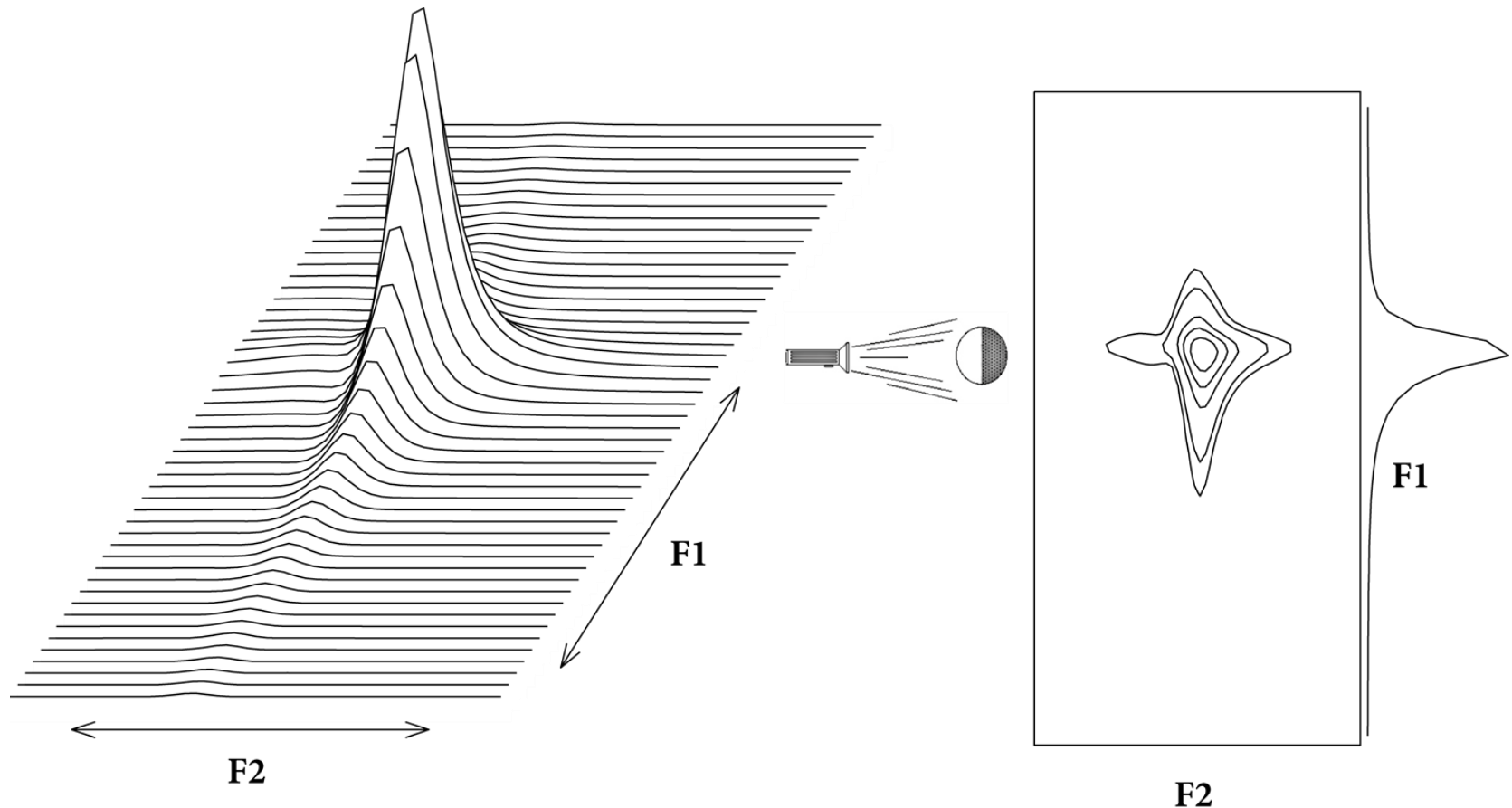


Spettro bidimensionale  
INTENSITA VS FREQUENZA1 VS FREQUENZA2



# NMR - 2D

- Per facilitarne l'interpretazione, gli spettri 2D sono sezionati ad una certa altezza (threshold o soglia)
- L'intensità dei picchi è generalmente proiettata sul piano che li seziona o mediante una scala di colori o attraverso curve di livello
- Ogni curva di livello (o colore) unisce punti del picco caratterizzati dalla medesima intensità



# Tipi di spettri 2D

Gli spettri 2D mostrano **correlazioni** di frequenza (chemical shift) fra nuclei.

Ci sono diversi tipi di correlazione che vengono mostrate a seconda dell'esperimento 2D

- correlazioni attraverso legami (es COSY)
- correlazioni attraverso lo spazio (es NOESY)

Inoltre le correlazioni possono essere:

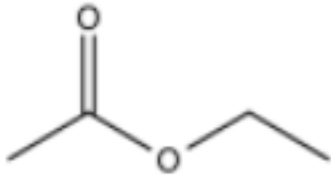
OMONUCLEARI fra nuclei dello stesso tipo ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ )

ETERONUCLEARI fra nuclei diversi ( $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ )

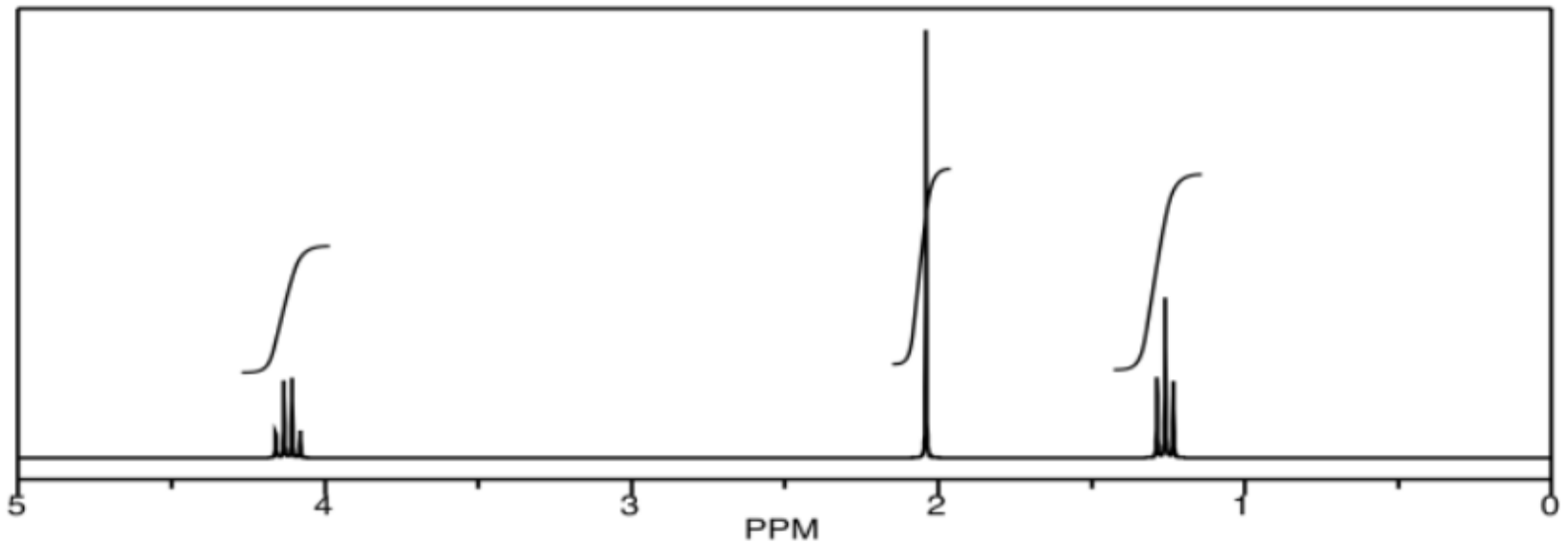
# 2D omonucleare COSY

- COSY: acronimo di **C**orrelation **S**pectroscop**Y**
- Primo esperimento 2D omonucleare sviluppato
- Le correlazioni sono dovute all'accoppiamento scalare.
- Quindi lo spettro COSY mostra gli idrogeni che sono accoppiati fra loro.

# Esempio

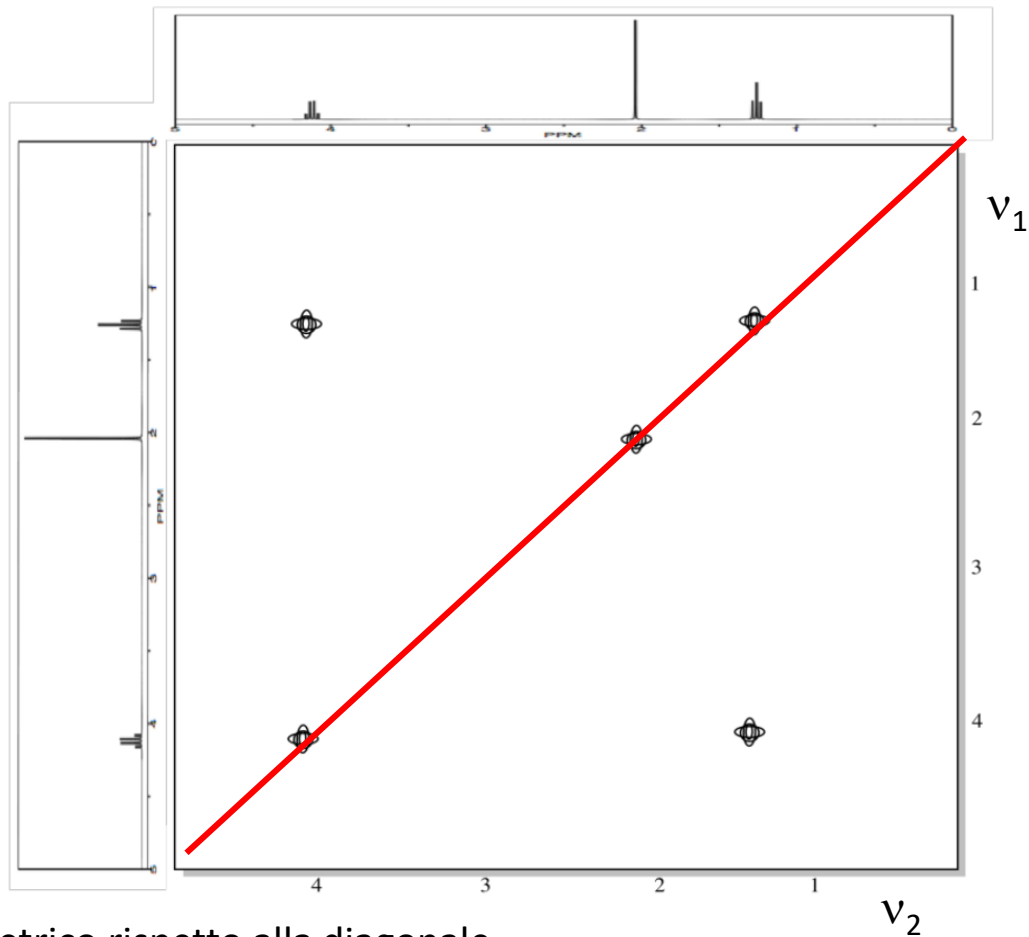


Spettro  $^1\text{H}$  NMR dell'acetate di etile



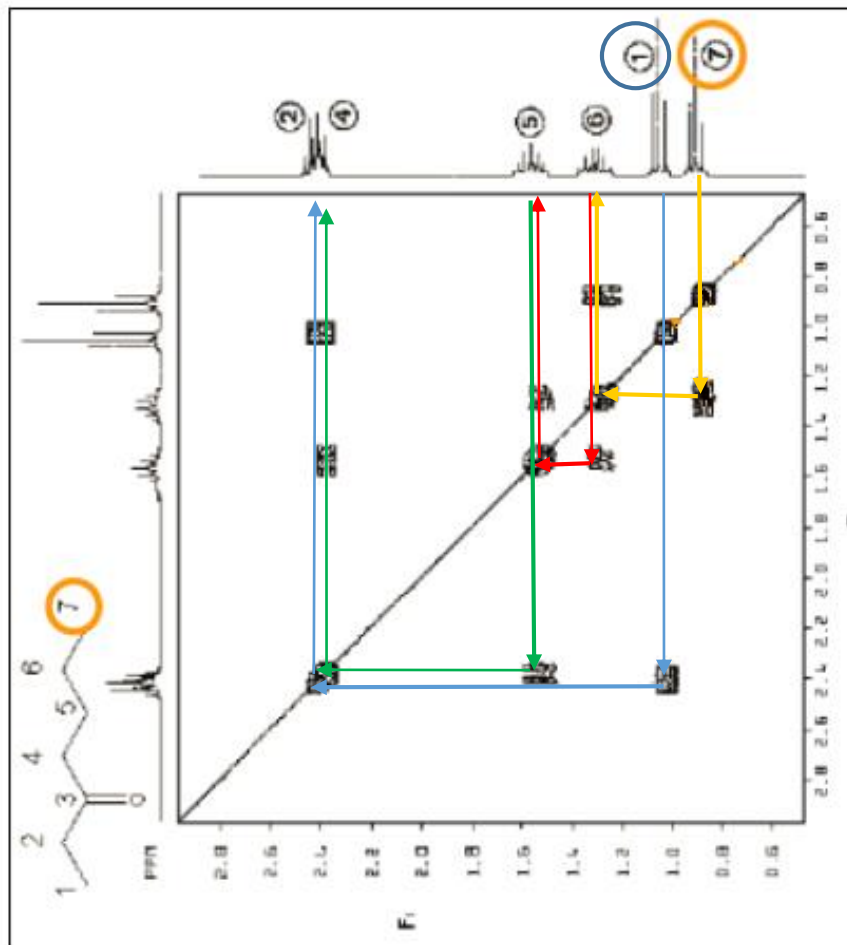
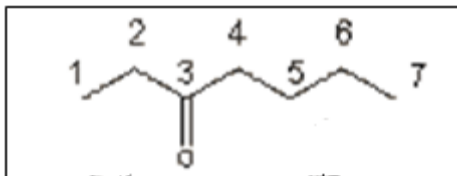
$^1\text{H}$  NMR  $\delta$ , ppm: 1.25 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 2.10 (3H, s) 4.20 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz)

# Spettro COSY dell'acetato di etile



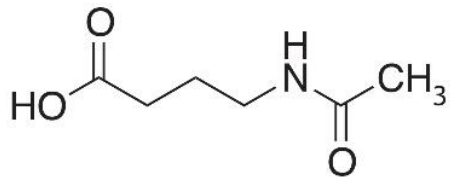
- Lo spettro è simmetrico rispetto alla diagonale.
- I picchi sulla diagonale sono detti di autocorrelazione (frequenze uguali sui due assi)
- I picchi sulla diagonale corrispondono allo spettro monodimensionale
- I picchi fuori dalla diagonale (cross peaks) hanno coordinate diverse sui due assi e sono i picchi di correlazione
- I singoletti (nello spettro  $^1\text{H}$  NMR) generano nello spettro COSY soltanto picchi di autocorrelazione

# Come leggere uno spettro COSY

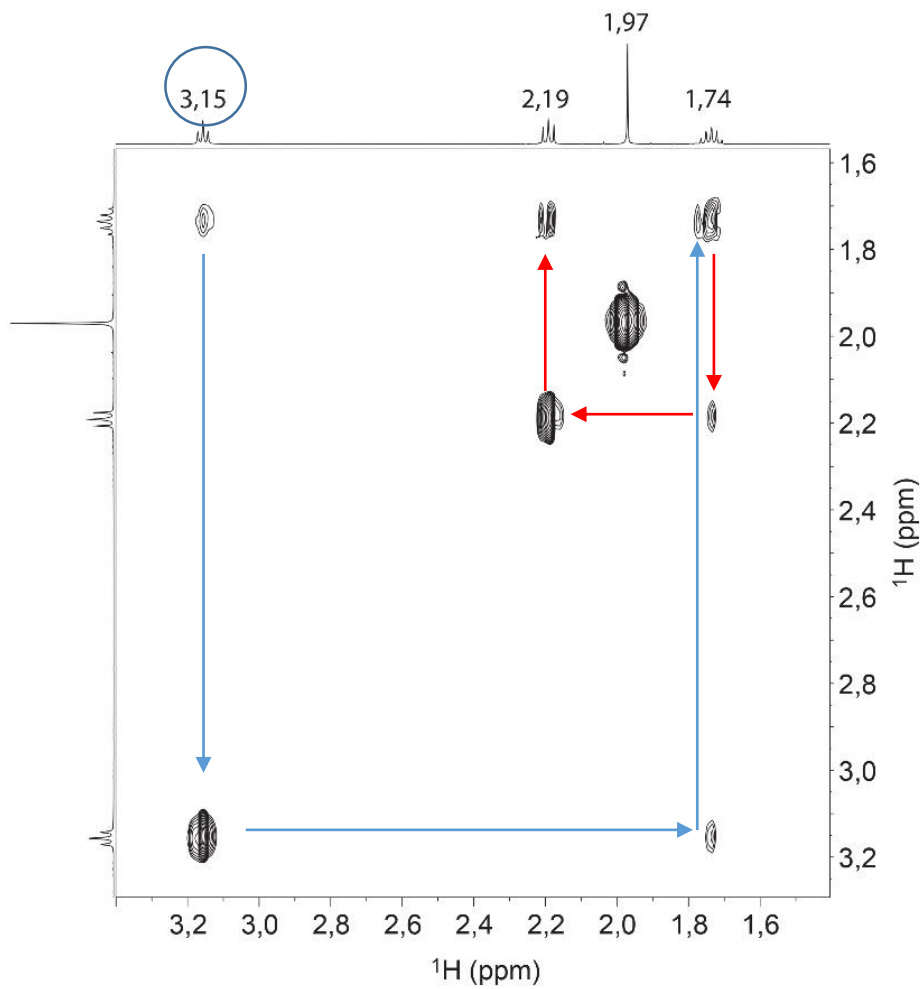


- I picchi sulla diagonale corrispondono allo spettro monodimensionale.
- Si individua un segnale da cui partire per stabilire le
- Si traccia una retta ortogonale all'asse sino a incontrare un cross peak
- Dal cross peak si traccia una linea ortogonale alla prima per andare a incrociare sulla diagonale il picco correlato

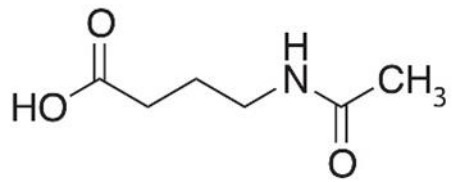




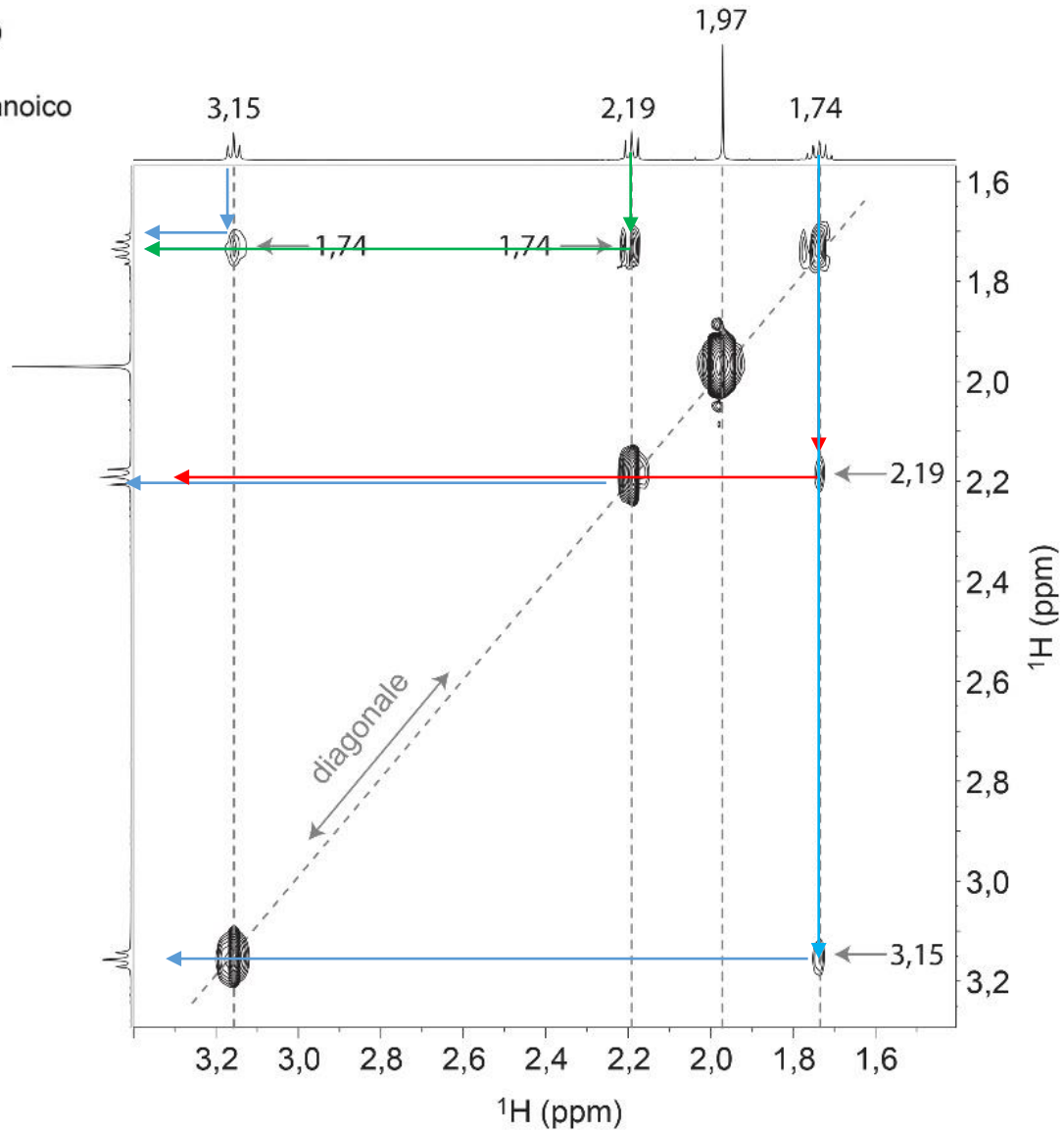
acido 4-acetammidobutanoico



I protoni scambiabili non sono osservabili in  $\text{CDCl}_3$



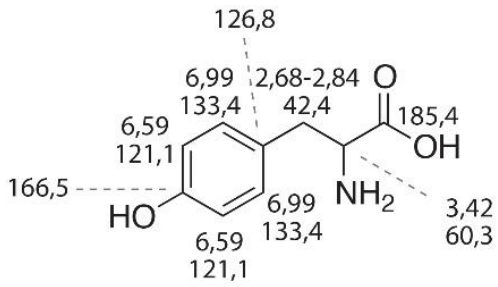
acido 4-acetamidobutanoico



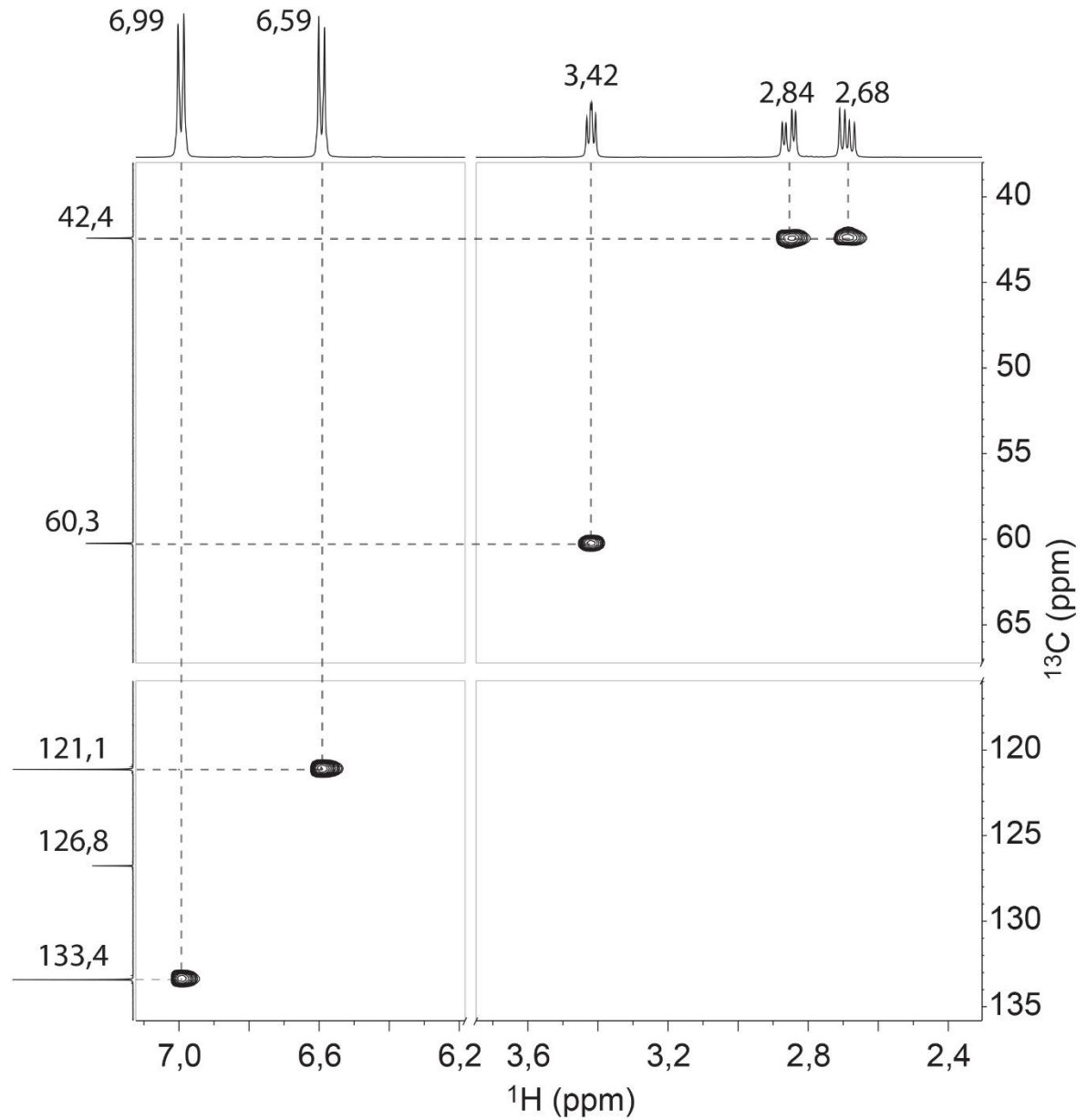
# 2D Eteronucleare HSQC e HMQC

- Identificano le correlazioni fra  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  direttamente legati ( $^1J$ ).
- HSQC: acronimo di **H**eteronuclear **S**ingle-**Q**uantum **C**orrelation.
- HMQC: acronimo di **H**eteronuclear **M**ultiple **Q**uantum **C**oherence.
- Essendo eteronucleare, non ci sono picchi di autocorrelazione (diagonale) e lo spettro non è simmetrico.
- Ogni cross-peak è generato dall'accoppiamento di un dato idrogeno ( o un gruppo di idrogeni equivalenti) con il carbonio a cui è direttamente legato.

# HSQC

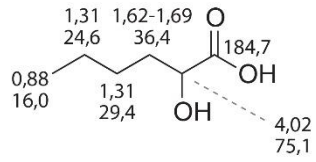


Tirosina

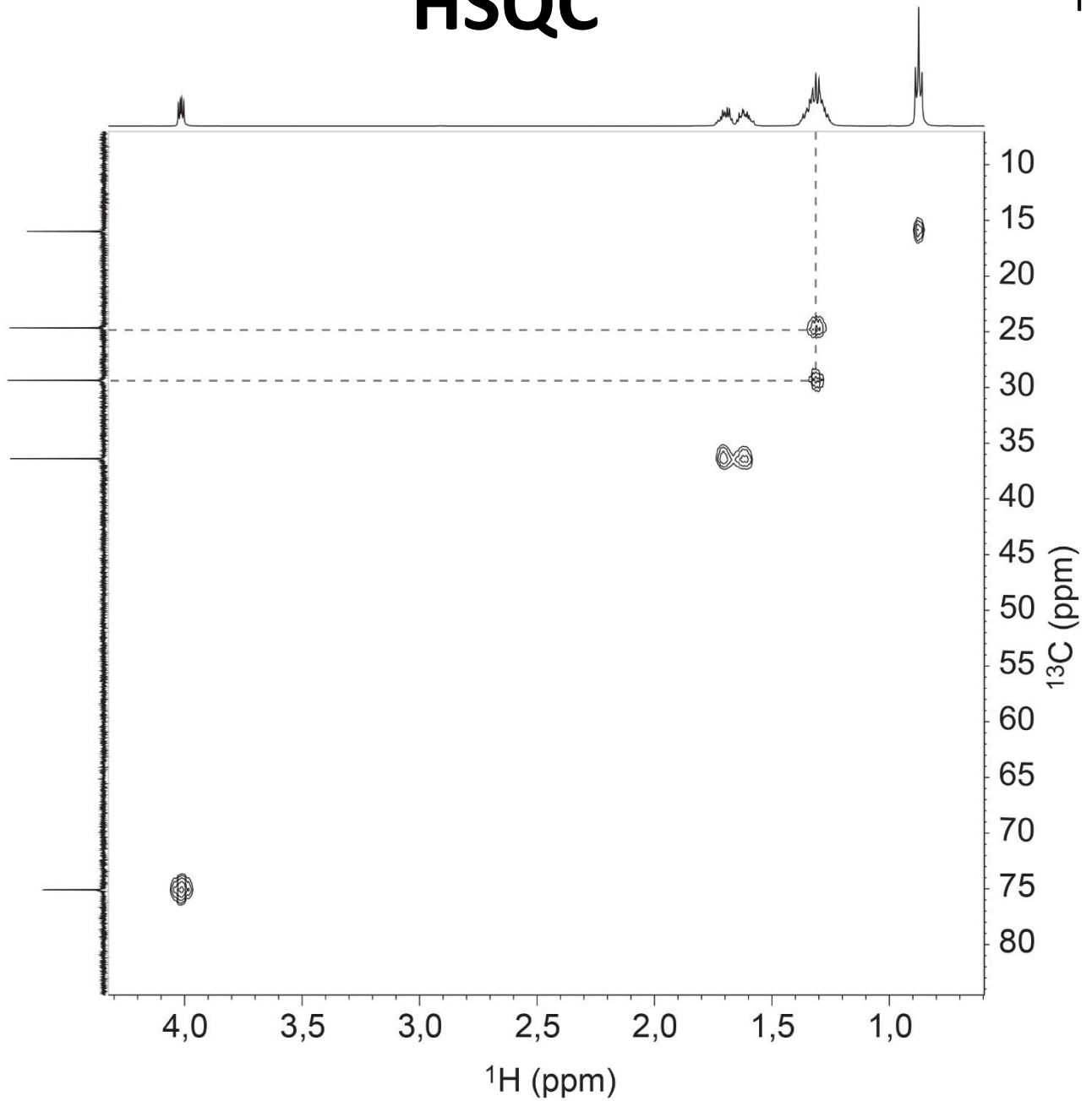


# HSQC

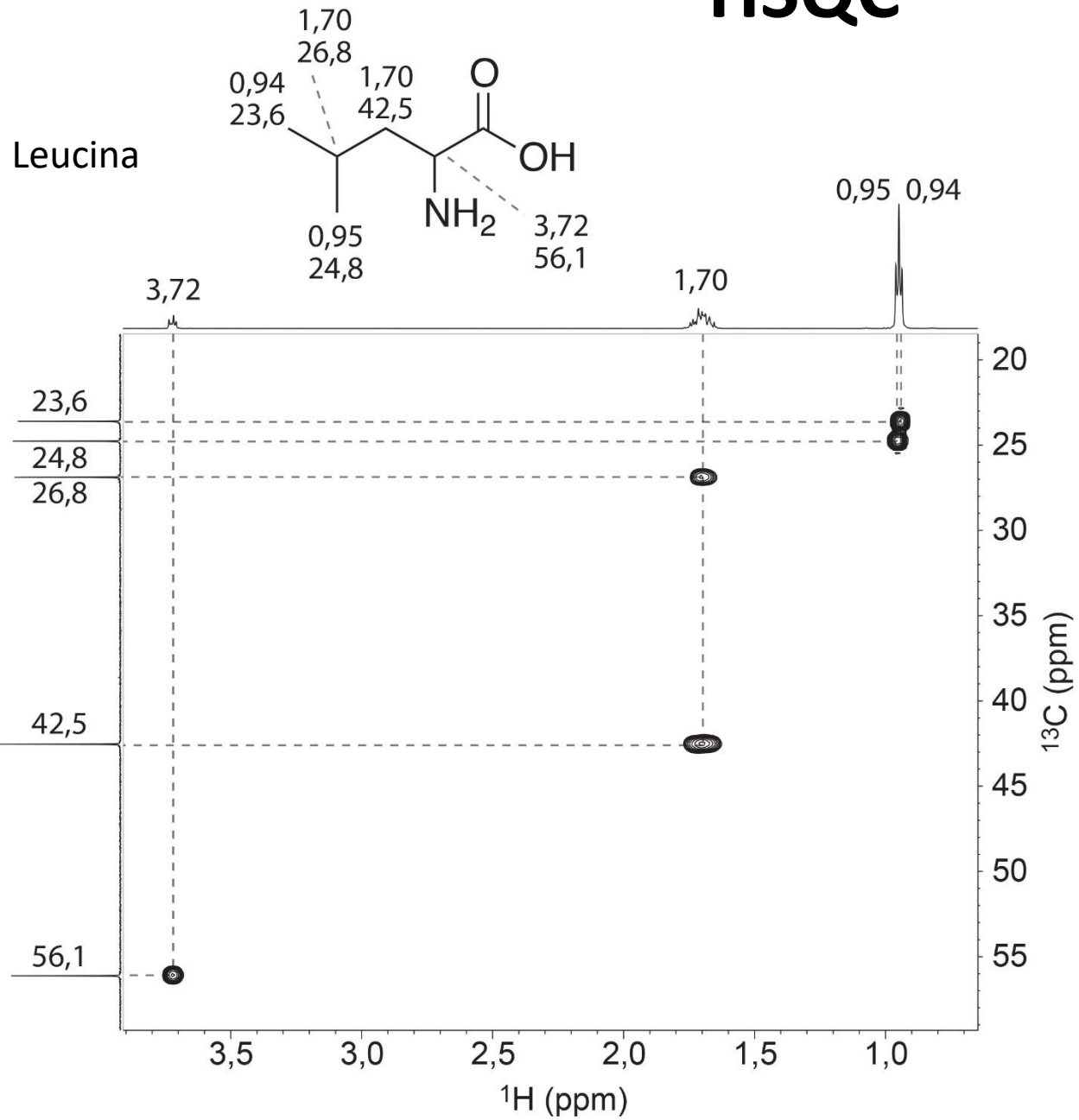
HSQC



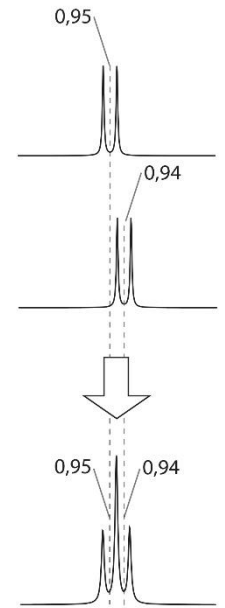
Acido 2-idrossiesanoico



# HSQC



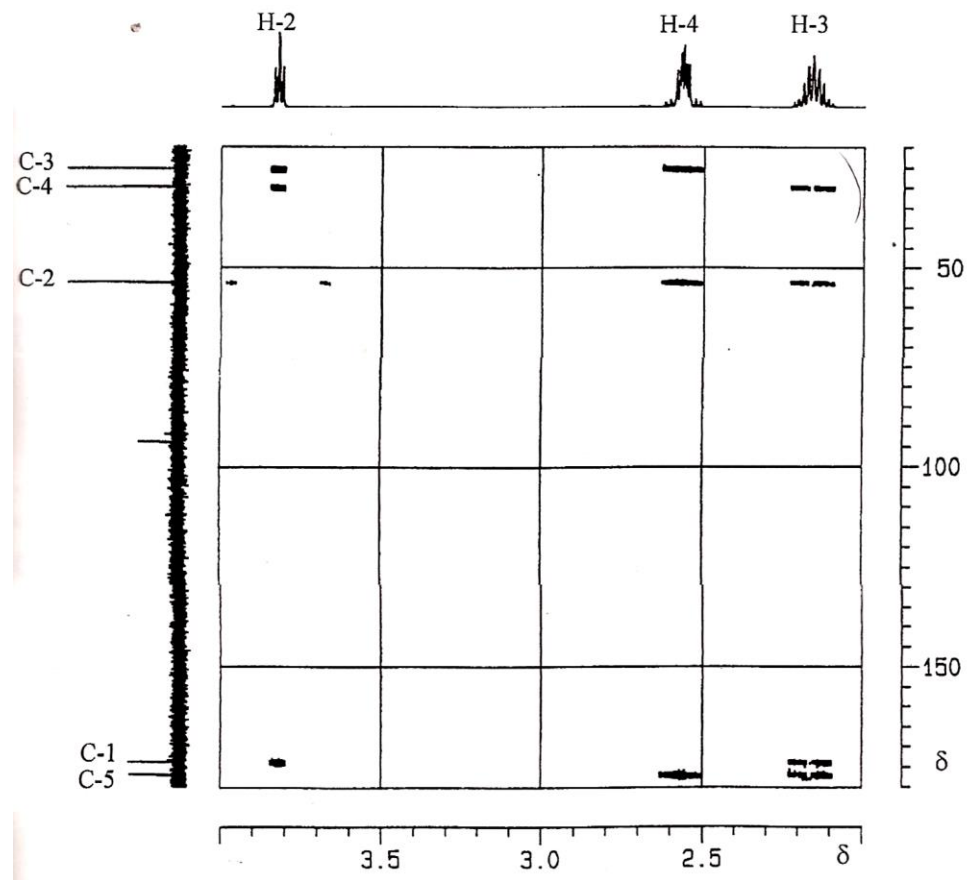
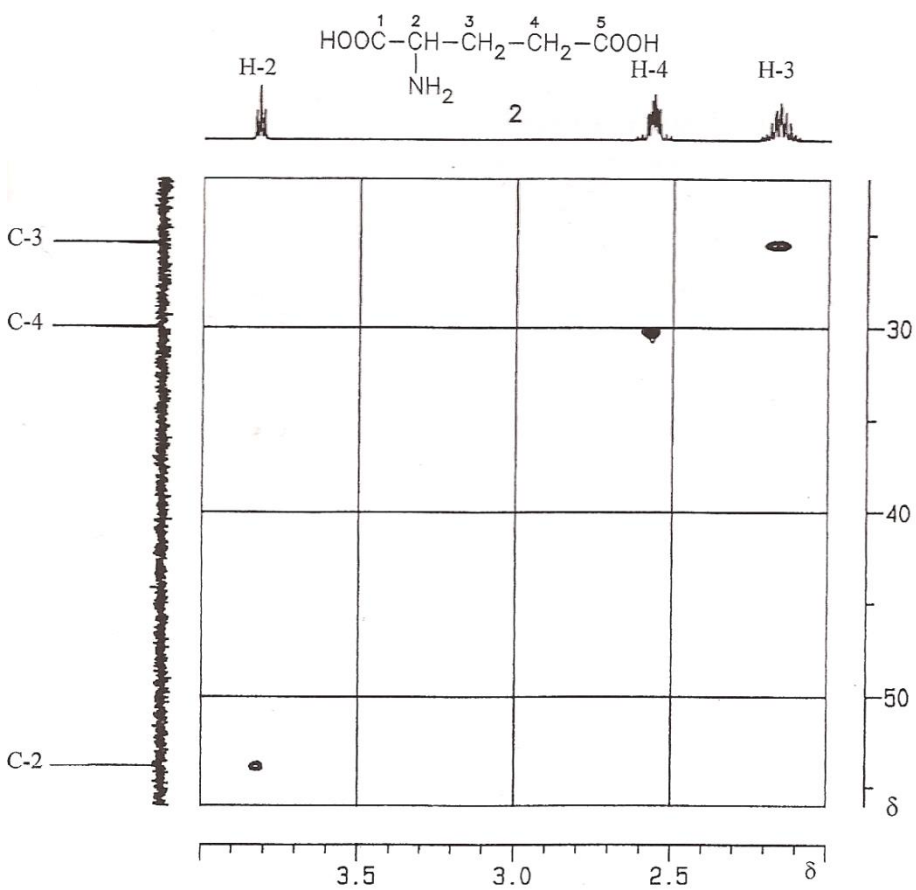
# HSQC



# HMBC

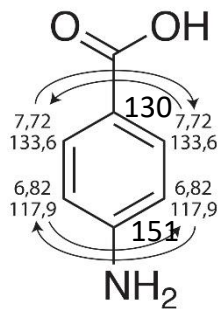
- HMBC: acronimo di **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation
- Esperimento eteronucleare che permette di identificare le correlazioni tra i protoni e gli eteroatomi che si trovano a 2-4 legami di distanza
- Acquisito in modo da rimuovere gli accoppiamenti tra nuclei direttamente legati (X-H, C-H)
- Permette di assegnare correttamente i carboni quaternari
- Lo spettro HMBC non presenta picchi diagonali e ogni cross-peak indica una correlazione protone/carbonio di *long range*

# HMBC





# HMBC



acido 4-amminobenzoico

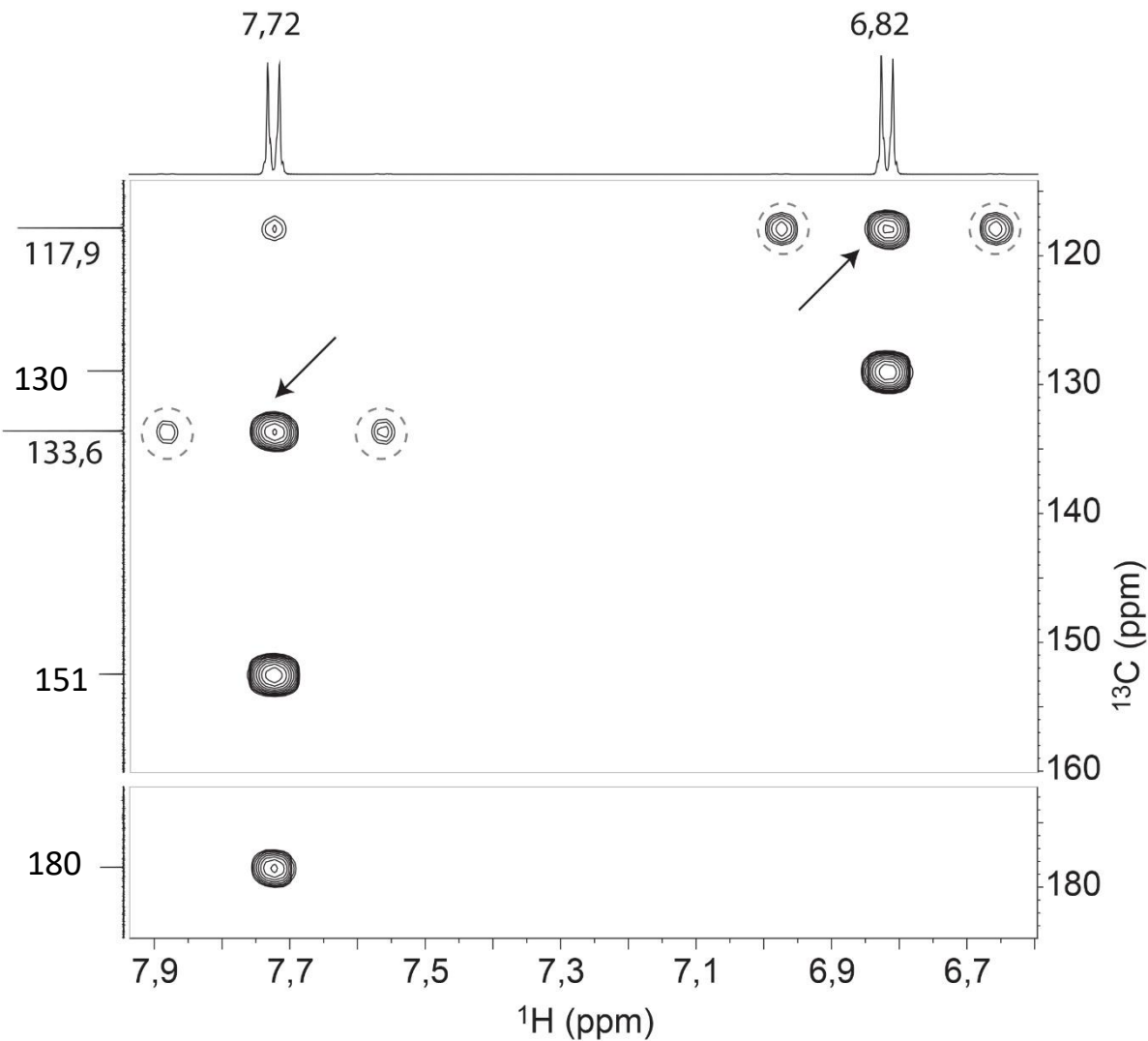
Sistema AA'XX'

In una molecola simmetrica ci possono essere picchi di correlazione inaspettati.

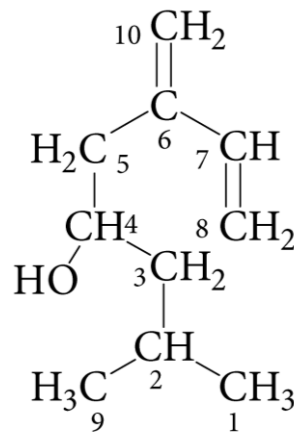
I protoni a 7.72 sono legati ai carboni a 133.6 e i protoni a 6.82 sono legati ai carboni a 117.9.

Tuttavia i protoni a 7.72 e a 6.82 sono anche separati da tre legami dai carboni rispettivamente a 117.9 e a 133.6 situati nell'altra metà simmetrica della porzione aromatica.

Picchi di correlazione in molecole aromatiche simmetriche  
Si vedono le correlazioni H-C-C-C ( $^3J_{HC}$ )



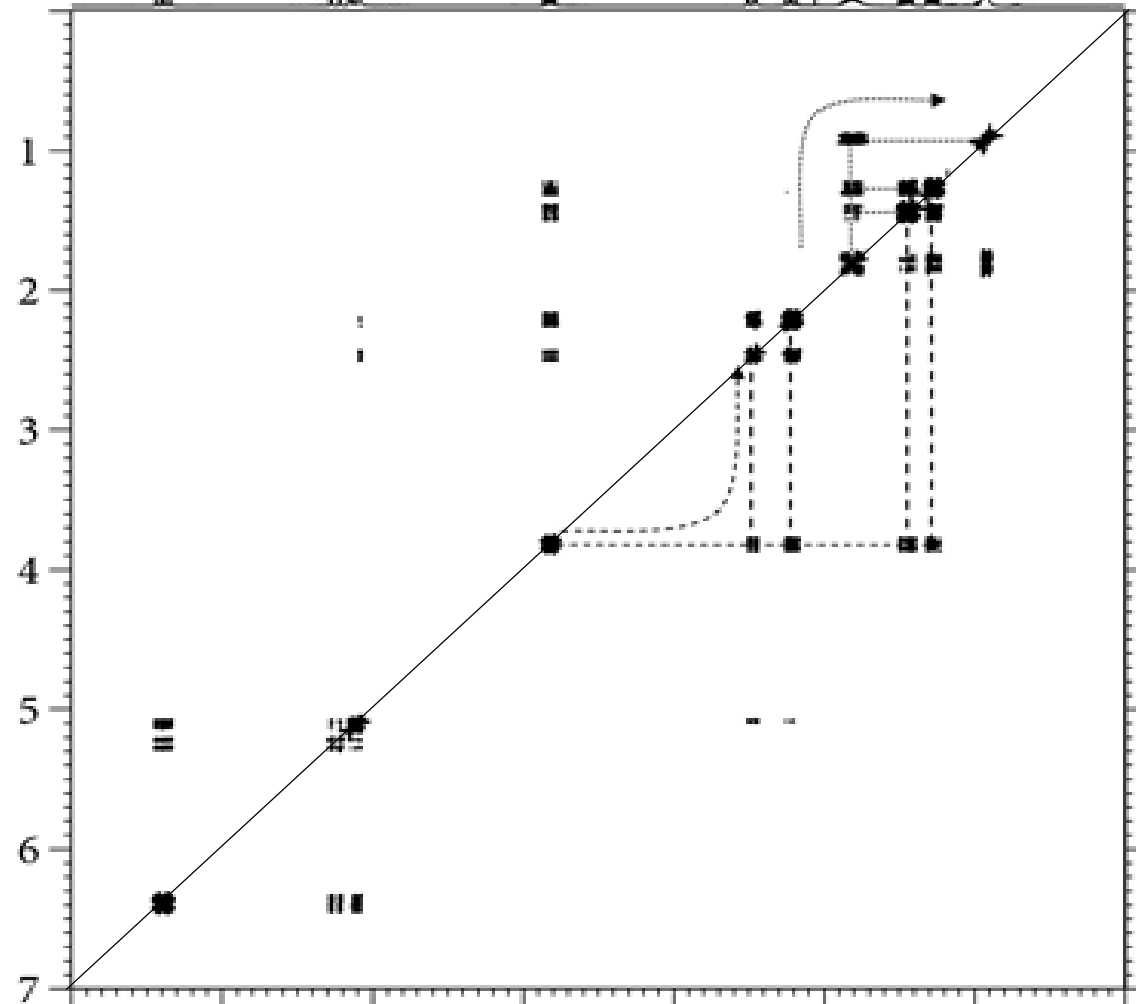
Esercizio: identificare i segnali dei =CH<sub>2</sub> nelle posizioni 8 e 10.



# Ipsenolo - COSY

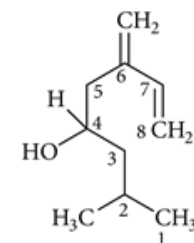
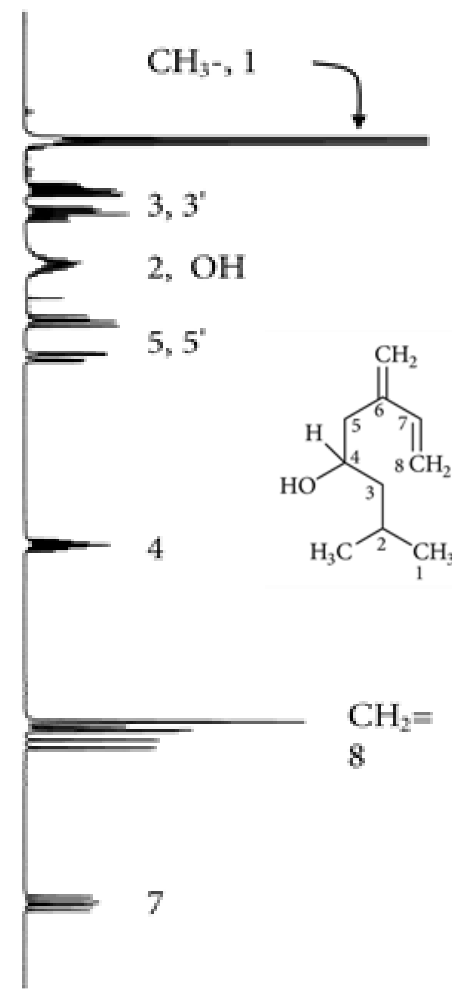
F2

ppm

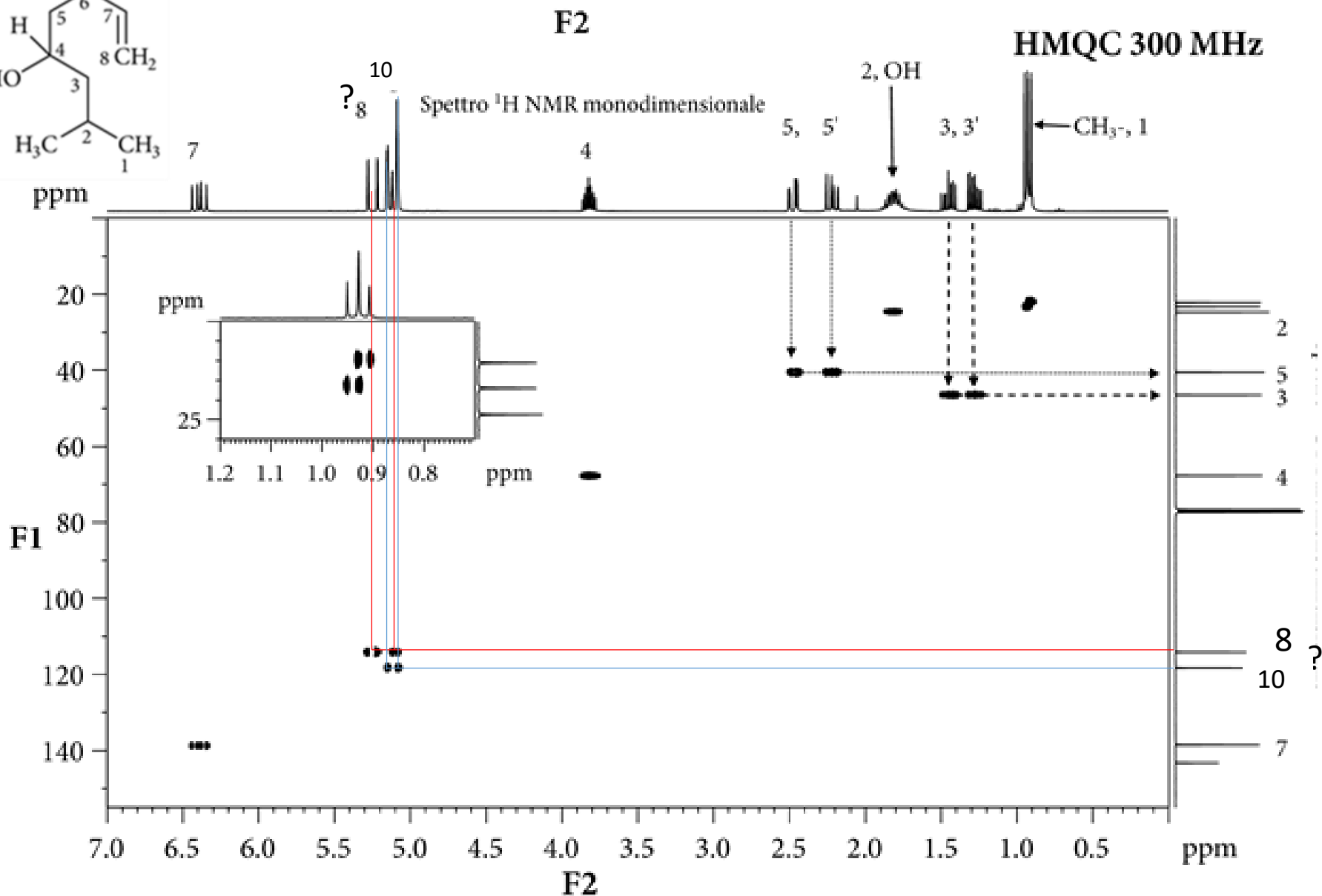
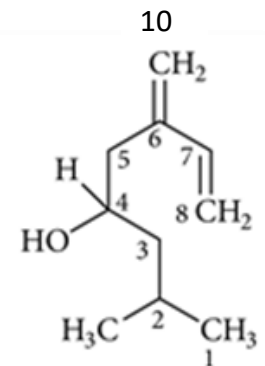


F2

## DQF-COSY 300 MHz

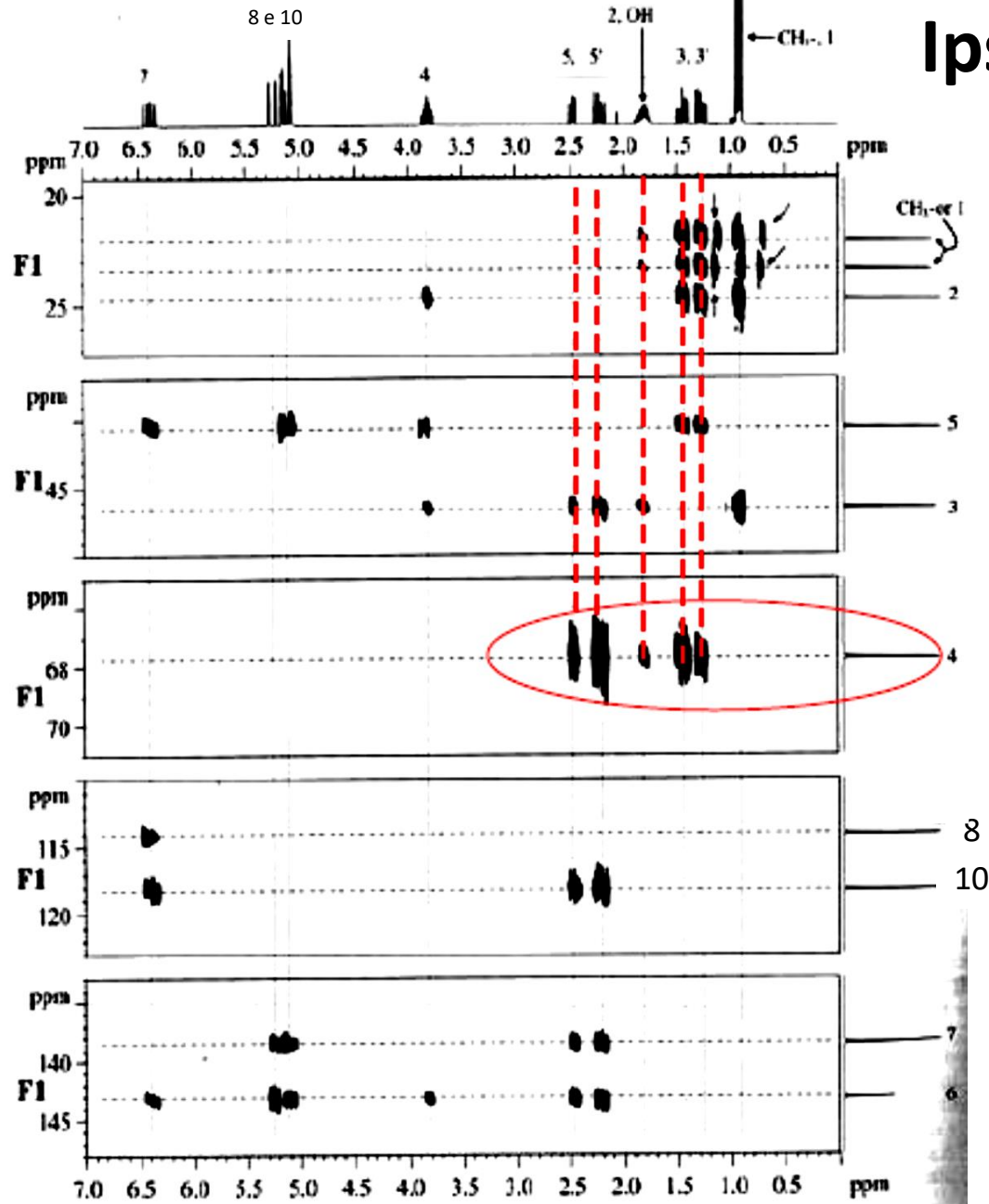


# Ipsenolo - HMQC



HMBC 300 MHz

# Ipsenolo - HMBC



Non si osservano costanti dirette

