



Der Kern-Overhauser-Effekt (Nuclear Overhauser Effect, NOE)

Die Intensität eines ^1H -Signals kann durch ein Entkopplungsexperiment verändert werden. Wird der Übergang eines ausgewählten ^1H -Kerns **S** für eine gewisse Zeit (im Sekundenbereich) durch ein Entkopplerfeld **B**₂ einstrahlt und dabei sein Boltzmann-Gleichgewicht gestört, kann das Relaxationsverhalten eines Nachbarkerns **I** durch **dipolare Kopplung** in der Weise beeinflusst werden, dass seine Signalintensität vergrößert wird. Dies ist aber nur möglich, wenn der Abstand r zwischen **S** und **I** möglichst klein ist, weil die **Wechselwirkung durch dipolare Kopplung mit r^{-6} abnimmt**. Dies bedeutet, dass der Abstand keinesfalls größer als 3 Å werden darf und NOE-Experimente hervorragend für die **halbquantitative Bestimmung der räumlichen Abstände von Protonen** geeignet sind.

Bei dominierender dipolarer Relaxation ist die maximal mögliche Signalerhöhung η :

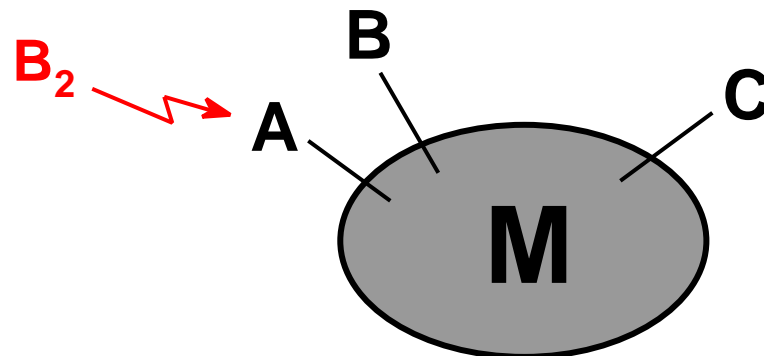
$$\eta = \frac{1}{2} \cdot \gamma(\mathbf{S})/\gamma(\mathbf{I})$$

Da im homonuklearen ($\{^1\text{H}\}^1\text{H}$) Fall $\gamma(\mathbf{S}) = \gamma(\mathbf{I})$, kann eine maximale Intensitätssteigerung von 50% erreicht werden, d.h. das Signal kann dann $1+\eta = 150\%$ der Intensität ohne Entkopplung von \mathbf{S} erreichen.

Weil der NOE ursächlich mit dem dipolaren Anteil der longitudinalen Relaxationszeit zusammenhängt, baut er sich nur langsam auf und erreicht sein Maximum im Gleichgewicht üblicherweise erst nach einigen Sekunden ($5 \cdot T_1^{\text{DD}}$).

Im allgemeinen wird der theoretische Wert ($1+\eta = 150\%$ im $\{^1\text{H}\}^1\text{H}$ -Experiment) dabei aber nicht erreicht; vielmehr sind in der Praxis Signalerhöhungen von nur 1-15 % der Normalfall. Solch geringe Werte sind beim Vergleich von Signalen mit und ohne Einstrahlung nur sehr schwer zu erkennen.

Hier ist das Experiment der **NOE-Differenz-Spektroskopie** hilfreich. Dies sei in einem schematisierten Gedankenexperiment erläutert:

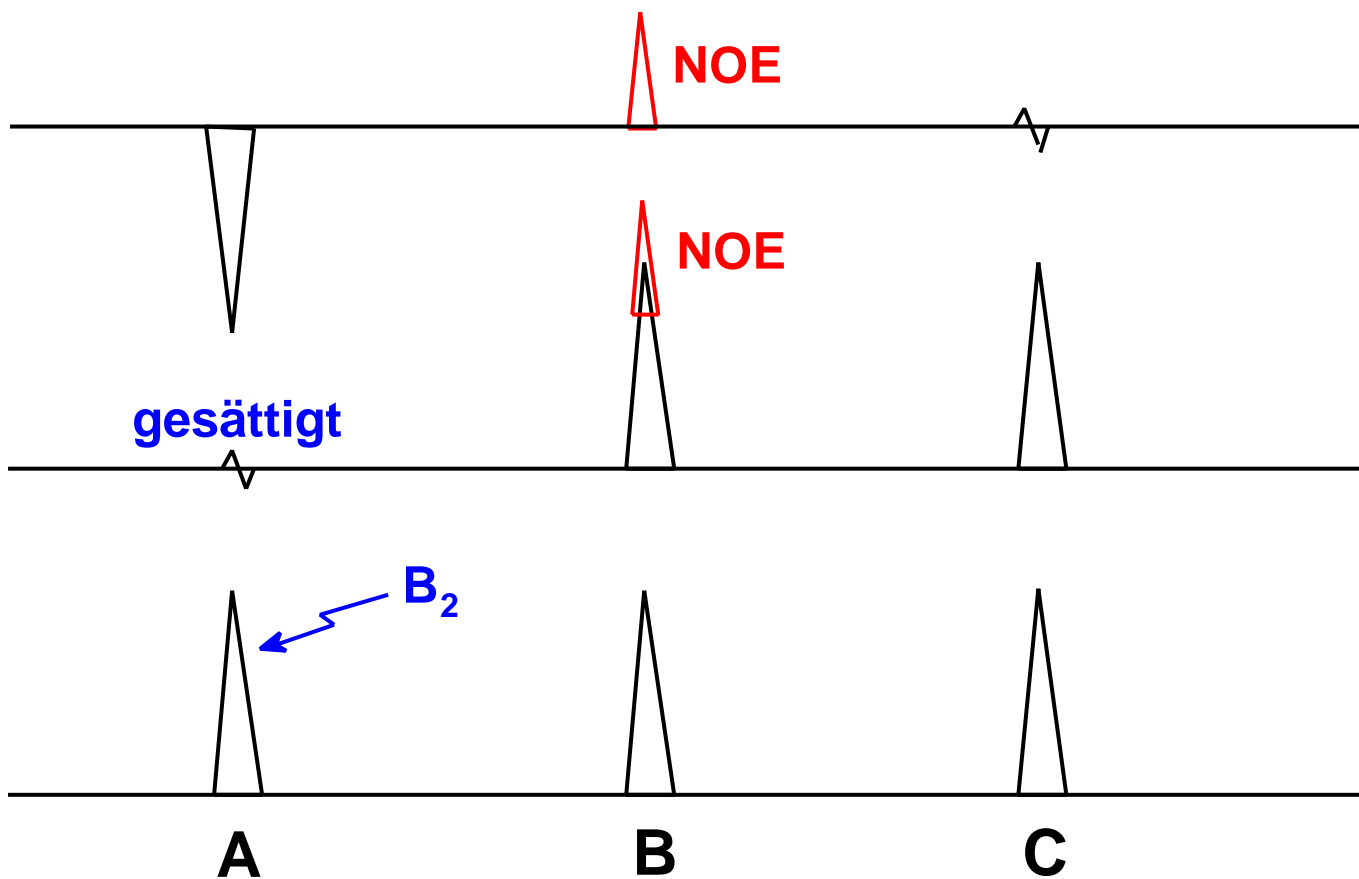




In einem Molekül **M** existieren drei Protonen **A**, **B** und **C**. **A** wird wie oben beschrieben mit einem Entkopplerfeld selektiv bestrahlt (Pfeil). Der Kern **B** zeigt eine NOE-Antwort (Signalerhöhung), weil er **A** sehr nahe ist, während die Signalintensität von **C** wegen der großen Entfernung von **A** praktisch nicht beeinflusst wird.

Man führt nun zwei Messexperimente durch, die sich nur dadurch unterscheiden, dass bei dem einen der Entkoppler zum Aufbau einer NOE-Antwort benachbarter ^1H -Kerne (Erhöhung der Signalintensität) vor der eigentlichen Messung für eine Weile (0.5 bis 1.5 s) angeschaltet wird, während er bei dem anderen ausgeschaltet bleibt, erhält man zwei sehr ähnliche Spektren, die sich nur in den Intensitäten der Signale des entkoppelten und der NOE-beeinflussenden Signale unterscheiden. Das eingestrahlte Signal des Kerns **A** hat dann die Intensität 0 bzw. 1, während das von **B** 1 bzw. $(1+\eta)$ hat; **C** bleibt unverändert (1 bzw. 1). Eine Differenzbildung der beiden Spektren zeigt dann für **A** ein starkes negatives Signal (-1), für **B** ein kleines Signal (η) und keines für **C**.

Die erhaltenen Signalintensitäten sind zwar am Spektrometer quantitativ bestimmbar, man sollte sich aber mit halbquantitativen Abschätzungen begnügen.

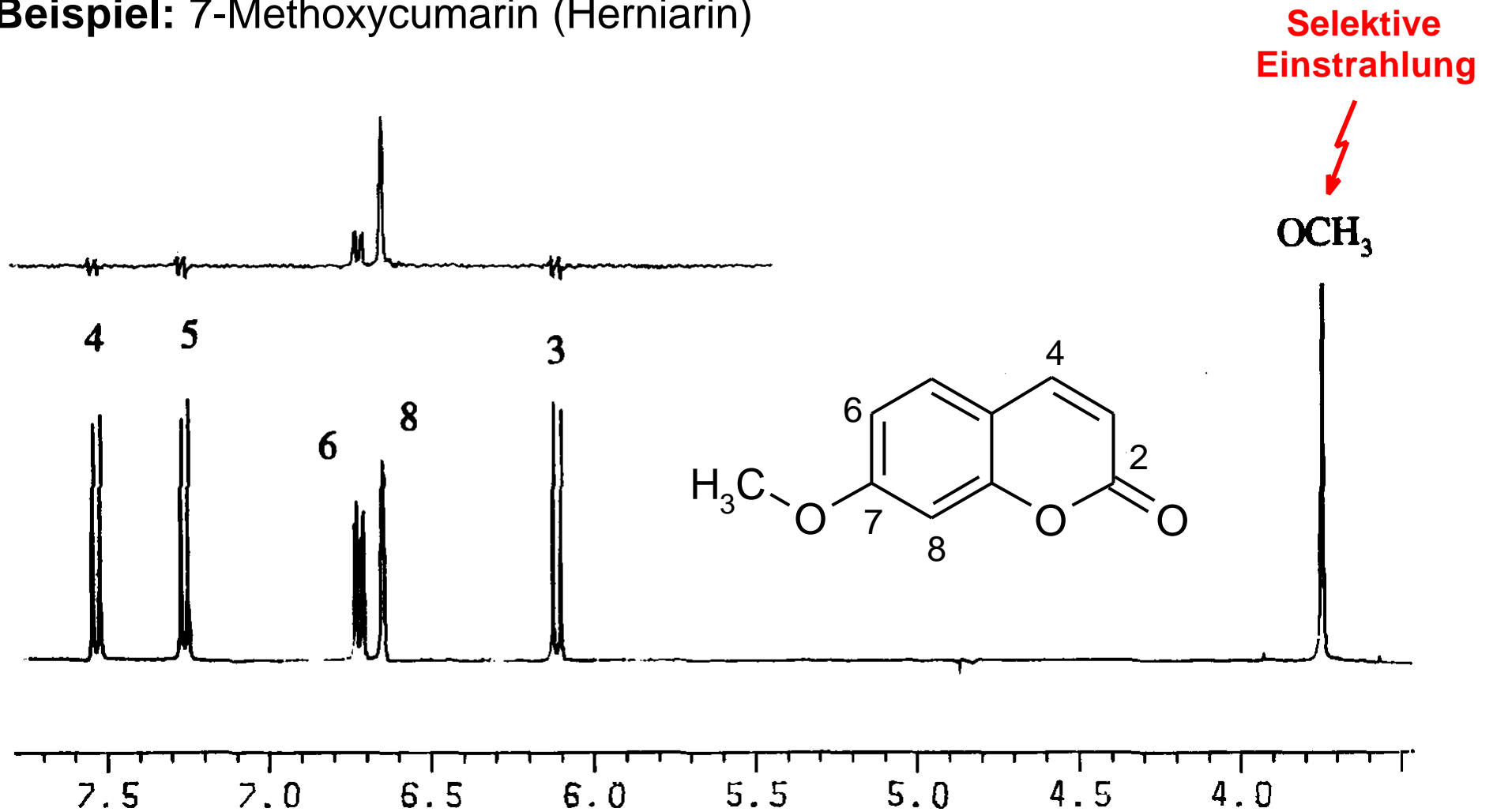


Diff.: II - I
Spektrum III (NOE-Diff.)

Spektrum II (NOE-Exp.)

Spektrum I (normal)

Beispiel: 7-Methoxycumarin (Herniarin)





Man erkennt die NOE-Effekte an den Atomen H-6 und H-8. Dies liegt an der konformativen Beweglichkeit der Methoxygruppe; mal ist die Methylgruppe nahe H-6 und mal nahe H-8.

Merke: Da die Einstrahlungsdauer gegenüber der Verweildauer in den einzelnen Konformeren um viele Größenordnungen (wahrscheinlich mehr als 12) länger ist, werden NOE-Effekte aus allen denkbaren Konformationen im Spektrum angezeigt. Es kann also leicht passieren, dass in einem NOE-Experimente Signal-Intensitätserhöhungen angezeigt werden, die mit einer einzigen Struktur/Konformation gar nicht in Übereinstimmung stehen.

An den Signalpositionen für H-4, H-5 und H-3 sieht man kleine Restsignale, die auf unvollkommene Differenzbildung zurückzuführen sind. Führt man über diese „Signale“ eine Integration durch, wird man ungefähr 0 erhalten.

NOE-Differenz-Experimente beruhen auf der selektiven Vorsättigung einzelner Kerne. Dies ist zum einen ein wenig umständlich, zum anderen häufig sogar gar nicht sauber möglich, weil zu sättigende ^1H -Kerne zu nahe beieinander liegen und die Selektivität von B_2 nicht ausreicht.

Ein weiterer Nachteil ist die erwähnte Abhängigkeit von der Beweglichkeit.

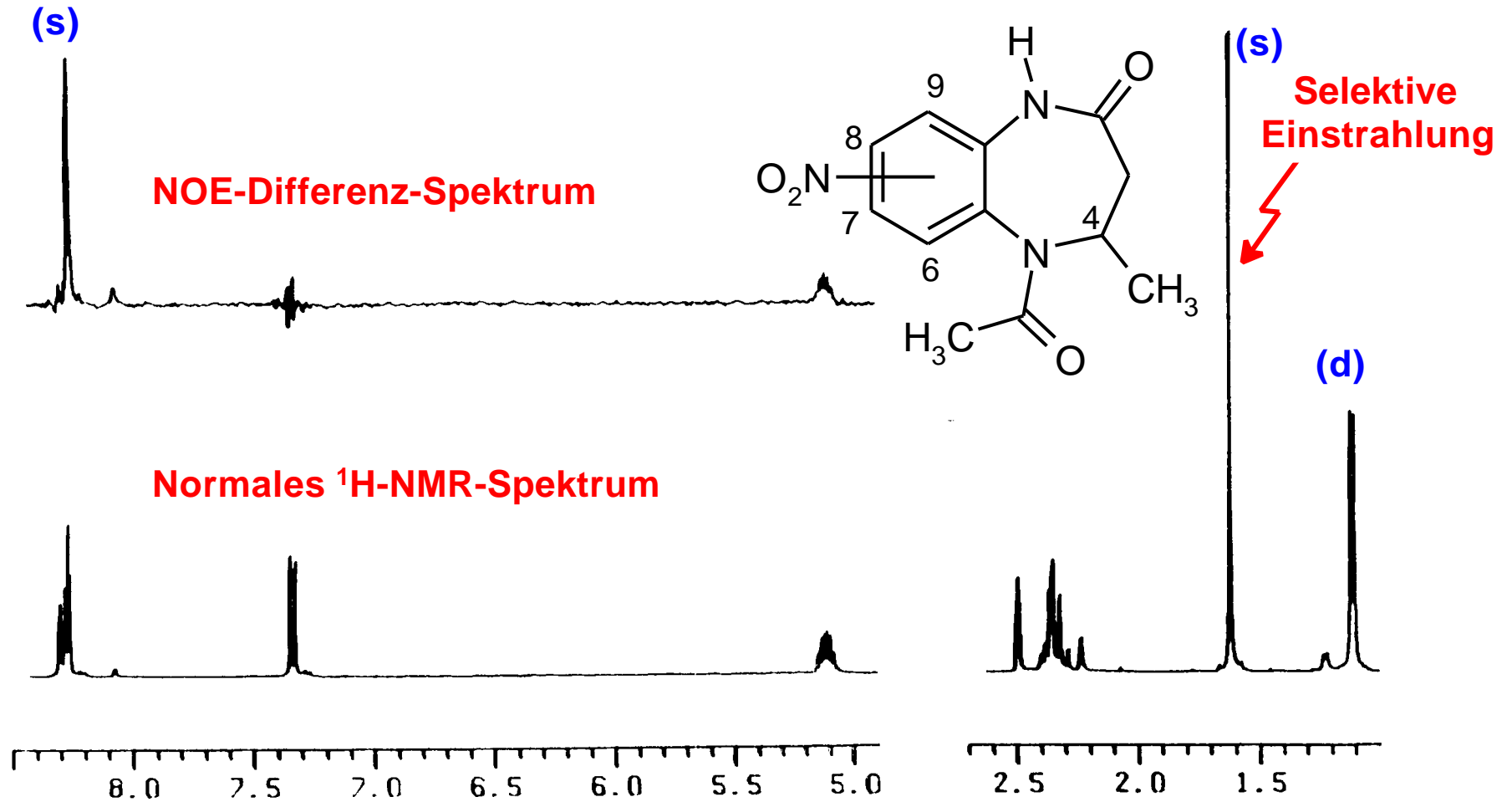
In den vergangenen 10-20 Jahren sind daher zahlreiche Experimente entwickelt worden, die die genannten Schwierigkeiten umgehen können, ohne aber auf die NOE-Information bezüglich räumlicher Entfernungen verzichten zu müssen.

Das zweidimensionale NOESY-Spektrum (\rightarrow) bietet hier einen Ausweg an, weil Vorsättigung nicht erfolgt. Allerdings bleibt die unangenehme Abhängigkeit von der Beweglichkeit erhalten.

Aber auch hier gibt es Ersatzmethoden: ROESY (\rightarrow) ebenfalls ein 2D-Experiment.

Von allen zweidimensionalen Methoden gibt es auch eindimensionale Varianten (1D-NOESY, 1D-ROESY), die im Aussehen den NOE-Differenzspektren ähneln.

Beispiel 1: An welchem der Kohlenstoffatome C-6 bis C-9 sitzt die Nitrogruppe?





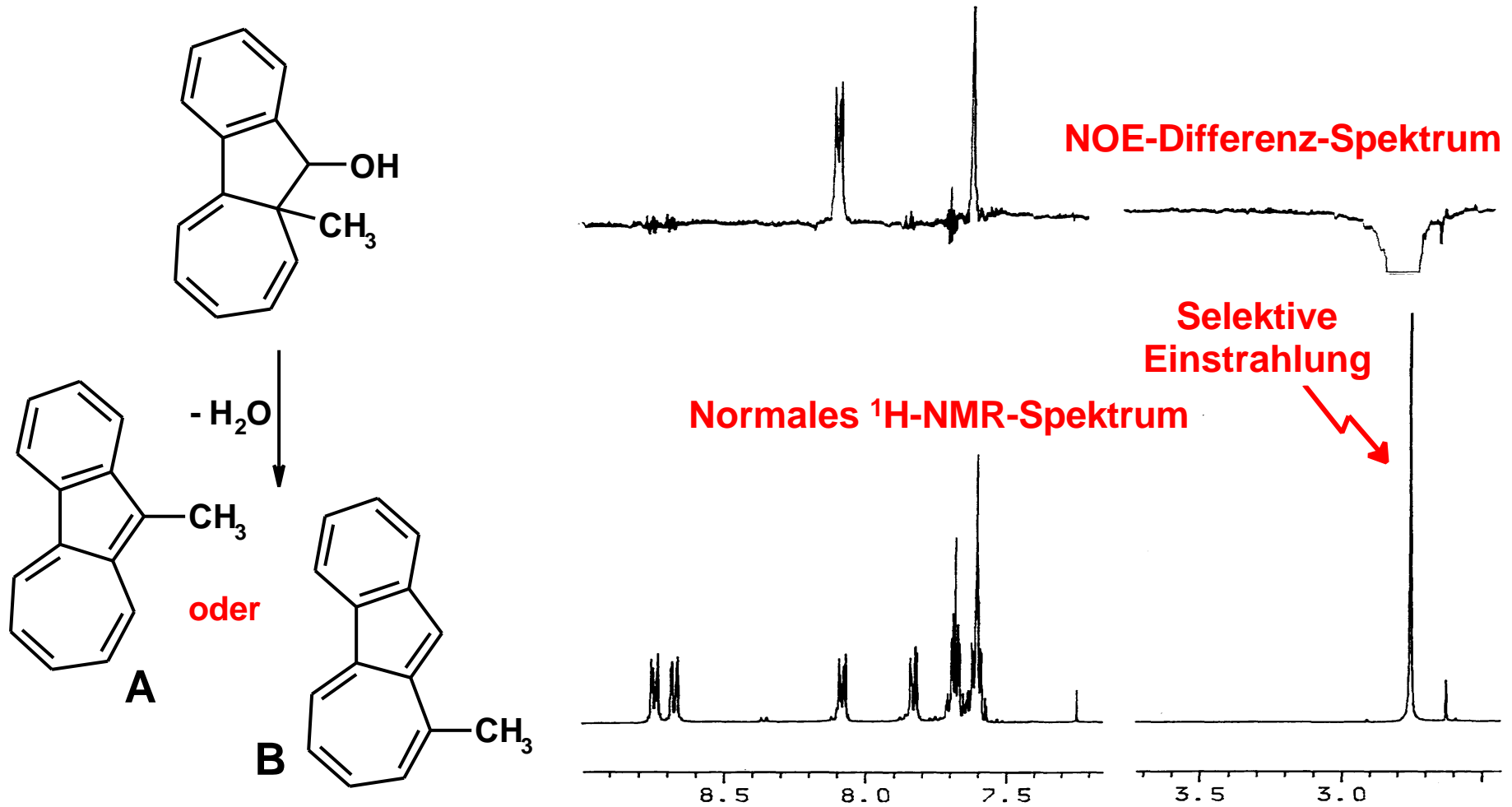
Für die Bestimmung der Position der Nitrogruppe muss man die Methingruppen des aromatischen Rings mit den Atomen des Diazepinonrings korrelieren. Dies über skalare Kopplungen (durch die Bindungen) zu tun ist wegen der dazwischen liegenden quartären C- und der N-Atome sehr schwierig.

Strahlt man dagegen den Übergang der Acetyl-Methylgruppe ein kann man durch den Raum induzierte NOE-Antworten erzeugen. Da diese Gruppe um die C-N-Bindung rotieren kann, kommt sie häufig in die unmittelbare Nähe des Protons an C-6. Alle anderen aromatischen Protonen sind zu weit weg. Sollte also ein aromatisches Proton eine Antwort geben (eine erhöhte Signalintensität haben), muss es sich um H-6 handeln.

Das NOE-Differenz-Spektrum zeigt in der Tat ein Signal bei $\delta = 8.25$ (H-6). Dieses ist (bei genauem Hinsehen) ein Singulett, was beweist, dass H-6 **keinen** *ortho*-ständigen Kopplungspartner (${}^3J \approx 8$ Hz) haben kann, d.h. es kann kein H-7 geben. Damit ist bewiesen, dass die **Nitrogruppe an C-7** steht.

Man beachte auch den NOE für H-4. Er wird ebenfalls durch die Methylrotation erzeugt. Die C⁴-CH₃-Protonen sind ebenfalls betroffen, was aber hier nicht dargestellt ist.

Beispiel 2: Welche der beiden vorgeschlagenen Strukturen ist richtig?





In diesem Beispiel war durch Dehydratisierung eines ungesättigten, tricyclischen Alkohols ein methylierter tricyclischer Kohlenwasserstoff entstanden. Durch ein NOE-Differenz-Experiment konnte zwischen den alternativen Strukturvorschlägen unterschieden werden:

Struktur **A** hat im Gegensatz zu **B** kein Methinproton, das nicht wenigstens ein benachbartes Methinproton besitzt, mit dem es eine *vicinale* Kopplung unterhalten kann (${}^3J \approx 8$ Hz).

Wenn im Bereich $\delta = 7-9$ des ${}^1\text{H}$ -NMR-Spektrums also ein Singulett auftritt, ist Struktur **B** richtig, wenn nicht, dann ist **A** entstanden. Das ${}^1\text{H}$ -NMR selbst lässt diese Entscheidung nicht zu, weil viele Signale trotz einer Messfrequenz von 400 MHz überlagert sind.

Einstrahlung auf die Methylgruppe führt zu NOE-Antworten an zwei Signalen, von denen eines tatsächlich ein Singulett ist, das vorher nicht klar sichtbar war. Damit ist die Struktur **B** als korrekt ermittelt. Zu welchem Proton gehört das zweite NOE-Signal (Dublett)?