

1. Sepište seznam signálů ^1H dle klesajícího chemického posunu (včetně nečistot), uveďte chemický posun, multiplicitu a relativní intenzitu, interakční konstanty, COSY a NOE.

Chem. posun CDCl ₃ / DMSO			Intenzita, multiplicita a J _{HH} [Hz]	COSY	NOE
(u nečistot uveďte pouze název)					
H1	8,84	8,94	1H, dd, ⁴ J _{H1H3} =2,3; ⁵ J _{H1H6} =0,9	H3	H4
H2	8,48	8,66	1H, dd, ³ J _{H2H6} =4,8; ⁴ J _{H2H3} =1,7	H6	H6
H3	7,76	8,10	1H, ddd, ³ J _{H3H6} =8,0; ⁴ J _{H3H1} =2,4; ⁴ J _{H3H2} =1,7	H1, H6	H4, H6
H4	7,52	8,58	1H, t, ³ J _{H4H7} =5,5	H7	H1, H3, H7, H8
H5	7,19	2,50	Rozpouštědla: CHCl ₃ (s) resp. CHD ₂ SOCD ₃ (kv, ² J _{HD} = 1,9 Hz)		
H6	6,96	7,43	1H, ddd, ³ J _{H6H3} =7,9; ³ J _{H6H2} =4,8; ⁶ J _{H6H1} =0,9	H3, H2	H2, H3
H7	3,52	3,39	2H, q, ³ J=6,3	H4, H8	?
H8	2,71	2,73	2H, t, ³ J _{H8H7} =6,7 Hz	H7	?
H9	1,76	3,33	Signál vody v rozpouštědlech		

2. Sepište seznam signálů ^{13}C dle klesajícího chemického posunu; signál rozpouštědla neuvádějte.

	δ [ppm]	HSQC	HMBC
C1	166,39	- - -	H3, H7 , H1, H4
C2	152,03	H2	H1, H3 , H6 HMQC H2
C3	148,46	H1	H2, H3 HMQC H1
C4	134,66	H3	H1, H2 HMQC H3
C5	129,26	- - -	H1, H6
C6	123,06	H6	H2
C7	54,03	H8	H8 , H7
C8	38,14	H7	H8 HMQC H7

Signál CDCl_3 je u 77,00 ppm, triplet $^1J_{\text{CD}} = 32,0$ Hz.

3. Uveďte stupeň nenasycenosti (ekvivalent dvojných vazeb), strukturu látky sumárního vzorce $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_3$ a přiřaďte signály jednotlivým H a C atomům.

Valence vícevazných atomů s předpokladem trívaznosti dusíků

$$= 24 \cdot 4 (\text{C}) + 3 \cdot 2 (\text{O}) + 7 \cdot 3 (\text{N}) = 96 + 6 + 21 = 123 \text{ valencí}$$

Minimální počet valencí potřebných ke spojení vícevazných atomů

$$= (24 \text{ C} + 3 \text{ O} + 7 \text{ N} - 1) \cdot 2 = 66 \text{ valencí}$$

Počet valencí jednovazných atomů

$$= 27 \text{ H} = 27 \text{ valencí}$$

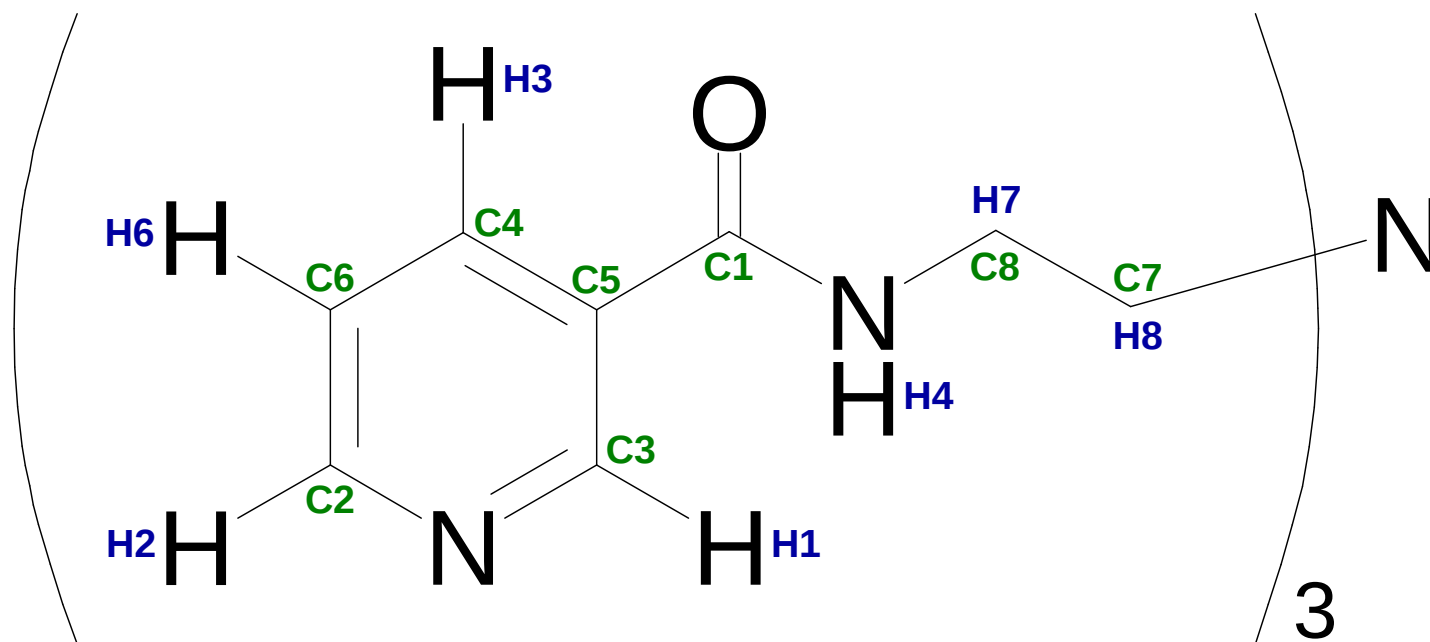
Počet zbývajících valencí

$$= 123 - 66 - 27 = 30 \text{ valencí}$$

Ekvivalent dvojných vazeb = počet

zbývajících valencí / 2

$$= 30 / 2 = \underline{15}$$



Jedna z možností odvození struktury a přiřazení signálů

1. Molekula má pouze 8 signálů v uhlíkovém spektru zatímco sumární vzorec jich obsahuje třikrát více. Součet intenzit signálů ve vodíkovém spektru je 9 zatímco sumární vzorec jich obsahuje třikrát více. Molekula tedy musí mít trojčetnou osu symetrie. Sumární vzorec obsahuje též tři kyslíky. Počet dusíků je po odečtení jednoho rovněž dělitelný třemi. Vzhledem k potřebě trojčetné osy a třívaznosti dusíku se nabízí vzorec molekuly $(C_8H_9N_2O)_3N$. Všimněme, že i ekvivalent dvojných vazeb je dělitelný třemi, $15/3 = 5$. K vyřešení struktury však této „jasnozřivosti“ není potřeba...

2. Z intenzit v 1H spektru jsou v molekule dvě CH_2 skupiny (signály H7 a H8), které spolu interagují (viz multiplicita a COSY), a jsou tedy spojeny vazbou = molekula obsahuje fragment CH_2-CH_2 . Spektrum COSY navíc ukazuje korelaci s H4, který je tripletem a je tedy vázán k jedné z CH_2 skupin. Signál H4 má intenzitu 1H, je rozšířený, jeho chemický posun je silně závislý na rozpouštědle, a není vázán na uhlíkový atom viz HSQC, což spolu s chemickým posunem vede k úvaze, že by se mohlo jednat o NH skupinu amidu. Jedna z CH_2 skupin je kvartet. Fragment $NH-CH_2-CH_2$ se tedy nabízí. Skutečnost, že multiplet prostřední CH_2 skupiny není dt, ale kvartet je častý jev; interakční konstanty jsou „zprůměrovány“: $(5,5 + 6,7) / 2 = 6,1$ Hz (pozorováno 6,3 Hz). Z HSQC lze zjistit konektivitu k uhlíkům a zapsat tedy fragment jako $N(H4)-C8(H7)_2-C7(H8)_2$.

3. Zkusme ověřit přítomnost amidu. Sumární vzorec obsahuje všechny potřebné atomy, které jsou obsaženy v amidové skupině. Signál C1 leží v oblasti amidových skupin. Dalším důkazem jsou signály (krospíky) v HMBC spektru. Uvážíme-li tedy fragment $C(=O)-N(H4)-C8(H7)_2-C7(H8)_2$ očekáváme krospík protonů H7 s uhlíkem amidu C1. Tento krospík skutečně pozorujeme. Navíc je tu i krospík C1 s H4. Dostáváme se tedy k fragmentu $C1(=O)-N(H4)-C8(H7)_2-C7(H8)_2$, který má jednu dvojnou vazbu.

4. Ve spektrech 1H a ^{13}C NMR zbývají již jen signály v aromatické oblasti, protony H1, H2, H3 a H6, uhlíky C2, C3, C4, C5 a C6. Jelikož uhlíků je pouze pět, nemůže se jednat o derivát benzenu. Běžným aromátem obsahujícím pouze pět uhlíkových jader je pyridin, což je podpořeno i sumárním vzorcem, který dusíkové atomy obsahuje. V tabulkách lze navíc naléznout, že typická interakční konstanta mezi vodíky v poloze 2 a 3 (či 5 a 6) je ca. 4-5 Hz (viz H2 a H6), a že uhlíky v okolí dusíku pyridinu jsou kolem 150 ppm (viz C2 a C3). Pyridinové jádro obsahuje 3 dvojně vazby a jeden cyklus, a má tedy stupeň nenasycenosti (ekvivalent dvojných vazeb) roven čtyřem. Vše tedy nasvědčuje tomu, že látka bude monosubstituovaným (4 vodíky) derivátem pyridinu.

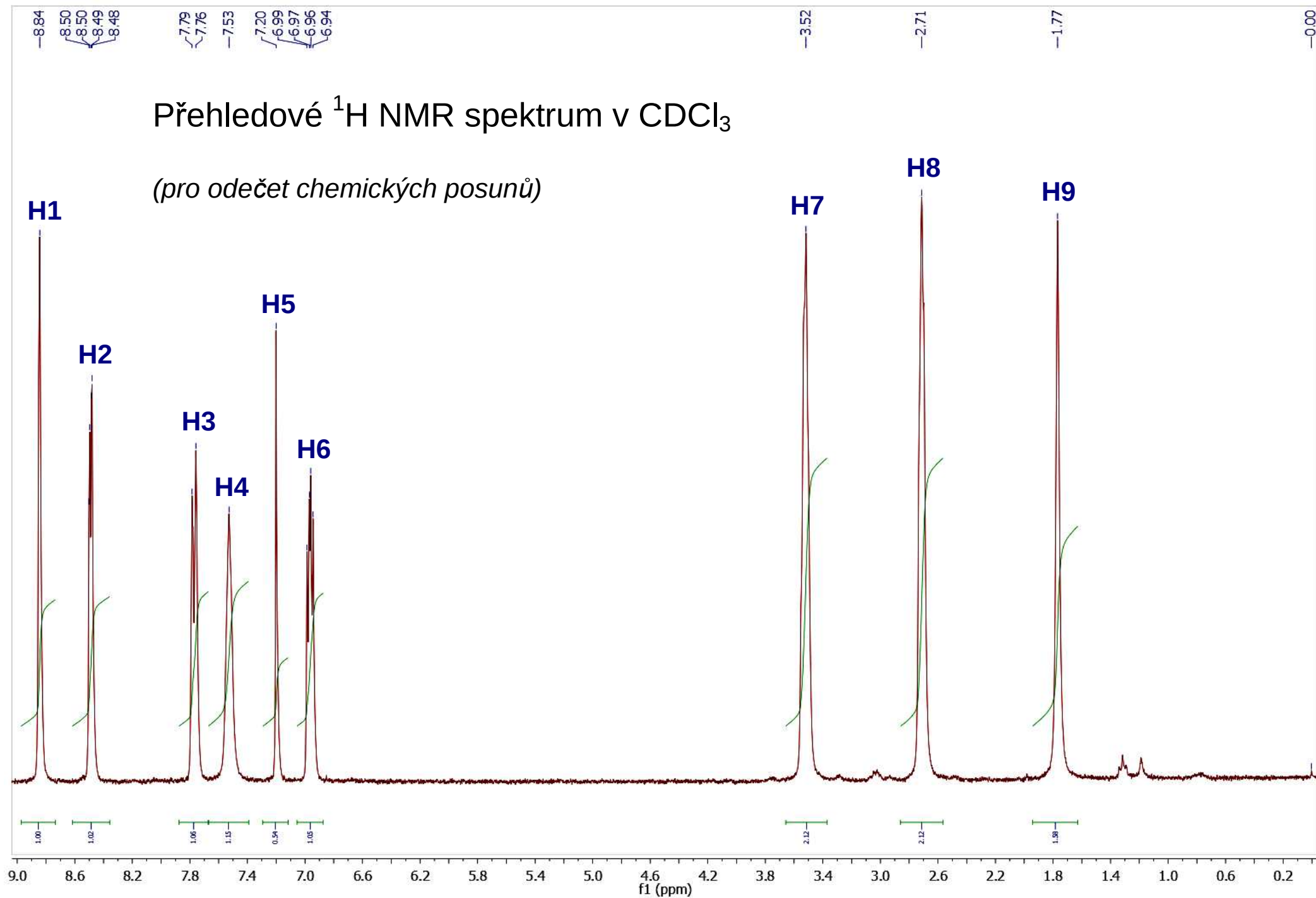
5. V které poloze bude pyridin substituován lze snadno rozhodnout úvahou nad jednotlivými možnostmi. Pokud by byl pyridin substituován v poloze 4, pak by měl pouze dva signály v 1H a tři signály v ^{13}C spektrech. Pokud by byl substituován v poloze 2, pak by měl 4 signály v 1H i ^{13}C spektru, ale u všech signálů vodíků by byla alespoň jedna interakční konstanta větší než 4-5 Hz (interakce přes 3 vazby jsou mezi vodíky pyridinů větší než 4 Hz). V našem případě jsou však interakční konstanty u signálu H1 pouze 2,3 a 0,9 Hz (velikost odpovídá interakcím přes více než 3 vazby), čemuž vyhovuje pouze derivát pyridinu substituovaný v poloze 3.

6. Ani H7 ani H8 nemá v HMBC krospík s uhlíky pyridinu, ani C7 ani C8 nemá v HMBC s vodíky pyridinu, a proto lze vyloučit substituci pyridinu uhlíkem C7. Naproti tomu C1 má krospík k H1 a H3. Je tedy zřejmé, že pyridin je substituovaný v poloze 3 karbonylem fragmentu z bodu 3. Navíc lze ze zmíněných krospíků C1-H1 a C1-H3 usoudit, že H3 a H1 budou v poloze 1 a 4; toto je též potvrzeno pozorováním NOE H4-H1 a H4-H3. Velikost interakčních konstant H1 (< 4 Hz) pak přisuzuje tomuto vodíku polohu 1 a signálu H3 polohu 4. Signál vodíku má navíc NOE pouze k H4 a je tedy „izolován“ od ostatních vodíků pyridinového jádra. Naproti tomu signál H3 má NOE nejen k H4, ale též k H6, což jednak potvrzuje přiřazení signálu H3, a jednak přiřazuje signálu H6 vodík v poloze 4.

7. Máme tedy odvozeno, že molekula obsahuje fragment $Py-3-CO-NH-CH_2CH_2$, který má sumární vzorec $C_8H_9N_2O$ a ekvivalent dvojných vazeb roven pěti. Žádné další signály ve spektrech 1H a ^{13}C již nejsou, a je tedy zřejmé, že molekula musí tento fragment obsahovat vícekrát. Snadno lze zjistit, že tento fragment může být v sumárním vzorci obsažen celkem třikrát, přičemž zbývá pouze jeden dusíkový atom. Vzorec molekuly $(Py-3-CO-NH-CH_2-CH_2)_3N$ je pak jediným možným řešením.

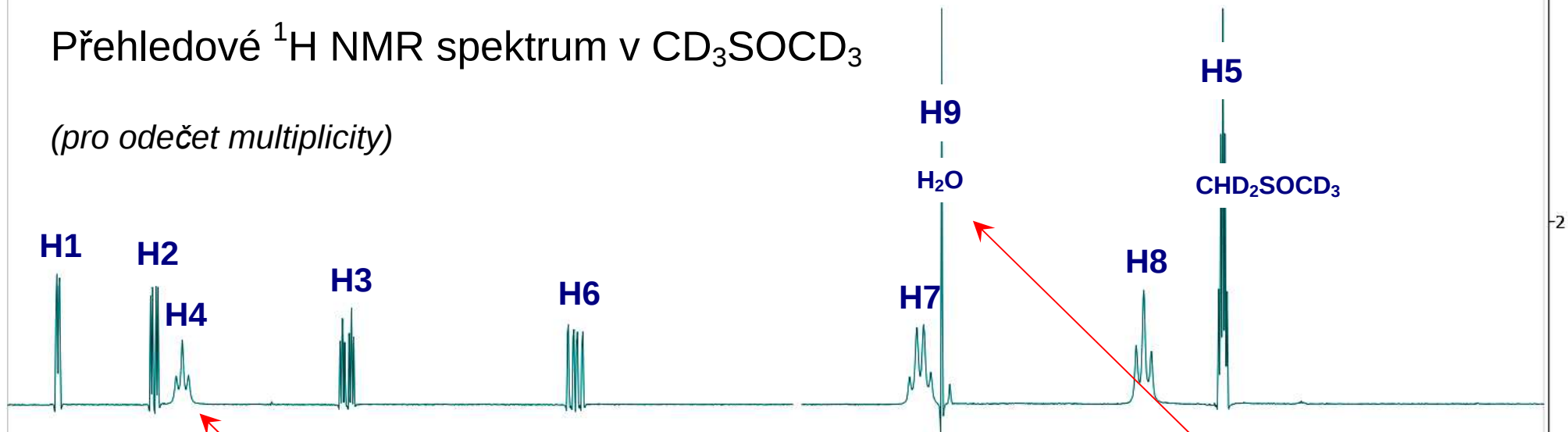
8. Přiřazení zbývajících signálů je možné například následujícím způsobem. Pyridinové jádro má pouze jeden kvartérní uhlík, čemuž odpovídá signál C5 (nemá krospík v HSQC). Signál H1 má HMBC krospík s C5 (interakce přes 2 vazby) a s C4 a C2 (interakce přes 3 vazby). Již víme, že v poloze 4 je H3, který má krospík v HSQC s C4. V poloze 4 je tedy C4H3. V poloze 6 je C2 nesoucí H2 (viz HSQC). Zbývají již pouze signály C6 a H6 a poloha 5.

9. Velmi zajímavé jsou HMBC krospíky fragmentu $C8(H7)_2-C7(H8)_2$. Krospíky H8-C8 a H7-C7 odpovídají interakci přes dvě vazby, která je přítomností dusíkových atomů dostatečně velká na to, aby byla pozorována. Mnohem zajímavější je krospík H8-C7, který samozřejmě nereprezentuje interakci H8-C7 přes jednu vazbu (to není v HMBC možné), ale interakci přes tři vazby, a dokládá tím symetrii molekuly a fragment $C7(H8)_2-N-C7(H8)_2$.

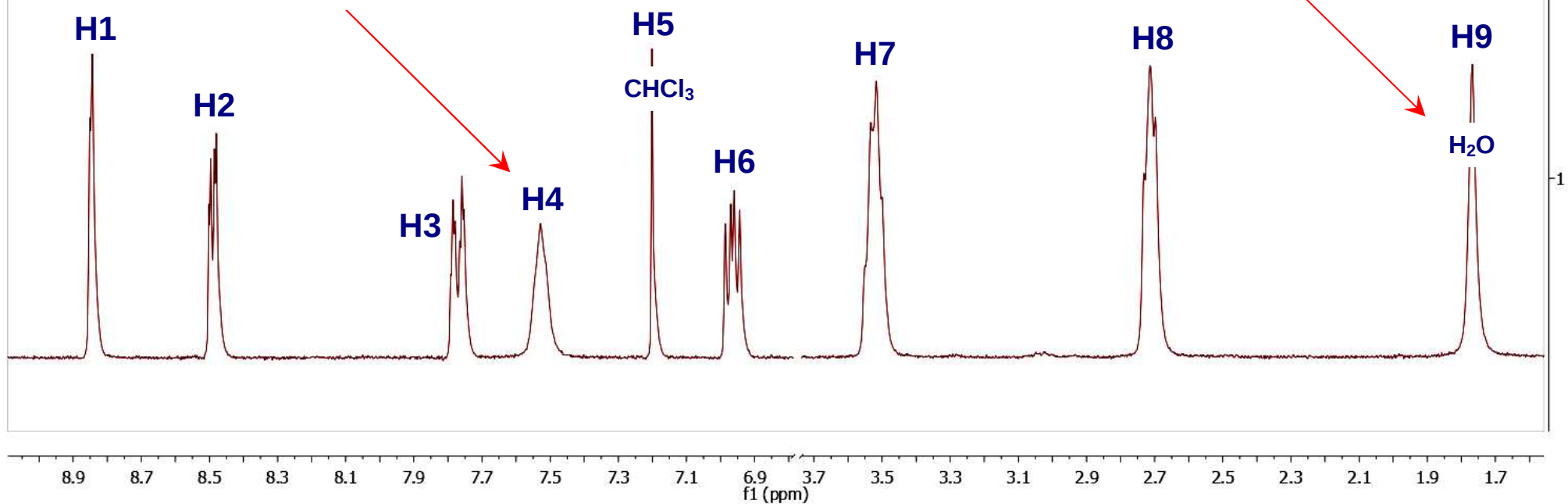


Přehledové ^1H NMR spektrum v CD_3SOCD_3

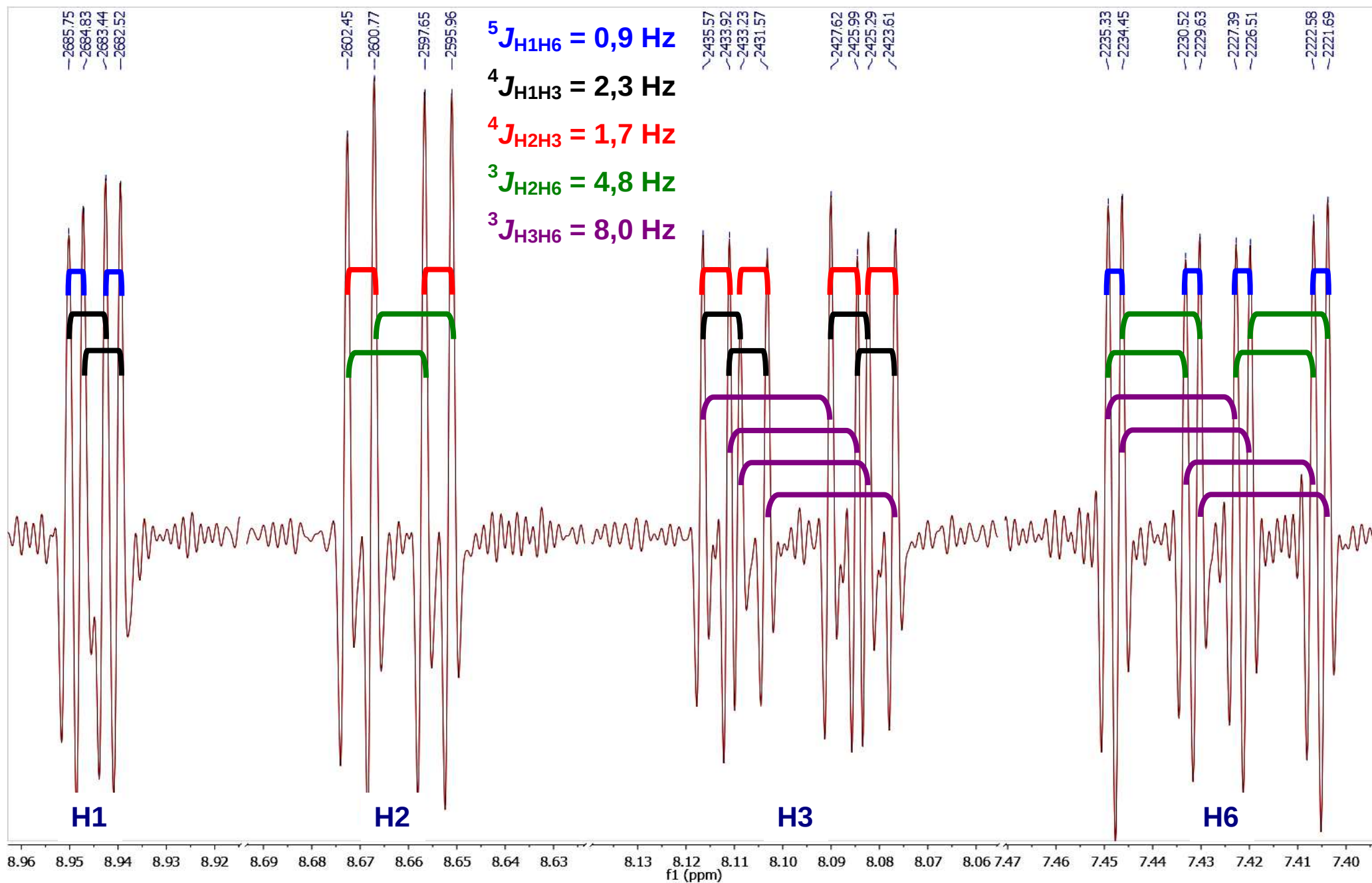
(pro odečet multiplicity)

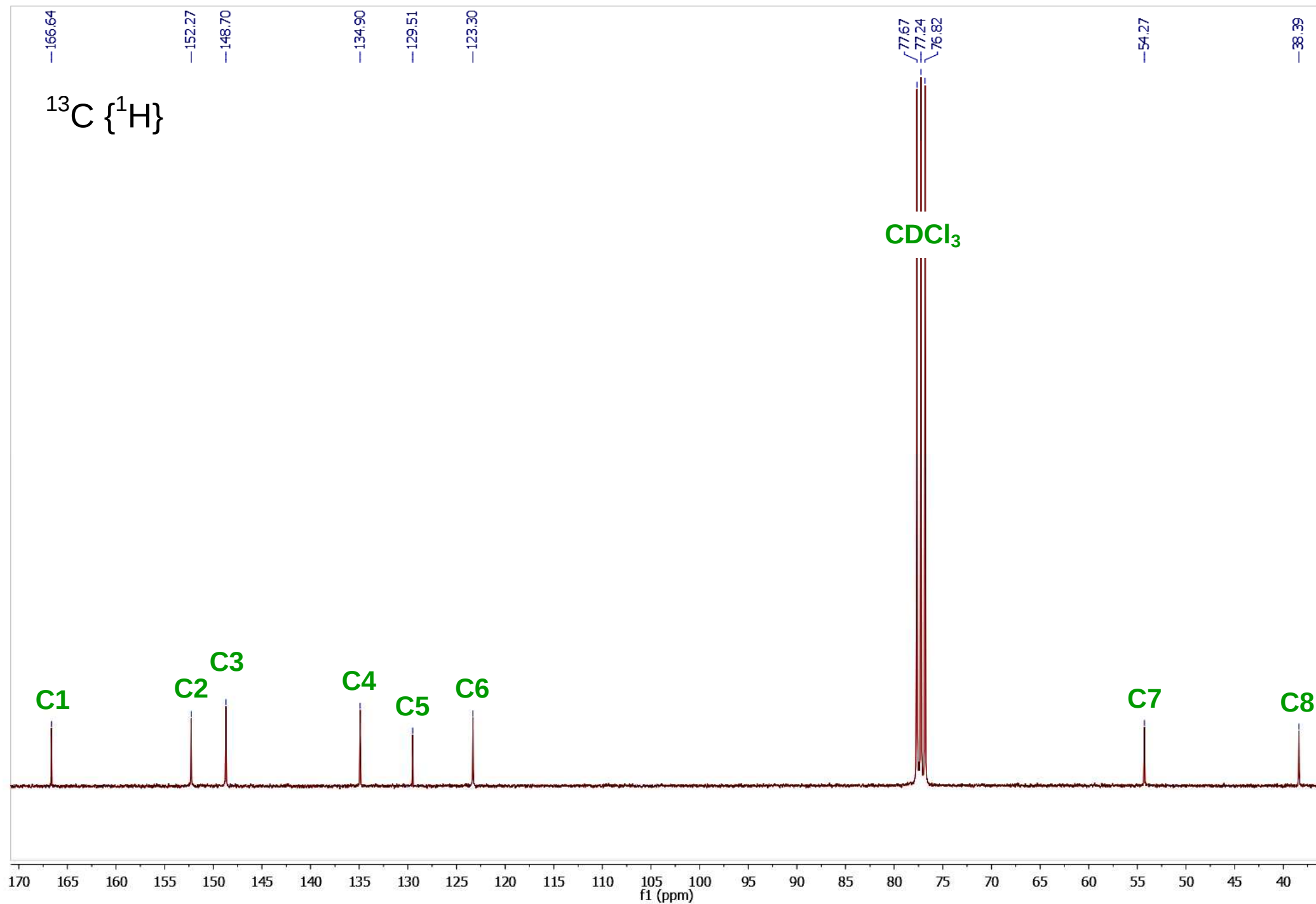


Přehledové ^1H NMR spektrum v CDCl_3

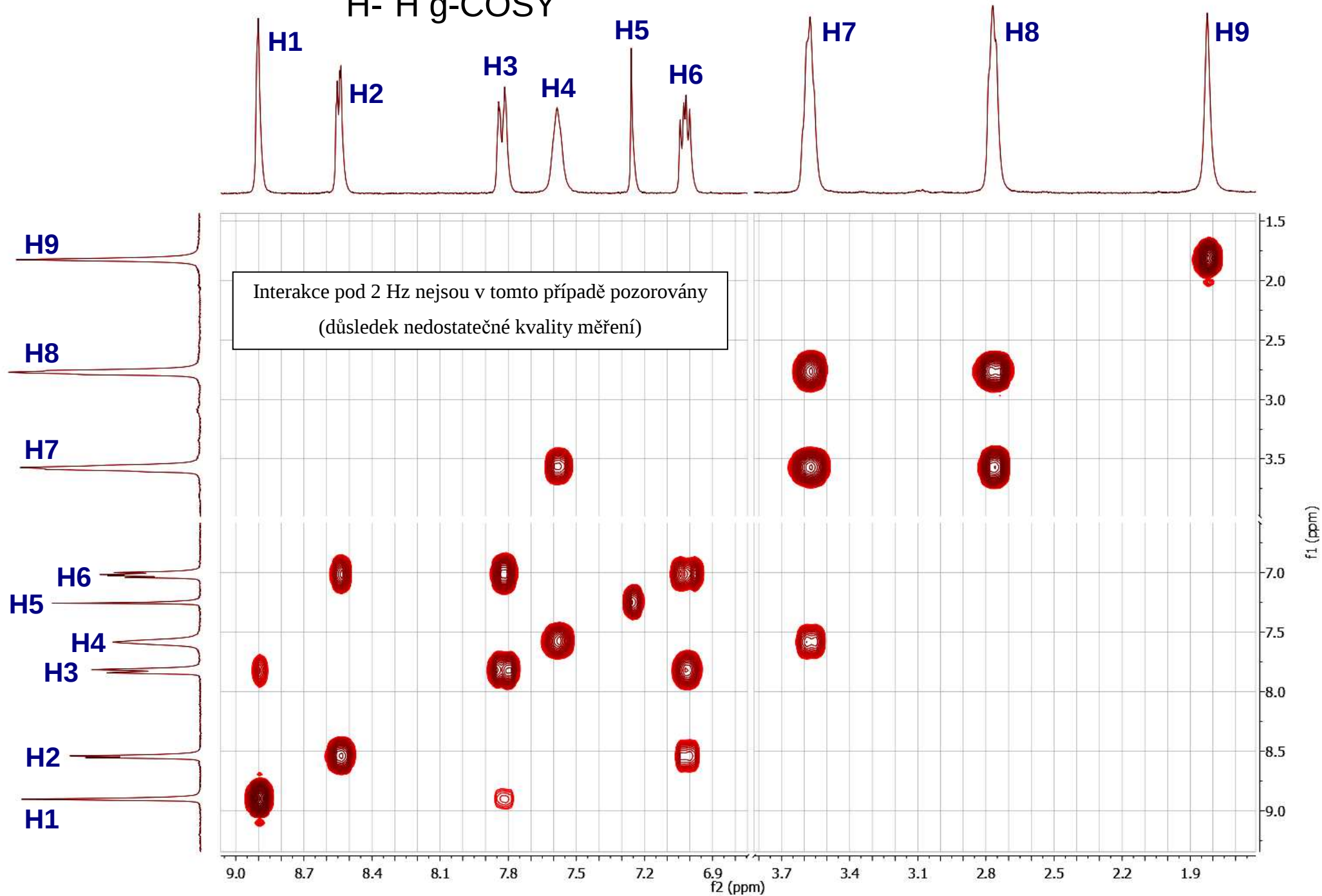


Vybrané signály ^1H NMR spektra v CD_3SOCD_3 zpracované s důrazem na rozlišení

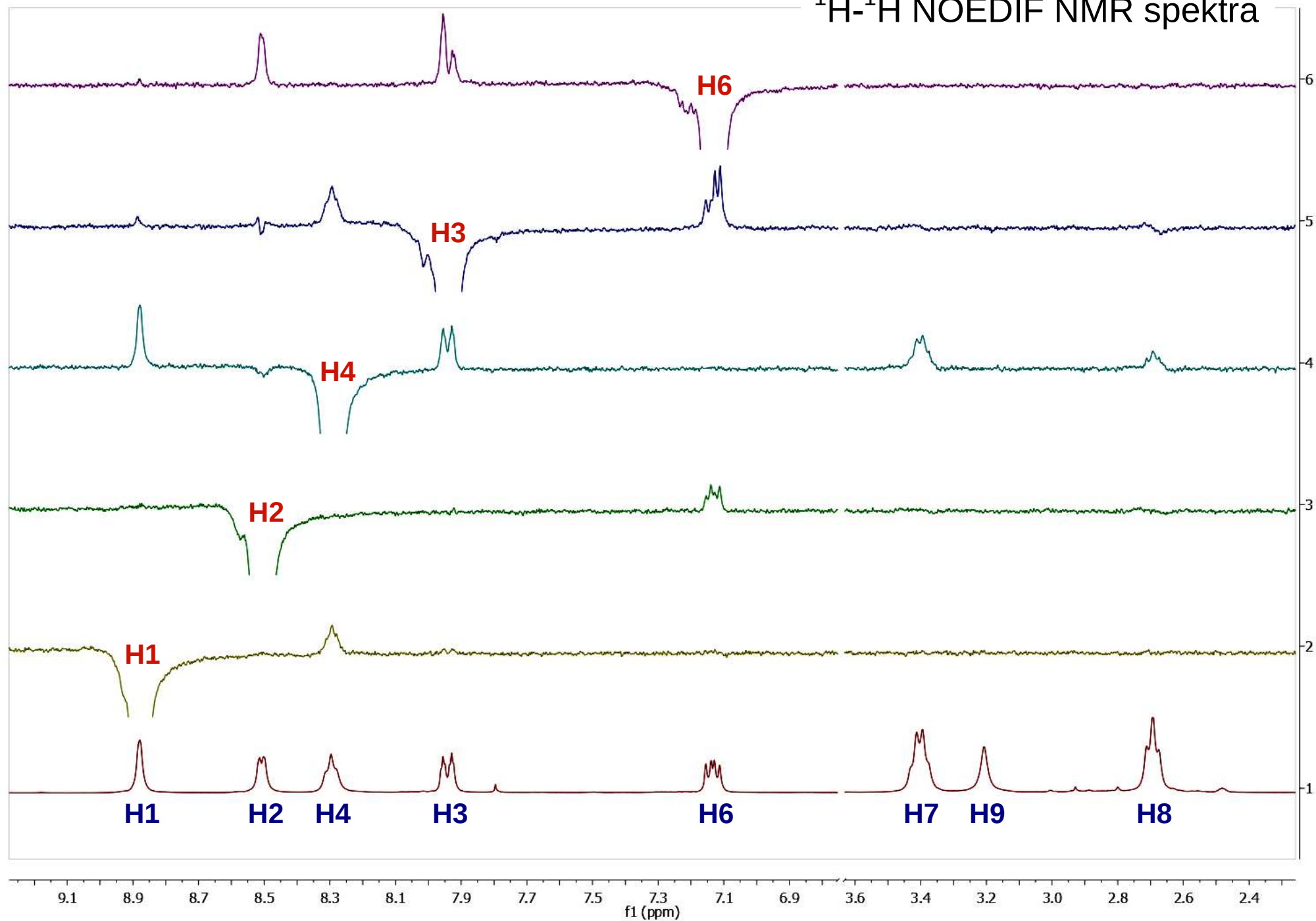




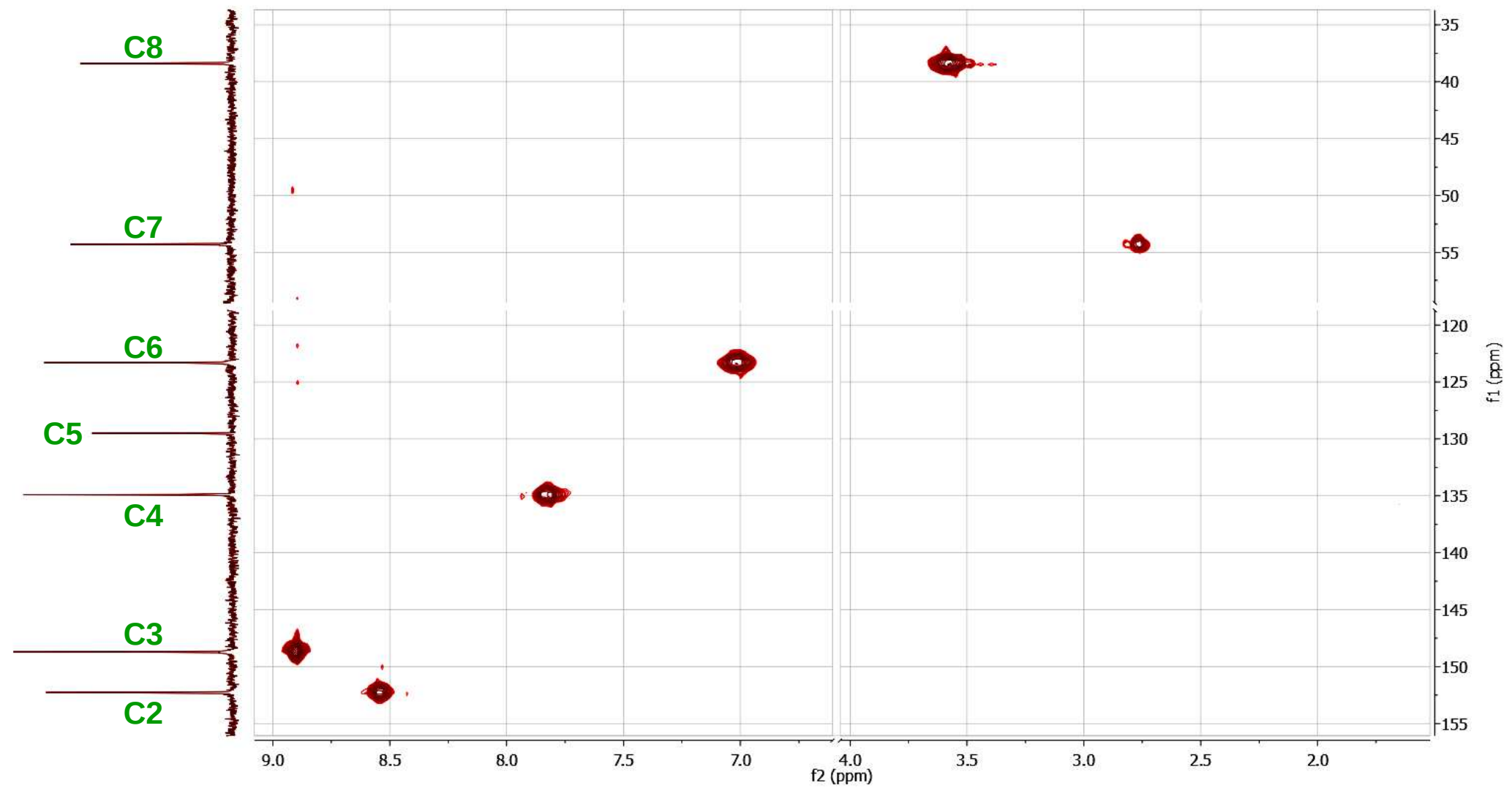
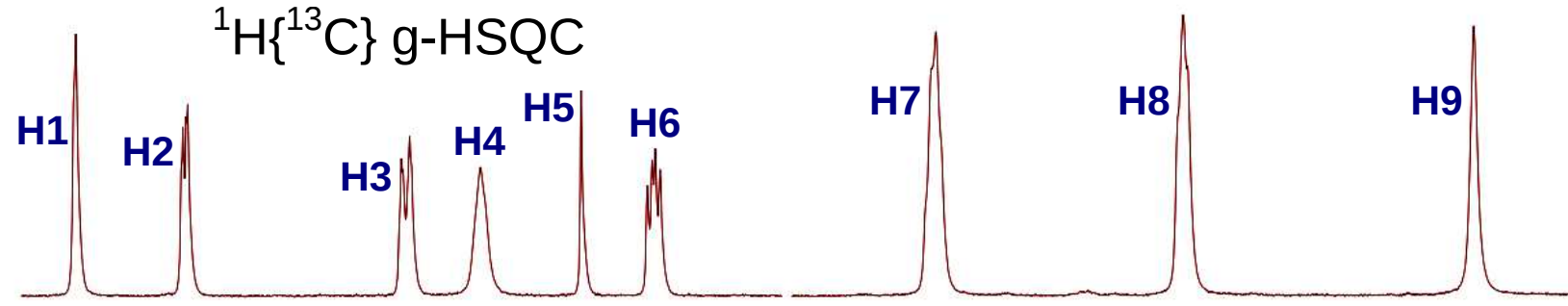
^1H - ^1H g-COSY



^1H - ^1H NOEDIF NMR spektra



$^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ g-HSQC



$^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ g-HMBC

