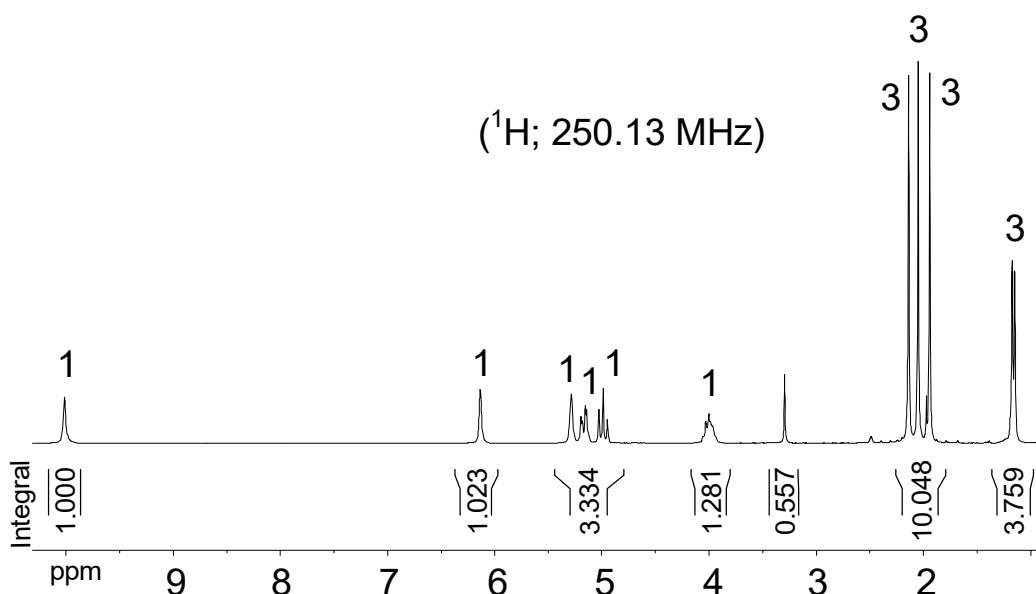


Lösung zu Aufgabe 1

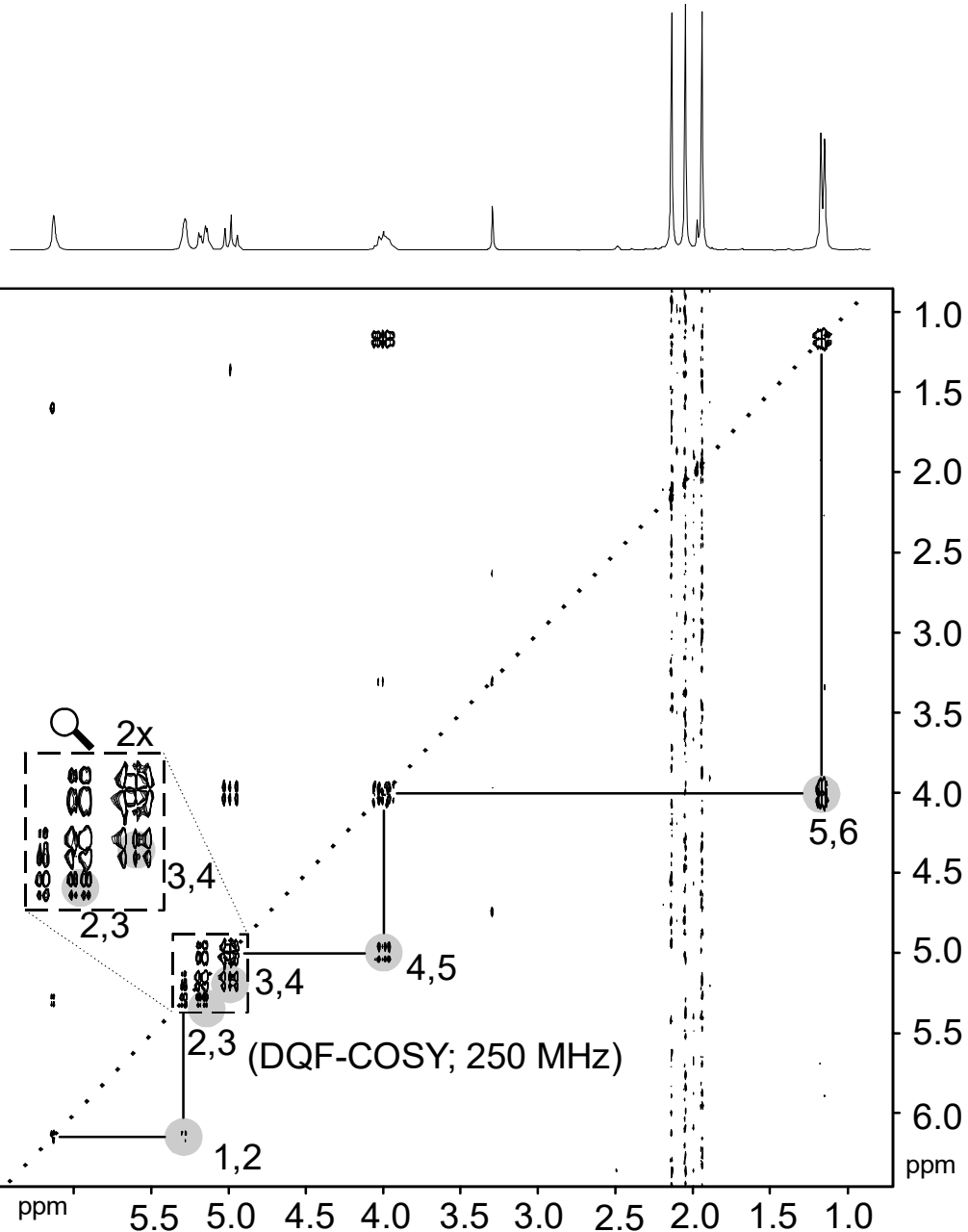


Im eindimensionalen Protonenspektrum können elf Protonengruppen separiert werden. Die 18 Protonen des Moleküls können diesen Multipletts wie folgt zugeordnet werden:

Multipl. bei δ [ppm]	Multiplizität	Integral
10,0	Singulett (s)	1
6,1	Singulett ? (s?)	1
5,3	Singulett ? (s?)	1
5,2	Multipl. (m)	1
5,0	Tripl. ? (t?)	1
4,0	Multipl. (m)	1
3,3	Singulett (s)	0,5
2,2	Singulett (s)	3
2,1	Singulett (s)	3
2,0	Singulett (s)	3
1,1	Dublett (d)	3

Wegen der unzureichenden Protonenanzahl kann das Singulett bei 3,3 ppm sofort als Störung ausgeschlossen werden.

Die drei Singuletts um die 2 ppm sind sicher den Methylprotonen der Acetylgruppen zuzuordnen. Eine Unterscheidung zwischen den drei Gruppen ist mit den hier angewandten Experimenten nicht möglich. Die Methylgruppe in 6-Position des Moleküls erscheint erwartungsgemäß als Dublett bei etwa 1,1 ppm. Da diese Gruppe wegen des Integrals, der Multiplizität und auch der chemischen Verschiebung eindeutig zugeordnet werden kann, sollte die Zuordnung der weiteren Protonen mit Hilfe der zweidimensionalen homonuklearen Korrelation von dieser Methylgruppe starten.



Das zweidimensionale doppelquantengefilterte COSY (**C**orrelated **S**pectroscopy) sollte theoretisch nur Signale (sowohl Diagonal- als auch Kreuzpeaks) von Protonen zeigen, die mit mindestens einem weiteren Proton skalar koppeln. Die Methylprotonen der Acetylgruppen sollten im DQF-COSY überhaupt nicht zu beobachten sein. Tatsächlich kommt es durch Probleme bei der Messung (Erschütterungen, Störungen der Magnetfeldhomogenität durch vorbeilaufende Personen, Temperaturschwankungen) zu Artefakten im Spektrum, die sich hier als senkrechte Streifen (T_1 -Rauschen) äußern. Außer dieser Störung sind aber tatsächlich keinerlei Signale dieser drei Methylgruppen nachweisbar. Ebenso fehlt ein Hinweis auf das Proton bei 10 ppm (im Interesse des Abbildungsmaßstabes wurde der entsprechende Spektrenbereich nicht abgebildet).

Die Diagonale des DQF-COSY (stark punktierte Linie) entspricht mit diesen Einschränkungen dem eindimensionalen Protonenspektrum.

Der im DQF-COSY mit **5,6** bezeichnete Kreuzpeak gibt an, daß das Dublett bei 1,1 ppm und das Multiplett bei 4,0 ppm von Protonen herrühren, die miteinander koppeln. Das ausgehend von dem Signal bei 1,1 ppm kein weitere Kreuzpeak beobachtet wird, kann das Signal bei 4,0 ppm somit nur vom Proton **5** herrühren. Über einen weiteren Kreuzpeak (**4,5**) findet man sofort Proton **4** bei etwa 5,0 ppm. Der Bereich um 5 ppm ist im DQF-COSY etwas unübersichtlich und wurde deshalb zusätzlich vergrößert abgebildet. In diesem Bereich kann die Verknüpfung der Protonen **3** und **4** bzw. **2** und **3** beobachtet werden. Proton **1** erscheint schließlich bei 6,1 ppm. Das Signal im eindimensionalen Protonenspektrum sollte natürlich ein Dublett sein. Wegen der äquatorialen Anordnung sowohl von H-1 als auch von H-2 ist die Kopplungskonstante jedoch sehr klein und kann nicht mehr aufgelöst werden. Wegen der kleinen Kopplungskonstante fällt auch die Intensität des Kreuzpeaks zwischen H-1 und H-2 sehr schwach aus. Abschließend sollte das Multiplett bei 10,0 ppm dem NH-Proton zuzuordnen sein, das Dublett bei 8,3 ppm läßt sich mit der chemischen Formel nicht interpretieren und entstammt damit einer unbekanntem Verunreinigung.

Lösung zu Aufgabe 2

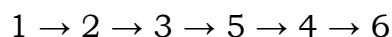
Im Kohlenstoffspektrum findet sich ein Triplett im Intensitätsverhältnis 1:1:1 bei ca. 77 ppm. Hier wurde CDCl_3 als Lösungsmittel verwendet.

Daneben findet man 6 Signale im Kohlenstoff- und 6 Multipletts im Protonenspektrum. Aus dem C,H-COSY entnimmt man, daß alle Protonen an C-Atome gebunden sind. Der Sauerstoff ist nicht an ein Proton, sondern ausschließlich an ein C-Atom gebunden.

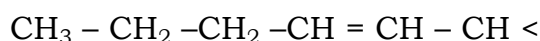
Von hohem nach tiefen Feld erhält man die folgende Aufstellung der CH-Gruppen:

Multipllett	δ [ppm] (^1H)	Integral	δ [ppm] (^{13}C)
1	0.89	3	13.4
2	1.48	2	21.0
3	2.25	2	34.5
4	6.04	1	133.0
5	6.80	1	158.3
6	9.43	1	193.6

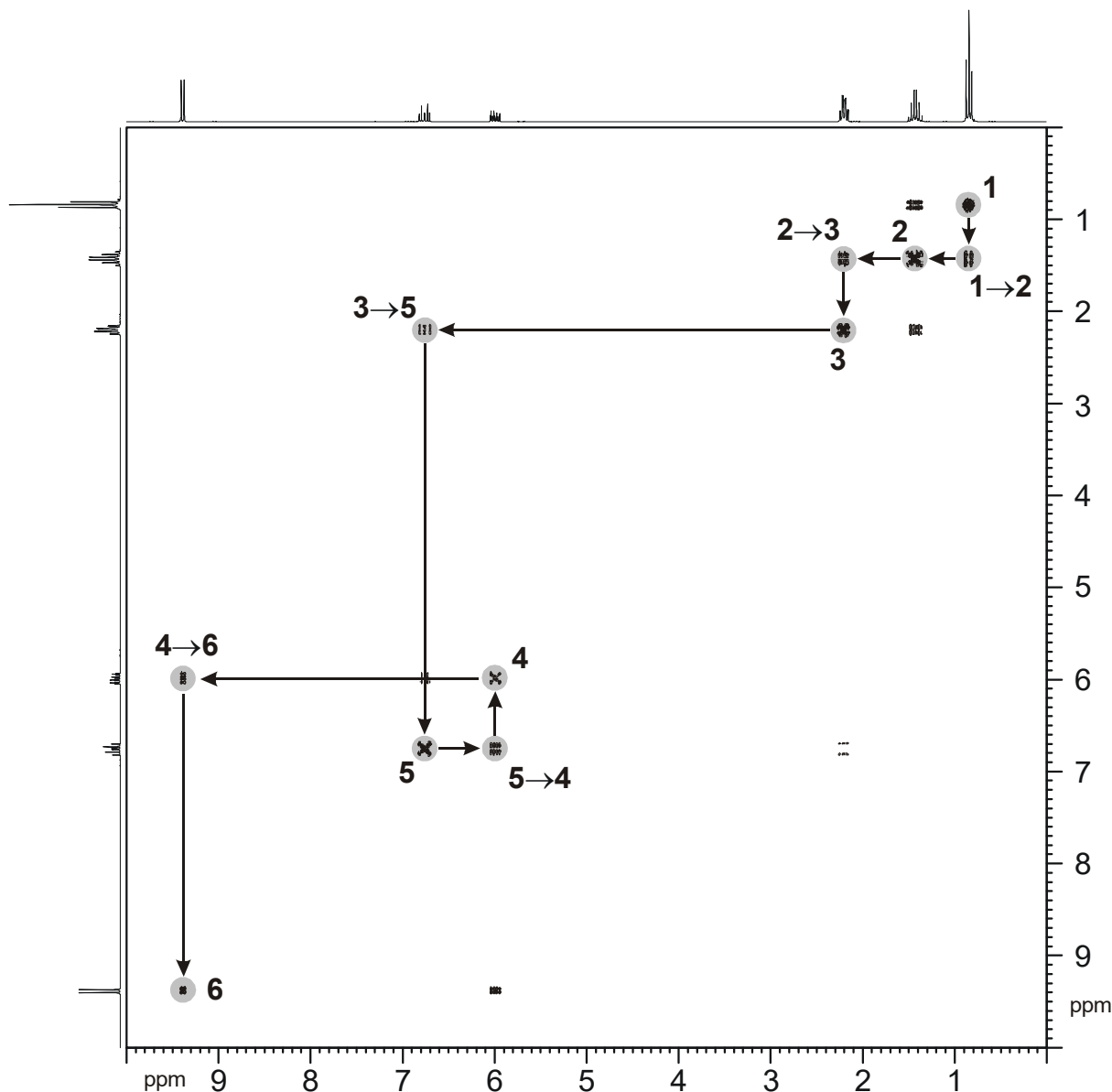
Die Verknüpfung der CH_n -Gruppen ist den DQF-COSY (nächste Seite) zu entnehmen:



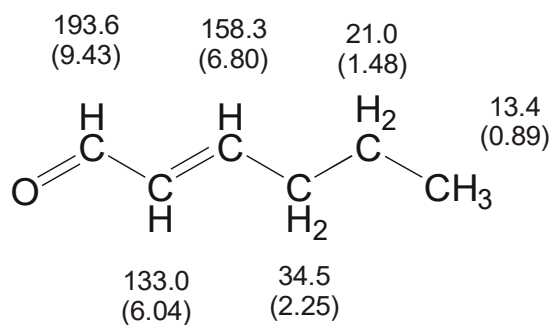
Daraus resultiert eine Struktur



Die zwei freien Valenzen werden für das eine Sauerstoffatom aus der Summenformel benötigt. Konstitutionell handelt es sich um 2-Hexenal.

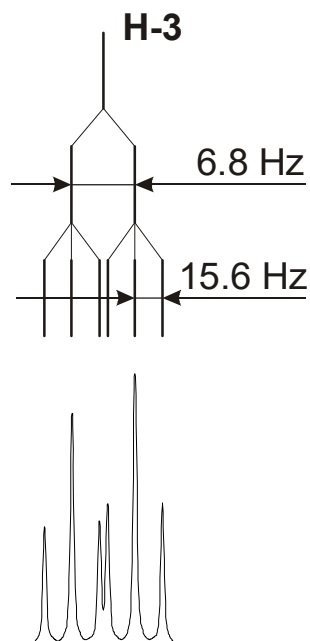


Für die Ermittlung der Konfiguration an der Doppelbindung ist natürlich die Kopplungskonstante zwischen den beiden olefinischen Protonen heranzuziehen. Diese sollte im Falle einer E-Anordnung etwa 16 Hz betragen, bei Z-Konfiguration wären etwa 10 Hz zu erwarten.



H-2 (Multipllett **4** der Tabelle) zeigt neben der erwarteten Kopplung zum benachbarten aldehydischen Proton und dem olefinischen Proton H-3 (Dublett von Dubletts) noch eine allylische Kopplung zu H-4. Das

resultierende Dublett von Dublett von Triplets ist auswertbar, einfacher geht es aber mit dem Signal von H-3 (Multipllett **5** der Tabelle). Hier ist lediglich die Kopplung zu H2- und H-4 ohne weitere Fernkopplung sichtbar.

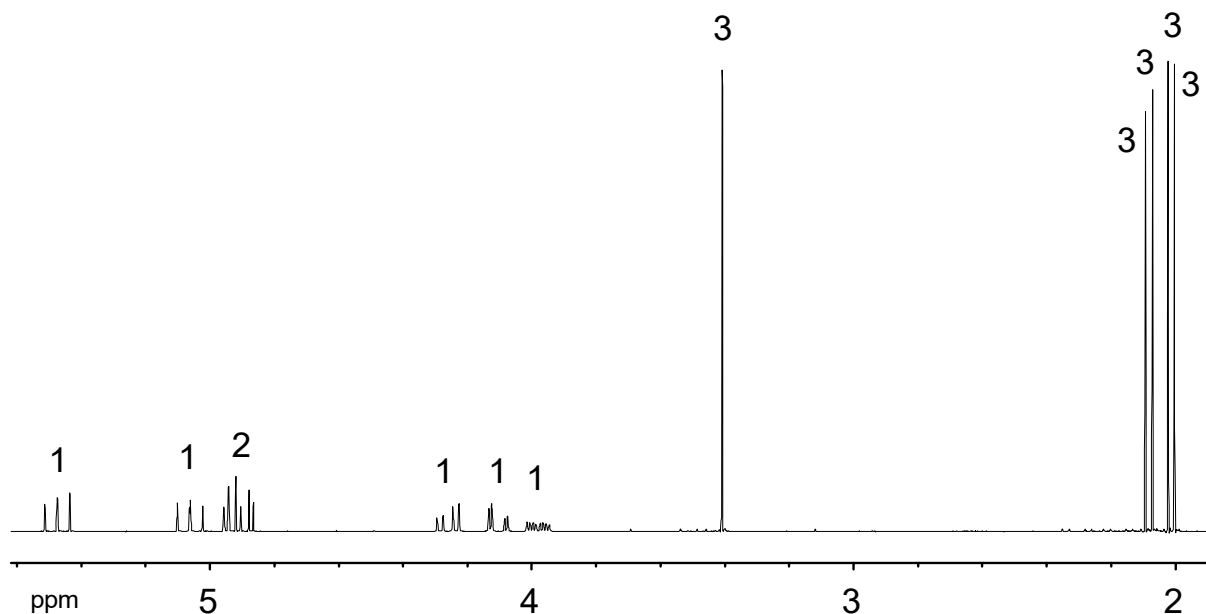


Eine Kopplungskonstante von 15.6 Hz zwischen H-2 und H-3 spricht eindeutig für eine E-Konfiguration.

Finale Struktur: 2-E-Hexenal.

Lösung zu Aufgabe 3

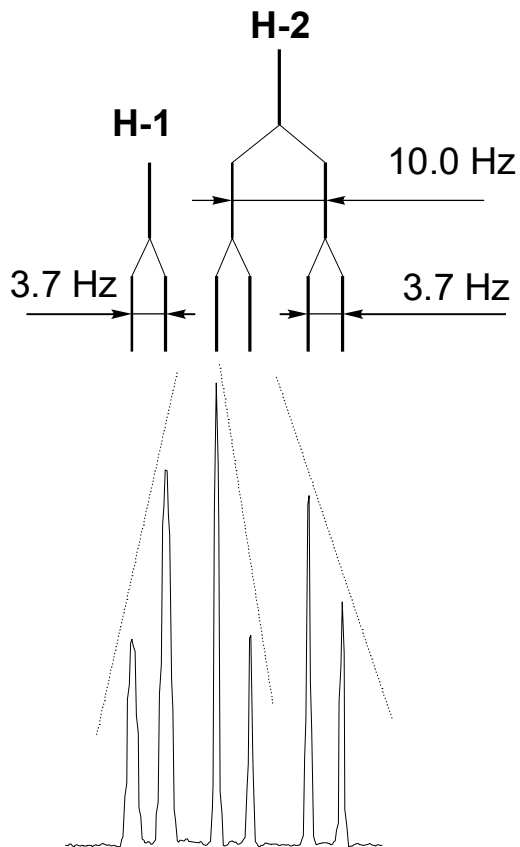
Eine kleine Schwierigkeit dieser Aufgabe besteht darin, zwei sehr dicht benachbarte Protonenmultipletts aufzulösen und zuzuordnen. Natürlich gibt es mehrere Lösungsmöglichkeiten, eine soll präsentiert werden.



Der erste Schritt besteht zweckmäßigerweise in der Integration des Protonenspektrums. Hier lassen sich ohne Schwierigkeiten alle 22 Protonen auffinden. Das Singulett bei 3.4 ppm gehört offensichtlich zur Methoxygruppe in 1-Stellung des Moleküls. Die vier Methylsinguletts um 2 ppm sind den Acetylgruppen zuzuordnen. Die genaue Zuordnung aller vier Methylgruppen erfolgt etwas später. Bei den Protonen H-1 bis H-6 sollte man sich überlegen, welche Multiplettstruktur man eigentlich erwartet. Es sollte sich folgende Lösung ergeben:

Proton	Multiplett
H-1	d
H-2	dd
H-3	dd
H-4	dd
H-5	ddd
H-6'	dd
H-6''	dd

(d: Dublett; dd: Dublett von Dubletts; ddd: Dublett von Dubletts von Dubletts)

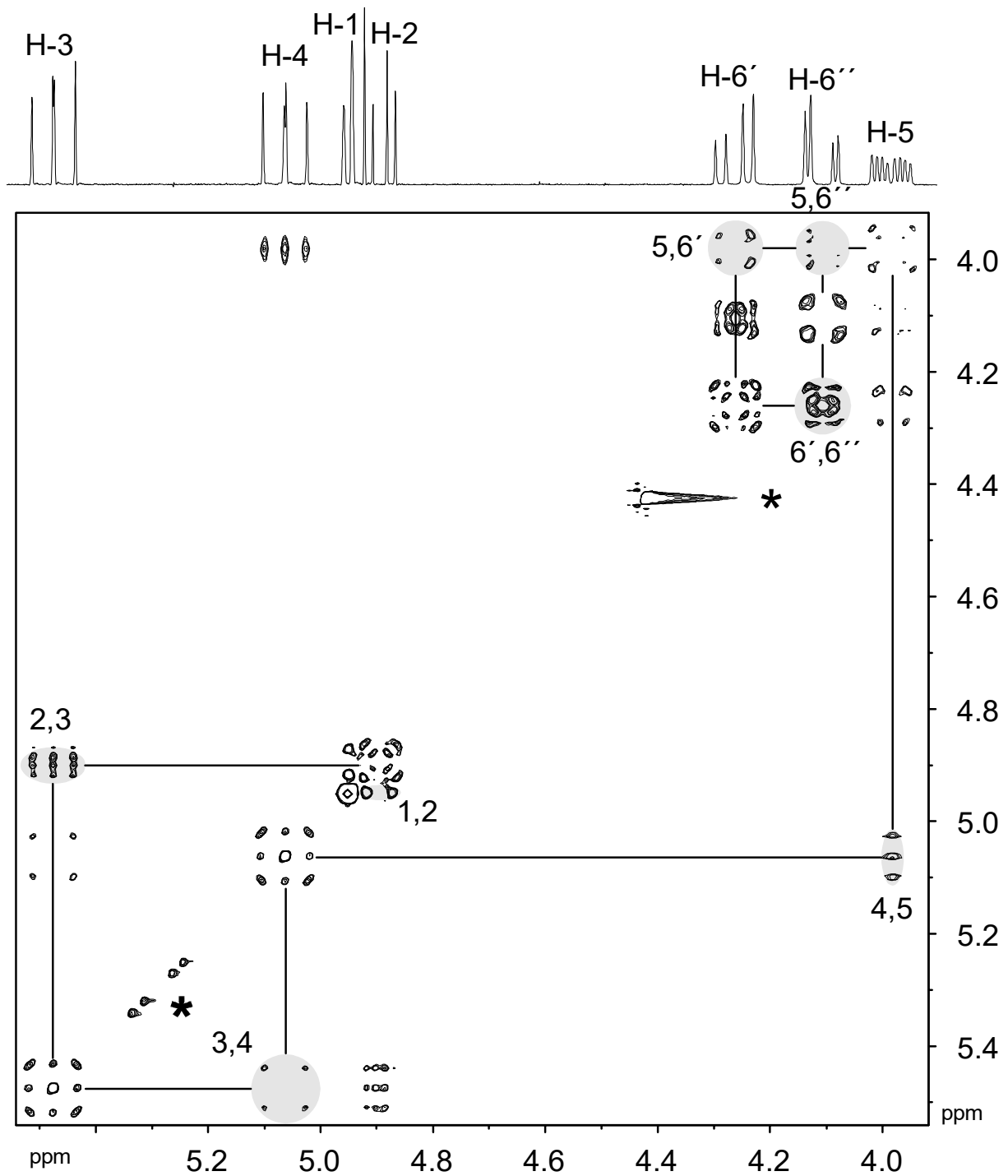


Da im Spektrum nur eine ddd-Multiplettstruktur auftaucht, wäre H-5 schon einmal zugeordnet. Vier der fünf Doppeldoublets sind bei etwa 5.5, 5.1, 4.3 und 4.1 ppm leicht auffindbar. Das Multiplett bei 4.9 ppm weist sechs Linien auf und besteht nach den obigen Überlegungen zweifelsfrei aus einer Kombination von d (H-1) und dd (anderes Proton außer H-5). Welche zwei Linien gehören jetzt zu H-1? Die Antwort liefert eine sorgfältige Analyse des Integrals im Spektrum des oberen Teils von Blatt 2 (der Aufgabenstellung). Die beiden tieffeldigen Linien des überlagerten Multipletts entsprechen bereits einem Proton (H-1), die restlichen vier Linien einem weiteren Proton.

Nachdem in dem Multiplett bei 4.9 ppm H-1 bereits zugeordnet wurde, kann man auch gleich einmal die Kopplungskonstanten aus den verbleibenden vier Linien extrahieren. Die bereits für H-1 beobachtete Aufspaltung

$^3J_{H-1,H-2}=3.7$ Hz (ausgehend von H-1 kommt kein anderer Kopplungspartner in Frage) findet sich auch in diesem Doppeldoublet wieder, so daß mit einiger Sicherheit auch H-2 zugeordnet ist. Eine Zuordnungshilfe liefert auch der in der Abbildung punktiert angedeutete "Dach"effekt.

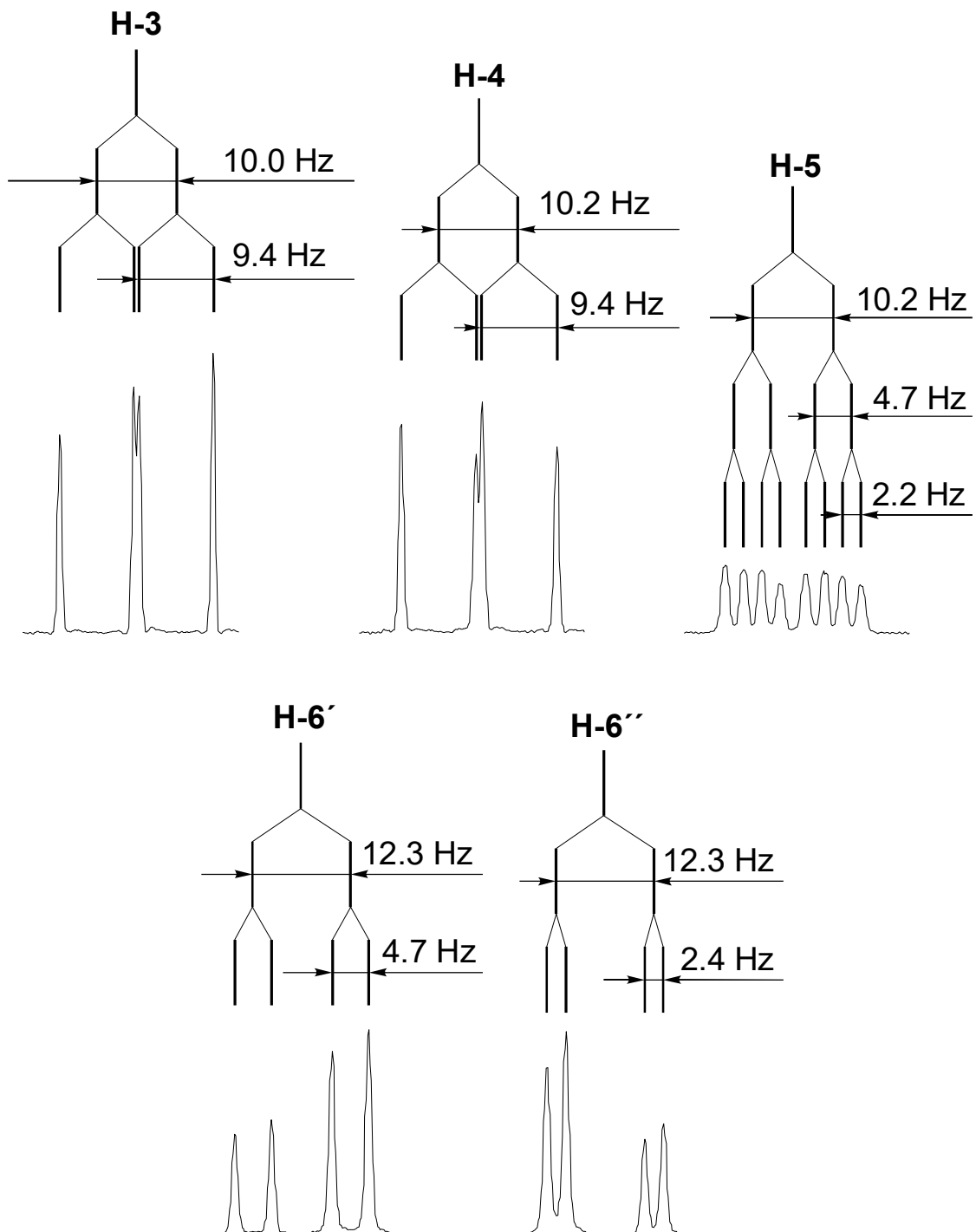
Nachdem auf diese Weise H-1 (und auch gleich H-2) zugeordnet wurden, findet man die entsprechende Korrelation auch relativ problemlos im TOCSY (grau markierter Kreuzpeak). Das TOCSY selbst zeigt bei der gewählten sehr kurzen Mischzeit nur Korrelationen zwischen benachbarten Protonen (d.h. Protonen an benachbarten Kohlenstoffatomen oder am gleichen Kohlenstoff), so daß die Zuordnung der weiteren Protonen sehr leicht möglich ist. Ob für die Auswertung dabei die Kreuzpeaks oberhalb oder unterhalb der Diagonale gewählt werden, bleibt bedeutungslos. Wichtig ist lediglich die Einhaltung der Regel **Diagonalpeak -> Kreuzpeak -> Diagonalpeak**.



Proton	chem. Verschiebung [ppm]	Multiplett	Kopplungskonstanten
H-1	4.95	d	$ \ ^3J_{\text{H-1,H-2}} = 3.7 \text{ Hz}$
H-2	4.89	dd	$ \ ^3J_{\text{H-2,H-3}} = 10.0 \text{ Hz}$
H-3	5.48	dd	$ \ ^3J_{\text{H-3,H-4}} = 9.4 \text{ Hz}$
H-4	5.06	dd	$ \ ^3J_{\text{H-4,H-5}} = 10.2 \text{ Hz}$
H-5	3.98	ddd	$ \ ^3J_{\text{H-5,H-6}'} = 4.7 \text{ Hz}$
H-6'	4.26	dd	$ \ ^2J_{\text{H-6}',\text{H-6}''} = 12.3 \text{ Hz}$

H-6'' | 4.11 | dd | $|\text{}^3J_{\text{H-5,H-6''}}| = 2.4 \text{ Hz}$

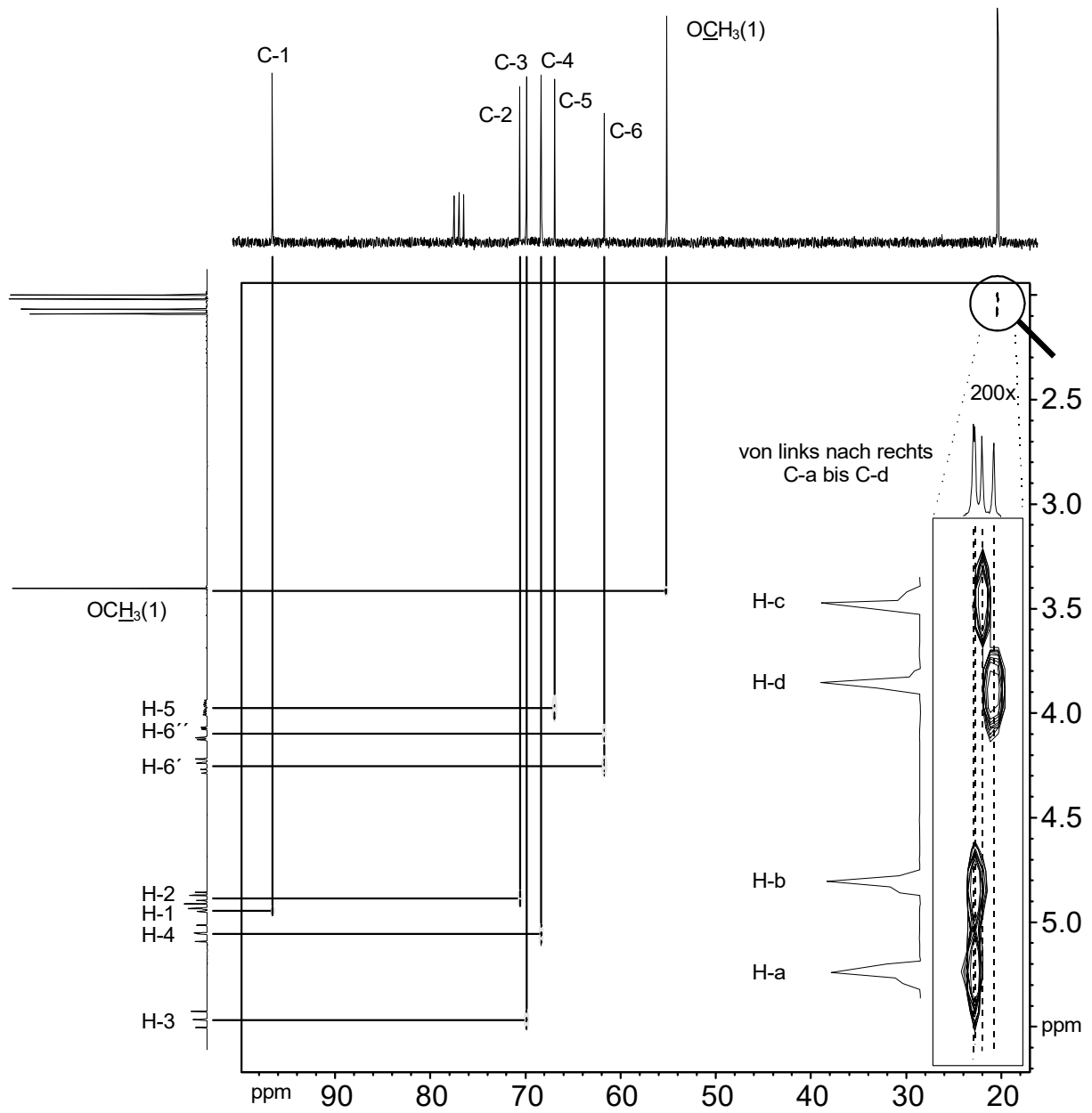
Die einzelnen Multipletts mit den daraus extrahierten Kopplungskonstanten sind unten noch einmal zusammengefaßt. Natürlich läßt sich die Verknüpfung der Protonen auch aus den Kopplungskonstanten ableiten. Der Weg ist aber mühevoller als der über das TOCSY. Der geringfügig andere Wert für ${}^3J_{\text{H-5,H-6''}}$ im Multiplett von H-5 im Vergleich zu dem aus dem Multiplett von H-6'' extrahierten Wert rührt von der etwas größeren Linienbreite her. Hier tritt wahrscheinlich eine long-range Kopplung zu H-1 (man beachte dazu auch die etwas verbreiterten Linien im Dublett von H-1) auf, die im konkreten Beispiel aber nicht weiter untersucht werden soll.

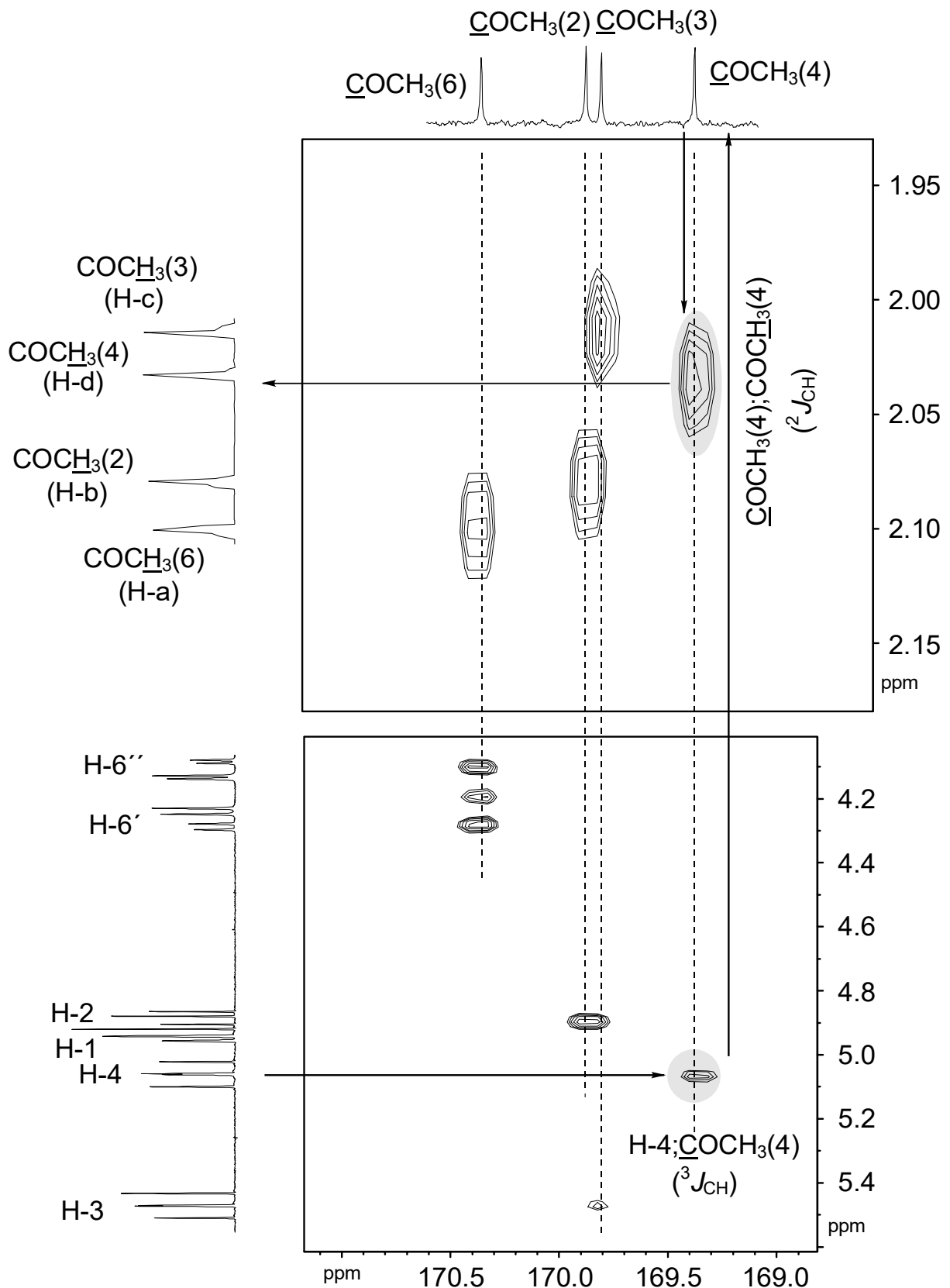


Die Stereochemie der Verbindung kann eindeutig aus den homonuklearen Kopplungskonstanten abgeleitet werden. Nur eine trans-diaxiale Anordnung der koppelnden Protonen zueinander ergibt Kopplungskonstanten im Bereich von 10 Hertz. Die Anordnungen axial-equatorial, equatorial-axial und equatorial-equatorial liefern Kopplungskonstanten im Bereich von 0 bis etwa 4 Hertz. Die großen Kopplungskonstanten zwischen H-5 und H-4, H-4 und H-3 sowie H-3 und H-2 weisen auf eine axiale Stellung der Protonen H-2 bis H-5 hin. Wegen der bereits eindeutigen axialen Stellung von H-2 steht H-1 aufgrund der kleinen Kopplungskonstanten zwischen H-2 und H-1 equatorial. Die Stereochemie der Verbindung wurde somit eindeutig geklärt. Es handelt sich um 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -methylglucosid.

Die Zuordnung der Kohlenstoffatome C-1 bis C-6 dürfte mit Hilfe der C,H-COSY kein Problem darstellen. Ausgehend von C-6 gibt es natürlich zwei Kreuzpeaks zu den diastereotopen Protonen H-6' und H-6''. Die Zuordnung der Methoxygruppe an C-1 gelingt durch ihre Singulettstruktur im Protonenspektrum und ihre charakteristische chemische Verschiebung im Vergleich zu den übrigen vier Methylgruppen.

Letztere lassen sich mit den bisher angewandten Spektren noch nicht zweifelsfrei zuordnen. Immerhin können bereits die vier C,H-Paare bestimmt werden. Deren Bezeichnung erfolgt vorläufig ungeachtet der Position im Molekül mit Buchstaben.





Eine Zuordnung der vier Acetylschutzgruppen ist über eine long-range C,H-Korrelation möglich. Für das vorliegende Problem wurde im Interesse einer hohen Auflösung in der Kohlenstoffdimension ein COLOC gewählt. Unabhängig von der gewählten Aufnahmetechnik (direkte oder inverse Korrelation) für die long-range C,H-Korrelation werden im Regelfall

Kreuzpeaks zwischen Kernen beobachtet, die zwei oder drei Bindungen voneinander entfernt sind. Kreuzpeaks zwischen weiter entfernten Kernen scheiden wegen der dann normalerweise zu kleinen heteronuklearen Kopplungskonstanten aus, Kreuzpeaks zwischen direkt gebundenen Protonen und Kohlenstoffkernen werden durch die Wahl einer geeigneten Pulssequenz gezielt unterdrückt.

Ausgehend von H-4 soll die vollständige Zuordnung aller Protonen und Kohlenstoffatome der an C-4 gebundenen Acetylschutzgruppe erläutert werden.

Der Carbonylkohlenstoff der an C-4 gebundenen Acetylschutzgruppe ist von H-4 drei Bindungen entfernt (H(4)-C(4)-O-CO). Alle weiteren Carbonylkohlenstoffatome im Molekül sind weiter als drei Bindungen von H-4 entfernt, sollten in der long-range C,H-Korrelation also keinen Kreuzpeak erzeugen. Damit kann zunächst das Carbonylkohlenstoffatom zugeordnet werden. Die Methylprotonen der gleichen Acetylschutzgruppe sind zwei Bindungen vom Carbonylkohlenstoffatom entfernt, so daß auch hier ein long-range Kreuzpeak beobachtet wird. Alle weiteren Methylprotonen sind viel zu weit von dem betrachteten Carbonylkohlenstoffatom entfernt. Die Methylprotonen haben bereits in der direkten C,H-Korrelation die zunächst formale Bezeichnung H-d erhalten. Folglich handelt es sich bei C-d um das Methylkohlenstoffsignal der Acetylgruppe an C-4.

Der Zuordnungsweg ist in der long-range C,H-Korrelation mit symbolisch mit Pfeilen markiert.

Viermalige Durchführung der gleichen Prozedur beendet die vollständige Signalzuordnung aller Protonen und Kohlenstoffatome im untersuchten Molekül.

Die exakten Werte der chemischen Verschiebungen werden am besten den eindimensionalen Spektren entnommen.

Lösung zu Aufgabe 4

$C_{10}H_8$, 7 Doppelbindungsäquivalente; Naphthalin liegt fast augenblicklich auf der Hand. Eine kurze Inventur für Naphthalin:

- zwei verschiedene Arten von Protonen und
- drei Arten von C-Atomen.

Im Vergleich dazu das Spektrum:

- 5 Signalgruppen im Protonenspektrum und
- 6 Signale im Kohlenstoffspektrum.

Naphthalin war es dann wohl erst einmal nicht.

Andererseits liegt schon Symmetrie vor, die im Vergleich zur Protonen- bzw. Kohlenstoffzahl aus der Summenformel wenigen Signale lassen sich nur schwerlich durch zufällige Überlagerungen erklären.

Zunächst einmal erkennt man aus dem DQF-COSY, daß

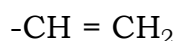
- das Dublett bei 8.4 ppm,
- das Triplet bei 7.7 ppm und
- das Triplet bei 7.2 ppm

in irgendeiner Weise zu benachbarten Protonen gehören. Ebenso gehören wohl

- das Triplet bei 7.9 ppm und
- das Dublett bei 7.4 ppm

zusammen.

Das letztere der beiden Spinsysteme mit insgesamt drei Protonen würde auf den allerersten Blick zu einem Strukturfragment



gehören. Diese Interpretation ist jedoch höchst unbefriedigend. Zum einen sollten sich die beiden Protonen der $=\text{CH}_2$ -Gruppe chemisch unterscheiden und damit zwei getrennte Signale ergeben. Zum anderen würde man im Triplet (dann ja eigentlich ein Dublett von Dubletts) der $=\text{CH}$ -Gruppe Kopplungskonstanten zwischen 10 und 16 Hz erwarten. Gemessen werden jedoch nur 4 Hz.

Bleibe als zweite Variante nur ein Fragment

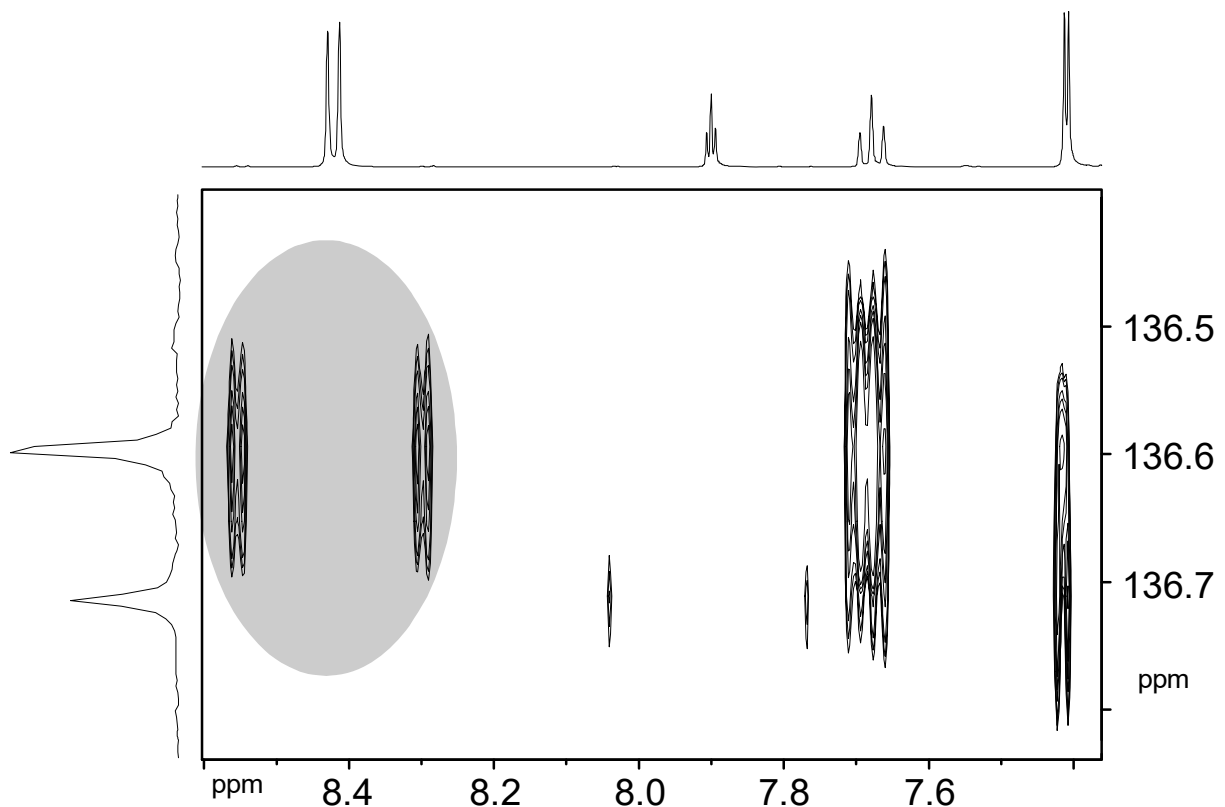


wobei hier die Doppelbindungen alternieren müßten. Bei Einbettung des Fragmentes in einen aromatischen Ring wäre diese Forderung erfüllt.

Für das zweite Protonenspinsystem liegen die folgenden Angaben vor:

$\delta (^1\text{H})$ [ppm]	$\delta (^{13}\text{C})$ [ppm]	Anzahl H
8.42	136.6	2
7.68	137.5	1
7.23	122.8	2

Für die Zuordnung des C,H-Paares in der ersten Spalte der Tabelle ist das HMQC wegen seiner geringen Auflösung in der F_1 -Dimension ungeeignet. Hier hilft die an sich unerwünschte direkte Korrelation aus dem besser aufgelösten HMBC.



Für das zugehörige Strukturfragment sollte man auch hier die $=\text{CH}_2$ -Gruppierung vermeiden, da die beiden an einem C-Atom gebundenen olefinischen Protonen nicht äquivalent wären. Die zwei olefinischen Protonen zu einem C-Signal könnte man dann nur noch durch zwei äquivalente $=\text{CH}$ -Gruppierungen erklären. Letztlich resultiert aus dieser Betrachtung das Fragment

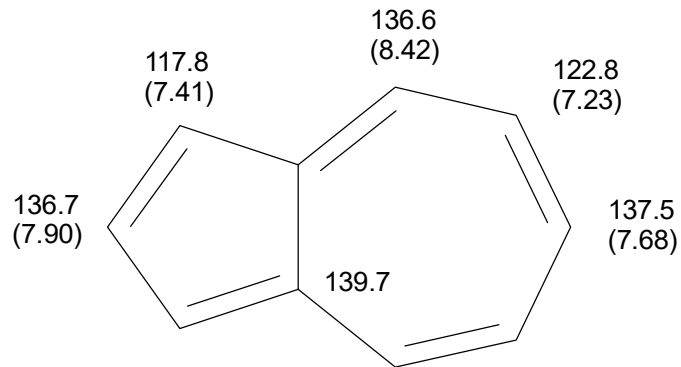


wiederum mit alternierenden Doppelbindungen.

Eine kurze Zwischenbilanz: an der Summenformel fehlen jetzt noch zwei C-Atome und im ^{13}C -Spektrum wurde das Signal bei 139.7 ppm nicht zugeordnet. Die beiden noch fehlenden quartären C-Atome sind damit äquivalent.

Es bietet sich an, die beiden bisher bekannten kettenförmigen Fragmente über die beiden C-Atome zu einem 10-Ring-System zu verknüpfen. Dann bleibt an

jedem der beiden quartären C-Atome noch eine Valenz frei, über die man die beiden C-Atome selbst verbindet. Die resultierende Struktur wäre das Azulen.



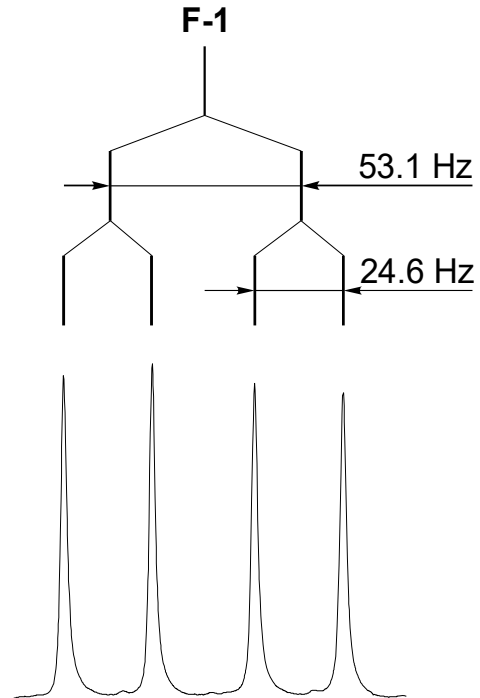
Die aus dem HMQC nicht eindeutig mögliche Zuordnung des Kohlenstoffsignals bei 136.7 ppm ergibt sich nach dem Ausschlußprinzip, nachdem die Zuordnung des Signals bei 136.6 ppm eindeutig bekannt ist.

Lösung zu Aufgabe 5

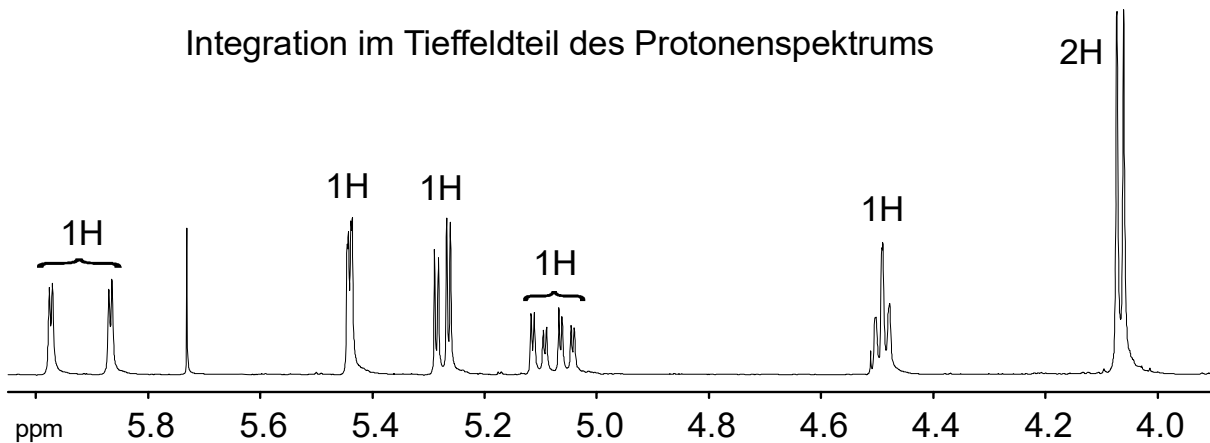
Das Isotop ^{19}F zeigt den Kernspin $1/2$ und führt damit bei benachbarten Protonen und ^{13}C -Kernen zu einer zusätzlichen Dublettaufspaltung. Speziell im Protonenspektrum mit häufig ausgeprägten Multipletts lässt sich die zusätzliche Aufspaltung nicht immer sofort erkennen.

Die Kopplungskonstante $^nJ_{\text{H-1,F-19}}$ lässt sich sowohl dem Protonen- als auch dem ^{19}F -Spektrum entnehmen. Zwei derartige Kopplungskonstanten lassen sich im ^{19}F -Spektrum auflösen. Wegen der Bedeutungslosigkeit der ^{19}F -chemischen Verschiebung einerseits und dem nicht ganz einfach handhabbaren ^{19}F -Standard andererseits, erfolgte keine Skalierung der Achse mit der chemischen Verschiebung.

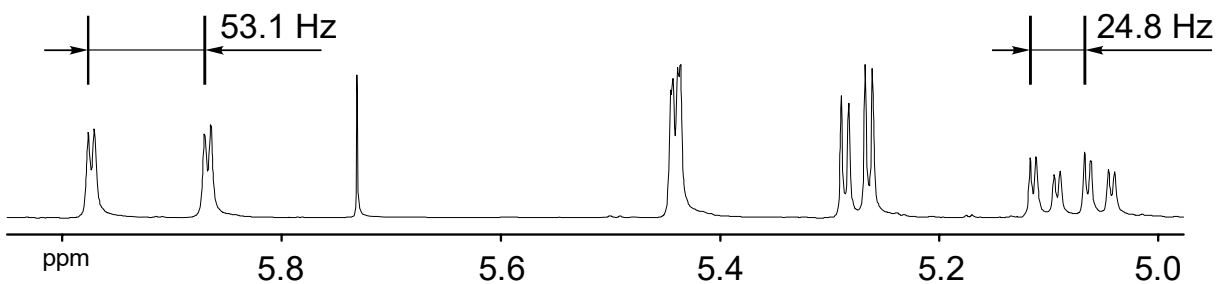
Die extrahierten Kopplungskonstanten müssen im Protonenspektrum wiederzufinden sein. Als erster Schritt hilft hier eine Integration mit Ausnahme der hier nicht interessierenden Acetylschutzgruppen.



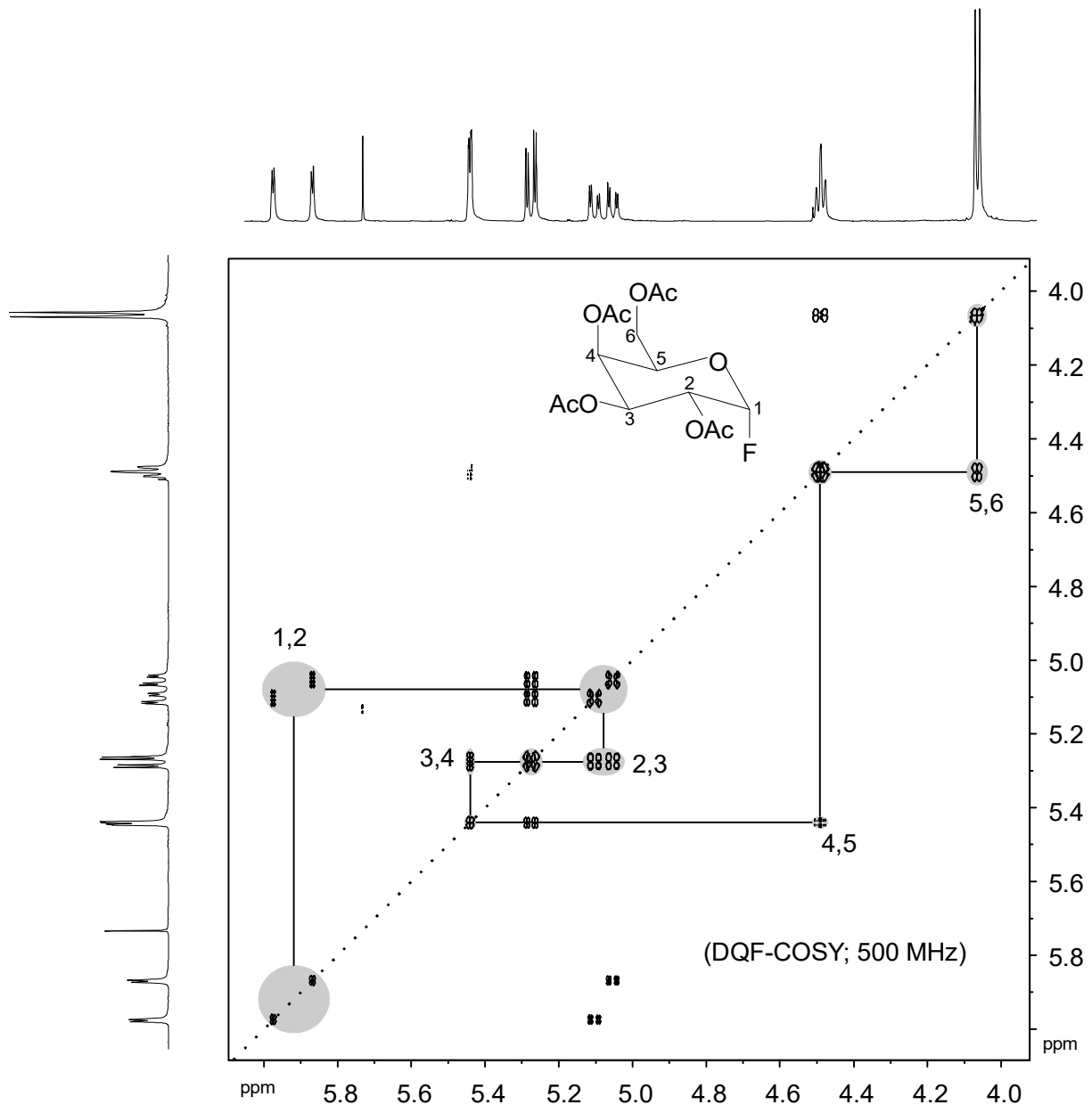
Integration im Tieffeldteil des Protonenspektrums



In den beiden bezüglich der Frequenzdimension ausgedehnten Multipletts findet man beide Kopplungen wieder.



Nach der eindeutigen Gruppierung der Protonen lässt sich aus dem DQF-COSY die Verknüpfung der Protonen ermitteln. Die extreme Größe einiger Kreuzpeaks ist durch die passive ^{19}F -Kopplung bedingt.



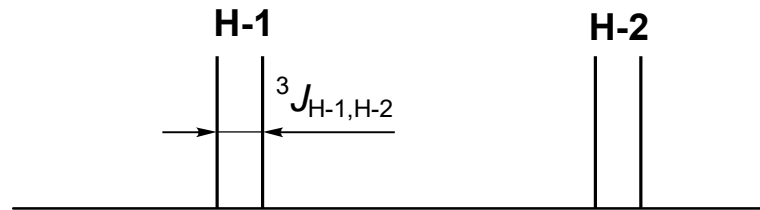
Die Identifizierung der beiden Enden in der Verknüpfungsreihenfolge als H-1 und H-6 ist durch die große ^{19}F -Kopplungskonstante zu H-1 möglich. Außerdem erscheinen in diesem Spektrum die beiden diastereotopen H-6 zufällig entartet, so daß eine Zuordnung auch über das Integral einfach möglich ist.

Der Kreuzpeak zwischen H-1 und H-2 ermöglicht die Bestimmung von

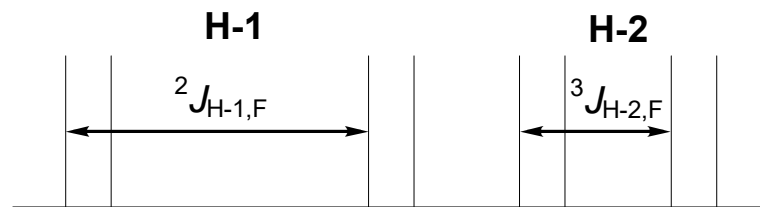
$$\frac{{}^2J_{H-1,F}}{{}^3J_{H-2,F}},$$

d.h. die Bestimmung der relativen Vorzeichen der Kopplungskonstanten zwischen F und H-1 bzw. H-2. Die Struktur des Kreuzpeaks hängt davon ab, ob obiger Ausdruck >0 (gleiches Vorzeichen) oder <0 (ungleiches Vorzeichen) ist.

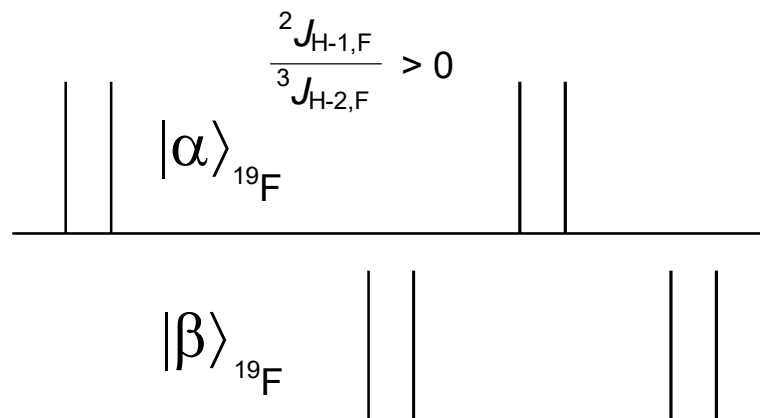
Zur Erklärung sei ein Modellsystem nur aus den beiden miteinander koppelnden Protonen H-1 und H-2 betrachtet.



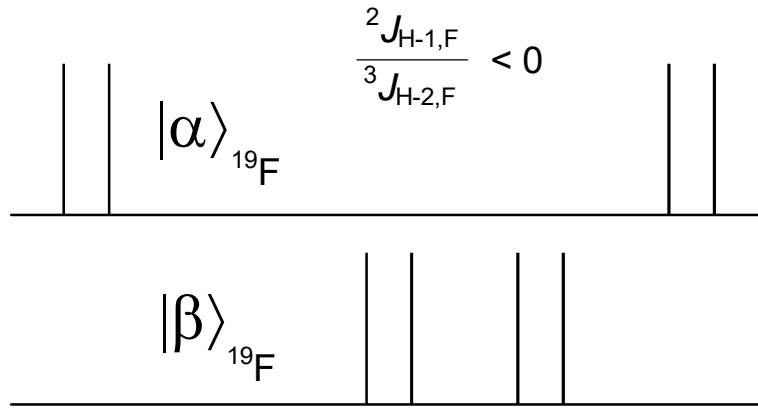
Das Spektrum modifiziert sich durch Kopplung sowohl von H-1 als auch von H-2 mit einem für beide Protonen **identischen** dritten Partner; im vorliegenden Fall wäre dies der ${}^{19}\text{F}$ -Kern.



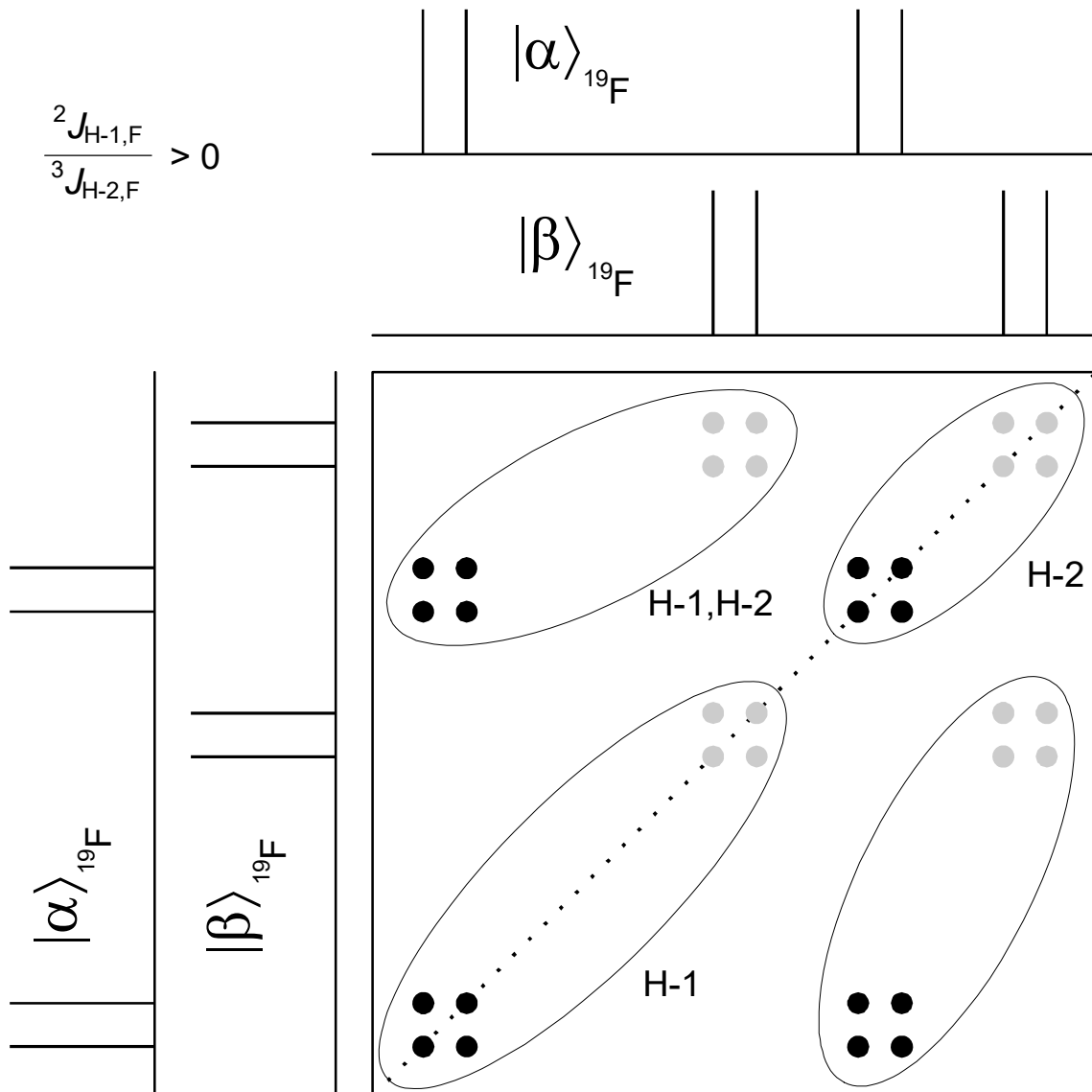
Die Kopplung zu ${}^{19}\text{F}$ geht in das DQF-COSY nicht ein. Es wäre also denkbar, die Gesamtzahl der vorliegenden Moleküle in solche mit der α -Orientierung des ${}^{19}\text{F}$ -Kernes und solche mit β -Orientierung des ${}^{19}\text{F}$ -Kernes zu sortieren.



In Abhängigkeit vom Vorzeichenverhältnis der beiden fraglichen Kopplungskonstanten sind zwei hypothetische Zerlegungen der Protonenspektren denkbar.



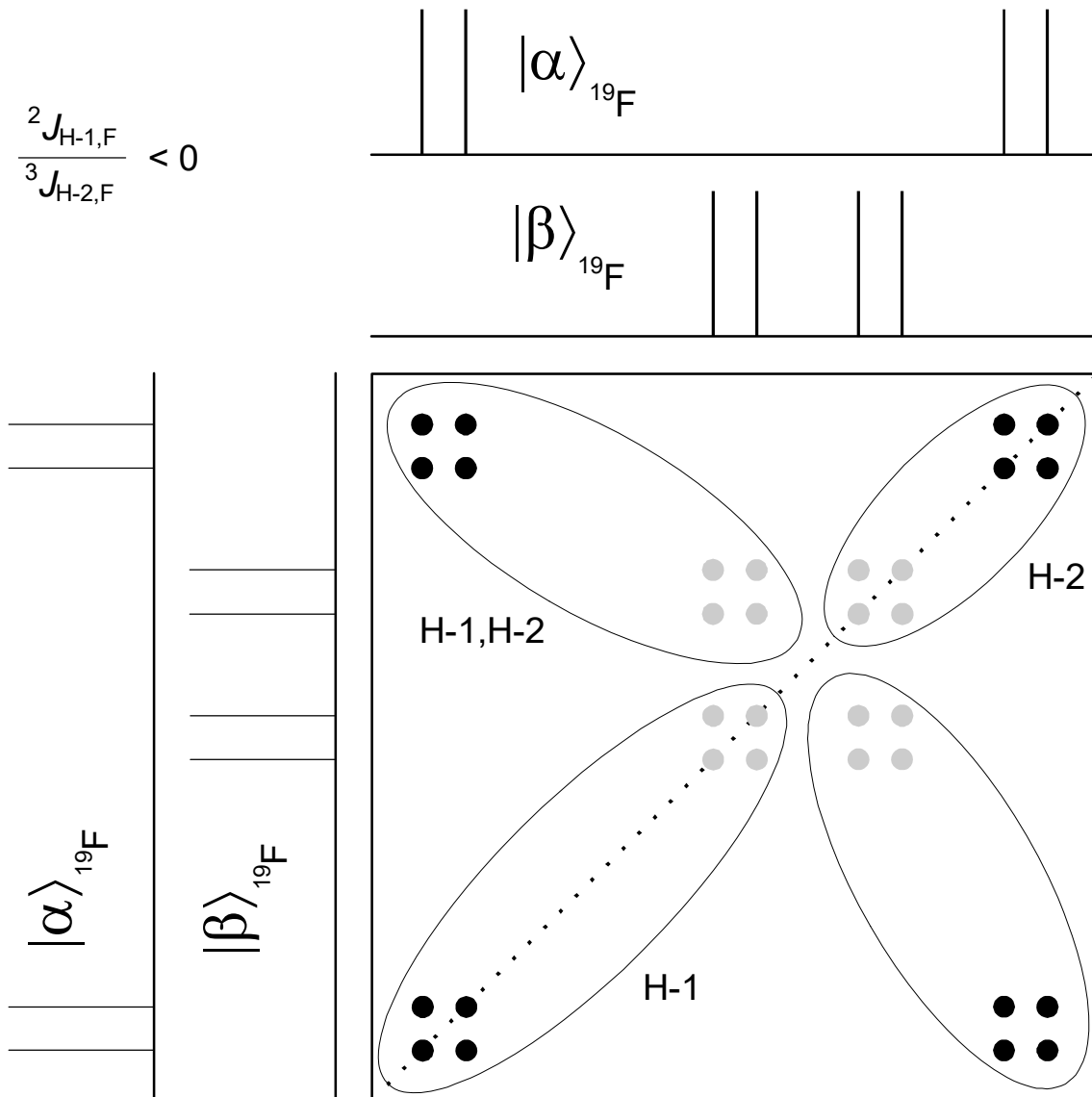
Diese Protonensubspektren lassen sich unter keinen Umständen in der oben angegebenen separierten Form betrachten. Aber: die beiden durch die Sortierung nach der Orientierung des ${}^{19}\text{F}$ -Kernes erhaltenen Pseudospezies ergeben im DQF-COSY unabhängig voneinander Kreuzpeaks. Dies ist einfach dadurch bedingt, daß in einem gegebenen Molekül der ${}^{19}\text{F}$ -Kern nur die eine Orientierung einnehmen kann.



Für den Fall

$$\frac{{}^2J_{H-1,F}}{{}^3J_{H-2,F}} > 0$$

zeigt sich die oben angegebene Kreuzpeakstruktur. Durch den Kreuzpeak lässt sich eine Gerade legen, die den gleichen Anstieg wie die Diagonale aufweist.



Für den umgekehrten Fall

$$\frac{{}^2J_{H-1,F}}{{}^3J_{H-2,F}} < 0$$

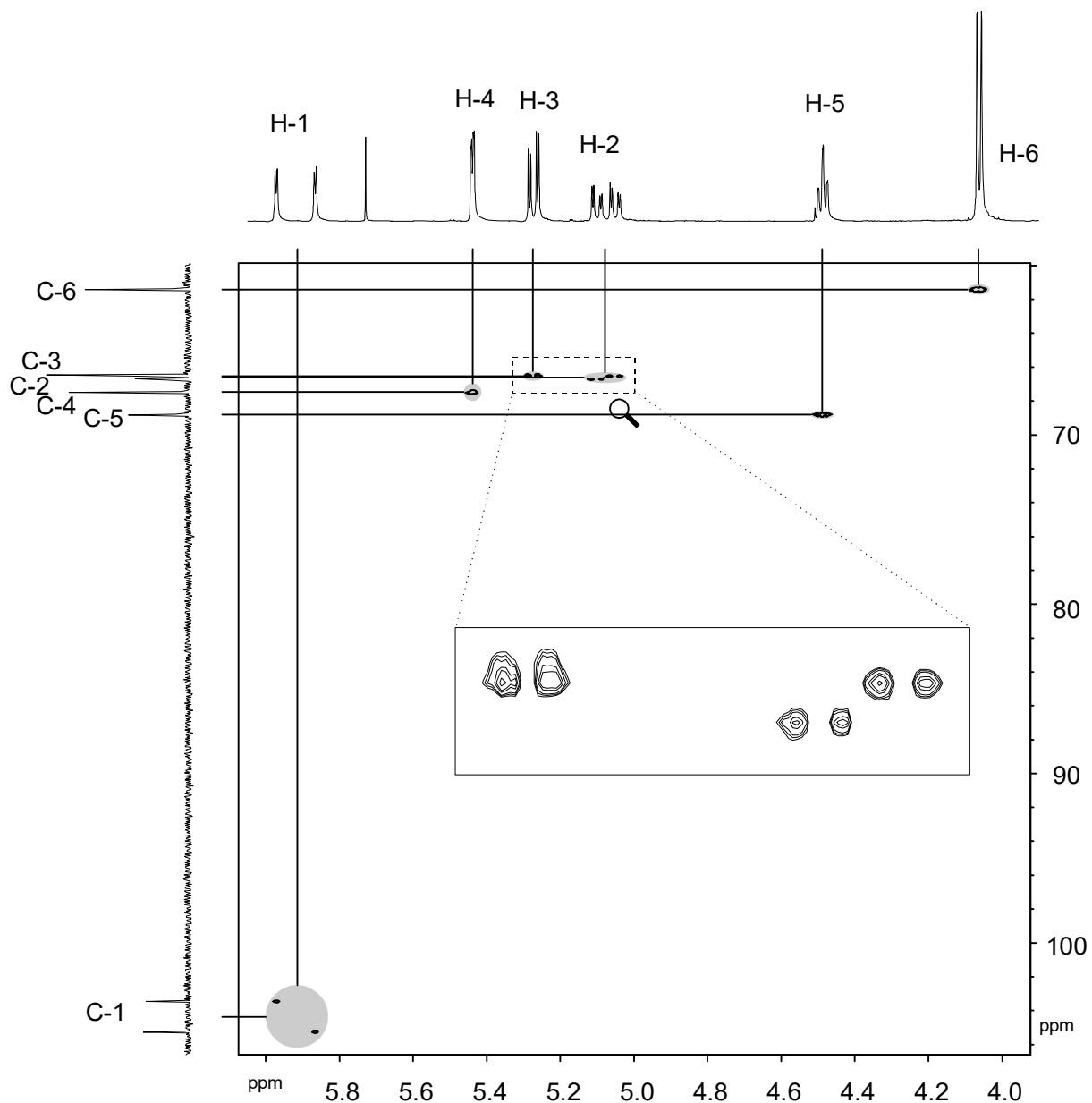
weist die durch die Kreuzpeaks konstruierbare Gerade einen umgekehrten Anstieg im Vergleich zur Diagonalen des Spektrums auf.

Der Vergleich mit dem experimentellen DQF-COSY zeigt ein identisches Vorzeichen der Kopplungskonstanten zwischen dem Fluorkern und H-1 bzw. H-2.

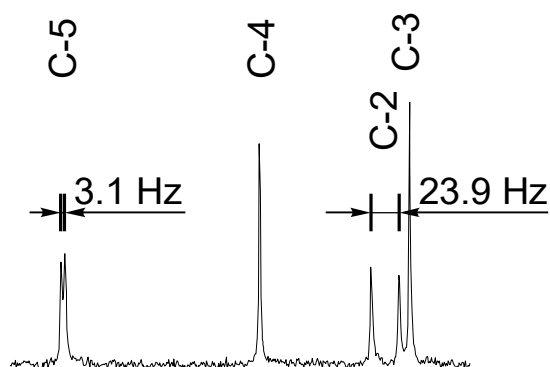
Die Tabelle faßt die bisherigen Ergebnisse zusammen:

Proton	δ [ppm]	Kopplungen
H-1	5.92	$ ^2J_{\text{H-1,F}} = 53.1 \text{ Hz}$
H-2	5.08	$ ^3J_{\text{H-1,H-2}} = 2.7 \text{ Hz}$ $ ^3J_{\text{H-2,F}} = 24.6 \text{ Hz}$
H-3	5.28	$ ^3J_{\text{H-2,H-3}} = 10.9 \text{ Hz}$
H-4	5.44	$ ^3J_{\text{H-3,H-4}} = 3.4 \text{ Hz}$
H-5	4.89	Kopplung nicht auflösbar
H-6 (beide)	≈ 4.07	Kopplung nicht auflösbar

Die Zuordnung der protonierten Kohlenstoffkerne mit Hilfe des HMQC sollte jetzt eigentlich kein Problem mehr darstellen. C2 und C3 weisen sehr ähnliche Verschiebungen auf. Die Zuordnung von C-2 ist auf alle Fälle anhand der Struktur des Kreuzpeaks nach einem Vergleich mit dem eindimensionalen Kohlenstoffspektrum (vergrößerter Ausschnitt) möglich.



Kopplungen zu F werden beobachtet ausgehend von C-1, C-2 und C-5. Die folgende Abbildung markiert die Aufspaltungen von C-2 und C-5.



Bezüglich der Vorzeichen kann man im Analogieschluß zur der Auswertung des DQF-COSY folgende beiden Aussagen treffen:

a) $\frac{{}^2J_{\text{H-1,F}}}{{}^1J_{\text{C-1,F}}} < 0$ und

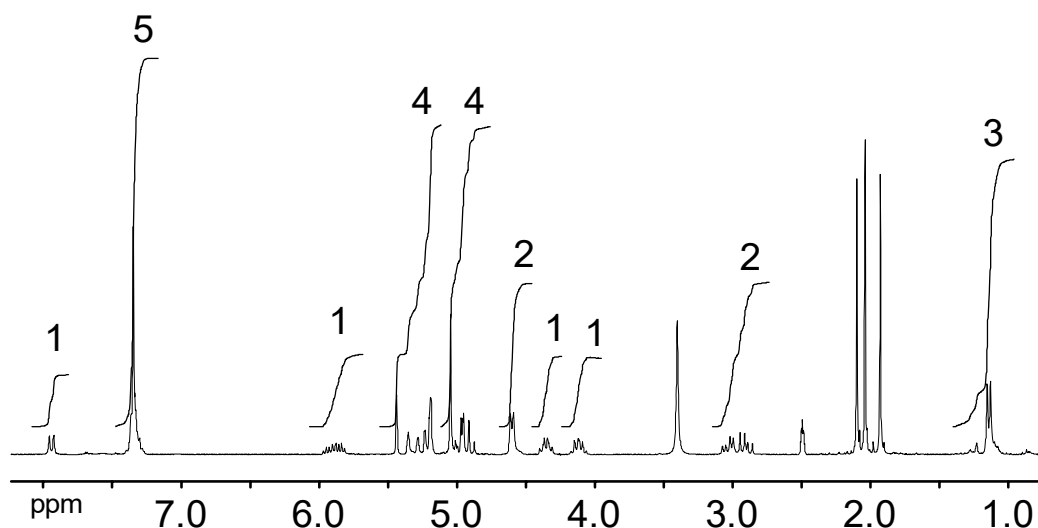
b) $\frac{{}^3J_{\text{H-2,F}}}{{}^2J_{\text{C-2,F}}} > 0$.

Abschließend noch eine tabellarische Zusammenfassung.

Proton	δ [ppm]	Kopplungen	^{13}C -Kern	δ [ppm]
H-1	5.92	$ {}^2J_{\text{H-1,F}} = 53.1 \text{ Hz}$ $ {}^1J_{\text{C-1,F}} = 225 \text{ Hz}$	C-1	104.32
H-2	5.08	$ {}^3J_{\text{H-1,H-2}} = 2.7 \text{ Hz}$ $ {}^3J_{\text{H-2,F}} = 24.6 \text{ Hz}$ $ {}^2J_{\text{C-2,F}} = 23.9 \text{ Hz}$	C-2	67.00
H-3	5.28	$ {}^3J_{\text{H-2,H-3}} = 10.9 \text{ Hz}$	C-3	66.84
H-4	5.44	$ {}^3J_{\text{H-3,H-4}} = 3.4 \text{ Hz}$	C-4	67.87
H-5	4.89	$ {}^3J_{\text{C-5,F}} = 3.1 \text{ Hz}$	C-5	69.21
H-6 (beide)	≈ 4.07	Kopplung nicht auflösbar	C-6	61.38

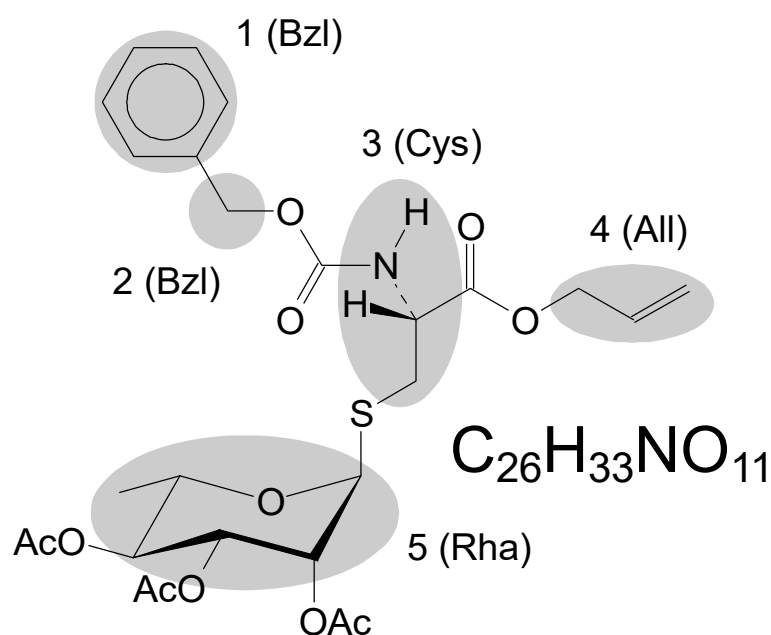
Lösung zu Aufgabe 6

Die Integration des Protonenspektrums zeigt keine besonderen Vorteile für die Lösung der Aufgabenstellung und sei hier nur im Interesse der Vollständigkeit angegeben.



Für die Auswertung einer solchen schon etwas komplexeren Integration darf man natürlich nicht einfach das Dublett bei etwa 7.9 ppm einem Proton gleichsetzen. Wegen der unvermeidlichen Integrationsfehler würde schon die Anzahl der Protonen für das Signal bei etwa 7.3 ppm zu groß ausfallen.

Bei der in diesem Fall bekannten Summenformel (24 Protonen ohne Berücksichtigung der Acetylschutzgruppen um 2 ppm) ist es günstiger, zunächst über das gesamte Integral zu summieren, um daraus die Integralstufenhöhe je Proton zu ermitteln. Es braucht dann kaum noch auf



ganzzahlige Werte gerundet zu werden.

Auch im Fall unbekannter

Summenformel sollte man irgendwie

versuchen, eine möglichst vielen Proton

entsprechende Integralstufe als Referenz

zu wählen. Im vorliegenden Fall lassen

sich leicht zwei Stufen auffinden, die jeweils vier

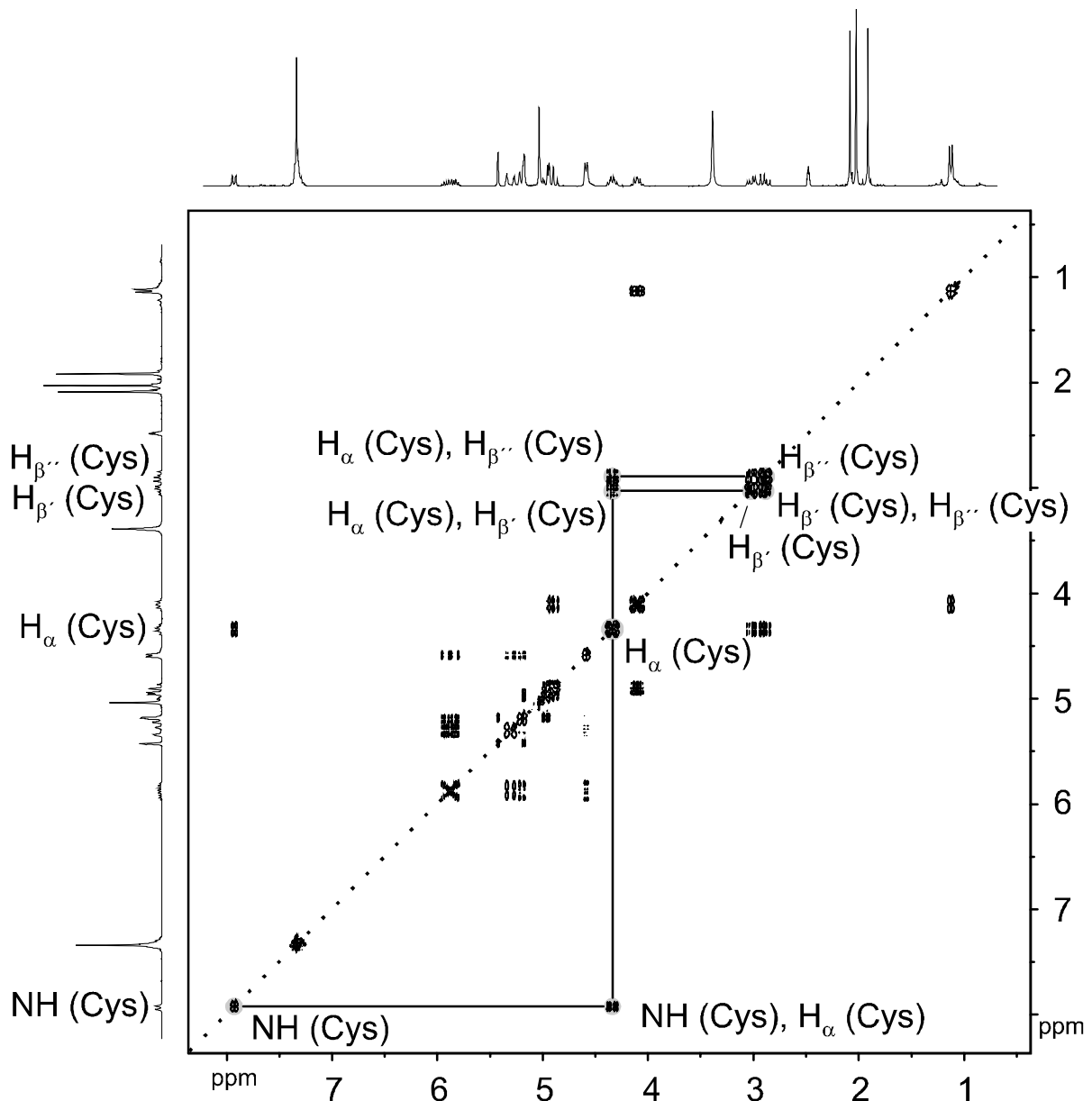
Protonen entsprechen. Zum Beginn der Auswertung

sollte man sich über die erwarteten Protonenspinsysteme klar werden.

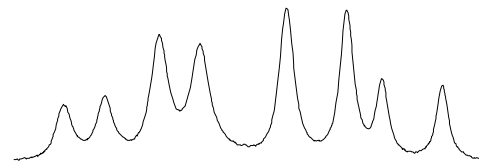
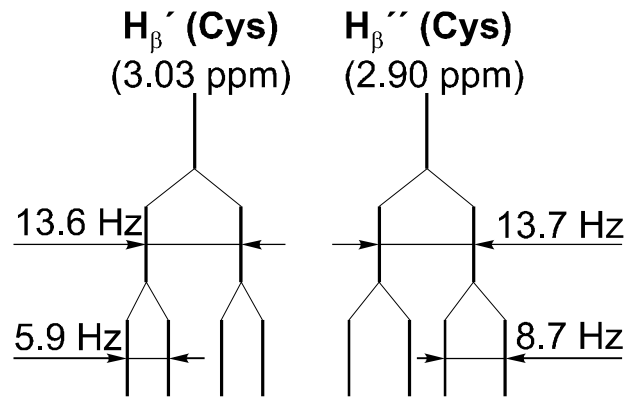
Abgesehen von den Singulets der Acetylschutzgruppen lassen sich fünf Protonenspinsysteme separieren.

Die beiden diastereotopen Methylenprotonen der Z-Schutzgruppe sollten zumindest theoretisch miteinander koppeln.

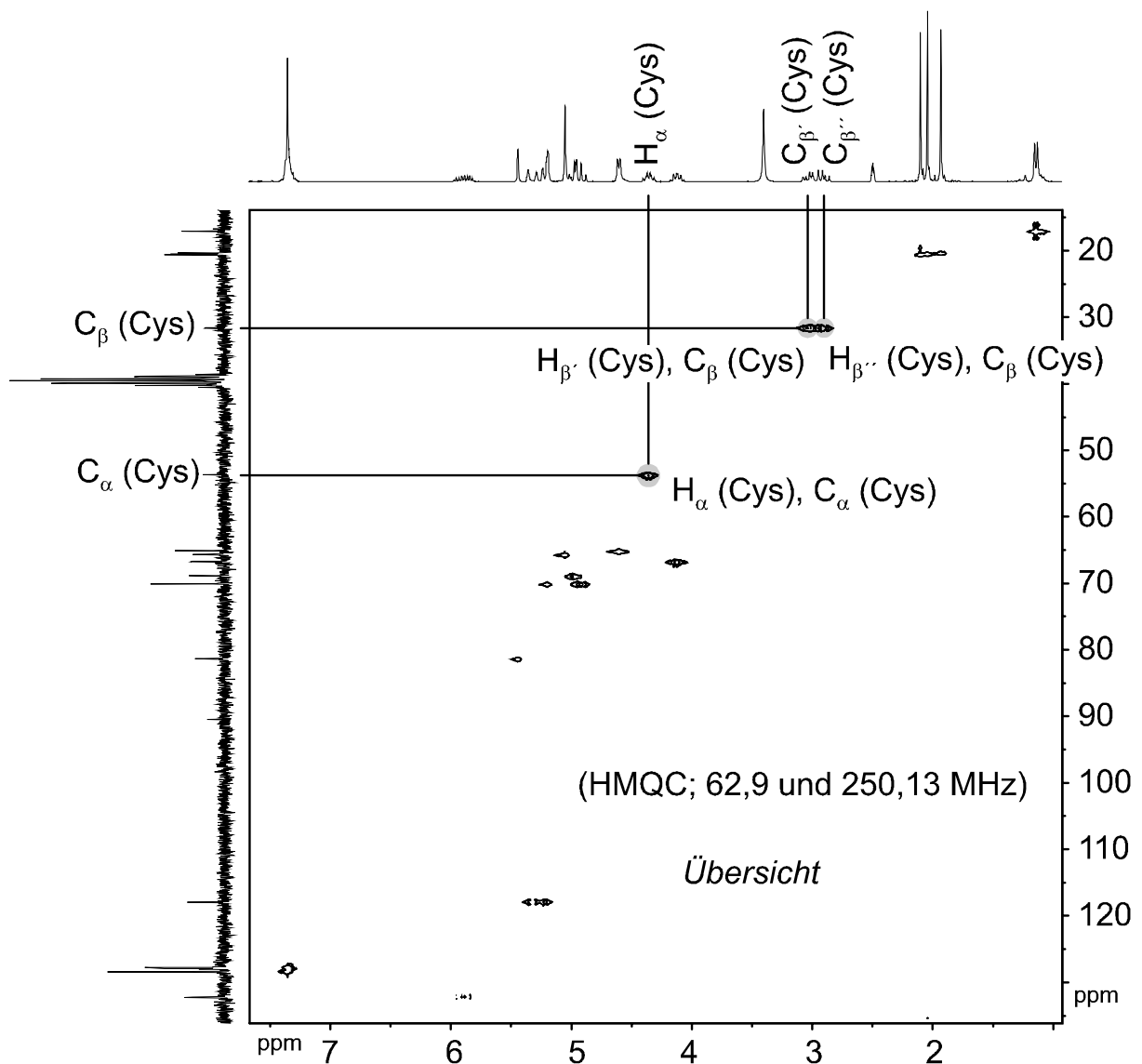
Die Zuordnung beginnt am besten mit der Aminosäure (Spinsystem 3). Die NH-Gruppe findet man als Dublett bei tiefstem Feld ($\delta \approx 7.9$ ppm). H_α (4.35 ppm) und die beiden H_β lassen sich über das DQF-COSY leicht zuordnen.



Das auf Blatt 1 stark vergrößerte Multipllett für die diastereotopen H_{β} entspricht zwar keinem Spinsystem erster Ordnung, gar zu große Fehler treten bei einer Auswertung nach 1. Ordnung aber nicht auf.



C_{α} und C_{β} der Aminosäure können mit Hilfe des HMQC zugeordnet werden.



Die Tabelle faßt die bisherige Zuordnung zusammen.

Proton	δ [ppm]	Kopplungen	^{13}C -Kern	δ [ppm]
NH (Cys)	≈ 7.9			
H_α (Cys)	4.35	$^3\text{J}(\text{H}_\alpha, \text{H}_\beta) = 5.9 \text{ Hz}$	C_α (Cys)	53.72
H_{β^-} (Cys)	3.03	$^3\text{J}(\text{H}_\alpha, \text{H}_{\beta^-}) = 8.7 \text{ Hz}$		
H_{β^+} (Cys)	2.90	$^2\text{J}(\text{H}_{\beta^-}, \text{H}_{\beta^+}) = 13.7 \text{ Hz}$	C_β (Cys)	31.56

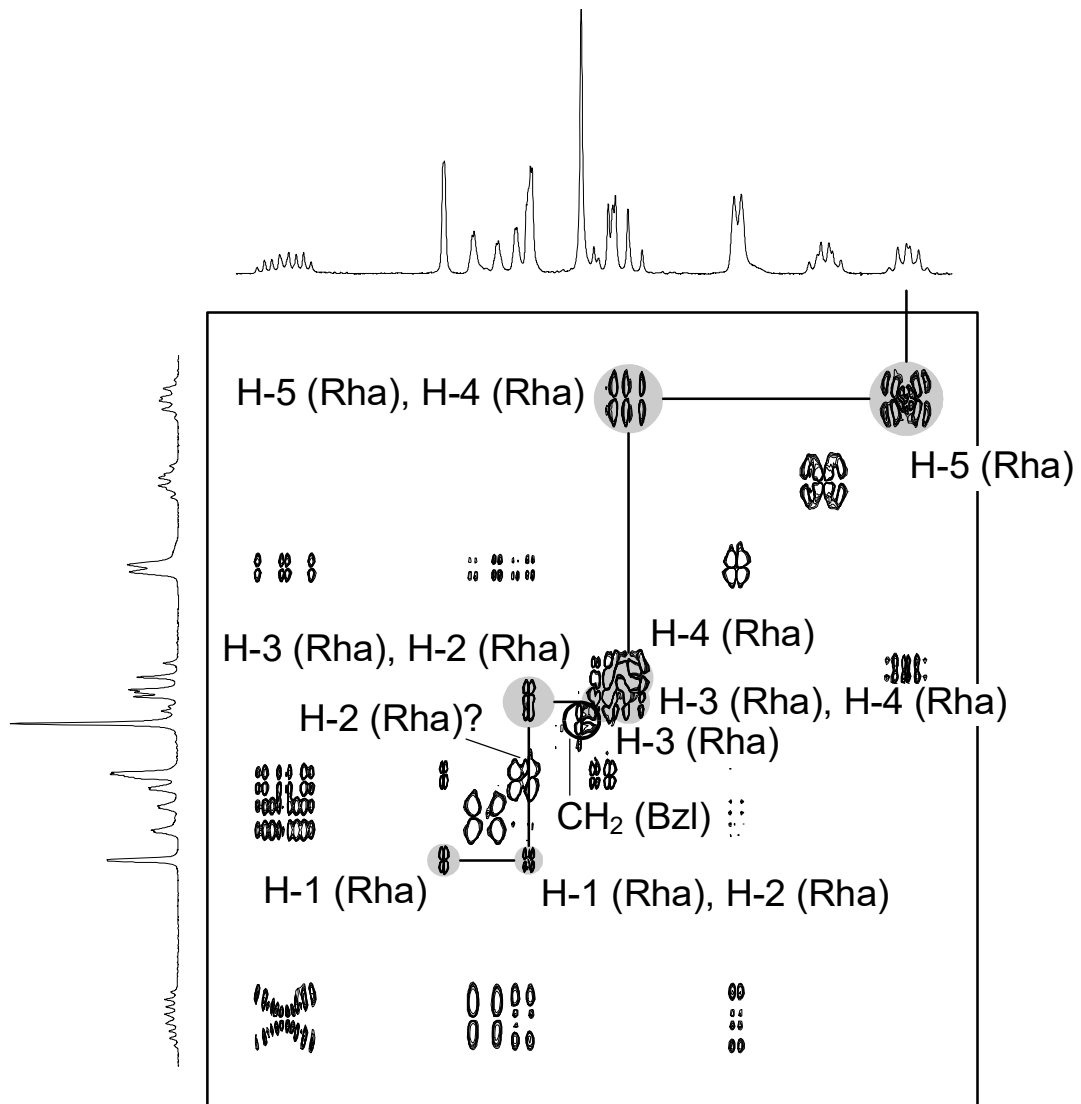
Die aromatischen Protonen der Z-Schutzgruppe lassen sich bei etwa 7.3 ppm leicht detektieren. Eine Separierung von o-, m- oder p-ständigen Protonen ist unmöglich. Über das HMQC können die drei protonierten C-Atome der Schutzgruppe bei 128.32, 127.84 und 127.72 ppm gefunden werden. Wegen der Signalintensität gilt $\text{C}_p = 127.84 \text{ ppm}$, bezüglich der o- und m-Position ist mit Hilfe der vorliegenden Daten keine Unterscheidung möglich.

Die Suche nach den Methylenprotonen der Z-Schutzgruppe ist nicht einfach. Am besten geht's mit der Vergrößerung des DQF-COSY auf Blatt 5 der Aufgabenstellung. Dort findet man einen "Diagonalpeak" ohne erkenntlich dazugehörigen Kreuzpeak (Abb. weiter unten). Wegen der nahezu vollständigen zufälligen Entartung der beiden Methylenprotonen handelt es sich tatsächlich um zwei sehr dicht benachbarte Kreuzpeaks samt der zugehörigen dicht bei der Diagonale liegenden Kreuzpeaks. Das zugehörige Kohlenstoffsignal findet man wieder am besten im ausschnittsvergrößerten HMQC (Blatt 5 der Aufgabenstellung, Abb. zur Auswertung weiter unten).

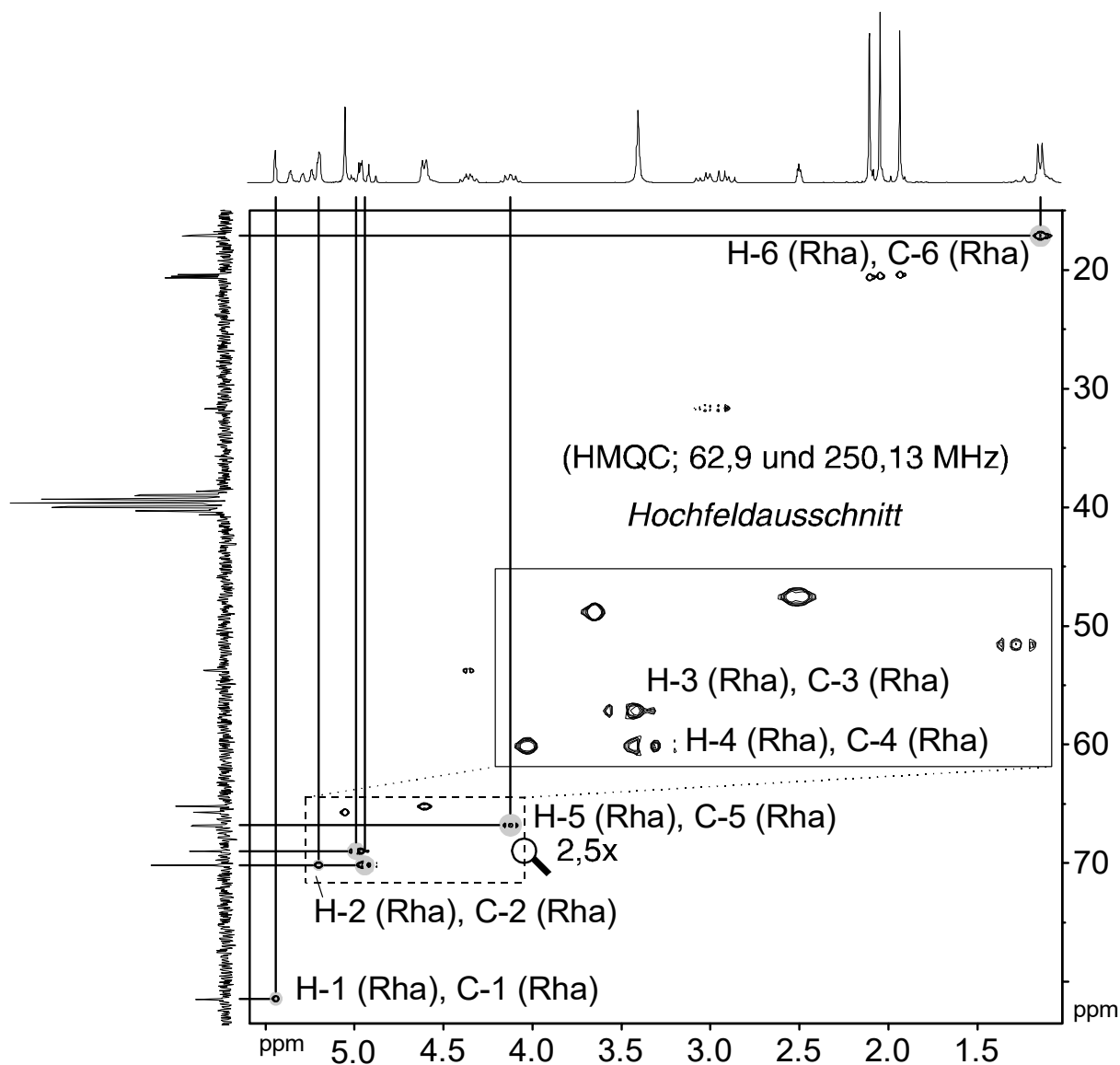
Zuzuordnen wären jetzt noch die Allylschutzgruppen und der Zuckerteil. Letzterer bietet sich wegen seiner leicht lokalisierbaren Methylgruppe als nächster Schritt an. Der Kreuzpeak zwischen den Methylgruppe bei etwa 1.1 ppm und H-5 (Rha) bei 4.12 ppm ist dem DQF-COSY auf Blatt 3 der Aufgabenstellung problemlos entnehmbar. Die weitere Zuordnung bis zu H-1 (Rha) gelingt wieder am besten mit Hilfe der Ausschnittsvergrößerung.

Einige Schwierigkeiten bereitet dabei die Erkennung der Verknüpfung von H-3 (Rha) und H-4 (Rha). Der zu H-2 (Rha) gehörige Diagonalpeak läßt sich eigentlich gar nicht finden.

Die Verknüpfung von H-3 (Rha) und H-4 (Rha) erkennt man bei der gegebenen Meßfrequenz nur am sehr ausgedehnten "Diagonalpeak", der gegenüber dem Kreuzpeak H-4 (Rha), H-5 (Rha) sowohl in F1 als auch in F2-Richtung etwas versetzt erscheint. Das Diagonalsignal von H-2 (Rha) wird durch Protonensignale der Allylgruppe überlagert. Die genaue Lage des Diagonalpeaks läßt sich in diesem Fall nur als Schnittpunkt der Verbindungslinie zweier zugehöriger Kreuzpeaks und der Diagonalen konstruieren.



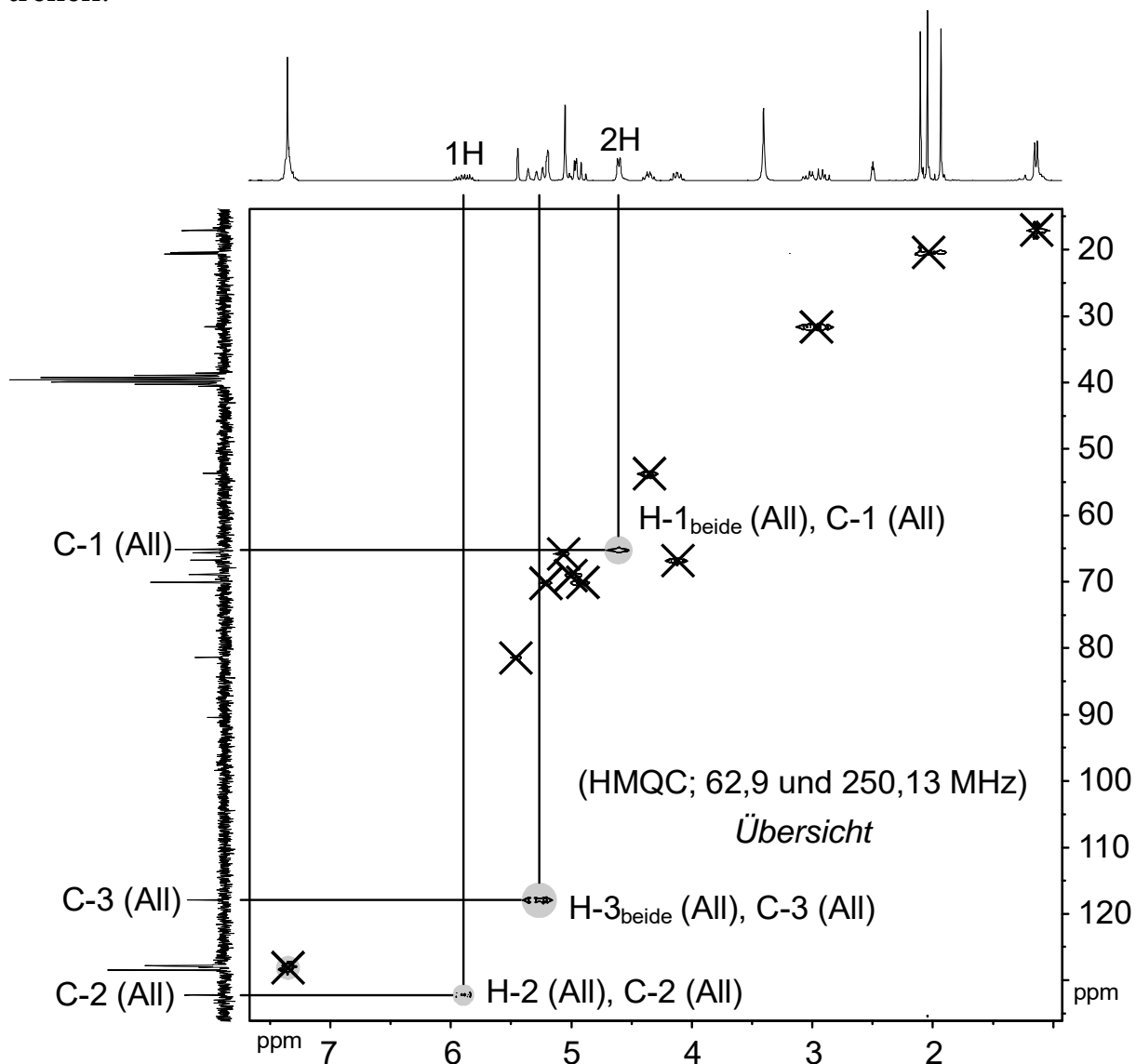
Die Zuordnung der Kohlenstoffsignale erfolgt wie gewohnt mittels HMQC; C-4 (Rha) und C-2 (Rha) sind zufällig entartet.



Die Zuordnung für die Spinsysteme 1, 2 und 5 lässt sich wieder tabellarisch zusammenfassen.

Proton	δ [ppm]	Kopplungen	^{13}C -Kern	δ [ppm]
$\text{H}_{\text{arom.}}$ (Z)	≈ 7.3		$\text{C}_{\text{o}}, \text{C}_{\text{m}}$ (Z)	128.32 127.72
$\text{H}_{\text{aliph.}}$ (Z)	5.05		C_{p} (Z)	127.84
H-1 (Rha)	5.44		$\text{C}_{\text{aliph.}}$ (Z)	65.66
H-2 (Rha)	5.19		C-1 (Rha)	81.35
H-3 (Rha)	≈ 5.0		C-2 (Rha)	70.09
H-4 (Rha)	≈ 4.95		C-3 (Rha)	68.92
H-5 (Rha)	4.12	$^3\text{J}(\text{H-5}, \text{H-6}) = 6.1 \text{ Hz}$ $^3\text{J}(\text{H-4}, \text{H-5}) = 8.7 \text{ Hz}$	C-4 (Rha)	70.09
			C-5 (Rha)	66.75
H-6 (Rha)	≈ 1.15		C-6 (Rha)	17.04

Verbliebe jetzt noch die Zuordnung der Allylschutzgruppe. Auch die Protonenzuordnung gelingt in diesem Fall tatsächlich am besten über das HMQC. In Allylfragmenten treten auch Kopplungen über 4 Bindungen mit Kopplungskonstanten >1 Hz auf. Als Folge zeigt im DQF-COSY jedes der 5 Protonen der Schutzgruppe Korrelationen zu jedem anderen. Da zudem alle chemischen Verschiebungen sehr ähnlich sind, lässt sich keinerlei Aussage treffen.



Im HMQC wurden bisher alle zu den Spinsystemen 1, 2, 3 und 5 gehörigen Kreuzpeaks (die drei Acetylschutzgruppen einmal eingeschlossen) zugeordnet. Die entsprechenden Signale wurden in der Abbildung symbolisch durchkreuzt. Es verbleiben drei nicht zugeordnete Kreuzsignale. Erwartet wird ein olefinisches Kohlenstoffatom mit einem Nachbarproton, ein weiteres olefinisches Kohlenstoffatom mit zwei direkt gebundenen Protonen und ein aliphatisches Kohlenstoffatom mit ebenfalls zwei direkt gebundenen Protonen. Im Gegensatz zu den Protonen lassen sich die jeweils benachbarten Kohlenstoffkerne sehr deutlich bezüglich der Hybridisierung anhand der chemischen Verschiebung charakterisieren.

Mit einer Numerierung, die das C-Atom 1 neben das Sauerstoffatom setzt, ergibt sich die einzige angegebene Zuordnung. Die Protonen der beiden CH_2 -

Gruppen sollten schon unterschiedliche chemische Verschiebungen zeigen. In der konkreten Verbindung tritt eine zufällige Entartung der betreffenden chemischen Verschiebungen auf.

Schließlich noch die tabellarische Zusammenfassung.

Proton	δ [ppm]	Kopplungen	^{13}C-Kern	δ [ppm]
H-1 _{beide} (All)	4.60		C-1 (All)	65.17
H-2 (All)	5.89		C-2 (All)	132.11
H-3 _{beide} (All)	»5.25		C-3 (All)	117.86
			C _i (Z)	136.76
			CO (Z)	155.85

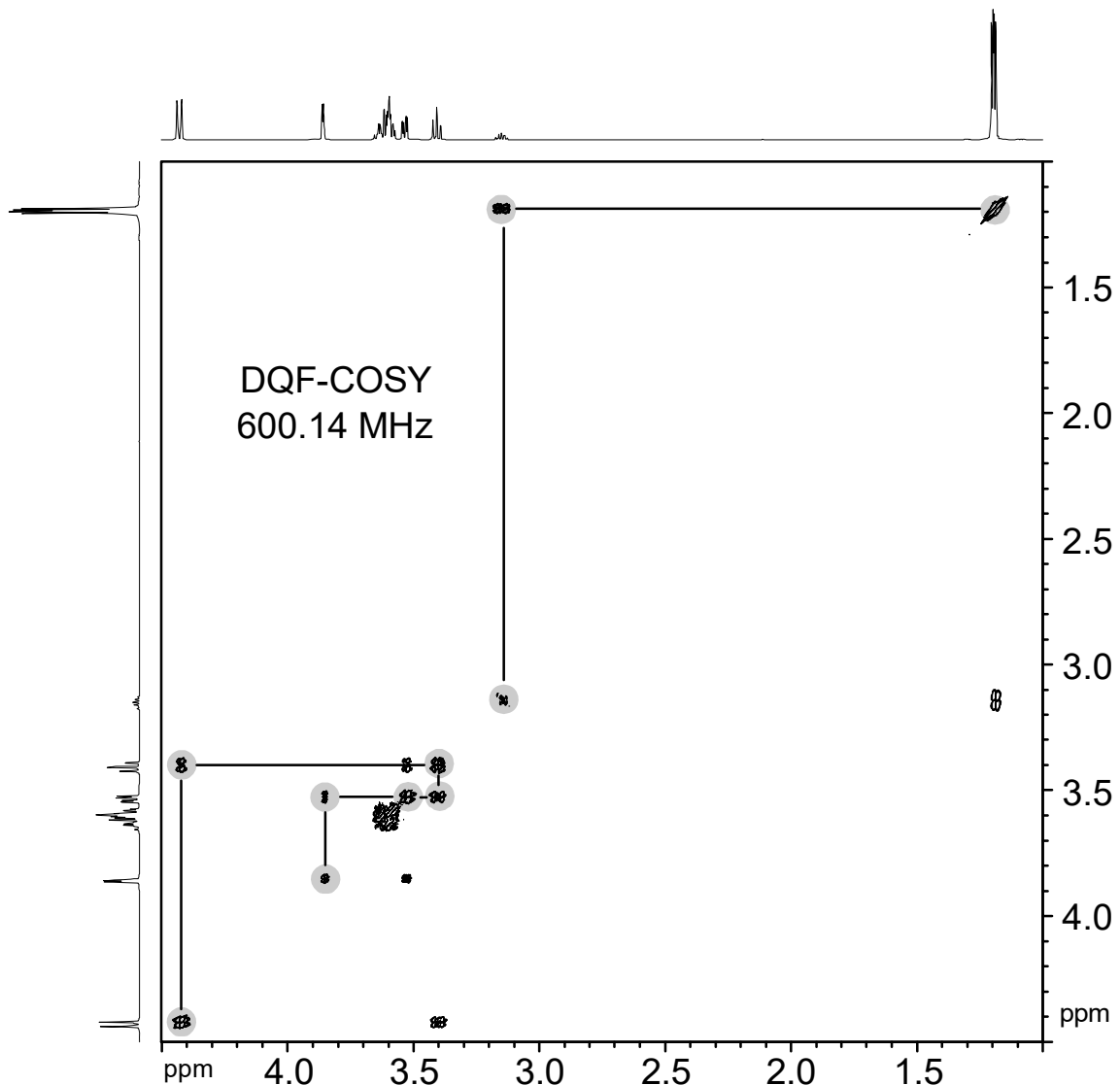
Für die Zuordnung des ipso-Kohlenstoffatoms in der Z-Gruppe schätzt man zunächst dessen chemische Verschiebung mittels eines Inkrementenschematas. In einem sehr großzügig gewählten Intervall von ± 15 ppm um den berechneten Wert findet man nur ein einziges nicht zugeordnetes Kohlenstoffsignal.

Die Carbonylgruppen der Acetylreste und die Carbonylgruppe des Cysteinteils weisen sehr ähnliche chemische Umgebungen auf und zeigen daher im NMR-Spektrum nahezu identische Resonanzen um 170 ppm. Trotz der "verführerischen" Gruppierung der vier Resonanzen (1 + 3) sollte man nicht versuchen, nur anhand chemischer Verschiebungen weiter zu differenzieren. An diesem Punkt verbleibt nur noch ein einziges nicht zugeordnetes Kohlenstoffsignal, das folglich dem Carbonylteil der Z-Schutzgruppe zuzuordnen ist.

Lösung zu Aufgabe 7

Ermittlung der Alkylgruppe:

In D_2O werden OH- und SH-Gruppen durch den H-D-Austausch mit dem Lösungsmittel nicht beobachtet. Für den Zuckerteil erwartet man damit insgesamt 7 Protonen. Die Integration des Protonenspektrums ergibt beginnend mit tiefem Feld: 1:1:3:1:1:1:6. Abzüglich der 7 Protonen für den Zuckerteil verbleiben für den Alkylrest weitere 7 Protonen. Es handelt sich damit um eine Propylgruppe. Im Fall eines n-Propylgruppe erwartet man drei Signalgruppen im Integralverhältnis 2:2:3, im Falle eines iso-Propylgruppe zwei Signalgruppen (eine Präzisierung erfolgt weiter unten) im Integralverhältnis 1:6. Ein Multiplett mit 6 Protonen wird bei ca. 1.2 ppm beobachtet, aus dem COSY findet man das Methinproton bei 3.15 ppm.



Erklärung des Multipletts bei 1.2 ppm:

Das Spektrum einer Isopropylgruppe allein sollte aus einem Septett mit einem Proton und einem Dublett mit 6 Protonen bestehen. Das Septett wird bei 3.15 ppm tatsächlich beobachtet, die Kopplungskonstante beträgt 6.8 Hz. Bei ca. 1.2 ppm beobachtet man statt der erwarteten 2 Linien aber vier Linien. Der

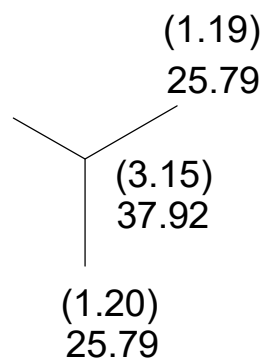
Zucker ist auf alle Fälle chiral, bereits das C-Atom in 1-Position ist asymmetrisch. Damit sind die beiden Methylgruppen der Isopropylgruppe diastereotop zueinander und zeigen unterschiedliche chemische Verschiebungen. Das Multiplett bei 1.2 ppm besteht damit aus zwei unabhängigen Dubletts mit jeweils drei Protonen (nicht Dublett von Dubletts), die ineinander verkämmt sind. Das Methinproton zeigt entsprechend ein Pseudoseptett, vollständig handelt es sich um ein Quartett von Quartetts, bei dem allerdings zahlreiche Linien zusammenfallen.

Spinsystem der Isopropylgruppe:

Das Spinsystem der Isopropylgruppe in dieser Verbindung ist vom Typ AM_3X_3 . Trotz der Ähnlichkeit der chemischen Verschiebungen der beiden Methylgruppen handelt es sich um ein Spinsystem 1. Ordnung, weil die beiden Methylgruppen nicht miteinander koppeln. Die Bezeichnung des Spinsystems als AX_3Y_3 kann aber ohne weiteres als richtig anerkannt werden. AX_6 ist aber definitiv falsch.

Kohlenstoffzuordnung der Isopropylgruppe:

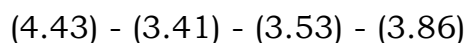
Diese ergibt sich aus dem HMQC. Die vollständige Zuordnung wäre:



Selbstverständlich sind auch zwei getrennte Kohlenstoffsignale für die beiden Methylgruppen zu erwarten. Diese werden jedoch im Rahmen der gegebenen Genauigkeit nicht aufgelöst.

1. Teilkette im Zuckerring

Aus dem DQF-COSY kann die folgende Kette verknüpfter Protonen leicht abgeleitet werden



Jedes der Signale entspricht einem Proton.

Aus dem eindimensionalen Protonenspektrum erhält man sofort die Kopplungskonstanten zwischen den Kernen und aus dem HMQC sofort die chemischen Verschiebungen der direkt gebundenen Kohlenstoffkerne.

(4.43)	(3.41)	(3.53)	(3.86)
87.75	72.42	76.67	71.49
	9.9 Hz	9.4 Hz	3.4 Hz

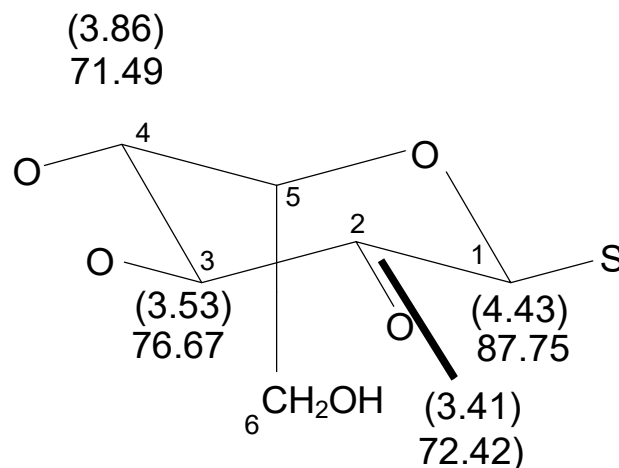
Die Signale dreier weiterer Protonen um ca. 3.6 ppm lassen sich nicht auflösen. Es handelt sich auf alle Fälle um ein Spinsystem höherer Ordnung. Auf alle Fälle gehören zu diesen drei Protonen nur 2 Kohlenstoffsignale (HMQC). Damit verbergen sich unter den Signalen bei 3.6 ppm die beiden diastereotopen Protonen in 6-Stellung des Zuckers. Wegen der freien Rotation zwischen C-6 und C-5 sollte man auf alle Fälle eine homonukleare Kopplung zwischen den H-6 und H-5 beobachten. Da im DQF-COSY ausgehend von dem Signal um 3.6 ppm keine Korrelationen zu weiter entfernten Signalen beobachtet werden, befindet sich auch das Signal von H-5 in der Signalgruppe um 3.6 ppm.

Die oben gefundenen Signale sind damit H-1 bis H-4, bzw. C-1 bis C-4 zuzuordnen. Die beiden großen Kopplungskonstanten bedeuten, daß die drei Protonen mit den chemischen Verschiebungen 4.43, 3.41 und 3.53 ppm zu jeweils axialständigen Protonen gehören. Das letzte Proton mit der chemischen Verschiebung von 3.86 ppm steht equatorial.

Nach Vergleich mit der teilweise vorgegebenen Struktur erhält man daraus

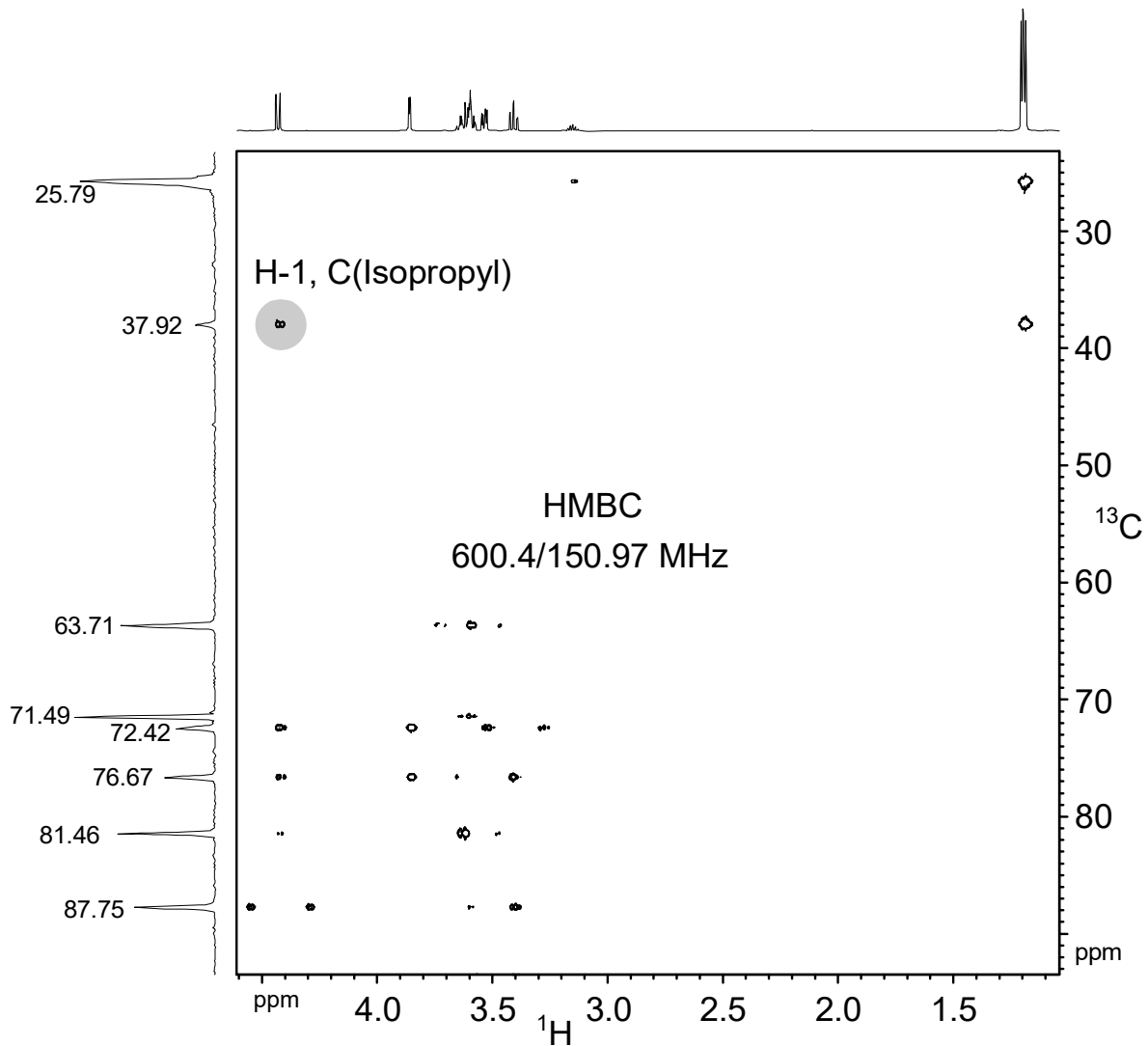
H-1: 4.43 ppm

und damit das bisher bekannte Fragment

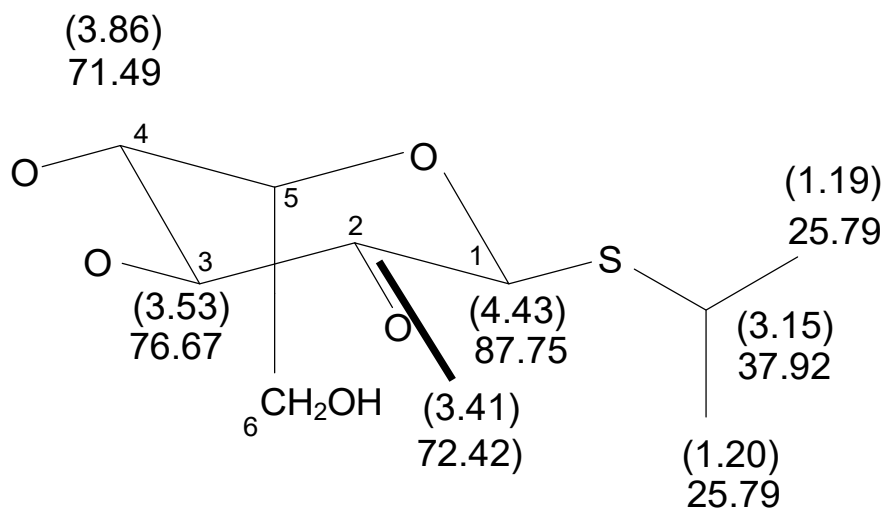


Bindungsstelle der Isopropylgruppe:

Im HMBC beobachtet man einen Peak zwischen H-1 und dem C-Atom in 2-Stellung der Isopropylgruppe.



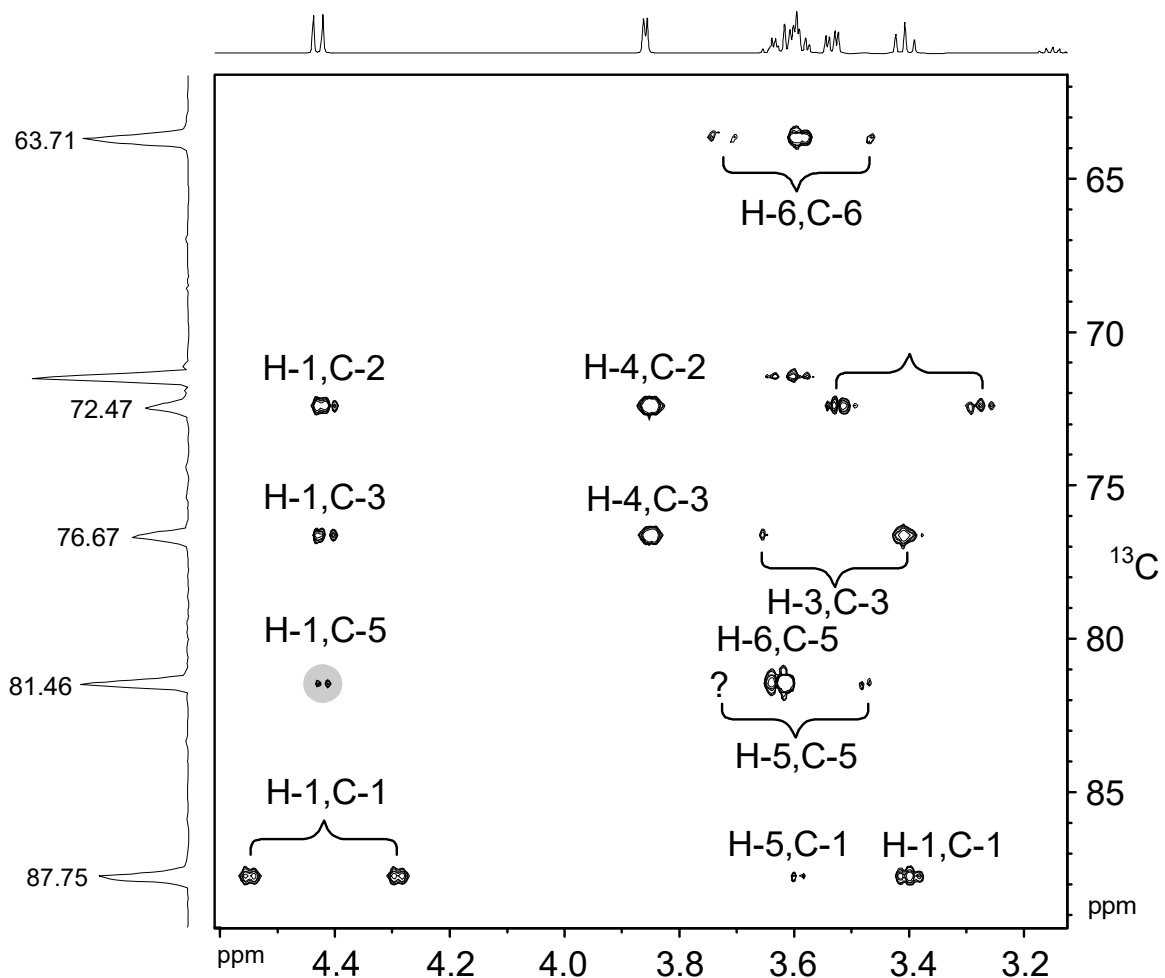
Dieser Peak lässt sich unter der plausiblen Annahme, daß im HMBC nur Korrelationen über maximal 3 Bindungen beobachtet werden, mit der Substitution der Isopropylgruppe am Schwefelatom erklären.



Zuordnung von C-5:

Damit würde zugleich die Zuordnung von C-6 erledigt (Ausschlußprinzip).

Im HMBC beobachtet man einen Peak ausgehend von H-1 des Zuckerringes zu einem der beiden bisher nicht zugeordneten Kohlenstoffsignale (grau unterlegt).



C-6 kann dann nur noch das Signal bei 63.71 ppm sein.

Das HMBC enthält wesentlich mehr Informationen als zur Lösung der Aufgabenstellung erforderlich. Aus Gründen der Vollständigkeit sind die meisten davon markiert. Für die Lösung der Aufgabe sind aber nur die beiden grau markierten Kreuzpeaks notwendig. Die mit einer Klammer versehenen Peaks entsprechen den unerwünschten direkten Korrelationen, die man besser dem HMQC entnimmt.

Spinsysteme:

Zu Erinnerung die Definition:

Miteinander koppelnde Kerne bilden ein Spinsystem.

Zwischen den Protonen H-4 und H-5 im Zuckerring wird keine Kopplung beobachtet. Diese beiden Protonen gehören somit verschiedenen Spinsystemen an.

Damit existieren drei Spinsysteme.

H5, H-6: **ABC**

Alternativen in der Formulierung sind hier nicht möglich.

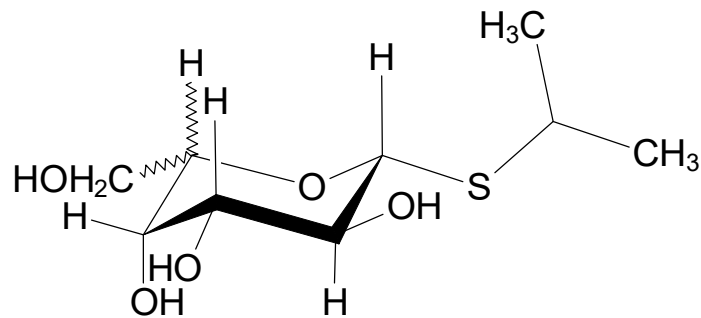
H-1 bis H-4: **AMPX**

Vier andere einigermaßen voneinander getrennte Buchstaben wären auch korrekt.

Isopropylgruppe: **AM₃X₃**

AX₃Y₃ wäre auch korrekt, auch ähnliche Buchstabenwahlen, auf alle Fälle müssen aber drei verschiedene Sorten Protonen im Verhältnis 1:3:3 erkennbar sein.

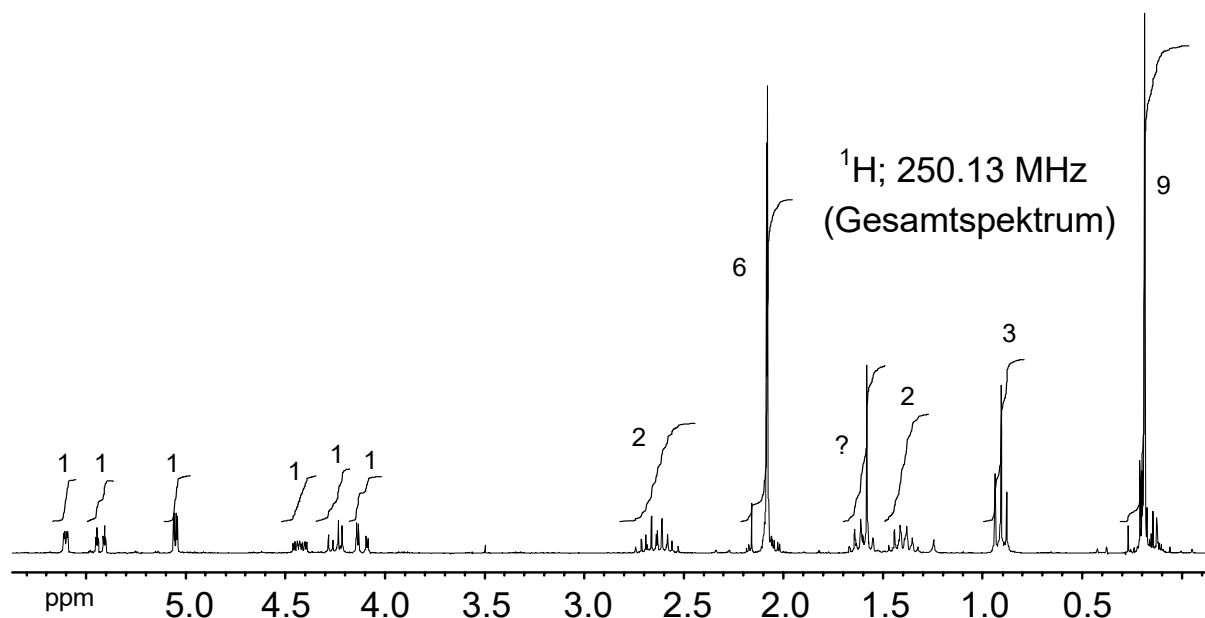
Hir noch einmal die Struktur im Überblick:



Die Stereochemie in 5-Stellung ist mit den vorliegenden Informationen nicht aufklärbar. Die tatsächlich verwendete Verbindung war Isopropylthiogalactosid.

Lösung zu Aufgabe 8

Als Basis für die Integration dient am besten die Trimethylsilylgruppe mit 9 Protonen. Das entsprechende Signal findet man leicht um 0 ppm (Ähnlichkeit mit TMS).

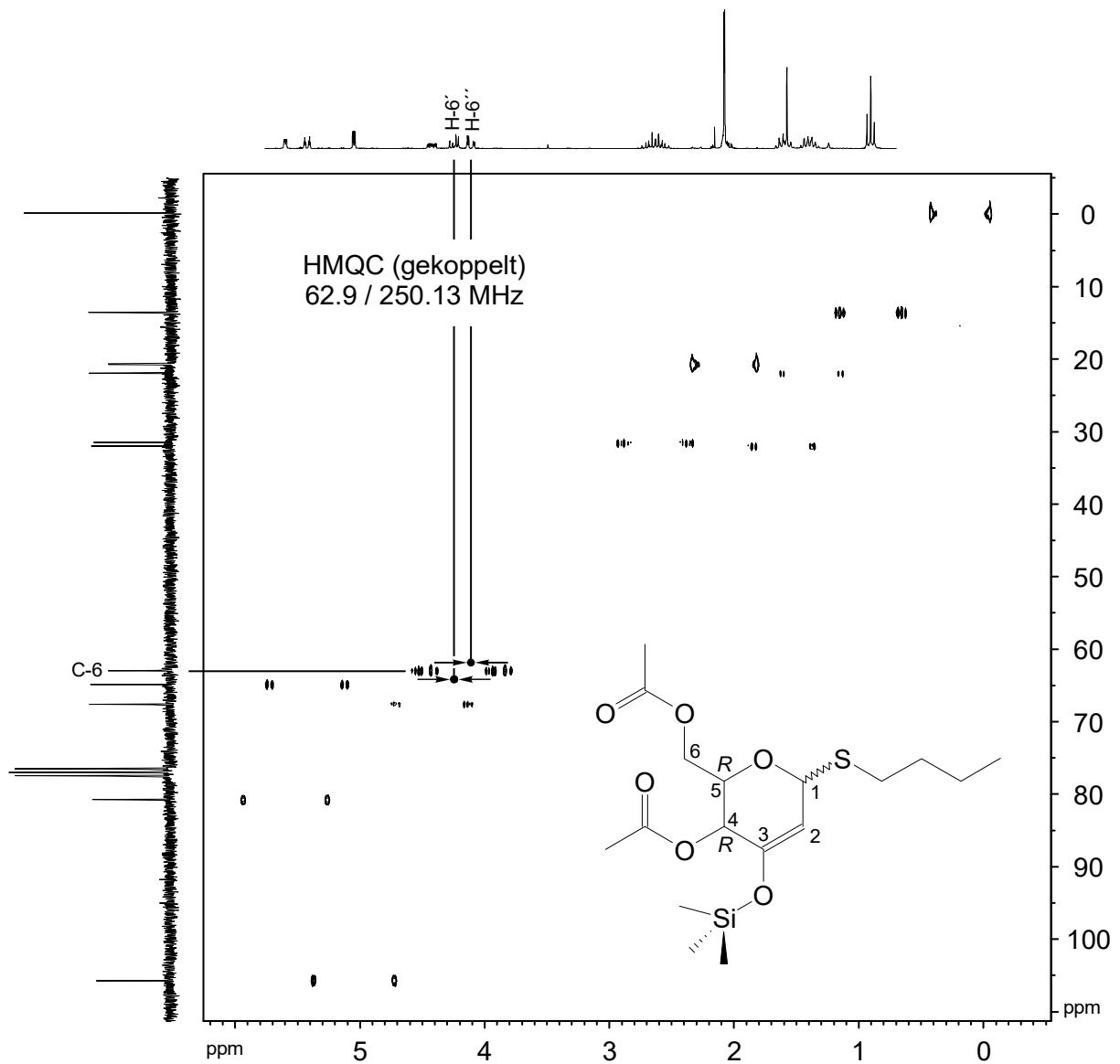


Das Multiplett bei etwa 1.6 ppm lässt sich wegen des überlagerten Wassersignals nicht zuverlässig integrieren.

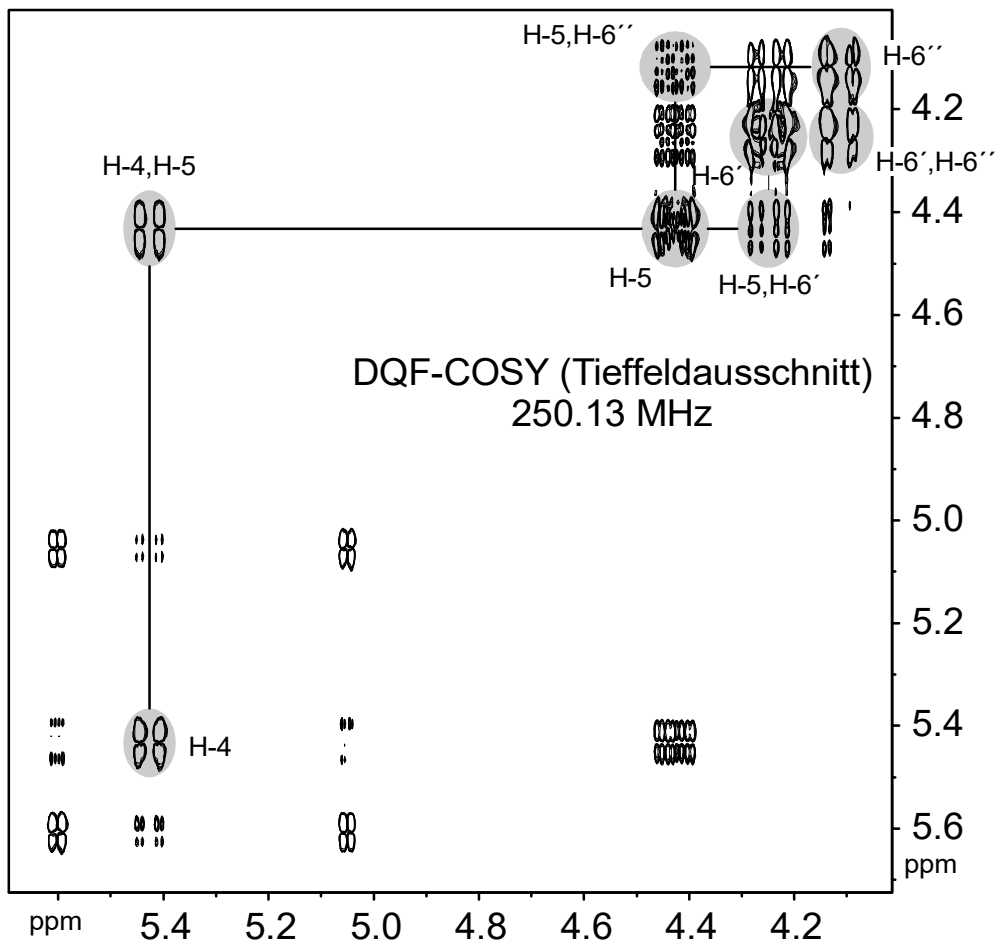
Durch Analyse des DQF-COSY lassen sich alle Protonensignale unterhalb von 3 ppm entweder der Butylgruppe, den Acetylschutzgruppen ($\delta \approx 2$ ppm) oder der Trimethylsilylgruppe zuordnen. Abgesehen von den diastereotopen Protonen der Butylgruppe treten bei der Auswertung des Protonenspektrums und auch bei der Zuordnung der Kohlenstoffsignale durch das HMQC keine Besonderheiten auf.

Die folgende Auswertung konzentriert sich auf das Ringsystem und die exocyclische CH_2 -Gruppe.

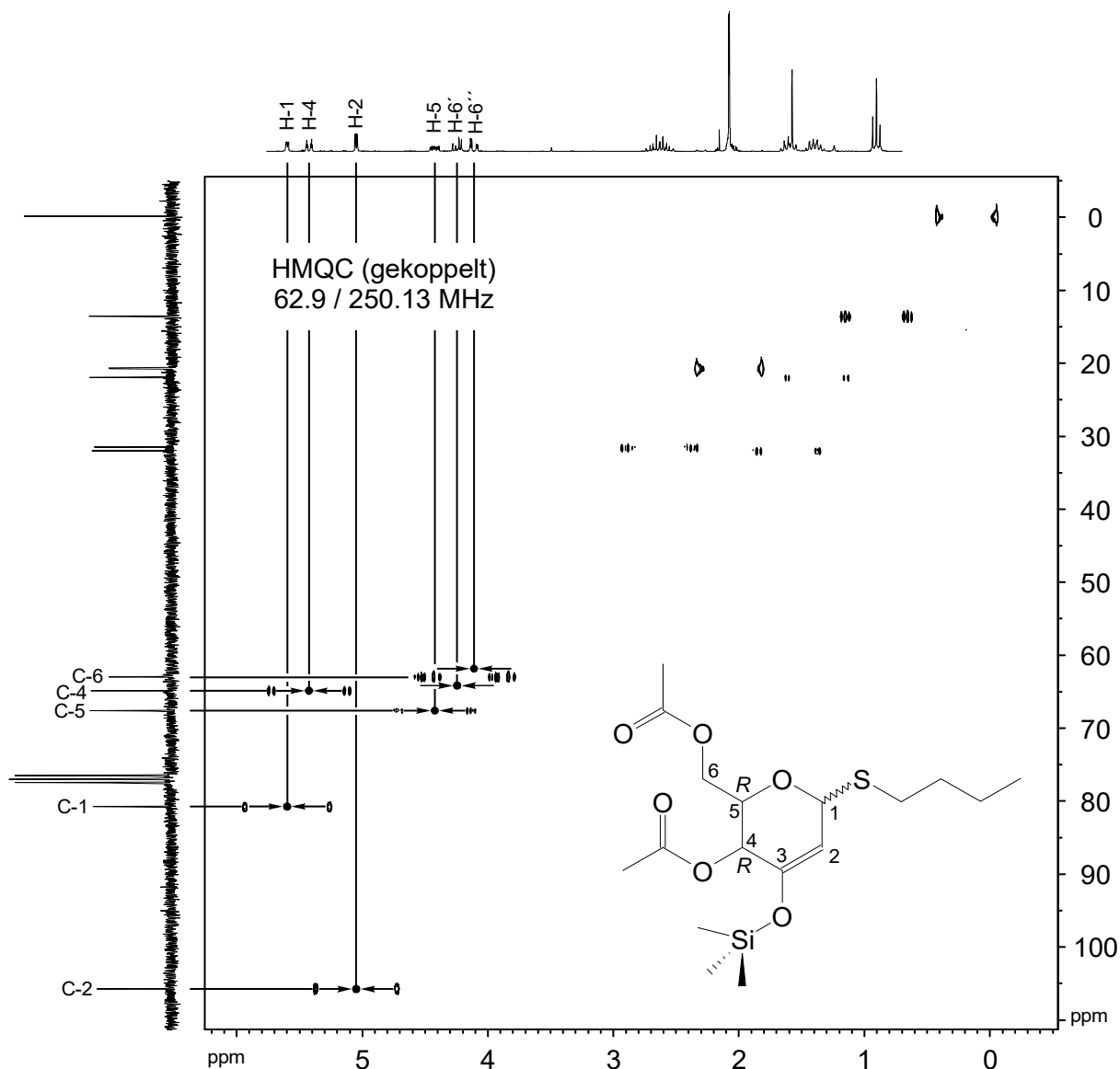
Die Zuordnung beginnt am besten mit C-6 und den beiden diastereotopen H-6. Man findet die entsprechenden Signale am günstigsten im HMQC.



Die "Entkopplung" des mit Kohlenstoffkopplung gemessenen HMQC muß grafisch erfolgen. Als Zugabe liefert das gekoppelte HMQC die direkten Kopplungskonstanten $^1J_{\text{CH}}$. Mit Hilfe des DQF-COSY lassen sich jetzt H-5 und H-4 zuordnen.



H-4 koppelt sowohl mit H-1 als auch mit H-2, H-1 und H-2 auch untereinander, so daß eine Unterscheidung von H-1 und H-2 mit Hilfe des DQF-COSY nicht möglich ist. Die exakte Zuordnung von H-1 und H-2 ist an dieser Stelle auch noch nicht möglich. Bei der Bestimmung der homonuklearen Kopplungskonstanten auf der nächsten Seite wird ausgehend von H-5 eine sehr kleine Kopplung mit einem Betrag der Kopplungskonstante von 0.5 Hz beobachtet. Diese kleine Kopplung ist nur zu H-1 möglich, d.h. das zweite Multiplett im Protonenspektrum außer H-5 mit der genannten kleinen Kopplungskonstante ist H-1 (5.6 ppm).



Aus den Protonenmultipletts lassen sich die Beträge folgender Kopplungskonstanten extrahieren.

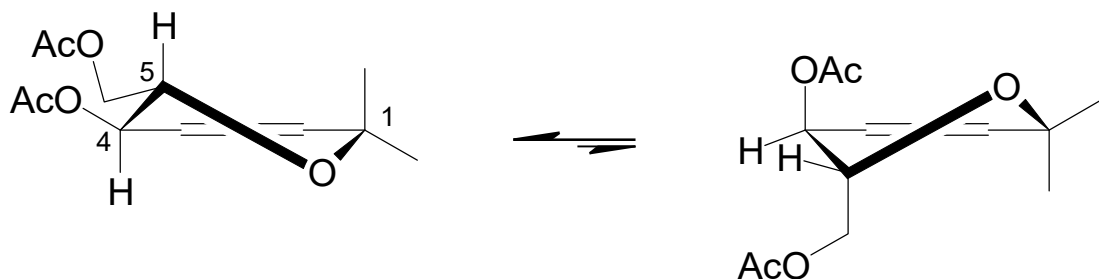
Proton	enthaltene Kopplungskonstanten [Hz]			
H-1		3.7	1.6	
H-2		3.6		1.3
H-4	9.4		1.5	1.4
H-5	9.4	5.2	2.5	0.5
H-6'	12.2	5.2		
H-6''	12.2		2.5	

Für die sehr kleine Kopplungskonstante von 0.5 Hertz findet sich nicht sofort das "Gegenstück". Man findet es in H-1, wobei die Aufspaltung durch die geringfügig größere Linienbreite nur andeutungsweise aufgelöst erscheint. Die gesamte Zuordnung faßt die Tabelle zusammen.

Proton	δ [ppm]	Kopplungen	^{13}C -Kern	δ [ppm]
H-1	5.60	$ ^3J_{\text{H-1,H-2}} = 3.6 \text{ Hz}$ $ ^4J_{\text{H-1,H-5}} = 0.5 \text{ Hz}$ $ ^5J_{\text{H-1,H-4}} = 1.5 \text{ Hz}$	C-1	80.76
H-2	5.05	$ ^4J_{\text{H-2,H-4}} = 1.3 \text{ Hz}$	C-2	105.68
			C-3	147.97
H-4	5.43	$ ^3J_{\text{H-4,H-5}} = 9.4 \text{ Hz}$	C-4	64.87
H-5	4.43	$ ^3J_{\text{H-5,H-6}'} = 5.2 \text{ Hz}$ $ ^3J_{\text{H-5,H-6}''} = 2.5 \text{ Hz}$	C-5	67.58
H-6'	4.25	$ ^2J_{\text{H-6}',\text{H-6}''} = 12.2 \text{ Hz}$	C-6	62.96
H-6''	4.11			

Einige der Kopplungskonstanten tragen spezielle Namen. So handelt es sich bei $^4J_{\text{H-2,H-4}}$ um eine Allylkopplung und bei $^5J_{\text{H-1,H-4}}$ um eine Homoallylkopplung. Im Falle von $^4J_{\text{H-1,H-5}}$ könnte schließlich eine "W"-Kopplung vorliegen. Eine fundierte Aussage hierzu ist jedoch nur nach einer wesentlich komplizierteren Konformationsanalyse möglich.

Einige ergänzende Bemerkungen zu möglichen Konformationsgleichgewichten. Die Kopplungskonstanten zwischen H-4 und H-5 in den der Aufgabenstellung typischen Verbindungen beträgt üblicherweise 10 ... 11 Hz, wenn sowohl H-4 als auch H-5 axial angeordnet sind. Tatsächlich wurden nur 9.4 Hz beobachtet. Dies ist ein Indiz für ein Konformationsgleichgewicht der unten angegebenen Form. Während H-4 und H-5 im linken Konformer axial-axial-ständig angeordnet sind (große Kopplungskonstante), stehen sie im rechten Konformer equatorial-equatorial (Kopplungskonstante ca. 2 ... 3 Hz). Durch schnelle Ringinversion wird eine gewichtet gemittelte Kopplungskonstante beobachtet



Zur Ermittlung der Stellung des Schwefels in Position **1** bietet sich eine NOE-Messung an.

Lösung zu Aufgabe 9

Zum Lösungsmittel:

Das Kohlenstoffspektrum zeigt bei 77 ppm drei gleich große äquidistante Signale. Diese stammen von CDCl_3 .

Chemische Verschiebungen der Protonensignale:

Die 10 Protonen verteilen sich auf 9 Signalgruppen. Bei den 8 Signalgruppen mit dem Integral 1 kann die chemische Verschiebung sofort durch Mittelwertbildung des äußersten linken und des äußersten rechten Signales exakt berechnet werden. Die Tabelle bezeichnet die Multipletts von tiefem nach hohem Feld.

Multiplett	δ [ppm]
1	5.88
2	5.26
3	5.17
4	$\approx 4.02^1$
5	3.70
6	3.38
7	$\approx 3.13^2$
8	2.77
9	2.59

Aus dem HMQC ist ersichtlich, daß alle Protonen an C-Atome gebunden sind. Damit sind keine OH-Gruppen möglich. Außerdem sind sofort 4 CH_2 -Gruppen sichtbar (die zwei Protonen der Signalgruppe bei ≈ 4.02 ppm sind auch nur an ein C-Atom gebunden).

Die Tabelle erweitert sich damit wie folgt:

Multiplett	δ_{H} [ppm]	δ_{C} [ppm]	CH_2 -Gruppe
1	5.88	134.3	
2	5.26	117.2	a
3	5.17	117.2	a
4	≈ 4.02	72.2	b
5	3.70	70.7	c
6	3.38	70.7	c
7	≈ 3.13	50.7	
8	2.77	44.2	d

¹ An dieser Stelle ist noch nicht klar, ob es sich um ein Multiplett von zwei äquivalenten Protonen oder zwei benachbarte Multipletts handelt.

² Bei diesem Multiplett erfolgte kein Peak-Picking. Die exakte Angabe der chemischen Verschiebung ist damit nicht möglich.

9 | 2.59 | 44.2 | d

Gemäß dem DQF-COSY verteilen sich die Protonen auf zwei Spinsysteme. Ein Spinsystem wird von den Multipletts **1** bis **4** gebildet, das andere Spinsystem von den Multipletts **5** bis **9**.

Aus den Multipletts **1** bis **4** können die folgenden Strukturfragmente sofort abgeleitet werden:

1 : =CH-
2,3: CH₂=
4: -CH₂-

Die Zuordnung zu olefinischen CH-Gruppierungen ergibt sich aus der chemischen Verschiebung der entsprechenden C-Signale. Aus diesen Fragmenten leitet sich das Strukturfragment



ab.

Die Multipletts **5** bis **9** können ebenfalls sofort Strukturfragmenten zugeordnet werden:

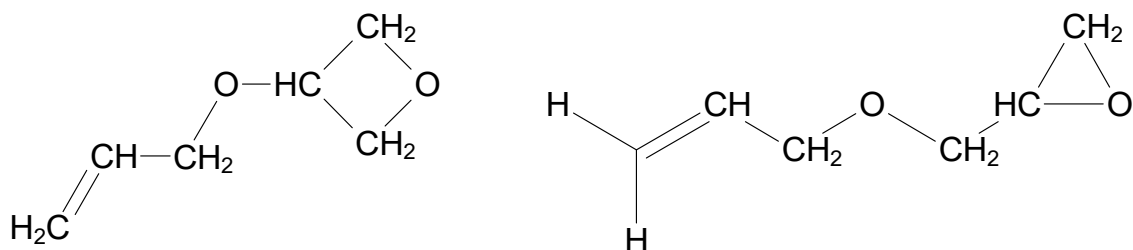
4,5: -CH₂-
7: -CH<
8,9: -CH₂-

Das Multiplett **7** (≈ 3.13 ppm) zeigt im DQF-COSY Nachbarschaften zu den Multipletts **5**, **6**, **8** und **9**. Das ist nur möglich, wenn beide CH₂-Gruppen an die Methingruppe gebunden sind, d.h. das Strukturfragment



mit einer noch freien Valenz an der Methingruppe vorliegt.

Zu diesem Zeitpunkt verfügen die beiden bisher bekannten Strukturfragmente zusammen über noch vier freie Valenzen, von der Summenformel wurden 2 Sauerstoffatome noch nicht zugeordnet. Die Sauerstoffatome können nur die freien Valenzen schließen. Es bieten sich nur zwei endgültige Strukturen an:



In der linken Struktur sind auf alle Fälle im Vierring jeweils zwei Protonen paarweise äquivalent. Im Protonenspektrum würde man höchstens 8

Signalgruppen beobachten. Damit verbleibt als Lösungsstruktur nur der Allyl-glycidyl-ether (rechts).

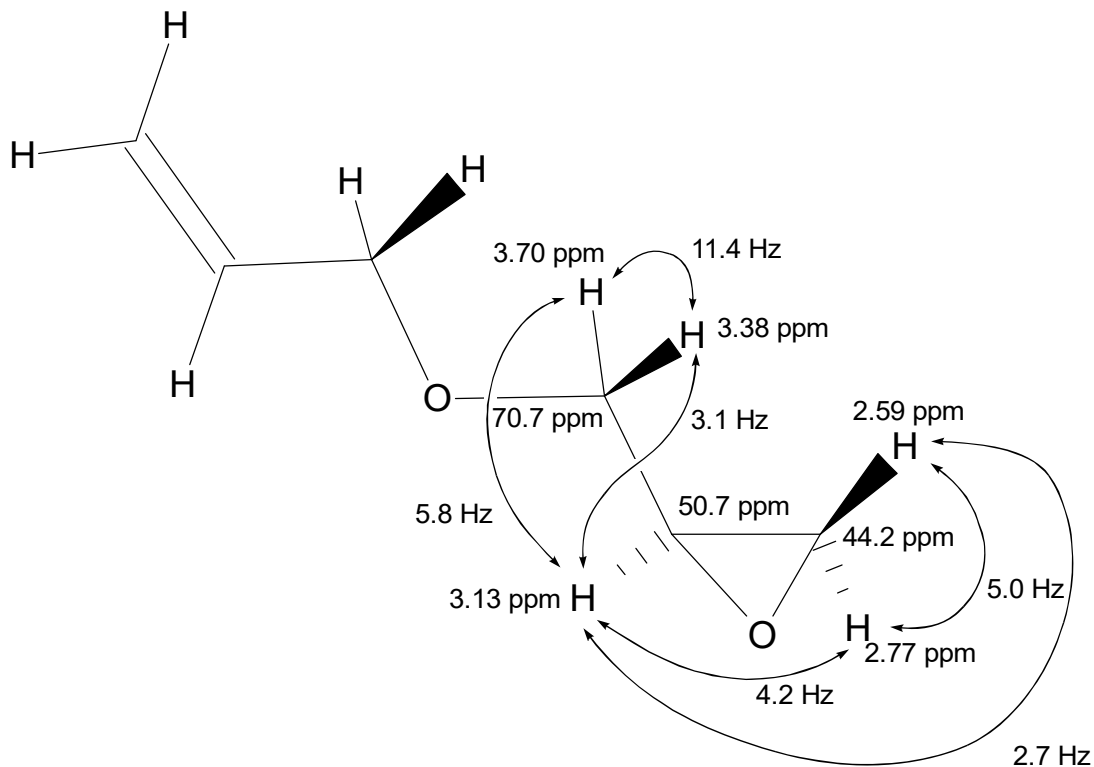
Analyse der Kopplungskonstanten, Struktur:

Im Glycidylteil der Verbindung sind nur einfache Multipletts zubeobachten. Die Multipletts **5**, **6**, **8** und **9** stellen jeweils Dubletts von Dubletts (dd) dar. Entsprechend erhält man die in der Tabelle aufgeführten Kopplungskonstanten:

Multiplett	δ_{H} [ppm]	δ_{C} [ppm]	Kopplungskonstanten
1	5.88	134.3	
2	5.26	117.2	
3	5.17	117.2	
4	≈ 4.02	72.2	
5	3.70	70.7	3.1 Hz; 11.4 Hz
6	3.38	70.7	5.8 Hz; 11.4 Hz
7	≈ 3.13	50.7	
8	2.77	44.2	4.2 Hz; 5.0 Hz
9	2.59	44.2	2.7 Hz; 5.0 Hz

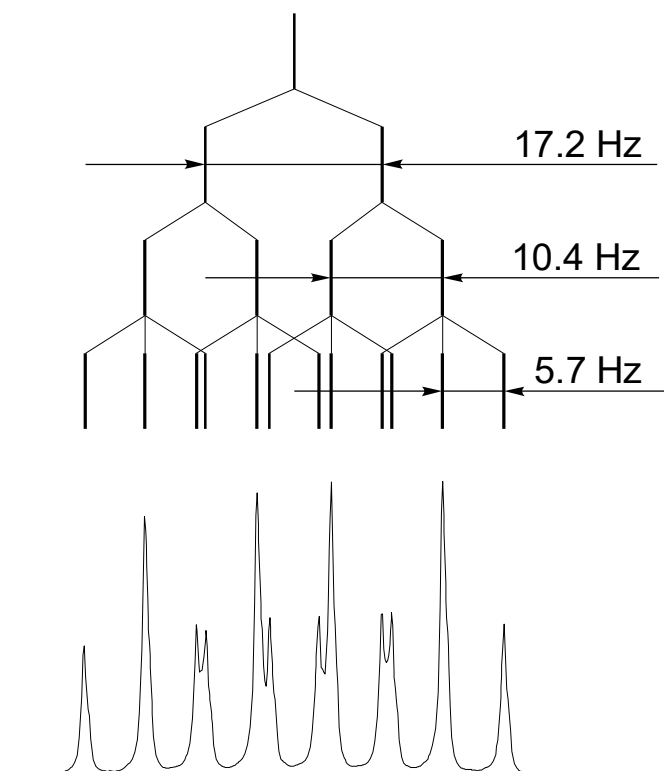
Wegen der gemeinsamen Kopplungskonstante von 11.4 Hz gehören die Signale der Multipletts **5** und **6** damit zur nicht im Dreiring gebundenen CH₂-Gruppe des Glycidylrestes. Der Betrag der Kopplungskonstante ist typisch für die geminale Kopplung in frei beweglichen CH₂-Gruppen mit diastereotopen Protonen.

Die 5 Hz bezeichnen dann die geminale Kopplungskonstante zwischen den CH₂-Protonen innerhalb des Dreiringes. Das Methinproton des Dreiringes (Multiplett **7** mit schlecht auflösbarem Kopplungsmuster) steht zum einen Proton der Dreiring-CH₂-Gruppe cis-ständig (d.h. mit einem Diederwinkel von 0°) und zum anderen Proton der CH₂-Gruppe mit einem Diederwinkel um die 120°. In letzterem Fall erwartet man entsprechend der Karplus-Beziehung eine kleinere vicinale Kopplungskonstante als für die cis-Anordnung. Damit ergibt sich folgende Zuordnung:



Die stereochemisch exakte Signalzuordnung (Pro-*R*, Pro-*S*) bei der nicht im Dreiring gebundenen Methylengruppe (Multipletts **5** und **6**) ist dabei mit den hier vorliegenden Daten nicht möglich.

Im Allylteil der Verbindung koppelt jedes Proton mit jedem anderen. Das ergibt komplizierte Aufspaltungsbilder. Entsprechend den weiter o.g. Schlußfolgerungen gehört Multiplett **1** zur olefinischen Methingruppe. Für dieses Multiplett erwartet man ein Dublett von Dubletts von Dubletts von Dubletts, da alle weiteren Protonen (wegen des Chiralitätszentrums im Glycidylteil auch die der aliphatischen CH₂-Gruppe) nicht äquivalent sind. Von den 16 Linien werden aber nur 12 beobachtet, rein phänomenologisch scheint das Multiplett aus vier gleich großen Triplets zu bestehen. Mit einiger Sicherheit ist davon auszugehen, daß die Kopplungskonstanten zu den beiden Protonen der aliphatischen CH₂-Gruppe gleich groß sind. Multiplett **1** wäre dann ein Dublett von Dubletts von Pseudotriplets. Die Multiplettanalyse ergibt dann:



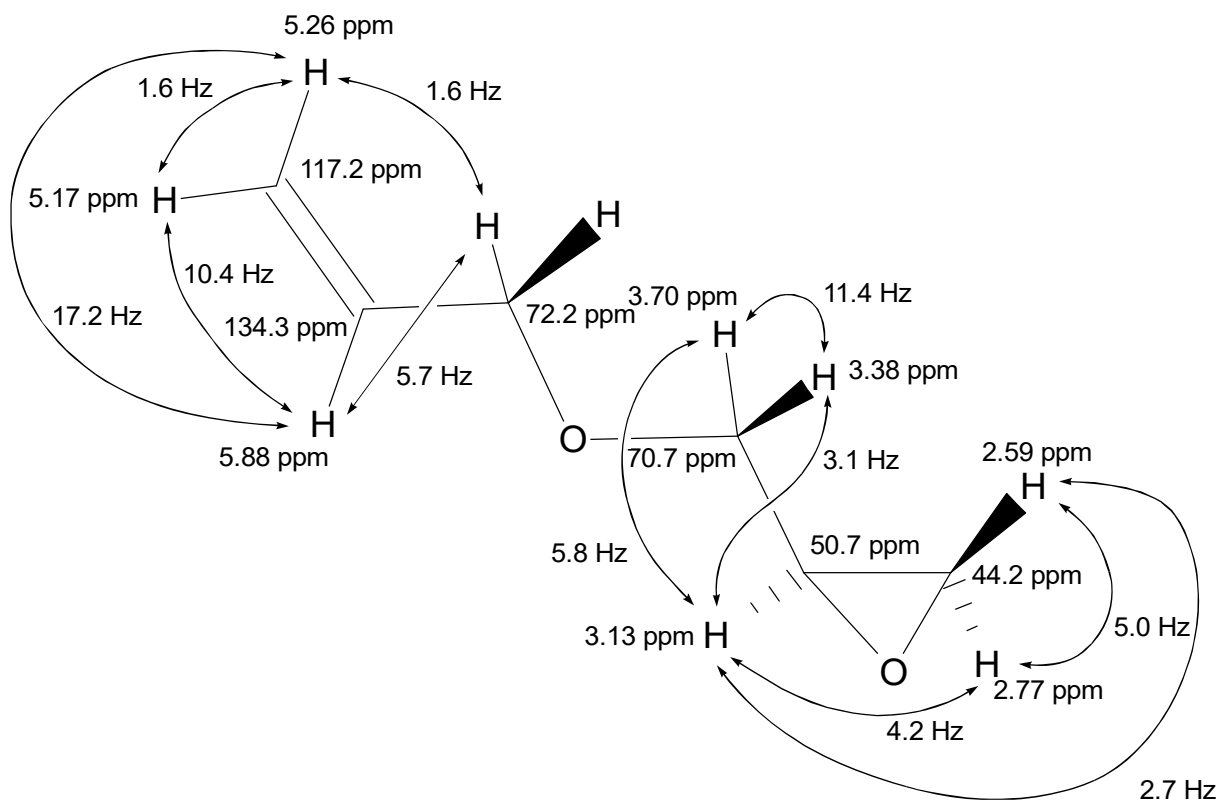
Multiplett **2** scheint ein Dublett von Quartetts (**dq**) zu sein. Dieses Multiplett gehört zu einem Proton der endständigen olefinischen =CH₂-Gruppe im Allylteil der Verbindung. Auch dieses Proton sieht insgesamt vier verschiedene Nachbarn. Das wäre zum einen das drei Bindungen entfernte olefinische =CH-Proton (siehe oben). Hier sollte man je nach Stereochemie eine Kopplungskonstante zwischen 10 und 16 Hz erwarten. Weitere Kopplungspartner sind das zwei Bindungen entfernte zweite Proton der endständigen olefinischen =CH₂-Gruppe und die vier Bindungen entfernten 2 Protonen der aliphatischen CH₂-Gruppe im Allylrest. Für alle diese drei Protonen sind Kopplungskonstanten im Bereich um die 2 Hz zu erwarten. Offensichtlich sind die Kopplungskonstanten zu den drei zuletzt genannten Protonen fast identisch, wodurch eine Pseudoquartettstruktur beobachtet wird.

Insgesamt erweitert sich die Zahl der bekannten Kopplungskonstanten wie folgt.

Multiplett	δ_H [ppm]	δ_C [ppm]	Kopplungskonstanten
1	5.88	134.3	5.7 Hz; 5.7 Hz; 10.4 Hz; 17.2 Hz
2	5.26	117.2	1,6 Hz; 1.6 Hz; 1.6 Hz; 17.2 Hz
3	5.17	117.2	
4	≈ 4.02	72.2	
5	3.70	70.7	3.1 Hz; 11.4 Hz
6	3.38	70.7	5.8 Hz; 11.4 Hz

7	≈ 3.13	50.7	
8	2.77	44.2	4.2 Hz; 5.0 Hz
9	2.59	44.2	2.7 Hz; 5.0 Hz

Die bisher bekannten Kopplungskonstanten lassen mit Ausnahme der beiden frei beweglichen CH₂-Gruppen eine vollständige stereochemische korrekte Zuordnung zu.

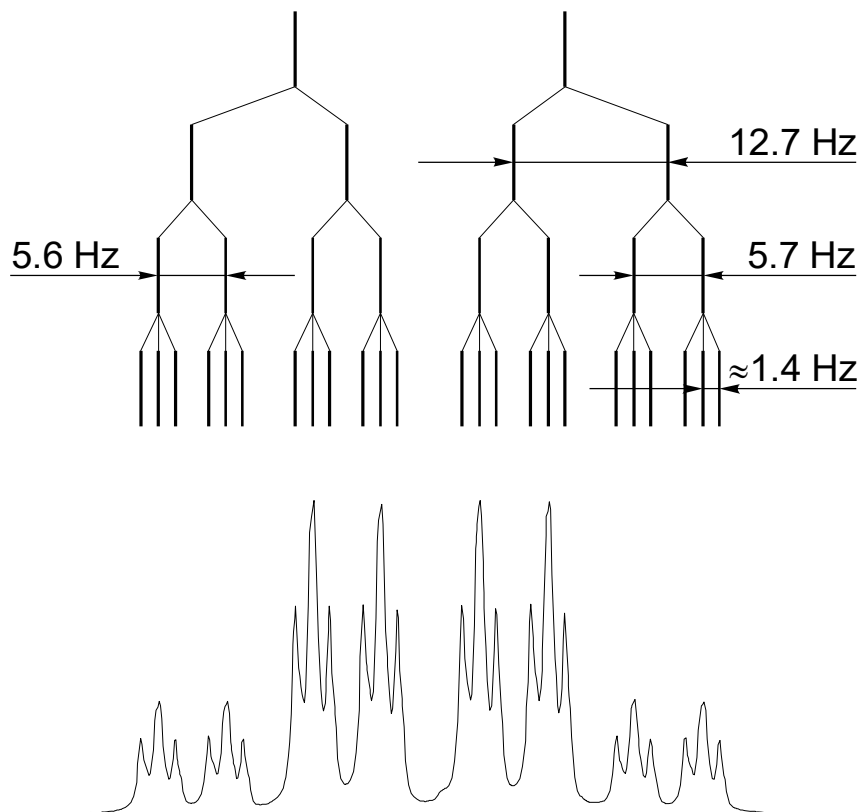


Bleiben jetzt noch die beiden nicht zugeordneten diastereotopen Protonen. Diese sollten sich unter dem Signal bei ca. 4.02 ppm verbergen. Jedes der beiden Protonen verfügt wiederum über 4 Kopplungspartner:

- das zweite Proton an der CH₂-Gruppe (12 .. 14 Hz),
- das olefinische Methinproton (5,7 Hz) und
- die beiden Protonen der endständigen =CH₂-Gruppe (1 .. 2 Hz).

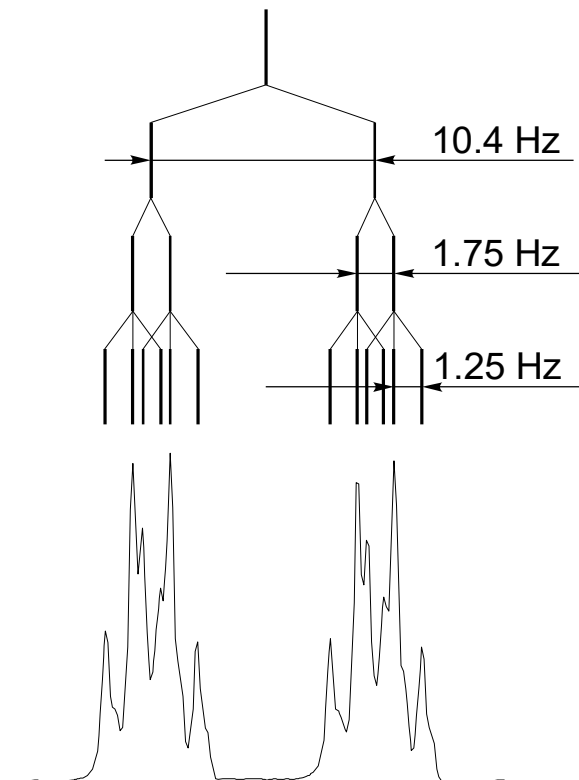
Die beiden letztgenannten Kopplungen scheinen wieder eine vergleichbare Größe aufzuweisen, das Multiplett der beiden CH₂-Protonen zeigt sehr auf ein Pseudotriplettmuster.

Mit diesen Informationen lässt sich das Multiplett auflösen.



Trotz der hier nicht ganz vollständigen Auszeichnung wäre darauf zu achten, daß mit Ausnahme der Kopplungskonstante von 12.7 Hz alle weiteren Kopplungen im linken und rechten Multiplett verschieden groß sind. Die beiden Protonen sind nicht äquivalent, das gilt auch für die von den Protonen ausgehenden Kopplungen. Die vergleichbaren Beträge der Kopplungskonstanten sind reiner Zufall.

Als Abschluß käme jetzt noch die Analyse von Multiplett **3** (5.17 ppm) in Frage. Auch das ist wiederum ein Dublett von Dubletts von Dubletts von Dubletts. Zu sehen ist ein Dublett von Dublett von Pseudotripletts, auch hier sind wiederum zwei Kopplungskonstanten zufällig gleich groß. Die Analyse ergibt:



Die 1.25 Hz gehören zur Kopplung zu den beiden diastereotopen Protonen der $-\text{CH}_2$ -Gruppe. Die dort in den Pseutriplets beobachtete Kopplungskonstante von ca. 1.4 Hz ist dann der Mittelwert aus den bereits bekannten 1.6 Hz und den 1.25 Hz.

Zusammenfassung Multipletts:

Im Allylteil der Verbindung gibt es nur Dubletts von Dubletts von Dubletts von Dubletts (**dddd**). Im Glycidylteil weist das Methinproton die gleiche Struktur auf, alle übrigen Protonen ergeben Dubletts von Dubletts (**dd**).

Spinsysteme:

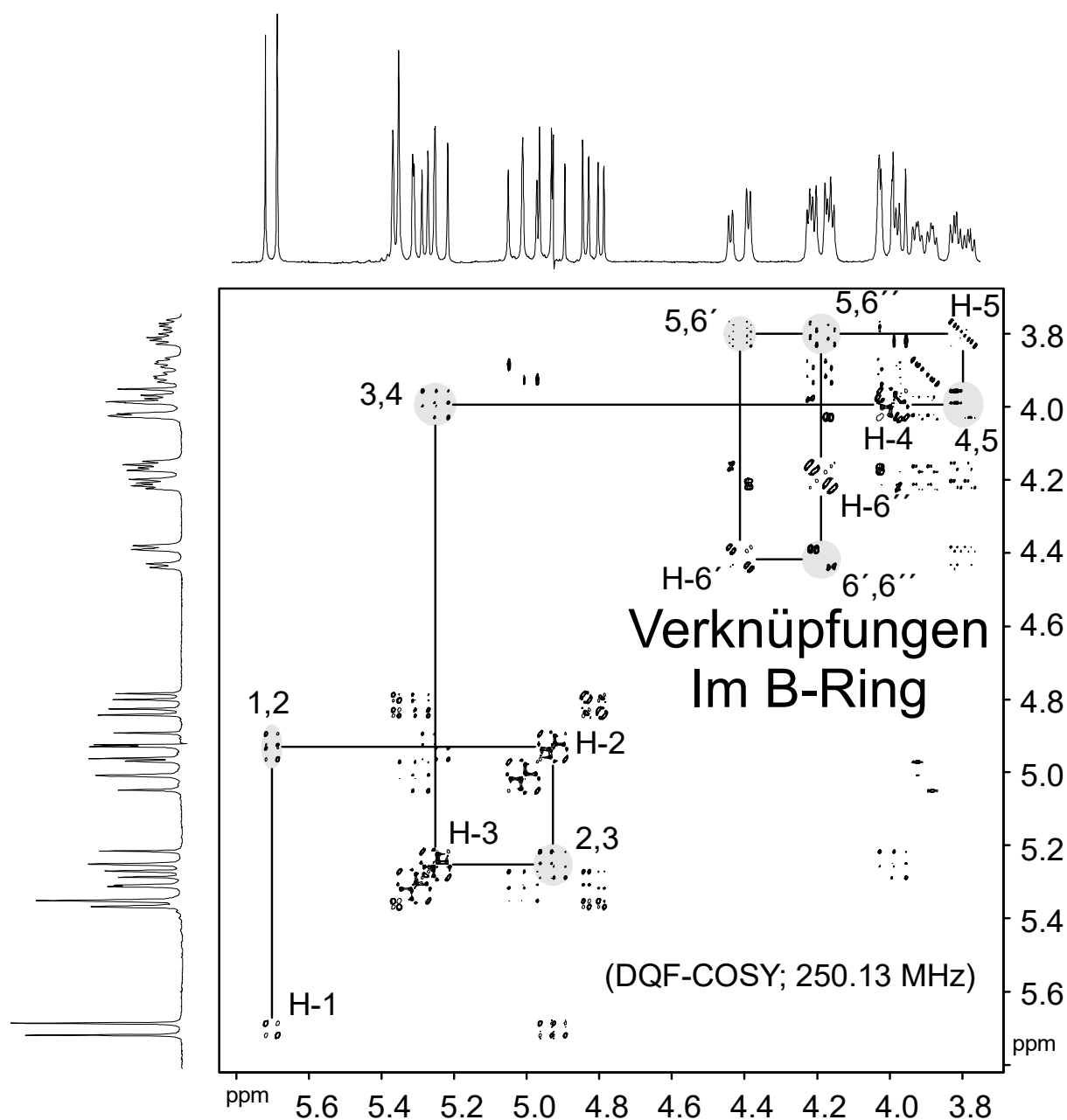
Der Allylteil ergibt ein ABMQX- der Glycidylteil ein AGMQX-System. Sinngemäß ähnliche Buchstabenwahlen (weit entfernte Buchstaben mit der Ausnahme der Methylenprotonen im Multiplett **4**) sind natürlich auch korrekt.

Lösung zu Aufgabe 10

Zunächst sollte man sich das eindimensionale Protonenspektrum im Bereich von etwa 3.5 bis 6 ppm ansehen. Die starken Singulets um 2 ppm resultieren von den hier nicht näher betrachteten Schutzgruppen.

Die sechs gut separierten Protonengruppen (mit etwas gutem Willen kann man auch noch weiter unterteilen) sind im Blatt 1 der Aufgabenstellung vergrößert dargestellt. Zur deutlichen Trennung erfolgte eine gegenseitige Versetzung der Basislinie. Das Integralverhältnis von 1:3:3(2:1):1:2:4(3:1) entspricht den erwarteten Protonen. Die Angaben in Klammern beziehen sich dabei auf die noch weitere Unterteilung der Protonengruppen).

Die Zuordnung der Protonensignale erfolgt natürlich am besten mit Hilfe des DQF-COSY von Blatt 3. Günstigster Ausgangspunkt für die Zuordnung sind die beiden H-1 an Ring A und Ring B, für die jeweils ein sauberes Dublett erwartet wird.



Das Dublett bei 5.70 ppm mit einer Kopplungskonstanten von ${}^3J_{\text{H-1,H-2}} = 8.1$ Hz läßt sich eindeutig H-1 des B-Ringes zuordnen. Trotz der noch unklaren Stereochemie von H-1 und H-2 des B-Ringes ist die Basis für die Zuordnung die große Kopplungskonstante zwischen H-1 und H-2. Diese ist nur zwischen zwei axial-ständigen Protonen möglich. Im A-Ring steht H-1 auf alle Fälle equatorial, die Kopplungskonstante zu H-2 muß unabhängig von der Stereochemie von H-2 klein sein.

Die Zuordnung mit Hilfe des DQF-COSY wird durch Überlagerungen (man vergleiche dazu die Integrale) in den Multipletts um 4 ppm sehr erschwert. Ein wenig Erleichterung verschafft die Suche nach den beiden H-5 im eindimensionalen Protonenspektrum. Beide H-5 verfügen über je drei nichtäquivalente Nachbarprotonen (H-4, H-6', H-6''), als resultierende Multiplettstruktur wird ein ddd-Muster (Dublett von Dubletts von Dubletts; 8 Linien) erwartet. Diese beiden Multipletts findet man problemlos bei etwa 3.8 bzw. 3.9 ppm.

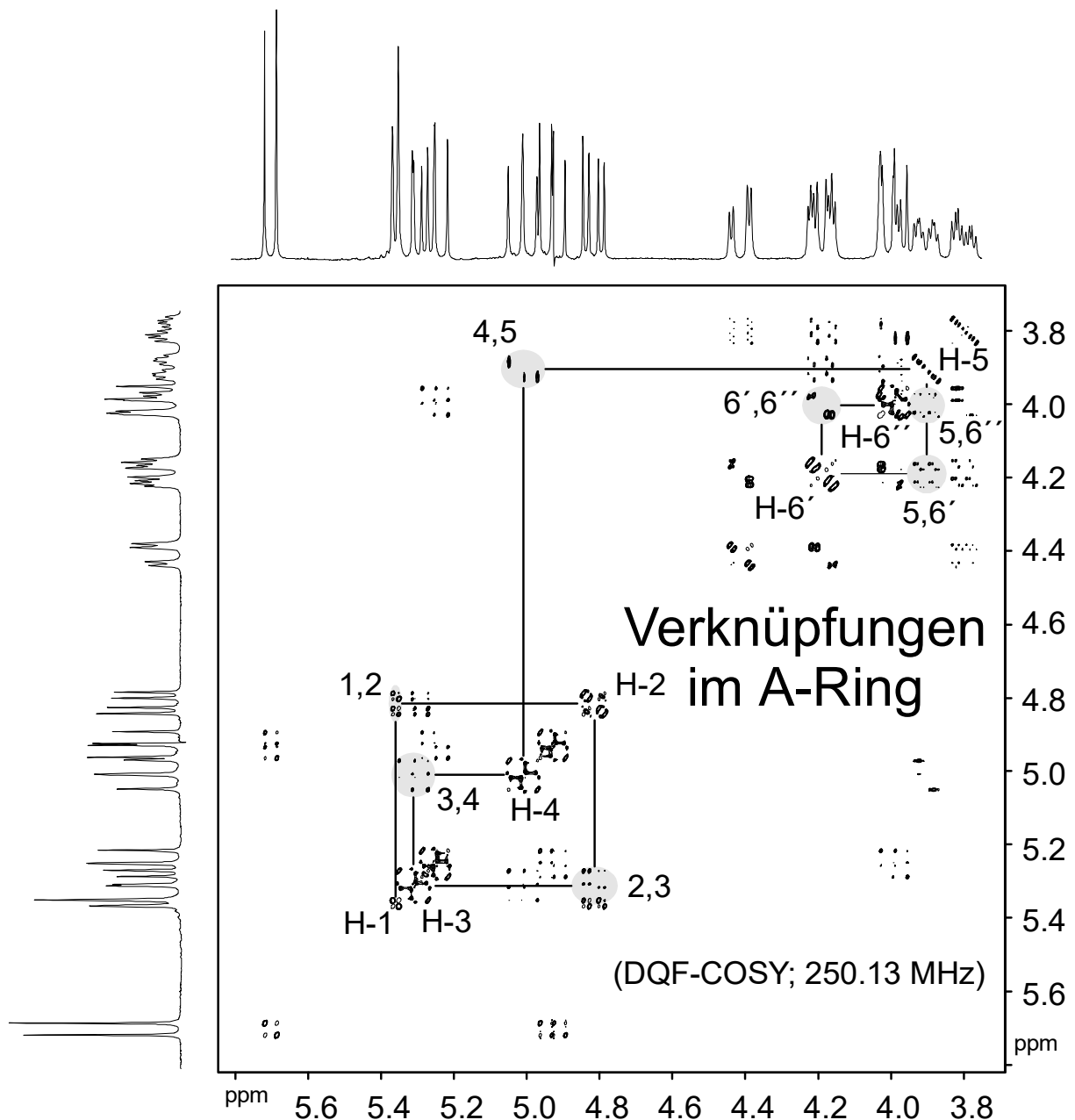
Die Verknüpfungen vom H-1 bis H-4 sind zunächst einfach nachzuvollziehen. Das Diagonalsignal von H-4 ist leider mit einem weiteren Protonensignal überlagert. Der nächste Kreuzpeak ausgehend von H-4 muß natürlich zu einem der bereits im eindimensionalen Protonenspektrum identifizierten H-5 führen. Ausgehend von dem - überlagerten - H-4 scheint zu beiden H-5 ein Kreuzpeak eine Verknüpfung anzuzeigen. Die "richtige" Verknüpfung führt zum tieffeldigen H-5 bei etwa 3.8 ppm.

Begründung:

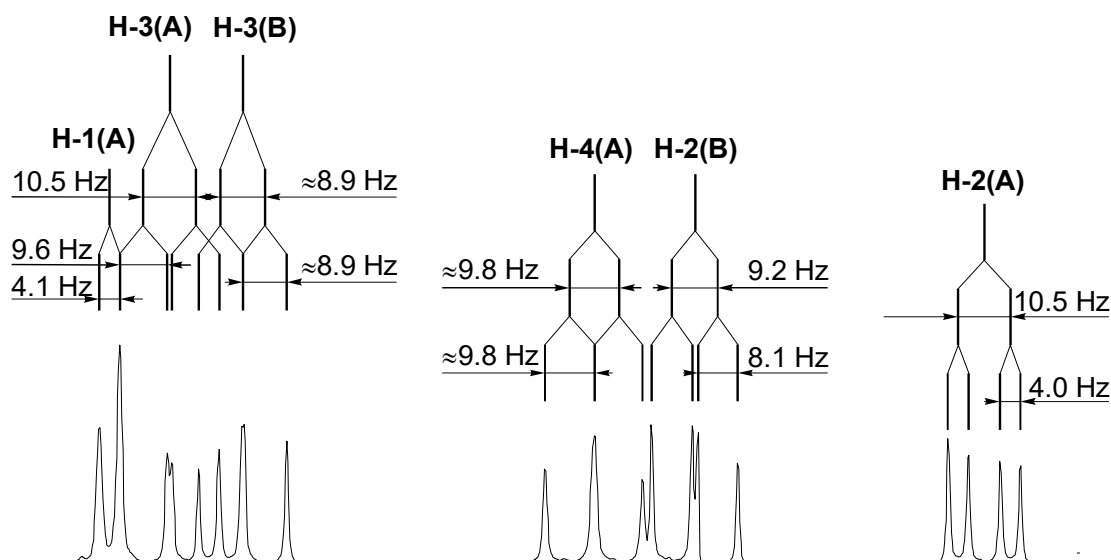
Zu jedem H-5 gehören natürlich 3 Kreuzpeaks (zu H-4, H-6' und H-6''). Betrachtet man zunächst H-5 bei etwa 3.9 ppm, so würde der erste Kreuzpeak bei etwa (3.9 ppm; 4.0 ppm) der Korrelation (H-4; H-5) entsprechend. Die zwei weiteren von H-5 ausgehenden Kreuzpeaks bei etwa (3.9 ppm; 4.2 ppm) und (3.9 ppm; 5.0 ppm) könnten dann nur noch die Korrelationen (H-5; H-6') und (H-5; H-6'') sein. Selbstverständlich koppeln die geminalen Protonen H-6' und H-6'' miteinander, so daß ein weiteres Kreuzsignal bei (4.2 ppm; 5.0 ppm) beobachtet werden müßte. Es wird zweifelsfrei nicht detektiert.

Die beiden H-6-Protonen sind dann wieder einfach auffindbar und geben selbstverständlich auch untereinander einen Kreuzpeak.

H-1 des A-Ringes läßt sich nicht so einfach finden. Am besten geht es noch über das DQF-COSY.



Man sehe sich das (typische) Diagonalpeak-Muster von H-1 des B-Ringes im DQF-COSY an. Das gleich Muster, ggf. mit veränderter Kopplungskonstante sollte man auch für H-1 des A-Ringes finden. Man findet es bei ca. 5.35 ppm. Ausgehend von H-1 bereitet die weitere Zuordnung wenig Schwierigkeiten. Die Kreuzpeaks zwischen H-1 und H-2 bzw. H-2 und H-3 sind leicht überlagert. Wenn man die bereits zugeordneten Kreuzpeaks des B-Ringes markiert, bereitet dieser Umstand aber keine besonderen Schwierigkeiten. Nach getaner Zuordnung lassen sich einige unübersichtliche Multipletts auch gut auflösen.



Die vollständige Zuordnung einschließlich der zugehörigen Kopplungskonstanten faßt die folgende Tabelle zusammen.

Proton	chem. Verschiebung [ppm]	Kopplungskonstanten
H-1(A)	5.36	${}^3J_{H-1,H-2} = 4.0 \text{ Hz}$
H-2(A)	4.82	${}^3J_{H-2,H-3} = 10.5 \text{ Hz}$
H-3(A)	5.31	${}^3J_{H-3,H-4} = 9.6 \text{ Hz}$
H-4(A)	5.01	${}^3J_{H-4,H-5} \approx 9.8 \text{ Hz}^*$
H-5(A)	$\approx 3.9^{**}$	
H-6'(A)	$\approx 4.2^{**}$	
H-6''(A)	$\approx 4.0^{**}$	
H-1(B)	5.70	${}^3J_{H-1,H-2} = 8.1 \text{ Hz}$
H-2(B)	4.93	${}^3J_{H-2,H-3} = 9.2 \text{ Hz}$
H-3(B)	5.25	${}^3J_{H-3,H-4} \approx 8.9 \text{ Hz}^*$
H-4(B)	$\approx 4.0^{**}$	
H-5(B)	$\approx 3.8^{**}$	
H-6'(B)	$\approx 4.4^{**}$	
H-6''(B)	$\approx 4.2^{**}$	

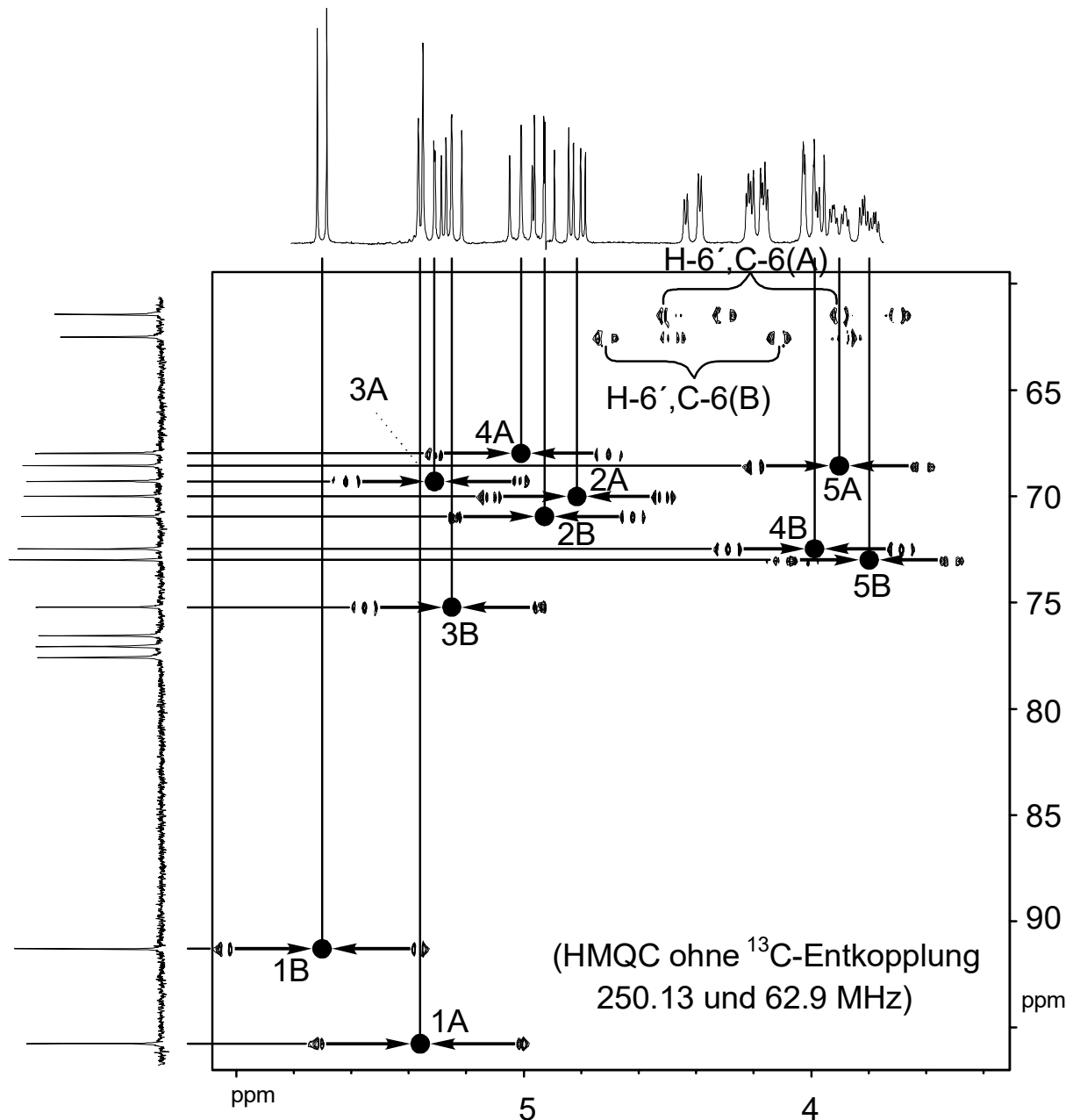
*) Die Kopplungskonstanten wurden nach Möglichkeit in den Multipletts ermittelt, in denen keine Signalüberlagerungen auftreten. Insbesondere in den zu einem Pseudotriplett entarteten Doppeldoublets ist die Bestimmung der Kopplungskonstanten nicht mit der maximalen Präzision möglich.

***) Für diese Protonen wurden die chemischen Verschiebungen nicht aus den Peakmarkierungen ermittelt

Mit den gemessenen Kopplungskonstanten stehen mit Ausnahme von H-1 des A-Ringes alle Protonen axial.

Im Kohlenstoffspektrum ist nur die Zuordnung der Signale zwischen 50 und 100 ppm möglich. Diese gehören zu C-1 bis C-6 beiden Ringe. Weitere Signale um 20 und 170 ppm sind den Schutzgruppen zuzuordnen.

Für die Kohlenstoffzuordnung wurde im konkreten Beispiel ein HMQC ohne Kohlenstoffentkopplung vermessen. Im Normalfall wird man eine Kohlenstoffentkopplung vornehmen und erhält dann für jedes C,H-Paar genau einen Kreuzpeak (zwei für C-6,H-6',H-6''). Die Kohlenstoffentkopplung ist jedoch nicht mit jedem NMR-Spektrometer möglich, außerdem enthält das gekoppelte HMQC die $J_{C,H}$ -Kopplungskonstante als zusätzliche Information. Man erhält ein "virtuell" entkoppeltes HMQC, wenn man jeweils den Schwerpunkt der Kreuzpeak-Dubletts bildet. Mit Hilfe der so gebildeten Schwerpunkte ist die standardmäßige Auswertung möglich.



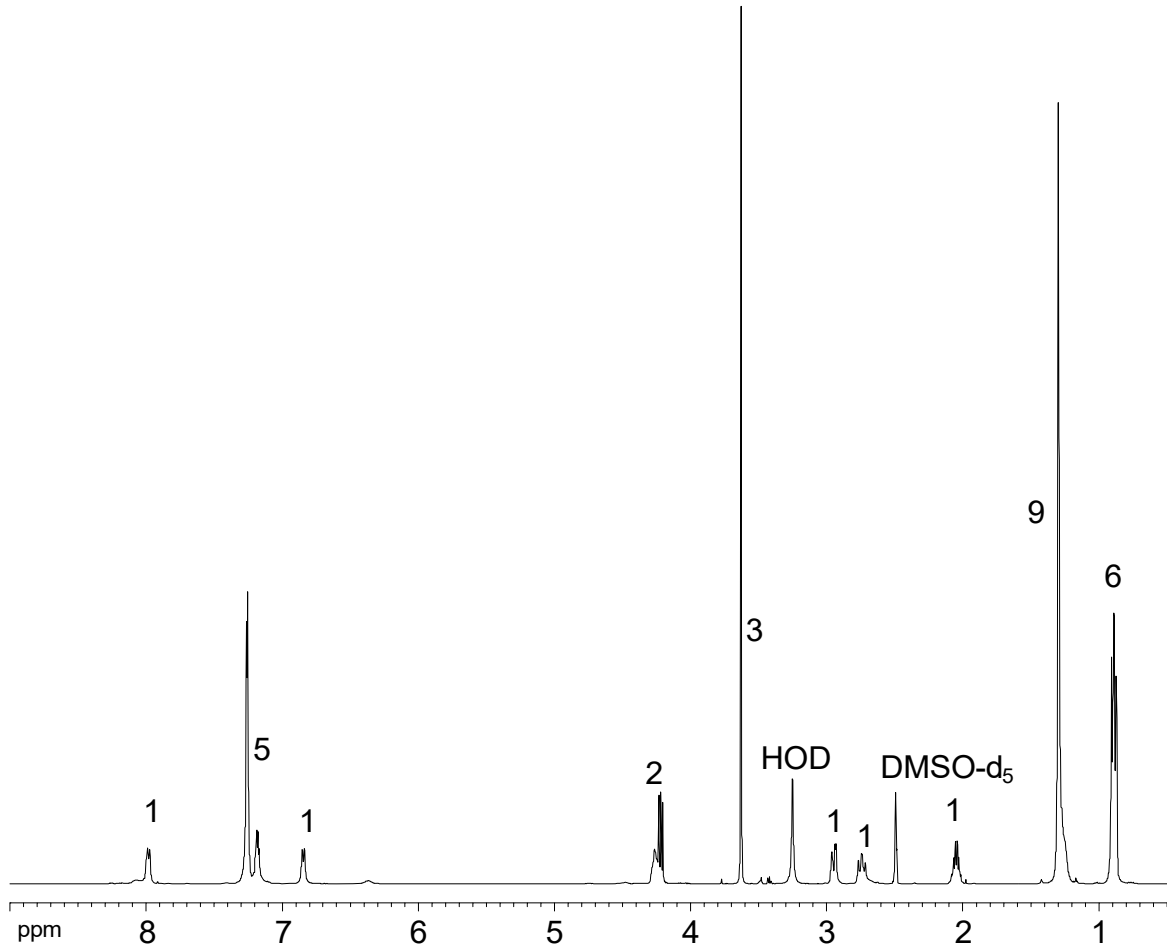
Die vollständige Zuordnung der Kohlenstoffatome faßt die Tabelle zusammen.

C-Atom	chem. Verschiebung	C-Atom	chem. Verschiebung
C-1(A)	95.65	C-1(B)	91.20
C-2(A)	69.94	C-2(B)	70.87
C-3(A)	69.23	C-3(B)	75.14
C-4(A)	67.91	C-4(B)	72.41
C-5(A)	68.51	C-5(B)	72.93
C-6(A)	61.39	C-6(B)	62.46

Entsprechend der ermittelten Stereochemie handelt es sich bei der Substanz um β -Maltose-octaacetat.

Lösung zu Aufgabe 11

Abgesehen von dem etwas zu kleinen Signal bei ca. 3.6 ppm ergibt sich eine problemlose Integration:



An dieser Stelle sollte man zunächst die Protonensignalgruppen tabellarisch listen und so weit wie möglich charakterisieren. Die Numerierung erfolgt dabei einfach von hohem nach tiefen Feld.

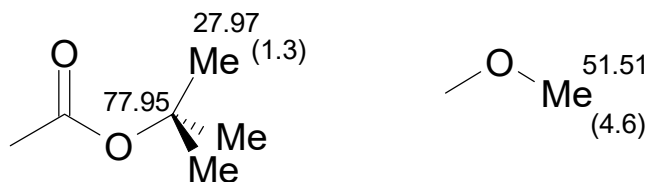
Nr.	δ [¹ H]	Anzahl H	Multiplizität	Zuordnung
1	≈ 8.0	1	?	
2	7.1 - 7.3	5	Multipllett	
3	≈ 6.8	1	?	
4	4.26	1	Multipllett (dt ?)	
5	4.22	1	dd	
6	≈ 4.6	3	s	-O-CH ₃
7	2.94	1	dd	
8	2.74	1	dd	
9	2.05	1	Oktett?	
10	≈ 1.3	9	s	-CO-O-C(CH ₃) ₃
11	0.89	6	dd?, 2 d?	

Die Zuordnungen für die beiden Schutzgruppen ergeben sich zum einen aus dem einzigen Integral mit 9 Protonen und dem einzigen Singulett mit 3 Protonen im Falle der Methoxygruppe. Die Multiplizitäten der Signale **1** und **3** lassen sich bei der gegebenen Ausschnittsvergrößerung kaum eindeutig bestimmen, bleiben damit offen. Die Multiplizität von Signal **4** kann man nur erahnen, es könnten sich noch Signalanteile unter dem sehr dicht benachbarten Signal **5** befinden. Signal **9** zeigt sehr viele Linien, alle **8** sind aber nur schwer zu erkennen. Unabhängig von der Anzahl der Linien bleibt die Frage der logischen Struktur, d.h. ob es sich um ein reines oder ein zusammengesetztes Multiplett, hervorgerufen durch die Kopplung mit unterschiedlichen Nachbarprotonen handelt. Auf alle Fälle sind viele Nachbarprotonen vorhanden.. Schließlich kann bei Multiplett **11** zum derzeitigen Zeitpunkt nicht eindeutig entschieden werden, ob es sich um ein Dublett von Dubletts oder zwei Dubletts handelt. Das große Integral legt aber die letztere Vermutung nahe. Ansonsten sind die Multiplizitäten für die Aufgabenstellung aber von untergeordneter Bedeutung.

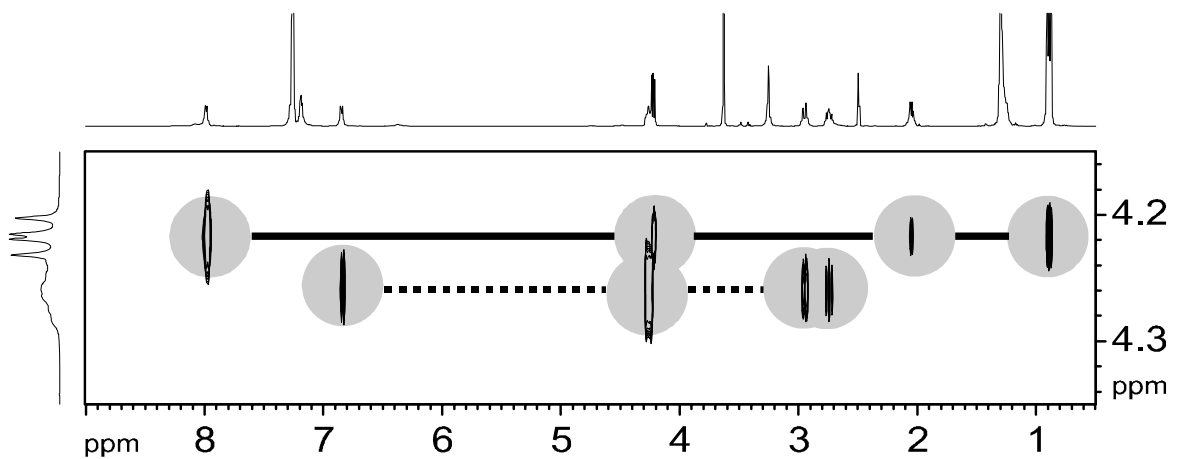
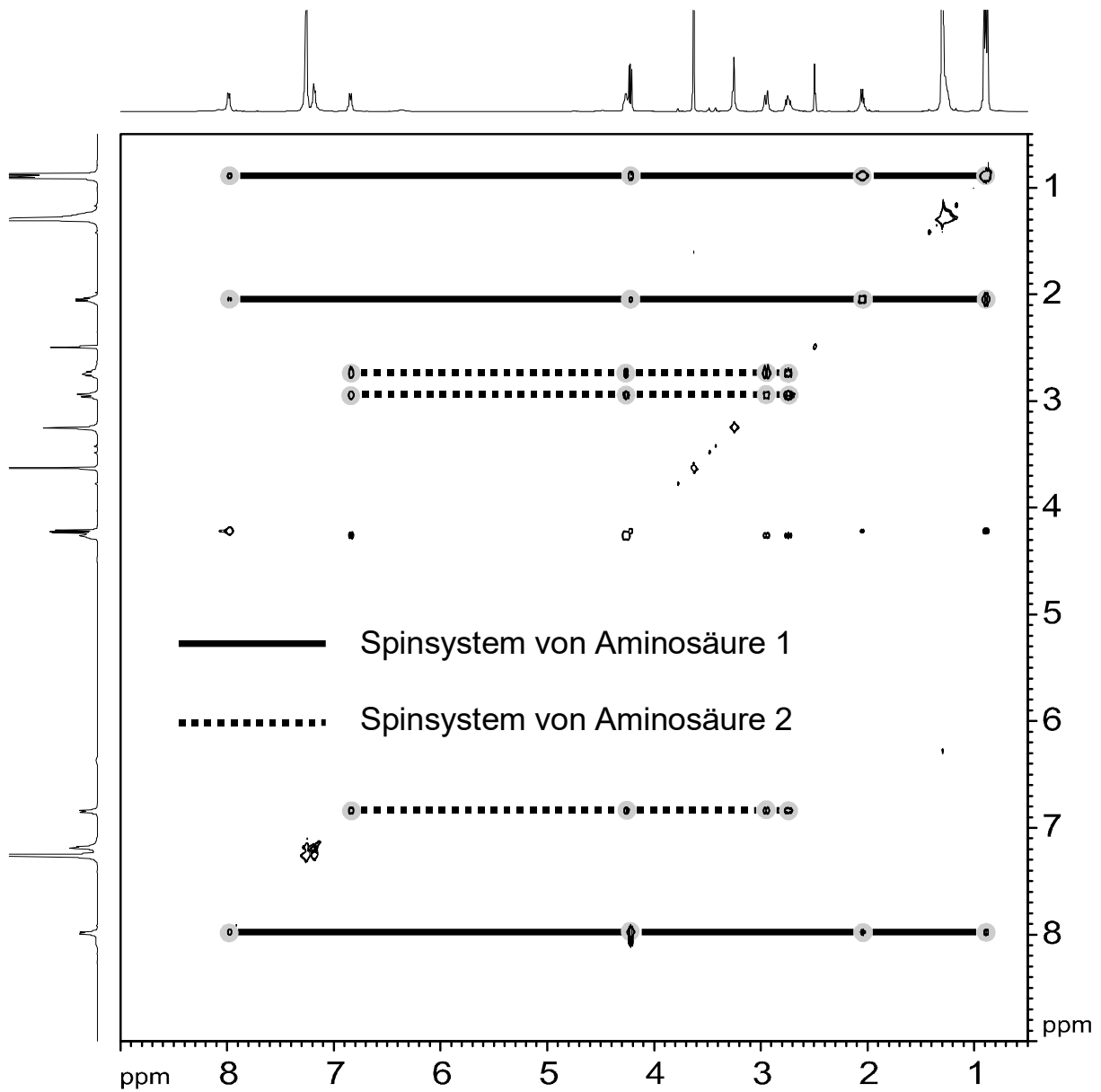
Im nächsten Schritt sollte man die Tabelle um die Kohlenstoffsignale ergänzen. Über das HMQC können zusammengehörige C,H-Paare sofort erkannt werden.

Nr.	δ [^1H]	Anzahl H	Multiplizität	δ [^{13}C]	Zuordnung
1	≈ 8.0	1	?	-	
2	7.25	zus. 5	Multiplett	127.81	
2a	7.25	zus. 5	Multiplett	129.05	
2b	7.18	zus. 5	Multiplett	126.05	
3	≈ 6.8	1	?	-	
4	4.26	1	Multiplett (dt ?)	55.31	
5	4.22	1	dd	57.13	
6	≈ 4.6	3	s	51.51	-O- <u>C</u> H ₃
7	2.94	1	dd	37.14	
8	2.74	1	dd	37.14	
9	2.05	1	Oktett?	29.99	
10	≈ 1.3	9	s	27.97	-CO-O-C(<u>C</u> H ₃) ₃
11	0.90	zus. 6	dd?, 2 d?	17.98	
11a	0.89	zus. 6	dd?, 2 d?	18.72	
12				77.95	-CO-O- <u>C</u> (CH ₃) ₃
13				137.89	
14				155.06	
15				171.66	
16				171.84	

Die Zuordnung von Signal 12 resultiert daraus, daß im Bereich der sp³-hybridisierten C-Atome nur ein quartäres C-Atom auftaucht. Das kann dann nur der Schutzgruppe zugeordnet werden. Damit sind bisher die folgenden Zuordnungen bekannt:



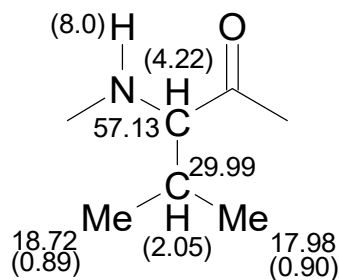
In der Tabelle ließen sich mit Hilfe der Informationen aus dem HMQC einige Protonenmultipletts (**2 - 2b**, **11**, **11a**) besser auflösen. Hinter den Signalen **7** und **8** verbirgt sich eine CH_2 -Gruppe mit diastereotopen Protonen. Alle Signale unter der laufenden Nummer **2** gehören offenbar zu einem Phenylrest, die zugehörigen Kohlenstoffsignale sind recht charakteristisch (128.5 ppm für Benzol). Die Signale **1** und **3** ohne direkt an die Protonen gebundenen Wasserstoff dürften die Aminogruppen darstellen. Unter der Annahme, daß das Peptid kein Prolin (einzige Aminosäure ohne NH-Gruppe im Peptidverband) enthält, liegen zwei Aminosäuren (Dipeptid) vor.



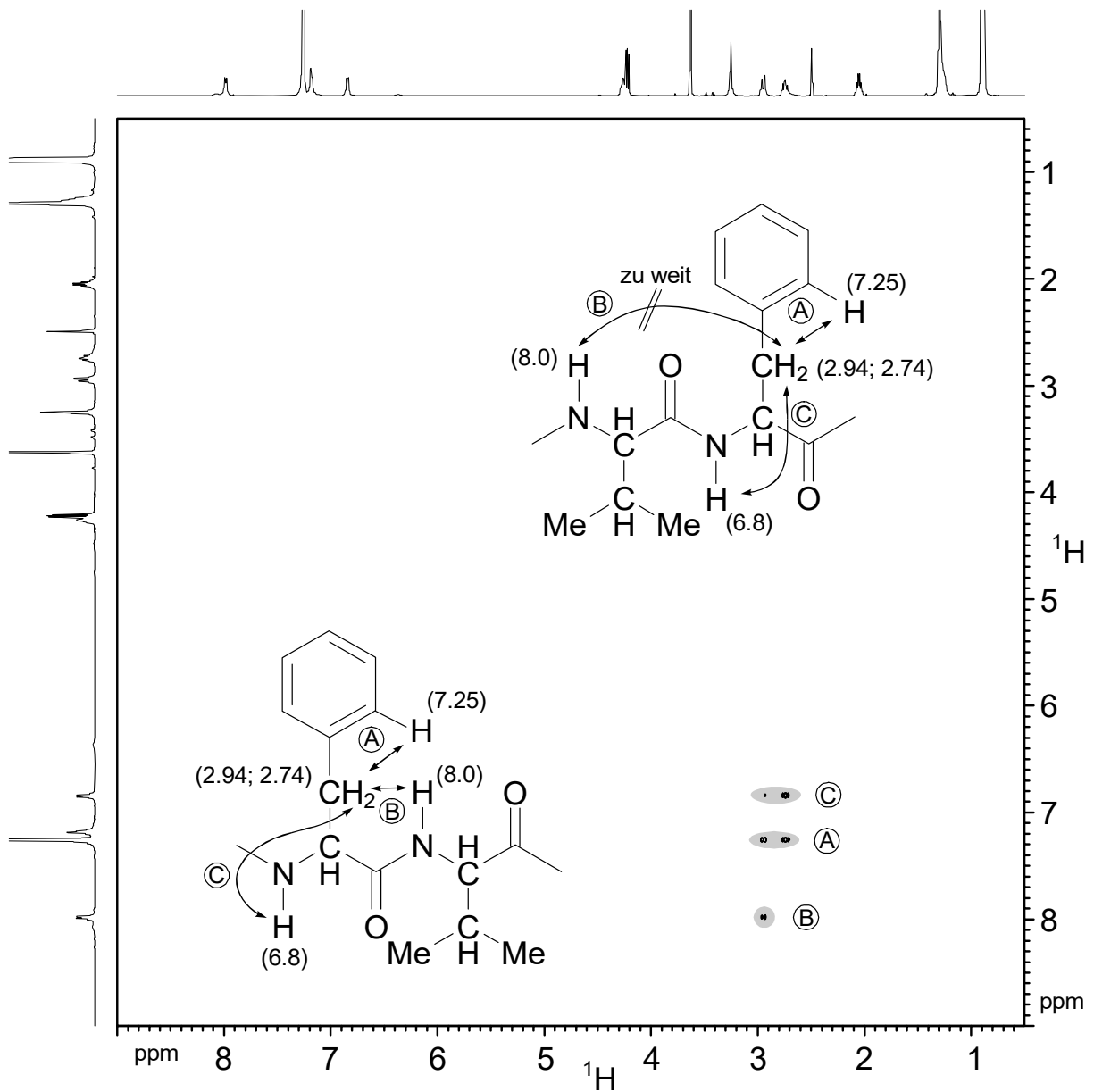
Das TOCSY zeigt zwei Spinsysteme. Beide sind im TOCSY mehrfach sichtbar und jedes der beiden Spinsysteme enthält eine der beiden als NH-Gruppen

vermuteten Signale. Dies sind damit die Spinsysteme der beiden enthaltenen Aminosäuren. Mit Ausnahme der 5 aromatischen Protonen sind damit alle beobachteten Signale erfaßt.

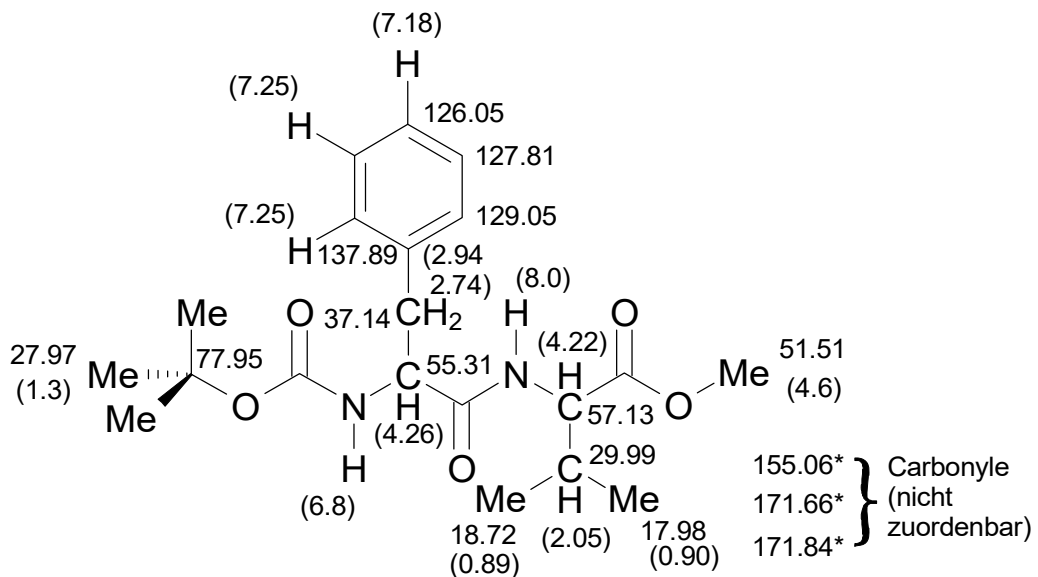
Aminosäure 1 umfaßt die Signale **1**, **5**, **9** und **11** mit insgesamt 9 Protonen. Die Grundstruktur einer Aminosäure (mit Ausnahme von Prolin) besteht immer im Gerüst -NH-CH-CO-, womit bereits zwei der Protonen vergeben wurden. Beim Signal 11 (6 Protonen, zwei zugehörige C-Atome) handelt es sich um zwei Methylgruppen, das verbliebene Proton samt dem zugehörigen Kohlenstoff läßt sich nur noch zwischen die drei bekannten Fragmente plazieren. Man erhält Valin mit einer Signalzuordnung, die man jetzt sofort der Tabelle entnehmen kann.



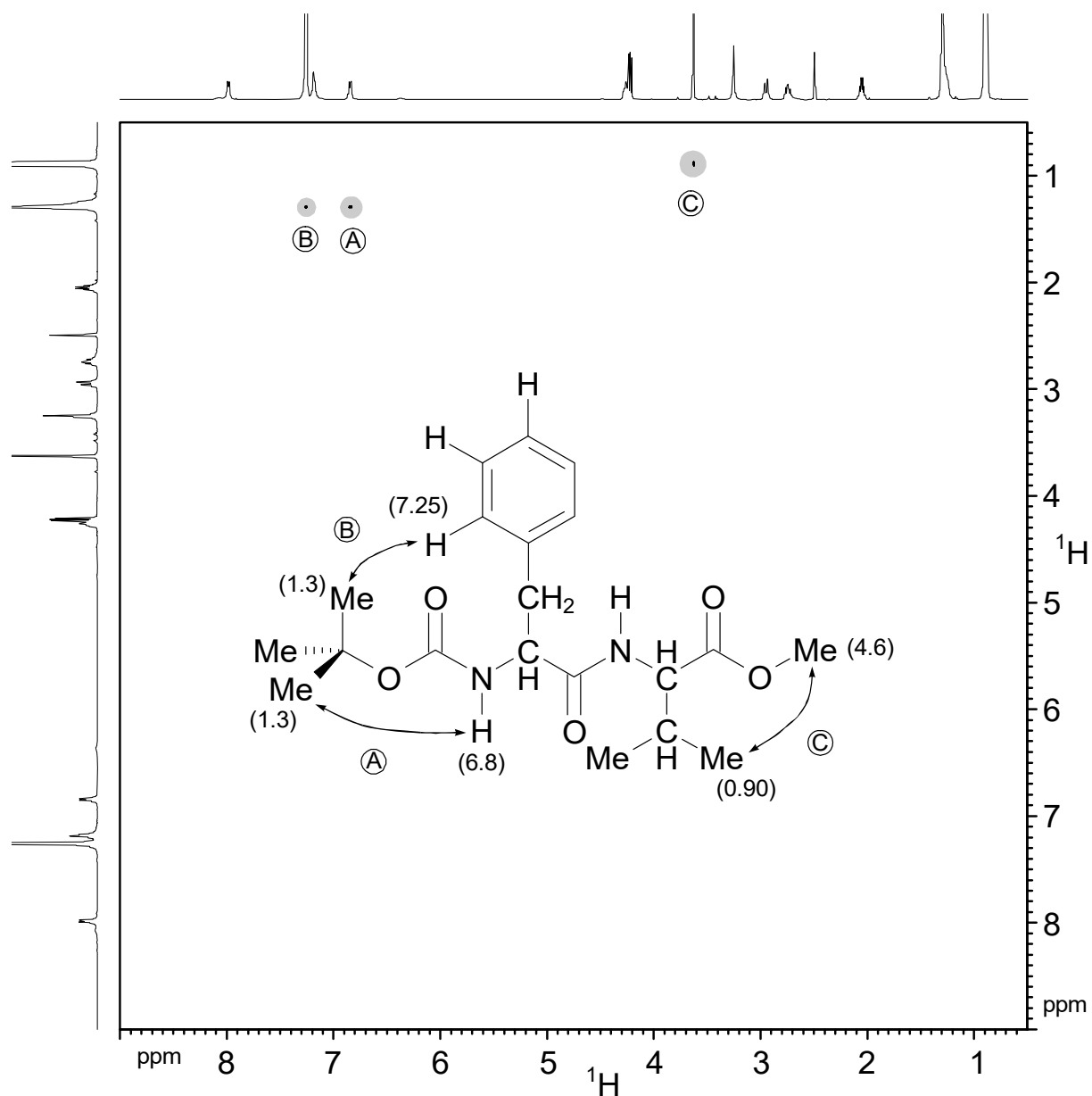
Die zweite Aminosäure beinhaltet die Signale **3**, **4**, **7** und **8** mit insgesamt 4 Protonen. Zwei protonen gehören zur Aminosäuregrundstruktur, die beiden weiteren Protonen zur bereits detektierten CH₂-Gruppe. Die freie Valenz an der CH₂-Gruppe könnte der noch nicht zugeordnete Phenylrest einnehmen. Dann läge die Aminosäure Phenylalanin vor. Den Beweis für diese Vermutung liefert das NOESY. Man beobachtet eine Nachbarschaft zwischen den Protonen der Methylengruppe und den orthoständigen Protonen des Phenylrestes (A). Nebenbei liefert das NOESY noch die richtige Verknüpfung der beiden Aminosäuren. Nur in einer der beiden Verknüpfungen sind alle drei im NOESY markierten Peaks zu erklären.



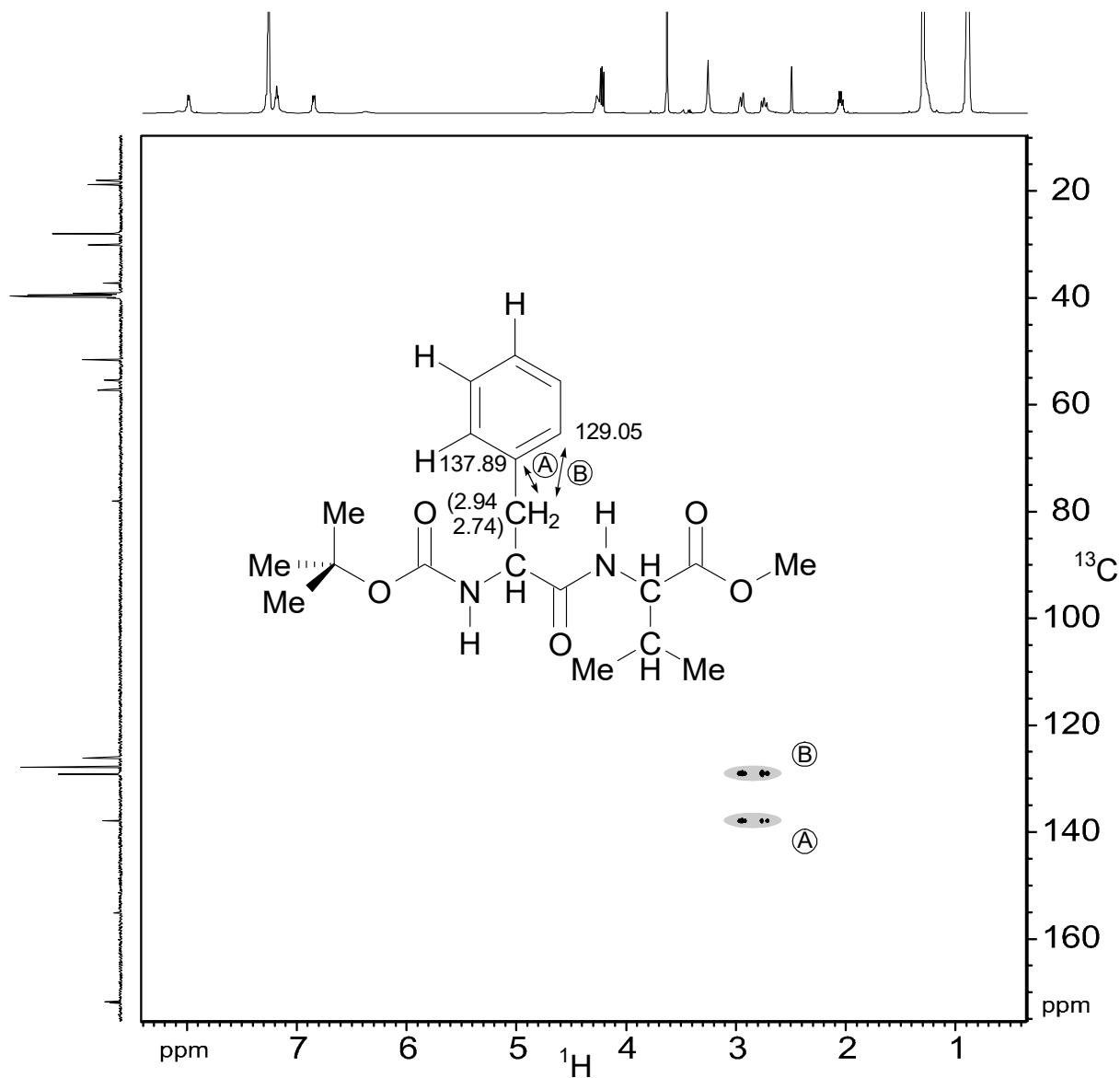
Damit ist dann bereits auch die Grundstruktur des Moleküls mit



bekannt. Die Anordnung der Schutzgruppen ergibt sich bereits aus chemischen Gesichtspunkten. Einen Beweis findet man aber auch im NOESY.



Die Carbonyle lassen sich zwar im Prinzip über das HMBC zuordnen. Hier fallen jedoch zwei Carbonylsignale zu dicht aufeinander, um separiert werden zu können und das dritte bei 155.06 ppm ergibt überhaupt keinen HMBC-Kreuzpeak. Mit Hilfe des HMBC lassen sich lediglich die Kohlenstoffatome des Phenylrestes korrekt zuordnen.



Lösung zu Aufgabe 12

Man sollte sich als erstes überlegen, welche Multipllettstruktur die einzelnen Protonen zeigen. Es wären dies:

NH(Gly)	- dd (bzw. evtl. Pseudotriplett)
H _α (Gly)	- dd (gilt für beide diastereotopen H _α des Glycins)
NH(Ala)	- d
H _α (Ala)	- dq (Dublett von Quartetts, evtl. Pseudoquintett)
H _β (Ala)	- d

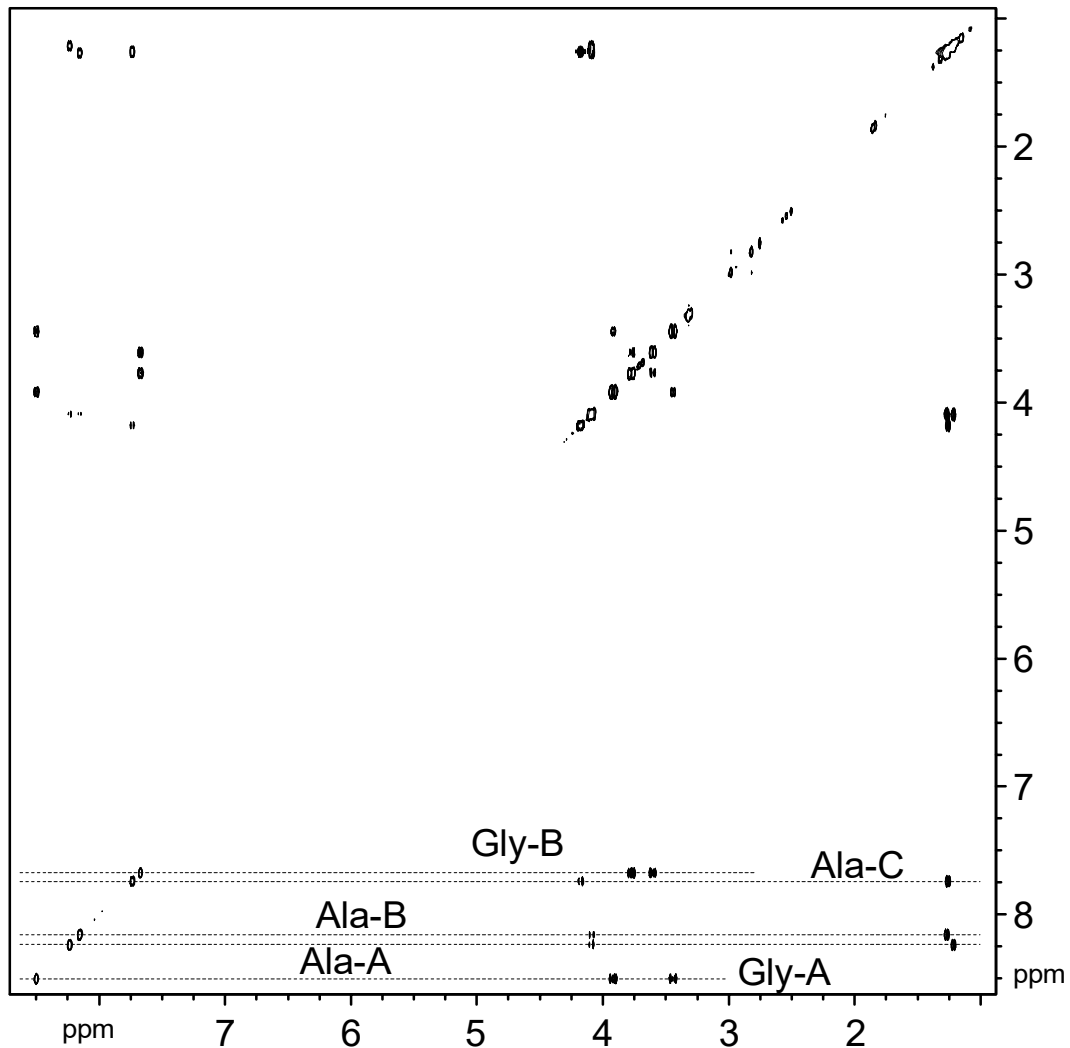
Die NH-Protonen erscheinen im Bereich von 7.4 bis 8.6 ppm, die H_α-Protonen von 3.3 bis 4.3 ppm, die H_β des Alanins bei etwa 1.2 ppm. Singulettts sind nicht zu erwarten, das Singulett bei 3.3 ppm kann nur von HOD bzw. H₂O herrühren, weitere schwache Signale zwischen 1.8 und 3.0 ppm rühren von Verunreinigungen her. Indiz dafür ist das zu kleine Integral.

Alle NH-Protonen sind gut separiert, ebenso die vier diastereotopen H_α-Protonen des Glycins. Die H_α des Alanins lassen sich nicht vollständig separieren, die drei H_β-Dubletts sind gut auswertbar, wenn man die im höchstfeldigen Dublett gemessene Kopplungskonstante als Hilfsmittel zur Separation der übrigen vier Linien nutzt. Es gilt ein globales Integralverhältnis NH:H_α:H_β = 5:7:9, welches befriedigend erfüllt wird.

Die bisherigen Ergebnisse sollte man tabellarisch festhalten. Bei der gegebenen Auflösung lassen sich die Kopplungskonstanten sinnvoll nur mit einer Genauigkeit von 1 Hz angeben.

Proton	chem. Verschiebung [ppm]	Multiplizität	Kopplungskonstanten *
NH(Gly)	8.49	dd	³ J _{NH,Hα'} = 6 Hz ³ J _{NH,Hα''} = 6 Hz
NH(Ala)	8.22	d	³ J _{NH,Hα} = 7 Hz
NH(Ala)	8.14	d	³ J _{NH,Hα} = 7 Hz
NH(Ala)	7.72	d	³ J _{NH,Hα} = 8 Hz
NH(Gly)	7.66	dd	³ J _{NH,Hα'} = 4 Hz ³ J _{NH,Hα''} = 7 Hz
H _α (Ala)	≈4.2	dq	
H _α (Ala)	≈4.1	dq	
H _α (Ala)	≈4.1	dq	
H _α (Gly)	3.90	dd	
H _α (Gly)	3.76	dd	
H _α (Gly)	3.59	dd	
H _α (Gly)	3.43	dd	
H _β (Ala)	1.25	d	³ J _{Hα,Hβ} = 7 Hz
H _β (Ala)	1.24	d	³ J _{Hα,Hβ} = 7 Hz
H _β (Ala)	1.20	d	³ J _{Hα,Hβ} = 7 Hz

* Die δ -Markierungen der H_{α} von Glycin sind nur als Unterscheidung der diastereotopen Protonen zu verstehen und nicht als Zuordnung. Wegen der guten Dispersion der NH-Signale können die 5 eindimensionalen Protonenspektren der fünf Aminosäuren im TOCSY einfach beobachtet werden.



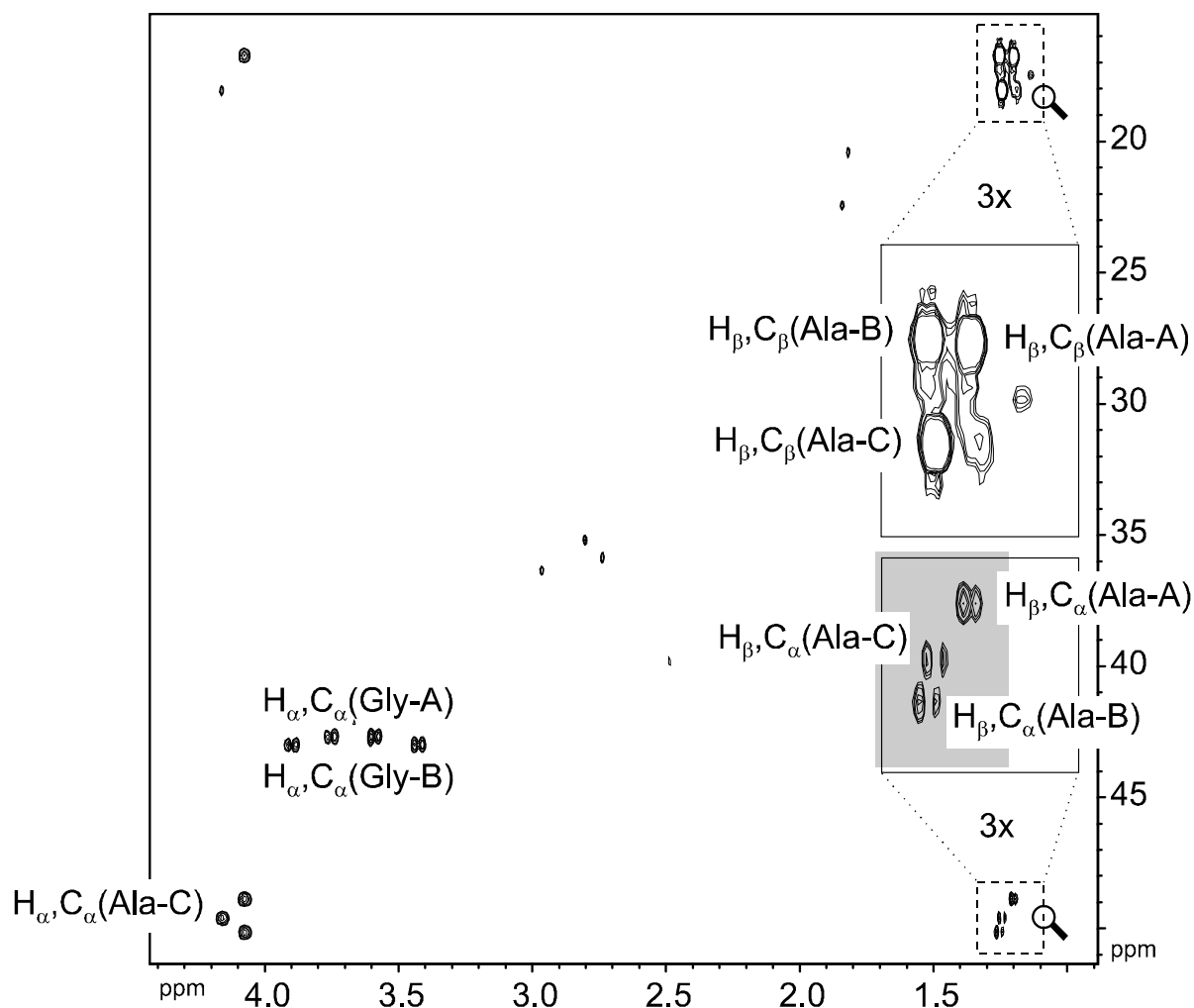
Die vorläufige Bezeichnung der Aminosäuren im Spektrum und den folgenden Erklärungen stellt noch keinen Zusammenhang mit der Sequenzierung dar, sondern erfolgte rein willkürlich.

Zwei H_{α} -Protonen von Alaninresten bleiben auch bei starker Vergrößerung zufällig isochron. Die drei Methylgruppen lassen sich bei entsprechender Vergrößerung (vgl. Blatt 4 der Aufgabenstellung) eindeutig dem jeweils zugehörigen NH der gleichen Aminosäure zuordnen. Die Tabelle faßt die bisherige Zuordnung zusammen.

Aminosäure	$\delta(\text{NH})$ [ppm]	$\delta(\text{H}_\alpha)$ [ppm]	$\delta(\text{H}_\beta)$ [ppm]
Gly-A	8.49	3.90	
Gly-B	7.66	3.43	
Ala-A	8.22	≈ 4.1	1.20
Ala-B	8.14	≈ 4.1	1.25
Ala-C	7.72	≈ 4.2	1.24

Wegen der zufälligen Isochronie von zwei H_α -Protonen genügt für die Zuordnung der protonierten Kohlenstoffe kein einfaches HMQC oder HSQC. Verwendet wurde ein HSQC-TOCSY. Durch den zusätzlichen TOCSY-Schritt werden zusätzlich zu den Kreuzpeaks für direkt gebundene H^1, C^1 -Paare auch Kreuzpeaks für H^2, C^1 -Paare gefunden. Voraussetzung ist, daß in einem TOCSY-Spektrum der gleichen Verbindung eine Korrelation H^1, H^2 beobachtbar wäre. Angewandt auf Alanin bedeutet dies, daß neben dem $\text{H}_\alpha, \text{C}_\alpha$ -Kreuzpeak auch ein $\text{H}_\beta, \text{C}_\alpha$ -Kreuzpeak (mit meist geringerer Intensität) erscheint.

Im gemessenen HSQC-TOCSY wurden die für die Zuordnung der C_α entscheidenden Kreuzpeaks schraffiert unterlegt.

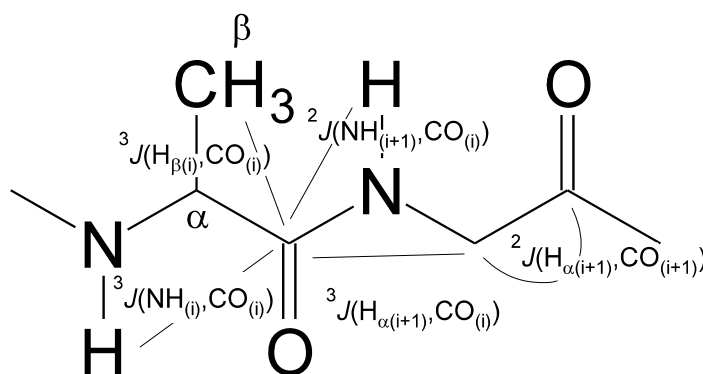


Die Zuordnungstabelle erweitert sich jetzt zu

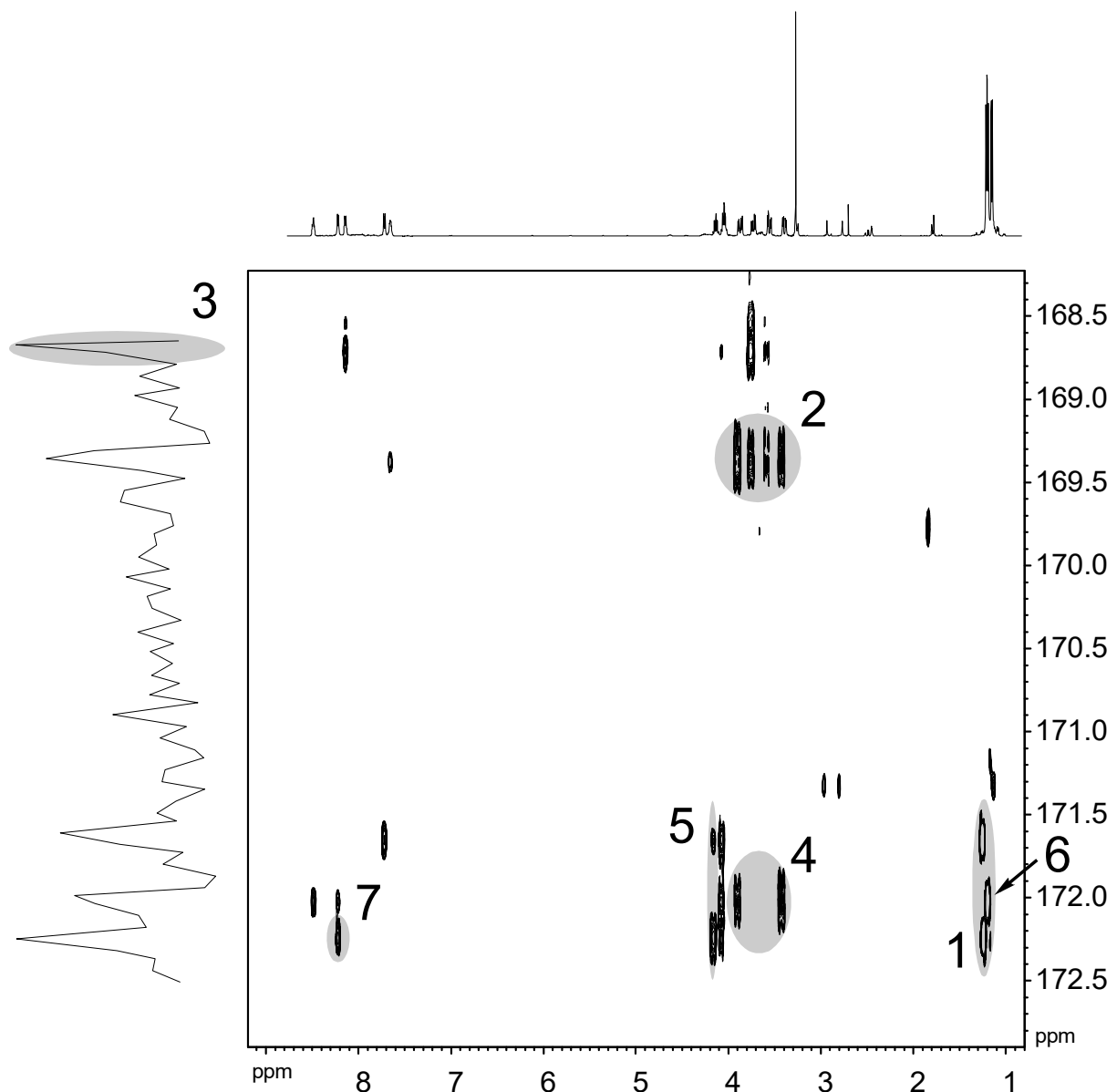
Aminosäure	$\delta(\text{NH})$ [ppm]	$\delta(\text{H}_\alpha)$ [ppm]	$\delta(\text{H}_\beta)$ [ppm]	$\delta(\text{C}_\alpha)$ [ppm]	$\delta(\text{C}_\beta)$ [ppm]
Gly-A	8.49	3.90		43.0	
Gly-B	7.66	3.43 3.76 3.59		42.6	
Ala-A	8.22	≈ 4.1	1.20	48.8	16.7
Ala-B	8.14	≈ 4.1	1.25	50.1	18.0
Ala-C	7.72	≈ 4.2	1.24	49.6	16.7

Mit Hilfe der abgebildeten Spektren ist die Sequenzierung der fünf Aminosäuren auf zwei unabhängigen Wegen möglich. Die Basis bilden entweder das ROESY- oder das HMBC-Spektrum. Im ROESY-Spektrum lässt sich die räumliche Nachbarschaft von H_α der Aminosäure i und NH der Aminosäure $i+1$ erkennen. Das HMBC zeigt Korrelationen zwischen ^{13}C und ^1H , die mehr als eine Bindung voneinander entfernt sind, sofern sich zwischen den beiden Kernen prinzipiell eine Kopplungskonstante messen ließe. Üblicherweise treten neben den unerwünschten Korrelationen über eine Bindung (die sich besser in einem HMQC beobachten lassen) Kreuzpeaks zwischen Kernen auf, die zwei oder drei Bindungen voneinander entfernt sind. Korrelationen über vier und mehr Bindungen lassen sich äußerst selten beobachten.

Im vorliegenden HMBC-Experiment wurde in der ^{13}C -Dimension (F_1) nur der Bereich der Carbonylkohlenstoffe erfasst. In einem Peptid, bestehend aus Alanin und Glycin lassen sich im Carbonylbereich mehrere verschiedene Korrelationen beobachten:

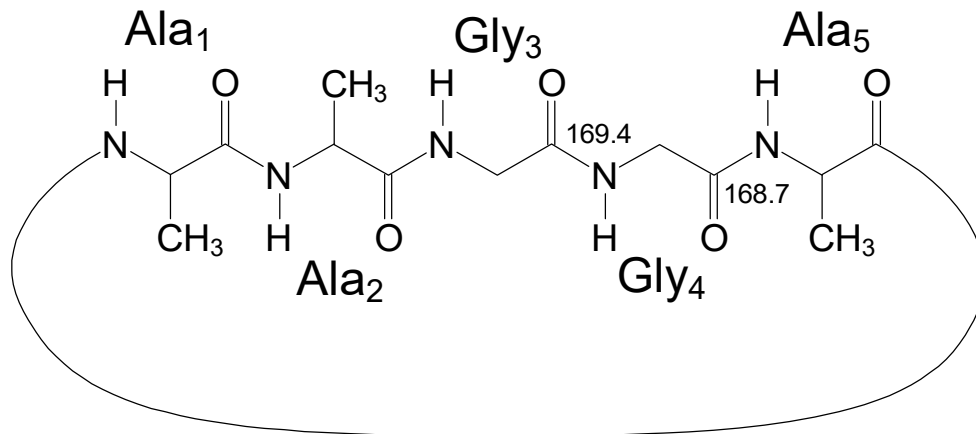


Die für die Zuordnung wesentlichen Korrelationen wurden im HMBC-Spektrum durchgehend numeriert. Es besteht eine Übereinstimmung mit der Numerierung der folgenden Absätze.

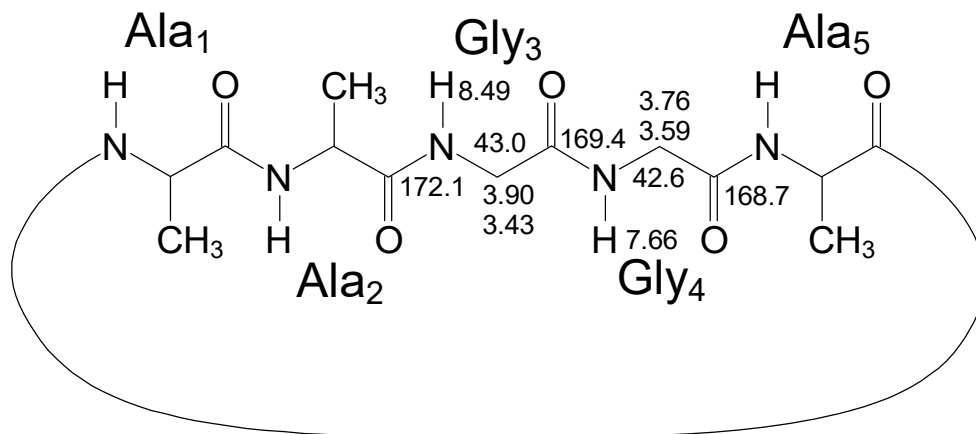


1. Die drei tieffeldigsten Carbonylsignale bei 172.3, 172.1 und 171.7 ppm gehören zu den drei Alaninfragmenten. Nur im Alanin kann eine Korrelation zwischen $\text{CO}_{(i)}$ und $\text{H}_{\beta(i)}$ beobachtet werden. $\text{H}_{\beta(i)}$ und $\text{CO}_{(i+1)}$ bzw. $\text{CO}_{(i-1)}$, d.h. eine Carbonylgruppe der benachbarten Aminosäure, sind mindestens 4 Bindungen voneinander entfernt.
2. Das Glycin-Carbonylsignal bei 169.4 ppm lässt sich nur unter der Annahme der Verknüpfung von zwei Glycinfragmenten erklären. Von den beiden möglichen Strukturen (cyclo-Ala-Ala-Ala-Gly-Gly und cyclo-Ala-Ala-Gly-Ala-Gly) bleibt damit nur die erste Möglichkeit übrig. Nur CO von Gly-3 (siehe unten) kann long-range-Korrelationen zu allen vier diastereotopen H_{α} von Glycin zeigen.
3. Das höchstfeldige Carbonylsignal bei 168.7 ppm kann jetzt nur noch CO von Gly-4 zugeordnet werden.

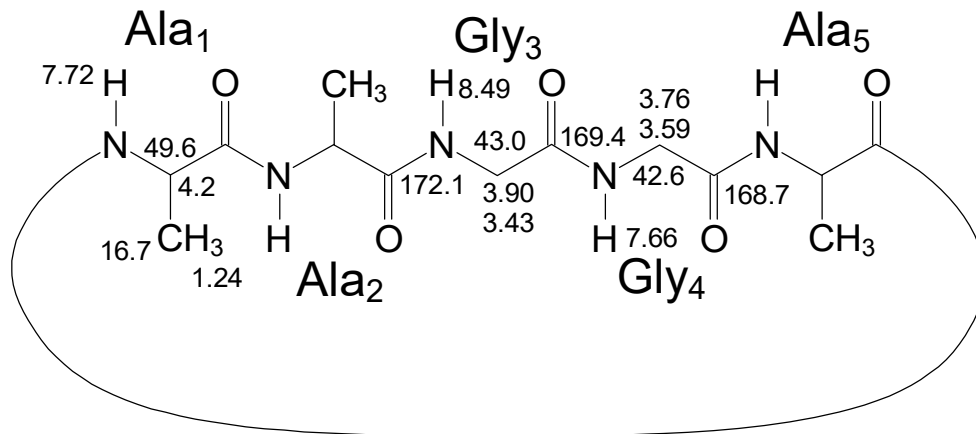
An dieser Stelle sollte man die bisherige Zuordnung zusammenfassen. Der Startpunkt für die Numerierung der Aminosäuren im Zyklus erfolgte hierbei rein willkürlich.



4. Das Alanin-Carbonylsignal bei 172.1 ppm zeigt ebenfalls weitreichende Korrelationen zu H_α von Glycin. Es kann sich nur um CO von Ala-2 handeln. Gleichzeitig wurden damit natürlich die H_α von Gly-3 zugeordnet. Es besteht Identität von Gly-3 mit dem vorläufig zugeordneten Gly-A in der letzten Tabelle. Die restliche Zuordnung für Gly-3 kann damit dieser Tabelle entnommen werden. Gly-4 entspricht damit natürlich Gly-B der Tabelle und wurde hiermit vollständig zugeordnet.



5. Das Alanin- H_α bei 4.2 ppm ist nicht isochron. Es zeigt zwei long-range-Korrelationen zu den CO-Signalen bei 171.7 und 172.3 ppm. Das sind Alanin-CO (siehe 1.), jedoch nicht CO(Ala-2) bei 172.1 ppm (siehe 4.). Bei dem Protonensignal kann es sich nur um H_α (Ala-1) handeln. Ala-1 ist somit mit Ala-C der Tabelle identisch. Die Zuordnung steht mit Ausnahme des eigenen Carbonylsignals.



6. Das zugeordnete CO(Ala-2) zeigt eine weitreichende Korrelation zu H_{β} (Ala-2) bei 1.20 ppm. Ala-2 entspricht damit Ala-A der Tabelle; das verbleibende Ala-B kann dann nur noch Ala-5 sein.
7. Bis zu diesem Punkt wurden nur CO(Ala-1) und CO(Ala-2) nicht zugeordnet. Diese Signale sind bei 172.3 bzw. 171.7 ppm zu erwarten. Das Carbonylsignal bei 172.3 ppm zeigt eine Korrelation zum zugeordneten NH(Ala-2) bei 8.22 ppm und kann damit nur CO(Ala-1) sein.

Die gesamte Zuordnung lässt sich in bewährter Weise tabellarisch zusammenfassen.

Aminosäure	δ (NH) [ppm]	δ (H_{α}) [ppm]	δ (H_{β}) [ppm]	δ (C_{α}) [ppm]	δ (C_{β}) [ppm]	δ (CO) [ppm]
Ala-1	7.72	≈4.2	1.24	49.6	16.7	172.3
Ala-2	8.22	≈4.1	1.20	48.8	16.7	172.1
Gly-3	8.49	3.90		43.0		169.4
		3.43				
Gly-4	7.66	3.76		42.6		168.7
		3.59				
Ala-5	8.14	≈4.1	1.25	50.1	18.0	171.7

Das ROESY-Spektrum ermöglicht eine Überprüfung der Zuordnung (selbst ausprobieren).