

Федеральное агентство по образованию

Московская государственная академия
тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова

кафедра Химической
Технологии Биологически
Активных Соединений
им. Н.А. Преображенского

Ф.В. Тоукач, П.А. Беляков

**ПРИМЕНЕНИЕ ДВУМЕРНОЙ
СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР
В ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ.**

учебное пособие по дисциплине
«Спектроскопия ЯМР в органической химии»

Москва, 2006

УДК 543.42

Тоукач Ф.В., Беляков П.А., Применение двумерной спектроскопии ЯМР в органической химии. – М.: МИТХТ, 2006, 36 (А4).

Рецензент: д.х.н. проф. Ю.А. Книрель

Издание предназначено для студентов 5-го курса, обучающихся по направлению 550800 «Химическая технология и биотехнология», в качестве учебного пособия по дисциплине «Спектроскопия ЯМР в органической химии» (магистерская программа 550828 «Химия и технология биологически активных веществ»).

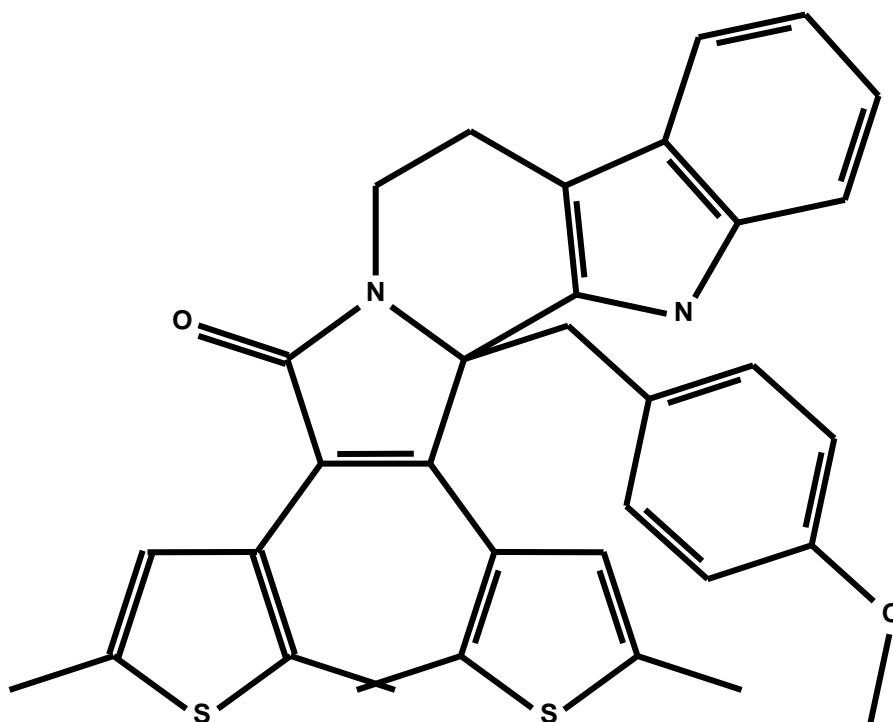
Утверждено Библиотечно-издательской комиссией МИТХТ в качестве учебного пособия.

Содержание

1. Пример структурного исследования с помощью двумерной спектроскопии ЯМР	4
2. 500 МГц спектры ЯМР трисахарида UN30	20
^1H ЯМР	21
^{13}C ЯМР	22
$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY	23
$^1\text{H}, ^1\text{H}$ TOCSY	25
$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ HSQC	27
$^1\text{H}, ^1\text{H}$ NOESY	29
$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ J-HMBC	31
3. 250 МГц и 500 МГц спектры ЯМР (N',N'-диметил)-N-амино-бактериопурпуринимида	32
^1H ЯМР	33
$^1\text{H}, ^1\text{H}$ ROESY	34
$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ HSQC	35

**ПРИМЕР СТРУКТУРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ:
СОЕДИНЕНИЕ D374.**

Проведено ЯМР-исследование органического соединения D374, предположительно имеющего следующую структурную формулу:



Исследование.

На рис. 1 приведен спектр ЯМР ^1H соединения D374 в дейтеродиметилсульфоксиде. В спектре наблюдаются широкие сигналы вещества, перекрывающиеся с сигналами растворителя и между собой. По этой причине было принято решение измерить условия регистрации спектров. В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ (рис. 2).

/DPAS D374.001, H1 in DMSO-d6

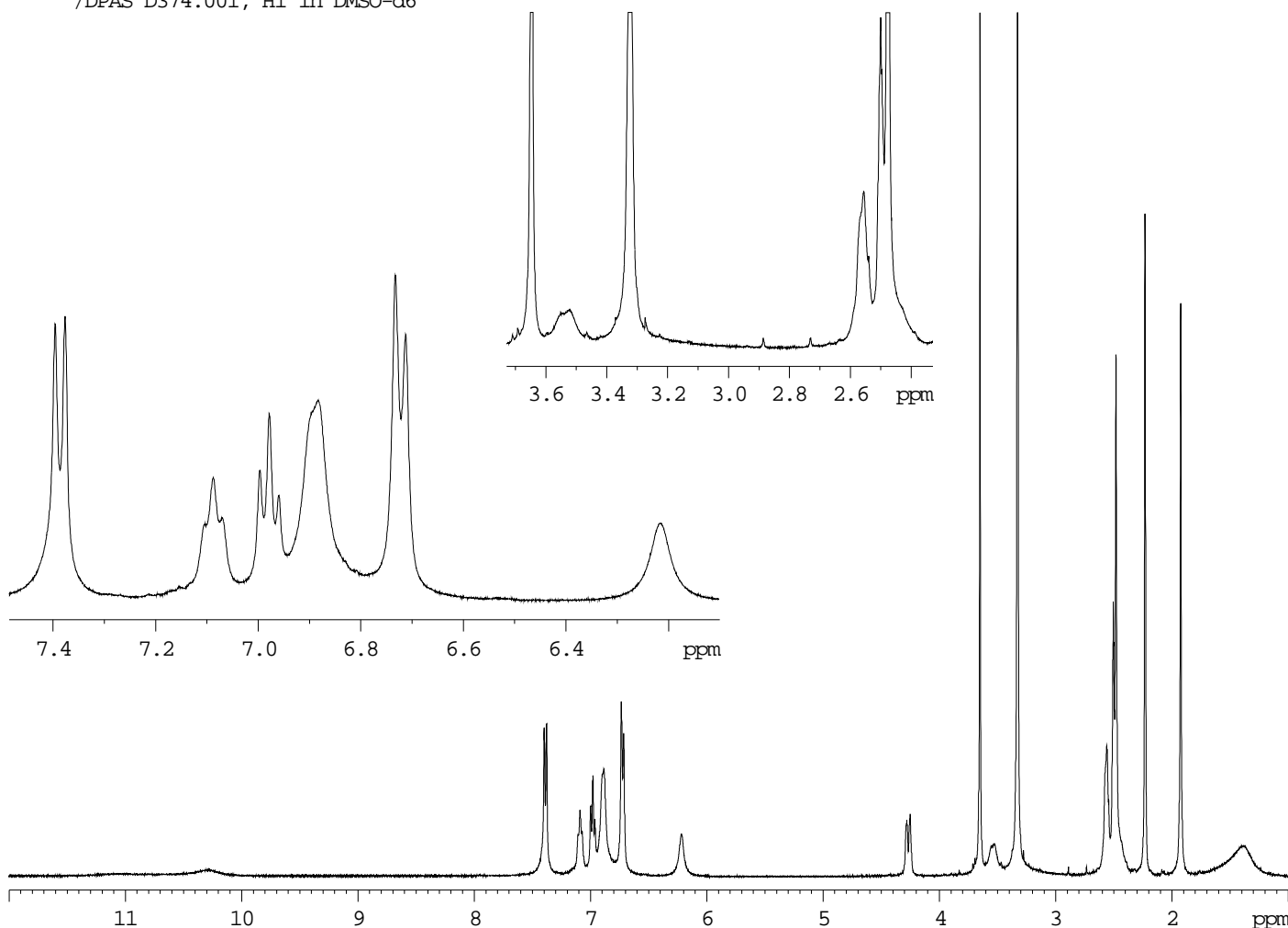


Рис. 1. Спектр ЯМР ^1H соединения D374 в дейтеродиметилсульфоксиде.

На рис. 2 приведен спектр ЯМР ^1H соединения D374 в дейтерохлороформе. В этом растворителе сигналы вещества заметно менее широкие, чем в ДМСО. При этом одни сигналы уширены, а другие – нет. Уширенный сигнал $\sigma = 7.31$ соответствует подвижному NH-протону. Число протонов в спектре по фрагментам молекулы (ароматика/алифатика) соответствует предложенной структурной формуле.

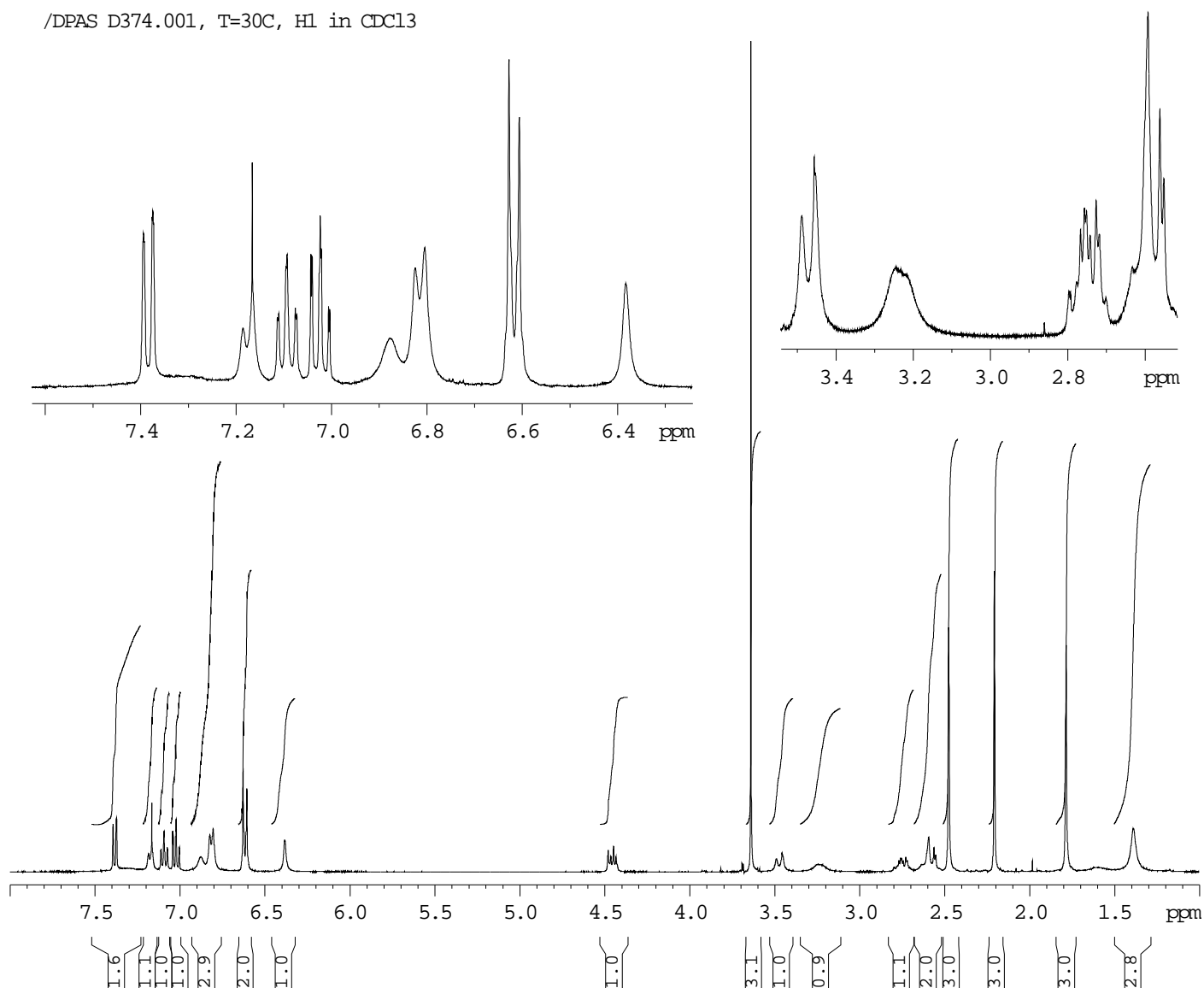


Рис. 2. Спектр ЯМР ^1H соединения D374 в дейтерохлороформе.

Дальнейшие исследования проводились в дейтерохлороформе. На рис. 3 приведен фрагмент №1 спектра COSY (алкильная область), отражающего спин-спиновые взаимодействия протонов.

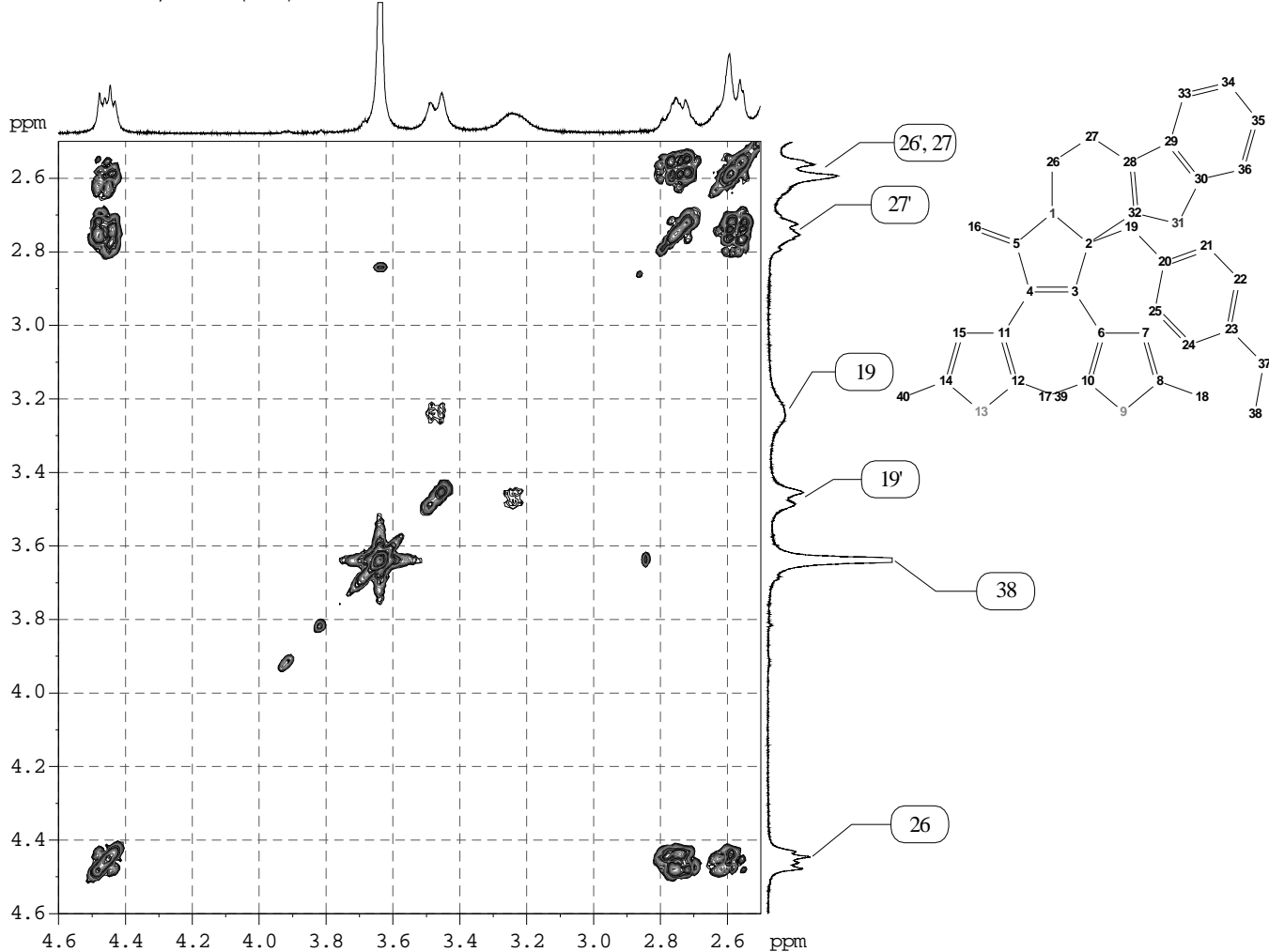
/DPAS D374.001, COSY (Alk) in CDCl₃

Рис. 3. Фрагмент №1 спектра COSY соединения D374 в дейтерохлороформе.

Синглет с $\sigma = 3.71$ соответствует метоксильным протонам 38. Два протона CH₂-группы 19 взаимодействуют только друг с другом. Четыре протона двух CH₂-групп 26 и 27 взаимодействуют между собой. Один из протонов 26 сдвинут в слабое поле за счет эффективного влияния электроноакцепторных свойств соседнего атома азота.

На рис. 4 приведен фрагмент №2 спектра COSY (арильная область).

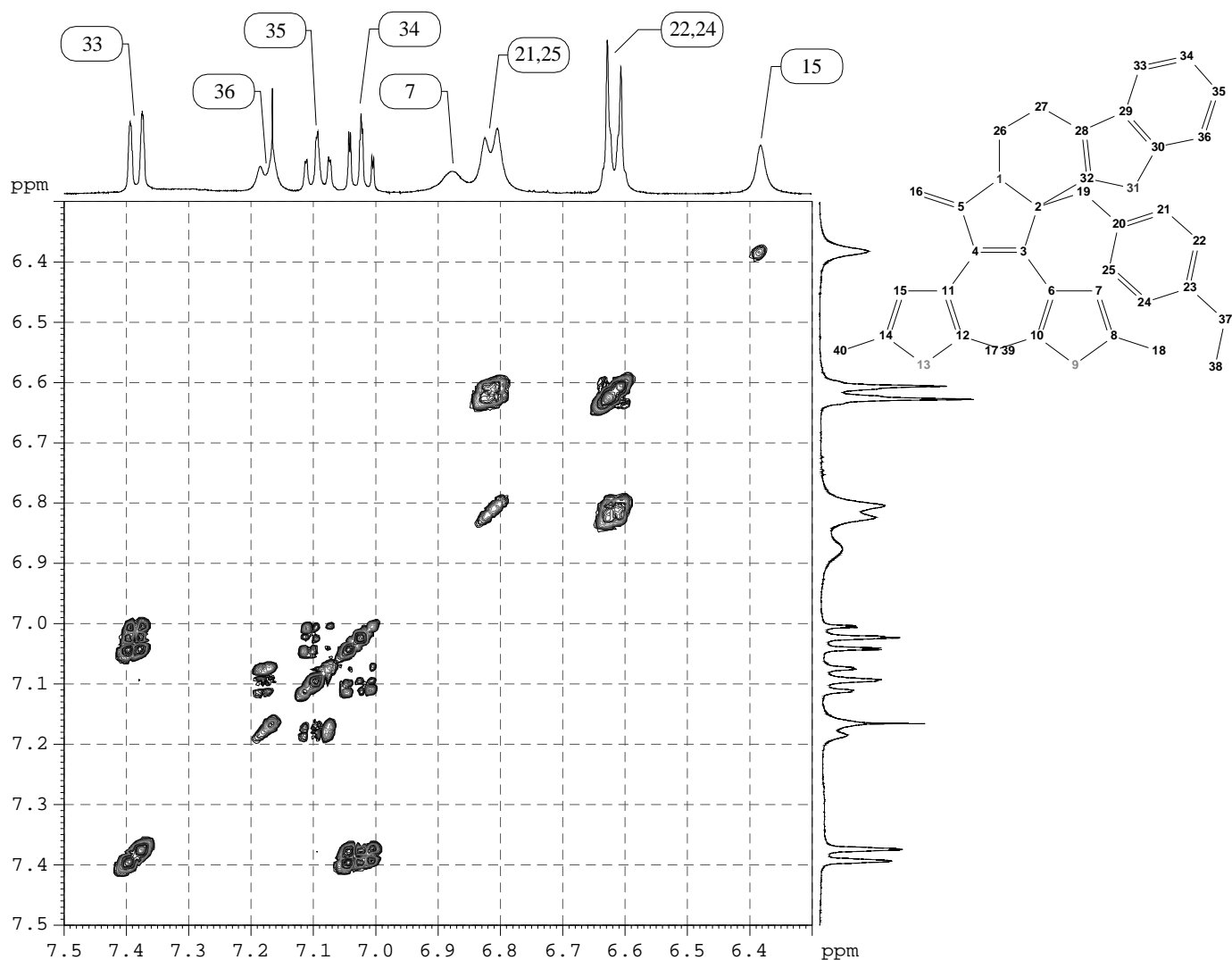


Рис. 4. Фрагмент №2 спектра COSY соединения D374 в дейтерохлороформе.

В спектре отчетливо видны две спиновые системы, соответствующие двум бензольным кольцам. Два дублета в области химических сдвигов 6.58-6.85 соответствуют *пара*-замещенному циклу. Два отдельных уширенных синглета, не взаимодействующих с другими сигналами, соответствуют СН-протонам двух тиафеновых циклов. Четыре сигнала области химических сдвигов 6.99-7.43 соответствуют *орто*-замещенному циклу. Отметим, что как в алифатической, так и в ароматической

области протонного спектра наблюдаются как широкие, так и узкие сигналы. По всей видимости, в спектрах соединения D374 наблюдаются динамические процессы.

На рисунке 4 приведено полное соотнесение ароматических сигналов, объяснение которому будет дано позже.

На рис. 5 приведен фрагмент №1 спектра NOESY, отражающего пространственные взаимодействия протонов.

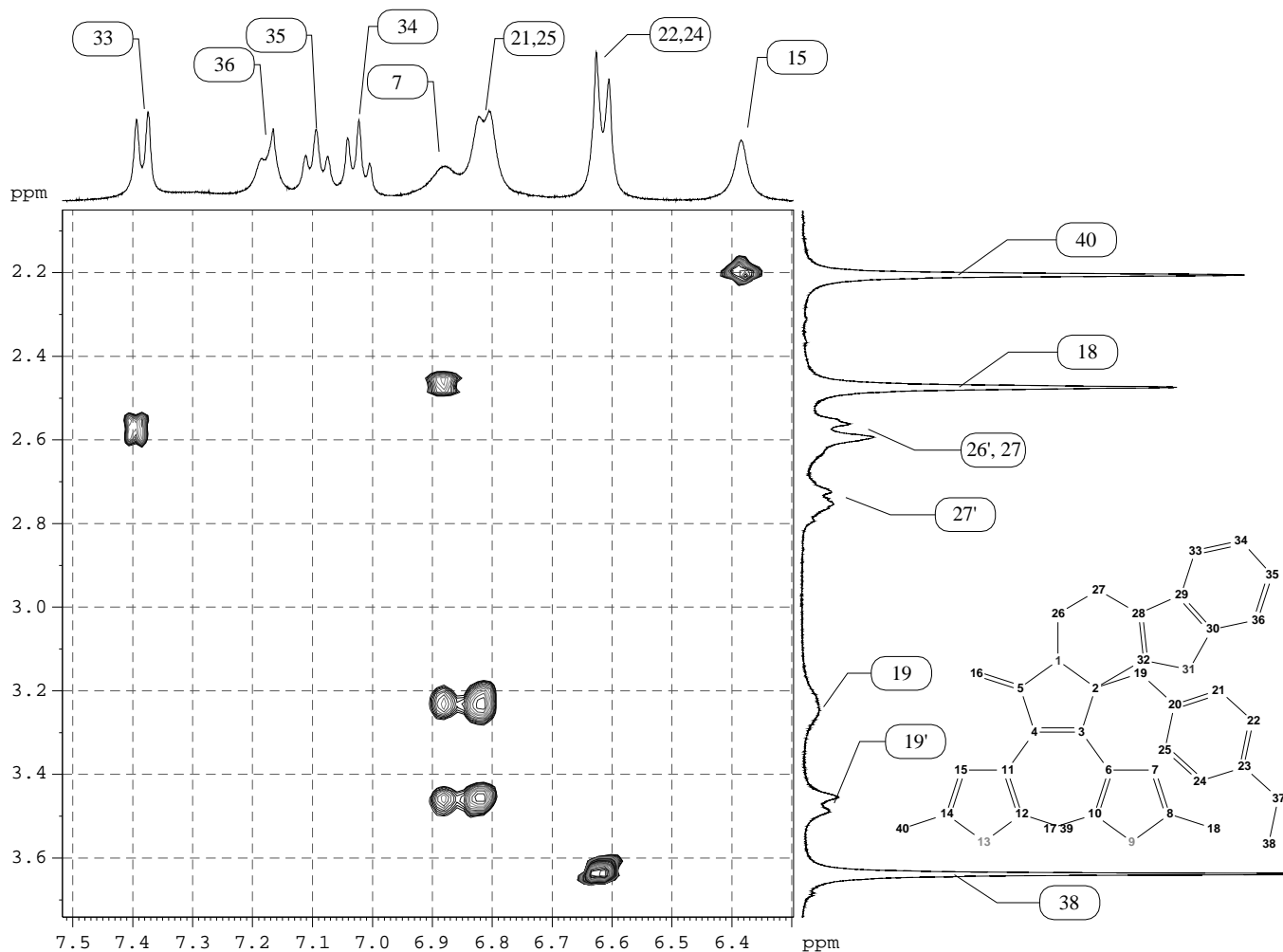


Рис. 5. Фрагмент №1 спектра NOESY соединения D374 в дейтерохлороформе.

Метоксильная группа 38 взаимодействует с *орто*-протонами 22,24. Протоны CH_2 -группы 19 – с двумя другими *орто*-протонами 21,25 и с CH -протоном 7 ближайшего тиафенового цикла, с которым также взаимодействует метильная группа 18. CH -протон 15 другого тиафенового цикла взаимодействует с метильной группой 40. Один из протонов CH_2 -группы 27 взаимодействует с ближайшим протоном 33 *орто*-замещенного цикла. На основании корреляций COSY (рис. 4) соотносим остальные протоны этого бензольного кольца.

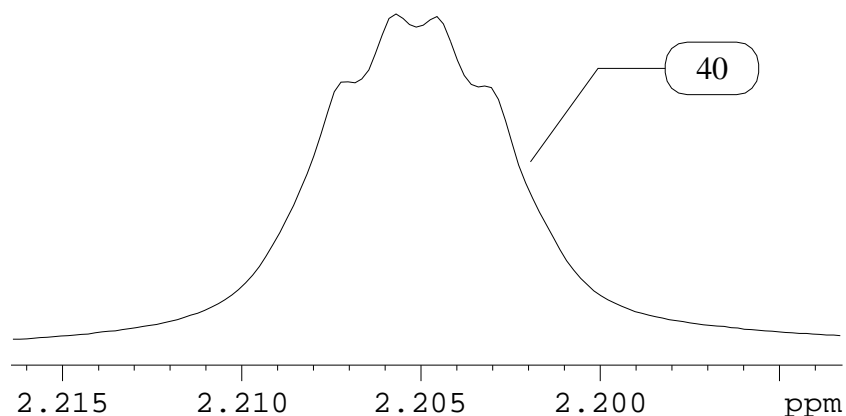


Рис. 6. Фрагмент спектра ЯМР ^1H соединения D374 в дейтерохлороформе.

На рис. 6 приведен фрагмент спектра ЯМР ^1H соединения D374 в дейтерохлороформе. Спектр достаточно хорошо разрешен. Сигнал метильной группы 40 расщеплен в квадруплет с константой около 0.5 Гц. Мультиплетность указывает на взаимодействие с тремя протонами, т.е. с другой метильной группой. По всей видимости, наблюдается дальнейшее спин-

спиновое взаимодействие с метильной группой 39 этого тиофенового цикла.

На рис. 7 приведен фрагмент №2 спектра COSY (алкильная область).

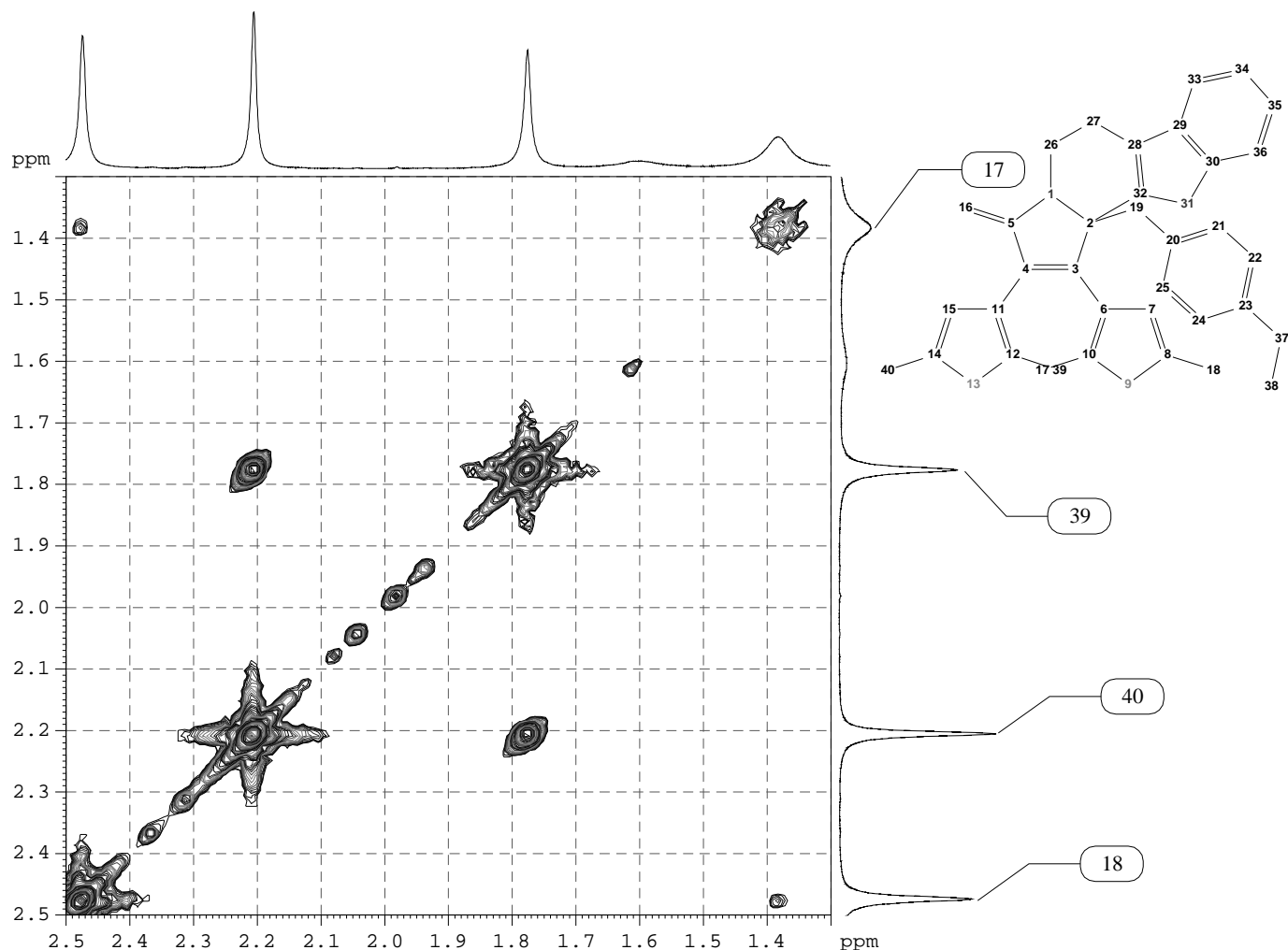


Рис. 7. Фрагмент №3 спектра COSY соединения D374 в дейтерохлороформе.

На рисунке видно взаимодействие метильной группы 40 с другой метильной группой 39. Аналогичное взаимодействие видно и между метильными группами 17 и 18. Сигналы этих групп уширены за счет обменных процессов, поэтому расщепления линий не наблюдается.

После соотнесения всех протонов переходим с спектру ЯМР ^{13}C .

На рис. 8 приведен спектр ЯМР ^{13}C соединения D374 в дейтерохлороформе. Отметим, что одни сигналы уширены, а другие – нет. Общее число сигналов – 32 – соответствует предложенной структурной формуле.

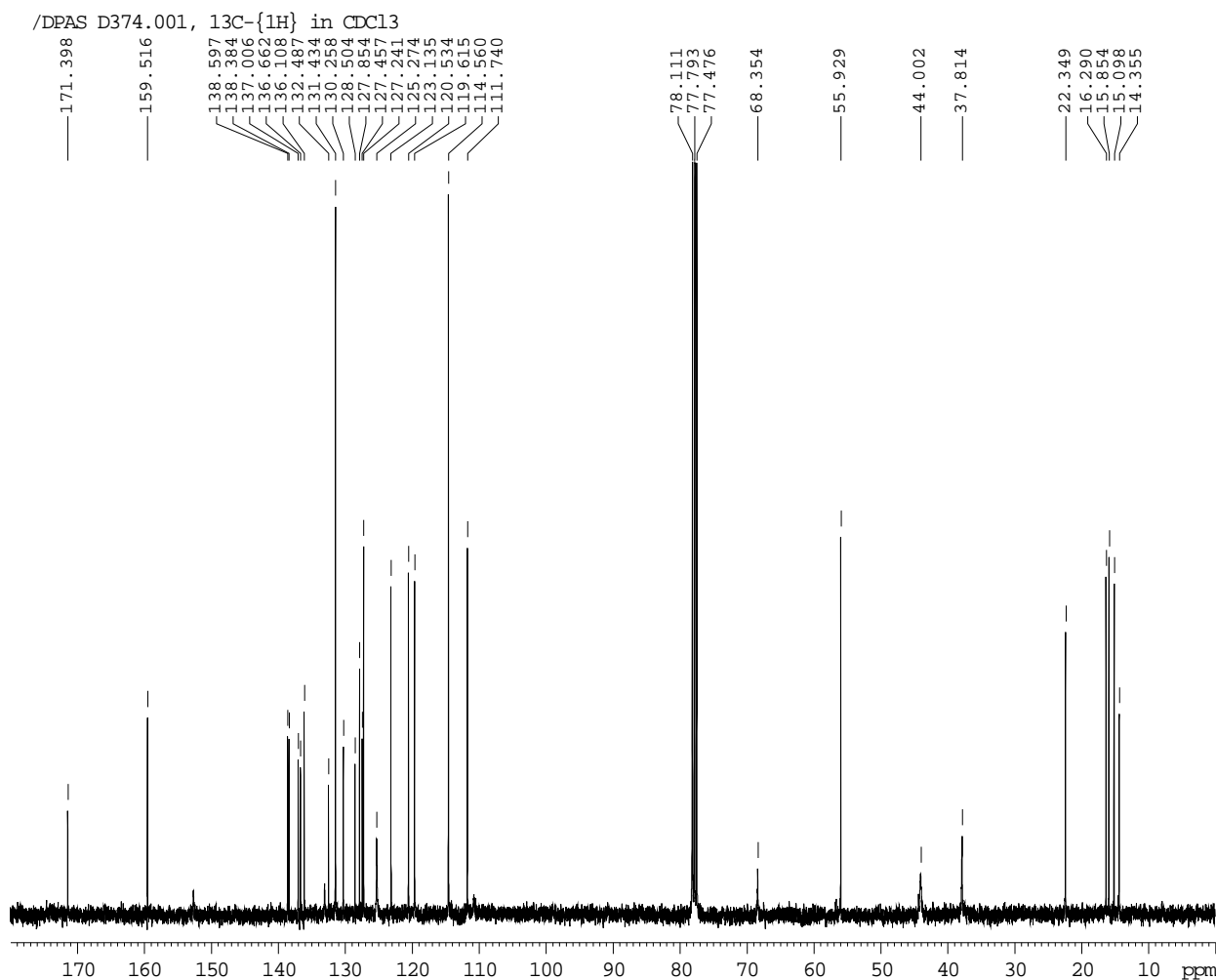


Рис. 8. Спектр ЯМР ^{13}C соединения D374 в дейтерохлороформе.

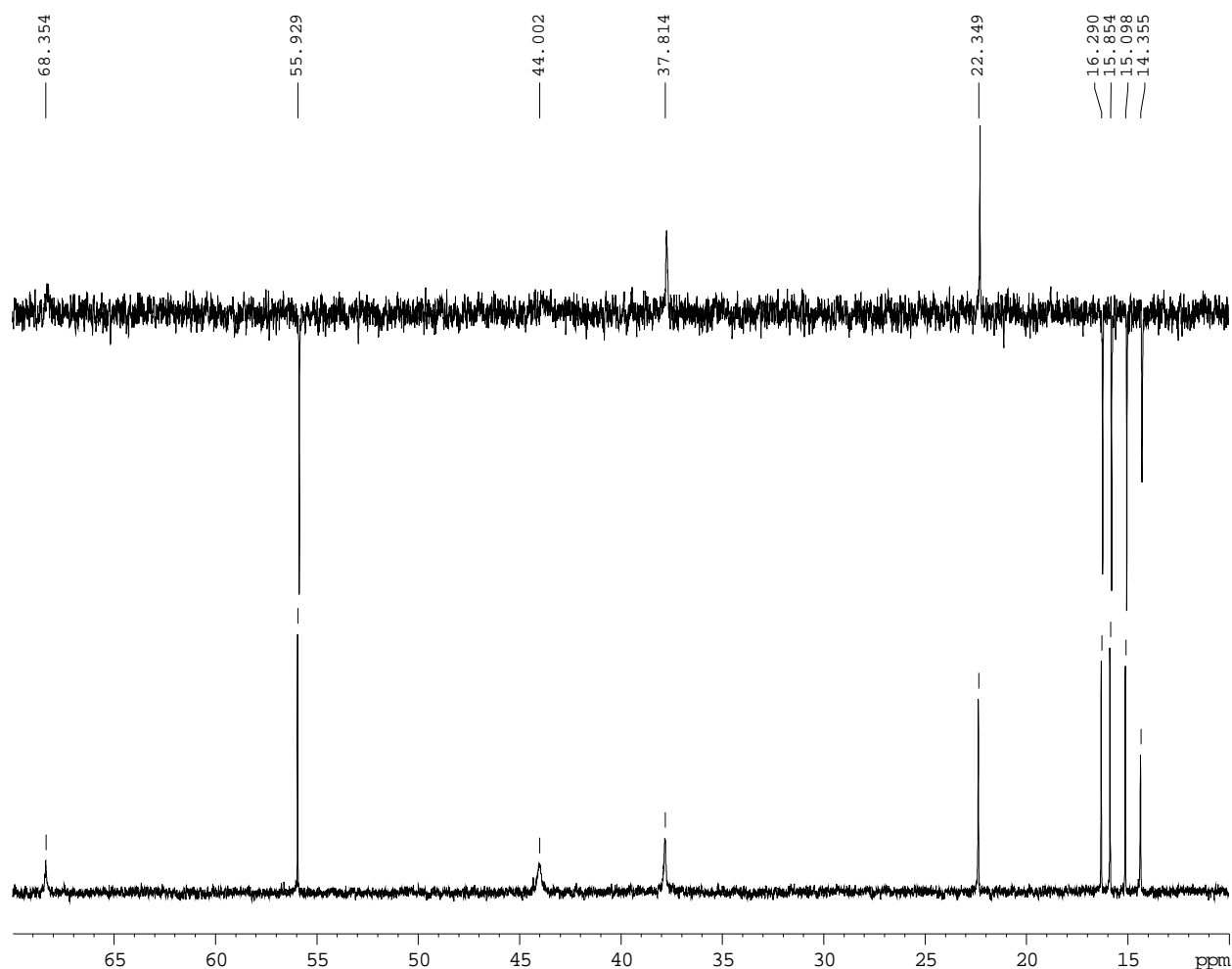


Рис. 9. Фрагмент №1 спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху) соединения D374 в дейтерохлороформе.

На рис. 9 приведен фрагмент №1 (алкильная область) спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху), отражающего число протонов, с которыми связаны атомы углерода. Сигналы атомов углерода, связанных с четным числом протонов, направлены вверх, а с нечетным – вниз. В спектре видны 5 сигналов метильных групп, и 4 сигнала от CH_2 - и C , что соответствует алкильным фрагментам предложенной структурной формулы.

На рис. 10 приведен фрагмент №2 (арильная область) спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху).

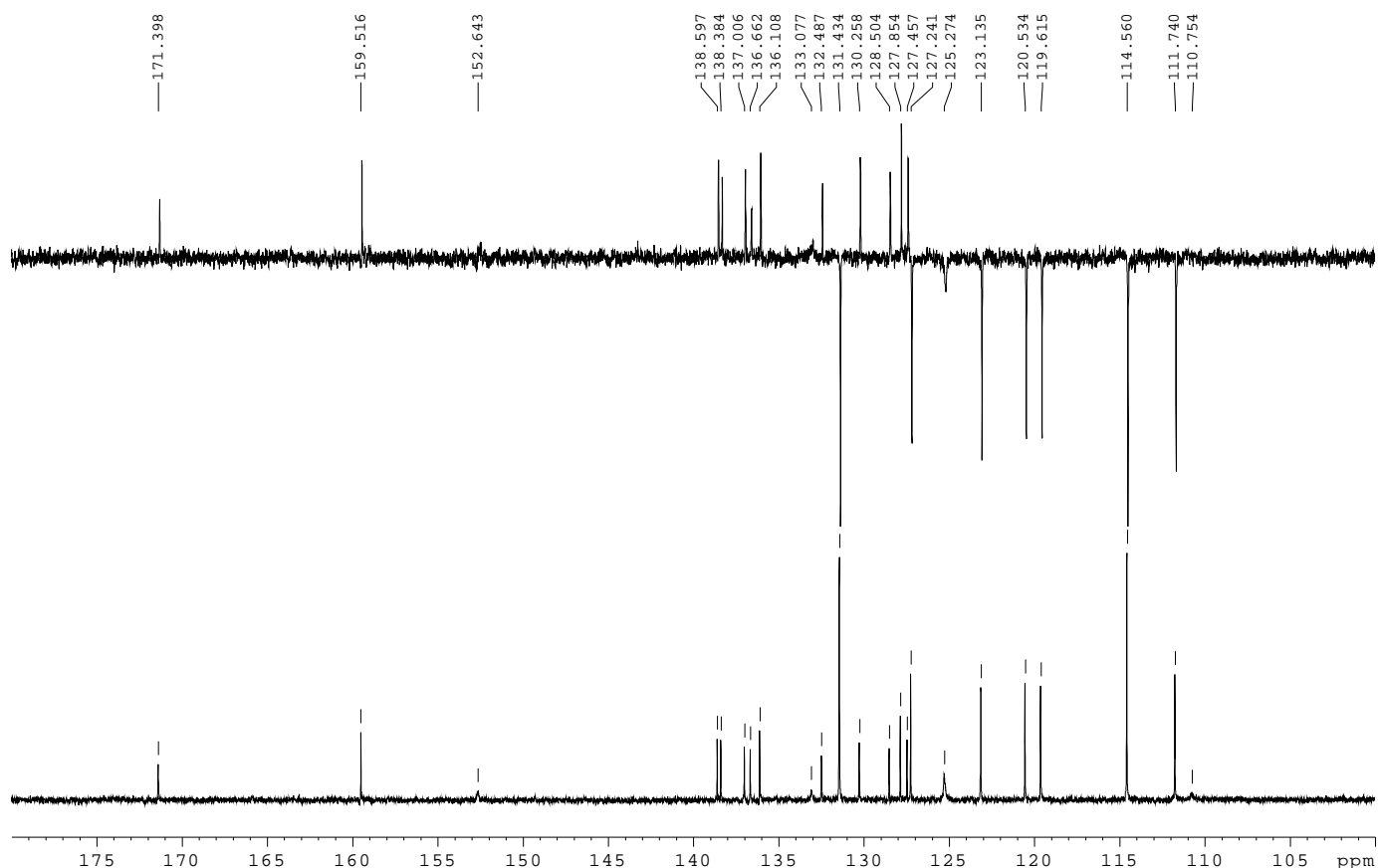


Рис. 10. Фрагмент №2 спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху) соединения D374 в дейтерохлороформе.

В спектре видны 8 сигналов ароматических СН-углеродов и 15 сигналов четвертичных атомов углерода. Число сигналов в арильной области соответствует ароматическим фрагментам предложенной структурной формулы.

Вначале соотносим все сигналы протон содержащих атомов углерода, поскольку все сигналы протонов отнесены. На рисунках 11 и 12 изображены фрагменты спектров НМРС (алкильной и арильной областей, соответственно), отражающих прямые протон-углеродные взаимодействия.

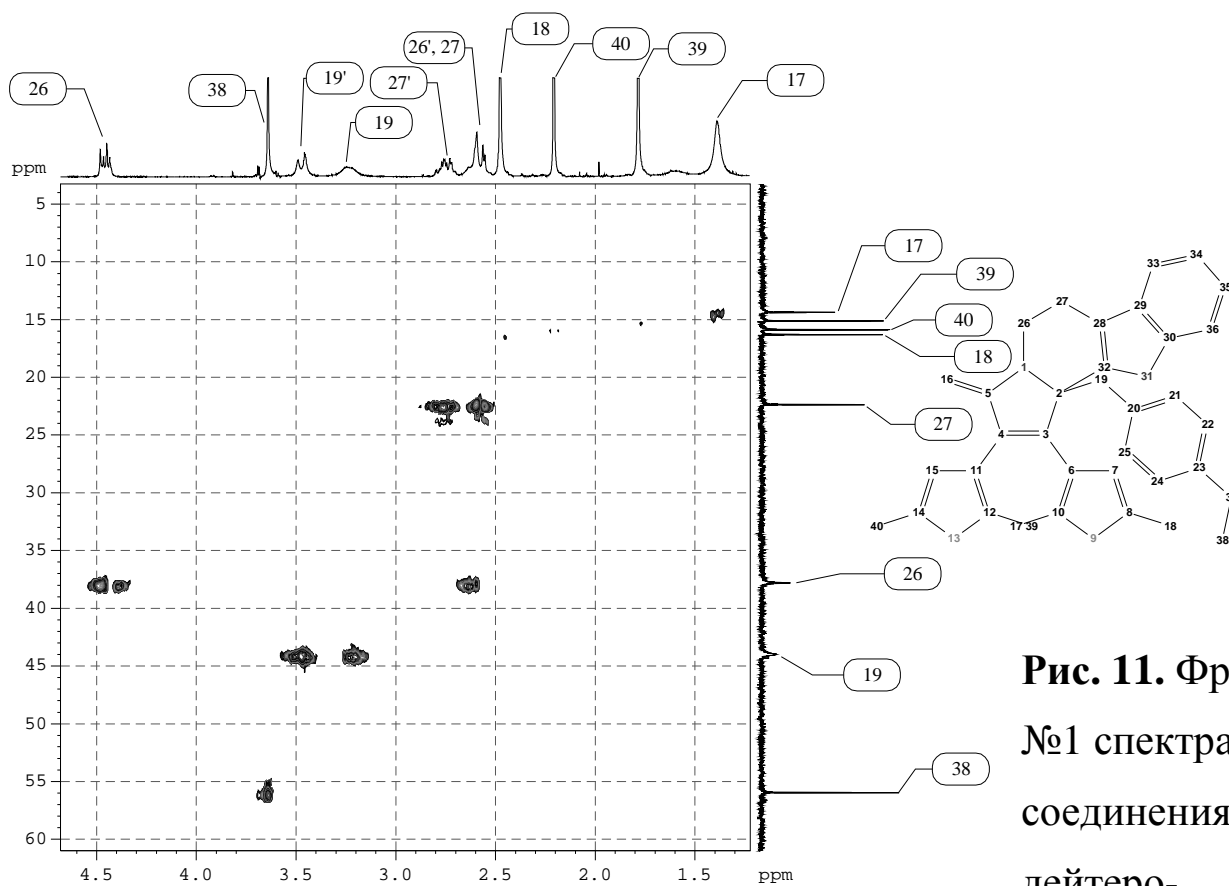


Рис. 11. Фрагмент №1 спектра НМРС соединения D374 в дейтеро-хлороформе.

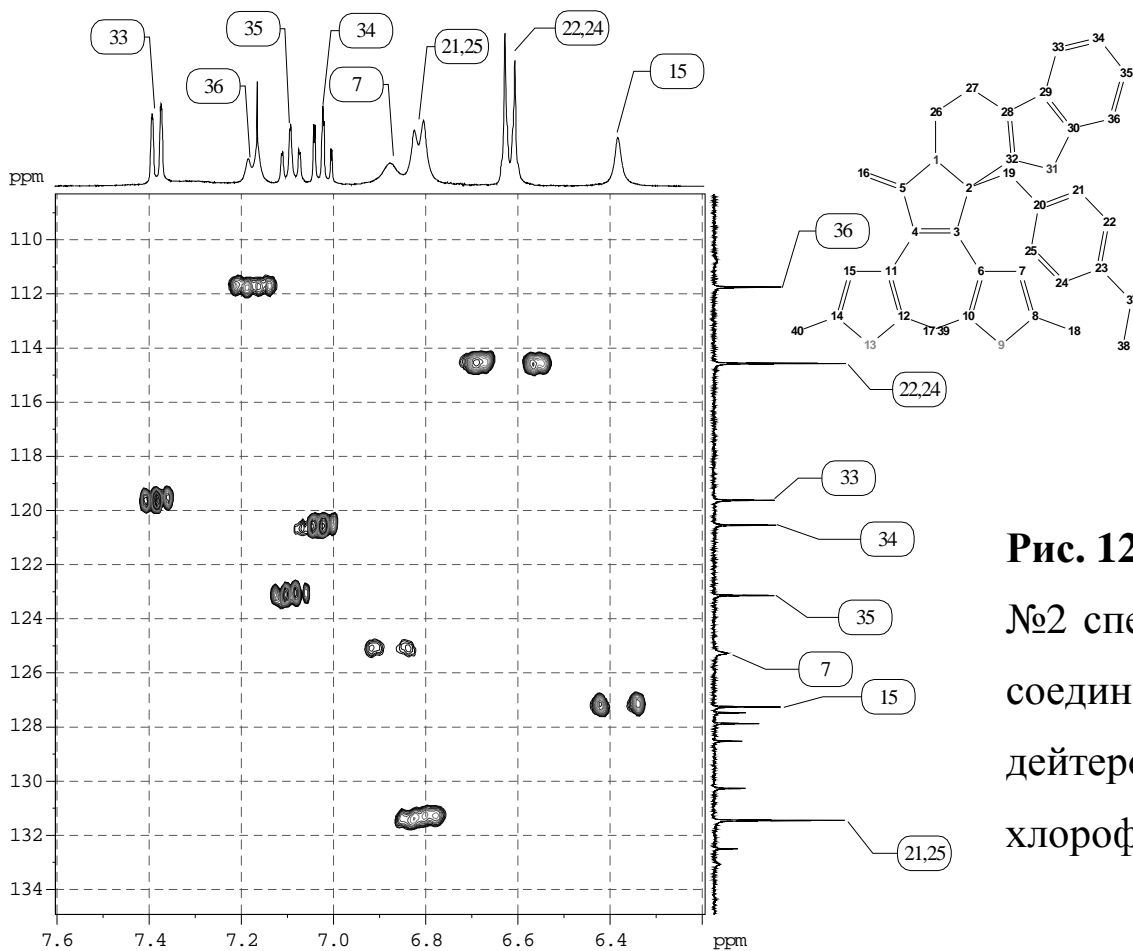


Рис. 12. Фрагмент №2 спектра НМРС соединения D374 в дейтеро-хлороформе.

Далее соотносим оставшиеся сигналы четвертичных атомов углерода.

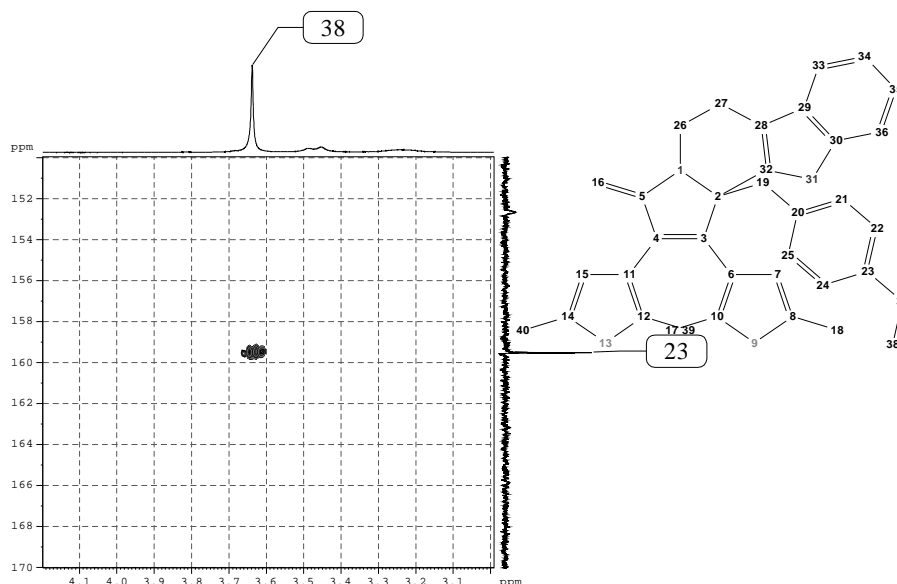


Рис. 13. Фрагмент №1 спектра НМВС соединения D374 в дейтерохлороформе.

На рисунке 13 изображен фрагмент №1 спектра НМВС, отражающего дальние протон-углеродные взаимодействия. Протоны метокси-группы 38 связаны дальним спин-спиновым взаимодействием с углеродом 23 *para*-замещенного бензольного цикла.

На фрагментах №2 и №3 спектра НМВС, изображенных на рис. 14, видны дальние взаимодействия протонов СН₂-групп 19 и 26 с четвертичным атомом углерода 2.

Таким образом, сигналы алифатической области спектра ЯМР ¹³С отнесены (рис. 15).

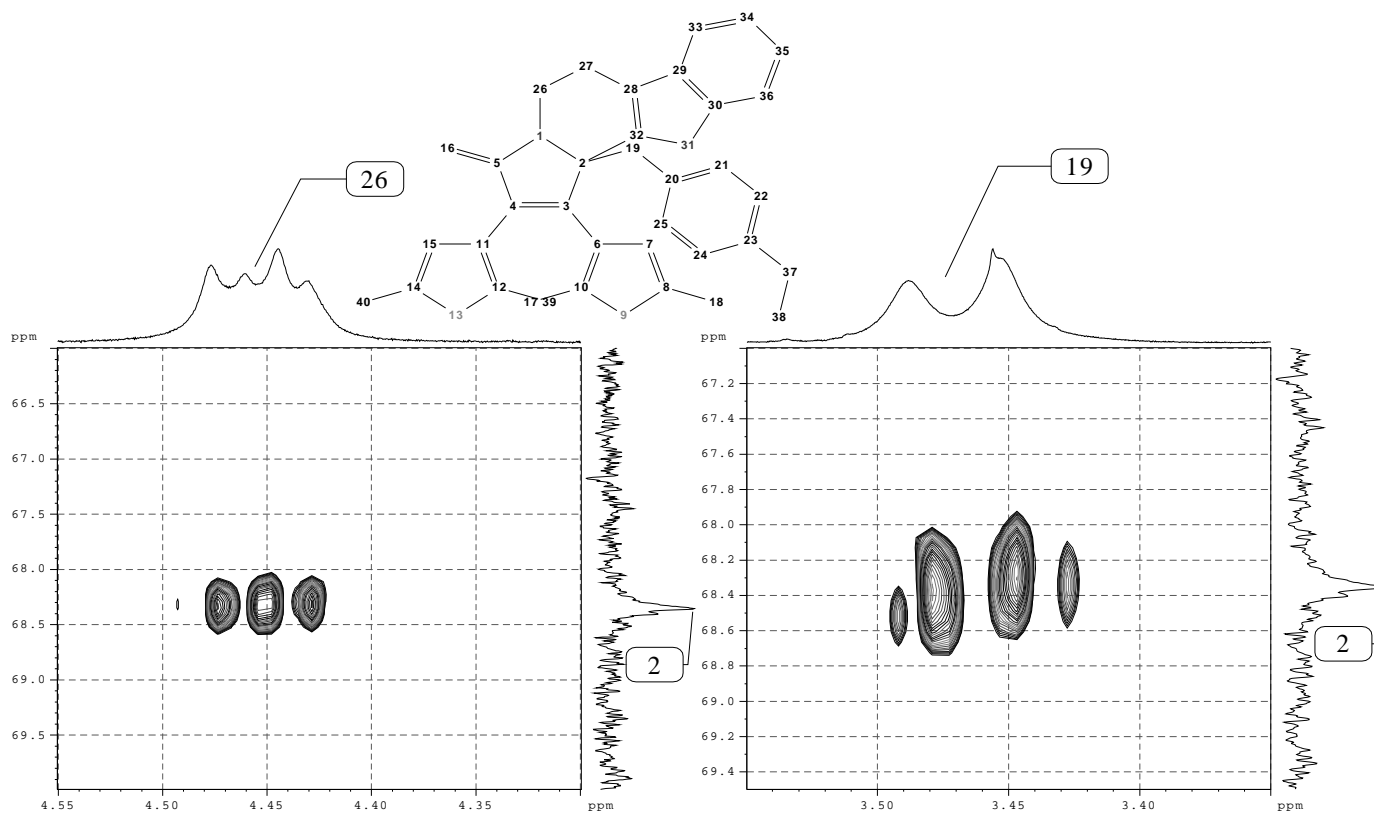


Рис. 14. Фрагменты №2 и №3 спектра НМВС соединения D374 в дейтерохлороформе.

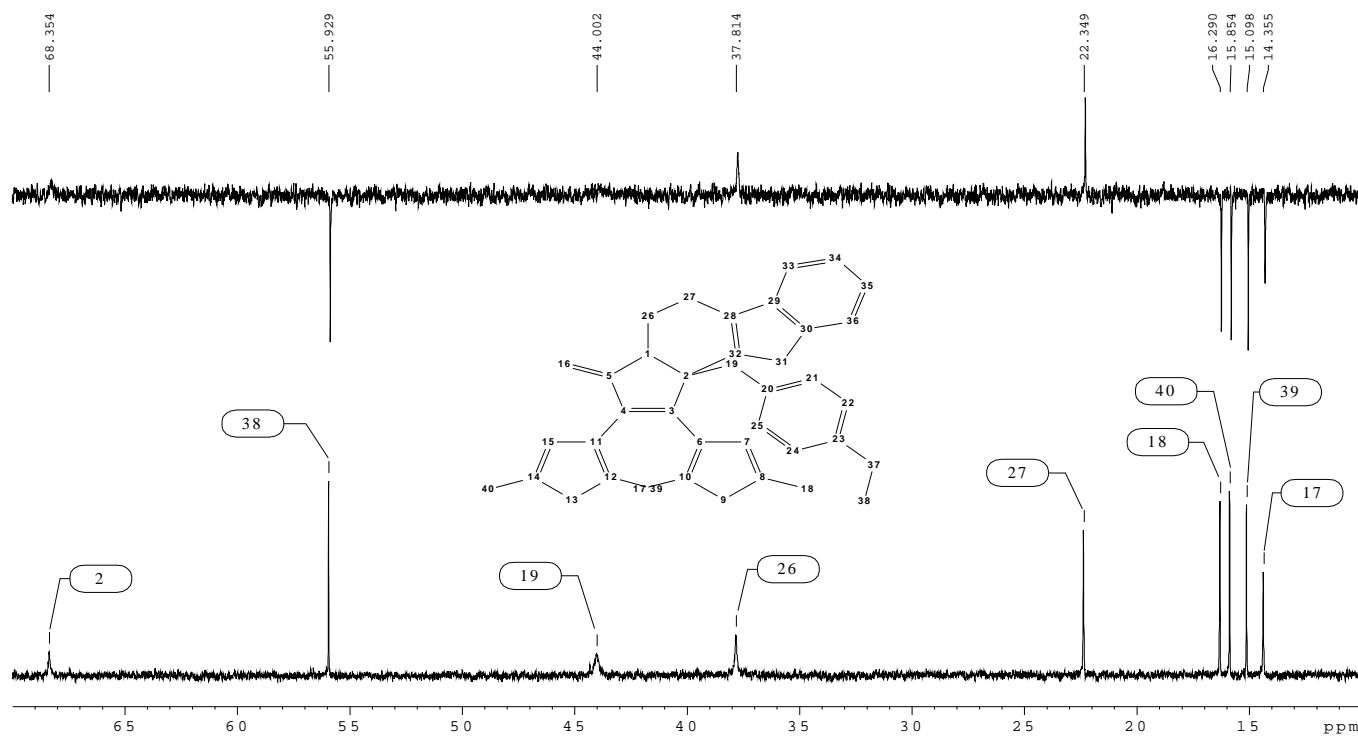


Рис. 15. Фрагмент №1 спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху) соединения D374 в дейтерохлороформе с соотнесением сигналов.

Далее один за одним соотносим сигналы всех оставшихся атомов углерода. Необходимые фрагменты спектра ЯМВС соединения D374 приведены на Рис. 13 и 14. Важно, что все сигналы отнесены на основании корреляций. Нет необходимости относить сигналы по остаточному принципу. Некоторые из приведенных в приложении корреляций не содержат новой информации, а лишь подтверждают сделанные ранее выводы.

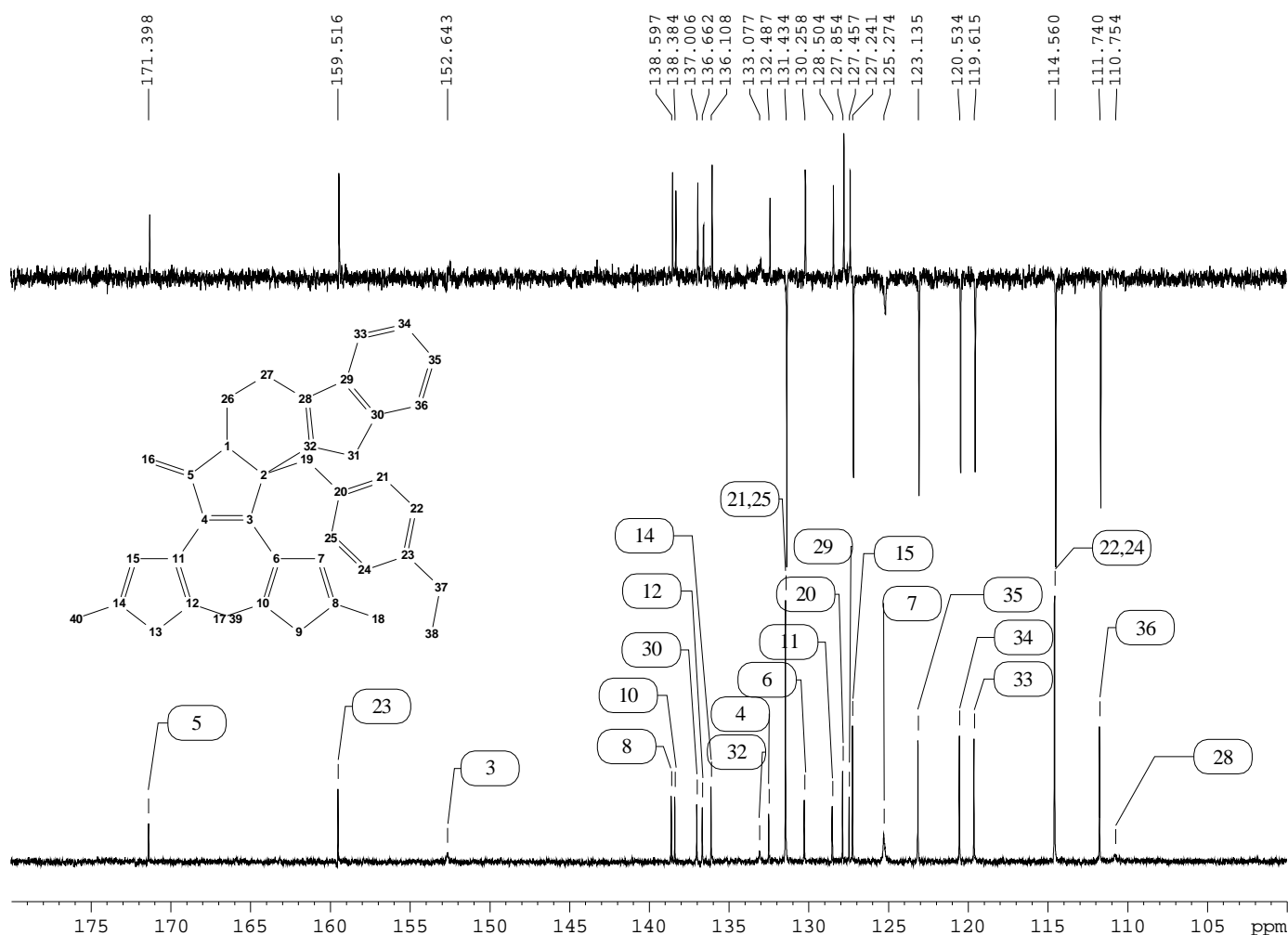


Рис. 16. Фрагмент №2 спектров ЯМР ^{13}C (внизу) и АРТ (вверху) соединения D374 в дейтерохлороформе с соотносением сигналов.

Ароматическая область спектра ЯМР ^{13}C с полным соотношением сигналов приведена на рисунке 16. Отметим также наличие пространственного взаимодействия между протоном CH_2 -группы 19 и подвижным протоном NH -группы 31 (рис. 17).

Таким образом, по совокупности полученных спектральных данных соединение D374 соответствует предложенной структурной формуле.

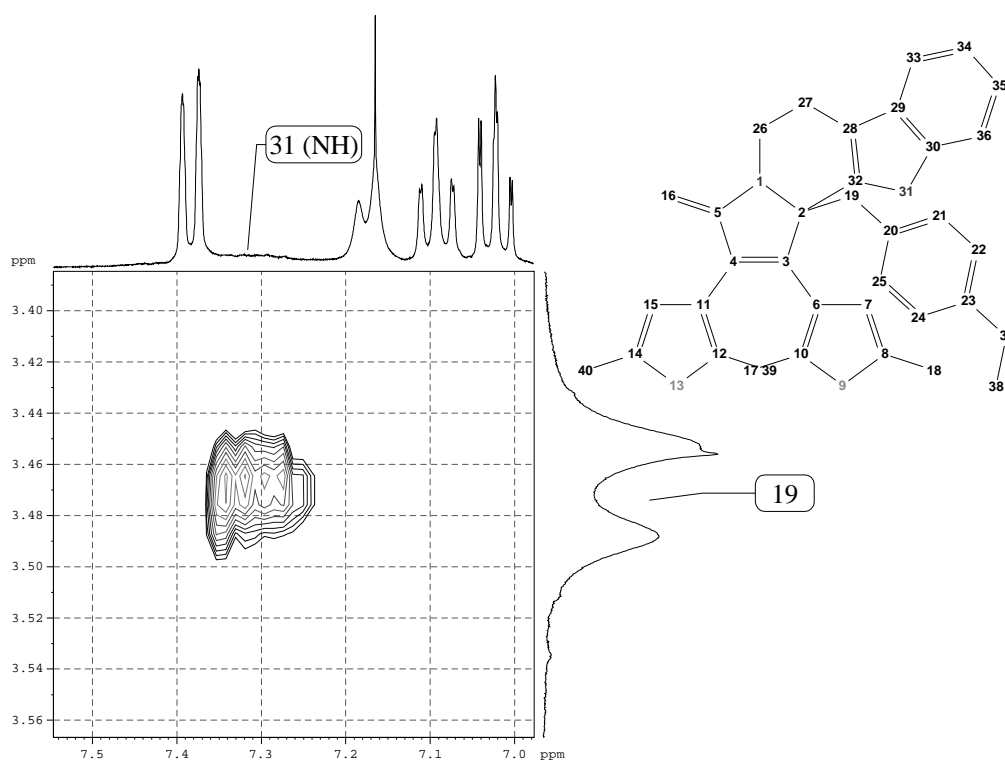
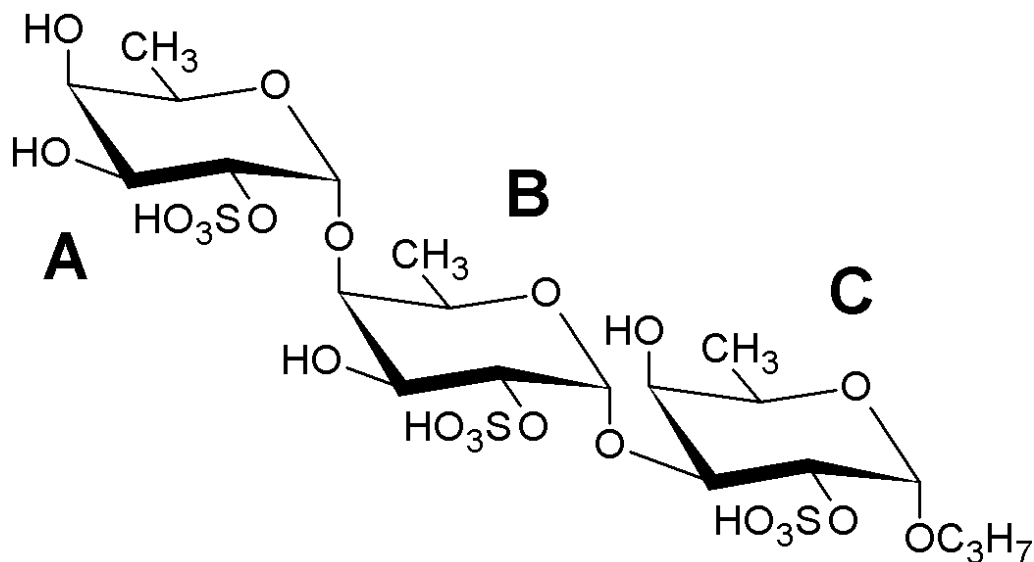


Рис. 17. Фрагмент №2 спектра NOESY соединения D374 в дейтерохлороформе.

ДВУМЕРНЫЕ СПЕКТРЫ ЯМР ТРИСАХАРИДА UN30

Синтетический трисахарид UN30 имеет следующую структуру:



На следующих страницах приведены различные спектры ЯМР водных (D₂O) растворов этого соединения, снятые на приборе Bruker DRX 500 МГц, и их отнесение. Спиновые системы моносахаридных остатков обозначены буквами в соответствии со структурной формулой, углеродные атомы – цифрами, начиная от аномерных. Символы “Pr” соответствуют пропильной группе. Протоны при углеродных атомах обозначены теми же цифрами, с добавлением штрихов в случае, если к углеродному атому присоединено более одного протона.

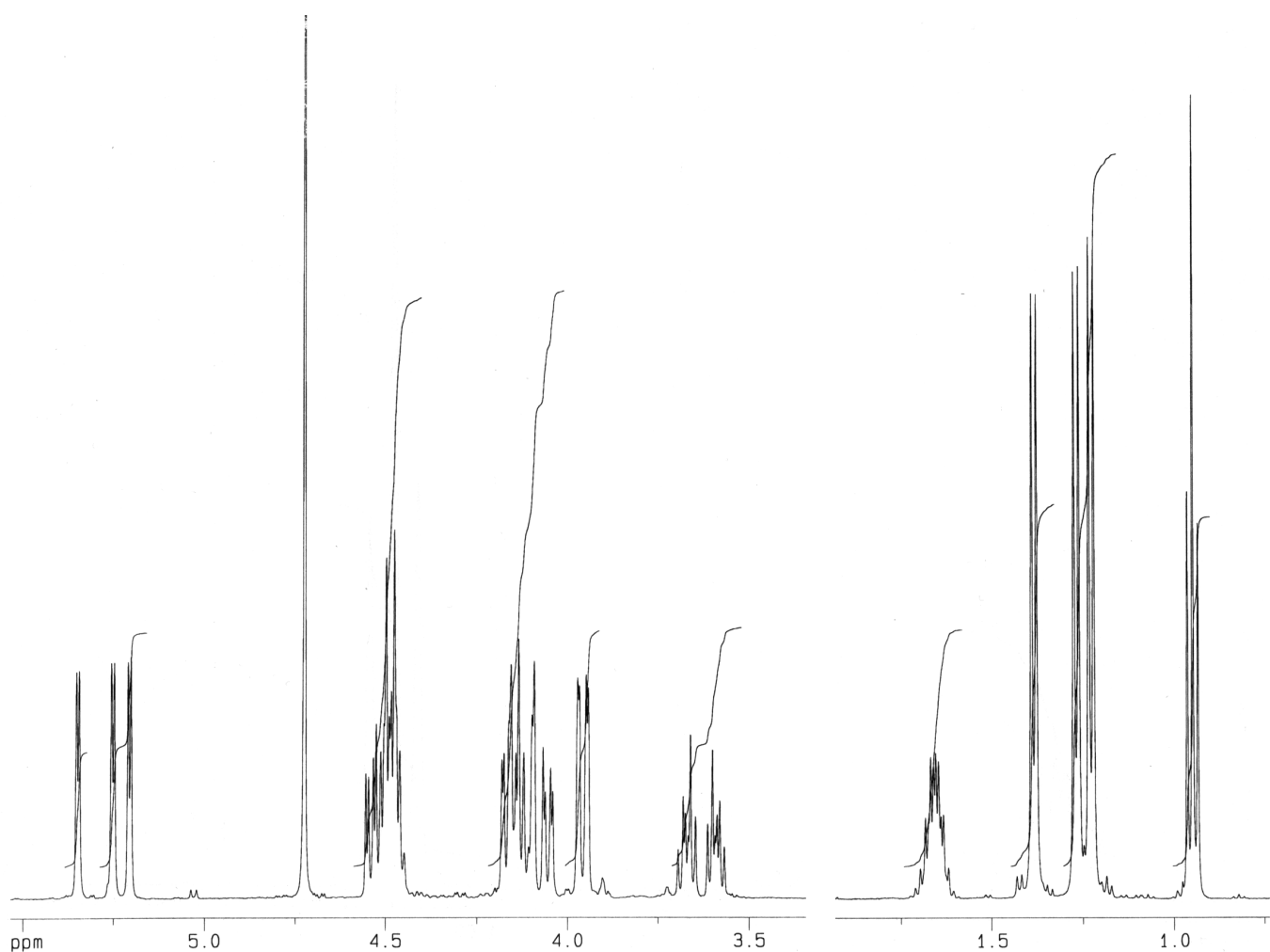


Рис. 18. Спектр ^1H ЯМР. Синглет при 4.7 м.д. –остаточный сигнал воды H_2O . Информация, получаемая из отнесенного протонного спектра, применяется для отнесения спектра ЯМР ^{13}C с помощью данных экспериментов по гетероядерным корреляциям.

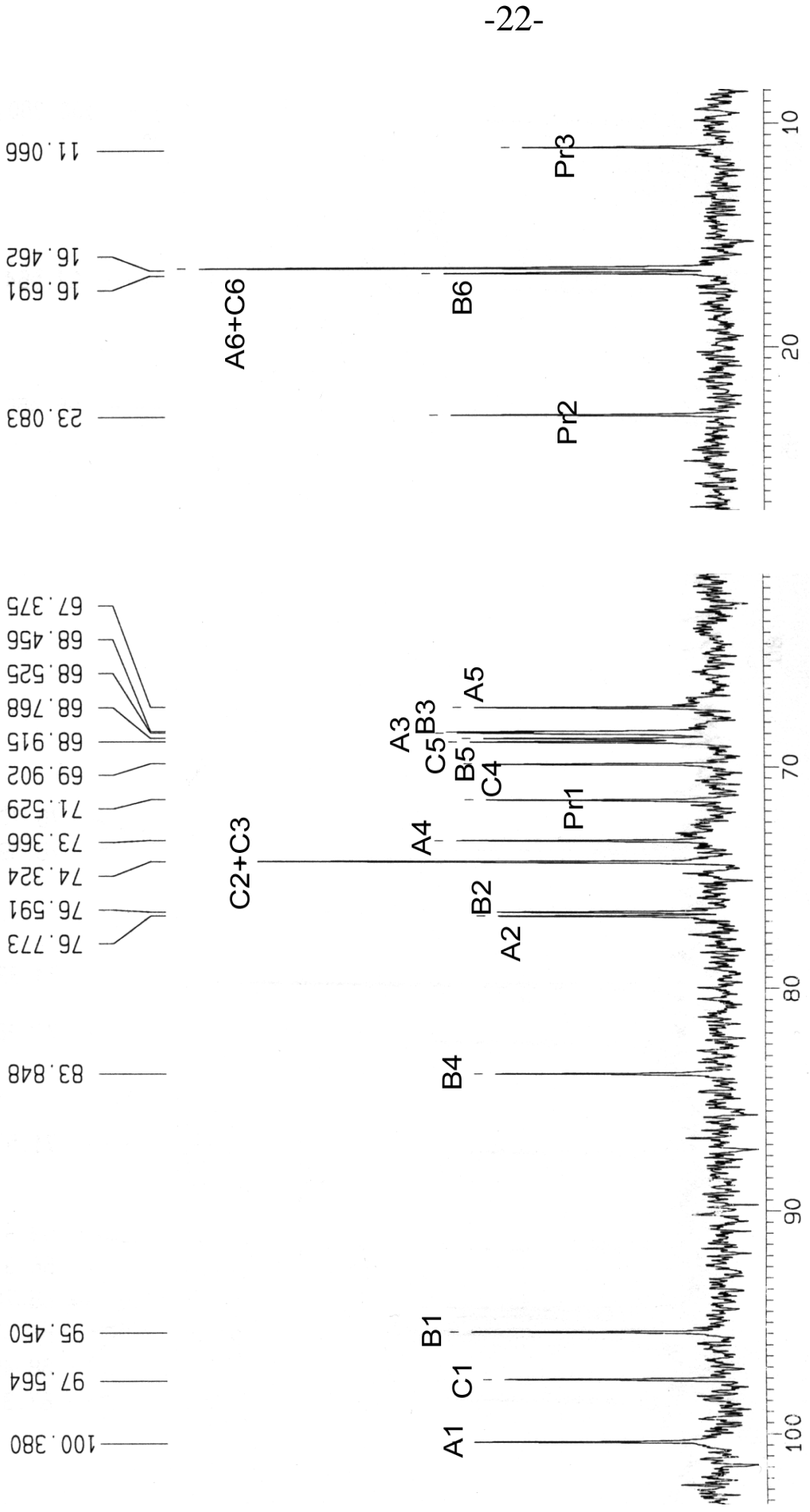


Рис. 19. Спектр ^{13}C ЯМР (с развязкой от области резонанса протонов). Информация применяется для определения типов остатков, позиций замещения, аномерных и абсолютных конфигураций (через анализ химических сдвигов и расчет эффектов гликозилирования)

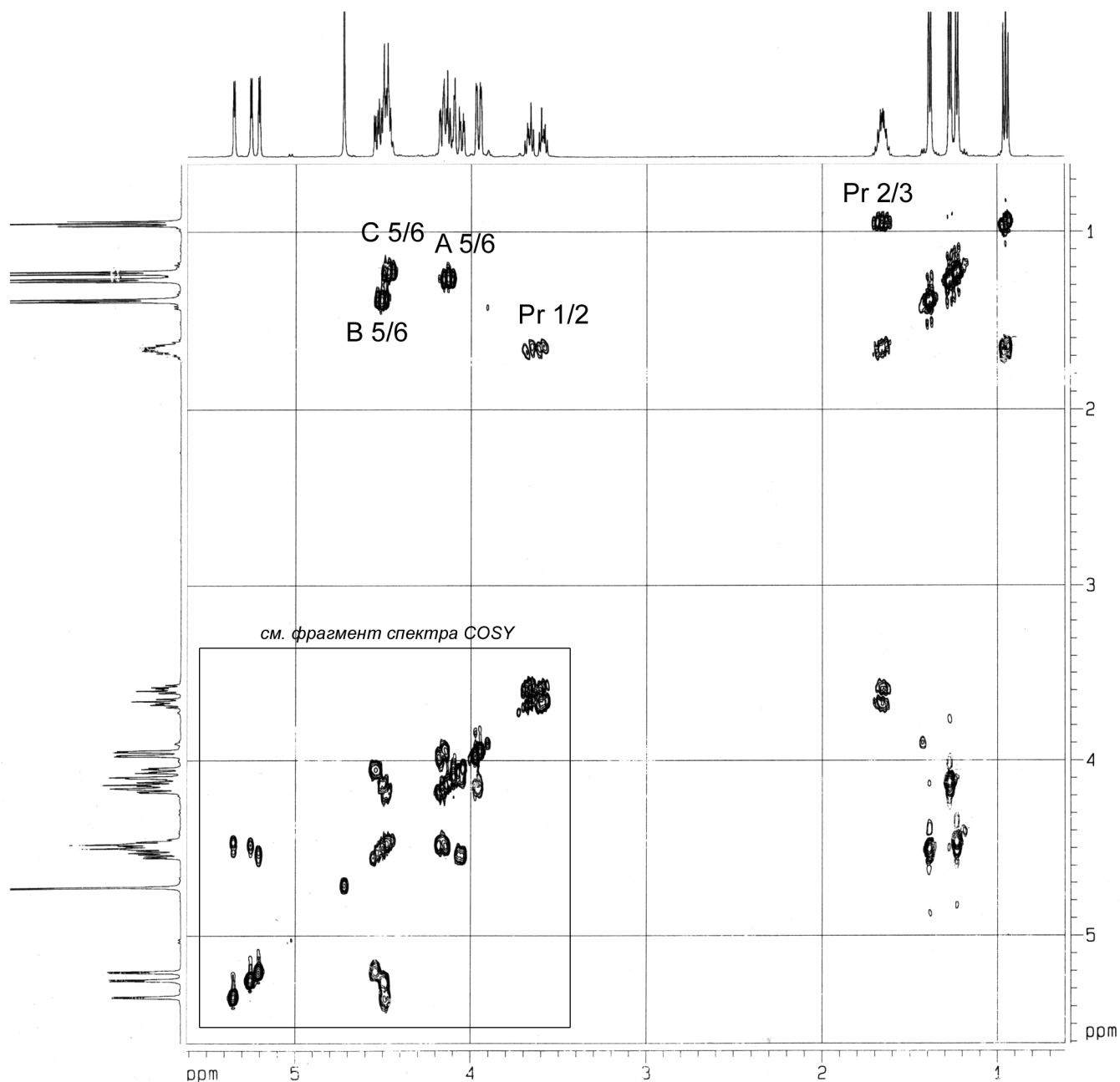


Рис. 20. Гомоядерная протон-протонная корреляция COSY. Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов с КССВ 3-20 Гц. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ¹H.

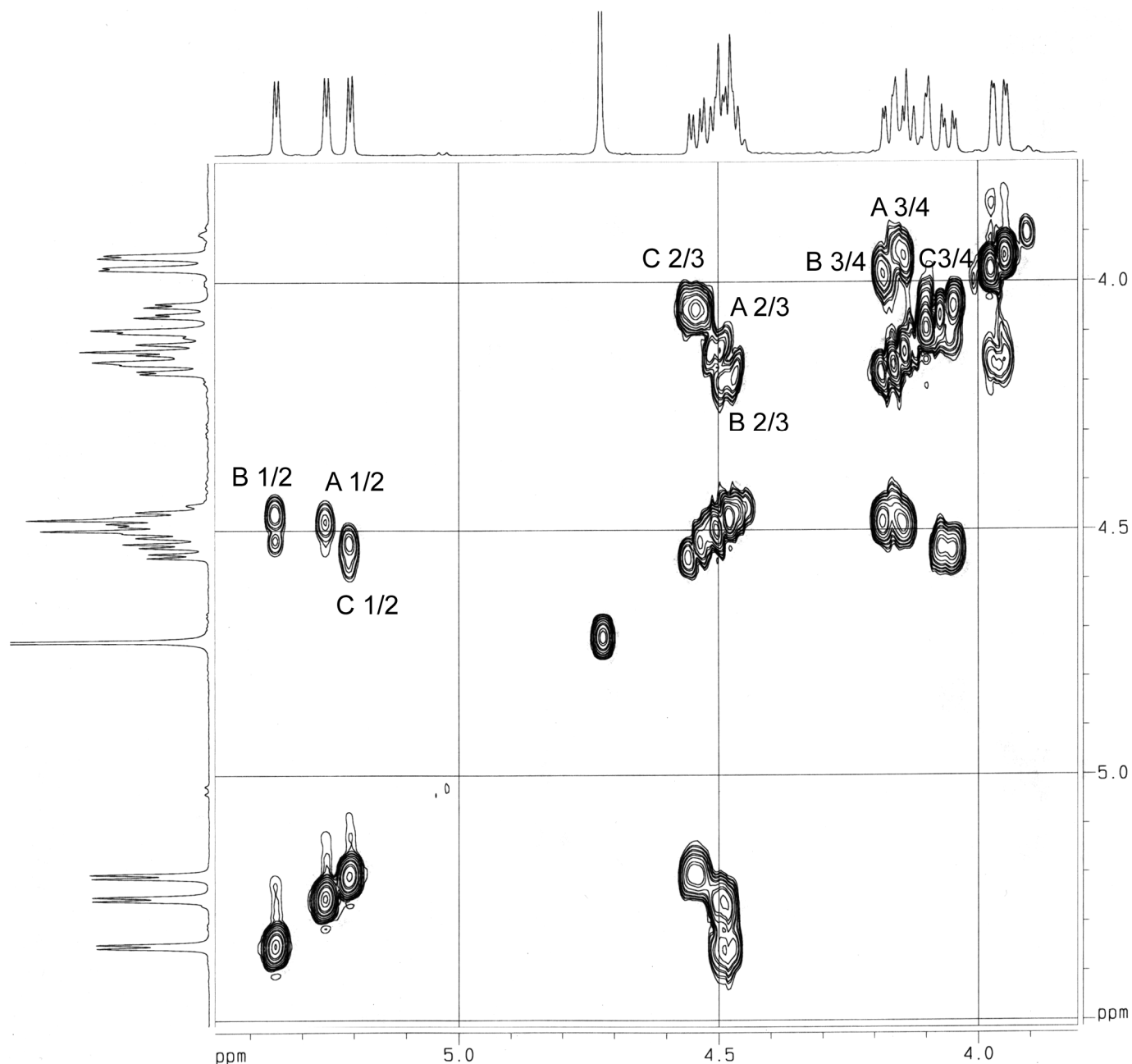


Рис. 21. Фрагмент гомоядерной протон-протонной корреляции COSY, соответствующий области резонанса протонов углеводной части молекулы (кроме протонов при атомах С6). Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов с КССВ 3-12 Гц. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ^1H .

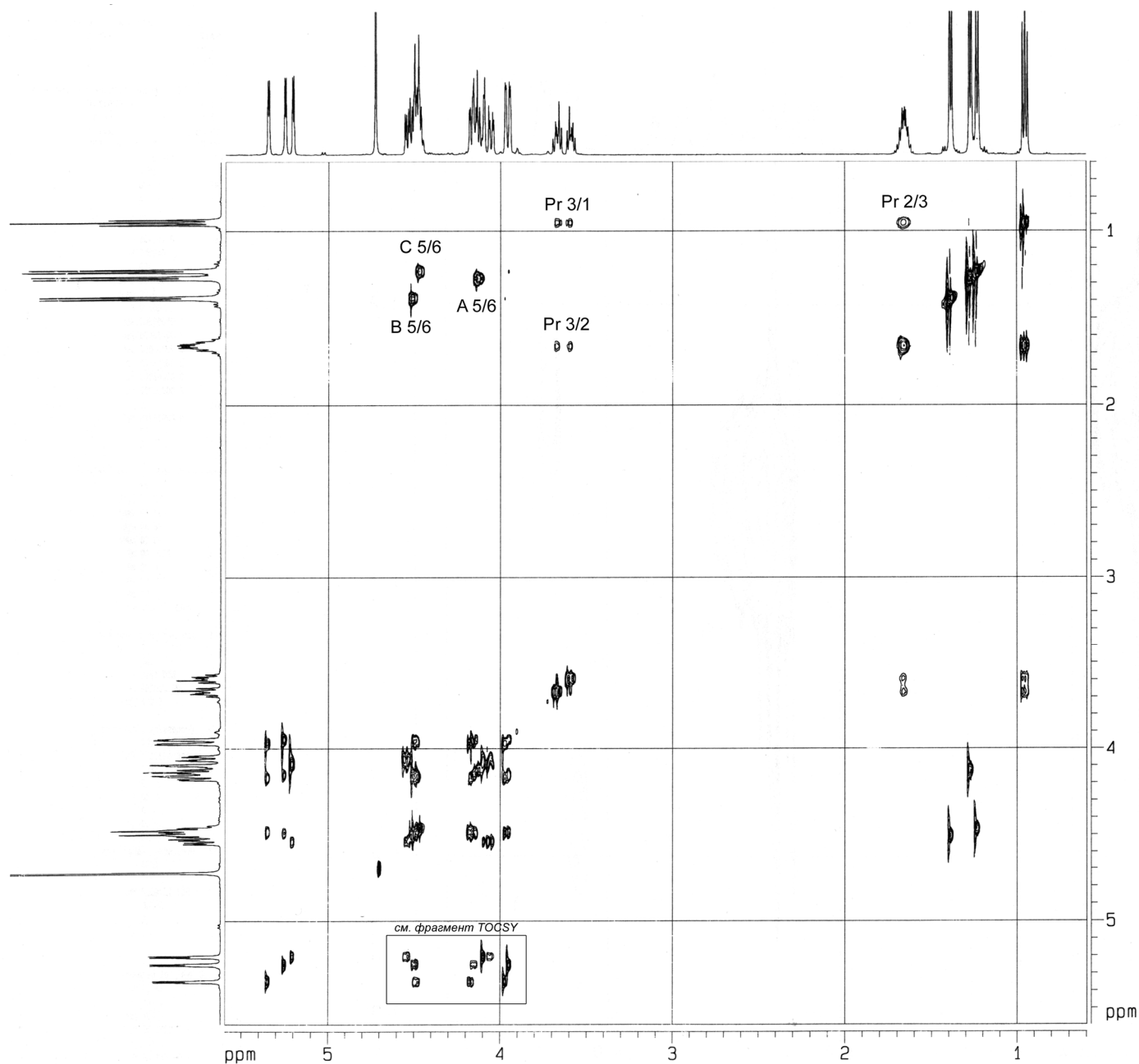


Рис. 22. Гомоядерная протон-протонная корреляция TOCSY. Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов со всеми протонами в пределах спиновой системы. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ^1H .

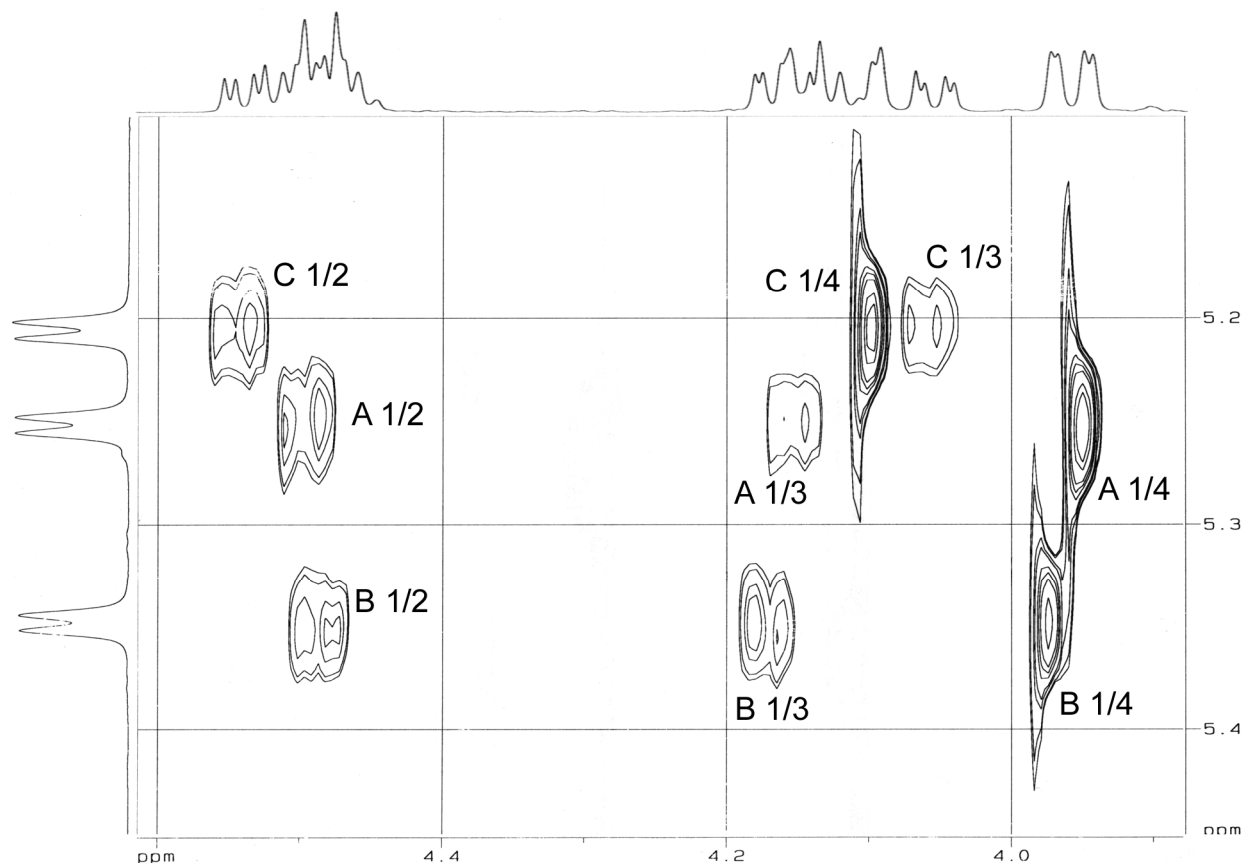


Рис. 23. Фрагмент гомоядерной протон-протонной корреляции TOCSY, соответствующий области резонанса протонов углеводной части молекулы. Показаны корреляции аномерных протоном (по вертикальной оси) с протонами Н2, Н3, Н4. Корреляции на протоны Н5 и Н6 не наблюдаются из-за малой величины КССВ ${}^3J_{\text{H4,H5}}$ в спектрах фукопиранозы. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ${}^1\text{H}$.

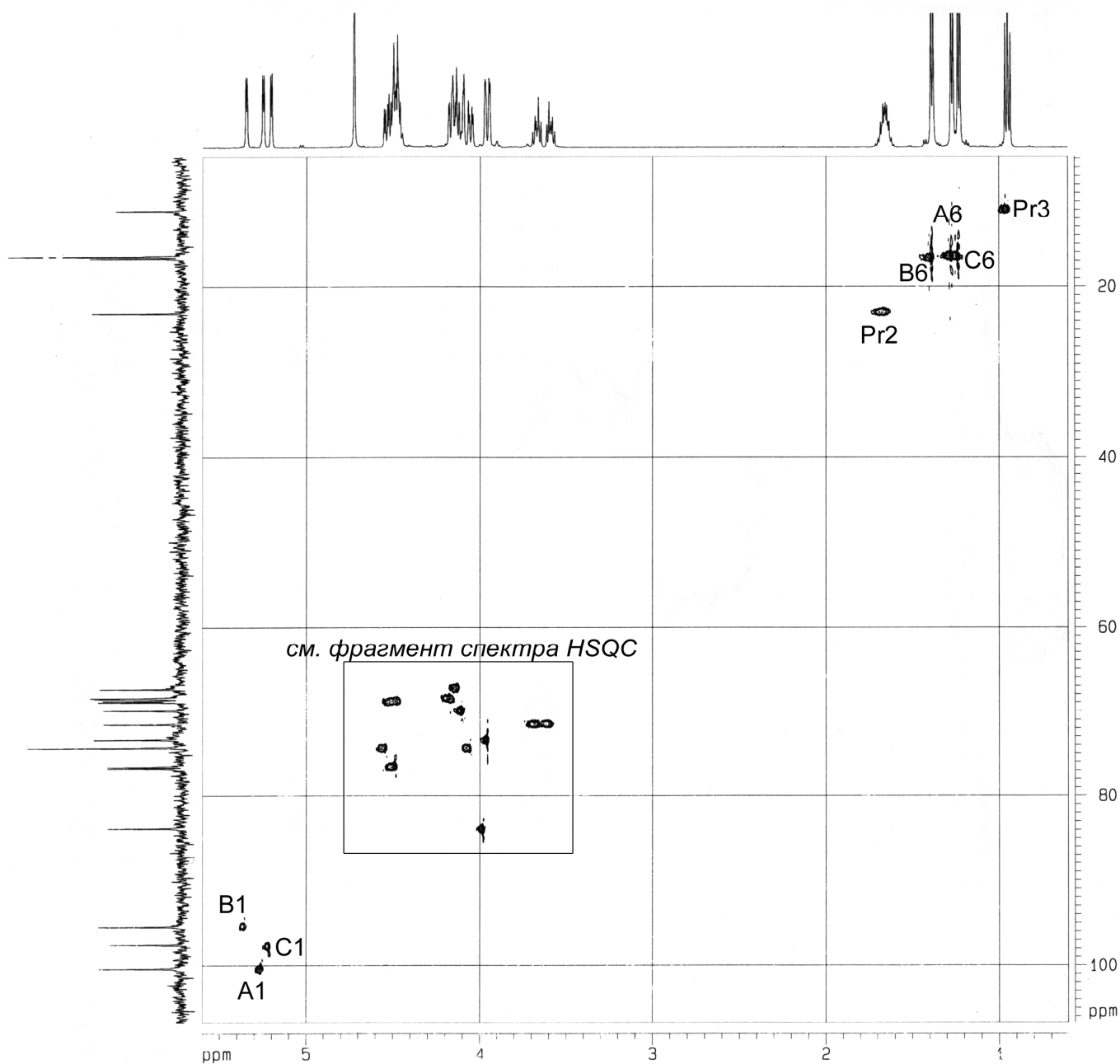


Рис. 24. Гетероядерная протон-углеродная корреляция HSQC. Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов с углеродными атомами с прямой КССВ $^1J_{CH}$. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ^{13}C .

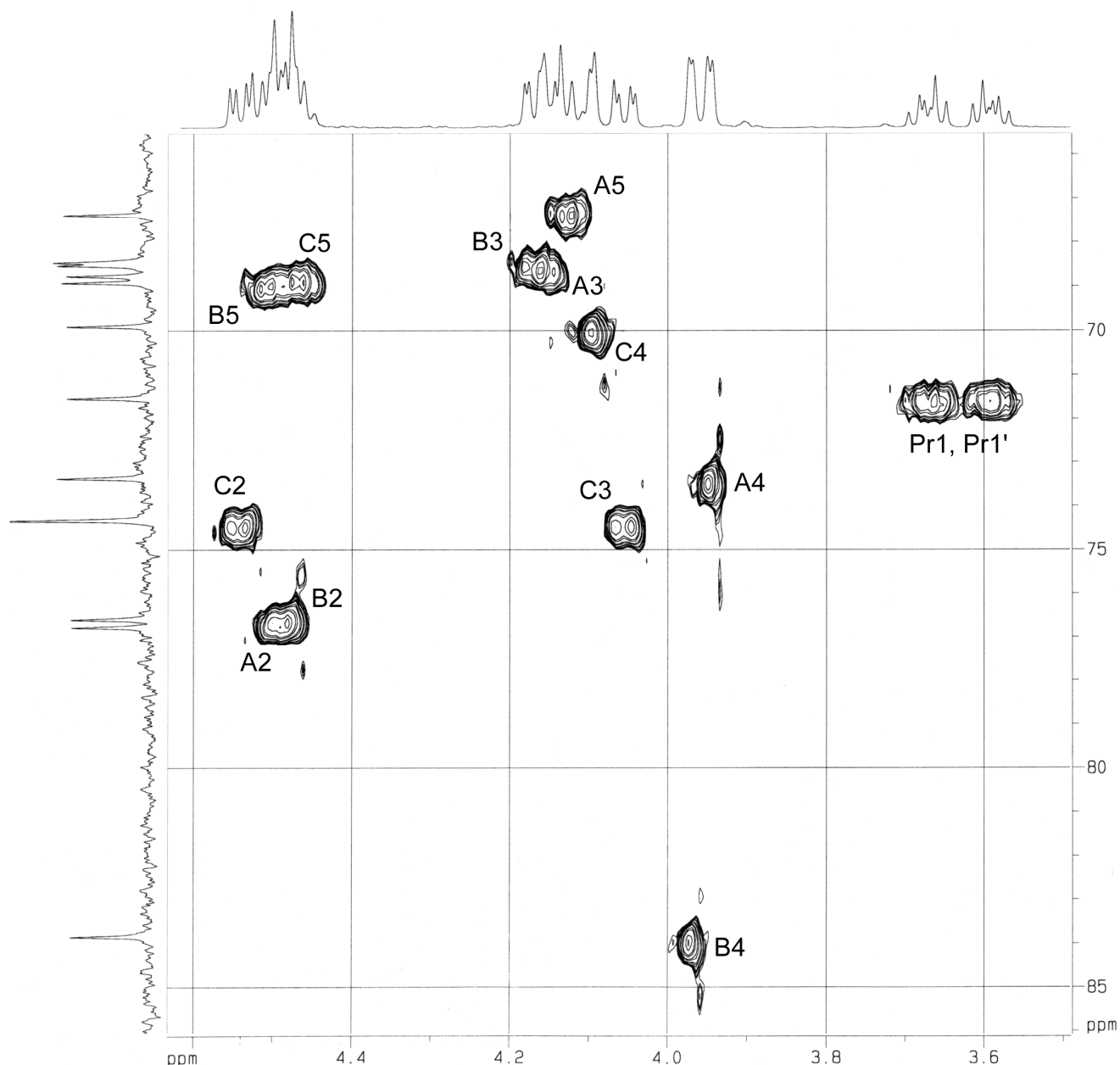


Рис. 25. Фрагмент гетероядерной протон-углеродной корреляции HSQC, значимый для отнесения углеводной части спектра ЯМР ^{13}C . Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов с углеродными атомами с прямой КССВ $^1J_{\text{CH}}$. Информация применяется для отнесения спектра ЯМР ^{13}C .

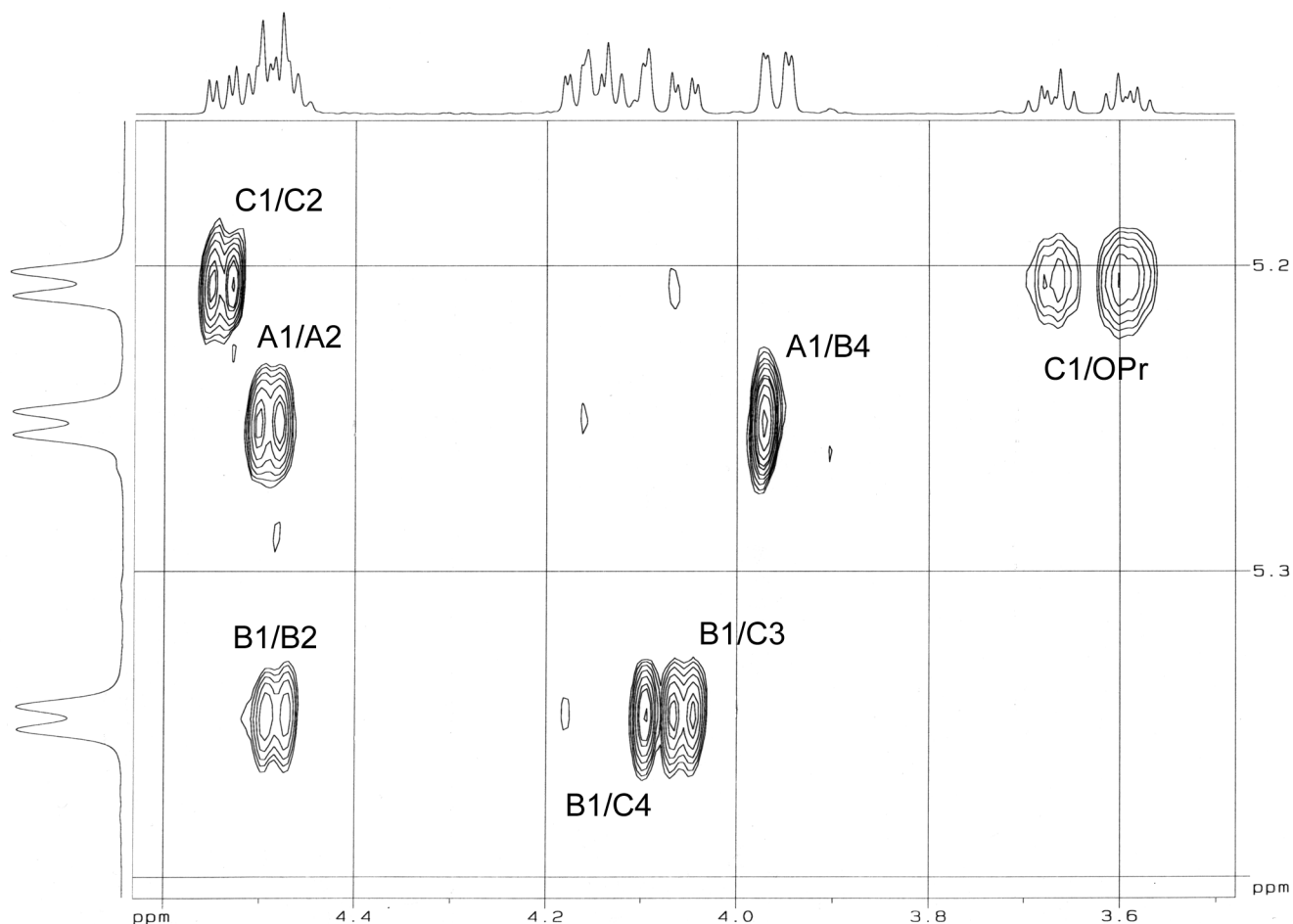


Рис. 26. Фрагмент двумерного спектра NOESY по наблюдению гомоядерного эффекта Оверхаузера. Показаны корреляции аномерных протонов (по вертикальной оси). Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов через пространство на расстояниях порядка 3Å. Информация применяется для выявления позиций замещения (трансгликозидные контакты), подтверждения аномерных конфигураций (контакты в пределах остатков), анализа конформации.

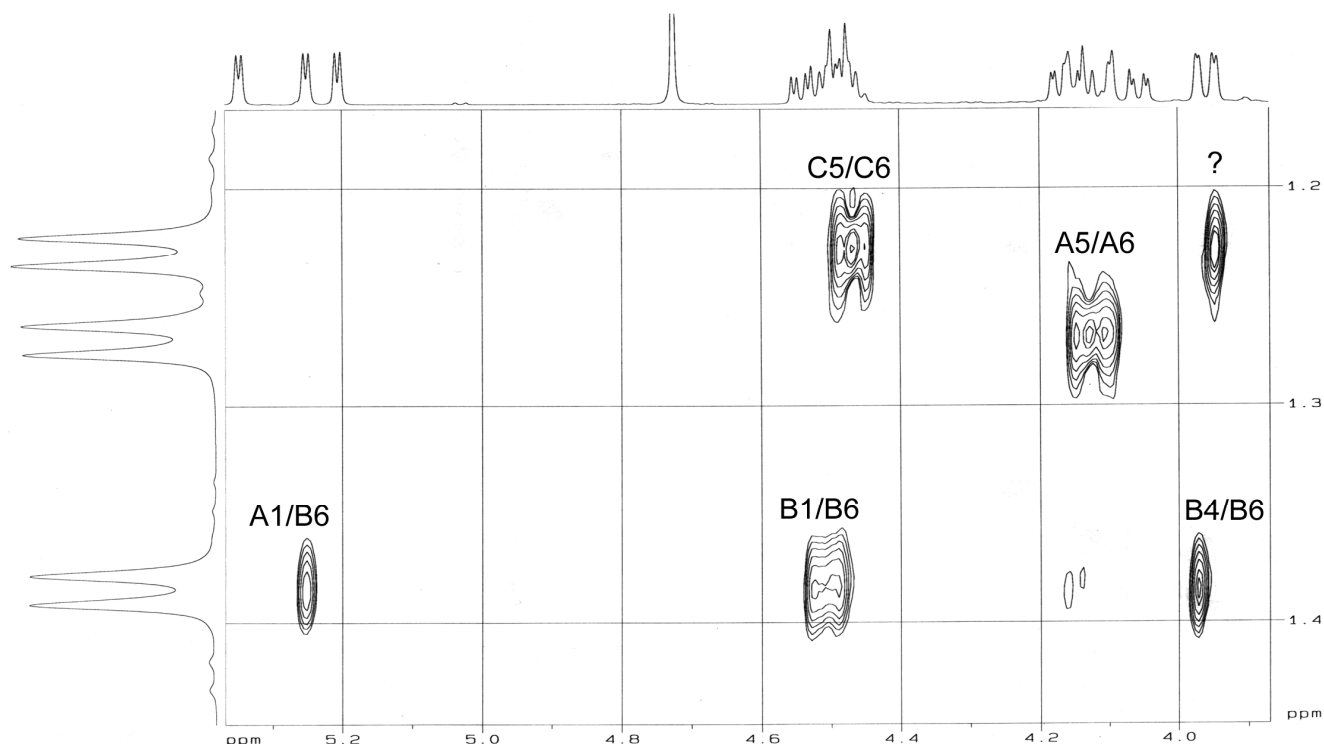


Рис. 27. Фрагмент двумерного спектра NOESY по наблюдению гомоядерного эффекта Оверхаузера. Показаны корреляции протонов Н_б (по вертикальной оси). Кросс-пики соответствуют взаимодействию протонов через пространство на расстояниях порядка 3Å. Информация применяется для выявления позиций замещения (трансгликозидные контакты) и отнесения протонов Н₅ (контакты в пределах остатков).

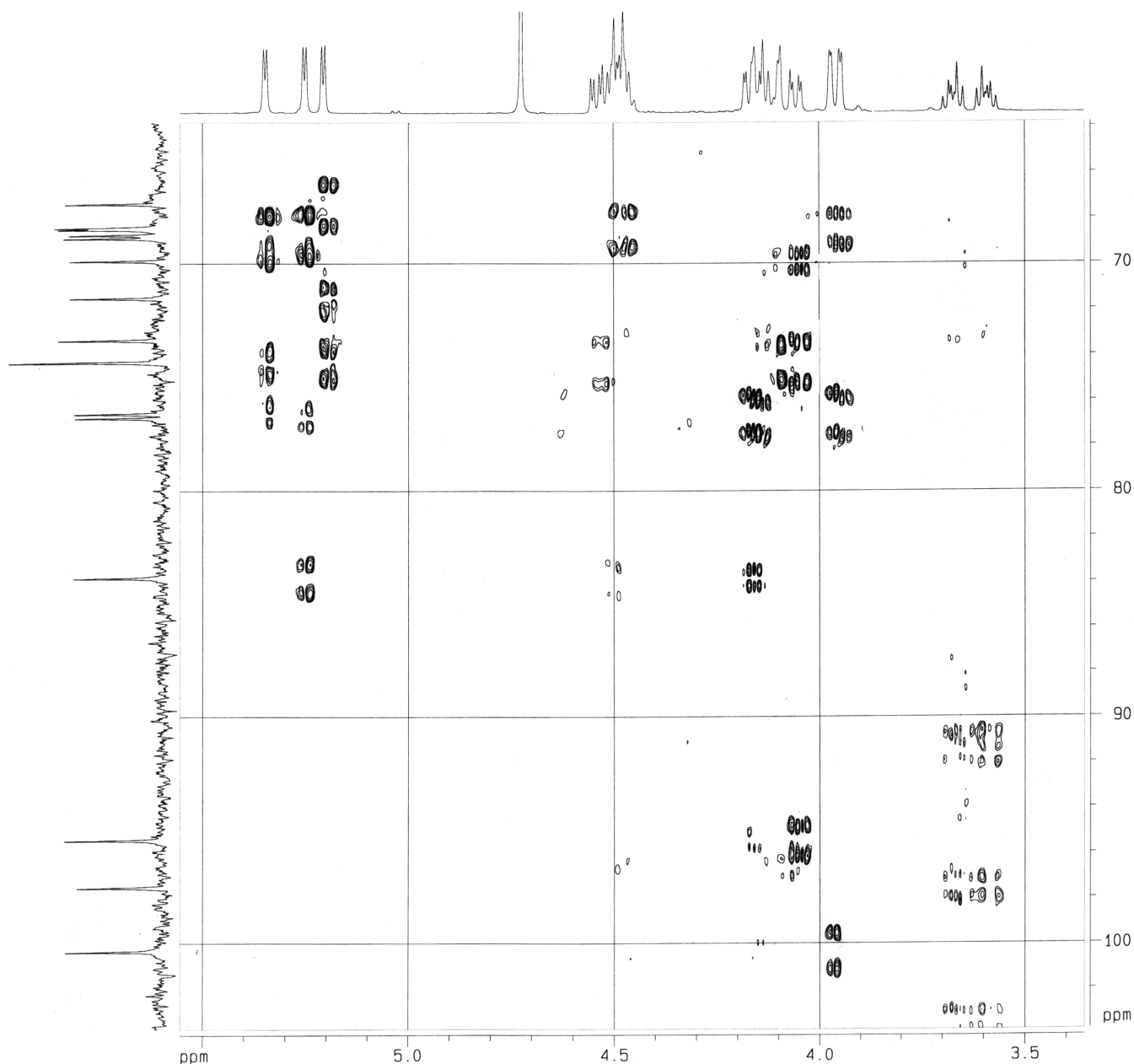
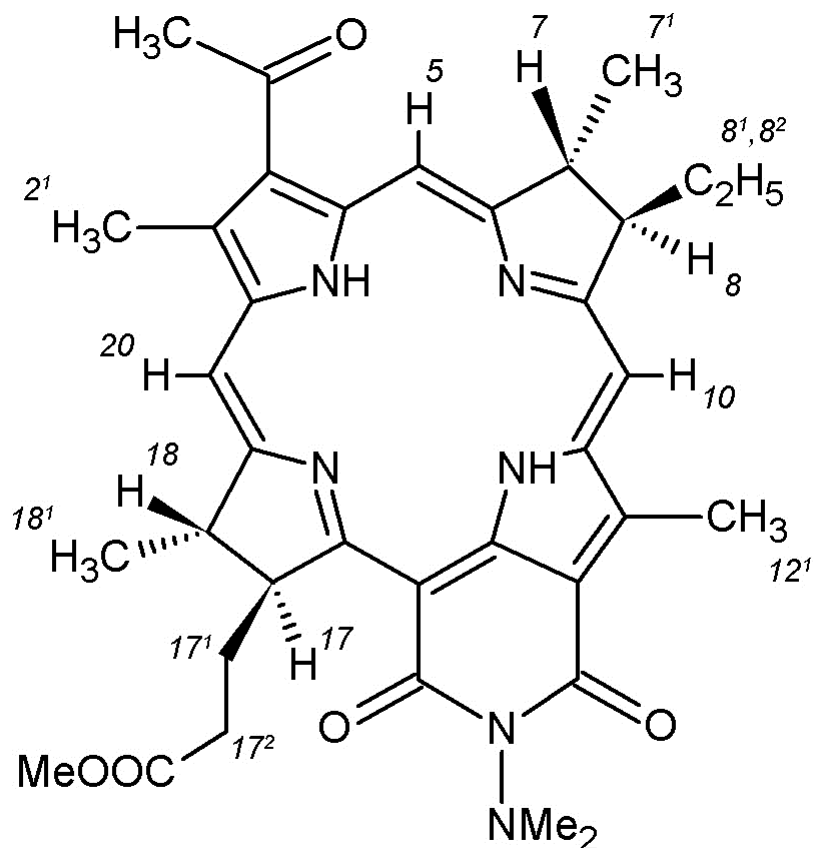


Рис. 28. Гетероядерная протон-углеродная корреляция J-НМВС. Пары кросс-пиков соответствуют взаимодействию протонов с углеродными атомами с дальними КССВ через 2-4 связи. Расстояние между кросс-пиками в пределах пары соответствует величине КССВ J_{CH} . Информация применяется для выявления позиций замещения и последовательности остатков.

ДВУМЕРНЫЕ СПЕКТРЫ ЯМР СОЕДИНЕНИЯ РЯДА БАКТЕРИОПУРПУРИНА

Синтетический (N',N'-диметил)-N-амино-бактериопур-
пуринимид (13,15-диметиламиноциклоимид бактериохлорина *p*)
имеет следующую структуру:



Структура подтверждена данными протонной спектроскопии ЯМР. В связи с тем, что большинство протонов спиново изолированы друг от друга для отнесения протонного спектра был использован спектр по наблюдению Ядерного Эффекта Оверхаузера во вращающейся системе координат (ROESY). С помощью анализа пространственных контактов в спектре ROESY также была подтверждена ориентация заместителей при углеродных атомах 7, 8, 17, 18.

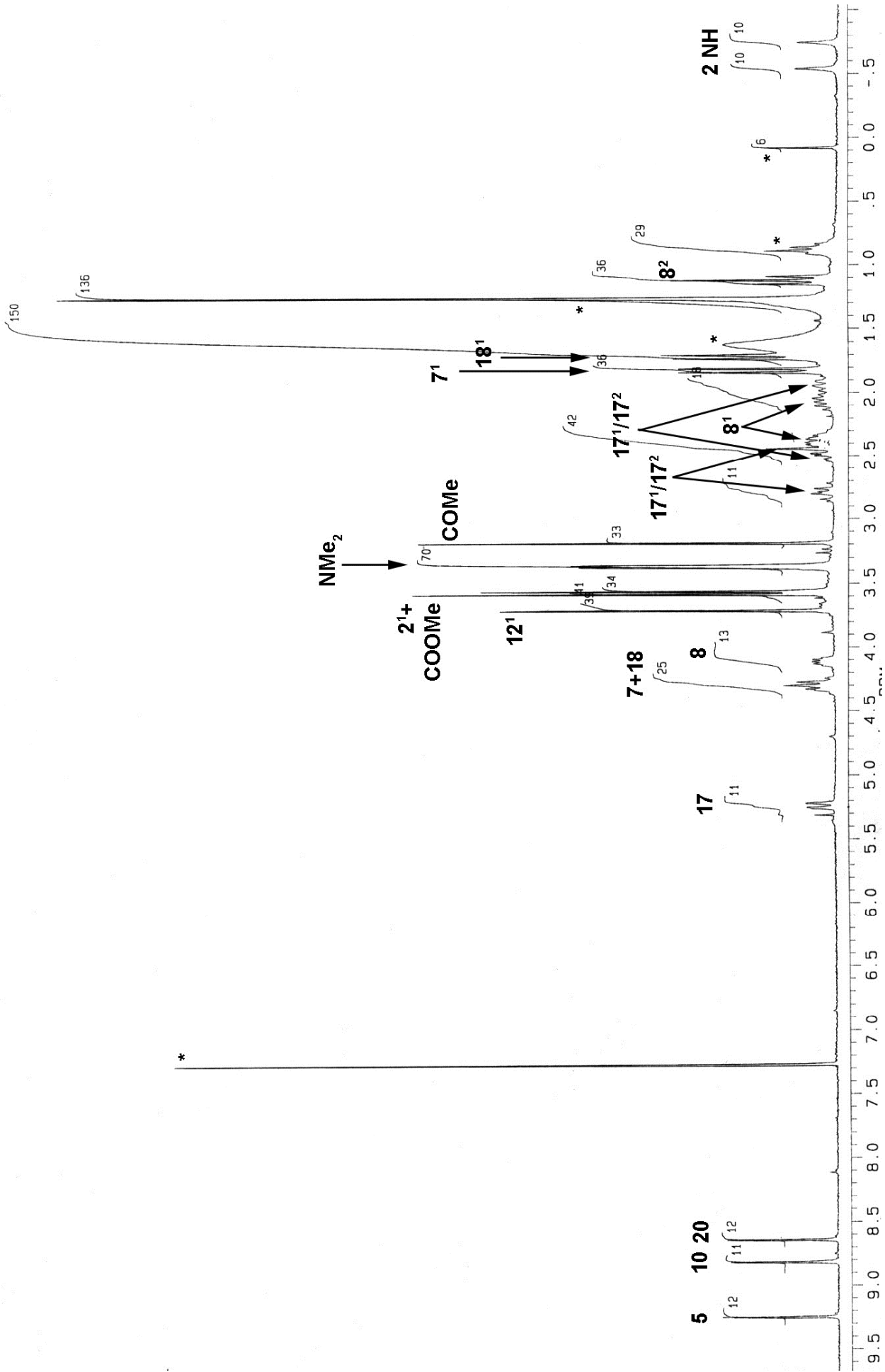


Рис. 29. Отнесение 250 МГц спектра ^1H ЯМР. Нумерацию атомов см. на предыдущей странице. Звездочками обозначены сигналы растворителя (остаточный CHCl_3) и примесей.

Протонный спектр приведен с отнесением. Отнесение всех кросс-пигов в приведенной части спектра ROESY предлагается сделать самостоятельно. При этом может быть полезен также спектр HSQC.

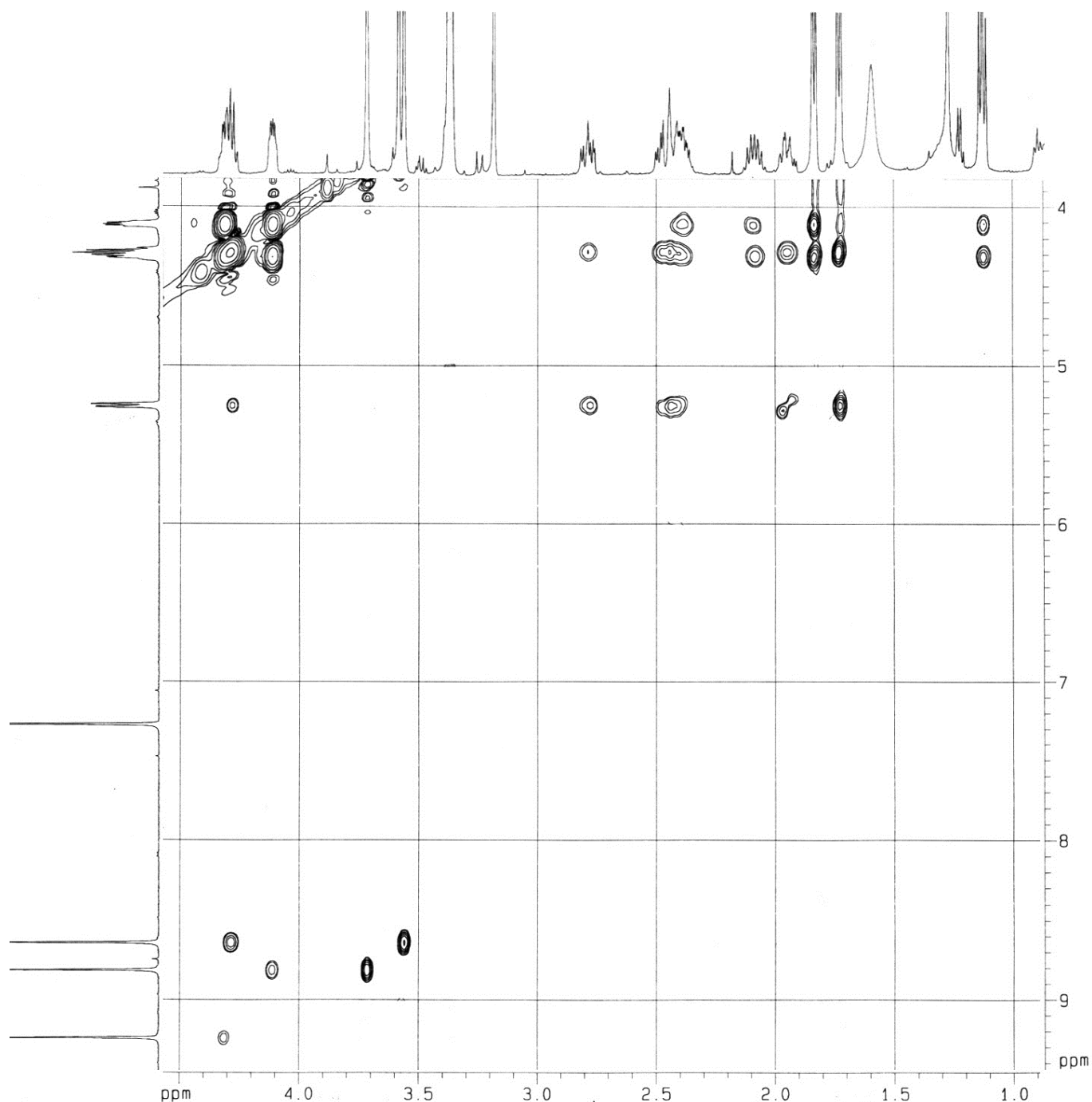


Рис. 30. Структурно значимая часть спектра 500МГц ROESY.

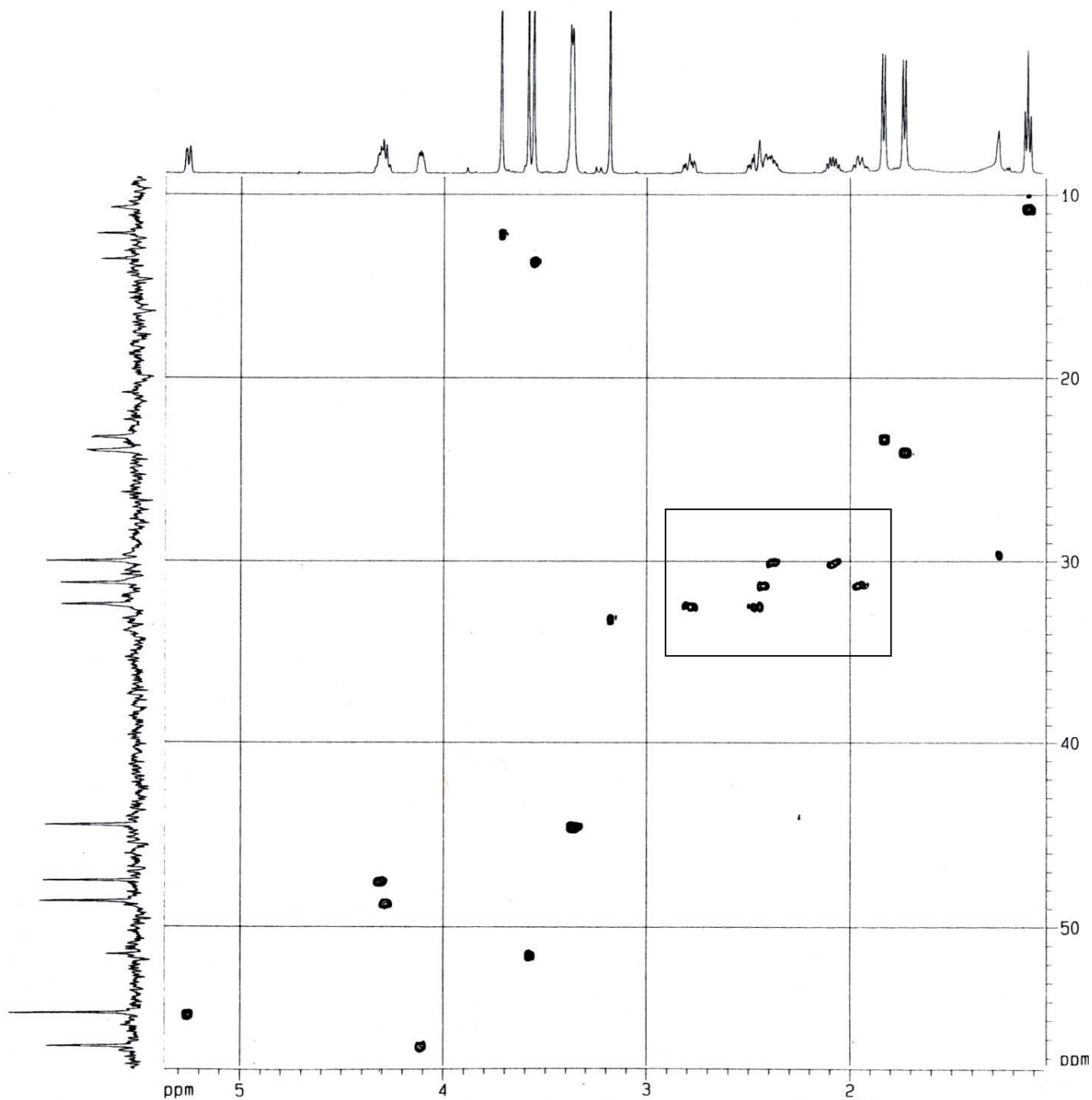


Рис. 31. Структурно значимая часть спектра 500МГц HSQC. Прямоугольником обведены кросс-пики, свидетельствующие о том, что протоны трех алифатических CH₂-групп магнитно неэквивалентны и представлены в протонном спектре отдельными сигналами.

Ф.В. Тоукач, П.А. Беляков

ПРИМЕНЕНИЕ ДВУМЕРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР
В ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ.

Учебное издание

Гл. редактор

Компьютерная верстка Ф.В. Тоукач

ЛР N 020816 от 20.09.93

Подписано в печать _____ . Формат _____

Бумага офсетная. Гарнитура Arial Cyr. Печать
офсетная. Уч.-изд.л. _____ Тираж 100

Заказ N _____

Издательско-полиграфический центр МИТХТ.
119571 Москва, пр. Вернадского 86