

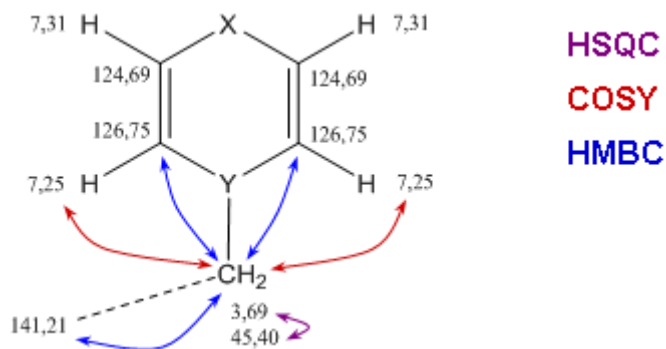
- b) Náhled do ^{13}C NMR spektra potvrzuje přítomnost šesti signálů v aromatické oblasti 100-155 ppm, což připouští přítomnost např. benzenového derivátu.
 - c) Krospíky v ^1H - ^{13}C HSQC spektru potvrzují $^1J_{\text{CH}}$ interakci signálu 7,31 ppm se signálem 124,69 ppm a signálu 7,25 ppm se signálem 126,75 ppm.
 - d) Krospík signálu 7,31 ppm se signálem 124,69 ppm i v ^1H - ^{13}C HMBC spektru ukazuje na interakci „těchto“ signálů nejen přes jednu vazbu, ale i přes více vazeb (u silného signálu nejčastěji přes 3 vazby), což je důsledkem symetrie. V molekule tedy existují minimálně dva chemicky ekvivalentní vodíky s posunem 7,31 ppm a uhlíky 124,69 ppm, které jsou odděleny ca. třemi vazbami. Analogické platí pro signál vodíku 7,25 ppm a signál uhlíku 126,75 ppm. (Viz též vysvětlení v bodu 7.c).
 - e) Ve spektru ^1H - ^{13}C HMBC není krospík mezi vodíkem 7,31 ppm a uhlíkem 126,75 ppm ani mezi vodíkem 7,25 ppm a uhlíkem 124,69 ppm. Takové krospíky by odpovídaly interakci přes dvě vazby, která je však často blízká nule a tudíž neposkytuje krospíky v běžném HMBC spektru. Nepřítomnost těchto krospíků tedy navržené strukturní fragmenty ani nepotvrzuje ani nevyvrací.
 - f) MS spektrum přítomnost benzenového či benzylového derivátu podporuje.
 - g) IČ spektrum přítomnost *para*-disubstituovaného benzenu podporuje.
2. Předpokládáme, že skutečná intenzita signálu 7,31 ppm je tedy 2H a všechny integrální hodnoty pracovně vynásobme čtyřmi.
3. Signál s chemickým posunem 3,69 ppm je singlet s intenzitou 2H. Chemický posun spadá mimo jiné do oblasti CH_2O , CH_2Cl či CH_2N skupin. U signálu jsou též patrné ^{13}C satelitní signály, z kterých lze získat hodnotu $^1J_{\text{HC}} = 133,1 \text{ Hz}$, která podporuje spíše skupinu CH_2N . Přítomnost satelitů navíc dokládá, že vodíky tohoto signálu jsou vázány na uhlík. Za zmínku též stojí fakt, že pokud se jedná o CH_2 skupinu, pak jsou vodíky spíše chemicky ekvivalentní nikoli diastereotopní. Tudíž se lze domnívat, že látka není chirální a nebo je chirální centrum od CH_2 skupiny velmi vzdálené.

Další indicie a noticky:

- a) Krospík v ^1H - ^1H COSY spektru viz bod 1.a.
- b) ^1H - ^{13}C HSQC spektra potvrzuje $^1J_{\text{CH}}$ interakci signálu 3,69 ppm se signálem 45,40 ppm, což je chemický posun spíše pro CH_2N než-li pro CH_2O . Negativní krospík dokazuje, že se jedná o CH_2 skupinu.
- c) Ve spektru ^1H - ^{13}C HMBC jsou intenzivní krospíky mezi vodíky 3,69 ppm a

uhlíky 141,21 a 126,75 ppm, které jsou důsledkem interakce přes dvě nebo tři vazby. Krosník s uhlíkem 126,75 ppm je pravděpodobně přes tři vazby, protože přes čtyři vazby je obvykle málo intenzivní a přes dvě vazby by skupina CH_2 musela být skupinou Y, kde by však byla očekávána zároveň interakce s uhlíkem 124,69 ppm (žádný takový krosník v HMBC není) a intenzivní krosníky v COSY (interakce přes tři vazby s vodíky 7,25 ppm), které jsou však pouze velmi málo intenzivní.

- d) Signál uhlíku 45,40 ppm v ^{13}C NMR spektru bez dekaplingu protonů je triplet tripletů s interakcemi 133,1 Hz a 4,1 Hz.
- e) MS spektrum nenaznačuje přítomnost ani Cl ani Br atomů, což vylučuje CH_2Br či CH_2Cl skupinu.



4. Málo intenzivní signál 2,50 ppm má multiplicitu 5 s poměrem píků 1:2:3:2:1 což je typický multiplét pro interakci s dvěma ekvivalentními jádry se spinem $I = 1$. Jedná se „jednoznačně“ o signál „zbytkového rozpouštědla“, tedy přirozené nečistoty perdeuterovaného DMSO, tedy o $\text{CHD}_2\text{SOCD}_3$. Velikost interakční konstanty $^2J_{\text{HD}} = 1,8$ Hz je v souladu s tabelovanými údaji.

Další indicie a noticky:

- a) ^{13}C spektrum obsahuje septet 1:3:6:7:6:3:1, což odpovídá interakci s jádrem s magnetickým jaderným spinem 1. Chemickým posunem 39,52 ppm a interakční konstantou $^2J_{\text{CD}} = 21,0$ Hz odpovídá CD_3SOCD_3 .
5. Za povšimnutí stojí fakt, že signál vody, která je nečistotou prakticky všech vzorků připravených běžným způsobem, není na své obvyklé pozici, kdy signál vody v CD_3SOCD_3 je typicky 3,3 ppm. Toto je typické pro látky podléhající rychlé chemické výměně vlastních protonů s protony vody. Je tedy pravděpodobné, že neznámá látka obsahuje „kyselé vodíky“, nejběžnějšími jsou OH, NH a SH.
 6. Velmi široký signál u 2,13 ppm s intenzitou 2H nemající krosník ^1H - ^{13}C HSQC spektru naznačuje přítomnost dvou OH skupin nebo dvou NH skupin nebo dvou SH nebo jedné

NH₂ skupiny či kombinace OH a NH s rychlou výměnou a podobně. Signál NH či NH₂ by byl od ostatních možností odlišitelný pozorováním ¹⁵N satelitů (¹J_{NH} = ca. 80-100 Hz), které však pro značnou šířku signálu pozorovány nejsou. Signál NH či NH₂ by mohl být dokázán krosním ¹H-¹⁵N HSQC, které bohužel měřeno nebylo.

Další indicie a noticky:

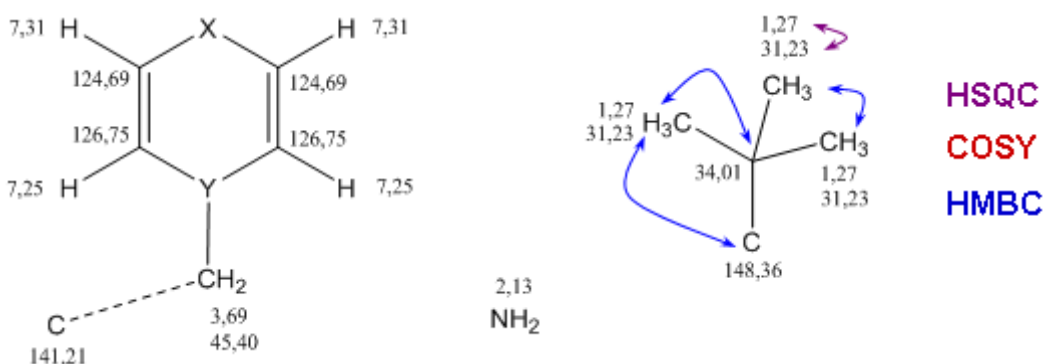
- a) Krosníky velmi širokých píků nemusí být v korelačních spektrech vůbec pozorovány neb budou také velmi široké a tudíž velmi nízké intenzity. Vazbu těchto protonů na uhlík tedy nelze zcela vyloučit. Protony na uhlících však dávají široké signály pouze u výjimečných struktur.
 - b) Skutečnost, že ve spektru chybí signál vody (viz bod 5.) dále podporuje přítomnost snadno vyměnitelných protonů (NH, OH, SH, COOH, SO₃H, aj.).
 - c) MS spektrum podporuje přítomnost CH₂NH₂ skupiny.
 - d) IČ spektrum podporuje přítomnost alifatického aminu.
7. Posledním signálem vodíkového spektra je singlet 1,27 ppm s intenzitou ca. 9,72H. Intenzitu signálu, která se výrazně liší od intenzity ostatních signálů (zde ca. 10H vs. 2H), je nezbytné posuzovat s opatrností. Odchylka integrální intenzity od skutečné hodnoty je při běžné měření ¹H NMR spekter i více než 10%. Pokud jsou všechny signály srovnatelné intenzity, není rozdíl významný. Zde to však může znamenat rozdíl jednoho vodíku. Též s ohledem k tomu, že signál 1,27 ppm je doprovázen nečistotou (viz spektrum), lze usuzovat, že skutečná intenzita bude nižší. Vzhledem k tomu, že signál je v oblasti methylových skupin, lze uvažovat intenzitu spíše na intenzitu násobků tří, tedy 9H. U signálu jsou též patrné ¹³C satelitní signály, z kterých lze získat hodnotu ¹J_{HC} = 125,5 Hz, která napovídá o navázání této skupiny na uhlíkový atom. Nejspíše se tedy jedná o signál tří ekvivalentních methylových skupin. Nejobvyklejší takovou skupinou je *t*-butyl.

Další indicie a noticky:

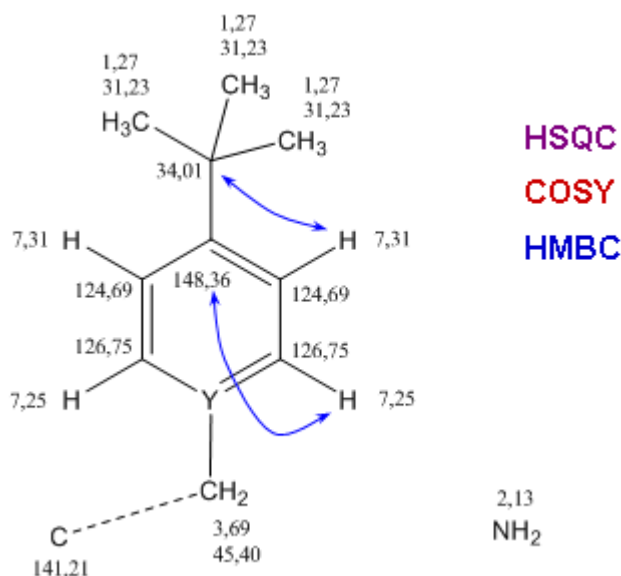
- a) ¹H-¹³C HSQC spektra potvrzuje ¹J_{CH} interakci se signálem 31,23 ppm, což je typický chemický posun pro alifatické uhlíky. Positivní pík potvrzuje přítomnost lichého počtu vodíkových atomů na tomto uhlíku. Z chemického posunu se bohužel nelze přiklonit k jedné z možností neb typické hodnoty pro CH₃ jsou 0-40 ppm a pro CH jsou 15-50 ppm.
- b) ¹³C NMR spektrum kvartet septetu (*J*_{CH} = 125,5 a 4,8 Hz), což opět vede k domněnce *t*-butyl, kde ¹³C uhlík bude štěpen vlastními vodíky na kvartet a šesti

sousedními vodíky na septet.

- c) V ^1H - ^{13}C HMBC spektru je silný krosník mezi ^1H signálem 1,27 ppm a ^{13}C signálem 31,23 ppm, což je důkaz interakce mezi “chemicky ekvivalentními” skupinami přes více vazeb (typicky přes 2-4 vazby) například ve skupině $^{13}\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$ či $^{13}\text{CH}_3\text{-N-CH}_3$ nebo $^{13}\text{CH}_3\text{-C-(CH}_3)_2$ či $^{13}\text{CH}_3\text{-N}^+\text{-(CH}_3)_2$.
- d) Krosník vodíku 1,27 ppm s uhlíkem 34,01 ppm v ^1H - ^{13}C HMBC může být jak interakcí přes dvě vazby v případě *t*-butylové skupiny nebo přes tři vazby pro případ dimethylaminové skupiny. Chemický posun uhlíku odpovídá kvartérnímu uhlíku *t*-butylové skupiny vázané na uhlík.
- e) Krosník v ^1H - ^{13}C HMBC spektru se signálem 148,36 ppm pak je posunem v aromatické oblasti a je vzdálen od vodíku 1,27 ppm přes tři vazby.
- f) MS spektrum podporuje přítomnost *t*-butylové skupiny.
- g) IČ spektrum podporuje přítomnost *t*-butylové skupiny.

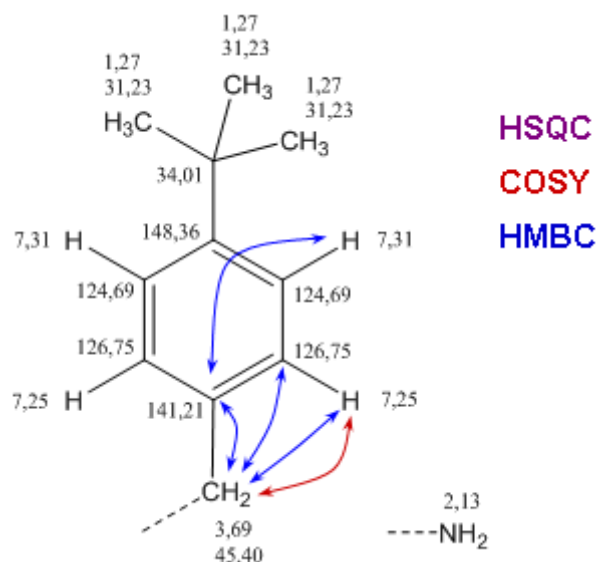


8. Signál 148,36 ppm je obtížně interpretovatelným multipletem. Chemickým posunem spadá do oblasti aromatických uhlíků. V ^1H - ^{13}C HMBC spektru jsou krosníky se signálem 7,25 ppm (2H) a signálem 1,27 ppm (9H), dle čehož by měl být signál tripletem dekapletu, což pozorování širokého multipletu vysvětluje. Za předpokladu, že zásadní jsou interakce přes tři vazby, lze navrhnout následující strukturu.

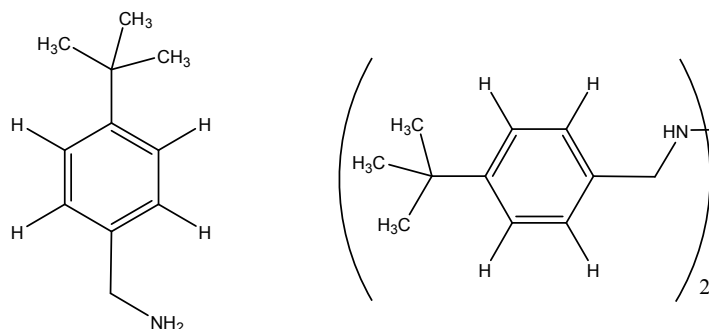


Další indicie a noticky:

- Nepřítomnost krosníku mezi uhlíkem 148,36 ppm a vodíkem 7,31 ppm není neobvyklá neb hodnota $^2J_{\text{CH}}$ je často blízká nule.
 - Naproti tomu interakce mezi uhlíkem 148,36 ppm a vodíkem 7,25 ppm je očekávána neb uspořádání trans (dihedrál ní úhel 180°) vede obvykle k velké interakční konstantě, $^3J_{\text{CH}}$ ca. 8 Hz.
 - Strukturu dále dokazuje přítomnost interakce mezi vodíkem 7,13 ppm a uhlíkem 34,01 ppm.
9. Signál 141,21 ppm je triplet tripletů s $J_{\text{CH}} = 6,8$ a 4,5 Hz, což potvrzují krosníky v ^1H - ^{13}C HMBC se dvěma signály 7,31 a 3,69 ppm intenzity 2H a 2H. Krosník v ^1H - ^{13}C HMBC spektru se vodíkem 7,31 ppm vedou k umístění tohoto uhlíku do benzenového kruhu (místo Y), kdy tato interakce přes tři vazby je očekávána, zatímco nepřítomnost interakce přes dvě vazby s vodíky 7,25 ppm nepřekvapí. Krosník v ^1H - ^{13}C HMBC spektru s vodíkem 3,69 ppm pak nenabízí jednoznačnou informaci, neboť nevíme, zda je důsledkem interakce přes dvě nebo tři vazby. Avšak intenzivní krosník mezi 3,69 ppm a 126,75 ppm nabízí prakticky jedinou možnost.



10. V této fázi jsou další možnosti stanovení struktury z daných NMR spekter vyčerpány. K dalšímu zpřesnění struktury pomocí NMR by bylo nejsnadnější změřit vzorek při vyšší teplotě, čímž dojde ke zrychlení chemické výměny a široké signály se stávají užšími, a bylo by tedy snad možné získat krosníky vodíků NH₂ skupiny s uhlíky v ^1H - ^{13}C HMBC spektru. Zúžení signálu by též mohlo umožnit pozorování ^{15}N satelitů, a potvrdit tak přítomnost NH₂ skupiny. Dále by bylo vhodné změřit ^1H - ^{15}N HMBC spektrum (rovněž při vyšší teplotě) a získat korelace mezi dusíkem a vodíky. Vhodné by též bylo změřit ^1H NMR spektrum neznámé látky v takovém rozpouštědle a koncentraci a teplotě, aby byla pozorována multiplicita CH₂ způsobená interakcí s aminoskupinou, kdy tripletový signál by potvrdzoval CH₂NH₂ skupinu zatímco dublet by potvrdzoval CH₂NH skupinu.
11. Pokud již není možné získat další NMR experimenty, zbývá ještě pokus o uhádnutí struktury kvalifikovaným odhadem, který je založen na porovnání experimentálních hodnot neznámé látky s predikovanými hodnotami pro konkrétní strukturu, kdy rozdíl jednotlivých chemických posunů ^1H do 0,3 ppm a ^{13}C do 2 ppm je považován za běžnou odchylku. Ještě přesnější by bylo porovnání s hodnotami, které jsou pro danou látku publikovány, kdy je nutno brát zřetel zejména na použití stejného rozpouštědla.
V bodu 6. byla s pomocí IR a MS navržena spíše přítomnost NH₂ než dvou chemicky ekvivalentních NH skupin, avšak vyloučit tuto možnost prozatím nelze. Pokud vyloučíme látky neběžné molekulární struktury, nabízí se buď amin nebo hydrazin.



Chemické posuny ¹H

Neznámá látka	Predikce pro amin		Predikce pro hydrazin	
1,27	1,34	+ 0,07	1,34	+ 0,07
7,31	7,37	+ 0,06	7,38	+ 0,07
7,25	7,17	- 0,08	7,34	+ 0,09
3,69	3,96	+ 0,27	4,05	+ 0,36
2,13	1,95	- 0,18	2,38	+ 0,25

Chemické posuny ¹³C

Neznámá látka	Predikce pro amin		Predikce pro hydrazin	
31,23	31,16	- 0,07	31,16	- 0,07
34,01	34,52	+ 0,51	34,53	+ 0,52
148,36	150,05	+ 1,69	150,25	+ 1,89
124,69	125,15	+ 0,46	125,43	+ 0,74
126,75	127,52	+ 0,77	126,87	+ 0,12
141,21	142,83	+ 1,62	137,07	- 4,14
45,40	45,71	+ 0,31	55,17	+ 9,77

Z porovnání experimentálních a predikovaných chemických posunů ¹H a ¹³C lze vcelku snadno rozhodnout ve prospěch aminu, u kterého se všechny predikované chemické posuny významně neliší od experimentálních hodnot neznámé látky, zatímco predikované chemické posuny hydrazinu se významně liší, zejména chemickým posunem ¹³C pro CH₂ skupinu. Je však nezbytné vzít v potaz, že chemické posuny NH či NH₂ skupin, jakož i jader v nejbližším okolí, vždy velmi závisí na pH (stopy kyselin či bází), teplotě a koncentraci.

12. Zásadní roli v této fázi strukturní analýzy přebírá hmotnostní spektroskopie, kterou lze stanovit molekulovou hmotnost a tím i rozhodnout mezi strukturou aminu a hydrazinu, jakož i vést k návrhu méně běžné struktury.