

**Schriftliche Prüfung BSc
Herbst 2012****D – CHAB/BIOL****Musterlösung**

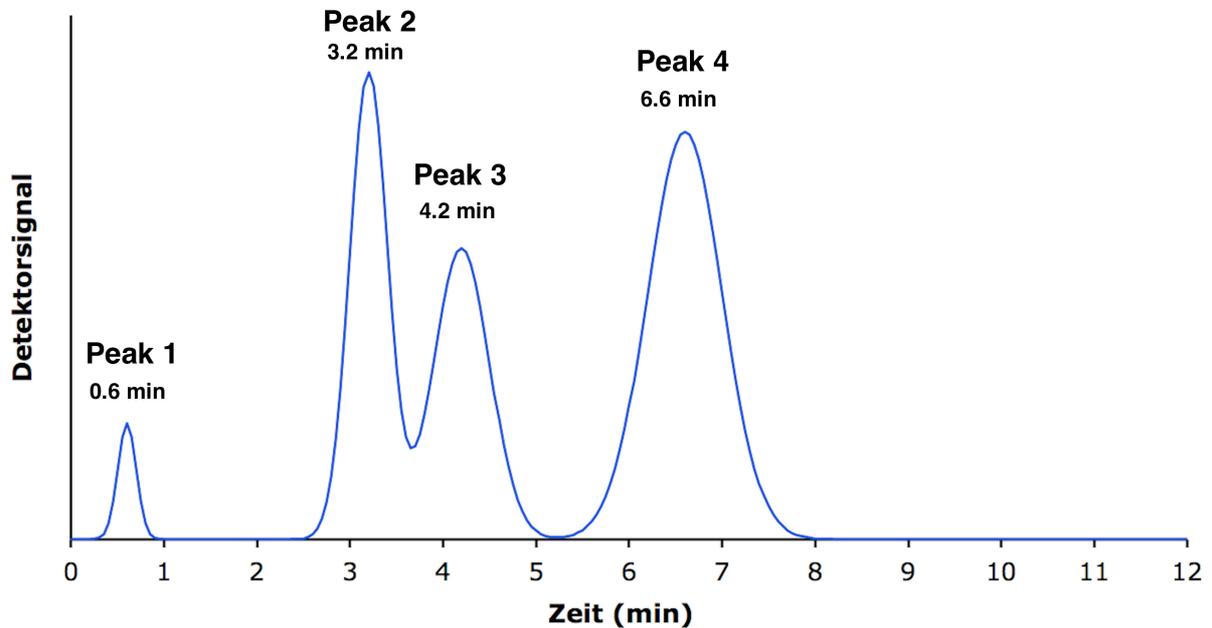
für den Teil Spektroskopie

Vorname:..... Name:.....

- ◆ Jede Aufgabe wird separat bewertet. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt **36**. Die Maximalnote wird mit mindestens **30** Punkten erreicht.
- ◆ Zeit: **60 Minuten**. Teilen Sie sich Ihre Zeit gut ein!
- ◆ Unleserliche Texte, unklare Formulierungen oder unsaubere Skizzen können nicht bewertet werden. Bitte bemühen Sie sich um eine saubere Darstellung.
- ◆ Schreiben Sie jedes abzugebende Blatt einzeln mit Ihrem Namen an.
- ◆ Dieses Deckblatt ist ausgefüllt abzugeben.
- ◆ Wir bitten Sie um Fairness: Disziplinarverordnung RSETH 361.1
- ◆ Viel Erfolg!

Aufgabe 1 6 Punkte

Eine HPLC-Trennung liefert folgendes Chromatogramm mit den Peaks 1–4, wobei Peak 1 das Signal einer nicht retentierten Inertsubstanz ist.

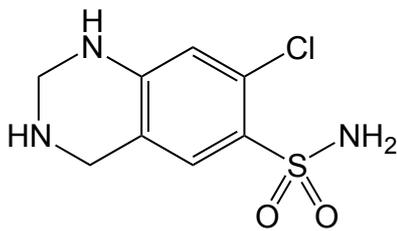


- Berechnen Sie die Auflösung der Peaks 2 und 3 sowie die Auflösung der Peaks 3 und 4. Skizzieren oder beschreiben Sie, wie Sie die für die Berechnungen notwendigen Größen bestimmt haben.
- Erklären Sie, was die beiden berechneten Auflösungen aussagen. Vergleichen Sie hierzu mit dem Chromatogramm.
- Bestimmen Sie die theoretische Bodenzahl für Peak 4.
- Wie können Sie die theoretische Bodenzahl in der HPLC beeinflussen bzw. ändern?

Achten Sie darauf, dass die Rechenwege bei den Fragen a und c nachvollziehbar sind.

Aufgabe 2 12 Punkte

Ein bekannter luxemburgischer Radrennfahrer wurde positiv auf die Substanz Xipamid getestet und deshalb von der Tour de France 2012 ausgeschlossen. Xipamid gehört zur Gruppe der Thiaziddiuretika und ist ein harntreibendes Mittel, welches eingesetzt werden kann, um die Konzentration von Wirkstoff-Metaboliten in Urinproben unter die Nachweisgrenze zu „verdünnen“ und so die Einnahme von Dopingmitteln zu verschleiern. Im Folgenden sind einige Strukturen solcher diuretischer Wirkstoffe gegeben.



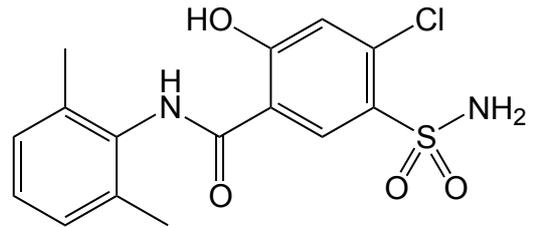
Hydrochlorothiazid

297.74 g mol⁻¹

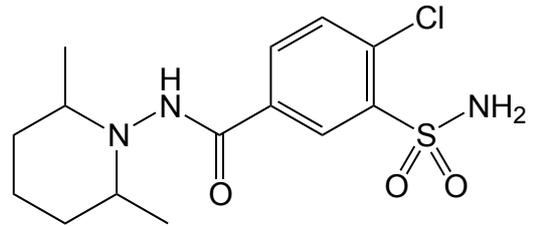
Schmelzpunkt: 274°C

pK_s-Wert: 7.9

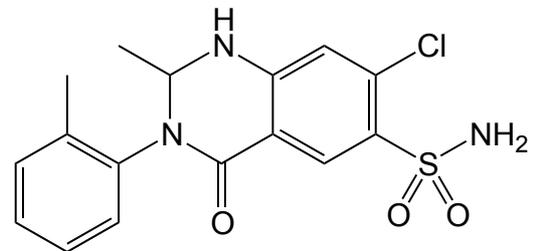
Löslich in Wasser und Aceton,
wenig löslich in Alkoholen,
unlöslich in anderen org. Lösungsmitteln



Xipamid



Clopamid



Metolazon

Für die Leitsubstanz Hydrochlorothiazid wurden einige physikalisch-chemische Eigenschaften angegeben. Gehen Sie für die anderen Wirkstoffe von ähnlichen Eigenschaften aus.

Sie haben die Aufgabe, Thiaziddiuretika in Urinproben nachzuweisen und arbeiten in einem mit HPLC, Ionenchromatographie und GC ausgestatteten Labor.

a) Fragen zur HPLC

- a1) Ist die HPLC Ihrer Meinung nach eine zur Bestimmung von Thiaziddiuretika geeignete Methode? Begründen Sie.
- a2) Falls Sie Frage a1 mit Ja beantworten, schlagen Sie eine stationäre und eine mobile Phase vor. Begründen Sie. Handelt es sich bei Ihrem Vorschlag um eine Normalphasen- oder Umkehrphasenchromatographie?
- a3) Unabhängig davon, ob Sie die HPLC als geeignet oder ungeeignet erachten, schlagen Sie einen HPLC-Detektor ausser der Massenspektrometrie zum Nachweis von Thiaziddiuretika vor. Begründen Sie.

b) Fragen zur Ionenchromatographie

- b1) Ist die Ionenchromatographie Ihrer Meinung nach eine zur Bestimmung von Thiaziddiuretika geeignete Methode? Begründen Sie.
- b2) Falls Sie Frage b1 mit Nein beantworten: Könnte die Ionenchromatographie mittels einer besonderen Probenvorbereitung oder besonderer Chromatographie-Bedingungen hier trotzdem zum Einsatz kommen? Machen Sie einen Vorschlag und begründen Sie.

c) Fragen zur GC

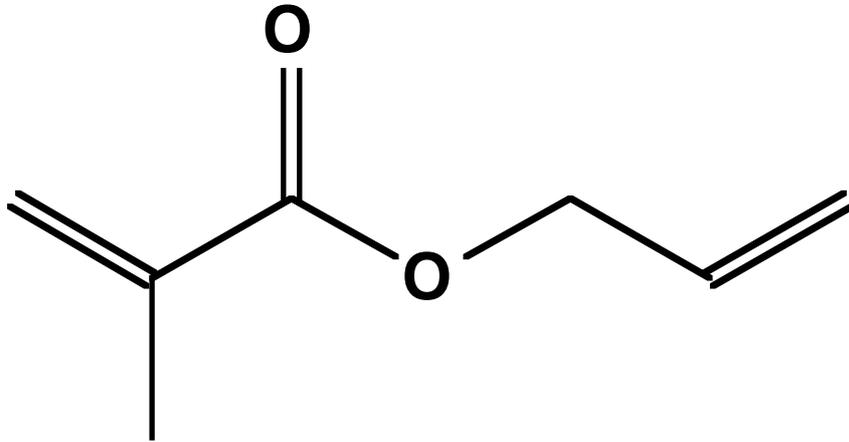
- c1) Ist die GC Ihrer Meinung nach eine zur Bestimmung von Thiaziddiuretika geeignete Methode? Begründen Sie.
- c2) Falls Sie Frage c1 mit Nein beantworten: Könnte die GC mittels einer besonderen Probenvorbereitung oder besonderer Chromatographie-Bedingungen hier trotzdem zum Einsatz kommen? Machen Sie einen Vorschlag und begründen Sie.
- c3) Unabhängig davon, ob Sie die GC als geeignet oder ungeeignet erachten, schlagen Sie einen GC-Detektor ausser der Massenspektrometrie zum Nachweis von Thiaziddiuretika vor. Begründen Sie.

d) Frage zur Probenvorbereitung

Bei solchen Dopingtests müssen sehr kleine Konzentrationen im Spurenbereich nachgewiesen werden. Nennen Sie mindestens zwei Probenvorbereitungsmethoden, die allgemein zum Aufkonzentrieren von Analyten eingesetzt werden können.

Aufgabe 3 12 Punkte

Auf den folgenden Seiten finden Sie das IR-, Massen-, ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **A51**. Sie hat folgende Konstitution:

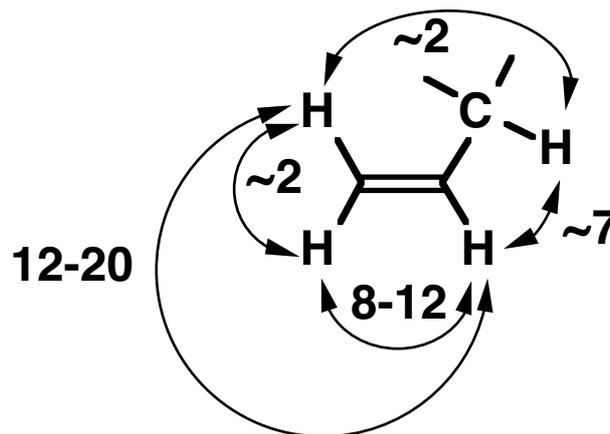


Die Verbindung hat die relative Molmasse $M_r = 126$.

Hinweise zum ^1H -NMR-Spektrum:

Die Protonen, die an C-Atome gebunden sind, von denen eine Doppelbindung ausgeht, koppeln nicht nur mit Protonen in drei Bindungen Abstand. Sie spüren auch noch Protonen in vier Bindungen Entfernung, sofern die Doppelbindung eine dieser vier Bindungen ist. **Diese Kopplung heisst allylisch**. Die Kopplung ist aber sehr klein. Sie kann gerade noch zu Signalaufspaltungen führen. Bei Signalen mit grossem Integral hingegen verursacht sie nur noch eine Linienverbreiterung.

Folgende Figur zeigt einige typische Kopplungskonstanten (in Hz) im Zusammenhang mit Doppelbindungen:



In den gedehnten Teilen des ^1H -NMR-Spektrums entspricht 1 mm etwa 3 Hz.

- a) Ordnen Sie die Protonen den Signalen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu. Eine Begründung ist nicht notwendig. Die Protonen einer endständigen CH_2 -Gruppe sind bereits den Signalen bei 6,15 und 5,6 ppm zugeordnet (siehe Spektrum). **5 Punkte**

Siehe Spektrum. Die obige Figur gibt einen klaren Hinweis, wie die beiden Protonen an der endständigen CH_2 -Gruppe zugeordnet werden. Sie koppeln im Wesentlichen mit dem Proton bei 5,95 ppm, was zu zwei Dubletten führt. Die grössere Kopplung erwartet man für die *trans*-Anordnung der Protonen (aktuell ca. 17 Hz), die kleinere für *cis* (ca. 10 Hz). Die Protonen untereinander koppeln über zwei Bindungen mit ca. 2 Hz, ebenso mit den Protonen der CH_2 -Gruppe bei 4,65 ppm über vier Bindungen mit ca. 2 Hz. Das bewirkt die Feinaufspaltung der Linien. Die gemeinsame Zuordnung der beiden Protonen zum Signal mit Integral 2 um 5,3 ppm ergab 1 Punkt.

(Für Freaks: Es mag erstaunen, dass eine Kopplung über nur zwei Bindungen zu einer Kopplungskonstante von 2 Hz führt, was sonst nur für Kopplungen über mehr als drei Bindungen typisch ist. Der Grund ist hier, dass Kopplungskonstanten ein relatives Vorzeichen haben. Bei Betrachtungen erster Ordnung macht sich das Vorzeichen nicht bemerkbar. Geminale Kopplungen über die Bindungen einer $=\text{CH}_2$ -Gruppe zeigen Kopplungskonstanten im Bereich von -4 Hz bis 4 Hz. Da ist der Wert null in der Mitte und wird entsprechend häufig bedient.)

- b) Das Signal im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei 6 ppm ist in mehrere Linien aufgespalten. Wieviele Linien erwarten Sie, wenn das System erster Ordnung ist und keine Linien zufällig überlagert? Begründen Sie Ihre Ansicht. **2 Punkte**

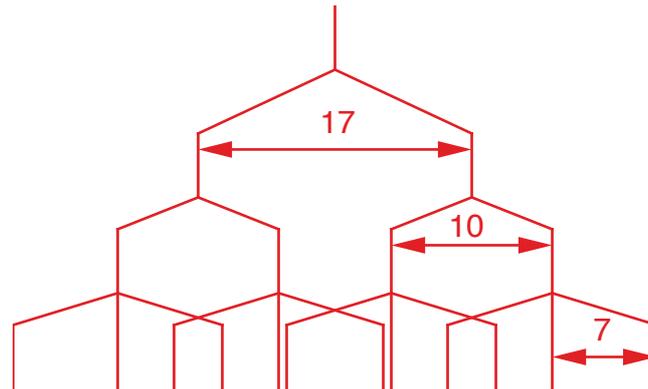
Kopplungspartner:

5,35 ppm, 1 Proton, Dublett, Kopplungskonstante ca. 17 Hz

5,25 ppm, 1 Proton, Dublett, Kopplungskonstante ca. 10 Hz

4,65 ppm, 2 Protonen, Triplet, Kopplungskonstante ca. 7 Hz

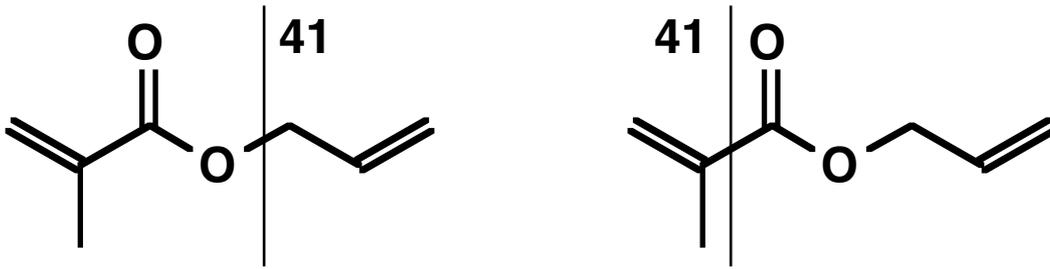
Kopplungsmuster: Dublett von Dublett von Triplet, $2 \times 2 \times 3 = 12$ Linien



- c) Jemand empfiehlt Ihnen, im IR-Spektrum die Präsenz einer Bande bei 720 cm^{-1} zu überprüfen. Welche Schlüsse ziehen Sie beim Betrachten des IR-Spektrums? **1 Punkt**

Die Lage von 720 cm^{-1} liegt mitten in einem Sperrgebiet des Chloroforms und kann daher nicht interpretiert werden.

- d) Der zweithöchste Peak im Massenspektrum mit m/z 41 lässt sich auf zwei unterschiedliche Arten durch eine direkte Fragmentierung erklären:



Spekulieren Sie, welche Version den grösseren Anteil am Signal hat. Wenden Sie für beide Fälle die Fragmentierungsregeln erschöpfend an. Ist eine Entscheidung überhaupt möglich?
4 Punkte

Linkes Beispiel:

Regel III: steuernde Gruppe: rechte C=C-Doppelbindung

Regel V: steuerndes Heteroatom: rechtes O-Atom

Rechtes Beispiel:

Regel IV: steuerndes Heteroatom: linkes O-Atom

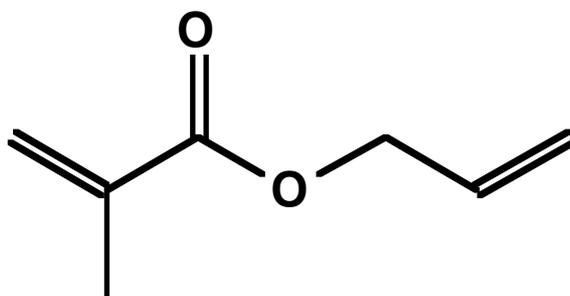
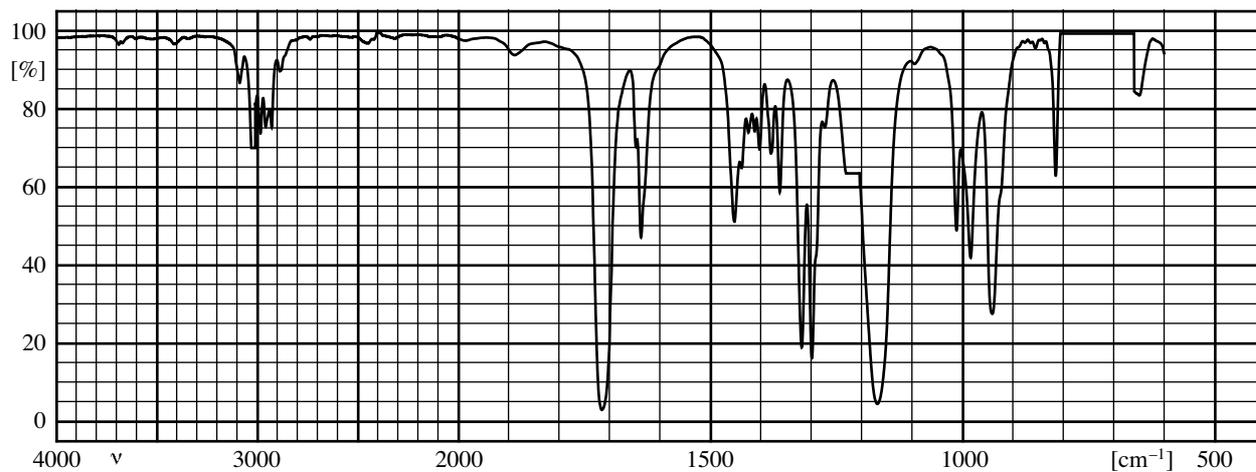
Regel IV: steuerndes Heteroatom: rechtes O-Atom

Für beide Versionen gibt es zwei Regeln, die den Bruch begünstigen. Ohne vertiefte Analyse (ausserhalb unseres Anwendungsbereichs) lässt sich nicht entscheiden.

Bewertung: 1 Punkt für jede angewandte Regel.

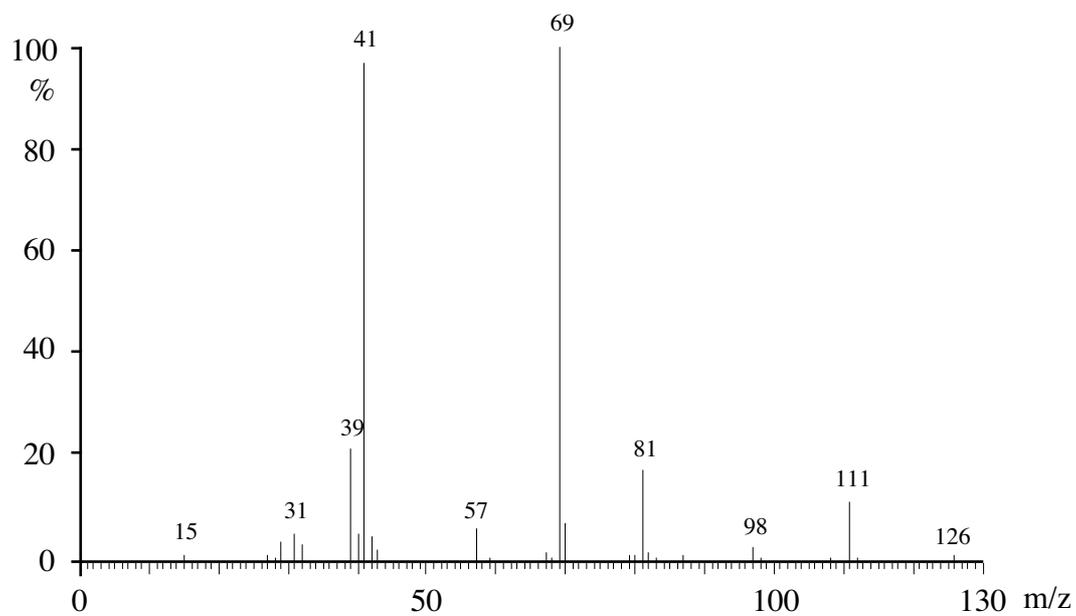
IR: aufgenommen als Chloroform-Lösung

A51



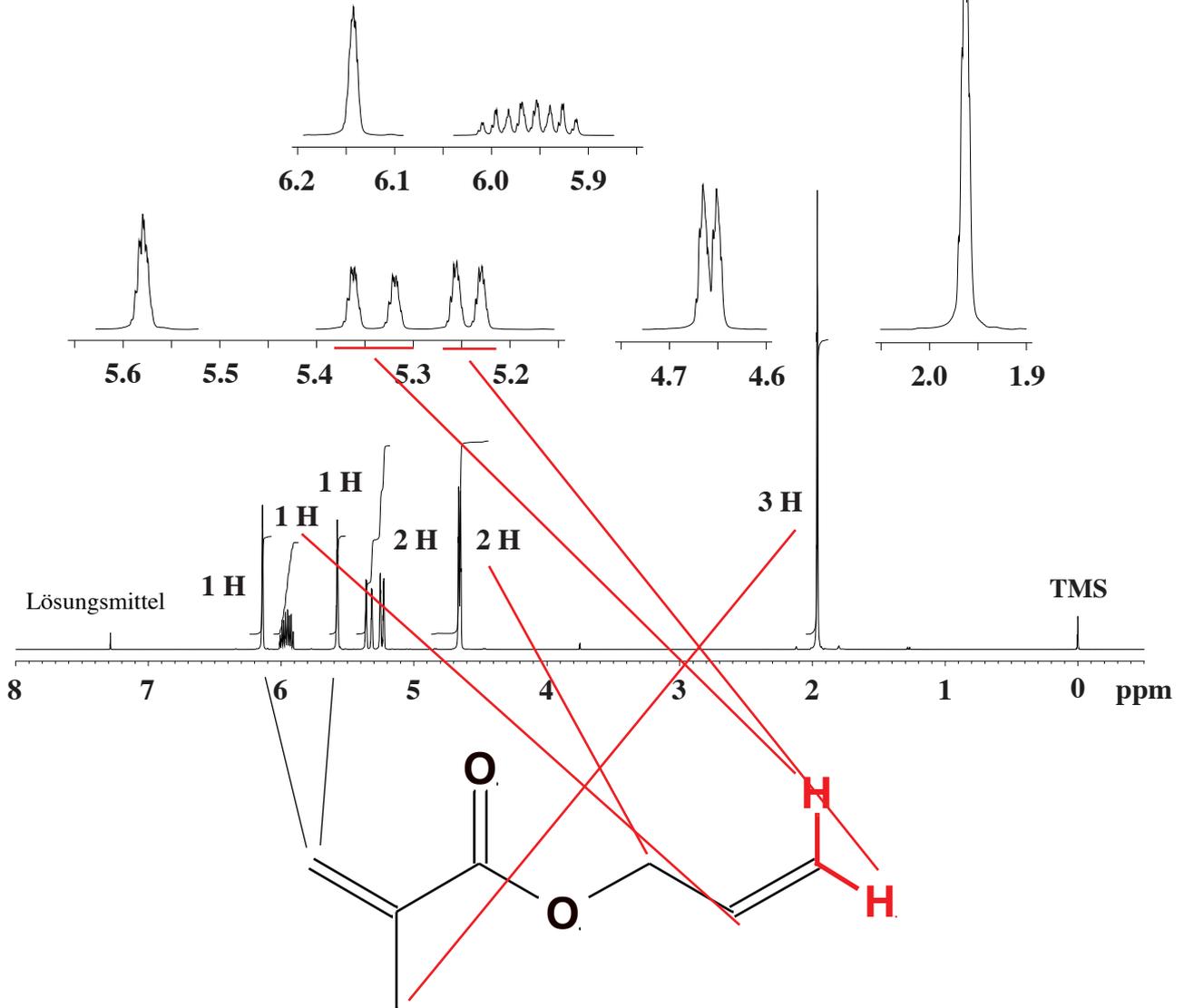
MS: EI, 70 eV

A51

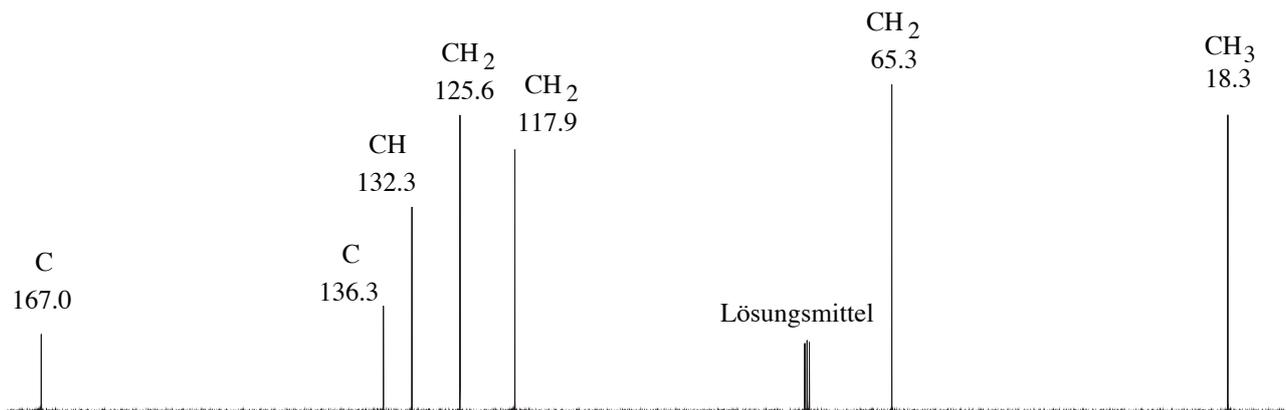


$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, aufgenommen in CDCl_3

A51



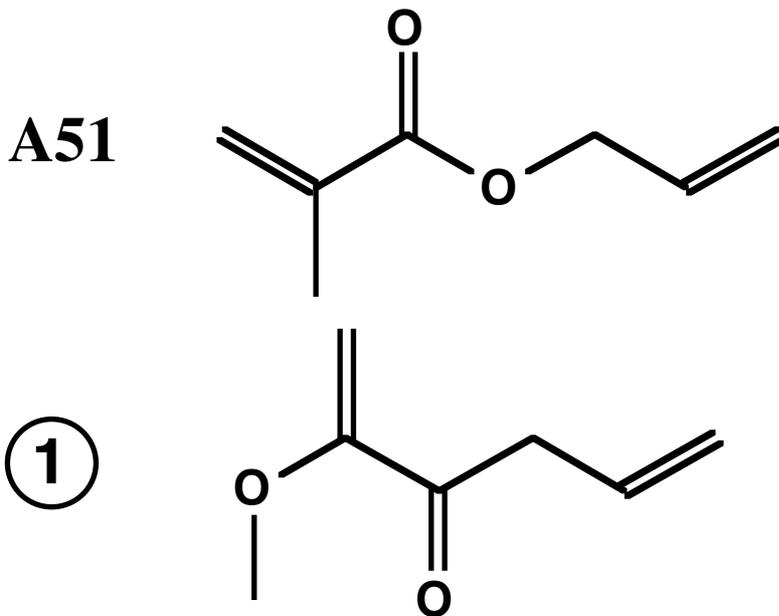
$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, protonen-breitbandentkoppelt aufgenommen in CDCl_3



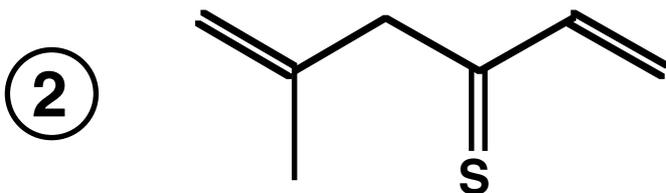
Aufgabe 4 6 Punkte

Für die Verbindung **A51** werden die alternativen Strukturen 1 bis 3 vorgeschlagen. Finden Sie für jede Alternative mindestens zwei spektroskopische Argumente, die gegen sie sprechen. Ihnen stehen nur die Spektren und die jeweils falsche Struktur zur Verfügung. Vergleiche mit der richtigen Struktur sind unzulässig.

(1 Punkt für jedes Argument, maximal 2 Punkte pro Alternative.)

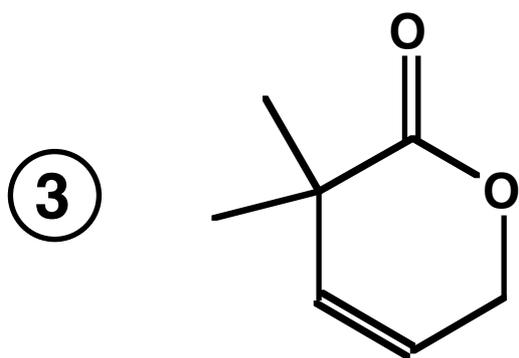


- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste ein Singlett mit Integral 3 bei etwa 4 ppm erscheinen.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt das Signal bei 2 ppm mit Integral 3 eine Feinstruktur, die nicht zu erklären ist
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste die CH_3 -Gruppe eine chemische Verschiebung von etwa 50 ppm haben.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste ein Dublett mit Integral 2 bei deutlich unter 4 ppm erscheinen.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste eine CH_2 -Gruppe bei deutlich unter 50 ppm erscheinen.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigen die Signale bei 6.15 ppm und 5.6 ppm eine Feinstruktur, die nicht zu verstehen ist.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste die Carbonylgruppe bei einer chemischen Verschiebung von über 180 ppm erscheinen.



- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste ein Singlett mit Integral 2 unterhalb von 3 ppm erscheinen. Durch allylische Kopplungen kann das Signal eine Feinstruktur haben.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste eine CH_2 -Gruppe bei unter 40 ppm erscheinen.

- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist das Multiplett bei 5.95 ppm nicht zu verstehen. Es wäre stattdessen ein Dublett von Dublett zu erwarten.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigen die Signale bei 5.35 ppm und 5.25 ppm eine Feinstruktur, die nicht zu verstehen ist.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste für die Thiocarbonylgruppe ein Signal bei einer chemischen Verschiebung oberhalb von 200 ppm erscheinen.
- Im Massenspektrum ist der Basispeak nicht zu erklären.
- Im Massenspektrum ist das starke Signal bei m/z 41 durch keine Fragmentierungsregel gestützt.
- Im IR-Spektrum ist die Bande bei 1710 cm^{-1} nicht zu erklären.



- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheinen die Signale von 5 Protonen oberhalb von 5 ppm. Zu erwarten sind nur 2.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste oberhalb von 5 ppm ein Dublett mit Integral 1 erscheinen, allenfalls mit einer Feinstruktur durch allylische Kopplungen.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste oberhalb von 5 ppm ein Dublett von Triplet mit Integral 1 erscheinen.
- Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum müsste Singlett ohne Feinstruktur mit Integral 6 erscheinen.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum sind die Signale für CH_2 -Gruppen oberhalb von 100 ppm nicht zu verstehen.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müssten 2 Signale für CH -Gruppen oberhalb von 100 ppm erscheinen.
- Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum müsste 1 Signal für ein C unterhalb von 50 ppm erscheinen. Das Signal bei 136.3 ppm ist nicht zu verstehen.

Für Vorhersagen des Massenspektrums wurden keine Punkte vergeben. Die in der Vorlesung vorgestellten Regeln dürfen nur auf den ersten Schritt einer Reaktion angewandt werden. Bei einer Verbindung mit einem grossen Ring ist dies eine Ringöffnung. Dadurch entstehen aber noch keine Fragmente. Für nachfolgende Reaktionen wurden keine Regeln vorgestellt.