

Konformationsanalytische und
titrationsabhängige Untersuchungen an
Aminocarbonsäuren und Carbonsäuren –
Referenzierungsproblematik in der modernen
Fluor-NMR-Spektroskopie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Diplom-Chemiker Carsten Eric Uhlemann
aus Leverkusen

Düsseldorf 2002

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. G. Hägele

Korreferent: PD. Dr. S. Kubik

Tag der mündlichen Prüfung: 19.06.2002

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juli 1999 bis Mai 2002 am Lehrstuhl I für Anorganische Chemie und Strukturchemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. G. Hägele

erstellt.

Für Themenstellung, persönliche Betreuung und großzügige Unterstützung danke ich meinem Doktorvater herzlich.

Weiterhin bedanke ich mich bei

Herrn Privatdozent Dr. S. Kubik

für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Professor Dr. G. Haufe (Westfälische Wilhelms-Universität Münster), Frau Professor Dr. U. Holzgrabe (Bayerische-Maximilians-Universität Würzburg) und Herrn Dr. K. Naumann (Bayer AG, Monheim) für die Bereitstellung der Modellsubstanzen.

Desweiteren danke ich Herrn Dr. M. Spraul und Herrn J. Ganz (beide Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten) sowie Herrn M. Davies (KNF FLODOS AG, Sursee) für die konstruktive Unterstützung beim Aufbau des Titrationssystems.

Allen Mitarbeitern des Instituts gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Teile dieser Arbeit wurden bereits vorab veröffentlicht:

Vorträge:

C. Uhlemann, G. Hägele, "Analytische und Kernresonanzspektroskopische Untersuchung an fluorierte Aminocarbonsäuren“, Interuniversitäre Vorlesungen Wuppertal-Düsseldorf, 30. Juni 2000

C. Uhlemann, G. Hägele, "NMR-kontrollierte Titration“, Interuniversitäre Vorlesungen Wuppertal-Düsseldorf, 30. Juni 2000

C. Uhlemann, S. Augner, G. Hägele, "NMR-kontrollierte Titrations - Innovation oder altbekannte Meßmethode?", GDCh-Fachgruppentagung "Praktische Probleme der Kernresonanzspektroskopie", 15. bis 16. Januar 2001 in Bochum

G. Hägele, "NMR controlled Titrations“, ANZMAG 2002, 11. bis 17. Februar 2002 in Taupo, New Zealand

Poster:

C. Uhlemann, G. Hägele, K. Laue, M. Lübke and G. Haufe, "Structure And pK_a -Data Of Some γ -Fluoro- α -Amino Acids And Parent Compounds", 16th International Symposium – Fluorine Chemistry, 16. bis 21. Juli 2000 in Durham, Großbritannien

Publikationen:

C. Uhlemann, C. Pfaff, G. Hägele, K. Laue, M. Lübke and G. Haufe, "The first automated 470.59 MHz ^{19}F -NMR Controlled Titration: Dissociation constants and ion specific chemical shifts of 2-Amino-4-fluoro-2-methylpent-4-enoic Acid", Magnetic Resonance in Chemistry, (Publikation angenommen)

Meinen Eltern und Großeltern

Inhalt

1	Einleitung.....	9
2	NMR-kontrollierte Titrationsen.....	10
2.1	Einleitung.....	10
2.2	Aufbau.....	12
2.2.1	Probenköpfe.....	13
2.2.2	Pumpe und Schlauchsystem.....	14
2.2.3	Durchmischung und Homogenität innerhalb des Titrationssystems	15
2.2.4	Feldstabilität im ungelockten Zustand	22
2.2.5	Temperaturkalibration	25
2.2.6	AU-Programm sf_nmr zur Spektrometersteuerung	28
2.2.7	Steuerungssoftware NMR_T	29
2.2.8	Experimentelle Durchführung einer NMR-kontrollierten Titration	31
2.3	Allgemeine Betrachtungen zu zweibasigen Säuren	34
2.4	Fluorierte Aminocarbonsäuren	39
2.4.1	2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure	43
2.4.2	2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure.....	51
2.4.3	2-Amino-4-fluorbutansäure	59
2.5	Tetrafluorphthalsäure	67
2.5.1	Bestimmung der $\log\beta$ - bzw. pK_S -Werte der Tetrafluorphthalsäure	67
2.5.2	NMR-spektroskopische Untersuchungen an Tetrafluorphthalsäure.....	70
2.5.3	NMR-kontrollierte Titration von Tetrafluorphthalsäure	77
2.6	Fluconazol	92
2.6.1	Bestimmung der $\log\beta$ - bzw. pK_S -Werte des Fluconazols	93
2.6.2	NMR-spektroskopische Untersuchungen an Fluconazol	94
2.6.3	NMR-kontrollierte Titration von Fluconazol.....	111
3	Konformationsanalytische Untersuchungen an fluorierten Aminocarbonsäuren und ihren nicht-fluorierten Stammverbindungen mittels NMR-Methoden	139
3.1	Theorie	139

3.2	Probenvorbereitung und Meßbedingungen	146
3.3	Konformationsanalytische Untersuchungen an Derivaten der Butansäure mittels Lin-Karplus-Analyse.....	148
3.3.1	Butansäure	148
3.3.2	2-Aminobutansäure.....	153
3.3.3	2-Amino-4-fluorbutansäure.....	160
3.3.4	2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure	166
3.3.5	Zusammenfassung der Ergebnisse der konformationsanalytischen Untersuchungen an Derivaten der Butansäure	169
3.4	Konformationsanalytische Untersuchungen an Derivaten der 4-Pentensäure mittels Lin-Karplus-Analyse.....	171
3.4.1	4-Pentensäure.....	171
3.4.2	2-Aminopent-4-ensäure	179
3.4.3	2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure	182
3.4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse der konformationsanalytischen Untersuchungen an Derivaten der 4-Pentensäure.....	186
3.5	Vergleich der Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse mit anderen Modellen.....	188
4	Referenzierungsproblematik in der modernen ¹⁹ F-NMR-Spektroskopie	191
4.1	Referenzierung in der ¹⁹ F-NMR-Spektroskopie	191
4.1.1	Grundlagen der Kombinatorik	192
4.1.2	Kombinationen.....	193
4.1.3	Variationen.....	193
4.2	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von Trichlorfluormethan.....	194
4.3	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,1,2,2- Tetrachlortetrafluorcyclobutan	198
4.4	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,4- Dibromtetrafluorbenzol	201
4.5	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,2-Bis[3-tri-fluormethyl)- phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethan	204
4.6	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von Trifluormethoxybenzol	207
4.7	Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 4-Trifluormethoxyanisol.....	212

5 Zusammenfassung und Ausblick	218
6 Anhang und Verzeichnisse.....	220
6.1 Verwendete Chemikalien	220
6.2 Literatur.....	221

1 Einleitung

NMR-spektroskopisch kontrollierte Titrationsverfahren haben sich bei der Untersuchung von Protonierungs- bzw. Deprotonierungsgleichgewichten sowie Komplexbildungsreaktionen bewährt. Das im Hause entwickelte Verbundverfahren zur automatisierten NMR-kontrollierten Titration war bislang mit einem Bruker AVANCE DRX 200 NMR-Spektrometer ausgestattet.

Ziel dieser Arbeit ist es, das zur Verfügung stehende Bruker AVANCE DRX 500 NMR-Spektrometer für automatisierte NMR-kontrollierte Titrationsverfahren zugänglich zu machen. Der Wechsel auf ein Hochfeld-Spektrometer ist vorteilhaft, da zum einen die Resonanzfrequenzen besser getrennt voneinander vorliegen und zum anderen sich das Signal to Noise verbessert.

Gerade bei vielen pharmazeutisch interessanten Verbindungen, die in wässrigen Lösungen nur eine begrenzte Löslichkeit besitzen, kommt dem Gewinn an Signalintensität große Bedeutung zu.

Nach Aufbau einer funktionierenden Titrationsanlage sollen sowohl analytische first-order Systeme als auch second-order Systeme untersucht werden, um die Leistungsfähigkeit des entwickelten Systems zu evaluieren.

Als Modellsubstanzen für first-order Systeme werden drei fluorierte Aminocarbonsäuren untersucht. Die Tetrafluorphthalsäure soll als Beispiel für ein second-order System dienen. Schließlich soll am Beispiel des Pharmazeutikums Fluconazol, welches sich durch seine begrenzte Wasserlöslichkeit auszeichnet und analytisch ein second-order System darstellt, die Leistungsfähigkeit des entwickelten Systems demonstriert werden.

Zwei der drei bereits NMR-kontrolliert untersuchten fluorierten Aminocarbonsäuren sollen mittels NMR-Methoden konformationsanalytisch untersucht werden. Als Methode wird hier die Konformationsanalyse nach Lin gewählt.

Desweiteren sollen verschiedene Modellsubstanzen auf ihre Eignung als Referenzierungs-substanz für die Hochfeld- ^{19}F -NMR-Spektroskopie untersucht werden.

2 NMR-kontrollierte Titrationsen

2.1 Einleitung

Viele wichtige Reaktionen in biorelevanten Gebieten wie Medizin, Pharmazie, Lebensmittelchemie etc. beinhalten Protolyse- und Komplexbildungsgleichgewichte. Da diese Austauschreaktionen sowohl die Resonanzfrequenzen als auch die Halbwertsbreiten beeinflussen, eignet sich zur Untersuchung dieser Gleichgewichte in besonderer Weise die NMR-spektroskopisch kontrollierte Titration.

Es ist seit langem bekannt, daß NMR-Spektren titrations- bzw. pH-abhängig sind [1], [2]. Während einer Säure-Base-Titration kommen die unterschiedlich protonierten Spezies einer Säure in wechselnden Konzentrationen vor, die für jeden Punkt der Titration aus den pK_s -Werten und dem aktuellen pH-Wert berechnet werden können. Jede individuelle Protonierungsspezies $H_{n-i}L^{-i}$ besitzt eine eigene chemische Verschiebung $d_{H_{n-i}L^{-i}}$. Protolyseprozesse verlaufen in bezug auf die NMR-Zeitskala schnell, so daß bei Betrachtung der chemischen Verschiebung keine separierten Signale der individuellen Protolysespezies (ionenspezifische Parameter), sondern ein über alle austauschenden Spezies dynamisch gemitteltes Signal $\langle d \rangle$ beobachtet wird. Für die gemittelte chemische Verschiebung $\langle d \rangle$ gilt demnach:

$$\langle d \rangle = \sum_{i=0}^n X_{H_{n-i}L^{-i}} \cdot d_{H_{n-i}L^{-i}} \quad (1)$$

Für Säure-Base-Gleichgewichte können die Molenbrüche nach Hägele [3] berechnet werden:

$$X_{H_{n-j}L^{-j}} = \frac{10^{j \cdot pH - p\bar{K}_j}}{\sum_{i=0}^n 10^{i \cdot pH - p\bar{K}_i}} \quad (2)$$

mit

$$p\bar{K}_j = \sum_{i=0}^j pK_{s_i} \quad (3)$$

Prinzipiell bieten sich zwei Methoden zur Realisierung einer NMR-kontrollierten Titration an. Die klassische Methode besteht darin, Serien diskreter Einzelproben definierter Titrationszustände zu vermessen. Die Nachteile dieser Methode liegen klar auf der Hand. Sie ist sehr zeitaufwendig und erfordert einen hohen Substanzbedarf der zu untersuchenden Substanz. Auch können die NMR-Röhrchen leicht vertauscht werden.

Eine effiziente und zeitsparende Meßmethode zur automatisierten Aufnahme von titration-sabhängigen NMR-Spektren wurde im Arbeitskreis von Hägele erstmals durch Grzonka entwickelt [4]. Auf eine Vielzahl von Publikationen und Übersichtsartikeln sei an dieser Stelle verwiesen [5]-[9].

Neuere Entwicklungen durch Ollig [10] und Hermens [11] bilden die Grundlage für das im Arbeitskreis verwendete Titrationssystem, welches bislang mit einem Bruker AVANCE DRX 200 NMR-Spektrometer kombiniert war.

2.2 Aufbau

Abbildung 1 zeigt den Aufbau zur Durchführung von NMR-kontrollierten Titrations an einem Bruker AVANCE DRX 500 NMR-Spektrometer:

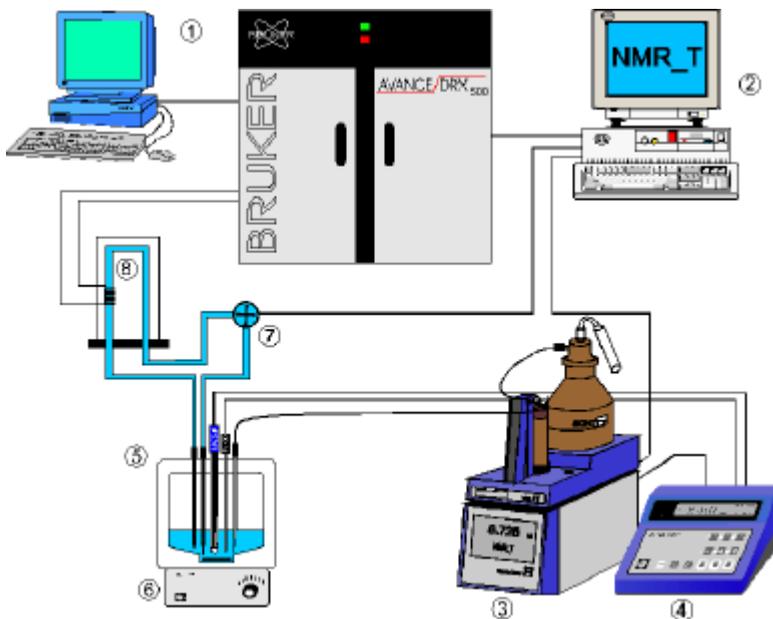


Abbildung 1: Hardware-Aufbau zur Durchführung von NMR-kontrollierten Titrations an einem Bruker AVANCE DRX 500 NMR-Spektrometer

1 NMR-Spektrometer Bruker AVANCE DRX 500; 2 IBM-kompatibler PC; 3 Motorkolbenbürette T200 (Schott); 4 pH-Meter CG 841 (Schott); 5 Titrationsgefäß (Schott); 6 Magnetrührer TM120 (Schott); 7 Micro-Membran-Flüssigkeitspumpe FM 1.30 (KNF FLODOS) 8 Durchflußprobenkopf (Bruker BioSpin)

Ausgehend von der bestehenden Anlage für das Bruker AVANCE DRX 200 NMR-Spektrometer [10], [11] mußten beim Übergang auf das Bruker AVANCE DRX 500 NMR-Spektrometer sensible Systemkomponenten adaptiert werden.

2.2.1 Probenköpfe

Mit dem Spektrometer wurden zwei HPLC-NMR-Probenköpfe der neuen Generation mitgeliefert: ein TXO-LC-Probenkopf zur Aufnahme von ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-Spektren sowie der von mir benutzte ^1H -, ^{19}F -LC-Probenkopf zur Aufnahme von ^1H - und ^{19}F -NMR-Spektren.

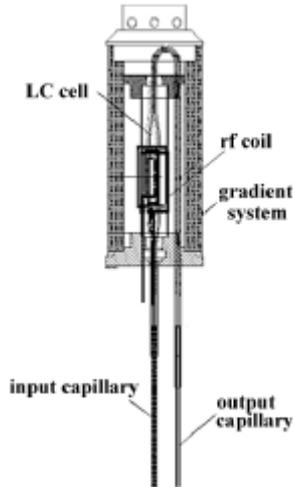


Abbildung 2: schematische Darstellung eines LC-NMR-Probenkopfs
Abbildung mit freundlicher Genehmigung der Bruker BioSpin GmbH

Die Probenköpfe besitzen ein Meßzellvolumen von 340 μl , von denen sich ein Volumen von 60 μl im Spulenbereich und ein Volumen von 80 μl außerhalb des Spulenbereichs befindet. Der Durchmesser der Glaskapillaren der Meßzelle beträgt 0,5 mm, die PTFE-Zu- und Ableitungen besitzen einen Durchmesser von 1,0 mm.

2.2.2 Pumpe und Schlauchsystem

Eine Micro-Membran-Flüssigkeitspumpe FM 1.30 der KNF FLODOS AG wird eingesetzt, um die Titrationslösung durch das Schlauchsystem und den Probenkopf zu pumpen. Über ein Getriebe läßt sich die Förderleistung der Flüssigkeitspumpe bis zu einem maximalen Förderdruck von 6 bar variieren.

Das verwendete Schlauchsystem zwischen Titrationsgefäß und NMR-Probenkopf besteht aus einem Polypropylen-Schlauchsystem mit einem Schlauchinnendurchmesser von 0,8 mm und einem Schlauchaußendurchmesser von 1,6 mm. Aufgrund der geringen Kapillardurchmesser und des daraus resultierenden Staudrucks ist es notwendig, spezielle Fittings zu verwenden, um die Verbindung zwischen Pumpe und Schlauchsystem abzudichten. Dies geschieht mit $\frac{1}{4}$ "-28- UNF-Gewinden der Firma Valco Europe.

Das nachfolgend abgebildete Diagramm zeigt das schrittweise Pumpverhalten der Micro-Membran-Flüssigkeitspumpe FM 1.30 und den resultierenden Staudruck.

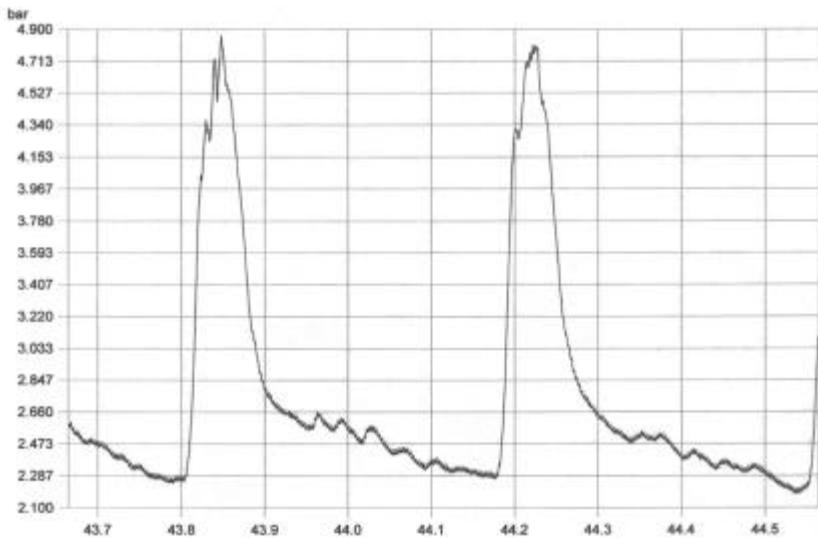


Abbildung 3: Höhe des Staudrucks bei einer Getriebeeinstellung von 50% in Abhängigkeit von der Zeit

Getriebeeinstellung [%]	Förderleistung [ml/min]	Staudruck [bar]
45	12	4,3
50	15	4,9

Tabelle 1: Förderleistung in Abhängigkeit von der Getriebeeinstellung

Da die NMR-Probenköpfe nur auf einen Druckbereich von 5-6 bar ausgelegt und getestet sind, ist es nicht ratsam eine höhere Getriebeeinstellung zu wählen.

2.2.3 Durchmischung und Homogenität innerhalb des Titrationssystems

Es ist evident, daß bei der Untersuchung von Protolyse- oder Komplexbildungsgleichgewichten mittels NMR-kontrollierter Titration der Homogenität der Titrationslösung im gesamten Titrationssystem entscheidende Bedeutung zukommt.

Prinzipiell läßt sich das Titrationssystem in zwei Abschnitte unterteilen. Der erste Abschnitt besteht aus dem Titrationsgefäß, in dem sich der Großteil der Vorlage befindet, in das der Titrator zudosiert wird. Dem zweiten Abschnitt, welcher auch als Totvolumen bezeichnet wird, sind das komplette Schlauchsystem (Hin- und Rückführung) und die Zu- und Ableitungen im Probenkopf sowie die Meßzelle selbst zuzuordnen.

Bei Betrachtung der Durchflußapparatur ist offensichtlich, daß eine Durchmischung des zudosierten Titrators mit der Vorlage ausschließlich im Titrationsgefäß stattfinden kann. Aufgrund der geringen Kapillardurchmesser der Zu- und Rückführungen wird eine Durchmischung durch Diffusion und Unregelmäßigkeiten der laminaren Strömung vernachlässigt.

Wird ein Volumeninkrement des Titrators in das Titrationsgefäß zudosiert, so ändert sich die Konzentration in der Vorlage. Da eine Durchmischung mit der Flüssigkeit im Totvolumen ausbleibt, gibt es nun Bereiche unterschiedlicher Konzentration. Beginnt man nun mit dem Umpumpprozess, so ändert sich die Konzentration in beiden Bereichen in nicht trivialer Weise. Wird hinreichend lange umgepumpt, so wird ein Zustand relativer Konstanz der Konzentration in der Vorlage erreicht, da die Konzentrationsänderung, die durch das aus dem Totvolumen zudosierte Volumeninkrement verursacht wird, vernachlässigbar gering ist.

Die Dauer des Umpump-Prozesses bis zur relativen Konzentrationskonstanz wird maßgeblich vom Verhältnis Q beeinflusst, das die Volumina, in denen Durchmischung stattfindet (Vorlage), mit denen in Relation setzt, in denen keine stattfindet (Totvolumen).

$$Q = \frac{V_V}{V_T} \quad (4)$$

Hierbei definiert V_V das Volumen im Titrationsgefäß (Vorlage) und V_T das Volumen im Probenkopf und allen Zu- und Ableitungen.

Grzonka [4] verwendet ein Modell, das gut geeignet ist, um die Homogenitätsproblematik eines Titrationssystems für die NMR-kontrollierte Titration zu diskutieren.

Zu Beginn der Titration liegt im Titrationsgefäß ein Volumen V_V der Konzentration c_V und im Totvolumen ein Volumen V_T derselben Konzentration c_V vor. Wird nun im ersten Titrationsschritt ein definiertes Volumeninkrement V_D der Konzentration c_D zur Vorlage zudosiert, so läßt sich bei Annahme totaler Durchmischung in der Vorlage die neue Konzentration in der Vorlage berechnen zu:

$$c_{V_{\text{neu}}} = \frac{(V_V \cdot c_V + V_D \cdot c_D)}{V_V + V_D} \equiv c_V(0) \quad (5)$$

Die Variable $c_V(0)$ gibt dann die Konzentration in der Vorlage nach erfolgter Zudosierung des Titrators wieder. Zu diesem Zeitpunkt hat noch kein Flüssigkeitsaustausch mit dem Totvolumen stattgefunden.

Wird nun der Umpumpprozess gestartet, so erfolgt Flüssigkeitsaustausch zwischen der Vorlage und dem Totvolumen, also zwischen Bereichen unterschiedlicher Konzentration. Abhängig von der Schrittweite der verwendeten Pumpe wird ein Volumeninkrement V_1 aus der Vorlage abgepumpt und durch ein Volumeninkrement aus dem Totvolumen ersetzt. Voraussetzung für diese Art der Betrachtung ist die Annahme, daß die Volumeninkremente diskrete Bereiche darstellen, die das Totvolumen ohne Durchmischung mit vorhergehenden oder nachfolgenden Bereichen durchlaufen.

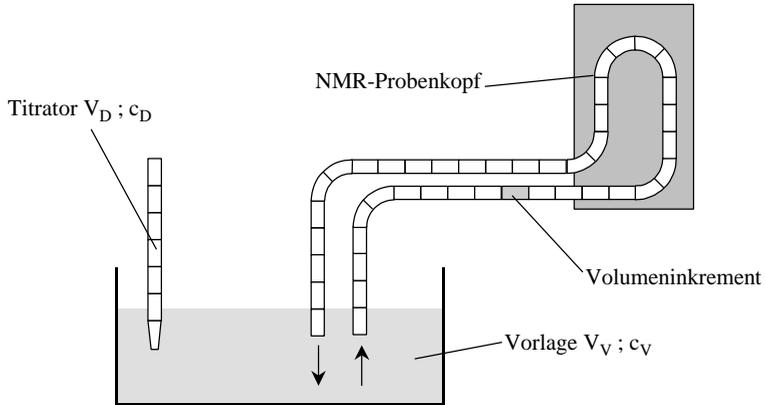


Abbildung 4: schematische Darstellung des Simulationsmodells zur Homogenisierung

Da die ab- und zugepumpten Volumeninkremente V_I Bereiche unterschiedlicher Konzentration darstellen, muß für jeden Pumpschritt die Konzentration der Vorlage neu berechnet werden:

$$c_V(n) = \frac{(c_V(n-1) \cdot (V_V - V_I) + c_T(n - V_T))}{V_V + V_D} \quad (6)$$

Dabei beschreibt $c_V(n-1)$ die Konzentration der Vorlage des vorherigen Pumpschritts, $V_V - V_I$ das Abpumpen des Volumeninkrements V_I aus der Vorlage in das Totvolumen und $c_T(n - V_T)$ die Konzentration der aus dem Totvolumen zudosierten Lösung.

Die Konzentration, die vor $n - V_T$ Pumpschritten aus der Vorlage in das Totvolumen gepumpt wurde, wird durch $c_T(n - V_T)$ beschrieben, so daß sich mit

$$c_T(n) = c_V(n) \quad (7)$$

ergibt:

$$C_V(n) = \frac{(c_V(n-1) \cdot (V_V - V_I) + c_V(n - V_T))}{V_V + V_D}, \quad (8)$$

wobei für alle $n - V_T < 0$ gilt: $c_T = c_V(0)$.

Somit ist nun der während des Umpumpvorgangs auftretende Konzentrationsverlauf zugänglich.

Auf Grundlage des vorgestellten Durchmischungsmodells wird der Konzentrationsverlauf in der Vorlage simuliert. Dabei werden für eine NMR-kontrollierte Titration sowohl der Titrationsbeginn als auch das Titrationsende mit Hilfe von Excel™ berechnet. Ziel dieser Simulationen ist es, für das 500 MHz-Titrationssystem die optimale Durchmischungs- bzw. Umpumpzeit zu bestimmen. Die für die Simulationen verwendeten Parameter sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

	Titrationbeginn	Titrationende
V_V	18,00 ml	28,00 ml
c_V	0,25 mol/l	
V_T	7,00 ml	
V_D	0,15 ml	
c_D	0 mol/l	
$V_V + V_D$	18,15 ml	28,15 ml
V_I	0,25 ml	

Tabelle 2: Parameter der Homogenitätsberechnung

Im Folgenden werden die Resultate der Berechnungen vorgestellt.

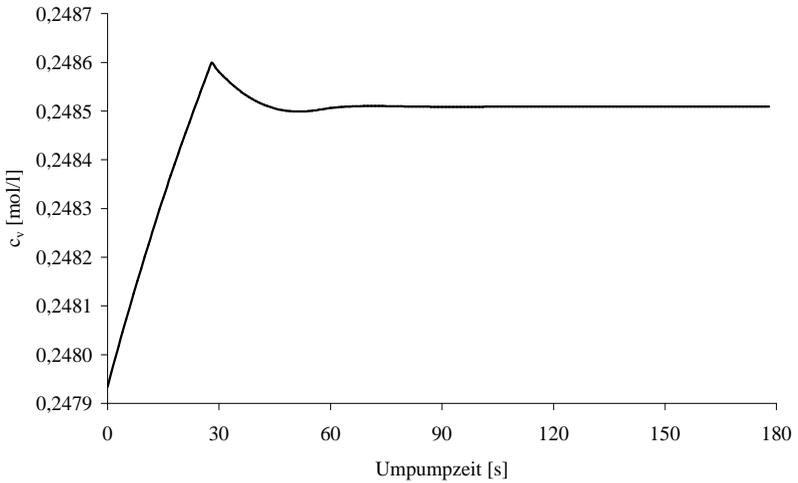


Abbildung 5: Änderung der Konzentration in der Vorlage in Abhängigkeit von der Umpumpzeit zu Beginn der Messung

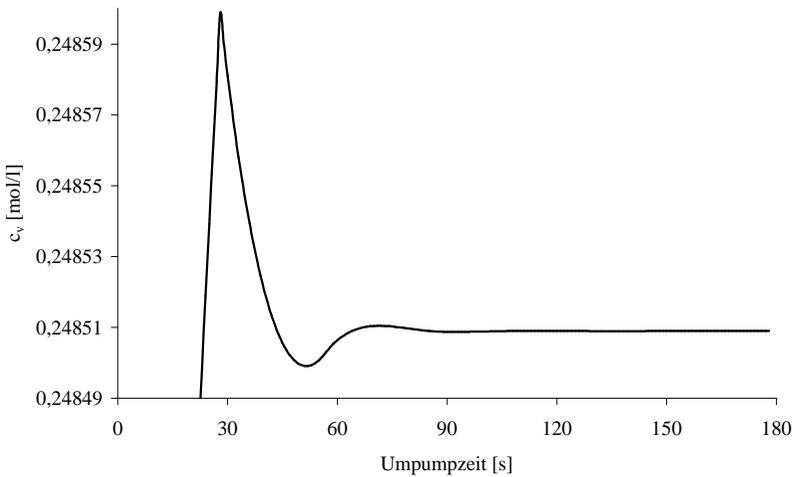


Abbildung 6: vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 5, Einschwingverhalten der Konzentration in der Vorlage

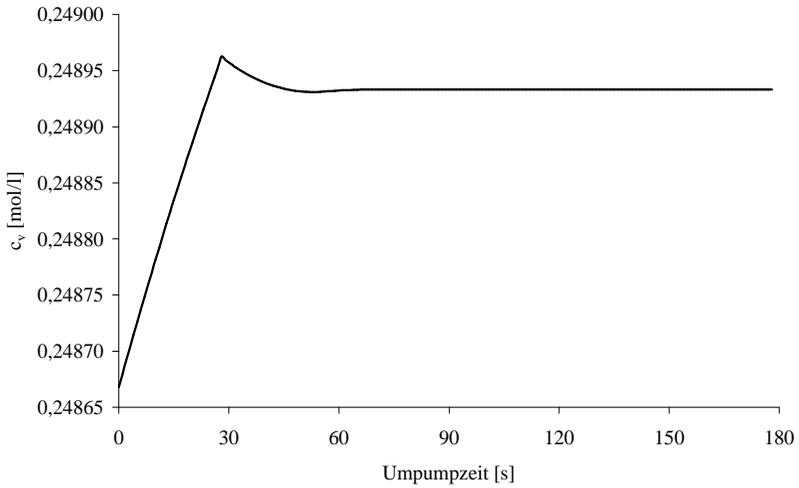


Abbildung 7: Änderung der Konzentration in der Vorlage in Abhängigkeit von der Umpumpzeit zum Ende der Messung

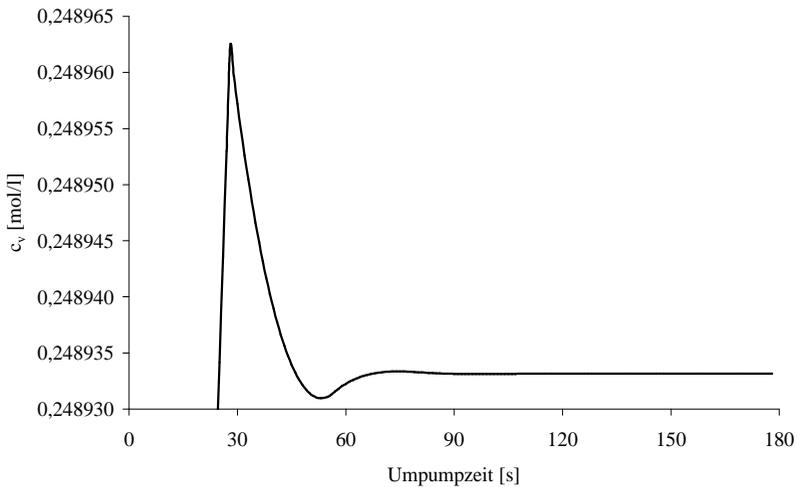


Abbildung 8: vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 7, Einschwingverhalten der Konzentration in der Vorlage

Aus den gezeigten Abbildungen geht deutlich hervor, daß dem Verhältnis von Vorlage- und Totvolumen Q große Bedeutung zukommt. Zu Beginn der Titration besitzt Q einen Wert von 2,6; zum Ende der Messung besitzt Q den Wert 4. Vergleicht man nun den Zeitpunkt, an dem die Konzentration in der Vorlage einen konstanten Wert erreicht hat, so geschieht dies zu Beginn der Titration nach ca. 100 s Umpumpzeit, während zum Ende der Messung bereits nach ca. 90 s Konzentrationskonstanz in der Vorlage erreicht ist. Je größer Q ist, desto geringer ist die Beeinflussung der Konzentration in der Vorlage.

Wie erwartet sind die Kurvenverläufe zu Beginn des Umpump-Prozesses stark von der Entleerung des Totvolumens mit Volumeninkrementen der Konzentration $c_V(0)$ beeinflusst, so daß ein linearer Konzentrationsanstieg resultiert.

Prägnant ist die stark gedämpfte Schwingung, die in beiden Simulationen nach dem ersten Komplettaustausch von V_T zu beobachten ist.

Die hier vorgestellten Excel-Ergebnisse sind konsistent mit Ergebnissen eines Turbo-Pascal-Modells von Hägele [12] und wurden ohne meine Genehmigung in der Dissertation von S. Augner vorveröffentlicht [13].

2.2.4 Feldstabilität im ungelockten Zustand

Im Gegensatz zu neuen Generationen von LC-NMR-Probenköpfen, die eine zusätzliche Glaszelle für eine Referenzierungssubstanz oder ein Lockmittel besitzen, ist der von mir verwendete $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -LC-Probenkopf ohne externen Lock aufgebaut. Dies hat zur Folge, daß nach dem Locken und Shimmen auf D_2O der Lock herausgenommen wird, alle Feldparameter konstant gehalten werden und im ungelockten Zustand gemessen wird. Es ist sofort ersichtlich, daß ab diesem Zeitpunkt jede Störung der Homogenität des Magnetfelds und der Magnetfeldstärke einen Einfluß auf die effektive Feldstärke und somit auf die gemessene chemische Verschiebung hat. Die Schwankungen des Magnetfelds können jedoch nicht direkt bestimmt werden. Betrachtet man die allgemeine Form der Resonanzbedingung für die NMR-Spektroskopie

$$2\pi n_i = g\beta_0 \quad (9)$$

und formuliert diese um als

$$\Delta d = \frac{\Delta B_0}{B_0}, \quad (10)$$

so lassen sich die Schwankungen des Magnetfelds als Abweichungen von Resonanzfrequenzen oder chemischen Verschiebungen experimentell bestimmen.

Zur Untersuchung der Langzeitstabilität des Bruker Avance DRX 500 NMR-Spektrometers werden ^1H -NMR- und ^{19}F -NMR-Spektren einer Testsubstanz im ungelockten Zustand aufgenommen. 25,4 mg der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure werden in 3,0 ml D_2O gelöst und mittels einer Spritze in die Meßzelle eingebracht. Über einen Zeitraum von nahezu 16 Stunden werden nun 95 ^1H -NMR- und $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-Spektren aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Form von Diagrammen, die die chemische Verschiebung oder die Änderung der Frequenz in Abhängigkeit von der Zeit wiedergeben, im Folgenden dargestellt.

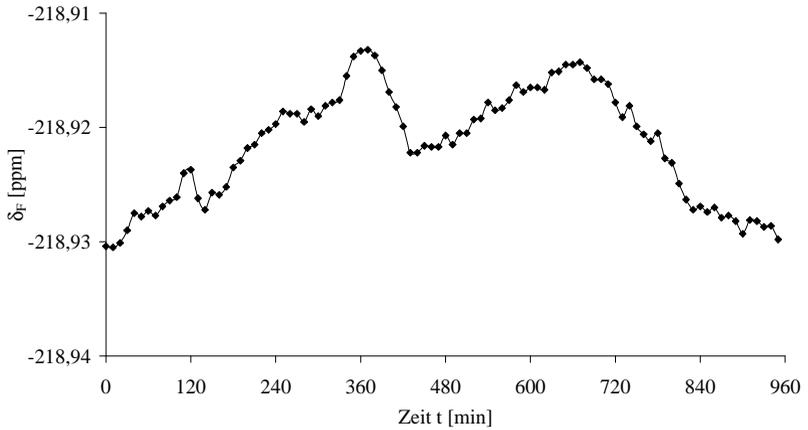


Abbildung 9: d_F der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure in Abhängigkeit von der Zeit; d_F (Start) = -218,9304 ppm

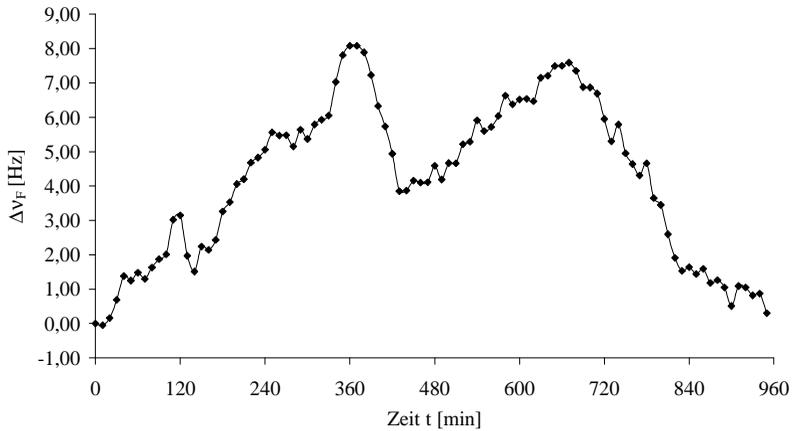


Abbildung 10: Δn_F der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure in Abhängigkeit von der Zeit; $\Delta n_F = [d_F(\text{Zeit}) - d_F(\text{Start})]n_{0_F}$, $n_{0_F} = 470,59 \text{ MHz}$

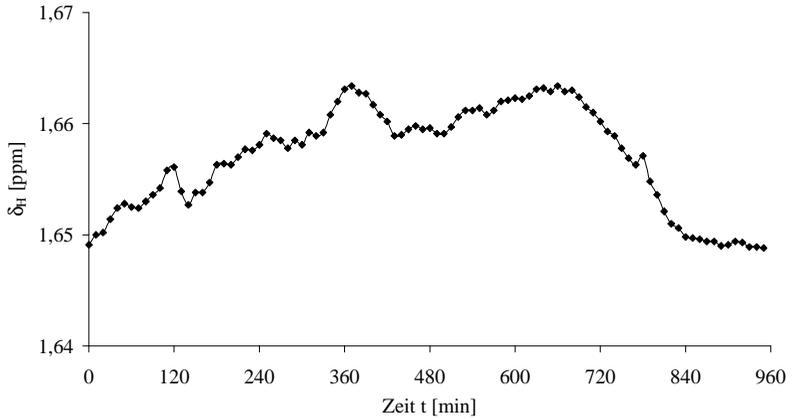


Abbildung 11: d_H der CH_3 -Gruppe der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure in Abhängigkeit von der Zeit

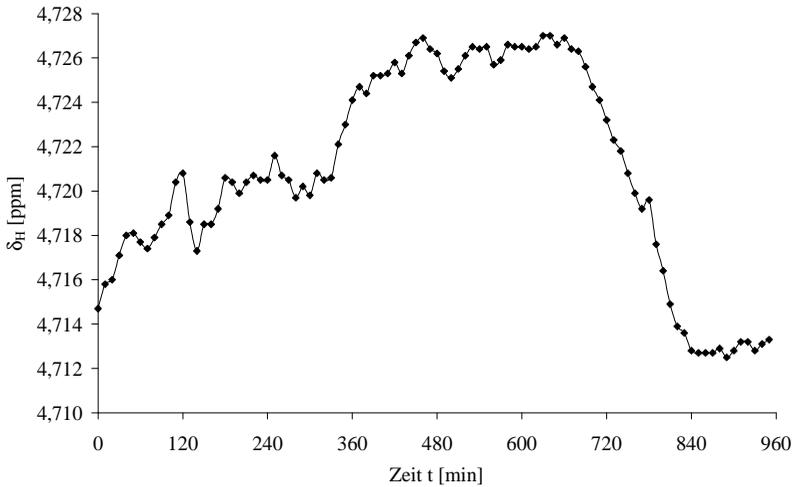


Abbildung 12: d_H des HDO-Signals in Abhängigkeit von der Zeit

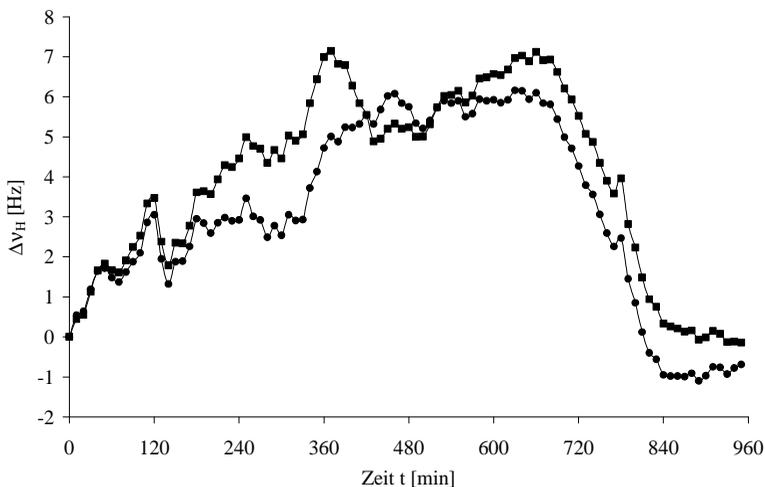


Abbildung 13: Δn_{H} der CH_3 -Gruppe der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure (■) und des HDO-Signals (●) in Abhängigkeit von der Zeit; $n_{0\text{H}} = 500,13 \text{ MHz}$, $\Delta n_{\text{H}} = [d_{\text{H}}(\text{Zeit}) - d_{\text{H}}(\text{Start})]n_{0\text{H}}$

Die vorangegangenen Untersuchungen zeigen, daß der 500 MHz Magnet eine ausgezeichnete Feldstabilität im lockeren Zustand zeigt. Die maximale Abweichung der ^{19}F -chemischen Verschiebung bzw. der Resonanzfrequenz beträgt 0,0172 ppm bzw. 8,08 Hz. Für das Signal der Methylgruppe der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure wurde im ^1H -NMR eine maximale Abweichung von 0,0143 ppm (7,15 Hz), für das HDO-Signal eine maximale Abweichung von 0,0123 ppm (6,16 Hz) gefunden.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß das Feld für die Dauer der NMR-kontrollierten Titration stabil genug ist.

2.2.5 Temperaturkalibration

Da die Kenntnis der exakten Temperatur bei vielen NMR-Messungen eine große Rolle spielt, ist der Temperaturkalibration des NMR-Spektrometers große Aufmerksamkeit zu widmen. Dies wird durch die in Abbildung 14 gezeigte Temperaturabhängigkeit der ^1H -chemischen Verschiebung des HDO-Signals eindrucksvoll verdeutlicht.

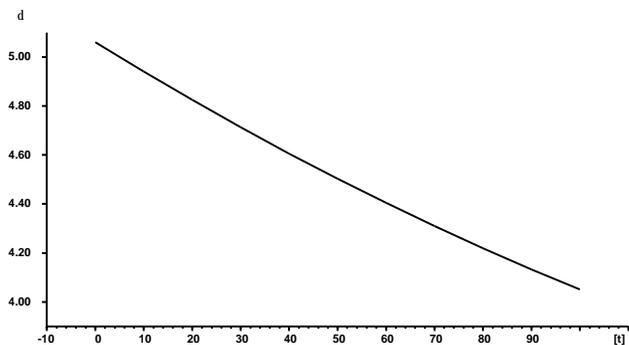


Abbildung 14: chemische Verschiebung des HDO-Signals als Funktion der Temperatur nach [14]

Idealerweise sollte eine Temperaturmessung in der NMR-Meßzelle selbst erfolgen, dies ist jedoch technisch nicht leicht zu realisieren. Die Temperaturmessung bei modernen NMR-Geräten erfolgt normalerweise über einen Thermokontakt, welcher im Stickstoffstrom direkt unter der Meßzelle angebracht ist. Aufgrund der räumlichen Entfernung kann es hier jedoch zu Temperaturdifferenzen kommen.

Auf eine Auswahl an NMR-Thermometern zur Temperaturkalibration für unterschiedliche Temperaturbereiche und Problemstellungen sei an dieser Stelle verwiesen [15]-[21].

Es ist seit langem bekannt, daß die relative chemische Verschiebung $\Delta\delta$ zwischen den Protonenresonanzen der Methyl- und der Hydroxygruppe im Methanol bzw. der Methylengruppe und der Hydroxygruppe im Ethylenglykol temperaturabhängig ist [15]. Aus diesem Grund können Standardproben von Methanol für den Tieftemperaturbereich bzw. Ethylenglykol für den Hochtemperaturbereich zur Temperaturkalibration verwendet werden. Anhand von Eichkurven kann dann die genaue Temperatur dem Spektrum entnommen werden.

Dies wurde sowohl für den QNP-Probenkopf und TBI-Probenkopf als auch für den LC- $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -Probenkopf des DRX 500 mit Hilfe von 99,8 % Methanol- d_4 nach Lit [21] durchgeführt. Zu diesem Zweck wird ein 5 mm NMR-Röhrchen mit 99,8 % Methanol- d_4 (ohne Zusatz von HCl) befüllt und anschließend ein ^1H -NMR-Spektrum aufgenommen.

Die in der Meßzelle herrschende Temperatur wurde aus der Differenz Δ der chemischen Verschiebungen der OH- und der CHD₂-Protonen $\Delta = \nu_{\text{H}}(\text{OH}) - \nu_{\text{H}}(\text{CHD}_2)$ gemäß Gleichung (11) ermittelt.

$$T = 398,7 - 0,1347 \cdot \Delta - 0,0006109 \cdot \Delta^2 \quad (11)$$

Nachfolgende Tabelle zeigt für den 5mm QNP-Probenkopf und den 5mm TBI-Probenkopf die mittels Temperatursensor ermittelte Temperatur T_{obs} , die aus den spektralen Parametern berechnete resultierende Temperatur T_{res} sowie die Temperaturdifferenz ΔT .

QNP-Probenkopf			
T_{obs} [K]	297,40	310,00	320,00
T_{res} [K]	297,33	310,57	320,64
ΔT [K]	-0,07	0,57	0,64
TBI-Probenkopf			
T_{obs} [K]	299,40	310,00	320,00
T_{res} [K]	297,88	310,76	322,70
ΔT [K]	-1,52	0,76	2,70

Tabelle 3: Temperaturkalibration des 5 mm QNP- und des 5 mm TBI-Probenkopfs

Wie man aus obiger Tabelle entnehmen kann, sind die Differenzen zwischen der mit einem Temperatursensor gemessenen Temperatur und der aus den spektralen Parametern ermittelten Temperatur für den QNP-Probenkopf gering, so daß mit guter Näherung angenommen werden kann, daß die außerhalb der Meßzelle bestimmte Temperatur gut mit der Temperatur innerhalb der NMR-Meßzelle übereinstimmt.

Für den TBI-Probenkopf gilt dies nicht, da hier größere Abweichungen zwischen der mittels Temperatursensor gemessenen Temperatur und der tatsächlich in der Meßzelle herrschenden Temperatur festgestellt werden.

Um die Temperatur in der Meßzelle des LC-¹H/¹⁹F-Probenkopfs zu bestimmen, wird dieser mittels einer Spritze mit 99,8 % Methanol-d₄ befüllt. Anschließend werden für ¹⁹F-NMR-

kontrollierte Titrations typische Pulsprogramme verwendet und der Temperaturverlauf in der Meßzelle wird beobachtet. Die hierbei ermittelten Temperaturen sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

	Anfangs- temperatur	Temperatur nach einem ¹⁹F mit 96 Pulsen	Temperatur nach einem ¹⁹F{¹H } mit 16 Pulsen	Temperatur 10 min nach dem letzten Pulsen
T [K]	305,57	305,63	305,70	305,64
T [C]	32,42	32,48	32,55	32,49
DT [K]		0,06	0,13	0,07

Tabelle 4: Temperaturänderungen innerhalb der Meßzelle, die durch typische Pulsprogramme bei ¹⁹F-NMR-Studien verursacht werden

Zu Beginn der Meßserie beträgt die Temperatur innerhalb der Meßzelle des LC-¹H/¹⁹F-Probenkopfs 305,57 K (32,4 °C). Nach Aufnahme des ¹⁹F-NMR-Experiments mit 96 Pulsen steigt die Temperatur um 0,06 K auf 305,63 K (32,48 °C). Dieser Anstieg ist jedoch als vernachlässigbar gering zu betrachten. Wie erwartet, steigt die Temperatur nach Aufnahme eines ¹⁹F{¹H}-NMR-Experiments stärker an, da der Puls zur Protonenentkopplung die Probe zusätzlich erwärmt. Das ¹⁹F{¹H}-NMR-Experiment verursacht einen Anstieg der Temperatur um 0,13 K auf 305,70 K (32,55 °C), die ebenfalls als geringfügig zu betrachten ist. Aus diesem Grund ist es zulässig, die Temperatur innerhalb der Meßzelle während einer Serie von ¹⁹F-NMR-Experimenten als praktisch konstant anzunehmen.

Das hier vorgestellte Verfahren zur Temperaturbestimmung in Durchflußprobenköpfen und die resultierenden Ergebnisse wurden ohne meine Genehmigung in der Dissertation von S. Augner vorveröffentlicht [13].

2.2.6 AU-Programm sf_nmr zur Spektrometersteuerung

Das AU-Programm sf_nmr bzw. sf_nmr [22] auf der Workstation steuert die Aufnahme der NMR-Spektren. Vorteil des Programms sf_nmr gegenüber dem Vorläufer sf_nmr ist die Möglichkeit, mehr als ein NMR-Spektrum pro Titrationszustand aufnehmen zu können.

Da die verwendete Flüssigkeitspumpe bauartbedingt keinen kontinuierlichen Fluß produzieren kann, sondern die Volumeninkremente schrittweise durch das Titrationssystem pumpt und somit einen gepulsten Fluß liefert, wird vor Aufnahme des FID eine experimentell bestimmte Wartezeit von 480 s eingeführt. Mit dem Programm sf_nmr bzw. sf_nmrm können definiert werden:

- Anzahl der NMR-Messungen pro Titrationszustand
- Implementierung der Parametersätze
- Angabe der Meßwartezeit vor Aufnahme des FID
- Speicherung der NMR-Daten

2.2.7 Steuerungssoftware NMR_T

Als Steuerungssoftware steht eine aktualisierte Version des Programms NMR_T [11] zur Verfügung, welches mit einer übersichtlichen Menüführung die Kombination des Präzisions-titrationssystems mit dem NMR-Spektrometer ermöglicht. Dabei übernimmt das Programm NMR_T folgende Aufgaben:

- Eingabe der Titrationsdaten
- Berechnung und Speicherung aller anfallenden analytischen Daten
- Kalibrierung der Glaselektrode
- Ansteuerung von Bürette, pH-Meter und Pumpe
- Durchführung der NMR-kontrollierten Titration

Das Programm NMR_T ist auf einem PC 486 mit 16 MB RAM installiert und steuert die Motorkolbenbürette und das pH-Meter über die erste RS232 Schnittstelle. Das NMR-Spektrometer wird über die zweite RS232 Schnittstelle angesprochen. Die Membranpumpe wird durch eine Niedervolt-Relaiskarte in Kombination mit einem externen 220V Relais geschaltet.

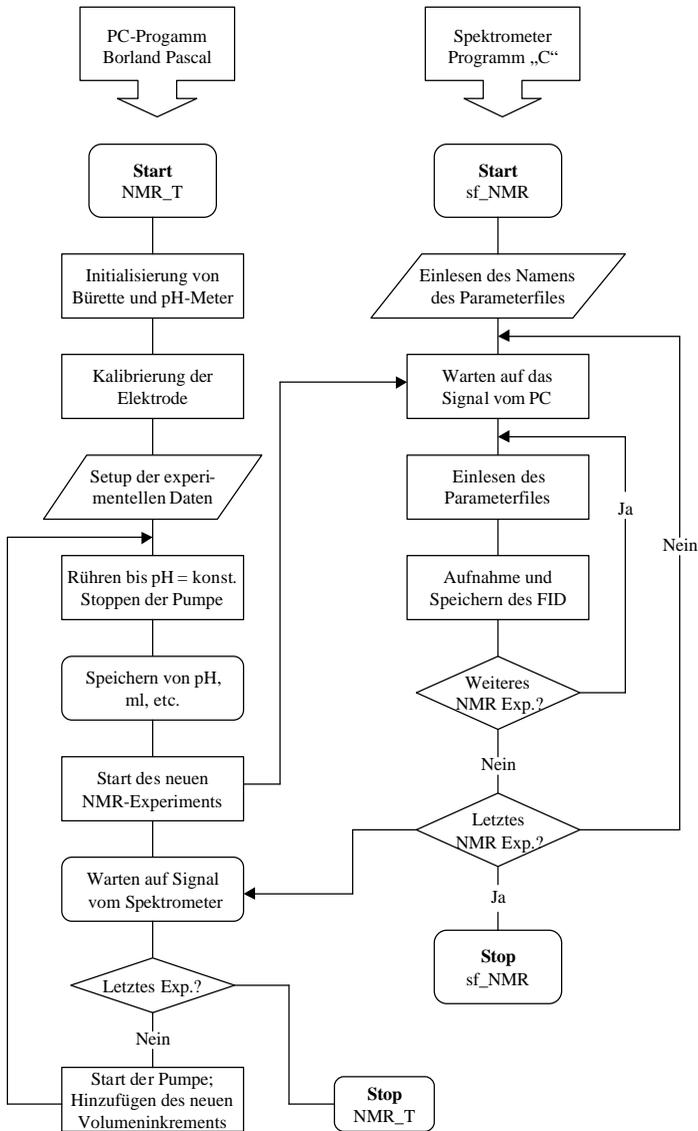


Abbildung 15: Kommunikation zwischen NMR_T und dem Spektrometer während einer NMR-kontrollierten Titration

2.2.8 Experimentelle Durchführung einer NMR-kontrollierten Titration

Vor und nach jeder NMR-kontrollierten Titration wird eine Blanktitration zur Elektrodenkalibration durchgeführt.

Locken und Shimmen

Nachdem mittels einer Spritze reines D₂O in den Probenkopf eingefüllt wurde, wird das System auf D₂O gelockt und geshimmt. Ist der Probenkopf eingeschimmt, so wird der Lock ausgeschaltet, die D₂O-Lösung aus dem Probenkopf entfernt und derselbe mit Stickstoff getrocknet. Die Zu- und Ableitung zwischen Titrationsgefäß und Probenkopf werden angebracht und das Titrationsgefäß wird mit Argon ausgespült. Der berechnete Ausgangszustand der Titrationsvorlage wird im Titrationsgefäß hergestellt.

Befüllen des Titrationssystems und Aufnahme der Vorspektren

Über die Steuerungssoftware NMR_T wird nun die Pumpe eingeschaltet und das Titrationssystem mit der Titrationslösung befüllt. Nach Abschalten der Pumpe werden die Vorspektren mit denselben Parametern aufgenommen, die später in der NMR-kontrollierten Titration verwendet werden. Gegebenenfalls wird nochmals der Shim korrigiert, bzw. Aufnahmeparameter wie z. B. Powerlevel für die Entkopplung, etc. optimiert. Die Parametersätze zur Aufnahme der gewünschten Spektren werden unter den Parameternamen fluxpara, fluxpar1, fluxpar2 etc. abgespeichert.

Eingabe des Parametersatzes in das NMR_T

In die Steuerungssoftware NMR_T werden alle für die NMR-kontrollierte Titration wichtigen Daten wie z. B. Substanzbezeichnung, Molmasse, Gehalt, Vorlagevolumen, Konzentration des Titrators, Anzahl der Titrationsgrade, Zahl der analytischen und kernresonanzspektroskopischen Experimente etc. eingegeben. Als Umpumpzeit wird für Messungen am 500 MHz-Spektrometer immer ein Wert von 300 s gewählt.

Nachdem alle notwendigen Angaben eingetragen wurden und das Programm die Zugabevolumina berechnet hat, wird die Glaselektrode durch Zweipunktkalibration kalibriert.

Temperaturverlauf während einer Messung

Da das Titrationsgefäß nicht thermostatisiert wird, findet eine Temperaturstabilisierung nur durch die Klimatisierung des Raumes statt. Bei Auswertung der aufgezeichneten Meßdaten zeigt sich, daß die Raumtemperatur um $22,3 \pm 0,6$ °C schwankt.

Positionierung der Titrationsanlage

Die folgende Abbildung zeigt das Streufeld des Bruker Avance DRX 500 Spektrometers:

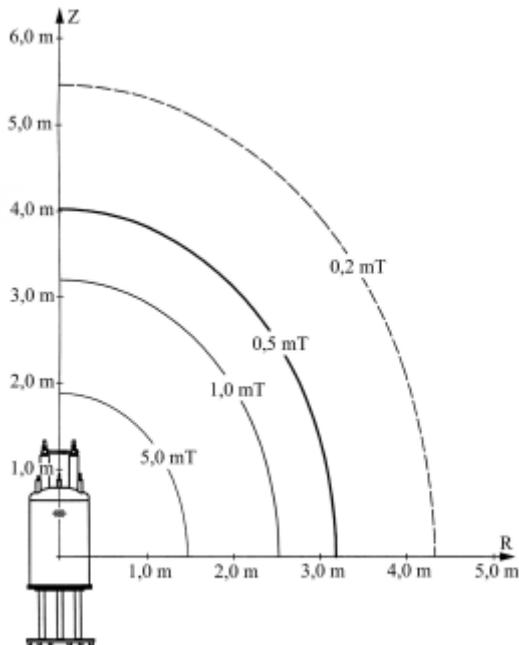


Abbildung 16: Streufeld des Bruker Avance DRX 500

Um durch das Magnetfeld verursachte Störungen zu verhindern, wird das verwendete elektronische Titrationszubehör und der Steuerungs-PC 2,5 m vom Magneten des Bruker DRX 500 entfernt positioniert.

Verarbeitung der spektralen Daten

Alle während der NMR-kontrollierten Titration erhaltenen FIDs werden mit Hilfe der Serial-Processing-Funktion des WIN-NMR 6.0 unter Standardbedingungen prozessiert. Die Parameter dieser Funktion können bequem auf das jeweilige Problem angepaßt werden und liefern automatisch prozessierte ^{19}F -NMR-Spektren. Aufgenommene ^1H -NMR-Spektren müssen jedoch von Hand prozessiert werden, da eine automatische Prozessierung aufgrund des störenden Einflusses des starken Wassersignals nicht möglich ist.

Die Serial-Processing-Funktion des WIN-NMR 6.0 ermöglicht ebenfalls mittels Deconvolution die spektralen Parameter wie z. B. Resonanzfrequenzen, chemische Verschiebungen, Intensitäten und Halbwertsbreiten der individuellen Spektren automatisiert zu bestimmen. In komplizierteren Fällen, z. B. bei schlecht aufgelösten höheren Spinsystemen und bei ^1H -NMR-Spektren, muß auch die Deconvolution von Hand ausgeführt werden.

Durch Verwendung des von I. Reimann in VISUAL BASIC[®] realisierten Programms SF-SIMULATION [23], können die Deconvolutionsdaten der einzelnen Spektren zeitsparend zur weiteren Verarbeitung und Auswertung in EXCEL[™] importiert werden.

Referenzierung der erhaltenen ^{19}F -chemischen Verschiebungen

Zur Referenzierung der erhaltenen ^{19}F -chemischen Verschiebungen werden ein Wilmad NMR-Röhrchen 535-PP-7 sowie ein Wilmad Koaxial Innenröhrchen WGS-5-BL für ein hochaufgelöstes ^{19}F -NMR-Experiment verwendet. Das Innenröhrchen wird mit 99,5% CFCl_3 , das Außenröhrchen mit 0,75 ml D_2O befüllt. Die ^{19}F -chemische Verschiebung des $\text{CF}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$ -Isotopomeren wird zu $\delta_{\text{F}} = 0$ ppm definiert und verwendet, um alle während der NMR-kontrollierten Titration erhaltenen ^{19}F -NMR-Spektren zu kalibrieren.

Auswertetool und Multiple NMR Graphics

Mit einem für EXCEL[™] von C. Pfaff programmierten Auswertetool [24] können nun nach Eingabe der analytischen und kernresonanzspektroskopischen Daten die ionenspezifischen Parameter bestimmt werden. Das ebenfalls von C. Pfaff realisierte Programm Multiple NMR Graphics [24] dient zur Visualisierung der prozessierten NMR-Spektren. Dabei sind äquidistante und nicht-äquidistante Auftragungen der chemischen Verschiebung, z. B. gegen den Titrationsgrad oder den pH-Wert, sowohl als Stack Plot als auch als Konturplot

problemlos realisierbar. Die folgende Abbildung zeigt ein digitales Photo der verwendeten Titrationsanlage und der Spektrometerkomponenten:

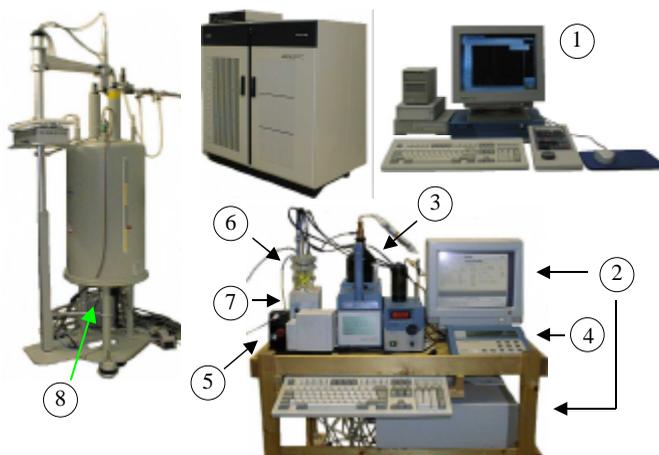


Abbildung 17: Aufbau für eine 500 MHz NMR-kontrollierte Titration Modell 2001

- 1 INDY Workstation, Spektrometerkonsole des AVANCE DRX 500 (Bruker BioSpin)
- 2 PC 486, 16 MB RAM; 3 Motorkolbenbürette T200 (Schott); 4 pH-Meter CG841 (Schott)
- 5 KNF Mikromembranflüssigkeitspumpe FM 1.30 (KNF FLODOS)
- 6 Titrationsgefäß, Glaselektrode Blueline 11, Temperatursensor PT1000 (alle: Schott)
- 7 Magnetprüher (Schott); 8 Magnet mit dem $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -LC-Probenkopf (Bruker BioSpin)

2.3 Allgemeine Betrachtungen zu zweibasigen Säuren

Fluorierte α -Aminocarbonsäuren unterliegen im Gleichgewicht einem schnellen Protonenaustausch, an dem drei charakteristische Spezies des Typs $\text{H}_i\text{L}^{(i-1)}$ ($i = 0, 1, 2$) beteiligt sind. Die relevanten Gleichgewichte werden durch die Gleichungen (12), (13) und (14), (15) beschrieben:



Für die Säurekonstanten K_{S_1} und K_{S_2} gilt:

$$K_{S_1} = \frac{c_{H^+} \cdot c_{HL}}{c_{H_2L^+}} \quad (14)$$

$$K_{S_2} = \frac{c_{H^+} \cdot c_{L^-}}{c_{HL}} \quad (15)$$

Die Molenbrüche $c_{H_iL^{i-1}}$ für die einzelnen Protonierungsspezies H_iL^{i-1} ($i = 0, 1, 2$) ergeben sich zu:

$$c_{H_2L^+} = \frac{c_{H^+}^2}{c_{H^+}^2 + c_{H^+} \cdot K_{S_1} + K_{S_1} \cdot K_{S_2}} \quad (16)$$

$$c_{HL} = \frac{c_{H^+} \cdot K_{S_1}}{c_{H^+}^2 + c_{H^+} \cdot K_{S_1} + K_{S_1} \cdot K_{S_2}} \quad (17)$$

$$c_{L^-} = \frac{K_{S_1} \cdot K_{S_2}}{c_{H^+}^2 + c_{H^+} \cdot K_{S_1} + K_{S_1} \cdot K_{S_2}} \quad (18)$$

Jeder individuellen Protonierungsspezies H_iL^{i-1} ($i = 0, 1, 2$) wird nun ein ionenspezifischer NMR-Parameter, z. B. die chemische Verschiebung $d_F(H_iL^{i-1})$ des Fluorsubstituenten, zugeordnet.

Die Differenzen Δ_1 bzw. Δ_2 definieren sich nach Gleichung (19) bzw. Gleichung (20) zu

$$\Delta_1 = d_F(H_2L^+) - d_F(HL) \quad (19)$$

$$\Delta_2 = d_F(HL) - d_F(L^-) \quad (20)$$

und werden im Folgenden als Deprotonierungsgradienten bezeichnet. Der gemittelte, dynamische NMR-Parameter $\langle d_F \rangle$ ergibt sich dann zu:

$$\langle d_F \rangle = \frac{c_{H^+}^2 \cdot d_F(H_2L^+) + c_{H^+} \cdot K_{S_1} \cdot d_F(HL) + K_{S_1} \cdot K_{S_2} \cdot d_F(L^-)}{c_{H^+}^2 + c_{H^+} \cdot K_{S_1} + K_{S_1} \cdot K_{S_2}} \quad (21)$$

Letztlich kann $\langle d_F \rangle$ als Funktion von pH , der mit der Glaselektrode als Sensor verfolgt wird, nach Gleichung (22) wiedergegeben werden.

$$\langle d_F \rangle = \frac{10^{-2pH} \cdot d_F(\text{H}_2\text{L}^+) + 10^{-(pH+pK_{S1})} \cdot d_F(\text{HL}) + 10^{-(pK_{S1}+pK_{S2})} \cdot d_F(\text{L}^-)}{10^{-2pH} + 10^{-(pH+pK_{S1})} + 10^{-(pK_{S1}+pK_{S2})}} \quad (22)$$

Betrachtet man zwei-basige Systeme des Typs H_2L , so kann man diese generell in Fälle erster Ordnung und Fälle zweiter Ordnung unterteilen. Diese sollen nun nachfolgend besprochen werden.

Für Fälle erster Ordnung gelten die folgenden Beziehungen:

Wenn

$$\Delta pK_S = pK_{S2} - pK_{S1} > 3 \quad (23)$$

gilt, kann man unter Verwendung von Gleichung (24) für den gemittelten pK_{S_m} -Wert

$$pK_{S_m} = (pK_{S2} + pK_{S1}) / 2 \quad (24)$$

zwei gut getrennte analytische Bereiche definieren. In bezug auf pH definieren sich diese wie folgt:

$$\text{Bereich 1} \quad pH \leq pK_{S_m} \quad (25)$$

$$\text{Bereich 2} \quad pH \geq pK_{S_m} \quad (26)$$

In beiden Bereichen gelten aufgrund ihrer guten Separation voneinander vereinfachte Beziehungen für den dynamischen NMR-Parameter $\langle d_F \rangle$.

$$\text{Bereich 1:} \quad \langle d_F \rangle = \frac{c_{\text{H}^+} \cdot d_F(\text{H}_2\text{L}^+) + K_{S1} \cdot d_F(\text{HL})}{c_{\text{H}^+} + K_{S1}} \quad (27)$$

$$\text{Bereich 2:} \quad \langle d_F \rangle = \frac{c_{\text{H}^+} \cdot d_F(\text{HL}) + K_{S2} \cdot d_F(\text{L}^-)}{c_{\text{H}^+} + K_{S2}} \quad (28)$$

Wendet man auf die Gleichungen (27) bzw. (28) die logarithmische Schreibweise an, erhält man die Gleichungen (29) bzw. (30):

Bereich 1:
$$\langle \mathbf{d}_F \rangle = \frac{10^{-pcH} \cdot \mathbf{d}_F(\text{H}_2\text{L}^+) + 10^{-pK_{S1}} \cdot \mathbf{d}_F(\text{HL})}{10^{-pcH} + 10^{-pK_{S1}}} \quad (29)$$

Bereich 2:
$$\langle \mathbf{d}_F \rangle = \frac{10^{-pcH} \cdot \mathbf{d}_F(\text{HL}) + 10^{-pK_{S2}} \cdot \mathbf{d}_F(\text{L}^-)}{10^{-pcH} + 10^{-pK_{S2}}} \quad (30)$$

Die erste Ableitung $d\langle \mathbf{d}_F \rangle / dpcH$ zeigt ein Extremum, während die zweite Ableitung $d^2\langle \mathbf{d}_F \rangle / dpcH^2$ Null wird. Daraus folgt:

Bereich 1
$$pcH = pK_{S1} \quad (31)$$

Bereich 2
$$pcH = pK_{S2} \quad (32)$$

Ändert man nun pcH durch selektive Zugabe von oder Titration mit starken einwertigen Basen oder Säuren und verfolgt die dynamische chemische Verschiebung als zusätzlichen Sensor, erhält man analytische Daten in Form von pK_{S_i} -Werten und ionenspezifische NMR-Parameter. In günstigen Fällen gilt dies sowohl für Reinsubstanzen als auch für Mischungen verschiedener Komponenten oder verunreinigte Substanzen.

Weniger günstig sind die Fälle, in denen der Deprotonierungsgradient Δ_i klein ist und/oder die pK_{S_i} -Werte in den Grenzbereichen der pH -Skala liegen. Dies gilt für $pK_{S_i} < 1$ und $pK_{S_i} > 13$.

Der Titrationsgrad t , der ein bequemer Parameter ist, um den Zustand einer Titration zu beschreiben, ergibt sich zu:

$$t = \frac{n_B - n_A}{n_T} \quad (33)$$

Hierbei sind n_B und n_A definiert als die Anzahl der Äquivalente starker Base (z. B. TMA-OH) und starker Säure (z. B. HCl, CF₃COOH), n_T gibt die totale molare Menge des Liganden an, welche alle Protonierungsspezies des Ligandens beinhaltet. Die Herkunft der Äquivalente der starken Säure kann durch Indizierung von n_A berücksichtigt werden. So setzt sich z. B. für eine zwei-basige Säure, die als Trifluoressigsäureaddukt vorliegt und vor der Titration mit einer definierten Menge Salzsäure versetzt wird, n_A additiv aus n_A (zugesetzte Salzsäure) und $n_{A'}$ (zugesetzte Trifluoressigsäure) zusammen.

Der Titrationsgrad t ergibt sich aus Gleichung (34):

$$t = \frac{T \cdot C_B^* - C_A^* - C_{A'}^*}{C_T^*} \quad (34)$$

mit:

$$T = \frac{-A + C_A^* + C_{A'}^* - C_T^* \cdot B}{C_T^* + A} \quad (35)$$

$$A = 10^{-pH} - 10^{pH - pK_w} \quad (36)$$

$$B = \frac{10^{-2pH} - 10^{-(pK_{S1} + pK_{S2})}}{10^{-2pH} + 10^{-(pH + pK_{S1})} + 10^{-(pK_{S1} + pK_{S2})}} \quad (37)$$

und die Totalkonzentration in der Titrationslösung vor Beginn der Titration ist gegeben durch: C_T^* (für alle Protonierungsspezies H_iL^{i-1} mit $i = 0, 1, 2$), C_A^* (Salzsäure), $C_{A'}^*$ (Trifluoressigsäure) und C_B^* als Konzentration der Titratorbase.

Fälle zweiter Ordnung gehorchen den Gleichungen (38),(22),(34).

Wenn

$$\Delta_{pK_S} = pK_{S2} - pK_{S1} < 3 \quad (38)$$

erfüllt ist, ist die Situation wesentlich komplexer und eine vollständig iterative Behandlung der Meßdaten wird erforderlich, um pK_{S_i} -Werte und ionenspezifische NMR-Parameter zu bestimmen.

2.4 Fluorierte Aminocarbonsäuren

Aminocarbonsäuren nehmen im Organismus eine zentrale Stellung ein. Zum einen stellen sie die monomeren Einheiten der Proteine dar, welche im Fall der Enzyme von evidenter biochemischer Bedeutung sind. Zum anderen sind Aminocarbonsäuren für den Energiestoffwechsel von Bedeutung, darüberhinaus stellen viele von ihnen essentielle Nährstoffe dar. Desweiteren fungieren Aminocarbonsäuren oft als Botensubstanzen in der interzellulären Kommunikation. Glycin, γ -Aminobuttersäure (GABA) und Dopamin fungieren als Neurotransmitter, d.h. sie sind Substanzen, die von Nervenzellen freigesetzt werden und für die Signalweiterleitung verantwortlich sind. Als weiteres bekanntes Beispiel sei noch das Histamin erwähnt, welches das Decarboxylierungsprodukt des Histidins darstellt und als ein starker lokal wirkender Mediator bei allergischen Reaktionen wirkt [25].

Man unterscheidet zwischen den zwanzig proteinogenen Standard-Aminocarbonsäuren, von denen bis auf Prolin alle α -Aminocarbonsäuren sind, und einer Vielzahl nicht proteinogener Aminocarbonsäuren.

Insbesondere in α -Stellung methylierte α,α -disubstituierte α -Aminocarbonsäuren sind von hohem chemischen, biochemischen bzw. pharmakologischen Interesse; auch in der medizinischen Forschung spielt diese Verbindungsklasse eine zunehmend größere Rolle. α,α -Disubstituierte α -Aminocarbonsäuren gehören zu den oben genannten nicht proteinogenen Aminocarbonsäuren und besitzen als solche außergewöhnliche pharmakologische und Konformationseigenschaften, die zu interessanten Phänomenen führen, wenn man solche Aminocarbonsäuren in Peptide einbaut.

Als erste α,α -disubstituierte α -Aminocarbonsäure ist das 2-Methylalanin anzusehen, welches bereits 1872 von Urech durch Hydrolyse von 5,5-Dimethylhydantoin synthetisiert wurde [26]. Als weitere und zum Teil modernere Synthesemethoden seien die Strecker-Synthese [27], die „Bislactimether-Methode“ von Schöllkopf [28]-[29], die „Selbstreproduktion des Chiralitätszentrums“ von Seebach [30] sowie enzymatische und andere Verfahren [31]-[38] erwähnt.

Die große Bedeutung dieser Aminocarbonsäuren liegt zum einen in ihrer nachgewiesenen oder potentiellen biologischen bzw. pharmakologischen Aktivität und zum anderen in der Vielfalt ihrer möglichen Anwendungen [39], [40].

Eine seit längerem bekannte Tatsache ist, daß α,α -disubstituierte α -Aminocarbonsäuren als starke Enzyminhibitoren gelten, insbesondere die in α -Stellung methylierten Aminocarbonsäuren und deren Derivate sind in der Lage, Enzyme zu hemmen bzw. zu blockieren, welche die entsprechenden proteinogenen Aminosäuren metabolisieren [41]. Hier treten besonders die α -Methyl- α -aminocarbonsäuren hervor, die zur Modifizierung der Sequenz von Peptidhormonen eingebaut werden, um diese gegen enzymatischen Abbau resistenter zu machen oder um bevorzugte Konformationen des Peptid-Gerüsts zu stabilisieren.

Eine große Rolle spielen derartige Aminocarbonsäuren auch als Bausteine von Peptaibolen [42]. Als Beispiel seien 2-Methylalanin (Aib) und D-2-Ethylalanin (D-Iva, D-Isovalin) genannt, die zur Herstellung mikrobieller Peptidantibiotica und amphiphiler Ionophore verwendet werden, die in der Lage sind, Transmembran-Ionenkanäle zu bilden [43].

Bei der Untersuchung von Transportmechanismen von Aminocarbonsäuren steht insbesondere das oben erwähnte Aib im Vordergrund, das als Modellsubstanz verwendet wird [44]. Desweiteren werden α,α -disubstituierte α -Aminocarbonsäuren in Peptidketten eingebaut, um bedingt durch die konformationellen Restriktionen eine Zunahme des helicalen Anteils [43], [45], [46] oder die Bildung von spezifischen β -Turns zu erreichen [47]-[49]. Aus diesem Grund lassen sich diese Aminocarbonsäuren zur Synthese von Oligopeptid-Segmenten mit stabiler Sekundärstruktur verwenden. Ein hierbei beobachteter Effekt ist z. B. die Erhöhung der Löslichkeit von hydrophoben Peptiden in polaren Lösungsmitteln. Dieser Effekt ist u.a. Grundlage für die bereits genannten Peptaibole, da durch solche modifizierten Peptide die Permeabilität von Membranen für Ionen selektiv verändert werden kann. Die Verringerung der Flexibilität des Peptid-Rückgrats erleichtert die Suche nach „aktiven Konformationen“, die von den physiologischen Rezeptoren erkannt werden. Dies findet insbesondere in der pharmakologischen Forschung bei der Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen Anwendung [50].

Auch lassen sich ausgewählte fluorierte Aminocarbonsäuren und deren Derivate zur intrazellulären pH-Wert-Bestimmung mittels ^{19}F -NMR-Spektroskopie verwenden [51], [52].

Im Rahmen dieser Arbeit werden drei fluorierte Aminocarbonsäuren NMR-kontrolliert untersucht. Es sind dies die 2-Amino-4-fluorpent-2-methylpent-4-ensäure **1**, die 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2** und die 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**, die im Arbeitskreis von Prof. Dr. G. Haufe in Münster synthetisiert und mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden [53]-[59].

Fluor als Substituent in organischen Molekülen

Ein Indiz für das große Interesse an fluorhaltigen biologisch aktiven Molekülen ist die kontinuierlich steigende Anzahl von Publikationen auf diesem Gebiet. Die Einführung von Fluor oder C-fluorierten Molekülbausteinen in Moleküle ist fraglos eine der wirkungsvollsten Methoden zur gezielten Veränderung der physikalischen Eigenschaften des betrachteten Moleküls. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang jedoch die Veränderung des Moleküls bezüglich seiner biologischen Aktivität bzw. der daraus resultierenden biologischen Wirksamkeit [60]. Einige der hierfür verantwortlichen besonderen Eigenschaften des Elements Fluor seien im Folgenden genannt.

Neben dem Wasserstoffatom (120 pm) ist das Fluoratom mit einem van der Waals-Radius von 135 pm der zweitkleinste Substituent. Somit folgt, daß Fluor kein sterisch anspruchsvoller Substituent ist und demzufolge bei Substitution eines Wasserstoffatoms durch ein Fluoratom ein Einfluß auf die Molekülgeometrie höchstens durch die freien Elektronenpaare des Fluors zu erwarten ist. Die wohl wichtigste Eigenschaft des Fluors liegt in seiner hohen Elektronegativität begründet, die nach Pauling mit $c = 4.0$ angegeben wird und es zum elektronegativsten Element überhaupt macht. Diese hohe Elektronegativität hat einen großen Einfluß auf die Elektronendichteverteilung im Molekül, die Dipolmomente innerhalb des Moleküls und auf die Basizität und Acidität benachbarter funktioneller Gruppen im Molekül.

Ob kovalent gebundenes Fluor aufgrund seiner hohen Elektronegativität als Wasserstoffbrückenakzeptor fungieren kann, scheint zumindest nach neueren Erkenntnissen fraglich und wird zur Zeit kontrovers diskutiert [61].

Fluor ist nicht nur zur Substitution von Wasserstoffatomen geeignet, sondern ist gleichsam ein geeigneter Ersatz für Hydroxylfunktionen, da die biologischen Eigenschaften organischer Hydroxyverbindungen erhalten bleiben. Man spricht aus diesem Grund bei der se-

lektiven Substitution eines Wasserstoffatoms oder einer Hydroxyfunktion von einer isogeometrischen Transformation [62]. Die vorgenannten Eigenschaften und Phänomene spielen insbesondere bei Molekülen eine große Rolle, bei denen es auf die Erkennung einer bestimmten Konformation ankommt.

Ein weiterer wichtiger Vorteil in bezug auf die Resistenz gegen metabolischen Abbau liegt in der hohen Bindungsenergie der C-F-Bindung begründet. Die C-F-Bindung ist mit einer Bildungsenergie von 447 kJ/mol um ca. 50 kJ/mol stabiler als die C-H-Bindung (400 kJ/mol) und bis zu 100 kJ/mol stabiler als die C-C-Bindung [62], [63].

Wie bereits erwähnt verleiht diese Tatsache fluorhaltigen Molekülen häufig eine metabolische Stabilität in lebenden Organismen, die sie als Antimetabolite interessant machen [64]. Als Beispiel sei an dieser Stelle die Inhibition des Zitronensäurezyklus durch Fluoracetat genannt [65].

2.4.1 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure

In den folgenden Tabellen sind die analytischen Daten sowie die Aufnahme- und Prozessierungsparameter für die 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierte Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure vs. 0,1 M TMAOH angegeben.

Analytische Untersuchungen haben ergeben, daß die untersuchte Verbindung **1** einem Trifluoressigsäureaddukt **2** im stöchiometrischen Verhältnis von 1,0000 : 0,9863 entspricht.

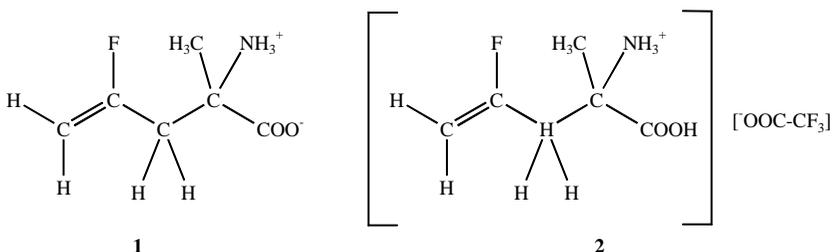


Abbildung 18: 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Eine Einwaage von 66,50 mg der Verbindung wurde für die NMR-kontrollierte Titration vorgenommen. Der eingewogenen Menge entspricht ein Anteil von 36,90 mg Aminosäure (0,251 mmol), 28,20 mg Trifluoressigsäure (0,248 mmol) und desweiteren 1,41 mg Wasser (0,078 mmol).

NS	2
SW [ppm]	19,97
SW [Hz]	9398,50
TD	32k
SI	64k
LB [Hz]	1,00

Tabelle 5: Aufnahme- und Prozessierungsparameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration von 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Vorlagevolumen	25,00 ml
Titrator	TMAOH c_{ZB} : 0,10070 mol/l V_{Zmax} : 10,11 ml
Ligand in der Vorlage	36,9 mg n_{VL} : 0,251 mmol c_{VL} : 0,01 mol/l
Säurezusatz in der Vorlage	2,55 ml 0,09968 mol/l HCl n_{VS} : 0,254 mmol c_{VS} : 0,01 mol/l
Ionenzusatz	5 ml 0,5 mol/l TMACl n_{VI} : 2,5 mmol c_{VI} : 0,1 mol/l
pK_{S_1}	1,936
pK_{S_2}	9,063
Anzahl der NMR-Experimente	64

Tabelle 6: Experimentelle Parameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Mit den genannten analytischen Parametern ergeben sich folgende Molenbruchverteilungsdiagramme.

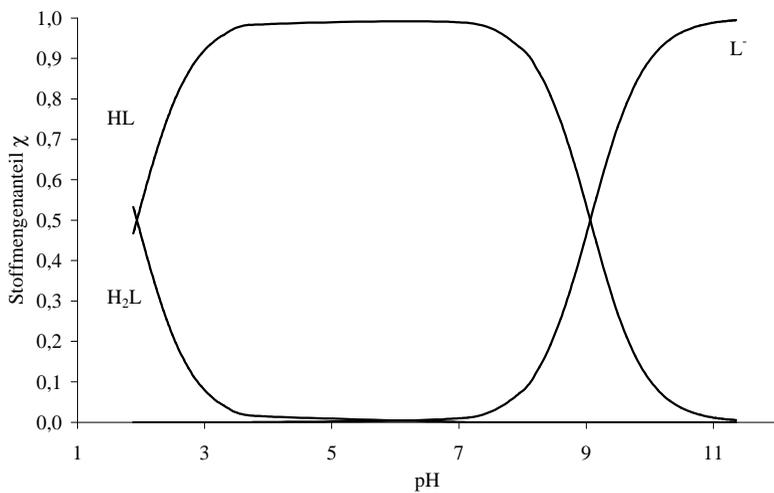
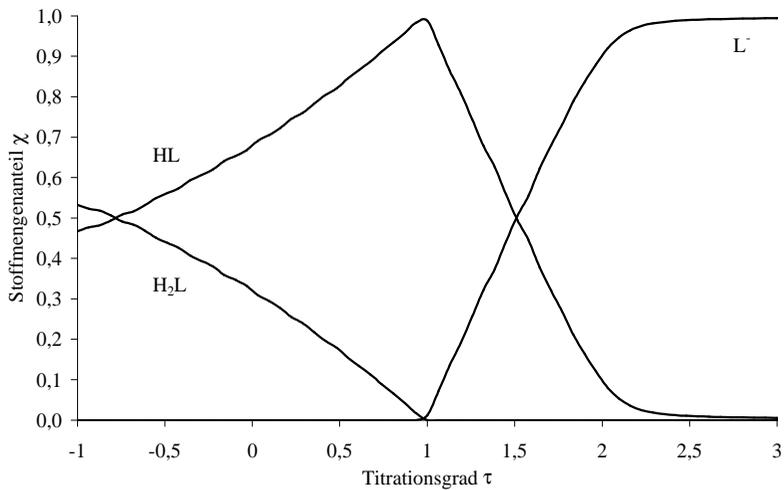


Abbildung 19: χ, τ -Diagramm (oben), χ, pH -Diagramm (unten) für die 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierte Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

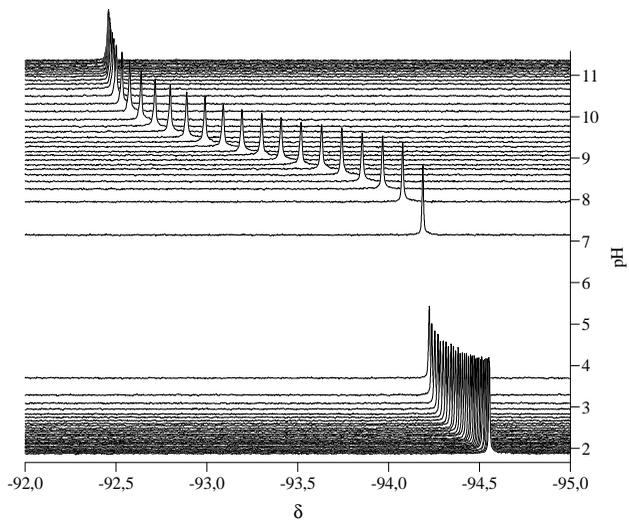
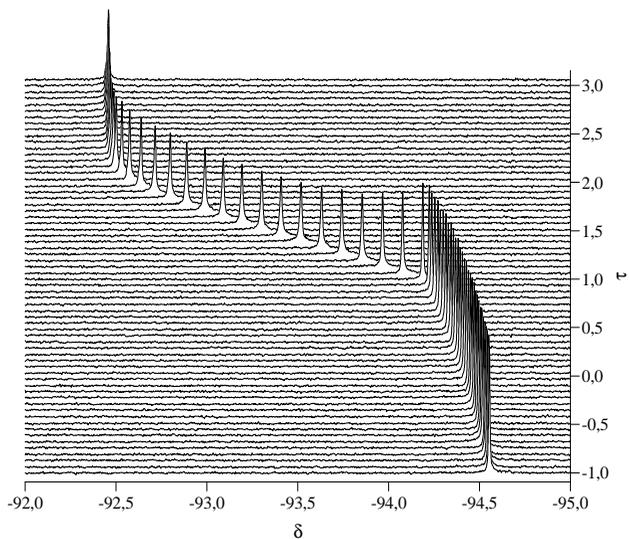


Abbildung 20: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

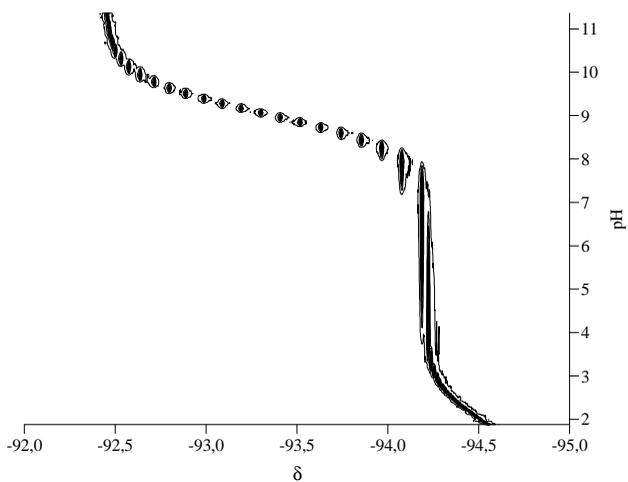
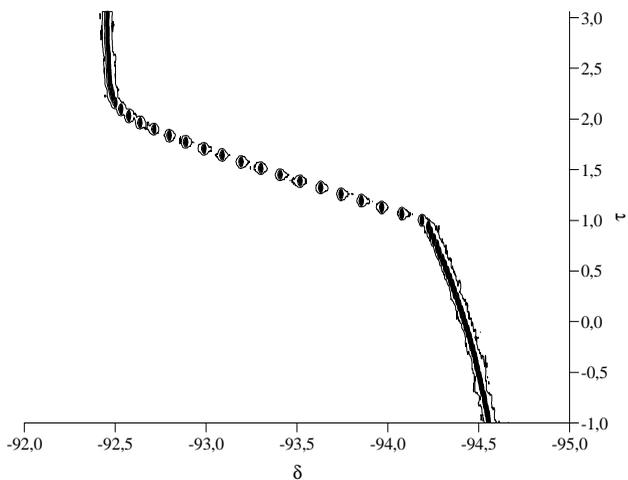


Abbildung 21: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

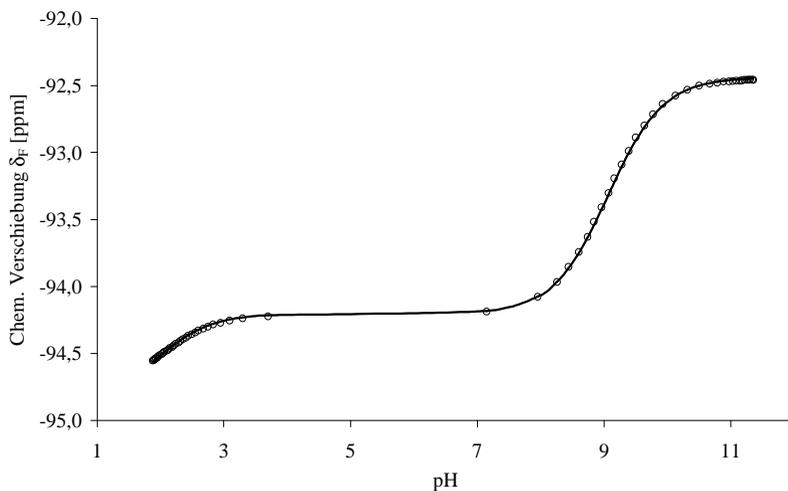
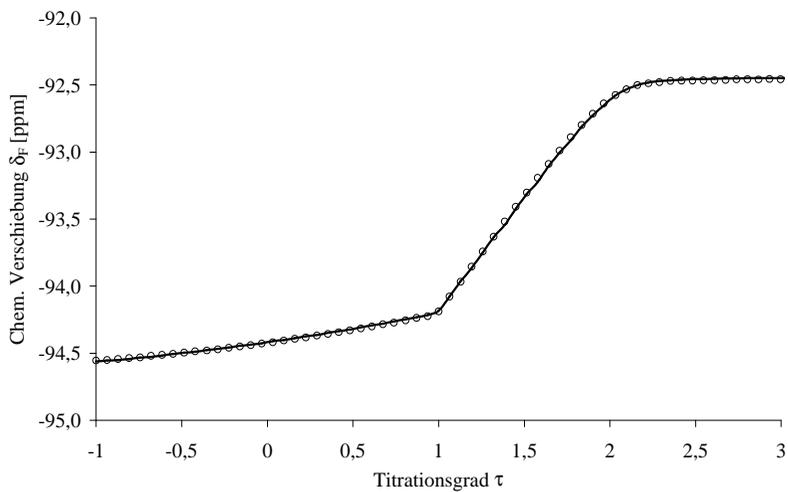


Abbildung 22: δ, τ -Diagramm (oben,) δ, pH -Diagramm (unten,) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Die Ergebnisse der Auswertung der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure sind in Tabelle 7 angegeben.

Spezies	Gradient	Gauss-Elimination		Implizit-Iteration	
		d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]	d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]
H_2L^+		-94,88	0,007	-94,87	0,372
	D_1	-0,68		-0,66	
HL		-94,20	0,003	-94,21	0,013
	D_2	-1,76		-1,76	
L^-		-92,44	0,002	-92,45	0,004

Tabelle 7: Ionenspezifische NMR-Parameter d_i und Deprotonierungsgradienten Δ_i der 470,59 MHz $^{19}F\{^1H\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Die untersuchte 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure repräsentiert den klassischen Fall erster Ordnung für eine kationische Säure des Typs H_2L^+ . Der Fluor-Sensor spiegelt hierbei das Protonierungs- bzw. Deprotonierungsgleichgewicht empfindlich wider, obwohl er in bezug auf die am Protonenaustausch beteiligten Atome mehrere Bindungen weit entfernt ist. Seine Entfernung zum Stickstoff beträgt vier Bindungen, während er von den Sauerstoffatomen fünf Bindungen entfernt ist. Der erste Deprotonierungsgradient Δ_1 beträgt -0,68 bzw. -0,66 ppm und beschreibt die Änderung der ionenspezifischen Verschiebung, die durch Deprotonierung der Carbonsäurefunktion hervorgerufen wird. Der zweite Deprotonierungsschritt findet an der protonierten Aminofunktion statt und führt zu einem zweiten Deprotonierungsgradienten Δ_2 von -1,76 ppm. Dies steht im Einklang mit dem erwarteten chemischen Verhalten von Aminocarbonsäuren.

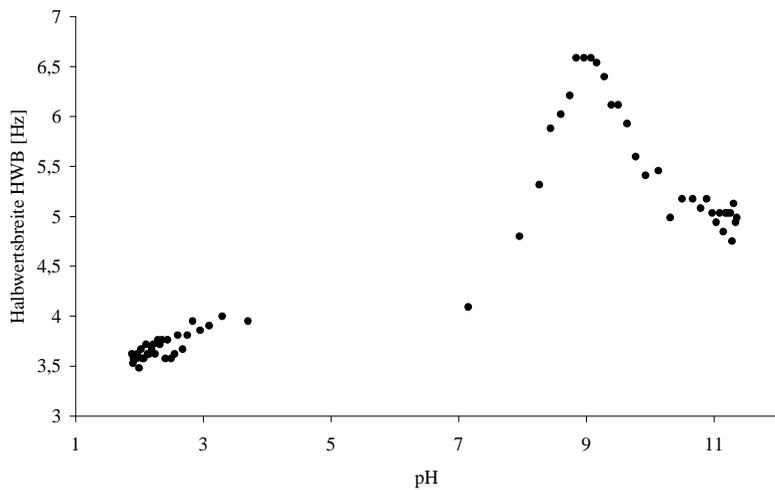
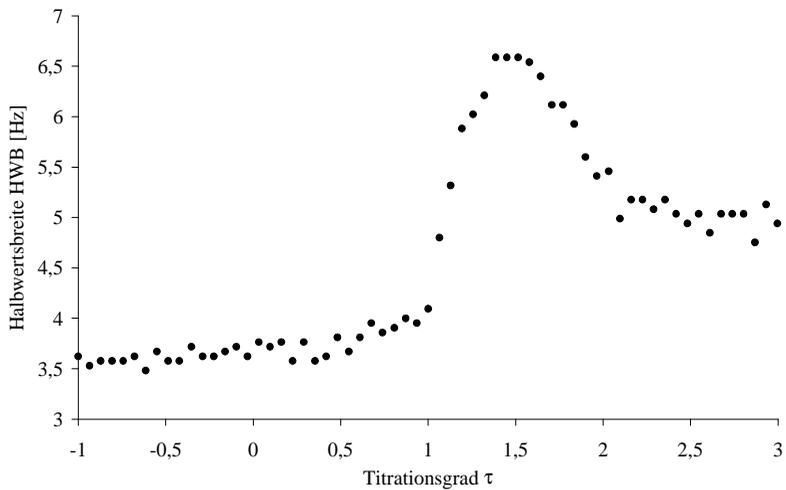


Abbildung 23: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure **1**

Betrachtet man die Änderung der Halbwertsbreite im Verlauf der Titration, so fällt auf, daß die Halbwertsbreite bei $t = 1,5$ einem Maximalwert von 6,6 Hz entgegenstrebt, um danach wieder abzusinken. Diese signifikante Änderung der Halbwertsbreite findet in einem definierten Intervall zwischen $t = 1$ und $t = 2$ statt, einem Bereich also in dem die Deprotonierung der protonierten Aminofunktion erfolgt.

Dies läßt auf einen Assoziationsprozeß schließen, bei dem ein über eine Wasserstoffbrückenbindung verbundenes Anion $[L-H-L]^-$ gebildet wird. Die Lage des Maximums der Halbwertsbreite bei $t = 1,5$ ist demzufolge einer intermolekularen Wasserstoffbrückenbindung zuzuordnen.

Die Werte der spektralen Halbwertsbreite wurden für jedes während der Titration erhaltene Spektrum mittels Deconvolution mit WIN-NMR bestimmt. Die Bestimmung der Halbwertsbreite mit dieser Methode variiert um bis zu $\pm 0,3$ Hz und ist somit in ihrer Größe weit von dem signifikanten Anstieg bei $t = 1,5$ entfernt.

2.4.2 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

Die analytischen Daten sowie die Aufnahme- und Prozessierungsparameter für die 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierte Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure vs. 0,1 M TMAOH sind im Folgenden angegeben.

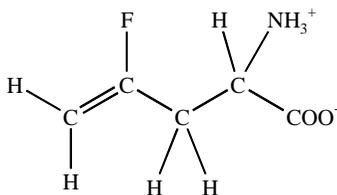


Abbildung 24: 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure 2

NS	2
SW [ppm]	19,97
SW [Hz]	9398,50
TD	32k
SI	64k
LB [Hz]	1,00

Tabelle 8: Aufnahme- und Prozessierungsparameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

Vorlagevolumen	25,00 ml
Titratoren	TMAOH c_{ZB} : 0,10070 mol/l V_{Zmax} : 9,87 ml
Ligand in der Vorlage	37,0 mg n_{VL} : 0,251 mmol c_{VL} : 0,01 mol/l
Säurezusatz in der Vorlage	2,55 ml 0,09968 mol/l HCl n_{VS} : 0,254 mmol c_{VS} : 0,01 mol/l
Ionenzusatz	5 ml 0,5 mol/l TMACl n_{VI} : 2,5 mmol c_{VI} : 0,1 mol/l
pK_{S_1}	1,942
pK_{S_2}	8,676
Anzahl der NMR-Experimente	64

Tabelle 9: Experimentelle Parameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

Mit den genannten analytischen Parametern ergeben sich folgende Molenbruchverteilungsdigramme.

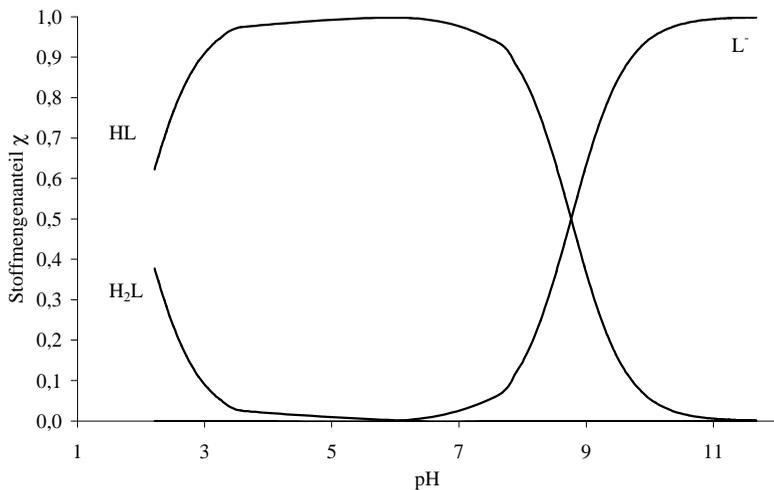
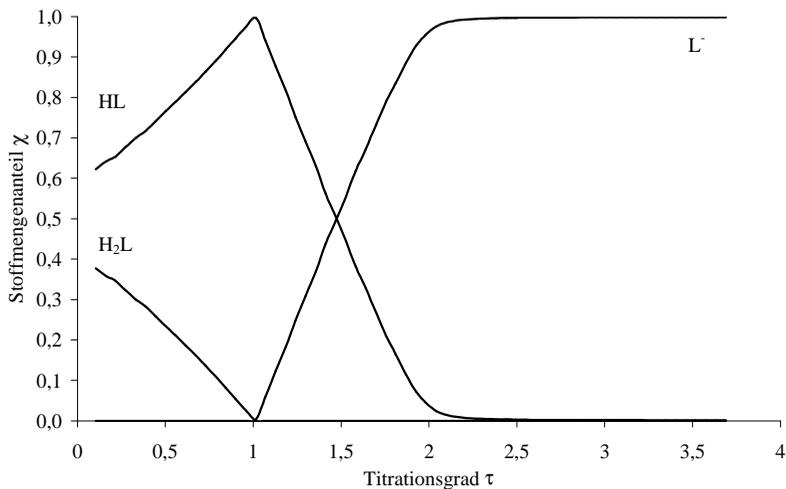


Abbildung 25: χ, τ -Diagramm (oben), χ, pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

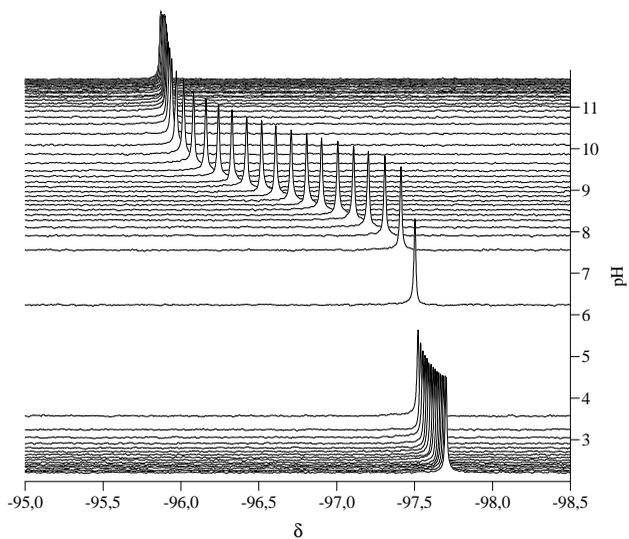
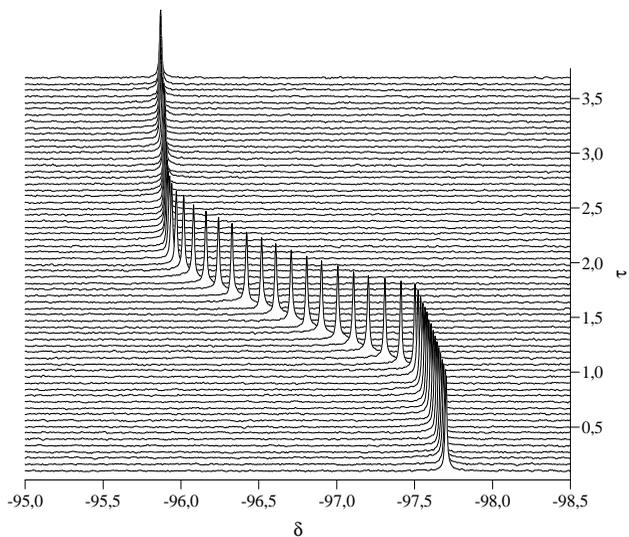


Abbildung 26: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

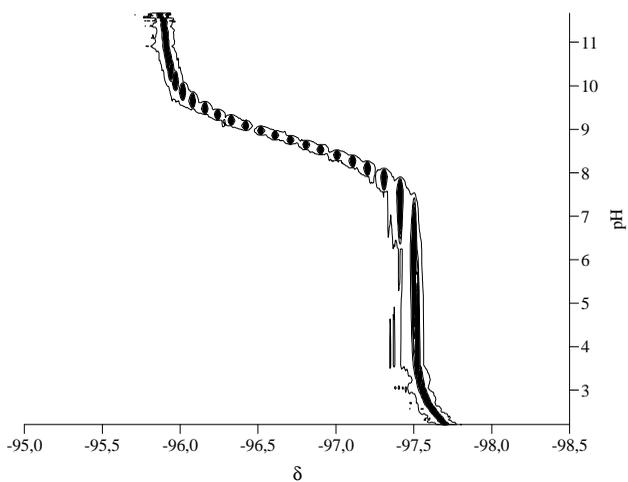
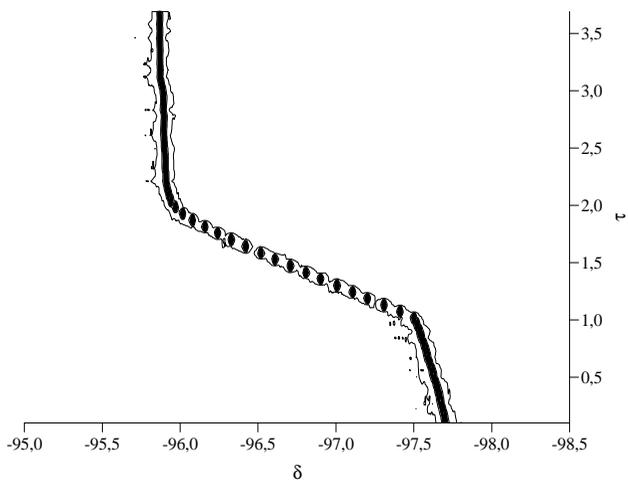


Abbildung 27: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

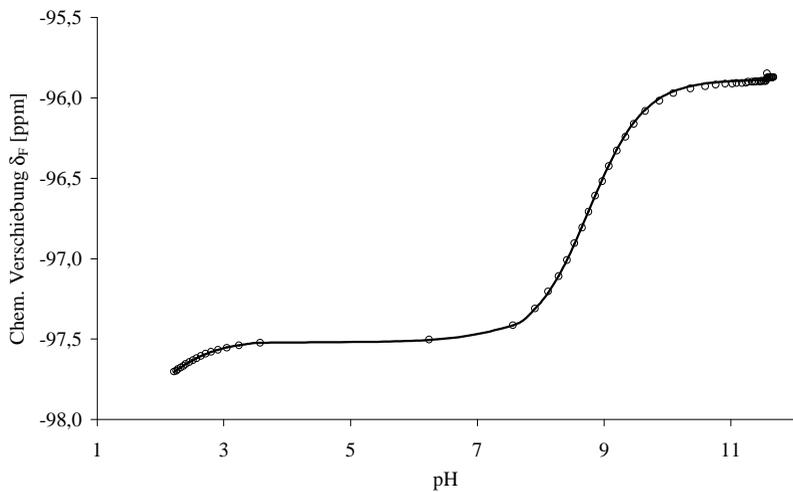
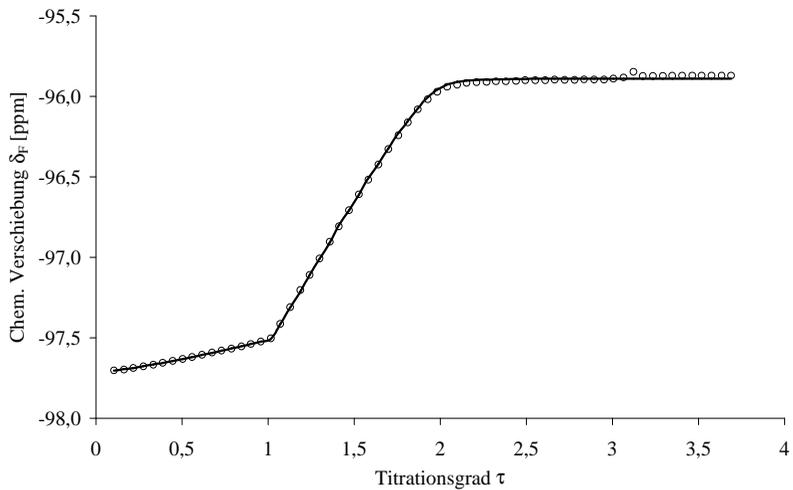


Abbildung 28: δ, τ -Diagramm (oben,) δ, pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

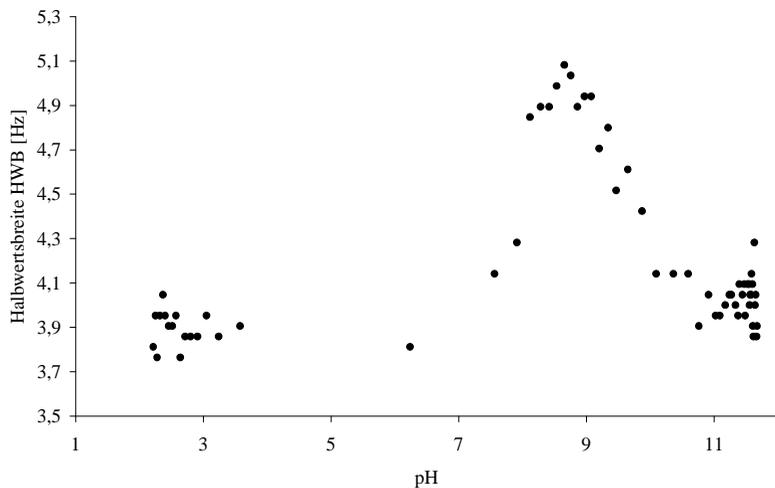
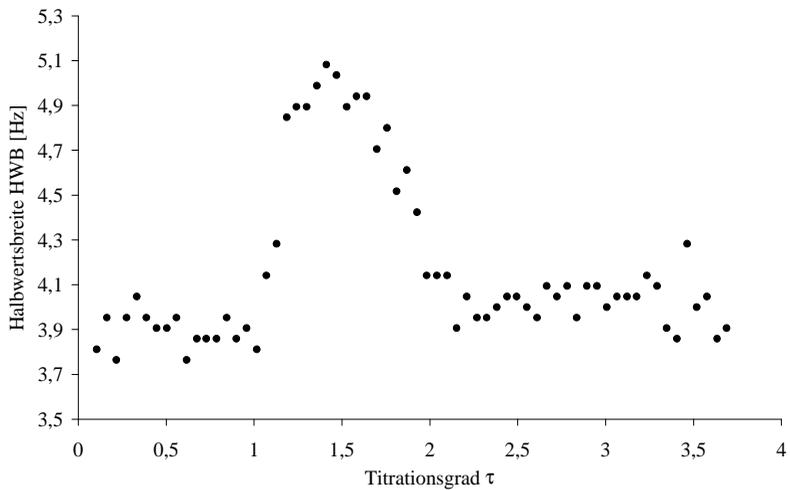
In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Auswertung der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure angegeben.

Spezies	Gradient	Gauss-Elimination		Implizit-Iteration	
		d_{F} [ppm]	$\pm\epsilon d_{\text{F}}$ [ppm]	d_{F} [ppm]	$\pm\epsilon d_{\text{F}}$ [ppm]
H_2L^+		-98,02	0,016	-98,04	1,831
	D_1	-0,51		-0,53	
HL		-97,51	0,004	-97,51	0,008
	D_2	-1,62		-1,63	
L^-		-95,89	0,002	-95,88	0,002

Tabelle 10: Ionenspezifische NMR-Parameter d_{F} und Deprotonierungsgradienten Δ_i der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure **2**

Auch die untersuchte 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure repräsentiert den first-order-Fall einer kationischen Säure des Typs H_2L^+ . Die Entfernung des Fluor-Sensors zum Stickstoff beträgt wiederum vier Bindungen zum Stickstoff und fünf Bindungen zu den Sauerstoffatomen. Trotz seiner Entfernung zu den am Protonenaustausch beteiligten Atomen spiegelt der Fluor-Sensor das Protonierungs- Deprotonierungsgleichgewicht empfindlich wider.

Der erste Deprotonierungsgradient Δ_1 beträgt -0,51 bzw. -0,53 ppm und beschreibt die Änderung der ionenspezifischen Verschiebung, die durch Deprotonierung der Carbonsäurefunktion hervorgerufen wird. Der zweite Deprotonierungsschritt findet an der protonierten Aminofunktion statt und führt zu einem zweiten Deprotonierungsgradienten Δ_2 von -1,62 bzw. -1,63 ppm. Beide Deprotonierungsgradienten sind im Vergleich zur zuvor diskutierten methylierten Verbindung geringfügig erniedrigt.



Betrachtet man auch hier die Änderung der Halbwertsbreite im Verlauf der Titration, so fällt auf, daß die Halbwertsbreite bei $t = 1,5$ wiederum einem Maximalwert von 5 Hz entgegenstrebt, um danach wieder abzusinken. Da die signifikante Änderung der Halbwertsbreite in Analogie zur 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure ebenfalls im Bereich der Deprotonierung der protonierten Aminofunktion zwischen $t = 1$ und $t = 2$ erfolgt, ist auch in diesem Fall ein Assoziationsprozeß anzunehmen, bei dem ein über eine Wasserstoffbrückenbindung verbundenes Anion $[L-H-L]^-$ gebildet wird. Die Lage des Maximums der Halbwertsbreite bei $t = 1,5$ kann somit einer intermolekularen Wasserstoffbrückenbindung zugeordnet werden.

2.4.3 2-Amino-4-fluorbutansäure

Die analytischen Daten für die 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierte Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure vs. 0,1 M TMAOH sowie die Aufnahme- und Prozessierungsparameter sind in den folgenden Tabellen angegeben.

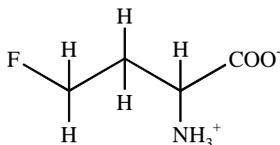


Abbildung 30: 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

NS	16
SW [ppm]	19,97
SW [Hz]	9398,50
TD	32k
SI	64k
LB [Hz]	1,50

Tabelle 11: Aufnahme- und Prozessierungsparameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration von 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

Vorlagevolumen	25,00 ml
Titratoren	TMAOH c_{ZB} : 0,10103 mol/l V_{Zmax} : 11,09 ml
Ligand in der Vorlage	31,3 mg n_{VL} : 0,258 mmol c_{VL} : 0,01 mol/l
Säurezusatz in der Vorlage	5,13 ml 0,10082 mol/l HCl n_{VS} : 0,517 mmol c_{VS} : 0,02 mol/l
Ionenzusatz	5 ml 0,5 mol/l TMACl n_{VI} : 2,5 mmol c_{VI} : 0,1 mol/l
pK_{S_1}	2,108
pK_{S_2}	9,021
Anzahl der NMR-Experimente	64

Tabelle 12: Experimentelle Parameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

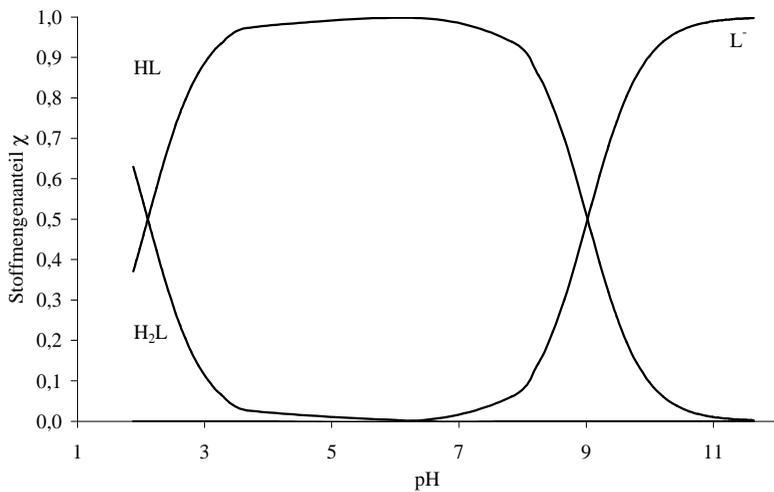
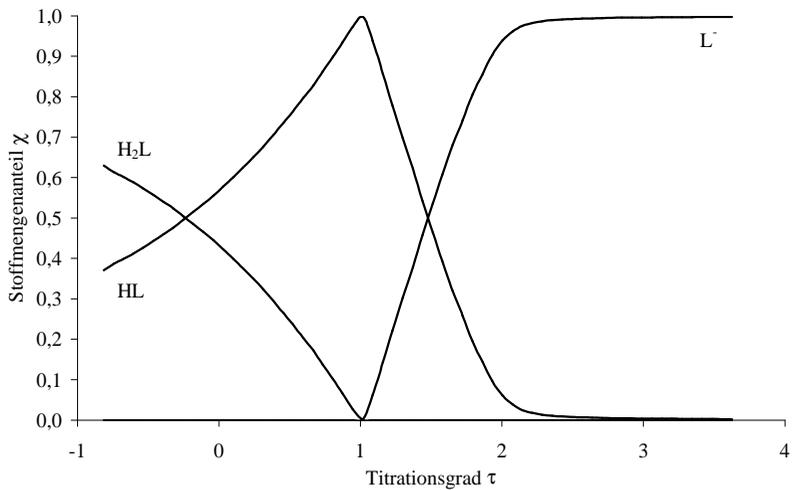


Abbildung 31: χ,τ -Diagramm (oben), χ,pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

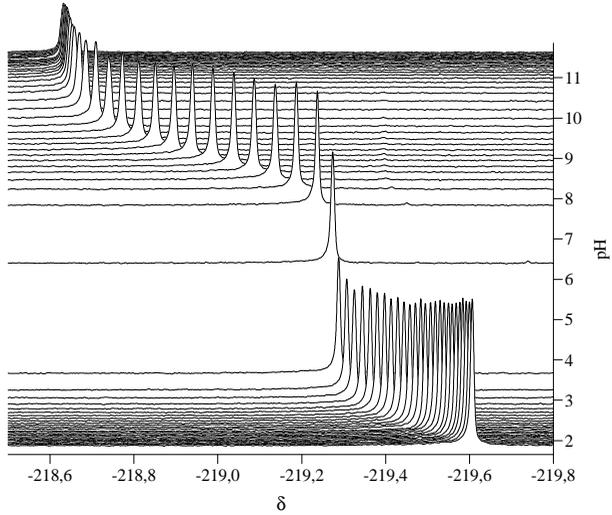
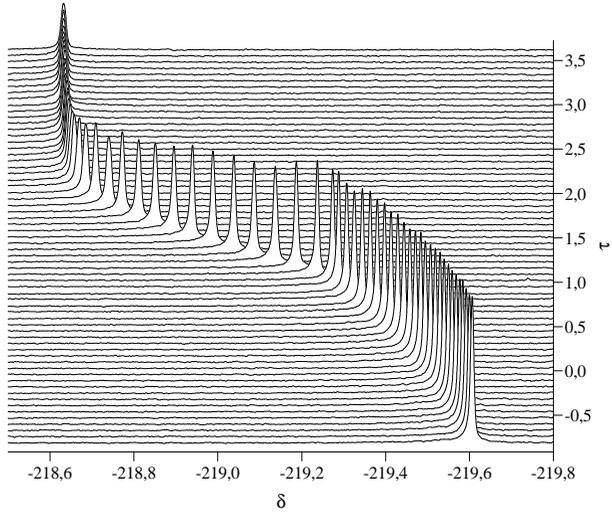


Abbildung 32: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

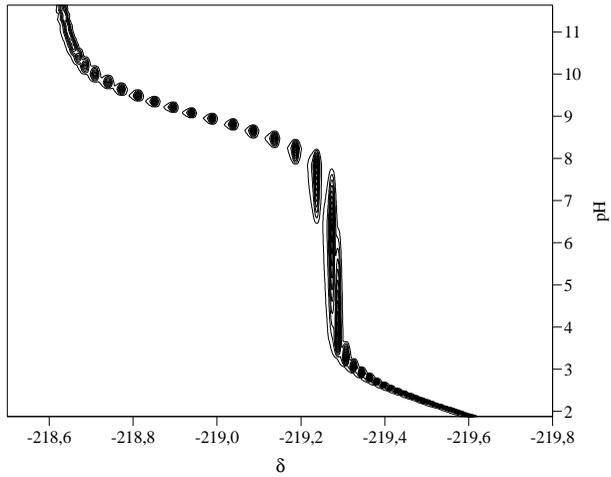
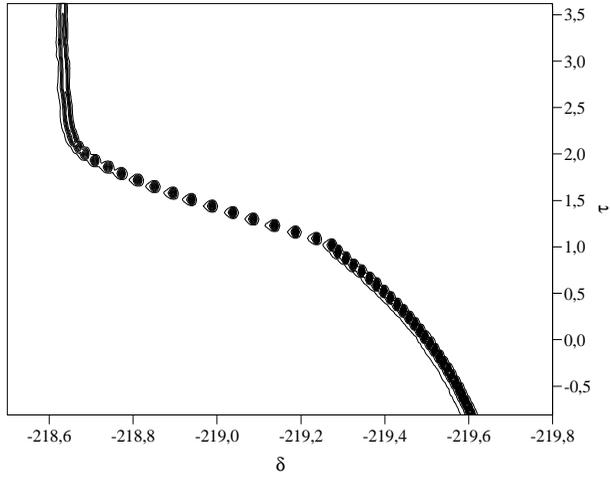


Abbildung 33: τ,δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

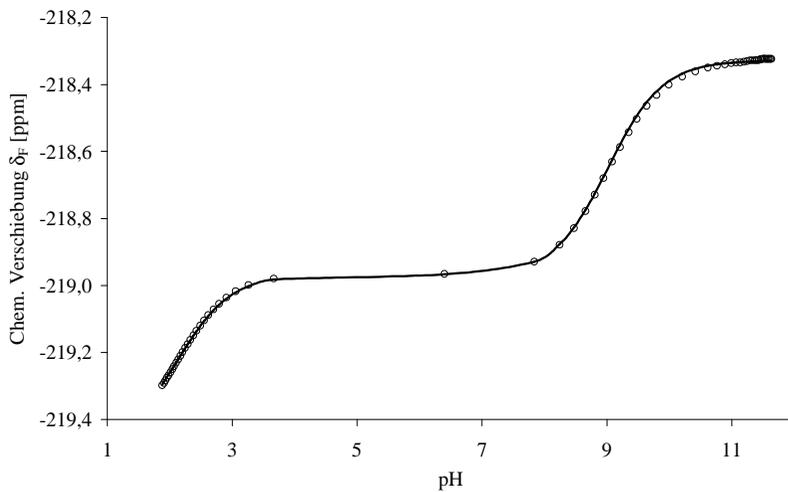
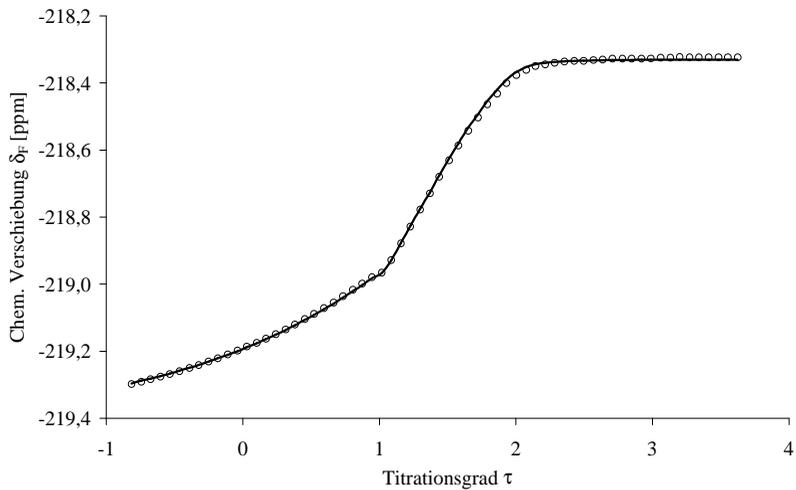


Abbildung 34: δ, τ -Diagramm (oben,) δ, pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse der Auswertung der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure.

Spezies	Gradient	Gauss-Elimination		Implizit-Iteration	
		d_{F} [ppm]	$\pm\epsilon d_{\text{F}}$ [ppm]	d_{F} [ppm]	$\pm\epsilon d_{\text{F}}$ [ppm]
H_2L^+		-219,49	0,003	-219,49	1,917
	D_1	-0,52		-0,52	
HL		-218,97	0,002	-218,97	0,035
	D_2	-0,64		-0,65	
L^-		-218,33	0,001	-218,32	0,012

Tabelle 13: Ionenspezifische NMR-Parameter d_{F} und Deprotonierungsgradienten Δ_i der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

Bei der untersuchten 2-Amino-4-fluorbutansäure handelt es sich ebenfalls um einen first-order-Fall einer kationischen Säure des Typs H_2L^+ . Die Entfernung des Fluor-Sensors zum Stickstoff beträgt vier Bindungen zum Stickstoff und fünf Bindungen zu den Sauerstoffatomen und ist somit unverändert gegenüber den beiden zuvor untersuchten Aminosäuren. Der erste Deprotonierungsgradient Δ_1 beträgt -0,52 bzw. -0,52 ppm und beschreibt die Änderung der ionenspezifischen Verschiebung, die durch Deprotonierung der Carbonsäurefunktion hervorgerufen wird. Sein Wert für die 2-Amino-4-fluorbutansäure ist vergleichbar mit den für die 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure und die 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure gefundenen Werten. Der zweite Deprotonierungsgradient Δ_2 , der den Deprotonierungsschritt an der protonierten Aminofunktion beschreibt, ist jedoch mit -0,64 bzw. -0,65 deutlich erniedrigt. Trotz der gleichgebliebenen Entfernung zu den am Protonenaustausch beteiligten Atomen spiegelt der Fluor-Sensor das Protonierungs- Deprotonierungsgleichgewicht weniger empfindlich wider.

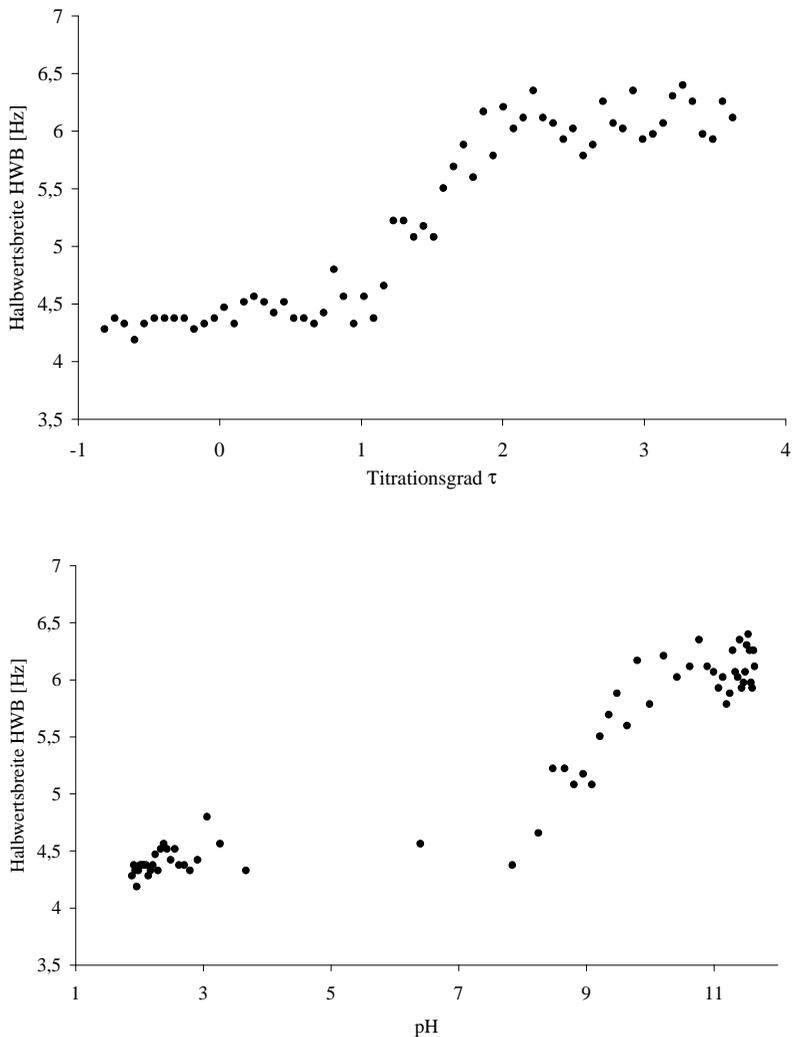


Abbildung 35: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration der 2-Amino-4-fluorbutansäure **3**

Charakteristisch für die beiden zuvor untersuchten Verbindungen, die 2-Amino-4-fluor-4-ensäure und die 2-Amino-4-fluor-2-methylpent-4-ensäure, war das Auftreten eines signifikanten Anstiegs der spektralen Halbwertsbreite bei $t = 1,5$. Dies kann mit der Ausbildung einer intermolekularen Wasserstoffbrückenbindung bei Formierung eines anionischen Assoziats des Typs $[L-H-L]^-$ erklärt werden. Betrachtet man die Änderung der Halbwertsbreite in Abhängigkeit vom Titrationsgrad, so fällt auf, daß die Halbwertsbreite im Intervall $t = 1$ und $t = 2$ nahezu linear ansteigt.

2.5 Tetrafluorphthalsäure

Die bisher behandelten zweibasigen Säuren stellen in bezug auf die NMR-kontrollierte Titration ausschließlich Fälle erster Ordnung dar, da ihre pK_S -Werte mehr als drei pK -Einheiten voneinander getrennt sind. Als Beispiel für eine zweibasige Säure, deren pK_S -Werte nicht hinreichend weit voneinander entfernt sind, soll die Tetrafluorphthalsäure diskutiert werden, die der hochinteressanten Verbindungsklasse der Poly-Fluoraromaten angehört.

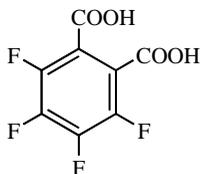


Abbildung 36: Tetrafluorphthalsäure 4

2.5.1 Bestimmung der $\log\beta$ - bzw. pK_S -Werte der Tetrafluorphthalsäure

Die Bestimmung der $\log\beta$ - bzw. pK_S -Werte der Tetrafluorphthalsäure erfolgt durch drei potentiometrische Präzisionsmessungen. Dabei werden ungefähr 2,0 mmol (477,0 mg) der Substanz eingewogen, so daß eine Ligandkonzentration von 0,08 mol/l in der Vorlage erreicht wird. Um eine möglichst vollständige Protonierung der beiden Carbonsäurefunktionen zu erreichen, werden drei Äquivalente (ca. 3,3 ml; $c_{V_S} = 0,24$ mol/l) einer 0,9533 molaren Salzsäure zugegeben. Die Anfangsionenstärke wird durch Zugabe von 2,74 g Tetra-

methyammoniumchlorid um $I = 1,0$ aufgestockt. Nachdem mit quarzbidestilliertem Wasser auf ein Gesamtstartvolumen von 25,0 ml aufgefüllt wurde, wird mit 14,0 ml einer 1,0057 molaren Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (7 Äquivalente) in äquidistanter Schrittweite titriert.

Die Titrationsparameter sind der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Messung	Einwaage [mg]	Einwaage [mmol]	Zugabe HCl [ml]
1	478,8	2,011	6,33
2	478,8	2,011	6,33
3	483,3	2,030	6,39

Tabelle 14: Titrationsparameter der $\log\beta$ -Bestimmung der Tetrafluorphthalsäure 4

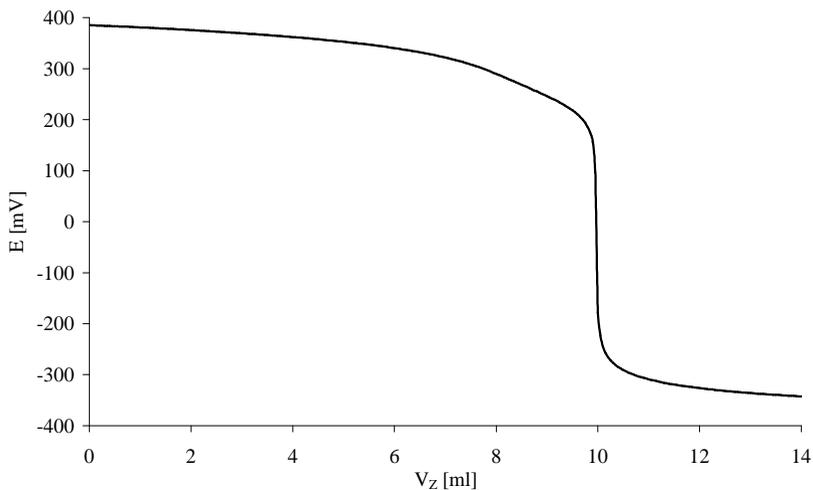


Abbildung 37: Titration von Tetrafluorphthalsäure vs. 1M TMAOH

Die mit Winscore iterierten Meßergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt. Der für die Iterationen bei Ionenstärken von 1,0 verwendete pK_W -Wert liegt für 25 °C bei 13,9295 [66].

Messung	$\log b_1$	$\log b_2$	pK_{S1}	pK_{S2}	s [mV]
1	2,944 $\pm 0,082$	4,025 $\pm 0,087$	1,081 $\pm 0,169$	2,944 $\pm 0,082$	0,799
2	2,940 $\pm 0,153$	4,035 $\pm 0,161$	1,095 $\pm 0,314$	2,940 $\pm 0,153$	1,167
3	2,932 $\pm 0,102$	4,017 $\pm 0,108$	1,084 $\pm 0,210$	2,932 $\pm 0,102$	0,915
Mittelwert	2,939	4,025	1,086	2,939	0,960
S_{n-1}	0,006	0,009	0,007	0,006	

Tabelle 15: $\log\beta$ -Werte bzw. pK_s -Werte der Tetrafluorphthalsäure vs. 1,0 M TMAOH

Die pK_s -Werte der Tetrafluorphthalsäure werden iterativ zu 1,086 und 2,939 bestimmt. Signifikant für Titrationsen bei hohen Ionenstärken sind die im Vergleich zu Titrationsen bei $I = 0,1$ erhöhten RMS-Werte der einzelnen Titrationsen sowie die Fehler für die iterierten $\log\beta$ -Werte. Betrachtet man jedoch die iterierten Werte, so bemerkt man, daß diese trotz der großen Fehlerwerte kaum voneinander abweichen.

Die erhöhten Fehlerwerte sind damit zu erklären, daß bei dieser Ionenstärke der Gültigkeitsbereich der Debye-Hückel- bzw. Debye-Hückel-Onsager-Näherung verlassen wird. Die interionischen Wechselwirkungen bei hohen Konzentrationen bzw. Ionenstärken sowie Solvatationseffekte werden vernachlässigt. Den großen Einfluß der hohen Ionenstärke erkennt man insbesondere daran, daß die Elektrode während der Titration „arbeitet“, d.h. sich die mittels Blanktitration ermittelten Elektrodenparameter verändern. Es stellt sich hier nun die Frage, in wie weit es zulässig ist, die Elektrodenparameter am Ende der Iteration zu iterieren. Darauf wurde jedoch verzichtet.

Vergleicht man die iterierten pK_s -Werte mit denen der nichtfluorierten Stammverbindung, der Phthalsäure, die die pK_s -Werte 2,94 und 5,43 [67] besitzt, sieht man, daß der erste pK_s -Wert um 1,85 pK-Einheiten, der zweite pK_s -Wert jedoch um 2,49 pK-Einheiten erniedrigt wird. Die Perfluorierung wirkt sich also stärker auf den zweiten pK_s -Wert aus, was durch den -I-Effekt der Fluorsubstituenten erklärt werden kann, die durch ihren elektronenzie-

henden Einfluß die Wasserstoffbrückenbindung, welche sich in der einfach deprotonierten Form ausbildet, destabilisieren.

2.5.2 NMR-spektroskopische Untersuchungen an Tetrafluorpthalsäure

Zur NMR-spektroskopischen Untersuchung der Tetrafluorpthalsäure wird eine Probe bei Eigen-pH angesetzt, die 12,0 mg der Substanz in 0,75 ml D₂O mit einem Deuteriumgehalt von 99,9% enthält. Zusätzlich wird eine weitere Probe in stark alkalischem Milieu hergestellt. Dies geschieht durch Lösen von 13,9 mg der Tetrafluorpthalsäure in 0,75 ml 1 molarer KOD-Lösung. Beide Proben werden am DRX 500 hochaufgelöst ¹⁹F-NMR-spektroskopisch vermessen.

Die Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter der beiden 470,59 MHz ¹⁹F-Spektren der Tetrafluorpthalsäure bei Eigen-pH und in 1M KOD sind in Tabelle 16 angegeben.

	D₂O, Eigen-pH	1M KOD
ns	64	32
SW [ppm]	79,90	79,90
SW [Hz]	37593,99	37593,99
TD	128k	256k
SI	256k	512k
LB [Hz]	0	0

Tabelle 16: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter

Zur Simulation und Iteration der beiden 470,59 MHz ¹⁹F-NMR-Spektren der Tetrafluorpthalsäure werden die Fluorsubstituenten wie folgt indiziert.

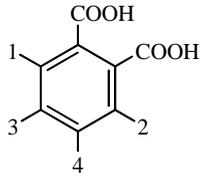


Abbildung 38: Indizierung der Fluoratome der Tetrafluorphthalsäure **4**

Für die Tetrafluorphthalsäure wird eine C₂-Symmetrie angenommen, wobei durch Ausführung dieser Symmetrieoperation das Fluoratom 1 in das Fluoratom 2 und das Fluoratom 3 in das Fluoratom 4 überführt wird. Die experimentellen und simulierten 470,59 MHz ¹⁹F-NMR-Spektren der Tetrafluorphthalsäure bei Eigen-pH in D₂O werden in Abbildung 39 und Abbildung 40 wiedergegeben.

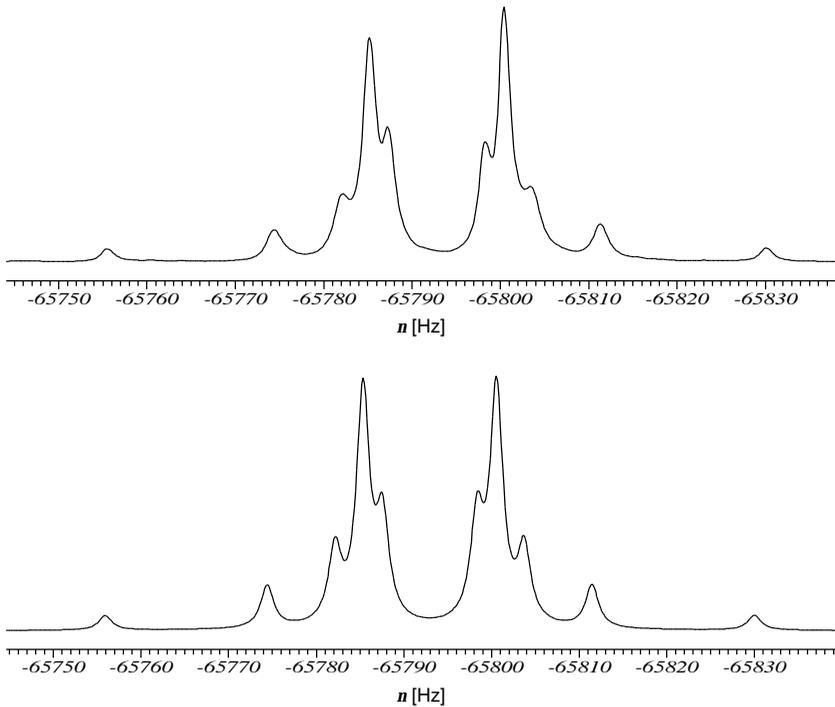


Abbildung 39: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ¹⁹F-Spektrum der Tetrafluorphthalsäure in D₂O, Eigen-pH, Fluoratome F₁ und F₂

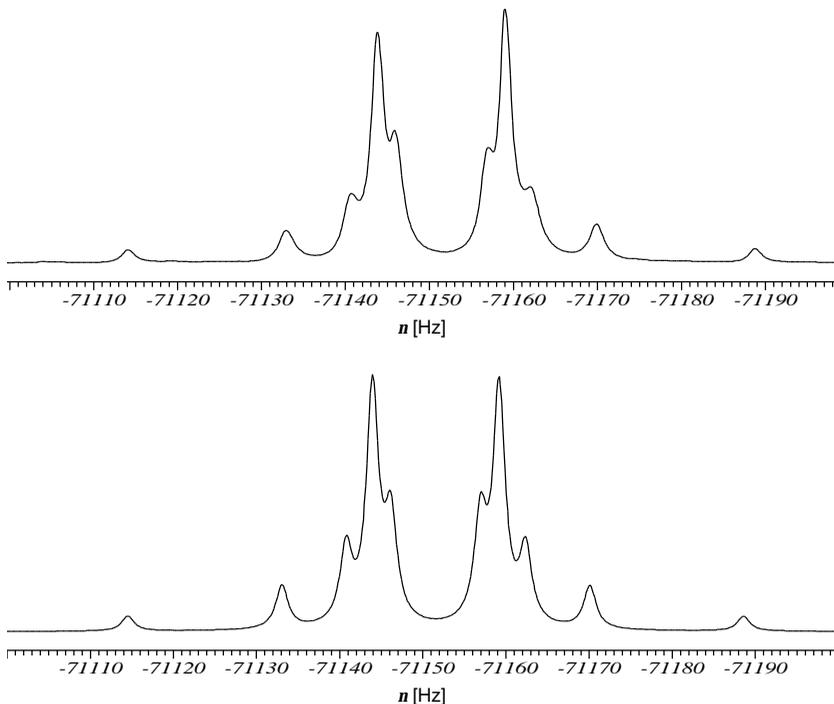


Abbildung 40: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum der Tetrafluorphthalsäure in D_2O , Eigen-pH, Fluoratome F_3 und F_4

Bei Betrachtung des in Abbildung 39 und Abbildung 40 gezeigten $[\text{AX}]_2$ -Systems, welches gut erkennbar aus zwei mal zehn Linien besteht, könnte man meinen, daß das Spektrum schwachen second-order-Charakter zeigt. Der Dacheffekt zeigt jedoch eine Anomalie, er ist nicht symmetrisch in A- und X-Spektrum.

Um auszuschließen, daß es sich um ein Artefakt handelt, wird durch die Aufnahme von weiteren Spektren geprüft, ob ein falsch gewählter Aufnahmeparameter die Intensität beeinflusst. Hierzu wird zum einen sukzessive die Lage des Einstrahlpeaks (O1p), der im gezeigten Spektrum bei -130 ppm liegt, variiert. Getestet werden Werte für O1p von -145 ppm, -160 ppm und -55 ppm. Dabei ändert sich der Habitus des Spektrums nicht. Auch eine Variation der Aufnahmezeit und des spektralen Fensters (sweep width) ändern die Ausrichtung des vermeintlichen „Dacheffekts“ nicht. Da dieser Habitus jedoch quantenmechanisch verboten ist, wird angenommen, daß sich unter der beobachteten Signal-

gruppe weitere Signale befinden, die für diese nicht erwartete Intensitätserhöhung verantwortlich sind. Hierbei handelt es sich höchstwahrscheinlich um die Signale der vier ^{13}C -Isotopomeren der Tetrafluorphthalsäure. Erwartet werden hypothetisch vier verschiedene ABMNX- bis ABCDX-Spektraltypen mit vier Satelliten zu je 2% Anteil.

Abbildung 41 und Abbildung 42 zeigen das experimentelle und das simulierte 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum der Tetrafluorphthalsäure in 1M KOD.

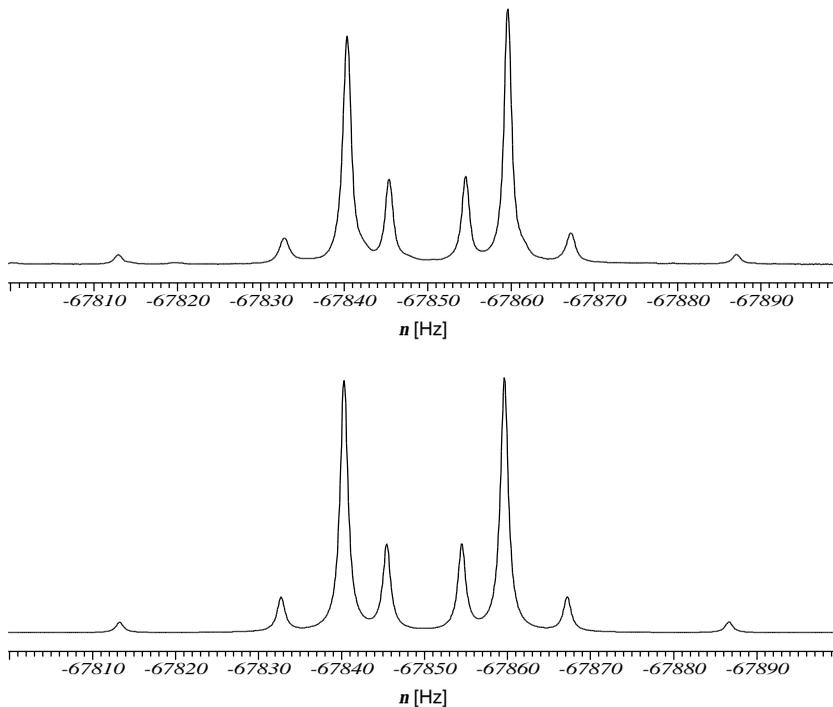


Abbildung 41: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum der Tetrafluorphthalsäure in 1M KOD, Fluoratome F_1 und F_2

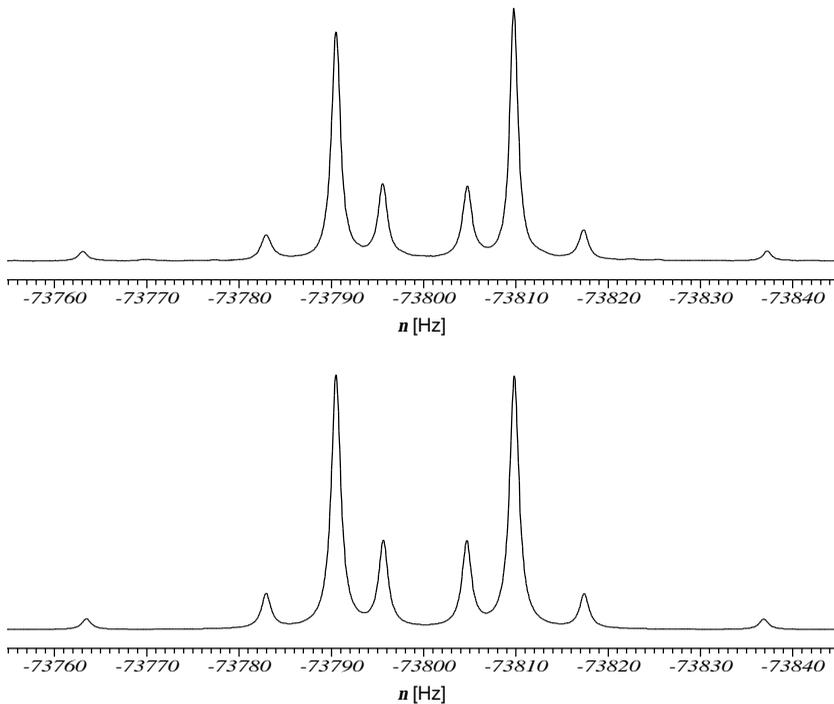


Abbildung 42: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum der Tetrafluorophthalsäure in 1M KOD, F_3 und F_4

Die mit WIN-DAISY iterierten Resonanzfrequenzen, Kopplungskonstanten und Halbwertsbreiten für beide Proben sind in den beiden nachfolgenden Tabellen aufgeführt.

Parameter				
Spins	n_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	d_i [ppm] [68]
1,2	-65793,080	0,00297	-139,810	-138,600
3,4	-71151,671	0,00318	-151,197	-152,200
HWB	$Dn_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]		
1,2	1,779	0,00187		
3,4	1,776	0,00187		
nJ	J_{ik}	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]	$\frac{1}{2}J_{ik}^{1/2}$ [Hz] [68]
${}^5J_{FF}$	1,2	11,950	0,00490	12,300
${}^3J_{FF}$	1,3 = 2,4	-21,747	0,00190	21,200
${}^4J_{FF}$	1,4 = 2,3	6,526	0,00169	5,600
${}^3J_{FF}$	3,4	-19,685	0,00527	19,000

Tabelle 17: iterierte Kopplungskonstanten, Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 470,59 MHz ${}^{19}\text{F}$ -Spektrums der Tetrafluorphthalsäure in D_2O bei Eigen-pH

Final Sum of Squares	47,4054
Number of Spectral Points	61012
Standard Deviation of Measurements	0,0279
R-Factor (%)	0,9101

In Übereinstimmung mit [69] werden für die ortho- J_{FF} -Kopplung negative, für die meta- J_{FF} -Kopplung sowie die para- J_{FF} -Kopplung positive Vorzeichen gefunden. Die ${}^{19}\text{F}$ -chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten, die in Literatur [68] für die Tetrafluorphthalsäure angegeben werden, wurden in Ethanol als Lösungsmittel bestimmt.

	Parameter			
	1M KOD			D ₂ O, Eigen-pH
Spins	n_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	d_i [ppm]
1,2	-67850,048	0,01469	-144,181	-139,810
3,4	-73800,225	0,01688	-156,825	-151,197
HWB	$Dn_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]		$Dn_{1/2}$ [Hz]
1,2	1,100	n. i.		1,779
3,4	1,200	n. i.		1,776
${}^nJ_{ik}$	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]		J_{ik} [Hz]
1,2	12,287	0,02744		11,950
1,3 = 2,4	-22,550	0,00619		-21,747
1,4 = 2,3	3,213	0,01502		6,526
3,4	-19,893	0,01989		-19,685

Tabelle 18: Iterierte Kopplungskonstanten, Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 470,59 MHz ¹⁹F-Spektrums der Tetrafluorophthalsäure in 1M KOD

Final Sum of Squares	839,5735
Number of Spectral Points	120271
Standard Deviation of Measurements	0,0836
R-Factor (%)	46,0786

Da die Halbwertsbreiten für die Fluoratome nicht mit WIN-DAISY iteriert werden konnten, wurden diese von Hand angepaßt. Aus diesem Grund sind für diese Parameter keine Fehlerwerte bestimmbar.

2.5.3 NMR-kontrollierte Titration von Tetrafluorphthalsäure

Die analytischen Daten für die 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierte Titration der Tetrafluorphthalsäure vs. 1,0 M TMAOH sowie die Aufnahme- und Prozessierungsparameter sind in den folgenden Tabellen angegeben.

Vorlagevolumen	25,00 ml
Titratoren	TMAOH c_{ZB} : 0,98396 mol/l V_{Zmax} : 10,25 ml
Ligand in der Vorlage	238,1 mg n_{VL} : 2,018 mmol c_{VL} : 0,08 mol/l
Säurezusatz in der Vorlage	4,24 ml 0,95320 mol/l HCl n_{VS} : 4,042 mmol c_{VS} : 0,16 mol/l
Ionenzusatz	2,74g TMACl n_{VI} : 25 mmol c_{VI} : 1,0 mol/l
pK_{S_1}	1,086
pK_{S_2}	2,939
Anzahl der NMR-Experimente	64

Tabelle 19: Experimentelle Parameter der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**

NS	16
SW [ppm]	79,90
SW [Hz]	37593,99
TD	128k
SI	256k
LB [Hz]	1,00

Tabelle 20: Aufnahme- und Prozessierungsparameter der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration von Tetrafluorphthalsäure **4**

Die Auswertung der erhaltenen ^{19}F -NMR-Spektren soll mit Hilfe von Abbildung 43 am Beispiel eines Spektrums des A-Teils verdeutlicht werden. Die beiden N-Lines sind symmetrisch zum Zentrum angeordnet, so daß sich die Resonanzfrequenz n_A zu $(n_{N_1} + n_{N_2}) / 2$ ergibt. Die N-Lines im B-Teil werden dementsprechend mit N_3 und N_4 indiziert, so daß für die Resonanzfrequenz n_B $(n_{N_3} + n_{N_4}) / 2$ folgt.

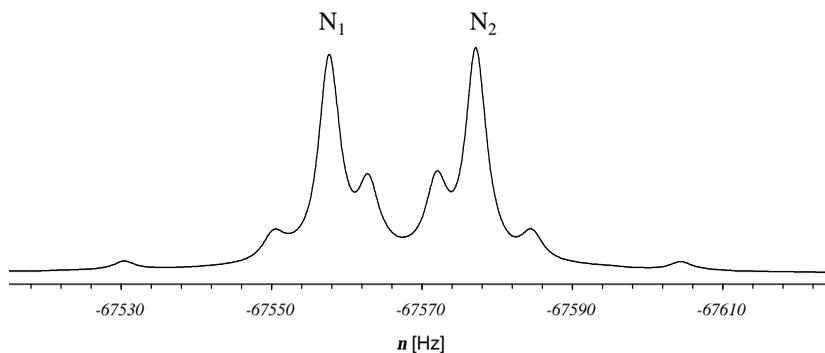


Abbildung 43: Lage der N-Lines und Bestimmung der Resonanzfrequenz

Jedes der 64 erhaltenen Spektren muß aufgrund des Spektrenhabitus von Hand dekonvuliert werden, und man erhält so die Resonanzlagen und Halbwertsbreiten der einzelnen N-Lines. Die Resonanzlagen bzw. chemischen Verschiebungen sowie die gemittelten Halbwertsbreiten können nun bestimmt werden.

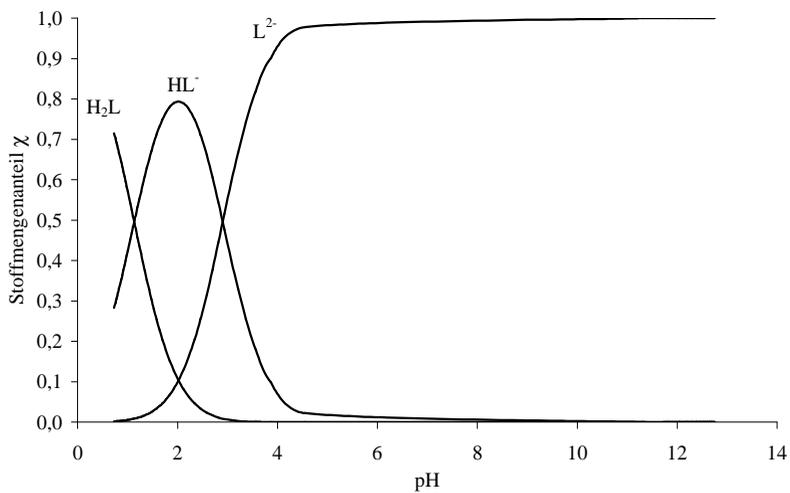
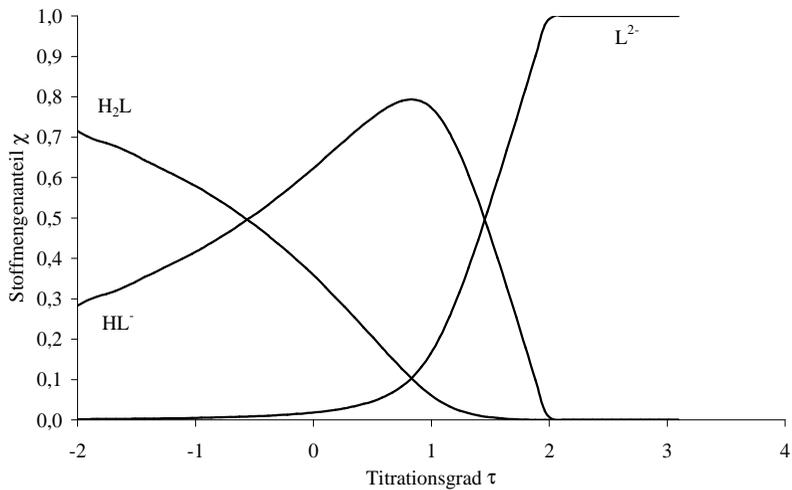


Abbildung 44: χ, τ -Diagramm (oben), χ, pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**

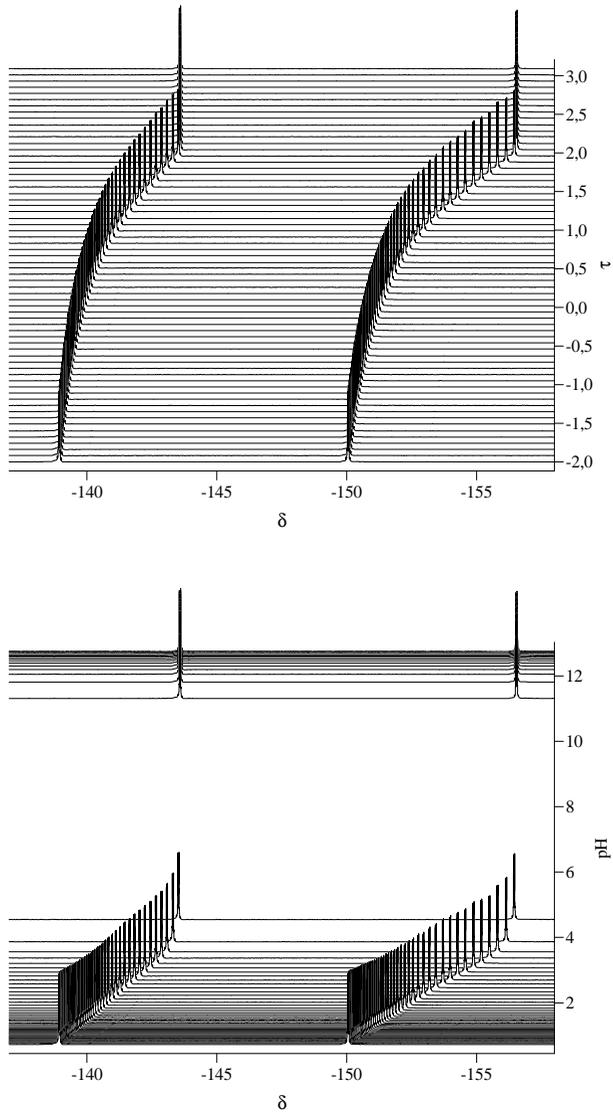


Abbildung 45: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**

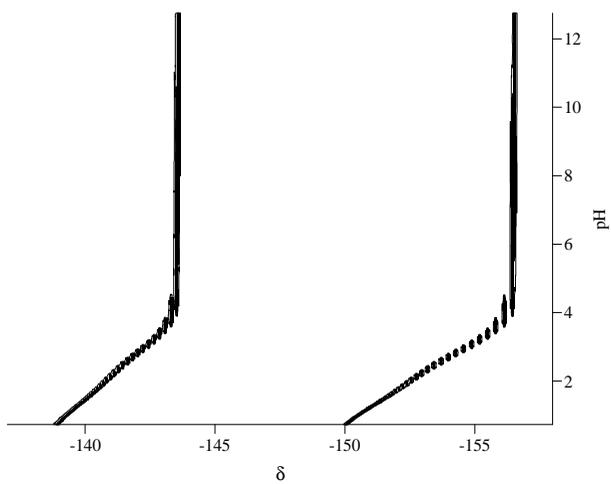
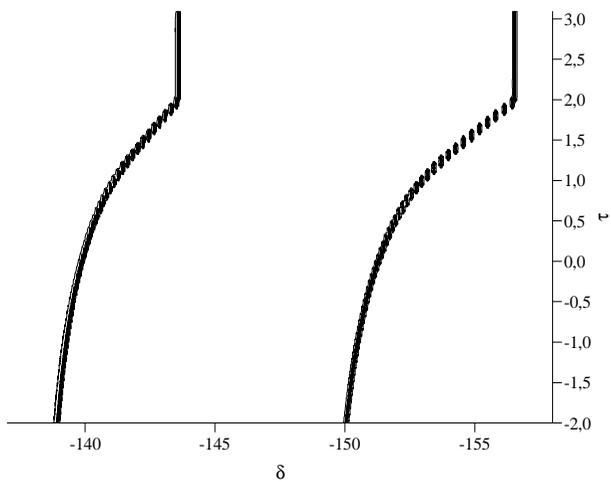


Abbildung 46: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**

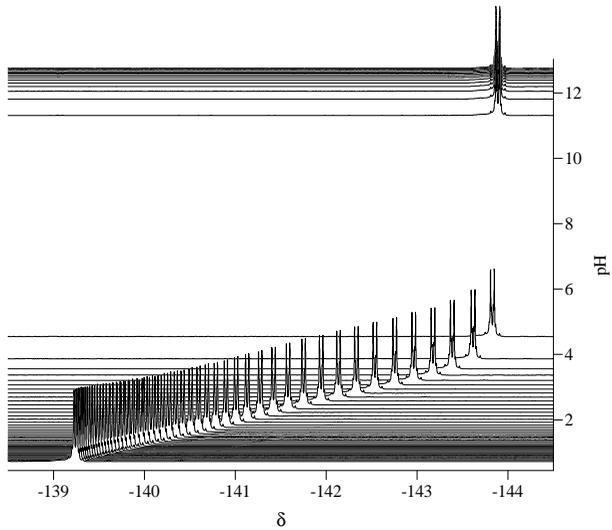
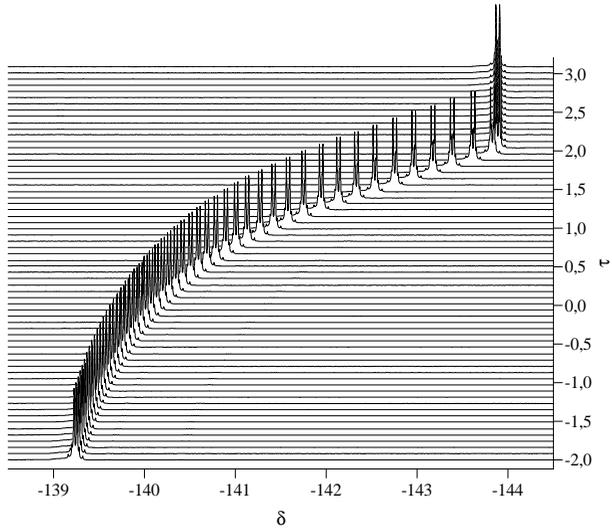


Abbildung 47: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**; Fluoratome F_1 und F_2

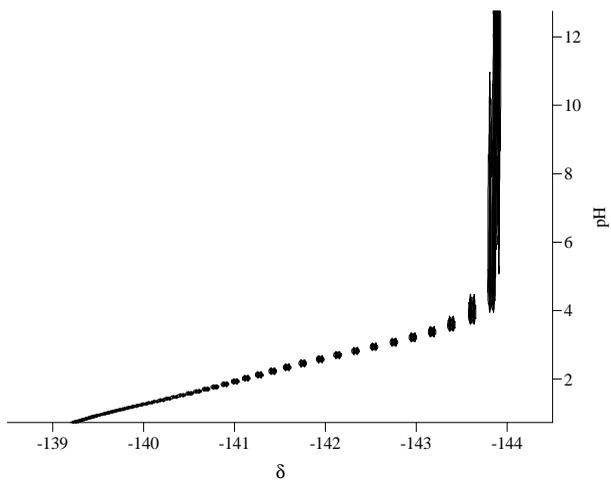
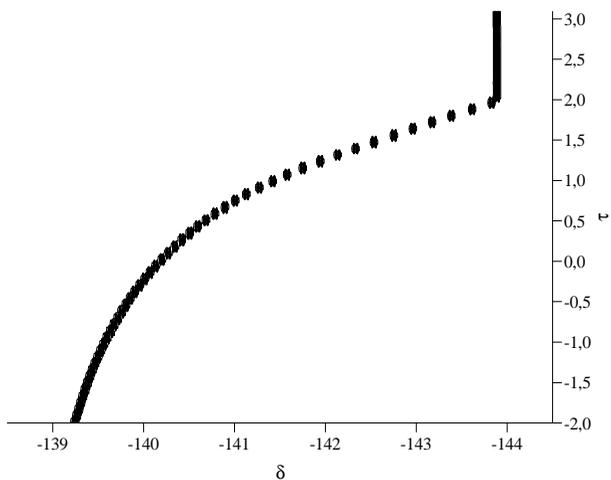


Abbildung 48: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**; Fluoratome F_1 und F_2

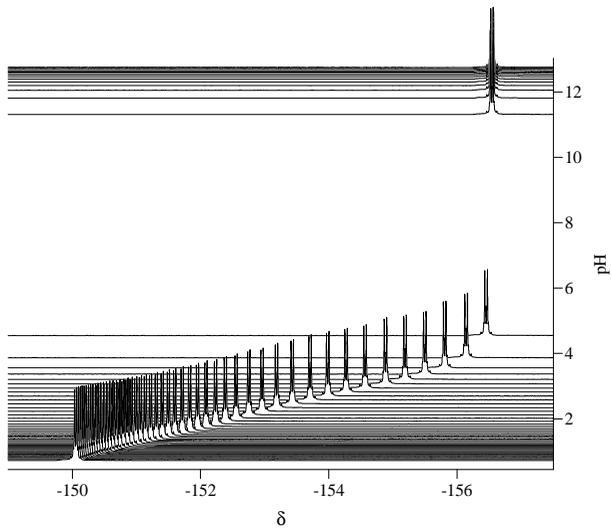
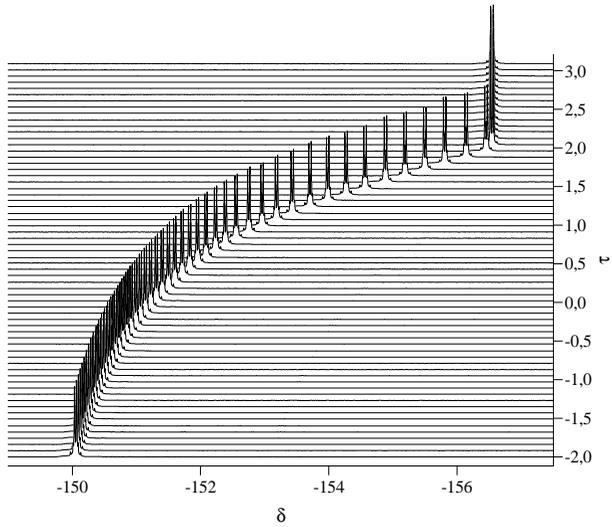


Abbildung 49: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**; Fluoratome F_3 und F_4

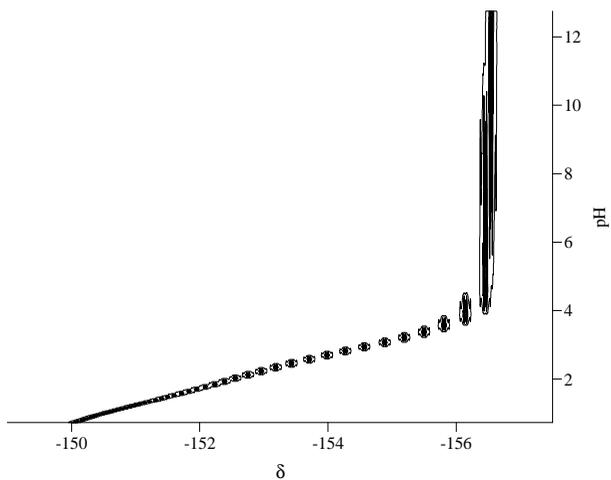
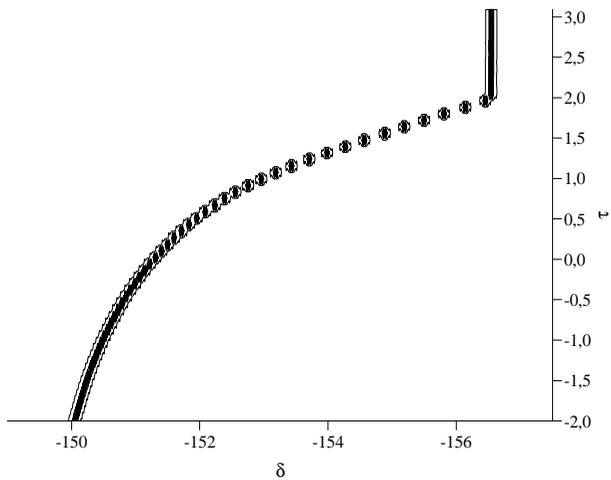


Abbildung 50: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure **4**; Fluoratome F_3 und F_4

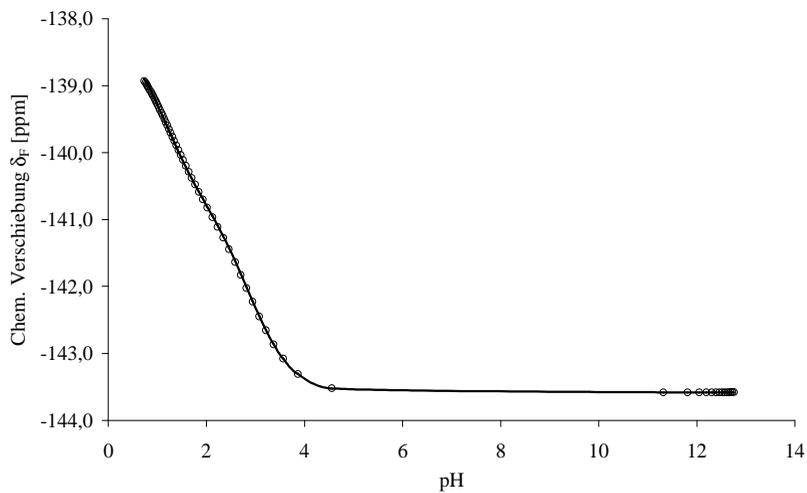
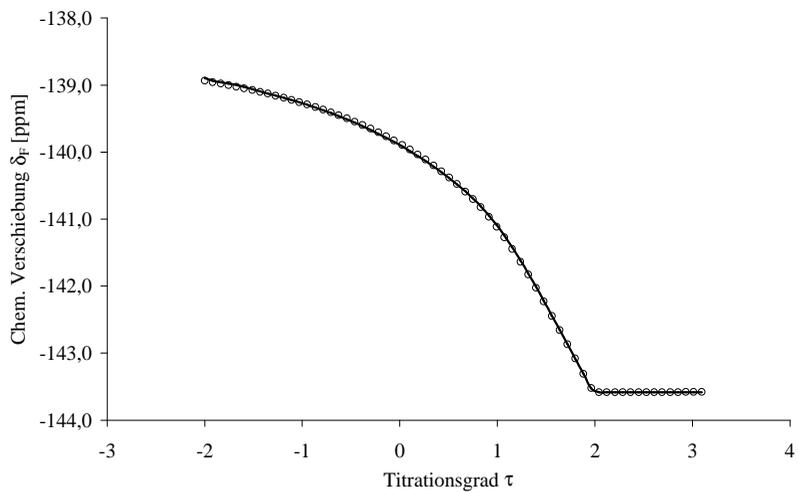


Abbildung 51: δ, τ -Diagramm (oben,) δ, pH -Diagramm (unten) für die Fluoratome F_1 und F_2 der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthal-säure **4**

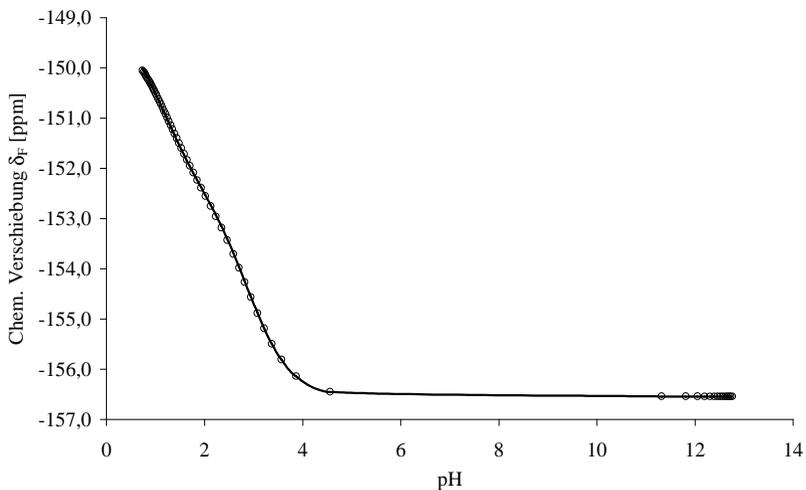
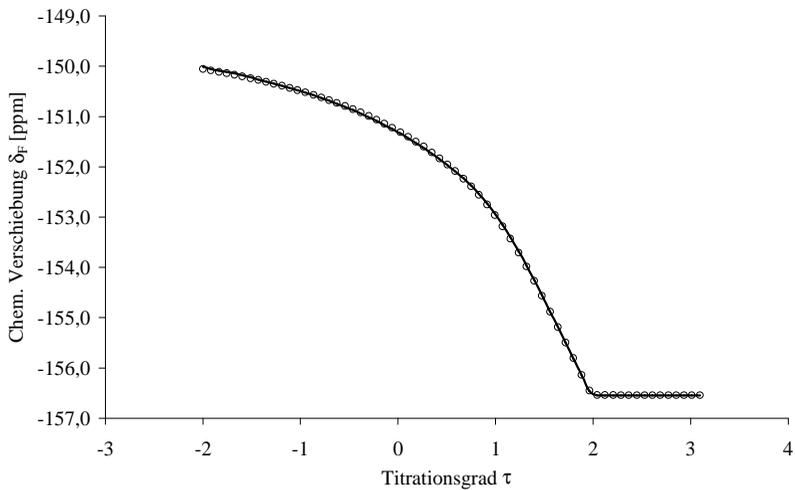


Abbildung 52: δ, τ -Diagramm (oben,) δ, pH -Diagramm (unten) für die Fluoratome F_3 und F_4 der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluor-phthalsäure **4**

Tabelle 21 und Tabelle 22 zeigen die Ergebnisse der 470,59 MHz NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure.

		Gauss-Elimination		Implizit-Iteration	
Spezies	Gradient	d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]	d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]
H₂L		-138,13	0,007	-138,12	0,436
	D ₁	2,67		2,70	
HL⁻		-140,80	0,005	-140,82	0,228
	D ₂	2,78		2,76	
L²⁻		-143,58	0,003	-143,58	0,002

Tabelle 21: Ionenspezifische NMR-Parameter d_i und Deprotonierungsgradienten Δ_i für die Fluoratome F₁ und F₂ der 470,59 MHz NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorophthalsäure

		Gauss-Elimination		Implizit-Iteration	
Spezies	Gradient	d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]	d_F [ppm]	$\pm \varepsilon d_F$ [ppm]
H₂L		-149,01	0,008	-149,00	0,471
	D ₁	3,47		3,50	
HL⁻		-152,48	0,007	-152,50	0,247
	D ₂	4,07		4,04	
L²⁻		-156,55	0,004	-156,54	0,002

Tabelle 22: Ionenspezifische NMR-Parameter d_i und Deprotonierungsgradienten Δ_i für die Fluoratome F₃ und F₄ der 470,59 MHz NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorophthalsäure

Wiederum zeigt sich, daß die Gauss-Elimination und die Implizit-Iteration nahezu identische ionenspezifische Verschiebungen d_i liefern. Die ermittelten Fehler der Implizit-Iteration für d_i sind aufgrund der Verwendung fehlerbehafteter Molenbrüche als realistisch anzusehen. Bemerkenswert ist, daß die Resonanzlagen der Fluoratome 3 und 4, die am weitesten vom Ort der Deprotonierung entfernt sind, mit einem Δ_2 von 4,07 bzw. 4,04 ppm die größte Änderung erfahren. Demgegenüber steht ein Δ_2 von 2,78 bzw. 2,76 ppm für die

Resonanzlagen der Fluoratome 1 und 2, die den beiden Carbonsäurefunktionen direkt benachbart sind.

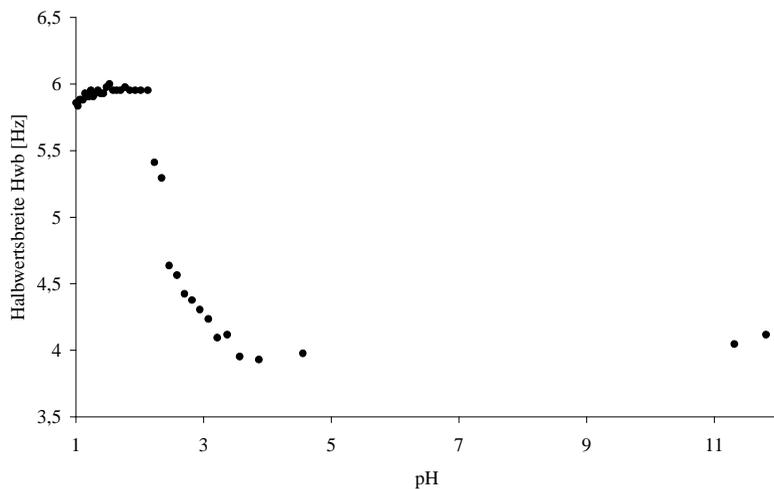
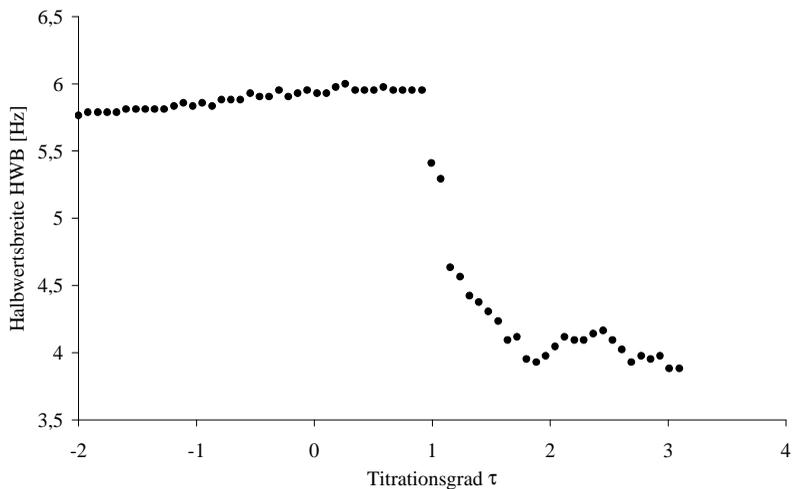


Abbildung 53: HWB,τ-Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für die Fluoratome F₁ und F₂ der 470,59 MHz ¹⁹F-NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure

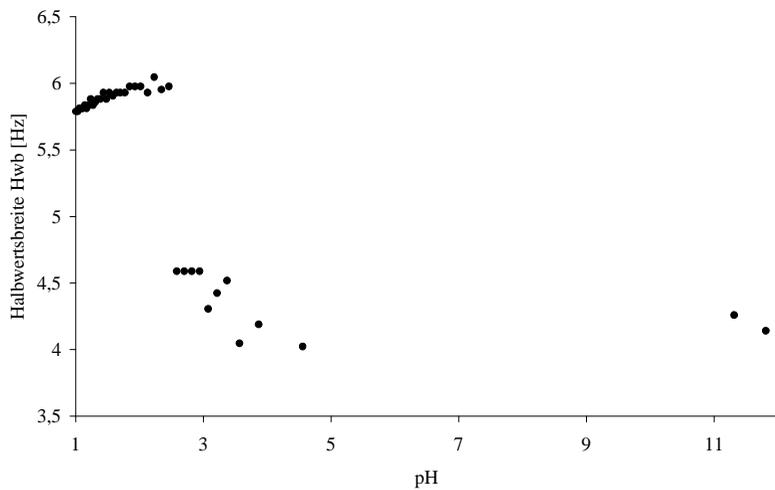
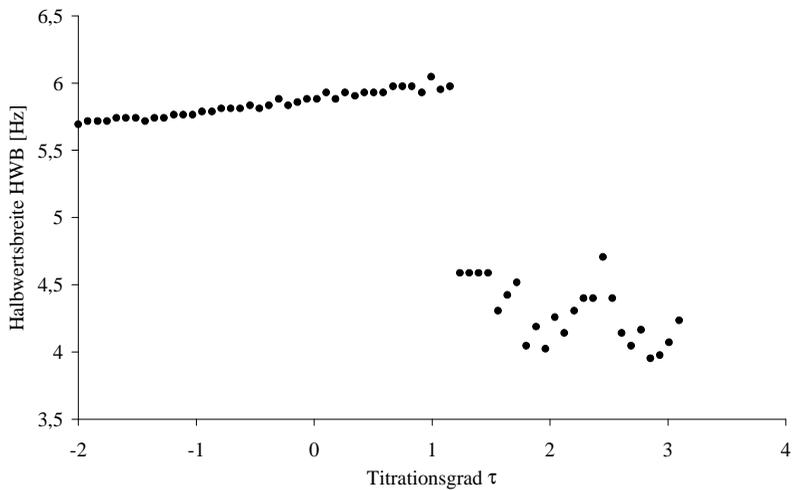


Abbildung 54: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für die Fluoratome F_3 und F_4 der 470,59 MHz ^{19}F -NMR-kontrollierten Titration der Tetrafluorphthalsäure

Bei Betrachtung von Abbildung 53 und Abbildung 54 fällt die signifikante Änderung der Halbwertsbreite bei $t = 1$ auf. Im Gegensatz zu den bisher untersuchten fluorierten Amino-carbonsäuren, die eine Änderung der Halbwertsbreite bei halbzahligen Tau-Werten zeigen, weist die Änderung der Halbwertsbreite bei einem ganzzahligen Tau-Wert auf die Existenz einer intramolekularen Wasserstoffbrücke hin. Da bei einem Titrationsgrad von $t = 1$ die eine Carbonsäurefunktion protoniert und die andere deprotoniert vorliegt, ist eine intramolekulare Verbrückung, wie in Abbildung 55 dargestellt, anzunehmen.

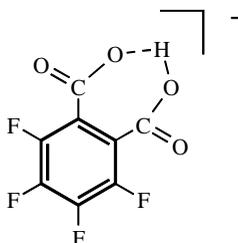


Abbildung 55: anzunehmende Struktur der Tetrafluorphthalsäure bei $\tau = 1$

Intermolekulare Wasserstoffbrücken wurden durch röntgenographische Methoden für die Phthalsäure [70], [71] und die Tetrafluorphthalsäure [72] nachgewiesen.

Intramolekulare Wasserstoffbrücken treten im Lithiumhydrogenphthalat Dihydrat [73] und im Tetramethylammoniumhydrogenphthalat [74] auf. Diese Befunde belegen die Vermutung, daß bei $t = 1$ auch im Lösungszustand eine stabile Wasserstoffbrücke (vgl. Abbildung 55) vorliegt.

2.6 Fluconazol

Häufig sind klinisch angewandte Arzneistoffe schwache Säuren oder Basen, die je nach pH-Wert der Flüssigkeit oder des Gewebes, das sie auf dem Weg zu ihrem Zielmolekül passieren, eine positive oder negative Ladung tragen. Häufig ist die nicht-ionisierte Form des Wirkstoffs lipophil und demzufolge fähig, durch Lipidmembranen zu wandern. Die ionisierte Form ist zwar in Wasser löslich, aber nicht mehr in der Lage Lipidmembranen zu durchwandern. Auf diese Art wird das Durchwanderungsvermögen eines Arzneistoffs durch eine Membran und seine Pharmakokinetik durch den pK_s -Wert bestimmt. Die meisten Wirkstoffe wechselwirken mit definierten Zielstrukturen wie z.B. Rezeptorproteinen, dabei ist die Affinität eines Wirkstoffs zu diesem Protein durch die Stärke der intermolekularen Wechselwirkung bestimmt. Insbesondere ionische Wechselwirkungen spielen eine entscheidende Rolle, da hier die elektrostatischen Felder zweier Spezies für die Erkennung zwischen Wirkstoff und Zielmolekül verantwortlich sind. Aus Sicht der Pharmakodynamik ist es deshalb wichtig, zu wissen, an welchem Atom ein Arzneistoff unter physiologischen Bedingungen bei Anwesenheit des Zielproteins ionisiert oder nicht-ionisiert vorliegt [75].

Das in Abbildung 56 abgebildete Fluconazol, auch 2,4-Difluor- α,α -bis(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)benzylalkohol, gehört zur Gruppe der Azol-Antimykotika. Unter Azolen versteht man fungistatisch wirkende Arzneimittel, die mindestens einen Imidazol- oder Triazolring enthalten [76]-[78].

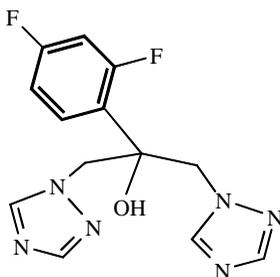


Abbildung 56: Fluconazol 5

2.6.1 Bestimmung der $\log b$ - bzw. pK_S -Werte des Fluconazols

Da nur eine geringe Menge des Fluconazols zur analytischen Untersuchung zur Verfügung stand, konnte nur eine einzelne potentiometrische Präzisionstitration zur Bestimmung der $\log b$ - bzw. pK_S -Werte durchgeführt werden. Zu diesem Zweck werden ungefähr 0,5 mmol (153,0 mg) der Substanz eingewogen und mit 2,6 ml einer 0,9533 molaren Salzsäure versetzt (fünf Äquivalente). Die Anfangskonzentration wird durch Zugabe von 2,74 g Tetramethylammoniumchlorid um $I = 1,0$ aufgestockt. Nachdem mit quartzbidestilliertem Wasser auf ein Gesamtstartvolumen von 25,0 ml aufgefüllt wurde, wird mit 4,5 ml einer 1,0057 molaren Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (9 Äquivalente) in äquidistanter Schrittweite titriert.

Die experimentelle Titrationskurve, die mit Winscore simuliert und iteriert wurde, führte zu dem in Tabelle 23 aufgeführten Ergebnis. Der für die Iterationen bei Ionenstärken von 1,0 verwendete pK_W -Wert liegt für 25 °C bei 13,9295.

$\log b_1$	$\log b_2$	$\log b_2$	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}	s [mV]
13,064 $\pm 0,189$	14,866 $\pm 0,263$	15,971 $\pm 0,217$	1,105 $\pm 0,341$	1,802 $\pm 0,324$	13,064 $\pm 0,189$	1,027

Tabelle 23: $\log b$ -Werte bzw. pK_S -Werte des Fluconazols vs. 1,0 M TMAOH

In der Literatur ist für das Fluconazol ein pK_S -Wert von 1,76 bei 24°C und $I = 0,1$ mol/l bekannt [78]. Man findet bei Titration mit 1M Lösungen jedoch drei pK_S -Werte. Den beiden ersten pK_S -Werten von 1,105 und 1,802 sind Deprotonierungsreaktionen an den beiden 1,2,4-Triazolsubstituenten zuzuordnen. Der dritte pK_S -Wert bei 13,064 entspricht der Deprotonierung der Hydroxyfunktion zum Alkoholat.

Zum Vergleich, für das 1,2,4-Triazol ist ein pK_S -Wert von 2,50 literaturbekannt (25,0°C, $I = 0,5$ mol/l) [79].

2.6.2 NMR-spektroskopische Untersuchungen an Fluconazol

Zur NMR-spektroskopischen Untersuchung des Fluconazols werden 3,6 mg der Substanz in 0,75 ml D₂O mit einem Deuteriumgehalt von 99,9% gelöst. Am DRX 500 werden nun hochaufgelöste ¹H-NMR- und ¹⁹F-NMR-Spektren aufgenommen.

Die Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter der hochaufgelösten ¹H-NMR- und ¹⁹F-NMR-Spektren sind in der folgenden Tabelle angegeben.

	¹ H-NMR	¹⁹ F-NMR
ns	512	256
SW [ppm]	10,00	39,95
SW [Hz]	5000,00	18796,99
TD	64k	128k
SI	128k	128k
LB [Hz]	0	0

Tabelle 24: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter

Zur Simulation und Iteration der hochaufgelösten ¹H-NMR- und ¹⁹F-NMR-Spektren des Fluconazols werden die Wasserstoff- und Fluoratome wie folgt indiziert.

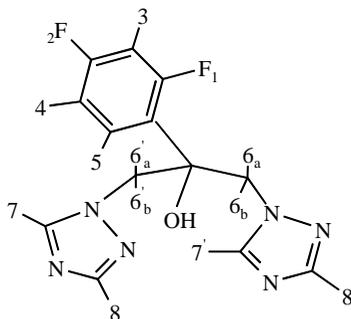


Abbildung 57: Indizierung der Wasserstoff- und Fluoratome des Fluconazols

Die folgenden Abbildungen zeigen die experimentellen und simulierten 500,13 MHz ^1H -NMR-Spektren des Fluconazols. Das Spinsystem des Difluorbenzolsubstituenten lässt sich als Spinsystem des Typs ABMXY beschreiben, die Protonen der Methylenbrücken bilden ein AB-System, die beiden triazolischen Protonen je ein Singulett.

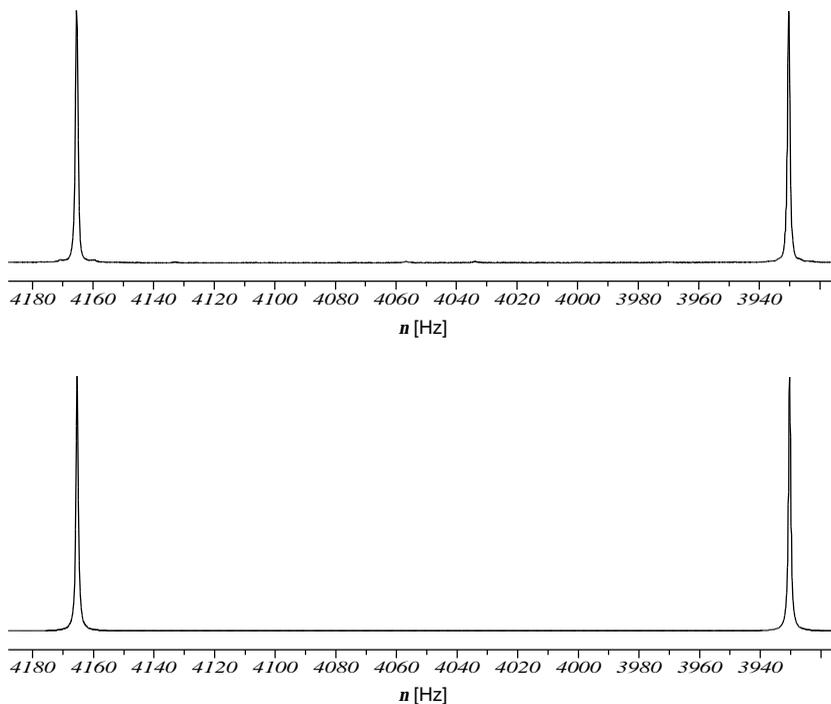


Abbildung 58: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Protonen H_7 und H_8 der Triazolsubstituenten

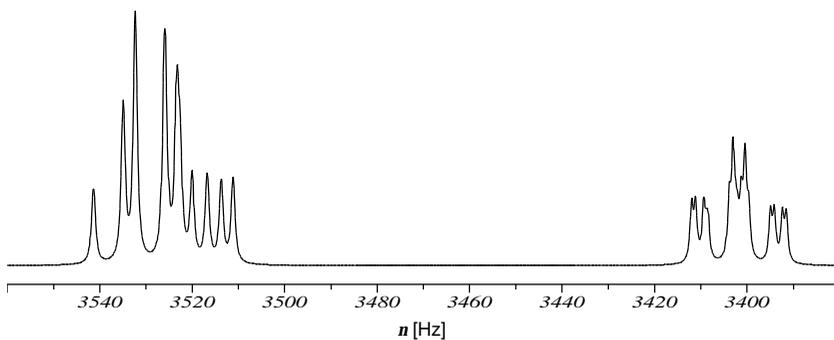
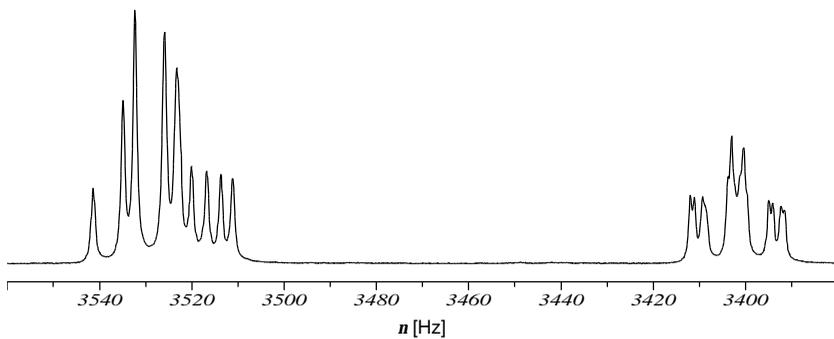
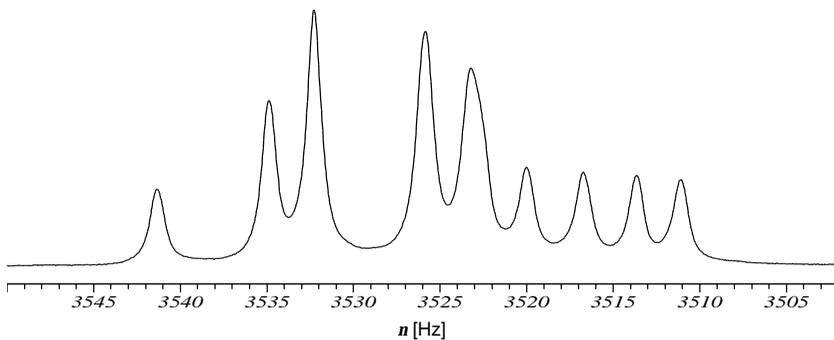


Abbildung 59: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Protonen H_3 , H_4 und H_5 des Difluorbenzol-substituenten



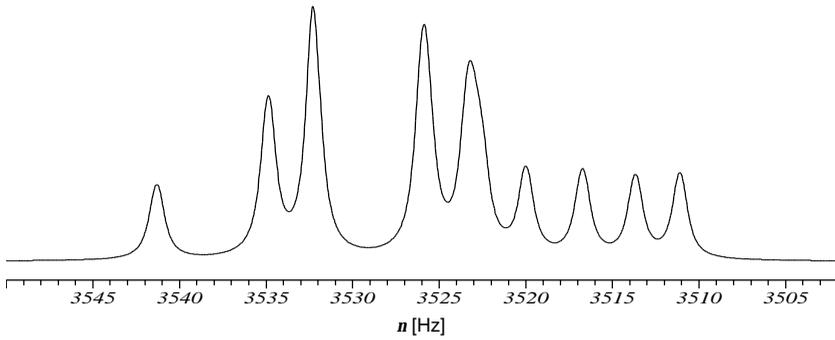


Abbildung 60: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Protonen H_3 und H_5 des Difluorbenzol-substituenten

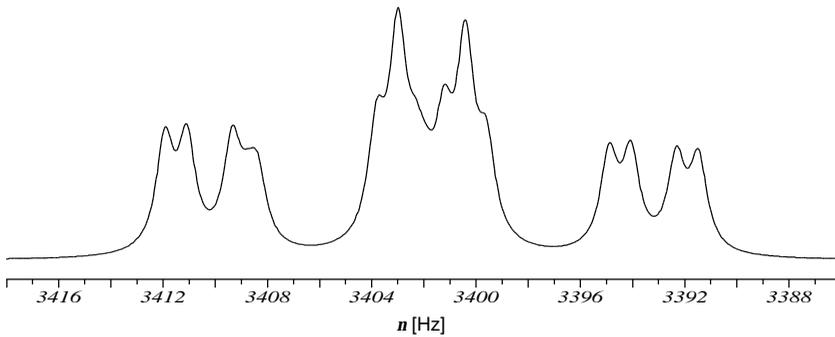
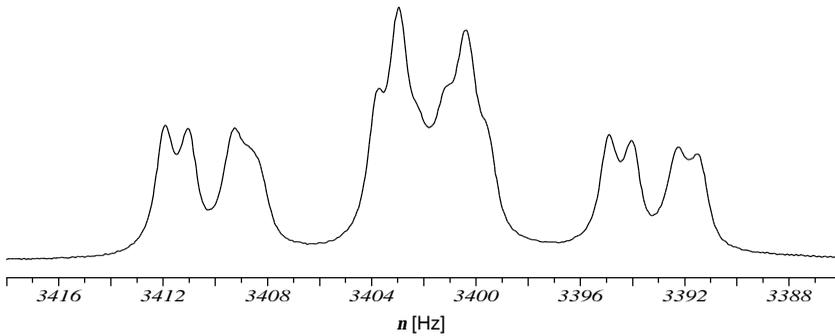


Abbildung 61: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Proton H_4 des Difluorbenzolsubstituenten

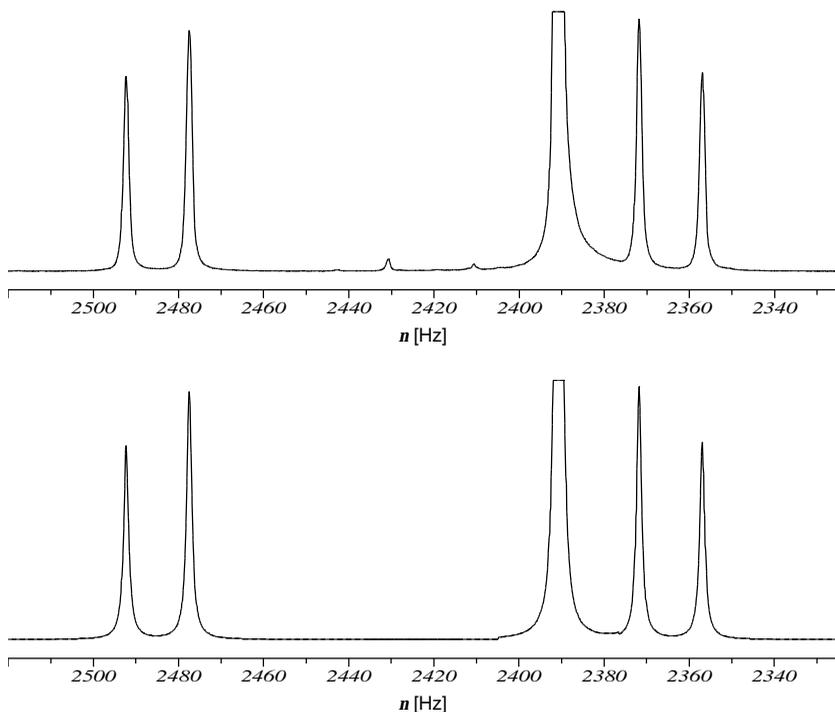


Abbildung 62: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Protonen H_6 und H_6' der Methylenbrücken

Zur besseren Handhabung wird die Struktur des Fluconazols in Fragmente zerlegt, die getrennt voneinander iteriert werden. Dies sind der Difluorbenzolsubstituent, die Triazolringe sowie die Methylenbrücken. Da der HDO-Peak inmitten des AB-Systems der Methylenbrücken liegt, wird dieser als zusätzliches Fragment simuliert und iteriert.

Die Ergebnisse der Iteration des hochaufgelösten ^1H -NMR-Spektrums des Fluconazols bei Eigen-pH sind in den folgenden Tabellen angegeben.

Parameter				
Spins	ν_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	d_i [ppm] [76]
3	3522,943	0,00117	7,044	6,86
4	3401,856	0,00114	6,802	7,16
5	3528,840	0,00124	7,056	7,18
6a/6'a	2364,769	0,01405	4,728	4,73
6b/6'b	2484,349	0,01447	4,967	4,55
7	4165,083	0,00099	8,328	8,30
8	3930,194	0,00099	7,858	7,78
HWB	$D\nu_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]		
3	0,882	0,00226		
4	0,811	0,00217		
5	0,917	0,00150		
6a/6'a	1,376	0,01982		
6b/6'b	1,403	0,02843		
7	0,831	0,00178		
8	0,836	0,00180		

Tabelle 25: Iterierte Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 500,13 MHz ^1H -Spektrums des Fluconazols bei Eigen-pH

Die Resonanzlage des HDO-Peaks wird zu 2390,621 Hz bei einer Halbwertsbreite von 0,471 Hz bestimmt. Obwohl der HDO-Peak als zusätzliches Fragment simuliert und iteriert wurde, weisen die ermittelten Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten für das AB-System der Methylenbrücken einen signifikant größeren Fehler auf. Dieser Befund bestätigt sich ebenfalls für die aus diesem System zu bestimmende Kopplungskonstante $^2J_{\text{HH}}$ für die Protonen 6a,6b bzw. 6'a,6'b. Die in [76] angegebenen Resonanzfrequenzen wurden in DMSO- d_6 als Lösungsmittel bestimmt. Auffällig ist, daß in dieser Literaturstelle die Protonen H_3 und H_4 bezüglich ihrer Resonanzlage vertauscht zugeordnet werden. Der Vergleich

der Simulation und der experimentellen Spektren beweist jedoch eindeutig die in dieser Arbeit getroffene Zuordnung.

nJ	J_{ik}	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]	J_{ik} [Hz] [69]
${}^3J_{FH}$	1,3	12,307	0,00174	9,419
${}^5J_{FH}$	1,4	-0,859	0,00209	-0,807
${}^4J_{FH}$	1,5	9,248	0,00168	6,627
${}^3J_{FH}$	2,3	8,885	0,00160	9,419
${}^3J_{FH}$	2,4	8,128	0,00230	8,433
${}^4J_{FH}$	2,5	6,429	0,00136	6,627
${}^4J_{HH}$	3,4	2,579	0,00133	2,443
${}^5J_{HH}$	3,5	0,289	0,00271	0,338
${}^3J_{HH}$	4,5	8,916	0,00159	8,425
${}^2J_{HH}$	6a,6b; 6'a,6'b	-14,824	0,02030	14,5 [76]

Tabelle 26: iterierte Kopplungskonstanten des 500,13 MHz ${}^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des Fluconazols bei Eigen-pH

	Difluorbenzol	Methylenbrücke	Triazol
Final Sum of Squares	14,1615	4,7529	39,0347
Number of Spectral Points	6679	5826	9131
Standard Deviation of Measurements	0,0461	0,0286	0,0654
R-Factor (%)	0,1294	0,4461	1,0433

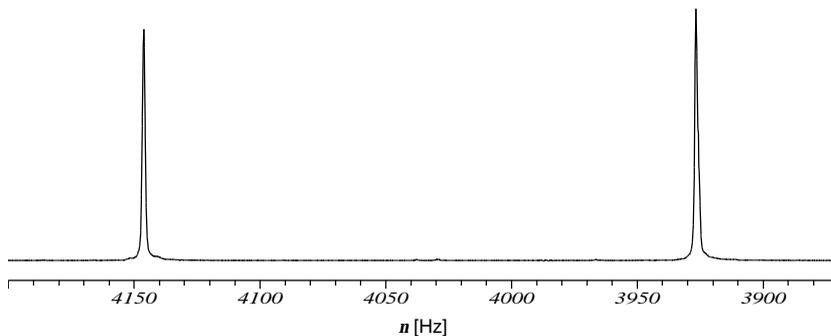
Tabelle 27: Statistische Informationen zu den Iterationen der Fragmente des Fluconazols bei Eigen-pH

Weiterhin werden zur NMR-spektroskopischen Untersuchung des Fluconazols im Alkalischen 6,2 mg der Substanz in 0,75 ml 1M TMAOD gelöst. Am DRX 500 werden nun hochaufgelöste ^1H -NMR- und ^{19}F -NMR-Spektren aufgenommen.

Die Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter der hochaufgelösten ^1H -NMR- und ^{19}F -NMR-Spektren sind in der folgenden Tabelle angegeben.

	^1H -NMR	^{19}F -NMR
ns	64	256
SW [ppm]	10,00	39,95
SW [Hz]	5000,00	18796,99
TD	64k	128k
SI	128k	256k
LB [Hz]	0,1	0,3

Tabelle 28: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter



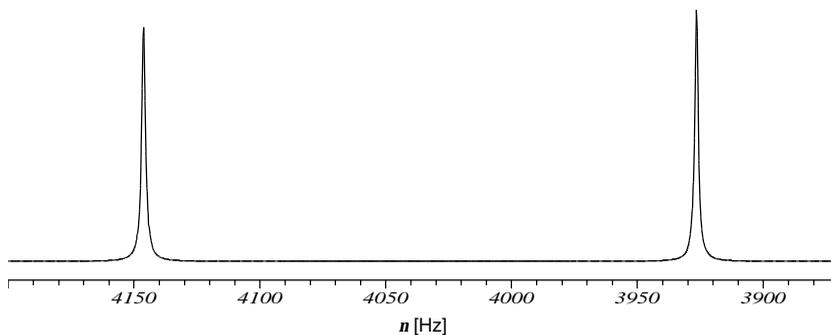


Abbildung 63: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, Protonen H_7 und H_8 der Triazolsubstituenten

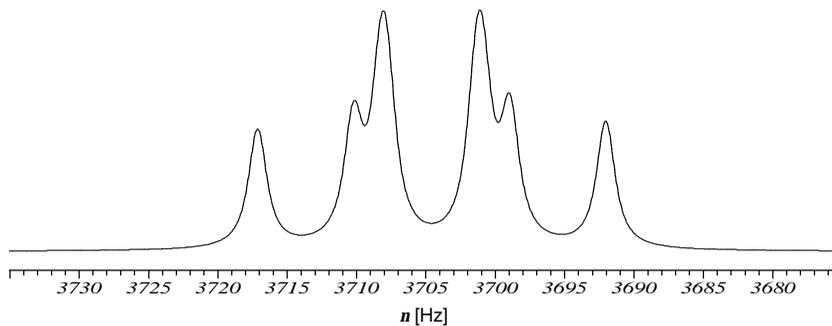
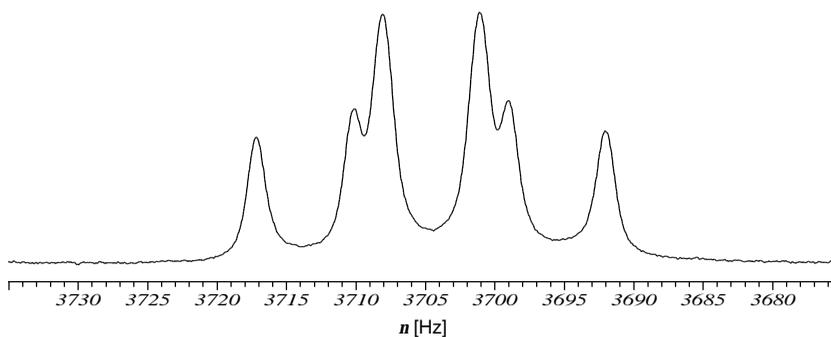


Abbildung 64 experimentelles (oben), simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, Proton H_5 des Difluorbenzylsubstituenten

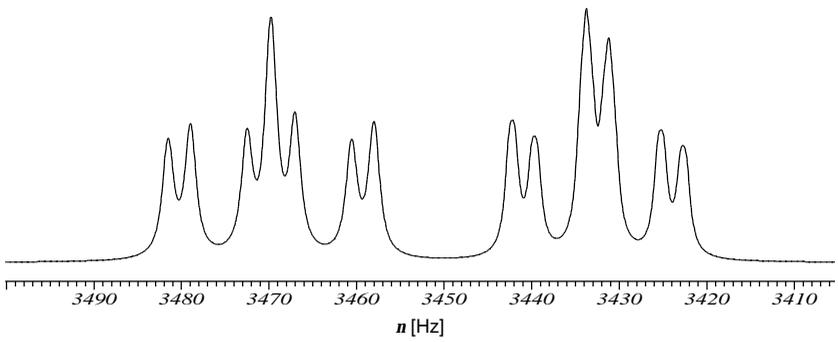
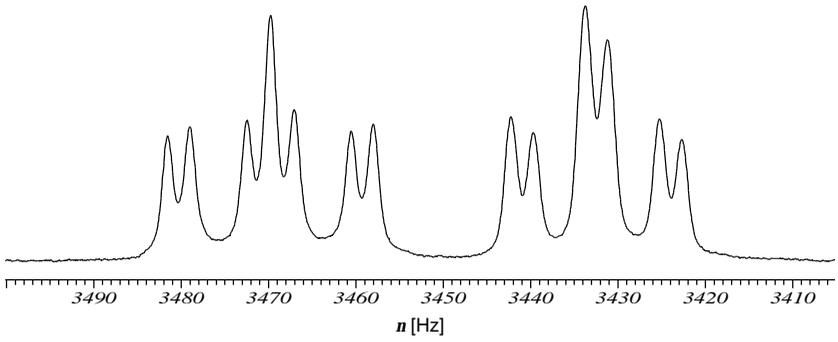
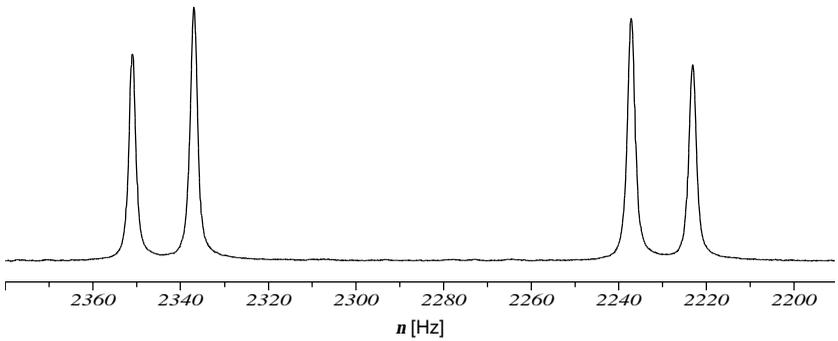


Abbildung 65: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, Protonen H_3 und H_4 des Difluorbenzol-substituenten



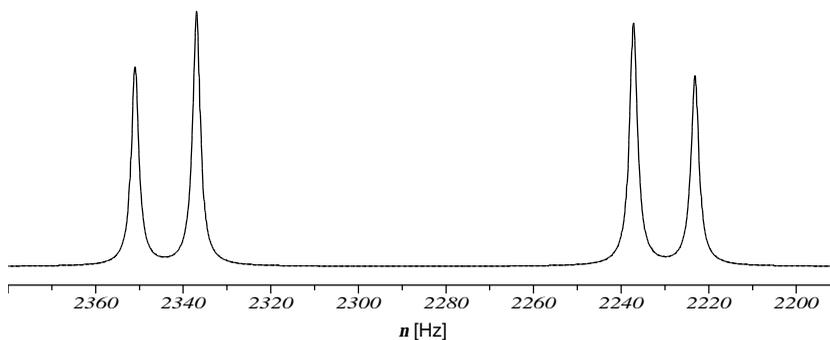


Abbildung 66: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, H_6 und H_6' der Methylenbrücken

Die Ergebnisse der Iteration des hochaufgelösten ^1H -NMR-Spektrums des Fluconazols in 1M TMAOD sind in den folgenden Tabellen angegeben.

nJ	J_{ik}	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]	J_{ik} [Hz], Eigen-pH
$^3J_{\text{FH}}$	1,3	11,961	0,00324	12,307
$^5J_{\text{FH}}$	1,4	-0,651	0,00479	-0,859
$^4J_{\text{FH}}$	1,5	9,359	0,00406	9,248
$^3J_{\text{FH}}$	2,3	9,024	0,00322	8,885
$^3J_{\text{FH}}$	2,4	8,164	0,00346	8,128
$^4J_{\text{FH}}$	2,5	6,912	0,00237	6,429
$^4J_{\text{HH}}$	3,4	2,581	0,00178	2,579
$^5J_{\text{HH}}$	3,5	0,338	0,00912	0,289
$^3J_{\text{HH}}$	4,5	8,840	0,00273	8,916
$^2J_{\text{HH}}$	6a,6b; 6'a,6'b	-14,034	0,00509	-14,824

Tabelle 29: iterierte Kopplungskonstanten des 500,13 MHz ^1H -NMR-Spektrums des Fluconazols in 1M TMAOD

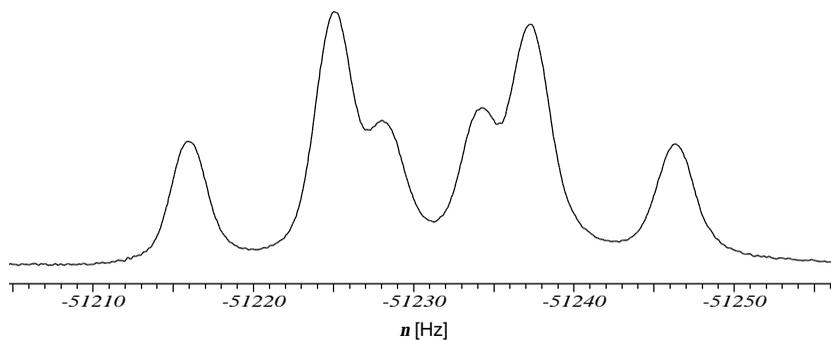
Spins	Parameter			
	n_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	d_i [ppm], Eigen-pH
3	3469,670	0,00136	6,938	7,044
4	3432,546	0,00136	6,863	6,802
5	3704,489	0,00142	7,407	7,056
6a/6'a	2230,492	0,00367	4,460	4,728
6b/6'b	2343,491	0,00343	4,686	4,967
7	4143,119	0,00483	8,284	8,328
8	3926,457	0,00433	7,851	7,858
HWB	$Dn_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]		
3	1,403	0,00468		
4	1,184	0,00424		
5	1,473	0,00452		
6a/6'a	2,136	0,00732		
6b/6'b	2,038	0,00684		
7	1,796	0,00947		
8	1,671	0,00850		

Tabelle 30: iterierte Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 500,13 MHz ^1H -Spektrums des Fluconazols in 1M TMAOD

	Difluorbenzol	Methylenbrücke	Triazol
Final Sum of Squares	33,5134	246,4364	432,1947
Number of Spectral Points	3842	6022	9460
Standard Deviation of Measurements	0,0936	0,2024	0,2138
R-Factor (%)	0,1057	1,6590	6,2161

Tabelle 31: Statistische Informationen zu den Iterationen der Fragmente des Fluconazols in 1M TMAOD

In den folgenden Abbildungen werden die experimentellen und simulierten 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektren des Fluconazols bei Eigen-pH gezeigt.



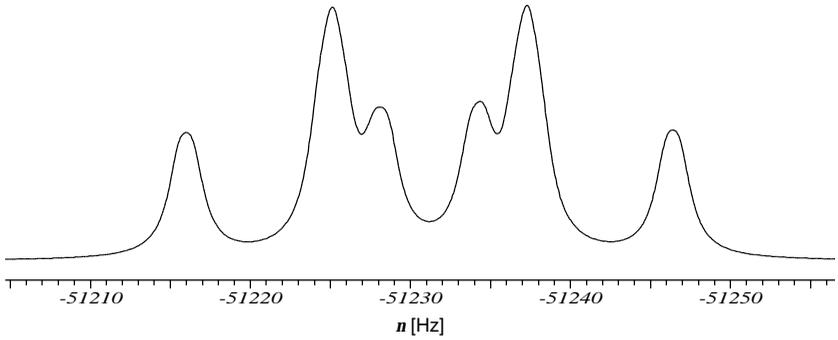


Abbildung 67: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Ausschnitt des Fluoratoms F_1

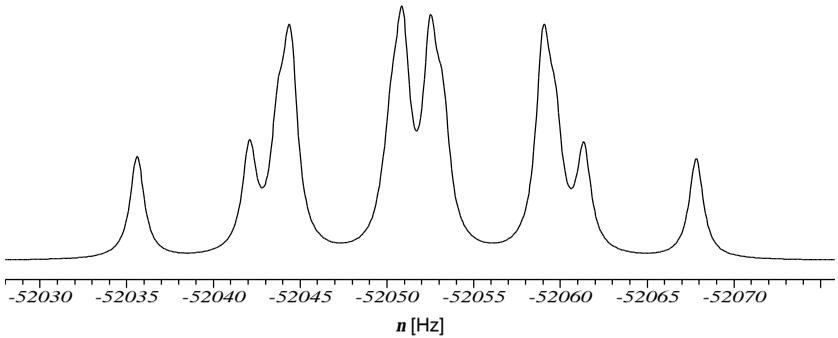
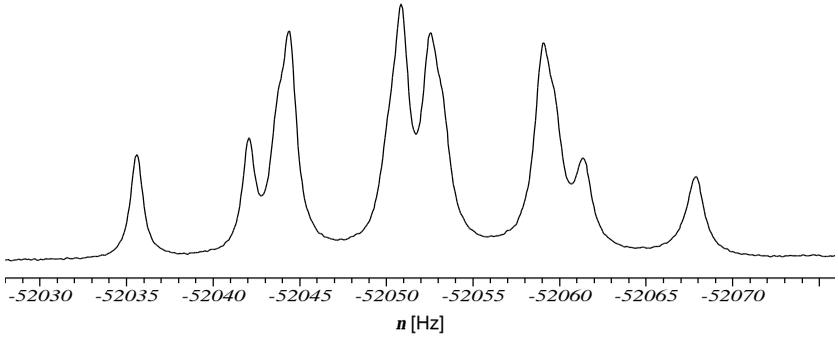


Abbildung 68: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Fluconazols bei Eigen-pH, Ausschnitt des Fluoratoms F_2

Spins	Parameter				
	n_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	$Dn_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]
1	-51231,242	0,00551	-108,866	1,747	0,00555
2	-52051,724	0,00438	-110,610	0,965	0,00290
nJ	J_{ik}	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]		
${}^4J_{FF}$	1,2	8,724	0,00406		
${}^3J_{FH}$	1,3	12,248	0,00396		
${}^5J_{FH}$	1,4	n.i.	n.i.		
${}^4J_{FH}$	1,5	9,459	0,00628		
${}^3J_{FH}$	2,3	8,918	0,00437		
${}^3J_{FH}$	2,4	8,115	0,00186		
${}^4J_{FH}$	2,5	6,466	0,00181		

Tabelle 32: iterierte Resonanzfrequenzen, Kopplungskonstanten und Halbwertsbreiten des 470,59 MHz ${}^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrums des Fluconazols bei Eigen-pH

Final Sum of Squares	96,1272
Number of Spectral Points	18497
Standard Deviation of Measurements	0,0721
R-Factor (%)	0,9590

Für die ${}^4J_{FF}$ Kopplung wurde im Einklang mit Literaturstelle [69] und [80] ein positives Vorzeichen gefunden. Die ${}^5J_{FH}$ -Kopplung wurde nicht iteriert, da die Freigabe des Parameters zu nicht sinnvollen Ergebnissen führte. Stattdessen wurde der durch Simulation und Iteration des ${}^1\text{H}$ -Spektrums ermittelte Wert der ${}^5J_{FH}$ -Kopplung festgehalten.

In den folgenden Abbildungen werden die experimentellen und simulierten 470,59 MHz ${}^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren des Fluconazols in 1M TMAOD gezeigt.

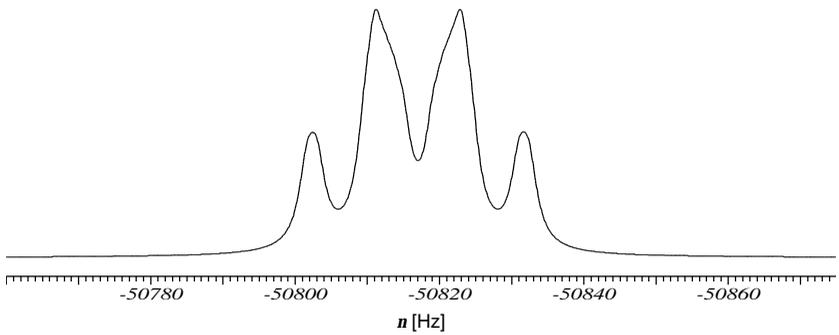
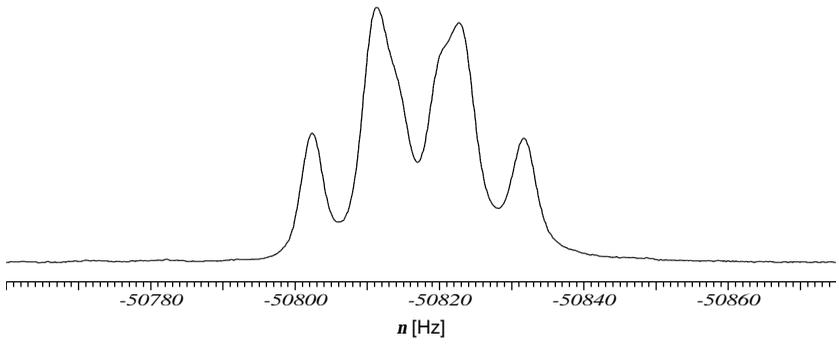
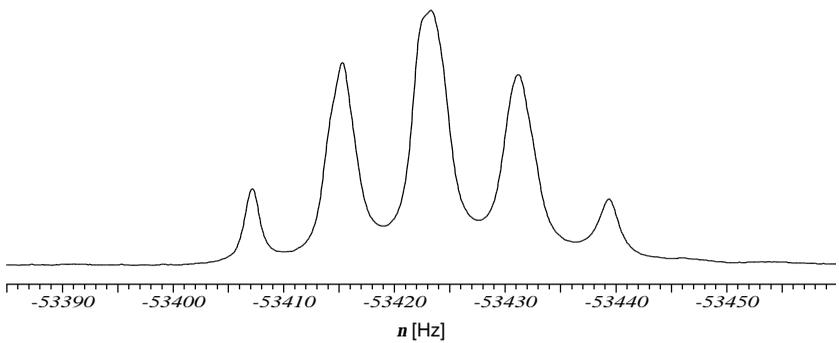


Abbildung 69: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, Ausschnitt des Fluoratoms F_1



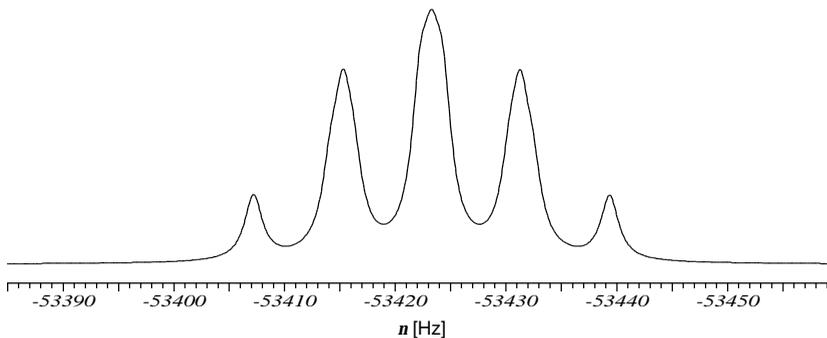


Abbildung 70: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Fluconazols in 1M TMAOD, Ausschnitt des Fluoratoms F_2

Parameter					
Spins	n_i [Hz]	Fehler [\pm Hz]	d_i [ppm]	$Dn_{1/2}$ [Hz]	Fehler [\pm Hz]
1	-50817,070	0,00652	-107,986	2,779	0,01461
2	-53423,319	0,00451	-113,524	1,926	0,00593
nJ	J_{ik}	J_{ik} [Hz]	Fehler [\pm Hz]		
${}^4J_{\text{FF}}$	1,2	8,020	0,00963		
${}^3J_{\text{FH}}$	1,3	11,950	0,00665		
${}^5J_{\text{FH}}$	1,4	-1,366	0,0156		
${}^4J_{\text{FH}}$	1,5	9,411	0,00979		
${}^3J_{\text{FH}}$	2,3	9,040	0,00485		
${}^3J_{\text{FH}}$	2,4	8,134	0,01279		
${}^4J_{\text{FH}}$	2,5	6,977	0,00425		

Tabelle 33: iterierte Resonanzfrequenzen, Kopplungskonstanten und Halbwertsbreiten des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums des Fluconazols in 1M TMAOD

Final Sum of Squares	38,3826
Number of Spectral Points	6396
Standard Deviation of Measurements	0,0775
R-Factor (%)	0,2561

2.6.3 NMR-kontrollierte Titration von Fluconazol

Die analytischen Daten für die 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ - bzw. 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierte Titration des Fluconazols vs. 1,0 M TMAOH sowie die Aufnahme- und Prozessierungsparameter sind in den folgenden Tabellen angegeben.

Vorlagevolumen	25,00 ml
Titration	TMAOH c_{ZB} : 0,98396 mol/l V_{Zmax} : 6,16 ml
Ligand in der Vorlage	151,9 mg n_{VL} : 0,496 mmol c_{VL} : 0,02 mol/l
Säurezusatz in der Vorlage	2,65 ml 0,95320 mol/l HCl n_{VS} : 2,526 mmol c_{VS} : 0,10 mol/l
Ionenzusatz	2,74g TMACl n_{VI} : 25 mmol c_{VI} : 1,0 mol/l
pK_{S_1}	1,472*
pK_{S_2}	1,878*
pK_{S_3}	12,509*
Anzahl der NMR-Experimente	127

Tabelle 34: Experimentelle Parameter der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ - bzw. 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**, * Werte mit Canpod bestimmt

	¹⁹ F-NMR	¹ H-NMR
ns	16	32
SW [ppm]	43,91	12,02
SW [Hz]	20661,16	6009,62
TD	64k	64kk
SI	128k	64k
LB [Hz]	1	0,1

Tabelle 35: Aufnahme- und Prozessierungsparameter der 470,59 MHz ¹⁹F{¹H}- bzw. 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Aufgrund des schlechten Signal zu Rausch-Verhältnisses muß jedes der 127 erhaltenen ¹H-NMR-Spektren von Hand phasen- und basislinienkorrigiert werden.

Abbildung 71 zeigt die potentiometrische Titrationskurve der NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5** vs. 1M TMAOH.

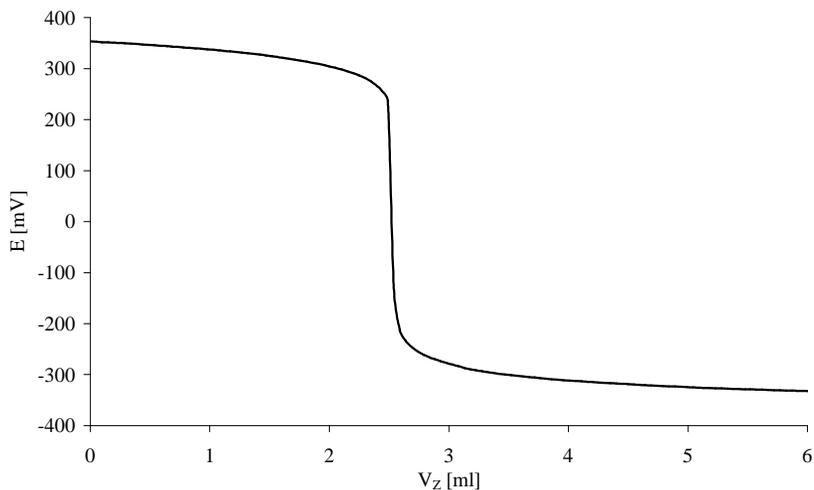


Abbildung 71: Potentiometrische Titration von Fluconazol **5** vs. 1M TMAOH

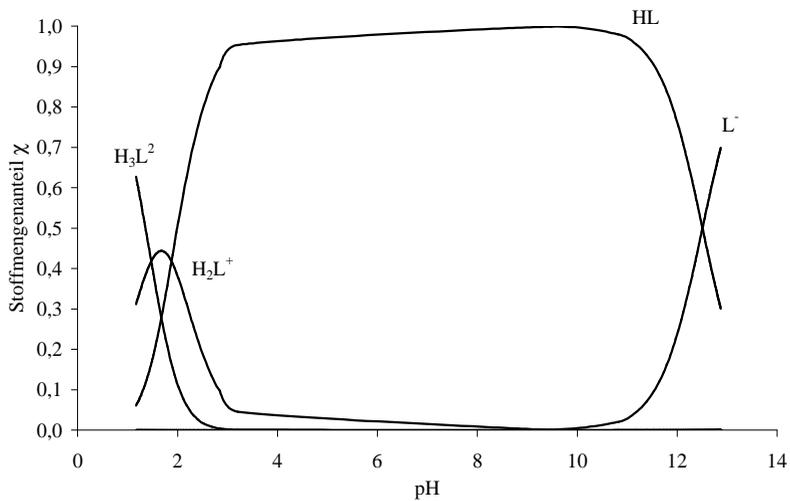
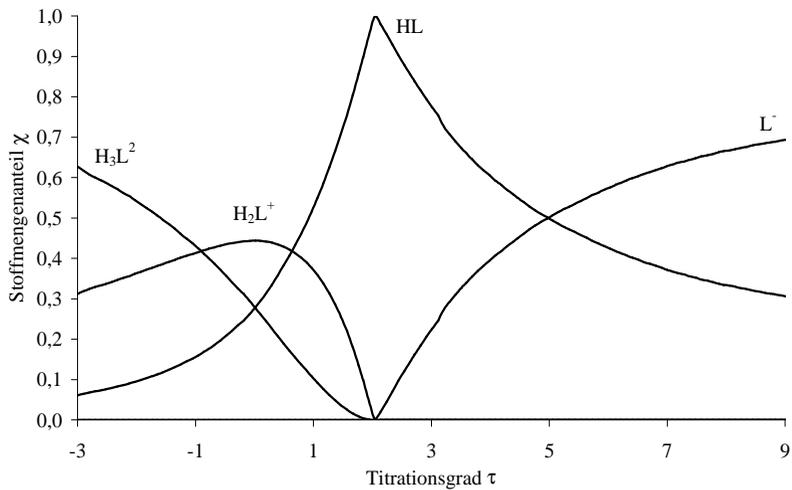


Abbildung 72: χ, τ -Diagramm (oben), χ, pH -Diagramm (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ - und der 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

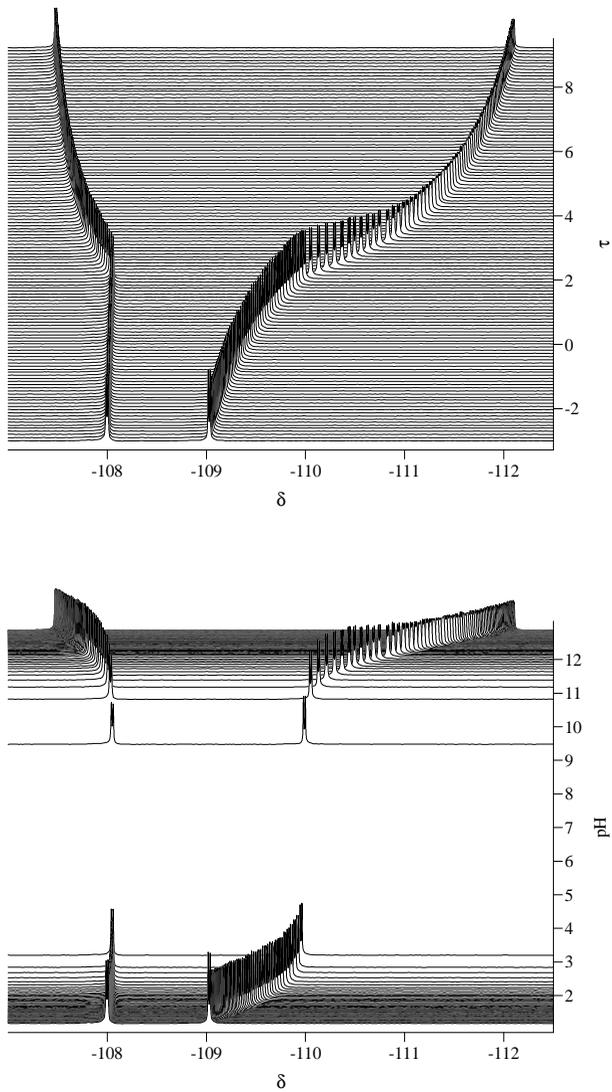


Abbildung 73: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

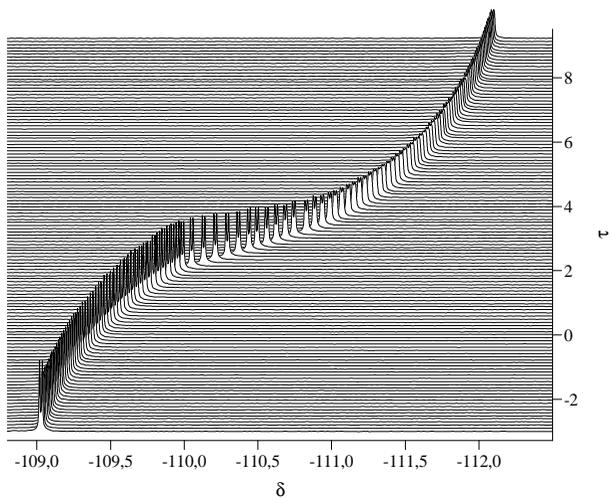
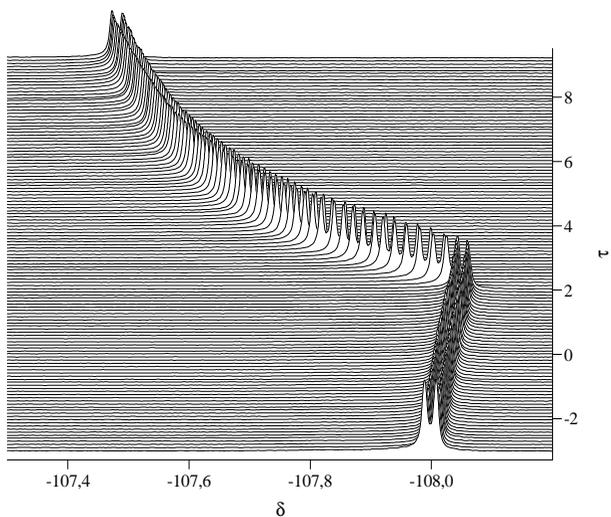


Abbildung 74: Ausschnitt aus dem τ, δ -Stackplot der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**; Fluoratome F_1 (oben) und F_2 (unten)

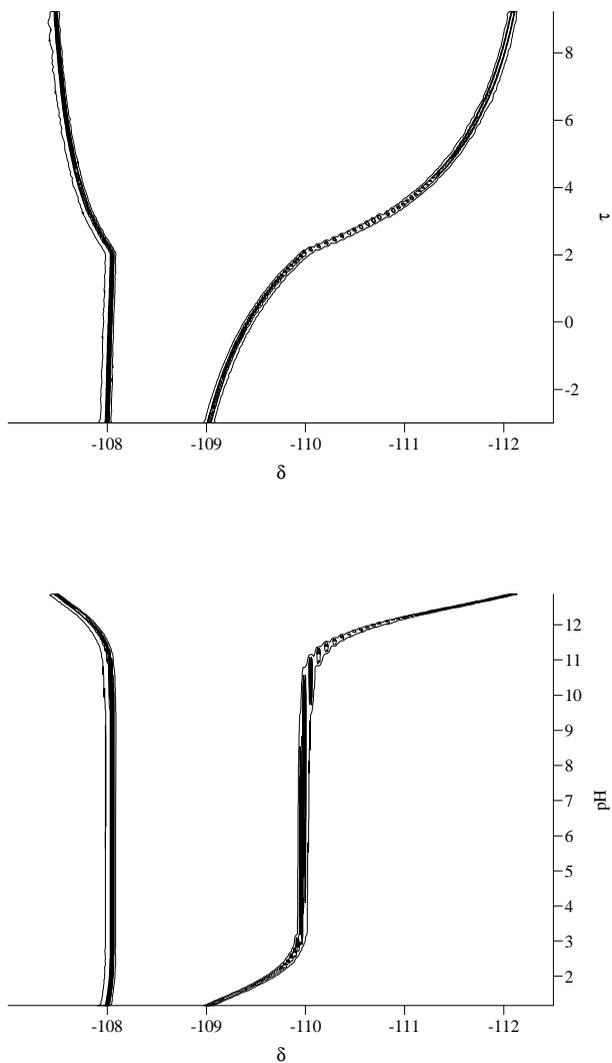


Abbildung 75: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Die Bestimmung der ionenspezifischen ^{19}F -chemischen Verschiebungen des Fluconazols mit den aus der potentiometrischen Präzisionstitration ermittelten pK_S -Werten ergab nur eine mäßige Übereinstimmung der experimentellen mit den berechneten Daten.

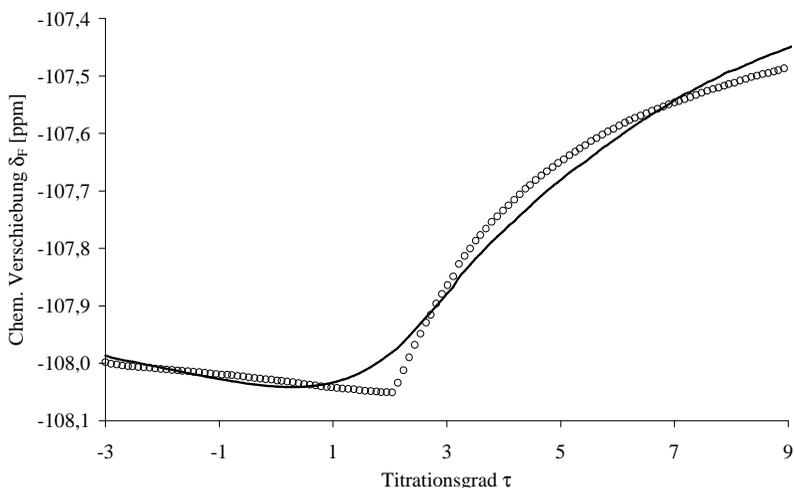


Abbildung 76: unbefriedigende Anpassung der experimentellen und berechneten ^{19}F -chemischen Verschiebungen mit den aus der potentiometrischen Präzisionstitration ermittelten pK_S -Werten

Problematisch bei der Auswertung der potentiometrischen Daten des Fluconazols ist die Tatsache, daß die drei pK_S -Werte im Grenzbereich des analytischen Fensters der potentiometrischen Titration liegen. Die in den pH-Fenstern 0-2 bzw. 12- pK_w liegenden pK_S -Werte können jedoch aus der potentiometrischen Messung mit der Glaselektrode nicht befriedigend genau bestimmt werden.

Aus diesem Grund muß zur Auswertung der NMR-kontrollierten Titration ein anderer Weg beschritten werden, denn zur Lösung des Problems benötigt man eine weitere Observable, die zusätzliche Informationen über das Protolyseverhalten des Fluconazols liefert.

Einen alternativen Lösungsweg bietet das Programm Canpod von Hermens [22] an, welches in der Lage ist, sowohl die Daten der Potentiometrie als auch die kernresonanzspektroskopischen Daten zu berücksichtigen. Da das Programm Canpod nur mit einem NMR-Parameter arbeiten kann, werden die beiden Fluorresonanzfrequenzen in zwei getrennten

Rechnungen ausgewertet. Hierbei werden sowohl ionenspezifische Verschiebungen als auch Stabilitätskonstanten erhalten. Da das verwendete Programm Canpod die chemische Verschiebung nur eines Kerns berücksichtigen kann, erhält man durch Auswertung der je zwei Signale in der ^1H -NMR- und $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration insgesamt vier bzw. nach Mittelung sechs Lösungen.

Die Auswertung mit Canpod liefert die folgenden $\log\beta$ -bzw. pK_S -Werte.

Lösung	Iteration	$\log b_1$	$\log b_2$	$\log b_3$
1	Fluoratom F ₁	12,522 ±0,021	14,238 ±0,260	15,866 ±0,108
2	Fluoratom F ₂	12,494 ±0,006	14,533 ±0,157	15,851 ±0,127
3	Mittelwert F _M	12,509 ±0,011	14,387 ±0,152	15,859 ±0,083

Tabelle 36: mit Canpod ermittelte $\log\beta$ -Werte aus der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Lösung	Iteration	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}
1	Fluoratom F ₁	1,628 ±0,282	1,716 ±0,261	12,522 ±0,021
2	Fluoratom F ₂	1,318 ±0,202	2,039 ±0,157	12,494 ±0,006
3	Mittelwert F _M	1,472 ±0,173	1,878 ±0,152	12,509 ±0,011

Tabelle 37: mit Canpod ermittelte pK_S -Werte aus der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Lösung	Iteration	$\log b_1$	$\log b_2$	$\log b_3$
1	Proton H ₇	11,982 ±0,050	14,189 ±0,106	15,337 ±0,107
2	Proton H ₈	11,687 ±0,091	13,853 ±0,132	15,007 ±0,132
3	Mittelwert H _M	11,835 ±0,052	14,021 ±0,085	15,172 ±0,085

Tabelle 38: mit Canpod ermittelte $\log\beta$ -Werte aus der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Lösung	Iteration	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}
1	Proton H ₇	1,148 ±0,151	2,207 ±0,117	11,982 ±0,050
2	Proton H ₈	1,154 ±0,187	2,166 ±0,160	11,687 ±0,091
3	Mittelwert H _M	1,151 ±0,120	2,187 ±0,100	11,835 ±0,052

Tabelle 39: mit Canpod ermittelte pK_S -Werte aus der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Die mit Canpod aus der 470,59 MHz ¹⁹F{¹H}-NMR- bzw. der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration bestimmten $\log\beta$ - und pK_S -Werte weichen sichtbar voneinander ab. Der dritte pK_S -Wert, welcher die Deprotonierung der Alkoholfunktion beschreibt, wird aus den ¹⁹F{¹H}-NMR-Daten zu 12,509; aus den ¹H-NMR-Daten jedoch zu 11,835 bestimmt. Analoges gilt für die Bestimmung der pK_S -Werte der beiden Triazolsubstituenten. Mit den ermittelten $\log\beta$ -Werten werden die ¹⁹F{¹H}-NMR- und ¹H-NMR-Titrationskurven simuliert und den experimentell ermittelten chemischen Verschiebungen gegen-

übergestellt. Als Gütekriterium der Anpassung von experimenteller und simulierter Titrationskurve dient der RMS-Wert, der in der folgenden Tabelle angegeben ist.

Lösung (verwendete $\log b$)	RMS der Simulation von d_{F_1}	RMS der Simulation von d_{F_2}
F ₁	0,003736	0,054988
F ₂	0,009438	0,008045
F _M	0,005743	0,029966
H _M	0,157791	0,549267
Lösung (verwendete $\log b$)	RMS der Simulation von d_{H_7}	RMS der Simulation von d_{H_8}
H ₇	0,001578	0,002071
H ₈	0,004378	0,001439
H _M	0,002783	0,001625
F _M	0,056290	0,032876

Tabelle 40: RMS-Werte bei Verwendung unterschiedlicher $\log b$ -Werte zur Simulation der $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR- bzw. ^1H -NMR-Titrationskurve des Fluconazols **5**

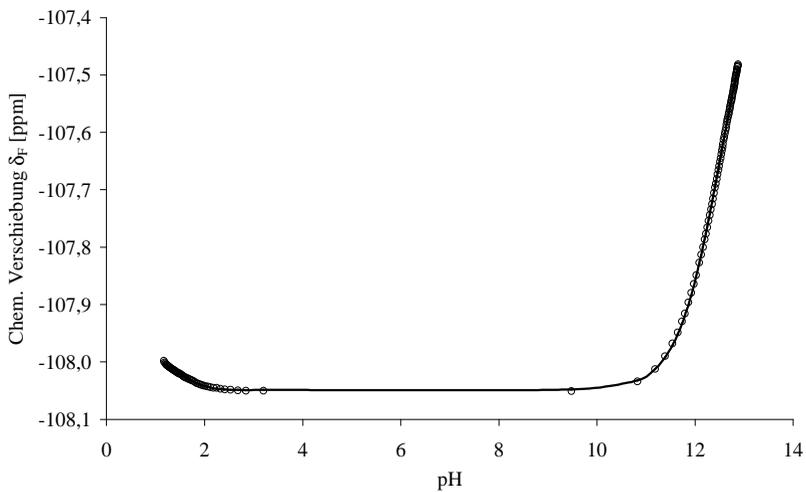
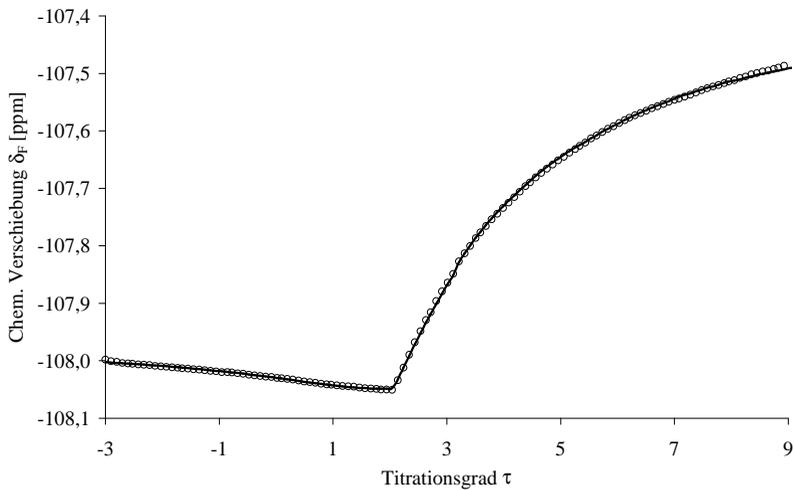


Abbildung 77: δ, τ -Diagramm (oben) δ, pH -Diagramm (unten) für das Fluoratom F_1 der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

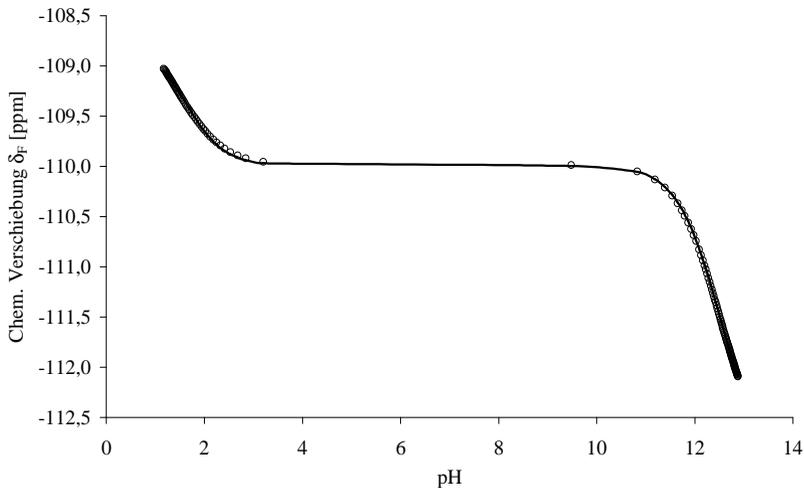
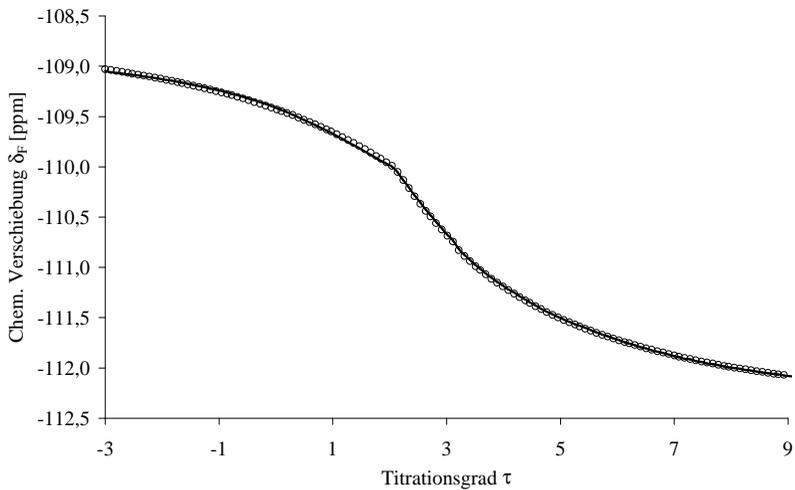


Abbildung 78: δ, τ -Diagramm (oben) δ, pH -Diagramm (unten)) für das Fluoratom F_2 der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Tabelle 40 und Tabelle 42 zeigen die Ergebnisse der 470,59 MHz $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**.

		Gauss-Elimination		Canpod	
Spezies	Gradient	d_F [ppm]	$\pm\epsilon d_F$ [ppm]	d_F [ppm]	$\pm\epsilon d_F$ [ppm]
H ₃ L ²⁺		-107,97	0,002	-107,99	0,010
	D ₁	0,08		0,04	
H ₂ L ⁺		-108,05	0,002	-108,03	0,016
	D ₂	0,00		0,03	
HL		-108,05	0,001	-108,06	0,004
	D ₃	-0,8		-0,78	
L ⁻		-107,25	0,001	-107,28	0,012

Tabelle 41: Mit Lösung F_M berechnete ionenspezifische NMR-Parameter d_i und Deprotonierungsgradienten Δ_i für das Fluoratom F₁ der 470,59 MHz ¹⁹F{¹H}-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

		Gauss-Elimination		Canpod	
Spezies	Gradient	d_F [ppm]	$\pm\epsilon d_F$ [ppm]	d_F [ppm]	$\pm\epsilon d_F$ [ppm]
H ₃ L ²⁺		-108,75	0,008	-108,62	0,066
	D ₁	0,86		0,91	
H ₂ L ⁺		-109,47	0,009	-109,53	0,051
	D ₂	0,61		0,42	
HL		-110,00	0,003	-109,95	0,005
	D ₃	3,14		2,89	
L ⁻		-113,00	0,003	-112,84	0,013

Tabelle 42: Mit Lösung F_M berechnete ionenspezifische NMR-Parameter d_i und Deprotonierungsgradienten Δ_i für das Fluoratom F₂ der 470,59 MHz ¹⁹F{¹H}-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

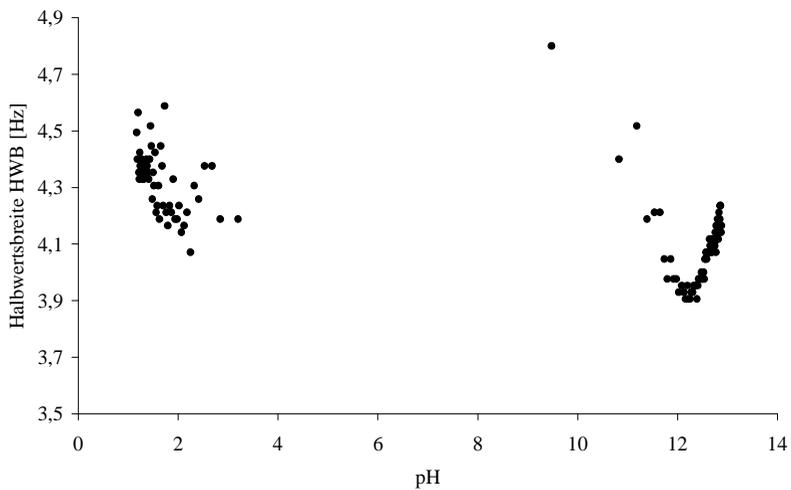
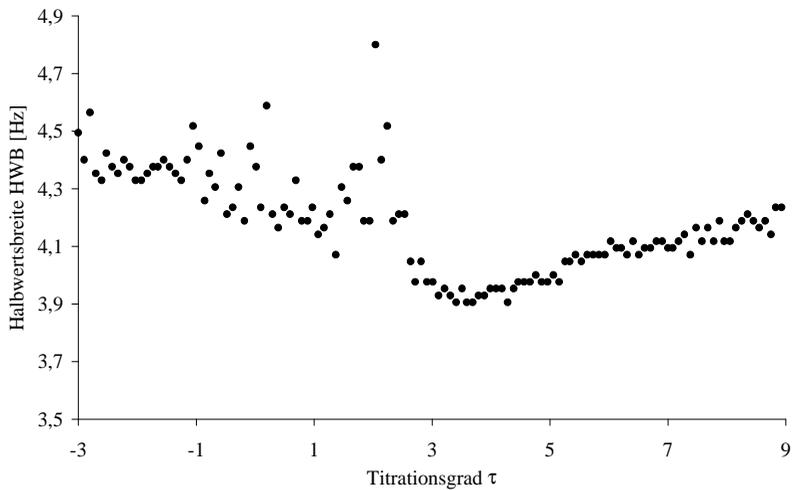


Abbildung 79: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für das Fluoratom F_1 der 470,59 MHz $^{19}F\{^1H\}$ -NMR kontrollierten Titration des Fluconazols

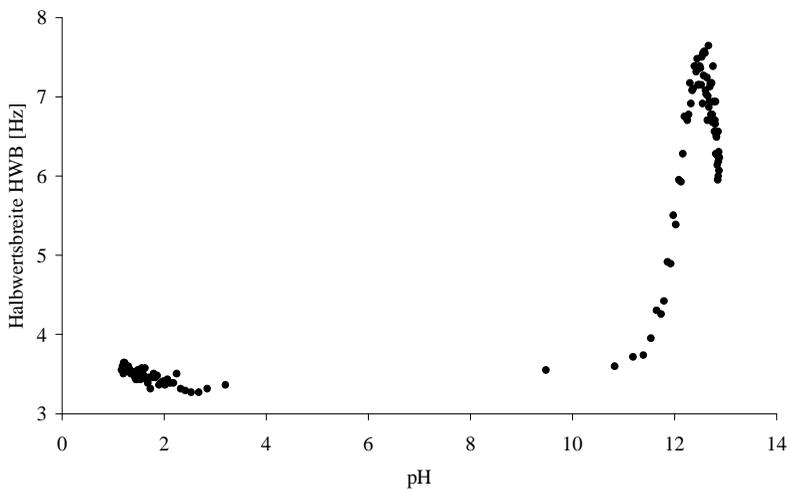
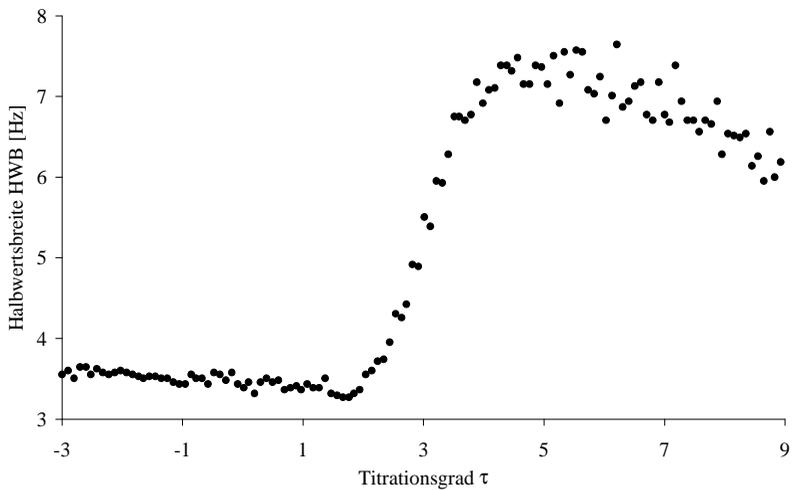


Abbildung 80: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für das Fluoratom F_2 der 470,59 MHz $^{19}F\{^1H\}$ -NMR kontrollierten Titration des Fluconazols

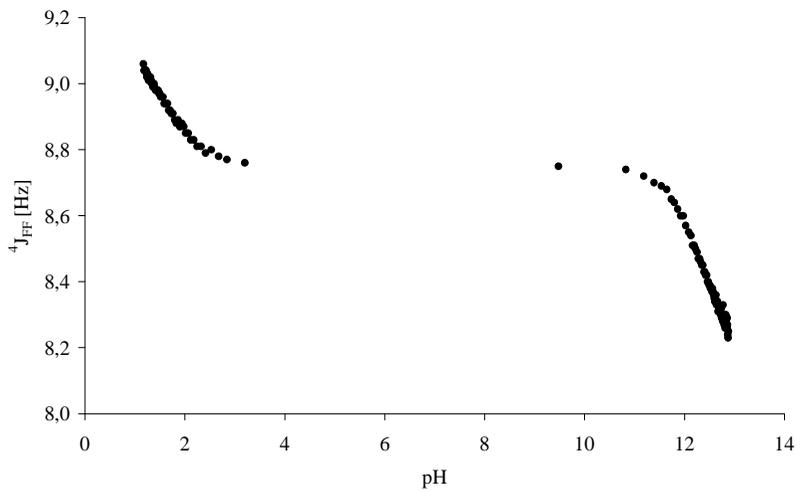
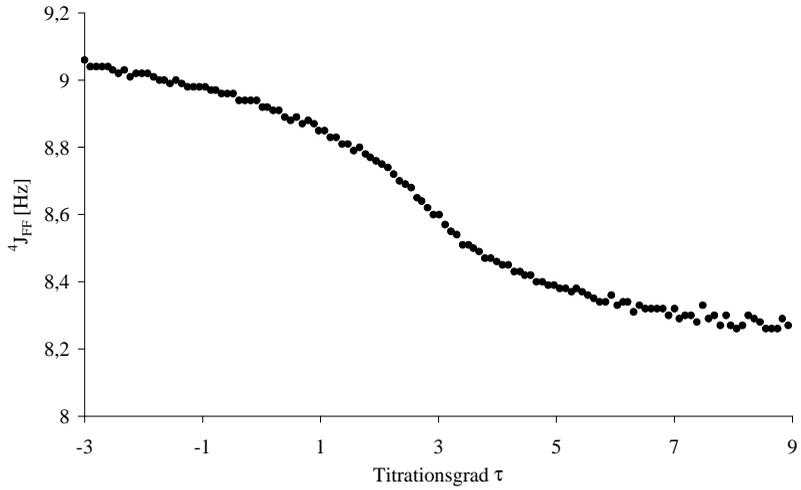


Abbildung 81: ${}^4J_{FF,\tau}$ -Diagramm (oben), ${}^4J_{FF,pH}$ -Diagramm (unten) für das Fluoratom F_1 der 470,59 MHz ${}^{19}F\{^1H\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

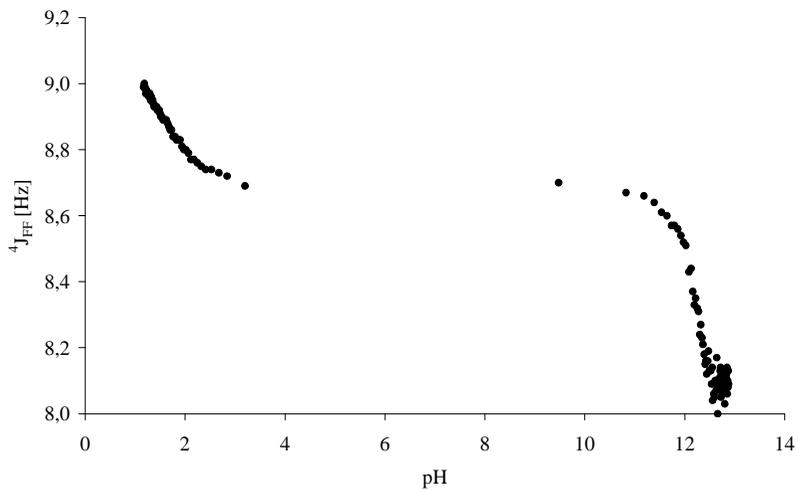
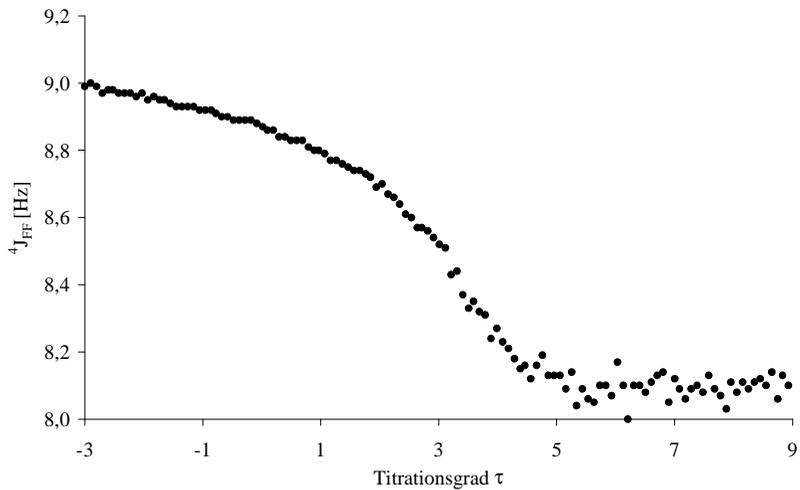


Abbildung 82: ${}^4J_{FF},\tau$ -Diagramm (oben), ${}^4J_{FF},\text{pH}$ -Diagramm (unten) für das Fluoratom F_2 der 470,59 MHz ${}^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

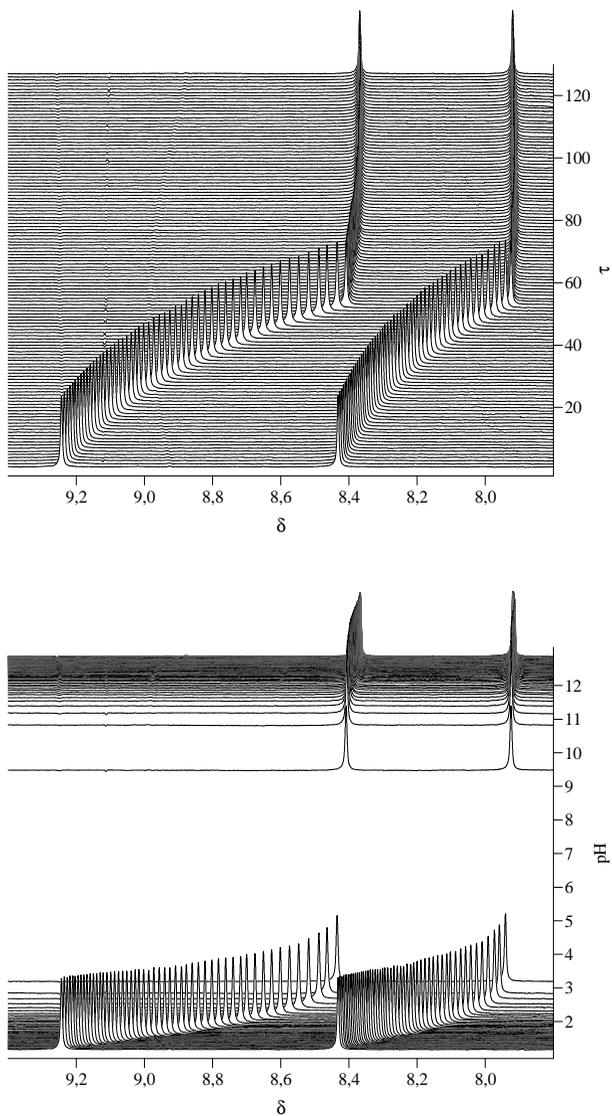


Abbildung 83: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der Protonen H_7 und H_8 für die 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierte Titration des Fluconazols **5**

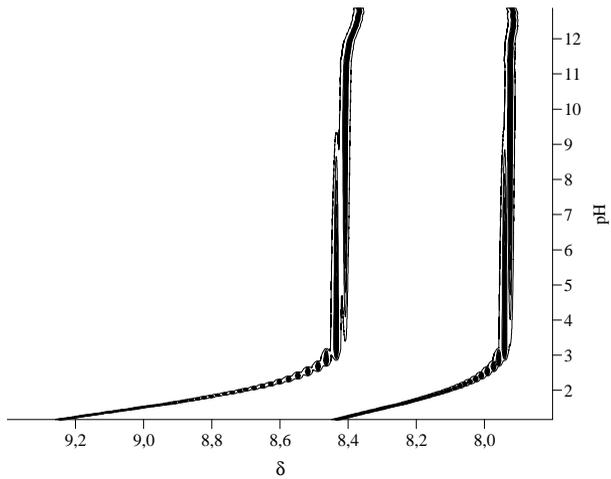
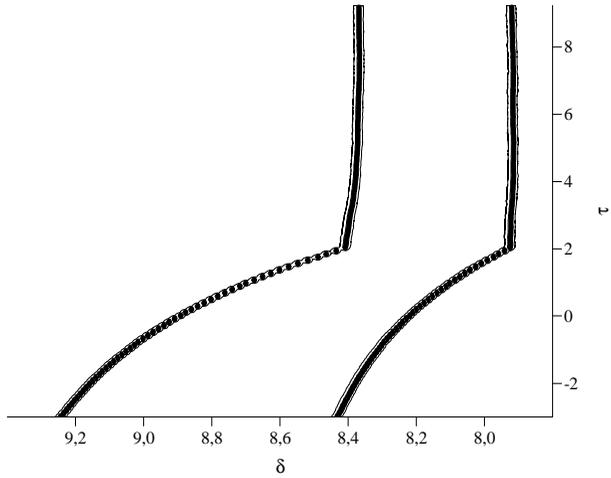


Abbildung 84: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der Protonen H₇ und H₈ für die 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierte Titration des Fluconazols **5**

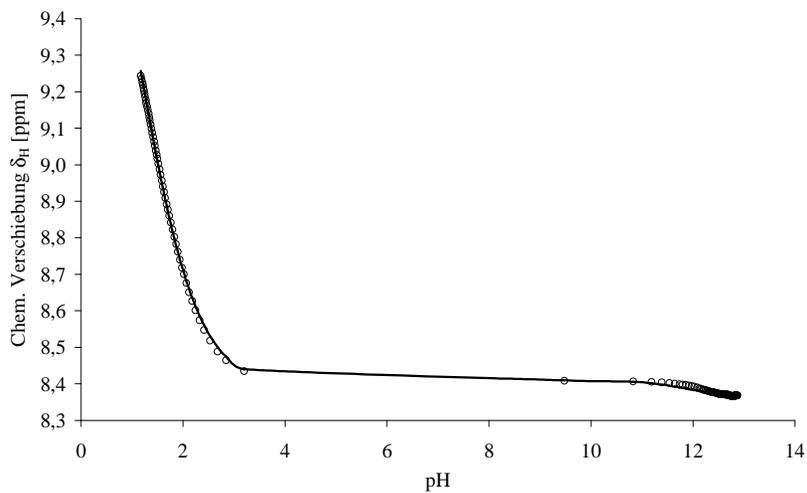
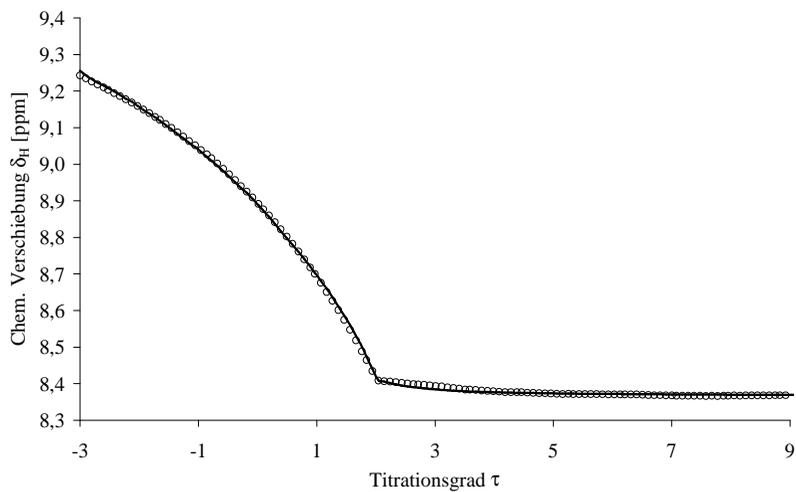


Abbildung 85: δ, τ -Diagramm (oben) δ, pH -Diagramm (unten) für das triazolische Proton H_7 der 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

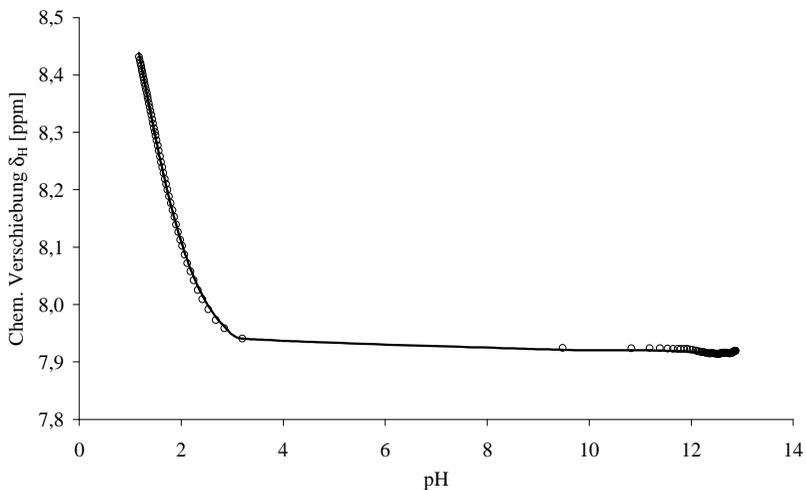
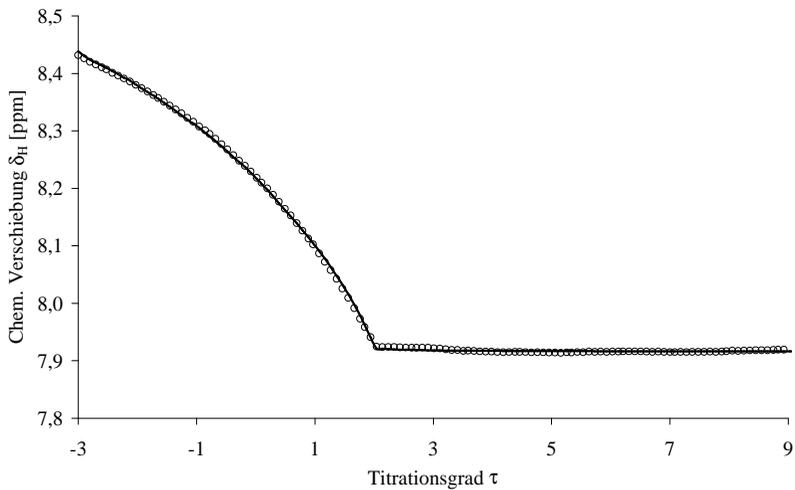


Abbildung 86: δ, τ -Diagramm (oben) δ, pH -Diagramm (unten) für das triazolische Proton H_8 der 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Die Ergebnisse der 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierten Titration für die triazolischen Protonen H_7 und H_8 des Fluconazols **5** sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Spezies	Gradient	Gauss-Elimination		Canpod	
		d_H [ppm]	$\pm\epsilon d_H$ [ppm]	d_H [ppm]	$\pm\epsilon d_H$ [ppm]
H ₃ L ²⁺		9,50	0,005	9,74	0,019
	D ₁	0,67		0,94	
H ₂ L ⁺		8,83	0,006	8,80	0,025
	D ₂	0,42		0,39	
HL		8,41	0,002	8,41	0,001
	D ₃	0,07		0,05	
L ⁻		8,34	0,002	8,36	0,001

Tabelle 43: Mit Lösung H_M berechnete ionenspezifische NMR-Parameter d_H und Deprotonierungsgradienten Δ_i für das Proton H₇ der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

Spezies	Gradient	Gauss-Elimination		Canpod	
		d_H [ppm]	$\pm\epsilon d_H$ [ppm]	d_H [ppm]	$\pm\epsilon d_H$ [ppm]
H ₃ L ²⁺		8,59	0,003	8,72	0,018
	D ₁	0,40		0,55	
H ₂ L ⁺		8,19	0,004	8,17	0,017
	D ₂	0,26		0,24	
HL		7,93	0,001	7,93	0,001
	D ₃	0,02		0,01	
L ⁻		7,91	0,001	7,92	0,001

Tabelle 44: Mit Lösung H_M berechnete ionenspezifische NMR-Parameter d_H und Deprotonierungsgradienten Δ_i für das Proton H₈ der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

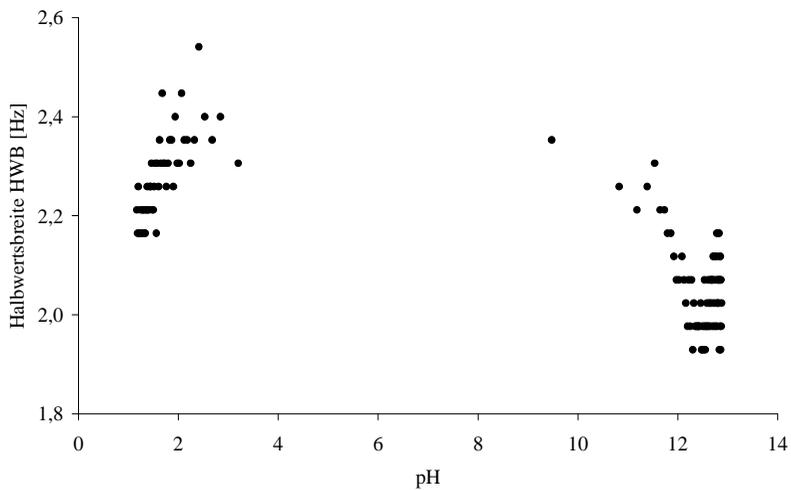
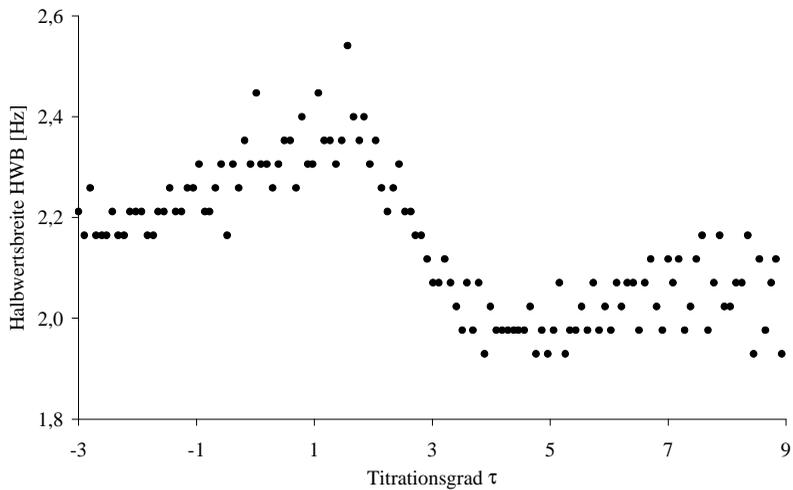


Abbildung 87: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für das triazolische Proton H_7 der 500,13 MHz 1H -NMR-kontrollierten Titration des Flucanazols **5**

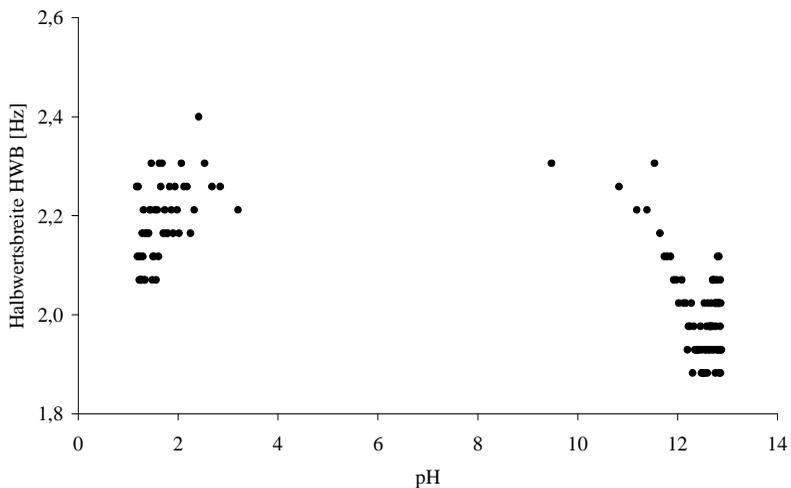
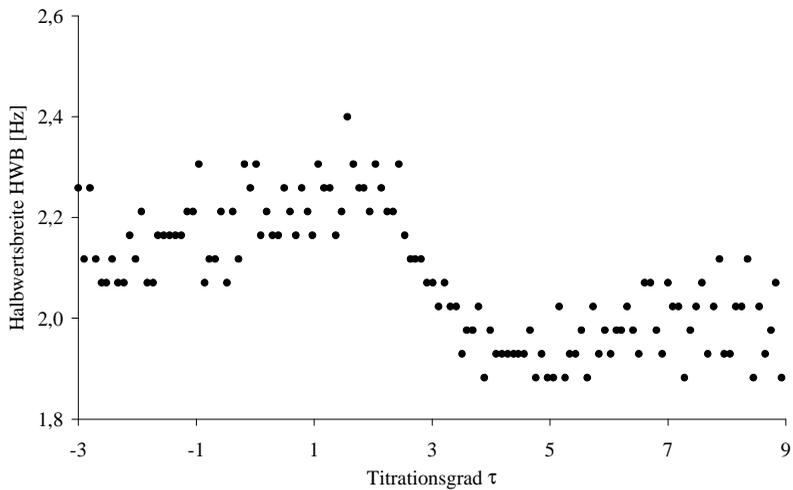


Abbildung 88: HWB, τ -Diagramm (oben), HWB,pH-Diagramm (unten) für das triazolische Proton H_8 der 500,13 MHz 1H -NMR-kontrollierten Titration des Flucanazols **5**

Auswertung der HWB, τ - bzw. HWB,pH-Diagramme sind vermutlich erst nach Datenglättungsversuchen signifikant. Dies soll umgehend nach Abschluß der Dissertation erfolgen.

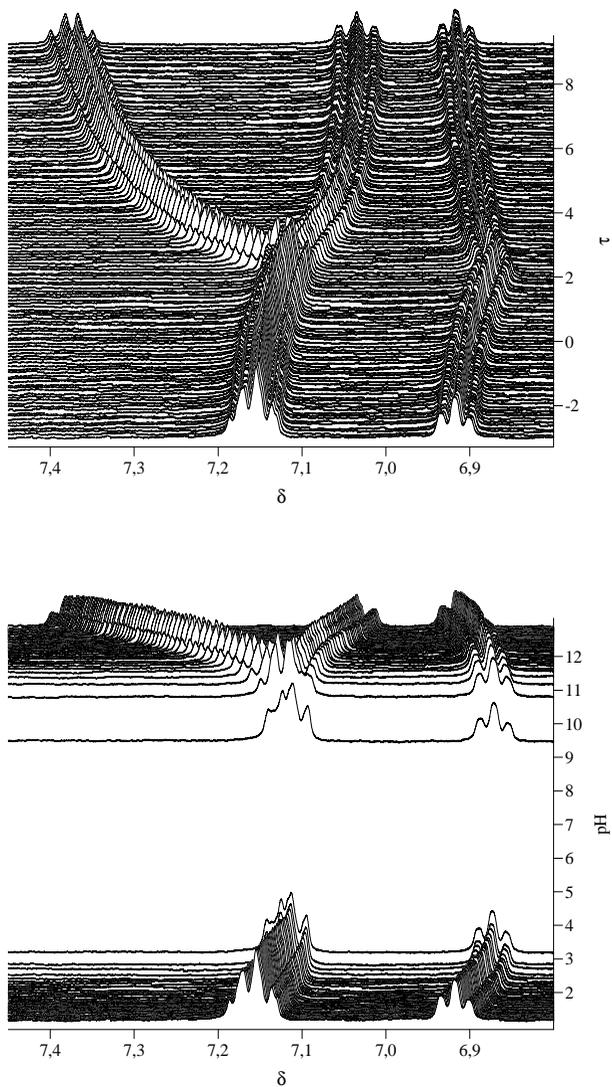


Abbildung 89: τ, δ -Stackplot (oben), pH, δ -Stackplot (unten) der Protonen H_3 , H_4 und H_5 für die 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierte Titration des Fluconazols **5**

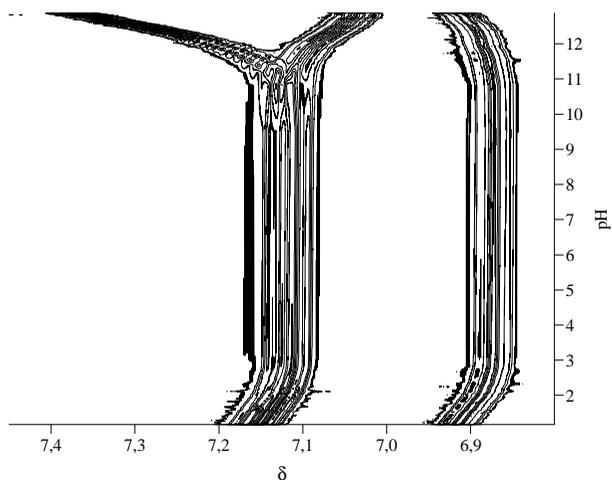
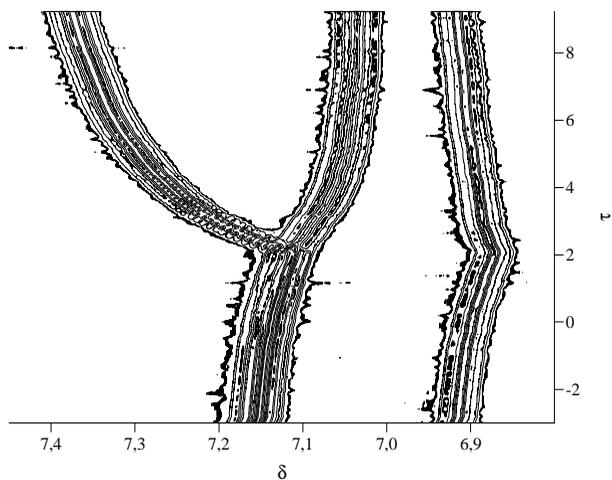


Abbildung 90: τ, δ -Konturplot (oben), pH, δ -Konturplot (unten) der Protonen H_3 , H_4 und H_5 für die 500,13 MHz ^1H -NMR-kontrollierte Titration des Fluconazols **5**

Die Titrationskurve der $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration zeigt bei Deprotonierung der Alkoholfunktion im alkalischen Milieu eine signifikante Änderung der ^{19}F -chemischen

Verschiebung, während die Deprotonierung der Triazolsubstituenten im Sauren keine maßgebliche Änderung der ^{19}F -chemischen Verschiebung bewirkt. Die ^1H -NMR-Titrationskurve zeigt durch eine deutliche Änderung der ^1H -chemischen Verschiebung die Deprotonierung der Triazolsubstituenten an. Im Alkalischen ändert sich hingegen die ^1H -chemische Verschiebung nicht signifikant.

Parameter, die keinen oder nur geringen Einfluß auf die Meßwerte haben, sind gar nicht oder nur ungenau bestimmbar. Die Änderung der ^{19}F -chemischen Verschiebung ist demnach geeignet, um als Sensor die Deprotonierung der Alkoholfunktion zu verfolgen, jedoch ungeeignet, um die Deprotonierung der Triazolsubstituenten zu verfolgen. Analog ist zur Bestimmung der beiden sauren pK_S -Werte die Änderung der ^1H -chemischen Verschiebung mit einem geringeren Fehler behaftet. Kombiniert man nun die beiden sauren pK_S -Werte, die aus der ^1H -NMR-kontrollierten Titration ermittelt wurden, mit dem alkalischen pK_S -Wert, der aus der $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR-kontrollierten Titration bestimmt wurde, kommt man zu der in nachfolgender Tabelle dargestellten Kombination HF_K .

	H_M	F_M	HF_K
$\text{pK}_{\text{S}1}$	1,151	1,472	1,151
$\text{pK}_{\text{S}2}$	2,187	1,878	2,187
$\text{pK}_{\text{S}3}$	11,835	12,509	12,509

Tabelle 45: pK_S -Werte der Lösungen H_M , F_M und HF_K

In den folgenden Tabellen werden die mit den Lösungen F_M bzw. H_M und HF_K ermittelten ionenspezifischen chemischen Verschiebungen δ_i für die Fluoratome F_1 und F_2 und die Protonen H_7 und H_8 gegenübergestellt.

Tendentuell liefert die Verwendung der $\log\beta$ -Werte bzw. pK_S -Werte der Lösung HF_K geringfügig kleinere RMS-Werte und Standardabweichungen und scheint somit das geeignetere Modell zur Beschreibung des Fluconazols zu sein.

	F₁		F₂	
	F_M	HF_K	F_M	HF_K
Spezies	d_F [ppm]	d_F [ppm]	d_F [ppm]	d_F [ppm]
H₃L²⁺	-107,99 ±0,010	-107,97 ±0,004	-108,62 ±0,066	-108,45 ±0,008
H₂L⁺	-108,03 ±0,016	-108,03 ±0,002	-109,53 ±0,051	-109,54 ±0,004
HL	-108,06 ±0,004	-108,06 ±0,001	-109,95 ±0,005	-109,96 ±0,002
L⁻	-107,28 ±0,012	-107,28 ±0,001	-112,84 ±0,013	-112,87 ±0,002
RMS	0,005743	0,004158	0,029966	0,008200

Tabelle 46: Gegenüberstellung der mit Lösung F_M bzw. HF_K berechneten ionenspezifischen ¹⁹F-chemischen Verschiebungen **d_F** für die Fluoratome F₁ und F₂ der 470,59 MHz ¹⁹F{¹H}-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

	H₇		H₈	
	H_M	HF_K	H_M	HF_K
Spezies	d_H [ppm]	d_H [ppm]	d_H [ppm]	d_H [ppm]
H₃L²⁺	9,74 ±0,019	9,73 ±0,002	8,72 ±0,018	8,72 ±0,002
H₂L⁺	8,80 ±0,025	8,81 ±0,001	8,17 ±0,017	8,17 ±0,001
HL	8,41 ±0,001	8,41 ±0,001	7,93 ±0,001	7,92 ±0,001
L⁻	8,36 ±0,001	8,35 ±0,001	7,92 ±0,001	7,91 ±0,001
RMS	0,002783	0,001995	0,001625	0,001768

Tabelle 47: Gegenüberstellung der mit Lösung H_M bzw. HF_K berechneten ionenspezifischen ¹H-chemischen Verschiebungen **d_H** für die Protonen H₇ und H₈ der 500,13 MHz ¹H-NMR-kontrollierten Titration des Fluconazols **5**

3 Konformationsanalytische Untersuchungen an fluorierten Aminocarbonsäuren und ihren nicht-fluorierten Stammverbindungen mittels NMR-Methoden

3.1 Theorie

Die vicinale Kopplungskonstante 3J wird im wesentlichen von vier Faktoren beeinflusst. Sie ist abhängig vom Diederwinkel f zwischen den betreffenden CH-Bindungen, der Bindungslänge, den HCC-Valenzwinkeln q und q' sowie der Elektronegativität der Substituenten R am HC-CH-Fragment.

Zahlreiche empirische Korrelationen zwischen vicinalen Kopplungskonstanten und der Konformation eines Moleküls sind in der Literatur bekannt.

Die erste Theorie, die Strukturaussagen anhand von NMR-Daten ermöglichte, wurde von Karplus [81], [82] aufgestellt und beinhaltet die Abhängigkeit der Größe der vicinalen Kopplungskonstanten J vom Diederwinkel f . Vor allem bei der Konformations- und Konfigurationsanalyse von Etherderivaten und gesättigten Sechsringen, insbesondere Zuckern, wird die Karplus-Beziehung mit Erfolg angewendet und kann quantitativ wie folgt formuliert werden:

$${}^3J_{\text{HH}} = A \cdot \cos^2 f + B \cdot \cos f + C \quad (39)$$

Ausgehend von der Karplus-Gleichung stellten Pachler und Altona erweiterte Karplus-analoge Beziehungen auf, die unter Berücksichtigung der Elektronegativität Substituenteneinflüsse auf die Größe der vicinalen Kopplungskonstante J quantifizieren [83]-[88].

Durch Einbeziehung der Substitutionen

$$\begin{aligned} A_{\text{HH}} &= A \\ A_{\text{HH}} \cdot F_{\text{HH}} &= B \\ A_{\text{HH}} \cdot F'_{\text{HH}} &= C \end{aligned} \quad (40)$$

erhält man die Schreibweise nach Gleichung (41), die sich in der Praxis bewährt hat.

$${}^3J_{\text{HH}} = A_{\text{HH}} \cdot (\cos^2 \mathbf{f} + F_{\text{HH}} \cdot \cos \mathbf{f} + F'_{\text{HH}}) \quad (41)$$

Für J_{HH} sind folgende Werte empirisch ermittelt worden [89]:

$$\begin{aligned} F_{\text{HH}} &= -0,1 \\ F'_{\text{HH}} &= 0 \end{aligned} \quad (42)$$

Ermittelt man nun experimentell den Wert für den Parameter A_{HH} , so erhält man eine substanzspezifische Karpluskurve. Beispielhaft ist in Abbildung 91 der Verlauf der Lin-Karpluskurve für Butansäure wiedergegeben.

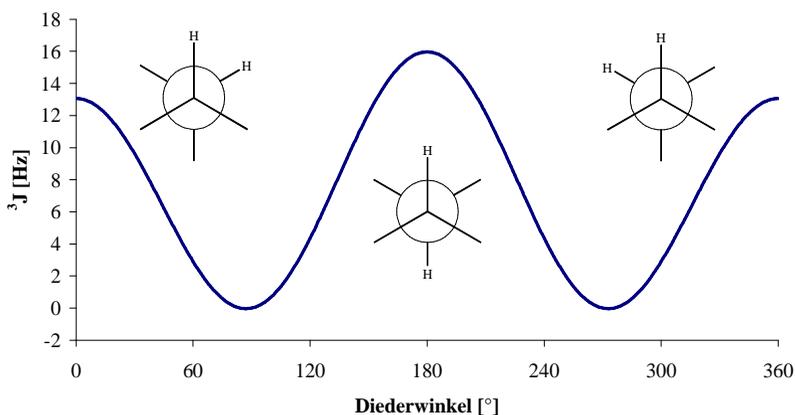


Abbildung 91: ${}^3\text{J}$ -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der Butansäure
 $A_{\text{HH}} = 14,51$ $F_{\text{HH}} = -0,1$, $F'_{\text{HH}} = 0$

In Bezug auf eine Spiegelachse bei 180° ist die Lin-Karplus-Kurve spiegelsymmetrisch. Aus dem Kurvenverlauf folgt direkt, daß der Betrag einer $\text{trans-}{}^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung immer größer als der einer $\text{gauche-}{}^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung ist.

Unter Verwendung von $J(\phi)$ für die diederwinkelabhängige Kopplungskonstante und $H(\phi)$ für die Häufigkeitsverteilung kann die dynamisch gemittelte observable Kopplungskonstante J_{obs} nach Lin wie folgt formuliert werden [90]-[92]:

$$J_{obs} = \frac{\int_0^{2p} J_{HH}(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \quad (43)$$

Dabei steht der verwendete Winkel \mathbf{f} für den Diederwinkel zwischen den koppelnden Kernen.

Ausgehend von der Boltzmannverteilung kann die statistische Häufigkeit der individuellen Rotamere durch folgende Funktion ausgedrückt werden,

$$H(\mathbf{f}) = e^{-E(\mathbf{f})/RT} \quad (44)$$

Zur Beschreibung der Änderung der potentiellen Energie $E(\phi)$ bei Drehung um die zentrale C-C-Bindung eignet sich nach Tabacic [93],[94], Hägele, Dolhaine [95] und Engelhardt [89] eine Potentialfunktion vom Gwinn-Pitzer-Typ [96].

$$\frac{E(\mathbf{f})}{RT} = \mathbf{a} \cdot (\cos 3\mathbf{f} - 1) + \mathbf{b} \cdot (\cos \mathbf{f} - 1) + \mathbf{g} \cdot \left[\cos\left(\mathbf{f} - \frac{4}{3}\mathbf{p}\right) - 1 \right] \quad (45)$$

Die von Lin [92] abkürzend in obiger Gleichung eingeführten Größen \mathbf{a} , \mathbf{b} , \mathbf{g} sind durch folgende Terme gegeben zu

$$\mathbf{a} = \frac{V_0}{2RT}, \quad \mathbf{b} = \frac{V_1}{2RT}, \quad \mathbf{g} = \frac{V_2}{2RT}, \quad (46)$$

wobei V_0 die Rotationsbarriere im unsubstituierten Ethan repräsentiert, die von Wilson [97] zu 3,0 kcal bestimmt wurde und bei $T = 300$ K für den Parameter \mathbf{a} die dimensionslose Größe von 2,5 ergibt. V_1 und V_2 stellen die maximalen Wechselwirkungsenergien dar, die durch dipolare Wechselwirkungen der Kohlenstoff-Substituent-Bindungen bezogen auf die zentrale Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung resultieren.

Betrachtet man nun ein 1,1,2-trisubstituiertes Ethangerüst der Form $\text{CHXZ-CH}_2\text{Y}$, so gibt der erste Summand der Gleichung (45) die Wechselwirkung der Rotation des reinen Ethanskeletts wieder. Der zweite Summand, der den Faktor \mathbf{b} beinhaltet, gibt die Wechselwirkung zwischen den Substituenten X und Y an, und der Faktor \mathbf{g} spiegelt die Wechselwirkung zwischen den Substituenten Z und Y wieder.

Betrachtet man den Ethanrotor bzw. monosubstituierte Ethangerüste, 1,2-disubstituierte Ethangerüste und 1,1,2-trisubstituierte Ethangerüste, so ergeben sich folgende Parameter, die von Null verschieden werden:

		a	b	g
1	X-H ₂ C-CH ₃	a_1	0	0
2	X-H ₂ C-CH ₂ -Y	a_2	b_2	0
3	X-H ₂ C-CH-YZ	a_3	b_3	g_3

Dabei stellt Lin folgende Axiome auf:

$$a_1 = a_2 = a_3$$

$$b_2 = b_3$$

Um das System vollständig zu beschreiben, müssen für ein 1,2-disubstituiertes Ethangerüst die Parameter A_{HH} und b bestimmt werden ($g=0$). Experimentell sind für dieses System zwei unterscheidbare $^3J_{HH}$ -Kopplungen zugänglich, so daß mathematisch ein lösbares Gleichungssystem von zwei Bestimmungsgleichungen mit zwei Unbekannten resultiert.

Für ein 1,1,2-trisubstituiertes Ethangerüst gelingt dies jedoch nicht. Für dieses System liegen ebenfalls zwei unterschiedliche $^3J_{HH}$ -Kopplungen vor, jedoch müssen nun die Parameter A_{HH} , b und g ermittelt werden. Daraus resultiert nun ein Gleichungssystem von zwei Bestimmungsgleichungen mit drei Unbekannten, welches nunmehr unterbestimmt und somit nicht lösbar ist. An dieser Stelle behilft man sich mit der Tatsache, daß vergleichbare Substanzen auch vergleichbare Karpluskurven besitzen und übernimmt einen der Parameter b oder g von einem strukturverwandten Ethangerüst.

Im Folgenden ist der Weg, der zur Bestimmung der Lin-Karplus-Parameter der Zielverbindungen beschritten werden mußte, näher erläutert.

Wie in Abbildung 92 gezeigt können die Derivate der Butansäure, die die erste hier untersuchte Verbindungsklasse darstellt, allgemein mit $X = H, F$ und $Y = H, NH_3^+$ formuliert werden.

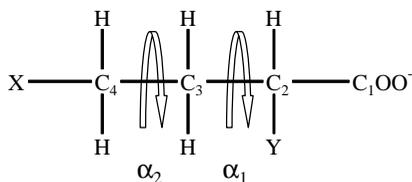


Abbildung 92: Struktur der Butansäurederivate

Bei der konformationsanalytischen Untersuchung dieser Verbindungsklasse wird festgelegt, daß der Winkel α_1 die Konformation an Segment 1 und der Winkel α_2 die Konformation an Segment 2 angibt. Im Gegensatz zum Molecular Modelling, welches alle Rotationsfreiheitsgrade gleichzeitig berücksichtigt, wird bei einer Lin-Karplus-Analyse jeweils nur die Rotation um eine definierte Bindung untersucht.

Bei allen untersuchten Vertretern dieser Substanzklasse ist die Konformation an Segment 1 durch Lin-Karplus-Analyse zugänglich, im Fall der beiden in γ -Stellung fluorierten Verbindungen werden ebenfalls Aussagen über die vorliegende Konformation an Segment 2 getroffen.

Ziel der Untersuchung ist es, Aussagen über die Konformation am 1. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure machen zu können. Da es sich bei dieser Verbindung jedoch um ein 1,1,2-trisubstituiertes Ethangerüst handelt, muß der Parameter **b** oder **g** von einem strukturverwandten Ethangerüst übernommen werden.

Ideal hierfür wäre die 4-Fluorbutansäure gewesen, die mir jedoch nicht zugänglich war. Strukturverwandt zur Zielverbindung sind ebenfalls die 2-Aminobutansäure und die Butansäure. Bei den Verbindungen ist jedoch zu beachten, daß sich diese durch den Fluor-substituenten am C₄-Kohlenstoff unterscheiden.

	Struktur	Parameter	A_{HH}	b	g
Butansäure	$H_3C-CH_2-CH_2-COOH$	übernommen			0
	X Y	berechnet	A_{HH}	b	
		Ergebnis	A_{HH}	b	0
2-Aminobutan- säure	$H_3C-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	übernommen		b	
	X Z Y	berechnet	A_{HH}		g
		Ergebnis	A_{HH}	b	g
2-Amino-4- fluorbutan- säure	$FH_2C-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	übernommen	A_{HH}		
	X' Z Y	berechnet		b	g
		Ergebnis	A_{HH}	b	0

Tabelle 48: Tabellarische Übersicht zur Bestimmung bzw. Übernahme der Lin-Karplus-Parameter für die Butansäurederivate am Segment 1

Zunächst werden die Parameter A_{HH} und b der Butansäure, welche ein 1,2-disubstituiertes Ethangerüst darstellt, bestimmt. Durch Einbringen eines weiteren Substituenten gelangt man zum 1,1,2-trisubstituierten Ethangerüst der 2-Aminobutansäure. Durch Verwendung des Parameters b der Butansäure können nun die Parameter A_{HH} und g der 2-Aminobutansäure ermittelt werden.

Aus den zwei unterscheidbaren $^3J_{HH}$ -Kopplungen der 2-Amino-4-fluorbutansäure resultieren zwei Bestimmungsgleichungen, jedoch drei Parameter (A_{HH} , b und g) sind zu bestimmen. In dieser Form ist das System unterbestimmt, es sei denn, ein Parameter der 2-Aminobutansäure wird übernommen. Ich habe mich an dieser Stelle entschieden, den Parameter A_{HH} zu übernehmen, da man, auch wenn der Fluorsubstituent einen großen Einfluß auf die Elektronendichteverteilung im Molekül hat, annehmen kann, daß der Fluorsubstituent einen größeren Einfluß auf die Rotation und damit auf die Rotamerenverteilung hat. Im Fall der 2-Amino-4-fluorbutansäure und der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure sind zudem Aussagen über die vorliegende Konformation am 2. Segment möglich. Aufgrund der Methylierung in α -Position sind für letztere Verbindung jedoch Aussagen zur Konformation am 1. Segment nicht möglich.

Die zweite untersuchte Strukturklasse beinhaltet die Abkömmlinge der 4-Pentensäure, die mit der in Abbildung 93 gezeigten Struktur in allgemeiner Form beschrieben werden können, wobei für $X = \text{H}, \text{F}$ und $Y = \text{H}, \text{NH}_3^+$ gilt.

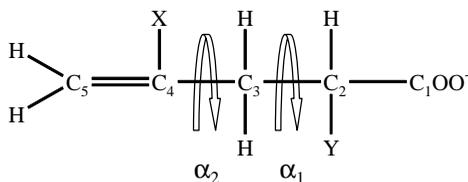


Abbildung 93: Struktur der 4-Pentensäurederivate

Bei der konformationsanalytischen Untersuchung dieser Verbindungsklasse wird einheitlich festgelegt, daß der Winkel α_1 die Konformation an Segment 1 und der Winkel α_2 die Konformation an Segment 2 angibt. Bei dieser Struktur ist jedoch im Hinblick auf die Zielverbindung durch Lin-Karplus-Analyse nur die Konformation an Segment 1 zugänglich.

Ziel der Untersuchung ist es, Aussagen über die Konformation am 1. Segment der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure treffen zu können. Da es sich bei dieser Verbindung jedoch um ein 1,1,2-trisubstituiertes Ethangerüst handelt, ist dieses System aus oben genannten Gründen unterbestimmt. Übernimmt man nun den Parameter **b** oder **g** von einem strukturverwandten Ethangerüst, so ist das resultierende Gleichungssystem lösbar.

Ideal hierfür wäre die 4-Fluorpent-4-ensäure gewesen, die mir jedoch nicht zugänglich war. Strukturverwandt zur Zielverbindung sind ebenfalls die 2-Aminopent-4-ensäure und die 4-Pentensäure. Bei den Verbindungen ist jedoch zu beachten, daß sich diese durch den Fluorsubstituenten am C_4 -Kohlenstoff unterscheiden.

Die 4-Pentensäure stellt ein 1,2-disubstituiertes Ethangerüst dar, so daß die Parameter A_{HH} und **b** problemlos ermittelt werden können. Geht man nun zur 2-Aminopent-4-ensäure weiter und übernimmt den zuvor bestimmten Parameter **b**, dann können die Parameter A_{HH} und **g** der 2-Aminopent-4-ensäure bestimmt werden. Bei der Untersuchung der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure entscheide ich mich aus denselben Gründen wie bei der zuvor untersuchten 2-Amino-4-fluorbutansäure dafür, den Parameter A_{HH} der 2-Aminopent-4-ensäure zu übernehmen und die Parameter **b** und **g** zu bestimmen.

	Struktur	Parameter	A_{HH}	b	g
4-Pentensäure	$H_2C=CH-CH_2-CH_2-COOH$	übernommen			0
	X Y	berechnet	A_{HH}	b	
		Ergebnis	A_{HH}	b	0
2-Amino-pent-4-ensäure	$H_2C=CH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	übernommen		b	
	X Z Y	berechnet	A_{HH}		g
		Ergebnis	A_{HH}	b	g
2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure	$H_2C=CF-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	übernommen	A_{HH}		
	X' Z Y	berechnet		b	g
		Ergebnis	A_{HH}	b	0

Tabelle 49: Tabellarische Übersicht zur Bestimmung bzw. Übernahme der Lin-Karplus-Parameter für die 4-Pentensäurederivate am Segment 1

Als Gütekriterium für die Lin-Karplus-Analyse dient die Summe der Fehlerquadrate, deren Wert minimal sein sollte. Sie wird wie folgt berechnet:

$$\text{Fehlerquadrat} = \sum (J_{\text{berechnet}} - J_{\text{experimentell}})^2$$

Alle relativen Häufigkeitsverteilungen wurden auf den Maximalwert normiert. Die relativen Häufigkeiten für die drei kanonischen Rotamere wurden durch Integration der Verteilungskurve ermittelt.

3.2 Probenvorbereitung und Meßbedingungen

Die zur Bestimmung der Karpluskonstanten notwendigen kernresonanzspektroskopischen Messungen wurden auf einem Bruker Avance DRX 500-Spektrometer der Firma Bruker Analytische Meßtechnik GmbH, Rheinstetten durchgeführt, auf welchem die Meßfrequenz für 1H -Spektren 500,133 MHz beträgt. Um eine bessere Vergleichbarkeit der Meßergebnisse zu gewährleisten, werden die Messungen ausschließlich mit dem QNP-Kopf bei einer

Temperatur von 300 K durchgeführt. Resonanzfrequenzen und Kopplungskonstanten werden mit Hilfe der Simulations- und Iterationssoftware WIN-DAISY 4.03 und der Software WIN-NMR 6.0 ermittelt.

Die benötigte Menge der zu untersuchenden Verbindung wird abgewogen, in 0,75 ml des entsprechenden Lösungsmittels gelöst und in ein NMR-Hochpräzisionsröhrchen überführt. Zur genauen Kalibration der Lage der Resonanzfrequenzen wird die NMR-Probe mit Tetramethylsilan bei Verwendung von Aceton-d₆ als Lösungsmittel bzw. mit dem Natriumsalz der 3-(Trimethylsilyl)-1-propansulfonsäure bei Verwendung von D₂O als Lösungsmittel versetzt. Nach ausreichender Verweilzeit der NMR-Probe im Spektrometer zur Temperierung wurden hochaufgelöste ¹H-NMR-Spektren aufgenommen.

	Buttersäure	2-Aminobutansäure	4-Pentensäure
Substanzmenge	56,2 mg	5,4 mg	24,7 mg
Konzentration	0,850 mol/l	0,070 mol/l	0,329 mol/l
Lösungsmittel	D ₂ O	D ₂ O	Aceton-d ₆
Anzahl Pulse	64	32	64
Spektrales Fenster	8 ppm	5 ppm	5 ppm
TD	64k	64k	64k
SI	128k	128k	128k

Tabelle 50: Aufnahmeparameter für die Hochpräzisionsmessungen

Auf die Verwendung von Windowfunktionen wird in allen Fällen verzichtet.

3.3 Konformationsanalytische Untersuchungen an Derivaten der Butansäure mittels Lin-Karplus-Analyse

3.3.1 Butansäure



Abbildung 94: Struktur und Indizierung der Butansäure

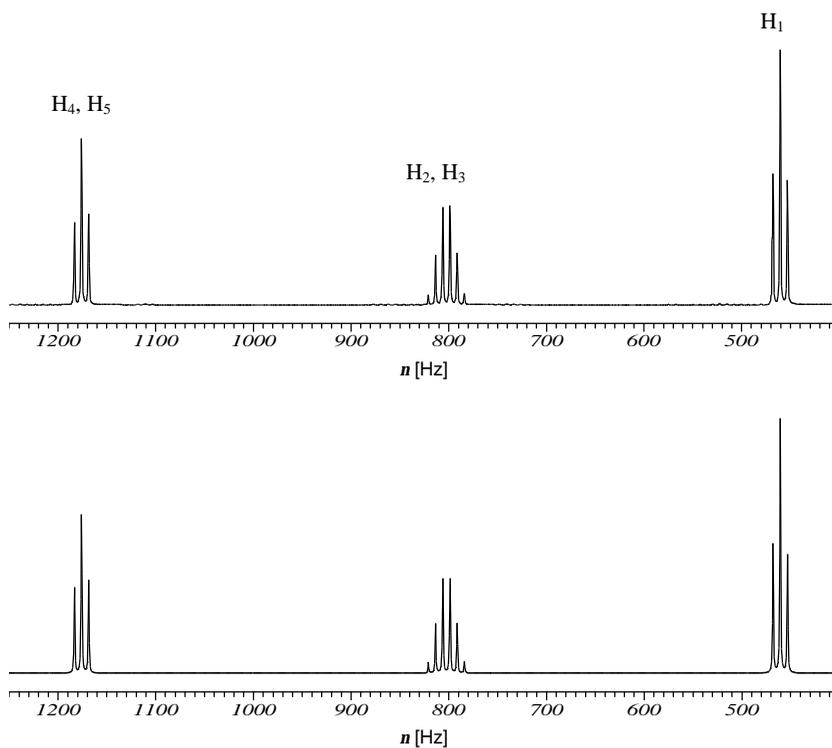


Abbildung 95: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum der Butansäure

Spins	Parameter			
	Wert		Fehler	HWB
n_i	d_i [ppm]	n_i [Hz]	[±Hz]	[Hz]
1	0,921	460,520	0,00048	0,896
2,3	1,604	802,171	0,00103	0,862
4,5	2,351	1175,694	0,00077	0,853
J_{ik} [Hz]				
1,2 = 1,3	7,446		0,0008	
2,4 = 3,5	7,077		0,00282	
2,5 = 3,4	7,611		0,00286	

Tabelle 51: 500,133 MHz $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Butansäure

Final Sum of Squares	90,1640
Number of Spectral Points	43861
Standard Deviation of Measurements	0,0453
R-Factor (%)	1,2857

Die kanonischen Rotamere der Butansäure lassen sich wie folgt formulieren:

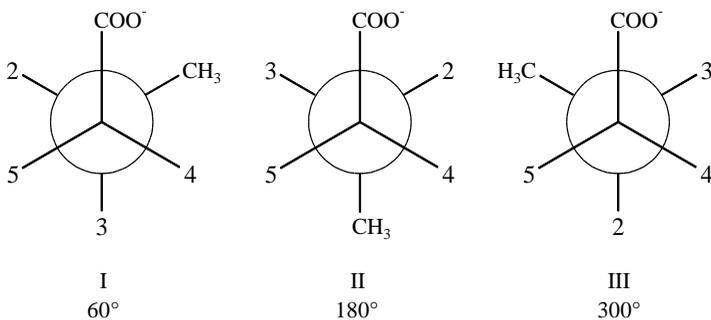


Abbildung 96: Kanonische Rotamere des 1. Segments der Butansäure

In diesem Fall gilt $\mathbf{f} = \mathbf{y}$, so daß sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel \mathbf{f} ergeben zu:

$$\begin{aligned}
 {}^3 J_{25} &= J(\mathbf{f}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge {}^3 J_{24} &= J(\mathbf{f} - 2/3\mathbf{p}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} - 2/3\mathbf{p}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned}
 \tag{47}$$

Die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ sind für die Funktion $J(\phi)$ vorgegeben, so daß nur A_{HH} bestimmt werden muß. Für die Funktion $H(\phi)$ sind die Parameter $\mathbf{a} = 2,5$ und $\mathbf{g} = 0$ definiert, \mathbf{b} muß jedoch ermittelt werden.

Die Ermittlung der Lin-Karplus-Konstanten für das 1. Segment der Butansäure führte zu den Ergebnissen, die in Tabelle 52 angegeben sind:

\mathbf{a}	2,5	A_{HH}	14,51
\mathbf{b}	0,101	F	-0,1
\mathbf{g}	0	$F\zeta$	0
Fehlerquadrat		8,1617·10 ⁻⁵	

Tabelle 52: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Die in Abbildung 97 gezeigte Lin-Karplus-Kurve erhält man bei Verwendung der in Tabelle 52 angegebenen Parameter. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_2 und H_5 . Die entsprechende Häufigkeitsverteilung ist in Abbildung 98 gezeigt.

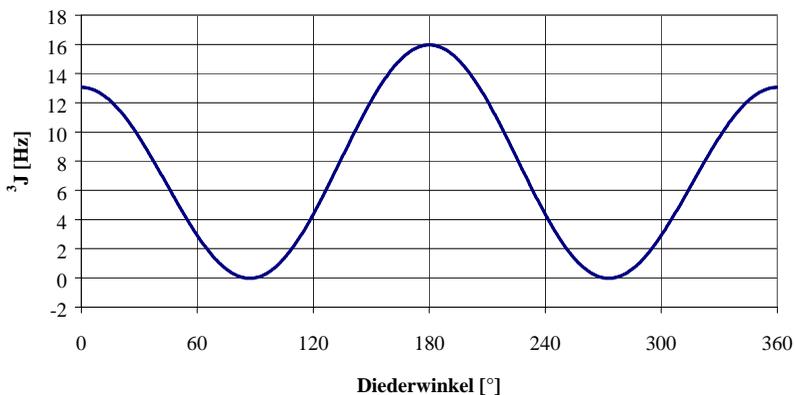


Abbildung 97: 3J -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der Butansäure:
 $A_{HH} = 14,51$; $F_{HH} = -0,1$; $F'_{HH} = 0$

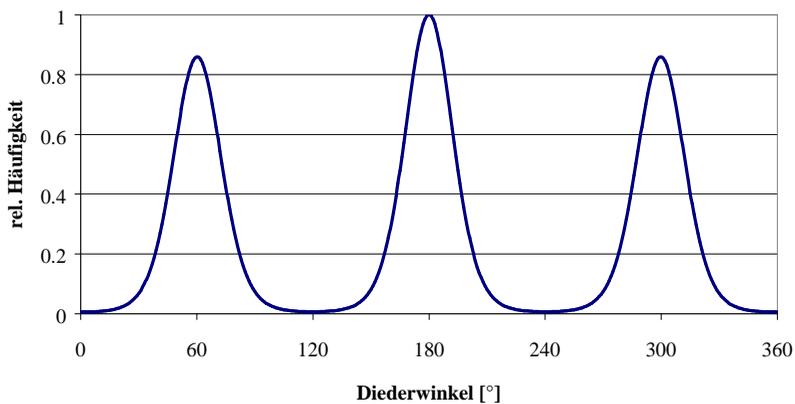


Abbildung 98: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments der Butansäure

Die 3 kanonischen Rotamere zeigen kaum Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung. Das Rotamer II (180°) ist in der Population leicht bevorzugt. Rotamer I (60°) und Rotamer III (300°) sind gleich populiert. Begründung hierfür ist die enantiomere Beziehung zwischen

den beiden Stereoisomeren, die damit in einem achiralen Lösungsmittel energetisch nicht unterscheidbar sind. Das System ist durch eine nahezu freie Rotation gekennzeichnet, wobei Rotamer I und III jeweils zu 31,7 % vorliegen und Rotamer II zu 36,7 % vorliegt.

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II sowie Rotamer II und III beträgt 0,090 kcal/mol, die Rotamere I und III sind energiegelich. Die Rotationsbarriere zwischen den einzelnen Rotameren wird zu 3,009 kcal/mol gefunden.

3.3.2 2-Aminobutansäure

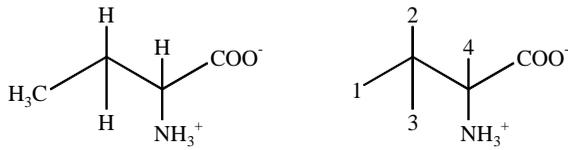


Abbildung 99: Struktur und Indizierung der 2-Aminobutansäure

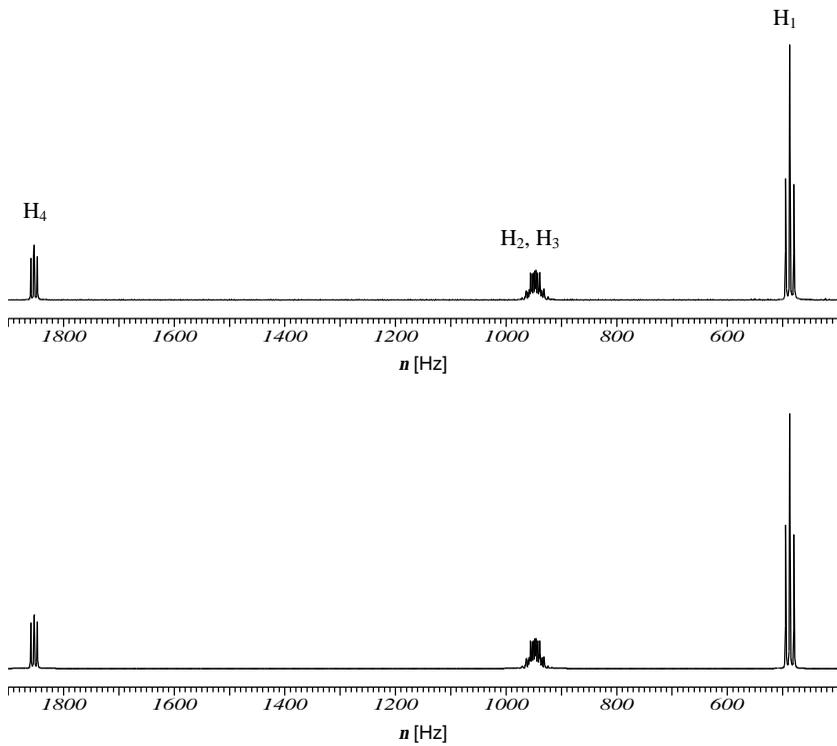


Abbildung 100: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ¹H-NMR-Übersichtsspektrum der 2-Aminobutansäure

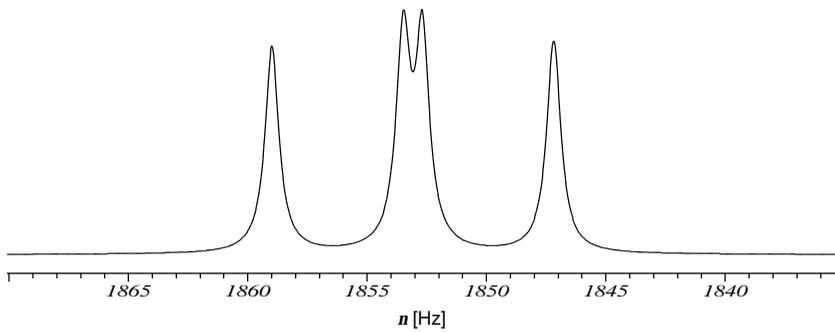
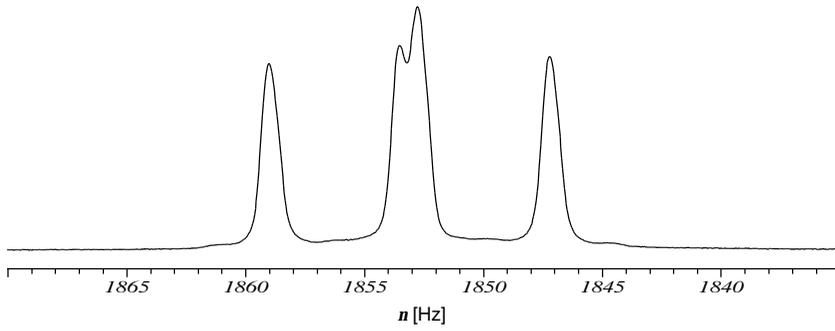
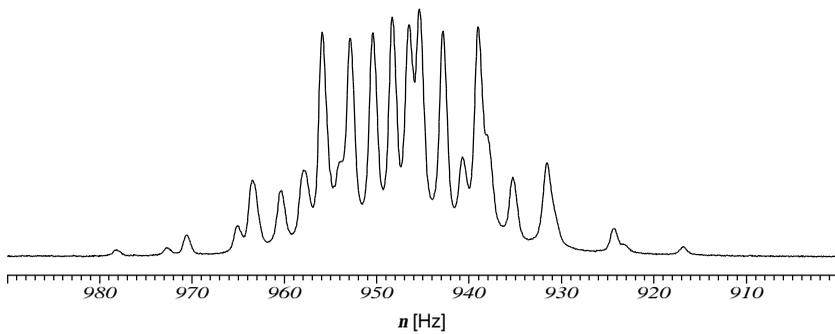


Abbildung 101: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum des Bereichs des Protons H_4



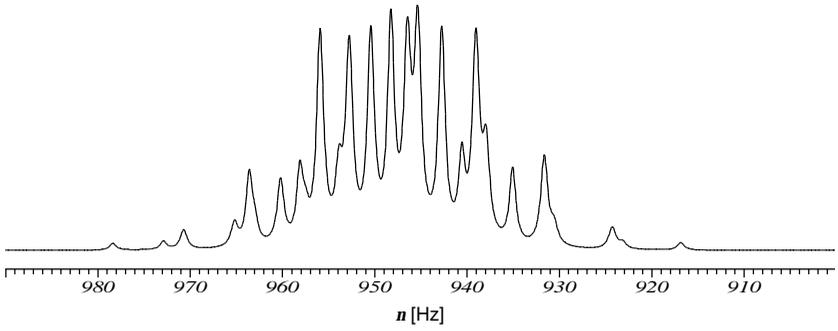


Abbildung 102: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum des Bereichs der Protonen H_2 und H_3

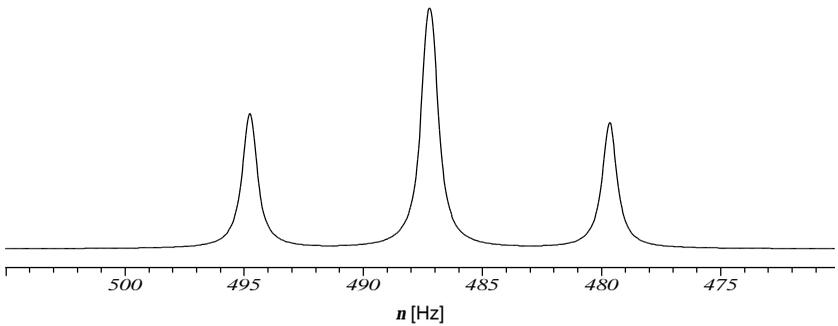
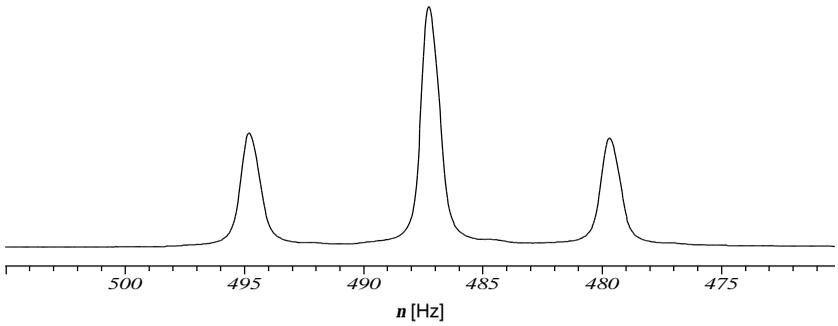


Abbildung 103: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum des Bereichs des Protons H_1

Spins	Parameter			
	Wert		Fehler	HWB
n_i	d [ppm]	d [ppm]	[±Hz]	[Hz]
1	0,967	483,493	0,00029	0,655
2	1,898	949,060	0,00347	0,791
3	1,876	938,449	0,00351	0,920
4	3,698	1849,304	0,00111	0,703
J_{ik} [Hz]				
1,2	7,691		0,00117	
1,3	7,419		0,00119	
2,3	-14,772		0,01476	
2,4	5,238		0,00237	
3,4	6,567		0,00237	

Tabelle 53: 500,133 MHz ^1H -NMR-Daten der 2-Aminobutansäure

Final Sum of Squares	32,4098
Number of Spectral Points	44626
Standard Deviation of Measurements	0,0270
R-Factor (%)	1,1132

Betrachtet man die oben gezeigten Spektren im Bereich der Protonen H_1 und H_4 , so sind die Halbwertsbreitenunterschiede zwischen experimentellem und simuliertem Spektrum auffällig. Zudem sind für das Wasserstoffatom H_4 Intensitätsunterschiede zwischen experimentellem und simuliertem Spektrum zu beobachten. Wahrscheinliche Ursache hierfür könnte eine long-range-Kopplung zwischen dem Wasserstoffatom H_4 und den Protonen H_1 der Methylgruppe sein. Diese long-range-Kopplung ist jedoch nicht aufgelöst, so daß sie durch Iteration mit WIN-DAISY nicht bestimmt werden kann.

Die sich ergebenden kanonischen Rotamere der 2-Aminobutansäure sind in Abbildung 104 abgebildet:

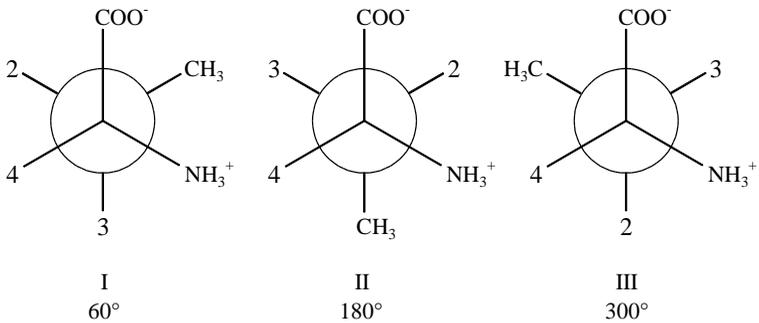


Abbildung 104: Kanonische Rotamere des 1. Segments der 2-Aminobutansäure

Da wiederum $\mathbf{f} = \mathbf{y}$ gilt, formulieren sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel \mathbf{f} zu:

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{24} = J(\mathbf{f}) &= \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge {}^3J_{34} = J(\mathbf{f} - 2/3p) &= \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} - 2/3p) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned} \tag{48}$$

Für die Funktion $J(\phi)$ sind die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ definiert, so daß nur A_{HH} bestimmt werden muß. Da $g \neq 0$ wird, a zu 2,5 vorgegeben ist und der Wert für b von der strukturverwandten Butansäure übernommen wird, muß für die Funktion $H(\phi)$ der Parameter g bestimmt werden.

Die Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse für das 1. Segment der 2-Aminobutansäure sind in Tabelle 54 dargestellt:

a	2,5	A_{HH}	11,14
b	0,101	F	-0,1
g	0,394	F'	0
Fehlerquadrat		3,7271 · 10 ⁻⁵	

Tabelle 54: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Die aus obigen Parametern resultierende Lin-Karplus-Kurve für die 2-Aminobutansäure wird in Abbildung 105 gezeigt. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_2 und H_4 . Die Rotamerenverteilung ist in Abbildung 106 graphisch dargestellt:

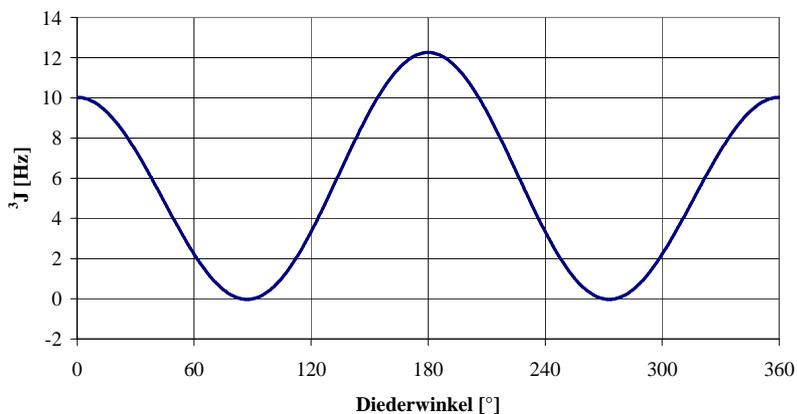


Abbildung 105: 3J -Lin-Karplus-Kurve nach Lin für das 1. Segment der 2-Aminobutansäure: $A_{HH} = 11,14$; $F_{HH} = -0,1$; $F'_{HH} = 0$

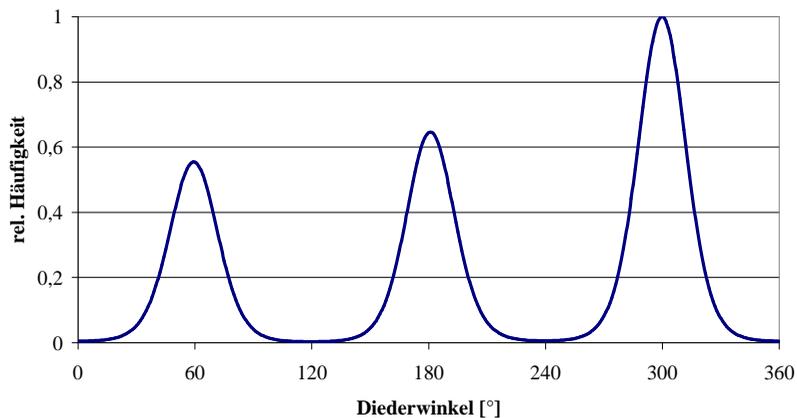


Abbildung 106: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments der 2-Aminobutansäure

Aus der Lin-Karplus-Analyse ergibt sich, daß das Rotamer III mit 45,0% am häufigsten populiert ist. Rotamer II mit 29,5% und Rotamer I mit 25,5% zeigen eine geringere Häufigkeit. Im Vergleich zur Buttersäure, die durch eine nahezu freie Rotation gekennzeichnet war, zeigt sich, daß durch Substitution eines Wasserstoffatoms durch die sterisch anspruchsvollere Aminofunktion die freie Rotation des Systems leicht eingeschränkt wird. Es zeigt sich, daß die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zur Methylgruppe energetisch günstiger und die entsprechende Konformation häufiger populiert ist, als die vergleichbare Struktur, die die deprotonierte Carbonsäurefunktion in anti-Stellung zeigt.

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,090 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,262 kcal/mol und zwischen I und III 0,352 kcal/mol. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,126 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 3,036 kcal/mol und zwischen I und III 3,126 kcal/mol.

3.3.3 2-Amino-4-fluorbutansäure

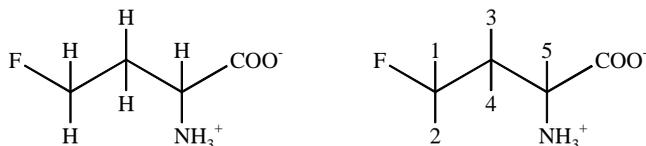


Abbildung 107: Struktur und Indizierung der 2-Amino-4-fluorbutansäure

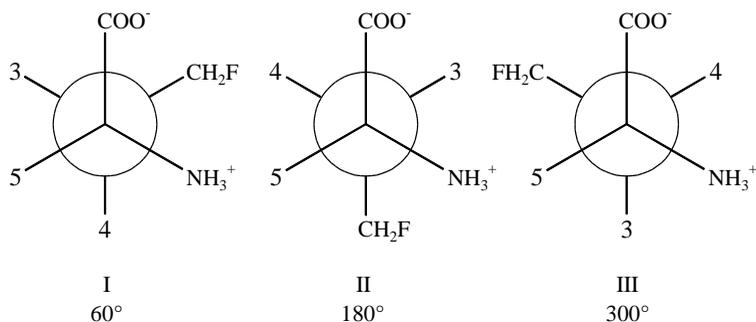


Abbildung 108: Kanonische Rotamere des 1. Segments der 2-Amino-4-fluorbutansäure

In [98] wurden die vicinalen Kopplungskonstanten der 2-Amino-4-fluorbutansäure ermittelt. Die mit WIN-DAISY iterierten Ergebnisse ergeben sich zu 4,780 Hz für die ${}^3J_{35}$ -Kopplung und 7,505 Hz für die ${}^3J_{45}$ -Kopplung.

Da auch in diesem Fall $f = y$ gilt, ergibt sich für die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel f :

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{35} &= J(\mathbf{f}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge {}^3J_{45} &= J(\mathbf{f} - 2/3p) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} - 2/3p) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned}
 \tag{49}$$

Die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ sind für die Funktion $J(\phi)$ definiert, als Näherung wird der Wert für A_{HH} der strukturverwandten 2-Aminobutansäure übernommen.

Der Wert des Parameters a ist mit 2,5 für die Funktion $H(\phi)$ vorgegeben, b und g müssen bestimmt werden. Die Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse sind in Tabelle 55 angegeben:

a	2,5	A_{HH}	11,14
b	0,15	F	-0,1
g	0,72	F'	0
Fehlerquadrat		1,2514·10 ⁻⁵	

Tabelle 55: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Abbildung 109 zeigt die mit obigen Parametern erstellte Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_3 und H_5 . Die Häufigkeitsverteilung wird durch Abbildung 110 wiedergegeben:

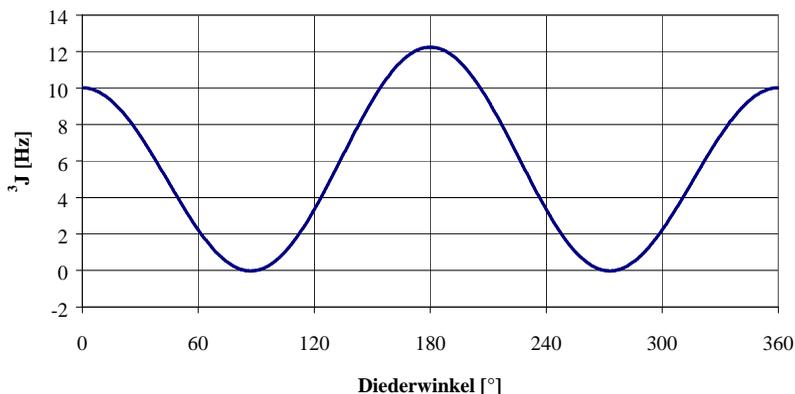


Abbildung 109: 3J -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure:
 $A_{\text{HH}} = 11,14$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

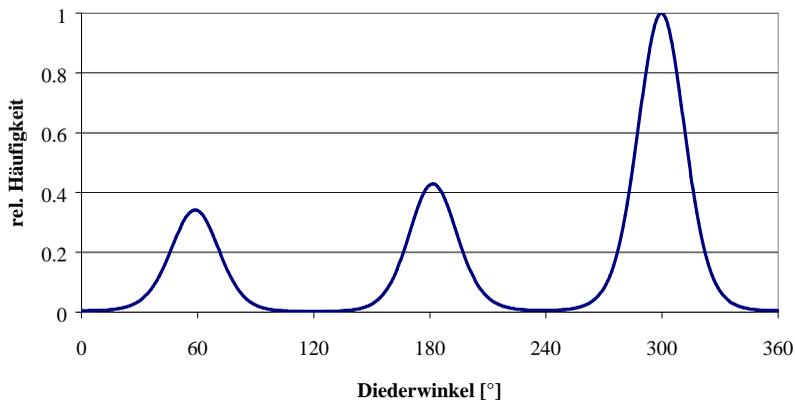


Abbildung 110. Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments der 2-Amino-4-fluorbutansäure

Bei Betrachtung der Rotamerenverteilung zeigt sich, daß das Rotamer III mit 55,7% erneut die größte Häufigkeit zeigt. Rotamer I ist mit 19,7%, Rotamer II ist mit 24,6% Häufigkeit am Rotamerengleichgewicht vertreten. Durch Einbringung des Fluorsubstituenten setzt sich der Trend der Stabilisierung des Rotameren III weiter fort. Das Rotamer III ist zu ca. 10% häufiger populierte als das vergleichbare Rotamer der nicht-fluorierten Verbindung.

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,134 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,509 kcal/mol und zwischen I und III 0,643 kcal/mol. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,238 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 3,104 kcal/mol und zwischen I und III 3,238 kcal/mol.

Betrachtet man nun das 2. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure, so lassen sich folgende kanonische Rotamere formulieren:

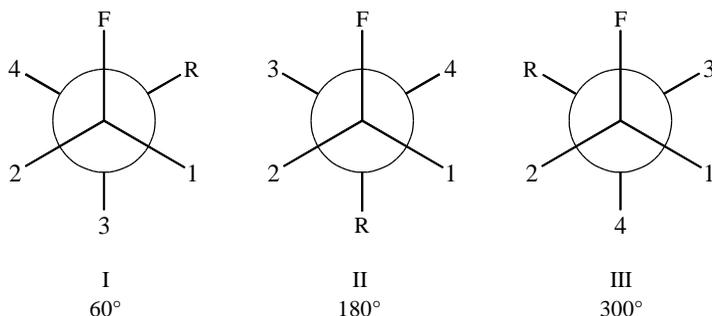


Abbildung 111: Kanonische Rotamere des 2. Segments der 2-Amino-4-fluorbutansäure

Auch die vicinalen Kopplungskonstanten für das 2. Segment wurden mittels WIN-DAISY im Rahmen von [98] für die 2-Amino-4-fluorbutansäure ermittelt. In allgemeiner Form läßt sich diese als 1,2-disubstituiertes Ethangerüst des Typs $F-H_2C-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ bzw. $X-H_2C-CH_2-Y$ beschreiben. Der Substituent Y ist chiral, so daß man für das Spinsystem des CH_2-CH_2 -Skeletts kein $[AB]_2$ -System sondern ein System des Typs ABCD erhält, da die Protonen nicht mehr in einer enantiotopen sondern einer diastereotopen Beziehung zueinander stehen.

Aufgrund dessen erhält man bei der Auswertung vier Kombinationen von Kopplungskonstanten, mit denen sich die Konformation am Ethangerüst nach Lin bestimmen läßt.

Satz	J_{HH}	J'_{HH}	J [Hz]	J' [Hz]
1	13	14	3,758	7,202
2	24	23	3,742	7,092
3	13	23	3,758	7,202
4	24	14	3,742	7,092
Mittelwert			3,750	7,147

Tabelle 56: Vicinale Kopplungskonstanten des 2. Segments

Zwei Wege lassen sich nun unabhängig voneinander beschreiben. Man kann für jeden Satz an Kopplungskonstanten individuell die Lin-Parameter bestimmen und diese mitteln oder man arbeitet direkt mit gemittelten Kopplungskonstanten. Da beide Wege zu identischen Ergebnissen führen, entscheide ich mich für Letzteren.

Da in diesem Fall $\mathbf{f} = \mathbf{y}$ gilt, läßt sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel \mathbf{f} formulieren zu:

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{13} &= J(\mathbf{f}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge {}^3J_{14} &= J(\mathbf{f} + 2/3\mathbf{p}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} + 2/3\mathbf{p}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned} \tag{50}$$

Da es sich um ein 1,2-disubstituiertes Ethan handelt, sind die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ für die Funktion $J(\phi)$ definiert, der Wert für A_{HH} muß bestimmt werden. Der Wert des Parameters \mathbf{a} ist mit 2,5 für die Funktion $H(\phi)$ vorgegeben, für den Parameter \mathbf{g} gilt per definitionem $\mathbf{g} = 0$. Demzufolge muß nur der Wert des Parameters \mathbf{b} ermittelt werden.

Verwendet man die gemittelten Kopplungskonstanten, so liefert die Berechnung zur Ermittlung der Lin-Karplus-Konstanten bei Verwendung von ${}^3J_{HH} = 3,750$ Hz und ${}^3J'_{HH} = 7,147$ Hz das in Tabelle 57 aufgeführte Ergebnis:

\mathbf{a}	2,5	A_{HH}	9,765
\mathbf{b}	0,852	F	-0,1
\mathbf{g}	0	F'	0
Fehlerquadrat		1,0915 · 10 ⁻⁷	

Tabelle 57: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Abbildung 112 bzw. Abbildung 113 zeigen die Lin-Karplus-Kurve bzw. die normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 2. Segments der 2-Amino-4-fluorbutansäure. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_1 und H_3 .

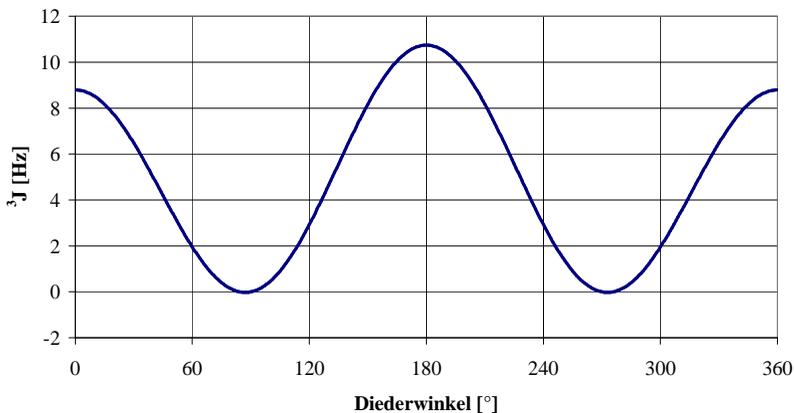


Abbildung 112: ^3J -Lin-Karplus-Kurve für das 2. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure:
 $A_{\text{HH}} = 9,765$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

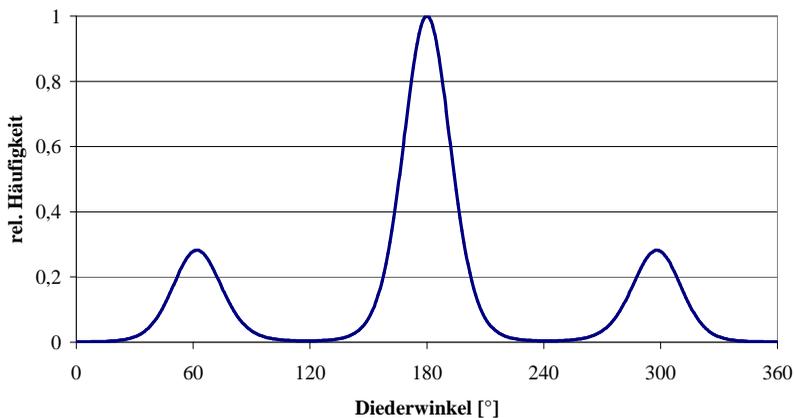


Abbildung 113: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des
 2. Segments der 2-Amino-4-fluorbutansäure

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,761 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,761 kcal/mol, die Rotamere I und III sind energiegleich. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,232 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 2,471 kcal/mol und zwischen I und III 3,232 kcal/mol.

3.3.4 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure

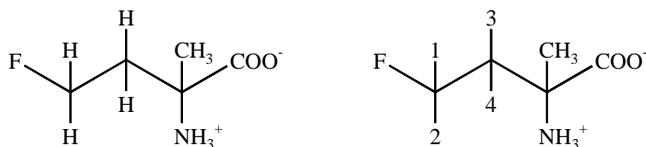


Abbildung 114: Struktur und Indizierung der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure

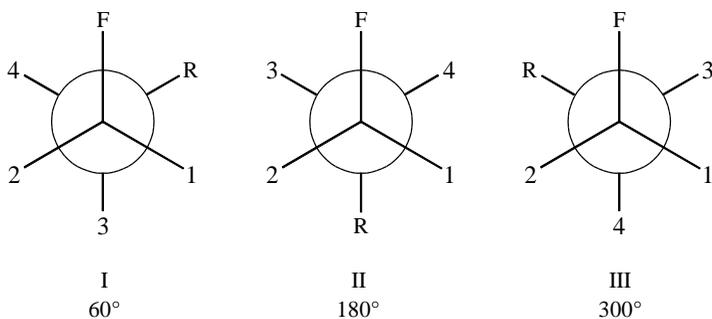


Abbildung 115: Kanonische Rotamere des 2. Segments der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure

Auch die vicinalen Kopplungskonstanten für das 2. Segment wurden mittels WIN-DAISY im Rahmen meiner Diplomarbeit [98] ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 58 angegeben:

Satz	J_{HH}	J'_{HH}	J [Hz]	J' [Hz]
1	13	14	6,230	3,670
2	24	23	8,135	3,266
Mittelwert			7,183	3,468

Tabelle 58: Vicinale Kopplungskonstanten des 2. Segments der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure

Da in diesem Fall $f = \mathbf{y}$ gilt, läßt sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel f formulieren zu:

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{13} = J(f) &= \frac{\int_0^{2p} J(f) \cdot H(f) df}{\int_0^{2p} H(f) df} \\
 \wedge {}^3J_{14} = J(f+2/3p) &= \frac{\int_0^{2p} J(f+2/3p) \cdot H(f) df}{\int_0^{2p} H(f) df}
 \end{aligned} \tag{51}$$

Da es sich abermals um ein 1,2-disubstituiertes Ethan handelt und die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ demzufolge für die Funktion $J(\phi)$ definiert sind, muß lediglich der Wert für A_{HH} ermittelt werden. Für die Funktion $H(\phi)$ sind die Parameter $a = 2,5$ und $g = 0$ vorgegeben, so daß nur der Wert des Parameters b bestimmt werden muß.

Verwendet man die gemittelten Kopplungskonstanten, so liefert die Berechnung zur Ermittlung der Lin-Karplus-Konstanten bei Verwendung von ${}^3J_{HH} = 3,468$ Hz und ${}^3J'_{HH} = 7,183$ Hz das in Tabelle 59 aufgeführte Ergebnis:

a	2,5	A_{HH}	9,42
b	0,969	F	-0,1
g	0	F'	0
Fehlerquadrat		2,4505 · 10 ⁻⁵	

Tabelle 59: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Die Lin-Karplus-Kurve für das 2. Segment der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure wird in Abbildung 116 graphisch dargestellt. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_1 und H_3 .

Abbildung 117 zeigt die normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 2. Segments der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure.

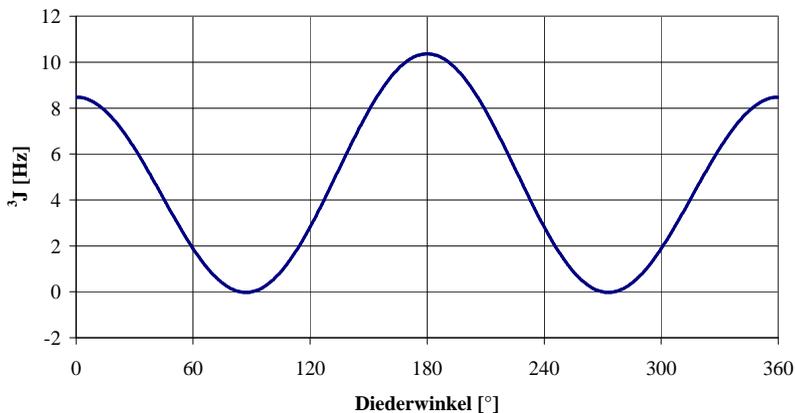


Abbildung 116: ^3J -Lin-Karplus-Kurve für das 2. Segment der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure: $A_{\text{HH}} = 9,42$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

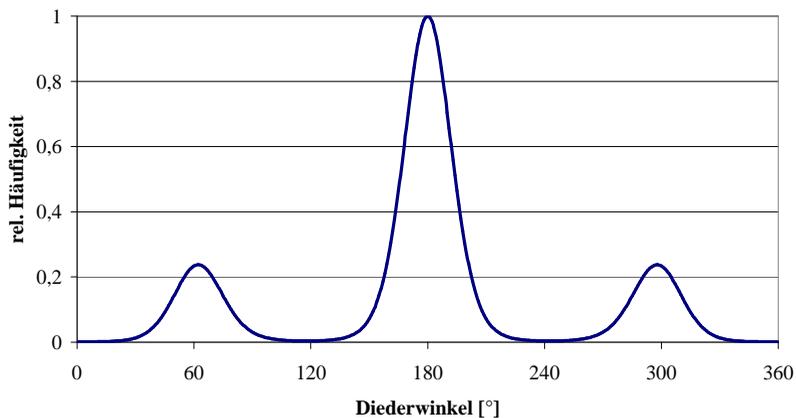


Abbildung 117: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 2. Segments der 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,866 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,866 kcal/mol, die Rotamere I und III sind energiegleich. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,267 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 2,401 kcal/mol und zwischen I und III 3,267 kcal/mol.

3.3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der konformationsanalytischen Untersuchungen an Derivaten der Butansäure

Für das 1. Segment der untersuchten Strukturen kann festgestellt werden, daß die Fehlerquadrate der Lin-Karplus-Iterationen in einem sehr guten, untereinander vergleichbaren Bereich liegen, so daß die Gültigkeit der in Kapitel 3.1 gemachten Annahme bestätigt wird. Bei Betrachtung der prozentualen Rotamerenverteilung scheint es überdies, daß die Fluorierung in γ -Position einen stärker stabilisierenden Einfluß auf das Rotamer III besitzt. Bei Untersuchung der 2-Aminobutansäure und der 2-Amino-4-fluorbutansäure ist übereinstimmend diejenige Konformation stabiler, in welcher die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zum Rest R steht. Dies ist in den folgenden Tabellen veranschaulicht.

Parameter	Butansäure	2-Aminobutansäure	2-Amino-4-fluorbutansäure
<i>a</i>	2,5	2,5	2,5
<i>b</i>	0,101	0,101	0,15
<i>g</i>	0	0,394	0,72
<i>A_{HH}</i>	14,51	11,14	11,14
<i>F</i>	-0,1	-0,1	-0,1
<i>F'</i>	0	0	0
Fehlerquadrat	$8,1617 \cdot 10^{-5}$	$3,7271 \cdot 10^{-5}$	$1,2514 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 60: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analysen für das 1. Segment

	Butansäure	2-Aminobutansäure	2-Amino-4-fluorbutansäure
Rotamer I [%]	31,7	25,2	19,7
Rotamer II [%]	36,7	29,2	24,6
Rotamer III [%]	31,7	45,6	55,7

Tabelle 61: Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments

Zusätzlich sind für die 2-Amino-4-fluorbutansäure und die 2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure konformationsanalytische Aussagen für das 2. Segment möglich.

Parameter	2-Amino-4-fluorbutansäure	2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure
<i>a</i>	2,5	2,5
<i>b</i>	0,852	0,969
<i>g</i>	0	0
<i>A_{HH}</i>	9,765	9,42
<i>F</i>	-0,1	-0,1
<i>F'</i>	0	0
Fehlerquadrat	$1,0915 \cdot 10^{-7}$	$2,4505 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 62: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analysen für das 2. Segment

	2-Amino-4-fluorbutansäure	2-Amino-4-fluor-2-methylbutansäure
Rotamer I [%]	18,5	16,6
Rotamer II [%]	63,0	66,7
Rotamer III [%]	18,5	16,6

Tabelle 63: Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 2. Segments

Bei beiden Verbindungen ist das Rotamer II, welches den Fluorsubstituenten in anti-Stellung zum Rest R trägt, die häufiger populierte Konformation. Die Substitution des Wasserstoffatoms in α -Stellung durch die sterisch etwas anspruchsvollere Methylgruppe bewirkt eine geringfügige Stabilisierung des Rotameren II.

3.4 Konformationsanalytische Untersuchungen an Derivaten der 4-Pentensäure mittels Lin-Karplus-Analyse

3.4.1 4-Pentensäure

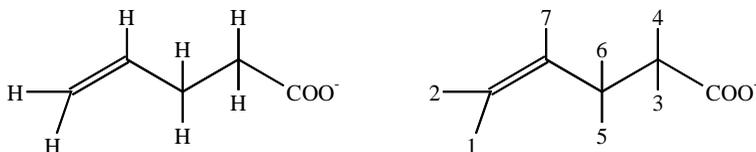


Abbildung 118: Struktur und Indizierung der 4-Pentensäure

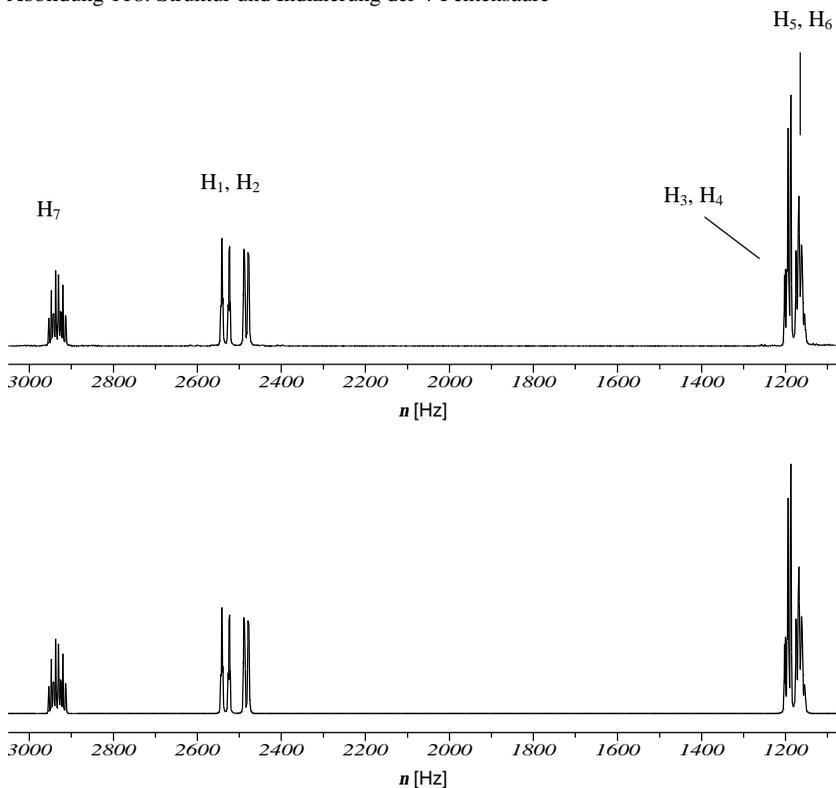


Abbildung 119: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ¹H-NMR-Übersichtsspektrum der 4-Pentensäure

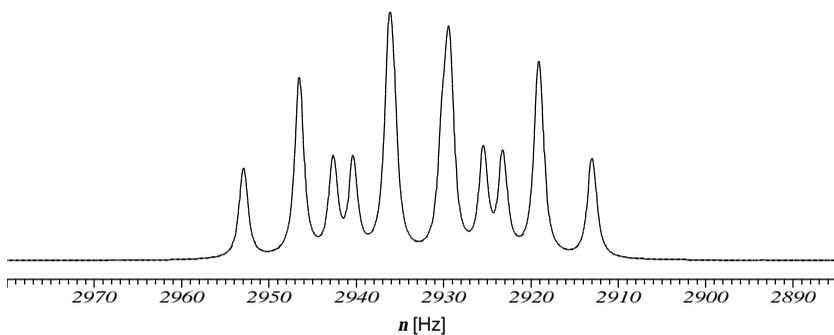
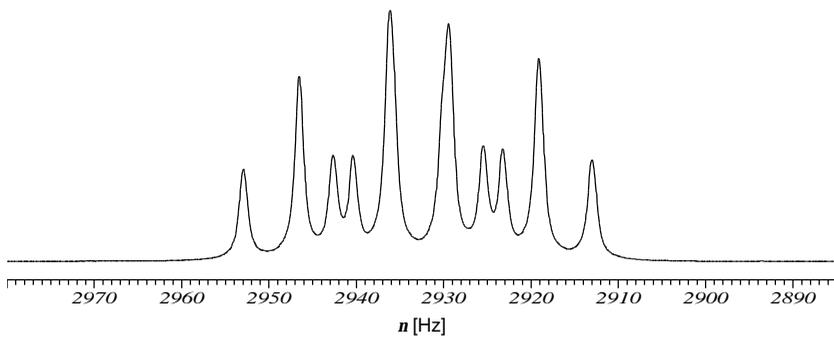
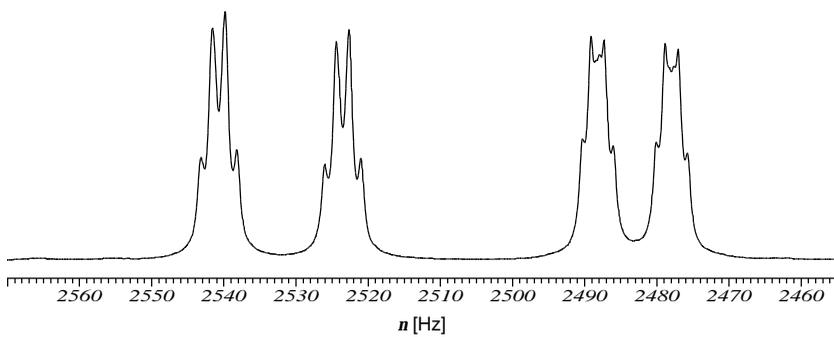


Abbildung 120: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Bereichs des Protons H_7



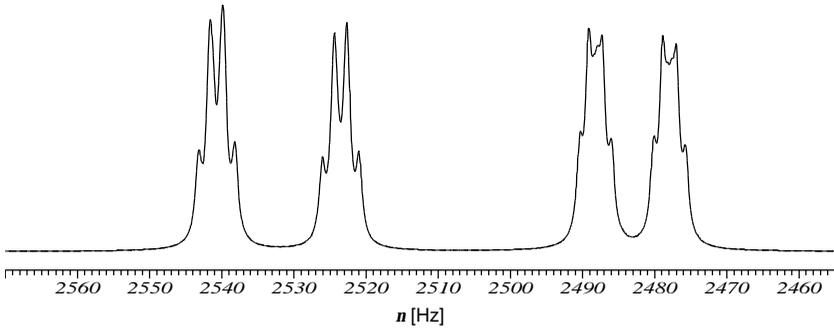


Abbildung 121: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum des Bereichs der Protonen H_1 und H_2

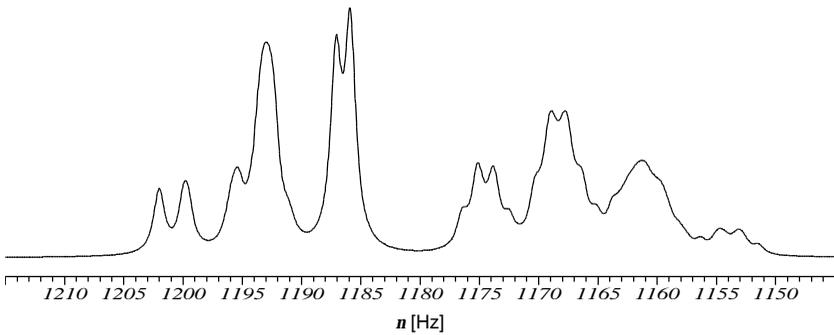
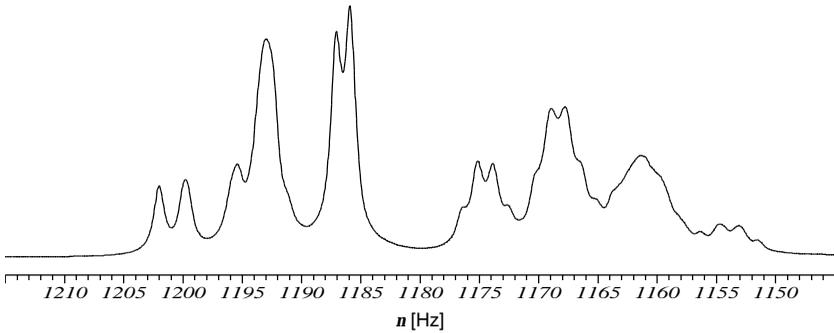


Abbildung 122: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) ^1H -NMR-Spektrum des Bereichs der Protonen H_3 , H_4 , H_5 und H_6

Spins	Parameter			
	Wert		Fehler	HWB
n_i	d [ppm]	n [Hz]	[±Hz]	[Hz]
1	5,063	2532,251	0,00038	1,009
2	4,965	2483,103	0,00050	1,002
3	2,384	1192,525	0,00714	0,712
4	2,385	1192,677	0,00712	1,412
5	2,330	1165,513	0,00370	1,339
6	2,330	1165,005	0,00374	0,904
7	5,864	2932,586	0,00044	1,036

Tabelle 64: iterierte Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten der 4-Pentensäure

J_{ik}	Wert	Fehler	J_{ik}	Wert	Fehler
	n [Hz]	[±Hz]		n [Hz]	[±Hz]
1,2	-1,934	0,00064	3,5	6,577	0,00703
1,5	-2,097	0,01295	3,6	8,153	0,00859
1,6	-1,164	0,01294	4,5	8,122	0,00855
1,7	17,176	0,00057	4,6	6,986	0,00689
2,5	-1,279	0,00622	4,7	-0,875	0,01107
2,6	-1,304	0,00631	5,6	-16,892	0,02243
2,7	10,260	0,00064	5,7	6,587	0,02153
3,4	-18,239	0,02223	6,7	6,421	0,02152

Tabelle 65: iterierte Kopplungskonstanten J_{ik} der 4-Pentensäure

Final Sum of Squares	39,4782
Number of Spectral Points	105384
Standard Deviation of Measurements	0,0194
R-Factor (%)	0,1010

Die Protonen der 4-Pentensäure, bei der es sich um ein 1,2-disubstituiertes Ethan handelt, erzeugen ein ABCDMNX-Spinsystem, aus welchem die für eine Lin-Karplus-Analyse benötigten ${}^3J_{\text{HH}}$ -Kopplungen bestimmt werden können.

Die kanonischen Rotamere des 1. Segments der 4-Pentensäure können wie folgt formuliert werden:

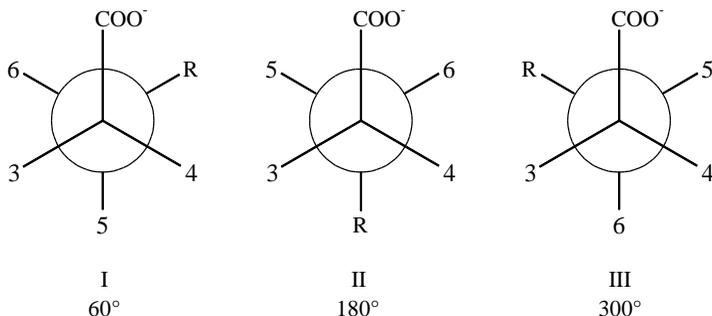


Abbildung 123: Kanonische Rotamere des 1. Segments der 4-Pentensäure

Im vorliegendem Fall gilt $\mathbf{f} = \mathbf{y}$, so daß sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel \mathbf{f} formulieren zu:

$$\begin{aligned}
 {}^3J &= J(\mathbf{f}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge \quad {}^3J' &= J(\mathbf{f} - 2/3p) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} - 2/3p) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned} \tag{52}$$

Die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ sind für die Funktion $J(\phi)$ vorgegeben, so daß nur A_{HH} bestimmt werden muß. Für die Funktion $H(\phi)$ sind die Parameter $\mathbf{a} = 2,5$ und $\mathbf{g} = 0$ definiert, \mathbf{b} muß jedoch ermittelt werden.

Bei Betrachtung der iterierten Kopplungskonstanten ergeben sich vier verschiedene Kombinationsmöglichkeiten, da mehr als zwei unterschiedliche ${}^3J_{\text{HH}}$ -Kopplungen erhalten werden. Dies ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

Satz	J_{HH}	J'_{HH}	A_{HH}	b
1	35	36	14,21	0,285
2	45	46	14,74	0,200
3	54	53	14,18	0,281
4	64	63	14,75	0,207
Mittelwert			14,47	0,243

Tabelle 66: Kombinationsmöglichkeiten der vicinalen Kopplungskonstanten und Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Betrachtet man die oben dargestellten Ergebnisse, so fällt auf, daß jeweils zwei Kombinationsätze paarweise angeordnet sind. Dies ist damit zu erklären, daß die Wasserstoffatome H_5 und H_6 nicht symmetrisch zum Anisotropiekegel der Doppelbindung ausgerichtet sind. Arbeitet man von Beginn an mit gemittelten Kopplungskonstanten, so liefert die Berechnung zur Ermittlung der Lin-Karplus-Konstanten bei Verwendung von ${}^3J_{\text{HH}} = 6,782$ Hz und ${}^3J'_{\text{HH}} = 8,138$ Hz folgendes Ergebnis:

a	2,5	A_{HH}	14,47
b	0,242	F	-0,1
g	0	$F\zeta$	0
Fehlerquadrat	$2,7783 \cdot 10^{-5}$		

Tabelle 67: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Der Vergleich der Ergebnisse für A_{HH} und b aus Tabelle 66 und Tabelle 67 zeigt nahezu identische Werte. Demzufolge sind beide Wege zur Bestimmung der Lin-Karplus-Parameter als äquivalent zu betrachten.

Abbildung 124 zeigt die Lin-Karplus-Kurve der 4-Pentensäure, die mit den in Tabelle 67 angegebenen Parametern ermittelt wurde. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_3 und H_6 .

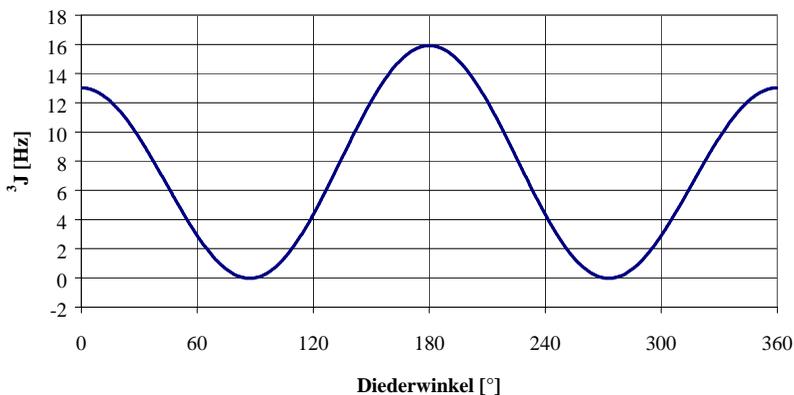


Abbildung 124: ^3J -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der 4-Pentensäure:
 $A_{\text{HH}} = 14,47$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

Die prozentuale Verteilung der verschiedenen kanonischen Rotamere kann dann direkt aus der Häufigkeitsverteilungsfunktion $H(\phi)$ bestimmt werden. Das Ergebnis ist graphisch in Abbildung 125 dargestellt.

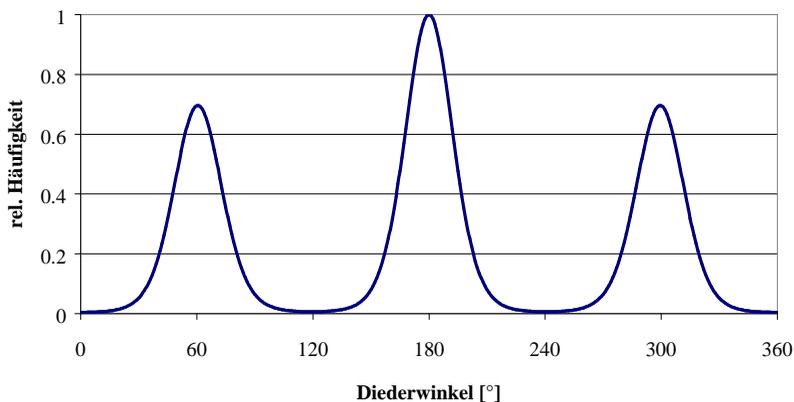


Abbildung 125. Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments der 4-Pentensäure

Aus Abbildung 125 ist ersichtlich, daß die Konformation, die durch das Rotamer II (180°) wiedergegeben wird, bevorzugt ist. Die beiden gauche-Konformationen, Rotamer I (60°) und Rotamer III (300°) sind gleich besetzt. Begründung hierfür ist die enantiomere Beziehung zwischen den beiden Stereoisomeren, die damit in einem achiralen Lösungsmittel energetisch nicht unterscheidbar sind. Prozentual bedeutet dies für das Rotamer I und III ein Vorkommen von jeweils 29,2 %, das häufiger populierte Rotamer II liegt zu 41,5 % vor. Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,261 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,216 kcal/mol, die Rotamere I und III sind energiegleich. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,051 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 2,834 kcal/mol und zwischen I und III 3,051 kcal/mol.

3.4.2 2-Aminopent-4-ensäure

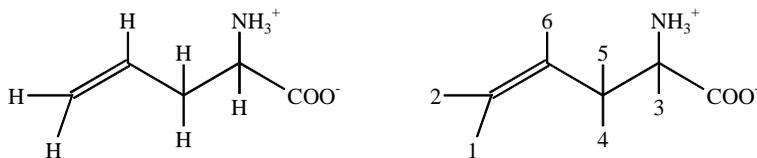


Abbildung 126: Struktur und Indizierung der 2-Amino-pent-4-ensäure

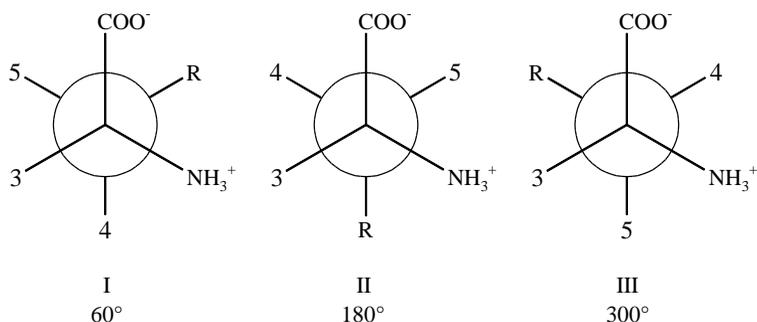


Abbildung 127: Kanonische Rotamere des 1. Segments der 2-Amino-pent-4-ensäure

Im Rahmen von [98] wurden die vicinalen Kopplungskonstanten der 2-Aminopent-4-ensäure bestimmt. Iteration mit WIN-DAISY lieferte für die ${}^3J_{34}$ -Kopplung einen Wert von 4,702 Hz und für die ${}^3J_{35}$ -Kopplung einen Wert von 7,341 Hz. Da wiederum $f = y$ gilt, ergeben sich die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel f :

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{35} &= J(f) = \frac{\int_0^{2p} J(f) \cdot H(f) df}{\int_0^{2p} H(f) df} \\
 \wedge {}^3J_{34} &= J(f-2/3p) = \frac{\int_0^{2p} J(f-2/3p) \cdot H(f) df}{\int_0^{2p} H(f) df}
 \end{aligned} \tag{53}$$

Durch Verwendung des Parameters b der strukturverwandten 4-Pentensäure können nun die Lin-Karplus-Parameter für die 2-Aminopent-4-ensäure ermittelt werden. Analog zur

4-Pentensäure sind die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ für die Funktion $J(\phi)$ bekannt, somit muß nur der Parameter A_{HH} ermittelt werden. Für die Funktion $H(\phi)$ sind die Parameter $a = 2,5$ und b , der von der 4-Pentensäure übernommen wird, vorgegeben. Somit muß nur der Wert für den Parameter g bestimmt werden.

Die Lin-Karplus-Analyse ergab die in Tabelle 68 angegebenen Werte:

a	2,5	A_{HH}	10,8
b	0,242	F	-0,1
g	0,795	F'	0
Fehlerquadrat		1,0564·10 ⁻⁵	

Tabelle 68: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse

Die aus obigen Parametern resultierende Lin-Karplus-Kurve für die 2-Aminopent-4-ensäure wird in Abbildung 128 gezeigt. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_3 und H_5 .

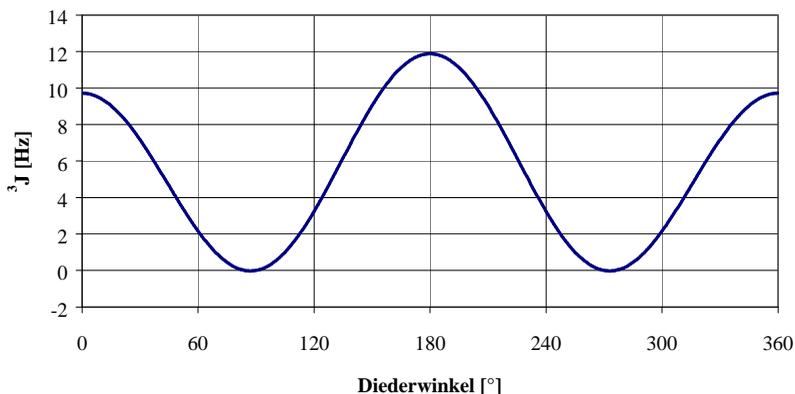


Abbildung 128: 3J -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der 2-Aminopent-4-ensäure:
 $A_{\text{HH}} = 10,8$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

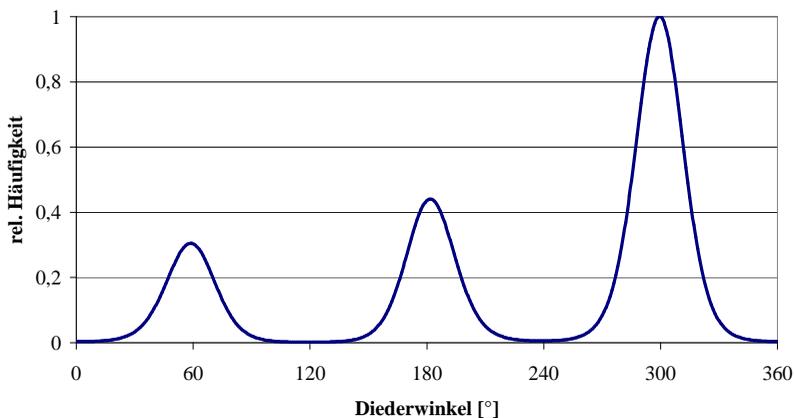


Abbildung 129: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments der 2-Aminopent-4-ensäure

Geht man von der 4-Pentensäure aus und substituiert ein Wasserstoffatom in α -Stellung, so konkurrieren die deprotonierte Carbonsäurefunktion und die protonierte Aminofunktion um die anti-Stellung zum Rest R. Wie aus Abbildung 129 zu erkennen ist, stellt das Rotamer III das energiegunstigste Rotamer dar, welches die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zum Rest R zeigt. Das Rotamer III ist somit mit 56,5 % am häufigsten populiert. Die Rotamere I und II zeigen eine Häufigkeit von 17,9 % bzw. 25,6 %.

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,216 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,494 kcal/mol und zwischen I und III 0,710 kcal/mol. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,288 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 3,071 kcal/mol und zwischen I und III 3,288 kcal/mol.

3.4.3 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

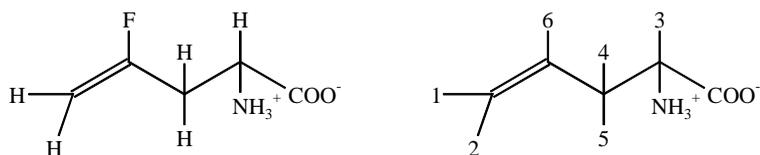


Abbildung 130: Struktur und Indizierung der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

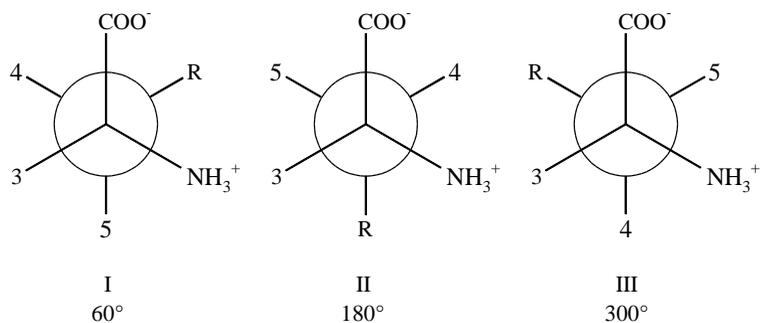


Abbildung 131: Kanonische Rotamere des 1. Segments der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

Auch die vicinalen Kopplungskonstanten der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure wurden im Rahmen von [98] ermittelt. Die mit WIN-DAISY iterierten Ergebnisse ergeben sich zu 4,772 Hz für die ${}^3J_{34}$ -Kopplung und 7,817 Hz für die ${}^3J_{35}$ -Kopplung.

Im vorliegendem Fall gilt ebenfalls $\mathbf{f} = \mathbf{y}$, so daß für die Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel \mathbf{f} gilt:

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{34} &= J(\mathbf{f}) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f}) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}} \\
 \wedge {}^3J_{35} &= J(\mathbf{f} - 2/3p) = \frac{\int_0^{2p} J(\mathbf{f} - 2/3p) \cdot H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}{\int_0^{2p} H(\mathbf{f}) d\mathbf{f}}
 \end{aligned} \tag{54}$$

Für die Funktion $J(\phi)$ sind wiederum die Parameter $F = -0,1$ und $F' = 0$ definiert, als Näherung wird der Wert für A_{HH} der strukturverwandten 2-Aminopent-4-ensäure übernommen. Der Wert des Parameters a ist mit 2,5 für die Funktion $H(\phi)$ vorgegeben, b und g müssen ermittelt werden.

Die Ermittlung der Lin-Karplus-Konstanten führte zu den folgenden Ergebnissen, die in Tabelle 69 angegeben sind:

a	2,5	A_{HH}	10,8
b	0,158	F	-0,1
g	0,833	F'	0
Fehlerquadrat		0,1438	

Tabelle 69: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse bei Variation von b und g

Verwendet man obige Parameter, erhält man die in Abbildung 132 gezeigte Lin-Karplus-Kurve. Betrachtet wird der Diederwinkel zwischen den Protonen H_3 und H_4 .

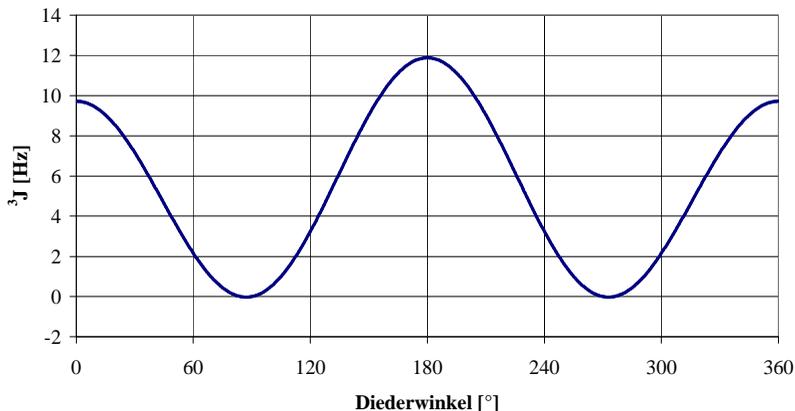


Abbildung 132: 3J -Lin-Karplus-Kurve für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure: $A_{\text{HH}} = 10,8$; $F_{\text{HH}} = -0,1$; $F'_{\text{HH}} = 0$

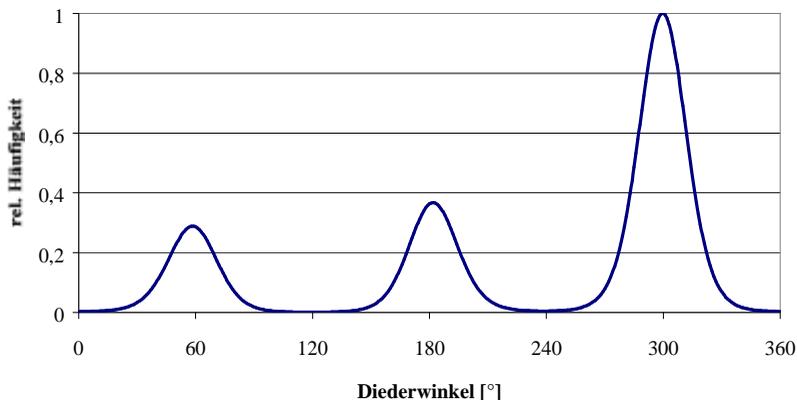


Abbildung 133: Normierte Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

Das Rotamer III, bei welchem die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zum fluorierten Rest R steht, ist mit einer Häufigkeit von 59,5 % das am häufigsten populierte Rotamer. Wie bei der die 2-Aminopent-4-ensäure ist diese Konformation die energiegeügnstigte. Die zweithäufigste Population zeigt das Rotamer II mit 22,6 % Vorkommen. Die deprotonierte Carbonsäurefunktion in anti-Stellung zum Rest R ist demnach erneut energetisch ungünstiger als die protonierte Aminofunktion. Das Rotamer I liegt mit einer Häufigkeit von 17,9 % vor und zeigt somit die gleiche Häufigkeit wie das vergleichbare Rotamer I der 2-Aminopent-4-ensäure, bei der das Wasserstoffatom anti-Stellung zum Rest R steht. Die Einführung des Fluorsubstituenten wirkt sich demnach durch eine Erhöhung der Häufigkeit des Rotameren III um ca. 3 Prozent aus.

Die Energiedifferenz zwischen Rotamer I und II beträgt 0,141 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 0,603 kcal/mol und zwischen I und III 0,744 kcal/mol. Die Rotationsbarriere zwischen Rotamer I und II beträgt 3,274 kcal/mol, zwischen Rotamer II und III 3,133 kcal/mol und zwischen I und III 3,274 kcal/mol.

Auffällig ist mit einem Wert von 0,1438 die Höhe des Fehlerquadrats, welcher real einer Abweichung von 0,2 bzw. 0,3 Hz der berechneten Kopplungskonstante vom experimentell gefundenen Wert entspricht.

Variiert man nun die Parameter A und g und hält den Parameter b konstant, so erhält man die in Tabelle 70 angegebenen Werte.

a	2,5	A_{HH}	11,22
b	0,242	F	-0,1
g	0,856	F_c	0
Fehlerquadrat		$1,3183 \cdot 10^{-5}$	

Tabelle 70: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse bei Variation von g und A

Variation der Parameter A und b bei Konstanz des Parameters g führt zu den nachfolgend aufgeführten Ergebnissen.

a	2,5	A_{HH}	11,31
b	0,172	F	-0,1
g	0,795	F_c	0
Fehlerquadrat		$1,8376 \cdot 10^{-5}$	

Tabelle 71: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse bei Variation von b und A

Die Iterationsergebnisse der Lin-Karplus-Analyse, die Tabelle 70 und Tabelle 71 zu entnehmen sind, weisen einen signifikant niedrigeren Wert für das Fehlerquadrat auf. Zurückzuführen ist dies auf die Variation des Parameters A , welcher anschaulich als Verteilung der elektronischen Dichte im Molekül interpretiert werden kann.

	<i>b, g variiert</i> <i>A konstant</i>	<i>g, A variiert</i> <i>b konstant</i>	<i>b, A variiert</i> <i>g konstant</i>
Rotamer I [%]	17,9	17,0	18,4
Rotamer II [%]	22,6	24,4	23,7
Rotamer III [%]	59,5	58,6	57,9

Tabelle 72: Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere

Aus Tabelle 72 ist ersichtlich, daß die unterschiedlichen Iterationswege, die durch Variation der Parameter *b*, *g* und *A* eingeschlagen werden, keinen maßgeblichen Einfluß auf die Rotamerenverteilung haben.

3.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der konformationsanalytischen Untersuchungen an Derivaten der 4-Pentensäure

Zusammenfassend sind in Tabelle 73 die Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse für die Derivate der 4-Pentensäure dargestellt.

Parameter	4-Pentensäure	2-Aminopent-4-ensäure	2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure
<i>a</i>	2,5	2,5	2,5
<i>b</i>	0,242	0,242	0,158
<i>g</i>	0	0,795	0,833
<i>A</i>	14,47	10,8	10,8
<i>F</i>	-0,1	-0,1	-0,1
<i>F'</i>	0	0	0
Fehlerquadrat	$2,7783 \cdot 10^{-5}$	$1,0564 \cdot 10^{-5}$	0,1438

Tabelle 73: Ergebnisse der Lin-Karplus-Analysen für das 1. Segment

	4-Pentensäure	2-Aminopent-4-ensäure	2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure
Rotamer I [%]	29,2	17,9	17,9
Rotamer II [%]	41,5	25,6	22,6
Rotamer III [%]	29,2	56,5	59,5

Tabelle 74: Häufigkeitsverteilung der kanonischen Rotamere des 1. Segments

Aus Tabelle 74 geht hervor, daß sowohl für die 2-Aminopent-4-ensäure als auch für die 2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure das Rotamer das energetisch bevorzugte darstellt, in welchem die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zum Rest R steht. Die Fluorierung der Allylfunktion führt laut prozentualer Rotamerenverteilung zu einer geringfügigen Stabilisierung dieser Rotamerenkonformation.

Das Auftreten des im Vergleich zur 4-Pentensäure und 2-Aminopent-4-ensäure relativ großen Fehlerquadrats bei der 2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure veranlaßte mich dazu, abweichend zum in Kapitel 3.1 beschriebenen Iterationsverfahren alternative neue Wege zu beschreiten.

Alternativ zu dem beschriebenen Weg wurde wahlweise der Parameter A mit dem Parameter b bzw. g variiert. Diese Vorgehensweise ist schwerer begründbar, da nicht einzusehen ist, warum die Fluorsubstitution nur Einfluß auf einen der beiden Rotationsparameter b oder g zeigen sollte. Die Variation des Parameters g bei konstantem Parameter b führt zu einer Überbewertung des Einflusses der protonierten Aminofunktion auf die Rotamerenverteilung, wohingegen die Variation des Parameters b bei konstantem Parameter g den Einfluß der deprotonierten Carbonsäurefunktion überbewertet. Nur die gleichzeitige Variation der Parameter b und g umgeht dieses Problem, da sich der Fehler im Parameter A_{HH} auf beide Substituenten gleich auswirkt. Die Ergebnisse der Lin-Karplus-Iterationen sind in Tabelle 75 wiedergegeben:

	<i>b, g variiert</i> <i>A konstant</i>	<i>g, A variiert</i> <i>b konstant</i>	<i>b, A variiert</i> <i>g konstant</i>
<i>b</i>	0,158	0,242	0,172
<i>g</i>	0,833	0,856	0,795
<i>A</i>	10,8	11,22	11,31
Rotamer I [%]	59,5	58,6	57,9
Rotamer II [%]	22,6	24,4	23,7
Rotamer III [%]	17,9	17,0	18,4
Fehlerquadrat	0,1438	$1,3183 \cdot 10^{-5}$	$1,8376 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 75: Gegenüberstellung der Iterationsergebnisse für die 2-Amino-4-fluorpent-4-ensäure

Durch diese Iterationen konnte gezeigt werden, daß der Einfluß auf die prozentuale Rotamerenverteilung gering ist. Desweiteren wird gezeigt, daß die verwendete Annahme, daß der Fluorsubstituent einen größeren Einfluß auf die Rotation als auf die Elektronendichteverteilung im Molekül hat, für das fluorierte Allylsystem differenziert betrachtet werden muß.

3.5 Vergleich der Ergebnisse der Lin-Karplus-Analyse mit anderen Modellen

C. Haasnoot [84] und C. Altona [85]-[87] entwickelten Modelle, die es ermöglichten, die Elektronegativitäten der Substituenten zu berücksichtigen. Dies wird durch Einführen eines Korrekturterms, der als Funktion der Elektronegativität, des H-C-C-H-Torsionswinkels und der relativen Orientierung der Substituenten zu den koppelnden Protonen formuliert wird, erreicht. Die aus diesen Modellen berechneten Rotamerenverteilungen werden in diesem Kapitel mit den Ergebnissen der Lin-Karplus-Analyse verglichen.

Ein Excel-Makro zur Berechnung der Rotamerenverteilungen wurde von Z. Szakács [99] zur Verfügung gestellt.

Obwohl die mit dem Excel-Makro von Z. Szakács ermittelten Rotamerenverteilungen, die teilweise Prozentwerte über 100 und unter 0 liefern und somit weder mathematisch noch

chemisch sinnvoll sind, kritisch betrachtet werden müssen, werden die Ergebnisse in den folgenden Tabellen dargestellt.

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot C	Altona
gauche-Rotamere [%]	63,3	67,0	65,5	65,0
trans-Rotamer [%]	36,7	33,0	34,5	35,0

Tabelle 76: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der Butansäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot D	Altona
Rotamer I [%]	25,2	35,0	36,0	41,0
Rotamer II [%]	29,2	25,0	25,5	22,0
Rotamer III [%]	45,6	39,0	39,0	37,0

Tabelle 77: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der 2-Aminobutansäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot D	Altona
Rotamer I [%]	19,7	33,0	30,0	38,0
Rotamer II [%]	24,6	20,0	20,0	16,0
Rotamer III [%]	55,7	47,0	50,0	45,0

Tabelle 78: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot C	Altona
gauche-Rotamere [%]	37,1	17,5	-7,0	23,0
trans-Rotamer [%]	63,0	82,5	107,0	77,0

Tabelle 79: Rotamerenverteilung in Prozent für das 2. Segment der 2-Amino-4-fluorbutansäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot C	Altona
gauche-Rotamere [%]	58,5	61,0	60,5	57,0
trans-Rotamer [%]	41,5	39,0	39,5	43,0

Tabelle 80: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der 4-Pentensäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot D	Altona
Rotamer I [%]	17,9	35,0	35,0	52,0
Rotamer II [%]	25,6	18,0	17,5	12,0
Rotamer III [%]	56,5	47,0	48,0	35,0

Tabelle 81: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der 2-Aminopent-4-ensäure

	Lin	Haasnoot B	Haasnoot D	Altona
Rotamer I [%]	17,9	29,0	29,0	n.b.
Rotamer II [%]	22,6	19,0	18,0	n.b.
Rotamer III [%]	59,5	52,0	53,0	n.b.

Tabelle 82: Rotamerenverteilung in Prozent für das 1. Segment der 2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure

4 Referenzierungsproblematik in der modernen ¹⁹F-NMR-Spektroskopie

4.1 Referenzierung in der ¹⁹F-NMR-Spektroskopie

Der ¹⁹F-Kern besitzt eine Reihe herausragender Eigenschaften, die ihn für den NMR-Spektroskopiker interessant machen. Zum einen besitzt er wie das Proton einen Kernspin von ½, zum anderen kommt Fluor als Reinelement zu 100% als ¹⁹F-Isotop vor. Mit einer relativen und absoluten Empfindlichkeit von 0,89 läßt es sich ebenso leicht beobachten wie das ¹H-Isotop, welches eine relative Empfindlichkeit von 1,00 besitzt [100]. Im Unterschied zur ¹H-Spektroskopie ist jedoch der Verschiebungsbereich in der ¹⁹F-Spektroskopie wesentlich größer, so daß die Fluorresonanzen empfindlicher auf Änderungen in der chemischen Umgebung reagieren als Protonenresonanzen. Während sich das spektrale Fenster in der ¹H-Spektroskopie auf ca. 15 ppm reduziert, umfaßt dieses in der ¹⁹F-Spektroskopie über 1200 ppm. Gerade aufgrund dessen spielt die Referenzierung in der ¹⁹F-NMR-Spektroskopie im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Ergebnisse eine große Rolle.

Prinzipiell ist jede Substanz als Referenzverbindung geeignet, die zu einem Singulett mit hinreichender Intensität führt. Aufgrund des großen spektralen Fensters der ¹⁹F-NMR-Spektroskopie und der unterschiedlichen Löslichkeit der Verbindungen in polaren und unpolaren Lösungsmitteln haben sich traditionell unterschiedliche Referenzsubstanzen etabliert. Die wohl wichtigste und auch als Standard empfohlene Referenzsubstanz ist das Trichlorfluormethan. Aber auch sekundäre Standards wie z. B. Monofluorbenzol, Hexafluorbenzol oder Trifluoressigsäure haben ihre Bedeutung.

Eine Auswahl verschiedener Sekundärstandards und ihrer ¹⁹F-chemischen Verschiebungen gegen CCl₃F ist in Tabelle 83 angegeben [101].

Verbindung	d_F [ppm]	Verbindung	d_F [ppm]
F_2	+422,9	C_6H_5F	-113,1
$C_6H_5SO_2F$	+65,5	C_6F_6	-162,9
CCl_2F_2	-6,9	CF_3COOH	-78,5
CF_4	-63,3	CF_3COCF_3	-84,6

Tabelle 83: ^{19}F -chemische Verschiebungen verschiedener Sekundärstandards gegen CCl_3F [101]

Generell lassen sich zwei Arten der Referenzierung unterscheiden. Bei der äußeren Referenzierung (externer Standard) befindet sich die Referenzsubstanz in einer koaxialen Innenkapillare, während sich die Meßlösung im Außenröhrchen befindet. Diese Methode hat zum einen den Vorteil, daß die Probe nicht mit der Referenzsubstanz in Berührung kommt und somit verunreinigt wird. Zum anderen spielt die Löslichkeit der Referenzsubstanz im verwendeten deuterierten Lösungsmittel keine Rolle. Ein gravierender Nachteil dieser Methode ist jedoch, daß aufgrund der unterschiedlichen Volumenszeptibilität in der inneren Kapillare eine andere Feldstärke als in der Meßlösung herrscht und alle gemessenen chemischen Verschiebungen korrigiert werden müssen.

Einfacher ist es im Fall der inneren Referenzierung (innerer Standard). Hier befinden sich die Referenzsubstanz und die Probe in der gleichen Meßlösung und demnach wirkt auf beide die gleiche magnetische Umgebung. Nachteil dieser Methode ist, daß die Probe durch die Referenzsubstanz verunreinigt wird und die Löslichkeit der Referenzsubstanz berücksichtigt werden muß. Auch sind viele ^{19}F -chemische Verschiebungen konzentrations- und lösungsmittelabhängig [102]. Dennoch ist die Verwendung eines inneren Standards in der ^{19}F -NMR-Spektroskopie vorzuziehen.

In diesem Kapitel sollen sechs Verbindungen auf ihre Eignung als Referenzsubstanz für die hochaufgelöste ^{19}F -NMR-Spektroskopie untersucht werden.

4.1.1 Grundlagen der Kombinatorik

Mit Hilfe der Kombinatorik [103] kann die Anzahl der Anordnungen bestimmt werden, die eine Reihe von Elementen unter bestimmten Gesichtspunkten einnehmen können. Dies ist in der chemischen Realität im Hinblick auf Isotopomere und Isomere von Bedeutung, da

unter Verwendung der Kombinatorik Aussagen über Anzahl und Häufigkeit der einzelnen Spezies gemacht werden können.

Im wesentlichen lassen sich alle in der Kombinatorik auftretenden Problemstellungen auf die drei Grundbegriffe Permutation, Kombination und Variation zurückführen. Im weiteren Verlauf sollen die Begriffe Kombination und Variation näher bestimmt werden.

4.1.2 Kombinationen

a) Kombinationen ohne Wiederholung

Betrachtet man n verschiedene Elemente als gegeben, so kann man berechnen, auf wieviele verschiedene Arten man ohne Berücksichtigung der Anordnung $k \leq n$ von diesen Elementen auswählen kann. Jede Auswahl von k der n gegebenen Elemente heißt eine Kombination von n Elementen zur k -ten Klasse ohne Wiederholung. Ihre Anzahl wird mit $C_{n,k}$ bezeichnet.

$$C_{n,k} = \frac{n!}{k!(n-k)!} = \binom{n}{k} \quad (55)$$

b) Kombinationen mit Wiederholung

Sind n verschiedene Elemente in einer beliebigen Anzahl gegeben, so heißt jede Auswahl von k Elementen – ohne Berücksichtigung der Anordnung –, wobei ein Element auch mehrfach vorkommen darf, eine Kombination von n Elementen zur k -ten Klasse mit Wiederholung. Ihre Anzahl wird mit $\bar{C}_{n,k}$ bezeichnet:

$$\bar{C}_{n,k} = \binom{n+k-1}{k} \quad (56)$$

4.1.3 Variationen

Unter Variationen versteht man Kombinationen mit Berücksichtigung der Anordnung. Bezeichnet man die Anzahl dieser Variablen analog zu den obigen Kombinationen mit $V_{n,k}$ bzw. $\bar{V}_{n,k}$, so gilt für

a) Variation ohne Wiederholung

$$V_{n,k} = n(n-1)\dots(n-k+1) = \frac{n!}{(n-k)!} \quad (57)$$

b) Variation mit Wiederholung

$$\bar{V}_{n,k} = n^k \quad (58)$$

Unter Verwendung von Gleichung 56 zur beispielhaften Berechnung der Anzahl der möglichen Isotopomere des Trichlorfluormethans erhält man mit $n = 2$ und $k = 3$:

$$\bar{C}_{2,3} = \binom{n+k-1}{k} = \binom{4}{3} \quad (59)$$

wobei n die Anzahl verschiedener Elemente (^{35}Cl und ^{37}Cl) und k die Auswahl dieser Elemente ohne Berücksichtigung der Anordnung angibt.

$$\binom{4}{3} = \frac{4!}{3!(4-3)!} = \frac{4!}{3!1!} = 4 \quad (60)$$

Das Trichlorfluormethan kommt demnach in vier möglichen Isotopomeren vor

4.2 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von Trichlorfluormethan

Obwohl die ^{19}F -chemische Verschiebung des Trichlorfluormethans sowohl lösungsmittel-, konzentrations- als auch temperaturabhängig ist, gilt das Trichlorfluormethan wohl als wichtigste Referenzsubstanz. Bereits 1958 wurde vorgeschlagen, Trichlorfluormethan als Lösungsmittel und internen Standard zu verwenden [104]. Das ^{19}F -NMR-Signal zeigt zudem aufgrund des unterschiedlichen Isotopeneffekts des ^{35}Cl und ^{37}Cl eine Linienaufspaltung [105].

Chlor kommt in der Natur in der Form von 2 Isotopen vor [106]. Das Isotop ^{35}Cl , welches im weiteren Verlauf abkürzend mit **A** bezeichnet wird, besitzt eine natürliche Häufigkeit von 75,77%, das ^{37}Cl -Isotop, das mit **B** bezeichnet wird, eine natürliche Häufigkeit von 24,23%, so daß vier verschiedene Isotopomere des Trichlorfluormethans denkbar sind.

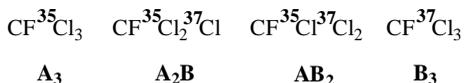


Abbildung 134: Denkbare Isotopomere des Trichlorfluormethans

Unter Berücksichtigung der natürlichen Häufigkeit der beiden Chlorisotope berechnet sich für das **A**₃-Isotopomer eine Häufigkeit von 43,50%, für das **A**₂**B**-Isotopomere 41,73%, für das **AB**₂-Isotopomere 13,35% und für das **B**₃-Isotopomere eine Häufigkeit von 1,42%.

Löst man nun zur NMR-spektroskopischen Untersuchung 3 Tropfen CFCl_3 in 0,75 ml Benzol- d_6 mit einem Deuteriumgehalt von 99,5% und nimmt am DRX 500 hochaufgelöste 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektren auf, so erhält man das in Abbildung 135 abgebildete Spektrum.

Folgende Tabelle zeigt die Parameter, mit denen das in Abbildung 135 gezeigte ^{19}F -NMR-Spektrum des Trichlorfluormethans aufgenommen bzw. prozessiert wurde.

ns	64
SW [ppm]	9,99
SW [Hz]	4699,25
TD	128k
SI	128k
LB [Hz]	0,3

Tabelle 84: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter

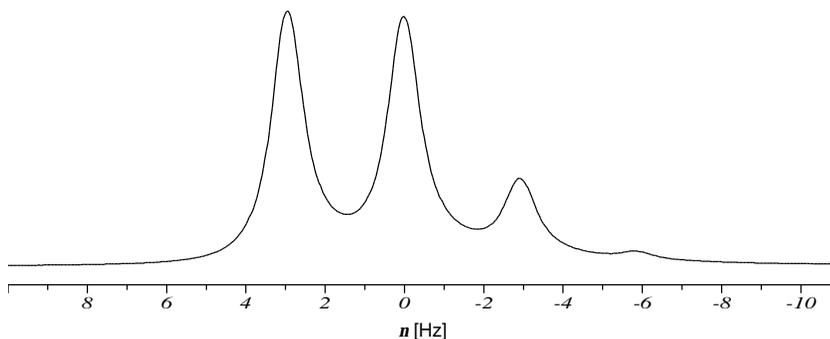


Abbildung 135: 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des Trichlorfluormethans

Abbildung 135 zeigt eindeutig, daß das Trichlorfluormethan aufgrund des starken Isotopeneffekts nur bedingt geeignet ist, als Referenzsubstanz für die hochaufgelöste ^{19}F -NMR-Spektroskopie zu fungieren. Deutlich erkennbar sind vier separierte Resonanzsignale, welche die erwarteten vier Isotopomere des Trichlorfluormethans repräsentieren.

Mittels Deconvolution findet man anhand der relativen Intensität der Signale folgende Häufigkeitsverteilung für die vier Isotopomere. Das **A₃**-Isotopomere wird mit einer Häufigkeit von 40,69% gefunden, das **A₂B**-Isotopomer 42,02%, das **AB₂**-Isotopomer 14,22% und das **B₃**-Isotopomer findet sich zu 3,07%.

In Tabelle 85 sind die mittels Deconvolution mit WIN-NMR bestimmten Resonanzlagen und relativen Häufigkeiten^a sowie die anhand der natürlichen Häufigkeit der beiden Chlorisotope berechneten relativen Häufigkeiten^b zusammengefaßt.

Peak Nr.	n [Hz]	d [ppb]	relative Häufigkeit ^a [%]	berechnete relative Häufigkeit ^b [%]	berechnete [105] relative Häufigkeit [%]
1	2,94	6,25	40,69	43,50	42,00
2	0,00	0	42,02	41,73	42,90
3	-2,93	-6,23	14,22	13,35	13,60
4	-5,78	-12,28	3,07	1,42	1,50

Tabelle 85: Resonanzlagen und relative Häufigkeiten der einzelnen Isotopomere des Trichlorfluormethans bei $\nu_0(^{19}\text{F}) = 470,59 \text{ MHz}$; digitale Auflösung: 0,036 Hz, HWB = 1,01 Hz, Integrationsbreite = 20 Hz

Empirisch ist bekannt, daß schwerere isotopomere Spezies eine zu höherem Feld verschobene Resonanz zeigen [107]. Aufgrund der Intensitäten und der Peaklage können nun den beobachteten Resonanzsignalen eindeutig die zugehörigen Isotopomere zugeordnet werden. Das Resonanzsignal 1, das die zweitgrößte Häufigkeit zeigt, ist dem Isotopomer $\text{CF}^{35}\text{Cl}_3$ bzw. A_3 zuzuordnen. Das am häufigsten vorkommende Isotopomer $\text{CF}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$ bzw. A_2B wird durch das Resonanzsignal 2 repräsentiert. Die Resonanzsignale 3 und 4 schließlich sind den Isotopomeren $\text{CF}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}_2$ (AB_2) bzw. $\text{CF}^{37}\text{Cl}_3$ (B_3) zuzuordnen. Bemerkenswert ist, daß auch das Resonanzsignal für die Spezies $\text{CF}^{37}\text{Cl}_3$ trotz des geringen Vorkommens gut aufgelöst ist.

In [107] wird in allgemeiner Weise am Beispiel von ^{13}C -Isotopomeren und ^2H -Isotopomeren über den Einfluß von Isotopeneffekten auf die chemische Verschiebung berichtet. Jeder Austausch eines ^{35}Cl durch ein ^{37}Cl verursacht eine geringfügige Veränderung der chemischen Umgebung des Fluorkerns und somit eine Verschiebung der ^{19}F -chemischen Resonanzfrequenz um ca. 6,25 ppb zu höherem Feld.

Die durch sukzessiven Austausch von ^{35}Cl durch ^{37}Cl verursachte Änderung der ^{19}F -chemischen Verschiebung ist in Abbildung 136 graphisch dargestellt.

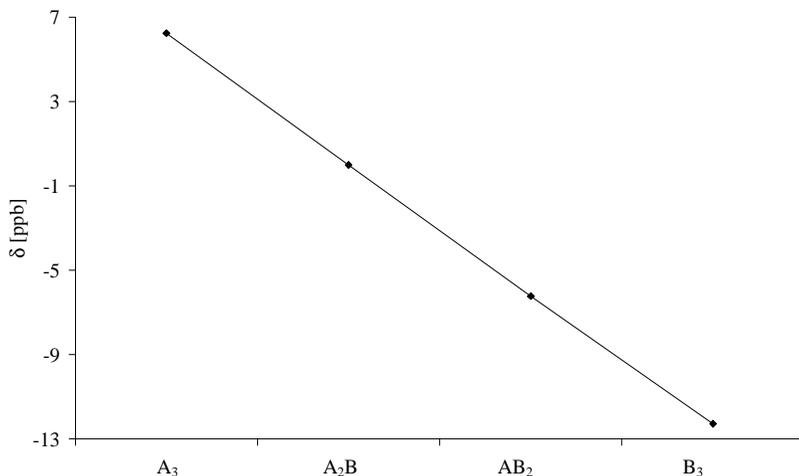


Abbildung 136: Änderung der ^{19}F -chemischen Verschiebung durch sukzessiven Austausch von ^{35}Cl durch ^{37}Cl ausgehend von $\text{CF}^{35}\text{Cl}_3$

Möchte man nun das Trichlorfluormethan dennoch zur Referenzierung benutzen, bleiben prinzipiell zwei Möglichkeiten. Entweder bestimmt man das spektrale Moment der in Abbildung 135 gezeigten Signalgruppe, das sich zu 0,60 Hz berechnet, oder man definiert nach [101] das Resonanzsignal des am häufigsten vorkommenden Isotopomeren $\text{CF}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$ zu 0 Hz.

Im folgenden werden alle ^{19}F -chemischen Verschiebungen auf Trichlorfluormethan referenziert, indem das Resonanzsignal des am häufigsten vorkommenden Isotopomeren $\text{CF}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$ zu 0 Hz definiert wird., da dies am schnellsten und genauesten geht und den geringsten Aufwand bedeutet.

4.3 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutan

Das in Abbildung 137 gezeigte 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutan wird nach [101] als sekundärer Standard in der ^{19}F -NMR-Spektroskopie verwendet. Da für diese Verbindung in Analogie zum Trichlorfluormethan ebenfalls ein Substituenteneffekt der beiden Chlor-

isotope ^{35}Cl und ^{37}Cl erwartet wird, ist es wichtig, Anzahl und Art der möglichen Isotopomere zu kennen.

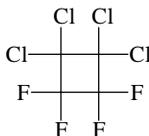


Abbildung 137: 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorcyclobutan

Aufgrund der natürlichen Isotopenverteilung des Chlors sind unter Berücksichtigung der Formel für Variationen mit Wiederholung nun insgesamt $2^4 = 16$ mögliche Isotopomere denkbar. Bezeichnet man das ^{35}Cl -Isotop wiederum als **A** und das ^{37}Cl -Isotop als **B** und betrachtet nur das Substitutionsmuster des Chlors, so ergibt sich je ein **A₄** bzw. **B₄** Isotopomer, je 4 **A₃B** bzw. **AB₃** Isotopomere und schließlich 6 **A₂B₂** Isotopomere. Die formal 6 **A₂B₂** Isotopomere (AABB und BBAA; ABAB und BABA; ABBA und BAAB) reduzieren sich aufgrund ihrer Identität zu 3 **A₂B₂** Isotopomeren mit doppelter Intensität. Insgesamt finden sich die berechneten 16 Isotopomere.

Unter Berücksichtigung der natürlichen Häufigkeit der beiden Chlorisotope berechnet sich für das **A₄**-Isotopomer eine Häufigkeit von 32,96%, für das **A₃B**-Isotopomer 42,16%, für das **A₂B₂**-Isotopomer 20,22%, für das **AB₃**-Isotopomer 4,31% und schließlich für das **B₄**-Isotopomer eine Häufigkeit von 0,34%.

Zur kernresonanzspektroskopischen Untersuchung des 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorcyclobutans werden 16,4 mg der Substanz in 0,75 ml CDCl_3 mit einem Deuteriumgehalt von 99,8% eingewogen. Daraufhin wird am DRX 500 ein hochaufgelöstes 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum aufgenommen.

Die für die Aquisition und Prozessierung des hochaufgelösten 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums verwendeten Parameter sind der folgenden Tabelle 86 zu entnehmen.

ns	16
SW [ppm]	9,99
SW [Hz]	4699,25
TD	128k
SI	256k
LB [Hz]	0,01

Tabelle 86: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums des 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutans

Abbildung 138 zeigt das aufgenommene hochaufgelöste 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutans.

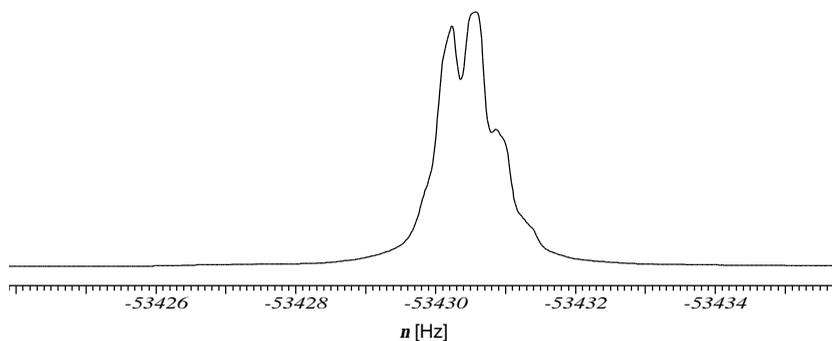


Abbildung 138: 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutans

Das hochaufgelöste 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutans zeigt einen ähnlichen Habitus wie das ^{19}F -NMR-Spektrum des Trichlorfluormethans. Das arithmetische Zentrum der Signalgruppe liegt bei ca. -113,5 ppm, Lit [101] gibt eine Resonanzlage von -114,1 ppm an.

Auch beim 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutan verursacht der Austausch ^{35}Cl durch ^{37}Cl eine Veränderung der chemischen Umgebung des Fluorkerns und somit eine Verschiebung der ^{19}F -chemischen Verschiebung für das entsprechende Isotopomer. Da sich jedoch im Vergleich zum Trichlorfluormethan das Chlor eine Bindung weiter weg entfernt

vom Fluor befindet und deshalb ein vom Betrag geringerer Isotopeneffekt erwartet wird, reicht die Feldstärke des verwendeten Spektrometers nicht mehr aus, um die individuellen Signale der einzelnen Isotopomere aufzulösen.

Demzufolge ist das 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutan als Referenzsubstanz für die Hochfeld- ^{19}F -NMR-Spektroskopie nicht geeignet, da bei hohen Magnetfeldern kein Singulett resultiert und das spektrale Moment nicht problemlos bestimmt werden kann.

Für Spektrometer mit einer geringeren Feldstärke z.B. 56,46 MHz- oder 84,68 MHz- ^{19}F -NMR resultiert ein scharfes Singulett, so daß das 1,1,2,2-Tetrachlortetrafluorocyclobutan dort weiter als sekundärer Standard verwendet werden kann.

Die Verwendung von chlorfreien Referenzsubstanzen für die Hochfeld- ^{19}F -NMR-Spektroskopie, wie z.B. C_6F_6 , wäre empfehlenswerter.

4.4 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,4-Dibromtetrafluorbenzol

Um die Frage zu beantworten, ob Brom ebenfalls einen Isotopeneffekt zeigt, wird das 1,4-Dibromtetrafluorbenzol hochaufgelöst ^{19}F -NMR-spektroskopisch untersucht.

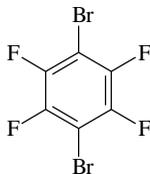


Abbildung 139: 1,4-Dibromtetrafluorbenzol

Da das Element Brom in der Form von 2 Isotopen in der Natur vorkommt und zwei Isotopomere als identisch zu betrachten sind, treten drei verschiedene Isotopomere des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols auf.

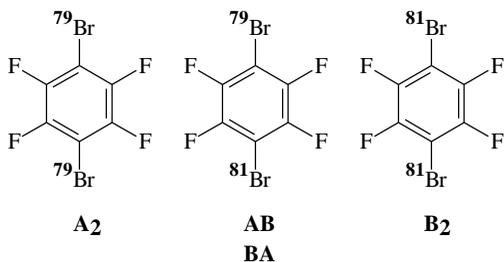


Abbildung 140: Denkbare Isotomere des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols

Die natürliche Häufigkeit des ^{79}Br -Isotops ist gegeben zu 50,69 Prozent, die des ^{81}Br zu 49,31 Prozent [106]. Daraus errechnet sich für die drei denkbaren Isotomere folgende Wahrscheinlichkeitsverteilung. Das Isotopomer **A₂** mit den beiden ^{79}Br -Isotopen sollte zu 25,7%, das **B₂** mit zwei ^{81}Br -Isotopen zu 24,3% und die gemischte Form **AB** bzw **BA** sollte zu 50% vorkommen. Sowohl für das Isotopomer **A₂** als auch das Isotopomer **B₂** erwartet man im ^{19}F -NMR-Spektrum ein Singulett. Für die gemischte Form **AB** bzw **BA** erwartet man maximal ein deceptively simple $[\text{AB}]_2$ -System mit 4 Linien, so daß man mit genügender Auflösung ein Spektrum, welches aus maximal 6 Linien bestehen würde, erwartet.

Zur NMR-spektroskopischen Untersuchung des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols werden 12,4 mg der Substanz eingewogen und in 0,75 ml Benzol- d_6 mit einem Deuteriumgehalt von 99,5% gelöst. Daraufhin wird am DRX 500 ein hochaufgelöstes ^{19}F -NMR-Spektrum aufgenommen.

ns	16
SW [ppm]	4,99
SW [Hz]	2349,62
TD	128k
SI	256k
LB [Hz]	0

Tabelle 87: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols

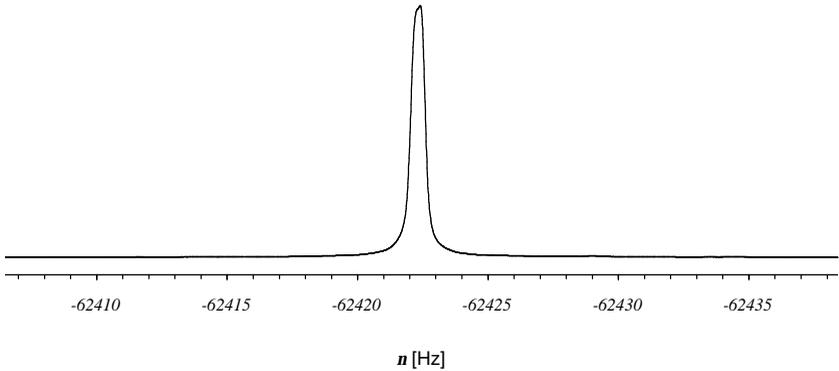


Abbildung 141: 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols

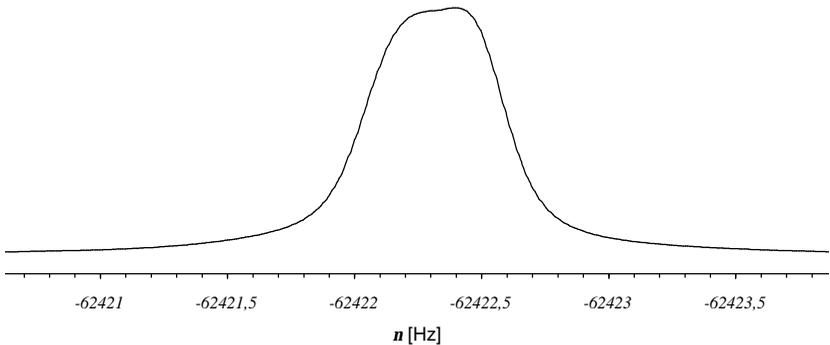


Abbildung 142: vergrößerter Ausschnitt aus dem 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum des 1,4-Dibromtetrafluorbenzols

Das oben abgebildete Signal, das eine Halbwertsbreite von ca. 0,6 Hz besitzt, weist eine asymmetrische Struktur auf, die vermutlich durch drei Signale hervorgerufen wird, die im Abstand von weniger als 0,1 Hertz getrennt sind.

Das Brom übt demnach ebenfalls wie das Chlor einen Isotopeneffekt auf die ^{19}F -chemische Verschiebung aus, dieser ist jedoch wesentlich schwächer ausgeprägt, da $f_{\text{Cl}} < f_{\text{Br}}$ ist, mit:

$$f_{\text{Cl}} = \frac{m_{35}\text{Cl}}{m_{37}\text{Cl}} = 0,9460; f_{\text{Br}} = \frac{m_{79}\text{Br}}{m_{81}\text{Br}} = 0,9753 \quad (61)$$

Daraus schließt man, daß ortho- und meta-Isotopeneffekte nicht additiv sind, also $d(A_2)$, $d(AB)$ und $d(B_2)$ stehen nicht linear zueinander.

4.5 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethan

Auch das 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethan soll auf seine Eignung als Referenzsubstanz hin überprüft werden.

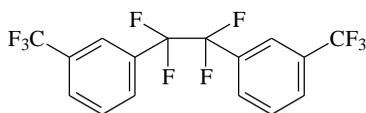


Abbildung 143: 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethan

35,4 mg des 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans werden zur NMR-spektroskopischen Untersuchung eingewogen und in 0,75 ml $CDCl_3$ mit einem Deuteriumgehalt von 99,8% gelöst. Daraufhin werden am DRX 500 hochaufgelöste NMR-Spektren aufgenommen. Die für die Aquisition und Prozessierung des hochaufgelösten 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums verwendeten Parameter sind der folgenden Tabelle 88 zu entnehmen.

ns	64
SW [ppm]	60,03
SW [Hz]	28248,59
TD	128k
SI	256k
LB [Hz]	0

Tabelle 88: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums des 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans

Das 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Übersichtsspektrum des 1,2-Bis[3-trifluormethyl]-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans ist in Abbildung 144 abgebildet.

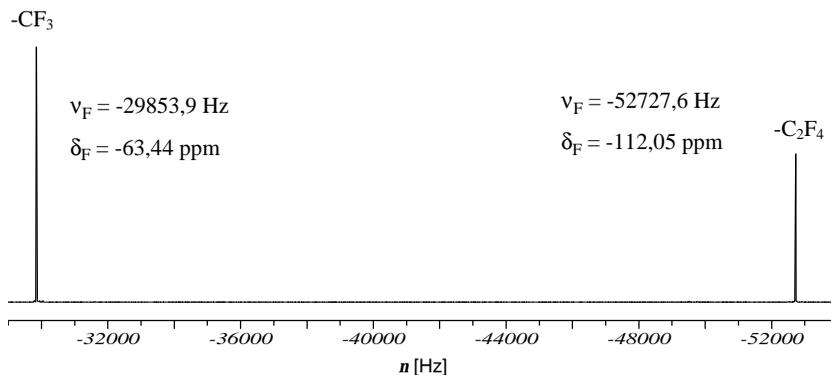


Abbildung 144: 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Übersichtsspektrum des 1,2-Bis[3-trifluor-methyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans

Ausschnitte aus dem 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Übersichtsspektrum des 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans sind in Abbildung 145 und Abbildung 146 dargestellt.

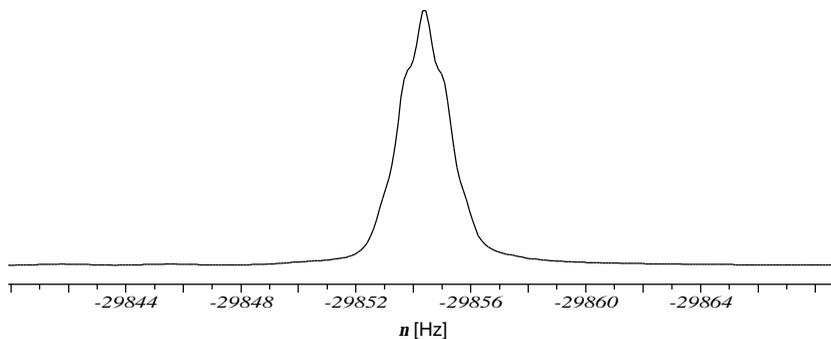


Abbildung 145: Ausschnitt aus dem 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum: CF_3 -Gruppen am Phenylring des 1,2-Bis[3-trifluormethyl)-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethans

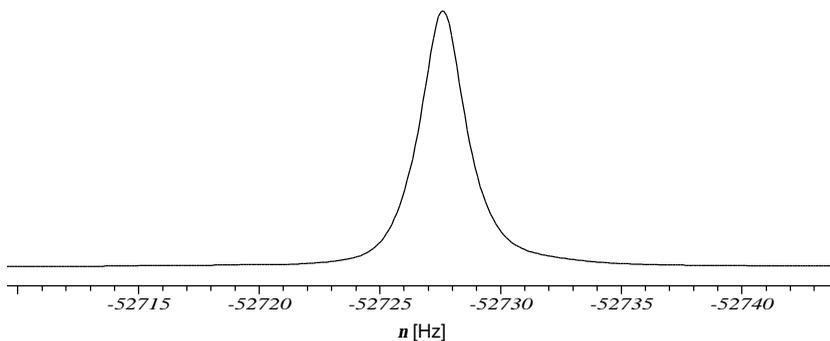


Abbildung 146: Ausschnitt aus dem 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrum: Fluorsubstituenten am Ethangerüst des 1,2-Bis[3-trifluormethyl]-phenyl-1,1,2,2]-tetrafluor-ethans

Das Singulett der Fluorsubstituenten am Ethangerüst bei -112,05 ppm weist eine mittels Deconvolution bestimmte Halbwertsbreite von ca. 2,0 Hertz auf. Während dieses Signal zur Referenzierung geeignet ist, weist das Resonanzsignal der Trifluormethylgruppen an den beiden Phenylsubstituenten bei -63,44 ppm infolge der ortho- $^4J_{\text{FH}}$ -Kopplung eine Verbreiterung auf, so daß dieses für die Referenzierung schlechter geeignet ist.

Prinzipiell ist das 1,2-Bis[3-trifluormethyl]-phenyl]-1,1,2,2-tetrafluorethan geeignet als Referenzsubstanz für die hochaufgelöste ^{19}F -NMR-Spektroskopie zu dienen.

4.6 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von Trifluormethoxybenzol

Auch die Eignung des in Abbildung 147 gezeigten Trifluormethoxybenzols als Referenzsubstanz soll überprüft werden.

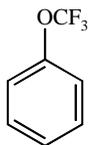


Abbildung 147: Trifluormethoxybenzol

Hierfür werden zur Aufnahme von hochaufgelösten NMR-Spektren 14,1 mg Trifluormethoxybenzol eingewogen und in 0,75 ml Benzol- d_6 mit einem Deuteriumgehalt von 99,5% gelöst. Die für die Aquisition und Prozessierung des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums bzw. 500,13 MHz ^1H -NMR-Spektrums verwendeten Parameter sind der folgenden Tabelle zu entnehmen:

	^{19}F	^1H
ns	128	32
SW [ppm]	30,02	4,01
SW [Hz]	14124,29	2003,21
TD	128k	16k
SI	256k	32k
LB [Hz]	0	0

Tabelle 89: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter

Das experimentelle und das simulierte 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Trifluormethoxybenzols werden in Abbildung 148 wiedergegeben.

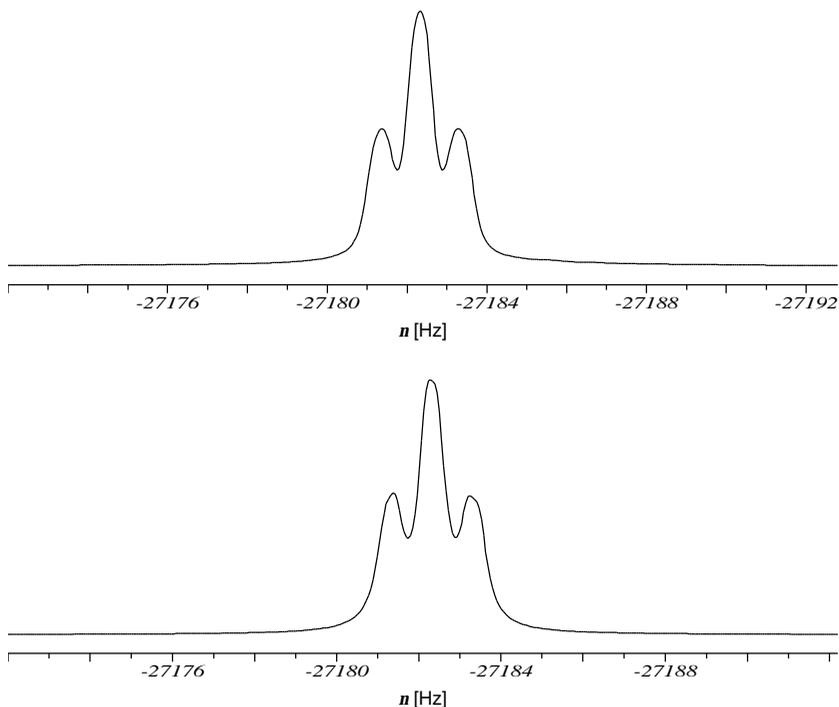


Abbildung 148: experimentelles (oben) und als $[AB]_2CX_3$ -Spinsystem simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Trifluormethoxybenzols

Die Fluoratome der Trifluormethoxygruppe des Trifluormethoxybenzols bilden den X_3 -Teil eines $[AB]_2CX_3$ -Spinsystems. Gut aufgelöst ist die $^5J_{\text{FH}}$ -Kopplung zu den Protonen H_1 bzw. H_2 , $^6J_{\text{FH}}$ -Kopplung und $^7J_{\text{FH}}$ -Kopplung sind jedoch nicht aufgelöst und demnach iterativ nicht genau bestimmbar. Dieser Befund wird durch das in Abbildung 150 gezeigte ^1H -NMR-Spektrum untermauert. Tabelle 90 zeigt die Ergebnisse der Iteration des 470,59 MHz ^{19}F -Spektrums des Trifluormethoxybenzols mit WIN-DAISY.

Parameter	Wert		Fehler
	d [ppm]	n [Hz]	[±Hz]
n_F	-57,762	-27182,374	0,00064
J_{ik} [Hz]			
$^5J_{FH}$	1,032		0,00126
$^6J_{FH}$	0,051		0,00833
$^7J_{FH}$	0,290		0,00257
HWB	0,466		0,0036

Tabelle 90: Ergebnisse der Iteration des 470,59 MHz ^{19}F -Spektrums des Trifluormethoxybenzols

Final Sum of Squares	1,8784
Number of Spectral Points	544
Standard Deviation of Measurements	0,0591
R-Factor (%)	0,0995

Die Indizierung der Protonen des Trifluormethoxybenzols für die folgende Iteration des 500,13 MHz 1H -Spektrums ist in Abbildung 149 gegeben:

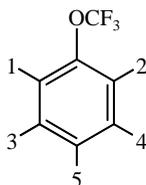


Abbildung 149: Indizierung der Protonen am Trifluormethoxybenzol

Für die Iteration werden die Fluoratome der Trifluormethoxygruppe mit der Zahl 6 indiziert und für das Trifluormethoxybenzol wird die Symmetrie C_{2v} angenommen. Dies hat zur Folge, daß sich die Protonen H_1 und H_2 sowie H_3 und H_4 symmetriebegründet entsprechen. Der $[AB]_2C$ -Teil des $[AB]_2CX_3$ -Spinsystems ist in Abbildung 150 abgebildet:

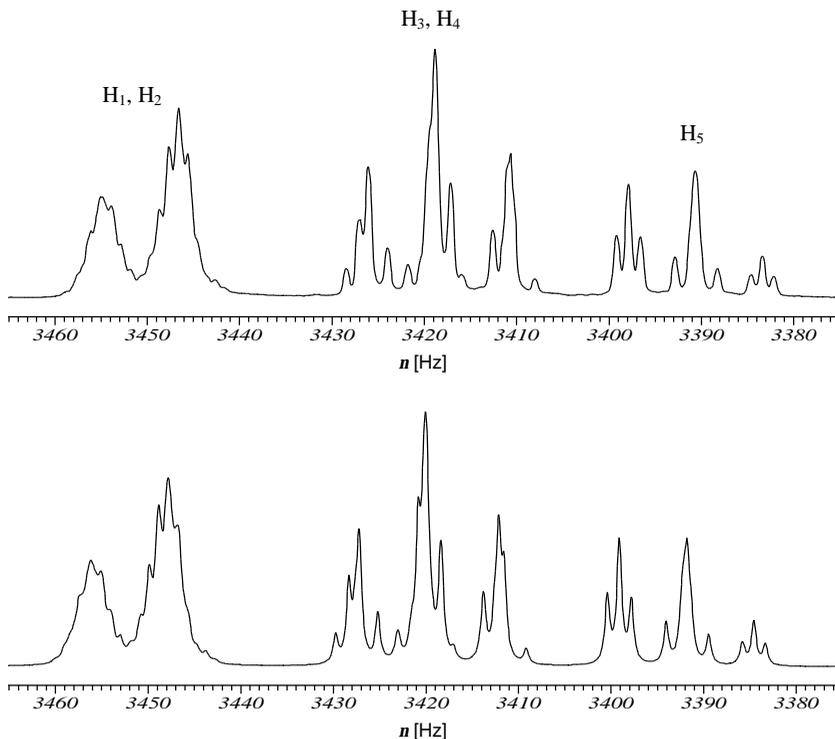


Abbildung 150: experimentelles (oben) und simuliertes (unten) 500,13 MHz ¹H-NMR-Spektrum des Trifluormethoxybenzols

Die Ergebnisse der Iteration des 500,13 MHz ¹H-Spektrums des Trifluormethoxybenzols mit WIN-DAISY sind in Tabelle 91 und Tabelle 92 angegeben.

Parameter	Wert		Fehler	HWB	Fehler
	d [ppm]	n [Hz]	[±Hz]	[Hz]	[±Hz]
H₁, H₂	6,899	3450,268	0,00361	0,710	0,00665
H₃, H₄	6,835	3418,559	0,00194	0,595	0,00337
H₅	6,782	3391,652	0,00284	0,601	0,00474

Tabelle 91: iterierte Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 500,13 MHz ¹H-Spektrums des Trifluormethoxybenzols

ⁿ J _{ik}	Wert	Fehler	[108] ^a	[108] ^b
	J _{ik} [Hz]	[±Hz]	J _{ik} [Hz]	J _{ik} [Hz]
⁴ J ₁₂	2,584	0,00671	2,588	2,642
³ J ₁₃	8,284	0,00351	8,280	8,310
⁵ J ₁₄	0,412	0,00381	0,453	0,461
⁴ J ₁₅	1,075	0,00387	1,091	1,077
⁵ J ₁₆	0,989	0,00440	1,027	1,038
⁴ J ₃₄	1,835	0,00680	1,746	1,753
³ J ₃₅	7,490	0,00272	7,484	7,499
⁶ J ₃₆	n. b.		0,050	-0,008
⁷ J ₅₆	n. b.		0,138	0,133

Tabelle 92: iterierte Kopplungskonstanten J_{ik} des 500,13 MHz ¹H-Spektrums des Trifluormethoxybenzols

Final Sum of Squares	46,8228
Number of Spectral Points	2871
Standard Deviation of Measurements	0,1280
R-Factor (%)	0,5346

Alle in [108] angegebenen Kopplungskonstanten wurden in einem Gemisch aus ⁴CS₂ und C₆D₁₂ bzw. ^bAceton-d₆ bestimmt.

Auch wenn das Trifluormethoxybenzol im hochaufgelösten 470,59 MHz ¹⁹F-Spektrum kein Singulett liefert, ist es dennoch als Referenzsubstanz verwendbar, da die Lage des Zentrums der Signalgruppe trotz der ortho-Kopplung leicht bestimmbar ist.

Insbesondere bei Verbindungen, die Resonanzlagen zwischen -30 und -100 ppm zeigen, ist es dem Hexafluorbenzol, welches bei -162,9 ppm resoniert, aufgrund des Gewinns an spektraler Auflösung vorzuziehen.

4.7 Kernresonanzspektroskopische Untersuchung von 4-Trifluormethoxyanisol

Auch das dem Trifluormethoxybenzol strukturverwandte Trifluormethoxyanisol soll auf Eignung als Referenzsubstanz überprüft werden.

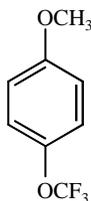


Abbildung 151: 4-Trifluormethoxyanisol

Analog zum Vorgehen bei der Untersuchung des Trifluormethoxybenzols werden 13.7 mg des 4-Trifluormethoxyanisols eingewogen und in 0,75 ml Benzol- d_6 mit einem Deuteriumgehalt von 99,5% gelöst. Anschließend werden am DRX 500 hochaufgelöste NMR-Spektren aufgenommen. Die für die Aquisition und Prozessierung des 470,59 MHz ^{19}F -NMR-Spektrums bzw. 500,13 MHz ^1H -NMR-Spektrums verwendeten Parameter sind der folgenden Tabelle zu entnehmen:

	^{19}F	^1H
ns	128	32
SW [ppm]	30,02	12,02
SW [Hz]	14124,29	6009,62
TD	128k	64k
SI	256k	128k
LB [Hz]	0	0

Tabelle 93: Aufnahme- bzw. Prozessierungsparameter

Das experimentelle und das simulierte 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des Trifluormethoxyanisols werden in Abbildung 152 wiedergegeben.

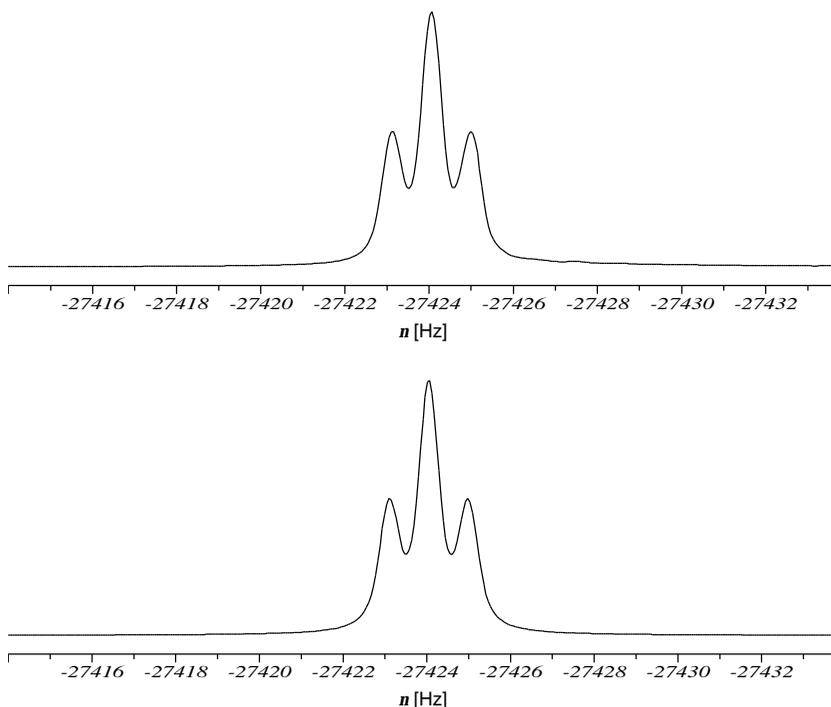


Abbildung 152: experimentelles (oben) und als $[\text{AB}]_2\text{M}_3\text{X}_3$ simuliertes (unten) 470,59 MHz ^{19}F -Spektrum des 4-Trifluormethoxyanisols

Die Fluoratome der Trifluormethoxygruppe des Trifluormethoxyanisols bilden den X_3 -Teil eines $[\text{AB}]_2\text{M}_3\text{X}_3$ -Spinsystems. Wiederum ist auffällig, daß es geringe Unterschiede in der Halbwertsbreite zwischen dem experimentellen und dem simulierten Spektrum gibt. Tabelle 94 zeigt die Ergebnisse der Iteration des 470,59 MHz ^{19}F -Spektrums des Trifluormethoxyanisols mit WIN-DAISY.

Parameter	Wert		Fehler
	d [ppm]	n [Hz]	[±Hz]
n_F	-58,276	-27424,094	0,00469
J_{ik} [Hz]			
${}^5J_{FH}$	0,947		0,00167
${}^6J_{FH}$	0,167		0,00399
HWB	0,409		0,00507

Tabelle 94: Ergebnisse der Iteration des 470,59 MHz ${}^{19}F$ -Spektrums des Trifluor-methoxyanisols

Final Sum of Squares	1,8015
Number of Spectral Points	255
Standard Deviation of Measurements	0,0851
R-Factor (%)	0,1260

Die Indizierung der Protonen des Trifluormethoxybenzols für die folgende Iteration des 500,13 MHz 1H -Spektrums ist in Abbildung 153 gegeben:

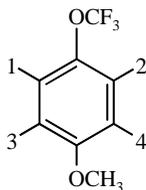


Abbildung 153: Indizierung der Protonen am Trifluormethoxyanisol

Für die Iteration werden die Protonen der Methoxyfunktion mit der Zahl 5 indiziert, die Fluoratome der Trifluormethoxygruppe mit der Zahl 6. Da auch für das Trifluormethoxyanisol die Symmetrie C_{2v} angenommen wird, entsprechen sich die Protonen H_1 und H_2 sowie H_3 und H_4 symmetriebedingt.

Der $[AB]_2M_3$ -Teil des $[AB]_2M_3X_3$ -Spinsystems ist in Abbildung 154 abgebildet:

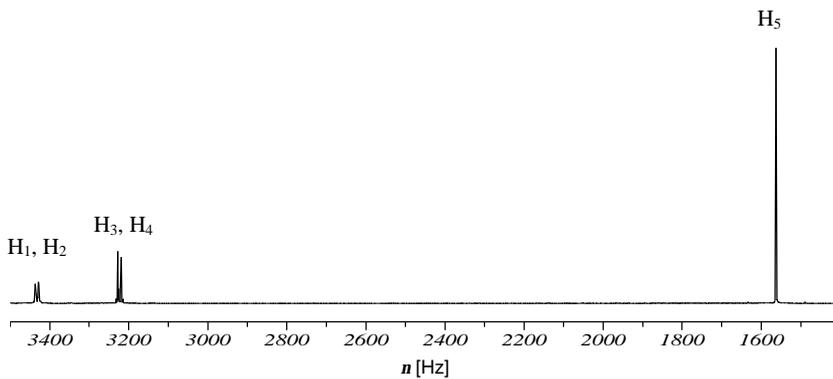


Abbildung 154: experimentelles 500,13 MHz ^1H -Spektrum des Trifluormethoxyanisols

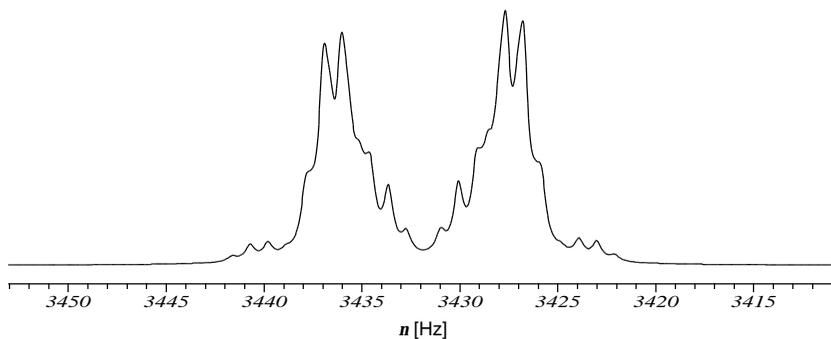
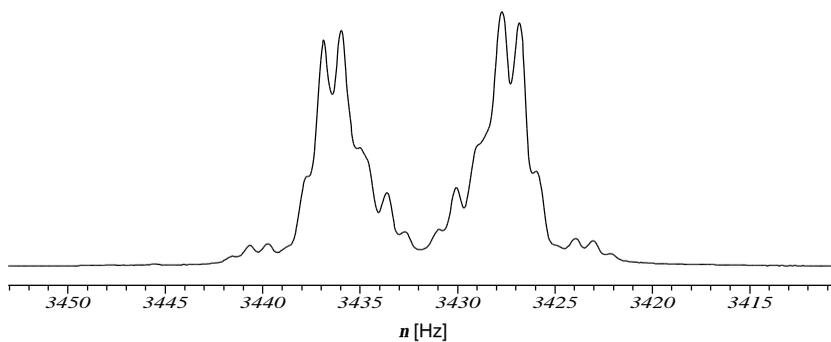


Abbildung 155: Ausschnitt der Protonen H_1 und H_2 aus dem experimentellen (oben) und simulierten (unten) 500,13 MHz ^1H -NMR-Spektrum des Trifluormethoxyanisols

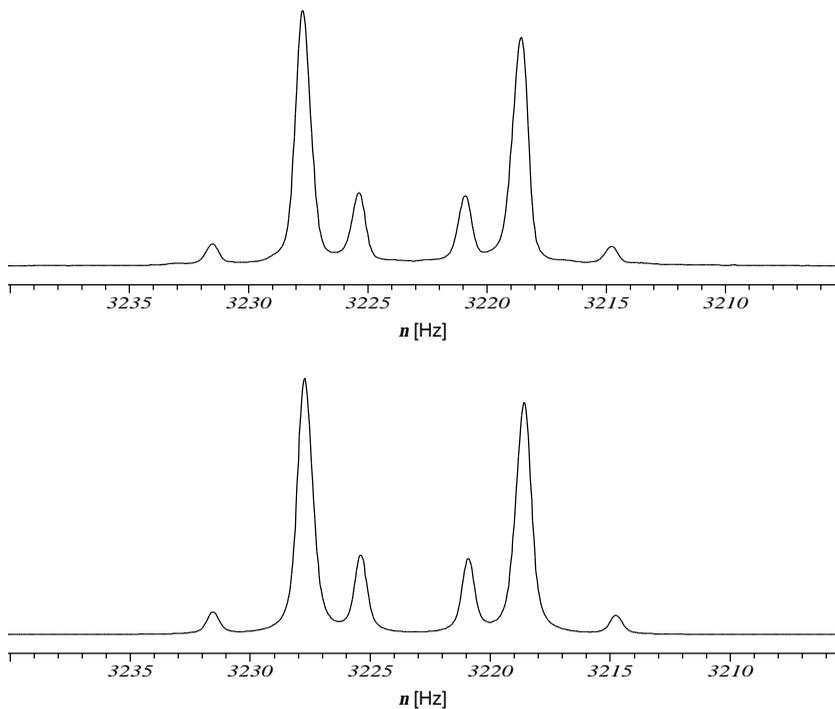


Abbildung 156: Ausschnitt der Protonen H₃ und H₄ aus dem experimentellen (oben) und simulierten (unten) 500,13 MHz ¹H-NMR-Spektrum des Trifluormethoxyanisols

Die Ergebnisse der Iteration des 500,13 MHz ¹H-Spektrums des Trifluormethoxybenzols mit WIN-DAISY sind in Tabelle 95 angegeben.

Parameter	Wert		Fehler	HWB	Fehler
	d [ppm]	n [Hz]	[±Hz]	[Hz]	[±Hz]
H₁, H₂	6,862	3431,735	0,00359	0,591	0,00651
H₃, H₄	6,445	3223,233	0,00108	0,379	0,00434
H₅	3,122	1561,516	0,00024	0,445	0,00046
Parameter	Wert	Fehler	Parameter	Wert	Fehler
ⁿ J _{ik}	J _{ik} [Hz]	[±Hz]	ⁿ J _{ik}	J _{ik} [Hz]	[±Hz]
⁴ J ₁₂	3,124	0,01568	⁵ J ₁₆	0,910	0,00331
³ J ₁₃	8,988	0,00260	⁴ J ₃₄	3,039	0,01517
⁵ J ₁₄	0,311	0,00368	⁶ J ₃₆	0,168	0,00372

Tabelle 95: iterierte Kopplungskonstanten, Resonanzfrequenzen und Halbwertsbreiten des 500,13 MHz ¹H-Spektrums des Trifluormethoxyanisols

Final Sum of Squares	19,6583
Number of Spectral Points	44581
Standard Deviation of Measurements	0,0210
R-Factor (%)	1,9700

Auch hier gilt das bereits für das Trifluormethoxybenzol Gesagte. Das Trifluormethoxyanisol liefert ebenfalls im hochaufgelösten 470,59 MHz ¹⁹F-Spektrum aufgrund der ortho-Kopplung kein Singulett. Dennoch ist es als Referenzsubstanz für Verbindungen, die Resonanzlagen zwischen -30 und -100 ppm zeigen, verwendbar, da es im Vergleich zum Hexafluorbenzol, welches bei -162,9 ppm resoniert, zu einem Gewinn an spektraler Auflösung führt.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Das im Hause entwickelte Verbundverfahren zur automatisierten NMR-kontrollierten Titration zur systematischen Untersuchung von Protolysegleichgewichten konnte durch Kopplung an ein Bruker AVANCE DRX 500 NMR-Spektrometer konzeptionell verbessert werden. Die Verbesserung des Signal to Noise durch Nutzung eines Hochfeld-Spektrometers und eine deutliche Minimierung des Substanzbedarfs machen diese Methode nunmehr interessant für biorelevante Probleme in Pharmazie, Chemie und Medizin. Die bessere Trennung der Resonanzsignale, die durch Verwendung eines Hochfeld-Spektrometers erreicht wird, erlaubt es, auch komplexere Spinsysteme NMR-kontrolliert zu untersuchen. Mit den im Hause zur Verfügung stehenden Probenköpfen können die ^1H -, ^{13}C -, ^{19}F - und die ^{31}P -NMR-Spektroskopie zur NMR-kontrollierten Titration genutzt werden.

Die Evaluierung der Titrationsanlage mit den untersuchten Modellsubstanzen zeigt, daß das Titrationssystem den gestellten Anforderung gerecht wird. Die Untersuchung des Pharmakons Fluconazol zeigt eindrucksvoll die Stärke des Verfahrens bei der Untersuchung komplexer Protolysegleichgewichte in den Grenzbereichen des pH-Fensters. Es kann gezeigt werden, daß diese Verbindung nicht wie in der Literatur angegeben einen pK_S -Wert, sondern drei pK_S -Werte besitzt, die rein potentiometrisch nicht exakt bestimmt werden können.

Da viele Pharmazeutika in wässrigem Medium schwer oder schlecht löslich sind, macht es Sinn, diese Meßmethode trotz der zu erwartenden Schwierigkeiten bei der pH-Messung auf nichtwässrige Lösungsmittels auszuweiten. Insbesondere Methanol und Ethanol sollten hierfür bestens geeignet sein.

Konformationsanalytische Untersuchungen nach Lin führten zu folgenden Ergebnissen:

	Butansäure	2-Aminobutansäure	2-Amino-4-fluorbutansäure
Rotamer I [%]	31,7	25,2	19,7
Rotamer II [%]	36,7	29,2	24,6
Rotamer III [%]	31,7	45,6	55,7

Tabelle 96: Rotamerenverteilung der am 1. Segment untersuchten Butansäurederivate

	4-Pentensäure	2-Aminopent-4-ensäure	2-Amino-4-fluor-pent-4-ensäure
Rotamer I [%]	29,2	17,9	17,9
Rotamer II [%]	41,5	25,6	22,6
Rotamer III [%]	29,2	56,5	59,5

Tabelle 97: Rotamerenverteilung der am 1. Segment untersuchten Pentensäurederivate

Die Untersuchung zeigt, daß bei den untersuchten fluorierten Aminocarbonsäuren das Rotamer das energetisch bevorzugte darstellt, in welchem die protonierte Aminofunktion in anti-Stellung zum Rest R steht.

Die Suche nach Referenzierungssubstanzen für die Hochfeld-¹⁹F-NMR-Spektroskopie führte zu keinen Alternativen zu CCl₃.

6 Anhang und Verzeichnisse

6.1 Verwendete Chemikalien

Die in Tabelle 98 angegebenen Substanzen sollen auf Ihre Eignung hin untersucht werden, als Referenzsubstanzen für die moderne hochaufgelöste ^{19}F -NMR-Spektroskopie zu fungieren.

Name	Herkunft
Trichlorfluormethan	Fluka Chemie AG Deisenhofen, D Bestell-Nr. 91273
1,1,2,2-Tetrachlortetrafluor- cyclobutan	Apollo Scientific LTD, Whaley Bridge, UK Bestell-Nr. PC 6640
Dibromtetrafluorbenzol	Bristol Organic LTD Berkeley
1,2-Bis[3-trifluormethyl]-phenyl- 1,1,2,2]-tetrafluorethan	JRD Fluorochemicals LTD, Leatherhead, UK Bestell-Nr. 987
Trifluormethoxybenzol	Bayer AG, Leverkusen
4-Trifluormethoxyanisol	Bayer AG, Leverkusen

Tabelle 98: auf Eignung als Referenzsubstanz untersuchte Substanzen

6.2 Literatur

- [1] E. Grunwald, A. Lowenstein, S. Meiboon
Study of the Protolysis of Methylammonium Ion in Water by Proton Magnetic Resonance
Journal Of Chemical Physics, **25**, 382-383 (1956)
- [2] J. R. Wazer, D. F. Callis, J. N. Shoolery, R. C. Jones
Principles of Phosphorus Chemistry. II. Nuclear Magnetic Resonance Measurements
Journal American Chemical Society, **78**, 5715-5726 (1956)
- [3] G. Hägele
Computereinsatz bei modernen Titrationsverfahren II
GIT Fachzeitschrift Labor, **32**, 1082-1093 (1988)
- [4] M. Grzonka
Untersuchungen zur titrationsabhängigen ^{31}P -Kernresonanzspektroskopie von
Phospon- und Phosphinsäuren
Dissertation, Universität Düsseldorf 1989
- [5] G. Hägele, M. Grzonka
Computergestützte Vermessung titrationsabhängiger NMR-Spektren
Workshop "Computer in der Chemie", Software-Entwicklung in der Chemie, **3**, 181
(1989), Springer-Verlag, Berlin (Hrsg. J. Gasteiger)
- [6] G. Hägele, M. Grzonka, H.W. Kropp, J. Ollig, H. Spiegl
Phosphonic and Phosphinic Acids: Monitoring Protolytic and Complex Formation
Equilibria by Titration Dependent Stopped-Flow-NMR-Techniques.
Phosphorus, Sulfur and Silicone, **77**, 85-88 (1993)

- [7] G. Hägele
NMR-Controlled Titrations of Phosphorus-Containing Acids and Bases in Protolysis and Complex Formation
“Phosphorus-³¹P-NMR-Spectral Properties in Compound Characterization and Structural Analysis“ (Edit. L. D. Quin, J. G. Verkade) VCh, 395-408 (1994)
- [8] J. Ollig, G. Hägele
NMR-Controlled Titrations of Phosphorus-Containing Acids and Bases
Computers in Chemistry, **19**, 287-294 (1995)
- [9] G. Hägele, Z. Szakács, J. Ollig, S. Hermens, C. Pfaff
NMR-Controlled Titrations: Characterizing Aminophosphonates and Related Structures
Heteroatom Chemistry, **11**, 562-581 (2000)
- [10] J. Ollig
Untersuchungen zur titrationsabhängigen Kernresonanzspektroskopie
Dissertation, Universität Düsseldorf 1996
- [11] S. Hermens
NMR-Spektroskopisch kontrollierte Titrationen
Diplomarbeit, Universität Düsseldorf 1997
- [12] G. Hägele
Persönliche Mitteilung
- [13] S. Augner
Neue Entwicklungen zur Durchführung automatisierter NMR-kontrollierter Titratio-
nen von Phosphon- und Phosphinsäuren
Dissertation, Universität Düsseldorf 2002
- [14] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman
NMR Chemical Shifts Of Common Laboratory Solvents As Trace Impurities
Journal Of Organic Chemistry, **62**, 7512-7515 (1997)

- [15] A. L. Van Geet
Calibration Of The Methanol And Glycol Nuclear Magnetic Thermometers With A
Static Thermistor Probe
Analytical Chemistry, **40**, 2227-2229 (1968)
- [16] A. L. Van Geet
Calibration Of Methanol Nuclear Magnetic Thermometer At Low Temperature
Analytical Chemistry, **42**, 679-680 (1970)
- [17] J. Bornais, S. Brownstein
A Low-Temperature Thermometer For ^1H , ^{19}F , and ^{13}C
Journal Of Magnetic Resonance, **29**, 207-211 (1978)
- [18] H. Friebolin, G. Schilling
Eine neue Methode zur Temperaturbestimmung in Kernresonanzspektrometern
Organic Magnetic Resonance, **12**, 569-573 (1979)
- [19] C. Ammann, P. Meier, A. E. Merbach
A Simple Multinuclear NMR Thermometer
Journal Of Magnetic Resonance, **46**, 319-321 (1982)
- [20] H. Quast, M. Heubes, A. Dunger, H.-H. Limbach
A High-Precision Carbon-13 Shift Thermometer For The Temperature Range
100-300 K
Journal Of Magnetic Resonance, **134**, 236-244 (1998)
- [21] E. W. Hansen
Deuterated Methanol (99,8%) Nuclear Magnetic Resonance Thermometer
Analytical Chemistry, **57**, 2993-2994 (1985)
- [22] S. Hermens
kommende Dissertation, Universität Düsseldorf 2002
- [23] I. Reimann
unveröffentlichte Ergebnisse

- [24] C. Pfaff
kommende Dissertation, Universität Düsseldorf 2002
- [25] D. Voet, J.G. Voet
Biochemie
VCH Weinheim
1. korrigierter Nachdruck, 1994, der 1. Auflage 1992
- [26] F. Urech
Über einige Cyanderivate des Acetons
Justus Liebigs Annalen der Chemie, **164**, 255 (1872)
- [27] F. Tiemann
Darstellung von α -Amidoisobuttersäure aus dem Cyanhydrin des Acetons
Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, **14**, 1970 (1881)
- [28] U. Schöllkopf
Enantioselective Synthesis of Nonproteinogenic Amino Acids
Topics in Current Chemistry, **109**, 65-84 (1983)
- [29] U. Schöllkopf
Asymmetrische Synthese cyclischer α -Aminosäuren nach der Bislactimether-Methode
Angewandte Chemie, **99**, 137-138 (1987)
- [30] D. Seebach, A.R. Sting, M. Hoffmann
Die Selbstregeneration von Stereozentren (SRS)
Angewandte Chemie, **108**, 2880-2921 (1996)
- [31] F. Ehrlich
Über die Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe
Biochemische Zeitung, **8**, 438, (1908)

- [32] F. Björkling, J. Boutelje, S. Gatenbeck, K. Hult, T. Norin
Enzyme Catalyzed Hydrolysis of Dialkylated Propanedioic Acid Diesters
Tetrahedron Letters, **26**, 4957-4958 (1985)
- [33] R. Chinchilla, L.R.Falvello, N. Galindo, C. Najera
Asymmetrische Synthese von α -Methyl- α -Aminosäuren durch diastereoselektive
Alkylierung optisch aktiver 6-Isopropyl-3-methyl-2,3-dihydro-6H-1,4-oxazin-2-one
Angew. Chem., **109**, 1036-1039, (1997)
- [34] M.J. O'Donnell, S. Wu
A Catalytic Enantioselective Synthesis of α -Methyl Amino Acid
Tetrahedron: Asymmetry, **3**, 591-594, (1992)
- [35] J. Kamphuis, H.F.M. Hermes, J.A.M. van Balken, H.E. Schoemaker, W.H.J.
Boesten, E.M. Meijer
Chemo-enzymatic synthesis of enantiomerically pure α -H and α -alkyl α -amino acids
and derivatives
G. Lubec, G. A. Rosenthal
Amino Acids–Chemistry, Biology and Medicine
- [36] H. Brückner, M. Langer, A. Esna-Ashari, A. Labudda, Z.J. Kaminski, M. Leplawy,
R. Jöster
Enantioseparation of C ^{α} -disubstituted glycines
G. Lubec, G. A. Rosenthal
Amino Acids–Chemistry, Biology and Medicine
- [37] C. Schmeck, L.S. Hegedus
Synthesis of Optically Active 4-Substituted 2-Aminobutyrolactones and Homoseri-
nes by Combined Aldol/Photocyclization Reactions of Chromium Aminocarbene
Complexes
Journal of the American Chemical Society, **116**, 9927-9934, (1994)

- [38] J.E. Baldwin, M.G. Moloney, M. North
Non-Proteinogenic Amino Acid Synthesis: Synthesis of β,γ -Unsaturated α -Amino Acids from Aspartic Acid
Tetrahedron, **45**, 6319-6330, (1989)
- [39] D. Michel, M. Schlosser
(ω -1)-Fluoroalk-(ω -1)-enoic Acids: Potential Fungicides
Synthesis, **1996**, 1007-1011
- [40] K. Dittmer, H. L. Goering, I. Goodman, S. J. Cristol
The Inhibition of Microbiological Growth by Allylglycine, Methallylglycine and Crotylglycine
Journal of the American Chemical Society, **70**, 2499-2501, (1948)
- [41] J.T. Welch
Advances In The Preparation Of Biologically Active Organofluorine Compounds
Tetrahedron, **43**, 3123-3197 (1987)
- [42] E. Benedetti, C. Toniolo, P. Hardy, V. Barone, A. Bavoso, B. Di Blasio, P. Grimaldi, F. Lelj, V. Pavone, C. Pedone, G.M. Bonora, I. Lingham
Folded and Extended Structures of Homooligopeptides from α,α -Dialkylated Glycines. A Conformational Energy Computation and X-ray Diffraction Study
Journal of the American Chemical Society, **106**, 8146-8152, (1984)
- [43] T. Butters, P. Hütter, G. Jung, N. Pauls, H. Schmitt, G.M. Sheldrick, W. Winter
Zur Struktur des helicalen N-Terminus im Alamethicin – α -Helix oder 3_{10} -Helix?
Angewandte Chemie, **93**, 904-905, (1981)
- [44] W. Mayr, G. Jung
Die Kristallstruktur von α -(tert-Butyloxycarbonylamino)-isobuttersäure
Liebigs Annalen der Chemie, **1980**, 715-724

- [45] R. Oekonomopoulos, G. Jung
Circular Dichroism and Conformational Analysis of the Membrane-Modifying Peptide N-T-Boc-(Aib-L-Ala)₅-Gly-Ala-Aib-Pro-Ala-Aib-Aib-Glu-(OBzl)-Gln-Ome with Respect to Alamethicin
Biopolymers, **19**, 203-214, (1980)
- [46] M. Narita, M Doi, H. Sugasawa, K. Ishikawa
Syntheses and Properties of Oligo-L-leucines Containing α -Amino-isobutyric Acid Residues. The Novel Strategy for Solubility Improvement in Helical Oligopeptides Based on the Restriction of the Values of the Backbone Dihedral Angles ϕ and ψ of α -Aminoisobutyric Acid Residues
Bulletin of the Chemical Society of Japan, **58**, 1473-1479, (1985)
- [47] R.-P. Hummel, C. Toniolo, G. Jung
Konformationsübergänge zwischen enantiomeren 3_{10} -Helices
Angewandte Chemie, **99**, 1180-1182, (1987)
- [48] G. Valle, M. Crisma, C. Toniolo, R. Beisswenger, A. Rieker, G. Jung
First Observation of a Helical Peptide Containing a Chiral Residue without a Preferred Screw Sense
Journal of the American Chemical Society, **111**, 6828-6833, (1989)
- [49] P. Wipf, H. Heimgartner
Konformationsanalysen von Modell-Tripeptiden: Der Einfluß von α,α -disubstituierten α -Aminosäuren auf die Sekundärstruktur
Helvetica Chimica Acta, **71**, 258-273, (1988)
- [50] V. Barone, F. Fraternali, P.L.Cristinziano, F. Lejl, A. Rosa
Conformational Behaviour of α,α -Dialkylated Peptides: Ab Initio and Empirical Results for Cyclopropylglycine
Biopolymers, **27**, 1673-1685 (1988)

- [51] J. S. Taylor, C. Deutsch
Fluorinated α -Methylamino Acids as ^{19}F -NMR Indicators of intracellular pH
Biophysical Journal, **43**, 261-267 (1983)
- [52] F. A. Davis, G. Venkat Reddy, M. Bental, C. J. Deutsch
Synthesis of Methyl 2-(Fluoromethyl)-3-Fluoroalanine
Synthesis, **1994**, 701-702
- [53] G. Haufe, S. Kröger
Syntheses of γ -Fluoro α -amino Acids
Amino Acids, **11**, 409-424 (1996)
- [54] G. Haufe, S. Kröger
Synthesis of some racemic γ -Fluoro α -amino Acids
Amino Acids, **12**, 363-372 (1997)
- [55] G. Alvernhe, A. Laurent, G. Haufe
Triethylamine Tris-hydrofluoride $[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}\cdot 3\text{HF}]$: A Highly Versatile Source of Fluoride Ion for the Halofluorination of Alkenes
Synthesis, **1987**, 562-564
- [56] G. Haufe, K.W. Laue, M.U. Triller
Synthesis of γ -Fluoro α -methyl α -amino Acids – A New Alkylation Procedure for Ester Imines
Tetrahedron, **54**, 5929-5938 (1998)
- [57] K.W. Laue, G. Haufe
3-Bromo-2-fluorpropene – A Fluorinated Building Block. 2-Fluorallylation of Glycine and Alanine Ester Imines
Synthesis, **1998**, 1453-1456
- [58] K.W. Laue, C. Mück-Lichtenfeld, G. Haufe
Enantioselective Syntheses of 2-Amino-4-fluoropent-4-enoic Acids. Isosteres of Asparagine
Tetrahedron, **55**, 10413-10424 (1999)

- [59] K.W. Laue, S. Kröger, E. Wegelius, G. Haufe
Stereoselective Synthesis of γ -Fluorinated α -Amino Acids Using 2-Hydroxy-3-pinanone as an Auxiliary
European Journal of Organic Chemistry, **2000**, 3737-3743
- [60] G. Resnati
Synthesis of Chiral and Bioactive Fluoroorganic Compounds
Tetrahedron, **49**, 9385-9445 (1993)
- [61] J. D. Dunitz, R. Taylor
Organic Fluorine Hardly Ever Accepts Hydrogen Bonds
Chemistry A European Journal, **3**, 89-98 (1997)
- [62] M. Gerstenberger, A. Haas
Fluorierungsmethoden in der Organischen Chemie
Angewandte Chemie, **93**, 659-680 (1981)
- [63] J. March
Advanced Organic Chemistry – Reactions, Mechanisms, and Structure
J. Wiley & Sons, NY 3rd edition 1985
- [64] D. Seebach
Organische Synthese – wohin?
Angewandte Chemie, **102**, 1363-1409 (1990)
- [65] M. Schlosser
Introduction of Fluorine into Organic Molecules: Why and How
Tetrahedron, **34**, 3-17 (1978)
- [66] P. Sipos, I. Bódi, P. M. May, G. T. Hefter
The Ionic Product of Water in Concentrated Tetramethylammonium chloride Solutions
Talanta, **44**, 617-620 (1997)

- [67] A. Albert, I. Serjeant
Ionization Constants Of Acids And Bases
Chapman And Hall. New York, 3rd Ed., (1984)
- [68] M. I. Bruce
Fluorine-19 Nuclear Magnetic Resonance Studies On Some Polyfluoroaromatic
Compounds And Their Metal Complexes
Journal Chemical Society (A), 1459-1465 (1968)
- [69] V. Wray, L. Ernst, E. Lustig
The Complete ¹³C, ¹⁹F, and ¹H Spectral Analysis of the Fluorobenzenes C₆H_nF_{6-n}
Journal Of Magnetic Resonance, **27**, 1-21 (1977)
- [70] W. Nowacki, H. Jaggi
Die Kristallstruktur der Phthalsäure, C₆H₄(COOH)₂
Zeitschrift für Kristallographie, **109**, 272-283 (1957)
- [71] O. Ermer
Ungewöhnliches Strukturmerkmal kristalliner Phthalsäure
Helvetica Chimica Acta, **64**, 1902-1909 (1981)
- [72] D. S. Sake Gowda, R. Rudman
Tetrafluorophthalic Acid (TFAC), C₈H₂F₄O₄
Acta Crystallographica, **C 39**, 250-253 (1983)
- [73] W. Gonschorek, H. Küppers
The Crystal Structure of Lithium Hydrogen Phthalate Dihydrate,
Containing a Very Short Hydrogen Bond
Acta Crystallographica, **B 31**, 1068-1072 (1975)
- [74] S. M. Jessen
Structure of Tetramethylammonium Hydrogen Phthalate
Acta Crystallographica, **C 46**, 1513-1515 (1990)

- [75] U. Holzgrabe, I. Wawer, B. Diehl
NMR Spectroscopy in Drug Development and Analysis
Wiley-VCH, 1st Ed., 61-76 (1999)
- [76] E. Inkmann, U. Holzgrabe
¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Studies of the Sites of Protonation in Itraconazole and Fluconazole
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, **20**, 297-307 (1999)
- [77] Bruchhausen, Dannhardt, Ebel, Frahm, Hackenthal, Holzgrabe (Hrsg.)
Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis
Springer Verlag, 5. Auflage, Band 8, 224-225 (1993)
- [78] McEvoy
AHFS Drug Information 1999
American Society of Health-System Pharmacists
Bethesda, MD, 94-105 (1999)
- [79] B. Barszcz, M. Gabryszewski, J. Kulig, B. Lenarcik
Potentiometric Studies of Silver(I) in Solutions. Part 2
Journal Chemical Society Dalton Trans., 2025-2028 (1986)
- [80] S. L. Manatt, M. A. Cooper
Fluorine-19 NMR-Studies of Fluoroaromatic Systems with Complete Proton Decoupling. The Signs and Magnitudes of Certain F-F and ¹³C-F Spin-Spin Couplings
Journal of the American Chemical Society, **99**, 4561-4563 (1977)
- [81] M. Karplus
Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments
Journal Of Chemical Physics, **30**, 11-15 (1959)
- [82] M. Karplus
Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance
Journal American Chemical Society, **85**, 2870-2871 (1963)

- [83] K. G. R. Pachler
Extended Hückel Theory MO Calculations of Proton-Proton Couplings in mono-substituted Ethanes
Tetrahedron, **27**, 187-199 (1971)
- [84] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De Leeuw and C. Altona
The Relationship Between Proton-Proton NMR Coupling Constants And Substituent Electronegativities-1
Tetrahedron, **36**, 2783-2792 (1980)
- [85] C. Altona et al.
IV – An extended Karplus Equation Accounting for Interactions Between Substituents and its Application to Coupling Constant Data Calculated by the Extended Hückel Method
Magnetic Resonance In Chemistry, **27**, 556-563 (1989)
- [86] C. Altona et al.
V – Empirical Substituent Constants Deduced from Ethanes and Propanes Hückel Method
Magnetic Resonance In Chemistry, **27**, 564-576 (1989)
- [87] C. Altona et al.
Empirical Group Elektronegativities for Vicinal NMR Proton-Proton Couplings Along a C–C Bond: Solvent Effects and Reparameterization of the Haasnoot Equation
Magnetic Resonance In Chemistry, **32**, 670-678 (1994)
- [88] R. J. Abraham et al.
Part 26 – An Objective Method for Determining Conformer Populations and Coupling Constants in NMR Spectroscopy
Magnetic Resonance In Chemistry, **34**, 71-77 (1996)

- [89] M. Engelhardt
Neuere Entwicklungen zur Analyse von Molekülstrukturen durch kernresonanzspektroskopische Methoden
Dissertation, Universität Düsseldorf 1986
- [90] W. Lin
Dependence Of Vicinal H-H Coupling Parameters In A_2B_2 PMR Spectra Of 1,2-Disubstituted Ethanes On Potential Barrier To Internal Rotation
Journal Of Chemical Physics, **50**, 1890-1891 (1969)
- [91] W. Lin
Dependence Of Vicinal H-H Coupling Constants In Substituted Ethanes On Potential Function Characteristics To Internal Rotation. Application To A_2B_2 PMR Spectrum Of Nonsymmetrical 1,2-Disubstituted Ethanes
Journal Of Chemical Physics, **52**, 2805-2814 (1970)
- [92] W. Lin
Dependence Of Vicinal H-H Coupling Constants In Substituted Ethanes On Potential Function Characteristics To Internal Rotation. Application To ABX PMR Spectrum Of 1,1,2-Trisubstituted Ethanes Of The Type XCH_2-CHXY
Journal Of Chemical Physics, **58**, 4971-4981 (1973)
- [93] V. Tabacik
Analyse Conformationnelle Par R.M.N.I. J^{vic} De Systemes Ethanique A Rotation Interne Libre
Tetrahedron Letters, **5**, 555-559 (1968)
- [94] V. Tabacik
Analyse Conformationnelle Par R.M.N.I. J^{vic} De Systemes Ethanique A Rotation Interne Empechee
Tetrahedron Letters, **5**, 561-564 (1968)

- [95] H. Dolhaine
Kernresonanzspektroskopische Untersuchungen an substituierten Phosphonsäure-
estern
Dissertation, Universität Düsseldorf 1977
- [96] W. D. Gwinn, K. S. Pitzer
Gas Heat Capacity And Internal Rotation In 1,2-Dichlorethane And
1,2 Dibromethane
Journal Of Chemical Physics, **16**, 303-309 (1948)
- [97] E. B. Wilson
The Problem Of Barriers to Internal Rotation In Molecules
Advances In Chemical Physic, **2**, 367-393 (1959)
- [98] C. Uhlemann
Analytische und Kernresonanzspektroskopische Untersuchungen an fluorierten Ami-
nosäuren
Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 1999
- [99] Z. Szakacs
unveröffentlichte Ergebnisse
- [100] Bruker Biospin Almanac 2002
Bruker Biospin GmbH
Rheinstetten / Karlsruhe
- [101] S. Berger, S. Braun, H.-O. Kalinowski
NMR-Spektroskopie von Nichtmetallen, Band 4 ¹⁹F-NMR-Spektroskopie
1. Auflage, Georg Thieme Verlag , 1994
- [102] J. W. Emsley, L. Phillips
Progress NMR Spectroscopy, **7**, 1-19 (1971)

- [103] H. Kleindienst
Mathematische Methoden in der Chemie I und II
Skript zur Vorlesung, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 1990
- [104] G. Filipovich, G. V. D. Tiers
Fluorine N. S. R. Spectroscopy Reliable Shielding Values, ϕ , By Use Of CCl_3F As
Solvent And Internal Reference
Journal Of Physical Chemistry, **63**, 761-763 (1959)
- [105] P. R. Carey, H. W. Kroto, M. A. Turpin
Chlorine Isotope Effects On The ^{19}F Resonance And The Use Of This Signal As A
Reference In High-resolution Nuclear Magnetic Resonance
Chemical Society Chemical Communications, 188 (1969)
- [106] A. F. Hollemann, E. Wiberg, N. Wiberg
Lehrbuch der Anorganischen Chemie
91.-100.Auflage, Walter de Gruyter, 1985
- [107] H. Batiz-Hernandez, R. A. Bernheim
Progress NMR Spectroscopy, **3**, 63-85 (1967)
- [108] T. Schaefer, G. H. Penner, R. Sebastian, J. Peeling, C. Beaulieu
Long-range ^1H , ^{19}F and ^{13}C , ^{19}F coupling constants and molecular orbital computati-
ons as indicators of internal motion in $\text{C}_6\text{H}_5\text{OCF}_3$ and its 4-fluoro derivative
Canadian Journal Of Chemistry, **69**, 1047-1053 (1991)

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit selbständig verfasst wurde und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet wurden. Zitate wurden deutlich gekennzeichnet.

Die Daten der Titrations und Messungen, sowie alle Grafiken wurden auf CD-ROM gesichert und dem Arbeitsgruppenleiter übergeben.

Düsseldorf, den 15. Mai 2002

Carsten Eric Uhlemann

bestätigt:

Prof. Dr. Gerhard Hägele