

Spektroskopisk analyse

- løsning af et strukturelt puslespil

Af civilingeniør Christian Rank, civilingeniør Katrine Eriksen og lektor Charlotte Held Gotfredsen

I naturen og i laboratorier verden over findes og fremstilles utallige kemiske stoffer, det kan være store molekyler, f.eks. proteiner, eller helt små molekyler, alle med meget forskellig struktur og funktion. Forskerne søger øget viden om de kemiske og biologiske stoffers funktion og sammensætning herunder den tredimensionale struktur, så man kan se, hvordan de forskellige dele af molekylet sidder i forhold til hinanden. Undersøgelserne er på mange måder som at samle et puslespil, hvor man skal sætte brikkerne rigtigt sammen. Forskellen er, at med et puslespil, ved man, hvordan det endelige resultat skal se ud, hvorimod slutresultatet er ukendt, når man bestemmer kemiske strukturer. Man kan have en idé om en mulig sammensætning, og det at opklare den ukendte struktur er målet for en spektroskopiske analyse.

Spektroskopiske teknikker

Flere analytiske og spektroskopiske teknikker kan bidrage til at finde den kemiske struktur af et givet kemisk stof på det molekulære niveau. Blandt disse analytiske teknikker kan nævnes massespektrometri (MS), infrarød spektroskopi (IR), ultraviolet spektroskopi (UV), røntgenkystallografi og kernemagnetisk resonans (nuclear magnetic resonance NMR). Der er forskel på mængden af information, man får fra de respektive teknikker, og det er derfor ofte en fordel at kombinere teknikkerne alt efter, hvilket strukturelt problem man øn-

sker at løse. Der gives her et par eksempler på, hvordan man kan kombinere informationerne fra nogle af de ovennævnte teknikker.

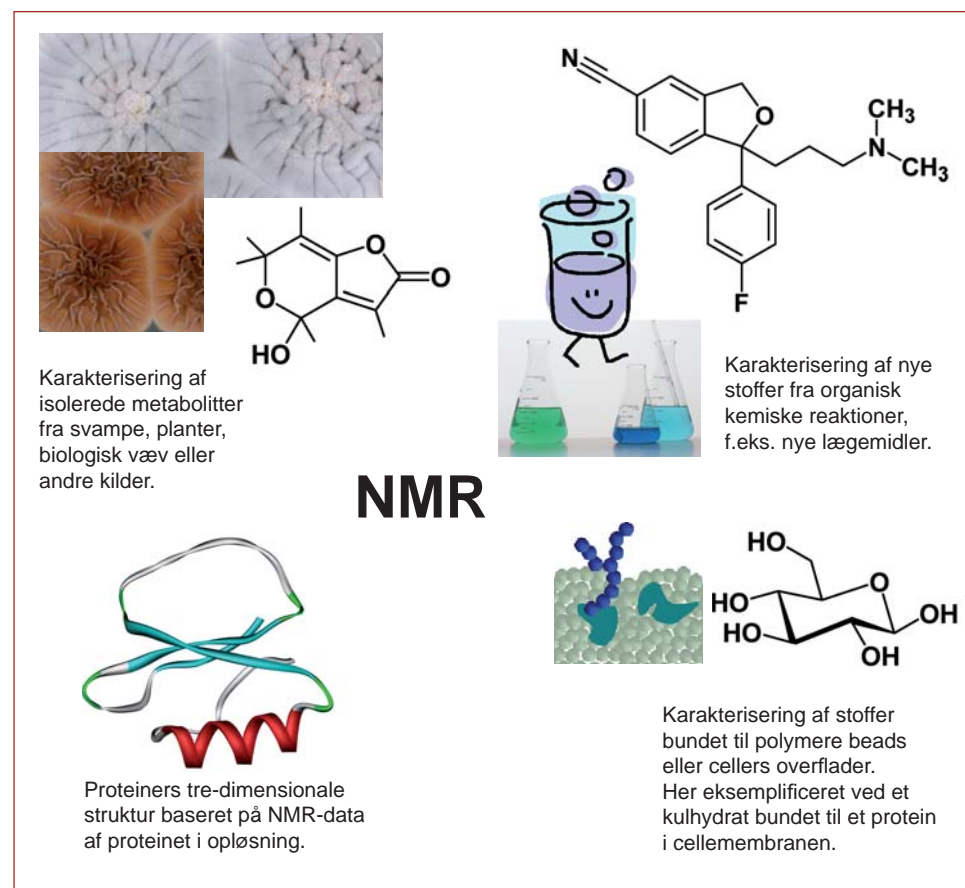
Det er lettere at gennemskue antallet af hydrogen- eller carbonatomer, der kan ses i et NMR-spektrum, hvis man på forhånd kender det ukendte stofs molekylformel. Molekylformlen fortæller, hvilke atomer der er i molekylet samt antallet af disse. Molekylformlen kan man blandt andet finde ud fra en nøjagtig massebestemmelse vha. massespektrometri.

Massespektrometri kan give mange andre typer af information, og det er en meget anvendt teknik både i industrien, i sundhedssektoren samt på universiteterne. Massespektrometri er også en meget følsom analyseteknik – hvilket vil sige, at teknikken kun kræver en meget lille stofmængde.

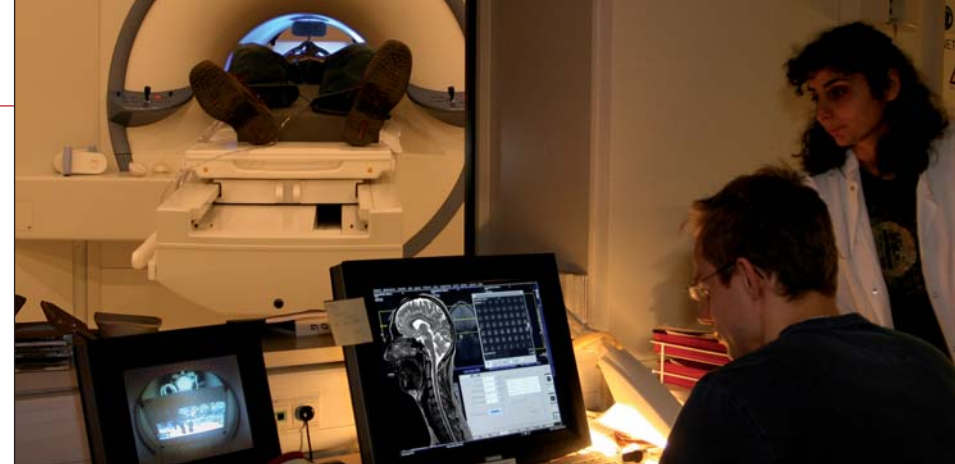
IR-spektroskopi er en god ekstra hjælp til at genkende funktionelle grupper, der ikke nødvendigvis viser sig tydeligt i NMR-spektret. En alkoholgruppe (-OH) kan eksempelvis ligge flere forskellige steder i et proton NMR-spektrum, mens den er nem at genkende i et IR-spektrum.

NMR-spektroskopi – en teknik med mange anvendelser

I det følgende vil vi fokusere på én teknik, nemlig NMR-spektroskopi. NMR er en af de spektroskopiske metoder, der giver mest strukturel information, og den har et meget bredt anvendelsesområde (figur 1 og 2). NMR-spektroskopi anvendes således både til at studere strukturen af store molekyler som proteiner, til at se på faste stoffers sammensætning samt til studier af mindre molekyler, enten fremstillet i en kemisk reaktion eller isoleret fra en biologisk kilde.



Figur 1. Forskellige områder hvor NMR-spektroskopi bruges til strukturoptælling af både store protein strukturer, biologisk vigtige carbonhydrater bundet til celleoverflader, små metabolitter og nye lægemidler.



Figur 2. MRI, den medicinske variant MR-skanning. På computerskærmen ses et MR-billede af et hoved med en del af rygsøjlen. På DR's hjemmeside kan man se et program fra udsendelsen "Viden om", der blandt andet viser, hvordan der forskes i brugen af MR-skanning i hjerneoperationer.

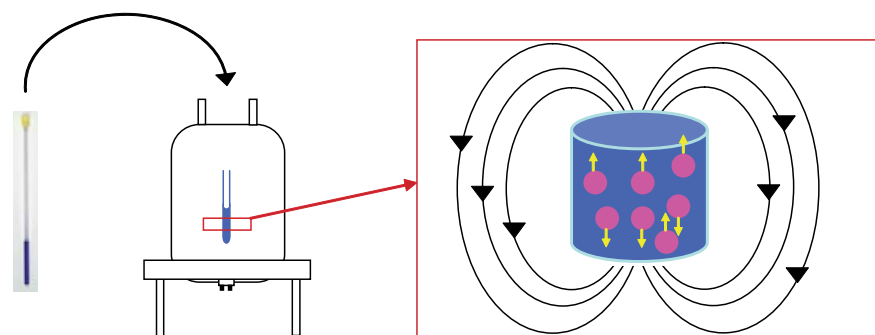
NMR-spektroskopi anvendes også i den medicinske verden, hvor teknikken går under navnet Magnetic Resonance Imaging (MRI) eller MR-skanning, og bruges blandt andet til at danne billeder af forskellige dele af kroppen. Disse billeder ses ofte i en gråtonet skala, hvor det er protontætheden, som i menneskekroppen normalt svarer til mængden af vand (H₂O), der giver kontrasterne i billederne.

Teorien bag NMR

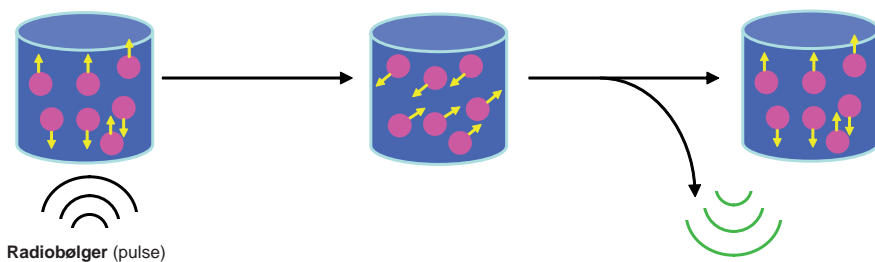
NMR blev opdaget i USA i 1945 af Bloch og Purcell, som fik nobelprisen i fysik i 1952, og siden er der givet flere Nobelpriser i forskningsområder, hvor NMR og MRI har været inddraget (<http://nobelprize.org>). Spektroskopi er generelt relateret til interaktionerne mellem elektromagnetisk stråling og stof. Hvordan et stof påvirkes, afhænger således af bølgelængden og frekvensen af de stråler, som man påvirker stoffet med. Ikke alle atomkerner kan ses i et NMR-spektrum, kun dem som har et magnetisk moment (også kaldet et spin). I praksis er dette en egenskab knyttet til hver enkelt atomkerne i det periodiske system og deres isotoper. Således viser det sig, at ¹H og ¹³C er de mest brugbare NMR-kerner til studier af små organiske forbindelser. Desværre er den mest

almindelige carbonisotop ¹²C ikke en NMR-aktiv kerne, men det er derimod den langt mere sjældne ¹³C carbonisotop (kun cirka 1.1 % af al carbon findes i form af ¹³C). Disse kerner, som besidder et magnetisk moment, vil, når de placeres i et magnetfelt, opføre sig som små magneter og rette sig enten med eller mod det magnetfelt, de placeres i. I det følgende bruges protoner (¹H-kerner) som eksempel. Hvis man ser det hele i et makroskopisk perspektiv, vil der være flere protoner i den lave energitilstand end i den høje energitilstand (se mere om NMR-teori i efterfølgende boks). Med en elektromagnetisk bølge af den rette frekvens kan man "skubbe" en proton op i den høje energitilstand, også betegnet at excitere den. Der vil den ikke blive, men hurtigt vende tilbage til den lave energitilstand, så systemet atter kommer i ligevægt. Ved denne proces udsendes igen en elektromagnetisk bølge. Denne bølge har en frekvens karakteristisk for den givne proton, og det er dette, der giver anledning til signaler i NMR-spektret. Den nøjagtige frekvens af disse elektromagnetiske bølger afhænger af, hvor kraftigt magnetfeltet er, hvilken kerne der observeres (¹H, ¹³C eller andre) samt den pågældende kernes kemiske omgivelser.

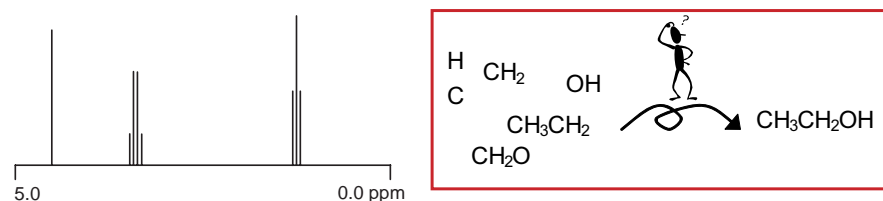
Hvordan optages et NMR-spektrum?



I NMR-spektroskopi placeres stofprøven i et kraftigt homogent magnetfelt. Stofprøven findes opløst i en væske i et glasrør (f.eks. 5 mm i diameter). Protonerne i et givet stof vil, når prøven placeret i et magnetfelt, delvis rette sig enten mod eller med det magnetiske felt.



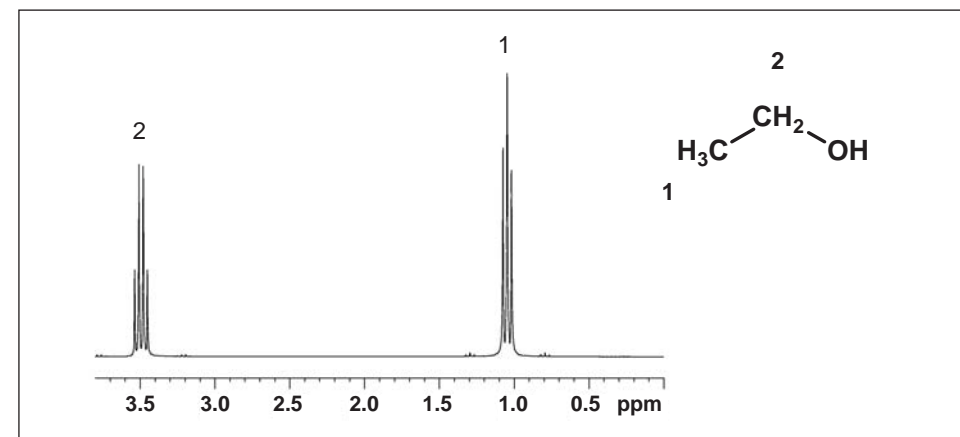
Man kan her forstyrre ligevægtsmagnetiseringen, dvs. excitere nogle spin til det højere energiniveau ved at bestråle det med elektromagnetiske bølger af radiofrekvensområdet. Efter excitationspulsen vil ligevægten blive genoprettet ved at udsende elektromagnetiske bølger med de frekvenser, som gav excitation, og disse registreres og lagres. Data behandles i en computer, og det endelige NMR-spektrum bliver genereret.



Ud fra signalernes placering og andre karakteristika står forskerne nu tilbage med et stort puslespil, hvor de skal finde ud af, hvilke atomer der er i stoffet, og hvordan den kemiske struktur ser ud.

I dag kan man få NMR-magneter med en magnetisk feltskyrke (Bo) på mellem 4.7 Tesla og 21.14 Tesla, hvor Tesla (T) er en enhed. Det er udbredt praksis at angive spektrometrens styrke som frekvensen af de radiobølger, man bestråler ¹H med for at excitere dem. Det vil

sige, at et system med en 4.7 Tesla magnet er et 200 MHz-spektrometer, og et system med en 21.14 Tesla magnet et 900MHz-spektrometer. Til sammenligning er magnetfeltet i en 21.14 Tesla magnet 400.000 gange stærkere end Jordens magnetfelt!



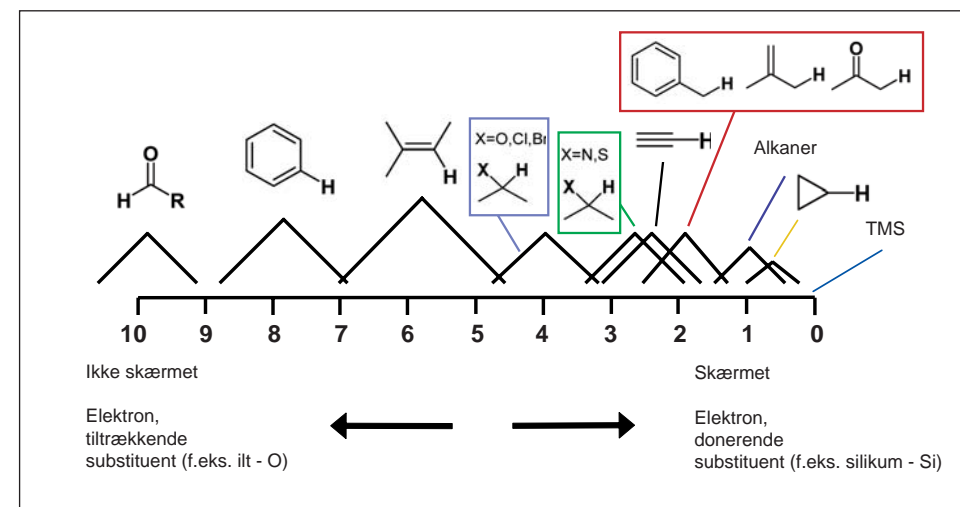
Figur 3. ¹H NMR-spektrum af ethanol.

Fortolkning af et ¹H NMR-spektrum

Men hvordan ser et NMR-spektrum egentlig ud? Figur 3 viser et typisk ¹H NMR-spektrum af det lille molekyle ethanol. Umiddelbart ser man en række toppe fordelt langs en akse. Skalaen under akse er en relativ skala, kaldet ppm-skalaen. De enkelte protoners placering langs skalaen er afhængig af deres resonansfrekvens.

Kort fortalt er det sådan, at protonernes resonansfrekvens og dermed deres placering i

spektret er afhængig af de kemiske omgivelser, som de befinder sig i. Sidder protonen for eksempel på en elektrontiltrækkende gruppe, f.eks. en aromatisk ring, vil protonens signal komme ved en relativt høj ppm-værdi. Hvis der derimod sidder en elektrondonerende gruppe, som eksempelvis en methyl-gruppe, vil protonens signal komme ved en lavere ppm-værdi. Dette ses i spektret af ethanol, hvor signalet ved 3,50 ppm stammer fra CH₂-gruppen (2), som er nabo til en CH₃ og en OH (elektrontiltrækkende), hvorimod CH₃-gruppen (1) kun sidder nabo til en CH₂-gruppe og derfor lig-



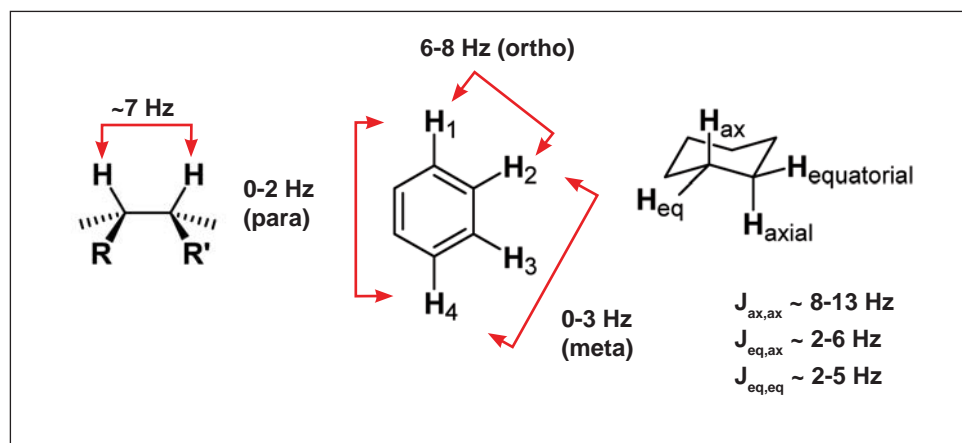
Figur 4. ¹H kemisk skift (δ) oversigt som viser, hvordan protoner i forskellige kemiske strukturer har forskellige kemiske skift. Det kemiske skift fortæller noget om de kemiske omgivelser, som en given proton befinder sig i.

ger ved en lavere ppm-værdi. Positionen for en given proton på skalaen kaldes også for protonens kemiske skift. Kemisk skift-værdien for en given proton fortæller noget om, hvilke kemiske omgivelser protonen sidder i. Der findes en del tabeller over kemiske skift som kan give en idé om de kemiske omgivelser for en given proton. En simpel oversigt er vist i figur 4.

Pascals trekant						
	1			singlet		
	1	1		duplet		
	1	2	1	triplet		
	1	3	3	1	kvartet	
	1	4	6	4	1	pentet

Figur 5. Pascals trekant

Protonspektret kan også give andre typer af strukturel information. Man kan integrere arealet under et signal og finde ud af, hvor mange ækvivalente protoner der giver resonans ved denne frekvens. Integralet over en top ses ofte som en kurve hen over toppen eller som et tal under ppm-aksen.

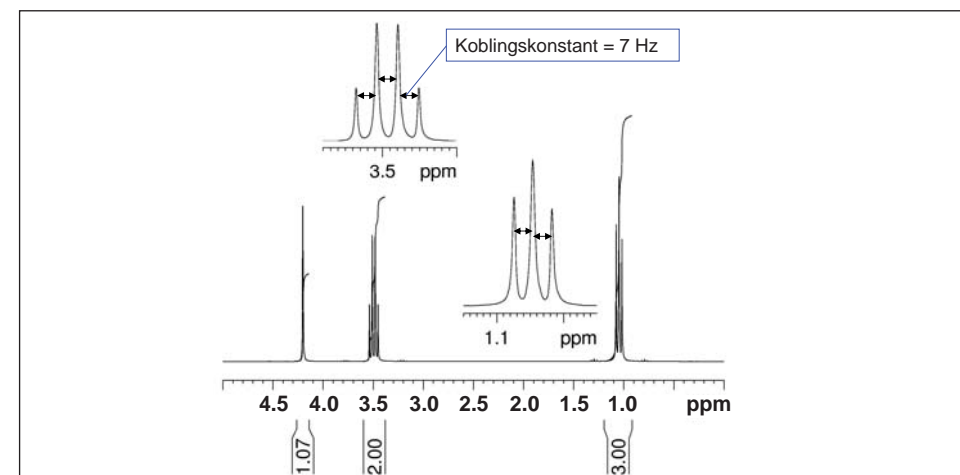


Figur 6. Typiske ^1H - ^1H -koblingskonstanter (J) som angives i Hz.

Hvert signal i protonspektret består ikke kun af en top, men ofte af flere som har forskellig intensitet. Antallet af toppe i et signal kalder man multipliciteten. Antallet fortæller noget om, hvor mange ækvivalente naboprotoner en given proton har. Reglen siger, at antallet af ækvivalente naboprotoner er lig antal toppe i multiplotten (n) minus 1 ($n-1$). Intensiteten af toppene i en multiplet følger intensiteterne, som givet i Pascals trekant (figur 5).

Man kan måle afstanden mellem toppene, og denne afstand angives normalt i Hz. I NMR-spektroskopi kaldes denne afstand også for koblingskonstanten (symboliseret med J). Størrelsen af koblingskonstanten J afhænger af vinklerne mellem de enkelte protoner, og hvordan de sidder i en given struktur. Som med de kemiske skift findes også her forskellige tabellerede værdier for størrelsen af koblingskonstanter i simple organiske forbindelser. Et par eksempler er givet i figur 6.

Al information fra spektret kan samles i en tabel og sammensættes til en endelig struktur. At samle den endelige struktur, er ligesom at samle et puslespil, hvor alle brikker skal passe sammen, før man har slutproduktet, som her er den endelige struktur.



Figur 7. 250 MHz ^1H -NMR spektrum af ethanol. Pilene mellem toppene angiver, hvor koblingskonstanten J kan aflæses. Koblingskonstanten J angives normalt i Hz. Arealet er angivet neden under hver top.

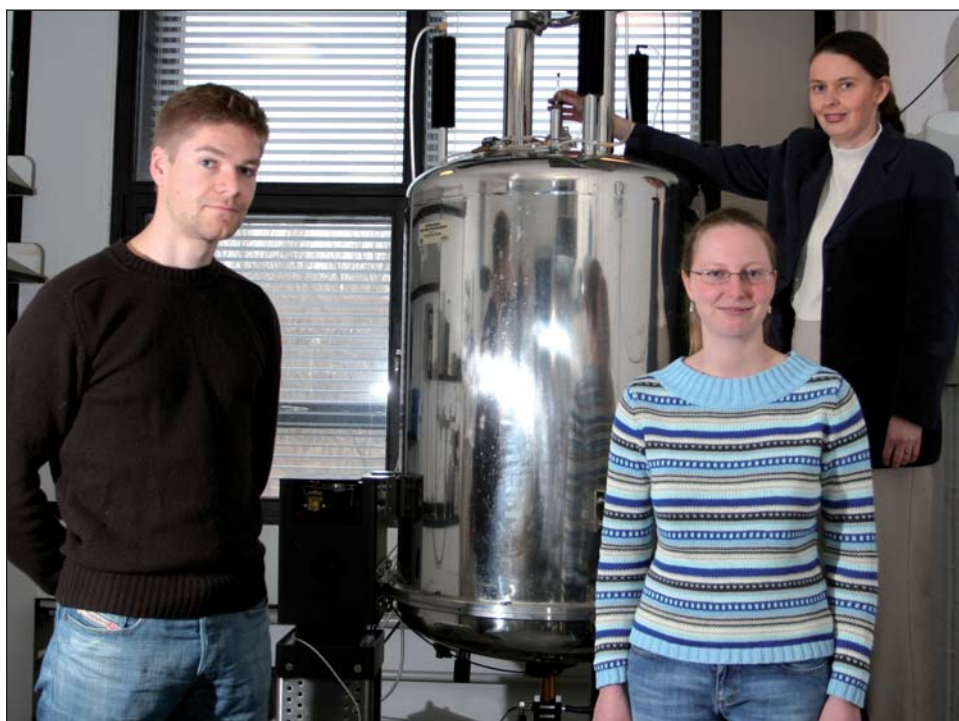
Ethanol har den kemiske formel $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ og har altså tre sæt af ækvivalente protoner, hvis man husker på, at der er fri drejelighed omkring C-C-bindingen i molekylet. Ud fra figur 7 kan man se, at hvis et H på et C er nabo til et elektronegativt atom, vil det give en top ved en højere ppm-værdi, end hvis det lå ved siden af et andet C. Sammenholdt med at integralet skal give en værdi for antallet af protoner i en given top, gør dette os i stand til at identificere hvilken top, der kommer fra hvilken gruppe: CH_3 -gruppen har den laveste ppm-værdi (1.05 ppm), CH_2 -gruppen giver et signal ved 3.5 ppm og OH-gruppen giver et signal ved 4.2 ppm. At dette er den rigtige tilordning af grupperne til resonanserne i spektret, kan bekræftes ved at se på multipliciteten. CH_3 -gruppen er en triplet, hvilket vil sige, at den som nabo har to ækvivalente protoner ($n-1 = 3-1 = 2$). Ligeledes ses det, at CH_2 -gruppen giver en kvartet, da den har tre ækvivalente protoner som nabo, altså CH_3 -gruppen. Men CH_2 -gruppen sidder også ved siden af en OH-gruppe, hvor der er en proton. Hvorfor ses ingen kobling til den? Det ser man også nogle gange, mens der i andre tilfælde slet ikke ses signaler fra OH-protonen i spektret. Om vi ser toppe fra protoner, der er

Tabel 1.				
δ (ppm)	Areal	Multiplicitet/ J (Hz)	Identifikation	Nabo
1.05	3	Triplet / 7 Hz	CH_3	CH_2
3.50	2	Dublet / 7 Hz	CH_2	CH_3 + elektro negativt atom
4.20	1	Singlet	OH	

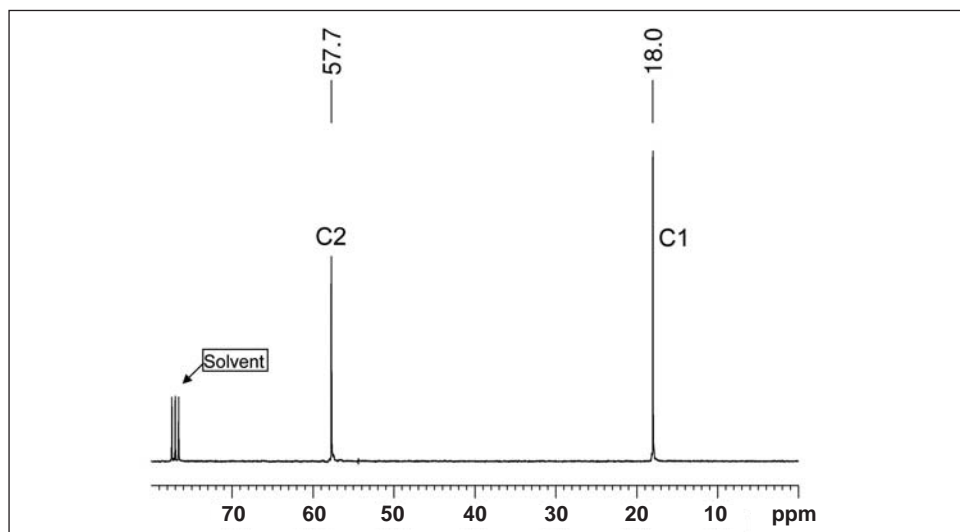
bundet til ilt eller nitrogen, afhænger af mange ting. Der vises nogle flere eksempler senere, så her accepteres blot, at den ikke kobler til CH_2 -gruppen i ethanol i dette spektrum.

Et ^{13}C -spektrum

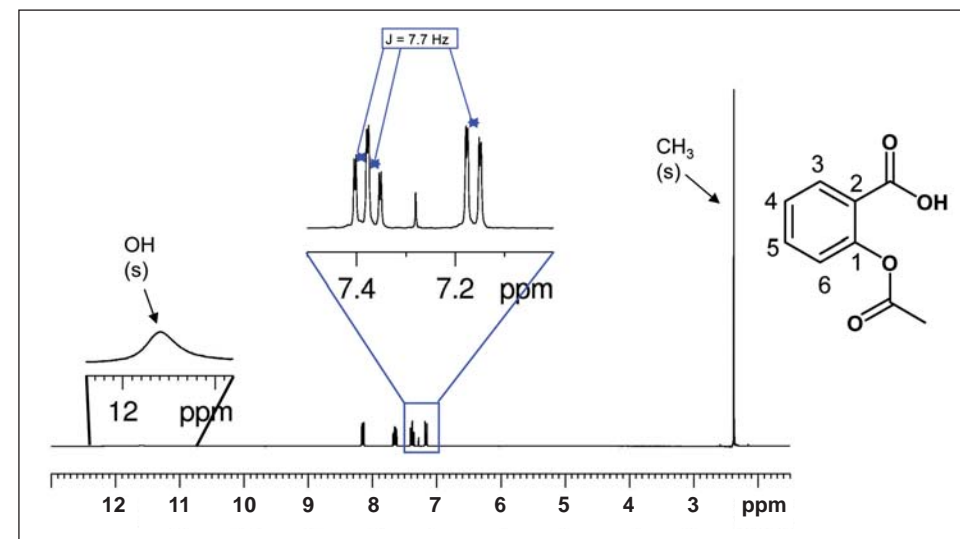
Et andet spektrum, som man ofte bruger til at se på organiske forbindelser, er et ^{13}C -spektrum. Et sådant spektrum for ethanol er vist i figur 8. Det spektrum man oftest optager, indeholder kun singlet toppe, én for hvert ikke-ækvivalent carbon-atom i molekylet. Her er det igen deres placering på den vandrette akse (kemisk skift-aksen), der fortæller noget om de kemiske omgivelser, som et givet carbonatom sidder i. Der er tabeller, som angiver typiske kemiske skift for et carbon-atom i bestemte kemiske omgivelser.



Kapitlets forfattere, fra venstre civilingeniør Christian Rank, civilingeniør Katrine Eriksen og lektor Charlotte Held Gotfredsen.



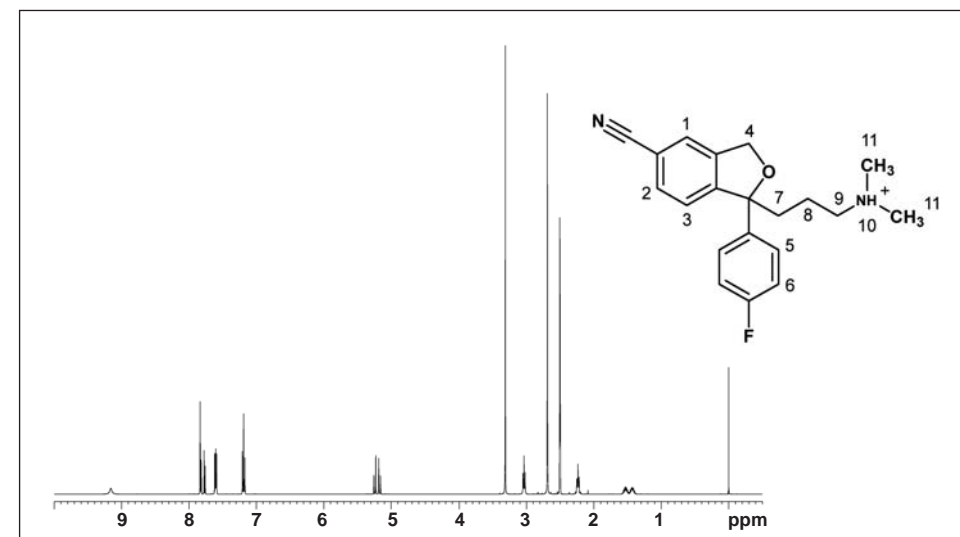
Figur 8. ^{13}C -spektrum af ethanol. Her har man undertrykt koblingen mellem ^{13}C og ^1H . Ethanol har to forskellige ikke-ækvivalente carbon-atomer. Det ene er nabo til et iltatom (O) og vil have en højere ppm-værdi end det carbon-atom, som kun er nabo til et andet carbon-atom.



Figur 9. 300 MHz ^1H NMR-spektrum af acetylsalicylsyre.

Som nævnt kan man bruge NMR-spektroskopi til at løse flere forskellige problemer. Dette demonstreres i de følgende eksempler. I medicinalindustrien og i mange organisk-kemiske laboratorier anvendes NMR til at se, hvorvidt man har fået det rigtige stof syntetiseret. Et

sådant stof kunne måske være et nyt lægemiddel, hvor det er helt afgørende at kende den helt nøjagtige kemiske sammensætning samt de forskellige grupperes specifikke struktur.



Figur 10. Citalopram-spektrum (leveret af H. Lundbeck A/S). Spektret viser, hvordan signaler fra de forskellige protoner fordeler sig i spektret med de aromatiske signaler ved de højeste ppm-værdier og de alifatiske signaler ved de laveste.

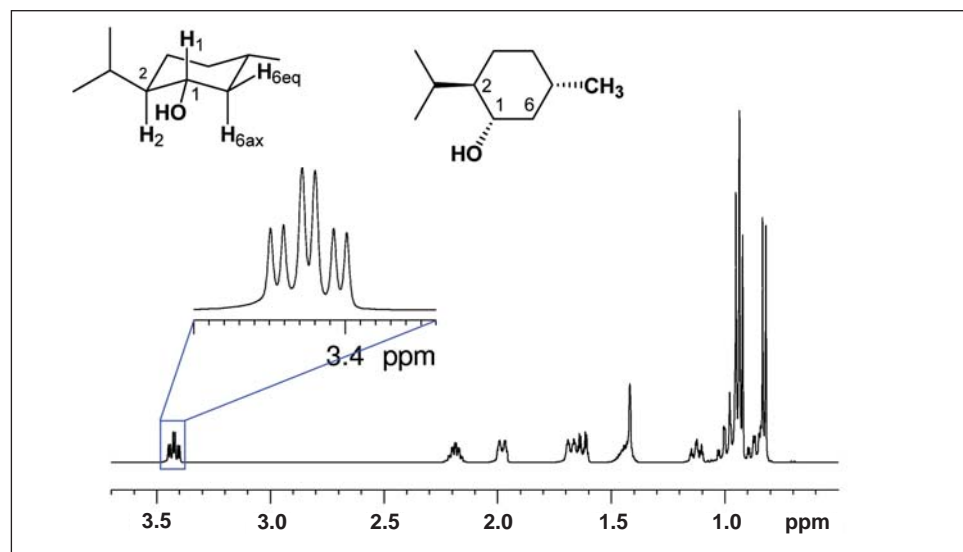
Acetylsalicylsyre – aktivstoffet i Aspirin®

Acetylsalicylsyre er et lille organisk molekyle med karakteristiske kemiske skift for de forskellige protoner, og det er den aktive bestanddel i flere hovedpinepiller (se kapitlet ”Kemisk design af lægemidler”). I spektret på figur 9 på foregående side ses et bredt signal ved 11.6 ppm fra protonen på carboxylsyren COOH, som man normalt ser over 10 ppm. CH₃-gruppen i acetyl-gruppen har et signal ved 2.4 ppm, som er en singlet, da der ikke er nogle protoner på nabo-carboxylgruppen. I den aromatiske ring er der fire protoner, som alle har signal ved forskellige kemiske skift over 7 ppm. Af multipliciteten af de enkelte signaler ses, at signalet ved 8.2 ppm er en dublet, 7.6 ppm er en triplet, 7.3 ppm er en triplet og 7.15 ppm er en dublet. Ved måling af størrelsen af koblingskonstanten i hver af multipletterne, ses, at de næsten alle er ens og kan måles som vist på figuren til 7.7 Hz. Dette passer med størrelsen af en ortho-kobling (figur 6). Hvis man ser på strukturen, vil H3 og H6 give hver sin dub-

let, da de hver kun har en proton, som sidder ortho til dem, og H4 og H5 vil give hver en triplet, da de har to protoner ortho til sig.

Citalopram – det aktive stof i Cipramil®

Et eksempel på, at mange spektre af lægemidler er komplicerede at løse, er ¹H-NMR-spektrret af Citalopram, det aktive stof i lægemidlet Cipramil vist. Cipramil forhandles som antidepressivt middel, og det er udviklet af det danske medicinalfirma Lundbeck A/S (Figur 10 samt kapitlet ”Kemisk design af lægemidler”). Som det ses, er der mange flere forskellige toppe i dette spektrum, og nogle af dem overlapper delvis med hinanden. Man kan dog umiddelbart tilordne toppene ved 3.05 ppm som tilhørende den ene CH₂-gruppe i den alifatiske kæde i stoffet, tættest på nitrogenatomet. Bemærk at CH₂-gruppen giver en triplet. En triplet betyder, at den kobler med samme koblingskonstant til (3-1=2) to protoner, hvilket passer med, at den sidder ved siden af en CH₂-gruppe.



Figur 11. Stereospecifik struktur af mentol samt 500 MHz ¹H NMR-spektrum af mentol. Figuren viser det fulde spektrum med udsøgning af toppen ved 3.4 ppm. Her er der to store koblingskonstanter (H1↔H2 og H1↔H6ax) samt en lille koblingskonstant H1↔H6eq.



Mange svampe danner stoffer, der kan bruges til både medicin og fødevarer. Grundig analyse af stoffernes struktur er dog en forudsætning for optimal anvendelse.

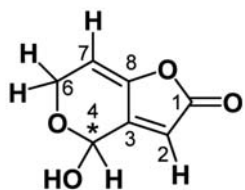
Mentol – den friske duft

Mentol er et naturligt stof med en velkendt duft. Stoffet tilhører stoffeklassen af monoterpener, og det isoleres fra planten *Mentha arvensis*. Mentol anvendes blandt andet i slik, tandpasta, som duftstof og i salver, hvor det har en kølende effekt. Mentol har desuden en vis lokalbedøvende effekt. Figur 11 viser en stereo-specifik struktur af (-) mentol, den isomer af mentol der hyppigst anvendes. Den er blot én af 8 isomere forbindelser med forskellig stereokemi. Man kan se, at dette er et af de tilfælde, hvor man kan bruge NMR til at se forskel på nogle af isomererne. I NMR kan man dog kun kende forskel på de stoffer, som er diastereomerer, ikke på stoffer som er enantiomerer. Her er det koblingskonstantens størrelse, der kan bruges til at bestemme den relative stereokemi, illustreret ved toppen ved 3.34 ppm. Den viser, at multipletten for H1 er en triplet af dubletter, hvor tripletten har en stor koblingskonstant

og dubletten er lille (se figur 6). Fra tabellen over koblingskonstanter kan man se, at kun protoner der sidder axialt til hinanden, har de store koblingskonstanter, og derfor må det være isomeren, hvor H1 sidder axial, og H2 også er axial.

Mange lægemidler er enten naturlige eller analoger af stoffer, som man har isoleret fra naturen, og om hvilke man ved, at de har en positiv effekt på et medicinsk problem. I det følgende gives et par eksempler på stoffer fra naturen isoleret fra svampe. Spektrene af stofferne er vist, og nogle bestemte strukturproblemer er fremhævet i hvert tilfælde. Det oplagte eksempel ville være penicillin, men det har en lidt mere kompliceret struktur, end der er valgt at vise her. Man kan opklare strukturen af penicillin ved NMR-spektroskopi, men dette kræver brug af mere avancerede 2D NMR-teknikker.

Patulin – et stof produceret af svampe – blandt andet på æbler

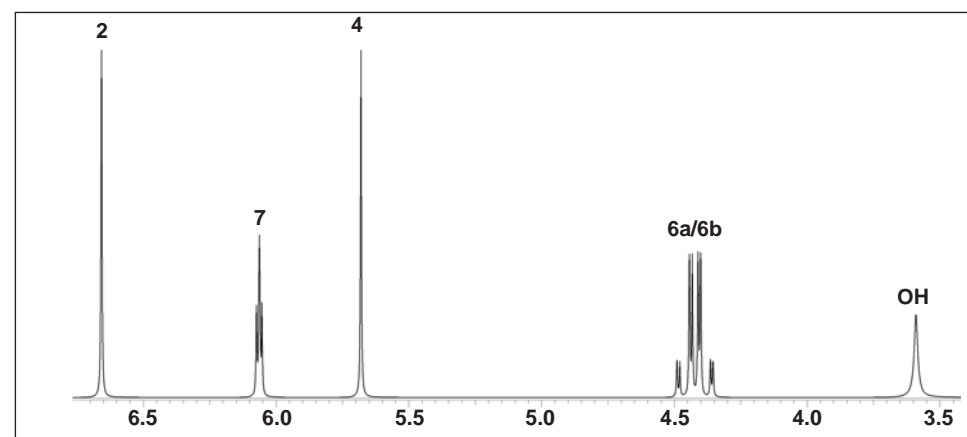


Patulin blev første gang isoleret fra en skimmelsvamp i 1943, og til at begynde med troede man, at stoffet som det første var effektivt mod virus. På grund af denne antivirale effekt håbede man, at patulin ville kunne kurere en ganske almindelig forkølelse. I de første undersøgelser, hvor man smurte stoffet under næsen på forsøgspersonerne, var resultaterne lovende, idet mere end halvdelen af forsøgspersonerne følte sig kureret inden for 48 timer. Effekten må have været indbildt (placeboeffekt), eller forsøgspersonerne ville være blevet raske alligevel, for senere undersøgelser har vist, at stoffet ingen effekt har mod forkølelse, men derimod er giftigt at indtage for mennesker. Som konsekvens af giftigheden er der i Danmark en øvre værdi for den patulinmængde, der er tilladt i fødevarer.

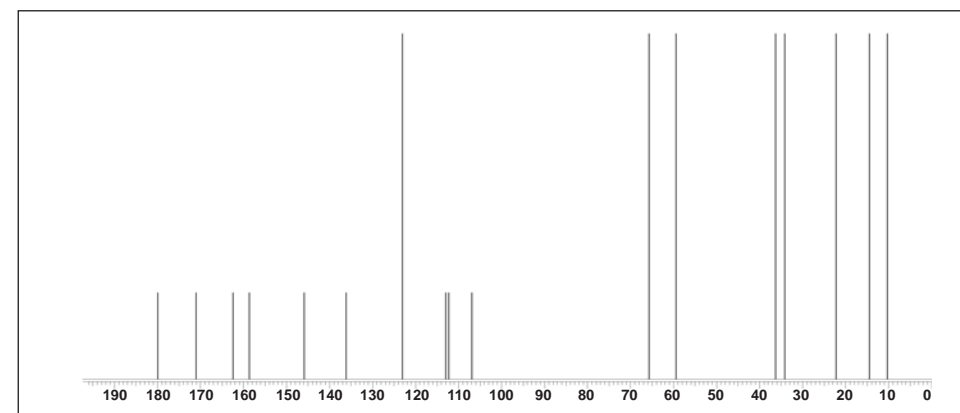
Patulin er et naturligt stof, der dannes af både *Aspergillus*- og *Penicillium*-skimmelsvampeslægter. Skimmelsvampene danner det formentlig for

at beskytte sig selv mod virus og bakterielle angreb. Det er især skimmelsvampen *Penicillium expansum*, der danner patulin. Denne svamp gror på muggent korn, mugne grønsager og muggen frugt, især på mugne æbler. Dette kan skabe problemer i forbindelse med fremstillingen af æblejuice, fordi mens selve skimmelsvampen er relativt let at fjerne, enten ved at skære det inficerede område af æblet væk eller ved opvarmning, er der ingen af disse metoder, der fjerner patulin. Især ved sur pH-værdi (som f.eks. i æblejuice) er stoffet stabilt over for varme. Patulin-niveauet i æblejuicen kan bruges som et mål for kvaliteten, idet en høj koncentration er ensbetydende med, at der formentlig er blevet brugt mere eller mindre mugne æbler til fremstillingen.

Patulin er opbygget af henholdsvis en femring og en seksring, der sidder sammen. Desuden har stoffet to dobbeltbindinger, en alkoholgruppe og en ætergruppe (der tilsammen danner en hemiacetal) samt en cyklisk estergruppe (også kaldet en lakton). NMR-spektrum for dette stof (figur 12) er særligt interessant, fordi der i patulin er et carbon-atom bundet til fire forskellige kemiske grupper (mærket med stjerne). Det betyder, at stoffet kan optræde i to former, der er hinandens spejlbilleder. Desuden vil de to hydrogenatomer, der sidder på



Figur 12. Simuleret ^1H NMR-spektrum af patulin med tilordninger af de forskellige protoner i molekylet.

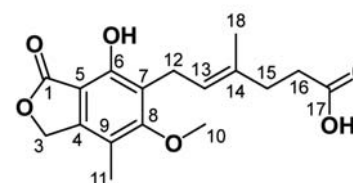


Figur 13 ^{13}C -simuleret spektrum af mycophenolsyre. Figuren viser de 17 forventede ^{13}C kemiske skift.

samme carbon-atom, være forskellige (diastereotoper), dvs. de vil ligge to forskellige steder i NMR-spekret. De ses begge i spektret som dobbelte dubletter, den ene ved 4.45 ppm og den anden ved 4.4 ppm. De kobler med en koblingskonstant til hinanden og med en anden koblingskonstant til hydrogenatomet på dobbeltbindingen ved siden af. Dette hydrogenatom ses ved 6.05 ppm som en triplet, da den har to hydrogenatomer som nabo. Det andet hydrogenatom bundet til en dobbeltbinding ligger ved 6.65 ppm og er en singlet, fordi der ikke er hydrogenatomer bundet til de to nabo carbon-atomer. Det sidste hydrogenatom i spektret viser sig af samme årsag også som en singlet. Da det sidder på et carbonatom forbundet til to oxygenatomer, har det et ret højt kemisk skift på over 5.67 ppm.

Mycophenolsyre – endnu et svampestof

Et andet stof, der bliver dannet af flere forskellige *Penicillium* svampe, er mycophenolsyre.



Mycophenolsyre er et mycotoxin (svampegift), der især produceres af *Penicillium brevicompactum*, *carneum* og *roqueforti*. Mycophenolsyre blev første gang isoleret i 1896 af Bartolomeo Gosio. *P. roqueforti* er en meget hyppigt forekommende svamp i madvarer, hvor den forårsager mug (skimmel) og dermed ødelægger de pågældende produkter. Svampen er også almindelig i ensilage. *P. roqueforti* har dog ikke fået sit velkendte navn uden grund. Det er nemlig i denne slægt, man finder svampene, som bruges til at modne blåskimmeloste, såsom roquefortoste, så de får deres karakteristiske smag og duft.

Udover at have en negativ indvirkning på fødevarer og mennesker i høj dosis er mycophenolsyre også et muligt lægemiddel. Det er historisk blevet beskrevet, hvordan *P. roqueforti* har haft en immundæmpende virkning, hvilket man også tidligt mente skyldes mycophenolsyre, der netop besidder denne egenskab. Det var dog først i 1991, at sammenhængen blev dokumenteret. Der er siden lavet forskellige studier af effekten, og man har også modificeret stoffet kemisk til et såkaldt "prodrug", der under biologisk nedbrydning i leveren omdannes til mycophenolsyre. Dette gør det muligt at give stoffet oralt (gennem munden), hvilket ofte er det nemmeste for patienten. Lægemidlet, som

har fået navnet Cellcept®, bruges i forbindelse med transplantationer, hvor den immundæmpende virkning er nødvendig for, at patienten ikke afstøder det nye organ. Man har desuden fundet, at mycophenolsyre også har en vis effekt på hiv-virus, hvilket øger stoffets potentiale. Et naturligt stof, der er fundet for næsten 100 år siden, kan altså pludselig blive en vigtig kandidat til et nyt lægemiddel eller basis for syntese af samme.

Mycophenolsyre er opbygget omkring en fuldt substitueret benzenring. Benzenringen har en 5-leddet lakton kondenseret på 4- og 5-positionen, en OH-gruppe i 6-positionen og på 7-positionen en længere alifatisk kæde med en enkelt dobbeltbinding og endelig en carboxylsyre. På 8-positionen sidder en methoxygruppe og på 9-positionen en methylgruppe. I modsætning til patulin er der i mycophenolsyre ikke noget chiralt center og dermed ikke nogen diastereotrope protoner. Strukturen af mycophenolsyre kan være svær at finde, hvis man kun har $^1\text{H-NMR}$ -data, da der ikke sidder nogen proton på benzenringen. Men har man

$^{13}\text{C-NMR}$ -data, har man mulighed for at teste, om det kan være den struktur ved at beregne de kemiske skift for de enkelte carbonatomer ud fra strukturen. I dag findes der mange databaser og tabeller, som gør det muligt ud fra placeringen af substituerterne at beregne de teoretiske kemiske skift. Hvor godt disse beregninger passer afhænger af, hvilke tabeller man bygger beregningerne på. I figur 13 er vist et beregnet carbonstof spektrum for mycophenolsyre.

Man kunne finde mange andre spændende eksempler at gennemgå, men forhåbentlig kan kapitlet vække øget interesse for anvendelsen af NMR-spektroskopi til at løse mange strukturelle problemer. Så længe der dannes og isoleres nye stoffer, og der findes sygdomme, som vi endnu ikke kan kurere, har teknikken en vigtig funktion. Som nævnt, er det nyttigt at kombinere de forskellige analytiske og spektroskopiske teknikker. Hvilken man skal bruge, afhænger af det strukturelle problem, som skal løses.

Forfattere



Civilingeniør
Christian Rank



Civilingeniør
Katrine Eriksen



Lektor
Charlotte
Held Gotfredsen

