

# ЯДЕРНЫЙ МАГНИТНЫЙ РЕЗОНАНС ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Аннотация .

Цель настоящей работы – изучить физические принципы, лежащие в основе спектроскопии ЯМР, и научиться интерпретировать структурную и динамическую информацию, получаемую из спектров ЯМР высокого разрешения.

Работа выполняется с использованием двух компьютерных программ, одна из которых дополняет наглядными иллюстрациями теоретическое введение в метод ЯМР, а вторая реализует виртуальный ЯМР-спектрометр. Работа с виртуальным ЯМР-спектрометром направлена на решение двух основных задач: 1) определение структуры молекулы, исходя из вида спектра протонного ЯМР и брутто-формулы соединения; 2) изучение влияния скорости химического обмена на характеристики спектров ЯМР. Исследуется также влияние неоднородности постоянного магнитного поля на ширину спектральных линий.

В теоретической части с точки зрения квантовой и классической механики рассматриваются ключевые понятия ЯМР: условия резонанса, химический сдвиг, магнитная эквивалентность ядер, спин-спиновые взаимодействия. Обсуждаются факторы, определяющие количество и интенсивность линий, их ширину и мультиплетность. Обосновывается необходимость введения времен продольной и поперечной релаксации намагниченности образца. Кратко рассмотрены механизмы процессов спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Формулируются требования к однородности постоянного магнитного поля, позволяющие минимизировать влияние аппаратного уширения линий.

Рассмотрены возможности метода ЯМР в изучении динамики процессов обмена. Для случаев симметричного и несимметричного обмена приведены основные соотношения, связывающие положение и ширину линии с константой скорости обмена при быстром, медленном и промежуточном обмене.

Предлагается список вопросов, которые могут быть использованы для контроля усвоения материала перед выполнением практической части работы. Для более глубокого изучения предмета приводится список литературы, наиболее фундаментальные работы по ЯМР даны в дополнительном списке.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – один из основных методов физико-химического анализа, используемый для однозначной идентификации структуры молекул, исследования внутримолекулярных движений, межмолекулярных взаимодействий в растворах и полимерных цепочках. Спектроскопия ЯМР используется для исследования структуры биомолекул, в частности, белков. В 1980-е годы началось внедрение методов ЯМР-томографии в медицину для диагностики состояния внутренних органов. Согласно правилам IUPAC, ЯМР является одним из основных физических методов, подтверждающих структуру нового органического соединения.

Цель настоящей работы – познакомиться с физическими принципами, лежащими в основе метода спектроскопии ЯМР и научиться интерпретировать структурную и динамическую информацию, получаемую из спектров ЯМР высокого разрешения.

## Физические принципы спектроскопии ЯМР.

Спектроскопия ЯМР основана на резонансном поглощении подводимой электромагнитной энергии системой ядерных магнитных моментов, помещенных во внешнее магнитное поле. Ядерный магнитный момент связан с наличием у атомного ядра ненулевого механического момента (спина), обусловленного тем, что протоны и нейтроны, образующие атомное ядро, обладают собственными спинами. Магнитный момент  $\mu$  пропорционален механическому моменту  $L$ , коэффициент пропорциональности  $\gamma$  называется гиромагнитным отношением:

$$\mu = \gamma L \quad (1)$$

Рассмотрим классический и квантовый подходы к описанию связи магнитного и механического моментов. Классическое определение магнитного момента дается соотношением (система CGS)

$$\mu = \frac{1}{2c} \int_V [\mathbf{r} \times \mathbf{j}(\mathbf{r})] dV \quad (2)$$

где  $\mathbf{r}$  – радиус-вектор,  $\mathbf{j}(\mathbf{r})$  – плотность электрического тока,  $c$  – скорость света,  $V$  – объем. В простейшем случае, когда магнитный момент создается круговым током  $J$ , текущим по плоскому витку площади  $S$  (Рис. 1), формула (2) приводит к соотношению

$$\mu = JS/c \quad (3)$$

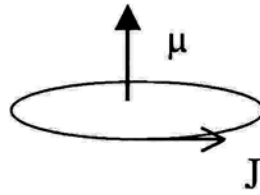


Рис. 1. Магнитный момент  $\mu$  плоского витка с током  $J$

Если представить, что ток  $J$  создается круговым движением с частотой  $\omega$  материальной частицы, имеющей массу  $m$  и заряд  $q$ , то для магнитного и механического моментов легко получаются выражения:

$$\mu = \frac{q\omega r^2}{2c} \quad (4)$$

$$L = m\omega r^2.$$

Из (4) следует классическое выражение для гиромагнитного отношения

$$\gamma = \frac{q}{2cm}. \quad (5)$$

В квантовой механике механический момент принято выражать через константу Планка  $\hbar$  и безразмерную величину  $P$ :

$$L = \hbar P. \quad (6)$$

В этом случае из классического соотношения (1) получаем:

$$\mu = \gamma \hbar P. \quad (7)$$

Используя для гиромагнитного отношения классическое выражение (5), перепишем соотношение (7) в виде:

$$\mu = \frac{q\hbar}{2cm} P. \quad (8)$$

Из выражения (8) следует, что соотношение магнитного и механического моментов определяется отношением заряда к массе. Коэффициент пропорциональности, связывающий магнитный и механический моменты в ядре атома водорода, является универсальной постоянной – ядерным магнетоном  $\beta_N$ .

$$\beta_N = \frac{e\hbar}{2cM_p}, \quad (9)$$

где  $e$  – элементарный заряд,  $M_p$  – масса протона. Численное значение ядерного магнетона в единицах системы CGS равно  $\beta_N = 5,0508 \cdot 10^{-24}$  эрг/Гс. Учитывая соотношение между единицами  $1 \text{ Т} = 10^4 \text{ Гс}$  и  $1 \text{ Дж} = 10^7 \text{ эрг}$ , получим в системе СИ:  $\beta_N = 5,0508 \cdot 10^{-27} \text{ Дж/Т}$ .

Очень важно отметить, что спин является фундаментальным и существенно квантовым свойством таких частиц как протоны, нейтроны, электроны. Это означает, во-первых, что наличие спина не выводится из каких-либо классических моделей, предполагающих вращение частицы, и, во-вторых, требует внесения поправок в классическое соотношение, связывающие спин с магнитным моментом. Для ядра, обладающего спином  $I$ , ядерный магнитный момент выражается в виде

$$\mu = \gamma \hbar I = g \beta_N I, \quad (10)$$

где  $g$ -фактор играет роль поправочного множителя к классическому соотношению (7). Величина  $g$ -фактора индивидуальна для ядер каждого элемента. Характеристики некоторых ядер приведены в таблице 1.

Энергия  $E$  магнитного момента  $\mu$ , находящегося в постоянном магнитном поле напряженностью  $H_0$ , выражается через скалярное произведение:

$$E = -(\mu, H_0) = -\mu H_0 \cos \vartheta. \quad (11)$$

( $\vartheta$  - угол между направлениями векторов  $\mu$ , и  $H_0$ ). Подставляя в (11) выражение для магнитного момента (10), получим:

$$E = -g \beta_N I H_0 \cos \vartheta = -g \beta_N H_0 m_z . \quad (12)$$

где  $m_z = I \cos \vartheta$  - проекция спина на ось  $z$ , совпадающую с направлением внешнего магнитного поля.

Квантовый характер спина проявляется также в том, что его проекции  $m_z$  на ось квантования могут принимать лишь дискретный ряд значений от  $-I$  до  $+I$ , отличающихся на единицу (всего  $(2I + 1)$  значение). Таким образом, для ядра, имеющего спин  $I$  и помещенного в постоянное магнитное поле, из соотношения (12) следует возникновение системы из  $(2I + 1)$  равноотстоящих уровней энергии, отвечающих различным значениям числа  $m_z$ .

Атомные ядра включают в себя протоны и нейтроны, каждая из этих частиц обладает собственным спином  $I = 1/2$ . Если ядро содержит четное число протонов  $Z$  и четное число нейтронов  $N$ , то спин такого ядра всегда равен нулю (например, изотопы  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$ ). Вторую группу составляют «четно-нечетные» ядра - с четным  $Z$  и нечетным  $N$  (или, наоборот, с нечетным  $Z$  при четном  $N$ ), которые имеют полуцелый спин, например,  $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$  - для них  $I = 1/2$ ;  $^7\text{Li}$ ,  $^{23}\text{Na}$  ( $I = 3/2$ ),  $^{27}\text{Al}$  ( $I = 5/2$ ),  $^{59}\text{Co}$  ( $I = 7/2$ ). Третью группу образуют «нечетно-нечетные» ядра ( $Z$  нечетно,  $N$  нечетно), спин таких ядер имеет целочисленное значение, например,  $^2\text{H}$ ,  $^{14}\text{N}$  ( $I = 1$ );  $^{10}\text{B}$ ,  $^{22}\text{Na}$  ( $I = 3$ ). Явление ЯМР можно наблюдать для ядер с ненулевым спином, т.е. изотопов второй и третьей групп, к настоящему времени методом ЯМР исследовано около 90 таких ядер. Впервые ЯМР наблюдался для ядер  $^1\text{H}$  и до настоящего времени протонный магнитный резонанс (ПМР) наиболее широко используется на практике. Далее, для простоты изложения, особенности магнитного резонанса будем рассматривать на примере  $^1\text{H}$ -ЯМР.

Протон имеет спин  $I = 1/2$ , поэтому возможные значения проекции спина на ось квантования равны  $m_z = \pm 1/2$ . Из соотношения (12) следует, что в магнитном поле  $H_0$  два состояния, отличающиеся проекцией спина, имеют разную энергию - магнитное поле снимает вырождение уровней энергии по  $m_z$ . Это явление иллюстрирует рис 2.

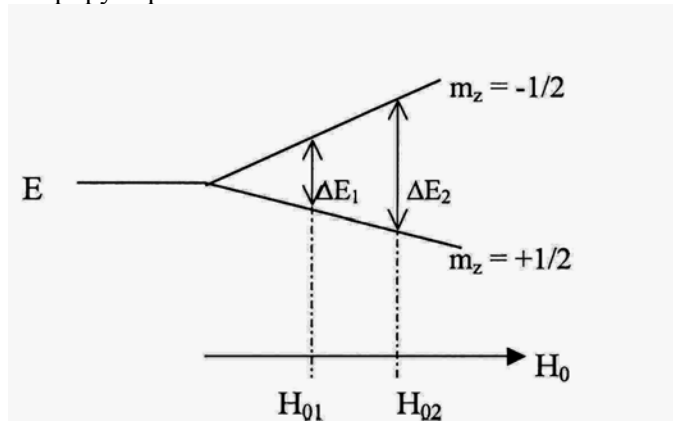


Рис. 2. Расщепление уровней энергии для ядра со спином  $I = 1/2$  в постоянном магнитном поле  $H_0$

Согласно (12), разность энергии  $\Delta E$  для состояний  $m_z = +1/2$  и  $m_z = -1/2$  составляет

$$\Delta E = g \beta_N H_0 \Delta m_z = g \beta_N H_0 . \quad (13)$$

Таким образом, величина расщепления  $\Delta E$  прямо пропорциональна напряженности приложенного поля  $H_0$ .

Если на протон, находящийся в постоянном магнитном поле  $H_0$ , воздействует переменное электромагнитное поле, то при соответствующей частоте переменного поля возможны резонансные переходы между состояниями  $m_z = -1/2$  и  $m_z = +1/2$  (эти переходы показаны стрелками на рис. 2). Условие резонанса состоит в том, что квант энергии переменного электромагнитного поля должен быть равен расщеплению уровней  $\Delta E$ . Из соотношения (13) следует зависимость между напряженностью постоянного магнитного поля  $H_0$  и резонансной частотой  $\nu_0$  поглощения переменного электромагнитного поля:

$$\nu_0 = \frac{g \beta_N H_0}{h} = \frac{\gamma}{2\pi} H_0 . \quad (14)$$

Резонансное поглощение энергии переменного электромагнитного поля системой ядерных спинов, помещенных в постоянное внешнее магнитное поле, составляет физическую суть явления ЯМР.

Свойства некоторых ядер, используемых в методе ЯМР

Изотоп	Спин $I$	$g$	$\gamma$ , МГц/Т	% содержания
$^1\text{H}$	1/2	5.585	42.575	99.985
$^2\text{H}$	1	0.857	6.53	0.015
$^{13}\text{C}$	1/2	1.405	10.71	1.108
$^{14}\text{N}$	1	0.404	3.078	99.63
$^{15}\text{N}$	1/2	-0.56	4.32	0.37
$^{17}\text{O}$	5/2	-0.757	5.77	0.037
$^{19}\text{F}$	1/2	5.257	40.08	100
$^{23}\text{Na}$	3/2	1.478	11.27	100
$^{31}\text{P}$	1/2	2.263	17.25	100

Снятие вырождения по  $m_z$  во внешнем магнитном поле для ядра со спином  $I$  приводит к появлению системы из  $(2I+1)$  равноотстоящих уровней энергии. Из множества переходов между уровнями при  $I \geq 1/2$  квантово-механические правила отбора допускают лишь те, при которых  $\Delta m_z = 0$ , либо  $\Delta m_z = \pm 1$ .

#### Химический сдвиг.

Соотношение (14), а также данные, приведенные в Табл. 1, позволяют рассчитать резонансную частоту ЯМР при заданной напряженности магнитного поля: например, для протонов в магнитном поле напряженностью 7 Т резонансная частота составляет 298 МГц. Спектр ЯМР свободных протонов при этих условиях представлял бы собой единичный пик поглощения. Реальные спектры ЯМР оказываются значительно сложнее - содержат множество линий различной интенсивности и ширины, которые нередко имеют тонкую структуру. Пример такого спектра приведен на Рис. 3. Основными параметрами, которые используются в методе ЯМР высокого разрешения для получения информации об исследуемых молекулах, являются количество спектральных линий, их положение, интенсивность и ширина, а также величина расщепления  $J$  (рис. 3).

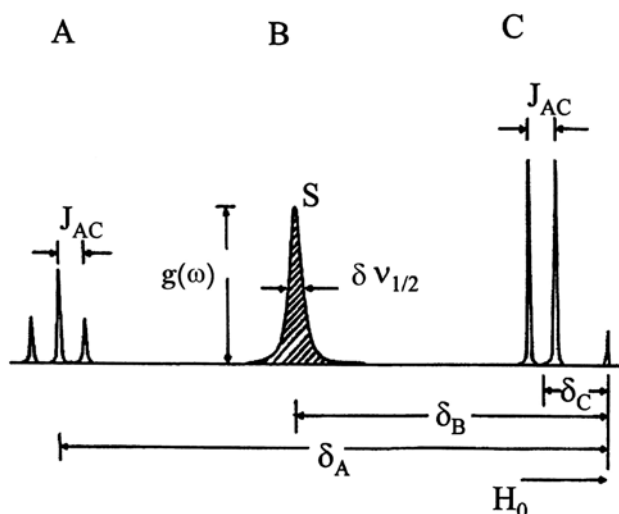


Рис. 3. Основные характеристики спектра ЯМР

Анализ причин, приводящих к возникновению сложных спектров ЯМР, начнем с рассмотрения факторов, влияющих на частоту резонансного поглощения электромагнитной энергии ядрами  $^1\text{H}$ . В химико-биологических системах атомные ядра находятся в окружении электронов, заполняющих молекулярные или атомные орбитали. Заполненные молекулярные орбитали проявляют диамагнитные свойства – при наложении внешнего магнитного поля  $H_0$  электроны индуцируют собственное магнитное поле  $H_e$ , направление которого противоположно направлению  $H_0$ , а напряженность  $H_e$  пропорциональна напряженности  $H_0$ :

$$H_e = -\sigma H_0. \quad (15)$$

При наблюдении ЯМР протоны внутри молекулы находятся в локальном магнитном поле  $H_{loc}$ , которое складывается из внешнего поля  $H_0$  и поля  $H_e$ , создаваемого электронным окружением:

$$H_{loc} = H_0 + H_e = H_0 (1 - \sigma). \quad (16)$$

Из-за диамагнитного вклада электронов локальное поле оказывается несколько меньше поля  $H_0$ , создаваемого внешним источником. Величина  $\sigma$ , характеризующая диамагнитное ослабление приложенного поля, получила название **константы экранирования**. Экспериментально установлено, что типичные значения величины константы экранирования для протонов составляют  $\sigma \sim 10^{-5} - 10^{-6}$ .

Электронное экранирование приводит к тому, что частота резонансного поглощения изменяется по сравнению с частотой, на которой наблюдался бы резонанс для свободного протона. Подставляя в соотношение (14) выражение для напряженности локального поля (16), найдем резонансную частоту поглощения в условиях экранирования:

$$\nu_1 = \frac{g\beta_N H_0 (1 - \sigma)}{h}. \quad (17)$$

Результатом экранирования является сдвиг резонансной частоты на величину

$$\Delta\nu = \nu_1 - \nu_0 = -\frac{g\beta_N H_0}{h} \sigma \quad (18)$$

Смещение частоты  $\Delta\nu(\sigma)$  (18) называют **химическим сдвигом**, поскольку величина константы экранирования  $\sigma$  зависит от локального распределения электронной плотности, которое определяет химические свойства данной молекулярной структуры.

Измерение химического сдвига в герцах на практике оказывается неудобным по двум причинам. Во-первых, соотношение (18) определяет сдвиг частоты по отношению к «голому» протону, который не встречается в химико-биологических системах. Во-вторых, величина  $\Delta\nu$  зависит от напряженности приложенного магнитного поля, что делает результаты различных экспериментов трудно сопоставимыми из-за невозможности точно воспроизвести величину  $H_0$ . Общепринятый подход к выражению химсдвига состоит в следующем: 1) некоторое вещество принимают в качестве эталона и для него «по определению» полагают  $\Delta\nu \equiv 0$ ; 2) величину химсдвига выражают в безразмерных относительных единицах.

В качестве эталона в экспериментах по ПМР чаще всего используется тетраметилсилан (ТМС):  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ . Одним из достоинств ТМС является сильное экранирование протонов в метильных группах, сигналы ПМР абсолютного большинства молекул сдвинуты в низкие частоты относительно к ТМС. Если отсчитывать химический сдвиг от резонансной частоты эталона  $\nu_s$ , то выражение (18) перепишется в виде:

$$\Delta\nu = \nu_1 - \nu_s = \frac{g\beta_N H_0}{h} [(1 - \sigma_1) - (1 - \sigma_s)] = \frac{g\beta_N H_0}{h} (\sigma_s - \sigma_1). \quad (19)$$

Безразмерную величину  $\delta$  химического сдвига получают, относив смещение частоты  $\Delta\nu$  к резонансной частоте  $\nu_s$ :

$$\delta = \frac{\Delta\nu}{\nu_s} = \frac{\sigma_s - \sigma_1}{1 - \sigma_s}. \quad (20)$$

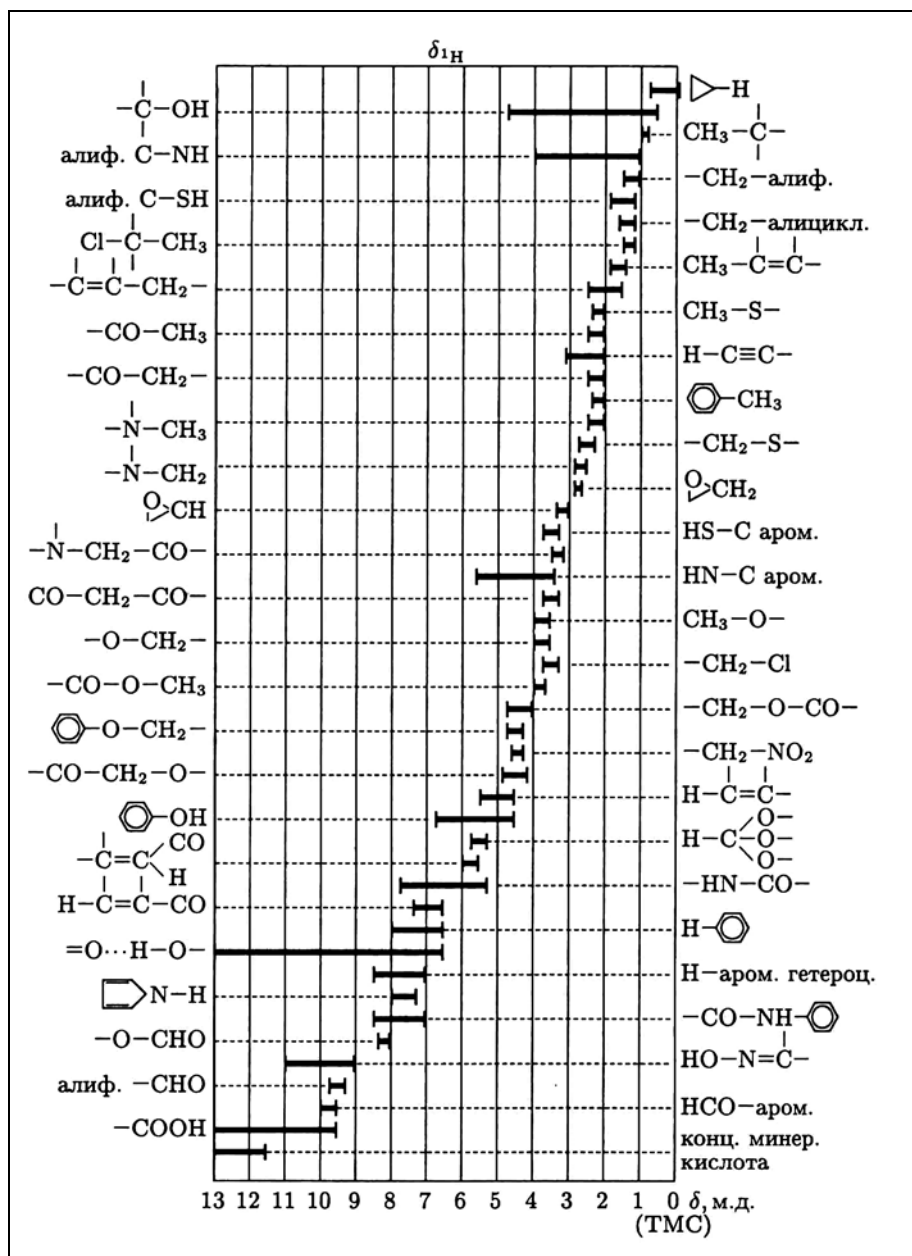
Анализируя выражение (20), отметим, во-первых, что  $\sigma_s \equiv 0$  по определению эталона и, во-вторых, для константы экранирования  $\sigma$  справедливо соотношение  $\sigma \ll 1$ , поэтому из (20) следует

$$\delta \cong -\sigma_1. \quad (21)$$

Знак «минус» в (21) указывает направление сдвига – в более низкие частоты относительно резонанса эталона. Величина  $\delta$  в случае ПМР для большинства молекул не превышает  $10^{-5}$ , поэтому в качестве общепринятой единицы измерения химсдвига используется «миллионная доля» (м.д. или ppm - part per million). Шкала химических сдвигов  $\delta$  в ПМР занимает диапазон примерно от 0 до 10 м.д.

## Т а б л и ц а 2

### Химические сдвиги $\delta$ (м.д.) некоторых функциональных групп в спектрах ПМР



Степень экранирования протонов в молекуле определяется, прежде всего, ближайшим электронным окружением, т.е. типом молекулярных орбиталей и распределением электронной плотности вокруг исследуемых ядер. Поэтому одинаковые функциональные группы, входящие в состав различных молекул, характеризуются близкими значениями химсдвига  $\delta$ . Например, химический сдвиг протонов  $\text{CH}_3$ -группы обычно находится в диапазоне 0 - 2 м.д., что свидетельствует о сильном экранировании ядер, независимо от того, в составе какой молекулы находится метильная группа. Ароматические протоны экранированы значительно слабее ( $\delta \sim 6 - 8$  м.д.) из-за возникновения кольцевых токов в системе сопряженных  $\pi$ -связей молекулы бензола. К настоящему времени определены химические сдвиги для большого числа молекулярных группировок, некоторые из этих данных приведены в Табл. 2. Подобные таблицы или базы данных используются для интерпретации экспериментальных спектров ЯМР и позволяют связать химические сдвиги наблюдаемых линий со структурой группировок, входящих в состав исследуемых молекул.

Расчет константы экранирования для данной молекулярной группировки является предметом квантовой химии и представляет собой сложную многопараметрическую задачу. Общая тенденция, которую можно использовать для грубого качественного сопоставления, проявляется в том, что степень экранирования ядер возрастает при увеличении электронной плотности вокруг них.

#### Количество линий.

Химический сдвиг определяет положение линии в спектре ЯМР, таким образом, количество наблюдаемых линий указывает на то, сколько химически различных групп присутствует в данной

молекуле. Спектр, приведенный на рис. 3, соответствует молекуле, содержащей три различные группы ядер, обозначенные *A*, *B* и *C*. Выражение «химически различные группы» в спектроскопии ЯМР уточняется путем введения понятия *магнитной неэквивалентности* ядер. Разберем это понятие на примере молекулы  $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2\text{-C}(\text{CH}_3)_3$ . В молекуле имеются протоны в составе метильных групп  $\text{CH}_3$  и метиленовой группы  $\text{CH}_2$ . Очевидно, что эти протоны магнитно неэквивалентны в силу различной структуры групп. Будут ли эквивалентны все метильные протоны?

Химические сдвиги протонов в одиночной  $\text{CH}_3$ -группе и в составе  $(\text{CH}_3)_3$ -группировки будут различаться из-за того, что в первом случае метильная группа непосредственно связана с атомом *O*. В силу высокой электроотрицательности, кислород смещает электронную плотность на себя и структура молекулы с учетом этого эффекта может быть изображена в виде  $\text{CH}_3 \rightarrow \text{O} \leftarrow \text{CH}_2 - \text{C}(\text{CH}_3)_3$ . Влияние кислорода на распределение электронной плотности группировки  $(\text{CH}_3)_3$  будет ничтожным из-за ее удаленности от атома *O*. Результатом смещения электронной плотности будет деэкранирование одиночной  $\text{CH}_3$ -группы и, в силу этого, магнитная неэквивалентность групп  $\text{CH}_3$  и  $(\text{CH}_3)_3$ . Спектр ПМР данной молекулы представляет собой три линии поглощения, обусловленные наличием трех групп магнитно-неэквивалентных протонов. Можно предположить, что сигнал  $(\text{CH}_3)_3$ -группы будет иметь минимальный сдвиг относительно сигнала ТМС, одиночная метильная группа будет характеризоваться несколько большим значением  $\delta$  (см. соотношение (21)), а максимальный химсдвиг будет наблюдаться для протонов группы  $\text{CH}_2$ .

Группе магнитно-эквивалентных ядер соответствует одна линия в спектре ЯМР. Магнитная эквивалентность следует из симметричных свойств молекул: магнитно-эквивалентными являются ядра, которые могут быть переведены друг в друга с помощью каких-либо симметричных операций. Для магнитно-неэквивалентных ядер не существует преобразований симметрии, обменивающих ядра друг с другом.

#### Интенсивность сигналов.

Спектр ЯМР представляет собой зависимость мощности поглощения электромагнитной энергии (обозначение  $g(\omega)$  на рис. 3) системой ядерных спинов от частоты. Для интерпретации спектров ЯМР в химических и биологических приложениях абсолютная мощность поглощения значения не имеет, поэтому интенсивность поглощения обычно приводят в относительных единицах. Интенсивность поглощения энергии данной группой магнитно-эквивалентных ядер характеризуется площадью  $S$  соответствующего пика поглощения (рис. 3) и определяется путем интегрирования величины  $g(\nu)$  по частотному интервалу  $\Delta\nu$ , заключающему контур линии:

$$S = \int_{\Delta\nu} g(\nu) d\nu. \quad (22)$$

Интегрирование спектра (22) является стандартной операцией обработки данных ЯМР.

Для обсуждения факторов, влияющих на интенсивность сигналов ЯМР, рассмотрим процесс поглощения энергии в двухуровневой системе, изображенной на рис. 4. Наличие двух уровней энергии является результатом зеемановского расщепления в системе ядерных спинов  $I = 1/2$ , помещенных в постоянное магнитное поле  $H_0$  (рис. 2). Будем использовать общепринятые обозначения  $\alpha$  для проекции ядерного спина  $m_z = +1/2$  и  $\beta$  для  $m_z = -1/2$ . Во внешнем магнитном поле, согласно (12), ядро в состоянии  $\alpha$  обладает энергией  $E_\alpha$ , меньшей по сравнению с энергией состояния  $\beta$ .

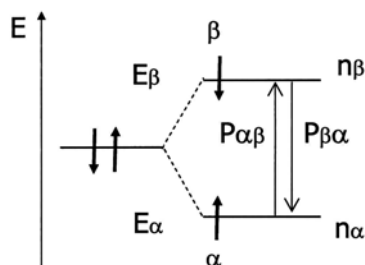


Рис. 4. Энергия  $E$  ядерного спина  $I = 1/2$  в постоянном магнитном поле

При наличии внешнего электромагнитного поля соответствующей частоты (14) в системе ядерных спинов, изображенной на рис. 4, возможны два типа процессов, влияющих на энергию системы. Процессы первого типа представляет собой изменение спинового состояния  $\alpha \leftrightarrow \beta$  («переворот спина»), *индуцированное* резонансным поглощением или испусканием кванта излучения. Процессы

второго типа заключаются в самопроизвольных - *спонтанных* - переходах между состояниями  $\alpha$  и  $\beta$ . Спонтанные переходы происходят в спиновой системе независимо от наличия внешнего переменного электромагнитного поля.

Мощность поглощения энергии  $dE/dt$  в системе, схема уровней которой представлена на рис. 4, определяется балансом скоростей переходов между состояниями  $\alpha$  и  $\beta$ , энергия которых составляет  $E_\alpha$  и  $E_\beta$  соответственно:

$$\frac{dE}{dt} = n_\alpha P_{\alpha\beta}(E_\beta - E_\alpha) - n_\beta P_{\beta\alpha}(E_\beta - E_\alpha), \quad (23)$$

где  $n_\alpha$  и  $n_\beta$  – заселенности соответствующих уровней,  $P_{\alpha\beta}$  – вероятность перехода из состояния  $\alpha$  в состояние  $\beta$ ,  $P_{\beta\alpha}$  – вероятность обратного перехода. Будем учитывать вначале только индуцированные переходы. Вероятность индуцированного перехода  $P$  пропорциональна интенсивности  $F$  электромагнитного излучения

$$P_{\alpha\beta} = \varepsilon_{\alpha\beta} F; \quad P_{\beta\alpha} = \varepsilon_{\beta\alpha} F \quad (24)$$

( $\varepsilon$  – коэффициент пропорциональности, характеризующий вероятность соответствующего процесса). Фундаментальный физический *принцип детального равновесия* утверждает равенство вероятностей индуцированных переходов  $\alpha \rightarrow \beta$  и  $\beta \rightarrow \alpha$ :

$$\varepsilon_{\alpha\beta} = \varepsilon_{\beta\alpha} \equiv \varepsilon. \quad (25)$$

Учитывая соотношения (25) и (24), введем обозначение  $P_{\alpha\beta} = P_{\beta\alpha} \equiv P$ , а также  $E_\beta - E_\alpha = \Delta E$ , тогда (23) переписывается в виде

$$\frac{dE}{dt} = (n_\alpha - n_\beta) P \Delta E = n_\alpha \left(1 - \frac{n_\beta}{n_\alpha}\right) P \Delta E. \quad (26)$$

Отметим важный факт, на который указывает соотношение (26): мощность поглощения пропорциональна разности заселенностей верхнего и нижнего уровней энергии. Если по каким-либо причинам заселенности  $n_\alpha$  и  $n_\beta$  окажутся одинаковыми, то наблюдение сигналов ЯМР окажется невозможным.

Будем считать, что взаимодействие с внешним электромагнитным полем не нарушает теплового равновесия спиновой системы. В этой случае заселенности верхнего и нижнего уровней подчиняются распределению Больцмана:

$$\frac{n_\beta}{n_\alpha} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right) \quad (27)$$

( $k$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура). Величина расщепления  $\Delta E$  связана с напряженностью постоянного магнитного поля  $H_0$  соотношением (13), используем последнее для оценки максимального значения величины  $n_\beta/n_\alpha$ , которое достигается в экспериментах по ЯМР. Максимальная напряженность магнитного поля, реализованная в современном ЯМР-спектрометре, составляет  $H_0 = 21,1$  Т, при этом для протонов  $\Delta E = g \beta_N H_0 = 5,9 \cdot 10^{-25}$  Дж. Сравнивая полученную величину с тепловой энергией при комнатной температуре  $kT \approx 4,8 \cdot 10^{-21}$  Дж заключаем, что в экспериментах по ЯМР всегда выполняется соотношение  $\Delta E/kT \ll 1$ ; разлагая (27) в ряд, получаем

$$\frac{n_\beta}{n_\alpha} \approx 1 - \frac{\Delta E}{kT}. \quad (28)$$

После подстановки (28) в соотношение (26), а также с учетом (13) и (24), получим

$$\frac{dE}{dt} = n_\alpha \frac{\Delta E}{kT} P \Delta E = n_\alpha \frac{(g\beta_N H_0)^2}{kT} \varepsilon F. \quad (29)$$

Уравнение (29) выразит мощность поглощения через заселенность нижнего уровня  $n_\alpha$ , но поскольку заселенности уровней различаются незначительно, для двухуровневой системы можно использовать приближение  $n_\alpha \approx n_\beta = N/2$ , где  $N$  – число эквивалентных ядер, резонансно поглощающих на данной частоте.

Соотношение (29) позволяет анализировать зависимость интенсивности спектральной линии ЯМР от концентрации ядер, напряженности постоянного магнитного поля, интенсивности переменного электромагнитного поля и температуры, которые могут варьироваться при проведении экспериментов. Относительная интенсивность различных линий, полученная путем интегрирования спектра, позволяет судить о соотношении числа ядер в неэквивалентных группах. В отсутствие обмена ядер между различными группами относительные интенсивности линий должны выражаться через отношения целых чисел.



Спонтанные переходы между уровнями  $E_\alpha$  и  $E_\beta$  (рис. 4) имеют место как при наличии, так и в отсутствие внешнего электромагнитного поля. При тепловом равновесии, установившемся после включения магнитного поля  $H_0$ , энергия системы не изменяется, и для спонтанных переходов справедливо соотношение  $dE/dt = 0$ . Скорости спонтанных переходов влияют на соотношение между  $n_\alpha$  и  $n_\beta$  (и тем самым, определяют **абсолютную** величину мощности поглощения), но качественный характер зависимости интенсивности сигналов ЯМР от концентрации ядер, температуры и др. параметров (29) не изменяется при учете спонтанных переходов.

### Тонкая мультиплетная структура линий.

Спиновой гамильтониан ядерной системы в случае жидкости с интенсивным молекулярным движением (именно такие системы, в основном, изучаются методом ЯМР высокого разрешения) может быть записан в виде

$$\hat{H} = -\sum_i (\mu_i H_0) + \sum_i (\mu_i \sigma_i H_0) + \sum_{i < k} B_{ik} (\mu_i \mu_k). \quad (30)$$

( $\mu$  – магнитный дипольный момент ядра,  $B_{ik}$  – константа диполь-дипольного взаимодействия). Индексы  $i$  и  $k$  обозначают различные типы магнитно-эквивалентных ядер. Выражение (30) учитывает три основных вклада: зеемановское расщепление уровней магнитного диполя во внешнем магнитном поле (первое слагаемое), поправка к зеемановскому члену за счет диамагнитного экранирования электронов (второе слагаемое), взаимодействие спинов друг с другом (третье слагаемое). Энергия диполь-дипольного взаимодействия выражается через спины взаимодействующих ядер  $I_i$ ,  $I_k$  и константу спин-спинового взаимодействия имеющую размерность Гц:

$$E = J_{ik} \cdot \hbar \cdot (I_i \cdot I_k) \quad (31)$$

Спин-спиновые взаимодействия (31) проявляются в спектрах ЯМР в виде расщепления линий (см рис. 3) в мультиплеты. Значения констант спин-спинового взаимодействия протонов обычно находятся в диапазоне  $J_{ik} < \sim 20$  Гц, но в некоторых случаях достигают величины  $J \sim 40$  Гц. Важно подчеркнуть (см.(30)), что спин-спиновое взаимодействие не зависит от напряженности приложенного поля, а определяется особенностями молекулярной структуры, в состав которой входят взаимодействующие ядра.

Природу возникновения мультиплетной структуры в спектре ЯМР можно понять, рассмотрев взаимодействие двух спиновых магнитных диполей (рис. 5). Локальное поле, в котором находится рассматриваемый спин  $I_a$ , складывается из внешнего магнитного поля  $H_0$  и поля  $\delta H$ , создаваемого соседним спином  $I_b$ .

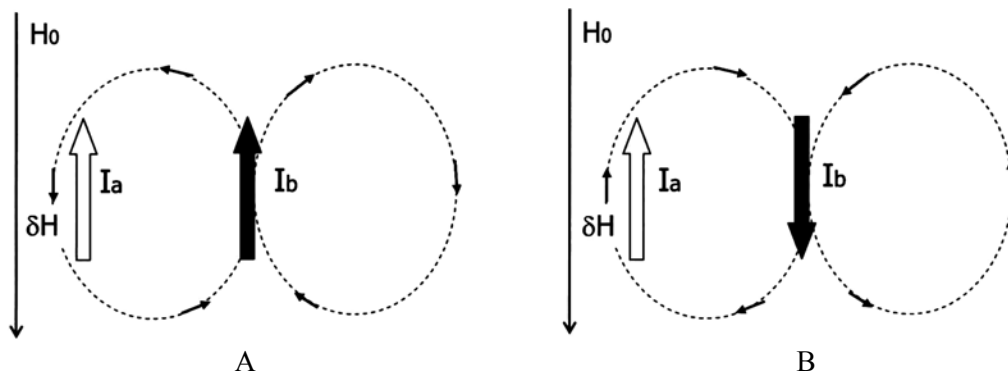


Рис. 5. Картина силовых линий магнитного поля при параллельном (А) и антипараллельном (В) расположении магнитных диполей (спины  $I_a$  и  $I_b$ ) во внешнем поле  $H_0$ .

При параллельной ориентации магнитных моментов (рис. 5А) напряженность локального поля  $H_{loc}$  составляет  $H_0 + \delta H$ , тогда как при антипараллельной ориентации диполей (рис. 5В)  $H_{loc} = H_0 - \delta H$ . В силу соотношения (14) в спектре ЯМР системы спинов  $I_a$  и  $I_b$ , изображенной на рис. 5, будет наблюдаться **дублет** - два резонансных сигнала, смещенных симметрично относительно частоты, на которой наблюдался бы резонанс в отсутствие спин-спинового взаимодействия. Расстояние между компонентами дублета характеризует константа  $J_{AB}$  (см. рис. 3). В макроскопической системе состояния с параллельной и антипараллельной ориентацией двух спинов имеют равные вероятности (реализации  $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ ,  $\beta\beta$ ), из этого следует, что компоненты дублета будут иметь равные интенсивности.

Приведенные рассуждения позволяют на качественном уровне решать **прямую задачу** спектроскопии ЯМР: изобразить «скелетный» спектр для заданной молекулярной структуры. Основные

закономерности формирования мультиплетной структуры рассмотрим вначале на простейшем примере молекулярного фрагмента  $-CH-CH_2-$ . С учетом только зеемановских членов спинового гамильтониана (30) и в пренебрежении спин-спиновым взаимодействием, спектр ПМР данного фрагмента будет содержать две линии (Рис. 6), отвечающие протонам  $CH-$  и  $CH_2-$  групп, отношение групповых интенсивностей составит 1:2 соответственно.

Сигнал  $CH_2$ -группы расщепится в дублет (интенсивность компонент 1:1) в результате спин-спинового взаимодействия с протоном группы  $-CH$ . В свою очередь,  $CH$ -протон будет испытывать влияние  $CH_2$ -группы, в которой содержится два эквивалентных протона. Суммарный спин протонов группы  $CH_2$  равен единице, его возможные проекции могут принимать значения  $(-1, 0, +1)$ , что соответствует вкладам в локальное магнитное поле  $(-\delta H, 0, +\delta H)$  в области расположения протона  $-CH$ . Сигнал  $CH$ -группы расщепится в триплет: несмещенная центральная компонента (проекция спина  $m_z = 0$ ) и две симметрично смещенные компоненты, отвечающие проекциям  $m_z = \pm 1$ . Соотношение интенсивностей компонент в триплете определяется статвесом соответствующих состояний спиновой системы

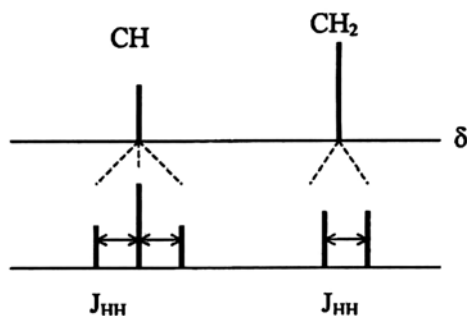


Рис. 6. Спектр ПМР фрагмента  $-CH-CH_2-$  и формирование мультиплетной структуры в результате спин-спинового взаимодействия

протонов  $CH_2$ -группы. Для двух протонов возможны следующие комбинации проекций:

$$\alpha\alpha, \alpha\beta, \beta\alpha, \beta\beta \quad (32)$$

Из прямого перебора (32) следует, что число комбинаций с нулевой проекцией равно двум, тогда как каждое из состояний  $m_z = \pm 1$  реализуется только в одной комбинации. Все четыре микросостояния (32) равновероятны, поэтому в макроскопической системе состояние  $m_z = 0$  будет встречаться вдвое чаще, чем с ненулевой проекцией спина. Отсюда следует, что соотношение интенсивностей компонент в триплете составит 1:2:1.

Общее правило состоит в том, что мультиплет, образующийся при расщеплении сигнала ЯМР из-за взаимодействия с группой эквивалентных протонов с суммарным спином  $I$ , содержит  $N = (2I+1)$  компонент – по числу возможных проекций  $I$  на ось квантования. Например, взаимодействие ядра с группой  $CH_3$  проявляется в расщеплении спектральной линии в квартет. Химический сдвиг линии, имеющей мультиплетную структуру, определяется по центру мультиплета. Соотношение интенсивности компонент в мультиплете можно найти путем перебора возможных комбинаций и определения соответствующих статвесов по аналогии с (32). Если расщепление обусловлено взаимодействием с группой эквивалентных протонов (или других ядер со спином  $I = 1/2$ ), то относительная интенсивность компонент в мультиплете определяется коэффициентами биномиального разложения, которые удобно находить из треугольника Паскаля:

$$\begin{array}{c}
 1 \\
 1 \ 1 \\
 1 \ 2 \ 1 \\
 1 \ 3 \ 3 \ 1 \\
 1 \ 4 \ 6 \ 4 \ 1 \\
 1 \ 5 \ 10 \ 10 \ 5 \ 1 \\
 1 \ 6 \ 15 \ 20 \ 15 \ 6 \ 1
 \end{array}$$

Если тонкая структура спектра формируется из-за спин-спинового взаимодействия с двумя (и более) группами эквивалентных ядер, суммарный спин которых равен  $I_A, I_B, \dots$ , то общее число компонент тонкой структуры составит  $N = (2I_A+1)(2I_B+1)\dots$

Мультиплетная структура линий является очень важным фактором при решении *обратной задачи* спектроскопии ЯМР: определение молекулярной структуры по виду спектра. Количество компонент в мультиплете позволяет судить о том, каким суммарным спином обладает группа, вызывающая расщепление, соотношение интенсивности линий внутри мультиплета позволяет судить о

том, образована ли группа ядрами с целым или полуцелым спином, величина константы расщепления  $J$  характеризует энергию спин-спинового взаимодействия. Наиболее просты для интерпретации спектры **первого порядка**, в которых расщепления в результате спин-спиновых взаимодействий существенно меньше расстояния между линиями, обусловленного различием химического сдвига. Для двух протон-содержащих групп  $A$  и  $X$  это условие означает:

$$J_{AX} \ll \nu_0 (\delta_A - \delta_X), \quad (33)$$

( $\nu_0$  – резонансная частота ЯМР). Пример такого спектра приведен на рис. 6. Если условие (33) не выполняется, то расшифровка спектра становится весьма сложной задачей из-за наложения мультиплетных компонент двух (или большего числа) линий.

Для понимания того, от каких особенностей молекулярной структуры зависит величина константы спин-спинового взаимодействия, обсудим кратко механизм взаимодействия ядерных спинов внутри молекулы. Два спина, представляющие собой два магнитных диполя, воздействуют друг на друга своими магнитными полями, реализуя **прямое диполь-дипольное взаимодействие**. Однако, теория и экспериментальные исследования ЯМР показывают, что основной вклад во взаимодействие ядерных спинов в молекулах дает **косвенное взаимодействие**, реализуемое через контактный механизм Ферми. Суть этого механизма, кратко, заключается в следующем. Имеется два ядра  $A$  и  $B$  со спинами  $I_A$  и  $I_B$  соответственно, связанные молекулярной орбиталью, на которой находятся два электрона, спины которых противоположны по знаку. На рис. 7 показаны ядерные магнитные моменты (темные стрелки) и магнитные моменты  $\mu$ , порожденные спином электронов. Ориентация спина  $I_A$  «вниз» приводит к увеличению вероятности

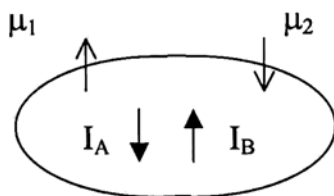


Рис. 7. Контактный механизм Ферми косвенного спин-спинового взаимодействия ядер  $A$  и  $B$ .

пребывания вблизи него электрона, магнитный момент которого  $\mu_1$  направлен «вверх». Нарушение симметричного распределения электронной плотности приведет к тому, что вблизи ядра  $B$  более вероятным станет нахождение электрона со спиновым магнитным моментом  $\mu_2$ , ориентированным «вниз». В свою очередь, направление спина  $\mu_2$  делает более выгодной для ядерного спина  $I_B$  ориентацию «вверх». Взаимодействие ядерных спинов, таким образом, носит косвенный характер и осуществляется через контакт с поляризованной электронной орбиталью.

Простейшее описание механизма косвенного спин-спинового взаимодействия позволяет качественно оценить влияние некоторых особенностей молекулярной структуры на величину константы спин-спинового взаимодействия (КССВ)  $J_{AB}$ .

Естественно предположить, что поляризационные эффекты будут затухать по мере увеличения числа химических связей между взаимодействующими ядрами. Поэтому в ЯМР-спектроскопии принято различать КССВ по числу химических связей, разделяющих взаимодействующие ядра: через одну связь – **прямые** константы ( $^1J$ ), через две связи – **геминальные** константы ( $^2J$ ), через три связи – **вицинальные** константы ( $^3J$ ). **Дальними константами** принято называть величины  $^nJ$  при  $n > 3$ . Общая тенденция проявляется в том, что  $^1J > ^2J > ^3J > ^nJ$ , – затухание КССВ действительно имеет место. Дальние константы обычно настолько малы ( $J < 1$  Гц), что соответствующие расщепления в рутинных экспериментах по ЯМР не обнаруживаются.

Увеличение электронной плотности в пространстве между взаимодействующими ядрами приводит к возрастанию КССВ. Например, вицинальная КССВ неэквивалентных протонов через одинарную связь в группировке  $HC-CH$  составляет  $^3J \sim 5$  Гц, но если связь  $C-C$  входит в систему ароматических  $\pi$ -связей, то КССВ возрастает до величины  $^3J \sim 6 \div 9$  Гц. Присутствие вблизи взаимодействующих ядер  $A$  и  $B$  электрон-акцепторных групп ( $-NO_2$ ,  $-COOH$ , атомов галогенов и др.) приводит к понижению электронной плотности между ядрами и уменьшению  $J_{AB}$ . Наоборот, присутствие вблизи взаимодействующих ядер электрон-донорных групп ( $-OH$ ,  $-NH_2$  и др.) приводит к увеличению электронной плотности между ядрами и возрастанию  $J_{AB}$ .

Конформационное состояние молекулы также влияет на величину КССВ. Под конформацией молекулы понимают относительное пространственное расположение атомов или функциональных групп в молекуле, которое может меняться в результате изгибов или вращений относительно связей. Определенные конформационные состояния молекул, в силу симметричного соответствия, обеспечивают максимальное перекрывание атомных орбиталей, например, расположение шести атомов углерода в одной плоскости создает наилучшие условия для перекрывания  $\pi$ -орбиталей атомов углерода в ароматических молекулах. Величина  $J_{AB}$  коррелирует со степенью перекрывания атомных орбиталей и достигает максимума при наибольшей электронной плотности между взаимодействующими ядрами.

### Ширина линии в спектрах ЯМР.

Ширина резонансной линии в экспериментальных спектрах ЯМР зависит от многих факторов и это делает ее, с одной стороны, весьма информативной характеристикой исследуемой системы, но, с другой стороны, корректная интерпретация результатов требует тщательного анализа. Можно выделить три группы явлений, которые необходимо принимать во внимание при анализе ширины пиков поглощения в ЯМР: 1) релаксационные явления в исследуемой спиновой системе; 2) аппаратные условия проведения эксперимента; 3) химические обменные процессы с участием наблюдаемых ядер.

#### 1) Релаксационные процессы.

В экспериментах по ЯМР всегда присутствует макроскопическое количество ядерных спинов, поэтому более адекватное описание явления основывается на рассмотрении вектора макроскопической намагниченности образца  $M$ . Намагниченность  $M$  складывается из магнитных моментов  $\mu_i$  отдельных ядер:

$$M = \sum_i^N \mu_i . \quad (34)$$

и связана с напряженностью приложенного магнитного поля  $H_0$  через статическую магнитную восприимчивость  $\chi$ :

$$M = \chi H_0 . \quad (35)$$

Поведение намагниченности в приложенном магнитном поле удается описать в рамках классической модели. Согласно классическим представлениям, намагниченность  $M$  обусловлена наличием в системе механического момента  $L$ , векторы  $L$  и  $M$  связаны соотношением (1). Вектор намагниченности  $M$  во внешнем магнитном поле  $H_0$  будет испытывать действие момента сил  $T$ :

$$T = [M \times H_0] . \quad (36)$$

Из механики известно, что изменение во времени механического момента связано с моментом действующих сил соотношением

$$\frac{dL}{dt} = T . \quad (37)$$

Последнее выражение, с учетом соотношений (1) и (36), можно переписать в виде

$$\frac{dM}{dt} = \gamma [M \times H_0] . \quad (38)$$

Согласно (38), вектор намагниченности изменяется с постоянной скоростью в направлении нормали к обоим векторам  $M$  и  $H_0$ . Такое движение, при котором вектор  $M$  описывает конус вокруг направления внешнего магнитного поля, называется *прецессией Лармора* (Рис. 8).

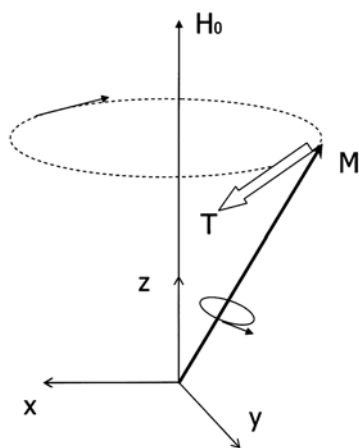


Рис. 8. Ларморова прецессия вектора намагниченности  $M$  в магнитном поле  $H_0$

Частота ларморовой прецессии  $\omega_0$  зависит напряженности магнитного поля:

$$\omega_0 = \gamma H_0. \quad (39)$$

Классическая ларморовская частота (39) совпадает с резонансной частотой ЯМР (14), найденной из рассмотрения квантовой модели явления.

Прецессия вектора  $M$  вокруг направления  $H_0$  приводит к тому, что постоянная намагниченность образца будет существовать только в направлении вдоль приложенного магнитного поля (вдоль оси  $z$  на рис. 8). При этом в поперечном направлении (в плоскости  $xy$ ) мгновенная величина намагниченности образца будет флуктуировать и средние значения компонент  $M_x$  и  $M_y$  будут равны нулю.

Рассмотрим процессы, которые будут происходить в спиновой системе, если исходно образец был намагничен во внешнем поле произвольной ориентации, а затем магнитное поле скачком изменилось и оказалось направленным вдоль оси  $z$  – как показано на рис. 8. Исходно установившееся состояние намагниченности окажется при этом неравновесным и система будет релаксировать к новому состоянию, в котором постоянная намагниченность будет направлена вдоль оси  $z$ : продольная компонента  $M_z > 0$ , поперечные компоненты  $M_x = 0$  и  $M_y = 0$ . Соотношение, описывающее релаксацию намагниченности к равновесному значению, может быть получено из уравнения ларморовой прецессии (38) путем добавления в правую часть релаксационных членов:

$$\frac{dM}{dt} = \gamma[M \times H_0] - e_x \frac{M_x}{T_2} - e_y \frac{M_y}{T_2} - e_z \frac{M_z - M_0}{T_1}. \quad (40)$$

( $e_x, e_y, e_z$  – единичные векторы, направленные вдоль соответствующих осей координат,  $T_1$  и  $T_2$  – времена продольной и поперечной релаксации соответственно,  $M_0$  – равновесное значение компоненты намагниченности  $M_z$ ). Уравнение (40) было впервые получено Ф. Блохом и опубликовано в 1946 г. в статье, сообщавшей о первом экспериментальном наблюдении ЯМР (на протонах воды).

Основные предположения, которые использованы в соотношении (40) и которые позднее подтвердились экспериментально, состоят в следующем. Скорость изменения компонент намагниченности пропорциональна отклонению их мгновенных значений от равновесных величин. Скорость продольной релаксации намагниченности (характерное время  $T_1$ ) отличается от скорости поперечной релаксации (характерное время  $T_2$ ). Если первое предположение выглядит вполне естественным, то необходимость введения двух различных времен релаксации требует обсуждения.

Из соотношений (11) и (12) следует, что энергия системы магнитных диполей, помещенных в магнитное поле  $H_0$  (поле направлено вдоль оси  $z$ ) определяется продольной компонентой намагниченности  $M_z$ . Представим себе, что поле  $H_0$  скачком уменьшилось, вслед за этим должны уменьшиться намагниченность и энергия системы. Релаксация энергии к новому значению произойдет за время  $T_1$ , избыток энергии будет передан термостату. Роль термостата могут выполнять различные степени свободы, которыми обладает система – поступательные, вращательные и др. В ЯМР все степени свободы термостата, за исключением связанных с ядерным спином, принято называть *решеткой*, независимо от фазового состояния системы. Таким образом, время продольной релаксации  $T_1$  определяется скоростью обмена энергией между спиновой системой и решеткой (*спин-решеточной* релаксацией).

Спин-решеточная релаксация всегда имеет место и всегда приводит к разупорядочению  $x, y$  - компонент намагниченности, так что для времен продольной и поперечной релаксации справедливо соотношение:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_1} + \frac{1}{T_2^*}, \quad (41)$$

где член  $1/T_2^*$  учитывает все эффекты, отличные от механизма спин-решеточной релаксации. Например, рассмотрим два расположенных рядом протона, спины которых образуют конфигурацию  $\alpha_1\beta_2$ . Электромагнитное поле, создаваемое флуктуационным движением протона 2, может индуцировать переворот спина 1 и одновременное изменение спина 2 с образованием конфигурации  $\beta_1\alpha_2$ . Процессы такого рода получили название спин-спиновой обмена, характерное время обмена носит название времени *спин-спиновой* релаксации. Энергия системы в результате спин-спиновой релаксации не изменилась, но состояние стало другим. На классическом языке такие процессы можно интерпретировать как изменение фазы ларморовской прецессии магнитных моментов.

Из сказанного ясно, что релаксацию энергии в спиновой системе характеризует время продольной релаксации  $T_1$ , тогда как поперечная релаксация не сопровождается изменением энергии системы, хотя ее состояние изменяется.

Если главным механизмом продольной и поперечной релаксации является спин-решеточный механизм, то  $T_2 = T_1$ , такая ситуация обычно реализуется для протонов в жидкостях. Величина  $T_1$  для жидкостей заключена в пределах от  $10^{-2}$  до  $10^2$  с, диапазон изменения  $T_1$  в твердых телах  $10^2 - 10^4$  с.

Влияние релаксационных процессов на ширину линии в ЯМР можно рассмотреть на основании соотношения неопределенностей:

$$\Delta E \cdot \Delta t \sim \hbar \quad (42)$$

где  $\Delta E$  – «размытие» уровня энергии,  $\Delta t$  – время жизни состояния с данной энергией. Время релаксации определяет время жизни возбужденного состояния  $\beta$  ядерного спина и задает, согласно (42), неопределенность изменения энергии при переходе  $\beta \rightarrow \alpha$ , которая проявляется в виде частотного размытия  $\Delta\nu \sim \Delta E/h$ . Ширину линии будет определять наиболее быстрый релаксационный процесс. Из выражения (41) видно, что между временами продольной и поперечной релаксации существует соотношение  $T_2 \leq T_1$ , из которого следует, что ширина линии поглощения в ЯМР определяется временем поперечной релаксации. Экспериментально измеренные значения  $T_2$  занимают широкий диапазон значений от  $10^{-4}$  с в кристаллах до  $\sim 10$  с в жидкостях.

Понятие «ширины линии», введенное на основании соотношения (42), становится вполне определенным, если известна форма линии и указан способ измерения ширины. Форму линии ЯМР обычно находят из решения стационарного уравнения (40). Расчеты и экспериментальные наблюдения показывают, что в слабом магнитном поле одиночный резонансный пик поглощения имеет лоренцеву форму

$$g(\omega) = \frac{T_2}{\pi} \cdot \frac{1}{1 + T_2^2(\omega - \omega_0)^2}, \quad (43)$$

где  $g(\omega)$  – функция формы линии в зависимости от частоты  $\omega$ . Лоренцева функция (43) имеет вид колоколообразной кривой с максимумом при  $\omega_0$ . Мерой ширины  $g(\omega)$  принято считать частотный интервал  $\delta\omega$ , равный расстоянию между точками, в которых  $g(\omega) = 1/2 g(\omega_0)$ . Из соотношения легко получить, что  $\delta\omega = 2/T_2$  или

$$\delta\nu = \frac{1}{\pi T_2}. \quad (44)$$

В соответствии с величинами  $T_2$  некоторые жидкости имеют спектры ЯМР с очень узкими линиями ( $\delta\nu \sim 0,01$  Гц), тогда как в твердых телах ширина линии может достигать  $\sim 10^4$  Гц. Узкие линии обеспечивают более высокое спектральное разрешение, по этой причине термин «ЯМР высокого разрешения» относится, в основном, к измерениям в жидкой фазе.

## 2) Аппаратурное уширение.

Вклад в величину  $1/T_2^*$  (41) и, соответственно, в ширину линии ЯМР, помимо спин-спиновой релаксации могут давать аппаратурные факторы. Аппаратурное уширение линии связано, прежде всего, с неоднородностью постоянного магнитного поля  $H_0$ . Если по каким-либо причинам поле неоднородно и масштаб неоднородности по объему образца составляет  $\delta H_0$ , то это приведет к «расплы-

ванию» резонансной линии в частотном интервале  $\delta\nu_H$ , для оценки которого воспользуемся соотношением (14):

$$\delta\nu_H = \frac{\gamma}{2\pi} \delta H_0. \quad (45)$$

Аналогичное по своей сути влияние на ширину линии оказывает взаимодействие с соседними ядерными магнитными моментами. Допустим, что ближайшими соседями протона являются четыре ядра со спинами  $1/2$  (не обязательно протоны). Эти ближайшие ядра могут образовать 16 различных конфигураций  $\alpha\beta\beta\beta$ ,  $\alpha\alpha\beta\alpha$  и др., которые будут создавать различные локальные магнитные поля в месте расположения протона. Если принять, что диапазон изменения локального поля для различных конфигураций окружения составляет  $\delta H_0$ , то статистическое усреднение различных конфигураций приведет к уширению резонансной линии, которое можно оценить из соотношения (45). Взаимодействия ядерных магнитных моментов дают существенный вклад в ширину линии в твердых телах и вязких жидкостях, в невязких жидкостях тепловое движение усредняет локальные поля, создаваемые соседними группами, по этой причине наблюдаются узкие сигналы (вклад спин-спиновых взаимодействий в  $1/T_2^*$  мал).

Один из видов аппаратного уширения может быть связан с конечным временем пребывания образца в измерительной кювете. Такая ситуация (в целом, довольно редкая для ЯМР) возникает в проточных экспериментах, когда через измерительную кювету протекает поток исследуемой жидкости. Соответствующий вклад в ширину спектральной линии можно оценить из соотношения

$$\delta\nu_n = \frac{1}{\pi t_n}, \quad (46)$$

где  $t_n$  – время пребывания образца в измерительной кювете.

Главной причиной аппаратного уширения линий обычно является неоднородность постоянного магнитного поля  $H_0$ . Для компенсации краевых эффектов и других неоднородностей соленоидального поля, создаваемого основной катушкой, используются дополнительные т.н. *шиммирующие* катушки. Кроме того, исследуемый образец помещают в ампулу, которая вращается вокруг продольной оси со скоростью  $\sim 100$  об/с. Быстрое вращение образца приводит к усреднению макроскопических неоднородностей поля в объеме образца, подобно тому, как молекулярное движение усредняет микроскопические локальные неоднородности, вызванные взаимодействием ядерных магнитных моментов.

Таким образом, время продольной релаксации  $T_2$ , определяющее экспериментально наблюдаемую ширину линии ЯМР (44), связано с временем спин-решеточной релаксации  $T_1$  (41) и зависит от вкладов в величину  $1/T_2^*$  (41) следующих основных процессов: спин-спиновый обмен, взаимодействие ядерных магнитных моментов, неоднородность постоянного магнитного поля  $H_0$ . В классическом ЯМР высокого разрешения величину  $T_2$  оценивают, исходя из ширины линий. Современные ЯМР-спектрометры, работающие в импульсном режиме, позволяют измерять времена  $T_1$  и  $T_2$  по отдельности [4, 5].

### 3) Химические обменные процессы.

Общее соотношение (42) служит основой для понимания того, каким образом процессы химического обмена могут влиять на ширину линии в спектре ЯМР. Представим, что в системе имеются две группы А и В, способные присоединять протоны, между которыми протекает реакция обмена:



Примером может служить водный раствор аммиака  $NH_3$ , в котором присутствуют группировки N-H и O-H, между которыми происходит быстрый протонный обмен. Конечное время жизни протона на каждой из групп А и В приводит к тому, что сигналы ПМР, отвечающие состояниям AH и BH оказываются уширены, для оценки уширения  $\Delta\nu$  можно воспользоваться соотношением, аналогичным (46).

Однако, процессы химического обмена ядер влияют не только на ширину спектральных линий, но могут существенно изменить сам вид спектра: количество линий, их положение и характер расщепления. По этой причине проявления обменных эффектов в спектрах ЯМР требуют специального обсуждения.

### Обменные эффекты в спектрах ЯМР.

#### 1) Симметричный двухпозиционный обмен.

Рассмотрим простой случай динамического равновесия - переход молекулы между двумя конформационными состояниями с равной энергией ( $A \leftrightarrow B$ ), в качестве примера возьмем молекулу нитрозамина (Рис.9). Все изображенные на рис.9 связи лежат в одной плоскости, группа N=O может поворачиваться вокруг связи N-N, возникающие при повороте группы N=O на  $180^\circ$  две различные конформации имеют одинаковую энергию. Максимум

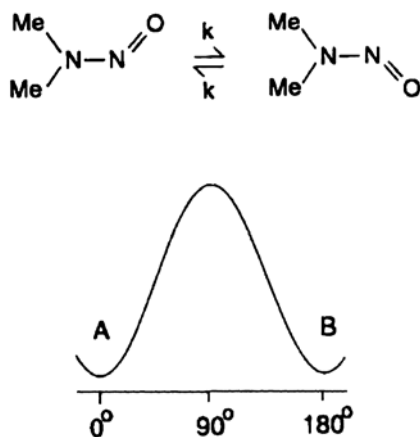


Рис. 9. Молекула  $(\text{CH}_3)_2\text{N}_2\text{O}$  как пример двухпозиционного симметричного обмена. Показана зависимость энергии от угла поворота группы NO

энергии отвечает переходному состоянию, в котором плоскость N=N=O перпендикулярна плоскости  $\text{CH}_3\text{-N-CH}_3$ . Скорость перехода между двумя конформационными состояниями характеризуется константой первого порядка  $k$ , в силу симметрии потенциального барьера константы скоростей «прямого» и «обратного» переходов равны.

При низких температурах вращение является медленным (медленным настолько, что за время регистрации спектра переверт не успевает произойти) и спектр ПМР содержит две резонансные линии равной интенсивности от метильных групп в *cis* и *trans* положениях по отношению к атому кислорода (резонансные частоты  $\nu_{cis}$  и  $\nu_{trans}$  соответственно). При высоких температурах за время записи спектра группа N=O успевает совершить перескоки между двумя положениями, при этом состояние метильных групп изменяется  $cis \leftrightarrow trans$ . Среднее время жизни в каждом состоянии составляет  $\tau = 1/k$ , соответственно, с характерным временем  $\tau$  резонансная частота каждой метильной группы меняется от  $\nu_{cis}$  к  $\nu_{trans}$  и обратно. Поскольку положения *cis* и *trans* неэквивалентны, с точки зрения спектроскопии ЯМР подобные процессы являются химическим обменом, хотя и не включают образование или разрыв химических связей.

Конформационный переход, рассмотренный на примере молекулы нитрозамина (Рис.9), является примером **симметричного двухпозиционного обмена**. Вид спектров ЯМР при различной скорости обмена иллюстрирует рис. 10. Качественные изменения состоят в следующем.

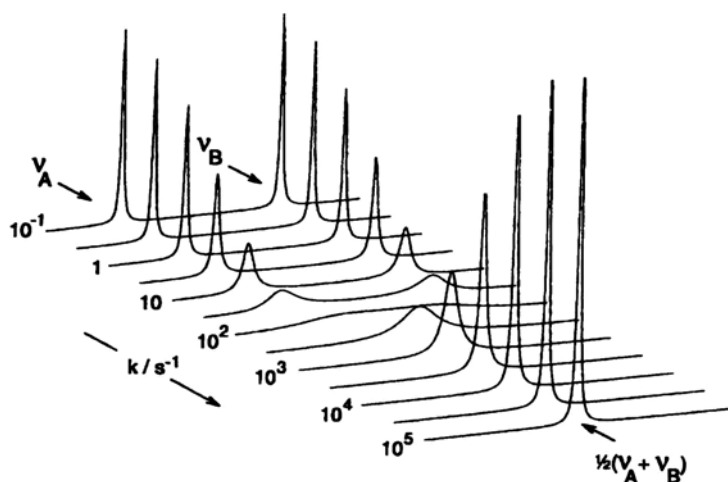


Рис. 10. Спектры ЯМР в случае двухпозиционного симметричного обмена в зависимости от величины константы скорости обмена  $k$ . При медленном обмене разница резонансных частот двух линий  $\nu_A - \nu_B = 50$  Гц



В условиях очень медленного обмена наблюдаются два узких пика равной интенсивности с резонансными частотами  $\nu_A$  и  $\nu_B$ . С возрастанием скорости обмена (например, при повышении температуры) обе линии сначала уширяются, затем сдвигаются по направлению друг к другу и уширяются далее до тех пор, пока не сольются в один широкий резонанс. Слияние наблюдается тогда, когда константа скорости достигает величины порядка разности резонансных частот  $k \sim |\nu_A - \nu_B|$ . При дальнейшем увеличении скорости обмена наблюдается единственный резонансный пик на частоте  $\nu = 1/2(\nu_A + \nu_B)$ , ширина которого уменьшается по мере роста скорости обмена. Диапазон изменения  $k$  от  $10^{-1}$  до  $10^2 \text{ с}^{-1}$  (рис. 10) соответствует ситуации *медленного обмена*, в области  $10^2 \div 10^5 \text{ с}^{-1}$  (рис. 10) реализуется *быстрый обмен*, при значении  $k = 10^2 \text{ с}^{-1}$  имеет место *промежуточный обмен*.

При медленном обмене пики поглощения в спектре ЯМР наблюдаются при несмещенных резонансных частотах  $\nu_A$  и  $\nu_B$ . Линии несколько уширены из-за конечного времени жизни в состояниях А и В, обменный вклад в ширину линии определяется соотношением неопределенностей:

$$\delta\nu = \frac{k}{\pi}. \quad (48)$$

(Отметим очевидную аналогию соотношений (48) и (46)). Следует подчеркнуть, что выражение (48) описывает не полную ширину линии, а лишь долю обменного процесса в суммарной ширине (которая, как обсуждалось выше, включает релаксационные составляющие, аппаратурные и др. виды уширений).

В случае быстрого обмена обменный вклад в ширину единственной наблюдаемой линии определяется соотношением

$$\delta\nu = \frac{\pi(\nu_A - \nu_B)^2}{2k}. \quad (49)$$

Соотношение (49) получается из решения уравнения Блоха, в котором учитывается влияние химического обмена на намагниченность. В отличие от ситуации медленного обмена, при котором возрастание  $k$  приводит к уширению двух отдельных пиков, в случае быстрого обмена увеличение  $k$  сопровождается сужением единственного резонансного пика. Сужение линии отражает более эффективное усреднение двух состояний А и В. Пик наблюдается при частоте, которая является средневзвешенной резонансных частот  $\nu_A$  и  $\nu_B$ . Пусть система находится в состоянии А в течение времени  $\tau_A$  и в состоянии В в течение времени  $\tau_B$ . В этом случае усредненная частота резонанса определяется соотношением

$$\nu = \frac{\tau_A \nu_A + \tau_B \nu_B}{\tau_A + \tau_B} \quad (50)$$

При симметричном обмене  $\tau_A = \tau_B = 1/k$ , в этих условиях из (50) следует  $\nu = (\nu_A + \nu_B)/2$ .

Промежуточный обмен отражает состояние системы, в котором два резонанса сливаются в одну широкую линию и провал между пиками сглаживается. Обычно промежуточный обмен наблюдается для узкой области значений константы скорости обмена, на рис. 10 промежуточному обмену отвечает значение  $k = 10^2 \text{ с}^{-1}$ . Если принять, что при промежуточном обмене для ширины линии уже справедлива формула (49), но ширина еще равна полусумме ширин двух линий, определяемых выражением (48), то получаем условие для значения  $k$ , при котором реализуется промежуточный обмен:

$$k = \frac{\pi}{\sqrt{2}} \cdot (\nu_A - \nu_B) \quad (51)$$

## 2) Несимметричный двухпозиционный обмен.

Несимметричный обмен возникает в том случае, если вероятности связывания протона с группами А и В не равны. Профиль потенциальной энергии протона для этого случая представлен на рис. 11.

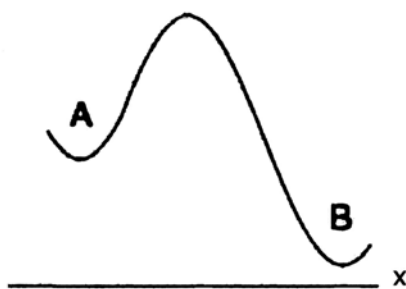


Рис. 11. Зависимость потенциальной энергии протона от координаты реакции  $x$  при несимметричном связывании на группах А и В

Обозначим вероятности пребывания протона на группах А и В через  $p_A$  и  $p_B$  соответственно ( $p_A + p_B = 1$ ). Константой скорости реакции первого порядка  $k_A$  будем характеризовать переход  $A \rightarrow B$ , константой  $k_B$  – обратный переход. Средними временами жизни двух состояний являются  $\tau_A = 1/k_A$  и  $\tau_B = 1/k_B$ . Вероятности  $p_A$  и  $p_B$  могут быть выражены через времена жизни:  $p_A = \tau_B / (\tau_A + \tau_B)$ ,  $p_B = \tau_A / (\tau_A + \tau_B)$ . Условие равновесия означает, что  $p_A k_A = p_B k_B$ .

При медленном обмене обменные вклады в уширение линий составляют:

$$\delta\nu_A = \frac{k_A}{\pi}; \quad \delta\nu_B = \frac{k_B}{\pi}. \quad (52)$$

В условиях несимметричного обмена два резонансных сигнала уширяются по-разному из-за различий во временах жизни  $\tau_A$  и  $\tau_B$ .

При быстром обмене наблюдается одна резонансная линия, положение ее максимума определяется соотношением (50), которое может быть записано в виде:

$$\nu = p_A \nu_A + p_B \nu_B. \quad (53)$$

В отличие от симметричного обмена, усредненный пик не располагается строго посередине между частотами  $\nu_A$  и  $\nu_B$ . Для профиля энергии, изображенного на рис. 11, усредненный резонансный пик будет в большей степени смещен в сторону  $\nu_B$ . Ширина линии при быстром обмене дается соотношением

$$\delta\nu = \frac{4\pi p_A p_B}{k_A + k_B} (\nu_A - \nu_B)^2. \quad (54)$$

Очевидно, что выражения (52) - (54) переходят в формулы для симметричного обмена при  $k_A = k_B = k$  и  $p_A = p_B = 1/2$ .

### 3) Обмен и мультиплетная структура линий.

Линии ЯМР, относящиеся к ядрам, которые не участвуют в химическом обмене, также могут изменяться в результате обменных процессов. В качестве примера рассмотрим молекулу этанола  $C_2H_5OH$ . В молекуле этанола присутствуют три неэквивалентные протон-содержащие группы: метильная,  $-CH_2$  и  $OH$ -группа, следовательно, в спектре ПМР будут наблюдаться три линии с относительной интенсивностью 3:2:1. Спин-спиновое взаимодействие протонов  $CH_3$ - и  $CH_2$ -групп приведет к тому, что сигнал метильной группы расщепится в триплет, а сигнал  $CH_2$ -группы станет квадруплетным. Далее, из-за взаимодействия с гидроксильным протоном каждая компонента квадруплета  $CH_2$  расщепится на два пика; в свою очередь, сигнал  $OH$ -группы окажется триплетным из-за расщепления группой  $CH_2$ . Можно предположить, что взаимодействие метильной и  $OH$ -групп будет очень слабым ( $^4J \rightarrow 0$ ) и в спектре не проявится. Описанная форма спектра  $C_2H_5OH$  согласуется с наблюдаемой экспериментально (рис. 12).

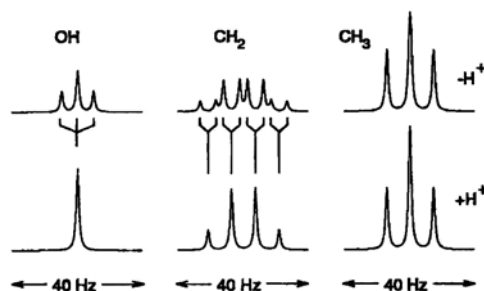


Рис. 12. Спектры ПМР этилового спирта: в отсутствие протонного обмена (вверху) и при наличии обмена между ОН-группами воды и спирта (внизу)

Однако, такой спектр можно зарегистрировать лишь для очень хорошо очищенного этанола, из которого удалены следы кислоты. Обычно для этанола, не подвергнутого специальной очистке, наблюдается спектр, приведенный в нижней части рис. 12. Присутствие малых количеств кислотных ионов  $H^+$  приводит к исчезновению расщеплений, обусловленных взаимодействиями спиртового ОН-протона. Этот эффект обусловлен быстрым обменом гидроксильного протона спирта с ионами  $H^+$  из окружения. В результате такого обмена происходит хаотическое изменение направления спина ОН-протона, которое приводит к усреднению его проекции до нулевого значения.

Аналогичные явления наблюдаются в смеси этанол-вода, спектр ПМР которой представлен на рис. 13. В отсутствие следов кислоты можно видеть два отдельных резонанса, относящихся к протонам воды и ОН-группы спирта. Добавка кислоты катализирует протонный обмен и если скорость обмена превышает  $10\text{ с}^{-1}$ , то наблюдается единственный резонансный пик, положение и ширина которого определяются соотношениями (53) и (54).

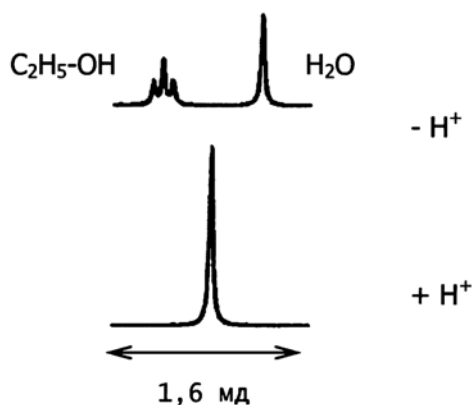


Рис.13. Спектры ПМР ОН - резонансов смеси этанол-вода в отсутствие (вверху) и при наличии примесей кислоты (внизу)

#### Техника ЯМР-эксперимента.

Принципиальная схема ЯМР-спектрометра высокого разрешения приведена на рис.14. Образец, находящийся в ампуле (рис.14), помещается внутрь соленоидальной катушки (на рис. 14 катушку изображает постоянный магнит SN). Стандартный диаметр ампулы составляет 5 мм. Постоянное магнитное поле  $H_0$  создается протекающим по обмотке соленоида током. Достижение условий резонанса возможно двумя способами: при фиксированной частоте генератора 2 плавно менять величину постоянного поля  $H_0$ , либо, поддерживая постоянной  $H_0$ , осуществлять развертку по частоте переменного электромагнитного поля  $H_1$ . Как правило, используется второй способ. Индукционный сигнал, наводимый в приемной катушке спектрометра, зависит от поглощения электромагнитной энергии образцом на данной частоте. Усиленный индукционный сигнал, разворачиваемый по частоте, поступает на детектор 4, который служит для визуального контроля поглощения и используется для настройки спектрометра. Сигнал с выхода усилителя 3 может поступать на самописец или другое регистрирующее устройство для последующей обработки.

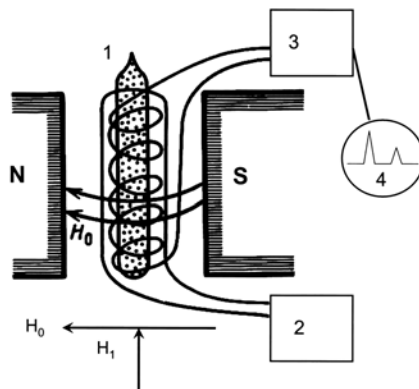


Рис. 14. Принципиальная схема спектрометра ЯМР. 1-ампула с образцом, 2- радиочастотный генератор, 3-радиочастотный усилитель, 4-детектор сигналов

Для резонансного поглощения электромагнитной энергии наряду с условием (14) необходима определенная поляризация излучения: вектор напряженности магнитного поля излучения  $H_1$  должен быть ортогонален вектору напряженности постоянного магнитного поля  $H_0$  (рис. 14). В классических представлениях (рис. 8), переходы между уровнями энергии означают поворот вектора намагниченности  $M$  относительно направления  $H_0$ . Согласно (38), «прокидывающий» момент будет создаваться только в том случае, если поле  $H_1$  содержит поперечные  $x, y$ -компоненты (ось  $z$  задается направлением  $H_0$ ).

Важнейшей рабочей характеристикой ЯМР-спектрометра является рабочая частота  $\nu_0$ , которая непосредственно связана с напряженностью постоянного магнитного поля  $H_0$  (соотношение (14)). Первые ЯМР-спектрометры позволяли наблюдать протонный резонанс на частоте 40 МГц, что соответствует напряженности поля  $H_0 \sim 1$  Т. Совершенствование метода ЯМР сопровождалось увеличением рабочей частоты  $\nu_0$ , в современных приборах резонансная частота для протонов достигает 900 МГц. Необходимые для работы в этом диапазоне магнитные поля  $H_0 \sim 20$  Т создаются сверхпроводящими соленоидами.

Использование более сильного постоянного магнитного поля в экспериментах по ЯМР имеет целый ряд преимуществ. Во-первых, соотношение (18) показывает, что химический сдвиг сигнала  $\Delta\nu$  зависит от напряженности поля, тогда как константы спин-спиновых взаимодействий  $J$  от поля не зависят. Поэтому сложные спектры с наложением расщепленных линий часто можно упростить, увеличивая напряженность поля и добываясь, тем самым, выполнения условия  $J/\Delta\nu < 1$ . Во-вторых, даже в отсутствие спин-спинового взаимодействия наблюдается увеличение разрешения  $R = \nu_0/\delta\nu$  и группы с меньшей разностью химических сдвигов становится различимыми. В-третьих, возрастание  $H_0$  приводит к повышению чувствительности, поскольку при этом увеличивается различие в заселенности спиновых уровней энергии (см. (29)) и возрастает мощность поглощения электромагнитной энергии.

Разрешение современных ЯМР-спектрометров может достигать величины  $R \sim 10^{10}$ , что возможно лишь при условии высокой однородности постоянного магнитного поля в объеме образца. Неоднородность поля ведет к аппаратурному уширению линий (см. соотношение (45)), и, тем самым к уменьшению разрешения  $R = \nu_0/\delta\nu$ . Повышение однородности поля  $H_0$  внутри соленоида, в частности, минимизация краевых эффектов, достигается применением дополнительных *шиммирующих* катушек, расположенных на периферии основной катушки. Кроме того, резонансные условия усредняются за счет быстрого вращения ампулы с образцом вокруг продольной оси, что эквивалентно дополнительному увеличению однородности поля.

Спектрометры ЯМР высокого разрешения обычно снабжаются температурной приставкой, позволяющей регулировать и поддерживать температуру образца. В зависимости от конкретных областей применения спектрометры могут быть снабжены датчиками на различные магнитные ядра и другими устройствами, расширяющими аналитические возможности ЯМР-спектроскопии.

### Контрольные вопросы.

1. Какие величины связывает гиромагнитное отношение?
2. Достаточно ли для наблюдения ЯМР выполнения условия (14)? Почему для стимулирования переходов вектор  $H_1$  переменного электромагнитного поля должен быть перпендикулярен направлению постоянного поля  $H_0$ ?
3. Объяснить понятия локального поля и константы экранирования.
4. Почему в спектроскопии ЯМР используют вещества-стандарты? В чем достоинства и недостатки ТМС как стандарта для ЯМР?
5. Что характеризует химический сдвиг в спектре ЯМР и в чем преимущества использования безразмерной величины  $\delta$  для измерения химического сдвига?
6. Какие физико-химические факторы влияют на величину константы экранирования ядер в молекулах?
7. Чем объясняется сильный «слабополюсный» сдвиг сигналов ПМР в молекуле бензола?
8. Что такое константа спин-спинового взаимодействия (КССВ) и как определить ее из спектра ЯМР?
9. Какие особенности молекулярной структуры влияют на величину КССВ?
10. Чем определяется число компонент в мультиплете, возникшем в результате спин-спинового взаимодействия ядер? Как найти относительную интенсивность линий в мультиплетной структуре?

11. Будут ли различаться КССВ в дублете и триplete на рис. 6?
12. Почему в спектре ПМР  $\text{CH}_4$  наблюдается одна линия и не проявляются спин-спиновые взаимодействия соседних протонов.?
13. Какие параметры анализируют в спектрах ЯМР высокого разрешения и какую информацию дает этот анализ?
14. Система ядерных спинов находится во внешнем магнитном поле, которое в момент  $t = 0$  скачком возрастает (убывает). Какая величина будет характеризовать время изменения энергии системы? Обсудить предлагаемую ситуацию с точки зрения сохранения энергии.
15. Какие факторы определяют ширину линий в спектрах ЯМР?
16. Обосновать необходимость введения двух времен релаксации для описания явления ЯМР.
17. При рассмотрении процессов релаксации в ПМР следует ли относить к «решетке» спины неспаренных электронов?
18. Каково соотношение между временами продольной и поперечной релаксации и какое из них характеризует ширину линий в спектрах ЯМР.
19. Каких изменений в спектрах ЯМР следует ожидать при фазовом переходе вода-лед?
20. Объяснить физическую суть обменного уширения линий ЯМР.
21. При рассмотрении обменных процессов выделяют ситуации медленного, быстрого и промежуточного обмена. Какая величина является мерой сравнения?
22. Глицерин (трехатомный спирт) смешивается с водой в любых соотношениях. Будет ли спектр ПМР смеси вода/глицерин представлять собой взвешенную сумму спектров воды и глицерина?
23. При денатурации белков в спектрах ПМР происходят резко выраженные изменения. Какого рода изменений следует ожидать?
24. Как следовало бы изменить условия проведения эксперимента, если интенсивность сигналов в спектре ЯМР недостаточна?
25. Какие из условий проведения эксперимента следует изменять для повышения разрешения спектров ЯМР?

### Выполнение работы.

Выполнение работы преследует следующие цели:

- 1) Изучение теоретических основ ЯМР, необходимых для решения *прямой задачи* спектроскопии: схематическое изображение спектра ЯМР для заданной молекулярной структуры.
- 2) Решение *обратной задачи спектроскопии* - определение структуры молекулы, исходя из вида спектра ПМР. Дополнительной информацией для решения задачи является брутто-формула исследуемой молекулы.
- 3) Исследование влияния неоднородности постоянного магнитного поля на ширину спектральных линий.
- 4) Изучение влияния скорости химического обмена на характеристики спектров ЯМР.

### Порядок действий.

1. Получить у преподавателя номер исследуемого образца.
2. Нажатием кнопки «ЯМР Иллюстрации» войти в режим просмотра иллюстраций.
3. Ознакомиться с устройством ЯМР-спектрометра, пользуясь подсказками программы.
4. В режиме просмотра иллюстраций, пользуясь навигационными подсказками, изучить материалы, демонстрирующие влияние молекулярной структуры и динамики протонного обмена на характеристики спектров ЯМР.
5. С помощью кнопки «ЯМР СПЕКТРЫ» перейти в режим исследования спектров ПМР.
6. Получить спектр образца, номер которого указан преподавателем. Спектр загружается после набора номера в окне «Файл образца» и команды «Загрузить». В нижнем левом окне при этом указывается брутто-формула анализируемой молекулы.
7. Изучить общий вид спектра при различных рабочих частотах – количество и интенсивность линий, наличие тонкой структуры и неразрешенных полос. Записать в журнал напряженность постоянного магнитного поля (указывается в нижнем правом окне) для каждой рабочей частоты.
8. На основании измерений, выполненных в п.7, рассчитать гиромагнитное отношение для протонов на различных частотах. Полученные результаты сравнить с данными табл. 1.

9. Установить в окне «Шкала» режим «м.д.» и, пользуясь курсором, определить химический сдвиг каждой из линий спектра.

10. Установить в окне «Шкала» режим «Герц» и с помощью «Линейки» определить химический сдвиг  $\Delta\nu$  в герцах для каждой из линий спектра на трех различных рабочих частотах. Результаты представить в виде таблицы. Измеренные хим. сдвиги  $\Delta\nu$  выразить в м.д. и сравнить с измеренными в п.9.

11. Определить относительную интенсивность линий в исследуемом спектре, используя опцию «Интегрирование». Для этого с помощью кнопок «Сдвиг» и «Увеличение» представить спектр в удобном масштабе, при котором погрешность интегрирования минимальна.

12. Исследовать тонкую структуру спектра – мультиплетность линий и величины констант спин-спинового взаимодействия  $J$ . Для измерения констант  $J$  использовать «Линейку», интенсивность компонент мультиплета определить путем интегрирования. Измеренное отношение интенсивностей сравнить с теоретическим.

13. Для последующей работы по расшифровке спектра занести в журнал «скелетную» схему спектра – количество линий, их химические сдвиги и относительные интенсивности, тонкую структуру мультиплетных линий.

14. На примере двух-трех линий исследовать влияние шиммирования и вращения образца на ширину спектральной линии. Исследуемый пик кнопками «Сдвиг» и «Увеличение» представить в удобном масштабе. Ширину линии измерять «Линейкой» на половине максимальной высоты. Значение вертикальной координаты, при котором необходимо измерять ширину, выбирается по показаниям индикатора в нижнем правом окне. Индикатор указывает значение вертикальной координаты в процентах от максимума наиболее интенсивной линии спектра.

15. Оценить относительную неоднородность  $\delta H_0/H_0$  постоянного магнитного поля, полагая, что шиммирование и вращение образца полностью исключают неоднородность поля.

16. На примере исследуемого спектра оценить максимальное разрешение ЯМР-спектрометра в зависимости от рабочей частоты. Оценить влияние шиммирования и вращения на максимальное разрешение.

17. На основании анализа спектра ПМР, пользуясь брутто-формулой соединения и данными Табл. 2, изобразить молекулярную структуру исследуемого вещества.

#### Динамические измерения.

18. Получить у преподавателя шесть значений температуры, при которых будут проводиться измерения, и два значения рабочей частоты.

19. Загрузив образец номер 0, пронаблюдать изменение формы спектра в зависимости от температуры при двух рабочих частотах.

20. Для двух рабочих частот определить температурные области, в которых имеет место быстрый, медленный и промежуточный обмен.

21. В предположении, что наблюдаемая ширина линий определяется исключительно протонным обменом, определить кинетические параметры обмена – энергию активации и предэкспоненциальный фактор константы скорости.

22. Сравнить кинетические параметры, определенные из измерений на различных рабочих частотах. Результаты обсудить.

#### Дополнительное задание.

23. Исследуя образец номер 26 методами  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, установить молекулярную структуру вещества и обсудить основные факторы, определяющие вид спектров.

#### Примерные задачи.

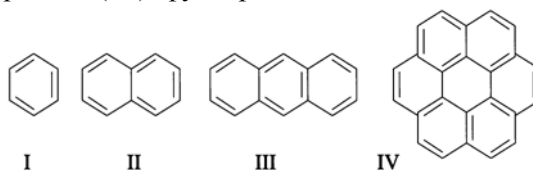
1. Пользуясь таблицей 1, оценить магнитные поля, при которых ядра  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$  входят в резонанс с радиочастотным полем 100 МГц.

2. Рассчитать точное значение частоты ЯМР для протонов в постоянном магнитном поле  $H_0 = 12\text{ Т}$ , если хим. сдвиг данной группы протонов равен  $\delta = 7,82\text{ м.д.}$

3. Рассчитать относительную разность заселенностей двух уровней  $\delta N/N$  для протона в магнитном поле Земли и в поле  $H_0 = 10\text{ Т}$  при 4 К и при комнатной температуре.

4. Сколько резонансов в спектрах ПМР можно ожидать в случае а) хлороформа ( $\text{CHCl}_3$ ) б) формальдегида ( $\text{HCOH}$ ) в) ацетона ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), г) метанола д) раствора этилиодида в  $\text{CCl}_4$ .

5. Сколько линий будет наблюдаться в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР молекул бензола (I), нафталина (II), антрацена (III), коронена (IV), фуллерена  $\text{C}_{60}$ ?

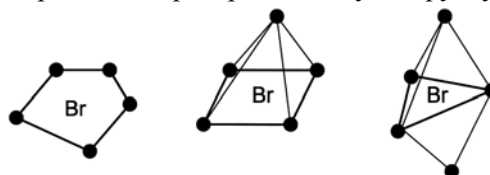


6. Углеводороду  $\text{C}_8\text{H}_{10}$  соответствует спектр ПМР, представляющий собой два синглетных сигнала  $\delta_1 = 2,1$  м.д.,  $\delta_2 = 7,2$  м.д. с соотношением интенсивностей 3:2 соответственно. Определить строение молекулы.

7. Две протон-содержащие группы А и Х характеризуются химсдвигами ПМР  $\delta_A=1,5$ ,  $\delta_X=1,2$ , м.д., КССВ  $J_{AX} = 1,7$  Гц. Определить минимальную напряженность постоянного магнитного поля, которая необходима для получения спектров ПМР первого порядка.

8. Оценить относительную однородность постоянного магнитного поля  $H_0$ , необходимую для наблюдения тонкой структуры спектров ПМР молекул  $\text{R-CH}_2\text{-CH}_3$ , если КССВ между метильными и метиленовыми протонами равна 3 Гц.

9. Теоретически (из соображений симметрии) молекула  $\text{BrF}_5$  может быть плоским пятиугольником, тетрагональной пирамидой или тригональной бипирамидой (см рис.). Спектр  $^{19}\text{F}$ -ЯМР состоит из двух полос с отношением интенсивностей 4:1. Интенсивная линия представляет собой дублет, а слабая линия – квинтет (1:4:6:4:1). Определить пространственную структуру молекулы  $\text{BrF}_5$ .



#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Франкевич Е.Л. Физические методы исследования: Учеб. пособие. - М.: МФТИ, 1980.
2. Родин В.В. Методы магнитного резонанса: Учеб. пособие. - М.: МФТИ, 2004.
3. Пентин Ю.А., Вилков Л.В. Физические методы исследования в химии. - М.: Мир, 2003. с. 417 - 468.
4. Драго Р. Физические методы в химии. - М.: Мир, 1981. Т.1. с.248 - 331.
5. Чижик В.И. Ядерная магнитная релаксация. – СПб.: Изд. С.-Петербургского университета, 2000.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

6. Драго Р. Физические методы в химии. - М.: Мир, 1981. Т.1. с.332 - 416.
7. Сликтер Ч. Основы теории магнитного резонанса. – М.: Мир, 1967.
8. Абрагам А. Ядерный магнетизм. - М.: ИЛ, 1963.
9. Эмсли Дж., Финей Дж., Сатклиф Л. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса высокого разрешения. - М.: Мир, 1968. Т. 1 и 2.
10. Лундин А.Г., Федин Э.И. ЯМР-спектроскопия. - М.: Наука, 1986.