

Министерство образования и науки Российской Федерации

**КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

**КАФЕДРА КВАНТОВОЙ ЭЛЕКТРОНИКИ И
РАДИОСПЕКТРОСКОПИИ**

Направление: 011800.62 – Радиофизика

КУРСОВАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**ЯМР спектроскопия высокого разрешения
водорастворимых п-трет-
бутилтиакаликс[4]аренов**

Работа завершена:

" ___ " _____ 2015 г. _____ (Е.А.Архипова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.ф.-м.н., с.н.с. КИББ КазНЦ РАН

" ___ " _____ 2015 г. _____ (Б.И.Хайрутдинов)

Заведующий кафедрой
д.ф.-м.н., профессор

" ___ " _____ 2015 г. _____ (М.С.Тагиров)

Содержание

Введение.....	3
1. Литературный обзор	4
1.1 Принцип метода ядерного магнитного резонанса.....	4
1.2 Импульсный эксперимент ЯМР	7
1.3 NOESY эксперимент.....	10
2. Экспериментальная часть.....	13
3. Результаты эксперимента	15
3.1 Соотнесение спектральных линий	15
3.2 NOESY эксперимент.....	23
Вывод.....	25
Список литературы	26

Введение

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из основных методов физико-химического анализа, который находит применение во многих областях науки, медицины и промышленности. Сигналы ЯМР отражают влияние ряда слабых взаимодействий между ядрами и электронами внутри молекулы, между различными ядрами одной молекулы и между ядрами соседних молекул. Понятие природы этих взаимодействий дает нам богатый источник информации о структуре и конформации молекул, о межмолекулярных взаимодействиях и молекулярном движении.

Одним из бурно развивающихся направлений биоорганической химии является создание относительно небольших синтетических рецепторов, способных к высокоселективному связыванию определенного типа субстратов. Интенсивные исследования ведутся в области создания соединений, которые, подобно природным рецепторам и ферментам, способны осуществлять сложное распознавание катионов металлов, органических веществ и белковых поверхностей. Одной из используемых платформ для создания молекулярных рецепторных структур являются каликс[4]арены. Они обладают способностью за счет гидрофобных взаимодействий заключать небольшие молекулы в свои макроциклические полости с образованием комплексов типа «гость-хозяин».

Цель данной работы: расшифровка ЯМР спектров *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов конфигурации конус и 1,3-альтернат, изучение особенностей их самосборки в зависимости от пространственной структуры с помощью спектров NOESY.

1. Литературный обзор

1.1 Принцип метода ядерного магнитного резонанса

В основе ядерного магнитного резонанса лежат магнитные свойства атомного ядра. Ядро, исходя из классической теории, может быть представлено в виде положительно заряженной сферы, вращающейся вокруг своей оси с угловым моментом количества движения P . Угловой же момент P в свою очередь обуславливает появление у этого ядра магнитного момента μ : $\mu = \gamma P$, где γ – гиромагнитное соотношение, константа, характеризующая ядро. С точки зрения квантовой теории угловой и, соответственно, магнитный моменты квантованы: $P = \sqrt{I(I + 1)}\hbar$, где \hbar - константа Планка, I – ядерный спин, который может принимать значения $0, 1/2, 1, 3/2, 2 \dots$ и до 6 . [1]

Если ядро с угловым моментом количества движения P и магнитным моментом μ поместить в постоянное магнитное поле B_0 , то на вектор магнитного момента начнет действовать вращательный момент, стремящийся расположить его вдоль поля, как показано на рисунке 1. Таким образом, возникнет прецессия магнитного момента вокруг направления поля. В качестве аналога из классической физики можно привести движение волчка, обладающего вращательным моментом вдоль оси симметрии, прецессирующего вокруг гравитационного поля Земли. [2]

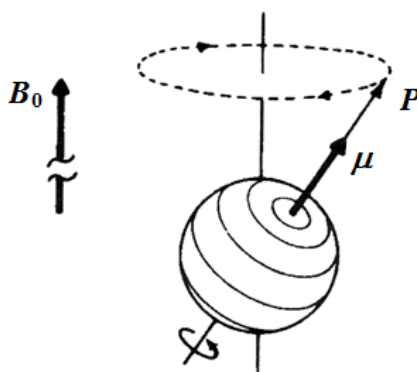


Рисунок 1 - Ядро в постоянном магнитном поле B_0 .

Таким образом, отдельное ядро имеет магнитный момент, прецессирующий с некоторой частотой вокруг направления поля. Эта частота называется ларморовой частотой ядра, а также частотой ЯМР-поглощения $\omega = -\gamma B_0$. Ларморова частота уникальная для каждого ядра, потому что гиромангнитные отношения для всех ядер разные.

Теперь рассмотрим данный процесс с точки зрения квантовой механики. Если направление поля B_0 совпадает с осью Z , то Z -компонента углового момента количества движения будет определяться соотношением: $P_z = m\hbar$, где m – магнитное квантовое число, которое принимает значения $I, I-1, \dots, -I+1, -I$, то есть m может принимать $(2I+1)$ различных значений. А Z -компонента магнитного момента: $\mu_z = \gamma m\hbar$. [3]

Для ядер со спином $I=1/2$ (Например, 1H и ^{13}C) $m=+1/2$ и $-1/2$, а это значит, что число возможных проекций на постоянное магнитное поле равно 2 в соответствии с рисунком 2.

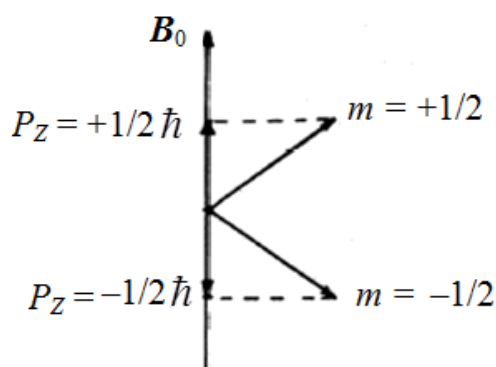


Рисунок 2 - Квантование углового момента ядер со спином $I = 1/2$ в постоянном магнитном поле B_0 .

С точки зрения квантово-механических представлений разрешенными значениями угла прецессии θ считаются те, при которых проекция углового момента (спина) на ось Z имеет только целые и полуцелые значения I .

Такое ядро можно представить как магнитный диполь, Z -компонента которого ориентирована вдоль постоянного поля B_0 , потому что данное состояние характеризуется меньшей энергией. Так как значения магнитного числа m имеют два значения, то ориентация Z -компоненты может быть как

по полю, так и против поля, то есть имеется два состояния, в которых находится ядро – α и β (собственные состояния системы). Таким образом, происходит расщепления энергетического уровня, различие в энергиях между соседними уровнями: $\Delta E = \gamma \hbar B_0$. [2]

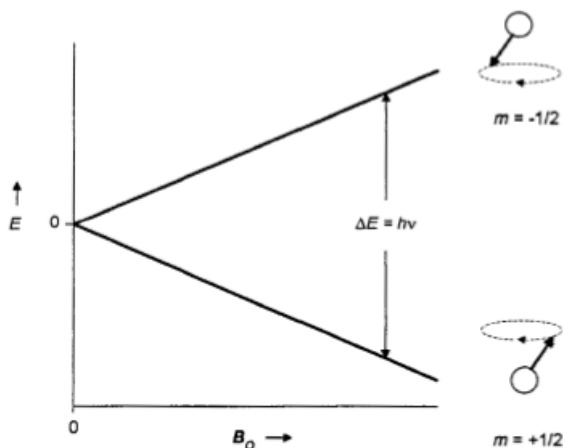


Рисунок 3 - Расщепление энергетических уровней ядра с $I=1/2$.

При помещении образца в магнитное поле часть ядер оказывается ориентирована «по полю» (состояние α) и «против поля» (состояние β). Разница энергий такова, что произвольного перехода между этими состояниями не происходит. Но под воздействием облучения образца электромагнитной волной соответствующей частоты можно будет наблюдать такие переходы.

Резонансное поглощение энергий переменного электромагнитного поля системой ядер, помещенных в постоянное магнитное поле – физическая суть эксперимента ЯМР.

1.2 Импульсный эксперимент ЯМР

В импульсном эксперименте ЯМР образец облучается мощным кратковременным импульсом на частоте, близкой к резонансной (чем короче этот импульс, тем большую полосу частот он возбуждает), а затем в течение некоторого небольшого времени записывается реакция образца. В результате получается сумма синусоид, огибающая которой спадает экспоненциально («спад свободной индукции», FID - Free Induction Decay). FID (зависимость амплитуды от времени) и спектр ЯМР (зависимость амплитуды от частоты) связаны однозначной математической операцией (преобразование Фурье), и являются разными представлениями одних и тех же процессов:

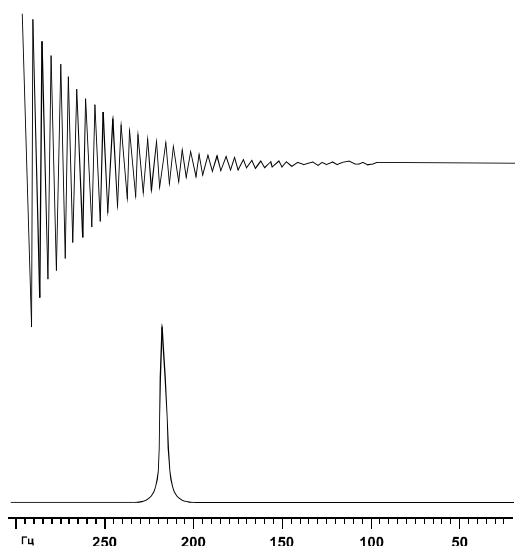


Рисунок 4 - FID и соответствующий ЯМР спектр.

Линии в спектре ЯМР всегда имеют конечную ширину (в импульсном методе это объясняется тем, что в связи с релаксационными процессами, FID спадает до нуля через некоторое время, и чем быстрее он спадает, тем шире будут линии в его фурье-образе).

Рассмотрим процессы, происходящие в образце во время импульсного эксперимента. Как говорилось ранее, в равновесном состоянии макроскопическая намагниченность образца направлена по оси Z. Теперь же

будем рассматривать намагниченность образца во вращающейся вокруг оси Z с ларморовой частотой системе координат. В этой системе координат исчезает прецессия магнитных моментов ядер, а, значит, и ее причина (постоянное магнитное поле), а импульс, то есть включенное на короткое время переменное магнитное поле, осциллирующее в плоскости X-Y с ларморовой частотой, представляется вектором, направленным по одной из горизонтальных осей вращающейся системы. При включении переменного магнитного поля (импульс) два перпендикулярных вектора (импульс и намагниченность образца) вызывают появление вращательного момента, который поворачивает вектор намагниченности образца вокруг оси, вдоль которой направлен импульс. Скорость поворота зависит от напряженности поля импульса. Зная эту скорость, можно поворачивать намагниченность образца на требуемый угол. На основании этого различают π , $\pi/2$ и т.д. импульсы. [4]

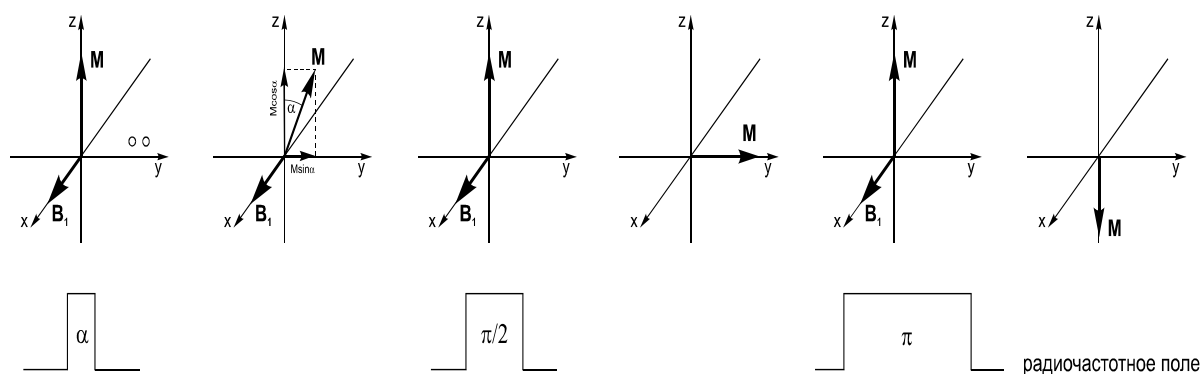


Рисунок 5 - Импульсы различных длительностей.

Положим, для определенности, что использовался $\pi/2$ -импульс, который «опрокинул» вектор макроскопической намагниченности в плоскость X-Y. После того, как импульс выключен, если в спектре присутствует только одна линия, попадающая точно в резонанс, во вращающейся системе координат вектор намагниченности будет неподвижен, но в лабораторной системе координат, той, что была рассмотрена ранее, будут происходить биения по оси X и Y, которые как раз и фиксируются в виде спада свободной индукции (FID). Если же в спектре

имеются линии, которые не попадают точно в резонанс, то соответствующий им вектор макроскопической намагниченности начнет поворачиваться в плоскости X-Y вращающейся системы координат в сторону, зависящую от того, больше или меньше частота резонанса этих линий, чем ларморова. В лабораторной системе координат это отразится на частоте осцилляций соответствующей им синусоиды FID-а, а следовательно и на положении линий в спектре ЯМР. [4]

Кроме рассмотренных процессов имеет место постепенное восстановление намагниченности обратно на ось Z, в результате чего наблюдается экспоненциальный спад FID'а.

1.3 NOESY эксперимент

Использование двумерной спектроскопии несет в себе множество плюсов, как уже было выяснено ранее. Для изучения таких процессов, как химический обмен, кросс-релаксация, спиновая диффузия и кросс-поляризация, используется импульсная последовательность, представленная на рисунке 6, которая получила название NOESY (Nuclear Overhauser Exchange Spectroscopy – спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера и обмена). [2]

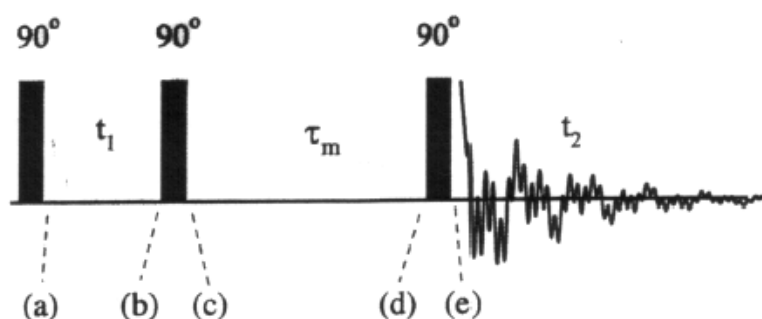


Рисунок 6 - Импульсная последовательность NOESY эксперимента.

Эксперимент NOESY, как и почти любой 2М-эксперимент, можно разбить на четыре временных интервала. Первый этап – подготовительный, за время d_1 система спинов приходит (приводится) в начальное состояние, обычно это состояние считается состоянием равновесия. Второй – период эволюции длительностью t_1 , в течение которого выведенная $\pi/2$ -импульсом из состояния равновесия спиновая система эволюционирует. Следующий этап, третий – период смешивания (в некоторых экспериментах может отсутствовать), в течении которого в изучаемой спиновой системе происходит перенос когерентности или поляризации. Четвертый – период регистрации. В течение времени t_2 регистрируется интенсивность сигнала ЯМР S как функция от времени. Эта процедура многократно повторяется с различной величиной t_1 . В итоге результирующий сигнал S становится зависимым от двух переменных t_1 и t_2 . Затем, посредством Фурье

преобразования, можно от полученного сигнала $S(t_1, t_2)$ перейти к двумерному спектру $S(\omega_1, \omega_2)$. Сигналы, расположенные по диагонали данного двумерного спектра, соответствуют обычному одномерному спектру. Симметричные же сигналы, лежащие вне диагонали, указывают на взаимодействие диагональных сигналов и называются кросс-пиками. Для данной импульсной последовательности кросс-пики могут образовываться за счет ядерного эффекта Оверхаузера или за счет химического обмена. [5]

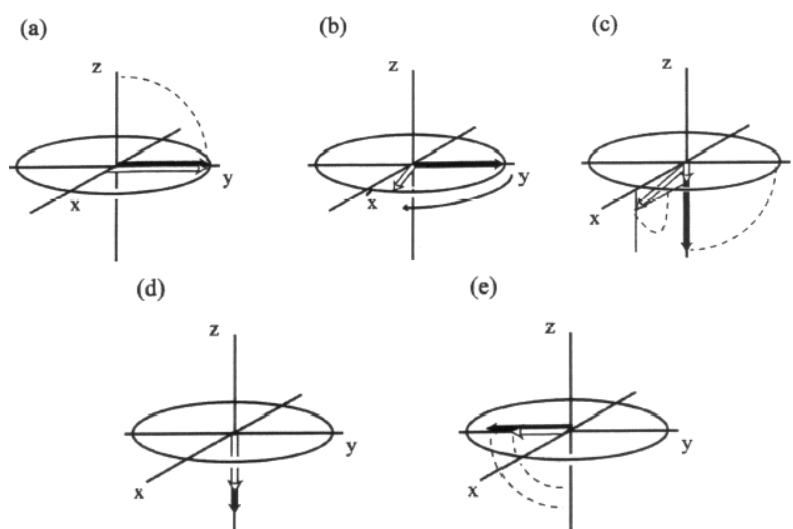


Рисунок 7 – Изменение направления вектора намагниченности в течение NOESY эксперимента.

Ядерный эффект Оверхаузера (ЯЭО) связан с релаксационными процессами. Он проявляется в изменении интенсивности одного резонансного сигнала при возбуждении каким-либо способом другого. Под словом «возбуждение» подразумевается насыщение перехода, то есть устранение разности заселенностей его уровней при облучении слабым радиочастотным полем, одновременно с наблюдением другим сигналов. [6]

Чтобы лучше понять принцип ядерного эффекта Оверхаузера, рассмотрим релаксацию в изолированной двухспиновой системе, предложенную Соломоном. Рассмотрим два ядра, которые имеют одинаковое гироманнитное отношение, значение спина и разные (но близкие по значению) химические сдвиги. Такая система будет иметь четыре уровня

энергии: $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\alpha$ и $\beta\beta$. Пусть общее число ядер в образце равно $4N$. Вследствие малой разнице энергий $\alpha\beta$ и $\beta\alpha$, их заселенности будут одинаковыми. Состояние $\alpha\alpha$ с низкой энергией будет иметь избыток ($N+\delta$), а состояние $\beta\beta$ – недостаток одного и того же количества ядер ($N-\delta$). Переходы с изменением суммарного спина на 0 и на 2 будут запрещены правилами отбора, но при нарушении условий теплового равновесия данные переходы будут вносить вклад в релаксационные процессы. На рисунке 8 показаны вероятности переходов в рассматриваемой системе. [1]

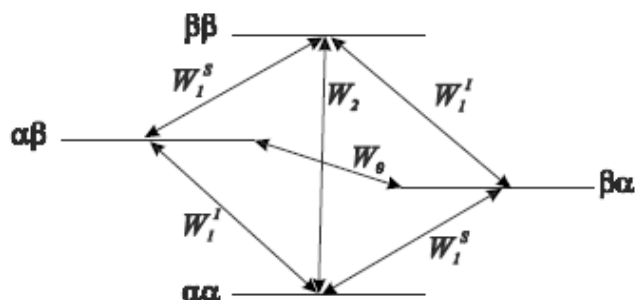


Рисунок 8 – Вероятности переходов в четырех уровневой схеме для двух ядер со спином $1/2$.

При выполнении эксперимента по ЯЭО принудительно насыщают переходы одного из ядер и смотрят на отклик другого ядра после установления нового равновесия.

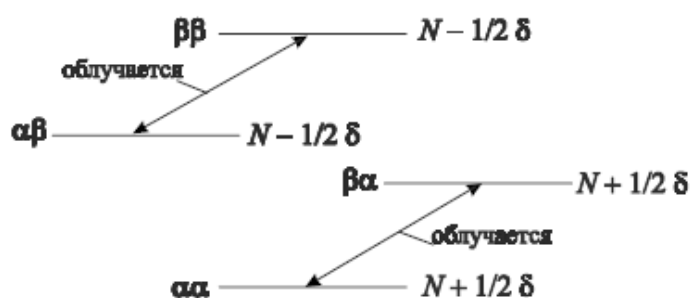


Рисунок 9 – Эксперимент по ЯЭО.

Суммарный эффект будет сопровождаться понижением или повышением интенсивностей сигналов того ядра, отклик которого мы наблюдаем. В зависимости от того, какой путь релаксации преобладает (W_0 или W_2), ЯЭО будет отрицательным или положительным.

2. Экспериментальная часть

В данной работе проводились исследования структуры и способов самосборки *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов в конфигурациях конус и 1,3-альтернат. Обе молекулы не отличаются по химическому составу ($C_{92}H_{144}Br_4N_{12}O_{20}S_4$), но имеют различное пространственное строение.

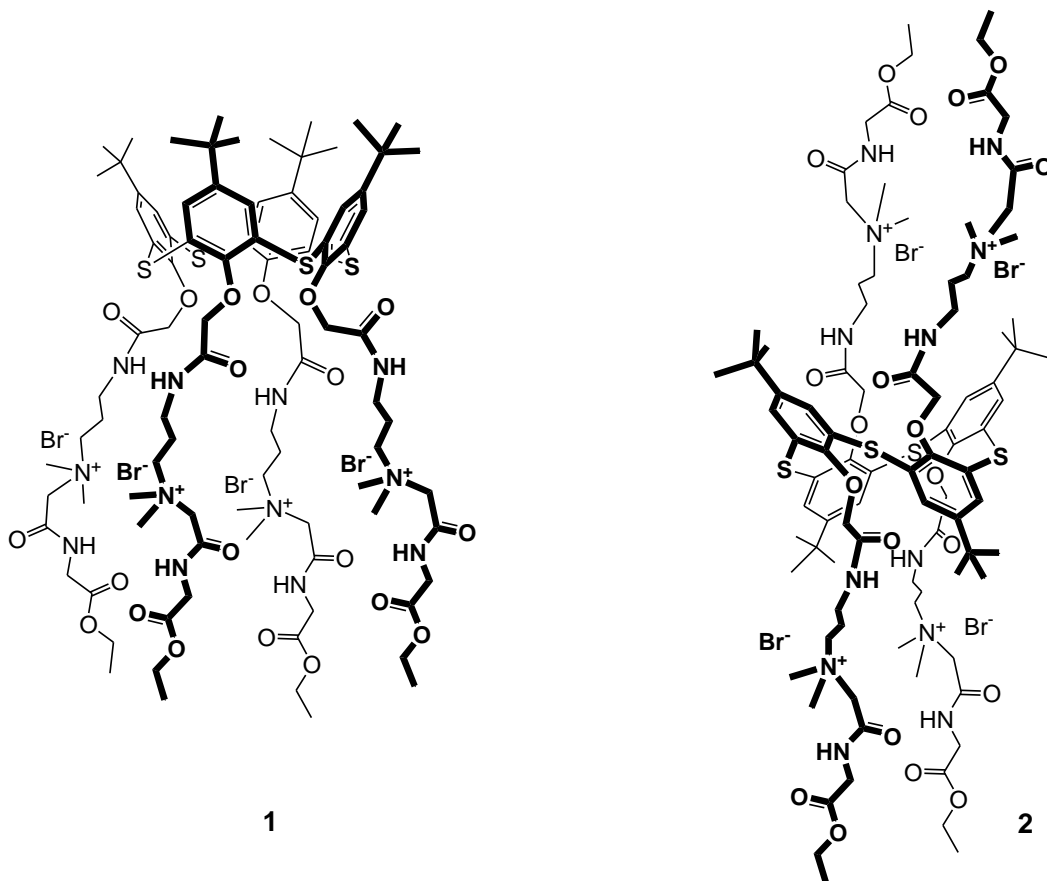


Рисунок 10 - Структуры *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов в конформации конус (1) и 1,3-альтернат (2).

Молекулы данного вещества могут находиться в одном из двух состояний: мономерной (свободной) и мицеллярной (связанной) формах. Большой интерес представляет исследование влияния конформации каликс[4]аренов и их концентрации в растворе на мицеллообразующие свойства.

Исследования проводились на импульсном спектрометре Bruker AVANCE 600. Частота 600.130 МГц, постоянное магнитное поле 14,0954 Тл.



Рисунок 11 - Внешний вид спектрометра Bruker-600.

3. Результаты эксперимента

3.1 Соотнесение спектральных линий

Для реализации поставленной задачи в первую очередь было выполнено соотнесение ЯМР спектров со структурой *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов. С этой целью были сняты спектры записаны спектры ЯМР ^1H , ^1H - ^1H -TOCSY, ^1H - ^{13}C -HSQC, ^1H - ^{13}C -HMBC каликс[4]аренов в растворителе 10% D_2O + 90% H_2O при температуре 30 С.

В качестве внутреннего стандарта в ЯМР-спектрах, было использовано соединение триметилсилил пропановой кислоты (TSP), сигналам метильной группы которой приписывался химический сдвиг 0 м.д.

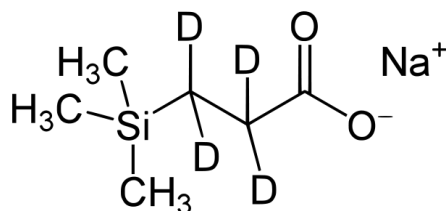


Рисунок 12 - Структура TSP.

Зачастую, на основе одномерного протонного спектра можно сделать предварительные выводы о строении вещества. Соотнесение сигналов в спектрах ЯМР удобно начинать с характерных спектральных линий, которые резонируют в известной спектральной области и легко находятся в спектре. Для нашего исследуемого соединения, такими легко идентифицируемыми спектральными линиями являются линии от метильных групп третбутильного фрагмента и метильных концевых протонов при атоме углерода в 20 положении. Хорошо известно, что метильная область в ЯМР ^1H спектре лежит в диапазоне примерно от 0.7 до 2.0 м.д. В данной спектральной области наблюдаются две спектральные линии с соотношением интегральных интенсивностей как 1 к 3. Причем более интенсивная линия синглет, а менее интенсивная – триплет. Исходя из структурной формулы

можно сделать однозначный вывод, что сигнал синглета для каликс[4]арена в конфигурации конус с химическим сдвигом 1,13 м.д. принадлежит метильным протонам третбутила, а триплет с химическим сдвигом 1,25 м.д. образован метильными протонами углерода С-20.

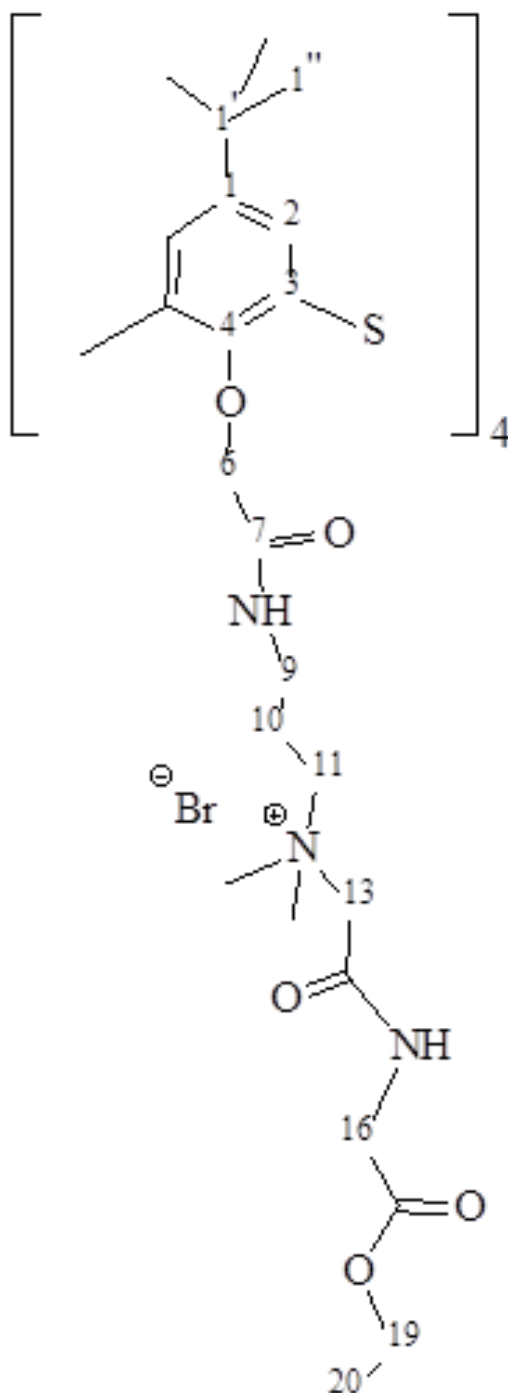


Рисунок 13 - Нумерация ядер п-трет-бутилтиакаликс[4]арена.

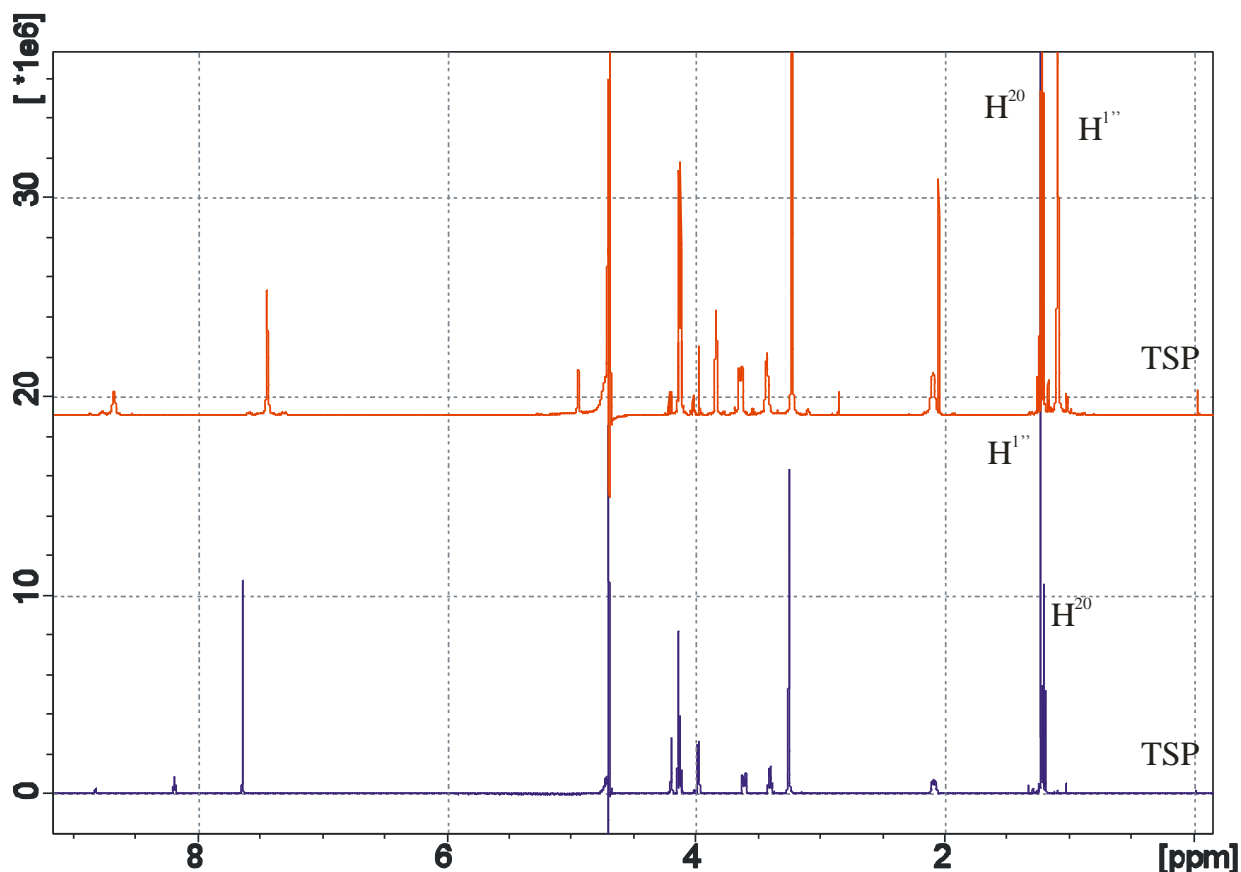


Рисунок 14 - Одномерные ^1H -спектры *p*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов в конформации **конус** и **1,3-альтернат** в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% D_2O + 90% H_2O .

Опираясь на эту же логику, можно делать соотнесения и других спектральных линий, но одномерного протонного спектра все же будет недостаточно для получения полной информации о структуре исследуемого вещества.

Дальнейшим действием была расшифровка ряда двумерных спектров. Будут рассмотрены спектры каликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат. Аналогичным образом расшифровываются спектры каликс[4]арена в конфигурации конус.

TOCSY-спектр (TOtal COrrelated SpectroscopY) показывает корреляции протонов со всеми остальными протонами в пределах спиновой системы и позволяет, имея один отнесенный сигнал, найти все сигналы того же остатка.

Зная химический сдвиг триплета, образованного метильными протонами углерода C-20, можно увидеть кросс-пик, который характеризует взаимодействие между этой группой протонов и группой протонов углерода C-19, как показано на спектре на рисунке 15.

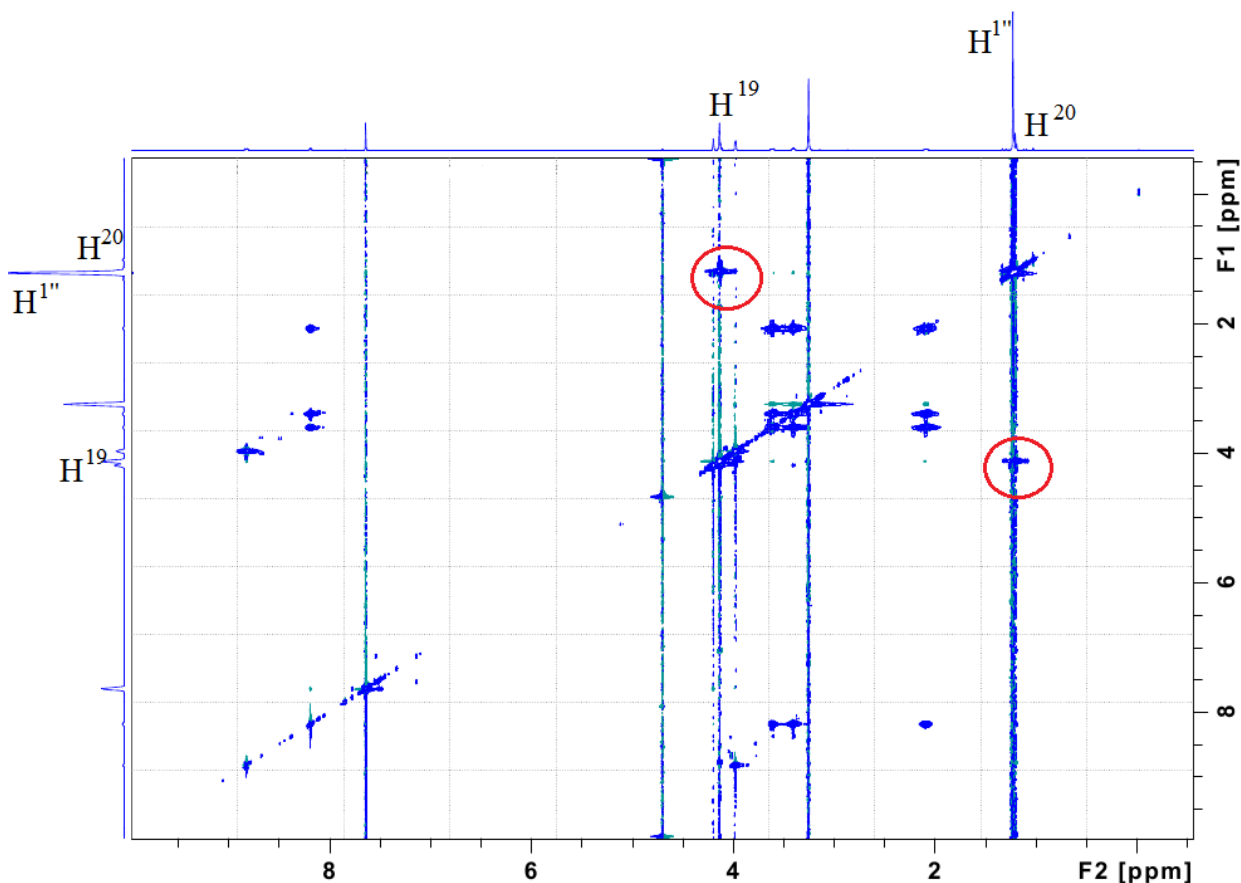


Рисунок 15 - Двумерный спектр 1H-1H TOCSY *n*-пропилтиакаликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% $D_2O + 90\% H_2O$.

1H - ^{13}C -HSQC-спектр (Heteronuclear Single Quantum Coherence) показывает прямые корреляции атомов углерода со связанными с ними протонами и позволяет, имея отнесенный протонный спектр, отнести спектр ^{13}C . Как показано на рисунке 16, на спектре по оси X по-прежнему откладываются частоты протонов 1H , а по оси Y – частоты углеродов ^{13}C .

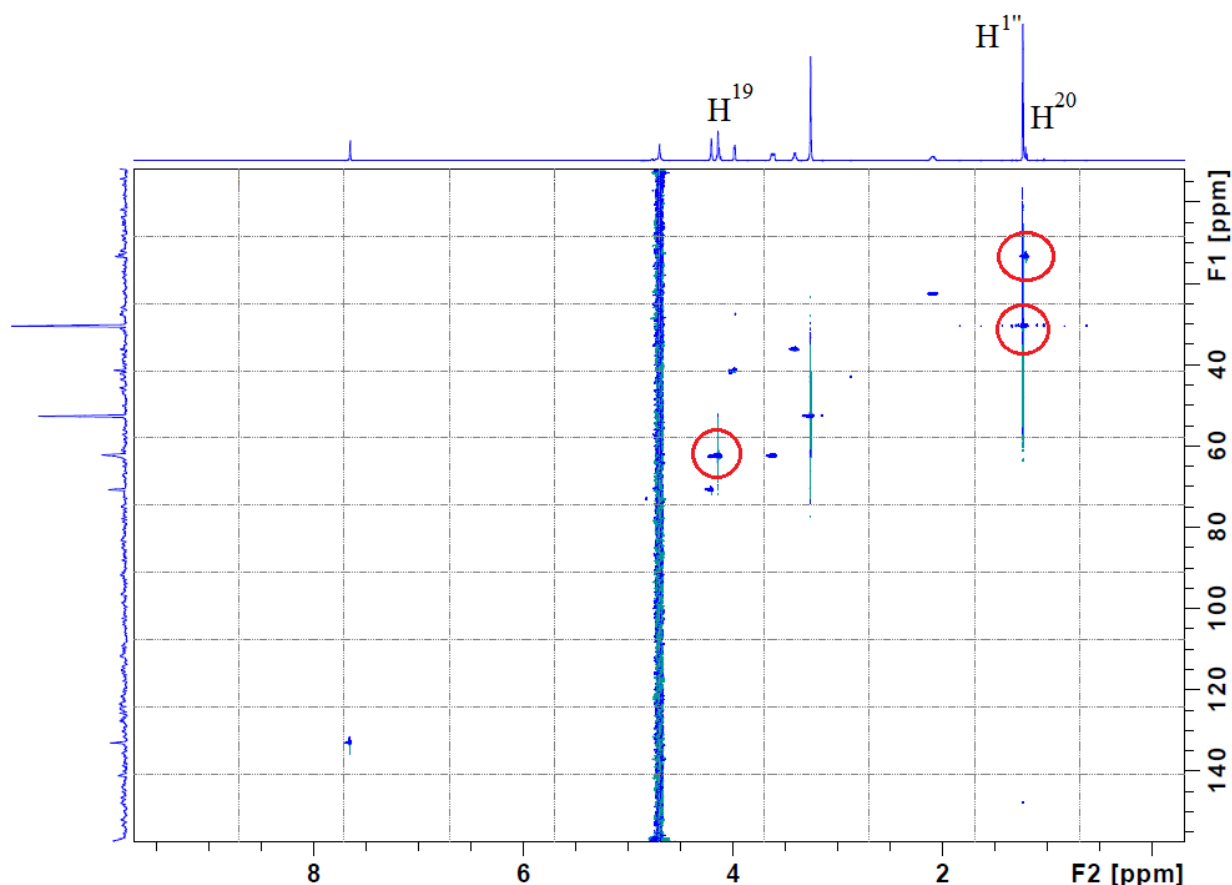


Рисунок 16 - Двумерный спектр ^1H - ^{13}C -HSQC *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% D_2O + 90% H_2O .

Имея соотнесенные линии водорода метильных групп третбутильного фрагмента и метильных концевых протонов при ядре углерода в положении 20, можно соотнести углеродные линии. Например, химический сдвиг углерода в положении 19 для каликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат 62,65 м.д.

HMBC-спектр (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) очень схож со спектров HSQC, с тем только различием, что показывает корреляции углеродов с дальними протонами и позволяет локализовать остатки.

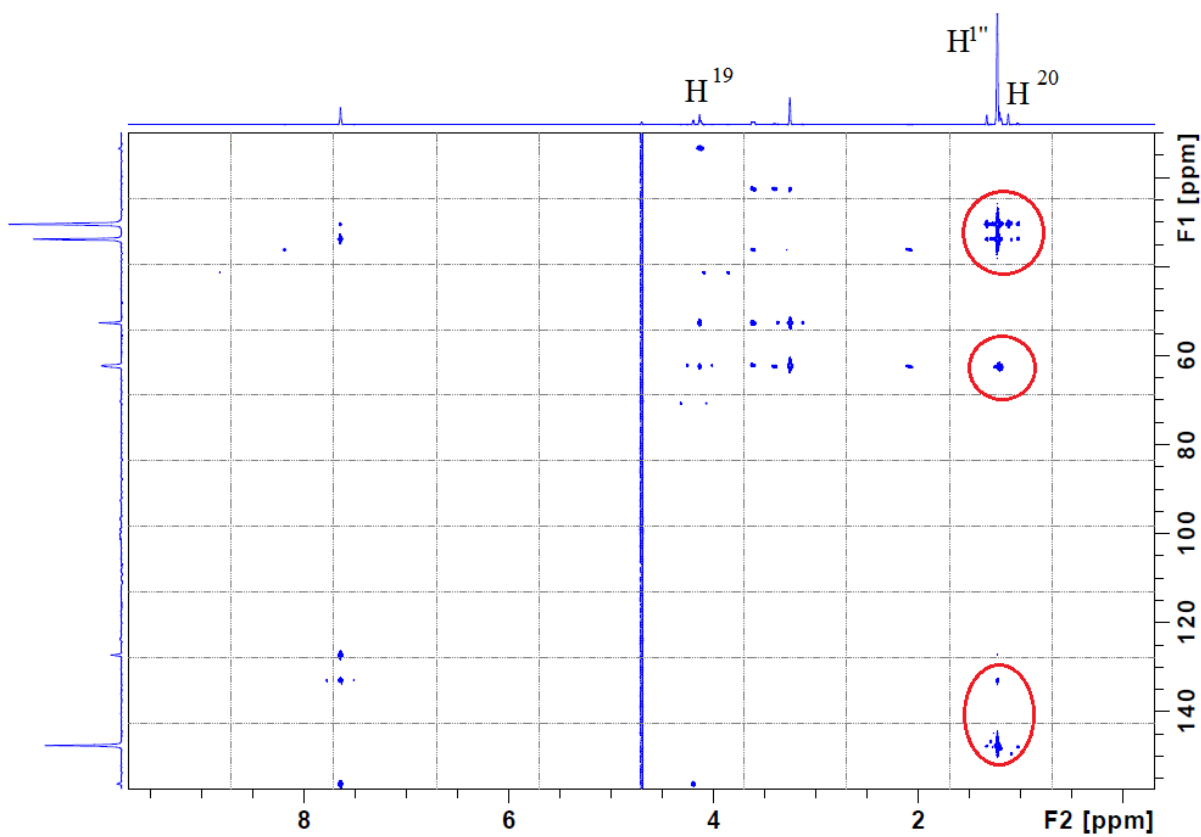


Рисунок 17 - Двумерный спектр ^1H - ^{13}C -HMBC *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% $\text{D}_2\text{O} + 90\% \text{H}_2\text{O}$.

На основе всех вышеперечисленных спектров были сделаны соотнесения структуры каликса[4]аренов со спектральными линиями и построена таблица химических сдвигов.

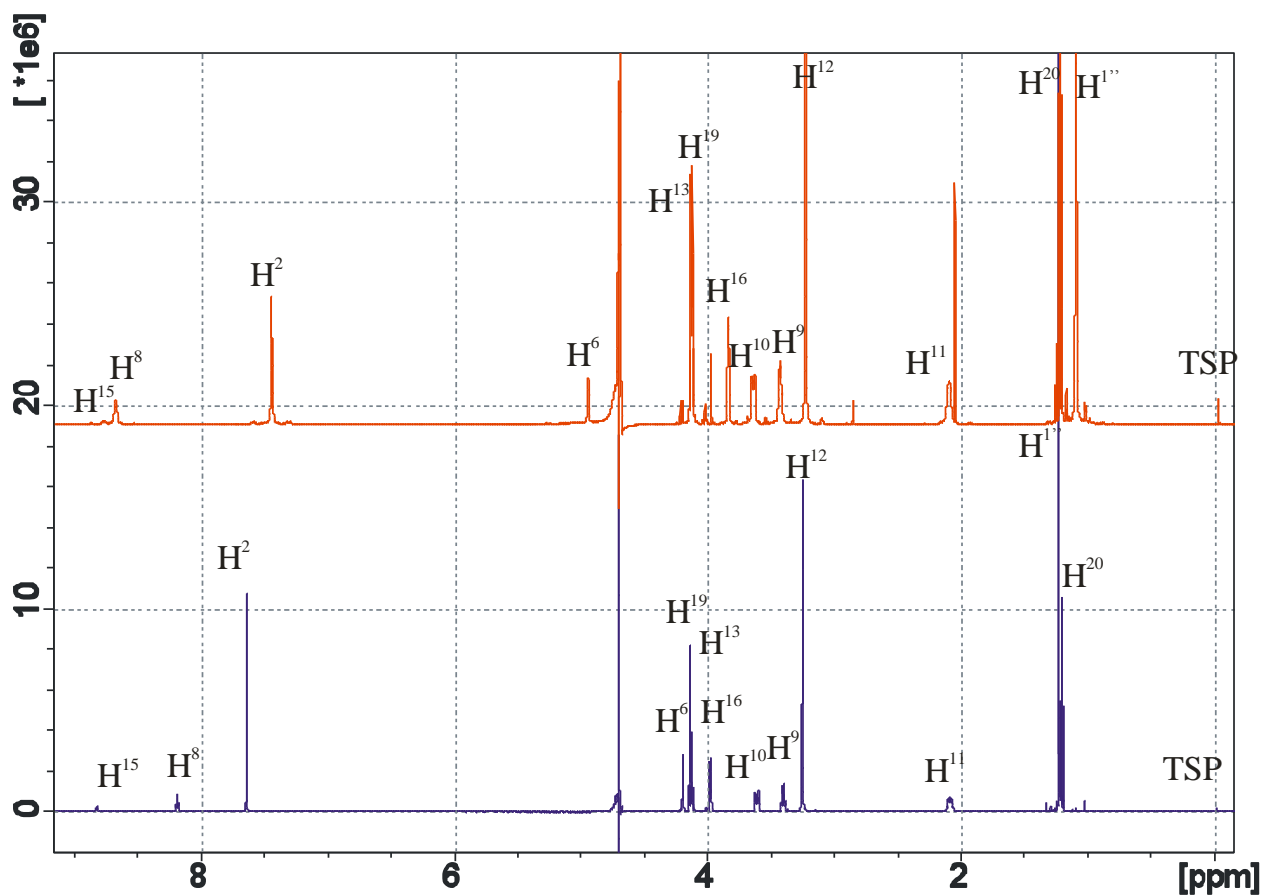


Рисунок 18 - Одномерные соотношенные ^1H -спектры *p*-*tert*-бутилтиакаликс[4]аренов в конформации конус и 1,3-альтернат в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% D_2O + 90% H_2O .

Таблица 1 – Таблица химических сдвигов *p*-*tert*-бутилтиакаликс[4]аренов конфигурации конус и 1,3-альтернат.

Atom no	Конус		1,3-альтернат	
	$\nu(\text{H})$ [ppm]	$\nu(\text{C})$ [ppm]	$\nu(\text{H})$ [ppm]	$\nu(\text{C})$ [ppm]
1''	1,13	30,70	1,25	30,47
1'		33,98		33,83
1		148,04		147,68
2	7,48	134,84	7,66	133,04
3		127,99		127,35
4		157,56		156,33
5				

6	4,98	74,26	4,22	70,79
7		170,67		170,60
8	8,71		8,21	
9	3,46	35,84	3,42	36,18
10	3,68	62,24	3,63	62,50
11	2,89	22,68	2,11	22,56
12	3,26	52,69	3,27	52,66
13	4,16	61,90	4,16	62,25
14		164,12		164,25
15	8,81		8,84	
16	3,87	41,30	4,00	41,39
17		170,58		170,58
18				
19	4,16	62,43	4,15	62,65
20	1,25	13,52	1,22	

Структуры *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов в конфигурациях конус и 1,3-альтернат подтверждаются полученными нами данными.

3.2 NOESY эксперимент

NOESY-спектр позволяет сделать выводы о конфигурации исследуемых объектов. Не смотря на то, что NOESY спектры обоих объектов были выполнены с концентрацией 5мМ, видны существенные различия. В спектрах каликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат кросс-пики в выделенной на рисунке 19 области отсутствуют, в то время как в спектрах каликс[4]арена в конфигурации конус четко видны, как показано на рисунке 20. Это, во-первых, объясняет различные структуры объектов, и во-вторых, указывает на то, что каликсарен в конфигурации конус имеет свойство при определенной концентрации образовывать мицеллярно-подобные структуры, а каликсарен в конфигурации 1,3-альтернат при той же самой концентрации не обладает таким свойством.

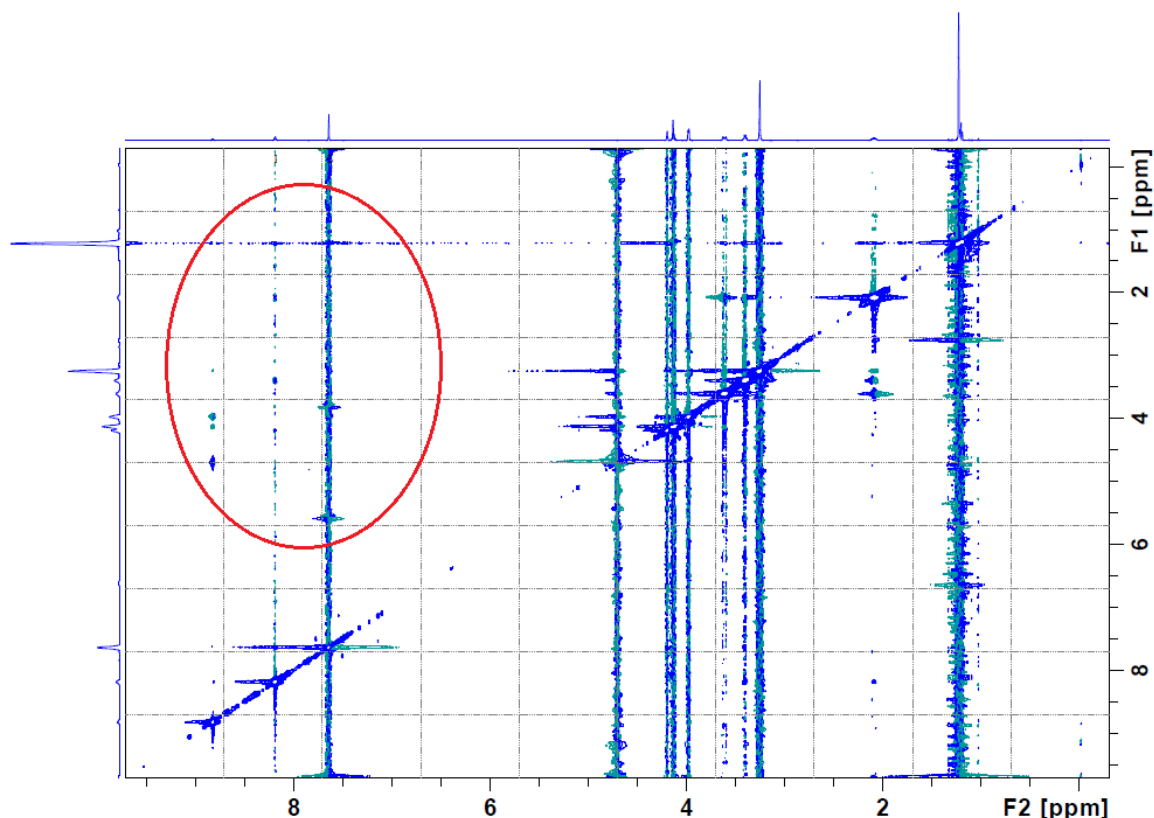


Рисунок 19 – Двумерный спектр *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% D_2O + 90% H_2O .

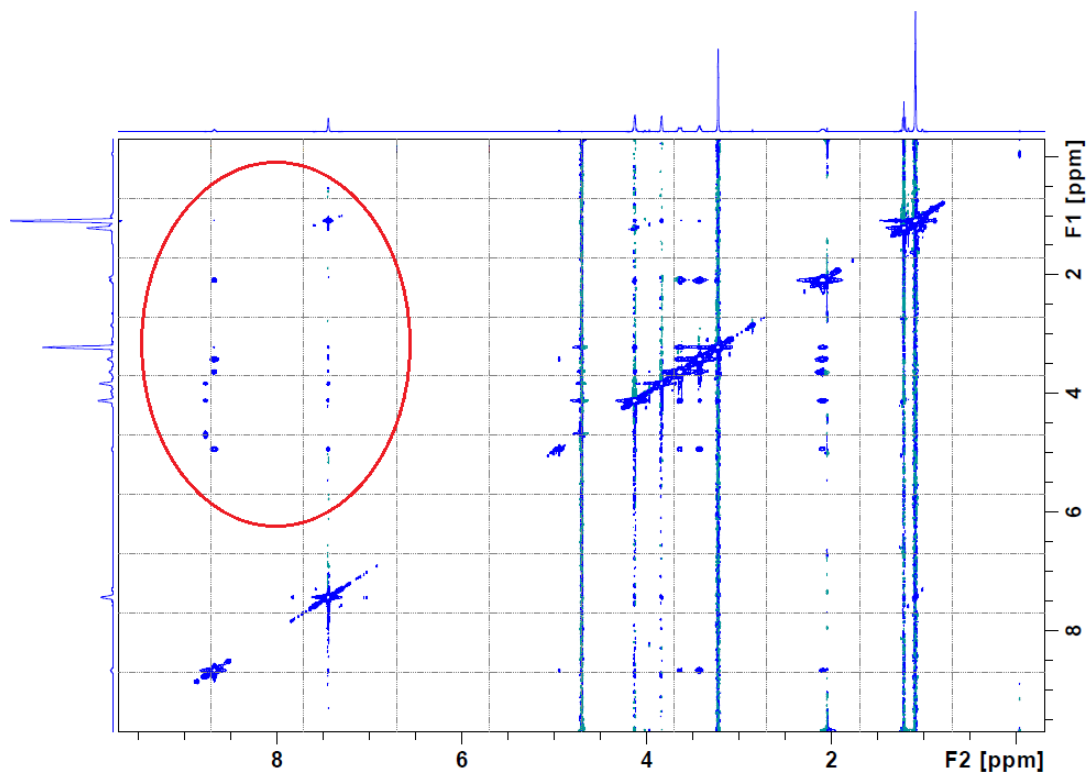


Рисунок 20 - Двумерный спектр *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена в конфигурации конус в концентрации 5мМ при температуре 30 С в растворе 10% D_2O + 90% H_2O .

Вывод

Выполнено соотнесение спектров ЯМР *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов в конфигурации конус и 1,3-альтернат. Доказана пространственная конфигурация обоих образцов.

Пространственная конфигурация *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов влияет на их способность образовывать мицеллярно-подобные структуры. По данным NOESY спектров показано, что каликс[4]арен в конфигурации конус при концентрации 5 мМ образует ассоциаты, а в конформации 1,3-альтернат при той же концентрации находится преимущественно в мономерном состоянии.

Список литературы

1. Современные методы ЯМР для химических исследований / Э. Дероум; под редакцией д-ра хим.наук, проф. Ю.А. Устынюка; М: издательство «Мир», 1992.
2. Конспекты лекций: ЯМР высокого разрешения в органической и биоорганической химии / В.В. Клочков, Ф.Х. Каратаева; КФУ, институт физики, институт химии им. А.М. Бутлерова, 2013.
3. Анализ спектров ЯМР высокого разрешения / В. Новиков; М: научный центр по химии и физике полимеров, институт электроорганических соединений Несмеянова; 2009.
4. Основы импульсной спектроскопии ЯМР / Ф.Тоукач; М: центр ЯМР ИОХ РАН, 2014.
5. Введение в курс спектроскопии ЯМР / Х.Гюнтер; М: издательство «Мир», 1984.
6. Спектральные методы исследования в органической химии, часть 1 / Е. Краснокутская; Томск: ТПУ, 2012.