

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

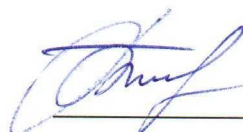
КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ ФИЗИКИ

Направление (специальность): 03.03.02 – Физика
Профиль: Физика

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ИЗУЧЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ ОСНОВНОЙ ЦЕПИ ЦИКЛОСПОРИНА E

Студент 4 курса группы 06-811

«22» июня 2022 г.

 (Бычкова Д.А.)

Научный руководитель

д.х.н., профессор


«22» июня 2022 г.

 (Ключков В.В.)

Научный консультант

к.ф.-м.н., с.н.с.

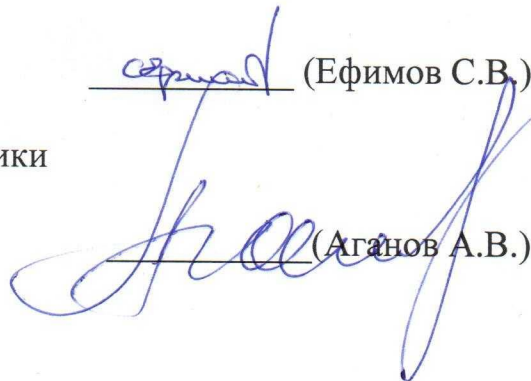
«22» июня 2022 г.

 (Ефимов С.В.)

Заведующий кафедрой медицинской физики

д.х.н., профессор

«22» июня 2022 г.

 (Аганов А.В.)

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
1 Основы ядерной магнитной спектроскопии	5
1.1 ЯМР: ядерный магнитный резонанс.....	5
1.2 Химический сдвиг	5
1.3 Мультиплетность.....	6
1.4 Интенсивность сигналов и интегрирование.	7
1.5 Диполь-дипольное взаимодействие.....	7
1.6 Эксперимент «инверсия-восстановление».	8
1.7 CPMG	9
2 Циклоспорин	10
3 Экспериментальная часть.....	12
Заключение	18
Список литературы.....	18
Приложение 1.	20
Приложение 2.	22

ВВЕДЕНИЕ

Циклоспорин А – это лекарственный препарат, мощный иммунодепрессант, селективно действующий на Т-лимфоциты. Действие его направлено на подавление иммунного ответа. замедляет активацию Т-клеток, блокируя транскрипцию семейства генов ранней активации, в т.ч. факторы роста Т-клеток – интерлейкины IL-2, IL-4. При этом циклоспорин действует не на уровне транскрипции, а на раннем этапе передачи сигнала лимфоцитам, который увеличивает внутриклеточный уровень кальция [1]. Стюарт Шрайбер и Джеральд Кребтри рассматривают результаты, указывающие на то, что CsA и FK506 связывают эндогенные внутриклеточные рецепторы, иммунофилины, и образующийся в результате комплекс воздействует на протеинфосфатазу – кальцинейрин, в итоге оказывая иммунодепрессивное действие [2].

Циклоспорин используется для снижения естественного иммунитета организма в целях профилактики и лечения РТПХ (реакция «трансплантат против хозяина») при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и различных тканей.

Цисклоспорины на самом деле образуют целое семейство пептидов. Их общая черта – это циклические пептиды, состоящая из 11 аминокислот, включая нестандартные. [3]

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 полимерах.

Вызывает интерес взаимосвязь между химическим (аминокислотным) составом циклоспорина, его молекулярной структурой и биологическим действием. Накопленные к настоящему моменту знания указывают на то, что эта взаимосвязь включает в себя множество различных аспектов – кроме очевидной связи структуры молекулы-лиганда (циклоспорина) и молекулы-мишени

(циклофилина), играют роль подвижность молекулы циклоспорина, возможность образования внутри- и межмолекулярных водородных связей, его способность пассивно проникать сквозь клеточную мембрану. В связи с этим была поставлена цель получить информацию о подвижности основной цепи циклоспорина.

В задачи исследования входило следующее:

- 1) проведение экспериментов по измерению времен спин-решеточной и спин-спиновой релаксации (СРР и ССР) протонов циклоспорина E;
- 2) анализ результатов измерений, выполненных в разных магнитных полях, в модели диполь-дипольной релаксации;
- 3) получение времен корреляции для протонов метильных групп NCH_3 .

Целью настоящей практики является проведение экспериментов по измерению времен спин-решеточной и спин-спиновой релаксации (СРР и ССР) протонов циклоспорина E, обработка спектров и результатов измерений (спектров) в программах TopSpin и QtiPlot, а также оценка времён корреляции для отдельных участков цепи.

1 Основы ядерной магнитной спектроскопии

1.1 ЯМР: ядерный магнитный резонанс

Физические основы спектроскопии ядерного магнитного резонанса определяются магнитными свойствами атомных ядер. Взаимодействие магнитного момента ядра с внешним магнитным полем приводит, в соответствии с правилами квантовой механики, к возникновению отдельных ядерных энергетических уровней, так как магнитная энергия ядра может принимать лишь некоторые дискретные значения E_i – собственные значения. Этим собственным значениям энергии соответствуют собственные состояния – те состояния, в которых только и может находиться элементарная частица. Они также называются стационарными состояниями. Поглощение энергии можно обнаружить, усилить и записать как спектральную линию, или так называемый резонансный сигнал. В постоянном магнитном поле \mathbf{B}_0 каждое ядро (спин) поглощает энергию на строго определённой частоте ω : $\omega = \gamma B_0$, где γ – гиромагнитное отношение [4].

1.2 Химический сдвиг

Значение спектроскопии ЯМР основывается не на том, что она способна различать элементы, а на ее способности отличить некоторое ядро, находящееся в определенном окружении в молекуле, от других ядер того же типа. На резонансные частоты отдельных ядер одного сорта влияет распределение электронов в молекуле. Поэтому значение резонансной частоты конкретного ядра зависит от молекулярной структуры как $\omega = \gamma(1 - \sigma)B_0$. Если для демонстрации этого явления выбрать ядро водорода (протон), в спектрах будут присутствовать различные характерные области частот, например, для протонов фенильного ядра, метиленовой и метильной групп. Этот эффект вызван различным химическим окружением протонов в молекуле, а именно – различной степенью диамагнитного экранирования σ данного ядра. Его называют химическим сдвигом. Численно химсдвиг определяют следующим образом:

$$\delta = (v - v_{\text{эт}}) / v_{\text{эт}} \cdot 10^6 \text{ (м.д.)}, \text{ (миллионный доли)}$$

где v – резонансная частота, $v_{\text{эт}}$ – частота эталонного сигнала.

1.3 Мультиплетность

Рассмотрим для примера спектр бензилацетата и спектр этилформиата. Мы замечаем различие не только в интенсивностях и положении резонансных сигналов, сигналы отличаются также мультиплетностью (внутренней структурой сигнала). В одном случае как метильные, так и метиленовые протоны проявляются в спектре как синглеты. В другом – протоны таких же групп дают триплет и квартет, соответственно, со строго определенным распределением интенсивностей внутри этих мультиплетов.

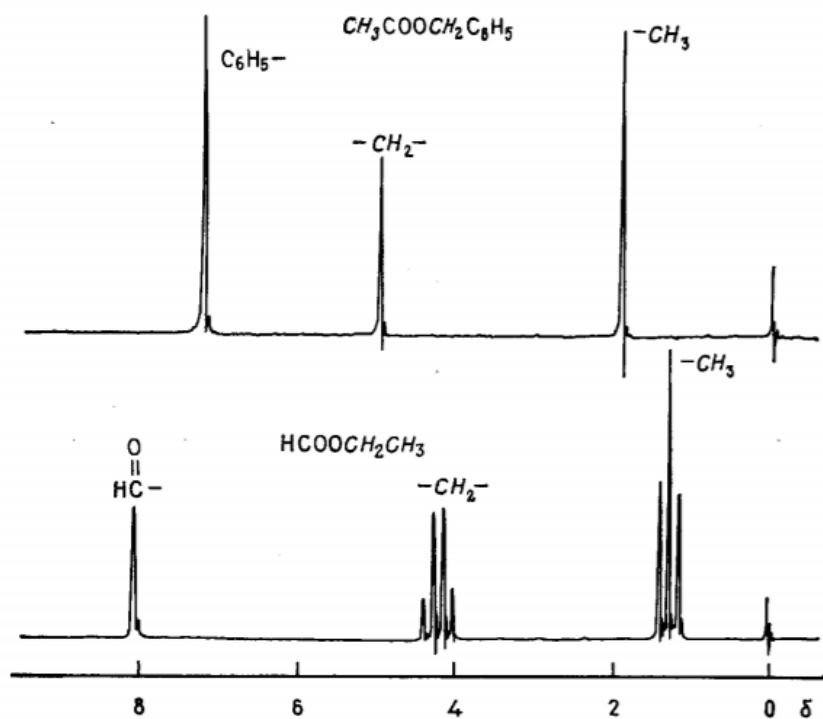


Рисунок 1 – Спектры ЯМР бензилацетата и этилформиата

Причина появления этой внутренней структуры сигнала – спин-спиновое взаимодействие. Оно возникает за счет магнитного взаимодействия между отдельными протонами (или другими ядрами), которое косвенно передается через

электроны химических связей, соединяющих эти ядра. Тот факт, что косвенное спин-спиновое взаимодействие (КССВ) передается через химические связи, делает константу J (расщепление) очень чувствительной к типам связей, участвующих в передаче, и к их взаимной ориентации в молекуле. Энергия спин-спинового взаимодействия, а, следовательно, и константа спин-спинового взаимодействия, в противоположность химическому сдвигу, не зависят от напряженности внешнего магнитного поля. Поэтому константы выражают в единицах частоты (Гц).

Энергия спин-спинового взаимодействия E между двумя ядрами А и Х пропорциональна скалярному произведению их ядерных магнитных моментов μ_A и μ_X , ее можно записать в виде $E = J_{AX} \mathbf{I}_A \mathbf{I}_X$.

1.4 Интенсивность сигналов и интегрирование.

Спектр ЯМР не только характеризует, сколько различных типов протонов присутствует в молекуле, но также позволяет соотнести, сколько протонов данного типа содержится в молекуле. Интенсивность сигнала, т.е. его подынтегральная площадь, в спектре ЯМР пропорциональна количеству протонов, которым соответствует данный сигнал. Таким образом, можно вычислить соотношение между количеством эквивалентных протонов, дающих каждый из сигналов.

1.5 Диполь-дипольное взаимодействие

Диполь-дипольной релаксацией называется взаимодействие диполей, приводящее к их взаимной ориентации. При вращении молекул они влияют друг на друга своими полями, поскольку это вращение на молекулярном уровне происходит хаотически, то каждая молекула фактически испытывает на себе переменное РЧ-поле. Энергия взаимодействия двух диполей пропорциональна произведению их дипольных моментов. Такое взаимодействие ведет к

расщеплению резонансного сигнала на величину ΔB :

$$\Delta B = 3\mu(3\cos^2\theta - 1)r^{-3}(\mu_0/4\pi),$$

где μ - магнитный момент протона, r - расстояние между двумя ядрами, θ - угол между линией, соединяющей ядра, и направлением внешнего поля \mathbf{B}_0 [4].

Для определения параметров подвижности, а именно времени корреляции, которые могут характеризовать молекулу как в целом, так и ее внутреннюю динамику, воспользуемся следующими формулами

$$R_1 = E_1 * r_{kl}^{-6} (3/2) [J_1(\omega_1) + J_2(2\omega_1)]$$

$$R_2 = E_1 * r_{kl}^{-6} [(3/8)J_0(0) + (15/4)J_1(\omega_1) + (3/8)J_2(2\omega_1)]$$

$$J_q(\omega) = C_q [\tau_c / (1 + \omega^2 \tau_c^2)]$$

$$q=0,1,2$$

где J - спектральная функция, ω - рабочая частота прибора, t - время корреляции

1.6 Эксперимент «инверсия-восстановление».

Если на магнитный момент подействовать радиочастотным импульсом с амплитудой H_1 и длительностью t , такой, что $\gamma H_1 t = \pi$, то суммарный вектор намагниченности повернется на 180° в отрицательное направление оси Z . Такой импульс называют 180 -градусным импульсом. Намагниченность подвергается спин-решеточной релаксации и возвращается к состоянию равновесия вдоль положительного направления оси Z . Спустя некоторое время t после 180 -градусного импульса подадим на систему спинов импульс длительностью t_1 - такой, что выполняется условие: $\gamma H_1 t_1 = \pi/2$. Такой импульс называют 90 -градусным импульсом, который поворачивает продольную намагниченность в плоскость XU . Поведение намагниченности между 180° и 90° импульсами позволяет вычислить время T_1 .

Соотношение для определения времени релаксации T_1 по эксперименту, в котором записывается набор точек $M_z(t)$:

$$\ln(M_0 - M_z) = \ln 2M_0 - t/T_1.$$

Здесь M_0 - намагниченность насыщения (равновесная).

1.7 CPMG

Способ измерения и амплитуд сигналов эха с помощью многоимпульсной последовательности типа КПМГ (Карра-Парселла-Мейбума-Гилла) с разными интервалами между 180° импульсами. Г. Карром и Э. Парселлом была предложена многоимпульсная последовательность вида $90_x^\circ - \tau - (180_x^\circ - 2\tau)_n$. Данная последовательность характеризуется возникновением сигналов спинового эха попеременно в направлении $\pm u$. В результате такого воздействия на спиновую систему процесс необратимой расфазировки спинов «отсчитывается заново» через время 2τ . Метод Карра–Парселла обладает несколькими преимуществами. Во-первых, это значительная возможность уменьшения влияния диффузии. Во-вторых, это возможность уменьшения вклада, возникающего в результате неоднородности постоянного магнитного поля. Полученные данные хорошо аппроксимируются функцией $y(t)=y_0+A*\exp(-t/T_1)$.

2 Циклоспорин

Общие сведения

Циклоспорин – лекарственное средство, мощный иммунодепрессант, селективно действующий на Т-лимфоциты. Представляет собой циклический нерибосомный полипептид, состоящий из 11 аминокислот, продуцируется почвенными грибами. Циклоспорин А используется для профилактики отторжения трансплантата при трансплантации органов и тканей[5]. В целом циклоспорины – это целый ряд пептидов, имеющих циклическую форму. Вариантов много: самый распространенный – циклоспорин А, на рисунке 2 дана его формула и подписаны аминокислоты. Часто при синтезе меняется вторая кислота, при её замене получается циклоспорин G и некоторые другие варианты.

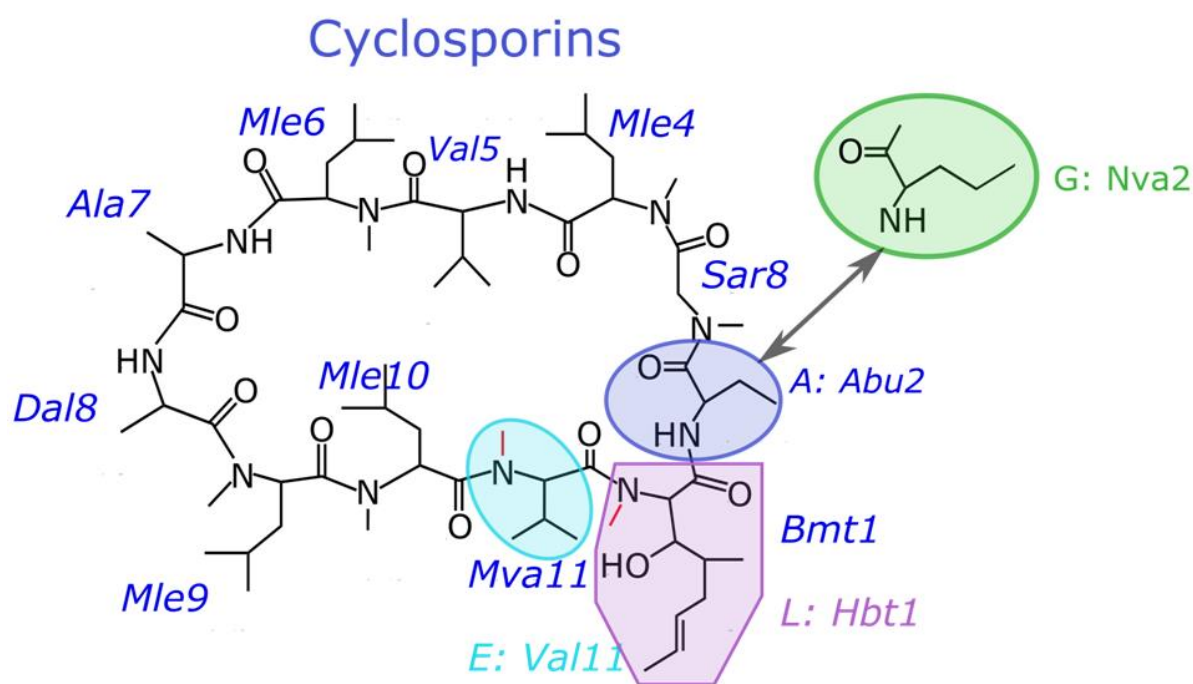


Рисунок 2 – Структурная формула молекулы циклоспорина (разных вариантов)

Циклоспорин Е имеет в составе молекулы пять NH групп, в отличие от большинства других разновидностей циклоспорина (см. рисунки 3 и 4). Модификация затрагивает группу NCH_3 в одиннадцатом аминокислотном

остатке: если она меняется на стандартную аминогруппу NH, то получается циклоспорин E. Предположительно, из-за этого он обладает более жесткой структурой [6].

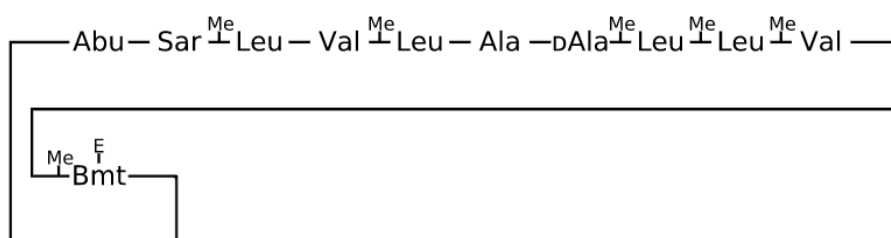
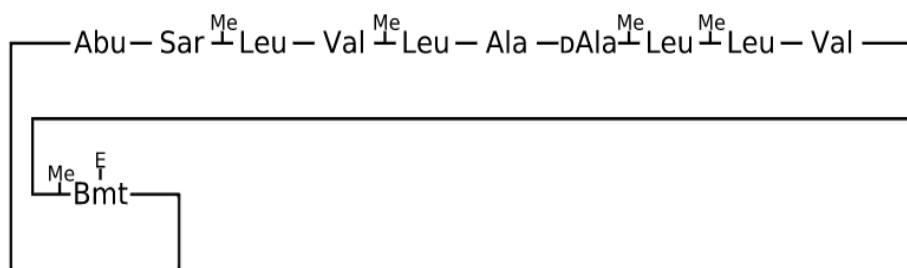


Рисунок 3 – Аминокислотный состав циклоспорина E и циклоспорина A

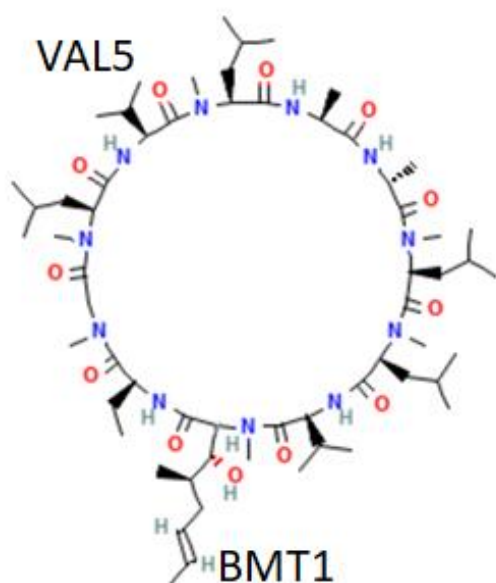


Рисунок 4 – Структурная формула молекулы циклоспорина E [7]

3 Экспериментальная часть

Эксперименты проводились следующим образом. Образец (раствор в дейтерохлороформе с концентрацией ~1,5 мМ) помещался в ЯМР спектрометр, далее мы зарегистрировали его спектры и обработали результаты в программе TopSpin. Измерения выполнялись на спектрометрах Bruker Avance II 500 и Avance III HD 700 (центр коллективного пользования ФЦКП ФХИ КФУ). Параметры записи: ширина спектрального окна $SW = 12,02$ м.д., число точек $TD = 65536$, пауза $D1 = 2$ с. При обработке использовано экспоненциальное умножение (аподизация) с параметром $LB = 1,2$ Гц. Обзорный спектр ЯМР 1H приведён на рисунке 5.

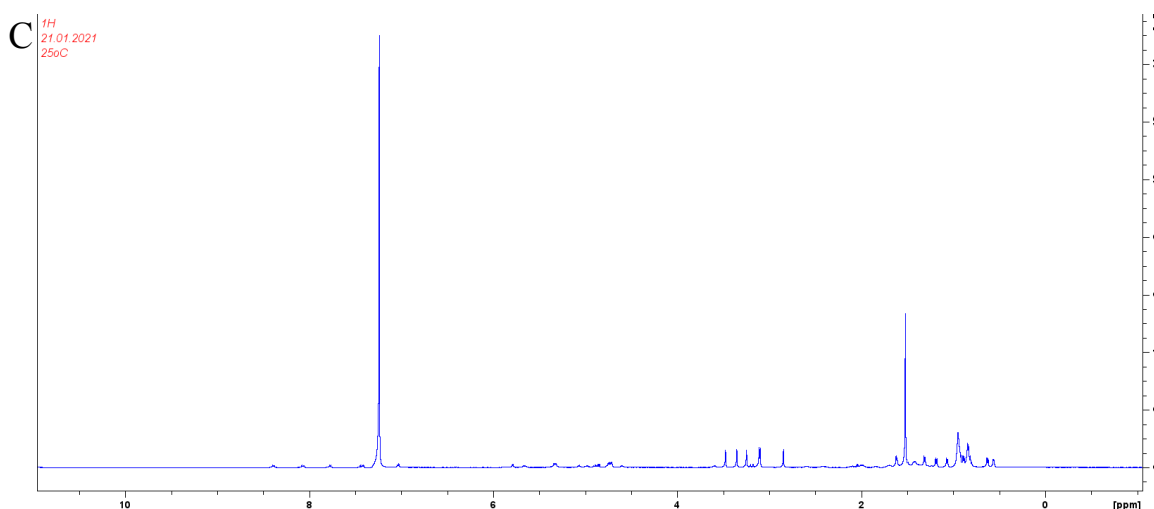


Рисунок 5 – Спектр ЯМР 1H (на рабочей частоте 500 МГц)

Параметры записи: ширина спектрального окна $SW = 9,9$ м.д., число $TD = 16384$, пауза $D1 = 8$ с. При обработке использовано экспоненциальное умножение (аподизация) с параметром $LB = 1$ Гц.

На рисунке 6 представлен пример спектра инверсии-восстановления (импульсная программа его показана на рисунке 7). На нем первые горизонтальные срезы имеют отрицательную интенсивность и показаны внизу зеленым цветом, самые большие (где интенсивность достигает постоянного уровня) сверху, синим цветом. Ниже на рисунке 6 показан средний фрагмент

одномерного спектра (2,7 – 3,7 м.д.) с сигналами групп NCH_3 . Эти группы могут характеризовать динамику пептидной цепи.

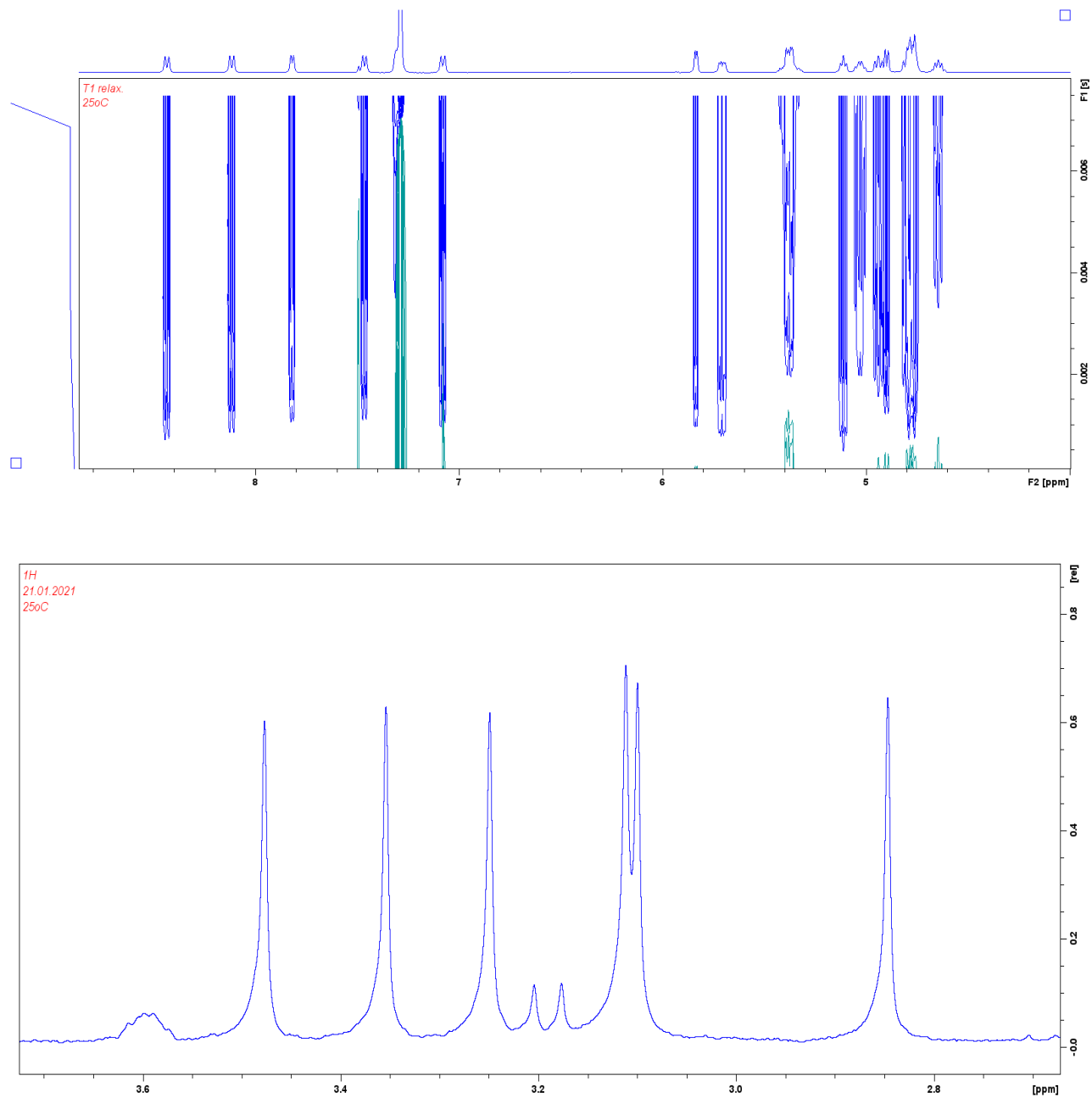


Рисунок 6 – Сверху: T1 релаксация CsE при 25°C, 500 МГц. Снизу: соответствующий фрагмент одномерного спектра

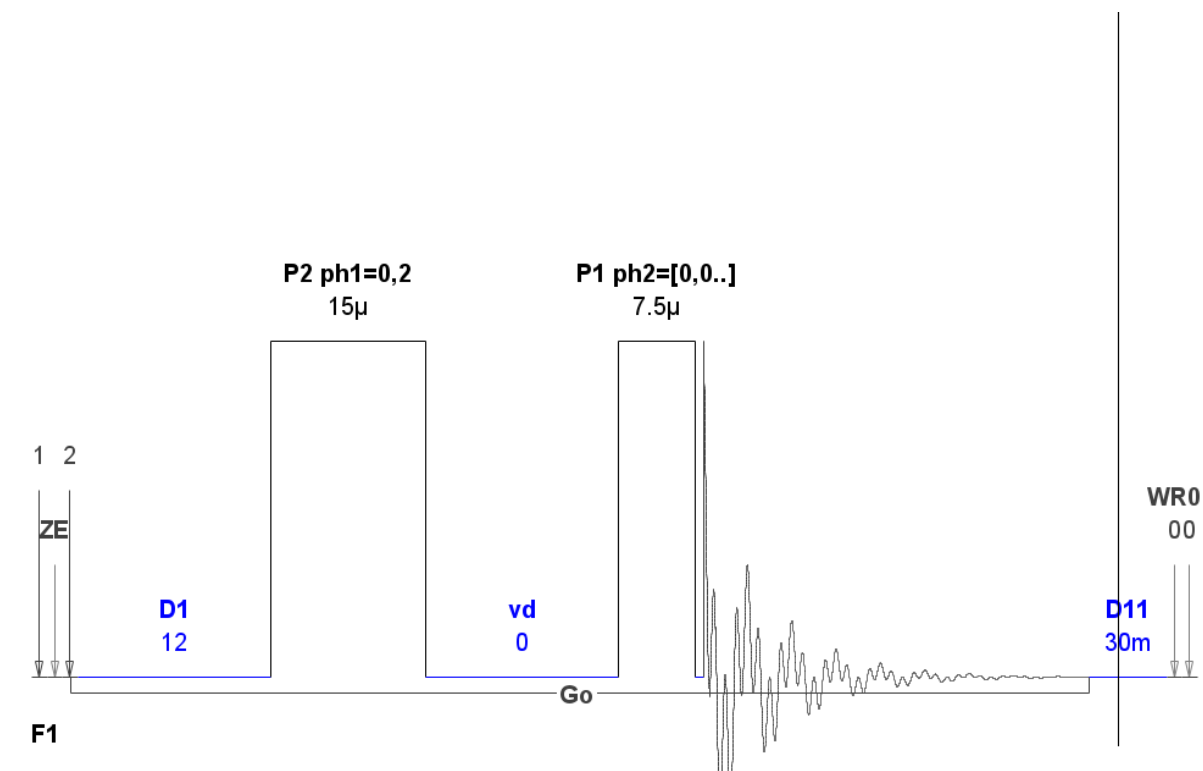


Рисунок 7 – Импульсная программа эксперимента для измерения времени СРР

Ширина спектрального окна $SW = 9,006$ м.д., число точек в оцифрованном сигнале $TD = 16384$, релаксационная пауза $D1 = 12$ с при измерениях на приборе Avance 500 и 8 с на Avance 700. При обработке использовано экспоненциальное умножение (аподизация) с параметром $LB = 1$ Гц.

На рисунке 8 представлен спектра CPMG, измеренный на частоте 700 МГц.

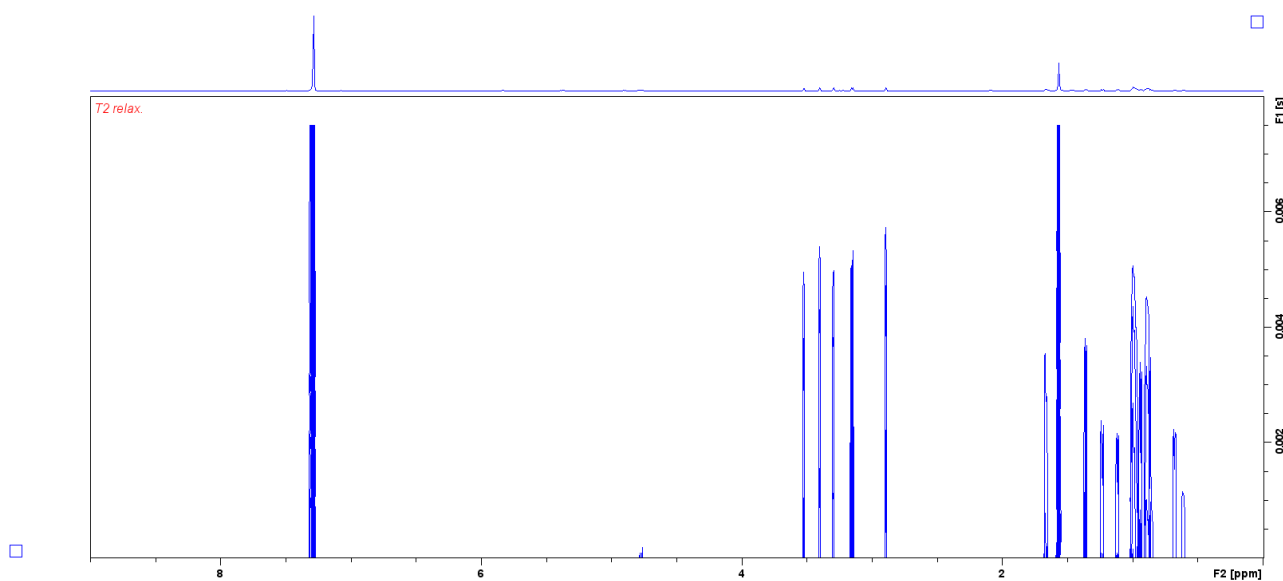


Рисунок 8 – Спектр по измерению времени T2 релаксации

В спектре для выбранной линии записывали величины сигнала y для каждой из 16 временных задержек. Далее полученная зависимость $y(t)$ была построена в программе QtiPlot (см. рис. 9, полный набор графиков собран в приложении 1), и аппроксимация функцией моноэкспоненциального спада позволила определить величину $T_1 = 1,3 \pm 0,3$ с

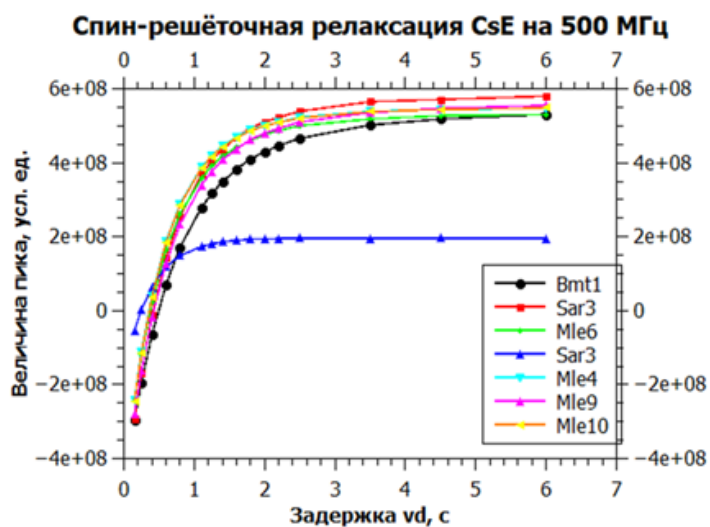


Рисунок 9 – Кривая спада намагниченности в эксперименте (инверсия-восстановление)

В спектре для выбранной линии записали величины сигнала y для каждой из 16 временных пауз. Полученная зависимость $y(t)$ была построена в программе QtiPlot (см. рис. 10), и аппроксимация функцией $y(t)=y_0+A*\exp(-t/T_1)$ позволила определить величину $T_2 = 0,192\pm 0,004$ с.

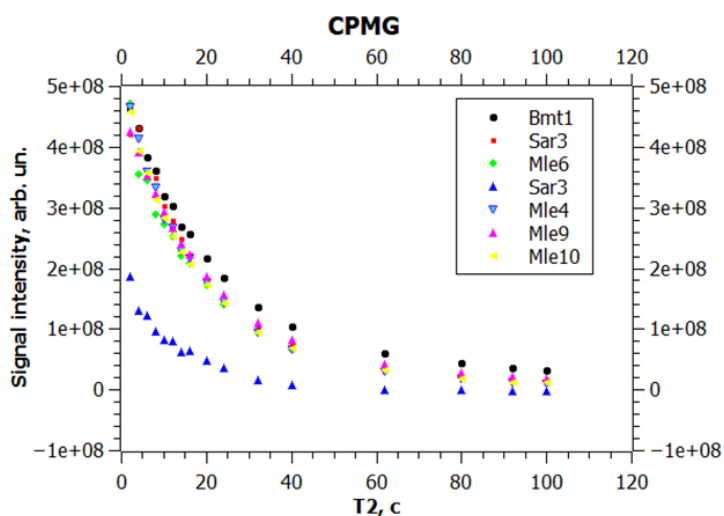


Рисунок 10 – Кривая спада намагниченности в эксперименте CPMG)

Были проведены два эксперимента T_1 и T_2 на частоте 500 МГц в хлороформе при 25°C. Получены интегральные интенсивности, построены их как функции задержки в импульсной программе, и далее эти зависимости были аппроксимированы экспоненциальными функциями (см. рис. 9 и 10). Здесь подписаны все шесть NCH_3 групп, которые есть в циклоспорине E, а также альфа-протон Sar_3 , который тоже попал в эту спектральную область. Видно, что он сильно отличается по интенсивности и имеет более быстрое время релаксации (Таблица 1). Аналогичным образом анализировали время T_2 с помощью последовательности CPMG. Видно, что время T_1 имеет порядок 0,6 – 0,7 секунды, за исключением Sar_3 , которое короче – четыре десятых секунды. T_2 примерно в три раза короче, около двух десятых секунд. Аналогично в таблице 2 представлены результаты для частоты 700 МГц.

Таблица 1 – Времена релаксации некоторых протонов CsE на частоте 500 МГц (секунд)

	T_1	T_2
Bmt1	$0,684 \pm 0,012$	$0,203 \pm 0,0016$
Sar3	$0,684 \pm 0,016$	$0,203 \pm 0,0015$
Mle6	$0,580 \pm 0,008$	$0,175 \pm 0,005$
Sar3(H α)	$0,387 \pm 0,003$	$0,126 \pm 0,001$
Mle4	$0,616 \pm 0,0014$	$0,1720 \pm 0,012$
Mle9	$0,655 \pm 0,009$	$0,199 \pm 0,010$
Mle10	$0,787 \pm 0,0015$	$0,212 \pm 0,005$

Таблица 2 – Времена релаксации некоторых протонов CsE на частоте 700 МГц (секунд)

	T_1	T_2
Bmt1	$0,63 \pm 0,02$	$0,406 \pm 0,019$
Sar3	$0,736 \pm 0,015$	$0,431 \pm 0,025$
Mle6	$0,643 \pm 0,2$	$0,413 \pm 0,149$
Sar3(H α)	$0,471 \pm 0,019$	$0,342 \pm 0,02$
Mle4	$0,671 \pm 0,052$	$0,478 \pm 0,04$
Mle9	$0,722 \pm 0,02$	$0,374 \pm 0,018$

Mle10	$0,791 \pm 0,18$	$0,493 \pm 0,144$
-------	------------------	-------------------

Получив данные времена были найдены времена корреляции, рассчитанные при помощи программы Python, при использовании формул из раздела 1.5. Текст можно увидеть в листинг программах в приложении 2.

В программе задаются времена T_1 и T_2 для данной группы сигналов при одной частоте, программа ищет решение – пару чисел (r , τ_c). Рассматривается набор входных данных, отвечающий экспериментальной погрешности определения времён релаксации (как в Таблицах 1 и 2). Выбираются решения с расстоянием r , наиболее близким к ожидаемому для NCH_3 или αCH_2 -группе, и соответствующие времена корреляции τ предствленны в Таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Времена корреляции для частоты 500 МГц (наносекунд)

Bmt1	0,27
Sar3	0,27
Mle6	0,44
Sar3H α	0,49
Mle4	0,57
Mle9	0,5
Mle10	0,54

Таблица 4 – Времена корреляции для частоты 700 МГц (наносекунд)

Bmt1	0,19
Sar3	0,21
Mle6	0,18
Sar3H α	0,11
Mle4	0,15
Mle9	0,26
Mle10	0,19

Заключение

Были проведены эксперименты по измерению времен релаксации ССР и СРР протонов циклоспорина Е, растворённого в хлороформе. Результаты измерений обработаны в программах TopSpin и QtiPlot. Получены следующие результаты:

- Измерены времена релаксации T_1 и T_2 в разных магнитных полях (на рабочих частотах резонанса ^1H 500 и 700 МГц).
- Оценили времена корреляции: порядка 0,2 нс в одном наборе (700 МГц) данных и 0,3-0,5 в другом (500 МГц).

Некоторая разница в результатах, полученных в разных, полях, заставляет сделать вывод, что требуется учёт различных мод движения NCH_3 -групп. Кроме того, получение времён релаксации гетероядер (^{13}C , ^{15}N) должно дать более однозначные результаты по времени корреляции. Возможные усовершенствованные подходы к анализу изложены на примерах в статьях [8] и [9].

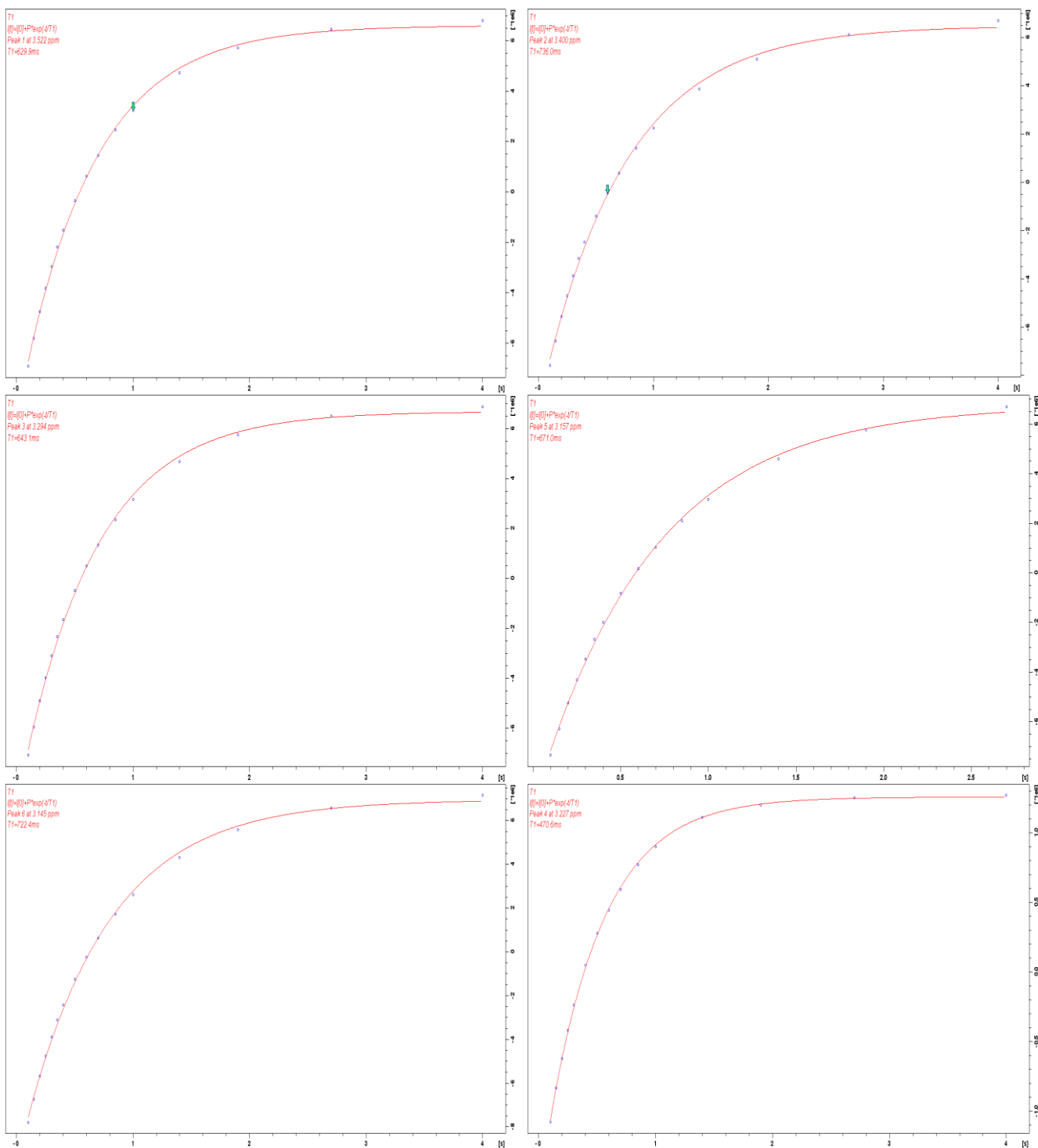
Список литературы

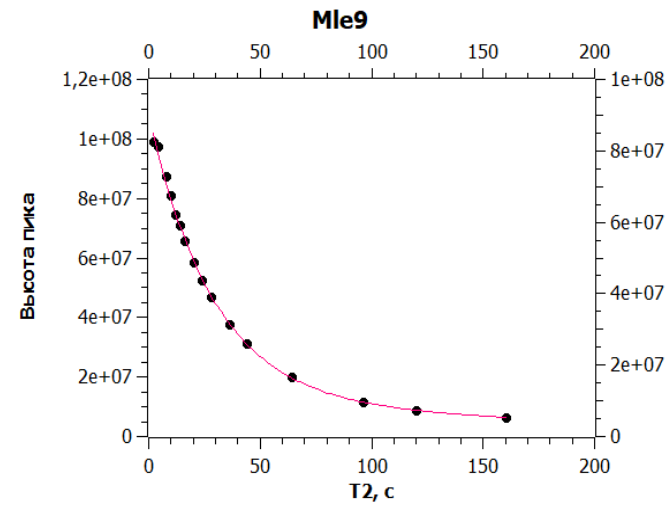
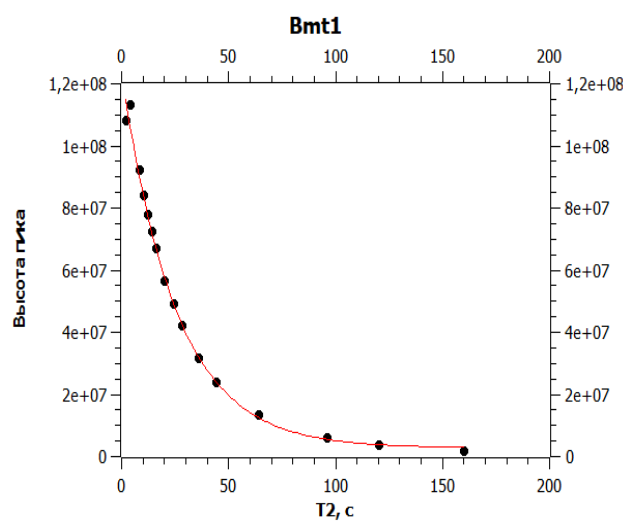
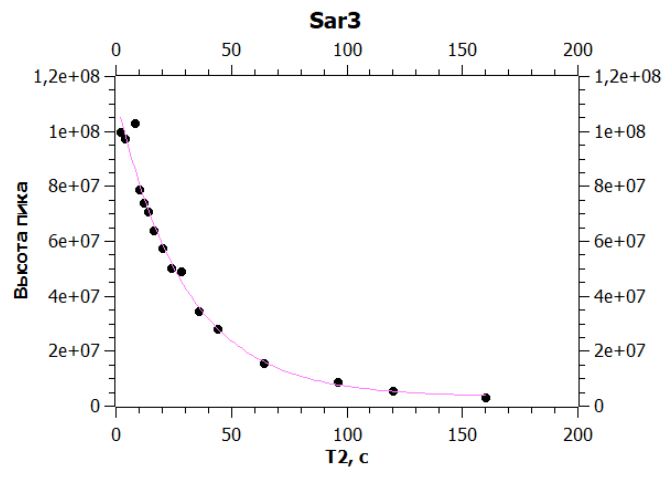
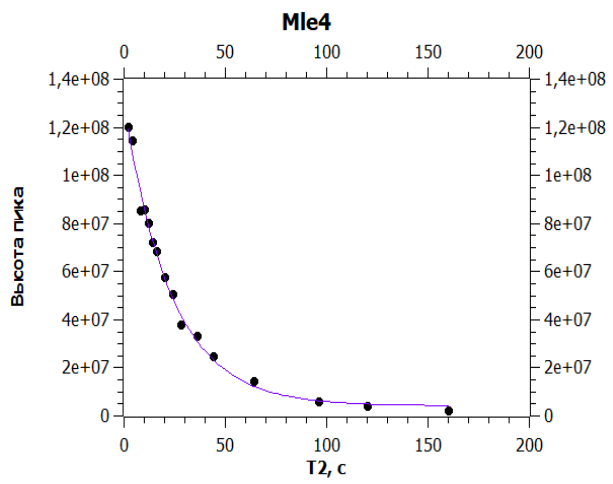
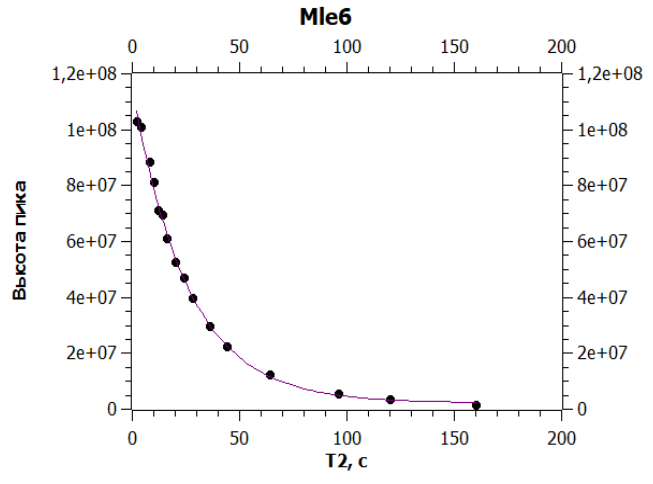
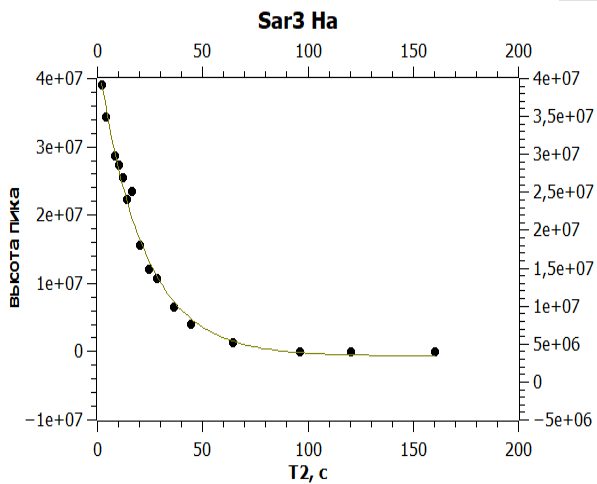
1. Cyclosporin A – A review on fermentative production, downstream processing and pharmacological applications / S.A. Survase, L.D. Kagliwal, U.S. Annapure [et al.] // *Biotechnology Advances*. – 2011. – V. 29, no. 4. – P. 418-435.
2. Is cyclophilin involved in the immunosuppressive and nephrotoxic mechanism of action of cyclosporin A? / N.H. Sigal, F. Dumont, P. Durette [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1991. – V. 173, no. 3. – P. 619-628.
3. Schreiber, S.L. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506 / S.L. Schreiber, G.R. Crabtree // *Immunology Today*. – 1992. – V. 13. – P. 136-142

4. Гюнтер, Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР / Х. Гюнтер; пер. с англ. д-ра хим. наук Ю. А. Устынюка и д-ра хим.наук Н. М. Сергеева. – М. : Мир, 1984. – 480 с.
5. Features of spatial structures of cyclosporins D, E and G revealed by NMR and MD simulations / P.P. Kobchikova, S.V. Efimov, I.A. Khodov [et al.] // J. Mol. Liq. – 2021. – V. 336. – Art. 116244.
6. Jeffery, J.R. Cyclosporine Analogues / J.R. Jeffery // Clin Biochem. – 1991. – V. 24. – P. 15-21.
7. Cyclosporin E. – Текст : электронный // PubChem : [сайт]. – URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/90478790#section=Structures> (дата обращения: 08.02.2022).
8. Daragan, V.A. A Novel Model-Free Analysis of ^{13}C NMR Relaxation of Alanine-Methyl Side-Chain Motions in Peptides / V.A. Daragan, K.H. Mayo // Journal of Magnetic Resonance, Series B. – 1996. – V. 110. – P. 164-175.
9. Le Master, D.M. NMR Relaxation Order Parameter Analysis of the Dynamics of Protein Side Chains / D.M. Le Master // J. Am. Chem. Soc – 1999. – V.121. – P. 1726-1742.

Приложение 1.

Кривые поведения намагниченности изученных протонов циклоспорина Е.





Приложение 2.

Листинг программы по определению времени корреляции τ_c .

```
# -*- coding: utf-8 -*-
# Расчёт времени корреляции и эффективного расстояния между ядрами
# по временам релаксации (T1, T2) гетероядра
# w - ГГц, tc - нс, r - ангстремы

import scipy.optimize as opt
import numpy

def J1(w,tc):
    """Функция спектральной плотности"""
    return 2*tc/(1 + (w * tc)**2)

def J2(w,tc):
    """Функция спектральной плотности ВЧ"""
    return 2*tc/(1 + (w * tc)**2)

def J0(w,tc):
    """Функция спектральной плотности НЧ"""
    return 2*tc/(1 + (w * tc)**2)

#konst = 4.39224224          # Это множитель для пары
#взаимодействующих спинов 1H-15N
konst = 56.95651          # для 1H - 1H

def R1(r,wH,tc):
    """Скорость продольной релаксации"""
    return konst*(1.5*J1(wH,tc) + 6*J2(2*wH,tc))/r**6

def R2(r,wH,tc):
    """Скорость поперечной релаксации"""
    return konst*(2.25*J0(0,tc) + 3.75*J1(wH,tc) +
1.5*J2(2*wH,tc))/r**6

w = 0.50013*2*3.14159
#wN = 0.070971*2*3.14159

T1given = 0          # эти числа вынесены в глобальные переменные, чтобы
T2given = 0          # opt.fsolve не делал по ним оптимизацию, а только по
(R,Tc)

def T12(args):
    (R,Tc) = args
    longitud = 1/R1(R,w,Tc) - T1given
    transvers = 1/R2(R,w,Tc) - T2given
    return [longitud, transvers]
```

```

print("Пробный расчёт")
tau_c = 0.25
r_eff = 1.559
##T1 = 1/R1(r_eff,w,wn,tau_c)
##T2 = 1/R2(r_eff,w,wn,tau_c)
#print("T1 = ",T1)
#print("T2 = ",T2)
#print(T12((r_eff,tau_c)))
T1given = 0.684
T2given = 0.203
solution = opt.fsolve(T12, (1.6,0.05) )
print(solution, "for T1 = ", T1given, " and T2 = ", T2given)

filename1 = "CsE_peakMle10_tc.txt" # менять тут
filename2 = "CsE_peakMle10_r.txt" # менять тут

# рассмотрим варианты решений на "сетке" значений T1, T2, допустимых
с учётом погрешности эксперимента
T1mid = 0.791 # менять тут
T2mid = 0.493 # менять тут
T1err = 0.018
T2err = 0.0144
T1gridsize = 21 # сделаем на 1 больше, чтобы пара чисел
T2gridsize = 21 # [T1mid;T2mid] попала в середину выборки
T1step = 2*T1err/(T1gridsize-1)
T2step = 2*T2err/(T2gridsize-1)
#R_range = numpy.zeros([T1gridsize,T2gridsize],"f")
#Tc_range = numpy.zeros([T1gridsize,T2gridsize],"f")
R_range = [[0 for p in range(0,T1gridsize)] for q in
range(0,T2gridsize)]
Tc_range = [[0 for p in range(0,T1gridsize)] for q in
range(0,T2gridsize)]
for p in range(T1gridsize):
    for q in range(T2gridsize):
        T1given = T1mid + (p - T1gridsize/2)*T1step
        T2given = T2mid + (q - T2gridsize/2)*T2step
        if T1given >= T2given:
            solution = opt.fsolve(T12, (1.6,0.05) )
        else:
            solution = [0,0]
        R_range[p][q] = solution[0]
        Tc_range[p][q] = solution[1]

# Собственно расчёт и запись в файлы
#filename = "CsL_Hbt1_15N_tc.txt"
try:
    f_out = open(filename1, "w")
except IOError:
    print("EnvironmentError (input-output) occurred")
except:

```

```

        print("Some error occurred")
else:
    raw = 'Relaxation times, s: ' + str(T1mid) + ' ' + str(T2mid) +
'\n'
    f_out.write(raw)
    raw = 'Experimental errors ' + str(T1err) + ' ' + str(T2err) +
'\n'
    f_out.write(raw)
    raw = 'T1 \ T2:'
    for q in range(0,T2gridsize):
        raw = raw + ' {0:.5f}'.format(T2mid + (q -
T2gridsize/2)*T2step)
    f_out.write(raw + '\n')
    for p in range(0,T1gridsize):
        raw = ' {0:.5f}'.format(T1mid + (p - T1gridsize/2)*T1step)
        for q in range(0,T2gridsize):
            raw = raw + ' {0:.5f}'.format(Tc_range[p][q])
        f_out.write(raw + '\n')
    f_out.close()
    print("Data for correlation times written to " + filename1 +
"\n")

#filename = "CsL_Hbt1_15N_r.txt"
try:
    f_out = open(filename2, "w")
except IOError:
    print("EnvironmentError (input-output) occurred")
except:
    print("Some error occurred")
else:
    raw = 'Relaxation times, s: ' + str(T1mid) + ' ' + str(T2mid) +
'\n'
    f_out.write(raw)
    raw = 'Experimental errors ' + str(T1err) + ' ' + str(T2err) +
'\n'
    f_out.write(raw)
    raw = 'T1 \ T2:'
    for q in range(0,T2gridsize):
        raw = raw + ' {0:.5f}'.format(T2mid + (q -
T2gridsize/2)*T2step)
    f_out.write(raw + '\n')
    for p in range(0,T1gridsize):
        raw = ' {0:.5f}'.format(T1mid + (p - T1gridsize/2)*T1step)
        for q in range(0,T2gridsize):
            raw = raw + ' {0:.5f}'.format(R_range[p][q])
        f_out.write(raw + '\n')
    f_out.close()
    print("Data for correlation times written to " + filename2 +
"\n")

```



```

# Отбор подходящих данных
# по условию, чтобы r оказалось около 1.56 ангстрема
R_proper = 1.56
R_dev = 0.08
filtered = []
for p in range(0,T1gridsize):
    for q in range(0,T2gridsize):
        r = R_range[p][q]
        if (r < R_proper + R_dev) and (r > R_proper - R_dev):
            filtered.append(Tc_range[p][q])
print("Диапазон полученных времён корреляции, нс: " +
'{0:.5f}'.format(min(filtered)) + " ... " +
'{0:.5f}'.format(max(filtered)))
print("Среднее значение: " +
'{0:.5f}'.format(sum(filtered)/len(filtered)))
print("Разных решений отобрано " + str(len(filtered)))

```

Кривые поведения намагниченности изученных протонов циклоспорина Е.

