

VYUŽITÍ NMR SPEKTROSKOPIE PŘI STUDIU DYNAMICKÝCH PROCESŮ

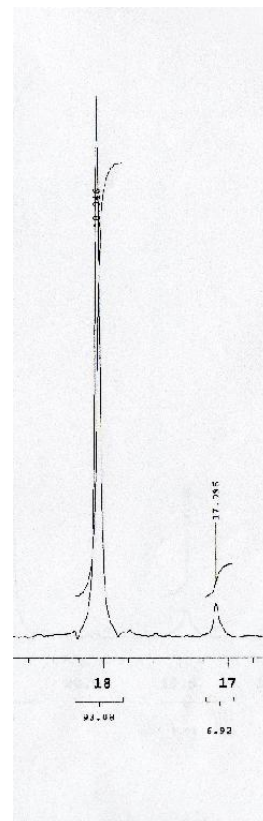
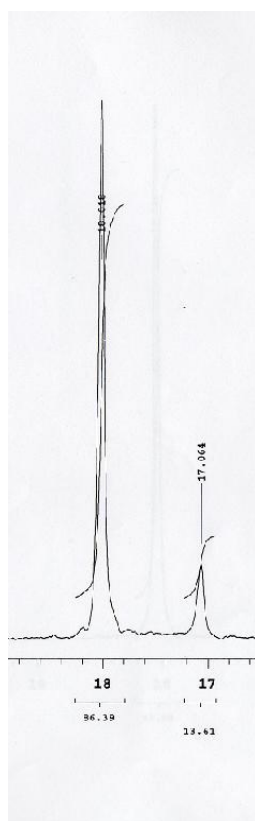
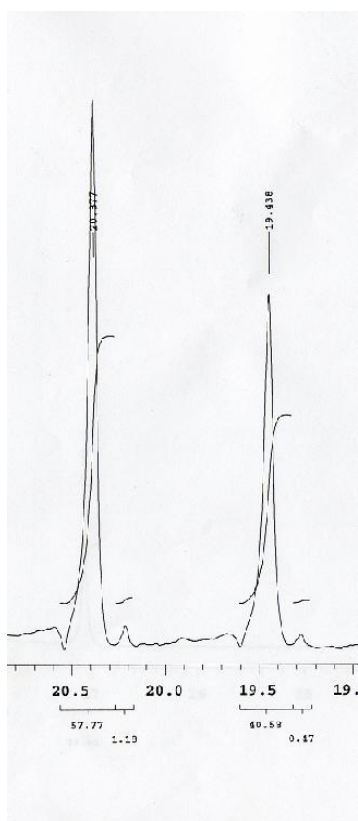
Slovník cizích slov přiřazuje slovu dynamický pojmy jako pohybový, silový, týkající se rychlosti vývoje. V chemii tomuto pojmu většinou rozumíme jako něčemu časově proměnlivému. **Dynamické procesy** (ať už chemické nebo fyzikální) jsou tedy takové, při kterých **v časovém měřítku dochází ke změnám stavu**. V chemii samozřejmě najdeme řadu podobných dějů – patří mezi ně chemické reakce jako takové, časové změny struktury molekul (konformační změny, mezomerní přechody) a mnoho dalších. Při studiu některých z nich se dá úspěšně využít NMR metod.

Jako první jsem se v širokém výčtu metod zmínil o chemických reakcích. NMR spektroskopie se dá velice dobře použít při **studiu kinetických aspektů** mnohých z nich. Při výběru metody studia kinetiky reakce můžeme zvolit NMR za předpokladu, že je splněno několik podmínek:

- daná reakce probíhá dostatečně pomalu ve srovnání s časem potřebným k měření NMR spektra
- ve spektru jsme schopni pozorovat signál(y) reaktantu i produktu
- spektrum je dobře integrovatelné

Nutnost splnění prvního předpokladu je zřejmá, chceme-li dosáhnout přiměřené přesnosti výsledků. Provedeme-li reakci přímo v NMR kyvetě a změříme-li sérii spekter v určitých časových intervalech, jsme schopni na základě integrace signálů reaktantu a produktu určit kinetické parametry. Do reakční směsi obvykle přidáváme nějaký **standard**, který se reakce neúčastní. Integrální intenzitu signálu standardu potom můžeme s úspěchem považovat za konstantní a vztahovat vzhledem k ní intenzity látek účastnících se reakce. Po vynesení časové závislosti úbytku reaktantu (resp. přírůstku produktu) jsme schopni vypočítat příslušná kinetická data, jako **rychlostní konstanty** či **poločasy reakcí**.

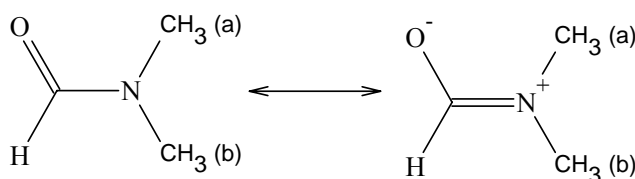
Na následujících obrázcích je demonstrováno orientační sledování časového průběhu reakce aminopropylbisfosfonátu se Z-chráněným glycinem.



Jedná se o sadu tří ^{31}P NMR spekter změřených po 2; 4,5 a 7,5 hod od začátku reakce. Signál více vpravo reprezentuje výchozí látku, tedy 3-aminopropylbisfosfonát, signál levý reakční produkt. Takovéto velice jednoduché měření je samozřejmě pouze orientační, i přesto však můžeme z jeho výsledků získat řadu důležitých údajů. Například poločas dané reakce je určitě menší než dvě hodiny, protože po 2 hod je přeměněno cca 60% výchozí látky. Stupeň konverze dané reakce je cca 95% protože spektra měřená po delších časových úsecích než 7,5 hod se již neliší.

Časové změny struktury molekul spojené s **rotací kolem vazeb** jsou většinou natolik rychlé, že jednotlivé stavy nemůžeme v NMR spektrech pozorovat. Vidíme jediný signál odpovídající průměru všech stavů.

Existuje však řada molekul, v nichž je rotace kolem vazby nějakým způsobem omezena. Typickým příkladem takovýchto molekul jsou **amidy**, kde je C-N vazba rigidizována v důsledku rezonance.



Rotace kolem C-N vazby v uvedeném DMF je tedy omezena a při nízkých teplotách v NMR spektru můžeme pozorovat samostatné signály obou methylových skupin. S rostoucí teplotou se rotace kolem vazby začíná realizovat. Při určité teplotě je již rotace dostatečně rychlá a nejsme schopni jednotlivé izomery pomocí NMR rozlišit. Signály obou methylových skupin splývají v jediný signál, jehož chemický posun je průměrem obou původních. Jev, při kterém dochází ke splývání dvou signálů v jeden bývá označován jako **koalescence** a teplota koalescence (tedy teplota při níž právě dojde ke vzniku jediného signálu) je jednou z důležitých NMR charakteristik.

To že je chemická výměna pomalá nebo rychlá v NMR škále je v podstatě nic neříkající tvrzení, není-li specifikována rezonanční frekvence (např. při $\nu=200$ MHz, kdy $1 \text{ ppm} \approx 200 \text{ Hz}$ je chemická výměna s rychlostní konstantou $k=350 \text{ Hz}$ příliš rychlá, zatímco při $\nu=500$ MHz, kdy $1 \text{ ppm} \approx 500 \text{ Hz}$ je stejná výměna dostatečně pomalá a tedy NMR rozlišitelná). Samozřejmě platí, že čím vyšší je rezonanční frekvence našeho spektrometru, tím rychlejší výměny můžeme s jeho použitím sledovat. Pro studium rychlejších procesů je dobré využít např. ^{13}C NMR, protože má jednoznačně větší rozpětí rezonančních frekvencí než např. ^1H NMR.

V praxi se často zavádí nová veličina, tzv. **výměnný poměr (R)**.

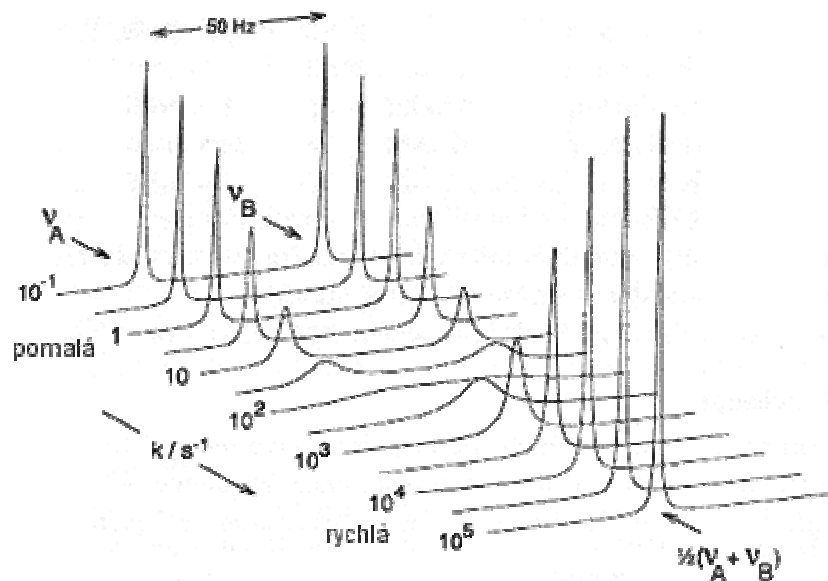
$$R = \frac{k}{\Delta\nu}$$

$\Delta\nu$rozdíl chemických posunů mezi dvěma izolovanými signály v Hz

Vysoké hodnoty R ($k \gg \Delta\nu$) znamenají rychlou výměnu, nízké hodnoty ($k \ll \Delta\nu$) výměnu pomalou.

Na následujícím obrázku jsou simulována NMR spektra symetrické chemické výměny pro $\Delta\nu=50 \text{ Hz}$ při různých teplotách. S rostoucí teplotou vzrůstá i rychlostní konstanta, a to podle známého Arrheniova vztahu:

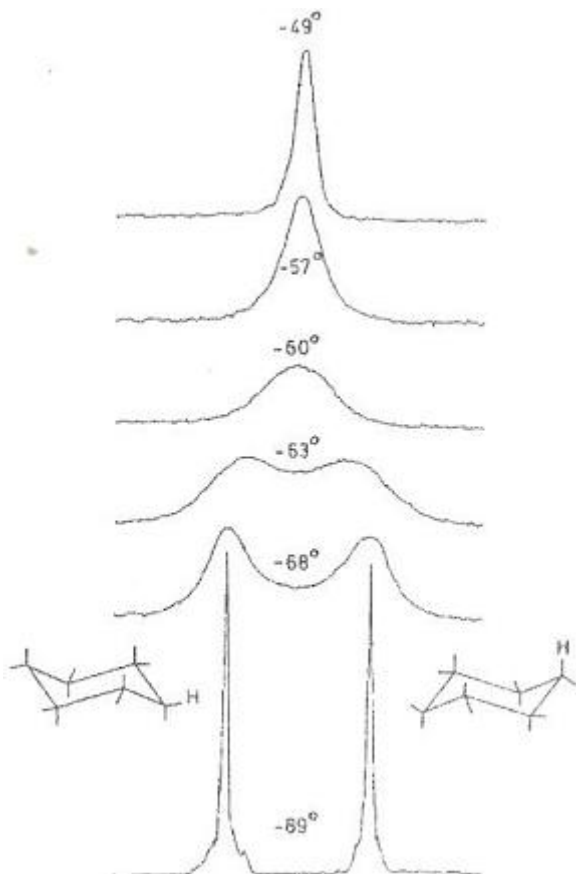
$$k = A \cdot e^{-\frac{E_A}{RT}}$$



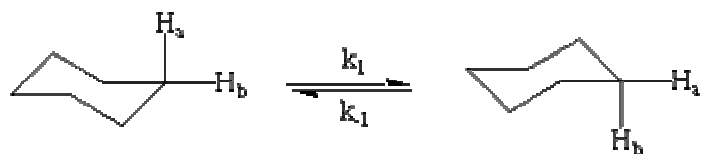
Určíme-li si z obrázku alespoň orientačně hodnoty výměnných poměrů, zjistíme, že pro $R < 0,1$ získáváme dva samostatné signály. Hodnota $R \sim 2$ odpovídá přibližně koalescenci. Při koalescenci je tedy rychlostní konstanta přibližně srovnatelná s $\Delta\nu$ a pro její hodnotu platí:

$$k = \frac{\sqrt{2\pi\Delta\nu}}{2}$$

Po dosazení tohoto vztahu do definice R můžeme hodnotu pro koalescenci ještě zpřesnit na $R \sim 2,22$



Dalším příkladem chemické výměny, kterou můžeme pozorovat pomocí NMR je např. **inverze cyklu**.



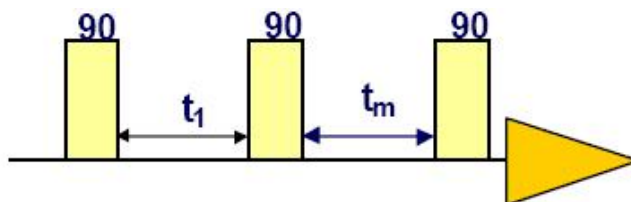
Při běžném NMR měření se nám všech 12 vodíků cyklohexanu zobrazí jako jediný singlet. Budeme-li však měření provádět při nízké teplotě (kolem -80°C), je výměna axiálních vodíků za ekvatoriální zbržděna. Dostáváme pak obdobné spektrum jako v případě amidů, kdy dva původně izolované píky se s rostoucí teplotou rozšiřují až dochází k jejich koalescenci za vzniku jediného píku s průměrným chemickým posunem.

Chemická výměna se velice podobá relaxačním mechanismům – místo samotné magnetizace však po systému putuje celé jádro. Vliv chemické výměny na z-složku magnetizace je velice blízký NOE. V řadě systémů se uplatňují oba mechanismy

a mohou být pozorovány např. ve 2D NOESY spektrech. **Přenos magnetizace mechanismy chemické výměny je však narozdíl od NOE vždy negativní!!!**

V NOESY spektrech velkých molekul (negativní NOE) může být tedy problém s rozlišením krosníků způsobených chemickou výměnou a krosníků vzniklých v důsledku NOE. Jako řešení se nabízí změření ROESY spektra ve kterém jsou všechny NOE signály pozitivní.

Pro studium složitějších systémů s řadou chemických výměn se tak používá i 2D metoda známá jako **EXSY (EXchange SpectroscopY)**. Pulzní sekvence pro EXSY je totožná se sekvencí pro NOESY:



Během směšovacího času dochází k přenosu magnetizace v důsledku chemických výměn. Velikost krosníků ve spektru logicky závisí na rychlosti chemické výměny, je však třeba dávat pozor na signály způsobené NOE (ještě jednou si uvědomme že pulzní sekvence pro EXSY je totožná se sekvencí pro NOESY). Existuje i 1D obdoba EXSY experimentu, opět zcela analogická 1D NOESY. Jinými slovy EXSY spektroskopie je obyčejné NOESY s cílem zjistit zda dochází k chemickým výměnám.

Co říci závěrem? Jedině snad to, že NMR spektroskopie je dnes rovnocenným partnerem pro ostatní metody sloužící ke studiu dynamických dějů.

Použité zdroje:

Macomber, Roger S.: **A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy**. John Willey & Sons, Chichester 1998

Hore, P. J.: **Nuclear Magnetic Resonance**. Oxford University Press, Oxford 1995

<http://www.techcorp.cz/0018>

<http://www.vscht.cz/nmr>