

Dekapling, koherentní transfer polarizace, nukleární Overhauserův jev

Dekapling

Dekaplingem rozumíme odstranění vlivu J-vazby XA na spektra jader A působením dalšího radiofrekvenčního pole (ω_X) na jádra X (dvojná rezonance).

Je to standardní způsob měření ^{13}C spekter (A ... ^{13}C , X ... ^1H , J_{CH}).

Kvalitativně lze princip dekaplingu vysvětlit tak, že při dostatečně intenzivním působení rf pole na X se po určité době vyrovnají populace hladin jader X. Dochází k vysokému počtu přechodů mezi těmito hladinami (nahoru i dolů) za jednotku času. Jádro A pak cítí jen střední hodnotu J-interakce při rychle se měnící z-ové složce momentu hybnosti jader X, což je nula. A ve spektru A tedy vymizí multiplerní struktura.

Po vypnutí dekaplingu změna populací odezní pomalu, vliv na štěpení pomine rychle.

Intenzity ve spektru A při ozařování X: je-li mezi A a X nějaká interakce, pak působení rf pole na X ovlivní prostřednictvím této interakce i populace hladin A => intenzity ve spektru A mohou být zkresleny (neodpovídají relativní četnosti jader), vliv na intenzitu může být pozitivní i negativní.

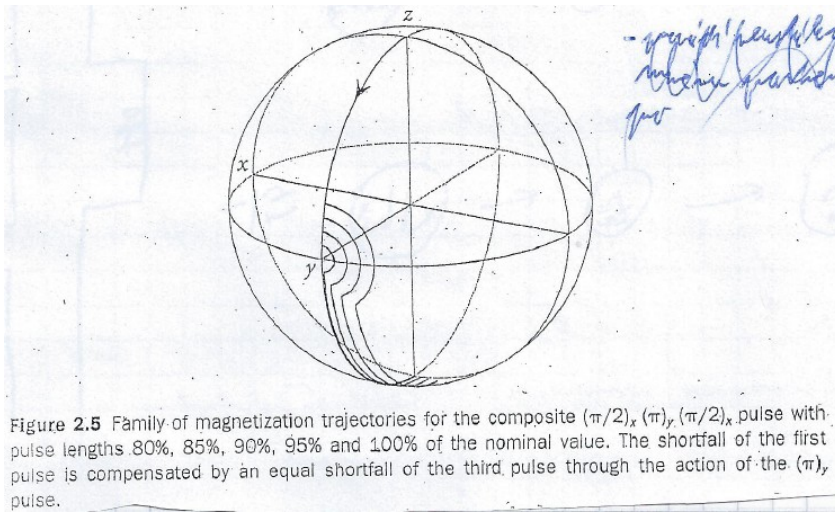
Dělení dekaplingu:

- heteronukleární (různá jádra – ozařováním ^1H dekaplujeme ^{13}C spektrum)
- homonukleární (ozařováním jedné čáry ve spektru dekaplujeme jinou čáru)
- širokopásmový (celé spektrum)
- mimorezonanční
- selektivní (dekapling vybraných skupin jader)
- kontinuální
- klíčovaný (jen před sklápěcím pulsem) – nevádí-li nám štěpení a chceme jen měřit populaci a pozorovat změny
- inverzní klíčovaný (jen po dobu akvizice dat)

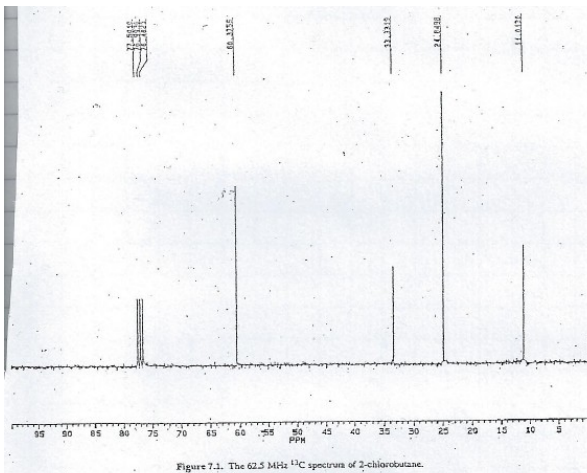
Dekaplovací techniky:

- **CW** (Continuous Wave)
 - selektivní
 - existuje několik variant: například s modulací amplitudy dekaplovacího napětí, nebo tzv „noise decoupling“ s náhodnými změnami fáze napětí
- **CPD** (Composite Pulse Decoupling)
 - širokopásmový
 - užitím kompozitních pulsů se koriguje vliv nepřesnosti v úhlech (v nastavení délky pulsů)

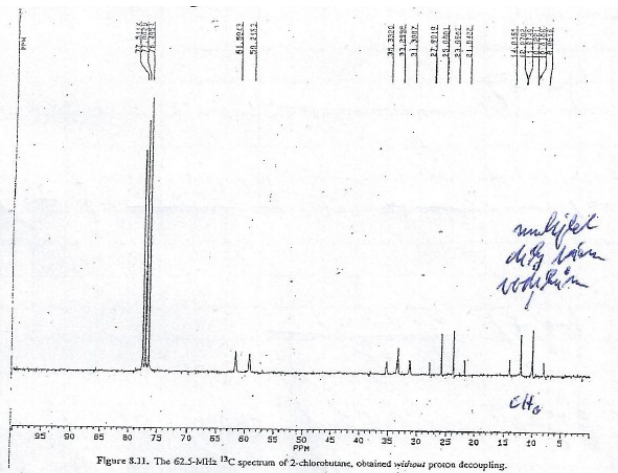
- příklad kompozitních pulsů: $R \equiv \left(\frac{\pi}{2}\right)_x (\pi)_y \left(\frac{\pi}{2}\right)_x$, $\bar{R} \equiv \left(\frac{\pi}{2}\right)_x \left(\frac{3\pi}{2}\right)_y \left(\frac{\pi}{2}\right)_x$
- kompozitní pulsy se řadí do cyklů
 - např.: MLEV-4 ... $RR\bar{R}\bar{R}$
MLEV-16
WALTZ-4 ... $1\bar{2}3\ 1\bar{2}3\ \bar{1}2\bar{3}\ \bar{1}2\bar{3}$
 $1\bar{2}3 \equiv \left(\frac{\pi}{2}\right)_x (\pi)_{-x} \left(\frac{3\pi}{2}\right)_x$ apod.
WALTZ-16
aj.
- výhoda: relativně málo absorbovaného výkonu (sníží se zahřívání vzorku)



Příklad dekaplovaného a nedekaplovaného ^{13}C spektra 2-chlorbutanu:



(R.S.Macomber A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy, J.Wiley&Sons 1998)



(R.S.Macomber A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy, J.Wiley&Sons 1998)

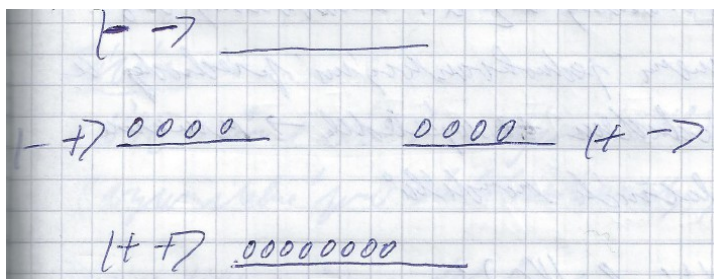
Pozn.: Dekapling se používá v kombinaci s MAS ve spektroskopii NMR pevných látek k potlačení vlivu přímé dipól-dipólové interakce způsobující rozšíření čar.

Nukleární Overhauserův jev (NOE)

Předpokládejme, že máme: 2 jádra I, S, spiny $\frac{1}{2}$, různé chemické posuvy. Měříme spektrum I. Intenzita je daná populačním rozdílem mezi stavy s různou hodnotou I_z .

Homonukleární případ:

1. rovnováha:



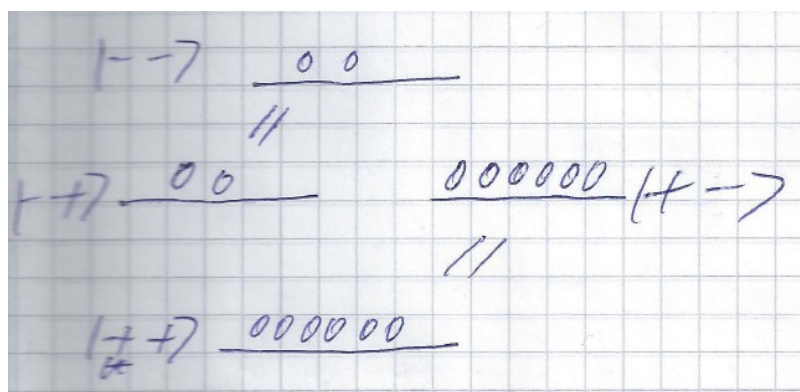
Zakresleny populace stavů $|I_z S_z\rangle$ - přebytky vzhledem k nejvyšší hladině (\sim lineární závislost).

Populační rozdíl mezi $|+-\rangle$ a $|--\rangle$... 0000

a také mezi $|++\rangle$ a $|-\rangle$... 0000.

2. ozařování S:

Dojde k saturaci, tj. vyrovnání populací hladin se stejným stavem spinu I, lišících se stavem spinu S.



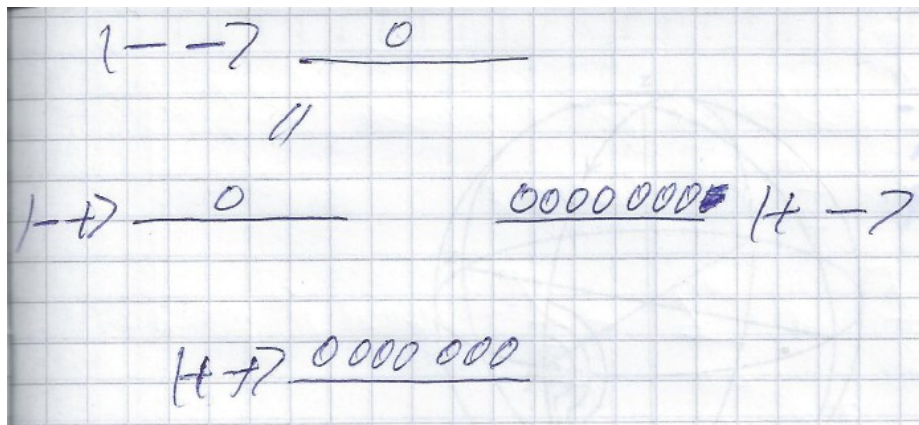
Populační rozdíl mezi $|+-\rangle$ a $|--\rangle$... 0000

a také mezi $|++\rangle$ a $|-\rangle$... 0000.

Populační rozdíly zůstaly stejné jako v rovnováze.

3. relaxace mezi $|+-\rangle$ a $|--\rangle$ a mezi $|++\rangle$ a $|-\rangle$ se snaží udržet rovnovážné populační rozdíly, tj. 0000. Ale mohou být přítomny ještě dvoukvantové relaxační přechody W_2 mezi $|--\rangle$ a $|++\rangle$ (směřující k populačnímu rozdílu 00000000) a nulkvantové relaxační přechody W_0 mezi $|-\rangle$ a $|+-\rangle$ (směřující k vyrovnání populací). Ve výsledku pak dojde ke změně populací i sledovaných populačních rozdílů.

Sledujme případ, kdy je významný W_2 a zanedbatelný W_0 : Podle vzájemného vztahu mezi jednokvantovými přechody a dvoukvantovým přechodem dojde ke změně populací i sledovaných populačních rozdílů. Krajní případ (největší účinek W_2):



Populační rozdíl mezi $|+-\rangle$ a $|--\rangle$... 000000

a také mezi $|++\rangle$ a $|-\rangle$... 000000,

tj. o polovinu vyšší než v rovnováze. Tomu odpovídá o polovinu vyšší intenzita čáry ve spektru I.

Obecně relativní změna intenzity až o $0,5 \gamma_S / \gamma_I$ (včetně znamének gyromagnetických faktorů).

Tento případ nastává pro relaxační mechanismy dané silnou přímou dipól-dipólovou interakcí (např. jsou-li obě jádra blízko sebe a nemusí přitom být vázána chemickou vazbou).

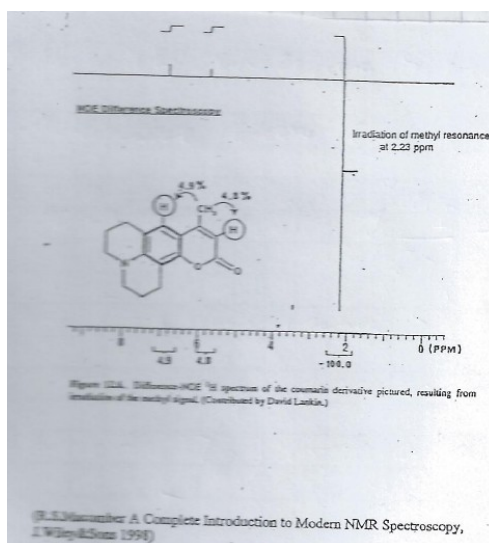
Pro S ... ^1H , I ... ^{13}C je zvýšení až o dvojnásobek původní intenzity.

Je-li jeden z gyromagnetických poměrů záporný, intenzita bude snížena (záporný NOE).

Podobně bychom mohli postupovat i pro heteronukleární případ.

Závěr:

- NOE může vést ke zvýšení citlivosti ve spektrech (využitelné pro slabé intenzity, např. pro spektra ^{13}C).
- Pomocí NOE můžeme detekovat **prostorovou blízkost** dvou jader, což je využitelné např. pro studium konformací molekul.



Koherentní (selektivní) transfer polarizace

Multiplet – selektivní saturace nebo inverze jednoho přechodu v multipletu naruší distribuci populací a zesílí intenzitu těch signálů jiného jádra se kterým je svázán.

Homonukleární případ 2 spinů (které nejsou ekvivalentní – mají různé chemické posuvy):

Rovnováha:

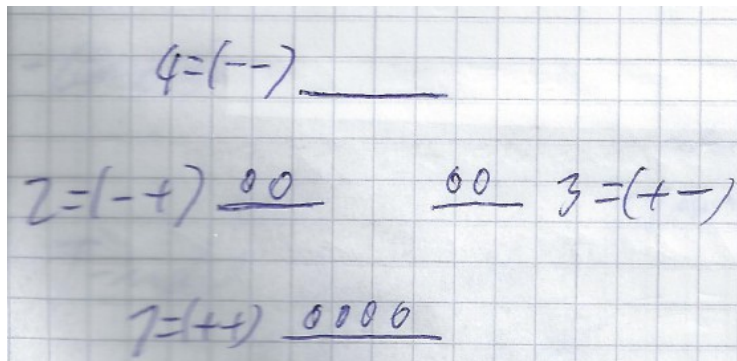
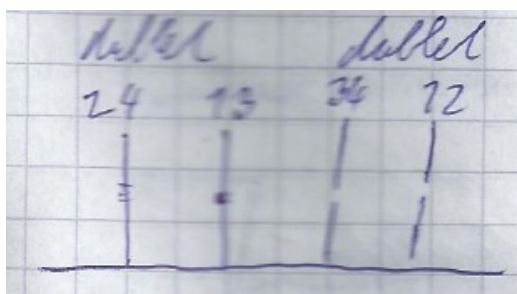
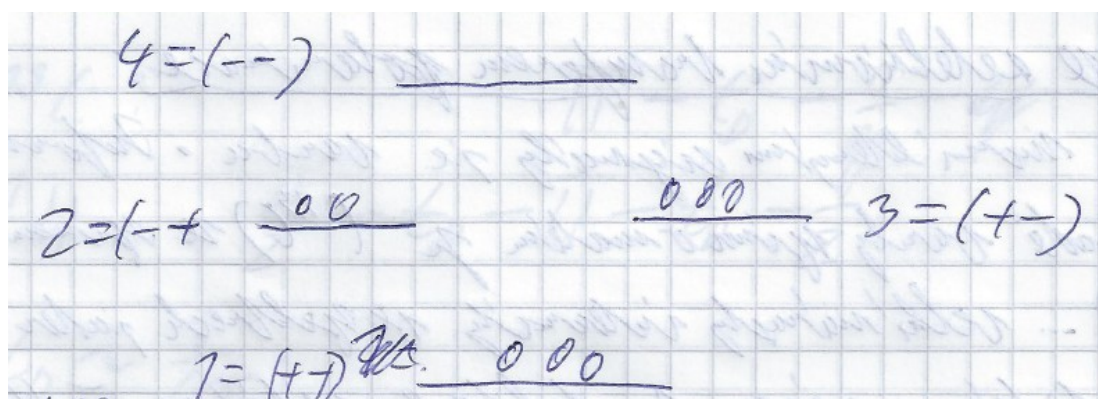


Schéma na obrázku je podobné jako u NOE. Tam se ale jednalo o relaxace, kdežto nyní půjde o něco jiného a sice předpokládáme, že mezi dvěma spiny je J-vazba, jejíž přítomnost je podstatná.

Ve spektru máme dva stejně intenzivní dublety dané dvoukolečkovými rozdíly mezi hladinami 2 a 4, 1 a 3, 3 a 4, 1 a 2.



Saturace dosažená selektivním ozařováním 13 (vyrovnáme populace hladin 1 a 3):



Ve spektru dostaneme čáry, jejichž intenzity jsou dány rozdílem populací jednotlivých stavů:

24 ... rozdíl 2 kolečka , intenzita čáry 2

13 ... rozdíl 0 koleček , intenzita čáry 0

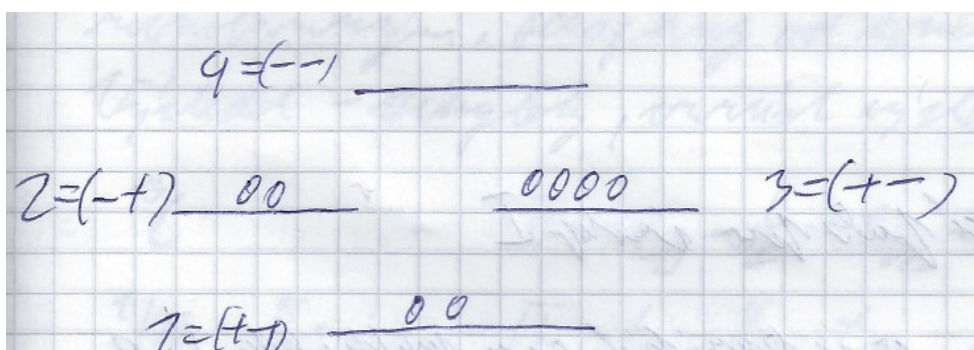
34 ... rozdíl 3 kolečka , intenzita čáry 3

12 ... rozdíl 1 kolečko , intenzita čáry 1



Vliv saturace 13 tedy pozorujeme na 34 a 12 – došlo k navýšení intenzity čáry 34 a ke snížení intenzity čáry 12.

Inverze 13:



Spektrum:



Vliv inverze 13 opět pozorujeme na 34 a 12.

Podobná schémata bychom mohli nakreslit i pro heteronukleární případ s podobným výsledkem.

Př.: Vezměme si dublet ve spektru ^{13}C daný J-vazbou CH. Selektivní inverzí pro ^1H dostaneme zesílené signály ^{13}C , které jsou v antifázi. Celkový součet (sčítanci včetně znaménka) zůstane zachován.

Využití metod se selektivním transferem polarizace

Možno nalézt, mezi kterými signály je vazba. Informace o znaménku J. V případě vazby spinu o malém γ (^{13}C) se spinem o vysokém γ (^1H) ... velké nárůsty intenzity ve spektrech jader s malým γ , vzrůst citlivosti je dán poměrem γ faktorů, větší než NOE, nezávisí na jejich znaménku.

SPI (SPT) experiment

- Homonukleární:
 - selektivní 180° puls (dlouhý o malé amplitudě, na frekvenci jedné čáry multipletu S)
 - sklápěcí puls (krátký, $\sim 30^\circ$)
 - akvizice (FID)
- Heteronukleární:
 - podobně, sklápěcí puls pro izotop I

Ve spektru patrný změny o intenzitách čar multipletu I s J-vazbou na S.

INEPT (Intensive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer)

Základní sendvič:

$$^{13}\text{C}: \quad \pi - t_D - \frac{\pi}{2} - aq.$$

$$^1\text{H}: \quad \frac{\pi}{2} - t_D - \pi - t_D - \frac{\pi}{2}$$

$$t_D \sim \frac{1}{4J}.$$

(π puls – refokusace chemického posuvu, ale nutno na obě jádra)

Ve spektru ^{13}C jsou multiplety, jejichž jednotlivé komponenty mají různé fáze a různé intenzity (cyklováním fází pulsů je možno srovnat poměry intenzit).

Existují různé varianty této sekvence – např.: **refokusovaný INEPT**:

Vložením refokusační periody mezi generaci polarizačního transferu a jeho detekci se antifázové komponenty stanou komponentami ve fázi. Dále je v sekvenci dekapling od konce refokusační periody díky kterému dostaneme singlety s navýšenou intenzitou díky přenosu polarizace z vodíků.

Schéma sekvence:

$$^{13}\text{C}: \quad \pi - t_D - \frac{\pi}{2} - t_{D2} - \pi - t_{D2} - aq.$$

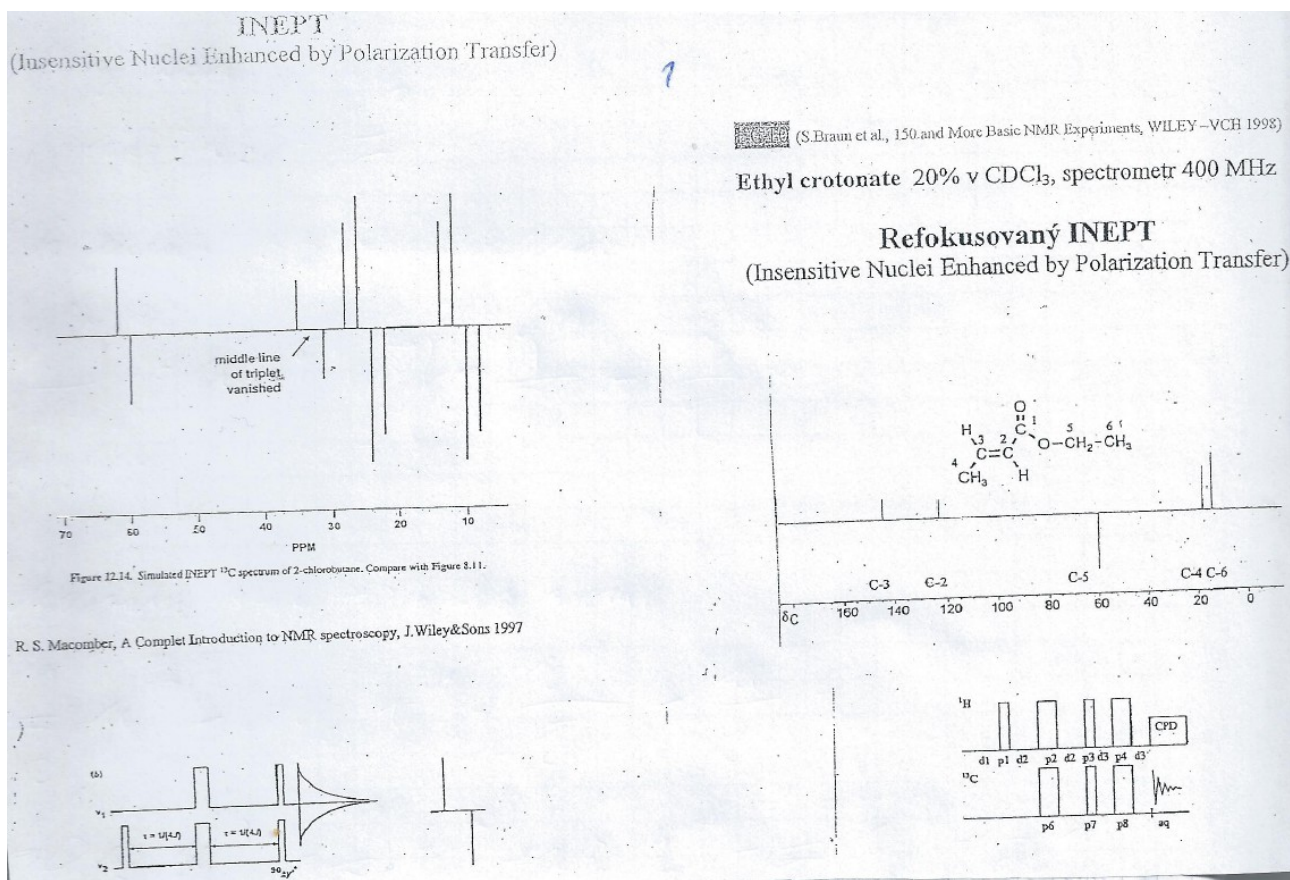
$$^1\text{H}: \quad \frac{\pi}{2} - t_D - \pi - t_D - \frac{\pi}{2} - t_{D2} - \pi - t_{D2} - CPD$$

(Poněkud citlivé na nastavení t_D, t_{D2} .)

Pozn.:

- Základní INEPT ... transfer polarizace od ^1H k ^{13}C .
- Reverzní INEPT ... CH vazba – detekce pomocí protonů, signál protonů se sousedy ^{12}C potlačen.
 - Provede se opačně a měří se pak vodíkové spektrum.
- Transfer polarizace od protonů k ^{13}C k zesílení intenzity též využívá metoda DEPT (Distorti-

unless Enhancement by Polarization Transfer), též k určení multiplicity.



Literatura

[1] Poznámky z přednášky prof. Štěpánkové.

[2] V. Prosser a kol. : *Experimentální metody biofyziky* , ACADEMIA, Praha, 1989