

УДК 543.422.25+547.586.597

ТРОЙНОЙ ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$ – ПРЕЦИЗИОННЫЙ КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ДЕЙТЕРОЗАМЕЩЕННЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

В.А. Рознятовский, Ю.К. Гришин, А.Н. Кашин

(кафедра органической химии; e-mail: vit.rozn@nmr.chem.msu.su)

Показаны преимущества количественной спектроскопии ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$ в исследовании дейтерозамещенных органических соединений. Одновременное применение двух насыщающих полей на частотах протонов и дейтронов приводит к существенному упрощению спектров и возрастанию чувствительности метода. Возможности тройного резонанса продемонстрированы на примерах анализа состава смеси дейтероизотопомеров нормального тетрадекана и прецизионного измерения изотопных сдвигов $\Delta(^{13}\text{C})$ для бифенила- d_5 .

Ключевые слова: количественная спектроскопия ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$, тройной ЯМР, изотопмерный ЯМР-анализ, изотопный химический сдвиг, дейтероизотопомеры, бифенил- d_5 .

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса находит широкое применение как аналитический и количественный метод исследования строения веществ. Несомненным преимуществом метода является возможность получения информации на уровне фрагментов и групп молекулярных систем без разрушения последних, а также одновременных оценок для компонентов смесей, включая смеси изотопомеров, без их предварительного разделения. Практические аспекты и проблемы точности количественного ЯМР активно обсуждались в литературе (см., например, [1–3]), в том числе и для измерений на ядрах ^{13}C [4]. Определенные ограничения могут возникать при ЯМР-исследованиях дейтерозамещенных органических соединений или смесей дейтероизотопомеров. Анализ спектров ЯМР ^1H таких объектов затрудняется из-за перекрывания сигналов мультиплетной структуры и весьма незначительных индуцированных дейтронами изотопных химических сдвигов ^1H (обычно не превышают 10–15 млрд.д., т.е. сопоставимы с шириной резонансных сигналов). Метод ЯМР- $^2\text{H}\{-^1\text{H}\}$ обеспечивает получение весьма высокой точности оценки интегральной интенсивности сигналов индивидуальных соединений даже при измерении на природном содержании дейтерия с помощью прецизионных методов интегрирования [5, 6]. Тем не менее узкий частотный диапазон химических сдвигов ядер ^2H , в шесть с половиной раз меньший, чем для ядер ^1H , определяет высокую вероятность перекрывания резонансных линий этих ядер, часто подверженных релаксационному уширению. В этой связи значи-

тельные преимущества имеет метод ЯМР на ядрах изотопа ^{13}C , прежде всего благодаря большому диапазону химических сдвигов. Содержание этого изотопа, равное примерно 1,1%, в живой природе претерпевает незначительные, на порядок меньшие по сравнению с изотопом ^2H , изменения. Его вариация в пределах природных органических молекул не превышает 1,5%. При этом наиболее важным является то, что изменением содержания ^{13}C в углеводородных группах при замещении протонов на дейтерий можно пренебречь.

В условиях развязки от протонов и отсутствия обменных процессов при достижении высокой однородности поляризующего поля резонансные сигналы ядер ^{13}C имеют меньшую ширину, чем резонансные линии протонов. Современные методы измерений позволяют избежать возможного влияния эффектов Оверхаузера и насыщения на интенсивность сигналов с помощью импульсного манипулирования каналом развязки и использования больших времен повторения импульсных последовательностей и/или дополнительного применения релаксантов. Вызванные замещением протонов на дейтерий изотопные сдвиги в спектрах ^{13}C ($\Delta(^{13}\text{C})$) значительны, могут превышать 1 м.д. в пердейтерированных соединениях и наблюдаются через несколько связей [7], что и дает основу для проведения изотопмерной дифференциации. Однако Н/D-замещение сопровождается сильным изменением формы резонансных линий углерода, связанной как с их расщеплением из-за спин-спинового взаимодействия $^{13}\text{C}\text{--}^2\text{H}$, так и с ре-

лаксационным уширением, обусловленным наличием у дейтрона квадрупольного момента. Следствием этого являются высокая вероятность заметного перекрывания спектров отдельных имеющихся в смеси изотопомеров, сложность описания и даже обнаружения компонентов смеси с низким содержанием. Ранее нами высказывалась идея устранения этих факторов путем применения дополнительного мощного высокочастотного облучения на ядрах дейтерия [8].

В настоящей работе демонстрируются возможности метода тройного резонанса при наблюдении сигналов ядер углерода в режиме одновременного облучения на частотах протонов и дейтронов для изотопомерного анализа и прецизионного измерения изотопных химических сдвигов.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР регистрировались на спектрометре «Avance-600 Брукер» с рабочими частотами 600 и 150 МГц на ядрах ^1H и ^{13}C соответственно, в стандартных ампулах с внешним диаметром 5 мм при комнатной температуре. Спектрометр оборудован блоком переключения канала лока, позволяющим использовать этот канал как для стабилизации резонансных условий, так и для облучения спиновой системы на частоте дейтерия (развязки от дейтерия). Процедура управления блоком переключения, предусмотренная импульсной последовательностью *zgig2h*, входящей в пакет программного обеспечения прибора, дает возможность наблюдения спектров ^{13}C с развязкой от дейтерия при сохранении условий спиновой стабилизации. Наличие в спектрометре третьего радиочастотного канала позволило нам модифицировать эту импульсную последовательность для одновременно облучения и протонов, и дейтерия во время выборки сигнала; ^2H -стабилизация осуществлялась на сигналах как дейтерорастворителя, так и изучаемого соединения.

Для измерения спектров ЯМР ^{13}C использовали время выборки сигнала свободной прецессии не менее 6 с и задержки между импульсными последовательностями длительностью 14 с. Выбор регистрируемого спектрального диапазона и режима обработки сигнала (числа точек) определялся условиями обеспечения цифрового разрешения не хуже 0,05 Гц.

Интегральные интенсивности и частоты резонансных линий определяли при анализе формы резонансного контура с учетом искажений фазы и неоднородности поляризуемого поля с помощью программы *Intspect* [5].

Индукцированные дейтерием изотопные сдвиги $\Delta(^{13}\text{C})$ определяли как разность химических сдвигов ядер углерода для смеси меченных и не меченных дейтерием изотопомеров.

Бифенил- d_5 получен из пентадейтерированного бромбензола по методике, предложенной в [9]. Смесь дейтероизотопомеров нормального тетрадекана была получена в реакции Фишера–Тропша при взаимодействии CO и водорода с высоким содержанием D_2 .

Результаты и обсуждение

Тетрадекан представляет собой смесь изотопомеров, состоящую в основном из полностью дейтерозамещенного алкана $n\text{-C}_{14}\text{D}_{30}$, и является удобным объектом для иллюстрации преимуществ тройного резонанса $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$ в изотопомерном анализе. В спектре ЯМР ^1H этого вещества присутствуют две группы сигналов с взаимным соотношением значений интегральной интенсивности примерно 1,0:6,5 (в области 0,76–0,92 м.д., отвечающей протонам метильных групп, и в области 1,10–1,30 м.д., принадлежащей метиленовым группам). Эти сигналы имеют сложную для анализа форму, указывающую на наличие в смеси большого числа веществ.

Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ изученного углеводорода (рис. 1) дает более четкую основу для дифференциации компонентов. Наряду с сигналами дейтероизотопомеров он содержит синглеты незамещенных дейтерием CH_2 - и CH_3 -групп. Поскольку для линейных углеводородов индуцированные дейтерием изотопные сдвиги через одну ($^1\Delta$) и через две ($^2\Delta$) связи составляют примерно 300 и 100 млрд.д. соответственно [10], резонансные сигналы дейтеросодержащих групп существенно смещены в сильное поле. Однако вследствие развитой мультиплетной структуры с константами $^1J(\text{C}-\text{D})$, равными примерно 19 Гц, уширенные сигналы таких групп перекрываются. Это наблюдается даже в относительно обособленной области резонанса (12–14 м.д.) атомов углерода C_1 и C_{14} концевых метильных групп CHD_2 (квинтет) и CD_3 (септет). Еще более значительное перекрывание, практически не позволяющее проводить количественную оценку интегральной интенсивности, происходит для мультиплетных сигналов при 28–29 м.д., относящихся к внутренним атомам углерода $\text{C}_4\text{--C}_{11}$, имеющих близкое экранирование.

Этот недостаток устраняется в спектре тройного резонанса $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$, в котором полностью подавлена мультиплетная структура (рис. 1). Более того, в этом спектре относительно разрешены линии ато-

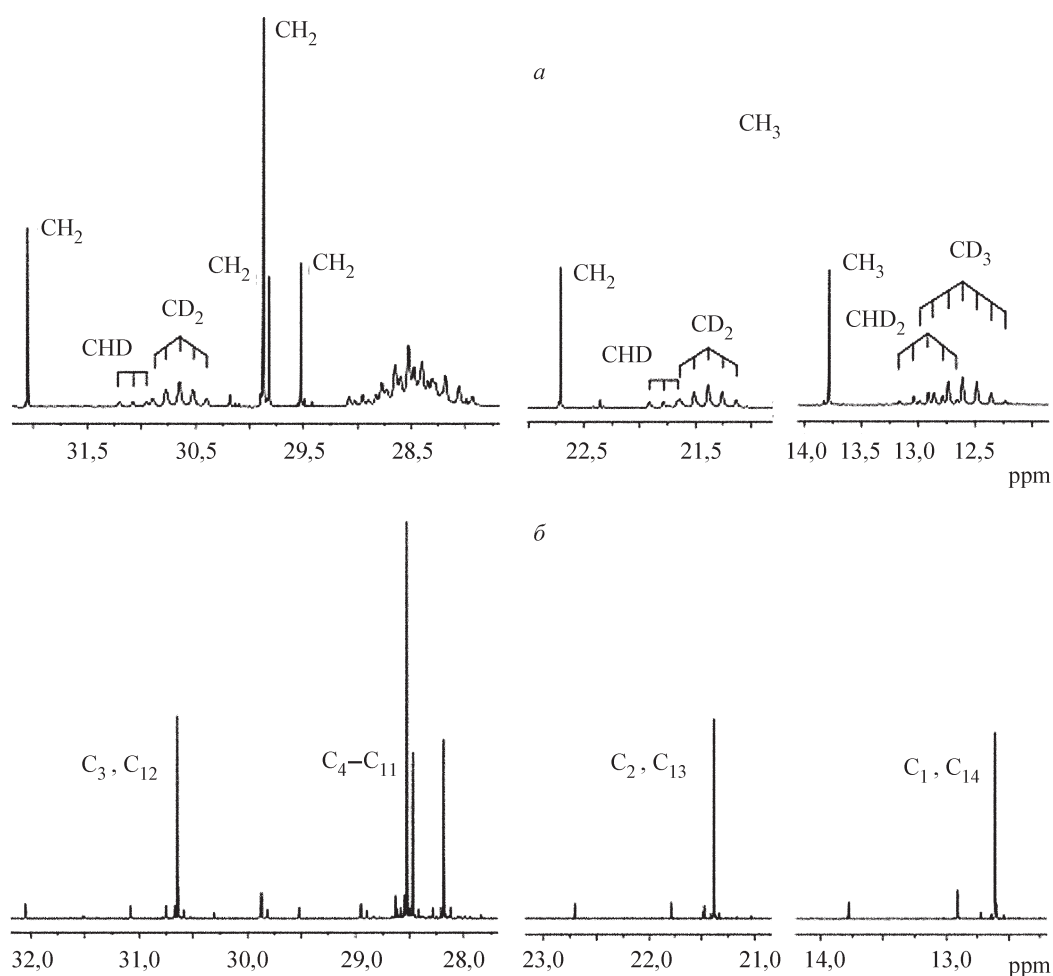


Рис. 1. Спектры ЯМР ^{13}C изученного тетрадекана (150 МГц): *a* – двойного резонанса $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$, *б* – тройного резонанса $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$

мов углерода изотопомеров с разным содержанием дейтерия в группах, отстоящих на одну и две связи, как следствие проявления дальних изотопных эффектов $^2\Delta$ и $^3\Delta$. Таким образом, становится возможным проведение надежного количественного анализа с помощью измерения интегральной интенсивности резонансных синглетов. В качестве примера в табл. 1 представлены результаты анализа распределения изотопов водорода в метиленовых и метильных группах изученного углеводорода.

Приведенные в табл. 1 данные позволяют установить, что содержание протия в изученном тетрадекане составляет 11,0(1) мол.%. Остаточный протий распределяется по углеводородным цепочкам этого алкана слегка неравномерно. Он преимущественно концентрируется в концевых группах (12,4 и 13,2% в метильных группах и в предконцевых метиленовых звеньях соответственно). Содержание полностью дейтерированного тетрадекана $\text{C}_{14}\text{D}_{30}$ составляет 32,9(1) мол.%. В то же время его легкий аналог $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$

в исследованной смеси изотопомеров практически отсутствует (<0,01%). Особенностью рассмотренного соединения является также чрезвычайно низкое содержание в метильных группах фрагмента CH_2D (0,3%), указывающее на сильное проявление изотопных эффектов в процессе реакции получения такого продукта.

Измерения индуцированных дейтерием изотопных эффектов в спектрах ^{13}C проводились нами для бифенила- d_5 , в котором протоны одной из фенильных групп полностью замещены на дейтерий. Имеющиеся данные для монодейтерозамещенного производного 4-D- $\text{C}_6\text{H}_4\text{C}_6\text{H}_5$ [11] показывают, что это соединение является удобной моделью для наблюдения дальних изотопных эффектов. Такие эффекты более чем через 5–6 валентных связей отчетливо проявляются для π -систем и несут важную информацию о конформационных состояниях молекул [11–13]. Раствор бифенила- d_5 в дейтероацетоне содержал около 5% легкого изотопомера $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$ с естественным содержа-

Т а б л и ц а 1

Относительное содержание изотопмерных фрагментов в группах для изученного тетрадекана (%)

Атом углерода	Химический сдвиг δ С, м.д.*	Группа		
		CH ₃	CH ₂ D/CHD ₂	CD ₃
C ₁ , C ₁₄	12,61	8,1	0,3/12,6	79,0
		CH ₂	CHD	CD ₂
C ₂ , C ₁₃	21,39	9,1	8,2	82,7
C ₇ , C ₈	28,19	6,9	6,7	86,4
C ₄ , C ₁₁	28,47	5,8	5,3	88,9
C ₅ , C ₁₀ , C ₆ , C ₉	28,53	8,4	4,1	87,5
C ₃ , C ₁₂	30,65	8,6	5,9	85,5

*Химические сдвиги ¹³С для изотомера C₁₄D₃₀.

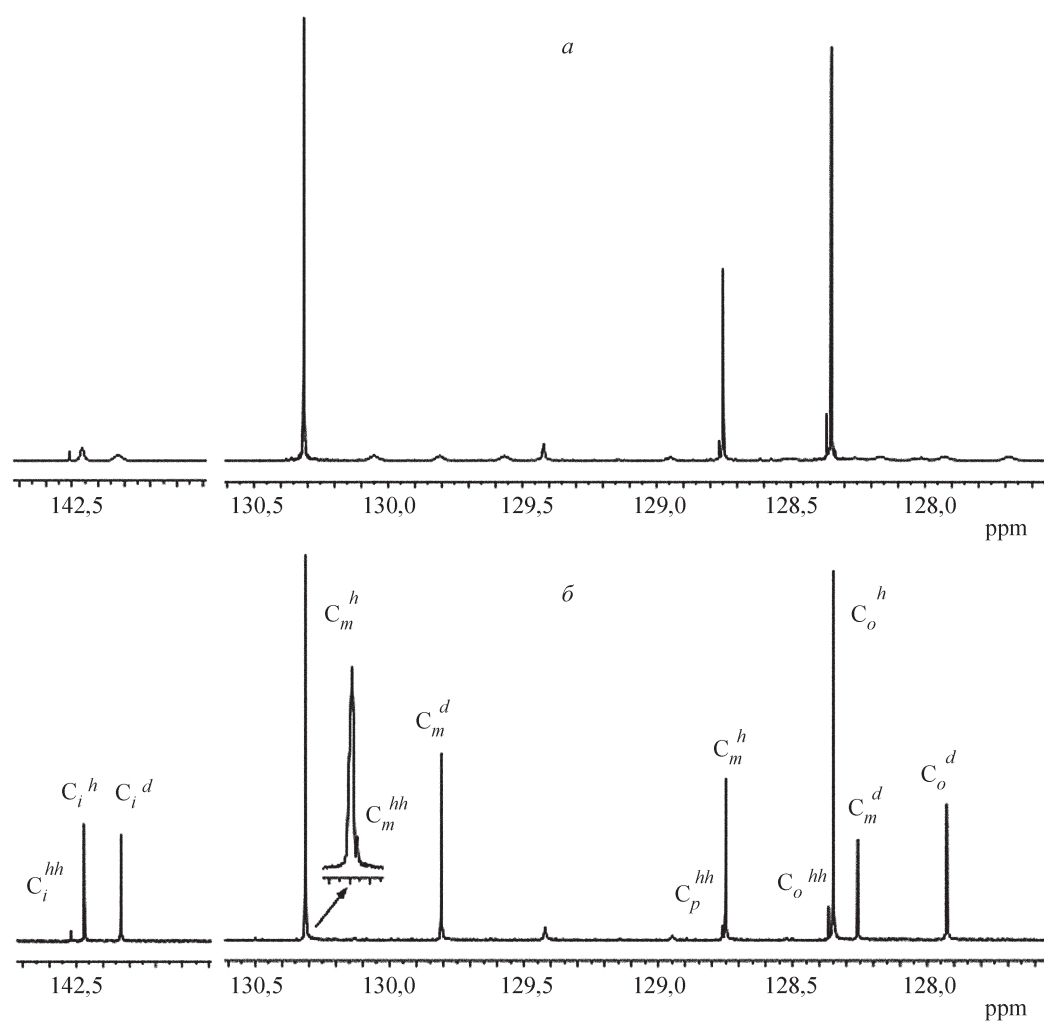


Рис. 2. Спектры ЯМР ¹³С дейтеризованных бифенила (150 МГц): *a* – двойного резонанса ¹³С-¹Н, *b* – тройного резонанса ¹³С-¹Н, ²Н. Индекс hh обозначает атомы углерода бифенила C₁₂H₁₀, индексы *h* и *d* – атомы углерода C₆H₅- и C₆D₅-групп бифенила-d₅

нием дейтерия (0,015%), дающего реперные значения частот для измерения значений изотопных сдвигов $\Delta(^{13}\text{C})$.

В спектре $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ бифенила- d_5 изотопные эффекты проявляются для всех атомов углерода, включая атомы незамещенного ароматического цикла (рис. 2). Однако прецизионные оценки изотопных сдвигов в нем затруднены из-за уширения линий, связанных со спин-спиновыми и квадрупольными взаимодействиями даже при применении техники деконволюции резонансного контура. Так, для атомов углерода в *inco*-положениях (C_i), для которых отсутствует сильное спин-спиновое взаимодействие через одну связь, формы линии резонансных сигналов имеющих изотопмеров (142,3–142,5 м.д.) заметно различаются: в отличие от легкого изотопмера $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$, дающего узкий синглет с шириной ($\Delta\nu_{1/2}$) 0,15 Гц, обогащенному дейтерием изотопмеру в спектре соответствуют заметно уширенный *псевдо*-синглет ($\Delta\nu_{1/2} = 1,60$ Гц) C_6H_5 -группы и неразрешенный *псевдо*-триплет ($\Delta\nu_{1/2} = 4,60$ Гц) C_6D_5 -группы. Сигналы *орто*-, *мета*-, и *пара*-углеродов (C_o^h , C_m^h и C_p^h) группы C_6H_5 представляют собой относительно узкие синглетные линии с ширинами 0,24–0,26 Гц, в то время как подобные атомы углерода другой группы, связанные с дейтерием (C_o^d , C_m^d и C_p^d), дают значительно менее интенсивные триплеты с константой $^1\text{J}(\text{C}-\text{D})$, равной примерно 24 Гц. Они не обладают тонкой структурой, их компоненты имеют ширину от 2,8 до 3,4 Гц. Литературные данные свидетельствуют о том, что точность непосредственного определения изотопных эффектов через одну связь даже для монодейтеропроизводных без анализа формы линии может превышать 1 млрд.д. [10].

При режиме тройного ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}, ^2\text{H}\}$ (рис. 2) ширина спектральных линий атомов углерода бифенила, связанных с дейтерием, составляет около 0,2 Гц, что позволяет многократно увеличить для них точность определения химических сдвигов по

сравнению с обычным режимом развязки только от протонов. Использование анализа полной формы сигналов при такой ширине линий позволяет определять изотопные эффекты с точностью не хуже 0,1 млрд.д. Следует отметить, что в случае тройного резонанса необходимое отношение сигнал/шум в спектре достигается за существенно более короткое время накопления вследствие существенного возрастания интенсивности сигналов за счет устранения спин-спинового взаимодействия $^{13}\text{C}\text{-}^2\text{D}$. Это, в свою очередь, делает возможным накопление спектра с меньшими по длительности задержками между импульсами, и при этом можно в значительной мере пренебречь эффектами релаксационного насыщения. Влияние такого фактора демонстрирует спектр на рис. 2: атомы углерода, связанные с протонами, имеют большую интенсивность, чем аналогичные атомы, связанные с дейтронами.

В табл. 2 представлены полученные для бифенила- d_5 значения изотопных сдвигов $\Delta(^{13}\text{C})$, которые по сути своей вызваны суммарным влиянием всех дейтронов в молекуле, отстоящих от атомов углерода на разное число связей. Отсутствие данных для бифенилов- d_1 , содержащих дейтерий в *орто*- и *мета*-положениях, не позволяет сделать вывода о взаимном влиянии атомов дейтерия на индуцированные ими сдвиги $\Delta(^{13}\text{C})$ для изученного бифенила- d_5 . Как и ожидалось, использование величин $\Delta(^{13}\text{C})$ для бензола- d_1 [14] в рамках прямой аддитивной схемы приводит к значительному расхождению (на 20–50 млрд.д.) при предсказании изотопных эффектов для группы C_6D_5 бифенила- d_5 . Известно, что мезомерные эффекты заместителей при ароматическом цикле дают значительный вклад в изотопные сдвиги [12, 13]. В случае бифенила 4-D- $\text{C}_6\text{H}_4\text{-C}_6\text{H}_5$ было отмечено значимое влияние заместителя через восемь связей на экранирование атома C_p^h (4 млрд.д.), в то время как для *орто*- и *мета*-углеродов незамещенного цикла в пределах точности эксперимента оно не

Таблица 2

Индукционные дейтерием изотопные сдвиги $\Delta(^{13}\text{C})$ для бифенила- d_5 (ацетон- d_6)

Группа C_6D_5			Группа C_6H_5		
атом	число связей	Δ (млрд.д.)	атом	число связей	Δ (млрд.д.)
C_i^d	2–4	186,82(5)	C_i^h	3–5	49,45(5)
C_o^d	1–4	439,28(8)	C_o^h	4–6	16,78(5)
C_m^d	1–4	503,24(7)	C_m^h	5–7	-2,67(7)
C_p^d	1–3	504,46(5)	C_p^h	6–8	13,37(5)

обнаружено [11]. По сравнению с этим монодейтерированным изотопомером для атома C_p^h бифенила- d_5 сдвиг $\Delta(^{13}C)$ имеет существенно бóльшую величину, составляющую 13,37 млрд.д., вследствие дополнительного влияния дейтронов через 6–7 связей. Тем не менее, для *meta*-углеродов группы C_6H_5 изотопный эффект также слабо проявляется, $\Delta(^{13}C)$ имеет отрицательное значение (2,67 млрд.д.), что, вероятно, может быть связано с уменьшением роли мезомерии за счет доминирующего вклада неплоской структуры

молекулы бифенила и взаимной компенсации влияния дейтронов через пять и шесть связей.

Таким образом, рассмотренные примеры убедительно доказывают, что применение тройного резонанса, включающего одновременное облучение на резонансных частотах как протонов, так и дейтронов значительно расширяет возможности спектроскопии ЯМР ^{13}C в решении задач количественного изотопного и структурного анализа при исследовании дейтерозамещенных органических соединений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Martin M.L., Martin G.J., Delpuech J.-J.// Practical NMR Spectroscopy: Practical Aspects of Intensity Measurement and Quantitative Analysis. Heyden & Sons. L., 1980. P. 492 (Chapter 9).
2. Malz F., Jancke H.// J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. **38**. P. 813.
3. Rizzo V., Pinciroli V.// J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. **38**. P. 851.
4. Caytan E., Remaud G. S., Tenailleau E., Akoka S.// Talanta. 2007. **71**. P. 1016.
5. Рознятовский В. А., Гердов С. М., Гришин Ю. К., Лайков Д. Н., Устынюк Ю. А.// Изв. АН. Сер. хим. 2003. P. 530.
6. Silvestre V., Goupry S., Trierweiler M., Robins R., Akoka S.// Anal. Chem. 2001. **73**. P. 1862.
7. Hansen P.E.// Progress in NMR Spectroscopy. 1988. **20**. P. 207.
8. Рознятовский В. А., Чертков В. А., Гришин Ю. К.// Завод. лаб. 1980. **46**. P. 805.
9. Liu C., Ni Q., Hu P., Qiu J.// Org. Biomol. Chem. 2011. **9**. P. 1054.
10. Wesener J.R., Moscau D., Günter H.// J. Am. Chem. Soc. 1985. **107**. P. 7307.
11. Kunzer H., Berger S.// Tetrahedron Lett. 1984. **25**. P. 5019.
12. Novak P., Vikić-Topić D., Meić Z., Gacs-Baitz E.// Magn. Res. Chem. 1996. **34**. P. 610.
13. Vikić-Topić D., Novak P., Meić Z., Plavec J., Kovacek D.// Croatica Chem. Acta. 1999. **72**. P. 967.
14. Roznyatovsky V. A., Sergeyev N.M., Chertkov V.A.// Magn. Res. Chem. 1991. **29**. P. 304.

Поступила в редакцию 28.02.13

TRIPLE ^{13}C - $\{^1H, ^2H\}$ NMR – PRECISION QUANTITATIVE METHOD FOR STUDY OF DEUTEROSUBSTITUTED ORGANIC COMPOUNDS

V.A. Roznyatovsky, Yu.K. Grishin, A.N. Kashin

The advantages of quantitative ^{13}C NMR- $\{^1H, ^2H\}$ spectroscopy to study the deuterated organic compounds were shown. The simultaneous use of two saturating fields at protons and deuterons frequencies leads to a significant simplification of the spectra and increase sensitivity. Performance capabilities of triple resonance were demonstrated by an analysis of the isotopomers mixture of tetradecane and precision measurement of isotope shifts $\Delta(^{13}C)$ for biphenyl- d_5 .

Key words: quantitative ^{13}C NMR- $\{^1H, ^2H\}$ spectroscopy, triple NMR, NMR isotopomer analysis, isotope chemical shifts, deuterioisotopomers, biphenyl- d_5 .

Сведения об авторах: Рознятовский Виталий Александрович – ст. науч. сотр. кафедры органической химии химического факультета МГУ, канд. физ.-матем. наук (vit.rozn@nmr.chem.msu.ru); Гришин Юрий Константинович – вед. науч. сотр. кафедры органической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (grishin@nmr.chem.msu.ru); Кашин Александр Николаевич – вед. науч. сотр. кафедры органической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (kashin@org.chem.msu.ru).