

## תהודה מגנטית גרעינית (תמ"ג - NMR)

### 3.1 ספין גרעיני ותהודה (רזוננס)

תופעת התמ"ג (NMR) נצפתה לראשונה ב-1946 ונכנסה לשימוש שגרתי בכימיה אורגנית בתחילת שנות הששים. השיטה התפתחה גם בעצמתה וגם ברבגוניותה באופן מרשים ביותר בשנים שלאחר מכן. למעשה מסוף שנות ה-70 עם הכנסתן של שיטות FT-NMR לשימוש שגרתי גדל הנושא במהירות גבוהה כל כך עד שהפך למעשה לתחום מדעי בפני עצמו. כמובן שבמסגרת הקורס הזה נזכיר רק את העקרונות הבסיסיים של התמ"ג באופן שטחי למדי, רק כדי לאפשר לנו מידה בסיסית של הבנה בפענוח ספקטרה. למרבה המזל, יכולה השיטה לשמש אותנו בפתרון רוב הבעיות המבניות בכימיה אורגנית מבלי שנזדקק לעזרתם של מומחים בשטח התמ"ג.

למספר אטומים יש ספין גרעיני I והספין הזה גורם להם להתנהג כמו מגנטים קטנים. לכן, כאשר האטומים נמצאים תחת השפעתו של שדה מגנטי חיצוני  $B_0$ , המגנטים הקטנים הללו יכולים להסתדר במספר מצבים מוגדרים אשר מספרם הוא  $2I+1$ .

הגרעינים החשובים ביותר שלהם מספר איזוגי של נוקלאונים (פרוטונים ונויטרונים) הם  $^1\text{H}$  ו- $^{13}\text{C}$ . לשניהם ישנו ספין  $1/2$  ולכן הם יכולים להסתדר בשתי אוריינטציות בלבד ביחס לשדה החיצוני. הסידור בעל האנרגיה הנמוכה יותר הוא זה שבו המגנטים הקטנים נמצאים בכוון השדה המגנטי החיצוני, ואילו המצב בעל האנרגיה הגבוהה הוא זה שבו המגנטים הללו נמצאים בכוון הפוך לכוונו של השדה החיצוני. ההבדל בין שתי רמות האנרגיה הללו ניתן לביטוי באמצעות המשוואה:

$$\Delta E = h\gamma B_0/2\pi$$

כאשר  $\gamma$  הוא קבוע הידוע בשם היחס הגירומגנטי (magnetogyric ratio). זהו קבוע פרופורציה המקבל ערך אופייני מסוים עבור כל גרעין בעל ספין והוא מבטא את חוזקו של המגנט הגרעיני.  $B_0$  זוהי עצמתו של השדה המגנטי החיצוני.

מספר הגרעינים אשר מאכלסים את הרמה האנרגטית הנמוכה הוא  $N_\alpha$  ומספר הגרעינים ברמה האנרגטית הגבוהה הוא  $N_\beta$ . היחס בין שני המספרים הללו נקבע ע"י התפלגות בולצמן:

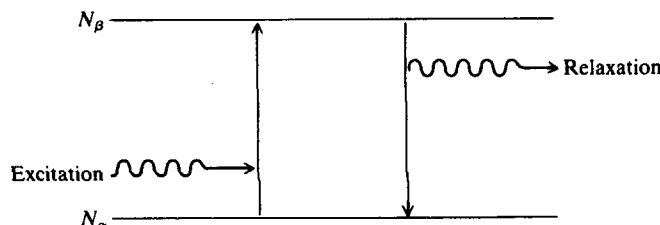
$$N_\alpha/N_\beta = e^{-\Delta E/kT}$$

כאשר משדרים תדירות מסוימת של גלי רדיו אל הספינים הגרעיניים הללו, התפלגות האיכלוס של שתי רמות האנרגיה משתנה כאשר תדירות הרדיו הנ"ל מתאימה בדיוק לתדירות שבה המגנטים הגרעיניים מסתובבים בתנועת נקיפה (פרצסיה) בשדה המגנטי החיצוני  $B_0$ . חלק מהגרעינים שנמצאו קודם ברמה הנמוכה מוקפצים לרמה הגבוהה יותר ואז האוכלוסיה  $N_\beta$  גדלה על חשבון  $N_\alpha$ . התדירות ב-Hz נקראת תדירות התהודה  $\nu$  ונתונה ע"י:

$$\nu = \gamma B_0/2\pi$$

כלומר התדירות הזאת תלויה גם בשדה המגנטי החיצוני וגם באופיו ובעוצמתו המגנטית של הגרעין הנתון. התדירויות שבהן הגרעינים המקובלים בכימיה אורגנית נכנסים לתהודה בשדה שחוזקו 2.35 Tesla (23.49 kilogauss) נתונים בטבלה 3.4. למשל, בחוזק כזה של שדה, גרעין האיזוטופ  $^{13}\text{C}$  נכנס לתהודה בתדירות של 25.14 MHz ואילו  $^1\text{H}$  נכנס לתהודה ב-100 MHz. בגלל השימוש הנפוץ במיוחד בספקטרוסקופית NMR של פרוטונים מקובל לקרוא למכשיר בעל עצמת שדה של 23.49 Kg בשם מכשיר של 100 MHz, אפילו כאשר מודדים בו  $^{13}\text{C}$ . חוזק כזה של שדה ניתן לקבל בעזרת אלקטרומגנטים קונבנציונליים. אבל שדות חזקים ביותר אשר להם יתרונות ניכרים, ניתן להשיג רק בעזרת אלקטרומגנטים הבנויים מחומרים על-מוליכים אשר מקוררים לטמפרטורה נמוכה מאוד ע"י הליום נוזלי.

ציור 3.1



הספקטרום ניתן למדידה באחד משני אופנים. בשיטה המסורתית של שימוש בגל רציף (continuous wave), בקיצור CW, חלק קטן יחסית של הקרינה המופעלת על החומר נבלע ומעורר חלק מהגרעינים שברמה הנמוכה  $\alpha$  לרמה הגבוהה  $\beta$ . התגובה הזאת נקלטת ע"י הסליל המקבל (receiving coil). תחום התדירויות שנבדק, נסרק באופן רציף בין שני

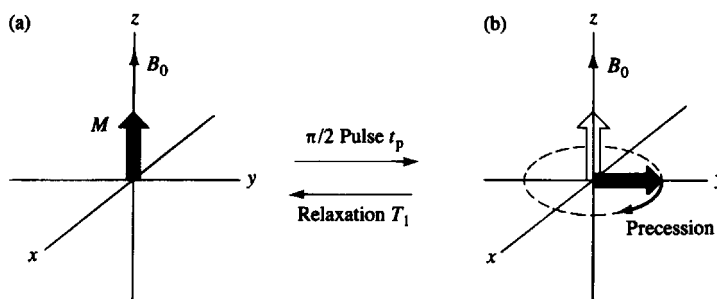
גבולות הספקטרום ע"י כך שמשנים או את התדירויות של המשדר או את השדה המגנטי. ספקטרום הבליעה נרשם באופן ישיר כפונקציה של תדירות. התדירות הולכת וגדלה מימין לשמאל בדיוק כפי שמקובל לגבי ספקטרום UV ו-IR. התהליך כולו נמשך מספר דקות.

לחילופין, השידור של אות הרדיו יכול להיות בצורת פולס יחיד רב עצמה, אשר מכסה באופן יעיל את כל תחום התדירויות הרצוי ונמשך זמן מסוים ( $t_p$ ). אורכו של  $t_p$  הוא בדר"כ מספר מיקרושניות. הפולס הזה יוצר שדה מגנטי מתנווד  $B_1$  לאורך ציר X בזווית ישרה לכוונו של השדה המגנטי הקבוע, אשר כוונו מוגדר במרחב בכיוון ציר Z (ציר  $Z$ ). מכיוון שישנו הבדל קטן מאוד בין  $N_\alpha$  לבין  $N_\beta$ , לדוגמה הנבדקת יש מגנטיזציה נטו M. מכיוון ש-  $N_\alpha$  גדול מ-  $N_\beta$ , כוונה של M הוא בכיוון השדה החיצוני הקבוע, כלומר בכיוון Z. מטרתו של הפולס המשודר להסיט את המגנטיזציה בזווית מסוימת, המבוטאת במשוואה:

$$\theta = \gamma B_1 t_p$$

בדר"כ הזמן  $t_p$  נבחר כך ש-  $\theta$  תהיה  $90^\circ$ . פולסים כאלו נקראים פולסים של  $\pi/2$ . המגנטיזציה אשר הופרעה מהכוון המקורי שלה לאורך ציר Z, סובבת במישור XY כמו סביבון המסתובב בתנועת נקיפה, כאשר גורמים לו לסטות מכיוון הציר של שדה הגרביטציה. כאשר הסתיים הפולס, קולט ה- receiver coil את התנועה הנוצרת במשך הזמן, הנקרא Free Induction (FID) acquisition period. זמן זה הוא בדר"כ מסדר גודל של מספר שניות. הסיגנל הזה שנוצר נקרא (Free Induction Decay) FID. זוהי תבנית מסובכת של גל אשר הולך ודועך לאפס במשך התקופה הזאת של ה- acq. period. הדעיכה מתרחשת מכיוון שהגרעינים הבודדים עוברים רלקסציה חזרה למצב שוויו המשקל שלהם ע"י אינטרקציה עם שדות מגנטיים מקומיים משתנים. טרנספורמצית פורייה של ה- FID, אשר נמצא במרחב הזמן, מתרגמת אותו לספקטרום, אשר נמצא במרחב התדירויות. הספקטרום הזה שנקרא ספקטרום FT, מצויר בדיוק באותו אופן שבו מצויר ספקטרום CW.

ציור 3.2



באופן נורמלי, ההבדל בין  $N_\alpha$  ל-  $N_\beta$  הוא קטן מאוד. למשל עבור פרוטונים במכשיר 200 MHz ההבדל הזה הוא בסדר גודל של  $1:10^5$  ולכן הספקטרוסקופיה של תמ"ג היא בדר"כ מאוד בלתי רגישה בהשוואה לשיטות ספקטרליות אחרות כמו UV ו-IR. האלקטרוניקה של התמ"ג צריכה להיות לכן מאוד רגישה. ככל שיש לנו שדה מגנטי קבוע גדול יותר, כלומר  $B_0$  גדול יותר, ההבדל בין  $N_\alpha$  ו-  $N_\beta$  גדל. ניתן לראות זאת מתוך המשוואה האקספוננציאלית של התפלגות בולצמן. זה אומר שבשדות גדולים, של המכשירים המודרניים, מה שנקרא High Field NMR, רגישות המדידה הרבה יותר גדולה יחסית לרגישותם של המכשירים הישנים יותר: 60-100 MHz. ל- FT NMR יתרונות רבים נוספים. למשל, כל הגרעינים מסוג מסוים מעוררים באופן סימולטני. בנוסף לכך ניתן להפעיל מספר רב של פולסים על הדוגמה. לאחר כל פולס כזה מתרחשת תקופת ה- acquisition ומכיוון שה- FID מטופל באופן דיגיטלי ע"י מחשב, ניתן לצבור FID עוקבים בזה אחר זה ולבצע בסופו של דבר את טרנספורמצית פורייה על הסכום של כולם. לא רק שהבליעה נעשית חזקה יותר בעוצמתה, אלא גם הרעש הטבעי, אשר הוא אקראי, עובר מיצוע ולכן הולך ונעשה קטן יותר. צבירה של n ספקטרה משפרת את היחס S/N (Signal/Noise) בשיעור של  $n^{0.5}$ . זה בהשוואה למה שמתקבל מספקטרום בודד. דבר זה חשוב במיוחד לגבי גרעינים כמו  $^{13}\text{C}$ , אשר העשרתו הטבעית היא 1% בלבד ובנוסף לכך רגישותו הטבעית נמוכה בהרבה מזו של גרעין המימן. במקרים כאלו ישנה חשיבות גדולה וצורך רב עוד יותר להשתמש במכשירים בעלי שדות גבוהים אשר מבוססים על טרנספורמציות פורייה. בכימיה אורגנית הגרעינים השכיחים ביותר במחקר בעל ספין  $I = \frac{1}{2}$  הם  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$  ו-  $^{19}\text{F}$ . הגרעינים הנפוצים בעלי  $I = 0$  כמו  $^{12}\text{C}$  ו-  $^{16}\text{O}$  הם בלתי פעילים לחלוטין ב- NMR. גרעינים חשובים אחרים,  $^2\text{H}$ ,  $^{14}\text{N}$  הם בעלי ספין  $I = 1$ . כאשר הם נמצאים במולקולה אורגנית הם משפיעים על ספקטרום הפרוטונים וספקטרום  $^{13}\text{C}$ , אבל בדר"כ זה פחות נפוץ למדוד את ספקטרום ה- NMR של הגרעינים האלו בלבד.

### 3.2 מדידת הספקטרה

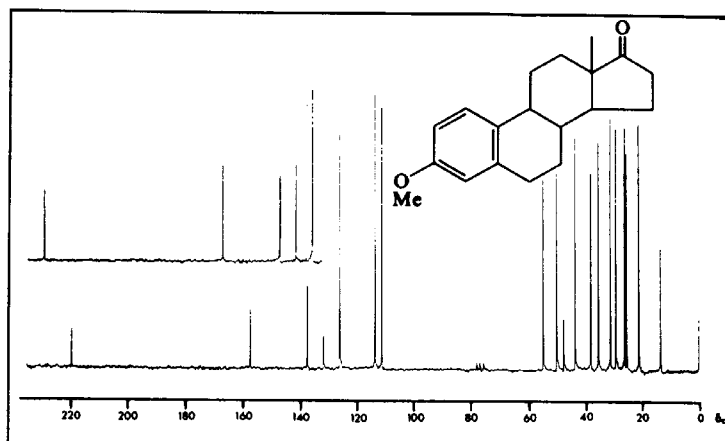
ספקטרה מסוג CW, הנמדדים עבור פרוטונים, מחייבים בדרך כלל דוגמאות של 50 mg ויותר, וזאת מגבלה לגבי חומרים שלא ניתן לקבלם בכמויות גדולות. לעומת זאת, ספקטרה מסוג FT נמדדים עם דוגמאות קטנות בהרבה

והספקטרה המתקבלים הם בדרגות גבוהות של דיוק ושל רזולוציה. בדר"כ עבור ספקטרה של  $^{13}\text{C}$  מספיקות דוגמאות בגודל של 50-100 mg ואילו עבור ספקטרה של פרוטונים מספיקים 1-5 mg. בנוסף לכך, אם מודדים את הספקטרום עם מספר רב של פולסים ניתן לקבל איכות טובה מאוד של ספקטרום  $^{13}\text{C}$  עבור 1 mg חומר ואילו לגבי פרוטונים ניתן לקבל ספקטרום מכמויות הקטנות מ-0.1 mg, זאת עבור משקל מולקולרי אשר אינו עולה על מספר מאות. ממיסים את הדוגמה בממס, בדר"כ מועדף ממס אשר איננו נותן סיגנלים בספקטרום ה-NMR. הממיסים המקובלים ביותר הם  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CCl}_4$ . בחירת הממס נקבעת לרוב לפי מסיסותה של הדוגמה. התמיסה מוכנסת לתוך מבחנה שמימדיה מדויקים מאוד, בדר"כ מבחנה בקוטר 5 mm. הדוגמה ממלאת את החלק התחתון של המבחנה עד לגובה של 2-3 cm. התמיסה חייבת להיות חופשית מחלקיקים פארה-מגנטיים וכן מזיהומים בלתי מסיסים ואסור שהיא תהיה צמיגה מדי, מכיוון שאז הרזולוציה נפגמת. בדר"כ מכניסים חומר יחוס פנימי. המקובל ביותר הוא טרה-מתיל סילאן (TMS). מכניסים את המבחנה לתוך ה-probe כך שהדוגמה נמצאת בין שני הקטבים של השדה הקבוע. סביב הדוגמה ישנם שני סלילים, אחד מהם הוא המשדר, אשר שולח אל הדוגמה תדירויות של גלי רדיו. השני הוא ה-receiving coil והוא קולט את הבליעות. המגנט מכוון באופן כזה שתתקבל הומוגניות בדרגה הגבוהה ביותר האפשרית. המבחנה מסתובבת סביב צירה בסביבות 30 סיבובים לשניה, זאת כדי לשפר עוד יותר את ההומוגניות. הספקטרום נלקח תוך שימוש במכשיר המפקח על המגנט. במכשיר פשוט מסוג CW, זהו מכשיר פשוט יחסית. במקרה של FT המכשיר מפוקח ע"י מחשב והספקטרום מצויר באופן אוטומטי. את הספקטרה מדווחים כרשימה של בליעות לפי התדירות ועצמת הבליעה.

### 3.3 ההיסט הכימי

עד עתה ניתן היה לראות מהדיון כי ספקטרום NMR מורכב מקו בליעה אחד עבור כל סוג של גרעין פעיל מבחינה מגנטית, אשר נמצא בדוגמה. למשל פיק אחד של בליעה עבור אטומי  $^{13}\text{C}$  ופיק אחד עבור הפרוטונים. זה כמובן לא מכיל שום אינפורמציה מועילה. בפועל, תחום התדירויות הנצפה בכל ספקטרום הוא הרבה יותר צר. למשל בספקטרום  $^{13}\text{C}$  במכשיר של 100 MHz תחום התדירויות הוא חלק קטן מאוד, בסך הכל 5000 Hz בסביבת תדירות הרזוננס שהיא 25.14 MHz. התחום הזה הוא מספיק רחב כדי להביא לכך שכל אטומי  $^{13}\text{C}$  השונים ברוב התרכובות האורגניות יכנסו לרזוננס. התדירות המדויקת שבה כל אטום פחמן מגיע לרזוננס נקבעת לא רק ע"י השדה החיצוני  $B_0$  אלא גם ע"י שינויים זעירים בסביבה המגנטית אותה רואה כל אחד מן הגרעינים הללו. אותם שינויים קלים נגרמים בעיקר ע"י שינויים בצפיפות האלקטרונית בסביבתו המיידית של כל אחד מן הגרעינים. האלקטרונים משפיעים על המיקרוסביבה של הגרעין הנתון מכיוון שהתנועה שלהם יוצרת שדה מגנטי קטן, המנוגד לכוון השדה החיצוני. התוצאה היא שכל אטום פחמן השונה מבחינה כימית, במקרה נתון מסוים, כאשר הוא במקרה האיזוטופ  $^{13}\text{C}$ , הוא יכנס לרזוננס בתדירות שהיא שונה מעט מהתדירות של אטומי הפחמן האחרים.

צורך 3.3



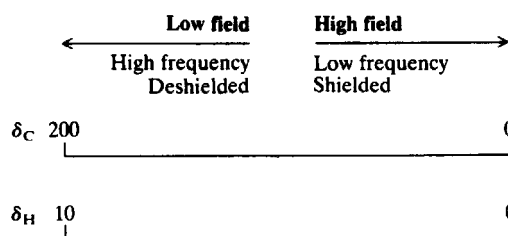
רוב המכשירים יכולים להפריד סיגנלים הרחוקים זה מזה בשיעור של 0.5 Hz. כאשר מדברים על תחום של 5000 Hz, צירוף מקרים שבו שני סיגנלים של גרעיני  $^{13}\text{C}$  שונים יופיעו יחד הוא מאוד נדיר. בצורך 3.3 רואים ספקטרום  $^{13}\text{C}$  NMR של אסטרון מתיל אתר. כל אחד מהקווים מתייחס לאחד מ-19 אטומי הפחמן. פיזור התדירויות נגרם עקב שינויים בסביבות הכימיות, אשר גורמים לשינויים מתאימים בסביבות המגנטיות. לכן, הסיגנלים מתוארים ככאלו שיש להם היסט כימי (chemical shift) מתדירות יחוס מסוימת. בפועל זה לא נוח לאפיין את הפיקים ע"י ייחוסם לתדירות מסוימת, כולם קרובים ל-24.15 MHz. ערכים אלו יהיו מאוד מסורבלים וקשים למדידה מדויקת. ייתר על כן, השינוי ממכשיר למכשיר ואפילו שינויים מיום ליום באותו מכשיר, כאשר השדה החיצוני משתנה מעט, יקשו עוד יותר על

המדידה הזאת. לכן נוח למדוד את השינויים בתדירויות מסטנדרד פנימי מסוים. שתי התדירויות נמדדות ב-Hz. את ההפרש הזה מחלקים בתדירות המכשיר כדי לקבל ערכים מספריים חסרי מימד שאינם תלויים בשדה ויהיו בתחום נוח לשימוש. הסטנדרד הפנימי הוא כמעט תמיד טטרה מתיל סילאן (TMS) וההיסט הכימי  $\delta$  מוגדר ע"י:

$$\delta = [v_s(\text{Hz}) - v_{\text{TMS}}(\text{Hz})] / \text{operating frequency (MHz)}$$

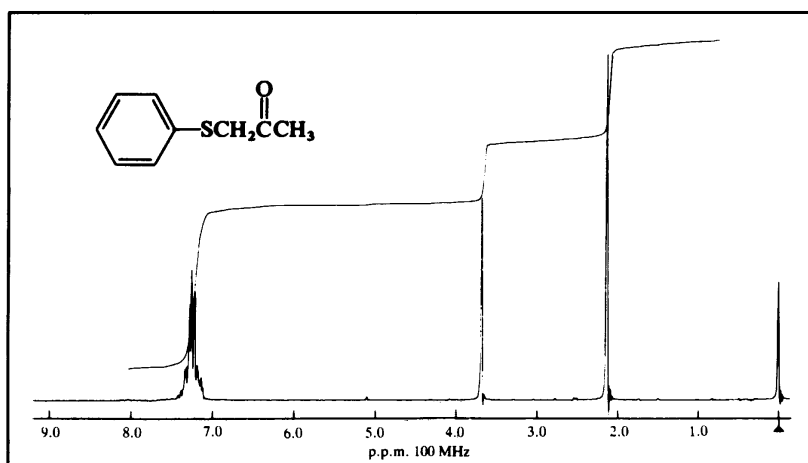
הפרמטר  $\delta$ , אשר מודד את מיקומו של הסיגנל יהיה זהה בכל מכשיר שהוא ואיננו תלוי בסוג המכשיר. אין לו יחידות והוא מבוטא כשבר של השדה החיצוני במיליוניות (ppm). טטרה מתיל סילאן נבחר כסטנדרד פנימי מכיוון שהוא אינרטי, נדיף, בלתי רעיל, זול יחסית ויש לו רק סיגנל אחד, אשר נכנס לרזוננס בצד אחד קיצוני של התדירויות, אשר נמצאו עבור רוב אטומי הפחמן במולקולות אורגניות. הסקלה בציר 3.3 מראה את הערכים השכיחים של ערכי  $\delta$ , הנכתבים תמיד מימין לשמאל. זאת מוסכמה שלפיה מציינים את התדירויות החיוביות הגבוהות ביותר בצד שמאל ואת התדירויות החיוביות הנמוכות ביותר בצד ימין. הסיגנל של TMS מופיע בצד הימני הקיצוני והוא נקבע לפי ההגדרה כאפס. לרוע המזל, הצד השמאלי והצד הימני של הספקטרום, לא מתייחסים אליהם ככאלו המייצגים את התדירות הגבוהה והנמוכה של הספקטרום. במקום זה, מטעמים היסטוריים, מתייחסים אליהם בערכים של השדה החיצוני אשר מתאים לתדירויות היחסיות הללו. צד הספקטרום של התדירות הגבוהה, כלומר בצד שמאל שבו מופיעים ערכים גדולים של  $\delta$  מתואר כשדה נמוך (downfield). לעומת זאת, הצד הימני של הספקטרום שבו הערכים של  $\delta$  הם נמוכים נקרא החלק של השדה הגבוה (upfield). חיוני שכולנו נמשיך להשתמש במוסכמה הזאת מכיוון שהיא כללית לספקטרה של פחמנים, פרוטונים וכל הגרעינים האחרים (ציר 3.4).

ציר 3.4



בספקטרה של פרוטונים, אשר נמדדים על מכשיר של 100 MHz, מספיק תחום הרבה יותר צר, בסה"כ 1000 Hz כדי להביא את כל הפרוטונים בדוגמה לרזוננס. הרזולוציה אפשרית בד"כ עד 0.5 Hz ולכן קל יותר יחסית לספקטרום  $^{13}\text{C}$ , למצוא מקרים שבהם סיגנלים של פרוטונים מסוגים שונים נמצאים בחפיפה חלקית. הרזולוציה משתפרת כאשר עובדים על מכשירים בעלי שדה גבוה, אבל חפיפה חלקית עדיין די שכיחה גם בהם. גם כאן קיימת סקלה של ערכי  $\delta$  אשר איננה תלויה בעצמת השדה, בדיוק כפי שתוארה לעיל עבור  $^{13}\text{C}$ , מלבד העובדה שכעת תדירות ה-TMS מתייחסת לתדירות הבליעה של הפרוטונים ב-TMS ולא לגרעיני הפחמן שלו. הפרוטונים ברוב החומרים האורגניים נכנסים לרזוננס בתחום של 10 ppm שמאלה (downfield) מ-TMS.

ציר 3.5



ציר 3.5 מראה ספקטרום פרוטונים של 1-פנילתינפרופאן-2-און ובו מופיע הסיגנל של TMS ב- $\delta = 0$ . מלבדו ישנן עוד שלוש בליעות אשר מתייחסות לשלשת הקבוצות של הפרוטונים במולקולה: הפרוטונים הארומטיים בשדה נמוך, במבנה מסובך מעט. קבוצת המתילן במרכזו והפרוטונים של המתיל בשדה גבוה.

### 3.4 עצמת הסיגנלים בספקטרום ואינטגרציה.

הבליעה של הסיגנלים בספקטרום CW היא בדר"כ פרופורציונית למספר הפרוטונים אשר נכנסים לרזוננס באותה התדירות של הסיגנל. כתוצאה מכך, השטח מתחת לפיק הבליעה פרופורציוני למספר הפרוטונים אשר זהו. בציור 3.5 נראית האינטגרציה הזאת בצורה של קו אופקי אשר הולך ומתרומם משמאל לימין בכל פעם שהוא עובר בליעה מסוימת. גובה המדרגה מודד את האינטגרציה ומראה את מספרם של המימנים בשלשת הפיקים משמאל לימין 3:2:5. המספרים האמיתיים אשר נורמלו כדי לתת את הסכום של 10 מימנים הם 3.07:1.93:5.00. מספרים אלה נותנים מושג מסוים על מידת הדיוק של האינטגרציה, דיוק שאינו עולה על 10% בדרך כלל.

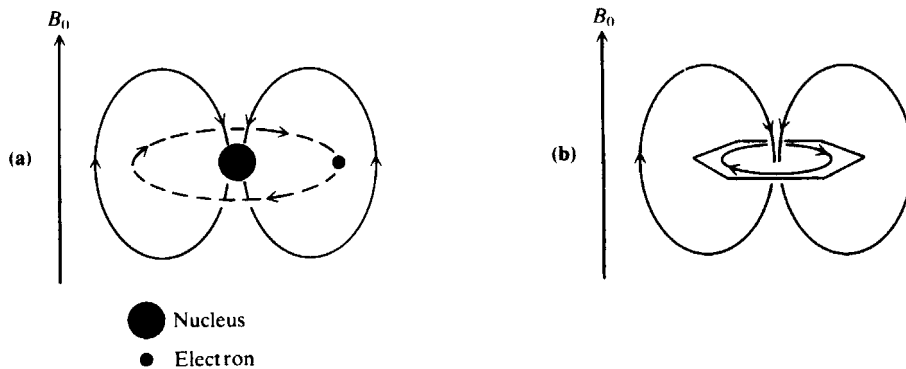
בספקטרה FT המצב הרבה יותר מורכב. כדי שהאינטגרציה תהיה אמינה, חיוני שבין כל שני פולסים עוקבים, כל הגרעינים יעברו רלקסציה מלאה עד להתפלגות שווי המשקל שלהם. זהו בדרך כלל המצב עבור ספקטרום פרוטונים שנמדד בצורה נכונה. אבל זה איננו המצב עבור ספקטרום של  $^{13}\text{C}$ . בציור 3.3 רואים כי הפיקים שונים מאד בעצמה שלהם, למרות שכל אחד מהם מייצג אטום פחמן אחד, המוגדר מאוד מבחינה כימית. כדי שתהיה רלקסציה, המגנטיזציה, אשר עושה פרצסיה כפי שתואר בציור 3.2, חייבת לעבור אינטרקציה עם שדות מגנטיים מתנוודים, במיוחד אלו אשר נגרמים ע"י מגנטיים גרעיניים. מסיבה זאת, קצב הרלקסציה של אטומי פחמן, אשר קשורים ישירות לאטומי מימן, הוא הרבה יותר גבוה מזה של אטומי פחמן אשר אינם קשורים למימנים. את זה ניתן לראות בציור 3.3 שבו חמשת הפיקים בעלי העצמה הנמוכה ביותר: 47.8, 131.7, 137.4, 157.3, מתאימים לאטומי הפחמן במולקולה שהם מותמרים לחלוטין, כלומר אינם קשורים לאטומי מימן. לכן אינטגרציה איננה יכולה להיות מבוצעת בספקטרום  $^{13}\text{C}$  באופן שבו היא מבוצעת בספקטרום פרוטונים. זה לא בלתי רגיל למצוא מספר פיקים שהם כל כך קטנים (כמו אלו של הפחמנים הקרבוניליים), עד אשר לא רואים אותם בספקטרום. ניתן להגביר את עצמתם של הסיגנלים החלשים האלה ע"י כך שמספקים השפעה מגנטית רבת עצמה כמו מלח פרה-מגנטי מסיס, כדי לזרז את הרלקסציה. ניתן לראות זאת בחלק העליון של ציור 3.3 אשר מתאר את הספקטרום החלקי של אותם חמשת הסיגנלים אשר מופיעים בשדה הנמוך, לאחר שהוסיפו לתמיסה כרום אצטיל-אצטונאט. ארבעת הסיגנלים הנמוכים יותר, עצמתם גברה באופן משמעותי יחסית לסיגנל החמישי, המופיע בשדה גבוה יותר, ומתייחס לעמדה מס' 1 במולקולה.

### 3.5 הגורמים המשפיעים על ההיסט הכימי

#### גורמים תוך מולקולריים

האפקט האינדוקטיבי. בשדה מגנטי הומוגני ואחיד, האלקטרונים, אשר מקיפים את הגרעין, מסתובבים ויוצרים שדה מגנטי משני, אשר מתנגד לשדה החיצוני, כפי שמתואר בציור 3.6a.

ציור 3.6



הקוים החזקים מתארים את קוי הכח של השדה המושרה הזה. כתוצאה מכך הגרעין שנמצא באיזור של צפיפות אלקטרונית גבוהה, רואה למעשה שדה חיצוני שהוא חלש יותר בעצמתו מן השדה החיצוני אותו רואה גרעין, אשר נמצא באיזור של צפיפות אלקטרונית נמוכה. לכן צריך להפעיל שדה מגנטי חיצוני גדול יותר כדי להביא את הגרעין הנתון לידי רזוננס. גרעינים כאלו, אומרים עליהם שהם ממוסכים (shielded) ע"י האלקטרונים. לסיכום, צפיפות אלקטרונית גבוהה ממסכת את הגרעין וגורמת לרזוננס להתרחש בשדה יחסית גבוה, או במלים אחרות, בערכים נמוכים יותר של  $\delta$ . לעומת זאת, צפיפות אלקטרונית נמוכה גורמת לרזוננס להופיע בשדה נמוך יחסית, כלומר בערכים גבוהים של  $\delta$ , ואז אומרים על הגרעין הזה שהוא חשוף מאלקטרוניים, deshielded. ניתן לראות את גודלו של האפקט הזה כאשר משוים את מיקום הרזוננס של פרוטונים של  $^{13}\text{C}$  בקבוצה המתילית, אשר קשורה לאטומים שונים, כפי שזה מתואר בטבלה 3.1. היסודות האלקטרופוזיטיביים כמו Li, Si גורמים להסיט את הסיגנלים לשדה גבוה יותר, ואילו היסודות האלקטרונגטיביים כמו N, O, Cl מסיטים את הסיגנלים לשדה נמוך יותר כיון שהם מושכים אליהם את צפיפות האלקטרוניים.

**Table 3.1** Chemical shifts for methyl groups attached to various atoms in CH<sub>3</sub>X

X	$\delta_C$	$\delta_H$	X	$\delta_C$	$\delta_H$
Li	-14.0	-1.94	NH <sub>2</sub>	26.9	2.47
SiMe <sub>3</sub>	0.0	0.0	OH	50.2	3.39
H	-2.3	0.23	F	75.2	4.27
Me	8.4	0.86	SMe	19.3	2.09
Et	15.4	0.91	Cl	24.9	3.06

מימן הוא יותר אלקטרופוזיטיבי מפחמן. התוצאה היא שכל התמרת מימן ע"י קבוצה אלקילית גורמת להסטת הרזוננס לכוון של שדה נמוך. ההיסט הזה הוא גם של הפחמן וגם של המימנים אשר נותרו על אותו פחמן. כך למשל, מתיל, מתילן, מתין ואטום פחמן רבעוני, ובהתאמה גם המימנים הקשורים להם, נכנסים לרזוננס בתדירויות בשדות יותר ויותר נמוכים:

$\delta_C$ -2.3	$\delta_C$ 8.4	$\delta_C$ 15.9	$\delta_C$ 25.0	$\delta_C$ 27.7
<b>CH<sub>4</sub></b>	<b>MeCH<sub>3</sub></b>	<b>Me<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></b>	<b>Me<sub>3</sub>CH</b>	<b>Me<sub>4</sub>C</b>
$\delta_H$ 0.23	$\delta_H$ 0.86	$\delta_H$ 1.33	$\delta_H$ 1.68	
1	2	3	4	5

אנאיזוטרופיה של קשרים כימיים. גם קשרים כימיים הם איזורים של צפיפות אלקטרונית גבוהה וכמובן שהם יכולים ליצור שדות מגנטיים מושרים. אלו הם בעלי חוזק רב יותר בכוון מסוים במרחב מאשר בכוון אחר, כלומר הם אנאיזוטרופיים. האפקט של שדה כזה על ההיסט הכימי של גרעין סמוך תלוי באוריינטציה של אותו גרעין ביחס לקשר הזה. קשרי  $\pi$  הם בעלי השפעה רבה במיוחד על ההיסט הכימי של גרעינים סמוכים ולכן הפחמנים האליליים ומימנים אליליים מוסטים לשדה נמוך, יחסית לגרעינים אשר נמצאים באיזור רווי של המולקולה. פחמנים אולפיניים והמימנים הקשורים אליהם מוסטים לשדה נמוך עוד יותר (טבלה 3.2). הסיבה לכך היא כפולה. ראשית קיימת כאן אנאיזוטרופיה בנוסף לכך, קיימת העובדה שפחמן טריגונלי, יחסית לטטרהדרלי, הוא יותר אלקטרוגטיבי מכיוון שיש לו יותר אופי s בקשר שלו עם המימן. גם לקבוצה הקרבונלית ישנו אפקט דומה על אטומים סמוכים (ראה טבלה 3.2). הפחמנים הקרבונליים עצמם, יחד עם המימנים הקשורים אליהם, עוברים רזוננס באיזור הנמוך ביותר של תחום הבליעות הטיפוסיות של חומרים אורגניים, מכיוון שהם סובלים אפקטים משולבים של אנאיזוטרופיה של השדה ובנוסף לכך גם קישור לאטום אלקטרוגטיבי.

**Table 3.2** Chemical shifts of carbon and hydrogen in, on, and near multiple bonds

Compound	$\delta_C$	$\delta_H$	Compound	$\delta_C$	$\delta_H$
CH <sub>3</sub> H	-2.3	0.23	CH <sub>3</sub> CHO	31.2	2.20
CH <sub>3</sub> CH=CH <sub>2</sub>	22.4	1.71	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	28.1	2.09
CH <sub>3</sub> C≡CH		1.80	CH <sub>3</sub> CN	1.30	1.98
CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	123.3	5.25	CH <sub>3</sub> CHO	199.7	9.80
CH <sub>3</sub> C≡CH	66.9	1.80	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	206.0	
CH <sub>3</sub> C≡CCH <sub>3</sub>	79.2		CH <sub>3</sub> CN	117.7	

כאשר קשר כפול נושא קבוצה פולרית ההתפלגות של האלקטרונים נעשית מאוד בלתי סימטרית. ניתן להבין זאת כשילוב של האפקט האינדוקטיבי אשר פועל על שלד קשרי ה- $\sigma$  (האפקט הזה הולך ונחלש במהירות עם המרחק) ואפקט הצימוד אשר פועל על מערכת קשרי ה- $\pi$  (האפקט הזה מתנווד לסירוגין לאורך השרשרת המצומדת). האפקטים במערכת ה- $\pi$  יכולים להיות מודגמים ע"י חצים, למשל במבנים 6 ו-7, בהם מודגמת קבוצה התורמת אלקטרונים למערכת ה- $\pi$  ( $\pi$ -donor) וקבוצה אשר מקבלת אלקטרונים ממערכת ה- $\pi$  ( $\pi$ -acceptor).

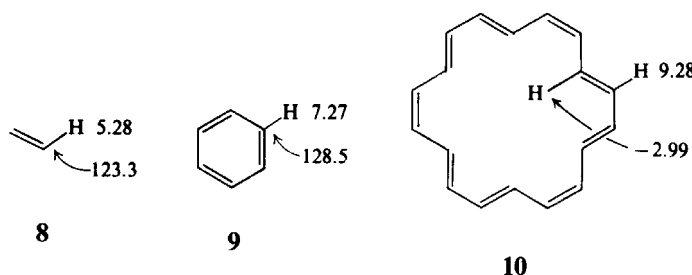


השינויים הללו בצפיפות האלקטרונית משפיעים באופן טבעי על מיקום הרזוננס של גרעינים סמוכים (טבלה 3.3). בדר"כ, קבוצות אשר תורמות אלקטרוני  $\pi$  ממסכות את הגרעין  $\beta$  ומסירות את הבליעה שלו לכוון של שדה גבוה (יחסית למיקום המקורי שלו במולקולת אתילן). בעת ובעונה אחת הם גורמים להיסט הפוך, לכוון שדה נמוך, של גרעינים הנמצאים בעמדת  $\alpha$ . לעומת זאת, הקבוצות אשר מושכות אלקטרוני  $\pi$ , למשל קבוצות קרבונל או טרימתילסיליל גורמות להיסט לשדה נמוך גם ב- $\beta$  וגם ב- $\alpha$ , כאשר האפקט בעמדה  $\beta$  הוא גדול יותר בגלל משיכת האלקטרונים, כפי שמצויר ב-7.

**Table 3.3** Conjugative effects on chemical shifts of substituted alkenes

X	Electronic nature	$\delta_{C\beta}$	$\delta_{C\alpha}$	$\delta_{H\beta}$	$\delta_{H\alpha}$
H	Reference compound	123.3	123.3	5.28	5.28
Me	Weak $\pi$ - and $\sigma$ -donor	115.4	133.9	4.88	5.73
OMe	$\pi$ -donor, $\sigma$ -acceptor	84.4	152.7	3.85	6.38
Cl	$\sigma$ -acceptor, weak $\pi$ -donor	117.2	125.9	5.02	5.94
CH=CH <sub>2</sub>	Simple conjugation	130.3	136.9	5.06	6.27
SiMe <sub>3</sub>	$\pi$ -acceptor, $\sigma$ -donor	129.6	138.7	5.87	6.12
COMe	$\pi$ -acceptor, $\sigma$ -acceptor	129.1	138.3	6.40	5.85

אפקט אנאיזוטרופי חשוב נוצר ע"י מערכת  $\pi$  של מולקולות ארומטיות. האלקטרוניים אשר סובבים סביב המערכות הללו נקראים זרמי טבעת והם גורמים לשדה מגנטי ניכר, אשר כוונתו הפוך לזה של השדה המגנטי החיצוני ומיקומו במרכזה של הטבעת, במאונך לה. אבל אם מסתכלים על קווי הכח של השדה המגנטי המושרה הזה, רואים שמחוץ לטבעת הוא מחזק את השדה המגנטי החיצוני (ציור 3.6b). האפקט של השדה המושרה הוא בכיוון של חשיפה ניכרת של המימנים המחוברים ישירות לטבעת הארומטית. כתוצאה מכך הם בולעים ב- 1.5 - 2 ppm נמוך יותר מהבליעה הנורמלית של אולפין רגיל כמו אתילן. לגבי <sup>13</sup>C, גם הוא מוסט לשדה נמוך יותר מאותה סיבה, בערך 5.2 ppm יחסית לאתילן. במקרה המיוחד של החומר הארומטי 18-אנולן (10) ישנם מימנים אשר ממוקמים בתוך הטבעת הגדולה ומימנים הנמצאים מחוץ לה. על המימנים שבפנים הטבעת פועל שדה חלש יותר מהשדה החיצוני ולכן הם נכנסים לרזוננס בשדה גבוה במיוחד, אפילו מימנה מ-TMS, ב-  $\delta = -2.99$ . המימנים החיצוניים בולעים כמו מימנים ארומטיים רגילים, אלא שכאן האפקט הרבה יותר משמעותי, יחסית לטבעת בנזנית, ולכן הם בולעים ב- 9.28 במקום ב- 7.27.



קבוצות פולריות אשר מחוברות ישירות לטבעת הבנזנית גורמות להיסטים לשדה גבוה או נמוך פחות או יותר באותה מידה שבה הם פועלים על קשר כפול רגיל. האפקטים של קבוצות תורמות או מושכות אלקטרוניים מסוג  $\pi$  (11,12) גורמים להיסטים של פחמני אורתו ופארה והמימנים הקשורים אליהם. למשל הפחמנים בעמדות אורתו ופארה לקבוצות מתוקסי (וגם המימנים הקשורים אליהם) מוסטים לשדה גבוה יותר יחסית לסיגנלים רגילים של טבעת בנזנית. האפקט של קבוצת ניטרו, לעומת זאת, פחות מובן מאליי. מימני אורתו ופארה ופחמן פארה מוסטים לשדה נמוך, כפי שניתן יהיה לצפות, אבל פחמן אורתו מוסט דווקא לשדה גבוה יותר.

בקירוב גס מאוד, שינוי בתבנית ההתמרה בכל מבנה אורגני, יש לו אפקט דומה גם על הפחמן וגם על המימן. ערכי  $\delta$  של הפחמן הם בדרך כלל גדולים פי 20 מהערך של הסיגנל הפרוטוני. אבל ישנו מספר רב של יוצאים מהכלל לגבי התמונה הכללית. המקרה של שני האפקטים המנוגדים, של קבוצת הניטרו על הפחמן והמימן של עמדה אורתו (12) הוא דוגמה לכך.

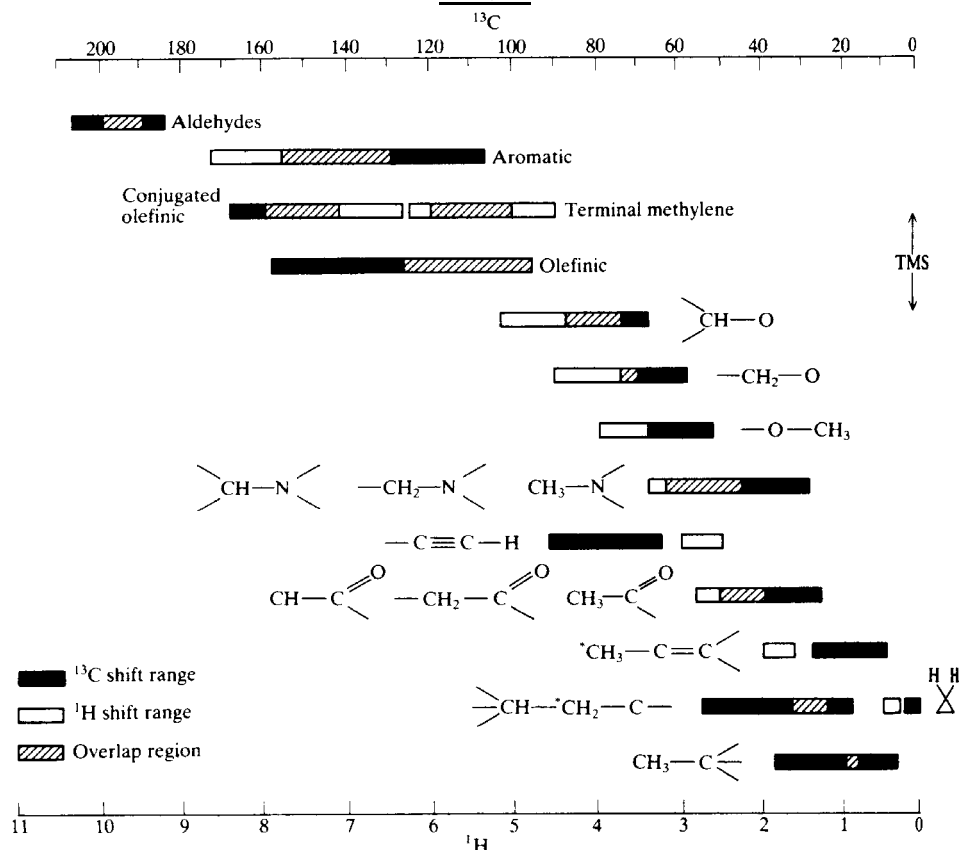
OMe		$\delta_C$	$\delta_H$	NO <sub>2</sub>		$\delta_C$	$\delta_H$
	i	158.7			i	148.1	
	o	113.8	6.81		o	123.2	8.21
	m	129.4	7.17		m	129.3	7.45
	p	120.4	6.86		p	134.5	7.66

האפקט הגדול של זרמי הטבעת הארומטית על הפרוטונים בהשוואה לאפקטים הקטנים יותר על הפחמנים זו דוגמה נוספת. התמונה הכללית שעולה מהתאור הזה ניתנת לסיכום בציור 3.7.

ענין מוזר שמופיע בציור 3.7 הוא הרזוננסים של הפחמן והפרוטון של ציקלופרופאן. אלו מופיעים באופן יוצא מהכלל בשדה גבוה, הרבה מעל לתחום המקובל לגבי קבוצות מתילניות ואפילו הרבה מעבר לתחום של רוב הקבוצות המתיליות. בציקלופרופאן, לשלשת הקשרים הויניליים C-H ישנה יכולת מסוימת ליצור חפיפה וצימוד אלו עם אלו

בדומה לצימוד וחפיפה של אורביטלי p במערכת  $\pi$ . המערכת המצומדת הטבעתית הזאת, של ששה אלקטרונים יוצרת מצב של זרמי טבעת ולכן גם הפרוטונים וגם הפחמנים מונחים באיזור של מיסוך גדול, אשר נגרם עקב זרמי הטבעת הללו. לכן הרזוננס של הפחמן נמצא ב- 2.8 ppm ואילו הפרוטונים ב- 0.22 ppm. התמרה ע"י קבוצות אלקיליות או ע"י יסודות אלקטרוניטיביים גורמת לבליעות הללו לחזור לאיזור הנמוך יותר של השדה במקום שהוא נורמלי עבור קבוצות אליפטיות מותמרות.

ציור 3.7



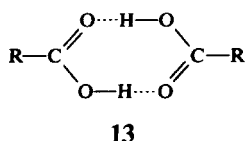
הערכה של ההיסט הכימי. שני האפקטים האינדוקטיבי והאנאיוטרופי, הם פחות או יותר אדיטיביים ולכן ניתן לראות את הסיגנלים של הספקטרום בציור 3.5 במקום הצפוי שלהם. קבוצת אצטיל  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$  מופיעה ב- 2.15  $\delta$  והקבוצה הפנילית מופיעה כמולטיפלט באיזור 7.4 - 7.1, כלומר באיזורים שניתן לצפות למצוא אותן, למשל מתוך הטבלה 3.2 ומבנה 9. הקבוצה המתילנית אשר בולעת ב- 3.69  $\delta$  גם היא מופיעה באיזור הצפוי כתוצאה מאפקט משולב של שכנות לקבוצה קרבונילית ולאטום גפרית. לכן ניתן לקחת את הערך 0.23  $\delta$  כנקודת התחלה. זהו מיקום הרזוננס של הפרוטונים במולקולת מתאן. מוסיפים 1.86 עבור האפקט של אטום הגפרית (טבלה 3.1). זהו שיעור ההיסט שנגרם למימנים המתאניים עקב התמרה באטום גפרית. באופן מקרי, גם האפקט של הקרבוניל הוא היסט לשדה נמוך בשיעור של 1.86 (טבלה 3.2). לכן הערך המחושב הוא 3.95 וזהו ערך קרוב לערך הנצפה. לעקרון האדיטיביות ישנן גם מגבלות אבל בדרך כלל הוא נותן תוצאות בתחום שגיאה של 0.6 ppm סביב הערכים הנסיוניים. ישנם מספר סטים של חוקים אמפיריים מסוג זה כדי לטפל בסביבות שונות אשר בהן גרעיני  $^{13}\text{C}$  ופרוטונים נמצאים בדרך כלל. חוקים אלו וטבלאות הנתונים, אשר ניתן ליישם אותן בהתאם לחוקים, מקובצים ביחד בטבלאות וניתן להשתמש בהם כדי להעריך את ההיסט הכימי של סוגים שונים של אטומי פחמן בחומרים אליפטיים פשוטים (טבלאות 3.8 - 3.6 ומשוואה 3.15), באלקנים פשוטים, בטבעות בנזניות מותמרות ובסוגים שונים של קבוצות קרבוניליות. ישנם חוקים דומים, המבוססים על אותו רעיון, וטבלאות ברמה גבוהה יותר של דיוק לצורך הערכת ההיסטים הכימיים של פרוטונים, של אלקאנים ואלקנים מותמרים וטבעות בנזניות מותמרות.

כפי שראינו קודם, אי אפשר לצפות כי ההערכה של ההיסט הכימי תתן תשובות מדויקות מדי. אמנם הקונפורמציה של מולקולה מסוימת יכולה להיות דומה לקונפורמציה של המודל, עליו מבוססים הכללים הללו, אבל האנאיוטרופיה של השדה יכולה לגרום לשדה המקומי, שבסביבת המולקולה הנתונה, להיות שונה מאוד מזה של המודל. סיבה נוספת למשנה זהירות היא הזנחת האפקטים של קבוצות רחוקות. אלו לא נכללו במסגרת החוקים, מכיוון שהם מוערכים בדרך כלל כבלתי חשובים. אבל במספר מולקולות קבוצה רחוקה יכולה להתקפל פנימה לתוך האיזור בו נמצא הגרעין המסוים ועקב כך לגרום לו סטייה דרמטית במיקום הרזוננס. זהו בדרך כלל המצב כאשר נוכחות במולקולה טבעות ארומטיות.

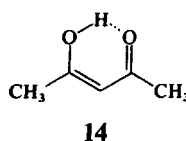


### גורמים אינטרמולקולריים אשר משפיעים על ההיסט הכימי.

קשרי מימן. אטום מימן המעורב בקשר מימני מחלק את האלקטרוניים שלו בין שני אטומים אלקטרוניטיביים. כתוצאה מכך הוא נחשף מאוד ונכנס לרזוננס בשדה מאוד נמוך. לדוגמה, בתמיסה מאוד מהולה של מים ב-  $\text{CDCl}_3$ , המימן מופיע בקצה הגבוה ביותר של התחום הידוע עבור קבוצת OH ( $\delta = 1.5$ ). לעומת זאת, כאשר ריכוז המים גדול יותר והם יוצרים תרחיף של טיפות זעירות ב-  $\text{CDCl}_3$ , המולקולות נמצאות בקשרי מימן אינטרמולקולריים ולכן הרזוננסים שלהם מופיעים ב-  $\delta = 4.8$ . בספקטרום FT, אשר מבוצע עם דוגמאות קטנות מאוד, ניתן לראות לעתים קרובות את הסיגנלים האלו של מים. לכן, מיקום הרזוננס של פרוטונים בקבוצת OH וקבוצת NH של כהלים ואמינים הוא בלתי צפוי מכיוון שהדרגה שבה אטומי המימן יכולים להיות מעורבים בקשרי מימן היא גם בלתי צפויה וגם תלויה מאוד בריכוז. התחום הרגיל הוא בין 4.5 - 0.5 לכהלים ובין 5 - 1 עבור אמינים. תיולים, אשר להם קשרי מימן חלשים יותר, נכנסים לרזוננס בתחום צר יותר, 4 - 3  $\delta$ . קשרי מימן אינטר מולקולריים חזקים בהרבה מופיעים בדימרים של חומצות קרבוקסיליות (13). הסיגנלים שלהן מופיעים בשדה מאוד נמוך (9-15  $\delta$ ). הקשר המימני האינטר-מולקולרי שנמצא ב- $\beta$ -דיקטון הוא תוצאה של אנוליזציה (14). למשל באצטילאצטון מופיע המימן החומצי הזה ב- 15.4  $\delta$ . המקומות האלו נמצאים מחוץ לסקלה הנורמלית של ספקטרום NMR רגיל ולכן יש לחפש את הבליעות הללו באופן מיוחד.



13



14

למרבה המזל, קל מאוד לזהות את הסיגנלים הללו של מימן, למרות אי הבטחון לגבי המיקום שבו הם יופיעו בספקטרום הפרוטונים. אם הדוגמה נמצאת בתמיסה ב-  $\text{CCl}_4$  או ב-  $\text{CDCl}_3$  ניתן לערבב אותה עם טיפה אחת של  $\text{D}_2\text{O}$  ואז כל אטומי המימן של הקבוצות OH, NH, SH, וכו' מתחלפים במהירות עם אטומי הדאוטריום. HDO שנוצר צף מעל התמיסה מחוץ לתחום המדידה של הספקטרום. כתוצאה מכך כל הסיגנלים של OH, NH, SH, וכו' פשוט נעלמים מן הספקטרום. בדרך כלל הם מוחלפים בסיגנל חלש באיזור 4.8  $\delta$  אשר נוצר מטיפות תרחיף של HDO בממיסים הללו.

טמפרטורה. מיקום הרזוננס של רב הסיגנלים כמעט ולא מושפע ע"י הטמפרטורה. יוצאים מהכלל הם הפרוטונים של OH, NH, SH, אשר מופיעים בשדה גבוה יותר בטמפרטורות גבוהות יותר עקב החלשתם של קשרי המימן.

ממיסים. ההיסטים הכימיים מושפעים מעט מהחלפת הממס. למשל כאשר עוברים מ-  $\text{CCl}_4$  ל-  $\text{CDCl}_3$ , השינוי אינו גדול מ- 0.1 ppm. אבל שינוי לכוון של ממס פולרי יותר כמו אצטון, מתנול, DMSO יכול לגרום לשינויים ראויים לציון, של 0.3 ppm עבור  $^{13}\text{C}$  ו- 0.3 ppm עבור פרוטונים. בנון יכול לגרום לאפקטים עוד יותר משמעותיים (1 ppm) לפרוטונים ולפחמן. בנון גורם לסולבטציה חלשה של איזורים בעלי צפיפות אלקטרונית נמוכה. מכיוון שלבנון יש אפקט אנאיזוטרופי מגנטי חזק מאוד, אטומים של המומס אשר מונחים לצידו או מעליו יכולים לעבור מיסוד משמעותי או חשיפה בהתאם למיקום היחסי הזה. לפירידין יש לפעמים אפקט עוד יותר גדול. ההיסט שנגרם ע"י הממס יכול להיות שימושי מאוד כאשר רוצים להפריד שני סיגנלים, אשר מופיעים בחפיפה בספקטרום הרגיל. היסטטים רציניים יותר יכולים להגרם ע"י קומפלקסיה עם מלחים פרה-מגנטיים ועניין זה יידון מאוחר יותר.

הסולבנטים המקובלים בספקטרוסקופיית NMR הם כאלו שבהם הוחלפו אטומי המימן בדאוטריום כדי לא להוסיף סיגנלים מיותרים לספקטרום. אבל לכולם, מלבד  $\text{CCl}_4$ , יש סיגנל חלש אשר נובע מכך שהדאוטרציה לעולם אינה מוחלטת. לכן חשוב להכיר את הסיגנלים האלו (טבלה 3.25) כדי לא להתחשב בהם כאשר מנסים לפענח את הספקטרום. למשל הסיגנל של  $\text{CDCl}_3$  מופיע באופן קבוע בספקטרום הפרוטונים ב- 7.25  $\delta$ . למרבה המזל, לרוב הממיסים השימושיים רק בליעה אחת או שתיים וגם אלו חדות וקלות לזיהוי. גם הפחמן של  $\text{CDCl}_3$  קל מאוד לזיהוי. ניתן לראות אותו בציון 3.3 כקבוצה של שלושה קוים שווי עוצמה אשר האמצעי שבהם ב- 77 ppm  $\delta$ . הופעתו של הסיגנל כקבוצת קוים ולא כקו אחד בודד נובעת מתופעת הצימוד בין ספינים.

### 3.6 צימוד ספין-ספין ב- $^{13}\text{C}$

עד כה התעלמנו מאפקט חשוב ביותר של השפעת גרעין מגנטי סמוך על הסיגנל הנמדד. אם לגרעין הנמצא בשכנתו לגרעין הנמדד יש ספין, הספין הזה משפיע על הסביבה המגנטית של הגרעין בו אנו צופים ואז הסיגנל המתקבל אינו סינגלט פשוט אלא מולטיפלט. מידת המורכבות של המולטיפלט הזה תלויה במספרם ובאופיים של הגרעינים השכנים.

### צימוד $^2H - ^{13}C$

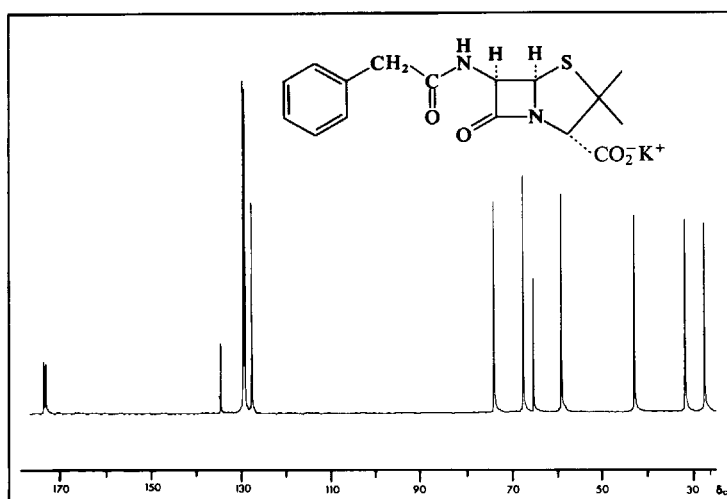
במולקולות  $CDCl_3$  קשור אטום דאוטריום לאטום פחמן. לדאוטריום ספין  $I = 1$ , כלומר יש לו שלוש רמות אנרגיה אפשריות כאשר הוא נמצא בשדה מגנטי. על אטום הפחמן מופעלים לכן, שלושה שדות מגנטיים הנבדלים במעט זה מזה, תלוי במצב הספין של אטום הדאוטריום אליו הוא קשור. מכיוון שהבדל האנרגיה בין שלושת המצבים הוא קטן מאוד, קיימת הסתברות דומה לכל אטום פחמן להיות קשור לדאוטריום בכל אחד משלושת מצבי הספין. התוצאה היא שגרעיני הפחמן נכנסים לרזוננס בשלוש תדירויות שונות עם הסתברות שווה, כפי שניתן לראות בציור 3.3, בו נראה סיגנל הפחמן של  $CDCl_3$  בצורת שלושה קוים הממוקמים במרחקים שווים, ב-  $77 \text{ ppm}$ . אנו אומרים כי הפחמן מצומד לאטום הדאוטריום. המרחק בין הקוים ביחידות של  $\text{Hz}$  נקרא קבוע הצימוד (Coupling constant) ומסומן באות  $J$ . מכיוון שבין שני הגרעינים המצומדים קיים רק קשר אחד מסמנים את קבוע הצימוד:  $^1J_{CD}$ . הצימוד C-D הוא פחות חשוב ופחות שימושי מהצימוד CH.

### צימוד $^1H - ^{13}C$

מדוע בציור 3.3 לא רואים את הצימוד CH? התשובה לכך היא כי בזמן שהספקטרום ההוא נמדד, הוקרנה הדוגמה ע"י סיגנל בעל עוצמה רבה מאוד, אשר כסה את כל תחום תדירויות הרזוננס של אטומי המימן במולקולה. ההקרנה הזאת גרמה לכך שאוכלוסיית הפרוטונים  $N_\beta$  ו-  $N_\alpha$  החליפה מקומות אלו עם אלו מספר רב של פעמים במשך המדידה. לכן, כל אטום פחמן "ראה" רק מצב ספין ממוצע של הפרוטון הסמוך לו, במקום שני מצבי ספין מוגדרים. לכן, במקום להיות מצומד, כל גרעין  $^{13}C$  נתן פשוט קו אחד צר. ספקטרה  $^{13}C$  אשר נתונים כאוסף של קוים חדים נקראים Proton decoupled.

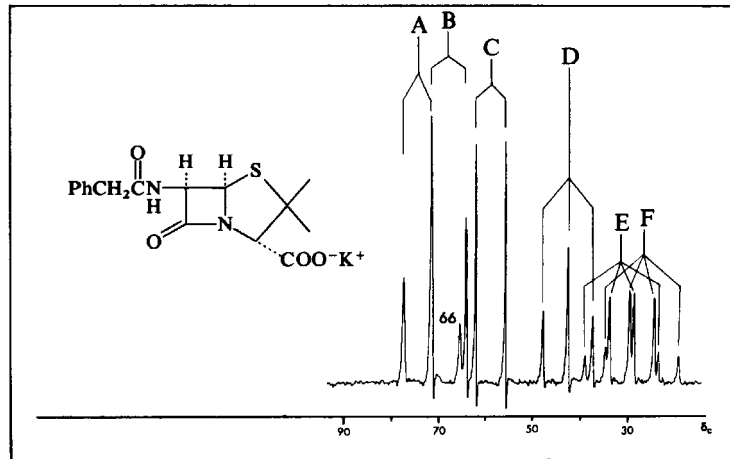
נסתכל על מקרה אחר - מלח אשלגן של פניצילין G. בספקטרום Proton decoupled של החומר הזה, המופיע בציור 3.8, ניתן לראות את המגוון הצפוי של סיגנלים. שני המתילים נמצאים בסביבה סטיריאוכימית שונה ולכן הם מופיעים בנפרד בחלק הימני ביותר של הספקטרום, בערך ב-  $30 \text{ ppm}$ . שאר אטומי הפחמן הטרהדרליים בולעים בתחום  $40-80 \text{ ppm}$ , כאשר לאטומי הפחמן הרבעוני בליעה שעצמתה חלשה במיוחד. בטבעת הארומטית ישנם 4 סוגי פחמנים, לשני פחמנים אורתו יש בליעה משותפת, כנ"ל לפחמני מטה. כל ארבעת הפחמנים הללו מופיעים כמעט יחד ב-  $129 \text{ ppm}$ , פחמן פארה מופיע ב-  $127 \text{ ppm}$  ואילו פחמן ipso בשדה נמוך יותר ( $134 \text{ ppm}$ ) בעוצמה נמוכה. הפחמנים הקרבוניליים מופיעים בשדה עוד יותר נמוך וגם הם נותנים בליעה חלשה. בציור הם נראים כמו שני קוים אבל כאשר מרחיבים את הספקטרום מסתבר שנמצאות שם שלוש בליעות עבור שלושת הפחמנים הקרבוניליים. לסיכום, הספקטרום מאשר את המבנה של פניצילין G וניתן לספור בו מספר סיגנלים הזהה למספר אטומי הפחמן במולקולה. אם היינו מודדים את הספקטרום מבלי להקרין את הפרוטונים היה האיזור הגבוה של הספקטרום נראה כפי שהוא מופיע בציור 3.9. ניתן לראות את כל שבעת הפחמנים הטרהדרליים, אלא שהספקטרום הוא הרבה יותר מסובך.

ציור 3.8



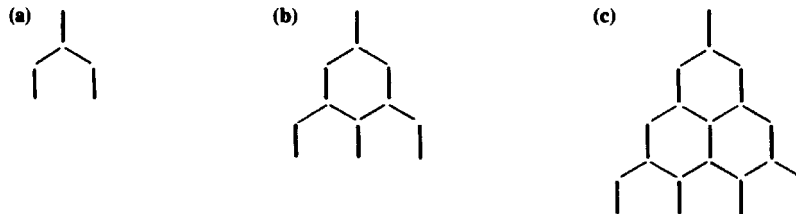
קל ביותר לזהות את הסיגנל של הפחמן הרבעוני אשר מופיע ב-  $6.6 \text{ ppm}$ . הוא חלש כפי שצפוי עבור פחמן רבעוני. הוא מופיע כסיגנל בשני סוגי הספקטרה מכיוון שהוא איננו נושא אטומי מימן, אשר יכולים ליצור אתו צימוד. הסיגנלים הבאים בזיהוי הם חמשת הקווים האחרים באיזור הנמוך של הספקטרום, אלו שלושה דובלטים המסומנים: A, B, C, שני קוים שלהם חופפים ב-  $71 \text{ ppm}$  ולכן בסה"כ ישנם רק חמישה קוים. כל אלו הם קבוצות מתיניות- פחמנים אשר נושאים אטום מימן אחד בלבד.

ציור 3.9



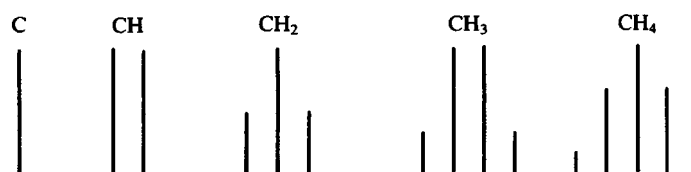
בכל מקרה, אטום המימן, שלו  $I = 1/2$ , יכול להמצא באחד משני מצבי ספין או שני כווני סיבוב יחסית לשדה המגנטי החיצוני. אטום הפחמן "רואה" לכן שני שדות מגנטיים שונים ולכן נכנס לרזוננס בשני מקומות, כלומר דובלט. שני הקווים של הדובלט, עוצמתם זהה, כפי שניתן לראות בדובלט C. אבל לכל אחד מהדובלטים A, B, C עוצמה שונה מעט זה מזה. הסיגנל הבא בתור, לכוון השדה הגבוה, הוא הטרופלט D אשר נובע מהמתילן הבנזילי. הפחמן הזה מצומד באופן שווה לשני המימנים. האופן הפשוט ביותר שבו ניתן להבין את התוצאה מעובדת קיומם של שני אטומי מימן שכנים הוא להסתכל על השפעתם בזה אחר זה. הפרוטון הראשון גורם לפיצול הסיגנל לשני קווים שווים עוצמה והשני מפצל כל אחד מהקווים הללו שוב לשני קווים שווים עוצמה. מתוך הגיאומטריה הפשוטה הזאת ניתן לראות את יצירתם של שלושה קווים, כאשר לאמצעי עוצמה כפולה מזו של שני הקווים האחרים, עקב חפיפה של שני קווים. התוצאה היא סיגנל בן שלושה קווים, טריפלט, שבו יחסי הגובה בין הקווים הוא 1:2:1. שני הסיגנלים האחרונים בספקטרום לכוון השדה הגבוה הם אלו המסומנים E, F כל אחד מהם מופיע כקוורטט. סיגנלים אלו באים משני הפחמנים המתיליים, כל אחד מהם קשור לשלושה אטומי מימן. אם נבנה, באופן דומה למה שעשינו קודם לגבי המתילן, את השפעתם של אטומי המימן בזה אחר זה נקבל את המבנה הסופי של הסיגנל. המימן הראשון מפצל אותו לדובלט, השני מפצל כל אחת מזרועות הדובלט לדובלט חדש כך שנוצר טריפלט. המימן השלישי מפצל את קוי הטרופלט לזוגות, בהתאמה, ויוצר קוורטט. מכיוון שכל אטומי המימן זהים, כל שלושת קבועי הצימוד זהים ולכן תהייה חפיפה מוחלטת בקווים המרכזיים, כלומר, יצירת ארבעה קווים בעלי עוצמה יחסית של 1:3:3:1. בסה"כ, שמונת הקווים אשר מופיעים בחלק הימני של הספקטרום הם שני סטים של קוורטטים E, F אשר חופפים באופן חלקי. בכל אחד מהסיגנלים אשר מופיעים בציור 3.9, ההיסט הכימי האמיתי אשר עליו יש לדווח הוא מרכזו של המולטיפלט.

ציור 3.10



לסיכום, הסיגנלים של פחמן רבעוני, מתין, מתילן ומתיל הם סינגלט, דובלט, טריפלט וקוורטט, בהתאמה. תבניות אלו הן כלליות ונפגוש אותן שוב כאשר נעסוק בספקטרום NMR של הפרוטונים. הכלל עבור גרעינים בעלי  $I = 1/2$  הוא שכאשר גרעין מסוים מצומד באופן שווה ל- $n$  גרעינים אחרים, יתקבל סיגנל שבו  $n+1$  קווים ועוצמתם היחסית נתונה ע"י הקבועים של האיברים המתקבלים מפיתוח הביטוי  $(X+1)^n$ .

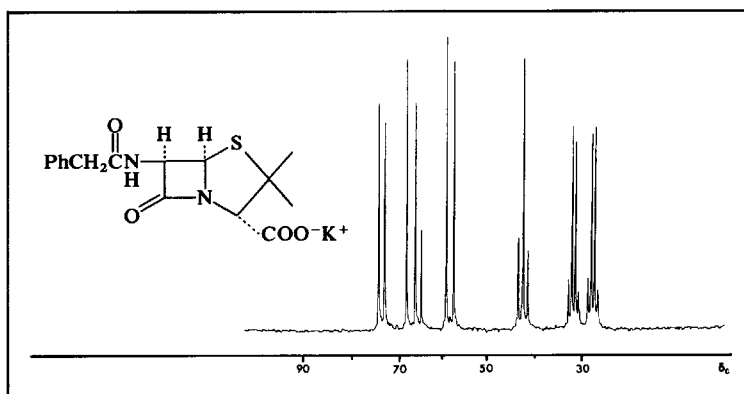
ציור 3.11



הקבועים הללו מתקבלים באופן פשוט יותר ממשולש פסקל. לכן המולקולה  $CH_4$  תתן ספקטרום של קווינטט עם עוצמות יחסיות של הקווים: 1:4:6:4:1.

ברור כי האינפורמציה הגלומה במולטיפלטים הללו היא בעלת ערך רב אבל הפענוח של הספקטרום הופך להיות מלאכה קשה ביותר עקב החפיפה החלקית של הסיגנלים השונים. עבור מולקולות גדולות זה נעשה כמעט בלתי אפשרי. הקלה משמעותית במצב הזה מתאפשרת ע"י טכניקה פשוטה הנקראת off resonance decoupling. בזמן מדידת ספקטרום  $^{13}\text{C}$  מקרינים את הדוגמה בתדירות קרובה אבל לא חופפת בדיוק את תדירות בליעתם של הפרוטונים. כתוצאה מכך, כל המולטיפלטים נעשים צרים יותר אבל אינם נעלמים לחלוטין, כפי שקורה בספקטרום שבו הוקרנו הפרוטונים באופן מדויק. החלק הימני של ספקטרום פניצילין G אשר נמדד בתנאים כאלה מוצג בציור 3.12. כל הסיגנלים בספקטרום מופרדים זה מזה באופן ברור ויחד עם זאת ניתן לראות בבירור את ה-multiplicity שלהם. הטכניקה הזאת מאפשרת לדעת כמה אטומי פחמן מכל סוג נמצאים במולקולה הנבחנת.

ציור 3.12



גם לגודלו של קבוע הצימוד J ערך אינפורמטיבי רב מאוד. הוא מושפע בעיקר מהגיאומטריה של הקשרים סביב אטום הפחמן: פחמן טטרהדרלי ( $sp^3$ ) נותן בדר"כ ערכים שבין 120 ל-150 Hz. פחמן טריגונלי ( $sp^2$ ) נותן ערכים בין 155 ל-205 Hz ואילו פחמן דיגונלי ( $sp$ ) קרוב ל-250 Hz (טבלה 3.14). גורמים נוספים אשר משפיעים על ערכי J הם נוכחותם של אטומים אלקטרוניגטיביים, אשר גורמים לקבועי הצימוד להגיע לערכים הגבוהים ביותר בתחום הנ"ל. למשל, במצב קיצוני, כמו בכלורופורם,  $J_{\text{CH}} = 209 \text{ Hz}$  למרות שזהו פחמן טטרהדרלי. קבועי צימוד של אטומי פחמן טטרהדרליים ניתנים לחיזוי תוך שימוש במשוואה 3.18 ובנתונים שבטבלה 3.15. הצימוד הנותר (residual coupling) בספקטרה אשר נמדדו בטכניקה של off resonance נותן ע"י:

$$J' = 2\pi J \Delta\nu / \gamma_{\text{H}} B_2$$

כאשר J הוא הפיצול הנורמלי,  $\Delta\nu$  הוא ההבדל בין תדירות הרזוננס של הפרוטון המצומד לבין תדירותו של הסיגנל המופעל באיזור הפרוטונים.  $B_2$  זאת עוצמת ההקרנה בתדירות הנ"ל (decoupler power). מהמשוואה הנ"ל יוצא שקבוע הצימוד J איננו ניתן למדידה קלה, באופן ישיר מנסינות של off resonance, ונוח יותר למצוא אותו מתוך ספקטרום הפרוטונים. רובו של ספקטרום הפרוטונים איננו מושפע מנוכחותם של אטומי  $^{13}\text{C}$ , מכיון ש-99% מהסיגנלים של הפרוטונים נובעים מפרוטונים הקשורים לאטומי  $^{12}\text{C}$ , שהם אדישים מבחינה מגנטית. בכל זאת, אחוז אחד של הסיגנל נובע מפרוטונים הקשורים לאטומי  $^{13}\text{C}$  ואלו מצומדים. ניתן לראות את הצימוד הזה, בעיקר כאשר סיגנל הפרוטון הוא סינגלט, כדובלט חלש מאוד משני צדיו של הסינגלט. המרחק בין שני הקווים הקטנים הללו בערכי Hz שווה בדיוק לקבוע הצימוד  $J_{\text{CH}}$ . מכיון שעוצמתו של כל אחד מהקווים הקטנים היא רק 0.5% מעוצמתו של הקו המרכזי, בדר"כ לא מבחינים בהם, אבל ניתן לחפש אותם, אם אותו תחום של הספקטרום איננו מכוסה בסיגנלים אחרים. כאשר הסיגנל בספקטרום הפרוטונים הוא מולטיפלט, בליעות הלווין של הצימוד לפחמן  $^{13}\text{C}$  הן עוד יותר חלשות, מכיון שגם הן מופיעות בצורתן של אותו מולטיפלט.

הצימוד של  $^{13}\text{C}$  למימן דרך יותר מקשר אחד הוא הרבה יותר חלש וקבוע הצימוד למעשה לא ניתן למדידה בנסינות של off resonance. אבל ניתן למדוד אותו בתנאי שהספקטרום איננו צפוף ומסובך מדי. הערכים הגבוהים ביותר של  $J_{\text{CH}}$  (התחום כולו הוא 5 - 50 Hz) הם עבור פחמנים דיגונליים או בקבוצה הקרבונלית או כאשר המימן הוא מימן אלדהידי.  $J_{\text{CH}}$  הם בדרך כלל קטנים מ-10 Hz.

### צימוד $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$

עקב השכיחות הטבעית הנמוכה של  $^{13}\text{C}$ , נדיר מאוד למצוא מצב שבו  $^{13}\text{C}$  אחד קשור ל- $^{13}\text{C}$  אחר. הצירוף הזה כל כך נדיר והסיגנלים כל כך חלשים כך שלמעשה לא ניתן להשתמש בצימוד הזה. אבל כיום מקובל להכין חומרים מסומנים באטומי פחמן  $^{13}\text{C}$  לצרכים של חקירת מנגנוני תגובה וחקירה של מהלכים ביוסינתטיים. בחומרים כאלו ניתן לראות

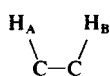
צימוד פחמן-פחמן. כמו קודם, הגורם החשוב ביותר בקביעת גודלו של קבוע הצימוד הוא הגיאומטריה: טטרהדרלי, טריגונלי, דיגונלי. בדרך כלל ניתן להעריך את  $^1J_{CC}$  בין שני פחמנים סמוכים  $C_x$  ו- $C_y$  על פי הביטוי הבא:

$$^1J_{CxCy} = 0.073(\%Sx)(\%Sy) - 17$$

כאשר  $\%Sx$  ו- $\%Sy$  הם האחוזים של אופי s בהכלאה של אטומי הפחמן x ו-y. למשל אטום הפחמן המתילי של טולואן הוא אטום  $sp^3$  הקשור לאטום  $sp^2$  ולכן הערך המחושב הוא  $^1J_{CC} = 0.073 * 25 * 33.3 - 17 = 43.8$ . הערך הנמדד הוא 44 Hz. בדיוק כפי שקיים לגבי  $^1J_{CH}$ , גם כאן, אטומים אלקטרונגטיביים שכנים מעלים את קבוע הצימוד. למשל הקבוצה המתילית באצטטים מצומדת לפחמן הקרבונלי עם קבוע  $^1J = 59$  Hz, שהוא כמעט הגבול העליון של קבועי צימוד C-C.

### 3.7 צימוד $^1H$ - $^1H$ מסדר ראשון

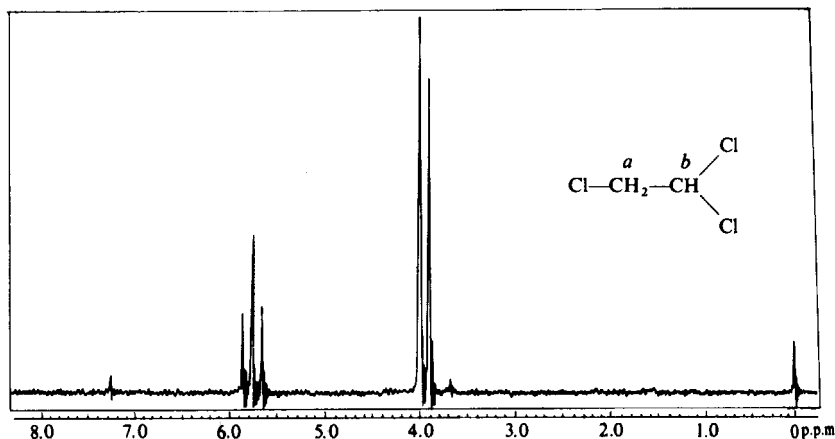
ראינו כבר מה קורה כאשר נוצר צימוד בין שני גרעינים בעלי ספין  $I = 1/2$ . דבר דומה קורה לגבי צימוד מימן-מימן, אלא שכאן נעסוק בצימוד בעל טווח ארוך יותר, בעיקר צימוד דרך שני קשרים ושלושה קשרים.  $^1J_{HH}$  קיים רק במולקולת מימן עצמה ויש לו חשיבות רק עבור התיאוריה של ספקטרוסקופית NMR.



15

נתחיל את הדיון בצימוד דרך שלושה קשרים, הידוע כצימוד ויצינלי (Vicinal coupling). הקבועים נעים בדר"כ בתחום 0-20 Hz עבור  $^3J_{HH}$ . הגורמים אשר משפיעים על קבועי הצימוד יטופלו בהמשך בסעיף 3.9 וכעת נעסוק רק ב-multiplicity בספקטרום פרוטונים, כמו במקרה של  $^{13}C$  אנחנו מקבלים דובלטים טריפלטים וקוורטטים כאשר הפרוטון נמצא בשכנות לאחד, שניים או שלושה פרוטונים זהים. לדוגמה, בציר 3.13 רואים את ספקטרום  $^1H$  NMR של 1,1,2-טריכלורואתאן. הסיגנל בשדה הנמוך, הממוקם ב- $\delta$  5.77 שייך למימן של קבוצת המתין. הוא נמצא בשדה נמוך מכיוון ששני אטומים אלקטרונגטיביים קשורים לאטום הפחמן הזה. צורתו של הסיגנל, טריפלט, ביחסי גובה של 1:2:1, נובעת מהעובדה שהמימן המתיני מצומד לשני המימנים הזחים של המתילן הסמוך. באופן דומה, הסיגנל בשדה גבוה יותר, ב- $\delta$  3.68, נובע מהמתילן הנ"ל. ההיסט הכימי שלו מתאים למימנים על פחמן אשר נושא רק קבוצה אלקטרונגטיבית אחת (ראה טבלה 3.17). הוא מופיע כדובלט מכיוון שלזוג המימנים הללו ישנו רק מימן שכן אחד, אליו הם מצומדים.

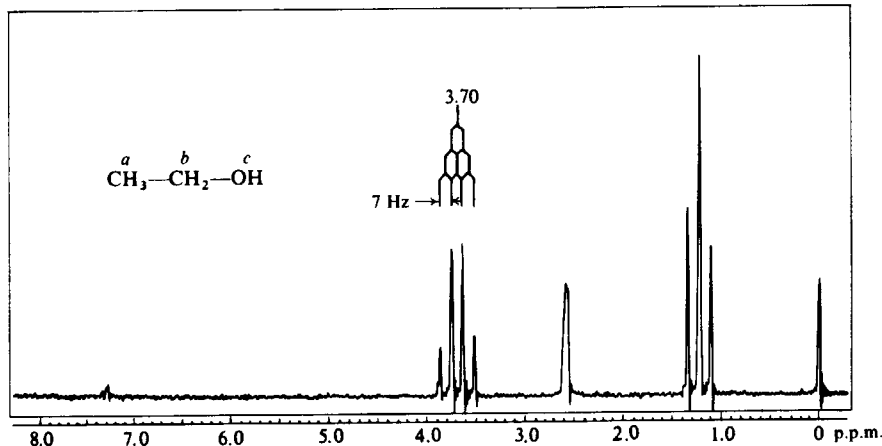
ציור 3.13



שני המימנים של המתילן הם זהים, כלומר הם נמצאים בסביבה מגנטית זהה ולכן נכנסים לרזוננס בדיוק באותו המקום. הדובלט בשדה הגבוה הוא לכן בעל עוצמה כפולה בהשוואה לעוצמתו של הטריפלט בשדה הנמוך. למעשה, שני המימנים של המתילן מצומדים זה לזה, אבל צימוד בין פרוטונים בעלי היסט כימי זהה איננו נראה בספקטרום NMR. לסיכום, הסיגנל בשדה הנמוך הוא טריפלט של פרוטון אחד מכיוון שהפרוטון אשר אחראי להופעתו של הסיגנל הזה, מצומד באופן שווה ע"י שני פרוטונים. הסיגנל בשדה הגבוה מופיע כדובלט של שני פרוטונים מכיוון שהפרוטונים אשר אחראים להופעתו של הסיגנל הזה, מצומדים לפרוטון אחד. החוק הזה לזה שנקבע עבור צימוד  $^{13}C$ - $^1H$ : גרעין אשר מצומד באופן שווה ל- $n$  גרעינים אחרים יגרום להופעתו של סיגנל בעל  $n+1$  קוים אשר עוצמתם היחסית נתונה ע"י המקדמים של האיברים בפיתוח הביטוי  $(X+1)^n$ . ראוי לזכור כמה קטנים נעשים הקוים החיצוניים במבנה כזה. למשל בספסטט (פיצול ל-7 קוים), הקוים החיצוניים הם חלשים מאוד ואז ניתן לטעות בקלות ולאפיין את המבנה הזה כקווינטט.

דוגמה נוספת ניתנת ע"י הספקטרום של אתנול (ציור 3.14). הסיגנל בשדה הגבוה הוא טריפלט של שלושה מימנים הנובע מהמתיל a. ההיסט הכימי של הסיגנל הזה ( $\delta$  1.22) מתאים למתיל אשר קשור לפחמן הנושא קבוצה אלקטרונגטיבית (טבלה 3.17). שלושת המימנים של הקבוצה המתילית אינם מצומדים זה לזה באופן הנראה לעין מכיוון שהם זהים. אבל הם מצומדים באופן שווה לשני המימנים של הקבוצה המתילית.

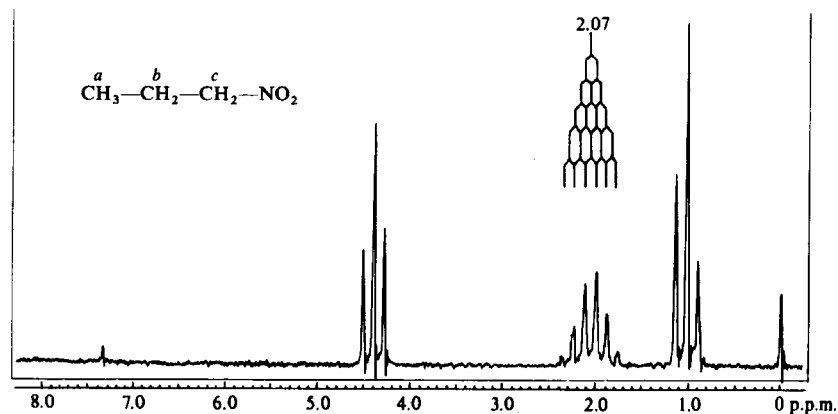
ציור 3.14



באופן דומה, שני הפרוטונים של הקבוצה המתילית b, אשר סמוכה לקבוצת OH, הם זהים ונכנסים לרזוננס באיזור הצפוי בשדה הנמוך ( $\delta$  3.70). לסיגנל צורת קוורטט, ביחסי עוצמות 1:3:3:1, מכיוון שמימני המתילן מצומדים באופן שווה לשלושת המימנים של הקבוצה המתילית. התבנית הזאת, של טריפלט של שלושה מימנים וקוורטט של שני מימנים, היא אופיינית מאוד לקבוצה אתילית מבודדת, כלומר הקבוצה המתילית שבה איננה מצומדת לשום גרעין אחר מלבד קבוצת המתיל.

הצימוד של הקבוצה המתילית עם הפרוטון c של קבוצת ה-OH איננו מופיע בספקטרום, לא בסיגנל המתילן ולא בסיגנל ההידרוכסיל ב- $\delta$  2.58. הצימוד הזה יכול להופיע כאשר הדוגמה טהורה באופן יוצא מהכלל, או כאשר הספקטרום נלקח ב- $d_6$ -DMSO. במקרים אלו מופיע הסיגנל המתילני כקוורטט כפול, כלומר קווינטט ביחסים של 1:4:6:4:1 ואילו הסיגנל ההידרוכסילי מופיע כטריפלט. זה לא נראה בספקטרום שבציור 3.14 מכיוון שהוא נמדד בדוגמה, שבה קבוצות ההידרוכסיל החליפו במהירות את הפרוטונים ביניהן באופן אינטר-מולקולרי. חילופים מהירים אלו מזורזים ע"י עקבות של חומצה או בסיס אשר בדרך כלל נמצאים בממס. אם קצב החילוף הוא גבוה באופן ניכר, לעומת הבדל התדירות בין הקווים של הטריפלט (במקרה זה 6 Hz), המקלט מזהה את הפרוטון ההידרוכסילי כממוצע של שלשת הסביבות המגנטיות, אשר נוצרו ע"י שלשת הסידורים האפשריים של המגנטים הגרעיניים של הפרוטונים המתילניים. בדוגמאות טהורות, או ב- $d_6$ -DMSO כממס, קצב החילוף הוא נמוך מ- $6 \text{ sec}^{-1}$  ולכן הצימוד למימן ההידרוכסילי נראה. באופן דומה ניתן לראות את הצימוד לפרוטונים של קבוצות NH ו-SH רק בתנאים שבהם החילוף הוא איטי מספיק. הסיגנלים הללו של קבוצות SH, NH, OH ניתנים להסרה מן הספקטרום ע"י ערבוב הדוגמה עם  $D_2O$ . למרות זאת, קבוצות CH הסמוכות לקבוצות NH אמידיות מראות, בדר"כ, צימוד של 5-9 Hz אפילו כאשר הסיגנל של NH האמידי הוא רחב מאוד (כתוצאה מרלקסציה קוודרופול). ספקטרום מעט יותר מורכב הוא זה של 1-ניטרופרופאן (ציור 3.15)

ציור 3.15





### 3.8 תבניות צימוד פשוטות של $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$

מוסכם לסמן פרוטונים הקרובים זה לזה בהיסט הכימי שלהם באותיות A,B,C ואלו הרחוקים מהם בהיסט הכימי שלהם באותיות X,Y,Z. אלו הנמצאים בתחום הביניים מסומנים M,N,O. כך ראינו עד עתה ספקטרום מטיפוס  $\text{AX}_2$  בציר 3.13, תבנית  $\text{A}_2\text{X}_3$  של אתנול בציר 3.14 ותבנית  $\text{A}_3\text{M}_2\text{X}_2$  עבור ניטרופראן בציר 3.15.

#### מערכת AB

מערכת AB מורכבת משני פרוטונים הצמודים זה לזה אבל אינם מצומדים לשום פרוטון נוסף. גודלו של ההבדל בהיסט הכימי בין הסיגנלים של A ושל B:  $\delta_{AB} = \delta_A - \delta_B$  הוא מאותו סדר גודל של קבוע הצמוד  $J_{AB}$ . נערוך השוואה עם המקרה הפשוט יותר של הספקטרום AX, שהוא מסדר ראשון. במקרה של AX, שני הסיגנלים של A ושל X מופיעים כזוג של דובלטים מופרדים היטב ובכל אחד מהם שני הקווים שווים בגובהם.

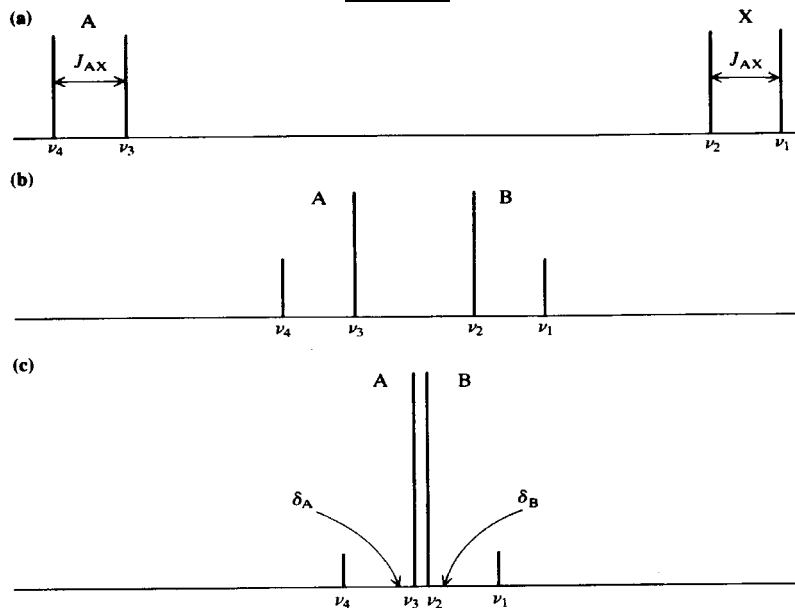
בתבניות AB, אשר נראות בצירים 3.17c, 3.17b, נשאר קבוע הצימוד כפי שהיה בספקטרום AX:

$$J_{AB} = \nu_4 - \nu_3 = \nu_2 - \nu_1$$

אבל ככל שהפער בהיסטים הכימיים הולך וקטן, הקווים הפנימיים 2,3 גדלים ואילו הקווים החיצוניים 1,4 הולכים וקטנים. ככל שהסיגנלים קרובים יותר בהיסט הכימי שלהם גדל העוות הזה (ציר 3.17c). במערכת AX, ההיסטים הכימיים של A ושל X נתונים ע"י התדירות של נקודות האמצע בכל אחד מן הדובלטים. מצב זה לא מתקיים יותר במערכת AB, אשר בה נתונים ההיסטים הכימיים ע"י:

$$\Delta\delta = \delta_A - \delta_B = [(\nu_4 - \nu_1)(\nu_3 - \nu_2)]^{0.5}$$

ציור 3.17



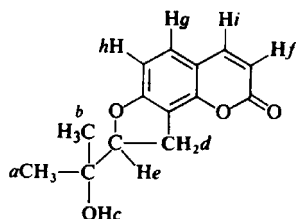
כפי שמתואר בציר 3.17c, ההיסט הכימי הוא למעשה ממוצע משוקלל של שני קוי הדובלט. כלומר ההיסטים הכימיים במערכת AB ממוקמים קרוב יותר לקוים הפנימיים, הגדולים יותר ורחוק יחסית מהקוים החיצוניים. העוצמה היחסית של הקווים נתונה ע"י:

$$I_3/I_4 = I_2/I_1 = (\nu_4 - \nu_1)/(\nu_3 - \nu_2)$$

תבניות אלו שימושיות מאוד בזיהוי מערכות AB. זוג קוים המעוות באופן ניכר מוכרח לבטא צימוד לפרוטון בעל היסט כימי דומה ואילו דובלט המעוות באופן קל מבטא צימוד לפרוטון מרוחק יותר. יותר מכך, צורת העוות מעידה על הכוון שבו צריך להמצא הסיגנל המשלים של מערכת ה-AB. ניתן לתאר את הדובלט כמצביע לעבר בן הזוג שלו. במצב קיצוני, כאשר ל-A ול-B ישנו אותו היסט כימי, נעלמים הקווים החיצוניים והקווים הפנימיים מתלכדים לסינגלט. זהו המצב שבו נמצאות הקבוצות המתילניות בחומרים המתוארים בצירים 3.13 ו-3.14. בשלושת המקרים הללו זוג המימנים המתילניים זהים לחלוטין, אבל יכול לקרות מצב שבו שני פרוטונים אשר אינם זהים מבחינה כימית נכנסים לרזוננס במקרה באותה תדירות וגם אז הצימוד ביניהם לא יבוא לידי ביטוי בספקטרום.



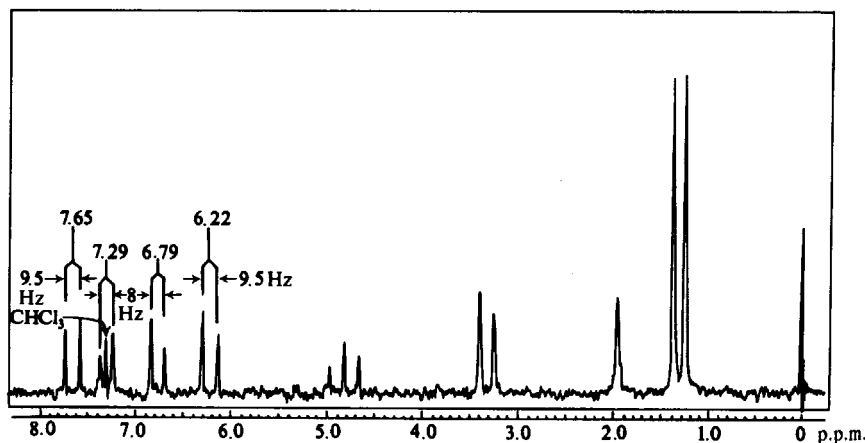
הספקטרום של החומר (17) columbianetin, אשר מופיע בציור 3.18 מכיל שתי מערכות AB. הדובלט של פרוטון אחד, אשר מופיע ב- $\delta$  7.65 שייך לפרוטון i אשר נכנס לרזוננס בשדה נמוך מכיוון שהוא בעמדה  $\beta$  לקרבונל בלתי רווי (ראה טבלה 3.3). מימן  $\alpha$  המתאים, המסומן f, נכנס לרזוננס בשדה גבוה יותר ב- $\delta$  6.22. שני הסיגנלים הללו מופיעים כתבנית AB עבור פרוטונים אשר הם רחוקים למדי זה מזה בהיסט הכימי שלהם. תדירויות הבליעה הנכונות של ארבעת הפרוטונים הנ"ל, כפי שהם נראים בספקטרום של 60 MHz הן: 6.13, 6.29, 7.58, 7.74 ppm. בערכי תדירות זה מתאים ל: 368, 377, 455, 464 Hz בהתאמה, ומכאן ניתן לחשב כי הערך  $\Delta\delta/J = 9$ , ערך שאיננו קטן כל כך. לכן העוות בעצמת הקוים איננו גדול במיוחד:  $I_3/I_4 = I_2/I_1 = 1.23$



17

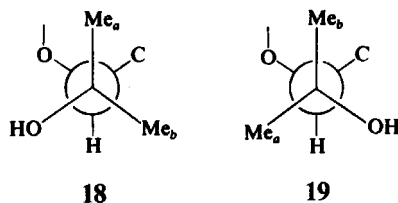
המערכת השנייה מטיפוס AB נוצרת ע"י הפרוטונים g ו-h, אשר נכנסים לרזוננס ב-6.79, 7.29. במקרה זה  $J_{hg} = 8$  Hz ואילו  $\delta_{hg} = 30$  Hz, כלומר  $\Delta\delta/J = 4$ . כתוצאה מכך, העוות יהיה גדול יותר, כפי שאכן ניתן לראות בספקטרום. באופן כזה ניתן בקלות לזווג את הסיגנלים המתאימים של מערכות ה-AB. מידת העוות חייבת להיות דומה בכל אחד מבני הזוג והיא באמת מתאימה בשני הזוגות הללו. בנוסף לכך, ערכי קבוע הצימוד J שונים עבור שני הזוגות. לזוג i,f ישנו קבוע צימוד של 9.5 Hz ואילו לזוג g,h קבוע 8 Hz. לכן רצוי תמיד למדוד את קבועי הצימוד כדי לאמת את ההשערה לגבי שני החצאים של מערכת AB מסוימת, ולוודא שלשניהם באמת אותו קבוע צימוד. זה נכון כמובן גם לגבי מערכות מסובכות יותר. חלקו הנותר של הספקטרום קל מאוד לייחוס למבנה המולקולרי הנתון. הסיגנל של פרוטון אחד ב-2.00 שייך לקבוצת ה-OH. לקבוצת המתילן d ישנם שני פרוטונים אשר אינם זהים מבחינה כימית, אחד מהם ציס לפרוטון e והשני טרנס אליו. אבל באופן מקרי, שניהם נכנסים לרזוננס בדיוק באותה תדירות ואינם מראים את הצימוד שביניהם. הם מופיעים כדובלט ב- $\delta$  3.33.

ציור 3.18



המימן המתילני e מצומד לכן באופן שווה לשני המימנים d ומופיע כטרופלט בעל עצמות יחסיות 1:2:1 בקירוב, ב-4.82. ניתן להבחין כי קבוע הצימוד בשני הסיגנלים של המתילן של מתאימים זה לזה. כמו כן ניתן לראות כי שני המולטיפלטים הללו נוטים מעט זה כלפי זה וכי הקו הימני של הטרופלט גבוה מעט מהקו השמאלי שלו. שני הסיגנלים ב-1.37, 1.25 שייכים לשתי קבוצות המתילן a ו-b. שני הקווים הללו אינם ניתנים לתאור כדובלט מכיוון שאינם תוצאה של צימוד כלשהו. במבט ראשון ניתן לצפות כי שני המתילים יהיו זהים מבחינה כימית, במיוחד כאשר מאפשרים תנועה וסיבוב חופשיים של השרשרת הצדדית. חשוב להבין מדוע הם שונים, מכיוון שהתופעה הזאת נפוצה מאוד בספקטרה NMR, גם לגבי זוגות של קבוצות מתיליות בסמיכות למרכז כירלי, כמו במקרה זה, ועוד יותר לגבי שני מימנים של קבוצה מתילנית בסמוך למרכז כירלי (ראה ציור 3.20). תופעה זאת שכוחה אפילו כאשר המרכז הכירלי מרוחק עוד יותר. ראשית, השרשרת הצדדית במולקולה תאמץ קונפורמציה אחת מועדפת מתוך מספר קונפורמציות אפשריות ובקונפורמציה הזאת, שתי קבוצות המתילן לא תהיינה באותה סביבה מגנטית. שנית, אפילו אם היה מתקיים סובב חופשי לחלוטין, השדה הממוצע המופעל על המתילן a איננו זהה לשדה המגנטי הממוצע אשר מופעל על המתילן b. בכל

רגע, כאשר המולקולה קפואה בקונפורמציה 18, כאשר המתיל a למעלה, כפי שנקבע באופן שרירותי, המתיל b ולאחר מכן קבוצת ההידרוכסיל יהיו מסודרים בכוון השעון. כאשר המתיל b מגיע למעלה כפי שזה קיים בקונפורמציה 19 יהיו המתיל a וההידרוכסיל מסודרים כלפיו נגד כוון השעון. שתי הקונפורמציות הללו כמובן שאינן זהות והן גם לא זוג אנטיומרים. במלים אחרות, שתי הקבוצות המתיליות אינן רואות אותה הסביבה גם כאשר השרשרת נמצאת בתנועה סבובית. שני המתילים נקראים דיאסטריאוטופיים. רק כאשר השדה הממוצע הוא זהה באופן מקרי עבור שתי קבוצות דיאסטריאוטופיות, הן נכנסות לרזוננס באותה התדירות, כפי שזה קורה עבור המימנים של המתילן d באותה המולקולה.

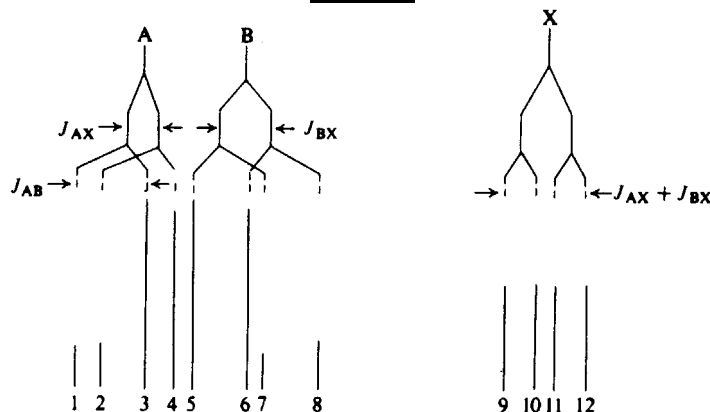


### מערכת ABX

תבניות ABX מופיעות במגוון רחב של צורות בהתאם להיסטים הכימיים וקבועי הצימוד של שלושת המימנים. הדוגמה להלן היא רק סידור אפשרי אחד. אם נצרף את מה שראינו לגבי מערכת AB עם מה שצפוי לקבל מספקטרום מסדר ראשון, נוכל לצפות כי כל אחד מארבעת הקווים של מערכת AB יפוצל לדובלטים ע"י הפרוטון X. הפרוטון X, מכיוון שהוא בעל היסט כימי רחוק מספיק מאלו של A ושל B, אבל מצומד לשניהם, יופיע כצמד דובלטים. הקווים של המערכת AB ישמרו על ההבדלים בעצמות היחסיות שלהם כפי שנובע מתכונות הצימוד AB, אבל צמד הדובלטים של פרוטון X יהווה סט של ארבעה קווים שווים פחות או יותר בעצמתם. מה שצפוי לקבל, אם כן, זוהי תבנית כמו זו המודגמת בציר 3.19 שבו בסה"כ 12 קווים.

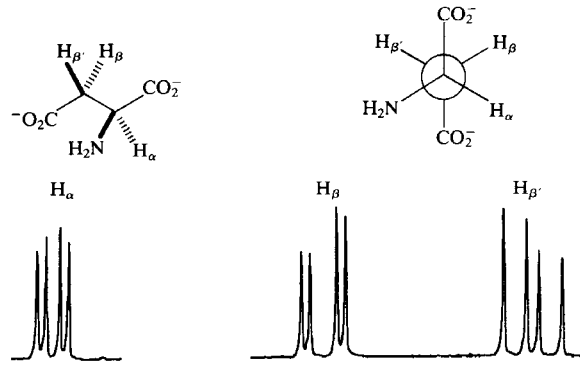
כמובן שקיימות אפשרויות רבות אחרות, תלוי אם חלק מהקווים חופפים במקרה ותלוי כמה גדולה ההפרדה בין הסיגנלים A ו-B. כך למשל, אם A ו-B קרובים מאוד בהיסט הכימי שלהם, הקו מס' 5 יכול להופיע בשדה נמוך יותר מהקו 4 או אפילו מהקו 3. תבניות מעין זאת נפוצה מאוד אבל יש לנקוט זהירות רבה בקביעת קבועי הצימוד באמצעות האנליזה הפשוטה הזאת. מידת ההפרדה בין הקווים 9-12 יכולה לתת הערכה גסה לגבי קבועי הצימוד.  $J_{AX}$  הוא בערך המרחק שבין הקווים 9 ו-10 ואילו  $J_{BX}$  קרוב למידת ההפרדה בין הקווים 9 ו-11. עוד יותר מדויקת היא העובדה שהמרחק בין הקווים 9, 12 היא הסכום  $J_{AX} + J_{BX}$ .

ציר 3.19



תבניות כגון זו וצורות מסובכות יותר של אותו הרעיון מופיעות באופן מאוד שכיח בספקטרה NMR. למשל בציר 3.20 ניתן לראות סיגנלים של שלושת הפרוטונים הקשורים לאטומי פחמן בסודיום אספרטט. הזוג הג'מינלי  $H_\beta$ ,  $H_\beta$  הם דיאסטריאוטופיים. הם מצומדים זה לזה עם קבוע צימוד גדול של 16 Hz וכל אחד מהם מצומד לפרוטון  $H_\alpha$  עם קבוע צימוד שונה, אחד גדול (10Hz) והשני קטן (4Hz). ההבדל הגדול מתבנית 3.19 נובע מכך שהסיגנל X בדוגמה זאת נמצא בשדה נמוך מזה של A ושל B ולא בשדה גבוה כפי שהיה בדוגמה הקודמת. ניתן לראות איך שני הקווים של  $H_\beta$  בשדה הגבוה ( $\delta$  2.6) כמעט שווים בעצמתם, כמו שני הקווים בשדה נמוך, עובדות המצביעות על כך שזוגות קווים אלו נובעים מצימוד לסיגנל הנמצא במרחק רב מבחינת ההיסט הכימי ושייך לסיגנל של  $H_\alpha$  ( $\delta$  4.5). לעומת זאת, הזוג בשדה הגבוה נמוך באופן משמעותי בהשוואה לזוג בשדה הנמוך יותר, דבר המעיד על צימוד לפרוטון שהיסטו הכימי קרוב,  $H_\beta$  ( $\delta$  3).

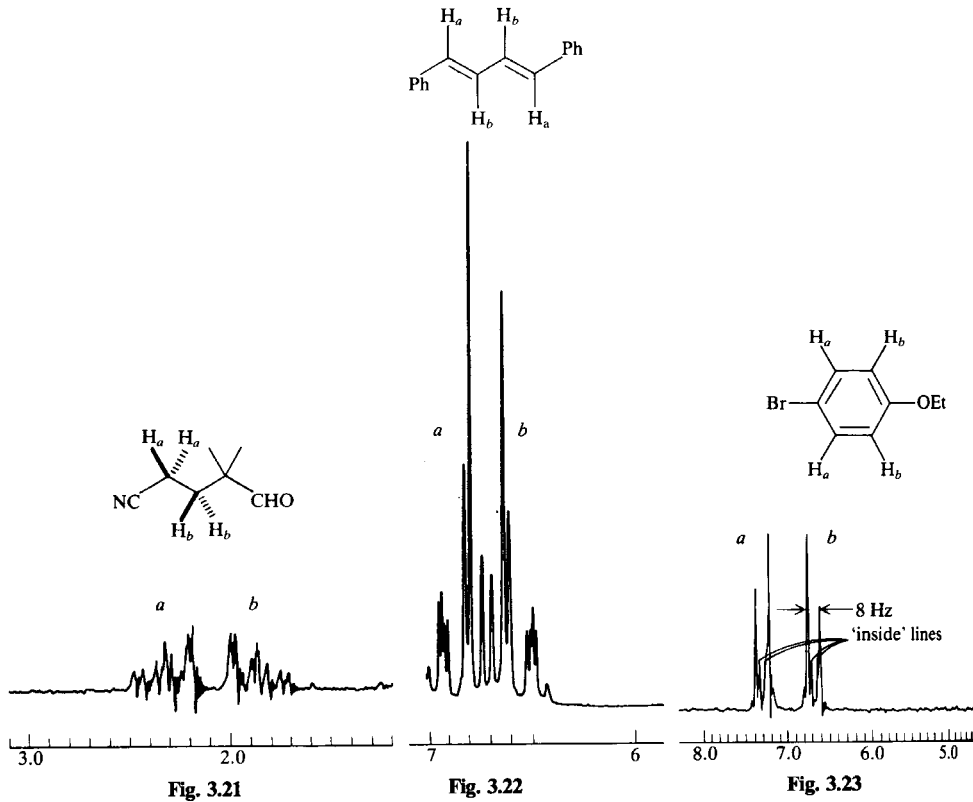
ציור 3.20



סטיות ניכרות מקירוב הסדר הראשון

למעשה, במערכות AB ו-ABX שתוארו לעיל, לא סטינו בהרבה מקירוב הסדר הראשון והוספנו רק עיוותים אשר נבעו מהעובדה שהפער בהיסט הכימי היה דומה לקבוע הצימוד. כמו כן הוספנו הערה שצריך להזהר בקביעת קבועי הצימוד מתוך מיקומם של הקוים. ישנם מצבים שבהם הקירוב מסדר ראשון נכשל באופן מוחלט, זאת כאשר מעורבים מספר ספינים. למשל במקרה של זוג מולטיפלטים המצומדים זה לזה והם קרובים בהיסט הכימי שלהם, יתכן כי הענף של השדה הגבוה של אחד מהם והענף של השדה הנמוך של השני חופפים. התוצאה היא מבנה שאיננו תמיד מסדר ראשון. בטיפול תאורטי מתאים, ניתן לפענח תבניות וגם אחרות המתוארות להלן. לעת עתה אנו צריכים לדעת שכמה מתבניות הפיצול אינן ניתנות לאנליזה מיידיית ע"י הסתכלות ראשונית בהן. להלן שלוש דוגמאות המדגימות את הענין הזה.

ציור 3.21 מראה חלק מהספקטרום של 2,2-דימתיל-4-ציאנובוטאנאל. הפרוטון האלדהידי שבו מופיע ב-9.47 δ. ניתן היה לצפות כי שני המתילנים, הסמוכים זה לזה, יהיו מצומדים ביניהם לתת זוג טריפלטים, כפי שבדרך כלל קורה לגבי שתי קבוצות מתילניות שכנות על שרשרת ישרה. התבנית שנוצרה במקרה זה היא בבירור יותר מורכבת. באופן דומה, החומר 1,4-דיפנילבוטאדיאן, אשר בו ישנם רק שני סוגים של פרוטונים אולפיניים, השונים זה מזה מבחינה כימית, צפוי להראות מערכת AB באיזור הבליעות האולפיניות. למעשה האיזור האולפיני (ציור 3.22) הוא הרבה יותר מורכב למרות שהוא מזכיר מערכת AB. לבסוף, הבליעות האופייניות של מערכת בנזיית המותמרת בעמדות פארה מודגמות בספקטרום של פארה-ברומופנאתול (ציור 3.23).



בחומר הזה שני סוגים של פרוטונים, המצומדים זה לזה בתבנית שהיא דומה באופן כללי למערכת AB, אבל למעשה מכילה מספר קוים נוספים, אשר הפנימיים שבהם נראים ביתר בהירות. מידת המורכבות במקרים הללו נובעת מהעובדה שזוגות הגרעינים a (וגם הזוגות b) אינם אקוילנטיים מבחינה מגנטית. למשל, בחומר פארה-ברומופנאטול, לגרעין a נתון יש קבועי צימוד שונים לשני הגרעינים b. לכן בכל שלושת המקרים הנ"ל יש לנו מערכות 'AA'BB'.

### 3.9 גודלם של קבועי הצימוד $J_{HH}$

במהלך הדיון עד עתה ראינו ערכים שונים של J, החל מ-1 Hz ועד 16 Hz. נראה כעת מהם הגורמים החשובים ביותר אשר משפיעים על גודלו של הקבוע J.

#### צימוד ויצילי $H-C-C-H$ , $^3J$

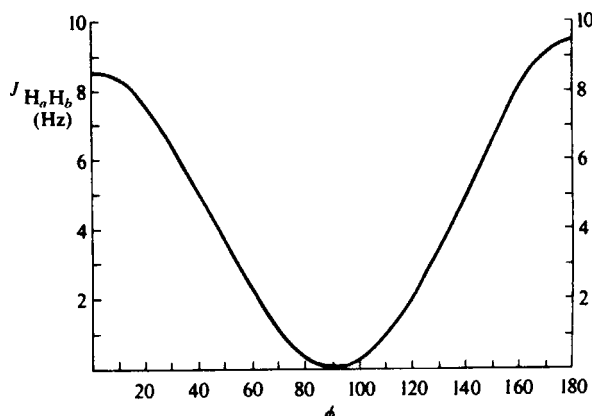
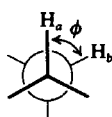
הזווית הדיהדרלית. הצימוד בין גרעינים נעשה באמצעות האינטראקציה של האורביטלים הקושרים של השלד המולקולרי. לכן הוא תלוי בחפיפה שביניהם ומכאן בזווית הדיהדרלית. היחס בין הזוויות הדיהדרליות לבין קבוע הצימוד  $^3J$  נתון באופן תאורטי ע"י משוואת Karplus:

$$^3J_{ab} = J^0 \cos^2(\Phi - 0.28) \quad (0^\circ < \Phi < 90^\circ)$$

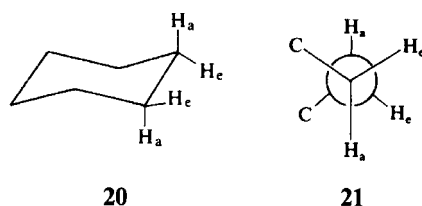
$$^3J_{ab} = J^{180} \cos^2(\Phi - 0.28) \quad (90^\circ < \Phi < 180^\circ)$$

כאשר  $J^0$  ו- $J^{180}$  הם קבועים אשר תלויים בסוג המתמירים על אטומי הפחמן והזווית  $\Phi$  היא הזווית הדיהדרלית המוגדרת באופן הבא:

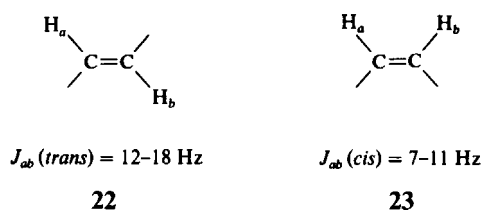
ציור 3.24



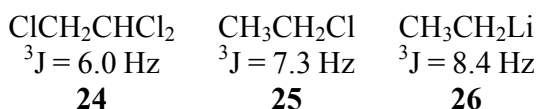
התלות הזאת של קבוע הצימוד בזווית הדיהדרלית נתונה באופן גרפי בציור 3.24, שבו הוזנח הקבוע הקטן 0.28 ובו השתמשו בערכים  $J^0 = 8.5$ ,  $J^{180} = 9.5$ , ערכים שהם סטנדרטים כאשר אין הערכה מדויקת יותר. קבועי צימוד אשר ניצפו באופן נסיוני מתאימים בדר"כ לנוסחאות הנ"ל אבל לא תמיד קל לבחור את הערכים הנכונים עבור  $J^0$  ו- $J^{180}$ . קבוע הצימוד מקבל תמיד את ערכו המקסימלי עבור זווית דיהדרלית של  $180^\circ$ , כלומר כאשר המימנים באוריינטציה antiperiplanar שבה ישנה חפיפה מקסימלית בין האורביטלים. בזווית  $0^\circ$ , כלומר בסידור syn-coplanar, הקבוע מעט קטן יותר. בזווית  $90^\circ$  קבוע הצימוד מקבל את ערכו הנמוך ביותר, זאת מכיוון שאז האורביטלים אורתוגונליים. בקבוצה האתילית מאפשר הסבוב החופשי להמצא רב הזמן בקונפורמציה Staggered המועדפת, שבה הזוויות הדיהדרליות הן  $60^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $180^\circ$ . קבועי הצימוד לכן הם בערך 6-7 Hz כפי שניתן לראות בציורים 3.12, 3.13. זהו ממוצע של קבועי הצימוד בשלושת הזוויות הנ"ל. לעומת זאת, במערכות קשיחות, בהן המיצוע הנ"ל איננו אפשרי, מוצאים ערכים גדולים או קטנים יותר. למשל בטבעת קשיחה של ציקלوهקסאן (20), קבוע הצימוד אקסיאלי-אקסיאלי,  $J_{aa}$ , הוא לרב גדול יותר ונמצא בתחום של 9-13 Hz, מכיוון שהזווית הדיהדרלית קרובה ל- $180^\circ$ . לעומת זאת, הצימוד אקסיאלי-אקוואטוריאלי,  $J_{ae}$ , או הצימוד אקוואטוריאלי-אקוואטוריאלי  $J_{ee}$ , הם קטנים בהרבה, לרב בתחום של 2-5 Hz, זאת מכיוון שהזווית הדיהדרלית קרובה ל- $60^\circ$ . הזוויות הדיהדרליות נראות באופן ברור יותר בהשלכת ניומן (21). יש לזכור כי במערכות אמיתיות של חומרים מורכבים הזוויות אינן נובעות מקונפורמציות Staggered אידיאליות.



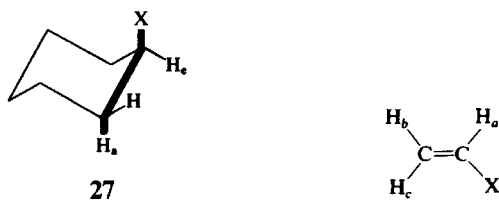
כעת ניתן לראות מדוע קבועי הצימוד הויצינליים בספקטרום שבציור 3.20 הם כל כך שונים זה מזה. הדיאניון של החומצה האספרטית מאמץ את הקונפורמציה הנראית בציור 3.20 בהשלכת ניומן, כאשר שתי הקבוצות האניוניות נמצאות רחוקות זו מזו במידת האפשר. זה יוצר זווית דיהדרלית של  $60^\circ$  בין  $H_\alpha$  ו- $H_\beta$  עם קבוע צימוד קטן. לעומת זאת הזווית בין  $H_\alpha$  ו- $H_\beta'$  היא  $180^\circ$  ולכן קבוע הצימוד ביניהם גדול. משוואת קרפלוס יכולה להיות מותאמת בשינויים קלים גם לאלקנים. הערכים המספריים מעט שונים אבל המסקנות דומות. זווית דיהדרלית של  $180^\circ$  קיימת בקשר כפול טראנס (22), ואז קבועי הצימוד גדולים. בקשר כפול ציס (23), הזווית הדיהדרלית היא  $0^\circ$  ואז קבוע הצימוד קטן יותר.



קבוצות אלקטרונוגטיביות ואלקטרופוזיטיביות. קבוצות אלקטרונוגטיביות אשר קשורות ישירות לאטום פחמן, עליו נמצא אחד הפרוטונים המעורב בצימוד ויצינלי, גורמת להקטנת קבוע הצימוד. באופן מתאים, קבוצה אלקטרופוזיטיבית גורמת להגדלת קבוע הצימוד. עבור מערכות שבהן קיים סבוב חופשי, האפקט הזה קטן (24 - 26):



כאשר יסוד אלקטרונוגטיבי נמצא באופן קשיח בעמדה antiperiplanar כלפי אחד מהפרוטונים אזי האפקט הזה גדול יותר. כך למשל  $J_{ae}$  הוא רק  $2.5 \pm 1 \text{ Hz}$  כאשר x בחומר 27 הוא OH, OAc, Br, אבל הוא  $5.5 \pm 1 \text{ Hz}$  בחומר 28, למרות שבשני החומרים הזווית הדיהדרלית קרובה ל- $60^\circ$ .



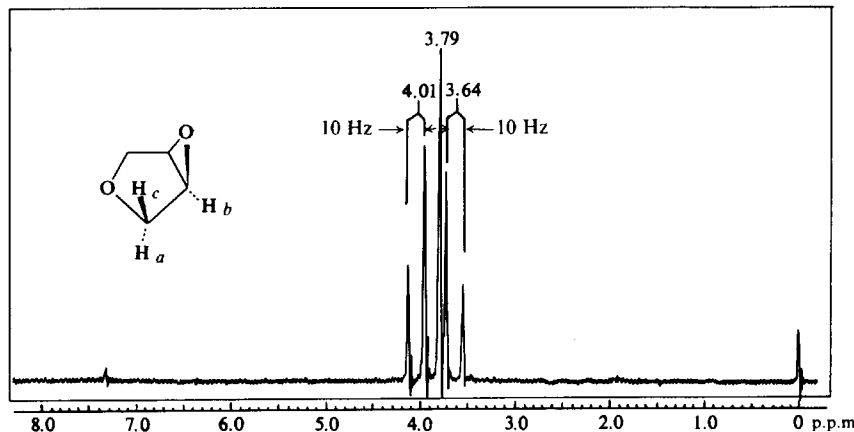
X = F	$J_{ab}(cis) = 4.7 \text{ Hz}$ $J_{ae}(trans) = 12.7 \text{ Hz}$
X = CH <sub>3</sub>	$J_{ab}(cis) = 10.0 \text{ Hz}$ $J_{ae}(trans) = 16.8 \text{ Hz}$
X = Li	$J_{ab}(cis) = 19.3 \text{ Hz}$ $J_{ae}(trans) = 23.9 \text{ Hz}$

29

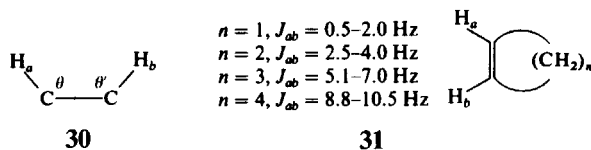
במקרה של קשרים כפולים, גם במקרה של מצב אנטיפריפלנרי וגם במצב של סין-קופלנרי מורגש האפקט הזה. קבוצה אלקטרונוגטיבית מחלישה גם את קבוע הצימוד ציס וגם את הקבוע טרנס בחומר 29. ליסוד אלקטרופוזיטיבי ישנו אפקט הפוך: קבוע הצימוד ציס בוינל ליתיום הוא גבוה יותר מפילו מהערך של קבוע הצימוד בקשר כפול טרנס. הקבוע טרנס גבוה מאוד, ומגיע לערך של כמעט  $24 \text{ Hz}$ .

ניתן לראות ירידה קיצונית בקבוע הצימוד ע"י קבוצה אלקטרונגטיבית בספקטרום שבציור 3.25. 4,3-אפוקסי-טטרהידרופוראן הוא בעל מישור סימטריה ולכן מראה רק שלושה סוגי פרוטונים: מערכת AB של הפרוטונים של המתילן a, c וסינגלט חד ב-  $\delta$  3.79 של הפרוטון המתיני b. הזווית הדיהדרלית בין b לבין c קרובה ל-  $90^\circ$  ולכן זה איננו מפתיע שלא נראה ביניהם כל צימוד. אבל הזווית הדיהדרלית בין b לבין a היא בין  $0^\circ$  ל-  $30^\circ$ , ולכן צפוי היה לראות קבוע צימוד בשיעור של 6-8 Hz לפי עקומת קרפלוס. אבל לחמצן האפוקסידי יש השפעה ניכרת מכיוון שהוא באוריינטציה anti לפרוטון a ולכן הצימוד קטן מאוד. גם המתח הזוויתי תורם להעלמותו של הצימוד.

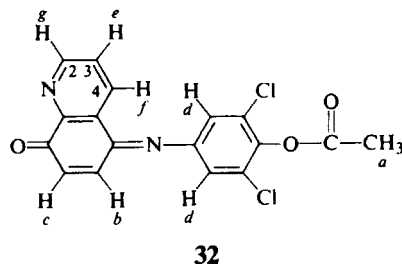
ציור 3.25



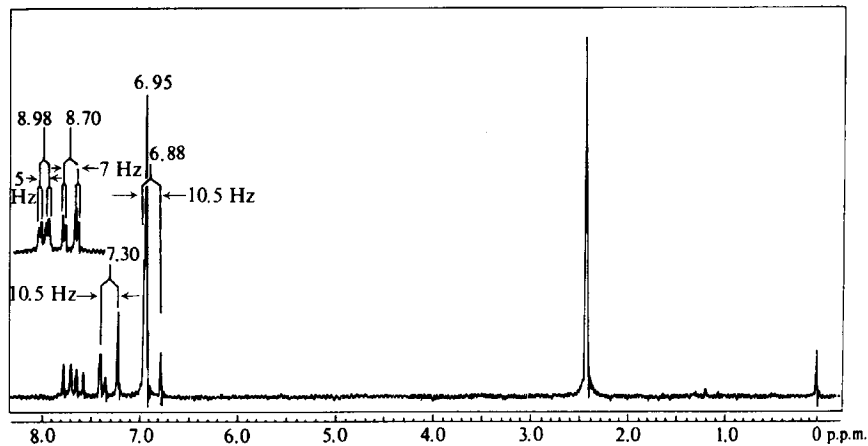
מתח זוויתי. ככל שהזוויות  $\theta$ ,  $\theta'$  גדלות ביחידה 30, כך יורד ערכו של הקבוע  $J^3$ . האפקט הזה מורגש בקבועי צימוד ציס של מימנים אולפיניים באלקנים טבעתיים 31. ככל שמשנתה גודל הטבעת משתנה ערכו של קבוע הצימוד עד כדי כך שניתן במקרים רבים לומר מהו גודלה של הטבעת המכילה את הקשר הכפול:



תלות באורך הקשר. אורך הקשר של קשרי פחמן פחמן ארומטיים הוא בעל ערך ממוצע בין קשר יחיד לקשר כפול. כתוצאה מכך, קבוע הצימוד בין מימני אורתו הוא בדרך כלל 8 Hz, כלומר די נמוך בהשוואה לצימוד של קשר כפול ציס כמו בציקלוהקסן, בו הקבוע נע בסביבות 8.8-10.5 Hz. לסיכום, חלק מהאפקטים אשר תוארו לעיל נראים בספקטרום שבציור 3.26 של החומר 32. הסינגלט של שלושה פרוטונים ב-  $\delta$  2.45 והסינגלט של שני פרוטונים ב-  $\delta$  6.95 מתאימים לפרוטונים a ו- d בהתאמה. הפרוטונים b ו- c נותנים מערכת AB כאשר הסיגנלים ממוקמים ב-  $\delta$  7.30, 6.88.



### ציור 3.26



הצימוד האולפיני הגדול של מימני ציס b, c (10.5 Hz) מעיד על כך שהקשר הזה איננו חלק ממערכת ארומטית. הפרוטון e מופיע כצמד דובלטים ( $J_{2,3} = 5$ ,  $J_{3,4} = 7$ ) הממוקם ב- $\delta$  7.68. הצימודים הללו מתאימים לצימודי הסיגנלים של הפרוטונים g ו-f. הסיגנל של  $H_g$  מופיע בשדה נמוך,  $\delta$  8.98, מכיוון שהוא סמוך לאטום חנקן בטבעת הפירידינית. גם הסיגנל של  $H_f$  מופיע בשדה נמוך,  $\delta$  8.70, מכיוון שהוא נמצא בעמדה 4 של הטבעת הפירידינית וגם עמדה זו חשופה באורח ניכר מאלקטרונים. כך, אנו יכולים לייחס את הצימוד של 5 Hz ל- $J_{eg}$  ואת קבוע הצימוד 7 Hz ל- $J_{ef}$ . שני הסיגנלים g ו-f מראים צימוד נוסף בשיעור של 2 Hz מכיוון שהפרוטונים g ו-f מצומדים ביניהם בצימוד ארוך טווח,  $J^4$ . טבלאות 3.27 ו-3.28, בנוסף לטבלאות הנוספות אשר נמצאות בהמשך הפרק מסכמות את הערכים של קבועי הצימוד הויצינליים.

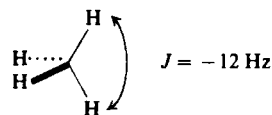
### פיצול ג' מינלי $^2J, H-C-H$

מתוך הטיפול המתמטי של הצימוד נובע כי הצימוד דרך שלושה קשרים וכן הצימוד דרך קשר אחד, למשל  $^{13}C - ^1H$ , כולם בעלי סימן חיובי. לעומתם, צימוד דרך שני קשרים הוא שלילי בסימנו. לעניין הזה אין שום השפעה על צורתו של הסיגנל אבל הוא משנה את כוון ההשפעה של שנויי מבנה על קבועי הצימוד. כמוכך שצימודים מסוג זה מופיעים רק במקרים שבהם שני הפרוטונים הקשורים לאותו אטום פחמן נכנסים לרזוננס בתדירויות שונות. בכל זאת, ניתן למדוד קבועי צימוד אפילו במולקולות כמו מתאן, ע"י הכנסה של אטום דאוטריום ומדידת קבוע הצימוד הג'מינלי בין H ל-D. הערך המתקבל ניתן לתרגום לערכים של צימוד H-H לפי הנוסחה:

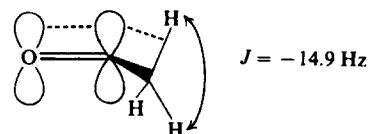
$$J_{HH} = 6.55 J_{HD}$$

נוסחה זאת נכונה לכל צימוד שהוא, לאו דוקא ג'מינלי.

סמיכות לקשרי  $\pi$ . קבוע הצימוד  $^2J$  עבור פחמימנים פשוטים כמו מתאן (33) הוא -12 Hz. כאשר הקשר C-H יכול להכנס לחפיפה חלקית עם קשרי  $\pi$  סמוכים כמו ב-34, אזי קבוע הצימוד יותר שלילי, כלומר הוא גדול יותר בערכו המוחלט. האפקט הזה עוד יותר גדול כאשר קיימת סמיכות לקשרי  $\pi$  של קבוצה קרבונלית, בהשוואה למקרים של קשר כפול C=C. לכן באצטון קבוע הצימוד הג'מינלי הוא -14.9 ובטולואן הוא -14.3.



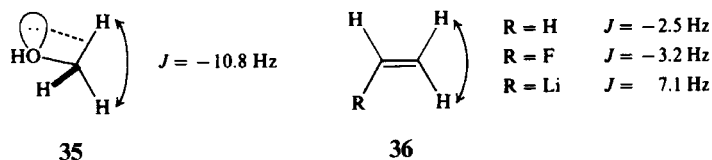
33



34

קבוצת המתיל באצטון מסתובבת באופן חופשי והערך הנמדד של קבוע הצימוד, 14.9 Hz, הוא ערך ממוצע של הצימודים הג'מינליים בכל הקונפורמציות שבהן יכולים המימנים להמצא. במערכות קשיחות, שבהן קונפורמציה אחת מועדפת באופן ניכר ובה קיימת חפיפה בין קשר  $\theta$  לבין מערכת ה- $\pi$ , יכול קבוע הצימוד להגיע לערכים של -18 Hz - -16 Hz. במקרה שבו קיימת היפרקוניוגציה לשתי מערכות  $\pi$  משני צדי המתילן, יכול קבוע הצימוד להגיע ל-20 Hz ואף מעבר לזה.

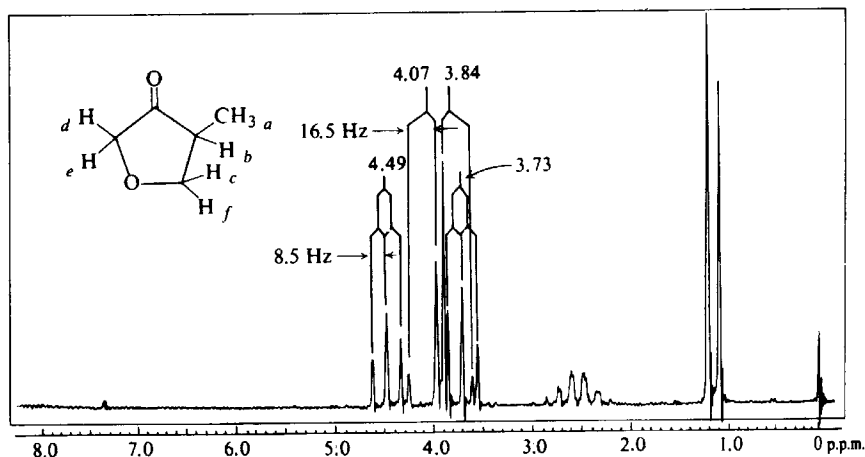
סמיכות ליסוד אלקטרוניטיבי. בניגוד לקשרי  $\pi$  אשר הם מושכי אלקטרונים יעילים, יסוד אלקטרוניטיבי הסמוך לקבוצה מתילנית, הוא תורם אלקטרונים יעיל מסוג  $\pi$  ביחס לקשר C-H, כלומר תורם אלקטרונים לאורביטל  $\sigma^*$ , שהוא אנטי קושר, 35. קבוע הצימוד יהיה עקב כך יותר חיובי, כלומר קטן יותר בערכו המוחלט. לגבי קשרי  $\sigma$  קיים אותו אפקט כמו לגבי  $^3J$ , כלומר אטום אלקטרוניטיבי גורם לערכים יותר שליליים של  $^2J$  ואילו אטום אלקטרופוזיטיבי גורם לערכים יותר חיוביים של  $^2J$ , כפי שהדבר בא לידי ביטוי ב- 36:



מתח זוייתי. עליה בגודל הזוית H-C-H, גורמת לערכים יותר חיוביים של  $^2J$ , כלומר ערך מוחלט קטן יותר. האפקט הזה מורגש בקבוצה המתילנית של 36, אשר בו הזוית מגיעה לערך קרוב ל-  $120^\circ$  ולכן קבוע הצימוד שלה קרוב לאפס. קבוע הצימוד הזה תלוי מאוד באופי המתמרים על הצד השני של מערכת ה-  $\pi$ . אטומים אלקטרוניטיביים כמו פלואור גורמים לקבוע להיות יותר שלילי ואילו יסוד אלקטרופוזיטיבי כמו ליתיום גורם לקבוע הצימוד להיות חיובי יותר באופן ניכר. האפקט של הזוית H-C-H נראה גם בתחום של  $^2J$  בציקלואלקאנים (טבלה 3.26).

הספקטרום של 2-מתיל-4-אוקסאציקלופנטאנון (ציור 3.27) מראה צימוד ג'מינלי בין הפרוטונים d ו- e. הפרוטונים הללו אינם מצומדים לשום גרעין אחר ולכן מופיעים כתבנית פשוטה של מערכת AB ב- 3.84 ו- 4.07. הצימוד הגדול (16.5 Hz) מתאים לכך שהמתילן סמוך למערכת  $\pi$  של קבוצה קרבונילית בגיאומטריה המאפשרת חפיפה יעילה בין האורביטלים  $\sigma$  ו-  $\pi$ . הפרוטונים c ו- f מצומדים זה לזה אבל בנוסף לכך מצומדים גם לפרוטון b. כפי שנראה מהספקטרום, כל שלושת קבועי הצימוד כמעט שווים בערכם המוחלט:  $^2J_{cf} = ^3J_{bc} = ^3J_{bf} = |8.5 \text{ Hz}|$  ולכן גם הסיגנל של  $H_c$  וגם זה של  $H_f$  מופיעים כטריפלטים ב-  $\delta$  3.73 ו-  $\delta$  4.49.

ציור 3.27



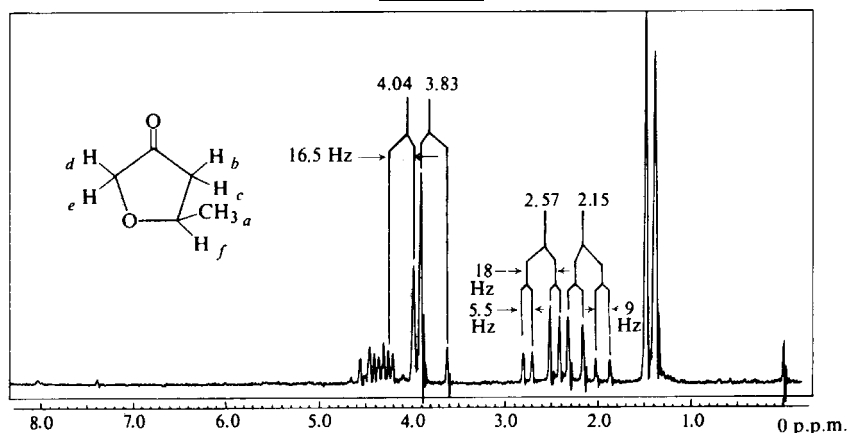
הערך הנמוך יחסית של הצימוד הג'מינלי נובע מכך שהמתילן קרוב לאטום הנושא זוג אלקטרונים חופשי וקיימת חפיפה יעילה בין אורביטלי  $\sigma$  ו-  $\pi$ . השוויון בין קבועי הצימוד ציס וטרנס הוא די נפוץ בטבעות מחומשות. קשה להשתמש בקבועי פיצול בטבעות מחומשות כדי לקבוע את הסטיריאוכימיה, באופן דומה למצב הברור יותר אשר קיים בטבעות משושות. הפרוטון b הוא טריפלט עקב הצימוד שלו לפרוטונים c ו- f אבל הוא מצומד גם לקבוצת המתיל a עם קבוע צימוד קרוב ל- 8.5 Hz. התוצאה מכך היא שהסיגנל של  $H_b$  ב-  $\delta$  2.55 נראה בקירוב כסקסטט ביחסי עצמות 1:5:10:10:5:1. אבל הפיצולים העדינים יותר של המבנה הזה מעידים על כך ששלושת קבועי הצימוד אינם בדיוק שווים ל- 8.5 Hz. הקבוצה המתילית מופיעה כצפוי כדובלט ב- 1.17 ppm.

הספקטרום של האיזומר של החומר הנ"ל, 3-מתיל-4-אוקסאציקלופנטאנון (ציור 3.28) מראה גם הוא מערכת AB, הנובעת מהפרוטונים d ו- e, ב- 3.83 ו- 4.04 עם קבוע צימוד גדול של 16.5 Hz. הפרוטונים b ו- c נכנסים לרזוננס ב- 2.15 ו- 2.57. מכיוון שהם סמוכים לקבוצה קרבונילית, קבוע הצימוד ביניהם גדול יותר ומגיע ל- 18 Hz, זאת מכיוון שבניגוד למתילן של e ושל d, הם אינם סמוכים לאטום המצן. קבועי הצימוד האחרים  $J_{cf}$  ו-  $J_{bf}$  הם שונים זה מזה (5.5 ו- 9 Hz בהתאמה), דבר הגורם לסיגנלים של פרוטון b ו- c להיות צמדי דובלטים. במלים אחרות, זוהי התבנית הרגילה בת 8 קוים של החלק AB מתוך מערכת ABX. הפרוטון f, המצומד לקבוצה המתילית a עם  $J_{af} = 6 \text{ Hz}$ , מצומד עם



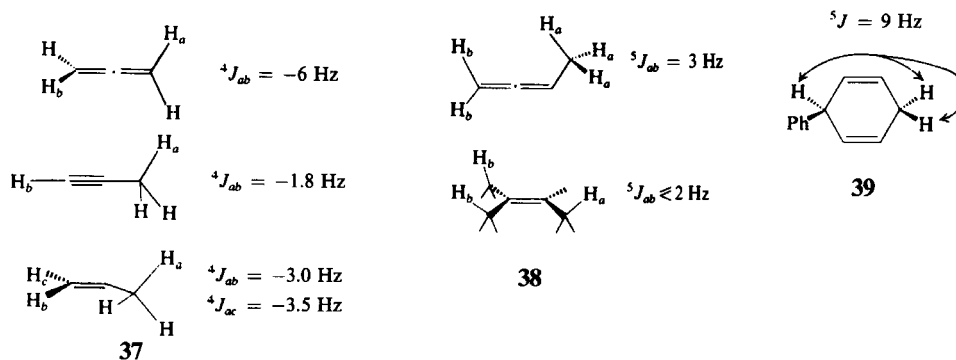
קבועים קרובים ל-6 Hz עם ארבעה פרוטונים וקבוע אחד גדול יותר (9 Hz) עם הפרוטון החמישי. התוצאה היא קווינטט כפול, כלומר מבנה של 10 קוים אשר מופיע ב- $\delta$  4.35 (מלבד הקו השמיני אשר חבוי מתחת לקו בשדה הנמוך של מערכת AB של הפרוטונים d ו-e).

ציור 3.28

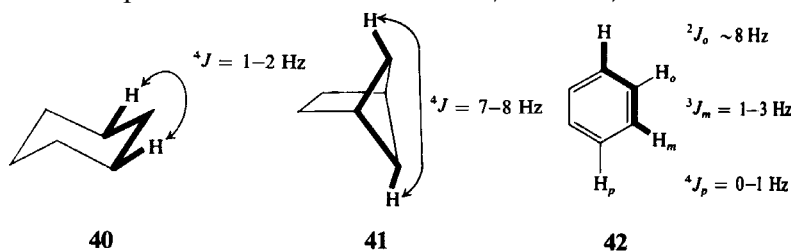


צימוד ארוך טווח.

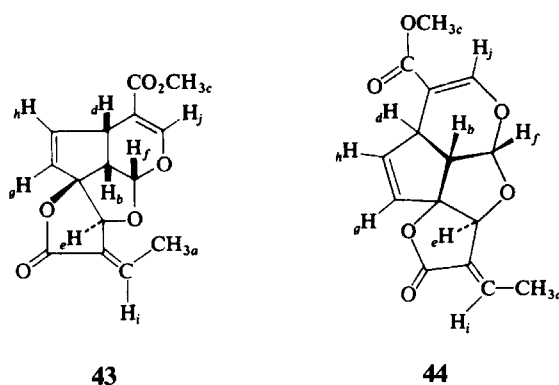
צימוד אלילי והומואלילי. צימוד דרך ארבעה קשרים או יותר נקרא לרוב צימוד ארוך טווח. קבועי הצימוד הם באופן טבעי קטנים יותר, ולעיתים נדירות הם חורגים מהתחום של 0-3 Hz. הערכים הגבוהים של קבועי הצימוד  $^4J$  (2-3 Hz) מתקבלים כאשר אחד מארבעת הקשרים הוא קשר כפול. צימוד אלילי הוא גדול במיוחד כאשר הקשר C-H האלילי יכול ליצור חפיפה עם מערכת ה- $\pi$  של הקשר הכפול, כמו במערכות המכילות קבוצה אלנית, פרופרגילית ואלילית (37). ההבדלים בין קבועי צימוד ציסואידי לבין זה של צימוד טראנסואידי הם לפעמים שימושיים מאוד בקביעת הגיאומטריה אבל יש להתייחס אליהם בזהירות. צימודים הומואליליים ניתנים בדרך כלל למדידה ( $^5J = 1-2$  Hz) אבל זאת רק כאשר הקשר האלילי C-H חופף לקשר  $\pi$  של האולפין, כמו במקרה של אלן ושל אליל בעל המבנה החלקי 38. כאשר החפיפה של האורביטלים מועדפת באופן מיוחד, הצימוד ארוך הטווח יכול להגיע לערכים גבוהים באופן יוצא מהכלל, כמו במקרה של 1,4-ציקלוהקסאדיאן (39)



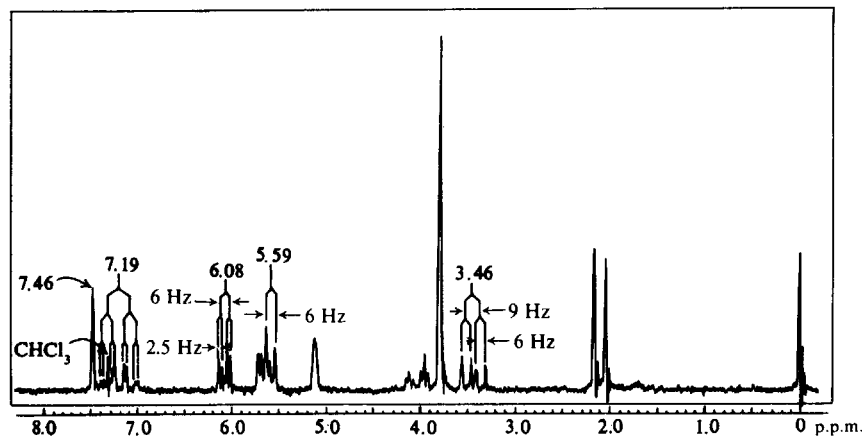
צימוד W. גם במערכות רוויות ניתן לעתים לראות צימוד דרך 4 קשרים עקב חפיפה של אורביטלים. ענין זה יעיל במיוחד כאשר ארבעת הקשרים נמצאים בסידור W כפי שמופיע למשל במקרה של הפרוטונים 3,1 דיאקווריאליים בציקלוהקסאן הקשיח 40. שוב יכולים להתקבל ערכים גבוהים באופן יוצא מן הכלל כאשר ישנה חפיפה אופטימלית בין קשרי  $\sigma$  כמו בחומר 41. צימוד W נמצא גם במערכות בלתי רוויות כמו במקרה הנפוץ של צימוד meta בטבעות בנזניות, למשל בחומר 42. לעומת זאת הצימוד דרך חמישה קשרים של פרוטונים בעמדות para איננו תמיד נראה.



הספקטרום של **43**, Plumericin (ציור 3.29) מראה צימודים אליליים טיפוסיים. פענוח הספקטרום הזה, שהוא כבר מורכב למדי, מהווה סיכום למה שנאמר בדיון על קבועי צימוד. ראוי לציין שבמהלך ייחוס הסיגנלים לפרוטונים השונים, ההיסטים הכימיים שלהם נופלים בתחומים הצפויים. ניתן להשתמש בטבלאות המתאימות שבסוף הפרק. רצוי להתחיל בייחוס של הסיגנלים הברורים והקלים ביותר לזיהוי. הסינגלט ב- $\delta$  3.79 שייך לקבוצת המתוקסי c והדובלט ב- $\delta$  2.11 שייך לקבוצת המתיל a. הפרוטון f אשר נמצא בסמיכות לשני אטומי חמצן צריך להופיע בשדה נמוך. זהו הדובלט ב- $\delta$  5.59. קבוע הצימוד  $J_{bf} = 6 \text{ Hz}$  מתאים לזווית דיהדרלית קטנה, קצת מעל  $0^\circ$ . הפרוטון b מצומד לא רק לפרוטון f אלא גם לפרוטון d. כדי למצוא את הפרוטון b יש לחפש דובלט של דובלטים באזור המתאים למתין הקרוב אבל לא שכן ליסודות אלקטרוניטיביים וכן לקשר כפול. זהו הסינגל ב- $\delta$  3.46, אשר לו קבוע צימוד אחד של  $6 \text{ Hz}$ , המתאים לפרוטון f וקבוע צימוד גדול יותר של  $9 \text{ Hz}$ , המתאים לזווית דיהדרלית בין  $H_b$  ל- $H_d$ , שהיא הקרובה מאוד ל- $0^\circ$ . ניתן לציין כי קבוע צימוד של  $9 \text{ Hz}$  "מצביע" לכוון השדה הנמוך אבל הצימוד הקטן יותר של  $6 \text{ Hz}$  איננו מצביע באופן משמעותי, דבר המעיד על כך שזהו צימוד לפרוטון אשר נכנס לרזוננס בתדירות רחוקה מאוד מתדירותו של הפרוטון b. הסינגל ב- $\delta$  5.59 של הפרוטון f עלול להטעות מכיוון שהוא מצביע כביכול על בן זוג הנמצא בשדה נמוך. דבר זה נובע מכך שהקו השמאלי שלו מונח על סינגל אחר ולכן הוא נראה גבוה יותר מהקו הימני למרות ששניהם שווים למעשה בעצמתם.



ציור 3.29



נחפש את הסינגל אשר מתאים לקבוע הצימוד של  $9 \text{ Hz}$ , מתוך ידיעה שהוא צריך להמצא שמאלה וקרוב לסינגל של  $H_b$ . הוא צריך להמצא קרוב לא רק עקב העובדה שסינגל  $H_b$  "מצביע" עליו אלא גם בגלל העובדה ש- $H_d$  הוא אלילי פעמיים ולכן עשוי להמצא בתחום  $\delta$  3.5-4.5. בתחום הזה אנו מוצאים סינגל ב- $\delta$  4.0 בצורת דובלט של טריפלט עם קבוע צימוד אחד של  $9 \text{ Hz}$ , המצביע חזק לכוון השדה הגבוה. נראה כי הפרוטון d מצומד לפרוטונים h ו-g עם קבועים דומים מאוד ( $2.5 \text{ Hz}$ ), למרות העובדה כי אחד מהם הוא  $^3J$  והשני הוא צימוד אלילי -  $^4J$ . מכיוון שהזווית הדיהדרלית בין  $H_d$  לבין  $H_h$  קרובה ל- $90^\circ$  מתקבל ערך מינימלי של  $^3J$  וערך מקסימלי של הצימוד האלילי לפרוטון g. הפרוטונים g ו-h עצמם מופיעים באיזור האולפניני ב- $\delta$  5.67 ו- $\delta$  6.08 (לא בהכרח בסדר הזה). האחרון מופרד באופן ברור לדובלט של דובלטים עם  $J_{gh} = 6 \text{ Hz}$  כפי שצפוי עבור אולפין בטבעת מחומשת. בניגוד לכך, הפרוטון j, הוא בעל ההיסט הכימי הנמוך ביותר בספקטרום. עקב אפקט החשיפה של הקבוצה האסטרית בעמדה  $\beta$  כלפיו, הוא מופיע כסינגלט חד ב- $\delta$  7.46. מסתבר כי הפיצול האלילי שלו עם הפרוטון d הוא קטן מכדי להראות בספקטרום, כנראה מכיוון שהקשר C- $H_d$  נמצא בזווית אשר איננה מאפשרת חפיפה יעילה עם מערכת ה- $\pi$  של הקשר הכפול בטבעת המשושה.

המערכת האליילית הנותרת מראה צימוד אליילי. הפרוטון האולפיני i מופיע כקוורטט ברור ב- 7.19 עם צימוד גדול לקבוצת המתיל (7 Hz) וצימוד קטן (1.5 Hz) לפרוטון האליילי e. הפרוטון e עצמו מופיע כסינגלט ב- 5.1 δ. קשה לראות את הפיצול בסינגל הזה, אבל ניתן להניח במידה רבה של בטחון כי הגורם להרחבתו של הסינגל הזה הוא צימוד ארוך טווח. תופעה זאת נפוצה במבנים קשיחים מרובי טבעות.

### 3.10 הרחבת קוים ושחלופים סביבתיים

אפילו בהעדר צימודים של ספינים שכנים, מספר קוים בספקטרום ה-NMR מופיעים כרחבים מהצפוי ויש לכך מספר סיבות עיקריות: רלקסציה יעילה ושחלוף סביבתי.

*רלקסציה יעילה.*

הרלקסציה מעודדת ע"י שינויים מקומיים בשדה המגנטי. ראינו כבר קודם (3.4) כיצד הספיין הבלתי מזווג של מלחים פארה-מגנטיים יכול לגרום לרלקסציה מהירה יותר, דבר הגורם להגברת עוצמתם של סיגנלים בספקטרום  $^{13}\text{C}$ , אשר באופן נורמלי עוברים רלקסציה איטית מאוד. אבל, אם האטום כבר עובר רלקסציה מהירה, מצב הקיים לגבי רוב הפרוטונים, האפקט של רלקסציה מוגברת מתבטא בהרחבתו של הקו המתאים. זוהי תוצאה ישירה של עקרון אי הוודאות של Heisenberg: אם למצב מסוים יש זמן חיים ממוצע  $\tau_m$ , אזי אי הוודאות באנרגיה שלו נתונה ע"י:

$$\Delta E = h/2\pi\tau_m$$

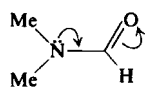
מכאן, ככל ש-  $\tau_m$  קטן יותר, כך נעשה  $\Delta E$  גדול יותר ועקב כך נעשה קו הבליעה רחב יותר. הרלקסציה יכולה להיות מואצת גם ע"י אינטרקציה עם מומנט גרעיני קוודרפולי כמו זה של  $^{14}\text{N}$ . לכן הרזוננסים של פרוטונים הקשורים ישירות לחנקן מופיעים כרחבים יותר.

*שחלוף סביבתי.*

ראינו כבר כי הסינגל השייך לפרוטון הידרוכסילי מופיע בדרך כלל בצורת קו אחד, למרות שהוא יכול להיות במספר סביבות מגנטיות במדיום הנתון. דבר זה מתרחש כאשר קבוע הקצב של השחלוף מסביבה אחת לסביבה אחרת הוא גדול יותר מההבדל בתדירויות הרזוננס של הפרוטון בסביבות השונות. לכן, במצב קיצוני אחד, אם קצב השחלוף איטי מאוד, הפרוטון יופיע בצורת שני קוים נפרדים. במצב קיצוני אחר, כאשר הקצב מהיר מאוד, יופיע הפרוטון בצורת קו ממוצע אחד. בתחום הביניים שבין שני המצבים הללו, כאשר קבוע הקצב של השחלוף דומה בגודלו להבדל התדירויות, נראה קוים מורחבים. ניתן לעקוב אחר התופעה הזאת כאשר משנים בהדרגה את הטמפרטורה. נתחיל בטמפרטורה נמוכה, במצב של שני קוים נפרדים, המתאימים לפרוטונים המתחלפים בין שתי סביבות מגנטיות באופן איטי. כעת נעלה את הטמפרטורה ונעקוב אחרי השינויים בספקטרום. בתחילה נראה כי שני הקוים מתחילים להתרחב (ציור 3.30a) ולאחר מכן מתחברים למבנה רחב ושטוח (3.30b,c,d) ולבסוף נוצר קו אחד אשר הולך ומתחדד עם עליית הטמפרטורה (3.30e,f). בסופו של דבר מתקבל קו צר אחד. כאשר שתי הסביבות מאוכלסות במידה שווה, כמו במקרה שלפנינו, קבוע הקצב  $k$  (sec<sup>-1</sup>) לשחלוף בנקודת ה-Coalescence (3.30d) נתון ע"י:

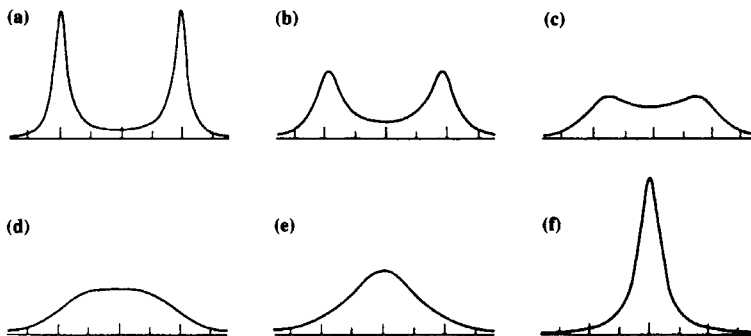
$$k = \pi\Delta\nu/(2)^{0.5}$$

כאשר  $\Delta\nu$  הוא הבדל התדירויות של המצב ההתחלתי, בו מזהים שני קוים חדים. ברור מכאן כי ספקטרוסקופית NMR יכולה לשמש למדידת קבועי קצב של תהליכים אשר מתרחשים בתחום מהירויות מסוים, תחום אשר נקרא לעתים בשם שקלת הזמן של NMR (NMR time scale).



45

ציור 3.30



למשל, ספקטרום ה-NMR של דימתיל פורמאמיד (45) אשר נלקח בטמפרטורת החדר מראה שני קוים חדים עבור שתי קבוצות המתיל ב- 2.84 ו- 3.0 δ. זאת מכיוון שקיים קשר π חלקי בין אטום החנקן לבין הפחמן הקרבונילי, דבר אשר גורם להאטת הסבוב החופשי סביב הקשר הזה. בחימום, שני הקוים הללו מתרחבים ומתאחדים כמו בציר 3.30. במכשיר 60 MHz נמדדה נקודת ה-Coalescence בטמפי של 337 °K. מכאן ניתן לחשב את האנרגיה החופשית של האקטיבציה לתהליך הסיבוב סביב הקשר C-N:

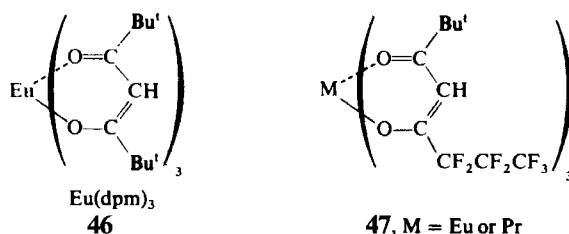
$$\Delta G = RT_c[23 + \ln(T_c/\Delta\nu)] = 8.3 \cdot 10^{-3} T_c [23 + 2.3 \log_{10}(T_c/\Delta\nu)] \text{ kJ/mol}$$

### 3.11 שיפור ספקטרום ה-N.M.R.

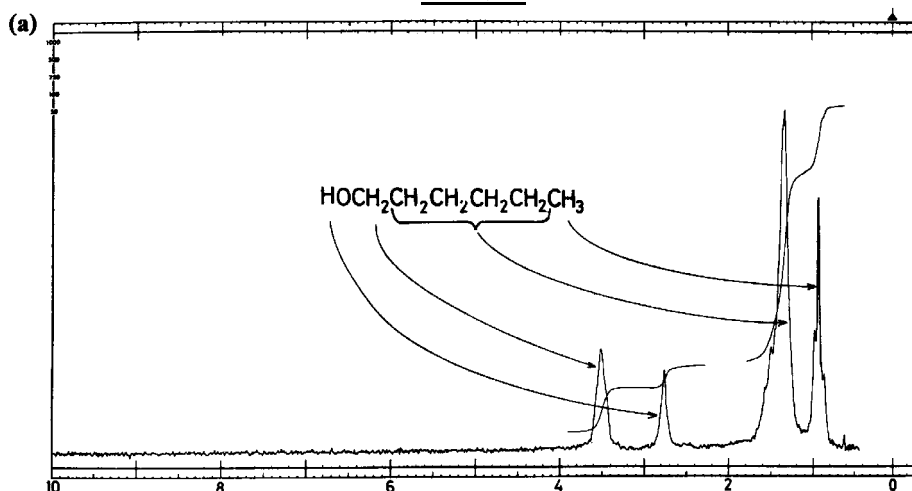
במקרים רבים, בעיקר במולקולות גדולות, סיגנלים רבים מופיעים באותו איזור וחופפים זה את זה. תופעה זאת הופכת לבעיה חמורה כאשר מספר הסיגנלים החופפים גדול ואז אינפורמציה רבת ערך קבורה בתוך ערימה בלתי ניתנת לזיהוי ולפענוח. למשל, כאשר המולקולה מכילה מספר קבוצות מתילניות, מתקבל סיגנל רחב בעצמה רבה ולמעשה הוא בלתי ניתן לפענוח. הסיגנל הזה מופיע תמיד בין 1 ל- 2 ppm ונקרא הסיגנל המתילני. ישנם מספר פתרונות פשוטים לבעיה הזאת. פתרונות מורכבים יותר יטופלו בהמשך הפרק.

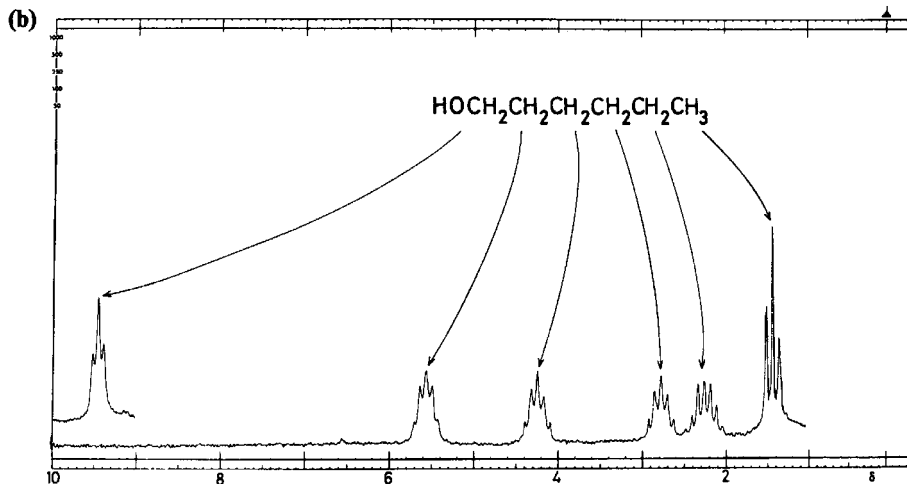
#### Shift Reagents

ספקטרום NMR של n-הכסאנול כפי שנמדד במכשיר 100 MHz, נתון בציר 3.31a. הקבוצה המתילית מופיעה בנפרד בשדה גבוה כטריפלט מעוות וגם קבוצת המתילן בסמוך לקבוצת ההידרוכסיל מופיעה בנפרד בשדה נמוך כמולטיפלט רחב שהוא, ככל הנראה, איננו מסדר ראשון. כל שאר המימנים הקשורים לאטומי פחמן מופיעים בערימה גדולה אחת בין 1.2 ל- 1.8 δ. הוספה של מגיב היסט (Shift Reagent) משנה את התמונה הזאת באופן דרמטי. מגיבי היסט אלו הם בדרך כלל קומפלקס מסוג β-דיקרבוניל של אחת המתכות הנדירות. המגיבים המקובלים ביותר הם Eu(dpm)<sub>3</sub> (46), Eu(fod)<sub>3</sub> (47) ו- Pr(fod)<sub>3</sub> (48). קומפלקסים אלו הם חומצות לואיס חלשות, אשר נקשרות לאתר בסיסי במולקולה, כמו הידרוכסיל וקרבוניל וקרבוניל. בנוסף לכך הם פארה מגנטיים ולכן גורמים לשינוי גדול מאוד בשדה המגנטי המקומי שבסביבתם המיידית. התוצאה היא תזוזה משמעותית בהיסט הכימי של הפרוטונים שבסביבתו הקרובה של האתר הבסיסי במולקולה. במקרה של קומפלקסים של Eu, ההיסט הזה בכיוון של השדה הנמוך ואילו בנוכחות קומפלקס פריזאודיניום (Pr) ההיסט הוא בכיוון השדה הגבוה. כך, הספקטרום של n-הכסאנול אשר נמדד כאשר Eu(dpm)<sub>3</sub> הוסף לתמיסה, נפרש ונעשה ברור וקל לפיענוח (ציר 3.31b).



ציר 3.31

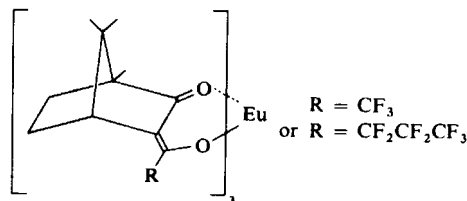




עצמתו של ההיסט יורדת ביחס של  $1/r^3$  כאשר  $r$  זהו המרחק בין הפרוטון לאטום המתכת, זאת בשינויים קלים אשר נובעים מזוויות הקשר. אין צורך להשתמש בכמויות אקווימולריות של הריאגנט. למשל, לצורך מדידת הספקטרום שמופיע בציור 3.31b השתמשו רק ב-0.29 אקוויולנטים. ברור כי מלח הלואיס נוצר ומתפרק בשווי משקל מהיר בסקלת הזמן של ה-NMR. לכן הסיגנלים שמופיעים הם ממוצע משוקלל של הסיגנלים הנובעים מהפרוטונים של המולקולה במצבה החופשי ובמצבה הקשור למתכת. התשלום אשר עלינו לשלם עבור נוכחותו של מלח פרה-מגנטי בתמיסה הוא ההרחבה של כל הסיגנלים. למרבה המזל, עדיין ניתן לראות בבירור את צורתם וה-multiplicity של כל הסיגנלים.

ניתן להוסיף בהדרגה כמויות גדולות והולכות של ה-Shift Reagent ואז לצייר את ההיסט כנגד הכמות של הריאגנט. טבלה 3.32 מראה את מידת ההיסט של קבוצה מתילנית הסמוכה לקבוצות פונקציונליות מסוימות, כפי שנגרמה ע"י  $\text{Eu}(\text{dpm})_3$ . ההיסט הזה מהווה למעשה מדד לבסיסיות לואיס של הקבוצה הפונקציונלית. זהו גם מדריך שימושי לניחוש המיקום המועדף של הקומפלקסציה במולקולה שבה קבוצות פונקציונליות רבות, כאשר הקבוצות הבסיסיות מתחרות ביניהן על הקישור למגיב ההיסט. גרפים מעין אלה, אשר מבוצעים עבור כל אחד מסוגי הפרוטונים במולקולה, נותנים הערכה לגבי המרחק של פרוטון מסוים מאתר הקומפלקסציה, הערכה אשר יכולה להיות שימושית לצורך קביעת המבנה המולקולרי.

אחד הישומים השימושיים ביותר של מגיבי ההיסט, הוא במדידת היחסים שבין צורות R ו-S של תערובת אננטיומרים. הדרך המסורתית מבוססת על מדידת הסיבוב האופטי של אור מקוטב, טכניקה המועדת לטעויות, בעיקר כאשר קיימים זיהומים אשר יכולים לגרום לסיבוב משמעותי של האור. יתר על כן, השיטה הזאת יכולה להיות בשימוש רק כאשר יודעים מראש את גדלו של הסיבוב האופטי אשר נגרם ע"י אחד האננטיומרים במצבו הטהור. אם למולקולה הכירלית יש אתר בסיסי ואם מגיב ההיסט הוא חומר פעיל אופטית ומופיע כאננטיומר טהור, למשל כמו החומר 48, אזי לשני האננטיומרים הנבדקים ישנם קבועי קישור שונים במקצת וקונפורמציות קישור שונות במקצת. כתוצאה מכך, מוסטים הסיגנלים שלהם במידה שונה. אם הסיגנלים המתאימים נפרדים במידה מספקת, ניתן למדוד את שטחם באינטגרציה ולקבל באופן אמין (אם כי לא מדויק מאוד) את היחס שבין ריכוזיהם של שני האננטיומרים בתמיסה.

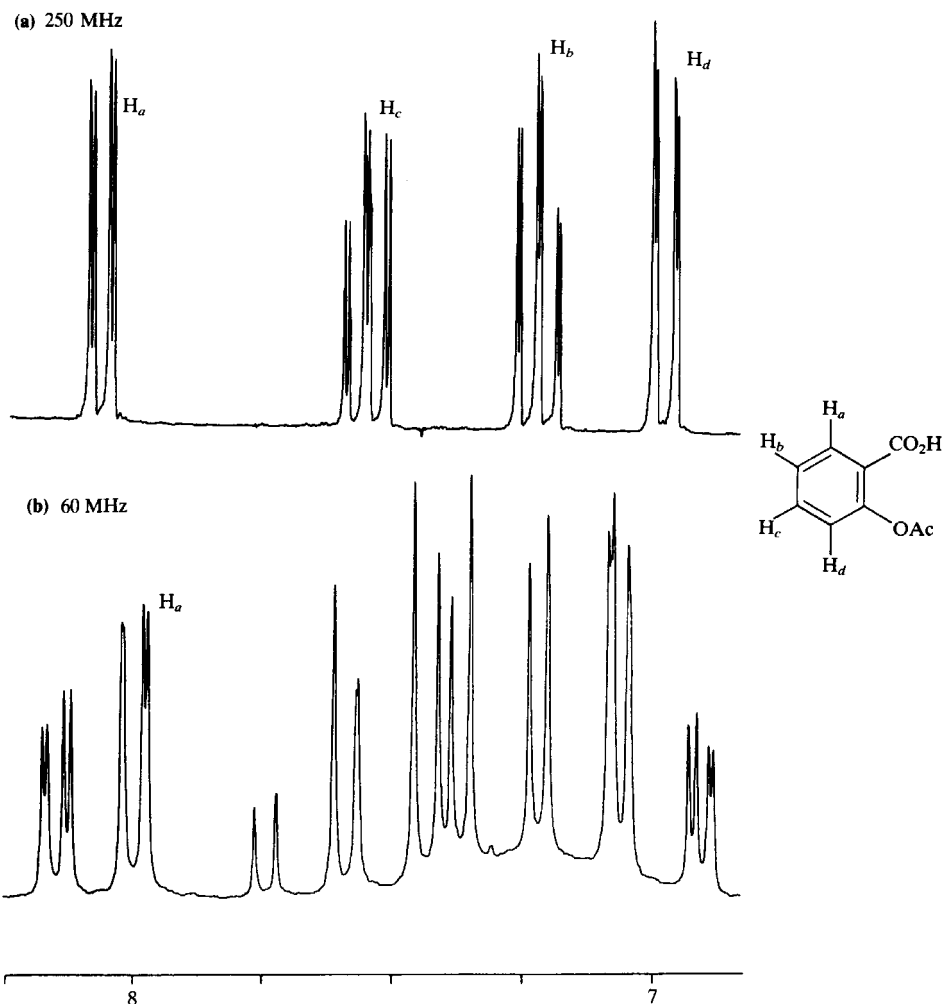


48

האפקט של שינוי השדה המגנטי.

מכשירי NMR מסחריים קיימים במגוון של שדות מגנטיים כמו למשל: 360, 300, 270, 250, 200, 100, 90, 80, 60, 900 MHz ו-750, 600, 500, 400 MHz. כאשר הם מזוהים בשם לפי תדירויות הרזוננס של הפרוטונים. למכשירים בעלי השדות הגבוהים ישנם מספר יתרונות בסיסיים אשר מכניסים אותם לשימוש כללי, למרות מחירם הגבוה. תדירות הרזוננס משתנה כאשר השדה משתנה אבל ההיסט הכימי נשאר קבוע. משמעות הדבר היא שהפרדה למשל בין שני סיגנלים ב- $\delta = 2$  ו- $\delta = 3$  היא 60 Hz במכשיר 60 MHz אבל היא 250 Hz במכשיר של 250 MHz. קבועי הצימוד אינם משתנים כאשר משנים את השדה המגנטי אבל הופעתם בספקטרום משתנה. למשל דובלט בעל קבוע צימוד של 18 Hz תופס 30% מהתחום שבין שני ערכי  $\delta$  עוקבים בספקטרום אשר נלקח במכשיר 60 MHz, אבל במכשיר של 250 MHz הוא תופס רק 7.2% מהתחום הנ"ל. משמעות הדבר היא שמולטיפלטים אשר חופפים זה את זה באופן חלקי,

בספקטרום שנלקח במכשיר בעל שדה נמוך, יופיעו כסיגנלים נפרדים, כאשר הספקטרום נמדד במכשיר בעל שדה גבוה, ואז הפיצולים הם הרבה יותר צרים. לכן, ספקטרה אשר נמדדו על מכשירים בעלי שדות גבוהים, יהיו מתאימים יותר לקירוב מסדר ראשון והסיגנלים יהיו ברורים יותר וקלים לפענוח. האפקט הזה יכול לעתים להיות דרמטי, כפי שזה נראה בספקטרום של אספירין (ציור 3.32). ציור 3.32b מראה את האיזור הארומטי כפי שנמדד במכשיר 60 MHz. כל ארבעת הפרוטונים מצומדים זה לזה ויוצרים ספקטרום בלתי ניתן לפענוח, מלבד הסיגנל של  $H_a$ , בקירוב מסדר ראשון. בציור 3.32a ניתן לראות אותו החלק של הספקטרום, אשר נלקח על מכשיר 250 MHz ובו קל מאוד לזהות את הסיגנלים ולפענח את הקשר ביניהם.



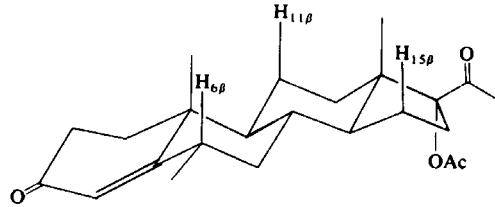
יתרון נוסף של השימוש במכשירים בעלי שדה גבוה הוא הרגישות הגבוהה יותר שלהם. זאת מכיוון שככל שהשדה גבוה יותר קיים הבדל גדול יותר בין אוכלוסיית הפרוטונים בשני מצבי הספין  $N_\alpha$  ו- $N_\beta$ . יתרון שלישי הוא השינוי בסקלת הזמן של ה-NMR ומכאן הרחבת תחום התהליכים הדינמיים, אותם ניתן לחקור באמצעות ספקטרוסקופית NMR.

### 3.12 ניסויים רבי-פולסים - שיטות חדשות בספקטרוסקופית FT - NMR

טכניקת הפולס וזמן האיסוף (acquisition) הנמצאת בשימוש בספקטרוסקופית FT מאפשרת ביצוע מספר רב של ניסויים אשר אינם ניתנים לביצוע במכשירים הישנים מסוג CW. ניתן לשדר פולס שני ושלישי על אותו ציר או על ציר שונה, ניתן לחכות פרקי זמן שונים בין הפולסים וניתן ליצור פולסים של  $\pi/4$  של  $\pi$  או של כל זווית אחרת, כולל  $\pi/2$  אשר הודגם בציור 3.2. במסגרת הקורס הזה לא ניתן לתאר את מגוון האפשרויות של מעקובת הפולסים (pulse sequence) ולא את ההשפעה שלהם על על מגנט גרעיני בתנועת פרסציה. במסגרת הנוכחית נתייחס רק לתוצאות של הניסויים הללו, נראה דוגמאות ונעסוק באותן שיטות, שהן הנפוצות והמקובלות ביותר, על מנת שנוכל להפיק מהן את מירב התועלת המעשית. כל השיטות המתוארות בהמשך אינן ניסויים שגרתיים וכדי לבצעם יש צורך במידה רבה יותר של זמן מכשיר וזמן מחשב, בהשוואה לספקטרה רגילים.

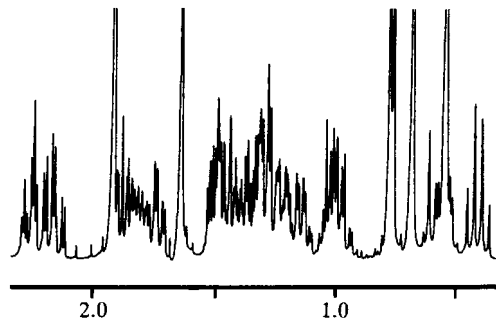
### 3.13 הפרדה בין ההיסט הכימי לבין פיצולי הצימוד על גבי צירים שונים

ספקטרום NMR המקובל נקרא ספקטרום חד-מימדי מכיוון שיש לו רק ציר תדירות אחד. גם ההיסט הכימי וגם הצימוד, שניהם מוצגים על אותו ציר, כאשר עצמות הסיגנלים מתוארות במימד השני. במולקולות גדולות יותר, יכול הדבר הזה לגרום לספקטרום להיות מסובך ביותר, מכיוון שקיימים בו מולטיפלטים רבים, אשר נמצאים בחפיפה חלקית, מבלי שניתן לפתור את הבעיה באמצעות מגיבי היסט או באמצעות מכשיר רב עצמה. לדוגמה, בציור 3.33 ניתן לראות את תחום השדה הגבוה של ספקטרום אשר נמדד במכשיר 400 MHz של החומר 6-מתילפרוגסטרון (49). החומר הזה מכיל 24 סוגים שונים של פרוטונים, רובם מופיעים באיזור המתילני.



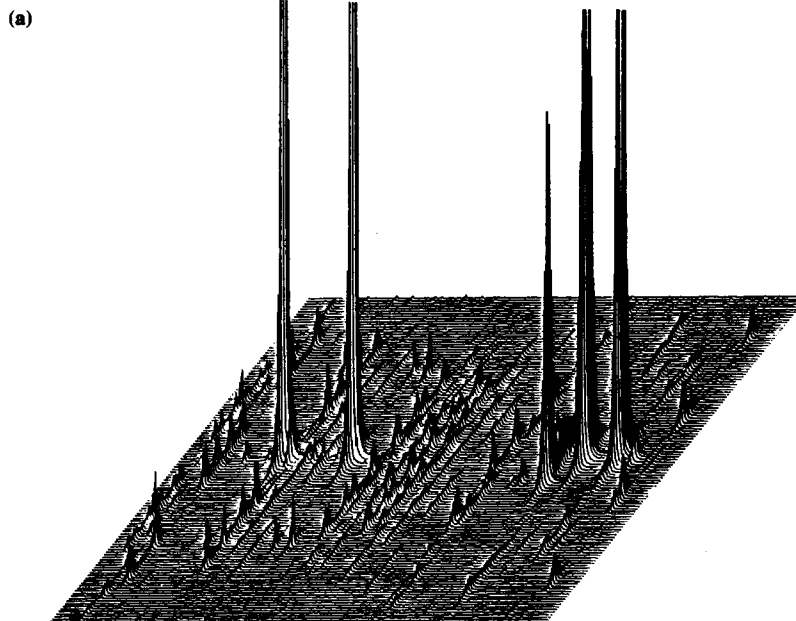
49

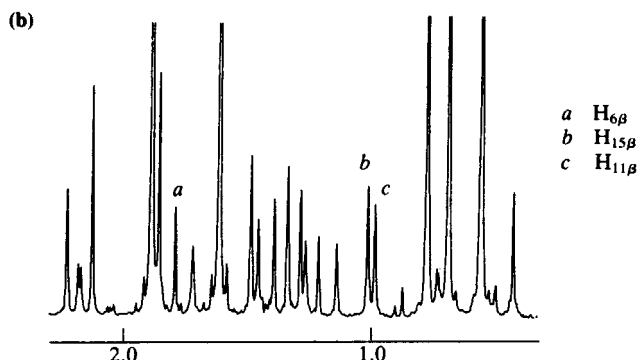
ציור 3.33



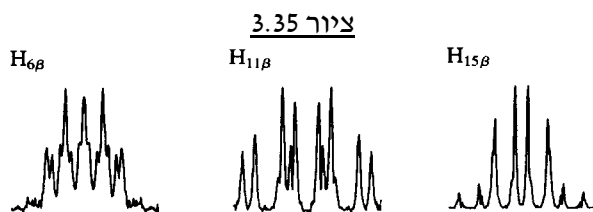
ע"י שימוש בטכניקה מיוחדת של pulse sequence, ניתן לאסוף אינפורמציה ולהציגה בשלשה מימדים כאשר ההיסט הכימי מופיע על הציר הרגיל, ואילו האינפורמציה לגבי הצימוד מופיעה על ציר עומק, מאחורי הספקטרום הרגיל. דבר זה מודגם עבור אותו החומר ועבור אותו החלק של הספקטרום בציור 3.34a באמצעות הצגה גרפית שנקראת stacked plot. מבט מהחזית של ההיצג הזה נראה בציור 3.34b ובו נראים 22 סיגנלים, אחד עבור כל אחד מ-22 סוגי הפרוטונים השונים ( $H_4$  וגם  $H_{16\beta}$  אינם מופיעים בתחום הזה אלא בשדה נמוך יותר). זהו למעשה ספקטרום NMR של פרוטונים אשר בו סולקו למעשה כל הצימודים. כמו כן, הסיגנלים שונים בעצמתם מכיוון שאנו רואים את ההשלכה של הסיגנל הגבוה ביותר בכל מולטיפלט.

ציור 3.34





ניתן לצייר את הסיגנלים, כל אחד בנפרד. שלש הדוגמאות שמופיעות בציור 3.35 מדגימות יפה כיצד שלשה סיגנלים, אשר אבדו לחלוטין בתוך הספקטרום הקונבציונלי שבציור 3.33, יכולים להיות מצויירים בנפרד באמצעות השיטה הזאת.

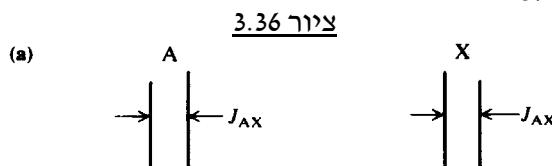


### 3.14 ביטול הצימוד ספין-ספין

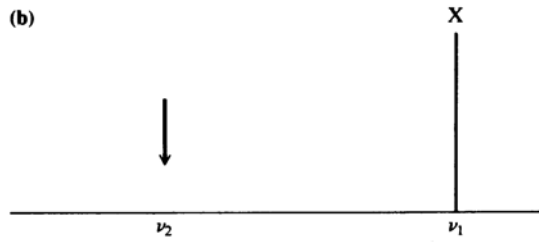
ביטול פשוט של הצימוד.

בפרקים הקודמים ראינו כיצד מופיע פרוטון מסוים בצורת מולטיפלט ואיך ניתן להכיר את מבנה המולטיפלט ולמדוד ממנו את קבועי הצימוד. אבל בנוסף לכך ברצוננו לדעת אם ניתן לקבל אינפורמציה מבנית נוספת לגבי ההיסט הכימי ומידת הפיצול של הפרוטון או הפרוטונים אשר אחראים להופעת אותו מולטיפלט נתון. למעשה אין לנו שום דרך בטוחה לדעת זאת, אלא אם כן נגלה התאמה מוחלטת בין קבועי הצימוד. למשל, אם הסיגנל A במערכת AX מראה קבוע צימוד  $J_{AX}$  בשיעור של 5.5 Hz, גם הסיגנל X חייב להראות קבוע צימוד שגודלו 5.5 Hz. בדרך כלל התנאי הזה מספיק, אבל כמוכן רק כאשר אין שום צימוד אחר בשיעור 5.5 Hz בספקטרום, דבר אשר יכול לגרום לחוסר ודאות. למרבה המזל פותחה טכניקה רבת עצמה כדי למצוא את קשרי השכנות (connectivity) בין הפרוטונים מעל לכל ספק. אם קיים מצב שבו בזמן מדידת הספקטרום ואיסוף האינפורמציה לגבי סיגנל מסוים, הגרעין, שנמצא בשכנות קרובה אליו, מתנוודד במהירות בין מצבי הספין שלו, אזי הפרוטון המסוים יראה את הממוצע של כל מצבי הספין. ראינו כבר מצב כזה קודם, במקרה של העלמות הצימוד לקבוצת OH, כאשר החילוף המהיר היה חילוף כימי, כלומר הפרוטונים של קבוצת ההידרוכסיל עברו במהירות ממולקולה למולקולה, עם קבוע קצב הגדול מקבוע הצימוד. אותו איבוד של הצימוד מתרחש כאשר החילוף הוא בין שני מצבי הספין. חילוף זה נגרם עקב הקרנת הגרעין השכן בתדירות הרזוננס שלו. ראינו כבר את התופעה הזאת בספקטרה של  $^{13}\text{C}$  אשר נמדדים בתנאים שבהם בוטל הצימוד בין הפחמנים לפרוטונים. בספקטרה הללו היה ביטול הצימוד בלתי סלקטיבי, אבל ניתן לבטל את הצימוד באופן מבוקר וסלקטיבי לגבי פרוטון מסוים.

כך, אם נתחיל במערכת AX (ציור 3.36a) נוכל לקבוע את תדירות הרזוננס  $\nu_2$  של הסיגנל A. כעת נקרין את הדוגמה בדיוק בתדירות  $\nu_2$  ובאותו הזמן נמדוד את כל הספקטרום. מצבי הספין של הגרעין A ימצאו בתהליך של חילוף מהיר בין שני מצבי הספין שלהם. כתוצאה מכך "רואה" הפרוטון X שדה ממוצע, הנובע מהשפעתו של הגרעין A והצימוד בין A לבין X פשוט נעלם מהספקטרום. הגרעין X נכנס לרזוננס בתדירות הרגילה שלו,  $\nu_1$ , בצורת סינגלט (ציור 3.36b). כאשר מעורבים בניסוי הזה גרעינים מסוגים שונים נקראת הטכניקה הזאת heteronuclear decoupling. כאשר שני הגרעינים זהים, למשל אם שניהם  $^1\text{H}$ , נקראת השיטה homonuclear decoupling. קיימת מגבלה אחת בשיטת הומו-דיקפלינג והיא ששני הסיגנלים חייבים להיות מרוחקים מספיק זה מזה כדי שהקרנת הסיגנל ב-  $\nu_2$  לא תפגע בסיגנל  $\nu_1$ . השיטה מתאימה לכל סוגי המולטיפלטים.



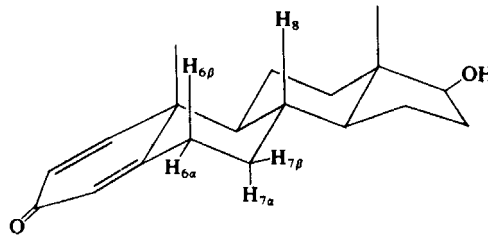




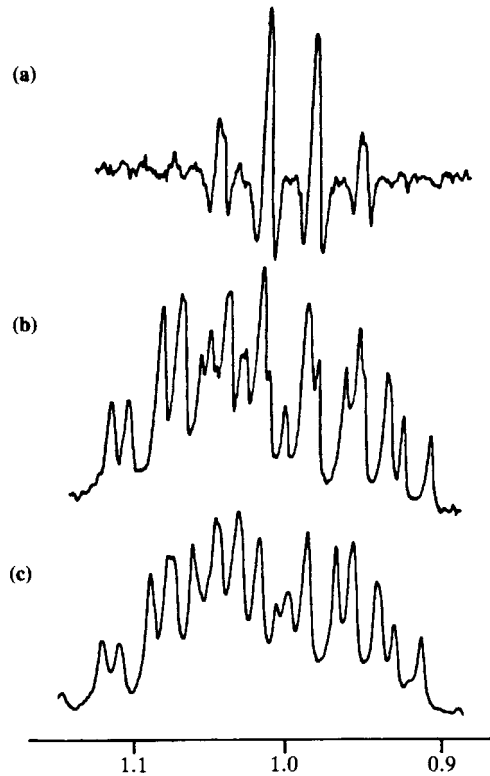
כך למשל, דובלט של דובלטים יהפוך לדובלט רגיל, כאשר נקרין את הדוגמה בתדירות הרזוננס של אחד הפרוטונים המצומדים אליו. במולקולה מורכבת ניתן לבצע מספר מדידות ובהן להקרין בזה אחר זה בכל תדירויות הסיגנלים שבספקטרום ולרשום את הספקטרום בכל אחד מן המקרים. באופן כזה, מתוך בדיקה אילו סיגנלים מאבדים את הצימוד שלהם באיזה ניסוי, ניתן לקבל את כל קשרי השכנות בין הפרוטונים השונים בכל מולקולה. כיום מקובל יותר לצייר את האינפורמציה הזאת במפה אחת מסוג COSY, כפי שנראה להלן.

### Difference Decoupling

במכשיר FT ניתן להשתמש בשיטת ביטול הצימוד כדי לגלות סיגנלים הקבורים מתחת לסיגנלים אחרים. ציור 3.37 מראה חלק קטן של האיזור המתילני בספקטרום של הסטרואיד 50. הסיגנל הוא למעשה צירוף של מולטיפלטים, הנובעים מארבעה פרוטונים שונים. אחד מהם  $H_{7\alpha}$ , קבור בערימה הזאת מבלי שניתן לזהותו. כאשר מקרינים את הסיגנל של  $H_{6\alpha}$ , אשר נמצא בשדה נמוך יותר מהאיזור המתואר בציור, מאבד הסיגנל של  $H_{7\alpha}$  את אחד הצימודים שלו ומתקבל ספקטרום כללי שונה במקצת (ציור 3.37b).



ציור 3.37



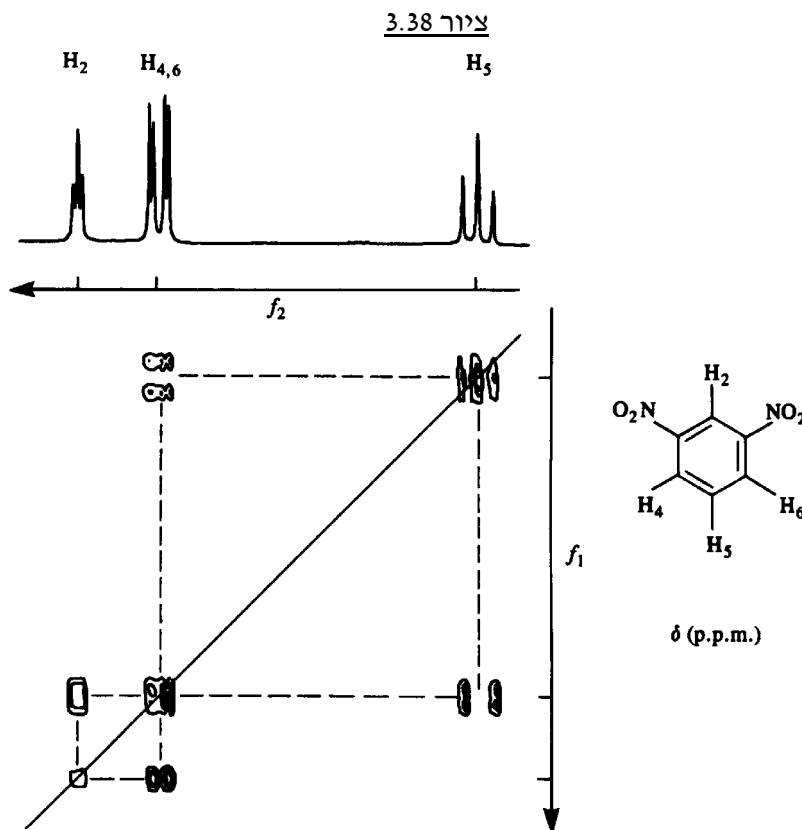
שני המולטיפלטים, לפני ואחרי ההקרנה בלתי ניתנים לאנליזה. אבל כעת, מכיוון שהספקטרום נמצא במחשב בצורה דיגיטלית, ניתן לבצע החסרה של הספקטרום c מהספקטרום שבוצע תוך כדי הקרנה, b. התוצאה מופיעה בציור 3.37a. שלשת הסיגנלים של המימנים, אשר אינם מצומדים ל- $H_{6a}$  לא הושפעו מההקרנה שלו. לכן הם נעלמים בתהליך ההחסרה ונותר רק הסיגנל של  $H_{7a}$ . הסיגנל אשר מופיע בציור מכיל בתוכו גם את המולטיפלט המקורי של  $H_{7a}$  וגם את זה שנוצר בזמן ההקרנה. מכיוון שהחסרנו את c מ-b, הספקטרום המקורי מצויר כלפי מטה והספקטרום שלאחר ההקרנה מצויר כלפי מעלה. כפי הנראה, הפרוטון  $H_{7a}$  מצומד באופן שווה לכל אחד מהפרוטונים  $H_8$ ,  $H_{6b}$  ו- $H_{7b}$ , עם קבוע צימוד של 13 Hz בערך. התוצאה היא לכן קוורטט כאשר המולטיפלט המקורי הוא קוורטט של דובלטים, שבו קבוע הצימוד לפרוטון  $H_{6a}$  הוא 4.3 Hz.

### ספקטרה מסוג COSY

תוך שימוש בטכניקה מסוימת של pulse sequence, ניתן, בניסוי אחד מתמשך, לגלות את כל יחסי הצימודים במולקולה. התוצאה מצויירת בשרטוט תלת מימדי בצורת stacked plot או, בצורה המקובלת יותר, מפה טופוגרפית של קוי גובה. התוצאה נקראת ספקטרום COSY (COrelated Spectroscopy).

ציור 3.38 מראה ספקטרום רגיל של מטה-דיניטרובנזן ומתחתיו מפת COSY של אותה מולקולה. הקוים הסגורים מתארים את המימד השלישי וכל אחד מהם מייצג עצמה שונה. את הספקטרום הרגיל ניתן לראות לאורך האלכסון של המפה כפי שמודגש ע"י הקו האלכסוני. בנוסף לכך, כל סיגנלי הצילוב (cross-peaks) מזהים גרעינים המצומדים זה לזה. למשל, לסיגנל  $H_2$  בתחתית המפה מצד שמאל ישנו cross peak הקשור אליו (בקו מקווקו) וגם לסיגנל של  $H_{4,6}$ . הסיגנל של  $H_{4,6}$  קשור ב-cross peak נוסף לסיגנל של  $H_5$ .

סיגנלי הצילוב עצמם מכילים גם הם קבועי צימוד, אבל לא מראים את כל תבניות הצימוד. למשל הסיגנל של  $H_5$  על האלכסון הוא טריפלט כפי שנראה כאשר מסתכלים מכיוון ציר X. המבנה הטריפלטי נראה פחות ברור כאשר מסתכלים מכיוון ציר Y. לסיגנל הצילוב שלהם חסר הקו המרכזי של הטריפלט ולכן הם נראים כמו דובלט רחב. באופן דומה, גם בסיגנלי הצילוב של קווינטטים נעלם הקו המרכזי. לעומת זאת דובלטים וקוורטטים נשארים ללא שינוי בסיגנלי הצילוב שלהם. יש לזכור כי ספקטרה COSY יכולים להדגיש צימודים של טווח ארוך או לפעמים להסתיר אותם. ברור כי אם רוצים לראות את כל סיגנלי הצילוב, יש להגדיר בתבונה את המישורים המתוארים ע"י קוי הגובה. לפעמים, הזמן הנדרש לעיבוד הנתונים ולציור המפה הוא רב יותר מהזמן הנדרש לביצוע הספקטרום עצמו.



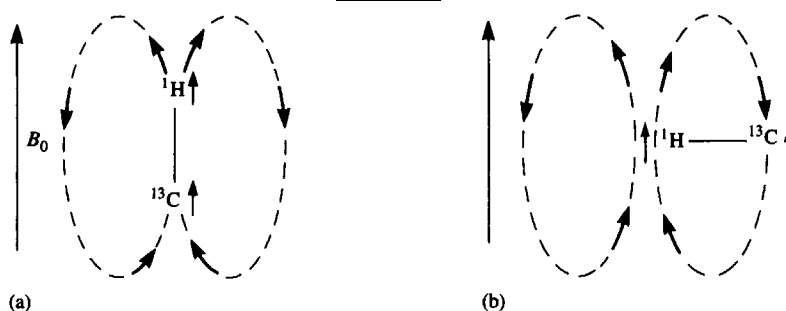
במקרה של מטה-דינרטורבנון, הצימודים כולם ברורים וקלים לפענוח גם בספקטרום הרגיל ולכן אין כל צורך להשתמש במפת COSY. אבל במקרים מורכבים יותר הטכניקה הזאת שימושית מאוד ומאפשרת לקבל בבת אחת את כל ההקשרים המולקולריים ואת כל הצימודים. זאת מבלי לבצע מספר רב מאוד של ניסויים בודדים, אשר בכל אחד מהם מוקרן אחד מהפרוטונים. יתר על כן, כאשר שני סיגנלים או יותר קרובים מאוד בהיסט הכימי שלהם, ההקרנה של אחד הסיגנלים פוגעת בהכרח גם בסיגנלים הקרובים אליו, ואז נגרמים שינויים נוספים בספקטרום. דבר זה מקשה מאוד להגיע למסקנות ברורות בדבר קיומו של צימוד למימן מסוים. ספקטרה מסוג COSY אינם מוגבלים מבחינה זאת. אפילו במקרה שבו שני הסיגנלים מופיעים קרוב מאוד זה לזה, אבל עדיין ניתן להבחין ביניהם, אפשר לייחס את סיגנלי הצילוב באופן מדויק מאוד לאחד או לשני.

### 3.15 אפקט (NOE) Nuclear Overhauser Enhancement

רקע

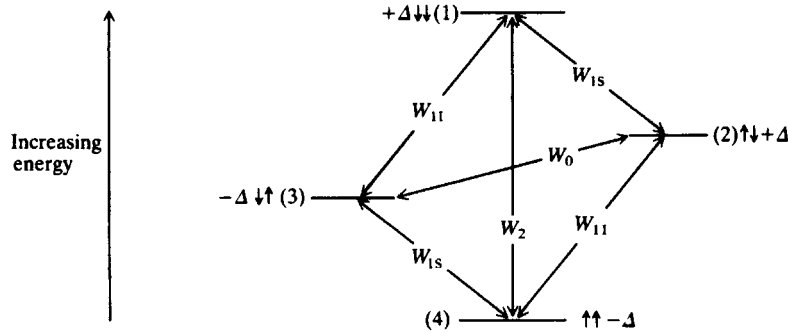
האינטרקציה של גרעין מגנטי אחד עם גרעין מגנטי אחר מולידה צימוד ספין-ספין, אשר מתרחש דרך הקשרים שבמולקולה. האינטראקציה מועברת באמצעות אינטרקציות אלקטרוניות, כפי שניתן לראות מתוך התלות של קבועי הצימוד בסידור הגיאומטרי של הקשרים הכימיים המתאימים. אבל גרעינים מגנטיים יכולים להשפיע זה על זה גם דרך המרחב, אלא שהאינטרקציה הזאת איננה יוצרת צימוד. האינטרקציה הזאת מתגלה כאשר אחד הגרעינים מוקרן בתדירות הרזוננס שלו ואז הסיגנל של אחד המימנים האחרים, אשר איננו נמצא בשכנות קרובה אליו, מופיע בעצמה גבוהה יותר או נמוכה מהרגיל. האפקט הזה נקרא NOE (Nuclear Overhauser Enhancement). אפקט ה-NOE ניתן לזיהוי רק עבור מרחקים קצרים בין הגרעינים, בדר"כ 2-4 Å, ועצמתו נחלשת במהירות לפי  $1/r^6$ , כאשר  $r$  הוא המרחק בין הגרעינים. האינטרקציה תלויה בזמן הרלקסציה של הגרעין הנצפה כפי שהיא נגרמת ע"י הגרעין המוקרן. רלקסציה יעילה של גרעין אחד ע"י גרעין אחר יכולה להתרחש כאשר האחד מתנדנד כלפי השני בתדירות, שהיא קרובה לתדירות הקשורה לרלקסציה. נראה למשל גרעין  $^{13}\text{C}$  ופרוטון אשר נמצא קרוב אליו במולקולה, אשר מסתובבת בתדירות של  $10^9 \text{ s}^{-1}$ . כתוצאה מכך השדה המגנטי המקומי באיזור הגרעין  $^{13}\text{C}$  יתנוודד בקצב של  $10^9 \text{ s}^{-1}$ . זאת מכיוון שקוי הכח הקשורים למגנט הגרעיני של גרעין  $^{13}\text{C}$  יגבירו ויקטינו לסירוגין את השדה המגנטי, אשר אותו רואה הפרוטון (ציור 3.39).

ציור 3.39



אם התדירות של התנדנדות השדה המופעל על הפרוטון תהיה קרובה מספיק לתדירות הקשורה בחילוף  $^{13}\text{C}_\alpha \leftrightarrow ^{13}\text{C}_\beta$  (שהיא בדרך כלל  $10^8 \text{ s}^{-1}$ ), אזי היא תעודד את החילוף הזה. תדירות הסיבוב של המולקולה תלויה במימדי המולקולה ולכן הרלקסציה מושפעת ממנה באופן שונה במולקולות גדולות ובמולקולות קטנות. במולקולות קטנות אשר משקלן המולקולרי קרוב ל-100, תדירות הסיבוב קרובה ל- $10^{11} \text{ s}^{-1}$  ובהן אפקט NOE הוא בכיוון של הגברה. לעומת זאת במולקולות גדולות בעלות משקל מולקולרי של 1000 ומעלה, תדירות הסיבוב קרובה לערך של  $10^8 \text{ s}^{-1}$  (הערך המדויק תלוי בצמיגות הממס). לכן הקרנה של אחד הסיגנלים גורמת לסיגנל האחר להחלש במקום להתחזק. בשני המקרים נקרא האפקט הזה NOE. במקרה הראשון הוא נקרא NOE חיובי ובמקרה של הקטנת הסיגנל הוא נקרא NOE שלילי. האינטרקציה שבין שני הגרעינים X ו-A הפועלים זה על זה לעידוד הרלקסציה, אבל אינם מצומדים זה לזה, יוצרת ארבע רמות אנרגיה מאוכלסות (ציור 3.40). דיאגרמות דומות ניתן לשרטט כאשר מטפלים באופן מלא בתופעת הצימוד. דיאגרמות עוד יותר מורכבות ניתן לצייר כאשר עושים אנליזה של תבניות צימוד אשר אינן מסדר ראשון. אנו נתעלם כאן מהמורכבות של הצימוד, מכיוון שהתופעה הזאת רחוקה למדי מתופעת ה-NOE ואיננה מפריעה. אפקט NOE מתרחש דרך המרחב וגרעינים מראים אפקט NOE בין אם הם מצומדים ובין אם לאו.

ציור 3.40

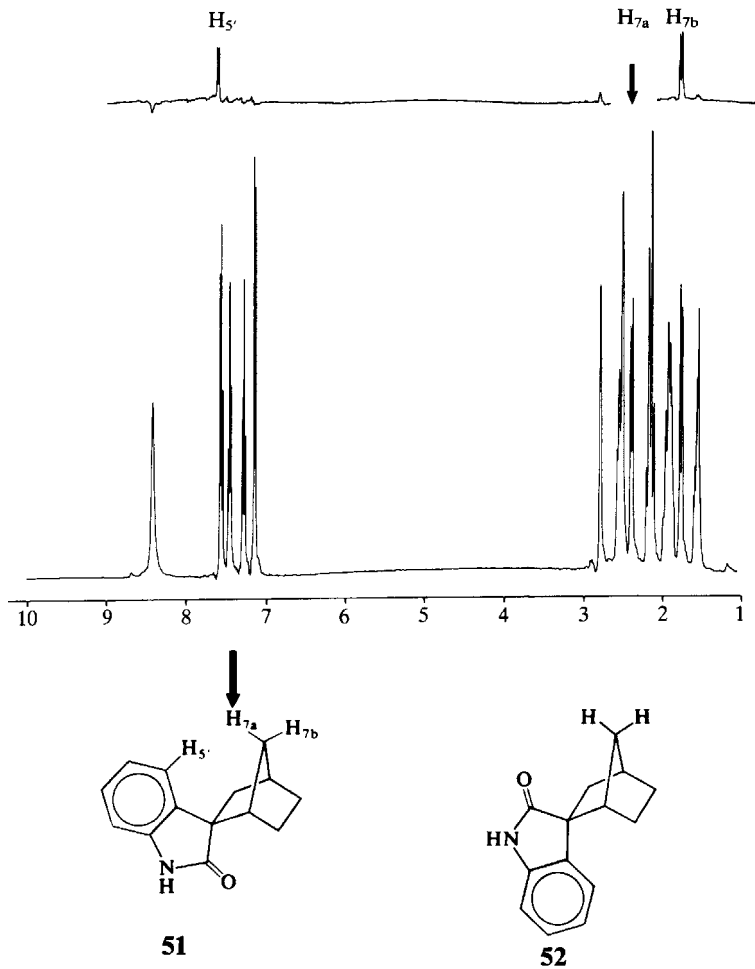


בציור 3.40 מראים החיצים את האוריינטציה של המגנטים הגרעיניים S ו-I בתוך השדה המגנטי החיצוני. המעברים  $W_{1s}$  מובילים לקו שאותו אנו מייחסים לגרעין S ואילו המעברים  $W_{11}$  מובילים לקו, שאותו אנו מייחסים לגרעין I. אם הדוגמה מוקרנת בתדירות הרזוננס של הגרעין I, אזי איכלוס הרמות 1 ו-2 גדל בערך של  $+\Delta$  על חשבון הרמות 3 ו-4, בהתאמה. עדיין אין כאן אפקט ברור על העוצמה של הסיגנל של S, מכיוון שהוא נוצר ע"י מעברים מ-1 ל-2 ומ-3 ל-4. עוצמתו של הסיגנל S תלויה בהבדל שבין סכום האוכלוסיות של 1 ו-3 ושל 2 ו-4 וזה לא הושפע כלל. אבל ישנן שתי דרכי רלקסציה נוספות,  $W_2$  ו- $W_0$  אשר אינן מובילות לסיגנלים נראים לעין, אלא משפיעות על האוכלוסיות של ארבעת מצבי האנרגיה.  $W_2$  הוא תהליך של שני קוונטים בין שתי רמות אנרגיה המופרדות היטב. רלקסציה בדרך זאת מזורזת ע"י סיבוב מהיר של המולקולות בעלות משקל מולקולרי בתחום של 100 - 200. האפקט הוא בכיוון של הגדלת האוכלוסיה של הרמה האנרגטית 4 על חשבון הרמה 1. סכום האוכלוסיות של רמות האנרגיה 1 ו-3 מצטמק יחסית לסכום האוכלוסיות של רמות האנרגיה 2 ו-4. לכן, הסיגנל של הגרעין S גדל בעצמתו.  $W_0$  הוא תהליך של אפס קוונטים בין שתי רמות אנרגיה הקרובות זו לזו באנרגיה. רלקסציה ע"י התהליך הזה מעודדת ע"י התהפכות איטית (תדירות סיבוב נמוכה יחסית) של המולקולות הגדולות, בעלות משקל מולקולרי מעל 1000. האפקט הוא בכיוון של הגדלת האוכלוסיה ברמה האנרגטית 3 על חשבון זאת שברמה 2. הסכום של האוכלוסיות ברמות האנרגיה 1 ו-3 הוא כעת גדול יחסית לאוכלוסיות של הרמות 2 ו-4. התוצאה היא שהסיגנל של הגרעין S נחלש בעצמתו. מולקולות בעלות משקל מולקולרי ממוצע "נופלות בין שני הכסאות" הללו ומראות אפקט NOE חלש מאוד, אם בכלל. לגבי ספקטרה  $^{13}\text{C}$ , הערכים הגבוהים ביותר של NOE, הנוצרים ע"י הקרנה של הפרוטונים, הם בשיעור של 200%. ערכי NOE מסדר גודל כזה נמצאו עבור סיגנלים של  $^{13}\text{C}$ , הקשורים ישירות לפרוטונים, בספקטרה שנלקחו תוך הקרנת הפרוטונים. בספקטרה  $^1\text{H}$ , ההגברה המקסימלית יכולה להגיע רק ל-50% מהעוצמה הנורמלית של הסיגנל, אבל התחום השכיח הוא 20% - 1. אפקט ה-NOE הולך ונחלש, כאשר הפרוטון הנבחן כבר עובר תהליך רלקסציה ע"י פרוטון אחר כלשהו, מלבד הפרוטון המוקרן. כך למשל, קבוצת מתיל, שבה לכל פרוטון ישנם שני פרוטונים שכנים, המגבירים את תהליך הרלקסציה שלו, מראה בדרך כלל אפקט NOE חלש מאוד, כאשר מקרינים פרוטון אחר בקרבתו. לכן, האפקטים הקלים יותר למדידה הם אלו השייכים לקבוצות מתין. ניתן למדוד אפקטים של NOE ע"י אינטגרציה של הסיגנלים, עם ובלי ההקרנה, ומדידת הבדלי העוצמה. מידת הדיוק של האינטגרציה היא כזאת, המאפשרת להשתמש בשיטה הזאת רק אם ה-NOE הוא לפחות 10% או יותר וניתן למדוד אותו רק עבור סיגנלים של מתין ואולי לפעמים גם של מתילן. למרות כל זאת, שיטת ה-NOE שימושית ביותר לצורך זיהוי קבוצות הקרובות זו לזו במרחב, ולקבל אינפורמציה מבנית חשובה ביותר- במיוחד לצורך קביעה של סטיריאוכימיה וקונפורמציה מועדפת.

### ספקטרה של החסרות NOE

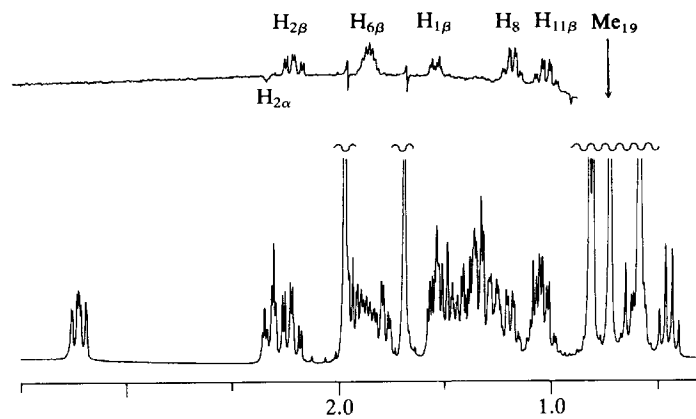
ניתן לזהות בקלות רבה יותר את ה-NOE ע"י החסרת מחשב, של הספקטרום הנורמלי מהספקטרום שנרשם תוך כדי ההקרנה. באופן כזה, ניתן לצייר רק את ההפרש בין שני הספקטרה. כל הסיגנלים שלא הושפעו בניסוי הזה פשוט יעלמו מהספקטרום. למעשה נראה רק את ההגברה של הסיגנלים, אשר הושפעו, בנוסף לסיגנל חזק בתדירות ההקרנה עצמה. ציור 3.41 מראה ספקטרום מורכב של פרוטונים של נגזרת אוקסיאנדול 51. מעליו ניתן לראות את הספקטרום אשר מתקבל מהחסרה של הספקטרום הנורמלי מהספקטרום שנמדד תוך כדי הקרנתו של המימן  $H_{7\alpha}$ . המימן הזה ממוקם קרוב במרחב, גם לשכן המידי שלו  $H_{7\beta}$  וגם לפרוטון  $H_5$  שעל הטבעת הבנזנית. רק הסיגנלים, השייכים לשני הפרוטונים, מופיעים בספקטרום ההחסרה. עובדות אלו מוכיחות מעל לכל ספק כי הסטיריאוכימיה של המולקולה היא זאת המתוארת ב-51 ולא ב-52. כאשר ניסוי דומה מבוצע עם החומר 52, לא מופיע כל סיגנל של התחום הארומטי בספקטרום ההחסרה. הסיגנל של  $H_{7\beta}$  בספקטרום ההחסרה שבציור 3.41 עדיין מראה את הצימוד ל- $H_{7\alpha}$ . זאת מכיוון שהסיגנל אשר בו השתמשו כדי ליצור את אפקט ה-NOE מופעל לפני הפולס של ה-acquisition אבל הוא כבוי בשלב ה-acquisition עצמו. לכן הצימוד איננו מושפע ממנו.

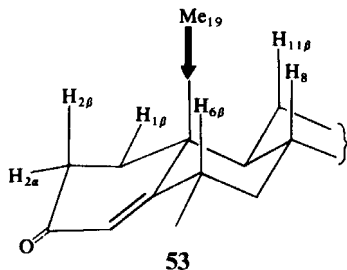
ציור 3.41



ע"י שימוש בספקטרה של הפרשים קל לזהות אפילו אחוז אחד של הגברה ואפילו פחות מזה ומכאן שניתן למדוד גם NOE בשני הכוונים - מקבוצת מתיל לקבוצת מתין סמוכה, וחזרה מקבוצת המתין לקבוצת המתיל. שיטה זאת מאפשרת אישור וחיזוק להנחות שלנו לגבי הקירבה של שתי הקבוצות במרחב. יתר על כן, המרחק, שעבורו ניתן כיום לזהות אפקטים של NOE, הוא הרבה יותר גדול וכמות האינפורמציה המבנית הנובעת מכך היא רבה מאוד. ספקטרום הפרשים של NOE מאפשר גילוי סיגנל מסוים אשר חבוי מתחת לערימה של סיגנלים אחרים, בדיוק כפי שזה קורה לגבי ספקטרום הפרשים, אשר מתקבל לאחר ביטולי צימוד. הספקטרום בציור 3.42 מתאר את האיזור המתילני של 6-מתיל-פרוגסטרון 49, אשר חלק מהמולקולה שלו מתואר כ- 53. כמו כן מתואר ספקטרום ההפרש, לאחר שהקרינו את הדוגמה בתדירות הרזוננס של המתיל C-19.

ציור 3.42

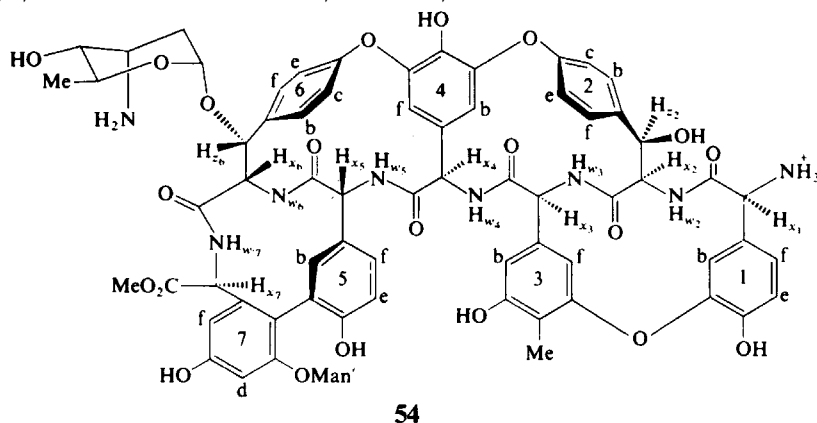




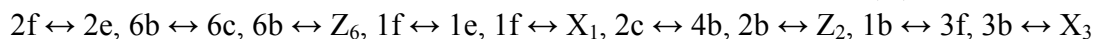
הסיגנלים בספקטרום ההפרש נובעים מהפרוטונים, אשר מקיפים את קבוצת המתיל-19, כל אחד מאלו מראה את תבנית הפיצולים הצפויה עבורו. למעשה בספקטרום רגיל, רק הסיגנל של המימן  $H_{2\beta}$  הוא באמת מופרד מכל השאר. אפילו הסיגנל הזה ניתן לקביעה בטוחה יותר כעת מאשר קודם, מכיוון שברור כי הוא בא מפרוטון אשר יש לו קרבה מרחבית למתיל-19. גם הסיגנל  $H_{2\alpha}$  מופיע באופן ברור עם אפקט NOE שלילי. זוהי תופעה שכיחה כאשר פרוטון מסוים,  $H_{2\beta}$  במקרה זה, אשר מראה NOE חיובי, מעביר את ה-NOE לפרוטונים אחרים בסביבתו.

### ספקטרה NOESY

בדיוק כפי שאינטרקציות צימודי הספין בכל מולקולה ניתנות לתאור במפת COSY אחת גדולה, ניתן לאסוף את כל אינטרקציות NOE שבמולקולה בספקטרום אחד תלת מימדי. התוצאה, אשר נקראת NOESY נראית דומה לספקטרום COSY, מלבד העובדה שסיגנלי הצילוב הללו ניתנים לזיהוי בקלות ובמהירות. לכן ספקטרה NOESY הם יעילים ביותר עבור מולקולות בעלות משקל מולקולרי בטווח של 300 - 5000. עבור מולקולות בעלות משקל מולקולרי נמוך מאוד, סיגנלי הצילוב הם חלשים מאוד וקשים לפענוח. כקו מנחה, מעידים סיגנלי הצילוב של NOE על פרוטונים המרוחקים זה מזה במרחב בטווח של 0.2-0.4 nm. האפקטים החזקים ביותר מעידים על מרחק קטן מאוד בטווח הזה.



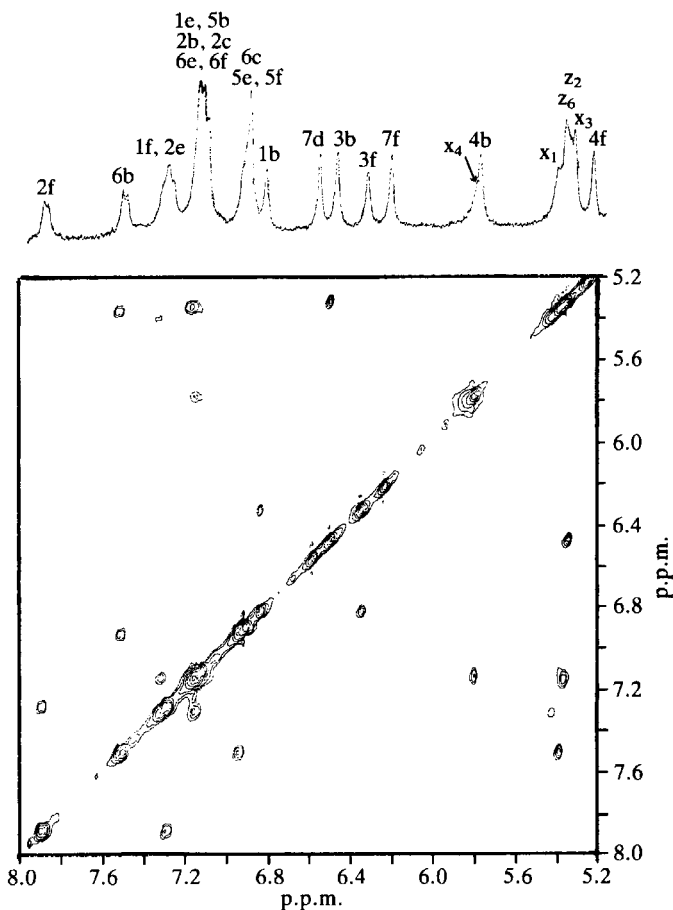
ציור 3.43 הוא חלק מספקטרום NOESY של נגזרת של החומר האנטיביוטי ristocetin-A (54). הספקטרום נלקח ב- $CD_3CN/D_2O$  כממס, כך שכל הרזונסים של קבוצות OH ו-NH נעלמו מהספקטרום. קוי הגובה, אשר משורטטים לאורך האלכסון, מייצגים את הספקטרום החד מימדי הרגיל. מכיוון שקשה לראות את הספקטרום הזה מתוך קוי הגובה, מצויר הספקטרום הרגיל לאורך אחד הצירים של המפה הדו-מימדית (ציור 3.43). ניתן לראות במפה הזאת תשעה סיגנלי צילוב, הממוקמים באופן סימטרי משני צידי האלכסון. בדרך כלל, הפיענוח של כל ספקטרום נעשה מסובך כאשר מופיעים מספר סיגנלים בחפיפה, כמו למשל ששת הסיגנלים באיזור 7.2 ppm וארבעה סיגנלים ב-5.4 ppm. ניתן להתגבר על הבעיה ע"י מדידת הספקטרום בטמפרטורות שונות, בערכי pH שונים ובממסים שונים. הנתונים שבציור 3.43 ביחד עם הנתונים שהתקבלו מספקטרה, אשר נמדדו בטמפרטורות אחרות, מראים את זוגות הפרוטונים אשר נמצאים קרובים זה לזה במרחב:



קרבת הזוגות  $1f \leftrightarrow 1e$  ו- $6b \leftrightarrow 6c$ ,  $2f \leftrightarrow 2e$  התקבלה כבר קודם, מתוך ניסוי COSY. אבל ניסוי NOESY מראה קשרי שכנות נוספים דרך המרחב, של מערכות הספינים, אשר הוגדרו כבר קודם בניסוי ביטול הצימוד מסוג COSY. כך למשל, הצמד  $Z_6, X_6$  חייב להיות קרוב במרחב לטבעת הארומטית 6, וזאת עקב קיומה של האינטרקציה NOE בין  $6b$  ל- $Z_6$ . באופן דומה, הזוג  $Z_2, X_2$ , המצומדים זה לזה, חייבים להיות קרובים לטבעת הארומטית 2, עקב הופעתו של NOE  $Z_2 \leftrightarrow 2b$ . בנוסף לכך, הספקטרום החלקי הזה מאפשר לקבל הקשרים בין הפרוטונים של  $\alpha$ -CH ( $X_1, X_2, \dots, X_7$ ) של השלד הפפטידי, לבין הטבעות הארומטיות המתאימות (למשל,  $1f \leftrightarrow X_1, 3b \leftrightarrow X_3$ ). באופן דומה, הקרבה של טבעות ארומטיות במבנה המולקולרי מתקבלת מתוך ההקשרים  $2c \leftrightarrow 4b, 1b \leftrightarrow 3f$ , כך, בעזרת אינפורמציה כימית מוגבלת ביותר ובעזרת משקל מולקולרי, שהתקבל מתוך מס-ספקטרומטריה בשיטת FAB, ניתן לפתור מבנה מורכב כמו זה של

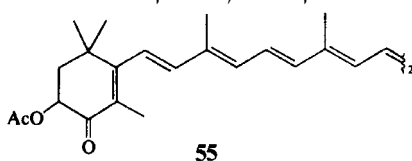
54, עם פירוט סטיריאוכימי מלא, וזאת רק מתוך ספקטרה COSY ו-NOESY. נסוי ה-NOESY הוא בעל עוצמה אדירה. למרות שאיננו מספק שפע של נתונים ורמת דיוק, כמו זו המתקבלת מקריסטלוגרפיה של קרני X, הוא נותן יתרון משמעותי על פני קריסטלוגרפיה, מכיוון שהמבנה המתקבל הוא של המולקולה בתמיסה ואין כל צורך לגבש את החומר.

ציור 3.43

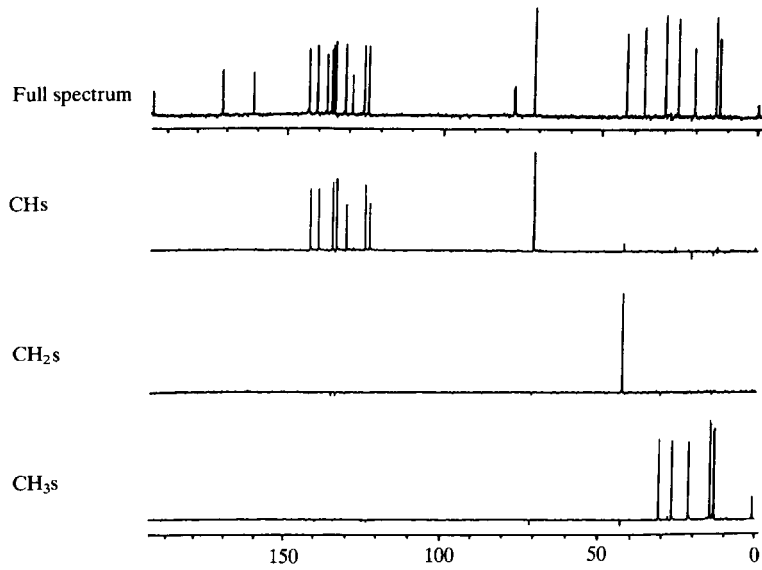


### 3.16 אפיון הסיגנלים של אטומי $^{13}\text{C}$ ופרוטונים הקשורים ישירות ביניהם

עקב העדר הפיצולים בספקטרום  $^{13}\text{C}$  קונבנציונלי, אשר נלקח תוך הקרנה מלאה של הפרוטונים, לא תמיד ניתן לזהות בקלות אילו סיגנלים שייכים לאילו אטומי פחמן במולקולה. ראינו אמנם כי סיגנלים של  $^{13}\text{C}$  ושל  $^1\text{H}$  מושפעים ע"י הסביבה שלהם, בקירוב גס, באופן שווה בהיסט הכימי שלהם. אילו היינו יכולים לקבוע בבטחון כי סיגנל של  $^{13}\text{C}$  מסוים נובע מאטום פחמן אשר נושא עליו פרוטון מסוים אשר זוהה בבירור בספקטרום הפרוטונים, היה זה עשוי להיות שימושי ביותר בפענוח ספקטרה  $^{13}\text{C}$ . דבר זה יכול להקל באופן משמעותי את פענוח הספקטרום מתוך יחוס הבליעות לאטומים במולקולה רק על פי ההיסט הכימי שלהם. מספר נסיונות רבי-פולסים הופכים את הדבר הזה לאפשרי. הדבר הראשון שעלינו לדעת הוא האם אטום הפחמן הנדון הוא רבעוני, מתין, מתילן או מתיל. דבר זה יכול להיות מבוצע בטכניקות של off resonance decoupling, אבל ניתן לבצוע גם בדרכים אחרות. הטכניקה המוקדמת מתוך אלו נקראת INEPT, אבל למעשה היא נדחקה מאוחר יותר ע"י טכניקה מתקדמת יותר בשם DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer). בטכניקה זאת מוצגים שלשה ספקטרה  $^{13}\text{C}$  בזה אחר זה, באחד מתוארים רק קבוצות המתין, בשני מתוארות בליעותיהם של המתילנים בלבד ובשלישי רק קבוצות המתיל. ציור 3.44 מראה ספקטרום DEPT של astaxanthin (55). הספקטרום העליון הוא הספקטרום הרגיל המלא. הספקטרה שמתחתיו מתארים, בזה אחר זה, את קבוצות המתין בלבד, מתילן בלבד ומתילים בלבד.

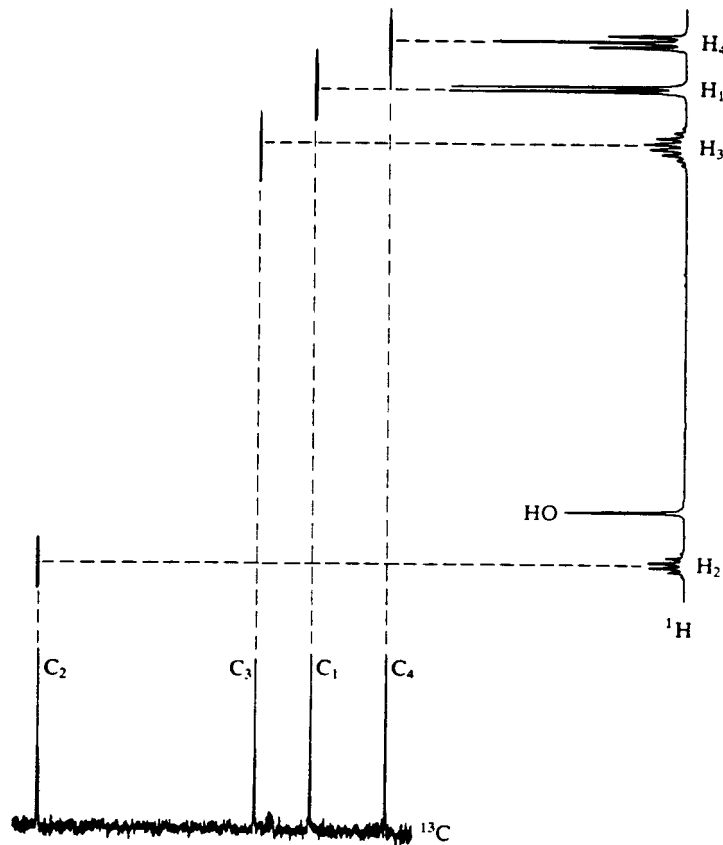


ציור 3.44



שיטה אחרת נותנת כמות עוד יותר גדולה של אינפורמציה: היא נותנת קורלציה ישירה בין הסיגנל של פחמן מסוים בספקטרום  $^{13}\text{C}$  לבין הסיגנלים מספקטרום  $^1\text{H}$  של הפרוטונים, הקשורים לאטום הפחמן הנ"ל. ציור 3.45 מראה, יחד עם הספקטרה הרגילים, גם את ספקטרום הקורלציה  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$  של 2-בוטנול. קוי הגובה של סיגנלי הצילוב מציינים את ההקשרים. עובדה בולטת היא, שלסיגנל של OH אין שום קשר לספקטרום הפחמן. ראוי לציין כי קווי הגובה אינם מראים כאן כל רזולוציה של המבנה העדין, אבל אם היינו מבודדים את הסיגנל ומסתכלים מכוון ספקטרום הפרוטונים, היינו מקבלים רזולוציה מלאה של כל הצימודים בין הפרוטונים. זוהי דרך נוספת לראות סיגנל, אשר קבור מתחת לערימה של סיגנלים אחרים.

ציור 3.45



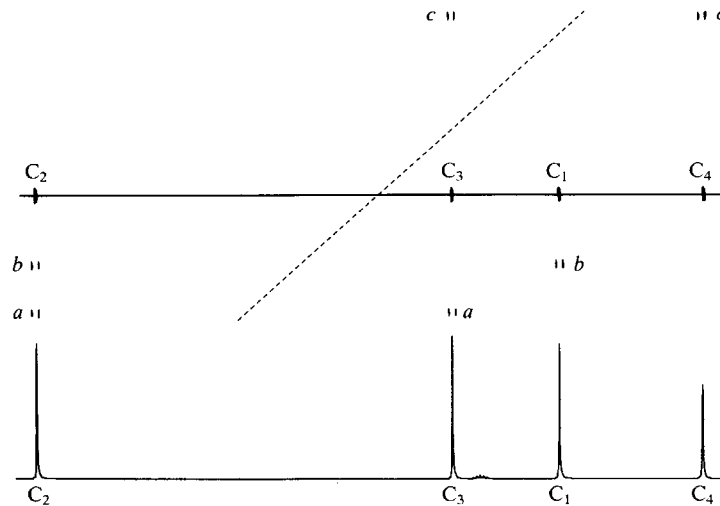


### 3.17 זיהוי הקשרים אחרים

הספקטרה שתוארו לעיל, מתארים הקשרים ישירים בין  $^1\text{H}$  לבין  $^{13}\text{C}$ . כאשר מפענחים ספקטרה וקובעים את המבנה, רצוי מאוד לדעת על הקשרים נוספים. זה נכון במיוחד כאשר חלק אחד של המולקולה קשור לחלק אחר ע"י איזור, שהוא בבחינת "אדיש מבחינה ספקטרוסקופית". למשל, צימוד ויצינולי מימן-מימן מאפשר לנו לזהות את חלקי המולקולה, אשר מחוברים יחד בשרשרת של אטומי פחמן. אבל אם בין שני חלקי המולקולה נמצא אטום פחמן רבעוני, אין עליו פרוטונים המצומדים לפרוטונים שכנים וקשה לנחש מהו השלד המולקולרי ומהן הקבוצות, הקשורות לאטום הפחמן הזה. עלינו למצוא שיטה, אשר תוכיח לנו כי שתי שרשרות מסוימות קשורות לאותו אטום פחמן.

דרך אחת היא לזהות איזה אטום  $^{13}\text{C}$  קשור לאיזה אטום  $^{13}\text{C}$  אחר. השיטה אשר נותנת סוג כזה של אינפורמציה מבוססת על שלשלת פולסים המכונה INADEQUATE, והיא מחייבת זיהוי סיגנלים זעירים בעוצמתם. זאת מכיוון שהסיכוי למצוא שני אטומי  $^{13}\text{C}$  קשורים זה לזה הוא 1 ל- $10^4$ . בכל זאת, הטכניקה הזאת נותנת אינפורמציה רבת חשיבות. ציור 3.46 מראה ספקטרום INADEQUATE של 2-בוטנול בצורה של קוי גובה, ביחד עם ספקטרום  $^{13}\text{C}$  הרגיל שלו. רצוי תמיד להתחיל את הפענוח בסיגנל אשר זיהויו ברור מעל לכל ספק. במקרה זה, זהו הסיגנל של C-2 באיזור השדה הנמוך, מכיוון שהוא נושא קבוצת הידרוקסיל. סיגנלי הצילוב, אשר מסומנים a ו-b, מציינים את הקשר שבין C-2 לבין C-3 ובין C-2 ל- C-1, בהתאמה. סיגנל הצילוב C מזהה את הקשר האחר שבין C-3 לבין C-4. הקו המקווקו חוצה את נקודות האמצע שבין כל צמד של סיגנלי צילוב והוא שימושי לצורך איבחון של סיגנלי הצילוב מתוך הרעש.

ציור 3.46



במהלך הפענוח של הספקטרה הללו, מוצאים תחילה את ההקשרים שבין הפחמנים השונים, ע"י מתחת קווים אפקיים בין סיגנלי הצילוב, אשר ממוקמים באופן סימטרי משני צידי של הקו המקווקו. לאחר מכן מוצאים הקשרים נוספים ע"י מתחת קוים אנכיים מכל סיגנל לסיגנלי צילוב נוספים. באופן כזה ניתן לזהות מיד את האטומים שבקצות השרשרות הפחמניות, מכיוון שיש להם רק סיגנל צילוב אחד לאורך הקו האנכי. בדוגמה לעיל, לסיגנלים שבשדה הגבוה b ו-c אין סיגנלי צילוב נוספים מעליהם או מתחתם. דבר זה מוכיח כי כל אחד מהאטומים C-4 ו-C-1 קשור רק לאטום פחמן אחד. טכניקה אחרת למציאת ההקשרים, מבוססת על התאמתה של השיטה, הנהוגה לגבי ספקטרום קורלציה  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$  (ציור 3.45). ניתן לסדר את הפרמטרים בשלשלת הפולסים כך שיתקבלו רק ההקשרים המבוססים על צימוד  $^2\text{J}$  בין  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$  או רק  $^3\text{J}$  וכו'.