

Наблюдение сигналов ЯМР на ядрах ^{195}Pt , ^{13}C , ^1H в комплексах *trans*-Pt(Val)₂ и *cis*-Pt(Val)₂

Колоколов Михаил Игоревич

Физический факультет. Практикум по электродинамике и магнетизму, 4 семестр.

Группа №18306, 2019.

Научный руководитель:

И. В. Мирзаева, к.ф.-м.н., н. с. ИХХ СО РАН.

Аннотация

Целью работы являлось знакомство с методом изучения строения вещества с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР). В качестве исследуемых веществ были взяты два изомера дивалината платины: *trans*-Pt(Val)₂ и *cis*-Pt(Val)₂, растворённые в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-D₆). В обоих случаях установлены соответствия спектров и структуры молекул. Также был обнаружен переход изомера цис-формы в транс-форму и наоборот.

Ключевые слова: ядерно-магнитный резонанс, платина, комплексы, изомеризация.

Работа выполнена в Лаборатории физической химии конденсированных сред Института Неорганической Химии СО РАН.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НОВОСИБИРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ».

Физический факультет

Кафедра общей физики

Колоколов Михаил Игоревич

КУРСОВАЯ РАБОТА

**Наблюдение сигналов ЯМР на ядрах ^{195}Pt , ^{13}C , ^1H в комплексах
 trans-Pt(Val)_2 и cis-Pt(Val)_2**

Практикум по электродинамике и магнетизму, 2 курс, группа №18306

Научный руководитель:

И.В. Мирзаева, к.ф.-м.н.

Оценка научного руководителя

«___» _____ 2019 г.

Преподаватель практикума

В. Б. Рева, к.ф.-м.н.

Оценка преподавателя практикума

«___» _____ 2019 г.

Куратор практикума:

В. А. Астрелин, к. ф.-м. н.

Итоговая оценка

«___» _____ 20___ г.

Рекомендуется к публикации в сборнике избранных курсовых работ

Научный руководитель

И.В. Мирзаева

Преподаватель практикума

В. Б. Рева

Куратор практикума

В. А. Астрелин

Оглавление

1. Введение	4
2. Теоретическая часть	6
2.1 Явление ядерного магнитного резонанса.....	6
2.2 Спектроскопия ЯМР	7
3. Экспериментальная часть	9
3.3.1 ЯМР ^1H	13
3.3.2 ЯМР ^{13}C	17
3.3.3 ЯМР ^{195}Pt	19
3.3.4 Реакция изомеризации.....	21
4. Выводы	26
5. Заключение	27
6. Список литературы	28

1. Введение

Соединения двухвалентной платины играют важную роль в современной медицине, особенно при лечении онкологии, именно поэтому их синтез и исследование является одной из важных задач современной химии [1]. Одним из таких веществ является дивалинат платины(II), который может иметь два изомера: *trans*-Pt(Val)₂ и *cis*-Pt(Val)₂ (рис. 1), где Val – L-валин, одна из незаменимых аминокислот. Впервые данные вещества были синтезированы ещё в середине XX века [2], однако их физико-химические и биологические свойства до сих пор изучены недостаточно. В данной работе используются образцы, синтезированные в Институте Неорганической Химии СО РАН. Обычно при синтезе вещества не всегда очевидно, нужное ли вещество получилось. Именно для этой проверки (подтверждение структуры полученного вещества) необходима спектроскопия ЯМР. Кроме того, спектроскопия ЯМР даёт важные сведения о строении и поведении вещества в растворе (а не в кристаллической форме) и позволяет наблюдать некоторые химические реакции. В данном случае, так как нужная биологическая активность предполагается только у одного изомера (*cis*-Pt(Val)₂), необходимо определить, происходит ли в растворе превращение *cis*-Pt(Val)₂ в *trans*-Pt(Val)₂ и какова скорость этого процесса. Данная реакция называется реакцией изомеризации и наблюдалась для подобных соединений палладия и платины[3].

Таким образом, настоящее исследование решает следующие задачи:

1. Подтверждение структуры образцов, заявленных как *trans*-Pt(Val)₂ и *cis*-Pt(Val)₂.
2. Наблюдение образцов через длительное время, чтобы выяснить, происходит ли в растворе реакция изомеризации.

3. Нагревание образца $cis\text{-Pt(Val)}_2$ с целью наблюдения ускорения реакции изомеризации.

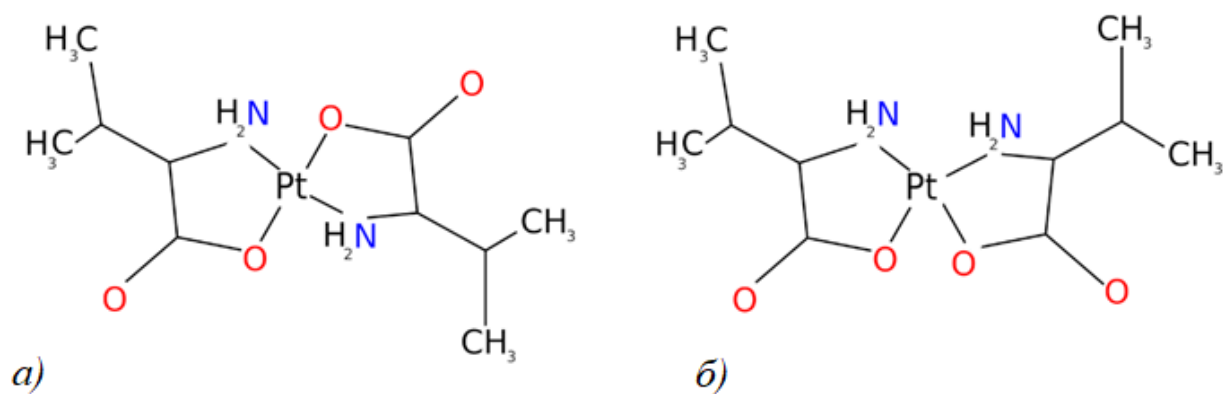


Рис. 1. а) - : $trans\text{-Pt(Val)}_2$; б) - cis

2. Теоретическая часть

2.1 Явление ядерного магнитного резонанса

Явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР) наблюдается в веществах, содержащих атомные ядра с ненулевым спином — собственным моментом импульса ядра. Рассмотрим, что происходит, если поместить ядро в постоянное магнитное поле B_0 . Так как у ядра имеется магнитный дипольный момент $\mu = \gamma \hbar I$, где γ - гиромагнитное отношение данного ядра, энергия ядра будет зависеть от взаимного расположения μ и B_0 . Число возможных проекций μ на направление B_0 (состояний) дискретное (квантуется) и равно $2I + 1$, где I – спин ядра (рис. 2). К примеру, у ядра ^1H I равно $1/2$, поэтому у водорода есть два возможных состояния энергии – спин ядра направлен по полю B_0 и против поля. Разность энергий между уровнями определяется соотношением $\Delta E = \mu B_0 / I = \gamma \hbar B_0$

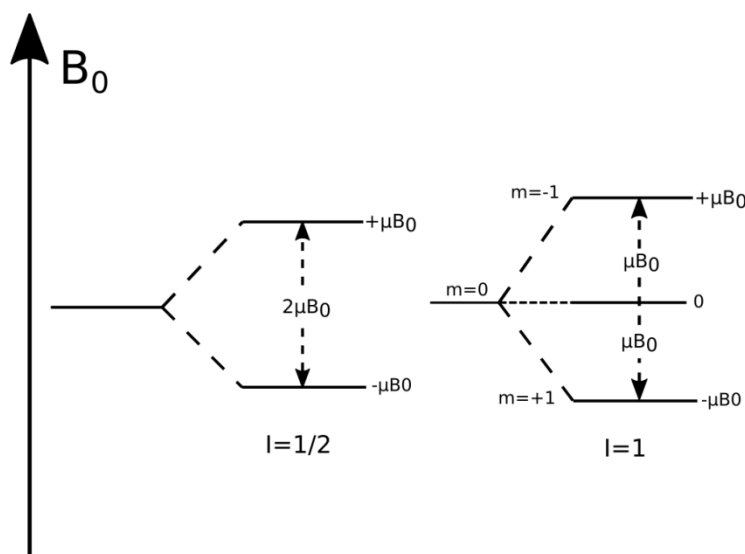


Рис. 2. Примеры квантования

Логично предположить, что между уровнями возможны переходы. Если облучать вещество радиочастотным полем B_1 с энергией кванта $h\nu_0$, то при условии, что эта энергия будет соответствовать расстоянию между уровнями энергии ядер $h\nu_0 = \gamma \hbar B_0$, будет наблюдаться резонансное поглощение такого излучения веществом, связанное с переходом ядер с одного энергетического

уровня на другой. Таким образом, ν_0 – резонансная частота при данном внешнем постоянном поле. Именно на этом эффекте основан метод спектроскопии ЯМР.

Важно отметить то, что при постоянном поле резонансные частоты разных ядер сильно различаются, что позволяет их идентифицировать.

2.2 Спектроскопия ЯМР

Положения сигналов ЯМР на ядрах одного элемента, находящихся в различном химическом окружении, будут различны. Это объясняется тем, что под действием магнитного поля в электронной системе молекулы возникают токи, которые создают собственное магнитное поле, из-за чего эффективное поле на ядре не равно внешнему полю B_0 . Этот эффект называется химическим сдвигом. Величины сдвигов чутки к малейшим изменениям в структуре. В итоге спектр может содержать столько сигналов, сколько в нем типов неэквивалентных ядер, что позволяет точно оценивать структуру молекулы. Химический сдвиг измеряют в миллионных долях (м.д., в зарубежной литературе – ppm) следующим образом – измеряют разницу частот исследуемого вещества и эталона, сигнал которого регистрируют отдельно. Для ^1H и ^{13}C эталоном обычно (и в рамках данной работы) является 10%-ный раствор тетраметилсилана в D_2O , для ^{195}Pt – раствор 1,2М Na_2PtCl_6 в D_2O . Разницу частот сигналов эталона и исследуемого вещества делят на рабочую частоту спектрометра и умножают на 10^6 . Химический сдвиг эталона принимается за 0. Химические сдвиги сигналов в более слабом поле считаются положительными.

В присутствии соседних ядер с ненулевым спином сигналы ЯМР могут расщепляться в мультиплеты. Этот эффект объясняется спин-спиновым взаимодействием химически неэквивалентных ядер. Прямое взаимодействие – создание дополнительного магнитного поля другим ядром. Однако в жидкостях из-за быстрого движения молекул прямое спин-спиновое взаимодействие

усредняется. Косвенное взаимодействие – передача информации об ориентации спина одного ядра к другому через электроны химической связи. Обычно такое влияние возможно лишь между ядрами, отстоящими друг от друга не более, чем на три химические связи. В нашем случае как раз из-за косвенного взаимодействия появляются расщепления. Важно заметить, что константы расщепления (расстояние между пиками мультиплета в герцах) не зависят от частоты прибора.

3. Экспериментальная часть

3.1 Методика эксперимента

В данной работе используется импульсный метод ЯМР. Он заключается в подаче одного мощного радиочастотного импульса длительностью $t = 10 - 50$ мкс с частотой, близкой к ν_0 , который возбуждает частоты $\nu_0 \pm 1/t$. Чтобы вернуться в равновесие, ядра рассеивают полученную энергию, которую регистрирует катушка датчика. Таким образом, получается интерферограмма спадающих колебаний в координатах “амплитуда – время”. На компьютере можно выполнить её преобразование Фурье и получить спектр сигналов в координатах “амплитуда – частота”.

Импульсный метод сильно облегчает эксперименты с накоплением. Если природное содержание изотопа или его магнитный момент малы, то, соответственно, будут малы и их сигналы, которые будут теряться в шумах. Поэтому при их исследовании эксперимент повторяется несколько раз, суммируя амплитуды, увеличивая тем самым соотношение “сигнал – шум”. Между импульсами вводится специальная задержка для того, чтобы вещество после облучения могло вернуться в исходное состояние. Эта задержка должна быть не короче шести времён релаксации. В данной работе эксперимент с накоплением будет выполнен на ядрах ^{195}Pt , ^{13}C и ^1H .

3.2 Описание установки

В данной работе использовался спектрометр Avance III фирмы Bruker. Система состоит из трёх модулей:

- Компьютер, через который оператор управляет спектрометром.
- Консоль – блок управления системой (рис. 3).
- Магнитная система, в которую помещается сам образец (рис. 4).



Рис. 3,4. Консоль и магнит

Рассмотрим два последних элемента подробнее:

Консоль:

В ней содержится почти вся электронная составляющая системы. Консоль состоит из трёх элементов:

1. Система управления сигналами (AQS) – в ней создаются импульсы для возбуждения ядер и принимаются полученные от них сигналы, которые переводятся в цифровой вид и отправляются в компьютер оператора.

2. BSMS (BrukerSmartMagnetSystem) – система управления шиммами (отдельными магнитами для поддержания однородности поля) и другими частями магнита.
3. VTU (VariableTemperatureUnit) – система управления температурой образца.

Магнитная система:

Сам эксперимент ЯМР проходит в магнитной системе. Она состоит из следующих элементов:

- Магнит, создающий сильное магнитное поле (для данной установки вплоть до 11.74 Тл, что соответствует резонансной частоте протонов - 500МГц). Для поддержания сверхпроводимости его необходимо содержать при низкой температуре, для чего катушка магнита помещается в жидкий гелий, окруженный слоем жидкого азота .
- Система шиммов – отдельных магнитов, с помощью которых поддерживается однородность поля в образце.
- Система стабилизации (Lock system) – с её помощью магнитное поле поддерживается постоянным во время всего эксперимента. Её можно считать отдельным спектрометром, который настраивается на сигнал дейтерия. Так как сигнал дейтерия для данного магнита уже измерен, то мы можем измерять частоту при данном поле и, сравнивая с известными данными, настраивать испускаемое магнитное поле так, чтобы сигнал дейтерия был постоянный и “правильный”.
- Экспериментальная область (рис.5) – там находится исследуемый образец, испускаются импульсы для возбуждения ядер и принимаются полученные сигналы ЯМР, которые затем усиливаются и отправляются в консоль.



Рис. 5. Схема области

Методика эксперимента выглядит так:

1. Подготовка исследуемого образца
2. Помещение его в экспериментальную область
3. Установка необходимой температуры.
4. Настройка Lock на дейтерии.
5. Настройка шиммов для однородности поля.
6. Установка параметров эксперимента (длительность, тип и т.д.)
7. Запуск эксперимента ЯМР.

3.3 Результаты и обсуждение

3.3.1 ЯМР ^1H

Сначала были проведены эксперименты на ядрах ^1H . На рис. 6 приведены полученные спектры с подписями пиков. В табл. 1 указаны химические сдвиги для каждого из пиков.

Табл. 1. Химические сдвиги ЯМР ^1H пиков обоих изомеров (в м.д.)

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
<i>cis</i>	5.63	4.79	3.36	3.08	2.51	2.09	1.04	0.97
<i>trans</i>	6.05	5.22	3.36	3.00	2.51	2.09	1.02	0.91

Как несложно заметить, получившиеся спектры получились похожими друг на друга, из чего можно сделать вывод о схожести их структур. Приведённый ниже анализ пиков относится к спектру *trans*- изомера (рис. 7), но очевидно, что для *cis*- всё будет аналогично.

Также стоит заметить, что если проинтегрировать пики по площади и взять один из интегралов равным 1, то можно получить относительное количество атомов водорода в каждом из пиков.

Итого получили 8 разных пиков. Как видно из рис. 8, почти все пики кроме двух (о них поговорим позже) относятся к интегралу I как к целому числу.

1.Пики I и II находятся левее всех и рядом, значит они, скорее всего, связаны с сильно электроотрицательным атомом. Из этого можно сделать вывод, что эти пики соответствуют водородам в группе NH_2 . Однако у каждого водорода разные пики, что говорит об их химической неэквивалентности. Интегралы этих пиков можно принять за 1. Рассмотрим оба пика внимательнее (рис. 9, 10).

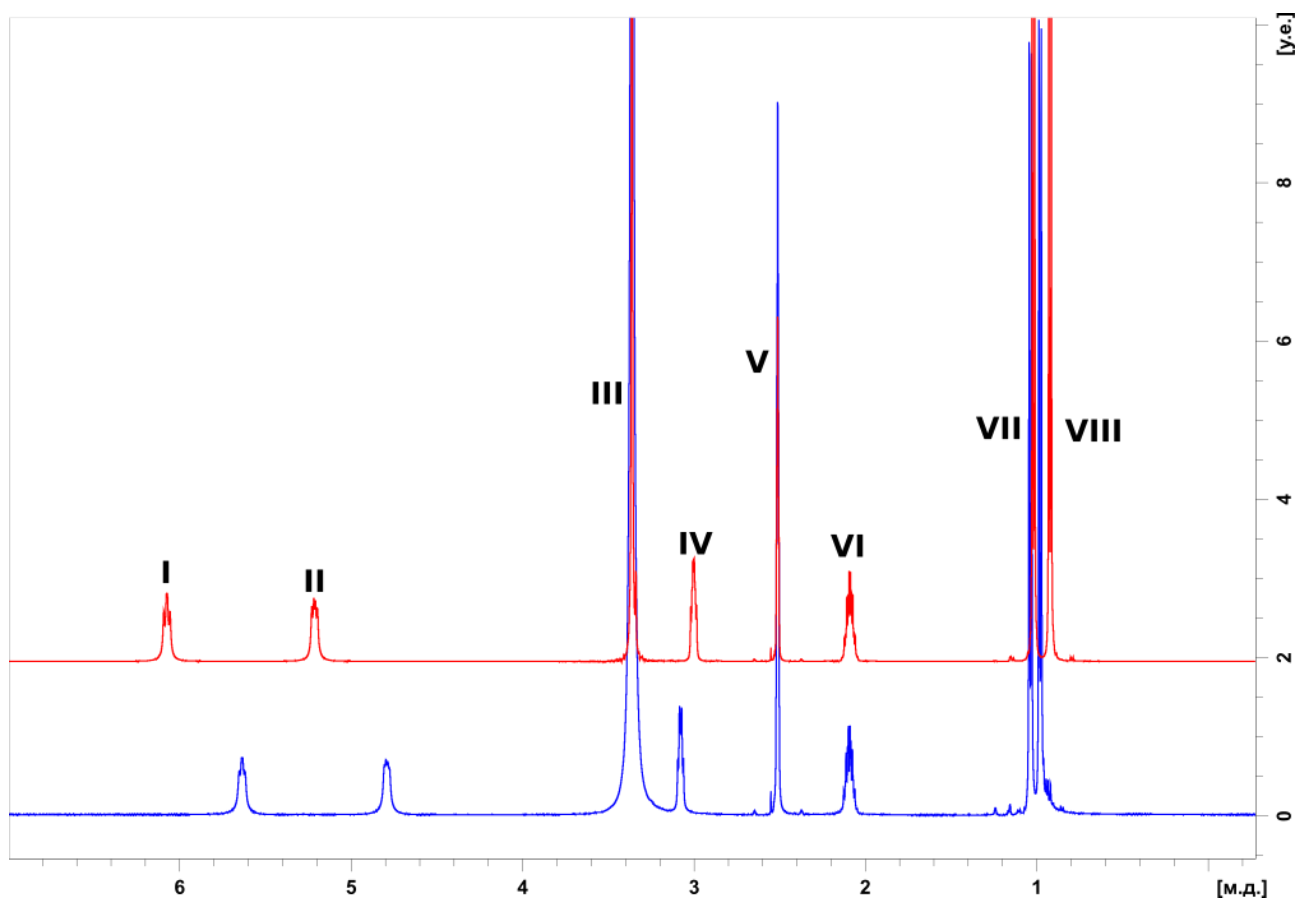


Рис.6. Спектры обоих изомеров (сверху -*trans*, снизу -*cis*)

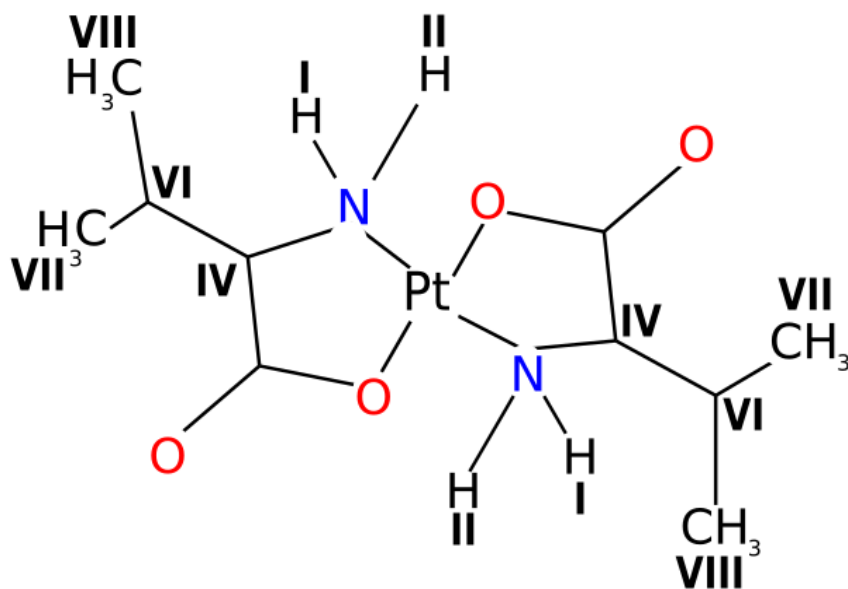


Рис. 7. Схема *trans*- изомера с подписями

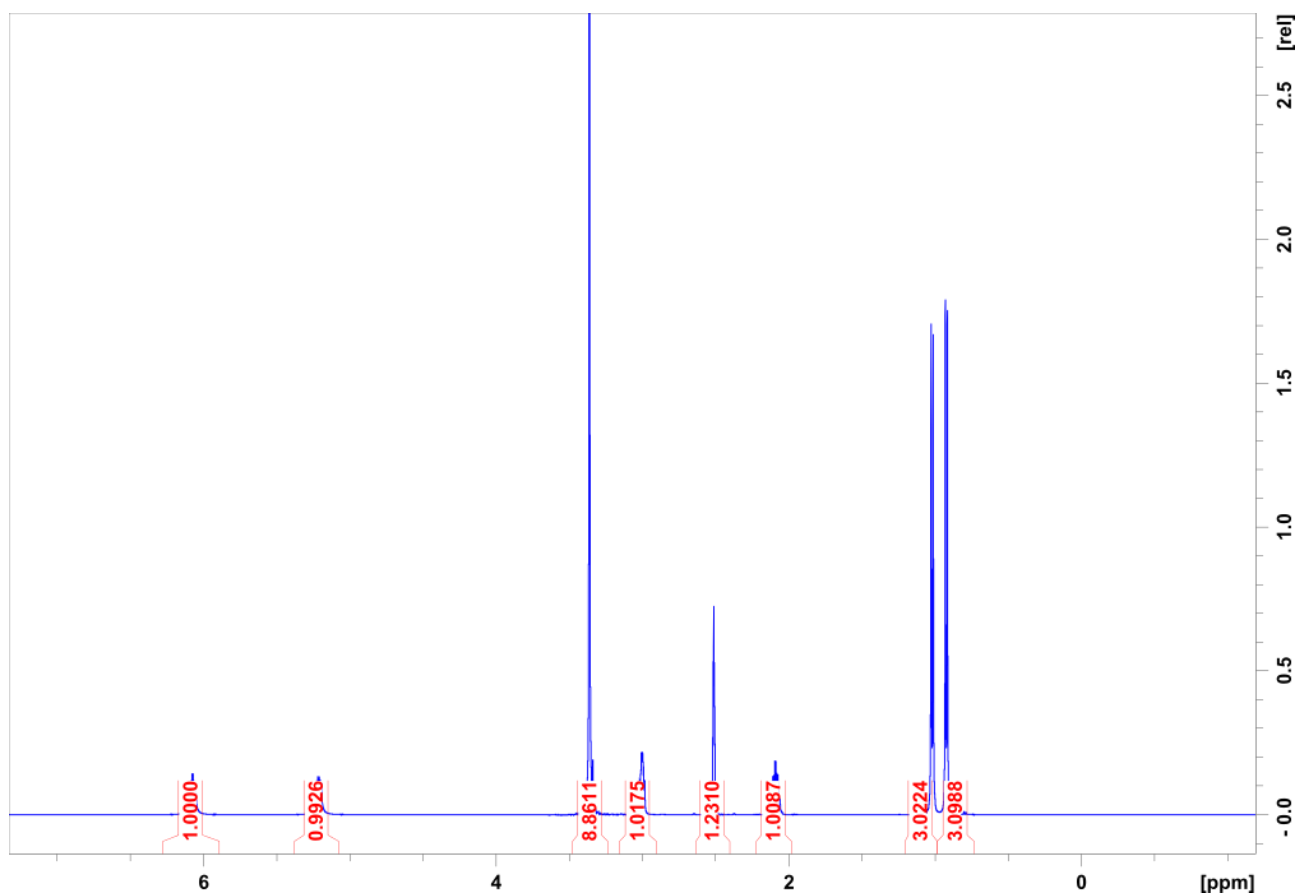


Рис. 8. Интегрирование пиков

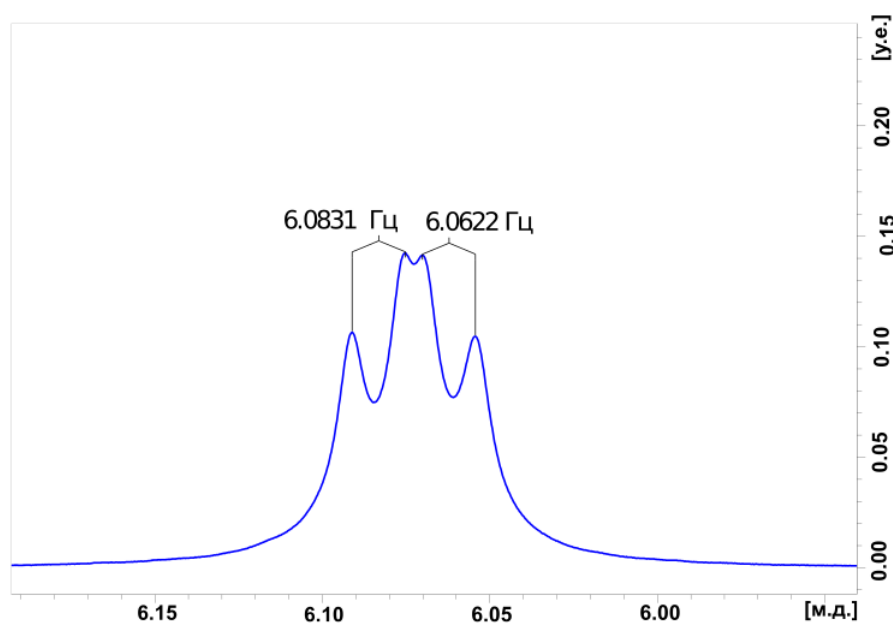


Рис. 9. Левый мультиплет

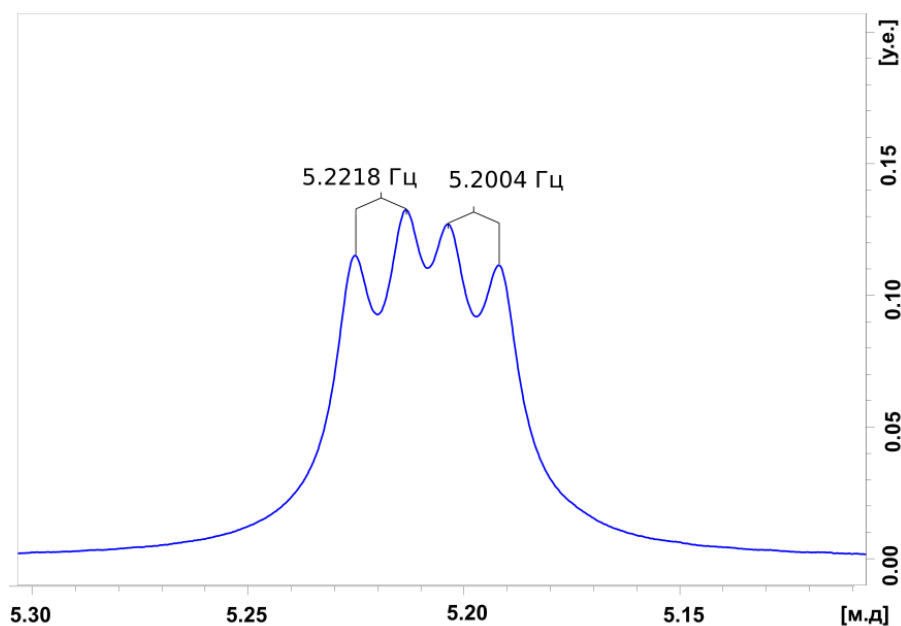


Рис. 10. Правый мультиплет

Каждый из водородов расщепляется на соседнем водороде своей группы и на водороде ближайшей СН группы (позже мы покажем, что ему соответствует пик IV), причем они находятся на разном расстоянии от него, из-за чего константы расщепления отличаются. К тому же, они, скорее всего, находятся на разном расстоянии от платины, из-за чего их химические сдвиги тоже разные. В итоге получаем два дублета дублетов. Тот, у кого константа расщепления на водороде соседней СН группы больше, находится ближе к нему (так как сильнее связь). Получается, что водород I – ближе к СН.

2) Согласно полученным до этого данным пик III соответствует остаткам воды в растворителе, поэтому он нас не интересует.

3) Пики IV и VI находятся рядом и имеют по одному водороду, из чего можно предположить, что это СН группы. Пик IV левее, что означает его близость к электроотрицательному атому, следовательно, это та группа, которая ближе к азоту. А значит, пик VI – другая.

4) Согласно известным данным, пик V соответствует растворителю DMSO-D6.

5) Последние два пика имеют по три водорода, из чего следует, что они отвечают CH_3 группам. Единственное их различие – химический сдвиг, что говорит нам о том, что они неэквивалентны.

В результате полученный спектр хорошо согласуется с предполагаемой структурой соединения, изображенной на рис. 7.

3.3.2 ЯМР ^{13}C

Затем был проведен эксперимент на ядрах ^{13}C . Так как углерод ^{13}C сильно расщепляется на соседних атомах водорода, появляется много мультиплетов, что уменьшает амплитуды наблюдаемых сигналов. Учитывая, что природное содержание изотопа ^{13}C – 1,108%, это приводит к необходимости долго накапливать сигнал. Чтобы уменьшить время накопления сигнала, эксперимент проводят методом *двойного гетероядерного резонанса*, который заключается в том, что дополнительно радиочастотное поле “подавляет” расщепления на водороде. Однако минусом является то, что полученные интегралы не будут иметь никакой связи с количеством атомов данного вида, но для нас это неважно, так как везде должно быть по одному атому.

Полученные спектры изображены на рис. 11, в табл. 2 указаны химические сдвиги каждого из пиков. На рис. 12 изображена схема нумерации атомов углерода для *trans*-изомера.

Табл. 2. Химические сдвиги пиков обоих изомеров (в м.д.)

	I	II	III	IV	V	VI
<i>cis</i>	183.77	62.48	40.07	30.78	19.29	17.55
<i>trans</i>	185.46	60.82	40.05	31.17	17.08	16.99

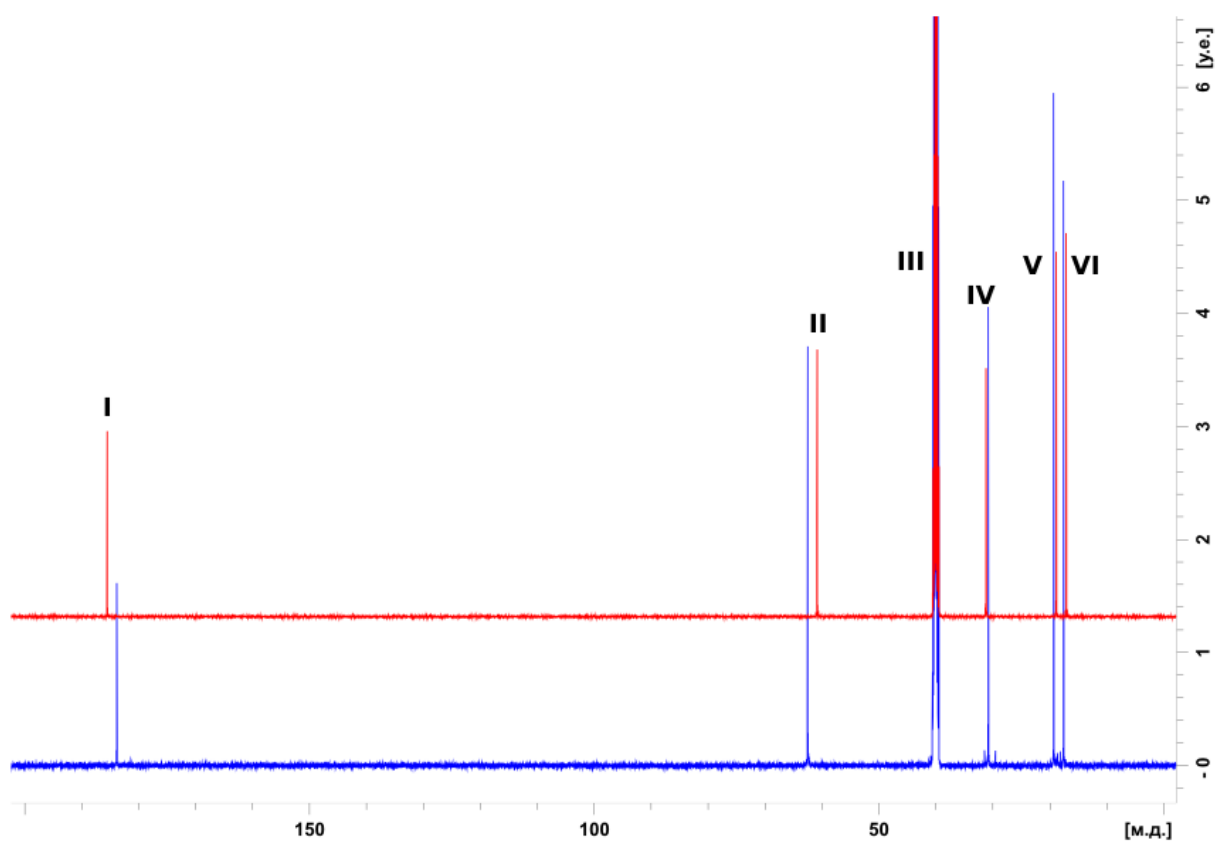


Рис. 11. Спектры обоих изомеров (сверху -*trans*, снизу -*cis*)

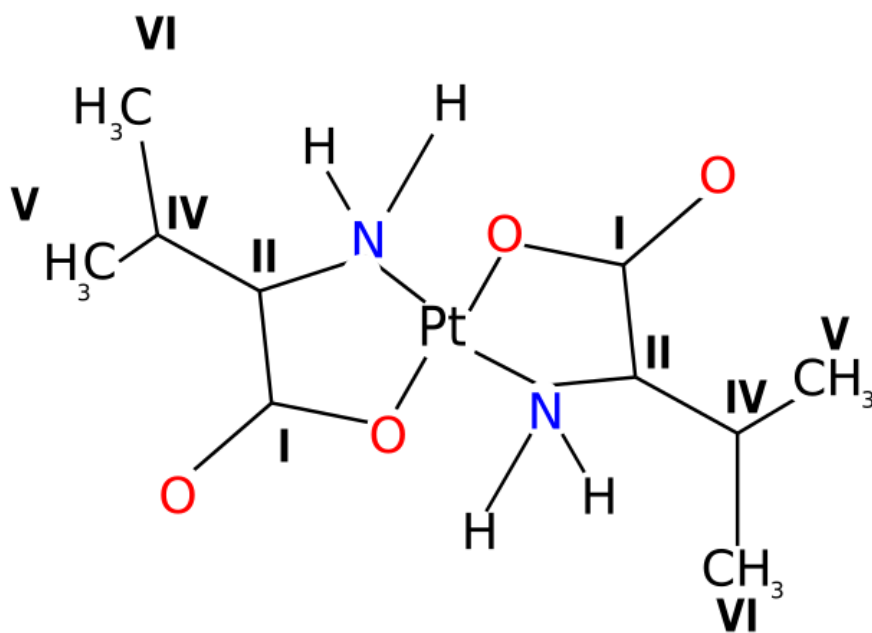


Рис. 12. Схема изомера с подписями

Получили 5 разных пиков без расщеплений. Рассмотрим их.

1) Пик I находится левее всего, что говорит о связи с сильно электроотрицательными атомами. Очевидно, что он соответствует углероду, связанному с двумя атомами кислорода (углероду карбоксильной группы).

2) Пики II и IV находятся недалеко друг от друга, но не так близко, как V и VI, что означает их соответствие СН группам. II пик находится левее, следовательно, он отвечает той СН группе, которая связана с азотом.

3) Пик III, согласно известным данным, отвечает сигналу растворителя DMSO

4) Пики V и VI очень близки друг к другу и далеко от электроотрицательных атомов, значит, это CH_3 группы.

В итоге данный спектр хорошо согласуется с предполагаемой структурой соединения, изображенной на рис. 12.

3.3.3 ЯМР ^{195}Pt

Целью этого эксперимента является просто установление наличия платины в веществе. Полученные спектры представлены на рис. 13, в табл. 3 указаны химические сдвиги сигналов.

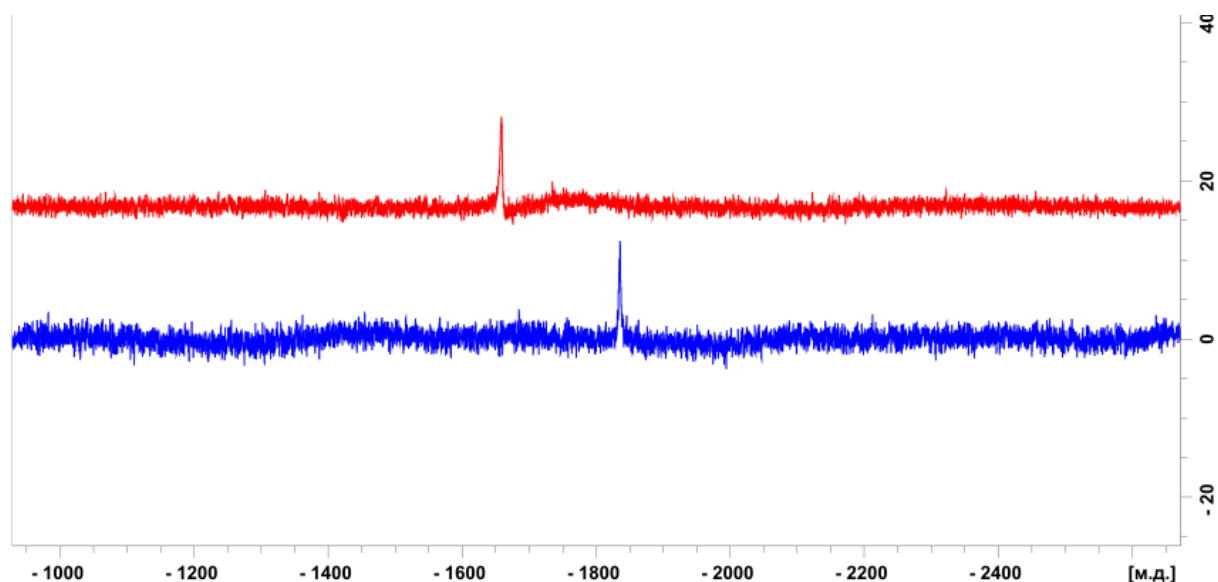


Рис. 13. Спектры обоих изомеров (сверху -*trans*, снизу -*cis*)

Табл. 3. Химические сдвиги пиков обоих изомеров (в м.д.)

	Pt
<i>cis</i>	-1834.3
<i>trans</i>	-1658.6

Как мы видим, есть лишь один сигнал платины, что соответствует действительности. В разных изомерах сигнал имеет разные сдвиги, что объясняется разными химическими окружениями.

Таким образом, мы проверили структуру обеих веществ и убедились, что они могут соответствовать *cis*- и *trans*- изомерам Pt(Val)₂, причём каждый из образцов содержит только один изомер.

3.3.4 Реакция изомеризации

Некоторые вещества, схожие с исследуемыми нами, могут со временем переходить из одного изомера в другой (реакция изомеризации). Так как это весьма важное свойство, было решено проверить, переходит ли *cis*- форма нашего изомера в *trans*- форму. Для этого после недели нахождения при комнатной температуре был проведён ещё один эксперимент на ядрах ^1H . В итоге получились следующие спектры (рис. 14).

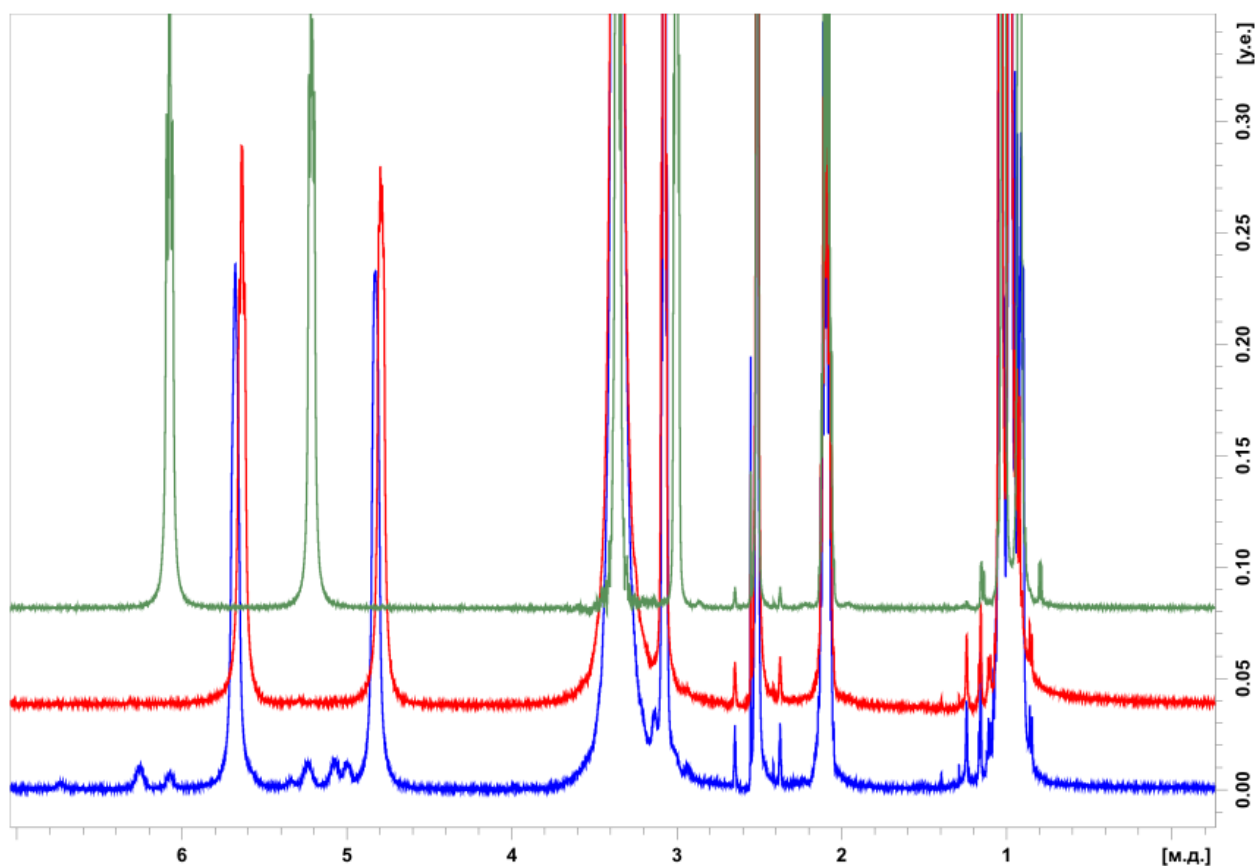


Рис. 14. Спектры *cis*- спустя месяц (нижний), *cis*- до перехода (средний), *trans*- (верхний).

Табл. 4. Процентное соотношение разных форм спустя месяц

	<i>cis</i> - форма	<i>Trans</i> -форма	Переходная форма
Процент	84,12%	6,92%	8,96%

По рисунку легко заметить, что произошли заметные изменения. Так, слева появились два маленьких пика, которые можно расценивать как пики *trans*-изомера и переходной формы. Остальные пики также заметно уширились, что тоже говорит о появлении других формы. Таким образом, действительно наблюдается переход из *cis*- в *trans*- форму. Для практических целей стоит зафиксировать, как проходит процесс с течением времени. Однако, так как при комнатной температуре он проходит очень медленно, было решено нагреть образец до 110 градусов Цельсия, после чего было зарегистрировано несколько спектров на ядрах ^1H через различные промежутки времени. После этого, с помощью интегрирования пиков или аппроксимации формы сигналов лоренцианами (см. рис. 15) можно получить отношения количества одного изомера к другому. Как видно на рис. 14, проще всего это сделать на примере пиков протонов, связанных с азотом.

Графики зависимости отношения количества *cis*- изомера к *trans*- приведены на рис. 16.

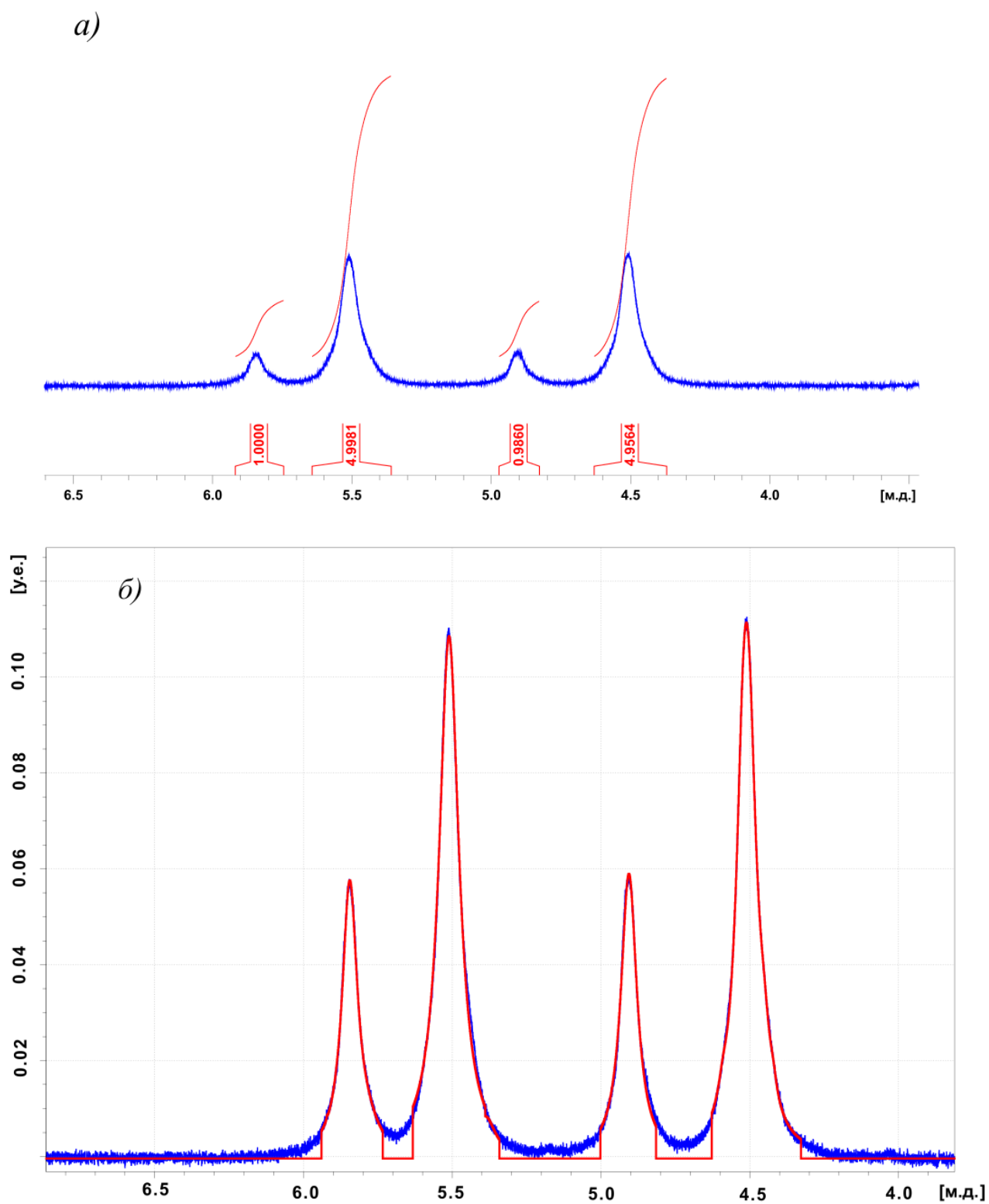


Рис. 15. а) Интегрирование левых пиков б) Лоренцовское приближение

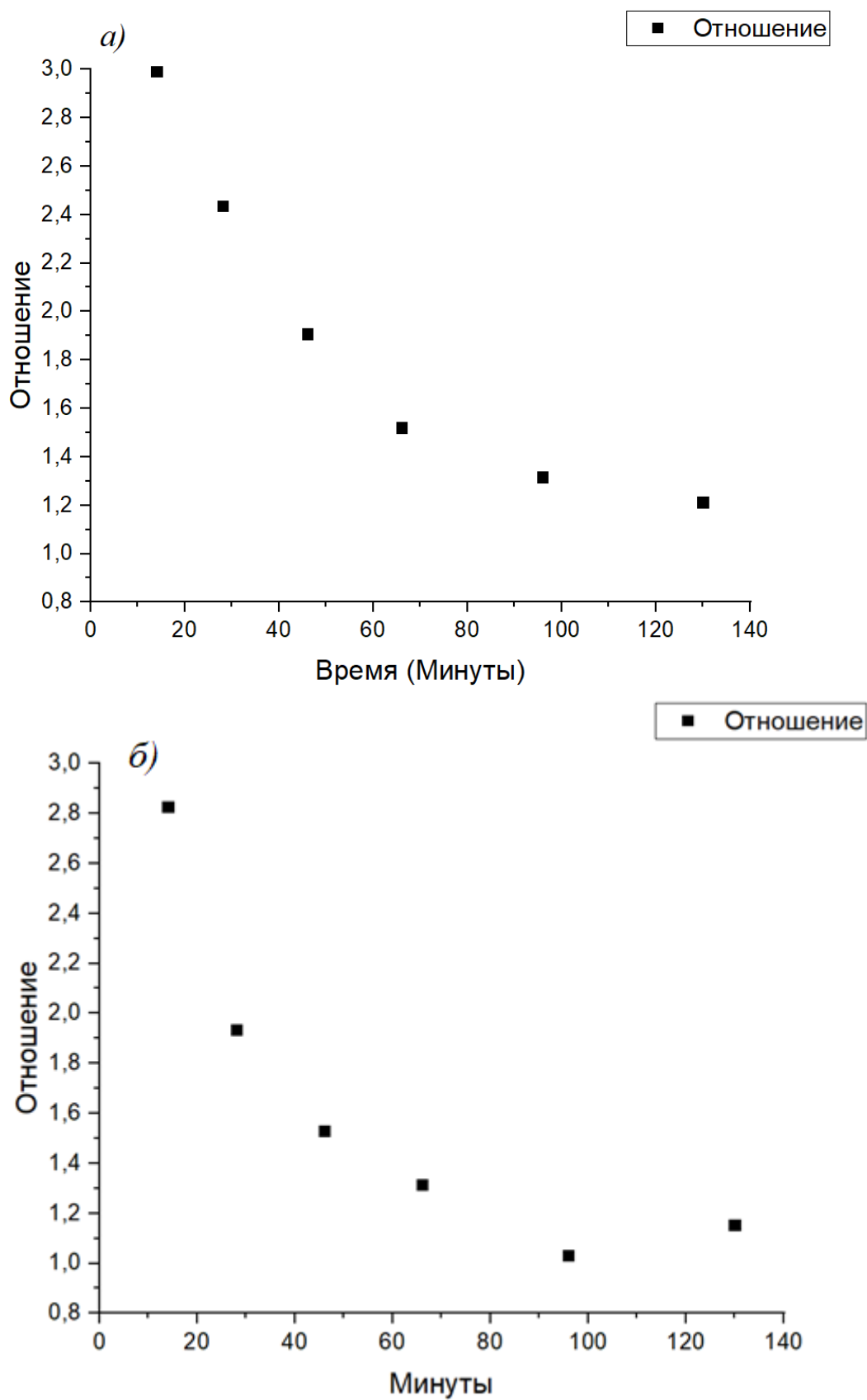


Рис. 16. Графики зависимости отношения количества *cis*- к *trans*-, вычисленные с помощью а) интегрирования, б) Лоренцовского приближения.

Как мы видим, соотношение стремится к единице экспоненциальным видом, причем относительно быстро (отношение упало в 5 раз всего за 2 часа). Однако при подсчете через аппроксимацию формы сигналов лоренцианами отношение начинает расти, что, скорее всего, говорит об ошибках в приближении.

Также спустя месяц был проведён эксперимент на образце *trans*-изомера, что дало следующий спектр (рис. 17):

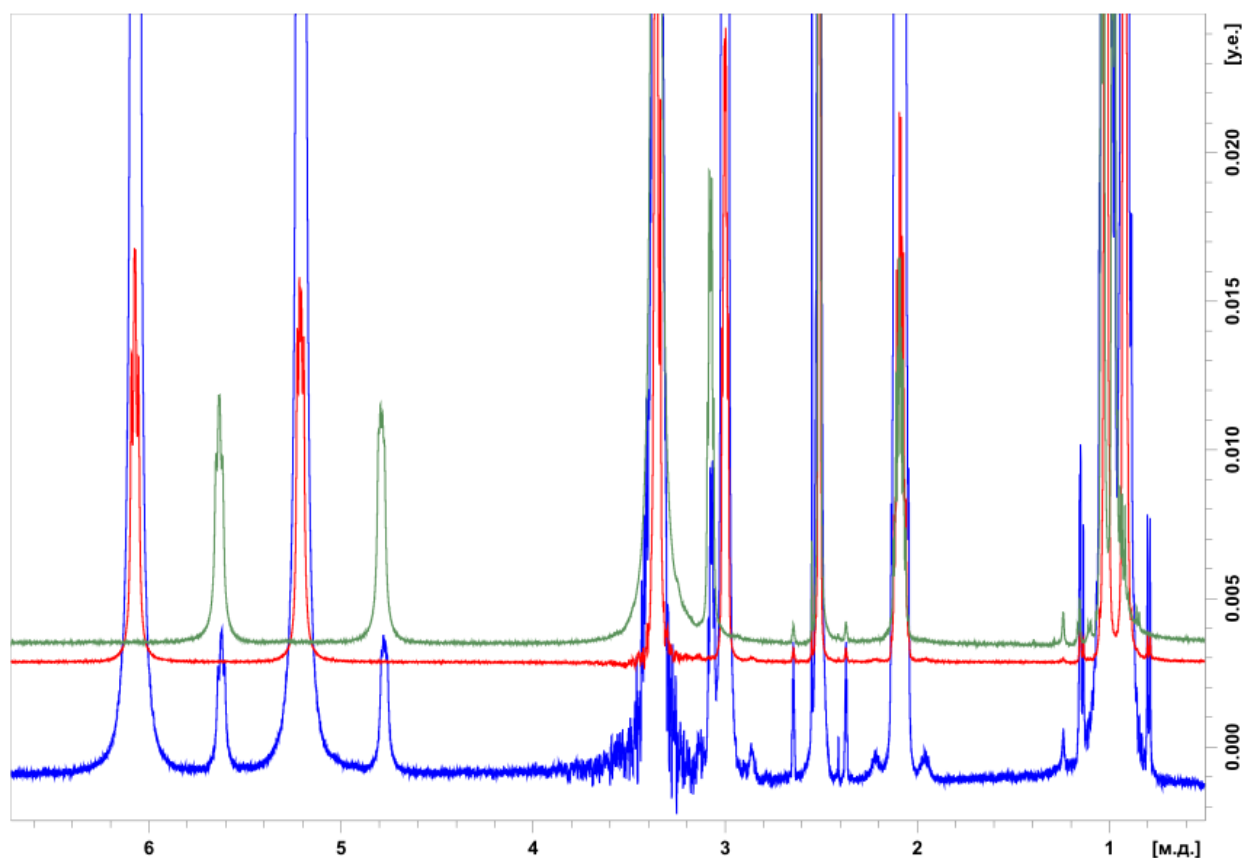


Рис. 17. Спектры *trans*- спустя две недели (нижний), *trans*- до перехода (средний), *cis*- (верхний).

Легко заметить, что переход *trans*-изомера в *cis*-изомер со временем также имеет место быть.

4. Выводы

1. Полученные спектры ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{195}Pt соответствуют предполагаемым структурам $\text{trans-Pt}(\text{Val})_2$ и $\text{cis-Pt}(\text{Val})_2$. Каждый из образцов содержит только один изомер

2. Реакция изомеризации $\text{trans-Pt}(\text{Val})_2$ и $\text{cis-Pt}(\text{Val})_2$ в растворе DMSO-D₆ при комнатной температуре идёт медленно. В спектре $\text{cis-Pt}(\text{Val})_2$ через неделю появляются сигналы $\text{trans-Pt}(\text{Val})_2$ и, вероятно, сигналы переходной формы.

3. При нагревании $\text{cis-Pt}(\text{Val})_2$ реакция изомеризации заметно ускоряется.

5. Заключение

В результате все поставленные нами цели были выполнены, что позволяет авторам приступить к дальнейшему изучению свойств *cis*- изомера. На данный момент рассматривается возможность соединения его с кукурбит[7]урилом для успешной “доставки” к раковым клеткам. В процессе выполнения этой задачи тоже нужен метод ЯМР, однако это мы оставим вне данной работы.

Тем самым, был освоен метод эксперимента ЯМР и преодолён один из шагов в возможном получении нового антиракового лекарства.

6. Список литературы

1. Dilruba, S. & Kalayda, G.V.// Cancer Chemother Pharmacol. 2016 Vol. 77. No. 6. P. 1103–1124.
2. Волштейн Л.М. // Координац. химия. 1975. Т. 1, № 5. С.595 – 621
3. Крылова Л.Ф., Гловин А.В. // Журнал Структ. Хим. 2000. Т. 41, № 2. – С. 300 – 311.