

第 1 章 核磁共振技术简介

1.1 发展简史

核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)是交变磁场与物质相互作用的一种物理现象,最早于 1946 年由哈佛大学的 Purcell 和斯坦福大学的 Bloch 所领导的两个小组分别用实验所证实。核磁共振的发现具有十分重要的意义,不仅为量子力学的基本原理提供了直接的验证,而且为多个学科领域的研究提供了一种不可或缺的分析与测量手段。他们二人由于这项重大发现,共同获得了 1952 年的诺贝尔物理学奖。此后,核磁技术无论是在实验还是理论方面都不断取得突破和进展,大大加快了人类对微观世界的探究步伐。

核磁共振技术是基于化学位移理论发展起来的,主要用于测定物质的化学成分和分子结构。化学家利用分子结构对氢原子周围磁场产生影响,从而产生不同的化学位移的现象,发展出了核磁共振波谱,用于分子结构解析。在过去的几十年中,核磁共振技术经历了几次飞跃:1945 年核磁共振信号的发现;1948 年核磁弛豫理论的建立;1950 年化学位移和耦合常数的发现以及 1965 年傅立叶变换谱学的诞生迎来了核磁共振真正的繁荣期。自从 20 世纪 70 年代以来,核磁共振技术发展异常迅猛,形成了液体核磁高分辨、固体核磁高分辨和磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)三雄鼎立的新局面。

二维核磁共振技术的发展使得液体核磁共振技术的应用迅速扩展到生物学领域:交叉极化技术的发展使 20 世纪 50 年代就发明出来的魔角旋转(Magic Angle Spinning, MAS)技术在材料科学中发挥了巨大的作用;核磁成像技术的发展使核磁进入了与人类生命息息相关的医学领域。理查德·恩斯特教授(Prof. Richard Ernst)因在高分辨核磁共振二维谱新技术方面的贡献而获得 1991 年诺

贝尔化学奖。库尔特·维特里希教授因用核磁共振技术测定溶液中生物大分子三维结构获得了2002年诺贝尔化学奖。这从侧面反映了核磁共振新技术的迅猛发展,并对世界前沿研究工作做出了巨大贡献。

磁共振成像(MRI)技术是美国物理学家保罗·劳特伯尔于1973年开发的一种无损测量技术。依据原子核能级跃迁所释放的能量在物质内部不同结构环境中不同的衰减,通过外加梯度磁场检测所发射出的电磁波,即可得知构成这一物体原子核的位置和种类,据此可以绘制出物体内部的结构图像。此后,磁共振成像技术日趋成熟,科学家将这种技术用于人体内部结构的成像,至今成为一项常规的医学检测手段,广泛应用于帕金森氏症、多发性硬化症等脑部与脊椎病变以及癌症的治疗和诊断。

磁共振现象发现至今,从最初主要应用于核物理方面,到如今被化学、食品、医学、生物学、遗传学及材料科学等领域广泛采用,已经成为在这些领域开展研究工作的有力工具。这足以说明此领域及其衍生技术在现代社会发展中的重要性。核磁共振技术的发展如下:

1930年,现代物理学家伊西多·拉比发现在磁场中的原子核会沿磁场方向呈正向或反向有序平行排列,而施加无线电波之后,原子核的自旋方向发生翻转。

1944年,拉比获得诺贝尔物理学奖。

1946年,美国科学家布洛赫和珀塞尔发现,将具有奇数个核子(包括质子和中子)的原子核置于磁场中,再施加以特定频率的射频场,就会发生原子核吸收射频场能量的现象,这就是人们最初对核磁共振现象的认识。

1952年,布洛赫和珀塞尔两人获得诺贝尔物理学奖。

1969年,医学家们发现水分子中的氢原子可以产生核磁共振现象,利用这一现象可以获取人体内水分子分布的信息,从而精确绘制人体内部结构。在这一理论上,纽约州立大学南部医学中心的医学博士达马迪安通过测定核磁共振的弛豫时间,成功将小鼠的癌细胞与正常组织细胞区分开来。

1973年,在达马迪安新技术的启发下,纽约州立大学石溪分校的物理学家保罗·劳特伯尔开发出了基于核磁共振现象的设备。

20世纪90年代,人们发展出了依靠核磁共振信息确定蛋白质分子成像的技术,并且应用其设备三级结构的技术,使得溶液相蛋白质分子结构的精确测定成为可能,成功地绘制出了一个活体蛤蜊的内部结构图像。

2003年,保罗·劳特伯尔和英国诺丁汉大学教授彼得·曼斯菲尔因为在核

磁共振成像技术方面的贡献获得当年的诺贝尔生理学或医学奖。

至今,核磁共振已在物理、化学、材料科学、生命科学、医学等领域中得到了广泛应用。

1.2 谱仪简介

核磁共振谱仪工作原理是在强磁场中,原子核发生能级分裂,当其吸收外来电磁辐射时,将发生核能级的跃迁,即产生所谓磁共振现象。当外加射频场的频率与原子核自旋进动的频率相同时,射频场的能量才能够有效地被原子核吸收,为能级跃迁提供助力。因此,某种特定的原子核在给定的外加磁场中,只吸收某一特定频率射频场提供的能量,这样就形成了一个核磁共振信号。因此,核磁共振技术研究的对象是处于强磁场中的原子核对射频辐射的吸收。核磁共振谱仪有两大类:高分辨核磁共振谱仪和宽谱线核磁共振谱仪。前者只能测量液体样品,主要用于化学生物医学领域;后者可直接测量固体样品,在物理学领域应用较多。

目前世界上主要的核磁共振谱仪生产商有瑞士的 Bruker 公司和日本的 JEOL 公司,两公司各有所长。图 1.1 为 Bruker 公司生产的 Advance II 400 MHz 的液体核磁共振波谱仪磁体及内部结构。



图1.1 液体核磁共振波谱仪磁体及内部结构(Bruker 公司生产的 Advance II 400 MHz)

液体核磁共振波谱仪的组成部分介绍如下:

(1) 操作工作站。

工作时进行人机对话操作仪器、设置参数、数据处理和打印谱图都是通过计算机来进行的。现在谱仪上所用的计算机操作系统有 Windows 和 Unix。

(2) 机柜。

机柜有控制气流、控制变温系统、信号初级放大以及液氮和液氦的显示等功能。变温控制部分(variable-temperature controller)通过电热丝升温,精度可达 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。低温实验时,通过杜瓦瓶吹出低温的氮气,降低探头的温度。

(3) 磁铁。

永久磁铁由永磁材料制成,优点是消耗电功率小,缺点是对外界温度变化很敏感,一旦断电,仪器需 3~4 天时间达到稳定后才能正常使用。永久磁铁的磁场强度低。用永久磁铁制作的谱仪对氢的共振频率一般为 60 MHz。

磁铁装置由软磁性材料外绕激磁线圈,通电后产生磁场。其优点是能较快达到稳定状态,缺点是消耗电功率大,并且需大量散热,配有冷却水系统或风冷系统,这种工作方式不符合现在的环保要求。电磁铁比永久磁铁的磁场强度高,用电磁铁制作的谱仪对氢的共振频率一般为 80~100 MHz。

超导磁铁(superconducting magnet)实际上是装有铌钛合金丝绕成的螺线管,螺线管放在存有液氮的杜瓦瓶中,在液氮的超低温(4 K)中导线电阻接近零,通电闭合后,产生很强的磁场。超导磁铁的磁场强度远远大于永久磁铁和电磁铁,所以永久磁铁和电磁铁的谱仪已经被淘汰,目前商用的高分辨谱仪基本都是超导磁铁谱仪。超导磁铁的磁场强度很高,目前超导磁铁制作的谱仪对氢的共振频率一般为 200~1 000 MHz。因为强磁场使仪器的灵敏度很高,并且谱上各峰之间的距离比低磁场仪器测出的峰拉得开,将原来集中在一起的峰分开了,使得谱图更容易解析。

(4) 探头。

探头上装有发射和接收线圈,在测试时将样品管放入探头中,处于发射和接收线圈中心。工作时,发射线圈发射照射脉冲,接收线圈接收共振信号。所以可以将探头比喻为核磁共振谱仪的心脏。超导磁铁中心有一个垂直向下的管道与外面大气相通,探头就装在这个管道中磁铁的中心位置,这里是磁场最强、最均匀的地方。

(5) 室温匀场系统。

在磁极间有很多匀场线圈,可以提高磁场的均匀性和分辨率。这些匀场线圈通电后产生一定形状的磁场,调节线圈电流能改变磁极间磁力线分布,磁力线

分布越均匀,信号宽度越小,分辨率越高。

(6)其他附属设备。

空气压缩机(air compressor)产生压缩空气,用来控制样品管的装入和排出,并且使样品管在工作时旋转。在空气压缩机把压缩空气送入探头的管道中间有除湿和过滤装置,以便送入探头的空气是洁净、干燥的。

1.3 研究领域

由于核磁共振技术可在不破坏样品的情况下分析物质的化学结构及某种成分的密度分布,其应用已扩展到物理、化学领域之外的医疗、生物工程等方面。现今,核磁共振技术的研究领域按照应用主要分为以下几类:

- (1)化学结构鉴定。
- (2)动态过程研究。
- (3)三维结构研究。
- (4)药物设计。
- (5)代谢组学的研究。

第 2 章 核磁共振技术的基本原理

2.1 基本概念

核磁共振(NMR)是电磁波与物质相互作用的结果。在物理学中,电磁波与物质的相互作用构成了范围很广而且相当重要的一个方面,核磁共振便是其中的一个现象。核磁共振所涉及的电磁波为无线电波,频率为数兆赫到一千兆赫之间,所涉及物质则为宏观物质中原子的原子核。因此用 NMR 所进行的研究一般可用如“原子水平”这样的术语,是对组成物质的最基本单元所进行的研究。本章主要介绍核磁共振的基本原理及一些核磁共振谱图中的特性参数。

2.1.1 原子核的自旋

学习做 NMR 实验,首先应该对 NMR 现象有一个初步的认识,而要了解 NMR 信号的产生过程,则需要先掌握原子核的磁性。原子核的磁性产生于原子核的一个基本物理属性,即原子核的自旋。

根据物质无限可分的哲学观点,很容易理解原子。用通俗的语言可以这样描述原子:世间一切物质都是由原子组成的,原子是化学元素保持其基本属性的最小单位。原子由原子核与核外电子所构成,而原子核又由带正电荷的质子和不带电荷的中子所构成。具有相同质子数但中子数不同的原子在元素周期表上占有相同位置,称为元素的同位素,如氢原子、氘原子和氚原子,它们在周期表中的位置为第一周期第一主族,但它们是三种不同的氢同位素,分别记为 ${}^1\text{H}$ 、 ${}^2\text{H}$ 、 ${}^3\text{H}$,或分别记为 H、D、T,其中左下角标为原子序数,左上角标为原子质量数。

20 世纪初期,原子物理学家对原子核的结构产生了浓厚的兴趣,他们发现了一系列重要的物理现象,其中之一是:当原子核中的质子数为奇数时,原子核具有自旋的物理特性。例如上面提到的 H、D、T 三种同位素的原子核的自旋分别为 $1/2$ 、 1 、 $1/2$ 。而当质子数为偶数、中子数为奇数时,自旋也是存在的。例如碳的同位素 ${}^{13}\text{C}$ 核有 6 个质子和 7 个中子,其自旋为 $1/2$ 。他们还发现,自旋为

整数(如 1、2 等)和其他半整数(如 3/2、5/2 等)的核具有核四极矩。原子物理学家的这些发现,奠定了核磁共振学科的基础。在 NMR 中,对同位素的描述只使用简化的符号,即略去质子数或原子序数不写,仅写出同位素的原子量(即质子数与中子数之和),例如 $^{13}_6\text{C}$ 简写成 ^{13}C 。表 2.1 中列出了 NMR 实验中常用的同位素核有关的物理参数。共振频率以 ^1H 频率为 100 MHz 作为参考。检测灵敏度以 ^1H 为 1 作为参考,并考虑 T 同位素的天然丰度,左、右两列分别按 r_3 与 $r_{5/2}$ 计算。

表 2.1 NMR 实验中常用的同位素核有关的物理参数

符号	天然丰度	自旋	旋磁比 $/(10^7\text{rad}\cdot\text{T}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	共振频率 /MHz	检测灵敏度	
^1H	0.999 85	1/2	26.752	100	1	1
^2H	0.000 15	1	4.106 6	15.351	1.45×10^{-6}	3.69×10^{-6}
^7Li	0.925 8	3/2	10.397 5	38.866	0.27	0.436
^{11}B	0.804 2	3/2	8.584 3	32.084	0.13	0.234
^{13}C	0.011 08	1/2	6.728 3	25.144	1.76×10^{-4}	3.51×10^{-4}
^{14}N	0.996 3	1	1.933 8	7.224	1.01×10^{-3}	3.77×10^{-3}
^{15}N	0.003 7	1/2	-2.712	10.133	3.85×10^{-6}	1.21×10^{-5}
^{17}O	0.000 37	5/2	-3.627 9	13.557	1.08×10^{-5}	2.92×10^{-5}
^{19}F	1	1/2	25.181	94.08	0.83	0.859
^{23}Na	1	3/2	7.080 13	26.466	0.092 5	0.180
^{27}Al	1	5/2	4.976	26.077	0.21	0.405
^{29}Si	0.047	1/2	-5.318 8	19.865	3.69×10^{-4}	8.26×10^{-4}
^{31}P	1	1/2	10.841	40.481	0.066 3	0.104
^{77}Se	0.075 8	1/2	5.100 8	19.067	5.25×10^{-4}	1.20×10^{-3}
^{119}Sn	0.085 8	1/2	9.971	37.272	4.44×10^{-3}	7.28×10^{-3}
^{129}Xe	0.264 4	1/2	7.399 6	27.66	5.60×10^{-3}	0.010 6

核像电子一样,也有自旋现象,其效果相当于产生了旋转电流。旋转电流将会产生感应磁场。因此原子核的自旋运动使之沿自旋轴方向产生感应磁场,从而显示磁性。自旋运动的原子核具有自旋角动量 P ,同时具有自旋感应产生的核磁距 μ ,其中 $\mu=\gamma P$ (γ 为磁旋比)。核的自旋角动量 P 是量子化的,不能任意取值,可用自旋量子数 I 来描述,满足

$$P = \sqrt{I(I+1)} \frac{h}{2\pi} \left(I=0, \frac{1}{2}, 1, \dots \right) \quad (2.1)$$

一般情况下, $I=0, P=0$ 时无磁性, 不会产生磁共振现象。只有当 $I>0$ 时, 才发生共振吸收, 产生共振信号。现将所有共振情况总结如下:

(1) $I=0$ 的原子核有 $O(16)$ 、 $C(12)$ 、 $S(32)$ 等, 无自旋, 没有磁矩, 不产生共振吸收。

(2) 一些 $I=1$ 或 $I>0$ 的原子核:

$$I=1: {}^2\text{H}, {}^{14}\text{N}。$$

$$I=3/2: {}^{11}\text{B}, {}^{35}\text{Cl}, {}^{79}\text{Br}, {}^{81}\text{Br}。$$

$$I=5/2: {}^{17}\text{O}, {}^{127}\text{I}。$$

这类原子核的核电荷分布可看作一个椭圆体, 电荷分布不均匀, 共振吸收复杂, 研究应用较少。

(3) $I=1/2$ 的原子核有 ${}^1\text{H}$ 、 ${}^{13}\text{C}$ 、 ${}^{19}\text{F}$ 、 ${}^{31}\text{P}$ 。原子核可看作核电荷均匀分布的球体, 像陀螺一样自旋, 有磁矩产生。由于 C、H 也是有机化合物的主要组成元素, 因此它们成为核磁共振研究的主要对象。

2.1.2 原子核运动

在没有外电场时, 自旋核的取向是任意的。自旋核在外加磁场中的取向满足取向数 $= 2I+1$, 每一个自旋取向都代表一个特定的原子核的能级状态, 用磁量子数 m_s 表示 (m_s 取值为 $+I, +I-1, \dots, 0, \dots, -I$)。如 ${}^1\text{H}$ 核: $I=1/2, m_s$ 为 $-1/2$ 和 $+1/2$ 。能级状态图如图 2.1 所示。

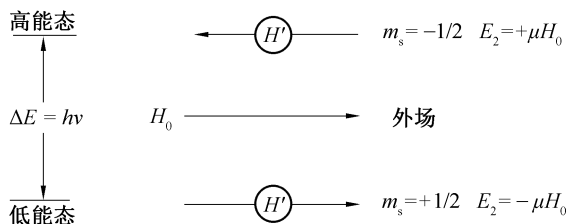


图2.1 原子核的能级状态图

其中, $\Delta E = E_2 - E_1 = -2\mu H_0$, 表示核在能级间的定向分布 (玻耳兹曼分布) 及核跃迁。在一定温度下, 处于高、低两能态的核的数目会达到一个平衡 (玻耳兹曼平衡)。在常温、外磁场为 100 MHz 的条件下, ${}^1\text{H}$ 核的 $n_2/n_1 = 999\,987/1\,000\,000$, 这种差异正是检测核磁共振信号的基础。一定条件下, 低能态的核吸收外部能量跃迁到高能态, 并给出相应的吸收信号 (核磁共振信号)。

2.1.3 饱和与弛豫

低能态的核吸收能量自低能态向高能态跃迁,仅仅多百万分之几的低能态核很快全部都跃迁到高能态,能量不再吸收。与此相应,核磁共振的信号将逐渐减退,直至完全消失,此种状态称为饱和状态。而高能态的原子核经非辐射形式释放能量返回低能态的过程称为弛豫。弛豫使核保持玻耳兹曼分布的热平衡状态,使得检测核磁共振的连续吸收信号成为可能。

对于每一个核来讲,由低能态跃迁到高能态或由高能态到低能态的跃迁概率是相同的,但由于低能态的核数略高,所以仍有净吸收信号。然而在射频电磁波的照射下(尤其在强照射下),这种跃迁会继续下去,而高能态的核没有其他途径回到低能态,其结果导致处于低能态的氢核微弱,多数趋于消失,能量的净吸收逐渐减少,共振吸收峰渐渐降低,甚至消失,使吸收无法测量,这时发生饱和现象。但是,若较高能态的核能够及时恢复到较低能态,就可以保持信号稳定。由于核磁共振中氢核发生共振时吸收的能量 ΔE 是很小的,因而跃迁到高能态的氢核不可能通过发射谱线的形式失去能量而返回到低能态(如发射光谱),这种由高能态恢复到低能态,由不平衡状态恢复到平衡状态而不发射原来所吸收的能量的过程称为弛豫过程。弛豫过程主要有两种,即自旋-晶格弛豫和自旋-自旋弛豫。

(1) 自旋-晶格弛豫。

自旋-晶格弛豫(又称纵向弛豫)是处于高能态的核自旋体系与其周围环境之间能量的交换过程,其结果是部分核由高能态回到低能态,核的整体能量下降。一个体系通过自旋-晶格弛豫过程达到热平衡状态所需要的时间,称自旋-晶格弛豫时间,用 T_1 表示。 T_1 越小,表明弛豫过程的效率越高, T_1 越大则效率越低。 T_1 值的大小与核的种类、样品的状态、温度有关。固体样品的振动、转动数小,纵向弛豫时间较长,可达几小时。对于气体或液体样品, T_1 一般只有 $10^{-4} \sim 10^2$ s。

(2) 自旋-自旋弛豫。

自旋-自旋弛豫(又称横向弛豫)是指一些跃迁到高能态的自旋核把能量转移给同类的低能态核,同时一些低能态的核获得能量跃迁到高能态的过程。其结果是各种取向核的总数并没有改变,核的整体能量也不改变,但是影响具体的核在能级停留的时间。自旋-自旋弛豫时间用 T_2 来表示,对于固体样品或黏稠液体,核之间的相对位置较固定,利于核间能量传递, T_2 较短,约 10^{-3} s。非黏稠样品, T_2 较长(约 1 s)。

2.1.4 玻耳兹曼分布

无外磁场存在时,大量的氢核处于基态下,核自旋是无序的,彼此之间没有能量差,它们的能态是简并的。但是,由于原子核具有核磁矩,当外加一个强磁场时(B_0),核磁矩的取向会与外磁场平行或反平行,最终取向与外磁场平行核的数目总是比取向反平行的核稍多。外加一个磁场时,取向与外磁场(B_0)平行和反平行的核之间会有能量差。图 2.2 为原子核的核磁矩在外加磁场中的能级图。

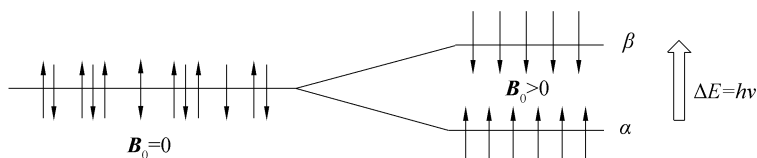


图2.2 原子核的核磁矩在外加磁场中的能级图

每个能级都有不同的布居数(N),布居数的差别与能量差有关,遵守玻耳兹曼分布,这样处于低能态的核就占优势。但因室温时热能比核磁能级差要高几个数量级,热运动要破坏这种倾向,当达到热平衡时,两种状态的氢核服从玻耳兹曼分布。

$$\frac{n_1}{n_2} = e^{-\Delta E/KT} \quad (2.2)$$

式中, n_1 和 n_2 分别代表处于高能态和 low 能态的氢核数; K 为玻耳兹曼常数; T 为绝对温度。

一般在室温条件下处于低能态的核比高能态的核只多百万分之几,而核磁共振就是依靠这部分稍微过量的低能态的核吸收射频能量产生共振信号的。因此,核磁共振的灵敏度比较低,比紫外、红外和质谱仪所用的样品量要多很多。

2.1.5 拉摩尔进动

拉摩尔进动是指电子、原子核和原子的磁矩在外部磁场作用下的进动。具有自旋与磁矩特性的磁性核处于磁感应强度为 B 的均匀磁场中时,若此原子核的磁矩 μ 与 B 的方向不同,在磁场作用下,原子核将受到一个垂直于 μ 与 B 形成平面的力矩 T ,在力矩 T 的作用下自旋角动量 P 的方向会连续发生变化,但大小保持不变,自旋核将发生像陀螺受重力作用时一样的进动。原子核既自旋,又围绕外磁场方向发生进动,即

$$\omega = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot H = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot H_0(1-\delta) \quad (2.3)$$

式中, ω 为核进动的角速度, 称为拉摩尔频率; γ 为磁旋比, 原子核的重要参数, 与原子核种类有关; H 为普朗克常数; H_0 为外加磁场强度; δ 为屏蔽常数, 表示屏蔽效应的大小。

2.1.6 产生核磁共振的必要条件

在外加静磁场中 (H_0), 核从低能级向高能级跃迁时需吸收一定能量 (ΔE)。对于进动中的核, 只有当照射用电磁辐射频率 (ν) 与自旋核进动频率 (ν') 相等时, 能量 (ΔE) 才能有效地从电磁辐射向核转移, 使核由低能级跃迁至高能级, 实现核磁共振。需满足以下关系, 即

$$\Delta E = 2\mu H_0 = h \quad (2.4)$$

$$H_0 = \left(\frac{h}{2\mu} \right) / \nu \quad (2.5)$$

屏蔽效应及其影响下的核的能级跃迁有如下规律: 若质子的共振磁场强度只与 γ (磁旋比)、 ν (电磁波照射频率) 有关, 那么, 试样中符合共振条件的 ^1H 都发生共振, 就只产生一个单峰, 这对测定化合物的结构是毫无意义的。实验证明, 在相同的频率照射下, 化学环境不同的质子将在不同的磁场强度处出现吸收峰。

因 ν 与 h 均为常数, 故实现核磁共振有下列两种方法:

(1) 固定外加磁场强度 H_0 , 通过逐渐改变电磁辐射频率 ν 来检测共振信号, 简称扫频。

(2) 固定电磁波辐射频率 ν , 通过逐渐改变外加磁场强度 H_0 来检测共振信号, 简称扫场。

对不同种类的核来说, 因核磁矩各异, 故即使是置于同一强度的外加磁场中, 发生共振时所需要的辐射频率也不相同。以 $I=1/2$ 的 ^1H 核和 ^{13}C 核为例, 两者的核磁矩相差 4 倍 ($^1\text{H}, \mu=2.79$; $^{13}\text{C}, \mu=0.70$), 故 ^1H 核磁共振所需射频约为 ^{13}C 核的 4 倍。外加磁场强度 H_0 为 2.35 T 时, ^1H 核磁共振所需射频 ν 为 100 MHz, ^{13}C 核磁共振只需要约 25 MHz。同理, 若固定射频 ν , 则不同原子核的共振信号将会出现在不同强度的磁场区域。因此, 在某一磁场强度和与之相匹配的特定射频条件下, 只能观测到一种核的共振信号, 不存在不同种类的原子核信号相互混杂的问题。

2.2 NMR 谱图的特性参数

2.2.1 化学位移

由化学环境(核外电子云密度)不同导致的 ω_0 的移动,称为化学位移。不同磁场强度下,引入化学位移的统一单位:ppm。化学位移的变化只有 10^{-6} 左右,且化学位移与磁场强度呈正比,为了避免麻烦,引入 ppm 单位并使用参考标准物,可以得到与磁场强度无关的化学位移数值。图 2.3 为化学位移 ppm 单位参考图。

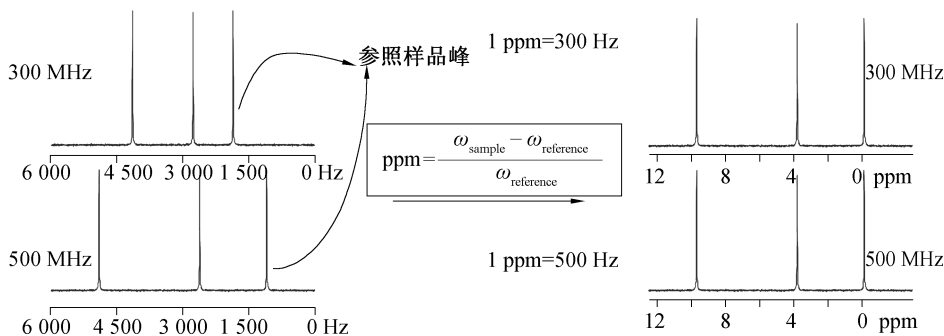


图2.3 化学位移 ppm 单位参考图

因此,即使使用不同的仪器或在不同的磁场强度下,相同的官能团具有相同的 ppm 值,不同的官能团由于存在于不同的电子环境而具有不同的化学位移,从而使结构鉴定成为可能。化学位移的定义为,不同类型氢核因所处化学环境不同,共振峰将分别出现在磁场的不同区域。实际工作中多将待测氢核共振峰所在位置与某基准物质和共振峰所在位置进行比较,求其相对距离,称之为化学位移 δ 。

$$\delta = \left[\frac{V_{\text{sample}} - V_{\text{ref}}}{V_0} \right] \times 10^6 \quad (2.6)$$

式中, V_{sample} 为基准物质氢核的吸收频率; V_{ref} 为基准物质氢核的吸收频率; V_0 为照射试样用的电磁辐射频率。

国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)规定:四甲基硅烷(TMS) ^1H 核共振吸收峰的峰位为零,即 $\delta_{\text{TMS}} = 0$,将待测 ^1H 核共振吸收峰按左正右负的原则分别以+

δ 及 $-\delta$ 表示。TMS 具有以下特性:

(1) TMS 中的 12 个氢核处于完全相同的化学环境中, 它们的共振条件完全一样, 因此只有一个尖峰。

(2) TMS 中的 12 个氢核外围的电子云密度和一般有机物相比是最密的, 因此这些氢核都被强烈地屏蔽, 共振时需要的外加磁场强度最强。 δ 值最大, 不与其他化合物的峰重叠。

(3) TMS 有化学惰性, 不会和试样反应。

(4) 易溶于有机溶剂, 且沸点低 ($27\text{ }^{\circ}\text{C}$), 因此回收试样较容易。而在较高温度测定时可使用较不易挥发的六甲基二硅醚 (HMDS, $\delta=0.055\text{ ppm}$), 水溶液中则可改用 3-三甲基硅丙烷磺酸钠 (DSS, $\delta=0.015\text{ ppm}$) 作为内标。

化学位移的影响因素有以下三点:

(1) 磁的各向异性效应对化学位移的影响。

X 基团 (X 为 C、N、O、S) 中磁的各向异性: 烯烃在稍低的磁场区, 其 $\delta=4.5\sim 5.7\text{ ppm}$ 。同理, 羰基碳上的 H 质子与烯烃双键碳上的 H 质子相似, 也是处于去屏蔽区, 存在去屏蔽效应, 但因氧原子电负性的影响较大, 所以, 羰基碳上的 H 质子的共振信号出现在更低的磁场区, 其 $\delta=9.4\sim 10\text{ ppm}$ 。

三键碳上的质子: 碳碳三键是直线构型, π 电子云围绕碳碳 σ 键呈筒型分布, 形成环电流, 它所产生的感应磁场与外加磁场方向相反, 故三键上的 H 质子处于屏蔽区, 屏蔽效应较强, 使三键上 H 质子的共振信号移向较高的磁场区, 所以其 $\delta=2\sim 3\text{ ppm}$ 。

芳环体系: 一般情况下, 随着共轭体系增大, 环电流效应增强, 即环平面上、下的屏蔽效应增强, 环平面上的去屏蔽效应会逐渐增强。另外, 苯环上的氢较烯氢位于更低场, 为 7.27 ppm 。

单键的碳的各向异性效应: 氢核所受的负屏蔽效应逐渐增大, δ 值会移向低场。

(2) 氢键缔合对化学位移的影响。

氢键缔合的氢核与不呈氢键缔合时比较, 其电子屏蔽效应减小, 吸收峰将移向低场, δ 值会增大。分子间氢键的形成及缔合程度取决于试样浓度和溶剂性能, 试样浓度越高, δ 值越大。分子内氢键缔合的特点为, 不会因惰性溶剂的稀释而改变缔合程度, 因此可以将其与分子间氢键进行区别。

(3) 范德瓦耳斯效应。

当两个原子相互靠近时, 由于受范德瓦耳斯力作用, 电子云相互排斥, 导致原子核周围的电子云密度降低, 屏蔽减小, 谱线向低场移动, 这种效应称为范德瓦耳斯效应。范德瓦耳斯效应与相互影响的两个原子之间的距离相关: 两个原

子相隔 0.17 nm (范德瓦耳斯半径之和) 时, 该作用对化学位移的影响约为 0.5; 两个原子间距离为 0.20 nm 时, 影响约为 0.2; 当原子间距离大于 0.25 nm 时, 可不再考虑。除上述因素外, 溶剂、温度和 pH 都会影响化学位移。虽然影响质子化学位移的因素较多, 但化学位移和这些因素之间存在一定的规律性, 而且在每一系列给定的条件下, 化学位移数值可以重复出现, 因此根据化学位移来推测质子的化学环境是很有价值的。图 2.4 给出了一些常见官能团所对应的化学位移。

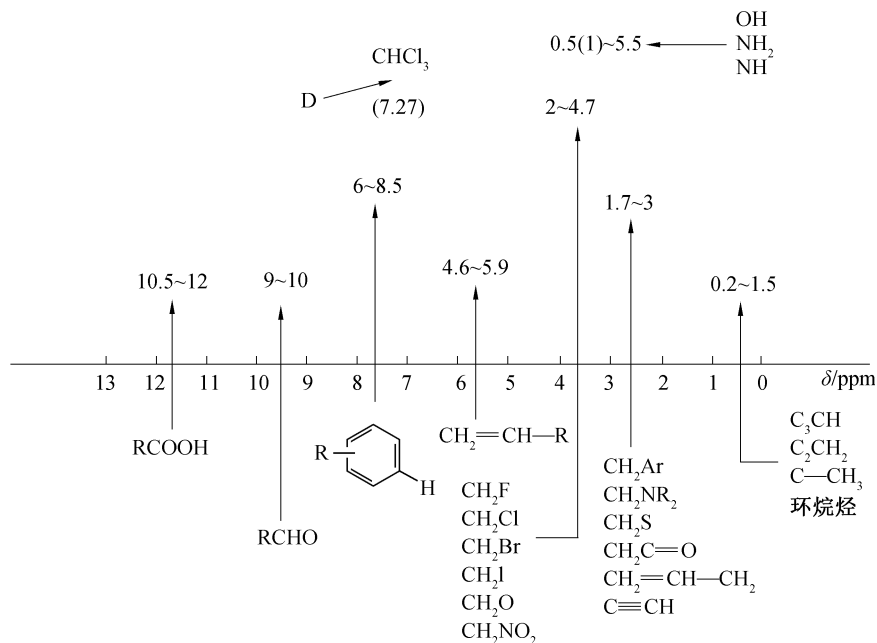


图2.4 一些常见官能团所对应的化学位移

2.2.2 耦合常数

J -耦合(自旋耦合)相邻的原子核可以通过中间媒介(电子云)而发生作用。此中间媒介就是所谓的化学键, 这一作用称为自旋-自旋耦合作用(J -耦合), 如图 2.5 所示, 特点是通过化学键的间接作用实现耦合。

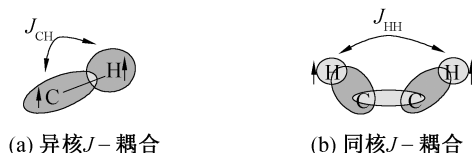


图2.5 自旋-自旋耦合图

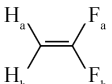
耦合裂分(J -coupling):自旋-自旋耦合引起共振线分裂而形成多重峰。多重峰实际代表了相互作用的原子核彼此间能够出现的空间取向组合,耦合裂分的间距用耦合常数(单位:Hz)表示,反映了两个核耦合作用的强弱。

1.核的等价

在讨论耦合作用时要搞清楚核的等价性质。在核磁共振中核的等价性有以下两个层次:

(1)化学等价又称化学位移等价。若分子中有两个相同的原子(或基团)处于相同的化学环境时,它们是化学等价的,这些核具有相同的化学位移。

(2)磁等价。两个核(或基团)磁等价,应同时满足下述两条件:①它们是化学等价的;②它们与任意另一核的耦合常数相同。碘乙烷中甲基的三个 H 是化学等价核,甲基中任一 H 与亚甲基中任一 H 的耦合常数都相同,所以这两组核

是磁等价的。而在二氟乙烯  中,两个 H 和两个 F 都是化学等价的,但 H_a 与 F_a 是顺式耦合, H_a 与 F_b 是反式耦合。同理 H_b 与 F_b 是顺式耦合, H_b 与 F_a 是反式耦合,即 $J_{H_a F_a} \neq J_{H_b F_b}$, $J_{H_b F_b} \neq J_{H_a F_b}$ 。所以两个 H (H_a 和 H_b) 是磁不等价的。在解析谱图时必须搞清核的等价性质。

一般同核 J -耦合(homonuclear J -coupling)裂分出现多重峰,具有以下规则:

- (1) $n+1$ 规则:相邻基团含有 n 个磁性核,就会被裂分成 $(n+1)$ 个重峰。
- (2)等价组合具有相同的共振频率,其强度与等价组合数有关。
- (3)磁等价的核之间耦合作用不出现在谱图中。
- (4)耦合具有相加性。

下面举例说明核的等价性质:图 2.6(a)中 B 和 C 化学等价,因此化学位移一致;A 受到 B 和 C 的耦合作用,因此裂分成 $2+1=3$ 个重峰;B 和 C 受到 A 的耦合作用,因此裂分成 $1+1=2$ 个重峰。但是,在图 2.6(b)中 B 和 C 是化学不等价的核,化学位移不同;A、B、C 的信号积分面积比值为 $1:1:1$;峰型均为 dd 峰。

异核 J -耦合(heteronuclear J -coupling):由于一些核的天然丰度不是 100%,因此谱中也可能出现耦合裂分的峰和无耦合的峰。氯仿中的氢谱是一个典型的

例子,如图 2.7 所示。

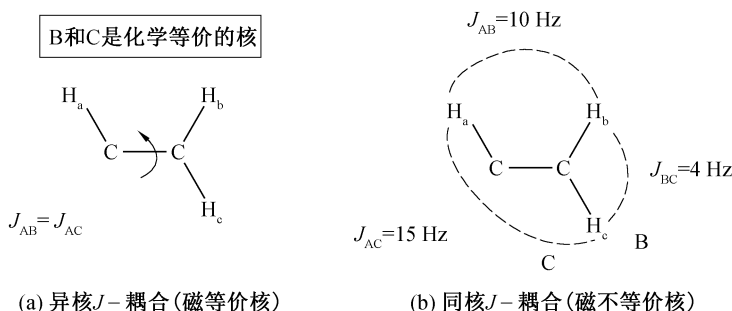


图2.6 核的等价性质说明

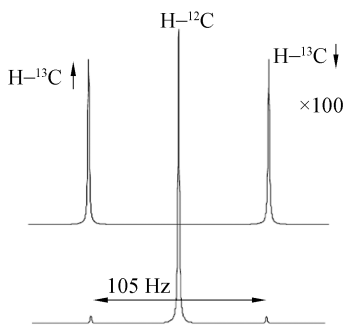


图2.7 氯仿耦合裂分图

2. 低级耦合与高级耦合的特征

由于耦合裂分现象的存在,可以从核磁共振谱上获得更多的信息,如根据耦合常数及其图像可判断相互耦合的磁性核的数目、种类,以及它们在空间所处的相对位置等,这对有机物的结构剖析极为有用。目前已累积大量耦合常数与结构关系的实验数据,并据此得到一些估算耦合常数的经验公式。其中又分为低级耦合和高级耦合:系统中两个(组)相互干扰的氢核化学位移差距 $\Delta\nu$ 比耦合常数 J 大得多,即 $\Delta\nu/J \geq 6$ 时干扰作用较弱,称为低级耦合;反之, $\Delta\nu \approx J$ 或 $\Delta\nu/J \leq 6$ 时,干扰作用比较严重,称为高级耦合。

低级耦合系统的特征(低级谱图也称一级谱图)如下:

- (1) 裂分的小峰数符合 $n+1$ 规则。
- (2) 小峰面积比大体可用二项式展开。
- (3) δ 与 J 值可由图上直接读取。

高级耦合系统的特征如下:

- (1) 裂分的小峰数不符合 $n+1$ 规则。
- (2) 峰强变化不规则, 裂分间隔各不相等。
- (3) $\Delta\nu$ 及 J 多不能由图上直接读取, 需计算。

2.2.3 峰的积分面积

在 ^1H -NMR谱上, 各吸收峰覆盖的面积与引起该吸收的H核数目呈正比, 用自动积分仪测得的阶梯式积分曲线高度表示(目前利用工作站的软件系统可以自动给出相对积分数值)。积分曲线的总高度用cm或小方格表示, 和吸收峰的总面积相当, 即相当于H核的总个数, 而每一阶梯高度则取决于引起该吸收峰的H核数目。在分析谱图时, 只要通过比较共振峰的面积, 就可判断H核的相对数目; 当化合物分子式已知时, 就可求出每个吸收峰所代表的氢核的绝对个数。

一个化合物究竟有几组吸收峰, 取决于分子中H核的化学环境。有几种不同类型的H核, 就有几组吸收峰, 图2.8(a)中三种化学环境的峰对应图2.8(b)中三组峰。

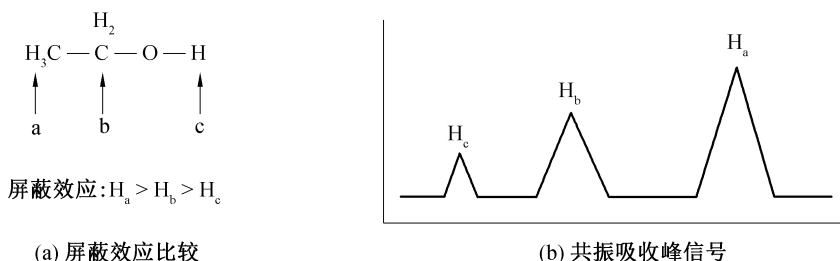


图2.8 乙醇中三种化学环境氢的屏蔽效应比较与对应的共振吸收峰信号

2.3 练 习

- (1) 试述产生核磁共振的条件。
- (2) 核磁共振波谱基本原理是什么? 主要获取什么信息?
- (3) 什么是化学位移? 它是如何产生的? 影响化学位移的因素有哪些?
- (4) 简述自旋-自旋裂分的原理。
- (5) 什么是化学等同与磁等同?

- (6) 什么是一级谱图? 一级谱图的自旋耦合裂分有哪些规律?
- (7) 简述屏蔽效应与电子云密度、外磁场强度的关系。
- (8) 简述屏蔽效应与化学位移大小的关系。
- (9) 何为基准物质? 常用哪些物质作为基准物质?
- (10) 影响化学位移的因素有哪些? 它们是怎样影响的?
- (11) 简述磁的各向异性对化学位移的影响。
- (12) 简述氢键对化学位移的影响。
- (13) 简述各种官能团的化学位移的分布区域。
- (14) 何为磁等同核? 何为磁不等同核? 怎样判断磁不等同?
- (15) 相邻 H 核是怎样对 H 核干扰的? 符合什么规律?
- (16) 何为低级耦合和高级耦合? 怎样判断?
- (17) 何为耦合常数? 怎样表示偕偶、邻偶、远程耦合?
- (18) 同碳耦合两键之间的夹角与耦合常数大小有什么关系?
- (19) 邻碳耦合中两个 C—H 键平面夹角大小与耦合常数有什么关系?

第 3 章 核磁共振技术实例： 一维核磁技术

3.1 实验前准备工作

3.1.1 核磁操作的基本流程的意义

1. 匀场的意义

当实验人员第一次走进实验室坐在现代化的 NMR 仪器的操作台前,尽管事先对 NMR 理论已经有很深的理解,对自己所要研究的样品已有很深的认识,仍然会有一筹莫展的感觉。有人认为,只要将样品放进磁场,输入采样指令,立即就能得到所要的 NMR 谱,但这种期望是一定要落空的。在第 1 章中已经指出 NMR 的实验条件之一是需要一个均匀的外加强磁场 B_0 ,即在样品的每一几何位置上,都应该有同样的磁场强度 B_0 。一个 NMR 信号,是样品中所有的自旋共同贡献的。如果一部分自旋感受到的磁场比另一部分高,则信号就会展宽。NMR 所需要的磁场均匀度,不是一般的均匀度,而需要非常高的精度。

NMR 实验与其他常规谱学实验相比,实验前的准备工作较多,其中设法获得一个均匀的磁场是非常重要的一步。同样的样品在两种不同匀场条件下测出的 H 谱也会不同。因为如果磁场不均匀,不但信号分辨率会下降,而且还会出现峰形的畸变。因此要获得好的 NMR 实验结果,均匀的磁场是至关重要的。

2. 锁场的意义

现代化的 NMR 仪器在紧靠磁铁内腔壁上装有一个厚厚的套筒,套筒中装有 20~30 组匀场线圈,分别控制着 x 、 y 、 z 、 xy 、 xz 、 yz 等 20 多个方向的磁场梯度,这些线圈都经由谱仪中的匀场装置与控制台上的匀场旋钮(或按钮)相连接。只要对控制台上的匀场旋钮进行操作,输入新的数值,匀场线圈就能获得新的电流值,这些直流电流的附加磁场就能在较小的范围内改变原来的磁场分布。可以在使用特定的探头时,为特定的样品找到最合适的一组匀场线圈值,使得信号

的峰最窄,分辨率最高,而且峰形最对称。

但是匀场旋钮本身并不能告诉实验者磁场的均匀度如何。要了解磁场的实际分布,必须要有适当的匀场指示。对绝大多数实验来说,匀场指示一般为溶剂中氘代物 H 信号的锁场电平。

在 NMR 中有一个专门的 H 频道,其功能是“锁”住 H 信号,达到锁场的目的。所谓锁场,是用特定的频率跟踪特定的信号,使之永远达到共振。在这种共振的条件下,磁场若有所漂移,则频率相应变动,这样就能保证在较长时间的实验中,不至于因场的漂移而影响谱的质量,这种技术称为场频联锁。

要实现“锁”住磁场使之不漂移需做好几件事。首先要找到氘锁信号,找信号的方法是调整磁场偏置。仪器上有一个旋钮,它能控制主磁场中的某一直流线圈的电流,使之产生的磁场能增加或减少主磁场值,这个旋钮就是磁场偏置旋钮。不同的含氘化合物,氘信号的共振频率是不一样的,但是用以锁场的 H 通道射频场的频率是不变的。因此,在换上新的样品时,氘信号很可能不出现在荧光屏上,需要调整控制磁场偏置的旋钮,直到看到氘的信号为止。找到氘信号后,再小心调整磁场偏置旋钮,使氘信号与氘的射频频率之间没有偏差,然后还要调整锁场信号的相位,使之为吸收线形。

3. 调谐的意义

在中心频率确定之后,不要忘记进行调谐。调谐的目的是提高信号接收灵敏度。

4. 脉冲的选择

在采样参数基本确定之后,就要对所用的脉冲序列进行分析。在现代 NMR 中,任何实验都要依据于一个脉冲序列。由于脉冲序列不同,即使是对同一样品,NMR 谱图也会千差万别。因此了解和掌握基本的脉冲序列,读懂仪器上用特定的计算机语言写的现代核磁共振实用技术及应用对实验员非常重要。

脉冲序列程序对每一个 NMR 实验工作者都十分重要。理解多脉冲序列,有时必须要结合量子力学,而简单的脉冲序列则只要有磁化强度的概念就可以了。最简单的脉冲序列只有一个脉冲,该脉冲序列由脉冲前的等待时间及脉冲后的采样时间所组成。脉冲前的等待时间是为了保证实验之前系统有足够的宏观(纵向)磁化强度,脉冲的作用是为了建立横向磁化强度,采样时间是为了检测横向磁化强度。这三点正是为了满足第 1 章小结中获得 NMR 信号的三个条件而设定的。

对于这样简单的单脉冲实验,一般选用的脉冲宽度为 90° 。但是 90° 脉冲具

体是多少微秒,需要进行测定。测定 90° 脉冲时有两种可能的办法:根据最弱的信号确定 180° 的脉宽,取其一半,或者根据最弱的信号确定 360° 的脉宽,取其 $1/4$ 。应注意不要期望 180° 脉冲给出的是强度为零的信号。在实验中,用 180° 脉冲总是获得正负部分基本相等的具有色散特征的信号,这是因为射频场 B_1 的空间分布不可避免地也是不均匀的。经过 180° 脉冲的作用,磁化强度反转在 Bloch 球面的南端段区间而不是正好在南极点上检测下来就是正负分量都存在的信号。但是应注意,这种正负分量都出现的信号只是外形上像色散信号而不是真正的色散信号,因为它并不符合数学上的色散公式。将 180° 脉冲激发的信号与 90° 脉冲激发的信号相比较,可以看到 180° 脉冲激发的信号强度还是相当可观的。

还有一个被称为空扫次数的参数。所谓空扫,是光发脉冲而不采样。在某些实验中,特别是在二维实验中,为了使所有的采样都在稳态中进行,就有必要空扫若干次而使体系进入稳态。在简单的一维实验中,空扫是没有益处的。特别是当样品的弛豫时间很长时,空扫会使信噪比受到不必要的损失,因为第一次扫描前的准备时间最长,磁化强度得到充分的恢复。第一次扫描得到的信号有时比后面十几次累加得到的信号还要强,若用空扫则白白浪费了准备时间。因为复杂样品的 ^1H 谱的弛豫时间都不长(1 s 左右),因此用两次空扫虽无益处但也无弊处。

采样时间这个参数实际上应该包含在脉冲序列参数中,但是因采样时间与采样关系更为密切,所以在讨论采样参数时已经对它进行过讨论。

3.1.2 选取好内标物

将一个已知质量、样品中不含有杂质的纯物质,加入待测样品溶液中,以此纯物质的量为标准,对比测定待测组分的含量,该纯物质称为内标物。

内标物需满足下列要求:能完全溶解于样品中,且不与待测组分发生化学作用;峰位尽可能与待测组分的峰位靠近,但能与待测组分完全分开(分离度 $R \geq 1.5$) 的纯物质;若得不到纯品,必须预先测定其准确含量,且杂质峰不得干扰待测组分峰。内标物应该具备以下条件:

- (1) 有高度的化学惰性,不与样品发生化学反应或产生缔合。
- (2) 信号峰为单峰,与样品峰不发生重叠。
- (3) 易溶于有机溶剂。
- (4) 易挥发,使样品可以回收。

注意:内标物是直接加到待测样品中,而外标物是先将内标物封装在毛细管

内,再加到待测样品中。

常用内标物有以下几类:

(1)氢谱:非水溶液样品用四甲基硅烷(TMS),水溶液样品用三甲基硅丙基磺酸钠(DSS)。

(2)碳谱:四甲基硅烷(TMS)或者氘代试剂中的碳峰。

(3)硼谱:乙醚三氟化硼或者三甲氧基硼。

(4)磷谱:体积分数为85%磷酸(外标)。

(5)硅谱:四甲基硅烷(TMS)。

3.1.3 核磁测试样品配制

(1)样品。具有非磁性及非导电性。尽可能选择纯化样品;使用清洗干净的样品管(无残留溶剂和杂质);选择合适的溶剂,一般从溶解性、溶剂的价格、溶剂杂质峰类型、配成溶液的黏度、无活泼氢溶剂中分析样品的活泼氢,以及能否避免溶剂峰遮盖谱峰几个方面考虑。

(2)样品量。氢谱为5~10 mg,碳谱为20~30 mg。因为浓度太低,谱图信噪比低,需要很长时间累加;浓度太高,由于溶液黏度的提高,磁场均匀性变差和弛豫加快导致谱图分辨率下降。

(3)样品的氘代试剂。保证实验期间磁场稳定,一般用氘代试剂进行锁场实验。具体要求:对样品的溶解度越大越好,黏度越小越好;溶剂信号对样品信号不干扰,无信号重叠;溶剂在实验温度范围内保持液体状态。保证核磁管内无沉淀或悬浮物(可通过离心除去),以免影响匀场降低分辨率。

(4)样品的体积。要求体积在500 μL (约为4 cm^3)左右,若样品体积太少,则匀场困难;若样品体积太多,则易发生对流,导致温度不均匀。

3.1.4 上样准备

以瑞士布鲁克 Advance II 手动进样操作为例,操作流程如下:

(1)将样品管外表擦干净。

(2)将样品管插入转子。

(3)在量规中测量并确定样品溶液与转子的相对位置。

(4)输入 ej 听到气流声音,放样品管。

(5)输入 ij 关闭吹气系统,听到清脆的一声响,说明样品放入了磁体。

3.2 ^1H NMR 谱实验操作

3.2.1 实验目的

- (1) 了解 ^1H NMR 谱的原理。
- (2) 掌握 ^1H NMR 谱的实验操作方法。
- (3) 掌握 ^1H NMR 谱的谱图解析方法。

3.2.2 实验原理

核磁共振作为一门边缘科学技术已经渗透到物理、化学、生物、医学,以及农业、工业等国民经济的许多领域。研究内容包括动物的完全细胞组织和体内液体的生物学方面,借助于 NMR 人们可以识别生物材料内的不同有机分子所做出的贡献,而不需要完成任何其他预处理,如萃取、分离、提纯。对生物系统来说,核磁共振所关心的是特殊的原子核,即 ^1H 、 ^{31}P 、 ^{13}C 和 ^{23}Na ,在这些原子核中 ^1H 和 ^{31}P 是 100%在自然界中分布的,且 ^1H 和 ^{31}P 核磁共振波谱对生物系统的研究十分敏感,用 ^1H NMR 波谱对人体的体液进行研究已见报道。

自 1982 年,日本 Kazhio Mataushita 等人提出 NMR 技术在生物医学领域的应用以来,许多专家、学者在这方面做出了大量工作,有的利用 ^1H NMR 对人体尿样进行研究,有的对宫颈癌的局部组织进行 NMR 研究,由于在生物体内 ^1H 的天然丰度为 100%,这就使得 NMR 对生物体的体液研究成为可能。

利用核磁共振氢谱还可以准确测定间苯二甲酸的磺化率、酯化率,测定的结果可直接满足产品开发中的中控分析,同时也可以将该方法测定的结果与高压液相色谱法定量结果结合,建立适用于工业生产装置中的中控分析方法。

标准 ^1H NMR 实验的目的在于记录常规质子的 NMR 谱,以获得样品中与质子结构相关的信息,即化学位移、自旋-自旋耦合及强度。氢谱是最常见的谱图,核磁共振氢谱能提供十分重要的结构信息,包括耦合常数、峰的面积、化学位移及峰的裂分情况。其中由于峰的面积与氢的数目呈正比关系,因此可以用来定量来反应氢核的信息。从 ^1H NMR 谱图可以获得的主要信息如下:

- (1) 化学位移值(δ)。确认氢原子所处的化学环境,即属于何种基团。
- (2) 从谱图中谱峰的裂分数以及耦合常数(J)来推断相邻氢原子的关系与结构。
- (3) 从谱峰面积来确定分子中各类氢原子的数量之比。

3.2.3 实验操作

1. 样品配制

取待测物样品 5~10 mg 放入样品管内,加入合适的氘代试剂 0.5 mL,使其溶解后用移液枪将待测物配成的溶液吸入核磁管内,盖上核磁帽待测。

注意:

(1)若有沉淀,离心后取上层清液。

(2)仪器自带标准实验,主要观察脉冲“zg30”。

(3)若浓度大,可减少扫描次数为 32;若浓度小,可将扫描次数增到 $2n$ (如 128、256 等)。

2. ^1H NMR 谱的操作步骤

(1)键入“new”命令,建立一个新的实验,选定标准实验“1H”。

① 键入“name”。实验样品命名,方便以后的数据查看与拷贝。

② 键入“expno”。实验序列号。

③ 键入“user”。用户自定义。

④ 键入“solvnnet”。选择配置样品相应的氘代试剂。

⑤ 键入“experient”。选择相应的实验操作,例如 PROTON。

⑥ 键入“dir”。存储路径。

⑦ 键入“title”。实验的备注信息。

(2)键入“lock”命令,选择相应的氘代溶剂,进行锁场。

实验对磁场稳定性的要求可以通过锁场实现,通过不间断(每秒数千次)的测量参照信号(氘信号)并与参考频率进行比较。

(3)键入“atma”命令,进行自动调谐,保证最大程度收集信号。

①调频(tune)。调谐曲线的最小值与发射中心频率重合。

②匹配(match)。调谐曲线的最小值落在基线上,确保反射最小。

调频和匹配是相互关联的,必须交互进行。

(4)键入“ased”命令,在采样参数栏中找到“Acqupars”设定相关参数。

①键入“Td”。16k。

②键入“NS”。16 为采样次数,可对采样次数 NS 项进行修改,H 谱一般默认 16 次即可。

③键入“DS”。此项为空扫,一般默认值 4,可保证实验中样品测试时温度平衡。

- ④键入“SW”。20 ppm 为相应的 H 谱宽。
- ⑤键入“RG”。此项为接收器增益值。
- ⑥键入“O1”。5.5 ppm 在 H 谱的中央。
- ⑦键入“O1P”。中心频率,可以用来改变谱图中央点。
- ⑧键入“d1”。4 s 弛豫延时时间。
- ⑨键入“DE”。6.5 s 死时间。

上述氢谱参数设置一般为默认值,若有特别需求可更改参数栏中相对应的参数。

(5)输入“ts”命令,进行匀场。

在样品中,磁场强度应该是均匀且单一的,目的是让相同的核无论处于样品的何种位置都能给出相同的共振峰。为达此目的,匀场线圈按绕制所提供的函数方式给出补偿以消除磁场的不均匀性,从而得到窄的线形。图 3.1 为核磁匀场效果图。

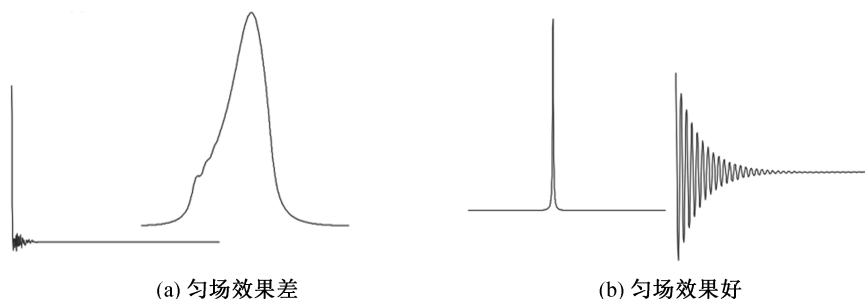


图3.1 核磁匀场效果图

- (6)键入“g”命令,即开始自动采样。
- (7)傅立叶变换。键入“efp”(em、ft、pk)命令。
- (8)调相位。键入“apk”命令,自动调节。
- (9)输入“absn”。基线的自动校准。
- (10)校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(11)在操作栏中选择  对相应的氢谱进行手动标峰,选择  进行积分,选择  进行相位校正,选择  进行基线校正。

(12)编辑。键入“plot”命令。编辑图表,右击鼠标选择“edit”修改图形,右击鼠标选择“1D/2D edit”,编辑完成先点击“apply”再点击“OK”。

注意:采样开始以后,输入“tr”可以中途查看;输入“efp;apk”可以中间转换

查看出峰情况,如果较好,继续输入“halt”终止采样保存数据,可减少采样所需的时间;“stop”则是直接终止采样数据不保存。

3.2.4 核磁共振氢谱的数据解析步骤

^1H NMR 谱解析的一般程序如下:

(1)首先注意检查谱图的基线是否平坦,TMS 信号是否正常,氘代溶剂的残留 ^1H 信号是否出现在预定的位置。如果氘代溶剂和样品中存在微量的水,则在谱图中还会出现水峰,不同氘代溶剂中水峰的位置也不同。如有问题,解析谱图时应当注意,必要时应重新处理谱图或重新测定。

(2)若已知分子式,首先计算不饱和度,并据此推测结构中是否含有苯环、碳碳双键、碳碳三键、羰基等。

(3)检查谱图中给出的积分比例是否合理,并根据积分算出各组信号对应的 H 原子数,通常选择明显的甲基或其他孤立氢信号作为积分标准。

(4)根据化学位移判断氢核的类型,如 $\delta > 12$ ppm 一般为 $-\text{COOH}$ 或形成分子内氢键缔合的 $-\text{OH}$ 信号; $\delta = 6 \sim 8$ ppm 一般为芳香氢信号; $\delta = 4 \sim 6$ ppm 一般为烯氢信号等。

(5)根据耦合常数判断耦合关系,并结合各组共振峰的化学位移、峰形和积分数值,推测可能存在的自旋系统。

(6)必要时,可以采用去耦实验、NOE 测定等特殊技术,简化谱图,方便解析。

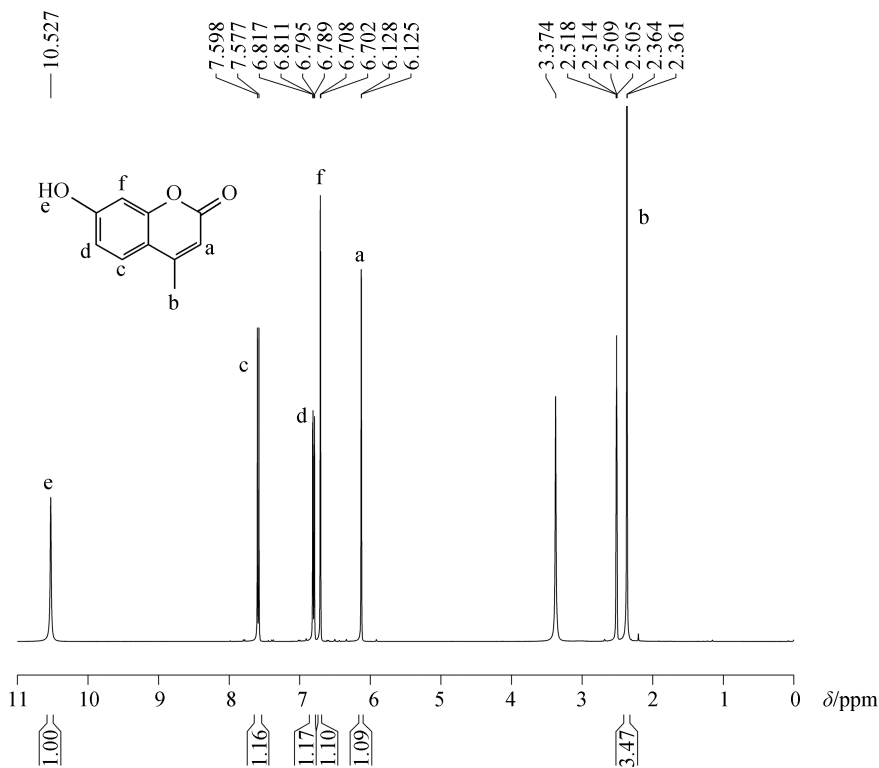
(7)综合以上分析,结合化合物的分子式、不饱和度,将可能存在的自旋系统和特征基团进行合理组合,推导出可能的化学结构。在很多情况下,比较复杂的化合物仅依靠 ^1H NMR 谱是难以确定结构的,还需结合 UV、IR、MS、 ^{13}C NMR 等其他谱学信息或化学方法进行反复推敲。

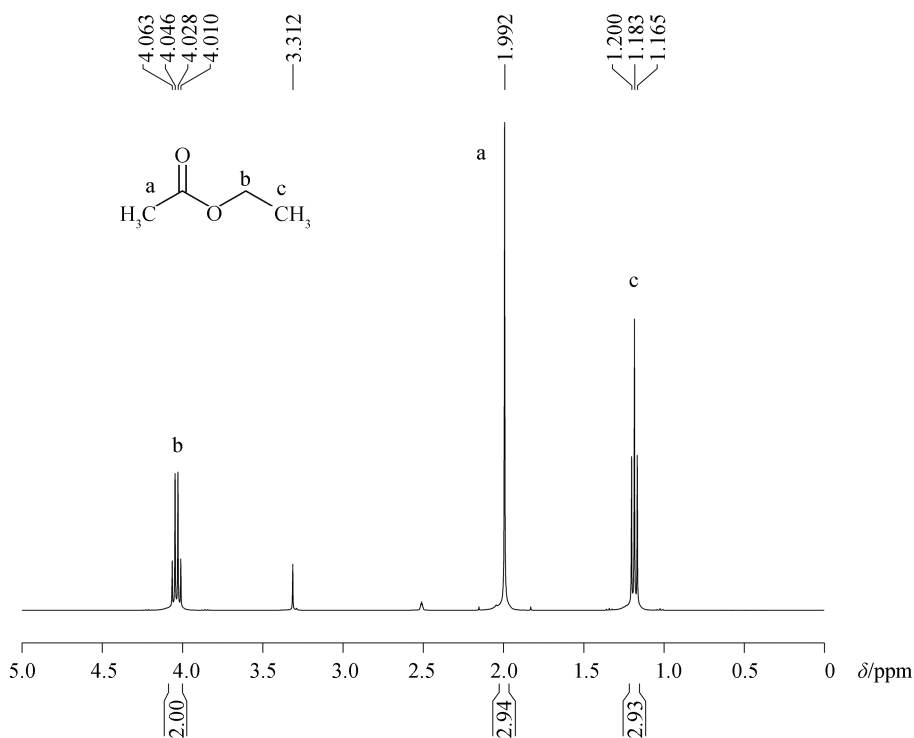
(8)将谱图与推导出的结构进行对照检查,确定各组信号的化学位移是否符合取代基位移规律、耦合常数是否合理,并对氢信号的归属一一做出确认。

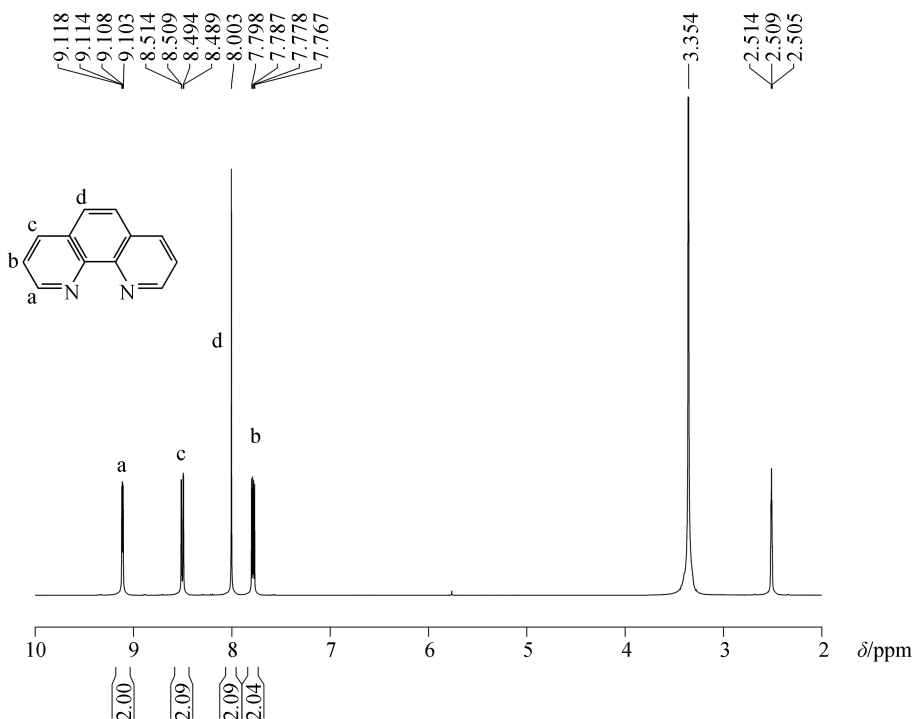
以上程序可供测定未知化合物结构时参考。已知化合物的谱图解析比较容易,多采用谱图或文献数据进行对比来确定结构。

3.2.5 谱图示例

图 3.2~3.4 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^1H NMR 谱图。

图3.2 7-羟基-4-甲基香豆素的 ^1H NMR谱图

图3.3 乙酸乙酯的 ^1H NMR 谱图

图3.4 邻菲罗啉的 ^1H NMR 谱图

3.2.6 练习

1. 判断题

(1) 质量数为奇数,核电荷数为偶数的原子核,其自旋量子数为零。()

(2) 氢质子在二甲基亚砷中的化学位移比在氯仿中要小。()

(3) 苯环和双键氢质子的共振频率出现在底场是由于 π 电子的磁各向异性效应。()

(4) 氢键对质子的化学位移影响较大,所以活泼氢的化学位移在一定范围内变化。()

(5) 羟基的化学位移随氢键的强度变化而移动,氢键越强,化学位移值越小。()

(6) 四甲基硅烷分子中 ^1H 核共振频率处于高场,比所有有机化合物中的 ^1H

核都高。()

2. 单项选择题

(1) 氢谱主要通过信号的特征提供分子结构的信息, 以下选项中不是信号特征的是()。

- A. 峰的位置 B. 峰的裂分 C. 峰高 D. 积分线高度

(2) 以下关于“核自旋弛豫”的表述中, 错误的是()。

- A. 没有弛豫, 就不会产生核磁共振
B. 谱线宽度与弛豫时间呈反比
C. 通过弛豫, 维持高能态核的微弱多数
D. 弛豫分为纵向弛豫和横向弛豫两种

(3) 下列化合物中的质子, 化学位移最小的是()。

- A. CH_3Br B. CH_4 C. CH_3I D. CH_3F

(4) $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 在核磁共振波谱图上有几组峰? 最低场信号有几个氢?()

- A. 3;1 B. 6;1 C. 3;3 D. 6;2

(5) 核磁共振波谱解析分子结构的主要参数是()。

- A. 质荷比 B. 波数 C. 化学位移 D. 保留值

(6) 分子式为 $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}$ 的化合物, 其 NMR 谱上只出现两个单峰, 最有可能的结构式为()。

- A. $(\text{CH}_3)_2\text{CHCOCH}_3$ B. $(\text{CH}_3)_3\text{CCHO}$
C. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$ D. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_3$

(7) 核磁共振波谱(氢谱)中, 不能直接提供的化合物结构信息是()。

- A. 不同质子种类数 B. 同类质子个数
C. 化合物中双键的个数与位置 D. 相邻碳原子上质子的个数

(8) 在核磁共振波谱分析中, 当质子核外的电子云密度增加时()。

- A. 屏蔽效应增强, 化学位移值大, 峰在高场出现
B. 屏蔽效应减弱, 化学位移值大, 峰在高场出现
C. 屏蔽效应增强, 化学位移值小, 峰在高场出现
D. 屏蔽效应增强, 化学位移值大, 峰在低场出现

(9) 在核磁共振波谱中, 如果一组 ^1H 受到核外电子云的屏蔽效应较小, 则它的共振吸收将出现在下列哪种位置?()

- A. 扫场下的高场和扫频下的高频, 较小的化学位移值
B. 扫场下的高场和扫频下的低频, 较小的化学位移值

C. 扫场下的低场和扫频下的高频,较大的化学位移值

D. 扫场下的低场和扫频下的低频,较大的化学位移值

(10) 乙烯质子的化学位移值比乙炔质子的化学位移值大还是小? 其原因是()。

A. 大,因为磁的各向异性效应,使乙烯质子处在屏蔽区,乙炔质子处在去屏蔽区

B. 大,因为磁的各向异性效应,使乙烯质子处在去屏蔽区,乙炔质子处在屏蔽区

C. 小,因为磁的各向异性效应,使乙烯质子处在去屏蔽区,乙炔质子处在屏蔽区

D. 小,因为磁的各向异性效应,使乙烯质子处在屏蔽区,乙炔质子处在去屏蔽区

3. 简答题

(1) 三个不同的质子 A、B 和 C, 它们的屏蔽系数大小次序为 $d_B > d_A > d_C$ 。试问在相同的磁场强度下, 它们的共振频率的大小次序。

(2) 一个化合物, 猜测其不是二苯醚就是二苯甲烷, 试问能否利用 ^1H NMR 谱来鉴别, 并说明原因。

3.3 ^{13}C NMR 谱实验操作

3.3.1 实验目的

(1) 了解 ^{13}C NMR 谱的原理。

(2) 掌握 ^{13}C NMR 谱的实验操作方法。

(3) 掌握 ^{13}C NMR 谱的谱图解析方法。

3.3.2 实验原理

和氢谱一样, 碳谱的化学位移为频率轴换成的无单位标量, 以 δ/ppm 表示, ^{13}C 核化学位移的测量也同 ^1H 核一样要采用标准化合物, 通常是四甲基硅烷。

1. 影响 ^{13}C 核化学位移的因素

(1) 杂化方式。 sp^3 杂化的 ^{13}C 核信号出现在较高场, δ_c 在 $0 \sim 100$ ppm 之间, sp^2 杂化的 ^{13}C 核信号出现在较低场, δ_c 在 $100 \sim 200$ ppm 之间, sp 杂化的 ^{13}C 核信

号的化学位移介于 sp^3 和 sp^2 杂化 ^{13}C 信号之间, δ_c 为 70~130 ppm。

(2) 诱导效应。碳原子上的 1H 核被其他基团取代后, 可引起碳原子的电子云密度改变, 导致化学位移发生相应变化, 称为诱导效应。诱导效应主要与取代基的电负性有关, 一般情况下, $H < CH_3 < SH < NH_2 < OH < Br < Cl < F$ 。故甲烷的氢被溴、氯、氟取代, ^{13}C 核化学位移值依次增大, 而且三氯甲烷 ^{13}C 核化学位移大于二氯甲烷。

(3) 共轭效应。由 $p-\pi$ 共轭和 $\pi-\pi$ 共轭对 ^{13}C 核产生的化学位移影响称为共轭效应。普通双键 ^{13}C 核化学位移为 $\delta_c = 123.5$ ppm, 与羰基共轭后, 羰基向高场位移, 双键上的 α 碳向高场位移, β 碳向低场位移。发生 $p-\pi$ 共轭时, 电子云分布越多的 ^{13}C 核化学位移越小, 反之越大。

(4) 空间效应。 ^{13}C 核化学位移对分子的几何形状非常敏感, 相隔几根键的碳, 如果空间上相互靠近, 则互相发生强烈的影响, 这种短程的非成键的相互作用称为空间效应。

(5) 氢键效应。氢键效应主要指形成分子内氢键时 ^{13}C 核化学位移的影响, 含有羰基的化合物由于分子内氢键的形成使羰基碳原子更缺少电子, 使羰基向低场位移。

(6) 磁的各向异性效应。与 1H 核一样, ^{13}C 核的化学位移也受磁的各向异性影响, 但影响较小。

2. ^{13}C NMR 谱的基本特点

为了便于更好地理解和应用碳谱, 下面简要列出碳谱的主要特点:

(1) ^{13}C 核化学位移的范围比 1H 核大, 更有利于表征有机化合物的细微结构差异。

(2) 由于较大的 T_1 值和 NOE 效应, 噪声去耦碳谱中峰强度不能反映碳原子的数量。

(3) ^{13}C 核的天然丰度和灵敏度比 1H 核低得多, 所以需要测定的样品量和测定时间均大于氢谱。

(4) 通过全氢去耦处理, 可使有机化合物结构中每个碳信号均表现为尖锐的单峰信号。

(5) 通过无畸变极化转移技术 (DEPT), 可以识别有机化合物中各碳原子的类型, 即确定与其直接相连的 1H 核数目。

(6) 依据 ^{13}C 核的化学位移, 可以推测结构中 与碳原子相连的杂原子种类及其与碳原子的杂化方式。

(7)氮原子的四极矩在碳谱中也有表现。由于氮原子的核外电子的非对称性,含氮化合物的碳谱中部分碳信号“变胖”。

(8)耦合常数很大,在特殊情况下可用于立体结构的测定(如根据端基碳与氢的 $^1J_{\text{CH}}$ 可以确定苷键的构型),同一台仪器上 ^{13}C 共振频率只有 ^1H 的1/4。

3.3.3 实验操作

1. 样品配制

碳谱的样品制备与氢谱相似,配制时应当注意黏度要小,以免影响其灵敏度,具体用量也与样品的分子量、结构特点、检测时间有关。通常也需要以合适的氘代试剂为溶剂。

2. ^{13}C NMR 谱图操作步骤

(1)键入“new”命令,建立新实验 C13 CPD。

①键入“name”:实验样品命名,方便以后的数据查看与拷贝。

②键入“expno”:实验序列号。

③键入“user”:用户自定义。

④键入“solvent”:选择相应的氘代试剂。

⑤键入“dir”:存储路径。

⑥键入“title”:实验的备注信息。

(2)键入“lock”命令,选择相应的氘代溶剂,进行锁场,通过锁场实现实验对磁场稳定性的要求。

(3)键入“atma”命令,进行自动调谐,保证最大程度收集信号。

①调频(tune)。调谐曲线的最小值与发射中心频率重合。

②匹配(match)。调谐曲线的最小值落在基线上,确保反射最小。

调频和匹配是相互关联的,必须交互进行。

(4)键入“ased”命令,设置采样参数栏中相关参数。

①键入“Td”。64k。

②键入“NS”。1024 为采样次数,可对采样次数 NS 项进行修改,C 谱一般默认 1 024 次即可,采样 1 h 左右。

③键入“DS”。0。

④键入“SW”。200 ppm。

⑤键入“RG”。101 为接收器增益值。

⑥键入“O1”。100 ppm。

⑦键入“O1P”。中心频率,可以用来改变谱图中央点。

⑧键入“d1”。4 s 弛豫延时时间。

⑨键入“DE”。6.5 s 死时间。

碳谱相关参数都有默认值,有特别需求可更改参数栏中相对应的参数。

(5)输入“ts”命令,进行匀场。

保证在样品中,磁场强度均匀且单一,使相同的核不管处于样品的何种位置都应给出相同的共振峰。

(6)采样。键入“g”命令,即开始自动采样。

(7)傅立叶变换。键入“efp”(em、ft、pk)命令。

(8)调相位。键入“apk”命令,自动调节。

(9)ppf。对碳谱的全谱进行标峰。

(10)Mi+数字+PPF。表示强度低于该数值的不标峰。

(11)“go”命令。在样品浓度很低的情况下,过夜采集仍然不能得到理想的谱图,第二天白天需做其他谱图,可在第二天晚上将前一天晚上采集的谱图拖动到当前窗口,重新放入样品锁场调节后输入“go”命令进行累加采集。

(12)校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(13)编辑。键入“plot”命令,编辑图表,右击鼠标选择“edit”修改图形,右击鼠标选择“1D/2D edit”,编辑完成先点击“apply”再点击“OK”。

3.注意事项

(1)如要关闭程序,可键入“kill”命令,在弹出的对话框中删掉想关闭的程序即可。

(2)通常情况下用 Waltz 16 做氢谱、碳谱的 90°脉冲没有问题,做杂核时需要更改。

(3)看到碳谱有裂分,首先要考虑是否有同分异构体,再考虑更改 CPD-PRG2,选择带“bi”的参数。

(4)如上,输入“tr”“efp;apk”可以中间转换查看出峰情况,如果较好,可以继续输入“halt”终止采样保存数据,“stop”则是直接终止采样数据不保存。

3.3.4 核磁共振碳谱的数据解析

1.¹³C NMR 谱的解析步骤

对于已知化合物的碳谱归属,有两种方法:一是将得到的 C 谱数据与文献对照;二是先利用取代基位移计算出结构中各个碳的化学位移值,然后将其与实测值对照,根据相近程度归属各个碳信号。

2. 利用碳谱解析未知化合物结构的程序一般如下:

- (1) 确定溶剂峰, 保证化合物的碳信号的正确统计。
- (2) DEPT 谱与噪声去耦谱相结合, 确定结构中各碳的化学位移及其类型。
- (3) 根据各碳信号化学位移, 推断化合物的结构片段。
- (4) 将结构片段进行合理连接, 推测化合物的整体结构。
- (5) 采用取代基位移计算各碳的化学位移, 辅助验证化合物结构推测的准确性。

(6) 根据推断的结构进行文献检索, 与文献对比, 最终确认平面结构和立体结构。

3.3.5 谱图示例

图 3.5~3.8 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^{13}C NMR 谱图。

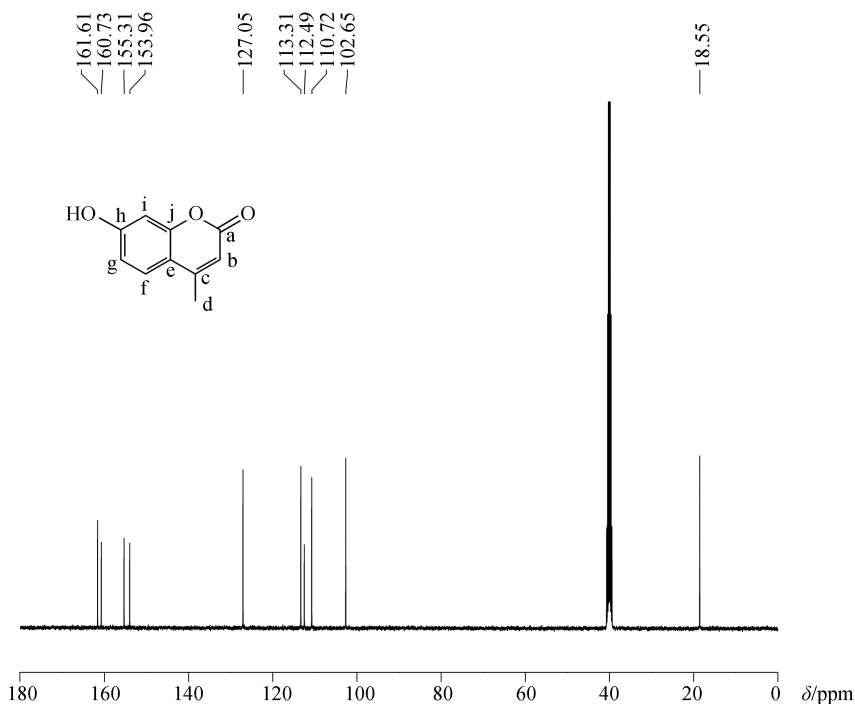
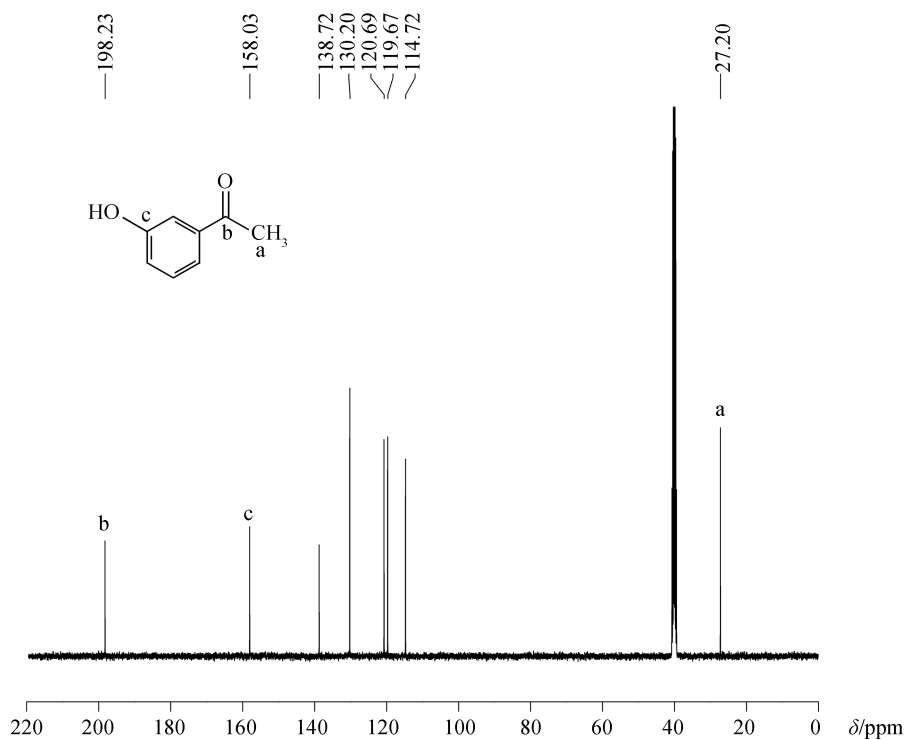
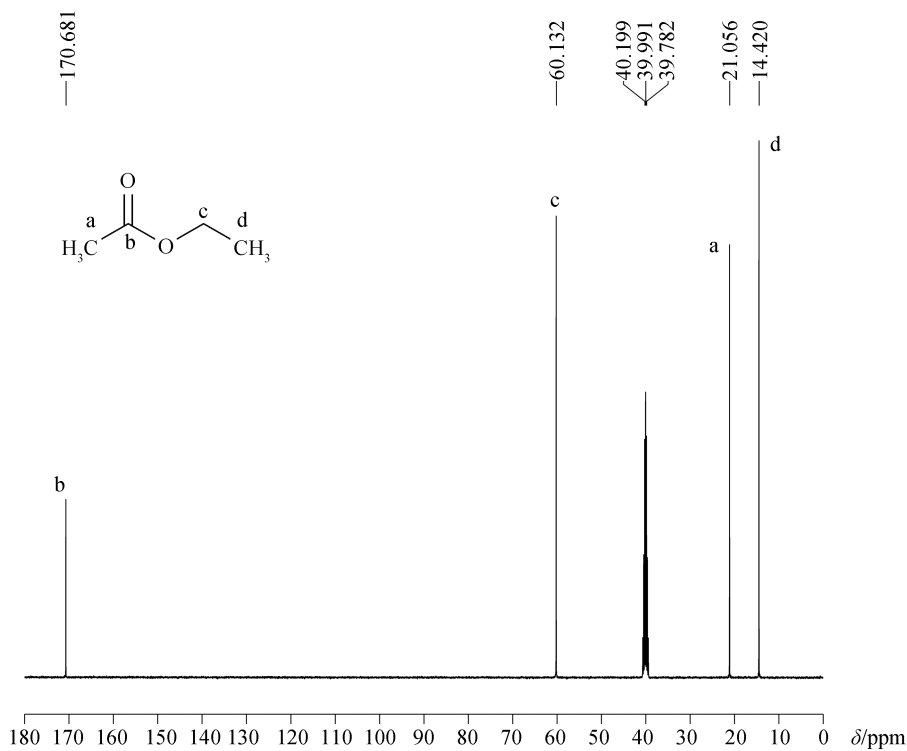
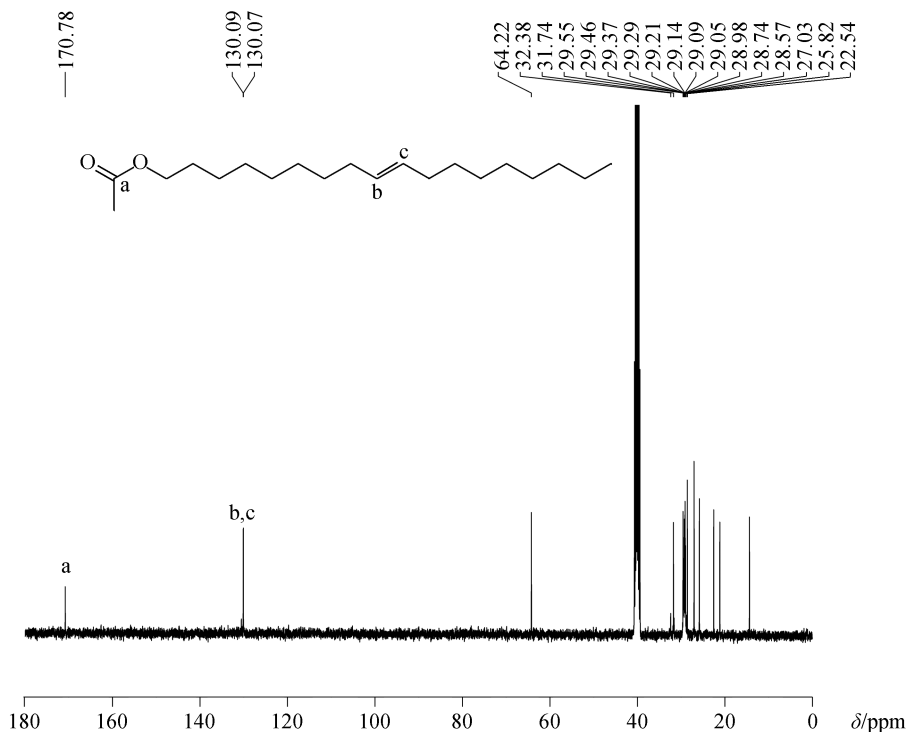


图3.5 7-羟基-4-甲基香豆素的 ^{13}C NMR 谱图

图3.6 3-羟基苯乙酮的 ^{13}C NMR 谱图

图3.7 乙酸乙酯的 ^{13}C NMR 谱图

图3.8 乙酸油烯基酯的¹³C NMR 谱图

3.3.6 练习

1. 判断题

- (1) 碳谱的化学位移范围较宽(0~200 ppm),所以碳谱的灵敏度高于氢谱。()
- (2) 在宽带去耦碳谱中,不同类型的 C 核产生的裂分峰数目不同。()
- (3) ¹³C NMR 谱中,¹³C-¹³C 相连的概率很低,所以通常不考虑¹³C 核之间的耦合。()
- (4) 含¹⁹F 的化合物,可观测到¹⁹F 对¹³C 核的耦合裂分,且谱带裂分数符合 $n+1$ 规则。()
- (5) 在碳谱中¹³C-¹H 会发生耦合作用,但¹³C-¹H 的耦合常数远比¹H-¹H 之间的耦合常数小。()

(6) ^{13}C 核旋磁比 γ 为 ^1H 核的 2 倍。()

2. 单项选择题

(1) 偏共振去耦谱中, 甲醛中 $\text{C}=\text{O}$ 的偏共振多重性为()。

A. 四重峰(q) B. 三重峰(t) C. 双重峰(d) D. 单峰(s)

(2) 在偏共振去耦谱中, 苯乙腈中 CN 的偏共振多重性为()。

A. 四重峰(q) B. 三重峰(t) C. 双重峰(d) D. 单峰(s)

(3) 在宽带去耦中谱线特征为()。

A. 除 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 二键以上的耦合

B. 除去所有质子对 ^{13}C 核的耦合

C. 除去了溶剂的多重峰

D. 除去所有元素对 C 核的耦合

(4) 2.35 T 的磁场中, ^1H 核的共振频率为 100 MHz, ^{13}C 核的共振频率为()。

A. 100 MHz B. 60 MHz C. 25 MHz D. 15 MHz

(5) 碳谱如果不采用标识技术很难解析的原因是()。

A. 碳谱灵敏度较低

B. 碳核之间有耦合裂分

C. 碳谱分辨率高

D. 碳核与氢核之间有耦合裂分

(6) 下列各类化合物中碳核化学位移最大的是()。

A. 苯环上的碳

B. 酸酯羰基碳

C. 醛酮羰基碳

D. 与氧相连的饱和碳

3. 简答题

(1) ^{13}C NMR 谱与 ^1H NMR 谱相比有什么优点?

(2) 试说明为什么 ^{13}C NMR 的灵敏度远远小于 ^1H NMR。

(3) 试说明在相同的外磁场中为什么 ^1H 核和 ^{13}C 核共振频率不同。

(4) 试说明为什么 ^{13}C NMR 中溶剂 CDCl_3 在化学位移 70 ppm 附近出现三重峰。

3.4 ^{13}C DEPT 谱实验操作

3.4.1 实验目的

- (1) 了解 ^{13}C DEPT 谱的原理。
- (2) 掌握 ^{13}C DEPT 谱的实验操作方法。
- (3) 掌握 ^{13}C DEPT 谱的谱图解析方法。

3.4.2 实验原理

DEPT 在偏共振去耦(OFR)谱中,因为还部分保留核的耦合影响,所以信号灵敏度大大降低。且信号裂分有可能重叠,会给信号的识别带来一定困难。目前在识别不同类型的碳信号时已多改用 DEPT 和 INEPT(极化转移增强非灵敏核技术)或 APT(碳结合为质子的测定技术)。三者均是采用特殊脉冲将灵敏度高的 ^1H 核磁化转移至灵敏度低的 ^{13}C 核上,从而大大提高 ^{13}C 观测灵敏度的技术。谱图上不同类型的碳信号均呈单峰信号,但因方向不同而相互区别。

DEPT 一般需要做三个谱,即常规 ^{13}C NMR 谱、DEPT 90° 及 DEPT 135° 。常规 ^{13}C NMR 可以得到伯、仲、叔、季四种碳的信号。DEPT 90° 谱理想的情况只出现次甲基 CH 的正峰,其余的碳均不出峰。DEPT 135° 谱可得到伯、仲、叔三种碳的信号,其中 CH 和 CH_3 为正峰、 CH_2 为负峰、季碳不出峰。

3.4.3 实验操作

1. ^{13}C DEPT 谱的操作步骤

(1) 先建立实验 1,做常规 ^{13}C NMR 谱,实验操作步骤与 3.3.3 小节中实验步骤相同。

(2) 键入“iexpno”。建立实验 2。

① 键入“rpar”。跳出实验数据库,选择“DEPT90°实验”,点击“copy all”,读入标准脉冲序列。

② 键入“getprosol”。读入 ^{13}C 90° 脉冲值。

③ 键入“rga”。自动估算接收器增益值。

④ 键入“zg”。进行采样。

⑤ 键入“tr,efp(em,ft,pk)”。查看采样结果。

(3) 键入“iexpno”。建立实验 3。

① 键入“rpar”。跳出实验数据库,选择“DEPT 135°实验”,点击“copy all”,读入标准脉冲序列。

② 键入“getprosol”。读入 ^{13}C 90°脉冲值。

③ 键入“rga”。自动估算接收器增益值。

④ 键入“zg”。进行采样。

⑤ 键入“tr,efp”。查看采样结果,达到所需的信噪比后,存盘,停止采样。

2. 对三个谱图进行叠加、打印

(1) 打开实验 1 的 ^{13}C 谱。

(2) 激活谱图叠加功能窗口。

(3) 选择实验 2 的数据,双击打开。

(4) 选择实验 3 的数据,双击打开。

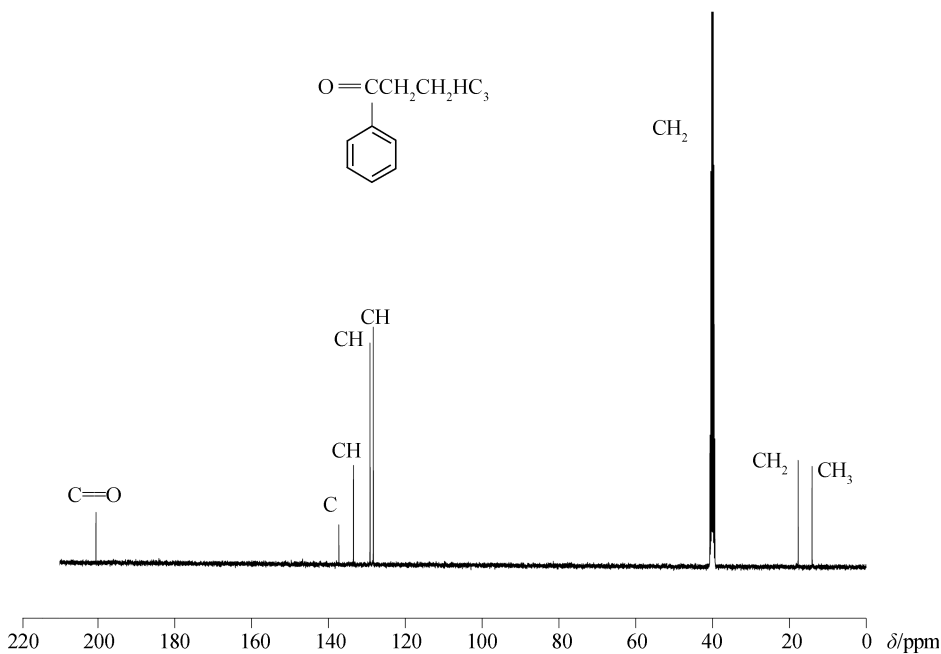
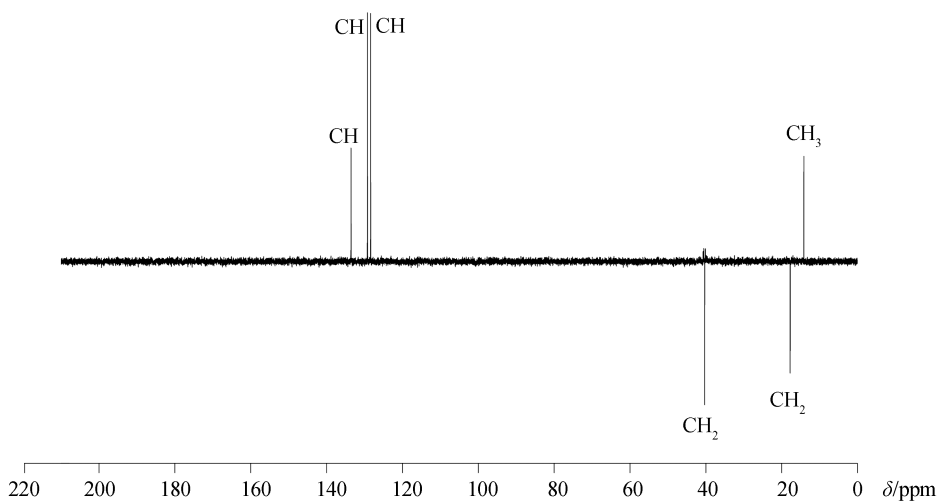
(5) 点击  将叠在一起的三张谱分开。

(6) 若要调节某实验(比如实验 2)谱线的峰高,可点击该实验数据,数据被加亮,然后点击  调峰高,依次将各谱线峰高调好。

(7) 打印当前谱图。

3.4.4 谱图示例

图 3.9~3.12 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 DEPT 谱图。可观察到伯、仲、叔、季碳原子在 DEPT 谱图上的区别:DEPT 45°谱图中,CH、CH₂和 CH₃都出峰,而且都是向上的峰;DEPT 90°谱图中,仅 CH 出峰,是向上的峰;DEPT 135°谱图中,CH 和 CH₃都出向上的峰,CH₂出向下的峰。由于 DEPT 135°谱实际上已经包括了 DEPT 45°谱和 DEPT 90°谱的信息,所以一般只做 DEPT 135°谱。

图3.9 苯丁酮的 ^{13}C NMR 谱图图3.10 苯丁酮的 DEPT 135° 谱图

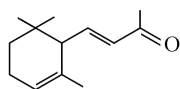


图3.11 α-紫罗兰酮的 DEPT 135°谱图

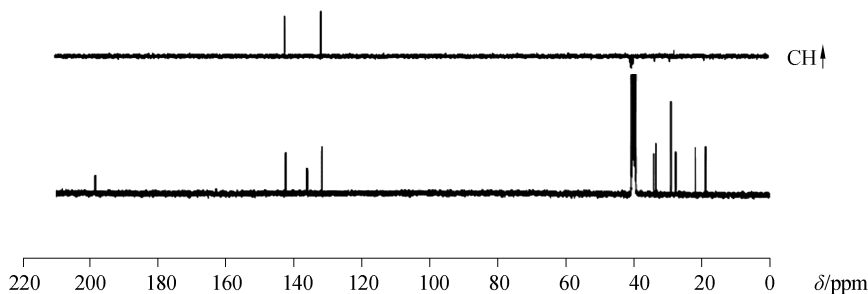


图3.12 α-紫罗兰酮的 DEPT 90°谱图

3.4.5 练习

1. 单项选择题

(1) 在 135° 的 DEPT 实验中谱图特征为()。

- | | |
|------------------------------|---|
| A. CH 和 CH ₃ 显示正峰 | B. CH 和 CH ₂ 显示正峰 |
| C. CH 和 CH ₃ 显示负峰 | D. CH ₂ 和 CH ₃ 显示负峰 |

(2) 在 APT 实验中谱图特征为()。

- | | |
|------------------------------|---|
| A. CH 和 CH ₃ 显示正峰 | B. CH 和 CH ₂ 显示正峰 |
| C. C 和 CH 显示负峰 | D. CH ₂ 和 CH ₃ 显示负峰 |

(3) 在 45° 的 DEPT 实验中谱图特征为()。

- | |
|--|
| A. C 和 CH ₂ 显示正峰, CH 和 CH ₃ 显示负峰 |
| B. CH、CH ₂ 和 CH ₃ 均显示负峰 |
| C. C 和 CH ₂ 显示负峰, CH 和 CH ₃ 显示正峰 |
| D. CH、CH ₂ 和 CH ₃ 均显示正峰 |

(4) 在 90° 的 DEPT 实验中, 谱图特征为()。

- A. CH_2 显示正峰, CH 和 CH_3 显示负峰
- B. CH_2 显示负峰, CH 和 CH_3 不出峰
- C. CH_2 显示负峰, CH 和 CH_3 显示正峰
- D. CH 显示正峰, CH_2 和 CH_3 不出峰

2. 简答题

(1) 试说明 APT(连接质子测试) 实验中如何区分分子中的 CH 、 CH_2 、 CH_3 和季碳原子。

(2) 试说明 DEPT 实验中如何区分分子式中的 CH 、 CH_2 、 CH_3 和季碳原子。

3.5 ^{31}P NMR 谱实验操作

3.5.1 实验目的

- (1) 了解 ^{31}P NMR 谱的发展和特点。
- (2) 了解 ^{31}P NMR 谱的实验原理。
- (3) 掌握 ^{31}P NMR 谱的简单操作。
- (4) 掌握含磷化合物的谱图解析。

3.5.2 实验原理

1. ^{31}P NMR 实验原理

^{31}P 是一种核自旋量子数 $I = 1/2$ 的原子核, 其同位素丰度为 100%, 灵敏度约为 ^1H 的 6.7 %、 ^{13}C 的 377 倍, 因此, 它是一种可用于核磁共振分析技术的理想原子核。近年来, 核磁共振 P 谱(^{31}P NMR) 作为一种日渐成熟的分析手段, 在化学领域用途广泛, 特别是在测定含磷化合物分子结构方面作用更为突出。

^{31}P NMR 检测方法则是从原子水平上分析测定有机化合物分子结构, 它可深入物质内部结构且对样品无破坏性, 具有快速、准确、分辨率高、其他元素对 ^{31}P 的测定无干扰等优点。同时, ^{31}P NMR 对含磷化合物的选择具有唯一性, 因此样品无须分离, 可直接溶于氘代试剂中, 能快速检测出样品中是否存在含磷化合物, 并可进行定性与定量分析; 再者, 其核磁测试灵敏度高, 并且在 ^{31}P NMR 谱中最高场处的化学位移在 $-527 \sim 448$ ppm 的范围内。这使核磁共振 P 谱的观测比较容易, 且谱带尖锐, 共振谱线简单, 容易识别, 谱图解析能得到许多有用的结

构信息。

第一个核磁共振信号由布洛克等人在1945年发现,而第一个 ^{31}P 核磁共振信号由Dickenson等人发现。1955年,多核核磁共振波谱仪的发展使得 ^{31}P NMR成为化合物结构分析的重要手段。1956年,已经有数百个含磷化合物的化学位移被文献报道,而且 ^{31}P 化学位移已经可以用来对化合物结构进行分析。早期的波谱仪(1963年之前)一般都需要纯样品,这些波谱仪仅能记录一次谱图扫描,而且稀溶液的扫描信号低。1963年,信号平均化的引入,以及在20世纪60年代中期更强的灵敏度和高场电磁的使用促进了大量对 ^{31}P 化学位移和耦合常数的报道。直到1962年,Jones和Katritzky已经编译出包括59篇文献在内的所有当时已知的 ^{31}P 资料。1966年Van Wazer及其同事出版了第一本关于 ^{31}P NMR的专著。Van Wazer提出了更加完善的 ^{31}P 化学位移理论,而且他将大约3 000种化合物的 ^{31}P 化学位移以及 ^1H - ^{31}P 耦合常数列成表格。Mavel于1965年在大约450篇刊物中做了报告,在1966~1969年间发表了大约1 500篇文章。

^{31}P NMR的原理是通过核磁共振现象及化学位移作用区分化合物中的不同分子,在不同的位置形成不同的峰值。由于峰面积与特定频率原子核的共振数目成正比,反映代谢物的浓度,所以可用来做定量分析。核磁共振P谱中,含磷化合物的磷原子均有信号出现,而其他原子不出现信号,这为磷原子的定性分析提供了方便。根据核磁共振原理,含磷化合物磷原子所处的化学环境不同, ^{31}P 核磁共振反映的化学位移不同,同时它对邻近的氢原子产生裂分时对应的耦合常数也不同。所以从 ^{31}P 的核磁共振谱图中,可以根据 ^{31}P 核磁共振的这种化学位移的不同和 ^{31}P 与邻近氢原子裂分对应的耦合常数不同,一一确定含磷化合物的结构。核磁共振法与其他分析手段相比具有两个明显优越性:①能够快速、准确地确定复杂体系中是否含磷元素;②对于定性确定样品是否为含磷元素物质时,出于要分析的样品中任何其他元素在核磁共振P谱中都不会出峰,因而消除了出于其他元素的存在而引起的对磷谱的干扰,可以对样品简单处理,直接进行检测分析。这在由多种化合物组成的复杂体系中分析检测含磷化合物,具有重要的意义。

2.含磷化合物 ^{31}P 化学位移的变化规律

对于无机含磷化合物,其 ^{31}P 化学位移的影响因素有三方面:受相邻原子电负性影响,推电子基团使化学位移移向高场,而吸电子基团则具有相反效应;金属离子半径越大,其取代生成的磷酸盐 ^{31}P 化学位移也越大;一般来说,当磷的配体相同或配体的电子性质相近,磷配位数从2递增至6时, ^{31}P 的化学位移由低

场移向高场。

磷的配位数对其 ^{31}P NMR 化学位移的影响如下:

①一配位磷化合物的 ^{31}P NMR 化学位移出现在高场,磷配位数从 2 递增至 6 时 NMR 化学位移由低场移向高场。这是由于一配位磷 $\text{P}\equiv\text{C}$ 上的 π 电子是以圆柱形分布的。在外加磁场 H_0 作用下,绕三键转动而成环流。产生的感应磁场在三键的两端为正屏蔽区,两侧为去屏蔽区。这样磷原子处于正屏蔽区。因此,共振吸收峰出现在高场。

②二配位磷化合物中, $\text{C}\equiv\text{C}$ 的 π 电子如同苯环中的 π 电子一样,在外加磁场作用下沿着 $\text{P}-\text{P}$ 键形成环流。若外加磁场垂直于 $\text{C}\equiv\text{C}$ 所在平面,其他取向统计意义上相互抵消,那么平面的上下为环流效应所产生的抗磁正屏蔽区而双键的两端为顺磁区,即去屏蔽区。因此,二配位磷化合物 NMR 化学位移出现在低场。

③三配位磷原子成键中, $3p$ 电子表现出微弱顺磁性。因此磷原子处于去屏蔽区,其 ^{31}P NMR 化学位移较二配位磷在较高场,但仍处于低场。

④四配位磷化合物中磷原子的 $3d$ 轨道参与成键,从而使磷原子的屏蔽效应增大,所以与三配位磷相比,其 ^{31}P NMR 化学位移出现在较高场。

⑤在五配位磷化合物中,磷原子以 sp^3d 杂化轨道成键,由于 $3d$ 轨道参与成键使磷原子屏蔽效应明显加大,所以其 ^{31}P NMR 化学位移出现在更高场。

⑥在六配位磷化合物中,磷原子以 sp^3d^2 杂化成键形成具有八面体的四角双锥构型。由于两个 $3d$ 轨道参与成键,而且六配位磷为负离子,使磷原子上电子密度增加,从而屏蔽效应加强,因而其 ^{31}P NMR 化学位移出现在最高场。

3. 含磷化合物 ^{31}P 耦合常数(J_{PH})的变化规律

(1) ^{31}P 与 ^1H 耦合(J_{PH})。

一般地, $^nJ_{\text{PH}}$ 随着 n 值的增大而减小, $^1J_{\text{PH}}$ 值经常在 $400\sim 1\,000$ Hz 之间。取代基(氟除外)的电负性越大, $^1J_{\text{PH}}$ 越大;取代基的空间位阻越小, $^1J_{\text{PH}}$ 越大。耦合常数 $^2J_{\text{PH}}$ 和 $^3J_{\text{PH}}$ 受到二面角和电负性的影响,耦合常数 $^3J_{\text{PH}}$ (反式)通常在 $10\sim 30$ Hz 之间, $^2J_{\text{PH}}$ 可达到 25 Hz, $^3J_{\text{PH}}$ (顺式)可达 15 Hz。

(2) ^{31}P 与 ^{13}C 耦合(J_{PC})。

$^nJ_{\text{PC}}$ 的大小取决于磷的氧化态、配位数、取代基电负性以及 n 值大小和耦合核的立体化学性质。磷原子的氧化态不同会导致磷的电子云密度不一样,氧化态越高,磷原子的电子云密度越低。

3.5.3 磷谱标准一维实验操作

1. 样品配置

P 谱的样品制备与氢谱相似,取待测物固体 5~10 mg 放入子弹头内,加入合适氘代试剂使其溶解后,用移液枪将待测物配成的溶液吸入核磁管内,盖上核磁帽待测。

2. 常规 ^{31}P NMR 谱的操作步骤

(1) 键入“new”命令,建立新实验 P31 CPD。

① 键入“name”。实验样品命名,方便以后的数据查看与拷贝。

② 键入“expno”。实验序列号。

③ 键入“user”。用户自定义。

④ 键入“solvnnet”。选择相应的氘代试剂。

⑤ 键入“dir”。存储路径。

⑥ 键入“title”。实验的备注信息。

(2) 键入“lock”命令,选择相应的氘代溶剂,进行锁场,通过锁场实现实验对磁场稳定性的要求。

(3) 键入“atma”命令,进行自动调谐,保证最大程度收集信号。

(4) 键入“ased”命令,设置相关参数。

① 键入“Td”。16k。

② 键入“NS”。32 为采样次数,可对采样次数 NS 项进行修改,P 谱一般默认 16 次即可。

③ 键入“DS”。空扫,一般默认值 4,可保证实验中样品测试时温度平衡。

④ 键入“SW”。200 ppm 为相应的 P 谱宽。

⑤ 键入“RG”。此项为接收器增益值。

⑥ 键入“O1”。在 P 谱的中央。

⑦ 键入“O1P”。中心频率,可以用来改变谱图中央点。

⑧ 键入“d1”。4 s 弛豫延时时间。

⑨ 键入“DE”。6.5 s 死时间。

(5) 输入“ts”命令,进行匀场。保证在样品中,磁场强度均匀且单一,使相同的核不管处于样品的何种位置都应给出相同的共振峰。

(6) 采样。键入“g”命令,即开始自动采样。

(7) 傅立叶变换。键入“efp”(em、ft、pk)命令。

(8) 调相位。键入“apk”命令,自动调节。

(9)校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(10)编辑。键入“plot”命令。编辑图表,右击鼠标选择“edit”修改图形,右击鼠标选择“1D/2D edit”,编辑完先点击“apply”再点击“OK”。

3.5.4 ^{31}P NMR 谱图解析实例

磷腈系列化合物具有一个突出的优点,即亲核试剂容易取代活泼的氯原子继而合成得到相应的衍生物。因此,根据特定的需求,可以改变和调整亲核取代基团的结构和类型;同时,加入不同的取代基团比例,也可以得到不同数目取代的磷腈衍生物,所以这些性质是非磷腈类化合物难以达到的。作为一个优异的载体平台,六氯环三聚磷腈上的六个氯原子全部被相同的亲核试剂取代,得到结构对称的磷腈衍生物;如果六个氯原子未被完全取代,或者被六个不全部相同的取代基取代,会得到结构不对称的磷腈衍生物。就本课题组研究涉及环三聚磷腈(HCCP)过程中的 HCCP 衍生物和一些磷酸酯类的核磁磷谱进行解析,供大家参考,如图 3.13~3.15 所示。

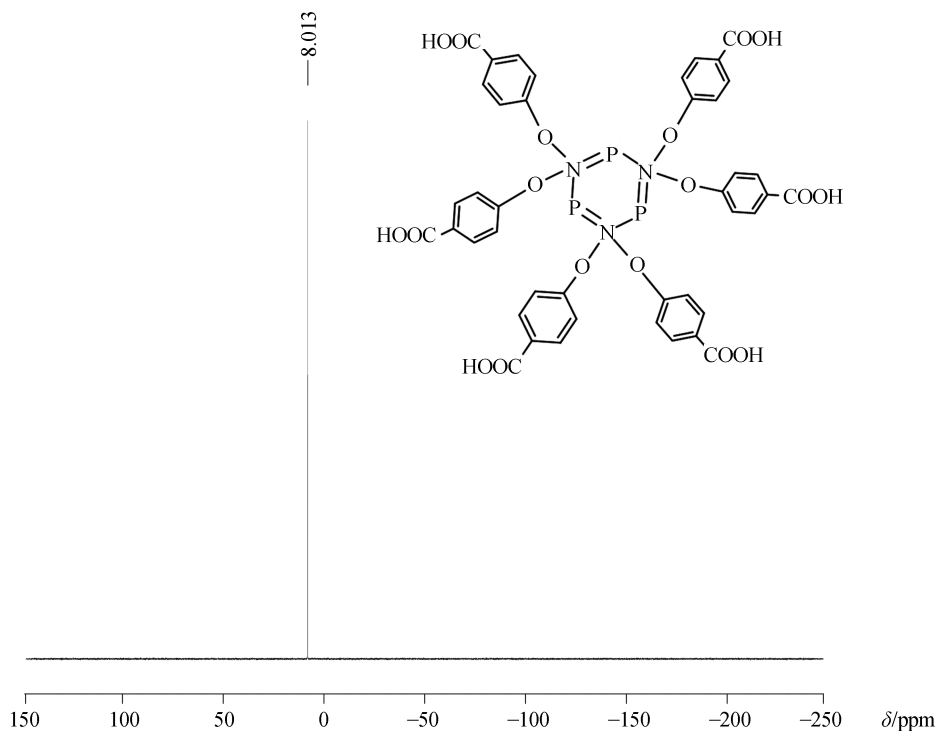


图3.13 六对羧基苯氧基环三磷腈(HCCP)的 ^{31}P NMR 谱图

谱图解析:由于 HCCP 引入了六个相同的取代基,所以 HCCP 的六取代衍生物中三个磷所处的化学环境是相同的,磷谱在 8.013 ppm 表现为单峰。

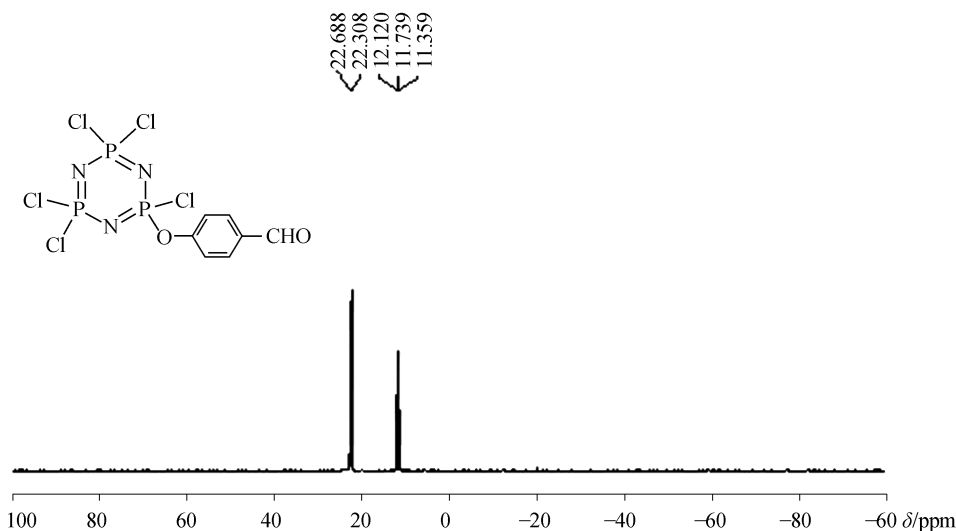
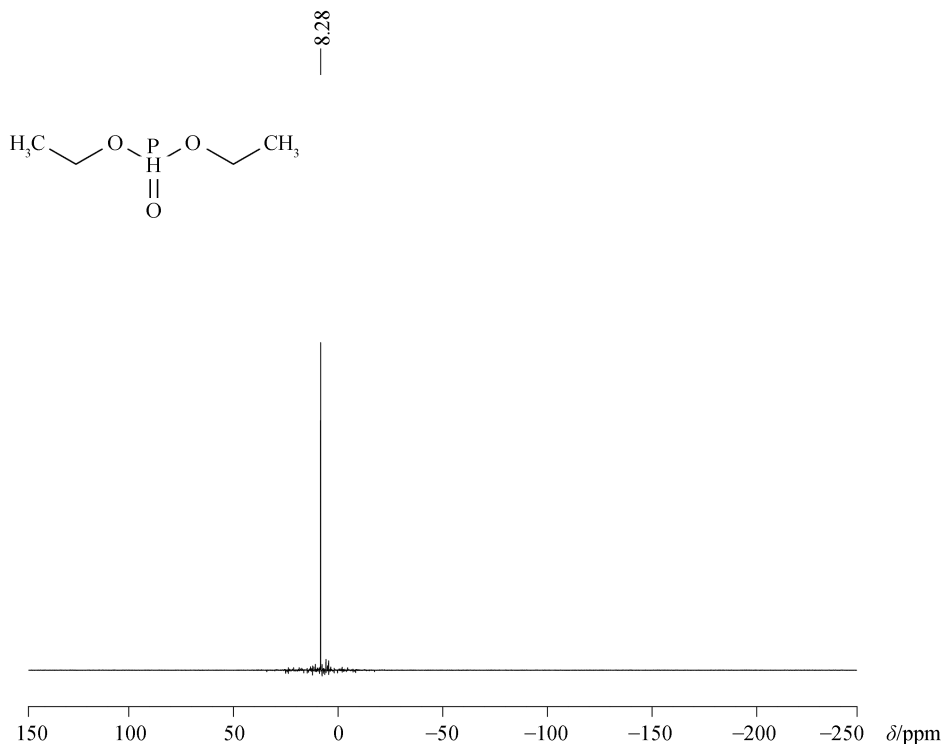


图3.14 一取代的环三磷腈的 ^{31}P NMR 谱图

谱图解析:由于 HCCP 磷原子上引入了基团,使得 HCCP 核上的三个磷原子化学环境不同,所以磷原子呈现了不同的化学位移,又由于磷原子之间耦合裂分并符合 $n+1$ 规则,出现了三重峰和两重峰。HCCP 一取代化合物在化学位移 22 ppm 处裂分为双峰,在化学位移 11 ppm 处裂分为三峰。同时,在 22 ppm 和 11 ppm 的磷谱积分比为 2 : 1, 22 ppm 归属为与氯原子相连的磷原子, 11 ppm 归属为与氧原子相连的磷原子。

图3.15 磷酸二乙酯的 ^{31}P NMR 谱图

3.5.5 练习

1. 填空题

- (1) ^{31}P NMR 一般以()为内标物,化学位移值为 0 ppm。
- (2) ^{31}P NMR 的最高场为(),最低场为()。
- (3) ^{31}P NMR 的化学位移范围为()ppm。
- (4) ^{31}P 的自旋量子数为(),天然丰度为()。

2. 简答题

(1)核磁共振仪的 ^{31}P 谱操作与 ^1H 谱、 ^{13}C 谱有什么不同?

(2)磷的配位数对 ^{31}P 化学位移有一定影响,判断 PCl_3 ($\delta = 220.8 \text{ ppm}$) 和 PCl_5 ($\delta = -79.9 \text{ ppm}$) 的 ^{31}P 化学位移是处于高场还是低场,并说出依据。

(3)核磁磷谱化学位移的影响因素有哪些?简要叙述这些影响因素如何影响化学位移移动。

(4)核磁磷谱的化学位移范围为C谱的近十倍,H谱的近百倍,试解释其原因。

(5)核磁磷谱的一般解析步骤是什么?解析过程中应该注意什么?

3.6 ^{19}F NMR 谱实验操作

3.6.1 实验目的

- (1)了解 ^{19}F NMR 谱的原理及特征。
- (2)掌握 ^{19}F NMR 谱的实验操作方法。
- (3)掌握 ^{19}F NMR 谱的谱图解析方法。

3.6.2 实验原理

核磁共振检测不破坏样品结构,能够保持其体系的完整。核磁共振氟谱测试无须使用氘代试剂,可以在任何溶液体系下进行检测。由于含氟化学药品的不断增加,定性用核磁共振氟谱日益受到关注,但是 ^{19}F NMR 定量技术用于含氟化学药品含量测定的研究还很少。氟原子的天然同位素只有 ^{19}F ,丰度为100%且灵敏度为 ^1H 的0.83倍,是使用NMR研究化合物的理想核。无机和有机的 ^{19}F 的化学位移值范围非常大(大于350 ppm),且因为含氟有机物中 ^{19}F 核的反磁性屏蔽少于1%,而顺磁性屏蔽是主要影响因素,所以其化学位移值较难预测与推理,大谱宽经常会造成在一维 ^{19}F 谱中相位调节不好的问题。 ^{19}F 的自旋量子数是1/2,理论的耦合裂分规律类似于 ^1H ,但其与 ^{13}C 、 ^1H 和 ^{19}F 本身都有强烈的耦合作用(表3.1),使得一维 ^{19}F 谱的峰型较一维 ^1H 谱复杂,峰面积积分相比计算相对原子数目的准确度也不如 ^1H 高,但其测试时间及样品浓度均远小于 ^{13}C 、 ^{15}N 与 ^{31}P 谱。相比于核磁共振氢谱,氟谱具有更宽的化学位移范围,信号峰重叠少,易于分辨并进行峰强度的比较。同时,常见含氟化学药品中大多数只含有1种或2种不同化学环境的氟原子,使得 ^{19}F NMR谱复杂程度远小于 ^1H NMR谱。由此,利用 ^{19}F NMR定量技术进行含氟化学药品的含量测定具有显著优势,可为准确测定该类药品的含量提供一种快速、准确且干扰较小的研究方法。

表 3.1 常用的¹⁹F 耦合常数

<i>n</i>	^{<i>n</i>} <i>J</i> _{XF} /Hz		
	<i>X</i> = ¹⁹ F	<i>X</i> = ¹³ C	<i>X</i> = ¹ H
1	—	190~300	—
2	200~300	20~40	40~60
3	2~10	—	10~20
4	8~20	—	—
5	0~10	—	—

CFCl₃是¹⁹F 谱中最常用的内标试剂,定标为 0 ppm,相当于¹H 谱中的 TMS,CFCl₃峰往高场(低化学位移)移动为负值,往低场(高化学位移)移动为正值,其他较常用的¹⁹F 标准物的化学位移值见表 3.2。对于含氟有机物,不同的氟基团可能出现的位移值虽不易预测,但符合以下范围:δ(—CF₃) = -52~-87 ppm;δ(—CF₂—) = -80~-130 ppm;δ(—CF—) = -70~-238 ppm。由表 3.2 中各类化合物的¹⁹F 化学位移值可知,绝大部分含氟有机物的化学位移为负值(除 SF₆ 类化合物)。

表 3.2 常用的¹⁹F 标准物的化学位移值

标准物	CF ₃ COOH	C ₆ F ₆	C ₆ H ₅ CF ₃	C ₆ H ₅ F	CFCl ₂ CFCl ₂	SF ₆
δ/ppm	-76.55	-164.9	-63.72	-113.15	-67.8	+57.42

¹⁹F 的二维谱与常规¹H 二维谱相比,有其特殊性:①¹⁹F-¹⁹F COSY 中呈现的除了³*J*_{FF}信号外还有⁴*J*_{FF}和⁵*J*_{FF}的相关信号,由于⁴*J*_{FF} > ³*J*_{FF} ≈ ⁵*J*_{FF},所以⁴*J*_{FF}相关信号更易检测出;②当—CF₂—基团连有手性碳时,两个¹⁹F 原子不等价,它们之间的耦合常数可高达 200~300 Hz,这一数值与 C—F 的一键耦合常数相近,造成 C—F 异核相关二维谱的检测困难;③由于 90°脉冲的宽度(PW)与检测谱图的宽度(SW)呈反比(PW · SW < 30 000),¹⁹F 比¹³C 还宽的谱宽使得 90°脉冲在异核相关二维谱中不能完全均匀覆盖到全谱,因此当某一含氟化合物的¹⁹F 范围很宽时,其异核相关二维谱(如¹³C-¹⁹F HSQC)很可能检测不成功。

1.有机氟化合物的谱学特征

(1)含氟饱和烷烃氟谱的谱学特征。

烷基对 CF 的屏蔽作用按照伯、仲、叔、季碳依次减弱,化学位移值由低升

高。烷基对 CF_2 的屏蔽作用是按照伯、仲、叔、季碳依次增强,化学位移数值由高降低。大小不一的烷基对 CF_3 的屏蔽作用可忽略不计,化学位移数值约为 -70 ppm 。表 3.3 为常用的含氟饱和烷烃氟谱的化学位移值。

表 3.3 常用的含氟饱和烷烃氟谱的化学位移值 ppm

化合物	化学位移	化合物	化学位移	化合物	化学位移
CH_3F	-272	$\text{CH}_3\text{CF}_2\text{H}$	-110	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CF}_3$	-69
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{F}$	-212	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CF}_2\text{H}$	-120	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CF}_3$	-67
$\text{CH}_3\text{CHFCH}_3$	-165	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCF}_2\text{H}$	-127	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CF}_3$	-68
$(\text{CH}_3)_3\text{CF}$	-131	$(\text{CH}_3)_3\text{CCF}_2\text{H}$	-129		

(2) 含电负性基团有机氟化物的谱学特征。

α 位取代的电负性基团越多,吸电子能力越强,则对 CF 的去屏蔽能力越强,化学位移急剧向低场移动。 CF_2 或 CF_3 化合物同样遵循取代基电负性越强去屏蔽能力越强的规则。不过,由于 CF_2 或 CF_3 官能团本身的电负性就很强,所以化学位移只能缓慢地向低场移动。常用的 α 位取代电负性官能团含氟化合物氟谱的化学位移值见表 3.4。

表 3.4 常用的 α 位取代电负性官能团含氟化合物氟谱的化学位移值 ppm

化合物	化学位移	化合物	化学位移	化合物	化学位移
CH_3F	-272	CH_2F_2	-143.6	CHF_3	-78
CH_2ClF	-169	CHF_3	-78	CHF_4	-61.7
CHCl_2F	-82	CHClF_2	-73	CF_3Cl	-28
CCl_3F	0	CHBrF_2	-70	CF_3Br	-18
		CHIF_2	-68	CF_3I	-5.1

电负性基团在 β 位取代,与氟核距离增大,影响作用急剧下降,且氟核本身具有较强的电负性,同样依据取代基电负性越强去屏蔽能力越强的规则解析。在 β 位上取代的电负性基团的电负性加起来比氟核小,电负性基团表现不出去屏蔽能力,化学位移反而向高场移动:比氟核大,电负性基团表现出较弱的去屏蔽能力,化学位移只能稍微向低场移动。当电负性基团在离氟核距离大于 β 位取代时,可以忽略电负性基团对核的影响。常用的 β 位取代电负性官能团含氟化合物氟谱的化学位移值见表 3.5。

表 3.5 常用的 β 位取代电负性官能团含氟化合物氟谱的化学位移值 ppm

化合物	化学位移	化合物	化学位移	化合物	化学位移	化合物	化学位移
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{F}$	-212	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{F}$	-220	$\text{CH}_3\text{CF}_2\text{H}$	-110	CF_3CH_3	-68.0
$\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{F}$	-226	$\text{CHCl}_2\text{CH}_2\text{F}$	-208	$\text{ClCH}_2\text{CF}_2\text{H}$	-120	$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{F}$	-77.6
$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$	-223	$\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{F}$	-198	$\text{Cl}_2\text{CHCF}_2\text{H}$	-124	$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{Cl}$	-72.1
$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{F}$	-227			$\text{Cl}_3\text{CCF}_2\text{H}$	-122	$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{FBr}$	-69.3
						$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{I}$	-65.6

(3) 含芳环的有机氟化物的谱学特征。

氟苯氟谱化学位移为 -113.5 ppm, 卤素在邻间对位取代的数据收集见表 3.6。表 3.6 中除邻二氟苯化学位移偏离氟苯 -113.5 ppm 较大之外, 其他化合物氟谱的化学位移变化不大, 即苯环上电负性基团的取代对氟核影响较弱。卤素在邻间对位取代的氟苯类化合物氟谱化学位移值总结见表 3.6。

表 3.6 卤素在邻间对位取代的氟苯类化合物氟谱化学位移值总结 ppm

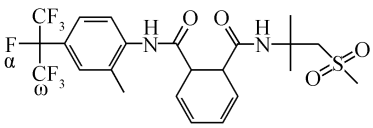
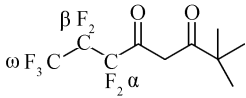
取代基团	氘代试剂	邻位	间位	对位
F	$\text{DMSO}-\text{D}_6$	-138.8	-109.5	-119.4
Cl	$\text{DMSO}-\text{D}_6$	-115.9	-110.3	-115.2
Br	$\text{DMSO}-\text{D}_6$	-107.7	-110.0	-114.7
I	$\text{DMSO}-\text{D}_6$	-106.2	-110.3	-114.2

(4) 含全氟基团的有机氟化物的谱学特征。

全氟基团中 CF_3 氟谱的化学位移值为 -75 ppm, CF_2 氟谱的化学位移值为 -120 ppm, CF 氟谱的化学位移值为 -180 ppm, 末端含氟基团的化学位移根据所连接基团的电负性相应向低场或高场移动。表 3.7 所示为一些含全氟基团有机氟化物氟谱的化学位移值。

表 3.7 含全氟基团有机氟化物氟谱的化学位移值

ppm

化合物	ω	α	β	γ	δ	ε	λ
	-75.70	-182.37					
	-80.64	-121.75	-126.99				
$\omega \quad \varepsilon \quad \delta \quad \gamma \quad \beta \quad \alpha$ $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{COOH}$	-82.10	-119.9	-123.6	-122.6	-123.5	-127.2	
$\omega \quad \lambda \quad \varepsilon \quad \delta \quad \gamma \quad \beta \quad \alpha$ $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{COOH}$	-82.15	-120.0	-123.7	-122.6	-122.9	-123.7	-127.2

3.6.3 实验操作

1. 样品配置

取待测物固体 5~10 mg 放入子弹头内,加入氙代试剂使其溶解后,用移液枪将待测物配成的溶液吸入核磁管内,盖上核磁帽待测。

2. 氟谱一维谱图操作步骤

(1)键入“new”命令。建立新文件,选定标准实验 F19 CPD。

- ① 键入“name”。样品名。
- ② 键入“expno”。实验号。
- ③ 键入“user”。操作者名字。
- ④ 键入“title”。写入其他补充信息。

(2)键入“lock”命令。选择溶剂。

(3)调探头(调谐,匹配)。键入“atma”命令自动调节。

(4)设置频率参数。键入“gpro”或“getprosol”命令自动设置参数。

①可以键入“NS”“DS”命令读取详细参数。

②可对采样次数 NS 项进行修改,F 谱一般采样 16 次即可。

(5)匀场。输入“ts”命令。

(6)采样。键入“g”命令,即开始自动采样。

(7)傅立叶变换。键入“efp(em、ft、pk)”命令。

(8)调相位。键入“apk”命令,自动调节。

(9)校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(10)编辑。键入“plot”命令。编辑图表,右击鼠标选择“edit”修改图形,右击鼠标选择“1D/2D edit”编辑完成,先点击“apply”再点击“OK”。

3.6.4 ^{19}F NMR 谱图解析实例

图 3.16~3.18 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^{19}F NMR 谱图。

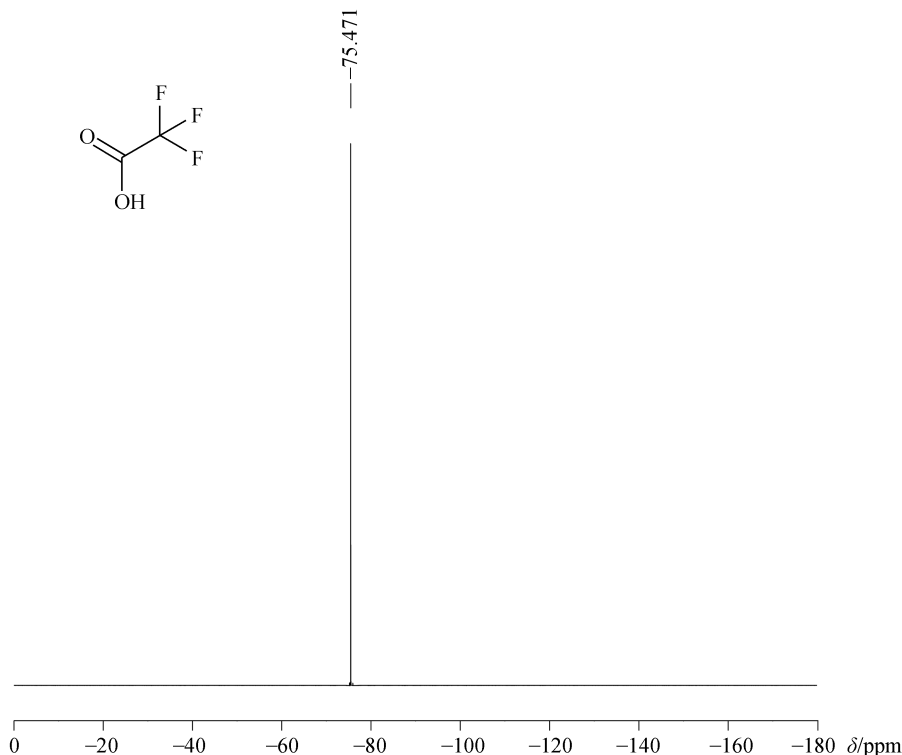
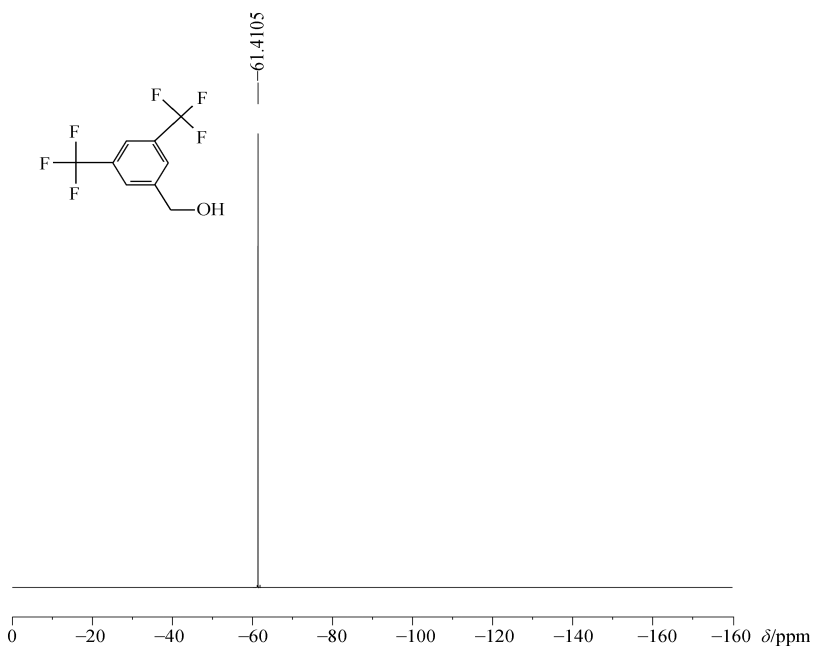
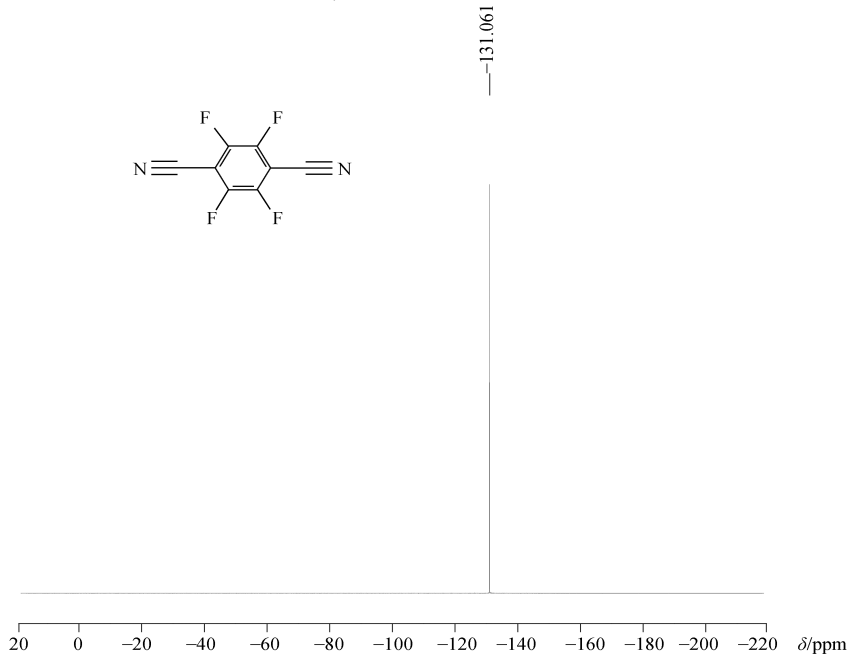


图3.16 三氟乙酸的 ^{19}F NMR 谱图

图3.17 化合物 3,5-双三氟甲基苄醇的 ^{19}F NMR 谱图图3.18 化合物四氟对苯二腈 ^{19}F NMR 谱图

3.6.5 练习

1. 填空题

- (1) ^{19}F 的自旋量子数为(),天然丰度为()。
- (2) ^{19}F NMR 通常以()为内标物。
- (3) ^{19}F NMR 的化学位移范围一般为()ppm。
- (4) CF_4 、 CF_3Cl 、 CF_2Cl_2 、 CFCl_3 中,化学位移值最大的为()。

2. 简答题

- (1)简述 ^{19}F NMR 与 ^1H NMR 基本原理的异同点。
- (2)简述影响 ^{19}F 化学位移值的因素,并解释说明。
- (3)简述含氟化合物的核磁研究在核磁发展过程中所处的地位。
- (4) ^{19}F NMR 的特点有哪些?
- (5) ^{19}F 和 ^{19}F 、 ^{19}F 和 ^{13}C 、 ^{19}F 和 ^1H 的耦合规律是什么?

3.7 ^{29}Si NMR 谱实验操作

3.7.1 实验目的

- (1)了解 ^{29}Si NMR 谱的发展和特点。
- (2)了解 ^{29}Si NMR 谱的实验原理。
- (3)掌握 ^{29}Si NMR 谱的简单操作。
- (4)掌握含硅化合物的结构与谱图解析。

3.7.2 实验原理

高分辨率核磁共振已经发展到可以相对容易地观察到许多具有自旋的原子核的程度。脉冲傅立叶变换核磁共振方法的发现和发展是对低灵敏度稀释核观测最重要的贡献。

多年来,高分辨率质子核磁共振已经满足了大多数化学家解决许多复杂表征问题的需要。随着新技术和仪器的出现,通过核磁共振观察其他原子核的需求也随之增加。例如,在有机化学中, ^{13}C 核磁共振已经成为最强大的结构解释工具之一。在许多实验室中鉴定常规产品时, ^{13}C 核磁共振的使用已经比质子核磁共振广泛。其优点显而易见;通过研究有机分子的骨架而不是通过研究附

属物来收集更多的信息。无机化学也是如此: ^{31}P 和 ^{19}F 由于其高灵敏度和高天然丰度已应用于核磁共振研究多年。然而,由于多核核磁共振谱仪的可用性,应用天然丰度不高的原子核变得越来越流行。

从核磁共振的角度看,一个越来越重要的原子核是 ^{29}Si 。地球表面近 1/7 的物质是由一种或多种硅化合物组成的。硅酮和硅酸盐正在以橡胶、添加剂和消费品的形式进入人们的日常生活。硅烷作为催化剂或催化剂体系中的添加剂,对化学工业具有重要意义。因此,急需新的、更好的方法来表征这些化合物。

^{29}Si 同位素由于其天然丰度低 (4.7%) 和恒定场核磁共振灵敏度低 (相对于 ^1H 的 7.84×10^{-3}), 是一个很难观察到的原子核。更糟糕的是,旋磁比 (γ) 为负,这意味着在质子解耦条件下,核欧沃豪斯效应增强 (NOE) 是负的,这可能导致信号强度大大降低。更复杂的是大多数 ^{29}Si 原子核的自旋晶格弛豫时间 (T_1) 大于 20 s, 这使得多数实验非常耗时。幸运的是,在每个样品中加入少量 (0.01 mol/L) 的弛豫试剂就足以使 T_1 缩短几秒钟,用更有效的电子-核偶极-偶极相互作用取代所有其他弛豫机制,从而控制自旋-晶格弛豫。由于质子-核偶极-偶极弛豫机制变得不重要,在质子去耦条件下,NOE 被消除。

1. 化学位移

虽然核屏蔽理论已经很成熟,但 ^{29}Si 化学位移与理论概念之间的关系并不简单。核的屏蔽常数可以作为局部效应和远距离效应的总和表示,即

$$\sigma = \sigma_d + \sigma_p + \sigma' \quad (3.1)$$

其中局部贡献进一步分为反磁项 σ_d 和顺磁项 σ_p 。长程效应 (σ') 是分子中其他原子的贡献,包括磁各向异性和电场效应等因素。通常认为, ^{29}Si 核屏蔽主要是局部效应。反磁项依赖于原子核处的电子密度,由 Lamb 公式给出,即

$$\sigma_d = (\mu_0 e^2 / 12m\pi) \sum_i P_{ii} \langle r_i^{-1} \rangle \quad (3.2)$$

其中, P_{ii} 为原子轨道 i 中的电荷密度,与核的平均距离为 R_i 。

顺磁性术语可表示为

$$\sigma_p = \left(-\frac{\mu_0 e^2 \hbar^2}{6\pi m^2 \Delta E} \right) [\langle r^{-3} \rangle_p P_u + \langle r^{-3} \rangle_d D_u] \quad (3.3)$$

式中, ΔE 为平均激发能; $\langle r^{-3} \rangle_p$ 和 $\langle r^{-3} \rangle_d$ 为价电子 p 和 d 与原子核距离的平均反立方; P 和 D 表示 p 和 d 电配位的不平衡。虽然 σ 的变化通常被认为是重核的主导,但这一假设受到了重大挑战。

^{29}Si 化学位移理论计算中出现的问题是由于取代基对式 (3.3) 中 ΔE 、 $\langle r^{-3} \rangle_p$ 和 P 项的影响程度不确定。此外,尚不清楚 d-轨道项是否可以被忽略,以及

(p-d) n 键合是否显著。

2. 耦合常数

原子核自旋通过键合网络的间接耦合被认为是三项之和。第一项是由于轨道电子电流与核力矩的相互作用;第二项产生于核子和电子磁矩之间的偶极-偶极相互作用;第三项取决于原子核处电子的性质(费米接触项),并被认为是决定耦合常数的主要因素。虽然还不知道轨道和自旋偶极项在确定 ^{29}Si 耦合常数中的相对重要性,但仅使用费米接触贡献进行了一些非常成功的计算。

3.7.3 实验操作

1. 样品配置

取待测物固体 5~10 mg 放入子弹头内,加入氘代试剂使其溶解后,用移液枪将待测物配成的溶液吸入核磁管内,盖上核磁帽待测。

2. ^{29}Si NMR 谱的操作步骤

(1)键入“new”命令,建立新文件。选择测硅标准实验脉冲序列。

① 键入“name”。样品名。

② 键入“expno”。实验号。

③ 键入“user”。操作者名字。

④ 键入“title”。写入其他补充信息。

(2)键入“lock”命令。选择溶剂。

(3)调探头(调谐、匹配):键入“atma”命令,自动调节。

(4)设置频率参数。键入“gpro”或“getprosol”命令,自动设置参数。

①可以键入“NS”“DS”命令,读取详细参数。

②可对采样次数 NS 项进行修改, Si 谱一般采样 16 次即可。

(5)匀场。输入“ts”命令。

(6)采样。键入“g”命令,即开始自动采样。

(7)傅立叶变换。键入“efp”(em、ft、pk)命令。

(8)调相位。键入“apk”命令,自动调节。

(9)校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(10)编辑。键入“plot”命令。编辑图表,右击鼠标选择“edit”修改图形,右击鼠标选择“1D/2D edit”,编辑完成先点击“apply”再点击“OK”。

3.7.4 谱图解析

图 3.19 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^{29}Si NMR 谱图。

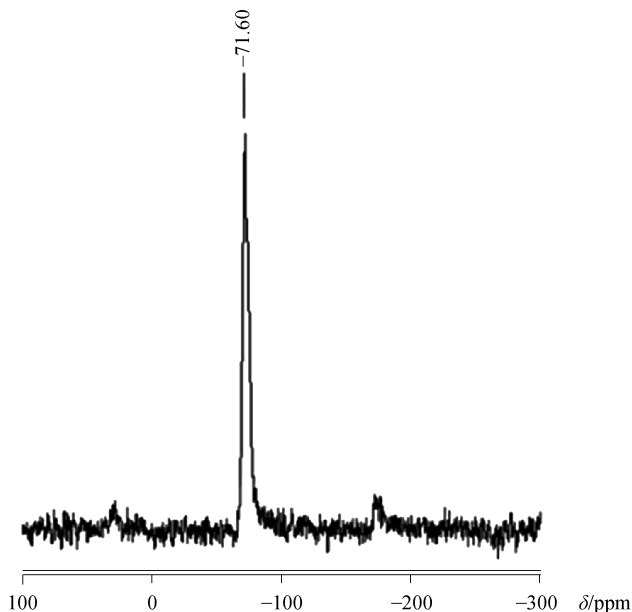


图3.19 水化硅酸盐水泥的 ^{29}Si NMR 谱图

3.7.5 练习

1. 填空题

- (1) ^{29}Si 的自旋量子数为(),天然丰度为()。
- (2) ^{29}Si NMR 通常以()为内标物。
- (3) ^{29}Si NMR 的化学位移范围一般为()ppm。

2. 问答题

- (1) ^{29}Si NMR 谱图的解析步骤是什么? 应该注意什么问题?
- (2) 核磁硅谱化学位移的影响因素有哪些? 试解释其原因。
- (3) ^{29}Si NMR 有什么特点,在现实生活中有何作用? 试分析。
- (4) ^{29}Si 耦合常数有何规律?

3.8 ^{11}B NMR 谱实验操作

3.8.1 实验目的

- (1) 了解 ^{11}B NMR 谱的原理。
- (2) 掌握 ^{11}B NMR 谱的实验操作方法。
- (3) 掌握 ^{11}B NMR 谱的谱图解析方法。

3.8.2 实验原理

核磁共振技术是确定化合物分子结构的重要手段,通过对 ^1H NMR、 ^1H - ^1H COSY、 ^{13}C NMR、DEPT、 ^1H - ^{13}C HSQC 和 ^1H - ^{13}C HMBC 等 NMR 谱图的解析可获得分子的结构信息,NMR 谱图已经成为科技工作者的“眼睛”。近年来,对于含杂原子的化合物,NMR 可从检测杂核角度表征特定原子核的化学环境,是对杂原子结构测定的有效补充。

硼核可产生 NMR 信号的同位素有二种,分别为 ^{10}B 、 ^{11}B ,两种核的自旋量子数 I 都大于 $1/2$ (^{10}B 核的 I 为 3, ^{11}B 核的 I 为 $3/2$),且具有电四极矩,因此核磁共振 B 谱(B NMR) 的谱峰较宽。 ^{10}B 核的 NMR 检测灵敏度较低,是 ^{13}C 核的 0.078 倍,只有富集才能观测到 ^{10}B NMR 信号。 ^{11}B 的天然丰度是 80.1%,具有较高的灵敏度,是 ^{13}C 核的 2.077 倍,相对容易观测,所以选择测 ^{11}B NMR 谱。常规 NMR 样品管由硼硅玻璃制成,检测时会产生较宽的 ^{11}B NMR 信号,因此最好使用不含硼的石英样品管测定 ^{11}B NMR 谱。

3.8.3 实验步骤

1. 样品配置

取待测物固体 5~10 mg 放入子弹头内,加入氘代试剂使其溶解后,用移液枪将待测物配成的溶液吸入核磁管内,盖上核磁帽待测。

2. ^{11}B NMR 谱的操作步骤

- (1) 键入“new”命令。建立新文件,选择测硼谱标准实验脉冲系列。
 - ① 键入“name”。样品名。
 - ② 键入“expno”。实验号。

③ 键入“user”。操作者名字。

④ 键入“title”。写入其他补充信息。

(2) 键入“lock”, 选择溶剂。

(3) 调探头(调谐, 匹配)。键入“atma”命令, 自动调节。

(4) 设置频率参数。键入“gpro”或“getprosol”命令, 自动设置参数。

① 可以键入“NS”“DS”命令, 读取详细参数。

② 可对采样次数 NS 项进行修改, B 谱一般采样 16 次即可。

(5) 匀场。输入“ts”命令。

(6) 采样。键入“g”命令, 即开始自动采样。

(7) 傅立叶变换。键入“efp(em、ft、pk)”命令。

(8) 调相位。键入“apk”命令, 自动调节。

(9) 校正化学位移。可用 TMS 值来校正 0 点。

(10) 编辑。键入“plot”命令。编辑图表, 右击鼠标选择“edit”修改图形, 右击鼠标选择“1D/2D edit”, 编辑完成先点击“apply”再点击“OK”。

3.8.4 实例解析

图 3.20 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^{11}B NMR 谱图。

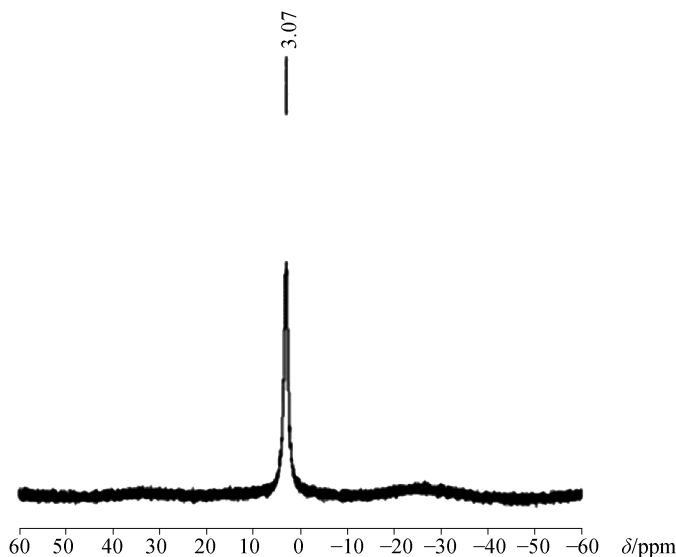


图3.20 ^{11}B NMR 谱图

3.8.5 练习

1. 填空题

- (1) ^{11}B 的自旋量子数为(),天然丰度为()。
- (2) ^{11}B NMR 通常以()为内标物。
- (3) ^{11}B NMR 的化学位移范围一般为()ppm。

2. 问答题

- (1) 核磁测硼谱时需要在核磁管里放多少样品(液体)? 与其他一维核磁有无区别?
- (2) ^{11}B NMR 的原理是什么?
- (3) ^{11}B NMR 解析步骤一般是什么? 应该注意什么?
- (4) ^{11}B 耦合常数有何规律?
- (5) ^{11}B NMR 有什么特点? 在现实生活中有何作用?

第 4 章 核磁共振技术实例： 二维核磁技术

4.1 二维核磁的发展与原理

二维核磁共振(Two Dimensional NMR, 2D NMR)谱是近代核磁共振技术发展最快的领域之一,是鉴定复杂有机化合物结构最为有效和准确的研究手段。2D NMR 的思想最早由比利时科学家 Jeener 于 1971 年提出,但是由于当时缺乏足够稳定的磁场,一直未能被实践证明。直到 1976 年,瑞士科学家理查德·恩斯特首次成功实现了具有两个独立时间变量的 2D NMR 实验,并用密度矩阵方法对 2D NMR 技术进行了系统的理论阐述。其后理查德·恩斯特和弗里曼等研究小组迅速发展了多种 2D NMR 实验方法,在物理化学和生物学研究中获得了广泛的应用。理查德·恩斯特教授也因对傅立叶变换 NMR 和 2D NMR 技术领域的贡献获得了 1991 年的诺贝尔化学奖。2D NMR 谱是一维 NMR 谱的自然拓展,又比一维 NMR 谱更为复杂,它的出现和发展是 NMR 波谱学发展史上一座重要的里程碑。

如图 4.1 所示,2D NMR 实验的基本脉冲序列,一般可按时间分割为四个阶段:准备期 t_a (preparation)→演化期 t_1 (evolution)→混合期 t_m (mixing)→检测期 t_2 (detection)。

(1)准备期。准备期在时间轴上通常是一个较长的时期,核自旋体系发生弛豫回复到平衡状态,在准备期末将受到一个或多个射频脉冲的激发,以产生所需要的单量子或多量子相干。

(2)演化期。2D NMR 实验的关键是引入了第二个时间变量演化期 t_1 ,即在演化期内用固定的时间增量 Δt_1 进行一系列实验。 t_1 是在二维实验期间递增的时间域,在此期间化学位移和自旋-自旋耦合发生演化。

(3)混合期。在混合期施加一个或几个射频脉冲,产生可观察的横向磁化矢量。

(4)检测期。完全对应于 1D NMR 实验的采样时间,在 2D NMR 中通常记为时间域 t_2 。当样品中的核自旋被激发后,它以确定频率进动,并且这种进动将延续一段时间。从这个意义上讲,可以把核自旋体系看成有记忆能力的体系,Jeener 就是利用这种记忆能力,在检测期通过记录横向磁化矢量,间接检测演化期中核的自旋行为。



图4.1 2D NMR 的四个阶段

(t_1 是变化的延迟时间, t_2 是普通的采样时间。通过傅立叶变换可以得到两个频率维 f_1 和 f_2 。)

2D NMR 与 1D NMR 一样,都是探测核的磁化矢量在磁场中进动时相互间的相干作用。2D NMR 实验的本质是通过横观磁化矢量在检测期的行为间接探测演化期的核自旋行为,这是基于演化期行为对检测期起始状态的幅度调制或相位调制。2D NMR 谱的特点是将化学位移、耦合常数、NMR 参数以独立频率变量的函数 $s(\omega_1, \omega_2)$ 在两个频率轴构成的平面上展开,这样既减少了信号间的重叠,又可表现出自旋核间的相互作用,从而提供比 1D NMR 更多的结构信息。

核磁共振二维谱的基本类型分类:根据发展期和检测期之间是否存在混合期,核磁共振二维谱通常可分为两大类,即无混合期的核磁共振二维谱——二维分解谱(2D resolved spectroscopy)和有混合期的核磁共振二维谱——二维相关谱(2D correlation spectroscopy)。核磁共振二维分解谱实验不需要相干或极化转移过程,所以不必设混合期,这是它与二维相关谱的主要区别。

无混合期的核磁共振二维谱称为二维分解谱。由于无混合期,不存在不同核之间相干或极化等转移。因此,与核磁共振一维谱相比,这种核磁共振二维谱不增加信息量,仅仅把核磁共振一维谱的信号按一定规律在二维空间内展开,使原来重叠的谱线被扩展分离,达到谱图简化的目的,从而获得原来无法或难以得到的耦合常数和化学位移的信息。最常见的二维分解谱有同核二维 J 分解谱和异核二维 J 分解谱。

有混合期的核磁共振二维谱称为二维相关谱。由于混合期的存在,不同核之间发生相干或极化等转移,因此,二维相关谱比一维谱要复杂,信息量也增加。

根据混合期中不同核之间的相干或极化等转移起因不同,二维相关谱主要分为基于耦合的相干转移或极化转移和基于动力学过程的交换转移。在 NMR

中有两种耦合,即标量耦合(scalar coupling, J 耦合或间接耦合)和偶极-偶极耦合(dipolar-dipolar coupling, D 耦合或直接耦合)。 J 耦合是通过原子核间化学键电子传递而发生的耦合, D 耦合是不需要通过介质的传递而发生的耦合。利用上述两种作用,分别发展了相干和极化转移技术。由相干转移得到的相关谱称为二维标量相关谱(2D scalar correlation spectroscopy),如二维化学位移相关谱(2D chemical shift correlation spectroscopy)和二维多量子相关谱(2D multiple quantum correlation spectroscopy);由极化转移得到的相关谱称为二维偶极相关谱(2D dipolar correlation spectroscopy),如二维 NOE 谱(2D nuclear overhauser effect spectroscopy)。另外,由化学交换转移得到的相关谱称为二维化学交换谱(2D exchange spectroscopy)。

核磁共振二维谱的共振峰类型主要分为以下两类:

(1) 对角峰(diagonal peak)。位于对角线上(即 $\omega_1 = \omega_2$) 的共振峰称为对角峰,也称为自峰(auto peak)。意味着磁化强度矢量在发展期和检测期时的进动频率相同,而且在混合期没有发生相干或极化等转移。对角峰在 ω_1 、 ω_2 轴上的投影就是常规的耦合谱或去耦谱。

(2) 交叉峰(cross peak)。不在对角线上(即 $\omega_1 \neq \omega_2$) 的共振峰称为交叉峰,也称为相关峰(correlation peak)。表明磁化强度矢量在发展期的进动频率不等于在检测期的进动频率,也表明在混合期中有相干或极化等转移发生。从峰间的位置关系可以判定哪些峰之间有耦合关系或其他相关关系。

4.2 ^1H - ^1H COSY 谱实验操作

4.2.1 实验目的

- (1) 了解同核位移相关谱 COSY 的原理。
- (2) 掌握 COSY 实验操作方法。
- (3) 掌握 COSY 的谱图解析方法。

4.2.2 实验原理

氢-氢化学位移相关谱(^1H - ^1H Chemical Shift Correlation Spectroscopy, ^1H - ^1H COSY)是应用最广泛和最早的一种核磁共振二维谱,谱中二维坐标都表示质

子化学位移。如图 4.2 所示,磁化矢量从 H_A 转移到 H_B ,再由 H_B 转移到 H_C 的接力,可检测出通过二根键、三根键和四根键连接的质子间的交叉峰。

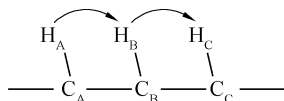


图4.2 氢-氢相关谱(1H - 1H COSY)

氢-氢相关是指同一自旋耦合系统里质子之间的耦合相关,这种方法把复杂的自旋系统中有关自旋耦合的信息用二维谱的形式绘制了出来。因此,若从某一确定的质子着手分析,可依次对其自旋系统中各质子的化学位移进行精确归属,较传统的双照射实验具有更多的优越性。

COSY 对角线上的峰是一维谱峰,对角线以外的峰为交叉峰,交叉峰相对于对角线为轴对称,从一个交叉峰出发分别作垂直线和水平线,与对角线相交,相交处的两峰所对应的核之间有 J 耦合。因此交叉峰将标量耦合的质子相关,其用途为发现或者归属化合物中存在相互耦合关系的 1H 核,从而可以确定分子中各种质子的配置以及连接情况。 1H - 1H COSY 谱图示意图如图 4.3 所示。由图 4.3 可以得到的信息有:交叉峰 E 表示 H_A 与 H_B 存在耦合关系,交叉峰 D 表示 H_B 与 H_C 存在耦合关系,但是 H_A 与 H_C 并不存在耦合关系。

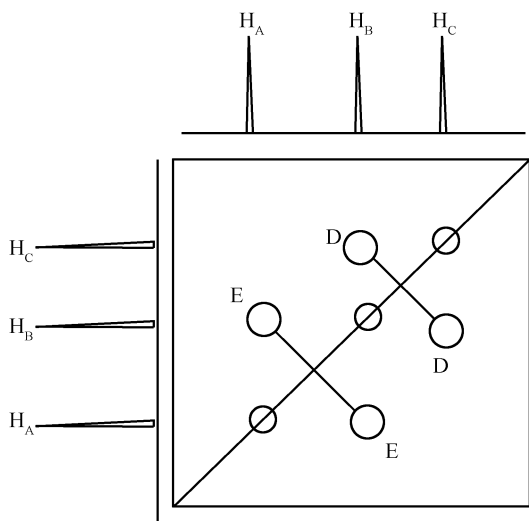


图4.3 1H - 1H COSY 谱图

4.2.3 实验操作

(1)先建立实验1,做一维常规 ^1H 谱。定好谱宽SW、中心频率O1P。

(2)键入“iexpno”。建立实验2。

①键入“rpar”。跳出实验数据库,选择“COSY45SW”实验,点击“copy all”,读入标准脉冲序列。

②键入“getprosol”。读入 ^1H 90° 脉冲值。

③键入“rga”。自动估算接收器增益;点击“AcqwPars”,进入采样参数对话框,输入实验1中的谱宽SW、中心频率O1P值。

④键入“zg”。进行采样。

⑤键入“xfb”。进行傅立叶变换查看采样结果,达到所需的分辨率后,存盘,停止采样。

(3)数据处理。

①点击可调节等高线的域值。

②点击进入谱图投影状态,点击谱图显示区右上角方框,出现下拉菜单,选择“External Projection”,跳出“Data set for F2 projection”对话框,输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验1的数据)作为F2维的投影;点击谱图显示区左下角方框,出现下拉菜单,选择“External Projection”,跳出“Data set for F1 projection”对话框,输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验1的数据)作为F1维的投影。

③键入“sym”。进行谱图对称化处理,从而消除 t_1 噪声的影响。

④点击,显示全谱;将光标放在左上角,按住鼠标左键向右下角拉,方框选定的范围为局部放大区域,一维投影随着二维谱的范围变化而变化。

⑤打印当前谱图。

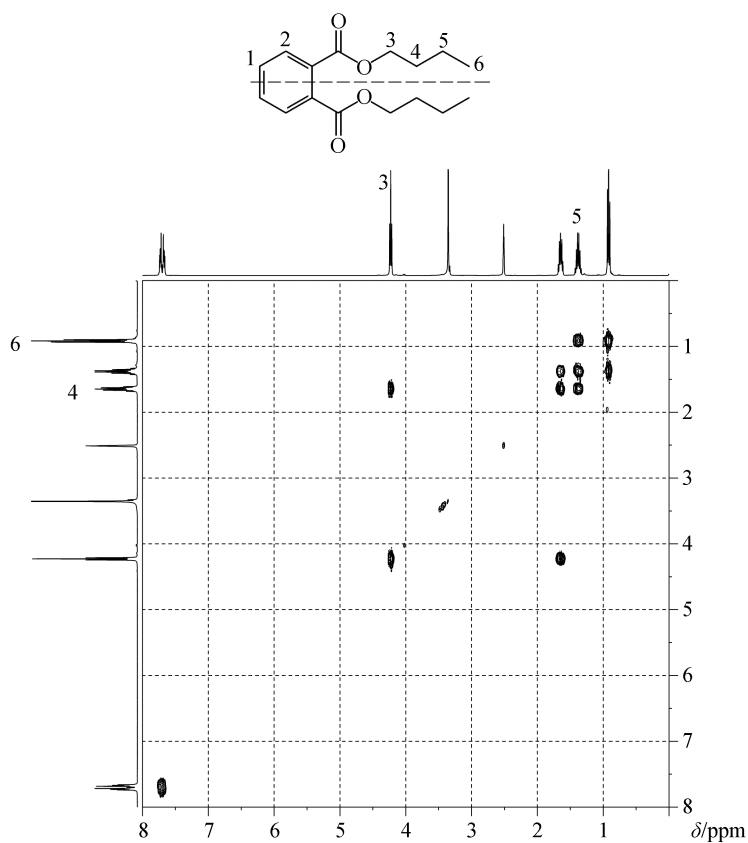
(4)注意事项。

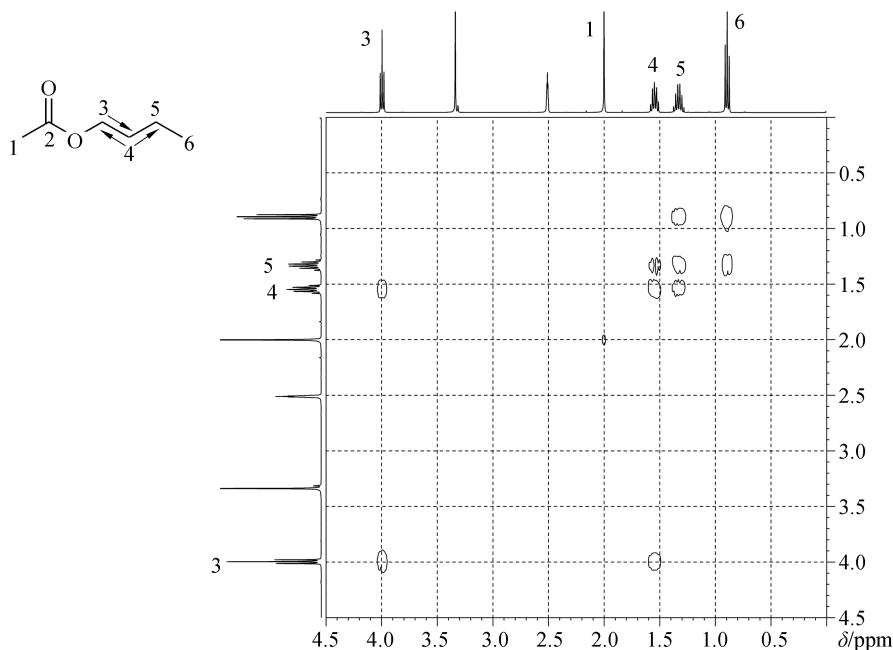
①COSY图中常会见到一些垂直状的条状斑点,可能是由于谱仪的不稳定性等因素造成的。所以需要提前进行对称化处理,以将其消去。

②匀场、调谐对该实验影响较大,因此,该实验需要在恒温条件进行。

4.2.4 谱图示例

图4.4和图4.5为利用400NMR ARX-400型质谱仪对化合物记录得到的 ^1H - ^1H COSY谱图。

图4.4 邻苯二甲酸二丁酯的 ^1H - ^1H COSY 谱图

图4.5 乙酸正丁酯的 ^1H - ^1H COSY 谱图

4.2.5 练习

- (1) 简述 COSY 实验中谱图的复杂性有哪些因素。
- (2) 试分析 ^1H - ^{13}C COSY 和 ^1H - ^1H COSY 原理有何不同。

4.3 ^1H - ^1H TOCSY 谱实验操作

4.3.1 实验目的

- (1) 了解同核位移相关谱 TOCSY 的原理。
- (2) 掌握 TOCSY 的实验操作方法。
- (3) 掌握 TOCSY 的谱图解析方法。

4.3.2 实验原理

总相关谱(Total Correlation Spectroscopy, TOCSY)实验不仅可以用来指认整个自旋系统,还可以用来获得分子中与其他自旋没有耦合的独立片断的特征谱图。例如:多糖中单个糖环的信号,蛋白质中单个氨基酸残基的信号。

TOCSY 谱图外观类似于 COSY 谱,TOCSY 可提供自旋体系中耦合关联的信息,F1 和 F2 轴方向都是质子化学位移,对角峰在 F1 和 F2 坐标上的投影为氢谱,交叉峰为直接耦合的相关峰。与 COSY 谱不同的是,除了对角峰和直接耦合的交叉峰以外,TOCSY 谱还可以给出磁化矢量多次接力所产生的交叉峰。

TOCSY 实验在混合期内,磁化矢量被锁定在 y 轴上,通过同核标量耦合,从一个自旋质子传到相邻的质子,再传到下一个相邻的质子,依此类推,能量的传递是通过自旋锁定来进行的。理论上说,对于整个自旋体系,自旋锁定即混合时间越长,磁化矢量传递越远。通常 20~40 ms 可传递 3~4 个键;50~90 ms 可传递 5~6 个键;100~150 ms 可传递到整个自旋系统。TOCSY 是接力谱的发展,灵敏度高,可以给出多级接力谱的信息,得到二、三、四、五键的相关点。从任一谱峰出发,可以找到多个相关峰,它们与该氢核处于同一自旋体系,如 H_1/H_2 、 H_1/H_3 、 H_1/H_4 等,因而能克服一些 COSY 谱中由于谱峰重叠造成的困难。TOCSY 可以作为 1H - 1H COSY 谱的补充和验证。

如果在氢接力 1H - 1H COSY 谱的脉冲序列中增加接力的级数,耦合相关的传递将逐渐增加。因此,从理论上讲,随着级数不断增加,将显示自旋体系的全部相关峰。但接力级数增加,灵敏度下降很快,检测时间也会变得越来越长,限制了接力级数的增加。TOCSY 谱就是通过特殊的脉冲序列,实现从一个氢核的谱峰出发,可以找到与它处于同一耦合体系的所有氢核的相关峰(图 4.6)。

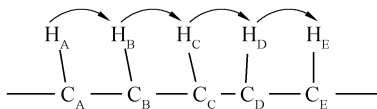


图4.6 1H - 1H TOCSY 谱图

4.3.3 实验操作

(1)先建立实验 1,做一维常规 1H 谱。定好谱宽 SW、中心频率 O1P。

(2)键入“iexpno”。建立实验 2。

①键入“rpar”。跳出实验数据库,选择“COSY45SW”实验,点击“copy all”,

读入标准脉冲序列。

②键入“getprosol”。读入 ^1H 90° 脉冲值。

③键入“rga”。自动估算接收器增益,点击“AcquPars”,进入采样参数对话框,输入实验1中的谱宽SW、中心频率O1P值。

④键入“zg”。进行采样。

⑤键入“xfb”。进行傅立叶变换查看采样结果,达到所需的分辨率后,存盘,停止采样。

(3)数据处理。

①点击可调节等高线的域值。

②点击进入谱图投影状态,点击谱图显示区右上角方框,出现下拉菜单,选择“External Projection”,跳出“Data set for F2 projection”对话框,输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验1的数据)作为F2维的投影;点击谱图显示区左下角方框,出现下拉菜单,选择“External Projection”,跳出“Data set for F1 projection”对话框,输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验1的数据)作为F1维的投影。

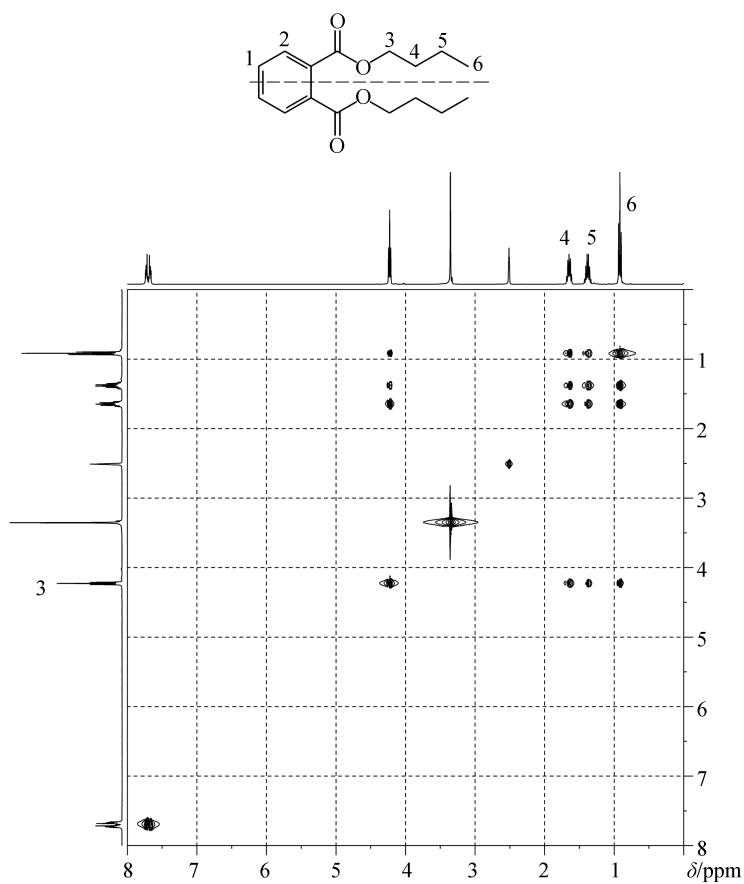
③键入“sym”,进行谱图对称化处理,从而消除 t_1 噪声的影响。

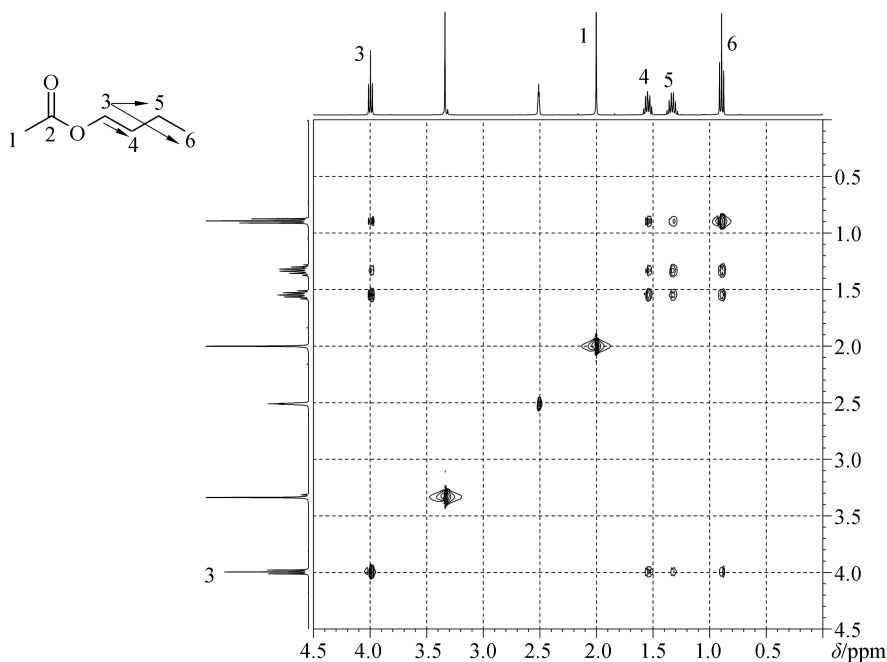
④点击,显示全谱;将光标放在左上角,按住鼠标左键向右下角拉,方框选定的范围为局部放大区域,一维投影随着二维谱范围变化而变化。

⑤打印当前谱图。

4.3.4 谱图示例

图4.7和图4.8为利用400NMR ARX-400型质谱仪对化合物记录得到的化合物的 ^1H - ^1H TOCSY谱图。

图4.7 邻苯二甲酸二丁酯的 ^1H - ^1H TOCSY 谱图

图4.8 乙酸正丁酯的 ^1H - ^1H TOCSY 谱图

4.3.5 练习

- (1) 简述 TCOSY 实验中谱图解析的步骤。
- (2) ^1H - ^{13}C COSY 和 ^1H - ^1H TCOSY 原理有何不同?

4.4 ^1H - ^1H NOESY 谱实验操作

4.4.1 实验目的

- (1) 了解同核位移相关谱 NOESY 的原理。
- (2) 掌握 NOESY 的实验操作方法。
- (3) 掌握 NOESY 的谱图解析方法。

4.4.2 实验原理

NOESY 谱(Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, 核欧沃豪斯效应频谱) 是一种同核相关的二维技术, 是为了在二维谱上观察 NOE 效应而开发出来的一种新技术。主要用于谱峰归属、结构的确定、立体构型及构象研究。

NOESY 谱表示的是质子的 NOE 关系, F1 和 F2 两个轴均为质子的化学位移。其谱图外观与 ^1H - ^1H COSY 谱类似, 差别是交叉峰表示的不是耦合关系, 而是 NOE 关系。对角峰在两轴上的投影均为一维谱, 交叉峰代表质子间有 NOE 作用。NOESY 谱的最大作用是在一张谱图中同时给出了所有质子间的 NOE 信息。NOE 是一种跨越空间的效应, 是磁不等价核偶极矩之间的相互作用, 它与核之间的距离有关, 当质子间的空间距离小于 0.5 nm 时便可以观察到。利用 NOE 可以研究分子内部质子之间的空间关系, 如确定它们的空间距离, 分析和判断化合物的构象。这种方法是研究有机化合物的空间结构和立体化学的有力工具。

^1H - ^1H NOESY 谱中的交叉峰反映的是分子之间两个氢原子的距离小于 0.5 nm, 其强度可以用来估算分子中各个氢原子的间距。一般情况下, 如果化合物之间的两个氢原子空间距离小于 0.5 nm, 与测试的其中一个氢原子相近的另一个氢原子会因为照射此氢原子峰组而引起其峰组面积变化, 即产生了 NOE 效应。而 ^1H - ^1H NOESY 主要用于确定谱峰的归属立体构型以及构象研究, 谱图两轴均显示为氢核的化学位移, 如图 4.9 所示。

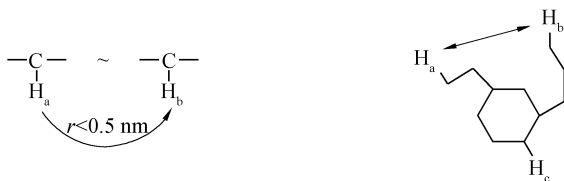


图4.9 化合物的 ^1H - ^1H NOESY 谱图

NOE 效应因为能提供有关质子间距离的重要情报故对解析分子结构、归属十分有用。在测定 NOESY 谱时, 应注意适当设定混合时间以尽量增大 NOE 效应。另外, 由于弛豫时间的关系, 脉冲间隔的等待时间也必须设定得大一些。故与 ^1H - ^1H COSY 谱相比, 测定起来比较困难。可是因为对复杂分子的结构解析

来说,NOE 的观察是必不可缺的,故 NOESY 谱在二维谱中是继 ^1H - ^1H COSY 谱之后广泛应用的一种技术。与其他二维谱相同,在测定 NOESY 谱时,如果试样浓度较低,则有可能出现实际上不应该出现的吸收峰。

NOESY 实验给出 2D 同核化学位移相关谱,从谱图中可以得出质子间的空间相关信息。通常对角峰为正峰,化学交换交叉峰也为正峰。对于大分子来说,其运动较慢,处于自旋扩散 (spin diffusion) 范围,NOE 交叉峰为正峰 (负的 NOE);对于小分子来说,其运动较快,处于极度狭窄范围,NOE 交叉峰为负峰 (正的 NOE)。因此,对于小分子来说,化学交换和 NOE 交叉峰的相位相反,容易区分。

需要注意的是:对于小分子,混合时间通常在 400~500 ms,对于大分子,混合时间通常在 100~200 ms。最佳的混合时间大小接近 T_1 弛豫时间。与此同时,旋转坐标系 NOE 谱 (Rotating-frame Overhauser Spectroscopy, ROESY) 也可以给出分子的 NOE 相关信息。在 ROESY 实验中,通过对磁化矢量进行自旋锁定,使得交叉弛豫在旋转坐标系中进行。因此,横向的 NOE (ROE) 总是正的 (NOESY 实验中没有 NOE 为零的情况),同时化学交换的峰总是与 NOE 信号的相位相反。在 ROESY 实验中,混合时间就等于自旋锁定的时间。在自旋锁定时间内,不同核之间发生自旋的交换。

4.4.3 实验操作

(1) 先建立实验 1,做一维常规 ^1H 谱。

定好谱宽 SW、中心频率 O1P。

(2) 键入“iexpno”。建立实验 2。

①键入“rpar”。跳出实验数据库,选择“NOESY”实验,点击“copy all”,读入标准脉冲序列。

②键入“getprosol”。读入 ^1H 90°脉冲值。

③键入“rga”。自动估算接收器增益,点击“AcquPars”,进入采样参数对话框,输入实验 1 中的谱宽 SW、中心频率 O1P 值。

④键入“zg”。进行采样。

⑤键入“xfb”。进行傅立叶变换查看采样结果,达到所需的分辨率后,存盘,停止采样。

(3) 数据处理。

① 点击  可调节等高线的域值。

② 点击  进入谱图投影状态, 点击谱图显示区右上角方框, 出现下拉菜单, 选择“External Projection”, 跳出“Data set for F2 projection”对话框, 输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验 1 的数据)作为 F2 维的投影; 点击谱图显示区左下角方框, 出现下拉菜单, 选择“External Projection”, 跳出“Data set for F1 projection”对话框, 输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验 1 的数据)作为 F1 维的投影。

③ 点击 , 跳出相位校准模式窗口。

④ 选择 2 个以上的峰来校准相位(通常在左下角、中部、右上角各选一个峰), 选峰步骤如下: 将光标移到要选的峰中心, 按下鼠标右键, 出现菜单, 选择“ADD”; 点击 , 进行水平方向的相位调整, 点击 , 进行竖直方向的相位调整。

⑤ 点击 , 显示全谱; 将光标放在左上角, 按住鼠标左键往下角拉, 方框选定的范围为局部放大区域, 一维投影随着二维谱的范围变化而变化。

⑥ 打印此谱图。

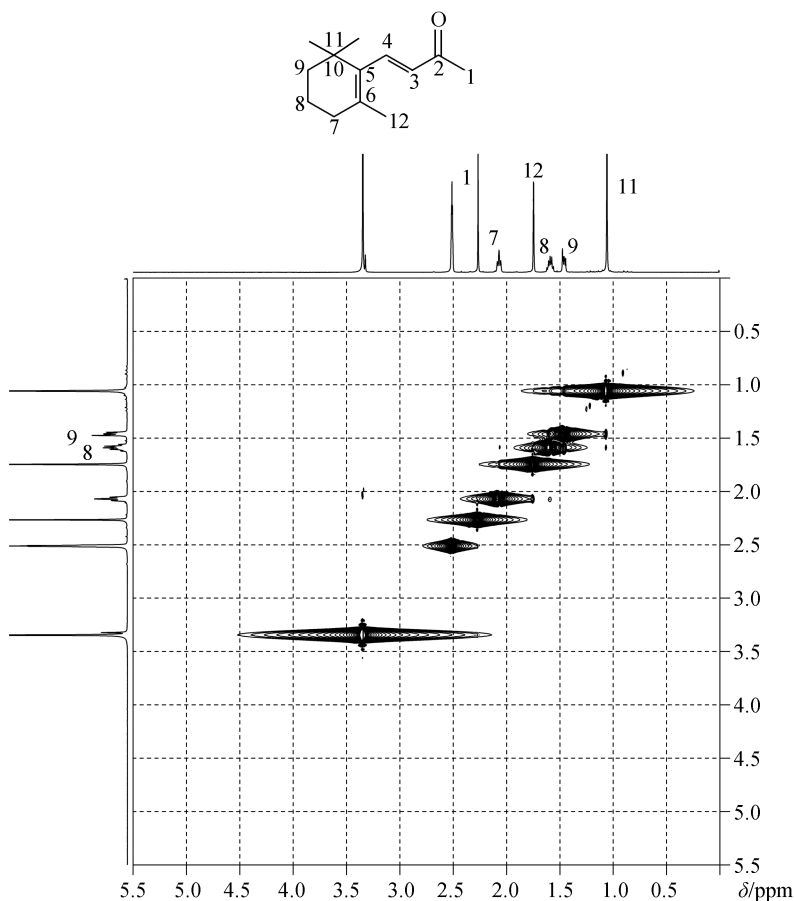
(4) 注意事项。

① 在做 NOESY 的时候, 比较重要的问题是要去除耦合的影响, 以使得 NOESY 的交叉峰尽可能反映出核之间的 NOE 作用。

② NOESY 谱图的外观与 COSY 相似, 其差别仅在于对角线的交叉峰表示的是 NOE 关系而不是耦合关系。

4.4.4 谱图示例

图 4.10 所示为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的 ^1H - ^1H NOESY 谱图。

图4.10 β -紫罗兰酮的 ^1H - ^1H NOESY 谱图

4.4.5 练习

(1) 查阅资料分析 NOESY 与 ROSEY 的区别。

(2) 若样品为柔性分子,在溶液中存在较快的构象互变,NOESY 测定的是一个平均结果,无法得到具体的构象,此时应如何解决?

4.5 ^1H - ^{13}C HMQC/HSQC 谱实验操作

4.5.1 实验目的

- (1) 了解异核位移相关谱 HMQC/HSQC 谱的原理。
- (2) 掌握 HMQC/HSQC 谱的实验操作方法。
- (3) 掌握 HMQC/HSQC 谱的谱图解析方法。

4.5.2 实验原理

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence, 异核多量子相干) 谱为 ^1H 检测的异核多量子相干实验, 显示 ^1H 核和与其直接相连的 ^{13}C 核的相关峰。HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence, 异核单量子相关) 谱为 ^1H 检测的异核单量子相干实验。HSQC 与 HMQC 的谱图相同, 都是显示 ^1H 核和与其直接相连的 ^{13}C 核的相关峰。HSQC 谱的 F1 域的分辨率比 HMQC 谱高; HSQC 谱的不足之处是脉冲序列比 HMQC 谱复杂。同一个化合物的不同谱图, HSQC 谱分辨率比 HMQC 谱高, 因此实际操作中常常选用 HSQC 测试。

HSQC 的特点是仅检测具有 ^1J 耦合 ^{13}C - ^1H 相关。在这类相关实验中, 质子为被观测核 (F2 (横) 轴方向), 而 ^{13}C 核处于间接维 (F1 (纵) 轴方向), 谱图上显示直接相连的 ^{13}C - ^1H 相关峰, 可解决碳氢直接连接的问题。

基本 HSQC 实验在 F2 轴上显示出具有自旋耦合常数 $^1J_{\text{CH}}$ 的双重峰, 此外还显示由 ^1H - ^1H 自旋耦合引起的同核裂分。这些耦合加宽了 F1 轴 (δ_c) 上的信号, 因此非相敏的基础 HMQC 实验 F1 轴 (δ_c) 分辨率差是其较大的缺点。另外, 对键合于 ^{13}C 的质子的信号抑制效果也较差, 会产生相当大的纵贯线, 其中看到的大部分为甲基信号。为选择性地观察 ^{13}C 相连的质子, 目前多采用双线性旋转去耦 (Bilinear Rotation Decoupling, BIRD) 和全方位优化相位交替的矩形脉冲 (Globally Optimized Alternating-phase Rectangular Pulses, GARP) 去耦的相敏 HMQC。该谱图 F2 (δ_{H}) 轴显示单峰, 这些单峰只被同核自旋耦合进一步裂分, 同时将大大减少键合 ^{13}C 的质子的信号纵贯线。

HSQC 谱解析方法是从 ^1H - ^{13}C 的信号峰出发, 沿 F1 维或 F2 维轴线方向画平行线, 即可找到与之相连的 ^{13}C 或 ^1H 峰。

4.5.3 实验操作

(1) 建立实验 1, 做一维常规 ^1H 谱。定好谱宽 SW、中心频率 O1P。

(2) 建立实验 2, 做一维常规 ^{13}C 。

(3) 键入“iexpno”。建立实验 3。

① 键入“rpar”。跳出实验数据库, 选择“HMQCGPGF”或者“HSQCGPGF”实验, 点击“copy all”, 读入标准脉冲序列; 输入指令“edasp”, 在跳出窗口中依次选择“default”“save”。

② 键入“ii”。设置射频通道。

③ 键入“atma”。在跳出的窗口中选择第三项“Automatic tuning/matching of ATM probe”进行探头调协。

④ 键入“getprosol”。读入 ^1H 和 ^{13}C 的 90° 脉冲值。

⑤ 键入“rga”。自动估算接受机增益; 点击“AcquPars”, 进入采样参数对话框, 输入实验 1 中的谱宽 SW、中心频率 O1P 值。

⑥ 键入“zg”。进行采样。

⑦ 键入“xfb”。进行傅立叶变换, 查看采样结果, 达到所需的分辨率后, 存盘, 停止采样。

(4) 数据处理。

① 点击  可调节等高线的域值。

② 点击  进入谱图投影状态, 点击谱图显示区右上角方框, 出现下拉菜单, 选择“External Projection”, 跳出“Data set for F2 projection”对话框, 输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验 1 的数据)作为 F2 维的投影; 点击谱图显示区左下角方框, 出现下拉菜单, 选择“External Projection”, 跳出“Data set for F1 projection”对话框, 输入要投影的一维 ^{13}C 谱实验名(即调入实验 2 的数据)作为 F1 维的投影。

③ 点击 , 跳出相位校准模式窗口。

④ 选择 2 个以上的峰来校准相位(通常在左下角、中部、右上角各选一个峰), 选峰步骤如下: 将光标移到要选的峰中心, 按下鼠标右键, 出现菜单, 选择“ADD”; 点击 , 进行水平方向的相位调整, 点击 , 进行竖直方向的相位调整。

⑤ 点击 , 显示全谱; 将光标放在左上角, 按住鼠标左键向右下角拉, 方框选定的范围为局部放大区域, 一维投影随着二维谱的范围变化而变化。

(5) 打印当前谱图。

4.5.4 谱图示例

图 4.11 和图 4.12 为利用 400NMR ARX-400 型质谱仪对化合物记录得到的化合物的 HMQC/HSQC 谱图。

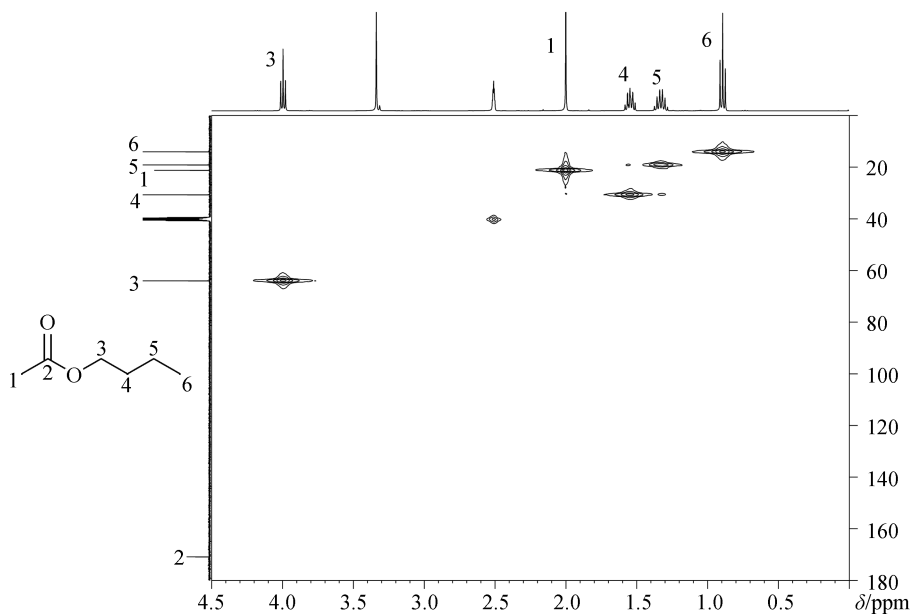


图4.11 乙酸正丁酯的 HMQC 谱图

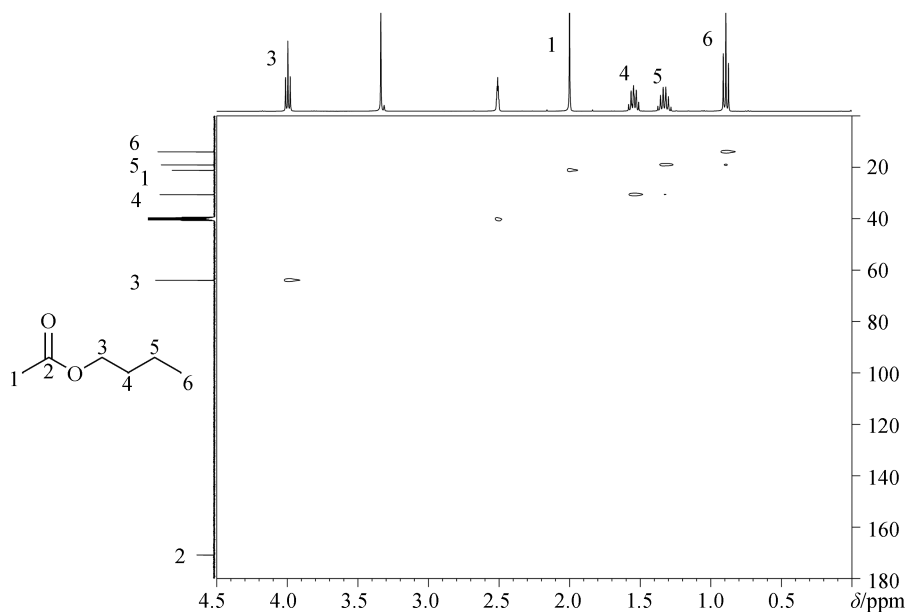


图4.12 乙酸正丁酯的 HSQC 谱图

4.5.5 练习

- (1) HMQC 谱中的相关峰通常有几种,查阅资料分析是哪种情况。
- (2) 查阅资料分析 HMQC 和 HMBC 的区别。

4.6 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC 谱实验操作

4.6.1 实验目的

- (1) 了解异核位移相关谱 HMBC 的原理。
- (2) 掌握 HMBC 谱的实验操作方法。
- (3) 掌握 HMBC 谱的谱图解析方法。

4.6.2 实验原理

HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) 谱为 ^1H 的异核多碳相关谱,其作用是把 ^1H 核和远程耦合的 ^{13}C 核相互关联起来,它的作用相当于长程 ^1H - ^{13}C COSY,通常 2~3 个键的质子与碳的耦合信息较多。采用较小的 $^2J_{\text{CH}}$ 或 $^3J_{\text{CH}}$ 耦合常数进行调节,则可得相隔 2 个或 3 个键的碳氢相关谱(在芳环体系中,可能出现跨越 5 根化学键的 C、H 原子的相关峰)。当未知化合物结构含有季碳或杂原子时,只有 HMBC 能够进行分析,由此可解决绕过季碳或杂原子而进行远程的碳氢关联,如图 4.13 所示。图中 C_2 、 C_3 、 C_4 表示季碳或质子化碳。

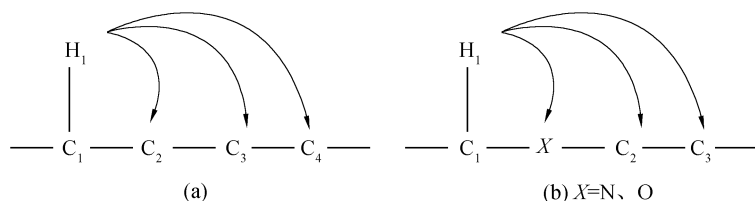


图4.13 HMBC 示意图

4.6.3 实验操作

(1) 建立实验 1, 做一维常规 ^1H 谱, 定好谱宽 SW、中心频率 O1P。

(2) 建立实验 2, 做一维常规 ^{13}C 。

(3) 键入“iexpno”。建立实验 3。

① 键入“rpar”。跳出实验数据库, 选择“HMB CGP”实验, 点击“copy all”, 读入标准脉冲序列; 输入指令“edasp”。在跳出窗口中依次选择“default”“save”。

② 键入“ii”。设置射频通道。

③ 键入“atma”。在跳出的窗口中选择第三项“Automatic tuning/matching of ATM probe”进行探头调协。

④ 键入“getprosol”。读入 ^1H 和 ^{13}C 的 90° 脉冲值。

⑤ 键入“rga”。自动估算接收器增益; 点击“AcquPars”, 进入采样参数对话框, 输入实验 1 中的谱宽 SW、中心频率 O1P 值。

⑥ 键入“zg”。进行采样。

⑦ 键入“xfb”。进行傅立叶变换, 查看采样结果, 达到所需的分辨率后, 存盘, 停止采样。

(4) 数据处理。

① 点击 可调节等高线的域值。

② 点击 进入谱图投影状态, 点击谱图显示区右上角方框, 出现下拉菜单,

选择“External Projection”,跳出“Data set for F2 projection”对话框,输入要投影的一维 ^1H 谱实验名(即调入实验1的数据)作为F2维的投影;点击谱图显示区左下角方框,出现下拉菜单,选择“External Projection”,跳出“Data set for F1 projection”对话框,输入要投影的一维 ^{13}C 谱实验名(即调入实验2的数据)作为F1维的投影。

③点击,显示全谱;将光标放在左上角,按住鼠标左键向右下角拉,方框选定的范围为局部放大区域,一维投影随着二维谱的范围变化而变化。

(5)打印此谱图。

(6)注意事项。

一般情况下,HMBC具有比COSY、HMQC(HSQC)谱高的分辨率,扫描次数等参数根据浓度设定。

4.6.4 谱图示例

图4.14所示为利用400NMR ARX-400型质谱仪对化合物记录得到的化合物的HMBC谱图。

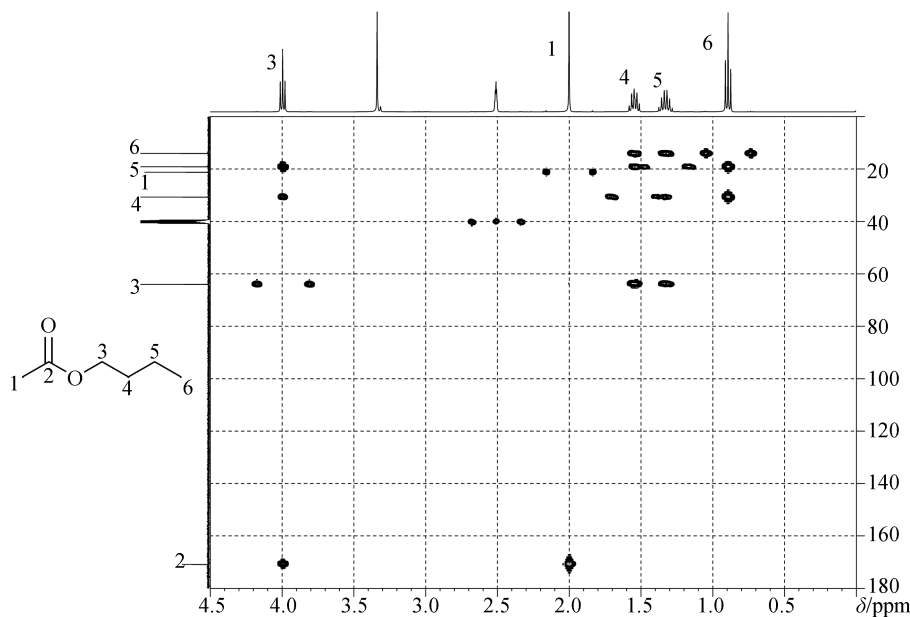


图4.14 HMBC谱图

4.6.5 练习

(1)应用 HMBC 谱可较容易地确定苷分子中糖和糖以及糖和苷元之间的连接位置,简要说明原理。

(2)试分析 HMBC 和 HSQC 的区别。

第 5 章 实验常见问题解答及注意事项

5.1 核磁共振的探头种类

- (1) 正向探头 (BBO、TXO)。X inner / 1H outer。
- (2) 反向探头 (BBI、TXI)。1H inner / X outer。
- (3) 直径为 1~10 mm 的探头兼具正向和反向探头的优点。

5.2 氘代试剂的选择和使用

实验对磁场稳定性的要求可以通过锁场实现,通过不间断(每秒数千次)的测量参照信号(氘信号)并与参考频率进行比较。如果出现偏差,则此差值被反馈到磁体并通过增加或减少辅助线圈(H_0)的电流来进行矫正。

保证实验期间磁场的稳定,需要用氘代试剂进行锁场,可综合以下因素进行选择:

- (1) 溶解度。越大越好。
- (2) 溶剂信号对样品谱的干扰。溶剂信号不能与样品信号重叠。
- (3) 溶剂的熔点和沸点。在实验温度范围内保持液体状态。
- (4) 黏度。越小越好。
- (5) 成本。氘代原子越多,价格越高。

(6) 含水量。溶剂吸湿性。降低含水量的方法有:①用干燥剂进行过滤;②用分子筛储存溶剂;③尽可能选用 0.5 mL 左右的小瓶试样。

5.3 实验操作中的问题

5.3.1 一维谱中没有信号出现

1D 谱中没有信号出现的情况容易发生在对灵敏度很低的核进行观测的时候。对于这种情况可以按如下顺序逐一检查:

(1) 样品中想要观测的核的浓度不够。观测灵敏度很低的核时,会经常发生短时间内看不到信号的情况。

(2) 样品悬在空中没有进入线圈范围。样品没有进入线圈范围就采样,一般是在做不锁场实验(例如很多杂核实验,都是不需要锁场的)时才可能出现这种问题,否则在寻找氙信号时就能发现问题。现代 NMR 仪器更换样品是靠气流托起样品转子,然后转子压着气体缓慢下降,最后落在探头的确定位置。如果气压很大或样品下降时气路堵塞,样品可以悬在空中数分钟不进入探头,这就无法看到信号。

(3) 当前使用的工作窗口所定义的观测核与想要观测的核不相符。有时工作忙乱,错用了工作窗口,例如想要观测 ^1H 核,而工作窗口所定义的核却是 ^{13}C ,这样仪器发射和接收的全是 ^{13}C 频率,自然就不会有 ^1H 信号出现。

(4) 没有调谐。虽然在工作窗口中定义了观测核,但如果探头还保留在其他核的调谐状态,也不能观测到信号。 ^1H 谱的调谐范围很窄,一般不调谐也能有信号。因为没有调谐而看不到信号的情况主要发生在 ^1H 以外的其他核。

(5) 谱宽和中心频率不准确。对于氢谱,更换锁场物质后磁场偏置有较大的变化,因此频率偏置应作相应的变化,否则在定义的谱宽范围内就不会有信号。一般在更换样品之后进行第一次采样时,应将谱宽范围加大至原来的 3~5 倍,信号就必然出现。对于其他核,更换锁场物质后一般不需要重新调整频率偏置,例如 ^{13}C 、 ^{15}N 的实验。但是有的核,如 ^{77}Se 、 ^{195}Pt 等,化学位移范围非常宽,可以高达 1 000 ppm。如果预先不知道信号出现的大致范围,就需要左右搜寻信号,不断地大幅度改变频率偏置。

(6) 脉冲宽度不对。每一脉冲都受到射频场强度的控制,当选用的脉冲宽度正好是常用的 90° 脉宽时,应查实射频场强度是否也为常用的数值。对于 90° 脉冲宽度和弛豫时间都不知道的核,最好采用小角度激发。

(7) 去耦不成功。如果是去耦实验,应检查去耦参数是否正确,因为没去耦的谱质量很差,也能导致短时间内看不到信号。

负的 NOE 效应正好抵消了正常的信号。在 NMR 可观察核中,有许多核自旋的旋磁比的值是负的,因此 NOE 效应也是负的。当 NOE 增强倍数刚好为 1 时,无论累加多长时间也观测不到信号。

5.3.2 一维谱的基线不平

1D 谱基线不平的情况常常出现在谱的信噪比很差时,对所有核都有可能。如果在脉冲结束时立即开始采样,脉冲的不理想成分如脉冲后沿对收到的信号就有干扰。因为相对于自由诱导衰减(FID)信号来说,脉冲后沿的衰减快得多,因此只要接收器接收到脉冲后沿的非常小的一部分,在谱中就会出现个很宽的包。由于谱的相位调整是参照信号进行的,因此出脉冲后沿引起的宽包看上去不像宽信号,而表现为基线的扭曲。为了克服这一现象,在脉冲结束与采样开始之间仪器根据谱宽自动设置了一个称为“死时间”的参数,一般在数微秒与数百微秒之间。设置的原则是使位于谱两端的频率最高的信号在这段时间中的旋进相位不超过 π (若超过 π , 则谱的相位调整就比较困难)。例如谱宽为 4 000 Hz, 谱两端的信号频率为 $\pm 2\,000$ Hz, 那么死时间就是 250 μs 。谱宽越大,死时间越短。死时间越短,脉冲后沿对谱的基线的影响就越大。因此在进行谱宽很大的实验(^{77}Se 、 ^{195}Pt 等)时,应有意识地将死时间值增大,使得衰减很快的脉冲后沿的主要成分不进入 FID。脉冲后沿总是存在,但是当信号很强时,脉冲后沿的影响很小以致在实验中看不出来。而当信号很弱,甚至 FID 的幅度弱于脉冲后沿的幅度时,基线问题就很严重。然而死时间很长时,虽然避免了脉冲后沿的干扰,却损伤了信号的幅度,而且影响了信号的相位。一般可将死时间设在 50 ~ 200 μs 之间。当调整死时间之后仍然解决不了问题时,就只有长时间地进行累加或设法增加样品浓度。一般情况下通过计算机进行基线校正操作即可解决问题。

5.3.3 一维谱 90° 脉冲测不准

对于 ^1H 谱,一般不会有这种情况。但是有两种情况容易造成 90° 脉冲测不准,一种情况是水峰或溶剂峰很强,另一种情况是所观测的信号弛豫时间特别长。

对于高浓度的溶剂峰,可以直接通过溶剂峰测定 90° 脉冲。辐射阻尼效应并不会影响对 90° 脉冲的确定。测定方法仍然是通过观测 180° 脉冲激发的信号,当参考相位已通过小角度激发的信号确定后,信号出现正负强度同样高的时候就说明此时的脉冲宽度对应 180° 。但是应注意,此时的正负强度均为 90° 脉

冲时的 2 倍。如果错误地认为强大的溶剂峰的信号强度仍遵循正弦函数的关系,而实际观察到的信号强度不断增高,当然就无法测准 90° 脉冲。如果受文献的影响不愿意用溶剂峰,担心辐射阻尼的干扰,可以在预饱和压制水峰的条件下测 90° 脉冲。但此时要注意保持有好的参考相位而不要去考虑基线问题,因为在预饱和和照射之后一次性采样,谱的基线受到残余水峰的相位影响很不平。研究表明,用溶剂峰和样品峰测得的 90° 脉冲是一致的。

如果所观测的核的弛豫时间特别长,就会影响测 90° 脉冲的精度。例如测天然丰度 ^{13}C 的 90° 脉冲,一般可以通过溶剂峰(CDCl_3 或 DMSO)进行, CDCl_3 的弛豫时间有 100 s 左右。在很多情况下,用测 360° 脉冲的方法确定 90° 脉冲,有无须做很长弛豫等待的优点。理论上 360° 脉冲给出一个强度为零的信号,但实际上得到的仍然是一个正负强度相等的色散型峰。

5.3.4 二维实验中的问题—— t_1 噪声

二维实验中的 t_1 噪声是一个非常棘手的问题,因为影响的因素太多,目前还没有彻底的解决办法。但是因为 t_1 噪声在每一个二维实验中都存在,而且严重地干扰谱的解析,所以有必要在这里进行一些必要的讨论,以便针对性地解决部分问题。

所谓 t_1 噪声,是在二维谱中出现的沿 F1 维的一列一列的噪声峰,本征信号越强, t_1 噪声峰也越强。因为有些强峰的 t_1 噪声峰比一些弱峰还强,因此在二维谱上需要显示出弱峰时, t_1 噪声峰就必然会出现, t_1 噪声的来源主要可能有如下几种:

(1) 磁场的微小漂移。在 NMR 中虽然实现了场频联锁,但是不可能保证绝对不漂移,磁场漂移所引起的频率变化在 ± 1 Hz 范围内是可能的,也是允许的。在一维谱中,频率移动 1 Hz 不会对谱产生可以觉察到的变化,但在二维谱中就会出现沿 F1 维的多余的峰。这是仪器本身的问题,目前还没有解决的办法。

(2) 核磁化强度宏观退磁场效应。任何二维实验,在采样期间都存在 z 方向的磁化强度,并且随着 t_1 的增长, z 方向磁化强度在不断地变化,即 z 方向磁化强度是时间 t_1 的函数。根据电磁学理论,介质中的磁感应强度 B_0 是真空磁场强度 H_0 与介质磁化强度 M (其中也包括核自旋的磁化强度贡献) 的贡献之和。因为核的旋进频率是旋磁比与 z 方向的磁感应强度 B_0 的乘积。当 B_0 变成时间的函数时,旋进频率也成了时间 t_1 的函数。这样在进行二维傅立叶变换之后,每一核都能在 F1 维上观察到以自身频率的倍频、多频为特征的峰和与其他信号相关的和频、差频峰。这些数不清的信号混杂在一起,即形成了一片噪声。这可能是二

维 t_1 噪声的主要来源。但这是二维实验本身的问题,目前也没有解决的办法。

(3) 辐射阻尼。正如弛豫是 NMR 中的固有物理现象一样,辐射阻尼也是固有的物理现象,只不过在很多情况下辐射阻尼效应不明显而已。辐射阻尼是一种典型的非线性相互作用,在二维实验中容易产生倍频和多频峰。这些信频和多频峰就增加了 t_1 噪声的来源。这是 NMR 固有的实验现象,同样没有适当的方法克服。

(4) 弛豫不完全。几乎所有的二维实验都是在弛豫不完全的情况下进行的,即每一次实验发脉冲之前,磁化强度都处于部分饱和状态或所谓的稳态。在这种情况下进行的二维实验,沿 F1 维不可避免地要出现自身信号的倍频峰。由于在二维实验中不能随意地将 90° 脉冲换成小角度,所以解决这个问题只能延长脉冲序列前的弛豫等待时间。

5.3.5 二维谱中出现反对角线峰

二维谱中出现反对角线峰的情况常见于 NOESY 和双量子滤波 COSY (DQF-COSY) 中,其主要原因有 90° 脉冲不准和相位循环不完全。NOESY 和 DQF-COSY 脉冲序列相同,均由三个 90° 脉冲组成,区别是混合期的时间长短和相位循环不同。NOESY 实验利用的是混合期间的纵向磁化强度分量(纵向极化),DQF-COSY 实验利用的是混合期间的横向磁化强度分量(横向双量子相干)。在正常情况下,两种实验的混合期中都含有纵向分量和横向分量,但在合理的相位循环的作用下,NOESY 峰在 DQF-COSY 谱中得到有效消除,COSY 峰在 NOESY 谱中得到有效消除。但是相位循环是根据 90° 脉冲设计的。如果 90° 脉冲不准,在 NOESY 的混合期,就有过多的横向磁化强度存在,在 DQF-COSY 实验的混合期,就有过多的纵向磁化强度存在。相位循环就不能达到应有的效果,而使得出现不应出现的伪峰,反对角线上的峰就是一种典型的伪峰。所以在做二维实验之前,应该非常小心准确地测 90° 脉冲。

如果 90° 脉冲已经达到很高的精度(如 98%),仍然出现反对角线峰,那么可以肯定是相位循环不完全导致的。如 NOESY 实验和 DQF-COSY 实验的相位循环都是 8 次。如果样品的浓度较高,就想当然地认为只需要累加 4 次就可以了,结果得到的谱反对角线峰甚至高于想要观测的交叉峰。实验者往往难以了解每一个脉冲序列的发展过程、每一实验步骤、每一相位循环的作用。在这种情况下,严格按照仪器提供的脉冲序列进行实验就显得十分重要。当然如果已经有较高的 NMR 水平,对现有的脉冲序列进行改进和修饰或发展新的脉冲序列是完全可以的。

5.4 匀场过程中的注意事项

5.4.1 换上样品后找不到氘信号

换上样品后找不到氘信号的情况一般发生在样品的溶剂发生变化的时候。有许多方面(参数、匀场条件和仪器)的原因可能导致找不到氘信号,但应首先找样品的原因,核实样品是否真的使用了氘代试剂,样品插入转子的位置是否合理,样品是否浮在了空中没有进入探头的线圈范围。

如果使用了氘试剂,应粗略地估算氘的含量。如果刚换上的样品中的氘含量比换下的样品少得多,就应增加锁场的功率和增益。在常见的氘代试剂中,氘代丙酮(CD_3COCD_3)和氘代氯仿(CDCl_3)中的氘信号分别是所有氘代试剂中最强的和最弱的。仪器的设计指标应能很方便地锁上氘代氯仿。实验室应该有用氘代丙酮和氯仿锁场的记录(锁场功率、锁场增益、磁场偏置和锁场相位等),可以将样品中氘的含量与氘代丙酮和氘代氯仿相比较,根据含量估算新的锁场功率和锁场增益。一种粗略的办法是比较氘的质量分数。例如氘代丙酮中氘的质量分数为 $12/64 \times 100\% = 18.8\%$,而氘代氯仿中氘的质量分数为 $2/120 \times 100\% = 1.7\%$ 。虽然重水中氘的质量分数是所有氘代试剂中最高的(20%),但是重水的黏度比氘代丙酮大很多,使重水中氘的信号展宽而锁场灵敏度不如氘代丙酮。如果使用质量分数为 10% 的重水和质量分数为 90% 的普通水作生物样品的溶剂,溶剂中氘的质量分数就下降到 2%,接近氘代氯仿。从总的质量分数考虑,尽管生物分子的浓度低,但分子量大(5 000 以上),所以用于锁场的氘的质量分数比 2% 还要低。加上黏度等因素,10% $\text{D}_2\text{O}/90\% \text{H}_2\text{O}$ 溶剂的锁场效果比氘代氯仿还差,这在调整锁场功率和增益时要适当考虑。只有当锁场功率和增益比较合适时,才能观测到氘信号。有时为了找到氘信号,可以有意识地将锁场功率和增益提高到很大的数值。

如果锁场功率和增益都有了大致合理的数值但仍然看不到氘信号,就要调整磁场偏置。调整磁场偏置时可参考氢谱的化学位移。氘是氢的同位素,氘的化学位移与氢的化学位移有相同的数值。例如在氢谱中,丙酮的化学位移为 1.4 ppm,水为 4.75 ppm,氯仿为 7.24 ppm,在氘谱中仍然保持相同的化学位移值。当然有同位素效应,但是同位素效应一般小于 0.02 ppm,不会影响化学位移的排列顺序。如果刚换上的样品的溶剂为氘代氯仿,而前一个样品为重水,那么就要减小磁场偏置值才能看到氘信号,因为氯仿的峰出现在较低场。如果换上

的溶剂是氘代 DMSO,就要增大磁场偏置值,因为 DMSO 的峰在较高场。如果磁场偏置调反了方向就会南辕北辙。

如果还是找不到氘信号,有可能是刚换上的样品导致了磁场均匀度的严重下降,这种可能性主要在于样品的高度变化太大。如果所有的样品高度都在 4 cm 以上,一般不会引起磁场均匀度的大起大落。但是当样品高度变化很大,适合于一种样品高度的匀场参数就完全不适合于另一种匀场高度的样品。这样刚换上新的样品时,氘信号严重宽化以致“失踪”。

若前面几种可能性都考虑过了,最后的一种可能性就在仪器本身。如果没有明显的可观测到的外部问题,如电路断开等,那么就要求助专门的技术人员,对仪器的硬件软件进行系统查询,以便发现问题及时解决。

5.4.2 锁场电平不稳

如果锁场线呈现出无规则的大起大落,问题大都源于锁场功率太大而导致了锁场信号饱和。在寻找氘信号时,有时要有意识地使用很强的锁场功率,但是一旦锁场,就应立即将锁场功率降下来。在锁场时,用以锁场的射频场一直对准氘信号“照射”。只要功率稍强一些,就很容易造成氘的磁化强度在一定程度上饱和而使锁场不稳。功率究竟要降多少,取决于仪器的性能和经验积累。最麻烦的情况是,在匀场条件很差的时候出现锁场信号饱和,这时降低锁场功率立即导致掉锁。所以设法获得好的匀场可以避免很多麻烦。如果匀场条件很差时出现信号饱和,就应根据样品中的质子信号的 FID 进行脱锁匀场。这时应采用小角度的快速激发,观察 FID 的衰减包络,使衰减越慢越好。待匀场有所改善后,再适当降低锁场功率重新锁场。如果仍然没有效果,就要增加锁场溶剂氘的含量。

有一种情况并不是锁场功率过大造成的,而是因为锁场信号过宽。梯度场实验是必然要出现锁场电平的大起大落的,因为在梯度脉冲作用期间氘信号过宽,扫描器找不到信号。而当溶液中的顺磁物的浓度过大或黏度过大时,也会使得氘信号很宽,生物大分子和一些高分子溶液的黏度一般较大,锁场不稳和掉锁的情况有时会发生。若使用氘代 DMSO,当温度接近其冰点时,锁场线就会不稳。适当地提高温度,对实现稳定的场频联锁是有益的。

在变温实验中,若实验时间较长,有时会发现锁场线比刚采样时下降许多。这很可能是在刚采样时样品中温度并没有达到平衡而产生的结果。实验者往往只注意观察仪器的指示温度,而仪器的指示温度是很快就能达到稳定的。但是样品达到热平衡需要一定的时间。如果指示温度已经稳定,但样品温度并没达

平衡就开始匀场并很快就采样,则在样品向热平衡过渡过程中,锁场线必然发生变化。所以每次改变温度,或换上新的样品进行恒温实验,都需要耐心地等 5~10 min 甚至更长一些的时间,再开始匀场。

在较高温度下进行实验,很容易发现锁场电平突然降低后又缓慢恢复的现象。在使用有机溶剂时这种情况较易发生。这是因为有机溶剂容易挥发,在封闭的样品管中(升温实验通常将样品管封口),挥发的溶剂接触到温度较低的样品管上部,立即冷凝成液体,然后又顺着管壁回流到溶液中,使得溶液的温度和浓度瞬间变得不均匀而影响锁场线。实验者对此应心中有数,以便找出合理的解决办法。

如果锁场电平是有节奏的起伏,这一般属于固有的实验现象。例如当匀场条件很好而样品正在旋转时,就会出现锁场线波浪似的起伏,匀场条件差时反而没有这种波浪。导致波浪起伏的原因是样品的旋转轴与磁场的磁力线之间有一定的夹角。因为样品旋转时,样品的转子被一股纵向气流吹起浮在空中而让另一股横向气流推动进行旋转,所以样品的转动轴是地心引力线,可是磁场的磁力线则取决于磁铁安装时的精度。但是许多安装工程师安装的磁体的磁力线对地心引力的偏差高达 5° 以上。在这种情况下旋转样品,不但造成锁场线的波动,而且使每一个检测到的 NMR 信号产生很强的旋转边带,这是非常不利于实验的。因此在现代化高场仪器上做实验应停止样品的旋转。

还有一种使锁场电平线波动的原因是去耦,在异核二维实验中对 ^{13}C 和 ^{15}N 去耦时这种现象尤其明显。尽管现在广泛采用了组合脉冲技术,但是去耦功率还是比较强(用以去耦的 90° 脉冲约为 $100\ \mu\text{s}$)。在几十毫秒或几百毫秒的采样时间内,去耦门一直开着,去耦功率消散在溶液中引起发热。而在长达 2 s 的弛豫等待时间内去耦门又关上,因此锁场电平线会出现周期性的波动。另一种导致锁场电平波动的原因是射频泄漏。所谓射频泄漏,是指一种核的射频可能影响另外一种核。所有的射频发射都不可能只包含单一纯净的频率,会或多或少地含有别的频率成分。因为仪器发射的射频频率是从频率综合器中通过一系列混频、倍频、和频过程产生的。所以当去耦门开着时,可以看到锁场电平线有波动。当采取有效的滤波措施时,可以看到锁场电平的波动有较大的改善。由去耦引起的锁场线周期性起伏一般不会影响实验结果。

5.4.3 测得的信号表明场并不均匀,但锁场电平却难以提高

测得的信号表明场并不均匀,但锁场电平却难以提高是没有经验的实验人员常遇到的问题。这时需要首先检查锁场相位是否正确。当锁场相位很偏时,

便无法进行有效的匀场。检查相位时,脱锁观察是较为清楚直接的办法,但脱锁观察只能看出大致情况,精细的锁场相位调整还要靠调整锁场相位旋钮。若偏差很大的锁场相位得到矫正,一般能很快地将锁场电平提高并很快地提高场的均匀度。但是如果问题不是出在锁场相位,就要尝试大幅度地调整某一旋钮,有意识地使匀场电平降低,然后再调整其他旋钮。这时会发现匀场状况快速得到了改善。可以用一个比喻来说明这种情况:当许多车辆拼命往前挤时,道路便堵塞上了,谁也无法前进。如果让一些车辆后退,然后再调整行驶顺序,道路便会畅通无阻。容易造成这种“堵塞”现象的原因是 Z2 和 Z4 这两个旋钮的电流数值有问题。不妨先向某一个方向变化 Z2,立即调整 Z1 和 Z3 旋钮。若无效,则向反方向调整,这时就有可能带动全局出现转机。然后对 Z4 也如法炮制,一般可以得到较好的高阶补偿。对于特定探头中的特定样品,达到最佳匀场指标并不是只有一种可能。如同一个复杂的函数,其极大值可能是很多的,但有些极大值相距最大值却很远。匀场上不去的时候就是进入了某一极大点的“死胡同”,因此要先退出这个极大点,然后再寻找其他可能的极大点以便更接近最大值。

附录

附表 1 NMR 中常用的英文缩写、英文名称和中文名称

英文缩写	英文名称及中文名称
COLOC	Correlated Spectroscopy for Long Range Coupling 远程耦合相关谱
COSY	(Homonuclear chemical shift) Correlation Spectroscopy (同核化学位移)相关谱
DECSY	Double-quantum Echo Correlated Spectroscopy 双量子回波相关谱
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer 无畸变极化转移增强
2D FTS	Two Dimensional FT Spectroscopy 二维傅立叶变换谱
DNMR	Dynamic NMR 动态 NMR
FFT	Fast Fourier Transformation 快速傅立叶变换
FID	Free Induction Decay 自由诱导衰减
H,C-COSY	$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ chemical-shift Correlation Spectroscopy $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ 化学位移相关谱
H,X-COSY	$^1\text{H}, X$ -nucleus chemical-shift Correlation Spectroscopy $^1\text{H}, X$ -核化学位移相关谱
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy 异核相关谱

续附表1

英文缩写	英文名称及中文名称
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation 异核多键相关
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence 异核多量子相干
HOESY	Heteronuclear Overhauser Effect Spectroscopy 异核欧沃豪斯效应谱
HOHAHA	Homonuclear Hartmann-Hahn spectroscopy 同核 Hartmann-Hahn 谱
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence 异核单量子相关
NMR	Nuclear Magnetic Resonance 核磁共振
NOE	Nuclear Overhauser Effect 核欧沃豪斯效应
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy 二维 NOE 谱
SNR 或 S/N	Signal-to-noise Ratio 信/噪比
SQF	Single-Quantum Filter 单量子滤波
SR	Saturation-Recovery 饱和恢复
TCF	Time Correlation Function 时间相关函数
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy 总(全)相关谱
T_1	Longitudinal (spin-lattice) relaxation time for Mz 纵向(自旋-晶格)弛豫时间

续附表1

英文缩写	英文名称及中文名称
T_2	Transverse (spin-spin) relaxation time for Mxy 横向(自旋-自旋)弛豫时间
t_m	Mixing time 混合时间
τ_c	Rotational correlation time 旋转相关时间

附表 2 ^1H 核磁共振数据

	质子	峰形	CDCl_3	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	C_6D_6	CD_3CN	CD_3OD	D_2O
溶 剂 残 留 峰			7.26	2.05	2.50	7.16	1.94	3.31	4.79
水		s	1.56	2.84 ^a	3.33 ^a	0.40	2.13	4.87	
乙酸	CH_3	s	2.10	1.96	1.91	1.55	1.96	1.99	2.08
丙酮	CH_3	s	2.17	2.09	2.09	1.55	2.08	2.15	2.22
乙腈	CH_3	s	2.10	2.05	2.07	1.55	1.96	2.03	2.06
苯	CH	s	7.36	7.36	7.37	7.15	7.37	7.33	
叔 丁 醇	CH_3	s	1.28	1.18	1.11	1.05	1.16	1.40	1.24
	OH	s			4.19	1.55	2.18		
叔 丁 基 甲 醚	CCH_3	s	1.19	1.13	1.11	1.07	1.14	1.15	1.21
	OCH_3	s	3.22	3.13	3.08	3.04	3.13	3.20	3.22
2, 6 - 二 叔 丁 基 苯 酚	ArH	s	6.98	6.96	6.87	7.05	6.97	6.92	
	OHc	s	5.01		6.65	4.79	5.20		
	ArCH_3	s	2.27	2.22	2.18	2.24	2.22	2.21	
	ArC $(\text{CH}_3)_3$	s	1.43	1.41	1.36	1.38	1.39	1.40	
氯仿	CH	s	7.26	8.02	8.32	6.15	7.58	7.90	
环 己 烷	CH_2	s	1.43	1.43	1.40	1.40	1.44	1.45	
二 氯 乙 烷	CH_2	s	3.73	3.87	3.90	2.90	3.81	3.78	
二 氯 甲 烷	CH_2	s	5.30	5.63	5.76	4.27	5.44	5.49	
二 乙 醚	CH_3	t, 7	1.21	1.11	1.09	1.11	1.12	1.18	1.17
	CH_2	q, 7	3.48	3.41	3.38	3.26	3.42	3.49	3.56

续附表2

	质子	峰形	CDCl_3	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	C_6D_6	CD_3CN	CD_3OD	D_2O
二 甘 醇 二 甲醚	CH_2	m	3.65	3.56	3.51	3.46	3.53	3.61	3.67
	CH_2	m	3.57	3.47	3.38	3.34	3.45	3.58	3.61
	OCH_3	s	3.39	3.28	3.24	3.11	3.29	3.35	3.37
二 甲 氧 基 乙烷	CH_3	s	3.40	3.28	3.24	3.12	3.28	3.35	3.37
	CH_2	s	3.55	3.46	3.43	3.33	3.45	3.52	3.60
二 甲 基 乙 酰胺	CH_3CO	s	2.09	1.97	1.96	1.60	1.97	2.07	2.08
	NCH_3	s	3.02	3.00	2.94	2.57	2.96	3.31	3.06
	NCH_3	s	2.94	2.83	2.78	2.05	2.83	2.92	2.90
二 甲 基 甲 酰胺	CH	s	8.02	7.96	7.95	7.63	7.92	7.97	7.92
	CH_3	s	2.96	2.94	2.89	2.36	2.89	2.99	3.01
	CH_3	s	2.88	2.78	2.73	1.86	2.77	2.86	2.85
二 甲 亚砷	CH_3	s	2.62	2.52	2.54	1.68	2.50	2.65	2.71
二 氧 己烷	CH_2	s	3.71	3.59	3.57	3.35	3.60	3.66	3.75
乙 醇	CH_3	t,7	1.25	1.12	1.06	0.96	1.12	1.19	1.17
	CH_2	q,7	3.72	3.57	3.44	3.34	3.54	3.60	3.65
	OH	s	1.32	3.39	4.63		2.47		
乙 酸 乙酯	CH_3CO	s	2.05	1.97	1.99	1.65	1.97	2.01	2.07
	CH_2CH_3	q,7	4.12	4.05	4.03	3.89	4.06	4.09	4.14
	CH_2CH_3	t,7	1.26	1.20	1.17	0.92	1.20	1.24	1.24
甲 乙 酮	CH_3CO	s	2.14	2.07	2.07	1.58	2.06	2.12	2.19
	CH_2CH_3	q,7	2.46	2.45	2.43	1.81	2.43	2.50	3.18
	CH_2CH_3	t,7	1.06	0.96	0.91	0.85	0.96	1.01	1.26
乙 烯 乙 二 醇	CH	s	3.76	3.28	3.34	3.41	3.51	3.59	3.65

续附表2

	质子	峰形	CDCl_3	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	C_6D_6	CD_3CN	CD_3OD	D_2O
乙 二 醇	CH_3	m	0.86	0.87	0.92	0.86	0.88		
	CH_2	br s	1.26	1.29	1.36	1.27	1.29		
正 己 烷	CH_3	t	0.88	0.88	0.86	0.89	0.89	0.90	
	CH_2	m	1.26	1.28	1.25	1.24	1.28	1.29	
六 甲 基 磷 酰 二 胺	CH_3	d,9.5	2.65	2.59	2.53	2.40	2.57	2.64	2.61
甲 醇	CH_3	s	3.49	3.31	3.16	3.07	3.28	3.34	3.34
	OH	s	1.09	3.12	4.01		2.16		
硝 基 甲 烷	CH_3	s	4.33	4.43	4.42	2.94	4.31	4.34	4.40
正 戊 烷	CH_3	t,7	0.88	0.88	0.86	0.87	0.89	0.90	
	CH_2	m	1.27	1.27	1.27	1.23	1.29	1.29	
2 - 丙 醇	CH_3	d,6	1.22	1.10	1.04	0.95	1.09	1.50	1.17
	CH	sep,6	4.04	3.90	3.78	3.67	3.87	3.92	4.02
吡 啶	CH(2)	m	8.62	8.58	8.58	8.53	8.57	8.53	8.52
	CH(3)	m	7.29	7.35	7.39	6.66	7.33	7.44	7.45
	CH(4)	m	7.68	7.76	7.79	6.98	7.73	7.85	7.87
硅 脂	CH_3	s	0.07	0.13		0.29	0.08	0.10	
四 氢 呋 喃	CH_2	m	1.85	1.79	1.76	1.40	1.80	1.87	1.88
	CH_2O	m	3.76	3.63	3.60	3.57	3.64	3.71	3.74
甲 苯	CH_3	s	2.36	2.32	2.30	2.11	2.33	2.32	
	CH(o/p)	m	7.17	7.1~7.2	7.18	7.02	7.1~7.3	7.16	
	CH(m)	m	7.25	7.1~7.2	7.25	7.13	7.1~7.3	7.16	
三 乙 胺	CH_3	t,7	1.03	0.96	0.93	0.96	0.96	1.05	0.99
	CH_2	q,7	2.53	2.45	2.43	2.40	2.45	2.58	2.57

注:表中数据引自参考文献[8]。

附表 3 ¹³C 核磁共振数据

	碳	CDCl ₃	(CD ₃) ₂ CO	(CD ₃) ₂ SO	C ₆ D ₆	CD ₃ CN	CD ₃ OD	D ₂ O
溶剂信号		77.16±0.06	29.84±0.01	39.52±0.06	128.06±0.02	1.32±0.02	49.00±0.01	
			206.26±0.13			118.26±0.02		
乙酸	CO	175.99	172.31	171.93	175.82	173.21	175.11	177.21
	CH ₃	20.81	20.51	20.95	20.37	20.73	20.56	21.03
丙酮	CO	207.07	205.87	206.31	204.43	207.43	209.67	215.94
	CH ₃	30.92	30.60	30.56	30.14	30.91	30.67	30.89
乙腈	CN	116.43	117.60	117.91	116.02	118.26	118.06	119.68
	CH ₃	1.89	1.12	1.03	0.20	1.79	0.85	1.47
苯	CH	128.37	129.15	128.30	128.62	129.32	129.34	
叔丁醇	C	69.15	68.13	66.88	68.19	68.74	69.40	70.36
	CH ₃	31.25	30.72	30.38	30.47	30.68	30.91	30.29
叔丁基甲醚	OCH ₃	49.45	49.35	48.70	49.19	49.52	49.66	49.37
	C	72.87	72.81	72.04	72.40	73.17	74.32	75.62
	CCH ₃	26.99	27.24	26.79	27.09	27.28	27.22	26.60
2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	C(1)	151.55	152.51	151.47	152.05	152.42	152.85	
	C(2)	135.87	138.19	139.12	136.08	138.13	139.09	
	CH(3)	125.55	129.05	127.97	128.52	129.61	129.49	
	C(4)	128.27	126.03	124.85	125.83	126.38	126.11	
	CH ₃ Ar	21.20	21.31	20.97	21.40	21.23	21.38	
	CH ₃ C	30.33	31.61	31.25	31.34	31.50	31.15	
	C	34.25	35.00	34.33	34.35	35.05	35.36	
氯仿	CH	77.36	79.19	79.16	77.79	79.17	79.44	
环己烷	CH ₂	26.94	27.51	26.33	27.23	27.63	27.96	
1,2-二氯乙烷	CH ₂	43.50	45.25	45.02	43.59	45.54	45.11	
二氯甲烷	CH ₂	53.52	54.95	54.84	53.46	55.32	54.78	
二乙醚	CH ₃	15.20	15.78	15.12	15.46	15.63	15.46	14.77
	CH ₂	65.91	66.12	62.05	65.94	66.32	66.88	66.42

续附表3

	碳	CDCl_3	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	C_6D_6	CD_3CN	CD_3OD	D_2O
二甘醇二甲醚	CH_3	59.01	58.77	57.98	58.66	58.90	59.06	58.67
	CH_2	70.51	71.03	69.54	70.87	70.99	71.33	70.05
	CH_2	71.90	72.63	71.25	72.35	72.63	72.92	71.63
二甲氧基乙烷	CH_3	59.08	58.45	58.01	58.68	58.89	59.06	58.67
	CH_2	71.84	72.47	17.07	72.21	72.47	72.72	71.49
二甲基乙酰胺	CH_3	21.53	21.51	21.29	21.16	21.76	21.32	21.09
	CO	171.07	170.61	169.54	169.95	171.31	173.32	174.57
	NCH_3	35.28	34.89	37.38	34.67	35.17	35.50	35.03
	NCH_3	38.13	37.92	34.42	37.03	38.26	38.43	38.76
二甲基甲酰胺	CH	162.62	162.79	162.29	162.13	163.31	164.73	165.53
	CH_3	36.50	36.15	35.73	35.25	36.57	36.89	37.54
	CH_3	31.45	31.03	30.73	30.72	31.32	31.61	32.03
二甲亚砜	CH_3	40.76	41.23	40.45	40.03	41.31	40.45	39.39
二氧己烷	CH_2	67.14	67.60	66.36	67.16	67.72	68.11	67.19
乙醇	CH_3	18.41	18.89	18.51	18.72	18.80	18.40	17.47
	CH_2	58.28	57.72	56.07	57.86	57.96	58.26	58.05
乙酸乙酯	CH_3CO	21.04	20.83	20.68	20.56	21.16	20.88	21.15
	CO	171.36	170.96	170.31	170.44	171.68	172.89	175.26
	CH_2	60.49	60.56	59.74	60.21	60.98	61.50	62.32
	CH_3	14.19	14.50	14.40	14.19	14.54	14.49	13.92
甲乙酮	CH_3CO	29.49	29.30	29.26	28.56	29.60	29.39	29.49
	CO	209.56	208.30	208.72	206.55	209.88	212.16	218.43
	CH_2CH_3	36.89	36.75	35.83	36.36	37.09	37.34	37.27
	CH_2CH_3	7.86	8.03	7.61	7.91	8.14	8.09	7.87
乙烯乙二醇	CH_2	63.79	64.26	62.76	64.34	64.22	64.30	63.17
油脂	CH_2	29.76	30.73	29.20	30.21	30.86	31.29	

续附表3

	碳	CDCl ₃	(CD ₃) ₂ CO	(CD ₃) ₂ SO	C ₆ D ₆	CD ₃ CN	CD ₃ OD	D ₂ O
正己烷	CH ₃	14.14	14.34	13.88	14.32	14.43	14.45	
	CH ₂ (2)	22.70	23.28	22.05	23.04	23.40	23.68	
	CH ₂ (3)	31.64	32.30	30.95	31.96	32.36	32.73	
六甲基磷 酰三胺	CH ₃	36.87	37.04	36.42	36.88	37.10	37.00	36.46
甲醇	CH ₃	50.41	49.77	48.59	49.97	49.90	49.86	49.50
硝基甲烷	CH ₃	62.50	63.21	63.28	61.16	63.66	63.08	63.22
正戊烷	CH ₃	14.08	14.29	13.28	14.25	14.37	14.39	
	CH ₂ (2)	22.38	22.98	21.70	22.72	23.08	23.38	
	CH ₂ (3)	34.16	34.83	33.48	34.45	34.89	35.30	
异丙醇	CH ₃	25.14	25.67	25.43	25.18	25.55	25.27	24.38
	CH	64.50	63.85	64.92	64.23	64.30	64.71	64.88
吡啶	CH(2)	149.90	150.67	149.58	150.27	150.76	150.07	149.18
	CH(3)	123.75	124.57	123.84	123.58	127.76	125.53	125.12
	CH(4)	135.96	136.56	136.05	135.28	136.89	138.35	138.27
硅脂	CH ₃	1.04	1.40		1.38		2.10	
四氢呋喃	CH ₂	25.62	26.15	25.14	25.72	26.27	26.48	25.67
	CH ₂ O	67.97	68.07	67.03	67.80	68.33	68.83	68.68
甲苯	CH ₃	21.46	21.46	20.99	21.10	21.50	21.50	
	C(i)	137.89	138.48	137.35	137.91	138.90	138.85	
	CH(o)	129.07	129.76	128.88	129.33	129.94	129.91	
	CH(m)	128.26	129.03	128.18	128.56	129.23	129.20	
	CH(p)	125.33	126.12	125.29	125.68	126.28	126.29	
三乙胺	CH ₃	11.61	12.49	11.74	12.35	12.38	11.09	9.07
	CH ₂	46.25	47.07	45.74	46.77	47.10	46.96	47.19

注：表中数据引自参考文献[8]。

附表 4 NMR 分析中常见原子核的有关物理参数

同位素	天然丰度	自旋	磁旋比 ^a	共振频率 ^b	检测灵敏度
¹ H	0.999 85	1/2	26.752	100	1
¹³ C	0.011 08	1/2	6.728 3	25.144	1.76×10 ⁻⁴
¹⁵ N	0.365	1/2	-2.712	94.08	0.83
¹⁹ F	1	1/2	25.181	94.08	0.83
²⁹ Si	0.047	1/2	-5.318 8	19.865	3.69×10 ⁻⁴
³¹ P	1	1/2	10.841	40.481	0.066 3

注:a.磁旋比的单位是 10⁷ rad/(T·s)；

b.共振频率以¹H 频率为 100 MHz 作为参考。

参考文献

- [1]高汉宾,张振芳.核磁共振原理与实验方法[M].武汉:武汉大学出版社,2008.
- [2]陈洁.有机波谱分析[M].北京:北京理工大学出版社,2008.
- [3]王乃兴.核磁共振谱学在有机化学中的应用[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [4]宁永成.有机化合物结构鉴定及有机波谱学[M].3版.北京:科学出版社,2014.
- [5]杜成堂,庄东青,施波.磁共振磷谱在羟基亚乙基二磷酸合成中的应用[J].波谱学杂志,2015,32(1):345-350.
- [6]段斐,张华,吴越,等.磷谱在磁共振中的应用现状及进展[J].中国CT和MRI杂志,2016,79(05):138-140.
- [7]宁永成.有机波谱学谱图解析[M].北京:科学出版社,2010.
- [8]GOTTLIEB H E,KOTLYAR V,NUDELMAN A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities[J]. The Journal of Organic Chemistry, 1997,62(21):7512-7515.
- [9]殷红楠.全氟聚醚的核磁共振波谱研究[D].苏州:苏州大学,2017.
- [10]邓冬艳,宋红杰,齐悦.核磁共振氟谱法测定氟他胺含量的实验设计[J].实验室研究与探索,2019,38(6):30-32,37.
- [11]朱明华.仪器分析[M].4版.北京:高等教育出版社,2010.
- [12]裴月湖.有机化合物波谱解析[M].4版.北京:中国医药科技出版社,2015.
- [13]JEFFERG H S. Organic structure determination using 2D NMR spectroscopy [M]. San Diego:Academic Press,2012.
- [14]赵天增.核磁共振氢谱[M].北京:北京大学出版社,1983.
- [15]赵天增.核磁共振碳谱[M].郑州:河南科学技术出版社,1993.
- [16]宁永成.有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M].北京:科学出版社,2000.
- [17]姚新生,陈英杰.超导核磁共振波谱分析[M].北京:中国医药科技出版社,1991.

- [18] 杨俊荣,李国强,李志宏,等. 臭阿魏化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2006,(18): 246-248.
- [19] MOHAMED H,EIRAZEK A,OHTA S,et al. Terpenoid coumarins of the genus *ferula*[J]. *Heterocycle*,2003,60(3): 689-716.
- [20] 李文魁,李彤梅,余竞光,等. 用 2D NMR 确定黄酮醇-3-O-L-吡喃鼠李糖(1→2)-L-呋喃阿拉伯糖的双糖结构[J]. 波谱学杂志,1997,14(1): 51-54.
- [21] BAX A,FREEMAN R. Investigation of complex networks of spin-spin coupling by two-dimensional NMR[J]. *J Magn Reson*,1981,44: 542-561.
- [22] 梁志,王映红,李志宏,等. 亚麻根化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(4): 409-411.
- [23] 鞠建华,周亮,杨峻山. 二维核磁共振波谱在阐明一种三萜多糖皂苷结构中的应用[J]. 波谱学杂志,2001,18(4): 329-341.
- [24] 王淘淘,石建功,王敏,等. 一种环烯醚萜甙(8-O-acetyl-shanzhiside methyl-ester)的 2D NMR [J]. 波谱学杂志,1997,14(6): 539-543.
- [25] 高峰,李铤,吴立军,等. 苯并二氢呋喃类木脂素 NMR 谱的研究[J]. 波谱学杂志,1997,14(5): 425-429.
- [26] 裘祖文,裴奉奎. 核磁共振波谱[M]. 北京:科学出版社,1989.
- [27] SHU S H,ZHANG J L,WANG Y H, et al. Two new flavonol glycosides from *bridelia tomentosa*[J]. *Chin. Chem. Lett.*,2006,17(10): 1339-1342.
- [28] CRAIG D A,MARTIN G E. Proton double quantum and relayed proton double quantum coherence two-dimensional NMR mapping of proton-proton connectivity networks in nature products: a model study of strychnine[J]. *J Nat Prod*,1986,49(3): 456-465.
- [29] 藤荣伟,李海舟,王祖德,等. 三个原人参二醇型单糖链配糖体的 NMR 全指定[J]. 波谱学杂志,2000,17(6): 461-468.
- [30] QIN H L,LI Z H. Clerodane-type diterpenoids from *nannoglottis ra-vida*[J]. *Phytochemistry*,2004,65(18): 2533-2537.
- [31] 邱明华,陈剑超. 雪胆素 C 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 化学位移完全归属[J]. 波谱学杂志,2003,20(2): 129-135.
- [32] 藤荣伟,杨庆雄,王祖德,等. 大叶吊兰甙 A 和 B 的 NMR 化学位移全归属[J]. 波谱学杂志,2000,17(5): 375-381.

- [33] 方玉春, 杨喜鸿, 刘为忠, 等. 思替卡韦钠的核磁共振谱分析[J]. 波谱学杂志, 2006, 23(4): 523-527.
- [34] 李文, 沙沂, 朱丹. 新药替尼泊苷的碳氢 NMR 信号全归属[J]. 波谱学杂志, 2009, 26(1): 120-124.
- [35] 张伟, 靳焜, 彭勤纪, 等. 萘酚萘磺酸酯的核磁共振结构鉴定[J]. 波谱学杂志, 2004, 21(4): 419-425.
- [36] 蒋虹, 王强, 刘新友, 等. 一种新的六氢喹啉衍生物的 NMR 研究[J]. 波谱学杂志, 2007, 24(1): 9-15.
- [37] 赖宜天, 张喜全, 李宝林, 等. 4-[(E)-2-(3,4-二甲氧基苯基)乙烯基]苯氧基乙酸乙酯的合成及其 NMR 研究[J]. 波谱学杂志, 2007, 24(2): 231-237.