

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ  
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
Факультет естественных наук  
Кафедра физической химии

ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ НГУ  
ХИМИЧЕСКАЯ ТЕРМОДИНАМИКА И КИНЕТИКА

**А. А. Антонов**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ  
ЗАТОРМОЖЕННОГО ВРАЩЕНИЯ МЕТИЛЬНЫХ  
ГРУПП В N,N-ДИМЕТИЛФОРМАМИДЕ  
МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО ЯМР**

Методическое пособие

Новосибирск  
2015

**ББК Г461.2я73-5**  
**УДК 544(075)**  
**А 724**

Рецензент  
канд. хим. наук В. А. Рогов

Издание подготовлено в рамках реализации *Программы развития государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский государственный университет»* на 2009–2018 годы.

**А 724** Практикум по физической химии НГУ. Химическая термодинамика и кинетика. Определение кинетических параметров заторможенного вращения метильных групп в N,N-диметилформамиде методом динамического ЯМР : метод. пособие / А. А. Антонов ; Новосиб. гос. ун-т. – Новосибирск : РИЦ НГУ, 2015. – 15 с.

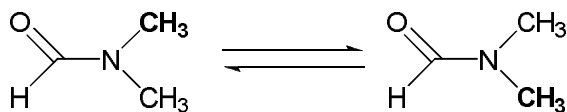
Пособие содержит описание лабораторной работы, выполняемой в практикуме по химической кинетике. Предназначено для студентов 3-го курса факультета естественных наук Новосибирского государственного университета.

**ББК Г461.2я73-5**  
**УДК 544(075)**

© Новосибирский государственный университет, 2015

## 1. Применение спектроскопии ЯМР для исследования динамических процессов

Известно, что молекулы органических соединений могут существовать в виде нескольких конформеров в том случае, если в них происходит изменение относительной ориентации атомов или групп атомов. Наиболее часто в конформационном анализе рассматривается вращение фрагментов молекулы вокруг соединяющей их химической связи. Характерным примером является вращение двух метильных групп вокруг связи C–N в N,N-диметилформамиде (ДМФА):



При комнатной температуре в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР ДМФА наблюдаются два сигнала от неэквивалентных метильных групп (рис. 1).

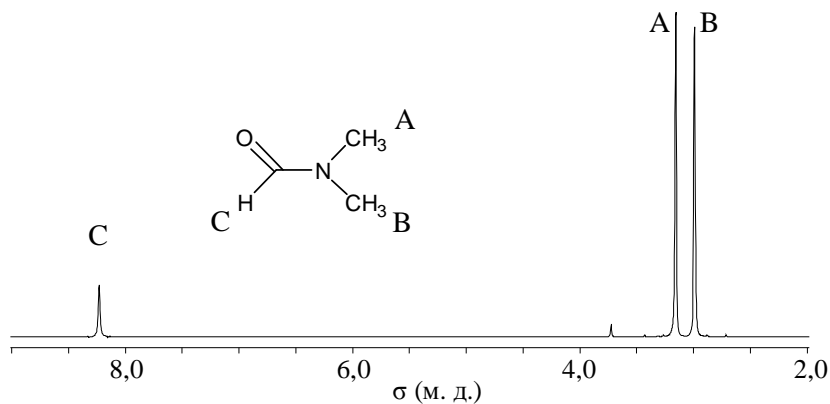


Рис. 1.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр N,N-диметилформамида при комнатной температуре

Наличие двух сигналов связано с тем, что внутримолекулярный обмен положениями между метильными группами А и В происходит с низкой частотой и время пребывания метильных групп в цис- и транс-положениях по отношению к карбонильной группе

достаточно велико в шкале времени ЯМР. Поскольку протоны этих групп находятся в различном химическом окружении, то в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР присутствуют два сигнала с разными значениями химического сдвига.

Из литературы известно, что энергия активации внутреннего вращения в молекуле ДМФА составляет несколько десятков кДж/моль. Тот факт, что вращение вокруг связи C–N заторможено, можно объяснить в рамках теории резонанса, представив молекулу ДМФА в виде двух канонических структур (рис. 2). На рисунке видно, что связь C–N является частично двойной.

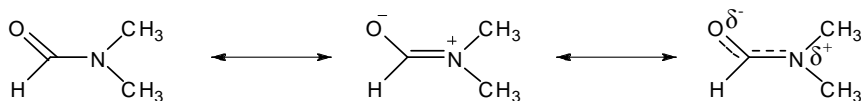


Рис. 2. Резонансные структуры N,N-диметилформамида

При внутреннем вращении вокруг связи C–N метильные группы обмениваются местами, а, следовательно, изменяются их положения (химические сдвиги) в спектре ЯМР. При 20 °С этот обмен происходит очень медленно и в спектре наблюдаются два отдельных узких сигнала от неэквивалентных метильных групп. При увеличении температуры обмен ускоряется, сигналы уширяются, сливаются, и при 150 °С (быстрый обмен) наблюдается только один сигнал удвоенной интенсивности, характерный для двух эквивалентных метильных групп ДМФА.

Варьируя температуру и анализируя наблюдаемые изменения формы и положения сигналов в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР ДМФА, можно определить кинетические параметры заторможенного вращения метильных групп: предэкспоненциальный множитель, энергию активации и др. Подобный метод исследования называется *динамическим ядерным магнитным резонансом* (ДЯМР).

Методом ДЯМР можно изучать и другие химические процессы и превращения:

- конформационные переходы в циклических системах;
- цис-транс-изомеризацию;
- вырожденные и невырожденные внутримолекулярные перегруппировки;

- меж- и внутримолекулярные реакции обмена (протонный обмен, обменные реакции с участием металлоорганических групп);
- перегруппировки координационных полиэдров и лигандный обмен.

Метод ДЯМР весьма эффективен для исследования скоростей тех динамических процессов, константы скорости которых лежат в диапазоне  $10^5$ – $10^{-5}$  с<sup>-1</sup>. Для более быстрых или более медленных процессов в спектрах ЯМР не будет наблюдаться изменение формы линий в зависимости от температуры, поэтому не удастся извлечь никакой информации о константах скорости и механизмах подобных превращений.

## **2. Анализ формы линий в спектрах ЯМР и определение кинетических параметров обменных процессов**

### **2.1. Анализ формы линий**

В случае, когда две группы химически эквивалентных ядер участвуют во внутримолекулярном обмене, вид спектра ЯМР зависит от разности резонансных частот данных двух сигналов  $\Delta\nu = (\nu_A - \nu_B)$  и константы скорости обмена  $k$ . Обычно  $\Delta\nu$  составляет несколько десятков герц. Влияние вращения метильных групп ДМФА на ширину линий и значение резонансных частот в спектре <sup>1</sup>H ЯМР изображено на рис. 3. При низкой температуре обмен происходит медленно ( $k \ll \Delta\nu$ ), поэтому спектр представляет собой два узких синглета с частотами  $\nu_A$  и  $\nu_B$  (рис. 3А). При высокой температуре обмен протекает очень быстро ( $k \gg \Delta\nu$ ) и в спектре ЯМР наблюдается один узкий сигнал удвоенной интенсивности (рис. 3Д). В промежуточном случае спектр представляет собой две обменно-уширенные линии (рис. 3Б).

В отсутствие обмена ширина линии в спектре ЯМР определяется временами спин-спиновой ( $T_2$ ) и спин-решёточной ( $T_1$ ) релаксации. В спектре ЯМР ДМФА имеется дополнительный вклад в ширину линий, обусловленный обменом метильных групп. Оценить вклад обменного процесса в уширение линий можно, воспользовавшись принципом неопределённости Гейзенберга.

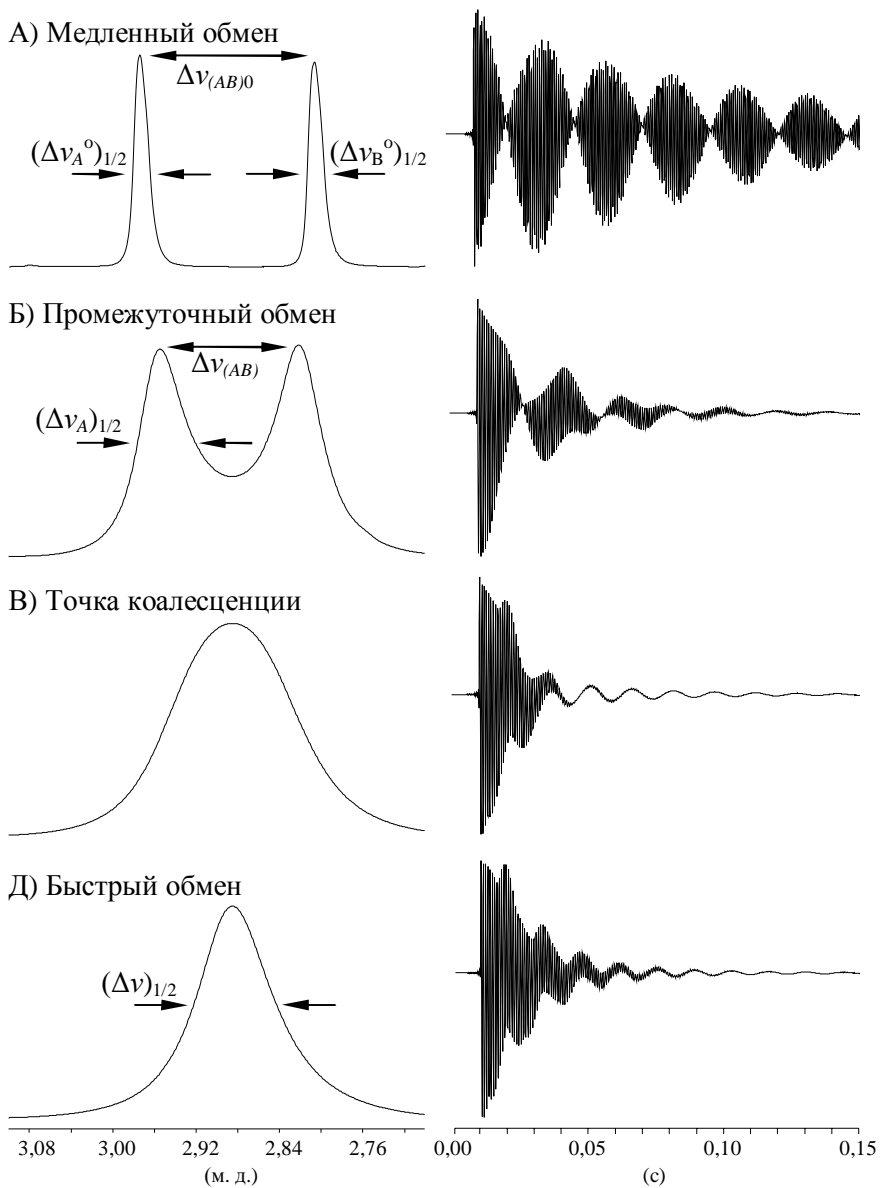


Рис. 3. Влияние обмена химически эквивалентных ядер на форму линий в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР N,N-диметилформамида

Согласно этому принципу, неопределённость энергии  $\Delta E$  некоторого состояния системы и время жизни этого состояния  $\Delta t$  связаны соотношением:

$$\Delta E \cdot \Delta t = \hbar. \quad (1)$$

В соответствии с этим частота, соответствующая резонансу, т. е. положение линии в спектре ЯМР, также характеризуется неопределённостью:

$$\Delta E = h \cdot \Delta \nu. \quad (2)$$

Неопределённость положения линии  $\Delta \nu$  с практической точки зрения означает её уширение при регистрации спектра. Из соотношений (1) и (2) следует, что ширина линии на полувысоте  $\Delta \nu_{1/2}$ , примерно равная  $\Delta \nu$ , обратно пропорциональна времени жизни состояния:

$$\Delta \nu_{1/2} = \frac{\Delta E}{h} = \frac{\hbar}{h \cdot \Delta t} = \frac{1}{2\pi \cdot \Delta t}. \quad (3)$$

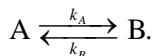
Точная зависимость ширины линии от скорости обмена может быть получена путём решения уравнений Блоха, описывающих поведение макроскопической намагниченности образца в магнитном поле. Так, при обмене химически эквивалентных групп между двумя положениями выражение для формы линии может быть представлено в следующем виде:

$$g(\nu) = \frac{K\tau(\nu_A - \nu_B)^2}{\left(\frac{1}{2}(\nu_A - \nu_B) - \nu\right)^2 + 4\pi^2\tau^2(\nu_A - \nu)^2(\nu_B - \nu)^2}, \quad (4)$$

где  $g(\nu)$  – интенсивность сигнала на частоте  $\nu$ ,  $K$  – нормировочная константа,  $\nu_A$  и  $\nu_B$  – положение линий в спектре ЯМР,  $k$  – константа скорости обмена,  $\tau = k^{-1}$ . Следует отметить, что уравнение (4) применимо в случае, когда уширение линий происходит только за счёт обмена между двумя группами атомов и не вызвано другими причинами. Параметры  $\tau$ ,  $\nu_A$ ,  $\nu_B$  зависят от температуры и могут быть определены путём аппроксимации экспериментальных данных функцией  $g(\nu)$ . Это один из возможных способов нахождения константы скорости обмена.

## 2.2. Методы оценки константы скорости заторможенного вращения

Заторможенное вращение метильных групп в ДМФА может быть представлено как обратимая химическая реакция



Очевидно, что в данном случае константы скорости прямой и обратной реакции одинаковы:  $k_A = k_B = k$ .

Для определения значений константы скорости при разных температурах можно использовать приближённые методы. Они хотя и дают менее точные результаты, чем аппроксимация экспериментальных данных уравнением (4), однако позволяют провести быструю оценку кинетических параметров.

**Медленный обмен:** в условиях медленного обмена, когда  $\tau \ll (v_A - v_B)^{-1}$ , уравнение (4) при описании контура одной из линий А или В можно привести к виду:

$$g(\nu) = \frac{KT_{2A}^*}{1 + 4\pi^2(T_{2A}^*)^2(\nu_A - \nu)^2}, \quad (5)$$

где  $T_{2A}^*$  – время спин-спиновой релаксации. Ширина линии А при медленном обмене  $(\Delta\nu_A^0)_{1/2}$  не зависит от скорости обмена:

$$(\Delta\nu_A^0)_{1/2} = \frac{1}{T_{2A}^*}. \quad (6)$$

**Промежуточный обмен:** в условиях промежуточного обмена ширина линии  $\Delta\nu_A$ , отвечающей состоянию А, увеличивается при уменьшении времени жизни этого состояния  $\tau$ .

$$(\Delta\nu_A)_{1/2} = \frac{1}{T_{2A}^*} + \frac{1}{\pi \cdot \tau}. \quad (7)$$

Из уравнений (6) и (7) можно получить выражение для константы скорости  $k$ :

$$k = 1/\tau = \pi[(\Delta\nu_A)_{1/2} - (\Delta\nu_A^0)_{1/2}]. \quad (8)$$

При промежуточном обмене константу скорости также можно определить, зная разницу резонансных частот двух линий в спектре



ЯМР (уравнение (9)). Данный способ применим в достаточно узком диапазоне температур: от момента, когда сигналы в спектре начинают перекрываться, до их слияния (коалесценции).

$$k = \frac{\pi}{\sqrt{2}} \left( \Delta v_{(AB)0}^2 - \Delta v_{(AB)}^2 \right)^{1/2}. \quad (9)$$

Здесь  $\Delta v_{(AB)0} = (v_A - v_B)$  – разность резонансных частот сигналов в условиях отсутствия обмена или медленного обмена при низкой температуре,  $\Delta v_{(AB)} = (v_A - v_B)$  – разность резонансных частот сигналов в условиях промежуточного обмена при повышенной температуре.

**Точка коалесценции:** при повышении температуры в какой-то момент два сигнала сливаются в один обменно-уширенный пик – достигается точка коалесценции. В этой точке константу скорости обмена можно оценить по формуле:

$$k = \frac{\pi}{\sqrt{2}} \Delta v_{(AB)0}. \quad (10)$$

**Быстрый обмен:** при температуре выше температуры коалесценции в спектре ЯМР наблюдается один сигнал удвоенной интенсивности. Поскольку в условиях быстрого обмена  $\tau \ll (v_A - v_B)^{-1}$ , то уравнение (4) принимает следующий вид:

$$g(\nu) = \frac{KT_2^*}{1 + 4\pi^2 (T_2^*)^2 (v_A + v_B - 2\nu)^2}. \quad (11)$$

Введено обозначение:  $\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{2} \left( \frac{1}{T_{2A}^*} + \frac{1}{T_{2B}^*} \right)$ .

Константу скорости в условиях быстрого обмена можно оценить, измерив ширину линии (см. рис. 3):

$$k = \frac{\pi \cdot \Delta v_{(AB)0}^2}{2} \frac{1}{[(\Delta v)_{1/2} - (\Delta v_A^0)_{1/2}]}. \quad (12)$$

Следует ещё раз отметить, что уравнения (5)–(12) получены с учётом большого количества приближений и могут быть использованы только для оценки значения константы скорости обмена между двумя положениями с равной заселённостью.

### 2.3. Зависимость константы скорости от температуры

Зависимость константы скорости вращения метильных групп ДМФА от температуры может быть использована для нахождения энергии активации данного процесса. Для обработки экспериментальных данных удобно использовать уравнение Аррениуса в логарифмической форме:

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/RT. \quad (13)$$

Для определения энтальпии, энтропии и энергии Гиббса активации необходимо воспользоваться следующим уравнением:

$$k = \frac{k_b T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta_r G^\ddagger}{RT}\right). \quad (14)$$

Уравнение (14) справедливо для реакций первого порядка, его вывод даётся в курсе лекций по химической кинетике при рассмотрении термодинамической формулировки теории активированного комплекса.

Поскольку  $\Delta_r G^\ddagger = \Delta_r H^\ddagger - T\Delta_r S^\ddagger$ , то, подставив  $\Delta_r G^\ddagger$  в уравнение (14) и прологарифмировав левую и правую части выражения, получим:

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = -\frac{\Delta_r H^\ddagger}{R}\left(\frac{1}{T}\right) + \frac{\Delta_r S^\ddagger}{R} + \ln\left(\frac{k_b}{h}\right). \quad (15)$$

Построив график зависимости  $\ln(k/T)$  от  $1000/T$ , можно определить энтальпию активации из тангенса угла наклона, а энтропию активации – из отсечения по оси Y.

### 3. Работа Я-6. Определение кинетических параметров заторможенного вращения метильных групп в N,N-диметилформамиде методом динамического ЯМР

Амиды являются простейшими модельными соединениями, содержащими пептидную связь. Изучение конформационной динамики пептидных связей, в свою очередь, является неотъемлемой частью определения структуры белковых молекул. Важность информации о структуре белков сложно переоценить, поскольку именно белки выполняют в живой клетке основные функции: катализ, регуляцию биохимических реакций, защиту от чужерод-

ных белков, транспорт молекул через клеточные мембраны, «чтение/запись» генетической информации и др.

Наиболее часто используемыми методами для установления строения полипептидов являются рентгеноструктурный анализ и спектроскопия ядерного магнитного резонанса. В данной работе при помощи спектроскопии  $^1\text{H}$  ЯМР изучается конформационная динамика наиболее простой модельной системы – заторможенное вращение метильных групп в N,N-диметилформамиде.

*Цель работы:* определение констант скорости, энергии активации, а также энтальпии, энтропии и энергии Гиббса активации заторможенного вращения метильных групп в N,N-диметилформамиде.

*Для выполнения работы необходимы:*

- спектрометр Bruker DPX-250 NMR;
- автоматические регулируемые микропипетки на 20–200 и 100–1000 мкл;
- стеклянная ампула (5 мм);
- N,N-диметилформамид;
- гексаметилдисилоксан (ГМДС).

### **Порядок выполнения работы**

1. Поместить в чистую, сухую ампулу 0,5 мл N,N-диметилформамида. Образец дегазировать, ампулу плотно закрыть пробкой.

2. Записать спектр ЯМР диметилформамида при комнатной температуре, отнести линии в спектре.

3. Увеличить температуру в датчике до 90 °С, записать спектры  $^1\text{H}$  ЯМР диметилформамида в диапазоне 90–150 °С, увеличивая температуру с шагом в 5–10 °С (температура кипения диметилформамида равна 153 °С).

4. Определить резонансные частоты сигналов метильных групп и ширину линий во всех спектрах, данные занести в таблицу:

| $T, ^\circ\text{C}$ | $\nu_A$ | $\nu_B$ | $\nu_A - \nu_B$ | $(\Delta \nu_A)_{1/2}$ | $(\Delta \nu_B)_{1/2}$ |
|---------------------|---------|---------|-----------------|------------------------|------------------------|
|                     |         |         |                 |                        |                        |

## Обработка экспериментальных данных

При определении констант скорости будем считать, что при температуре 20 °С метильные группы ДМФА практически не участвуют в обмене. Результаты эксперимента необходимо разделить на три группы, соответствующие условиям промежуточного обмена, точки коалесценции и быстрого обмена. Вычислить константы скорости  $k$  можно, воспользовавшись уравнениями (8), (9), (10) либо аппроксимировав сигналы метильных групп в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР уравнением (4). Особенности определения ширины линий в условиях промежуточного обмена рассмотрены в Приложении 1.

Построить график в координатах  $\ln(k) - (1000/T)$ , согласно уравнению (13), аппроксимировать полученную зависимость прямой, определить энергию активации  $E_a$  и предэкспоненциальный множитель  $k_0$ .

Построить график в координатах  $\ln(k/T) - (1000/T)$ , согласно уравнению (15), аппроксимировать полученную зависимость прямой, определить  $\Delta_r G^\ddagger$ ,  $\Delta_r H^\ddagger$  и  $\Delta_r S^\ddagger$ .

### Отчёт о работе должен содержать:

- таблицу с первичными данными (температура, ширина линий, разность резонансных частот сигналов метильных групп). Необходимо указать способ определения ширины линий в условиях промежуточного обмена, когда сигналы накладываются друг на друга;
- процесс и результаты обработки экспериментальных данных с указанием погрешности измерений: значения констант скорости  $k$ , уравнение, которое использовалось для определения константы скорости в каждом конкретном случае (при изменении температуры);
- графики в координатах  $\ln(k) - (1000/T)$  и  $\ln(k/T) - (1000/T)$ ;
- кинетические параметры:  $E_a$ ,  $k_0$ ,  $\Delta_r G^\ddagger$ ,  $\Delta_r H^\ddagger$ ,  $\Delta_r S^\ddagger$  (с указанием погрешности измерения), сравнение с литературными данными.

## Приложение 1

### Измерение ширины линии в условиях промежуточного обмена

Для определения ширины линий в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР при значительном наложении двух сигналов необходимо выполнить следующие действия:

- 1) Обработать спектр  $^1\text{H}$  ЯМР в программе XWinNMR, как указано в [6].
- 2) Сохранить полученный файл в формате JCAMP-DX. Для этого в меню программы перейти в раздел «File» – «Conversion» – «to jcampdx». В открывшемся окне указать необходимый для импорта тип данных «Real», ввести путь к папке, в которую необходимо сохранить данные.
- 3) В программе Origin 8 перейти в меню «File» – «Import» – «JCAMP-DX», выбрать сохранённый ранее спектр (файл с расширением .dx).
- 4) Построить выбранный спектр: выделить 2 столбца с данными, нажать правую кнопку мыши, выбрать «Plot» – «Line». Изменить шкалу оси X таким образом, чтобы на графике отображались только сигналы метильных групп ДМФА.
- 5) Перейти в меню «Analysis» – «Peaks and Baseline» – «Fit Multiple Peaks». В меню «Peak Type» указать «Lorentzian», «Number of Peaks» установить равным 2. Далее следовать подсказкам в программе.
- 6) Перейти во вкладку «Multiple Peaks Fit Report», которая появилась в рабочем окне, в таблице «Peaks» – «Width» найти ширину линий в спектре, аппроксимированных функцией Лоренца.

## Контрольные вопросы

1. Понятие о ядерном магнитном резонансе.
2. Времена спин-решёточной и спин-спиновой релаксации.
3. Чем определяется ширина линии в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР?
4. Почему для записи спектров ЯМР высокого разрешения необходимо удалять кислород из исследуемого раствора?
5. Динамический ЯМР: основы метода и его возможности.

## Библиографический список

1. *Gasparro F. P., Kolodny N. H.* NMR determination of the rotational barrier in N,N-dimethylacetamide. A physical chemistry experiment // *Journal of Chemical Education*. 1977. № 54. P. 258–261.
2. *Dimitrov V. S., Ladd J. A.* Dynamic NMR – comparison of the experimental barriers to internal-rotation in N,N-dimethylformamide with those calculated by the ab initio SCF MO method // *Journal of Molecular Structure*. 1987. № 159. P. 107–112.
3. *Cheng H. N., Gutowsky H. S.* The Use of Shift Reagents in Nuclear Magnetic Resonance Studies of Chemical Exchange // *Journal of American Chemical Society*. 1972. № 94. P. 5505–5507.
4. *Macomber R. S.* A complete introduction to modern NMR spectroscopy. N. Y.: John Wiley & Sons Inc., 1998.
5. Практикум по физической химии НГУ. Химическая термодинамика и кинетика: учебно-методическое пособие / В. А. Рогов, Е. С. Рудаков, С. С. Арзуманов и др. Новосибирск: НГУ, 2013. Ч. 2. Химическая кинетика.
6. Компьютерная обработка данных эксперимента ЯМР: учебно-методическое пособие / А. В. Головин, И. В. Ельцов. Новосибирск: НГУ, 2008.

Учебное издание

Антонов Артем Артемович

ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ НГУ  
ХИМИЧЕСКАЯ ТЕРМОДИНАМИКА И КИНЕТИКА

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ  
ЗАТОРМОЖЕННОГО ВРАЩЕНИЯ МЕТИЛЬНЫХ  
ГРУПП В N,N-ДИМЕТИЛФОРМАМИДЕ  
МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО ЯМР**

Методическое пособие

Редактор *А. В. Грасмик*  
Оригинал-макет *Н. В. Ложкиной*

Подписано в печать 10.06.2015 г.

Формат 60x84 1/16

Уч.-изд. л. 0,95. Усл. печ. л. 0,9.

Редакционно-издательский центр НГУ.  
630090, Новосибирск-90, ул. Пирогова, 2.