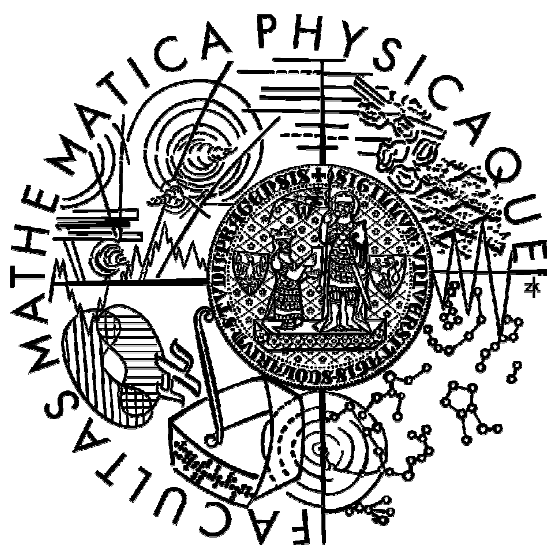


Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE



Lenka Minářová

Experimentální studium vodíkových vazeb

Katedra fyziky nízkých teplot

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jan Lang, Ph.D.

Studijní obor: Biofyzika a chemická fyzika

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji RNDr. Janu Langovi, Ph.D. za trpělivé vedení, Mgr. Kateřině Vágnerové za cenné rady, Doc. Ing. Pavlu Lhotákovi za přípravu a poskytnutí vzorku a Mgr. Jiřímu Czernekovi, Ph.D. za poskytnutí výsledků výpočtů ab initio.

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce.

V Praze dne 10. srpna 2007

Lenka Minářová

ABSTRAKT

Název: Experimentální studium vodíkových vazeb
Autorka: Lenka Minářová
Katedra: Katedra fyziky nízkých teplot
Vedoucí práce: RNDr. Jan Lang, Ph.D.
E-mail vedoucího: jan.lang@mff.cuni.cz
Abstrakt: Kalix[4]areny jsou skupinou látek často využívaných v supra-molekulární chemii. Na dolním okraji mohou nést pole až čtyř vodíkových vazeb. Díky predefinované geometrii mohou posloužit jako model pro studium kooperativity různě dlouhých polí vodíkových vazeb. V této práci studovaný 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]aren nese na dolním okraji kavity řetězec dvou vodíkových vazeb. Jeho dynamické chování v nepolárním rozpouštědle a zejména rychlost překlápění pole vodíkových vazeb byly prozkoumány pomocí metod NMR spektroskopie s využitím teplotně závislých měření jaderné spinové relaxace uhlíku ^{13}C . Byl stanoven korelační čas rotačního pohybu molekuly a jeho teplotní závislost s arrheniovským tvarem a parametry vnitřních pohybů molekuly. Byla odhadnuta rychlost a stanovena aktivační enthalpie změny směru pole vodíkových vazeb.

Klíčová slova: Kalix[4]areny, vodíková vazba, dynamika, jaderná spinová relaxace, spektroskopie NMR vysokého rozlišení

Title: Experimental Study on Hydrogen Bonds
Author: Lenka Minářová
Department: Department of Low-Temperature Physics
Supervisor: RNDr. Jan Lang, Ph.D.
Supervisor's e-mail address: jan.lang@mff.cuni.cz
Abstract: Calix[4]arenes are compounds often used in supramolecular chemistry. They may carry an array of up to four hydrogen bonds on the lower rim. Thanks to predefined geometry, they can serve as a model for studying hydrogen bonds cooperativity in arrays of various lengths. 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butyl-calix[4]arene, which is studied in this work, carries an array of two hydrogen bonds on the lower rim. Its dynamic behaviour in a non-polar solvent was examined by high-resolution NMR spectroscopy methods, particularly using temperature-dependent measurement of carbon ^{13}C nuclear spin relaxation. The correlation time of molecular tumbling, found to follow the Arrhenius temperature dependence, and the parameters of internal molecular movements were determined. The flip-flop motion's rate was estimated, and its activation enthalpy was determined.

Keywords: Calix[4]arenes, hydrogen bond, dynamics, nuclear spin relaxation, high-resolution NMR spectroscopy

OBSAH

Úvod	5
Teoretická část	
1. Kalixareny	6
2. Jaderná magnetická resonance	11
3. Relaxace - fenomenologické zavedení	14
4. Relaxační mechanismy	16
5. Chemická výměna	21
6. Měření spinových relaxací	23
Experimentální část	
7. Nastavení měření	26
8. Jednodimensionální spektra	28
9. Výsledky relaxačních měření	32
10. Zpracování experimentů	42
11. Vyhodnocení chemických výměn	52
12. Srovnání	54
Závěr	57
Literatura	58

ÚVOD

Kalix[n]areny jsou cyklické fenolické oligomery. Patří k základním strukturním jednotkám v supramolekulární chemii. Substitucemi základního skeletu mohou vytvářet různé deriváty s přesně definovanou prostorovou strukturou, které mají vynikající komplexační vlastnosti. Kalix[n]areny se proto využívají k přípravě sensorů, receptorů, modelů enzymů apod.

25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]aren je odvozen od kalix[4]arenu substitucí čtyř tert-butylů na horním a dvou propylů umístěných proximálně na spodním okraji. Ze čtyř základních konformací kalix[4]arenů zaujímá jen kónickou. Na spodním okraji je stabilisován řetězcem dvou vodíkových vazeb. Sterické nároky propylových skupin znemožňují změnu konformace v důsledku jejich otočení.

Tato práce navazuje na měření dynamiky chování kruhového pole kooperativních vodíkových vazeb na spodním okraji kalix[4]arenu a thiakalix[4]arenu, které obsahují čtyři vodíkové vazby. Kratší lineární pole by se mělo překlápět rychleji. Cílem práce je stanovit aktivační termodynamické parametry tohoto procesu v dipropylovaném kalix[4]arenu a porovnat je s hodnotami pro základní kalix[4]aren. Uvedená pole vodíkových vazeb obsahují stabilizující prvek kooperativity, který by mohl být charakterizován, pokud porovnáme aktivační parametry překlápění u molekul s velmi blízkou geometrií a různým počtem zřetězených vodíkových vazeb.

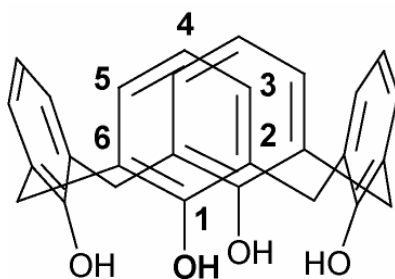
Základní metodikou je jaderná magnetická resonance. Je známo, že jaderná spinová relaxace je ovlivněna molekulární rotační difusí v piko- až nanosekundové časové škále. Vedle toho měření příčné relaxace metodou spinového echa umožňuje charakterisaci konformačních přechodů v časové škále 100 μ s – 100 ms. Takový proces totiž často není charakterisovatelný přímo ze základního spektra NMR. Tato metodika byla již dříve použita při studiu vodíkových vazeb v kalix[4]arenu.

Práce se dělí na teoretickou a experimentální část. Teoretická část shrnuje konformační chování kalixarenů, vysvětluje základy jaderné magnetické resonance, relaxační mechanismy a popisuje metodiku měření. Experimentální část se skládá z bližšího popisu použitých postupů, shrnutí výsledků měření a dalších výpočtů s diskusí a srovnání se známými hodnotami platnými pro kalix[4]aren, ev. thiakalix[4]aren.

TEORETICKÁ ČÁST

1. KALIXARENY

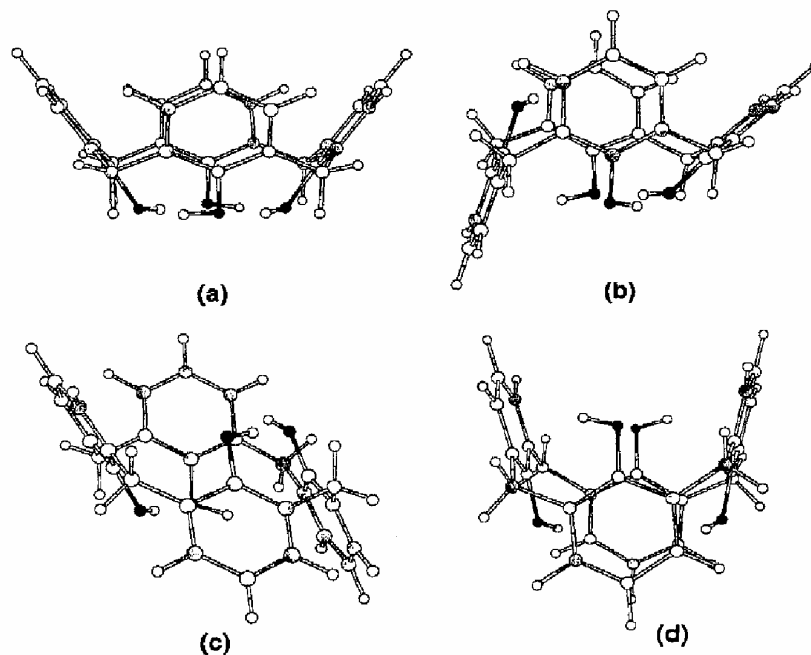
Kalix[n]aren je cyklický oligomer n fenolických jednotek, spojených methylenovými spojkami. Nejčastější je kalix[4]aren obsahující čtyři aromatická jádra (obrázek 1). Základní makrocyklus je možné relativně snadno substituovat v poloze para vzhledem k hydroxyly (tzv. horní okraj), na hydroxyly (tzv. dolní okraj) nebo jsou možné substituce na methylenových spojkách, či jejich úplné nahrazení jinou skupinou (například thiakalix[4]aren). Vhodnou substitucí je možné modifikovat elektrostatický náboj v jednotlivých částech molekuly, velikost a tvar kavity, flexibilitu makrocyklu a další vlastnosti. Tak je možné připravit látky schopné působit jako specifické receptory pro různé druhy substrátů, založené na nekovalentních interakcích.



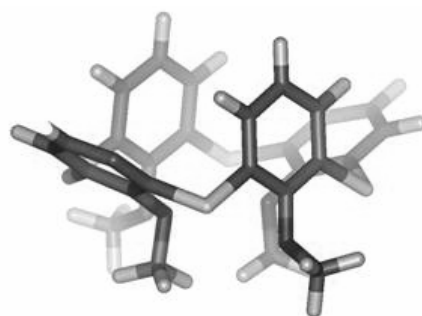
Obrázek 1. Molekula kalix[4]arenu.

1.1. KONFORMACE KALIX[4]ARENŮ

Základní kalix[4]aren se vyskytuje v tzv. kónické konformaci, ve které jsou všechny aromatické kruhy orientovány stejným směrem a molekula je stabilizována polem čtyř vodíkových vazeb na dolním okraji. V případě substituce hydroxylů funkčními skupinami neschopnými vzájemných vodíkových vazeb, např. methyl, molekula může zaujímat čtyři základní konformace - kónickou, částečně kónickou, 1,2-střídavou a 1,3-střídavou (obrázek 2). Kónická konformace v takovém případě nemá čtyřčetnou osovou symetrii, ale je zploštělá (obrázek 3). Síla vodíkových vazeb totiž ovlivňuje odklonění aromatických kruhů od osy symetrie a tvar kavity. Pokud je substituovaná skupina dostatečně malá (např. methyl), mohou mezi sebou jednotlivé konformace přecházet. Větší substituenty jako propyl kavitou neprojdou.



Obrázek 2. Konformace substituovaného kalixarenu – tetramethoxykalix[4]arenu: a) kónická; b) částečně kónická; c) 1,2-střídavá; d) 1,3-střídavá [1]



Obrázek 3. Zploštělý thiakalix[4]aren – bez vodíkových vazeb na spodním okraji [2]

Právě možnost relativně snadné derivatizace kalix[4]arenu při zachování podobné základní geometrie nás vedla k pokusu použít kalix[4]aren jako modelovou molekulu pro zkoumání vlivu počtu vodíkových vazeb na stabilitu jejich pole na dolním okraji kalix[4]arenu.

1.2. VODÍKOVÉ VAZBY NA SPODNÍM OKRAJI KALIXARENŮ

Charakterisace vodíkových vazeb se dlouho omezovala na měření chemického posunu ve vodíkovém spektru NMR a frekvence valenční vibrace hydroxylové skupiny pomocí infračervené absorpční spektroskopie. Chemický posun byl naměřen 10.2 ppm u p-tert-butylkalix[4]arenu, což je velmi vysoká hodnota. [3] Frekvence valenční vibrace i chemický posun jsou ale silně ovlivněny i dalšími parametry, takže neposkytují jednoznačnou charakteristiku vodíkové vazby.

Cirkulární systémy vodíkových vazeb byly pozorovány např. na derivátech p-tert-butylkalix[6]arenu fosforylovaných na dolním okraji [4]. Necyclecká pole vodíkových vazeb u těchto derivátů byla studována pomocí metody EXSY, kterou lze měřit pomalé

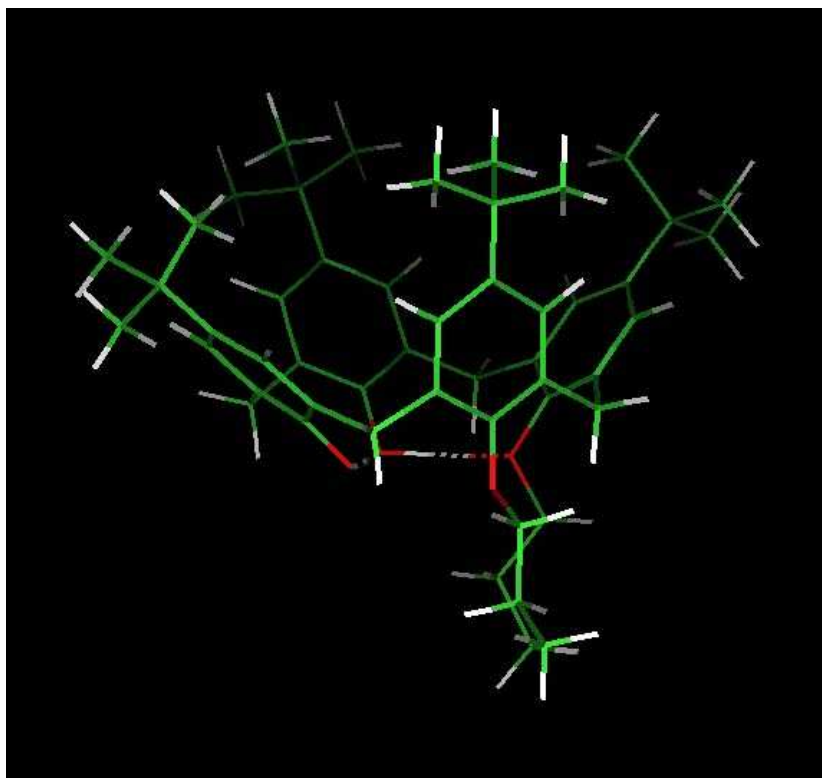
chemické výměny. Volná aktivační energie připadající na jednu vazbu byla u monofosfátů určena 9 kJ/mol, což odpovídá středně silné vazbě [5], v difosfátech 7.8 kJ/mol, míra kooperativity je přitom nižší, protože jde o dvě pole o dvou vazbách. Kalix[6]areny jsou flexibilnější než kalix[4]areny, prokazatelně u nich dochází k zásadní optimalisaci vnitřní energie tvorbou zploštělé konformace (pinched cone), která patrně také optimalisuje geometrii vodíkových vazeb.

Tři kooperativní vodíkové vazby byly detekovány i v monomethylderivátu kalix[4]arenu podle IR frekvencí. Posuny a amplitudy signálů vodíkového spektra (10.13 ppm a 9.54 ppm) indikují flip-flop proces, kdy silnější rezonance odpovídá vystředovanému posunu obou krajních vazeb a slabší rezonance u 10.13 ppm přísluší prostřední vodíkové vazbě, u které se kooperativita projevuje nezávisle na směru celého pole vodíkových vazeb. Frekvence valenčních OH vibrací je výrazně vyšší u dimethylovaného derivátu, což odpovídá faktu, že zde patně chybí příspěvek kooperativity, neboť obsahuje dvě oddělené vodíkové vazby. Určitá míra kooperativity by v tomto případě byla možná, jen pokud by jeden kyslík methoxyskupiny byl současně akceptorem vodíkových vazeb od obou sousedních hydroxylových skupin.

Kruhové pole čtyř vodíkových vazeb bylo studováno na kalix[4]arenu [6] a thiakalix[4]arenu [7]. Zjištěná volná aktivační energie pro kalix[4]aren připadající na jednu vazbu byla 11.4 kJ/mol, pro thiakalix[4]aren 10.6 kJ/mol při teplotě 243 K.

1.3. 25,26-DIPROPOXY-5,11,17,23-TETRA-TERT-BUTYLKALIX[4]AREN

Sloučeninou, kterou zkoumám, je 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]aren, tedy kalix[4]aren tert-butylovaný na celém horním okraji a proximálně propylovaný na spodním.



Obrázek 4. 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]aren

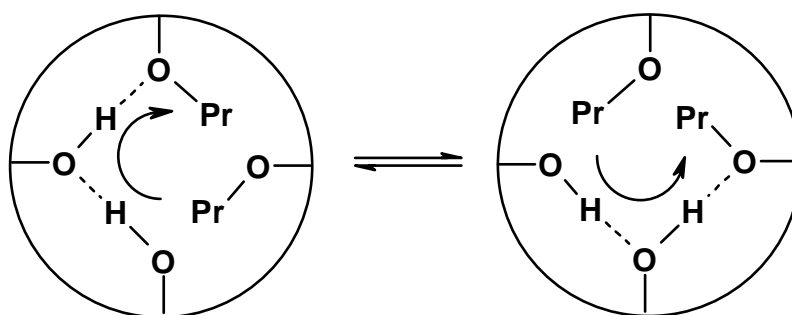
V tomto případě jsou dva vodíky schopné tvořit můstky nahrazeny propyly. Vzniká tak řetízek pouhých dvou vodíkových vazeb. Předpokládáme, že ty mohou měnit směr výrazně rychleji než kruhový řetězec čtyř vazeb.

Možnost, že by se řetízek rozpojil a obě vazby směřovaly „od sebe“, považujeme za nevýhodnou v důsledku ztráty kooperativity.

Propylová skupina také není schopná za normální teploty projít makrocyklem, takže molekula nemůže přejít do 1, 3 - střídavé konformace.

Z ab initio výpočtu [8] vyplývá, že jednotlivé aromatické kruhy jsou od osy různě odkloněné v závislosti na uchycení vodíkovými vazbami. Základní skelet molekuly tak nemá ani čtyřčetnou symetrii kalix[4]arenu, ani dvojčetnou symetrii zploštělé konické konformace derivátů substituovaných na spodním okraji [8].

Předpokládaným pohybem vodíkových vazeb je jejich koordinované otočení (obrázek 5).

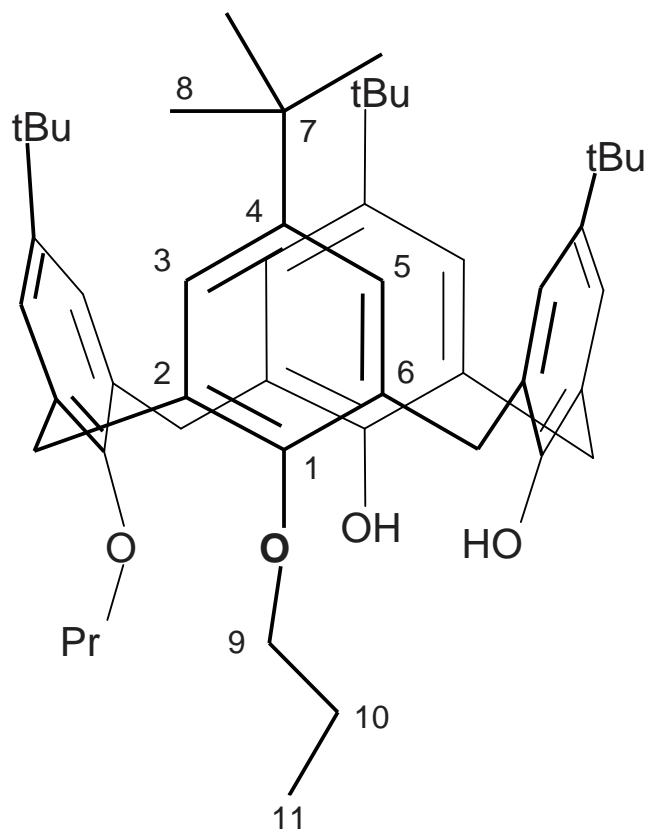


Obrázek 5. Schéma spodního okraje molekuly dvou enantiomerů, lišících se změnou směru pole vodíkových vazeb.

1.4. OZNAČENÍ JEDNOTLIVÝCH UHLÍKŮ

Pokud bychom neuvažovali orientaci skupin na dolním okraji studovaného derivátu kalix[4]arenu a menší distorzi struktury vlivem vodíkových vazeb, aromatický skelet kalixarenu by měl rovinu symetrie procházející dvěma methylenovými spojkami. Označení atomů v molekule pro účely této práce respektuje tuto přibližnou symetrii.

Aromatické kruhy s nesubstituovanou hydroxylovou skupinou jsme označili písmenem A, kruhy s propylovou skupinou písmenem B. Jednotlivá jádra se číslovají od fenolového uhlíku. Smysl číslování byl stanoven tak, že číslem 2 jsme označili vždy ty uhlíky, které sousedí přes methylenovou spojku s kruhem stejného typu. Uhlíky terciárního butylu označují čísla 7 a 8, propylové uhlíky jako 9, 10 a 11. Methylenové spojky značím dvojicí písmen podle toho, jaké kruhy spojují.



Obrázek 6. Číslování uhlíků používané při popisu NMR spekter 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]arenu. Atomy vodíku jsou číslovány podle uhlíku, ke kterému jsou vázány.

2. JADERNÁ MAGNETICKÁ REZONANCE

Jaderná magnetická rezonance je jev, při kterém dochází k rezonančnímu chování atomových jader s nenulovým spinovým kvantovým číslem I , a tedy nenulovým magnetickým momentem $\vec{\mu}$, v magnetickém poli. Jádra, která mají nulový spin, jako je například nejčastější isotop uhlíku ^{12}C , jsou pro metody NMR neviditelná.

2.1. ZÁKLADNÍ POJMY

Má-li částice nenulový moment hybnosti $\hbar\vec{I}$, má i jemu úměrný magnetický dipólový moment

$$\vec{\mu} = \gamma\hbar\vec{I}, \quad (1)$$

kde γ je gyromagnetický poměr. Vložíme-li takovou částici do statického magnetického pole \vec{B}_0 , interaguje magnetický moment částice s vnějším polem. Tato tzv. Zeemanova interakce má hamiltonián

$$\hat{H}_0 = -\vec{\mu}\cdot\vec{B}_0. \quad (2)$$

Mezi nejčastěji studovaná jádra patří vodík ^1H a uhlík ^{13}C . Tyto isotopy mají spin $I = 1/2$, takže jejich magnetické kvantové číslo může nabývat hodnot $+1/2$ (stav α) nebo $-1/2$ (stav β). V poli B_0 se mezi těmito dvěma stavy vytvoří energetický rozdíl

$$\Delta E = \gamma\hbar B_0. \quad (3)$$

Klasicky se dá soubor spinů popsat vektorem celkové magnetisace \vec{M} , který je vektorovým součtem všech magnetických momentů v souboru. V rovnováze bude směr magnetisace \vec{M} souhlasit se směrem pole \vec{B}_0 . Podle konvence klademe do směru pole \vec{B}_0 kladný směr osy z .

Přechody jednotlivých spinů mezi energetickými hladinami lze indukovat střídavým polem \vec{B}_1 kolmým na osu z , splňuje-li jeho frekvence rezonanční podmínku [9]

$$\omega_0 = -\gamma B_0, \quad (4)$$

kde ω_0 je úhlová frekvence Larmorovy precese. Pro běžně používaná pole B_0 leží v radiové oblasti.

Kromě laboratorní souřadné soustavy se zavádí také soustava rotující. Osa z zůstává ve směru pole \vec{B}_0 , osy x a y rotují rychlostí ω_0 . Radiofrekvenčním pulsem vhodné délky totiž lze magnetisaci v rotující soustavě souřadné sklopit o libovolný úhel od osy z . Sklopením se zmenší složka magnetisace v ose z a objeví se složky v rovině xy .

2.2. INTERAKCE PŮSOBÍCÍ NA JADERNÝ SPIN

Na spin může působit elektromagnetické pole pocházející z aparatury (tzv. vnější, externí pole) a také od ostatních spinů ve vzorku (tzv. vnitřní, interní).

Vnější interakci uvažujeme jen ryze magnetickou. Pomocí ní manipulujeme s jadernými spiny. Spektrometr vytváří dvě pole: Silné stálé pole \vec{B}_0 a k němu kolmé oscilující pole \vec{B}_1 .

Vnitřních interakcí se pro spiny větší než 1/2 může účastnit také elektrická kvadrupólová interakce. Tato práce se ale zabývá pouze jádru se spinem 1/2, kde se i mezi vnitřními interakcemi uplatňují pouze ty magnetické.

Chemický posun

Vnější magnetické pole polarizuje elektrony okolo jádra a tedy velikost pole, které na jádro působí, je mírně odlišná od velikosti vnějšího pole. Spolu s tím se mírně posouvá i rezonanční frekvence, a proto se tato interakce nazývá chemický posun. Tato interakce mezi vnějším polem a elektronovým obalem je obecně anisotropní a popisuje se tensorem chemického posunu. U molekuly rychle rotující v isotropní kapalině se příspěvky různých směrů střeďují a stínění je možné vyjádřit jedinou skalární hodnotou, Anisotropní část chemického posunu se však stále projevuje v relaxacích.

Stínění způsobuje, že lokální pole B_{loc} v místě jádra je menší o hodnotu σB_0 , kde σ je konstanta stínění, a platí [10]:

$$B_{loc} = (1 - \sigma)B_0 \quad (5)$$

Resonanční frekvence jádra bude posunuta:

$$\bar{\omega} = -\gamma(1 - \sigma)\vec{B}_0. \quad (6)$$

Posun se dá uvádět v jednotkách frekvence, ale tato hodnota závisí na velikosti vnějšího pole B_0 . Účelnější je udávat velikost chemického posunu jako relativní vzhledem k nějakému zvolenému standardu:

$$\delta = \frac{\omega - \omega_{standard}}{\omega_{standard}} \cdot 10^6 \quad (7)$$

δ označuje relativní chemický posun, jednotkou je ppm (part per million).

Jako frekvenční standard se v případě jader ^1H a ^{13}C používá tetramethylsilan (TMS).

Dipól-dipólová interakce

Dipól-dipólová interakce je přímá vzájemná interakce dvou jaderných spinů mezi sebou navzájem. Každý spin vytváří magnetické pole, které ovlivňuje ostatní. Dipól-dipólově mohou spiny interagovat bez ohledu na to, jestli jsou spojeny chemickými vazbami v jedné molekule, nebo ne.

Velikost interakce závisí na vzdálenosti obou spinů a orientaci spojnice vůči poli \vec{B}_0 . Dipól-dipolární interakční konstanta je

$$DCC = \frac{\mu_0 \gamma_C \gamma_H \hbar}{4\pi} r^{-3}. \quad (8)$$

V isotropních kapalinách se dipól-dipolární interakce středuje k nule a neprojeví se tak ve spektru, hraje ale významnou roli v relaxačních mechanismech.

J-interakce

J-interakce je nepřímá magnetická interakce mezi jádry zprostředkovaná vazebnými elektrony. Měřitelný vliv má pouze přes malý počet vazeb. Obvykle působí uvnitř molekuly, intermolekulární J-interakce je možná např. u vodíkových vazeb, je ovšem mnohem slabší než u vazeb kovalentních.

Ve spektru se J-interakce projevuje štěpením čar na multiplety. Někdy je toto štěpení nežádoucí, a tak se pro zjednodušení spektra a zlepšení poměru signál/šum J-interakce potlačuje tzv. decouplingem. Jde o radiofrekvenční pole v příčné rovině, které dostatečně rychle invertuje obsazení hladin α a β na jednom z interagujících jader. Druhé, měřené jádro pak vnímá pouze nulovou střední hodnotu.

Spin-rotační interakce

Jde o interakci jaderných spinů s magnetickým polem, které vytváří molekula - soubor částic - svým vlastním otáčením. Spin-rotační interakce má v NMR význam u plynů, v kapalinách jen pro velmi malé molekuly. V isotropní kapalině se středuje k nule.

3. RELAXACE – FENOMENOLOGICKÉ ZAVEDENÍ

Sklopíme-li pulsem vektor magnetisace z osy z do jiného směru, bude se kromě precesního pohybu postupně navracet zpět do rovnovážného stavu. Tento proces se nazývá relaxace.

Molekula v roztoku koná náhodný tepelný pohyb, přičemž interaguje s okolními molekulami a lokální magnetické pole fluktuuje [11]. Fluktuační magnetického pole je pro spiny $1/2$ příčinou relaxací. Pro NMR je významný hlavně pohyb rotační, zatímco vliv translačního pohybu na relaxaci je zpravidla malý.

Rozlišujeme relaxaci dvojího typu - podélnou (spin-mřížkovou) a příčnou (spin-spinovou).

3.1. PODÉLNÁ RELAXACE

Podélná relaxace se týká změn složky magnetisace ve směru osy z . Nazývá se také spin-mřížková, neboť se při ní vyměňuje energie mezi spiny a tzv. mřížkou. Mřížkou se rozumí všechny ostatní stupně volnosti. Časový vývoj je dán rovnicí

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}, \quad (9)$$

kde M_0 je rovnovážná hodnota magnetisace. T_1 je podélná relaxační doba. Namísto relaxační doby může být podélná relaxace charakterisována relaxační rychlostí R_1 , $R_1 = 1/T_1$.

Řešením této rovnice je exponenciální časový nárůst magnetisace v ose z ,

$$M_z(t) = M_0 - (M_0 - M_z(0))e^{-t/T_1}. \quad (10)$$

V případě $M_z(0) = -M_0$, což se používá při měření, přechází rovnice 10 na

$$M_z(t) = M_0(1 - 2e^{-t/T_1}). \quad (11)$$

3.2. PŘÍČNÁ RELAXACE

Příčná neboli spin-spinová relaxace je vymizení magnetisace v rovině xy . V rotující souřadné soustavě se řídí se rovnicemi

$$\begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= -\frac{M_x}{T_2}, \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\frac{M_y}{T_2}. \end{aligned} \quad (12)$$

Tyto rovnice mají řešení

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-t/T_2} \quad (13)$$

Příčná relaxace je charakterisována příčnou relaxační dobou T_2 nebo příčnou relaxační rychlostí $R_2 = 1/T_2$.

Kromě interakcí s okolím k ní přispívá rozfázování příčných složek vlivem interakcí mezi spiny navzájem. Také se zde projevuje nehomogenita magnetického pole.

Pro pološířku čáry ve spektru $\Delta\nu$ platí

$$\Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2^*}. \quad (14)$$

Příspěvek nehomogenity pole B_0 k příčné relaxaci se nazývá nehomogenní rozšíření. Pro hodnotu relaxační doby T_2^* naměřenou z pološířky čáry platí

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2n}}, \quad (15)$$

kde T_{2n} je nehomogenní rozšíření čáry.

4. RELAXAČNÍ MECHANISMY

Nástin odvození závislosti relaxačních dob na vlastnostech fluktuujícího magnetického pole provedeme pro nejjednodušší případ pole fluktuujícího náhodně kolem nulové hodnoty.

Složku pole B ve směru například x rozdělíme na střední hodnotu a fluktuaci B'_x . Střední hodnota fluktuace je nulová. Podle ergodické hypotézy přitom nezáleží na tom, zda středujeme podle času, nebo přes soubor spinů.

Střední kvadratická odchylka je nenulová a stejná pro všechny spiny.

Zavedeme korelační funkci $G(\tau)$:

$$G(\tau) = \langle B'_x(t) B'_x(t + \tau) \rangle \quad (16)$$

Pro $\tau = 0$ je korelační funkce rovná střední kvadratické odchylce, pro velká τ klesá k nule. Pro náhodné fluktuace je pokles exponenciální

$$G(\tau) = \langle B'^2_x \rangle e^{-|\tau|/\tau_c}. \quad (17)$$

Korelační čas τ_c udává rychlost fluktuace. Korelační funkce ve tvaru exponenciály, případně součtu exponenciál se používá k popisu fluktuací i ve složitějších případech.

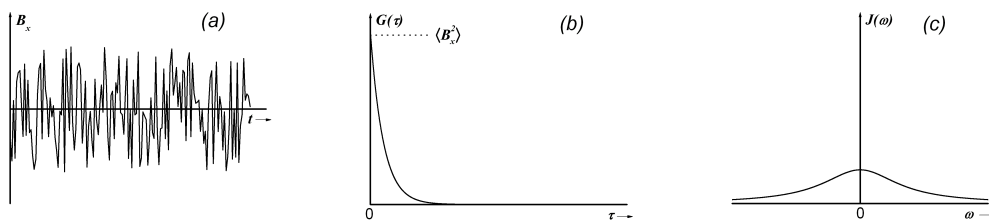
Fourierovou transformací korelační funkce je spektrální hustota $J(\omega)$:

$$J(\omega) = 2 \int_0^{\infty} G(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau. \quad (18)$$

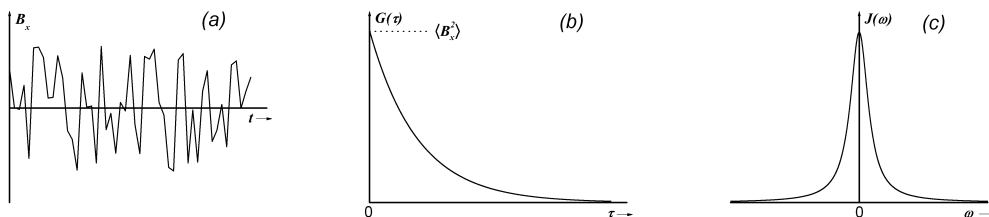
Pro korelační funkci podle vztahu 17 má spektrální hustota tvar absorpční Lorentzovy funkce

$$J(\omega) = 2 \langle B'^2_x \rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}. \quad (19)$$

Pro rychlé fluktuace pole je korelační čas krátký a spektrální hustota široká. Pomalým fluktuacím odpovídá dlouhý korelační čas a spektrální hustota ve tvaru úzké čáry (obrázky 7, 8).



Obrázek 7. Rychlá fluktuační magnetického pole ve směru x příčné roviny (a) odpovídá rychlému poklesu korelační funkce (b). Spektrální hustota má široký tvar (c).



Obrázek 8. Pomalá fluktuační magnetického pole ve směru x příčné roviny (a) způsobuje pomalý pokles korelační funkce (b), spektrální hustota má pak úzký tvar (c).

Pro uvedený model exponenciální korelační funkce má příčná relaxační doba tvar

$$\frac{1}{T_1} = \frac{\gamma^2}{2} \langle B_x^2 \rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2}. \quad (20)$$

Uvažujeme-li molekulu v roztoku, zapříčiňuje fluktuační pole v místě spinu rotace molekuly nebo pohyb jejích částí. S orientací spojnice mezi dvěma jádry vůči vnějšímu poli se mění velikost dipól-dipólové interakce a s tím i velikost a směr magnetického pole, kterým na sebe spiny navzájem působí. Vlivem anisotropie chemického posunu dochází při rotačním pohybu molekuly ke změnám lokálního stínícího pole. Tyto změny pak vedou k relaxaci vlivem anisotropie chemického posunu.

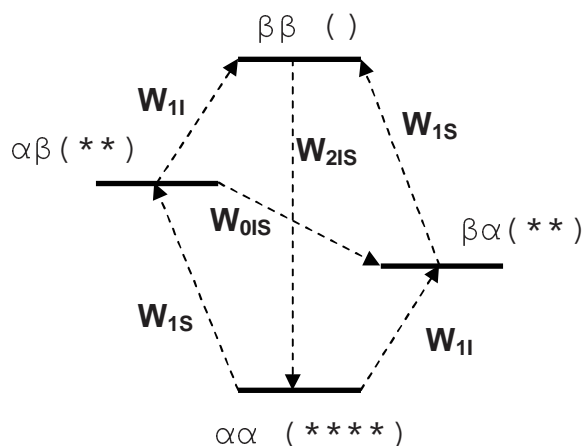
V kapalných roztocích je korelační čas fluktuační pole svázán s korelačním časem rotačního pohybu molekuly. Pohyb molekuly je ovlivněn viskozitou kapaliny a teplotou. Korelační čas molekuly v ideálním případě závisí na teplotě podle Arrheniovy rovnice [12]

$$\tau_M = \tau_0 e^{E_A / RT}, \quad (21)$$

kde E_A je aktivační energie, R je plynová konstanta.

4.1. RELAXACE VLIVEM DIPÓL-DIPÓLOVÉ INTERAKCE

Na obrázku 9 je znázorněno schéma energetických hladin pro spiny I a S , které dipól-dipólově interagují, s vyznačením pravděpodobnosti přechodů. W_{II} a W_{IS} jsou pravděpodobnosti jednovantových přechodů, W_0 pravděpodobnost nulvkvantového přechodu a W_2 pravděpodobnost dvoukvantového přechodu.



Obrázek 9. Diagram energetických hladin dvou spinů I a S , mezi nimiž působí dipól-dipólová interakce. W_{II} a W_{IS} jsou pravděpodobnosti jednovantových přechodů, W_2 je pravděpodobnost dvoukvantového přechodu, W_0 je pravděpodobnost nulvkvantového přechodu.

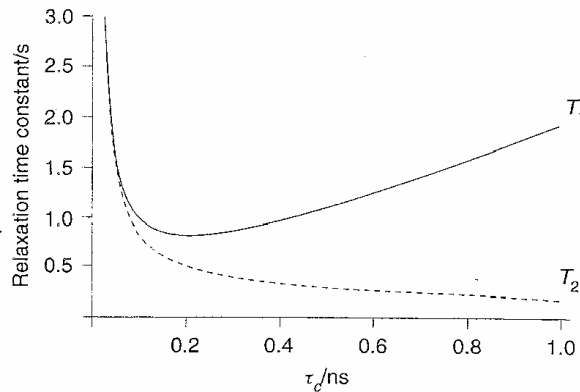
Jelikož pravděpodobnost přechodu je úměrná hodnotě spektrální hustoty na příslušné frekvenci, dochází k němu jen tehdy, když magnetické pole fluktuuje s frekvencí ω_{OI} či ω_{OS} pro jednovantové přechody, $(\omega_{OI} + \omega_{OS})$ pro dvoukvantový přechod a $(\omega_{OI} - \omega_{OS})$ pro nulvkvantový přechod.

Rychlost změn populací hladin je tak dána lineární kombinací všech relevantních pravděpodobností přechodů. Časový vývoj podélné magnetizace je potom popsán Solomonovými rovnicemi. Vývoj příčných složek lze odvodit až s použitím Redfieldovy-Wangsnessovy-Blochovy teorie, založené na řešení Liouvilleovy rovnice pomocí poruchového počtu. Pro případ dipolární relaxace páru spinů ^1H a ^{13}C pak platí rovnice [13]:

$$R_1^{DD} = \frac{1}{4} N_H (DCC)^2 [J(\omega_H - \omega_C) + 3J(\omega_C) + 6J(\omega_H + \omega_C)], \quad (22)$$

$$R_2^{DD} = \frac{1}{8} N_H (DCC)^2 [4J(0) + J(\omega_H - \omega_C) + 3J(\omega_C) + 6J(\omega_H) + 6J(\omega_H + \omega_C)]. \quad (23)$$

Kvalitativně je závislost relaxačních dob T_1 , T_2 zobrazena na obrázku 10. Pro dostatečně krátké korelační časy jsou obě relaxační doby stejné (oblast extrémního zúžení). Mimo tuto oblast má podélná relaxační doba T_1 minimum a pro delší korelační časy zase roste, na rozdíl od příčné relaxační doby T_2 , která monotónně klesá.



Obrázek 10. Závislost podélné a příčné relaxační doby (T_1 , resp. T_2) na korelačním čase τ_c [11]

4.2. JADERNÝ OVERHAUSERŮV JEV (NOE)

NOE je projev dipól-dipólové interakce. Jde o přenos energie mezi jádry, tzv. křížovou relaxaci, která vyplývá se Solomonových rovnic. [11] V našem případě jsou to jádra ^1H a ^{13}C . Při změně obsazení hladin vodíků ^1H se energie přenesou na uhlíky ^{13}C , takže se intenzita uhlíkového signálu zvýší. Platí [13]

$$NOE = 1 + \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \frac{N_H \sigma^{DD}}{R_1^{DD}}, \quad (24)$$

kde σ^{DD} je rychlost křížové relaxace

$$\sigma^{DD} = \frac{1}{4} (DCC)^2 [6\mathfrak{S}(\omega_H + \omega_C) - \mathfrak{S}(\omega_H - \omega_C)]. \quad (25)$$

Velikost NOE je shora omezená

$$NOE \leq 1 + \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \approx 3. \quad (26)$$

4.3. RELAXACE VLIVEM CSA

Při relaxaci vlivem anisotropie chemického posunu působí na jádro fluktuační lokálního magnetického pole způsobené anisotropií stínění při rotaci molekuly. Pro příčnou a podélnou relaxační rychlost platí [11]

$$R_1^{CSA} = \frac{1}{3} (\gamma_C B_0)^2 CSA_{eff}^2 J(\omega_C), \quad (27)$$

$$R_2^{CSA} = \frac{1}{3} (\gamma_C B_0)^2 CSA_{eff}^2 \left[\frac{2}{3} J(0) + \frac{1}{2} J(\omega_C) \right]. \quad (28)$$

CSA_{eff} je efektivní amplituda interakce. Závisí na složkách tensoru chemického posunu.

4.4. SPEKTRÁLNÍ HUSTOTA

Molekula, která náhodně mění svoji orientaci isotropně s korelačním časem τ_M , má spektrální hustotu [11]

$$J(\omega) = \frac{2}{5} \frac{\tau_M}{1 + \omega^2 \tau_M^2}. \quad (29)$$

Pro molekulu, která jako celek rotuje isotropně, ale obsahuje i části s anisotropními pohyby, se dá použít Lipariho-Szabóův model. [14] Spektrální hustota má pak tvar součtu dvou členů vážených parametrem uspořádání S^2 , který souvisí s pohyblivostí dané části molekuly

$$J(\omega) = \frac{2}{5} S^2 \frac{\tau_M}{1 + \omega^2 \tau_M^2} + (1 - S^2) \frac{2}{5} \frac{\tau_E}{1 + \omega^2 \tau_E^2}. \quad (30)$$

Korelační čas τ_E je odvozen od globálního korelačního času τ_M odpovídajícího pohybu celé molekuly a lokálního korelačního času τ_{loc} pohybu části molekuly

$$\frac{1}{\tau_E} = \frac{1}{\tau_M} + \frac{1}{\tau_{loc}}. \quad (31)$$

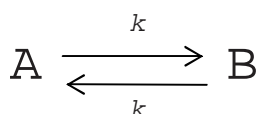
Parametr uspořádání nabývá hodnot mezi 0 a 1, pro rigidní části molekuly se blíží 1, pro velmi pohyblivé je blízký 0.

Tento model předpokládá, že globální a lokální pohyb jsou statisticky nezávislé, což je splněno, pokud $\tau_{loc} \ll \tau_M$. Čas τ_E je tak velmi blízký lokálnímu korelačnímu času τ_{loc} .

5. CHEMICKÁ VÝMĚNA

Chemickou výměnou se obecně rozumějí procesy, kterými se mění chemické okolí jádra. Může jít o chemickou reakci nebo konformační změny. Cílem této práce je prozkoumat konformační přechod v proximálně dipropylovaném kalix[4]arenu. Předpokládáme, že jde o překlopení směru obou vodíkových vazeb, spojené s mírným pootočením jednotlivých aromatických kruhů vůči sobě navzájem. Protože molekula jako celek tak přejde do stavu totožného s výchozím (jednotlivé atomy si však „vymění místa“), je rychlostní konstanta stejná pro výměnu dopřednou i zpětnou.

Máme-li symetrickou chemickou reakci prvního řádu s rychlostní konstantou k ,



je rychlost chemické výměny

$$k_{ex} = 2k. \quad (32)$$

Chemickou výměnu lze také charakterisovat jejím korelačním časem τ_{ex} ,

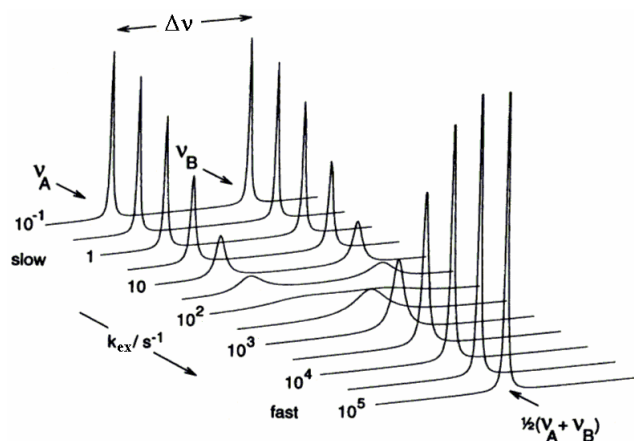
$$\tau_{ex} = 1/k_{ex}. \quad (33)$$

Při rychlosti chemické výměny k_{ex} menší než rozdíl resonančních frekvencí $\Delta\nu$ jsou ve spektru dvě čáry. Jde o tzv. pomalou výměnu. Přejod spinů ze stavu o resonanční frekvenci ν_1 do stavu, kde resonují na frekvenci ν_2 , způsobuje jejich rychlejší rozfázování a tedy zkrácení příčné relaxační doby T_2 . Čáry se rozšiřují.

Při $k_{ex} > \Delta\nu$ (rychlá výměna) je ve spektru vidět jen jedna čára na průměrné frekvenci. Čím je výměna rychlejší, tím je čára užší.

Nejjednodušeji lze rychlost chemické výměny modifikovat změnou teploty. Teplota, při níž pomalá výměna přechází v rychlou, se nazývá koalescenční a platí pro ni [15]

$$k_{ex} = \frac{\pi}{\sqrt{2}} \Delta\nu. \quad (34)$$



Obrázek 11. Symetrická chemická výměna mezi dvěma stavy, závislost spekter na teplotě. [16]

Chemická výměna natolik rychlá, že rozšíření společného signálu je velmi malé a tedy přímo nepozorovatelné, se dá měřit pomocí příspěvku chemické výměny k příčné relaxační rychlosti. Tento příspěvek navíc, na rozdíl od relaxace vlivem dipól-dipólové interakce a CSA, závisí na nastavení echočasu při měření pomocí pulsní sekvence spinového echa, např. CPMG. [17]

$$R_2^{ex} = p_A p_B (\Delta\omega)^2 \tau_{ex} \left(1 - \frac{\tau_{ex}}{t_{echo}/2} \operatorname{tgh} \frac{t_{echo}/2}{\tau_{ex}} \right), \quad (35)$$

kde p_A a p_B jsou populace stavů, mezi kterými chemická výměna probíhá. V našem případě je $p_A = p_B = 1/2$. $\Delta\omega$ je rozdíl kruhových frekvencí vyměňujících se stavů, $\Delta\omega = 2\pi\Delta\nu$.

Závislost relaxačního příspěvku na t_{echo} má obecně sigmoidální tvar. V případě velmi malého τ_{ex} ($\tau_{ex} \ll t_{echo}$) klesá druhý člen závorky k nule. Relaxační příspěvek chemické výměny je potom

$$R_2^{ex} = \frac{1}{4} (\Delta\omega)^2 \tau_{ex}, \quad (36)$$

nezávislý na echočase.

Pomocí změřené závislosti rychlostní konstanty k na teplotě je možné zjistit termodynamické parametry konformačního přechodu (Gibbsovu energii ΔG , potažmo aktivační enthalpii ΔH a aktivační entropii ΔS), což popisuje Eyringova rovnice

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G / RT}, \quad (37)$$

přičemž ΔG závisí na teplotě [12], [18]

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \quad (38)$$

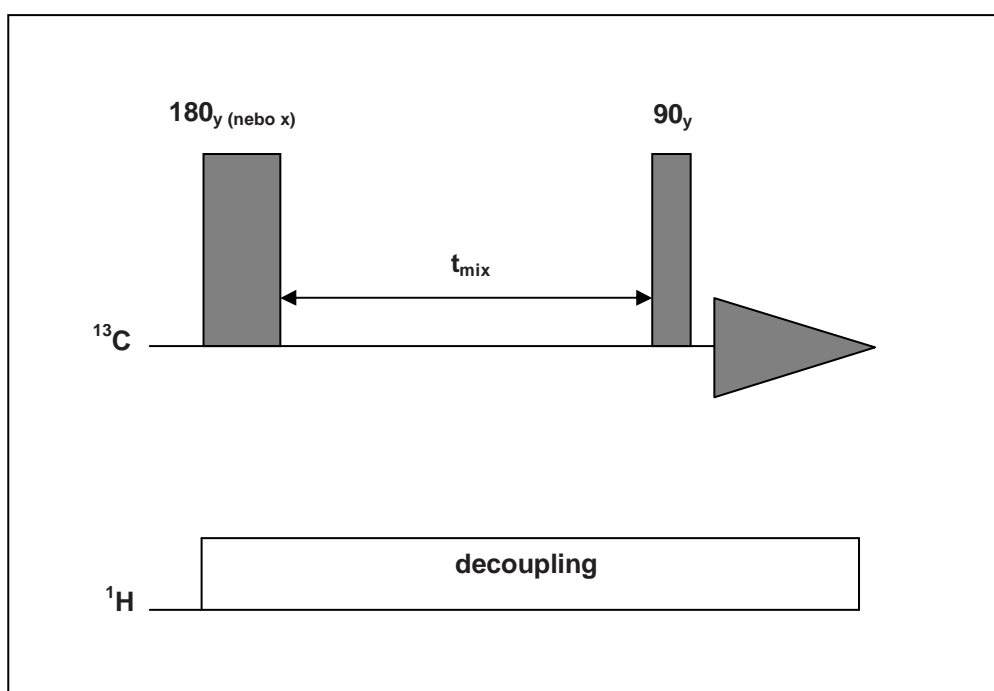
6. MĚŘENÍ SPINOVÝCH RELAXACÍ

6.1. MĚŘENÍ PODÉLNÉ RELAXACE

Podélná relaxace se měří pomocí sekvence Inversion recovery. [19] Pulsem 180° se magnetisace překlopí do záporného směru osy z. Po uplynutí času t_{mix} , kdy se magnetisace postupně vrací do rovnováhy, se pulsem 90° překlopí do příčné roviny a změří. Opakováním pro různé časy t_{mix} se získá závislost intensity na čase t_{mix}

$$I(t) = I(\infty)(1 - 2e^{-t_{mix}/T_1}), \quad (39)$$

odkud zjistíme relaxační dobu T_1 .



Obrázek 12. Schéma sekvence Inversion Recovery pro měření T_1 .

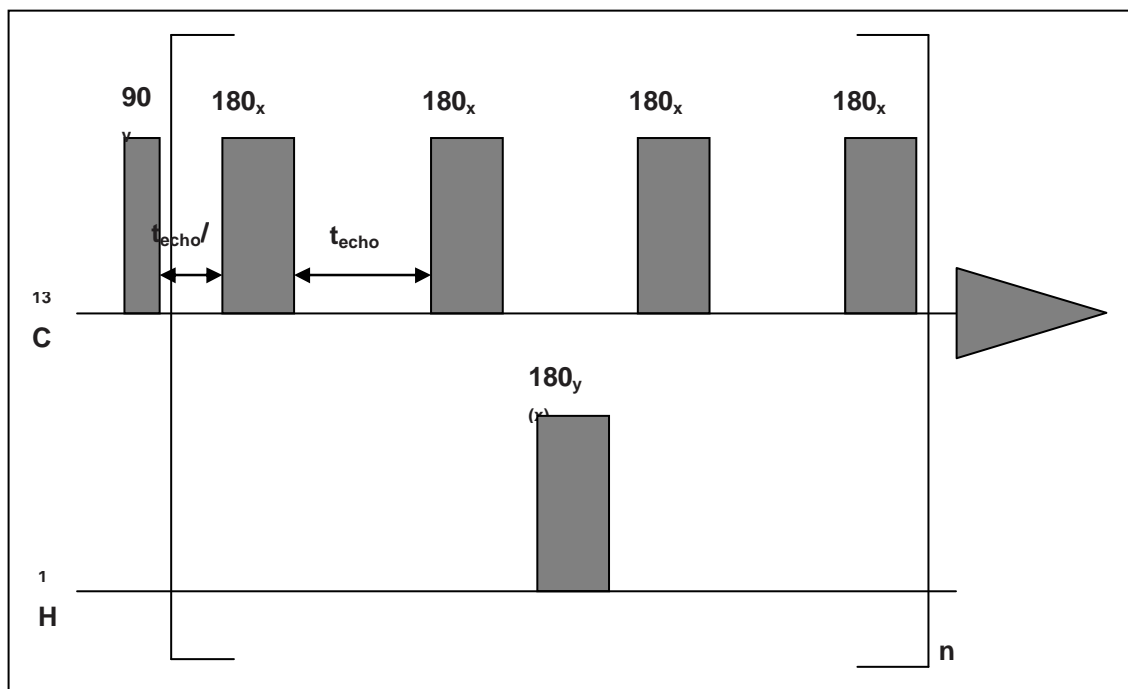
6.2. MĚŘENÍ PŘÍČNÉ RELAXACE

Základním prvkem sekvence k měření příčné relaxační doby je spinové echo. Devadesátistupňový puls sklopí magnetisaci do roviny xy . Ta pak díky relaxaci klesá. Na pokles má ale také vliv nehomogenita magnetického pole, která spiny rozfázovává. Stoosmdesátistupňovým pulsem, aplikovaným za čas $t_{echo}/2$ po prvním devadesátistupňovém pulsu, se rozfázované spiny otočí do opačných směrů. Směr precesního pohybu se ale nezmění, a tak opět po čase $t_{echo}/2$ dojde ke sfázování. Intenzita výsledného signálu tak závisí pouze na tzv. homogenní relaxaci, nehomogenita pole ji neovlivní.

Na celkové délce sekvence t , která je rovna $4nt_{echo}$, závisí intenzita signálu jako

$$I = I_0 e^{-t/T_2} . \quad (40)$$

Příčná relaxační doba se měří pomocí sekvence CPMG (Carr, Purcell, Meiboom, Gill), která používá mnohonásobné spinové echo s proměnným počtem cyklů. [20] Vodíkový puls 180° odstraňuje interferenci relaxačních mechanismů - dipól-dipólové interakce a anisotropie chemického posunu.

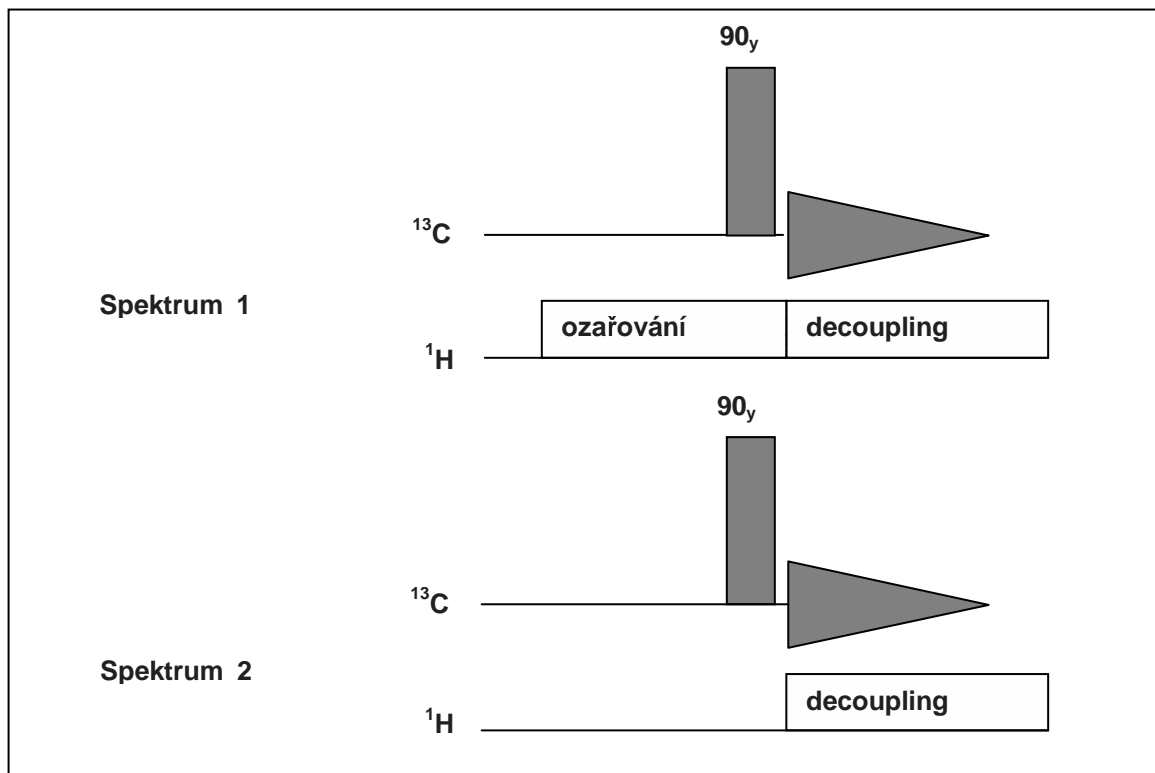


Obrázek 13. Schéma sekvence CPMG pro měření T_2 a rychlosti chemické výměny

K měření velmi rychlých chemických výměn se dá použít sekvence CPMG s proměnnou délkou echa.

6.3. MĚŘENÍ NOE

Jde o porovnání intenzity uhlíkového spektra se spektrem, kde je na uhlíky přenesena magnetisace z okolních vodíků. Při ozařování vodíků se vlivem Overhauserova jevu přenáší magnetisace na uhlík, jehož signál měříme. Dále se měří signál bez předchozího ozařování. *NOE* je podílem intenzit z obou spekter. [14]



Obrázek 14. Schéma sekvence k měření NOE

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7. NASTAVENÍ MĚŘENÍ

7.1. VZOREK

18.01 mg 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]arenu (Pavel Lhoták, VŠCHT Praha) bylo rozpuštěno v 0.75 ml deuterovaného chloroformu (Uvasol, deuterování min. 99.95 %). Roztok o koncentraci cca 0.03 mol/l byl uzavřen v 5mm kyvetě pod kryptonovou atmosférou.

7.2. SPEKTROMETR

Měření bylo provedeno na spektrometru Bruker Avance 500, jehož pracovní frekvence je 500.13 MHz pro jádra ^1H a 125.76 MHz pro jádra ^{13}C , pomocí sondy TBO. K regulaci teploty byla použita teplotní jednotka BVT 3000. Teplota byla kalibrována pomocí methanolového standardu. Přesnost nastavení teploty je ± 0.2 K, stabilita ± 0.1 K.

7.3. PULSY

Délka uhlíkového devadesátistupňového pulsu se pohybovala mezi 8.0 a 12.3 μs , délka vodíkového devadesátistupňového pulsu byla od 11.8 do 13.2 μs . Délky pulsů se významně měnily s teplotou. Navíc v případě uhlíkových spekter bylo nutné používat nižší než optimální výkon radiofrekvenčního pole k zamezení jiskření na cívkách rezonančního obvodu měřicí sondy.

7.4. MĚŘENÍ PODÉLNÉ RELAXACE

Podélná relaxační doba byla měřena sekvencí Inversion Recovery popsané v kapitole 6 vždy pro 12 časů t_{mix} . Nejmenším časem je 10 μs , největší udává následující tabulka. Akvisice trvala vždy 1.4 s. Jako $D1$ je označena doba před každým scanem, kdy se spinový systém navrácí do rovnováhy. Její součet s akvisicí by měl být nejméně $3T_1$ pro nejdelší T_1 ve spektru. To není zcela splněno, neboť jádra A7 a B7 (kvarterní uhlíky terciárního butylu) relaxují řádově déle než ostatní a brát na ně ohled by znamenalo neúnosně prodloužit experiment. Relaxace těchto jader tedy nebyly vyhodnocovány a nastavení odpovídá dalšímu nejpomaleji relaxujícímu peaku, kterým je B1. Všechny experimenty byly měřeny na 512 scanů.

Tabulka 1. Nastavení měření T_1

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
t_{mix} max	8	5	8	8	8
D1 [s]	4	2	4	3	4

7.5. MĚŘENÍ NOE

Jaderný Overhauserův jev byl měřen pomocí sekvence popsané v kapitole 6 vždy na 512 scanů.

Doba ozařování vodíkových jader byla 10 μs u prvního spektra, u druhého spektra odpovídala přibližně pětinasobku T_1 a je uvedena v tabulce.

Čekací doba D1 je přibližně desetkrát T_1 , rovněž uvedena v tabulce.

Tabulka 2. Nastavení měření NOE

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
t_{max} [s]	10.0	5.0	10.0	8.0	9.0
D1 [s]	20	10	20	15	17

NOE je podíl intenzit z obou spekter.

7.6. MĚŘENÍ PŘÍČNÉ RELAXACE

Příčné relaxace byly měřeny pomocí sekvence CPMG. Běžné měření příčné relaxační doby T_2 se provádí při fixní hodnotě $\tau_{\text{echo}} \sim 800 \mu\text{s}$, aby byly splněny podmínky $\tau_{\text{echo}} \gg {}^{13}\text{C}$ puls a $\tau_{\text{echo}} \ll 1/2J$, kde je v našem případě jednovazebný CH coupling asi 150 Hz.

Příspěvek chemické výměny k relaxační rychlosti obecně závisí na použitém echočase. Proto je pro stanovení relaxačního příspěvku chemické výměny třeba echočas měnit.

Ukázalo se však, že výměna je natolik rychlá, že relaxační rychlost už na echočase nezávisí. Body měřené při různých echočasech lze tudíž využít pro výpočet příčné relaxační doby.

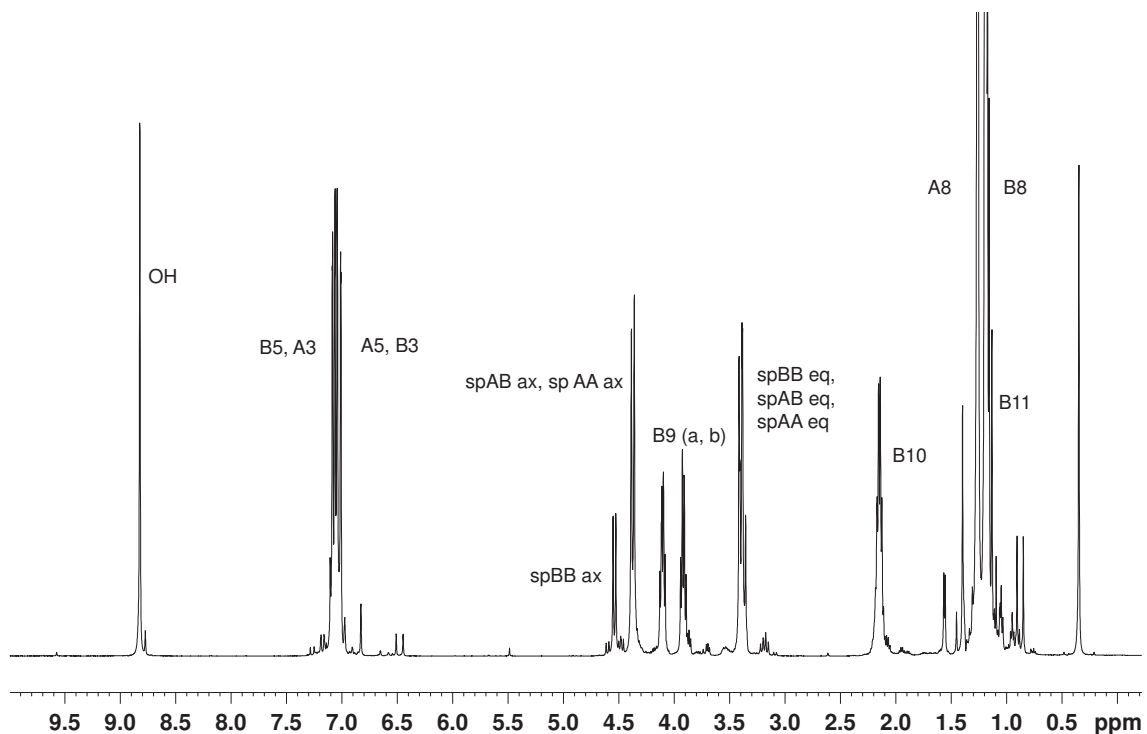
Tabulka 3. Měření příčné relaxace

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
bodů	30	30	29	12	26
$t_{\text{echo min}}$ [μs]	200	200	200	200	200
$t_{\text{echo max}}$ [μs]	1190	1190	1190	1190	1190
D1	8.5	3.5	8.5	6	5

8. JEDNODIMENSIONÁLNÍ SPEKTRA

8.1. VODÍKOVÉ SPEKTRUM

Vodíkové spektrum je vyobrazeno na obrázku 15. Toto spektrum bylo měřeno při 298 K a není upraveno na nulovou hodnotu posunu TMS.



Obrázek 15. Vodíkové spektrum

Chemický posun hydroxylové skupiny mírně závisí na teplotě. Jeho hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4. Chemický posun vodíku hydroxylové skupiny

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1	269.7
δ [ppm]	9.527	9.494	9.493	9.445	9.320	9.116

Směrem k nízkým teplotám je pozorovatelné rozšíření čáry. Může jít o efekt způsobený zpomalováním chemické výměny - obě hydroxylové skupiny nejsou ekvivalentní.

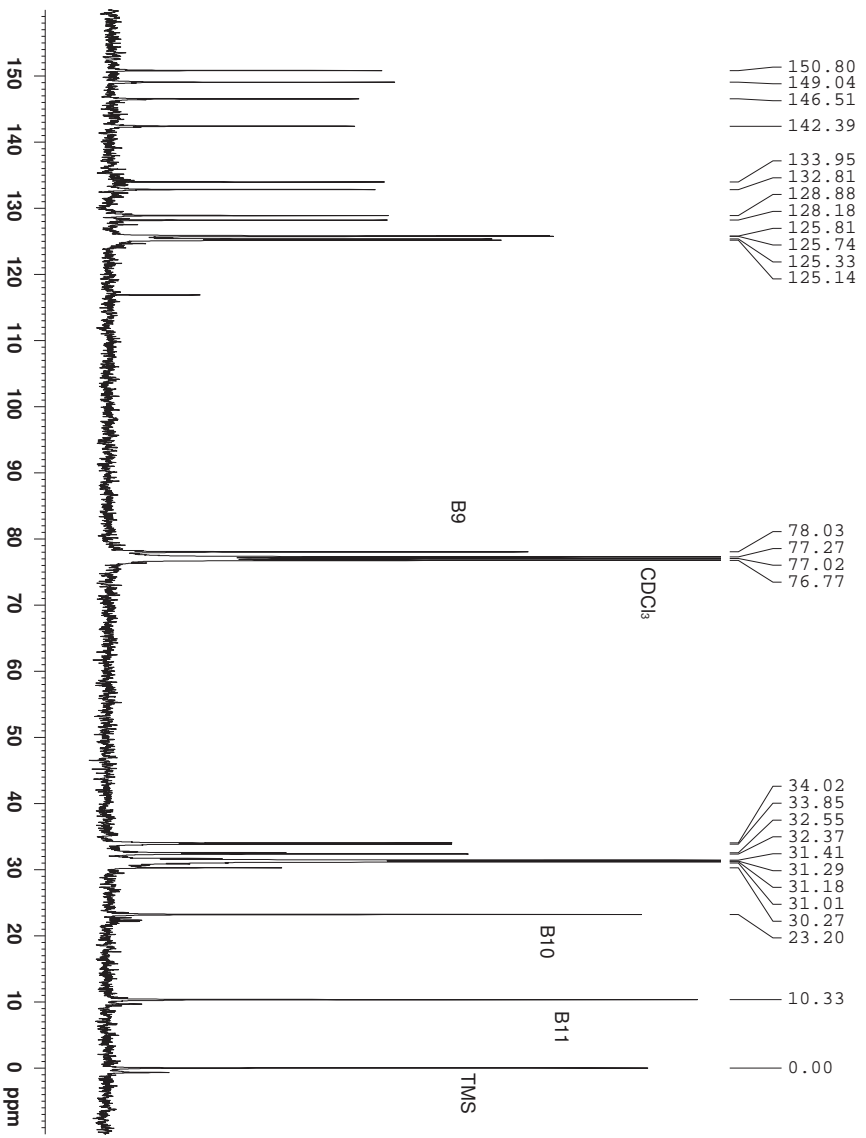
8.2. UHLÍKOVÉ SPEKTRUM DIPROPOXYKALIX[4]ARENU

Přiřazení spektra bylo provedeno pomocí uhlíkového spektra APT (Attached Proton Test - jednodimensionální spektrum s odlišením sudého a lichého počtu navázaných vodíků), vodíkového spektra a dvoudimensionálních spekter HMQC (Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation, naměřené spektrum ukazuje souvislost peaků různých prvků přes jednu chemickou vazbu) a HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation, naměřené spektrum ukazuje souvislost peaků různých prvků přes dvě, ev. tři chemické vazby) měřených při teplotě 298 K.

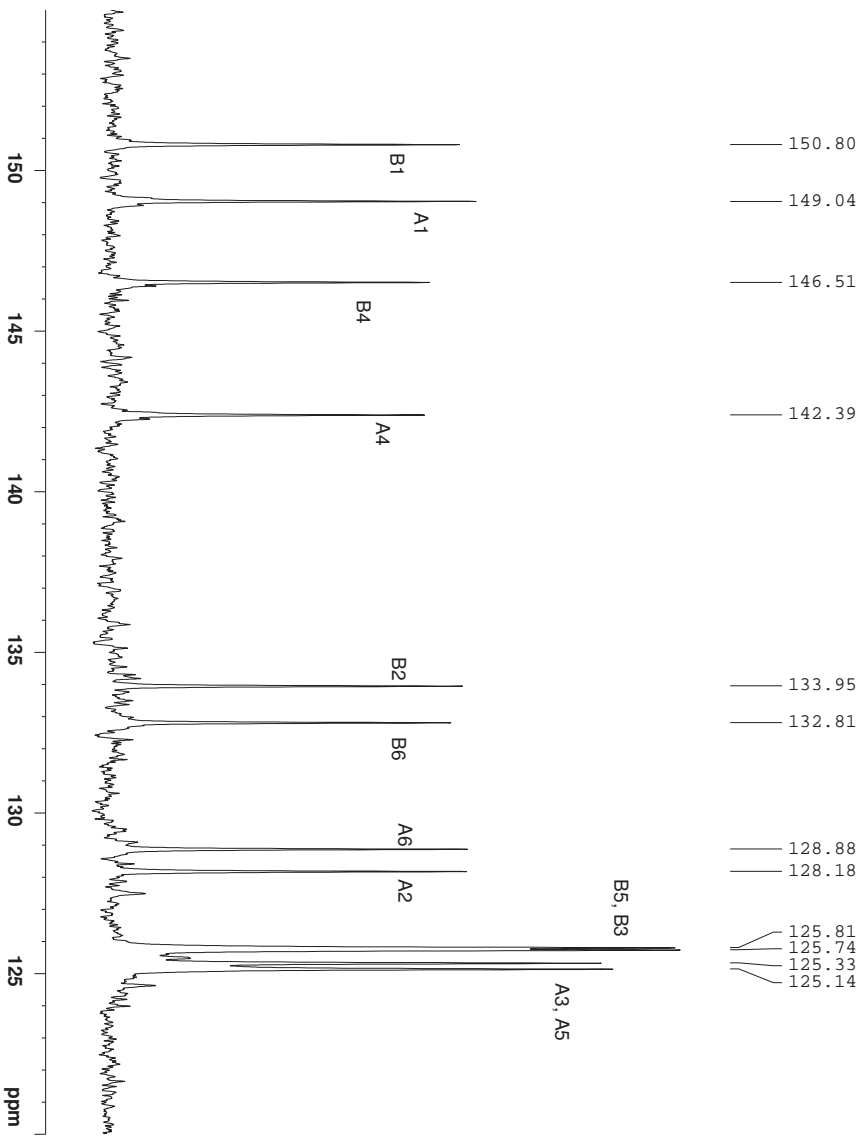
Tabulka 5. Chemické posuny jednotlivých uhlíků

Uhlík	δ [ppm]
B1	150.1
A1	149.0
B4	146.5
A4	142.4
B2	134.0
B6	132.8
A6	128.9
A2	128.2
B5	125.8
B3	125.7
A3	125.3
A5	125.1
B9	78.0
B7	34.0
A7	33.8
spAB	32.6
spAA	32.4
A8	31.4
B9	31.2
spBB	30.3
B10	23.2
B11	10.3

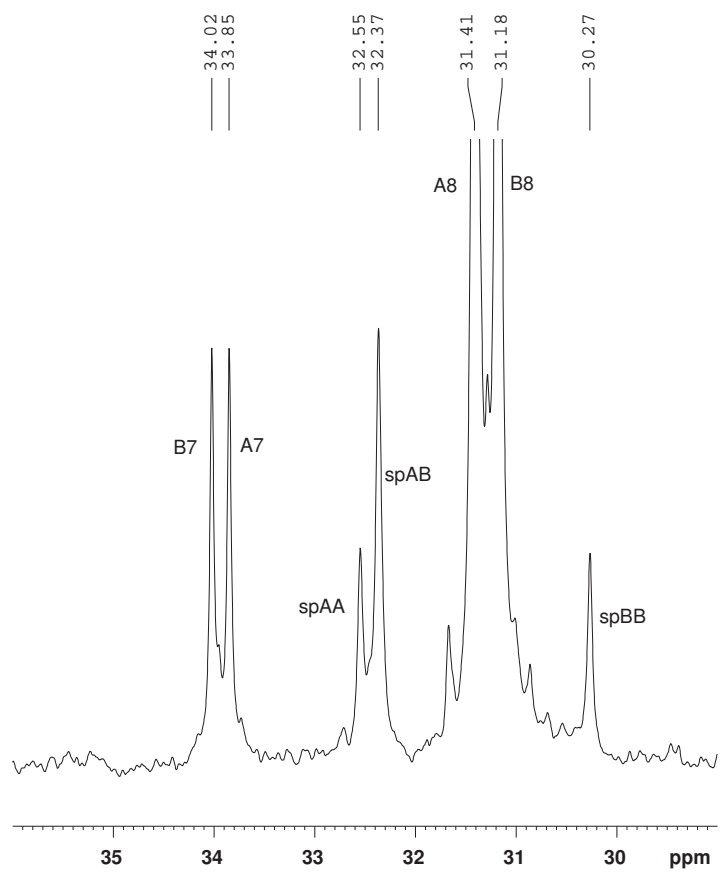
Na následujících obrázcích je vidět uhlíkové spektrum (při 250 K) s vyznačením poloh jednotlivých peaků a příslušných uhlíkových jader.



Obrázek 16. Uhlíkové spektrum, celek



Obrázek 17. Uhlíkové spektrum, výřez - aromatická část



Obrázek 18. Uhlíkové spektrum, výřez

9. VÝSLEDKY RELAXAČNÍCH MĚŘENÍ

9.1. PODÉLNÁ RELAXAČNÍ DOBA

Parametr zpracování *LB* (exponenciální apodisace signálu volné precese) byl pro všechny teploty 5 Hz.

Naměřené relaxační doby shrnuje následující tabulka:

Tabulka 6. Podélné relaxační doby

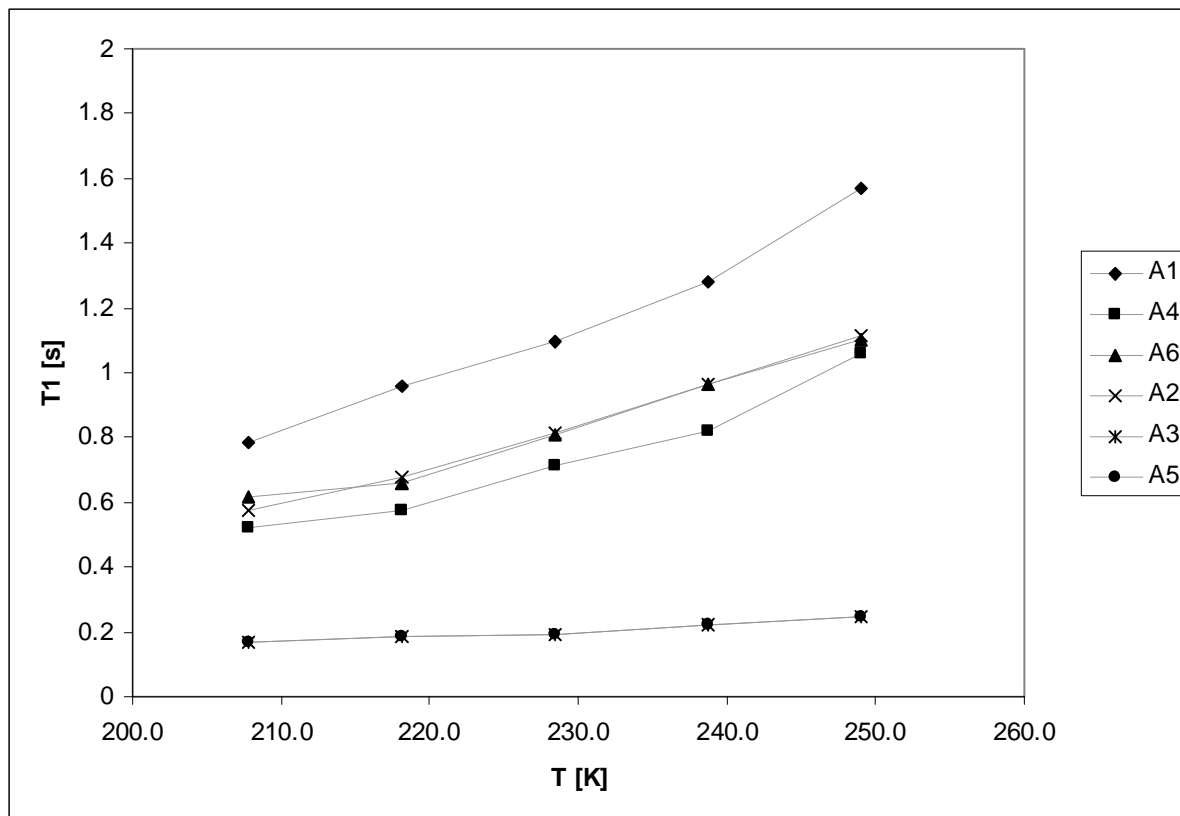
T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	T_1 [s]				
B1	0.977	1.026	1.297	1.512	1.800
A1	0.782	0.961	1.093	1.282	1.567
B4	0.503	0.479	0.623	0.742	0.943
A4	0.521	0.577	0.712	0.819	1.062
B2	0.552	0.599	0.708	0.874	1.019
B6	0.554	0.637	0.734	0.871	0.991
A6	0.618	0.660	0.806	0.962	1.101
A2	0.573	0.676	0.816	0.963	1.115
B5	0.169	0.180	0.195	0.215	0.244
B3	0.166				
A3	0.171	0.186	0.193	0.222	0.246
A5				0.221	0.245
B9	0.208	0.213	0.239	0.276	0.325
B7	4.012	4.784	5.899	7.481	7.014
A7	3.906	5.291	5.782	6.234	7.068
spAB	0.123	0.129	0.135	0.139	0.159
spAA		0.138	0.145	0.148	0.161
A8	0.192	0.212	0.242	0.283	0.329
B9	0.195	0.218	0.248	0.289	0.338
spBB		0.124	0.141	0.136	0.141
B10	0.238	0.266	0.320	0.382	0.451
B11	0.379	0.445	0.554	0.720	0.887

Jsou-li dvě políčka tabulky sloučena, znamená to, že se signály obou jader překrývají a nebylo je možné oddělit. Prázdné políčko značí, že se relaxační dobu nepodařilo ze spektra vyhodnotit (signál měl příliš nízkou intenzitu vzhledem k šumu).

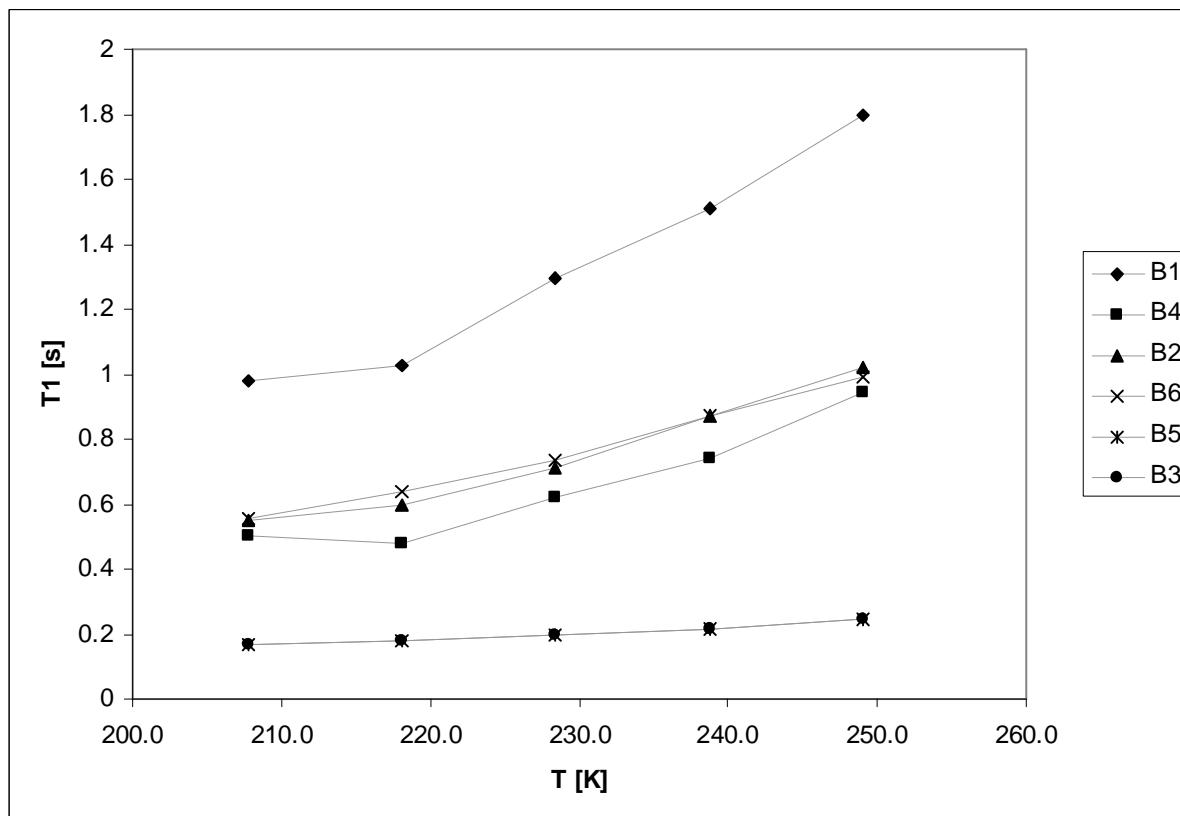
Chyba měření relaxačních dob T_1 byla odhadnuta na 5 %. Tento odhad zahrnuje jak statistickou chybu fitů, tak případné systematické odchylky.

I hodnoty ze sloučených peaků byly použity pro další zpracování. Považuji to za oprávněné vzhledem k tomu, že jde o jádra ve velmi podobném postavení a navíc při teplotách, kde byly relaxační doby vyhodnoceny zvlášť, je jejich rozdíl hluboko pod chybou měření.

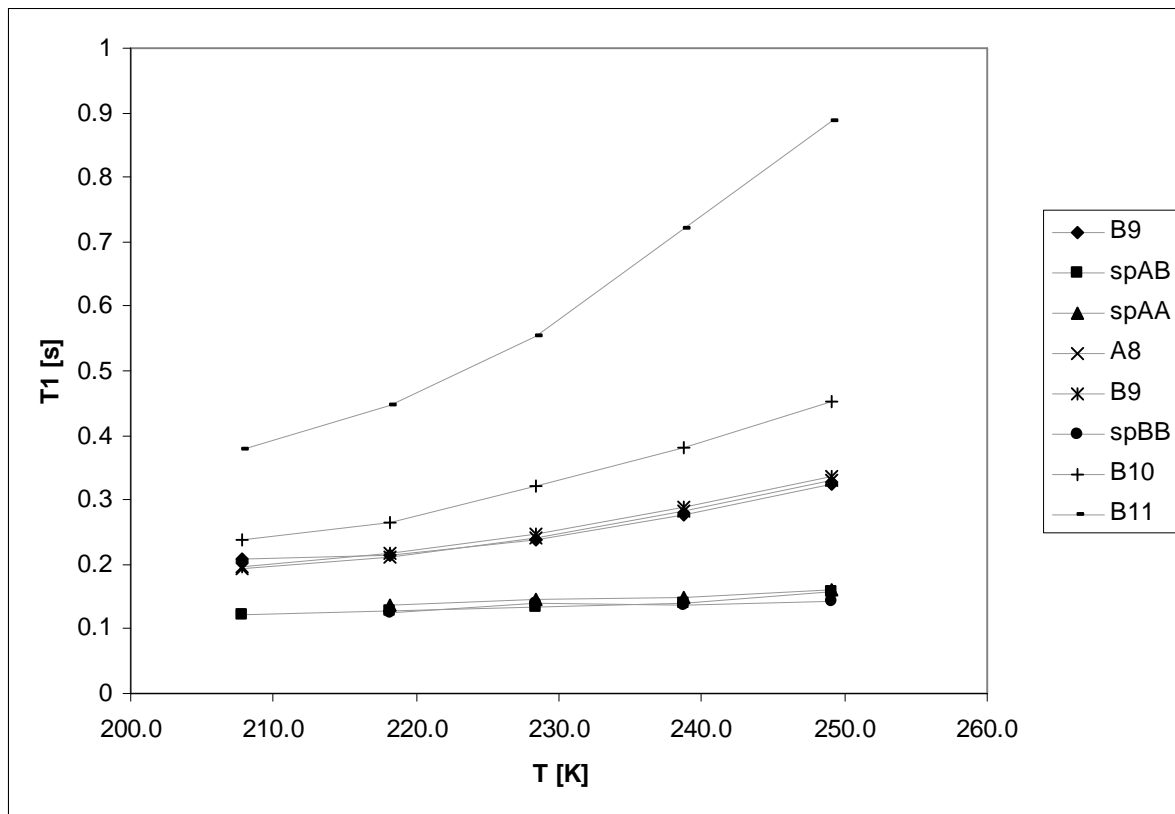
Graf 1 a) Podélné relaxační doby uhlíků na hydroxylovaném kruhu A



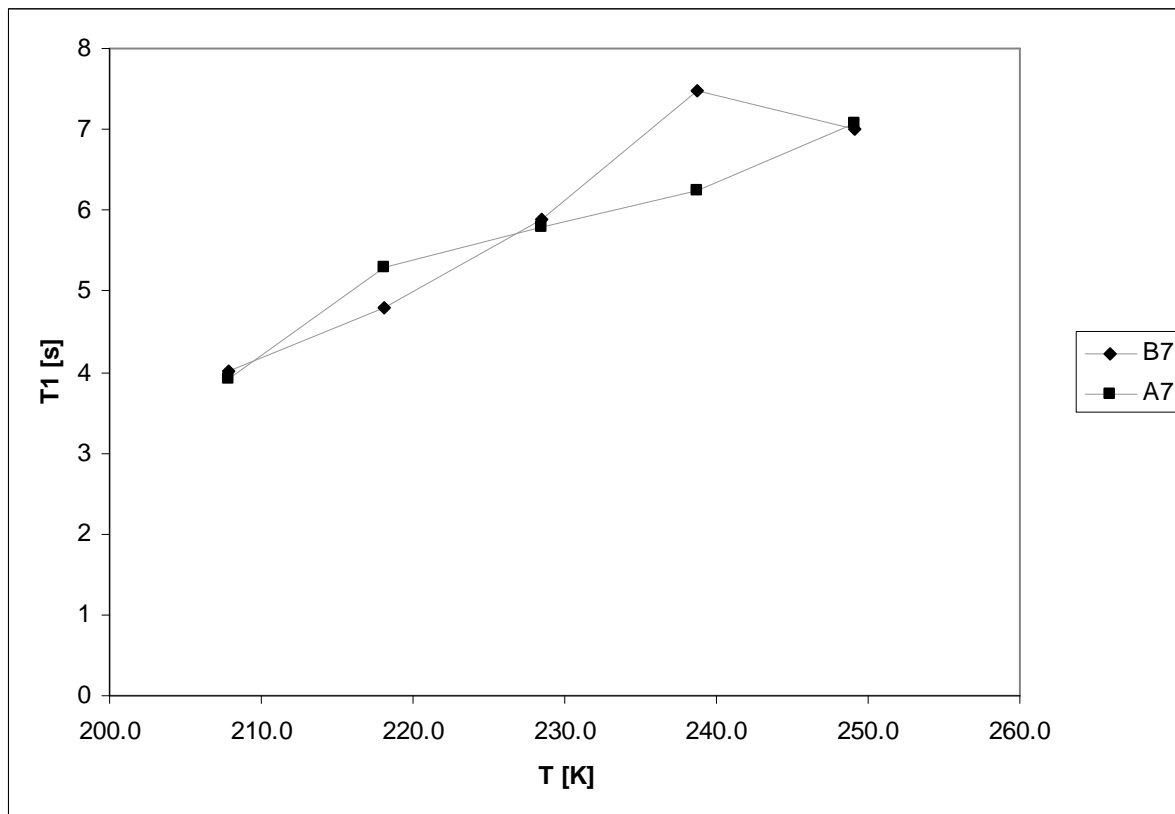
Graf 1 b) Podélné relaxační doby uhlíků na propylovaném kruhu B



Graf 1 c) Podélné relaxační doby uhlíků mimo aromatické kruhy (kromě A7, B7)



Graf 1 d) Podélné relaxační doby kvarterních uhlíků A7, B7



Podélné relaxační doby rostou s teplotou, minima ve sledované teplotní oblasti nedosahují. Krátké relaxační doby mají především uhlíky s jedním nebo více navázanými vodíky, které mají účinný dipól-dipólový relaxační mechanismus. Uhlíková jádra bez přímo vázaných vodíků relaxují pomaleji, převážně díky anisotropii chemického posunu. Kvarterní uhlíky A7 a B7 nemají vlastní vodík a jejich okolí je dosti isotropní, relaxují proto velmi pomalu.

9.2. JADERNÝ OVERHAUSERŮV JEV

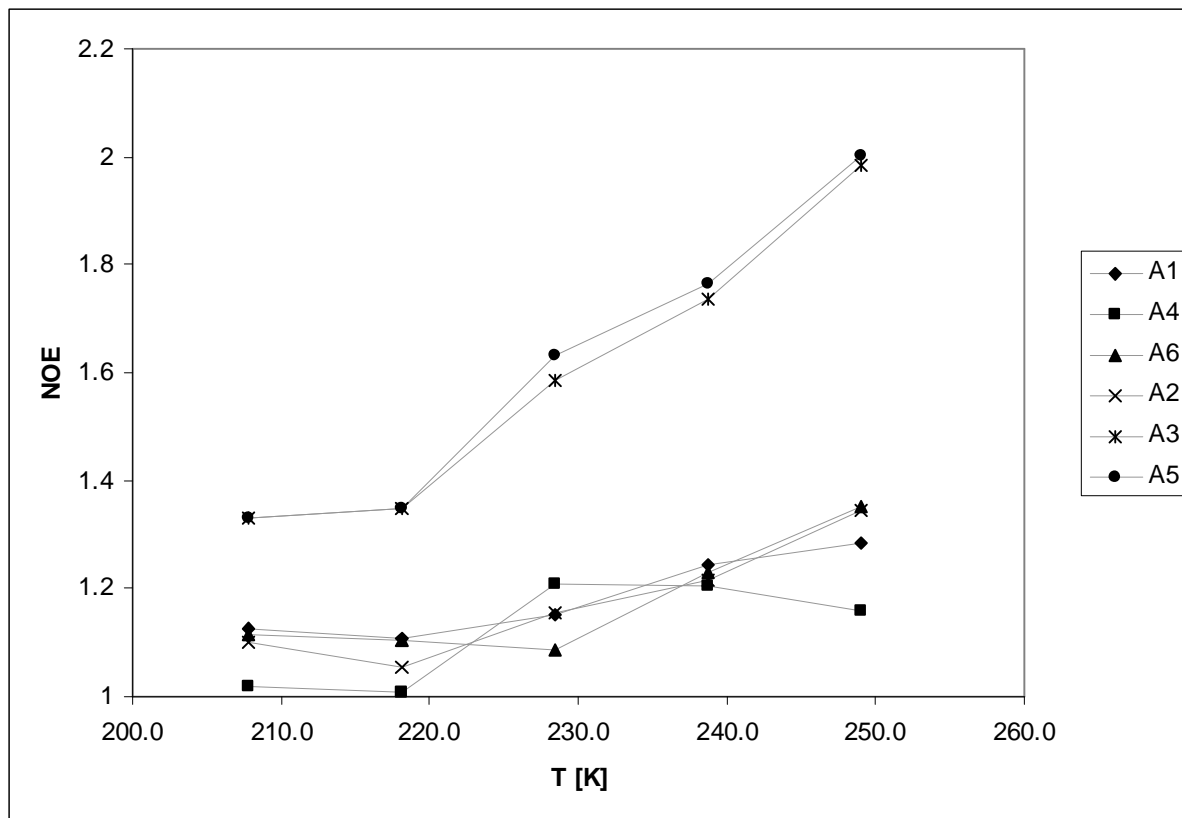
Parametr zpracování *LB* činil ve všech případech 8 Hz.

Tabulka 7. Jaderný Overhauserův jev

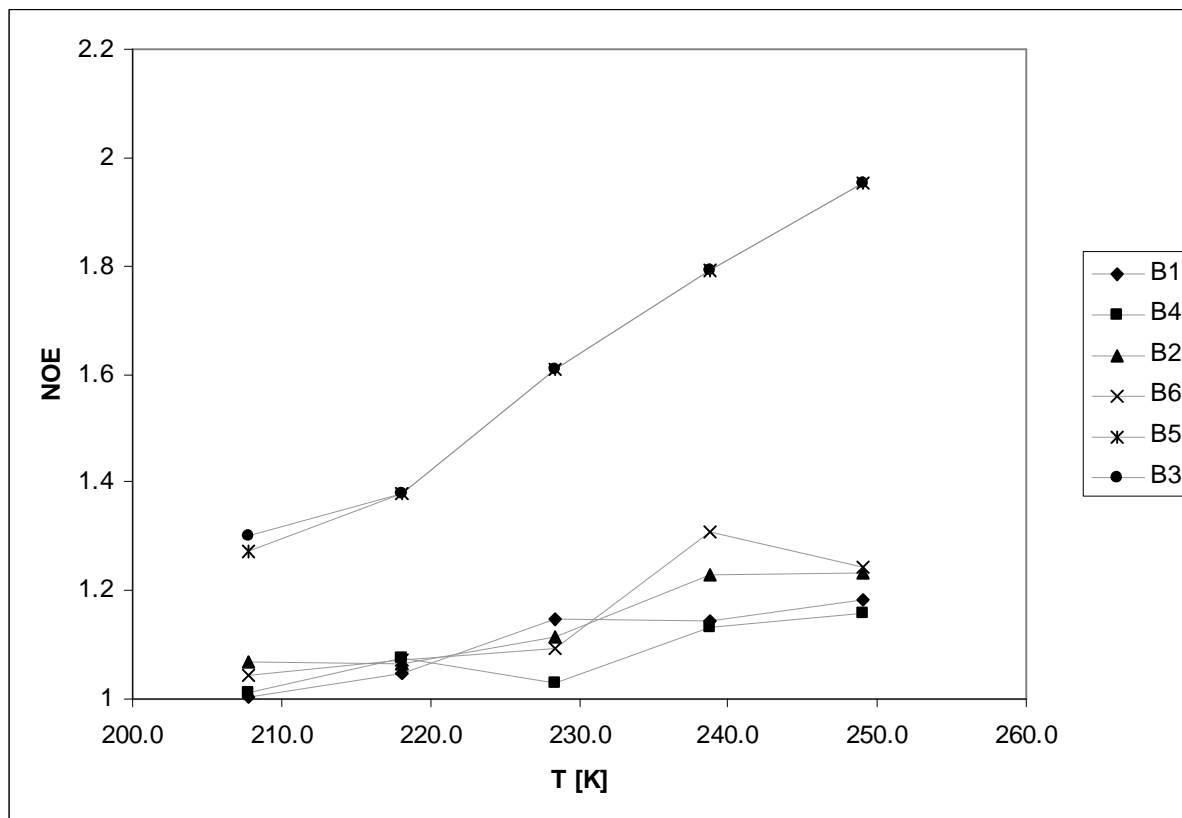
T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	<i>NOE</i>				
B1	1.004	1.045	1.145	1.143	1.184
A1	1.126	1.108	1.151	1.245	1.282
B4	1.009	1.075	1.030	1.131	1.159
A4	1.017	1.007	1.208	1.204	1.157
B2	1.069	1.064	1.114	1.230	1.232
B6	1.043	1.073	1.094	1.308	1.243
A6	1.115	1.106	1.085	1.230	1.354
A2	1.100	1.054	1.154	1.215	1.345
B5	1.272	1.381	1.609	1.793	1.954
B3	1.301				
A3	1.330	1.347	1.586	1.738	1.983
A5			1.633	1.764	2.001
B9	1.404	1.521	1.663	1.760	1.916
B7	1.750	1.715	1.928	1.901	2.110
A7	1.756		1.924	1.931	2.046
spAB	1.417	1.540	1.799	2.156	2.207
spAA				2.118	
A8	1.830	2.012	2.274	2.484	2.643
B8	1.844		2.266	2.465	2.618
spBB	1.332	1.528	1.626	2.130	2.081
B10	1.896	2.086	2.318	2.476	2.523
B11	2.455	2.634	2.832	2.687	2.772

Chyba *NOE* byla odhadnuta na 10 %.

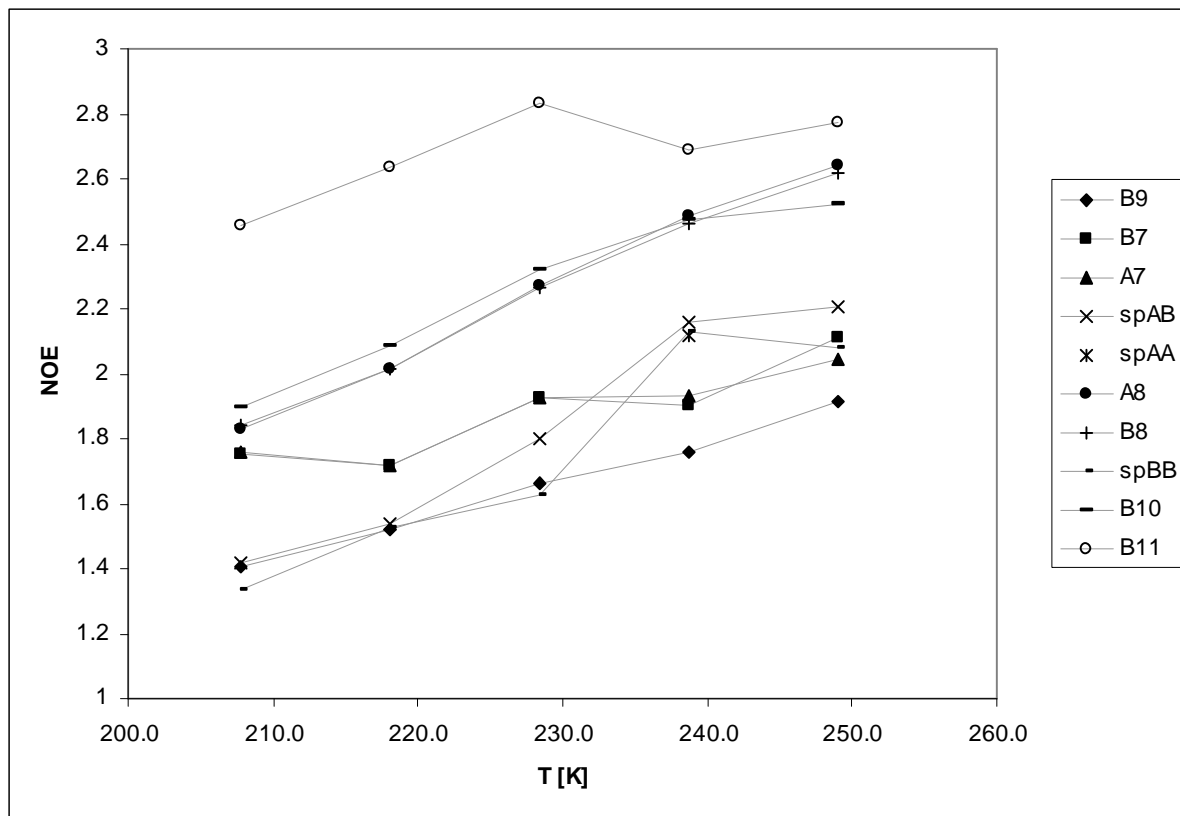
Graf 2 a) NOE uhlíků na hydroxylovaném kruhu A



Graf 2 b) NOE uhlíků na propylovaném kruhu B



Graf 2 c) NOE uhlíků mimo aromatické kruhy



Nejvyšší hodnotu NOE mají uhlíky s více než jedním navázaným vodíkem. U uhlíků B11, které mají tři vodíky, se NOE blíží nejvyšší možné hodnotě 3. Naopak nízkou hodnotu NOE mají uhlíky bez přímo vázaných vodíků.

9.3. PŘÍČNÁ RELAXAČNÍ DOBA

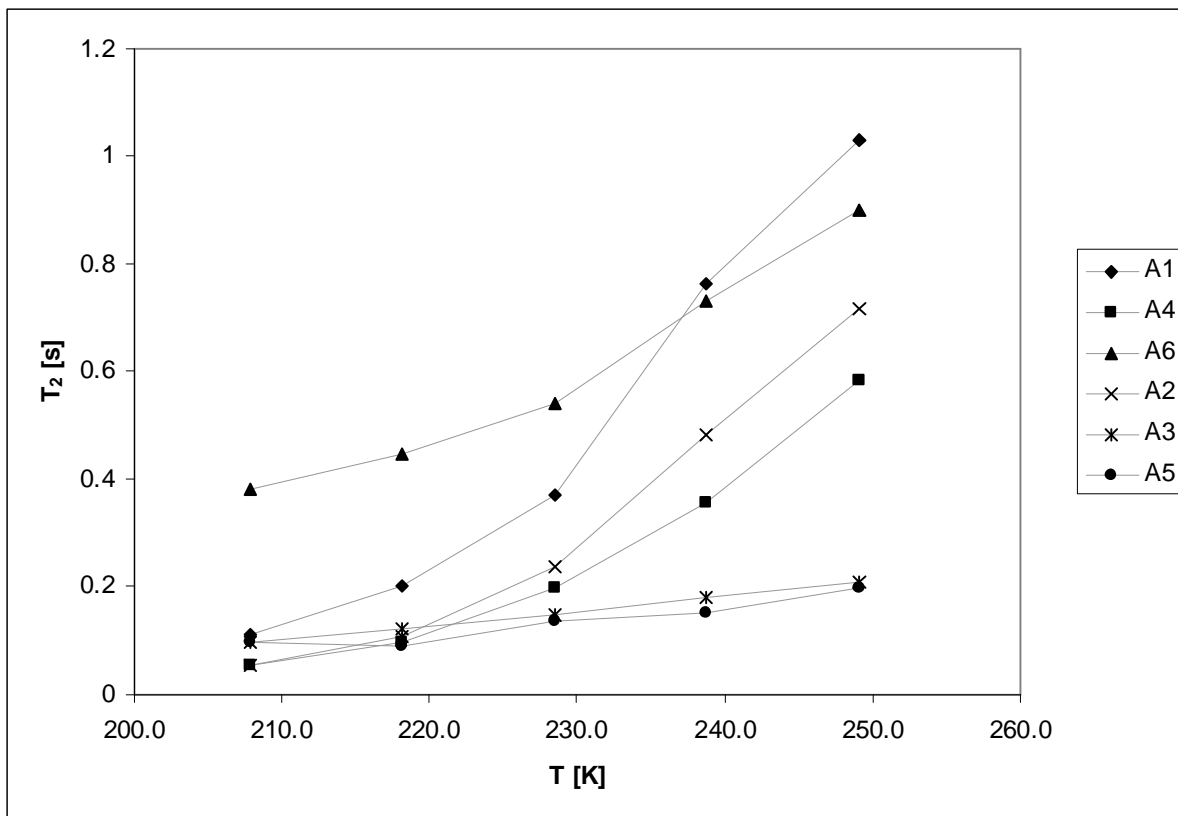
Parametr zpracování LB všech experimentů byl 5 Hz.

Tabulka 8. Příčné relaxační doby

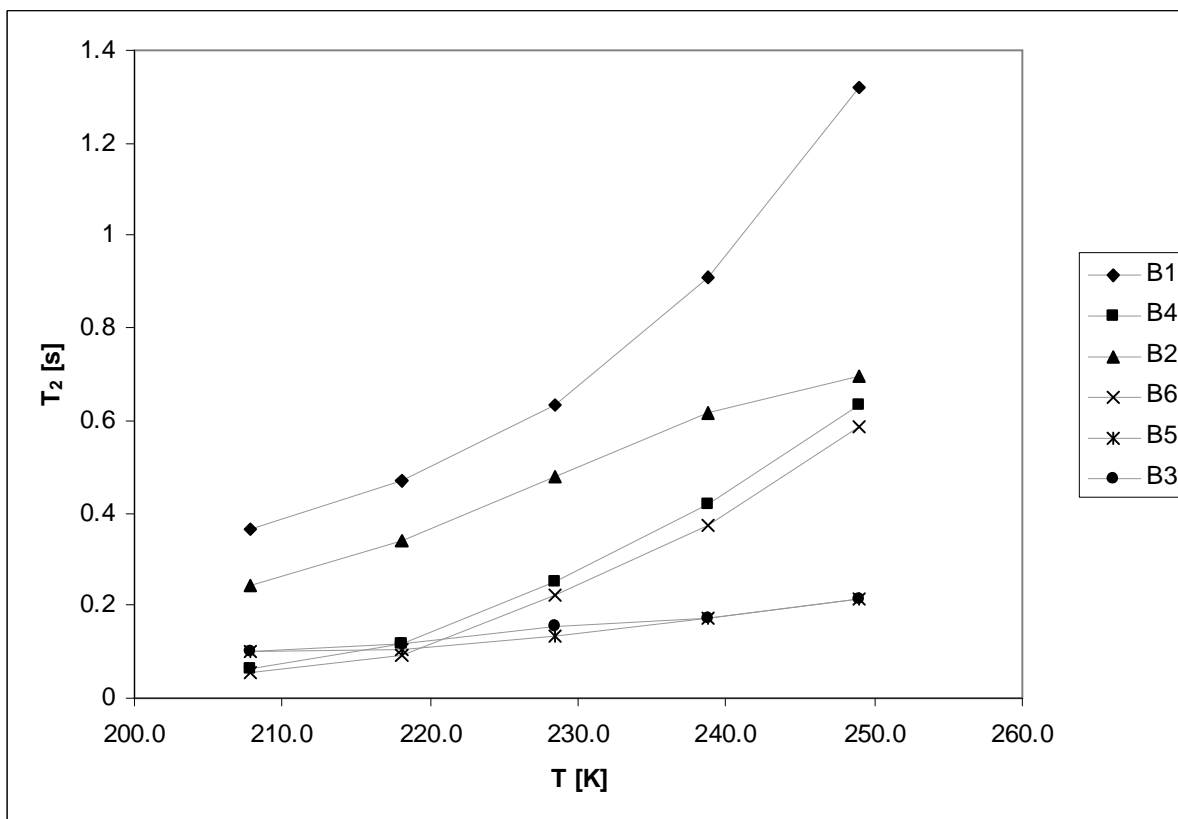
T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	T2 [s]				
B1	0.366	0.470	0.632	0.910	1.319
A1	0.111	0.201	0.371	0.763	1.031
B4	0.063	0.116	0.253	0.417	0.635
A4	0.054	0.097	0.197	0.357	0.584
B2	0.244	0.338	0.477	0.618	0.696
B6	0.055	0.093	0.221	0.374	0.589
A6	0.384	0.447	0.541	0.733	0.901
A2	0.055	0.106	0.238	0.481	0.717
B5	0.100	0.105	0.135	0.172	0.214
B3		0.119	0.153		
A3	0.097	0.122	0.149	0.178	0.208
A5		0.090	0.136	0.151	0.197
B9	0.103	0.141	0.160	0.209	0.271
B7	3.241	3.439	5.264	4.691	4.082
A7		3.893	5.200	4.820	5.131
spAB	0.073	0.048	0.097	0.103	0.118
spAA		0.084		0.088	
A8	0.157	0.174	0.201	0.229	0.283
B8		0.183	0.210	0.245	0.299
spBB		0.090		0.138	0.154
B10	0.154	0.198	0.220	0.319	0.391
B11	0.270	0.324	0.475	0.514	0.660

Chyba příčných relaxačních dob byla odhadnuta na 10 %. Tento odhad opět zahrnuje i případné systematické chyby.

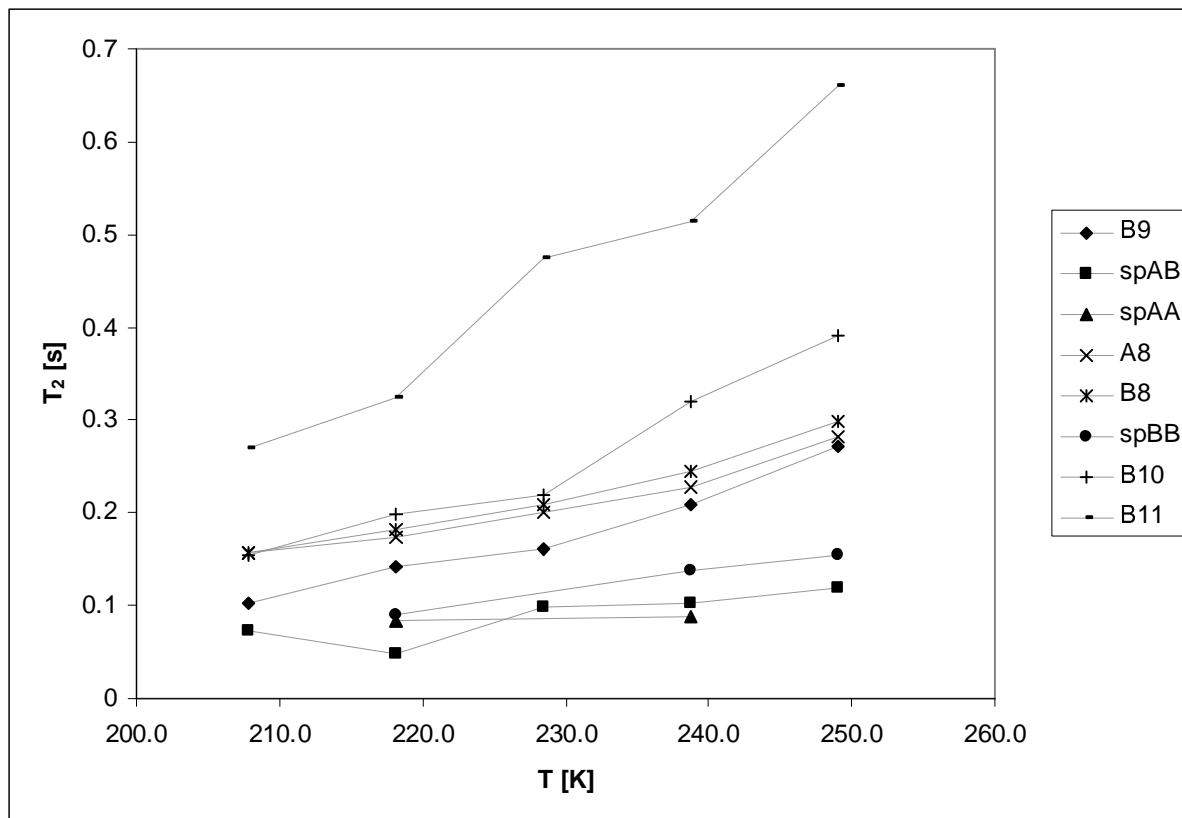
Graf 3 a) Příčné relaxační doby uhlíků na hydroxylovaném kruhu A



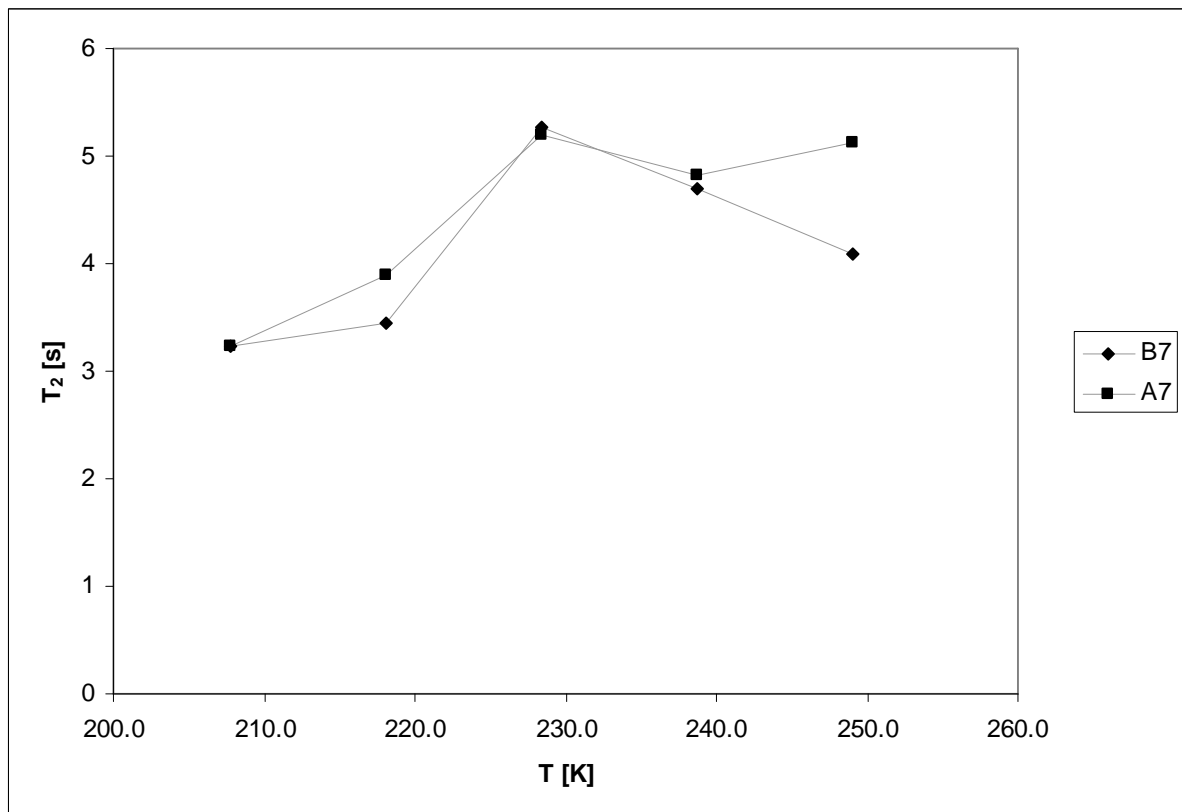
Graf 3 b) Příčné relaxační doby uhlíků na propylovaném kruhu B



Graf 3 c) Příčné relaxační doby uhlíků mimo aromatické kruhy (kromě A7, B7)



Graf 3 d) Příčné relaxační doby kvarterních uhlíků A7, B7



Nejrychleji opět relaxují uhlíky, které mají vlastní vodík a tedy účinný dipól-dipólový relaxační mechanismus.

U dvojic jader A2, A6 a B2, B6, jejichž podélné relaxační doby byly v rámci přesnosti měření shodné, jsou u příčné relaxace patrné rozdíly, způsobené různou velikostí příspěvku chemické výměny.

10. ZPRACOVÁNÍ EXPERIMENTŮ

10.1. STANOVENÍ KONSTANT DCC A CSA PRO VÝPOČTY

K relaxaci uhlíku, který má přímo vázaný proton, přispívá nejvíce dipól-dipólová interakce s tímto protonem. Vedle toho existuje malý příspěvek i od vzdálenějších jader vodíku. Tento příspěvek je nezanedbatelný zejména u uhlíků, které přímo vázaný vodík nemají a dominantní mechanismus jejich relaxace je anisotropie chemického posunu. Z tohoto důvodu byly k výpočtu dipól-dipólové interakční konstanty použity vždy všechny vodíky vzdálené od daného uhlíkového jádra ve vypočtené struktuře molekuly [8] méně než 4 Å, vliv vzdálenějších jader se považuje za zanedbatelný. U přímo vázaných vodíků byla vzdálenost opravena na 1.12 Å u aromatických uhlíků, 1.135 Å u uhlíků mimo aromatické kruhy, protože pro stanovení dipól-dipólové konstanty je potřebné vystředovat mezijadernou vzdálenost přes všechny obsazené vibrační stavy, nikoliv jen použít mezijadernou vzdálenost odpovídající základnímu stavu. Použité vzdálenosti se již dříve osvědčily při interpretaci uhlíkových relaxací v kalixarenech [21].

Vzdálenosti vzdálenějších vodíků od příslušného uhlíku byly získány z ab initio vypočítané struktury [8] - předpokládá se, že vliv vyšších vibračních stavů na výslednou hodnotu bude velmi malý.

Pro každý pár uhlík-vodík byla konstanta DCC vypočtena zvlášť podle vztahu 8. V rovnicích pro relaxace 22, 23 vystupuje konstanta DCC v kvadrátu, násobená počtem navázaných vodíků. Protože je tato konstanta pro každý vodík jiná, byla namísto toho ve výpočtech použita suma kvadrátů.

Příspěvky interakcí se vzdálenějšími vodíky jsou malé a uvedená oprava prvního řádu umožňuje jejich jednoduché efektivní zahrnutí.

Pro výpočty byly tedy použity vztahy

$$R_1^{DD} = \frac{1}{4} K [J(\omega_H - \omega_C) + 3J(\omega_C) + 6J(\omega_H + \omega_C)] \quad (41)$$

$$R_2^{DD} = \frac{1}{8} K [4J(0) + J(\omega_H - \omega_C) + 3J(\omega_C) + 6J(\omega_H) + 6J(\omega_H + \omega_C)]; \quad (42)$$

K označuje součet kvadrátů konstant DCC pro interakci se všemi vodíky v okolí daného uhlíkového atomu.

Pro uhlíky, které ve spektru tvoří jednu čáru, byl použit průměr takto získaných hodnot K .

CSA byly převzaty z výpočtu ab initio [8].

Tabulka 9. Použité kvadráty dipól–dipolových konstant K a efektivní anisotropie chemických posunů, CSA

Uhlík	$K/10^9$ [s ⁻²]	CSA [ppm]
B1	0.597	133
A1	1.01	145
B4	1.24	200
A4	1.24	189
B2	1.23	176
B6	1.24	177
A6	1.27	166
A2	1.28	164
B5	18.6	175
B3	18.6	176
A3	18.6	170
A5	18.6	170
B9	34.9	90
B7	3.11	14
A7	3.11	14
spAB	34.1	25
spAA	34.2	27
A8	51.2	44
B9	51.2	44
spBB	34.1	25
B10	35.6	25
B11	51.6	24

10.2. LIPARIHO-SZABÓŮV MODEL

K dalšímu zpracování hodnot T_1 a NOE byl použit Lipariho-Szabóův model. Tento model se hodí pro molekuly, které mají kromě isotropně rotující části (kalixarenový skelet) také části s vlastními, anisotropními pohyby (tert-butyly a propyly).

Z výpočtu pomocí Lipariho-Szabóova modelu byly získány globální korelační časy molekuly, parametry uspořádání a lokální korelační časy jednotlivých uhlíků a zejména jejich příčné relaxační rychlosti R_2^{DD+CSA} bez příspěvku chemické výměny.

Výpočty byly provedeny pro všechna jádra a relaxační parametry současně, pro každou teplotu zvlášť.

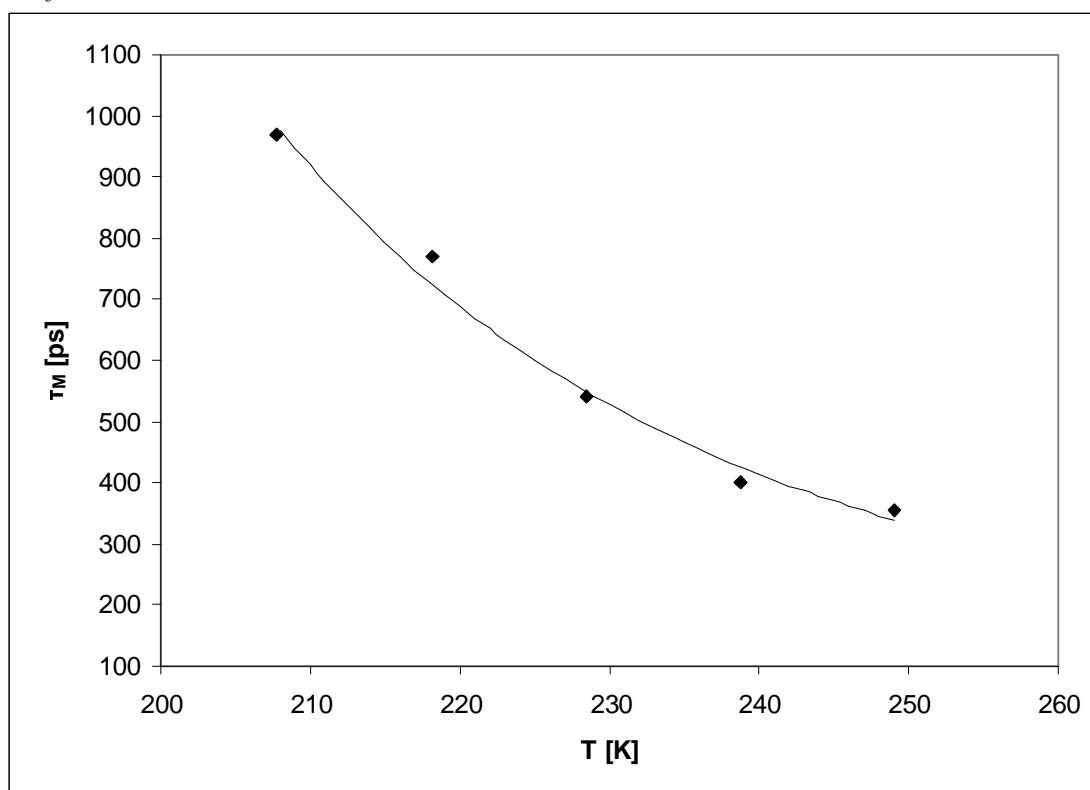
Chyby korelačních časů a parametrů uspořádání byly získány pomocí metody Monte Carlo. Z normálního rozdělení se středem v experimentální hodnotě a rozptylem daném chybou měření bylo náhodně vygenerováno vždy 50 nových souborů dat. Pro každý z nich byly vypočteny globální a lokální korelační časy a parametry uspořádání. Standardní odchylka takto vypočtených hodnot se bere za chybu výsledku.

Nafitované globální korelační časy shrnuje tabulka 10, teplotní závislost ukazuje graf 4.

Tabulka 10. Globální korelační časy

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
τ_M [ps]	970	770	540	402	355
chyba τ_M	60	40	40	16	18

Graf 4. Globální korelační čas



Globální korelační časy splňují teplotní závislost podle Arrheniovy rovnice (21). Z fitování teplotní závislosti touto rovnicí vyplývá:

$$\tau_0 = (1.6 \pm 0.5) \text{ ps},$$
$$E_A = (11.1 \pm 0.7) \text{ kJ/mol}.$$

Parametry uspořádání jednotlivých atomů a lokální korelační časy jejich pohybů shrnuje tabulka 11, resp. 12.

Tabulka 11. Parametry uspořádání

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	S^2				
B1	0.98 ± 0.04	1.00 ± 0.04	0.94 ± 0.07	1.00 ± 0.04	0.92 ± 0.09
A1	0.96 ± 0.05	0.83 ± 0.03	0.89 ± 0.06	0.90 ± 0.03	0.80 ± 0.08
B4	0.86 ± 0.04	0.96 ± 0.05	0.90 ± 0.04	0.92 ± 0.04	0.80 ± 0.05
A4	0.91 ± 0.05	0.89 ± 0.06	0.82 ± 0.07	0.89 ± 0.06	0.77 ± 0.05
B2	0.97 ± 0.04	0.97 ± 0.05	0.98 ± 0.05	0.95 ± 0.06	0.91 ± 0.07
B6	0.95 ± 0.05	0.89 ± 0.05	0.93 ± 0.06	0.93 ± 0.07	0.89 ± 0.05
A6	0.94 ± 0.03	0.95 ± 0.06	0.94 ± 0.04	0.94 ± 0.04	0.87 ± 0.08
A2	1.00 ± 0.02	0.95 ± 0.05	0.94 ± 0.06	0.97 ± 0.04	0.87 ± 0.06
B5	0.99 ± 0.04	0.94 ± 0.05	0.96 ± 0.04	0.99 ± 0.04	0.88 ± 0.07
B3	1.00 ± 0.03				
A3	0.98 ± 0.03	0.95 ± 0.06	1.00 ± 0.05	0.98 ± 0.06	0.88 ± 0.08
A5			0.99 ± 0.06	0.98 ± 0.05	0.88 ± 0.07
B9	0.53 ± 0.03	0.53 ± 0.04	0.53 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.44 ± 0.03
B7	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.03
A7	0.26 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.02
spAB	0.98 ± 0.04	0.87 ± 0.03	0.90 ± 0.03	1.00 ± 0.05	0.92 ± 0.06
spAA		0.94 ± 0.05	0.96 ± 0.07	0.94 ± 0.07	0.91 ± 0.07
A8	0.30 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.11 ± 0.05
B8	0.29 ± 0.04	0.15 ± 0.07	0.20 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.11 ± 0.02
spBB	0.84 ± 0.16	1.00 ± 0.04	0.96 ± 0.05	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.02
B10	0.33 ± 0.03	0.26 ± 0.04	0.20 ± 0.03	0.17 ± 0.05	0.16 ± 0.03
B11	0.07 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.02

S^2 blízké jedné značí, že daný atom má jen velmi omezenou možnost vnitřního pohybu v molekule. Vysoké hodnoty parametru uspořádání mají všechny uhlíky kalixarenového skeletu. Tento skelet je tedy poměrně tuhý, pokud jde o pohyby v časové škále ps – ns).

Oproti tomu nízké hodnoty znamenají více vnitřního pohybu v příslušné části molekuly. Ty jsou vidět u tert-butylů a propylů. B11, koncový uhlík propylového řetězce, má velmi nízký parametr uspořádání, což odpovídá tomu, že se pohybuje dosti volně.

Tabulka 12. Lokální korelační časy

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	τ_E [ps]				
B7	27 ± 8	15 ± 4	13 ± 7	0 ± 3	4 ± 6
A7	28 ± 6	13 ± 5	13 ± 5	0 ± 3	0 ± 5
A8	45 ± 9	49 ± 9	52 ± 8	50 ± 9	50 ± 11
B8	45 ± 13	72 ± 20	49 ± 11	47 ± 8	47 ± 7
B9	10 ± 11	13 ± 12	0 ± 9	0 ± 5	0 ± 7
B10	66 ± 10	68 ± 12	63 ± 8	54 ± 12	43 ± 11
B11	39 ± 4	37 ± 4	34 ± 4	21 ± 3	18 ± 3

Tabulka 12 ukazuje získané lokální časy pro uhlíky tert-butylových a propylových skupin. Přestože jejich hodnoty jsou zatíženy poměrně vysokými chybami, lze říci, že jejich hodnoty jsou v řádu desítek pikosekund a vesměs podle očekávání klesají s rostoucí teplotou.

U jader kalixarenového skeletu nemá lokální korelační čas smysl, protože parametr uspořádání S^2 se blíží jedné.

Příčné relaxační rychlosti odpovídající dipól-dopólové a CSA relaxaci bez působení chemické výměny shrnuje tabulka 13:

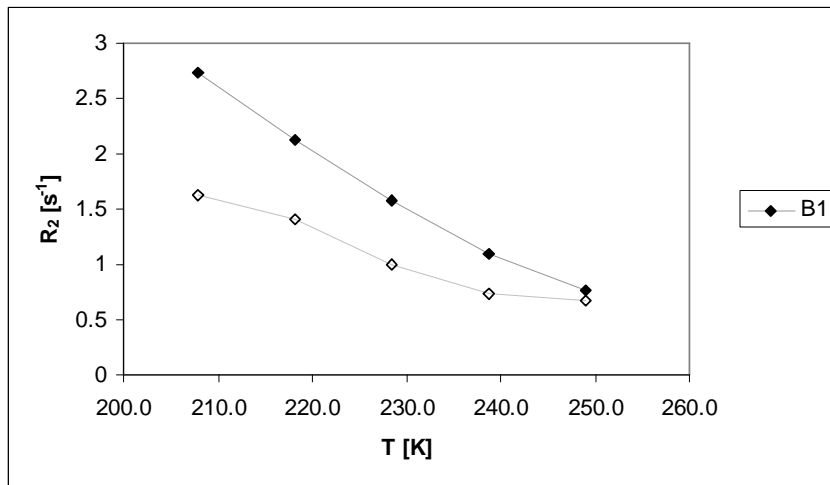
Tabulka 13. Nafitované hodnoty R_2^{DD+CSA}

T [K]	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	R_2^{DD+CSA} [s ⁻¹]				
B1	1.632	1.414	1.003	0.731	0.677
A1	1.869	1.469	1.183	0.845	0.742
B4	3.001	2.966	2.176	1.243	1.286
A4	2.899	2.402	2.086	1.243	1.158
B2	2.906	2.437	1.998	1.301	1.256
B6	2.874	2.365	1.793	1.339	1.263
A6	2.515	2.104	1.600	1.145	0.976
A2	2.598	2.081	1.480	1.145	0.956
B35	8.428	7.919	6.224	4.682	4.751
	8.610				
A3	8.144	7.570	6.538	4.619	4.587
A5			6.256	4.616	4.486
B9	6.841	5.889	4.831	3.623	3.513
B7	0.335	0.251	0.209	0.188	0.145
A7	0.356	0.251	0.188	0.187	0.151
spAB	10.856	9.997	7.980	7.440	7.110
spAA		10.359	9.101	6.924	7.229
A8	6.865	5.257	4.543	3.207	3.162
B8	6.338	5.375	4.229	3.140	3.073
spBB	8.717	9.955	9.276	7.912	7.211
B10	5.439	3.944	3.355	2.385	2.267
B11	3.100	2.429	1.910	1.167	1.158
chyba	0.18	0.23	0.17	0.16	0.16

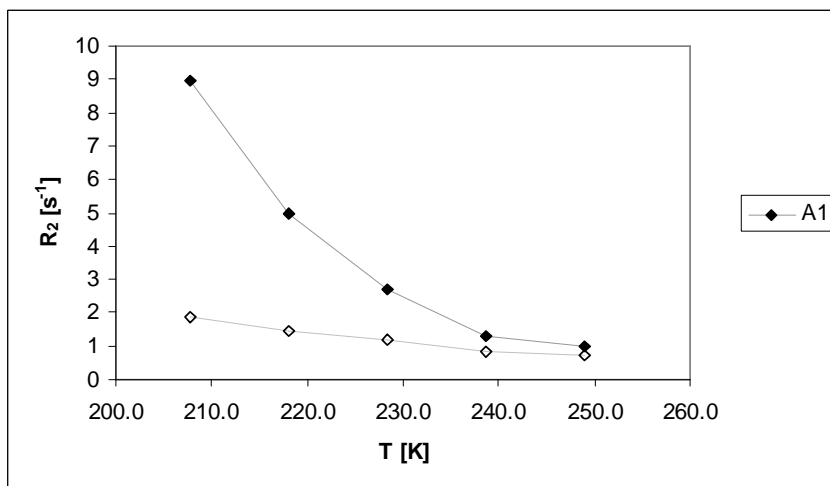
Chyba těchto hodnot (poslední řádek tabulky) byla odhadnuta pro každou teplotu zvlášť, ale pro všechna jádra současně, jako statistická odchylka fitu podélných relaxačních rychlostí (rozdíl naměřené a nafitované R_1).

Srovnání naměřených relaxačních rychlostí R_2 a vypočtených rychlostí R_2^{DD+CSA} bez příspěvku chemické výměny ukazuje následující graf.

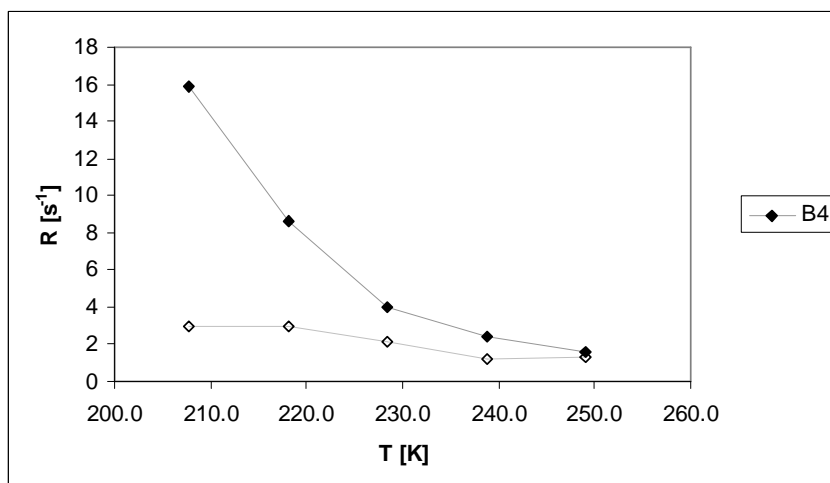
Graf 5 a) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jádra B1. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



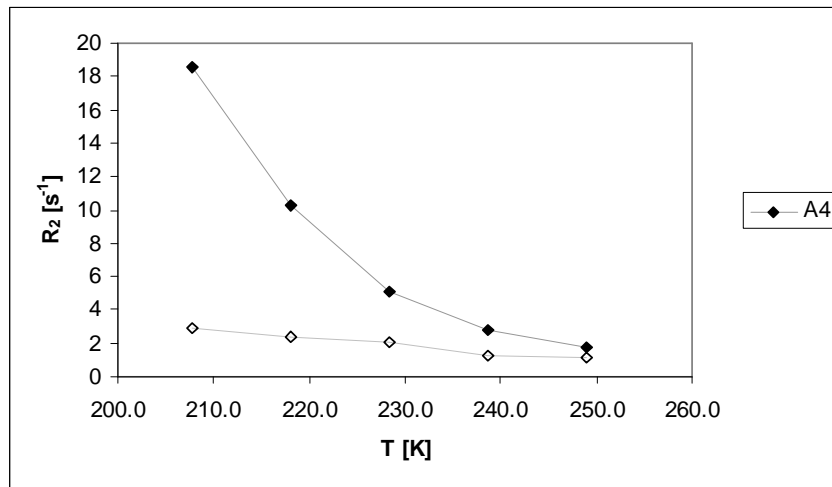
Graf 5 b) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jádra A1. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



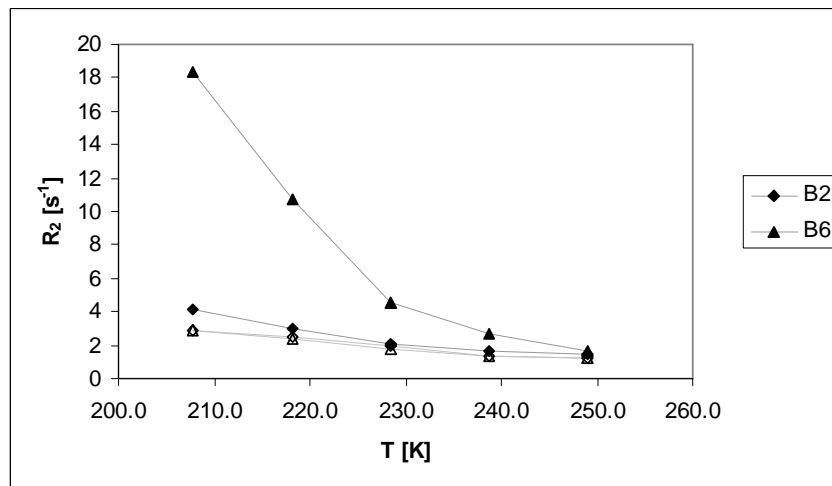
Graf 5 c) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jádra B4. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



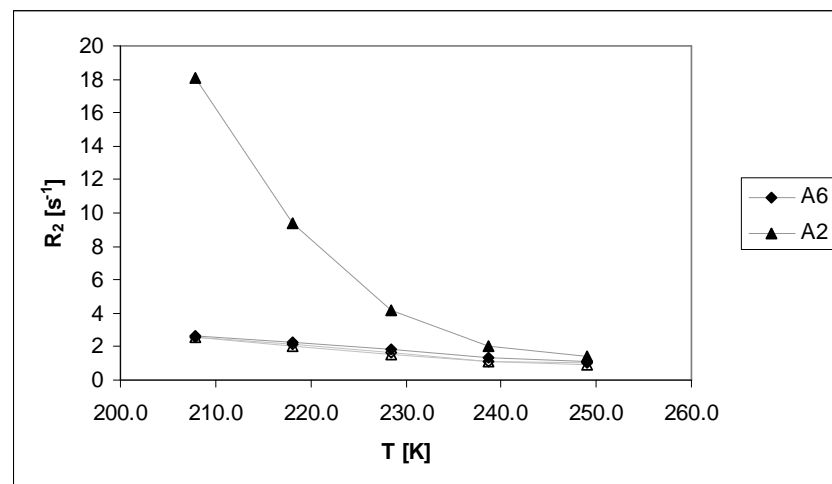
Graf 5 d) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jádra A4. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



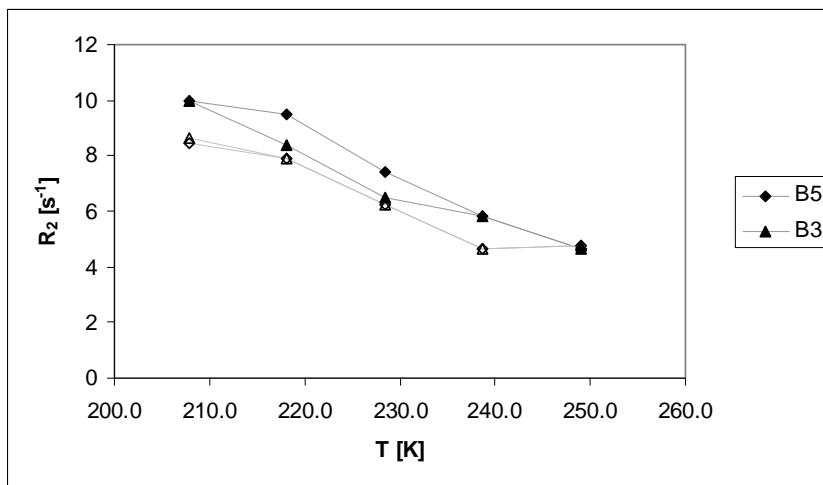
Graf 5 e) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader B2, B6. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



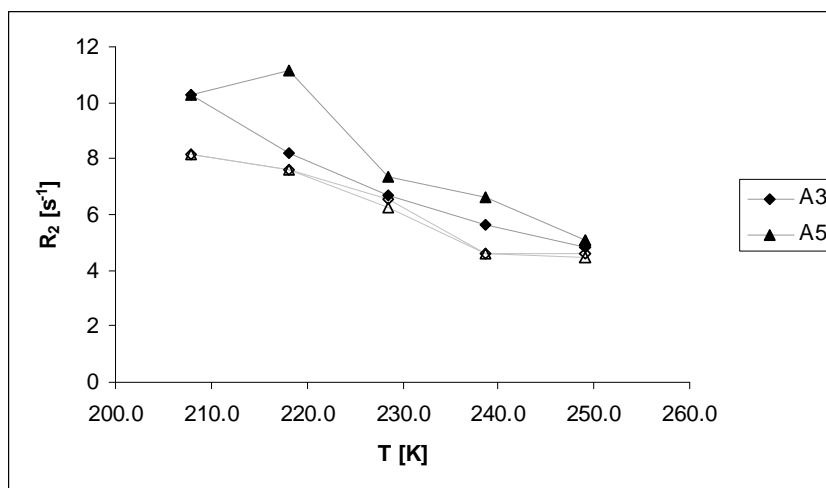
Graf 5 f) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader A6, A2. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



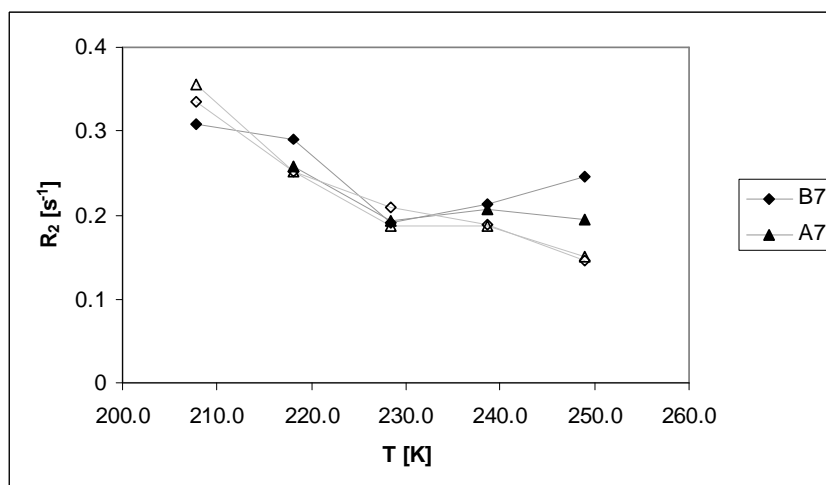
Graf 5 g) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader B5, B3. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



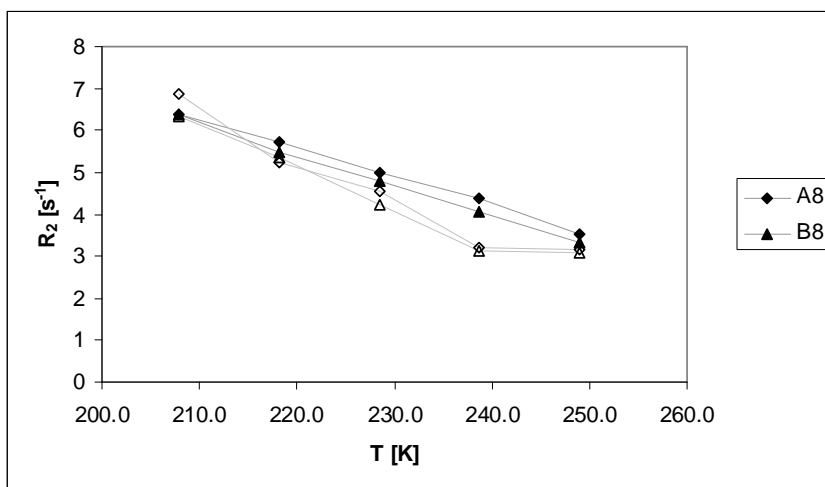
Graf 5 h) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader A3, A5. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



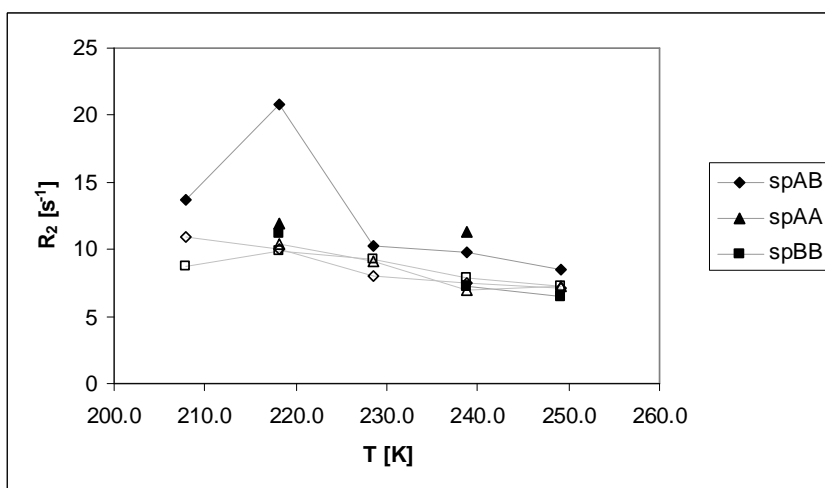
Graf 5 i) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader B7, A7. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



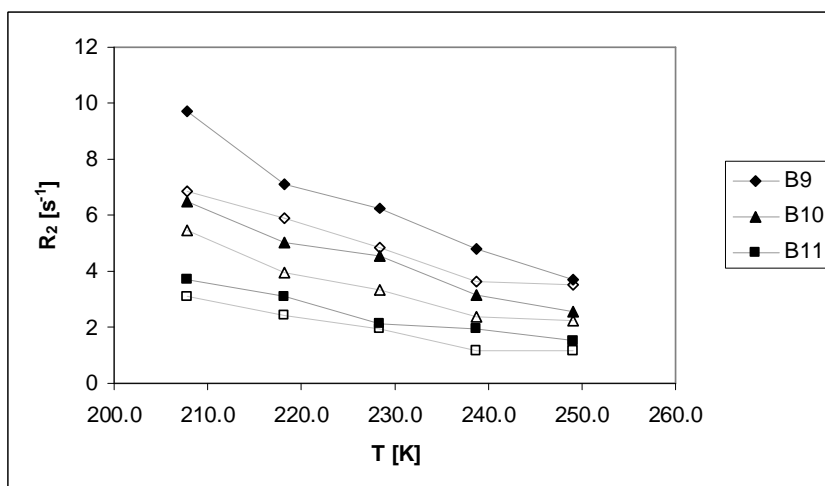
Graf 5 j) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader A8, B8 terciárních butylů. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



Graf 5 k) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader methylenových spojek. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



Graf 5 l) Srovnání relaxačních rychlostí R_2 a R_2^{DD+CSA} jader jader B9, B10, B11 propylové skupiny. Plnou značkou jsou zakresleny rychlosti R_2 , prázdnou R_2^{DD+CSA}



Relaxační rychlosti R_2^{ex} jsou tedy následující:

Tabulka 14. Příspěvek chemické výměny R_2^{ex} k celkové relaxační rychlosti

T	207.8	218.1	228.4	238.7	249.1
Uhlík	R_2^{ex} [s ⁻¹]				
B1	1.1 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.37 ± 0.20	0.08 ± 0.18
A1	7.1 ± 0.9	3.5 ± 0.5	1.5 ± 0.3	0.5 ± 0.2	0.23 ± 0.19
B4	12.8 ± 1.6	5.6 ± 0.9	1.8 ± 0.4	1.2 ± 0.3	0.3 ± 0.2
A4	15.6 ± 1.9	7.9 ± 1.1	3.0 ± 0.5	1.6 ± 0.3	0.6 ± 0.2
B2	1.2 ± 0.4	0.5 ± 0.4	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2
B6	15.4 ± 1.8	8.4 ± 1.1	2.7 ± 0.5	1.3 ± 0.3	0.4 ± 0.2
A6	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.3	0.2 ± 0.2	0.13 ± 0.19
A2	15.5 ± 1.8	7.3 ± 1.0	2.7 ± 0.5	0.9 ± 0.3	0.4 ± 0.2
B5	1.6 ± 1.0	1.6 ± 1.0	1.2 ± 0.8	1.1 ± 0.6	-0.1 ± 0.5
B3	1.4 ± 1.0	0.5 ± 0.9	0.3 ± 0.7	1.1 ± 0.6	-0.1 ± 0.5
A3	2.2 ± 1.0	0.6 ± 0.9	0.2 ± 0.7	1.0 ± 0.6	0.2 ± 0.5
A5	2.2 ± 1.0	3.6 ± 1.1	1.1 ± 0.8	2.0 ± 0.7	0.6 ± 0.5
B9	2.9 ± 1.0	1.2 ± 0.7	1.4 ± 0.6	1.2 ± 0.5	0.2 ± 0.4
B7	-0.03 ± 0.19	0.0 ± 0.2	-0.02 ± 0.18	0.03 ± 0.17	0.10 ± 0.16
A7	-0.05 ± 0.19	0.0 ± 0.2	0.00 ± 0.18	0.02 ± 0.17	0.04 ± 0.16
spAB	2.9 ± 1.4	11 ± 2	2.3 ± 1.0	2.3 ± 1.0	1.3 ± 0.9
spAA		1.6 ± 1.2		4.4 ± 1.1	
A8	-0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.6	0.4 ± 0.5	1.2 ± 0.5	0.4 ± 0.4
B8	0.0 ± 0.7	0.1 ± 0.6	0.5 ± 0.5	0.9 ± 0.4	0.3 ± 0.4
spBB		1.2 ± 1.1		-0.7 ± 0.7	-0.7 ± 0.7
B10	1.1 ± 0.7	1.1 ± 0.6	1.2 ± 0.5	0.8 ± 0.4	0.3 ± 0.3
B11	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.4	0.2 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.4 ± 0.2

Chyby byly určeny spojením chyb hodnot R_2 a R_2^{DD+CSA} jako odmocnina ze součtu kvadrátů chyb.

Velký příspěvek chemické výměny k relaxaci mají jádra A2, B6 a A1 v těsné blízkosti překlápějících se vodíkových vazeb. Trochu překvapivě nebyl zjištěn příspěvek chemické výměny u jádra A6, na kterém je tedy rozdíl resonančních frekvencí obou stavů patrně velmi malý.

Dalšími jádry, pro která je relaxační příspěvek R_2^{ex} vysoký, jsou uhliky horního okraje A4 a B4. Zde patrně hraje roli měnící se odklon aromatických kruhů podle toho, jak jsou na spodním okraji uchyceny vodíkovou vazbou.

11. VYHODNOCENÍ CHEMICKÝCH VÝMĚN

K vyhodnocení chemických výměn byly použity relaxace jader A1, B4, A4, B6 a A2, u kterých je příspěvek k relaxační rychlosti R_2^{ex} největší jak absolutně, tak relativně vůči celkové relaxační rychlosti R_2 .

Z naměřených intenzit v experimentech na chemické výměny by mělo být možné podle vztahu 35 určit čas chemické výměny τ_{ex} i rozdíl frekvencí $\Delta\omega$. Ukázalo se však, že výměny jsou natolik rychlé, že druhý člen v rovnici klesá k nule a vztah de facto přechází na vztah 36. Odtud nelze fitovat oba parametry současně, pouze součin $(\Delta\omega)^2\tau_{ex}$.

Eyringova rovnice po vyjádření rychlostní konstanty k podle vztahu 33 přejde na

$$\tau = \frac{1}{2} \frac{h}{k_B T} e^{\frac{\Delta H}{RT}} e^{-\frac{S}{R}}, \quad (43)$$

a tedy

$$R_2^{ex} = \frac{1}{8} \frac{h}{k_B T} (\Delta\omega)^2 e^{\frac{\Delta H}{RT}} e^{-\frac{S}{R}}. \quad (44)$$

Protože výrazy $(\Delta\omega)^2$ a $e^{-\frac{S}{R}}$ jsou jediné, kde vystupuje $\Delta\omega$, resp. S , a jsou v součinu, opět není možné zjistit obě veličiny. Co však je možné určit, je aktivační enthalpie ΔH .

Pro vybraná jádra byla fitována rovnice 44 pro všechna jádra a teploty současně. Výsledná aktivační enthalpie je

$$\Delta H = (36.7 \pm 1.0) \text{ kJ/mol.}$$

Předexponenciální faktory $(\Delta\omega)^2 e^{-\frac{S}{R}}$ pro jednotlivá jádra jsou:

Tabulka 15. Předexponenciální faktory $(\Delta\omega)^2 e^{-\frac{S}{R}}$

Uhlík	$(\Delta\omega)^2 e^{-\frac{S}{R}} \cdot 10^{-5} [\text{s}^{-2}]$
A1	1.9 ± 1.1
B4	2.6 ± 1.5
A4	4.5 ± 2.5
B6	4.0 ± 2.1
A2	3.6 ± 1.9

V těchto faktorech nelze jednoznačně odlišit vliv rozdílu frekvencí a entropie, proto není možné pro aktivační entropii, potažmo rychlost chemické výměny, učinit víc než hrubý, řádový odhad. Čas chemické výměny τ_{ex} je řádově menší než echočas experimentu; nejkratší echočas je 200 μs . Časy τ_{ex} se tedy pohybují v jednotkách, nanejvýš několika málo desítkách mikrosekund. Ze vztahu 36 plyne

$$(\Delta\omega)^2 = \frac{4R_2^{ex}}{\tau_{ex}} \approx \frac{4.15}{10^{-6}} s^{-2} \approx 10^7 s^{-2}$$

Pak výraz $e^{-\frac{s}{R}}$ má velikost řádově setin, což by znamenalo entropii v řádu desítek J/K.mol, ale kladnou. Tento odhad je ale velmi hrubý. Je možné, že entropie má velikost jen jednotek J/K.mol, může být i záporná.

Po zpracování experimentálních dat se ukázalo, že použitá metodika (metoda spinového echa s proměnným echočasem) byla na samé hraně použitelnosti, což znemožnilo přesné určení rychlostí procesu při jednotlivých teplotách. Tento problém je známý – procesy v časové škále v řádech mezi 100 ns - 10 μ s jsou pro NMR spektroskopii těžko dostupné. Teoreticky by pomohlo použití měřící sondy, která umožňuje aplikaci silnějšího radiofrekvenčního pole. To by umožnilo měření při echočasech kratších 200 μ s, což byl dolní limit pro tuto práci. Těž použití off-resonančního spin-locku a měření podélné relaxační doby v rotující vztažné soustavě ($T_{1\rho}$) by teoreticky mohlo umožnit stanovení takto vysokých rychlostí. Vzhledem k dostupné koncentraci vzorku a tedy citlivosti měření se použití této metody těž jeví jako problematické. Ani větší zpomalení procesu ochlazením nebylo možné, protože vzorek při teplotě asi 205 K zamrzl.

12. SROVNÁNÍ S KALIX[4]ARENEM

12.1. GEOMETRIE VODÍKOVÝCH VAZEB

Obě vodíkové vazby nejsou rovnocenné, jejich geometrie je tudíž odlišná. V tabulce jsou uvedeny parametry obou podle [8]. V dalších řádcích jsou pro srovnání uvedeny hodnoty pro další podobné látky převzaté z prací [6], [7].

Tabulka 16. Parametry geometrie vodíkových vazeb

Vazba na kyslík skupiny	vzdálenost O-O [Å]	úhel O-H-O
propoxy	2.655	175.2 °
hydroxy	2.693	162.8 °
Srovnání		
kalix[4]aren	2.749	152,1 °
thiikalix[4]aren	2.647	164,5 °

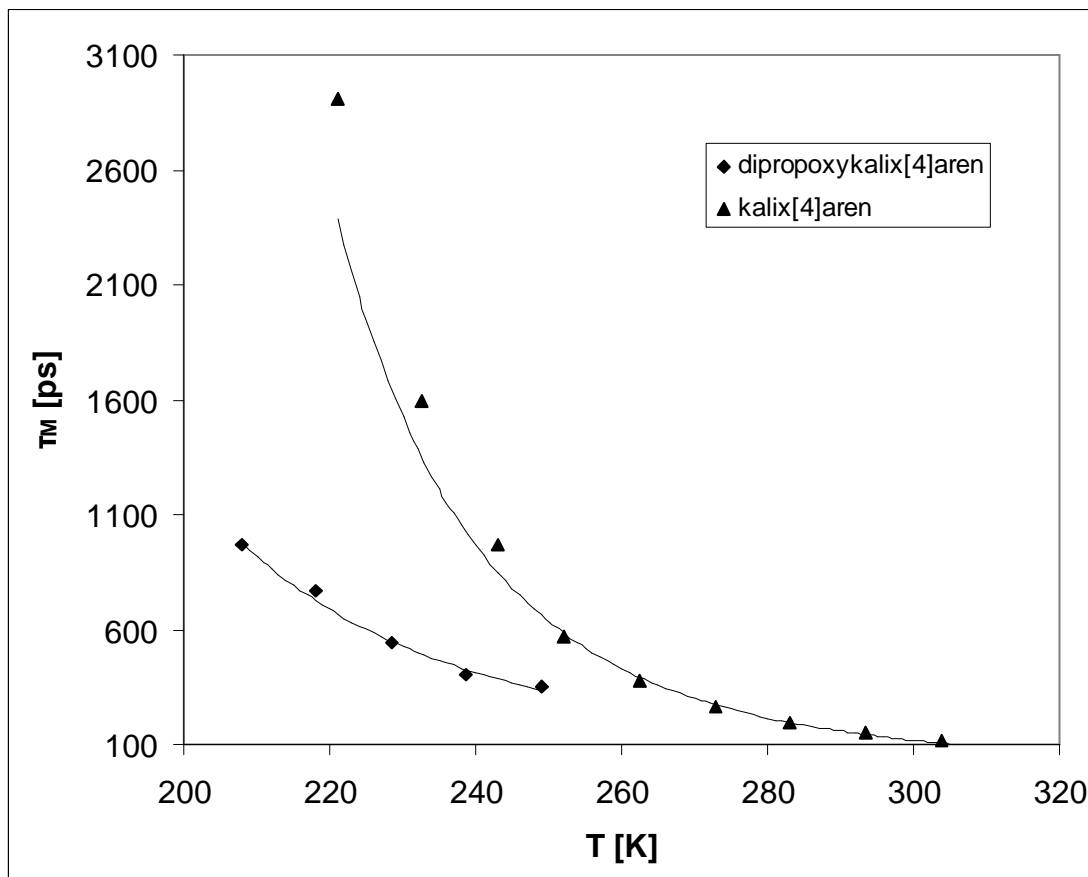
Protože vodíkové vazby jsou jen dvě, mají větší volnost v uspořádání do co nejvýhodnějšího geometrického tvaru než u kruhových řetězců. Proto mohou zaujmout uspořádání s výrazně přímějšími vazebnými úhly. (Příčina srovnatelně zvětšeného vazebného úhlu u thiikalixarenu je jiná.) To také umožňuje, aby vodíkové vazby byly silné - krátká vzdálenost mezi kyslíky, velký chemický posun.

Chemický posun společného signálu obou hydroxylových skupin, pohybující se v závislosti na teplotě mezi 9.1 a 9.5 ppm, je poměrně velký, vysokých hodnot kalix[4]arenu (10.2 ppm, [6]) ani thiikalix[4]arenu (9.6 ppm, [7]) ale nedosahuje.

12.2. KORELAČNÍ ČAS POHYBU MOLEKULY

Srovnání zjištěných rotačních korelačních časů s výsledky pro kalix[4]aren podle [6] ukazuje graf 6.

Graf 6. Srovnání rotačního korelačního času



Rotační korelační časy jsou výrazně kratší než u kalix[4]arenu, což je dáno tím, že v práci [6] bylo použito viskosnější rozpouštědlo, tetrachlorethan. Aktivační parametry rotačního pohybu podle Arrheniovy rovnice jsou pro kalix[4]aren v tetrachlorethanu

$$\tau_0 = (26 \pm 10) \text{ fs}$$

$$E_A = (21 \pm 1) \text{ kJ/mol [6],}$$

zatímco pro dipropoxykalix[4]aren v chloroformu

$$\tau_0 = (1.6 \pm 0.5) \text{ ps}$$

$$E_A = (11.1 \pm 0.7) \text{ kJ/mol.}$$

Rychlejší rotační pohyb u dipropoxykalix[4]arenu je důsledkem odlišných vlastností rozpouštědel, při použití stejného rozpouštědla by patrně byla rotace dipropoxykalix[4]arenu pomalejší kvůli velikosti molekuly.

12.3. PŘEKLÁPĚNÍ VODÍKOVÝCH VAZEB

Pokud jde o rychlost překlápění, ta je u lineárního pole dvou vazeb řádově vyšší než u cirkulárního pole čtveřice vodíkových vazeb. U kalix[4]arenu dochází k této výměně v řádu jednotek až desetin milisekund oproti přibližně mikrosekundám u dipropoxykalix[4]arenu. Příčinou rychlejšího pohybu je krátký, acyklický řetězec vazeb, a tedy menší kooperace.

Aktivační enthalpie převrácení řetězce vodíkových vazeb u dipropoxykalix[4]arenu

$$\Delta H = (36.7 \pm 1.0) \text{ kJ/mol}$$

je s hodnotou pro kalix[4]aren

$$\Delta H = (36.8 \pm 0.8) \text{ kJ/mol [6]}$$

takřka shodná, zatímco aktivační entropie je řádově menší nebo dokonce kladná ($\Delta S = (-35 \pm 3) \text{ J/K.mol}$ pro kalix[4]aren [6]). Aktivační energie ΔG je tak menší.

Hlavní rozdíl v aktivačních parametrech překlápění polí vodíkových vazeb mezi dipropoxykalix[4]arenem a kalix[4]arenem je tak v aktivační entropii. To může být způsobeno jinou symetrií tranzitního stavu či případnou interakcí s rozpouštědlem. Můžeme však i vyslovit hypotézu, že kooperativita vodíkových vazeb ovlivňuje především aktivační entropii, a to tak, že ji snižuje. Pro takový závěr by nicméně bylo potřeba poznat mikroskopický mechanismus překlápění pole vodíkových vazeb jak v kalix[4]arenu, tak v jeho dipropylovaném derivátu studovaném v této práci. Vzhledem ke krátké době života tranzitního stavu nemůže být více charakterizován NMR spektroskopii. Spíše by byly vhodné kvantově dynamické výpočty, které však v současné době na takto velkých molekulárních systémech patrně ještě nejsou možné.

ZÁVĚR

Pro 25,26-dipropoxy-5,11,17,23-tetra-tert-butylkalix[4]aren byly pro pět hodnot teploty v rozsahu 208 až 250 K změřeny podélné relaxační doby T_1 , příčné relaxační doby T_2 a navýšení signálu vlivem jaderného Overhauserova jevu při ozařování vodíků.

Pomocí Lipariho-Szabóova modelu byl stanoven globální korelační čas molekulárního rotačního pohybu v rozmezí 355 až 970 ps v závislosti na teplotě. Aktivační energie tohoto pohybu je (11.1 ± 0.7) kJ/mol. Byly zjištěny také parametry uspořádání příslušející jednotlivým atomům uhlíku a korelační časy lokálních pohybů částí molekuly.

Dále byly určeny příspěvky chemické výměny k příčným relaxačním rychlostem. Ty jsou signifikantní zejména u uhlíků 1, 2 a 4 hydroxylovaného kruhu a 4, 6 propylovaného kruhu (číslování podle obrázku 6). Chemickou výměnou je otočení směru řetězce dvou vodíkových vazeb na spodním okraji, doprovázené změnou odklonu jednotlivých aromatických kruhů. Korelační časy tohoto procesu jsou řádově v jednotkách či desítkách mikrosekund. Jejich přesné hodnoty pro jednotlivé teploty však nemohly být stanoveny, protože tento proces je příliš rychlý pro použitou metodiku spinového echa a technické možnosti použitého spektrometru. Byla nicméně určena aktivační enthalpie tohoto pohybu $\Delta H = (36.7 \pm 1.0)$ kJ/mol.

Tato hodnota je velmi blízká aktivační enthalpii v nesubstituovaném kalix[4]arenu [6], což implikuje, že výrazné snížení aktivační volné energie (odrážející výrazné zrychlení procesu) musí být způsobeno výrazným zvýšením aktivační entropie.

Metodami NMR spektroskopie vysokého rozlišení tak byly prozkoumány tři druhy pohybu molekuly – globální rotace, lokální pohyblivost molekulárních skupin a překlápění vodíkových vazeb.

LITERATURA

- [1] R. J. Bernardino, B. J. Costa Cabral: *J. Phys. Chem. A* 2000, 103, 9080-9085.
- [2] M. Čajan,; ab initio výpočet; 2000
- [3] C. D. Gutsche: Calixarenes. Monographs in Supramolecular Chemistry. J. F. Stoddart (ed.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge (1989).
- [4] R. G. Janssen, J. P. M van Duynhoven, W. Verboom, G. J. van Hummel; D. N. Reinhoudt: *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 118, 3666-3675.
- [5] G. A. Jeffrey, W. Saenger: *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer: Berlin (1991).
- [6] V. Deckerová: Bakalářská práce, Univerzita Karlova Praha (2004).
- [7] K. Šetková: Diplomová práce, Univerzita Karlova Praha (2005).
- [8] J. Czernek: nepublikované výsledky (2007).
- [9] F. Bloch: Nuclear Induction, *Phys. Rev.* 1946, 70, 460-474.
- [10] H. Günther: *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, John Wiley and Sons, Chichester (1995).
- [11] M. H. Levitt: *Spin Dynamics*, John Wiley and Sons, Chichester (2001).
- [12] D. A. McQuarrie, J. D. Simon: *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, University Science Books, Sausalito (1997).
- [13] D. Canet: *Nuclear Magnetic Resonance: Concepts and Methods*, John Wiley and Sons, Chichester (1996).
- [14] G. Lipari, A. Szabo: Model-Free Approach to the Interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 1. Theory and Range of Validity, *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104, 4546-4559.
- [15] J. K. M. Sanders, K. B. Hunter: *Modern NMR spectroscopy*, Oxford University Press: Oxford (1994).
- [16] P. J. Hore: *Nuclear Magnetic Resonance*, Oxford University Press: Oxford (1995).
- [17] J. Lang, V. Deckerová, J. Czernek, P. Lhoták: *J. Chem. Phys.* 2005, 122, 044506.
- [18] H. Eyring, D. Henderson, S. B. Jones, E. M. Eyring: *Statistical mechanics and dynamics*; John Willey and Sons: New York (1982).
- [19] D. Canet, G. C. Levy, I. R. Peat: *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 18, 199-204.
- [20] L. E. Kay, L. K. Nicholson, F. Delaglio; A. Bax, D. A. Torchia: *J. Magn. Reson.* 1992, 97, 359.
- [21] J. Lang, Z. Tošner, P. Lhoták, J. Kowalewski: *Magn. Reson. Chem.* 2003, 41, 819.