

ESPERIMENTI IN DOPPIA RISONANZA

1.NOE

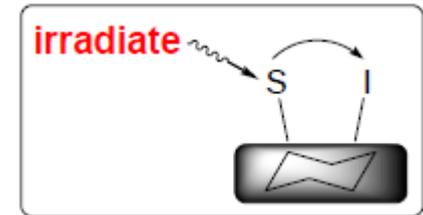
1.DISACCOPPIAMENTO DI SPIN

RILASSAMENTO DIPOLARE

- Interazione DIRETTA fra nuclei vicini nello spazio.
- Dovuto ai moti molecolari che generano CM fluttuanti con componenti di frequenza uguali a quelle delle transizioni
- Non produce splitting di segnale in quanto mediato a zero dai moti molecolari
- Perturba la distribuzione della popolazione degli stati di spin
- Contributo maggiore al rilassamento longitudinale (T1)
- Dipende dalla distanza secondo un fattore $1/r^6$

NOE: NUCLEAR OVERHAUSER ENHANCEMENT

Variazione (aumento o diminuzione) di intensità del segnale di un nucleo I quando le transizioni di spin di un altro nucleo S vicino nello spazio (cioè in accoppiamento dipolare) vengono perturbate rispetto alla situazione di equilibrio dall'irraggiamento alla sua frequenza di risonanza



$$\eta_I(S) = \frac{I - I_0}{I_0} \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \cdot 100 (\%)$$

S nucleo irraggiato (S = saturated)
I nucleo osservato (I = interesting)

$\eta_I(S)$ può essere negativo o positivo a seconda del segno relativo di γ_S e γ_I
e a seconda dei moti molecolari

E' un effetto che :

Si trasmette attraverso lo spazio (indipendente dall'accoppiamento scalare)

Dipende dalla distanza (fino a 5Å)

Dipende da tempo

Correlato ai meccanismi di rilassamento

NOE: NUCLEAR OVERHAUSER ENHANCEMENT

Variazione (aumento o diminuzione) di intensità del segnale di un nucleo I quando le transizioni di spin di un altro nucleo S vicino nello spazio (cioè in accoppiamento dipolare) vengono perturbate rispetto alla situazione di equilibrio dall'irraggiamento alla sua frequenza di risonanza

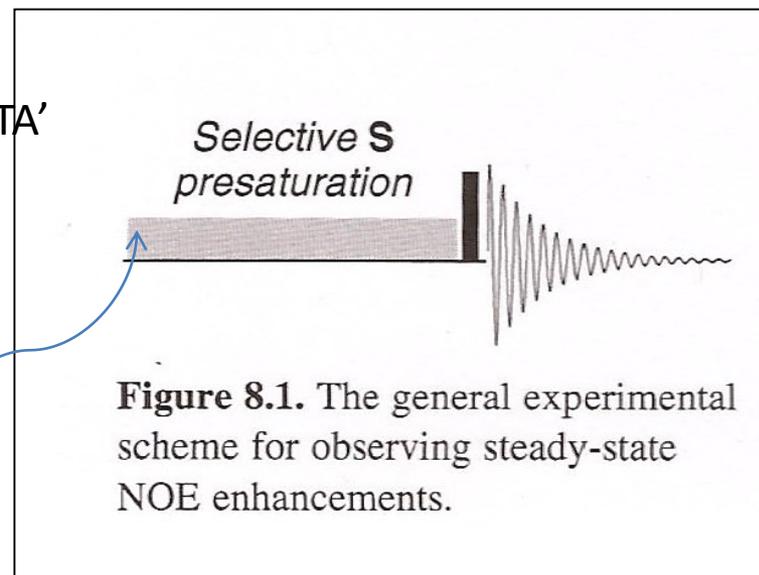
$$\eta_I(S) = \frac{I - I_0}{I_0} \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \cdot 100 (\%)$$

S nucleo irraggiato (S = saturated)
I nucleo osservato (I = interesting)

APPLICAZIONI

- OMONUCLEARE $^1\text{H} - ^1\text{H}$: STUDI STEREOCHIMICI
- ETERONUCLEARE $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$: AUMENTO DELLA SENSIBILITA'

Lo strumento che applica la frequenza ν_S si chiama disaccoppiatore

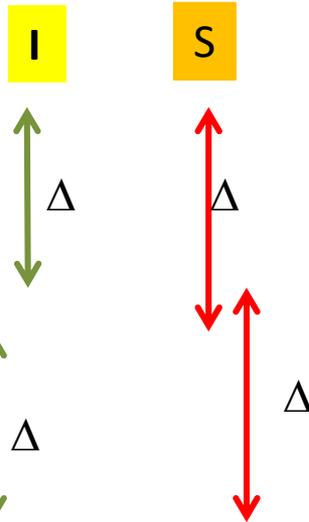
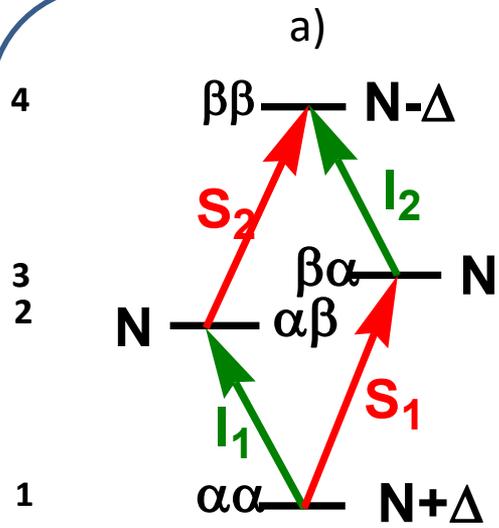


E' evidente che la saturazione del nucleo S induce una redistribuzione delle popolazioni di spin delle transizioni del nucleo I

Confrontiamo le situazioni che si verificano all'applicazione della frequenza del nucleo S

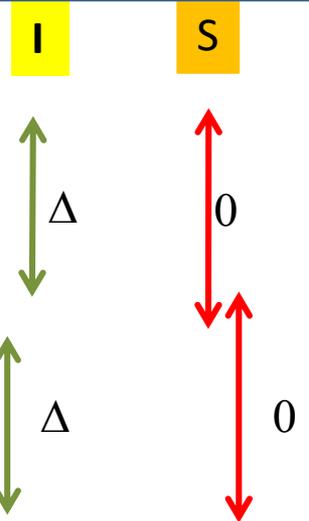
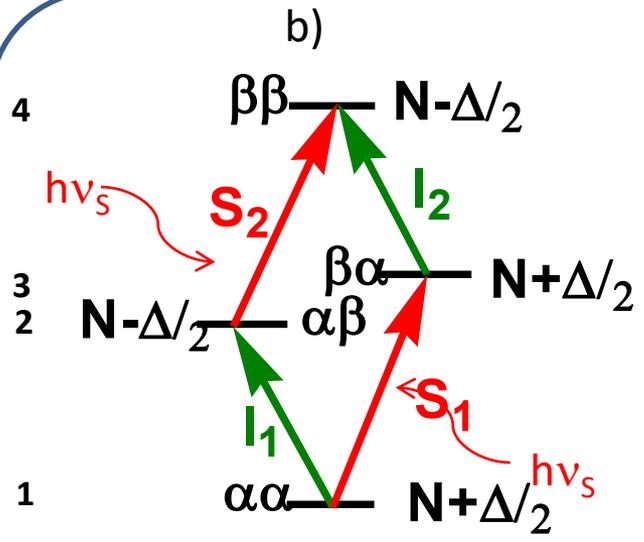
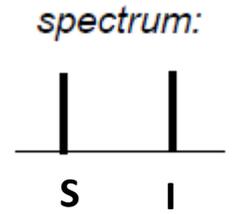
- a. Prima di accendere il disaccoppiatore (equilibrio)**
- b. Immediatamente dopo l'applicazione della frequenza ν_S**
- c. Un intervallo di tempo dopo l'applicazione dell'impulso ν_S (risposta del sistema)**

Differenze di popolazione

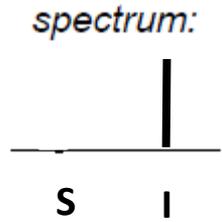


I ed S non accoppiate scalarmente
Popolazione totale = $4N$

a) Equilibrio (Boltzmann)

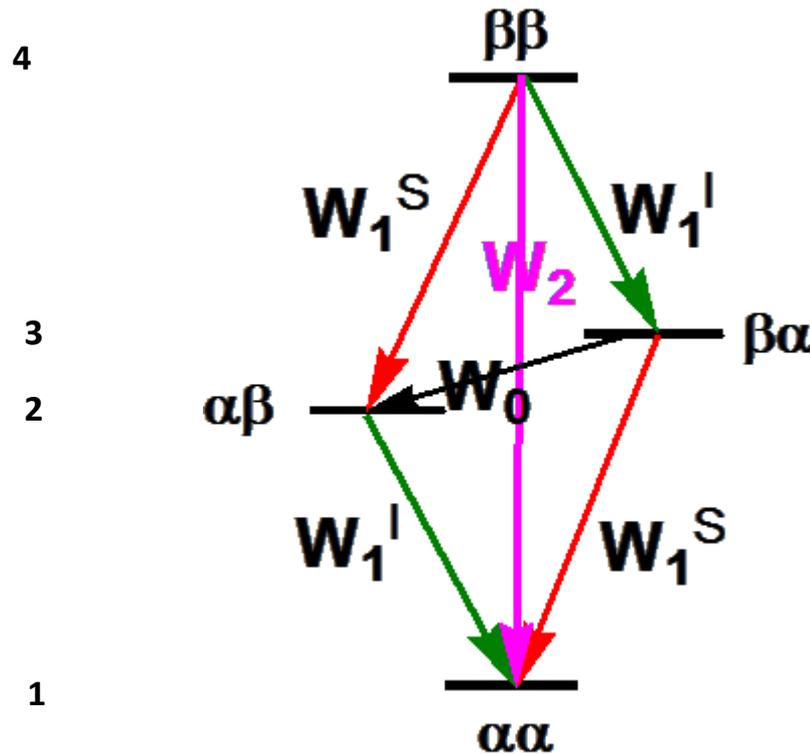


b) Appena acceso il disaccoppiatore



Pathways di rilassamento

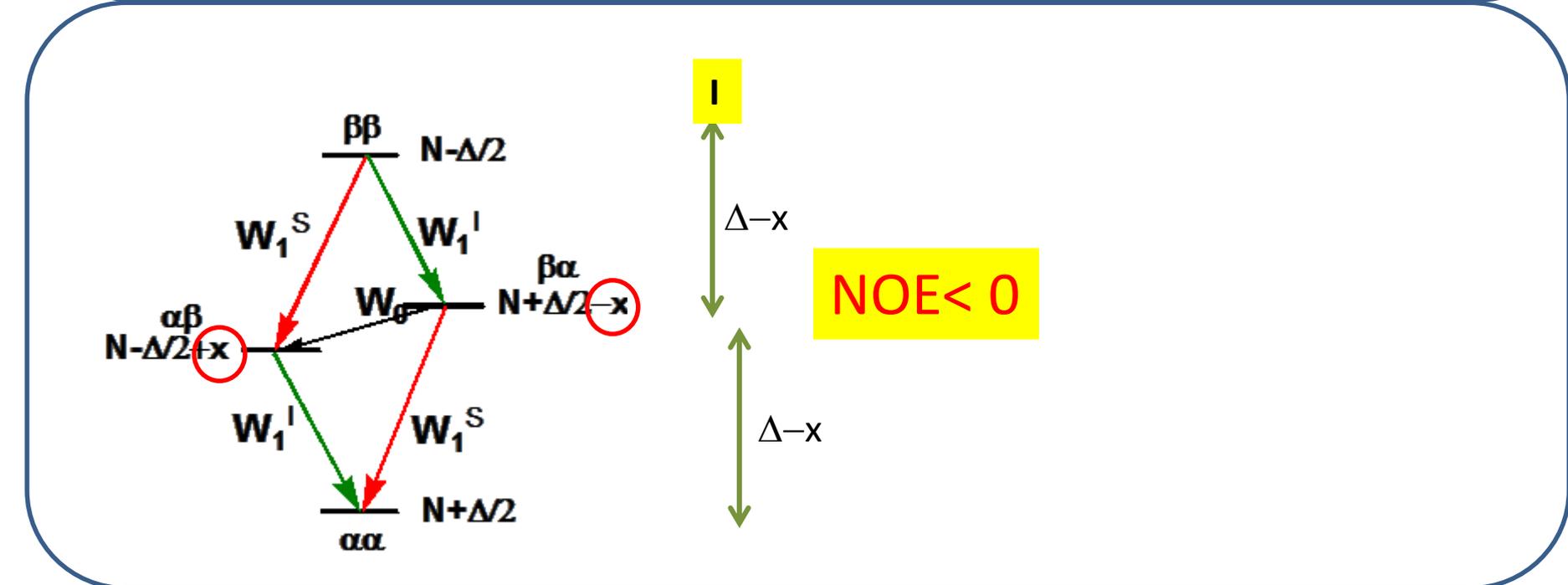
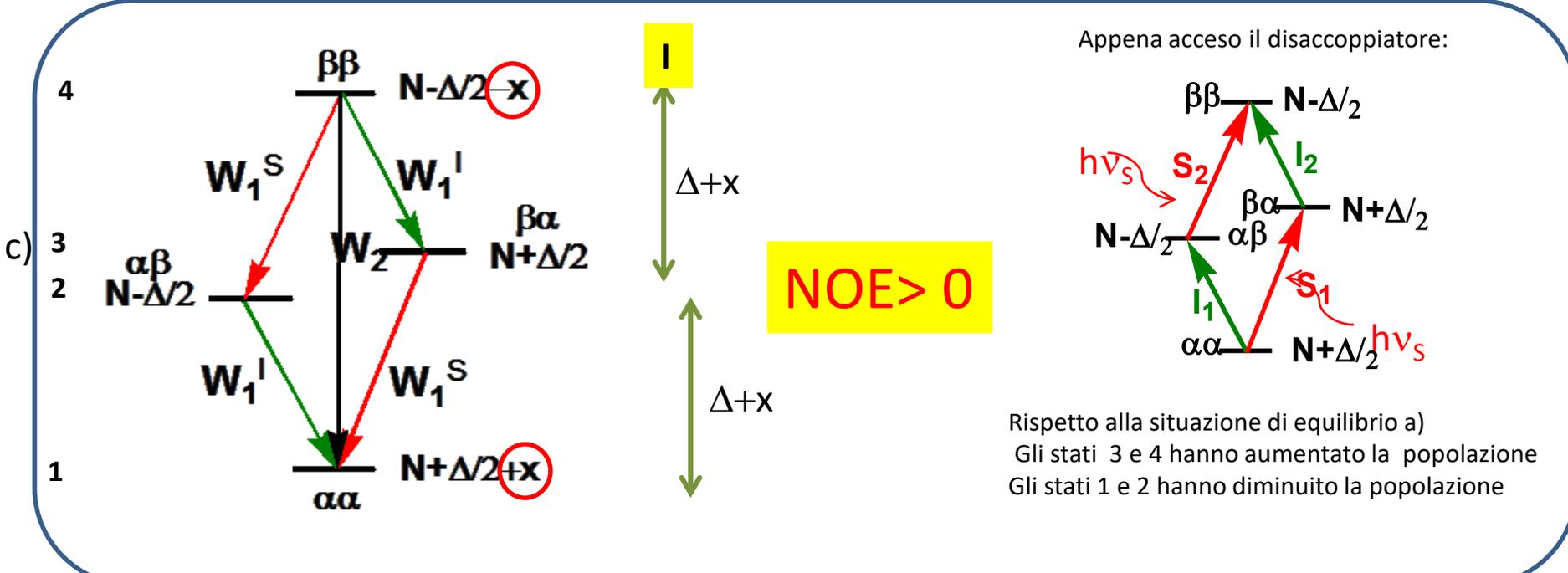
W indica la probabilità della transizione
e in ultima analisi la velocità

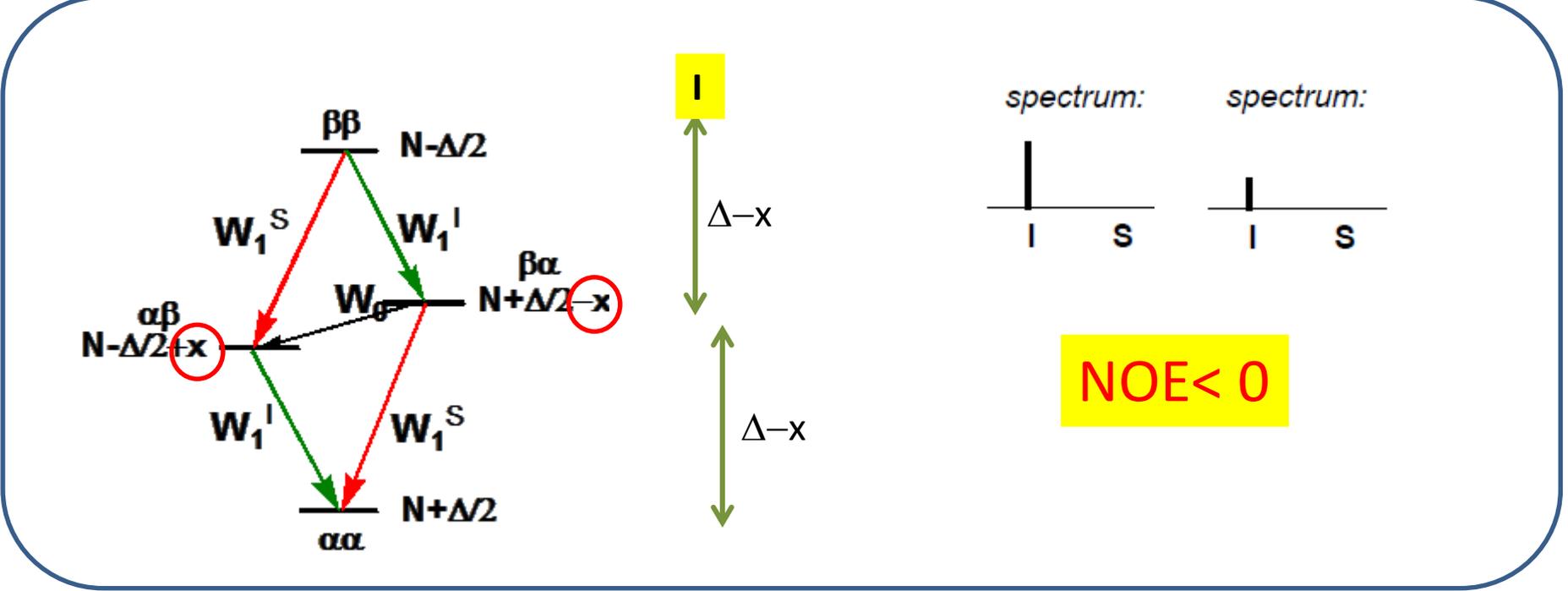
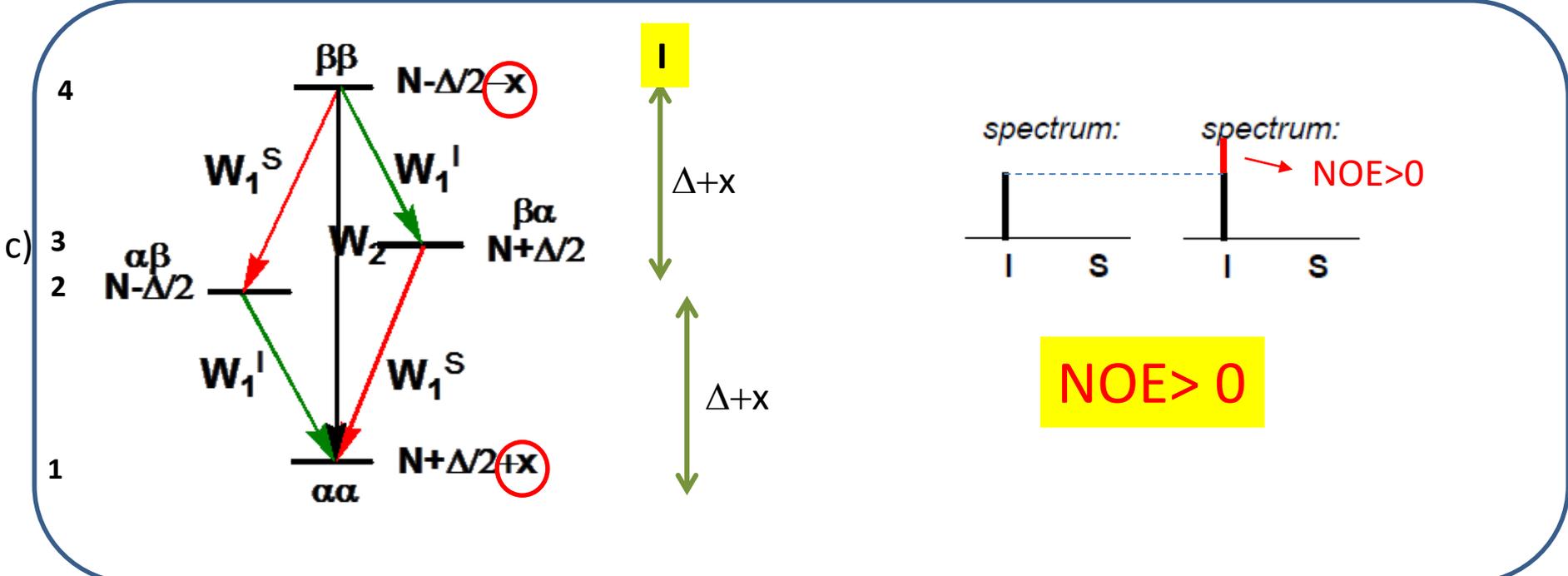


Le transizioni W_1^S
restano saturate
durante tutto l'esperimento

W_1^I $\Delta m = 1$ contribuiscono al segnale NMR, tendono a far restare la differenza di popolazione fra gli stati di I pari a Δ
 W_1^S $\Delta m = 1$ si oppongono al NOE, tendono a rimuovere la saturazione

W_0 $\Delta m = 0$ } Contribuiscono all'effetto NOE (Rilassamento dipolare che coinvolge
 W_2 $\Delta m = 2$ } nuclei vicini nello spazio S e I)





MOTI MOLECOLARI

τ_c = tempo di correlazione (sec)

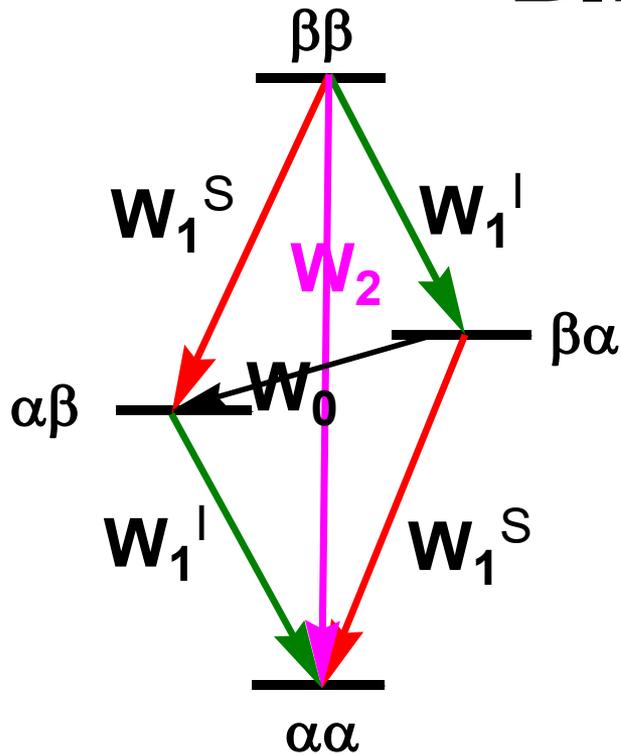
Intervallo di tempo in cui la molecola ruota di 1rad intorno a un suo qualunque asse

$$\tau_c \approx MW \times 10^{-12} \quad (\text{Approssimato})$$

Inoltre: $\tau_c \approx kT_1^{-1}$

Movimenti rapidi (ad alta frequenza)
corrispondono a rilassamenti lenti e viceversa

BILANCIO W_1 , W_2 , W_0



Es. 400MHz

$W_1^I (W_1^S) \approx 400\text{MHz}$

$W_2 \approx 800\text{ MHz}$ (somma delle transizioni di I ed S)

$W_0 \approx \text{Hz o KHz}$ (differenza di chemical shift fra S e I)

- W_2 predominano con molecole piccole in liquidi non viscosi (piccoli τ_c) $\text{NOE} > 0$
- W_0 predomina in macromolecole o in liquidi viscosi (grandi τ_c) $\text{NOE} < 0$

STEADY STATE NOE

Tempo di saturazione lungo rispetto al tempo di rilassamento.

Si raggiunge uno stato stazionario nella distribuzione di popolazione

$$\eta_I (S) = \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \frac{W_2 - W_0}{2W_1^I + W_0 + W_2}$$

Relazione di Solomon.

Vale per nuclei in accoppiamento esclusivamente dipolare

Il bilancio $W_2 - W_0$ dipende dal meccanismo di rilassamento e questo è connesso con i MOTI MOLECOLARI

FATTORI DI INNALZAMENTO

$$\eta_I (S) = \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \frac{W_2 - W_0}{2W_1^I + W_0 + W_2}$$

1. $W_2 \gg W_0$ MASSIMO NOE POSITIVO (FAST MOTION)

$$\eta_I (S) = \frac{\gamma_S}{2\gamma_I}$$

Condizioni «ideali»:
Solo rilassamento DD,
Molecole piccole
Liquido non viscoso

$$W_2 \gg W_0 \\ 2W_1^I \approx W_2$$

NOE omonucleare: max 50%

NOE eteronucleare $^{13}\text{C}/\text{H}$ max 200% perché $\gamma_S = 4\gamma_I$

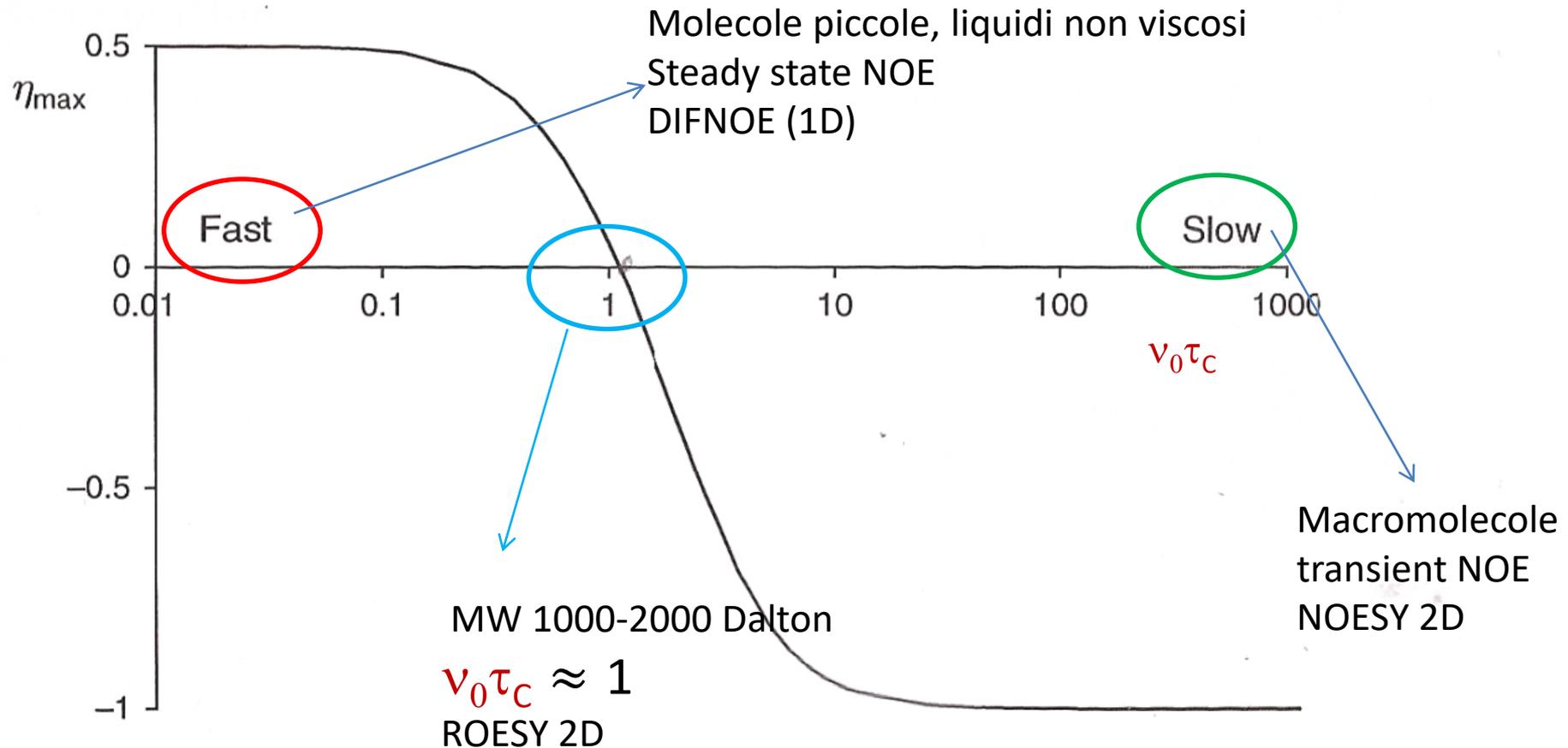
2. $W_0 \gg W_2$ MASSIMO NOE NEGATIVO (SLOW MOTION)

$$\eta_I (S) = -\frac{\gamma_S}{\gamma_I}$$

$$W_0 \gg W_2$$

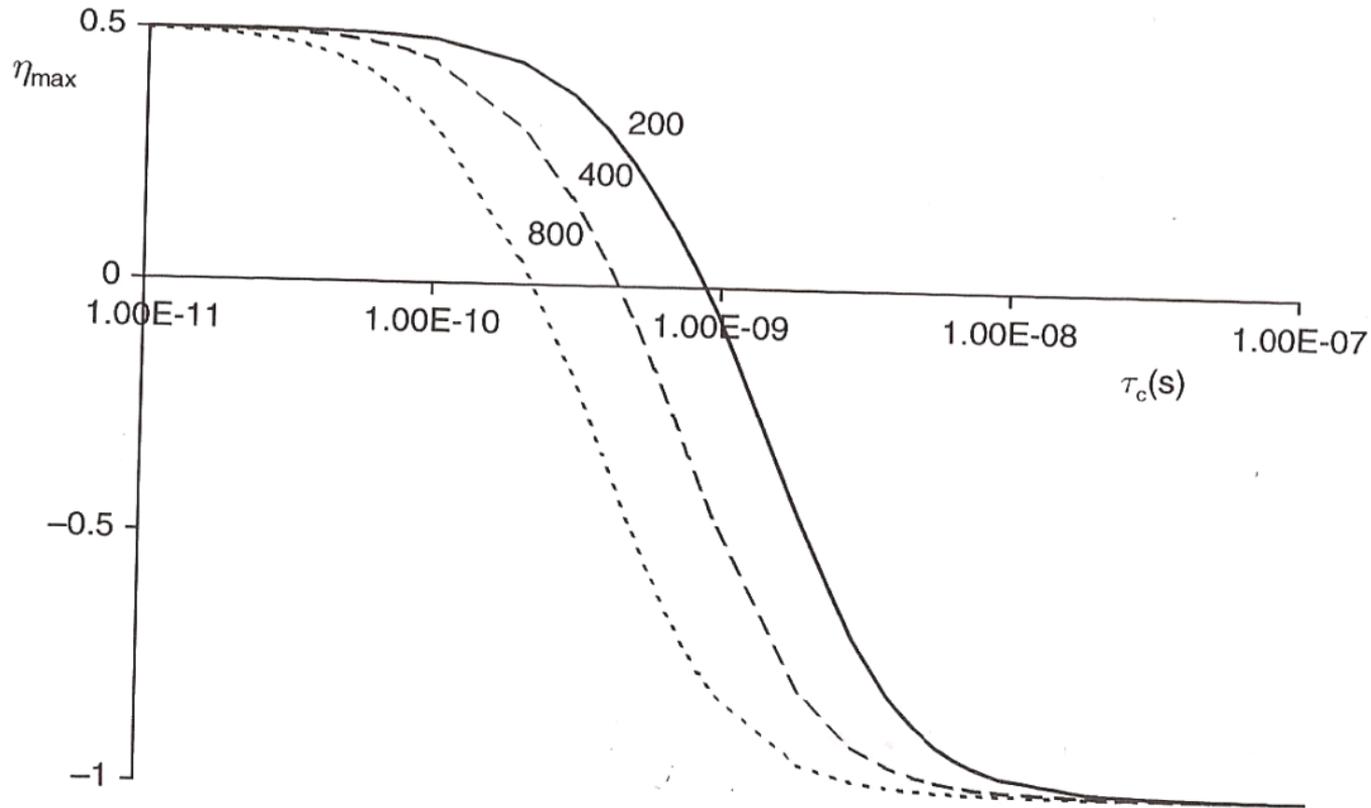
NOE omonucleare: max 100%

VARIAZIONE DI NOE CON τ_C



SISTEMA A DUE SPIN CHE RILASSA ESCLUSIVAMENTE ATTRAVERSO DD, INDIPENDENTEMENTE DALLA DISTANZA INTERNUCLEARE

Dipendenza da B_0

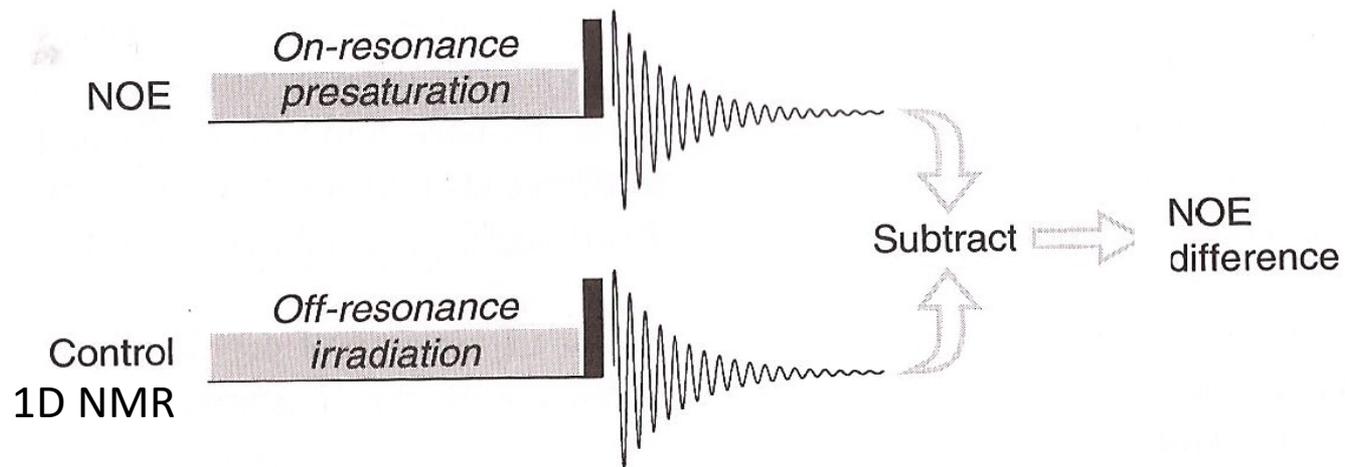
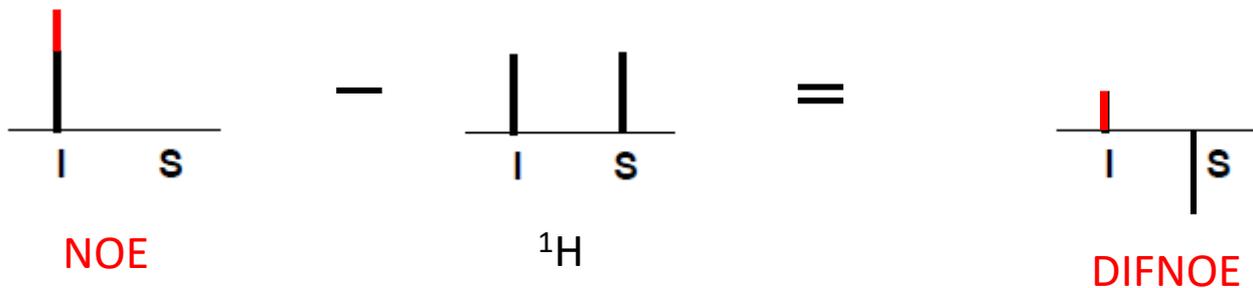


Diminuendo B_0 aumenta l'intervallo in cui NOE > 0 (vantaggio)

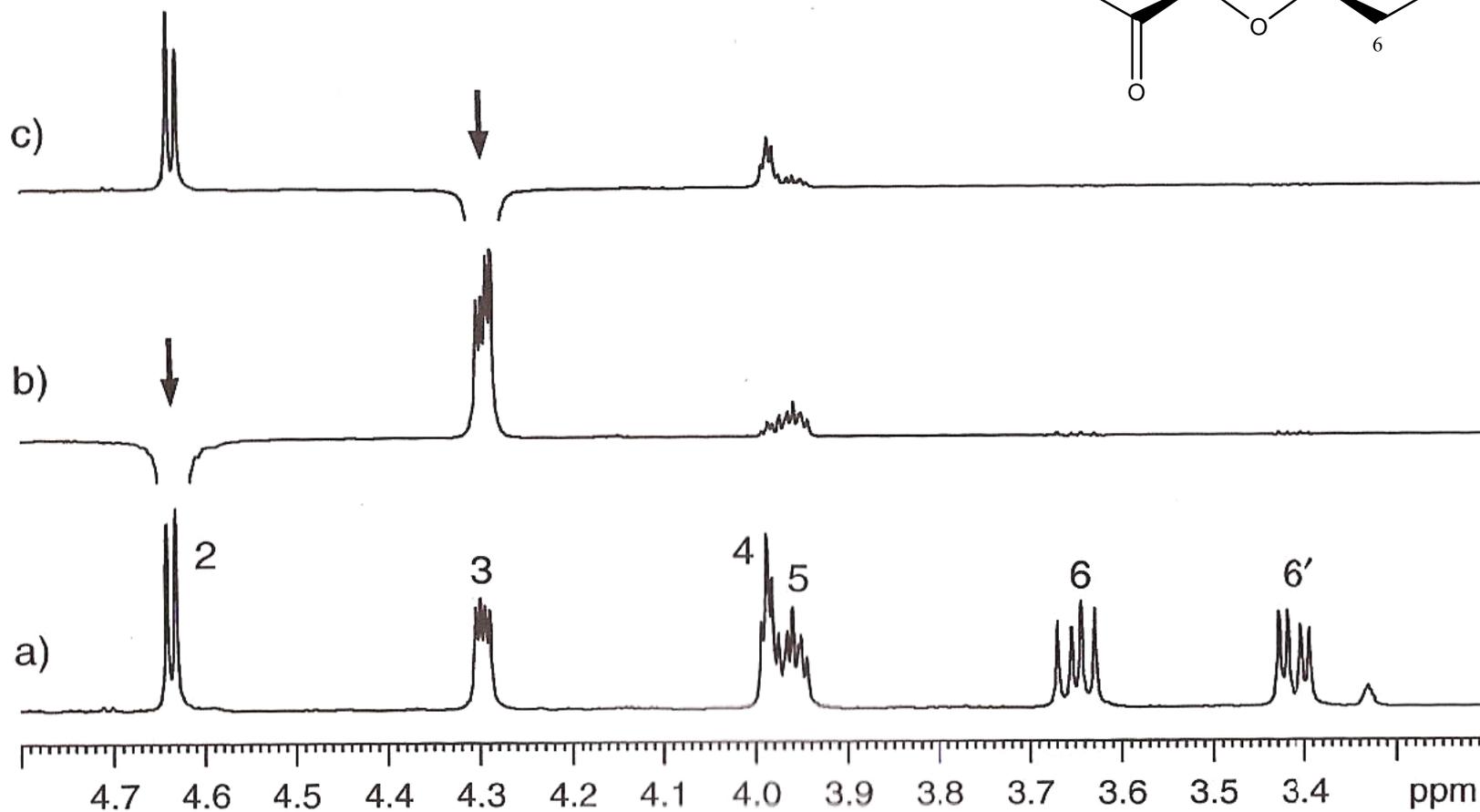
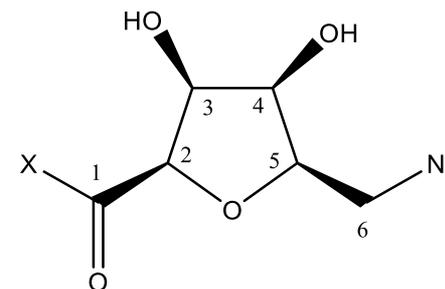
ASPETTI SPERIMENTALI

DIFNOE

Lo spettro NOE viene sottratto allo spettro ^1H NMR



DIFNOE

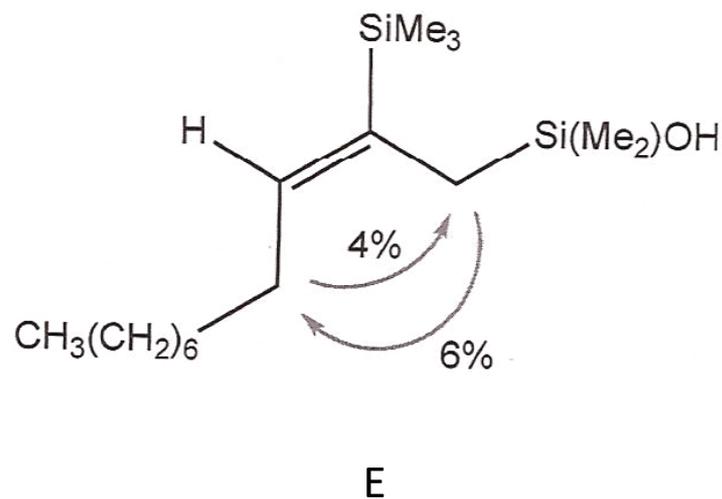
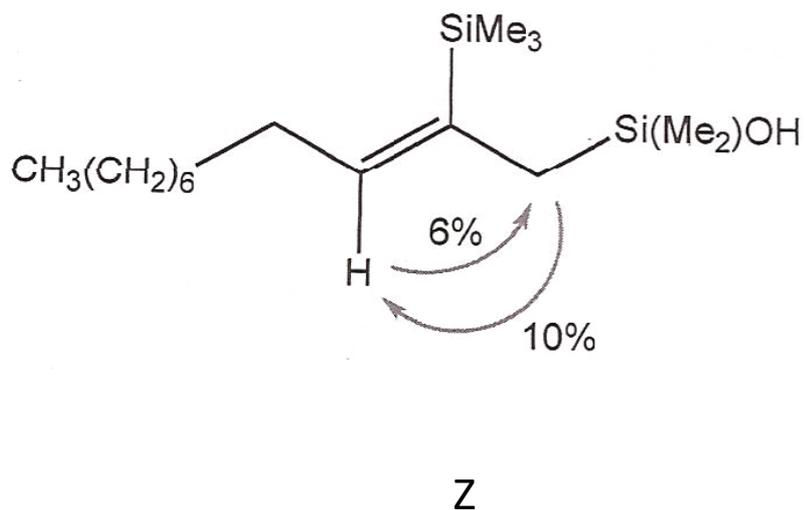
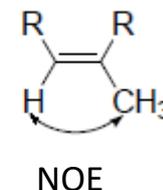
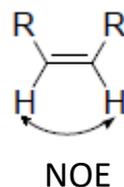


ASPETTI SPERIMENTALI

- Deaerare il campione
- Soluzioni diluite
- CD_3COCD_3 solvente ottimale
- Irraggiare CH_3 vs CH o CH_2 vs CH piuttosto che il contrario

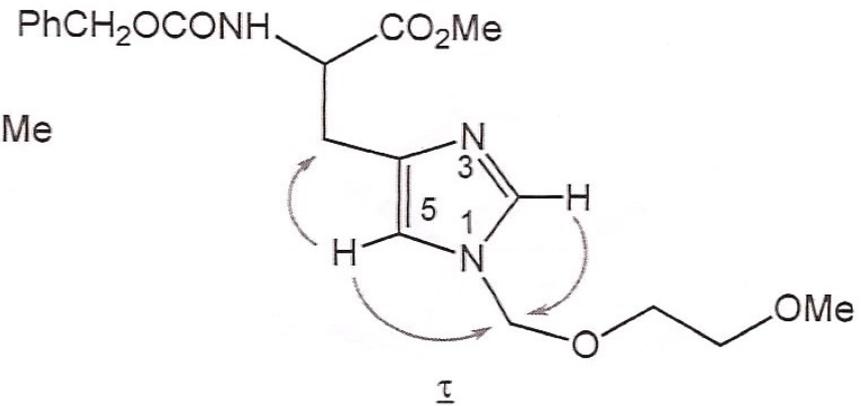
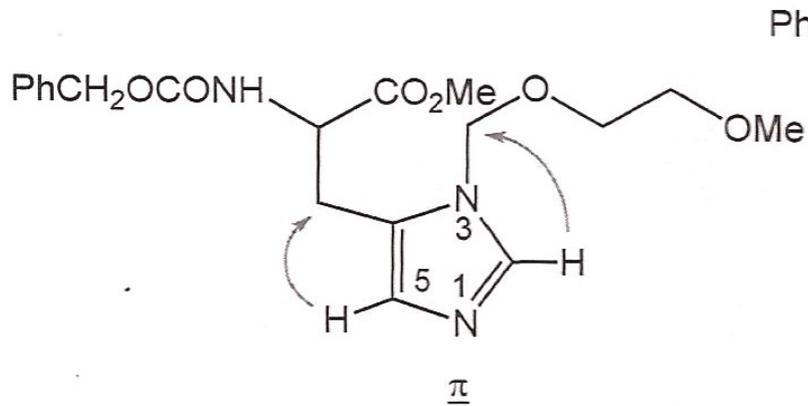
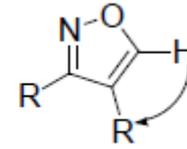
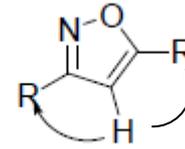
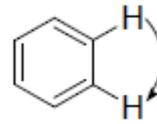
APPLICAZIONI

a) CONFIGURAZIONI E/Z DI ALCENI

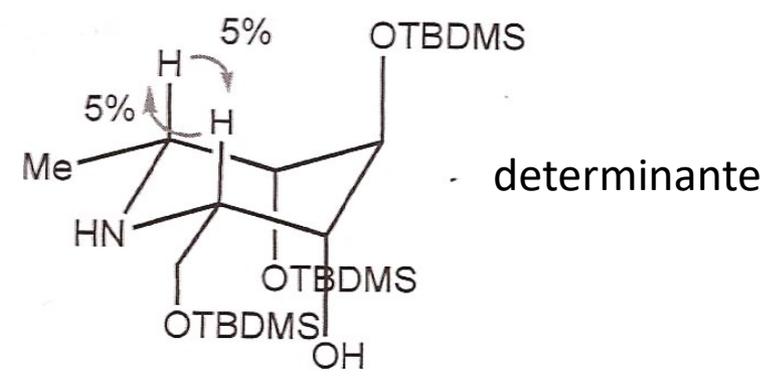
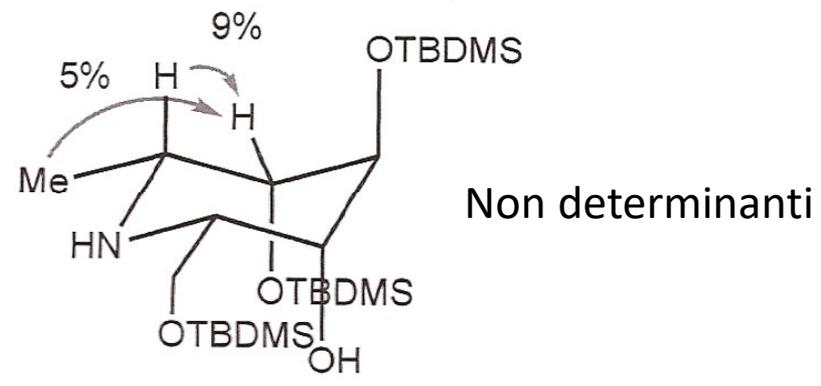
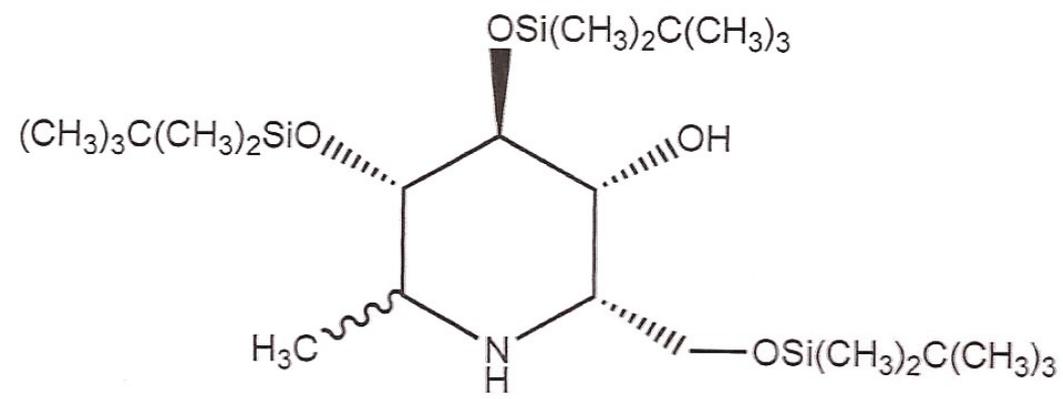
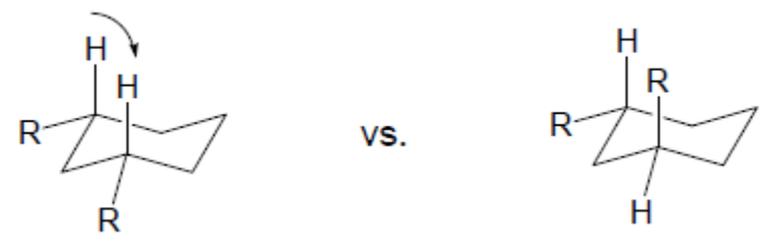


APPLICAZIONI

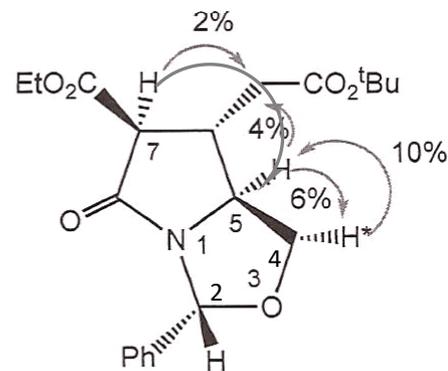
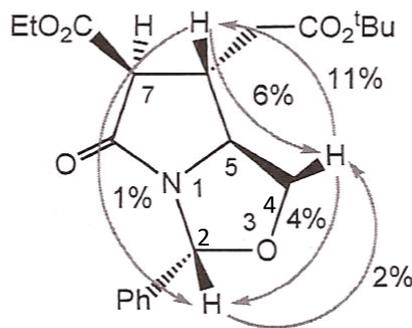
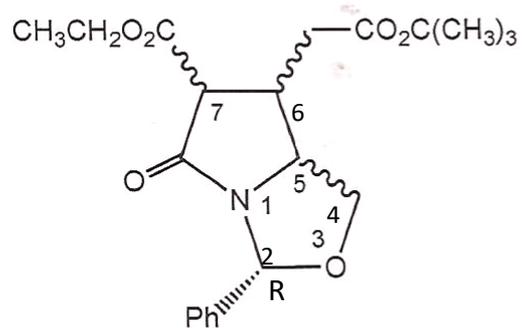
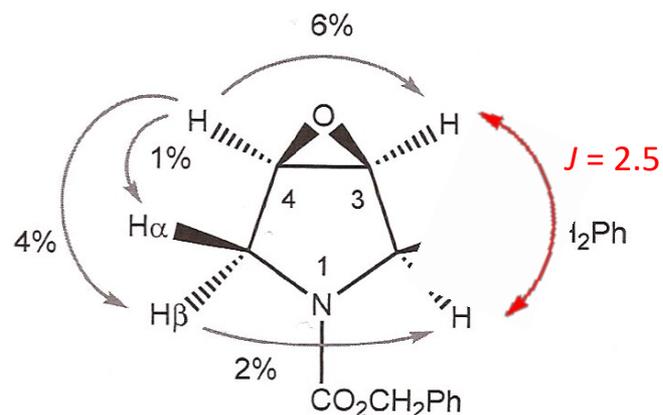
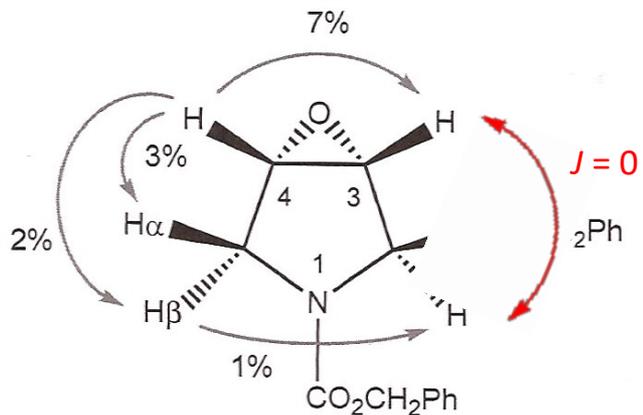
B) SOSTITUZIONI IN AROMATICI



C) CONFIGURAZIONI ANELLI A 6 TERMINI
 RELAZIONI 1,3 DIASSIALI



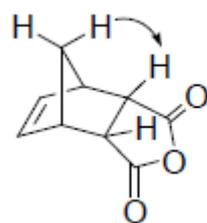
C) CONFIGURAZIONI CICLI PENTATOMICI



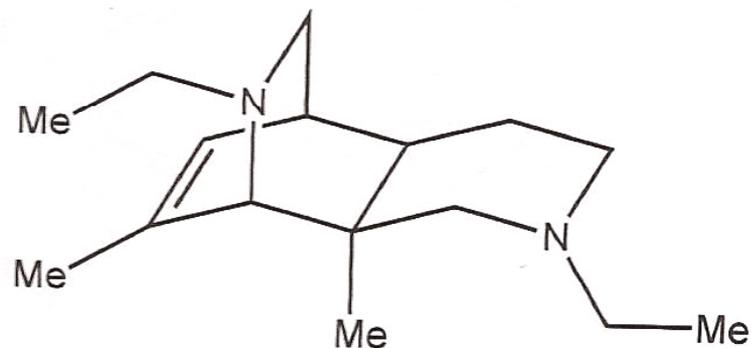
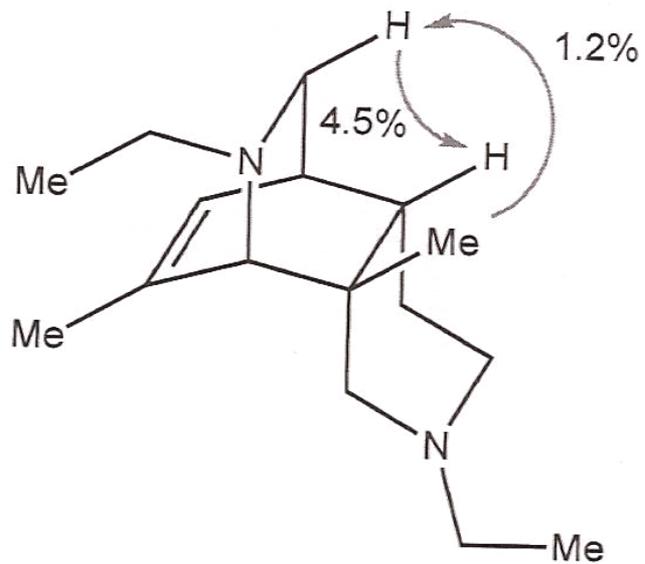
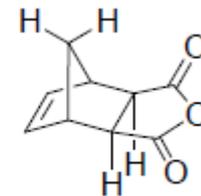
NO NOE:
H5 - H6
H6 - H7

NOE:
H6 - H4
H7 - H5
H6 - H2

D) ENDO/ESO



vs.



exo

e) SEQUENZE PEPTIDICHE

