

**Grzegorz Schroeder, Błażej Gierczyk**

**Zastosowanie magnetycznego rezonansu jądrowego w  
chemii supramolekularnej**

**SERIA: Chemia Supramolekularna**

**Poznań 2002**

**Recenzent : Prof. dr hab. Eugeniusz Grech**

**Prof. dr hab. Grzegorz SCHROEDER  
Dr Błażej GIERCZYK**

**Uniwersytet im. A. Mickiewicza  
Wydział Chemii  
Grunwaldzka 6  
60-780 Poznań  
e-mail: schroede@amu.edu.pl**

ISBN 83-91-5657-7-7

„BETAGRAF” PUH 60-501 Poznań ul. Kraszewskiego 19/9

Organizacja układów biologicznych pokazuje nam, jak bardzo skomplikowanym procesom mogą ulegać proste cząsteczki w czasie. Z racji faktu, że olbrzymia część związków pochodzenia naturalnego zawiera w swojej strukturze atomy azotu lub tlenu, właśnie te związki stanowią znaczący obiekt zainteresowania chemików, biologów. Związki te zdolne są do tworzenia kompleksów z jonami nieorganicznymi i organicznymi oraz małymi obojętnymi cząsteczkami. Akt kompleksowania, który przebiega w wielu procesach biologicznych ma fundamentalne znaczenie dla funkcjonowania organizmów żywych. Dzisiaj najczęściej naśladowanie natury ma miejsce na stole laboratoryjnym w pracowni chemicznej wśród związków makrocyklicznych. Związki makrocykliczne bardzo dobrze odzwierciedlają procesy zachodzące w układach naturalnych. Początku chemii związków makrocyklicznych należy szukać w 1967 roku. Wtedy to amerykański chemik Charles Pedersen stwierdził, że otrzymane przez niego tzw. „połączenia koronowe” mogą tworzyć trwałe kompleksy z metalami alkalicznymi i metalami ziem rzadkich. Związki te nazwane później eterami koronowymi charakteryzowały się również tym, iż miały niezwykle właściwości rozpuszczania związków jonowych, soli nieorganicznych w rozpuszczalnikach niepolarnych, takich jak: benzen, heksan czy tetrahydrofuran. Głównym bodźcem rozwojowym tej dziedziny nauki było między innymi odkrycie naturalnych antybiotyków makrocyklicznych, wykorzystujących zdolności selektywnego kompleksowania biologicznie ważnych kationów: sodu, potasu, wapnia oraz magnezu oraz możliwości badania transportu tych kationów przez błony komórkowe. Aby poznać naturę oddziaływań odpowiedzialnych za powstawanie kompleksów gość-gospodarz, współczesna nauka musi dysponować bardzo dobrymi narzędziami badawczymi. Jednym z takich narzędzi powszechnie stosowanych w badaniach chemii supramolekularnej jest multijądrowy

rezonans jądrowy (NMR). Monografia, która trafia do Państwa rąk jest doskonałą próbą uporządkowania wiedzy z tego zakresu, ukazującą ma ogromne możliwości tej techniki w badaniach supermolekuł.

Poznań 03 kwiecień 2002 rok

Prof. dr hab. Eugeniusz Grech

## 1. Wstęp

Jednym z największych wyzwań chemii supramolekularnej jest badanie indywiduów supramolekularnych powstających na drodze samoorganizacji i kompleksowania. Jakkolwiek własności stereoelektronowe syntonów supramolekularnych są czasami wystarczające do ustalenia geometrii finalnych superstruktur, to w wielu wypadkach warunki eksperymentalne (np.: rodzaj rozpuszczalnika, temperatura, ciśnienie, stechiometria, obecność dodatkowych składników w mieszaninie reakcyjnej) grają istotną, o ile nie dominującą, rolę. W rezultacie przewidywanie kształtu i struktury przestrzennej powstających kompleksów w oparciu o techniki obliczeniowe jest trudne a w wielu przypadkach całkowicie niemożliwe<sup>1</sup>. Istnieje zatem zapotrzebowanie na techniki eksperymentalne, pozwalające w sposób jednoznaczny ustalić geometrię i właściwości supermolekularne kompleksów supramolekularnych. Metody rentgenograficzne odgrywają główną rolę przy ustalaniu struktury indywiduów supramolekularnych, jak również geometrii dużych i złożonych zespołów molekularnych w fazie stałej<sup>2</sup>. Charakteryzacja monowarstw powstających na drodze samoorganizacji na granicach faz gaz/ciecz lub gaz/ciało stałe jest możliwa przy zaangażowaniu zaawansowanych technik mikroskopowych (np.: mikroskopia kąta Brewstera<sup>3</sup>, skaningowa (SEM) i transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)<sup>4</sup>, mikroskopia sił atomowych (AFM)<sup>5</sup>, skaningowa mikroskopia tunelowa (STM)<sup>6</sup>). Użycie spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej<sup>7</sup>, połączone często z technikami elektrochemicznymi<sup>8</sup>, pozwala badać samoorganizujące się monowarstwy w roztworach. Metody chromatograficzne, na przykład wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)<sup>9</sup> lub chromatografia żelowa (GPC)<sup>10</sup>, w połączeniu z nowoczesnymi technikami spektrometrii masowej, takimi jak bombardowanie szybkimi

atomami (FAB), spektrometria jonów wtórnych (SIMS)<sup>11</sup>, elektrospray (ESMS)<sup>12</sup>, spektroskopia czasu przelotu z wspomaganą matrycą desorpcją laserową (MALDI-TOF-MS)<sup>13</sup> również stają się obecnie coraz szerzej stosowanymi i przydatnymi metodami w badaniach połączeń supramolekularnych. Jednakże najbardziej informacyjną i najszerzej stosowaną metodą analityczną, angażowaną do badań tego typu indywidualów w fazie ciekłej jest spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego.

Odkrycie w 1946 roku przez Purcela i Blocha zjawiska magnetycznego rezonansu jądrowego zapoczątkowało, trwający do dziś, okres badań nad tym fenomenem. Dla chemików metoda ta stała się interesująca od chwili, gdy Arnold odkrył zjawisko przesunięcia chemicznego i powiązał je ze strukturą cząsteczki. NMR jest z pewnością jedną z najdynamiczniej rozwijających się spektroskopowych technik analitycznych. Aparatura służąca do rejestracji widm magnetycznego rezonansu jądrowego ewoluowała, począwszy od aparatów CW (*continious wave*) pracujących przy częstości podstawowej 60-100 MHz, do nowoczesnych spektrometrów z transformacją Fouriera wyposażonych w magnesy nadprzewodzące wytwarzające pole do 21 T. Miłowym krokiem w rozwoju technik NMR było opracowanie przez Jennera pierwszych sekwencji impulsów umożliwiających wykonywanie widm wielowymiarowych. Spektroskopia NMR jest podstawową i najbardziej uniwersalną techniką instrumentalną, znajdującą zastosowanie zarówno w chemii organicznej, nieorganicznej, biochemii oraz w medycynie. Umożliwia badania struktury i geometrii cząsteczek, kinetyki i mechanizmów reakcji, dynamiki molekuł, oddziaływań międzymolekularnych oraz analizę ilościową. Jest jedyną techniką pozwalającą badać konformacje w fazie ciekłej, czym przewyższa rentgenografię i w połączeniu z metodami kwantowo-mechanicznymi jest dla niej alternatywą, szczególnie w przypadku badań niewielkich biopolimerów i

oligosacharydów. Pozwala ona, w odróżnieniu od analizy rentgenowskiej, badać substancje nie tworzące monokryształów. W medycynie tomografia NMR znajduje zastosowanie jako najmniej inwazyjna technika obrazowania organizmu a jako tzw. mikroskopia NMR umożliwia badania zmian w budowie tkanek oraz komórek. Dzięki zastosowaniu cewek powierzchniowych możliwe stało się wykonywanie widm  $^1\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$  i  $^{39}\text{K}$  NMR tkanek żywego organizmu bez pobierania próbek i badanie zmian w ich składzie chemicznym podczas procesów chorobowych oraz badanie metabolizmu leków i ksenobiotyków. Czynione są próby użycia technik NMR w diagnostyce medycznej w badaniach płynów ustrojowych. Techniki NMR stosuje się także do badań metabolizmu w hodowlach tkankowych lub w tkankach poddanych perfuzji. Obok badań fazy ciekłej, spektroskopia NMR jest niezastąpionym narzędziem w badaniach fazy stałej oraz, w coraz szerszym zakresie, próbek gazowych.

W chemii supramolekularnej oparcie się na wartościach prostych parametrów widma NMR (przesunięcie chemiczne, względne intensywności sygnałów, stałe sprzężenie) pozwala uzyskać wiele informacji o wzajemnym oddziaływaniu poszczególnych składników kompleksu, parametrach termodynamicznych (stałe trwałości), kinetycznych (stałe szybkości reakcji kompleksowania/dekompleksowania) jak również dane dotyczące zmian konformacyjnych zachodzących w cząsteczce gospodarza (i/lub gościa) na skutek kompleksowania. Zastosowanie dodatkowych technik i pomiar innych parametrów (np.: widm w funkcji temperatury, czasów relaksacji spin-spin oraz spin-sieć, oddziaływań dipolowych), dostarcza zbioru dodatkowych danych, co umożliwia uzyskanie odpowiedzi na większość (o ile nie na wszystkie) pytania dotyczące oddziaływań supramolekularnych w roztworze. Obok informacji i badań fazy ciekłej nie można zapomnieć o przydatności technik NMR w badaniach ciała stałego, co wykorzystywane jest

powszechnie w nieorganicznej chemii supramolekularnej (np.: chemii zeolitów lub heteropolianionów).

Magnetyczny rezonans jądrowy jest z pewnością jedną z najintensywniej stosowanych technik instrumentalnych w różnych dziedzinach nauki, takich jak chemia, fizyka, biochemia, biofizyka, biologia, medycyna, geologia czy inżynieria materiałowa. Rzecz jasna, każda z tych dziedzin stawia wobec stosowanych technik inne wymagania i stosuje je do rozwiązywania odmiennych problemów badawczych. W efekcie wypracowała zatem własną, specyficzną metodologię pomiarów oraz szereg specjalistycznych technik, modeli i eksperymentów. Naukowcy zajmujący się chemią supramolekularną, ze względu na specyfikę układów będących przedmiotem ich zainteresowań, stworzyli lub zaadaptowali na własne potrzeby szereg metod spektroskopii NMR.

Celem pracy jest zaprezentowanie najważniejszych aspektów zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego w badaniach połączeń supramolekularnych. W opracowaniu pominięto całkowicie zastosowania NMR w badaniu struktur wolnych ligandów lub cząsteczek gościa, gdyż problem ten nie różni się znacząco od zastosowania tej techniki w „klasycznej” chemii organicznej. Tematem będą zatem jedynie te zagadnienia, które związane są z badaniem kompleksów supramolekularnych, takie jak ustalanie stechiometrii i geometrii supermolekuł, stałych trwałości czy szybkości i mechanizmów kompleksowania.

Współczesna spektroskopia NMR dostarcza szeregu nowych możliwości, często nieosiągalnych, lub dostępnych w ograniczonym zakresie w latach ubiegłych. Chodzi tu głównie o rejestrację widm jąder innych niż  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  czy  $^{31}\text{P}$  oraz techniki wieloimpulsowe, pozwalające rejestrować jedno- i wielowymiarowe widma magnetycznego rezonansu jądrowego,



umożliwiający selektywne rejestrowanie wybranych typów oddziaływań, takich jak stałe sprzężenia skalarnego bliskiego i dalekiego zasięgu, oddziaływania dipolowe czy wymiana chemiczna. Duże znaczenie tych metod wynika z faktu, iż w oparciu o standardowe metody oferowane przez spektroskopię NMR pełna analiza procesów zachodzących w układzie supramolekularnym jest często niemożliwa a przynajmniej utrudniona. Dopiero zastosowanie rezonansu multijądrowego, często w połączeniu z bardziej zaawansowanymi metodami wieloimpulsowymi pozwala na jednoznaczne zbadanie równowag, struktur, stechiometrii, konformacji oraz kinetyki w systemach supramolekularnych. Znaczenie spektroskopii NMR „egzotycznych” jąder atomowych w chemii opisano w wielu pracach przeglądowych i monografiach<sup>14</sup>. Również techniki wieloimpulsowe były tematem wielu opracowań<sup>15</sup>.

Praca została podzielona na podrozdziały poświęcone informacjom, możliwym do uzyskania z poszczególnych parametrów spektralnych, takich jak przesunięcie chemiczne, stałe sprzężenia, czasy relaksacji czy oddziaływania dipolowe. W większości wypadków ograniczono się do omówienia podstawowych sposobów postępowania w celu uzyskania potrzebnych informacji, popierając je reprezentatywnymi przykładami. Pomimo licznych prac dotyczących spektroskopii  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR supermolekuł wydaje się, że te podstawowe techniki nie dostarczają pełnych informacji o układach supramolekularnych, zatem konieczne jest często zastosowanie eksperymentów wykorzystujących rezonans jąder innych niż proton czy węgiel.

## **2. Przesunięcie chemiczne**

Przesunięcie chemiczne jądra atomowego jest miarą efektów stereoelektronowych w jego otoczeniu. Do najważniejszych czynników

wpływających na ten parametr należą: gęstość elektronowa w bezpośrednim sąsiedztwie jądra (tzw. efekt diamagnetyczny), gęstości elektronowe na jądrach sąsiednich (w sensie przestrzennym, tzw. efekt paramagnetyczny), wzajemne ułożenie przestrzenne atomów w cząsteczce, od którego zależy znak indukcji magnetycznej pola lokalnego, wpływającego na efektywne pole działające na analizowane jądro, obecność elektronów zdelokalizowanych, mogących tworzyć prąd pierścieniowy oraz obecność elektronów niesparowanych (wolne rodniki lub jony paramagnetyczne), które na skutek oddziaływań kontaktowych lub pseudokontaktowych mogą wywoływać duże zmiany przesunięcia chemicznego.

Tworzenie indywiduów supramolekularnych w oczywisty sposób wywołuje zmiany gęstości elektronowej w obrębie atomów cząsteczki gospodarza oraz gościa. Efektem tych zmian jest tak zwane indukowane kompleksowaniem przesunięcie chemiczne (CIS, CICS). Parametr ten przede wszystkim odpowiada na pytanie o sam fakt tworzenia się kompleksu. Często trudno jest przy użyciu innych technik w jednoznaczny sposób stwierdzić fakt występowania oddziaływania pomiędzy jonem, atomem lub cząsteczką a receptorem. Zmiany przesunięcia chemicznego, obserwowane w widmach NMR mogą służyć za dowód tego typu interakcji. Pamiętać należy jednakże, iż wartość efektywnego pola magnetycznego, działającego na jądro atomowa zależy nie tylko od wielkości pól indukowanych przez elektrony, lecz jest również funkcją przenikalności magnetycznej rozpuszczalnika ( $\mu_{\text{rozp}}$ ). W efekcie przy dokładnych pomiarach niewielkich często zmian przesunięć chemicznych konieczne jest uwzględnienie tego parametru, gdyż może się zdarzyć, iż obserwowane zmiany wartości  $\delta$  pochodzą w rzeczywistości od wywołanych zmianą stężenia i składu roztworu zmian  $\mu_{\text{rozp}}$ . Możemy mieć również do czynienia z sytuacją przeciwną, w której zmiany przenikalności

znoszą się ze zmianami przesunięcia chemicznego, wywołanymi oddziaływaniem gość – receptor.

Tworzenie się supermolekuł jest procesem równowagowym, z tego powodu w roztworze zawsze mamy do czynienia z obecnością wolnych cząsteczek liganda i gościa oraz z kompleksem (kompleksami). W zależności od szybkości wymiany pomiędzy tymi indywiduami obserwujemy różny obraz widma. W przypadku wymiany powolnej (w skali czasu NMR), o ile różnice przesunięć chemicznych dla poszczególnych indywiduów występujących w roztworze są wystarczająco duże w stosunku do szerokości sygnałów, obserwujemy rozseparowanie sygnałów poszczególnych indywiduów. Warunek ten odpowiada stałej szybkości procesu wymiany wynoszącej:

$$k = (w - w_0)$$

gdzie  $w_0$  oznacza szerokość połówkową sygnału bez wymiany chemicznej a  $w$  szerokość połówkową podczas wymiany.

Dla układów o dużej dynamice, w których wymiana między poszczególnymi indywiduami w roztworze jest szybka, rejestruje się uśrednienie sygnału. Stała szybkości w tych warunkach dana jest wzorem:

$$k = \frac{\pi(\Delta\nu)^2}{(w - w_r)\sqrt{2}}$$

gdzie  $\Delta\nu$  oznacza różnicę położenia (w Hz) linii rezonansowych cząsteczki (jonu) związanego i wolnego, natomiast  $w_r$  oznacza szerokość linii przy szybkości wymiany dążącej do nieskończoności. Obserwowane położenie linii rezonansowej danego jądra (wymienianego między różnymi indywiduami) jest wówczas zależne od przesunięcia chemicznego tego atomu w poszczególnych formach oraz molowego udziału każdego z indywiduów w stanie równowagi. Otrzymujemy zatem następujący wzór na przesunięcie chemiczne:

$$\delta = \sum_i \alpha_i \delta_i$$

$$\alpha_i = \frac{x_i C_i}{T_x}$$

$T_x$  - całkowite stężenie reagenta zawierającego rozważne jądro;  $x_i$  - zawartość reagenta  $x$  w  $i$ -tym indywiduum;  $C_i$  - stężenie molowe  $i$ -tej formy,  $\delta_i$  - położenie sygnału rezonansowego jądra w  $i$ -tym indywiduum.

Celem scharakteryzowania takich kompleksów podaje się często tzw. graniczne przesunięcie chemiczne,  $\delta_{lim}$ , definiowane jako wartość położenie sygnału rezonansowego jednego ze składników kompleksu przy dążącym do nieskończoności nadmiarze drugiego reagenta. Wartość tą wyznacza się na ogół metodą aproksymacji lub w oparciu o równania stosowane przy wyznaczaniu stałych równowag dla procesów wiązania jonu.

Przykładem układu cechującego się powolną wymianą mogą być kompleksy jonów  $K^+$  z kryptandami 222 i 221<sup>16</sup>. W widmach  $^{39}K$  NMR obserwuje się wyraźnie rozseparowane sygnały wolnego i związanego jonu, podobnie w eksperymentach  $^{13}C$  NMR kompleksów rejestruje się podwojoną liczbę linii rezonansowych. Widma tych układów wykonane w różnych rozpuszczalnikach pozwalają wnioskować o silnym izolowaniu jonu od wpływów środowiska, gdyż o ile dla wolnego kationu położenie sygnału rezonansowego jest silnie zależne od medium w którym rozpuszczony jest kompleks, o tyle częstotliwość rezonansu dla jądra potasu związanego we wnęce liganda wykazuje znikomą ruchliwość wraz ze zmianą rozpuszczalnika. Sygnał dla połączeń z 221 jest bardziej przesunięty w dół pola, co świadczy o silniejszym nakładaniu się orbitali atomów donorowych z zewnętrznymi orbitalami  $p$  kationu. Ponadto, położenie linii rezonansowej jest silniej zależne od rozpuszczalnika niż w przypadku liganda 222, co

wskazuje na słabsze izolowanie jonu od wpływu otoczenia przez ten ligand o mniejszych rozmiarach wnętrza.

Kompleks jonów potasu z kryptandem 211 jest z kolei przykładem układu o dużej dynamice. W widmie  $^{39}\text{K}$  NMR obserwuje się pojedynczy, poszerzony sygnał rezonansowy kationu. Wskazuje to na szybką wymianę chemiczną  $\text{K}^+$  pomiędzy kompleksem a otoczeniem. Duża wrażliwość położenie tego sygnału na zmiany rozpuszczalnika dowodzi stosunkowo małej stabilności tego połączenia. Wykazano również odwrotną zależność pomiędzy stałą trwałości kompleksu a zdolnościami solwatacyjnymi rozpuszczalnika. tabela 1 prezentuje przesunięcia chemiczne  $^{39}\text{K}$  NMR oraz graniczne przesunięcia chemiczne omawianych układów.

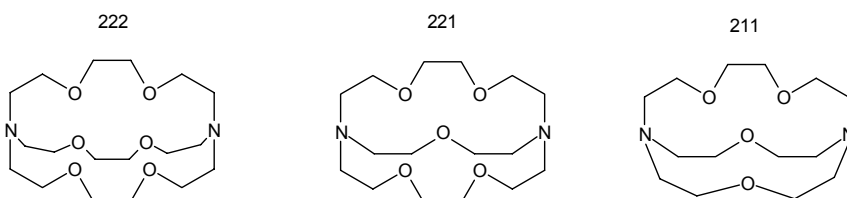
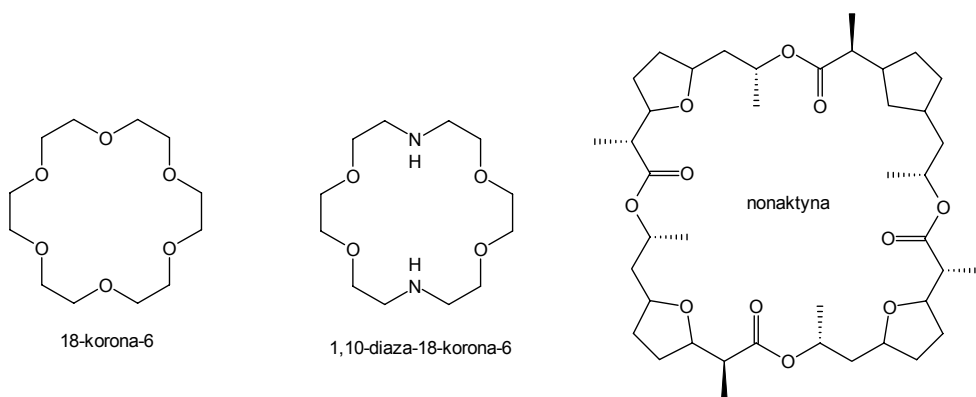


Tabela 1. Przesunięcia chemiczne dla jonu  $\text{K}^+$  i jego kompleksów z kryptandami w zależności od rozpuszczalnika

Rozpuszczalnik	$\delta^{39}\text{K}$ NMR [ppm]			$\delta^{39}\text{K}_{\text{lim}}$ NMR [ppm]
	wolny jon	$\text{K}^+ \subset 222$	$\text{K}^+ \subset 221$	$\text{K}^+ \subset 211$
nitrometan	-22,3	2,5	-	-
metanol	-11,3	2,5	14,4	-
aceton	-12,1	3,0	12,6	5,5
DMF	-5,3	2,0	14,3	13,0
acetonitryl	-1,8	2,4	13,5	11,8
pirydyna	0,2	-	15,0	9,1

Podobne zależności obserwuje się dla grupy naturalnych i syntetycznych jonoforów i ich połączeń z jonami sodowymi<sup>17</sup>. W tym przypadku mamy do czynienia z procesem szybkiej wymiany pomiędzy kompleksem a otoczeniem. W badaniach wykorzystano następujące jonofory: walinomycynę, tetranaktynę, nonaktynę, monensynę, kwas lasalowy, kryptandy 222 i 221 oraz koronandy: 18-korona-6 i 1,10-diaza-18-korona-6. Wykazano dużą zależność położenia sygnału <sup>23</sup>Na NMR od charakteru donorowych atomów tlenu liganda (C=O, OH, -O-) oraz długości wiązania Na<sup>+</sup>O. Zmiany te są tak duże, że niemożliwym jest wytłumaczenie ich wyłącznie w oparciu o efekty diamagnetyczne wywoływane przez elektrony 2s jonu. Na położenie linii rezonansowej wpływa zatem również stopień przeniesienia elektronów wolnych par znajdujących się na atomach tlenu na orbitale 3p kationu, czemu towarzyszy przesuwanie się sygnału w dół pola. Duże różnice uzyskanych wartości w stosunku do pomiarów w ciele stałym autorzy tłumaczą konformacyjną niestabilnością liganda oraz kompleksu w fazie ciekłej. W tabeli 2 zestawiono wartości przesunięć chemicznych <sup>23</sup>Na NMR dla tych kompleksów zmierzone w chloroformie i metanolu.



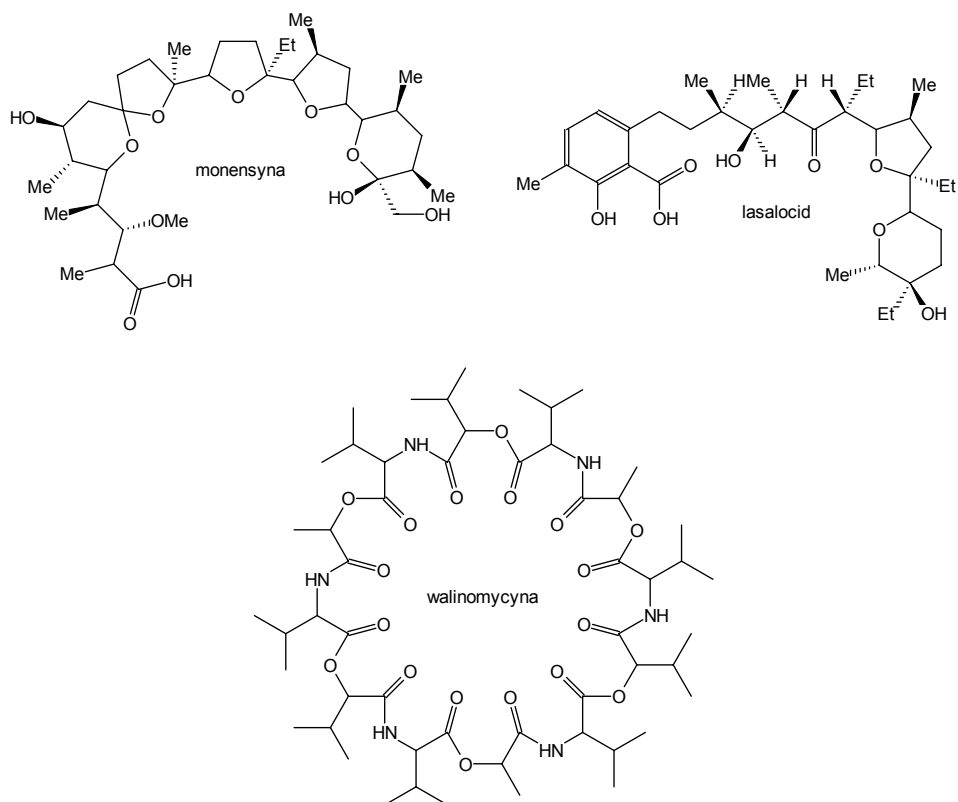
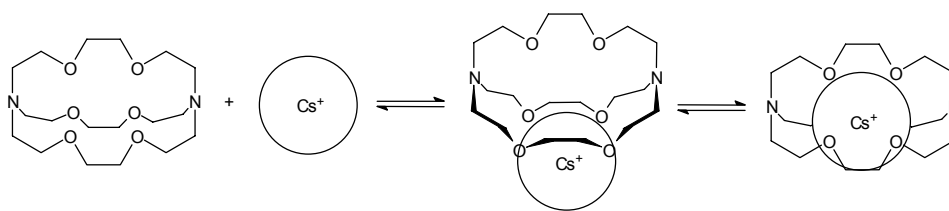


Tabela 2. Przesunięcia chemiczne  $^{23}\text{Na}$  NMR jonu sodowego związanego przez wybrane jonofory naturalne i syntetyczne

Ligand	Przesunięcie chemiczne $^{23}\text{Na}$ NMR [ppm]		
	ciało stałe	$\text{CDCl}_3$	$\text{CH}_3\text{OH}$
Walinomycyna	-23,2	-7,7	-2,6
Lasalocid	-11,6	-6,2	-4,0
Monensyna	-14,2	-12,4	-0,7
Nonaktyna	-18,2	-12,1	-6,3
Tetranaktyna	-24,0	-27,8	-12,7
1,10-Diaza-18-korona-6	-18,3	-5,0	-3,0
18-korona-6	-16,0	-10,9	-10,3
222	-16,2	-12,2	-10,3
221	-16,4	-2,9	-3,6

Kolejnym przykładem zastosowań przesunięcia chemicznego jak parametru pozwalającego badać strukturę i dynamikę układów supramolekularnych w roztworach są prace dotyczące równowag pomiędzy kompleksami wewnętrznymi i zewnętrznymi. Jon cezu jest kationem o dużym promieniu, dlatego prawdopodobne jest tworzenia się w obecności związków makrocyklicznych zarówno kompleksów w których  $Cs^+$  jest całkowicie zamknięty we wnętrzu wnęki liganda, jak i takich, w których kation otoczony jest przez ligand wyłącznie z jednej strony. Badania nad tymi procesami dotyczyły głównie makrocykli z grupy kryptandów (222)<sup>18</sup>. Do prac takich skłoniły wyniki analizy rentgenostrukturalnej, wskazujące na to, iż kation cezowy, pomimo większych rozmiarów niż średnica wnęki makrocyklicznej kryptandu 222 tworzy z nim trwałe kompleksy inkluzyjne. W temperaturze pokojowej obserwuje się jeden, uśredniony ze względu na procesy dynamiczne, sygnał którego graniczne przesunięcie chemiczne jest silnie zależne od rozpuszczalnika (wynosi odpowiednio -224 ppm dla pirydyny; -203 ppm dla acetonu; -156 ppm dla DMF i -210 ppm dla acetonitrylu). Wynika z tego, iż w tych warunkach jon jest słabo izolowany przez ligand od wpływów środowiska, co jest możliwe przy założeniu dla tego połączenia struktury kompleksu zewnętrznego. W niskiej temperaturze ma miejsce rozdzielenie sygnału, w efekcie którego obserwujemy dwie linie, jedną o przesunięciu chemicznym odpowiadającym położeniu sygnału wolnego jonu (w zależności od rozpuszczalnika 0 do 50 ppm), drugą pochodzącą od kationu skompleksowanego, której przesunięcie chemiczne nie zależy od rozpuszczalnika. Na tej podstawie zaproponowano następujący schemat równowag pomiędzy kationem  $Cs^+$ , ligandem 222 oraz ich kompleksami:





przy czym kompleks zewnętrzny jest stabilny w wysokiej temperaturze, natomiast po jej obniżeniu przeważa połączenie inkluzyjne. Brak zmian położenie sygnału rezonansowego  $^{133}\text{Cs}$  NMR jonu związanego obserwuje się poniżej  $-80^{\circ}\text{C}$  (przesunięcie chemiczne dla struktury  $\text{Cs}^+\subset 222$  wynosi w tej temperaturze  $-245$  ppm). Warto zaznaczyć że w przypadku kompleksów z koronandami obserwuje się znacznie mniejsze różnice przesunięć w stosunku do wolnego jonu. Podobnie jak w poprzednich przykładach, tak duży efekt paramagnetyczny jest wynikiem nakładania się wolnych par elektronowych z orbitalami  $p$ , które jest efektywniejsze w przypadku kompleksu wewnętrznego (niewielkie długości wiązań  $\text{Cs}\cdots\text{O}$ ) niż w przypadku zewnętrznego (co wpływa oczywiście na silniejsze przesunięcie, o 50 do 100 ppm w górę pola w pierwszym przypadku). Wyraźna temperaturowa zależność granicznego przesunięcia chemicznego w poszczególnych rozpuszczalnikach sugeruje że w temperaturach powyżej  $-80^{\circ}$  mamy do czynienia z dynamiczną równowagą pomiędzy oboma typami kompleksów.

Podobny problem, w tym wypadku dotyczące kompleksowania jonów europu przez ligand 222, rozstrzygnięto stosując protonowy rezonans magnetyczny<sup>19</sup>. W układzie zawierającym równomolowe ilości liganda i chlorku europu w roztworze w metanolu bezpośrednio po zmieszaniu obserwuje się 9 sygnałów pochodzących od protonów liganda (dobrze rozseparowanych ze względu na oddziaływanie paramagnetyczne), co świadczy o symetrii  $\text{C}_{2v}$  powstającego kompleksu. Struktura taka możliwa jest jedynie, przy założeniu powstawania układu, w którym jon związany jest wyłącznie przez atomy tlenu dwóch ramion liganda i znajduje się na

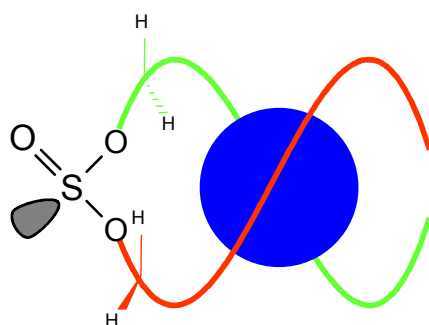
zewnątrz wnęki makrocyclicznej. Wniknięcie jonu do wnętrza liganda i utworzenie struktury inkluzyjnej wymaga dłuższego czasu (parę tygodni) i procesowi temu towarzyszy znaczne uproszczenie widma (kompleks inkluzyjny cechuje się symetrią  $D_{3h}$ , odpowiadają mu zatem tylko trzy linie rezonansowe).

Przesunięcia paramagnetyczne są doskonałym narzędziem do badań miejsc wiązania metali w związkach makrocząsteczkowych, np. dendrymerach<sup>20</sup>. Widmo protonowe tak dużej cząsteczki złożonej z powtarzających się elementów jest na ogół nieczytelne, więc trudno jest w oparciu o tradycyjne eksperymenty NMR ustalić miejsca przyłączenia jonów metali. Wprowadzenie jonu paramagnetycznego powoduje, na skutek oddziaływań kontaktowych, znaczne zmiany (do kilkuset ppm) przesunięć chemicznych protonów znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie metalu. W efekcie dochodzi do ich „wydzielenia” z wąskiego zakresu diamagnetycznego (0-10 ppm), przez co unika się nakładania sygnałów i możliwa jest ich analiza np. z wykorzystaniem technik wieloimpulsowych. Ze względu na swoje właściwości najczęściej stosowaną sondą paramagnetyczną są jony kobaltu(II). Pozwala to na analizę wielkości, struktury oraz dostępności wewnętrznych wnęk w dendrymerze, co prowadzi do możliwości projektowania optymalnych z punktu widzenia stereochemii oddziaływań gość-gospodarz cząsteczek dendrymerów, przydatnych do celów katalitycznych, jako receptory lub ligandy. Jednocześnie, ze względu na rozsunięcie ponakładanych sygnałów, możliwa jest analiza konformacji dendrymeru oraz jego dynamiki molekularnej. Podobną taktykę stosowano w badaniach metaloprotein, zdolnych do wiązania metali paramagnetycznych<sup>21</sup>.

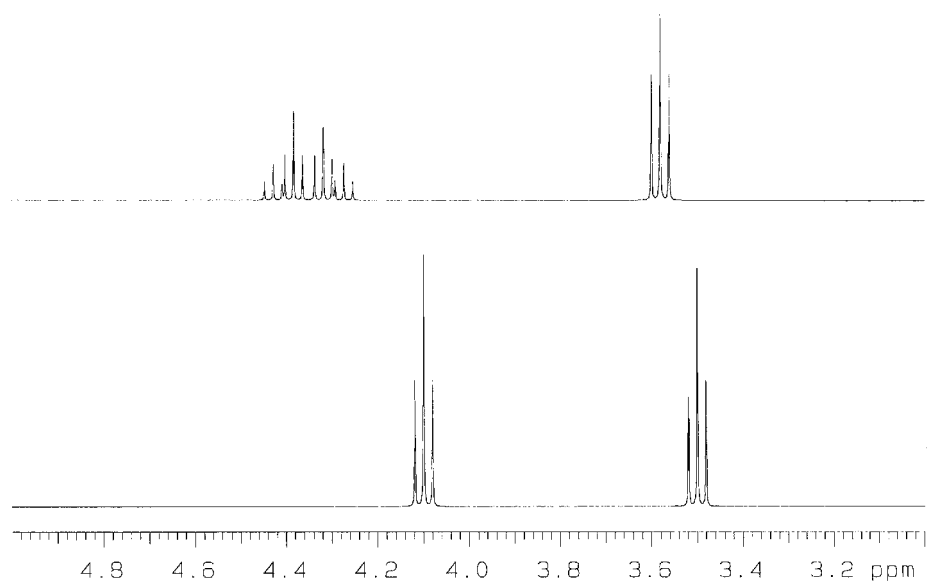
Na śledzeniu zmian przesunięć chemicznych opierają się również badania oddziaływań międzymolekularnych oraz samoorganizacji,

prowadzących do tworzenia pseudorotaksanów, rotaksanów, katenandów i knotów<sup>22</sup>.

Ciekawym problemem są badania kompleksów podandów, siarczanów(IV) dialkylowych z jonami litowców. Protony pierwszej, licząc od reszty estrowej, grupy CH<sub>2</sub> wolnego liganda dają na widmie <sup>1</sup>H NMR tryplet, charakterystyczny dla układu A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> jednakże w kompleksach tych związków z jonami litowców obserwuje się ich nierównocенność. Rejestruje się dwa dobrze, bo o 0,1-0,15 ppm, rozseparowane dublety trypletów, charakterystyczne dla układu spinowego AA'B<sub>2</sub>. Geminalna stała sprzężenia wynosi 8,5-8,8 Hz, jest więc mniejsza niż dla wolnego liganda. Wynika to z mniejszej gęstości elektronowej w obrębie wiązania C-H, wynikającej z silniejszego niż w wolnej cząsteczce, wyciągania elektronów przez atomy tlenu tworzące wiązania koordynacyjne. Zachowanie takie można wytłumaczyć jedynie przy założeniu, iż oba łańcuchy boczne skręcają się spiralnie względem osi długiej cząsteczki, tworząc strukturę helikalną. We wnętrzu tak utworzonego kanału wiązane są jony metalu.



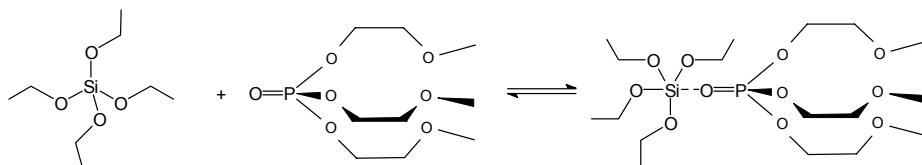
Rys. 1. Proponowana struktura helikalnego kompleksu liganda siarczanowego OS42 z jonem I grupy



Rys. 2. Widmo  $^1\text{H}$  NMR kompleksu liganda OS32 (dół) oraz jego kompleksu z jonami  $\text{Li}^+$  (góra) – na rysunku przedstawiono wyłącznie sygnały fragmentu  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}$ .

Również badanie oddziaływań bardzo słabych możliwe jest przy pomocy spektroskopii NMR. Podczas rejestracji widm protonowych wolnych ligandów nieorganicznych zaobserwowano zanik sygnału pochodzącego od tetrametylosilanu obecnego w rozpuszczalniku lub jego silne poszerzenie. Postanowiono zbadać to zjawisko, wybierając jako układy modelowe wspomniany tetrametylosilan oraz tetraetoksysilan. Badania prowadzono stosując technikę  $^{29}\text{Si}$  NMR. Widma wykonane dla równomolowych mieszanin liganda i gościa w temperaturze pokojowej wobec wzorca zewnętrznego wykazują niewielkie zmiany przesunięcia chemicznego, mogące wynikać ze zmian przenikalności magnetycznej próbki. Dlatego zdecydowano się na obniżenie temperatury, w celu spowolnienia wymiany i uzyskania rozdzielania sygnałów pochodzących od formy wolnej i związanej.

Zamierzony efekt udało się osiągnąć w temperaturze  $-20$  do  $-30^{\circ}\text{C}$ . Oddziaływanie pomiędzy silanami a ligandami zaobserwowano wyłącznie dla pochodnych fosforanowych. Największe efekty wykazuje seria trialkoksyfosfin. Obserwowane przesunięcie jest rzędu  $0,1-0,3$  ppm w górę pola i towarzyszy mu nieznaczne poszerzenie sygnału (około czterokrotne w stosunku do formy wolnej). Za oddziaływanie to jest odpowiedzialne tworzenie słabych wiązań wykorzystujących nieobsadzone orbitale  $3d$  atomu krzemu i wolne pary elektronowe atomu fosforu lub tlenu. Efektem jest zmiana geometrii związku krzemoorganicznego z tetraedrycznej na bipyramidę trygonalną. W widmach  $^{31}\text{P}$  NMR tych kompleksów zmian praktycznie nie obserwuje się (zmiana przesunięcia chemicznego „ginie” w szerokości linii rezonansowej). Strukturę omawianych układów prezentuje rysunek 4.3.



Rys. 3. Proces tworzenia kompleksów pomiędzy alkilosilanami i alkoksylsilanami a ligandami fosforowymi (na przykładzie  $(\text{EtO})_4\text{Si}$  i OP23)

Osobnym zagadnieniem, badanym technikami NMR, jest tworzenie się par jonowych  $\text{M}^+/\text{M}^-$  w roztworach niewodnych, zawierających związek makrocykliczny. Potwierdzeniem występowania w układzie anionu metalu jest charakterystyczny, wąski sygnał (np.: dla potasu znajdujący się przy  $-100$  ppm)<sup>23</sup>, którego położenie jest niezależne od charakteru rozpuszczalnika (ponieważ elektrony na orbitalu  $ns$  skutecznie ekranują elektrony  $(n-1)p$  od

wpływów czynników zewnętrznych). Jednocześnie na widmie obserwuje się pik pochodzący do kationu, związanego we wnęce liganda.

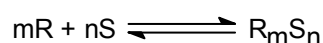
Śledzenie wywołanych kompleksowaniem zmian w widmie NMR dla złożonych ligandów, posiadających wiele centrów potencjalnie zdolnych do wiązania jonów, pozwala na ustalenie które centra donorowe w cząsteczce gospodarza uczestniczą w oddziaływaniu. Badania takie dotyczyły pochodnych naturalnych jonoforów (np.: antybiotyków polieterowych), których złożone cząsteczki cechują się obecnością wielu, w różnym stopniu ze względu na steryczne i elektronowe dostępne, donorowych atomów, mogących uczestniczyć w oddziaływaniach z jonami metali. Tworzenie kompleksu wywołuje zmiany elektronowe, a co za tym idzie zmiany przesunięcia chemicznego protonów znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie heteroatomu oddziaływującego z metalem. Niestety, metoda ta ma pewne wady. Mianowicie, w przypadku skomplikowanych ligandów kompleksowanie może wywoływać zmiany konformacyjne, których następstwem jest zmiana przesunięć chemicznych nawet w odległych od wnętrza makrocyklicznej. Najszerszej badane były pochodne polieterowe i peptydowe produkowane przez mikroorganizmy, wykazujące działanie antybiotyczne oparte na zmianach równowag jonowych w komórkach<sup>24</sup>. Również w chemii inkluzyjnych kompleksów cyklodekstryn oraz cyklofanów często stosuje się indukowane kompleksowaniem przesunięcie chemiczne w celu określenia geometrii cząsteczki gościa we wnęce cząsteczki gospodarza. Jest to szczególnie przydatne dla substratów aromatycznych, gdyż ze względu na efekt prądu pierścieniowego, wywołują one największe zmiany w widmie. Ustalone eksperymentalnie stałe przesłaniania stosuje się następnie do optymalizacji geometrii kompleksu<sup>25</sup>.

Na podstawie analizy zmian przesunięć chemicznych możliwa jest odpowiedź na dwa zasadnicze pytania, pojawiające się przy okazji analizy

równowag prowadzących do powstania kompleksów supramolekularnych w roztworze. Pierwszym z nich jest zagadnienie stechiometrii powstających połączeń. Kompleksy tworzące się w fazie ciekłej nie odpowiadają często tym występującym w fazie stałej, przez co konieczne jest określenie stosunku molowego składników w kompleksie w roztworze. Drugie pytanie dotyczy stałej trwałości tworzącego się indywiduum.

Spśród kilku metod ustalania stechiometrii najszerszej stosowanymi są: metoda Joba (zwana także metodą zmian ciągłych – *continious variations method*)<sup>26</sup> oraz metoda stosunków molowych (*mole ratio method*)<sup>27</sup>. Nie jest możliwe określenie stosunku molowego oddziałujących na siebie komponentów z pojedynczego pomiaru NMR. Wymaga to serii eksperymentów, wykonywanych przy zmiennym stosunku komponentów w roztworze.

Rozpatrzmy tworzenie kompleksu (RS) pomiędzy receptorem (R) i substratem (S):



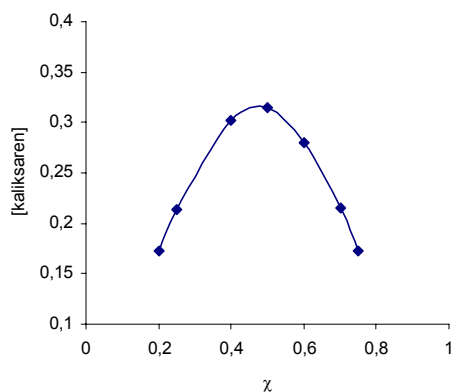
W metodzie zmian ciągłych przygotowuje się serię roztworów, w których suma stężeń receptora i substratu pozostaje stała, tj.  $[R_0] + [S_0] = \text{const.} = X$ , natomiast stosunek stężeń  $[R_0]/[S_0]$  zmienia się w małych krokach. Oczywiście wykres stężenia kompleksu  $[R_mS_n]$  lub jakiegokolwiek własności układu będącej liniowo zależną od tego stężenia wykazuje maksimum dla stosunku molowego  $[R_0]/[S_0] = m/n$  oraz minima dla roztworów zawierających wyłącznie jeden z substratów. Dla przykładu, dla kompleksów o stechiometrii 1:1 na wykresie Joba obserwuje się maksimum przy stężeniach  $[R_0] = [S_0] = 0,5 \cdot X$ , natomiast w przypadku stosunku molowego substratów w połączeniu wynoszącym 1:2 mamy ekstremum dla  $[S_0] = 0,67 \cdot X$ . Przy wyznaczaniu stechiometrii metodą spektroskopii NMR stosując

technikę zmian ciągłych wykonuje się zazwyczaj wykres zależności parametru  $\chi$ , zdefiniowanego jako:

$$\chi = \frac{[S_0]}{[R_0] + [S_0]}$$

względem, w przypadku wymiany szybkiej, podczas której obserwujemy uśredniony sygnał NMR, wartości  $\Delta/\Delta_0$  lub  $(\Delta/\Delta_0) \cdot [R_0]$  (gdzie  $\Delta = \delta_{\text{obs}} - \delta_{\text{free}}$  a  $\Delta_0 = \delta_{\text{complex}} - \delta_{\text{free}}$ ) albo, w sytuacji wymiany powolnej, kiedy to sygnał kompleksu jest wyraźnie odseparowany, od wartości  $[R_m S_n]$  czyli powierzchni pod sygnałem pochodzącym od kompleksu.

Ta metoda zdaje egzamin najlepiej w wypadku, jeśli tworzy się wyłącznie kompleks o jednej stechiometrii. W przypadku bardziej złożonych układów konieczne jest dopasowywanie krzywej teoretycznej do punktów eksperymentalnych<sup>28</sup>. Na rysunku 4 zaprezentowano przykładowy wykres Joba dla układu o stechiometrii 1:1 (kompleks kaliksarenu z 1,4-cykloheksanodiolem)<sup>29</sup>.



Rys. 4. Wykres Joba zależności stężenia wolnego kaliksarenu od składu roztworu

W metodzie stosunków molowych całkowite stężenie jednego z reagentów pozostaje stałe, natomiast zmienia się stężenia drugiego reagenta. Następnie bada się przebieg wykresu zależności stężenia kompleksu lub



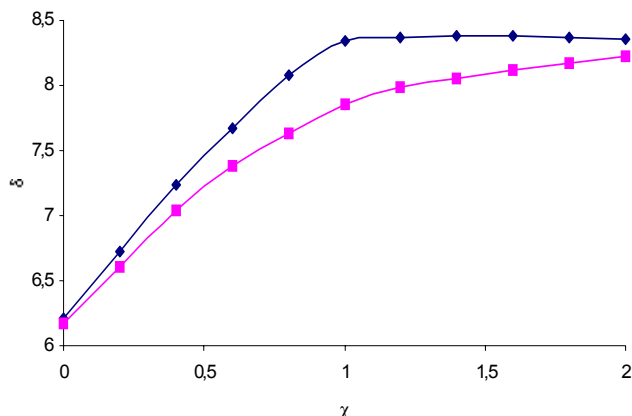
jakiejś własności układu z nim liniowo związanej od stosunku molowego  $[R^0]/[S^0]$  pod kątem jego nieliniowości lub nagłych zmian przebiegu. Gwałtowność skoku na krzywej, przypadającego przy wartości stosunku molowego odpowiadającej stechiometrii powstającego indywiduum, zależy od wartości stałej trwałości. Jest on najostrejszy dla układów o dużym powinowactwie (dużej stałej trwałości) i w miarę jej spadku ulega wypłaszczeniu (konieczne jest wtedy ekstrapolowanie początkowego i końcowego odcinka wykresu prostymi i znalezienie punktu ich przecięcia). Metoda ta ma przewagę nad metodą Joba z kilku powodów. Po pierwsze różnice w położeniu maksimum na wykresie w metodzie zmian ciągłych dla układów o wysokiej stechiometrii (np.: 4:1, 5:1, 6:1) są niewielkie (w podanym przykładzie wynoszą odpowiednio 0,800, 0,833, 0,857), zatem trudno jest oszacować stosunek reagentów w kompleksie. Problemu tego nie ma przy zastosowaniu drugiej z omawianych metod, gdyż różnica w położeniu skoku na krzywej wynosi 1. Ponadto z danych uzyskanych w metodzie stosunków molowych można w łatwy sposób obliczyć stałe trwałości kompleksów. Dodatkowym atutem jest łatwe rozróżnianie indywiduów o różnej stechiometrii występujących obok siebie w roztworze. Na rysunku 5 zaprezentowano schematyczny przebieg krzywych w metodzie stosunków molowych dla układu (1:1) o dużej i małej stałej trwałości.

Jeśli w wyniku reakcji receptora z substratem powstaje kompleks o stechiometrii 1:1, to stała równowagi tego procesu wyraża się równaniem:

$$K = \frac{[RS]}{[R][S]}$$

gdzie  $[R]$ ,  $[S]$  i  $[RS]$  oznaczają stężenie równowagowe odpowiednio: związku makrocyklicznego, gościa oraz kompleksu. W przypadku powolnej wymiany chemicznej, jeśli możemy zaobserwować rozseparowane sygnały pochodzące od każdego z indywiduów, mierząc intensywności odpowiednich

pików w widmie NMR, i podstawiając je w miejsca stężeń do powyższego wzoru możemy łatwo wyznaczyć wartość stałej K.



Rys. 5. Przebieg krzywych miareczkowania uzyskanych w metodzie stosunków molowych dla układu o dużej (♦) oraz małej (▪) stałej trwałości.

W przypadku wymiany szybkiej, przyjmujemy że obserwowane przesunięcie chemiczne jąder atomów jednego z substratów (np.: receptora) ulega zmianie na skutek kompleksowania, i jest ono wielkością wypadkową, zależną od procentowego udziału tego reagenta w stanie wolnym oraz w postaci związanej w kompleksie oraz od wartości przesunięć chemicznych obu tych form:

$$\delta_{obs} = N_R \delta_R + N_{RS} \delta_{RS}$$

gdzie  $\delta_{obs}$  oznacza obserwowane przesunięcie chemiczne,  $\delta_R$  oraz  $\delta_{RS}$  przesunięcia chemiczne tych samych jąder w cząsteczce receptora i kompleksu, natomiast  $N_R$  i  $N_{RS}$  oznacza ułamki molowe tych indywiduali, obliczone zgodnie ze wzorami:

$$N_R = \frac{[R]}{[R] + [RS]} \qquad N_{RS} = \frac{[RS]}{[R] + [RS]}$$

$$N_R + N_{RS} = 1$$

W efekcie równanie na obserwowaną wartość przesunięcia chemicznego można przekształcić do postaci:

$$\delta_{obs} = \delta_R + \frac{[RS]}{[R] + [S]}(\delta_{RS} - \delta_R)$$

Wprowadzając do równania zależności pomiędzy stężeniem równowagowym a początkowym,  $[R_0] = [R] + [RS]$ ;  $[S_0] = [S] + [RS]$ , uzyskujemy wyrażenie:

$$[RS] = \frac{[R_0](\delta_{obs} - \delta_R)}{(\delta_{RS} - \delta_R)} = [R_0] \left( \frac{\Delta}{\Delta_0} \right)$$

gdzie  $\Delta = \delta_R - \delta_{obs}$  a  $\Delta_0 = \delta_R - \delta_{RS}$ . Iloraz  $\Delta/\Delta_0$  bywa nazywany ułamkiem (stopniem) nasycenia (*saturation fraction*), i jest zależny od  $N_{RS}$ . W efekcie przekształceń otrzymujemy związek pomiędzy obserwowanym przesunięciem chemicznym, stałą równowagi, granicznym przesunięciem chemicznym oraz stężeniem substratu w roztworze:

$$\Delta^{-1} = (\Delta_0 K [S])^{-1} + \Delta_0^{-1}$$

To podwójnie odwrotne wyrażenie bywa nazywane równaniem Benesi-Hildebranda. Stosuje się także inne formy tego równania, np. równanie Scotta:

$$[S]\Delta^{-1} = (\Delta_0 K)^{-1} + [S]\Delta_0^{-1}$$

lub Scatcharda:

$$\Delta[S]^{-1} = -K\Delta + \Delta_0 K$$

Współczynnik nachylenia i wyraz wolny w tych równaniach liniowych oblicza się metodą regresji, a następnie przekształca w celu uzyskania wartości  $K$  i  $\Delta_0$ . Najczęściej stosowanym jest równanie Scatcharda, gdyż otrzymujemy z niego rzeczywistą wartość  $K$  bezpośrednio z parametru  $a$  prostej. Wartości  $\Delta$  uzyskuje się z serii eksperymentów wykonywanych przy zmiennym stężeniu jednego z reagentów (podobnie jak w przypadku

określania stechiometrii metodą stosunków molowych). Podejście to zwykle nazywać się w literaturze miareczkowaniem NMR<sup>30</sup>. Jest ono szczególnie przydatne dla układów o niedużych wartościach stałych trwałości, dla których  $K[R] \ll 1$ . W niektórych sytuacjach (np.: bardzo ograniczona rozpuszczalność związków) podejście zaprezentowane powyżej nie może być zrealizowane. Stosuje się wówczas metodę rozcieńczeń równomolowych (*equimolar dilution method*), w której stężenie receptora i substratu pozostaje stałe  $[R] = [S]$ <sup>31</sup>. Z kolei dla układów o dużych stałych trwałości opracowano metodę Rose-Drago, w której do wyznaczenia wartości K stosuje się następujące równanie matematyczne:

$$(\Delta_0 - \Delta)K = \frac{\Delta_0 \Delta}{\Delta_0[S_0] - \Delta[R_0]}$$

W podejściu tym wykonuje się wykres  $\Delta_0$  od  $K^{-1}$  dla każdej wartości  $[S_0]$  i  $[R_0]$  na jednym układzie współrzędnych. Punkt przecięcia tych prostych odpowiada rzeczywistej wartości stałej równowagi oraz przesunięcia granicznego<sup>32</sup>. Opracowano również szereg metod iteracyjnych<sup>33</sup>, pozwalających metodami numerycznymi wyznaczyć K oraz  $\Delta_0$  wykorzystujących bardziej złożone zależności, np.:

$$[S_0]\Delta = ([R_0] + [S_0] - \Delta\Delta_0^{-1}[R_0])\Delta_0^{-1} + (K\Delta_0)^{-1}$$

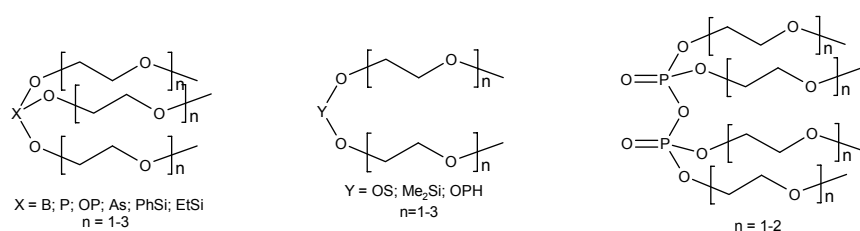
Stamm i współpracownicy dokonali przeglądu różnych metod wyznaczania stałych równowag oraz przedyskutowali ich przydatność do badania układów o małym powinowactwie<sup>34</sup>.

Jeśli wykresy Scotta, Scatcharda lub Benesi'ego nie są prostoliniowe, świadczy to o możliwości tworzenia się w roztworze kompleksów o stechiometrii wyższej niż 1:1. Wykazano, iż na procesy takie najbardziej wrażliwa jest funkcja Scatcharda<sup>35</sup>. Rozwiązania równań dla procesów dynamicznych w których substraty oddziałują w stosunku molowym większym niż 1:1 są znacznie bardziej skomplikowane i wymagają na ogół

postępowania iteracyjnego co powoduje iż wyznaczenie wartości stałych trwałości jest utrudnione a wyniki obarczone są większymi błędami. W literaturze dostępny jest szereg metod pozwalających szacować wartości K dla tego typu połączeń<sup>36</sup>. W literaturze znajdziemy także szereg prac dotyczących optymalizacji warunków eksperyment, pozwalających na uzyskanie dokładnych wartości stałych trwałości<sup>37</sup>. O tym, jak istotne jest zachowanie właściwych warunków pomiaru, przekonać się można porównując dane uzyskane dla tych samych układów przez różnych autorów<sup>38</sup>.

Metodę stosunków molowych stosowano w badaniach kompleksów estrów nieorganicznych glikoli polietylenowych z jonami metali I grupy.

Analiza widm <sup>7</sup>Li oraz <sup>23</sup>Na NMR, wykonanych w funkcji stosunku molowego ligand/kation pozwala określić stechiometrię powstających połączeń inkluzyjnych. Wyniki miareczkowań oraz struktury ligandów prezentowane są na rysunku 6.



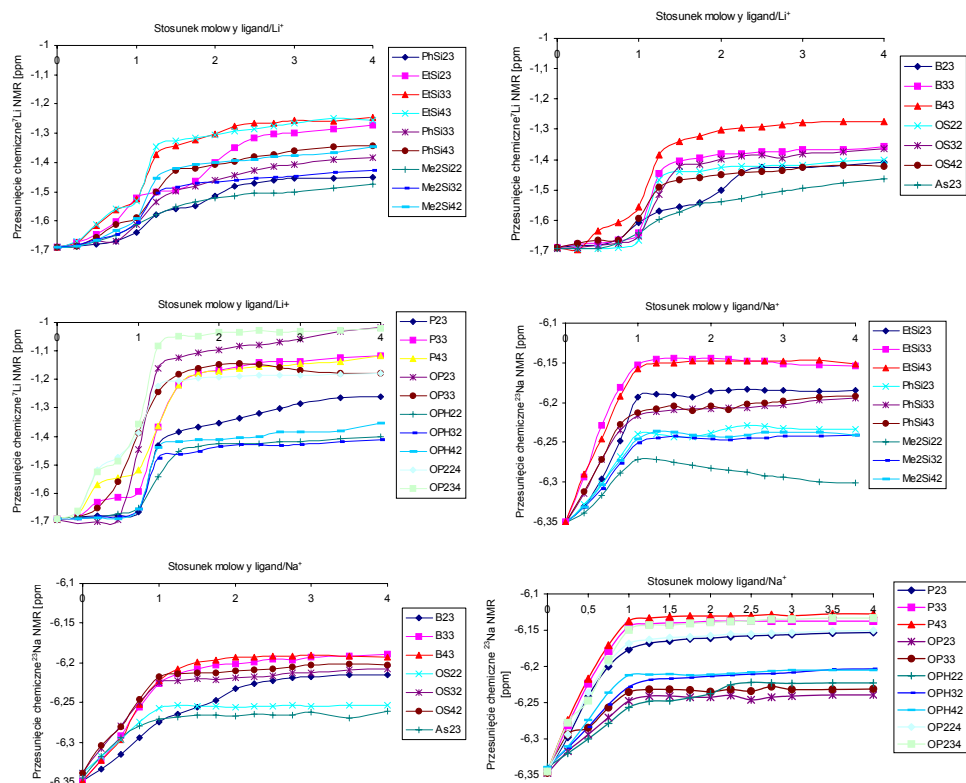
Nazewnictwo:  $X(n+1)3$

$Y(n+1)2$

$OP_2(n+1)4$

Z zamieszczonych wykresów odczytać możemy stechiometrię powstających w układzie kompleksów. Dla jonów litu i sodu dla większości układów o krótkich łańcuchach (dwa atomy tlenu w każdym z ramion bocznych cząsteczki liganda) na krzywych obserwujemy dwa punkty przegięcia - pierwszy odpowiadający stechiometrii 1:1, drugi przy stosunku molowym

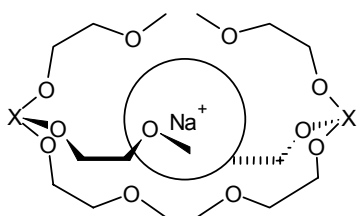
1:2 (co odpowiada dwóm cząsteczkom liganda związanym z jednym kationem metalu).



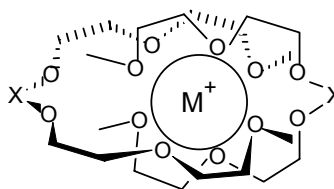
Rys. 6. Krzywe miareczkowania  ${}^7\text{Li}$  i  ${}^{23}\text{Na}$  NMR oraz struktury ligandów, pochodnych glikoli poli(oksaetylenowych)

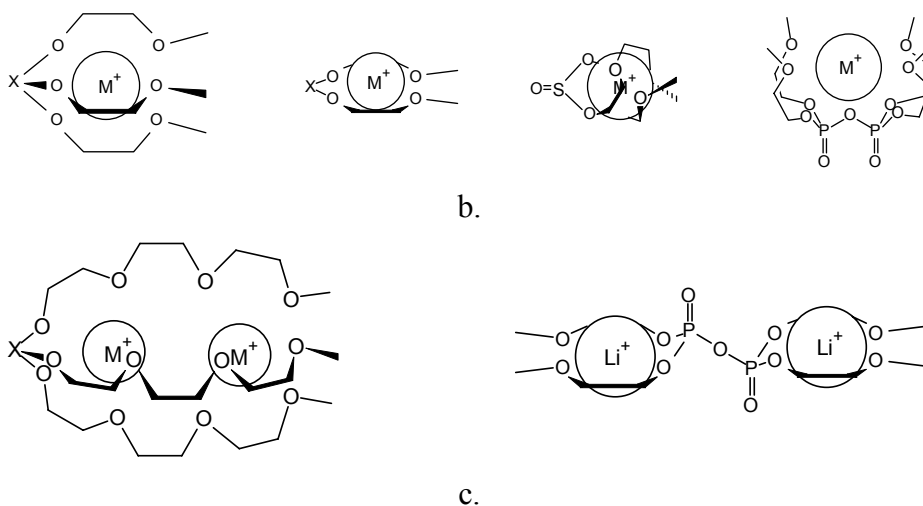
Tworzenie tego typu połączeń jest wyraźniejsze dla kationu  $\text{Na}^+$  niż  $\text{Li}^+$  (jon sodu jest większy niż jon litu, zatem jego ściśle otoczenie przez relatywnie krótkie łańcuchy boczne jest trudne) oraz dla ligandów boranowych(III) gdyż w cząsteczce ligandów zawierających bor atomy tlenu  $\text{O}^2$  leżą w tej samej płaszczyźnie co atom  $\text{B}^I$ , zatem są mniej dostępne dla kationu metalu a ich zaangażowanie w tworzenie kompleksu wymaga deformacji wiązań B-O. Tworzenie adduktów o stosunku molowym 2:1 obserwuje się także w przypadku ligandów dilańcuchowych OPH32 i

OPH42. Kompleksy te są słabe, a ich udział w mieszaninie równowagowej niewielki. Prawdopodobna ich struktura przypomina sferat. Dwie cząsteczki liganda ustawione są do siebie prostopadle a jon otoczony przez kanał utworzony aż z czterech łańcuchów bocznych. Zjawiska tworzenie połączeń o stechiometrii 2:1 nie obserwuje się dla ligandów siarczanowych(IV) co jest oczywiste w świetle koncepcji helikalnej ich struktury oraz dla ligandów pirofosforanowych które, ze względu na kształt i rozmiar wnęki, są w stanie związać trwale nawet duży jon. Dla ligandów o najdłuższych łańcuchach obserwuje się natomiast powstawanie połączeń o stosunku molowym jon/ligand wynoszącym 1:2, co odpowiada dwóm jonom uwięzionym w kanale utworzonym przez cząsteczkę gospodarza. Kompleksy o tej stechiometrii mają zdecydowanie mniejsze stałe trwałości ze względu na elektrostatyczne odpychanie jonów w kanale i tworzą się chętniej w przypadku kationów  $\text{Li}^+$ . Jon sodu ma większy niż jon litu promień jonowy, co utrudnia jednoczesne zmieszczenie się dwóch kationów  $\text{Na}^+$  we wnęce makrocyklicznej liganda. Trwałe kompleksy zbudowane z dwóch jonów przypadających na jeden ligand, tworzą pirofosforany. Obie badane pochodne tworzą połączenie z jonami  $\text{Li}^+$ , natomiast  $\text{OP}_{234}$  również z  $\text{Na}^+$ . Prawdopodobna struktura takich kompleksów pokazana jest na rysunku 7.



a.





Rys. 7. Struktura kompleksów różnych ligandów polioksaetylenowych z jonami litowców o stechiometrii 2:1 (a), 1:1 (b) i 1:2 (c)

W tabeli 3 umieszczono obliczone na podstawie wyników miareczkowań  $^7\text{Li}$  i  $^{23}\text{Na}$  NMR stałe trwałości kompleksów.

Tabela 3. Wyznaczone metodą Benesi-Hildebrand'a wartości stałych trwałości (jako  $\log K$ ) dla kompleksów badanych ligandów z jonami  $\text{Li}^+$  i  $\text{Na}^+$

Ligand	Wartość $\log K$	
	$\text{Li}^+$	$\text{Na}^+$
<b>B23</b>	$0,7 \pm 0,3$ (1:1) <sup>1</sup>	$0,4 \pm 0,2$ (1:1)
	$1,5 \pm 0,4$ (2:1)	$1,2 \pm 0,3$ (2:1)
<b>B33</b>	$1,1 \pm 0,2$ (1:1)	$1,1 \pm 0,2$ (1:1)
<b>B43</b>	$1,2 \pm 0,2$ (1:1)	$1,2 \pm 0,1$ (1:1)
<b>OS22</b>	$1,2 \pm 0,1$ (1:1)	$1,2 \pm 0,2$ (1:1)
<b>OS32</b>	$1,3 \pm 0,1$ (1:1)	$1,8 \pm 0,1$ (1:1)
<b>OS42</b>	$1,3 \pm 0,1$ (1:1)	$1,9 \pm 0,2$ (1:1)
<b>P23</b>	$0,8 \pm 0,1$ (1:1)	$0,9 \pm 0,2$ (1:1)
<b>P33</b>	$0,4 \pm 0,3$ (1:2)	$1,7 \pm 0,2$ (1:1)
	$1,4 \pm 0,3$ (1:1)	
<b>P43</b>	$0,6 \pm 0,2$ (1:2)	$1,7 \pm 0,2$ (1:1)
	$1,4 \pm 0,4$ (1:1)	

<sup>1</sup> stosunek molowy ligand/jon



Tabela 3. c.d.

<b>OP23</b>	1,3 ± 0,2 (1:1)	1,6 ± 0,2 (1:1)
<b>OP33</b>	1,6 ± 0,2 (1:1)	2,3 ± 0,1 (1:1)
<b>OPH22</b>	1,2 ± 0,1 (1:1) 0,4 ± 0,3 (2:1)	0,9 ± 0,2 (1:1) 1,1 ± 0,2 (2:1)
<b>OPH32</b>	1,2 ± 0,2 (1:1) 0,2 ± 0,2 (2:1)	1,6 ± 0,1 (1:1)
<b>OPH42</b>	1,2 ± 0,1 (1:1) 0,4 ± 0,2 (2:1)	1,8 ± 0,3 (1:1)
<b>OP<sub>2</sub>24</b>	0,8 ± 0,3 (1:2) 1,8 ± 0,2 (1:1)	1,9 ± 0,1 (1:1)
<b>OP<sub>2</sub>34</b>	0,8 ± 0,2 (1:2) 1,8 ± 0,2 (1:1)	0,6 ± 0,1 (1:2) 2,4 ± 0,2 (1:1)
<b>As23</b>	0,4 ± 0,2 (1:1)	0,3 ± 0,1 (1:1)
<b>Me<sub>2</sub>Si22</b>	0,6 ± 0,1 (1:1)	0,7 ± 0,1 (1:1)
<b>Me<sub>2</sub>Si32</b>	0,8 ± 0,2 (1:1)	1,2 ± 0,2 (1:1)
<b>Me<sub>2</sub>Si42</b>	0,9 ± 0,2 (1:1)	1,2 ± 0,1 (1:1)
<b>EtSi23</b>	0,6 ± 0,2 (1:1) 1,2 ± 0,3 (2:1)	1,9 ± 0,1 (1:1)
<b>EtSi33</b>	1,1 ± 0,1 (1:1)	2,0 ± 0,2 (1:1)
<b>EtSi43</b>	1,2 ± 0,1 (1:1) 0,4 ± 0,4 (1:2)	2,0 ± 0,1 (1:1)
<b>PhSi23</b>	0,4 ± 0,1 (1:1) 1,0 ± 0,2 (2:1)	1,3 ± 0,1 (1:1)
<b>PhSi33</b>	0,7 ± 0,1 (1:1)	1,5 ± 0,2 (1:1)
<b>PhSi43</b>	0,9 ± 0,2 (1:1)	0,6 ± 0,3 (1:2) 1,5 ± 0,3 (1:1)

Wartości logK zależą silnie od charakteru liganda. Dla kompleksów 1:1 z ligandami o najkrótszych łańcuchach wartości te są zazwyczaj niewielkie (<1,0). Wyjątek stanowią pochodne siarczanowe(IV), tworzące połączenia helikalne oraz fosforany(V), tworzące trwałe połączenia 1:1, angażujące w koordynacje również atom fosforu liganda. Stałe trwałości dla układów złożonych z dwóch cząsteczek gospodarza przypadających na jeden jon metalu charakteryzują się trwałością porównywalną (lub nieznacznie mniejszą) niż kompleksy 1:1 zbudowane z analogicznego liganda, którego

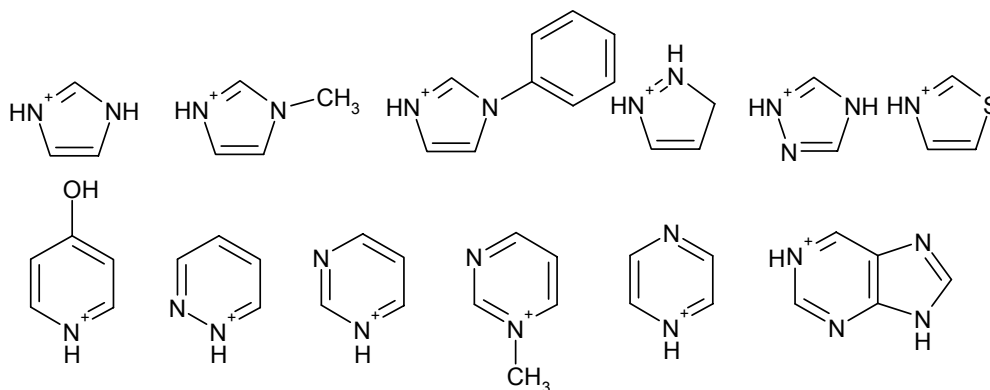
ramiona boczne są dłuższe o jedną grupę  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ . Odstępstwem od tej prawidłowości są związki  $\text{Li}^+\text{C}(\text{OPHx}_2)_2$ ,  $x = 2-4$ , dla których stałe trwałości są mniejsze niż dla odpowiednich  $\text{Li}^+\text{COPHx}_2$ .

Ogólna tendencja wskazuje na większą stabilność połączeń z sodem niż z litem, poza ligandami o najkrótszych łańcuchach, co wynika z dużej średnicy jonów  $\text{Na}^+$ , a przez to złego dopasowania do wnęki. Kompleksy o stechiometrii 1:2 (jeden ligand wiążący dwa jony) są, ze względów elektrostatycznych, mniej stabilne niż połączenia 1:1 ( $\log K$  wynosi ok. 0,5).

Widma  $^{87}\text{Rb}$  nie nadają się zbyt do badania tworzenia kompleksów. Ze względu na oddziaływania dipolowe sygnał jest szeroki, co przy niewielkich zmianach przesunięć chemicznych uniemożliwia dokładną analizę wyników. Położenie linii rezonansowej jądra atomu „spinającego” łańcuchy jest mało wrażliwe na kompleksowanie. Jedyne interesujące efekty obserwuje się dla ligandów, w których tworzeniu kompleksu towarzyszy zmiana konformacji. Z takim przypadkiem mamy do czynienia dla linii rezonansowej  $^{31}\text{P}$  NMR pochodnych pirofosforanowych. Z tworzeniem kompleksu 1:1 wiąże się niewielka (dla kompleksów z  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  i  $\text{Rb}^+$  około 0,10-0,15 ppm) zmiana położenia, natomiast przy nadmiarze kationów, w warunkach sprzyjających tworzeniu połączeń 2:1, wzrasta ona do 1,5 ppm (ale tylko dla jonów litu i sodu). Wiąże się to z konieczną, w celu związania dwóch jonów, rotacją wokół wiązania O-P i zmianą geometrii cząsteczki liganda. Jony rubidu, które ze względu na swoje rozmiary połączeń tego typu nie tworzą chętnie, nie wywołują takiego efektu (jak w przypadku  $\text{OP}_2\text{24}$ ) lub jest on znacznie mniejszy (dla  $\text{OP}_2\text{34}$ ) niż w przypadku litowców o mniejszym promieniu jonowym. Warto zauważyć również, że w przypadku pirofosforanu(V) o krótszych ramionach bocznych efekt ten jest mniejszy niż dla pochodnej o większych rozmiarach wnęki.

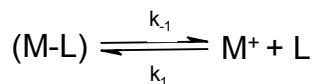
Metodę miareczkowania NMR stosowano także w badaniach stechiometrii kompleksów supramolekularnych z anionami. Przykładem mogą być prace dotyczące wiązania fosforanów i fosforanów nukleozydów<sup>39</sup>, azotanów, chlorków i siarczanów<sup>40</sup> z zasadami makrocyklicznymi.

Stosując spektroskopię NMR, wraz z analizą krystalograficzną oraz spektrografią masową, badano oddziaływania pięcio- i sześcioczłonowych kationów N-heteroaromatycznych z wybranymi eterami koronowymi.

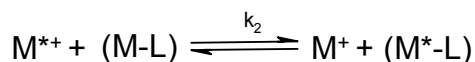


Przy użyciu miareczkowania NMR wyznaczono stechiometrię powstających kompleksów oraz ich stałe trwałości<sup>41</sup>.

Kolejnym zagadnieniem, możliwym do rozwiązania przy zastosowaniu pomiarów zmian przesunięć chemicznych, jest mechanizm dysocjacji i międzymolekularnej wymiany ligandów lub cząsteczek substratu<sup>42</sup>. W celu wytłumaczenia obserwowanych zmian w widmach NMR zaproponowano dwa podstawowe mechanizmy tych procesów. Pierwszy z nich, nazywany jednocząsteczkowym lub dysocjacyjnym mechanizmem wymiany może być przedstawiony przez następujące równanie:



Drugim jest mechanizm dwucząsteczkowy, zwany również asocjacyjnym. Według tego modelu proces wymiany zachodzi zgodnie z poniższym zapisem:



Rozróżnienia pomiędzy tymi dwoma mechanizmami można w łatwy sposób dokonać opierając się na serii eksperymentów wykonanych przy tym samym stosunku reagentów ale przy ich zmiennym sumarycznym stężeniu. Oznaczmy średni czas życia kationu metalu  $M^+$  w dwóch formach A i B (np.: wolnej i skompleksowanej) przez  $\tau_A^{-1}$  i  $\tau_B^{-1}$ . Zdefiniujmy  $\tau^{-1} = \tau_A^{-1} + \tau_B^{-1}$ . Wówczas otrzymujemy następujący związek pomiędzy stałymi  $k_{-1}$ ,  $k_1$  oraz  $k_2$ :

$$\tau^{-1}[M^+]_{total}^{-1} = k_{-1}[M^+]_{free} + k_2$$

zatem:

$$\tau^{-1} = k_{-1} \frac{[M^+]_{total}}{[M^+]_{free}} + k_2$$

W wypadku mechanizmu jednocząsteczkowego, wartość ilorazu stężenia całkowitego przez stężenie wolnego jonu pozostaje stała, dlatego w tym przypadku nie oczekujemy zmian w widmie wywołanych zmianami stężenia. Dla mechanizmu dwucząsteczkowego, ze względu na zmiany  $[M^+]_{total}$  podczas rozcieńczania roztworu, zmienia się średni czas życia danej formy, a co za tym idzie, obserwujemy zmiany w widmie. Najczęściej jest to poszerzenie lub uśrednianie sygnałów.

Zastosowanie magnetycznego rezonansu jądrowego do badań kompleksowania jonów litowców lub berylowców naraża często pewne trudności ze względu na właściwości jąder tych metali. Cechują się one dużymi wartościami momentów kwadrupolowych oraz często małymi wartościami współczynników magnetogirycznych. Efektem tego jest fakt, iż

linie rezonansowe uzyskiwane w eksperymentach są szerokie a intensywności sygnałów – niskie. Również zmiany przesunięć chemicznych, wywołane zmianami w obrębie sfery koordynacyjnej są niewielkie. Doskonałą metodą pozwalającą ominąć te niedogodności jest zastosowanie sygnału pochodzącego od jądra atomowego innego pierwiastka wprowadzonego do układu jako sondy służącej do śledzenia zmian w nim zachodzących. Doskonale nadaje się do tego tal, którego oba magnetycznie aktywne izotopy ( $^{203}\text{Tl}$  i  $^{205}\text{Tl}$ ) cechują się spinem  $\frac{1}{2}$ , dużą wykrywalnością i wyjątkową wrażliwością przesunięcia chemicznego na zmiany otoczenia jonu. Stosuje się go w badaniach kompleksowania jonów innych metali przez związki makrocycliczne. Do układu wprowadza się badany ligand, oraz jony talu(I), następnie wykonuje się pomiary przesunięcia chemicznego  $^{205}\text{Tl}$  w funkcji stężenia innego, dodawanego jonu, uzyskując informację o względnych stałych trwałości oraz stechiometrii. Niestety, zakres częstości rezonansowych przy których rezonuje tal, leży poza możliwościami większości spektrometrów NMR<sup>43</sup>.

Należy jednak pamiętać, iż dla wielu układów, tworzących bardzo silne kompleksy supramolekularne nie obserwuje się istotnych zmian przesunięć chemicznych jąder atomowych liganda lub gościa lub, w najlepszym razie, zmiany te są niewielkie i trudne do dyskusowania. Przykładem mogą być kryptaty jonów magnezu. Kationy  $\text{Mg}^{2+}$  tworzą bardzo silne połączenia z koronandami 15C5 czy 18C6, jednakże w widmach  $^1\text{H}$  NMR oraz  $^{25}\text{Mg}$  efektów praktycznie nie rejestruje się<sup>44</sup>.

### 3. Czasy relaksacji

Zjawisko relaksacji, czyli powrotu układu do stanu równowagi termodynamicznej po ustaniu zaburzenia, jest procesem dla spektroskopii NMR zasadniczym. Wyróżniono dwa typy relaksacji; pierwszy, związany z

oddawaniem energii przez układ do otoczenia (tzw. sieci) nazywamy relaksacją podłużną, drugi polega na przekazywaniu energii między spinami jądrowymi (tzw. relaksacja poprzeczna). Czynnikiem wywołującym relaksację NMR jest wiele, i w zależności od ich charakteru, wydzielono pięć jej mechanizmów:

- mechanizm dipolowy – wywołany przez oddziaływanie z polem magnetycznym wyindukowanym przez sąsiednie jądra atomowe, jej szybkość zależy od tzw. czasów korelacji cząsteczki, określających szybkość reorientacji molekuli w zewnętrznym polu magnetycznym
- mechanizm paramagnetyczny – związany z obecnością w cząsteczce niesparowanych elektronów (np.; w wolnych rodnikach, kompleksach z jonami paramagnetycznymi); jest zasadniczo złożeniem 3 oddziaływań: dipolowego jądro-elektron, kontaktowego oraz Curie, zależy od czasów korelacji, szybkości relaksacji elektronu oraz wartości stałej sprzężenia jądro-elektron
- mechanizm spinowo-rotacyjny – istotny głównie w fazach o niskiej lepkości, wynika z fluktuacji pola magnetycznego wywołanych ruchem rotacyjnym molekuł w polu  $B_0$ ; zależy od rotacyjnego czasu korelacji
- mechanizm skalarny – wywołany przez fluktuacje pola lokalnego wywołane: a) szybką relaksacją jąder sąsiednich lub b) wymianą chemiczną lub konformacyjną w układzie; w pierwszym przypadku jest funkcją czasu relaksacji sąsiednich jąder, w drugim zaś stałą szybkości procesu wymiany
- mechanizm kwadrupolowy – związany z obecnością w cząsteczce jąder atomowych o spinie większym niż  $\frac{1}{2}$  (z czym wiąże się moment kwadrupolowy); szybkość tego procesu jest zależna od wartości momentu

kwadrupolowego oraz wartości gradientu pola elektrostatycznego w sąsiedztwie jądra kwadrupolowego oraz czasu korelacji

Pomiar szybkości relaksacji sprowadza się do wyznaczenia wartości stałej szybkości tego procesu. Parametr ten podaje się najczęściej jako tzw. czas relaksacji podłużnej –  $T_1$  oraz czas relaksacji poprzecznej –  $T_2$ . Do pomiaru tych wartości służy szereg dostępnych sekwencji wieloimpulsowych. W wielu wypadkach zamiast wartości  $T_1$  i  $T_2$  podaje się parametr z mini sprzężony, a mianowicie szerokość linii rezonansowej.

Z punktu widzenia chemii supramolekularnej najwięcej danych dostarczają informacje o szybkości procesu relaksacji wywołanego mechanizmem kwadrupolowym lub skalarnym.

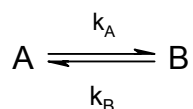
Szybkość relaksacji jądra kwadrupolowego zależy od wartości momentu kwadrupolowego tego jądra oraz od gradientu pola elektrostatycznego wokół niego. O ile pierwszy z tych parametrów jest stały, o tyle drugi może się zmieniać, w zależności od otoczenie chemicznego jądra. Efekty kwadrupolowe, wywołujące poszerzenie linii, są utrapieniem spektroskopistów, gdyż utrudniają a często wręcz uniemożliwiają pomiar widma NMR. Ze względu na poszerzenia sygnałów jąder kwadrupolowych często trudne jest dokładne wyznaczenie przesunięcia chemicznego takiej linii rezonansowej lub rozróżnienie sygnałów leżących blisko siebie. Jednakże relaksacja kwadrupolowe może być również cennym narzędziem badawczym. Oddziaływanie gradientu pola elektrostatycznego z momentem kwadrupolowym jądra, wywołujące poszerzenie linii jest opisane wzorem:

$$T_{1,2}^{-1} = \frac{3}{40} \frac{2I+3}{I^2(2I+1)\hbar^2} (e^2 qQ)^2 \tau_{rot}$$

gdzie  $I$  oznacza spin jądra kwadrupolowego,  $eQ$  – moment kwadrupolowy,  $eq$  – gradient pola a  $\tau_{rot}$  – czas korelacji rotacyjnej.

Wartość czasu korelacji dla cząsteczki możemy wyznaczyć mierząc szybkość procesu relaksacji dla jąder innych, niekwadropolowych, atomów w cząsteczce. Dzięki temu uzyskujemy informację o wartości iloczynu  $e^2Qq$ , a co za tym idzie, o wielkości gradientu pola wokół badanego jądra. Parametr ten jest w oczywisty sposób zależny od symetrii wokół tego atomu. Jeżeli badamy proces kompleksowania jonów metali których jądra atomowe mają  $I > 1/2$  (np.:  $^{23}\text{Na}$ ) to obserwowany efekt jest miarą asymetrii miejsca wiązania tego kationu. Pozwala to na badanie geometrii miejsca wiązania dla ligandów których konformacja może ulegać zmianie (podandy, naturalne jonofory) lub które mogą tworzyć agregaty złożone z kilku cząsteczek receptora i kilku jonów. Również solwatacja takiego kompleksu wpływa na kształt linii rezonansowej, jest to zatem dogodne narzędzie przy pomocy którego analizować można oddziaływania supermolekuły z cząsteczkami rozpuszczalnika. Jest to również doskonała metoda śledzenia zjawisk transportu i dynamiki jonów kwadropolowych lub ich połączeń inkluzyjnych, w środowiskach silnie anizotropowych, np.: biomembranach, micelach, liposomach, polimerach czy ciekłych kryształach<sup>45</sup>.

Wartości czasów relaksacji wywołanej oddziaływaniem skalarnym mogą służyć do wyznaczania szybkości procesu wymiany pomiędzy indywiduami w roztworze<sup>46</sup>. Składowa czasu relaksacji poprzecznej pochodząca od procesów wymiany w najprostszym przypadku:



wyraża się wzorem:

$$T_2^{-1} = \frac{4\pi^2 p_A p_B (\nu_A - \nu_B)^2}{(k_A + k_B)}$$

gdzie  $\nu_A$  oznacza przesunięcie chemiczne (w Hz) danego jądra w formie A,  $\nu_B$  – przesunięcie tego samego jądra w formie B, natomiast  $p_i$  – populacje



obu stanów. W zależności od przyjętego mechanizmu reakcji równanie to przyjmuje różne formy, natomiast wyznaczenie parametrów kinetycznych i termodynamicznych procesu wymiany sprowadza się w większości wypadków (poza najprostszymi układami), do wykonania serii pomiarów czasów relaksacji w funkcji temperatury i stężenia reagentów, a następnie dopasowanie do tych wartości funkcji zależnych od poszukiwanych parametrów oraz przyjętego modelu, w oparciu o kolejne iteracje<sup>47</sup>. Wyczerpującego przeglądu kinetycznych metod NMR-owskich dokonał Detelie<sup>48</sup>.

Wykazano, iż pomiary czasów relaksacji są dobrą metodą służącą do ustalania wartości stałych trwałości kompleksów. W warunkach szybkiej wymiany chemicznej obserwowana stała szybkości relaksacji podłużnej ( $R_1=1/T_1$ ), oznaczana jako  $R_{1Obs}$  jest średnią ważoną dla stałej relaksacji substratu wolnego i skompleksowanego (odpowiednio  $R_{1f}$  i  $R_{1b}$ ), zatem wyraża się równaniem:

$$R_{1obs} = N_f R_{1f} + N_b R_{1b}$$

gdzie  $N_f$  i  $N_b$  oznaczają odpowiednio udział formy wolnej i skompleksowanej. Ponieważ powyższe równanie jest analogiczne do przedstawionego uprzednio, opisującego zależność przesunięcia chemicznego od udziału poszczególnych indywiduów, możemy zastosować identyczne równania, zamieniając jedynie przesunięcie chemiczne ( $\delta$ ) na stałe szybkości relaksacji ( $R_1$ ). Pomiary czasów  $T_1$  są wygodnym narzędziem, jeśli wywołane kompleksowaniem przesunięcie chemiczne jest zbyt małe i pomiary obarczone są zbyt dużym błędem. Doskonałym przykładem takiego stanu rzeczy są kompleksy związków niearomatycznych z cyklodekstrynami w roztworach wodnych<sup>49</sup>. Również wiązanie jonów do polielektrolitów, takich jak DNA czy RNA oraz innych biologicznie ważnych związków wielkocząsteczkowych badano tą metodą<sup>50</sup>. W przypadku badania

kompleksowania jonów paramagnetycznych, stosuje się wyznaczenie stałej K drogą pośrednią. Stałe szybkości relaksacji protonów cząsteczek wody rosną w miarę kowalencyjnego lub niekowalencyjnego wiązania się jonów paramagnetycznych z makromolekułą. Możemy zatem, z pomiarów relaksacji cząsteczek wody, wyznaczyć stopień związania jonów a następnie obliczyć wartość stałej trwałości kompleksu<sup>51</sup>.

Podobnie jak przesunięcia chemiczne jonu talu są doskonałą sondą przy pomiarach kompleksowania innych jonów, tak też niektóre jony kwadрупolowe z powodzeniem stosowano do relaksacyjnych badań oddziaływań receptorów z substratami. Przykładem może być jon bromkowy. Na podstawie zmian czasów relaksacji jądra <sup>81</sup>Br we wnęce cyklodekstryny ustalono stałą kompleksowania anionu Br<sup>-</sup> w tym kompleksie oraz szeregu innych anionów nieorganicznych.

#### **4. Oddziaływania dipolowe**

W fazie ciekłej oddziaływania dipolowe ulegają uśrednieniu, w efekcie czego sprzężeń dipolowych nie obserwuje się. Jednakże, w przypadku zaburzenia przejść energetycznych jednego z oddziałujących na siebie spinów (np.: poprzez napromieniowanie próbki falą elektromagnetyczną o częstotści odpowiadającej przejściom rezonansowym tego jądra), oddziaływania dipolowe ujawniają się na widmie jako zmiana intensywności sygnałów atomów oddziałujących z jądrem napromieniowywanym. Efekt ten, zwany efektem Overhausera (nOe) ma niezwykle znaczenie w poznawaniu struktur cząsteczek. Wynika to z faktu, iż wartość oddziaływania dipolowego pomiędzy atomami jest odwrotnie proporcjonalna do szóstej potęgi odległości pomiędzy nimi. Wartość nOe może zatem służyć do wyznaczenia odległości międzyatomowych, wewnątrz oraz międzycząsteczkowych (za względu na szybki zanik wartości tego

efektu wraz ze wzrostem odległości, nadaje się on jedynie do badania fragmentów molekuly leżących blisko siebie. Wielkość  $nOe$  jest ponadto zależna od wartości współczynników magnetogirycznych oddziałujących jąder:

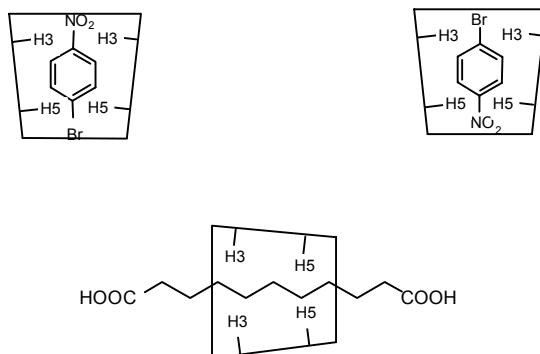
$$nOe = 1 + \frac{\gamma_A}{2\gamma_B}$$

Dla pary izotopów, w przypadku których  $sgn(\gamma_A) \neq sgn(\gamma_B)$  efekt Overhausera może doprowadzić do zaniku sygnału. Technika ta ma jednak wiele niedogodności. Zastosowanie tradycyjnych eksperymentów różnicowych  $nOe$  jak również techniki 2D NOESY jest ograniczone przez niekorzystną wartość czasu reorientacji molekuly,  $\tau_C$ , dla cząsteczek o masach 1000-5000 D. Krytyczna stała szybkości relaksacji skrośnej jest zależna od wartości tego parametru (zależnego od lepkości rozpuszczalnika) oraz wartości pola  $B_0$ . W konsekwencji, efekt  $nOe$  jest dodatni dla cząsteczek o masach poniżej 1000 i wyraźnie ujemny dla mas powyżej 5000. W zakresie 1000-5000 D wartości wzmocnień są bliskie zeru i w efekcie trudne lub całkowicie niemożliwe do zmierzenia. Dopiero zastosowanie sekwencji ROESY lub CAMELSPIN pozwala przezwyciężyć to ograniczenie. W widmach 2D  $nOe$  (zarówno NOESY jak i ROESY), gdyż te są najczęściej stosowane w badaniach złożonych wielospinowych cząsteczek, do jakich zalicza się większość receptorów supramolekularnych, interesującym parametrem jest objętość sygnału korelacyjnego. Wartość ta jest łatwa do uzyskania przy pomocy ogólnie dostępnego oprogramowania i można ją od razu korelować z odległościami międzyjądrowymi. Jednakże wartość szybkości relaksacji podstawowej również zależy od procesów reorientacji cząsteczki a przez to od kształtu molekuly. Dyfuzja spinowa, obecność w cząsteczce jąder „trzecich” jak również zachodzenie procesów innych niż relaksacja poprzeczna podczas lokowania spinów również nie pozostaje bez wpływu na

wartość  $nOe$  i w efekcie utrudnia dokładną analizę ilościową. Dlatego, dla bardzo dokładnych badań wymagane są pomiary przy różnych lepkościach rozpuszczalnika oraz różnych wartościach natężenia pola. Dodatkowo dla syntetycznych układów gość – gospodarz wielkość mierzonych efektów jest dodatkowo umniejszana przez szybką wymianę pomiędzy różnymi strukturami o podobnych odległościach między interesującymi nas jądrami. W eksperymentach z lokowaniem spinów (np. ROESY) sygnały korelacyjne są często znacznie bardziej rozmyte niż możliwe artefakty. Aby szacować odległości międzyatomowe z intensywności sygnałów korelacyjnych, konieczne jest ich skalowanie, względem układu spinów, których odległość znamy (najczęściej są to wicynalne protony aromatyczne lub olefinowe). Odległości między oddziałującymi na siebie dipolowo jądrami wynoszące powyżej 4Å są już praktycznie niemożliwe do zmierzenia tą techniką.

W chemii supramolekularnej efekt Overhausera stosowany jest przede wszystkim do analizowania zmian konformacyjnych liganda lub substratu wywołanych kompleksowaniem. Jest to podstawowa technika do badania struktury związków makrocząsteczkowych, takich jak białka czy kwasy nukleinowe<sup>52</sup>, jak również wielu pochodnych o mniejszych molekułach, np.: naturalnych antybiotyków jonoforowych, kaliksarenów, cyklodekstryn. Istotniejszym zagadnieniem jest jednak analiza oddziaływań pomiędzy receptorem a ligandem. W wielu przypadkach, szczególnie dla cyklodekstryn i kaliksarenów, możliwe jest ustalenie, które fragmenty cząsteczki gościa oddziałują z molekułą polisacharydu, poprzez obserwację specyficznych międzycząsteczkowych oddziaływań dipolowych. Na przykład, dla eterowej pochodnej kaliks[4]arenu z jonem metylopirydyniowym obserwuje się wyraźne wzmocnienie sygnałów pochodzących od protonów grupy metylowej i znajdujących się w pozycji 2 pirydyny, przy naświetlaniu protonów w pozycji meta pierścienia aromatycznego cząsteczki gospodarza.

Na tej podstawie ustalono, iż kompleksowanie pomiędzy tymi cząsteczkami odbywa się dzięki oddziaływaniom dodatnio naładowanego atomu azotu z elektronami  $\pi$  cząsteczki receptora. Dla cyklodekstryn również możliwe jest obserwowanie oddziaływań przez przestrzeń pomiędzy ligandem a substratem<sup>53</sup>. W roztworach zawierających cyklodekstryny i pochodne długłańcuchowych kwasów karboksylowych rejestruje się silne nOe pomiędzy protonami H3 i H5 sacharydu a grupami metylenowymi łańcucha alkilowego kwasu, przy czym największe efekty dotyczą grup znajdujących się możliwie blisko środka łańcucha, co świadczy o „unikaniu” się grup karboksylowych i hydroksylowych w molekułach. Również ułożenie aromatycznych cząsteczek gościa we wnęce liganda można badać tą metodą. W ten sposób wykazano, na przykład, odmienne usytuowanie substratu (4-nitrobromobenzenu) we wnęce cyklodekstryny w fazie ciekłej w stosunku do sytuacji, z którą mamy do czynienia w fazie stałej.



W przypadku kompleksów ligandów makrocyklicznych z jonami metali wielokrotnie udało się z powodzeniem zastosować techniki heterojądrowego efektu Overhausera w celu wykazania oddziaływania kationu z receptorem oraz ustalenia, które miejsca aktywne w receptorze są odpowiedzialne za interakcje z metalem. Pomiary te zawsze dotyczyły pary  $^1\text{H-X}$  gdzie  $X = ^6\text{Li}$  lub  $^{133}\text{Cs}$ . W pierwszym przypadku konieczne jest użycie izotopowo wzbogaconej próbki, co nie następuje trudności, gdyż sole litu-6 są tanie i

łatwo dostępne. Dla głównego naturalnego izotopu, litu-7, pomimo iż jest on magnetycznie aktywny, nie jest możliwe wykonanie tego typu eksperymentów, gdyż ze względu na duży moment kwadrupolowy tego jądra, jego relaksacja jest na tyle szybka iż obserwacja słabych efektów dipolowych jest niemożliwa. Pierwotnie technika  $^1\text{H} - ^7\text{Li}$  HOESY stosowana była do badań połączeń metaloorganicznych<sup>54</sup>, następnie została zaadaptowana do analizy oddziaływań supramolekularnych. Zastosowano ją do badań kompleksów związków litoorganicznych z ligandami takimi jak podandy (etry metylowe glikoli polietylenowych), koronandy (18-korona-6, 15-korona-5) jak również etery alifatyczne (THF)<sup>55</sup>. Jest to doskonała metoda do badania procesów solwatacji związków zawierających wiązanie C-Li. Do tej pory, brak jest doniesień o użyciu  $^1\text{H} - ^7\text{Li}$  HOESY w do analizy kompleksowania jonów  $\text{Li}^+$ . Drugi z wymienionych izotopów, cez-133, jest bardzo przydatny do badań NMR, gdyż cechuje się 100% zawartością i dużą wykrywalnością. W literaturze dostępne są nieliczne doniesienia o badaniu techniką  $^1\text{H} - ^{133}\text{Cs}$  HOESY solwatacji jonów cezu przez cząsteczki pirydyny oraz tworzeniu kompleksów z eterami koronowymi (18-korona-6)<sup>56</sup>.

Techniki te mają pewne niedogodności, mianowicie w wielu wypadkach procesy relaksacyjne całkowicie uniemożliwiają zaobserwowanie sygnału heterojądrowego nOe. O ile w przypadku litu często manipulując temperaturą i parametrami akwizycyjnymi można liczyć na uzyskanie pozytywnego wyniku, o tyle dla cezu układ mierzony musi spełniać określone wymagania związane z szybkością wymiany, stałą trwałości i symetrią miejsca wiązania jonu.

## 5. Stałe sprzężenia skalarne

Oddziaływanie skalarne pomiędzy dwoma magnetycznie aktywnymi jądrami skutkuje rozszczepieniem linii rezonansowych. Zjawisko to nazywamy

sprężeniem skalarnym (sprężeniem spinowo-spinowym) a jego wartość, wyrażoną w Hz – stałą sprężenia spinowo-spinowego. Wielkość ta jest zależna od kilku czynników: odległości między oddziałującymi atomami (w sensie ilości wiązań), charakteru tych atomów, gęstości elektronowej w obrębie wiązań łączących te atomy oraz wzajemnych geometrycznych relacji pomiędzy nimi. Związek stałych sprężeń spin-spin z wartościami kątów dwuściennych w cząsteczce pozwala stosować tę wielkość jako doskonałe narzędzie do badań konformacji cząsteczek. Zależność tą opisuje równanie Carplusa.

W chemii supramolekularnej najważniejszym zastosowaniem tego parametru są oczywiście badania zmian konformacyjnych wywołanych oddziaływaniami receptor – substrat. Związane jest to na ogół ze zmianami wielkości kątów w cząsteczce a co za tym idzie, stałych sprężenia skalarnego. Możliwość powiązania wielkości stałej J z wartością kąta pozwala w prosty sposób wyznaczyć strukturę liganda lub cząsteczki gościa w formie wolnej i związanej. Potrzebne informacje o odległościach międzyatomowych uzyskujemy z eksperymentów nOe.

Rzadko udaje się zaobserwować sprężenia spin-spin pomiędzy cząsteczką gospodarza a skompleksowanym indywiduum. Wiązania pomiędzy atomami liganda a substratem są na tyle słabe, że przeniesienie informacji o stanach spinowych jąder atomowych jednego z nich na jądra atomowe drugiego jest możliwe jedynie w przypadku izotopów bardzo silnie wpływających na inne atomy. Przykładem mogą być jony talu(I) związane we wnękach makrocyclicznych, które powodują rozszczepienie sygnałów receptora. Informacje takie znaleźć można w literaturze dla  $Tl^+ \subset 222$  oraz  $Tl^+ \subset$  walinomycyna. W pierwszym przypadku obserwowane rozszczepienie ma wartość 14 Hz<sup>57</sup> (co jest bardzo niewielką wartością, biorąc pod uwagę że  $^4J_{Tl-H}$  w związkach o wiązaniach kowalencyjnych wynosi 100 do 500 Hz).

Dodatkowo, ze względu na kształt sygnałów można mieć wątpliwości, czy faktycznie był to efekt oddziaływania skalarnego, czy też wystąpienie diastereotopii protonów grupy metylenowej, spowodowane geometrią kompleksu. W przypadku walinomycyny efekt zarejestrowano w widmach  $^{13}\text{C}$  NMR i miał on również niewielką wartość wynoszącą ok. 100 Hz<sup>58</sup>.

Drugim izotopem, dla którego obserwowano sprzężenia pomiędzy kompleksowanym jonom a ligandem jest kadm. Jest to efekt często wykorzystywany w badaniach protein. Dla wielu metaloprotein zawierających normalnie jony cynku, wapnia lub magnezu badania NMR miejsca wiązania jonu są utrudnione, gdyż wszystkie wspomniane jony cechują się dużymi wartościami momentów kwadrupolowych, przez co nie nadają się zbyt do obserwacji technikami NMR. Zastąpienie wyżej wymienionych jonów kationami kadmu dostarcza potężnego narzędzia badawczego. Możliwe jest łatwe rejestrowanie widm  $^{113}\text{Cd}$  (położenie linii rezonansowej tego jonu jest wrażliwe na zmiany w sferze koordynacyjnej, co ułatwia badania) oraz szeregu eksperymentów heterokorelacyjnych, np.:  $^1\text{H}$ - $^{113}\text{Cd}$  HMBC,  $^{13}\text{C}$ - $^{113}\text{Cd}$  HMBC oraz  $^{15}\text{N}$ - $^{113}\text{Cd}$  HMBC. Pozwala to w łatwy sposób ustalić które z reszt łańcucha polipeptydowego uczestniczą w wiązaniu metalu. Tą techniką badać można również wiązanie w miejscu aktywnym enzymu czy receptora, szeregu związków małocząsteczkowych, np.: substratów czy inhibitorów. W badaniach białek zawierających kilka atomów metalu związanych w formie klastrów, zastosować można techniki homokorelacyjne, np.:  $^{113}\text{Cd}$ - $^{113}\text{Cd}$  COSY<sup>59</sup>.

## 6. Podsumowanie

Jako widać, zastosowanie technik magnetycznego rezonansu jądrowego pozwala na pełną analizę układów supramolekularnych,



obejmującą ustalenie stechiometrii, stałych trwałości, parametrów kinetycznych, konformacji, miejsca wiązania i stopnia zaangażowania poszczególnych centrów akceptorowych w tworzenie kompleksu. Przykładem może być koronand 18-korona-6 czy kryptand 222, dla których stosując metodę spektroskopii NMR zbadano procesy kompleksowania szeregu jonów metali (litowców, berylowców, wybranych lantanowców,  $Tl^+$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Sc^{3+}$  i innych), jonów organicznych (karboksylany, sole amoniowe), cząsteczek obojętnych (woda, halogeny, popularne rozpuszczalniki organiczne, malonodinitryl, kwas pikrynowy, niektóre leki), co w sumie daje bibliografię obejmującą kilkaset pozycji. Metoda ta nadal intensywnie się rozwija, oczekiwać należy zatem nowych zastosowań, pozwalających badań te zagadnienia chemii (również supramolekularnej) które dotychczas były dla badaczy niedostępne.

## 7. Literatura

---

1

- a. Rotterman I., Rybarska J., Konieczny L., Skowronek M., Stopa B., Piekarska B., Bakalarski G. (1998) *Computers Chem.*, **22**, 61;
- b. Cervello E., Jaime C. (1998) *J. Mol. Struct. (Thermochem)*, **428**, 195;
- c. Goncavles H., Robinet G., Barthelat M., Lattes A. (1998) *J. Phys. Chem. A*, **102**, 1279;
- d. Kamiński G.A., Jorgensen W.L. (1998) *J. Phys. Chem. B*, **102**, 1787

2

- a. Powder K.N., Hennigar T.L., Zaworotki M.J. (1998) *Chem. Commun.*, 595;
- b. Suarez M., Branda N., Lehn J.-M., Decian A., Fischer J., (1998) *Helv. Chim. Acta*, **81**, 1;

---

c. Thalladi V.R., Brasselet S., Weiss H.C., Blaser D., Katz A.K., Carrell H.L., Boese R., Zyss J., Nangia A., Desiraju G.R. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2563;

d. MacGillivray L.R., Groenman R.H., Atwood J.L. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2676

3

a. Wekman P.J., Schouten A.J., Noordegraaf M.A., Kimkes P., Sudholter E.J.R. (1998) *Langmuir*, **14**, 157;

b. Matsuzawa Y., Seki T., Ichimura K. (1998) *Langmuir*, **14**, 683;

c. Maruyama T., Lauger J., Fuller G.G., Frank C.W., Robertson C.R. (1998) *Langmuir*, **14**, 1836;

d. Liley M., Gourdon D., Stamou D., Meseth U., Fischer T.M., Lautz C., Stahlberg H., Vogel H., Burnham N.A., Duschl C. (1998) *Science*, **280**, 273

4

a. Li S., Clarke C.J., Lennox R.B., Eisenberg A. (1998) *Coll. Surf. A, Physicochem. Eng. Asp.*, **133**, 191;

b. Ichinose I., Tagawa H., Mizuki S., Lvov Y., Kunitake T. (1998) *Langmuir*, **14**, 187;

c. Samori P., Francke V., Mangel T., Mullen K., Rabe J.P. (1998) *Optic. Mater.*, **9**, 390;

d. Pedersen E.V., Shiryaev S.Y., Jensen F., Hansen J.L., Petersen J.W. (1998) *Surf. Sci.*, **399**, L351

5

a. Toncheva V., Wolfert M.A., Dash P.R., Oupicky D., Ulbrich K., Seymour L.W., Schacht E.H. (1998) *Biochem. Biophys. Acta, General Subjects*, **1380**, 354;

- 
- b. Xu S., Cruchon Dupeyrat S.J.N., Garno J.C., Liu G.Y., Jennings G.K., Yong T.H., Laibinis P.E. (1998) *J.Chem. Phys.*, **108**, 5002;
- c. Loiacono M.J., Granstrom E.L., Frisbie C.D. (1998) *J. Phys. Chem. B*, **102**, 1679-1688;
- d. Meine K., Vollhard D., Weidemann G., (1998) *Langmuir*, **14**, 1815
- 6**
- a. Dominguez O., Echogoyen L., Cunha F., Tao N.J. (1998) *Langmuir*, **14**, 821;
- b. Yamada R., Uosaki K. (1998) *Langmuir*, **14**, 855;
- c. Charra F., Cousty J. (1998) *J. Phys.rev. Lett.*, **80**, 1682;
- d. Blumentritt S., Burghard M., Roth S., Nejo H. (1998) *Surf. Sci.*, 397, L280
- 7**
- a. Balzani V., Campagna S., Denti G., Juris A., Serroni S., Venturi M. (1998) *Acc. Chem. Res.*, **31**, 26;
- b. Fabbrizzi L., Licchelli M., Pallavicini P., Parodi L. (1998) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 800;
- c. Faidherbe P., Wieser C., Matt D., Harriman A., DeCian A., Fischer J. (1998) *Eur. J. Inorg. Chem.*, 451;
- d. Connolloy S., Fullam S., Korgel B., Fitzmaurice D. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2969
- 8**
- a. Beer P.D. (1998) *Acc. Chem. Res.*, **31**, 71;
- b. Boulas P.L., Gomez-Kaifer M., Echegoyen L. (1998) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 216;
- c. Wang Y., Mendoza S., Kaifer A.E. (1998) *Inorg. Chem.* **37**, 317;

- 
- d. Fall M., Aaron J.J., Sekmeche M., Dieng M.M., Jouini M., Aeiyaeh S., Lacroix J.C., Lacaze P.C. (1998) *Synthetic Metals*, **93**, 175

**9**

- a. Kaida Y., Okamoto Y., Chambron J.-C., Mitchell D.K., Sauvage J.-P. (1993) *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1019;
- b. Asakawa M., Pasini D., Raymo F.M., Stoddart J.F. (1996) *Anal. Chem.*, **68**, 3879;
- c. Yamamoto C., Okamoto Y., Schmidt T., Jager R., Vogl F. (1997) *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 10547;
- d. Ashton P.R., Matthews O.A., Menzer S., Raymo F.M., Spencer N., Stoddart J.F., Williams D.J. (1997) *Liebigs Ann.*, 2485

**10**

- a. Zimmerman S.C., Zeng F. W., Reichert D.E.C., Kolotuchin S.V. (1996) *Science*, **271**, 1095;
- b. Mattei S., Wallimann P., Kenda B., Amrein W., Diederich F. (1997) *Helv. Chim. Acta*, **80**, 2391;
- c. Simanek E.E., Isaacs L., Li X.H., Wahg C.C.C., Whitesides G.M. (1997) *J. Org. Chem.*, **62**, 8994;
- d. Balogh L., Samuelson L., Alva K.S., Blumstein A., (1998) *J. Polym. Sci. A, Polym. Chem.*, **36**, 703

**11**

- a. Armaroli N., Diederich F., Dietrich-Buchecker C.O., Flamigni L., Marconi G., Nierengarten J.-F., Sauvage J.-P. (1998) *Chem. Eur. J.*, **4**, 406;
- b. Ashton P.R., Balzani V., Credi A., Kocian O., Pasini D., Prodi L., Spencer N., Stoddart J.-F., Tolley M.S., Venturi M., White A.J.P., Williams D.J. (1998) *Chem. Eur. J.*, **4**, 590;

---

c. Hamilton D.G., Davies J.E., Prodi L., Sanders J.K.M. (1998) *Chem. Eur. J.*, **4**, 608;

d. Amabilino D.B., Ashton P.R., Boyd S.E., Lee J.Y., Menzer S., Stoddart J.F., Williams D.J. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 4295

**12**

a. Ashton P.R., Brown C.L., Chapman J.R., Gallagher R.T., Stoddart J.F. (1992) *Tetrahedron Lett.* **33**, 7771;

b. Marquis-Rigault A., Dupont-Gervais A., Van Dorselaer A., Lehn J.-M. (1996) *Chem. Eur. J.*, **2**, 1395;

c. Marquis-Rigault A., Dupont-Gervais A., Baxter P.N.W., Van Dorselaer A., Lehn J.-M. (1996) *Inorg. Chem.*, **35**, 2307;

d. Scherer M., Sessler J.L., Moini M., Gebauer A., Lynch V. (1998) *Chem. Eur. J.*, **4**, 152

**13**

a. Fischer C., Nieger M., Mogck O., Bohmer V., Ungaro R., Vogtle F. (1998) *Eur. J. Org. Chem.*, 155;

b. Dopke N.C., Treichel P.M., Vestlig M.M. (1998) *Inorg. Chem.*, **37**, 1272;

c. Hempenius M.A., Langeveld Voss B.M.V., Van Haare J.A.E.H., Janssen, R.A.J., Sheiko S.S., Spatz J.P., Moller M., Meijer E.W. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2798;

d. Cabezon B., Irurzun M., Torres T., Vazquez P. (1998) *Tetrahedron Lett.*, **39**, 1067

**14**

a. Schroeder G., Gierczyk B. (1998) *Multijądrowy NMR*, UAM Poznań;

b. Benn R., Ruffńska A. (1986) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25**, 861

- 
- a. Van de Ven F. J. M. (1995) *Multidimensional NMR in Liquids*, VCH Publishers, NY;
  - b. Croasmun W. R., Carlson R.M.K. (1994) *Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists*, VCH Publishers, NY;
  - c. Gierczyk B., Schroeder G. (1998) *Zastosowanie magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w badaniach strukturalnych związków pochodzenia naturalnego*, Na pograniczu chemii i biologii;

## 16

- a. Shih J.-S., Popov A.I. (1980) *Inorg. Chem.*, **19**, 1689;

## 17

- a. Saito H., Tabeta R. (1987) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 61-68;
- b. Tabeta R., Saito H. (1984) *Chem. Lett.*, 293;
- c. Tabeta R., Aida M., Saito H. (1986) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**, 1957;

## 18

- a. Mei E., Popov A.I., Dye J.L. (1977) *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 6532-6536

## 19

- a. Shestakova A.K., Chertkov V.A., Schneider H.-J. (2000) *Tetrahedron Lett.*, **65**, 6753-6756;
- b. Gansow O.A., Pruett D.J., Triplett K.B. (1979) *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 4408

## 20

- a. Epperson J.D., Ming L.-J., Woosley B.D., Baker G. R., Newkome G.R. (1999) *Inorg. Chem.*, **38**, 4498;

- 
- b. Gorman C.B., Hager M.M., Parkhurst B.L., Smith J.C. (1998) *Macromolecules*, **31**, 815;
- c. Goreman C.B., Chen K.Y., Su W.Y. (1997) *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 1141  
21
- a. Bertini I., Luchinat C. (1986) *NMR of Paramagnetic Molecules in Biological Systems*, Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park;
- b. Berliner L.J., Reuben J. (1993) *NMR of Paramagnetic Molecules*, Kluwer Academic Publishers;
- c. La Mar G.N. (1995) *Nuclear Magnetic Resonance of Paramagnetic Molecules*, Kluwer Academic Publishers;
- d. Bertini I., Luchinat C. (1996) *Coord. Chem. Rev.*, **150**, 1;
- e. Ming L.-J. (1999) *Physical Methods in Bioinorganic Chemistry - Spectroscopy and Magnetism*, University Science Books, Sausalito  
22
- a. Cantrill S.L., Fyfe M.C.T., Raymo F.M., Stoddart J.F. (1999) *NMR in Supramolecular Chemistry – Probing Self-Assembly by NMR*, Kluwer Academic Publishers;
- b. Nigmond L., Musikas C., Cullierdier C. (1994) *Solv. Ex. Ion Exch.*, **12**, 261  
23
- a. Sokół M., Grobelny J., Jedliński Z.J. (1990) *J. Magn. Reson.*, **28**, 934;
- b. Edwards P.P., Ellaboudy A.S., Holton D.M. (1985) *Nature*, 242;
- c. Misiołek A., Łysiak V., Jarzębiak K. (2000) *Wiadomości chemiczne*, **54**, 1063

---

**24**

- a. Melfreyt P., Pascal Y., Juillard J. (1994) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2031;
- b. Lyazghi R., Cuer A., Dauphin G., Juillard J. (1992) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 35;
- c. Thoda K., Suzuki K., Kosuge N., Watanabe K., Nagashima H., Inoue H., Shirai T. (1990) *Anal. Chem.*, **62**, 936;
- d. Tirumala S., Marlow A., Davis T. J. (1997) *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5271-5272;

**25**

- a. Inoue Y., Hoshi H., Sakurai M., Chujo R. (1985) *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 2319;
- b. Komiyama M., Hirai H. (1981) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 828;
- c. Rudiger V., Schneider H.J. (2000) *Chem. Eur. J.*, **6**, 3771

**26**

- a. Job A. (1928) *Liebigs. Ann. Chem.*, **9**, 113;
- b. Connors K.A. (1987) *Binding Constants*, Wiley, NY
- c. Sahai R., Loper G. L., Lin S.H., Eyring, H. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 1499

**27**

- a. Meyer A.S., Ayers G.H. (1957) *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 49;
- b. Chriswell C.D., Schilt A.A. (1975) *Anal. Chem.*, **45**, 1623

**28**

- a. Gil V.M.S., Oliviera N.C. (1990) *J. Chem. Educ.*, **67**, 473



---

29

- a. Kikuchi Y., Kato Y., Tanaka Y., Toi H., Aoyama Y. (1991) *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 1349

30

- a. Benesi H.A., Hildebrand J.H. (1949) *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703;  
b. Hanna M.W., Ashbaugh A.L. (1964) *J. Phys. Chem.*, **68**, 811;  
c. Scott R.L. (1956) *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **75**, 787;  
d. Scatchard G. (1949) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 660;  
e. Foster R., Fyfe C.A. (1965) *Trans. Faraday Soc.*, **61**, 1626;  
f. Carper W.R., Buess C.M., Hipp G.R. (1970) *J. Phys. Chem.*, **74**, 4229;  
g. Polster J., Lachmann H. (1989) *Spectrometric Titrations*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim

31

- a. Horman I., Druex B. (1983) *Anal. Chem.*, **55**, 1219;  
b. Horman I., Druex B. (1984) *Helv. Chim. Acta.*, **67**, 754

32

- a. Rose N.J., Drago R.S. (1959) *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 6138;  
b. Wachter H.N., Fried V. (1974) *J. Chem. Educ.*, **51**, 798

33

- a. Nakano M., Nakano N.I., Higuchi T. (1967) *J. Phys. Chem.*, **71**, 3954

34

- a. Stamm H., Lamberty W., Stafe J. (1976) *Tetrahedron*, **32**, 2045

35

- a. Deranlau D.A. (1969) *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4050

- 
- a. Acton F.S. (1970) *Numerical Methods That Work*, Harper&Row, NY;
  - b. Reuben J. (1973) *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3534;
  - c. Lenkinski R.E., Elgavish G.A., Reuben J. (1978) *J. Magn. Reson.*, **32**, 367;
  - d. Connors K.A. (1987) *Binding Constants*, Wiley, NY;
  - e. Kneeland D.M., Ariga K., Lynch V.M., Huang C.-Y., Anslyn E.V. (1993) *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 10042;
  - f. Chudek J.A., Foster R., Jarret F.M. (1983) *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **79**, 2729;
  - g. Gelb R.I., Schwartz L.M., Laufer D.A. (1978) *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 5875;
  - h. Bailey R.J., Chudek J.A., Foster R. (1976) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2**, **114**, 10189

## 37

- a. Person W.B. (1965) *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 167;
- b. Deranleau D.A. (1969) *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4044;
- c. Granot J. (1983) *J. Magn. Reson.*, **55**, 216;
- d. Wilcox C.S. (1991) *Frontiers in Supramolecular Chemistry and Photochemistry*; VCH Publishers, NY;
- e. Weber G. (1965) *Molecular Biophysics*, Academic Press, NY;
- f. Klotz I.M. (1982) *Science*, **217**, 1247

## 38

- a. Izatt R.M., Pawlak K., Jerald S.B., Bruening R.L. (1991) *Chem. Rev.*, **91**, 1721;
- b. Izatt R.M., Bradshaw J.S., Pawlak K., Bruening R.L., Tarbet B.J. (1992) *Chem. Rev.*, **92**, 1261

---

39

- a. Schmidtchen F.P. (1997) *Supramolecular Chemistry of Anions*, Wiley, NY

40

- a. Hayder D., Lehn J.-M. (1986) *Tetrahedron Lett.*, **27**, 5869

41

- a. S. Kiviniemi (2001) „Complexation of N-heteroaromatic Cations with Crown Ethers and Tetraphenylborate”, University of Oulu

42

- a. Schmidt E., Popov A.I. (1983) *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 1873;  
b. Detelier C., Graves H.P., Briere K.M. (1991) *Isotopes in the Physical and Biomedical Science* (rozdz.4), Elsevier Science, NY;  
c. Detelier C. (1990) *Modern NMR Techniques and Their Application in Chemistry* (rozdz. 9), Marcel Dekker, NY;  
d. Shamsipur M., Popov A.I. (1988) *J. Phys. Chem.*, **92**, 147;  
e. Lochhard J.L., McDonnell M.B., Clegg W., Hill, M.N. S., Todd M. (1989) *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 203;  
f. Hernaddez J.C., Trafton J.E., Gokel G.W. (1991); *Tetrahedron Lett.*, 6269;  
g. Li Y., Gokel G., Hernaddez J., Echegoyen L. (1994) *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3098

43

- a. Srivanavit C., Zink J.I., Dechter J.J. (1977) *J. Am. Chem. Soc.*

44

- a. Dechter J.J. (1985) *Prog. Inorg. Chem.*, **33**, 393

- 
- a. Haynes D.H., Pressman B.C., Kowalsky A. (1971) *Biochemistry*, **10**, 852;
  - b. Brown, M. F. (1982) *J. Chem. Phys.*, **77**, 1576;
  - c. Van der Maarel, J. R. C., Hancu, I., Boada, F. (2000) *J. Magn. Reson.*, **147**, 179;
  - d. Saito, H., Tabeta, R. (1987) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 61

- a. Becker E.D. (1980) *High Resolution NMR*, Academic Press, NY;
- b. Swift T.J. (1974) *Investigation of Rates and Mechanisms of Reactions*, Wiley, NY;
- c. Connors K.A. (1990) *Chemical Kinetics*, Wiley, NY

- a. Schmidt E., Popov A.I. (1983) *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 1873;
- b. Strasser B.O., Hallenga K., Popov A.I. (1985) *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 789;
- c. Echegoyen L., Kaifer A., Durst H., Schultz R.A., Dishong D.M., Goli D.M., Gokel G.W. (1984) *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5100;
- d. Streeper R.T., Goff C.M., Khazaeli S., (1993) *Trans. International Congress of Chemistry & Chemical Engineering*, **1**, 112

- a. Detelier C. (1991) *Modern NMR Techniques and Their Application in Chemistry* (rozdz. 8), Marcel Dekker, NY

- a. Cahill S., Bulusan S. (1993) *Magn. Reson. Chem.*, **31**, 731

- a. James T.L., Noggle J.H. (1969) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **62**, 644;

- 
- b. Reuben J. (1975) *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 3823;
- c. Forsen S., Lindman B. (1981) *Methods Biochem. Anal.*, **27**, 289
- 51**
- a. Aime S., Botta M., Panero M., Grandi M., Uggeri F. (1991) *Magn. Reson. Chem.*, **29**, 923
- 52**
- a. Wuthrich K. (1986) *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, NY;
- b. Rinnbauer M., Mikros E., Peters T. (1998) *J. Carbohydr. Chem.* **17**, 217
- 53**
- a. Bergeron R.J., Clarke R.J., Coates J.H., Lincoln S.F. (1988) *Adv. Carbohydr. Chem.*, **46**, 205;
- b. Schneider H.-J., Hacket F., Rudiger V., Ikeda H. (1998) *Chem. Rev.*, **98**, 1755;
- c. Rudiger V., Eliseev A., Svetlana S., Schneider H.-J., Blandamer M.J., Cullis P.M., Meyer A. (1996) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **2**, 2119;
- d. Feeney J., Birdsall M. (1993) *NMR of Macromolecules – A Practical Approach*, Oxford University Press, Oxford;
- e. Ripmeester J.A., Ratcliffe C.I. *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (tom 9), Elsevier Science, NY
- 54**
- a. Gshwind R.M., Rajamohanam P.R., John M., Boche G. (2000) *Organometalics*, **22**, 2868;
- b. Berger S., Müller F. (1995) *Chem. Ber.*, **128**, 799;
- c. Bauer W., Lochmann L. (1992) *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 7482
- 55**
- a. Schabe S., Boche G. (1998) *J. Organomet. Chem.*, **550**, 381

---

56

- a. Bauer W. (1991) *Magn. Reson. Chem.*, **29**, 494;
- b. Bauer W., Lochmann L. (1992) *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 7482

57

- a. Lehn, J. M., Sauvage, J. P., Dietrich, B. (1970) *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 2916

58

- a. Hinton J.F. (1987) *Magn. Reson. Chem.*, **25**, 659;
- b. Hinton J.F. (1987) *Ann. Rep. NMR Spectrosc.*, **19**, 1;
- c. Bystrov V.F., Gavilov Y.D., Ivanov V.T., Yu A. (1997) *Eur. J. Biochem.*, **78**, 63

59

- a. Bobsein R., Myers R.J. (1981) *J. Biol. Chem.*, **253**, 5313;
- b. Frey H., Wagner G., Vasak M., Sorensen O.W., Neuhaus D., Worgotter E., Kagi J.H.R., Ernst R.R., Wuthrich K. (1985) *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 6847