

SOHÁR PÁL

KULCS A MOLEKULASZERKEZETHEZ: MÁGNESES MAGREZONANCIA- (NMR-) SPEKTROSKÓPIA

A mágneses magrezonancia-spektroszkópia fiatal tudományág, alig három emberöltő telt el annak a közleménynek a megjelenése óta, mely ezt a ma már a legfontosabbnak számító nagyműszeres vizsgálati módszert újtárra indította. Negyedszázadon át a magrezonancia-jelenség kizárólag az elméleti fizikusok szűk körét érdekelte, s csak az 50-es évek kezdetétől fordult felé a tudományok közül másodikként a kémia, a vegyészek figyelme. Ma már nincs tudományág, amely ne alkalmazná az NMR-t mindennapos segédeszközként igen sokféle probléma tanulmányozására.

I. AZ NMR-MÓDSZER FEJLŐDÉSÉNEK TÖRTÉNETE

Ha az NMR- (*nuclear magnetic resonance* - mágneses magrezonancia-) spektroszkópiát egy bolygórendszer középponti napjaként képzeljük el, harmadik bolygóként, újabb 15-20 év elteltével, a biológia csatlakozott a fizikához és a kémiához, a 80-as évek pedig meghozták a módszer behatolását az orvostudományok berkeibe is. Mára pedig nincs olyan tudományág, kutatási terület, ahol ne vennék hasznát valahogyan az NMR-módszernek.

Pauli 1924-ben közzétett munkájában elektronszínképek finomszerkezetéből arra a következtetésre jutott, hogy az atommagoknak mágneses momentuma, "spin"-je kell legyen. E zseniális ötletből fejlődött ki az új tudományág, az NMR-spektroszkópia. Denisson egy további feltevéssel toldotta meg a Pauliét, hogy ti. a magmomentum kvantált: az atommagoknak különböző mágneses energiaállapotai vannak, s ezek között energia elnyelésével átmenetek hozhatók létre. A megfelelő energiaelnyelési maximumok alkotják az NMR-spektrumot. Pauli és Denisson hipotézisét, ugyan csak jóval később, de végül sikerült bizonyítani.

Richard Wagner monumentális zenedráma-tetralógiájának előestjében, a *Rajna kincsében* Alberich, az alvilág fejedelme a Tarnkappe, a ködsüveg segítségével előbb óriási sárkánnyá, majd csöppnyi békává változik. A ködsüveg képes rá, hogy gazdáját bármilyen alakká varázsolja, és szemvillanásnyi idő alatt bárhová elröpítse. Kiderült, hogy az NMR-spektrum hasonló varázseszköz, "ködsüveg", amely a molekulák méretére "zsugorítja" a megfigyelőt, aki így betekintést nyerhet a molekulák világába, megismerheti szerkezetüket, téralkatukat, tulajdonságaikat és viselkedésüket. Az atommag spinje, mágneses momentuma parányi iránytű, eredeti és átvitt értelemben egyaránt: vektor, amelynek irányát megszabja az őt körülvevő mágneses tér, tulajdonságai és viselkedése pedig eligazít, kalauzol bennünket a molekulák - ahogy a ma divatos szakzsargon diktálja mondanunk - *nanovilágában*.

A Pauli-Denisson-feltevések bizonyítására olyan kísérletek látszottak alkalmasnak, amelyekben mágneses tér jelenlétében különböző frekvenciájú elektromágneses sugárzást bocsátunk atommagokra, s azt észleljük, hogy a vizsgált magfajta csak egyetlen meghatározott frekvenciakomponenst képes elnyelni: azaz rezonanciaszerű az

energiafelvétel . Mivel a mágneses momentum anyagi jellemző, minden egyes atommag, minden izotóp adott mágneses térben csak egyetlen frekvenciakomponenst nyel el. Más térerőben más frekvenciakomponens abszorpciója következik be, ugyancsak rezonanciaszerűen. Egy amerikai fizikus, Gorter két évtizeden át folytatott sikertelen kutatásokat, hogy a rezonanciát megvalósítsa. A kvantumfizikusok már-már minden reményt feladtak, s halottnak vélték az NMR-t, mielőtt még megszületett volna. Egy másik amerikai fizikus, Rabi és munkatársai viszont valamivel később, 1939-ben atomsugarakkal végzett kísérletekkel kimérték a több atommag mágneses momentumának nagyságát megszabó ún. giromágneses hányadost, igazolva Pauli feltrvését az atommagok mágneses momentumáról. E téren magyarokat találhatunk a nemzetközi kutatások frontvonalában: Hazai fizikusok egy csoportja Simonyi Károly vezetésével a mai KFKI elődjében röviddel Rabiék után néhány további atommagra is megmérték a γ giromágneses tényezőt. A rezonanciajelenség kimutatása azonban ekkor még váratott magára.

Régi igazság: minden rosszban van valami jó is. Az alapkutatásnak segített a politika és a háború: a 40-es években a hadi célú radarkutatásokra fordított hatalmas összegekből jutott valamennyi az NMR-alapkutatásokra is. A légitámadások elől az óvóhelyekre szorultak a kutatók, s ott pedig fennállt a sikeres NMR-kísérletek legfontosabb feltétele: a temperált labor, sok évvel a légkondicionálás megoldása előtt. E szerencsés körülményeknek is köszönhetően 1945-ben Bloch a Stanfordon és Purcell a Harvardon munkatársaikkal végrehajtották az első sikeres magrezonancia-kísérleteket. A siker legfőbb oka azonban a rezonáló atommag szerencsés kiválasztása volt: Blochék a vízmolekula, Purcellék a paraffin hidrogénjein mutatták ki a rezonanciát, s később kiderült, hogy a hidrogénatommag a legérzékenyebb magfajta, a legtöbb más magnál több nagyságrenddel is érzékenyebb az NMR-kísérletben. Ezzel fény derült a balszerencsés Gorter kudarcának okára: ő azt hitte, hogy a mágneses momentum nagysága a döntő tényező, s ezért az ebből a szempontból előnyös ^7Li izotóppal dolgozott. Az NMR-érzékenységnek azonban több összetevője is van, s ezek eredőjeként a hidrogén rezonanciáját sokkal könnyebb kimutatni, mint bármely más atommagét. Így aztán az első sikeres rezonancia-kísérletekért járó babérokot Bloch és Purcell aratta le, s 1952-ben mindketten fizikai Nobel-díjban részesültek. Bloch a kitüntetést annyival is inkább megszolgálta, hogy később ő dolgozta ki az NMR-spektroszkópia kvantumelméletét, s a mag mágneses momentumkomponenseinek időbeli változását leíró egyenletei máig az NMR-elmélet fundamentumaként szolgálnak.

Mindez azonban a kvantumfizikusok csekély érdeklődést keltő "belügye" maradt volna, ha 1949-50-ben nem ismerik fel a kémiai eltolódás jelenségét, hogy ti. az NMR-spektrumjelek frekvenciája - bár csak kis mértékben - a kémiai környezettől, azaz a molekulaszervezettől függ, tehát a dolog fordítva is igaz: az NMR-spektrumból következtetni lehet a molekulák, vegyületek kémiai szerkezetére. Vagyis az "adott mag, egyetlen rezonanciafrekvencia"-elv csak a molekuláris környezetből kiemelt, elektronjaitól megfosztott, "csupas" atommagokra igaz, a magot körülvevő elektronok kis mértékben megváltoztatják a mag körüli mágneses teret, s ezzel a rezonanciafrekvenciáját. E jelenségnek köszönhetően a kémia felfedezi a maga számára az NMR-módszert, mely rövidesen s egyre fokozódó mértékben a kémiai szerkezetkutatás legfontosabb eszközévé válik. Mára már nélkülözhetetlen a kémiai iparban, például a gyógyszerek, műanyagok, szerkezeti anyagok fejlesztésében, vizsgálatában. A fizikusok eredetileg kizárólag kvantumelméleti hipotézisek igazolására végeztek NMR-kísérleteket, gyakorlati alkalmazásokra senki sem

gondolt. E teljesen elvont, ma úgy mondanánk, tisztán alapkutatásokról nőtt ki napjaink legszélesebb körben hasznosítható műszeres vizsgálati módszere!

II. A KÉMIAI ELTOLÓDÁS ÉS A SPIN-SPIN CSATOLÁS JELENSÉGE

De hát mit is jelent a kémiai eltolódás, s miként hasznosítható a kémikus kutatómunkájában? 1950-ben Proctor és Yu az ammóniumnitrát nitrogénrezonancia-spektrumában két rezonanciajelet észlelt, vagyis az eltérő kémiai környezetben (az ammónium-kationban és a nitrát-anionban) jelenlévő nitrogénatommag rezonanciafrekvenciája azonos mágneses térben nem azonos. Az eltérés ugyan nagyon kicsi - a mágneses térerősség milliomod részében, ppm egységekben mérhető -, de elegendően érzékeny, nagy felbontású mérésrel kimutatható. Egy évvel később az etanol, az alkohol hidrogénrezonancia-spektrumában három jelet azonosítottak, még hozzá 3:2:1 intenzitásarányal, tehát nyilvánvalóan a metil-, metilén- és hidroxil-csoportokbeli hidrogénmagoknak megfelelően. Vagyis az ugyanabban a molekulában, de más kémiai környezetben lévő azonos fajta magok jele is szétválik egymástól. A jelintenzitások pedig az eltérő környező atomok relatív számát is megadják.

Az elmondottak gyakorlati hasznát egy saját gyakorlatból vett nagyon egyszerű példán szemléltetem. Az ún. oximok $C=N-OH$ csoportja igen erősen befolyásolja a hozzá közeli atomok kémiai eltolódását ("anizotrop szomszédcsoport-hatás"). E csoport $C=N$ és $N-O$ kötése 120°-os szöveget zárnak be, s ezért az oximoknak kétféle szerkezetük lehet: *syn* és *anti* izomerjeik vannak, s ezek vagy keverékként keletkeznek, vagy csak egyikük képződik. A vegyész számára igen fontos, hogy melyik szerkezetről van szó. Az izomerek ugyanis gyökeresen különbözhetnek a biológiai (pl. gyógyhatás) vagy fizikai (pl. szín), anyagi (pl. hőállóság), illetve kémiai (pl. reaktivitás) tulajdonságaikban. Az NMR-spektrumok egyetlen pillantásra eldöntik, hogy melyik izomerről van szó, míg más (pl. preparatív) módszerrel ez egyáltalán nem, vagy csak hosszadalmas, költséges úton lehetséges. Ha a $C=N-OH$ csoport a molekula egy hidrogénjéhez az egyik izomerben közel kerülhet, anizotrop hatása a kémiai eltolódást jelentősen megváltoztatja, s ez elegendő az izomerek megkülönböztetéséhez.

A mérés technika tökéletesedésével a kémiai eltolódás felfedezését követően hamarosan kiderült, hogy az NMR-spektrumoknak finomszerkezete van, amit a spinek kölcsönhatásával, ún. csatolásával magyarázhatunk. A csatolás igen érzékeny a kölcsönható spinek kölcsönös térbeli helyzetére, a molekula háromdimenziós szerkezetére. A spinek sokasága parányi "bolygórendszerként" viselkedik, és a spin-spin csatolásokat megismerve feltárul előttünk a molekulák háromdimenziós térszerkezete. A csatolásoknak köszönhetően az NMR a sztereo-kémiai kutatások legfontosabb eszközévé vált. A természet csodás rendjének egyik lenyűgöző megnyilvánulása, hogy a parányi spinek és a gigantikus naprendszerek teljesen hasonlóan működnek: azonos törvények igazgatják őket, azonos matematikai formulákkal írhatók le. (Megjegyzendő, hogy ez az infravörös spektrumokat eredményező molekularezgésekre is igaz.) A felbontás, érzékenység és térerősség növelésének (az NMR-kísérletek tökéletesítésének) eredeti célja a mágneses momentumok pontosabb mérése volt, ám a kémiai eltolódás és a spin-spin csatolás felfedezéséhez, s ezáltal az NMR kémiai gyakorlati alkalmazhatóságának felismeréséhez vezetett!

Az etil-klorid hidrogénrezonancia-spektrumában a kémiai eltolódás-koncepció értelmében két jelet várnánk, 3:2 intenzitásarányal a három metil- és két metilén-hidrogének megfelelően. Ehelyett két szimmetrikus felépítésű, 3, illetve 4 vonalból álló jelcsoport jelentkezik, annyiban a várakozásnak megfelelően, hogy a két jelcsoport együttes intenzitásának aránya a várt 3:2. Az is feltűnő, hogy a vonalak a két csoporton belül azonos távolságra vannak egymástól (ekvidisztánsak) és intenzitásuk is szabályszerűen változik. A jelenség oka abban rejlik, hogy a spinek érzékelik szomszédjaik kvantumállapotát. Hidrogéneknél a két állapotot ellentétes vektorokkal, nyilakkal jelöljük. A 6. ábra, azt hiszem, kellő meggyőző erővel szemlélteti, milyen gyökeresen eltérő környezetet jelent egy adott kvantumállapotú spin számára, hogy a partnere azonos vagy ellentétes állapotú. Mivel a két lehetőség gyakorlatilag azonos valószínűségű, a kétféle környezet a partner jelének két egyforma jellé való szétválását, felhasadását okozza. A dolog természetesen kölcsönös: mindkét kölcsönható spin jele azonos módon, dubletté hasad fel, és a vonaltávolság - a csatolási állandó - is azonos. Ha egy spinnek két azonos szomszédja van, a két utóbbi spin kvantumállapotaiból három kombináció lehetséges: mindkettő alap vagy gerjesztett állapotú, illetve a kettő ellentétes állapotban van. Az utóbbi kombináció kétféleképpen lehetséges, valószínűsége így kétszeres. A szomszédos spin jele ezért 1:2:1 intenzitásarányal három jelre hasad. Hasonlóképpen 3 azonos szomszéd a partner hidrogén/hidrogének jelének négy vonalra hasadását eredményezi, amelyek intenzitásaránya 1:3:3:1. Így n ekvivalens szomszéd n+1 vonalból álló multiplletté hasítja a szomszéd mag/magok jelét, ahol az intenzitásarány a binomiális együtthatókkal azonos (a Pascal-háromszögből kapható meg). Most már érthető az etil-klorid már bemutatott spektruma és sok más egyszerű molekula spektrumának finomszerkezete.

Az elmondottak csak a csatolás legegyszerűbb, ún. elsőrendű eseteire érvényesek, s már a kis molekulák körében is számos akad, amelyek spektruma nem túl nagy térerősségeknél sokkal bonyolultabb. A bonyodalmak azonban a térerő növelésével (nagyobb teljesítményű mérőberendezésekkel) elkerülhetőek. Ha azonban nincs mód elegendően nagy térerő alkalmazására, akkor a bonyolult (magasabb rendű) spektrumokból a szerkezetigazoláshoz szükséges két legfontosabb paraméter, a kémiai eltolódás és a csatolási állandó csak kvantummechanikai úton, számításokkal kapható meg. Ha ugyanaz a mag több különböző maggal lép csatolásba, akkor multiplicitását nem az n+1, hanem az ezt felváltó $(n_1+1)(n_2+1)...$ szorzatszabályból kaphatjuk meg. Az akril-nitril három eltérő hidrogénjének bármelyike például két másikkal lép kölcsönhatásba, s ezért jele négy (2x2) azonos intenzitású vonalból álló kettős dubletté hasad fel. Kisebb térerőnél, magasabb rendű kölcsönhatás esetén, az intenzitások eltorzulnak, a kettős dublettek vonalai összezsúfolódnak, s ekkor a csatolási állandók csak számításokkal kaphatók meg a spektrumból. A legegyszerűbb esetben, két spin csatolásakor az elsőrendű spektrum két 1:1 intenzitású dublett. Gyengébb terekben a magasabb rendű csatolás eredménye, hogy a belső vonalak közelednek és intenzívebbé válnak, a külsők távolodnak és gyengülnek. Az egyszerűbb, elsőrendű kölcsönhatás feltétele, hogy a dublettek egymástól való távolsága (a kémiai eltolódás-különbség) legalább egy nagyságrenddel nagyobb legyen, mint a dublettek vonaltávolsága, a csatolási állandó.

A csatolási állandó nagysága rendkívül érzékeny a csatolódo spinek/atommagok kölcsönös térbeli helyzetére, s ezért értéke igen hasznos információ a molekulák térszerkezetének felderítéséhez. A gyakorlati hasznosítás lehetőségére ezúttal is egy igen egyszerű, saját kutatásból vett példával szeretnék rávilágítani. Az ún. kalkon-epoxidok előállításakor gyűrűs cisz- és transz- izomerek keletkezhetnek. Az oximokkal kapcsolatban említettem már, hogy a sztereo-izomerek megkülönböztetése miért rendkívül fontos, s hogy más módszerekkel többnyire meglehetősen körülményes. A cisz-epoxidokban a gyűrűshidrogének egy síkban vannak (az ún. diéderes szög 0°), a transz-izomerekben a hármass gyűrű ellentétes oldalain helyezkednek el, s a diéderes szög kb. 144° . Az NMR-spektroszkópia egy nevezetes tapasztalati szabálya, a Karplus-reláció értelmében a csatolási állandó jóval kisebbnek várható. Ugyanakkor a gyűrűshidrogének eltolódás-különbsége az utóbbi izomernél nagyobb. Vagyis a transz-izomereknél fennáll az elsőrendű csatolás feltétele, míg a cisz analógoknál nem. Utóbbiak spektrumában tehát torzul a két 1:1 intenzitású vonalpár, tehát a gyűrűs izomerek spektrumaik alapján egyetlen pillantásra megkülönböztethetők. Mivel szintetikus módszerekkel ugyanez csak sok munka ráfordításával, s úgy is csak bizonytalanul lehetséges, annak idején évek során felgyűlt több tucat bizonytalan szerkezetű vegyületről sikerült órák alatt eldönteni, hogy cisz- vagy transz-izomerről van-e szó.

III. A TÖBBDIMENZIÓS NMR-KORSZAK

Rendkívüli jelentőségű az NMR-spektrumok hőmérséklet-függésének felismerése. Ezt nevezzük dinamikus NMR-mérésnek, amely betekintést enged a mozgó molekulák világába. Az NMR a molekuladinamika unikális eszköze. Az NMR tehát sorra feltárta a kémiai szerkezet addig csak sejtett vagy még csak nem is gyanított finomságait. A kémiai eltolódás rámutatott ugyanazon atom molekulán belüli sokféle lehetséges környezetének létre, és ezek megkülönböztetésének lehetőségeire, a spin-spin csatolás háromdimenziósra tágította a molekulaszervezet fogalmát, a 3D NMR életet lehelt az addig merevnek hitt, mozdulatlanságra kárhoztatott molekulákba: a molekulák életre keltek! E sorozatos felfedezések egyre tágították az NMR alkalmazásának perspektíváit, a módszer újra és újra diadalt aratott, rendre az érdeklődés gyújtópontjába került.

A 70-es években a nagy számítógépeknek és a szupravezető mágneseknek, illetve a PFT-technikának (pulzus Fourier transzformációs mérési technika) köszönhetően óriási adathalmazok gyors és rendkívül érzékeny vizsgálata vált lehetővé: beköszöntött a multinukleáris, multidimenziós NMR-korszak. A folyékony hélium hőmérsékletén, az abszolút zérus fok közelében működő szupravezető mágnesekkel a kezdetben használt permanens mágnesekénél több mint egy nagyságrenddel erősebb mágneses terek állíthatók elő, s ma már a kommersz, sorozatgyártású műszerek is a GHz-es térerősséget közelítik. E műszerkolosszusok méretei és beszerzési, illetve üzemben tartási költségei is arányosak teljesítőképességükkel. A Bruker cég 900 MHz-es spektrométere jelenleg már kommersz készülékként is kapható (8. ábra). A csúcsteljesítményű számítógépek óriási adathalmazok igen gyors tárolását és feldolgozását teszik lehetővé. A pulzustechnikával pedig a spinek valósággal táncra pördíthetők, a mérést végző kutató olyan koreográfiát írhat elő számukra, amely igen sok új s újfajta információ birtokába juttatja. A pulzus Fourier transzformációs mérési technika új gerjesztési eljárást jelent, amellyel az atommagokat a hagyományos,

folyamatosan ható elektromágneses terek helyett egy nagyon rövid ideig, néhány mikroszekundumig tartó, de igen nagy energiájú rádiófrekvenciás sugárzással gerjesztik, azaz viszik alapállapotból magasabb energiájú mágneses kvantumállapotba. A Fourier-transzformáció olyan matematikai módszer, amellyel egymással kapcsolatban álló fizikai paraméterek alakíthatók egymásba, s ugyanazon mérési adatok más-más célokra a legalkalmasabb formába vihetők át (pl. az érzékenység rovására a felbontás, a jelszeperáció javítható és vice versa, a gyengébb felbontás árán az érzékenység, a jel-zaj viszony, azaz a jelintenzitás növelhető). Ennél is fontosabb azonban, hogy a mérésidő több nagyságrenddel lerövidíthető, s az időnyereség a mérés sokszori ismétlésére, majd az így nyert adattömeg átlagolására fordítható Fourier-transzformáció segítségével, ami az érzékenység igen jelentős javítását teszi lehetővé. A PFT-módszer elméleti alapjainak kidolgozásáért kapott Ernst svájci kutató 1993-ban Nobel-díjat. A PFT-technika felhasználásával egyebek között lehetővé válik a molekula topológiai leírása: kémiai kötésről kötésre haladva megállapítható bonyolult szerkezetekben az atomok, atomcsoportok kapcsolódásának sorrendje.

Mindennek köszönhetően a biológia is csatlakozik az NMR-t rutinszerűen alkalmazó természettudományokhoz: makromolekulák, biopolimerek, peptidek és fehérjék szerkezetfelderítése, biológiai folyamatok vizsgálata válik lehetővé. E téren egy másik svájci tudós, a 2004-ben az MTA tiszteletbeli tagjává választott Wütrich nyerte el 2002-ben a Nobel-díjat. Ezzel a területtel ebben az előadásban nem foglalkozom, mert bizonyára már több előadás is elhangzott a témakörrel Mindentudás Egyetemén, s feltehetőleg ezután is lesznek még továbbiak, melyek biológus vagy orvos előadói kiváló szakértői a kérdéskörnek.

Érdemes megjegyezni, hogy a Fourier-transzformáció felhasználhatóságát a mérésidő lerövidítésére s ezzel a mérések érzékenységének tekintélyes javítására az infravörös spektroszkópia területén javasolták, illetve vezették be (Fellgett, 1951) - tehát az NMR-alkalmazást jóval megelőzve. A PFT-technika kialakulásának története ekként érzékletesen példázza, hogy a tudomány fejlődésében miként termékenyítik meg egymást a különböző tudományágak eredményei, hogyan adaptálhatóak az egyik területeken bevált elvek, módszerek más alkalmazásokra.

A korszerű mérőberendezések nyújtotta lehetőségek szemléltetéséül ismét egy könnyen követhető szerkezetigazolást szeretnék bemutatni saját kutatásaink köréből. Több évtizede működünk együtt a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézetével, annak korábbi és jelenlegi vezetőivel, Bernáth Gáborral és Fülöp Ferencsel, s az utóbbi években különösen intenzívebb munkakapcsolat ottani témavezetőjével, Stájer Gézával. Több ezer általuk előállított új vegyület szerkezetfelderítését végeztem el, s az eredményeket közel másfélszáz közös tudományos közlemény dokumentálja. A közös kutatások egy jelentős nemzetközi visszhangot kiváltott eredménye volt az ún. Diels-Alder-reakció egy fordított irányban lejátszódó új válfajának, egy retro-Diels-Alder- (rDA-) átalakulásnak a felismerése, amely sok, addig csak nehezen hozzáférhető vagy korábban egyáltalán elő sem állított heterociklusos vegyület egyszerű és kíméletes szintézisét tette lehetővé. A Diels-Alder-reakcióban - nagyon leegyszerűsítve a dolgot - egy telítetlen, szén-szén kettőskötést tartalmazó heterociklusos vegyületre **(1)** addíciónál egy ciklopentadién-molekula **(2)** és norbornén-kondenzált triciklus **(3)** képződik. Az rDA-átalakulás ezzel ellentétes folyamat: a **(3)** típusú triciklusból ciklopentadién hasad ki, és ekként az **(1)** vegyülettel analóg mono-heterociklushoz jutunk. Ha az rDA reakció **(3)** típusú kiinduló vegyületét előzetesen úgy állítjuk elő (alkalmas bifunkciós norbornén-származék

ciklizálásával), hogy abban a végtermékként előállítandó monociklus csatlakozzék a norbornén-részlethez, akkor ezt ezen a kerülő úton minden további nélkül megkaphatjuk, akkor is, ha más módon nem lehet előállítani.

E vizsgálataink során keletkezett egy váratlan, eredetileg ismeretlen melléktermék, s ennek szerkezetét kellett kideríteni. A tervek szerint képződő, az (1) vegyülettel analóg felépítésű rDA-főtermék (4) mellett nyert ismeretlenről már a rutin vizsgálatokból kiderült, hogy a főfolyamat során a (3) típusú kiinduló vegyületből kiszakadó ciklopentadién (2) addíciójával az (5) főtermékre egy ötgyűrűs, pentaciklusos hetero-vegyület képződik, vagyis az rDA-reakció mellett lezajló, de azzal ellentétes, az eredeti Diels-Alder-reakciónak megfelelő folyamat eredménye az ismeretlen melléktermék. Az addíció révén négy különböző izomer - térszerkezetében s csakis abban eltérő molekula (6-9) - keletkezhet. A kiinduló vegyülethez csatlakozó norbornén-részlet "fej-fej" vagy "fej-láb" relatív helyzetben, "lefelé" vagy "fölfelé" (diendo- vagy diexo-) állásban lehet az ismeretlen molekulában. A már említett Karplus-összefüggés alapján a C-6 és C-11 atomok jelének várható multiplicitása rendre dd (kettős dublett), d (dublett), dd és ddd (háromszoros dublett: 8 vonal). A kísérleti spektrumban kettős dublett jelentkezik, vagyis a (6) és (8) szerkezetek között kellett dönteni.

IV. AZ OVERHAUSER-EFFEKTUS

A rutin NMR-spektrumokból nyerhető adatokat kiegészítő mérések egész arzenáljával lehet bővíteni. Ezek közé tartozik az ún. Overhauser-effektus mérése, a NOE. Ennek lényege, hogy egy molekula adott magját külön is gerjesztve ("kettős rezonancia") a hozzá térben közel lévő más magok megoszlása a kvantumállapotok között úgy változik (ti. nő a betöltöttség-különbség), hogy a megfelelő átmenet több energiát képes elnyelni a gerjesztő sugárzásból, s ezért nő a jelintenzitás. Az effektus rendkívül érzékeny a gerjesztett és reagáló magok kölcsönös távolságára - ennek hatodik (!) hatványával fordítottan arányos -, ezért alkalmas atom-atom távolságok igen pontos meghatározására. Ez az alapja annak, hogy az NMR felhasználható makromolekulák, közöttük peptidok és fehérjék háromdimenziós szerkezetének felderítésére.

A korszerű NMR-készülékeket vezérlő, s ezért ezek szerves részét képező nagyteljesítményű számítógépek lehetővé teszik adatok, akár teljes spektrumok "összadását" vagy "kivonását" egymásból. Ha egy NOE-spektrumból kivonjuk ugyanannak a mintának a normál spektrumát, akkor csak azok a jelek maradnak meg az ún. DIFFNOE- (különbség-) spektrumban, amelyek intenzitásnövekedését okozza a NOE. A DIFFNOE-felvételen tehát a jelintenzitások a NOE-növekményeknek felelnek meg.

Az elmondottakat egy egyszerű példával szeretném megvilágítani. Az EGIS Gyógyszergyárban intermedierként (közti terméként) kellett a (11) izokinolin-származékot előállítani. Ez a (10) dimetoxi-vegyület parciális hidrolízisével történt, amikor (11) és (12) keveréke keletkezik. A két anyagot elválasztották, de tisztázni kellett, hogy közülük melyik a kívánt (11) termék. Ezután kerülhetett csak sor a reakciókörülmények módosítására annak érdekében, hogy a kívánt termék minél nagyobb mennyiségben keletkezzék. E célra jól használható a DIFFNOE-

mérés: a metoxi jel a **(11)** vegyületben a H-5, a **(12)** izomerben viszont a H-8 atommal szomszédos. A célvegyület esetén tehát a H-5 besugárzására, a nem kívánt szerkezetű **(12)** molekula mérésekor viszont a H-8 jel besugárzásakor jelentkezik a metoxi-jel a DIFFNOE-felvételen. Ehhez viszont tudni kellett, hogy az egymáshoz közeli jelek közül melyik felel meg a H-5, illetve H-8 atomoknak. Ezt egy másik méréssel döntöttük el. A biztosan azonosítható C-metil jelet besugározva ugyanis H-8 reagál: ennek jele található meg a DIFFNOE-spektrumban. Ezt a technikát használtuk fel a **(6)** vagy **(8)** szerkezetek közötti döntéshez.

E vegyületek ¹H-NMR-spektrumában könnyen és biztonságosan az oxigén melletti CH-csoport hidrogénjének (H-13) jele, mert az elektronegatív oxigén nagy kémiai eltolódást okoz, s e jel ezért jól elkülönül a többi hasonló hidrogénétől. Az első NOE-méréskor ezt a hidrogént sugároztuk be, hogy eldöntsük, hogy az egymáshoz igen közeli és hasonló finomszerkezetű H-5 és H-12, valamint H-6 és H-11 jelpárok közül melyik tartozik a H-13 atomhoz közelebbi H-12 és H-11 magokhoz. Utóbbiak jelintenzitása növekedett ugyanis a térközelség miatt, vagyis ezek a jelek lépnek fel a DIFFNOE-felvételen. Következő lépésként - ugyancsak kettősrezonancia-módszerrel - azonosítottuk az "áthidaló" (14-es és 15-ös pozícióban lévő) hidrogének jelét, majd utolsó lépésként igazoltuk a H-8 és H-9 atommagok térbeli közelségét a 14-exo hidrogénhez. Vagy az előbbi kettő vagy az utóbbi jelét besugározva a DIFFNOE-felvételen az utóbbi hidrogén, illetve az előbbi kettő adott jelet. Ezzel a **(6)** szerkezetet bizonyítottuk, mivel a **(8)** molekulában az említett hidrogének egymástól távol helyezkednek el, s ekként nincs közöttük NOE.

V. A SPIN-RÁCS RELAXÁCIÓS IDŐ

Az NMR-spektrumokból kapható további paraméter a spin-rács relaxációs idő. Mérésén alapul az NMR orvosi diagnosztikai alkalmazása. Lényege két mondatba sűrítve, hogy a malignáns sejtekben a sejtszövet legnagyobb részét kitevő vízmolekulák hidrogénjeire jellemző paraméter megváltozik, nagysága eltér az egészséges sejtekben mérhetőtől. Ha tehát a relaxációs időket egy sejtszövetminta-térfogatban pontról pontra megmérjük és ábrázoljuk, molekuláris felbontású fantomképet nyerünk bármely szövetmintáról, például egy rosszindulatú daganatról, annak nagyságáról, alakjáról és elhelyezkedéséről. Ez az MRI, az NMR-tomográfia. A szervezetben semmiféle károsodást nem okozó, több nagyságrenddel finomabb, pontosabb képet adó MRI sok területen kiváltja, máskor legalább is kiegészíti a roncsoló hatású, sokkal durvább röntgenvizsgálatot. Az MRI elméletét és mérés technikáját a 1970-es évek derekán dolgozták ki. E kutatások vezéralakjai, Mansfield és Lauterbur 2003-ban orvosi Nobel-díjban részesültek. Feltételezem, hogy ez is olyan téma, amelyről nálam sokkal kompetensebb orvos kollegák már tartottak előadást a Mindentudás Egyetemén. Erről tehát nem beszélek, annál is inkább, mivel az NMR az ilyen vizsgálatokban csak detektorszerepet tölt be.

Röviden megemlítem viszont a szén relaxációs idők felhasználását a biológiai és kémiai kutatásokban. A szén spin-rács relaxációs idő jellegzetesen függ a szénatomok mozgékonyaságától. Ha egy hosszú normál láncú zsíralkohol-molekulában mérjük a relaxációs időket, akkor a hidroxilcsoporttól távolodva nagyságuk fokozatosan növekszik.

Ennek az az oka, hogy a hidroxilcsoportok egymással összekapcsolódva, hidrogénhidas szerkezeteket kialakítva mintegy rögzítik - lehorgonyozzák - a lánc alakú molekula OH-csoportot hordozó végét. Az OH-csoporttól távolodva a C—C kötések körül egyre szabadabban és gyorsabban mozog (forog) a molekulalánc további részlete, s ezzel monoton nő a relaxációs idő. Bizonyára mindnyájan hallottak az enzimek működésének arról a jellegzetességéről, hogy aktivitásukat bizonyos hozzájuk kapcsolódó anyagok - szubsztrátok - befolyásolják (a természetes folyamatokban a szervezetekben jelenlévő molekulák, a gyógyászatban különféle gyógyszerek serketik vagy éppen gátolják). Hogy a kapcsolat enzim és szubsztrát között létrejöhesse, térbelileg összeillőnek kell lenniük: a szubsztrátnak, mint kulcsnak a zárba, bele kell illeszkednie az enzim megfelelő részébe. Az ilyenfajta kutatásokban tehát alapvetően fontos tudni, hogy a kölcsönhatásban az enzim- és a szubsztrátmolekulák melyik része kap szerepet, hol kötődnek, melyik részletük van lehorgonyozva. Ha ezt például a szubsztrátról szeretnénk tudni, meg kell mérni ennek szabad molekulájában és az enzimhez kötődött állapotában a szénatomok relaxációs időit. A legnagyobb eltérések a kötődési pont környezetében észlelhetők, s ekként a kötőhely lokalizálható a szubsztrátban.

A relaxációs idők kémiai felhasználására is szeretnék egy nagyon egyszerű, saját kutatásaink során felmerült példát bemutatni. A **(13)** piridazon-molekula várható reaktivitásának felderítése céljából meg kellett vizsgálnunk, melyik a legbázikusabb (legnagyobb elektronsűrűségű) pontja e molekulának. Elvileg az oxigén- és a két nitrogénatom jöhet szóba. Legegyszerűbben ezt protonálással lehet eldönteni: savas közegben protonfelvétellel pozitív töltésű kation képződik, és a hidrogén a legbázikusabb atomhoz kapcsolódik. Ekként a **(14-16)** szerkezetek mérlegelendők. A protonálódás (a hidrogénkötődés) helyének meghatározása a szén relaxációs idők mérésével lehetséges. Elméleti okokból tudható, hogy adott szénatom spin-rács relaxációs ideje érzékenyen függ a szénhez kapcsolódó atomok minőségétől: ha például egy CH- csoport hidrogénjét deutériumra cseréljük, a CD-csoport szénatomjának relaxációs ideje drasztikusan megváltozik. Sőt még a szomszédos szénatomnál is jól észlelhető változás várható. Erre alapult ötletünk, hogy mérjük meg a szén relaxációs időket például trifluor-ecetsavban, majd ennek deuterált változatában. A táblázatban láthatók a két oldószerben mért relaxációs idők s ezek különbsége. Az adatok világosan jelzik, hogy az oxigén protonálódott, tehát ez az atom a molekula negatív töltéscentruma.

VI. AZ NMR JÖVŐJE

A terjedelmi korlátok nem teszik lehetővé, hogy az NMR-módszer alkalmazásainak hihetetlenül gazdag és napról napra bővülő tárházából néhány kiragadott példán túl többet is bemutassak. Az volt a célom, hogy bemutassam a legfontosabb információ típusokat, a spektrumparaméter-fajtákat, illetve hogy egy-egy lehetőleg egyszerű, könnyen érthető, de valódi, a gyakorlatomból származó problémamegoldást villantsak fel a kémiai eltolódások, a csatolások és relaxációs idők felhasználására. Remélhetőleg így sikerült megvilágítanom azokat a szinte korlátlan, hihetetlenül változatos s a természettudományok minden területén használható lehetőségeket, amelyek az NMR-spektroszkópiát a kutatás nélkülözhetetlen eszközévé teszik napjainkban.

Az NMR-spektroszkópia jelentőségét a tudományokban három tucatnyi kémiai, fizikai és orvosi Nobel-díj dokumentálja .

Előadásom végére érve nem tehetem meg, hogy legalább pár mondatot ne szenteljek a jövő kilátásainak. Az NMR perspektíváinak felvázolása azonban akár egy önálló előadás témája is lehetne. A 90-es években elterjedtek az érzékenységet tovább javító módszerek, s a más mérés technikákkal - tömegspektrometriával, gázkromatográfiával stb. - kombinált NMR-vizsgálatok. Ezeknek a kombinált módszereknek és a számítógép vezérelt mérésautomatizálásnak köszönhetően az NMR-spektroszkópia az ipari minőségbiztosításnak, a technológiai folyamatok kontrolljának mindennapos eszközévé vált. Manapság már működnek olyan csarnoklaboratóriumok, amelyekben csapatnyi kutató mér csúcsteljesítményű NMR-műszerek tucatjain, s dolgozza föl a mérési eredményeket. Ez meggyőzően szemlélteti az NMR-technika rohamosan növekvő jelentőségét - a tudomány világán túl immár az iparban, a termelésben, mindennapi életünkben is.

A tudományos kutatót egy úszóhoz lehet hasonlítani, aki egy tölcsérben emelkedő szintű folyadék felszínén tempózik. A folyadék a tudományos ismereteket jelképezi, s ahogy emelkedik a folyadékszint a tölcsérben, úgy távolul, még hozzá rohamosan, az úszó előtt a felszín, úgy távolodik, válik egyre inkább illuzórikussá a "mindentudás", a partra érés reménye. Minél többet tanulunk, minél inkább gazdagodik tudásunk, tapasztalataink tárháza, annál inkább be kell látnunk, mi mindent nem tudunk még. Szívem szerint ezért ezt a nagyszerű és nagyszerű előadás-sorozatot, amelyben részt vennem igen nagy megtiszteltetés volt, én inkább a "Többet Tudás Egyetemének" nevezném.