

Az NMR-SZTORI

Sohár Pál az MTA levelező tagja

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék

MTA–ELTE Spektroszkópiai Szerkezetkutató Csoport

sohar@para.chem.elte.hu.

Az NMR-spektroszkópia napjaink legelterjedtebb, a természet-tudományok minden területén nélkülözhetetlen, rendkívül sokoldalúan alkalmazható, hihetetlen gyorsasággal fejlődő és terjedő, leghatékonyabb nagyműszeres szerkezetkutatói módszere. Óriási jelentőségű mind az elméleti, mind a gyakorlati tudományok terén, új dimenziókat nyitott a kémiai szerkezetkutatásban, a biológiai folyamatok felderítésében és az orvos-diagnosztikában. Alig 80 éves múltja telve van fényes diadalokkal, kudarcokkal, váratlan fordulatokkal, miközben ellentétben a társ műszeres módszerek meglehetősen sablonos karrier-történetével, melynek során a harsány címeiből előbb csak a címodalra, majd fokozatosan a cikk-szövegek egyre eldugottabb részeibe csúsznak le, hogy végül kikössenek a kísérleti részek kötelező adathalmazában, az NMR újra és újra visszahódította a közfigyelmet, s a lelkesedés kihunyó tüzének hamvaiból feltámadva ismételt az érdeklődés gyűjtőpontjába sikerült kerülnie.

Amidőn a magrezonancia-jelenség létezésének lehetősége felmerült, senki sem gondolta volna, hogy ezzel a tudományban példanélküli siker-története veszi kezdetét. Két évtizeden át az NMR-téma az elméleti fizikusok „belügye” maradt és kísérleti igazolásától nem vártak többet annál, minthogy igazoljon egy-két csupán elméleti érdekességű kvantumelméleti feltételezést. E korszak végén általános volt a vélemény, hogy a magrezonancia-kísérletek kudarcra vannak ítélve, „az NMR halott”, nincs jövője, nincsenek alkalmazási lehetőségei. A mérés-technika, s vele az NMR-elmélet párhuzamos fejlődésével aztán feltárult a páratlanul gazdag alkalmazások perspektívája, az ötvenes években először csak a kémia, majd egy-egy évtized elteltével sorra a biológia, az orvostudomány, s az összes többi természettudomány számára is.

A mindent útjára indító ötlet *Pauli*tól származik, aki elektronspektrumok hiperfinom szerkezetéből 1924-ben jutott arra következtetésre, hogy – hasonlóan az elektronokhoz, amelyekről ezt ekkor már tudták (*Compton*, 1921) – az atommagoknak is van – *kell legyen* – impulzus, s ezzel mágneses momentuma. *Goudsmit* és *Uhlenbeck* ennek elméleti okát is felismerték (1921), *Stern* és *Gerlach* híres kísérletei pedig 1924-ben igazolták, hogy az elektronok impulzus- és mágneses momentuma kvantáltak. Kézenfekvő volt ekként az a *Denissontól* származó további feltételezés (1927), hogy a magmomentumok is kvantáltak, amit alkalmas rezonancia-kísérletekkel lehet bizonyítani.

A mágneses momentum, a *spin* úgy képzelendő el, mint egy parányi iránytű, amely, ha mágneses térbe kerül, beáll a tér irányába, pontosabban kvantáltsága azt jelenti, hogy a külső térrel olyan szöget zár be, hogy vetülete meghatározott nagyságú legyen, γ egész vagy fél-egész számú többszöröse: mγ, ahol γ az un. giromágneses tényező az

egyes atommagokra jellemző, m futó szám, maximuma I, a spin-kvantumszám és nagysága az I, I-1, ..., -I, összesen 2I+1 értéket veheti fel. A legegyszerűbb esetben, pl. a hidrogénre is, $I = \frac{1}{2}$, s ekkor két kvantumállapot van az $m = \frac{1}{2}$ és $m = -\frac{1}{2}$ értékeknek megfelelően, ahol a két m-érték a momentum vetület külső térhez viszonyított parallel vagy ellentétes beállásának felel meg. Ha a magmomentumot egy kis nyíl (vektornak) tekintjük, akkor a rezonancia nem jelent mást, minthogy a nyíl az egyik lehetséges beállásból átbillen a másikba, vagyis a mag mágneses momentumának a külső mágneses térhez viszonyított beállása változik meg, s más nem történik. Az ehhez szükséges energia a rádiófrekvenciás sugárzás elnyeléséből származik és a megfelelő frekvenciát, az egyes magokra elérő un. Larmor-frekvenciát, amely a külső térrel arányos szelektíven, rezonancia-szerűen nyelik el az egyes atommagok. Az NMR-kísérlethez tehát két mágneses tér szükséges: az első un. polarizáló tér a mágneses kvantumállapotok létrejöttéhez (a spinek e külső térhez viszonyított orientációjához), a második, az un. gerjesztő tér a kvantumállapotok közötti átmenetek előidézéséhez (a spin-beállások megváltoztatásához) szükséges.

Néhány, a kvantumelmélet iránt érdeklődő kísérleti fizikus nyomában nekilátott a magrezonancia kísérleti megvalósításának, bár a roppant kis rezonancia-energiák miatt, a mérés-technika akkori szintjén, a kitűzött cél hihetetlenül nehéz feladat elé állította a kutatókat. De talán éppen ez jelentette a téma vonzerejét, felkeltve a kutatói becsvágyat. E korszak tragikus figurája egy *Gorter* nevű amerikai kutató, aki egész kutatói pályafutását a magrezonancia kimutatásának szentelte, egész életét erre tette fel és minden próbálkozása majd két évtizeden át sikertelen maradt. A kudarc oka, hogy balszerencsésen rossz atommagot, a ^7Li izotópot választotta kísérleteihez, abból a megfontolásból kiindulva, hogy a nagy természetes előfordulás (93 %) és spin-kvantumszám (3/2) nagyobb mágneses momentumot, s ezzel rezonancia-energiát eredményez, amely nagy energia elnyelését könnyebb lesz kimutatni. A felesnél nagyobb spin-kvantumszám-mal járó elektromos kvadrupól-momentum, s az ennek következtében igen rövid spin-rács relaxáció azonban gonosz tréfát üzött a balszerencsés kutatóval, megfosztva őt a magrezonancia bizonyításának dicsőségétől.

Közben más irányban is folyt a Pauli-hipotézis igazolását célzó kutatómunka. Atomsugarakkal végzett kísérletekkel *Rabi* és munkatársai az Egyesült Államokban, 1939-ben sikerrel határozták meg néhány atommag mágneses momentumának nagyságát, s velük egy időben, hazánkban is elindultak *Simonyi Károly* kezdeményezésére hasonló és eredményes kísérletek. Büszkén mondhatjuk tehát, hogy az NMR-spektroszkópia úttörői közt ott találjuk a magyar fizikusokat is, s a hazai kutatások ez idő tájt a nemzetközi élvonalhoz tartoztak.

A sikeres NMR-kísérletek előhírnökeként 1944-ben Zawoisky kimutatta az elektronspin-rezonanciát, létrehozva ezzel az ESR-spektroszkópiát. Igaz ugyan, hogy az elektronok három nagyságrenddel nagyobb mágneses momentumának rezonanciáját megfigyelni mérés technikailag sokkal könnyebb feladat, de ez az eredmény bizonyára mégis új lendületet adhatott az NMR-kutatásoknak is.

Ami nem sikerült Gorternak, azt 1945-ben két kutatócsoport is megvalósította: Bloch és munkatársai a Stanford egyetemen, Purcell és kutatócsoportja a Harvard egyetemen végrehajtották az első sikeres magrezonancia kísérleteket. Mindkét csoport a hidrogénmagon, Blochék a vízmolekulán, Purcell és csapata a paraffin hidrogénjein figyelte meg a rádiófrekvenciás sugárzás szelektív elnyelését. Szerencsés kézzel az NMR kísérletben legérzékenyebb hidrogénmaghoz nyúltak, s külső körülmények is hozzásegítették őket a sikerhez.

A háborús célú radar-kutatásokra nem sajnálták a pénzt, melyből aztán jutott a rádiófrekvenciákkal végzett elméleti célú tudományos vizsgálatokra is. A háborús körülmények más módon is segítettek az NMR-témán munkálkodó kutatókat: a sikeres rezonancia-kísérletek végrehajtásának esszenciális feltétele volt a laboratóriumi hőmérséklet stabilitása. Légkondicionálás akkoriban még nem volt, de a légítámadások elől óvóhelyekre, földalatti betonbunkerokba kényszerült kutatólaborokban a hőmérséklet stabilitás adva volt.

Bloch és Purcell 1952-ben Nobel-díjat kapott a magrezonancia első sikeres kimutatásáért, s így ők lettek az NMR-spektroszkópia első Nobel-díjasai.

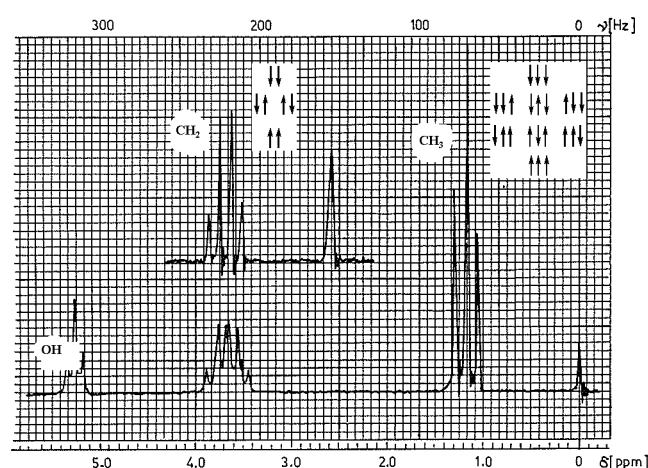
A fizikusok eredetileg kizárólag kvantumelméleti hipotézisek igazolására végeztek NMR-kísérleteket, gyakorlati alkalmazásokra senki sem gondolt. E teljesen elvont – ma úgy mondanánk tisztán alap- – kutatásokból nőtt ki napjaink legszélesebb körben hasznosítható műszeres vizsgálati módszere!

Az egyes atommagok mágneses momentumának pontosabb mérése érdekében a kutatók a mágneses térerősség és a mérési precizitás növelésére összpontosítottak. Ennek köszönhetően 1949-ben Knight észrevette, hogy ugyanaz a fématom különböző anyagokban, kissé eltérő frekvenciájú rádiósugárzást nyel el, s a következő évben sorra más atommagokkal kapcsolatban is ezt tapasztalták: Proctor és Yu a ^{14}N , Dickinson a ^{19}F , Lindström és Thomas a hidrogén magra mért eltérő rezonancia-frekvenciát e magokat tartalmazó különböző vegyületekre. Proctor és Yu az ammónium-nitrát N-NMR-spektrumában nagyon közel egymáshoz két azonos intenzitású jelet észlelt, amelyek frekvenciája a külső mágneses térhez viszonyítva több nagyságrenddel kisebb értékkel különbözött, de elegendő felbontás esetén jól elvártak egymástól. Az azonos intenzitás miatt nem lehetett szó arról, hogy a két jel a ^{14}N - és ^{15}N -izotóptól származzon, nyilvánvaló volt tehát, hogy az anionban lévő és kationbeli nitrogénhez tartozik a két jel. Egy évvel később, 1951-ben az is kiderült, hogy ugyanannak az atommagnak, ugyanabban a molekulában is más-más rezonancia-frekvenciája van, ha eltérő kémiai környezetben fordul elő. Arnold, Dharmatti és Packard közölték az etanol

egy olyan felbontással készült hidrogén-rezonancia- (H-NMR-) spektrumát, amelyben a metil-, metilén- és hidroxilcsoportok hidrogénjei külön jelet adtak. A spektrumból az is kiderült, hogy a jelek intenzitása arányos az értük felelős magok számával, vagyis az NMR-spektrumból megkapható a különböző kémiai környezetben előforduló azonosfajta magok relatív száma is.

Azt a jelenséget, hogy a kémiai környezet, ha csak igen kis mértékben is, a külső mágneses tér milliomod részével, ppm-ben mérhetően, befolyásolja a rezonancia-frekvenciát, kémiai eltolódásnak nevezzük. Ám ha a kémiai környezet hat a rezonanciafrekvenciára, akkor ennek fordítottja is igaz: pontos mértéke informál a kémiai szerkezetéről. Ez a felismerés indította el diadalutját az NMR-t a kémiában: a kémikusok felfedezték maguknak az NMR-módszert, mint a szerkezetkutatás leghatékonyabb eszközét. Az NMR, mint egy az elektronmikroszkópnál sok nagyságrenddel nagyobb teljesítményű nagyító, betekintést enged a molekulák világába.

A kémiai eltolódás a kémiai szerkezetéről nyerhető információk egyik leggazdagabb tárházát jelenti, de korántsem az egyedüli adatfajta, amivel az NMR segítheti a szerkezetkutatót. Már a legegyszerűbb molekulák H-NMR spektrumából kitűnt, hogy a kémiai eltolódás-konceptióval nem magyarázható meg mindig ezek szerkezete. Proctor és Yu a nátrium-hexafluoro-antimonát ^{121}Sb -spektrumában a várt egyetlen maximum helyett egy feltűnően szimmetrikus szerkezetű, hét vonalból álló multiplettet talált, amelynek vonalai ekvidisztánsak, s intenzitásuk a binomiális együtthatóknak megfelelő arányú. Hahn és Gutowsky ezt azzal magyarázta (1951), hogy a spinek „érezik” szomszédaik kvantumállapotát, vagyis a szomszéd alap- vagy gerjesztett állapota eltérően hat a partnere körüli lokális mágneses tér nagyságára, s ezzel a rezonancia-frekvenciára. Tehát a szomszéd kétféle kvantumállapota a partner két eltérő rezonancia frekvenciáját okozza: ennek jele két vonalra hasad.



1. Ábra. A 96 %-os és absz. etanol ^1H -NMR spektruma és a lehetséges spin-beállítások két, illetve három spinre

Az etanol nagyfelbontású H-NMR spektrumában (1. ábra) a metil-jel 1:2:1 triplette, a metilén-jel 1:3:3:1 intenzitásarányú kvartetté hasad fel, míg az OH-jel széles elnyelési maximumként külön jelentkezik a két multiplett között. Az

OH-hidrogén tehát nem okoz felhasadást, aminek okáról még szó lesz. A metil-jel triplétt szerkezete a két metilén-H kvantumállapotának függvénye: a szélső vonalak a két szomszéd spin azonos, alap- vagy gerjesztett állapotával kapcsolatosak, a középső, tehát a spin-spin kölcsönhatás nélkülivel azonos kémiai eltolódásnál jelentkező vonal a két spin ellentétes beállításának felel meg. A spin-állapotok okozta frekvencia-változások ugyanis kompenzálódnak, a kétszeres intenzitás a kétszeres statisztikus súllyal indokolható (az első vagy második spin egyaránt lehet alap, a pár pedig gerjesztett állapotban). A metilén-jel felhasadása a három metil-hidrogén spin-állapotok közötti lehetséges megoszlásait tükrözi: lehet mindhárom vagy alap-, vagy gerjesztett állapotú (szélső vonalak), lehet kettő alap és egy gerjesztett, vagy fordítva: egy alap- és kettő gerjesztett állapotban, s ez utóbbi két esetnek háromszorosa a statisztikus súlya, aszerint, hogy az első, második vagy harmadik H atom ellentétes spinű a másik kettőhöz képest. Tehát a jól elkülönülő jelek száma és intenzitásaránya a kémiai eltolódás-konceptió-nak megfelelő, de egyes jelek egymáshoz közeli vonalakra hasadva multiplett-ként jelentkeznek. A vonaltávolság az un. *csatolási állandó*, amelyről kiderült, hogy rendkívül érzékeny a csatoló spinek kölcsönös térbeli helyzetére. Ekként a csatolási állandó kulcsinformáció a molekulák háromdimenziós szerkezetét illetően, s ennek köszönhető, hogy az NMR-spektroszkópia a sztereokémiai kutatások legfontosabb eszközévé vált.

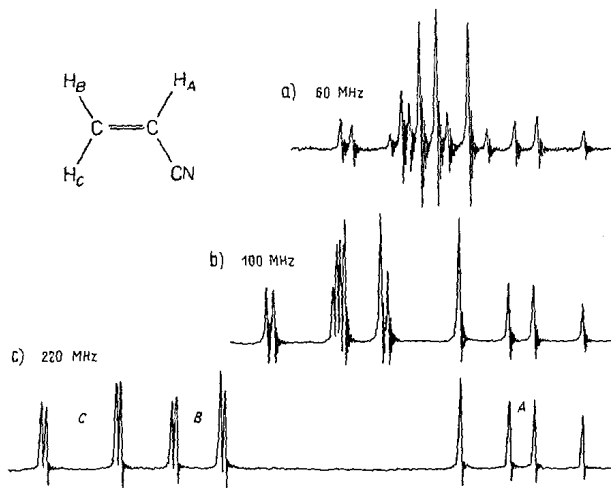
A felbontás és térerősség növelésének eredeti célja a mágneses momentumok pontosabb mérése volt, s a kémia eltolódás és spin-spin csatolás felfedezése, s ez által az NMR kémiabeli gyakorlati alkalmazhatóságának felismerése lett belőle!

Már a legegyszerűbb molekulák körében is akadtak olyanok, amelyek multiplettjei az előbbieken ismertetett egyszerű, szimmetrikus multiplettek, az un. elsőrendű vagy gyenge spin-spin csatolásoknak megfelelőek helyett sokkal bonyolultabb, teljen aszimmetrikus spektrumot adnak, amelyekből nem kaphatók meg egyszerűen a szerkezet-felderítés számára perdöntő paraméterek, kémiai eltolódások és csatolási állandók. Ilyen erősen csatolt rendszerek spektrumainak értelmezéséhez elkerülhetetlen az NMR-spektroszkópia kvantummechanikai elméletének ismerete, amely megadja azokat a számítási módszereket, formulákat, melyekkel a spektrumparaméterek kiszámíthatók. Itt jegyzem meg, hogy az első sikeres NMR-mérések egyik végrehajtója *Felix Bloch* az NMR kvantumelmélet kidolgozásában is főszerepet játszott, lefektetve e tudományág alapjait. Az elméletből következik, hogy a bonyolult, csak számításokkal megfejthető spektrumok leegyszerűsíthetők a gyengén csatolt rendszerekre jellemző szimmetrikus multiplettekből felépülőkké, nagyobb külső mágneses tér alkalmazásával.

Ezt az akril-nitril példája szemlélteti, amelynek H-NMR spektruma 60 MHz-en bonyolult, áttekinthetetlen aszimmetrikus jelrendszer, 100 MHz-en egy hidrogén jele már elkülönül, 220 MHz-en pedig mindhárom hidrogén jele külön jelentkezik, s közel áll a gyenge csatolásnak megfelelő egyszerű szerkezethez, melyből a spektrumparaméterek számítások nélkül kiolvashatók (2. ábra).

A csatolási állandó tehát a molekulák térszerkezete szempontjából alapvető fontosságú információk hordozója,

de ugyanakkor bonyolítja is, van mikor lehetetlenné teszi a spektrumok értelmezését. *Anderson és Freeman* 1961-ben leírták a módszert, amellyel e nehézség áthidalható. Ez az un. kettős-rezonancia, amely az első volt a szokásos spektrumok felvételét kiegészítő mérési módszerek sorában. Ezeknek ma már egész arzenálja gazdagítja a kutatások NMR-fegyvertárát.



2. Ábra. Az akril-nitril ^1H -NMR spektruma 60, 100 és 220 MHz-en.

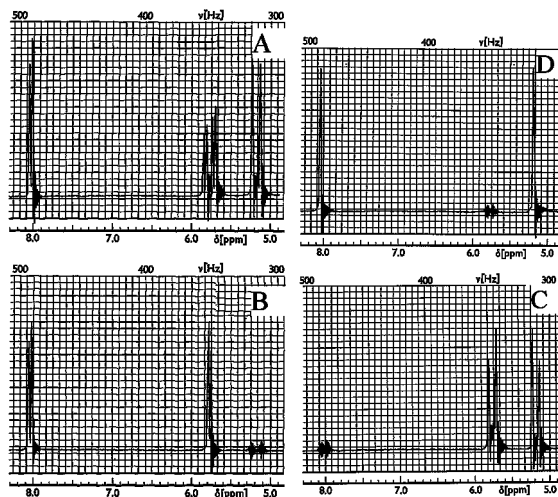
A kísérlet lényege, hogy a normál-felvételknél alkalmazott gerjesztő tér mellett, amellyel az eltérő kémiai eltolódású magok rezonanciáját idézzük elő, egy második gerjesztő teret is alkalmazunk. Az egymással csatolt spinek egyikét folyamatosan gerjesztve felgyorsulnak az ellentétes, a gerjesztési energiát a környezetnek átadó un. relaxációs folyamatok, melynek során alapállapotba jut vissza a gerjesztett mag. Ily módon a spinek kvantumállapota gyorsan változik, a gerjesztett állapot élettartama lerövidül és a szomszéd spin nem képes követni a gyors változást: a kölcsönhatás okozta felhasadás eltűnik.

Szemléltetésül a 2-formil-3-brom-tiofén példája szolgálhat. A kénnel szomszédos hidrogén csatolódik mindkét további hidrogénnel, utóbbiak viszont egymással nem csatolódnak. Ez abból látszik, hogy a kén melletti hidrogén jele kettős dublett a kétféle csatolásnak megfelelően, míg a másik két jel csupán két-két vonalra hasad (3A. ábra). A kettősrezonancia-kísérletben a formil-hidrogénnel nem csatoló gyűrűs hidrogént gerjesztve, aminek következtében jele eltűnik a spektrumból, csak a másik két hidrogén közötti csatolás marad meg, s mindkét jel dublett (3B. ábra).

Hasonlóan a formil-hidrogént telítve a gyűrű hidrogének egymás közötti csatolásának megfelelően mindkettő dublett jelet ad (3C. ábra). Ha azonban a mindkét partnerrel csatoló kénnel szomszédos magot visszük telítésbe, az egymással nem csatoló két további hidrogén jele egy vonallá egyszerűsödik (3D. ábra).

A kettősrezonanciának számos fajtája használatos. Ezek közül a legismertebbek az un. lecsatolás és szelektív változata, az un. tickling és INDOR módszerek, a hidrogének és szenek közti kölcsönhatást kiküszöbölő, s így vonalas spektrumokat eredményező szélessávú (broad band, BB-) lecsatolás, amely az egyszerűbb szerkezet mellett még tekintélyes

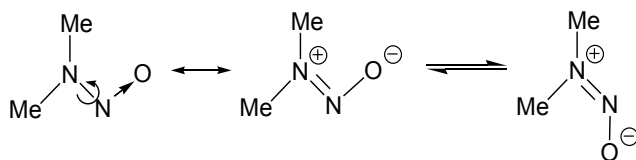
jel-zaj javulást is eredményez a C-NMR spektrumban. Ide sorolható az „off-rezonancia”-mérés, amellyel régebben adott vonalhoz tartozó szénatomok rendűségét határozták meg (ma már erre pulzusszekvenciák, az ún. DEPT és APT mérés használatos), s a mag Overhauser hatás (NOE), amely többek között a makromolekulákban az atom-atom távolságok igen pontos meghatározásának eszköze.



3. Ábra. A 2-formil-3-bróm-tiofén ^1H -NMR spektruma és a kettősrezonancia-spektrumok a H-4, formil-H és H-5 magokat lecsatolva

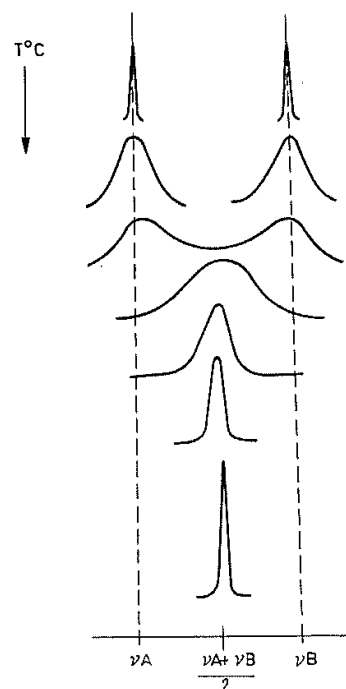
A kettősrezonancia-mérések egész sor további fontos információ forrásai: segítenek a jel-hozzárendelésben, az egymással kölcsönható spin-párok azonosításában, elfedett jelek kémiai eltoldásának pontos meghatározásában, elméleti kérdések tisztázásában (pl. csatolási állandók relatív előjelének meghatározásában, kvantumátmenetek asszignálásában, illetve term-nívó sorrendek megállapításában), stb.

Az N,N' -dimetil-nitrozamin ^1H -NMR spektrumában a két metil-csoport jele elkülönül. Ezt Gutowsky és Holm úgy magyarázta (1956), hogy az N–N kötés körül a polarizáció következtében gátolt rotáció miatt a két metil-csoport környezete különbözik: az egyik *cis*-, a másik *transz*-helyzetű az oxigénnel (1. képletábra).



1. képletábra

Feltevésüket a spektrum hőmérséklet-függő vizsgálatával igazolták. Melegítve az oldatot azt tapasztalták, hogy a két jel fokozatosan kiszélesedik, majd összeolvad, s végül egybeolvad az átlag kémiai eltolódásértéknél (4. ábra). Magasabb hőmérsékleten ugyanis felgyorsul a forgás az N–N kötés körül, s a környezetek átlagolódnak. A jel-összeolvadás hőmérsékletéből a termodinamika jól ismert Arrhenius és Eyring nevét viselő egyenleteivel a mozgás aktiválási paraméterei elegendő pontossággal és egyszerűen kiszámíthatók.



4. Ábra. Az N,N -dimetil-nitrozamin ^1H -NMR spektruma a hőmérséklet függvényében.

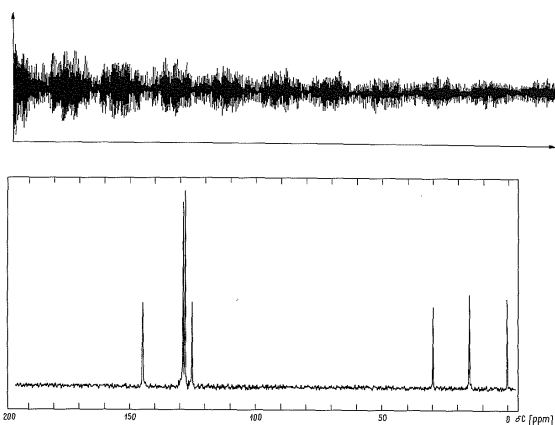
E kísérletek a dinamikus NMR - (D-NMR) spektroszkópia kezdetét jelentik. Az utóbbi területen elért eredmények bizonyították, hogy a belső molekuláris mozgások (atomi és gyűrűinverzió, rotáció, vegyérték-izoméria, tautoméria), valamint a cserefolyamatok (ligand-csere, savanyú protonok intra- és intermolekuláris cseréje) vizsgálatának unikális eszköze az NMR-spektroszkópia.

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 létezésére és megkülönböztetésük lehetőségére, a spin-spin csatolás három-dimenziósra tágította a molekulászerkezet fogalmát, a D-NMR életet lehelt az addig merevnek hitt, mozdulatlanságra kárhoztatott molekulákba. E sorozatos felismerések egyre tágították az NMR alkalmazásának perspektíváit, s a módszer egy-egy újabb diadalát, feltámadását, ismételt fókuszba kerülését eredményezték.

Valószínűleg kevesen tudják, hogy infravörös spektrumokkal kapcsolatban – Rayleigh és Michelson már a XIX. század végén felvetette a Fourier-transzformációs (FT-) spektroszkópia ötletét, azaz a spektrumjelek egyidejű detektálását, s az így nyert regisztrátum átalakítását a hagyományos frekvencia-függő alakba a Fourier-transzformáció segítségével. Fellgett 1951-ben írta le a róla elnevezett elvet, amely rámutat, hogy a spektrumjelek egyidejű detektálása a hagyományos egymás utáni „átsópréses” (CW- – continuous wave – módszer) – regisztrálás helyett tekintélyes időnyereséggel jár, amely felhasználható a jel-zaj viszony javítására, az időnyereséget a spektrum ismételt felvételére fordítva, majd a mérési adatokat összegezve és FT-úton átlagolva.

A jelek egyidejű megfigyelésének a CW-technikával alternatív lehetőségére Bloch már 1946-ban felhívta a

figyelmet, *Hahn* és *Torrey* pedig alkalmazták is e pulzus-technikát un. tranziens jelenségek, relaxációs idők mérésére. A pulzus-gerjesztés szokásos frekvencia-függő spektrumok érzékenység javítására való felhasználását először csak 1966-ban javasolta *Ernst*, rámutatva, hogy ezt és a FT-technikát alkalmazva előállított (PFT-) spektrumok mintegy három nagyságrenddel javítják meg a CW-módszerrel addig elérhető érzékenységet. A pulzus igen rövid – mikroszekundum nagyságrendű – ideig hat a spinekre, s egyidejűleg gerjeszti az eltérő kémiai eltolódású magokat. A CW-eljárással sorra, egymás után gerjesztjük az eltérő frekvenciájú jeleket, a folytonosan jelenlévő elektromágneses sugárzás frekvenciáját folyamatosan változtatva (a teljes kémiai eltolódás-tartományt átsöpörve). Ily módon kapjuk a hagyományos spektrumot: az elnyelési maximumokat (mágnesezettséget) a frekvencia függvényében. A pulzusgerjesztéssel a mágnesezettséget az idő függvényében regisztráljuk (FID: free induction decay), s ezt kell transzformálni az FT-módszerrel a szokásos frekvenciafüggő spektrummá (5. ábra). Az érzékenységjavulás hozzáférhetővé tette az NMR számára az atommagok addig csak nehezen mérhető döntő többségét, s a hidrogén-rezonancia másfél évtizedes hegemoniáját felváltotta a multinukleáris NMR-korszak, megnyitva a lehetőséget szénrezonancia spektrumok rutinszerű, a H-NMR felvételekével azonos minőségű felvételére.



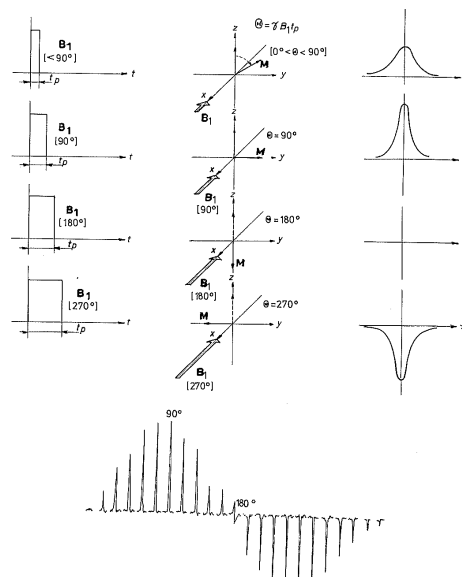
5. Ábra. Az etilbenzol ^{13}C -NMR spektruma és a FID.

A PFT-mérésétechnika és -elmélet kidolgozásáért *Ernst* 1991-ben elnyerte a Nobel-díjat.

Az NMR-beli PFT-technika kialakulásának története érzéketlenül példázza, hogy a tudomány fejlődésében miként termékenyítik meg egyik tudományágbeli eredmények egy más terület kutatásait, az ott már ismert és bevált elvek, módszerek adaptálása révén.

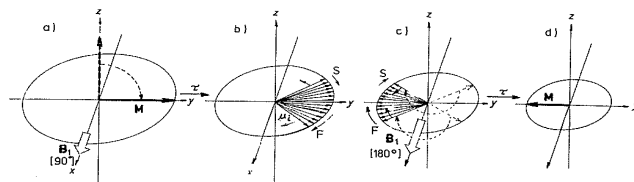
A spinek gerjesztése az egyedi mágneses momentumvektorok összegződésével makroszkopikus mágnesezettséget hoz létre, melynek regisztrálásával nyerjük az NMR-spektrumot. A pulzussal e vektort a külső mágneses térhez viszonyítva forgathatjuk, a kvantumállapotoknak megfelelő beállításokat változtatva átbillenthetjük egyik beállásból a másikba. Az elfordulás mértéke, illetve a billenésszög a pulzus élettartamával szabályozható (6. ábra). Ekként előre tervezett pulzusok sorozatával a mágnesezési vektor nagysága és iránya, s ezzel a regisztrált spektrum tetszés szerint változtatható. Alkalmas pulzus-szekvenciákkal

valósággal táncra perdíthetjük a spineket, ahogy ezt egy nemrég megjelent NMR-kézikönyv címe szellemesen kifejezi: „Spin Choreography” (*Freeman*, 1997).



6. Ábra. A pulzushossz változtatásának hatása a jelalakra és -intenzitásra.

Az elmúlt negyed század során a pulzusszekvenciák egész seregét dolgozták ki, melyek legtöbbje tisztavirág-életűnek bizonyult, s mindnek több változatát is leírták. Itt egyetlen példára kell szorítkoznunk, amely a legelső egyike, a legtöbb későbbi változat őseinek tekinthető, s talán valamennyi közül a legelegánsabb. *Hahn* 1950-ben publikálta „spin-echonak” keresztelt módszerét az un. spin-spin relaxációs idő mérésére (7. ábra).



7. Ábra. A spin-echo kísérlet: Hahn pulzus-szekvenciája.

A kísérlet első lépéseként a külső tér irányával egybeeső (z-irányú) mágnesezettségi vektort (mely az egyedi spinek eredője) az x-irányú pulzussal, 90° -kal, a detektálás y-irányába billentjük, majd egy időre (τ) magára hagyjuk. Ez alatt a különböző kémiai eltolódású spinek eltérő frekvenciával forogva, az xy-síkban szétszóródnak: a lassúbbak lemaradnak, a nagyobb frekvenciájúak előre sietnek. Ekkor egy újabb x-irányú 180° -os pulzussal ismét átbillentjük a spineket, amelyek folytatják a forgást, de úgy, hogy a lassúbb spinek pozíciót cserélnek a gyorsabbakkal és így „előre” kerülnek, a gyorsabbak pedig lemaradnak. A 180° -os pulzus tehát „utolsó pár előre fuss” játékra kényszeríti a spineket. Könnyen belátható, hogy ha e pulzus után ugyanannyi ideig várunk, mint előtte a 90° -os pulzust követően, s ekkor mérjük a jelet, az egyedi spin-vektorok eredője éppen maximális, mert a gyorsabb spinek behozták hátrányukat, míg a lassúbbak elvesztik a 180° -os pulzustól nyert előnyüket és valamennyi spin a mérés y-irányába kerül. Ez a spin-echo. Ha közben a spinek bármilyen változása következik be, akkor ez a változás,

függetlenül a kémiai eltolódásoktól tisztán megfigyelhető. Az eredeti *Hahn*-kísérletben pl. – a spin-spin relaxáció miatt – a mágneszettség nagysága az időben exponenciálisan csökken, s a kísérletet többször ismételve ez a jelintenzitás-változás detektálható az idő függvényében, amiből a folyamat sebessége kiszámítható.

Az NMR spektrumokból a legfontosabb paraméterek, a kémiai eltolódások, csatolási állandók és jelintenzitások mellett, további igen hasznos információk is nyerhetők. Közülük a fent említett spin-spin relaxációs idő (T_2) párja a T_1 spin-rács relaxációs idő az energiavesztés sebességét jellemzi, melynek során a spinek átadják a környezetnek (a „rács”-nak) a gerjesztési energiát. A T_1 mérése sokoldalúan hasznosítható adatok birtokába juttatja a kutatót: T_1 nagysága fontos az elmélet számára, segíthet hozzárendelési problémák megoldásában, keverék-komponensek, molekuláriszettek jeleinek szétválasztásában (pl. egy oligoszacharid egyes cukorkomponenseinek jeleit lehet így elkülöníteni), de összefügg a molekuláris kötésekben lévő atomok mozgékonyaságával is, s ezért kitűnően használható szegmens-mozgások tanulmányozására. Pl. egy hosszú láncú alifás alkohol szénatomjainak T_1 értéke a lánc mentén a funkció csoporttól távolodva fokozatosan nő. Ennek az az oka, hogy a hidroxil-csoportok hidrogénkötéseket létesítve rögzítik, mintegy lehorgonyozzák a lánc végét és a szén-szén kötések körüli konformációs (szegmens-) mozgás a hidroxil-csoporttól távolodva egyre szabadabbá válik, gyorsul. Ez pedig a T_1 érték növekedéséhez vezet. Így a T_1 értékeket mérve az egyes szén távolsága a hidroxil-csoporttól meghatározható. Ez az elve azon biológiai NMR-vizsgálatoknak, amelyek célja enzim-szubsztrát kölcsönhatások felderítése, mivel a T_1 értékek elárulják a kötődési helyeket az enzimben és/vagy a szubsztrátban.

T_1 -mérésen alapul az NMR orvos-diagnosztikai alkalmazhatósága, mert a malignáns sejtekben az élő szövetek ca. 80 %-át alkotó vízmolekulák hidrogénjeinek relaxációs ideje jellegzetesen eltér az egészséges sejtekben mértől. A T_1 értékeket egy adott térfogatban mérve és valamilyen módon (pl. raster-pontokkal) ábrázolva a vizsgált tárgyról, pl. szövetmintáról fantomképet készíthetünk, molekuláris szintű felbontással. Ez az MRI, az NMR-tomográfia alapelve.

Az előadás szűkre szabott keretében megpróbáltam az NMR spektroszkópia útjának legfontosabb állomásait felvázolni. E rövid visszatekintést lezárandó – csak felsorolásszerűen – szeretném számba venni azokat a momentumokat, amelyek a fizika, s a kémia után megnyitották az utat az NMR előtt a biológia és orvosi tudományok világa felé:

- ♦ *Bloch, Hahn és Torrey* felvetik a pulzusgerjesztés lehetőségét és megvalósítják (1946-1950).
- ♦ *Fellgett* rámutat az érzékenységszámítás lehetőségére a Fourier transzformáció alkalmazásával (1951). A spektrumjelek egyidejű gerjesztésével elérhető időnyereség felhasználása „spektrum-gyűjtésre”, majd FT-vel a jel-zaj viszony javítására: n spektrum összegzése $\sqrt{n}$ -szeres érzékenység-javulást eredményez.
- ♦ A 60-as évek közepe táján a gyors, nagyteljesítmény csatlakoztatott számítógépek elterjedésével megnyílik a lehetőség a *Fellgett*-előny gyakorlati kiaknázására, az FT-spektroszkópia megvalósítására: CAT: computer average of transients.
- ♦ *Ernst* 1966-ban bevezeti a pulzusgerjesztés és a Fourier-transzformáció hasznosítását a hagyományos NMR-spektrumok felvételénél és kidolgozza a módszer elméleti alapjait, mérés technikai elveit.
- ♦ A 60-as végek végén megjelennek a szupravezető mágnesek és ezzel a mágneses térerősség növekedése, valamint a számítógépek teljesítmény javulása megnyitja az NMR multinukleáris korszakát: lehetővé válik a szénrezonancia-spektroszkópia rutinszerű alkalmazása.
- ♦ 1971-ben *Jeener* felveti a két-dimenziós NMR-spektroszkópia ötletét.
- ♦ *Ernst, Bax, Freeman* és sokan mások a következő évtizedben kifejlesztik a több gerjesztő tér függvényében mért 2D-, 3D- és MD-NMR spektrumok elméleti alapjait, s ezek, illetve a pulzusszekvenciák rutinszerű alkalmazásának technikáját.
- ♦ 1971-ben *Damadian* megvalósítja a heterogén makrominták nagyfelbontású NMR-vizsgálatát és felfedezi, hogy a beteg sejtek víz-molekuláiban megváltozik a hidrogén relaxációs sebessége. Ezzel megveti az NMR-tomográfia alapjait, felismeri az NMR felhasználhatóságát a diagnosztikában.
- ♦ 1973-1977: *Mansfield és Lauterbur* kidolgozzák az NMR-tomográfia finomabb mérés technikáját. (Orvosi Nobel-díj, 2003.)
- ♦ A 70-es évek közepétől, *Ernst, Jeener és Wütrich* kutatásaival az élen, kidolgozzák a mag-Overhauser-hatás (NOE) kétdimenziós változatának (NOESY) felhasználását atom-atom távolságok igen pontos meghatározására makromolekulákban, s közöttük biopolimerekben, fehérjékben és peptidekben. Ezekért a kutatásokért nyeri el *Wütrich* 2002-ben a Nobel-díjat.
- ♦ A 80-as években kialakulnak a két- és multi-dimenziós módszerek rutinszerű alkalmazásának, s a pulzus technikák tömeges felhasználásának technikai feltételei. Az NMR-vizsgálatok mindennapos részévé válnak többek között a COSY, DEPT, HMBC, HMQC-mérések.
- ♦ A 90-es években elterjednek az érzékenységszámítás, illetve nehezen hozzáférhető atomok mérését lehetővé tevő térgradiens-módszerek, a más technikákkal kombinált NMR-mérések (LC-NMR, MS-NMR, stb.). Az NMR az ipari minőségbiztosítás, a technológiai folyamatok kontrolljának mindennapos eszközévé válik, amihez hozzájárul egyebek közt a mérés-automatizálás, átfolyó küveták alkalmazása, az automatikus mintacsere, stb.

Az NMR-spektroszkópia napjainkban nélkülözhetetlen a természettudományok minden területén, a kutatásban és az iparban egyaránt. Fél évszázaddal az első kommersziális 60 MHz-es CW-műszerek elterjedése után alig akad egyetemi, akadémiai vagy ipari kutatólaboratórium, kórház, ahol ne működne egy vagy több NMR készülék. Évente tucatnyi NMR-tárgyú könyv, sok-ezer publikáció, adatgyűjtemény jelenik meg. A már említett fél tucat Nobel-díjason kívül, akik kimondottan NMR-kutatásokért kapták a kitüntetést, további 30 kémikus, fizikus és orvos Nobel-díjas van, akik maguk vélik úgy, hogy az elismerést olyan kutatásokért nyerték el, amelyekben döntő része volt az NMR-vizsgálatoknak.

Az NMR-spektroszkópia történetét, fejlődését, jelenlegi szerepét a tudományokban, s a gyakorlati életben lehetetlen az adott igen szűk keretek között akárcsak vázlatosan áttekinteni, de talán a néhány kiragadott mozzanat is elegendő, hogy fogalmat alkothassunk jelentőségéről, példátlan hatékonyságáról és a benne rejlő, további szinte határtalan lehetőségekről.

Összefoglalás

Az előadás bemutatja a mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia nyolc évtizedes történetét, Pauli mindent elindító feltevésétől napjainkig, amikor az NMR-módszer a természettudományok valamennyi ágában, a tudományos alap kutatástól az ipari alkalmazásokig, minden területen nélkülözhetetlenné vált, s ma is a leggyorsabban fejlődő, leghatékonyabb, legsokoldalúbb szerkezetkutatási módszer, amely alapvető ismeretekkel gazdagította a kvantumfizikát, a kémiai molekulaszervezetről alkotott szemléletünket, a biológiai tudományt, döntően járul hozzá a legösszetettebb életfolyamatok megismeréséhez, s az orvosi diagnosztika és az ipari folyamat-ellenőrzés mindennapos segédeszközüvé vált. Címzavakra tömörített áttekintést

ad a rutinspektrumokból nyerhető spektrumparamétereiről (kémiai eltolódásokról és csatolási állandókról), a legelterjedtebb kiegészítő mérésekből nyerhető további információkról (pl. kettősrezonancia-, hőmérséklet-függő-, DEPT-, NOE- és különféle kétdimenziós vizsgálatokról, a relaxációs idők méréséről), s mindezek alkalmazási lehetőségeiről. Bemutatja, hogyan vált egyre sokoldalúbb, s egyre hatékonyabb kutatási eszközzé, s hogyan hatolt be, s hozott forradalmi változást sorra a fizikai, kémiai, biológiai és orvosi kutatások világában. Betekintést enged egy új tudományág váratlan fordulatokban gazdag, nagy sikerekkel és kudarccal járó, a kreatív gondolkodás diadalát dokumentáló történetébe,