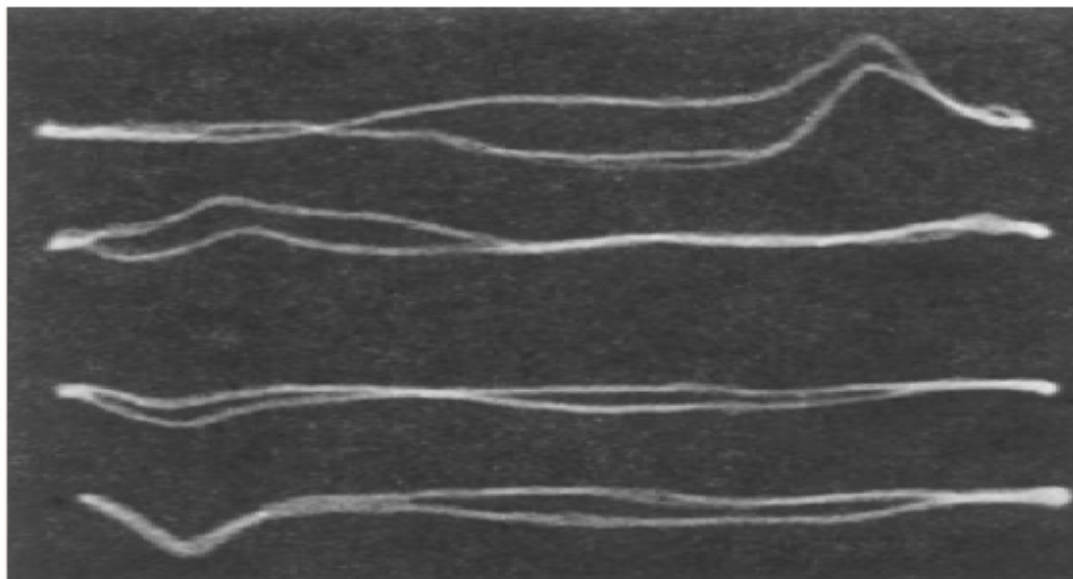


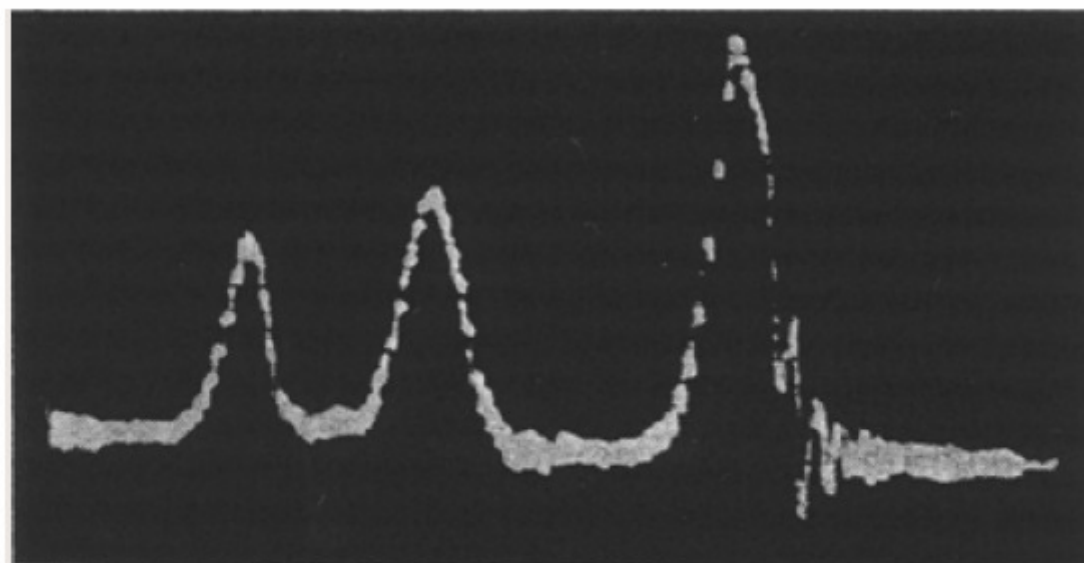
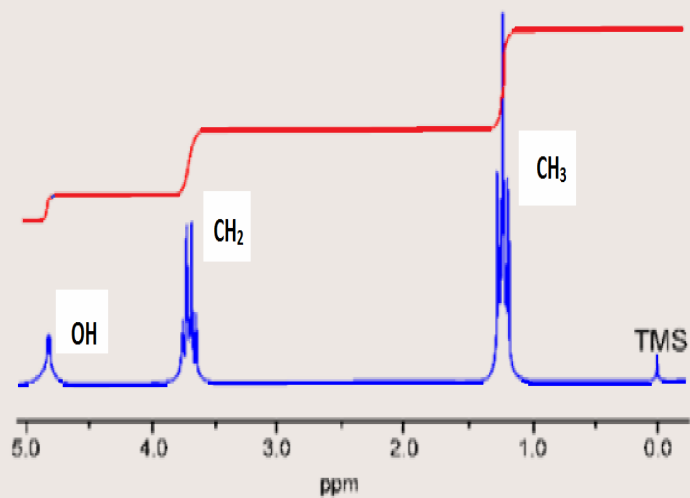
ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII NMR W MEDYCYNIE

LITERATURA

1. K.H. Hausser, H.R. Kalbitzer, NMR in medicine and biology. Structure determination, tomography, in vivo spectroscopy. Springer –Verlag. Wydanie polskie: [NMR w biologii i medycynie. Badania struktury, tomografia, spektroskopia in vivo](#). Wydawnictwo naukowe UAM.
2. W. Zieliński, A. Rajca, Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych. WNT.
3. R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych. PWN.
4. A. Ejchart, A. Gryff-Keller, NMR w cieczech. Zarys teorii i metodologii. Oficyna wydawnicza PW.
5. H. Günther, NMR Spectroscopy basic principles, concepts, and applications in chemistry WILEY-VCH Verlag, GmbH & Co. KGaA. Wydanie polskie: [Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego](#), PWN.
6. M. Čuperlović-Culf, NMR Metabolomics in Cancer Research, Woodhead Publishing.

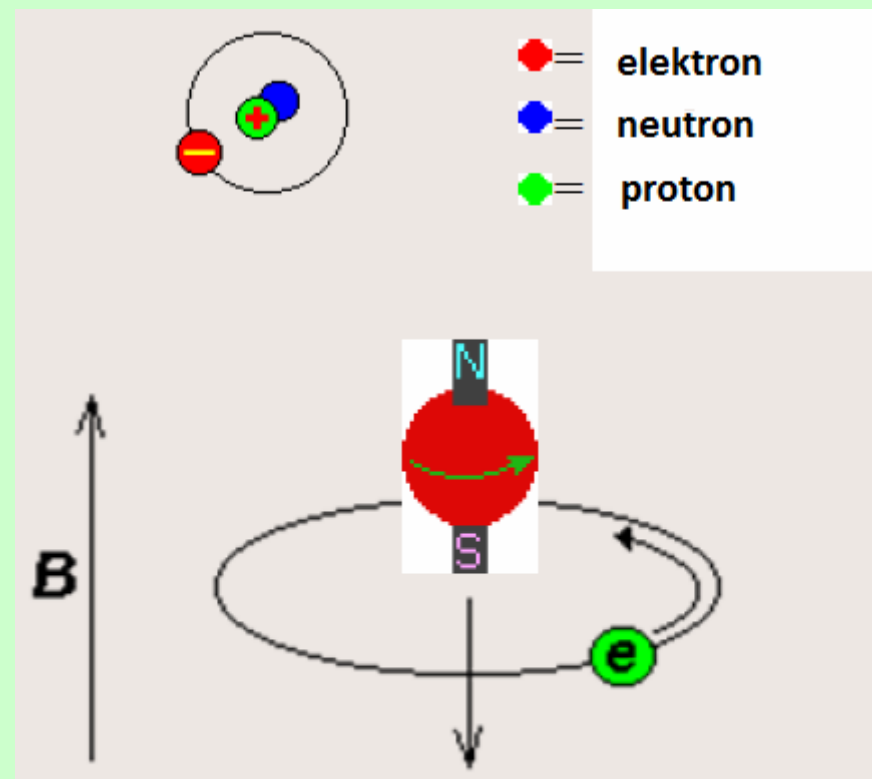
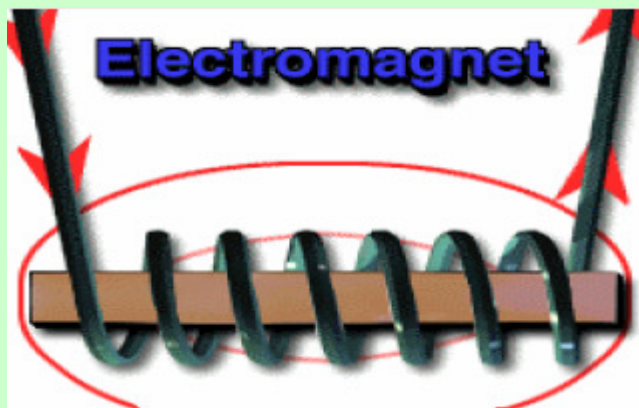
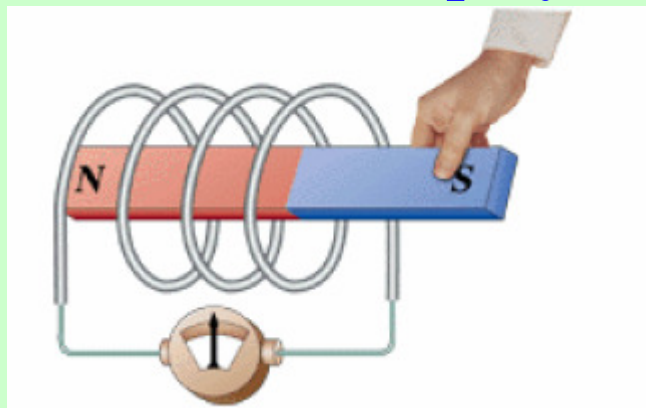


Pierwsze widmo ^1H NMR wody (1945)



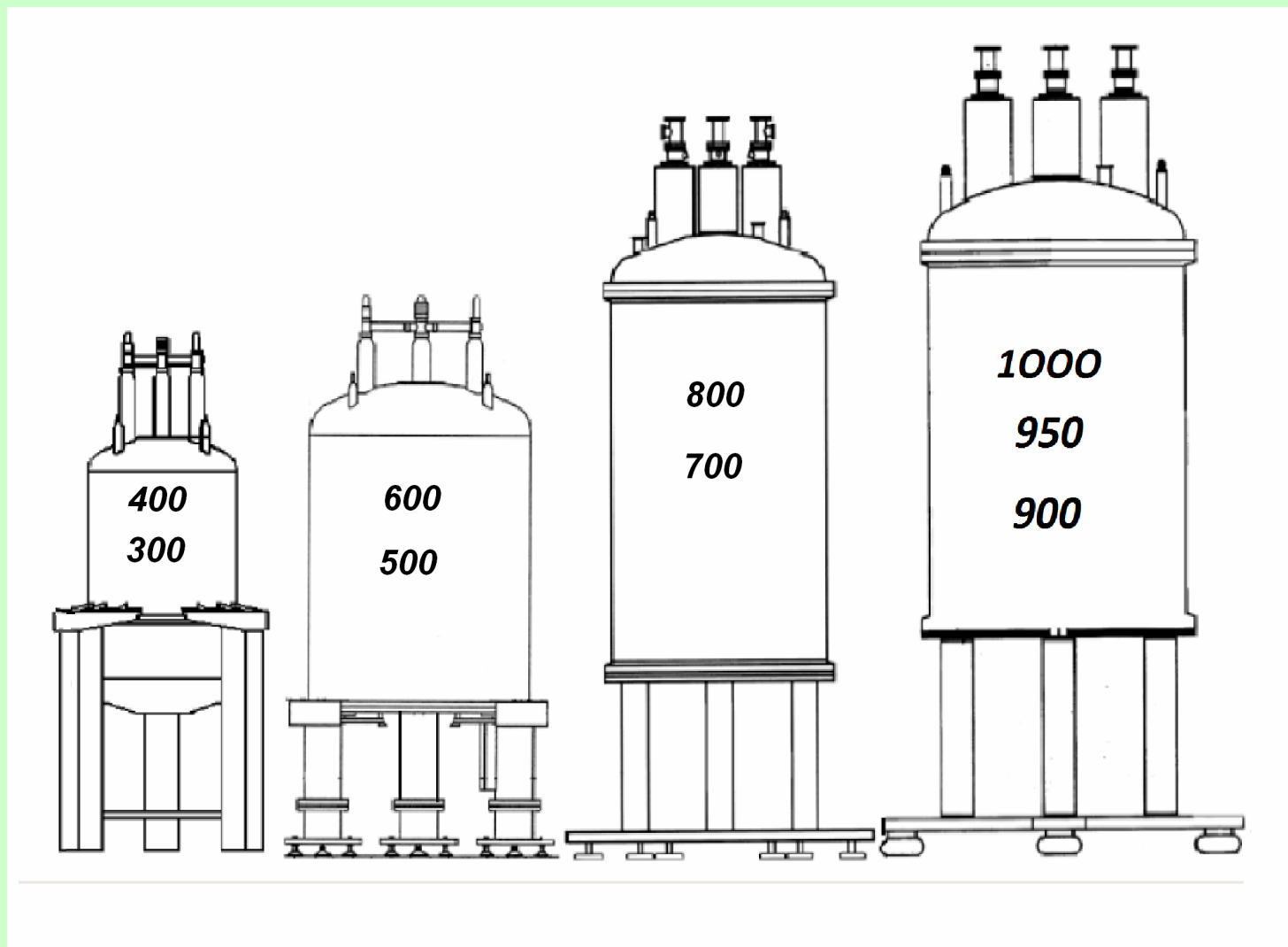
^1H NMR etanolu - pierwszy raz zaobserwowano przesunięcie chemiczne (1951)

Eksperyment Faradaya

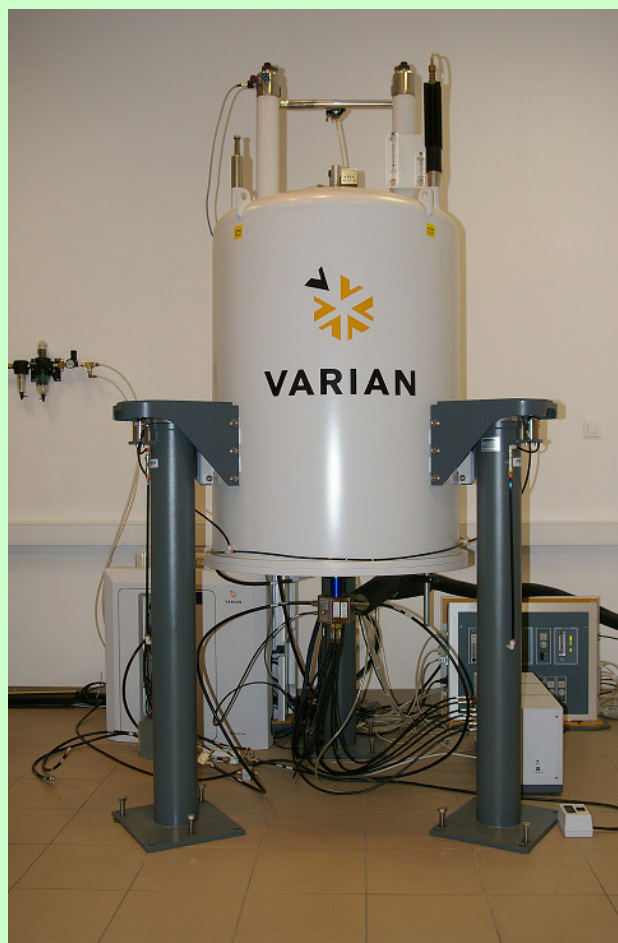


Pole magnetyczne
wytworzone przez
wirujący elektron

Obecnie stosowane aparaty



Firmy produkujące aparaty NMR

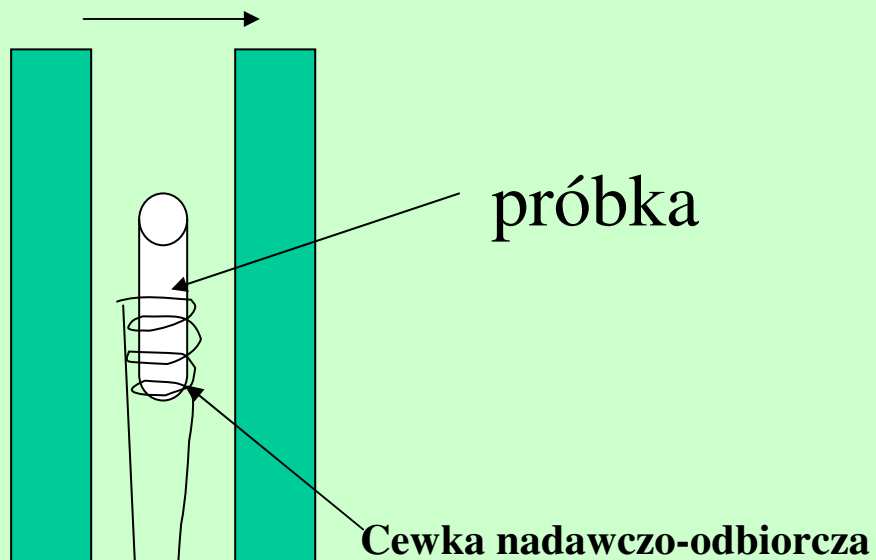


Sondy



Spektrometr NMR

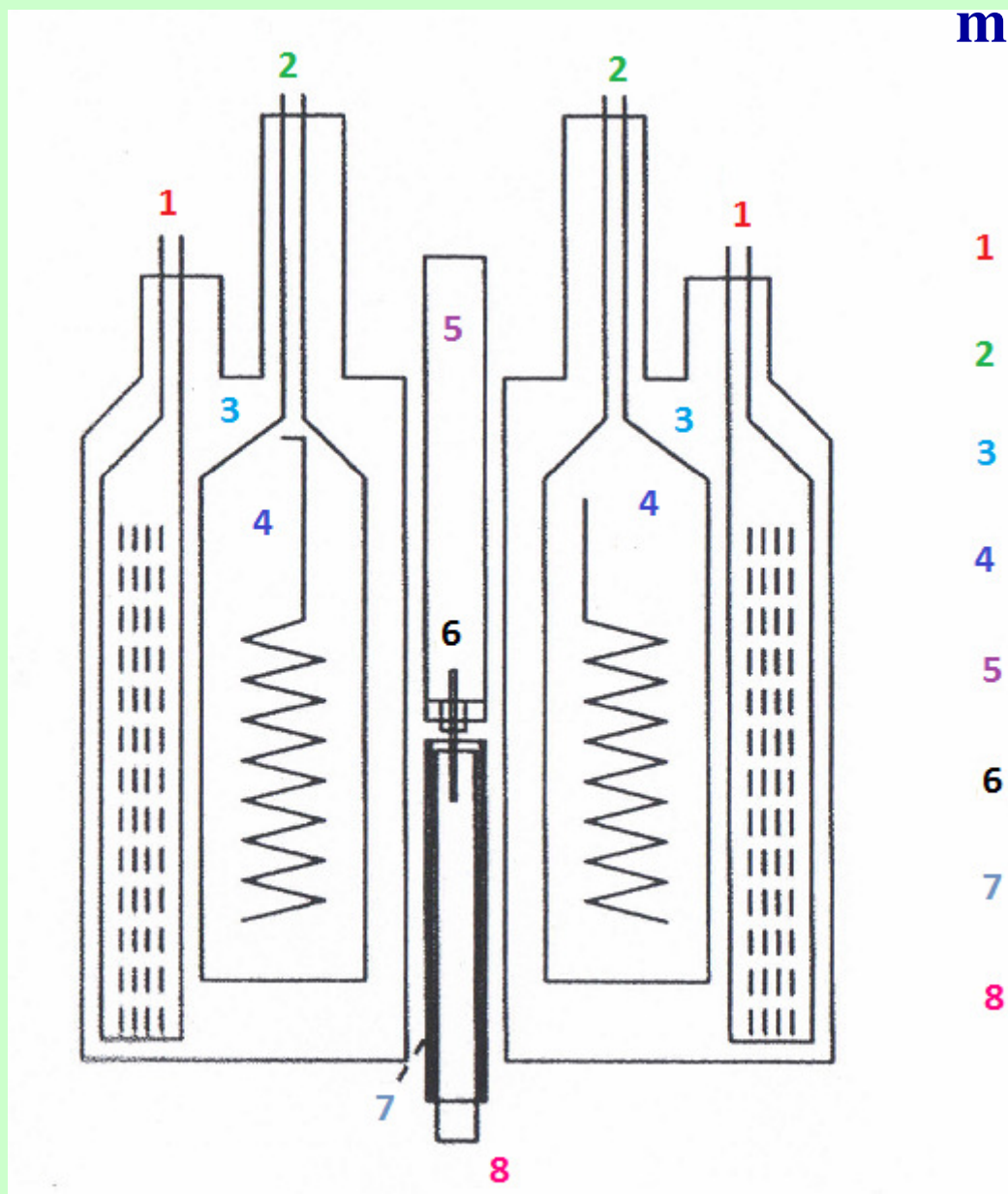
Pole magnetyczne B_0



Elektroniczny układ
nadawczo-odbiorczy
częstości radiowej

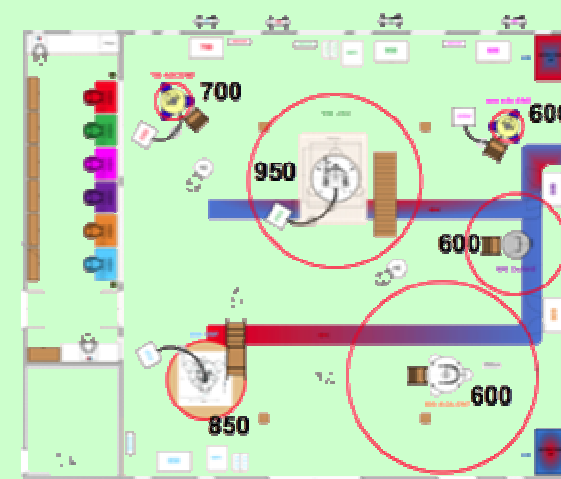


Budowa aparatu – magnes

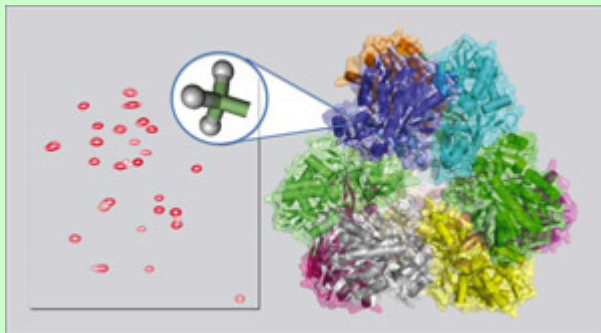


- 1** Porty dla ciekłego N_2
- 2** Porty dla ciekłego He
- 3** Wysoka próżnia
- 4** Główna cewka magnesu w ciekłym helu
- 5** Winda dla próbki i układ spinera
- 6** Rurka NMR
- 7** Układ do szimowania (shimming)
- 8** Głowica do podgrzewania próbki

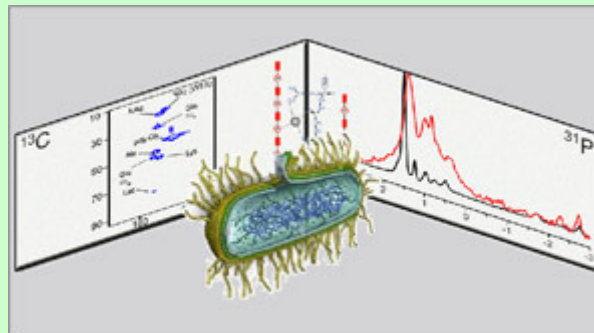
Rhône-Alpes European Large-Scale Facility for NMR



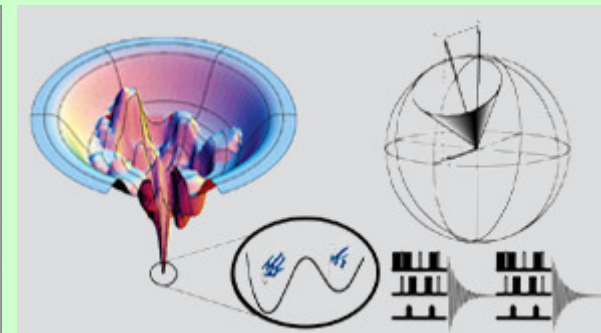
Zastosowanie NMR



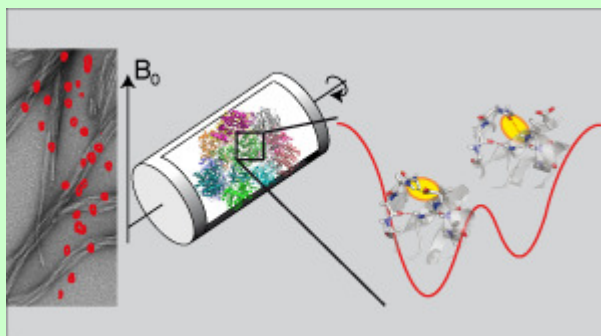
**NMR dla dużych zespołów
biomolekularnych-
badanie dynamiki**



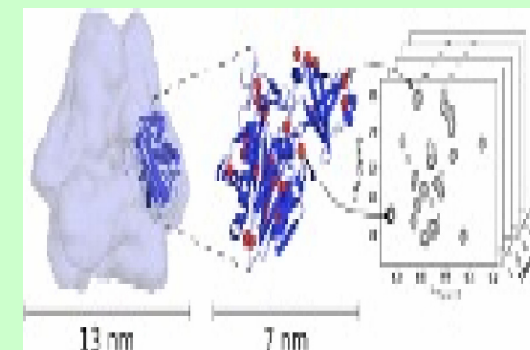
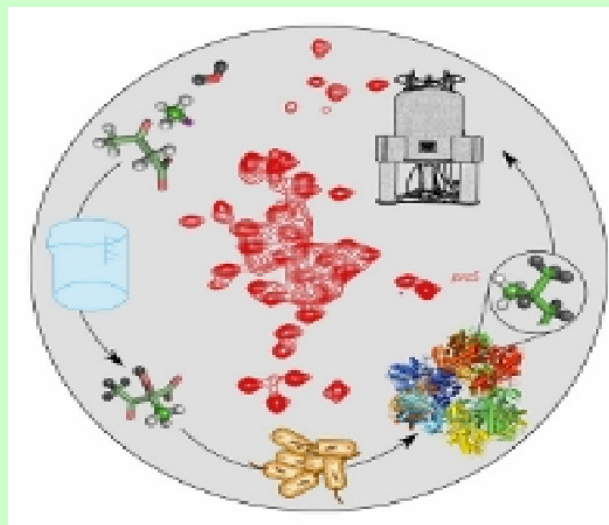
**Badanie ścian komórkowych
bakterii**



**Badanie składu białek i
RNA**



NMR ciała stałego



Techniki spektroskopii NMR:

- Pomiar próbek gazowych
- Pomiar próbek ciekłych (roztworów)
- Pomiar w fazie ciekłokrystalicznej
- Pomiar w ciele stałym
 - Monokryształ
 - Próbka proszkowa
 - Widma wysokiej rozdzielczości w ciele stałym

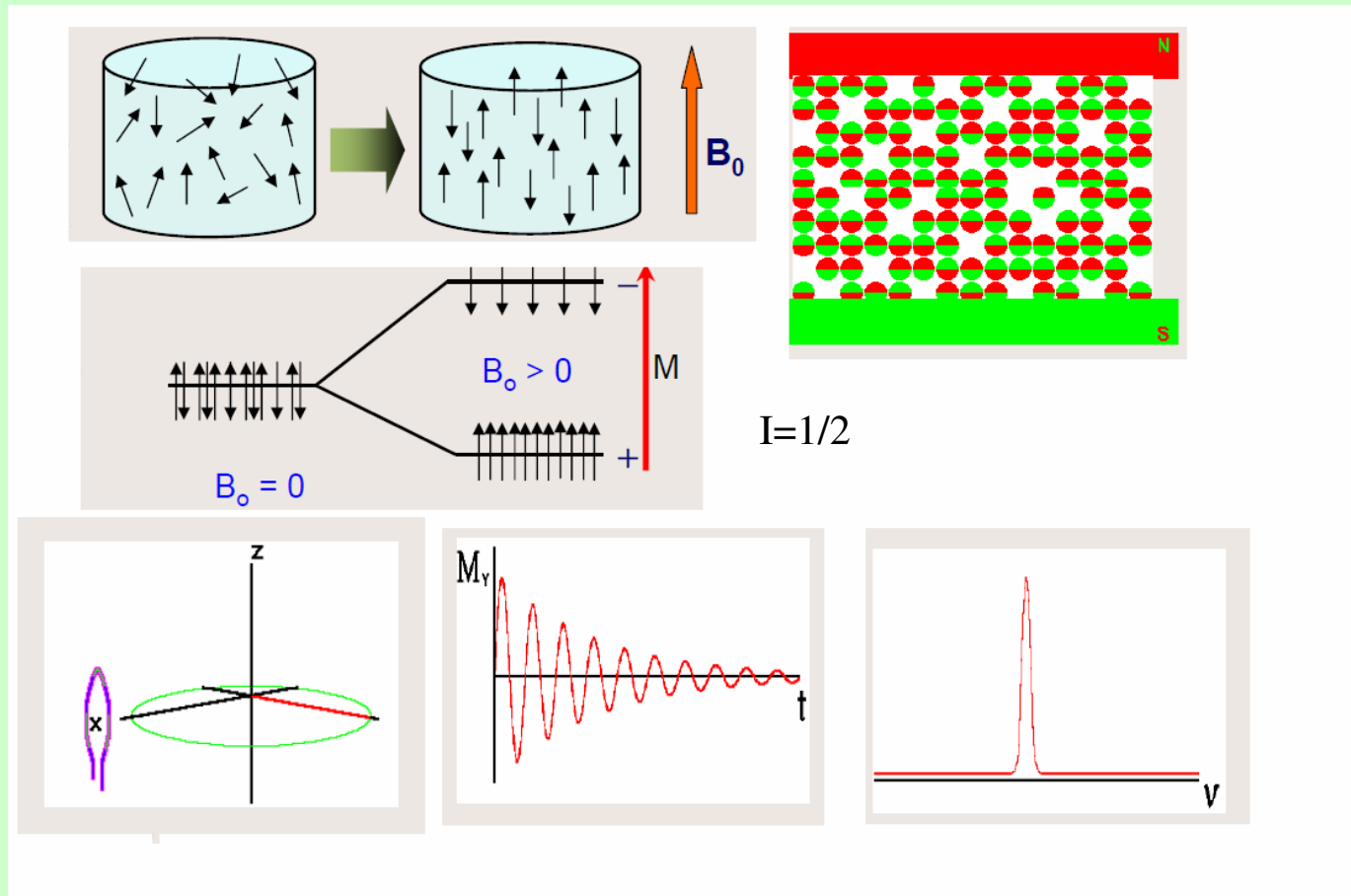
Widma jednowymiarowe (1D)

Widma dwuwymiarowe (2D)

Widma wielowymiarowe (3D, 4D)

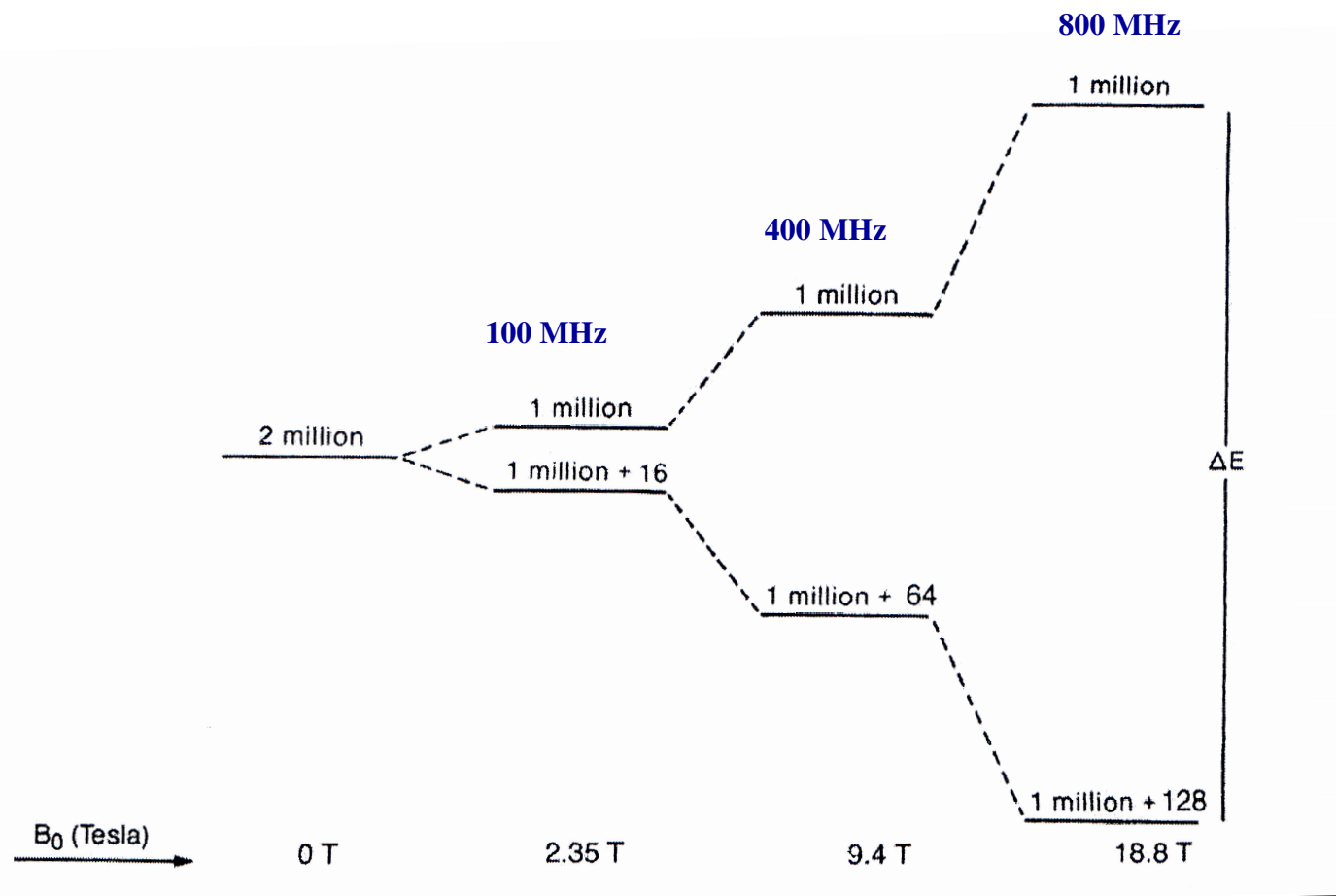
Obrazowanie metodą NMR („imaging”)

Spektroskopia jąder ^1H , ^{13}C 120 jąder o liczbie spinowej różnej od zera



$$M_o = B_o \left[N \gamma_o^2 \hbar^2 I(I + 1) / 3kT \right]$$

Poziomy energii a widma NMR



Wprowadzenie do mechaniki kwantowej

> Funkcja falowa jest funkcją matematyczną, przy pomocy której można opisać całkowicie system;

> Operatory „reprezentują obserwable” –np. energia

> Operatory działają na funkcję – nowa funkcja

$$\begin{array}{ccccc} \text{operator} & & & & \\ \underbrace{\frac{d}{dx}} & & \underbrace{\sin x} & = & \underbrace{\cos x} \\ & & \text{funkcja} & & \text{nowa funkcja} \end{array}$$

Funkcje własne i wartości własne operatora

> gdy d/dx działa na $\exp(Ax)$

$$\overbrace{\frac{d}{dx}}^{\text{operator}} \underbrace{\exp(Ax)}_{\text{funkcja}} = \overbrace{A}^{\text{stała}} \times \underbrace{\exp(Ax)}_{\text{ta sama funkcja}}$$

> operator działa na funkcję własną = wartość własna $\times$ funkcja własna

Pomiar obserwabli

- Pomiar ilościowy – otrzymujemy jedną wartość własną dla odpowiedniego operatora;
- Operator, który reprezentuje całkowitą energię to Hamiltonian $\hat{H}$ - (obserwabla przynależna);
- Poziomy energii są wartościami własnymi Hamiltonianu i musimy je wyznaczyć.

Hamiltonianu działający na spin znajdujący się w polu magnetycznym

$$\hat{H}_{\text{spin}} = -\gamma B_0 \hat{I}_z$$

- *gdzie γ stosunek giromagnetyczny, charakterystyczny dla danego jądra;*
- *B_0 zastosowane pole magnetyczne wzdłuż osi z ;*
- *$\hat{I}_z$ reprezentuje operator składowej z spinu;*

Funkcje własne i wartości własne $\hat{I}_z$

- *liczba spinowa I przyjmuje wartości zgodnie z warunkiem kwantowania $2I+1$ (całkowita liczba możliwych stanów własnych jądra)*
- *dla jądra $I=1/2$*
- *$\hat{I}$ ma dwie funkcje własne scharakteryzowane przez magnetyczną liczbę kwantową $m = +1/2$ i $m = -1/2$*

$$\hat{I}_z \psi_{+1/2} = +\frac{1}{2}\hbar\psi_{+1/2} \quad \hat{I}_z \psi_{-1/2} = -\frac{1}{2}\hbar\psi_{-1/2}$$

$$\psi_{+1/2} \quad \text{wartość własna} \quad \frac{1}{2}\hbar; \quad \psi_{-1/2} \quad \text{wartość własna} \quad -\frac{1}{2}\hbar$$

$$\hat{I}_z \psi_m = m\hbar\psi_m$$

Wartości własne Hamiltonianu dla jednego spinu

$$\hat{H}_{\text{spin}} = -\gamma B_0 \hat{I}_z$$

- Można łatwo wykazać, że ψ_m jest także funkcją własną $\hat{H}_{\text{spin}}$
- Podziałajmy $\hat{H}_{\text{spin}}$ na ψ_m :

$$\begin{aligned}\hat{H}_{\text{spin}} \psi_{+1/2} &= -\gamma B_0 \left[\hat{I}_z \psi_{+1/2} \right] \\ &= -\gamma B_0 \left[\frac{1}{2} \hbar \psi_{+1/2} \right] \\ &= -\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0 \psi_{+1/2}\end{aligned}$$

gdzie

$\psi_{+1/2}$ jest funkcją własną $\hat{H}_{\text{spin}}$ z wartością własną $-\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0$

Podsumowanie

Dla spinu $1/2$ $\hat{I}_z$ ma dwie funkcje własne $m = \pm 1/2$

$$\hat{I}_z \psi_m = m\hbar \psi_m$$

Hamiltonian w polu magnetycznym dla jednego spinu wynosi :

$$\hat{H}_{\text{one spin}} = -\gamma B_0 \hat{I}_z$$

Funkcje własne $\hat{I}_z$ są także funkcjami własnymi tego Hamiltonianu z wartościami własnymi E_m gdzie:

$$E_m = -m\hbar\gamma B_0$$

Są dwoma poziomami energii dla pojedynczego połówkowego spinu w polu magnetycznym

WIDMO DLA POJEDYNCZEGO SPINU

$$E_m = -m\hbar\gamma B_0 \quad m = +\frac{1}{2} \text{ lub } -\frac{1}{2}$$

*Zwyczajowo
oznaczane*

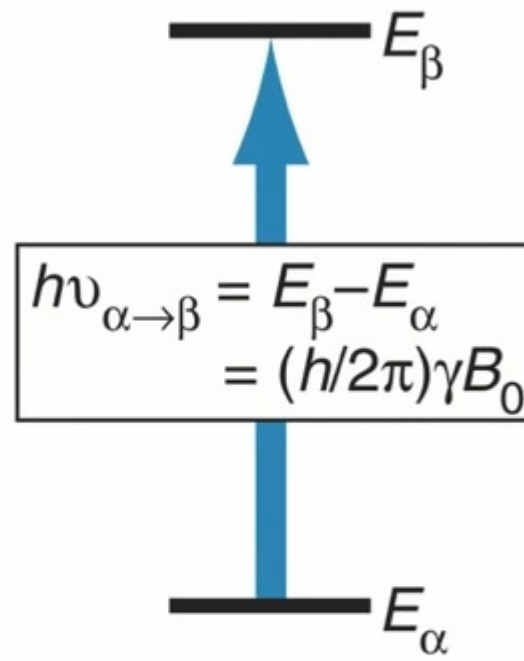
$$m = +\frac{1}{2} \rightarrow \alpha \text{ ('up')}; \quad m = -\frac{1}{2} \rightarrow \beta \text{ ('down')}$$

$$E_\alpha = -\frac{1}{2} \hbar\gamma B_0 \quad E_\beta = +\frac{1}{2} \hbar\gamma B_0$$

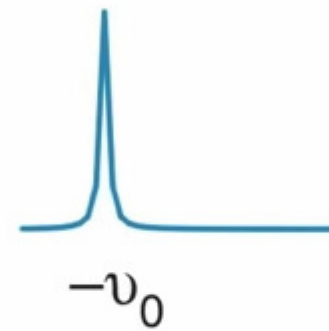
Dozwolone przejścia : m zmienia się od +1 lub -1 np. $\alpha \rightarrow \beta$

*Wyliczona różnica energii
między poziomami*

$$\begin{aligned} \Delta E_{\alpha \rightarrow \beta} &= E_\beta - E_\alpha \\ &= \frac{1}{2} \hbar\gamma B_0 - \left(-\frac{1}{2} \hbar\gamma B_0\right) \\ &= \hbar\gamma B_0 \\ &= (h/2\pi)\gamma B_0 \end{aligned}$$



poziomy
energii



widmo

Częstotliwość Larmora

- *energia fotonu $E = h\nu$*
- *częstotliwość w wielkościach energii :*

$$\begin{aligned}\nu_{\alpha \rightarrow \beta} &= \Delta E_{\alpha \rightarrow \beta} / h \\ &= \gamma B_0 / 2\pi\end{aligned}$$

- *definicja częstotliwości Larmora w rad s^{-1} : $\omega_0 = -\gamma B_0$*
w Hz : $\nu_0 = -\gamma B_0 / 2\pi$

Zapis Hamiltonianu w jednostkach częstotliwości

- Usunąć czynnik $\hbar$

$$\hat{I}_z \psi_{+1/2} = +\frac{1}{2} \psi_{+1/2} \quad \hat{I}_z \psi_{-1/2} = -\frac{1}{2} \psi_{-1/2}$$

$$\psi_{+1/2} \text{ jest funkcją własną} \quad \hat{H}_{\text{spin}} = -\gamma B_0 \hat{I}_z$$

$$\begin{aligned} \hat{H}_{\text{spin}} \psi_{+1/2} &= -\gamma B_0 \hat{I}_z \psi_{+1/2} \\ &= -\frac{1}{2} \gamma B_0 \psi_{+1/2} \\ &= \underbrace{+\frac{1}{2} \omega_0}_{\text{wartość własna}} \psi_{+1/2} \end{aligned}$$

formalnie to oznacza, że Hamiltonian wyrażony jest w jednostkach częstotliwości,

$$\hat{H}_{\text{spin}} = \omega_0 \hat{I}_z \quad \text{in rad s}^{-1}$$

$$\hat{H}_{\text{spin}} = \nu_0 \hat{I}_z \quad \text{in Hz}$$

Podsumowanie

m	funkcja falowa	wartości własne		
		w jednostkach energii	w jednostkach częstotliwości (rad s ⁻¹)	w jednostkach częstotliwości(Hz)
$+\frac{1}{2}$	$\psi_{+\frac{1}{2}}$ or ψ_{α}	$-\frac{1}{2}\hbar\gamma B_0$	$\frac{1}{2}\omega_0$	$\frac{1}{2}\nu_0$
$-\frac{1}{2}$	$\psi_{-\frac{1}{2}}$ or ψ_{β}	$\frac{1}{2}\hbar\gamma B_0$	$-\frac{1}{2}\omega_0$	$-\frac{1}{2}\nu_0$

Poziomy energii dla dwóch niesprzężonych spinów

- niesprzężone

$$\hat{H}_{\text{two spins, no coupl.}} = \underbrace{\nu_{0,1} \hat{I}_{1z}}_{\text{spin 1}} + \underbrace{\nu_{0,2} \hat{I}_{2z}}_{\text{spin 2}}$$

Funkcje własne $\hat{I}_{1z}$ i $\hat{I}_{2z}$:

$$\begin{aligned} \hat{I}_{1z} \psi_{\alpha,1} &= +\frac{1}{2} \psi_{\alpha,1} & \hat{I}_{1z} \psi_{\beta,1} &= -\frac{1}{2} \psi_{\beta,1} \\ \hat{I}_{2z} \psi_{\alpha,2} &= +\frac{1}{2} \psi_{\alpha,2} & \hat{I}_{2z} \psi_{\beta,2} &= -\frac{1}{2} \psi_{\beta,2} \end{aligned}$$

Funkcje własne $\hat{H}_{\text{two spins, no coupl.}}$ są produktami funkcji własnych dla spinów 1 i 2

Funkcje własne

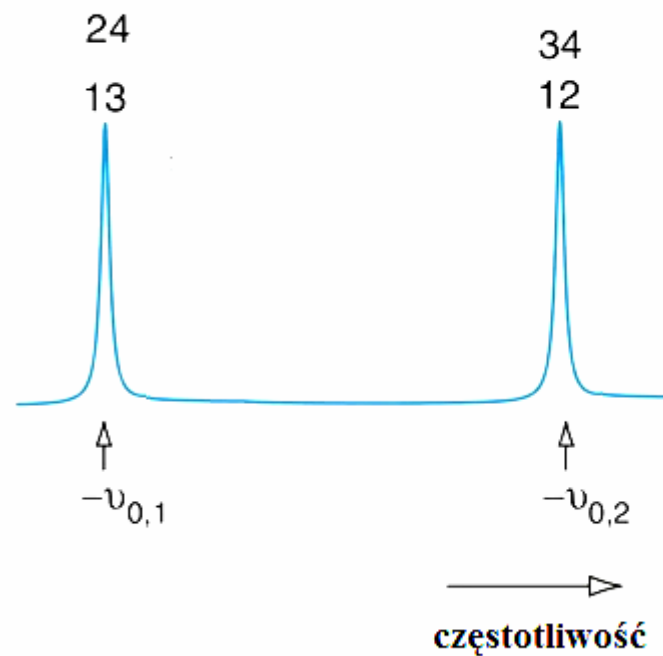
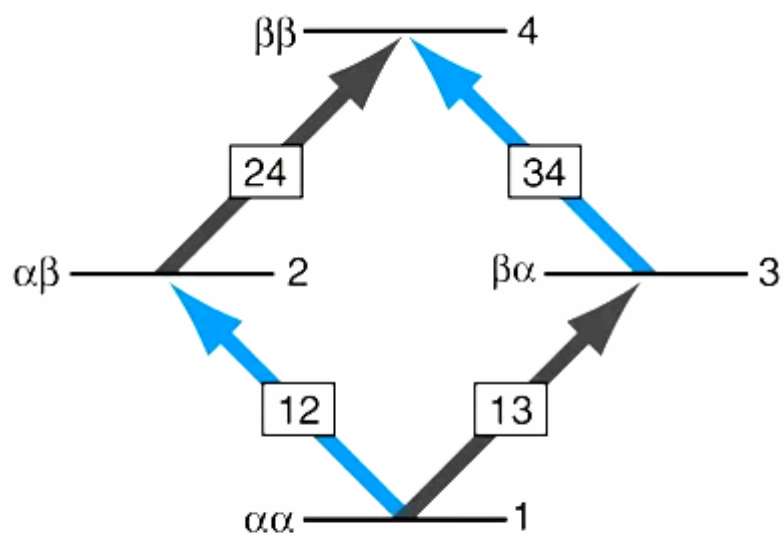
$$\begin{aligned}
 \hat{H}_{\text{two spins, no coupl.}} \psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2} &= (\nu_{0,1} \hat{I}_{1z} + \nu_{0,2} \hat{I}_{2z}) \psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2} \\
 &= \nu_{0,1} \hat{I}_{1z} \psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2} + \nu_{0,2} \underbrace{\hat{I}_{2z} \psi_{\alpha,1}}_{\text{swap order}} \psi_{\beta,2} \\
 &= \nu_{0,1} [\hat{I}_{1z} \psi_{\alpha,1}] \psi_{\beta,2} + \nu_{0,2} \psi_{\alpha,1} [\hat{I}_{2z} \psi_{\beta,2}] \\
 &= \frac{1}{2} \nu_{0,1} \psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2} - \frac{1}{2} \nu_{0,2} \psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2} \\
 &= \underbrace{\left[\frac{1}{2} \nu_{0,1} - \frac{1}{2} \nu_{0,2} \right]}_{\text{wartość własna}} \underbrace{\psi_{\alpha,1} \psi_{\beta,2}}_{\text{funkcja własna}}
 \end{aligned}$$

Tablica dla energii niesprzężonych spinów

m_1	m_2	układ spinowy	funkcje własne	wartości własne (energia)
$+\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	$\alpha\alpha$	$\psi_{\alpha,1}\psi_{\alpha,2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2}$
$+\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}$	$\alpha\beta$	$\psi_{\alpha,1}\psi_{\beta,2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2}$
$-\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	$\beta\alpha$	$\psi_{\beta,1}\psi_{\alpha,2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2}$
$-\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}$	$\beta\beta$	$\psi_{\beta,1}\psi_{\beta,2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2}$

$$E_{m_1,m_2} = m_1\nu_{0,1} + m_2\nu_{0,2} \quad \text{w Hz}$$

Schemat poziomów energetycznych i widmo układu AB(1,2) w przypadku gdy $J_{AB(1,2)}=0$



Wprowadzenie stałej sprzężenia

- ▶ sprzężenie : $\hat{H}_{\text{dwa spiny}} = \nu_{0,1}\hat{I}_{1z} + \nu_{0,2}\hat{I}_{2z} + \underbrace{J_{12}\hat{I}_{1z}\hat{I}_{2z}}_{\text{sprężenie}}$
- ▶ nowa funkcja jest ciągle funkcją własną
- ▶ dla przykładu: $\psi_{\alpha,1}\psi_{\beta,2}$

$$\begin{aligned} J_{12}\hat{I}_{1z}\underbrace{\hat{I}_{2z}\psi_{\alpha,1}}_{\text{zmiana kolejności}}\psi_{\beta,2} &= J_{12}\left[\hat{I}_{1z}\psi_{\alpha,1}\right]\left[\hat{I}_{2z}\psi_{\beta,2}\right] \\ &= J_{12}\left[\frac{1}{2}\psi_{\alpha,1}\right]\left[-\frac{1}{2}\psi_{\beta,2}\right] \\ &= -\frac{1}{4}J_{12}\psi_{\alpha,1}\psi_{\beta,2} \end{aligned}$$

Tablica dla energii dwóch sprzężonych spinów

numer	m_1	m_2	układ spinowy	funkcje własne	wartości własne (energia)
1	$+\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	$\alpha\alpha$	$\psi_{\alpha,1}\psi_{\alpha,2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{4}J_{12}$
2	$+\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}$	$\alpha\beta$	$\psi_{\alpha,1}\psi_{\beta,2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{4}J_{12}$
3	$-\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	$\beta\alpha$	$\psi_{\beta,1}\psi_{\alpha,2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{4}J_{12}$
4	$-\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}$	$\beta\beta$	$\psi_{\beta,1}\psi_{\beta,2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{4}J_{12}$

$$E_{m_1,m_2} = m_1\nu_{0,1} + m_2\nu_{0,2} + m_1m_2J_{12} \quad \text{in Hz}$$

(a)

$\beta\beta$ — 4

$\alpha\beta$ — 2 $\beta\alpha$ — 3

$\alpha\alpha$ — 1

$^1\text{H} - ^1\text{H}$

(b)

$\beta\beta$ — 4

$\alpha\beta$ — 2

$\beta\alpha$ — 3

$\alpha\alpha$ — 1

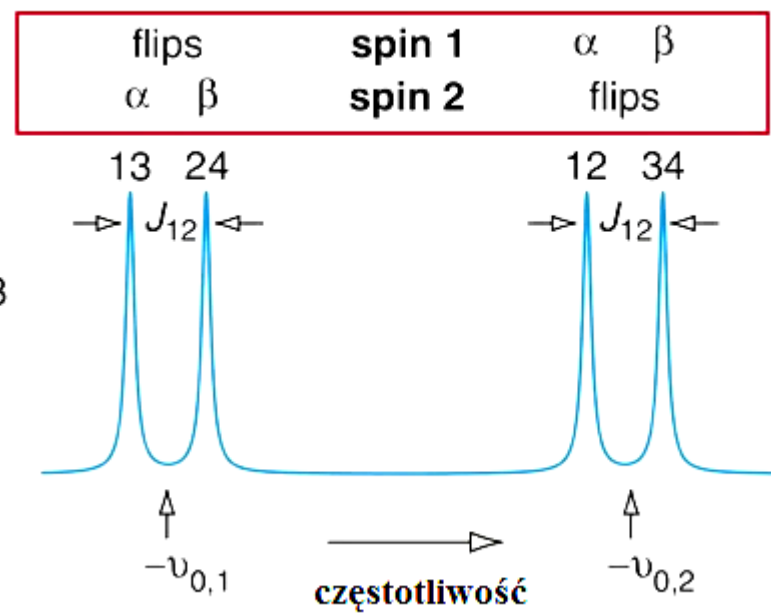
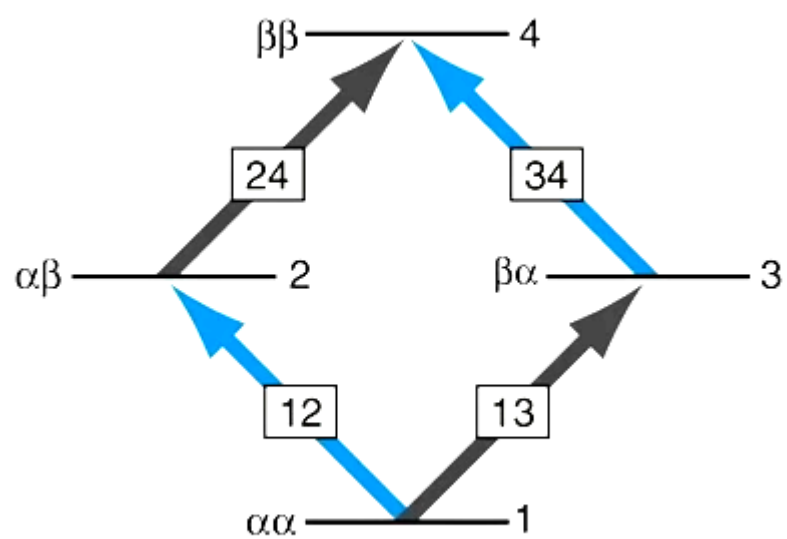
$^{13}\text{C} - ^1\text{H}$

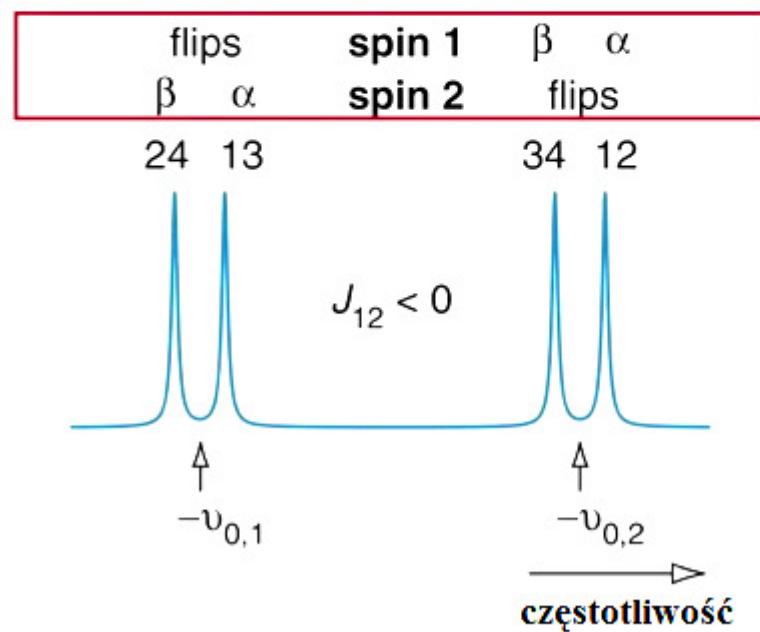
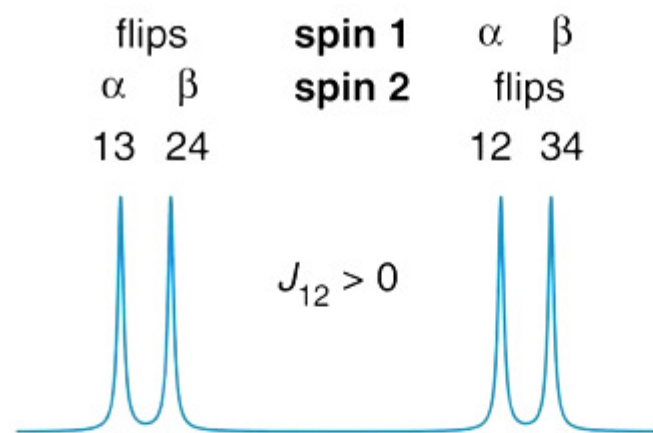
$\gamma_{\text{H}} \approx 4\gamma_{\text{C}}$

Widmo dwóch sprzężonych spinów

dozwolone przejścia: m jednego spinu zmienia się o ± 1

Przejście	Układ spinowy	Częstotliwość
$1 \rightarrow 2$	$\alpha\alpha \rightarrow \alpha\beta$	$-\nu_{0,2} - \frac{1}{2}J_{12}$
$3 \rightarrow 4$	$\beta\alpha \rightarrow \beta\beta$	$-\nu_{0,2} + \frac{1}{2}J_{12}$
$1 \rightarrow 3$	$\alpha\alpha \rightarrow \beta\alpha$	$-\nu_{0,1} - \frac{1}{2}J_{12}$
$2 \rightarrow 4$	$\alpha\beta \rightarrow \beta\beta$	$-\nu_{0,1} + \frac{1}{2}J_{12}$

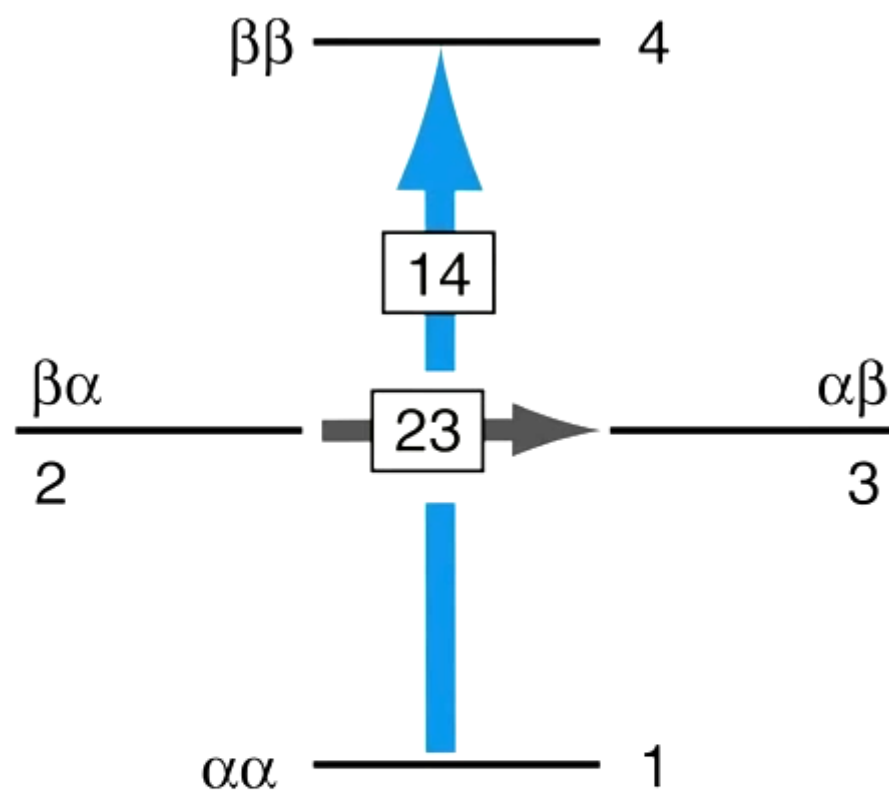




Przejścia wielokwantowe

Przejścia scharakteryzowane przez zmiany w M : $M = m_1 + m_2$

numer	układ spinowy	M
1	$\alpha\alpha$	+1
2	$\alpha\beta$	0
3	$\beta\alpha$	0
4	$\beta\beta$	-1



1–4: przejście dwukwantowe, $\Delta M = \pm 2$

2–3: przejście zerokwantowe, $\Delta M = 0$

Układ trzech spinów

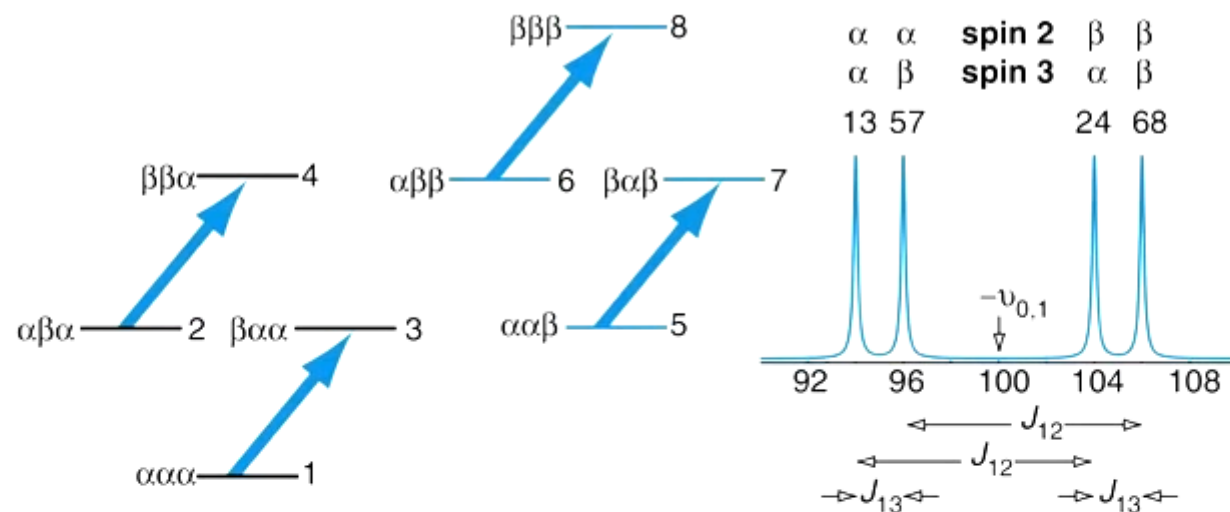
- ▶ Hamiltonian

$$\begin{aligned}\hat{H}_{\text{dla trzech spinów}} = & \nu_{0,1}\hat{I}_{1z} + \nu_{0,2}\hat{I}_{2z} + \nu_{0,3}\hat{I}_{3z} \\ & + \underbrace{J_{12}\hat{I}_{1z}\hat{I}_{2z}}_{1-2 \text{ sprzężenie}} + \underbrace{J_{13}\hat{I}_{1z}\hat{I}_{3z}}_{1-3 \text{ sprzężenie}} + \underbrace{J_{23}\hat{I}_{2z}\hat{I}_{3z}}_{2-3 \text{ sprzężenie}}\end{aligned}$$

- ▶ Poziomy energii

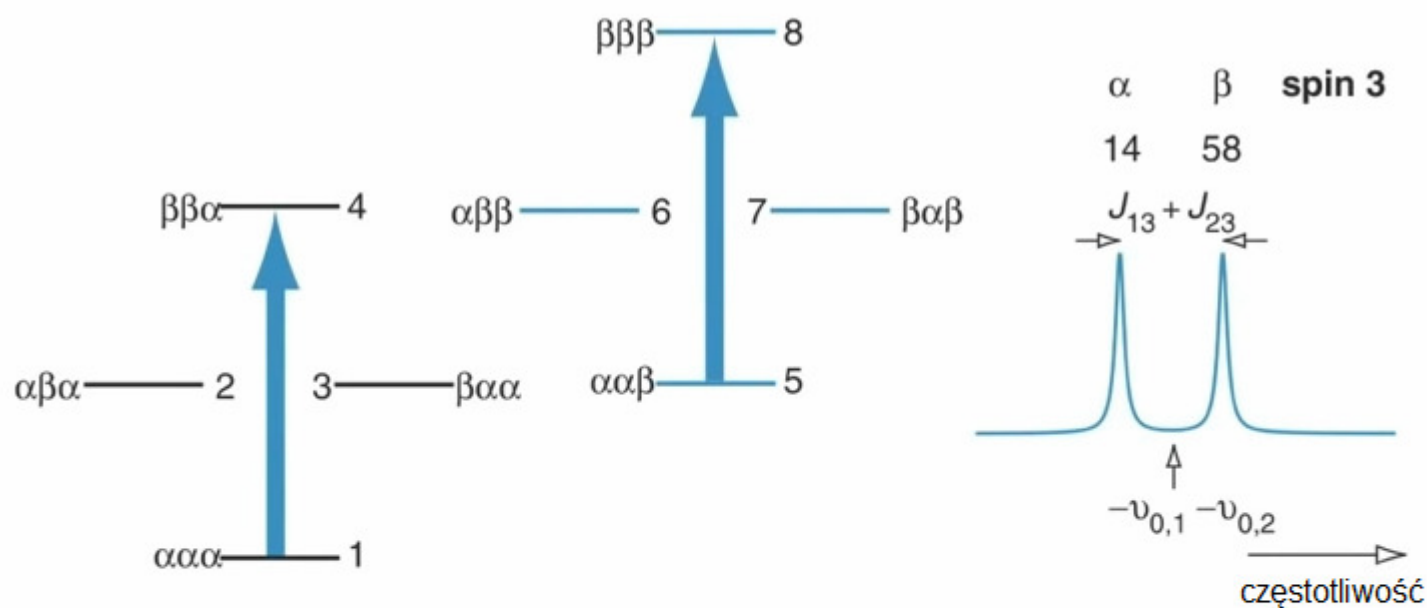
$$E_{m_1 m_2 m_3} = m_1 \nu_{0,1} + m_2 \nu_{0,2} + m_3 \nu_{0,3} + m_1 m_2 J_{12} + m_1 m_3 J_{13} + m_2 m_3 J_{23}$$

numer	stany spinowe	M	energia
1	$\alpha\alpha\alpha$	$\frac{3}{2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{2}\nu_{0,3} + \frac{1}{4}J_{12} + \frac{1}{4}J_{13} + \frac{1}{4}J_{23}$
2	$\alpha\beta\alpha$	$\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{2}\nu_{0,3} - \frac{1}{4}J_{12} + \frac{1}{4}J_{13} - \frac{1}{4}J_{23}$
3	$\beta\alpha\alpha$	$\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{2}\nu_{0,3} - \frac{1}{4}J_{12} - \frac{1}{4}J_{13} + \frac{1}{4}J_{23}$
4	$\beta\beta\alpha$	$-\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} + \frac{1}{2}\nu_{0,3} + \frac{1}{4}J_{12} - \frac{1}{4}J_{13} - \frac{1}{4}J_{23}$
5	$\alpha\alpha\beta$	$\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{2}\nu_{0,3} + \frac{1}{4}J_{12} - \frac{1}{4}J_{13} - \frac{1}{4}J_{23}$
6	$\alpha\beta\beta$	$-\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{2}\nu_{0,3} - \frac{1}{4}J_{12} - \frac{1}{4}J_{13} + \frac{1}{4}J_{23}$
7	$\beta\alpha\beta$	$-\frac{1}{2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} + \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{2}\nu_{0,3} - \frac{1}{4}J_{12} + \frac{1}{4}J_{13} - \frac{1}{4}J_{23}$
8	$\beta\beta\beta$	$-\frac{3}{2}$	$-\frac{1}{2}\nu_{0,1} - \frac{1}{2}\nu_{0,2} - \frac{1}{2}\nu_{0,3} + \frac{1}{4}J_{12} + \frac{1}{4}J_{13} + \frac{1}{4}J_{23}$



przejścia	stany dwa spiny	stany trzy spiny	częstotliwość
1–3	α	α	$-\nu_{0,1} - \frac{1}{2}J_{12} - \frac{1}{2}J_{13}$
2–4	β	α	$-\nu_{0,1} + \frac{1}{2}J_{12} - \frac{1}{2}J_{13}$
5–7	α	β	$-\nu_{0,1} - \frac{1}{2}J_{12} + \frac{1}{2}J_{13}$
6–8	β	β	$-\nu_{0,1} + \frac{1}{2}J_{12} + \frac{1}{2}J_{13}$

Przejścia dwukwantowe



przejście	stan początkowy	stan końcowy	częstotliwość
1–4	$\alpha\alpha\alpha$	$\beta\beta\alpha$	$-\nu_{0,1} - \nu_{0,2} - \frac{1}{2}J_{13} - \frac{1}{2}J_{23}$
5–8	$\alpha\alpha\beta$	$\beta\beta\beta$	$-\nu_{0,1} - \nu_{0,2} + \frac{1}{2}J_{13} + \frac{1}{2}J_{23}$