

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. М. В. ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи  
УДК 543.422.25: 547.586.597



**ГЕРДОВ СЕРГЕЙ МИХАЙЛОВИЧ**

**КОЛИЧЕСТВЕННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ЯМР  
НА ПРИРОДНОМ СОДЕРЖАНИИ  $^{2}\text{H}$ .  
НОВЫЕ МЕТОДИКИ И ПРИЛОЖЕНИЯ**

02.00.03 – органическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Москва - 2006

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: доктор химических наук  
Юрий Константинович Гришин

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
Геннадий Александрович Калабин

чл.-корр. РАН, доктор химических наук,  
профессор  
Эдуард Евгеньевич Нифантьев

Ведущая организация: ФГУП «ГНИИХТЭОС»

Защита состоится «26» апреля 2006 г. в 11 часов на заседании Диссертационного совета Д 501.001.69 по химическим наукам при Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова по адресу 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, ГСП-2, Химический факультет МГУ, аудитория 337

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан «22» марта 2006 г.

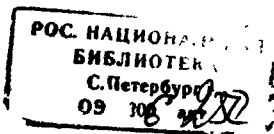
Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор химических наук



Магдесиева Татьяна Владимировна

**Актуальность проблемы.** Спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  получила развитие только в последнее двадцатилетие. Малый магнитный момент и низкое природное содержание дейтерия (0.015%) обуславливают очень низкую интенсивность сигнала этого ядра, которая на шесть порядков меньше, чем для  $^1\text{H}$  и на два порядка меньше, чем для  $^{13}\text{C}$ . Дополнительные трудности при регистрации спектров возникают вследствие наличия у дейтерия, имеющего спин равный 1, электрического квадрупольного момента. По этим причинам до недавнего времени спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  применялась для решения относительного узкого круга задач с использованием изотопически обогащенных соединений. Быстрое совершенствование аппаратуры ЯМР в последнюю четверть века, приведшее к многократному повышению чувствительности спектрометров высокого разрешения, открыло пути наблюдения спектров ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дейтерия, что существенно расширило потенциальные возможности этого метода. В восьмидесятых годах прошлого века было показано (Martin, Grant), что распределение дейтерия в природных объектах не равномерно и подвержено значительным колебаниям, обусловленным влиянием различных геофизических, химических и биологических факторов. Различное содержание дейтерия в водяном паре над поверхностью Земли на полюсах (около 90 м.д.) и на экваторе (около 155 м.д.) вызвано существенным различием температур кипения и замерзания изотопомеров воды. По той же причине изотопомерный состав льдов отражает долговременные колебания климата. Вода играет важную роль в образовании биомассы и, следовательно, в формировании ее изотопного состава. Было также обнаружено на ограниченном круге соединений природного происхождения, что распределение дейтерия по структурно неэквивалентным положениям в их молекулах также неравномерно, заметно отличается от статистического и зависит от природного источника. Последнее наиболее интересное и важное обстоятельство, несомненно, является следствием кинетических H/D-изотопных эффектов в биохимических реакциях. Спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  открывает возможность не только определить абсолютную концентрацию дейтерия в органических соединениях, но и дает полную информацию о распределении изотопа по структурно неэквивалентным положениям в молекулах, т. е. позволяет получить «H/D-изотопный портрет» соединения. В этом отношении она существенно превосходит изотопную масс-спектрометрию, которая при решении последней задачи требует использования трудоемких и сложных реакций последовательной селективной фрагментации молекул. Первые ЯМР-исследования на природном содержании  $^2\text{H}$  показали, что «H/D-изотопные портреты» соединений могут дать ценные сведения о механизмах химических реакций и о путях биосинтеза органических молекул. В настоящее время этот метод уже применяется для определения подлинности многих важных продуктов (этанолы, душистые вещества, масла и т.п.). Дальнейшее развитие спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$  и расширение областей ее применения настоятельно требуют совершенствования экспериментальных методик измерения и обработки спектров.

**Цель работы.** Разработка высокоточных методик количественного анализа спектров ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании изотопа. Определение абсолютного содержания и селективного распределения дейтерия по структурно неэквивалентным положениям в молекулах органических соединений синтетического и природного происхождения. Выявление связи «H/D-изотопных портретов» молекул с кинетическими и термодинамическими эффектами в химических реакциях. Использование «H/D-изотопных



портретов» для выяснения путей биосинтеза природных соединений, определения источников их происхождения и исследования механизмов химических реакций.

**Научная новизна и практическая ценность работы.** Разработана методика регистрации и количественного анализа спектров ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании с использованием итерационного анализа полной формы линии, позволяющая почти на порядок увеличить точность определения абсолютного содержания и внутримолекулярного распределения дейтерия в органических соединениях. Получены «H/D-изотопные портреты» нескольких серий органических соединений синтетического и природного происхождения, демонстрирующие специфические особенности неравномерного внутримолекулярного распределения дейтерия и его существенного отклонения от среднестатистического. На примере терпенов и терпеноидов показано, что «H/D-изотопные портреты» дают основу для дискриминации путей их биосинтеза, определения источников происхождения соединений и исследования их химических превращений. Впервые обнаружена селективность распределения  $^2\text{H}$ , обусловленная термодинамическими изотопными эффектами в молекулах, в которых совершаются внутримолекулярные перегруппировки (циклопентадиен, инден) или наблюдается заторможенное вращение (амиды карбоновых кислот). Впервые проведена точная экспериментальная оценка ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО)  $^2\text{H}$ - $\{^1\text{H}\}$ . Исследованы температурные зависимости времен релаксации  $T_1(^2\text{H})$  в спектрах серии органических молекул. Разработан метод прецизионного определения КССВ  $^1\text{H}$ - $^2\text{H}$  в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$ , позволяющий определять константы  $J(^1\text{H}$ - $^2\text{H})$  в вырожденных системах.

**Апробация работы.** Материалы работы представлены на Гумбольтовской конференции (Москва, ноябрь 2001), на IX и X всероссийских конференциях «Структура и динамика молекулярных систем» (Яльчик, июнь 2002 и 2003), на VI международном семинаре по магнитному резонансу (Ростов-на-Дону, октябрь 2002), на II международной конференции по современным физико-химическим методам (Ростов-на-Дону, сентябрь 2003), на XIX европейском семинаре по ЯМР (Вальтица, апрель 2004), на конференции по химии алициклических соединений (Самара, июнь 2004), на конференции по ЯМР в конденсированной среде (Санкт-Петербург, июль 2004), на III всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ» (Саратов, сентябрь 2004).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 3 статьи и 9 тезисов докладов.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 135 страницах и состоит из введения, литературного обзора, трех глав, содержащих результаты работы и их обсуждение, выводов и списка цитируемой литературы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Методики измерения и анализа спектров ЯМР $^2\text{H}$

#### 1.1. Аппаратурные требования и измерение интегральных интенсивностей линий

В работе использовался спектрометр BRUKER DPX-300 (резонансная частота для ядер  $^2\text{H}$  46.05 МГц), снабженный селективными дейтронными датчиками со спиновой стабилизацией на ядрах  $^{19}\text{F}$ . При количественных измерениях накопление сигналов ЯМР  $^2\text{H}$  осуществлялось при временах задержки между импульсами  $5T_1$  ( $T_1$  – время спинерешеточной релаксации) и временах выборки сигнала ССИ не менее  $4T_1$ . Для достижения необходимого отношения сигнал/шум продолжительность экспериментов составляла от нескольких часов до двух суток.

Предложенные ранее методики измерения интенсивностей сигналов в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дейтерия приводят к систематическим ошибкам при перекрытии резонансных сигналов (измерение высот сигналов, Martin и др., 1985) или имеют ограниченную применимость (введение эталонной функции при анализе полной формы линии, Sremolini и др., 1998). В настоящей работе для определения интенсивностей резонансных сигналов дейтерия была использована специально разработанная программа INTSPECT2 (к.ф.-м.п. В.А. Рознятовский), в которой итерационный расчет полной формы линии проводится с прямым учетом ее неоднородного уширения. Максимальное соответствие теоретического и экспериментального спектров достигается при варьировании положений, высот и ширин линий, а также фаз нулевого и первого порядков, базовой линии и градиентов магнитного поля Z1-Z8 даже в условиях перекрывания сигналов.



Рис. 1. Образец для измерения спектров ЯМР  $^2\text{H}$ .

Экспериментальная проверка на модельных системах показала, что предложенная процедура обработки полного резонансного контура позволяет проводить интегрирование сигналов дейтерия с погрешностью существенно меньшей 1% при достижении отношения сигнал/шум не менее 100.

В настоящей работе при измерении абсолютного содержания дейтерия был использован метод внешнего эталонирования по линиям хлороформа- $d_1$  и циклогексана- $d_{12}$ , при котором эти стандартные вещества и гексафторбензол вводились в цилиндрический капилляр диаметром 1.5 или 2.5 мм (рис. 1). Капилляр был предварительно откалиброван по стандартному сертифицированному образцу спирта (ЕС 2676/90).

#### 1.2. Количественная оценка ядерного эффекта Оверхаузера $^2\text{H}$ - $\{^1\text{H}\}$

Для упрощения формы сигналов в спектре и повышения чувствительности в спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$ , как и в других видах ЯМР тяжелых и редких ядер, используется широкополосная развязка от протонов. Поэтому возникает необходимость точной оценки ядерного эффекта Оверхаузера ( $\text{ЯЭО} = 1 + \eta^D$ ;  $\eta^D = (I - I_0)/I_0$ ;  $I_0, I$  – интенсивности сигнала

без развязки и при развязке от протонов, соответственно), который может приводить к систематическим погрешностям при измерении интегральных интенсивностей сигналов. При диполь-дипольном механизме релаксации по теории максимальное значение ЯЭО  $^2\text{H}\{-^1\text{H}\}$  составляет 4.26 ( $\eta^{\text{D}}_{\text{max}} = (1/2) \cdot (\gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{D}})$ ). Однако в ранних исследованиях полагали, что доминирующий вклад в релаксацию дейтерия должны давать квадрупольные взаимодействия, вследствие чего влияние ЯЭО должно быть незначительным, хотя точные измерения  $\eta^{\text{D}}$  не проводились. После того, как было найдено (Н.М. Сергеев, 2002), что  $\eta^{\text{D}}$  для молекулы воды составляет около 8%, возникла необходимость проведения количественной оценки ядерного эффекта Оверхаузера  $^2\text{H}\{-^1\text{H}\}$  в органических молекулах. Основываясь на сильной зависимости ЯЭО от межъядерного расстояния ( $\eta \propto (r)^{-6}$ ), можно было ожидать, что в этих молекулах он будет играть меньшую роль, чем в молекулах воды, и наибольших значений  $\eta^{\text{D}}$  может достигать для геминальных пар Н-Д фрагментов  $\text{CH}_2\text{D}$  и  $\text{CHD}$ . При этом существенную роль должно также играть присутствие в растворе примесей растворенного кислорода, который парамагнитен.

Оценка ЯЭО  $^2\text{H}\{-^1\text{H}\}$  для органических соединений была сделана нами на примере хлористого метилена, спектры ЯМР  $^2\text{H}$  которого на природном содержании (изотомер  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) имеют удобную для интегрирования форму линии (дублет при монорезонансе и синглет при развязке от протонов). В качестве внутреннего эталона интенсивности использован хлороформ, т.к. форма линии  $\text{CDCl}_3$  не зависит от наложения второго радиочастотного поля. Для учета возможного вклада межмолекулярных  $^1\text{H}\text{-}^2\text{H}$  взаимодействий использовалось также внешнее эталонирование по сигналам хлороформа- $d_1$  и циклогексана- $d_{12}$ . Результаты сравнения интегральных интенсивностей линий  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при развязке и без развязки от протонов (см. табл. 1) указывают, с точностью до ошибки (~0.5%), на отсутствие ЯЭО.

Таблица 1. Результаты измерения ЯЭО  $^2\text{H}\{-^1\text{H}\}$  для хлористого метилена.

Образец	Эталон	
	$\text{CDCl}_3$	$\text{C}_6\text{D}_{12}$
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , $\text{CHCl}_3$ , 5% $\text{C}_6\text{F}_6$	0.996(5)	-
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (капилляр: $\text{CDCl}_3$ , $\text{C}_6\text{D}_{12}$ , $\text{C}_6\text{F}_6$ )	0.997(5)	1.001(5)

Полученные нами данные позволяют с полным основанием заключать, что применение развязки от протонов в спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$  не должно приводить к искажению результатов при количественном анализе.

### 1.3. Релаксация ядер $^2\text{H}$ и условия сужения линий в спектрах ЯМР $^2\text{H}$

Доминирование вклада квадрупольной составляющей взаимодействий приводит к уменьшению времени спин-решеточной  $T_1(^2\text{H})$  и, соответственно, продольной релаксации дейтерия  $T_2(^2\text{H})$ , что неизбежно вызывает заметные уширения резонансных линий дейтронов. Такие уширения при относительно узком диапазоне (в частотной шкале) изменения химических сдвигов затрудняют анализ тонкой структуры спектров ЯМР  $^2\text{H}$ . В соответствии с представлениями о квадрупольном механизме релаксации следует ожидать роста  $T_1(^2\text{H})$  при увеличении температуры вследствие повышения подвижности молекул и уменьшения времени корреляции. Проведенные нами измерения для метанола- $d_4$ , этанола- $d_6$ , бензола- $d_6$ , ДМСО- $d_6$  при 297–375 К показали, что температурные изменения ширины

линий действительно значительны даже в этом относительно узком диапазоне температур и аппроксимируются линейными функциями (см. табл. 2).

Таблица 2 Зависимость времени релаксации  $T_1$  для ядер  $^2\text{H}$  от температуры  $T$  для дейтерированных органических соединений.

Соединение	$T_1(^2\text{H}) = f(T)$	Диапазон изменений $T$ , К
этанол- $d_6$	$T_1(\text{CD}_3) = 0.018T - 4.658$	297 - 345
	$T_1(\text{CD}_2) = 0.020T - 5.059$	297 - 345
	$T_1(\text{OD}) = 0.0033T - 0.9581$	297 - 345
метанол- $d_4$	$T_1(\text{CD}_3) = 0.047T - 9.585$	296 - 332
	$T_1(\text{OD}) = 0.005T - 1.310$	296 - 332
бензол- $d_1$	$T_1(\text{CD}) = 0.013T - 2.466$	297 - 339
диметилсульфоксид- $d_6$	$T_1(\text{CD}_3) = 0.014T - 3.585$	297 - 375

При относительно невысоких температурах времена  $T_1$  для простых органических соединений достигают достаточно больших значений (например,  $T_1 = 6$  с для  $\text{CD}_3$ -группы метанола при 333 К). Этот результат имеет важное практическое значение, поскольку открывает возможность добиться значительного сужения линий (до 0.1 - 0.2 Гц при  $T_1 \approx 2-3$  с) в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$  при небольшом повышении температуры до 320–340 К.

#### 1.4. Измерение констант $J(^1\text{H}-^2\text{H})$

Найденные условия сужения резонансных линий при повышении температуры позволяют наблюдать в спектрах монорезонанса ЯМР  $^2\text{H}$  расщепления, обусловленные спин-спиновым взаимодействием  $^1\text{H}-^2\text{H}$ , а, следовательно, измерить константы  $J(^1\text{H}-^2\text{H})$  и затем рассчитать  $J(^1\text{H}-^1\text{H})$ , т.к. в пренебрежении слабыми изотопными эффектами  $J(^1\text{H}-^1\text{H}) = (\gamma^1_{\text{H}}/\gamma^2_{\text{H}}) * J(^1\text{H}-^2\text{H})$ . Это наиболее простой способ определения геминальных КССВ  $^1\text{H}-^1\text{H}$ , поскольку для систем с магнитно эквивалентными ядрами в протонных спектрах эти КССВ не проявляются. Ранее он применялся при изучении селективно дейтерированных молекул. Использование спектров ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дает неоспоримые преимущества, поскольку в этом случае объектом измерения является весь набор монодейтерированных изотопмеров, и необходимость получения большого числа селективно дейтерированных соединений высокой чистоты отпадает. Преимущества такого подхода показаны нами на примере анализа спектров ЯМР  $^2\text{H}$  этанола, *n*-пропанола, 1,2-дихлорэтана и 1,4-диоксана, полученных при 339 К.

Спектры ЯМР  $^2\text{H}$  этанола (рис. 2) и *n*-пропанола соответствуют первому порядку и представляют собой суперпозицию резонансных сигналов трех и четырех монодейтероизотопмеров, соответственно. Результаты измерения геминальных и вцинальных КССВ даны в табл. 3. Различия значений  $^2J(^1\text{H}-^2\text{H})$  для изотопмеров отражают влияние заместителей.

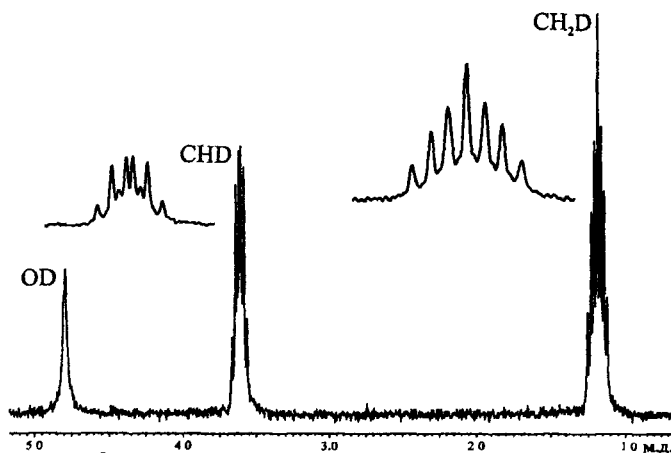
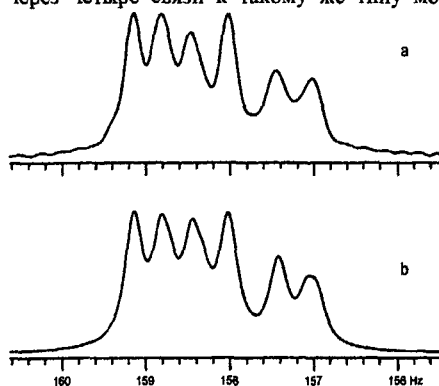


Рис. 2. Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  этанола (чистая жидкость) на природном содержании дейтерия без развязки от протонов при 339 К.

Таблица 3. Константы  $J(^1\text{H}-^2\text{H})$  и  $J(^1\text{H}-^1\text{H})$  для изомеров этанола- $\text{d}_1$  и н-пропанола- $\text{d}_1$ , Гц (339 К).

Изономер	$^2J(^1\text{H}-^2\text{H}) / ^2J(^1\text{H}-^1\text{H})$	$^3J(^1\text{H}-^2\text{H}) / ^3J(^1\text{H}-^1\text{H})$
$\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{OH}$	-2.00(1) / -13.03	1.07(1) / 6.97
$\text{CH}_3\text{CHDOH}$	-1.58(1) / -10.29	
$\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	-1.99(2) / -12.96	1.13(2) / 7.36
$\text{CH}_3\text{CHDCH}_2\text{OH}$	-2.05(4) / -13.35	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHDOH}$	-1.58(3) / -10.29	
		1.04(3) / 6.77

Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  изомера 1,2-дихлорэтана,  $\text{ClCHDCH}_2\text{Cl}$ , представляет собой X-часть спиновой системы ABCX. Вследствие практически отсутствия взаимодействия  $^1\text{H}-^2\text{H}$  через четыре связи к такому же типу можно отнести спиновую систему фрагмента -

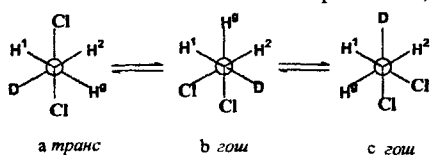


CHDCH<sub>2</sub>- 1,4-диоксана, наблюдаемый дейтронный спектр которого в поле 7 Т имеет ширину всего  $\approx 2$  Гц (см. рис. 4). Однако высокое качество обоих спектров позволяет провести полный итерационный анализ (программа gNMR). Параметры спектров для фрагментов ( $\text{ClCH}^a\text{DCH}^b\text{H}^c\text{Cl}$  и  $-\text{OCH}^a\text{DCH}^b\text{H}^c\text{OC}_2\text{H}_4-$ ) приведены в табл. 4.

Рис. 3. Спектры ЯМР  $^2\text{H}$  1,4-диоксана- $\text{d}_1$  без развязки от протонов, сверху - экспериментальный (339 К, 9 часов накопления), внизу - рассчитанный ( $\Delta\nu_{1/2} = 0.20$  Гц).



Обращает на себя внимание практическое равенство констант  $^2J$  и значительная величина изотопного сдвига протона  $H^B$ ,  $\delta_{из}$ , во фрагменте HCD в этих соединениях.



а транс

б гаус

с гаус

Схема 1.

Величины  $^3J$  отражают конформационные особенности молекул. В частности, они свидетельствуют о том, что в 1,2-дихлорэтане равновесие вращательных изомеров а-с (схема 1) смещено в сторону транс-формы а ( $K \approx 1.3$ ). Вицинальные константы в 1,4-диоксане существенно различаются вследствие зависимости от

двухгранного угла, большее значение КССВ (6.05 Гц) является усредненным для двух типов взаимодействий, аксиально-аксиального и экваториально-экваториального, а другое (2.54 Гц) – относится к аксиально-экваториальному взаимодействию.

Таблица 4. КССВ и изотопные химические сдвиги в спектрах ЯМР  $^1H$  и ЯМР  $^2H$  1,2-дихлорэтана (А) и 1,4-диоксана (В), 339 К.

Атом	J, Гц						$\delta_{из}$ , млрд.д.	
	D		H <sub>1</sub>		H <sub>2</sub>			
	A	B	A	B	A	B	A	B
H <sup>B</sup>	-1.73(1)	-1.74(1)					-8.7	-16.0
H <sup>1</sup>	1.13(1)	0.39(1)	6.26	6.05			0.0	0.0
H <sup>2</sup>	0.96(1)	0.93(1)	7.35	2.54	-11.27	-11.33	0.0	0.0

Рассмотренные примеры показывают, что спектроскопия ЯМР  $^2H$  представляет собой эффективное дополнение к спектроскопии ЯМР  $^1H$  при изучении КССВ и изотопных эффектов на химические сдвиги  $^1H$ .

### 1.5. Измерение абсолютного содержания дейтерия и его селективного распределения в этанолах

Постановка и решение этой задачи были в значительной мере стимулированы и поддержаны Правительством г. Москвы, которое остро нуждалось в надежной методике определения происхождения этанолов для выявления контрафактной продукции в связи с острейшей ситуацией на рынке алкогольных напитков, возникшей в конце 90-ых годов прошлого столетия. К началу наших исследований было известно (Martin, 1990), что относительное содержание дейтерия в  $CH_3$ - и  $CH_2$ -группах этанолов разного растительного происхождения заметно различается. В частности, на определении этого различия методом ЯМР была основана принятая в странах ЕС методика выявления шапталлизации (добавления экзогенного сахара в виноградное сусло) виноградных вин, что рассматривается в ЕС как фальсификация продукции. Мы отработали методику анализа крепких алкогольных напитков при определении абсолютного содержания дейтерия и его селективного распределения в этанолах с точностью не хуже 0.5 м.д. С ее помощью были проанализированы спектры ЯМР  $^2H$  нескольких десятков образцов алкогольной продукции и эталонных этанолов, предоставленных Центральной таможенной лабораторией ГТК России. Проведенные исследования подтвердили известные данные о том, что содержание дейтерия в этанолах подвержено значительным вариациям при

сохранении общей закономерности:  $\text{CH}_2$ -группа обогащена дейтерием по сравнению с  $\text{CH}_3$ -группой. Синтетические спирты характеризуются более высоким содержанием дейтерия в обоих фрагментах по сравнению со спиртами растительного происхождения (рис. 4). Среди последних по изотопному составу выделяются виноградные спирты, полученные из вин и коньяков.

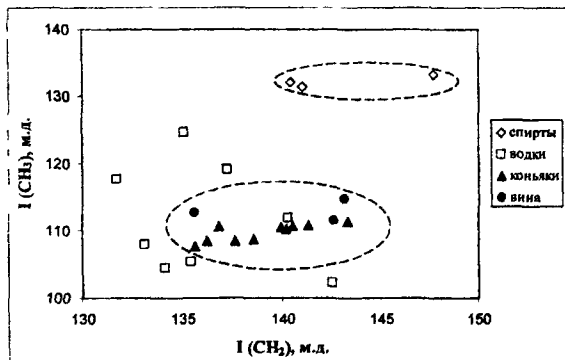


Рис. 4. Абсолютное содержание дейтерия (I, м.д.) в  $\text{CH}_3$ - и  $\text{CH}_2$ - группах этиловых спиртов.

Данные по селективному распределению дейтерия в молекуле спирта с высокой степенью надежности позволяют установить тип

сырья, из которого был получен этанол, а также определить добавку синтетических этанолов к спиртам, полученным из сельскохозяйственных продуктов. Повышение точности интегрирования спектров позволило нам достичь более четкой дискриминации при определении происхождения спиртов и установлении аутентичности алкогольной продукции.

## 2. Распределение дейтерия в органических соединениях синтетического происхождения

### 2.1. Селективность внутримолекулярного распределения дейтерия по структурно неэквивалентным положениям молекул

Существенные отличия внутримолекулярного распределения дейтерия по неэквивалентным положениям органических соединений природного происхождения были обнаружены уже в ранних работах. Изучив несколько серий органических молекул синтетического происхождения, мы не обнаружили ни одного соединения со среднестатистическим внутримолекулярным распределением дейтерия по структурно неэквивалентным положениям. В табл. 5 приведены результаты измерений относительного распределения дейтерия (в пересчете на один атом и нормировке относительно метильной группы) для ряда алканов и их производных.

В ряду углеводородов, как это отмечалось для этильных производных (Martin), терминальные  $\text{CH}_3$ -группы обеднены дейтерием по сравнению с  $\text{CH}_2$ -группами. Однако такой характер внутримолекулярного распределения не сохраняется для других классов органических соединений. Обобщающие выводы о закономерностях в содержании изотопа  $^2\text{H}$  даже в ряду простых органических молекул могут быть сделаны только при знании конкретных путей их химического (биохимического) синтеза и значений кинетических и термодинамических изотопных эффектов на ключевых стадиях синтеза.

Таблица 5. Относительное содержание дейтерия в алканах и их функциональных производных.

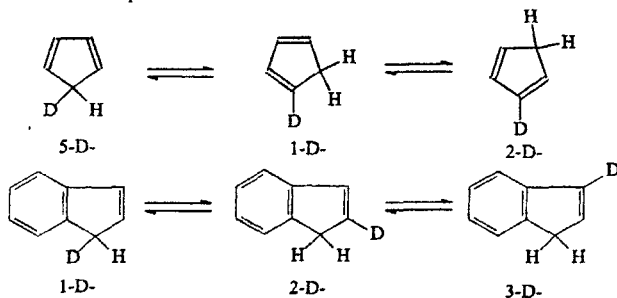
Соединение	CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>2</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>3</sup>	Источник	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	1.00	1.23	1.28	Реахим	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	1.00	1.23	1.26	Реахим	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	1.00	1.21	1.40	Реахим	
	CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>2</sup>			
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> Ph	1.00	1.34		Реахим	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> NO <sub>2</sub>	1.00	1.22		Loba Chemie	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> C(O)Me (Me - 1.05)	1.00	1.23		Реахим	
	CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>2</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>3</sup>		
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> OH	1.00	1.12	1.07	Реахим	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> NO <sub>2</sub>	1.00	1.13	0.99	Loba Chemie	
	CH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>2</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>3</sup>	CH <sub>2</sub> <sup>4</sup>	
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>4</sup> OH	1.00	0.73	0.87	0.66	Реахим
CH <sub>3</sub> <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> <sup>2</sup> CH <sub>2</sub> <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> <sup>4</sup> OAc (Ac - 0.83)	1.00	0.73	0.92	0.83	Реахим

**2.2. Термодинамические изотопные эффекты в молекулах, в которых совершаются внутримолекулярные перегруппировки (циклопентадиен, инден) или наблюдается заторможенное вращение (амиды карбоновых кислот)**

Мы провели исследование индуцированного дейтерием равновесного H/D-изотопного эффекта в молекулах, в которых протекают вырожденные процессы внутримолекулярного обмена между равнонаселенными состояниями, приводящие к установлению термодинамического равновесия достаточно быстро при нормальных условиях. Изотопное замещение приводит к снятию вырождения.

### 2.2.1. Сигматропные сдвиги водорода в циклопентадиене и индене

Вырожденные прототропные перегруппировки (сигматропные сдвиги) в циклопентадиене и индене (схема 2) протекают с энергиями активации 25 и 34 ккал/моль, соответственно. Поэтому при температурах, близких к комнатной, спектры ЯМР <sup>2</sup>H циклопентадиена и индена соответствуют стереохимически жестким состояниям молекул, отвечающим их изотопмерам.



Интегральные интенсивности линий (см. табл. 6, величины  $I$  нормированы на среднее значение) свидетельствуют о значимых, превышающих ошибку определения, различиях концентраций этих изотопомеров. При этом для обоих соединений наиболее стабильными являются изотопомеры, содержащие дейтерий в соседнем с метиленовой группой положении. Термодинамические изотопные эффекты обусловлены различием колебательно-вращательных сумм состояний молекул. Результаты квантово-химических расчетов (метод функционала плотности, неэмпирически построенный градиент-корректированный функционал PBE, TZ2p базисный набор) колебательно-вращательных энергий ( $E_{к-в}$ , см. табл. 6) в гармоническом приближении для циклопентадиена (Д.Н. Лайков) и индена (Д.В. Беседин), в целом, находятся в удовлетворительном согласии с экспериментом. Они правильно предсказывают близкие по порядку величины равновесных изотопных эффектов ( $\approx 4\%$  для 1-D и 2-D изотопомеров циклопентадиена), а также наибольшую энергетическую предпочтительность изотопомеров 2-D-циклопентадиена и 3-D-индена. Отметим, что значимые термодинамические H/D-изотопные эффекты для таких молекул наблюдались и были измерены нами впервые.

Таблица 6. Относительное содержание дейтерия (I) и значения колебательно-вращательных энергий ( $E_{к-в}$ ), рассчитанных в гармоническом приближении для изотопомеров циклопентадиена (А, 263 К) и индена (В, 303 К).

Соединение	А		В		А		В	
Изотопмер	1-D	2-D	2-D	3-D	5-D	1-D	2-D	3-D
I	0.992(3)	0.974(10)	1.020(3)	1.018(10)	0.988(3)	1.008(10)	0.992(3)	0.974(10)
$E_{к-в}$ , ккал/моль	54.269	86.883	54.247	86.870	54.293	86.878	54.269	86.883

### 2.2.2. Заторможенное внутреннее вращение в *N,N*-диметилформамиде (ДМФА) и *N,N*-диметилацетамиде (ДМАА)

Внутреннее вращение вокруг связи C-N, имеющей частично двойной характер, в молекулах ДМФА и ДМАА приводит для их изотопомеров, дейтерированных по N-метильным группам, к равновесию *цис*- и *транс*-форм (схема 3). Вследствие достаточно высокого активационного барьера (более 18 ккал/моль) этого процесса в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$  ДМФА при 303 К (см. рис. 4) и ДМАА при 273 К отсутствуют обменные уширения резонансных линий, и ширины линий ( $\Delta\nu_{1/2}$ ) определяются практически нацело

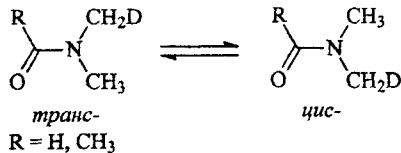


Схема 3.

релаксационными факторами (см. табл. 7).

Значимое, превышающее ошибку измерения, различие интегральных интенсивностей линий  $I$  показывает, что термодинамически более выгодными являются изотопомеры, в которых  $\text{CH}_2\text{D}$ -группа находится в *транс*-положении относительно атома кислорода. Константы равновесия ( $K$ ) в ДМФА и ДМАА оказываются практически одинаковыми. Полученные данные для ДМФА ( $K = 0.978$ ) хорошо согласуются с результатами квантово-химических расчетов высокого уровня колебательно-вращательных сумм состояний этих изотопомеров ( $K = 0.964$ , О.В. Язев, Ю.А. Устынюк).

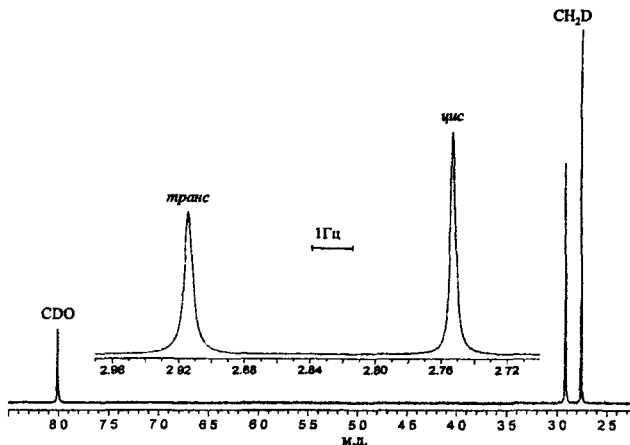


Рис. 4. Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  *N,N*-диметилформамида на природном содержании  $^2\text{H}$  при 303 К.

Таблица 7. Параметры спектров ЯМР  $^2\text{H}$  ДМФА (303 К) и ДМАА (273 К).

	$T_1$ , с		$\Delta\nu_{1/2}$ , Гц		$I$	
	ДМФА	ДМАА	ДМФА	ДМАА	ДМФА	ДМАА
<i>транс</i> - $\text{CH}_2\text{D}$	1.5	2.3	0.24	0.16	1.023(3)	1.024(3)
<i>цис</i> - $\text{CH}_2\text{D}$	3.4	2.1	0.13	0.16	1.000(3)	1.000(3)
R	1.2	1.0	0.35	0.27	1.254(16)	1.047(3)

### 2.2.3. Димеризация циклопентадиена

Влияние  $\text{H/D}$ -изотопных эффектов на внутримолекулярное распределение дейтерия в системах, где наблюдаются обратимые реакции в термодинамически контролируемых условиях, может проявляться сложным образом. К числу таких систем относится

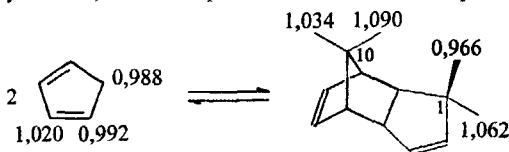


Схема 4.

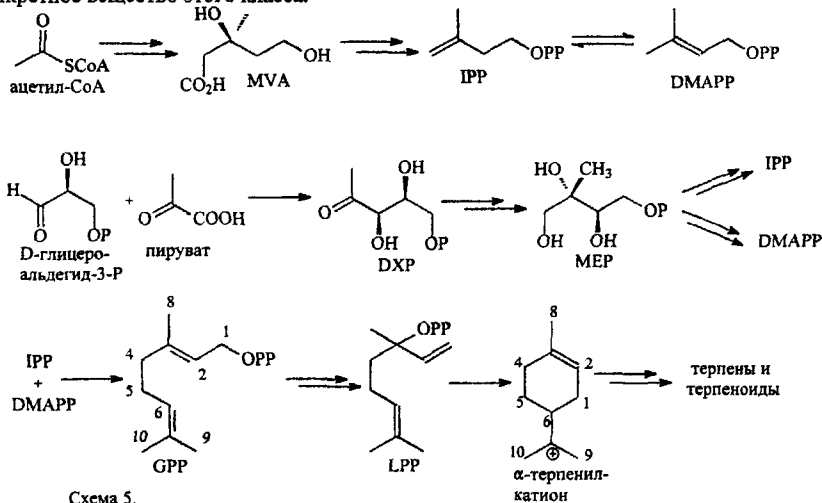
исследованная нами димеризация циклопентадиена. Вариации интенсивностей линий в спектре ЯМР  $^2\text{H}$  димера не соответствуют ожидаемому на основании протекания одиночного акта [4+2] циклоприсоединения по Дильсу-Альдеру. В частности, наблюдается значимое различие изотопного состава для геминальных атомов водорода в обеих метиленовых группах димера, причем положения 1-эндо и 10-анти являются относительно более обогащенными дейтерием (относительное содержание  $^2\text{H}$  приведено на схеме 4). Такая специфичность распределения изотопа в ходе реакции является следствием комбинации кинетических и термодинамических изотопных эффектов, природу которых еще предстоит исследовать. Приведенный пример показывает, что спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  может стать уникальным инструментом изучения таких изотопных эффектов.

### 3. Распределения дейтерия в терпенах и терпеноидах

#### 3.1. «Н/Д-Изотопные портреты» циклических монотерпенов и дискриминация их биосинтетических путей

Первые исследования терпенов с помощью ЯМР  $^2\text{H}$  (Martin, Grant) показали, что распределение дейтерия в них не является равномерным и зависит от источников растительного происхождения. Мы предприняли детальное изучение монотерпенов и монотерпеноидов с целью выявления общих тенденций в селективном внутримолекулярном распределении дейтерия в этих соединениях и установления его связи с механизмом биосинтеза природных соединений.

Универсальным биосинтетическим предшественником монотерпенов является геранилдифосфат (GPP), образующийся, в свою очередь, при конденсации двух изопреновых  $\text{C}_5$ -компонент, изопентилдифосфата (IPP) и диметиаллилдифосфата (DMAPP). До недавнего времени полагали, что образование IPP и DMAPP происходит по единому пути через мевалоновую кислоту (MVA) (схема 5), при этом DMAPP является продуктом изомеризации IPP. Лишь сравнительно недавно было обнаружено (Rohmer, 1999), что в растениях биосинтез изопреноидов может протекать и по альтернативной схеме через 1-деокси-D-ксилулозо-5-фосфат (DXP) (схема 5) без изомеризации IPP в DMAPP. Таким образом, при идентификации монотерпенов возникла новая актуальная проблема определения, по какому из двух биосинтетических путей образуется каждое конкретное вещество этого класса.



Биосинтез терпенов и терпеноидов - сложный многостадийный процесс, на ряде стадий которого происходит разрыв и образование связей C-H, что должно сопровождаться положительным Н/Д-кинетическим изотопным эффектом при разрыве C-H связи и отрицательным при образовании такой связи. Анализ имеющихся данных о схемах биосинтеза геранилдифосфата (GPP) и других терпеноидов позволил нам построить их гипотетические «Н/Д-изотопные портреты», качественно отражающие основные тенденции во внутримолекулярном распределении дейтерия для двух

альтернативных путей биосинтеза, в предположении о нормальных изотопных эффектах в этих реакциях. Эти «изотопные портреты» имеют существенные и характерные отличия. В частности, влияние кинетических изотопных эффектов на содержание  $^2\text{H}$  (относительно метильной группы C8, не затрагиваемой процессами биосинтеза, см. рис. 5) в положениях при C1 и C5, с одной стороны, и C2, C4 и C6, с другой стороны, для MVA- и DXP-путей должно быть противоположным. Для второго пути следует ожидать значительного различия в содержании дейтерия в метильных группах C9 и C10.

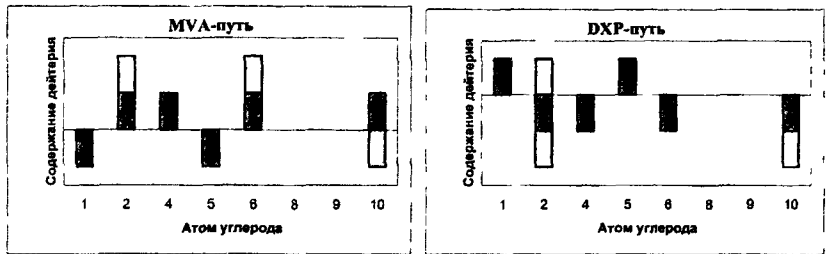
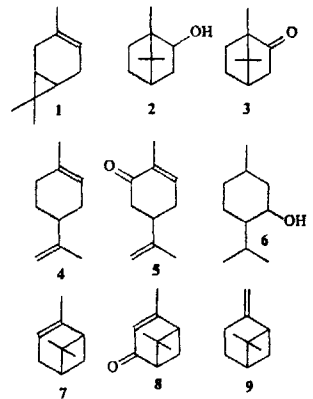


Рис. 5. Прогнозируемое распределение дейтерия в геранилдифосфате (GPP) при MVA- и DXP-путях биосинтеза.

Мы измерили и проанализировали спектры ЯМР  $^2\text{H}$  для ранее не изученных монотерпенов, полученных из разных источников: (1S)-(+)- $\Delta^3$ -карена (1, 88% э.и.,  $[\alpha]_D = +16.2^\circ$ , выделеного из соснового живичного скипидара, Медвежьегорск); (1S)-(-)-борнеола (2,  $[\alpha]_D = -42.0^\circ$ , полученного из борнилацетата, выделенного из пихтового масла, Нейво-Рудянский); (1S)-(-)-камфоры (3а,  $[\alpha]_D = -43.5^\circ$ ), ( $\pm$ )-камфоры (3б) и (1R)-(+)- $\alpha$ -пинена (7а, 36% э.и.,  $[\alpha]_D = +19^\circ$ ), выделенных из живичного скипидара, Нейво-Рудянский; (1R,2S,5R)-(-)-ментола (6,  $[\alpha]_D = -49.3^\circ$ ) и (1R)-(+)-вербенона (8, 40% э.и.,  $[\alpha]_D = +119^\circ$ ) - фармацевтических препаратов; (R)-(+)-лимонена (4а, Aldrich), (S)-(+)-карвона (5а, Fluka), (R)-(-)-карвона (5б, Aldrich), ( $\pm$ )- $\alpha$ -пинена (7б, Aldrich), а также (1S)-(-)- $\beta$ -пинена (9а, Fluka).

Результаты обработки полученных и литературных данных (для камфоры 3с - Grant, лимонена 4б - Leopold,  $\alpha$ -пиненов 7с и 7д - Martin, 7е - Pascal,  $\beta$ -пинена 9б - Pascal) указывают на значительные вариации содержания  $^2\text{H}$  в различных фрагментах молекул терпенов и терпеноидов (см. рис. 6). Так, в случае  $\Delta^3$ -карена 1 (см. рис. 7) содержание дейтерия в положениях при C2 ( $I = 0.25$ ) и при C1 ( $I = 1.53$ ) отличается в 6 раз!



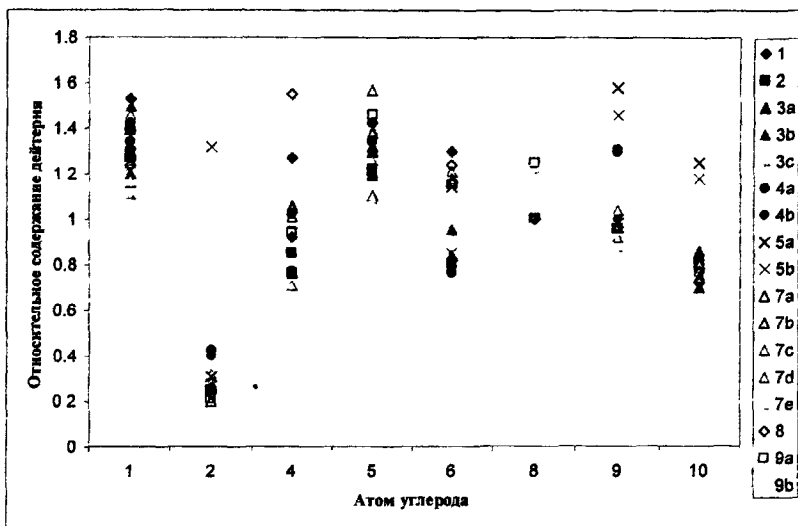


Рис. 6. Диаграмма внутримолекулярного распределения дейтерия в монотерпеноидах 1-9 (нормировка на один атом водорода; нумерация атомов углерода соответствует обозначению для GPP).

Несмотря на то, что обнаруживаются отличия «изотопных портретов» природных соединений (схематически данных на рис. 6) различного происхождения, не менее очевидно и их сходство, которое свидетельствует об общности процессов их биосинтеза. Все они, за исключением (R)-карвона 5b, обладают отчетливыми признаками, характерными для терпенов, образующихся по DXP-пути (см. рис. 5 и 6): содержание дейтерия в положениях при C2, C4 и C6 меньше, чем в положениях при C1 и C5, и в группе при C10 меньше, чем в группе при C9.

Обращает на себя внимание большое различие в содержании дейтерия в положениях при C2 и C6. Эти атомы углерода в процессе биосинтеза происходят из разных источников: C2 приходит из IPP, а C6 – из DMAPP. Этот факт дает однозначное подтверждение тому, что IPP и DMAPP являются продуктами разных предшественников и отсутствует изомеризация IPP в DMAPP.

Характерное значительное обогащение изотопом  $^2\text{H}$  наблюдается для положений при C9 и C10 в лимоненах 4 и карвонах 5. Это связано с потерей протона в  $\alpha$ -терпенилкатионе (см. схему 4) при синтезе этих соединений. Такое изменение в содержании дейтерия позволяет оценить кинетический изотопный эффект ( $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$ ) при образовании кратной связи в терпеноидах, который составляет 2.3 - 2.4 для соединения 4 и 1.4 - 1.9 для соединения 5.



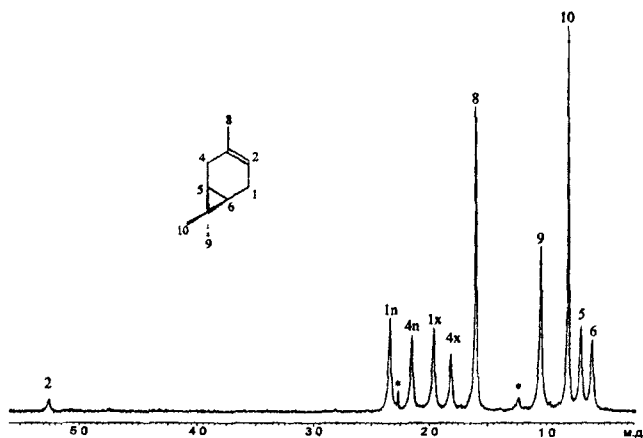


Рис. 7. Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дейтерия  $\Delta^3$ -карена 1 (символом \* отмечены сигналы примесей).

Таким образом, показано, что спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дейтерия позволяет изучать механизмы биосинтеза природных соединений и дискриминировать альтернативные биосинтетические пути.

### 3.2. «Н/D-изотопные портреты» в химических реакциях терпенов и терпеноидов

Характеристичность «Н/D-изотопных портретов» открывает возможность для использования количественной спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$  на природном содержании дейтерия для исследования химических превращений терпеноидов, которое мы проводили совместно с чл.-корр. А.В. Кучиным и сотрудниками (Институт химии Коми НЦ УрО РАН).

#### 3.2.1. Механизм и стереохимия ацилирования $\Delta^3$ -карена

Электрофильное присоединение по двойной С2-С3-связи терпенов – важнейший

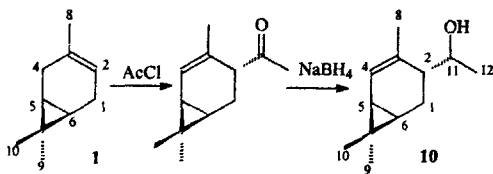


Схема 6.

метод получения функциональных производных в этом ряду. Известно (J. Кгорр, 1968), что ацилирование  $\Delta^3$ -карена происходит стереоселективно с образованием *анти*-замещенного (по отношению к циклопропановому кольцу)  $\Delta^4$ -карена (схема 6). Однако точные причины такой стереоселективности не были

изучены.

Неясной оставалась и стереохимия элиминирования атомов водорода при углероде С4. Нам удалось решить эти вопросы с использованием экспериментальных и теоретических методов. Мы измерили распределение дейтерия в молекуле 2-

гидроксиптил- $\Delta^4$ -карена 10, который был синтезирован по схеме 6. Стереохимия *эндо*-2-гидроксиптил- $\Delta^4$ -карена была однозначно определена с помощью разностной спектроскопии ЯЭО  $^1\text{H}$ . Распределение дейтерия по различным положениям в продукте реакции практически не изменилось (с учетом ошибки измерения) по сравнению с исходным  $\Delta^3$ -кареном (рис. 8). Количество дейтерия при C4 в 10 совпадает с соответствующим значением только для одного из двух атомов водорода при C4 в молекуле карена 1, и именно для  $\text{H}_{4x}$ . Этот факт, поскольку содержание  $^2\text{H}$  в положениях  $\text{H}_{4x}$  и  $\text{H}_{4n}$  в карене 1 резко различается, однозначно свидетельствует о том, что в реакции происходит расщепление связи C4- $\text{H}_{4n}$ , а связь C4- $\text{H}_{4x}$  такой процесс не затрагивает.

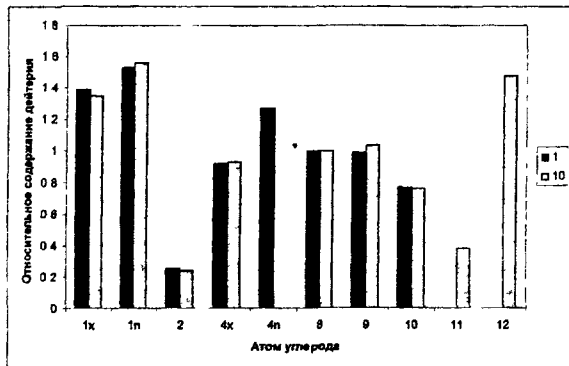


Рис. 8. Диаграмма селективного распределения дейтерия в молекулах  $\Delta^3$ -карена 1 и 2-гидроксиптил- $\Delta^4$ -карена 10 (*х-экзо*, *п-эндо*).

Теоретический анализ, который мы провели совместно с И.П. Глоризовым методом функционала плотности (неэмпирический функционал

РВЕ, расширенный и расщепленный TZ2p базис) с использованием программы ПРИРОДА-04, привел к результатам, которые полностью согласуются с выводом, полученным на основании экспериментальных данных, и дают детальную картину механизма протекающих процессов.

По данным расчета геометрия молекулы карена 1 не благоприятна для атаки объемной ацетильной группы в *экзо*-положение вследствие экранирующего действия метильной группы C10. Из-за стерических факторов возникающий при присоединении ацетильной группы по двойной связи карена 1 катионный интермедиат *эндо*-2-ацетил- $\Delta^3$ -карена 10-1 (рис. 9) оказывается на 6.0 ккал/моль более энергетически выгодным, чем его *экзо*-изомер.

При образовании *эндо*-катиона 10-1 атом водорода  $\text{H}_{4n}$  переходит в аксиальное положение (рис. 9), при этом значительно увеличивается длина связи C4- $\text{H}_{4n}$  (1.168 Å), в то время как длина связи C4- $\text{H}_{4x}$  сохраняет обычное значение (1.097 Å). Такое состояние катиона в значительной мере стабилизируется внутримолекулярным O-H-взаимодействием, межатомное расстояние  $r(\text{O}-\text{H}_{4n}) = 1.86$  Å меньше суммы вандерваальсовских радиусов атомов. Связь C4- $\text{H}_{4n}$  в катионе оказывается практически коллинеарной вакантной p-орбитали на атоме C2, на котором в основном локализуется положительный заряд (0.132 а.е.). Таким образом, элиминирование может осуществляться только для водорода  $\text{H}_{4n}$ . Моделирование механизма  $\text{E}_2$ -элиминирования было проведено при использовании в качестве нуклеофила аниона  $\text{Cl}^-$ . В исходной конфигурации анион  $\text{Cl}^-$  располагался на расстоянии 4 Å от обоих атомов водорода метиленовой группы при C4. В ходе сближения, осуществляемом при ограничении на смещение внутренних

геометрических параметров молекулярной системы ( $< 0.1$  а.е.), последовательно происходят: увеличение длины связи C4-H<sub>n</sub>, отрыв протона H<sub>n</sub> и образование HCl (рис. 10,  $r(\text{Cl-H}) = 1.33$  Å). Иная картина наблюдалась при увеличении амплитуды вариации внутренних геометрических параметров (0.5 а.е.). В отличие от сближения по оптимальной траектории, начальные этапы оптимизации геометрии комплекса приводили к образованию более энергетически выгодного (на 7.9 ккал/моль) гидроксид-интермедиата. При последующем сближении происходило отщепление протона с образованием HCl.

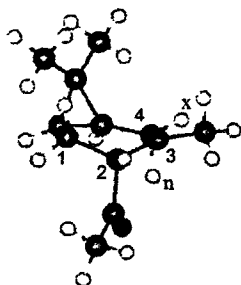


Рис. 9. Структура *эндо*- изомера катиона 2-ацетил- $\Delta^3$ -карена 10-1, рассчитанная методом функционала плотности.

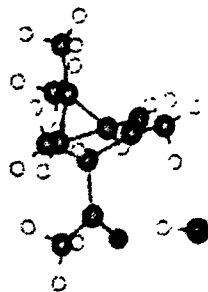


Рис. 10. Структура интермедиата 10-4 при взаимодействии катиона ацетил- $\Delta^4$ -карена с анионом хлора, рассчитанная методом функционала плотности.

Результаты расчета однозначно подтверждают сделанный на основании Н/Д-изотопного анализа вывод о том, что отщепление атома водорода при C4 протекает стереоселективно из *анти*-положения по отношению к трехчленному циклу карена. Оно осуществляется при явно выраженном нуклеофильном содействии карбонильной группы.

### 3.2.2. Пиролиз $\alpha$ -пинена

Рацемизация продуктов пиролиза  $\alpha$ -пинена удовлетворительно объясняется в рамках бирадикального механизма (Barwell, 1951; Gajewski, 2002), включающего разрыв связи C2-C7 (схема 7) и обратимый 1,3-водородный сдвиг в аллильном фрагменте. Для получения дополнительных сведений о механизме реакции мы изучили пиролиз оптически активного  $\alpha$ -пинена 7а в лимонен 4с (400° С в атмосфере N<sub>2</sub>).

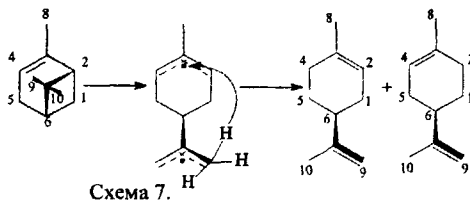


Схема 7.

Сохранение основных черт «изотопного портрета» молекулы терпена (рис. 11) доказывает, что реакция протекает без раскрытия шестичленного цикла. Как следствие аллильной перегруппировки наблюдается тенденция к выравниванию содержания дейтерия в положениях при C1 и C5, а также C2 и

C4. Однако распределение дейтерия во фрагменте C2-C4 лимонена не соответствует простому усреднению его содержания в аналогичном фрагменте исходного пинена

(например, количество дейтерия при C2 (0.55) в 4с меньше среднего количества дейтерия при C2 и C4 в 7а (0.63)). Этот факт свидетельствует о возможности образования лимонена также по концертному механизму, т.е. без участия 1,3-водородного сдвига.

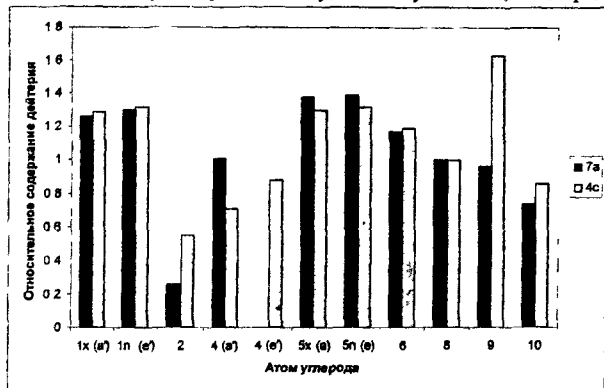


Рис. 11. Диаграмма селективного распределения дейтерия в молекулах  $\alpha$ -пинена 7а и лимонена 4с (х-экзо, п-эндо, а – аксиальный, е – экваториальный, а' – псевдоаксиальный, е' – псевдоэкваториальный).

Содержания  $^2\text{H}$  в двух положениях при углероде C4 продукта значительно различаются. Атомы водорода H4a'

«хранят память» об изотопном составе аллильной группы  $\alpha$ -пинена. Происхождение атомов H4e' и, соответственно, количество в них дейтерия связано с 1,5-водородным сдвигом (схема 7) в интермедиате с псевдо-аксиальной ориентацией диметикарбенильного радикала. Перенос водорода сопровождается кинетическим эффектом, который приводит к обогащению метильной группы при C9 и обеднению положения H4e'.

Возможность такого процесса мы проанализировали с использованием программы ПРИРОДА-04. Как в синглетном, так и в триплетном состояниях бирадикал дипентена может существовать в конформации полукресла с псевдо-аксиальной ориентацией диметикарбенильной группы. В «аллильном» фрагменте электронная спиновая плотность делокализована и распределена симметрично на атомах C2 и C4 (0.68 по Малликену), что и определяет равнозначность реакционной активности этих центров. Профиль потенциальной поверхности бирадикала способствует отрыву протона метильной группы (рис. 12) и его последующему присоединению к одному из атомов C2 и C4 ( $r(\text{C4-H9}) = 2.16 \text{ \AA}$ ) с образованием дипентена. Для синглетного состояния переход протона протекает без энергетического барьера, для триплетного состояния он осуществляется со значительной энергией активации ( $\Delta E^\ddagger = 17.5 \text{ ккал/моль}$ ).

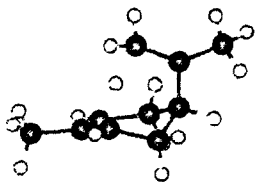


Рис. 12. Структура переходного состояния, соответствующего 1,5-гидридному сдвигу в реакции пиролиза  $\alpha$ -пинена, рассчитанная методом функционала плотности.

Результаты изотопного анализа и квантово-химического расчета позволяют выявить тонкие особенности радикального механизма термической изомеризации  $\alpha$ -пинена в дипентен и роль в ней 1,3- и 1,5- водородных сдвигов.

### 3.2.3. Окисление $\alpha$ -пинена и бромирование камфоры

Нами были изучено окисление  $\alpha$ -пинена раствором  $\text{KMnO}_4$  в водном ацетоне до 3-

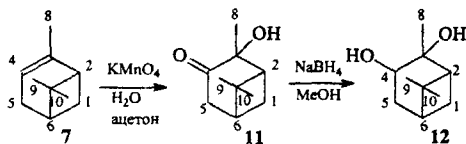


Схема 8.

гидроксипинанона-4 11 и его последующее восстановление до 3,4-пинандиола 12 (схема 8). Найдено, что количество дейтерия во всех общих фрагментах молекул, за исключением реакционного центра при С4, при образовании кетона, а затем диола сохраняется. Этот факт показывает, что эти реакции протекают региоселективно без скелетных перестроек. Образование новой связи С-Н в диоле при С4, происходящее при восстановлении карбонильной группы, приводит к резкому понижению содержания дейтерия в этом положении. Изучение «Н/Д-изотопных портретов» показало, что также региоселективно без трансформации

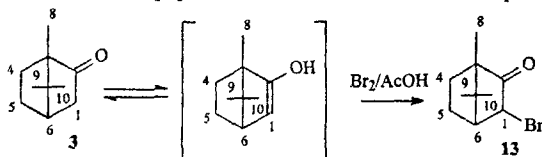


Схема 9.

углеродного остова протекает и реакция бромирования камфоры до 1-эндо-бромкамфоры 13 (схема 9). Вследствие потери атома водорода на стадии енолизации при бромировании камфоры происходит обогатнение дейтерием положения при С1. Проявление этого изотопного эффекта в спектре ЯМР  $^2\text{H}$  свидетельствует о том, что процесс на этой стадии (кето-енольное равновесие) носит обратимый характер.

Рассмотренные примеры дают убедительное подтверждение тому, что «Н/Д-изотопные портреты» молекул четко отражают характер структурных преобразований (или отсутствие таковых) и позволяют их проследить в цепи последовательных реакций.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана методика регистрации и расшифровки спектров ЯМР  $^2\text{H}$  с использованием итерационного анализа полной формы линии на природном содержании изотопа, позволяющая почти на порядок увеличить точность определения абсолютного содержания дейтерия и его относительного распределения по структурно неэквивалентным положениям в молекулах в органических соединениях.
2. Получены «H/D-изотопные портреты» нескольких серий органических соединений синтетического и природного происхождения, демонстрирующие специфические особенности неравномерности внутримолекулярного распределения дейтерия и его существенные отклонения от среднестатистического.
3. Показано, что «H/D-изотопные портреты» терпенов и терпеноидов дают основу для дискриминации путей их биосинтеза. Установлено, что биосинтез изученных монотерпеноидов осуществляется в растениях по общему ДХР-механизму, а не по классической схеме через мевалоновую кислоту
4. Показано, что спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  является эффективным инструментом при исследовании химических превращений природных соединений, дающим в совокупности с квантово-химическими расчетами высокого уровня возможность получения детальной картины протекающих процессов.
5. Разработана методика измерения абсолютного содержания и относительного распределения дейтерия в этанолах синтетического и растительного происхождения, позволяющая надежно установить тип сырья, из которого был получен этанол
6. Впервые обнаружена селективность распределения  $^2\text{H}$ , обусловленная термодинамическими изотопными эффектами в молекулах, в которых наблюдаются внутримолекулярные перегруппировки (циклопентадиен, инден) и заторможенное внутреннее вращение (амиды карбоновых кислот).
7. Впервые проведена точная экспериментальная оценка ядерного эффекта Оверхаузера  $^2\text{H}$ - $\{^1\text{H}\}$ . Установлено, что применение развязки от протонов в спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$  не приводит к искажению результатов при количественном анализе.
8. Исследованы температурные зависимости времен релаксации  $T_1$  для серии органических молекул и показано, что имеется потенциальная возможность значительного сужения линий в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$  при повышении температуры.
9. Разработан метод прецизионного определения КССВ  $^1\text{H}$ - $^2\text{H}$  в спектрах ЯМР  $^2\text{H}$ , открывающий возможность измерения констант  $J(^1\text{H}$ - $^1\text{H})$  в вырожденных системах.

**Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:**

1. В.А. Рознятовский, С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, Д.Н. Лайков, Ю.А. Устынюк. «Количественная спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$ . Сообщение 1. Термодинамические Н/Д изотопные эффекты в молекулах N,N-диметилформамида и циклопентадиена» // Изв. Ан. Сер. хим., 2003, №3, 530.
2. С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, В.А. Рознятовский, Н.М. Сергеев, В.Н. Торочешников, Ю.А. Устынюк «Изучение селективного распределения дейтерия в терпенах и терпеноидах с помощью ЯМР» // Структура и динамика молекулярных систем, Уфа, 2002, IX (1), 130.
3. С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, В.А. Рознятовский, Ю.А. Устынюк, А.В. Кучин, И.Н. Алексеев, Л.Л. Фролова. «Количественная спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$ . Сообщение 2. «Н/Д-Изотопные портреты» циклических монотерпенов и дискриминация их биосинтетических путей» // Изв. Ан. Сер. хим., 2005, №5, 1222.
4. V.A. Roznyatovsky, V.N. Torocheshnikov, Yu.A. Ustyniuk, Yu.K. Grishin, S.M. Gerdov. «NMR Analysis of Selective Deuterium Distribution in Naturally Occuring Compounds: A Method for Biological Origin Determination» // Abstracts of Humboldtian Conference «Biomedical Science 2001», Moscow, November 19-20, 2001, P. 26.
5. С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, В.А. Рознятовский, Ю.А. Устынюк. «Исследование термодинамического дейтерного изотопного эффекта в стереохимически нежестких молекулах методом ЯМР на природном содержании изотопа  $^2\text{H}$ » // Тезисы докладов на VI Международном семинаре по магнитному резонансу, Ростов-на-Дону, 8-11 октября, 2002, 181.
6. С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, В.А. Рознятовский, Ю.А. Устынюк. «Изучение равновесного Н/Д-изотопного эффекта в метилацетамидах методом ЯМР  $^2\text{H}$ » // Тезисы докладов на X всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем», Яльчик, 30 июня - 5 июля, 2003, 79.
7. Ю.К. Гришин, С.М. Гердов, В.Н. Торочешников, В.А. Рознятовский, Н.М. Сергеев, Ю.А. Устынюк. «Количественная спектроскопия ЯМР на ядрах дейтерия. Теоретические и прикладные аспекты» // Тезисы докладов на X всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем», Яльчик, 30 июня - 5 июля, 2003, 87.
8. S.M. Gerdov, Yu.K. Grishin, V.A. Roznyatovsky, Yu.A. Ustyniuk, A.V. Kuchin, A.N. Alexeev, L.L. Frolova. «Unusual Deuterium Distribution in Monoterpenoids on the Evidence of NMR Spectroscopy at the Natural Abundance Level of  $^2\text{H}$ » // Abstracts of II International Conference on New Techniques and Applications of Modern Physical Chemical Methods for Environmental Studies, Rostov-on-Don, September 15-21, 2003, 170.
9. S.M. Gerdov, Yu.K. Grishin, V.A. Roznyatovsky, N.M. Sergeyev, N.D. Sergeyeva. «Nuclear Overhauser Effect  $^2\text{H}$  -  $\{^1\text{H}\}$ » // Abstracts of 19<sup>th</sup> Central Europe NMR Discussing Group, Valtice, Czech Republic, April 19-21, 2004, 14.
10. С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, В.А. Рознятовский, Ю.А. Устынюк, А.В. Кучин, И.Н. Алексеев. «Исследование распределения дейтерия в алициклических соединениях методом количественной спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$ » // Тезисы докладов на конференции «Перспективы развития химии и практического применения алициклических соединений», Самара, 1-4 июня, 2004, 107.
11. N.M. Seregyev, S.M. Gerdov, Yu.K. Grishin, V.A. Roznyatovsky. « $^2\text{H}$  NMR Spectroscopy at Higher Temperatures as a Valuable Addition to NMR  $^1\text{H}$  Spectroscopy» //

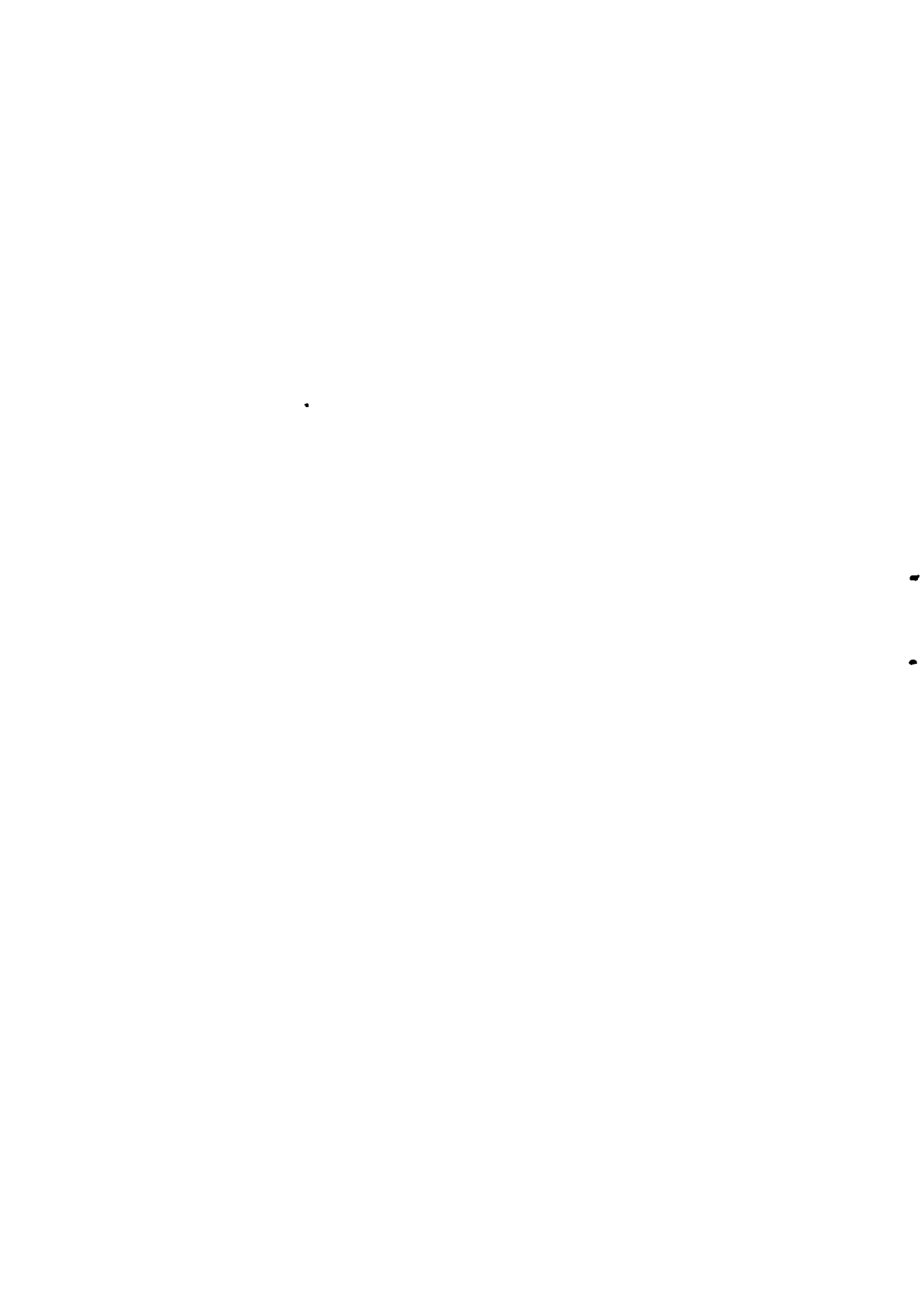
Abstracts of International Symposium «Nuclear Magnetic Resonance in Condensed Matter», Saint Petersburg, July 12-16, 2004, 36.

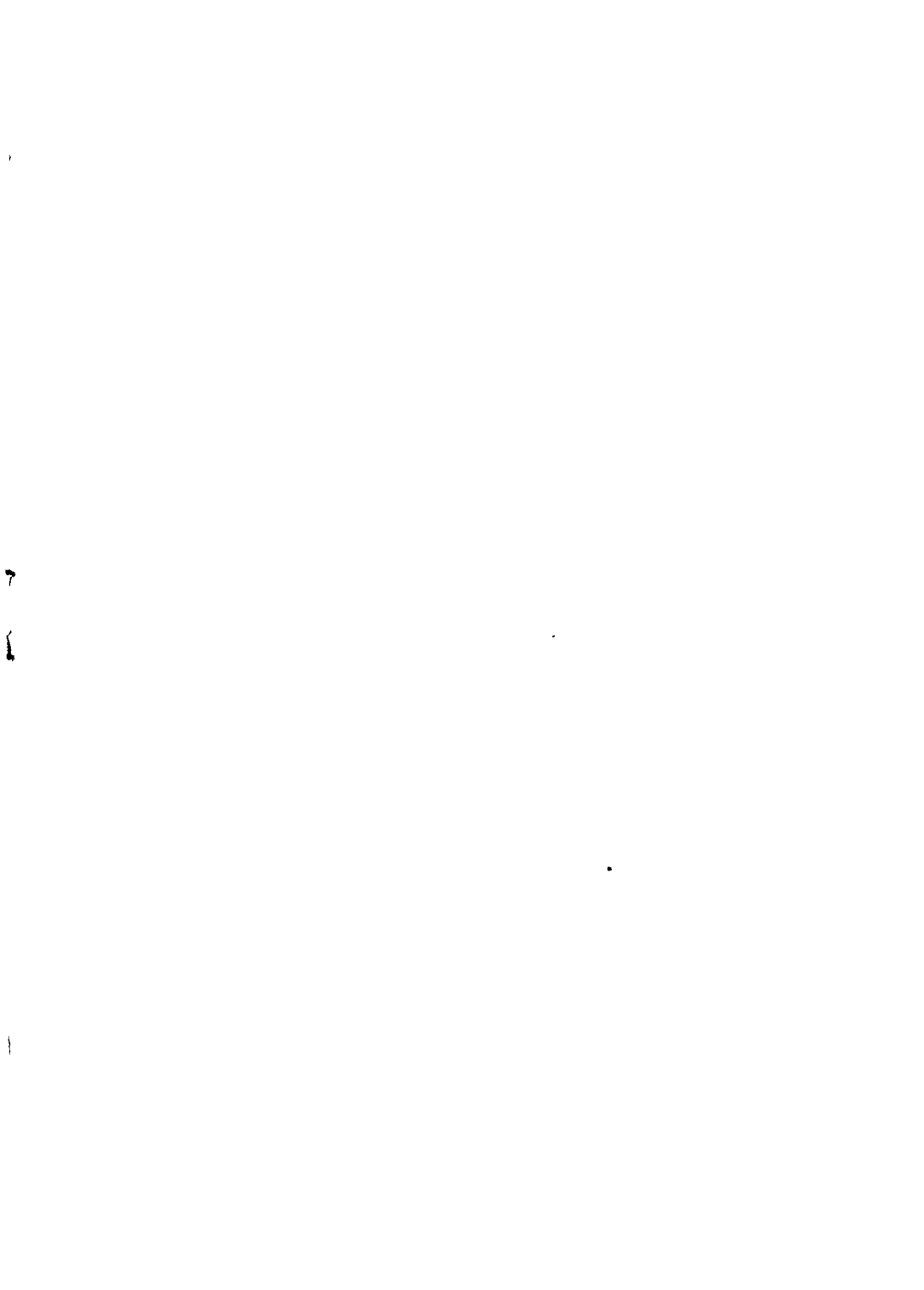
12. А.В. Кучин, Л.Л. Фролова, И.Н. Алексеев, С.М. Гердов, Ю.К. Гришин, Ю.А. Устьшюк. «Синтез энантимерно чистых монотерпеноидов и исследование распределения дейтерия в них методом количественной спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$ » // Тезисы докладов на III всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ», Саратов, 7-10 сентября, 2004, 51.



Подписано в печать *20.03.* 2006 года. Заказ № *10* .  
Формат 60x90/16. Усл. печ. л. *1,5* . Тираж *100* экз.

Отпечатано на ризографе в отделе оперативной печати и информации  
Химического факультета МГУ.





2006A  
6238

№ - 6238