

非灵敏核 ^{13}C 的核磁检测技术

►王立霞 向俊锋

(怀柔研究中心核磁共振系统 Email: wlx8825@iccas.ac.cn)

碳元素广泛存在于有机化合物中， ^{13}C 的核磁检测在科学研究中是非常重要的原子级结构表征手段。碳的核磁共振波谱只能检测 ^{13}C 原子核,但 ^{13}C 核是碳元素天然丰度含量仅为 1.1%的一种磁性核。它的旋磁比 γ 为 $6.73 \text{ radT}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，约是 ^1H 的 1/4。磁性核的灵敏度与 γ^3 成正比，如果考虑同位素的天然丰度，理论上 ^{13}C 的灵敏度要比 ^1H 低 6400 倍。

为了提高 ^{13}C 核磁检测的灵敏度，一方面发展硬件，比如提升磁场强度、降低检测线圈温度、开发正向探头等；另一方面是发展磁化矢量转移增强技术，将高灵敏度的 ^1H 的磁化矢量转移到非灵敏核 ^{13}C 上，比如 NOE 增强（可见于质子宽带去偶即常规一维碳谱）、以及极化转移增强（可见于 DEPT 谱）等。硬件的更新迭代，再联合技术的不断升级，已使 ^{13}C 的检测灵敏度得到了极大程度地提升。如表 1 所示，化学所拥有的 700 兆与 800 兆液体核磁谱仪在 ^{13}C 核的检测能力上有显著的优势。尤其是 800 兆谱仪， ^{13}C 检测的灵敏度指标现居于国内首位。

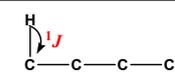
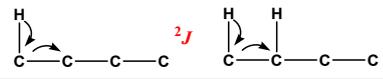
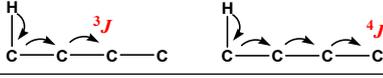
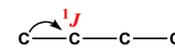
表 1、化学所 800 兆液体及 700 兆液体核磁谱仪的实测灵敏度指标

谱仪	探头	实测灵敏度	
		^1H (0.1% EB)	^{13}C (ASTM)
800 MHz	C-H-D	4900	4700
	BB-H&F-D	4500	3500
700 MHz	BB-H&F-D	4900	2700

^{13}C 检测的灵敏度提升，意味着采样时间的缩短或样品浓度降低，可显著提升测试效率。所内用户对样品中碳原子的连接关系进行解析时，可根据要解决的实际结构问题选择合适的 ^{13}C 检测技术。表 2 中列举了常规的系列 ^{13}C 检测技术及其可解决的结构问题。

表 2、 ^{13}C 检测技术及测试内容

^{13}C -检测的核磁技术	测试内容	结构解析应用
--------------------------	------	--------

1D ^{13}C , DEPT(45/90/135)	^{13}C 、 ^{13}C 种类	定性, 定量, CH、CH ₂ 、CH ₃ 、C(季)
2D HSQC/HMQC	^{13}C - ^1H 直接相关	
2D H2BC/ADEQUATE-1,1	$^{13}\text{C}(\text{H})$ -C- ^1H	
2D HMBC/ADEQUATE-1,n	$^{13}\text{C}(\text{H})$ -C _{n-1} - ^1H	
2D INADEQUATE	^{13}C - ^{13}C 直接相关	

本文着重介绍表 2 中的几个反向检测的二维技术。反向检测技术是通过检测高灵敏度的核（通常为 ^1H ），来研究低灵敏度的核（如 ^{13}C 、 ^{15}N ）。非灵敏核极化转移增强（INEPT, Inensitive Nuclei Enhance by Polarization Transfer）是反向检测技术中的关键组成部分，高灵敏度核的磁化矢量会通过极化转移的方式传递给低灵敏度核，使其信号强度显著提升。如图 1 所示^[1]， ^1H 共振($\alpha\beta \rightarrow \alpha\alpha$ 和 $\beta\beta \rightarrow \alpha\beta$)的玻尔兹曼分布比 ^{13}C 共振($\beta\beta \rightarrow \alpha\beta$ 和 $\alpha\beta \rightarrow \alpha\alpha$)的强，若对 ^1H 施加一个选择性 180° 度脉冲，使 ^1H 的两个能级 $\alpha\beta$ 与 $\alpha\alpha$ 互换。这样，把高灵敏核 ^1H 不同能级上较大的布局数差异，就转化给了低灵敏核 ^{13}C 。 ^{13}C 能级差显著增大，能级 $\beta\beta$ 到 $\beta\alpha$ 为正(吸收)，能级 $\alpha\beta$ 到 $\alpha\alpha$ 为负(发射)。

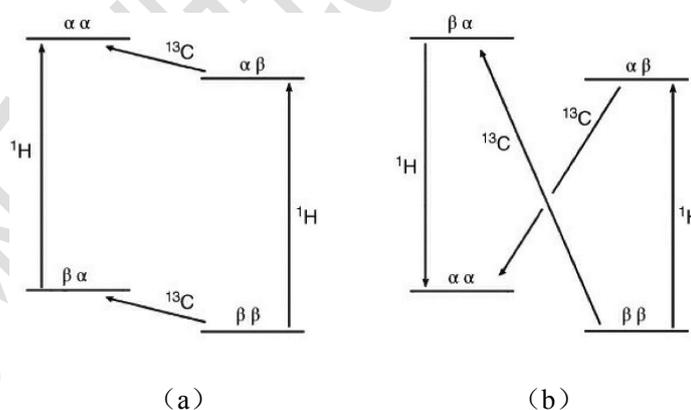


图 1、(a)正常和(b)施加 INEPT 脉冲序列后双自旋(^{13}C - ^1H)体系的自旋状态。

INEPT 实验可获得的最大增强强度与 $|\gamma_{irr} / \gamma_{obs}|$ 成正比。对于 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ，INEPT 增加的最大强度($I/I_0=1+\eta_{max}$)是 3.98，NOE 是 2.99。当不灵敏核的旋磁比为负值时,INEPT 的优势更大,因为 NOE 的增强表达中有负因子。如对于 $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ ，INEPT 和 NOE 因子分别为 9.87 和-3.94； $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ 分别为 5.03 和-1.52； $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$ 是 2.68 和-0.34。显然在各种情况下 INEPT 都更有效，总是为正。

1. 异核单量子相关 HSQC 技术 (Heteronuclear Single-Quantum Correlation)

异核单量子相关 HSQC 技术通过多量子过滤或磁场梯度抑制不直接与 ^{13}C 相连的 ^1H , 以及所有与 ^{12}C 相连 ^1H 的信号。它只显示 C-H 单键直接相关峰, 季碳不出峰。如图 1 所示的案例^[2], 是用 HSQC 技术检测极其不稳定的苜基碳正离子, 为痕量、亚稳态物种的检测提供了新思路。

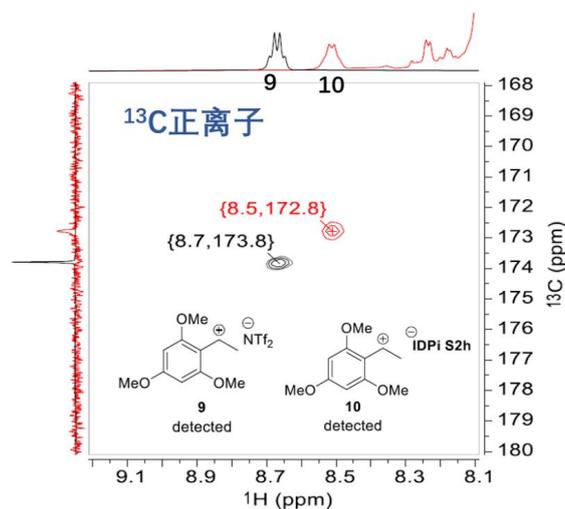


图 2、2D ^1H - ^{13}C HSQC 案例。

2. 异核多键相关 HMBC 技术 (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

与 HSQC 技术不同, 异核多键相关 HMBC 旨在提供质子与碳 (或氮) 等异核之间的远程相关, 可用于检测所有类型的碳核 (包括季碳), 可提供 2~5 键的耦合信息。如图 2 的案例^[3]所示, 可通过 HMBC 技术解析出烯烃或羧基碳 (季碳) 共价相连的不同距离的质子位点, 非常适用于混合体系中化合物官能团原子连接关系的指认。

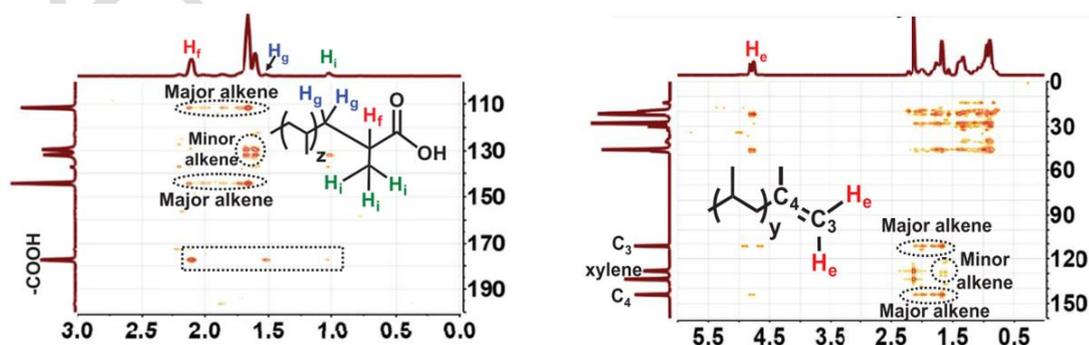


图 3、2D ^1H - ^{13}C HMBC 案例。

3.天然丰度双量子转移实验 ADEQUATE-1,1(Abundance Double Quantum Transfer Experiment, 测量双键耦合)

^{13}C - ^{13}C 天然丰度双量子转移 ADEQUATE 技术是通过自旋系统的双量子跃迁确定 ^{13}C - ^{13}C 自旋-自旋的连接^[4]。但 ^{13}C 的低天然丰度 (1.1%) 使两个 ^{13}C 原子核通过一个或多个键相互连接的概率约为 0.01%，直接检测耗时非常长。为了提升 ^{13}C - ^{13}C 自旋-自旋的检测灵敏度，因此 ADEQUATE 技术利用了反向检测的策略。其中，ADEQUATE-1,1 是精准检测 C-C-H 两键的技术，与 HSQC 技术互补使用，就可以获取 C-H、C-C、C-C-H 耦合信息，非常有利于未知含碳骨架的二维结构的解析。如图 3 所示，可以从一个碳峰出发，找到两键连接的质子位点；反之，也可以从一个质子出发找到两键连接的碳位点。

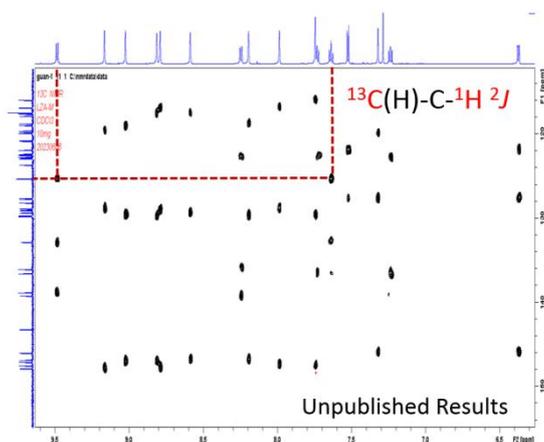


图 4、2D ^1H - ^{13}C ADEQUATE-1,1 案例 (800 兆核磁数据)。

高场液体核磁谱仪的高灵敏度和高分辨率赋予了谱仪非常强大的结构解析优势，可有效开展低浓度、低溶解度、高分子端基等微量目标物质或复杂体系的表征与捕获。还可实现微量中间产物的核磁信号捕捉，为种类繁多化学体系动态机制的研究提供切实有效的数据支持。

参考文献:

1. 向俊锋, 周秋菊等译《核磁共振波谱学—原理、应用和实验方法导论》, 2021, 化学工业出版社。
2. Singh, V.K., et al., Taming Secondary Benzylic Cations in Catalytic Asymmetric $\text{S}_{\text{N}}1$ Reactions, *Science*, 2023, 382(6668), 325.

3. Xu, Z., et al., Chemical Upcycling of Polyethylene, Polypropylene, and Mixtures to High-Value Surfactants, *Science*, **2023**, 381(6658), 666.
4. Bax, A., et al., Natural Abundance C-13-C-13 Coupling Observed via Double-Quantum Coherence, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102(14), 4849.

致谢:

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!

分析测试中心 编制