

새로운 분석법으로서의 2D NMR 분광법에 관한 이론적 배경 및 고찰

김택제 · 정민환 · 이강봉
한국과학기술연구원 화학부

요 약 : 분자구조, 동력학, 그리고 분자들의 화학반응에 관한 정확한 지식은 분자들의 기능과 성질을 이해하는데 중요한 정보를 제공한다. 2D NMR 분광법의 개발은 용액상의 분자들에 관한 이러한 의문을 해결하는 데 결정적인 역할을 하게 되었다. 그동안 아주 다양한 NMR 기술들이 개발되어 왔으며 현재 그들에 대한 이용이 활발하게 진행되고 있다. 그러나 성공적인 2D NMR 분광법의 적용을 위해서는 적당한 기계뿐만 아니라 실험실의 정확한 선택 및 최적 조건의 변수들을 선택해야 하며 스펙트럼의 세밀하고도 정확한 해석을 필요로 한다.

곱연산자 방식(product operator formalism)의 도입은 펄스 FT NMR 분광학을 정성, 정량적으로 이해하도록 하는 것을 가능케 했으며, 이번 해설은 연속적으로 주어지는 펄스의 이해를 위해서 필요로 하는 상의 순환(phase cycle) 및 곱연산자 방식을 이용하여 다양한 2D NMR 기술의 이해를 돋고, 분석기기로서 2D NMR 분광법이 널리 사용 및 활용되어지고자 하는 데 목적이 있다.

1. 서 문

NMR 분광학은 2D기술의 도입으로 가히 혁명적인 발전을 해왔다.^{1~3} 비록 이러한 주제를 가지고 국외에서 많은 해설서들이 발표되어 왔지만^{2,4~23}, 국내에서도 전반적인 2D 기술의 해설로서 NMR을 분석기기로 사용코자 하는 독자들을 위해 보다 깊은 이해를 도와야 할 필요성이 지대해졌다. 따라서, 4회에 걸쳐서 곱연산자 방식을^{24~27} 이용하여 NMR에 관한 전문가가 아니라고 할지라도 쉽게 2D 기술을 이용하고 응용할 수 있도록 하고자 하는 데 본 해설의 목적이 있다. 곱연산자방식은 NMR 분광법의 아주 어렵고 복잡한 문제들을 양자역학적 처리 방식에 의하지 않고도 정성, 정량적으로 이해되어질 수 있으며, 특히 약하게 커플링(coupling)되어지는 스핀계에서 간단한 몇 가지 법칙의 적용으로 연속 펄스의 영향하에 있는 스핀계의 행동방식을 아주 잘 설명해 준다. 또한, 2D NMR에 관한 전문가가 아니라고 할지라도 NMR실험을 이해하고 적용시킬 수 있다.

NMR실험에서 상순환(phase cycles)의 이해는 곱연산자의 이해와 함께 필수적이라고 할 수 있다. 상순환은 다단계 펄스(multipulse) 실험에서 원하지 않는 시그널의 생성을 막아 준다. 따라서, "coherence order"^{28~32} 뿐만 아니라 상순환의 개념이 도입되고 해설되어질 것이다.

이번 해설서를 쓰는 또 다른 이유는 다양한 NMR 실험의 적용으로 축적되어 온 경험과 그 경험을 바탕으로 한 기술의 이점과 단점의 많은 이해를 가져왔다. 예를 들면, 초기 2D NMR 실험에서 중요한 역할을 해왔던 J-resolved^{2,33~35} 및 spin echo correlated^{36~38} 분광법들은 특별한 경우를 제외하고는 별로 사용되지 않고 있다.

여기서 우리는 몇 가지 다른 2D NMR 기술들을 선택적으로 기술하려고 한다. 약 500 가지가 넘는 연속 펄스법들이 그동안 개발되어져 왔지만, 그들의 극히 일부만이 오늘날 인지되어지고 이해되어져 왔으며, 실제로 사용되어지고 있다. 분자의 구조와 동력학, NMR 파라미터들을 정량적으로 측정하기 위한 좋은 실험법들

이 요즘 이용이 가능하다. 더군다나 감도가 낮은 핵들에 관한 NMR 실험 등을 Inverse 기술의 적용으로 거대 분자에서 조차도 연구가 가능해지고 있다^{39~54}.

우리는 여기서 NMR에 관한 사전 지식이 부족한 독자들도 이해할 수 있도록 쓰려고 하였음을 밝혀 두고자 한다.

2. 배경

NMR은 어떤 핵의 자기 모멘트와 외부 자기장과의 인력을 다루는 분광법이다. 핵의 자기 모멘트가 존재하는 핵 스핀, S와 관련되어진다. 이번 해설서에서 기술되어지는 NMR 분광법은 주로 S=1/2로서 사중극자 모멘트가 없으며, 따라서 아주 가는 스펙트럼선을 주는 핵에 관한 것을 주로 취급하려고 한다. 유기화학자 및 생화학자들의 주로 관심 대상이 되는 핵인 H, C, N 및 P는 S=1/2인 핵들이며 여기서 C 및 N은 자연존재 비가 아주 적은 핵들이다. 유기화합물에서 가장 풍부하고 가장 큰 핵자기 모멘트를 가지고 있는 수소가 연구하기에 가장 좋으며, 간단한 핵이다. 그러나 아주 희귀한 핵의 NMR 분광법은 무기화학이나 유기금속화학에서 아주 중요하며, 지속적으로 그 중요성이 증대되어지고 있다.

2-1. 1차원 NMR 분광법

2D NMR 스펙트럼을 기록하는 데 일반적으로 요즘 사용되어지는 방법은 '91 Nobel 화학상 수상자인 R. Ernst에 의해 도입된 포리어(Fourier) 기술이다^{55~57}. 이러한 1-D 기술의 원리가 2D NMR 분광법의 기초가 되므로, 1-D의 원리를 가지고 기술을 시작하고자 한다. 스핀(S=1/2)을 소유한 핵은 외부자장 B_0 와 같은 방향을 갖거나 혹은 반대 방향을 갖도록 놓여지며, 이러한 두 상태의 스핀을 각각 α 및 β 스핀으로서, 외부자기장과 같은 방향의 스핀 상태의 핵(α 스핀)은 반대 방향의 스핀(β 스핀) 상태에 있는 핵보다 더 낮은 에너지를 가지고 있다. 그러므로 α -상태의 스핀 분포가 β -상태의 스핀 분포보다 더 많이 존재하며 이는 불쓰만 분포식에 따른다. 따라서 외부자기장, B_0 와 같은 방향으로 위치하게 되는 스핀의 전체적인 자기 모멘트는 이러한 분포의 차이에 기인한다고 할 수 있다. 또한 전체적인 자기장은 Bloch 방정식에 의해 표현되어질 수 있

다. 보통의 관습에 따라 소위 회전 좌표계(rotating-frame coordinate system)가 macroscopic magnetization을 기술하는 데 사용된다. 좌표계는 B_0 장과 같은 방향으로 놓여 있는 z축에 관하여 회전하며 회전 좌표계의 rf는 "carrier frequency" ω_0 의 속도로 세차운동한다.

펄스는 $B_1 \cos \omega_0 t$ 의 순간적인 고주파진동 자기장이다. 왜냐하면 자기장은 펄스 동안 B_0 축에 관하여 세차운동하기 때문에 아주 복잡한 운동을 낳는다. 이러한 복잡한 운동과정은 자기장이 B_1 에 관하여 회전하는 것처럼 나타나는 $\omega_0 = \gamma B_0$ 에서 회전하는 좌표축에서 간단히 서술되어질 수 있다.

선편광 B_1 자기장(예. 오직 x-성분)은 두 개의 원편광 자기장으로 나누어질 수 있다[방정식 (1)]. 두 벡터들은 같은 진동수를 갖고 반대방향으로 회전한다. 회전좌표축(e'_x, e'_y)에서 우리는 방정식(2)를 얻는다.

$$\begin{aligned} B_1(t) = & B_1^0 \cos \omega_0 t e_x = 1/2 B_1^0 (\cos \omega_0 t e_x + \sin \omega_0 t e_y) \\ & + 1/2 B_1^0 (\cos \omega_0 t e_x - \sin \omega_0 t e_y) \end{aligned} \quad (1)$$

$$B'_1(t) = 1/2 B_1^0 e'_x + 1/2 B_1^0 (\cos 2\omega_0 t e'_x - \sin 2\omega_0 t e'_y) \quad (2)$$

Larmor 주파수의 두 배로 회전하는 주파수에서 방정식 (2)의 성분은 공명(resonance)조건에 부합되지 않으므로 무시되어질 수 있다. 오직 시간에 독립적인 항인 $1/2 B_1^0 e'_x$ 만이 고려되어진다. 그래서 Bloch 방정식은 오직 시간과 관계없는 자기장을 포함하며 쉽게 풀어진다. 정적인 자기장(B_0 및 B_1)은 대응하는 축(x 및 z)에 관하여 자기장이 회전을 하게 한다. 자기장은 B_1 자기장의 지속시간(펄스 길이), 즉 펄스에 의한 자기장의 회전각도만큼 회전하게 된다. 그러므로 펄스는 B_1 자기장의 지속시간이나 자기강도보다는 B_1 자기장의 회전각도로 종종 언급된다.

펄스(pulse)는 x, y면의 특정 축에 관하여 특정 각도로 회전시키는 것으로 기술되어진다. 예를 들면, β 로 명명된 짧은 rf 펄스를 주면 z축으로부터 β 각도로 기울어져 y축에 관하여 magnetization이 세차운동할 것이다(방정식 3 및 Fig. 1).

$$M_z \xrightarrow{\beta} M_z \cos \beta + M_x \sin \beta \quad (3)$$

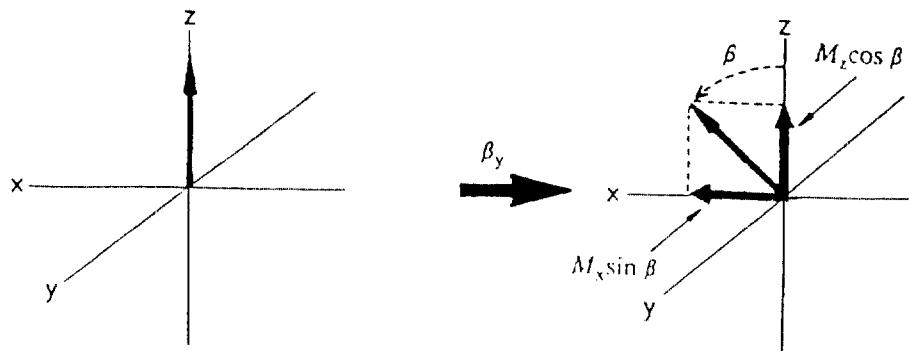


Fig. 1. 회전축의 y 방향에서 세로자기(longitudinal magnetization)에 관해 각도 β 의 공명 rf 펄스를 주었을 때의 효과.

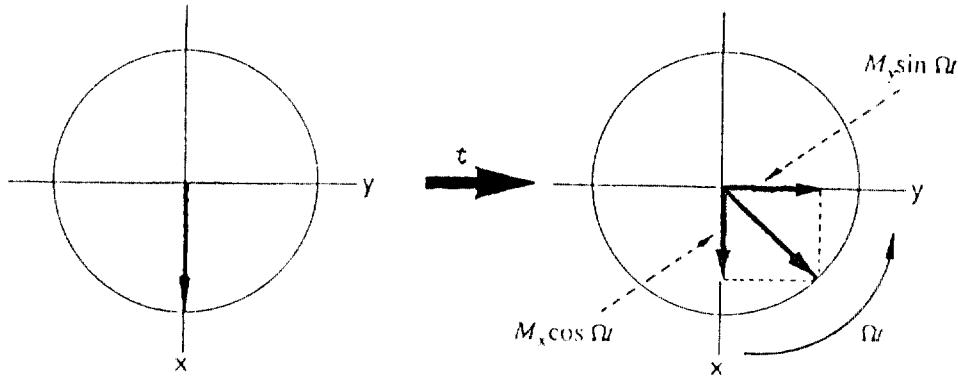


Fig. 2. 시간 t 동안 화학적 이동 Ω 의 전개과정(evolution). 회전축에서 x, y 평면을 직시했을 때의 모습을 보여 준다.

방정식 (3)은 M_z , magnetization이 β , 펄스의 영향으로 M_x , magnetization ($M_x \sin \beta$)과 z 축에 남아 있는 부분적인 M_z , magnetization($M_z \cos \beta$)로 나누어진다.

펄스를 주고 난 후 transverse magnetization, M_x 는 $\omega = \gamma \beta_{\text{eff}}$ 의 세차운동 주파수(precession frequency)에서 z 축에 관하여 세차운동한다. 다른 핵들의 화학적 이동은 β_{eff} 에 의해 나타난다. 같은 종류의 핵들은 모두 같은 γ 값을 가지며 거의 같은 β_{eff} 를 갖게 되며 그들의 세차운동 진동수는 거의 비슷한 범위내에 존재하게 된다. H의 이러한 세차운동 진동수는 각각의 화학적 이동에 따라 변화하게 된다(약 $10^{-5} \omega_0$ or 10 PPM). 회전 후에서 관측기(Detector) 또한 반송 주파수 ω_0 (Carrier frequency)로 z 축에 관하여 회전한다. 그러므로, 관측기는 오직 “차이 주파수”(difference frequencies, $\omega - \omega_0$)만을 감지할 수 있다. 그러므로 우리는 이러한 “차이 주파

수”(difference frequency)를 세차운동 혹은 화학적 이동(chemical shift)이라고 명명한다.

$$M_x \xrightarrow{\Omega t} M_x \cos \Omega t + M_y \sin \Omega t \quad (4)$$

세차운동 주파수 Ω 는 반송 주파수(carrier frequency) ω_0 와 라모주파수(Larmor frequency)와의 차이이며. 이것이 회전축에서 x 축상에 존재하는 관측기에 의해 NMR 시그널로서 기록되게 된다. 따라서, 주파수 Ω 에서 진동하는 시그널 $S(t)$ 가 얻어지며, 이를 소위 프리 인더션 디케이(Free Induction Decay, FID)라고 한다 (Fig. 4 참조).

프리어 변형(Fourier transformation)은 시간의 함수로서 진동하는 주파수를 주파수의 단위에 대응하는 시그널로 변형시켜 주는 수학적인 절차이다.

방정식 (4)의 함수 $\cos \Omega t$ 는 주파수 $\omega = \Omega$ 뿐만 아니라 $\omega = -\Omega$ 의 주파수도 포함하고 있지만 이러한 두 개의 다른 주파수를 구별하는 것은 불가능하므로 주어진 주파수의 부호를 아는 것이 바람직하다. 회전축에서 x, y magnetization이 감지되는 2차 관측 방식(Quadrature detection)은 관측된 주파수의 부호를 구별해 낼 수가 있다.^{59, 60} 시그널 $\cos \Omega t$ 는 방정식 (4)에서 x -magnetization, M_x 로부터 x -채널에서 관측이 되고 y -magnetization으로부터 y -채널(K_y)에서는 시그널 $\sin \Omega t$ 가 관측된다. 두 개의 시그널이 합해졌을 때인 $K_x + iK_y$ 는 $e^{i\Omega t}$ 의 형태가 얻어지게 되며 복수의 포리어 변형 후에 주파

수 $+\Omega$ 에서의 하나의 시그널이 얻어진다(사실은 주파수 $-\Omega$ 에서도 시그널이 얻어짐). 이러한 과정의 문제점은 두 개의 시그널을 동시에 관측해서 모아야 한다는 것이다. 레드필드(Redfield) 등에 의해 도입된 한 가지 트릭이 특정의 NMR 기종에서는 유통되어지고 있는데^{61, 62}, 시그널은 $+x$ 방향부터 시작하여 ($+x$), ($+y$), ($-x$), ($-y$) 방향으로 바꾸어 가며 관측한다(Fig. 3). 따라서, 시그널 리시버는 참가 주파수(Ω_R)의 회전 주파수에서 회전한다. 그때 기록된 시그널은 $\cos(\Omega + \Omega_R)t$ 가 되며 Ω_R 은 스펙트럼 넓이의 반($SW/2$)으로 정해진다(Fig. 3b). 포리어 변형 후에 스펙트럼은 포지티프

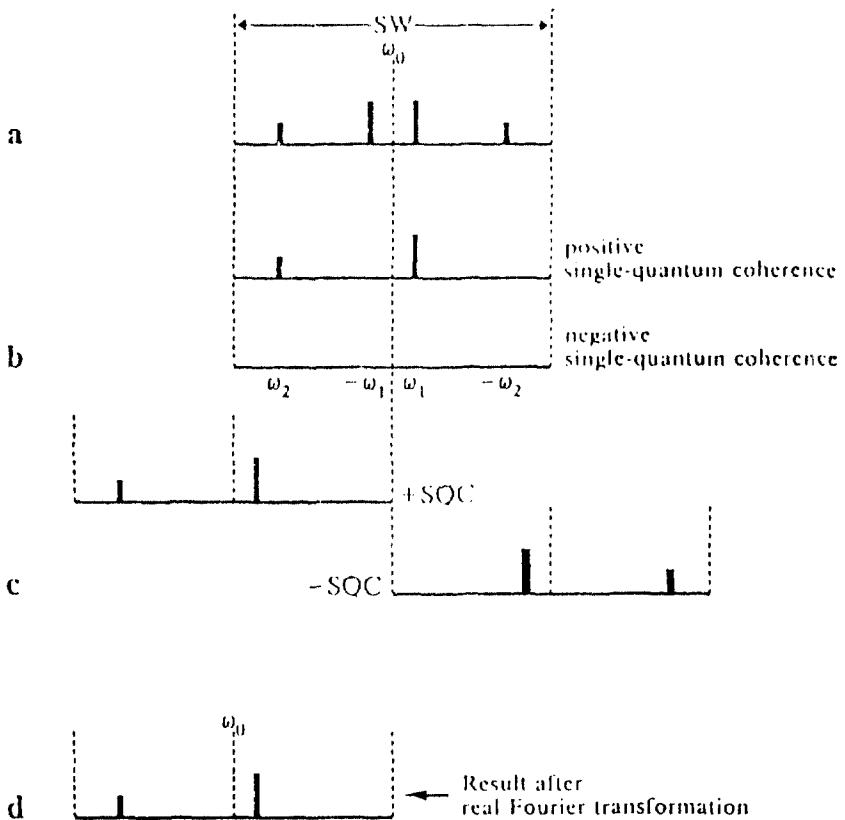


Fig. 3. “레드필드”(Redfield) 기술의 원리 (a) 복수 포리어 변형 후에 얻어진 단일경로감지(a single channel detection) 스펙트럼에서 +, 그리고 -주파수에서의 시그널들을 보여 주며, (b) +, 그리고 -주파수에서의 시그널이 서로 분리된 형태를 보여 주며, 이들은 positive와 negative single quantum coherence와 대응한다. (c) 회전축에서 수신기가 $\frac{SW}{2}$ 주파수에서 회전할 때 $\omega_1=0$ 에 관해 접힘현상 후에, 즉 실수 포리어 변형(real Fourier transformation) 후에 오직 포지티프 주파수를 포함하는 (d) 스펙트럼이 얻어진다.

주파수와 네거티브 주파수가 더 이상 겹치지 않는다(*Fig. 3c*). 마지막으로 스펙트럼은 $\Omega=0$ 에 관하여 접할 수 있으며 실수부분에 관한 포리어 변형만이 수행될 수 있다.

여기서 우리는 곱연산자 방식(product operator formalism)의 관점에서 NMR실험을 기술하고자 한다²⁴. 위에 서술된 벡터 방식과는 대조적으로 펄스를 주면 macroscopic magnetization은 회전하게 되며 화학적 이동에 의해 세차운동을 하게 됨에 따라, 스핀들의 전체 계는 density matrix에 의해 기술되어진다. 앞으로 짧게 서술될 양자역학적 서술 방식은 2D NMR실험을 이해하는 데 충분하리하고 보여진다^{63~67}.

열적 평형상태에서 어떤 계의 바닥상태는 z축에 놓여 있는 polarization, I_z 에 의해 기술되어진다. 이러한 상태는 magnetization, M_z 와 관련되어진다. y방향으로부터의 펄스(y-펄스)가 주어졌을 때 I_x, I_y, I_z 는 (3)~(5)의 방정식으로 바뀌어진다(그림 1을 보라)

$$I_x \xrightarrow{\beta I_y} I_x \cos\beta - I_z \sin\beta \quad (5)$$

$$I_y \xrightarrow{\beta I_z} I_y \cos\beta + I_x \sin\beta \quad (6)$$

$$I_z \xrightarrow{\beta I_y} I_z \cos\beta + I_x \sin\beta \quad (7)$$

카틴션 연산자들(I_x, I_y, I_z)은 어떤 회전이 이루어졌을 때 magnetization처럼 변형한다. 어떤 상태 I_x, I_y, I_z 의 성질들은 한 개의 연산자를 구성하는 간단한 곱연산자들로 직접 바뀌어질 수 있다. I_x 는 x-magnetization, I_y 는 y-magnetization, 그리고 I_z 는 z-magnetization과 관련되어진다. 방정식 (5)~(7)은 이번 해설서를 통하여 다른 심볼과 함께 설명이 먼저 되어져야 할 것이다. 스핀계의 출발 상태는 방정식의 왼쪽에 위치되며 오른쪽에 위치되는 스핀계는 “propagation” 이후의 상태이다. 즉 특정한 영향(펄스, 화학적이동 혹은 coupling)하에서 어떤 연산자의 전개과정(evolution)을 말한다. 화살표 위의 항은 헤밀톤 연산자(스핀과 외부자기장과의 인력을 나타냄)의 일부로서 헤밀톤 연산자는 어떤 계가 전개과정을 겪을 때 영향을 받게 된다.

(a) βI_{xy} 혹은 일반적으로 βI_φ 는 x축과 각도 φ 를 이루면서 x,y면에 존재하는 축과는 각도 φ 를 이루게 하는

펄스를 나타낸다.

- (b) ΩI_z 는 시간 t 동안 해 I 의 화학적 이동 Ω 의 전개과정(evolution)을 나타낸다.
- (c) $2\pi J I_x I_z t$ 는 시간 t 동안 해 I^1 과 I^2 사이의 짹지움(coupling)의 전개과정을 나타낸다.

방정식 (8)~(10)은 화학적 이동의 전개과정에 적용된다. 연산자들은 여기에서 magnetization처럼 행동한다. spin($S=1/2$)을 소유하는 한 개의 입자는 방식에 있어서 벡터 방식과 같은 형식으로 서술된다.

$$I_x \xrightarrow{\Omega I_z} I_x \cos\Omega t + I_y \sin\Omega t \quad (8)$$

$$I_y \xrightarrow{\Omega I_z} I_y \cos\Omega t - I_x \sin\Omega t \quad (9)$$

$$I_z \xrightarrow{\Omega I_z} I_z \quad (10)$$

y-magnetization의 관측은 I_x 의 계수인 $-\sin\Omega t$ (방정식 9)만큼 시그널이 변화된다는 것을 의미한다. 포리어 변형은 $\pm\Omega$ 주파수에서 한 개의 시그널을 주지만 현재의 모든 NMR분광기에 이용되는 2차원 관측기(Quadrature detection)는 오직 한 개의 주파수(+ Ω 혹은 $-\Omega$)만 선택해서 관측해 낼 수가 있다.

잠시 언급이 되었듯이 2차원 관측법(Quadrature detection)은 magnetization의 x성분과 대응하는 y성분에 허수를 의미하는 i를 곱하고 이를 더한 것을 의미한다($K_x + iK_y$). 이것은 복수 시그널 $e^{i\Omega t}$ 를 낳게 되며 이는 방정식 (11)~(13)에서 나타난 I⁺ 항의 관측(detection)에 대응한다.

$$I^+ = I_x + iI_y \quad (11)$$

$$I^- = I_x - iI_y \quad (12)$$

$$I_x \cos\Omega t + I_y \sin\Omega t = 1/2(I^+e^{i\Omega t} + I^-e^{-i\Omega t}) \quad (13)$$

*Fig. 4*는 한 개의 스핀계에 대한 1D NMR스펙트럼의 원리를 다시 요약하여 나타내 준다. 초기의 불쓰만 평형(Boltzmann equilibrium)에 있는 z-magnetization(스핀상태 I_z)으로 고주파 펄스를 주고 나면 가로 자기화(I_z 상태)를 가져온다. 소위 부합(coherence)이라고 불려지는 이러한 상태는 관측 시간 t 동안 전개과정을 겪

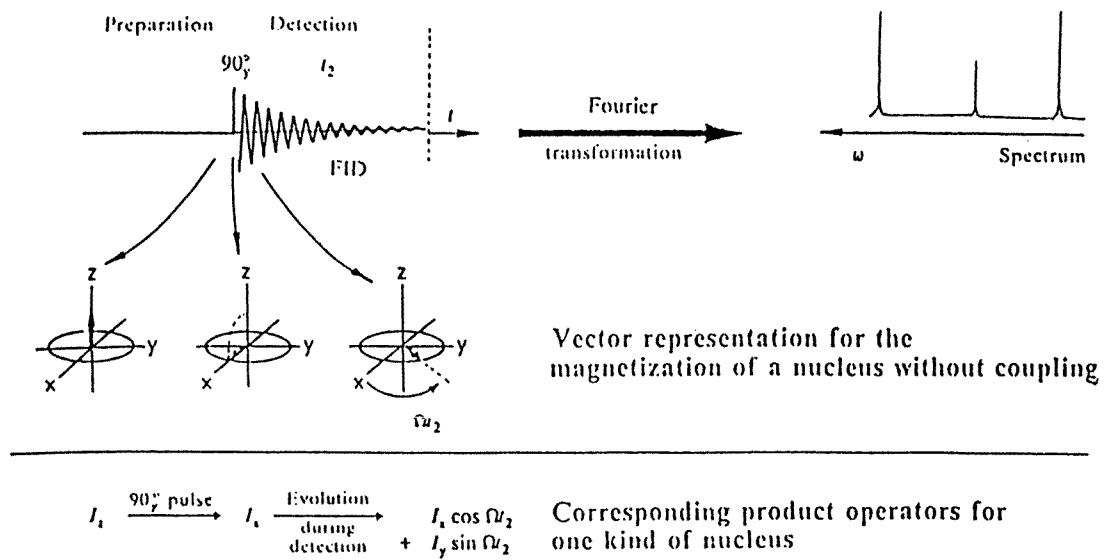


Fig. 4. 1-D NMR 분광학의 원리. 자기의 전개과정이 벡터 기술 방식과 곱연산자 방식으로 보여졌다.

게 된다. 시간에 따르는 이러한 시그널 강도의 변화는 receiver coil(수신기 코일)에서 유도된 시그널(가로자기화와 관련된 I_x, I_y)의 관측에 의해 관찰될 수 있다. 그래서, 곱연산자에 의해 나오게 되는 부합(coherence)은 그들 고유의 주파수에 있는 스펙트럼에서 나타나게 된다.

Coherence의 개념을 명확히 이해하는 것은 매우 중요하며 이 부분에 대한 충분한 이해가 2D NMR의 전개과정을 이해하는 데 매우 중요하리라고 본다. 각 에너지 준위에서 스핀수의 분포도와는 대조적으로 coherence는 다른 에너지 준위 사이의 전이를 말하며, 이러한 차이는 자기 양자수 m_z 에서의 변화인 Δm_z 로 표현 하며 이러한 Δm_z 는 상순환을 기술하는데 기본이 되는 “coherence order, P”이다. 일반적으로 coherence가 오직 연속적 펄스(pulse sequence) 내에서 펄스의 영향 하에서 일어난다고 하더라도 오직 펄스 수의 coherences 만이 $\Delta m_z = \pm 1$ (NMR 분광법의 선택규칙)인 관측될 수 있는 magnetization과 관련되어 있다. 소위 single quantum coherence는 오직 약한 짹지움(weak coupling) 조건하에서 즉 $\Delta m_z = \pm 1$ 의 조건에 부합되는 상태에서 관측이 가능하다. [한 개의 가로 연산자(transverse operator)를 포함하는 곱연산자].

마지막으로 기술적인 문제를 고려할 때 1D NMR 실험에서 유발 시그널은 연속적인 방식에서는 기록되어 지지 않는다. 수신 코일에 의해 관측된 시그널은 일정한 시간 간격(Δt)으로 채집되어지며(수평적 시간 채집, horizontal time digitization), ADC(analog-to-digital converter)에 의해 수직적으로 데이터가 채집되어진다. FID는 N개의 점으로 구성되어 얻어지며 $N \Delta t$ 가 데이터의 수집시간(acquisition time)이 된다. 수평적 digitization은 sampling theorem에 따라 가능하게 되는데, 이는 가능한 주파수의 범위가 샘플의 성격과 analog filter에 의해 스펙트럼의 범위(spectral width)가 제한되어져 있기 때문이다^{68~73}. 일정한 시간 간격에 따른 sampling은 2D NMR 분광학에서 기본이 되는 것인데, 이는 digital form에서 제2의 time scale의 정의를 가능하게 해주기 때문이다.

2-2. 2차원 NMR 분광법(2D NMR Spectroscopy)

2D NMR 실험의 연속 펄스는 일반적으로 다음의 4 가지 과정으로 나누어질 수 있다².

준비(preparation) – 전개(evolution, t_1) –
혼합(mixing) – 관측(detection, t_2)

관측시간 t_2 는 정확히 1D NMR 스펙트럼의 분광학의 감지시간과 같다. 시간 t_2 는 포리어 변형 후 2D NMR 스펙트럼의 ω_2 주파수축을 제공한다. 2D NMR 분광학의 특이점은 두 번째 시간 변수, 즉 전개시간 t_1 은 FID가 모아지는 block의 수가 증가함에 따라 점차로 길어지게 되며 각각 t_1 의 함수로서 FID가 t_2 에서 관측된다. 그래서 얻어진 시그널은 두 시간의 변수인, t_1 , 그리고 t_2 의 함수이다: $S(t_1, t_2)$. 일련의 ω_2 스펙트럼들은 각각의 FID를 푸리에 변형에 의해 얻어진다. 그들은 다른 t_1 증가분에 따른 각 시그널의 강도와 상에 따라 달라지게 된다. ω_2 축과 수직한 t_1 축에 관한 제2의 포리어 변형은 두 개의 주파수의 함수(ω_2 수평축, ω_1 수직축)인 스펙트럼을 가져온다.

2D NMR 분광법의 원리는 Fig. 5에서 H,C-COSY의 예를 가지고 나타내는데, 수소의 magnetazation(coherence)이 생기고 난 후 ^1H 과 ^{13}C 90°펄스에 의해 혼합시간 동안 연속적으로 수소의 magnetazation이 탄소의 magnetazation으로 전이된다. 이러한 전이의 정확한 메카니즘은 2.2.1에서 언급되어지게 될 것이다. 마지막 단계로서 탄소의 magnetazation이 관측되어지게 된다.

다시 한번 곱연산자(product operator)를 가지고 연

속 펄스를 사용하여 더욱 상세히 이러한 NMR 실험을 고려 해보자.

준비단계(preparation)가 끝난 후 90° 펄스를 주면 transverse magnetization, I_x (single-quantum coherence)가 평형상태의 magnetization으로부터 생겨나게 된다. 전개 시간(evolution time) t_1 동안 I_x 는 그것의 고유 주파수[방정식 (14)]에서 전개과정을 겪게 된다.

$$I_x \xrightarrow{\Omega_1 t_1 I_z} I_x \cos \Omega_1 t_1 + I_y \sin \Omega_1 t_1 \quad (14)$$

^1H 과 ^{13}C 에서 90° 펄스를 구성하는 혼합시간을 통하여 ^1H coherence는 ^{13}C coherence로 전이된다(즉 I_x 는 S_x 로 바뀌게 됨). S_x 는 고유 진동수 [방정식 (15)]에서 시간 t_2 동안 전개된다. 시간 t_2 후에 스펜계의 상태는 방정식 (16)에 의해 표현되어질 수 있다.

$$S_x \xrightarrow{\Omega_{st} S_z} S_x \cos \Omega_{st_2} + S_y \sin \Omega_{st_2} \quad (15)$$

$$\cos \Omega_1 t_1 (S_x \cos \Omega_{st_2} + S_y \sin \Omega_{st_2}) \quad (16)$$

따라서 시간 t_1 과 t_2 에서의 시간전개과정(time evol-

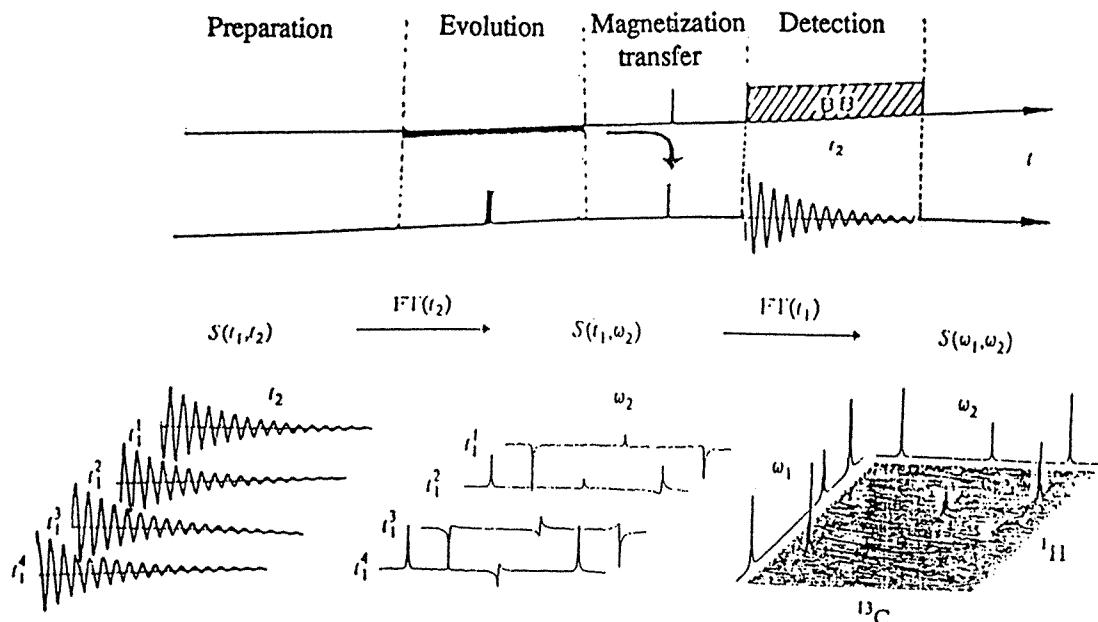


Fig. 5. H, C-COSY의 예를 가지고 2D NMR 분광학의 원리를 보여 준다. 시간 t 동안 ^1H magnetization의 전개과정을 반영하는 첫 번째 포리어 변형 후(가운데 아래 그림) ^{13}C 시그널의 강도 변화를 주목하라.

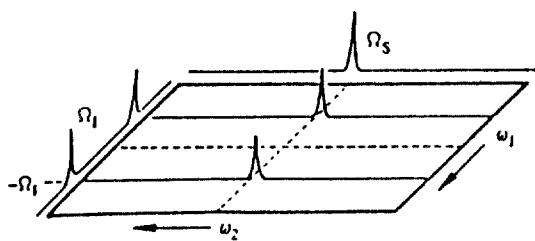


Fig. 6. 가상적인 2D NMR 스펙트럼에서 해 I와 S의 교차 시그날을 보여 주며, 가장자리의 스펙트럼을 축을 따라 나타나는 1D 스펙트럼을 보여 준다. ω_2 축은 레드휠드(Redfield) 기술이 사용되었다.

ution)을 기술하는 S 연산자의 계수는 고유 주파수 Ω_S 뿐만 아니라 I-스핀 주파수 Ω_I 를 포함하게 된다. 이것 이 때때로 "labeling"이라고 언급되어지며 S_{xy} 는 I주파수를 가지고 t_1 시간 동안 label된다. 2차원 관측법(Quadrature detection)은 방정식 (16)의 연산자조합을 복수 시그날[방정식 (17)]로 바꾼다.

$$\cos\Omega_I t_1 \exp[i\Omega_S t_2] \quad (17)$$

시간 t_1 과 t_2 의 함수인 이것은 포리어 변형을 통하여 주파수의 함수로 바뀌게 된다(ω_1 에서 $\pm\Omega_I$, 그리고 ω_2 에서 Ω_S). Fig. 6에서 보여준 것과 같은 스펙트럼이 얻어지게 된다. 2D NMR 스펙트럼에서 (Ω_I , Ω_S)에 일치 한 선은 시그날이 주파수 Ω_I 에 의해 t_1 에서 조율되고 주파수 Ω_S 에 의해 t_2 에서 조율되어질 때 나타나게 될 것이다. 2D NMR 스펙트럼은 coherence 과정에 대한 표현이며, 따라서 서로 상관된 coherence의 고유진동수에서 시그날이 나타나게 된다. 시그날의 크기는 혼합 과정의 효율성에 의해 결정되어지며, coherence의 전이 효율성은 한편으로는 스핀계의 성격에 따라 달라지며 (예: 분자의 구조적, 화학적, 동력학적 성질로서 NMR에 반응하는 핵의 성격을 반영) 또 다른 한편으로는 2D NMR 실험의 혼합과정에 의해 결정된다.

NMR 분광학에서는 coherence가 전이되는 데 효과를 미칠 수 있는 두 개의 스핀-스핀인력이 기본적으로 존재하며, 이는 1D NMR에서 결합을 통한 스칼라 스핀-스핀 커플링으로 다중선으로 1D에 나타나며 NMR에 잘 알려져 있다. 그러므로 분자의 결합관계를 규명하고 스펙트럼의 시그날들을 assign하고 유기 화합물

들의 조성을 탐구하는 데 이용된다. 또한 스칼라 커플링의 크기는 단종 혹은 이중결합이 휘어지는 각도의 척도가 되어지므로 분자의 공간구조에 관한 중요한 정보를 제공한다^{74~76}.

또 하나의 인력이 존재하는데, 이는 공간을 통한 두 개의 스핀간의 인력이며, 용액 중에서 이완과정의 중요한 메카니즘과 관련되어 있을 뿐만 아니라, 선 넓힘으로 간접적으로 나타난다^{77~79}. 공간을 통한 스핀간의 인력(dipolar coupling)은 소위 "cross relaxation"이라고 하는 공간적으로 이웃한 핵들 사이의 상호 이완(mutual relaxation)을 가져오며 분자내의 cross-relaxation은 핵오버호우저 효과(Nuclear Overhauser Effect, NOE)를 주는데, 이는 한 핵의 시그날을 인위적으로 없앴을 경우 공간적 거리가 가까운 또 다른 핵의 시그날 크기를 증가 혹은 감소시키게 된다. NOE 효과는 cross-relaxing 하는 핵 사이의 거리에 의존하기 때문에 분자내의 분자간거리를 결정하는 데 이용되어진다^{83~88}. 따라서 NOE값은 분자의 3차원 구조를 결정하는데 가장 중요한 파라미터를 제공한다^{94~101}. 2D NMR 분광학^{89~93}을 통하여 분자량이 큰 분자에 대한 정량적인 거리 측정이 가능하여 NOE효과나 J 커플링은 분자의 구조에 관한 정보를 주는 데 있어서 서로 보완적이다.

Coherence의 전이에 영향을 주는 세번째 메카니즘은 화학반응과 같은 교환반응(exchange process)에 의한 것이다^{102, 103}. 위에서 언급된 다른 과정과는 대조적으로 이러한 coherent 전이는 다스핀계(multispin system)와는 관련이 없다. 어떤 핵이 A 분자에 있을 때와 B 분자에 있을 때 서로 다른 화학적 이동을 보인다는 사실은 곧 교환스펙트럼이라고 불려진다. 이것은 벌써 반응속도 연구에 적용되어져 왔다^{102~105}. 2D 교환 NMR 분광학의 도입^{89, 116, 117}은 평형에서 반응의 속도상수를 측정할 수 있게 해줄 뿐만 아니라 유연성 분자(fluxional molecule)에서 위치 교환의 메카니즘과 속도의 결정에 결정적인 이점을 제공한다.

2.2.1 스칼라 커플링(Scalar coupling)

스칼라 커플링은 대부분의 2D NMR 분광학의 기초가 된다. 그것은 NMR 실험을 벡터의 관점에서 기술할 수 있게 만들므로 2D NMR 분광학에서 스칼라 커플링의 기본적인 역할이 무엇보다 먼저 소개되어질 것이다.

곱연산자 방식으로 표현된 스칼라 커플링

스칼라 커플은 결합을 통한 두 개의 스핀 사이의 인력이며, 경우에 따라서 공간을 통해서도 일어날 수 있다¹¹⁸. 이는 NMR스펙트럼에서 시그널의 분해(Splitting)를 가져온다. 곱연산자 방식의 관점에서 두 개의 스핀 사이의 커플링은 아래의 (18)~(21)식으로 표현되어질 수 있다.

$$I_{1x} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1z}I_{2z}} I_{1x} \cos \pi J_{12}t + 2I_{1y}I_{2z} \sin \pi J_{12}t \quad (18)$$

$$I_{1y} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1z}I_{2z}} I_{1y} \cos \pi J_{12}t - 2I_{1x}I_{2z} \sin \pi J_{12}t \quad (19)$$

$$2I_{1x}I_{2z} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1z}I_{2z}} 2I_{1x}I_{2z} \cos \pi J_{12}t + I_{1y} \sin \pi J_{12}t \quad (20)$$

$$2I_{1y}I_{2z} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1z}I_{2z}} 2I_{1y}I_{2z} \cos \pi J_{12}t - I_{1x} \sin \pi J_{12}t \quad (21)$$

이러한 표현식은 화학적 이동의 전개과정(evolution)에서 일어진 것들과 아주 유사하다. 그러나 처음으로 두 연산자의 곱의 형태가 일어진다.

여기서 잠시 벡터적인 기술법을 이용하여 위의 식들에 대한 이해를 명백히 하는 것이 좋겠다. 스핀 1과 2 사이의 커플링(coupling)은 각운동 속도에서 세차운동하며 스핀 1에 대한 두 개의 벡터로서 Fig. 7에 보여졌다.

스핀 1의 x magnetization은 방정식 (18)의 첫째 부분에서 보여준대로 $\cos \pi J_{12}t$ 에 의해 조율된다. $I_{1y}(I_{2z}^2 - I_{2y}^2)$ 에 의해 표현된 y축을 따라 놓여 있는 magnetization^{a)}

또한 존재하지만, 포지티브, 그리고 네가티브 성분이 서로 정확하게 상쇄되므로 실제로 존재하지 않는 것처럼 보인다.

α 와 β 에너지 준위에서 분포도 차이 ($I^z - I^{\beta}$)는 $2I$ 에 의해 표현되며 $I_{1y}(I_{2z}^2 - I_{2y}^2)$ 는 $\sin \pi J_{12}t$ 에 의해 조율되며 $2I_{1y}I_{2z}$ 와 동일하다.

화학적이동이나 펄스에 의한 전개과정(evolution)과는 대조적으로 커플링의 전개과정은 연산자들을 생겨나게 하기도 하고 소멸시키기도 한다 : $I_{1x} \rightarrow 2I_{1y}I_{2z}$ 그리고 $2I_{1x}I_{2z} \rightarrow I_{1y}$. 연산자들의 소멸은 연산자의 제곱이 단위 연산자와 같기 때문에 생겨난다(이 경우 $I_z I_z = 1/4$). polarization은 제2의 스핀이 곱연산자에서 관련될 때 오직 전이될 수 있으므로 이 점이 coherence transfer의 중요한 점이다. 여기서 연산자방식을 사용하기 전에 연산자 변형에 대한 몇 가지 규칙을 이해하는 것이 필요하다.

(a) 곱연산자는 곱에서의 각 연산자 각각이 변형할 때 펄스나 혹은 화학적 이동의 효과로 인하여 전개과정(evolution)을 겪는다 [방정식(22)~(24)].

I_z 는 화학적 이동의 영향을 받지는 않는다 [방정식 (10)].

$$2I_{1x}I_{2z} \xrightarrow{90^\circ_y} -2I_{1z}I_{2x} \quad (22)$$

$$2I_{1x}I_{2z} \xrightarrow{\Omega_1 t I_{1z} + \Omega_2 t I_{2z}} 2I_{1x}I_{2z} \cos \Omega_1 t + 2I_{1y}I_{2z} \sin \Omega_1 t \quad (23)$$

$$2I_{1x}I_{2y} \xrightarrow{\Omega_1 t I_{1z} + \Omega_2 t I_{2z}} 2(I_{1x} \cos \Omega_1 t + I_{1y} \sin \Omega_1 t) \\ I_{2y} \cos \Omega_2 t - I_{2x} \sin \Omega_2 t \quad (24)$$

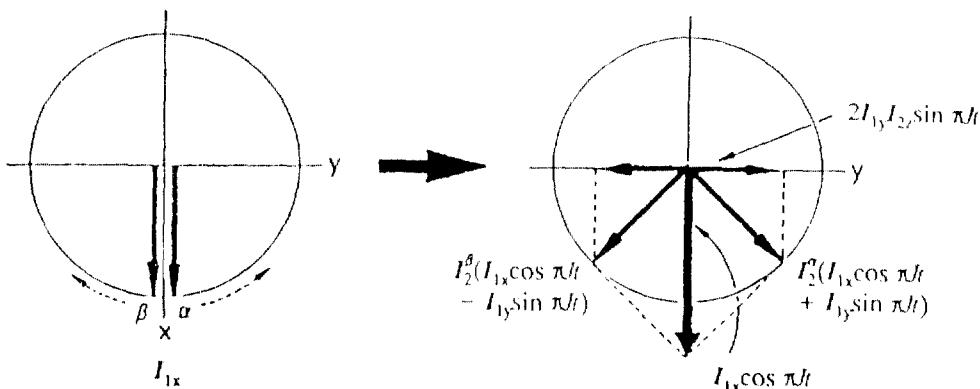


Fig. 7. x magnetization으로부터 출발하여 시간 t 동안 스칼라 커플링의 전개과정을 보여 준다.

상호적으로 커플링하는 핵들의 곱연산자들의 쌍은 함께 처리되어져야 하므로 스칼라 커플링을 다룰 때는 조심해야 한다. 예를 들어 $2I_{1X}I_{2Z}$ 는 식 (25)에 따라 스픈 1과 3의 커플링으로 전개과정(evolution)을 겪는다.

$$2I_{1X}I_{2Z} \xrightarrow{\pi J_{13}t 2I_{1Z}I_{3Z}} 2I_{1X} \cos\pi J_{13}t + 4I_{1Y}I_{2Z}I_{3Z} \sin\pi J_{13}t \quad (25)$$

[오직 가로연산자(transverse operator) I_{1X} 만이 전개과정을 겪는다.] 스픈 1,2 커플링하에서 $2I_{1X}I_{2Z}$ 는 방정식 (26)에 따라 전개과정을 겪는다.

$$2I_{1X}I_{2Z} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1Z}I_{2Z}} 2I_{1X}I_{2Z} \cos\pi J_{12}t + I_{1Y} \sin\pi J_{12}t \quad (26)$$

또한 두 개의 가로연산자(transverse operator) [방정식 (26~28)]의 곱연산자 뿐만 아니라 두 개의 세로연산자(longitudinal operator) [방정식 (29)]의 곱연산자들은 상호 커플링을 이루지는 않는다.

$$2I_{1X}I_{2Z} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1Z}I_{2Z}} 2I_{1X}I_{2Z} \text{ (두 개의 가로연산자)} \quad (27)$$

$$2I_{1X}I_{2Y} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1Z}I_{2Z}} 2I_{1X}I_{2Y} \text{ (두 개의 가로연산자)} \quad (28)$$

$$2I_{1Z}I_{2Z} \xrightarrow{\pi J_{12}t 2I_{1Z}I_{2Z}} 2I_{1Z}I_{2Z} \text{ (두 개의 가로연산자)} \quad (29)$$

그러나 $2I_{1X}I_{2Y}$ 는 세번째 스픈(I_{3Z})과 커플링을 하게 되며 [방정식(30)], 법칙 (b)를 사용하게 된다.

$$\begin{aligned} 2I_{1X}I_{2Y} &\xrightarrow{\pi J_{13}t 2I_{1Z}I_{3Z}} 2I_{1X}I_{2Y} \cos\pi J_{13}t + 4I_{1Y}I_{2Y}I_{3Z} \sin\pi J_{13}t \\ &\quad \xrightarrow{\pi J_{13}t 2I_{1Z}I_{3Z}} 2I_{1X}I_{2Y} \cos\pi J_{13}t \cos\pi J_{23}t + 4I_{1Y}I_{2Y}I_{3Z} \sin\pi J_{13}t \cos\pi J_{23}t - \\ &\quad 4I_{1X}I_{2X}I_{3Z} \cos\pi J_{13}t \sin\pi J_{23}t - 2I_{1Y}I_{2X} \sin\pi J_{13}t \sin\pi J_{23} \end{aligned} \quad (30)$$

(b) 커플링과 화학적 이동은 동시에 작용하며 강한 커플링이 없는 곳에서 이러한 인력하에서의 전개과정은 연속적으로 작용한다고 할 수 있다. 이것은 화학적 이동과 약한 커플링의 연산자들의 상호 교환성에 기인한다. 다음은 약한 커플링에 대해 유효하다.

(a) 한 개의 가로연산자(transverse operators, I_x or I_y)를 갖은 곱연산자들이 관측이 가능하며 모든 다른 연산자들의 곱은 관측이 가능하지 않다.

(b) 한 개의 가로연산자(I_x , I_y)와 어떤 세로연산자(I_z)의 곱연산자들은 관측이 가능한 연산자들로 바뀌게 되는데, 이는 가로스핀("transverse" spin)이 세로스핀("longitudinal" spin)과 스칼라 커플링을 할 때 가능해진다.

(c) 모든 다른 곱연산자들은 관찰이 되지 않으며 전개과정을 통하여 관찰될 수 있는 연산자로 바뀌지도 않는다.

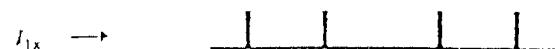


Fig. 8. In-phase 이중 이중선(선스펙트럼)

우리는 여기서 해 1이 다른 두 개의 해 2,3과 커플링하는 세 개의 스픈계에서의 곱연산자에 대해 생각해보자(Fig. 8). I_{1X} 는 잘 알려진 대로 2개의 이중선이 화학적 이동 Ω_1 에서 나타나며, 이것이 방정식 (31)로 나타내어진다.

$$\begin{aligned} I_{1X} &\longrightarrow I_{1X} \cos\Omega_1t \cos\pi J_{12}t \cos\pi J_{13}t + \\ &\quad I_{1Y} \sin\Omega_1t \cos\pi J_{12}t \cos\pi J_{13}t + \dots \end{aligned} \quad (31)$$

오직 I_{1X} 와 I_{1Y} 만이 관찰이 가능하므로 나머지 6개의 항은 무시할 수 있다. 여기서 우리는 어떻게 스플리트링이 이러한 시간의 함수로부터 나오게 되었는지를 살펴보기 이전에 포리어 변형과 상변형(phase transformation)에 관해 몇 가지를 첨가하는 것이 필요하다. 한 개의 시그널의 절대적인 상(absolute phase)은 명실상부한 방식으로 정의를 내릴 수는 없다. 상은 전자공학적인 방식으로 변화되어질 수 있으며, 상은 영차 상교정(zero-order phase correction)을 통하여 원하는 대로 실험에 의해 교정될 수 있다. 그러나 상교정에 관하여 변화되지 않는 상대적인 상(relative phase)의 정의는 아주 중요하며, 다음 규칙은 공식화되어질 수 있다. 상대적인 상은 x magnetization의 계수에서 계산된 여러 개의 싸인 항(sine factor)에 의해 90° 곱해진 것과 같다. 우리는 계수로서 cosine항을 가지고 있는 I_{1X} 가 흡수모양을 나타내도록 절대상(absolute phase)을 조절할 수 있다. 다음은 다른 항들에 대한 "상"을 나타낸다(Fig. 9 참조).

- 0, 4, 싸인 항 : 흡수
 1, 5, 싸인 항 : 분산
 2, 6, 싸인 항 : 네가티브 흡수
 3, 7, 싸인 항 : 네가티브 분산

커플링에 의한 FID 시그널의 조율은 $\cos \pi Jt$ 와 $\sin \pi Jt$ 형태의 시그널의 강도의 변화로 나타나며, 그것의 포리어 변형은 Fig. 10에서 나타나 있다. 함수의 곱으로부터 어떤 시그널의 구성에 대한 출발

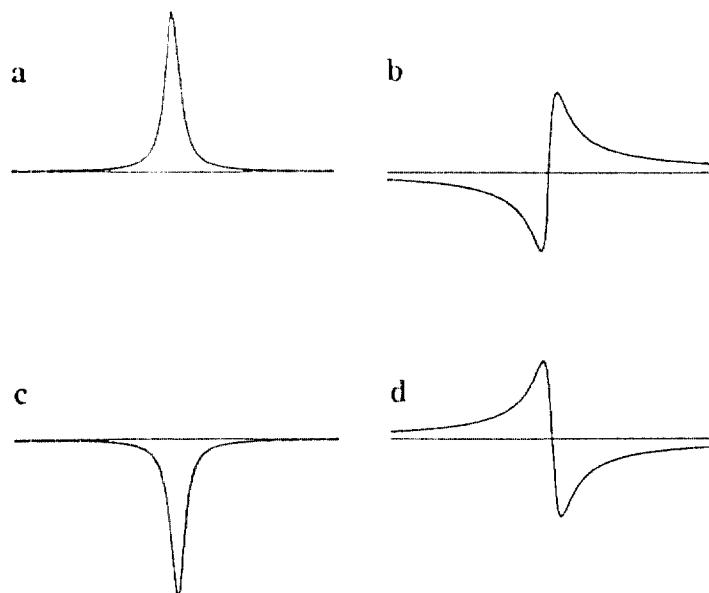


Fig. 9. NMR 스펙트럼에서의 선 모양 : a) 흡수 시그널 b) 분산 시그널 c) 네가티브 흡수 시그널 d) 네가티브 분산 시그널

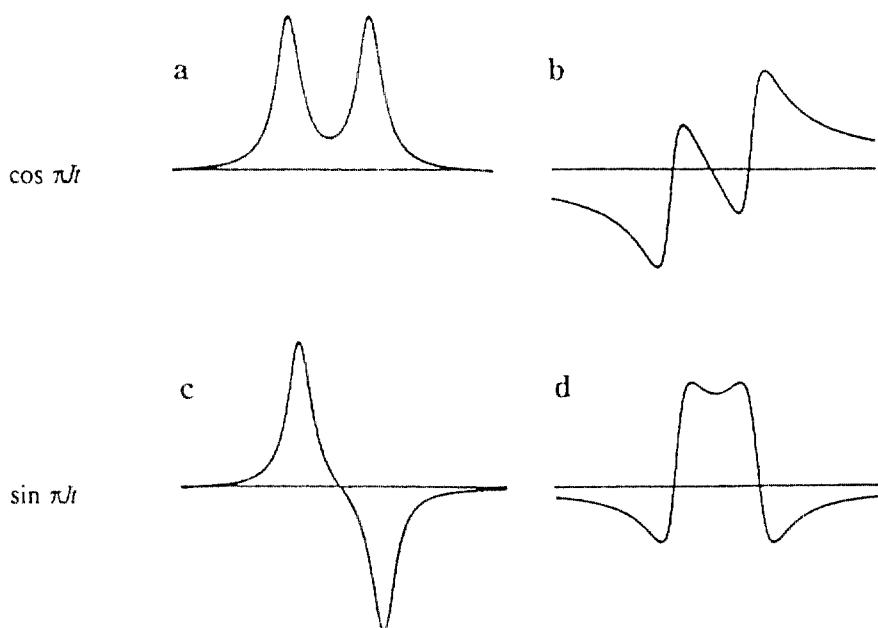


Fig. 10. In-phase의 형태를 띠고 있는 이중선의 시그널 모양(a,b)과 antiphase의 형태(c,d)를 띠고 있는 시그널 모양이며, 왼쪽의 스펙트럼(a,c)은 흡수 시그널이고 오른쪽의 스펙트럼(b,d)은 분산 시그널이다.

점 [예, 방정식 (30)]은 접힘원리(folding principle)이다. 함수의 곱의 포리어 변형은 각각의 함수의 포리어 변형으로부터 되어질 수 있으며, 곱의 함수는 삼각함수로 구성된다. 방정식 (31)에 적용된 앞서의 기술은 Fig. (11)에서 보여준 시그널들을 놓는다. 서로 “상반된 상”(antiphase operators)의 연산자는 다음과 같이 행동한다: $2I_{1x}I_{1z}$ 는 직접적으로 감지될 수는 없지만[법칙(a)], 방정식 (32)에 따라 관찰할 수 있는 magnetization으로 변화한다. 만약 J_{12} 커플링이 0라고 할 때 어떤 magnetization도 방정식 (32)에서 보여주듯이 관찰되어 질 수 없다. 우리는 여기서 convolution 원리를 다시 적

용시켜 Fig. 12에서 보여준 결과를 얻자. 일치된 상의 이중선(inphase doublet)은 $J_{13}(\cosine)$ 에 대해 얹어지고 $J_{12}(\sin)$ 에 대해서는 상반된 상의 이중선(antiphase doublet)이 얹어진다. x 성분은 두 개의 싸인 항들을 포함하여 하나의 J_{1x} 에 관하여 일치된 상의 네가티브 흡수선이 얹어지고, 하나는 J_{12} 에 관하여 서로 상반된 상이 얹어진다. 남아 있는 곱연산자들에 대한 스펙트럼은 같은 방식을 사용하여 얹어진다.

지금부터는 시간의 함수로부터의 시그널을 더 이상 나타낼 필요가 없다. 모든 z연산자는 서로 상반된 상의 이중선을 놓고 다른 연산자들은 일치된 상의 이중선을

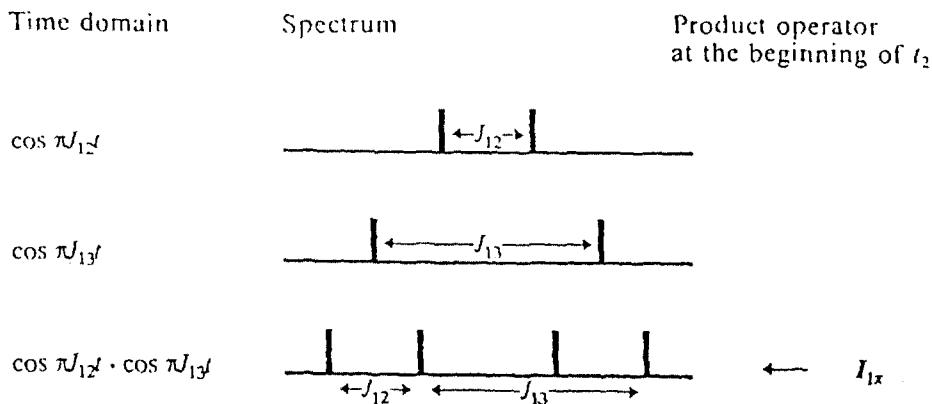


Fig. 11. J_{12} 와 J_{13} 에 대응하는 두 개의 inphase 이중선으로부터 inphase 다중선의 전조

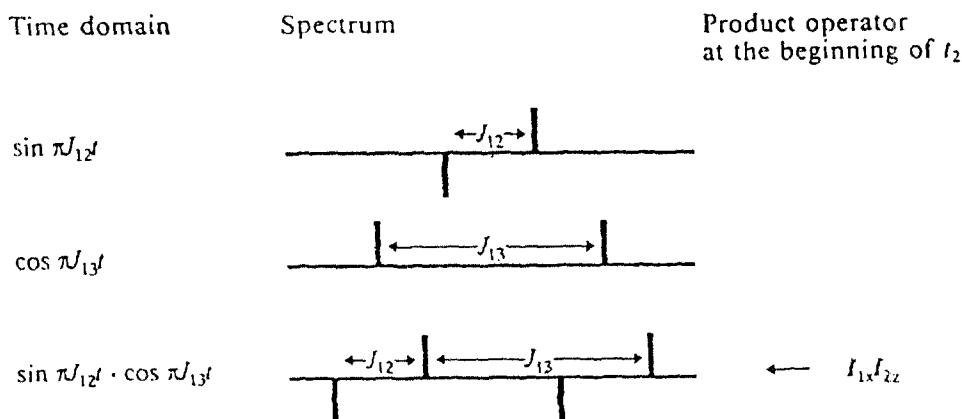


Fig. 12. J_{13} 에 관하여 inphase에 있는 구조와 J_{12} 에 관하여 antiphase에 있는 구조와 함께 두 개의 이중선의 전조.

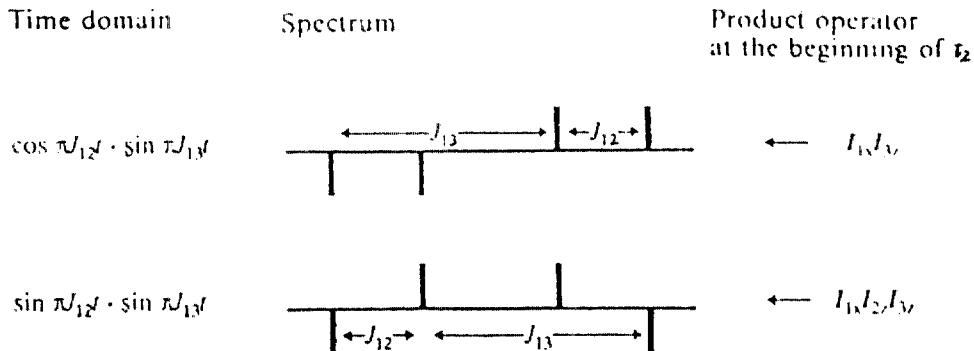


Fig. 13. 서로 다른 antiphase 구조를 소유하는 두 개의 이중선: 윗부분, J_{13} 에 관하여 antiphase. 밑 부분, J_{12} 및 J_{13} 의 양쪽에 관하여 antiphase.

낳는다는 법칙에 따라 Fig. 13에서 보여주듯이 실제적으로 나타나지 않는 스펙트럼을 만들어 낼 수 있다.

시그널들의 상(흡수 및 분산)의 변화에는 어떤 규칙이 존재한다. I_1 연산자(예, $I_{1x}, 2 I_{1x} I_{2x}, 4 I_{1x} I_{2x} I_{3x}$ 등등)를 포함하고 있는 항들은 흡수선을 나타내고 짹수의 sine항을 갖고 있다. I_1 를 포함하는 곱연산자는 분산선을 나타낸다. 흡수선과 분산선은 상의 교정에 의해 서로 바뀌어질 수 있다. 2D NMR 시그널에서는 주파수의 함수로서 ω_1 과 ω_2 축의 각각에 대한 독립적인 상이 존재한다. 상들은 양쪽 축에서 서로 같을 수도 혹은 다를 수도 있다.

지금부터 H, H-cosy에 대해 더욱 상세히 기술해 보자 한다. H, H-cosy는 가장 간단한 2D NMR연속 펄스들 중의 하나로 오직 두 개의 펄스로 구성된다. 역사적으로 볼 때도 2D cosy는 첫번째로 나온 2D NMR 실험이며 여전히 가장 중요한 몫을 차지하고, 앞서 언급했던 coherence 전이와 관련되어 있는 실험이다. 커플링이 관측 가능한 magnetization을 가져오는 $2 I_{1x} I_{2x}$ 와 같은 서로 상반된 상의 항들과 관련되어 있음을 우리는 보아왔다. 90° 펄스가 연산자 $2 I_{1x} I_{2x}$ 에 적용되어졌을 때, 이 연산자는 $-2 I_{1x} I_{2x}$ 로 바뀐다[방정식 (22) 참조]. 이것은 펄스를 주기 전에는 가로자(transverse magnetization)였던 스핀 1이 세로자기로 바뀌어지며, 세로자기(longitudinal magnetization)였던 스핀 2는 가로자기로 바뀐다. 따라서 스핀 1의 coherence($2 I_{1x} I_{2x}$ 는 핵 1의 화학적 이동으로 전개과정을 겪는다)는 스핀 2의 coherence로 전이된다. cosy실험은 이러한 “coherence”的 전이에 기초를 둔다.

3개의 스핀 1, 2, 3을 갖고 있는 3-스핀계를 다시 조사하도록 하자. 첫째 90° 펄스에 의해 평행 magnetization으로부터 가로자기(transverse magnetization), $I_{1x} + I_{2x} + I_{3x}$ 를 생성한다. 여기서부터는 오직 시그널을 생성하는 항들만을 고려하고 나머지 항들은 더 이상 고려하지 않겠다. 오직 I_{1x}, I_{2x} 혹은 I_{3x} 만이 t_2 에서 관측된다. 전이 $I_{1x} \rightarrow I_{2x}$ 가 ω_1 축(수직축)의 Ω_1 과 ω_2 축(수평축)의 Ω_2 에서 교차 시그널을 주므로 I_{2x} 항에 관해 초점을 맞추도록 하자. 이미 언급했듯이 오직 커플링은 다른 스핀을 곱연산자로 도입시킬 수가 있다. 그러므로 전개과정[방정식 (33)]은 시간 t_1 동안 일어난다. 이러한 곱연산자는 90° 펄스에 의해 완전히 $-2I_{1x} I_{2x}$ 로 바뀐다.

$$I_{1x} \longrightarrow 2I_{1x} \quad (33)$$

Cosy 실험에서 1, 2교차 시그널에 대한 전이도표가 방정식 (34)에 의해 표현되었다. 이러한 연속 펄스에서 스핀 1로부터 스핀 2로 magnetization의 전이가 일어나는 외의 다른 방법은 없다(34).

$$I_{1z} \xrightarrow{90^\circ} I_{1x} \xrightarrow{t_1} -2I_{1x} I_{2x} \xrightarrow{90^\circ} 2I_{1z} I_{2x} \xrightarrow{t_2} I_{2x} \quad (34)$$

시간 t_2 동안 연속적으로 가로연산자(transverse operator)로 바뀌는 정확하게 한 개의 z 연산자가 혼합과정(mixing) 이전에 존재해야 한다. 스핀 1은 x 연산자 I_{1x} 를 시간 t_1 동안 존재해야 한다. 곱연산자에서 두 개 이상의 z연산자가 관측되지 않는 몇 개의 가로 연산자

(transverse operator)로 바뀌어진다. 이러한 연산자들의 계수들은 다음과 같이 얻어진다. 시간 t_1 동안 I_{1x} 는 식 (35)에서와 같이 화학적 이동과 커플링의 영향으로 전개과정(evolution)을 겪는다.

$$-2I_{1x}I_{2z} \sin\Omega_1 \sin\pi J_{12}t_1 \cos\pi J_{13}t_1 \quad (35)$$

전이에 전혀 관여치 않는 핵으로의 커플링은 cosine 항으로 들어간다. 핵 3으로의 이러한 커플링을 고려해 보자. polarization 전이는 90° , 펄스를 통하여 일어나고 식 (36)을 가져온다. 이것은 방정식 (18)과 (20)에 따라 전개과정을 거쳐 관찰될 수 있는 magnetization을 가져온다. 전이함수로 불리는 시그널의 전체적인 높이는 식 (37)로 표현된다.

$$2I_{1z}I_{2z} \sin\Omega_1 t_1 \sin\pi J_{12}t_1 \cos\pi J_{13}t_1 \quad (36)$$

$$\sin\Omega_1 t_1 \sin\pi J_{12}t_1 \cos\pi J_{13}t_1 \sin\pi J_{12}t_2 \cos\pi J_{23}t_2 \quad (37)$$

2D 다중성의 형성 과정

시간의 함수로 된 시그널로부터 1D NMR 스펙트럼의 형성과정을 기술했듯이 이러한 방법을 2D NMR 스펙트럼의 형성과정에 적용해 보도록 한다.

Fig. 14의 ω_1 과 ω_2 에서 보여진 다중선으로부터 2D NMR 스펙트럼은 선들의 교차점에 시그널들을 나타나게 함으로써 전조되어진다. 교차 시그널의 강도는 각각의 교차선 강도의 곱으로부터 얻어진다. ω_1 과 ω_2 에서의 상들은 위에 기술되어진 1D NMR 스펙트럼에 대응하는 것들과 똑같다.

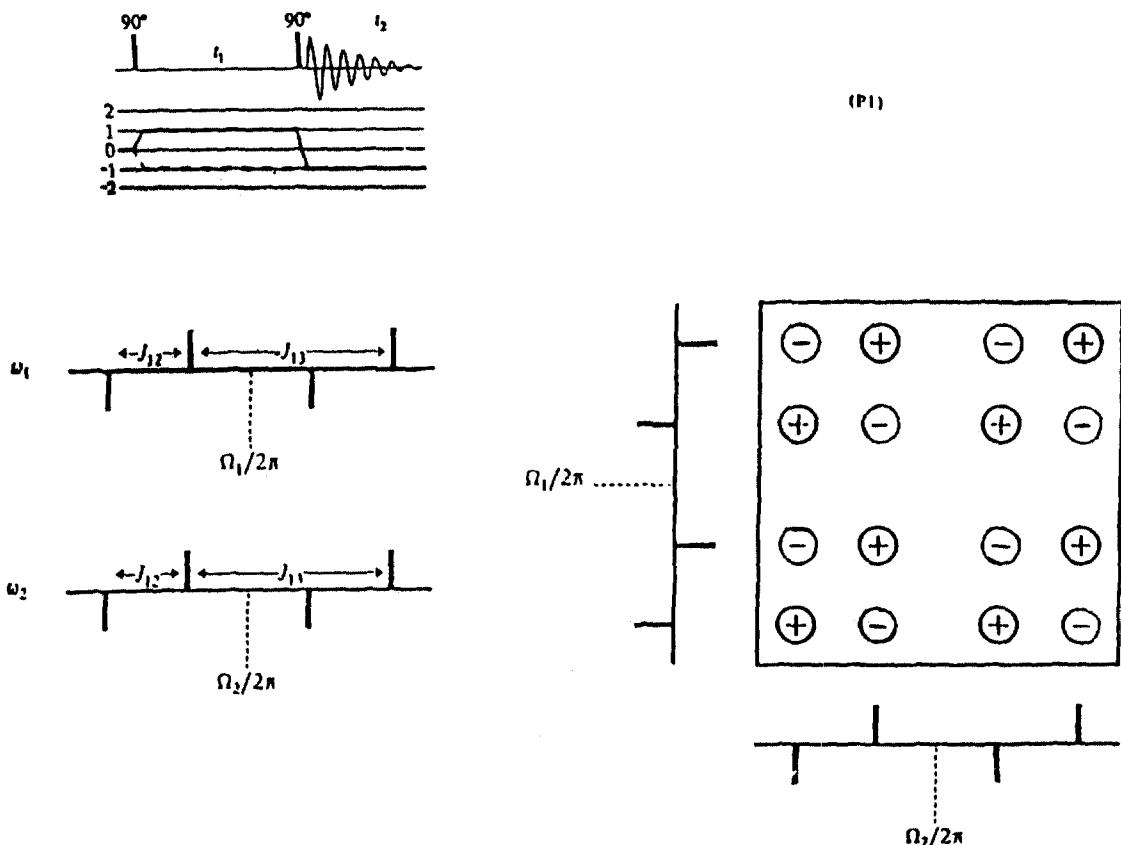
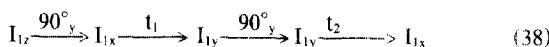


Fig. 14. 1-D NMR 스펙트럼에 대응하는 2D NMR 스펙트럼에서의 시그널(오른쪽)은 1-D NMR 스펙트럼(왼쪽)의 교차점에서 생기며 그들의 시그널 강도는 1D NMR 스펙트럼 강도의 곱으로부터 나온다.

이제까지 우리는 스핀 1과 2에 대해 하나의 교차 시그널을 다루어 왔다. 다른 것들도 유사한 방법으로 얻어진다. 여기에서 교차 시그널의 형성과정을 다시 요약해 보자. 시간 t_1 동안 coherence는 스핀 1의 화학적 이동의 영향을 받으며 전개과정을 겪고 시간 t_2 동안에는 스핀 2의 화학적 이동의 영향을 받으며 전개과정을 겪는다. 90° 펄스를 포함하는 coherence 전이에 대해서는 $2I_{1x}I_{2z}$ 항이 필수적으로 요구되며 $-2I_{1z}I_{2x}$ 로 바뀐다; 즉, 상반된 상의 magnetization은 J_{12} 커플링에 의해 유도된 coherence 전이의 이전과 이후에도 존재한다. J_{12} 커플링은 능동적 커플링으로 불려지며, 스핀 3과 같은 다른 핵으로의 커플링은 수동적 커플링으로 불려지고 전이과정에는 참여하지 않는다. 대각선 위치에 존재하는 시그널(즉 $\omega_1=\omega_2=\Omega_1$)들이 생겨난다. 한 개의 I_1 , I_2 대각선 시그널에 대해 금연산자는 혼합 이전에 스핀 1에 대해 한 개의 가로연산자(transverse operator)를 소유해야 하며, 그 스핀에 대한 화학적 이동은 시간 t_1 동안 전개과정을 겪지 않는다. 마찬가지로, 스핀 2에 대한 연산자는 ω_2 의 Ω_1 에서 시그널로서 나타나기 위해 혼합 이후 가로연산자로 남아 있어야 한다. 한 개의 I_2 연산자보다 많은 것을 소유한 항들은 혼합 펄스 이전에 존재할 수 없는데, 이는 그들이 90° 펄스에 의해 가로연산자로 바뀌게 되며 시간 t_2 의 초기에 한 개의 가로연산자보다 많은 관측 불가능한 항들을 준다. 대각선 시그널에 대한 전이도표는 식 (38)로 나타나고 대응하는 전이강도는 식 (39)에 의해 표현될 수 있다.



$$\sin\Omega_1 t_1 \cos\pi J_{12} t_1 \cos\pi J_{13} t_1 \sin\Omega_2 t_2 \cos\pi J_{12} t_2 \cos\pi J_{13} t_2 \quad (39)$$

다중선 구조의 분석은 양쪽의 주파수 축에서 분산형(양쪽의 시간축에 대해 하나의 sine항)인 같은 상의 시그널(커플링에 대해 cosine항)을 나타낸다. cosy 스펙트럼에서 대각선 교차 시그널(cross signal)은 양쪽 축에서 흡수형 시그널(이중 흡수형)을 낸다. 흡수와 분산은 물론 각각의 축에서 상의 교정을 달리함에 따라 2D NMR 스펙트럼에서 서로 바뀌어질 수 있다. 대각선 시그널은 모든 커플링에 관하여 같은 상을 유지하는데, 이는 그들이 cosine으로서 표현되기 때문이다.

이제까지 우리는 시그널을 주는 전이과정(대각선 및

교차 시그널들)에 대해서만 오직 분석해 왔으며, 원치 않는 시그널에 대해서는 간단히 무시해 왔다. cosy 실험에서는 소위 “세로 피이크(axial peaks)”들이 가공 시그널(artifact)로 나타난다. 그들은 시간 t_1 의 끝에 I_2 항이 90° 펄스에 의해 t_2 시간 동안 관측될 수 있는 가로연산자(transverse operator)로 바뀔 때 생겨난다. 그것은 t_1 에서 조율되지 않으므로 $\Omega_1=0$ (axial peaks)에서 시그널로 나타난다. 그럼에도 불구하고, 상순환(phase cycling)이라고 하는 기술을 이용하여 가공 시그널(artifact)을 제거시키는 방법을 개발했으며, 이에 대해 상세히 언급하기 이전에 두 개의 스핀간의 magnetization의 전이에 관한 두번째 중요한 과정인 쌍극성(dipolar) 커플링에 대해 기술하여야 하며, 이는 지면관계로 다음 회에 기술하고자 한다.

참 고 문 헌

1. J. Jeener, "Ampere Summer School", Basko Polje, Yugoslavia 1971.
2. W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **64**, 2229-2246(1976).
3. R. R. Ernst, G. Bodengausen, A. Wokaun, "Principles of Nuclear Magnetic Resonance in one and Two Dimension", Clarendon, Oxford 1987.
4. R. R. Ernst, *Chimia*, **29**, 179-183(1975).
5. W. P. Aue, J. Karhan, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **64**, 4226-4227(1976).
6. R. Freeman, G. A. Morris, *Bull. Magn. Reson.*, **1**, 5-26 (1979).
7. D. Terpstra, *Top. Carbon-13 NMR Spectrosc.* **3**, 62-78 (1979).
8. R. Freeman, *Proc. R Soc. London A* **373**, 149(1980).
9. A. Box, "Two-Dimensional NMR in Liquids", Delft University Press, Delft 1982.
10. G. A. Morris in A. G. Marshall (Ed.), "Fourier, Hadamard, and Hilbert Transformations in Chemistry", Plenum, New York 1982, p. 271-307.
11. A. Bax, *Bull. Magn. Reson.* **7**, 167-183(1985).
12. R. Benn, H. Gunther, *Angew. Chem.* **95**, 381-411(1983); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **22**, 350-380(1983).
13. A. Bax, *Top. Carbon-13 NMR Spectrosc.* **4**, 199-240 (1984).
14. H. Kessler, W. Bermel, A. Miller, K. -H. Pook in V. Hruby(Ed.), "The Peptides", Vol. 7, Academic Press, Orlando, FL, USA 1985, p. 437-473.
15. K. Nagayama, *Methods Stereochem. Anal.* **6**, 155-178

- (1986).
16. H. Kessler, W. Bermel, *Methods Stereochem. Anal.* **6**, 179-205(1986).
 17. K. Wuthrich, "NMR of Proteins and Nucleic Acids", Wiley, New York 1986.
 18. G. A. Morris, *Magn. Reson. Chem.* **24**, 371-403(1986).
 19. A. Bax, L. Lerner, *Science (Washington)*, **232**, 960-967(1986).
 20. A. E. Derome, "Modern NMR Techniques for Chemistry Research", Pergamon, Oxford 1987.
 21. R. M. Carlson, W. R. Croasmun (Eds.) : *Methods Stereochem. Anal.* **9**, (1987).
 22. N. Chandrasekhar, S. Subramanian : *Modern Techniques in High Resolution FTNMR*, Springer, New York 1987.
 23. J. K. M. Sanders, B. K. Hunter, "Modern NMR spectroscopy", University Press, Oxford 1987.
 24. O. W. Sorensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **16**, 163-192(1983).
 25. F. J. M. van de Ven, C. W. Hilbers, *J. Magn. Reson.* **54**, 512-520(1983).
 26. K. J. Packer, P. E. Wright, *Mol. Phys.* **50**, 797-813 (1983).
 27. L. R. Brown, J. Bremer, *J. Magn. Reson.* **68**, 217-231 (1986).
 28. A. Wokaun, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* **52**, 407-412(1977).
 29. A. D. Bain, *J. Magn. Reson.* **56**, 418-427(1984).
 30. G. Bodenhausen, H. Kogler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **58**, 370-388(1984).
 31. D. Piveteau, M. -A. Delsuc, J. -Y. Lallemand, *J. Magn. Reson.* **63**, 255-270(1985).
 32. T. T. Nakashima, R. E. D. Mellung, *J. Magn. Reson.* **70**, 187-203(1986).
 33. K. Nagayama, K. Wuthrich, P. Bachmann, R. R. Ernst, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **78**, 99-105 (1977).
 34. K. Nagayama, P. Bachmann, K. Wuthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **31**, 133-148(1978).
 35. G. Bodenhausen, *J. Magn. Reson.* **39**, 175-179(1980).
 36. L. Muller, A. Kumar, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **25**, 383-390(1977).
 37. K. Nagayama, A. Kumar, K. Wuthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **40**, 321-334(1980).
 38. A. Kumar, R. V. Hosur, K. Chandrasekhar, N. Murali, *J. Magn. Reson.* **63**, 107-114(1985).
 39. A. A. Maudsley, R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* **50**, 368-372(1977).
 40. L. Muller, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 4481-4484(1979).
 41. D. A. ViduseK, M. F. Roberts, G. Bodenhausen, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 5452-5456(1982).
 42. M. R. Bendall, D. T. Pegg, D. M. Dodrell, *J. Magn. Reson.* **52**, 81-117(1983).
 43. A. Bax, R. H. Griffey, B. L. Hawkins, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 7188-7190(1983).
 44. D. G. Davis, W. C. Agosta, D. Cowburn, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 6189-6190(1983).
 45. A. Bax, R. H. Griffey, B. L. Hawkins, *J. Magn. Reson.* **55**, 301-315(1983).
 46. D. H. Live, D. G. Davis, W. C. Agosta, D. Cowburn, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 6104-6105(1984).
 47. D. H. Live, I. M. Armitage, D. C. Delgarno, D. Cowburn, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 1775-1777(1985).
 48. M. Frey, G. Wagner, M. Vasak, O. W. Sorensen, D. Neuhaus, E. Worgotter, J. H. Ragi, R. R. Ernst, K. Wuthrich, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 6847-6851(1985).
 49. J. D. Otvos, H. R. Engeseth, S. Wehrli, *J. Magn. Reson.* **61**, 579-584(1985).
 50. A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 2093-2094(1986).
 51. R. A. Byrd, M. F. Summers, G. Zon, C. Spellmeyer Fouts, L. G. Marzilli, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 504-505 (1986).
 52. A. Bax, S. Subramanian, *J. Magn. Reson.* **67**, 565-569 (1986).
 53. D. Bruhwiler, G. Wagner, *J. Magn. Reson.* **69**, 546-551(1986).
 54. W. Bermel, C. Griesinger, H. Kessler, K. Wagner, *Magn. Reson. Chem.* **25**, 325-326(1987).
 55. R. R. Ernst, W. A. Anderson, *Rev. Sci. Instrum.* **37**, 93-102(1966).
 56. R. R. Ernst, *Adv. Magn. Reson.* **2**, 1-135(1966).
 57. T. C. Farrar, E. D. Becker, "Pulse and Fourier Transform NMR", Academic Press, New York 1971.
 58. F. Bloch, *Phys. Rev.* **70**, 460-474(1946).
 59. E. O. Stejskal, J. Schaefer, *J. Magn. Reson.* **13**, 249-251(1974).
 60. E. O. Stejskal, J. Schaefer, *J. Magn. Reson.* **14**, 160-169(1974).
 61. G. Bodenhausen, R. Freeman, G. A. Morris, R. Niedermeyer, D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **25**, 559-562(1977).
 62. A. G. Redfield, S. D. Kunz, *J. Magn. Reson.* **19**, 250-254(1975).
 63. U. Fano, *Rev. Mod. Phys.* **29**, 74-93(1957).
 64. M. Weißbluth, "Atoms and Molecules", Academic Press, New York 1978.

65. C. P. Slichter, "Principles of Magnetic Resonance," 2nd ed., Springer, Berlin 1978.
66. A. Bohm, "Quantum Mechanics," Springer, New York 1979.
67. K. Blum, "Density Matrix Theory and Applications, Plenum," New York 1981.
68. S. Goldman, "Information Theory," Practice Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA 1953.
69. B. M. Brown, "The Mathematical Theory of Linear Systems," Science Paperbacks, Chapman and Hall, London 1965.
70. R. M. Bracewell, "The Fourier Transform and its Applications," McGrawHill, New York 1965.
71. D. C. Champeney, "Fourier Transforms and their Physical Applications," Academic Press, New York 1973.
72. D. Ziessow, "On Line Rechner in der Chemie, Grundlagen und Anwendungen in der Fourierspektroskopie," de Gruyter, Berlin 1973.
73. J. W. Cooper, *Top. Carbon-13 NMR Spectrosc.*, **2**, 391-431(1976).
74. M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **30**, 11-15(1959).
75. M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2870-2871(1963).
76. V. F. Bystrov, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **10**, 41-81(1976) ; V. F. Bystrov, A. S. Areseniev, Yu. D. Gavrilov, *J. Magn. Reson.* **30**, 151-184(1978).
77. I. Solomon, *Phys. Rev.* **99**, 559-565(1955).
78. J. H. Noggle, R. E. Schirmer, "The Nuclear Overhauser Effect, Chemical Applications," Academic Press, New York 1971.
79. A. Abragam, "The Principles of Nuclear Magnetism," Clarendon, Oxford 1978.
80. R. Kaiser, *J. Chem. Phys.* **42**, 1838-1839(1965).
81. I. D. Campbell, R. Freemann, *J. Magn. Reson.* **11**, 143-162(1973).
82. A. A. Bothner-By in R. G. Shulman (Ed.), "Magnetic Resonance Studies in Biology," Academic Press, New York 1979, p. 177.
83. I. O. Campbell, C. M. Dobson, R. J. P. Williamson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 888-889(1974).
84. W. E. Hull, B. D. Sykes, *J. Chem. Phys.* **63**, 867-880(1975).
85. A. Kalk, H. J. C. Berendsen, *J. Magn. Reson.* **24**, 343-366(1976).
86. S. L. Gordon, K. Wuthrich, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 7094-7096(1978).
87. R. Richarz, K. Wutrich, *J. Magn. Reson.* **30**, 147-150(1978).
88. G. Wagner, K. Wuthrich, *J. Magn. Reson.* **33**, 675-680(1979).
89. J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **71**, 4546-4553(1979).
90. A. Kumar, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wuthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **96**, 1156-1163(1980).
91. A. Kuma, R. R. Ernst, K. Wuthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **95**, (1980).
92. G. Wagner, K. Wuthrich, *J. Mol. Biol.* **155**, 347-366(1982).
93. M. Rance, G. Bodenhausen, G. Wagner, K. Wuthrich, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **62**, 497-510(1985).
94. P. Balaram, A. A. Bothner-By, J. Dadok, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4015-4017(1972) ; A. A. Bothner-By, J. H. Noggle, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5152-5155(1979).
95. H. Kessler, W. Bermel, a. Friedrich, G. Krack, W. E. Hull, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 6297-6304(1982).
96. F. M. Poulsen, J. C. Hoch, C. M. Dobson, *Biochemistry*, **19**, 2597-2607(1980).
97. S. Macura, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* **41**, 95-117(1980).
98. A. Kumar, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wuthrich, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 653-3658(1981).
99. C. M. Dobaon, E. T. Olejniczak, F. M. Poulsen, R. G. Ratcliffe, *J. Magn. Reson.* **48**, 97-110(1982).
100. E. R. P. Zuiderweg, R. Kaptein, K. Wuthrich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 5837-5841(1983).
101. M. Weiss, D. Petzl, R. Sauer, M. Karplus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 130-134(1984).
102. H. J. Gutowski, D. M. McCall, C. P. Slichter, *J. Chem. Phys.* **21**, 279-292(1953).
103. H. J. Gutowski, A. Saika, *J. Chem. Phys.* **21**, 1688-1694(1953).
104. J. A. Pople, W. G. Schneider H. J. Bernstein, "High Resolution NMR," McGraw-Hill, New York 1959.
105. A. Loewenstein, T. M. Connor, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **67**, 280-295(1963).
106. J. Delpuech, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2697(1964).
107. H. Kessler, *Angew. Chem.* **82**, 237-253(1980) ; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **9**, 219-235(1970).
108. L. M. Jackman, F. A. Cotton, "Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy," Academic Press, New York 1975.
109. A. Steigl, *NMR Basic Princ. Prog.* **15**, 1-53(1978).
110. H. W. Spiess, *NMR Basic Princ. Prog.* **15**, 55-214(1978).
111. G. Binsch, H. Kessler, *Angew. Chem.* **92**, 445-463(1980) ; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **19**, 411-428(1980).

112. M. L. Martin, G. J. Martin, J. Delpuech, "Practical NMR Spectroscopy," Heydin, London 1980.
113. J. I. Kaplan, G. Fraenkel, "NMR of Chemically Exchanging Systems," Academic Press, New York 1980.
114. J. Sandstrom, "Dynamic NMR Spectroscopy," Academic Press, London 1982.
116. B. H. Meier, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 6441-6442(1979).
117. Y. Huang, S. Macura, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 5327-5333(1981).
115. M. Oki, *Methods Stereochem. Anal.* **4**, (1985).