

## 重水中固氮酶催化还原乙炔产物的<sup>1</sup>H NMR 研究

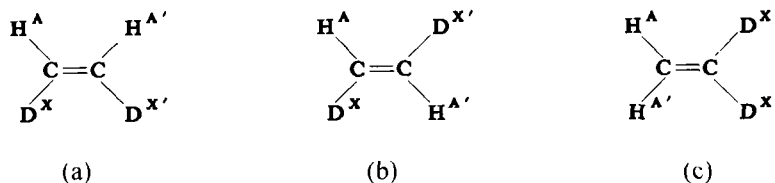
陈 忠\* 林国兴 蔡淑惠<sup>a</sup> 徐 昕  
黄静伟 万惠霖 蔡启瑞

(厦门大学化学系 <sup>a</sup>物理系 固体表面物理化学国家重点实验室 厦门 361005)

**摘要** 用<sup>1</sup>H NMR 研究了固氮酶在重水中催化还原乙炔的反应产物氘代乙烯. 利用群对称性对<sup>1</sup>H NMR 谱图进行了归属, 计算了几种可能的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 结构以及 C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>D 结构的 NMR 谱线频率和强度, 得出了理论谱. 通过理论谱与实验谱的比较, 表明固氮酶在重水中催化还原乙炔的产物主要以顺式结构 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 为主, 并含有较多的单氘代乙烯. 单氘代乙烯相对乙烯的化学位移往高场移动约 4.0Hz, 而双氘代乙烯向高场的位移大约是单氘代乙烯的 2 倍左右.

**关键词** 氘代乙烯, <sup>1</sup>H NMR, 高自旋体系, 谱分析

90 年代初, Kim 和 Rees<sup>[1]</sup> 提出了 K-R 固氮模型, 在国际上再次引起固氮研究的热潮. 为探讨固氮酶催化反应中底物的配合位以及配合的可能情况, 黄静伟等<sup>[2]</sup> 以乙炔为探针, 研究了固氮酶在重水中催化还原乙炔为乙烯的反应. 由于还原反应是在重水中进行, 双氘代乙烯 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 应是主要反应产物. C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 具有图式 1 所示的三种可能结构. 理论研究表明, 该反应产物是图式 1(a) 的顺式双氘代乙烯还是图式 1(b) 的反式双氘代乙烯对于揭示固氮酶催化反应的机理具有十分重要的意义<sup>[2]</sup>, 为此需对反应产物的结构进行分析表征. 然而, 图式 1 所示的三种 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 的物理和化学性质差异非常小, 而且生成产物的量很少, 难以用一般的分析测试方法给予定性定量的表征. 考虑到<sup>1</sup>H NMR 对结构变化比较敏感, 且具有较高的灵敏度, 本文对该反应产物进行了<sup>1</sup>H NMR 研究. 由于<sup>2</sup>D 的核自旋量子数  $I = 1$ , 而  $I = 1$  的偶合体系比  $I = 1/2$  的偶合体系表述明显复杂得多, 即使是弱偶合体系, 其基函数、本征值和本征函数的计算过程也很复杂. 虽然 Pegg 等<sup>[3,4]</sup> 提出了用 Heissenberg 矢量模型方法和 Heissenberg 表示理论来



图式 1 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 的三种结构

描述高自旋体系, 但这两种方法都不能很好地解析谱线分裂和谱线强度等问题. Nakashima 采

\* 男, 34 岁, 博士, 副教授

收稿日期: 1998-09-15, 修改日期: 1998-12-18, 定稿日期: 1999-02-02, 国家攀登 (29892166) 预选项目、国家自然科学基金 (19605004) 项目和固体表面物理化学国家重点实验室基金项目

用密度矩阵的方法在计算机辅助下计算 NMR 信号<sup>[5]</sup>,这不仅计算量相当大,而且物理意义不太明确.本文利用群论方法<sup>[6,7]</sup>计算了三种可能的  $C_2H_2D_2$  以及单氘代  $C_2H_3D$  的  $^1H$  NMR 谱线频率和强度.群对称性的利用可以减少久期方程中不为零非对角元的数目和所需求解的子行列式的维数,并且谱线跃迁的计算只需在同种群对称性间进行,从而大大降低了计算量,有利于对复杂谱图的完整合理归属.

## 1 实验

NMR 实验是在 Varian 公司生产的 Unity plus 500 超导核磁共振谱仪上进行的,探头为 5mm SW 探头,温度 293K.常压下将固氮酶在重水中催化还原乙炔的产物气 250mL 溶解于装有 0.7mL  $C_6D_6$  的核磁管中,并用万能胶将核磁管封口.为便于比较,将相同量的纯  $C_2H_4$  溶于含  $C_6D_6$  的另一核磁管中并密封.由于样品浓度较低,每一实验采样 1000 次.在匀场较好的条件下,将采样时间取为 5s 以获得较高的分辨率.实验  $^1H$  谱用溶剂  $C_6D_6$  中残留的  $^1H$  峰(相对于 TMS 峰的位移为 7.4)定标.为了分析方便,把  $C_2H_3D$  左起第三个谱峰定为 0Hz.

## 2 实验结果和谱分析

产物气的  $^1H$  NMR 谱如图 1(e)所示.该谱图不仅复杂而且谱峰重叠严重,难以对谱峰进行合理的归属.虽然从原理上说,利用  $^{13}C$  NMR 能给出更多的信息,但由于产物气的量及其在

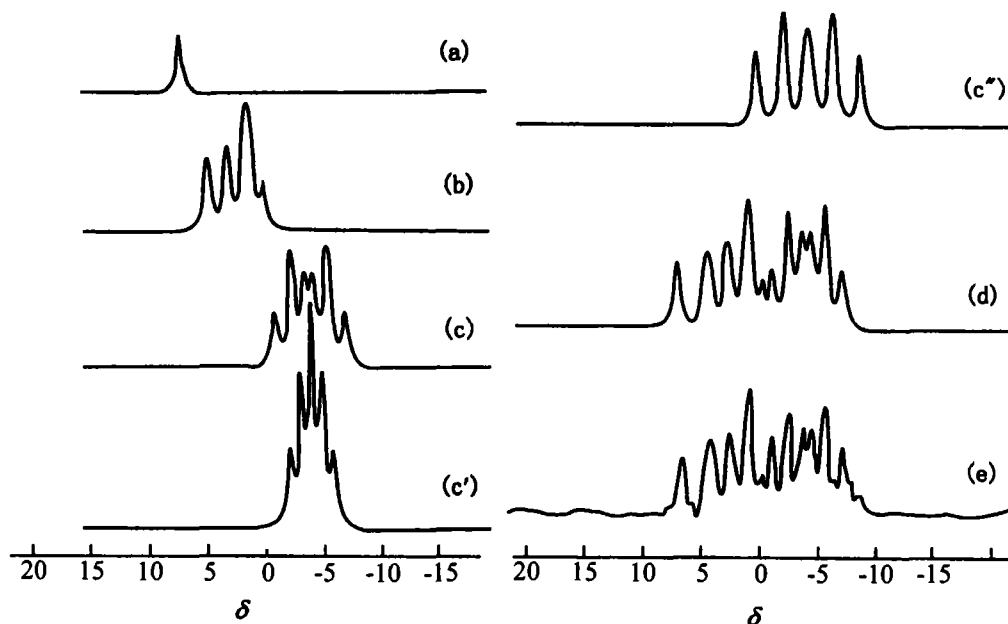


图 1  $^1H$  NMR 谱

a— $C_2H_4$  理论谱; b— $C_2H_3D$  理论谱; c—图式 1(a)结构  $C_2H_2D_2$  理论谱;  
c'—图式 1(b)结构  $C_2H_2D_2$  理论谱; c''—图式 1(c)结构  $C_2H_2D_2$  理论谱;  
d—3%  $C_2H_4$  + 30%  $C_2H_3D$  + 67% 顺式  $C_2H_2D_2$  理论谱; e—实验谱

C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> 中的溶解度有限,因此用天然丰度的<sup>13</sup>C 观察不到<sup>13</sup>C NMR 信号.而纯的已知构型的氘代乙烯样品又难以得到,为此只能凭借理论分析来帮助谱图解析.本文将双氘代乙烯 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 作为 AA'XX'体系,该结构的对称操作属于 C<sub>2</sub> 群.利用 C<sub>2</sub> 群的对称性,可以简化 36 阶久期方程的求解,从而得到本征值和对应的本征函数.根据跃迁只能在同种不可约表示的子空间进行,再结合选择定则和跃迁强度公式,可得到理论谱如图 1(c) ~ 1(c'') 所示.对于单氘代乙烯 C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>D,我们用类似方法拟合出其<sup>1</sup>H NMR 谱,如图 1(b)所示.

对图式(1)所示的几种可能的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 结构,由对称性有:

$$\begin{cases} \omega_A = \omega_{A'} \\ \omega_X = \omega_{X'} \\ J_{AX} = J_{A'X'} \equiv J \\ J_{A'X} = J_{AX'} \equiv J' \end{cases} \quad (1)$$

其中  $\omega_A = \omega_{A'}$  为两个 H 原子的化学位移,在固定坐标系中在 500MHz 附近(在 500MHz 谱仪上); $\omega_X = \omega_{X'}$  为两个 D 原子的化学位移,在 76.8MHz 附近.由于  $\omega_A$  与  $\omega_X$ ,  $\omega_A - \omega_X$ ,  $\omega_X - \omega_A$  的频率相差很远,观测<sup>1</sup>H 谱时,只能观测到 500MHz 附近只含  $\omega_A$  的各条谱线,其他含  $\omega_X$ ,  $\omega_A - \omega_X$ ,  $\omega_X - \omega_A$  的跃迁虽然存在,但不在<sup>1</sup>H 谱的观测范围内.计算时,由选择定则  $\Delta m = -1$  出发,挑选出频率只含  $\omega_A$  而不含  $\omega_X$  的各条谱线计算其相对强度,即可得出理论<sup>1</sup>H 谱.由于此时  $\omega_A$  只代表相对的偏移,其具体数值对结果并无影响,可不必引入.  $J_{ik}$  是核  $i$  和核  $k$  之间的偶合常数.因此,体系的哈密顿算符为:

$$\begin{aligned} H = & -\{ \omega_A(I_{Az} + I_{A'z}) + \omega_X(I_{Xz} + I_{X'z}) + J(I_{Az}I_{Xz} + I_{A'z}I_{X'z}) \\ & + J'(I_{Az}I_{X'z} + I_{A'z}I_{Xz}) + J_{AA'}I_{Az}I_{A'z} + \frac{1}{2}J_{AA'}(I_A^+ I_{A'}^- + I_A^- I_{A'}^+) \\ & + J_{XX'}I_{Xz}I_{X'z} + \frac{1}{2}J_{XX'}(I_X^+ I_{X'}^- + I_X^- I_{X'}^+) \} \end{aligned} \quad (2)$$

这里  $I_{iz}$  是核  $i$  的核自旋在  $z$  方向的分量,  $I_i^+$  和  $I_i^-$  分别是核  $i$  的核自旋的升降算符. C<sub>2</sub> 群的对称元素  $E$  和 C<sub>2</sub> 对 36 个乘积自旋函数作用结果见表 1.

表 1 乘积自旋函数及对称元素对它们的作用

No.	$m$	乘积自旋函数	$E$ 作用后 No.	C <sub>2</sub> 作用后 No.	No.	$m$	乘积自旋函数	$E$ 作用后 No.	C <sub>2</sub> 作用后 No.
1	3	$\alpha\alpha\chi(1)\chi(1)$	1	1'	13	1	$\beta\beta\chi(1)\chi(1)$	13	13'
2	2	$\alpha\alpha\chi(1)\chi(0)$	2	3	14	0	$\alpha\alpha\chi(0)\chi(-1)$	14	15
3	2	$\alpha\alpha\chi(0)\chi(1)$	3	2	15	0	$\alpha\alpha\chi(-1)\chi(0)$	15	14
4	2	$\alpha\beta\chi(1)\chi(1)$	4	5	16	0	$\alpha\beta\chi(1)\chi(-1)$	16	21
5	2	$\beta\alpha\chi(1)\chi(1)$	5	4	17	0	$\alpha\beta\chi(0)\chi(0)$	17	20
6	1	$\alpha\alpha\chi(1)\chi(-1)$	6	8	18	0	$\alpha\beta\chi(-1)\chi(1)$	18	19
7	1	$\alpha\alpha\chi(0)\chi(0)$	7	7'	19	0	$\beta\alpha\chi(1)\chi(-1)$	19	18
8	1	$\alpha\alpha\chi(-1)\chi(1)$	8	6	20	0	$\beta\alpha\chi(0)\chi(0)$	20	17
9	1	$\alpha\beta\chi(1)\chi(0)$	9	12	21	0	$\beta\alpha\chi(-1)\chi(1)$	21	16
10	1	$\alpha\beta\chi(0)\chi(1)$	10	11	22	0	$\beta\beta\chi(1)\chi(0)$	22	23
11	1	$\beta\alpha\chi(1)\chi(0)$	11	10	23	0	$\beta\beta\chi(0)\chi(1)$	23	22
12	1	$\beta\alpha\chi(0)\chi(1)$	12	9	24	-1	$\alpha\alpha\chi(-1)\chi(-1)$	24	24'

续表 1

No.	<i>m</i>	乘积自旋函数	<i>E</i> 作用后 No.	<i>C</i> <sub>2</sub> 作用后 No.	No.	<i>m</i>	乘积自旋函数	<i>E</i> 作用后 No.	<i>C</i> <sub>2</sub> 作用后 No.
25	-1	$\alpha\beta\chi(0)\chi(-1)$	25	28	31	-1	$\beta\beta\chi(-1)\chi(1)$	31	29
26	-1	$\alpha\beta\chi(-1)\chi(0)$	26	27	32	-2	$\alpha\beta\chi(-1)\chi(-1)$	32	33
27	-1	$\beta\alpha\chi(0)\chi(-1)$	27	26	33	-2	$\beta\alpha\chi(-1)\chi(-1)$	33	32
28	-1	$\beta\alpha\chi(-1)\chi(0)$	28	25	34	-2	$\beta\beta\chi(0)\chi(-1)$	34	35
29	-1	$\beta\beta\chi(1)\chi(-1)$	29	31	35	-2	$\beta\beta\chi(-1)\chi(0)$	35	34
30	-1	$\beta\beta\chi(0)\chi(0)$	30	30*	36	-3	$\beta\beta\chi(-1)\chi(-1)$	36	36*

\* 代表在对称元素 *C*<sub>2</sub> 作用后得到的基函数没有改变

由表 1, 以乘积自旋函数为基函数的 *C*<sub>2</sub> 对称群可约表示中 *E* 和 *C*<sub>2</sub> 的表示矩阵的迹分别为  $\text{tr}E = 36, \text{tr}C_2 = 6$ . *C*<sub>2</sub> 对称群的矩阵表示约化公式为

$$n_i = \frac{1}{g} \sum_{Rg} X(Rg) X_i^*(Rg) \quad (3)$$

其中 *g* 为群的阶, *X*(*Rg*) 为要约化的矩阵表示中对称元素 *Rg* 的特征标, *X*<sub>*i*</sub><sup>\*</sup>(*Rg*) 为第 *i* 个不可约矩阵表示中对称元素 *Rg* 的特征标的复共轭. 根据(3)式, 以 36 个乘积自旋函数为基函数的 *C*<sub>2</sub> 对称群可约表示可以约化为  $1/2 \times (36 \times 1 + 6 \times 1) = 21$  个不可约表示 A 和  $1/2 \times (36 \times 1 - 6 \times 1) = 15$  个不可约表示 B. 用投影算符  $P_A = (E + C_2)$  和  $P_B = 1/2(E - C_2)$  作用在 36 个乘积自旋函数上, 可以得到 A, B 对称化的基函数, 见表 2.

表 2 对称化基函数和对角元

A 对称			
No.	<i>m</i>	对称化基函数	顺式结构的对角元数值
1	3	$\alpha\alpha\chi(1)\chi(1)$	$-\omega_A - 2\omega_X - J - J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
2	2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(1)\chi(0) + \alpha\alpha\chi(0)\chi(1) \}$	$-\omega_A - \omega_X - 1/2J - 1/2J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
3	2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(1) + \beta\alpha\chi(1)\chi(1) \}$	$-2\omega_X - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
4	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(1)\chi(-1) + \alpha\alpha\chi(-1)\chi(1) \}$	$-\omega_A - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$
5	1	$\alpha\alpha\chi(0)\chi(0)$	$-\omega_A - 1/4J_{AA'}$
6	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(0) + \beta\alpha\chi(0)\chi(1) \}$	$-\omega_X - 1/2J + 1/2J' + 1/4J_{AA'}$
7	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(1) + \beta\alpha\chi(1)\chi(0) \}$	$-\omega_X + 1/2J - 1/2J' + 1/4J_{AA'}$
8	1	$\beta\beta\chi(1)\chi(1)$	$\omega_A - 2\omega_X + J + J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
9	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(0)\chi(-1) + \alpha\alpha\chi(-1)\chi(0) \}$	$-\omega_A + \omega_X + 1/2J + 1/2J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
10	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(-1) + \beta\alpha\chi(-1)\chi(1) \}$	$-J + J' + 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$
11	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(0) + \beta\alpha\chi(0)\chi(0) \}$	$-1/4J_{AA'}$
12	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(1) + \beta\alpha\chi(1)\chi(-1) \}$	$J - J' + 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$
13	0	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(1)\chi(0) + \beta\beta\chi(0)\chi(1) \}$	$\omega_A - \omega_X + 1/2J + 1/2J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
14	-1	$\alpha\alpha\chi(-1)\chi(-1)$	$-\omega_A + 2\omega_X + J + J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
15	-1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(-1) + \beta\alpha\chi(-1)\chi(0) \}$	$\omega_X - 1/2J + 1/2J' + 1/4J_{AA'}$
16	-1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(0) + \beta\alpha\chi(0)\chi(-1) \}$	$\omega_X + 1/2J - 1/2J' + 1/4J_{AA'}$
17	-1	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(1)\chi(-1) + \beta\beta\chi(-1)\chi(1) \}$	$\omega_A - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$
18	-1	$\beta\beta\chi(0)\chi(0)$	$\omega_A - 1/4J_{AA'}$
19	-2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(-1) + \beta\alpha\chi(-1)\chi(-1) \}$	$2\omega_X - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
20	-2	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(0)\chi(-1) + \beta\beta\chi(-1)\chi(0) \}$	$\omega_A + \omega_X - 1/2J - 1/2J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$
21	-3	$\beta\beta\chi(-1)\chi(-1)$	$\omega_A + 2\omega_X - J - J' - 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$

续表 2

		B 对称		
1	2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(1)\chi(0) - \alpha\alpha\chi(0)\chi(1) \}$	$-\omega_A - \omega_X - 1/2J - 1/2J' - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$-\omega_A - \omega_X - 4.2$
2	2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(1) - \beta\alpha\chi(1)\chi(1) \}$	$-2\omega_X + 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$	$-2\omega_X + 8.3$
3	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(1)\chi(-1) - \alpha\alpha\chi(-1)\chi(1) \}$	$-\omega_A - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$-\omega_A - 2.6$
4	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(0) - \beta\alpha\chi(0)\chi(1) \}$	$-\omega_X - 1/2J + 1/2J' + 1/4J_{AA'}$	$-\omega_X + 4.15$
5	1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(1) - \beta\alpha\chi(1)\chi(0) \}$	$-\omega_X + 1/2J - 1/2J' + 1/4J_{AA'}$	$-\omega_X + 1.55$
6	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\alpha\chi(0)\chi(-1) - \alpha\alpha\chi(-1)\chi(0) \}$	$-\omega_A + \omega_X + 1/2J + 1/2J' - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$-\omega_A + \omega_X - 1.0$
7	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(1)\chi(-1) - \beta\alpha\chi(-1)\chi(1) \}$	$-J + J' + 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	5.7
8	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(0) - \beta\alpha\chi(0)\chi(0) \}$	$1/4J_{AA'}$	8.55
9	0	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(1) - \beta\alpha\chi(1)\chi(-1) \}$	$J - J' + 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	0.5
10	0	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(1)\chi(0) - \beta\beta\chi(0)\chi(1) \}$	$\omega_A - \omega_X + 1/2J + 1/2J' - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$\omega_A - \omega_X - 1.0$
11	-1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(0)\chi(-1) - \beta\alpha\chi(-1)\chi(0) \}$	$\omega_X - 1/2J + 1/2J' + 1/4J_{AA'}$	$\omega_X + 4.15$
12	-1	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(0) - \beta\alpha\chi(0)\chi(-1) \}$	$\omega_X + 1/2J - 1/2J' + 1/4J_{AA'}$	$\omega_X + 1.55$
13	-1	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(1)\chi(-1) - \beta\beta\chi(-1)\chi(1) \}$	$\omega_A - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$\omega_A - 2.6$
14	-2	$1/\sqrt{2} \{ \alpha\beta\chi(-1)\chi(-1) - \beta\alpha\chi(-1)\chi(-1) \}$	$2\omega_X + 1/4J_{AA'} - J_{XX'}$	$2\omega_X + 8.3$
15	-2	$1/\sqrt{2} \{ \beta\beta\chi(0)\chi(-1) - \beta\beta\chi(-1)\chi(0) \}$	$\omega_A + \omega_X - 1/2J - 1/2J' - 1/4J_{AA'} + J_{XX'}$	$\omega_A + \omega_X - 4.2$

表中只给出顺式结构数据

表 3 非对角元,  $H_{ij} = H_{ji}$

A 对称性		B 对称性	
4	5	$1/\sqrt{2}J_{XX'}$	$1/2J_{AA'} - J_{XX'}$
6	7	$-(1/2J_{AA'} + J_{XX'})$	$-J_{XX'}$
10	11	$-J_{XX'}$	$1/2J_{AA'}$
10	12	$-1/2J_{AA'}$	$-J_{XX'}$
11	12	$-J_{XX'}$	$1/2J_{AA'} - J_{XX'}$
15	16	$-(1/2J_{AA'} + J_{XX'})$	
17	18	$-\sqrt{2}J_{XX'}$	

表中顺式结构的数据由文献[7]中的实验值结合关系式  $J_{AB} = K\gamma_A\gamma_B$  和  $\gamma_H/\gamma_D = 6.5$  得到:  $J = 0.3\text{Hz}$ ,  $J' = 1.8\text{Hz}$ ,  $J_{AA'} = 11.4\text{Hz}$ ,  $J_{XX'} = 0.3\text{Hz}$ . 从表 2 看, 21 个不可约表示 A 对称化的基函数构成 21 维子空间. 根据相同  $m$  值的态才能混合的原则, 可以把  $21 \times 21$  的子行列式进一步分解成  $1 \times 1, 2 \times 2, 5 \times 5, 5 \times 5, 5 \times 5, 2 \times 2, 1 \times 1$  等 7 个子行列式. 同样, 15

个不可约表示 B 对称化的基函数构成 15 维子空间, 而  $15 \times 15$  的子行列式可进一步分解成  $2 \times 2, 3 \times 3, 5 \times 5, 3 \times 3, 2 \times 2$  等 5 个子行列式. 这些行列式的对角元和不等零的非对角元分别列于表 2 和表 3.

从表中可以看出, 在利用群对称性的对称化基函数的情况下, 不等零的非对角元很少. 限于篇幅, 我们只给出顺式结构的数据. 用消元法解这些久期方程, 可得到体系的本征值与本征函数见表 4. 由于跃迁只能在同种不可约表示的对称性间进行, 再根据选择定则  $\Delta m = -1$  及相对强度正比于  $|\langle \varphi_{m-1} | I^- | \varphi_m \rangle|^2$ , 可得表 5 所列质子共振频率及相对强度, 从而画出理论谱如图 1(c). 基于谱的对称性, 我们只给出谱的一半.

### 3 结果与讨论

在同一分子内, 各条谱线的相对强度与  $|\langle \varphi_{m-1} | I^- | \varphi_m \rangle|^2$  成正比. 在同一样品管中, 某种构型分子  $^1\text{H}$  谱线的总强度与每个分子所含 H 原子的数目和分子摩尔浓度的乘积成正比. 将实验谱中的谱线用理论谱归属后, 由于每种构型分子所含 H 原子的数目是已知的, 只要利用各种构型分子谱线的积分强度, 再算出每种构型分子中  $^1\text{H}$  谱线的相对强度, 就可以求出各种构

型分子的相对摩尔浓度(可进一步换算成百分比浓度),从而得到不同构型分子间谱线强度对比.将各种构型分子的理论谱按强度对比进行叠加,即得图 1(d).由图 1(d)与图 1(e)中谱线位置与强度的对比可以认为,固氮酶在重水中催化还原乙炔的产物——氘代乙烯中主要以顺式结构  $C_2H_2D_2$  存在[图式 1(a)],另外还含有较多的单氘代乙烯,这可能是由于重水氘代不完全的缘故.为什么产物中单氘代乙烯含量比重水中氘代不完全的程度明显多,更确切的证据,还在进一步研究中.图 1(e)中第一个谱峰,处于低场,是没有被氘代的乙烯的谱峰.图 1(d)左起第六条谱线强度小于图 1(e)实验线,这可能是由于(b),(c)两种构型的氘代已烯很少,理论谱中略去了它们的贡献,从而引起强度的偏差.实验发现,单氘代乙烯相对乙烯的化学位移往高场移动约 4.0Hz,双氘代乙烯往高场的位移大约是单氘代乙烯的 2 倍.这可能是由于  $C_2H_4$  上的氢被较重的同位素氘取代,使分子的位能降低,从而 $^1H$ 的化学位移略向高场移动.此结果与文献[7]中单氘代乙烯相对乙烯的化学位移往高场移动是一致的.

表 4 本函数及本征值

A 对称				B 对称			
$\Psi$	$m$	本征函数	本征值	$m$	本征函数	本征值	
1	3	$\varphi_a(1)$	$-\omega_A - 2\omega_X - 6.3$	2	$\varphi_\beta(1)$	$-\omega_A - \omega_X - 4.2$	
2	2	$\varphi_a(2)$	$-\omega_A - \omega_X - 4.7$		$\varphi_\beta(2)$	$-2\omega_X + 8.3$	
3		$\varphi_a(3)$	$-2\omega_X - 3.1$		$\varphi_\beta(3)$	$-\omega_A - 2.6$	
4	1	$\sqrt{6}/3\varphi_a(4) - 1/\sqrt{3}\varphi_a(5)$	$-\omega_A - 2.35$	1	$0.785\varphi_\beta(4) + 0.619\varphi_\beta(5)$	$-\omega_X + 8.45$	
5		$1/\sqrt{3}\varphi_a(4) + 2/\sqrt{6}\varphi_a(5)$	$-\omega_A - 3.1$		$0.619\varphi_\beta(4) - 0.785\varphi_\beta(5)$	$-\omega_X - 2.75$	
6		$0.630\varphi_a(6) + 0.778\varphi_a(7)$	$-\omega_X - 3.19$	0	$\varphi_\beta(6)$	$-\omega_A + \omega_X - 1.0$	
7		$-0.778\varphi_a(6) + 0.630\varphi_a(7)$	$-\omega_X + 8.89$		$0.789\varphi_\beta(7) - 0.345\varphi_\beta(8) + 0.509\varphi_\beta(9)$	9.49	
8	$\varphi_a(8)$	$\omega_A - 2\omega_X + 0.1$	$0.295\varphi_\beta(7) + 0.938\varphi_\beta(8) + 0.182\varphi_\beta(9)$		8.42		
9	0	$\varphi_a(9)$	$-\omega_A + \omega_X - 1.5$	0	$-0.541\varphi_\beta(7) + 0.006\varphi_\beta(8) + 0.841\varphi_\beta(9)$	-3.17	
10		$-0.841\varphi_a(10) + 0.006\varphi_a(11) + 0.541\varphi_a(12)$	9.365		$\varphi_\beta(10)$	$\omega_A - \omega_X - 1.0$	
11		0	$0.286\varphi_a(10) - 0.841\varphi_a(11) + 0.455\varphi_a(12)$	-2.63	-1	$0.785\varphi_\beta(11) + 0.619\varphi_\beta(12)$	$\omega_X + 8.45$
12	$0.459\varphi_a(10) + 0.535\varphi_a(11) + 0.709\varphi_a(12)$		-3.39	$0.619\varphi_\beta(11) - 0.785\varphi_\beta(12)$		$\omega_X - 2.753$	
13	-1	$\varphi_a(13)$	$\omega_A - \omega_X - 1.5$	-2	$\varphi_\beta(13)$	$\omega_A - 2.6$	
14		$\varphi_a(14)$	$-\omega_A + 2\omega_X + 0.1$		$\varphi_\beta(14)$	$2\omega_X + 8.3$	
15		$0.630\varphi_a(15) + 0.778\varphi_a(16)$	$\omega_X - 3.19$		$\varphi_\beta(15)$	$\omega_A + \omega_X - 4.2$	
16	-1	$-0.778\varphi_a(15) + 0.630\varphi_a(16)$	$\omega_X + 8.89$				
17		$\sqrt{6}/3\varphi_a(17) - 1/\sqrt{3}\varphi_a(18)$	$\omega_A - 2.35$				
18	-2	$1/\sqrt{3}\varphi_a(17) + 2/\sqrt{6}\varphi_a(18)$	$\omega_A - 3.1$				
19		$\varphi_a(19)$	$2\omega_X - 3.1$				
20	-2	$\varphi_a(20)$	$\omega_A + \omega_X - 4.7$				
21		-3	$\varphi_a(21)$	$\omega_A + 2\omega_X - 6.3$			

表中只给出顺式结构数据,  $\varphi_a$  为 A 对称性对称化基函数;  $\varphi_\beta$  为 B 对称性对称化基函数, 见表 2

表 5 顺式结构  $C_2H_2D_2$  中质子的共振频率及相对强度

A 对称性								B 对称性			
No.	跃迁	频率/ Hz	相对 强度	No.	跃迁	频率/ Hz	相对 强度	No.	跃迁	频率/ Hz	相对 强度
1	1→3	$-\omega_A - 3.2$	2	7	4→12	$-\omega_A + 1.04$	0.067	1	1→4	$-\omega_A - 12.65$	0.027
2	2→6	$-\omega_A - 1.51$	1.978	8	5→10	$-\omega_A - 12.47$	0.027	2	1→5	$-\omega_A - 1.447$	1.97
3	2→7	$-\omega_A - 13.59$	0.016	9	5→11	$-\omega_A - 0.47$	0.30	3	3→7	$-\omega_A - 12.09$	0.0784
4	3→8	$-\omega_A - 3.2$	2	10	5→12	$-\omega_A + 0.29$	1.67	4	3→8	$-\omega_A - 11.02$	0.0127
5	4→10	$-\omega_A - 11.72$	0.062	11	6→13	$-\omega_A - 1.69$	1.978	5	3→9	$-\omega_A + 0.566$	1.91
6	4→11	$-\omega_A + 0.28$	1.67	12	7→13	$-\omega_A + 10.39$	0.0216	6	4→10	$-\omega_A + 9.45$	0.027
								7	5→10	$-\omega_A - 1.753$	1.97

## References

- 1 J. Kim, D. C. Rees, *Science*, **1992**, 257, 1677.
- 2 HUANG Jing-Wei, *Ph. D. Thesis of Xiamen Univ.*, Xiamen, **1994**.
- 3 D. T. Pegg, M. R. Bendall, D. M. Doddrell, *J. Magn. Reson.*, **1984**, 58, 14.
- 4 D. T. Pegg, M. R. Bendall, *J. Magn. Reson.*, **1983**, 53, 229.
- 5 T. T. Nakashima, R. E. D. McClung, B. K. John, *J. Magn. Reson.*, **1984**, 58, 27.
- 6 P. L. Corio, "Structure of High - Resolution NMR Spectra", Academic Press, New York, **1966**.
- 7 G. S. Reddy, J. H. Goldstein, *J. Mol. Spectrosc.*, **1962**, 8, 485.

## $^1H$ NMR Study on the Products of the Catalytic Reduction of Ethyne by Nitrogenase in $D_2O$

CHEN Zhong\*    LIN Guo-Xing    CAI Shu-Hui<sup>a</sup>    XU Xin  
HUANG Jing-Wei    WAN Hui-Lin    CAI Qi-Rui

(Department of Chemistry, <sup>a</sup> Department of Physics, Xiamen University, Xiamen, 361005)

**Abstract** The products of the catalytic reduction ethyne by nitrogenase in  $D_2O$  were studied by  $^1H$  NMR. In order to assign the  $^1H$  NMR spectrum, the theoretical spectra of  $C_2H_2D_2$  were calculated using group symmetry. The final eigenfunctions, eigenvalues, allowed transitions and intensities of  $C_2H_2D_2$  and  $C_2H_3D$  were obtained. It can be concluded that the products comprised mainly of *cis*- $C_2H_2D_2$ . There was also some  $C_2H_3D$ .  $^1H$  chemical shift in  $C_2H_3D$  moved by ca. 4.0Hz to the upfield compared with that in  $C_2H_4$ . The upfield shift in  $C_2H_2D_2$  was about twice as large as that in  $C_2H_3D$ . The theoretical results are in good agreement with experimental ones.

**Keywords** ethylene - *d*,  $^1H$  NMR, high spin system, spectra analysis

(Ed. XIE Hui-Qin)