ДӘРІС 14

ДӘРІС ТАҚЫРЫБЫ

^{13}C ЯМР спектроскопиясы. Кеңінен қолданылуы.

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор
Кудайбергенова Батес Маликовна



Сурет — оқу мақсатындағы жалпы зертхана көрінісі

Дәрістің мақсаты мен міндеттері

Мақсаты

ЯМР спектроскопиясының физикалық негіздерін түсіндіріп, бірөлшемді, екіөлшемді, сандық және қатты күйдегі ЯМР әдістерінің молекулалық құрылымды, құрам мен дәрілік зат сапасын зерттеудегі қолданылуын көрсету.

Міндеттері

01 ЯМР сигналы, химиялық ығысу, интеграл және спин-спин бөлінуі туралы негізгі ұғымдарды түсіндіру.

02 $^{1}H/^{13}C$ және COSY, HSQC, HMBC сияқты 2D тәжірибелерінің беретін ақпаратын салыстыру.

03 qNMR өлшеуіндегі ішкі стандарт, интеграл және релаксация шарттарының рөлін сипаттау.

04 Фармацевтикада, өндірістік бақылауда, қатты күйде және MRI/MRS зерттеулерінде ЯМР қолданылуын бағалау.

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор Кудайбергенова Батес Маликовна

ЯМР спектроскопиясы нені зерттейді?

ЯМР спектрі — молекуладағы магниттік қасиеті бар ядролардың резонанстық сигналдарының көрінісі. Сигнал орны мен байланысы химиялық ортаны ашады, ал дұрыс таңдалған тәжірибеде сигнал ауданы зат мөлшерін бағалауға мүмкіндік береді.

Спектрден алынатын ақпарат	Зерттеуші қоятын сұрақ	Қолданылатын нәтиже
Химиялық ығысу және сигналдар саны	Қандай химиялық орталар бар?	Құрылымды сәйкестендіру, функционалдық топтарды тексеру
Сигнал ауданы / интеграл	Әр компоненттің мөлшері қандай?	qNMR сандық талдауы, тазалықты бағалау
Сызықтың бөлінуі және байланыс	Протондар қандай фрагментке жалғанған?	Молекула қаңқасын жинақтау, изомерді ажырату
Релаксация, диффузия және кеңістік дерегі	Қозғалыс, агрегаттану не кеңістіктік жақындық бар ма?	Материалдар, биомолекулалар, ерітінділерді зерттеу

ЯМР — жеке бір әдіс емес: тәжірибе түрі зерттеу мақсаты мен үлгінің күйіне сай таңдалады.

ЯМР әдістерінің негізгі түрлері

Әдістің таңдалуы ядро түріне, үлгінің сұйық не қатты болуына және қажетті ақпаратқа тәуелді. Бірөлшемді спектр бастапқы шолу береді; қосымша тәжірибелер сигналдардың өзара байланысын көрсетеді.

Әдіс тобы	Не өлшенеді?	Қай кезде пайдалы?
^{1}H және ^{13}C бірөлшемді ЯМР	Протондар немесе көміртек ортасының химиялық ығысуы, мультиплеттері	Органикалық молекуланы бастапқы сәйкестендіру және құрылымды растау
2D ЯМР: COSY, HSQC, HMBC	Екі жиілік осінде ядролар арасындағы байланыс корреляциялары	Күрделі молекулада сигналдарды тағайындау және көміртек-протон байланысын картаға түсіру
Ерітіндідегі жоғары ажыратымды ЯМР	Еріген молекулалардың химиялық ортасы мен байланыстары	Дәрілік субстанция, табиғи қосылыс, биомолекула
Қатты күйдегі ЯМР (SSNMR)	Қатты үлгідегі локальды химиялық орталар	Полиморф, кристалдық орта, аморфты бөлік, ерімейтін материал
Уақыт-домендік ЯМР / релаксометрия	T_1, T_2 релаксациясы және сигналдың уақыттық бәсеңдеуі	Қоспалар, май қаттылығы, ылғал мен молекулалық қозғалысты жедел бағалау

Құрылымды анықтау және растау

ЯМР құрылымды «бір шыңмен» анықтамайды. Қорытынды бірнеше спектрдің үйлесімділігіне сүйенеді: ^{1}H және ^{13}C деректері жалпы орталарды көрсетеді, ал 2D корреляциялар олардың байланысу ретін тексеруге көмектеседі.

Талдау кезеңі	Қаралатын белгі	Құрылымға беретін үлесі
1. Сигналдар санын бағалау	Эквивалентті емес ядро орталарының саны	Молекулада неше түрлі химиялық орта барын шамалайды
2. δ және интегралды оқу	Химиялық ығысу және протон санының қатынасы	Қай протон тобы қандай электрондық ортада екенін көрсетеді
3. $^{1}H–^{1}H$ корреляциясы	COSY көлденең шыңдары	Көрші протон топтарын тізбекке біріктіреді
4. $^{1}H–^{13}C$ корреляциясы	HSQC бір байланыс, HMBC ұзақ байланыс корреляциясы	Протонды тиісті көміртекке тағайындауға көмектеседі
5. Молекулалық формуламен тексеру	Интеграл, көміртек саны, қосымша спектр/стандарт	Ұсынылған құрылым барлық бақылауға сай келетінін тексереді

Нәтижені сенімді ету үшін ЯМР дерегін масса-спектрометрия, ИҚ немесе эталондық спектрмен салыстыруға болады.

Екіөлшемді ЯМР: байланыстар картасы

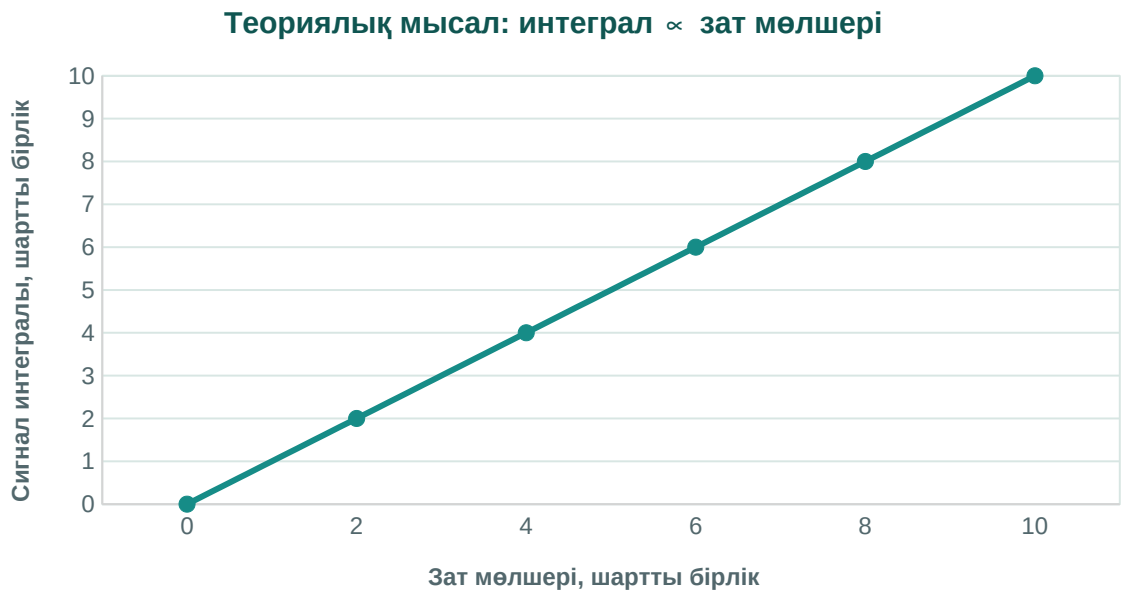
Екіөлшемді тәжірибеде спектр екі химиялық ығысу осін көрсетеді. Диагональдан тыс корреляциялық сигналдар тәжірибе ережесіне сәйкес ядролардың байланысын немесе кеңістіктік жақындығын белгілейді.

Тәжірибе	Көрсететін байланыс	Қолдану мысалы
COSY	Байланысқан протондар арасындағы спин-спин корреляциясы	Протондық фрагменттерді және көміртек тізбегі бойындағы көршілестікті табу
HSQC	Тікелей байланысқан $^{1}H–^{13}C$ жұптары	Протон сигналын өзі жалғанған көміртекке сәйкестендіру
HMBC	Әдетте бірнеше байланыс арқылы байқалатын $^{1}H–^{13}C$ корреляциясы	Жанама байланыстарды көріп, молекула қаңқасын жалғастыру
NOESY	Кеңістікте жақын ядролар арасындағы ядролық Overhauser әсері	Конформацияны, стереохимиялық қатынасты бағалау
J-resolved	Химиялық ығысу мен J-бөлінуді бөлек өлшемдерде көрсету	Қабаттасқан мультиплеттерді талдауды жеңілдету

Ескерту: корреляция мағынасы тәжірибеге байланысты; 2D шыңды әрдайым тікелей байланыс деп түсіндіруге болмайды.

Сандық ЯМР (qNMR): интегралдан мөлшерге

qNMR-де талданатын зат пен ішкі стандарттың сигнал аудандары салыстырылады. Интеграл таңдалған сигналдағы ядро санына және зат мөлшеріне байланысты; сандық нәтиже алу үшін толық релаксация мен сигналдардың қабаттаспауын қамтамасыз ету керек.



Массалық мөлшерге арналған қатынас (жалпы түрі)

$$m_x = (I_x / N_x) \div (I_s / N_s) \times (M_x / M_s) \times m_s \times P_s$$

I — интеграл; N — сигналға сәйкес ядро саны; M — молярлық масса; m_s — стандарт массасы; P_s — стандарт тазалығы. Таңдалған аналит пен стандарт сигналы жеке және айқын болуы керек.

График — сандық тәуелділікті түсіндіруге арналған теориялық сызық, эксперименттік калибрлеу емес.

Фармацевтикада қолданылуы

ЯМР дәрілік субстанциялар мен дайын дәрілік түрлерді зерттеуде құрылым туралы мәліметті және кейбір сандық көрсеткіштерді ұсынады. Әдісті өнімнің қасиетіне қарай таңдап, нәтижені спецификация мен валидация шеңберінде бағалайды.

Міндет	ЯМР қалай көмектеседі?	Мысал/ескерту
Сәйкестендіру	$^{1}H/^{13}C$ ығысуы мен байланыс дерегін эталонмен салыстыру	API құрылымын растау
Құрам/потенция	qNMR интегралын тазалығы белгілі стандартпен салыстыру	Массалық үлесті бағалау
Қоспалар мен деградация	Бөгде сигналдар мен спектрлік профильдің өзгерісін бақылау	Сигнал айқын болса qNMR/профильдеу
Қатты дәрілік түр	SSNMR арқылы қатты күйдегі ортаны зерттеу	Полиморф, аморфты фаза, API–қосымша зат
Қаптамадағы өнім	wNMR тәсілін өнімді қаптамада өлшеуге бейімдеу	Бүлдірмей бағалау; өнімге жарамдылығын дәлелдеу



Фармацевтикалық үлгіні дайындау көрінісі

ЯМР әр сапа сынағына жарамды деп автоматты есептелмейді: сезімталдық, матрица және нормативтік талап тексеріледі.

Қатты күйдегі ЯМР және полиморфизм

Қатты үлгіде молекулалардың бағытталуы әртүрлі болғандықтан химиялық ығысу анизотропиясы мен дипольдік әсерлесулер сызықтарды кеңейтуі мүмкін. Қатты күйдегі ЯМР арнайы импульстік режимдер мен үлгіні жылдам айналдыру тәсілдерін қолданады.

Құрал/тәсіл	Негізгі қызметі	Фармацевтикалық мағынасы
MAS — magic-angle spinning	Үлгіні магиялық бұрышқа жақын ось бойымен жылдам айналдырып, анизотропиялық әсерлердің бір бөлігін азайту	Қатты үлгінің кеңейген сызықтарын түсіндіруге көмектеседі
^{13}C SSNMR	Қатты күйдегі көміртек химиялық орталарын бақылау	Полиморфтық түрлердің немесе аморфты аймақтардың айырмасын зерттеу
^{1}H SSNMR	Протон ортасын, сутектік байланыстар мен қозғалысты бағалау	Кристалдық тордағы молекулааралық әсерлесулерді сипаттау
Температураға тәуелді өлшеу	Қыздыру/салқындату кезіндегі спектр өзгерісін бақылау	Фаза ауысуын, дегидратацияны немесе молекулалық қозғалысты талдау
Қажет кезде қосымша әдіс	PXRD, DSC, ИҚ және ерігіштік деректерімен салыстыру	Полиморф туралы қорытындыны бір ғана сигналға сүйендірмеу

Полиморф қорытындысын SSNMR дерегін PXRD, DSC және ерігіштікпен бірге бағалап жасаған жөн.

Өндіріс барысын бақылау және PAT

Процесс аналитикалық технологиясында (PAT) ЯМР белгілі бір құрамдас бөлікті немесе материалдың күйін процесс кезінде бақылауға бейімделуі мүмкін. Бұл — әр өндірістік міндетке жеке әдіс таңдау, сигналды калибрлеу және процестің өкілді сынамасын дәлелдеу қажет болатын қолдану.

Үдеріс кезеңі	ЯМР қолдану нұсқасы	Бақылаудағы шама
Шикізатты қабылдау	Жедел спектрлік профильді референстік материалмен салыстыру	Идентификация/құрамдық ауытқу
Еріту немесе араластыру	Сұйық қоспа спектрін уақыт бойынша тіркеу	Компонент мөлшерінің немесе химиялық күйінің өзгеруі
Реакция/синтез	In-line не at-line конфигурациясында спектр алу	Реакция барысы мен аралық өнімдер
Дайын өнімді шығару	Қаптаманы ашпай өлшейтін wNMR тәрізді тәсілді зерттеу	Құрамды бұзбай бағалау мүмкіндігі
Модель және шешім	Референстік үлгілермен салыстыру, калибрлеу, шек қою	Әдістің нақты процеске жарамдылығы

Сызба логикасы: өлшеу → спектр/сигнал → калибрлеу немесе модель → процесс шешімі → жазба және сапа бағасы.

Метаболомика және биомолекулалар

Метаболомикада ЯМР биологиялық сұйықтықтар мен экстрактілердегі көптеген төмен молекулалы метаболиттерден спектрлік профиль алады. Биомолекулалық ЯМР ерітіндідегі ақуыздар мен басқа молекулалардың құрылымы, динамикасы және өзара әсерлесуі туралы дерек бере алады.



Қолдану	ЯМР-дың үлесі	Маңызды ескерту
Биомаркерді іздеу	Профиль сигналдарын бірге салыстыру	Модельді тәуелсіз жиында тексеру керек
Метаболитті тағайындау	^{1}H және 2D корреляциямен сәйкестендіру	Қабаттасса қосымша әдіс қажет
Ақуыз/лиганд зерттеуі	Құрылым, динамика, байланыс	Ерігіштік пен өлшемі шектейді

График — тек профиль ұғымын көрсетуге арналған шартты сигналдар; клиникалық дерек емес.

Тағам және табиғи өнімдердің түпнұсқалығы

ЯМР өнімнің жалпы химиялық профилін тіркеп, оны белгілі референстік профильдермен салыстыруға жарайды. Бұл тәсіл тағамның шығу тегі, құрамы, жалған қоспа немесе таңбалауға сәйкес келмеу мәселесін зерттеуде пайдалы болуы мүмкін.

Үлгі түрі	ЯМР-де қарастырылатын белгі	Қандай сұраққа көмектеседі?
Бал	Қанттар мен басқа компоненттердің спектрлік профилі; көп айнымалы салыстыру	Қант шәрбаты қосылған болуы мүмкін бе? Профиль референстік балға сәйкес пе?
Өсімдік майы	Липидтік профиль және май қышқылдарына қатысты сигналдар	Май құрамы мен таңбаланған түрдің сәйкестігі қандай?
Сусын	Қант, органикалық қышқылдар, алкоголь және ингредиент профильдері	Құрамдық сәйкестік немесе рецептуралық айырма бар ма?
Сүт өнімдері мен майлар	Жалпы май құрамы, қатты май фракциясы немесе тамшы сипаттамасы	Сапа, тұтастық және кейбір физикалық қасиеттер қандай?
Өсімдік шикізаты/экстракт	Метаболиттік профиль, маркерлік сигналдар	Партияларды салыстыру және шикізаттың химиялық бейінін бақылау

Сенімді қорытынды үшін референстік база, бірдей үлгі дайындау және қажет болса қосымша әдіспен растау керек.

Медицина: MRI мен MRS

Медицинадағы магниттік-резонанстық томография (MRI) мен магниттік-резонанстық спектроскопия (MRS) ЯМР құбылысына сүйенеді, бірақ беретін нәтижесі өзгеше. MRI кеңістіктік ақпаратты жинап, анатомиялық кескін жасайды; MRS таңдалған аймақтағы химиялық метаболит сигналдарын бағалайды.

Әдіс	Негізгі нәтиже	Жиі қойылатын зерттеу сұрағы
Жоғары ажыратымды ЯМР спектроскопиясы	Үлгідегі молекулалардың химиялық ортасы мен байланысы	Қандай қосылыс бар және молекула құрылымы қандай?
MRI / МРТ	Тіндердің кеңістіктік кескіні; сигнал релаксация мен градиенттер арқылы локализацияланады	Ағзаның қай бөлігінде құрылымдық өзгеріс бар?
MRS	Белгілі анатомиялық аймақтағы спектрлік/метаболиттік ақпарат	Таңдалған тінде қандай метаболиттік өзгеріс байқалады?



Медициналық MRI көрінісі — тақырыптық иллюстрация

MRI иондаушы сәуле қолданбайды, бірақ күшті магнит өрісіне байланысты имплант­тар мен қауіпсіздік талаптары тексеріледі.

Материалтану және өндірістік зерттеулер

ЯМР қатты және сұйық материалдың құрамын ғана емес, молекулалық қозғалыс пен локальды ортаны да зерттейді. Сондықтан әдіс полимер, кеуекті қатты зат, катализатор, батарея электролиті, косметика және мұнай-химия үлгілерінде әртүрлі форматта қолданылады.

Сала/нысан	ЯМР беретін ақпарат	Қолдану мысалы
Полимерлер	Құрылымдық бірліктер, тізбек қозғалысы, релаксация және диффузия	Полимер құрамы, көлденең байланысу, қоспа мен жұмсартқыштың әсері
Кеуекті материалдар	Қонақ молекуласының ортаға енуі, адсорбция және молекулалық қозғалыс	Катализатор мен сорбенттегі молекулаларды бақылау
Батарея материалдары	Иондардың жергілікті химиялық ортасы мен қозғалысы	Электролит немесе электрод ішіндегі иондық орта туралы зерттеу
Мұнай-химия және ерітінділер	Компоненттердің спектрлік бейіні және диффузиялық мінезі	Қоспа құрамын, ерітінді күйін немесе өнімнің химиялық өзгерісін салыстыру
Косметика/эмульсия	Май фазасы, су фазасы, релаксация және тамшы сипаттары	Формуланы және физикалық тұрақтылықты зерттеу

Қатты үлгіде PXRD/DSC, күрделі қоспада хроматография немесе MS ЯМР-ды толықтырады.

Әдісті таңдау: мүмкіндігі, шектеуі және дереккөздер

Күшті жағы	Шектеуі / ескеретін тұсы
Құрылымдық, сандық және динамикалық ақпаратты бір платформада бере алады.	Сезімталдық кейбір масс-спектрометриялық тәсілдерден төмен; үлгі мөлшері мен жинау уақыты маңызды.
Көп жағдайда үлгі өлшеуден кейін сақталады; ерітінді және қатты күйге арналған түрлері бар.	Спектрлер қабаттасуы мүмкін; күрделі қоспаларды түсіндіру үшін 2D тәжірибе не бөлу әдісі қажет болуы ықтимал.
Қажет болса, ішкі стандартпен qNMR орындауға болады.	Сандық нәтиже релаксация кідірісіне, стандарт тазалығына, сигнал таңдауына және әдістің дұрыстығына тәуелді.

Пайдаланылған әдебиеттер мен нұсқаулықтар

1. IUPAC Gold Book. Nuclear magnetic resonance spectroscopy; 2D NMR; solid-state NMR; chemical shift. goldbook.iupac.org
2. USP–NF General Chapter <1761>, Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. doi.usp.org/USPNF/USPNF_M4348_01_01.html
3. U.S. FDA. Noninvasive Process Analytical Technology for Manufacturing Automation: water proton NMR. fda.gov/science-research/advancing-regulatory-science/noninvasive-process-analytical-technology-pat-manufacturing-automation
4. Bruker. NMR pharma solutions; NMR for foods and beverages. bruker.com
5. NIH. Magnetic Resonance Imaging (MRI); NIBIB MRI overview. health.nih.gov; nibib.nih.gov

Әдісті таңдаңыз: сұрақты нақтылаңыз → тәжірибені белгілеңіз → стандартты дайындаңыз → жарамдылығын тексеріңіз.

Бақылау сұрақтары

Дәрістің негізгі ұғымдары мен қолдану бағыттарын бекітуге арналған сұрақтар.

01 ЯМР спектроскопиясы зат туралы қандай негізгі ақпарат бере алады?

02 ^{1}H және ^{13}C ЯМР қандай жағдайда бірін-бірі толықтырады?

03 COSY, HSQC және HMBC тәжірибелері қандай корреляцияларды көрсетеді?

04 qNMR сандық талдауында интеграл мен ішкі стандарт не үшін қажет?

05 qNMR нәтижесіне әсер ететін өлшеу шарттарына қандай мысал келтіресіз?

06 Фармацевтикада ЯМР арқылы қандай сапа міндеттерін шешуге болады?

07 Қатты күйдегі ЯМР полиморфтарды зерттеуге қалай көмектеседі?

08 PAT пен өндірістік бақылауда ЯМР қандай рөл атқара алады?

09 Тағам түпнұсқалығын зерттеуде спектрлік профиль қалай пайдаланылады?

10 MRI, MRS және жоғары ажыратымды ЯМР спектроскопиясының нәтижелері несімен ерекшеленеді?

11 Метаболомикада ЯМР қолданудың артықшылығы мен шектеуін атаңыз.

12 ЯМР нәтижесін растауға немесе толықтыруға болатын басқа әдістерді атаңыз.