ДӘРІС 13

ДӘРІС ТАҚЫРЫБЫ

Ядролық магниттік резонанс (^{1}H ЯМР).



Фармацевтикалық талдаудағы спектроскопиялық әдіс

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор
Кудайбергенова Батес Маликовна

Дәрістің мақсаты мен күтілетін нәтижесі

¹H ЯМР молекуладағы химиялық тұрғыдан әр түрлі протондардың резонансын өлшейді. Спектрде химиялық ығысу, интеграл және мультиплет құрылымы бір-бірін толықтырады.

Оқу міндеті	Дәріс соңында студент орындай алады
Принципін түсіндіру	¹H ядросының сыртқы магнит өрісіндегі күйін және радиожиілікті импульстің рөлін сипаттайды.
Спектр параметрлерін оқу	Химиялық ығысу, интеграл, мультиплет және J-константаның мағынасын ажыратады.
Құрылымға сәйкестендіру	Химиялық орта мен көрші протондар туралы мәліметті біріктіріп, қарапайым фрагменттерді табады.
Фармацевтикалық қолдануды бағалау	¹H ЯМР және qNMR-дың сәйкестендіру, тазалық пен сандық талдаудағы мүмкіндігін атайды.

Негізгі оқу реті: сигналдың орны → интеграл → бөлінуі → құрылымдық қорытынды.

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор Кудайбергенова Батес Маликовна

¹H ЯМР-дың физикалық негізі

¹H ядросының спині I = 1/2, сондықтан оның магниттік моменті сыртқы өріспен әрекеттеседі. B_0 өрісінде энергиясы әр түрлі екі бағдар пайда болады. Радиожиілікті импульс ядроны резонанс шарты орындалғанда қоздырады.

Резонанс шарты

$$\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi \qquad \Delta E = h\nu_0$$

Кезең	Физикалық құбылыс	Өлшенетін белгі
1. B_0 өрісі	Протон спиндері өріспен өзара әсерлесіп, энергия деңгейлері ажырайды.	Протонның Лармор жиілігі.
2. RF импульсі	Резонанс жиілігіне сәйкес энергия жұтылып, ядролар қозады.	Импульстен кейінгі өтпелі жауап.
3. FID және FT	Қайту кезінде индукцияланған сигнал тіркеліп, Фурье түрлендіруі орындалады.	Жиілік осіндегі ЯМР спектрі.

¹H ЯМР сигналы резонанстың жай ғана бар-жоғын емес, протонның химиялық ортасын да көрсетеді.

Аспап сигналды спектрге қалай айналдырады?

Қазіргі импульстік ЯМР спектрометрі үлгіні магнит өрісіне енгізіп, радиожиілікті импульспен қоздырады және өте әлсіз жауапты тіркейді.

Құрал бөлігі	Қызметі	Өлшеуге ықпалы
Тұрақты магнит	Күшті B_0 өрісін жасайды.	Резонанс жиілігін және спектрдің ажыратымдылығын анықтайды.
Зонд және RF катушкасы	Үлгіні орналастырады; импульсті береді және жауапты қабылдайды.	Сигналды үлгімен тиімді байланыстырады.
Таратқыш/қабылдағыш	Импульс жиілігі мен қуатын басқарып, FID сигналын өлшейді.	Сигналдың сапасы мен қайталануына әсер етеді.
Компьютер және FT	FID-ті өңдеп, жиілік осіндегі спектрді шығарады.	Шыңдар, интеграл және спектрлік параметрлерді есептейді.

Магнит өрісінің тұрақтылығы мен біртектілігі, зондты баптау және сигнал/шу қатынасы сапалы спектр алуға қажет.

Химиялық ығысу: электрондық ортаның белгісі

Химиялық ығысу δ – үлгідегі резонанс жиілігінің стандартқа қатысты салыстырмалы өзгерісі. Ол ppm түрінде беріледі, сондықтан әртүрлі жиілікте жұмыс істейтін аспаптардың спектрлерін салыстыруға болады.

$$\delta\ (\text{ppm}) = ((\nu_{\text{үлгі}} - \nu_{\text{стандарт}}) / \nu_{\text{стандарт}}) \times 10^6$$

Фактор	Протон ортасына әсері	Спектрде байқалуы
Электрон тығыздығы	Электрондар локалдық магнит өрісін өзгертеді.	Қорғалу артқанда δ әдетте төменірек, қорғалмау артқанда жоғарырақ мән береді.
Электртерістілігі жоғары атом	O, N және галогенге жақын протондардың электрондық ортасын өзгертеді.	Сигналдың δ мәні жиі өседі.
π-жүйелер және анизотропия	Қос байланыс, ароматты сақина және карбонил тобының магниттік әсері бар.	Сигнал орны функционалдық топқа тәуелді жылжиды.
Еріткіш пен сутектік байланыс	OH/NH протондарының ортасы концентрация, еріткіш және температураға тәуелді.	Сигнал орны мен ені өзгеруі мүмкін.

TMS қолданылғанда оның сигналы 0 ppm деп алынады; кейбір еріткіштерде басқа ішкі немесе сыртқы стандарт таңдалуы мүмкін.

¹H ЯМР-дегі жиі кездесетін химиялық ығысу аймақтары

Кестедегі диапазондар бағдар ретінде берілген. Нақты ығысу молекуланың құрылысына, еріткішке, концентрацияға және температураға тәуелді.

Протон түрі / химиялық орта	Шамамен δ, ppm	Түсіндіру
Алкил C–H (sp^3)	0.5–2.0	Қарапайым қаныққан көміртекке байланысқан протондар.
Аллилдік/бензилдік немесе карбонилге көршілес C–H	1.7–3.0	Көрші π-жүйе не карбонил тобы сигнал орнына әсер етеді.
O–CH, N–CH немесе галогенге жақын C–H	2.5–4.5	Электртерістілігі жоғары атом электрон ортасын өзгертеді.
Алкендік C–H	4.5–6.5	C=C байланысының магниттік анизотропиясы әсер етеді.
Ароматты C–H	6.0–8.5	Ароматты сақинаның π-жүйесі сигналды өзгертеді.
Альдегидтік C–H	9.0–10.0	Карбонил маңындағы протон.
Карбон қышқылының OH	10–13	Көбіне кең сигнал; сутектік байланысқа тәуелді.
OH және NH	Өзгермелі	Еріткіш, алмасу және температураға сезімтал болуы мүмкін.

Интеграл және химиялық эквиваленттік

Спектрдегі әр сигнал химиялық ортада эквивалентті протондар тобын көрсетеді. Интеграл сызығының өсімі шың биіктігімен емес, сигнал астындағы ауданмен байланысты.

Түсінік	Мағынасы	Спектрді оқудағы қолдану
Химиялық эквивалентті протондар	Бірдей магниттік ортадағы протондар бір сигнал береді.	Әртүрлі сигналдар саны протон орталарының санын шамалайды.
Интеграл	Сигнал ауданы сол ортадағы протон санына пропорционал.	Қатынасты бүтін сандарға келтіріп, H санын салыстырады.
Молекула формуласы	Жалпы протон саны мен интеграл қатынасын салыстырады.	Ұсынылған құрылымның спектрмен сәйкестігін тексереді.

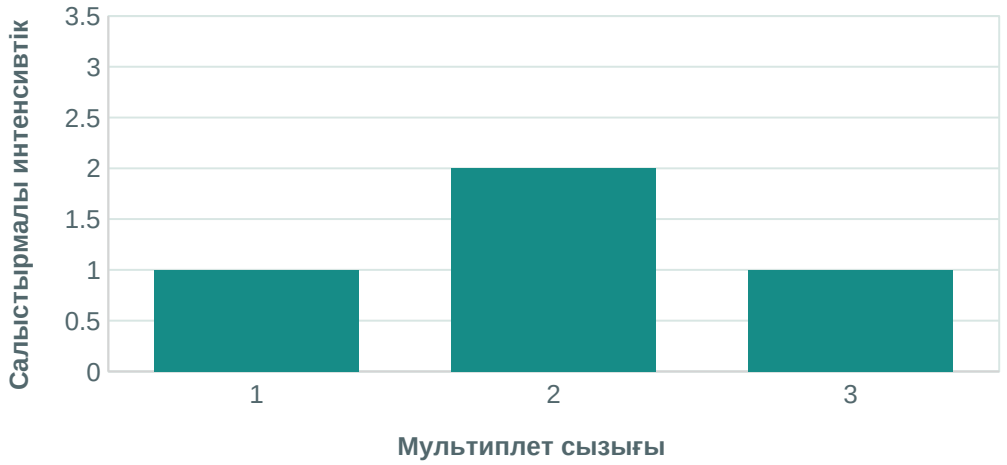
Мысал: этил ацетатта $CH_3COOCH_2CH_3$ үшін үш ортаға сәйкес интеграл қатынасы 3 : 2 : 3. Бұл қатынас спектрдегі үш сигналдың ауданынан алынады.

Нақты интеграл сапасы сигналдардың қабаттасуына, релаксацияға және параметрлерді дұрыс таңдауға тәуелді.

Спин-спиндік әсерлесу және мультиплет

Көрші протондардың магниттік әсері бір сигналды бірнеше сызыққа бөледі. Бірдей химиялық ортадағы n көрші протон үшін қарапайым жағдайда n+1 сызық күтіледі. Сызықтар аралығы J-константамен өлшеніп, Hz-пен беріледі.

Триплет: 1 : 2 : 1



Квартет: 1 : 3 : 3 : 1



Мысал: –CH_2–CH_3 фрагментінде CH_3 сигналы көрші екі H әсерінен триплет, ал CH_2 сигналы көрші үш H әсерінен квартет болуы мүмкін. Екеуінің J мәні сәйкес келеді.

Спектрді түсіндірудің жұмыс реті

Спектрді бір белгімен емес, өзара үйлесетін бірнеше параметр арқылы оқыңыз.

Қадам	Нені тексереді?	Қандай сұраққа жауап береді?
1. Сигналдар саны	Әртүрлі химиялық орталар бойынша бөлінген сигнал топтары.	Қанша протон ортасы бар?
2. Химиялық ығысу	Әр сигналдың δ орны.	Протон қандай атомдарға немесе функционалдық топқа жақын?
3. Интеграл	Сигнал аудандарының қатынасы.	Әр ортада неше протон бар?
4. Мультиплет және J	Сызық саны, аралығы және өзара байланысқан сигналдар.	Қанша көрші протон бар? Қай фрагмент болуы мүмкін?
5. Құрылыммен салыстыру	Формула, стандарт және қажет болса 2D ЯМР/басқа әдістер.	Барлық сигнал ұсынылған құрылымға сай ма?

Қабаттасқан сигнал немесе ұқсас δ мәні болса, ¹H ЯМР дерегін басқа спектрлік/аналитикалық ақпаратпен толықтырған жөн.

Үлгіні дайындау және өлшеу шарттары

Спектр сапасына үлгіні еріту, еріткіш пен өлшеу параметрлері әсер етеді. Протон сигналы басым еріткішті таңдауға және қалдық еріткіш шыңдарын тануға көңіл бөледі.

Дайындау кезінде

• Үлгіні толық ерітіп, тұнба мен бөлшектерді алып тастау.
• Дейтерийленген еріткішті таңдау: еріткіштің ¹H сигналы азаяды, бірақ толық жоғалмайды.
• Таза 5 мм ЯМР түтігін қолдану; үлгі деңгейі зондтың жұмыс аймағына сәйкес болу.
• Қажет болса TMS немесе басқа қолайлы стандартпен δ осін бекіту.
• Еріткіш, температура және концентрацияны жазып қою.

Нәтижені бұрмалайтын себептер

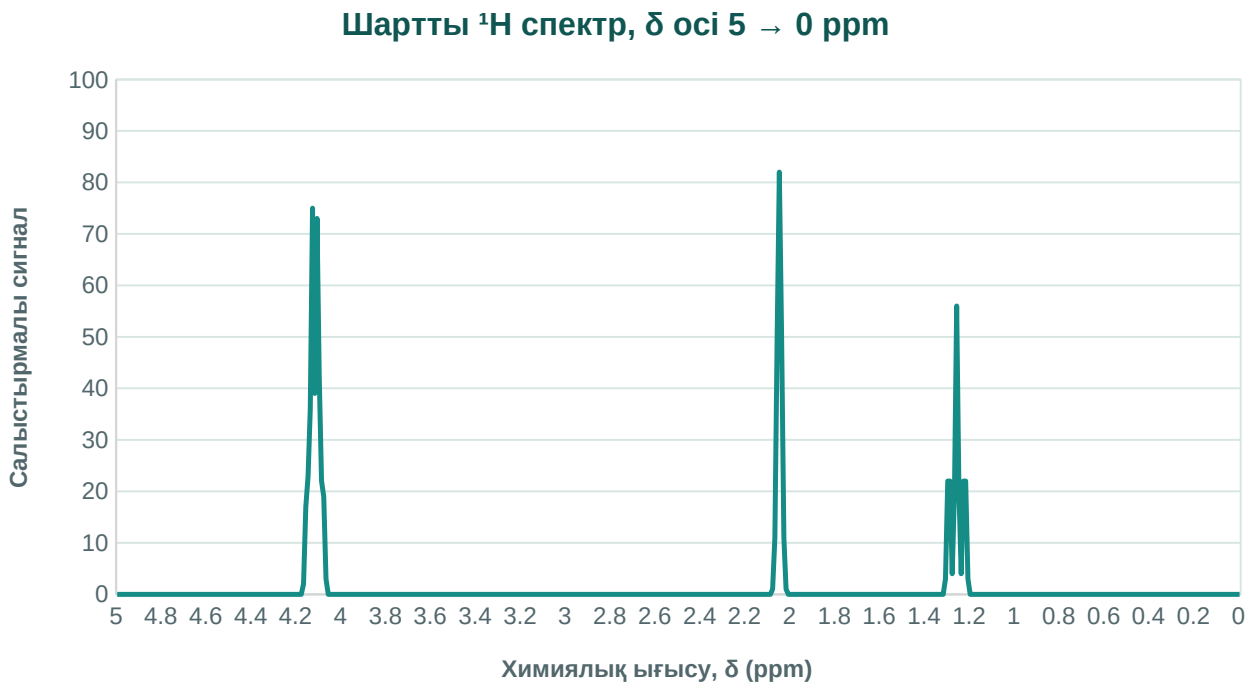
Қабаттасқан еріткіш/су шыңдары, ерігіштіктің нашарлығы, үлгі концентрациясының тым төмен болуы және магнит өрісінің жеткіліксіз біртектілігі спектрді қиындатады.



Иллюстрациялық зертхана көрінісі. Құралдың нақты моделін көрсетпейді.

¹H ЯМР мысалы: этил ацетат спектрін оқу

Этил ацетаттың формуласы $CH_3COOCH_2CH_3$. Спектрдегі үш сигналды химиялық ығысу, интеграл және бөліну арқылы тағайындауға болады.



δ, ppm	Сигнал	Интеграл және тағайындау
4.12	квартет, J ≈ 7 Hz	2H; O–CH_2–CH_3
2.05	синглет	3H; CH_3–C(O)–
1.26	триплет, J ≈ 7 Hz	3H; CH_3–CH_2–

Квартет пен триплеттің J мәндері сәйкес, сондықтан O–CH_2–CH_3 этил фрагменті туралы дәлел күшейеді.

Ескерту: химиялық ығысу еріткіш пен өлшеу жағдайына байланысты аздап өзгереді.

Фармацевтикалық талдаудағы ¹H ЯМР

ЯМР құрылымға қатысты бай ақпарат береді. Сандық ¹H ЯМР (qNMR) спектрдегі сигнал аудандарын белгілі мөлшердегі стандартпен салыстырып, құрам мен тазалықты бағалай алады.

Міндет	¹H ЯМР қандай мәлімет береді?	Қолдану мысалы
Идентификация	Химиялық ығысу, интеграл және мультиплет үлгісі.	Белсенді заттың құрылымын немесе сәйкестігін растауға қосымша дерек.
Құрам/потенция	Аналит пен ішкі стандарт сигналының аудан қатынасы.	qNMR арқылы дәрілік субстанцияның мөлшерін бағалау.
Тазалық және қоспалар	Нысаналы затқа жатпайтын протон сигналдарын байқау.	Органикалық қалдықтар мен синтез қоспаларын сипаттау.
Үдеріс/сақтау зерттеуі	Уақыт бойынша сигналдың өзгеруін салыстыру.	Тұрақтылық, құрамның біркелкілігі және арнайы зерттеу сұрақтары.

qNMR дәлдігіне сигнал қабаттаспау, стандарттың тазалығы, релаксация уақыты және әдістің валидациясы әсер етеді.

Мүмкіндіктері мен шектеулері

¹H ЯМР құрылымдық ақпаратты бір спектрде жинайды, ал qNMR сандық бағалауға мүмкіндік береді. Әдіс таңдағанда үлгі мөлшері мен сигналдардың қабаттасуын есепке алады.

Артықшылығы	Практикалық шектеуі
Протондардың химиялық ортасы, саны және көрші байланыстары туралы қатар ақпарат береді.	Ұқсас ортадағы сигналдар қабаттасып, күрделі қоспаны түсіндіруді қиындатады.
qNMR-де сигнал ауданы зат мөлшеріне пропорционал; ішкі стандартпен сандық талдау жүргізуге болады.	Сезімталдығы кейбір MS әдістерінен төмен болуы мүмкін; үлгі мөлшері жеткілікті болуы қажет.
Көп жағдайда үлгі талдаудан кейін сақталады, сондықтан қосымша әдістермен тексеруге болады.	Күшті магниті бар аспап қымбат; өлшеу мен спектрді түсіндіруге дайындық қажет.
Құрылымдық белгісіздік пен кейбір органикалық қоспаларды сипаттауға пайдалы.	Дейтерийленген еріткіш, анық спектрлік аймақ және тұрақты өлшеу шарттары қажет.
Сандық нәтиже стандарттың сертификатталған тазалығына және дұрыс спектрлік параметрлерге сүйенеді.	Қабаттасқан сигнал, релаксация немесе стандарт таңдауы есепті бұрмалауы мүмкін.

Қысқа түйін: ¹H ЯМР-ды химиялық құрылымды түсіндіруге және орынды жағдайда qNMR арқылы мөлшерді бағалауға қолданады.

Пайдаланылған дереккөздер

1. IUPAC Gold Book. Nuclear magnetic resonance spectroscopy (08218); nuclear spin (08418); Larmor frequency (08375); chemical shift (C01036). goldbook.iupac.org

2. Bruker. How NMR Works. NMR 101: sample, magnet, RF pulse, FID and Fourier transform. bruker.com/en/resources/library/application-notes-mr/nmr-101.html

3. Bruker. The NMR spectrum: Chemical shift and spin-spin coupling. Application note, NMR resource library.

4. Sigma-Aldrich / Merck. ¹H NMR and ¹³C NMR Chemical Shifts of Impurities Chart. sigma-aldrich.com

5. University of Colorado Boulder. NMR Spectrum Acquisition; ethyl acetate teaching spectrum: 4.12 ppm (q), 2.05 ppm (s), 1.26 ppm (t). orgchemboulder.com/Technique/Procedures/NMR/

6. Application of quantitative NMR in pharmaceutical analysis: Method qualification and potency determination for two new chemical entities in early-stage clinical studies. J Pharm Biomed Anal. 2023;234:115561. doi:10.1016/j.jpba.2023.115561

7. U.S. FDA. Noninvasive Process Analytical Technology for Manufacturing Automation: water proton NMR research project. fda.gov/science-research/advancing-regulatory-science/noninvasive-process-analytical-technology-pat-manufacturing-automation

Бақылау сұрақтары

Тақырыпты қайталау үшін төмендегі сұрақтарға жауап беріңіз.

01 ^{1}H ядросы неліктен ЯМР әдісімен байқалады? I = 1/2 нені білдіреді?

02 Сыртқы B_0 өрісі протонның энергия деңгейлеріне қалай әсер етеді?

03 Лармор жиілігі қалай анықталады және RF импульс не үшін беріледі?

04 Химиялық ығысу деген не? δ мәні неге ppm бірлігімен беріледі?

05 TMS-тің ^{1}H ЯМР спектріндегі рөлі қандай?

06 Интеграл сызығы қандай ақпарат береді? Ол шың биіктігімен бірдей ме?

07 Қарапайым жағдайда n+1 ережесі мен J-константа нені көрсетеді?

08 Этил ацетаттағы 4.12 ppm квартеті, 2.05 ppm синглеті және 1.26 ppm триплеті қай протондарға сәйкес?

09 qNMR фармацевтикалық талдауда қандай міндет атқара алады?

10 ЯМР өлшеуінің кемінде екі шектеуін атаңыз.