СӘТБАЕВ УНИВЕРСИТЕТІ

SATBAYEV UNIVERSITY

Құрылымды дәлелдеу: УК, ИҚ, ЯМР, МС және біріктірілген тәсілдер

Дәріс оқытушысы:
PhD, қауымд. профессор
Оңалбек Дамира Дүйсембекқызы
d.ongalbek@satbayev.university

Дәрістің мақсаты

Табиғи қосылыстың құрылымын спектрлік деректер арқылы кезең-кезеңімен дәлелдеуді үйрету. Бір әдіс толық құрылымды жеке өзі сирек анықтайды. Сенімді қорытынды молекулалық формула, функционалдық топтар, атомдардың байланысу реті және кеңістіктік конфигурация жөніндегі тәуелсіз деректер өзара сәйкес келгенде ғана жасалады. Сондықтан УК, ИҚ, ЯМР және МС нәтижелері бір логикалық модельде біріктіріледі.

Негізгі міндеттер

Спектрлік әдістердің ақпараттық мүмкіндігін түсіну

Әр әдістің құрылымдық дәлелін ажырату

Нәтижелерді бір жүйеге біріктіру

Оқу нәтижесі

Спектрді бастапқы талдау

Молекулалық формула мен функционалдық топтарды болжау

Құрылымдық гипотезаны негіздеу

Құрылымдық дәлелдеудің жалпы стратегиясы

Табиғи өнімді бөліп алғаннан кейін алдымен оның тазалығы тексеріледі. Қоспа болған жағдайда спектрлердегі артық сигналдар жалған корреляцияларға және қате формулаға әкелуі мүмкін. Одан кейін молекулалық формула HRMS арқылы ұсынылып, қанықпағандық дәрежесі есептеледі. УК мен ИҚ ықтимал хромофорлар мен функционалдық топтарды көрсетеді. ЯМР атомдардың химиялық ортасын және байланысу ретін анықтайды, ал MS/MS субқұрылымдар мен белгілі аналогтарды салыстыруға мүмкіндік береді.

Қанықпағандық дәрежесі. Көміртек, сутек, азот және галогендерден тұратын молекула үшін қос байланыс эквиваленті: DBE = (2C + 2 + N - H - X) / 2. Оттек пен күкірт есепке тікелей кірмейді. DBE сақиналар мен π-байланыстардың жалпы санын шектейді, бірақ олардың нақты орналасуын көрсетпейді.

Дәлелдеу деңгейі	Негізгі сұрақ	Басты әдістер
Элементтік құрам	Молекулалық формула қандай?	HRMS, изотоптық үлгі
Функционалдық топ	OH, NH, C=O, ароматты жүйе бар ма?	ИҚ, УК, ЯМР
Конституция	Атомдар қандай ретпен байланысқан?	COSY, HSQC, HMBC, MS/MS
Салыстырмалы конфигурация	Орталықтар бір-біріне қалай бағдарланған?	J, NOESY, ROESY, RDC
Абсолюттік конфигурация	R немесе S конфигурациясы қандай?	ECD/VCD, XRD, туындылау, синтез

Ультра күлгін спектроскопиясы

УК-көрінетін спектроскопия электрондардың төменгі энергетикалық күйден жоғары күйге ауысуын тіркейді. Табиғи қосылыстарда π→π* және n→π* ауысулары маңызды. Конъюгация ұзарған сайын энергия айырмасы азайып, жұтылу максимумы ұзын толқынға ығысады. Спектрдің негізгі параметрлері - λ_{max} және молярлық жұту коэффициенті ε.

Бугер Ламберт Бер заңы

A = εCl, мұнда A – Оптикалық тығыздық, ε - молярлық жұту коэффициенті, b – кювета қалыңдығы, C - концентрация. Заң сұйылтылған ерітінділерде және химиялық тепе-теңдік өзгермегенде жақсы орындалады.

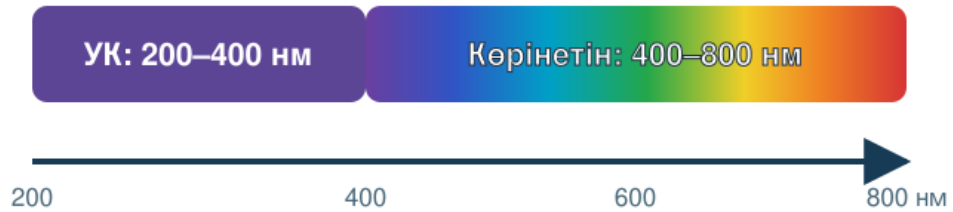
Термин	Мағынасы	Құрылымдық түсіндіру
Батохромдық ығысу	λmax ұзын толқынға жылжиды	Конъюгацияның ұзаруы немесе ауксохром әсері
Гипсохромдық ығысу	λmax қысқа толқынға жылжиды	Конъюгацияның әлсіреуі, протондану немесе геометрия өзгеруі
Гиперхромдық әсер	Жұтылу қарқындылығы артады	Өтудің ықтималдығы немесе хромофор әсері артады
Гипохромдық әсер	Жұтылу қарқындылығы төмендейді	Стерикалық кедергі немесе молекулааралық әсер

УК-көрінетін аймақ спектроскопиясы

Молекулалардың электрондық ауысуларына негізделген жұтылу әдісі



Электромагниттік диапазон

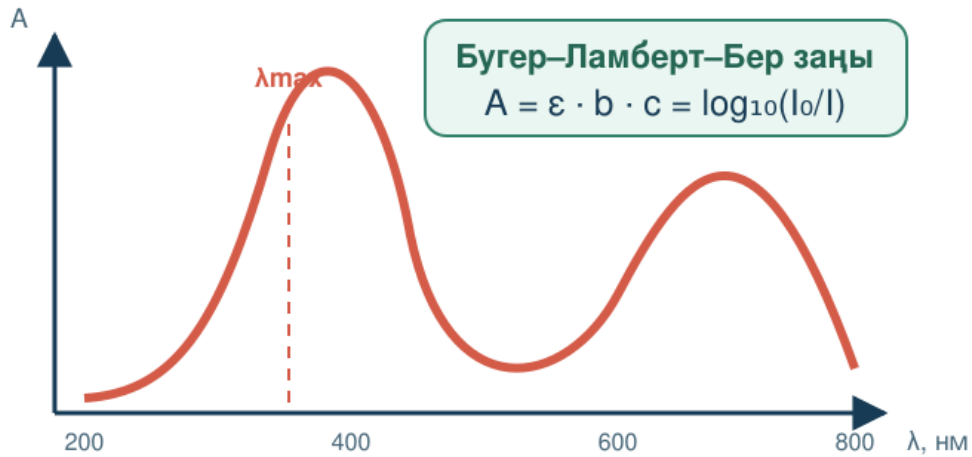


Негізгі электрондық ауысулар

σ→σ* · n→σ* · π→π* · n→π*

Хромофор мен конъюгация λmax мәніне әсер етеді

Жұтылу спектрі және сандық талдау



Бугер–Ламберт–Бер заңы

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c = \log_{10}(I_0/I)$$

A — оптикалық тығыздық; ε — молярлық жұту коэффициенті; b — жол ұзындығы; c — концентрация

Қолданылуы: затты сәйкестендіру, тазалықты бағалау және концентрацияны анықтау

Табиғи қосылыстар үшін қолданылуы



- Флавоноидтарда бензоил және циннамоил жүйелеріне тән екі негізгі жолақ байқалады.
- Антрахинондарда кең конъюгация көрінетін аймаққа дейін жұтылуға және түске әкеледі.
- Фенолдық топтардың иондануы немесе комплекс түзуі λmax өзгертуі мүмкін.
- УК спектрі хромофорды қолдайды, бірақ позициялық изомерлерді жалғыз өзі сенімді ажыратпайды.

Инфрақызыл спектроскопия

ИҚ спектроскопия молекуланың тербелмелі ауысуларын сипаттайды. Жұтылу үшін тербеліс кезінде диполь моменті өзгеруі керек. Құрылымды дәлелдеуде 4000-1500 $см^{-1}$ функционалдық топтар аймағы, 1500-500 $см^{-1}$ саусақ ізі аймағы ретінде қарастырылады. ATR-FTIR үлгіні аз дайындауды қажет етеді, бірақ кристалдық күй, сутектік байланыс және ылғал жолақ пішініне әсер етуі мүмкін.

Тербеліс аймағы $см^{-1}$	Ықтимал топ	Ескерту
3600-3200	O-H	Көбіне кең; сутектік байланыста төмен жиілікке ығысады
3500-3300	N-H	Біріншілік аминде екі, екіншілікте бір жолақ болуы мүмкін
3100-3000	sp^2 C-H	Ароматты немесе алкендік жүйелер
2960-2850	sp^3 C-H	Алкил топтары
1800-1650	C=O	Эфир, қышқыл, альдегид, кетон, амид ортасына тәуелді
1650-1500	C=C және ароматты қаңқа	Конъюгация жолақ орнына әсер етеді
1300-1000	C-O	Спирттер, фенолдар, эфирлер және гликозидтер

ИҚ деректерін түсіндіру тәртібі

- Өте кең және қарқынды жолақтарды белгілеу.
- Карбонил аймағын тексеру және конъюгацияны бағалау.
- Ароматты немесе алкендік жолақтарды анықтау.
- С-О және саусақ ізі аймағын эталонмен салыстыру.
- Жоқ жолақтарды да құрылымдық шектеу ретінде пайдалану



Ядролық магниттік резонанс

ЯМР табиғи өнім құрылымын дәлелдеудің негізгі әдісі. Химиялық ығысу электрондық экрандалуды, интеграл протон санын, мультиплеттік көрші спиндерді, ал J-константалар байланыс геометриясын сипаттайды. ^{13}C ЯМР көміртек орталарын көрсетеді, бірақ табиғи молшылық пен сезімталдық төмен болғандықтан сигнал жинау уақыты ұзағырақ болуы мүмкін.



Ядролық магниттік резонанс спектроскопиясы (ЯМР)

Магнит өрісіндегі ядролық спиндердің радиожиілікті сәулені жұтуына негізделген әдіс



ЯМР құбылысының физикалық негізі



B_0 артқанда деңгейлер ажырайды

Резонанс шарты

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

$$B_eff = B_0(1 - \sigma)$$

Электрондық экрандау сигнал орнына әсер етеді

^{1}H ЯМР спектрі: негізгі ақпарат

- Сигнал саны → протон орталары
- δ мәні → электрондық орта
- Интеграл → протондар қатынасы
- Мультиплеттілік → көрші протондар (n + 1)

Химиялық ығысу

$$\delta = (\nu_{үлгі} - \nu_{эталон})/\nu_0 \times 10^6$$



Қолданылуы: құрылымды дәлелдеу, стереохимияны анықтау, қоспаларды табу және зат мөлшерін сандық бағалау

ЯМР-спектроскопия негіздері

Физикалық принципі

Ядролар магнит өрісінде энергия деңгейлеріне бөлінеді

Радиожиілікті жұтылу химиялық ортаға тәуелді

Сигнал орны химиялық ығысумен беріледі

^{1}H ЯМР

Құрылымдық ақпарат

Протондардың саны мен химиялық ортасы

Көршілес протондар саны

Алкендік, ароматты, альдегидтік және қант протондары

Негізгі параметрлер

Химиялық ығысу δ

Интегралдық қарқындылық

Спин-спиндік бөліну және байланысу тұрақтысы J

^{13}C ЯМР

Көміртек атомдарының химиялық ортасы

Карбонил, ароматты және алифатты көміртектер

Симметрияны бағалау

Бірөлшемді тәжірибелер

Тәжірибе	Беретін ақпарат	Негізгі шектеу
^{1}H ЯМР	δ, интеграл, мультиплеттік, J	Сигналдардың қабаттасуы
^{13}C ЯМР	Көміртек орталарының саны және δ	Сезімталдығы төмен
DEPT-90	CH көміртектері	Төртіншілік көміртектер көрінбейді
DEPT-135	CH және CH_3 оң, CH_2 теріс	Фазаны дұрыс өңдеу қажет
Селективті decoupling	Белгілі байланыстарды нақтылау	Тек таңдалған сигналға қатысты

Екіөлшемді тәжірибелер

Тәжірибе	Корреляция	Құрылымдық міндет
COSY	^{1}H-^{1}H, көбіне 3 байланыс	Протондық спин жүйелерін құрастыру
HSQC	Тікелей ^{1}H-^{13}C, 1 байланыс	Протонды тиісті көміртекке бекіту
HMBC	Ұзақ қашықтықтағы ^{1}H-^{13}C, жиі 2-3 байланыс	Фрагменттерді біріктіру және төртіншілік көміртектерді орналастыру
NOESY	Кеңістіктік жақындық	Салыстырмалы конфигурация және конформация
ROESY	Кеңістіктік жақындық	Орташа молекулалық қозғалыста NOE әлсіз болғанда пайдалы
DOSY	Диффузия коэффициенті	Қоспадағы компоненттерді шамамен ажырату

Масс спектрометрия

МС иондардың масса заряд қатынасын m/z бойынша өлшейді. HRMS дәл масса арқылы ықтимал элементтік құрамды шектейді. ESI полярлы және термолабильді табиғи қосылыстарға қолайлы; APCI орташа полярлы қосылыстар үшін, EI ұшқыш және термотұрақты заттар үшін жиі қолданылады.

Көрсеткіш	Құрылымдық мәні	Сақтық
Квазимолекулалық ион	Молекулалық массаға жуық мән	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$, $[M+Na]^+$ аддукттарын ажырату
Дәл масса	Элементтік формуланы шектеу	Калибрлеу мен ppm қатесін көрсету
Изотоптық үлгі	Cl, Br, S және көміртек саны туралы белгі	Қабаттасқан иондар үлгіні бұрмалайды
MS/MS фрагменттері	Субқұрылымдар және бейтарап жоғалулар	Бір фрагмент бірнеше құрылымнан түзілуі мүмкін
Хроматографиялық уақыт	Изомерлерді бөлуге көмектеседі	Эталонсыз жеке өзі сәйкестендірмейді

Масс-спектрометрия

Негізгі нәтиже

Молекулалық ион немесе протондалған молекула

Дәл масса және молекулалық формула

Фрагментация жолдары

Тандемдік масс-спектрометрия

Алғышарт ион таңдалады

Соқтығысу арқылы фрагменттеледі

Өнім иондары құрылымдық бөлшектерді көрсетеді

Табиғи қосылыстарда

Қант қалдықтарының үзілуі

Агликон ионының түзілуі

Изомерлерді диагностикалық фрагменттермен ажырату

Иондау тәсілдері

EI: ұшқыш тұрақты қосылыстар

ESI: полярлы және термолабильді заттар

MALDI: жоғары молекулалы нысандар

Хроматографиямен біріктіру

GC–MS: ұшқыш қосылыстар

LC–MS: полярлы және термолабильді қосылыстар

LC–DAD: УК профилі мен сандық талдау

Кешенді дәлел

HRMS молекулалық формуланы ұсынады

ИҚ функционалдық топтарды көрсетеді

ЯМР толық байланыс қаңқасын дәлелдейді

Табиғи өнімдерге тән бейтарап жоғалулар

- H_2O - 18 Da: гидроксилденген құрылымдарда дегидратация;
- CO - 28 Da және CO_2 - 44 Da: карбонил немесе карбоксил жүйелері;
- гексоза - 162 Da, дезоксигексоза - 146 Da: О-гликозидтер үшін жиі белгі;
- метил және метокси топтарына байланысты 15 немесе 31 Da жоғалулар;
- агликон ионы гликозидтің қант бөлігін анықтауға көмектеседі.

Қорытынды

Бір әдіс толық құрылымды сирек дәлелдейді.

Дәл масса, функционалдық топ және байланыс корреляциясы өзара сәйкес болуы қажет.

Тазалық нәтижесі құрылымдық қорытындының сенімділігін анықтайды.