



Интегрисане академске студије фармације  
Инструменталне методе - Б14

**П9. Основе NMR спектроскопије.  $^1\text{H}$  NMR  
спектри.**

**Проф. др Недељко Манојловић**



Језгра са **непарним бројем протона и неутрона** имају целобројни спин квантни број ( $I = \pm 1, 2, \dots$ ).

Језгра са **различитим бројем протона и неутрона** (парно-непаран број), спин квантни број је једнак  $I = \pm 1/2, 3/2, 5/2, \dots$

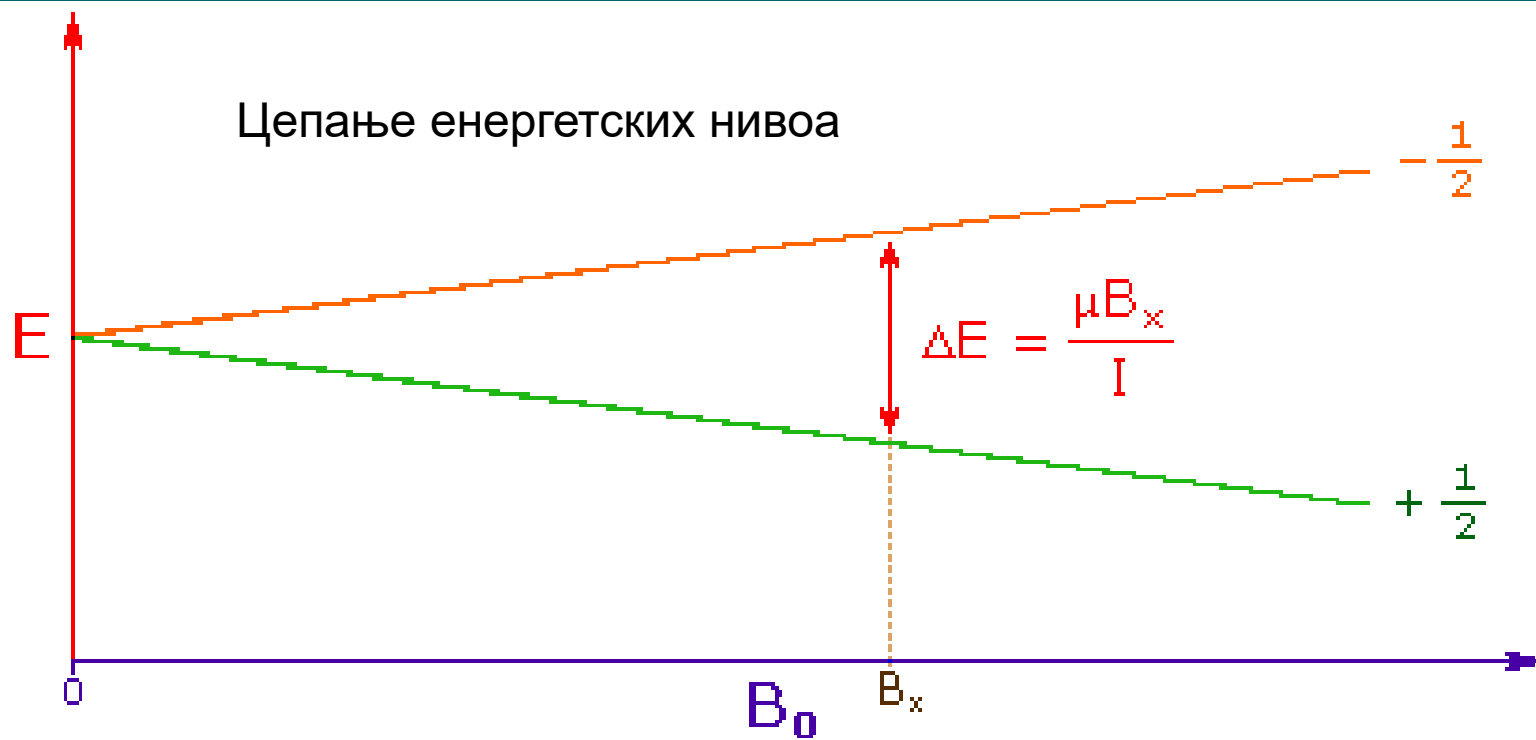
Језгра са **парним бројем протона и неутрона** имају спин квантни број једнак 0.

**Језгра са  $I \geq 1$  називају се квадриполним језгрима** то су језгра која поред магнетног дипола имају и електрични дипол.

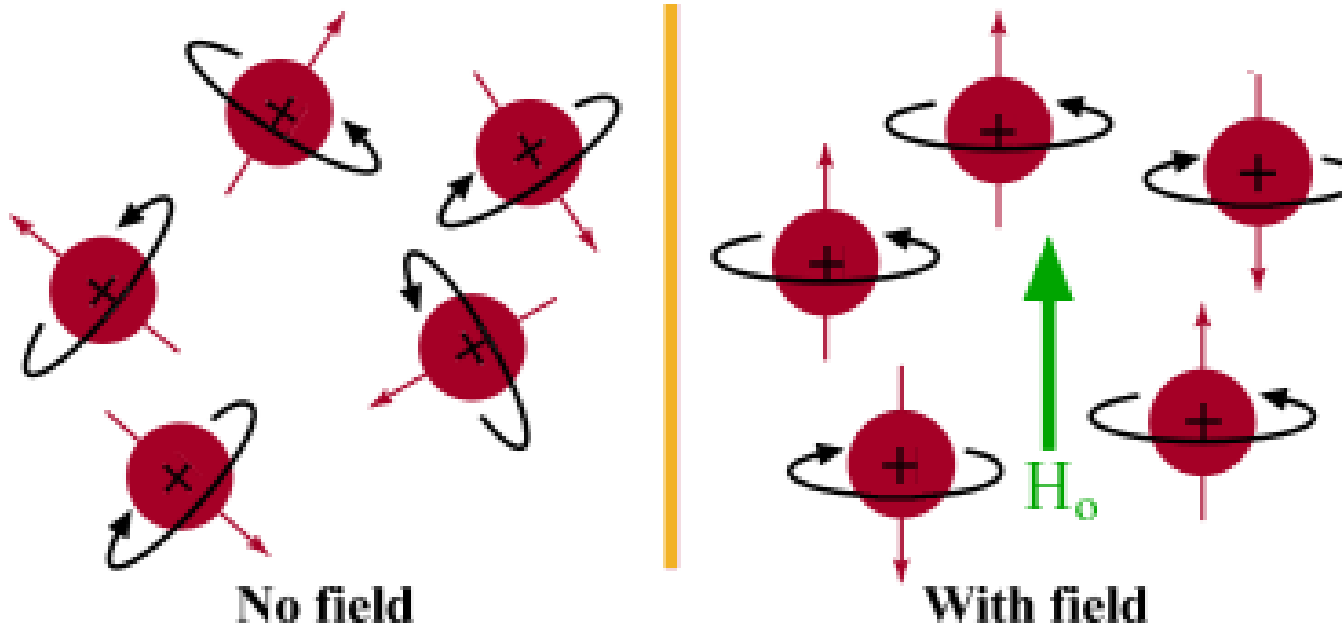
- До NMR долази када су спин-активна језгра (збир протона и неутрона је непаран)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$  (спин квантни број  $I$  је  $1/2$ ,  $3/2$ ,  $5/2$ ...) изложена дејству јаког хомогеног магнетног поља и истовремено озрачена електромагнетним таласима.
- Тада долази до цепања њихових енергетских нивоа.



Цепанье энергетских нивоа



- Један број језгара емитује, а други апсорбује зрачење исте  $E$



нема поља

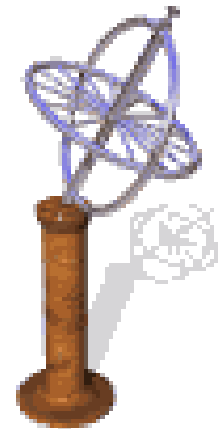
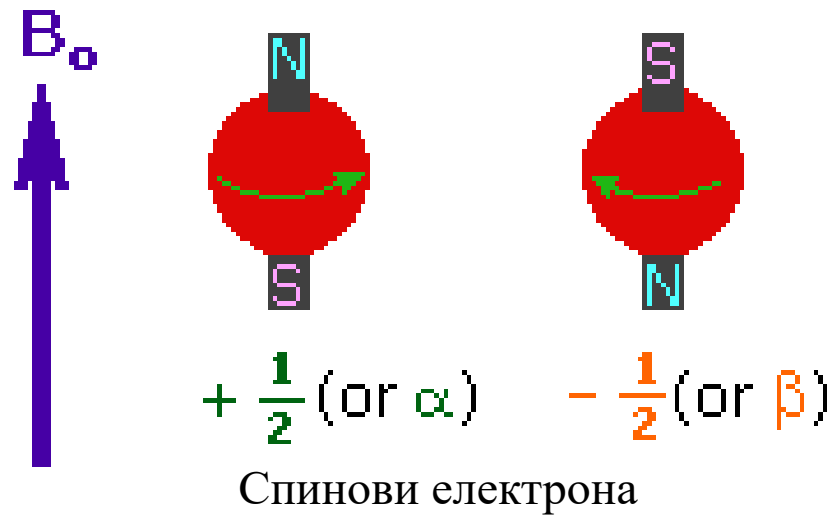
нуклеарни спинови протона су насумице оријентисани и имају исту енергију

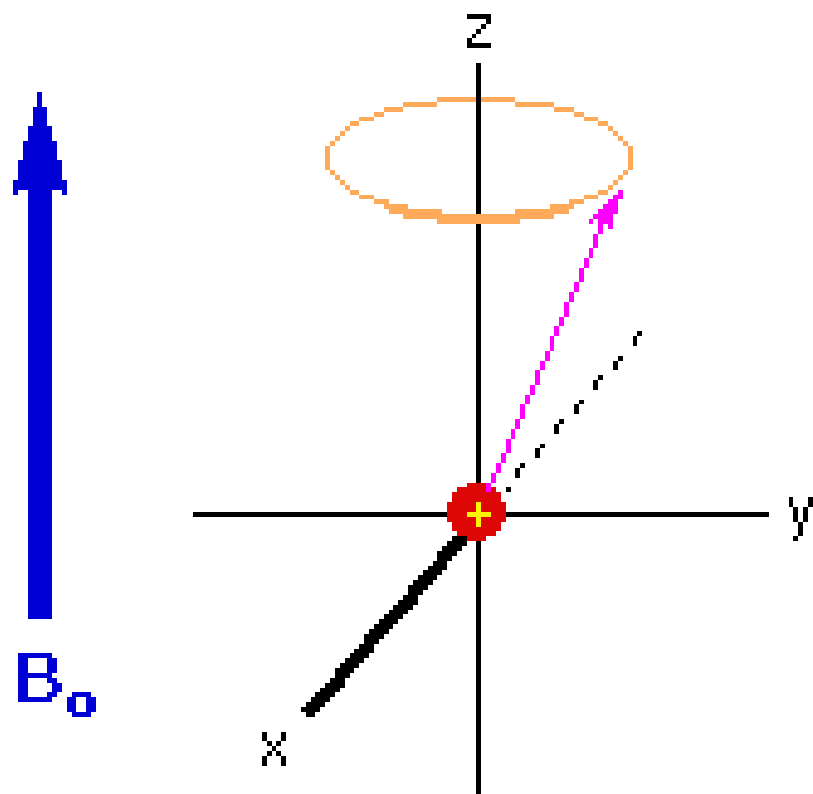
јако магнетно поље

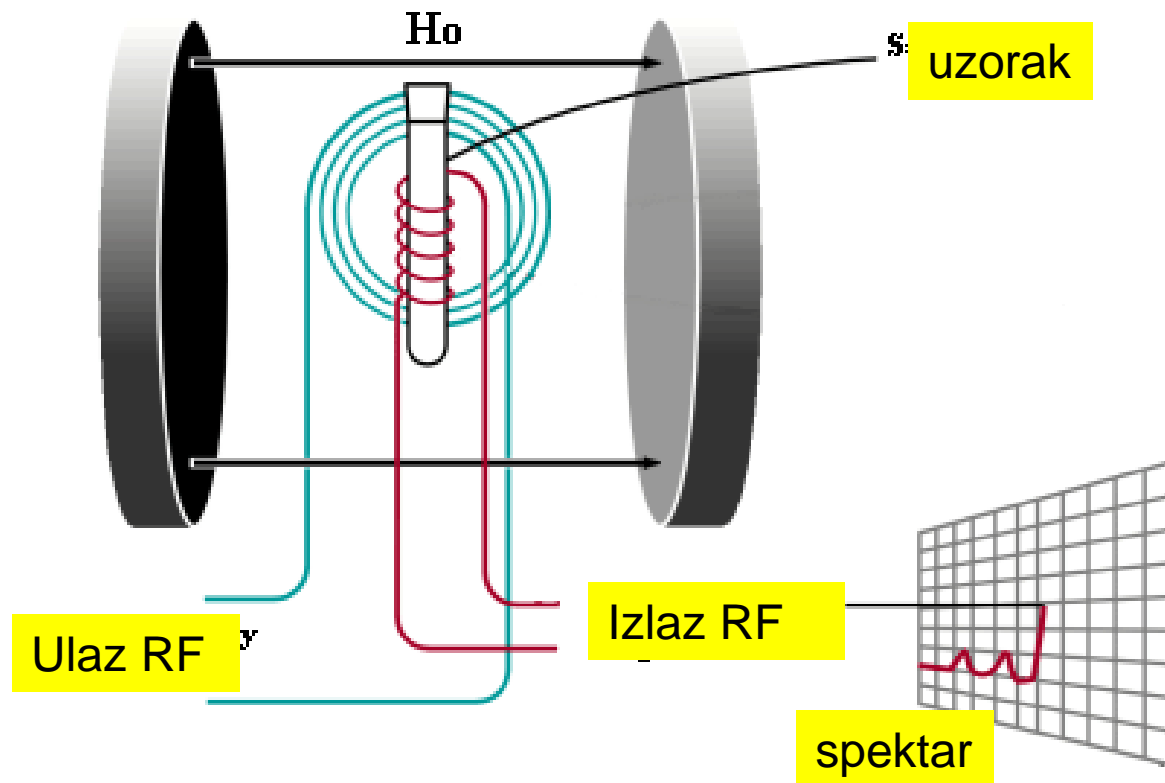
један спин је у смеру  $H_0$ , а други је у супротном смеру

оријентација спинова у магнетном пољу

# ПРЕЦЕСИЈА ЈЕЗГРА







**Упрощена схема NMR спектрометра**

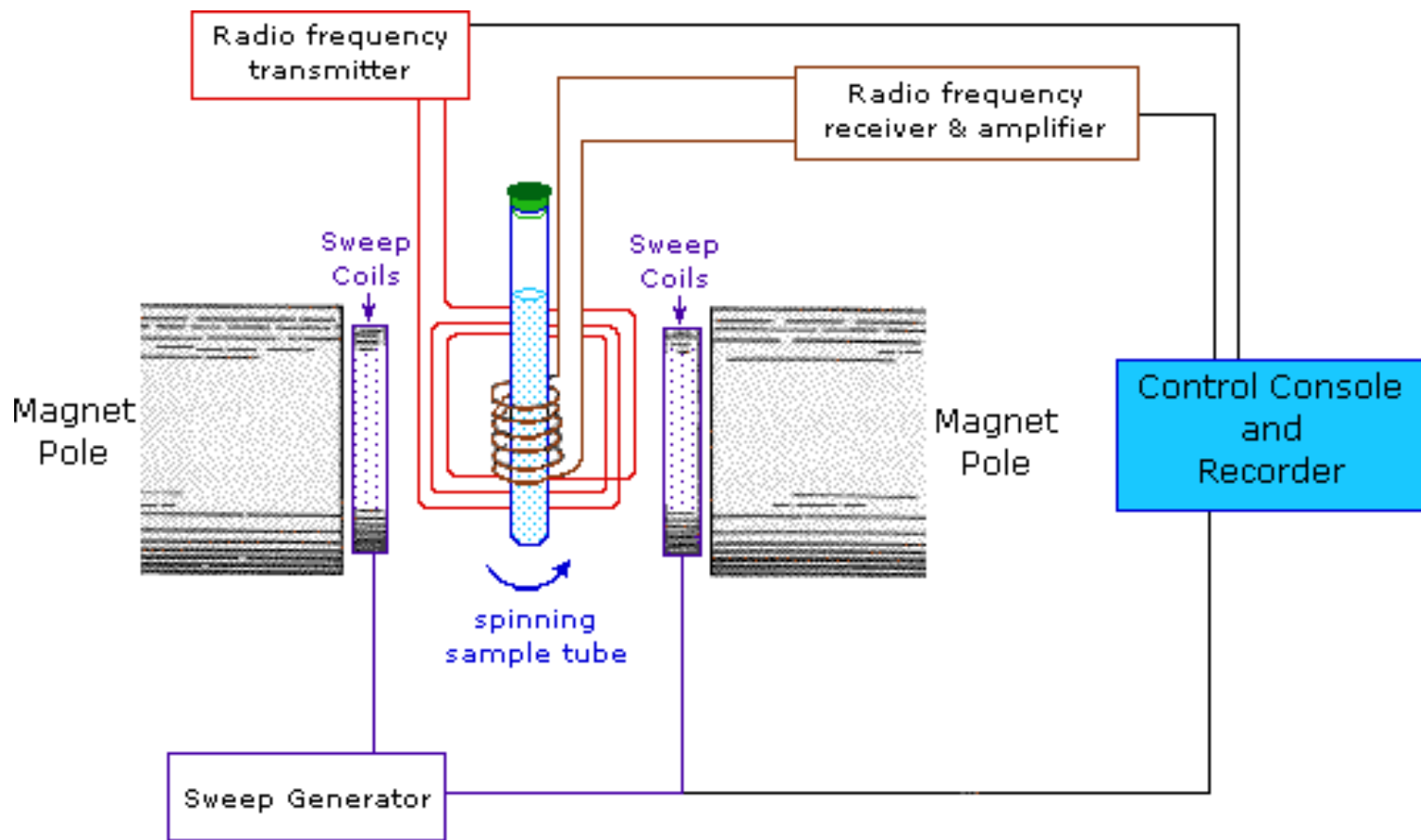


схема NMR спектрометра







NMR magnet



# РАСТВОРАЧИ И СТАНДАРДИ

кивета је обично од **5 mm**, а запремина раствора је 0,4-0,5 ml. За  $^{13}\text{C}$  због мање осетљивости потребно је **више** једињења.

Најпогоднији су они растварачи који не садрже језгро које се снима.

За снимање  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  језгара користе се органски растварачи код којих су протони замењени са деутеријумом.  $\text{CDCl}_3$

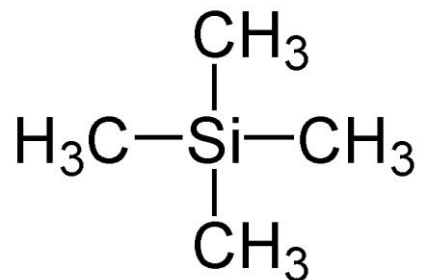
$\text{CD}_3\text{SOCD}_3$

$\text{CD}_3\text{COCD}_3$

- Код ФТ инструмената морају да се користе растварачи са деутеријумом обзиром да се деутеријум користи за одржавање радних услова - deuterium lock



- Један од стандарда је **тетра-метил силан TMS**  $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$  који даје један сигнал-синглет за 12 еквивалентних протона.

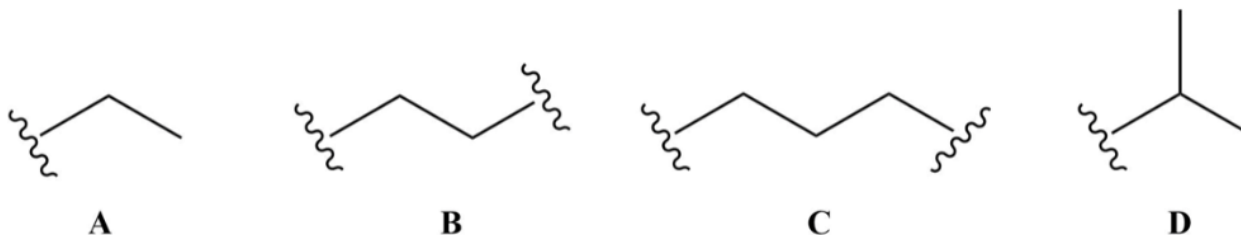
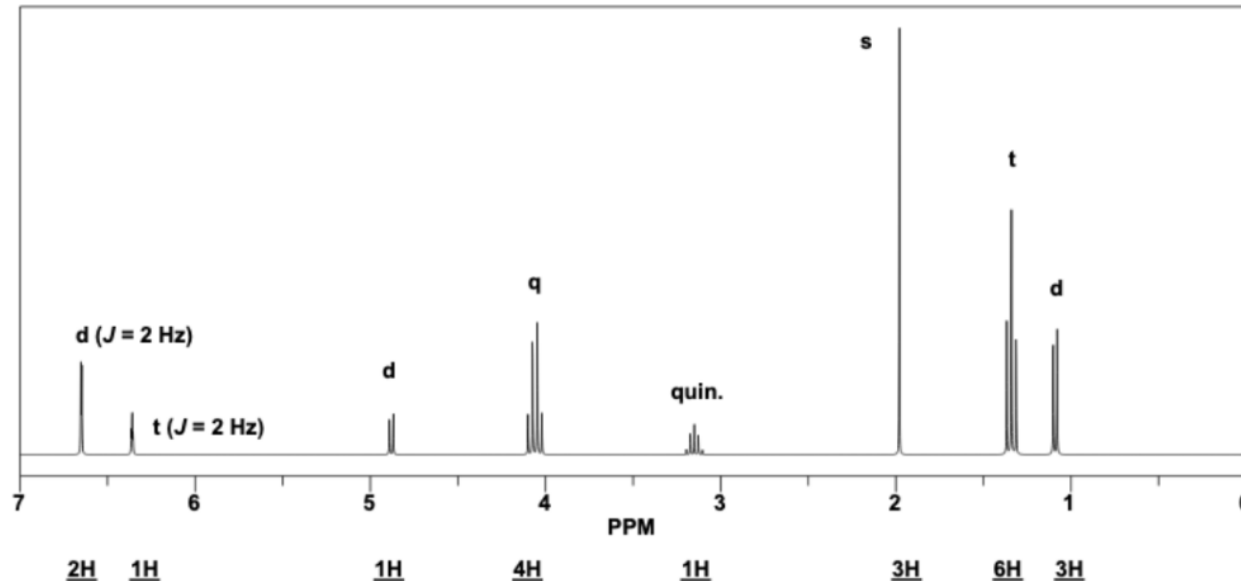


- Једна од мана му је што није растворљив у води.

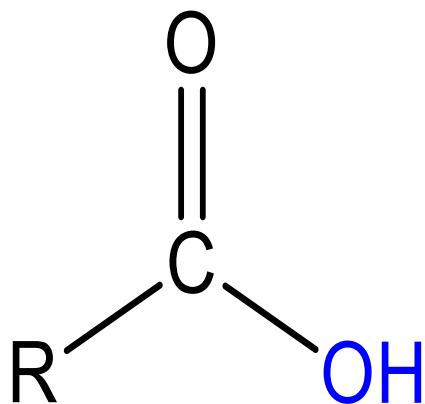
- За супстанце растворне у води користи се  $\text{D}_2\text{O}$ , а као стандард DSS (**диметилсилан пентасулфонска киселина** натријумова со  $\delta = 0,015$ )

# ХЕМИЈСКО ПОМЕРАЊЕ $\delta$

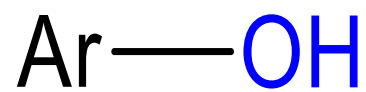
- Зависи од околине протона односно од константе заштите коју стварају електрони, односно од електронске густине, као и од просторне близине (стереохемије) осталих група у молекулу.
- Хемијска померања су релативне вредности у односу на стандард; најчешће се користи **тетраметилсилан (TMS)** за који је хемијско померање **0**.
- Поред  $\delta$  јединица које се изражавају у **ppm**, користе се и  $\tau$  јединице при чему је  **$\tau = 10 - \delta$**



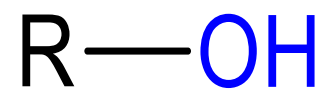
- Померање ка вишем магнетном пољу - upfield (ка мањем  $\delta$ ) назива се **дијамагнетно**, а померање ка нижем пољу downfield (већем  $\delta$ ), назива је **парамагнетно**
- Хемијско померање протона има опсег од **1-10 (15) ppm** односно  $\delta$  јединица. Стандардна тачност измерених хемијских померања може бити  $\pm 0,01$  Hz.
- Хемијско померање протона неких функционалних група (SH, OH, NH, ...) **зависи од растварача**, концентрације и температуре узорка.



$\delta$  10,5- 12,0



4,0-7.0



0,5-5,0

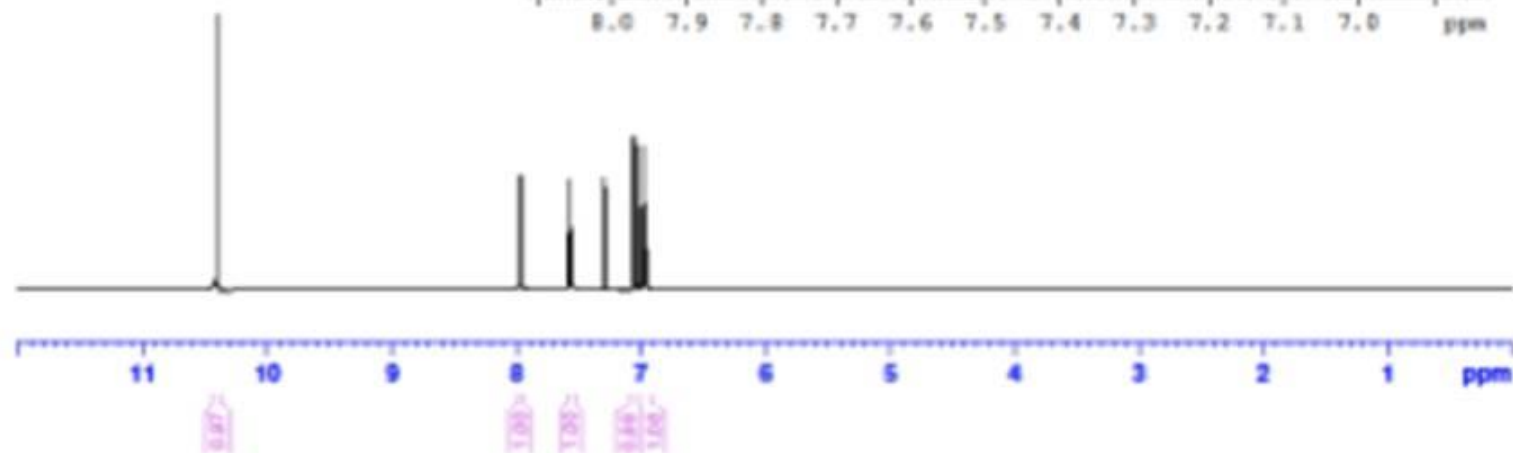
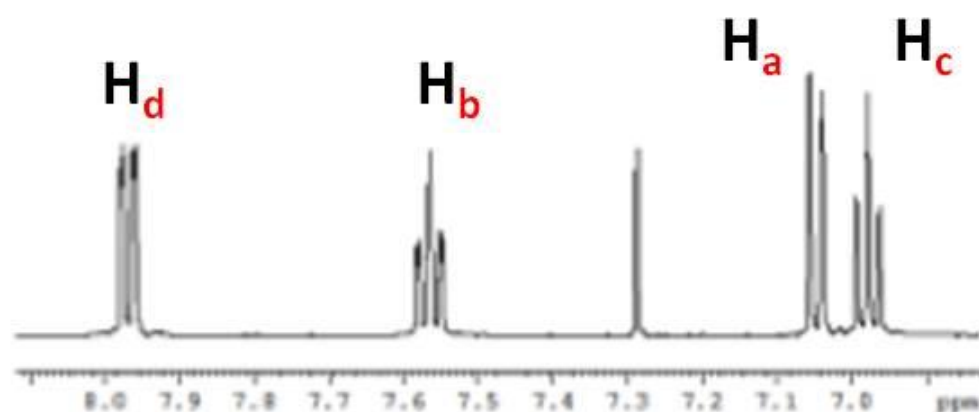
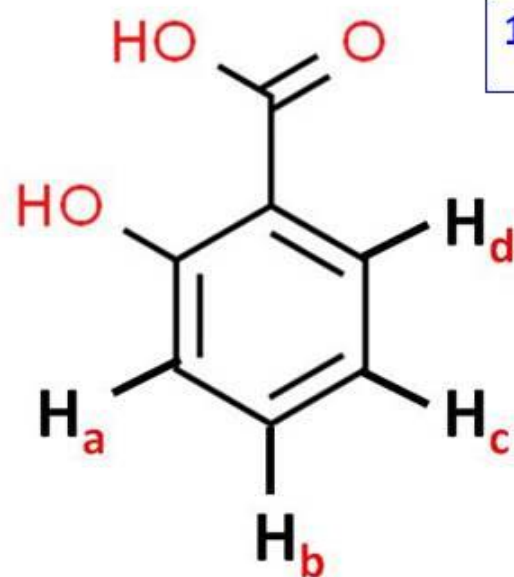
Хемијско померање OH

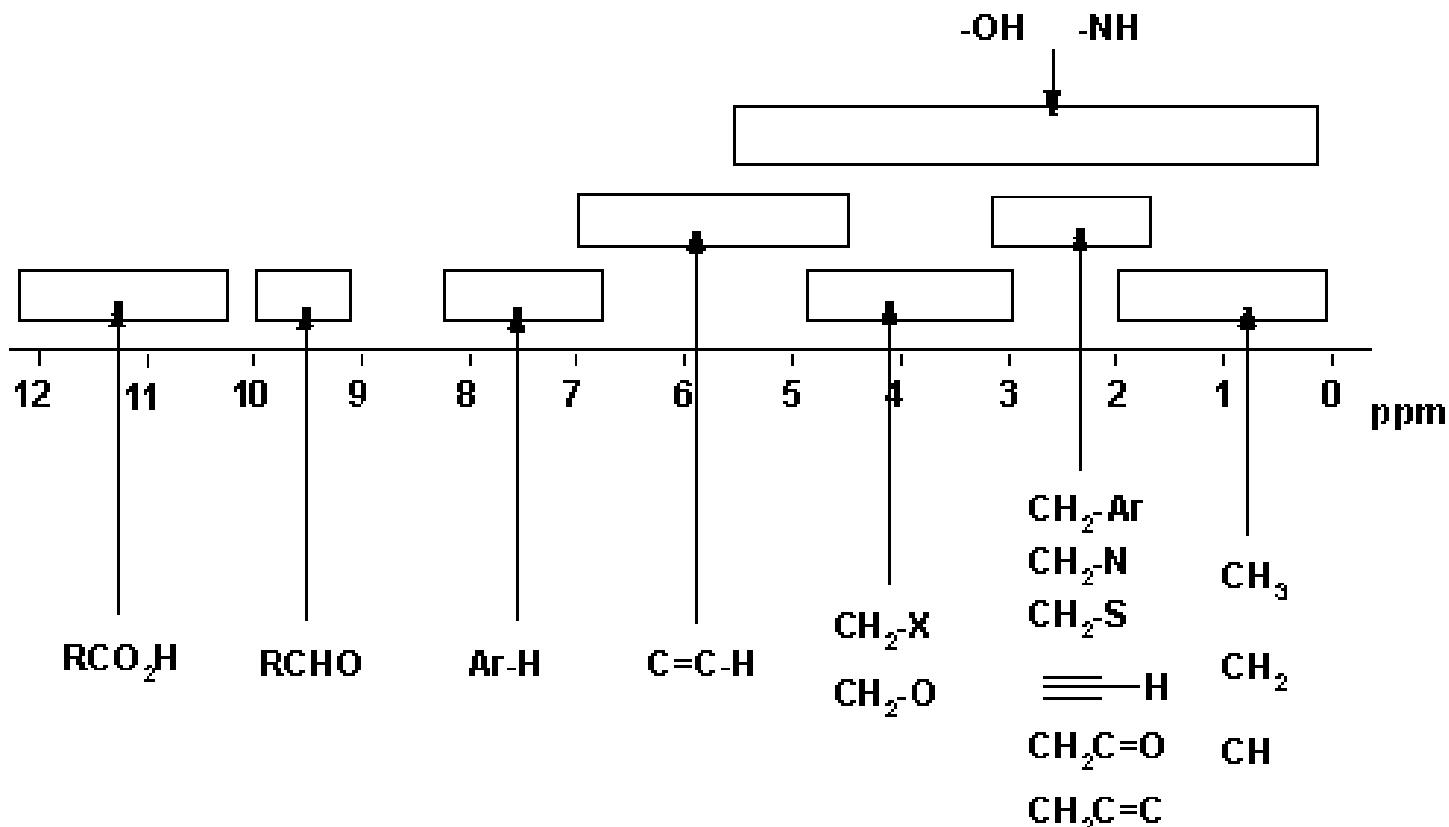


Киселост



# $^1\text{H}$ -NMR Assignment for salicylic acid

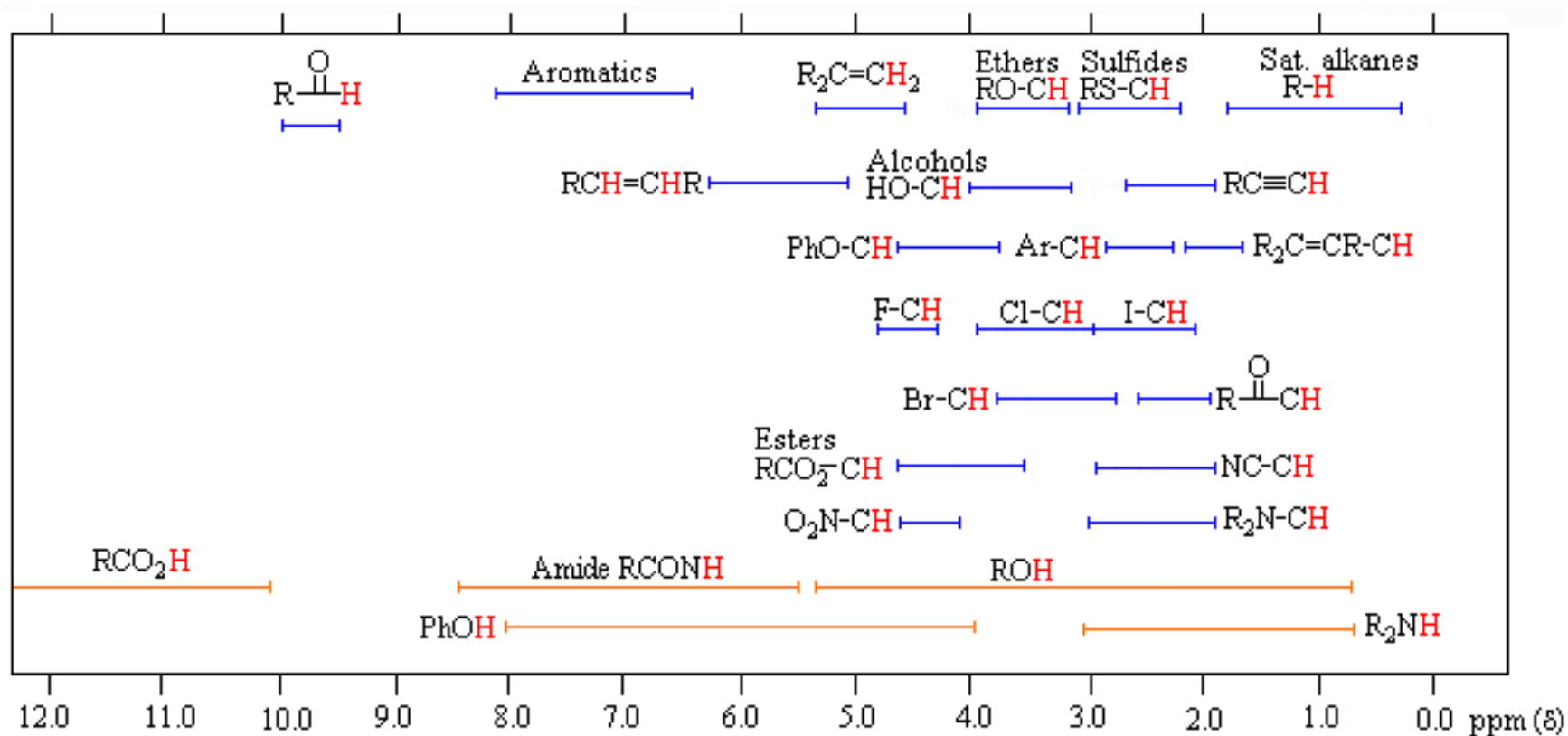




### Хемијска померања појединих врста протона

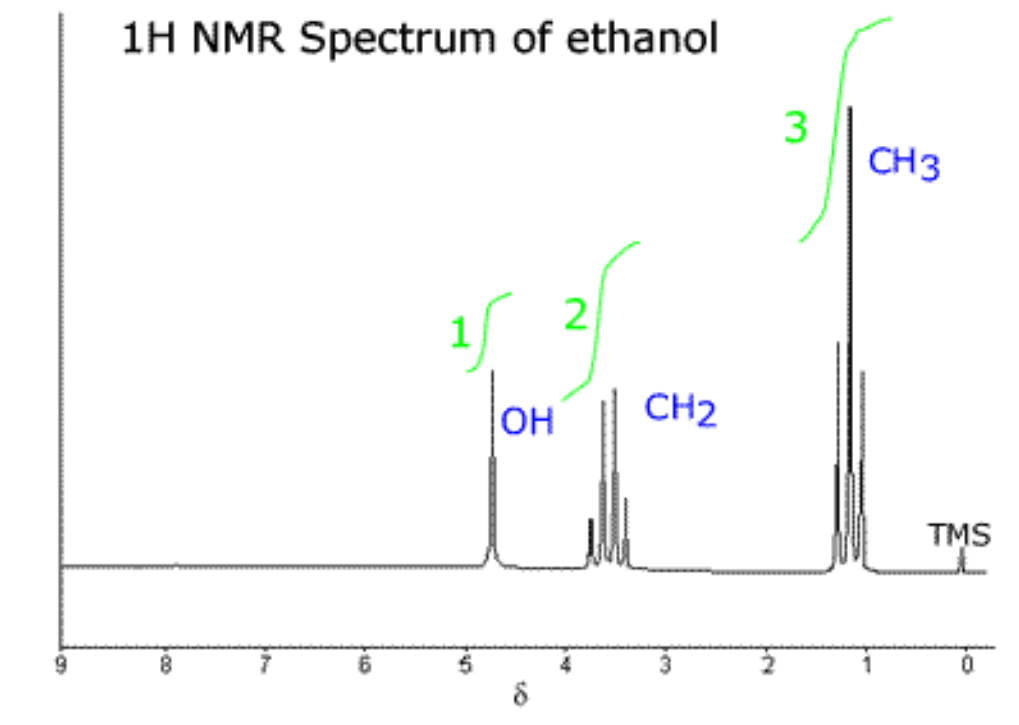
Хомотопни и енантиотопни протони имају исто хемијско померање

Дијастереотопни протони имају различито хемијско померање



# ИНТЕГРАЛИ

- Представљају однос површина сигнала, односно однос броја хемијски различитих протона у једињењу.
- Интеграл сваког сигнала **дели** се са интегралом најслабијег сигнала и односи се своде на односе целих бројева (нпр 3:2:1)



# МУЛТИПЛИЦИТЕТ СИГНАЛА

- Скаларно спрезање (спин-спин спрезање)
- СПЕКТРИ I РЕДА – ВАЖИ ПРАВИЛО  $n+1$

s (синглет) – у суседству се налази атом без протона

d (дублет) - у суседству се налази атом са једним протоном

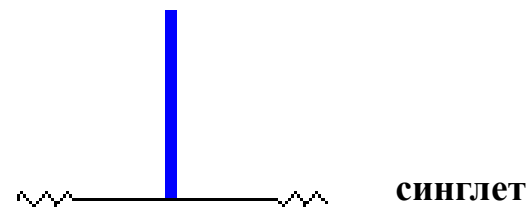
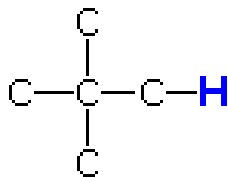
t (триплет) - у суседству се налази атом са два протона

q (квартет) - у суседству се налази атом са три протона

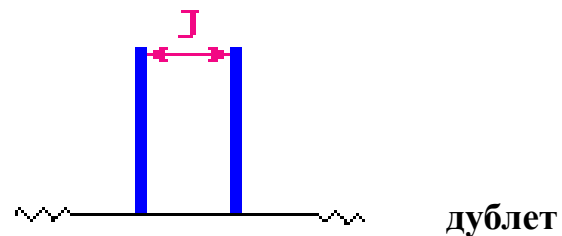
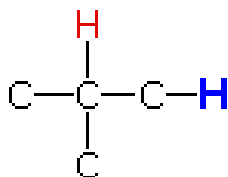
qv (квинтет) - у суседству се налази атоми са четири протона

m (мултиплет) – означава да се у суседству налази већи број протона

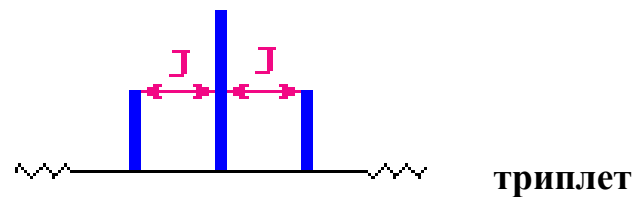
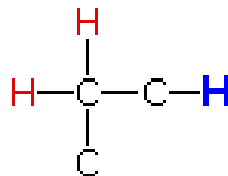
Нема  
купловања



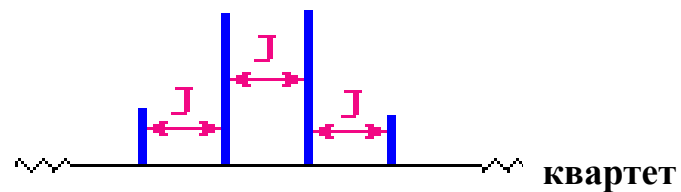
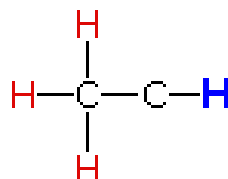
Купловање са  
једним Н



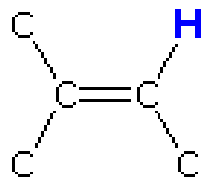
Купловање са  
два Н



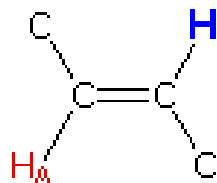
Купловање са  
три Н



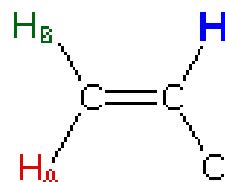
Нема  
куплованих  
водоника



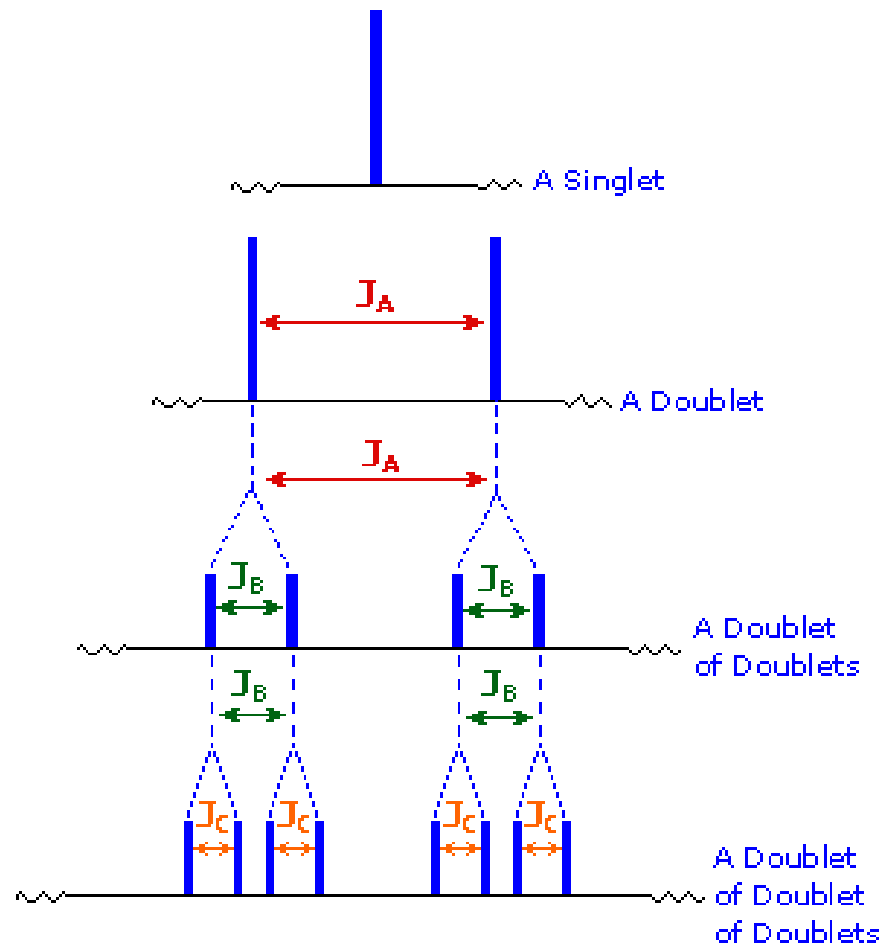
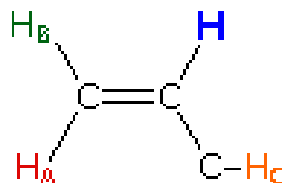
Један  
купловани  
водоник



Два куплована  
водоника

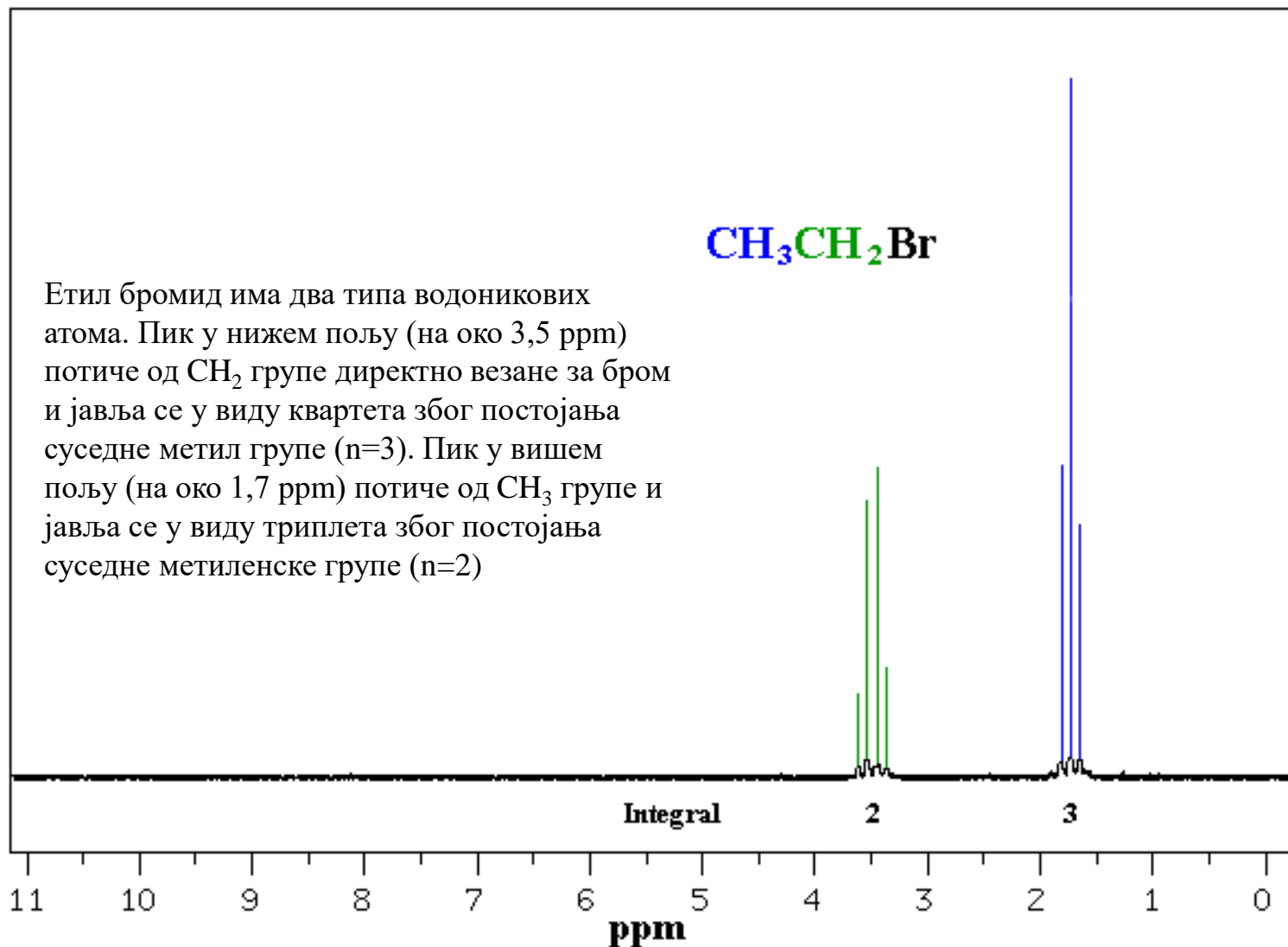


Три куплована  
водоника





Етил бромид има два типа водоникових атома. Пик у нижем пољу (на око 3,5 ppm) потиче од  $\text{CH}_2$  групе директно везане за бром и јавља се у виду квартета због постојања суседне метил групе ( $n=3$ ). Пик у вишем пољу (на око 1,7 ppm) потиче од  $\text{CH}_3$  групе и јавља се у виду триплета због постојања суседне метиленске групе ( $n=2$ ).

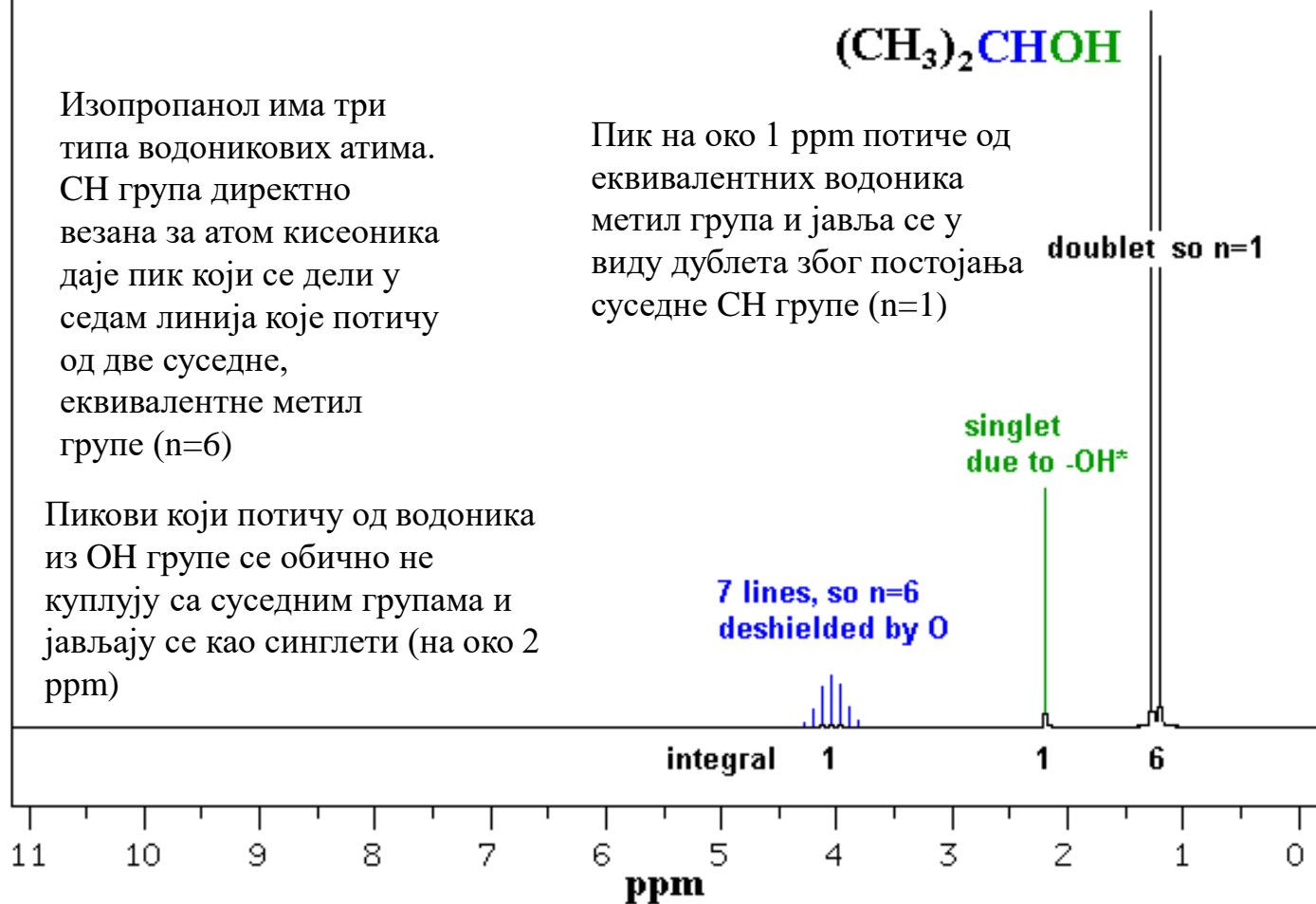


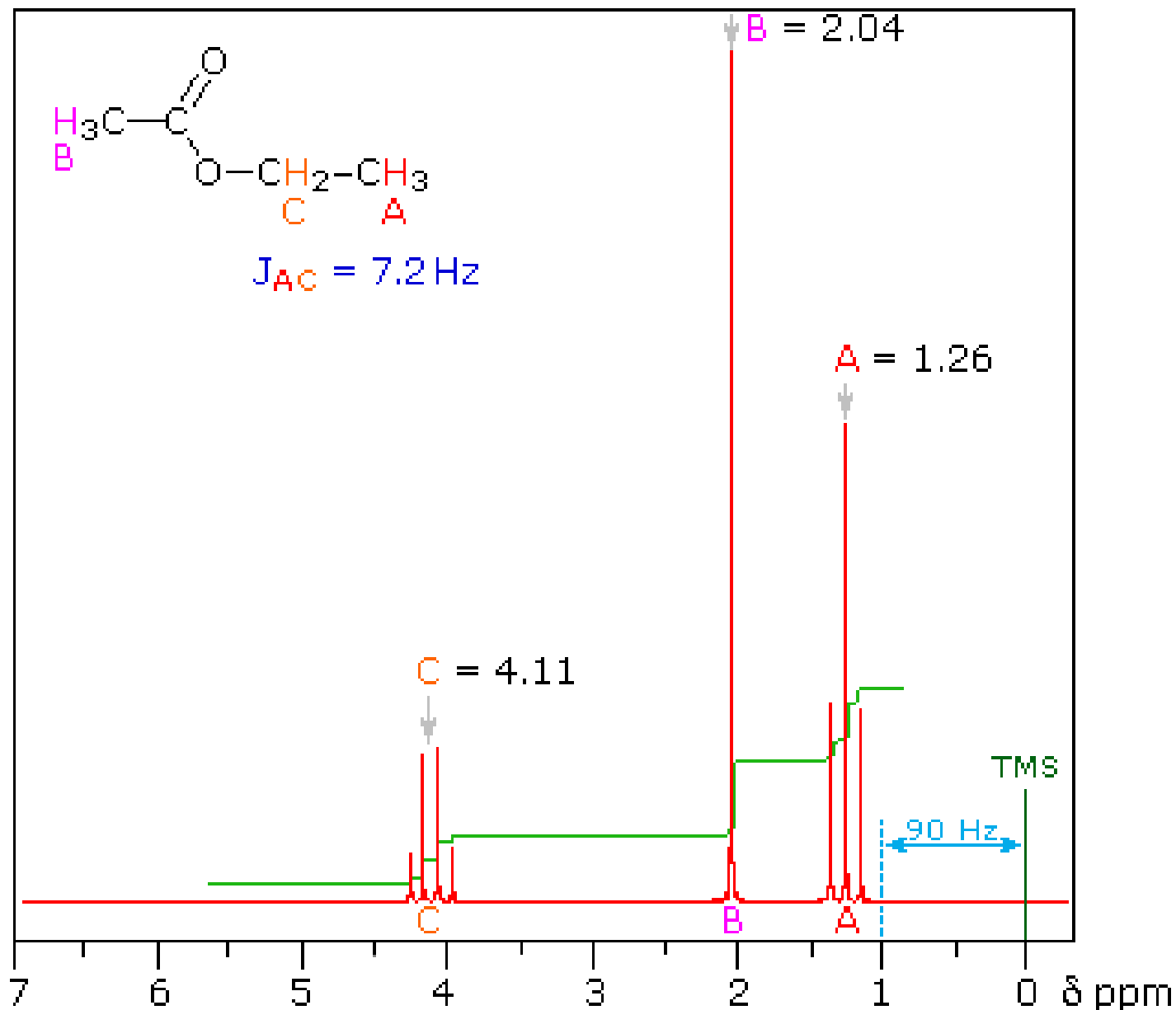


Изопропанол има три типа водоникових атома. СН група директно везана за атом кисеоника даје пик који се дели у седам линија које потичу од две суседне, еквивалентне метил групе ( $n=6$ )

Пикови који потичу од водоника из ОН групе се обично не куплују са суседним групама и јављају се као синглети (на око 2 ppm)

Пик на око 1 ppm потиче од еквивалентних водоника метил група и јавља се у виду дублета због постојања суседне СН групе ( $n=1$ )





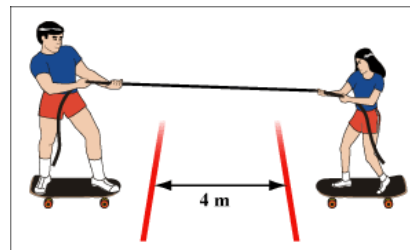
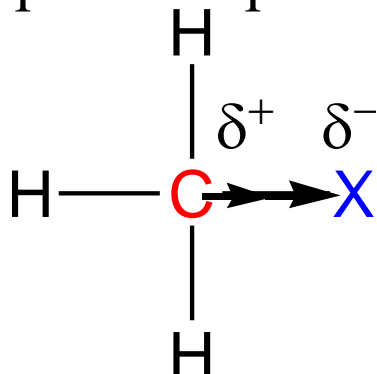
# ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ХЕМИЈСКО ПОМЕРАЊЕ

## а) ИНДУКТИВНИ ЕФЕКАТ

Већи –I ефекат изазива веће хемијско померање

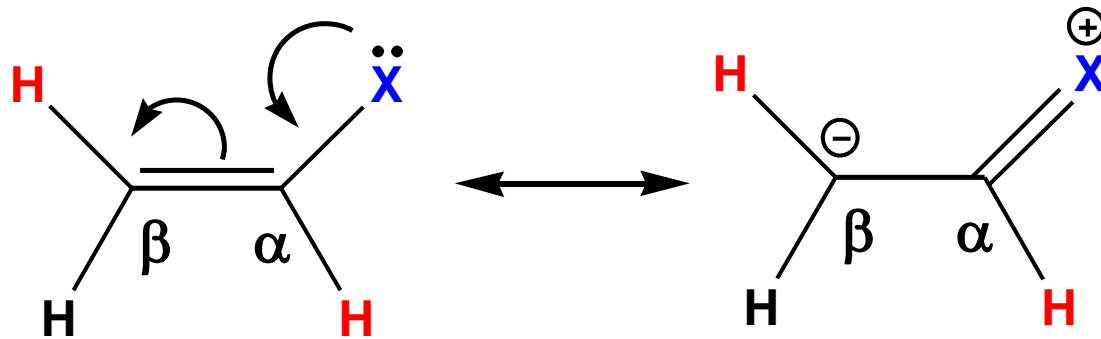
$\text{CH}_3\text{-F}$	$\text{CH}_3\text{-OH}$	$\text{CH}_3\text{-Cl}$	$\text{CH}_3\text{-Br}$	$\text{CH}_3\text{-I}$	$\text{CH}_4$
$\delta$ 4,26	3,40	3,05	2,68	2,16	0,23

Електронегативност групе X, смањује електронску густину на а-угљенику, а самим тим и на протонима који су везани за њега, тиме се смањује локална диамагнетна заштита односно повећава хемијско померање а протона.



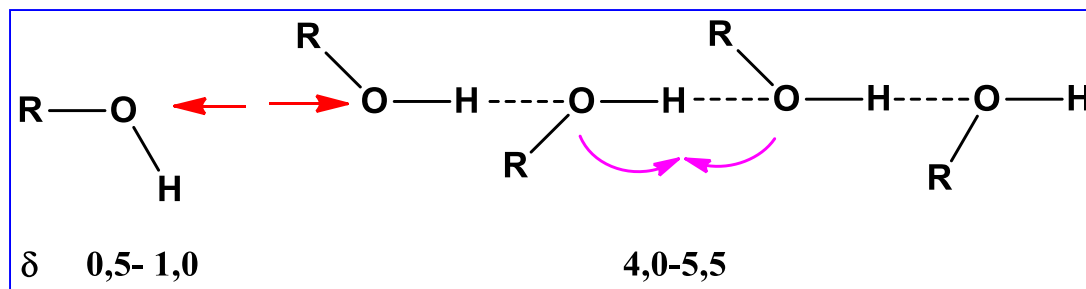
## 6) РЕЗОНАНЦИОНИ ЕФЕКАТ

1. супституенти који повећавају електронску густину у незасићеном систему (+R ефекат), OH, OR, Hal, NH<sub>2</sub>...

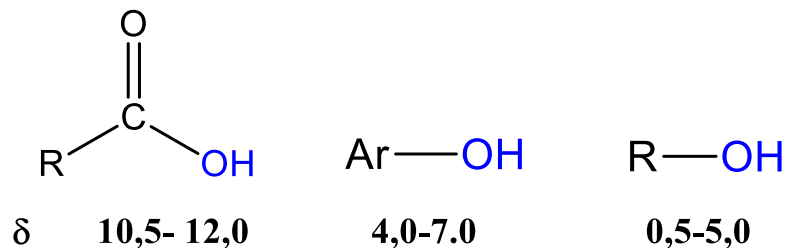


2. супституенти који могу да привуку електронски пар (-R ефекат); C=X, X=C, N, O, S итд.). Обе групе показују -I ефекат

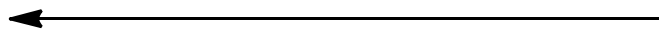
## ц) ВОДОНИЧНА ВЕЗА



- Утицај поларног и неполарног растварача
  - Утицај температуре
  - Утицај концентрације
- Са повећањем киселости повећава се и хемијско померање протона

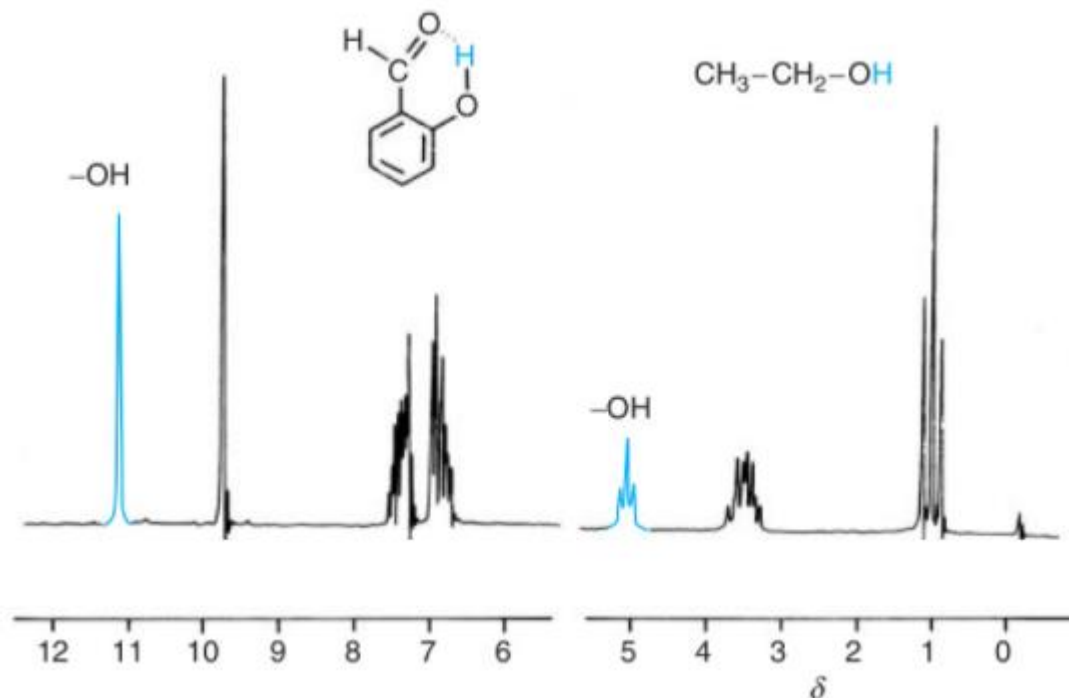


Хемијско померање  $OH$



Киселост

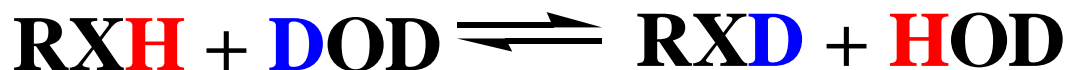




- Када се дода вода која сама може да гради водоничну везу долази до брзе измене протона воде са протонима киселине ( $\text{OH}$ ,  $\text{NH}$ ,...) раскидају се јаке водоничне везе:



- На оваквој хемијској измени заснива се уобичајан поступак за доказивање протона везаних за хетероатоме ако се уместо воде употреби тешка вода  $\text{D}_2\text{O}$

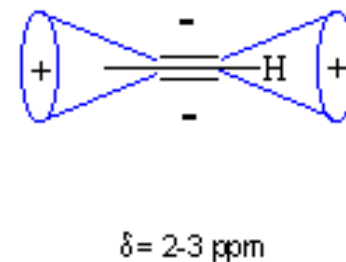
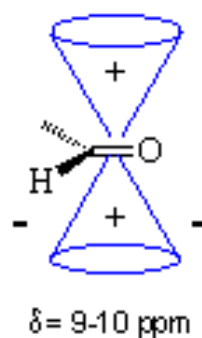
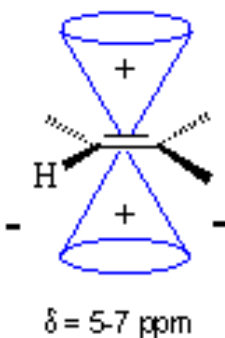
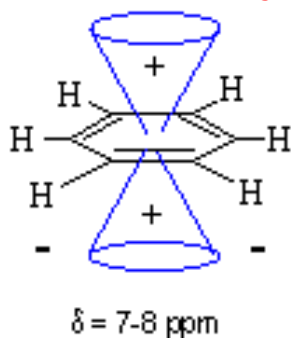


# МАГНЕТНА АНИЗОТРОПИЈА

мања заштита протона изазива веће хемијско померање

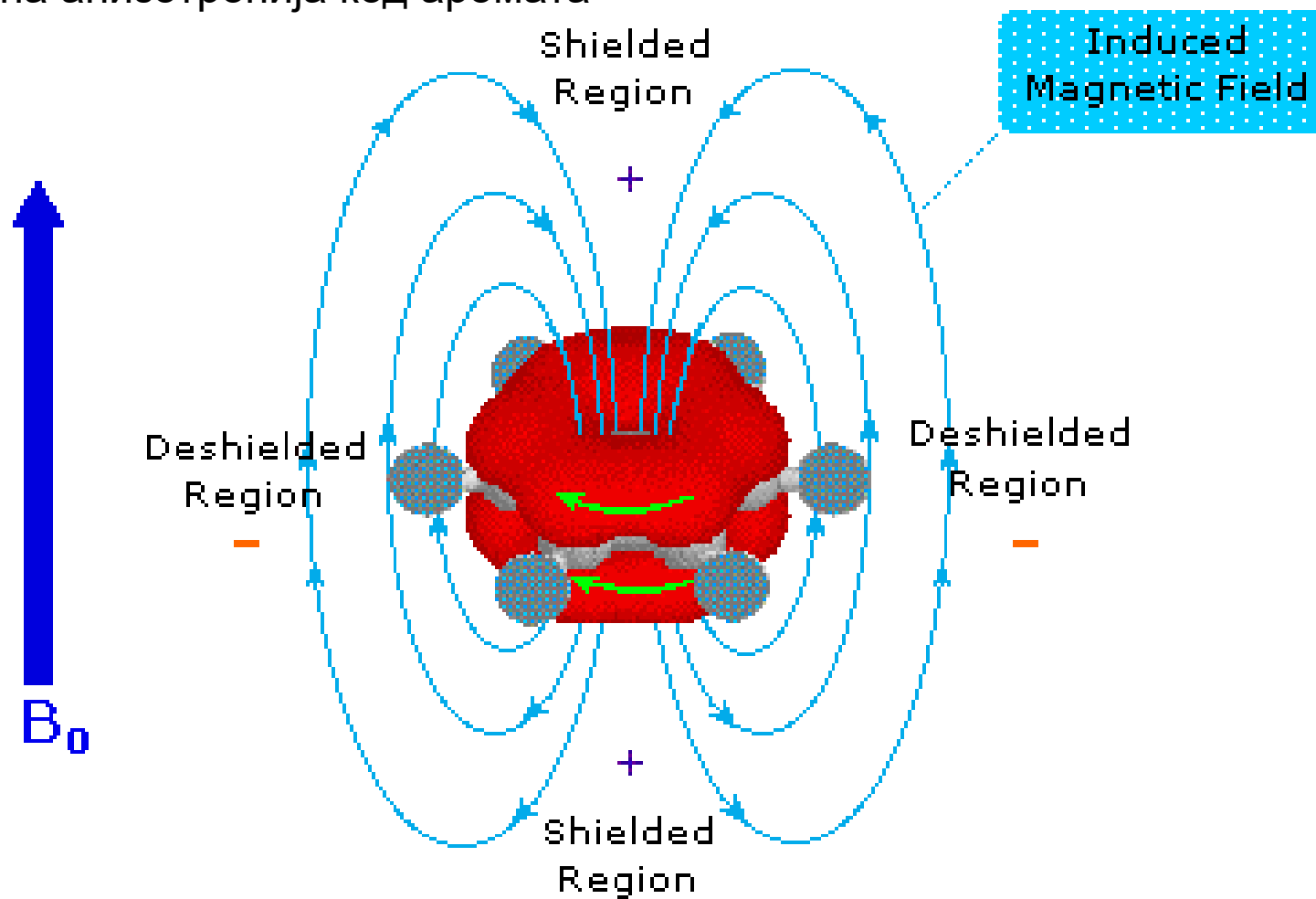


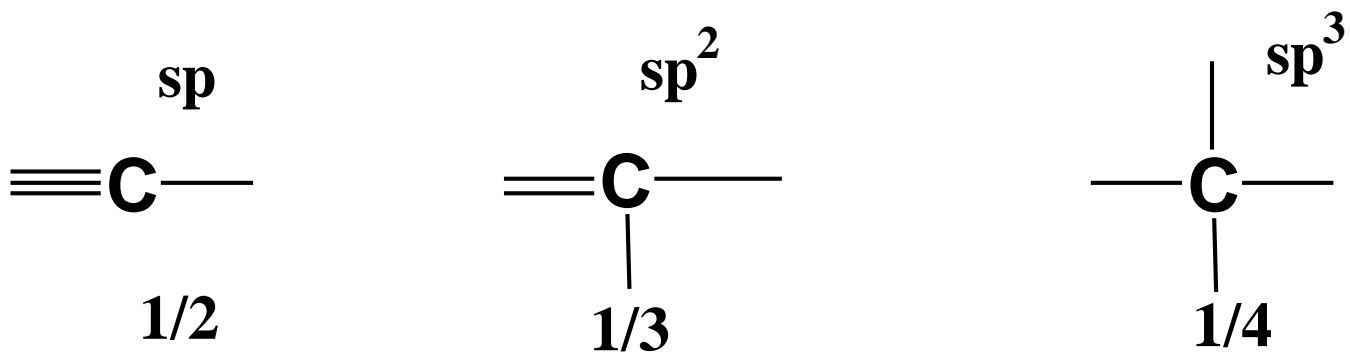
Магнетна анизотропија код аромата, двоструке и троструке везе (са – је означено поље дијамагнетног утицаја, а са + парамагнетног)



+ дијамагнетни утицај  
- парамагнетни утицај

## Магнетна анизотропија код аромата





**електронегативност**



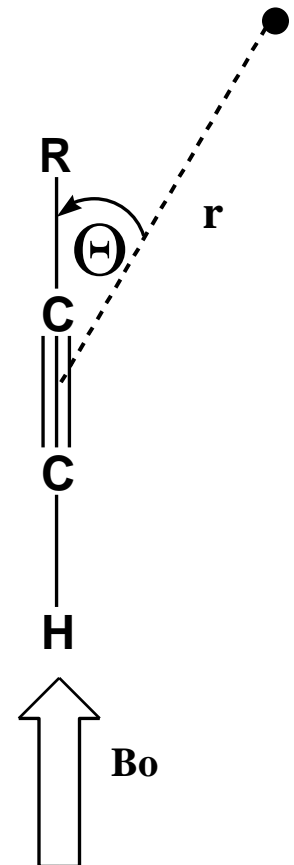
**локална диамагнетична заштита**

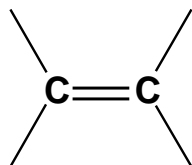


Утицај хибридизације на хемијско померање протона

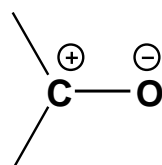
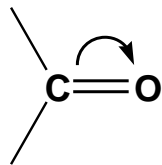
- Јачина и правац индукованог поља односно анизотропни ефекат (изражен преко заштитне константе  $\delta_{\text{aniz}}$ ) у некој тачки зависи од његовог положаја у односу на трогубу везу.

$$\delta = \frac{(3 \cos^2 \Theta - 1)}{3r^2}$$

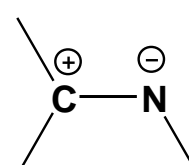
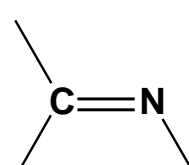




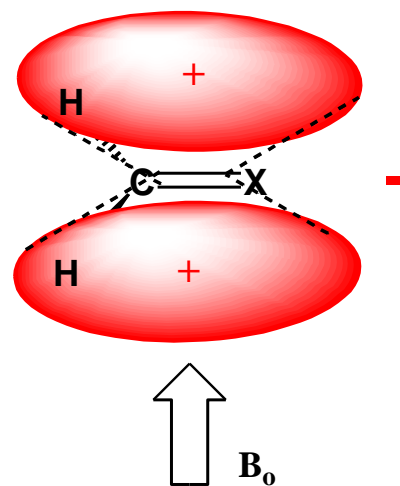
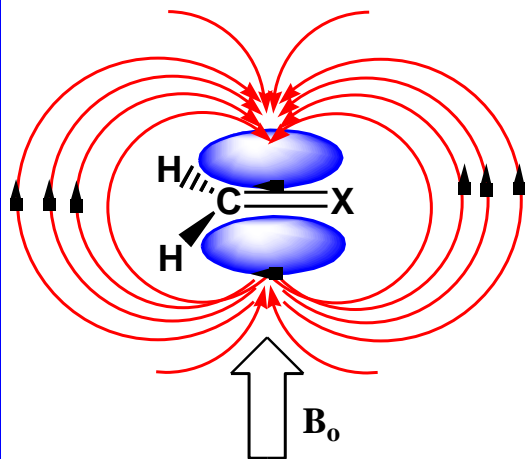
$\delta$  4–7



9–10

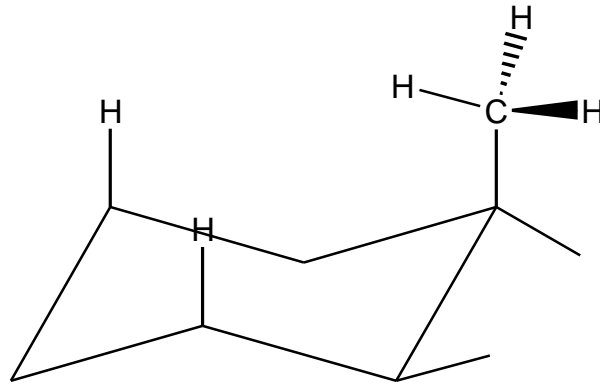


>7

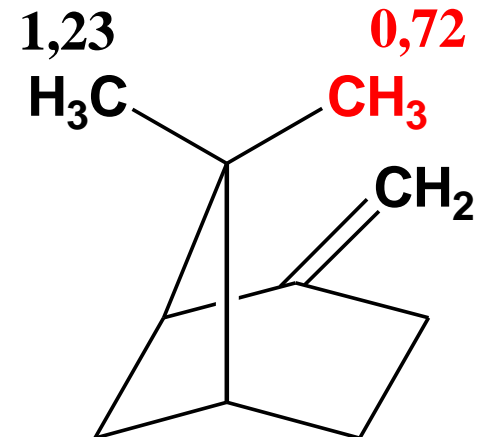
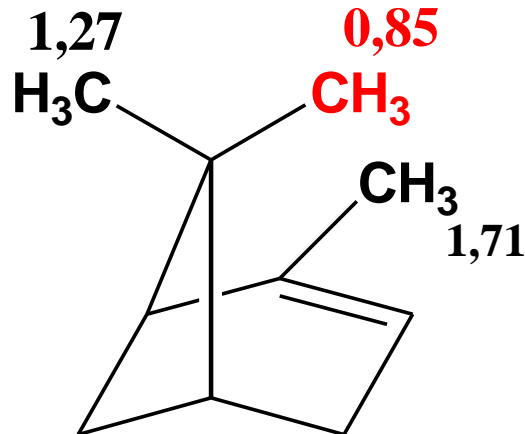
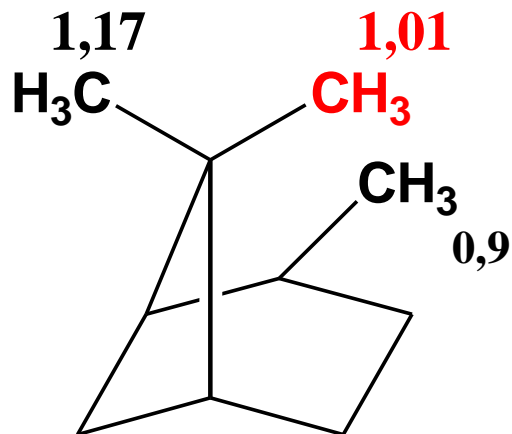


# СТЕРНИ ЕФЕКАТ

Утицај метил групе са аксијалним протоном (код неких стероида) на C-2 доводи до диамагнетне заштите и NMR сигнал за протон се **повећава** ка **већем хемијском померању** (до 1 ppm)



Утицај стерног ефекта на хемијско померање протона



# КОНСТАНТА СПРЕЗАЊА J

Константа спрезања (coupling constant)

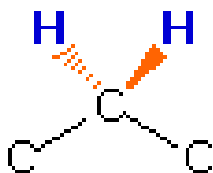
представља мерило међусобне интеракције језгара. То је растојање између суседних линија мултиплета.

$^2J$  – геминална константа спрезања

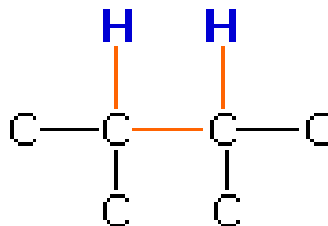
$^3J$  – вицинална константа спрезања

$^4J$  – алилна константа спрезања

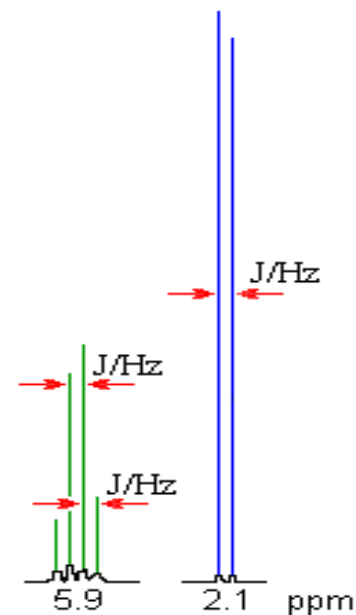
$^5J$  – хомоалилна константа спрезања



Геминални водоникови атоми

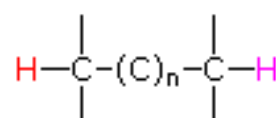


Вицинални водоникови атоми

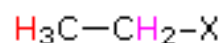


# Structural Type

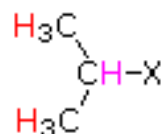
J (Hz)



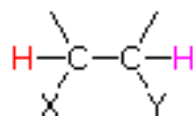
0  
(unless in a rigid  
ideal orientation)



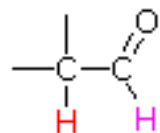
6 to 8



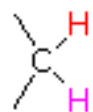
5 to 7



2 to 12  
(depends on dihedral angle  
and the nature of X and Y)



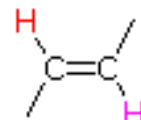
0.5 to 3



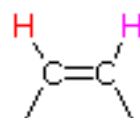
12 to 15  
(must be diastereotopic)

# Structural Type

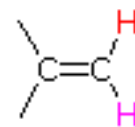
J (Hz)



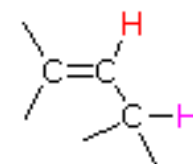
12 to 18



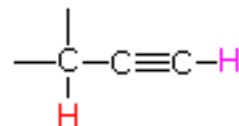
7 to 12



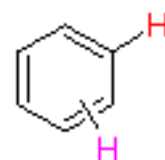
0.5 to 3



3 to 11  
(depends on dihedral angle)



2 to 3



**o** 6 to 9  
**m** 1 to 3  
**p** 0 to 1

# ГЕМИНАЛНА КОНСТАНТА СПРЕЗАЊА

1. Константа расте са повећавањем с карактера C-H везе

$sp^3$  -12,5 Hz метан       $sp^2$ - 2,5 Hz етилен

2. супституција електронегативном групом код  $CH_2$  групе доводи до раста  $^2J_{HH}$ .

$CH_4$   
-12,5 Hz

$CH_3Cl$   
-10,8 Hz

$CH_2Cl_2$   
-7,5 Hz

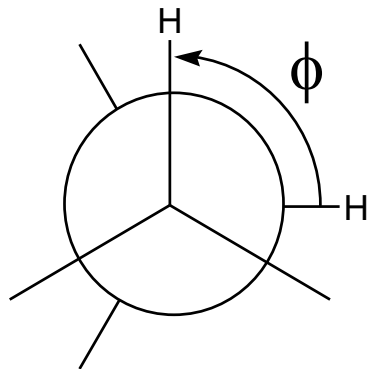
3. супституција са електронегативном групом на  $\beta$  положају код  $CH_2$  групе доводи до опадања  $^2J_{HH}$ .

4. Постојање  $\pi$  електронског система у суседству  $CH_2$  групе доводи до умањења константе  $^2J_{HH}$ . Ефекат је максималан у случају када  $p$  орбитала лежи у равни фрагмента  $CH_2$  (а) минималан када је под углом  $90^\circ$  (b).

# ВИЦИНАЛНА КОНСТАНТА СПРЕЗАЊА

Величина константе купловања је функција диедралног угла  $\phi$  што се математички може изразити Карплусовом једначином:

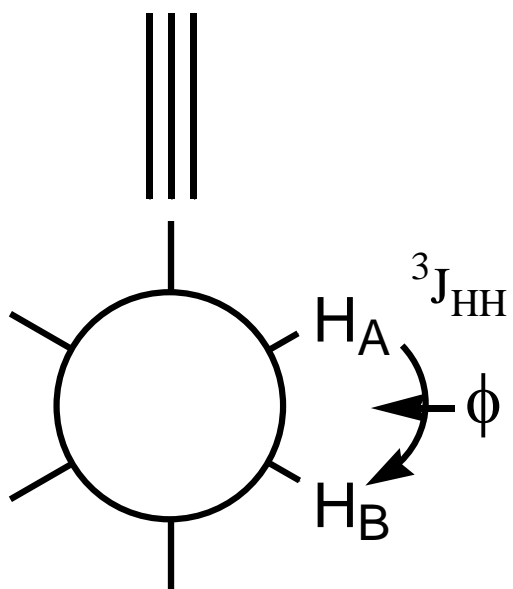
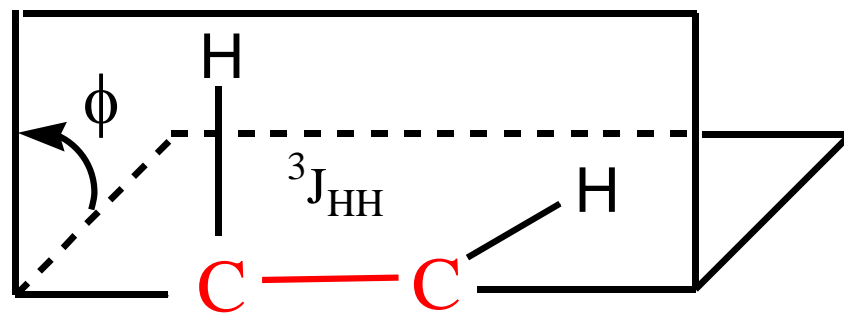
$$^3J = 4.2 - 0.5 \cos \Phi, + 4.5 \cos^2 \Phi,$$



$$^3J_{HH} = A + C \cos \Phi, \quad \Phi = 0-90 \text{ (Hz)}$$

$$^3J_{HH} = A + B \cos \Phi + C \cos^2 \Phi, \quad \Phi = 90-180$$

$$A = 7, B = -1, C = 5 \text{ Hz}, \quad ^3J_{(\Phi=0)} < ^3J_{(\Phi=180)}$$



2. Зависност вициналне константе купловања  $^3J$  од електронегативности супституената X  
( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{X}$ ) дата је једначином

$$^3J_{\text{Hz}} = 7.9 - n \cdot 0.7 (DX)$$

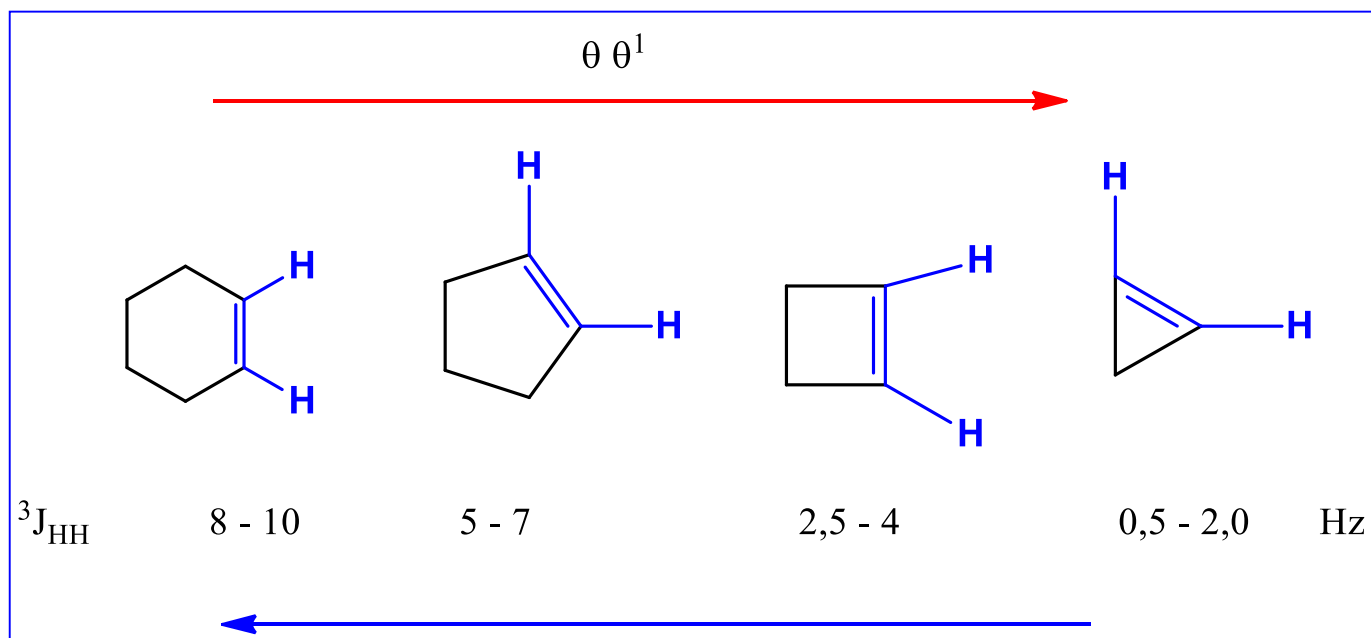
n је једнако броју водоника замењених са X групом и DX је једнако ( $X_{\text{x}} - X_{\text{H}}$ ) где су  $X_{\text{x}}$  и  $X_{\text{H}}$  електронегативности супституената и водоника.

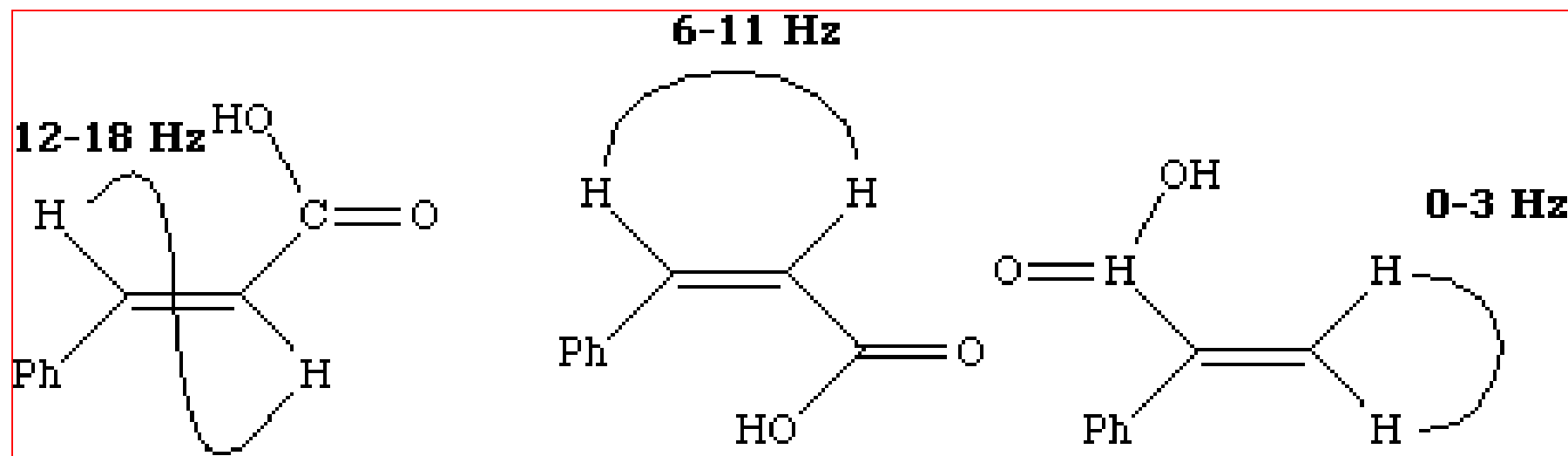
3. Вицинална константа купловања  $^3J$  опада са повећавањем дужине везе C–C.

$$^3J_{\text{Hz}} = -35 R_{\text{C-C}} + 56$$

4. Вицинална константа купловања  $^3J$  зависи од угла везе  $\theta$  угљеник-угљеник-водоник. Ако се угао  $\theta$  између водоника и везе C–C повећава, константа купловања се смањује (ред везе остаје исти)

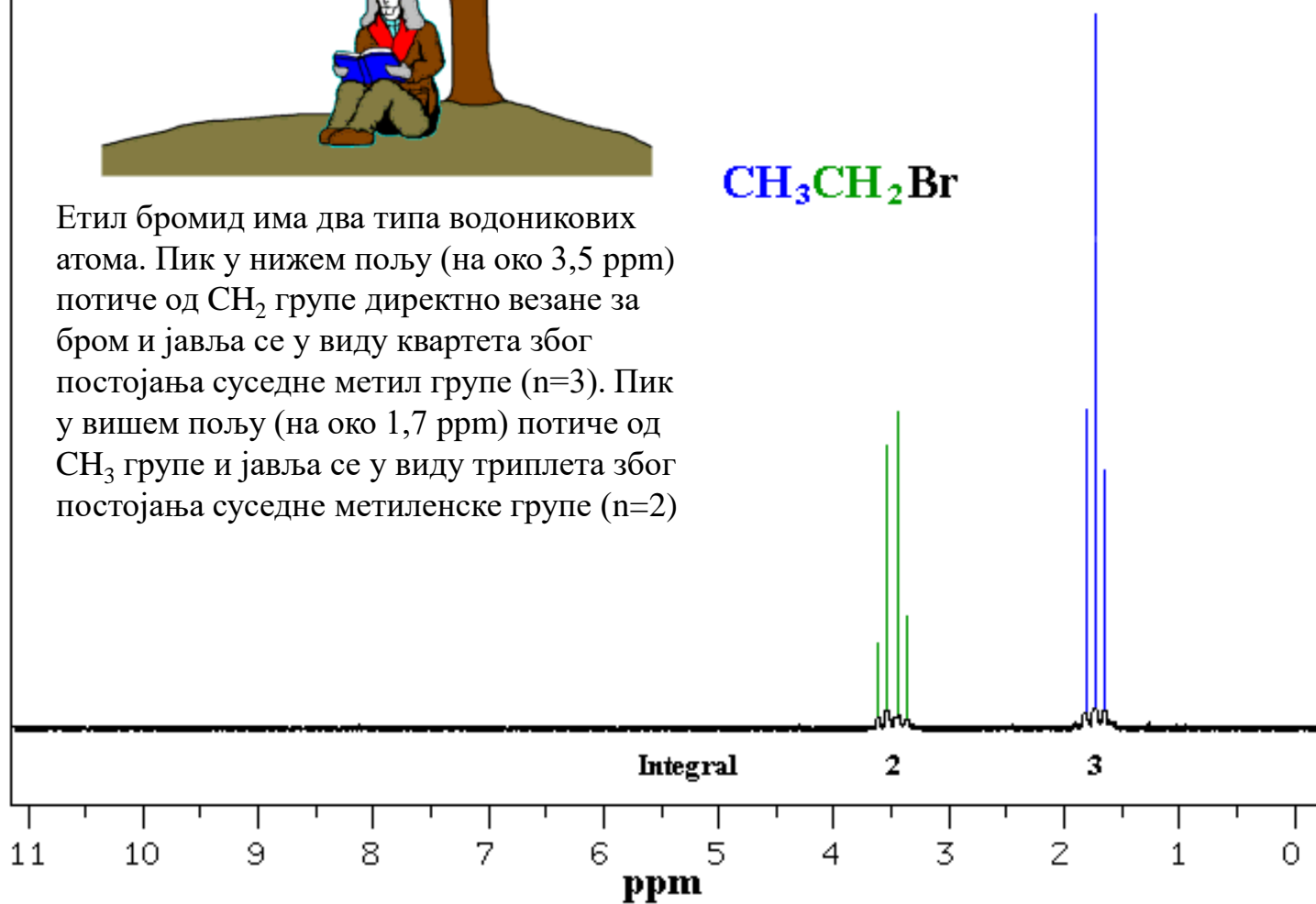
- Вицинална константа купловања зависи од диедралног угла  $\phi$  који се јавља између равни у којима се налазе угљеникови атоми са одговарајућим протонима. Та зависност је дата **Карплусовом једначином** и дијаграмом.
- Са повећавањем углова веза ( $\theta$  и  $\theta^1$ ) у фрагменту доводи до смањења  $^3J(\text{HH})$







Етил бромид има два типа водоникових атома. Пик у нижем пољу (на око 3,5 ppm) потиче од  $\text{CH}_2$  групе директно везане за бром и јавља се у виду квартета због постојања суседне метил групе ( $n=3$ ). Пик у вишем пољу (на око 1,7 ppm) потиче од  $\text{CH}_3$  групе и јавља се у виду триплета због постојања суседне метиленске групе ( $n=2$ )



- *Спин-спин цепање* се простире кроз везе које раздвајају интерагујућа језгра (скаларно купловање). Обично се ова интеракција догађа само између језгара која су одвојена са две, три или четири везе у  $^1\text{HMR}$ -у.
- Број трака (#) у финој структури апсорпционог сигнала дат је изразом

$$\# = 2nI + 1$$

- где је **I нуклеарни спин квантни број** језгра који проузрокују цепање, а **n број језгара**.

- Релативни однос трака у апсорпционом сигналу је дат **коефицијентима биномног** обрасца или **Паскаловим троуглом**

$$(X + 1)^m$$

- где је **m** једнако броју трака у сигналу минус један (#−1)



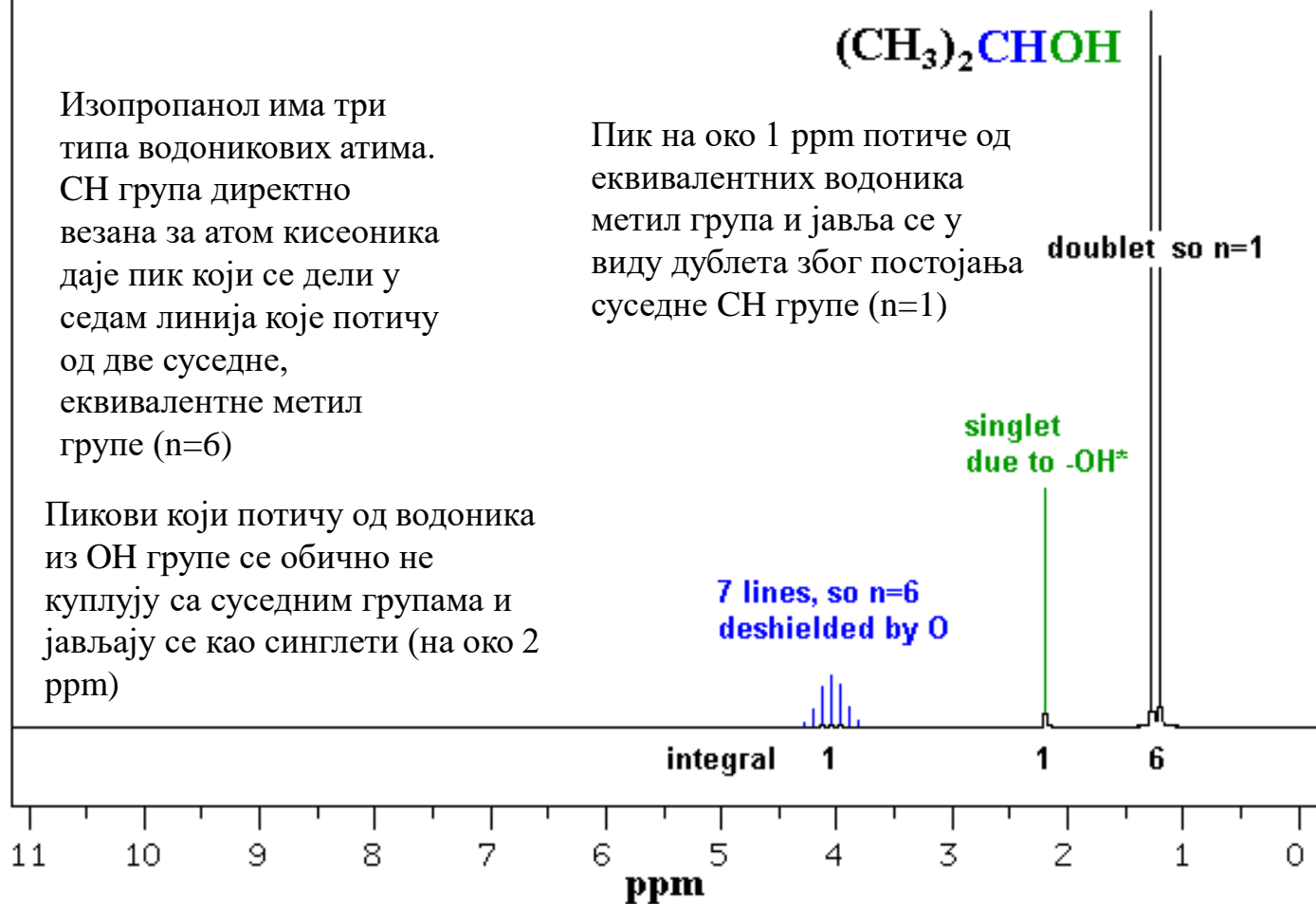
Паскалов треугольник

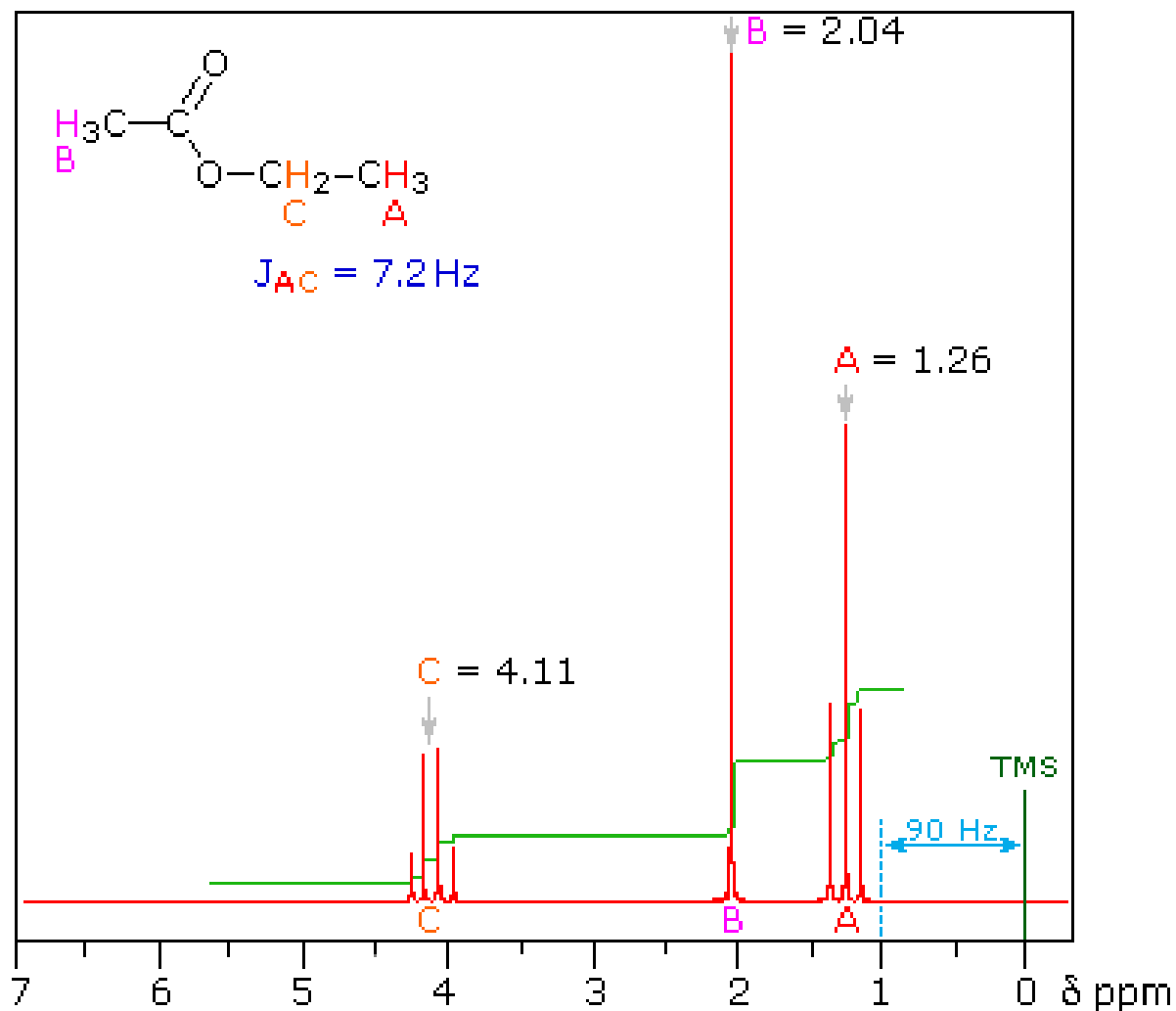


Изопропанол има три типа водоникових атома. СН група директно везана за атом кисеоника даје пик који се дели у седам линија које потичу од две суседне, еквивалентне метил групе ( $n=6$ )

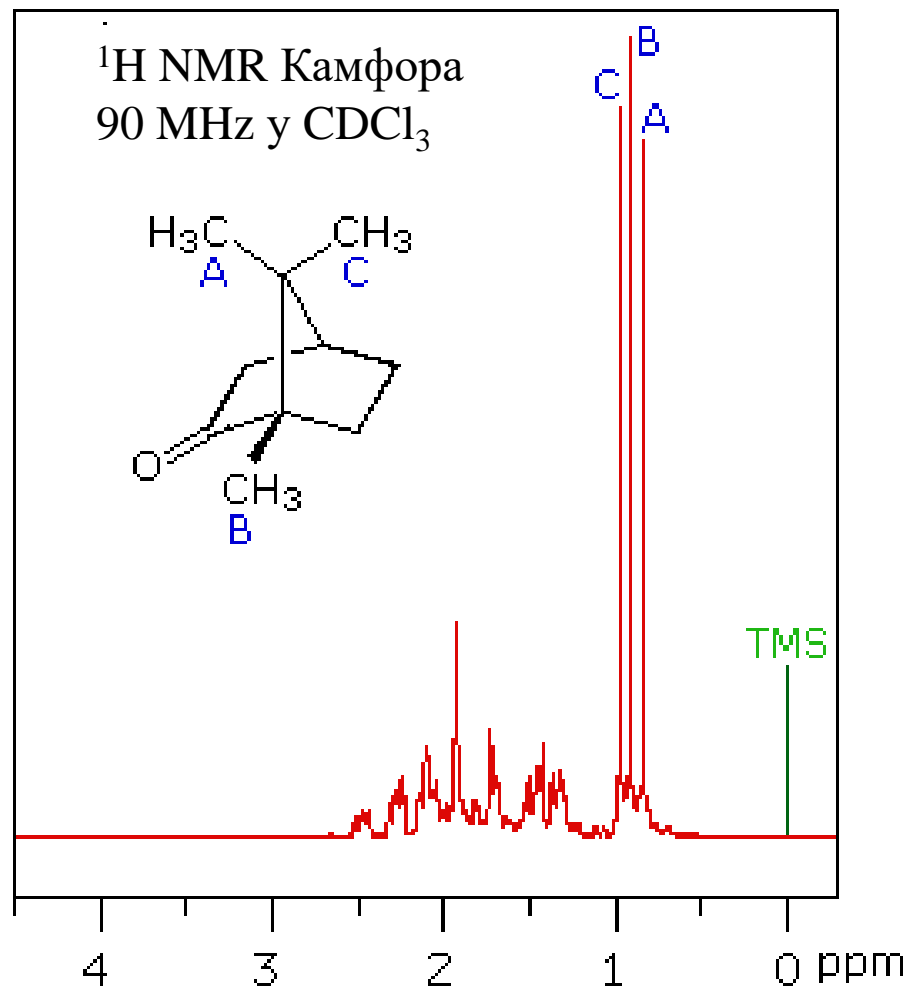
Пикови који потичу од водоника из ОН групе се обично не куплују са суседним групама и јављају се као синглети (на око 2 ppm)

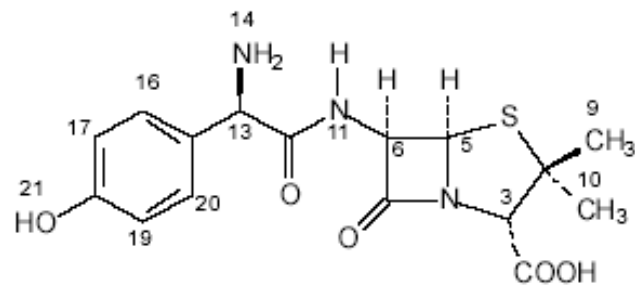
Пик на око 1 ppm потиче од еквивалентних водоника метил група и јавља се у виду дублета због постојања суседне СН групе ( $n=1$ )



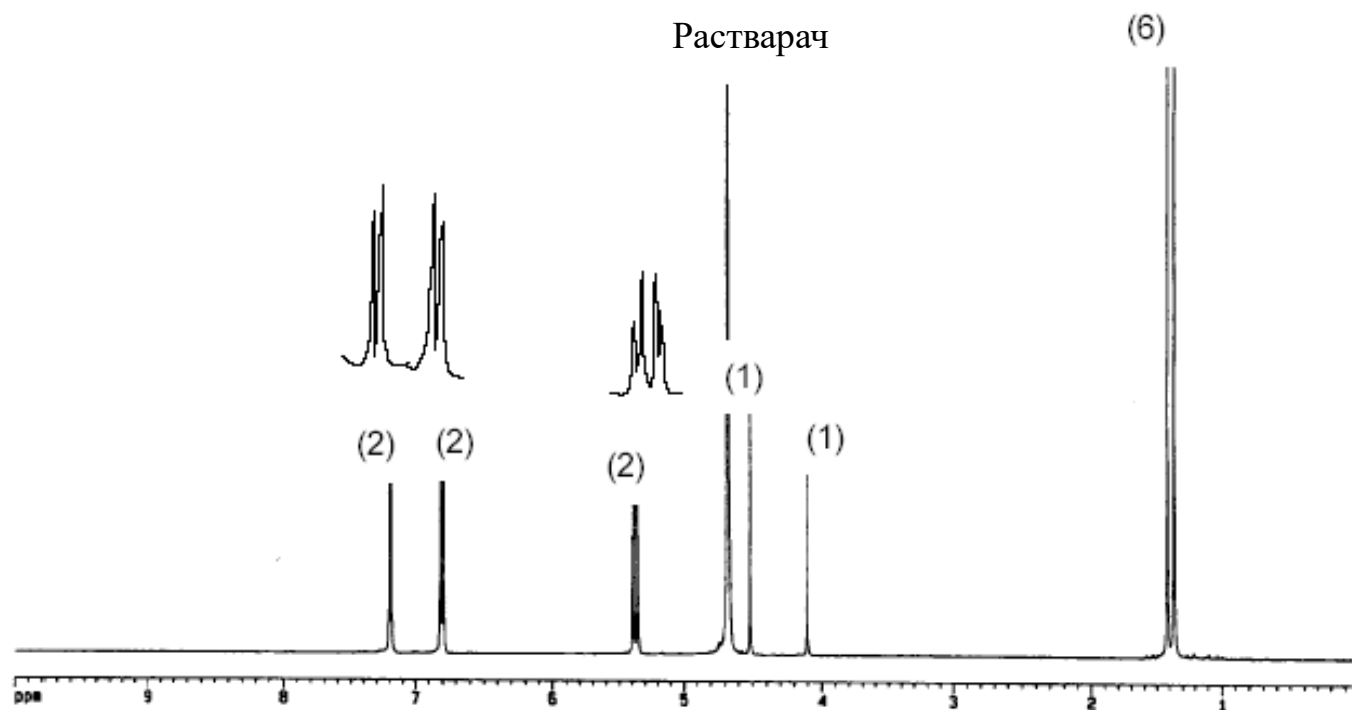


# СПЕКТРИ ВИШЕГ РЕДА





Амоксицилин



$^1\text{H}$  NMR спектар амоксицилина

# *прва генерација*



*ДРУГА ГОДИНА* ФАРМАЦИЈЕ

СНИМАЊЕ NMR СПЕКТРА

