



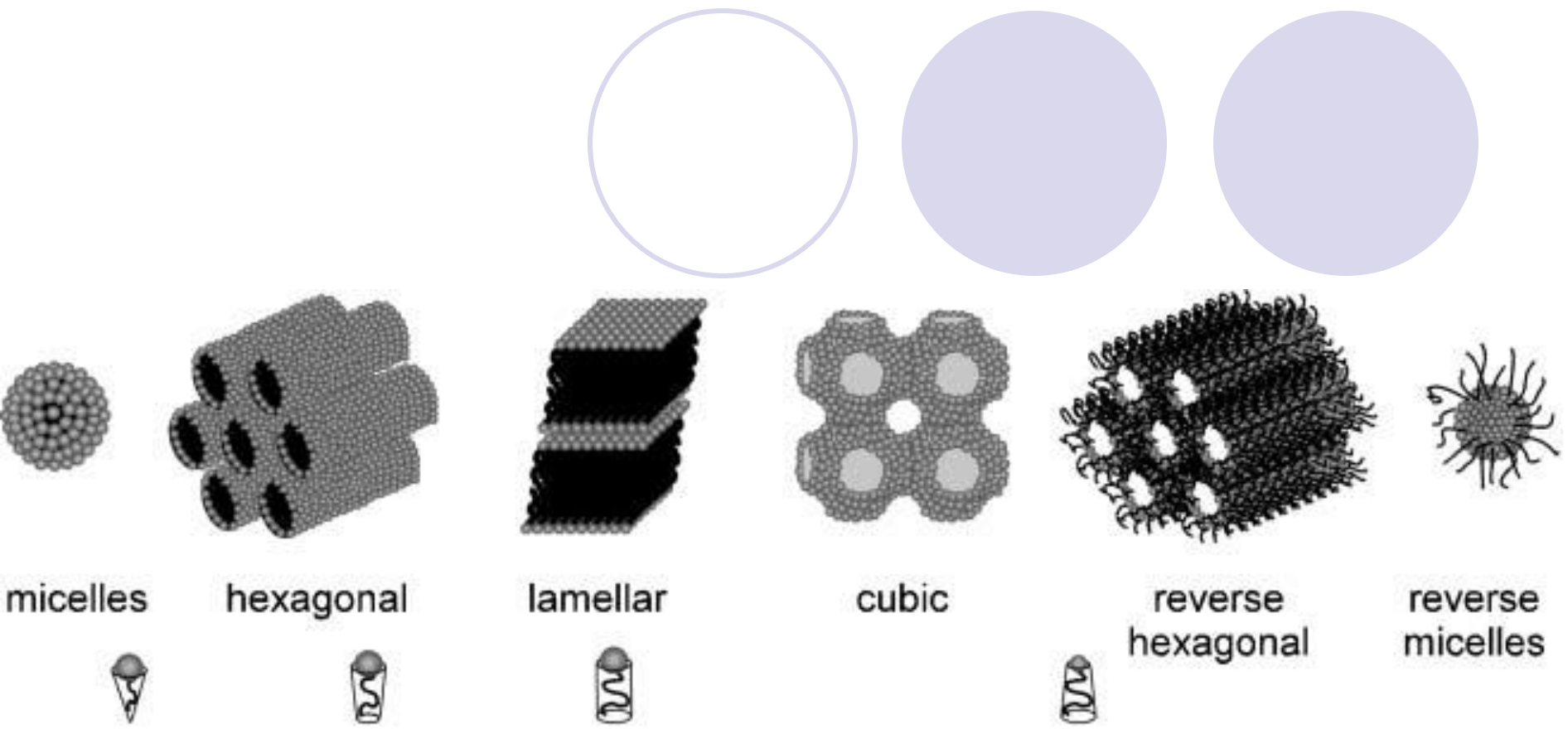
NMR strukturní analýza C8950

NMR spektroskopie pevného stavu

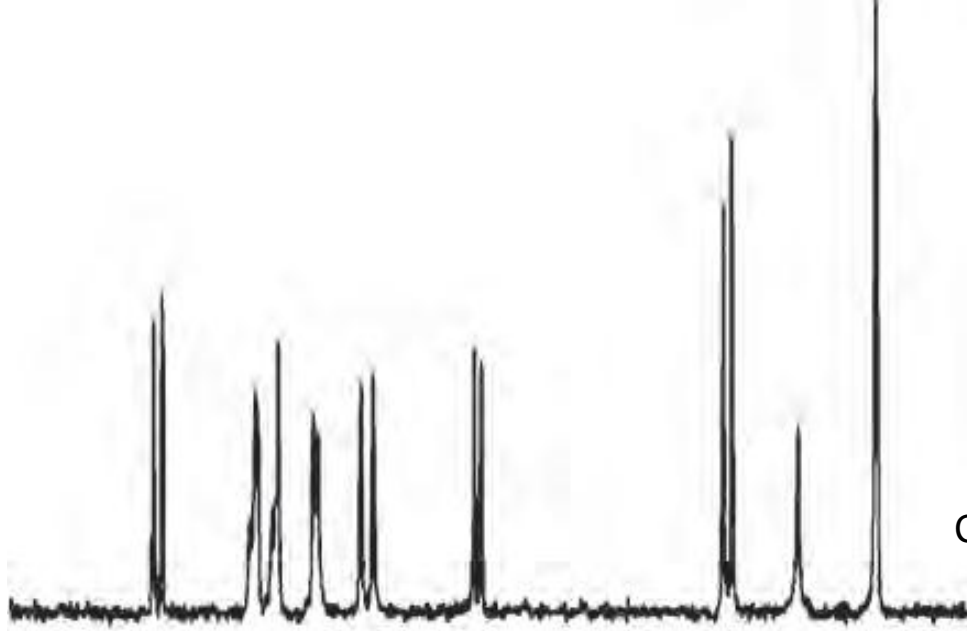
Radek MAREK 2012

NMR pevné fáze

MOTIVACE

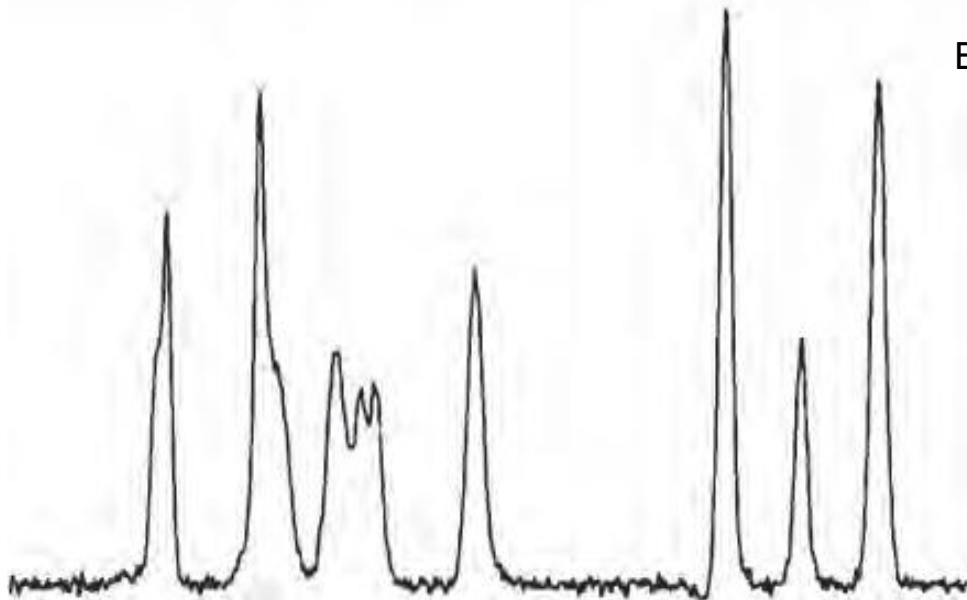


NMR pevné fáze *MOTIVACE*



Carbon-13 CPMAS spectra of nifedipine (**VI**).

Top: crystalline form I.



Bottom: amorphous

J. Pharm. Pharmacol. 2007, 59: 225–239

NMR pevné fáze

MOTIVACE

Polymorph is a solid crystalline phase of a given compound resulting from the possibility of at least two crystalline arrangements of the molecules of that compound in the solid state.

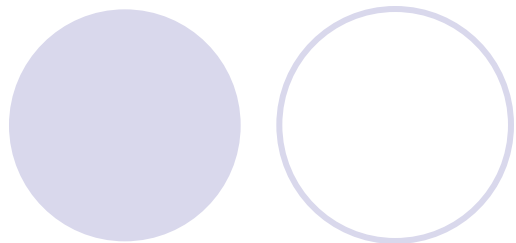
W.C. McCrone, in *Physics and Chemistry of the Organic Solid State*, Vol. 2, Interscience, New York, p. 725, 1965.

NMR pevné fáze

MOTIVACE

Potentially different physical and chemical properties between polymorphs, solvates, amorphous phases.

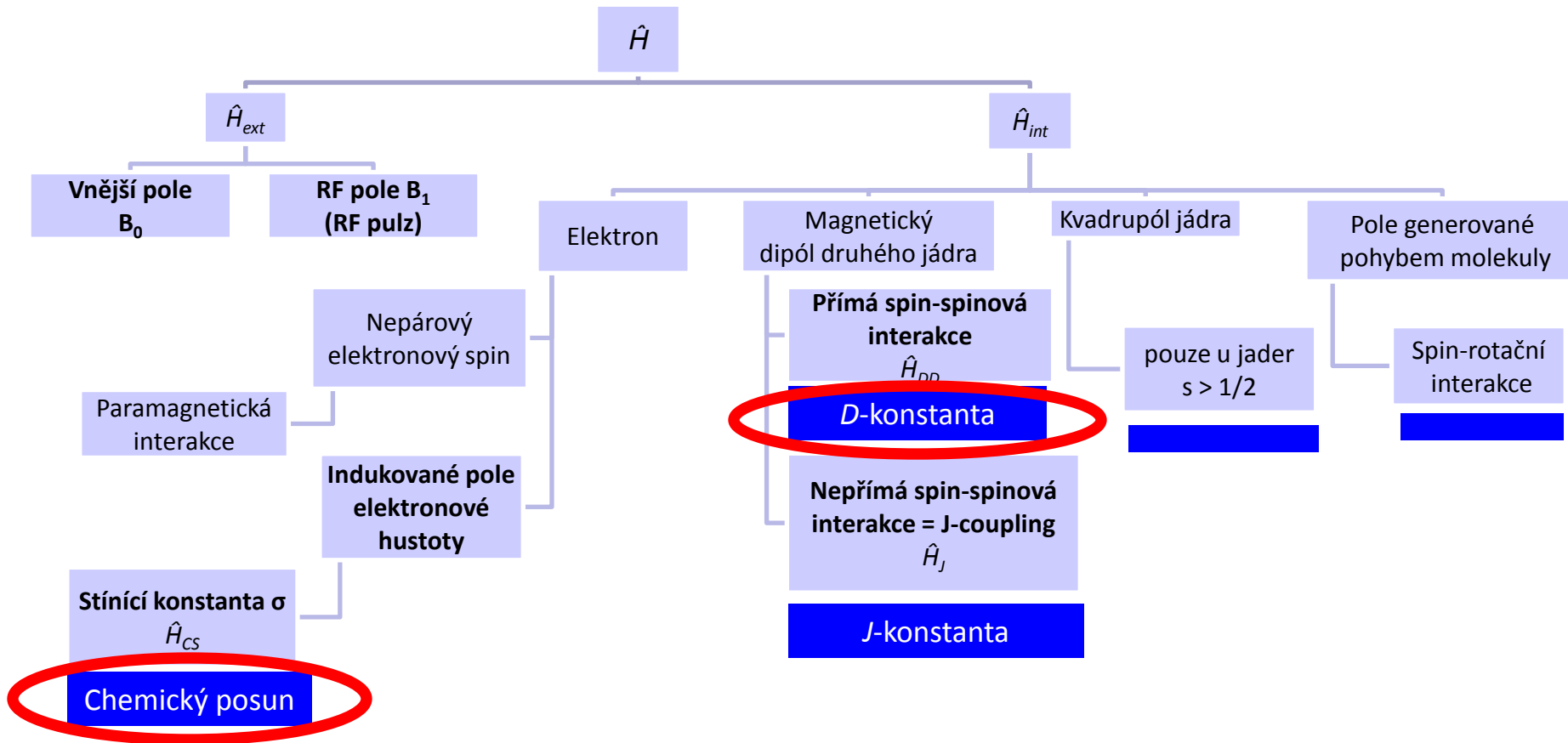
- **physical and thermal properties** (density, refractive index, melting points, free energy and chemical potential, [thermal stability](#), [solubility](#))
- **spectroscopic properties** (vibrational, rotational, electronic, NMR features)
- **kinetic properties** ([rate of dissolution](#), stability, kinetics of solid-state reactions)
- **surface properties** (surface area, particle size distribution)
- **mechanical properties** (hardness, compression, thermal expansion, drying characteristics)
- **chemical properties** ([chemical and photochemical reactivity](#)) [==>](#)



- vzorky v podobě monokrystalů, práškové formě (mikrokrystaly) či amorfní fáze
- omezen molekulární pohyb – anizotropie chemického posunu, výrazný efekt přímé dipolární a kvadrupolární interakce
- 100% koncentrace vzorku
- spektra „přesycena“ informacemi – vývoj technik ssNMR pro jejich extrakci

Interakce jaderného spinu

energie interakce spinu reprezentovaného operátorem \hat{I}_z s okolím vyjadřují jednotlivé členy spinového hamiltoniánu \hat{H}

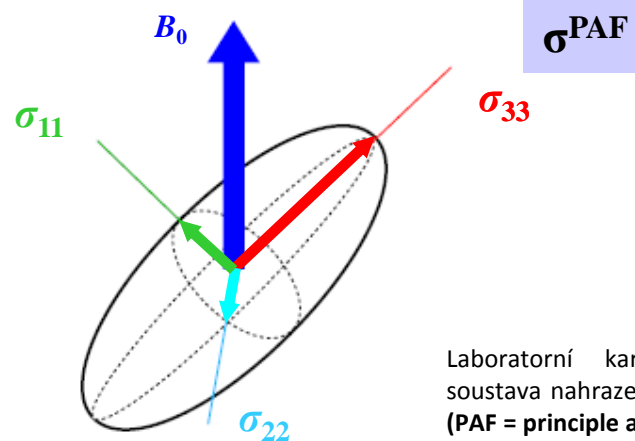
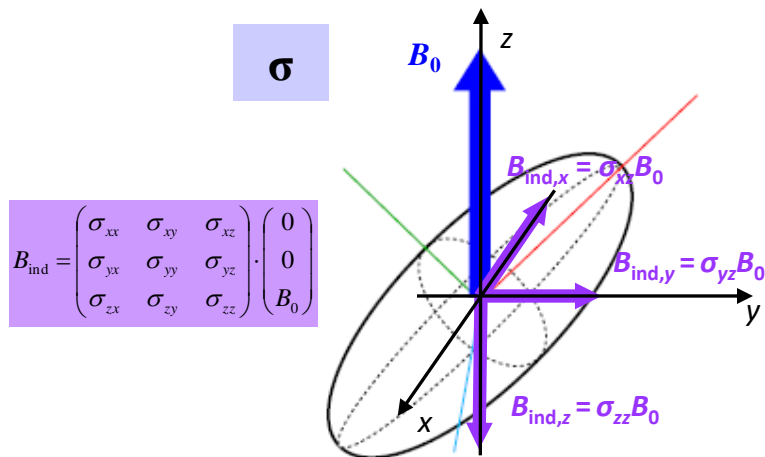


Anizotropní interakce v pevné fázi

Jaderné magnetické stínění

Stínící konstanta - tenzor

$$\sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{pmatrix}^{Lab} \xrightarrow{\text{diagonalizace}} \begin{pmatrix} \sigma_{11} & 0 & 0 \\ 0 & \sigma_{22} & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{33} \end{pmatrix}^{PAF} = \sigma^{PAF}$$



Laboratorní kartézská souřadná soustava nahrazena hlavními osami (PAF = principle axes frame).

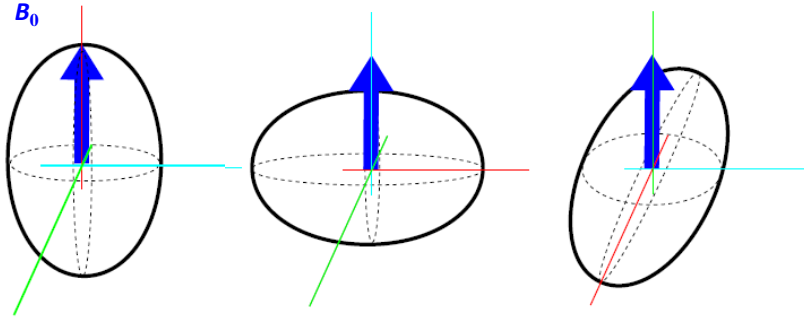
PŘÍČINY ANIZOTROPIE CHEMICKÉHO POSUNU

- omezený molekulární pohyb plně nekompensuje nesférický charakter elektronové hustoty molekul
- různé orientace mikrokystalů v práškovém vzorku

$$\sigma_{iso} = 1/3(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}) \text{ izotropní stínění}$$

Anizotropní interakce v pevné fázi

Jaderné stínění

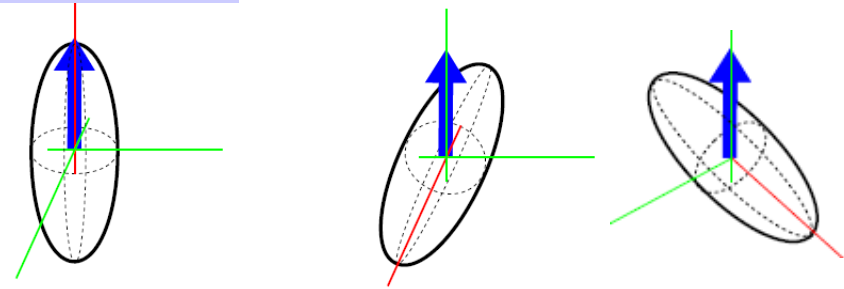


ASYMETRICKÁ MOLEKULA

$$\sigma_{11} \neq \sigma_{22} \neq \sigma_{33}$$

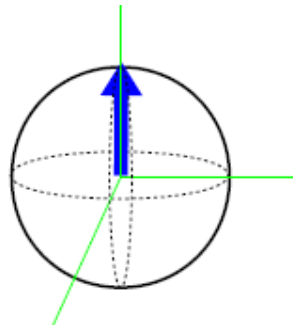
$$\Omega_{\parallel} = \Omega_{iso} + \Omega_0(\sigma_{zz} - \sigma_{33})$$

$$\Omega_{\perp} = \Omega_{iso} + \Omega_0(\sigma_{iso} - \sigma_{11}) = \Omega_{iso} + \Omega_0(\sigma_{iso} - \sigma_{22})$$



AXIÁLNĚ SYMETRICKÁ MOLEKULA

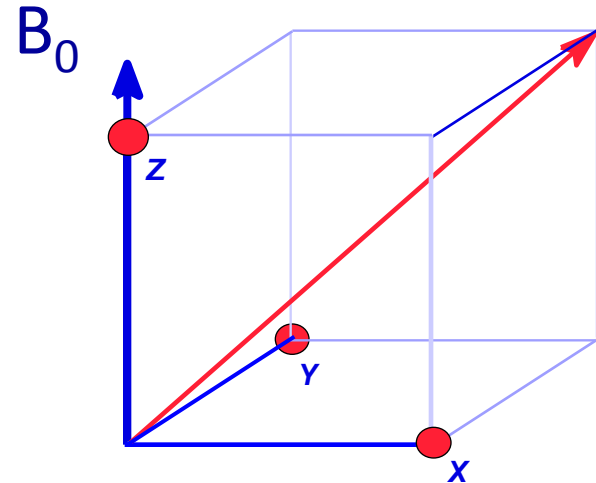
$$\sigma_{11} = \sigma_{22} \neq \sigma_{33}$$



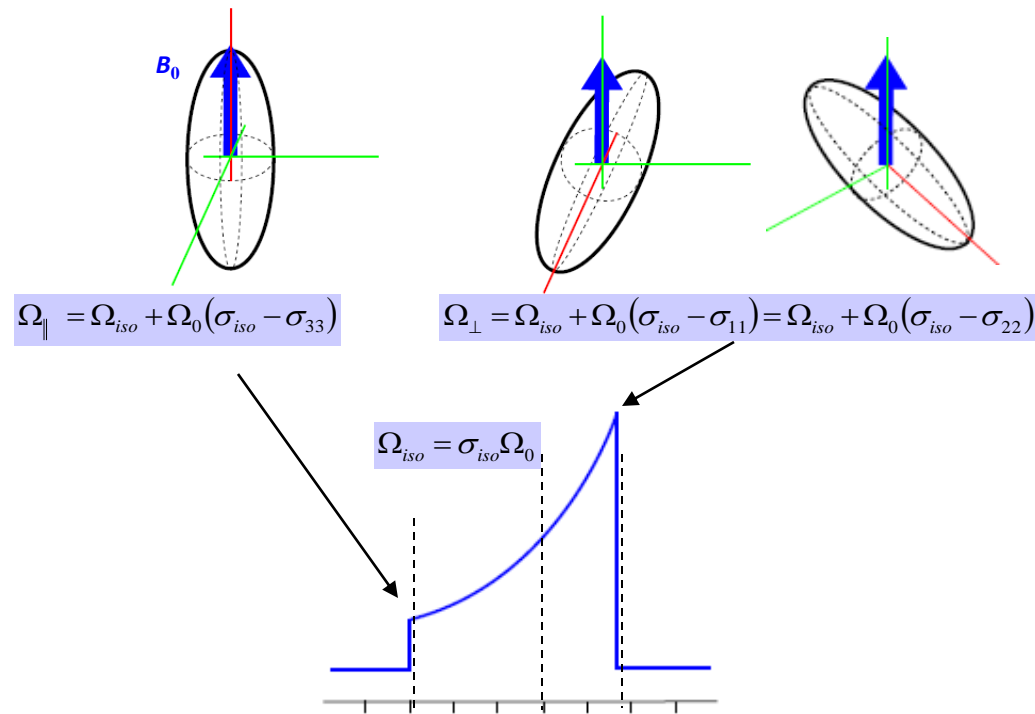
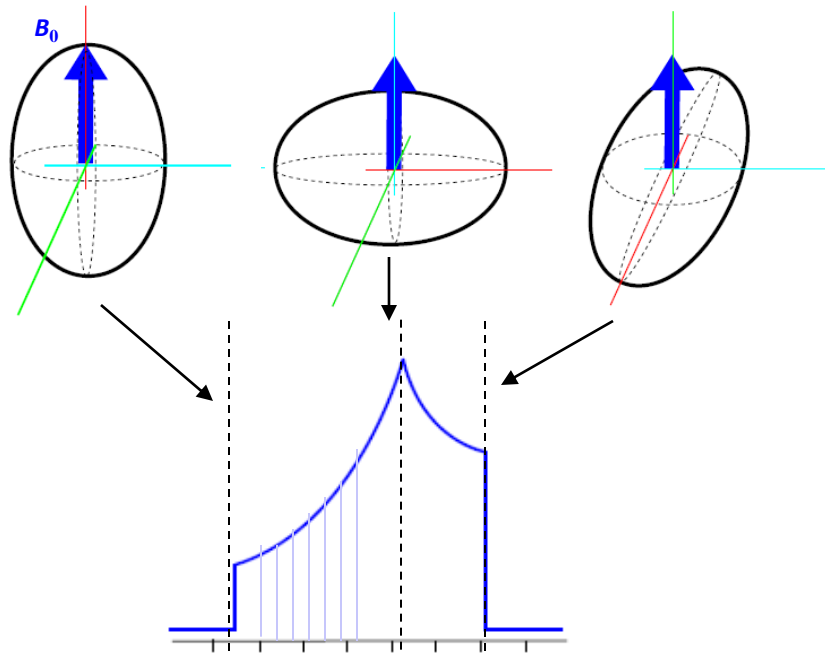
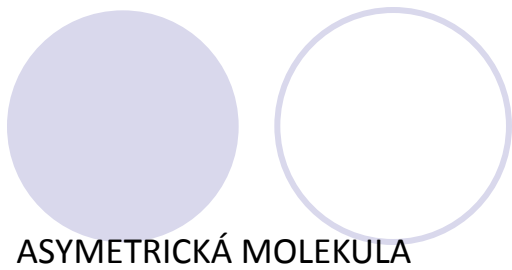
IZOTROPNÍ OKOLÍ nebo ROZTOK

$$(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}) / 3 = \sigma_{iso}$$

NMR pevné fáze



Kubická symetrie – magický úhel

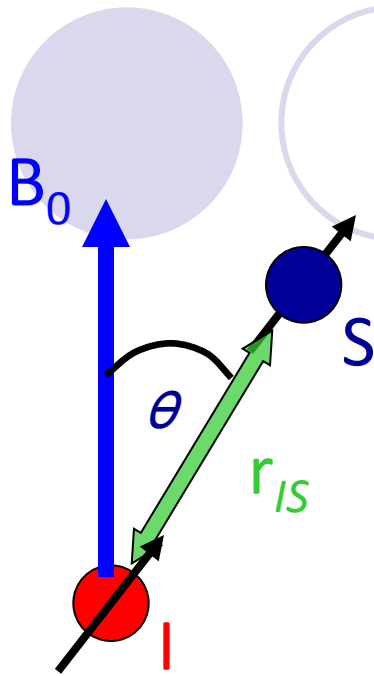


PŘÍČINY ANIZOTROPIE CHEMICKÉHO POSUNU

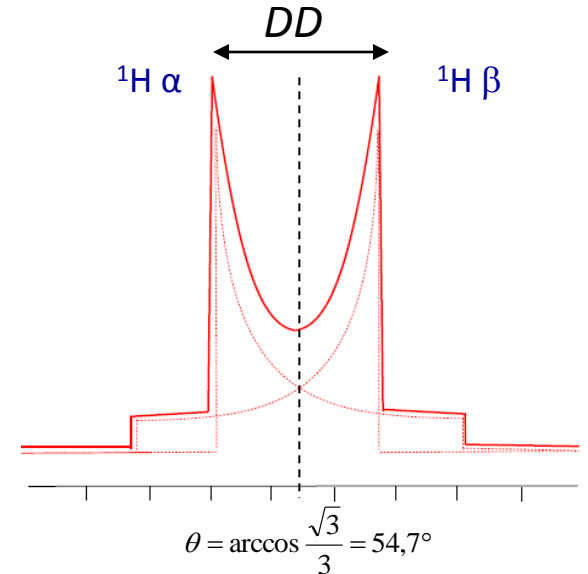
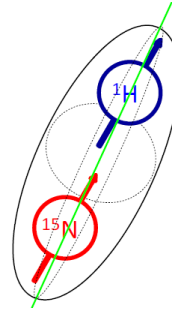
- omezený molekulární pohyb plně nekompensuje nesférický charakter elektronové hustoty molekul
- různé orientace mikrokrystalů v práškovém vzorku

Anizotropní interakce v pevné fázi

Heteronukleární dipól-dipólová interakce



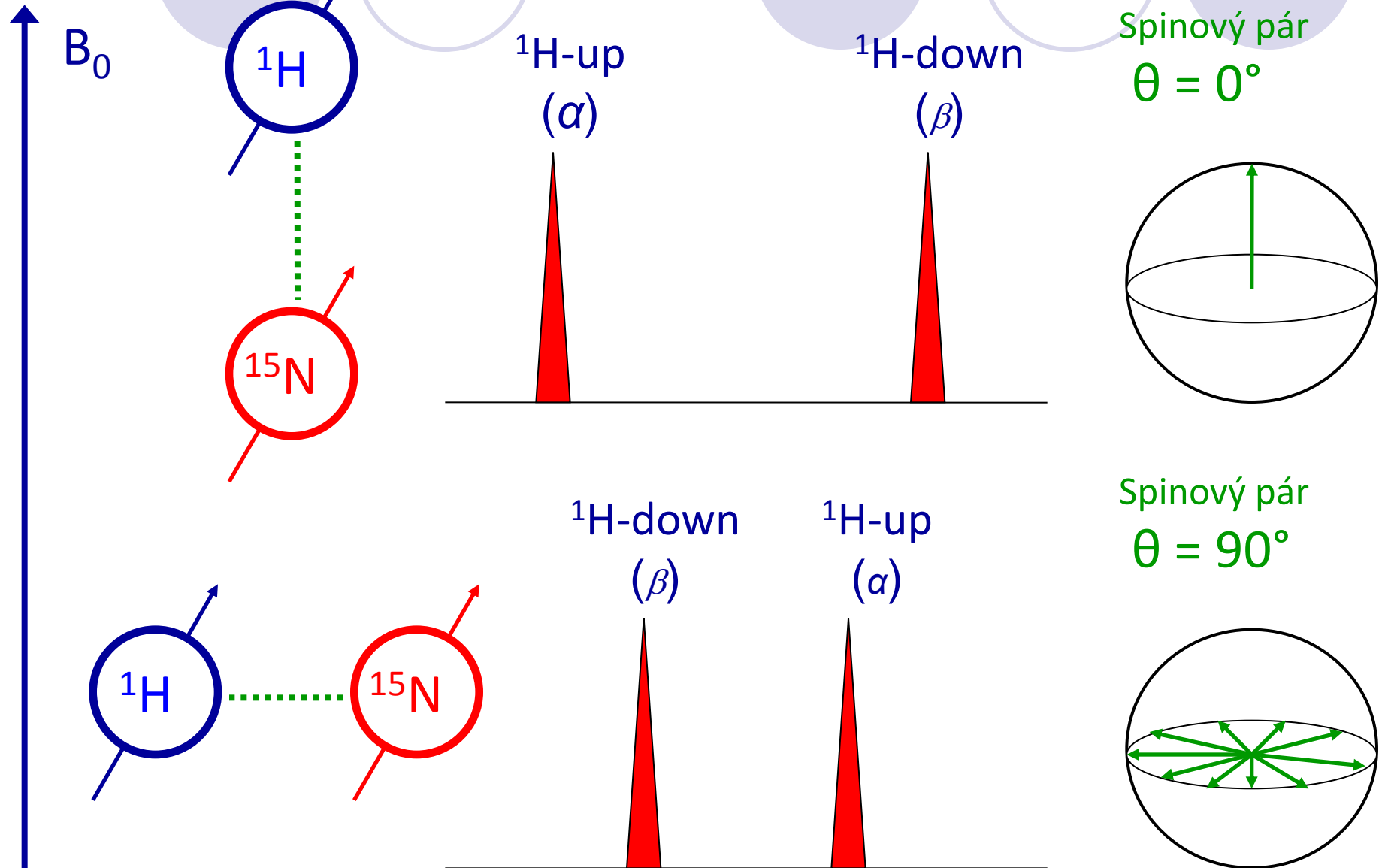
$$\hat{H}_{DD}^{IS} = -\frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar}{r_{IS}^3} (3 \cos^2 \theta - 1) \hat{I}_z \hat{S}_z$$



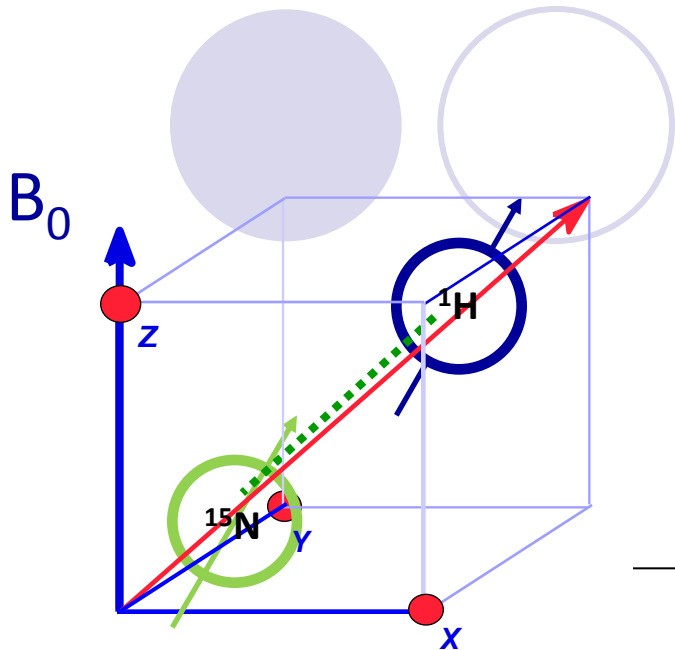
spinový pár $^{15}\text{N} - ^1\text{H}$ v axiálně symetrickém okolí –
práškové spektrum

- v pevné fázi se díky omezenému pohybu interagujících spinových párů projevuje přímá dipolární interakce (dosah 10 Å)
- prášková spektra odpovídají náhodným a v čase konstantním orientacím mezijaderného vektoru r_{IS} vůči směru B_0
- signál je v ideálním případě rigidního krystalu štěpen na Pakeův dublet odpovídající α a β stavu interagujícího partnera

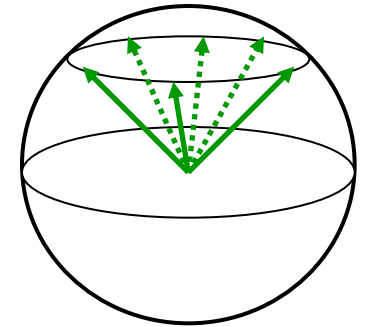
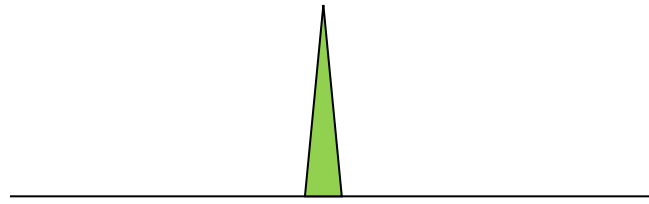
Závislost signálu na orientaci izolovaného spinového páru



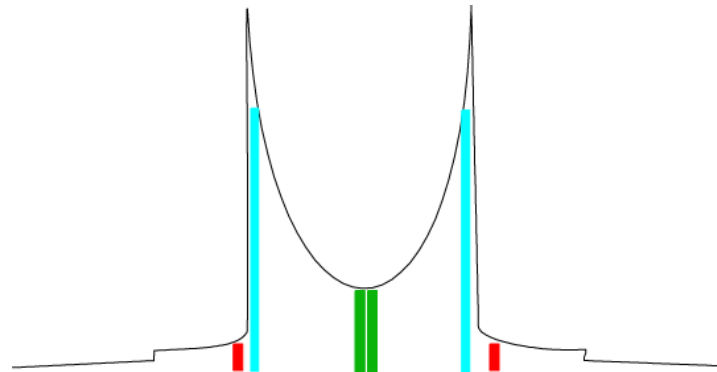
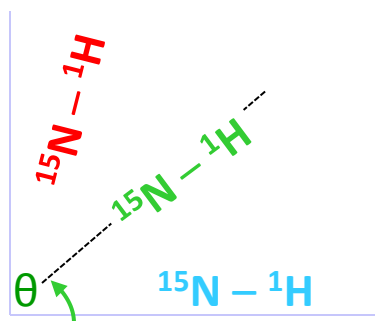
Rotace vzorku pod magickým úhlem Magic Angle Spining (MAS)



^1H
($\alpha + \beta$)



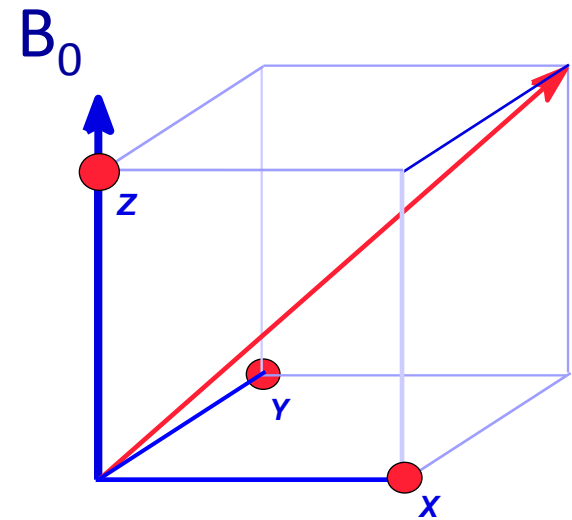
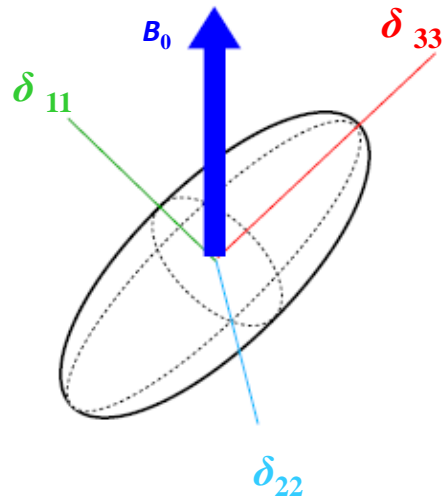
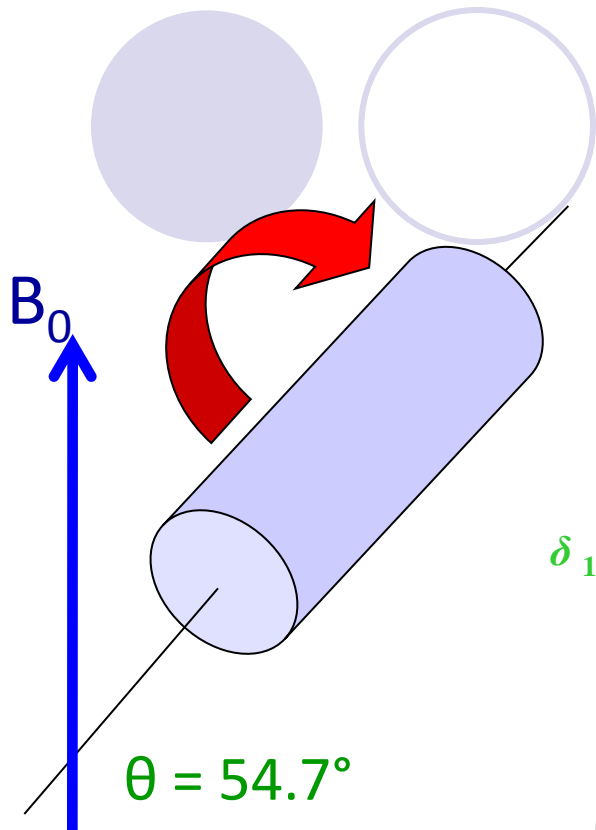
$\theta = 54.7^\circ$



- kubická symetrie systému: v čase se všechny orientace vlivem rotace zprůměrují do hodnoty magického úhlu – vynulování členu ($3\cos^2\theta - 1$)
- potlačení heteronukleární dipól-dipólové interakce a složky anizotropie chemického posunu → zúžení signálů resp. rozpad práškového spektra na jednotlivé **rotační signály**

Rotace vzorku pod magickým úhlem

Rotační signály

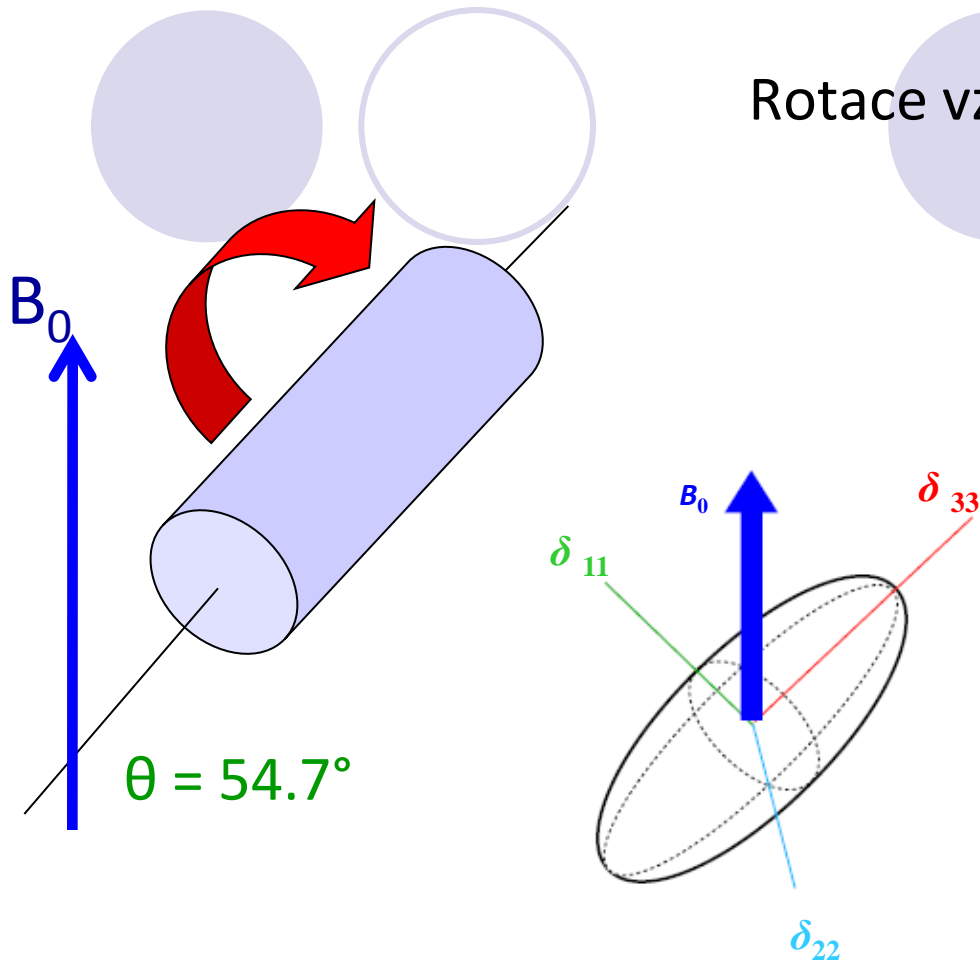


Kubická symetrie – magický úhel

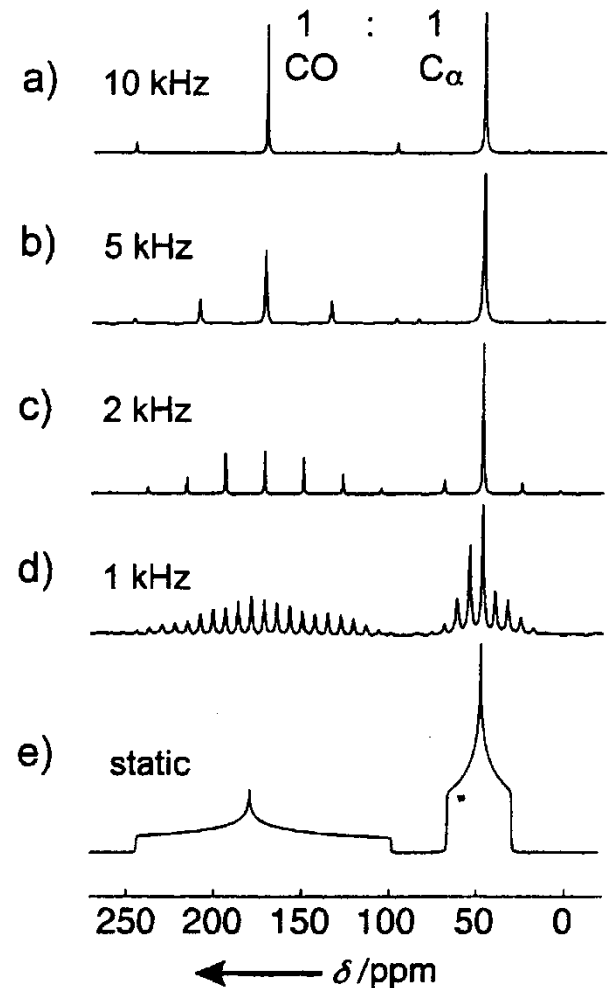
- rozlišené reziduální rotační signály mohou poskytnout informace o anizotropii jaderného stínění resp. chemického posunu – určení složek tenzoru δ

Rotace vzorku pod magickým úhlem

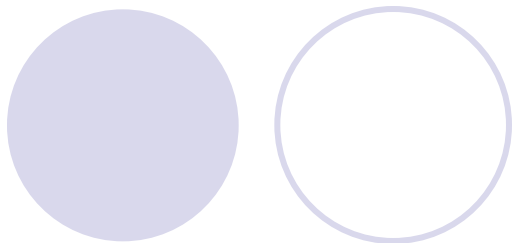
Rotační signály



- rozlišené reziduální rotační signály mohou poskytnout informace o anizotropii jaderného stínění resp. chemického posunu – určení složek tenzoru δ



Heteronukleární decoupling

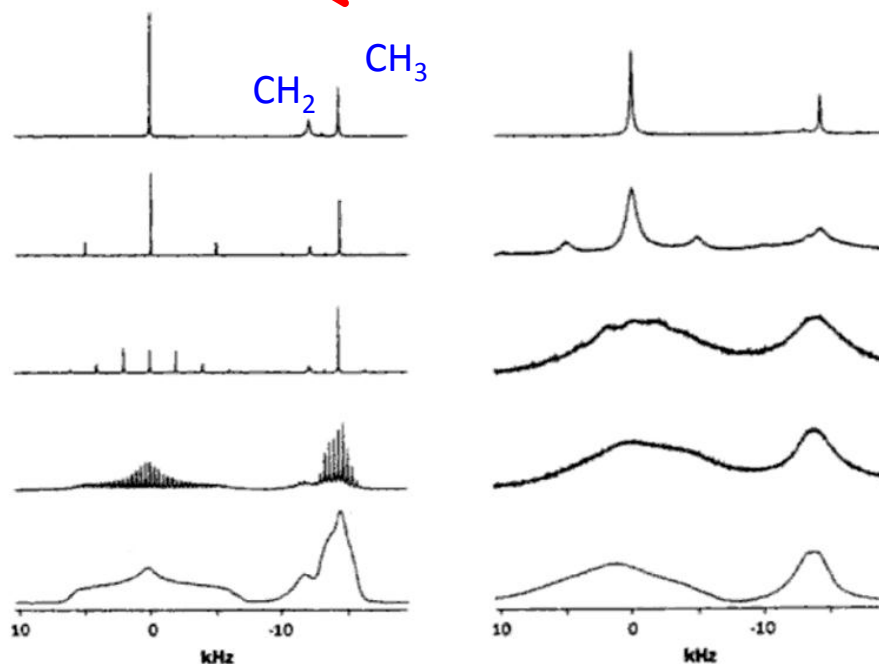


$$\hat{H}_{DD} = -\frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{4\pi r_{IS}^3} (3\cos^2\theta - 1) \hat{I}_z \hat{S}_z$$

$$\hat{I}_z \hat{S}_z \xrightarrow{\pi_x(S)} -\hat{I}_z \hat{S}_z$$

frekvence MAS

13 kHz
5 kHz
2 kHz
500 Hz
Static

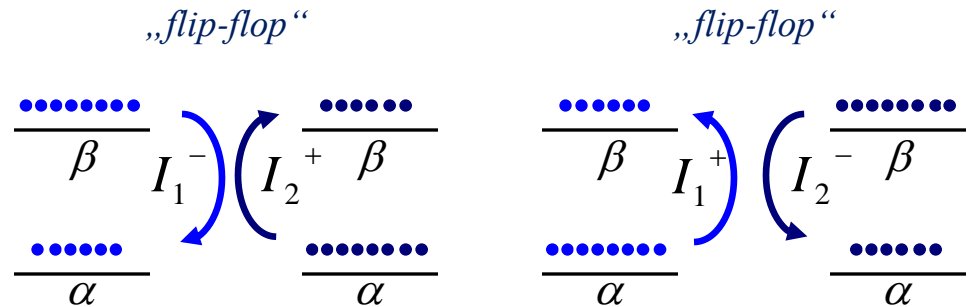
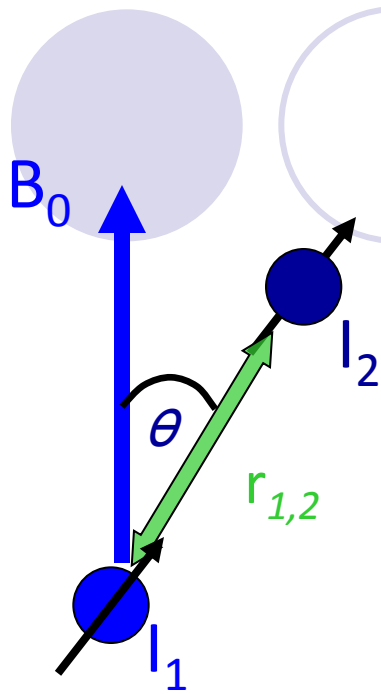


¹³C spektrum práškové směsi glycinu a alaninu

- umožňují téměř zcela potlačit heteronukleární dipolární interakce v ss NMR spektru
- založen na kontinuálním ozařování vazebného partnera, např. ¹H rezonance, 180° pulzy o stejné fázi → rotace magnetizace způsobí vyprůměrování spinové složky H_{DD} do nulové hodnoty

Anizotropní interakce v pevné fázi

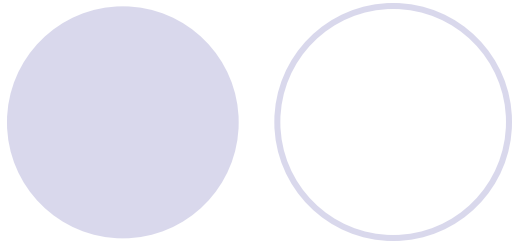
Homonukleární dipol-dipolová interakce



$$\hat{H}_{DD}^{II} = -\frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\gamma^2 \hbar}{2r_{1,2}^3} (3\cos^2\theta - 1) (\hat{I}_{1z}\hat{I}_{2z} - \hat{I}_1\hat{I}_2)$$

$$\hat{I}_1\hat{I}_2 = (I_{1x}I_{2x} + I_{1y}I_{2y} + I_{1z}I_{2z}) = 1/2(I_1^+I_2^- + I_1^-I_2^+) + I_{1z}I_{2z}$$

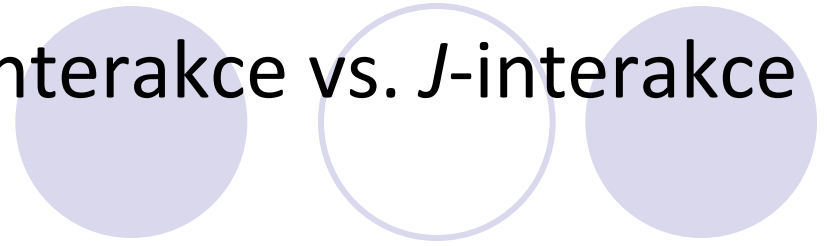
- v homonukleárním spinovém páru (např. ^1H - ^1H) hamiltonián dipolární interakce navíc zahrnuje skalární součin vektorů operátorů magnetizace
- podmínka zachování celkové energie systému nebrání přenosu energie v okamžiku synchronního *flip-flop* přechodu mezi dvěma interagujícími jádry o blízké rezonanční frekvenci
- jde o koherentní velmi rychlý proces přenosu magnetizace prostorem, homonukleární interakce proto zapříčiňuje tzv. spinovou difúzi



Přímá spin-spinová interakce

- šíří se přes prostor – přímá interakce jaderných dipólů
- velikost závislá na orientaci mezijaderného vektoru vůči vnějšímu magnetickému poli
- uplatňuje se v pevné fázi popř. orientovaných mediích v podobě reziduálního dipolární interakce
- v roztoku důležitý relaxační mechanismus - NOE
- magnituda v řádu kHz

D-interakce vs. J-interakce

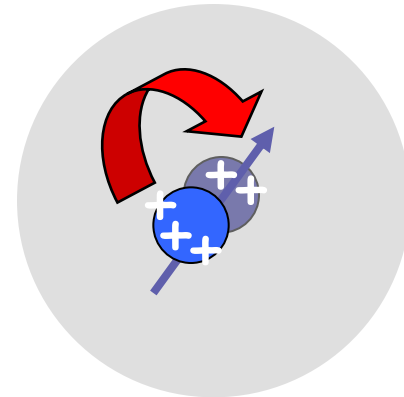
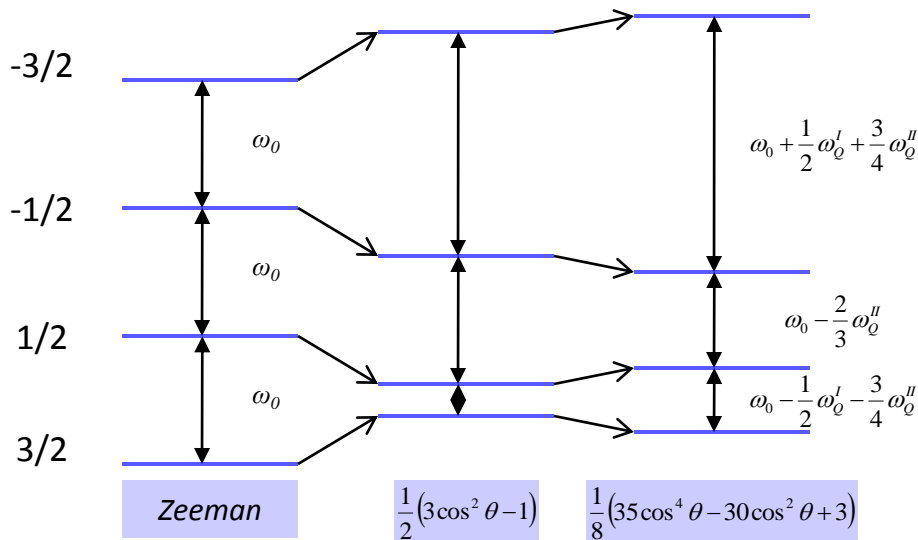


Nepřímá spin-spinová interakce

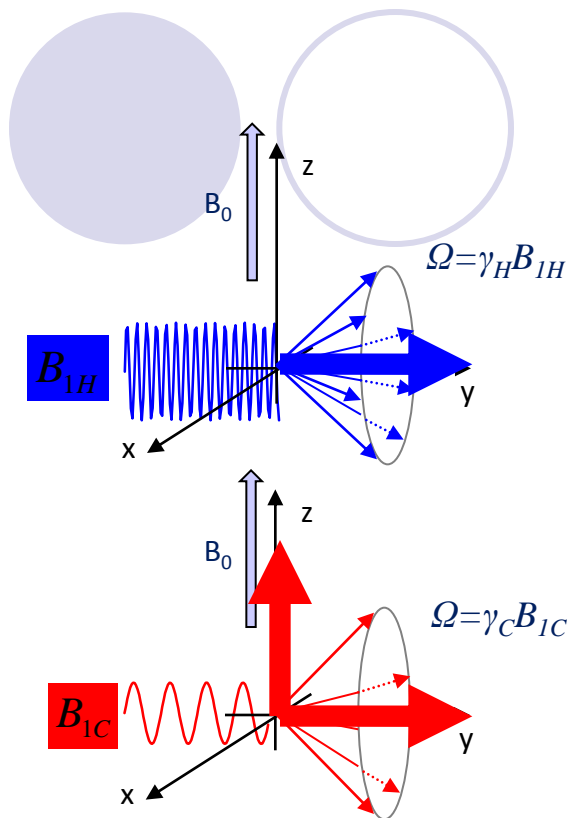
- zprostředkována valenčními elektrony
- nezávislá na orientaci ani velikosti vnějšího magnetického pole
- uplatňuje se v roztoku, v pevné fázi překryta intenzivnějšími DD popř. kvadrupolárními interakcemi
- magnituda v řádu desítky Hz

Anizotropní interakce v pevné fázi

Kvadrupolární interakce

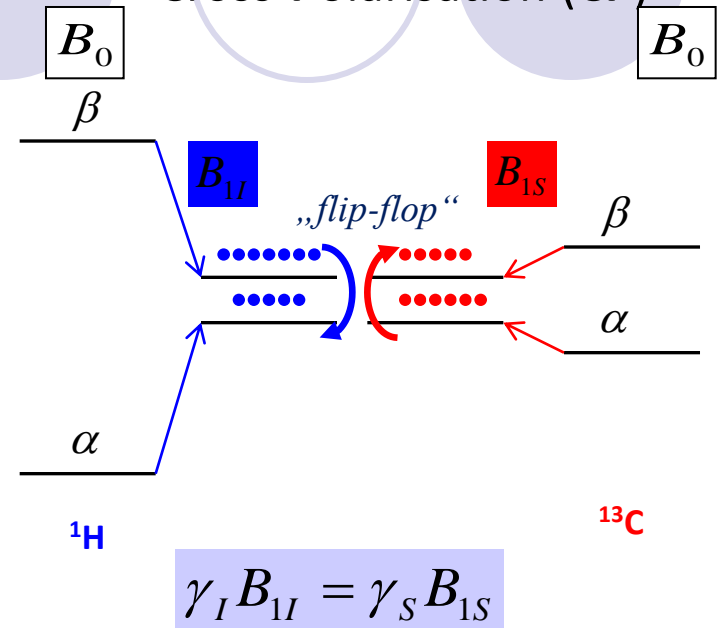


- projevuje se u jader s jaderným magnetickým spinovým číslem $s > 1/2$ – jaderný spin se může vyskytovat ve $2s + 1$ energetický stavech
- tato jádra mají nesférickou distribuci jaderného náboje – kvadrupólové štěpení rezonančního signálu působí interakce magnetického momentu s gradientem elektrického pole
- kvadrupólové štěpení dosahuje až řádů MHz a jeho závislost na orientaci spinového systému vůči B_0 je popsána vedle harmonické funkce i složkou druhého řádu, MAS neumožňuje zcela odstranit



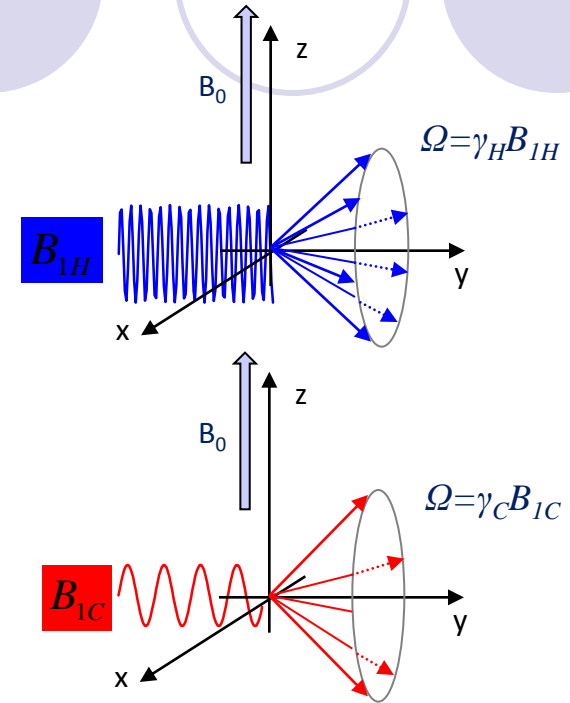
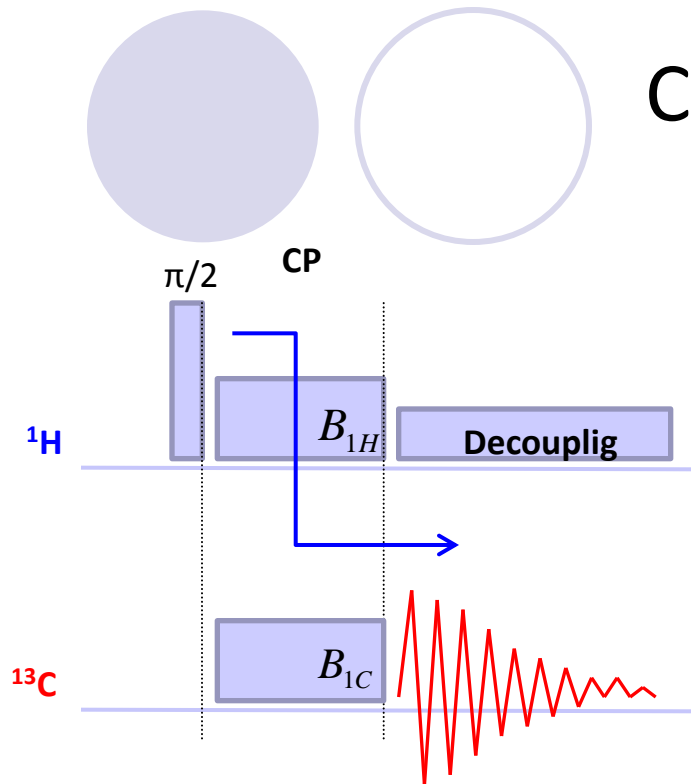
Křížová polarizace

Cross-Polarisation (CP)



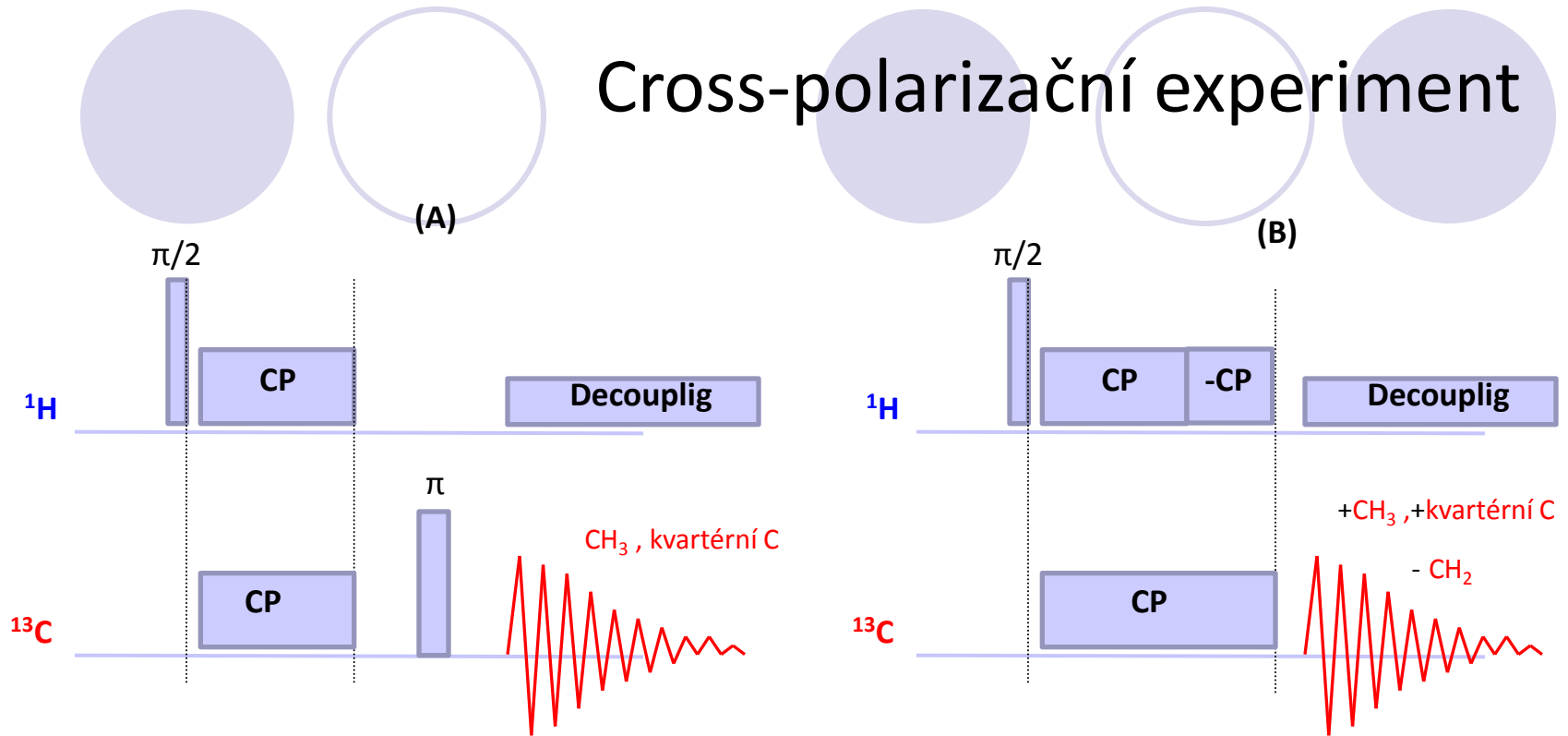
- hnací silou je **přímá dipól-dipólová interakce**, využívá tendence magnetizace proudit z vysoce polarizovaného systému (velké γ_I , např. ^1H) do systému málo polarizovaného (malé γ_S , např. ^{13}C)
- rezonanční podmínku lze pro heteronukleární spinový pár splnit díky **Hartman-Hahnovu experimentu** – založen na současném ozařování obou jader *rf* poli o odpovídajících frekvencích, což má za následek precesní pohyb obou spinů kolem směru těchto polí, amplitudy těchto *rf* poli jsou nastaveny tak, aby došlo k vyrovnání frekvencí obou precesních pohybů a ustavení tzv. dipolárního kontaktu
- v homonukleárním systému je **flip-flop cross-polarizační přechod** podstatou spinové difúze

Cross-polarizační experiment



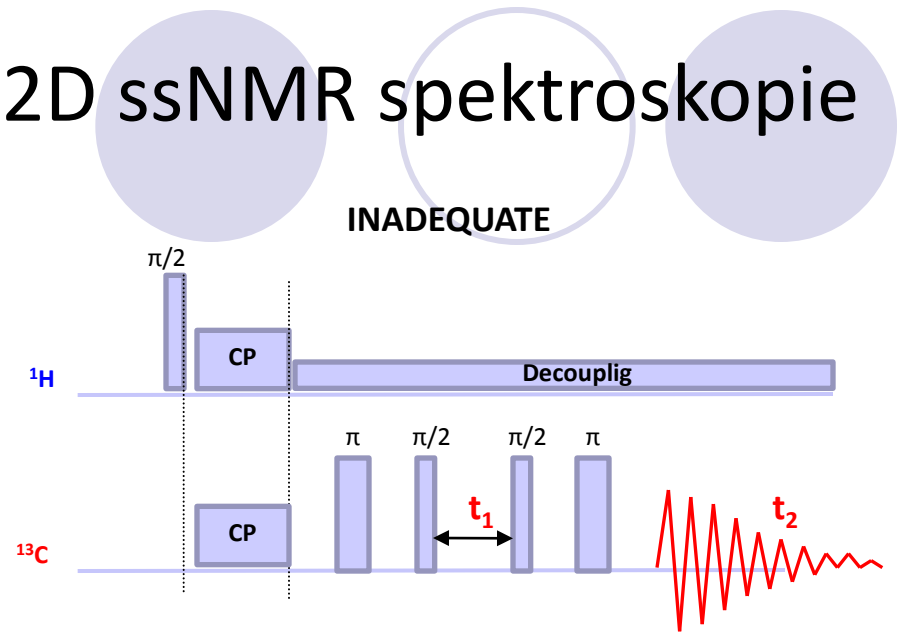
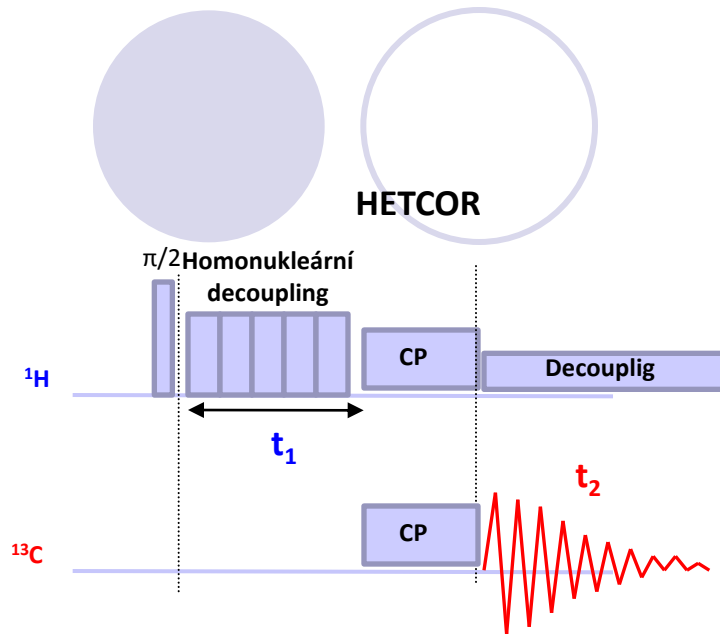
- 90° pulzem je excitován ^1H vysoce polarizovaný spinový systém
- během CP perody jsou magnetizace obou systému udržovány ve shodném směru rf polí (spin-lock) bez vývoje chemického posunu – polarizace se přesouvá z ^1H do ^{13}C spinového systému
- během akvizice ^{13}C signálu je DD interakce potlačována dekaplovací pulzní sekvencí na ^1H
- CP experiment představuje významný stavební blok řady pulzních sekvencí v ssNMR – umožňuje až 1000x zvýšení citlivosti

Cross-polarizační experiment



- intenzita DD interakcí mezi ^1H a ^{13}C závisí na prostorové blízkosti jader a rychlosti reorientace mezijaderného vektoru vůči B_0 , klesá v řadě:
 $\text{CH}_2 > \text{CH} > \text{CH}_3$ (rotace) $> \text{C}$ (vzdálené protony)
- **(A)** Během spinového echa dojde k rozfázování koherence signálu CH_2 a CH vlivem DD interakce, jež je v těchto spinových systémech nejrychlejší.
- **(B)** Na inverzi fáze CP spinlokovacího bloku ^1H rezonance nejrychleji reagují CH_2 skupiny – inverze signálů, následované CH (signál po optimalizaci blízko nule) .

2D ssNMR spektroskopie



Např:

- **DD interakce:** ^1H - ^{13}C korelační heteronukleární experiment HETCOR
- **J-interakce:** ^{13}C - ^{13}C INADEQUATE, HMQC-J-MAS
- korelace **CSA a DD interakce:** orientované systémy- PISEMA