

Úvod do strukturní analýzy farmaceutických látek

Garant předmětu: doc. Ing. Bohumil Dolenský, Ph.D.

Vyučující: prof. RNDr. Pavel Matějka, Ph.D., A136, linka 3687, matejkap@vscht.cz

doc. Ing. Bohumil Dolenský, Ph.D., A28, linka 4110, dolenskb@vscht.cz

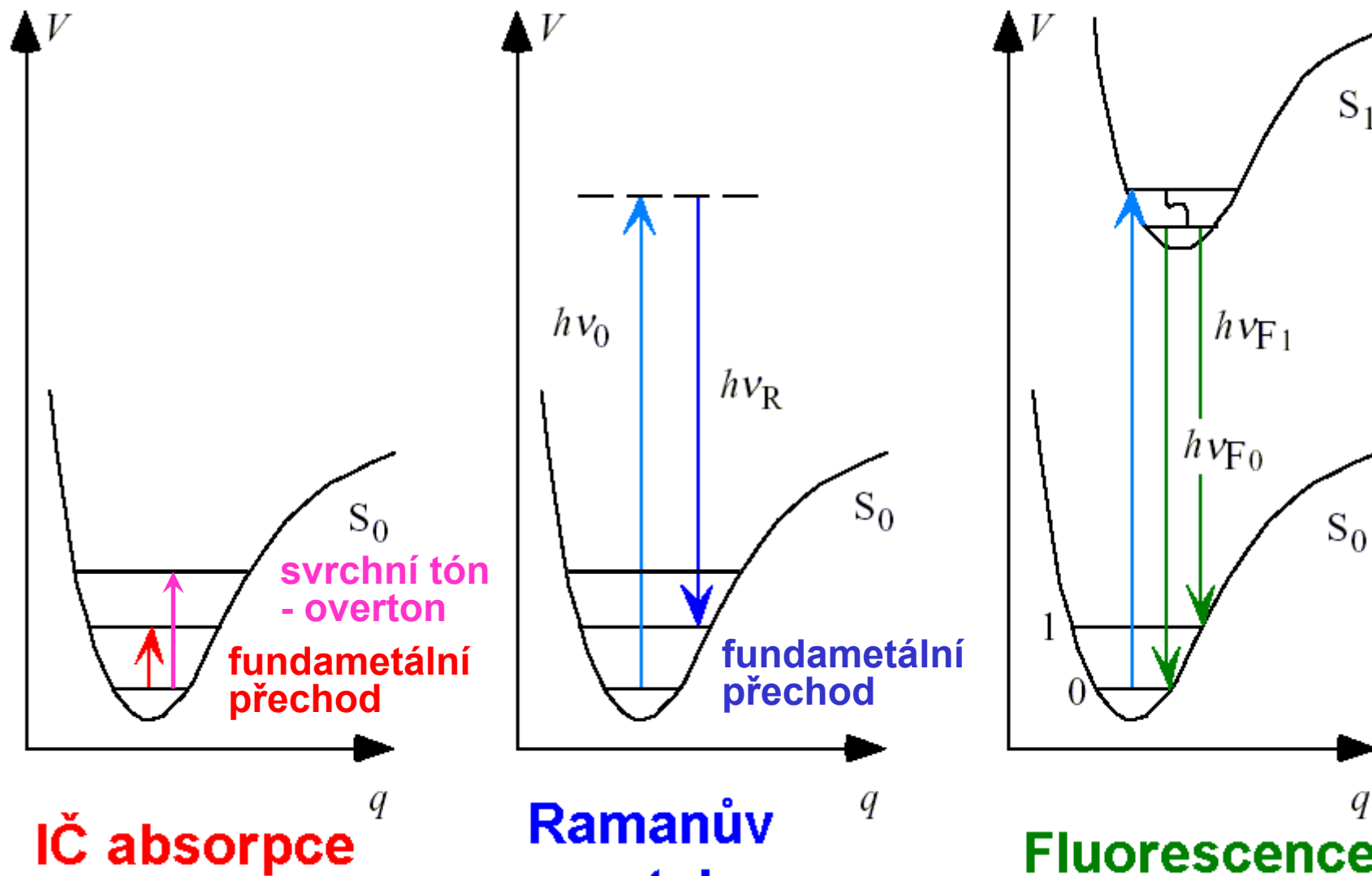
Vibrační spektroskopie II.

*Příprava předmětu byla podpořena
projektem OPPA č. CZ.2.17/3.1.00/33253*



**Evropský sociální fond
Praha & EU: Investujeme do vaší budoucnosti**

Schéma hladin



IČ absorpce

**Ramanův
rozptyl**

Fluorescence

Ramanova spektrometrie

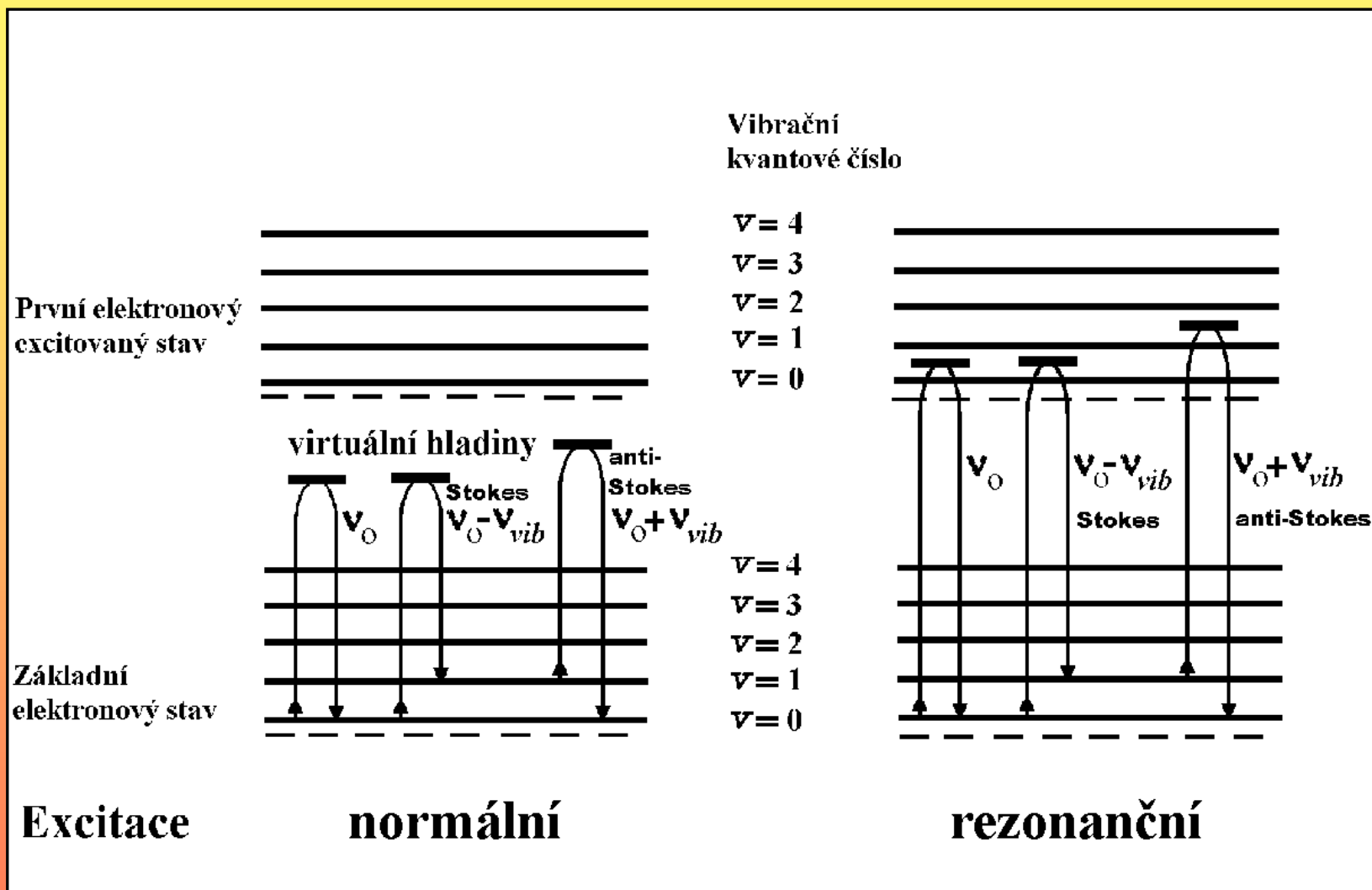


Schéma dvoufotonových jevů

Ramanův a Rayleighův rozptyl při excitaci normální a rezonanční

Ramanova spektrometrie



**Sir Chandrasekhara
Venkata Raman
1888 – 1970**

Nobelova cena za fyziku 1930

A New Type of Secondary Radiation

C. V. Raman and K. S. Krishnan, *Nature*, 121(3048), 501, March 31, 1928

The experiments we have made have confirmed this anticipation, and shown that in every case in which light is scattered by the molecules in dust-free liquids or gases, the diffuse radiation of the ordinary kind, having the same wave-length as the incident beam, is accompanied by a modified scattered radiation of degraded frequency.

Principy Ramanovy a FT Ramanovy spektroskopie

Podstata Ramanova jevu

ROZPTYL ZÁŘENÍ

- rozptýlený foton má odlišnou energii oproti dopadajícímu

zářivý dvoufotonový proces

mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly,
jejichž energie jsou E_1 a E_2 ,

vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího záření

o frekvenci $\nu_0 > |E_2 - E_1| / h$,

provázený vyzářením rozptýleného fotonu

o energii $h\nu_R = h\nu_0 \pm (E_2 - E_1)$,

kde $h\nu_{\text{vib}} = E_2 - E_1$

Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie

Vibrační frekvence jednotlivých módů molekul jsou **nezávislé** na tom, zda je studujeme infračervenou nebo Ramanovou spektroskopií, avšak **intenzity** spektrálních linií budou pro obě spektroskopické techniky **zřetelně odlišné**.

Ramanův rozptyl – navíc informace z **polarizace/depolarizace** rozptýleného záření, z **excitačních profilů** (rezonanční efekt).

Ramanova spektrometrie

Základní výběrové pravidlo

$$p = \alpha E \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \frac{\partial \alpha}{\partial q} q E \{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_{vib}) t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_{vib}) t] \}$$

$$\frac{\partial \alpha}{\partial q} \neq 0$$

**INTENZITA PÁSŮ ÚMĚRNÁ
ZMĚNĚ POLARIZOVATELNOSTI
BĚHEM VIBRAČNÍHO POHYBU**

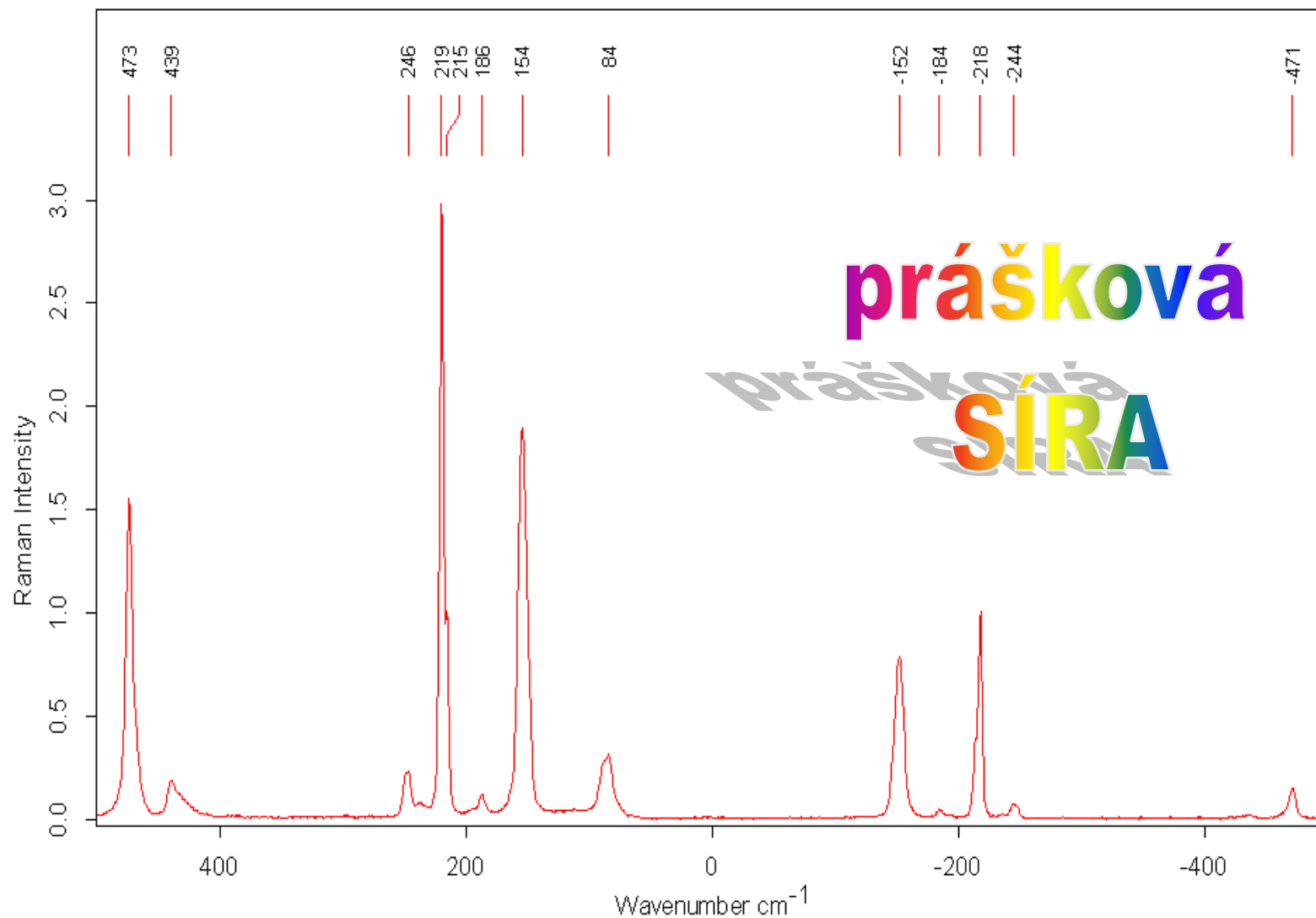
Principy Ramanovy a FT Ramanovy spektroskopie

Vztah intenzity pásů

- možnost měření teploty vzorku

$$\frac{I_{\text{anti-Stokes}}}{I_{\text{Stokes}}} = \left(\frac{\nu_0 + \nu_{\text{vib}}}{\nu_0 - \nu_{\text{vib}}} \right)^4 e^{-\frac{h \nu_{\text{vib}}}{k T}}$$

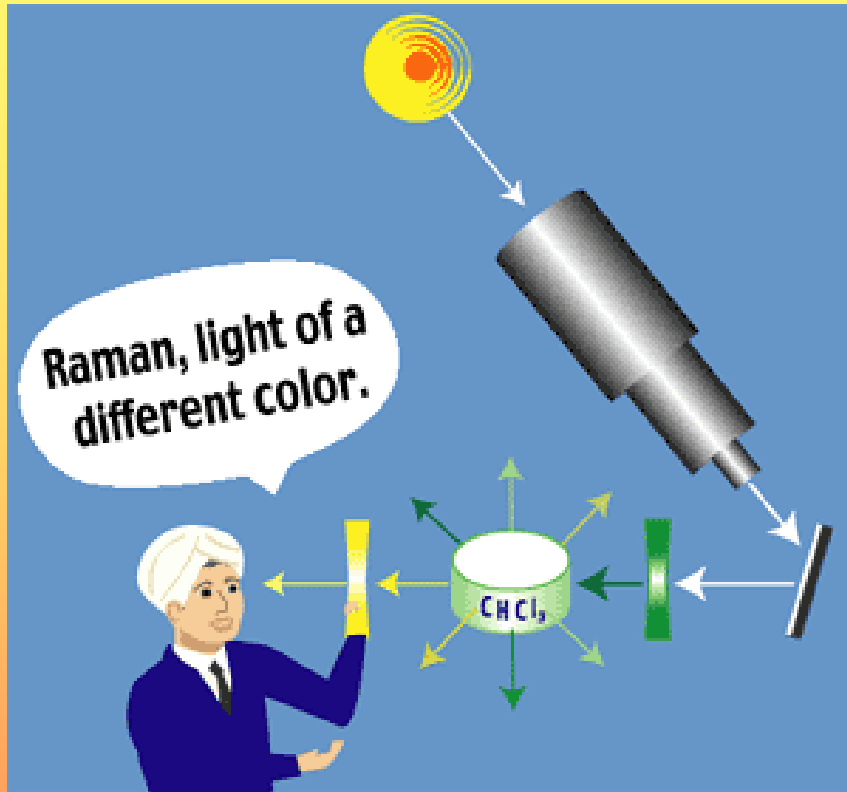
Principy Ramanovy spektroskopie



Ramanova spektrometrie

- **možnost měření ve vodném prostředí**
 - ↳ nízká intenzita Ramanova rozptylu pro vodu
 - ↳ používané optické materiály nejsou citlivé na vlhkost
- **možnost měření ve skleněných nádobách**
 - ↳ měření v uzavřených ampulích - např. pod vakuem
- **snadné využití skelné vláknové optiky**
- **minimální požadavky na úpravu pevných vzorků**
- **intenzivní pásy -C=C-, -N=N-, -S-S- a dalších symetrických vibrací**

Ramanova spektrometrie



Zdroj záření

- Slunce a filtry
- rtuťová výbojka
- **LASERY**
 - monochromatické
 - koherentní

Detekce světla

- oči
- fotografické desky
- fotonásobiče
- **CCD čipy**

Instrumentace

The following experiment seems to us to be decisive: between the scattering quartz crystal and the spectrograph slit we placed a quartz vessel which was filled with mercury vapors and totally absorbed light with a wavelength of 2536 Å. We did not obtain this line in the spectrogram, but obtained only the satellites.

G.S. Landsberg, L.I. Mandelstam, 1928

- zdroj excitujícího záření
- excitační optika
- vzorkový prostor
- sběrná optika
- „odlišení“ záření o různé energii
- detekce záření
- akviziční elektronika
- ukládání a zpracování dat

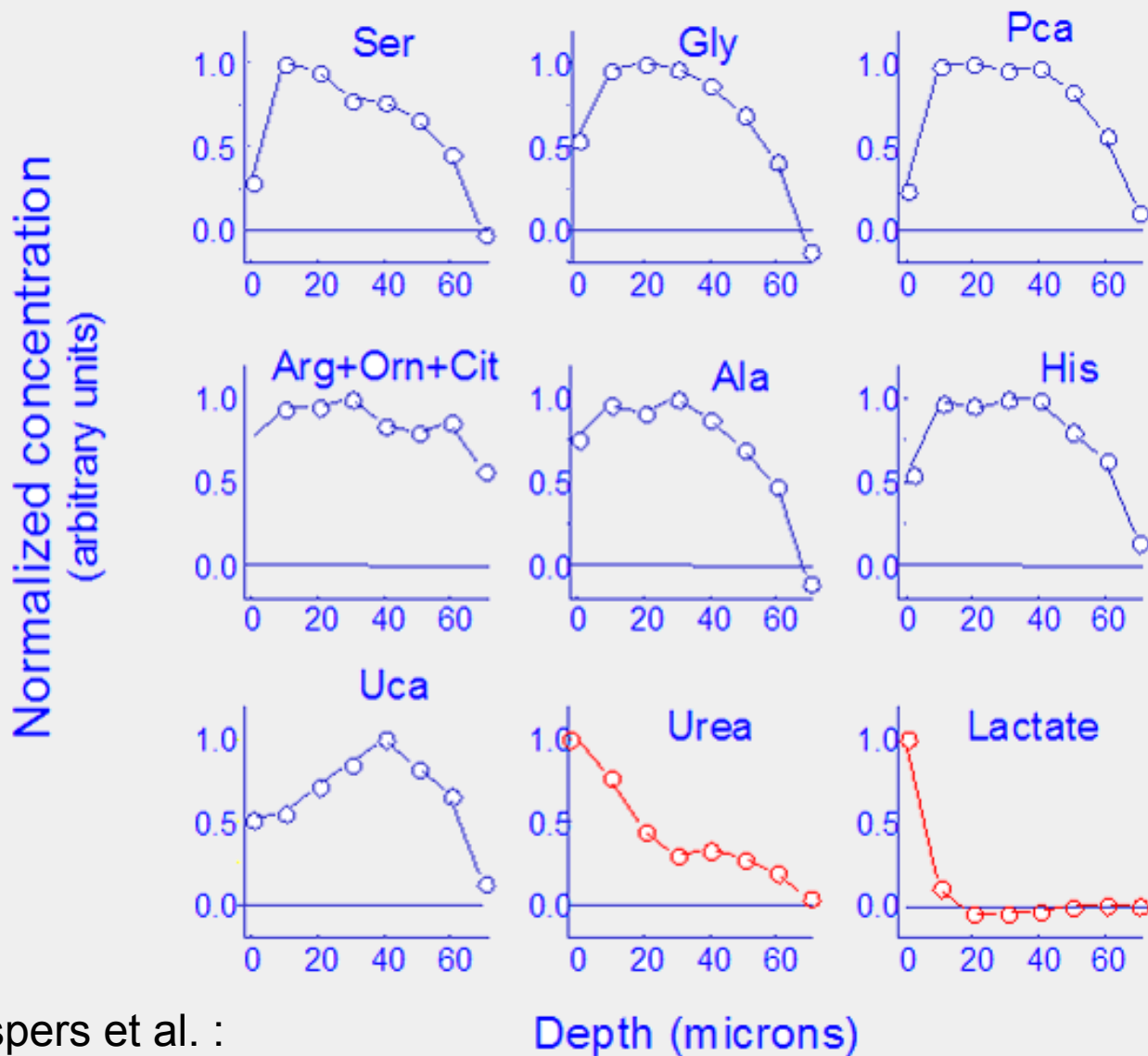
ANALÝZA kůže – jed noučelové zařízení



River Diagnostics Model 3510 Skin Analyzer

<http://www.riverd.com/instrumentation.htm>

ANALÝZA kůže – jed noučelové zařízení



Caspers et al. :

Journal of Investigative Dermatology 116(3):434-442 (2001)

Schéma Ramanova disperzního přístroje

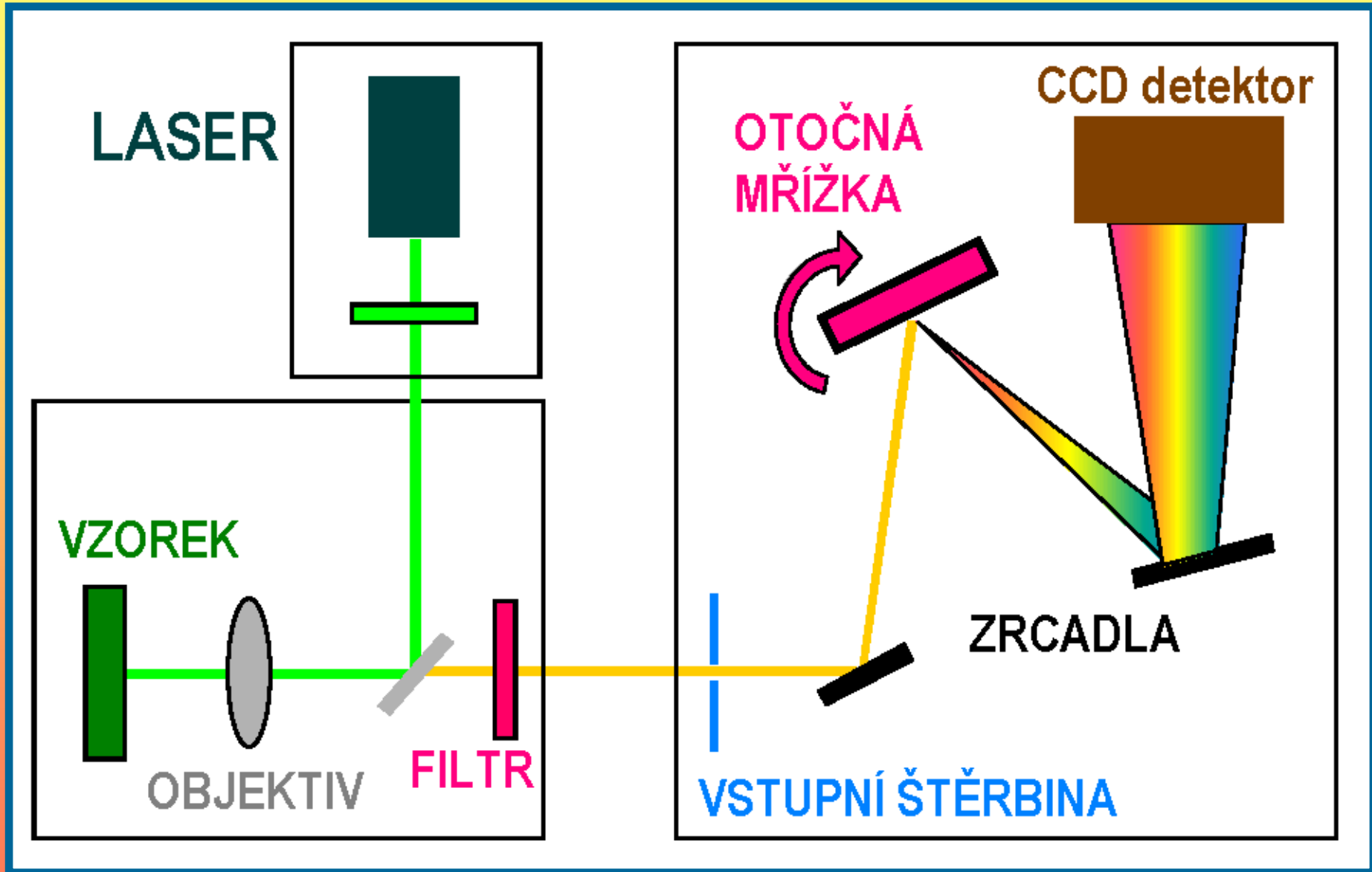
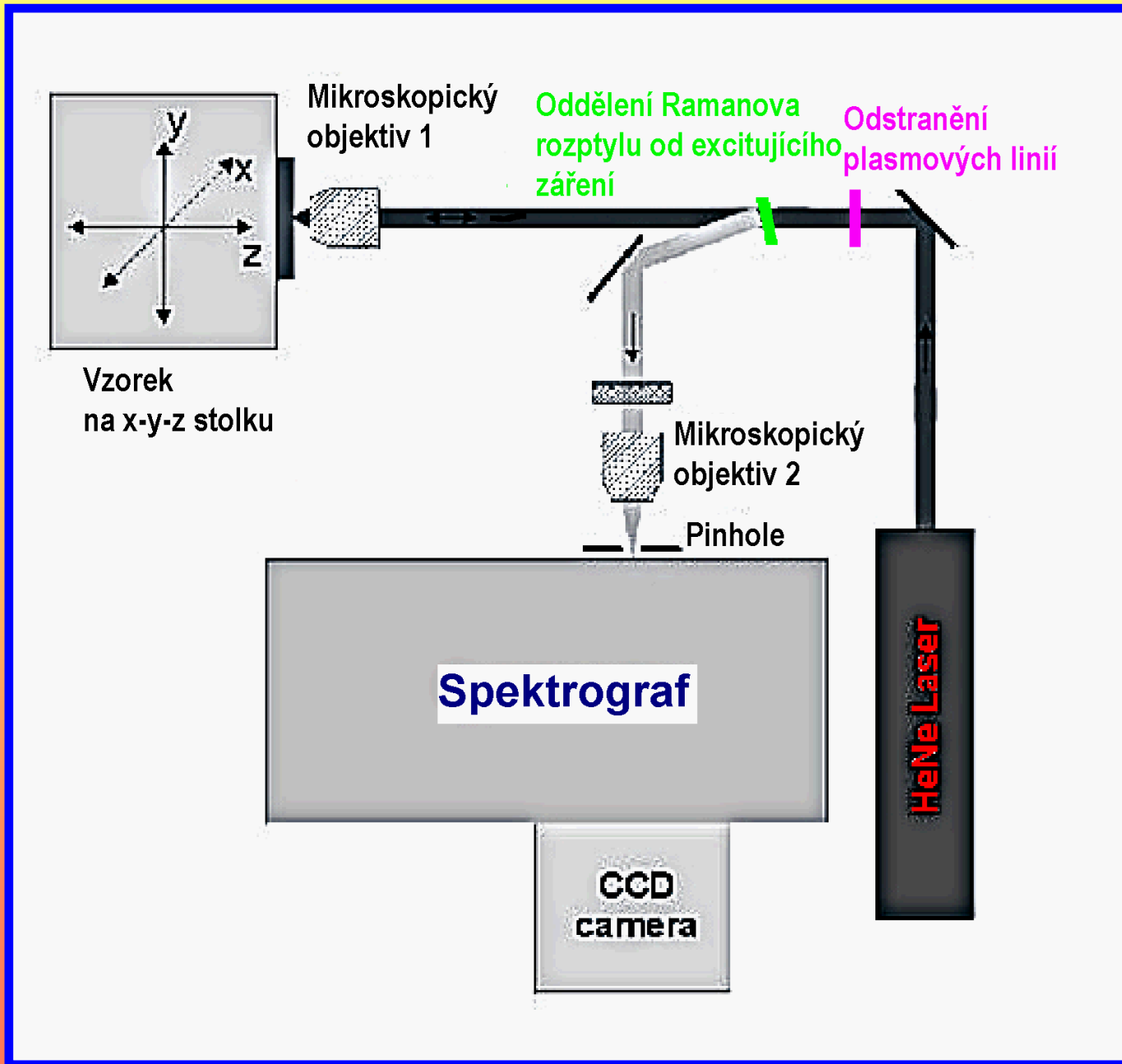


Schéma Ramanova mikroskopu



Principy FT Ramanovy spektroskopie

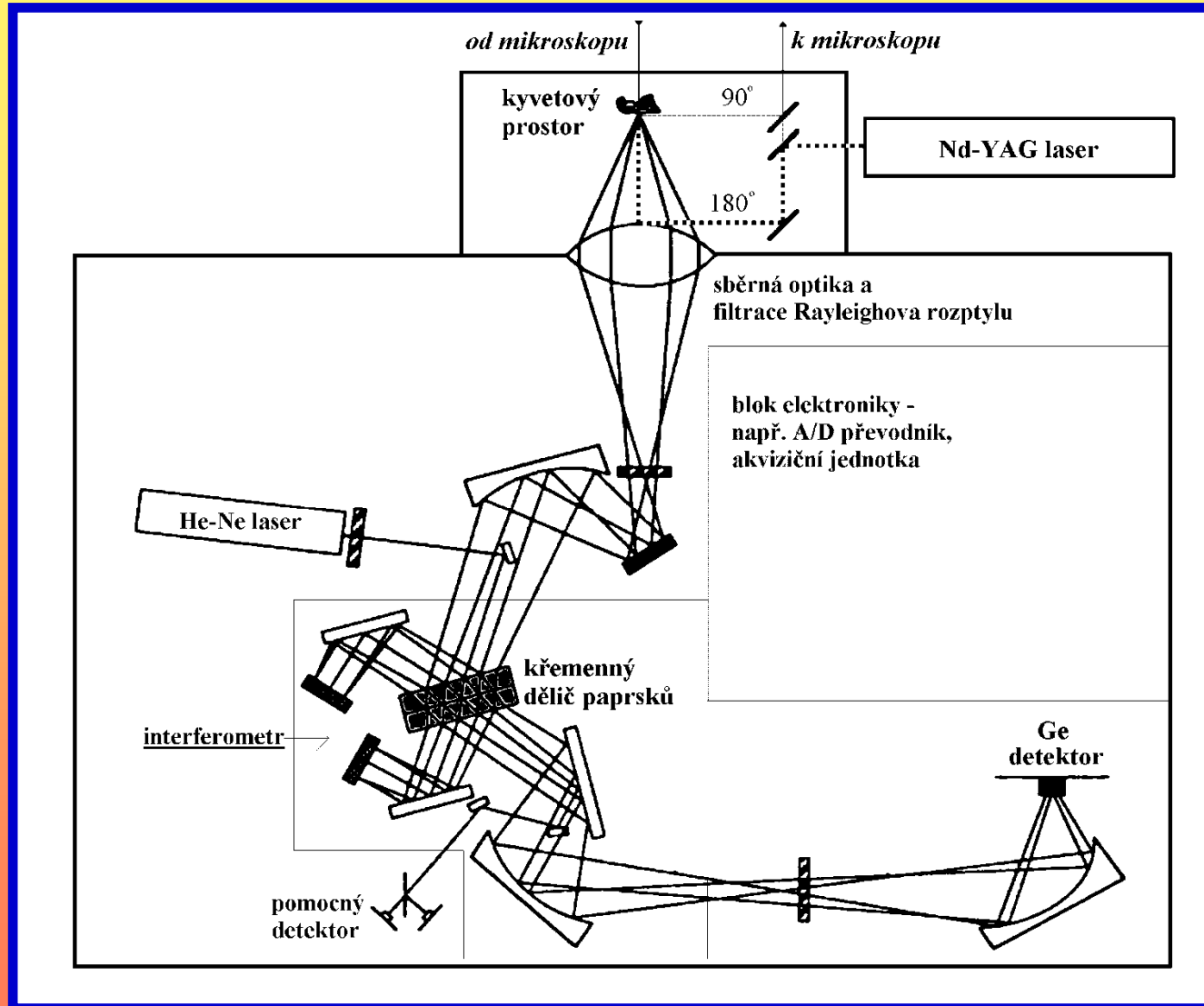


Schéma FT Ramanova spektrometru s NIR excitací

Speciální techniky

- rezonanční - **RR**
- povrchem zesílený - **SERS**
- rezonanční povrchem zesílený -
SERRS
- fotoakustický - **PARS**
- hyperRaman
- koherentní anti-Stokes - **CARS**
- koherentní Stokes - **CSRS**

Studované materiály

VZORKY – pevné látky, kapaliny, fázové rozhraní

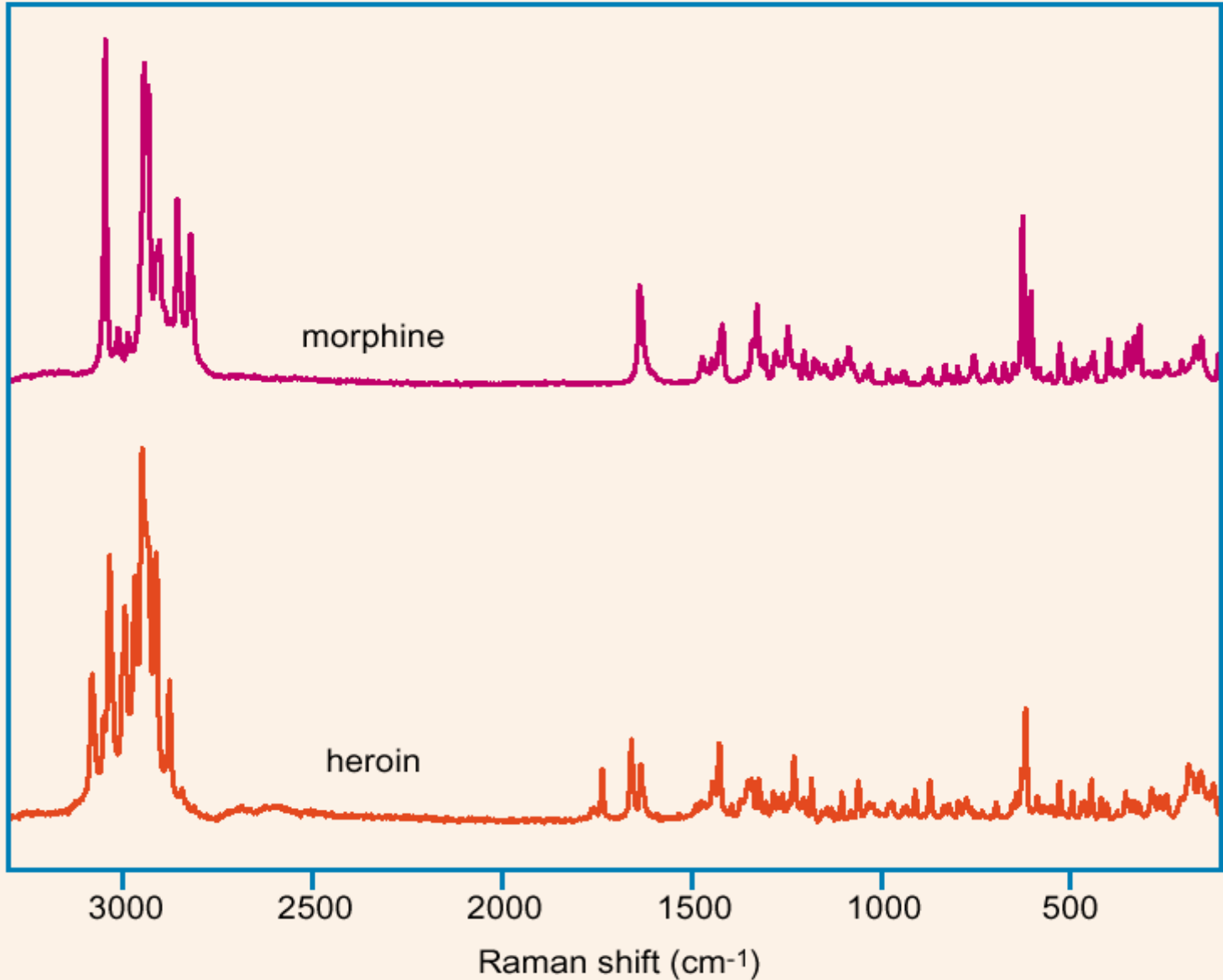
- příklady

- **anorganické** - *korozní vrstvy, povrchy pevných disků, křemík, amorfní uhlík, diamanty*
- **organické** - *supramolekulární systémy, kontaminanty v životním prostředí*
- **polymery** - *fotolabilní materiály*
- **biologické** - *in vitro, in vivo*
- **geologické** - *minerály, horniny*
- **archeologické** - *od paleolitu po novověk*

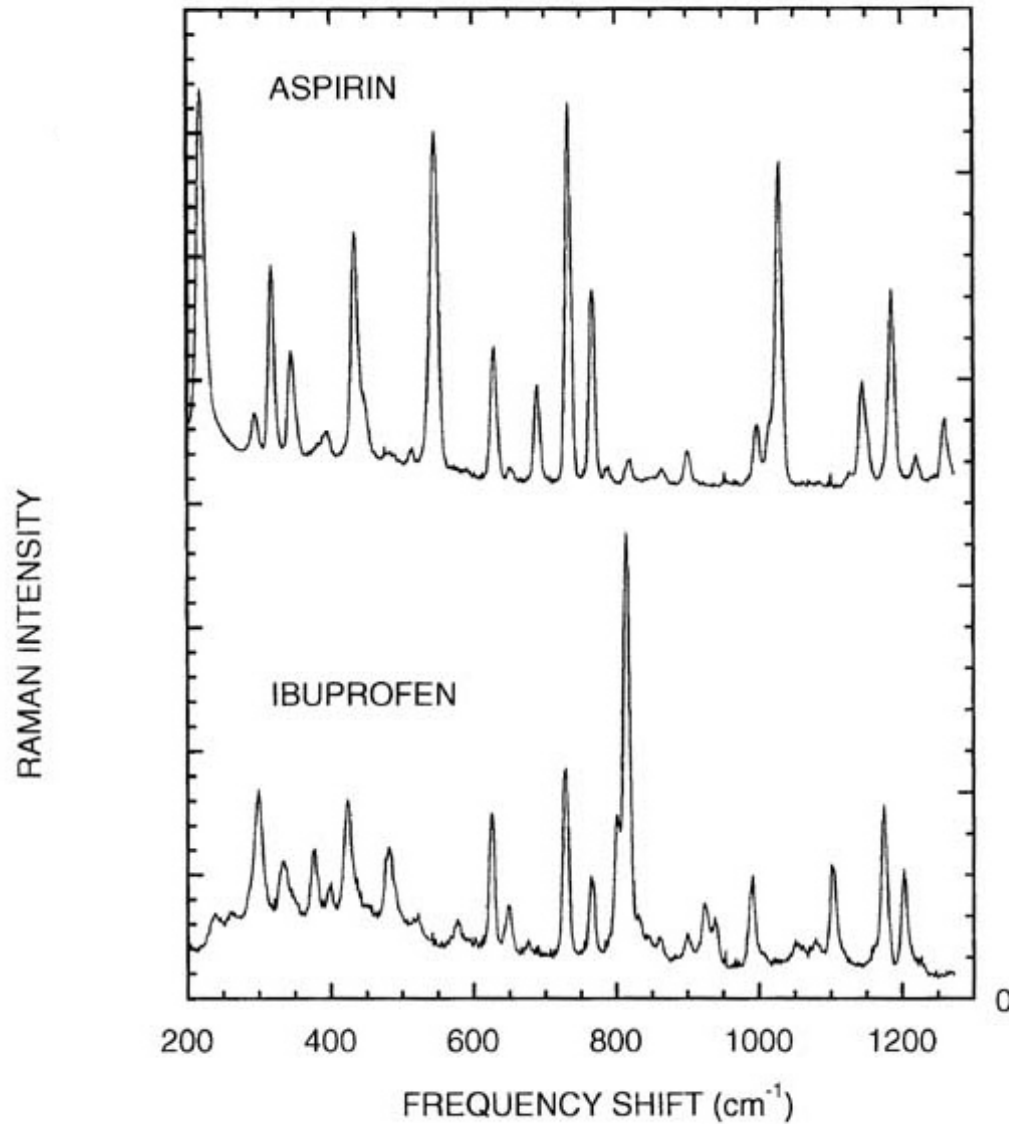
Použití spektrálních dat

- **Interpretace spekter – strukturní analýza, identifikace látek – spektrální knihovny**
- **Intenzita pásů – kvantitativní analýza**
- **Časově rozlišená spektra – kinetické studie**
- **Teplotně závislá spektra**
- **Analýza směsí – identifikace subspekter – faktorová analýza**

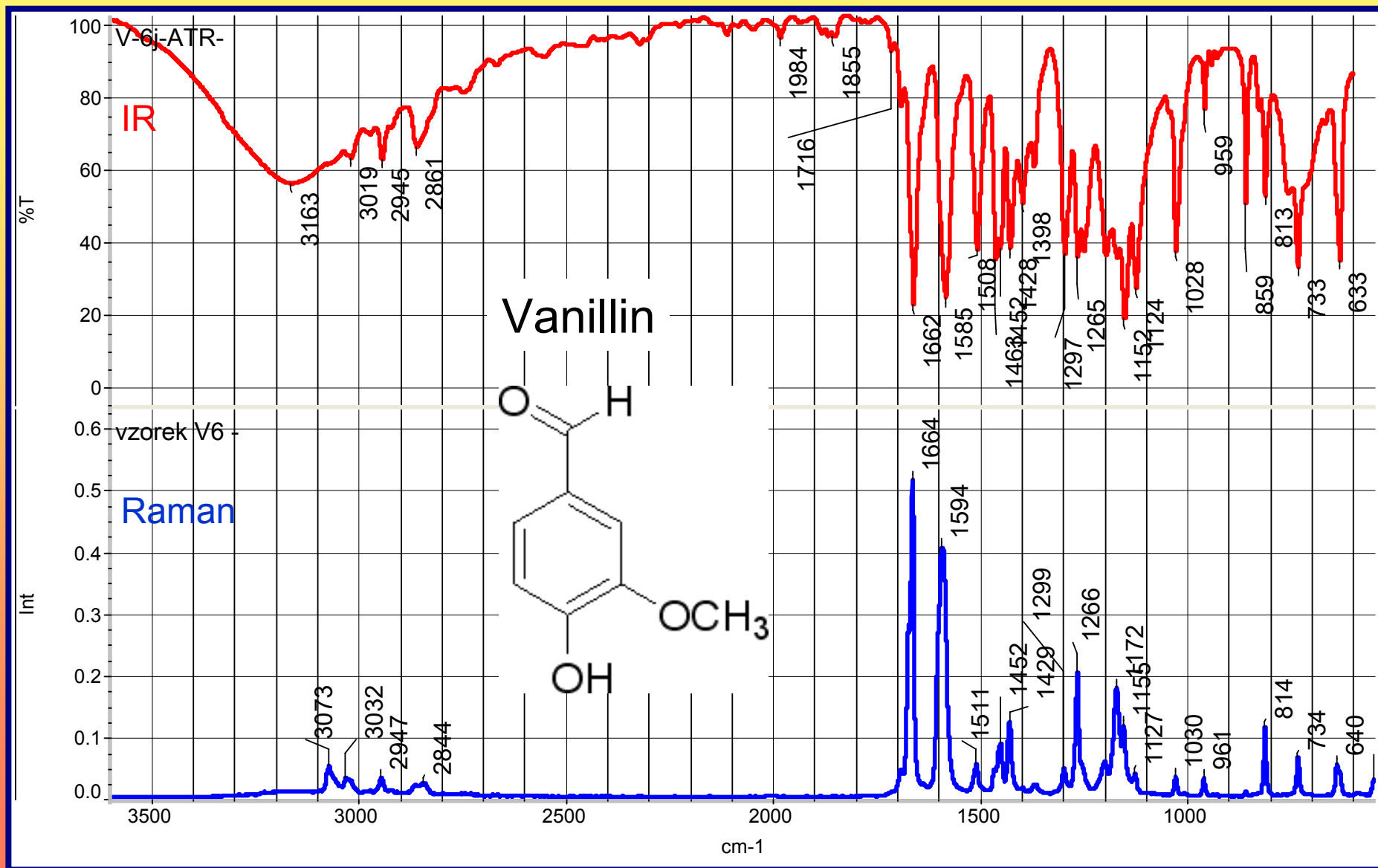
Identifikace drog



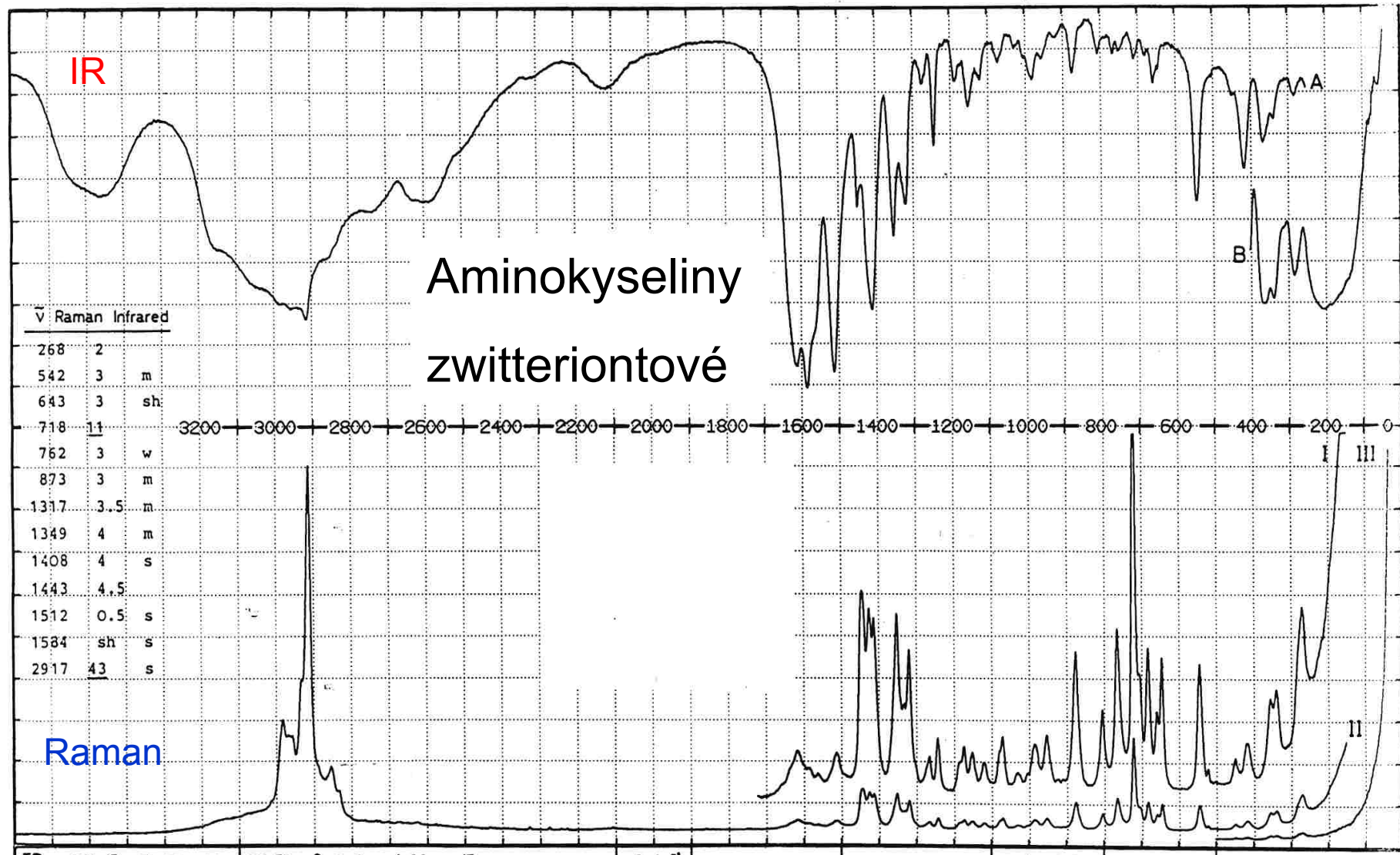
Identifikace léčiv



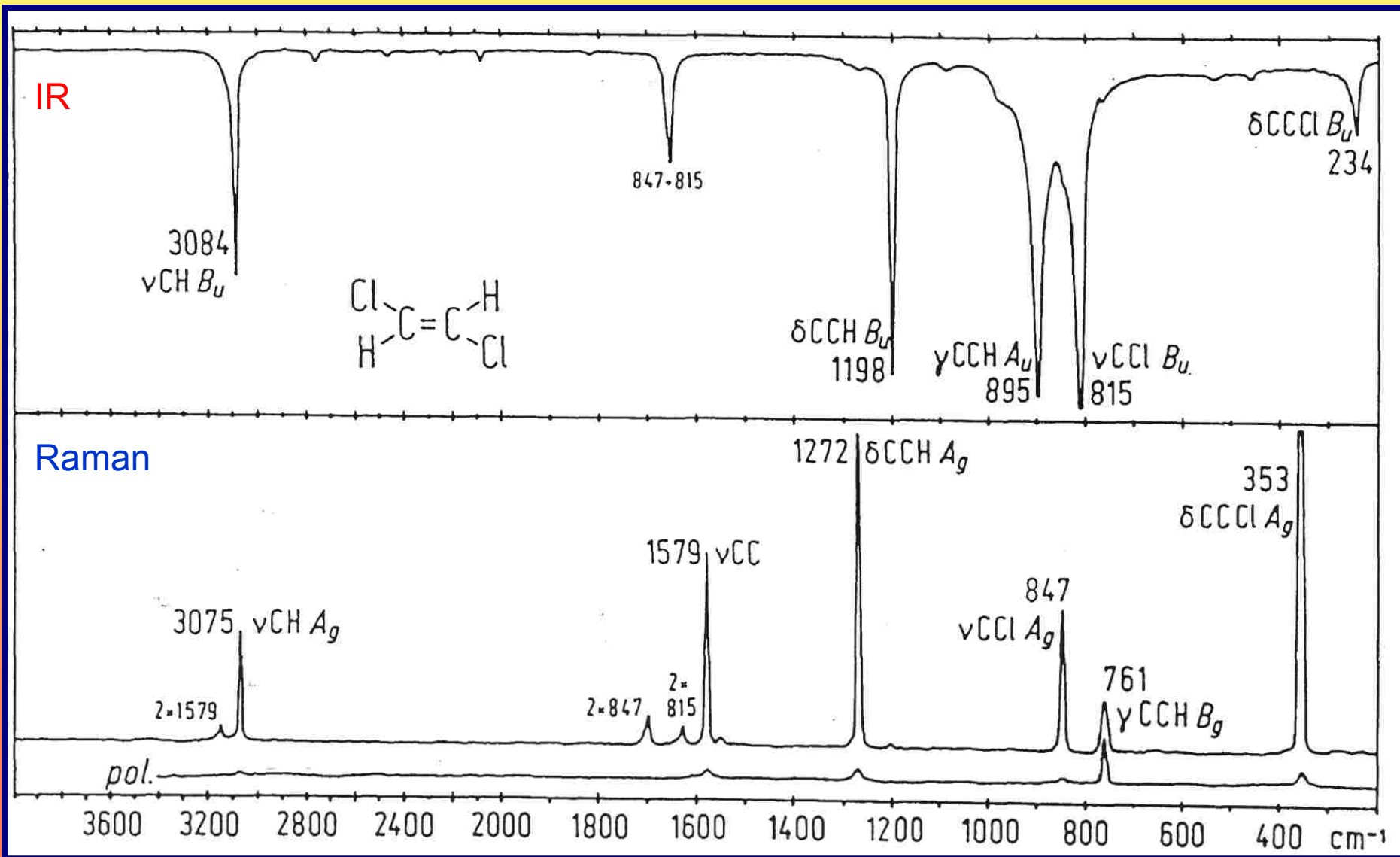
Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie



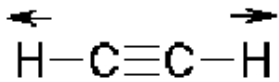
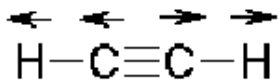

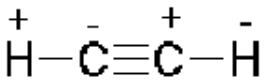
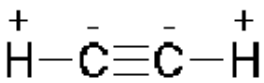
Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie



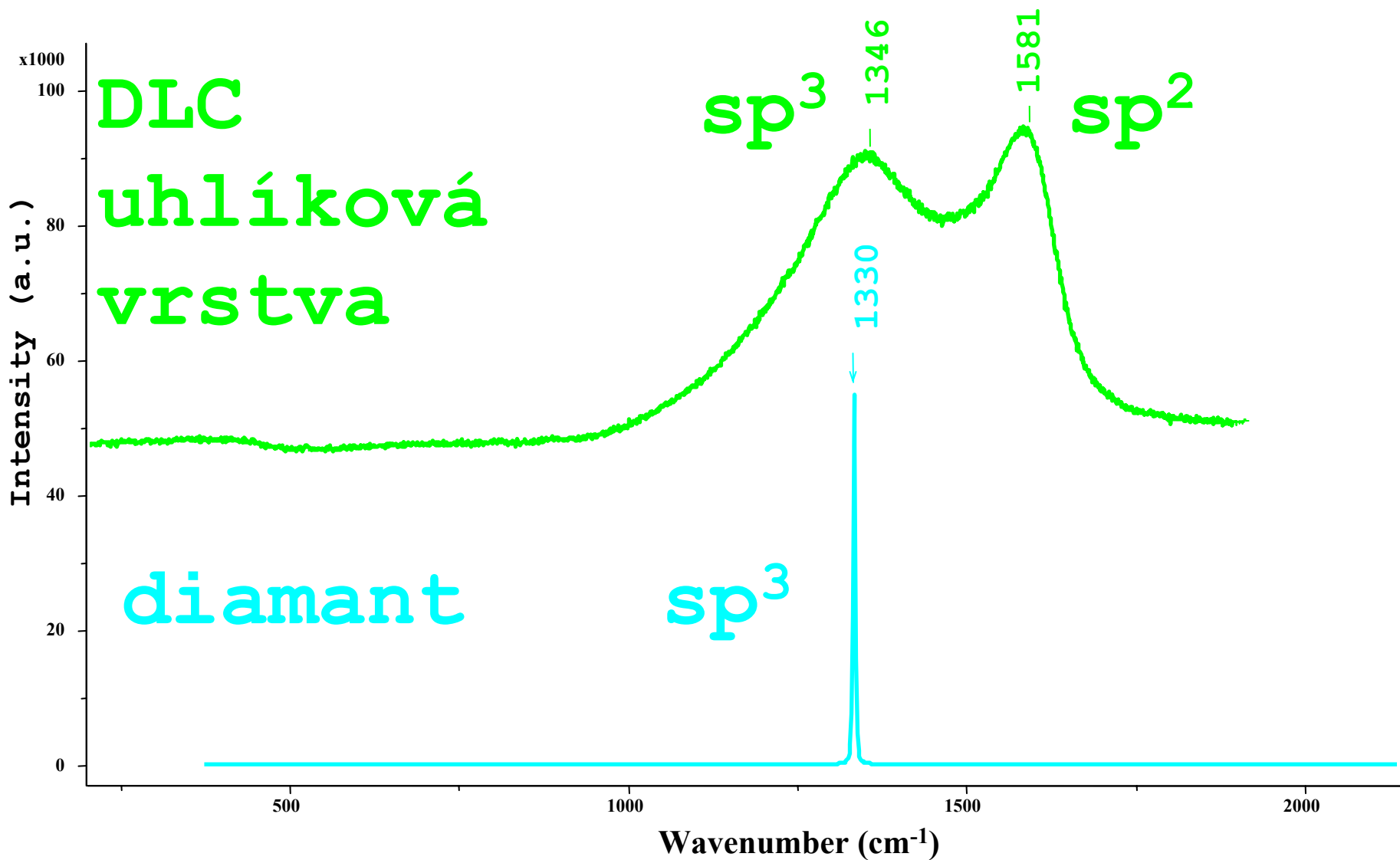
Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie



Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie

Normal mode		Symmetry	Description	Activity	Wavenumber (cm ⁻¹)	
					C ₂ H ₂	C ₂ D ₂
	ν_1	Σ_g^+	CH stretching symmetric	Rp	3373	2705
	ν_2	Σ_g^+	CC stretching (sym)	Rp	1974	1765
	ν_3	Σ_u^+	CH stretching antisymmetric	IR	3295	2439
	ν_4	Π_g	Deformation symmetric	Rdp	613	512
	ν_5	Π_u	Deformation antisymmetric	IR	730	539

Ramanova spektrometrie



Pohyb atomů v molekule

VIBRACE

INTERPRETACE

VIBRAČNÍCH SPEKTER

- CHARAKTERISTICKÉ PÁSY FUNKČNÍCH SKUPIN

* zjištění typu skeletu a identifikace substituentů

- SPEKTRUM JAKO „OTISK PALCE“

* identifikace ČISTÉ LÁTKY

- KNIHOVNY SPEKTER

Interpretace spekter

- srovnávání s databází
 - tištěné katalogy
 - elektronické knihovny
- tabulky charakteristických pásů
 - kombinované IR + Raman
- srovnání s vypočtenými spektry
 - kvantově chemické výpočty
 - ab initio, empirické

Normální vibrační módy a charakteristické vibrace funkčních skupin

- některé vibrační módy jsou lokalizovány jen v určité části molekuly
 - vibrace skupin s vodíky (lehké atomy)
 - vibrace násobných vazeb (odlišná síla vazby)
 - vibrace substituentů: $-\text{NO}_2$, $-\text{SO}_2$, $-\text{P}=\text{S}$, $(-\text{S}-\text{S}-)$, $-\text{C}=\text{S}$
 $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$
- **problém spřažení vibrací** (při srovnatelné hmotnosti atomů a srovnatelné síle vazeb)
- **problém symetrie**
- **problém vlivu okolí na sílu vazby** (posuny pásů)
- **problém rigidity struktury, otázka konformerů**

Normální vibrační módy a charakteristické vibrace funkčních skupin

- některé vibrační módy jsou lokalizovány jen v určité části molekuly

•vibrace skupin s vodíky

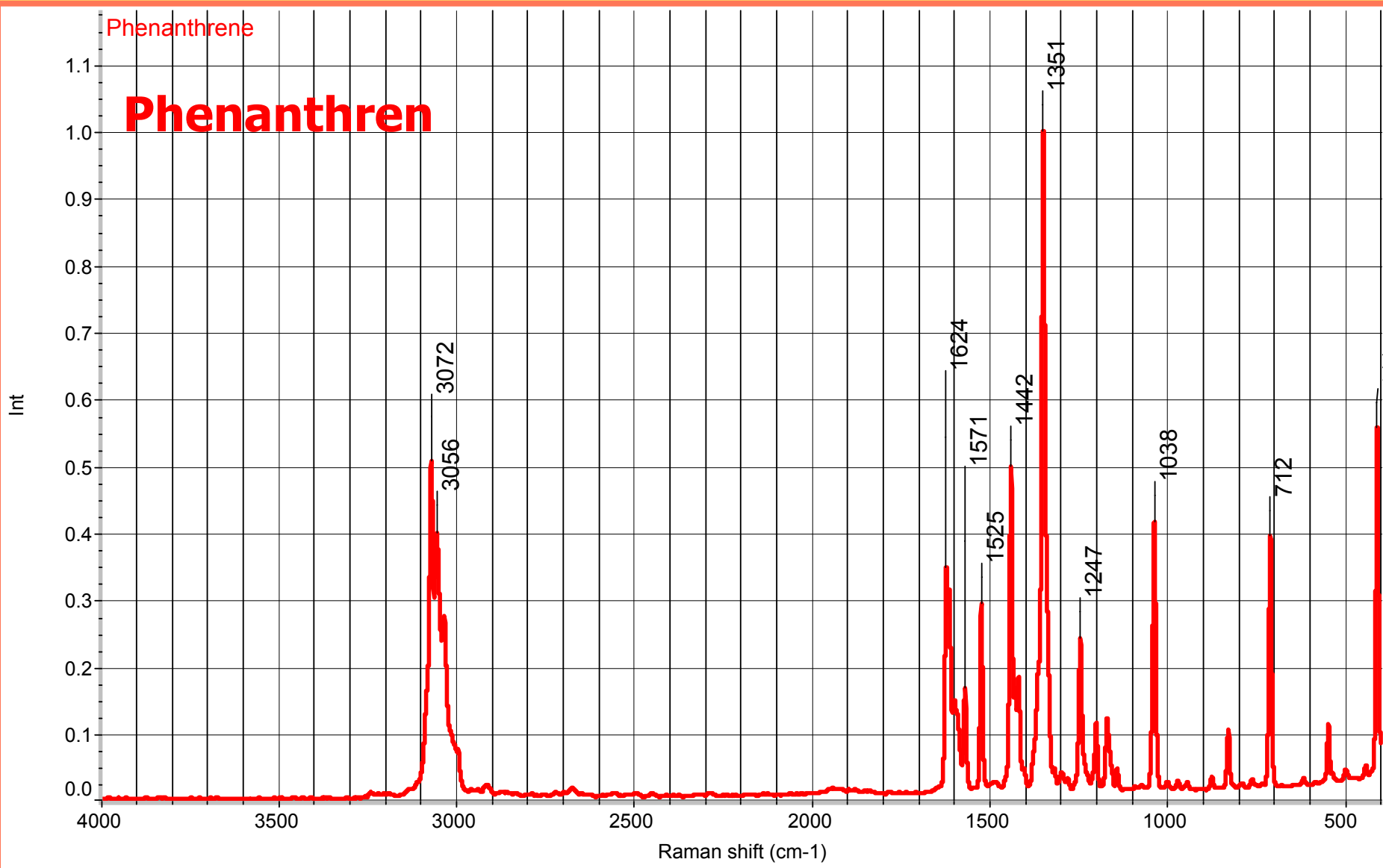
- H-C-C pod 3000 cm^{-1} -CH₃, -CH₂, -CH
- H-C=C 3100 – 3000 cm^{-1} -C=CH₂, -C=CH-, Ar
- H-C≡C 3340 – 3280 cm^{-1} (3333 cm^{-1} C₂H₂,
3310 cm^{-1} HC≡C-C₅H₁₁)
- H-O, H-N, H-S, H-B

Stručná tabulka pro biologicky významné molekuly

Frequency, cm^{-1}						Group Vibration	Intensity ^a		Description	Mainly observed in
4000	3000	2000	1500	1000	500		IR	Raman		
						O-H stretch	vs	vw	Hydroxyl	Liquid phase
						=C-H stretch	s-m	m	Unsaturated	Lipids
						-C-H stretch	s-m	m	Saturated	Lipids
						-C=N stretch	m	s	Nitrile	
						C=O stretch	s	m-w	Ester	Lipids, Amino Acid
						C=O stretch	s	w-m	Carboxylic acid	Lipids, Amino Acid
						C=O stretch	s	m-s	Amide I	Proteins
						C=C stretch	m-w	s	Not conjugated	Lipids
						C=C stretch	m	s	<i>Trans</i>	Lipids
						C=C stretch	m	s	<i>Cis</i>	Lipids
						N-H bending	s	w	Amide II	Proteins
						C-H scissoring	m	m-w	Aliphatic -CH ₂	Lipids
						C-O stretch	s		Carboxylates	Amino Acids, Lipids
						N-H bending	w-m	var	Amide III	Proteins
						P=O stretch	vs	m-w	Phosphate ester	Lipids, Nucleic Acids
						Fingerprint from skeleton				
						C-O stretch	s	m-w	Ether	Carbohydrates
						Skeletal mode		m	α -(1→4) linkage	Starch
						C-O-C skeletal	m-w	m-w	β -configuration	Glucose, galactose, mannose
						C-O-C skeletal	m-w	m	α -configuration	
						C-H rocking	w-m	vw	Aliphatic -CH ₂	Lipids
						Skeletal mode		vs		Starch

^a s = strong, m = medium, vs = very strong, vw = very weak

Pohyb atomů v molekule



Pohyb atomů v molekule

