

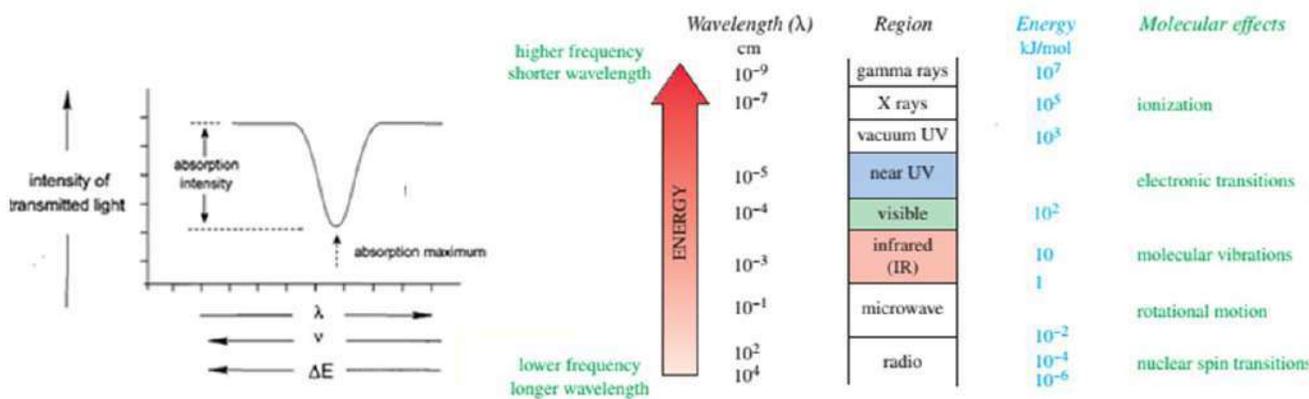
## دراسة الطرائق الطيفية الأكثر استخداماً في الاصطناع الدوائي

إن اصطناع الجزيئات الحاملة لبعض الزمر الوظيفية الأساسية (الدوائية) هو المرحلة الأولى في الاصطناع الدوائي أما تحديد بنية الجزيئات المحضرة باستخدام الطرق الطيفية الأساسية (IR ; MS ;  $^1\text{H-NMR}$  ;  $^{13}\text{C NMR}$ ) فهو المرحلة الحاسمة في تحديد نجاح الاصطناع أو فشله وهو الذي يسمح بمتابعة المرحل اللاحقة للوصول بالدواء إلى حيز الاستخدام الطبي.

ومن هنا كان لابد من دراسة المطيافيات الأساسية والأكثر استخداماً في الاصطناع الدوائي

**المطيافية (Spectroscopy):** هو علم دراسة التأثير بين الإشعاع (سواء كان كهرومغناطيسياً أو إشعاع جسيمات) مع المادة والتي تشمل الذرات والجزيئات. في حين تكون القياسات الطيفية هو قياس هذه التأثيرات كانت عملية امتصاص أو انبعاث للطفيف الكهرومغناطيسي والأجهزة التي تقوم بهذه القياسات التي تدعى بالمطيافات أو راسم طيفي. مخطط التأثير يشار له عادة بمخطط طيفي

### GENERAL PRINCIPLES OF ABSORPTION SPECTROSCOPY



بعض الطرق الرئيسية المستخدمة في الاصطناع الدوائي:

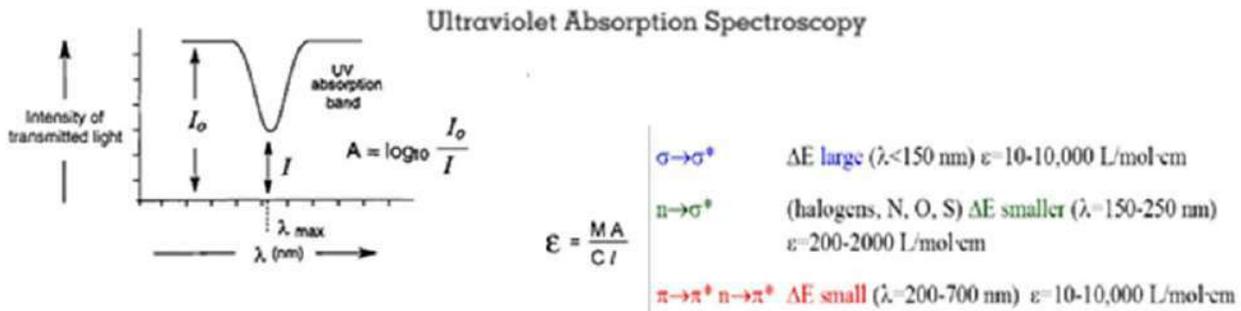
-الامتصاص القريب من الأشعة فوق البنفسجية

-الامتصاص في الأشعة تحت الحمراء

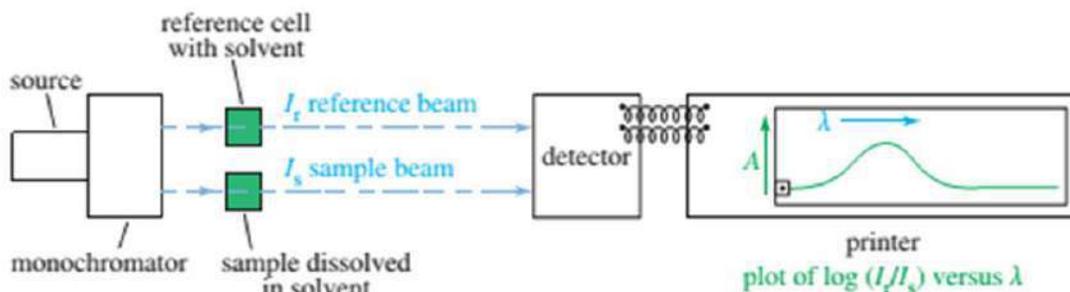
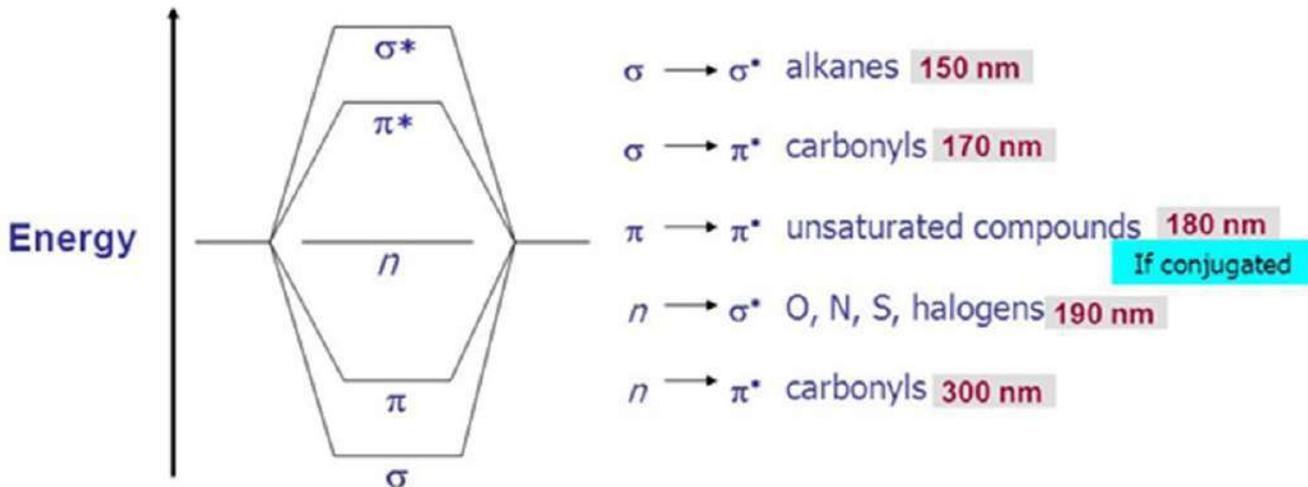
-الامتصاص الراديوي والتردد مطيافية الرنين النووي المغناطيسي NMR

-طفيف الأشعة فوق البنفسجية

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والضوء المرئي تستخدمان بقوة في علم الكيمياء التحليلية لتحليل الأدوية وبخاصة الأدوية التي تحتوي على الأنظمة المترافقة. والحلقات العطرية والزمرة الوظيفية ذات الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ويتم ذلك بمقارنتها بعينة مرجعية للدواء وخاصة في أجهزة HPLC والذي تعتبر الطريقة التحليلية الأولى لتحديد نقاوة الأدوية.



where M is the molecular weight, C the concentration (in grams per litre) and  $l$  is the path length through the sample in centimetres.



The detector continuously measures the intensity ratio of the reference beam ( $I_r$ ) compared with the sample beam ( $I_s$ ). As the spectrometer scans the wavelengths in the UV region, a printer draws a graph (called a *spectrum*) of the absorbance of the sample as a function of the wavelength.

The *absorbance*,  $A$ , of the sample at a particular wavelength is governed by *Beer's law*.

$$\text{Beer's law: } A = \log\left(\frac{I_r}{I_s}\right) = \epsilon cl$$

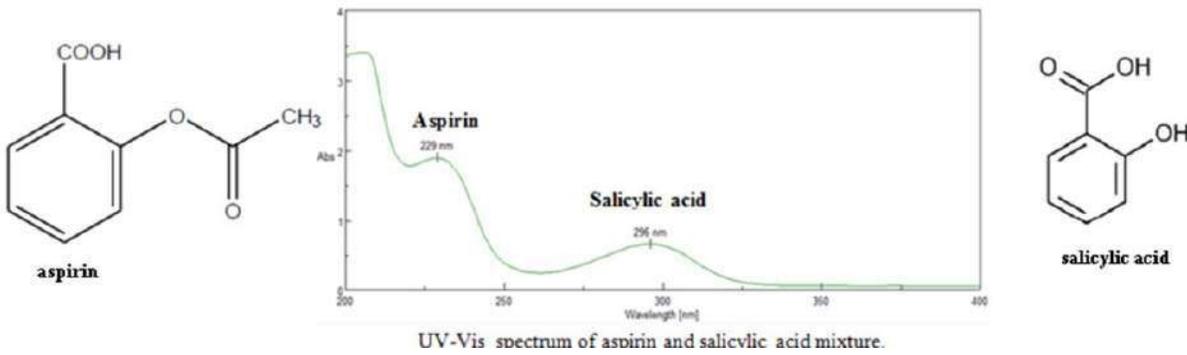
where

$c$  = sample concentration in moles per liter

$l$  = path length of light through the cell in centimeters

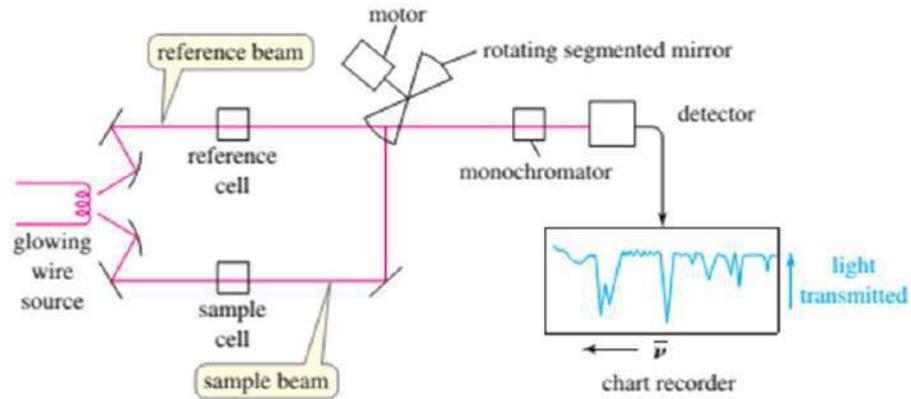
$\epsilon$  = the **molar absorptivity** (or **molar extinction coefficient**) of the sample

مثال توضيحي لمزيج من الأسبرين و حمض الساليسيليك في مطيافية الأشعة فوق البنفسجية



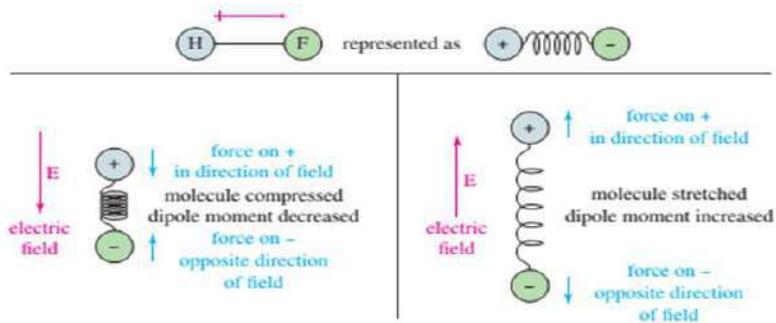
- **طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) infrared**: ويدرس طيف الأشعة ما تحت الحمراء تفاعل المادة مع المنطقة من الطيف تحت الأحمر تستخدم الموجات الكهرومغناطيسية ذات طول الموجة بين الحدود المرئية للضوء وهي في حيز أطوال الموجة بين ( $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ ) لكي يكون الجزيء فعال في مطيافية الأشعة تحت الحمراء ، بمعنى أن يكون له طيفاً في هذه المنطقة من أطوال الموجة ، يجب أن يمتلك الجزيء **عزم ثنائي قطب**. وعند تسليط الأشعة تحت الحمراء على الجزيء يحدث تداخل بين المجال الكهربائي للأشعة تحت الحمراء مع المجال الكهربائي المتولد عن عزم ثنائي قطب . وإذا توافق تردد المجال الكهربائي لشعاع من الأشعة تحت الحمراء مع تردد المجال في

الجزئي ، فإن الجزيء يمتص هذا الشعاع و عندئذ يحدث امتصاص الجزيء للطاقة ينقله من مستوى اهتزازي منخفض إلى مستوى اهتزازي أعلى. وعند فقدان الطاقة ورجوع الجزيء إلى مستوى اهتزازه "الأرضي" يحصل انبعاث للضوء تحت الأحمر يمكن لكاشف حساس تسجيله . وتسجل تلك البيانات على جهاز يرسمها على ورق بياني تمثل صورة طيف الأشعة تحت الحمراء.

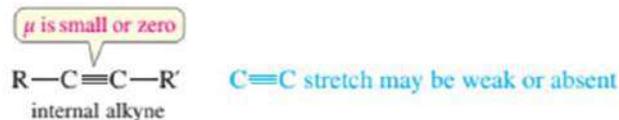


## Infrared Spectroscopy

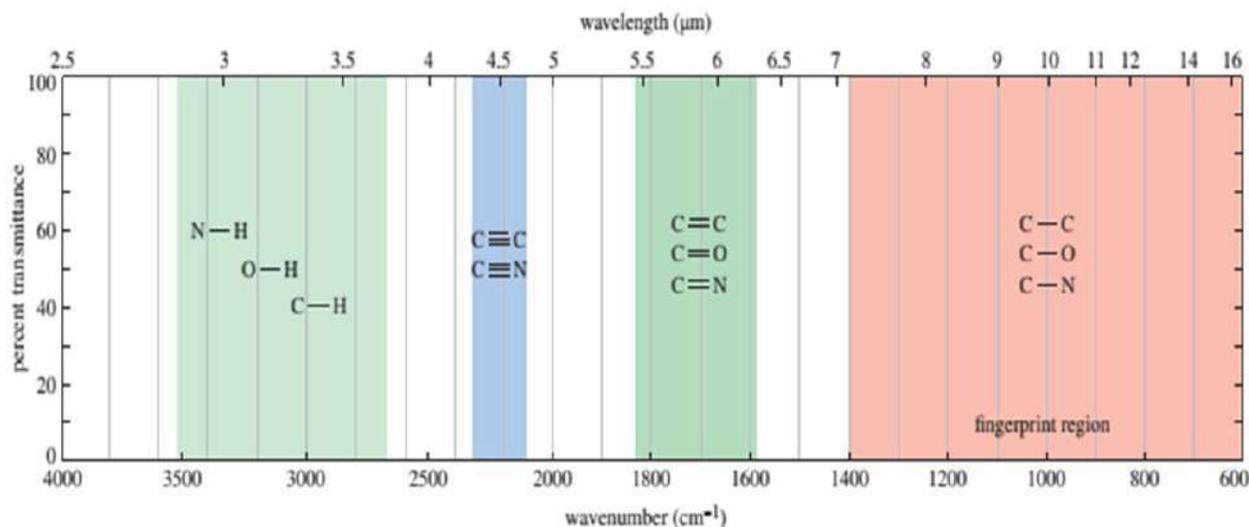
، يجب أن يمتلك الجزيء عزم ثنائي قطب



Effect of an electric field on a polar bond.



في الكيمياء العضوية والاصطناع الدوائي ، تستخدم مطيافية الأشعة تحت الحمراء لتحديد هوية المركبات الكيميائية بناءً على كيفية امتصاص الروابط الكيميائية للمركب للأشعة تحت الحمراء. وهذا الجدول يتضمن بعض الامتصاصات المجموعات الوظيفية



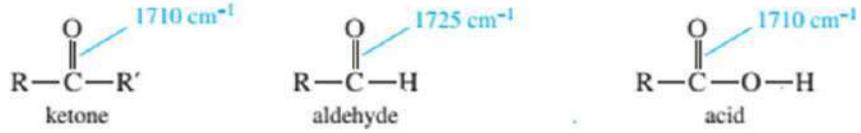
Frequency (cm <sup>-1</sup> )	Functional Group	Comments
3300	<ul style="list-style-type: none"> <li>alcohol O—H</li> <li>amine, amide N—H</li> <li>alkyne ≡C—H</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>always broad</li> <li>may be broad, sharp, or broad with spikes</li> <li>always sharp, usually strong</li> </ul>
3000	<ul style="list-style-type: none"> <li>alkane <math>\begin{array}{c}   \\ -C-H \\   \end{array}</math></li> <li>alkene <math>\begin{array}{c} H \\ \diagdown \\ =C \\ \diagup \end{array}</math></li> <li>acid O—H</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>just below 3000 cm<sup>-1</sup></li> <li>just above 3000 cm<sup>-1</sup></li> <li>very broad</li> </ul>
2200	<ul style="list-style-type: none"> <li>alkyne —C≡C—</li> <li>nitrile —C≡N</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>just below 2200 cm<sup>-1</sup></li> <li>just above 2200 cm<sup>-1</sup></li> </ul>
1710 (very strong)	carbonyl $\begin{array}{c} >C=O \end{array}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>ketones, acids about 1710 cm<sup>-1</sup></li> <li>aldehydes about 1725 cm<sup>-1</sup></li> <li>esters higher, about 1735 cm<sup>-1</sup></li> <li>conjugation lowers frequency</li> <li>amides lower, about 1650 cm<sup>-1</sup></li> </ul>
1660	<ul style="list-style-type: none"> <li>alkene <math>\begin{array}{c} &gt;C=C&lt; \end{array}</math></li> <li>imine <math>\begin{array}{c} &gt;C=N&lt; \end{array}</math></li> <li>amide <math>\begin{array}{c} &gt;C=O \end{array}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>conjugation lowers frequency</li> <li>aromatic C=C about 1600 cm<sup>-1</sup></li> <li>stronger than C=C</li> <li>stronger than C=C (see above)</li> </ul>

Ethers, esters, and alcohols also show C—O stretching between 1000 and 1200 cm<sup>-1</sup>.

قواعد قراءة طيف الأشعة تحت الحمراء (لمقرر الاصطناع الدوائي) :

1- هل توجد زمرة كربونيل ؟

تمطي زمرة  $C=O$  امتصاصا قويا في المنطقة (  $5.5-6.1 \mu$  )  $1820-1660 \text{ cm}^{-1}$   
القيمة تكون في أغلب الاحيان الاكثر قوة في الطيف وذات عرض متوسط  
ولذا فالتعرف عليها أمر محتم .

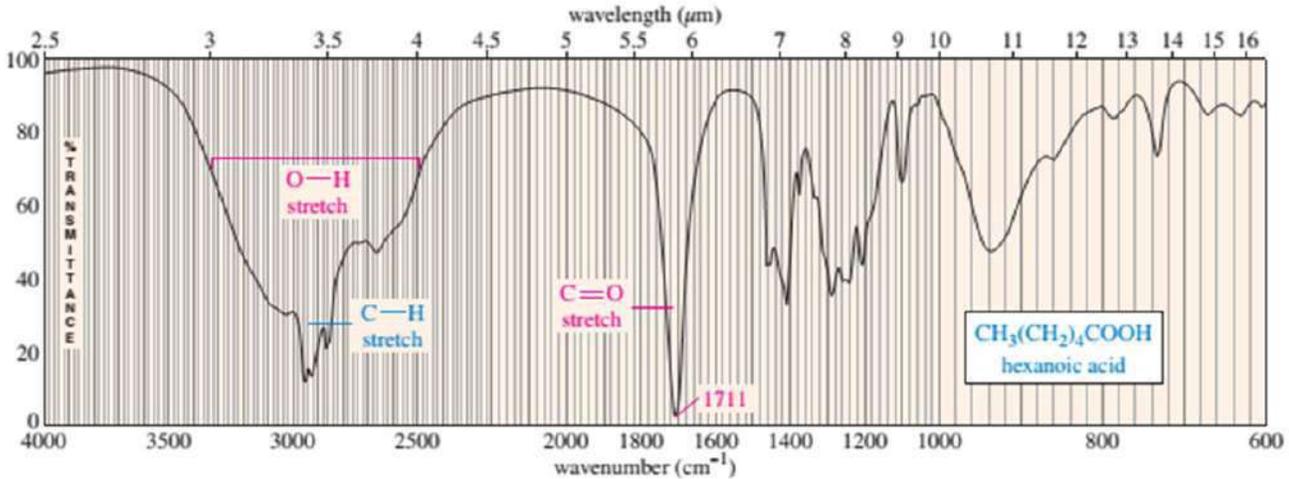


2- عند وجود  $C=O$  يجب مراقبة الانواع التالية ( في حال عدم وجودها  
يجب الانتقال الى 3 )  
الحموض :

هل توجد أيضا OH ؟

- امتصاص عريض حوالي  $3400-2400 \text{ cm}^{-1}$   
( ويتداخل عادة مع  $C-H$  )

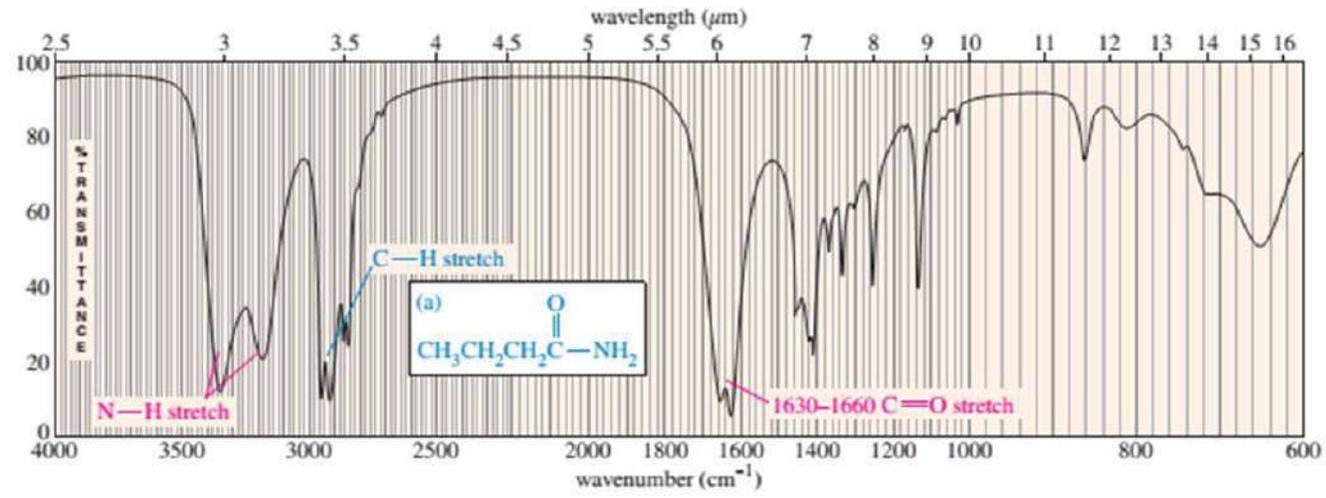
مثال:



الإميدات :

هل توجد أيضا NH ؟

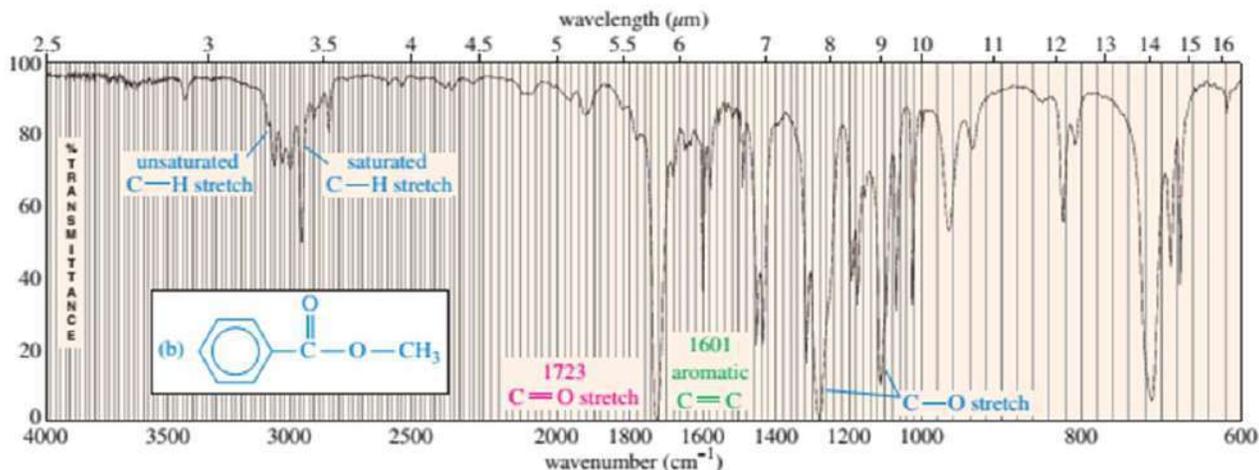
— امتصاص متوسط حوالي  $3500\text{ cm}^{-1}$  ( $2.85\ \mu$ )  
وتظهر أحيانا قممات متساويتان



الاسترات :

هل توجد أيضا C-O ؟

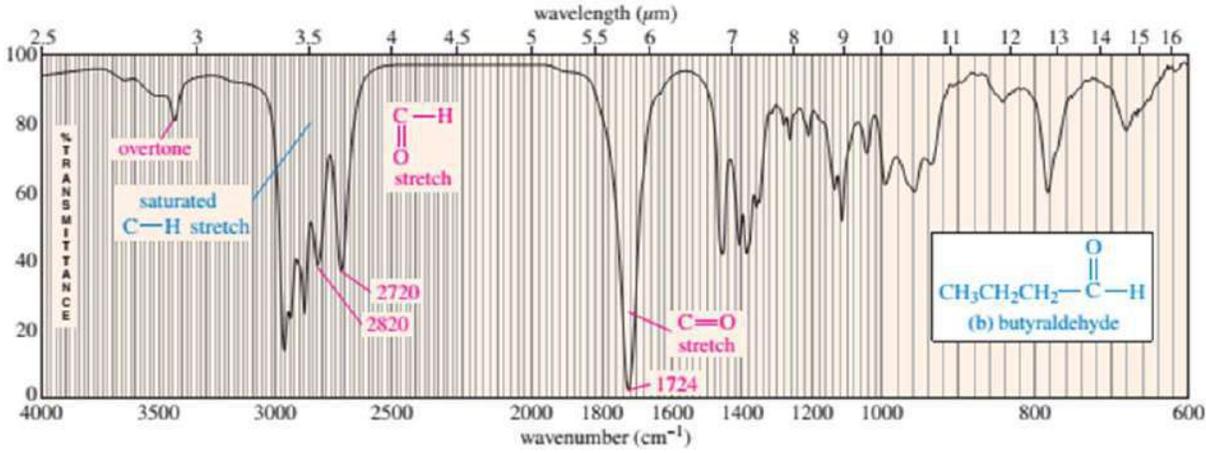
— امتصاص شديد وحاد حوالي  $1300\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$  ( $7.7\text{--}10\ \mu$ )



acid	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	$\text{C}=\text{O}, 1710 \text{ cm}^{-1}$ $\text{O}-\text{H}, 2500-3500 \text{ cm}^{-1}$	lower if conjugated broad, on top of C—H stretch
ester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{R}' \end{array}$	$\text{C}=\text{O}, 1735 \text{ cm}^{-1}$	lower if conjugated, higher if strained
amide	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{N}-\text{R}' \\   \\ \text{H} \end{array}$	$\text{C}=\text{O}, 1640-1680 \text{ cm}^{-1}$ $\text{N}-\text{H}, 3200-3500 \text{ cm}^{-1}$	two peaks for $\text{R}-\text{CO}-\text{NH}_2$ one peak for $\text{R}-\text{CO}-\text{NHR}'$

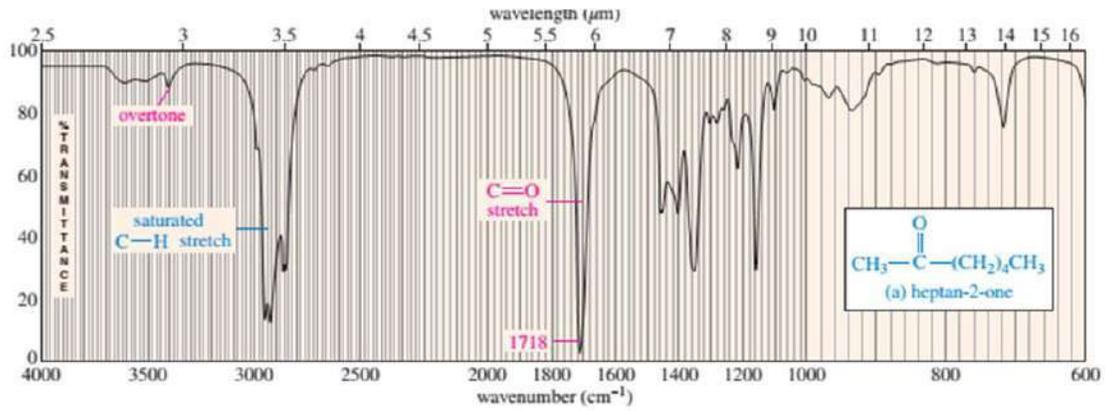
### الدهيدات :

هل يوجد CH الدهيدي ؟  
 - امتصاصان ضعيفان حوالي  
 $2850 \text{ and } 2750 \text{ cm}^{-1}$   
 $(3.50 \text{ and } 3.65 \mu)$   
 الطرف الايمن لامتصاصات CH



الكيتونات :

لقد تم حذف الخيارات الخمس السابقة ٥



3- عند عدم وجود C=O

الاقوال

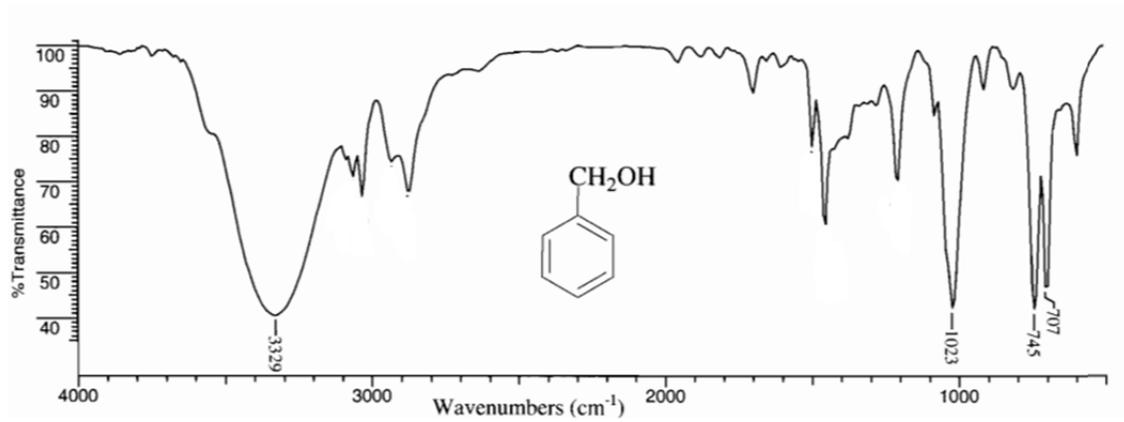
يجب تحري OH

الفولات

— امتصاص عريض حوالي (2.8-3.0 μ)  $3600-3300\text{ cm}^{-1}$

— تأكد من هذا بايجاد C-O حوالي (7.7-10 μ)  $1300-1000\text{ cm}^{-1}$

مثال:

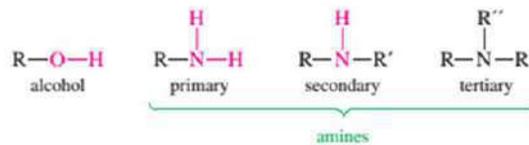
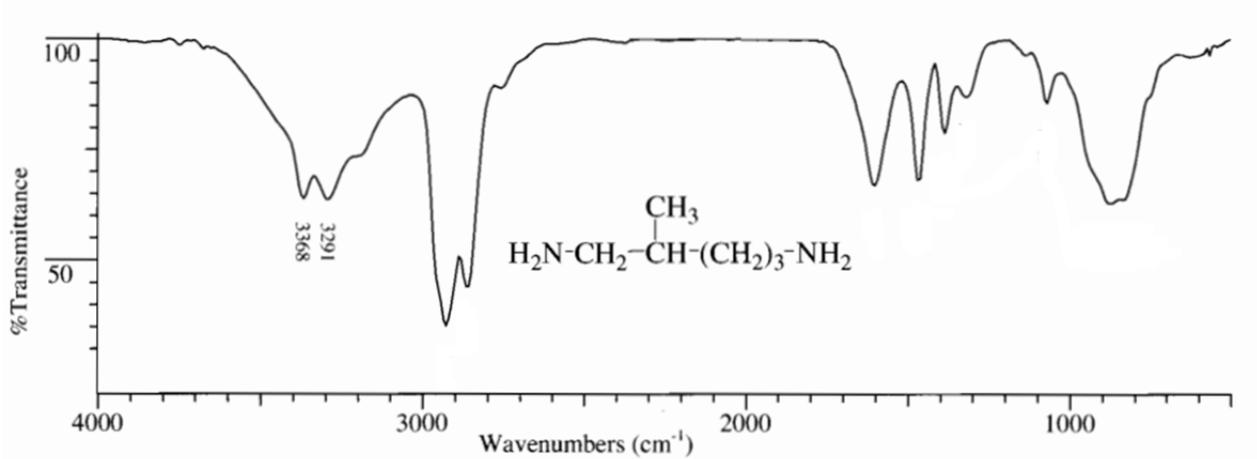


الامينات :

يجب تحري NH \*

— امتصاص ( أو امتصاصات ) حوالي  $3500\text{ cm}^{-1}$  ( $2.85\ \mu$ )

مثال:

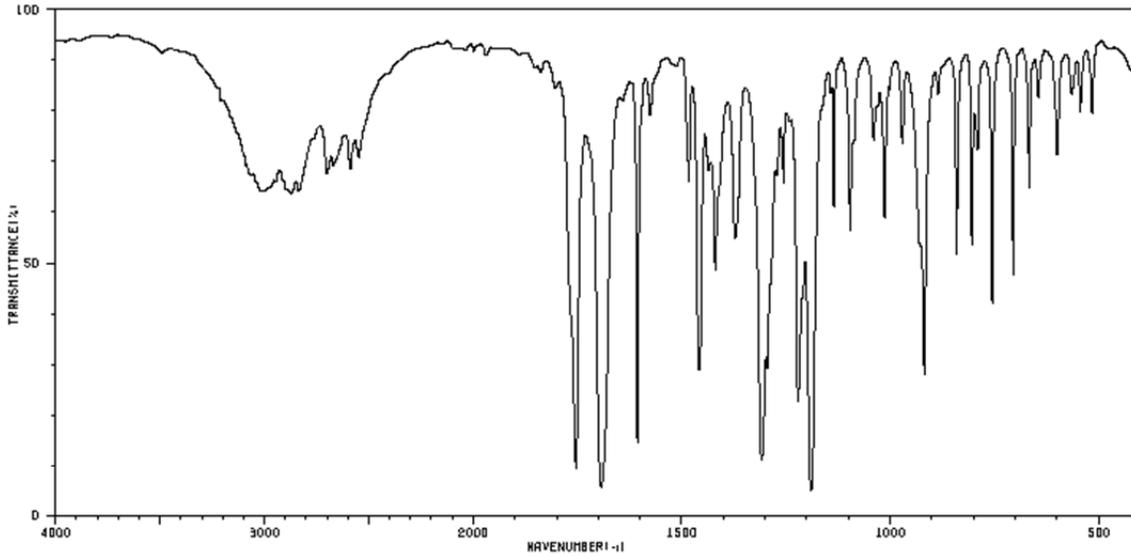


*O—H and N—H stretching frequencies*

alcohol O—H	$3300\text{ cm}^{-1}$ , broad
acid O—H	$3000\text{ cm}^{-1}$ , broad
amine N—H	$3300\text{ cm}^{-1}$ , broad with spikes

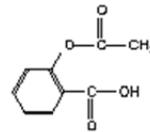
مثال توضيحي لمركب الأسبرين

أهم الزمر الوظيفية المميزة للأسبرين هي الأستر والحمض الكربوكسيلي وهذا ما نراه واضحاً في طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب



### Infrared Spectrum Interpretation

<u>Wavelength (cm<sup>-1</sup>)</u>	<u>Assignment</u>
2300-2500	carboxyl OH
1760	ester C=O
1690	acid C=O
1610	aromatic C=C stretch
1580	
1490	
1220	
1190	=C-O (acid and ester)
760	ortho subst. phenyl C-H bending



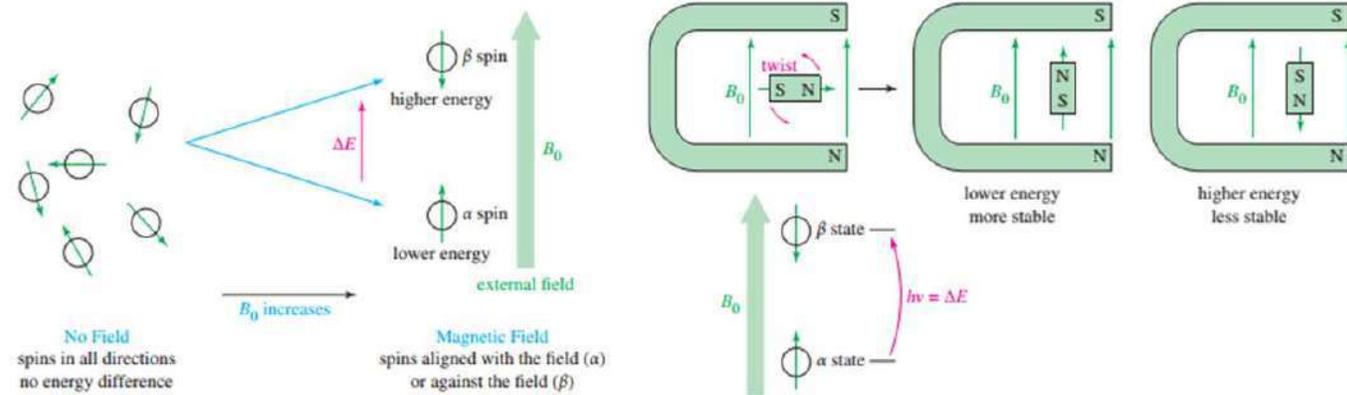
## - مطيافية الرنين النووي المغناطيسي NMR (الامتصاص الراديوي والترددي)

مطيافية الرنين المغناطيسي النووي (NMR)، وهي تقنية تستخدم الخواص المغناطيسية لبعض النويات الذرية. وهي تحدد الخواص الفيزيائية والكيميائية للذرات أو الجزيئات التي تضمها. وهي تعتمد على ظاهرة الرنين المغناطيسي النووي ويمكن أن تعطي معلومات تفصيلية عن بنية، وديناميكية، وحالة تفاعل، والبيئة الكيميائية للجزيئات. المجال المغناطيسي داخل الجزيء حول ذرة في جزيء ما يغير تردد الرنين، وهذا يعطي معلومات عن البنية الإلكترونية للجزيء.

تستخدم مطيافية الرنين المغناطيسي النووي في الاصطناع الدوائي للتحقق من بنية الجزيئات العضوية ولتأكيد من وجود المجموعات الوظيفية المرتبطة بالهيكل الكربوني فالمجموعات الوظيفية المختلفة ممكنة التمييز بوضوح و ستعطي إشارات مميزة في طيف الطنين النووي المغناطيسي للهيدروجين أو الكربون أو أي ذرة فعالة في مطيافية الطنين النووي المغناطيسي.

تعتمد الطريقة على استغلال الرنين النووي المغناطيسي للأنوية الذرية في العينة مع مجال مغناطيسي خارجي عالي التردد . تستخدم معينة ، لها لف مغزلي نووي مختلف عن الصفر أهمها ذرات الهيدروجين ( $^1\text{H}$ ) والكربون ( $^{13}\text{C}$ )

الأنوية التي تستخدم بكثرة في تعيين بناء الأدوية هي النظائر ذات  $\text{spin} = \frac{1}{2}$ . منها النوكليدات  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  و  $^{19}\text{F}$  و  $^{31}\text{P}$ .  $^{15}\text{N}$ . النظائر ذات  $\text{spin} = 1$ . منها النوكليدات  $^2\text{H}$  (D)



$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0$$

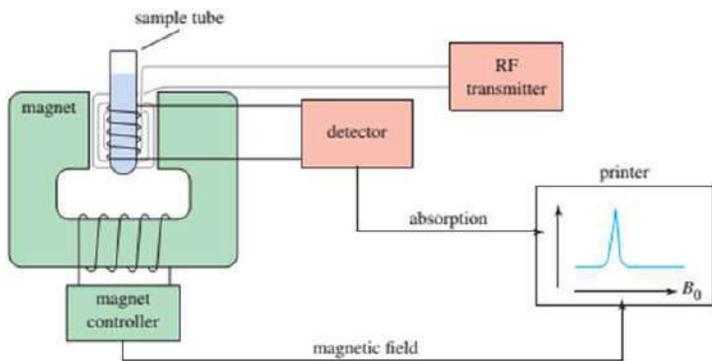
where

$\Delta E$  = energy difference between  $\alpha$  and  $\beta$  states

$h$  = Planck's constant

$B_0$  = strength of the external magnetic field

$\gamma$  = gyromagnetic ratio,  $26,753 \text{ sec}^{-1} \text{ gauss}^{-1}$  for a proton



## مطيافية البروتون $^1\text{H}$ :

تسمح هذه الطريقة بتسجيل الطيف بسرعة حيث توضع عينة محلوقة في محل مديتر في حقل مغناطيسي ثابت ثم تعرض للترددات الخاصة بنواة الهيدروجين  $^1\text{H}$  على شكل نبضات صغيرة Pulse بحيث تسمح لرنين جميع البروتونات في المركب المدروس. ويتم تسجيل الطيف ومعالجته رياضيا لنحصل على مخطط امتصاص البروتونات للمركب المدروس. أن طيف البروتون يعطي معلومات تفصيلية عن ذرات الهيدروجين المختلفة في المركب الكيميائي المدروس، والبيئة الكيميائية للجزيئات. مما يعطي معلومات عن البنية المتوقعة للجزء.

### Typical Values of Chemical Shifts

Type of Proton	Approximate $\delta$	Type of Proton	Approximate $\delta$
alkane ( $-\text{CH}_3$ ) methyl	0.9	$\text{>C=C<}$ allylic $\text{CH}_3$	1.7
alkane ( $-\text{CH}_2-$ ) methylene	1.3	$\text{Ph-H}$ aromatic	7.2
alkane ( $-\text{CH}-$ ) methine	1.4	$\text{Ph-CH}_3$ benzylic	2.3
$\text{O}$ $\parallel$ $-\text{C}-\text{CH}_3$ methyl ketone	2.1	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H}$ aldehyde	9-10
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$ acetylenic	2.5	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$ acid	10-12
$\text{R}-\text{CH}_2-\text{X}$ (X = halogen, O)	3-4	$\text{R}-\text{OH}$ alcohol	variable, about 2-5
$\text{>C=C<}$ vinyl $\text{H}$	5-6	$\text{Ar}-\text{OH}$ phenol	variable, about 4-7
		$\text{R}-\text{NH}_2$ amine	variable, about 1.5-4

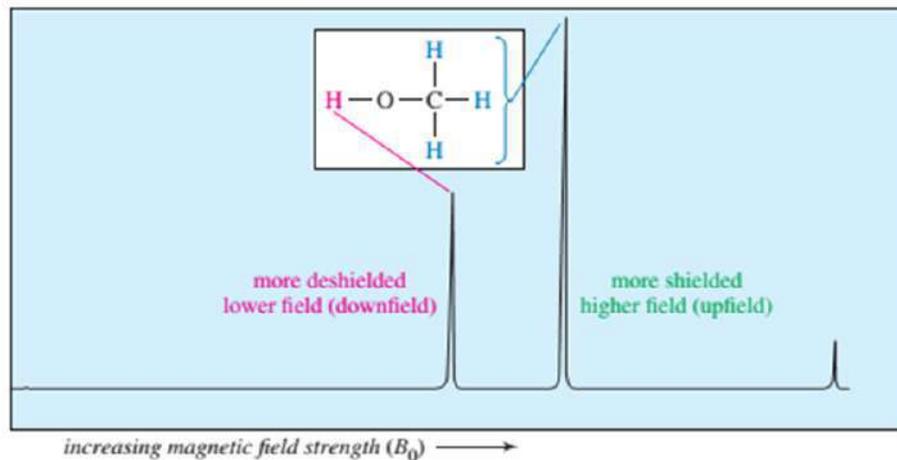
بعض الوظائف الكيميائية الحاوية على بروتونات وأشارات البروتون المتوقعة لها.

### قواعد قراءة طيف البروتون:

1- نرسم الصيغة المفصلة للجزء المدروس ونميز نوع ذرات الهيدروجين متكافئة أو غير متكافئة

الذرات المتكافئة تمتاز بوجود نفس البيئة الكيميائية (الجيران) وان وجود ذرة كالأوكسجين أو مجموعة الكربونيل يقوم بعزل المجموعات البروتونية المختلفة عن بعضها

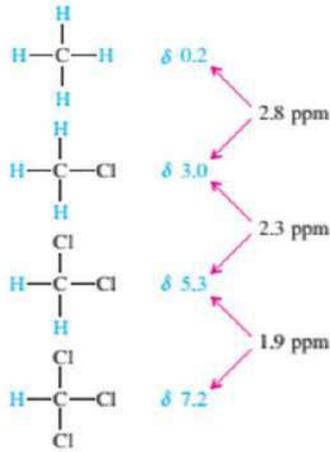
مثال على طيف البروتون لمركب  $\text{CH}_3\text{OH}$



في حالة الميثانول وبعد رسم الصيغة المفصلة نلاحظ ثلاث بروتونات متكافئة ومعزولة بذرة أوكسجين عن البروتون الأخر أي يوجد في المركب مجموعتين من البروتونات فنلاحظ في طيف البروتون قمتين مختلفتين ويتناسب شدة القمة مع عدد ذرات الهيدروجين.

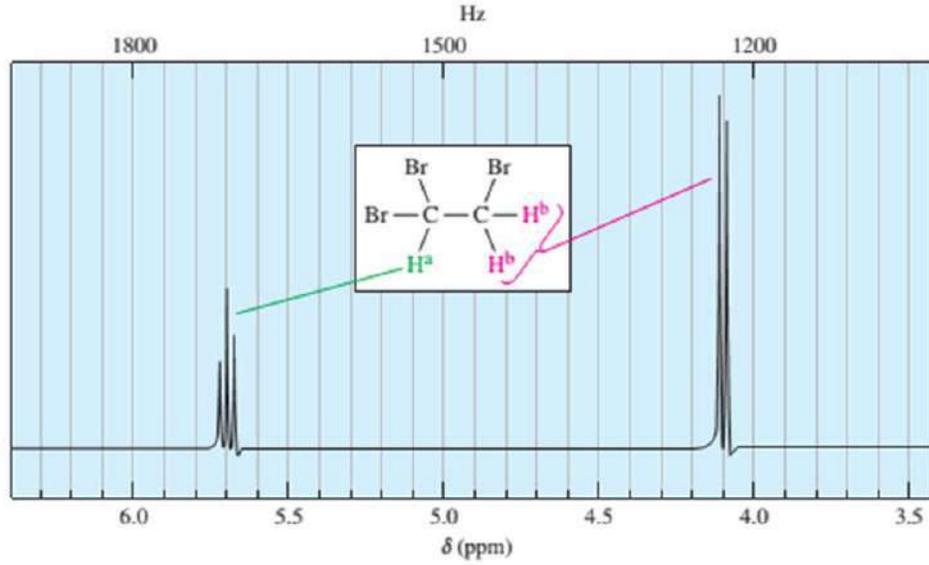
2- كلما ازداد الفقر الكتروني لذرة الهيدروجين تمتص على يسار مخطط طيف البروتون ( في الحقول الضعيفة)

مثال:

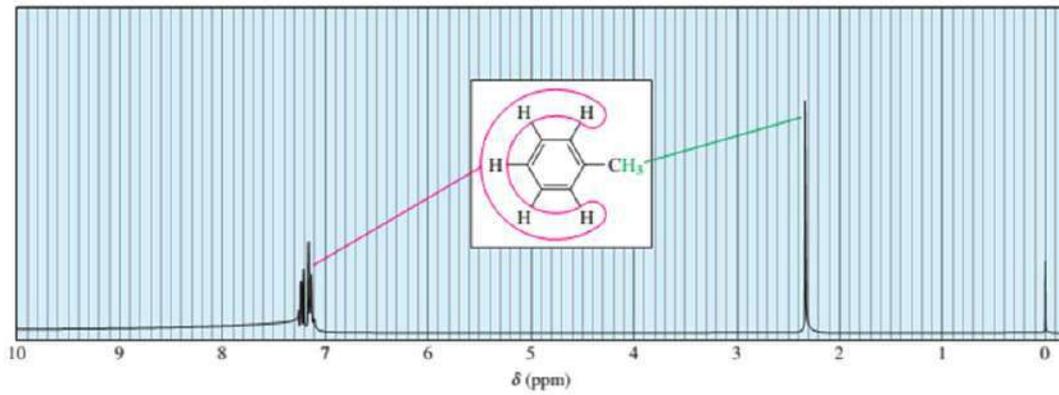


بازدياد عدد ذرات الكلور يزداد سحب الالكترونات بازدياد الفقر لذرة الهيدروجين فتمتص عند القيم 7.2 ppm في حال الكلور فورم

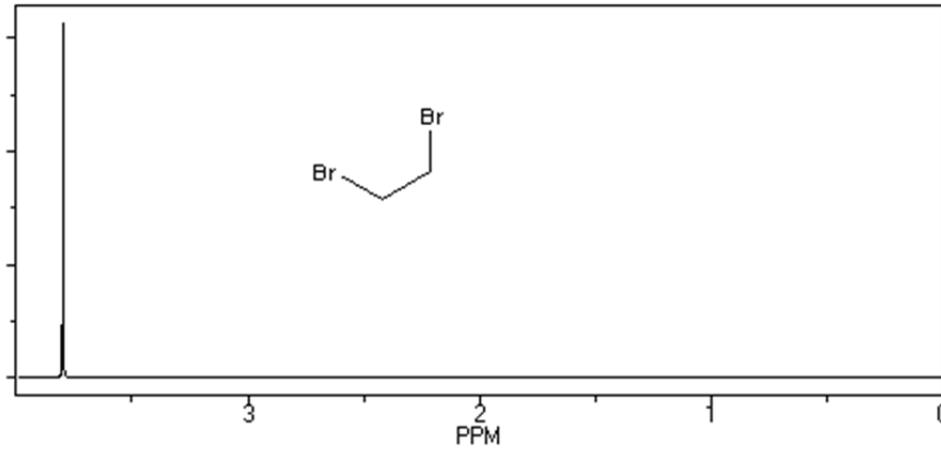
3- تنشطر قمة العائدة البروتون الذي بجواره عدد من ذرات الهيدروجين المتكافئة إلى متعددة وفق القانون  $2nI+1$  حيث  $n$  عدد ذرات البروتون المجاورة و  $I$  تساوي نصف في حالة الهيدروجين لنحصل بعد العويض في القانون على  $n+1$  قمة وبثابت تزاوج  $J$



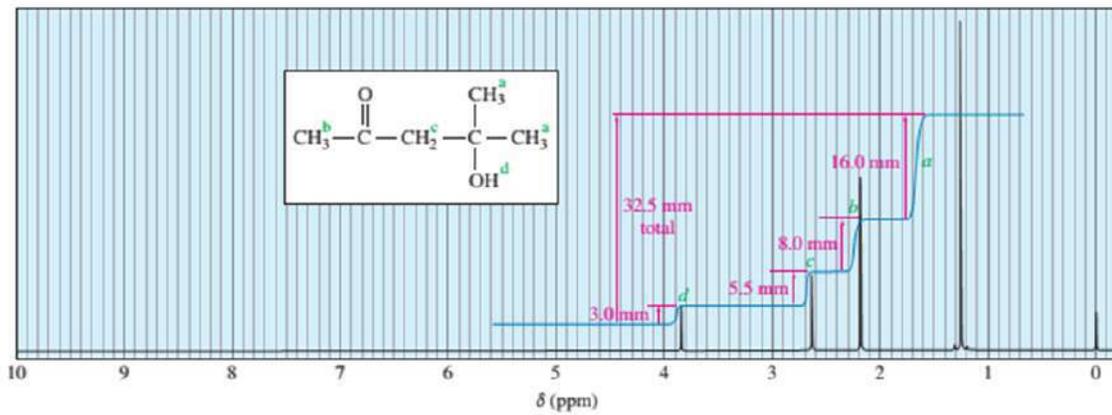
البروتونات المفصولة عن بعضها بأكثر من ذرتي كربون أو مجموعات وظيفية لا تبدي أي تزاوج إلا في حالات استثنائية.



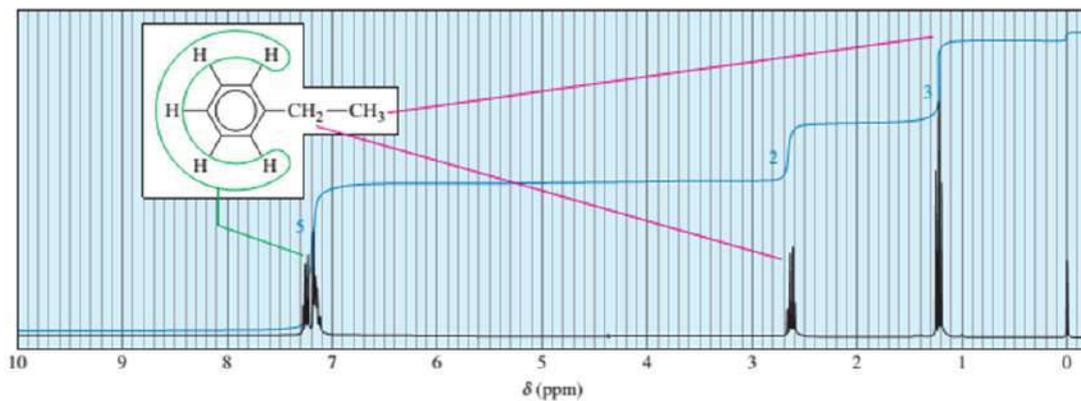
4- البروتونات المتكافئة لا تنشطر سواء كانت هذه البروتونات على ذرة كربون واحدة أو على ذرتين مختلفتين. (المركبات التي تمتلك تناظر)



يتم تحديد عدد البروتونات بإجراء تكامل للقمة وقيمة التكامل تعطي عدد ذرات الهيدروجين الموجودة في المجموعة الوظيفية.

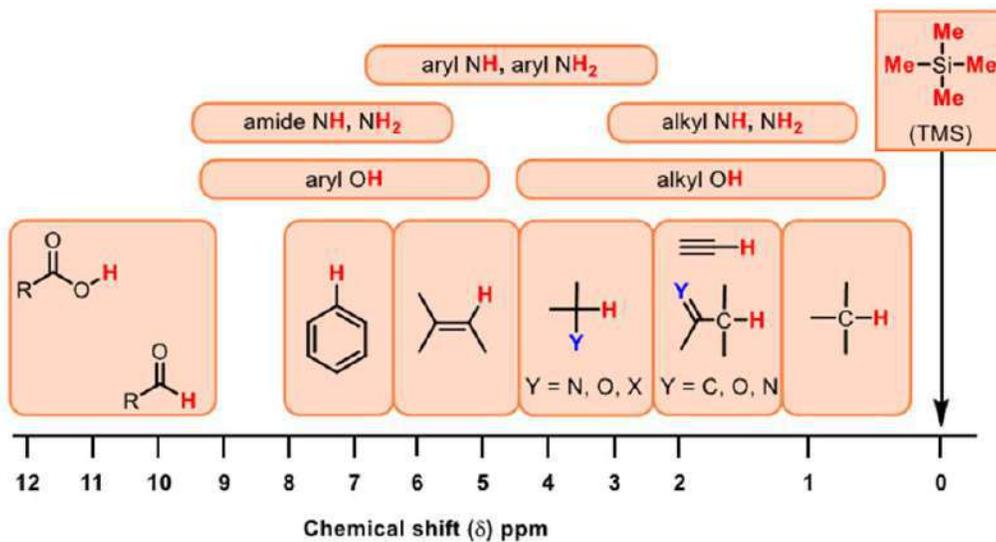


Proton NMR spectrum for a compound of molecular formula  $C_6H_{12}O_2$ .

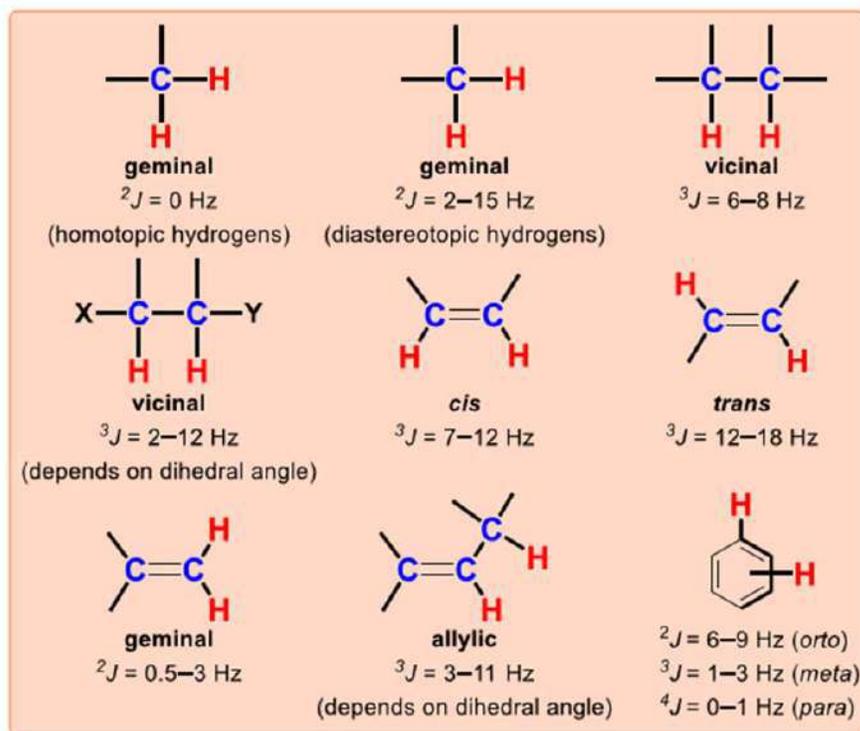


وفيما يلي شكل يلخص أهم امتصاصات الزمر الوظيفية والبروتونات الأكثر دخولاً في بنية الأدوية.

### <sup>1</sup>H NMR Chemical Shifts



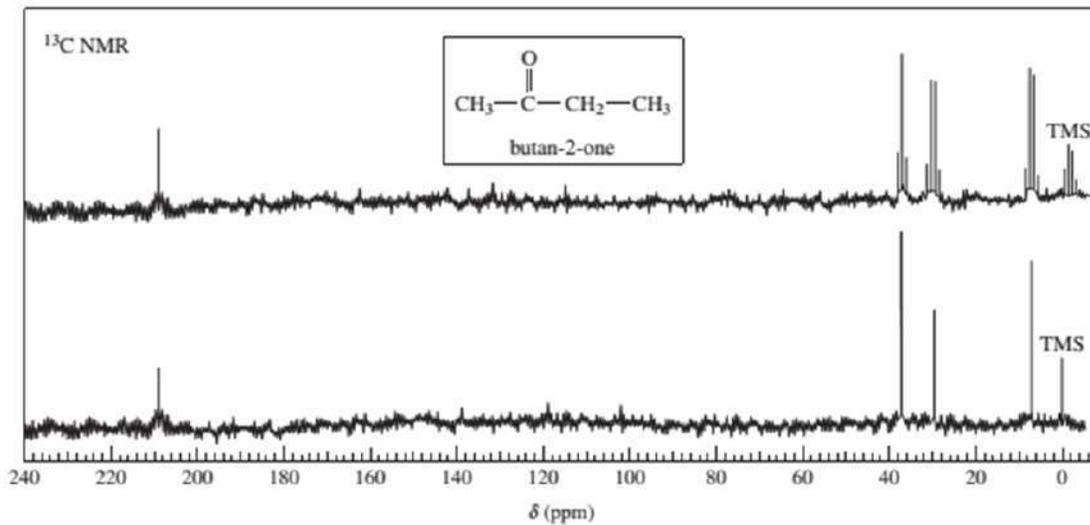
### Typical Coupling Constants



## مطيافية الكربون $^{13}\text{C}$ :

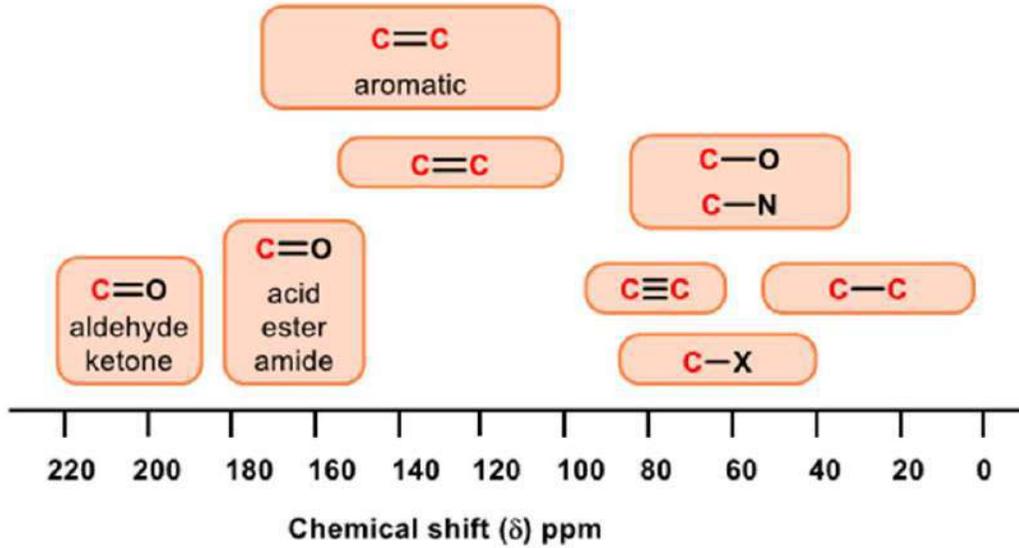
تسمح هذه الطريقة بتسجيل الطيف حيث توضع عينة محلولة في محل مديتر في حقل مغناطيسي ثابت ثم تعرض ل نبضات صغيرة Pulse متوافقة مع نواة الكربون  $^{13}\text{C}$  حيث إن الكربون  $^{12}\text{C}$  لا يملك سبين لف ذاتي فهو غير فعال في مطيافية الطنين النووي المغناطيسي ويتم تسجيل الطيف ومعالجته رياضياً لنحصل على مخطط امتصاص الكربون للمركب المدروس. أن طيف الكربون معقد جدا حيث يدخل تأثير ذرات الهيدروجين مما يعطي معلومات معقدة وصعبة التحليل للمركب الكيميائي المدروس، والبيئة الكيميائية للجزيئات. ولتفادي ذلك نقوم رياضياً عن طريق الجهاز بحذف تأثير ذرات الهيدروجين لنحصل على طيف يعبر عن عدد ذرات الكربون في المركب مما يعطي معلومات عن البنية المتوقعة للجزء.

مثال



في المثال طيفين لنفس المركب الأول بدون حذف تأثير الهيدروجين والثاني مع الحذف نلاحظ بساطة الطيف الثاني والذي يعبر عن عدد ذرات الكربون في المركب المدروس وأماكن امتصاصها في مقررنا جميع الأطياف للكربون ستكون محذوفة تأثير الهيدروجين

## <sup>13</sup>C NMR Chemical Shifts



نلاحظ ذرات الكربون المختلفة وامتصاصاتها المتنوعة

قواعد قراءة طيف الكربون:

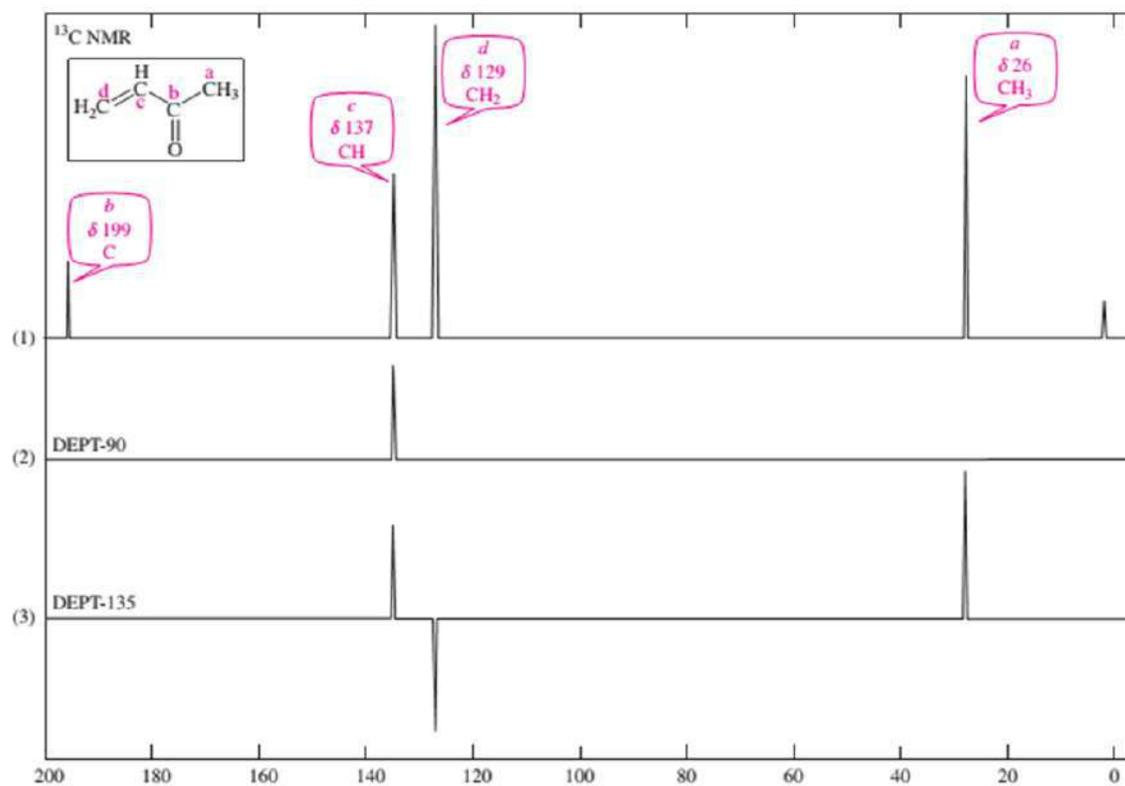
- نرسم الصيغة المفصلة للجزء المدروس ونميز نوع ذرات الكربون المتكافئة أو غير متكافئة الذرات المتكافئة تمتاز بوجود نفس البيئة الكيميائية (الجيران) وان وجود ذرة كالأوكسجين تقوم بعزل المجموعات الكربونية المختلفة عن بعضها.

لا يمكن إجراء تكامل لقمم ذرات الكربون

يمكن إجراء تجارب إضافية للكربون من اجل معرفة نوع الكربون

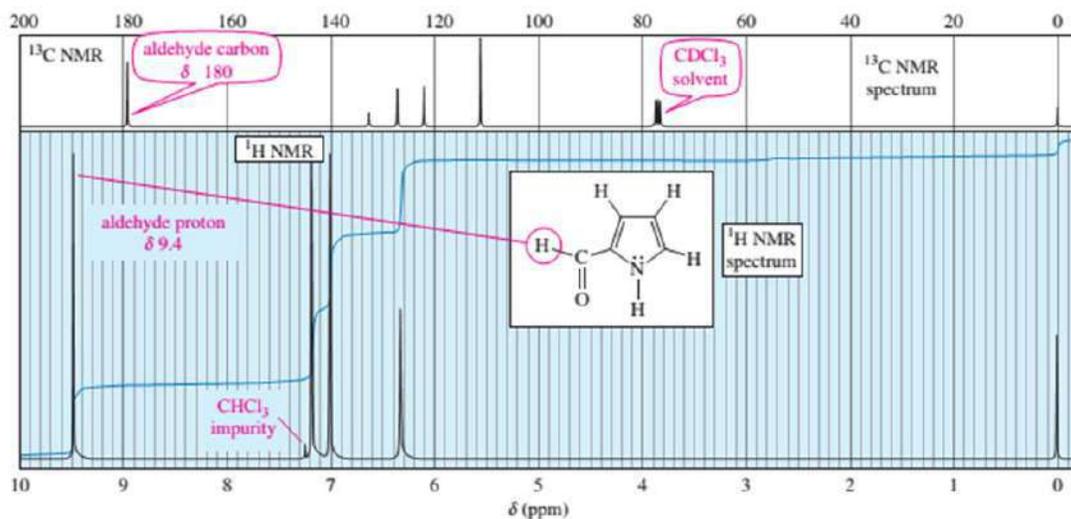
	Type of $^{13}\text{C}$	Protons	Normal $^{13}\text{C}$ NMR	DEPT-90	DEPT-135
quaternary	$\begin{array}{c}   \\ -\text{C}- \\   \end{array}$	0			
methine	$\begin{array}{c}   \\ -\text{C}-\text{H} \\   \end{array}$	1			
methylene	$\begin{array}{c}   \\ -\text{CH}_2 \\   \end{array}$	2			
methyl	$-\text{CH}_3$	3			

مثال:

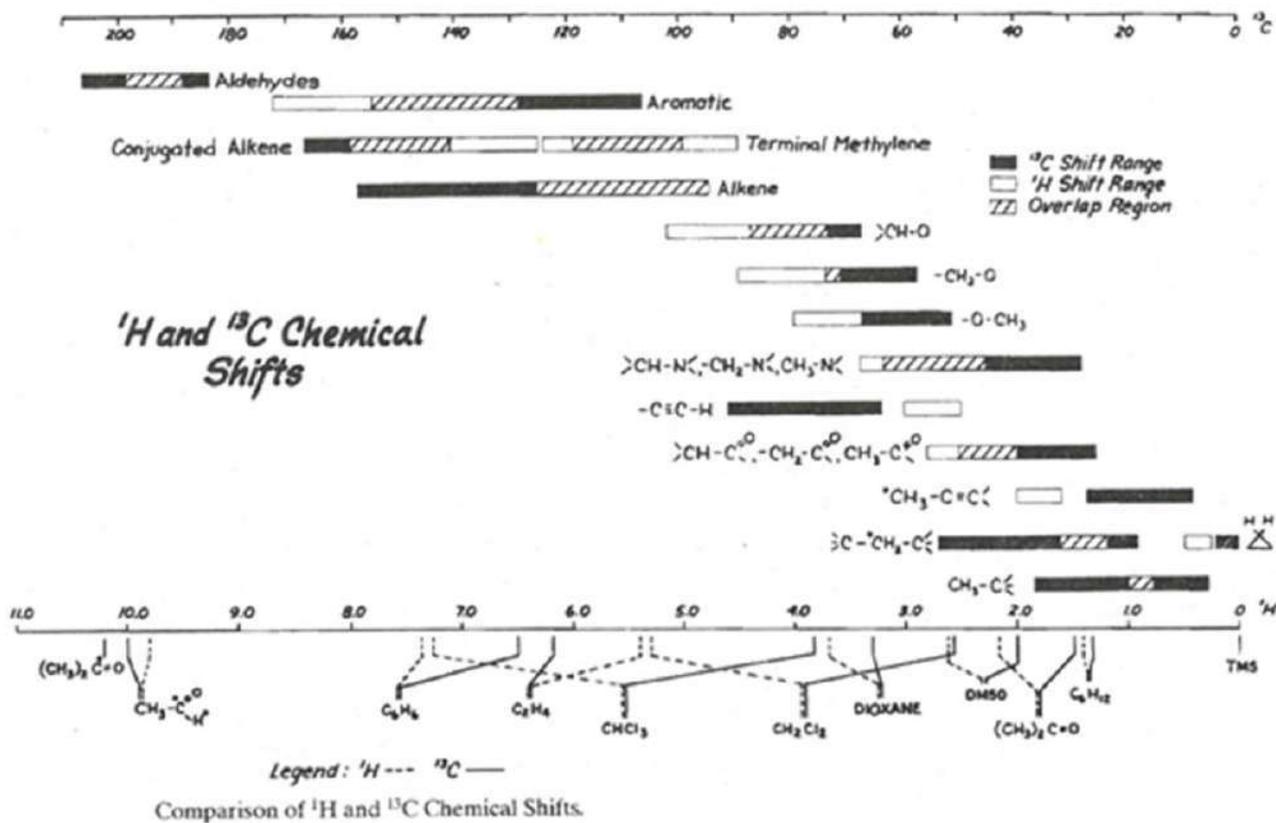


$^{13}\text{C}$  NMR spectrum and DEPT spectra of but-3-en-2-one.

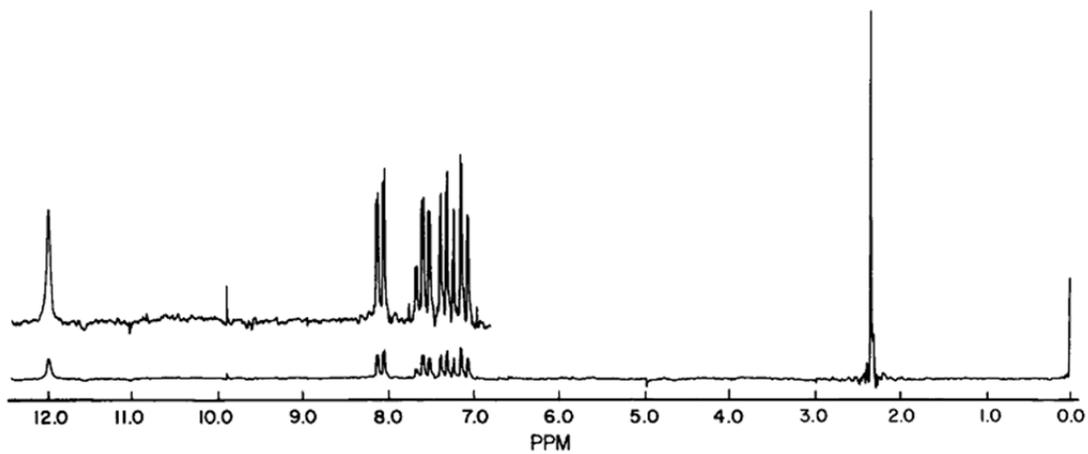
مثال:



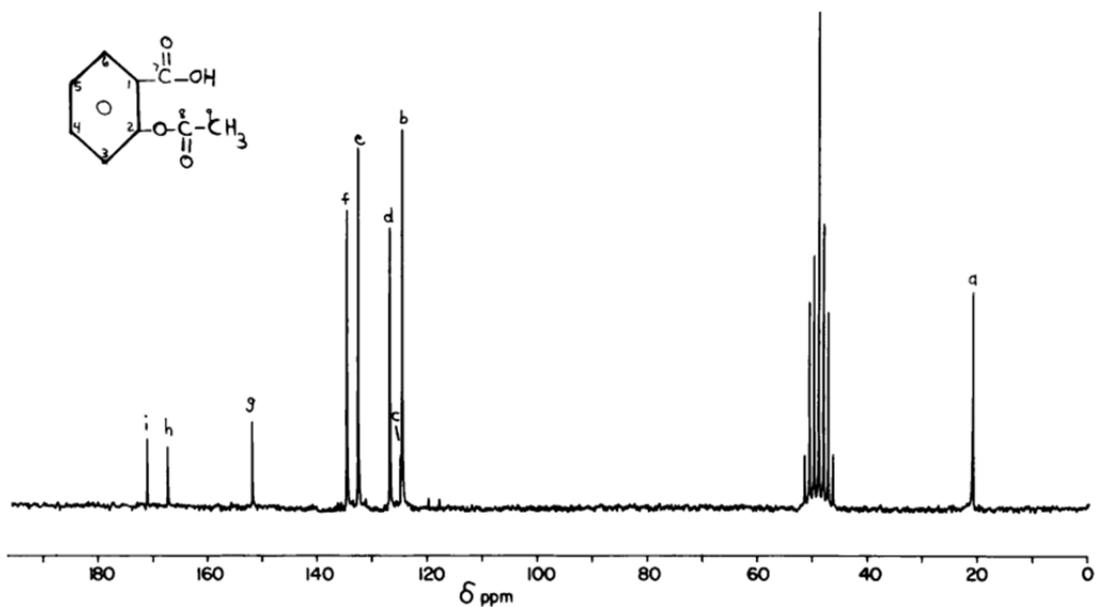
يمكن دمج إشارات البروتون والكربون بمخطط واحد وبوجود المحلات المستخدمة في مطيافية الطين النووي المغناطيسي:



مثال



$^1\text{H}$  Spectrum of Aspirin.



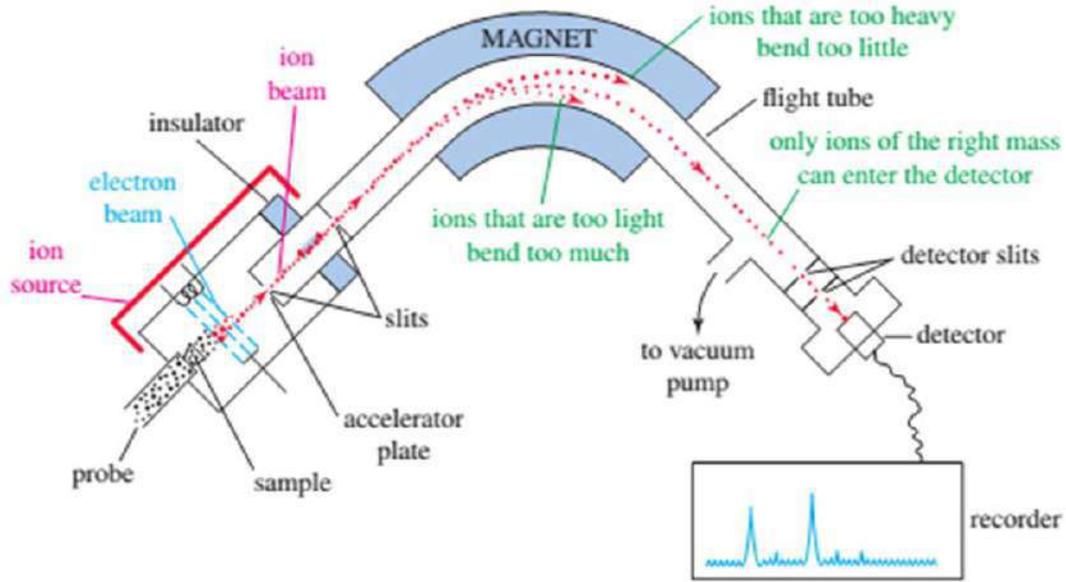
$^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum of Aspirin in  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

## مطياف الكتلة (Mass spectrometry)

مطياف الكتلة (Mass spectrometry) هو تقنية تحليلية لتحديد العناصر المكونة لمادة أو جزيء ما. ويستخدم أيضا لتوضيح البنى الكيميائية للجزيئات

يعتمد مبدأ عمل مطياف الكتلة على تشريد المركبات الكيميائية لتوليد جزيئات مشحونة وقياس نسبة كتلتها إلى شحنتها تجرى العملية في مطياف الكتلة بوضع العينة في الجهاز، حيث تأين المركبات بطرق مختلفة مما يشكل الأيونات المشحونة. تحسب نسبة الكتلة للشحنة لهذه الجزيئات من حركة هذه الأيونات ضمن حقول كهرومغناطيسية.

يتكون جهاز مطياف الكتلة من ثلاث وحدات: منبع للأيونات يشطر جزيئات العينة إلى أيونات. وجهاز تحليل يفرز الأيونات بحسب كتلتها عن طريق تطبيق حقول كهرومغناطيسية. وكاشف لقياس قيمة مؤشر الكمية وبذلك تعطي بيانات لحساب وفرة الأيونات الملتقطة.

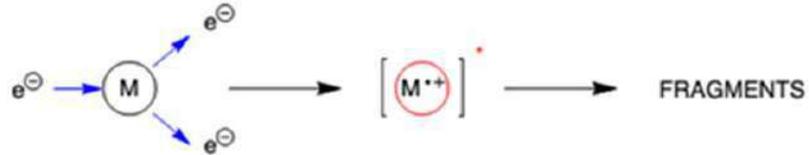


يمكن تصنيف أنواع مطيافية الكتلة وفق طريقة التاين المتبعة لتوليد الأيونات فتقسم الى :

1-طريق تاين قاسية تؤدي الى تشطي الأنيون المتشكل الى شظايا مختلفة

## Ionization Methods

### Hard Ionization



2- طريقة تأين لطيفة لا تؤدي إلى تشظي كبير في العينة ويمكن التحكم بهذه الطريقة حتى نحصل على الأيون العائد للمركب بدون تشظي.

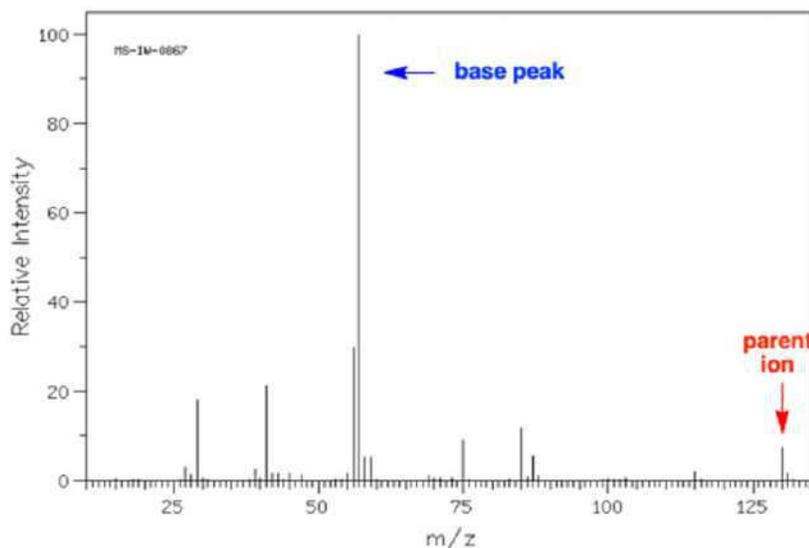
### Soft Ionization



## Ionization Methods

Ionization Method	Typical Analytes	Sample Introduction	Mass Range	Ionization [mass]
Electron Impact (EI)	relatively small, volatile	GC or liquid/solid probe	up to 1000 Daltons	hard, [M] <sup>++</sup> if observed
Chemical Ionization (CI)	relatively small, volatile	GC or liquid/solid probe	up to 1000 Daltons	hard to soft; varies with carrier [M+H] <sup>+</sup>
Fast Atom Bombardment (FAB)	carbohydrates, organometallics, peptides, nonvolatile	sample mixed in viscous matrix	up to 6000 Daltons	soft, but harder than MALDI, ESI [M+Na] <sup>+</sup> , [M+H] <sup>+</sup>
Matrix Assisted Laser Desorption (MALDI)	peptides, proteins, nucleotides	sample mixed in solid matrix	up to 500,000 Daltons	soft [M+H] <sup>+</sup>
Electrospray (ESI)	peptides, proteins, nonvolatile	HPLC or syringe	up to 6000 Daltons	soft [M+Na] <sup>+</sup> , [M+H] <sup>+</sup>

نلاحظ في الشكل طيف كتلة عام حيث يعبر محور الأفقي عن الكتلة مقسومة على الشحنة و على المحور العمودي شدة الإشارات والذي يقدر بنسبة مئوية.



**parent ion:** molecular ion ( $[M]^+$ ) or quasimolecular ion ( $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$ , etc.)

**base peak:** the tallest peak in the spectrum

أهم انواع طيف الكتلة المستخدمة في الاصطناع الدوائي:

High-Resolution Mass Spectrometry-1: يسمح الجهاز والذي يعتمد على طريقة تأين لطيفة بتحديد الوزن الجزيئي للمركب المدروس بدقة متناهية لا مجال فيها للشك مع أي مركب اخر.

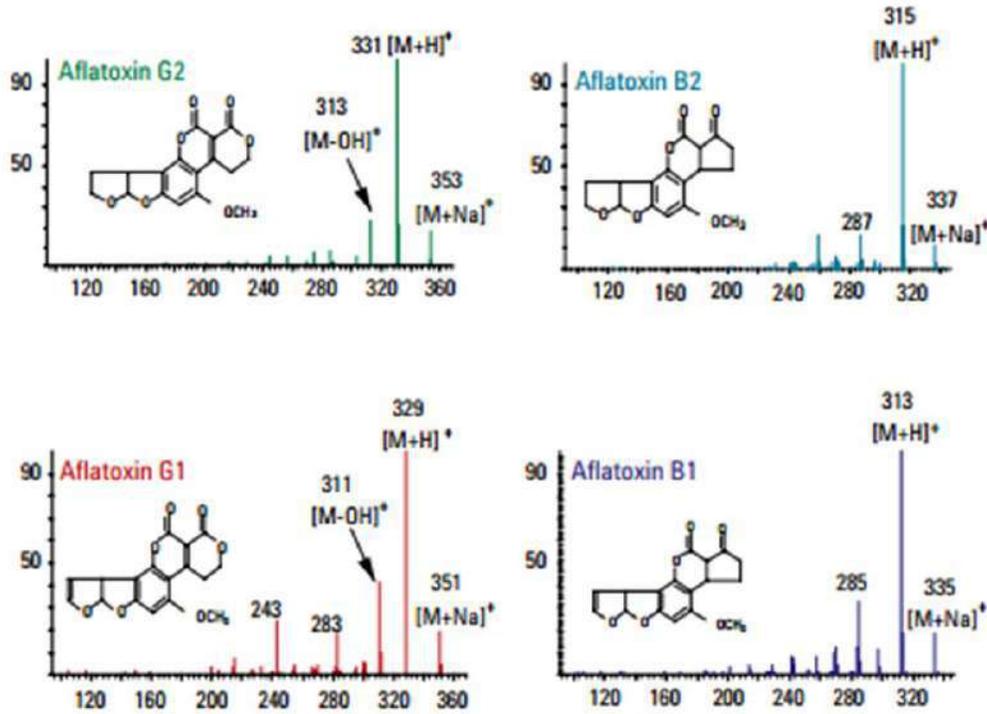
حيث نحصل على الوزن الجزيئي بأربع ارقام حتى سبع ارقام بعد الفاصلة

$C_3H_8$		$C_2H_4O$		$CO_2$		$CN_2H_4$	
3 C	36.00000	2 C	24.00000	1 C	12.00000	1 C	12.00000
8 H	8.06260	4 H	4.03130			4 H	4.03130
		1 O	15.99491	2 O	31.98983	2 N	28.00610
	44.06260		44.02621		43.98983		44.03740

2-كروماتوغرافيا السائلة المزود بمقياس طيف الكتلة (LC-MS) هو أحد تقنيات الكيمياء التحليلية التي تجمع بين قدرات الفصل الفيزيائي بواسطة الاستشراب السائل (أو HPLC) مع قدرات مطيافية

الكتلة والقائم على طرق تأين لطيف تسمح بتحديد الوزن الجزيئي للمركب المدروس

مثال:

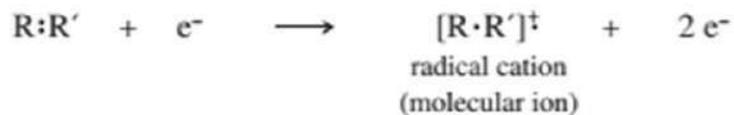


### 3- كروماتوغرافيا الغاز- مطياف الكتلة (GC-MS)

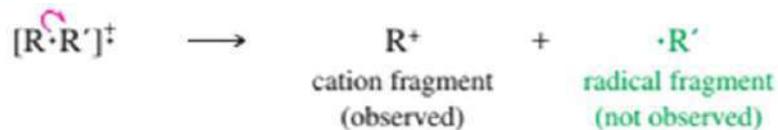
تعتبر الكروماتوغرافيا الغازية مطياف الكتلة طريقة فعالة من اجل فصل وكشف المركبات العضوية القابلة للتطاير ومزائج غازية من مركبات لا عضوية مختلفة. يستخدم الجهاز لفصل بين طائفة واسعة من المركبات العضوية ، وباستخدام أنواع مختلفة جديدة وخاصة من الطور الثابت والتحليل النوعي للمركبات مع التعرف عليها بواسطة تحديد الايون الجزيئي للعينة السائلة والصلبة بواسطة التأين الإلكتروني (EI).

التأين الإلكتروني (EI) : هو طريقة توليد الأيونات عن طريق تصادم الإلكترونات المسرعة من مرتبة 70ev مع جزيئات المادة تؤدي هذه الطريقة (لاستخدامها إلكترونات نشطة للغاية) إلى تجزئة عالية فنحصل على شظايا متنوعة .

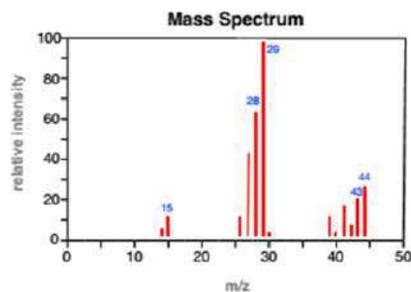
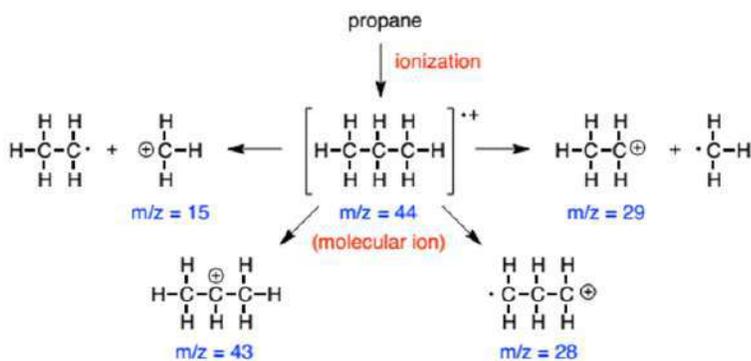
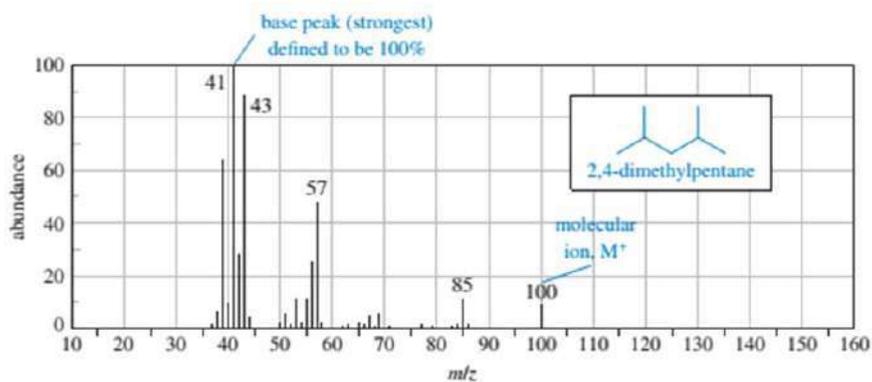
*Ionization*



*Fragmentation*



<i>m/z</i>	Abundance (% of base peak)
39	62
41	100 (base peak)
42	24
43	90
56	23
57	50
85	11
100 ( $M^+$ )	10



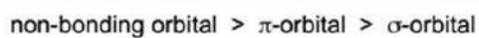
## قواعد التشطي

القاعدة الاولى يتم نزع الاكترون من الجزيء

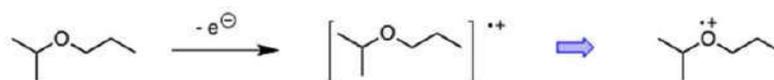


وفق الترتيب التالي:

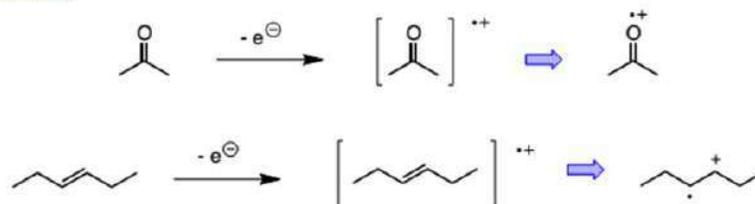
### Initial Loss of Electron



#### from a non-bonding orbital



#### from a $\pi$ orbital



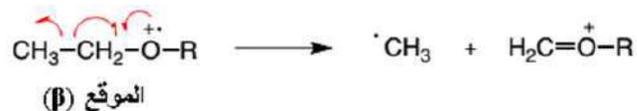
#### from a $\sigma$ orbital



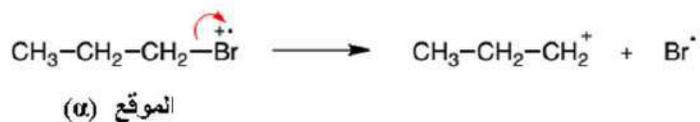
القاعدة الثانية: يتم التقطيع بالنسبة الى الذرات غير المتجانسة (O,N,X,S) بالموقع الفا ( $\alpha$ ) أو بيتا ( $\beta$ )

## Basic Fragmentation Processes

### homolytic cleavage



### heterolytic cleavage

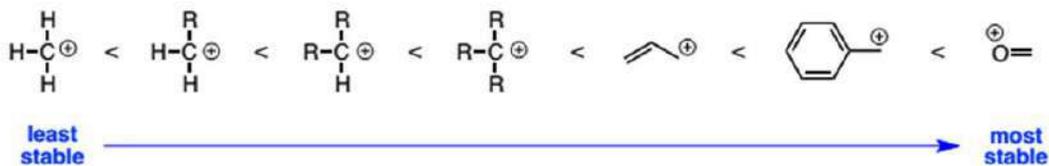


القاعدة الثالثة:

### Stevenson's Rule

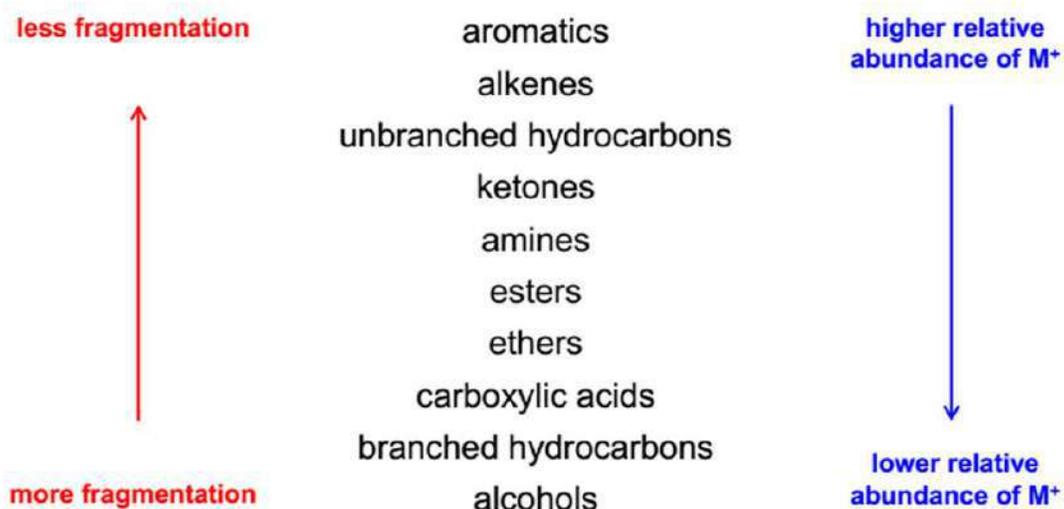
- The most probable fragmentation is the one that leaves the positive charge on the fragment with the lowest ionization energy
  - fragmentation processes that lead to the formation of more stable ions are favored over processes that lead to less stable ions

مثال



- stability of the resulting radicals or neutrals

القاعدة الرابعة احتمالية القطيع في المركبات المختلفة هي:



**Stability plays a factor in whether or not a molecular ion is observed**

**Decreasing ability to give prominent M<sup>+</sup>:**

aromatics > conjugated alkenes > cyclic compounds >  
organic sulfides > alkanes > mercaptans

**Decreasing ability to give recognizable M<sup>+</sup>:**

ketones > amines > esters > ethers >  
carboxylic acids ~ aldehydes ~ amides ~ halides

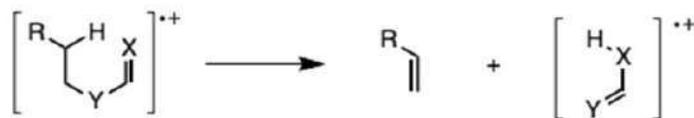
**M<sup>+</sup> is frequently not detectable from:**

aliphatic alcohols, nitrites, nitrates, nitro compounds,  
nitriles, highly branched compounds

McLafferty rearrangement في عملية التقطيع تحصل تفاعلات إعادة ترتيب وأهمها هو

**Rearrangements**

**McLafferty**



X, Y = C, N, O

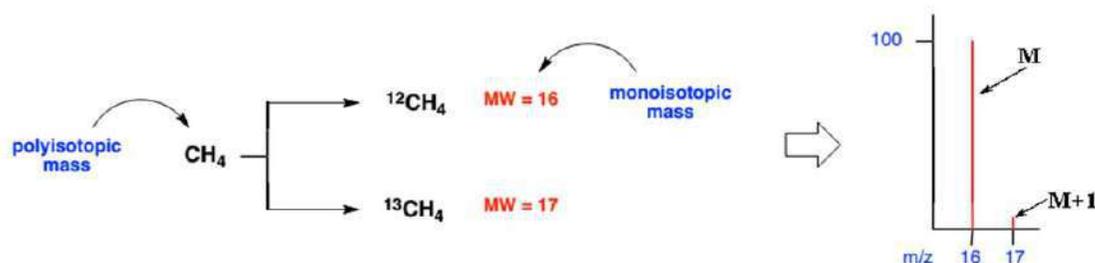
## استخدام طيف الكتلة في تحديد بنية الأدوية

يساهم طيف الكتلة مع الأطياف الأخرى حيث يتم تجميع المعلومات المستنتجة من طيف الكتلة ومقاطعها مع المعلومات من باقي الأطياف ليتم التأكيد بقطعية بنية الدواء.

### -المعلومات المستنتجة من طيف الكتلة:

أن طيف الكتلة يظهر توزع النظائر المختلفة للعناصر الكيميائية التي يتكون منها الدواء مما يسمح بمعرفة معلومات هامة عن بنية المركب المدروس

مثال



The **Base Peak** is the peak with the greatest intensity (usually set to 100% relative abundance) in the mass spectrum, corresponding to the most abundant ion. (M and the base peak are only the same if many of the molecular ions make it to the detector without breaking into fragments). Since M+1 and M+2 are always less intense than M, they can never be the base peak.

**M+1** is next-door to M on the mass spectrum, and corresponds to the molecular ion with mass one higher than M due to presence of “one atom that is a heavier isotope”<sup>6</sup>

- ✓ EX: For 1-bromopropane, the M peak is at 122, so the M+1 peak should be at 122+1=123
- ✓ Only <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, and <sup>33</sup>S contribute significantly to the M+1 peak, <sup>13</sup>C is most important
- ✓ If M is scaled to 100%, then the M+1 intensity/1.1% gives an estimate for the number of carbons in the compound. BE CAREFUL TO AVOID MATH ERRORS HERE!

#### Note about rounding:

- ✓ If remainder is 0.4 or less, then round down
- ✓ If remainder is 0.7 or more, then round up
- ✓ It is important to be conservative in mass spectrometry, so if remainder is between 0.4-0.7, then consider two different carbon counts for formula candidates. Some of these may be rejected later based on other data.

**EX:** If the relative abundance of the M+1 peak (relative to M) is 4.95%, how many carbons are there in the formula?

**ANSWER:**  $4.95/1.1 = 4.5$  There are 4 or 5 carbons!

**M+2** is next-door to M+1 on the mass spectrum, and has a mass two higher than M.

- ✓ **EX:** For 1-bromopropane, the M peak is at 122, so the M+2 peak should be at  $122+2=124$
- ✓ For our purposes, the elements that make significant contributions to this peak are  $^{34}\text{S}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ , and  $^{81}\text{Br}$ .
- ✓ The M:M+2 ratio indicates the presence of S(100:4.4), Cl (100:31.9), or Br(100:97.2) in the compound.

### Getting the Formula from the Mass Spectrum<sup>7</sup>

The **Nitrogen Rule** states that if m/z for M is odd, then the molecular formula must have an odd number of nitrogens. If m/z for M is even, then the molecular formula must have an even number of nitrogens (this includes 0).

- ✓ **EX:** For 1-bromopropane, m/z for M=122. The even number is in accordance with the even number of nitrogens in the formula (zero).

The **Hydrogen Rule** states that the maximum number of hydrogens in the molecular formula is  $2C+N+2$ . In the formula, C: # of carbons, N: # of nitrogens

- ✓ **EX:** For  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ , there are three carbons, so the max # of hydrogens is  $2(3)+2=8$

### Getting the Molecular Structure from the Formula

One **Double Bond Equivalent (DBE)** (also known as a **degree of unsaturation**) is one pi bond or one ring. A triple bond counts as 2 DBE. Having 4 DBE indicates the possibility of a benzene ring, since benzene has three pi bonds plus one ring. The formula for DBE is the following:

$\text{DBE} = C - (\text{H}/2) + (\text{N}/2) + 1$	C: # of carbons H: # of hydrogens or halogens N: # of nitrogens
--	---

\* Formula<sup>8</sup>

Important Note: DBE can never be negative and can never be fractional! Beware of math errors!

- ✓ **EX:** For  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ , the DBE equals  $3-(8/2)+(0/2)+1=0$ . (No pi bonds, no rings.)

**EX:** Use the given mass spectrometry data to determine the molecular formula.

	m/z	Relative Intensity
M	59	100%
M+1	60	3.85%
M+2	61	0.0127%

*Is the m/z value for the M peak even or odd?* The M peak equals the molecular mass of the compound, which in this case is 59 amu. This is an odd number, so according to the Nitrogen Rule, there must be an odd number of nitrogen atoms in the compound. The minimum number of nitrogen atoms is one.

*Use the relative intensity of the M+1 peak to find the number of carbon atoms.* Here,  $3.85\%/1.1\% = 3.5$ . This means that there are three or four carbons in the compound.

*Look at the M+2 peak to check for the presence of S, Cl, or Br.* Since the intensity of the M+2 peak is less than 4% (approximate relative abundance of S), there are no S, Cl, or Br atoms in this molecule.

*Subtract the isotopic masses of the known atoms from the mass of the entire compound (m/z of M peak). The remaining value represents the amu left over for the other atoms. So,*

M - C<sub>3</sub> - N ← We must have at least 3 C and 1 N

$59 - (3(12) + 14) = 9$  amu left over for O, H, more N atoms (must be odd), or another C atom.

*Evaluate all possibilities for the molecular formula, and assess whether they are reasonable.*

In this instance, there is no need to construct a chart for the number of each type of atom. 9 amu are not enough for oxygen (16 amu), nitrogen (14 amu each), or another carbon (12 amu). Thus, the 9 amu must come from nine hydrogen atoms.

In conclusion, the only possible molecular formula is C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>N

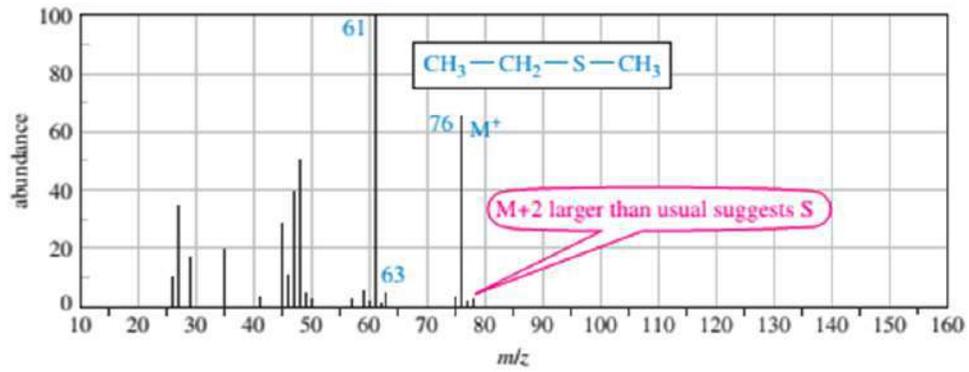
ويستفاد من ظاهرة النظائر في تحديد وجود العناصر الهامة في بنية الأدوية

*Recognizable elements in the mass spectrum*

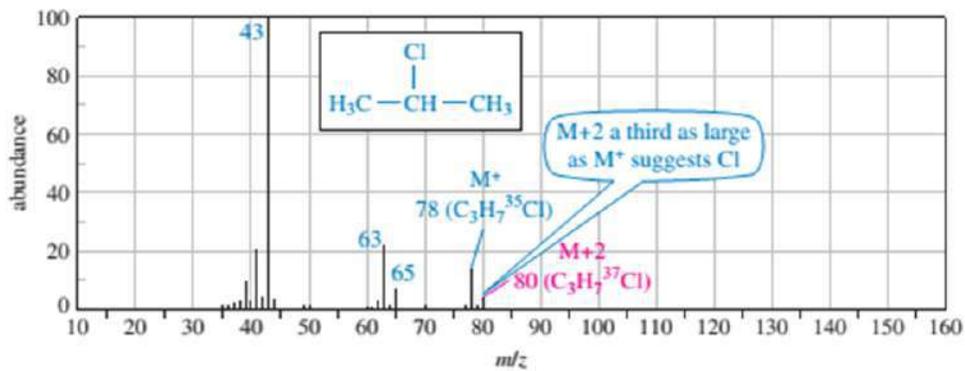
Br	M+2 as large as M <sup>+</sup>
Cl	M+2 a third as large as M <sup>+</sup>
I	I <sup>+</sup> at 127; large gap
N	odd M <sup>+</sup> , some even fragments
S	M+2 larger than usual (4% of M <sup>+</sup> )

أمثلة:

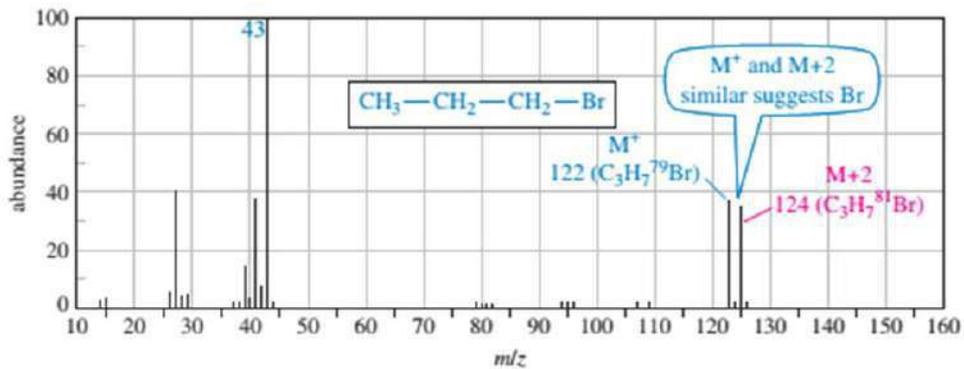
مركب يحتوي الكبريت

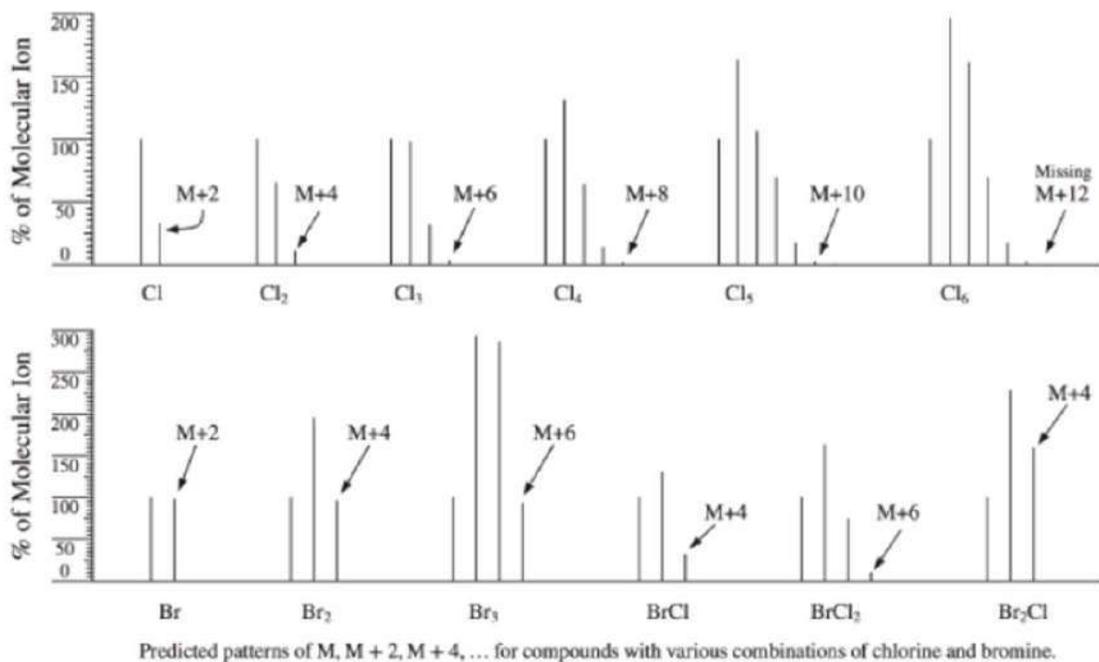


مركب يحتوي الكلور



مركب يحتوي البروم



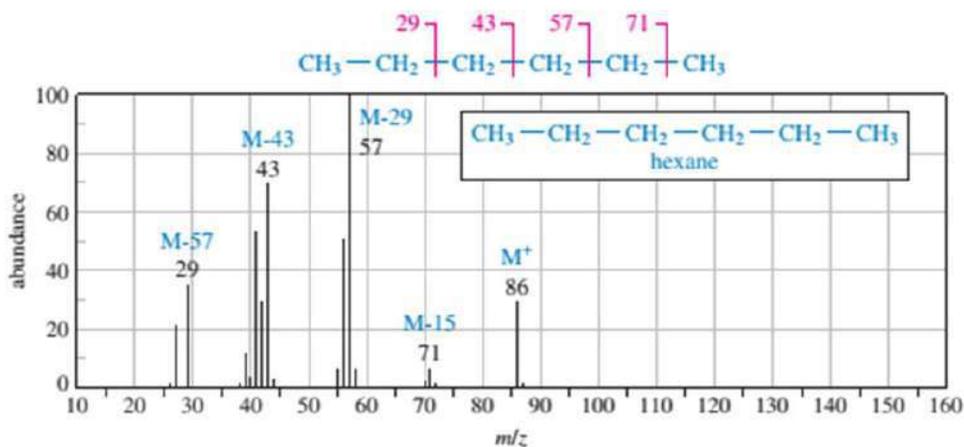


المعلومات المستنتجة من طيف الكتلة حول المجموعات الوظيفية المختلفة:

## Alkanes

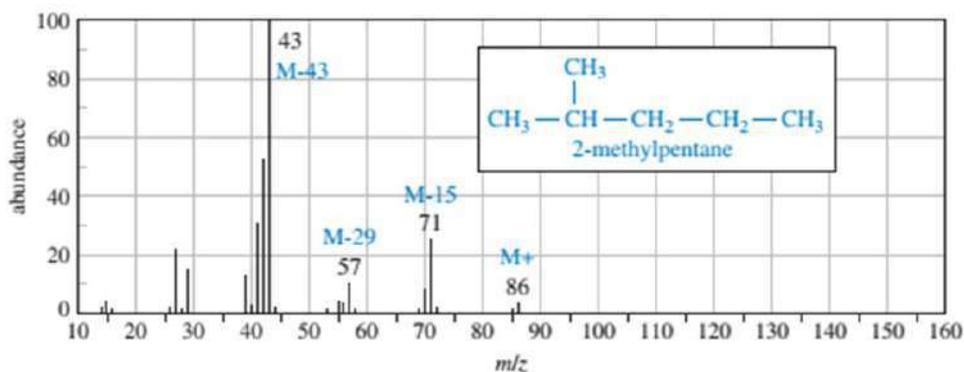
### Straight Chain Alkanes

- Molecular ion peak usually present but weak
- Clusters of fragments appear spaced by 14 amu (corresponds to loss of  $\text{CH}_2$ )
- The largest peak in each cluster corresponds to an alkyl radical cation,  $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$
- A peak for  $\text{M}-\text{CH}_3$  is often weak or absent
- The intensity of lower  $m/z$  fragments is greater in large molecules; relative intensities decrease smoothly up to  $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$



### Branched Alkanes

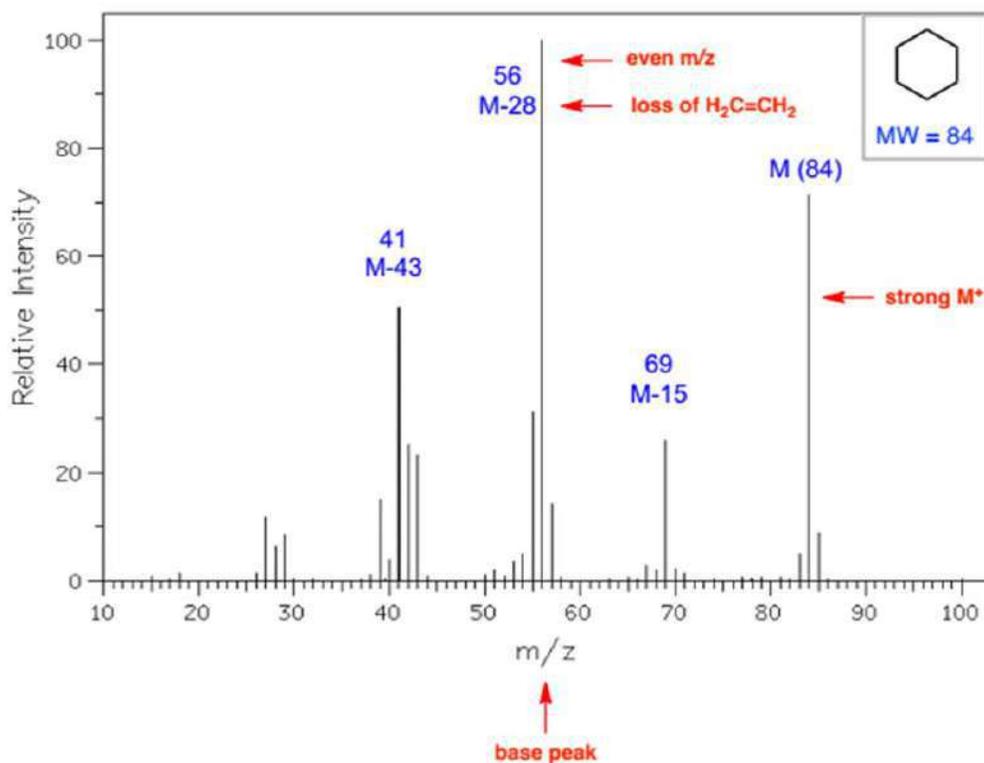
- Smaller molecular ion peak; may be absent
- More fragmentation at highly branched positions



### Cycloalkanes

- Relatively large molecular ion peak
- Significant peak at M-28 (often the base peak) due to loss of ethylene
- M-15: from rearrangement

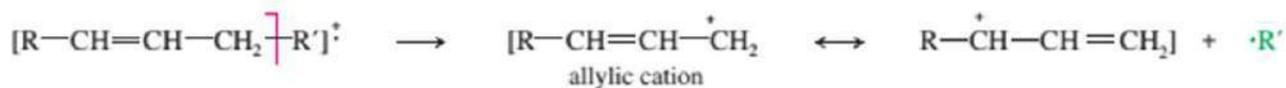
## cyclohexane

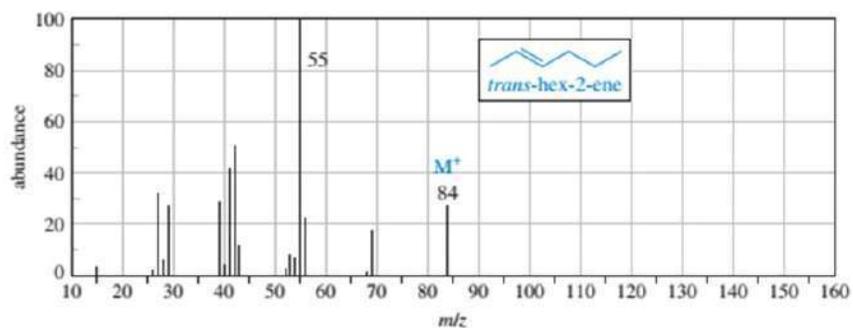
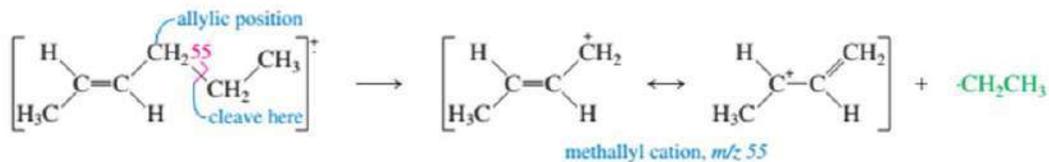


## Alkenes:

- Relatively strong  $M^+$  ion
- Clusters of fragments appear spaced by 14 amu (corresponds to loss of  $CH_2$ )
- Strong peak from fragmentation to form a resonance stabilized allylic cation ( $m/z = 41$  in terminal double bonds,)
- Difficult to identify position of alkene since the double bond migrates easily

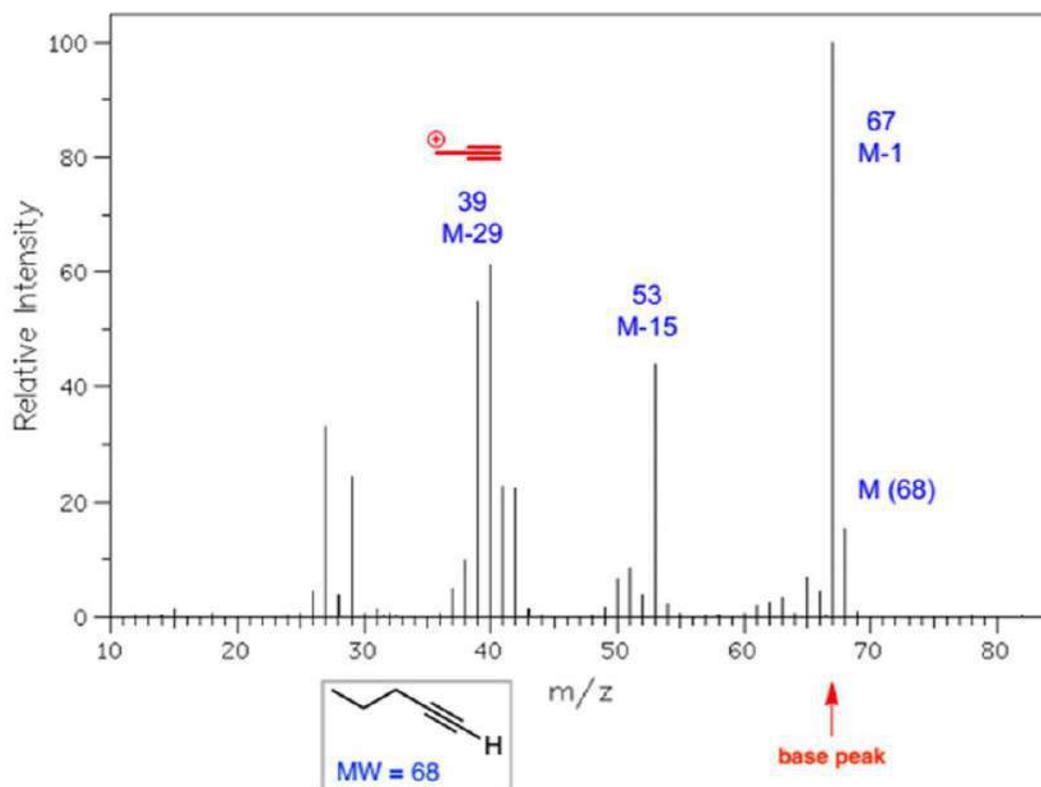
## Fragmentation Giving Resonance-Stabilized Cations





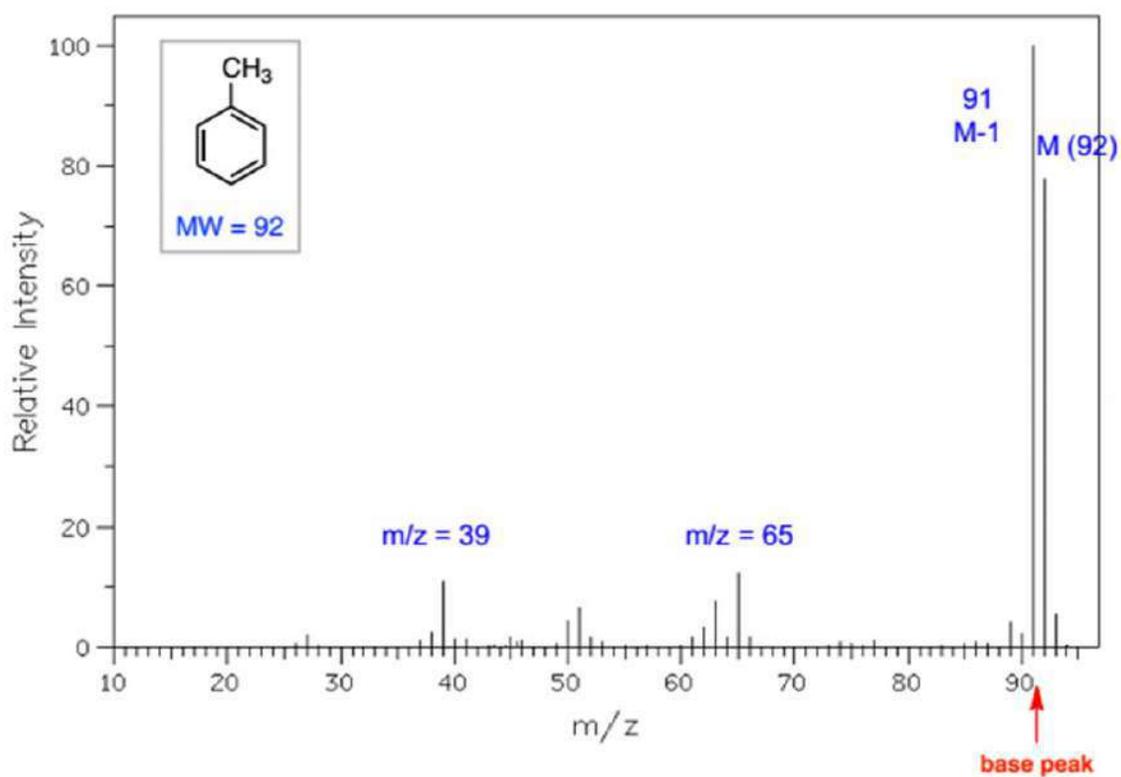
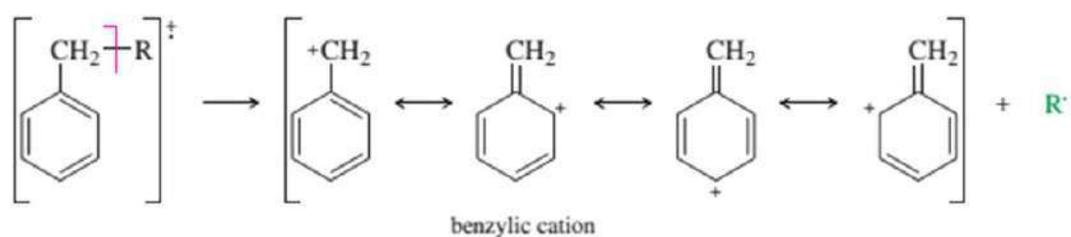
## Alkynes

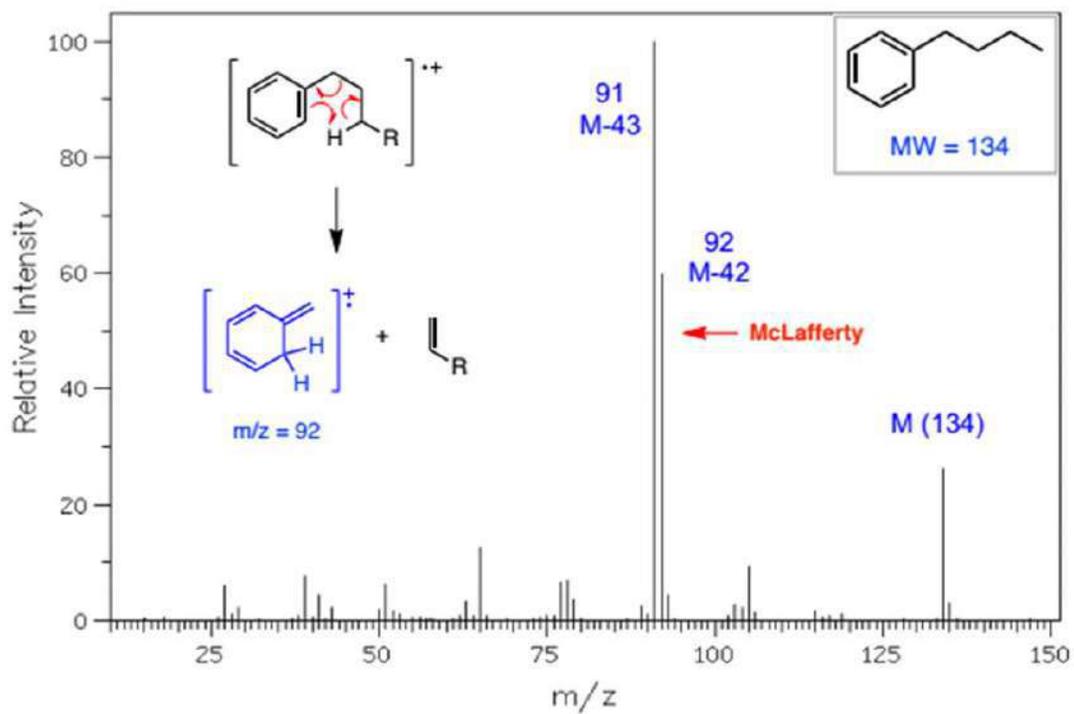
- Relatively strong  $M^+$  ion
- Strong  $M-1$  peak is observed in terminal alkynes
- Strong peak from fragmentation to give resonance stabilized propargyl cation ( $m/z = 39$  in terminal alkynes)



## Aromatic Hydrocarbons

- Strong  $M^+$  ion
- Strong  $M-1 \rightarrow$  tropylium ion
- Substituted benzenes can undergo McLafferty rearrangement (substituent = propyl or larger)

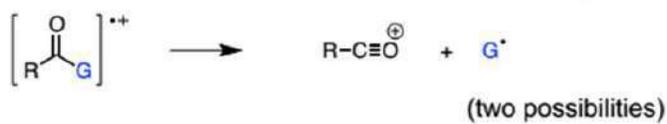




## Carbonyl Compounds

### Common Fragmentation Modes

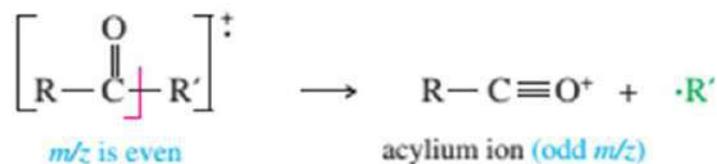
G = H, R', OH, OR', NR'<sub>2</sub>



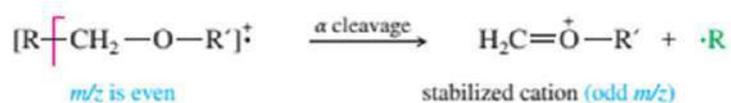
### McLafferty rearrangement



*Ketones and aldehydes: loss of alkyl groups to give acylium ions*



## Ethers



*or loss of an alkyl group*

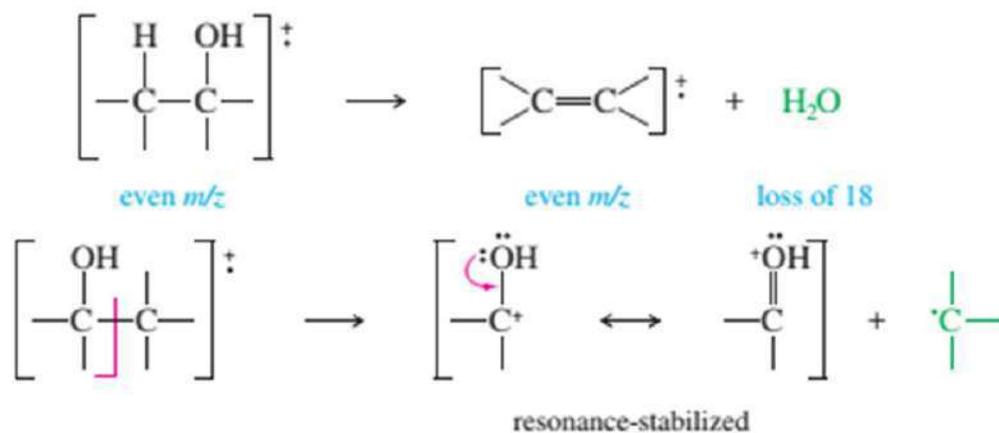


## Amines



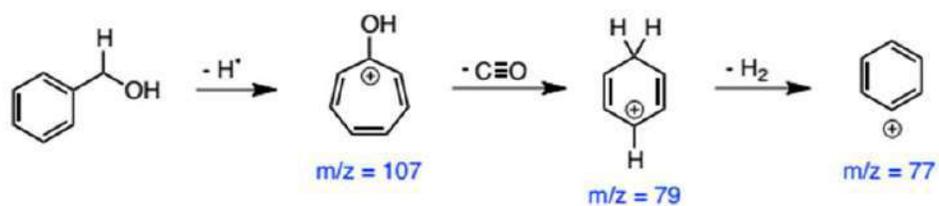
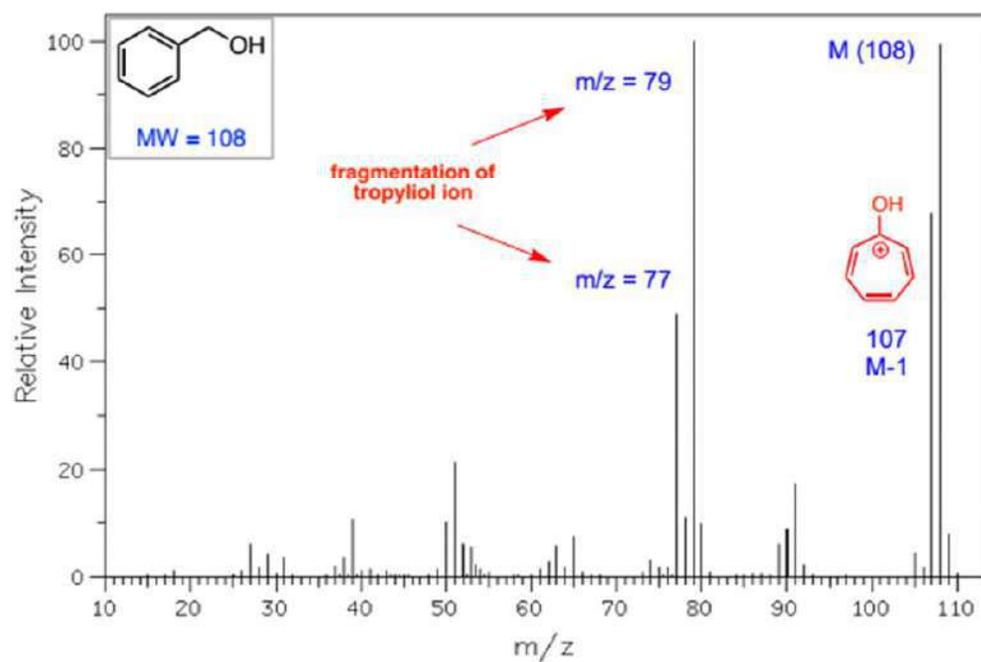
## Alcohols

- Weak M<sup>+</sup> peak; may be absent
- Dehydration (M-18), sometimes with loss of CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>



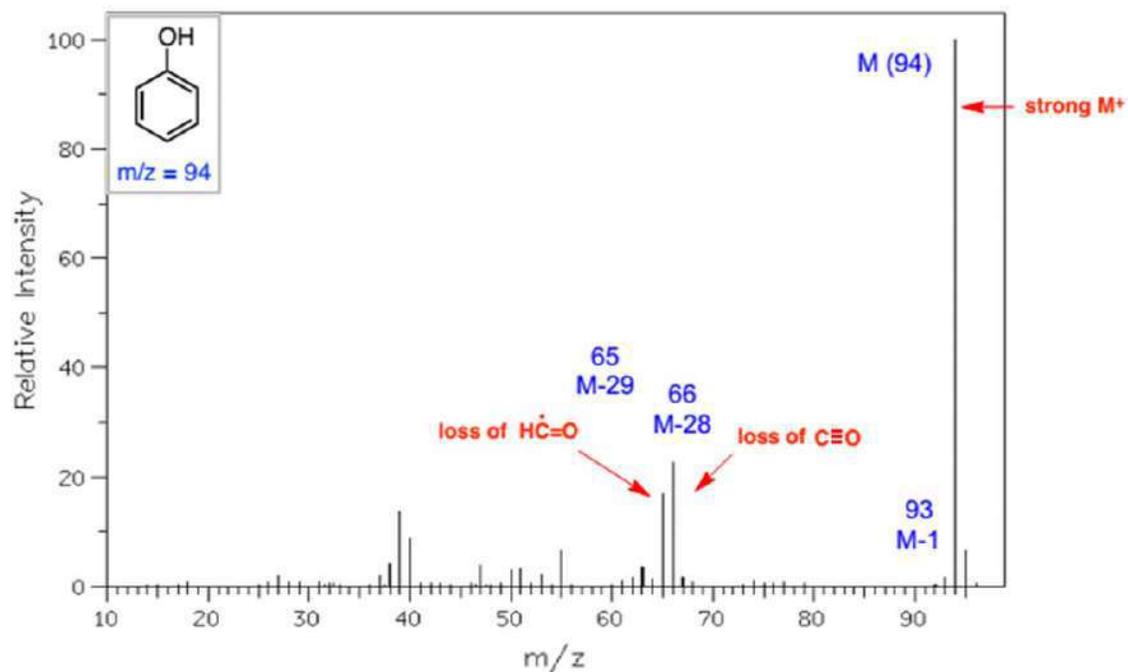
### Benzyl Alcohols

- Strong M<sup>+</sup> peak
- formation of tropylium ions; then fragmentation to C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>



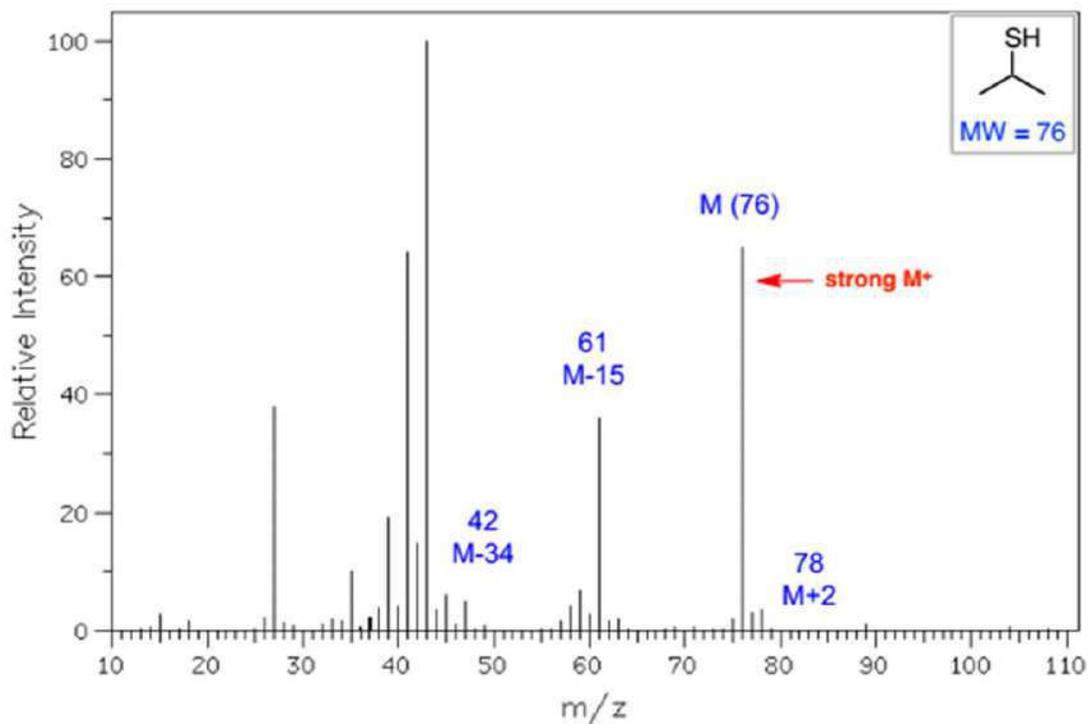
## Phenols

- Strong  $M^+$  peak
- May show strong  $[M-1]$
- Loss of  $C\equiv O$  ( $M-28$ ) and net loss of formyl radical ( $M-29$ )



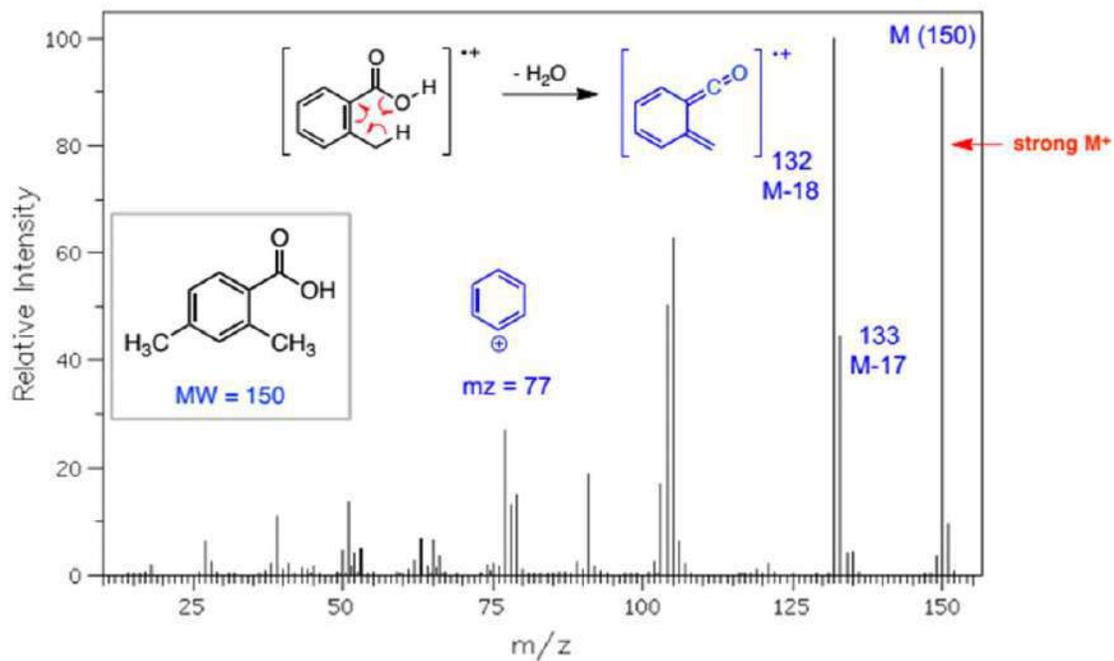
## Thiols

- $M^+$  more intense than that of corresponding alcohol
- Show significant  $M+2$  peak
- Fragmentation patterns similar to alcohols
- May lose hydrogen sulfide ( $M-34$ )



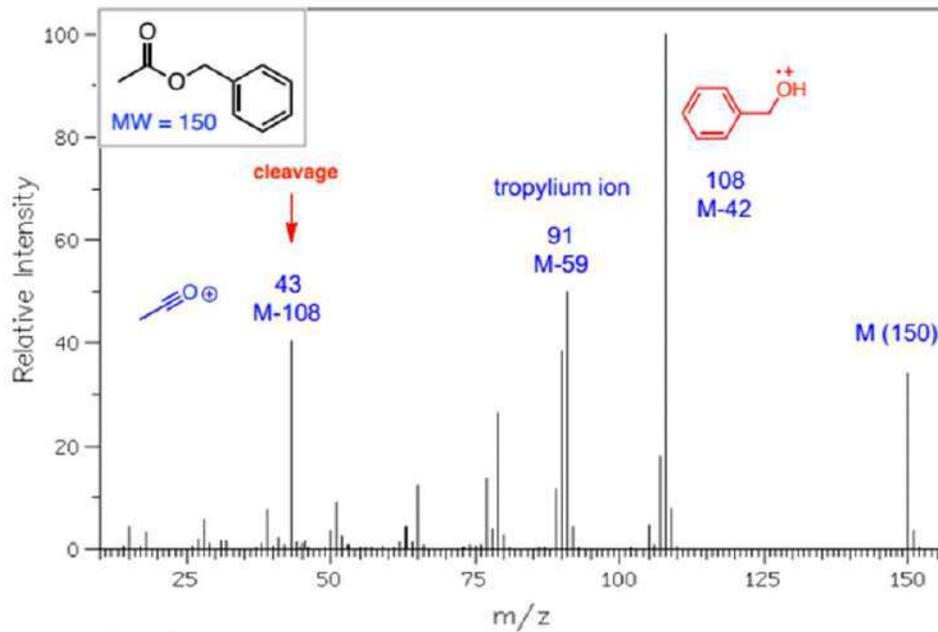
### Carboxylic Acids

- M<sup>+</sup> weak in aliphatic acids; stronger in aromatic acids
- Most important  $\alpha$ -cleavage involves loss of OH radical (M-17)
- McLafferty rearrangement in appropriately substituted systems ( $m/z = 60$  or higher)
- Dehydration can occur in o-alkyl benzoic acids (M-18)

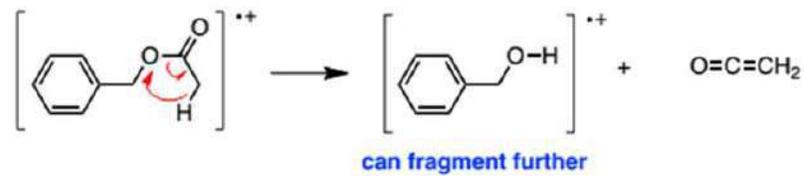


### Esters

- M<sup>+</sup> weak in most cases; aromatic esters give a stronger parent ion
- Loss of alkoxy radical more important of the cleavage reactions
- Loss of an alkyl radical by cleavage occurs mostly in methyl esters (m/z = 59)
- McLafferty rearrangements are possible on both alkyl and alkoxy sides
- Benzyloxy esters and o-alkyl benzoates fragment to lose ketene and alcohol, respectively

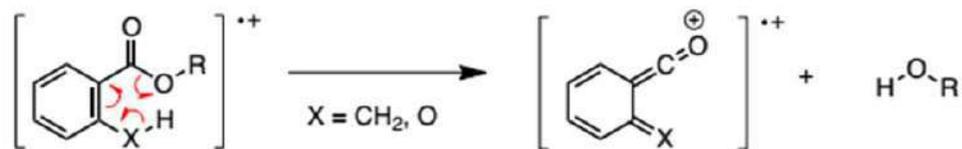


**Benzyl ester rearrangement**



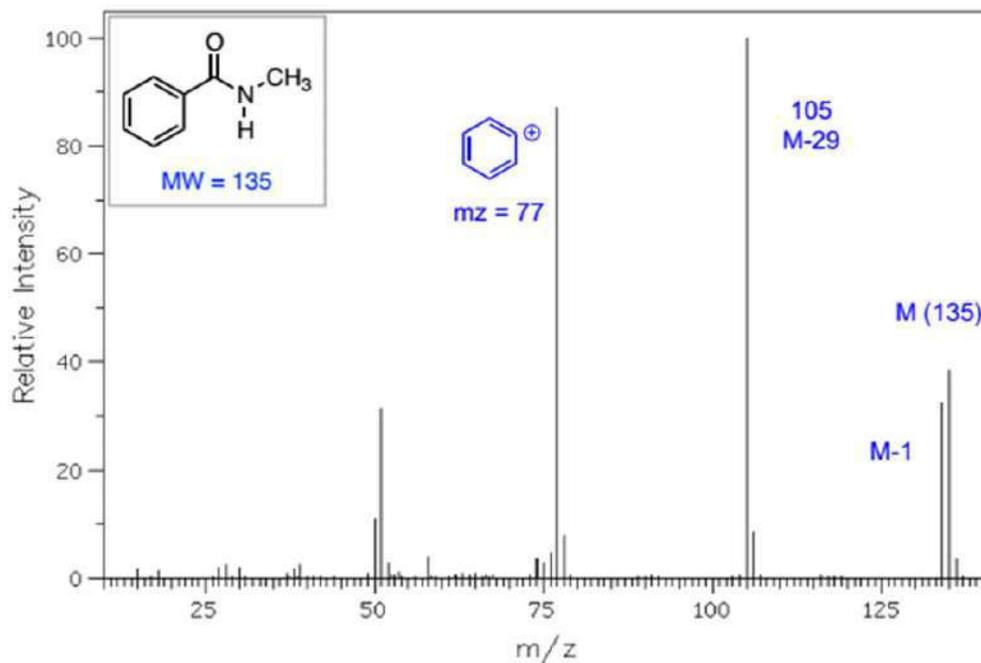
يفقد الاستر ذو البنية التالية جزء كحول وفق المخطط التالي:

**Loss of alcohol**



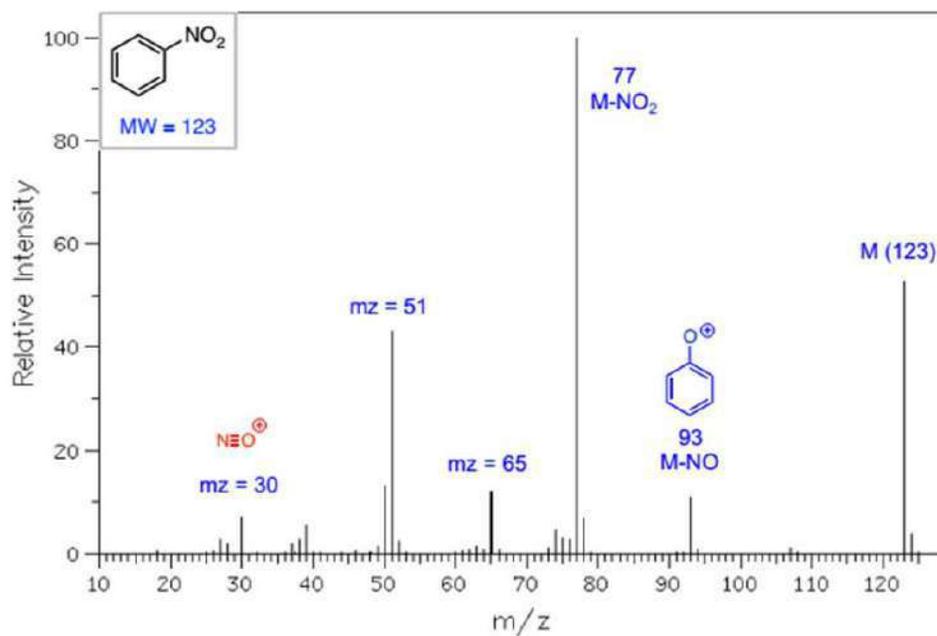
## Amides

- $M^+$  usually observed; Follow the Nitrogen Rule (odd # of N, odd MW)
- cleavage affords a specific ion for primary amides  $m/z = 44$
- McLafferty rearrangement observed when  $\gamma$ -hydrogens are present



## Nitro Compounds

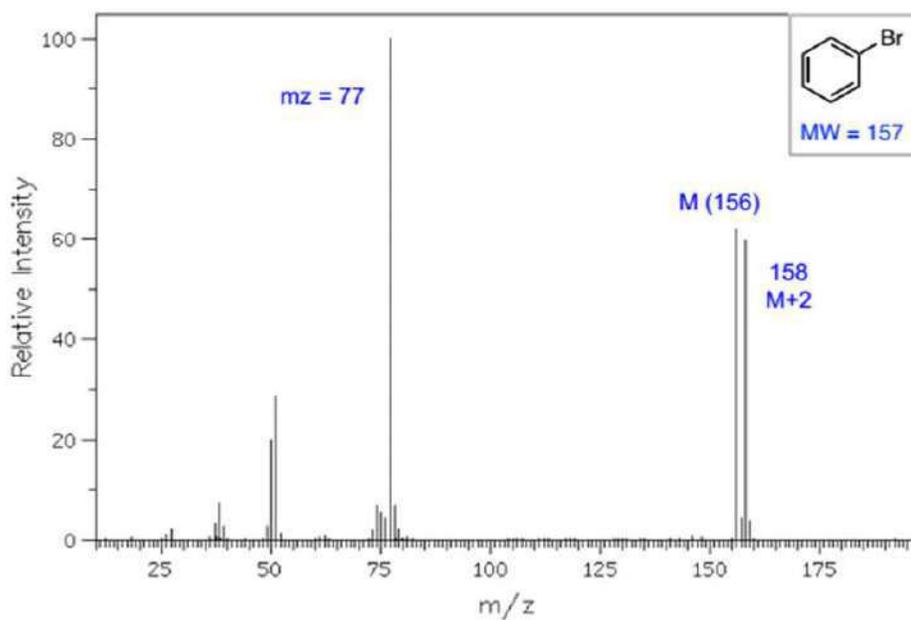
- $M^+$  almost never observed unless aromatic; follow nitrogen rule
- Principle degradation is loss of  $NO^+$  ( $m/z = 30$ ) and loss of  $NO_2^+$  ( $m/z = 46$ )
- Aromatic nitro compounds show additional fragmentation patterns



### Halides

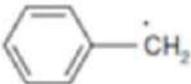
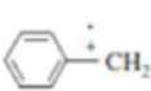
- $M^+$  often weak; stronger in aromatic halides
- chloro and bromo compounds show strong  $M+2$  peaks
 

Cl – M : M+2	3 : 1
Br – M : M+2	1 : 1
- principle fragmentation is loss of halogen
- Loss of HX also common



ملاحق هامة لطيف الكتلة:

Peak	Fragment lost	Interpretation
M-1	H <sup>•</sup>	aldehydes, 3° alcohols, cyclic amines
M-2	Multiple H <sup>•</sup>	2° alcohols
M-3	Multiple H <sup>•</sup>	1° alcohols
M-15	CH <sub>3</sub> <sup>•</sup>	methyl groups
M-17	HO <sup>•</sup>	alcohols, phenols, carboxylic acids
M-18	H <sub>2</sub> O	alcohols
M-26	HC≡CH	
M-27	<sup>•</sup> HC=CH <sub>2</sub>	
M-28	CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	cyclic alkanes, alkenes
		CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(=O)X [McLafferty rearr.]

Commonly lost fragments			
Fragment lost	Peak obtained	Fragment lost	Peak obtained
<sup>•</sup> CH <sub>3</sub>	M <sup>+</sup> - 15	<sup>•</sup> OCH <sub>3</sub>	M <sup>+</sup> - 31
<sup>•</sup> OH	M <sup>+</sup> - 17	<sup>•</sup> Cl	M <sup>+</sup> - 35
<sup>•</sup> CN	M <sup>+</sup> - 26	CH <sub>3</sub> C=O <sup>•</sup>	M <sup>+</sup> - 43
H <sub>2</sub> C=CH <sub>2</sub>	M <sup>+</sup> - 28	<sup>•</sup> OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	M <sup>+</sup> - 45
<sup>•</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	M <sup>+</sup> - 29		M <sup>+</sup> - 91
Common stable ions			
m/z values		Ion	
m/z = 43			
m/z = 91		 	
m/z = M <sup>+</sup> - 1			

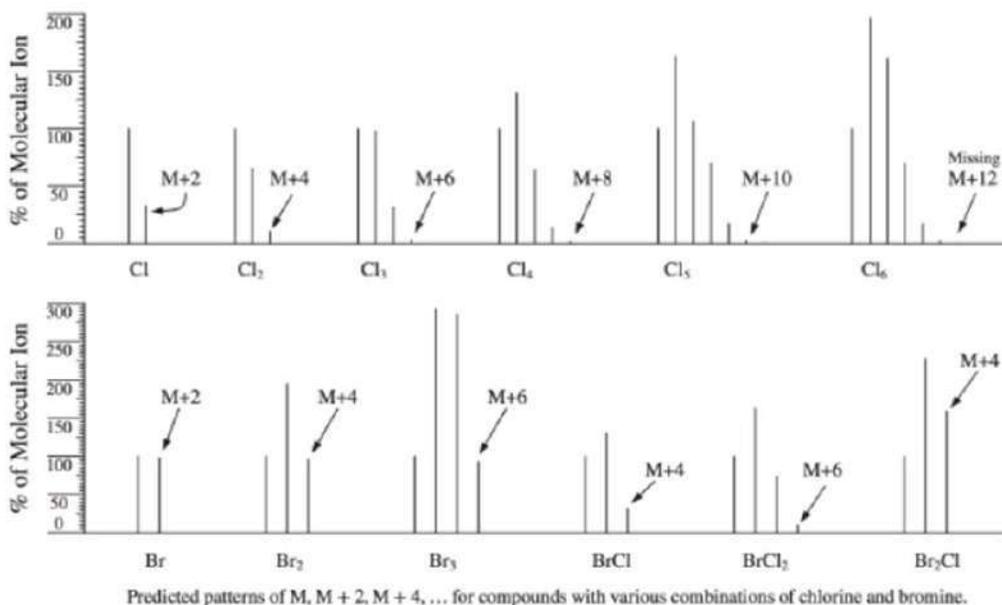
## قواعد تحديد بنية الأدوية :

-ننظر في طيف الكتلة للمركب المدروس وننظر إلى القمة  $M$  إذا كانت قيمتها فردية فيوجد لدينا عدد فردي من ذرات الأزوت نتابع وننظر إلى القمة  $M+1$  نقسم قيمة القمة على الرقم 1.1 فنحصل على عدد ذرات الكربون في المركب

ننظر إلى القمم  $M+2$  ونلاحظ وجودها من عدمه

Br	$M+2$ as large as $M^+$
Cl	$M+2$ a third as large as $M^+$
I	$I^+$ at 127
S	$M+2$ larger than usual (4% of $M^+$ )

نتابع تفحص طيف الكتلة ونلاحظ القمم الأعلى من  $M+2$  لكشف وجود الهالوجينات:



نكون قد حدنا بشكل أولي بنية الدواء وننتقل إلى الخطوة التالية

-ننظر في طيف ما تحت الأحمر ونلاحظ المناطق الهامة

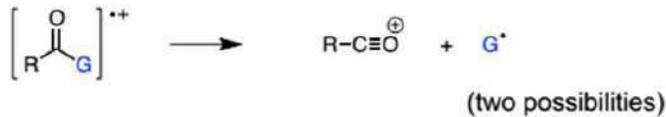
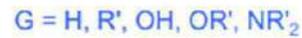
– هل توجد زمرة كربونيل ؟

تمطي زمرة C=O امتصاصا قويا في المنطقة (5.5-6.1 μ) 1820-1660 cm<sup>-1</sup>  
 القيمة تكون في أغلب الاحيان الاكثر قوة في الطيف وذات عرض متوسط  
 ولذا فالتعرف عليها أمر محتم •

نعود وننظر إلى طيف الكتلة :

### Carbonyl Compounds

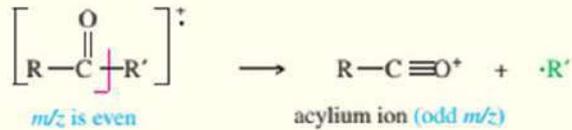
#### Common Fragmentation Modes



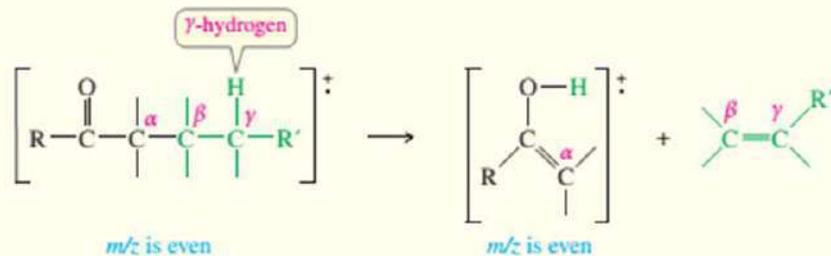
#### McLafferty rearrangement



*Ketones and aldehydes: loss of alkyl groups next to the carbon bearing the oxygen to give acylium ions*

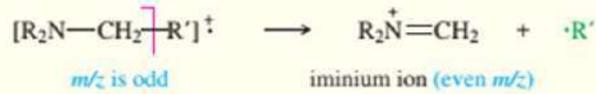


The McLafferty rearrangement splits out alkenes

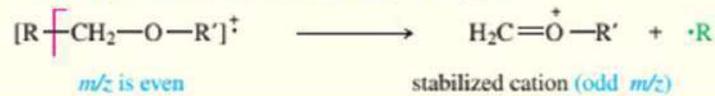
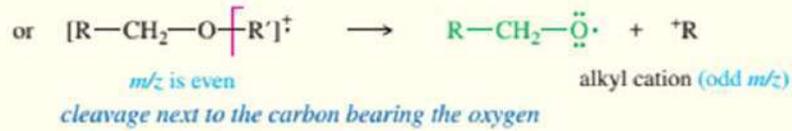
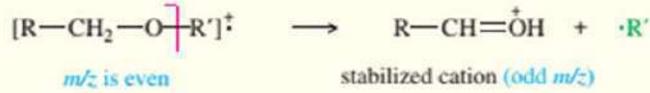




*Amines:* cleavage next to the carbon bearing the nitrogen to give stabilized cations

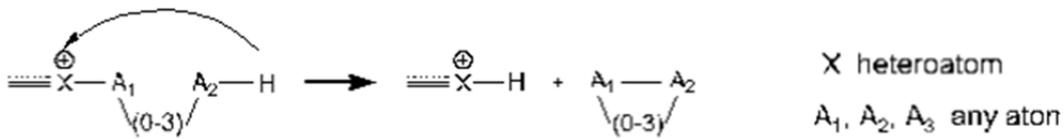
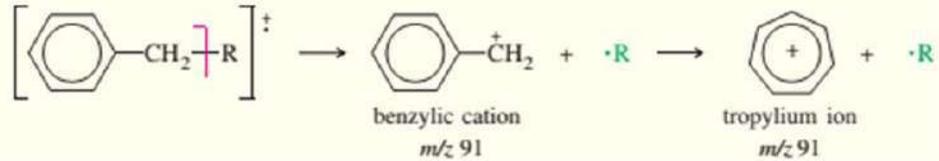
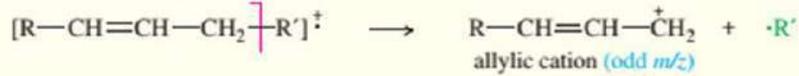


*Ethers:* loss of an alkyl group



ونتأكد من صحة اختيارنا لبنية الدواء من طيف NMR بروتون وكربون  
ملاحظة هامة في طيف الكتلة دائما نحصل على الكاتيون الأثبت ولذلك نلحظ القطع الهامة:

*Alkenes and aromatics:* cleavage to give allylic and benzylic carbocations

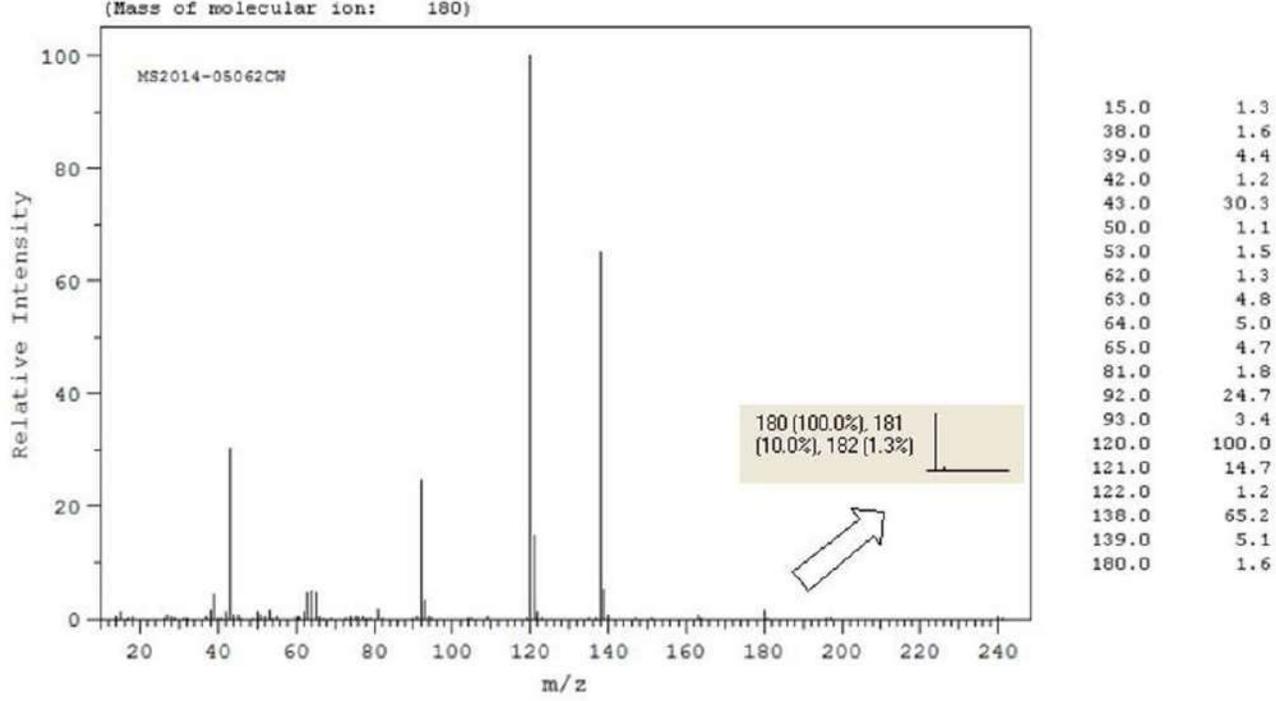


onium-reaction

ونتأكد من صحة اختيارنا بالعودة إلى طيف NMR بروتون وكربون

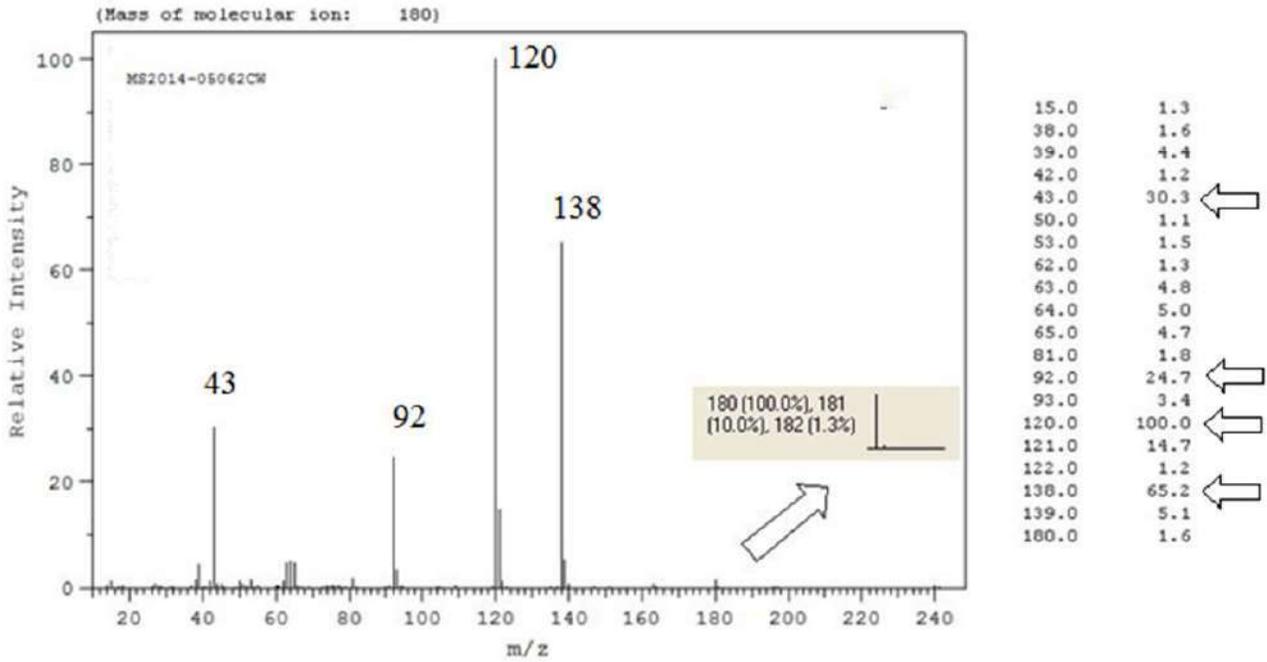
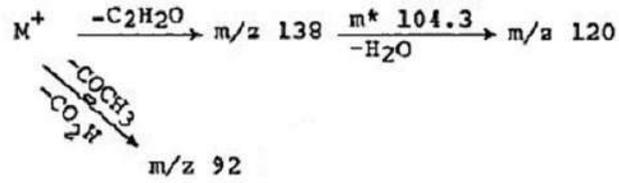
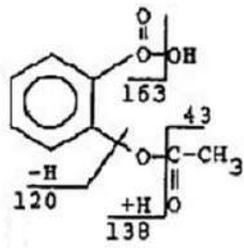
لندرس مثال الأسبرين:

اولا ننظر الى طيف الكتلة



ننظر الى القمة M+1 (181) شدة القمة 10% نقسم شدة القمة على 1.1% نسبة نظير الكربون 13 نحصل على عدد ذرات الكربون في المركب نحصل على القيمة 9 وهو عدد ذرات الكربون في المركب ولا وجود للقمة M+2 اولى اعلى فلا يوجد هالوجينات وهذا يتوافق مع بنية الكيميائية لأسبرين

نناقش القمم الأساسية في الاسبرين



وتمت مناقشة طيف IR و NMR سابقا.