

核磁共振样品及处理规范

核磁共振仪广泛用于有机物的结构测定，化学反应动力学，高分子化学以及医学，药理学和生物学等领域。其原理是具有磁距的原子核在高强度磁场作用下，可吸收适宜频率的电磁辐射，而不同分子中原子核的化学环境不同，将会有不同的共振频率，产生不同的共振谱。记录这种波谱即可判断该原子在分子中所处的位置及相对数目，用于有机化合物进行结构分析。同时还可以直接研究溶液和活细胞中分子量较小(20 kDa 以下)的蛋白质、核酸以及其他分子的结构，而不损伤细胞。

一. 核磁共振仪对所测样品要求

- 1.1 样品纯度需 $\geq 95\%$ ，无铁屑、灰尘、滤纸毛等杂质。确定纯度的方法有如下几种：
薄层层析，在三种不同的展开剂体系中，在 Rf 值约为 0.5 时，都是一个点；测定熔点：样品的熔程在 1-2 $^{\circ}\text{C}$ 范围内，则视为符合要求；HPLC 分析：在不同的溶剂体系和不同的扫描波长下，样品均成一对称的色谱峰。
- 1.2 样品需要在真空干燥器中，用油泵抽 12-24 小时除掉氯仿，甲醇，丙酮，石油醚等常见溶剂，否则会有残留，影响谱图结果。建议在使用石油醚时，在样品纯化最后阶段使用低沸点石油醚（30-60 $^{\circ}\text{C}$ ），尽量不要使用高沸点石油醚（60-90 $^{\circ}\text{C}$ ），因为高沸点石油醚会有少量高级脂肪醇，很难除掉，会在 1.26(^1H)和 29(^{13}C)出现杂质峰而影响谱图质量。
- 1.3 对氢谱，样品浓度一般在 10^{-2} - 10^{-4} M (1mg) 之间均可，由于碳的灵敏度低，样品浓度至少 10^{-2} M (5mg 左右)，对于二维谱而言，样品量越多越好，因为 NMR 不损耗样品，可以把所有纯的样品收集起来做 NMR，可以节约费用。
- 1.4 氘代试剂的选择：在 NMR 中，采用氘核内锁稳定磁场，起锁场的作用，其选择原则：样品在其中有高的溶解性；在所感兴趣的波谱范围内没有溶剂峰；在做变温实验的温度范围内保持液体状态；粘度低；不破坏样品结构。在以上原则下，优先选择氘代氯仿做氘代试剂，尽量不要选用 DMSO 等难回收氘代试剂。在送样前，需试样品的溶解性，以便确定氘代试剂。
- 1.5 氘代试剂的量：一般样品的溶剂量应该在 0.5mL，大概在核磁管中的长度为 4CM 左右。溶剂量太小了会影响匀场，进而影响实验的速度，和谱图的效果；溶剂量太大了，就太浪费。
- 1.6 除氧：在高分辨结构和弛豫研究中除氧是极为重要的（特别是确定有机小分子的相对立体构型的 NOESY 和 ROESY 谱），溶解在溶液中的分子氧具有顺磁性，它会极大的减少弛豫时间，必须将氧除去。除氧的方法通常有两种，一种叫冰冻-抽真空-融化：即把样品放在 NMR 样品管内冰冻，然后抽真空，融化，重复上述过程四次，最后在真空中将管口封住。另一种方法是将氮气或氦气，氦气强迫通过整个样品体积把氧除掉。
- 1.7 核磁管选用：尽量选用优质核磁管，最好不要在核磁管上乱贴标签，这会导致核磁管轴向的不均衡，在样品旋转的时候影响分辨率，还有可能打碎核磁管造成重大损失。

二. 核磁共振样品回收处理规范

- 2.1 对于普通氘代试剂如氯仿，丙酮，甲醇等容易挥发的溶剂，先把样品从核磁管中倒出至青霉素小瓶中，可以用氮气用排管吹干，然后保存样品即可。

- 2.2 对于难挥发的氘代试剂如 DMSO, DMF 等, 可采用如下方法:
- 2.2.1 把 DMSO 溶解的样品倒出后, 以其 10 倍的蒸馏水少量多次洗涤核磁管后, 于低温中冷冻结冰, 然后转移至冷冻干燥机上冻干即可, 同时为了维护冷冻干燥机的使用寿命, 建议集中样品同时处理为好。
- 2.2.2 可用 ODS 小柱处理回收 DMSO 溶解核磁样品: 用 20mL 的注射器装 ODS 柱子, 氘代 DMSO 溶解样品上样, 用水冲去 DMSO 溶剂, 样品保留在 ODS 柱上, 用 CH₃OH 把样品冲下即可回收样品。
- 2.2.3 可把样品从核磁管倒至一洁净蒸发皿上, 然后把蒸发皿置于 60-70°C 水浴上, 用高纯氮吹干即可, 这种方法对那些比较稳定的物质比较有效。
- 2.2.4 把回收样品用甲醇等溶剂稀释后, 通过制备 HPLC 制备回收样品。
- 2.3 对处理完溶剂的样品, 应干燥密封保存, 便于结构测定的 MS, IR 以及药理活性测试。

修改于二零一零年三月