

药物的 波谱解析

主编 彭师奇

高等教育出版社



药物的 波谱解析

Yaowu de Bopu Jiexi

主编 彭师奇

高等教育出版社·北京

内容提要

本书以药物为体系,从分子中原子与原子连接的次序、分子中原子及官能团的连接次序和方式、分子中原子及官能团因共价连接形成的空间排布,以及分子中单键连接的相邻原子上的原子及官能团因单键旋转形成的空间关系四个层次上介绍了NMR、IR、UV、CD和MS在结构测定中的应用。书中用大量图谱映射与四大光谱相关的基础知识、基本技能、技术进展和新型仪器,即可作为高等学校本科生和研究生的教材,又可作为药学、生物学、医学及相关学科研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

药物的波谱解析 / 彭师奇主编. --北京:高等教育出版社, 2014. 8

ISBN 978-7-04-039931-8

I. ①药… II. ①彭 III. ①药物分析-波谱分析-高等学校-教材 IV. ①R917

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第136894号

策划编辑 周岳峰
插图绘制 杜晓丹

责任编辑 周岳峰
责任校对 刁丽丽

封面设计 于文燕
责任印制 刘思涵

版式设计 范晓红

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印 刷 山东省高唐印刷有限责任公司
开 本 787 mm × 1092 mm 1/16
印 张 23.25
字 数 560千字
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版 次 2014年8月第1版
印 次 2014年8月第1次印刷
定 价 36.20元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物料号 39931-00

新药研究和新药开发是国际竞争最激烈的领域之一,由新药引发的经济效益和社会效益不是简单的文字或语言能阐明的论题。说经济萧条从不波及医药市场,说地球上的生物无一可能离开药物,绝非耸人听闻。西方发达国家一贯把制药工业作为支柱产业扶持,在 21 世纪国际经济竞争的主战场上,新药研究和开发无疑是一条重要战线。

改革开放以来,一方面国外新药像潮水一样涌入我国市场,一方面对知识产权实行保护措施基本阻断了药品仿制渠道。我国制药工业背着沉重的包袱,开始调整产业结构。按照国家经济发展需要,药学教育一直在进行相应的改革。建设合乎新药研究与开发要求的学科群,被视为教学安排的基点。化学学科、药学学科、医学学科及生物学科四大学科群体在药学教学中的权重不断调整。今后的学时分配将进一步向药学、医学和生物学学科群倾斜。在学制定限的时间里,向学生输送学科覆盖面如此广阔的知识,单纯的课堂教学必定束手无策。改革现有教材使学生获得自我发展的能力,是出路之一。

本书的基本目标就是为高等学校本科生和研究生提供药物结构测定的现代知识与技能。紫外、红外、核磁和质谱习惯叫四大光谱。新药的四大光谱数据是新药申报的必要文件之一。药学研究人员若不懂四大光谱,后果不堪设想。“药物的波谱解析”由药物化学教师讲授,并非偶然。该事实充分反映了本课程的知识对于药学工作者的重要性,读者应从中得到一些启迪。

在过去的教学中,我们既熟悉了新药研究对波谱的最基本的要求,又熟悉了学生学习的普遍难点。在编写本教材的 1998 年的版本时,为满足这两个方面的要求,在选材、阐述和表达上着力进行斟酌。为了培养学生的自我开拓能力,与药物有关的图谱数量比普通的波谱教材多些,尤其在图题下对图谱作了必要的讲述。为了使学生把握各章的重点,每章都加了摘要,这些显示了与一般教材的差别。为了满足学生学习天然药物化学课程的需要,比较扼要介绍了¹³C 核磁共振光谱。整整 16 年之后编写新版本,我们既保留刚刚提到的 1998 年版本的优点,又增加了与药物相关的图谱和新技术。

在大学教育中,教材占有重要地位。与专著不一样,教材不仅要考虑授课对象,还要考虑它自身在整个课程设置中的地位,与其他课程的关系,以及核定的教学时数等。不论社会如何发展,学科如何发展,本科教育如何发展,培养学生的基本技能、给学生讲授基础理论、为学生提供基础知识应当是编写教材的基本原则。本书编写中就是贯穿了这种认识。不过,这个版本采用的新图谱和介绍的新技术又包含了专著的元素。于是,这个版本还可以作为研究人员的参考书。我们坚信,虽然每时每刻都有新知识和新素材问世,一本书不可能面面俱到地介绍庞杂的内容,但读者只要把握住基本概念,掌握好基本技能,理解透新技术,就具备了自我发展能力,未来便可以自如地接受新知识,掌握新技能。

彭师奇

二零一三年十二月

郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任；构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话 (010) 58581897 58582371 58581879

反盗版举报传真 (010) 82086060

反盗版举报邮箱 dd@hep.com.cn

通信地址 北京市西城区德外大街4号 高等教育出版社法务部

邮政编码 100120

短信防伪说明

本图书采用出版物短信防伪系统，用户购书后刮开封底防伪密码涂层，将16位防伪密码发送短信至106695881280，免费查询所购图书真伪。

反盗版短信举报

编辑短信“JB，图书名称，出版社，购买地点”发送至10669588128

短信防伪客服电话

(010) 58582300

绪 论 ——结构测定与新药研究	1	第二章 红外吸收光谱	
一、相对分子质量和分子式	3	Infrared Spectroscopy (IR)	36
二、结构测定中的光谱方法	4	第一节 基本概念	40
三、新药药理学指导原则对光谱的要求	6	一、分子的振动和转动能级	40
第一章 紫外-可见吸收光谱		二、红外吸收光谱的来源	40
UV/ Vis Spectroscopy	7	三、分子的振动模型	41
第一节 基本原理和基本概念	8	四、谐振子与真实分子的非谐性	43
一、紫外-可见吸收光谱涉及的波长范围	8	五、简正振动与红外吸收光谱	44
二、紫外吸收光谱的表示方法	9	六、简正振动类型	47
三、Beer-Lambert 定律	9	七、选律、基频、倍频和组频	49
四、紫外-可见分光光度计	11	八、双原子分子的转动	52
五、电子跃迁类型与化合物类型	11	九、振-转光谱	53
六、紫外吸收光谱中的重要术语	14	第二节 官能团与特征频率	55
七、由不同跃迁产生的 UV 吸收带	16	一、官能团特征频率的计算	56
八、溶剂效应	17	二、特征频率	56
第二节 药物的紫外吸收光谱	18	三、区间	57
一、饱和烃	19	四、红外谱图	58
二、脂肪醇、胺和卤化物	19	五、影响官能团特征频率的因素	58
三、不饱和烃	19	第三节 红外吸收光谱实验技术	67
四、羰基化合物	29	一、仪器与设备	67
五、硝基和亚硝基化合物	30	二、被测样品及预处理	68
第三节 紫外吸收光谱的应用	30	第四节 各类化合物的特征吸收带	72
一、推测官能团	30	一、烃类化合物的特征吸收带	72
二、推测异构体	31	二、醇和酚的特征吸收带	93
三、受 pH 的影响	31	三、醚及其类似物的特征吸收带	98
四、紫外吸收光谱在药物研究中的应用	32	四、胺的特征吸收带	103
第四节 实验部分	32	五、铵盐	106
一、紫外-可见吸收光谱仪	33	六、羰基化合物的特征吸收带	107
二、实验技术	34	七、含氮化合物	137
三、溶剂的选择	34	八、有机含硫化合物	141
习题	34	九、卤化物	143

十、含磷化合物	143	第七节 解析氢谱的辅助技术	236
习题	145	一、双照射技术	236
第三章 核磁共振氢谱	150	二、改变磁场强度	237
第一节 基本概念	151	三、重氢交换	238
一、原子核的自旋量子数	152	四、位移试剂	240
二、原子核的磁量子数	153	五、溶剂效应	241
三、原子核的自旋角动量	153	六、形成铵盐法	241
四、核磁矩	154	七、核 Overhauser 效应 (NOE)	242
五、原子核的进动	154	习题	243
六、塞曼 (Zeeman) 效应	154	第四章 ^{13}C 核磁共振谱	249
七、拉莫频率	155	第一节 脉冲傅里叶变换技术 (PFT)	250
八、核磁共振条件	155	第二节 ^{13}C 核磁共振中的去耦及	
九、获得核磁信号	156	相关技术	253
十、玻耳兹曼分布	156	一、质子宽带去耦	253
十一、弛豫过程	157	二、质子偏共振去耦	254
第二节 实验仪器和实验方法	160	三、APT 与 DEPT	256
一、实验仪器	160	四、选择性质子去耦	257
二、样品的准备	161	五、门控去耦	258
三、溶剂的选择	162	六、反门控去耦	259
四、内标的选择	163	七、氘代	260
五、实验方法	163	八、位移试剂	260
第三节 化学位移	164	第三节 弛豫时间	260
一、产生化学位移的原因	165	一、自旋-晶格弛豫 (T_1)	261
二、谱图中的化学位移及其表示方法	167	二、自旋-自旋弛豫 (T_2)	264
三、化学位移与分子结构的关系	169	三、分子运动速度和弛豫时间	265
四、质子化学位移的计算	193	四、弛豫时间和药物结构的关系	265
第四节 NMR 谱中的积分曲线	199	五、弛豫时间的测量	267
一、按积分曲线的高度计算	200	第四节 ^{13}C 的化学位移	271
二、按积分曲线的格数计算	200	一、烷烃 ^{13}C 的化学位移	271
三、按积分曲线的面积计算	200	二、烯烃中 ^{13}C 的化学位移	277
第五节 自旋耦合	201	三、炔烃中 ^{13}C 的化学位移	280
一、基本概念	202	四、芳烃中 ^{13}C 的化学位移	281
二、耦合机制	203	五、羰基化合物 ^{13}C 的化学位移	284
三、质子的耦合常数	208	第五节 碳谱中的耦合常数	286
第六节 自旋系统与氢谱谱线	217	第六节 二维核磁共振	288
一、位移等价质子	217	习题	293
二、磁等价质子	222	第五章 质谱	299
三、自旋系统的命名与谱图的级别	223	第一节 原理和仪器	299

一、原理	299	二、裂解中按两种方式消除	321
二、仪器	301	三、裂解过程对结构的依赖性	322
三、质谱表示法	304	第四节 药物的结构类型与质谱	330
四、分辨率	305	一、烃类的质谱	330
第二节 质谱中的主要离子类型	306	二、醇和酚的质谱	333
一、正电荷离子的表示方法	306	三、醚的质谱	339
二、分子离子	306	四、醛和酮类的质谱	344
三、增强分子离子峰的措施	308	五、羧酸和羧酸酯的质谱	347
四、同位素离子	314	六、胺的质谱	349
五、Beynon 表及应用	317	七、酰胺的质谱	353
六、亚稳离子	319	八、腈的质谱	354
七、重排离子	320	九、硝基化合物的质谱	355
八、多电荷离子	320	十、卤化物的质谱	356
第三节 裂解	320	十一、硫化物的质谱	358
一、共价键按三种方式裂解	320		

——结构测定与新药研究

摘要：早期依赖的与理化性质相关的数据，例如测定化合物的熔点、沸点、旋光度、折射率，等等，已经远远不能满足日趋复杂的结构测定要求。随着科学技术的进步，四大光谱已经成为确定化合物结构的有力手段，结构测定依据的实验数据不断完善。新化学单体，如果没有完备的光谱数据和元素分析的结果，20年前就很难被同行认可。新药申报文件对光谱提出了详尽要求，这些要求具有权威性。本书的原始版本于1998年与读者见面，至今已有16个春秋。为了聚焦结构测定对药物研究的贡献，本书既更新了谱图又补充了方法。

在不同的层次上，药物结构有不同的含义。在最基本的层次上，结构是指原子之间键合的次序。例如，虽然3-甲基环己基-1-甲酸、4-甲基环己基-1-甲酸，以及3-羟基-4-甲基环己基-1-甲酸的分子式都是 $C_8H_{14}O_2$ ，但是它们的结构明显不同（见图0.1）。从图0.1中的3个结构上看，结构0.1的化合物和结构0.2的化合物互为位置异构体，结构0.3的化合物是结构0.1化合物和结构0.2化合物的功能基异构体。这三个化合物的原子键合不同，分子结构不同。这种分子式相同而结构不同的化合物称为结构异构体。应当说这是最基本层次上的结构含义。

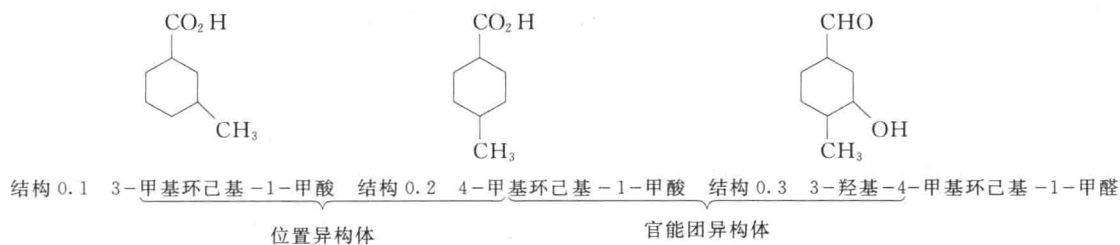


图 0.1 $C_8H_{14}O_2$ 的三种同分异构体

在第二个层次上，结构是指分子中原子及官能团的连接次序和方式。例如，在4-甲基环己基-1-甲酸中，甲基和羧基可以位于六元环的同侧或异侧，得到顺式和反式两种结构（见图0.2中结构0.4和结构0.5）。这两个分子中原子的连接次序相同，只是官能团在空间中的排布不同，这两个化合物在立体化学上称为顺反异构体。顺式4-甲基环己基-1-甲酸和反式4-甲基环己基-1-甲酸在立体化学中又叫做几何异构体，它们互为非对映异构体。应当说这是第二个层次上的结构含义。



图 0.2 4-甲基环己基-1-甲酸的顺反异构体

在第三个层次上,结构是指分子中原子及官能团因共价连接形成的空间排布。一个碳原子上共价连接的四种原子或官能团因空间排布可形成对映异构。对映异构是一类重要的立体异构现象。即使最简单的一对对映异构体也不能相互重叠。例如,3-甲基环己基-1-甲酸的反式和顺式都存在对映异构体。应当说这是第三个层次上的结构含义。

在第四个层次上,结构是指分子中单键连接的相邻原子上的原子及官能团因单键旋转形成的空间关系。单键旋转带来的空间关系改变可形成构象异构。在受体配体相互作用中构象异构是非常重要的立体异构现象。例如,4-甲基环己基-1-甲酸的顺、反两种异构体都可以取椅式构象,顺式异构体分子中的甲基处于 *e* 键和 *a* 键时分别产生两种异构体,*e*-甲基-*a*-羧基环己烷和 *a*-甲基-*e*-羧基环己烷。这两种异构体是绕单键旋转的产物,更确切地说是环翻转的产物,称为构象异构体(见图 0.3)。应当说这是第四个层次上的结构含义。

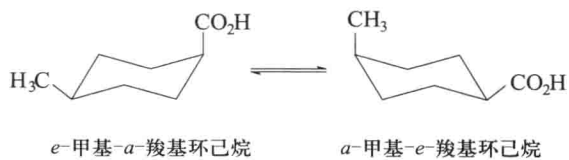


图 0.3 环翻转形成的构象异构体

以上分析说明,一种分子式可以包含多种完全不同的异构现象(见图 0.4),这些异构现象必然是结构测定的基本对象和目标。同理,把握各种异构现象可以较好地完成结构测定。

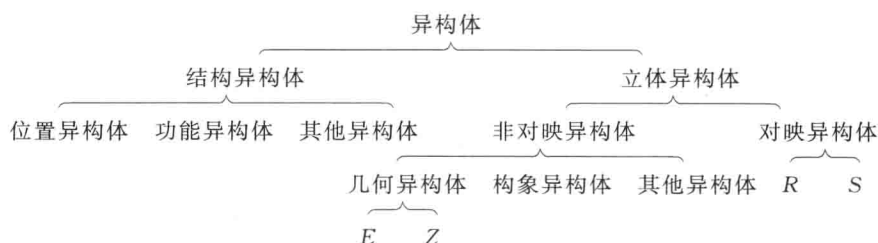


图 0.4 分子式中隐含的各种异构现象

细致地讲,分子结构可用包括键长、键角和扭角在内的参数来描述。这些参数反过来又反映分子的连接程度、连接方式和空间关系。对于手性分子,立体化学结构也包括绝对构型,即 *R* 和 *S*。

药物化学不总是使用 X 射线衍射技术、电子散射以及微波谱等进行结构鉴定。原因是多方面的,包括分子过于复杂或纯度不合乎要求、没有适用的仪器、分子的形态与方法不匹配。例如,液体样品不适合做 X 射线衍射(X 射线衍射需要样品是单晶,液态或气态样品都不合适)。本书介绍的四大光谱,即紫外-可见吸收光谱、红外吸收光谱、核磁共振光谱以及质谱是结构鉴定的基本手段,适合测定各种物态的样品。基本配置的四大光谱仪已经普及,最容易得到最直接的结果。根据四大光谱提供的信息,药物化学家可确定分子结构,即确定分子式、官能团类型和位置、

氢原子和碳原子的种类和数量、手性碳原子的构型以及分子的构象。

一、相对分子质量和分子式

大多结构测定的首要任务是,确定药物的相对分子质量和分子式。测定药物相对分子质量的方法多种多样,例如凝固点降低法、熔点降低法、沸点升高法以及蒸气压测定。物理化学的实验教材中对这些方法有详细的描述,它们的特点是不需要贵重的仪器和设备。不过,这些方法不像质谱测定药物相对分子质量那样可靠、方便、容易、直接和快捷。高分辨质谱仪测定的相对分子质量可以达到6位或7位有效数字。由于碳、氢、氧和氮的相对原子质量不是整数,所以小数点后的数字成为确定原子的可靠依据。于是,精确的相对分子质量几乎可对应唯一的原子组合。同样,从表或数据库中得到的精确相对分子质量对应唯一的分子式。

药物化学家测定相对分子质量的更经典的方法是通过定量元素分析求出经验式(元素的最小整数比),该经验式通过一个公共因子与分子式关联。元素分析对于结构测定是不可缺少的证据。报道新化合物时,几乎所有的刊物都要求提供元素分析。原子的百分数(x)被相对原子质量(A_r)除,得到分子中该元素的相对原子当量($E=x/A_r$)。如果按所述的方法计算,即可求出分子中所有元素的相对原子当量。得到的相对原子当量 E 、 Ei' 、 E'' 被最小的相对原子当量除,例如被 E'' 除,使之转化为 E/E'' 、 Ei'/E'' 、1.0。然后,这些数值与最小的整数 n 相乘,得到所有数值的整数: nE/E'' 、 nEi'/E'' 、 n ,过程见表 0-1。

表 0-1 从元素分析推导分子式的过程

	碳	氢	氧
原子的摩尔分数(x)/%	48.57	8.19	43.24
相对原子当量($E=x/A_r$)	48.57/12.01=4.04	8.19/1.01=8.12	43.24/16.00=2.70
最简比例(E/E'')	4.04/2.70=1.50	8.12/2.70=3.01	2.70/2.70=1.00
整数(nE/E'')	2×1.50=3	2×3.01=6	2×1.00=2
经验式	C ₃	H ₆	O ₂

按照表 0-1 算得的结果就是经验式。因为分子式可以是经验式的倍数,所以经验式是不确切的结果。用这种计算方式区别碳或氢差别比较小的分子时,比较困难。受实验误差的影响较大,对样品的纯度要求也较高。由于这些原因,应优先使用高分辨质谱仪测定相对分子质量。此外,元素分析对于被测定的化合物的纯度要求也很苛刻。

分子式本身提供的结构信息超出元素个体。在烷烃中引入一个双键或环,氢原子数减少。结果都引入了不饱和位点。直链烷烃的通式是 C_nH_{2n+2} ,而烯烃是 C_nH_{2n} 。仔细检查分子式可以认定不饱和位点数目。一个双键是一个不饱和位点、一个环是一个不饱和位点、一个三键是两个不饱和位点。分子的不饱和位点数目由下式计算:

$$U = C + 1 - \frac{1}{2}(X - N)$$

\uparrow \uparrow \uparrow \uparrow
 四价原子的数目 三价原子的数目
 一价原子的数目
 不饱和度

式中 C 是四价元素的原子数, 如碳原子和硅原子等; X 是一价元素的原子数, 如氢原子和卤素原子等; N 是三价元素的原子数, 如氮原子和磷原子等。烷烃的不饱和度为零; 二价元素, 例如氧原子和硫原子等只增加键长, 不增加不饱和度, 不出现在通式中; 三价元素加氢; 一价元素减氢。例如, 4-甲基环己-1-甲酸、3-甲基环己-1-甲酸和 3-羟基-4-甲基环己-1-甲醛的通式都是 $C_8H_{14}O_2$, 它们的不饱和度都是 2, 一个不饱和度来自环, 另一个不饱和度来自羰基的 π 键。

化学反应生成新化合物的过程, 往往可以为确定分子结构提供一些重要的相关信息。也就是说, 每步药物合成反应的产物通常可以预测, 或者至少可以限定在一定的范围内。因此, 在完成元素分析和光谱测定之前, 药物合成反应可以提供客观的信息。例如, 含环己烷的化合物氢化时不会涉及环本身; 含氮和卤素的酯与格氏试剂加成时, 一定不会改变氮和卤素的含量; 消除反应(见图 0.5)因离去基的脱除而生成的新化合物应该有新的双键。虽然这些推演不言自明, 但它们都会在事实上为光谱建构分子的剩余部分提供基础。

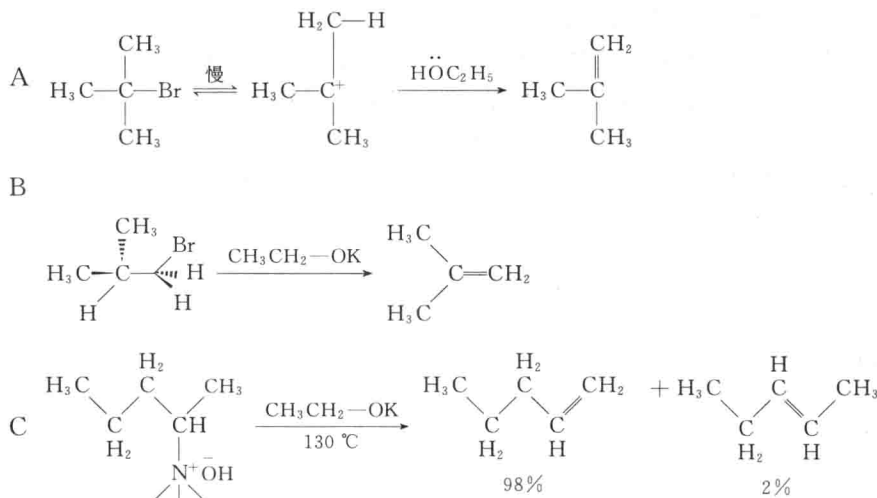


图 0.5 三个消除反应

二、结构测定中的光谱方法

(一) 核磁共振谱(NMR)

测定 NMR 可以获得与磁核的类型及数量有关的信息。例如, 测定 NMR 可以知道 $^1\text{C}^1\text{H}_3^2\text{C}^2\text{H}_2\text{O}^3\text{H}$ 中有比例为 1:1 的两类碳和比例为 3:2:1 的三类氢。NMR 实验包括改变活泼自旋核的自旋状态, 检测的最普通的核是氢核(^1H)和碳核(^{13}C)。NMR 实验可以提供各自旋核的化学位移值, 通过分析化学位移值可以推导出药物分子的部分结构, 乃至整个分子中碳的连接方式。测得的耦合常数可以映射碳核的相互作用, 进一步提供分子的亚结构信息。由于耦合常数还依赖于分子相互作用的碳核之间的距离, 所以还可以获得分子的立体化学信息。此外, 药物合成反应可以使核在分子内移动或在分子间移动, 于是 NMR 被用来跟踪许多药物合成反应类型。虽然 NMR 实验适于任何物态的药物分子, 但常规实验通常使用溶液。NMR 实验样品用量是毫克级, 样品纯度要求较高。实际上, NMR 是药物结构解析的最一般手段。当然, 无机分子和生物有机分子的结构也可以用 NMR 测定。

(二) 红外吸收光谱 (IR)

分子的红外吸收光谱源于分子内基团振动。红外吸收光谱可以提供与药物分子结构及结构的对称性等有关的信息。由于红外吸收光谱样品容易制备,操作仪器比较简单,所以应用非常广泛。此外,小型棱镜红外吸收光谱仪的价格也十分便宜。

任何药物分子的红外吸收光谱都像指纹一样具有唯一性,从而可用于化合物的鉴别。一些官能团的振动不仅在相对确切的波数区间出现特征吸收,而且该特征吸收变化受其他因素影响发生变化的幅度较小,因此红外吸收光谱特别适合鉴别分子中存在的官能团。例如,一旦在 $1600\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 区间有强吸收,就可以判断分子中存在羰基。

在 NMR 提供分子骨架中碳和氢信息的基础上,红外吸收光谱进一步提供重要的亚结构信息。近年来迅猛发展的计算机技术使得傅里叶变换技术在红外吸收光谱中实用化。当然,无论获得药物分子红外吸收光谱的手段先进到什么程度,永远都离不开解谱过程。

(三) 紫外-可见吸收光谱 (UV/Vis) 和圆二色散谱 (CD)

电子吸收光谱能够确定分子中的电子从基态向激发态跃迁的能量和概率。这里说的跃迁包括电子从最高占有轨道向最低空轨道跃迁。因为药物分子都包括确切的占有轨道和空轨道,所以有各种从基态向激发态的跃迁。在电磁波的紫外和可见光照射下,分子可以产生多种相关跃迁。与跃迁相对应的结构信息既可透过吸收光谱来显示,亦或透过圆二色散谱获得。后者对于手性药物更加敏感。紫外-可见吸收光谱和圆二色散谱都来自相同的光物理过程。即分子从电磁波获得能量,电子从基态向激发态跃迁。正因为如此,紫外-可见吸收光谱和圆二色散谱,以及旋光色散谱 (ORD) 都可为确定结构提供比较精确的信息。

紫外-可见吸收光谱和圆二色散谱可定性地确定一些官能团。例如一些生色团便可从吸收带的位置和强度来判断。此外,它们还可用于测定相邻生色团。这是指通过吸收带位置的移动,判断某官能团与相邻官能团相互作用。例如,与羰基共轭的双键的吸收带会向长波方向移动。该特点可用于跟踪使生色团发生变化的化学反应和光化学反应。

根据手性规则,圆二色散谱可确定药物分子的绝对构型。这些方法也可以用于定量分析。例如,用于测定溶液的浓度,从而跟踪反应动力学,测定平衡常数。这类测定有极高的灵敏度,甚至可以测定浓度低至 10^{-9} M 的溶液。

(四) 质谱 (MS)

质谱用于检测气相离子。这种气相离子是电子撞击分子产生的。质谱提供的相对分子质量包括近似相对分子质量(最接近的整数)和精确相对分子质量(5 位以上的有效数字)两类。除完整的分子离子外,在电子撞击下分子常常生成碎片离子。根据碎片离子,可以拼凑分子结构。质谱实验,包括气相下生成的离子,可测定离子的质荷比和相对丰度。一系列以电场或磁场性质为基础的技术中的任何一种技术,都可以完成这些测定。同位素由于质量不同,可以被质谱仪识别。这样一来,便可以对含稳定同位素的药物分子进行定性或定量分析。

任何物态的药物分子,包括固态下易变和热不稳定的药物分子,都可以用质谱进行检测。应用质谱测定混合物时,通常将其与气相色谱或液相色谱联机,即通常讲的气-质联用仪或液-质联用仪。质谱的最大优势是灵敏度高,样品用量小,甚至可以检出 10^{-12} M 浓度下的样品。常规质谱样品量一般是微克量级。

在质谱检测条件下还可以进行化学反应,用以跟踪动力学过程和进行热力学测定,或者合成

新化合物。

(五) 综合四大光谱

UV、IR、NMR 和 MS 四大光谱在结构鉴定上有各自的特点和优势。例如选择 UV 即可确定结构中的共轭体系;选择 IR 就能确定结构中的羰基。也就是说,结构测定中应根据实际需要选择四大光谱,不能不分青红皂白一味地用 ^1H NMR 甚至 ^{13}C NMR。此外,测定四大光谱时需要的样品用量级别也不同(见表 0-2)。

表 0-2 四大光谱在测定时的样品用量级别及特点

光谱技术	测试样品量级别	测试样品可否回收
UV	μg	可回收
IR	μg	可回收
NMR	mg	可回收
MS	ng	不可回收

三、新药药学指导原则对光谱的要求

按照新药药学指导原则,凡是合成和半合成药物,或由天然产物中提取的单体或组分中的主要组分,都应该确证其化学结构。确证结构的方法除沿用经典的理化分析和元素分析(若使用高分辨质谱可免作元素分析)方法外,应采用目前国内外普遍使用的红外、紫外、核磁共振和质谱,必要时还应增加其他方法,如圆二色散、X 射线衍射、差热分析等。确证结构应该附图,附图应为原图的复印件或照片,不得使用手工描绘的谱图。谱图及谱图上的标记与数据应清晰,并详细注明检测仪器的型号及测试的具体条件。各波谱分析检测的数据应分别列表说明,注明归属,质谱还应该附裂解图。

新药药学指导原则对光谱测定有详尽的规定可供参考。

紫外-可见吸收光谱

UV / Vis Spectroscopy

摘要: 紫外-可见吸收光谱涉及电子在分子轨道上的跃迁及各种跃迁对应的吸收带对结构的依赖关系。其研究对象是共轭体系,虽然紫外吸收带的数目少,峰宽且平,对结构的敏感性差,但在测定具有共轭的多重键的分子结构时仍然是重要的、很有用的工具。紫外-可见吸收光谱中总结的一些经验规律可用于推断共轭系统及发色团的存在,或用于验证用其他方法推演的结构。紫外分光光度计应用广泛,是常规测试仪器之一,操作简单,方便易行。

紫外-可见吸收光谱涉及紫外-可见光与物质的相互作用,用 Planck 能量关系式可以计算紫外-可见光子的能量 E , 能量 E 与电磁波的频率 ν 之间的关系由式(1.1)决定。

$$E = h\nu \quad (1.1)$$

其中 $h = 6.6 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$, ν 为光子的频率,它的意义是 1 s 内经过某个位置的电磁波的数目,单位是 Hz 或 s^{-1} 。从关系式可以看到,高能的光子的频率也较高。频率 ν 和光速 c 的关系为

$$c = \lambda\nu, \text{ 即 } \nu = \frac{c}{\lambda}$$

其中 $c = 3.0 \times 10^8 \text{ m/s}$, λ 为波长(见图 1.1),在紫外-可见光区单位为 nm, $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ 。

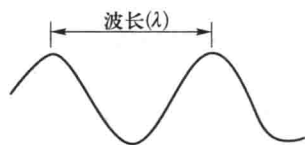


图 1.1 电磁波的波长

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

分子吸收的光子的能量与该光子的波长成反比,光子的能量越大,波长越短。

涉及分子的能量有多种,包括动能和势能,可表示为

$$E = E_0 + E_{\text{平}} + E_e + E_v + E_r \quad (1.2)$$

其中 E_0 为分子静止不动时的能量; $E_{\text{平}}$ 为分子平动能; E_e 为分子中电子的能量; E_v 为分子振动的能量; E_r 为分子绕分子轴转动的能量。

重要的分子能量是 E_e 、 E_v 和 E_r ,当电子或分子运动发生跃迁,使能量变化时,在吸收光谱上表现为各个不同位置的吸收峰。分子中不同官能团吸收光能量后产生电子或分子的运动,使自身能量的变化不同,因而吸收带的位置不同,由此可推测分子的结构。这就是分子结构与吸收光谱的关系。

当分子中最外层价电子吸收电磁波的能量后,一定从分子的成键轨道跃迁到未占轨道,同时

产生紫外-可见吸收光谱。本章介绍的紫外-可见吸收光谱反映了分子中价电子跃迁时的能量变化与化合物所含发色基团之间的关系。

电子跃迁的能差(ΔE_e)通常在 $1\sim 20$ eV ($1\text{ eV}\approx 23\text{ Kcal/mol}\approx 8066\text{ cm}^{-1}$), 对应的电磁波波长在 $1240\sim 62\text{ nm}$ 区间, 紫外光波长在 $4\sim 400\text{ nm}$ 区间, 可见光波长在 $400\sim 800\text{ nm}$ 区间, 分子吸收紫外光或可见光后使价电子跃迁(见图 1.2), 产生的吸收光谱称为紫外-可见吸收光谱。因为是电子跃迁产生的吸收光谱, 又称为电子光谱。

分子振动产生跃迁的能差(ΔE_v)比 ΔE_e 小, 通常在 $0.05\sim 1$ eV, 对应的电磁波波长在 $1\sim 25\mu\text{m}$ 区间, 红外光波长在 $0.8\mu\text{m}\sim 1000\text{ nm}$ 区间, 分子吸收红外光后跃迁, 产生的吸收光谱称为红外吸收光谱。因为是振动跃迁产生的吸收光谱, 又称振动光谱。

分子转动产生跃迁的能差(ΔE_r)更小, 大约在 $0.0035\sim 0.05$ eV, 对应的电磁波波长在 $25\sim 350\mu\text{m}$ 区间, 该波长进入远红外光或微波区间, 分子吸收远红外光后跃迁, 产生的吸收光谱称为远红外光谱或微波谱。因为是转动跃迁产生的吸收光谱, 又称转动光谱。

振动光谱和转动光谱都是分子吸收红外光产生跃迁得到的, 而且分子发生振动时包含了转动, 所以, 红外吸收光谱又称为振-转光谱, 也称分子吸收光谱, 这是第二章介绍的内容。

比较三种吸收光谱的能量知道, $\Delta E_e > \Delta E_v > \Delta E_r$, 所以, 电子能级间包含振动能级和转动能级, 振动能级间包含转动能级。当分子吸收能量使得电子发生跃迁时, 必然伴随分子的振动和转动跃迁, 所以, 电子吸收光谱中包含振动能级和转动能级的变化, 因此, 紫外-可见吸收光谱不是一个一个尖锐的吸收峰, 而是一个宽钝的吸收带。

紫外-可见吸收光谱的特征首先取决于分子中含有的双键的数目、不饱和基团之间的共轭程度和分子的几何排列情况, 其次取决于分子中的双键与未成键电子的共轭情况以及它们周围存在的饱和基团的种类和数目, 这主要提供了分子内共轭体系的结构信息。

紫外谱图比较简单, 特征性不强, 但可以准确地判断共轭发色基团的存在。根据紫外吸收谱带的位置和摩尔吸收系数的大小, 一般无法判断官能团的存在, 但能够提供化合物的结构骨架、构型和构象的信息, 因此, 至今仍是重要的测试分子结构的有用和方便的工具。

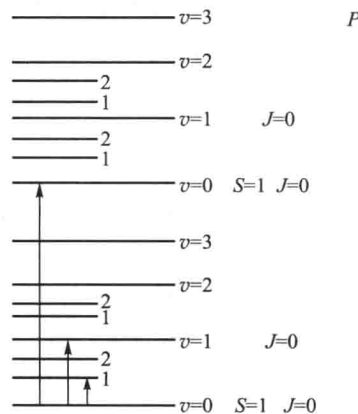


图 1.2 分子中电子、振动和转动能级

S : 电子能级, $S=0$: 电子基态;
 $S=1$: 电子第一激发态; V : 振动能级,
 $v=2$: 第二激发态; J : 转动能级。

第一节 基本原理和基本概念

一、紫外-可见吸收光谱涉及的波长范围

紫外和可见光区介于 X 射线和红外光区之间, 紫外区波长范围是 $4\sim 400\text{ nm}$, 可见区波长范围是 $400\sim 800\text{ nm}$ (见图 1.3)。

紫外光区可分为远紫外区($4\sim 200\text{ nm}$)和近紫外区($200\sim 400\text{ nm}$)两部分。

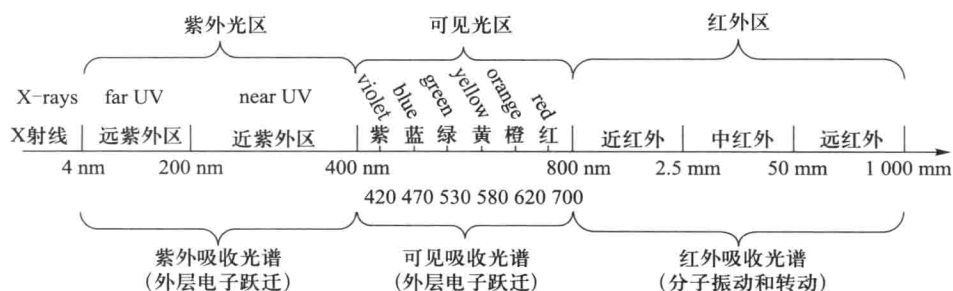


图 1.3 吸收不同电磁波的能量产生不同的吸收光谱

紫外吸收光谱用 UV 表示, 药物研究中涉及的是近紫外区, 波长在 200~400 nm 区间;

可见光谱用 Vis 表示, 可见光区的波长范围是 400~800 nm 区间。

(一) 远紫外区 (far UV)

许多物质, 如空气中的水蒸气、氧气、氮气以及二氧化碳等, 都在远紫外区有吸收, 当在 4~200 nm 测定样品时, 必然受到上述物质的干扰, 因此, 限制了远紫外区吸收光谱的应用。通常测定远紫外区的吸收光谱是采用系统抽真空的方法, 所以, 远紫外区又称为真空紫外区。将整个光路系统成为真空状态的做法比较复杂, 而且在 4~200 nm 的吸收提供的结构信息也不是十分重要, 因而平时使用远紫外区的机会较少。

(二) 近紫外区 (near UV)

近紫外区是最常用的区域, 我们讨论的大部分紫外吸收光谱指的是这部分谱图。在近紫外区测定紫外吸收光谱需要注意的是, 玻璃在 200~400 nm 有强吸收, 测定时使用的光学器件必须使用石英制品, 所以, 近紫外区又称石英区。

药物研究中的紫外吸收光谱涉及的是波长在 200~400 nm 的近紫外区的吸收光谱, 用 UV 表示。

二、紫外吸收光谱的表示方法

紫外吸收光谱有多种表示方法, 常见的表示方法有文字表示法和图示法两种。

(一) 文字表示法

用紫外吸收带的最大吸收波长 (λ_{\max}) 和最大摩尔吸收系数 (κ_{\max}) 或最大摩尔吸收系数的对数 ($\lg \kappa$) 表示, 例如, $\lambda_{\max}(\kappa_{\max})$ 、 $\lambda_{\max}(\lg \kappa)$ 等。如苯基甲基酮 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_3$) 的紫外吸收光谱数据为: $\lambda_{\max}(\kappa)$: 242(12 600), 279(1 050), 318(60)。

(二) 图示法

紫外谱图的横坐标可以用波长、波数或频率表示, 纵坐标可以用吸光度、摩尔吸收系数、摩尔吸收系数的对数或透射率表示 (见图 1.4)。最常见的是吸光度~波长 ($A\sim\lambda$) 图 (见图 1.4f)。

三、Beer-Lambert 定律

一束单色光穿过样品溶液时, 一部分光被溶液吸收, 光被吸收的程度称为吸光度 (Absorption), 用 A 表示; 光穿过的溶液的厚度称为光程, 用 b 表示; 光穿过的溶液的浓度用 c 表示; 入射