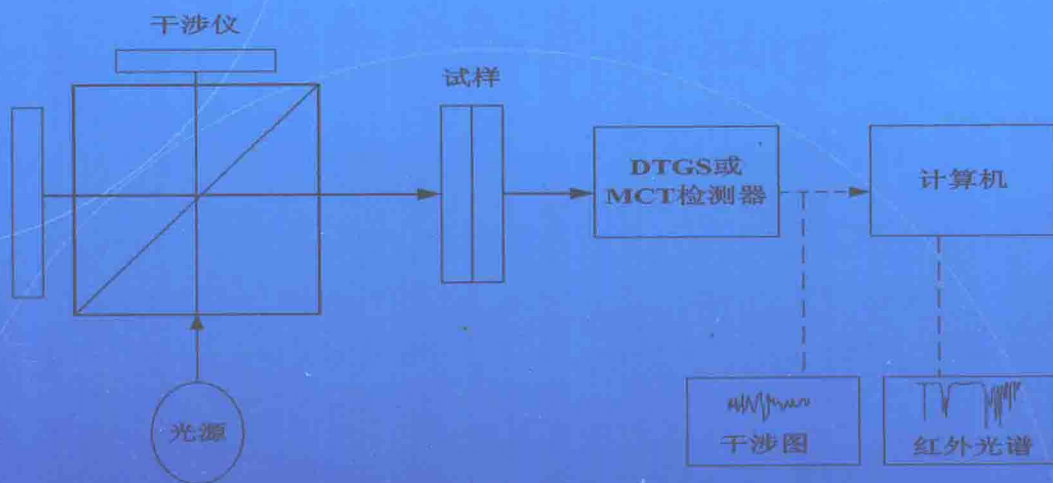


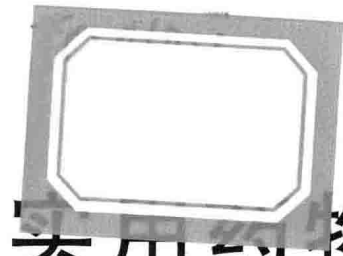
实用药物研发仪器分析

SHIYONG YAOWU YANFA YIQI FENXI

马红梅 主编
刘宏伟 副主编



华东理工大学出版社
EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS



实用药物研发仪器分析

马红梅 主 编

刘宏伟 副主编



华东理工大学出版社
EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

· 上海 ·

图书在版编目(CIP)数据

实用药物研发仪器分析/马红梅主编. —上海:华东理工大学出版社, 2014.9

ISBN 978-7-5628-4000-8

I. ①实… II. ①马… III. ①制药工业—药物分析—仪器分析 IV. ①TQ460.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 181596 号

内容提要

全书共 6 章,第 1 章为紫外-可见吸收光谱,第 2 章为红外吸收光谱,第 3 章为核磁共振技术及其应用,第 4 章为质谱技术及其应用,第 5 章为气相色谱法,第 6 章为高效液相色谱及其联用技术。

本书适合作为制药相关专业(制药工程专业、药物制剂专业及药学等专业)本科生、研究生的教材,也可作为从事制药相关领域的科研人员和实验技术人员的参考书。

实用药物研发仪器分析

主 编 / 马红梅

副 主 编 / 刘宏伟

责任编辑 / 焦婧茹

责任校对 / 金慧娟

封面设计 / 裘幼华

出版发行 / 华东理工大学出版社有限公司

地 址:上海市梅陇路 130 号, 200237

电 话:(021)64250306(营销部)

(021)64252344(编辑室)

传 真:(021)64252707

网 址:press.ecust.edu.cn

印 刷 / 常熟新骅印刷有限公司

开 本 / 787 mm×1092 mm 1/16

印 张 / 13

字 数 / 330 千字

版 次 / 2014 年 9 月第 1 版

印 次 / 2014 年 9 月第 1 次

书 号 / ISBN 978-7-5628-4000-8

定 价 / 29.80 元

联系我们:电子邮箱 press@ecust.edu.cn

官方微博 e.weibo.com/ecustpress

淘宝官网 <http://shop61951206.taobao.com>



前 言

新药研究与开发的目的是寻找和发现新药,自主创新,不断研制优质新药,提供安全、有效、价廉的医药产品,满足人民日益增长的医疗需要,以保障我国人民健康、提高生活质量、维护国家经济安全和社会稳定。药物研究与开发需要多学科的协同配合,一般来说,药物研究与开发的第一阶段是发现先导化合物(Leading Compound),所谓先导化合物又称原型物,它具有某种生物活性但是因为自身存在诸多缺点而不能作为药物进行临床应用;药物研究与开发的第二阶段为先导化合物的优化,针对第一阶段发现的先导化合物存在的不足进行结构修饰和优化,从而提供安全有效的候选化合物,再经临床前及临床实验验证这个候选化合物是否能够成为一种新药而上市。

自 20 世纪 40 年代开始,随着物理学、电子技术和精密仪器制造技术的迅速发展,以及社会发展的迫切需要尤其是连续化大生产发展的需要,使得仪器分析技术迅猛发展、地位得以确立。所谓仪器分析即是通过最佳的物理方法获取被分析对象尽可能多的化学信息。仪器分析是利用各种学科的基本原理,采用电学、光学、精密仪器制造、真空、计算机等先进技术探知物质化学特性的分析方法,因而仪器分析是体现学科交叉、科学与技术高度结合的一个综合性极强的科技分支。近年来,仪器分析飞速发展,新方法、新技术、新仪器层出不穷,其应用也日益普遍并逐渐向药学、医学、生物学等领域渗透,特别是在新药研究、药物分析、临床检验、病因研究等方面都大量使用了仪器分析方法,大大加速了新药研究与开发的进程。

本书主编为马红梅老师,副主编为刘宏伟老师。全书共 6 章,介绍了药物研究与开发过程中常用的仪器分析技术,即紫外-可见吸收光谱、红外吸收光谱、核磁共振技术及其应用、质谱技术及其应用、气相色谱法、高效液相色谱法及其联用技术。其中,写作分工如下:第 1 章和第 2 章由徐仲玉和马红梅共同编写;第 3 章由潘铁英负责编写;第 4 章由付青负责编写;第 5 章由刘宏伟负责编写;第 6 章由石慧负责编写。编写过程中力求突出各类(种)仪器分析技术本身的特点,从技术发展、仪器构造、工作原理、操作程序和技巧、操作注意事项、常见故障排除策略、定性定量测试方法和适用范围等各方面进行了深入浅出的阐述,并辅以范例说明各仪器分析技术在药物研究与开发领域的应用,图文并茂,为读者展示了仪器分析技术的魅力,具有很强的理论性、专业性和实用性。本书可作为制药相关专业(制药工程专业、药物制剂专业及药学等专业)本科生、研究生的教材,也可作为从事制药相关领域的科研人员和实验技术人员的参考书。

在编写过程中,鉴于编者自身的知识水平、能力及实践积累所限,书中不妥之处在所难免,敬请广大师生和读者不吝赐教,以便再版时改正和提高。

编 者

2014 年 5 月

目 录

第 1 章 紫外-可见吸收光谱	(1)
1.1 紫外光谱基础知识	(1)
1.2 典型有机化合物的紫外光谱	(6)
1.3 紫外分光光度计与实验方法	(10)
1.4 紫外光谱在药物研究中的应用	(14)
1.5 紫外分光光度法应用实例(实验)	(16)
参考文献	(17)
第 2 章 红外吸收光谱	(19)
2.1 红外吸收光谱的基本原理	(19)
2.2 影响红外吸收光谱频率的因素	(23)
2.3 红外吸收光谱与分子结构	(27)
2.4 常见化合物红外谱图	(29)
2.5 红外光谱仪与制样技术	(47)
2.6 红外吸收光谱在药物研究中的应用	(50)
2.7 红外吸收光谱法应用实例(实验)	(51)
参考文献	(52)
第 3 章 核磁共振技术及其应用	(54)
3.1 核磁共振基本原理	(54)
3.2 超导脉冲傅里叶变换核磁共振波谱仪	(66)
3.3 核磁共振波谱	(69)
3.4 核磁共振波谱的应用	(91)
参考文献	(107)
第 4 章 质谱技术及其应用	(109)
4.1 质谱基本原理	(109)
4.2 质谱仪	(110)
4.3 串联质谱	(117)
4.4 质谱应用	(120)
参考文献	(129)
第 5 章 气相色谱法	(130)
5.1 气相色谱分析法概述	(130)
5.2 气相色谱仪	(132)
5.3 进样系统	(133)
5.4 气相色谱柱系统	(138)
5.5 检测系统	(147)

5.6	数据处理系统和控制系统	(155)
5.7	气相色谱条件的选择	(155)
5.8	气相色谱定性和定量分析	(157)
5.9	气相色谱仪的使用	(163)
5.10	气相色谱应用实例	(166)
	参考文献	(177)
第 6 章	高效液相色谱及其联用技术	(179)
6.1	概述	(179)
6.2	HPLC 结构组成、关键部件技术	(180)
6.3	HPLC 主要操作模式	(188)
6.4	HPLC 流动相的一般要求	(189)
6.5	建立 HPLC 分析方法的一般步骤	(189)
6.6	研究实例	(192)
	参考文献	(193)
附录	(195)

第1章 紫外-可见吸收光谱

紫外-可见吸收光谱(Ultraviolet-Visible absorption spectra)属于分子光谱,它是分子在吸收紫外-可见光区 10~800 nm 的电磁波后外层价电子发生能级跃迁而产生的吸收光谱,简称紫外光谱。通常所说的紫外光谱是指 200~800 nm 近紫外光和可见光区的分子吸收光谱。紫外光谱是在经典比色法基础上不断发展起来的,早在 1760 年和 1852 年,朗伯(Lambert)和比耳(Beer)就分别研究了光的吸收与溶液液层的厚度及溶液浓度的定量关系,所以紫外光谱可以用作定量分析。紫外光谱具有仪器普及、操作简单且灵敏度高等优点,被广泛用于药物研究与开发中的定性和定量分析中。

1.1 紫外光谱基础知识

1.1.1 概述

紫外光谱是由成键原子分子轨道中的电子跃迁产生的,吸收的光谱区域依赖于分子的电子结构。谱图中最大吸收峰的波长 λ_{\max} 和相应的摩尔吸光系数 ϵ_{\max} 反映了构成分子部分结构的特征。根据分子结构与其紫外光谱的对应关系,可以提供化合物骨架结构信息或进行异构体鉴别等。

紫外-可见光区可细分为远紫外光区(10~200 nm)、近紫外光区(200~400 nm)和可见光区(400~800 nm)。由于空气中的氧气、二氧化碳和水蒸气在远紫外光区范围内均有吸收,所以在远紫外光区的测量必须在真空条件下进行,故也称真空紫外。因实验技术所限,目前对远紫外光区的吸收光谱研究得较少。近紫外光区又称石英紫外,其对结构研究很重要。近紫外光区和可见光区通常是紫外光谱研究的主要区域。

分子的内部运动可分为分子内价电子运动、分子内原子的振动、分子绕其中心转动这三种形式。根据量子力学原理,分子的每一种运动形式都有一定的能级且是量子化的,因此分子具有电子能级、振动能级和转动能级。分子所处的能级状态可用量子数表示:电子量子数 n 表示各电子能级,振动量子数 v 表示振动能级,转动量子数 j 表示转动能级。分子在一定状态下所具有的总内部能量为其电子能量(E_e)、振动能量(E_v)和转动能量(E_j)之和。即

$$E = E_e + E_v + E_j \quad (1-1)$$

当分子从一个状态 E_1 变化到另一个状态 E_2 时,必然伴有能级的变化,两个状态能级之间的能量差为

$$\Delta E = E_2 - E_1 \quad (1-2)$$

在吸收光谱中,只有照射光的能量($E = h\nu$)等于两个能级间的能量差 ΔE 时,分子才能从低能态跃迁至高能态,因此能被分子吸收的光的频率为

$$\nu = \Delta E / h \quad (1-3)$$

转换为波长得

$$\lambda = c/\nu = hc/\Delta E \quad (1-4)$$

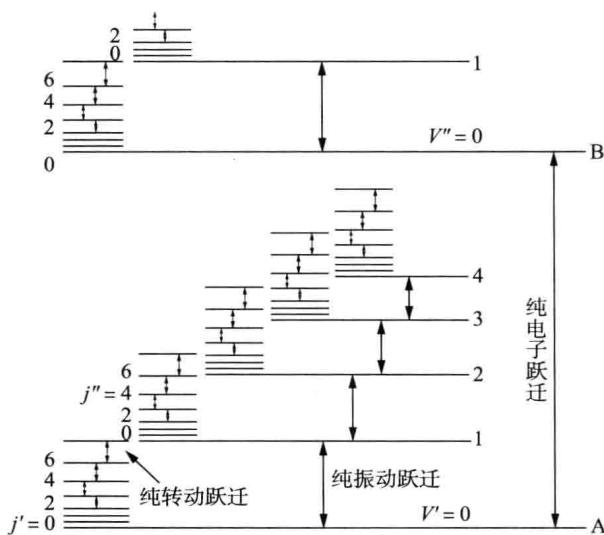
式中 h ——普朗克常数；

c ——光速；

ΔE ——电子从低能态(基态)跃迁到高能态(激发态)时吸收的能量。

不同分子发生能级跃迁时的 ΔE 不同,所吸收光的频率(ν)或波长(λ)也不同,因此可以根据 ν 或 λ 与分子结构的关系,从光谱图中谱峰的位置来区分不同的化合物。能量的吸收依赖于基态和激发态之间的能量差异,从式(1-4)可看出能量差越小,吸收波长越长。

以双原子分子为例讨论紫外-可见吸收光谱的产生(见图 1-1)。假如 A 和 B 是两个电子能级,当分子吸收足够的能量时(例如用氘灯或钨灯照射)就会发生电子能级跃迁,从 A 电子能级跃迁到 B 电子能级。在电子能级发生跃迁的同时,转动能级也发生了改变,也就是说紫外光谱中电子能级发生跃迁的同时,也必定伴随着振动-转动能级的变化,所以分子光谱远比原子光谱(线光谱)复杂,形成带状光谱。紫外光谱谱图上的吸收峰都是宽峰,这是电子跃迁与振动-转动次能级变化相叠加的结果。



V' —低能级振动能级; j' —低能级转动能级;

V'' —高能级振动能级; j'' —高能级转动能级

图 1-1 双原子分子的能级示意图

1.1.2 朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律

早在 1760 年,朗伯就指出,如果溶液的浓度一定,则光的吸收与液层的厚度成正比,这个关系被称为朗伯定律。1852 年,比尔研究了各种无机盐水溶液对红光的吸收后指出,当单色光通过液层厚度一定的有色溶液时,溶液的吸光度与溶液的浓度成正比,这个关系称为比尔定律。当同时考虑溶液浓度和液层厚度对光吸收的影响时,可将朗伯定律和比尔定律综合起来,得到朗伯-比尔定律。因此朗伯-比尔定律可表述为:当一束单色光通过介质时,光被介质吸收的比例与吸收光的分子数目成正比,与入射光强度无关。朗伯-比尔定律(Lambert-Beer

law)是比色和光谱定量分析的基础。其数学表达式为

$$A = -\lg T = -\lg(I/I_0) = kcl \quad (1-5)$$

式中 A ——吸光度；
 I_0, I ——入射光强度和透射光强度；
 T ——透光率；
 k ——吸光系数；
 c ——试样溶液浓度；
 l ——试样池光程长度。

式中 k 的数值与 c 和 l 的单位有关。当 c 以 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为单位, l 以 cm 为单位时, 此时 k 变成摩尔吸光系数 (ϵ), 单位为 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 化合物的最大吸收波长 λ_{max} 及该波长下的摩尔吸光系数 ϵ_{max} 常用来表示化合物的紫外吸收特征, 是紫外吸收的重要参数。通常紫外光谱图是以波长为横坐标, 以吸光度值或透光率为纵坐标的一个光谱图, 图 1-2 给出了一个典型的紫外光谱图。

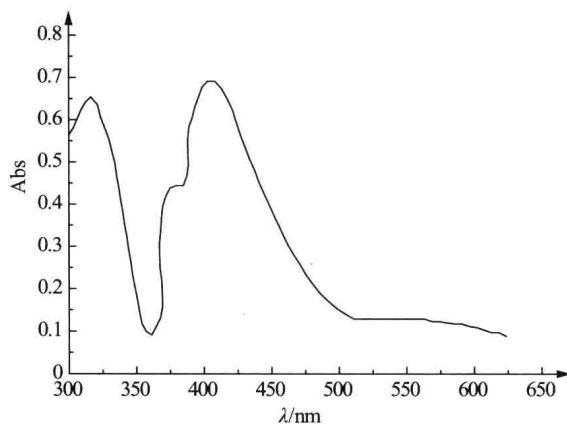


图 1-2 典型的紫外吸收光谱图

根据朗伯-比尔定律, 吸光度在一定波长下与物质的浓度成正比。所以如果在同一溶液中存在两种以上有吸收辐射作用的分子时, 该溶液在此波长的吸光度等于在这个波长下有吸光的各种分子的吸光度的总和, 这就是吸光度的加和性。吸光度的加和性在化合物的定量分析及推测未知化合物的结构方面很重要。

1.1.3 有机化合物紫外光谱的产生

有机化合物的紫外光谱取决于其分子结构, 它主要是由分子中价电子的能级跃迁和电荷跃迁产生的。根据分子轨道理论, 当两个原子结合成分子时, 两个原子的原子轨道线性组合成两个分子轨道, 其中具有较低能量的为成键轨道, 具有较高能量的为反键轨道。电子通常在成键轨道上, 在分子吸收能量后可以激发到反键轨道上。有机化合物中的共价键有 σ 键和 π 键, 它们的成键轨道分别用 σ 和 π 表示, 其对应的反键轨道分别用 σ^* 和 π^* 表示, 处在相应轨道的电子分别称为 σ 电子和 π 电子; 氧、氮、硫和卤素等杂原子还存在未成键的孤对电子, 称为 n 电子, 它们处在非成键轨道上。如在羰基中 σ 、 π 和 n 这三种类型的电子都存在, 这些电子所处的能级轨道和可能发生的跃迁如图 1-3 所示。

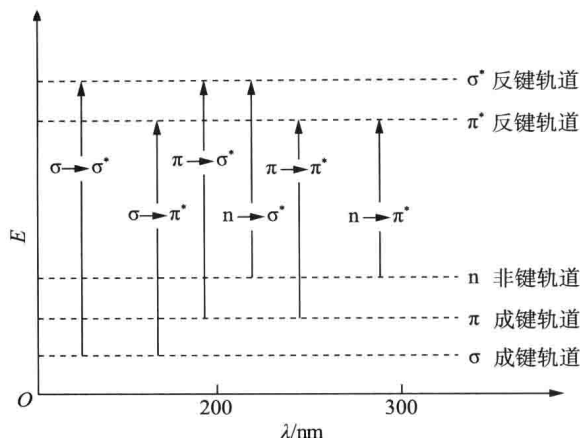


图 1-3 各类电子跃迁所需能量及其对应的波长示意图

电子跃迁主要有四种： $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 。前两种为电子从成键轨道跃迁至对应的反键轨道；后两种是杂原子的未成键电子从非成键轨道跃迁至反键轨道。从图 1-3 可知，不同轨道之间的跃迁所需能量不同，因此形成的吸收光谱谱带位置也不同。

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁是单键中的 σ 电子在成键轨道与反键轨道间的跃迁。两个轨道间能级差最大，跃迁所需能量较高，相应的激发波长较短，在 150~160 nm 内，落在远紫外光区域，超出了一般紫外分光光度计的检测范围。

$\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁是不饱和键中的 π 电子吸收能量跃迁至 π^* 反键轨道。跃迁所需能量较 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的小，吸收峰波长较大。孤立双键的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带位于 160~180 nm，仍在远紫外区。但在共轭双键体系里，由于处于共轭状态下的几个 π 轨道会重新组合，使得成键电子从最高占有轨道到最低空轨道之间的跃迁能量大大降低，从而吸收带通常向长波长方向移动。共轭体系越大， $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带波长越长。例如乙烯的紫外吸收带位于 162 nm，丁二烯的紫外吸收带位于 217 nm，而 1,3,5-己三烯的紫外吸收带则位于 258 nm。

$n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁是氧、氮、硫和卤素等杂原子的未成键 n 电子向 σ^* 轨道的跃迁。当分子中含有杂原子基团如氨基、羟基、巯基、卤素等时，就能发生这种跃迁。跃迁所需能量较 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁的小，相应吸收带的波长在 200 nm 附近，依杂原子性质和数目的不同而不同。卤代烃的吸收带波长和强度随 F、Cl、Br、I 递增，也随取代数目的增加而增大。

$n \rightarrow \pi^*$ 跃迁是杂原子的未成键 n 电子向不饱和键的 π^* 轨道上的一种跃迁，这种跃迁是四种跃迁里面所需能量最小的，它所对应的吸收带位于 270~300 nm 的紫外区。

1.1.4 无机化合物紫外光谱的产生

无机化合物紫外光谱的产生与有机化合物紫外光谱的产生在本质上是相同的，都是外层电子跃迁的结果，但无机化合物的吸收带主要是由电荷转移跃迁和配位体场跃迁而产生的。

(1) 电荷转移吸收带

某些无机化合物同时具有电子给体和电子受体，当辐射照射到这类化合物时，电子从电子给体跃迁到电子受体，从而产生光的吸收。这种由于电子转移产生的吸收光谱，称为电荷转移吸收光谱，一般可用式(1-6)表示：



许多无机配合物及水合无机离子都能发生这种转移。某些有机化合物(取代芳烃)也会发生电荷转移跃迁,产生电荷转移光谱。

电荷转移吸收带的特点是摩尔吸光系数一般都较大(10^4 左右),用于定量分析可提高检测灵敏度,在无机分析中,常通过配位反应使金属离子形成可产生电荷转移的配合物,然后测定金属离子的浓度,这种配位反应称为显色反应。

(2) 配位体场吸收带

过渡元素都有未填满的 d 电子层,镧系和锕系元素含 f 电子层,这些电子轨道的能量通常是相等的(简并的)。在配位场作用下,这些轨道会产生分裂,低能态的 d 电子或 f 电子可吸收辐射分别跃迁到高能态的 d 轨道和 f 轨道,这两类跃迁称作 d 电子跃迁和 f 电子跃迁。由于这两类跃迁必须在配体的配位场作用下才能发生,因此常称为配位体场跃迁,相应的吸收带称为配位体场吸收带。d 电子跃迁和 f 电子跃迁是禁戒跃迁,产生的概率很小,因此配位体场跃迁的吸收谱带摩尔吸光系数小,这类光谱主要用来研究配合物的结构。

d 电子跃迁所需能量较小,产生的吸收峰大都在可见区,摩尔吸光系数一般都很小,为弱吸收($\epsilon_{\max}=0.1\sim 100$),且该吸收带较宽,易受环境因素影响。f 电子跃迁吸收带在紫外可见区,由于 f 轨道被已填满的外层轨道屏蔽,不易受溶剂、配位体等的影响,吸收带较窄。

1.1.5 紫外光谱中的常用术语

(1) 生色团

生色团是指能够产生紫外可见吸收的不饱和基团,一般为带有 π 电子的基团,如 $C=C$ 、 $C\equiv C$ 、 $C=O$ 、 $N=N$ 、 $N=O$ 、 NO_2 等。生色团的结构不同,电子跃迁的类型也不同,通常为 $n\rightarrow\pi^*$ 、 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁,吸收波长大于 210 nm。如果一个化合物分子中含有若干个生色团并形成共轭体系,则原来各自的吸收带将消失,形成新的吸收带,波长和吸收强度都会出现明显变化。

(2) 助色团

助色团是指本身不会产生紫外吸收,当与生色团相连时,能够使生色团吸收波长变长或吸收强度增强的含有杂原子的饱和基团,助色团一般为带有孤电子对的原子或原子团,如 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 等。在这些助色团中,带孤电子对的原子或原子团与生色团相连,可以发生 $p-\pi$ 共轭,使得电子的活动范围扩大,易激发。

(3) 红移和蓝移

吸收波长向长波方向移动的现象称为红移。吸收波长向短波方向移动的现象称为蓝移。取代基的变化或者溶剂的改变都有可能引起吸收波长的红移或蓝移。

(4) 增色效应和减色效应

当有机化合物的结构发生变化或者溶剂改变时,除吸收波长会产生变化外,吸光度也常常增强或者减弱。这种吸光度增强和减弱的效应分别称为增色效应和减色效应。

(5) 溶剂效应

溶剂对紫外光谱的影响较为复杂,溶剂极性对吸收带的位置有明显影响,亦会引起吸收带形状的变化。在 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁中由于激发态的极性比基态大,而极性溶剂对电荷分散体系具有较强的稳定能力,所以在极性溶剂中,激发态和基态的能量虽然都有所降低,但激发态能量降低程度较大,导致 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁吸收的能量较小,如图 1-4 所示,因此吸收带向长波方向移动。极性溶剂对 $n\rightarrow\pi^*$ 跃迁的影响与对 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁的影响正好相反,它使得 $n\rightarrow\pi^*$ 跃迁吸收

带向短波方向移动。因为化合物中的孤电子对可与溶剂中的羟基、氨基等强极性键形成氢键,使非成键轨道的能量有较大幅度的降低。如果发生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁,孤电子对遭到破坏, n 轨道上剩下的一个电子将失去生成氢键的能力。虽然极性溶剂可以使 π^* 轨道的能量稍微降低但是所降低的能量远小于一个氢键的键能,因此在极性溶剂中, $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁近乎要克服一个氢键的能量,如图 1-5 所示,因此吸收带向短波方向移动。

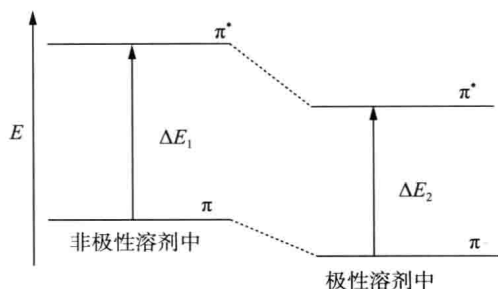


图 1-4 溶剂对 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的影响

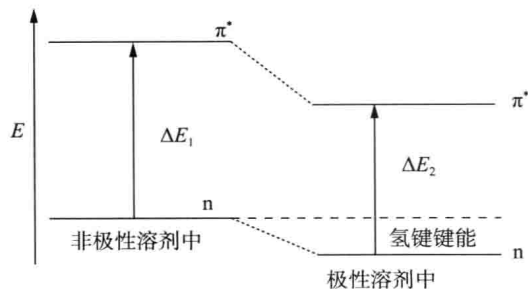


图 1-5 溶剂对 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的影响

考虑到溶剂对化合物紫外光谱有较大影响,因此溶剂的选择对于化合物紫外光谱的测定非常重要。通常情况下,溶剂应不影响样品的紫外光谱,即在测定范围内溶剂应是紫外透明的(溶剂本身无吸收)。

1.2 典型有机化合物的紫外光谱

1.2.1 饱和化合物

饱和碳氢化合物中仅有 σ 键,只能产生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁,其最大吸收波长在远紫外区,在紫外可见光区是无吸收的,因此饱和烃常作为测量其他化合物紫外-可见吸收光谱时的溶剂。

饱和烃的杂原子衍生物除了 σ 电子外,还有 n 非键电子,可产生 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。但大部分饱和烃的衍生物在紫外可见光区仍无吸收,因此,这类化合物也是测定紫外光谱时的良好溶剂。一些饱和烃及其杂原子衍生物的紫外光谱数据如表 1-1 所示。

表 1-1 常见饱和烃及其衍生物的紫外光谱数据

化合物	跃迁类型	ϵ_{\max}	λ_{\max}/nm	溶剂
CH ₄	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	10 000	125	气态
C ₂ H ₆	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	10 000	135	气态
CH ₃ OH	$n \rightarrow \sigma^*$	150	183	己烷
	$n \rightarrow \sigma^*$	356	174	
C ₂ H ₅ OH	$n \rightarrow \sigma^*$	320	182	己烷
	$n \rightarrow \sigma^*$	670	174	
C ₂ H ₅ OC ₂ H ₅	$n \rightarrow \sigma^*$	1 995	188	气态
	$n \rightarrow \sigma^*$	3 981	171	
CH ₃ Cl	$n \rightarrow \sigma^*$	200	173	己烷

续表

化合物	跃迁类型	ϵ_{\max}	λ_{\max}/nm	溶剂
CH ₃ Br	$n \rightarrow \sigma^*$	264	202	庚烷
	$n \rightarrow \sigma^*$	1 050	221	
CH ₃ I	$n \rightarrow \sigma^*$	378	257	庚烷
	$n \rightarrow \sigma^*$	1 300	290	
CH ₃ NH ₂	$n \rightarrow \sigma^*$	2 200	173	气态
	$n \rightarrow \sigma^*$	600	215	
(C ₂ H ₅) ₂ NH	$n \rightarrow \sigma^*$	2 800	195	己烷
(CH ₃) ₃ N	$n \rightarrow \sigma^*$	3 950	199	己烷
CH ₃ SH	$n \rightarrow \sigma^*$	1 400	195	乙醇

1.2.2 非共轭不饱和化合物

前面已经讨论过孤立双键的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带仍位于远紫外区,所以虽然 C=C 和 C≡C 为生色团,但当它们不处于共轭体系中时,它们在近紫外区并没有紫外吸收。

在含羰基、硝基等生色团的非共轭饱和化合物中, σ 电子、 π 电子和 n 电子都存在,故这类化合物中四种跃迁方式 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 均存在,前三种跃迁的吸收带均在远紫外区,仅有 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收在近紫外区。这种由 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带称为 R 带(源于德文 radikal,基团)。R 带的特征吸收波长较长,大多都在 270~300 nm;吸收强度弱, ϵ_{\max} 通常在 100 左右。

饱和羧酸及其衍生物的羰基碳上连接有助色团 Y(如—OH、—X、—OR、—NR₂、—SH 等)。助色团上的 n 电子可与羰基上的 π 电子产生共轭效应,使得 π 和 π^* 轨道能量均有所提高,但是反键轨道的势能提高得较少,进而使得 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所需能量提高而发生蓝移; $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所需能量降低而发生红移。因此羧酸及其衍生物的羰基吸收谱带与醛酮有较大区别,可把两者区别开来。故如果通过其他方式确认了羰基的存在,可通过紫外光谱来区分化合物是醛酮还是羧酸。

1.2.3 含共轭体系的脂肪族化合物

当生色团之间相连形成共轭体系时,最高占有轨道和最低空轨道之间的能级差变小,无论是 $\pi \rightarrow \pi^*$ 还是 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所需的能量均下降,吸收带向长波方向移动(红移),吸收波长总是大于 200 nm,吸收强度也有所增强,一般的紫外分光光度计都能检测,因此具有这种共轭体系的化合物是紫外吸收光谱研究的重点。由共轭 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生的吸收带称为 K 带(源于德文 konjugation,共轭作用)。K 带的特点是吸收强度高, $\epsilon_{\max} \geq 10^4$,吸收波长与共轭体系的大小密切相关,一般每增加一个双键最大吸收波长大约红移 30 nm。

共轭多烯的红移程度可以用经验的伍德沃德-菲泽规则来估算,见式(1-7):

$$\lambda_{\max} = \lambda_b + \sum n_i \lambda_i \quad (1-7)$$

式中, λ_b 为母体结构决定的基准值; n_i 、 λ_i 分别为双键上取代基的种类和个数决定的校正相,其值见表 1-2。

表 1-2 双烯吸收带的伍德沃德-菲泽规则

波长增加因素	λ/nm
1. 非环和非骈环双烯	217
双键上烷基取代	+5
环外双键	+5
2. 环双烯或多烯	
异环双烯	214
同环双烯	253
每增加一个共轭双键	+30
双键上烷基取代	+5
环外双键	+5
3. 其他生色团	
NR ₂	+60
OR	+6
SR	+30
Cl, Br	+5
OAc	0

不饱和醛、酮同时含 C=O、C=C 两个双键生色团。当它们被两个以上单键隔开时,与孤立多烯类似,实际观察到的吸收光谱是两个生色团的“加和”。但当羰基与烯基共轭形成 α 、 β -不饱和醛或酮时,由于形成离域 π 分子轨道,烯基的 K 带吸收的 λ_{max} 将由 165 nm 红移至 210~250 nm; R 带吸收的 λ_{max} 将由 270~290 nm 红移到 310~330 nm。这一特征可用来鉴别 α 、 β -不饱和醛或酮及其衍生物。

1.2.4 芳香族化合物

芳香族化合物均含有环状共轭体系,有共轭的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁,因此也是紫外光谱研究的重点之一。芳香族化合物的主要类型有:苯、取代苯、稠环芳烃及杂环芳烃等。

(1) 苯

苯分子中每个碳原子通过 sp^2 轨道与两个相邻碳原子和一个氢原子共形成三个 σ 键,每个碳原子还有一个未杂化的 p 轨道形成 6 个离域 π 分子轨道。苯分子在基态时,6 个 π 电子填入 3 个成键 π 分子轨道,此时的电子状态用符号 $^1A_{1g}$ 表示。在苯分子吸收一定能量的紫外光后,基态的一个 π 电子从能量最高的成键轨道跃迁到能量最低的反键轨道。看起来苯分子只有一个 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收谱带。但实际上苯的紫外光谱分别在 184 nm、203 nm、256 nm 附近有三个吸收带。这是由于苯的激发态在电子之间的相互作用下分裂为 $^1E_{1u}$ 、 $^1B_{1u}$ 和 $^1B_{2u}$ 三种能态,所以 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生三个吸收带。其中 $^1A_{1g} \rightarrow ^1E_{1u}$ 跃迁产生的 184 nm 附近的强吸收带常称为 E_1 带,在一般的紫外光谱仪上一般无法检测到。 $^1A_{1g} \rightarrow ^1B_{1u}$ 跃迁产生的 203 nm 附近的中等吸收带,称为 E_2 带。而 $^1A_{1g} \rightarrow ^1B_{2u}$ 跃迁所需能量最低,产生 256 nm 附近具有精细结构的弱吸收带,称为 B 带,见图 1-6。B 带吸收在苯的衍生物中强度几乎不变,是苯重要的特征吸收谱带。苯的紫外光谱见图 1-7。

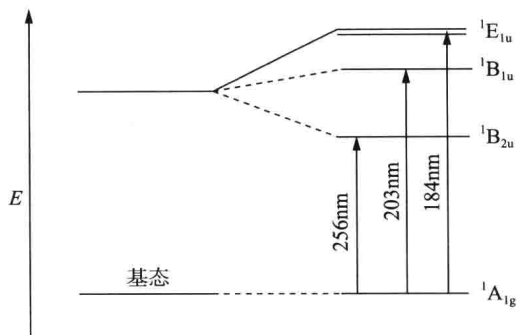


图 1-6 苯的跃迁能级示意图

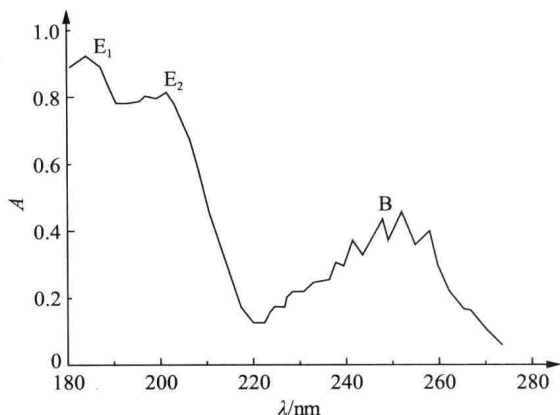


图 1-7 苯的紫外光谱图

(2) 取代苯

取代苯的 E_2 带和 B 带通常都有一定的红移和增色效应。但在烷基取代时, 主要对 B 带产生作用, E_2 带没有明显变化。如甲苯、间二甲苯、1,3,5-三甲苯的 B 带吸收的最大波长依次为 261 nm、263 nm、266 nm。但烷基苯的 B 带精细结构逐渐减弱或消失。

(3) 稠环芳烃

稠环芳烃与苯环相比, 由于共轭体系更大, 因此与苯相比稠环芳烃的紫外吸收均向长波长方向移动, 精细结构也更明显。苯稠环芳烃可分为链型(如萘、蒽、并四苯等)和角型(如菲、芘等)两类。链型稠环芳烃随着苯环数目的增加, 各吸收带都发生红移, 当苯环数增加到一定值时, 吸收带可达到可见光区, 因而产生颜色。

(4) 杂环芳烃

五元杂环芳烃化合物如吡咯、咪唑、噻吩等, 可看成是环戊二烯的 C_1 被杂原子取代。因此, 这类化合物的紫外光谱与环戊二烯的相似, 即在 200 nm 与 238 nm 附近有两个吸收峰, 200 nm 峰可能属 K 带, 238 nm 附近峰类似苯环的 B 带。

六元杂环芳烃化合物的紫外光谱与苯的类似。例如, 吡啶在 257 nm 的吸收峰与苯环的 B 带相似, 也可分为几个小峰。其 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁引起的弱吸收峰多被 B 带覆盖。溶剂的极性对苯吸收峰和强度及位置的影响很小, 但吡啶在极性溶剂中的 B 带吸收强度明显增强, 这可能是由于吡啶氮原子上的孤对电子与极性溶剂形成氢键的缘故。

稠芳杂环化合物的紫外光谱与相应的稠芳环化合物相似。如喹啉的紫外光谱与萘的相似。常见的杂环化合物母核的吸收带数据见表 1-3。

表 1-3 苯与杂环化合物母体的吸收光谱数据

化合物	λ_{\max}/nm	ϵ_{\max}	溶剂
苯	184	68 000	己烷
	204	8 800	
	254	250	

续表

化合物	λ_{\max}/nm	ϵ_{\max}	溶剂
吡啶	176	70 000	己烷
	198	6 000	
	257	2 000	
	270	450	
吡嗪	194	6 100	己烷
	260	6 000	
	328	1 040	
三嗪	218	135	己烷
	272	770	
呋喃	207	9 100	环己烷
吡咯	208	7 700	己烷
噻吩	231	76 100	环己烷
嘌呤	200	22 000	甲醇
	263	7 000	

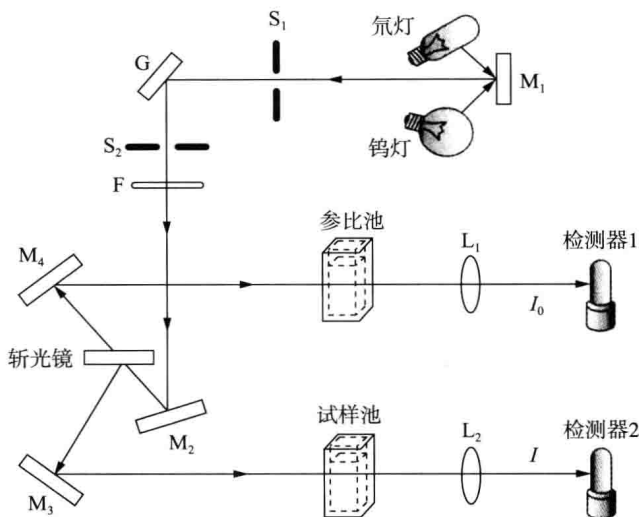
1.3 紫外分光光度计与实验方法

1.3.1 紫外分光光度计的类型与构成

紫外分光光度计从分光元件来讲可分为棱镜式和光栅式两种,也有光栅加棱镜的高档分光光度计。现今的分光光度计大部分采用光栅分光。从结构上来区分包括单光束和双光束两种分光光度计。早期国产的 751 型及英国 Unicam SP500 型都属于单光束仪器。单光束的仪器可以满足一般定量分析要求,它有固定波长光源和连续波长光源两种类型。单波长、单光束的仪器是最简单的紫外分光光度计。连续波长光源的仪器可以通过色散元件和狭缝来选择波长。单光束的仪器必须分别手动测量每个波长下溶剂和试样的吸光度,而且对光源的稳定性要求特别高,若在测量过程中光源发生波动,光源强度不稳定,将对测量产生影响,导致重复性不好。双光束仪器则没有这种弊端,可同时扫描测量溶剂和试样的紫外光谱,而且可以实现自动记录。

目前使用最普遍的是双光束可见紫外分光光度计,图 1-8 所示为一台双光束紫外分光光度计的光学示意图。当前常见的还有采用光二极管阵列检测器的多通道紫外分光光度计,整个仪器由计算机控制,该类仪器可在 190~1 100 nm 的宽光谱内保持波长分辨率达到 0.1 nm,甚至更小。光二极管阵列仪器具有多通路的优点,且同时具有测量快速、信噪比高、灵敏度高与重复性好等优点,这类紫外检测器也常作为高效液相色谱仪的检测器使用。

通常紫外分光光度计都是由光源室、单色器、试样室、检测器及信号显示系统与数据处理系统五个部分构成的。



$M_1 \sim M_4$ —反射镜; S_1 —入射狭缝; S_2 —出射狭缝;
 G —衍射光栅; F —滤光片; $L_1 \sim L_2$ —聚光镜

图 1-8 双光束紫外分光光度计示意图

(1) 光源室

紫外光区的光源有卤素钨灯和氘灯或氙灯。卤素钨灯的工作波长范围为 320 ~ 2 500 nm, 氘灯的工作波长范围为 180 ~ 375 nm, 两者组合使用。两者在波长扫描过程中自动切换, 如图 1-8 中反射镜 M_1 使两个光源发射的任一道光反射, 经入射狭缝 S_1 进入单色器。氘灯是一种新颖的光源, 发光效率高, 强度大, 而且光谱范围宽, 包括紫外、可见和近红外光, 是目前很多高端仪器如紫外-可见-近红外光谱仪 (UV-Vis-NIR) 所使用的光源。

(2) 单色器

单色器为石英棱镜或者光栅。来自光源的光通过入射狭缝 S_1 由衍射光栅 G 散射成单色光。经过出射狭缝 S_2 聚焦, 经滤光片去掉杂散光, 由折光镜脉冲输送, 并将光束劈成两束光, 一束为试样光束, 另一束为参比光束, 两束光由斩光镜反射到 M_3 和 M_4 , 再反射进入试样室。

(3) 试样室

进入试样室的两束光, 一束经过参比池射向检测器, 另一束经过试样池射向检测器。参比池和试样池均为石英材质。

(4) 检测器

常用的检测器有光电池、光电管、光电倍增管及二极管阵列等, 其中光电倍增管的灵敏度高, 而且不易疲劳, 是目前紫外分光光度计中应用最广的一种检测器; 二极管阵列检测器是目前快速扫描光谱仪与液相色谱仪中常用的紫外检测器。二极管阵列检测器具有性能稳定、光谱响应宽、数字化和扫描准确等优点。前已述及当前广泛使用的多通道紫外-可见分光光度计与常规仪器不同之处就在于其使用了一个光二极管阵列检测器。

(5) 信号显示系统与数据处理系统

常见的信号显示系统有检流计、数字显示仪、微型计算机等。采用光电倍增管作为检测器, 由于试样光束吸收能量, 所以产生不平衡电压, 此不平衡电压被一个滑线电阻的等价电压