



主编 徐 萍

药物化学实验 教程

*Experimental Medicinal Chemistry:
A Laboratory Textbook*

北京大学医学出版社

第2版

药物化学实验

教程

上海医药高等专科学校

Experimental Medicinal Chemistry:
A Laboratory Textbook

药物化学实验教程

主 编 徐 萍

副 主 编 李正香

北京大学医学出版社

YAOWU HUAXUE SHIYAN JIAOCHENG

图书在版编目 (CIP) 数据

药物化学实验教程/徐萍主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2010. 8
ISBN 978-7-81116-753-5

I. ①药… II. ①徐… III. ①药物化学—实验—高等学校—教材
IV. ①R914—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 125382 号

药物化学实验教程

主 编: 徐 萍

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京朝阳新艺印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 邱 阳 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9.25 插页: 1 字数: 236 千字

版 次: 2010 年 8 月第 1 版 2010 年 8 月第 1 次印刷 印数: 1—3000 册

书 号: ISBN 978-7-81116-753-5

定 价: 20.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

药物化学是药学专业的重要二级学科，也是新药研发的龙头学科，是药学专业学生的主要专业方向之一。作为药学专业的主干课程，“药物化学”历来是理论课与实践课二者并举的。传统的“药物化学实验”是以药物合成为核心，以药物的有机合成为主要内容。近些年来，随着学科快速发展，药物化学已从化学模式转变为生物学、化学、信息学等学科的综合模式，这对将要进入二级学科领域的学生提出了更高的要求。因此，为了顺应学科发展和人才培养的需要，完善我校“药物化学”国家级精品课程的建设，同时作为我校国家级理科基地（药学基地）和北京市药学实验教学示范中心的建设内容之一，“药物化学实验”教学改革全面展开。本教程就是在此基础上形成并编写的，体现了我们教学改革的理念和思路，以及新的教学内容和方式。

本教程在药物化学实验教学内容和模式上进行了创新。药物化学是实验科学，进入该二级学科的学生都将在实验室中进行研究工作。“药物化学实验”的目的就是让学生真正学到药化学科的各项基本技能，而不只是药物合成。因此，本书首先简介了药化实验室的功能和设备、安全注意事项、仪器的洗涤和准备、溶剂的预处理和废物处理等进入药化实验室之前必须掌握的基本知识和技能（实验室基本知识和实验1、实验2、实验3）。在实验内容的选择上，力求覆盖药物化学研究的主要方面，如分子模拟计算（实验4、实验5、实验6）、定量构效关系（QSAR）计算（实验7）、计算机辅助药物设计（CADD，实验8、实验9）、药物合成（实验10至实验15）、理化性质测定（脂水分配系数、稳定性、pH、 pK_a 、比旋度等）、文献查阅和实验设计与实施（实验16、实验17）等。其中各项性质的测定分别安排在性质各不相同的各药物的合成实验中，而文献检索则落实在设计性实验中。实验16示范了一个设计性实验的实施全程。实验17为设计性实验指导，体现了我校基于问题的实验教学的模式和实施过程，对于学生自主设计实验、实施方案、解决问题，将所学用于研究并在研究中主动学习等创新性思维能力的培养具有重要意义。

本教程在药物化学实验教学规范上进行了创新。我们从本教程中根据学时安排选做实验。要求所有学生在开始每一个实验前，必须先完成预习报告（附录1），合格者才能进行实验。实验中要及时、如实、清晰地记录实验现象、数据和结果。实验完成后按具体要求写出实验报告。实验报告被设计成研究论文的格式（附录2和附录3），必须用英语撰写。这对于训练学生研究论文的写作能力和专业英语的使用技巧方面，都是难得的实践机会。

本教程在编写上也进行了创新。一方面表现在全书以中英文双语写作，大部分实验的目的要求、背景知识、实验原理等用中文，而实验操作、注意事项、思考题、实验报告要求等用英文，帮助学生熟悉专业英语。实验4至实验9是学生在前期课程中接触较少的内容，我们不做双语要求，在编写中也以中文为主。另一方面表现在书中不给出实

验结果和思考题答案，而是要求学生在实验报告中去总结和讨论，增加未知度和探索性。教学组另有一册教师指导手册作为教学辅助材料。

本书编者均为北京大学药学院药物化学系（国家重点学科）的一线教员，多年从事药物化学的教学和科研工作，先后承担多项教育教学改革课题和科学研究项目。大家将多年的心血和经验凝结成此书，奉献给同行和学生。本书可作为药学专业长学制、本科、专科学生的“药物化学实验”教学用书，以及药物化学实验室工作人员的参考书。

本书在编写过程中，得到了我系雷小平教授的精心指导和教学组其他老师的参与和支持，在此表示衷心感谢！由于我们首次编写双语教材，受水平所限，必有不当或错误之处，恳请使用者指正。

徐 萍
北京大学药学院
2010. 2. 8

目 录

第 I 部分 药物化学实验室基本知识和技能	1
药物化学实验室基本知识	2
实验 1 乙酰苯胺的重结晶	5
实验 2 甘氨酸苄酯的萃取	8
实验 3 经典柱色谱法分离查尔酮	11
第 II 部分 计算机辅助药物设计	17
实验 4 应用量子化学计算方法进行分子结构优化以及异构化反应研究	18
实验 5 生物大分子的分子动力学模拟	31
实验 6 MM_PBSA 方法研究药物小分子和靶标的结合自由能	40
实验 7 基于药效团模型的虚拟筛选	47
实验 8 甾体化合物的三维定量构效关系——比较分子场分析	55
实验 9 生物素及其结构类似物与抗生蛋白链菌素作用方式研究	66
第 III 部分 药物制备实验	74
实验 10 苯妥英钠的制备	75
实验 11 贝诺酯的制备	81
实验 12 曲尼司特的制备	90
实验 13 盐酸普鲁卡因的制备	95
实验 14 巴柳氮钠的制备	102
实验 15 萘普生的制备	108
第 IV 部分 设计性实验	115
实验 16 咖啡酸苯乙酯的合成	116
实验 17 褪黑激素的合成	122
附录	
附录 1 预习报告格式	124
附录 2 实验报告格式 I	125
附录 3 实验报告格式 II	126
附录 4 TLC 检测常用显色剂	127
附录 5 常用溶剂的纯化处理	132
索引	136

Contents

Part I . Essentials of Medicinal Chemistry Laboratory	1
Elementary Knowledge of Medicinal Chemistry Laboratory	2
Experiment 1. Recrystallization of Acetanilide	5
Experiment 2. Isolation of Benzyl glycinate by Extraction	8
Experiment 3. Separation of Chalcone by Classical Column Chromatography ...	11
Part II . Computer-aided Drug Design (CADD)	17
Experiment 4. Study on Molecular Structure Optimization and Isomerization Reaction by Using Quantum Chemistry Method	18
Experiment 5. Molecular Dynamics Simulation on Biological Macromolecule	31
Experiment 6. Study the Binding Free Energy of a Small Molecule with its Target by Using MM_ PBSA Method	40
Experiment 7. Pharmacophore Modeling and Virtual Screening	47
Experiment 8. 3D-QSAR: Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) of Steroids	55
Experiment 9. Docking research of biotin and analogs to streptavidin using CHARMm-based algorithm CDOCKER	66
Part III . Drug Preparation Experiments	74
Experiment 10. Preparation of Phenytoin Sodium	75
Experiment 11. Preparation of Benorilate	81
Experiment 12. Preparation of Tranilast	90
Experiment 13. Preparation of Procaine Hydrochloride	95
Experiment 14. Preparation of Balsalazide Sodium	102
Experiment 15. Preparation of Naproxen	108
Part IV . Designing Experiments	115
Experiment 16. Preparation of Caffeic Acid Phenethyl Ester	116
Experiment 17. Preparation of Melatonin	122
Appendix	
Appendix 1. Pre-lab Preparation	124
Appendix 2. Laboratory Report I	125
Appendix 3. Laboratory Report II	126
Appendix 4. Location Reagents for Thin Layer Chromatography	127
Appendix 5. Preparation & Purification of Solvents	132
Index	138

第 I 部分 药物化学实验室基本知识和技能

Part I . Essentials of Medicinal Chemistry Laboratory

药物化学实验室基本知识

Elementary Knowledge of Medicinal Chemistry Laboratory

“药物化学实验”要求的先修课程 (prerequisite) 包括基础化学及实验、有机化学及实验、分析化学及实验、药物的波谱解析、药物化学、生物化学、计算机应用和药学文献等。有关实验的一般规则和基本单元操作, 学生在先修课程中已有知识和技能储备。作为药学专业高年级学生进入毕业设计前或本、硕连读学生进入硕士阶段前重要的一门专业必修实验课, “药物化学实验”不仅要让学生真正学到药化学科的各项基本技能, 同时还肩负着让学生所学的实验知识系统化的重任, 所以本章就药物化学实验中最常涉及的单元操作、实验室规则和化学实验室的一般安全知识等作些介绍, 并于本书附录中列出药物化学实验中常用溶剂的无水处理及特殊试剂的使用、TLC 检测中常用显色剂的选择及配制等内容。

I. 药物化学实验课的整体安排 The Overall Arrangement of Medicinal Chemistry Experiments

药物化学实验课的目的是让学生真正掌握进入药化学科的各项基本技能。为适应药物化学学科的发展, 紧密配合药物化学的理论课教学, 实验内容的安排力求覆盖药物化学研究的主要方面, 因此将药物化学实验课分成三大部分: 第一部分为综合训练实验, 约占实验课时的 30%; 第二部分为设计性实验, 约占实验课时的 50%; 第三部分为计算机辅助药物设计实验, 约占实验课时的 20%。

➤ 综合训练实验 (约 20 学时): 学生通过选做本书的第三部分实验, 掌握药化学科实验的各项基本操作、基本技能、各种实验方法。

➤ 设计性实验 (约 36 学时): 以本书的第四部分实验的模式进行, 选题结合各届学生的培养目标和院系科研课题, 由教学小组讨论提出。鼓励学生广泛深入探索, 为学生的毕业设计和进一步深造打下良好基础。通过本阶段的训练, 使学生能独立查阅和归纳整理文献, 独立进行常规的实验设计, 在教师指导下实施并完成实验。

➤ 计算机辅助药物设计实验 (约 16 学时): 学生选做本书第二部分实验, 采取演示和学生上机操作相结合的教学方法, 让学生熟悉并能简单应用计算机辅助药物设计 (CADD) 软件。

II. 药物化学实验课的基本要求 Primary Requirements of Medicinal Chemistry Experiments

➤ 课前预习

在进入每个实验之前, 必须充分预习并写好预习实验报告 (pre-lab preparations,

见附录 1)。预习内容包括实验目的、实验原理、所用试剂的理化常数、基本操作要点及注意事项。对实验中涉及的相关知识背景、所用试剂的理化常数及毒性必须充分了解。如果实验中要用到新的或不熟悉的仪器设备,除在应用前认真阅读说明书外,还应尽可能地查阅有关资料或请教教员。对于比较复杂的实验装置,应画出示意图。

预习报告可以用英文或中文书写。预习报告经实验教员批阅合格后方可开始实验。

► 在实验过程中要规范操作,仔细观察,实事求是而且清晰并详细地记录实验现象和数据。所有实验数据应实时记录,在进行数据的更改或更正时不要使用涂改液,而应该在不正确的信息上画线,在旁边书写正确的数据。实验记录写在预习报告本上。

► 实验过程中的废液、废弃物均不得丢弃,应分门别类回收,要始终贯彻绿色化学的思想。

► 实验结束时按要求放回公用药品试剂,认真清洗仪器,关好仪器、水、电,经教员检查合格后方可离开。

► 实验报告要求

对实验数据和结果进行归纳整理和总结分析,提出问题加以讨论,需要时去查阅参考文献,并最终得出相应的结论。这是药物化学实验的重要组成部分,也是学生在进入药物化学科研工作之前必须经历的一个关键训练环节。本教程将实验报告设计为研究论文的格式,意在初步训练学生的论文撰写能力,为今后的科研工作打下基础。

实验报告要求用英文书写(特别注明的除外)。附录 2 和附录 3 给出了实验报告的一般格式,针对每个不同的实验,老师还会作出相应的具体要求。每个实验结束后,要求学生写出一个完整的实验报告。每个学生必须按照相关要求独立完成规范的实验报告(包括报告格式和专业英文的双重规范)。

III. 实验室安全常识 Laboratory Safety

Medicinal Chemistry Experiment is a course closely associated with the organic chemistry. One of the most important facets of this course is teaching students how to work safely in the laboratory. In order to make the laboratory be a very safe place, students should have a good understanding of the common safety rules. We must make every effort to minimize exposure to hazardous, toxic, or carcinogenic substances.

1. General Safety Rules

- (1) Dress appropriately in the laboratory at all times.
- (2) Learn the location and operation of the safety equipment.
- (3) Do not eat, drink, or smoke in the laboratory.
- (4) Flammable solvents such as ether, acetone, toluene, alcohols, etc. must be kept well away from open flames.
- (5) Know your experimental plan before you come to the laboratory. Never begin an experiment without reading the complete procedure first.
- (6) Do not point the open end of a test tube or other vessel containing a reaction

mixture toward yourself or anyone else.

- (7) Make sure you have clean glassware and necessary equipments before an experiment, and clean them after class.

2. Working with Chemicals

In a medicinal chemistry laboratory, some substances with which you will be working will be quite different from those that you normally handled. You must handle all chemicals properly, and with caution.

- (1) Read the label carefully before taking anything from a bottle. Only use properly labeled reagents.
- (2) Use only what is needed. Never return unused reagents to their storage containers.
- (3) Re-cap or re-stopper all reagents bottle after use. Return chemicals immediately to their proper places.
- (4) Do not let chemicals contact with your skin. Wear appropriate protective gloves, if necessary.
- (5) Label all chemicals.
- (6) Never mix unknown chemicals together. Always add any acid to water slowly to dilute.
- (7) Avoid breathing fumes of any chemicals.
- (8) To avoid contamination, do not insert your own pipets into the reagent bottles.

3. Questions

- (1) What must always be worn in the medicinal chemistry laboratory?
- (2) If the fire alarm goes off, what do you do?
- (3) What types of chemicals can be poured down the drain? What should you do if you are unsure?
- (4) What procedure should you follow to dilute an acid?
- (5) Draw a map of the laboratory, noting all exits and safety equipments (fire extinguishers, eyewashes, etc.) .

(北京大学药学院 李正香)

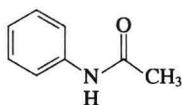
实验 1 乙酰苯胺的重结晶

Experiment 1. Recrystallization of Acetanilide

1.1 目的要求 Purpose

1. 掌握重结晶原理。
2. 学会规范、熟练地用重结晶方法纯化固体有机化合物。
3. 本实验 2 学时。

1.2 背景介绍 Background Information



Acetanilide

乙酰苯胺 (acetanilide) 因退热效果良好曾以商品名退热冰 (antifebrin) 作为解热镇痛药用于临床, 后因副作用较大而被淘汰^[1]。现主要用于制药原料、染料、橡胶硫化促进剂、合成樟脑等。

乙酰苯胺的化学名为: *N*-苯基乙酰胺 (*N*-phenylacetamide)。分子式为 C_8H_9NO , 分子量为 135.16。为白色有光泽的片状结晶或白色结晶粉末, 无臭或略有苯胺及乙酸气味。熔点 $113\sim 115^{\circ}\text{C}$, 沸点 $304\sim 305^{\circ}\text{C}$ 。在空气中稳定。微溶于水 (20°C 时 $0.46\text{ g}/100\text{mL}$), 溶于热水 (100°C 时 $5.5\text{g}/100\text{mL}$)、乙醇、乙醚、氯仿、丙酮、甘油和苯, 不溶于石油醚。

本实验选择可用水作为重结晶良好溶剂的乙酰苯胺作为重结晶原料, 既经济又体现了绿色化学的理念。

1.3 实验原理 Experimental Principles

重结晶是纯化固体化合物常用的方法之一。其原理是利用混合物中各组分在某种溶剂中溶解度的不同而达到分离提纯的目的。

固体化合物在溶剂中的溶解度一般随温度的升高而增大。把含有杂质的固体化合物溶解在热的溶剂中使之趋于饱和, 首先热过滤除去不溶性杂质, 再冷却母液, 由于溶解度降低, 被提纯物质从过饱和溶液中析出, 杂质全部或大部分留在母液中。

在有机化学实验中已经学过重结晶时溶剂的选择原则和常规操作^[2]。若不能选择出一种单一的溶剂对欲纯化的物质进行重结晶,则可应用混合溶剂。混合溶剂重结晶要求两种混合的溶剂必须互溶,其中一种溶剂较易溶解而另一种溶剂较难溶解欲纯化的物质。操作过程中先用过量的热的良溶剂溶解固体,而后缓慢加入不良溶剂至出现浑浊,再加热至澄清。后续操作与常规的重结晶相同。

需要注意的是,一般重结晶方法只适宜杂质含量在 5% 以下的固体有机混合物的提纯。对杂质含量较高的粗产品,直接重结晶往往无法将主产物与杂质有效地分离,必须先采取其他方法进行初步分离,然后再重结晶提纯。

1.4 实验操作 Experimental Procedures

Place 2.0 g of crude acetanilide into a 100 mL Erlenmeyer flask. Add 40 mL of water and a boiling stone. Heat with a hot plate until all solid and oil have dissolved. Wrapping the neck of the hot flask in a towel, remove the flask from the heat source to cool the solution for a few minutes. Add a small amount of activated charcoal to the flask and resume boiling the solution. Swirl the mixture and boil it gently for 5 - 10 minutes. Meanwhile, set up a stemless funnel with fluted filter for filtration into a 100 mL Erlenmeyer flask. Have available about 40 mL of boiling water for washing.

Warm the funnel by pouring in a small amount of hot water, then filter the acetanilide solution. Keep the solution boiling gently until it is poured into the funnel. If crystallization begins in the funnel, add hot water to dissolve. Rinse the flask and solids in the funnel with a little hot water, and set the filtrate aside to cool down to room temperature. Crystals should begin to form as the flask cools. To complete the crystallization, chill the flask in an ice bath for 10 to 15 minutes.

Collect the crystals using aspirator suction. Dry the crystals as thoroughly as possible in the funnel, then spread them on a clean watch glass to dry.

Record the weight and melting range of the dried acetanilide. Calculate the percentage yield.

Transfer the product to a labeled vial and hand it in to your instructor.

Notes:

- (1) Be careful not to burn yourself while heating with a hot plate and removing the hot flask from the heat source.
- (2) Do not add the charcoal to a vigorously boiling solution, otherwise frothing will occur.
- (3) Some oil will be observed when you heat the mixture at first, it is liquid acetanilide. You should continue to heat the solution until all oil has dissolved.

1.5 实验报告要求 Important Information about the Report

The laboratory report of this experiment should be written according to the formal style (see appendix 2). The results (part 5) should include the m. p. value of the product, the calculation of the percent recovery (percentage yield), the appearance comparison of the product before and after recrystallization. In part 6 (Conclusions & Discussion), the answer of the following questions should be given.

1.6 思考题 Questions

1. Which procedures does the recrystallization involve? What is the purpose of each procedure?
2. Why does an appropriate amount of solvent should be used in recrystallization? How to determine the solvent amount?
3. Can we add the charcoal to a vigorously boiling solution? Why? What is an appropriate ratio of the activated charcoal to crude solid substance?
4. Did you observe some oil in solution when you heated the mixture at first? What is it?
5. What kind of solvent should we select when we purify a solid substance by recrystallization?

参考文献 References

- [1] 徐正. 非甾类抗炎药 [M] //仇文升, 李安良. 药物化学. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2005, 311.
- [2] 黄河清. 分离基本方法及相关技术 [M] //曾慧慧, 刘俊义. 现代实验化学 (上册). 北京: 北京大学医学出版社, 2004, 128 - 133.

(北京大学药学院 李正香)

实验 2 甘氨酸苄酯的萃取

Experiment 2. Isolation of Benzyl glycinate by Extraction

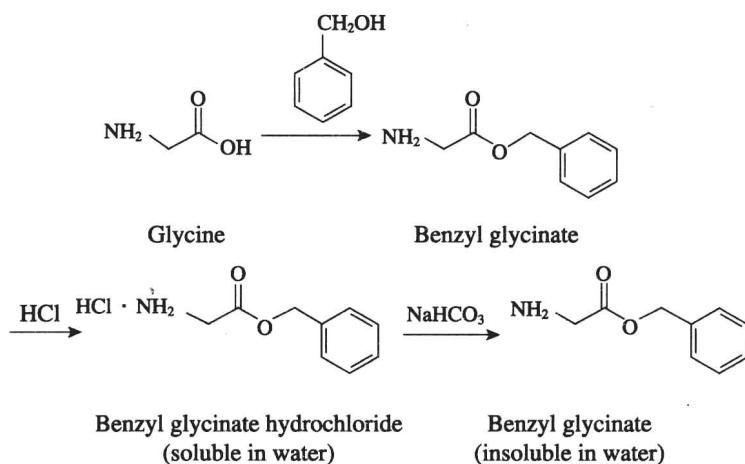
2.1 目的要求 Purpose

1. 掌握萃取原理。
2. 学会规范、熟练地用萃取方法提纯液体有机化合物。
3. 本实验 2 学时。

2.2 背景介绍 Background Information

肽类化合物具有广泛的生物活性，在药物研究中占据十分重要的地位。氨基酸是合成肽类化合物的基本原料，在合成过程中根据反应的需要常常要将氨基或羧基加以保护，而将羧基做成苄酯是常用的保护手段之一。经典的合成氨基酸苄酯的实验方法是将苄醇和氨基酸在多聚磷酸（PPA）催化下脱水生成氨基酸苄酯，再向经过萃取提纯后的苄酯的乙醚溶液中通入盐酸，苄酯形成盐酸盐后可以析出结晶。

本实验进行甘氨酸苄酯的萃取分离。首先将甘氨酸和苯甲醇在多聚磷酸（PPA）催化下反应后的反应液倾倒入含有盐酸的水中，苄酯形成盐酸盐后溶于水。加入乙醚萃取，过量的反应物苄醇和脂溶性杂质会溶解在乙醚层中被除去。水层加入固体 Na_2CO_3 （或 NaHCO_3 ）使 $\text{pH} = 10$ ，水溶性的苄酯盐酸盐又成为脂溶性的苄酯。再加入乙醚萃取，甘氨酸、磷酸的钠盐（PPA 水解成磷酸，与 Na_2CO_3 或 NaHCO_3 反应生成盐）等水溶性杂质会溶解在水层中被除去。



2.3 实验原理 Experimental Principles

萃取是分离化合物常用的手段之一。其基本原理是利用化合物在两种互不相溶（或微溶）的溶剂中溶解度或分配系数的不同，使化合物从一种溶剂内转移到另外一种溶剂中。经过反复多次萃取，将绝大部分的化合物提取出来。

萃取有两种方式：液-液萃取，用选定的溶剂分离液体混合物中某种组分；固-液萃取，也叫浸取，用溶剂分离固体混合物中的组分。在药物化学实验中常用的是液-液萃取。

分配定律是萃取方法的主要理论依据。溶剂对不同的物质有着不同的溶解度。同时，在两种互不相溶的溶剂中，加入某种可溶性的物质时，它能分别溶解于两种溶剂中。在一定温度下，此化合物在两液层中的比例是一个定值。利用分配定律的关系，可以算出经过萃取后化合物的剩余量。要把所需要的化合物从溶液中完全萃取出来，通常萃取一次是不够的，必须重复萃取数次。

有机化合物在有机溶剂中一般比在水中溶解度大。用有机溶剂提取溶解于水的化合物是萃取的典型实例。在萃取时，若在水溶液中加入一定量的电解质（如氯化钠），利用“盐析效应”以降低有机物和萃取溶剂在水溶液中的溶解度，常可提高萃取效果。

2.4 实验操作 Experimental Procedures

Introduce the reaction mixture (0.45 g of glycine, 12 mL of benzyl alcohol and 2.5g of PPA) into a 250 mL separatory funnel which contains 100 mL of water and 5 mL of concentrated hydrochloric acid. Add 12 mL of diethyl ether. Shake the funnel vigorously for 2 - 3 minutes to ensure the maximum possible transfer. Place the separatory funnel in a ring stand and allow the ether and water layers to separate. When two sharply defined layers have formed, the lower aqueous layer is collected. Save the aqueous layer for later use. The ethereal layer is then washed with dilute hydrochloric acid (2% ; 10 mL, 5 mL, 5 mL, respectively) for three times. Combine the aqueous layers. Add solid Na_2CO_3 (or NaHCO_3) to basify the solution until $\text{pH} = 10$. Extract the mixture with diethyl ether (30 mL, 20 mL, 15 mL, respectively) for three times as described above. Combine the ether extracts and add anhydrous MgSO_4 to dry the solution in the Erlenmeyer flask for the next laboratory period.

Filter the solution to remove MgSO_4 . Introduce HCl gas into the filtrate for about 45 min, pure crystals of benzyl glycinate hydrochloride will be obtained. Collect the white crystals by filtration. Weigh the product and calculate the yield.

Notes:

- (1) All naked flames in the lab should be extinguished.
- (2) Every time after shaking the separatory funnel containing mixture, the funnel