



药物波谱解析 实用教程

红外光谱和氢谱是药物研究中的常规手段

氢谱解析

波谱基本原理

中草药提取成分结构波谱解析

郑穹 黄昆 梁淑彩 编著



WUHAN UNIVERSITY PRESS

武汉大学出版社



药物波谱解析 实用教程

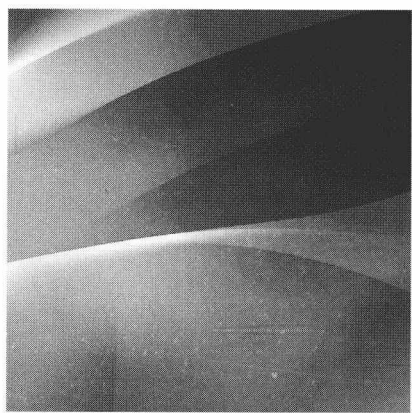
“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

主审

王德明

主审 王德明

编著 潘明 潘明 潘明 潘明



药物波谱解析 实用教程

红外光谱和氢谱是药物研究中的常规手段

氢谱解析

波谱基本原理

中草药提取成分结构波谱解析

郑穹 黄昆 梁淑彩 编著



WUHAN UNIVERSITY PRESS

武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

药物波谱解析实用教程/郑穹,黄昆,梁淑彩编著. —武汉:武汉大学出版社,2009.9

ISBN 978-7-307-06895-7

I. 药… II. ①郑… ②黄… ③梁… III. 药物分析:波谱分析—教材 IV. R917

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 025759 号

责任编辑:黄汉平 责任校对:刘 欣 版式设计:马 佳

出版发行:武汉大学出版社 (430072 武昌 珞珈山)

(电子邮件: cbs22@whu.edu.cn 网址: www.wdp.com.cn)

印刷:湖北民政印刷厂

开本: 720 × 1000 1/16 印张:40.5 字数:815 千字 插页:1

版次:2009 年 9 月第 1 版 2009 年 9 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-307-06895-7/R · 126 定价:56.00 元

版权所有,不得翻印;凡购我社的图书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请与当地图书销售部门联系调换。

前 言

本人并不是从事波谱分析的专业工作者,编写本教程的念头,起源于2000年武汉大学组建药学院后,由我讲授本院研究生和研究生进修班的《波谱解析》课程,其间,也给本科生上过课。当时,一位进修班的学员对我说(大意):“《波谱解析》我这是第三次听课学习,以前都没有搞懂,这一次听懂了。”这里当然有一个学习、消化和知识积累的过程,所以,我当时调侃道:“一个馒头没有吃饱,第二个馒头还是没有吃饱,第三个馒头吃饱了。”但是,也说明存在一个教学方法的问题,其中,包括教师的解惑作用和能力,以及教材水平、教案质量等。我对学生的要求是:在理解的基础上掌握和记忆基本识谱要点,达到凭必要的谱图就能推断出中等难度化合物的结构,至于根据经验公式计算等方面则是次要的。几年的教学实践证明,学生通过各个环节的学习,其识谱能力都得到极大提高,通过闭卷考试检验,大多数学生都能达到上述教学要求。不少学生认为我布置的查谱和识谱作业以及课堂讨论,对检查他们的知识点和培养能力,帮助甚大,有茅塞顿开之感。因此,萌发了将教学资料整理成文的念头,并蒙武汉大学教务部、武汉大学药学院和武汉大学出版社的支持,将本书的编写列入“十一五教材建设计划”。

本书定位为适于药学和相关专业的本科生和研究生使用的教科书。《波谱解析》类的专著和教材并不匮乏,但适于药学专业的不多,这与波谱在药物研究方面应用的重要地位不相称。另外,本书要有一定的深度和质量,少一些人云亦云的“天下文章一大抄”,多一点作者的经验体会,杜绝“以讹传讹”,杜绝“以其昏昏,使人昭昭”,希望能给读者启迪和帮助、能“解渴”。本书以培养识谱能力为重点,对有关理论尽量淡化,因此,本书定名为《药物波谱解析实用教程》。

教科书的体系结构、内容和特色也是非常重要的。目前,波谱技术发展神速,近年多名科学工作者因在波谱领域的杰出成果而获 Nobel 奖,即是明证。鉴于此,2005年 R. M. Silverstein 的第七版《Spectrometric Identification of Organic Compounds》完全删去了以前版本的紫外光谱部分,以能用较多篇幅介绍核磁共振新技术。但是,我们认为:紫外光谱是学习《波谱解析》的最佳切入点,加上紫外在药物结构研究和药物定量分析方面,有着其他谱学方法不可替代的作用,因此,将紫外光谱作为本教程的开篇。红外光谱和核磁共振氢谱是本教程的主要内容,这是由它们在药物结构研究

方面的重要性所决定的。红外和氢谱仍然是目前我们使用最多的常规手段,必须掌握好。我们也充分介绍了碳谱和二维核磁的作用以及新进展。此外,我参加研究生毕业论文答辩中发现,不少研究生尚不能很好地解析难度并不高的质谱谱图,究其原因是不少教材关于质谱部分内容千人一面,加上教学学时分配不当,造成学生对质谱掌握差,普遍有畏难情绪。因此,本书在质谱方面花了较多笔墨,并认真核查了一些原始资料,理清了一些概念。在此,我建议本课程内容和要求应该划分阶段,教学应讲求实效,不要面面俱到。具体在本科阶段,应该真正打好波谱的基础,掌握红外和氢谱的基本知识,对质谱不妨仅限于了解和掌握其确定分子式的用途;到研究生阶段再继续深入学习质谱和二维核磁等方面内容。本教程设专章介绍波谱综合解析、即通常所说“四谱联用”的有关细节,大致按难度编入了若干例题和习题,供不同程度使用者选用。教师也可以对全书内容作适当增减,以满足不同层次的需要。本书最后对“中药指纹图谱”作了简介。

本书第一章紫外光谱、第二章红外光谱,由武汉大学药学院梁淑彩副教授执笔。她的博士学位论文是在武汉大学国家重点学科分析化学专业完成。她2007年完成赴德国访问学者任务后即应邀投入本书的编写工作。光谱分析是她的强项,她本人一直担任本院本科生《波谱解析》课程的教学任务,有一定的教学经验,因此,由梁老师执笔本教程的这一部分是非常合适的。

本书第三章核磁共振氢谱、第四章核磁共振碳谱和二维核磁,由华中科技大学同济药学院黄昆教授执笔。他的博士学位论文在美国 Case Western Reserve University 完成,并在美国从事了多年博士后研究。他在目前世界上为数不多的 800MHz 和 900MHz 核磁共振仪上从事多年工作,成果斐然,特别是他通过 NMR 对胰岛素活性部位的构象的确定和阐述,引起有关领域人士高度关注。黄老师欣然同意按照我提出的“简明实用、循序渐进”的原则参加和完成了这本基础教程的编写,应该说,还没有充分发挥他的才智和优势,但是,他的参加无疑对本教程的科学性和时代性起了很好的保障。

本人除了负责本书编写的组织、规划和统稿外,具体执笔第五章有机质谱、第六章波谱综合解析和第七章中药指纹图谱简介。

我们在编写过程中,参考了“参考书目”中列出的有关著作,并主要使用了 Sadtler 标准图谱集和 <http://riodb01.ibase.aist.go.jp> 免费网站的一些谱图,为此,我们向有关作者和工作者致以谢意。除了根据教学需要进行的处理外,为了尽量保持这些资料的原始面貌,不得不牺牲一点本书附图的统一性和美观感受。

我们再次感谢武汉大学教务部、武汉大学药学院和武汉大学出版社的支持和工作,使本书正式出版。

武汉大学生命科学院郑凌教授提供了部分谱图,药学院段建利协助绘制若干分子结构图,一并表示感谢。

由于作者水平有限,部分讨论内容和观点难免失当或者存在错误,敬请使用本书的师生和药学工作者批评指正。考虑到附习题答案的方式对培养学生独立思考和波谱解析实际能力的负面影响,本书习题暂不附答案,读者有这方面的具体问题,可与我们联系。

最后,我想用我赠武汉大学药学院 2004 级硕士研究生的一首打油诗及其背景结束本文。当时我讲授的课程被有关部门定为《高等药物波谱解析》,我一再对学生讲(大意):“不能称为《高等药物波谱解析》,顶多算个《中级波谱》。《高级波谱》我个人讲不了,你们目前也没法学,缺乏基础。实际上一般药物的波谱解析工作是很复杂的,往往需要多种谱图和其他信息以及专业知识,有的一张谱图的解析就需要若干小时、甚至若干天。我们选择的教学内容还只能偏重于基础知识和培养解析能力,更多的深入学习依靠自己的实践。”2004 年年底某天,我答应了 2004 级研究生的晚会邀请却因故失约,次日是课程结束之际,故题诗道歉。现略修改、录下,以窥药物波谱解析过程全貌。

打油诗

中级解析雕虫技,
高等波谱需努力。
首先确定官能团,
位数形型不孤立。
信息多自分子式,
质谱断裂要讲理。
愿君考试得优秀,
晚会欠曲今还你。

郑 穹(电子邮箱 amnoxid@gmail.com)

2008 年夏于武昌珞珈山

目 录

第一章 紫外光谱	1
第一节 谱学有关的基本概念	1
第二节 紫外光谱基础	6
第三节 药物结构与其紫外光谱的关系	31
第四节 紫外光谱在药物研究中的应用	47
习题	62
第二章 红外光谱	65
第一节 红外光谱基本理论	65
第二节 红外光谱的分区及识谱关键	89
第三节 有机化合物红外光谱谱图的基本特征	95
第四节 红外光谱在药物研究中的应用	128
习题	147
第三章 ^1H -核磁共振谱(氢谱)	152
第一节 核磁共振基本原理	153
第二节 氢谱要解决的第一个问题——分子中有何种氢核	164
第三节 氢谱要解决的第二个问题——分子中各种氢核的相对数目	184
第四节 氢谱要解决的第三个问题——相邻(或相近)碳上氢核的信息	185
第五节 耦合常数及其影响因素	196
第六节 氢谱自旋体系	202
第七节 复杂氢谱的简化和信号分辨技术	231
第八节 氢谱解析及其在药物研究中的应用	240
习题	247
第四章 ^{13}C -核磁共振谱(碳谱)和多维核磁	262

第一节 碳谱基本理论.....	262
第二节 碳谱的化学位移.....	277
第三节 碳谱解析及其在药物研究中的应用.....	289
第四节 二维核磁.....	293
第五节 异核三共振多维核磁及其在生物大分子药物研发中的应用.....	313
习题.....	330
第五章 有机质谱.....	357
第一节 质谱的基本原理.....	357
第二节 分子离子和分子离子峰.....	373
第三节 质谱断裂规律.....	379
第四节 有机化合物的裂解规律和质谱基本特征.....	407
第五节 质谱解析.....	449
习题.....	454
第六章 药物结构波谱综合解析.....	462
第一节 简单药物分子结构波谱解析实例.....	462
第二节 较复杂药物分子结构波谱解析实例.....	478
第三节 中草药提取成分结构波谱解析实例.....	483
习题.....	492
第七章 中药指纹图谱.....	555
第一节 中药指纹图谱概念形成的背景.....	555
第二节 中药指纹图谱的特点和意义.....	557
第三节 中药指纹图谱的类型.....	559
第四节 中药指纹图谱研究的主要内容.....	562
附录一 分子离子失去电中性碎片的常见情况(可以推广到母子离子的 质量关系上).....	564
附录二 常见重要正离子(包括少数自由基正离子)碎片的质荷比.....	566
附录三 分子量在 12~250 的 Beynon 表摘录.....	569
参考文献.....	641

第一章 紫 外 光 谱

本章学习要求

1. 了解电磁波基本特征和区域划分,熟悉紫外光谱区域划分。
2. 掌握紫外光谱有关概念;掌握分子价电子跃迁和发色团类型及它们与紫外吸收峰之间的关系;掌握紫外光谱的影响因素。
3. 掌握计算共轭烯烃和 α, β -不饱和羰基化合物 $\lambda_{\max}$ 的经验规则。
4. 了解紫外光谱在药物结构分析中的应用。
5. 了解紫外光谱在药物研究中的其他应用。

第一节 谱学有关的基本概念

一、谱

谱是按照对象的类别和系统,采取某种比较整齐的形式(如图形、表格等)编辑起来供人们参考的资料。

与药物研究有关的谱主要有色谱、光谱和质谱(一种碎片谱)。色谱主要用于药物的分离、提纯和混合物组分的定量研究。光谱和质谱用于药物的结构解析,也可以进行定量分析。此外,还有近年发展的所谓“中药指纹图谱”,中药指纹图谱是有关色谱和光谱的混称。主要有关情况参见表 1-1。

表 1-1 与药物研究有关的谱

谱的类型	名 称	代 号	说 明
光谱 Spectrum	紫外光谱	UV	判断有无共轭体系
	红外光谱	IR	解析官能团
	氢核磁共振谱	$^1\text{H-NMR(PMR)}$	氢核种类、数量和环境
	碳核磁共振谱	$^{13}\text{C-NMR(CMR)}$	碳架及碳的类型

续表

谱的类型	名 称	代 号	说 明
碎片谱	质谱	MS	确定分子量、解析结构
色谱 Chromatography	气相色谱	GC	分离、提纯和混合物组分的 定性定量
	高效液相色谱	HPLC	
	薄层色谱	TLC	
	毛细管电泳	CE	
“中药指纹图谱”	中药指纹图谱		中药现代化研究

UV、IR、NMR(主要是 ^1H -NMR 及 ^{13}C -NMR)和 MS 四大谱是目前对药物分子进行结构表征的主要方法,统称四大波谱。由于各种波谱方法的原理不同,可提供的结构信息不同,它们都有一定的适用范围和局限性,在很多情况下需要综合使用才能达到确定分子结构之目的。值得说明的是:波谱技术也不是万能的,药物分子结构的确定往往还需要使用其他手段,如化学分析、X-射线衍射等。

二、光波

1. 光

光是一种电磁波。光具有波粒二象性,这是微观物质具有的特殊性质。

2. 光的波动性

光波可用连续的正弦波来描述,参见图 1-1。

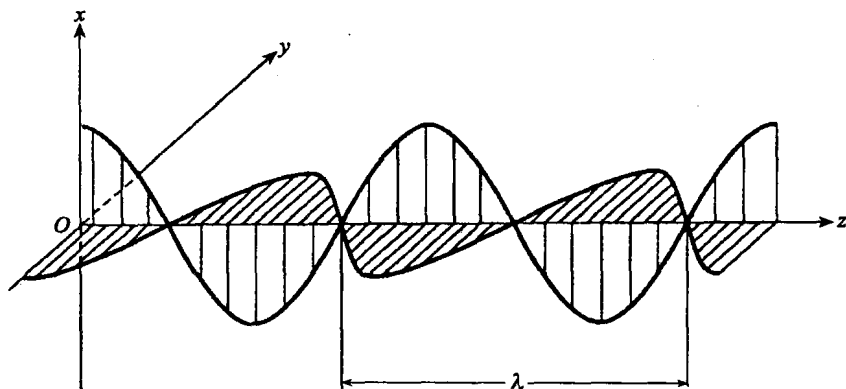


图 1-1 描述光的正弦波示意图

描述光波动性的主要物理量有:波长、频率或波数。

波长:光波相邻波峰(谷)之间的距离,用符号 λ 表示,根据波长的大小,习用 nm、 μm 或 cm 等单位。

频率:光在一秒钟内通过某点的周波数目,用符号 ν 表示,单位 Hz ($1\text{Hz} = 1/\text{sec}$)。

波数:每厘米长度距离包含周波的数目,用符号 $\bar{\nu}$ 表示,单位 cm^{-1} 。可以看出,波数是波长的倒数,是与频率有关的概念。

按光速不变原理,光的波长、频率和波数之间的关系为:

$$c = \lambda \nu \quad (1-1)$$

$$\nu = \frac{c}{\lambda} = c\bar{\nu} \quad (1-2)$$

式中: c 为光速,是一个常数, $c = 3 \times 10^{10} \text{ cm/sec}$ 。

3. 光的微粒性

量子理论认为:光是由不连续的粒子(或称为光量子)组成,光以光波的形式通过空间、以微粒的形式与其他物质发生作用。光的能量(E)与光的频率(ν)成正比,符合 Einstein-Planck 方程:

$$E = h\nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (1-3)$$

式中: h 为 Planck 常数, $h = 6.62 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{sec}$; c 为光速。

三、分子能级

分子内存在着多种运动形式:分子自身的平动和转动、原子或原子团之间的相对振动、电子的运动、原子核的自旋运动等,这些运动的能量是量子化的,各种运动的能级状态不同。图 1-2 是分子内这些有关运动的能级示意图。图 1-2 中, E_0 、 E_1 表示两个不同能量的电子能级,在每个电子能级中还分布着若干振动能量不同的振动能级,它们的振动量子数用 $V=0,1,2,3,\dots$ 表示,而在同一振动能级中,还分布着若干能量不同的转动能级,它们的转动量子数用 $j=0,1,2,3,\dots$ 表示。

处于同一电子能级(E_e)的分子因其振动能量不同而处于不同振动能级(E_v)上;处于同一电子能级又同一振动能级的分子,还因转动能量不同,而处于不同转动能级(E_j)上。所以分子的总能量可以近似看做是这 3 个能量的总和:

$$E_{\text{分子}} = E_e + E_v + E_j \quad (1-4)$$

分子的每种运动状态具有不同的能级,其中能量最低的那个(即量子数为 0)为各自的基态,能量较高的称为激发态,即每种运动具有一个基态,一个或多个激发态。处于基态的分子可以吸收一定能量的辐射,由基态跃迁到某激发态,即发生能级跃迁,或者称为激发。

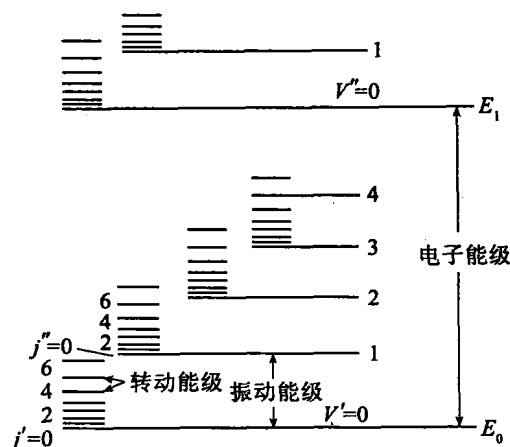


图 1-2 分子内有关运动的能级示意图

四、吸收光谱

当一束连续光(即在一定范围内,包含所有波长的光)通过一棱镜,光会被色散成各种波长的单色光。将它们按照波长连续排列形成的系列色带,称为光谱或波谱。

当上述这些单色光通过某样品池与样品池中分子相互作用时,若某些波长的光波的能量与分子中电子跃迁、振动或转动跃迁所需要的能量大小一致时,分子将选择性地吸收这些波长的单色光,引起相应的能级跃迁,同时透过的光谱中这些波长光的强度减弱或不呈现,参见图 1-3。

测量不同波长下的光辐射强度,以波长为横坐标、吸收强度(或透过率)为纵坐标来描绘测试结果,得到的光谱即称为分子吸收光谱,简称吸收光谱(absorption spectroscopy)。用于测定分子吸收光谱的仪器称为分光光度计,被记录形成的图叫做谱图(spectrum/spectra)。图 1-4 为药物阿司匹林的紫外光谱谱图。

结构不同的分子有不同的能级分布,发生能级跃迁时能量变化不同,吸收光的能量大小不同,即所吸收光的波长(频率)不同。研究物质的分子吸收光谱可以获得其结构信息,这是吸收光谱法定性分析的基础。

此外,物质吸收光子量的多少不仅取决于物质的分子结构,而且还和与光子所作用的分子数目有关,这是吸收光谱法定量分析的依据。

五、电磁波区域划分与光谱类型

形成与药物研究有关光谱的电磁波区域划分及产生相应光谱的情况参见表 1-2。在不同区域,描述光波的物理量(波长、频率或波数)将使用不同的适宜单位。有

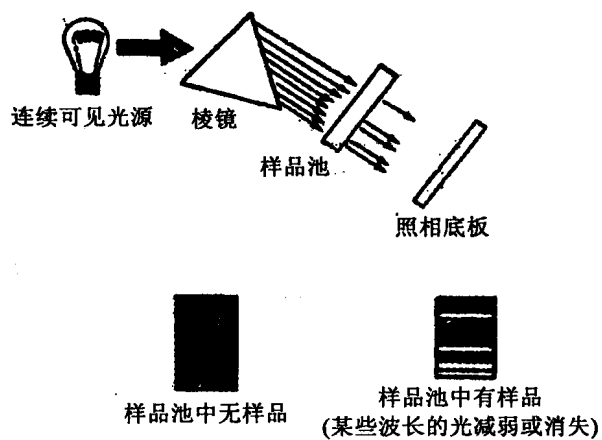


图 1-3 吸收光谱的产生示意图

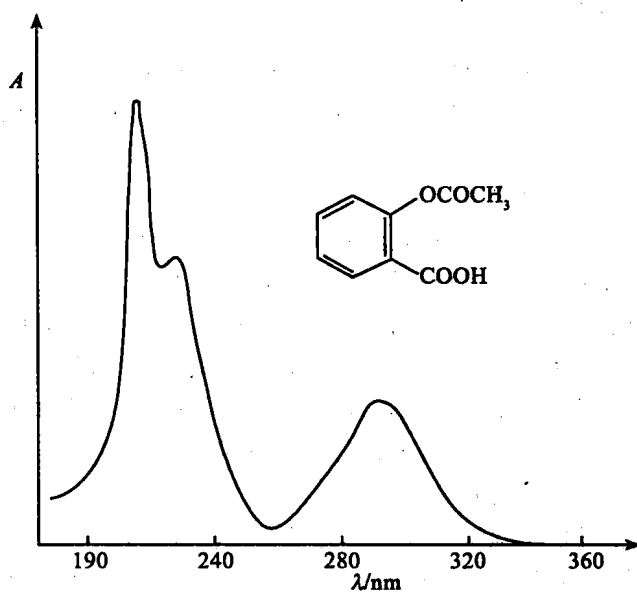


图 1-4 阿司匹林的紫外光谱谱图

关 X-射线谱、微波谱和顺磁共振谱可以参阅相关专著。

表 1-2

电磁波与波谱类型

λ 范围	0.1 ~ 10nm	10 ~ 400nm	400 ~ 800nm	0.8 ~ 1000 μm	0.1 ~ 100cm	1 ~ 10m
光区	X-射线	紫外光	可见光	红外光	微波	无线电波
跃迁类型	内层 电子跃迁	外层 电子跃迁	外层 电子跃迁	分子振动和 转动跃迁	分子转动 跃迁或电子 自旋跃迁	核自旋 跃迁
波谱类型	X-射线谱	紫外光谱	可见光谱	红外光谱	微波谱或 顺磁共振谱	核磁共振谱

第二节 紫外光谱基础

一、分子的价电子跃迁与紫外光谱

紫外-可见吸收光谱(ultraviolet-visible absorption spectroscopy),是分子吸收紫外-可见光区的电磁波(波长 10 ~ 800nm),其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(UV),也叫电子光谱(electronic spectrum)。

1. 分子轨道理论有关概念

根据分子轨道理论,分子轨道是由原子轨道线性组合而成,一定数目的原子轨道相互作用总是给出相同数目的分子轨道,但轨道能级发生改变。

如图 1-5(a)所示,在一定条件下,两个原子的 s 轨道上的电子相互作用形成 σ 键时,两个 s 轨道进行线性组合成两个分子轨道。其中一个的能量比原来的原子轨道能量低,称为成键轨道,记为 σ 轨道;同时,产生另一个空的分子轨道,其能量比原来的原子轨道能量高,称为反键轨道,记为 σ^* 轨道。基态时两个电子将填充在 σ 成键轨道,并且自旋相反,称为 σ 电子。

两个 p 轨道上的电子除了可以按与原子轨道轴线平行方向的方式“头对头”作用,形成 σ 成键和 σ^* 反键轨道(参见图 1-5(b))以外,还可以按与原子轨道轴线垂直方向的方式“肩并肩”作用,形成 π 成键和 π^* 反键轨道,基态时两个电子将填充在 π 成键轨道,并且自旋相反,称为 π 电子(参见图 1-5(c))。

此外,含杂原子(氧、氮、硫、卤素等)的分子中,某些处于外层的原子轨道在构成分子轨道时未发生作用,能量不变。这种非键分子轨道(nonbonding orbitals)称为 n 轨道。n 轨道上的孤对电子称为 n 电子。

一个化合物分子中可能同时存在 σ 、 π 和 n 电子三种类型的价电子,以甲醛为例

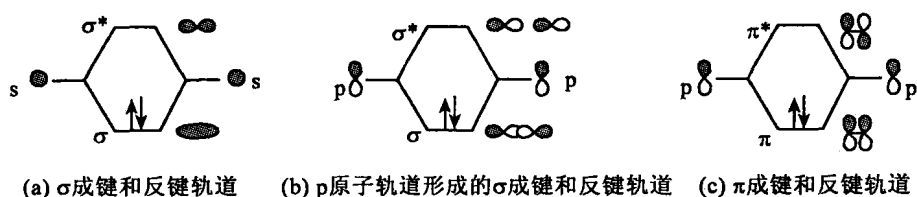


图 1-5 原子轨道组合成分子轨道示意图

表示如下：



当入射光子具有的能量与分子中某电子能级之差相同时,外层价电子将从低能级的成键或 n 轨道跃迁到具有较高能级的反键轨道,由基态变为激发态,如图 1-6 所示。此时,连续电磁波的相应波长位置的光将被吸收,通过紫外分光光度计可以记录到相应的信息。

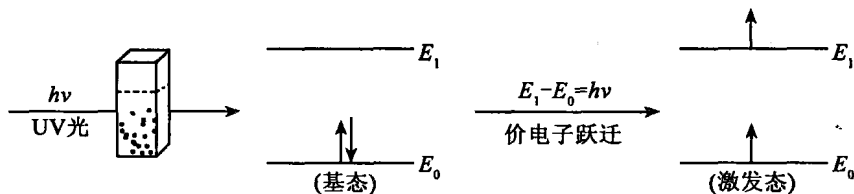


图 1-6 价电子跃迁示意图

2. 紫外光谱的区域划分

有机化合物的紫外光谱与不同价电子的能级跃迁密切相关。分子吸收光的能量 (ΔE) 是量子化的,与光波的波长和频率有关(而与光的强度无关),也符合 Einstein-Planck 方程:

$$\Delta E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} \quad (1-5)$$

即电子跃迁前后两个能级的能量差值 ΔE 越大,跃迁所需要的能量也越大,吸收光波的波长就越短。根据吸收光的波长大小,紫外光谱可以分为以下区段:

远紫外区:波长在 10 ~ 200nm 之间。有机分子 σ 电子被激发时可吸收光的波长在这个区域。由于空气中的 O_2 、 N_2 和惰性气体在该区域也有强吸收,进行样品测量时,需要附加真空装置来排除可能造成干扰的空气,因此,该区域也称为真空紫外区。真空紫外区测定的仪器价格高、测量较为困难,能提供的信息也比较有限,目前对真空紫外区的光谱研究较少。

近紫外区:波长在 200 ~ 400nm 之间。此区域的吸收光谱容易测量,且此时发生的吸收往往取决于分子中是否具有两个或多个不饱和键的共轭体系,对分子结构鉴定有着十分重要的意义,是紫外光谱研究的重点。由于玻璃比色池对紫外光的透过能力较差,而石英具有优异的透紫外光性,故在紫外区测定必须使用石英比色池,所以此区也称石英紫外区。

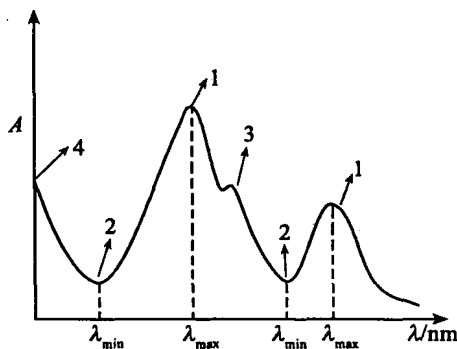
可见光区:波长在 400 ~ 800nm 之间。可见光区与近紫外区的情况和光谱产生原理基本上没有太大差别,只是测定仪器的光源不同,近紫外区用氢灯,可见光区用钨丝灯。一般的紫外光谱仪都包括测量紫外和可见光吸收的两档。可见光区域的吸收一般说明化合物具有较大的共轭体系。

3. 紫外光谱的测量

由于有机分子的紫外吸收灵敏度高,紫外光谱通常在非常稀的溶液中测量。一般用厚度为 1cm 的石英比色池(可见光区可以采用玻璃比色池)盛样品溶液,并同时用相应的溶剂(称为空白)进行对照,然后在仪器的整个波长范围内扫描,记录不同波长下的吸收强度,结果可以用图示法或文字形式表达。

二、紫外光谱表达的图示法

图示法表示紫外光谱测量结果的形式即谱图。紫外光谱谱图由横坐标、纵坐标和吸收曲线组成,参见图 1-7。



1-吸收峰;2-谷;3-肩峰;4-末端吸收

图 1-7 紫外光谱谱图的一般形式

1. 横坐标

紫外光谱谱图横坐标用来表示吸收光的波长(λ),通常以纳米(nm)为单位。

2. 纵坐标

紫外光谱谱图纵坐标用来表示光的吸收强度,可根据需要采取不同的形式。