

核磁共振波谱仪在制药工程专业本科实验教学 中的改革和探索

——以“阿司匹林的制备”实验为例

晋海洋, 惠永海, 张永飞*, 高利军, 王赞

岭南师范学院化学化工学院, 广东 湛江

收稿日期: 2024年10月13日; 录用日期: 2024年11月8日; 发布日期: 2024年11月18日

摘 要

核磁共振波谱在药物发现、药物结构鉴定和药物质量控制等方面具有重要作用。针对核磁共振波谱实验在制药工程专业本科实验教学中存在的问题, 对制药工程专业核磁共振波谱实验进行了改革和探索, 并以“阿司匹林的制备”实验为例对核磁测试方法和药物分子的核磁谱图解析进行了详细说明。这种改革方式为应用大型贵重仪器提高制药工程专业人才培养质量提供了新的视角。

关键词

核磁共振波谱实验, 药物合成实验, 实验教学, 阿司匹林

Application and Exploration of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Undergraduate Experimental Teaching of Pharmaceutical Engineering Majors

—Taking “Preparation of Aspirin” Experiment as an Example

Haiyang Jin, Yonghai Hui, Yongfei Zhang*, Lijun Gao, Yun Wang

School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang Guangdong

Received: Oct. 13th, 2024; accepted: Nov. 8th, 2024; published: Nov. 18th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 晋海洋, 惠永海, 张永飞, 高利军, 王赞. 核磁共振波谱仪在制药工程专业本科实验教学中的改革和探索[J]. 分析化学进展, 2024, 14(4): 222-228. DOI: 10.12677/aac.2024.144026

Abstract

Nuclear magnetic resonance spectroscopy has an important role in drug discovery, drug structure identification and drug quality control. Aiming at the problems existing in the undergraduate experimental teaching of pharmaceutical engineering, the NMR spectroscopy experiment of pharmaceutical engineering has been reformed and explored, and the NMR test method and the NMR spectra analysis of drug molecules have been described in detail by taking the experiment of "Preparation of Aspirin" as an example. This mode of reform provides a new perspective for the application of large and valuable instruments to improve the quality of training for pharmaceutical engineering professionals.

Keywords

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Experiments, Drug Synthesis Experiments, Laboratory Teaching, Aspirin

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

核磁共振波谱(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)在药物发现、药物定性鉴别和定量分析、药用辅料质量控制、药物代谢研究和化学药品标准物质研制等方面有着广泛的应用[1]-[3]。因此,学好核磁共振波谱对制药工程专业的本科生就业和继续深造具有很大帮助[4]。然而,核磁共振波谱理论概念抽象以及知识点繁多,容易造成学生理解困难[5]。核磁共振波谱通常是在《仪器分析》和《有机化学》课程中讲授,更注重有机小分子的核磁谱图解析,缺少对药物分子的结构解析锻炼。药物分子结构复杂,学生对药物分子的核磁共振波谱解析显得很吃力。核磁共振波谱仪属于大型贵重仪器,核磁共振波谱实验多为演示实验或观摩实验,一般本科生无法亲自实际操作,无法体现“以学生为中心”教学理念,同样无法实现核磁共振波谱仪在高质量人才培养中的重要作用[6]。

《药物合成实验》是制药工程专业的一门重要的专业实验课,同时也是与核磁共振波谱实验融合的重要载体。阿司匹林作为医药史上三大经典药物之一,是世界上应用最广泛的解热、镇痛和抗炎药,也是作为比较和评价其他药物的标准制剂。本文以“阿司匹林的制备”实验为例介绍核磁共振波谱在药物分子结构鉴定中的应用。

2. 核磁共振波谱实验教学改革

为了提高制药工程专业的人才培养质量,我校尝试将制药工程专业的《药物合成实验》与核磁共振波谱实验相融合,即在《药物合成实验》中增加核磁共振波谱测试以及利用核磁共振波谱进行产物结构鉴定的内容。具体实施方法为:将《药物合成实验》制备的产物用于核磁共振波谱实验测试,然后学生应用 MestReNova 软件处理谱图并对谱图进行解析,鉴定合成产物是否为目标药物分子。

2.1. 核磁共振波谱实验注重理论与实践相结合

核磁共振原理是比较抽象的,学生理解困难,在核磁共振波谱实验中,我们现场结合核磁共振波谱

仪和测试原理配图进一步帮助学生理解和记忆仪器的组成和基本原理。

大多数高校开设的《药物合成实验》包含 4~6 个实验，主要包括阿司匹林的制备、扑炎痛的合成、水杨酰苯胺的合成、利尿药氯噻酮中间体、苯妥英钠的合成、硝苯地平的合成等实验。这些药物分子结构中包含多种官能团，学生根据药物分子结构，结合测试所得的核磁共振氢谱和碳谱中的出峰位置，能够更好地理解化学位移的知识以及影响化学位移的因素；结合核磁共振氢谱中多重峰峰形，能够加深理解耦合裂分规律；结合核磁共振氢谱中吸收峰面积，理解峰面积与氢数量的关系。通过多次实验的锻炼，学生能够更深刻地理解谱图解析理论知识，在药物分子结构鉴定方面奠定了一定的实践基础。

2.2. 核磁共振波谱实验强调基本操作技能

学生不仅要懂谱图解析，还要明白如何得到合格的谱图。由于学生从未接触过核磁共振波谱仪器，教师需要详细讲解样品准备、上机测试以及 MestReNova 软件处理谱图方法。样品准备：主要讲解氘代试剂、样品浓度和样品体积等因素对谱图质量的影响。上机测试：主要介绍各个参数的意义和设置方法以及每个操作步骤的目的和方法。MestReNova 软件使用方法：MestReNova 软件是处理核磁共振谱图的重要工具，核磁共振波谱实验目的之一是让学生掌握 MestReNova 软件的使用方法。在这一过程中，教师边演示边讲解，讲解结束后，由学生亲自动手进行实际操作，起到事半功倍的效果。

2.3. 核磁共振波谱实验教学安排

为了实现核磁共振波谱实验与《药物合成实验》的有机结合，将核磁共振波谱实验依据《药物合成实验》拆分为多次实验。我校《药物合成实验》包含 4 个药物分子合成，学生得到合成的药物分子后，根据核磁仪器使用情况安排核磁共振波谱实验，具体安排如下表 1 所示。

Table 1. Teaching arrangement of nuclear magnetic resonance spectroscopy experiments

表 1. 核磁共振波谱实验教学安排

教学内容	学时
核磁共振理论教学	1 学时
核磁测试教学	0.5 学时
核磁测试	2 学时(样品准备和上机测试操作，4 次测试共计 2 学时，仪器测试时长不计学时)
MestReNova 软件教学	0.5 学时

3. 核磁共振波谱实验示例

3.1. 样品准备

以“阿司匹林的制备”为例，称取所合成的阿司匹林 3~5 mg，溶于 0.6 mL 氘代氯仿中，将溶液转移至 5 mm 标准核磁管内，用于核磁共振氢谱的测试。另取产物 10~15 mg 按照相同的方法制备样品，用于核磁共振碳谱的测试。

3.2. 核磁测试

1) 将样品用定深量筒定深后，放入自动进样器的样品盘中；2) 在样品采集软件(IconNMR)中依次设置存储路径，输入样品名称，选择氘代试剂以及实验项目(一维氢谱、碳谱和 DEPT 谱)；3) 进行仪器调谐，其目的是通过调整探头电路电容获得相应发射频率的最大灵敏度；4) 氘代试剂锁场，其目的在较长的核磁实验中，消除漂移或外界信号干扰对样品周围磁场的影响；5) 匀场：核磁共振波谱实验对磁场均

匀性要求很高,通过调整微小电流抵消原有磁场的不均匀性,得到校正后的均匀磁场;6) 样品采集:根据实验项目选择合适的扫描次数、谱宽、中心频率等参数,最终获得一张完整的核磁共振谱图。

3.3. 谱图处理和解析

由于核磁共振解析知识点多,学生对知识点的掌握程度不同,将学生按照 3~4 人进行分组,采取小组讨论方式进行谱图处理和解析。通过小组讨论加深对知识点的理解和掌握。核磁实验结束后,学生应用 MestReNova 软件处理核磁共振谱图,将处理好的谱图打印出来粘贴到实验报告本上,并且根据药物分子结构和相关理论知识对谱图进行解析,明确各个吸收峰的归属,写明判定吸收峰归属的依据,从而鉴定所合成产物的结构。

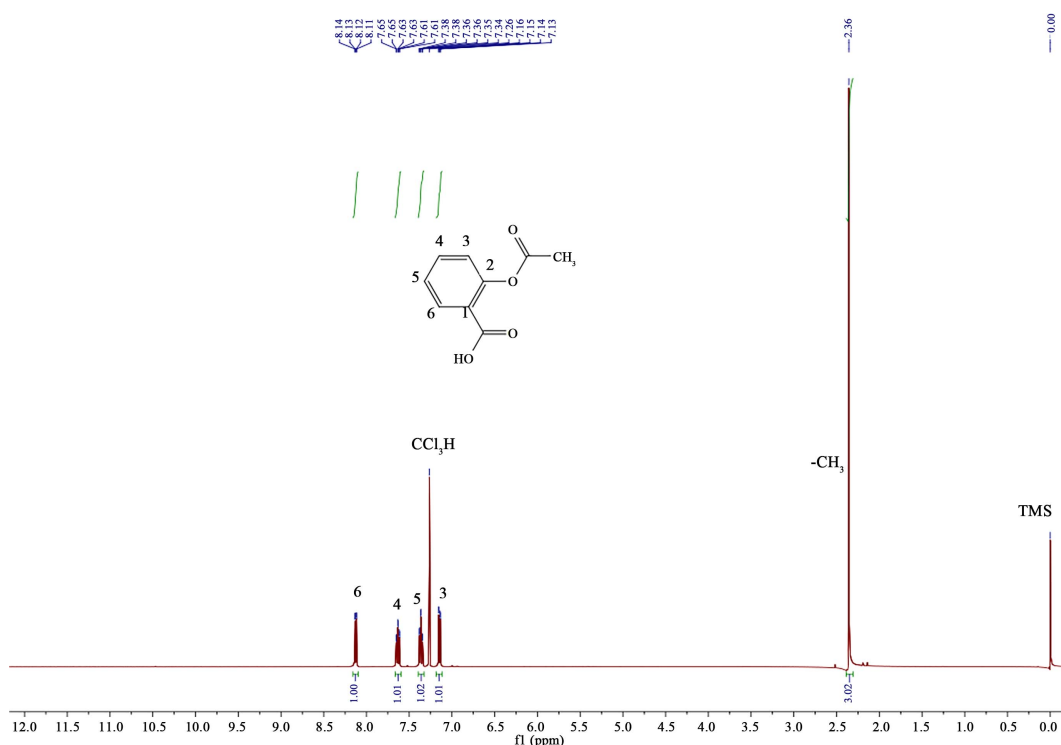


Figure 1. ^1H NMR spectrum of aspirin

图 1. 阿司匹林的 ^1H 核磁氢谱

以“阿司匹林的制备”实验为例,对阿司匹林的核磁共振氢谱、碳谱和 DEPT-135 谱进行解析。如图 1 所示,氢谱中共有七组峰,化学位移(δ)为 0 的吸收峰为标准物质四甲基硅烷(TMS)的化学位移; δ 7.26 为未完全氘代的 CCl_3H 的吸收峰,剩余的五组峰为阿司匹林的吸收峰。与苯环直接相连的氧原子属于第二类取代基,氧原子的未成键电子对与苯环存在 $p-\pi$ 共轭,导致苯环电子云密度增加,苯环上氢原子的峰向高场位移,该现象对苯环上氢位移的影响规律为:邻位 > 对位 > 间位。从这方面来说,苯环上 3 号位氢的化学位移最小,6 号位氢的化学位移最大,4 和 5 号位氢的化学位移居中。羧基是第三类取代基,由于杂原子电负性较大,苯环上剩余氢原子的电子密度降低,导致苯环上氢的谱峰都向低场位移,其中邻位氢的谱峰向低场位移最大,对位氢次之,间位氢位移最小。从这方面来说,苯环上 6 号位氢的化学位移最大,4 号位氢的化学位移次之,3 和 5 号位氢的化学位移最小。综合乙酰氧基和羧基的影响,苯环上 6 号位氢的化学位移最大,4 号位氢次之,3 号位氢的化学位移最小。因此, δ 8.13 为苯环 6 号位

氢的吸收峰(^1H); δ 7.63 为苯环 4 号位氢的吸收峰(^1H); δ 7.36 为苯环 5 号位氢的吸收峰(^1H); δ 7.14 为苯环 3 号位氢的吸收峰(^1H); δ 2.36 为甲基氢的吸收峰(^3H)。由于氘代氯仿可以与羧基氢发生置换反应, 导致羧基氢不出峰。

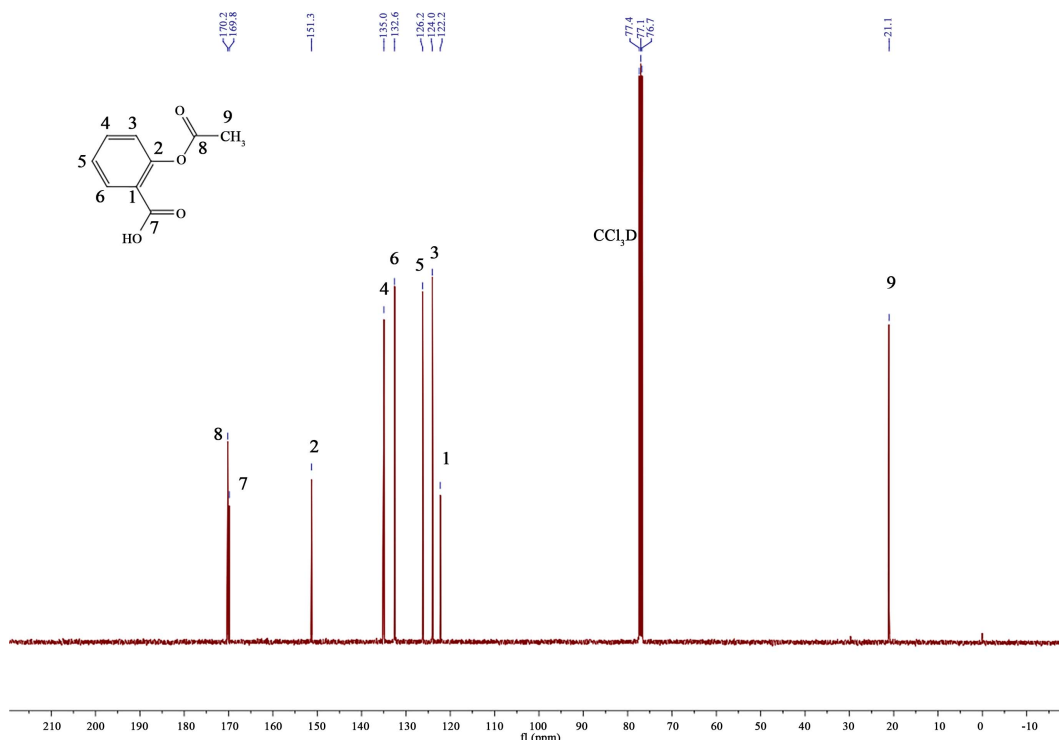


Figure 2. ^{13}C NMR spectrum of aspirin

图 2. 阿司匹林的 ^{13}C 核磁共振谱

从碳谱(图 2)可以看出, 谱图中共有十组谱峰, 其中 δ 77.1 是 CCl_3D 的谱峰, 根据 $2nI + 1$ 规则, 受 C-D 耦合影响, CCl_3D 的谱峰裂分为三重峰(此处 $n = 1, I = 1$)。剩余的九条谱线为阿司匹林的吸收峰, 酮羰基的化学位移数值一般超过 200 ppm, 与杂原子相连后, 因杂原子未共用电子对的屏蔽效应, 其化学位移数值会下降到 180 ppm 以内。如果羰基与苯环, 形成大的共轭体系, 因苯环的屏蔽效应, 也会降低其化学位移数值。因此, δ 170.2 为羧基的吸收峰, δ 169.8 为酯基中羰基的吸收峰。与苯环直接相连的氧原子未共用电子对的屏蔽效应, 使得苯环上邻对位碳原子的吸收峰向高场位移, 而且对邻位碳影响更大; 电负性较强的氧原子的诱导效应对苯环存在去屏蔽效应, 使得苯环碳向低场位移, 而且距离氧原子越远, 去屏蔽效应越弱。这两种效应导致苯环上碳的化学位移: $2 > 4, 6 > 5 > 1, 3$ 。与苯环相连的羧基诱导效应引起的去屏蔽效应, 使得苯环上所有碳的峰略向低场位移; 而共轭效应使得间位碳的峰略向高场位移。这两种效应的综合结果导致苯环上碳的化学位移: $4 > 1 > 2, 6 > 3, 5$ 。综合与苯环相连的氧原子和羧基的诱导效应和共轭效应, 使得苯环上碳的化学位移应该为: $2 > 4 > 6 > 5 > 1 > 3$ 。基本符合 Chemdraw 模拟的碳谱结果(图 3), 但是 Chemdraw 模拟的碳谱中苯环上 3 号碳的化学位移略高于 1 号碳的化学位移。为了进一步确认吸收峰的归属, 我们进一步测试了 DEPT-135 谱图(图 4)。因为 DEPT-135 谱图中季碳是不出峰的, 结合碳谱和 DEPT, 我们可以确认 δ 122.2 为苯环 1 号碳的吸收峰。这可能是乙酰氧基的空间位阻效应导致苯环 3 号碳的吸收峰向低场产生了位移。因此, 阿司匹林苯环上的碳谱峰归属为: δ 151.3 为苯环 2 号碳的吸收峰; δ 135.0 为 4 号碳的吸收峰; δ 132.6 为 6 号碳的吸收峰; δ 126.2 为 5 号碳的吸收

峰; δ 124.0 为 3 号碳的吸收峰; δ 122.2 为苯环 1 号碳的吸收峰。最后, 甲基的吸收峰应该出现在最高场, δ 21.1 为甲基的吸收峰。综上所述, 我们可以确定合成的化合物就是目标产物阿司匹林。

ChemNMR ^{13}C Estimation

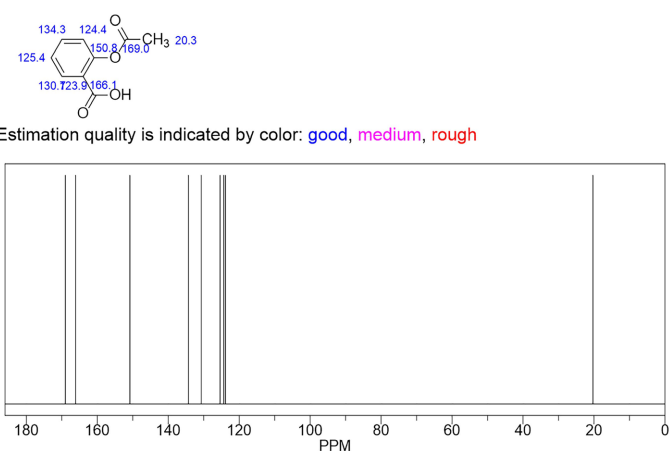


Figure 3. Chemdraw simulated ^{13}C NMR spectrum of aspirin

图 3. 阿司匹林的 Chemdraw 模拟 ^{13}C 核磁碳谱

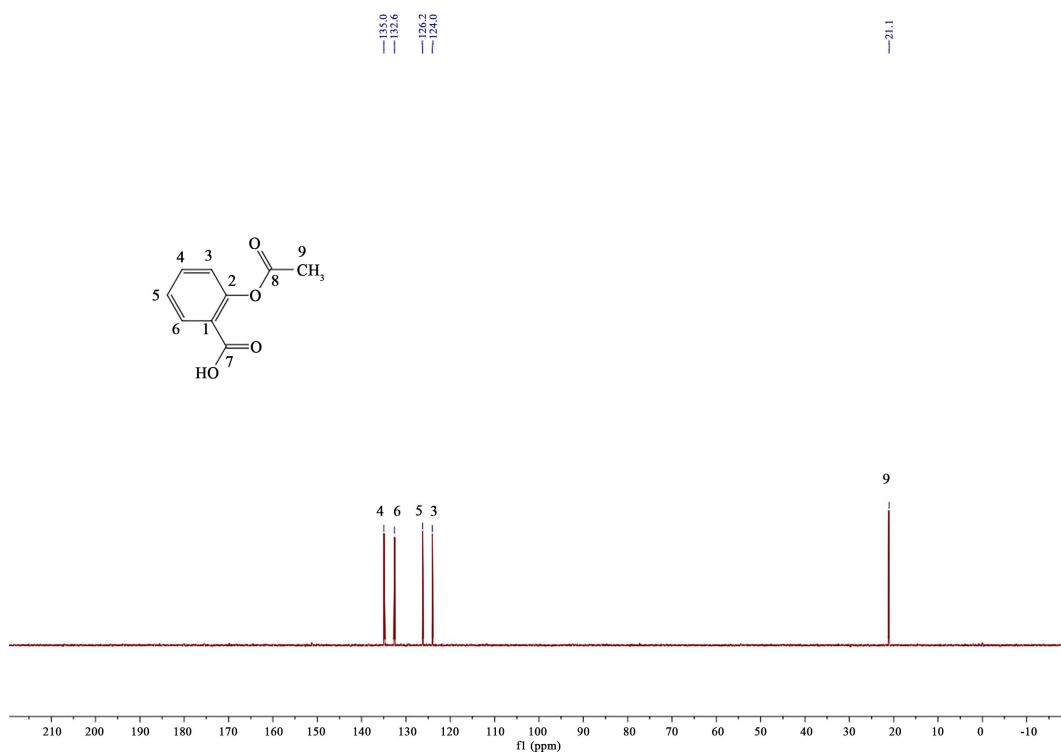


Figure 4. DEPT-135 NMR spectrum of aspirin

图 4. 阿司匹林的 DEPT-135 核磁谱

4. 教学效果

核磁在《药物合成实验》教学实施以来, 取得了较好的教学效果: 制药工程专业本科生掌握了核磁

共振测试方法,能够较熟练的解析药物分子的核磁谱图;针对谱图解析过程中存在的问题,能够通过查阅文献和相关资料解决实际问题,培养了学生的科学素养,为毕业后学生从事科学研究以及核磁分析相关工作奠定了实验基础,体现了大型贵重仪器在高质量人才培养中的重要作用。

5. 结语

我校将制药工程专业的《药物合成实验》与核磁共振波谱实验相融合,学生参与了化合物合成、核磁样品准备、核磁测试、谱图处理和谱图解析的全过程,充分体现了“以学生为中心”的教学理念。通过一学期的实践,学生对核磁共振波谱仪的结构、测试原理、化学位移和耦合裂分等相关抽象概念的理解更加深刻,学会了核磁共振波谱测试操作技术,掌握了 MestReNova 软件的使用方法,对应用核磁谱图鉴定药物分子结构更加得心应手。这种教学模式有利于提升制药工程专业的教学质量。

基金项目

岭南师范学院 2023 年度教学质量与教学改革工程项目,岭师教务[2023] 102 号。

参考文献

- [1] 吴先富,肖新月.核磁共振波谱在药物领域中的应用[J].药物分析杂志,2020,40(11):1907-1913.
- [2] 刘赛文,刘正,殷志红.波谱分析教学中核磁共振氢谱解析的教学设计[J].云南化工,2023,50(7):187-190.
- [3] 丁飞,张翠,邱晓航.新模式下的核磁共振实验教学探索和提升[J].大学化学,2021,36(7):213-217.
- [4] 高芳,潘德杰,詹浩,方红明,罗志文.核磁一维和二维谱用于化学实验教学的探讨[J].山东化工,2019,48(16):229-231.
- [5] 王晓燕,张春春.核磁共振实验教学的改革与实践[J].实验科学与技术,2021,19(5):86-90.
- [6] 刘正宇,王倩,赵红昆,刘忠义,杨恩翠.核磁共振波谱仪在化学本科教学中的应用与实践[J].广东化工,2023,50(21):154-156.