

氟甲喹的波谱学数据与结构确证

李永利, 李杰, 许卓妮, 王东辉, 陈鹰

(上海市计量测试技术研究院, 上海 201203)

[收稿日期] 2016-03-16 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 05-0029-05 [中图分类号] R917

[摘要] 建立了一种仪器分析技术确证氟甲喹化学结构的方法。采用紫外光谱(UV)、红外光谱(IR)、质谱、一维(^1H 、 ^{13}C 、DEPT)和二维(HSQC、HMBC、 ^1H - ^1H COSY)核磁共振谱、热重分析(TGA)、差示扫描量热法(DSC)以及X-射线粉末衍射(PXRD)对氟甲喹进行结构分析。讨论了紫外和红外吸收特征峰,详细归属了所有的 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR信号,并对热分析(TGA/DSC)结果进行了解析,确定了与晶型相关的不同衍射角的特征衍射峰。以上研究结果确证了氟甲喹的化学结构。

[关键词] 氟甲喹;波谱学;波谱特征;结构确证

Spectral Analysis and Structural Confirmation of Flumequine

LI Yong-li, LI Jie, XU Zhuo-ni, WANG Dong-hui, CHEN Ying

(Shanghai Institute of Measurement and Testing Technology, Shanghai 201203, China)

Abstract: A method for determination of chemical structure of flumequine was established. The structure was elucidated by UV, IR, MS, 1D NMR (^1H , ^{13}C , DEPT) and 2D NMR (HSQC, HMBC, ^1H - ^1H COSY), DSC, TGA, and PXRD. The UV and IR absorption peaks were discussed, and all the signals of ^1H -NMR and ^{13}C NMR were attributed to their respective structures and positions in the molecule. The test result of TGA/DSC was analyzed, and the diffraction peaks of the different diffraction angles related to the crystal form were determined. The experiment verified that the chemical structure of this compound is flumequine.

Key words: flumequine; spectroscopy; spectroscopic characteristic; structure confirmation

氟甲喹(Flumequine)化学名为9-氟-6,7-二氢-5-甲基-1-氧代-1H,5H-苯并(ij)喹啉-2-羧酸,属于第二代氟喹诺酮类抗菌药,最早由Rinker实验室研制成功;主要作用机制在于抑制细胞复制过程中所需DNA旋转酶,阻断细菌DNA的复制从而发挥快速杀菌作用^[1]。氟甲喹属于广谱抗菌剂,杀菌能力强,主要用于治疗革兰氏阴性菌

引起的感染,尤其是大肠杆菌、支原体、嗜水气单胞菌引起的畜、禽及水生动物疾病^[2]。由于氟甲喹具有安全性高和成本较低等特点,其在无公害养殖、畜产品和水产品等产业中应用广泛^[3]。

目前国内外有关于氟甲喹的化学合成^[4]、抗菌活性^[5],和药物代谢动力学^[6]等研究的报道,但其完整的结构解释(UV、IR、NMR、XRPD等)尚未见

基金项目:上海市技术性贸易措施应对专项项目(14TBT007;15TBT009)

作者简介:李永利,博士,工程师,从事天然药物及有机分析相关研究。E-mail: jinchi333@126.com

报道。由于氟甲喹结构比较复杂,为了确定氟甲喹的化学结构,本文首次采用紫外吸收光谱(UV)、红外光谱(IR)、高分辨质谱(HR-MS)、核磁共振(NMR)热重分析(TGA)、差示扫描量热法(DSC)、X-射线粉末衍射(PXRD)技术,对氟甲喹进行了比较全面的结构表征。这些参数不仅可以确定氟甲喹的化学结构,还可用于确定化合物晶型,为氟甲喹的进一步鉴定和检测分析提供了依据,也为其质量研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 PerkinElmer Spotlight 300 型傅立叶红外光谱仪,PerkinElmer 公司,美国;Varian NMR System 500MHz 超导核磁共振谱仪,Agilent 公司,美国;Agilent 6224 Accurate - Mass TOF LC/MS 液相色谱-质谱联用仪,Agilent 公司,美国;PerkinElmer Lambda 25 紫外可见分光光度计,PerkinElmer 公司,美国;Bruker X-射线衍射仪,Bruker 公司,美国;Perkin Elmer Diamond DSC 功率补偿型差示扫描量热仪,PerkinElmer 公司,美国;Perkin Elmer PYRIS 1 TGA 热重分析仪,PerkinElmer 公司,美国。

1.1.2 试剂 氘代二甲基亚砜,Sigma Aldrich 公司,美国;色谱甲醇,Merck 公司,美国;其余试剂为分析纯,试验用水为超纯水(25℃时电阻率为18.2 MΩ·cm)。氟甲喹样品为本实验室制备,批号为150501,经液相色谱法分析,纯度大于99%,符合结构鉴定要求,分子结构见图1。

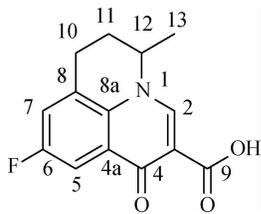


图1 氟甲喹的分子结构

1.2 方法

1.2.1 紫外光谱 测试的氟甲喹样品浓度为10 μg/mL甲醇溶液,以甲醇做空白,波长扫描范围为200~400 nm^[7]。

1.2.2 红外光谱 样品制备方法为ATR (Attenuated Total Reflection) 法,测定范围为650~4000 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹,扫描次数为32次^[7]。

1.2.3 质谱 测试样品溶液为5 μg/mL甲醇溶液,直接进样;离子源为电喷雾正离子源(ESI⁺),锥孔电压30 V,毛细管电压3.5 kV,离子源温度120℃,脱溶剂气温度350℃;脱溶剂气流量400 L·h⁻¹;锥孔气流量50 L·h⁻¹。

1.2.4 核磁共振谱 测试溶剂为氘代二甲基亚砜(DMSO-d₆,含内标TMS),¹H NMR的观测频率为499.77 MHz,¹³C NMR的观测频率为125.68 MHz;所有二维谱均为标准序列测定^[8]。

1.2.5 热分析和X-射线粉末衍射 热重分析方法:铂金盘,敞开,扫描范围为30℃~500℃,升温速率为20℃/min,氮气流量为40 mL·min⁻¹。差示扫描量热测试方法:铝盘,不密封,扫描范围为0℃~300℃,升温速率为20℃/min,氮气流量为60 mL·min⁻¹^[7]。X-射线粉末衍射方法:从3.000度扫描到44.993度,步长为0.020度,阳极为Cu(40 kV, 30 mA)。

2 结果与分析

2.1 紫外吸收光谱 氟甲喹甲醇溶液的紫外光谱主要有3个吸收峰(λ₁ = 241 nm、λ₂ = 252 nm和λ₃ = 266 nm),这些吸收峰是由π-π*跃迁产生的3个吸收带^[7]。这是由样品结构中芳香环共轭结构引起的,表明该化合物存在芳香环结构片段,与氟甲喹的化学结构相符。

2.2 红外吸收光谱 氟甲喹的红外光谱数据见表1。表1中伸缩振动表示为ν,弯曲振动表示为δ,强吸收、中等吸收和弱吸收分别以s、m和w表示。

表1 氟甲喹样品的红外光谱解析表

吸收峰频率/cm ⁻¹	振动类型	吸收强度	基团
3055	ν = C-H	w	= CH
2991	ν - CH ₃	m	- CH ₃
2682	羧酸二聚体 ν - OH	m	- COOH
1721,1620	ν C=O	s	- COOH, - C=O
1565,1466	ν C=C	s	苯环
1394	δ - CH ₃	m	- CH ₃
1210,1066	ν C-N	m	- C-N-
898,885	γ = C-H	m	苯环

11 位亚甲基、13 位甲基直接相邻。以上结果与 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 谱、HSQC、HMBC 和 ^1H - ^1H COSY 数据及归属见表 2。

表 2 氟甲喹样品的核磁共振数据表

No	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	COSY
2	147.4	9.02 (1H, s)	C-3, C-4, C-8A, C-9, C-12	
3	107.2			
4	176.9 (d, $J = 2$ Hz)			
5	107.9 (d, $J = 24$ Hz)	7.81 (1H, dd, 8.5, 2.5)	C-4, C-6, C-7, C-8A	
6	159.1 (d, $J = 246$ Hz)			
7	121.7 (d, $J = 24$ Hz)	7.74 (1H, dd, 8.5, 2.0)	C-5, C-6, C-8A, C-10	
8	132.2 (d, $J = 8$ Hz)			
9	165.92			
10	21.5	3.08 (1H, 3.5, 17.5), 3.16 (1H, m)	C-7, C-8, C-11, C-12	H-11
11	25.1	2.14 (2H, m)	C-8, C-10, C-12, C-13	H-10, H-12
12	57.4	4.94 (1H, m)	C-2, C-8A	H-11, H-13
13	20.0	1.40 (3H, d, 7.0)	C-11, C-12	H-12
5a	127.2 (d, $J = 9$ Hz)			
8a	132.9			

2.5 热重分析(TGA)、差示扫描量热分析(DSC)和 X-射线粉末衍射 TGA 测得样品在温度约为 248.77 $^{\circ}\text{C}$ 时开始失重,在此之前随温度升高未发生失重现象,表明氟甲喹不含结晶水^[13],且所测样品基本不含有吸附水与残留溶剂。

DSC 图谱显示样品在 252.62 $^{\circ}\text{C}$ ~ 255.39 $^{\circ}\text{C}$ 有 1 个熔化吸热峰,在 254.74 $^{\circ}\text{C}$ 时为最大吸热点,且

为单一特征吸热峰。由此表明,氟甲喹样品为单一晶型的结晶性粉末,随温度升高晶型稳定,不存在转晶现象。

X-射线粉末衍射测定数据见表 3。在 X-射线粉末衍射图谱中样品具有尖锐的衍射极大,说明氟甲喹样品为一晶体物质。

表 3 样品 X-射线粉末衍射测试数据

No.	衍射角($^{\circ}$)	晶面间距(\AA)	相对丰度	No.	衍射角($^{\circ}$)	晶面间距(\AA)d	相对丰度
1	10.006	8.8325	100.0	13	25.339	3.512	29.8
2	10.300	8.5809	16.1	14	26.402	3.373	10
3	11.150	7.9287	40.3	15	27.236	3.2716	5.1
4	16.280	5.4401	6.3	16	27.747	3.2125	12.3
5	16.833	5.2626	11.6	17	28.654	3.1128	5.6
6	18.551	4.7790	3.2	18	29.106	3.0655	6.7
7	19.023	4.6615	6.0	19	30.271	2.9501	6.6
8	20.050	4.4249	10.1	20	31.83	2.8091	2.9
9	20.624	4.3030	4.0	21	34.337	2.6095	10
10	21.137	4.1998	6.3	22	37.631	2.3883	3.8
11	22.457	3.9558	15.1	23	39.783	2.2639	3.1
12	23.740	3.7448	5.4	24	43.53	2.0773	5.8

3 讨论与小结

结构确证要求原料的纯度达到 98% 以上。因此, 结构确证应首先测定原料的纯度。通过液相色谱法的测试, 表明氟甲喹原料符合结构确证的纯度要求。

高分辨率质谱能精确到小数点后面 4 位, 能给出精确分子量, 从而给出分子式。本实验通过样品的高分辨质谱测试, 得到分子式 $C_{14}H_{12}FNO_3$, 这和氟甲喹的分子式一致。样品在紫外 241、252 和 266 nm 处有最大吸收, 这与氟甲喹结构中存在的芳香环片段相符合。红外光谱显示, 样品在 1565 和 1466 cm^{-1} 存在强吸收, 也对应于前面的芳香环结构, 1721 和 1620 cm^{-1} 处的强吸收分别对应于结构中羧基的特征吸收峰以及与苯环共轭的酮羰基吸收峰。这些特征均与氟甲喹的化学结构一致。

核磁共振碳谱测试需要样品的浓度较高(一般 20 ~ 50 mg 样品溶于 0.5 mL 氘代溶剂), 而喹诺酮类化合物在常规氘代溶剂(D_2O 、 CD_3OD 、 $CDCl_3$ 、 CD_3COCD_3) 中溶解度较小, 造成在这些溶剂中的碳谱信号很少导致无法解析。经过测试发现在氘代二甲基亚砷中溶解度虽然稍好但还是偏低, 故在测试前先加热促进溶解, 再进行核磁测试, 最终得到高质量的核磁信号。在此基础上, 首次对氟甲喹的 1H 和 ^{13}C NMR 信号进行了详细的解释, 确定目标化合物的一维核磁数据与氟甲喹的分子结构式一致, 二维谱的解析进一步确证了氟甲喹的化学结构。

本文首次报道了 X - 射线粉末衍射特征衍射峰特征, 在反射角 2θ 为 10.006、10.300、11.150、16.833、20.050、22.457、25.339、26.402、27.747、34.337 处有特征峰, 进一步为该药物生产中的质量控制提供了重要的参考依据。

综上所述, 本工作通过紫外光谱、红外光谱、核磁共振、质谱等波谱学的研究可以确定目标化合物就是氟甲喹。X 射线粉末衍射分析确定该样品呈

结晶状态, 给出了衍射角度、晶面距、相对丰度等晶体结构参数。该方法可以作为氟甲喹的结构确证方法, 也为此类化合物的定性以及结构解析提供了客观的分析依据。

参考文献:

- [1] 缪小群, 曾振灵, 刘志昌, 等. 氟甲喹在罗非鱼体内的消除规律研究[J]. 水产科学, 2014, 33(8): 512 - 515.
- [2] 张海琪, 何欣, 钱鸣蓉, 等. 氟甲喹在中华鳖日本品系组织中的残留代谢规律研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(9): 35 - 42.
- [3] 廖治锋, 段新华. 氟甲喹在罗非鱼肌肉组织的消除规律[J]. 动物医学进展, 2014, 35(8): 118 - 121.
- [4] Bálint J, Egri G, Fogassy E, *et al.* Synthesis, absolute configuration and intermediates of 9 - fluoro - 6,7 - dihydro - 5 - methyl - 1 - oxo - 1H,5H - benzo[*i,j*]quinolizine - 2 - carboxylic acid (flumequine) [J]. *Tetrahedron: Asymmetry* 1999, 10(6): 1079 - 1087.
- [5] Rodrigues - Silva C, Maniero M G, Rath S, *et al.* Degradation of flumequine by photocatalysis and evaluation of antimicrobial activity[J]. *Chem. En. g J.* 2013, 224, 46 - 52.
- [6] 胡晓, 房文红, 汪开毓, 等. 氟甲喹对异育银鲫细胞色素 CYP450 主要酶的影响[J]. 中国水产科学 2011, 18(2): 392 - 399
- [7] 李文杰, 张林军, 王民昌, 等. 萘磺酸钠结构确证的波谱学研究[J]. 理化检验 - 化学分册, 2014, 50(3): 283 - 287.
- [8] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 科学出版社: 北京, 2000: 200 - 218.
- [9] 陈家润, 张廷剑, 薛刚, 等. 非布司他的波谱学数据与结构确证[J]. 今日药学, 2015, 25(2): 96 - 99.
- [10] 黄璐, 孙华君, 杨波, 等. 丁酸氯维地平的波谱学数据与结构确证[J]. 波谱学杂志, 2011, 28(1): 168 - 175.
- [11] 仇镇武, 叶汝汉, 柳亚玲, 等. 一种新西地那非类似物的结构确证[J]. 分析测试学报, 2013, 32(4): 488 - 493.
- [12] 邓志威, 李璟, 许美凤, 等. 核磁共振技术在药物分析鉴定中的应用[J]. 分析测试学报, 2012, 31(9): 1081 - 1088.
- [13] 陈家润, 张廷剑, 麦吾兰·吾拉因, 等. 吡贝地尔的波谱学分析与结构确证[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(3): 66 - 70.

(编辑:陈希)