图书在版编目（CIP）数据

天然药物化学/吴立军主编. —4 版. —北京：人民卫生出版社，2003.6

ISBN 7-117-05560-X

Ⅰ.天… Ⅱ.吴… Ⅲ.药物化学-医学院校-教材 Ⅳ.R914

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2003）第 044431 号

天然药物化学

第 4 版

主　　编：吴 立 军

出版发行：人民卫生出版社（中继线 67616688）

地　　址：（100078）北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网　　址：http://www.pmph.com

E-mail：pmph@pmph.com

印　　刷：北京人卫印刷厂（天运）

经　　销：新华书店

开　　本：850×1168　1/16　　**印张**：30.5

字　　数：732 千字

版　　次：1988 年 5 月第 1 版　2003 年 7 月第 4 版第 21 次印刷

标准书号：ISBN 7-117-05560-X/R·5561

定　　价：35.00 元

著作权所有，请勿擅自用本书制作各类出版物，违者必究

（凡属质量问题请与本社发行部联系退换）

全国高等学校药学类专业
第五轮规划教材修订说明

卫生部全国高等学校药学类专业教材于1979年出版第一轮，1987年、1993年，1998年进行了三次修订，为我国培养了大批的药学专业人才。为适应我国高等药学教育的改革和发展，现根据全国高等医药教材建设研究会、卫生部教材办公室关于“药学专业第五轮教材修订意见”的精神，在第四轮的基础上进行了修订。该轮教材在编写前经过了药学专业教材评审委员会各位专家的反复论证，从教材种类到每门教材所要达到的目标，都进行了认真讨论。最后决定本轮教材要紧扣药学专业本科教育，以培养能承担药房、药检、药物流通及药事管理工作的药师为主的目标，与国内现行的执业药师制度接轨的原则进行编写。主编及编写人员坚持“三基”（基本理论、基本知识、基本技能）、“五性”（思想性、科学性、先进性、启发性、适用性）原则，取材适当，内容阐述循序渐进，既要保证教材的水平和质量，又要使学生能够更容易地达到培养目标和要求。

应该指出，药学类专业教材从第一轮起一直在彭司勋院士关心与领导下进行编写出版，他为教材建设付出许多努力也作出很大贡献，建立了严格、认真、科学的好传统。

该套教材继承和发扬了规划教材的良好传统，编写、编辑过程中管理严格，在教材质量上也有了很大提高。

该套教材可供药学及相关专业选用。本轮教材共25种，其中修订16种，新编3种：《药学导论》、《药物毒理学》、《临床药物治疗学》；合并1种：《药用植物学与生药学》第4版；沿用上版教材4种：《高等数学》第3版、《医药数理统计方法》第3版、《人体解剖生理学》第4版、《药学英语》第2版；《医学导论》与基础医学专业共用，具体教材书目如下：

1	药学导论	主　编	毕开顺
2	医学导论	主　编	文历阳
3	高等数学（第3版）	主　编	毛宗秀
4	医药数理统计方法（第3版）	主　编	刘定远
5	物理学（第4版）	主　编	舒辰慧
6	物理化学（第5版）	主　编	侯新朴
		副主编	詹先成
7	无机化学（第4版）	主　编	许善锦
		副主编	姜凤超
8	分析化学（第5版）	主　编	李发美
9	有机化学（第5版）	主　编	倪沛洲
10	人体解剖生理学（第4版）	主　编	龚茜玲

11	微生物学与免疫学(第5版)	主　编	沈关心
★12	生物化学(第5版)	主　编	吴梧桐
13	药理学(第5版)	主　编	李端
		副主编	殷明
★14	药物分析(第5版)	主　编	刘文英
15	药用植物学与生药学(第4版)	主　编	郑汉臣　蔡少青
16	药物毒理学	主　编	楼宜嘉
17	临床药物治疗学	主　编	姜远英
		副主编	李俊
18	药物化学(第5版)	主　编	郑虎
★19	药剂学(第5版)	主　编	崔福德
★20	天然药物化学(第4版)	主　审	姚新生
		主　编	吴立军
		副主编	吴继洲
21	中医药学概论(第5版)	主　编	王建
★22	药事管理学(第3版)	主　编	吴蓬
23	药学分子生物学(第2版)	主　编	史济平
24	生物药剂学与药物动力学(第2版)	主　编	梁文权
25	药学英语(第2版)	主　编	胡延熹

其中标有星号的为普通高等教育“十五”国家级规划教材。以上教材均由人民卫生出版社出版。

全国高等医药教材建设研究会
卫生部教材办公室
2003年5月

全国高等学校药学专业教材第三届评审委员会

主任委员 郑 虎

副主任委员 毕开顺

委员（以姓氏笔画为序）

刘俊义 吴继洲 吴梧桐
吴满平 张志荣 姜远英
徐文方 曾 苏

秘书 徐 正

前　言

《天然药物化学》第四版是编者在第三版教材（姚新生教授主编，人民卫生出版社，2000年）的基础上编写的。第三版教材出版三年来，随着尖端技术的进步，天然药物化学也有了较大发展，尤其是在海洋天然药物方面涌现出了诸多新的研究内容和成果。

与前版教材相比，在内容、章节组织和编写等方面对第四版《天然药物化学》进行了修改和调整。例如，全书由原来的十章改为十一章，根据发展形式增添了海洋天然药物一章。在继承前版教材的优势下，各章节都新增添了不少最新研究成果，尤其是第二章做的改动较大。

在编写、修订本版教材过程中，力求编写内容做到深入浅出、循序渐进、联系密切，使全书紧密衔接、融会贯通成一体。第4版《天然药物化学》教材适用对象仍以医药院校药学专业本科学生为主，同时也可作成人本科教育或自学用参考教材。

本教材编写任务由吴立军（沈阳药科大学，第一、五章）、赵玉英（北京大学医学部药学院，第七章）、孔令义（中国药科大学，第四章）、王锋鹏（四川大学华西药学院，第九章）、吴继洲（华中科技大学同济药学院，第六章）、易杨华（第二军医大学药学院，第八章）、裴月湖（沈阳药科大学，第二、十一章）、娄红祥（山东大学药学院，第十章）、杨君（上海复旦大学药学院，第三章）等9位教授、副教授合作分担，吴立军教授担任主编，姚新生教授（沈阳药科大学）担任主审，裴月湖教授兼任秘书。

本书编写过程中，始终得到人民卫生出版社和兄弟院校有关同行的热情鼓励和支持，提出了很多宝贵的意见和建议，沈阳药科大学高慧媛讲师对本书的定稿工作做出辛勤劳动，在此一并表示衷心的谢意！

尽管我们作了种种努力，但因编者学术水平及编写能力有限，不当及谬误之处在所难免，敬请广大师生和读者予以指正。

编　者

2003年4月

目　录

第一章　总论 …… 1
第一节　绪论 …… 1
第二节　生物合成 …… 6
一、一次代谢及二次代谢 …… 6
二、生物合成假说的提出 …… 7
三、主要的生物合成途径 …… 9
第三节　提取分离方法 …… 18
一、中草药有效成分的提取 …… 18
二、中草药有效成分的分离与精制 …… 19
第四节　结构研究法 …… 35
一、化合物的纯度测定 …… 35
二、结构研究的主要程序 …… 36
三、结构研究中采用的主要方法 …… 37

第二章　糖和苷 …… 54
第一节　单糖的立体化学 …… 54
第二节　糖和苷的分类 …… 57
一、单糖类 …… 57
二、低聚糖类 …… 60
三、多聚糖类 …… 62
四、苷类 …… 65
第三节　糖的化学性质 …… 71
一、氧化反应 …… 71
二、糠醛形成反应 …… 73
三、羟基反应 …… 74
第四节　苷键的裂解 …… 77
一、酸催化水解 …… 78
二、乙酰解反应 …… 80
三、碱催化水解和 β-消除反应 …… 81
四、酶催化水解反应 …… 83

五、过碘酸裂解反应 …… 84
六、糖醛酸苷的选择性水解反应 …… 86
第五节 糖的核磁共振性质 …… 86
一、糖的^{1}HNMR 性质 …… 86
二、糖的^{13}CNMR 性质 …… 87
第六节 糖链的结构测定 …… 92
一、糖链结构的测定 …… 92
二、糖链结构研究实例 …… 96
第七节 糖及苷的提取分离 …… 101
一、提取 …… 101
二、分离 …… 102
三、多糖的提取分离实例 …… 104

第三章 苯丙素类 …… 107
第一节 苯丙酸类 …… 108
第二节 香豆素类 …… 110
一、香豆素的结构类型 …… 111
二、香豆素的化学性质 …… 113
三、香豆素的分离方法 …… 116
四、香豆素的波谱学特性 …… 117
五、香豆素结构鉴定实例 …… 119
六、香豆素的生物活性 …… 120
第三节 木脂素 …… 120
一、木脂素的结构类型 …… 120
二、木脂素的理化性质 …… 131
三、木脂素的提取分离 …… 135
四、木脂素的结构鉴定 …… 135
五、木脂素的生物活性 …… 142

第四章 醌类化合物 …… 146
第一节 醌类化合物的结构类型 …… 146
一、苯醌类 …… 146
二、萘醌类 …… 148
三、菲醌类 …… 149
四、蒽醌类 …… 150
第二节 醌类化合物的理化性质 …… 153
一、物理性质 …… 153
二、化学性质 …… 154

第三节　醌类化合物的提取分离 …… 156
一、游离醌类的提取方法 …… 156
二、游离羟基蒽醌的分离 …… 157
三、蒽醌苷类与蒽醌衍生物苷元的分离 …… 158
四、蒽醌苷类的分离 …… 158
第四节　醌类化合物的结构鉴定 …… 159
一、醌类化合物的紫外光谱 …… 159
二、醌类化合物的红外光谱 …… 161
三、醌类化合物的^{1}H-NMR 谱 …… 161
四、醌类化合物的^{13}C-NMR 谱 …… 162
五、醌类化合物的 2D-NMR 谱 …… 164
六、醌类化合物的 MS …… 164
七、醌类化合物衍生物的制备 …… 165
八、结构研究实例 …… 167
第五节　醌类化合物的生物活性 …… 170
一、泻下作用 …… 170
二、抗菌作用 …… 171
三、其它作用 …… 171

第五章　黄酮类化合物 …… 173
第一节　概述 …… 173
一、黄酮类化合物生物合成的基本途径 …… 173
二、结构分类及结构类别间的生物合成关系 …… 174
三、黄酮类化合物的生物活性 …… 177
第二节　黄酮类化合物的理化性质及显色反应 …… 180
一、性状 …… 180
二、溶解性 …… 180
三、酸性与碱性 …… 181
四、显色反应 …… 181
第三节　黄酮类化合物的提取与分离 …… 184
一、提取 …… 184
二、分离 …… 185
第四节　黄酮类化合物的检识与结构鉴定 …… 189
一、色谱法在黄酮类化合物鉴定中的应用 …… 189
二、紫外及可见光谱在黄酮类鉴定中的应用 …… 190
三、氢核磁共振在黄酮类结构分析中的应用 …… 196
四、碳核磁共振在黄酮类化合物结构鉴定中的应用 …… 202
五、质谱在黄酮类结构测定中的应用 …… 206

第五节　黄酮类化合物结构研究中应注意的问题 …… 212
一、Wessely－Moser 重排 …… 212
二、6 位取代基和 8 位取代基的确定 …… 213
三、B 环的取代基图式 …… 213
四、黄酮类化合物的立体化学问题 …… 213
五、结构研究实例 …… 214

第六章　萜类和挥发油 …… 219
第一节　概述 …… 219
一、萜的含义和分类 …… 219
二、萜类的生源学说 …… 220
第二节　萜类的结构类型及重要代表物 …… 222
一、单萜 …… 222
二、环烯醚萜 …… 228
三、倍半萜 …… 232
四、二萜 …… 237
五、二倍半萜 …… 242
第三节　萜类化合物的理化性质 …… 243
一、萜类化合物的物理性质 …… 243
二、萜类化合物的化学性质 …… 243
第四节　萜类化合物的提取分离 …… 248
一、萜类的提取 …… 249
二、萜类的分离 …… 249
第五节　萜类化合物的检识与结构测定 …… 252
一、波谱法在萜类结构鉴定中的应用 …… 252
二、结构鉴定实例 …… 254
第六节　挥发油 …… 258
一、概述 …… 258
二、挥发油的性质 …… 261
三、挥发油的提取 …… 261
四、挥发油成分的分离 …… 262
五、挥发油成分的鉴定 …… 265

第七章　三萜及其苷类 …… 271
第一节　概述 …… 271
第二节　三萜类化合物的生物合成 …… 272
第三节　四环三萜 …… 275
一、达玛烷型 …… 275

二、羊毛脂烷型 …… 278
三、甘遂烷型 …… 279
四、环阿屯烷型 …… 279
五、葫芦烷型 …… 280
六、楝烷型 …… 281
第四节 五环三萜的结构类型 …… 283
一、齐墩果烷型 …… 283
二、乌苏烷型 …… 288
三、羽扇豆烷型 …… 290
四、木栓烷型 …… 291
第五节 理化性质 …… 292
一、性状及溶解度 …… 292
二、颜色反应 …… 292
三、表面活性 …… 293
四、溶血作用 …… 293
五、沉淀反应 …… 294
第六节 提取分离 …… 294
一、三萜化合物的提取与分离 …… 294
二、三萜皂苷的提取与分离 …… 294
三、提取分离三萜皂苷实例 …… 295
第七节 结构测定 …… 297
一、紫外光谱 …… 297
二、质谱 …… 297
三、核磁共振谱 …… 299
四、结构测定实例 …… 301
第八节 生物活性 …… 306
一、抗炎活性 …… 306
二、抗肿瘤活性 …… 306
三、抗菌和抗病毒活性 …… 307
四、降低胆固醇作用 …… 308
五、杀软体动物活性 …… 308
六、抗生育作用 …… 308
七、其他活性 …… 309

第八章 甾体及其苷类 …… 312
第一节 概述 …… 312
第二节 甾体化合物 …… 314
一、C_{21}甾类化合物 …… 314

二、海洋甾体化合物 …… 315
第三节 强心苷类 …… 316
一、强心苷的概述及生物合成 …… 316
二、强心苷的化学结构和实例 …… 317
三、强心苷的理化性质 …… 321
四、强心苷的波谱特征 …… 327
五、强心苷提取分离 …… 332
六、强心苷的生理活性 …… 334
第四节 甾体皂苷 …… 336
一、甾体皂苷概述 …… 336
二、甾体皂苷的化学结构和实例 …… 337
三、甾体皂苷的理化性质 …… 342
四、甾体皂苷元的波谱特征 …… 342
五、甾体皂苷的提取与分离 …… 348
六、甾体皂苷提取分离和结构测定实例 …… 349

第九章 生物碱 …… 352
第一节 概述 …… 352
一、生物碱的定义 …… 352
二、生物碱在植物界的分布 …… 353
三、生物碱的存在形式 …… 353
第二节 生物碱生物合成的基本原理 …… 354
一、环合反应 …… 354
二、C—N 键的裂解 …… 358
第三节 生物碱的分类、生源关系及其分布 …… 359
一、来源于鸟氨酸的生物碱 …… 360
二、来源于赖氨酸的生物碱 …… 361
三、来源于邻氨基苯甲酸的生物碱 …… 363
四、来源于苯丙氨酸和酪氨酸的生物碱 …… 363
五、来源于色氨酸的生物碱 …… 367
六、来源于萜类的生物碱 …… 370
七、来源于甾体的生物碱 …… 371
第四节 生物碱的理化性质 …… 372
一、性状 …… 372
二、旋光性 …… 373
三、溶解度 …… 373
四、生物碱的检识 …… 373
五、生物碱的化学性质和反应 …… 374

第五节 生物碱的提取与分离 …… 380
一、总生物碱的提取 …… 380
二、生物碱的分离 …… 381
三、生物碱提取分离的实例 …… 384
第六节 生物碱的结构鉴定与测定 …… 387
一、光谱法在生物碱结构测定中的应用 …… 387
二、生物碱结构测定的实例 …… 391

第十章 海洋天然药物 …… 396
第一节 概述 …… 396
第二节 大环内酯类 …… 396
一、简单大环内酯化合物 …… 397
二、内酯环含有氧环的大环内酯 …… 397
三、多聚内酯 …… 399
四、其他大环内酯类 …… 399
第三节 聚醚类化合物 …… 401
第四节 肽类化合物 …… 404
第五节 C_{15}乙酸原化合物 …… 408
一、直链化合物 …… 408
二、环氧化合物 …… 409
三、碳环化合物 …… 411
四、其它类似乙酸原化合物 …… 411
第六节 前列腺素类似物 …… 411
第七节 海洋天然产物研究实例 …… 413
一、海洋活性化合物的研究 …… 413
二、分离实例 …… 415
三、抗肿瘤多肽化合物海绵毒素 Spongistatins 的分离 …… 420
四、海参皂苷的分离 …… 424
五、河豚毒素的分离 …… 425

第十一章 天然药物的研究开发 …… 428
一、天然药物的研究开发程序 …… 428
二、天然药物中生物活性成分的研究方法 …… 430

附录 药用天然化合物 …… 441

索引 …… 449

1 第一章 总 论

第一节 绪 论

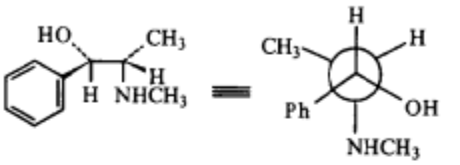
天然药物化学是运用现代科学理论与方法研究天然药物中化学成分的一门学科。其研究内容包括各类天然药物的化学成分(主要是生理活性成分或药效成分)的结构特点、物理化学性质、提取分离方法以及主要类型化学成分的结构鉴定等。此外，还将涉及主要类型化学成分的生物合成途径等内容。

天然药物是药物的一个重要组成部分。自古以来，人类在与疾病作斗争的过程中，通过以身试药等途径，对天然药物的应用累积了丰富的经验。在中国，天然药物又称为中草药，更具有自己的特色，与中医一起构成了中华民族文化的瑰宝，是中华民族五千年来得以繁衍昌盛的一个重要原因，也是全人类的宝贵遗产。

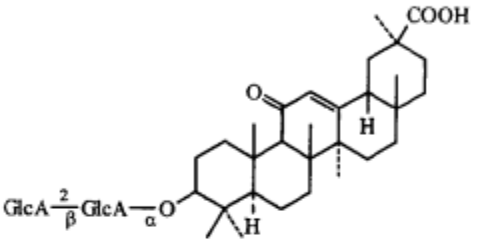
天然药物来自植物、动物、矿物和微生物，并以植物来源为主，种类繁多。以中草药为例，仅《本草纲目》(明·李时珍)中就记载 1892 种。《本草纲目拾遗》(清·赵学敏)又补充 1021 种。相信随着科学技术的进步，医疗实践的发展以及国家、地区、民族间文化交流的扩大，这个数字还会不断增加。例如，近来号称“生命摇篮”、占地球表面积 2/3 的海洋中所含的生物资源正在不断得到开发，出现了许多可喜的苗头。又如随着生命科学的进步、人体自身机能调节系统的不断阐明，许多内源性生理活性物质也正在不断地被揭示出来。在此基础上，人们运用细胞、酶、受体等分子水平乃至基因调控建立起来的新的生物活性测试体系进行广泛筛选，还将会发现更多的新的天然药物。

天然药物之所以能够防病治病，其物质基础是其中所含的有效成分。然而一种天然药物往往含有结构、性质不尽相同的多种成分。例如，中药麻黄（*Ephedra spp.* 的地上全草）中就含有左旋麻黄素（l-ephedrine）等多种生物碱类物质以及挥发油、淀粉、树脂、叶绿素、纤维素、草酸钙等其它成分；中药甘草（*Glycyrrhiza uralensis* 的根及根茎）中则含有甘草皂苷（glycyrrhizin）等多种皂苷以及黄酮类、淀粉、纤维素、草酸钙等成分。以上两例中，左旋麻黄素具有平喘、解痉作用，甘草酸则具有抗炎、抗过敏、治疗胃溃疡的作用，分别被认为是麻黄及甘草中的代表性有效成分。但淀粉、树脂、叶绿素等则一般认为是无效成分或者杂质。以麻黄及甘草为原料制成的浸膏或其他制剂，其质量常分别以左旋麻黄素及甘草酸的含量为基准进行控制。加工生产过程中应

注意设法除去那些杂质，以得到富集有效成分的制剂或直接得到这些有效成分的纯品。麻黄素盐酸盐及甘草酸的钠、钾盐及铵盐目前均已作为正式药品收载在许多国家的药典中。



麻黄素



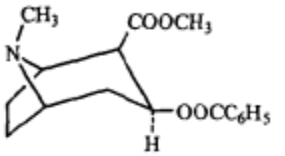
甘草酸

应当强调指出，在中草药及其它天然药物中，真正搞清有效成分的品种是不多的。更多的只是一些生理活性成分，即经过不同程度药效试验或生物活性试验，包括体外（in *vitro*）及体内（in *vivo*）试验，证明对机体具有一定生理活性的成分。但是，它们并不一定是真正代表天然药物临床疗效的有效成分。另外，所谓有效成分或生理活性成分与无效成分或非生理活性成分的概念也不能简单而机械地理解。以氨基酸、蛋白质、多糖类成分为例，在多数场合下均视为无效成分，并在加工过程中应尽量设法除去；但在鹤虱菜、天花粉、猪苓等药物中，却分别被证实是中药驱虫（鹤虱菜中的氨基酸）、引产（天花粉中的蛋白质）及抗肿瘤（猪苓中的多糖）的有效成分。

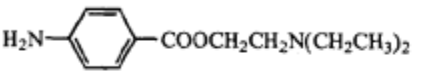
据国外文献记载[1,2]，从天然药物中分离其中所含的有机化学成分，始于1769年舍勒(K. W. schelle)将酒石(酒石酸氢钾)转化为钙盐，再用硫酸分解制得酒石酸。后来，舍勒又用类似方法从天然物中得到了苯甲酸(1775)、乳酸(1780)、苹果酸(1785)、没食子酸(1786)等有机酸类物质。但古代中国早在这之前就有了明确的记载。例如，明代李梴的《医学入门》(1575)中记载了用发酵法从五倍子中得到没食子酸的过程。书中谓"五倍子粗粉，并矾、曲和匀，如作酒曲样，入瓷器遮不见风，候生白取出"。《本草纲目》卷39中则有"看药上长起长霜，则药已成矣"的记载。这里的"生白"、"长霜"均为没食子酸生成之意，是世界上最早制得的有机酸，比舍勒的发明早了二百年。又如樟脑的记载在中国最早见于1711年洪遵著的《集验方》一书，后由马可波罗传至西方。《本草纲目》卷34下详尽记载了用升华法等制备、纯化樟脑的过程。但欧洲直至18世纪下半叶才提出了樟脑纯品。由此可见，古代中国的医药化学与其它自然科学一样，在世界上居于领先地位，故有"医药化学源于中国"的高度评价，这是作为后人的我们应当引以为自豪的。

本书附录收录了在《中国药典》及地方标准中收载以及在国外作为药物应用的重要天然化合物，可供学习及工作时参考。其中，许多化合物作为药品一直沿用至今；不少化合物在药理教

科书上作为典型的药物加以讨论;有些化合物看来在相当长的一个历史时期内还难以用合成药物代替;有些生物活性天然化合物则是现代合成药物的先导化合物。其中,从古柯叶中得到的可卡因(cocaine)为先导化合物合成了普鲁卡因(procaine)等一系列局麻药可算是这方面工作的一个突出典范。

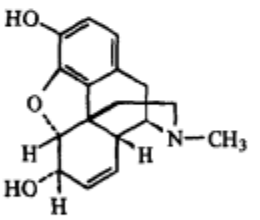


可卡因
(古柯树叶中成分)

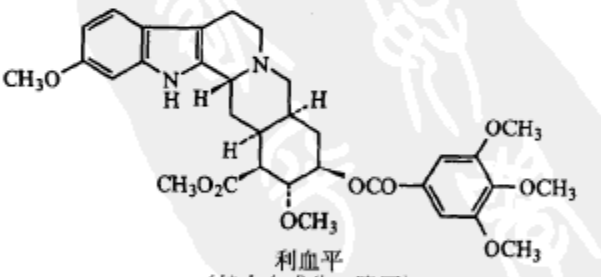


普鲁卡因
(合成品,局麻药)

天然药物化学的发展离不开现代科学技术的进步。过去,一个天然化合物从天然药物中分离、纯化,到确定结构、人工合成需要很长的时间。以吗啡(morphine)为例,1804~1806年发现,1925年提出正确结构,1952年人工全合成,总共花了约150年时间。而利血平(reserpine)从发现、确定结构,到人工全合成,只用了几年时间(1952~1956年)。近30年来,由于各种色谱技术及谱学技术的进步及广泛应用,天然药物化学的发展取得了更为显著的进步,研究工作的速度大大加快,水平大大提高,研究工作的深度与广度也已今非昔比。许多过去令人望而生畏、不敢涉足的领域,如机体内源性生理活性物质,微量、水溶性、不安定的成分以及大分子物质等都已提到了研究日程。仅以生物碱类成分为例,1952~1962年中发现的新生物碱的数目(1107)就已超过了在此之前100年中发现的总数(950),但1962~1972年的10年中发现的新生物碱数(3443)又比前10年超出了三倍之多。目前,生物碱类成分总数已达到1万多个[3]。



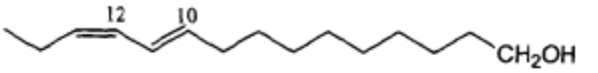
吗啡
(鸦片中成分,止痛)



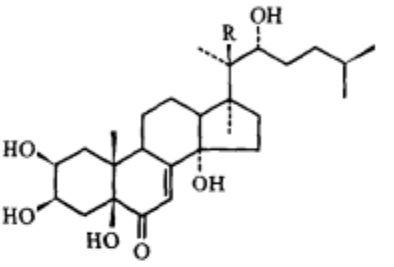
利血平
(蛇木中成分,降压)

现在,人们对于那些微量甚至超微量的活性成分,包括水溶性的、不安定的成分以及生物体内源性生理活性物质非常重视,试图从中发现新的化合物或者新的骨架类型。科学技术的进步使得人们有可能实现这个目标。蚕蛾醇(bombykol,10*E*,12-*Z*-hexadien-1-ol)的分离及结构鉴定即可作为超微量生理活性物质分离、鉴定的一个突出例子[4]。研究者从50万只蚕蛾中才得到12mg的蚕蛾醇NABS衍生物。这是一种雌性信息素(pheromone),其

10^{-10}μg/ml 的超微量浓度即对蚕的雄性成虫示有明显的诱引活性。至于从 500kg 蚕蛹中才得到 25mg 结晶的蜕皮激素（ecdyson）（1954 年，butenandt）[5] 可算是超微量物质分离的另一个突出例子。



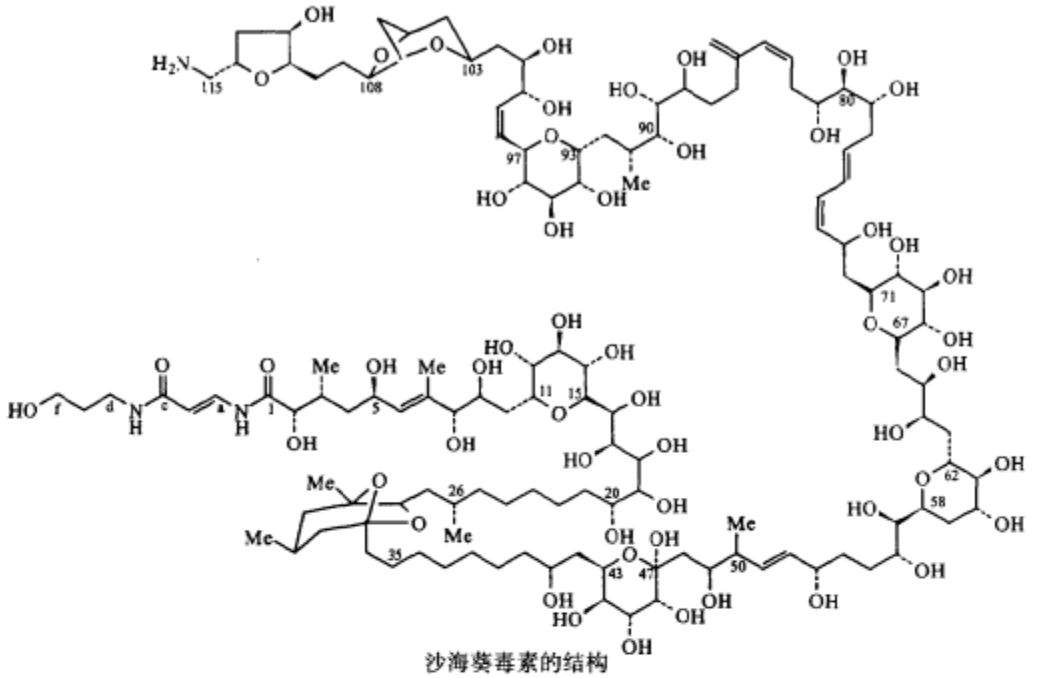
蚕蛾醇



α-蜕皮激素 (R = H)
β-蜕皮激素 (R = OH)

另外，过去在测定一个化合物结构时，往往需要用化学方法进行降解或制成适当衍生物进行比较才有可能予以确认，因此一般需要至少几百毫克或甚至几克的纯物质，十几毫克乃至几十毫克的物质往往因为无法测定而被束之高阁。现在，由于科学技术的飞速发展，尤其是核磁共振（NMR）、质谱（MS）及 X-射线单晶衍射（X-Ray crystal analysis）在设备、性能及测试技术方面的大幅度改善，以及计算机的广泛运用，结构测定需要的试样量已大幅度降低，十几毫克甚至几毫克就可以完成结构测定工作。分子量在 1000 以下的大多数天然化合物甚至单用 NMR 测试技术就可以决定其结构[6]。有的微量成分，分子量虽然很大，结构也相当复杂，但只要能得到良好的单晶（每边不少于 0.1mm），则单独采用 X-射线单晶衍射就可以在几天之内确定整个分子的立体结构。1981 年，由 uemura[7] 及 moore[8] 两个研究组几乎同时发表的沙海葵毒素（palytoxin）可算是结构研究中一个最突出的例子。该化合物平均分子量高达 2680，分子式为 $C_{129}H_{223}N_3O_{54}$，共含有 64 个不对称碳原子（其平面结构如下）。如此庞然大物从 1974 年提出纯品（60kg 原料得到几毫克），到 1981 年发表其平面结构也才用了不到 10 年时间。除了超微量物质的分离及结构测定技术有明显的进步外，天然化合物合成研究也迎来了蓬勃发展的时代。天然化合物合成在 30 年前多为结构测定过程中的一种辅助手段，而且由于缺乏特异性的立体反应，含有多个不对称碳原子的化合物的合成几乎不可能进行。最近，以金属有机化合物为主，先后开发了许多特殊的合成试剂及合成技术，含多个不对称碳原子的天然物的合成也已成为研究的目标，立体选择性合成已经取得了明显的进步[9,10]。具有复杂结构的植物抗癌药物 taxol[11,12] 以及海洋生物分泌产生的神经毒素 brevetoxin[13,14] 的全合成就是突出的例子。这些都必将对天然药物化学的发展带来巨大的影响。

我国有着丰富的天然药物资源，在临床应用等许多方面更有着丰富的经验积累，是一个亟待



沙海葵毒素的结构

发掘、整理、提高的巨大宝库。建国前，受到整个国家经济实力及科学技术综合发展水平等条件的限制，天然药物化学研究基本上没有什么突破，更没有建立起天然药物化学制药工业。临床应用的麻黄素等药物只能依赖进口，但富含麻黄素的中药麻黄等药材资源却大量出口。建国以来，尤其近一、二十年来，与其它各项科学事业一样，天然药物化学迎来了蓬勃发展的新时代。麻黄素、芦丁、西地兰等十几种天然药物产品的工业生产已经进行多年，甾体激素类药物的原料——薯芋皂苷元的工业生产及其资源开发研究更取得了巨大的成就，不仅保证了国内需要，还有大量出口。“中西医药结合创造新医学、新药学”的号召及防病治病、开发新药的需要有力地推动着天然药物化学研究工作的深入发展及天然药物产品的新药开发研制工作。据 1981 年的统计资料[15]表明建国以来共研制新药 104 种，其中来自植物、动物有效成分及成分结构改造的有 61 种，占新药总数的 58.6%。创制的新药 64 种中，有 18 种是中草药中新发现的有效成分。另有些新药是中草药有效成分的衍生物，如青蒿素甲醚、丹参酮 $\mathrm{II_A}$ 磺酸钠盐、β-甲基地高辛、溴化异丙东莨菪碱等[16]。目前，除原有的中国科学院上海药物研究所、昆明植物所、中国医学科学院药物研究所及药用植物资源开发所外，全国各地的医药院校、卫生部门几乎也都普遍设立了从事天然药物化学研究的机构。天然药物化学或中药成分化学在中药现代化的进程中发挥着前所未有的重要作用并成为医药院校中许多专业的必修课程。近十几年来，随着对外开放政策的贯彻执行，大大地推动了我国科学界与国外同行间的学术交流及人员交往。天然药物化学则是在药学及化学领域中与国外人员交往最为频繁、学术交流最为活跃的一个学科。这对提高我国研究水平，促进研究队伍的成长起到了重要的作用。国家经济实力的增强，HPLC、GC、MS、NMR、X-射线单晶衍射等一批现代分离分析设备、新材料、新试剂、新技术的引进也为天然药物化学研究工作的开展奠定了必要的物质基础。目前，我国天然药物化学研究工作的步伐已经大大加快，

研究水平也有很大提高，大体上已经接近于发达国家的水平。加上我国拥有丰富的天然药物资源，相信在21世纪一定能对人类的保健事业作出更大的贡献。

第二节 生物合成

天然药物即使是作为一种中药来说，其所含成分也是多种多样，五花八门的。那么，这些成分究竟是怎样产生的，它们之间又有什么联系呢？下面仅以植物中的有机化合物为例予以说明。

一、一次代谢及二次代谢

首先，让我们来看一下植物体内存在的物质代谢与生物合成过程（图1-1）[17,18]。

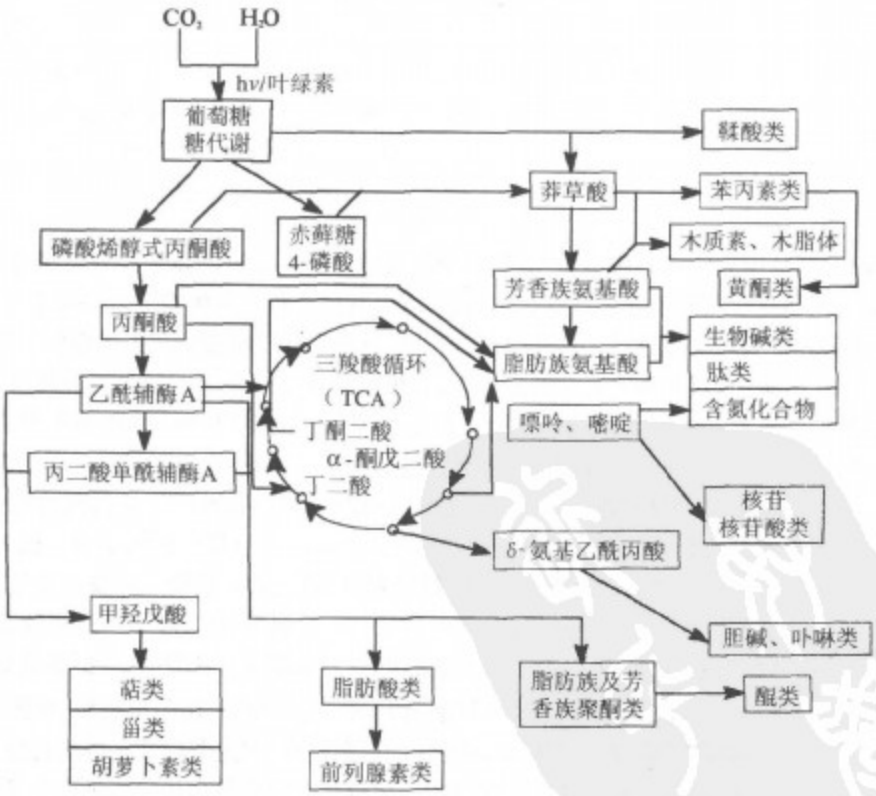


图1-1 植物体内的物质代谢与生物合成过程

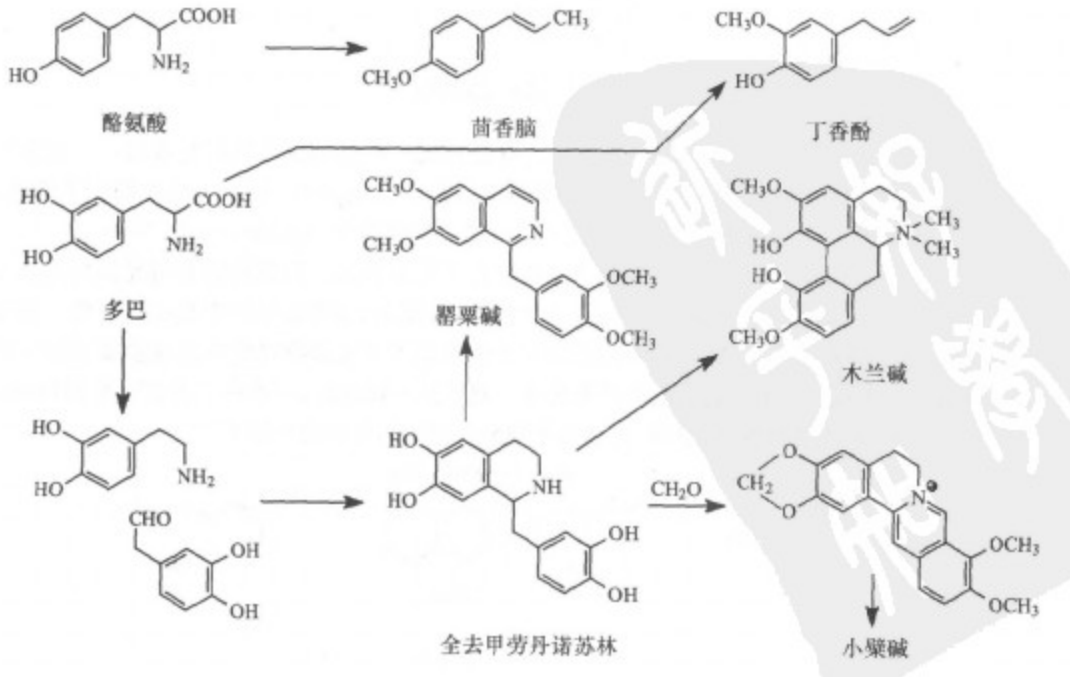
绿色植物及藻类含有叶绿素，可以通过光合作用将二氧化碳及水合成为糖类，并放出氧气。生成的糖则进一步通过不同途径（五碳糖磷酸途径及解糖途径）代谢，产生三磷酸腺苷（ATP）及辅酶I（NADPH）等维持植物机体生命活动不可缺少的物质，以及丙酮酸（pyruvic acid）、磷酸烯醇丙酮酸（PEP）、赤藓糖-4-磷酸（erytbrose-4-phosphate，E.4.P）、核糖等。核糖为合成核酸的重要原料；磷酸烯醇丙酮酸与赤藓糖-4-磷酸可进一步合成莽草酸（shikimic acid）；而丙酮酸经过氧化、脱羧后生成乙酰

辅酶 A(acetyl CoA),再进入三羧酸(TCA)循环系中,生成一系列的有机酸及丙二酸单酰辅酶 A(malonyl CoA)(为合成脂质的重要原料)等,并通过固氮反应得到一系列的氨基酸(为合成肽及蛋白质的重要原料)。上述过程因为对维持植物生命活动来说是不可缺少的过程,且几乎存在于所有的绿色植物中,故习惯上称之为一次代谢过程。糖、蛋白质、脂质、核酸等这些对植物机体生命活动来说不可缺少的物质,则称之为一次代谢产物(primary metabolites)。可是,过程到此并没有结束。在特定条件下,一些重要的一次代谢产物,如乙酰辅酶 A、丙二酸单酰辅酶 A、莽草酸及一些氨基酸等,作为原料或前体,又进一步经历不同的代谢过程,生成如生物碱、萜类等化合物。因为这一过程并非在所有的植物中都能发生,对维持植物生命活动来说又不起重要作用,故称之为二次代谢过程。生物碱、萜类等化合物则称之为二次代谢产物(secondary metabolites)。植物中的二次代谢产物,因为结构富于变化,绚丽多彩,其中不少又多具有明显的生理活性,自然成为天然药物化学的主要研究对象。

二、生物合成假说的提出[19]

随着数目众多的天然化合物不断地被分离并确定其结构,人们自然产生一种愿望,希望对同样类型的天然化合物进行分类。且在多数情况下,结构相似意味着它们在生物合成上可能为同一起源,这对开展植物化学分类学研究、寻找新的天然药物资源很有好处。如以上所述,事实上人们早就注意到天然化合物结构之间的联系以及它们与重要的一次代谢产物之间的关系。

例如,在比较茴香脑(anethol)、丁香酚(eugenol)等化合物结构时,人们发现它们都具有相同的 C_6-C_3 骨架,并怀疑它们系由一次代谢产物酪氨酸(tyrosine)及多巴(dopa)代谢而来(见下图)。



又如，仔细剖析罂粟碱（papaverine）、木兰碱（magnoline）、小檗碱（berberine）等结构，发现它们的结构中也都包含有多巴的骨架，故曾假定它们系由多巴经上述途径与芳香醛类化合物缩合而成。这种考虑在初期形成生物碱的假说上具有划时代的意义，因为它首次指出了生物碱与氨基酸之间的生源联系。

再如，在萜类化合物中，常可看到不断重复出现的 C_5 单位骨架（图 1-2），意味着它们具有某种共同的生物合成途径，即所谓异戊二烯（isoprene）法则。

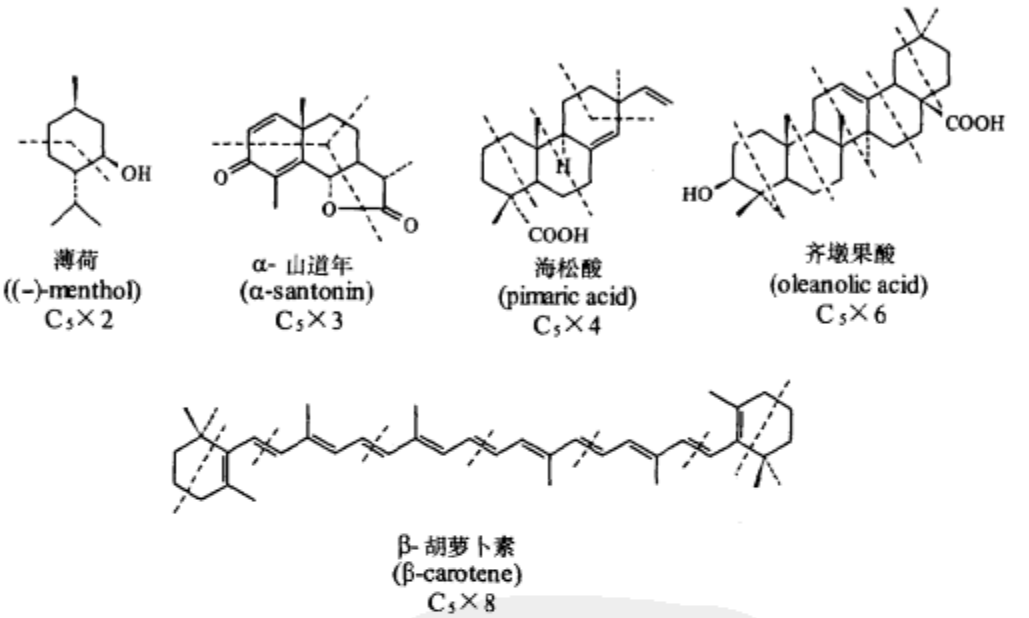
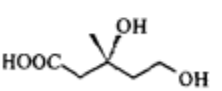


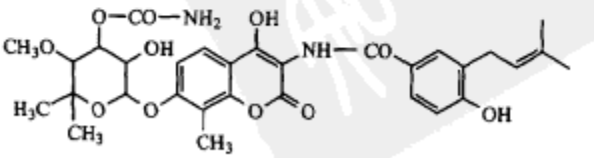
图 1-2 异戊二烯法则

早期，在确定萜类化合物结构时，曾以是否符合异戊二烯法则作为判断是非的一个重要原则。后来，随着更多与上述法则不相符合的萜类化合物的出现，1953 年对上述法则作了修改，1956 年更发现在生物体内实际提供 C_5 单位的是甲戊二羟酸途径（mevalonic acid，MVA）。

综上所述，已对几种生物合成假说的来龙去脉作了简要说明。但无论哪种情况都是先从结构比较开始，即将二次代谢产物与一次代谢产物比较，从复杂、多样的结构中找出其共性。犹如在儿童画中找出隐藏着的动物那样，我们必须首先学会在天然化合物结构中发现隐藏着的一次代谢产物，从而推测它们的生物合成途径及来源。有了这一概念后，不难在下面新生霉素（novobiocin）的结构中看出含有糖、酪氨酸、对羟基苯甲酸及异戊烯的结构片断了。



甲戊二羟酸



新生霉素

三、主要的生物合成途径[20~22]

虽然从自然界得到的化合物总数非常多，其结构也千变万化，非常复杂，但若仔细加以分析，则不难看出它们均由一定的基本单位按不同方式组合而成。

常见的基本单位大概有以下几种类型：

C_2 单位（醋酸单位）：如脂肪酸、酚类、苯醌等聚酮类（polyketides）化合物。

C_5 单位（异戊烯单位）：如萜类、甾类等。

C_6 单位：如香豆素、木脂体等苯丙素类化合物。

氨基酸单位：如生物碱类化合物。

复合单位：由上述单位复合构成。

天然化合物的主要生物合成途径如下所示，且大多数已用同位素示踪试验得到了证明。

（一）醋酸-丙二酸途径（acetate-malonate pathway，AA-MA 途径）

脂肪酸类、酚类、蒽酮类等均由这一途径生成。

1. 脂肪酸类　如图 1-3 所示，天然饱和脂肪酸类均由 AA-MA 途径生成。作为这一过程的出发单位是乙酰辅酶 A，但实际上起延伸碳链作用的是丙二酸单酰辅酶 A。碳链的延伸由缩合及还原两个步

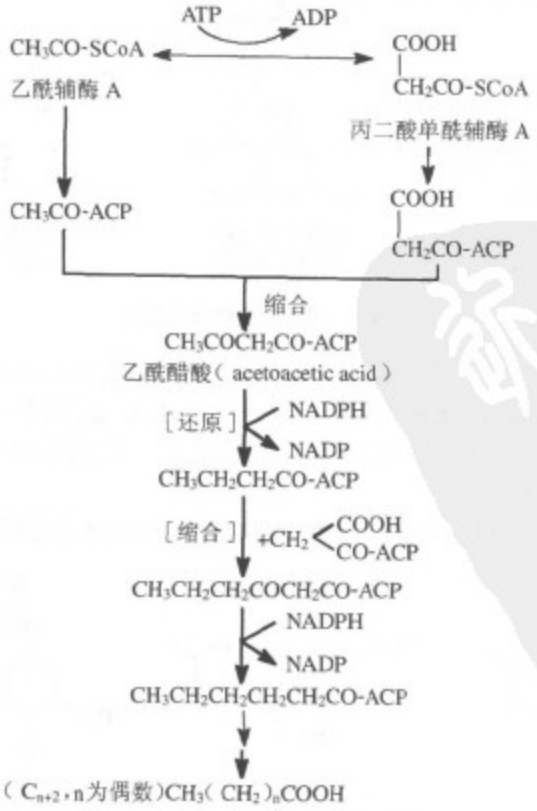


图 1-3　饱和脂肪酸的生物合成途径

骤交替而成，得到的饱和脂肪酸均为偶数。碳链为奇数的脂肪酸，起始物质不是乙酰辅酶 A，而是丙酰辅酶 A（propyonyl CoA），支链脂肪酸的前体则为异丁酰辅酶 A（isobutyryl CoA）、α-甲基丁酰辅酶 A（α-methylbutyryl CoA）及甲基丙二酸单酰辅酶 A（methy malonyl CoA）等，但缩合及还原过程均与上类似。

自然界广泛分布的不饱和脂肪酸类，其生物合成可能有几条途径，但以下列过程为主：

即先经生物学氧化成为羟基衍生物，再经脱水后生成。

2. 酚类　天然酚类化合物的生物合成与脂肪酸不同之处是在由乙酰辅酶 A 出发延伸碳链过程中只有缩合过程，生成的聚酮类中间体经不同途径环合而成。其特点是芳环上的含氧取代基（—OH、—OCH_3）多互为间位。（图 1-4）

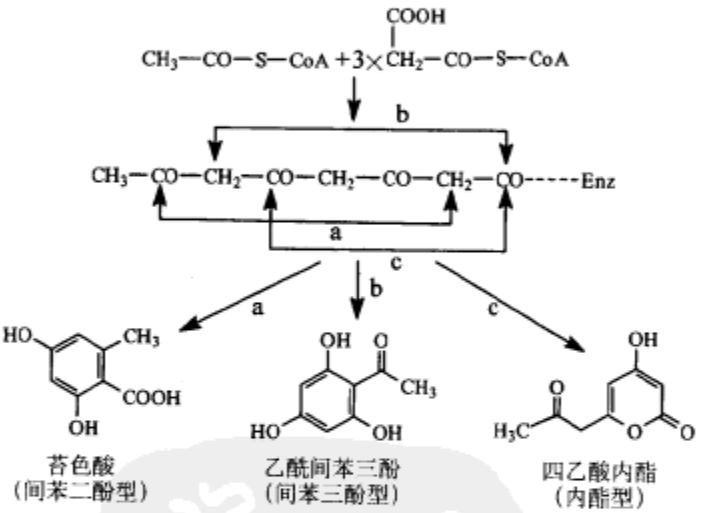
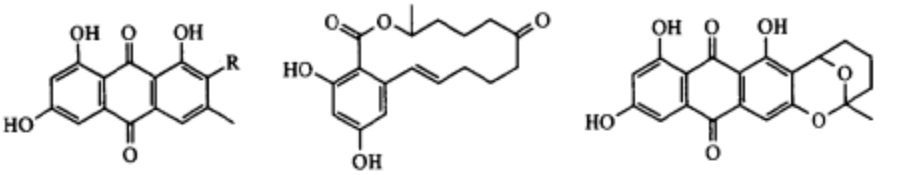


图 1-4　酚类的生物合成途径

3. 蒽酮类　以中药决明子为例，其所含成分有红镰刀菌素（rubrofusarin）、决明内酯（toralactone）、大黄素甲醚（physcion）及 torachrysone 等。粗略看上去，似乎同一植物中出现了几种结构类型不同的化合物。但就生物合成而言，其实它们均由同一途径即 AA-MA 途径生成，都可归入聚酮类化合物中（图 1-5）。

聚酮类化合物可以根据分子结构中醋酸单位的数目，分别命名为聚戊酮类（penta-ketide）、

聚辛酮类　　聚壬酮类　　聚癸酮类



R=H, 大黄素 (emodin)
R=COOH, 内向藏花素 (endocrocin)

玉米赤霉烯酮 (zearalenone)

奥佛尼红素 (averufin)

聚己酮类(hexaketide)、聚庚酮类(heptaketide)等。

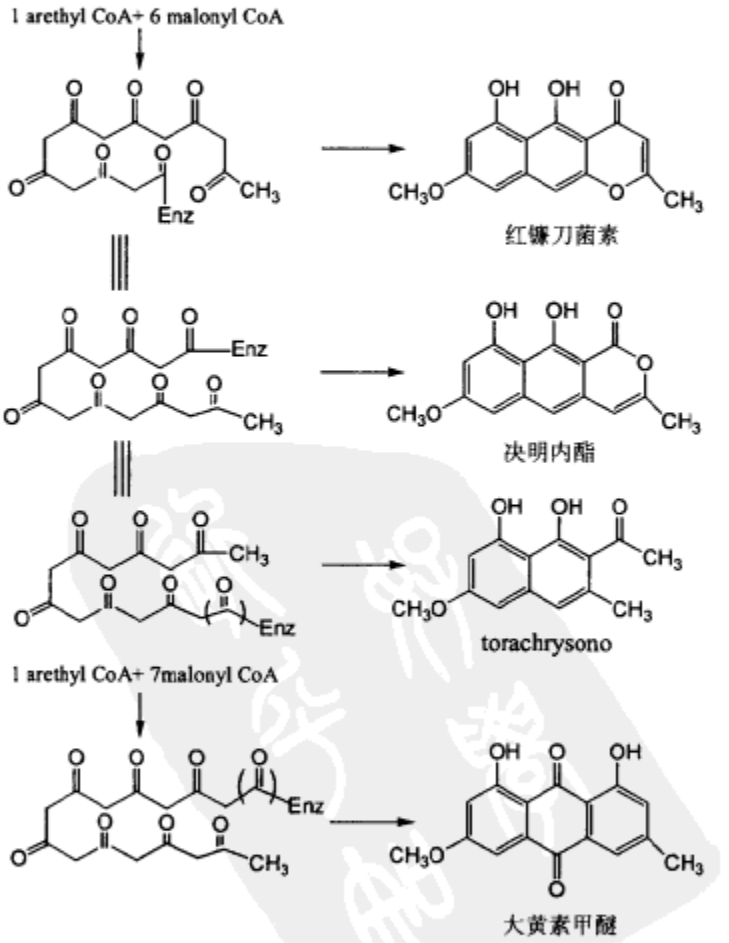


图 1-5　决明子的部分成分

(二) 甲戊二羟酸途径(mevalonic acid pathway, MVA 途径)

甲戊二羟酸生成萜的途径,如图 1-6 所示。

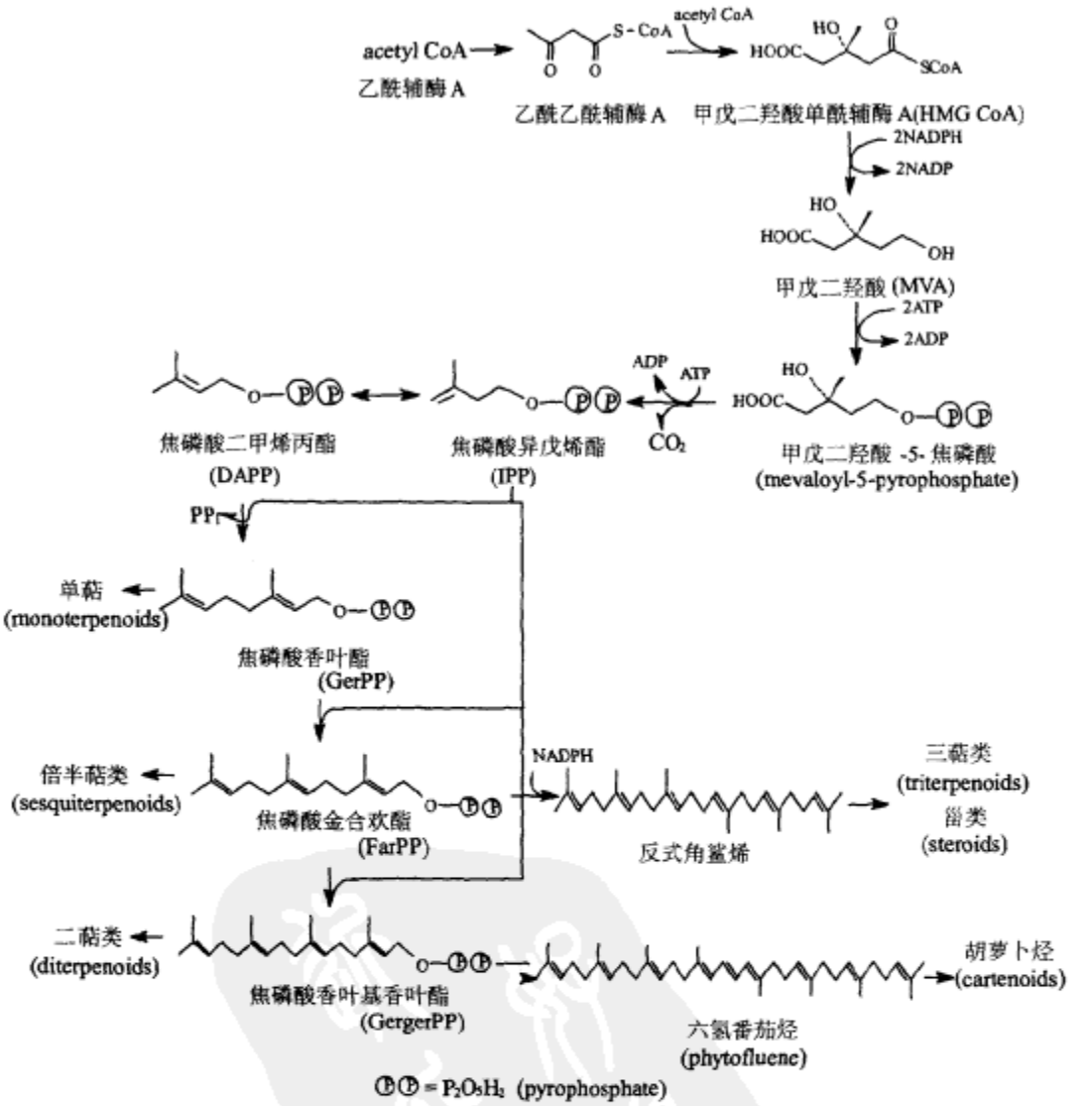


图 1-6 甲戊二羟酸途径

显然，生物体内真正的异戊烯基单位为焦磷酸二甲烯丙酯（DAPP）及其异构体焦磷酸异戊烯酯（IPP），它们均由 MVA 变化而来，在相互衔接时一般为头-尾相接，但三萜的生物合成，则是两个倍半萜尾-尾相接而成。各种萜类分别经由对应的焦磷酸酯得来，三萜及甾体则由反式角鲨烯（trans-squalene）转变而成。它们再经氧化、还原、脱羧、环合或重排，即生成种类繁多的三萜类（triterpenoids）及甾类（steroids）化合物。萜类化合物中与异戊二烯法则不相符合的化合物多因在环化过程中伴随发生重排所引起。由于 MVA 也是由乙酰辅酶 A 出发生成，故其生物合成基源也可以说是乙酰辅酶 A。

（三）桂皮酸途径（cinnamic acid pathway）**及莽草酸途径**（shikimic acid pathway）

天然化合物中具有 C_6-C_3 骨架的苯丙素类（phenylpropanoids）、香豆素类（coumarins）、木质素类（lignins）、木脂体类（lignans）以及具有 C_6-C_3-C_6 骨架的黄酮类化合物（flavonoids）极为多见。其中的 C_6-C_3 骨架均由苯丙氨酸（phenylalanine）经苯丙氨酸脱氨酶（phenylalanine ammonialyase，PAL）脱去氨后生成的桂皮酸而来。具体如图 1-7 所示：

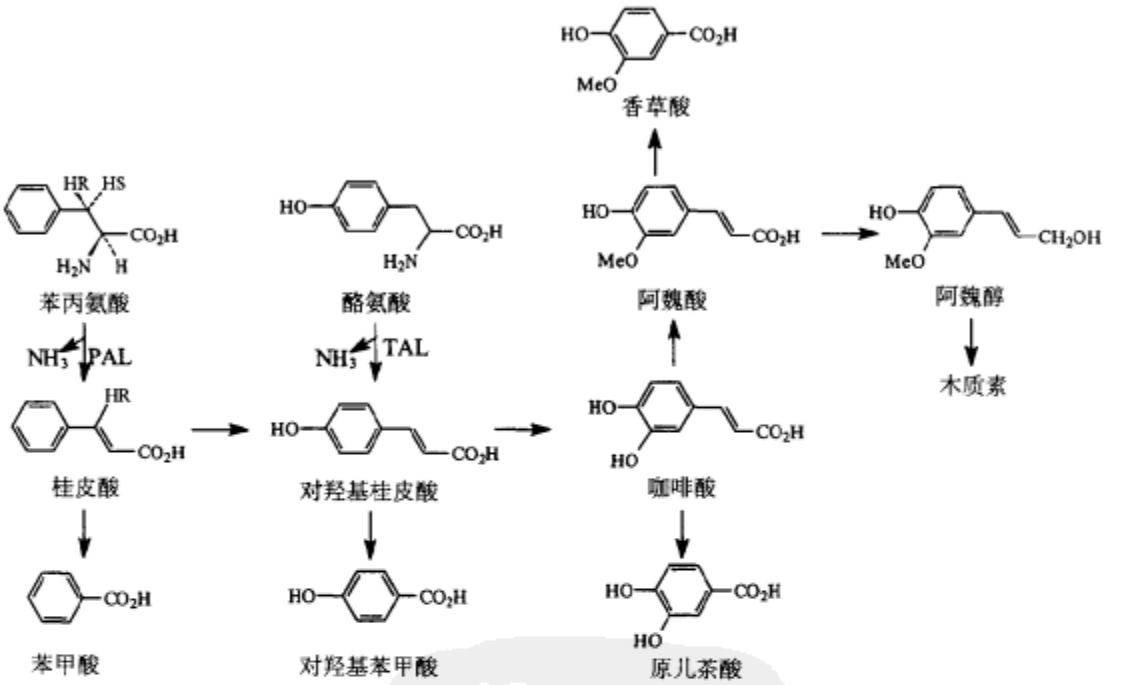
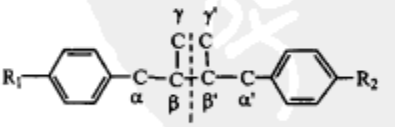


图 1-7 桂皮酸途径

苯丙素类经环化、氧化、还原等反应，还可生成 C_6-C_2、C_6-C_1 及 C_6 等类化合物。此外，与丙二酸单酰辅酶 A 结合，可生成二氢黄酮类化合物（C_6-C_3-C_6）。两分子的苯丙素类通过 β-位聚合，则可得到木质素类化合物。



木质素类（lignins）
$(C_6$-$C_3)\times 2$

图 1-7 中，酪氨酸经酪氨酸脱氨酶（tyrosine ammonialyase，TAL）脱氨后理论上虽也可生成对羟基桂皮酸，可是因为在高等植物中 TAL 的分布远比 PAL 有限（仅见于禾本科植物），且几乎不存在使苯丙氨酸氧化成酪氨酸的酶，故这一途径实际上可以忽略不计。原先以为与酪氨酸及多巴有关的茴香脑及丁香酚等苯丙素类化合物其实均来自苯丙氨酸，与酪氨酸及多巴无关。

过去，桂皮酸途径一直以其前体——莽草酸命名，称为莽草酸途径（shikimic acid pathway）。

可是由于莽草酸也是酪氨酸、色氨酸(tryptophane)等其它芳香酸类的前体(图 1-8),后两者又与生物碱的生物合成密切相关,故若命名为莽草酸途径将无法限定为仅由桂皮酸而来的苯丙素类化合物。故现已重新更名为桂皮酸途径。

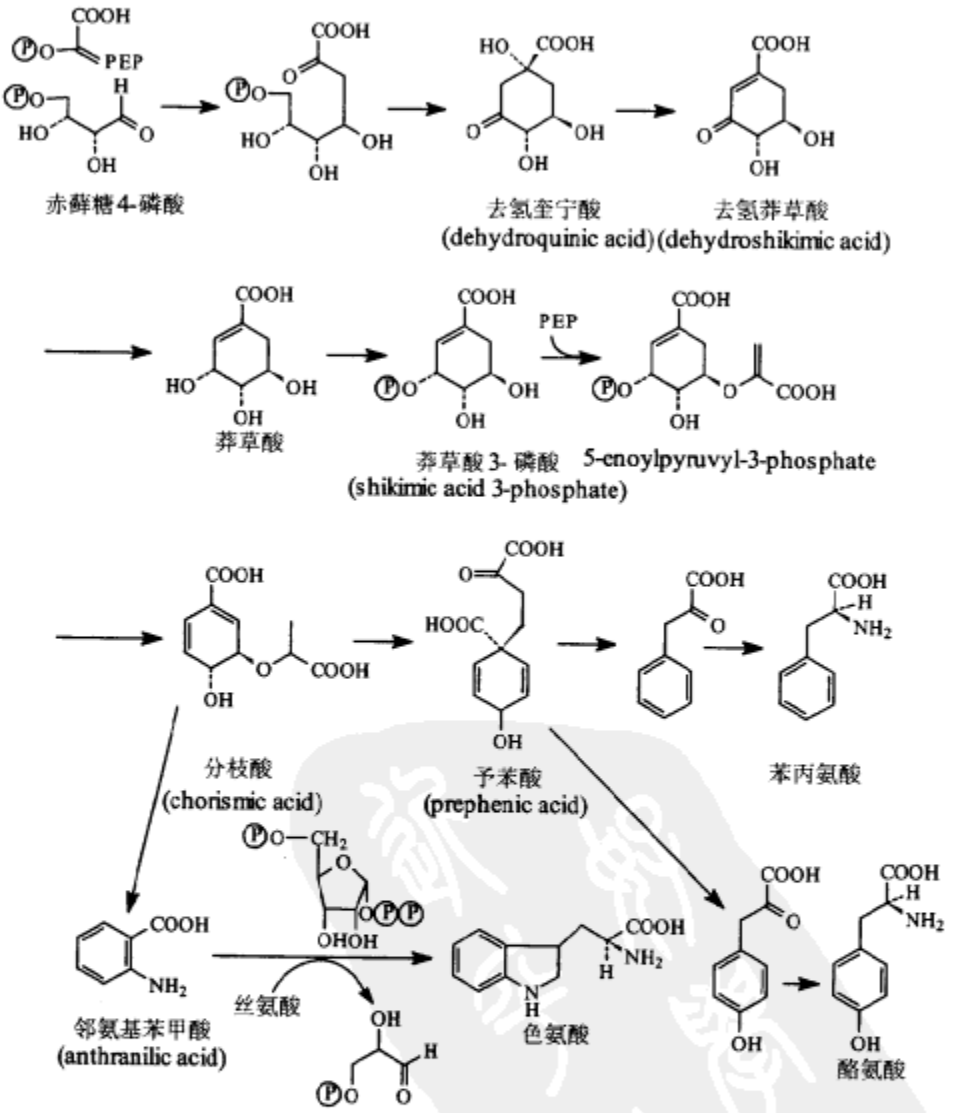


图 1-8 莽草酸途径

(四) 氨基酸途径(amino acid pathway)

天然产物中的生物碱类成分均由此途径生成。有些氨基酸脱羧成为胺类,再经过一系列化学反应(甲基化、氧化、还原、重排等)后转变成为生物碱(图 1-9)。

图 1-9 中,全去甲劳丹诺苏林、网状番荔枝碱是苄基异喹啉型(benzylisoquinoline)、原小檗碱型(protoberberine)、阿朴啡型(aporphine)、吗啡型(morphine)等许多重要的四氢异喹啉生物碱的

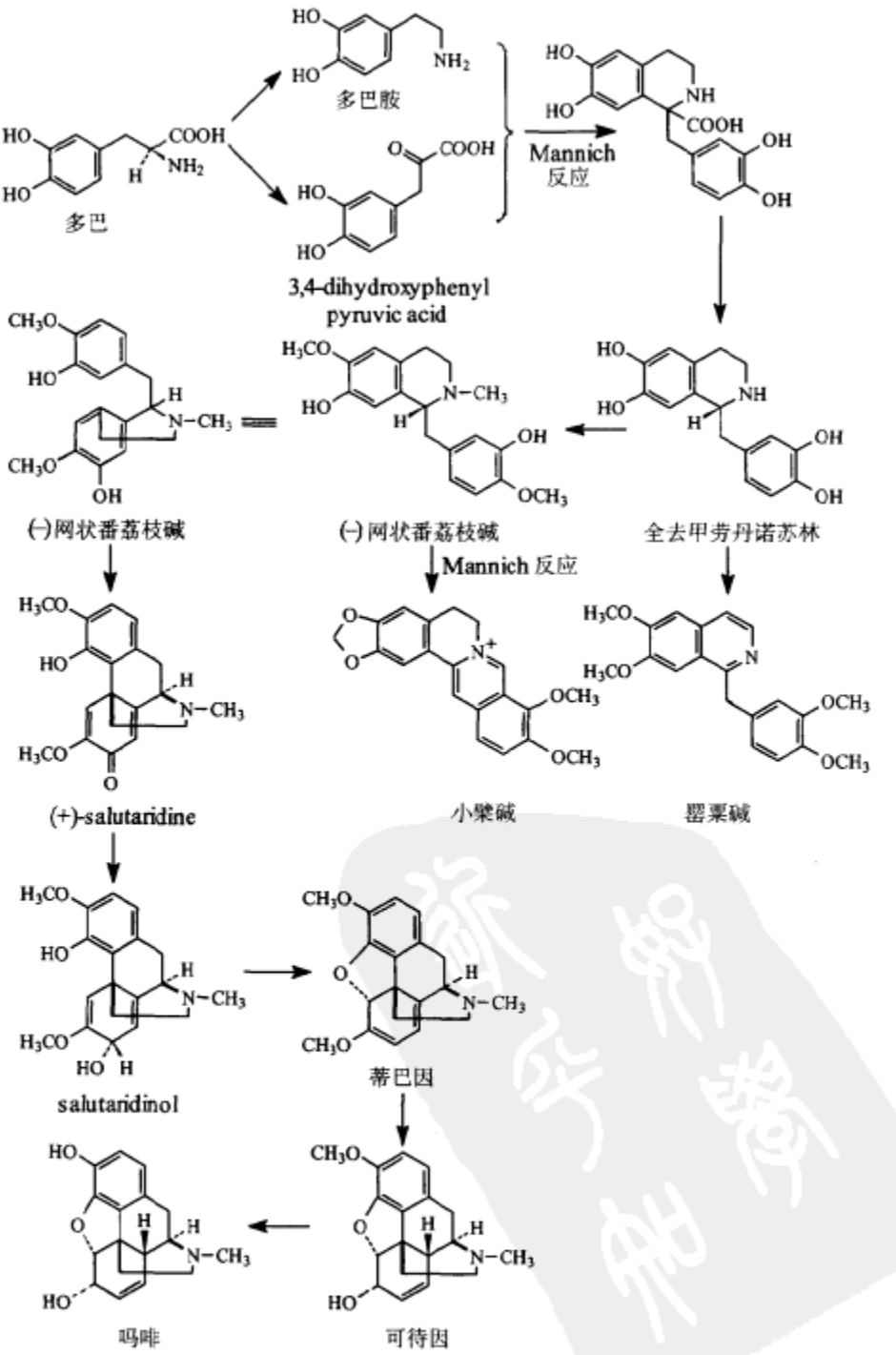


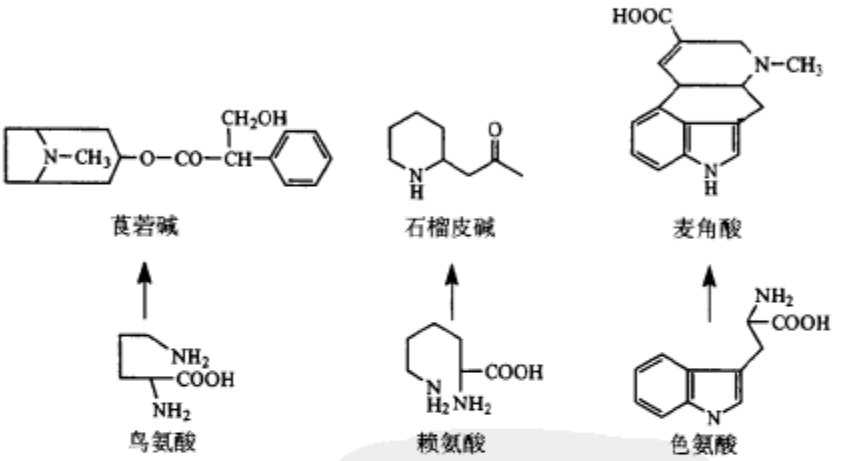
图 1-9 氨基酸途径(amino acid pathway)

中间体。在生物碱生物合成过程中，还涉及到如曼尼希（mannich）反应、酚类氧化偶联反应等一些重要的化学反应。

并非所有的氨基酸都能转变为生物碱。已知作为生物碱前体的氨基酸，在脂肪族氨基酸中主要有鸟氨酸（ornithine）、赖氨酸（lysine）；芳香族中则有苯丙氨酸（phenylalanine）、酪氨酸（tyrosine）及色氨酸（tryptophane）等。其中，芳香族氨基酸来自莽草酸途径，脂肪族氨基酸则基本上来自 TCA 循环及解糖途径中形成的 α-酮酸经还原氨化（transamination）后生成，具体如下式所示：

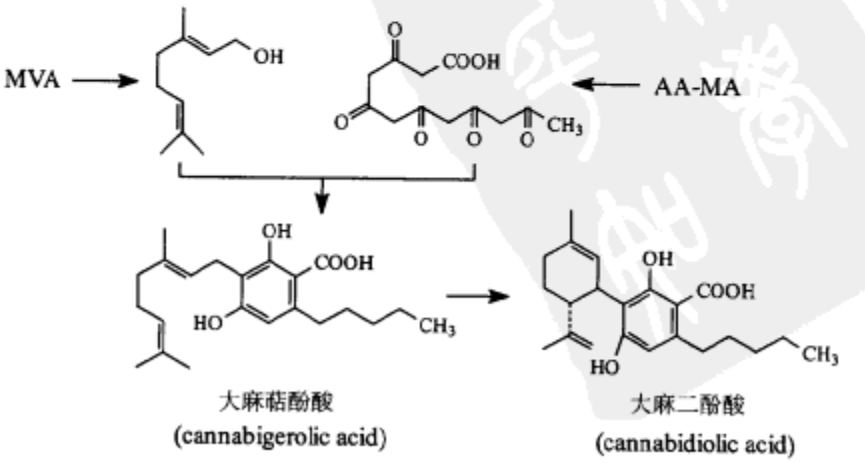
$$RCOCOOH \xrightarrow{Transamination} R\text{-}CH(NH_2)COOH$$

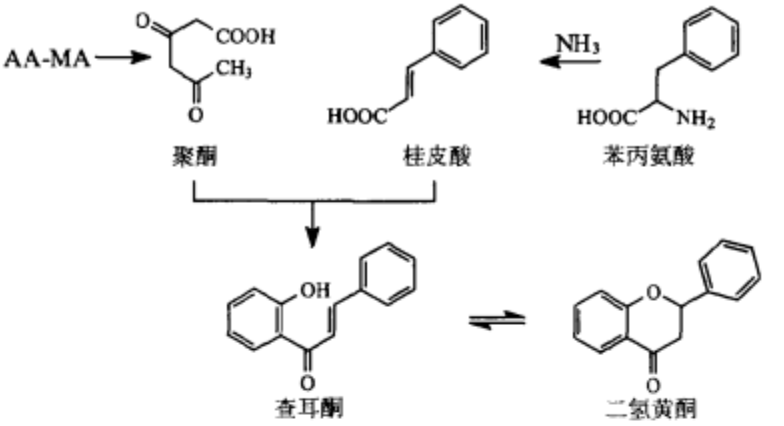
应当指出：有些生物碱，如莨菪碱、石榴碱等，如果稍加留意，不难看出结构中的前体氨基酸的轮廓；但有些化合物，如麦角酸等，只通过单纯比较结构往往还一下子难以判断它们在生物合成上的关系。



（五）复合途径

由前述内容可看出，像新生霉素那样结构稍为复杂的天然化合物，其分子中各个部位不可能来自同一生物合成途径。又如大麻二酚酸（cannabidiolic acid）、查尔酮（chalcones）、二氢黄酮（dihydroflavones）等（见下图）。





显然，上述天然化合物均来自 2 个以上不同的生物合成途径，即复合生合成途径。

常见的复合生合成途径有下列几种：

1. 醋酸-丙二酸—莽草酸途径；
2. 醋酸-丙二酸—甲羟戊酸途径；
3. 氨基酸—甲羟戊酸途径；
4. 氨基酸—醋酸-丙二酸途径；
5. 氨基酸—莽草酸途径。

应当指出：许多天然化合物均由上述特定的生物合成途径所形成，但是也有少数例外。例如植物界中广泛分布的没食子酸（gallic acid）在不同的植物中，或由莽草酸直接生成（如老鹳草，*Geranium hyperacium*）（1），或经由桂皮酸生成（如漆树，*Rhus typhina*）（2），或者由苔藓酸（如 *Epicoceum nigrum*）（3）生成（图 1-10）。

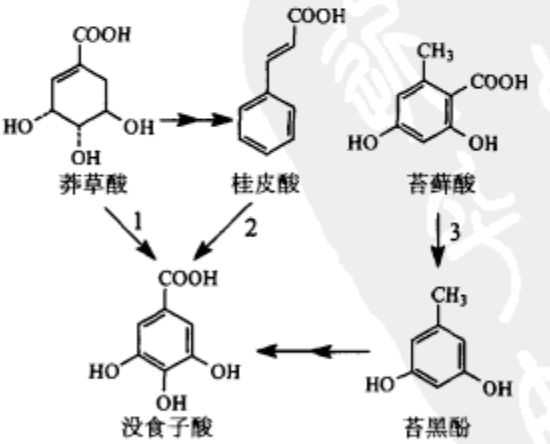


图 1-10 没食子酸的生物合成途径

最后应当指出，生物合成是天然药物化学学科中一个重要的领域。了解生物合成的有关知识，不仅对天然化合物进行结构分类或推测天然化合物的结构有帮助，而且对植物化学分类学以及仿生合成等学科的发展有着重要的理论指导意义，对采用组织培养方法进行物质生产有实

际指导意义。例如，了解目的物质的生物合成途径，在组织培养进程中有意“喂养”关键的前体物质，可能大大提高目的物质的收率。已有报道，在三叶薯芋 *Dioscorea deltoides* 的愈伤组织培养过程中加入适量胆固醇，薯芋皂苷元的含量可以由植物干重的 1.5% 提高到 2.5%。又如，在进行人参组织培养时，为了提高皂苷的含量，曾试验加入不同的生物合成前体物质[23]。结果表明：加入醋酸、香叶醇、反式角鲨烯时，皂苷的含量增加并不明显；但加入甲戊二羟酸及金合欢醇时，皂苷含量可增加约两倍。其原因并非因为愈伤组织的细胞数目增加，而是因为提高了单位细胞生产的皂苷量。另外，甲戊二羟酸及金合欢醇的加入时间对皂苷的生成量也有很大影响。

第三节　提取分离方法[24~27]

天然药物化学的研究是从有效成分或生理活性化合物的提取、分离工作开始的。在进行提取之前，应对所用材料的基源（如动、植物的学名）、产地、药用部位、采集时间与方法等进行考查，并系统查阅文献，以充分了解、利用前人的经验。

目的物为已知成分或已知化学结构类型，如从甘草中提取甘草酸、麻黄中提取麻黄素，或从植物中提取某类成分如总生物碱或总酸性成分时，工作比较简单。一般宜先查阅有关资料，搜集比较该种或该类成分的各种提取方案，尤其是工业生产方法，再根据具体条件加以选用。从中草药或天然药物中寻找未知有效成分或有效部位时，情况比较复杂。只能根据预先确定的目标，在适当的活性测试体系指导下，进行提取、分离并以相应的动物模型筛选、临床验证、反复实践，才能达到目的。这里先简要讨论物质提取分离的一般原理及常用方法。

一、中草药有效成分的提取

从药材中提取天然活性成分的方法有溶剂法、水蒸气蒸馏法及升华法等。后两种方法的应用范围十分有限，大多数情况下是采用溶剂提取法。溶剂提取法系选择适当溶剂将中草药中的化学成分从药材中提取出来。一般如无特殊规定，药料须经干燥并适当粉碎，以利增大与溶剂的接触表面，提高萃取效率。一般而言，植物成分中萜类、甾体等脂环类及芳香类化合物因为极性较小，易溶于氯仿、乙醚等亲脂性溶剂中；而糖苷、氨基酸等类成分则极性较大，易溶于水及含水醇中；至于酸性、碱性及两性化合物，因为存在状态（分子或离子形式）随溶液 pH 不同而异，故溶解度将随 pH 的改变而改变。但是，从药材中提取活性成分时，由于存在多种成分间的相互助溶作用，情况要复杂得多。因此，从药材中提取活性成分很难有一个固定的模式。通常须根据提取要求、目的成分及杂质的性质差别以及溶剂的溶解能力来确定。一般，可将固体药材按提取用溶剂的极性递增方式，用不同溶剂，如石油醚或汽油（可提出油脂、蜡、叶绿素、挥发油、游离甾体及三萜类化合物）、氯仿或乙酸乙酯（可提出游离生物碱、有机酸及黄酮、香豆素的苷元等中等极性化合物）、丙酮或乙醇、甲醇（可提出苷类、生物碱盐以及鞣质等极性化合物）及水（可提取氨基酸、糖类、无机盐等水溶性成分）依次进行提取。得到的各个馏分经活性测试确定有效部位后

再作进一步分离。另外，也可将药材直接用乙醇、含水乙醇或含水丙酮提取，提取液浓缩成膏，拌以硅藻土等辅料，减压干燥成粉后，再用上述不同溶剂进行分步处理。

二、中草药有效成分的分离与精制

用上述提取方法所得的多为混合物，尚需进一步分离及精制。常用方法原理如下：

（一）根据物质溶解度差别进行分离

物质分离的许多操作往往在溶液中进行。实践中可以采用下列方法：

1. 利用温度不同引起溶解度的改变以分离物质，如常见的结晶及重结晶等操作。

2. 在溶液中加入另一种溶剂以改变混合溶剂的极性，使一部分物质沉淀析出，从而实现分离。如在药材浓缩水提取液中加入数倍量高浓度乙醇，以沉淀除去多糖、蛋白质等水溶性杂质（水/醇法）；或在浓缩乙醇提取液中加入数倍量水稀释，放置以沉淀除去树脂、叶绿素等水不溶性杂质（醇/水法）；或在乙醇浓缩液中加入数倍量乙醚（醇/醚法）或丙酮（醇/丙酮法），可使皂苷沉淀析出，而脂溶性的树脂等杂质则留存在母液中等。

3. 对酸性、碱性或两性有机化合物来说，常可通过加入酸或碱以调节溶液的 pH 值，改变分子的存在状态（游离型或离解型），从而改变溶解度而实现分离。例如，一些生物碱类在用酸性水从药材中提出后，加碱调至碱性即可从水中沉淀析出（酸/碱法）。至于提取黄酮、蒽醌类酚酸性成分时采用的碱/酸法，以及调节 pH 至等电点使蛋白质沉淀的方法等也均属于这一类型。这种方法因为简便易行，在工业生产中用得很广。

4. 酸性或碱性化合物还可通过加入某种沉淀试剂使之生成水不溶性的盐类等沉淀析出。例如酸性化合物可作成钙盐、钡盐、铅盐等；碱性化合物如生物碱等，则可作成苦味酸盐、苦酮酸盐等有机酸盐或磷钼酸盐、磷钨酸盐、雷氏盐等无机酸盐。得到的有机酸金属盐类（如铅盐）沉淀悬浮于水或含水乙醇中，通入硫化氢气体进行复分解反应，使金属硫化物沉淀后，即可回收得到纯化的游离的有机酸类化合物。至于生物碱等碱性有机化合物的有机酸盐类则可悬浮于水中，加入无机酸，使有机酸游离后先用乙醚萃取除去，然后再进行碱化、有机溶剂萃取，回收有机溶剂即可得到纯化了的碱性有机化合物。

（二）根据物质在两相溶剂中的分配比不同进行分离

常见的方法有简单的液-液萃取法、反流分布法（CCD）、液滴逆流色谱法（DCCC）、高速逆流色谱（HSCCC）、气液分配色谱（GC 或 GLC）及液-液分配色谱（LC 或 LLC）等。

以下就液-液萃取的基本原理及方法作一简单概括。

1. 液-液萃取与分配系数 K 值　将两种相互不能任意混溶的溶剂（例如氯仿与水）置分液漏斗中充分振摇，放置后即可分成两相。此时如果其中含有溶质，则溶质在两相溶剂中的分配比（K）在一定的温度及压力下为一常数，可以用下式表示：

$$K = C_U / C_L \qquad (1\text{-}1)$$

K：表示分配系数；C_U：表示溶质在上相溶剂中的浓度；C_L：表示溶质在下相溶剂中的浓度。

现在假定有 A、B 两种溶质用氯仿及水进行分配，如 A、B 的重量均为 1.0g，$K_A = 10$，$K_B = 0.1$，两相溶剂体积比 $V_{CHCl_3}/V_{H_2O} = 1$，则用分液漏斗作一次振摇分配平衡后，约 90% 的溶质 A 将分配在上相溶剂（水）中，约 10% 的溶质 A 则分配到下相溶剂（氯仿）中。同理，$K_B = 0.1 = 1/10$，

在振摇平衡后，则溶质 B 的分配将与 A 相反。留在水中的约为 10%，约 90% 分配在氯仿中。这说明，在上述条件下，A、B 两种溶质在氯仿及水中仅作一次分配就可实现 90% 的分离。

2. 分离难易与分离因子 β　现在，我们可以用分离因子 β 值来表示分离的难易。分离因子 β 可定义为 A、B 两种溶质在同一溶剂系统中分配系数的比值。

即：
$$\beta = K_A / K_B \quad (注：K_A > K_B) \tag{1-2}$$

上例中，$\beta = K_A / K_B = 10/0.1 = 100$。

就一般情况而言，$\beta \geq 100$，仅作一次简单萃取就可实现基本分离；但 $100 > \beta \geq 10$，则需萃取 10～12 次；$\beta \leq 2$ 时，要想实现基本分离，须作 100 次以上萃取才能完成；$\beta \leqq 1$ 时，则 $K_A \leqq K_B$，意味着两者性质极其相近，即使作任意次分配也无法实现分离。而实际分离工作中，我们总是希望选择分离因子 β 值大的溶剂系统，以求简化分离过程，提高分离效率。

3. 分配比与 pH　对酸性、碱性及两性有机化合物来说，分配比还受溶剂系统 pH 的影响。因为 pH 变化可以改变它们的存在状态（游离型或离解型），从而影响在溶剂系统中的分配比。以酸性物质（HA）为例，其在水中的离解平衡及离解常数 K 可用下式表示：

$$HA + H_2O \rightleftharpoons A^- + H_3O^+$$

$$Ka = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[HA]} \tag{1-3}$$

两边取负对数

则：
$$pH = pKa + \lg \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Ka 及 pKa 均可用来表示酸性物质的酸性强弱。酸性越强，Ka 越大，pKa 值越小。若使该酸性物质完全离解，即使 HA 均转变成 A^- 则：

$$pH = pKa + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} \geqq pKa + \lg\left(\frac{100}{1}\right)$$

故：
$$pH \geqq pKa + 2 \tag{1-5}$$

使该酸性物质完全游离，即使 A^- 均转变成 HA，

则：
$$pH \leqq pKa - 2 \tag{1-6}$$

因为酚类化合物的 pKa 值一般为 9.2～10.8，羧酸类化合物的 pKa 值约为 5，故 pH3 以下大部分酚酸性物质将以非离解形式（HA）存在，易分配于有机溶剂中；而 pH12 以上时，则将以离解形式（A^-）存在，易分配于水中。

同理，碱性物质（B）的碱性强弱可用 K_b 或 pK_b 表示：

$$B + H_2O \rightleftharpoons BH^+ + OH^-$$

（共轭酸）

$$Kb = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]} \tag{1-7}$$

$$pK_b = -\lg K_b \tag{1-8}$$

现在，碱性物质的碱性强弱更多系以其共轭酸（BH^+）的离解常数 Ka 或 pKa 值表示。

$$BH^+ + H_2O \rightleftharpoons B + H_3O^+$$

（共轭酸）　（共轭碱）

$$Ka = \frac{[B][H_3O^+]}{[BH^+]} \tag{1-9}$$

$$pH = pKa + \lg \frac{[B]}{[BH^+]} \tag{1-10}$$

显然，碱性越强，则其共轭酸的 Ka 值越小，pKa 值越大。与酸性物质相同，我们也可以由文献上给出的 pKa 值求出各碱性物质呈游离型或离解型时的 pH 条件。

一般 pH < 3 时，酸性物质多呈非离解状态（HA）、碱性物质则呈离解状态（BH^+）存在；但 pH > 12，则酸性物质呈离解状态（A^-）、碱性物质则呈非离解状态（B）存在。据此，可采用图 1-11 所示在不同 pH 的缓冲溶液与有机溶剂中进行分配的方法，使酸性、碱性、中性及两性物质得以分离。

图 1-11 利用 pH 梯度萃取分离物质的模式图

4. 逆流分溶法（CCD）[28, 29] 液-液萃取分离中经常遇到的情况是分离因子 β 值较小，故萃取及转移操作常须进行几十次乃至几百次。此时简单萃取已不能满足需要，而要采用逆流分溶法（countercurrent distribution，简称 CCD）。

CCD 法是一种多次、连续的液-液萃取分离过程。如图 1-12 所示，在多个分液漏斗中装入固定相，在 No. 0 漏斗中溶入溶质并加入流动相溶剂。振摇使两相溶剂充分混合。静置分层后，分

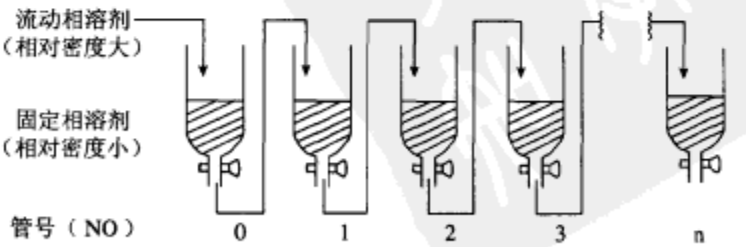


图 1-12 CCD 法的分离过程示意图

出流动相，令其移入 No. 1 管，再在 No. 0 管中补加新鲜流动相。再次振摇混合，静置分层并进行转移。如此连续不断地操作下去，溶质即在两相溶剂相对作逆流移动过程中，不断地重新分配并达到分离的目的。进行多次转移时，使用分液漏斗十分不便，而须采用 Craig 逆流分溶仪，该仪器为由上百个萃取单元组成的全自动连续液-液萃取装置。每个单元相当于一个分液漏斗（图 1-13）。图 1-14 反映了振摇萃取（a）→静置分层（b）→两相分开（c）→转移（d）几个操作程序的连接过程。

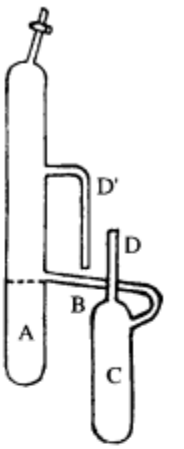


图 1-13 逆流分溶仪萃取单元

CCD 法因为操作条件温和、试样容易回收，故特别适于中等极性、不稳定物质的分离。另外，溶质浓度越低，分离效果越好。但是，试样极性过大或过小，或分配系数受浓度或温度影响过大时则不易采用此法分离。易于乳化的萃取溶剂系统也不宜采用。

5. 液-液萃取与纸色谱　前已叙及，分离因子 β 是液-液萃取时判断物质分离难易的重要参数。一般 $\beta > 50$ 时，简单萃取即可解决问题，但 $\beta < 50$ 时，则宜采用逆流分溶法。问题是对于未知成分组成的混合物来说，不知道

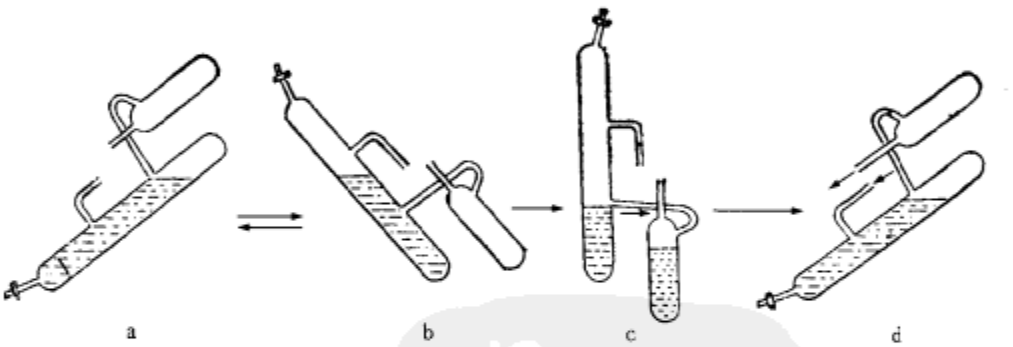


图 1-14 逆流分溶仪萃取单元的工作过程

混合物中各个组分在同一溶剂系统中的分配比又如何求得 β 值呢？这里可以借助纸色谱（PC）的帮助。已知 PC 的原理与液-液萃取法基本相同，Rf 值与分配系数 K 之间有下列关系：

$$K_{\text{有机相/水相}} = \frac{1}{r}\left(\frac{Rf}{1-Rf}\right) \tag{1-11}$$

（1-11）式中，r 为纸层色谱定数。当色谱滤纸湿重（$W_{湿}$）为干重（$W_{干}$）的 1.5 倍时，r = 2。设 A、B 两种（或两组）物质的 R_f 值分别为 Rf_a 及 Rf_b，则

$$\text{分离因子 } \beta = \frac{Rf_a(1-Rf_b)}{Rf_b(1-Rf_a)}$$

式中，$Rf_a > Rf_b$

据此，可用 PC 选择设计液-液萃取分离物质的最佳方案[30]。

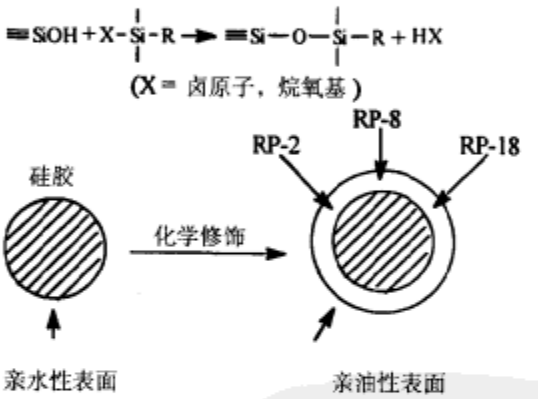
6. 液-液分配柱色谱[31-33]　逆流分溶法分离物质在分液漏斗中或 Craig 逆流分溶仪中进行时，前者手工操作，比较费时；后者因仪器自身的问题，在振摇时容易引起破损及漏液，又因溶剂消耗量大，振摇过程中又易于乳化，故现在已很少应用，多改用其它装置。如将两相溶剂中的一相涂覆在硅胶等多孔载体上，作为固定相，填充在色谱管中，然后加入与固定相不相混溶的另一

相溶剂(流动相)冲洗色谱柱。这样,物质同样可在两相溶剂中相对作逆流移动,在移动过程中不断进行动态分配而得以分离。这种方法称之为液-液分配柱色谱法。

(1)正相色谱与反相色谱:液-液分配柱色谱用的载体主要有硅胶、硅藻土及纤维素粉等。通常,分离水溶性或极性较大的成分如生物碱、苷类、糖类、有机酸等化合物时,固定相多采用强极性溶剂,如水、缓冲溶液等,流动相则用氯仿、乙酸乙酯、丁醇等弱极性有机溶剂,称之为正相色谱;但当分离脂溶性化合物,如高级脂肪酸、油脂、游离甾体等时,则两相可以颠倒,固定相可用石蜡油,而流动相则用水或甲醇等强极性溶剂,故称之为反相分配色谱(reverse phase partition chromatography)。

除色谱柱外,液-液分配色谱也可在色谱用硅胶薄层色谱上进行。因此液-液分配柱色谱的最佳分离条件可以根据相应的薄层色谱结果(正相柱用正相板,反相柱用反相板)进行选定。

常用反相硅胶薄层色谱及柱色谱的填料系将普通硅胶经下列方式进行化学修饰,键合上长度不同的烃基(R)形成亲脂性表面而成。



根据烃基(—R)长度为乙基(—C_2H_5)还是辛基(—C_8H_{17})或十八烷基(—$C_{18}H_{37}$),分别命名为 RP(reverse phase)-2、RP-8 及 RP-18。三者亲脂性强弱顺序如下:RP-18 > RP-8 > RP-2。

(2)加压液相柱色谱:经典的液-液分配柱色谱中用的载体(如硅胶)颗粒直径较大(100 ~ 150μm),流动相仅靠重力作用自上而下缓缓流过色谱柱,流出液用人工分段收集后再进行分析,因此柱效较低,费时较长,近来已逐渐被各种加压液相色谱所代替。加压液相色谱用的载体多为颗粒直径较小、机械强度及比表面积均大的球形硅胶微粒,如 Zipax 类薄壳型或表面多孔型硅球以及 Zorbax 类全多孔硅胶微球,其上并键合不同极性的有机化合物以适应不同类型分离工作的需要,因而柱效大大提高。常见的 Zorbax 系列 HPLC 填充柱型号见表 1-1。

其它系列填充剂也均有类似的型号,如 μ-Bondapak C_{18}、LiChrosorb RP-18、Perkin Elmer C_{18} 等均为键合了十八烷基的填充剂,与 Zorbax ODS 类似,均供作反相色谱应用。为了提高分离速度、缩短分离时间,则须施加压力,且依所用压力大小不同,可以分为快速色谱(flash chromatography,约 2.02×10^5Pa)、低压液相色谱(LPLC,$< 5.05 \times 10^5$Pa)、中压液相色谱(MPLC,$5.05 \sim 20.2 \times 10^5$Pa)及高压液相色谱(HPLC,$> 20.2 \times 10^5$Pa)等。各种加压液相色谱的分离规模如图 1-15 所示[34]。

表 1-1 HPLC 用 Zorbax 系列填充柱

柱子名称	键合固定相组成	适用分离方式
Zorbax ODS	十八烷基组，$-C_{18}H_{37}$	反相
Zorbax C_8	辛基组，$-C_8H_{17}$	反相
Zorbax NH_2	胺基组，$-NH_2$	正相、反相、阴离子交换
Zorbax CN	氰基丙基组，$-C_3H_7CN$	反相、正相
Zorbax TMS	三甲基硅组，$-Si(CH_3)_3$	反相
Zorbax SAX	季胺组，$-N^+R_3$	阴离子交换
Zorbax SIL	氧化硅，—SiOH	吸附
Zorbax SCX-300	磺酸基组，$-SO_3H$	阳离子交换

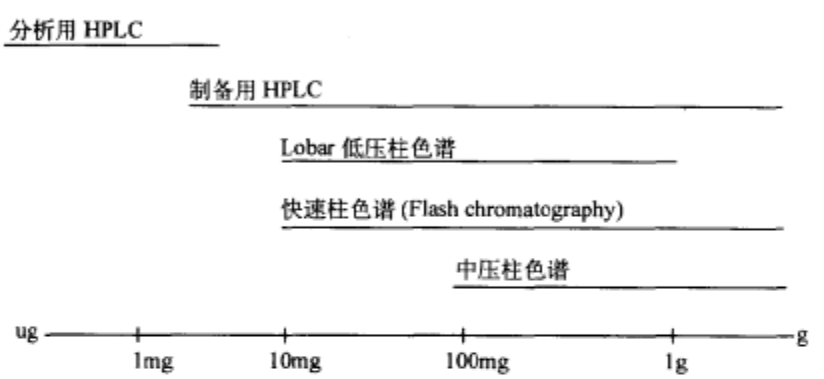


图 1-15 各种加压液相柱色谱的大体分离规模

此外，在色谱柱出口处常常配以高灵敏度的检测器，以及自动描记、分部收集的装置，并用计算机进行色谱条件的设定及数据处理。故无论在分离效能及分离速度方面，加压液相色谱均远远超过了经典的液-液分配柱色谱方法，在天然药物分离工作中得到了越来越广泛的应用。图 1-16 为常用高压液相装置的模式图。

近来，中低压液相柱色谱装置及 E. Merck 公司生产的配套用 Lobar 柱因分离规模较大（可达克数量级）、分离效果较好（有时不亚于 HPLC 所得结果）、分离速度较快（填充剂颗粒较大，约 40～60μm）、分离条件又可由相应的 TLC 结果直接选用，加之价格比较便宜、操作简便，故很受用户欢迎。常用 Lobar 柱的型号及规格可参见表 1-2 进行选择。

表 1-2 常用 Lobar 柱的型号及可能分离规模

规 格	填充剂	长度 (mm)	内径 (mm)	外径 (mm)	上柱可能试样量
A	LiChroprep Si60	240	10	13	~0.2 g/0.3～1.0ml
A	LiChroprep Rp-8	240	10	13	~0.2g
B	LiChroprep Si60	310	25	28	~1.0g/1.0～5.0ml
B	LiChroprep DIOL	310	25	28	~1.0g/1.0～5.0ml
B	LiChroprep Rp-8	310	25	28	~1.0g
C	LiChroprep Si60	440	37	42	~3.0g/2.0～10.0ml
C	LiChroprep Rp-8	440	37	42	~3.0g/2.0～10.0ml

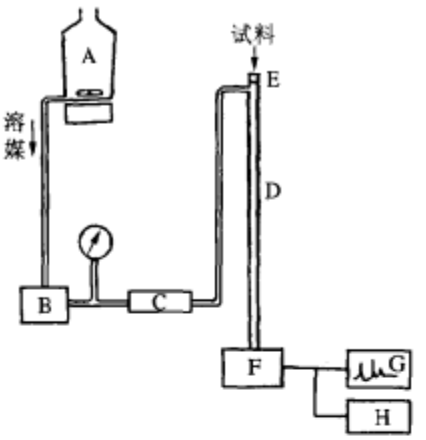


图 1-16 高压液相色谱装置的模式图
A. 溶剂贮槽 B. 高压液送泵 C. 防止脉冲装置 D. 色谱柱 E. 进样阀 F. 检出装置 G. 记录装置 H. 计算机

Lobar 柱可选用耐压送液泵(最大不超过 6.06×10^5Pa)或与 HPLC 的送液泵联用。无条件时也可采用高位溶剂贮液槽造成的位能差进行。在分离大量试样时,并可将几根柱子串联使用,以提高分离效果,并且用过的柱子可反复再生多次重复使用,值得推广普及。

7. 液滴逆流色谱(DCCC)及高速逆流色谱(HSCCC) 1970 年,由 Tanimura[35] 在液-液分配色谱基础上创建的液滴逆流色谱装置(Droplet counter current chromatography,简称 DCCC)可使流动相呈液滴形式垂直上升或下降,通过固定相的液柱,实现物质的逆流色谱分离(图 1-17)。

该装置中分离管虽系玻璃材料,但因为整组固定,不易破损。且分配用的两相溶剂不必振荡,故不易乳化或产生泡沫,特别适于皂苷类的分离。另外,近来由 Y. Ito[36-38] 发明的高速逆流色谱(High speed counter current chromatography,简称 HSCCC)也为类似原理。该装置依靠聚四氟乙烯(PTFE)蛇形管的方向性及特定的高速行星式旋转所产生的离心力场作用,使无载体支持的固定相稳定地保留在蛇形管内,并使流动相单向、低速通过固定相,实现连续逆流萃取分离物质的目的(图 1-18)。

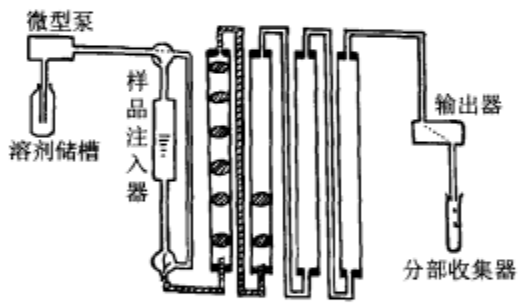


图 1-17 液滴逆流色谱装置示意图

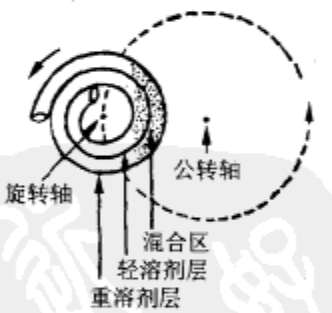


图 1-18 HSCCC 分离物质原理模拟图

DCCC 以及 HSCCC 均可克服上述液相色谱中因为采用固体载体所引起的不可逆吸附消耗、试样变性污染及色谱峰畸形拖尾等弊病,试样还可以定量回收,目前已广泛用于皂苷、生物碱、酸性化合物、蛋白质、糖类等天然化合物的分离精制工作[39-41],并取得了良好的效果。

(三) 根据物质的吸附性差别进行分离

在天然有机化合物分离及精制工作中,吸附现象利用得十分广泛。其中又以固-液吸附用得最多,并有物理吸附、化学吸附及半化学吸附之分。物理吸附(physical adsorption)也叫表面吸附,是因构成溶液的分子(含溶质及溶剂)与吸附剂表面分子的分子间力的相互作用所引起。特点是无选择性、吸附与解吸过程可逆、可快速进行,故在实际工作中用得最广。如采用硅胶、氧化铝及活性炭为吸附剂进行的吸附色谱即属于这一类型;化学吸附(chemical adsorption),如黄酮等酚酸性物质被碱性氧化铝吸附,或生物碱被酸性硅胶吸附等,因为具有选择性、吸附十分牢固、有

时甚至不可逆，故用得较少；半化学吸附（semi-chemical adsorption），如聚酰胺对黄酮类、醌类等化合物之间的氢键吸附，力量较弱，介于物理吸附与化学吸附之间，也有一定应用。以下将重点围绕物理吸附进行讨论。

1. 物理吸附基本规律——相似者易于吸附　固液吸附时，吸附剂、溶质、溶剂三者统称为吸附过程中的三要素。以静态吸附来说，当在某中药提取液中加入吸附剂时，在吸附剂表面即发生溶质分子与溶剂分子、以及溶质分子相互间对吸附剂表面的争夺。物理吸附过程一般无选择性，但吸附强弱及先后顺序都大体遵循“相似者易于吸附”的经验规律。硅胶、氧化铝因均为极性吸附剂，故有以下特点：

（1）对极性物质具有较强的亲和能力，极性强的溶质将被优先吸附。

（2）溶剂极性越弱，则吸附剂对溶质将表现出较强的吸附能力。溶剂极性增强，则吸附剂对溶质的吸附能力即随之减弱。

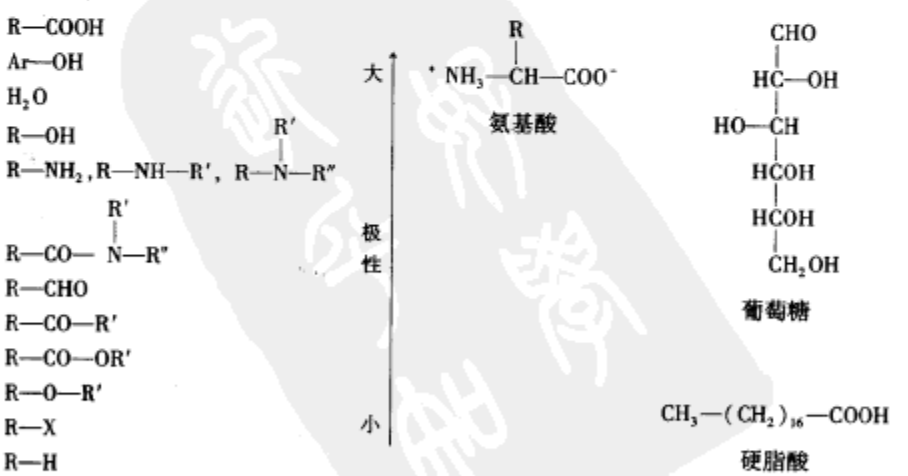
（3）溶质即使被硅胶、氧化铝吸附，但一旦加入极性较强的溶剂时，又可被后者置换洗脱下来。

活性炭因为是非极性吸附剂，故与硅胶、氧化铝相反，对非极性物质具有较强的亲和能力，在水中对溶质表现出强的吸附能力。溶剂极性降低，则活性炭对溶质的吸附能力也随之降低。故从活性炭上洗脱被吸附物质时，洗脱溶剂的洗脱能力将随溶剂极性的降低而增强。

2. 极性及其强弱判断　综上所述，极性强弱是支配物理吸附过程的主要因素。所谓极性乃是一种抽象概念，用以表示分子中电荷不对称（assymmetry）的程度，并大体上与偶极矩（dipole moment）、极化度（polarizability）及介电常数（dielectrie constant）等概念相对应。那么极性又应当如何判断呢？

（1）官能团的极性强弱按表 1-3 顺序排列：

表 1-3　官能团的极性



（2）化合物的极性则由分子中所含官能团的种类、数目及排列方式等综合因素所决定。以氨基酸来说，分子结构中既有正电基团，又有负电基团，故极性很强。高级脂肪酸，如硬脂酸，虽也含有如羧基这样的强极性基团，但因分子的主体乃由长链烃基所组成，故极性依然很弱。又如

葡萄糖，因分子中含有许多—OH 基，故为极性化合物，但鼠李糖(6-去氧糖)及加拿大麻糖(2,6-二去氧糖)因分子中—CH_2OH 及 —$\overset{|}{C}HOH$ 分别脱去氧变为—CH_3 及—CH_2—，故极性即随之降低。再如，从黄花夹竹桃果仁中分出下列七种成分[42](表 1-4)。

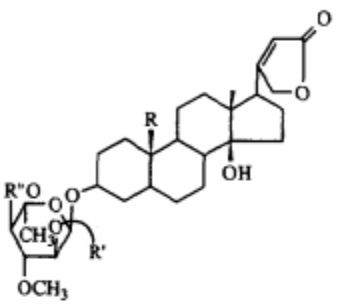


表 1-4 黄花夹竹桃果实中的强心苷成分

名称	R	R′	R″
黄夹苷 A	CHO	$(D\text{-}Glc)_2$	H
黄夹苷 B	CH_3	$(D\text{-}Glc)_2$	H
黄夹次苷 A	CHO	H	H
黄夹次苷 B	CH_3	H	H
黄夹次苷 C	CH_2OH	H	H
黄夹次苷 D	COOH	H	H
单乙酰黄夹次苷 B	CH_3	H	$COCH_3$

其中，与黄夹次苷相比，黄夹苷 A、B 因为分子中多出 2 个 glc，故极性要大得多，而且苷 A(R=CHO)极性大于苷 B($R=CH_3$)。五种黄夹次苷中，A～D 的结构差别仅在 R 不同，故极性大小取决于 R 的种类，并排成下列顺序：次苷 D(COOH)＞C(CH_2OH)＞A(CHO)＞B(CH_3)，单乙酰黄夹次苷 B 与黄夹次苷 B 比较，—OH 变为—$OCOCH_3$，故极性还要降低。综上分析，黄花夹竹桃中七种强心苷的极性将按下列顺序排列：苷 A＞苷 B＞次苷 D＞次苷 C＞次苷 A＞次苷 B＞单乙酰次苷 B。

上述极性强弱顺序决定着这些化合物在硅胶上的吸附行为及柱色谱的洗脱规律。

应当强调指出，酸性、碱性及两性有机化合物的极性强弱及吸附行为主要由其存在状态(游离型或离解型)所决定，并受溶剂 pH 的影响。以生物碱而言，游离型为非极性化合物，易为活性炭所吸附；但离解型则不然，为极性化合物，不易为活性炭所吸附。因此实践中常可通过改变溶剂 pH 以改变酸性、碱性及两性化合物的存在状态，进而影响其吸附或色谱行为达到分离精制的目的。

(3)大体上溶剂极性的大小可以根据介电常数(ε)的大小来判断。常用溶剂的介电常数及其极性排列如表 1-5 所示：

表 1-5 常用溶剂的介电常数及其极性排列

溶剂	ε	水溶度(g/100g)	极性
己烷	1.88	0.007	弱
苯	2.29	0.06	↓
乙醚(无水)	4.47	1.3	↓
氯仿	5.20	0.1	↓
乙酸乙酯	6.11	3.0	↓
乙醇	26.0		↓
甲醇	31.2		↓
水	81.0		强

3. 简单吸附法进行物质的浓缩与精制　简单吸附，如在结晶及重结晶过程中加入活性炭进行的脱色、脱臭等操作，在物质精制过程中应用很广。但要注意，有时拟除去的色素不一定是亲脂性的，故活性炭脱色不一定总能收到良好的效果。一般须根据预试结果先判断色素的类型，再决定选用什么吸附剂处理为宜。

此外，从大量稀水溶液中浓缩微量物质时，有时也采用简单吸附方法。例如，黎莲娘等[43]曾采用活性炭吸附法成功地从一叶萩水浸液中提取一叶萩碱。方法为将水浸液 pH 调至碱性（pH 8.5），分次加入活性炭，搅拌，静置，直到上清液检查无生物碱反应时为止。滤集吸碱炭末，干燥后与苯回流，回收苯液即得一叶萩碱。

4. 吸附柱色谱法用于物质的分离　吸附色谱法中硅胶、氧化铝柱色谱在实际工作中用得最多。有关注意事项如下：

（1）硅胶、氧化铝吸附柱色谱过程中，吸附剂的用量一般为试样量的 30 ~ 60 倍。试样极性较小、难以分离者，吸附剂用量可适当提高至试样量的 100 ~ 200 倍。据此可选用适当规格的色谱管，实验室中常用色谱管的规格如下所示，其高度与直径比（h/d）约为（15:1）~（20:1）。

色谱管内径（cm）：0.5　1.0　1.5　2.0　3.0　4.0　6.0　8.0　10

长度（cm）：10　15　30　45　60　75　90　120　150

吸附柱色谱用的硅胶及氧化铝目前均有市售品，可以过筛选用。通常以 100 目左右为宜，如采用加压柱色谱，还可以采用更细的颗粒，甚至直接采用薄层色谱用规格，其分离效果可以大大提高。

（2）硅胶、氧化铝吸附柱色谱，应尽可能选用极性小的溶剂装柱和溶解试样，以利试样在吸附剂柱上形成狭窄的原始谱带。如试样在所选装柱溶剂中不易溶解，则可将试样用少量极性稍大溶剂溶解后，再用少量吸附剂拌匀，并在 60℃下加热挥尽溶剂，置 P_2O_5 真空干燥器中减压干燥，研粉后再小心铺在吸附剂柱上。

（3）洗脱用溶剂的极性宜逐步增加，但跳跃不能太大。实践中多用混合溶剂，并通过巧妙调节比例以改变极性，达到梯度洗脱分离物质的目的。一般，混合溶剂中强极性溶剂的影响比较突出，故不可随意将极性差别很大的两种溶剂组合在一起使用。实验室中最常应用的混合溶剂组合如表 1-6 所示。

表 1-6　吸附柱色谱常用混合洗脱溶剂

极性递增	己烷-苯
	苯-乙醚
	苯-醋酸乙酯
	氯仿-乙醚
	氯仿-醋酸乙酯
	氯仿-甲醇
	丙酮-水
	甲醇-水

（4）为避免发生化学吸附，酸性物质宜用硅胶、碱性物质则宜用氧化铝进行分离。当然，硅胶、氧化铝用适当方法处理成中性时，情况会有所缓解。通常在分离酸性（或碱性）物质时，洗脱溶剂中分别加入适量醋酸（或氨、吡啶、二乙胺），常可收到防止拖尾、促进分离的效果。

（5）如液-液分配色谱中所述，吸附柱色谱也可用加压方式进行，溶剂系统可通过 TLC 进行筛选。但因 TLC 用吸附剂的表面积一般为柱色谱用的二倍左右，故一般 TLC 展开时使组分 Rf 值达到 0.2 ~ 0.3 的溶剂系统可选用为柱色谱分离该相应组分的最佳溶剂系统。

5. 聚酰胺吸附色谱法[44]　聚酰胺（poliamide）吸附属于氢键吸附，是一种用途十分广泛的分离方法，极性物质与非极性物质均可适用，但特别适合分离酚类、醌类、黄酮类化合物。

(1)聚酰胺的性质及吸附原理:商品聚酰胺均为高分子聚合物质,不溶于水、甲醇、乙醇、乙醚、氯仿及丙酮等常用有机溶剂,对碱较稳定,对酸尤其是无机酸稳定性较差,可溶于浓盐酸、冰醋酸及甲酸。聚酰胺吸附物质的原理可用图 1-19 表示。

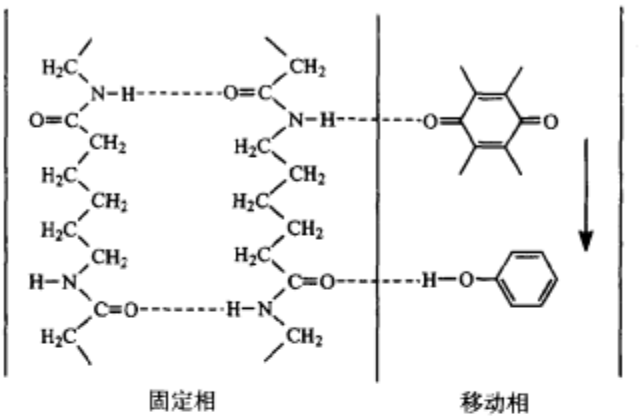
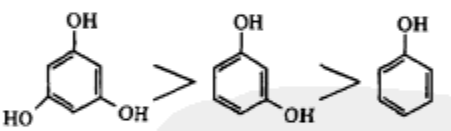


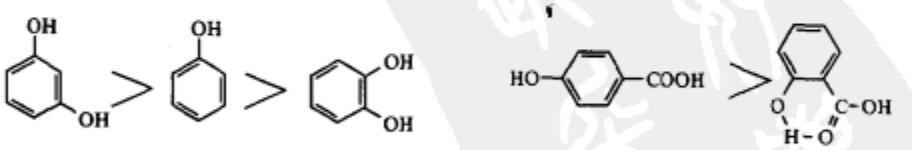
图 1-19 聚酰胺吸附色谱的原理

一般认为是通过分子中的酰胺羰基与酚类、黄酮类化合物的酚羟基,或酰胺键上的游离胺基与醌类、脂肪羧酸上的羰基形成氢键缔合而产生吸附。至于吸附强弱则取决于各种化合物与之形成氢键缔合的能力。通常在含水溶剂中大致有下列规律:

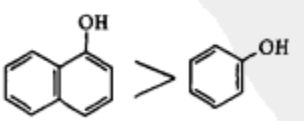
①形成氢键的基团数目越多,则吸附能力越强。



②成键位置对吸附力也有影响。易形成分子内氢键者,其在聚酰胺上的吸附即相应减弱。如:



③分子中芳香化程度高者,则吸附性增强;反之,则减弱。如:



以上是仅就化合物本身对聚酰胺的亲和力而言。但吸附因为是在溶液中进行,故溶剂也会参加吸附剂表面的争夺,或通过改变聚酰胺对溶质的氢键结合能力而影响吸附过程。显然,聚酰胺与酚类或醌类等化合物形成氢键缔合的能力在水中最强,在含水醇中则随着醇浓度的增高而相应减弱,在高浓度醇或其它有机溶剂中则几乎不缔合。故在聚酰胺柱色谱分离时,通常用水装

柱，试样也尽可能做成水溶液上柱以利聚酰胺对溶质的充分吸附，随后用不同浓度的含水醇洗脱，并不断提高醇的浓度，逐步增强从柱上洗脱物质的能力。甲酰胺、二甲基甲酰胺及尿素水溶液因分子中均有酰胺基，可以同时与聚酰胺及酚类等化合物形成氢键缔合，故有很强的洗脱能力。此外，水溶液中加入碱或酸均可破坏聚酰胺与溶质之间的氢键缔合，也有很强的洗脱能力，可用于聚酰胺的精制及再生处理。常用的聚酰胺再生剂有10%醋酸、3%氨水及5%氢氧化钠水溶液等。

综上分析，各种溶剂在聚酰胺柱上的洗脱能力由弱至强，可大致排列成下列顺序：

水→甲醇→丙酮→氢氧化钠水溶液→甲酰胺→二甲基甲酰胺→尿素水溶液

(2)聚酰胺色谱的应用：如上所述，聚酰胺对一般酚类、黄酮类化合物的吸附是可逆的(鞣质例外)，分离效果好，加以吸附容量又大，故聚酰胺色谱特别适合于该类化合物的制备分离。此外，对生物碱、萜类、甾体、糖类、氨基酸等其它极性与非极性化合物的分离也有着广泛的用途。另外因为对鞣质的吸附特强，近乎不可逆，故用于植物粗提取物的脱鞣处理特别适宜。

聚酰胺色谱也有薄层色谱与柱色谱两种方式。目前，均有市售品，可不必自己制备。

6. 大孔吸附树脂　大孔吸附树脂一般为白色球形颗粒，通常分为非极性和极性两类。因其理化性质稳定，不溶于酸、碱及有机溶媒中，所以在天然化合物的分离与富集工作中被广泛应用。对有机物选择性好，不受无机盐等离子和低分子化合物的影响。

(1)大孔吸附树脂的吸附原理：大孔吸附树脂是吸附性和分子筛性原理相结合的分离材料，它的吸附性是由于范德华引力或产生氢键的结果。分子筛性是由于其本身多孔性结构的性质所决定。

(2)影响吸附的因素：比表面积、表面电性、能否与化合物形成氢键等是影响吸附的重要因素。一般非极性化合物在水中易被非极性树脂吸附，极性树脂则易在水中吸附极性物质。糖是极性的水溶性化合物，与D型非极性树脂吸附作用很弱。据此经常用大孔吸附树脂将中药的化学成分和糖分离。溶剂的性质是另一个影响因素。物质在溶剂中的溶解度大，树脂对此物质的吸附力就小，反之就大。例如用非极性大孔吸附树脂对生物碱的0.5%盐酸溶液进行吸附，其吸附作用很弱，极易被水洗脱下来，生物碱回收率很高。化合物的性质也是影响吸附的重要因素。化合物的分子量、极性、能否形成氢键等都影响其与大孔吸附树脂的吸附作用。分子量小、极性小的化合物与非极性大孔吸附树脂吸附作用强。另外，能与大孔吸附树脂形成氢键的化合物易被吸附。

(3)大孔吸附树脂的应用：大孔吸附树脂现在已被广泛应用于天然化合物的分离和富集工作中，如苷与糖类的分离、生物碱的精制。在多糖、黄酮、三萜类化合物的分离方面都有很好的应用实例。市售大孔树脂一般含有未聚合的单体、致孔剂(多为长碳链的脂肪醇类)、分散剂和防腐剂等，使用前必须经过处理。大孔吸附树脂的预处理：以乙醇湿法装柱，继续用乙醇在柱上流动清洗，不时检查流出的乙醇，当流出的乙醇液与水混合不呈现白色乳浊现象即可，然后以大量的蒸馏水洗去乙醇。

(4)洗脱液的选择：洗脱液可使用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等。根据吸附作用强弱选用不同的洗脱液或不同浓度的同一溶剂。对非极性大孔树脂，洗脱液极性越小，洗脱能力越强。对于中等极性的大孔树脂和极性较大的化合物来说，则选用极性较大的溶剂为宜。

(5)应用实例：甜叶菊苷的提取分离

甜叶菊干叶 $\xrightarrow{\text{热水提三次}}$ 提取液 $\xrightarrow{OH^-}$ 清液 ⟶ D_{101} 树脂床 $\xrightarrow{\text{碱液洗}}$ $\xrightarrow{\text{水洗}}$ $\xrightarrow{\text{95\%乙醇洗脱}}$

洗脱液 $\xrightarrow{\text{脱色处理}}$ 结晶

（四）根据物质分子大小差别进行分离

天然有机化合物分子大小各异，分子量从几十到几百万，故也可据此进行分离。常用的有透析法、凝胶滤过法、超滤法、超速离心法等。前两者系利用半透膜的膜孔或凝胶的三维网状结构的分子筛滤过作用；超滤法则利用因分子大小不同引起的扩散速度的差别；至于超速离心法则系利用溶质在超速离心作用下具有不同的沉降性或浮游性。以上这些方法主要用于水溶性大分子化合物，如蛋白质、核酸、多糖类的脱盐精制及分离工作，对分离小分子化合物来说不太适用。可是凝胶滤过法不然，它可用于分离分子量 1000 以下的化合物。以下仅就凝胶滤过法进行说明。

1. 凝胶滤过法分离物质的原理[45,46] 凝胶滤过法（Gel filtration）也叫凝胶渗透色谱（Gel permeation chromatography）、分子筛滤过（molecular sieve filtration）、排阻色谱（exclusion chromatography），系利用分子筛分离物质的一种方法。其中所用载体，如葡聚糖凝胶，是在水中不溶、但可膨胀的球形颗粒，具有三维空间的网状结构。当在水中充分膨胀后装入色谱柱中，加入试样混合物，用同一溶剂洗脱时，由于凝胶网孔半径的限制，大分子将不能渗入凝胶颗粒内部（即被排阻在凝胶粒子外部），故在颗粒间隙移动，并随溶剂一起从柱底先行流出；小分子因可自由渗入并扩散到凝胶颗粒内部，故通过色谱柱时阻力增大、流速变缓，将较晚流出。试样混合物中各个成分因分子大小各异，渗入至凝胶颗粒内部的程度也不尽相同，故在经历一段时间流动并达到动态平衡后，即按分子由大到小顺序先后流出并得到分离（图 1-20）。

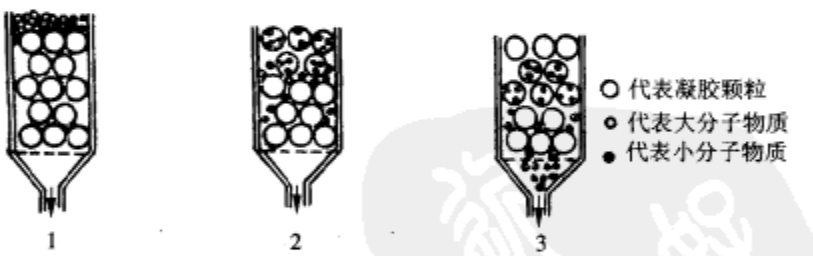


图 1-20 凝胶色谱简单原理图

1. 待分离的混合物在色谱床表面 2. 试样进入色谱床，小分子进入凝胶颗粒内部，大分子随溶液流动 3. 大分子物质行程短，流出色谱床，小分子物质仍在缓慢移动

以上情况可用下式作进一步说明。假定从柱上加入试样算起，至某个组分集中流出时所需溶剂体积为 Ve（称为洗脱体积），则 Ve 与组分分子量之间有下列关系。

$$Ve = K_1 - K_2 \lg M$$

因 K_1、K_2 均为常数，故洗脱体积（Ve）取决于分子量（M）的大小。M 越大，则 Ve 越小；M 越小，则 Ve 越大。由此进一步说明了凝胶滤过的洗脱规律。一般，分离条件一定时，Ve 重现性很好，可用来表示物质的洗脱性质。

2. 凝胶的种类与性质、商品凝胶的种类很多，常用的有葡聚糖凝胶（sephadex G）以及羟丙基葡聚糖凝胶（sephadex LH-20）。

（1）葡聚糖凝胶：系由平均分子量一定的葡聚糖及交联剂（如环氧氯丙烷）交联聚合而成。其部分结构如图 1-21 所示。生成的凝胶颗粒网孔大小取决于所用交联剂的数量及反应条件。

加入的交联剂数量越多即交联度越高，网孔越紧密，孔径越小，吸水膨胀也越小；交联度越低，则网孔越稀疏，吸水后膨胀也越大。商品型号即按交联度大小分类，并以吸水量多少表示。以sephadexG-25 为例，G 为凝胶（Gel），后附数字 = 吸水量 ×10，故 G-25 示该葡聚糖凝胶吸水量为 2.5ml/g。

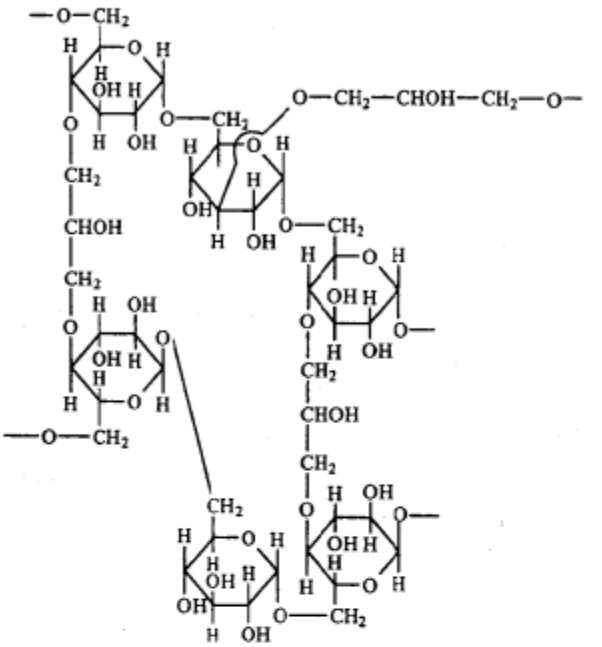


图 1-21　交联葡聚糖的化学结构

Sephadex G 型只适于在水中应用，且不同规格适合分离不同分子量的物质。有关性能见表 1-7，可以参考选用。

表 1-7　交联葡聚糖凝胶的性质

型号	吸水量 (ml/g)	柱床体积 (ml/g)	分离范围（分子量）		最少溶胀时间（小时）	
			肽与蛋白质	多糖	室温	沸水浴
交联葡聚糖 G-10	1.0 ± 0.1	2 ~ 3	< 700	< 700	3	1
交联葡聚糖 G-15	1.5 ± 0.2	2.5 ~ 3.5	< 1500	< 1500	3	1
交联葡聚糖 G-25	2.5 ± 0.2	4 ~ 6	1000 ~ 5000	100 ~ 5000	6	2
交联葡聚糖 G-50	5.0 ± 0.3	9 ~ 11	1500 ~ 30000	500 ~ 10000	6	2
交联葡聚糖 G-75	7.5 ± 0.5	12 ~ 15	3000 ~ 70000	1000 ~ 50000	24	3
交联葡聚糖 G-100	10.0 ± 1.0	15 ~ 20	4000 ~ 150000	1000 ~ 100000	48	5
交联葡聚糖 G-150	15.0 ± 1.5	20 ~ 30	5000 ~ 400000	1000 ~ 150000	72	5
交联葡聚糖 G-200	20.0 ± 2.0	30 ~ 40	5000 ~ 800000	1000 ~ 200000	72	5

以颗粒直径表示粒度大小　粗：100 ~ 300μm　中：50 ~ 150μm　超细：10 ~ 40μm

（2）羟丙基葡聚糖凝胶（sephadex LH-20）：为 sephadex G-25 经羟丙基化处理后得到的产物。此时，葡聚糖凝胶分子中的葡萄糖部分将与羟丙基结合成下列醚键形式：

$$—OH \longrightarrow —OCH_2CH_2CH_2OH$$

与 sephadex G 比较，sephadex LH-20 分子中—OH 基总数虽无改变，但碳原子所占比例却相对增加了。因此与 sephadex G 不同，不仅可在水中应用，也可在极性有机溶剂或它们与水组成的混合溶剂中膨润使用。表 1-8 示 sephadex LH-20 在不同溶剂中湿润膨胀后得到的柱床体积及保留溶剂数量。

sephadex LH-20 除保留有 sephadex G-25 原有的分子筛特性，可按分子量大小分离物质外，在由极性与非极性溶剂组成的混合溶剂中常常起到反相分配色谱的效果，适用于不同类型有机物的分离，在天然药物分离中得到了越来越广泛的应用。其中，dl-去甲乌药碱（dl-demethylcoclaurine）的分离实例[47,48]可以代表 sephadex LH-20 用于物质分离的一般操作过程。sephadex LH-20 价格比较昂贵。用过的 sephadex LH-20 可以反复再生使用，而且柱子的洗脱过程往往就是柱子的再生过程。暂时不用时可以水洗→含水醇洗（醇的浓度逐步递增）→醇洗，最后泡在醇中贮于磨口瓶中备用。如长期不用时，可在以上处理基础上，减压抽干，再用少量乙醚洗净抽干，室温充分挥散至无醚味后，60～80℃干燥后保存。

表 1-8 sephadex LH-20 对各种溶剂的保留量

溶剂	溶剂保留量（ml 溶剂/g 干凝胶）	柱床容积（ml/g 干凝胶）
Dimethylformamide	2.2	4.0～4.5
Water	2.1	4.0～4.5
Methanol	1.9	4.0～4.5
Ethanol	1.8	3.5～4.5
Chloroform, stabilized by 1% ethanol	1.8	3.5～4.5
Chloroform	1.6	3.0～3.5
n-Butanol	1.6	3.0～3.5
Dioxane	1.4	3.0～3.5
Tetrahydrofurane	1.4	3.0～3.5
Acetone	0.8	
Ethyl acetate	0.4	
Toluene	0.2	

此外，商品凝胶还有丙烯酰胺凝胶（Bio-Gel P）、琼脂糖凝胶（sepharose Bio-Gel A）以及结合了不同离子交换基团的葡聚糖凝胶衍生物，如羧甲基交联葡聚糖凝胶（CM-sephadex）、二乙氨乙基交联葡聚糖凝胶（DEAE-sephadex）、磺丙基交联葡聚糖凝胶（SP-sephadex）及苯胺乙基交联葡聚糖凝胶（QAE-sephadex）等，分别具有不同的特色及应用范围，有关专著[45,46]中均有记载，可以参阅利用。

（五）根据物质离解程度不同进行分离

天然有机化合物中，具有酸性、碱性及两性基团的分子，在水中多呈离解状态，据此可用离子交换法或电泳技术进行分离。以下仅简单介绍离子交换法。

1. 离子交换法分离物质的原理　离子交换法系以离子交换树脂作为固定相，用水或含水溶剂装柱。当流动相流过交换柱时，溶液中的中性分子及不与离子交换树脂交换基团发生交换的化合物将通过柱子从柱底流出，而具有可交换的离子则与树脂上的交换基团进行离子交换并被

吸附到柱上，随后改变条件，并用适当溶剂从柱上洗脱下来，即可实现物质分离。

2. 离子交换树脂的结构及性质　离子交换树脂外观均为球形颗粒，不溶于水，但可在水中膨胀。其基本结构以强酸性阳离子交换树脂为例，图示如下：

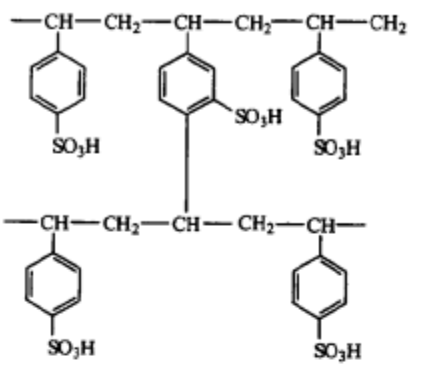


图 1-22　强酸性阳离子交换树脂的结构

显然，离子交换树脂由以下两个部分组成：

（1）母核部分，为由苯乙烯通过二乙烯苯（DVB）交联而成的大分子网状结构，网孔大小用交联度（即加入交联剂的百分比）表示。交联度越大，则网孔越小，质地越紧密，在水中越不易膨胀；交联度越小，则网孔越大，质地疏松，在水中易于膨胀，常见交联度等级如表 1-9 所示。不同交联度适于分离不同大小的分子。

表 1-9　离子交换树脂的等级

等级	阳离子交换树脂	阴离子交换树脂
低交联度	3% ~6%	2% ~3%
中等交联度	7% ~12%	4% ~5%
高交联度	13% ~20%	8% ~10%

（2）离子交换基团：上列结构式中为磺酸基（$-SO_3H$）。此外，并可能有$-N^+(CH_3)_3Cl^-$，—COOH 及$-NH_2$、$\diagup\!\!\diagdown NH$、$-N\diagup\!\!\diagdown$ 等基团，根据交换基的不同，离子交换树脂分为：

阳离子交换树脂

强酸性（$-SO_3^-H^+$）

弱酸性（$-COO^-H^+$）

阴离子交换树脂

强碱性（$-N^+(CH_3)_3Cl^-$）

弱碱性（$-NH_2$，$\diagup\!\!\diagdown NH$，$-N\diagup\!\!\diagdown$）

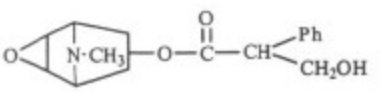
离子交换树脂的交换能力取决于离子交换基团的数量。以强酸性阳离子交换树脂 1×7（上海树脂厂#732 型）为例，它对分子量 89.09 的丙氨酸来说，1g 上述阳离子交换树脂理论上能交换 89.09×4.5mg 的丙氨酸。

图 1-23　离子交换树脂法分离物质的模型

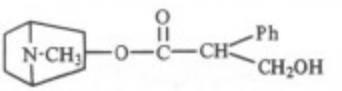
3. 离子交换法应用

(1)用于不同电荷离子的分离:天然药物水提取物中的酸性、碱性及两性化合物可按下列图式(图1-23)进行有效的分离,这在分离、追踪有效部位时很有用处。

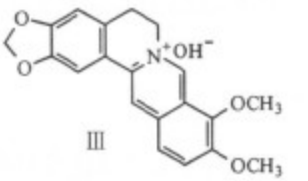
(2)用于相同电荷离子的分离:以下列三种化合物为例,虽然均为生物碱,但碱性强弱不同(Ⅲ > Ⅱ > Ⅰ),仍可用离子交换树脂分离。例如将三者混合物的水溶液通过 NH_4^+ 型弱酸性树脂,随后先用水洗下(Ⅰ),继续用 NH_4Cl 洗下(Ⅱ),最后用 Na_2CO_3 洗下(Ⅲ)。



Ⅰ



Ⅱ



Ⅲ

但是,对于电荷相同且离解程度非常近似的混合物来说,上述一般的离子交换方法则难以取得良好的分离效果,而必须采用离子交换色谱法。离子交换色谱的原理与上相同,但工作要细致得多,关键在于选好固定相(树脂)及流动相(洗脱用缓冲液)。所用树脂根据待分离物质的稳定性、离解基的类型及强度(p*Ka*)进行选择,并须进行干燥、粉碎,选择其中 200 ~ 400 目的微粒供用。而流动相除了传统应用的磷酸盐缓冲液外,近来还采用由挥发性有机酸(甲酸、醋酸)、碱(如吡啶、2-甲基吡啶、三甲基吡啶、N-乙基吗啉)做成的缓冲液,以利在以后采用减压浓缩或冷冻干燥法除去。

常见离子交换树脂的型号、性能及基本操作可参看有关专著[49]。

第四节 结构研究法

结构研究是天然药物化学的一项重要的研究内容。从天然药物中分离得到的单体即使具有很强的活性与较大的安全性,但如果结构不清楚,则无法进一步开展其药效学和毒理学研究,也不可能进行人工合成或结构修饰、改造工作,更谈不上进行高质量的新药研究开发,其学术及应用价值将会大大降低。

与合成化合物相比,对天然化合物进行结构研究难度较大。因为合成化合物原料已知,反应条件一定时可能得到什么产物、结构可能发生什么改变,事先均可作出某种程度的预测。但天然化合物则不然,即使不是新化合物,"未知"因素仍然很多。另外,对于一些超微量生理活性物质来说,因为得量甚少,有时仅几个毫克,故难以采用经典的化学方法(如化学降解、衍生物合成等)进行结构研究,而不得不主要依靠谱学分析的方法解决问题。即尽可能在不消耗或少消耗试样的条件下通过测定得到各种图谱,获取尽可能多的结构信息,而后加以综合分析,并充分利用文献数据进行比较鉴别,必要时则辅以化学手段,以推断并确认化合物的平面结构乃至立体结构。

一、化合物的纯度测定

在结构研究前必须首先确定化合物的纯度。纯度不合格,会给结构测定工作带来更大难度,

甚至会导致结构测定工作的失败。纯度检查的方法很多，如检查有无均匀一致的晶形，有无明确、敏锐的熔点等。但是最常应用的还是各种色谱方法，如 TLC 或 PC 等。一般，只有当试样在三种展开系统中均呈现单一斑点时方可确认其为单一化合物。个别情况下，甚至须采用正相和反相两种色谱方法加以确认。另外，气相色谱（GC）也是判断物质纯度的一种重要方法，但只适用于在高真空和一定加热条件下能够气化而不被分解的物质。

HPLC 则不然，不受 GC 那样的条件限制。与 GC 一样，HPLC 也有用量少、时间快、灵敏度高及准确的特点，但两者均须配置价格昂贵的仪器设备。

二、结构研究的主要程序

对未知天然化合物来说，结构研究的程序及采用的方法大体如下所示：

方法

1. 注意观察试样在提取、分离过程中的行为。
2. 测定其有关理化常数，如不同 pH、不同溶剂中的溶解度及色谱行为、灼烧试验、化学定性反应等。
3. 结合文献调研。

分子式测定可采用下列方法

（1）元素定量分析配合分子量测定；
（2）同位丰度比法；
（3）HR-MS。

计算不饱和度

（1）官能团定性及定量分析。
（2）测定并解析化合物的有关谱学数据，如 UV、IR、MS、^{1}H-NMR 及 ^{13}C-NMR。

结合文献调研

（1）综合分析谱学数据及官能团定性、定量分析结果。
（2）与已知化合物进行比较或化学沟通（化学降解、衍生物制备或人工合成）。

常用方法

（1）测定 CD 或 ORD 谱。
（2）测定 NOE 谱或 2D-NMR 谱。
（3）进行 X 射线衍射分析。
（4）进行人工合成。

其中，每个环节的应用方法均各有侧重，且因每个人的经验、习惯及对各种方法熟练掌握、运用的程度而异。对已知化合物的结构鉴定更可大大简化，很难说有一个固定的、一成不变的程序。但是有一点是共同的，即文献检索、调研工作几乎贯彻结构研究工作的全过程。大量事实证明，分类学上亲缘关系相近的植物，如同属、同种或相近属种的植物，往往含有类型及结构骨架类似或甚至结构相同的化合物，故在进行提取分离工作之前，一般应当先利用中、外文主题索引按中药名称或拉丁学名查阅同种、同属乃至相近属种的化学研究文献，以利充分了解前人的工作。

不仅要了解前人从该种或相近属种植物的哪个药用部位中分到过什么成分，还要了解该种或该类成分出现在哪个溶剂提取部位，用什么方法得到，具有什么性质，分子式、mp.、$[\alpha]_D$、颜色反应、色谱行为及各种谱学数据和它们的生物合成途径等，并最好整理概括成一览表以利检索、比较。通常在确认所得化合物的纯度后，即应根据该化合物在提取、分离过程中的行为、物理化学性质及有关测试数据，对比上述文献调研结果，分析推断所得化合物的类型及基本骨架，并可利用如分子式索引或主题索引（如推测为已知化合物）查阅各种专著、手册、综述，或者通过系统查阅美国化学文摘，进一步全面比较有关数据以判断所得到的化合物是“已知”还是“未知”化合物。

三、结构研究中采用的主要方法

（一）确定分子式，计算不饱和度

分子式的测定目前主要有以下几种方法，可因地制宜加以选用。

1. 元素定量分析配合分子量测定　一般在进行元素定量分析前应先进行元素定性分析，如采用钠融法等。元素定量分析一般委托专门的实验室进行。如果化合物只含C、H、O时，通常只作C、H定量，O则由扣除法求得，以刺果甘草（*G. pallidiflora* maxim.）根中分得的某白色针晶[50]为例。

元素定量分析得到下列结果。

C　79.35%

H　10.21%

从100中扣除C、H后，得：

O = (100 - 79.35 - 10.21)% = 10.44%

分别以各该元素的百分含量除以各该元素的原子量，即可求出三种元素在结构中所占比例，继以其中数值最小的一项除以各数，即得三者原子比。

		原子比
C = 79.35 ÷ 12.01 = 6.61		10.16
H = 10.21 ÷ 1.008 = 10.13	× 1/0.65	15.58
O = 10.44 ÷ 16.00 = 0.65		1

按倍比定律，原子间的化合一定是整数，故上述原子比可化约为$C_{15}H_{15}O_1$。计算该实验式中各元素的百分含量，并与实测值对照如下：

实验式：$C_{10}H_{16}O_1$

理论值：C，79.29%；H，10.13%；O，10.57%

实测值：C，79.35%；H，10.21%；O，10.44%

显然，理论值与实测值比较相近，故确定该化合物分子式为$(C_{10}H_{16}O)_n$，n = 1，2，3。确切的分子式则待分子量测定后才能确定。

分子量的测定有冰点下降法（固体物质）、沸点上升法（液体物质）、粘度法、凝胶滤过法等，但目前最常用的方法为质谱法（MS）。因该化合物由电子轰击质谱（EI-MS）法测得的分子离子峰（M^+，m/z）为456。

即：　　$(C_{10}H_{16}O)\times n=456$，$n=456/152=3$

故分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$。以上就是刺果甘草皂苷元 A(glypallisapogenin A)的分子式推定过程。

2. 同位素丰度比法　如表 1-10 所示，已知组成有机化合物的主要元素(氟、磷、碘除外)均由相对丰度比一定的同位素所组成，且重元素一般比轻元素重 1～2 个质量单位。

表 1-10　若干同位素及其丰度比

同位素	质量	丰度比(%)	同位素	质量	丰度比(%)	同位素	质量	丰度比(%)
^{1}H	1.007825	99.9855	^{2}H	2.01410	00.0145	–	–	–
^{12}C	12.00000	98.8292	^{13}C	13.00335	1.1080	–	–	–
^{14}N	14.00307	99.635	^{15}N	15.00011	00.365	–	–	–
^{16}O	15.99491	99.759	^{17}O	16.99914	00.037	^{18}O	17.99916	00.204
^{19}F	18.99840	100	–	–	–	–	–	–
^{28}Si	27.97693	92.20	^{29}Si	28.97649	4.70	^{30}Si	29.97376	3.10
^{31}P	30.97376	100	–	–	–	–	–	–
^{32}S	31.97207	95.018	^{33}S	32.97146	00.750	^{34}S	33.96786	4.21
^{35}Cl	34.96885	75.537	^{37}Cl	36.96590	24.463	–	–	–
^{79}Br	79.9183	50.52	^{81}Br	80.9163	49.48	–	–	–
^{127}I	126.9044	100	–	–	–	–	–	–

故由重元素组成的分子将比由轻元素组成的分子重 1～2 个质量单位。据此，在大多数有机化合物的 MS 图上，如能见到稳定的分子离子峰 $[M]^+$ 时，则在高出其 1～2 个质荷比(m/z)处还可同时见到 $[M+1]^+$ 及 $[M+2]^+$ 两个同位素峰。对一定的化合物来说，其 $[M]^+$、$[M+1]^+$ 及 $[M+2]^+$ 峰的相对强度应为一定值(含 C_1、Br 时除外)。同位素丰度比法之所以能求算分子式即系根据这一原理，具体方法可参见有关文献[51]。

同位素丰度比法因为试样用量少，故对分子量在 500 以下、又能生成稳定分子离子的化合物来说仍不失为一种值得优先选用的方法。

3. 高分辨质谱(HR-MS)法　高分辨质谱(HR-MS)仪可将物质的质量精确测定到小数点后第 3 位。如表 1-10 所示，以 $^{12}C=12.00000$ 为基准，则 ^{1}H 并不正好是 1 个原子质量单位(amu)，而是 1.007825、$^{14}N=14.00307$、$^{16}O=15.99491$。因此，表 1-11 中所列 $C_8H_{12}N_4$、$C_9H_{12}N_2O$、$C_{10}H_{12}O_2$、$C_{10}H_{16}N_2$ 四个化合物，它们的分子量虽都为 164，但精确质量则并不相同，在 HR-MS 仪上可以很容易地进行区别。

表 1-11　四个化合物的精确质量

序号	分子式	精确质量	序号	分子式	精确质量
M_1	$C_8H_{12}N_4$	164.1063	M_3	$C_{10}H_{12}O_2$	164.0837
M_2	$C_9H_{12}N_2O$	164.0950	M_4	$C_{10}H_{16}N_2$	164.1315

分子式确定后，即可按下式求算分子的不饱和度(Index of unsaturation，以 u 表示)

$$u = \text{Ⅳ} - \frac{\text{Ⅰ}}{2} + \frac{\text{Ⅲ}}{2} + 1$$

式中，Ⅰ为一价原子（如 H、D、X）的数目；

Ⅲ为三价原子（如 N、P 等）的数目；

Ⅳ为四价原子（如 C、S）的数目。

O、S 等二价原子与不饱和度无关，故不予考虑。

以前述 $C_{30}H_{48}O_3$ 化合物为例。不饱和度为：

$$u = 30 - \frac{48}{2} + \frac{0}{2} + 1 = 7$$

（二）质谱

如前所述，质谱（MS）可用于确定分子量及求算分子式和提供其它结构信息。此外，由于在一定条件下化合物的开裂还遵循一定规律，故比较试样与标准品在同一装置，同一条件下测得的 EI-MS 图，可以鉴定是否为同一化合物；如为未知化合物，还可由分子离子丢失的碎片大小或由碎片离子的 *m/z* 值以及裂解特征推定或者复核分子的部分结构（图 1-24）。

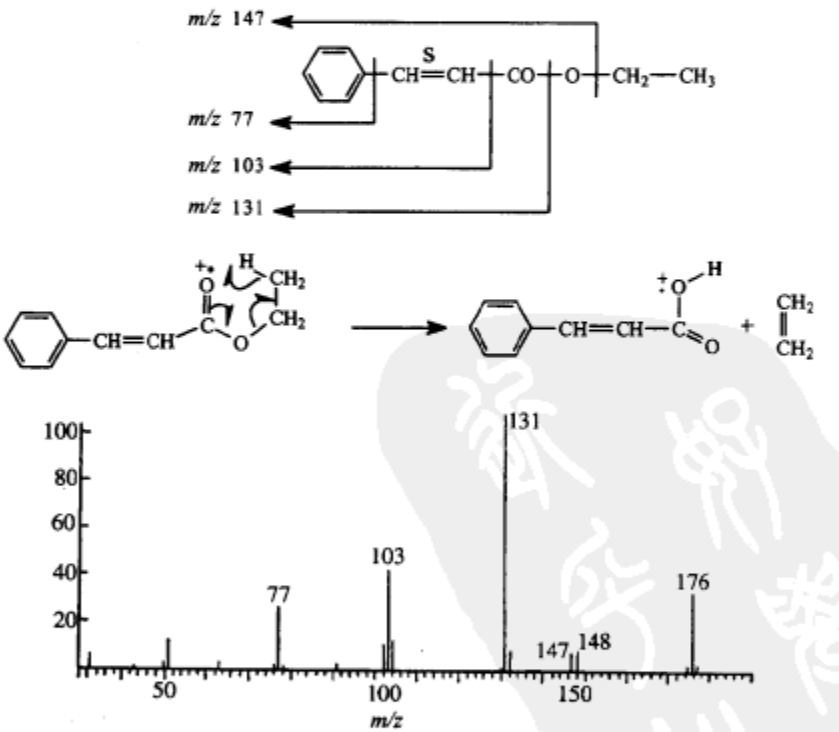


图 1-24 桂皮酸乙酯的质谱图

一般 MS 测定采用电子轰击法（electron impact ionization，简称 EI），故称 EI-MS。测定 EI-MS 时，需要先将试样加热气化，使之进入离子化室，而后才能电离。故容易发生热分解的化合物或难于气化的化合物，如醇、糖苷、部分羧酸等，往往测不到分子离子峰，看到的只是其碎片峰。而一些大分子物质，如糖的聚合物、肽类等，也因难于气化而无法测定。故近来多将一些对热不稳

定的试样，如糖类、醇类等，进行乙酰化或三甲基硅烷化（TMS 化），制成对热稳定性好的挥发性衍生物后再进行测定。另外，还开发了使试样不必加热气化而直接电离的新方法，如化学电离（chemical ionization，简称 CI）、场致电离（field ionization 简称 FI）、场解析电离（field desorption ionization，简称 FD）、快速原子轰击电离（fast atom bombardment，简称 FAB）、电喷雾电离（electro spray ionization，简称 ESI）等，以下简单介绍一下目前较常应用的 FD-MS 及 FAB-MS。

1. FD-MS　FD 电离法为 1969 年由 Beckey[52] 发明，系将试样稀溶液涂在直径约 10 mm、长满细微碳针的钨丝发射极上，通过真空密封系统进入离化室作为阳极，在距离其 2mm 处的对面安装阴极，并加 10 kV 的高电压使试样电离。本法因为无须将试样加热气化即可使化合物电离，故特别适合对热不稳定、极性大、难挥发的化合物的测定。检出灵敏度高（可达 10^{-11}g），谱图也比较单纯。大量事实表明：糖苷、氨基酸、肽类、核酸、抗生素等化合物在 FD-MS 谱中均显示明显的：$[M+H]^+$（M+1）、$[M+Na]^+$（M+23），甚至$[M+K]^+$（M+39）峰，并且随着发射丝电流强度的降低，碎片离子峰越来越少，而$[M+H]^+$峰则越发突出。此外，糖苷中并常可见到由$[M+H]^+$或$[M+Na]^+$依次脱去糖的碎片（图 1-25）。

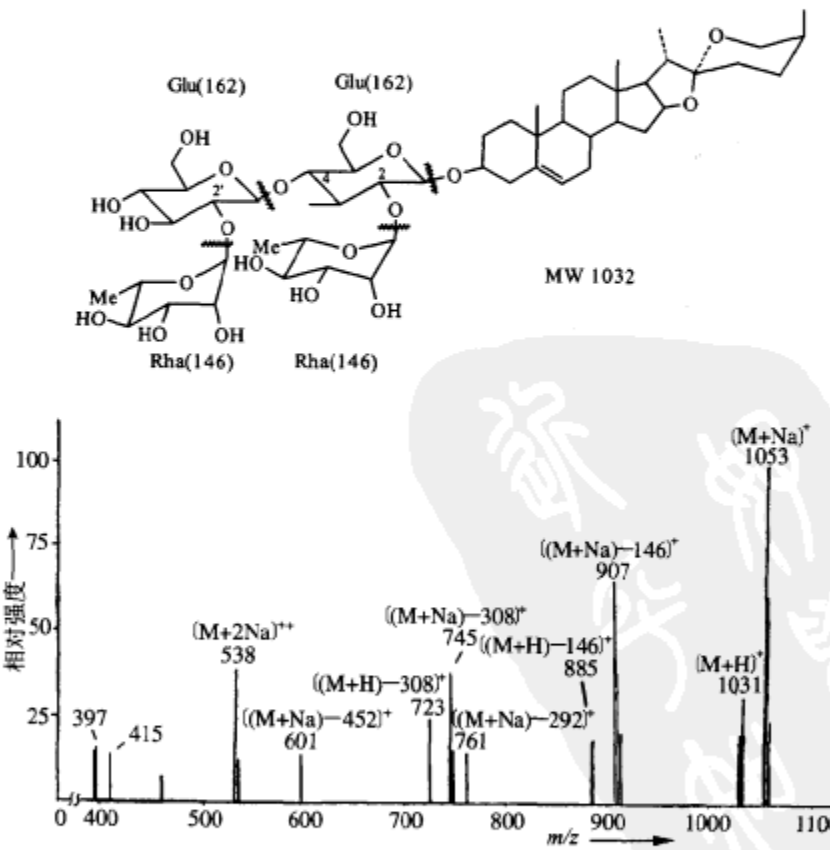
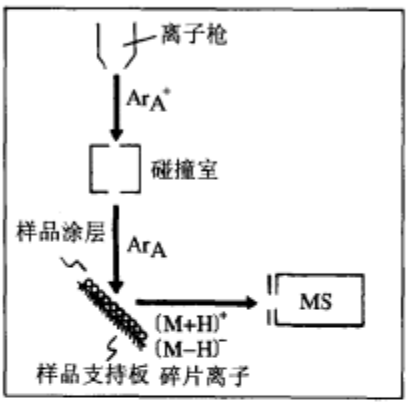


图 1-25　Balanitin-1 的 FD-MS 图

肽类可以见到依次脱去氨基酸的碎片，这表明 FD-MS 对测定上述类型化合物的分子量以及确定糖链或肽链中糖及氨基酸的顺序很有帮助。

2. FAB-MS 1981 年由 Barber[53] 发明，方法原理如图 1-26 所示。从离子枪射出的一次离子 Ar_A^+，经加速后在碰撞室与 Ar_B 碰撞，并交换电荷，产生高速中性粒子（Ar_A）。该高速中性粒子进一步撞击试样即可使之电离，得到分子离子及其进一步裂解的碎片。碎片类型与 FD-MS 基本相同。由于配备了阴离子捕获器，还可给出相应的阴离子质谱，与阳离子质谱互相补充，大大增加了信息来源及可信程度。比较 Cantalasaponin-1 的 FD-MS 与 FAB-MS 的测定结果（表 1-12），可见 FD-MS 在高质量区提供的信息比较详尽，但苷元部分的结构碎片信息则相对较少。可是 FAB-MS 则不然，除了给出分子量及糖的碎片信息外，在低质量区还给出了苷元的结构碎片，从而弥补了 FD-MS 的不足。



$$Ar \longrightarrow Ar_A^+ + e^-$$
$$\langle Ar_A^+ \rangle + Ar_B \rightarrow \langle Ar_A \rangle + Ar_B^+$$

图 1-26 FAB-MS 的工作原理图

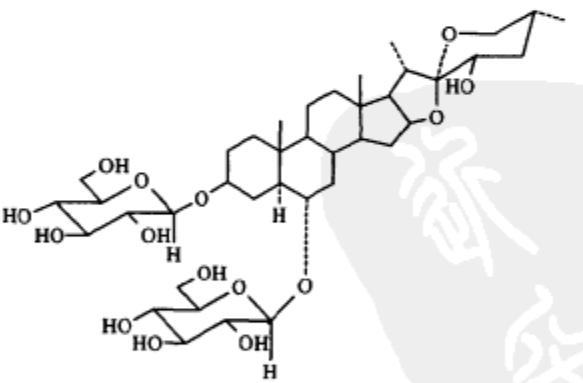


表 1-12 Cantalasaponin-1 的 FD-MS 与 FAB-MS 数据比较[a]

FD-MS		FAB-MS		FAB-MS(contd.)	
811[b]	$[M+K]^+$ (9.58)	811	$[M+K]^+$ (0.34)	395[c]	(12.25)
795	$[M+Na]^+$ (100.00)	795	$[M+Na]^+$ (2.71)	363	(1.86)
777	$[M-H_2O+Na]^+$ (2.69)	773	$[M+H]^+$ (0.58)	345	(5.3)
775	$[M-H_2O+K]^+$ (2.72)	772	$[M]^+$ (0.68)	327	(13.3)

续表

FD-MS		FAB-MS		FAB-MS(contd.)	
773	$[M+H_2]^+$(11.37)	755	$[M-H_2O+H]^+$(2.08)	271	(33.36)
772	$[M]^+$(3.02)	611	$[M-162+H]^+$(1.34)	253	(33.92)
754	$[M-H_2O]^+$(4.01)	593	$[M-162-H_2O+H]^+$(3.44)	155	(21.82)
736	$[M-2H_2O]^+$(2.15)	575	$[M-162-2H_2O+H]^+$(1.76)	142	(23.25)
611	$[M-162+H]^+$(3.65)	449	$[M-(2\times162)+H]^+$(2.07)	131	(63.50)
409	$[M+2Na]^{++}$(4.42)	431	$[M-(2\times162)-H_2O+H]^+$(6.42)	113	(23.14)
163	$[hexose-H_2O+H]^+$(3.23)	413	$[M-(2\times162)-2H_2O+H]^+$(16.16)	105*	(100.00)

* Journal of Natural Products, 1985, 48(3): 395

（三）红外光谱

分子中价键的伸缩及弯曲振动将在光的红外区域，即 4000～625cm^{-1}处引起吸收。测得的吸收图谱叫红外光谱（Infrared spectra，IR）（图 1-27）。

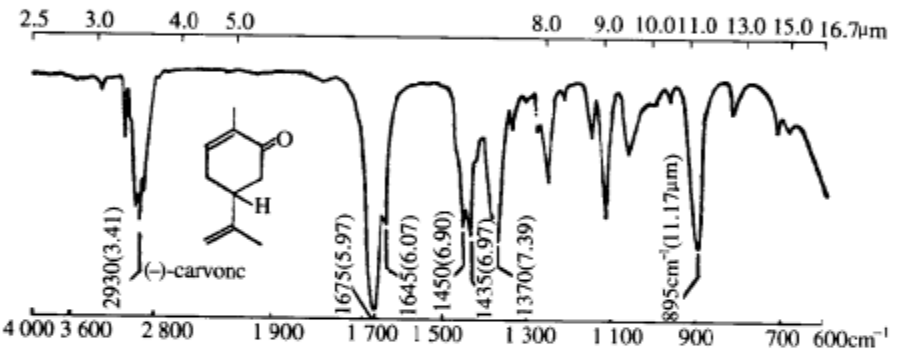


图 1-27 （S-(－)）-藏茴香酮的 IR 图谱（液膜法）

其中，4000～1500cm^{-1}的区域为特征频率区（functional group region），许多特征官能团，如羟基、氨基以及重键（如 C═C、C≡C、C═O、N═O）、芳环等吸收均出现在这个区域，并可据此进行鉴别。1500～600cm^{-1}的区域为指纹区（finger print region），其中许多吸收因原子或原子团间的键角变化所引起，形状比较复杂，犹如人的指纹，可据此进行化合物的真伪鉴别。

某些情况下，红外光谱可用于区别芳环的取代图式及构型、构象等。

（四）紫外-可见吸收光谱

分子中的电子可因光线照射从基态（ground state）跃迁至激发态（excited state）。其中，$\pi\rightarrow\pi^*$跃迁以及 $n\rightarrow\pi^*$跃迁可因吸收紫外光及可见光所引起，吸收光谱将出现在光的紫外及可见区域（200～700nm），所测得的光谱叫紫外-可见光谱（ultraviolet-visible spectra，UV-vis）（图 1-28）。含有共轭双键、发色团及具有共轭体系的助色团分子在紫外及可见光区域产生的吸收即由相应的 $\pi\rightarrow\pi^*$及 $n\rightarrow\pi^*$跃迁所引起。饱和碳氢化合物，因 $\sigma\rightarrow\sigma^*$跃迁需要的能量较大，超出了通常的紫外及可见光范围，故在上述区域没有吸收；若含有杂原子（如 S、N 等）时，虽有 $n\rightarrow\pi^*$跃迁，也只在 200～210nm 附近出现末端吸收，没有多大的诊断价值。图 1-29 为 β-藏茴香酮的 UV 吸收光谱图，横轴为波长，以 nm 表示，纵轴为吸收度（absorbance，A）。UV 光谱对于分子中含有共

轭双键、α,β-不饱和羰基(醛、酮、酸、酯)结构的化合物以及芳香化合物的结构鉴定来说是一种重要的手段。通常主要用于推断化合物的骨架类型;某些场合下,如香豆素类、黄酮类等化合物,它们的 UV 光谱在加入某种诊断试剂后可因分子结构中取代基的类型、数目及排列方式不同而发生不同的改变,故还可用于测定化合物的精细结构。

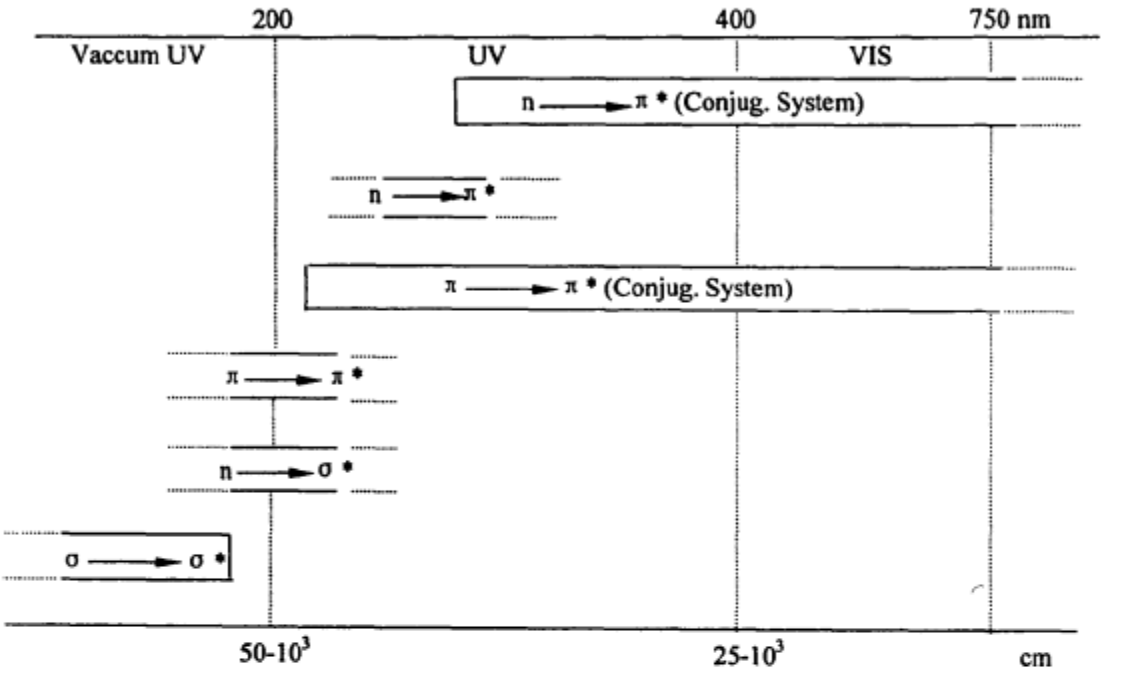


图 1-28 电子跃迁与 UV 及可见吸收光谱

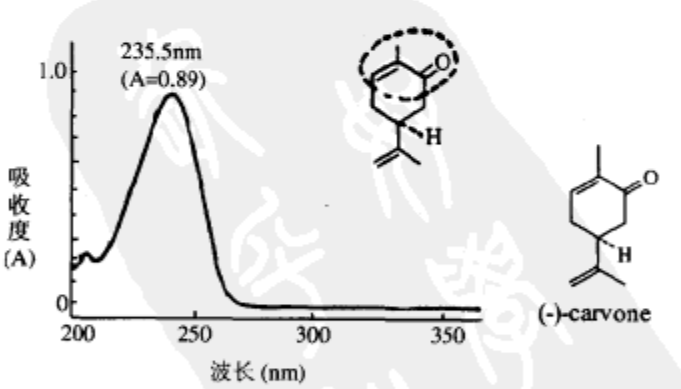


图 1-29 β-藏茴香酮的 UV 光谱

(五) 核磁共振谱[54-56]

1. 氢核磁共振(^{1}H-NMR) 氢同位素中,^{1}H 的丰度比最大,信号灵敏度也高,故^{1}H-NMR 测定比较容易,应用也最广泛。^{1}H-NMR 测定中通过化学位移(δ)、谱线的积分面积以及裂分情况(重峰数及偶合常数 J)可以提供分子中^{1}H 的类型、数目及相邻原子或原子团的信息,对有机化

合物的结构测定具有十分重要的意义。

(1)化学位移(chemical shift,δ):^1H 核因周围化学环境不同,其外围电子云密度以及绕核旋转时产生的磁的屏蔽效应也不同。不同类型的^1H 核共振信号将出现在不同的区域(表 1-13)。据此可以进行识别。

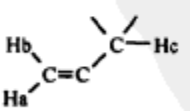
表 1-13 不同类型氢核化学位移的大致范围

类型		δ
CH	—C—CH_3	0.8~1.2
	—C—CH_2P	1~1.5
	—C—CH	1.2~1.8
	R—CH(α)—CH(β)	在上列数值基础上
	(R═OH, COCOR, OR, NO_2, X)	α-H: +2~4
		β-H: +0.5~1
	R—CH(α)—CH(β)	在上列数值基础上
	(R═ C═O, C═C, Ar—)	α-H: +1~2
		β-H: +0.5~1
≡CH		2~3
═CH		5~8
芳环及芳杂环		6~9
—CHO		9~10
活泼氢(OH, SH, NH)		不定,加入 D_2O 后消失

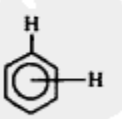
(2)峰面积:因为^1H-NMR 谱上积分面积与分子中的总质子数相当,故如分子式已知,可据此算出每个信号所相当的^1H 数。

(3)信号的裂分及偶合常数(J):已知磁不等同的两个或两组^1H 核在一定距离内会因相互自旋偶合干扰而使信号发生分裂,表现出不同裂分,如 s(singlet,单峰)、d(doublet,二重峰)、t(triplet,三重峰)、q(quartet,四重峰)、m(multiplet,多重峰)等。

在低级偶合系统中,某一质子裂分后的谱线数(#)= n + 1,其中 n 为干扰核的数目。裂分间的距离为偶合常数(Coupling constant,J,Hz),用以表示相互干扰的强度,其大小取决于间隔键的距离。间隔的键数越少,则 J 的绝对值越大;反之,则越小。通常,超过三根单键以上的偶合可以忽略不计。但在 π 系统中,如烯丙基及芳环,因电子流动性较大,即使间隔超过了三根键,仍可发生偶合,但作用较弱,如下示:



Jac(trans) = 1.6~2.0 Hz
Jbc(cis) = 0~1.5 Hz



Jo = 6~10 Hz
Jm = 1~3 Hz
Jp = 0~1 Hz

一般相互偶合的两个或两组^1H 核信号其偶合常数相等。故仔细测量并比较裂分间的距离

对于判断^{1}H 核之间是否有偶合关系很有用处。但用这种方法识别有多重偶合影响的^{1}H 核信号时十分困难。目前多采用同核去偶技术(homodecoupling)消除或部分消除相邻^{1}H 核的偶合影响,以利简化图谱,帮助识别或采用大型超导仪器进行测试,简化图谱,以利分析。

图 1-30 为 arnebinol 的 400MHz ^{1}H-NMR 图[57]。其中 δ5.67 处的烯烃质子(1H)表现为一组宽三重峰(br. t),表示除有两个相邻^{1}H 与之偶合(J = 7Hz)外,还存在远程偶合影响。在去偶试验中,当用另一电磁辐射分别照射 δ3.07 ~ 3.30(2H, br. s × 2)、δ2.34(2H, J = 7Hz)及 δ1.24(3H, s)处的信号时,这些质子对 δ5.67 信号的偶合影响即告消除。δ5.67 处的^{1}H 核信号在不同的去偶谱中分别表现为宽单峰(br. s)、有着细微结构的三重峰,故意味着分子中存在下列结构片断(结构式中用黑体粗线表示的部分)。

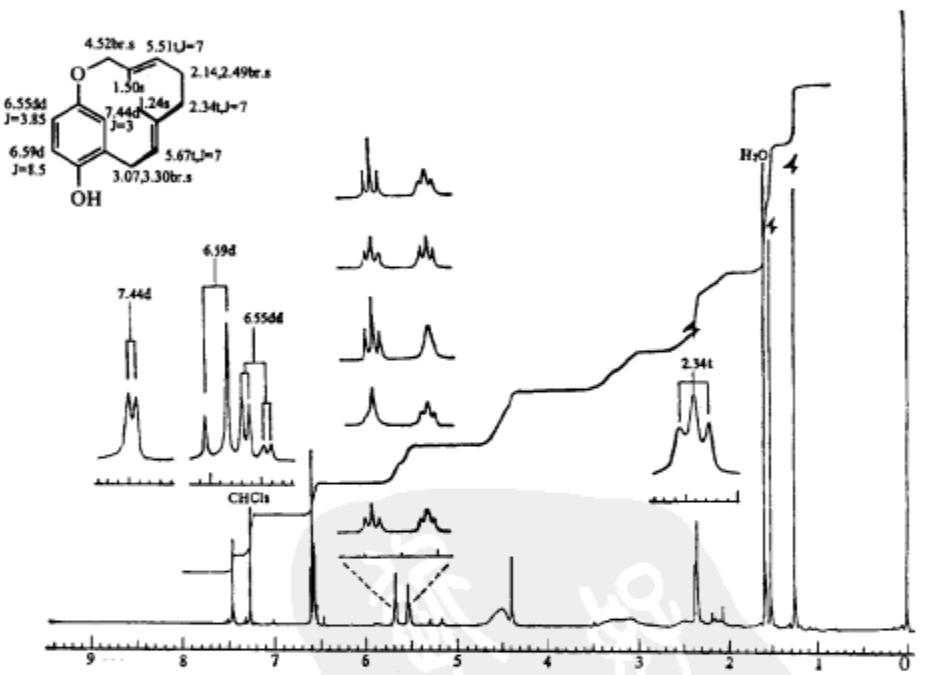


图 1-30 arnebinol 的^{1}H-NMR 图谱

以上为一般^{1}H-NMR 测定时所能提供的结构信息。此外,还有其它许多特殊的测定方法,如测定 NOE 谱以确定^{1}H 核之间的空间距离,加 D_2O 交换以判断分子中有无活泼质子,改变测试溶剂或加镧系试剂以测定溶剂位移或试剂位移,改变测试温度以判断有无氢键缔合或相对构型、构象的变化等,对决定有机化合物的结构都具有重要的意义,可参阅有关专著[54-56]作进一步了解,不再一一赘述。

2. ^{13}C-NMR[58] 在决定有机化合物(也可称之为含碳化合物)结构时,与^{1}H-NMR 相比,^{13}C-NMR 无疑起着更为重要的作用。但是由于 NMR 的测定灵敏度与磁旋比(r)的三次方成正比,而^{13}C 的磁旋比因为仅为^{1}H 的 1/4,加之自然界中的碳元素中,^{13}C 的丰度比又只有 1%,故^{13}C-NMR 测定的灵敏度只有^{1}H 的 1/6000,致使^{13}C-NMR 长期以来不能投入实际应用。由于脉冲傅里叶变换核磁共振装置(Pulse FT-NMR)的出现及计算机的引入,才使这个问题得以真正解决。

(1)FT-NMR 的简单原理:在脉冲 FT-NMR 装置中,采用强的脉冲照射使分子中所有的^{13}C 核同时发生共振,生成在弛豫期内表现为指数形式衰减的正弦波信号(自由诱导衰减,FID),再经傅里叶变换(Fourier translation)即成为正常的 NMR 信号(图 1-31)。随着脉冲扫描次数的增加及计算机的累加计算,^{13}C 信号将不断得到增强,噪音则越来越弱。经过若干次的扫描及累加计算,最后即可得到一张好的 NMR 谱。

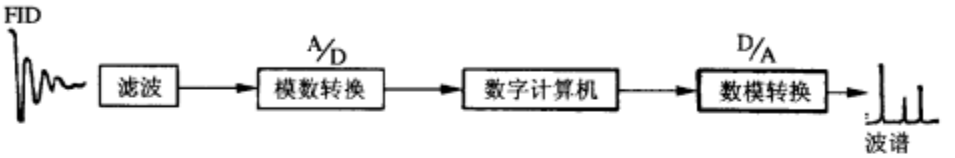


图 1-31 FID 转换成正常 NMR 信号的过程

(2)^{13}C 的信号裂分:由于^{13}C 与^{1}H 均为磁性核,故在间隔一定键数范围内也可通过自旋偶合干扰使对方信号产生裂分。^{1}H-NMR 谱中,因为^{13}C 的自然丰度比较小,故这种偶合干扰极小,表现为微弱的"卫星峰"形式,埋在噪音之中,可以忽略不计。通常只须注意^{1}H-^{1}H 之间的同核偶合影响。但^{13}C-NMR 谱则与上不同,因两个^{13}C 相连的几率只有 0.1%,故^{13}C-^{13}C 之间的同核偶合影响一般可以不予考虑。相反,^{1}H 的偶合影响(异核偶合)却表现得十分突出。因^{1}H 核自旋偶合干扰产生的裂分数目仍然遵守 n+1 规律。以直接相连的^{1}H 的偶合影响为例,^{13}C 信号将分别表现为 q(CH_3)、t(CH_2)、d(CH)及 s(C),$^{1}J_{CH}$约为 120~250Hz。

实际上,除了$^{1}J_{CH}$影响外,有由于还可能同时存在二根键($^{2}J_{CH}$)及三根键($^{3}J_{CH}$)范围内的远程偶合影响,故^{13}C 信号还进一步裂分,表现为更复杂的图形。以图 1-32 所示 β-紫罗兰酮(β-ionone)为例,2-C 因直接相连的两个 2-H 的偶合影响($^{1}J_{CH}$)裂分为三重峰,又因 3-H($^{2}J_{CH}$)、4-H($^{3}J_{CH}$)及 1-CH_3($^{3}J_{CH}$)的远程偶合影响,所以其裂分很复杂,但$^{2}J_{CH}$、$^{3}J_{CH}$甚小,仅为$^{1}J_{CH}$的 1/10,故综合表现为具有复杂细微结构的三重峰。为指认各信号可通过 2D-NMR 的测试。综合分析这些图谱提供的结构信息,对于天然化合物的结构测定具有着重要的意义。

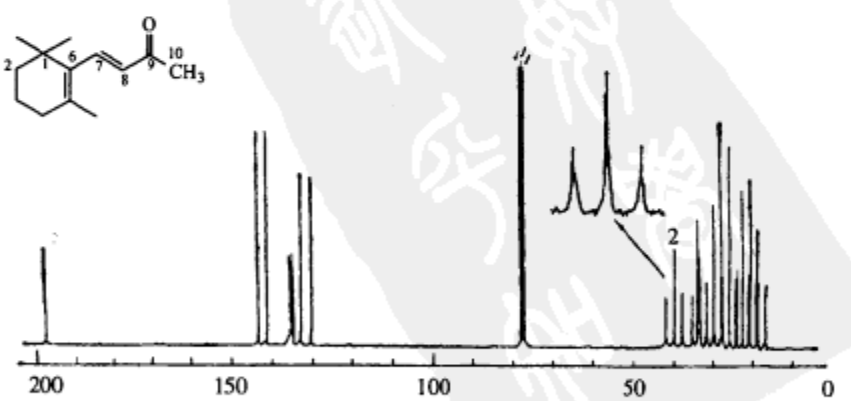


图 1-32 β-紫罗兰酮的质子非去偶谱(62.5MHz,^{13}C-NMR,$CDCl_3$)

(3)常见^{13}C-NMR 谱类型及其特征

①噪音去偶谱(proton noise ecoupling spectrum):也叫全氢去偶(proton complete decoupling,

COM)或宽带去偶(Broad band decoupling, BBD)。方法是采用宽频的电磁幅射照射所有^{1}H核使之饱和后测定^{13}C-NMR谱。此时,^{1}H对^{13}C的偶合影响全部消除,所有的^{13}C信号在图谱(图1-33)上均作为单峰出现,故无法确定其上连接的^{1}H数,对判断^{13}C信号的化学位移十分方便。另外,因照^{1}H后产生的NOE效应,连有^{1}H的^{13}C信号强度将会增加,季碳信号因不连有^{1}H,将表现为较弱的吸收峰。

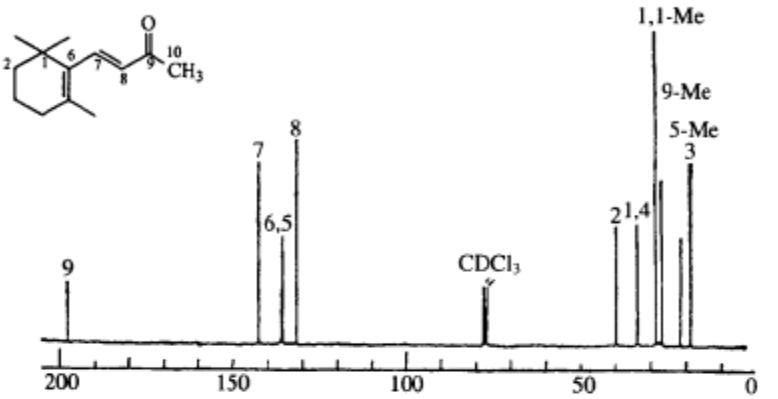


图1-33 β-紫罗兰酮的噪声去偶谱(62.5MHz, ^{13}C-NMR, $CDCl_3$)

②选择氢核去偶谱(selective proton decoupling spectrum, SPD)及远程选择氢核去偶谱(long range selective proton decoupling spectrum, LSPD):方法是对某个(或某几个)氢核进行选择照射,以消除其偶合影响。此时峰形发生改变的信号只是与之有偶合关连的^{13}C信号。以β-紫罗兰酮的9-C为例,在质子非去偶谱(图1-34a)中表现为复杂的多重峰,但当同时照射7-H、8-H时,则9-C仅受10-CH_3的偶合影响,表现为一组四重峰(图1-34b),同时照射7-H、10-CH_3时或8-H、10-CH_3,则9-C将表现为一组二重峰(图1-34c、f);单独照射10-CH_3、9-C将表现为两组二重峰(图1-34e)。根据峰的裂分情况变化,结合化学位移,可以推断分子中存在下列片断结构:

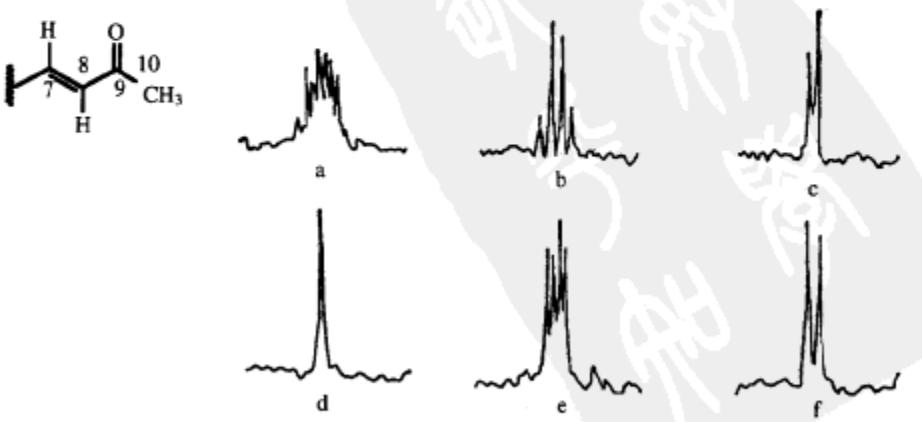


图1-34 β-紫罗兰酮的9位羰基的LSPD谱(25MHz, ^{13}C-NMR, $CDCl_3$)

a. 质子非去偶谱 b. 照射7-H,8-H c. 照射7-H,10-H d. 质子噪声去偶谱
e. 照射10-H f. 照射8-H,10-H

③DEPT(distortionless enhancement by polarization transfer)：DEPT 法系通过改变照射^{1}H 核的脉冲宽度(θ)或设定不同的弛豫时间(Delay time，$2D_3$)，使不同类型的^{13}C 信号在谱图上(图 1-35)呈单峰并分别呈现正向峰或倒置峰，故灵敏度高，信号之间很少重叠，目前已成为^{13}C-NMR 谱的一种常规测定方法。

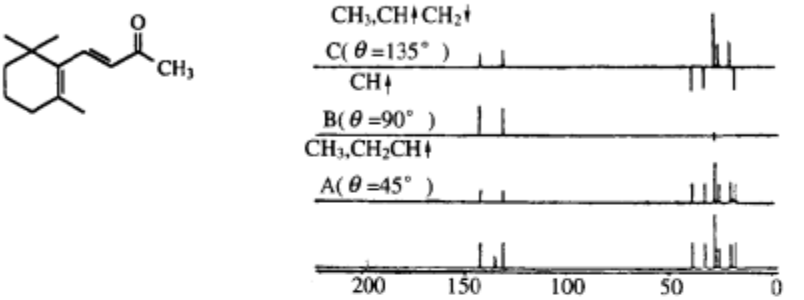


图 1-35 β-紫罗兰酮的 DEPT 谱

(4)^{13}C 信号的化学位移：^{13}C-NMR 谱与^{1}H-NMR 谱不同，化学位移的幅度较宽，约为 200 个化学位移单位，故信号之间很少重叠，识别起来比较容易。^{1}H-NMR 一样，^{13}C 的信号化学位移也取决于周围的化学环境及磁环境，并可据此判断^{13}C 的类型。显然，改变某个^{13}C 核周围的化学环境或磁环境，如引入某个取代基，则该^{13}C 信号即可能发生位移(取代基位移，substitution shift)。位移的方向(高场或低场)及幅度已经累集了一定经验规律。常见的有苯的取代基位移、羟基的苷化位移(glycosylation shift)、酰化位移(acylation shift)等，在结构研究中均具有重要的作用，详见有关章节。

3. 二维核磁共振(2D-NMR) 在前述一维核磁共振谱(1D-NMR)中，如果信号过于复杂或者堆积一起难于分辨时，则识别信号之间的偶合关系将十分困难。若采用二维核磁共振(2D-NMR)技术则会收到良好的效果。以 $CH_3COOCH_2CH_3$ 的^{1}H-^{1}H 相关(^{1}H-^{1}H COSY)谱为例(图 1-36)，横轴及纵轴均为该化合物的^{1}H-NMR 谱。同一^{1}H 核信号将在对角线上相交，交点称对角峰(diagonal peak)。图上对角线两侧呈对称分布的两个点叫相关峰(cross peak，或 correlation peak)。相互偶合的两个或两组^{1}H 核信号将在相关峰上相交。图例示信号 1(CH_3，t)与信号 2(CH_2，q)之间相互偶合。判断这种偶合相关有 A、B、C、D 四种方式，解析起来十分容易。在复杂的^{1}H-NMR 谱中，这种方法的效果尤为突出。同理，除上述^{1}H-^{1}HCOSY 谱外，还有^{13}C-^{1}HCOSY 谱(示$^{1}J_{CH}$ 相关)、远程^{13}C-^{1}HCOSY 谱(Lr. ^{13}C-^{1}HCOSY，示$^{2}J_{CH}$、$^{3}J_{CH}$ 以上的^{13}C-^{1}H 相关)及 NOESY 谱(示^{1}H 核之间的 NOE 相关)等，对确定一维核磁共振谱上^{13}C、^{1}H 信号的归属以及有机化合物的平面结构及立体结构都具有重要的意义。必要时可参阅有关专著[59~61]，作进一步了解。

(六) 旋光光谱

1. 旋光光谱的种类 用不同波长的偏振光照射光学活性化合物，并用波长对比旋[α]×10^{-2}或分子比旋[φ]×10^{-2}作图，得到的曲线即为旋光光谱(Optical rotatory dispersion，ORD)。常见有下列几种类型：

(1)平坦谱线：分子中虽有不对称碳原子，但在 200nm～700nm 无紫外吸收时，所得图谱如图 1-37 所示。无峰谷之分。其中谱线在短波处升起者(1)为正性谱线；降低者(2，3)为负性谱线。

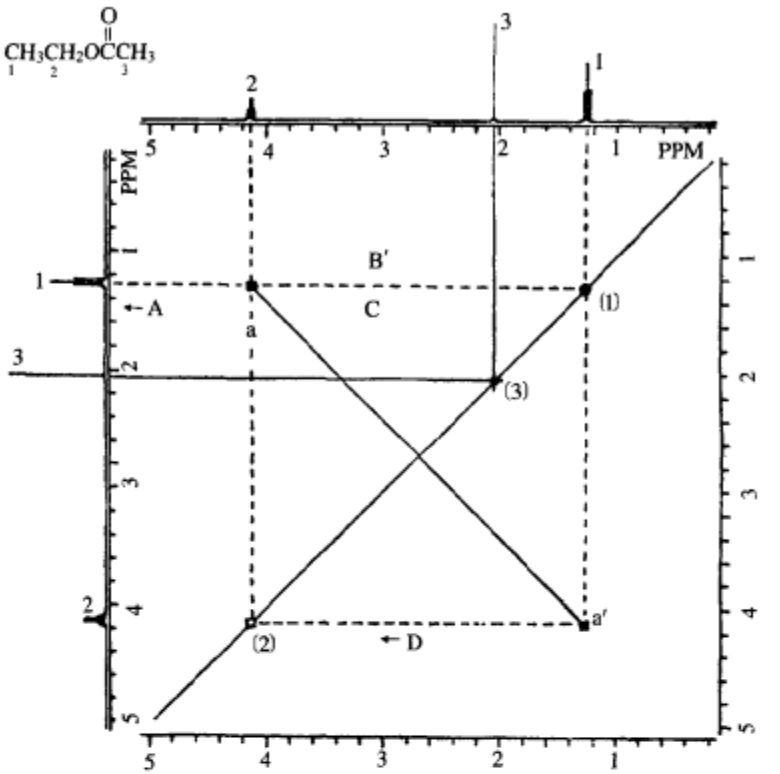


图 1-36 乙酸乙酯的^{1}H-^{1}HCOSY(360MHz, $CDCl_3$)图谱

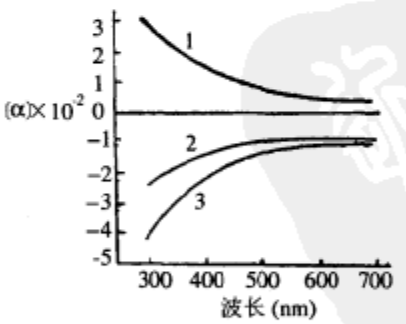
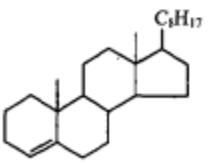


图 1-37 平坦旋光曲线

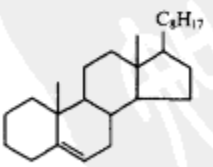
(2)单纯 Cotton 效应谱线:光学活性分子中若还有发色团时,则产生异常的旋光光谱,出现峰和谷,得到所谓 Cotton 效应谱线。图 1-38 所示 5α-胆甾烷-3-酮(4)及 5β-胆甾烷-3-酮(5)ORD 谱线中均只见一个峰与谷,称之为单纯 Cotton 效应谱线。其中,a(amplitude)为振幅,b(breadth)为宽幅。峰在长波部分、谷在短波部分者(4)称之为正性 Cotton 效应谱线,反之,谷在长波部分,峰在短波部分者(5)称之为负性 Cotton 效应谱线。

(3)复合 Cotton 效应谱线:如 ORD 谱中出现两个或更多峰与谷时(图 1-39),则称之为复合 Cotton 效应谱线。



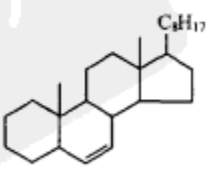
胆甾-4-烯

1



胆甾-5-烯

2



胆甾-6-烯

3

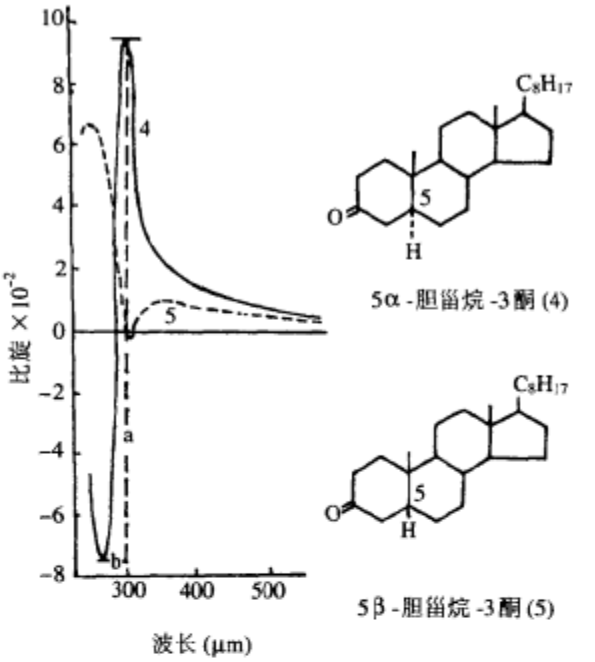


图 1-38　单纯 Cotton 效应曲线

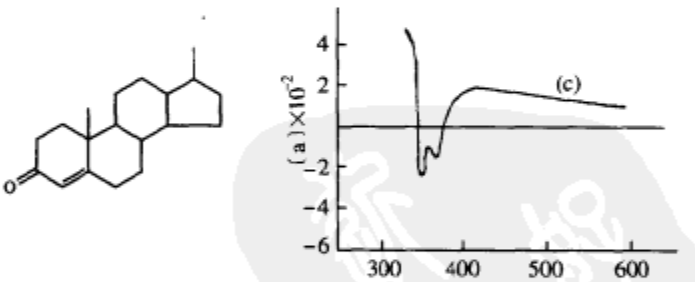
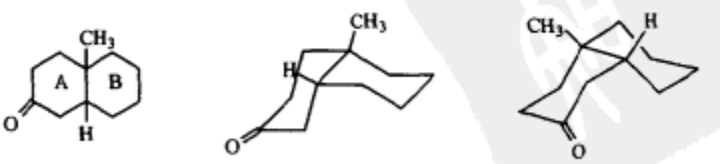


图 1-39　复合 Cotton 效应谱线
（睾丸素的旋光光谱）

2. 旋光光谱的测定意义　旋光光谱及其 Cotton 效应谱线特征与分子的立体化学结构(构型、构象)有着重要的关联。以前述4、5 两个化合物为例,仅 A/B 环上 C-5 构型不同,ORD 谱即示有很大的差别。化合物4 的 ORD 谱表现为 3-keto-5α-steroid 的特征,5 则表现 3-keto-5β-ster-



7　　7a（似甾体构象）　　7b（非甾体构象）

oid 的特征。又如构型已知的化合物 7 由 A、B 两个六元环骈接而成，构象式则有 7α 及 7β 两种可能。

因 7 的 ORD 谱线示与图 1-38 所示化合物 5 的旋光谱几乎完全相同，故可推定 7 的稳定构象式为 7a，即似留体构象式，而非 7b。

以上说明 ORD 谱对推断非对称分子的构型与构象有着重要的意义。方法是找出 ORD 谱的谱形和 Cotton 效应与构型成构象之间的关联，并用立体结构尽可能相似或相反的已知化合物与未知化合物的 ORD 谱作比较，以确定未知化合物的立体结构。其中最著名的是饱和环酮的八区律规则。

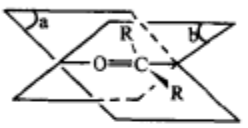


图 1-40 羰基的两个对称面

3. 八区律(Octant rule)及其应用 羰基具有两个相互垂直的对称平面(图 1-40a，b)，故通常不具光学活性。但当存在于非对称分子中时，其对称的电子分布受到分子内不对称因素的干扰，诱发成为一个新的不对称中心，即呈现光学活性，导致 ORD 谱线在 270～310nm 处出现 Cotton 效应。Cotton 效应的符号及谱形取决于羰基所处的不对称环境。故在非对称分子内，不对称中心离碳基越近，则效应越显著。当这些不对称中心的构型、构象发生变化时，Cotton 效应的谱线甚至符号也随之发生明显变化。八区律概括了这种变化的经验规律，对于饱和环酮、尤其环已酮及留酮的立体化学研究具有重要的意义。有关旋光光谱及八区律的理论与应用可参阅有关专著[62, 63]。

参 考 文 献

[1] 宫崎利夫，他. 天然物医藥品学. 朝倉書店，1987. 181

[2] 三橋 博，他. 天然物化学. 改訂第三版. 南江堂，1989. 4

[3] Dictionary of Alkaloids. Chapman and Hall. 1989

[4] Butenandt A. et al. Z Physiol Chem 1961，324：71；1961，324：84. 転引高橋信孝，他. 生理活性天然物化学. 第二版. 東京大学出版会，1981. 175

[5] Rutenand A；Karlsion P Z；Naturforsch. 1954，88. 359. 轉引高橋信孝，他. 生理活性天然物化学. 第二版. 東京大学出版会，1981. 139

[6] 瀬户治男. 化学の領域，增刊 142 号. 1983. 1；化学，增刊，114 号. 1988. 71

[7] Uemura D. et al. Tetrahedron Lett，1981，22：2781

[8] Moore R E. et al，J. AM. Chem. Soc.，1981，103：2491

[9] R&Dレポート No35. 生理活性物質の不整合成技術. シーエムシー編輯部，1982

[10] 磯部 稔，他. 化学，增刊 114 号. 化学同人，1988：107

[11] Nicolaou，K. C.；Yang，Z. et al. Nature，1994，367：630～634

[12] Nicolaou，K. C. et al.，J. Am. Chem. Soc. 1995，117：634～644；1995，117：645～652；1995，117：653～659；

[13] Nicolaou，K. C.；Yang，Z. et al. Nature，1998，393：264～269

[14] Nicolaou，K. C. et al.，Chem-Eur. J. 1999，5(2)：599～617；1999，5(2)：618～627；1999，5(2)：629～645；1999，5(2)：646～658

[15] 彭司勋等. 药学通报，1981，16：219

[16] 姚应麟. 药学通报，1980，16：420；1983(18)：352

[17] 野副重男. 天然物化学(ed. by 三橋 博等). 南江堂，1989. 21

[18] Torssel K B G. Natural Product Chemistry，A mechanistic and biosynthetic approach to secondary metablism JOHN

WILEY & SONS LIMITED, 1983. 転引野副重男、三川 潮訳. 天然物化学. 講談社, 東京, 1984
[19] 三川 潮. 化学の領域. 1980, 34(4): 37
[20] 山崎幹夫. 化学の領域. 1980, 34(6): 24
[21] 小倉協三. 化学の領域. 1980,34(8): 33
[22] 海老塚豊. 化学の領域. 1980, 34(10): 19
[23] 宮崎利夫, 他. 天然物医薬品學. 朝倉書店, 1987. 29
[24] 徐任生、陈仲良. 中草药有效成分提取与分离(上). 上海, 上海科学出版社. 1983
[25] 大岳 望, 他. 物質の単離精製. 東京大學出版社, 1976
[26] 名取信策, 他. 天然有機化合物実験法. 講談社サィェソティフィク. 1977
[27] Harborne J B. Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis (2nd ed.). Chapman and Hall, 1984
[28] Hecker E. (次田 皓、河田文夫訳). カゥソーカトソト, 南江堂, 1958
[29] 潘家秀, 等. 蛋白质化学研究技术. 科学出版社, 1973
[30] 陈英杰. 植物学报, 1980,22(4): 384
[31] Simpson G F. Techniques in Liquid Chromatography. JOHN WILEY & SONS, 1982
[32] 原 昭二, 他. クロマトゲラフィー分離システ 考ミ方、選方. 丸善株式會社,1981
[33] 日本分析化学會関東支部. 高速液体クロマトゲラフィーハンドグブブック, 丸善株式會社, 1985
[34] Hostettman M. et al. (小林 啓、橘和夫訳). 分取クロマトゲラフィーの実際. 東京科学同人, 1985
[35] Tanimura T. et al. Science, 1970, 169: 54
[36] Ito Y J. Chromatogr., 1981, 214: 122
[37] Ito Y J. Chromatogr., 1982, 244: 247
[38] 張天佑. 逆流色譜技術. 北京科學技術出版社, 1991
[39] 谷村恵德, 他. 化学の領域, 1975, 29(12): 43
[40] Ogihara Y. et al. J Chromatogr., 1976, 128: 218
[41] Marston A. et al. Phytochemical Analysis, 1990,1: 3
[42] 孙南君. 药学学报, 1962, 9(6): 359
[43] 黎莲娘, 等. 药学学报, 1962, 9(6): 352
[44] Stahl E. Thin Layer Chromatography (2nd.), 1969
[45] 手屋 寛. ゲル瀘過法. 広川書店
[46] 志村憲助, 他. ゲル沪过法. 学会出版中心
[47] 小管卓夫. フアルマミシセ, 1975, 11: 103
[48] Kosuge T. et al. Chem. Pharm. Bull., 1976, 24: 176
[49] 徐任生、陈仲良. 中草药有效成分提取与分离(上). 上海, 上海科学出版社. 1981: 119
[50] 曾路. 北京医科大学药学院博士论文, 1990
[51] Silverstein R M. et al. Spectrometric Identification of Organic Comounds (3rd ed.), 1974
[52] Beckey H JD J. Mass Spectrum Ion Phys, 1969, 2: 500; See also Principles of Field Ionisation and Field Desorption Mass Spectrometry. New York: Pegamon, 1978
[53] Barber M. et al. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981, 7: 325; See also Sueman D J. et al. Ibid, 1981, 7: 324
[54] Becker E D. (斎藤 肇、神藤平三郎訳)、高分解能 NMR. 東京化学同人, 1983
[55] 日本化学会編. 新しい磁気共鳴と化學への応用. 化学緒論. 学会出版センクー, 1986, 49
[56] 斎藤 肇、森島 績. 高分解能 NMR, 基礎と新しい展開. 現代化学, 增刊 11, 1987
[57] Yao Xin-Sheng et al. Tetrahedron Lett, 1983, 24(23): 2407

[58] 竹内敬人，石塚英弘. C-13NMR 基礎と応用. 講談社サィェソティフィク，1976
[59] 姚新生、陈英杰等. 超导 FT-NMR 图谱解析. 中国医药科学出版社，1991
[60] Sanders J K M. et al. Modern NMR Spectroscopy. Oxford University Press，1987
[61] Derome A E. Modern NMR Techniques for Chemistry Research. Pergamon Press，1988
[62] 黄鸣龙. 旋光光谱在有机化学中的应用. 上海科学出版社，1963
[63] 叶秀林. 立体化学. 高等教育出版社，1982

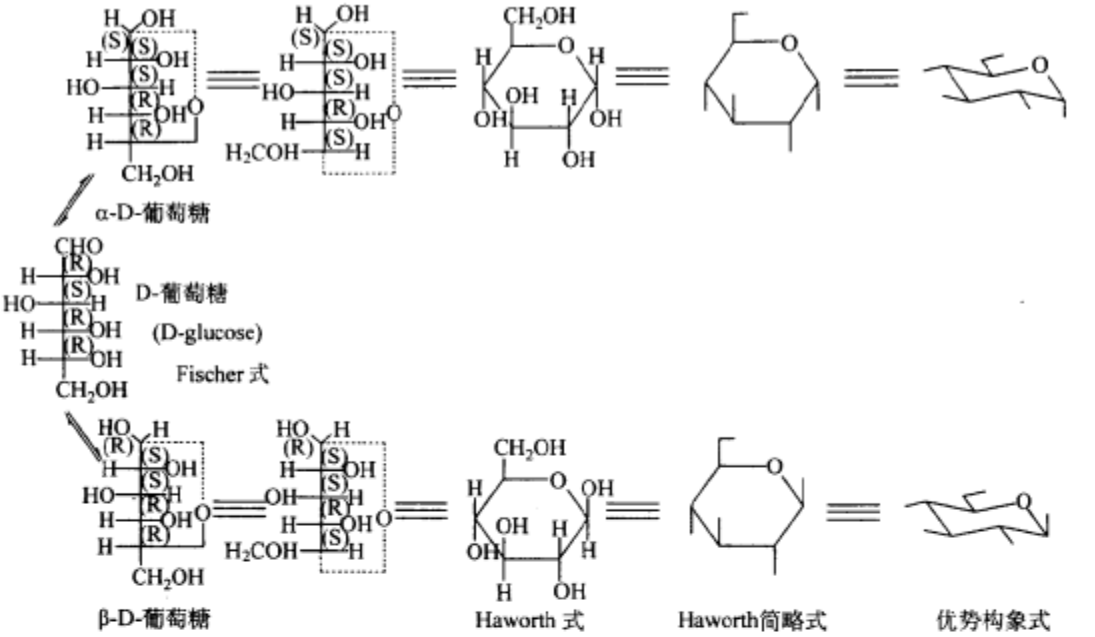
（吴立军　姚新生）

第二章 糖和苷[1]

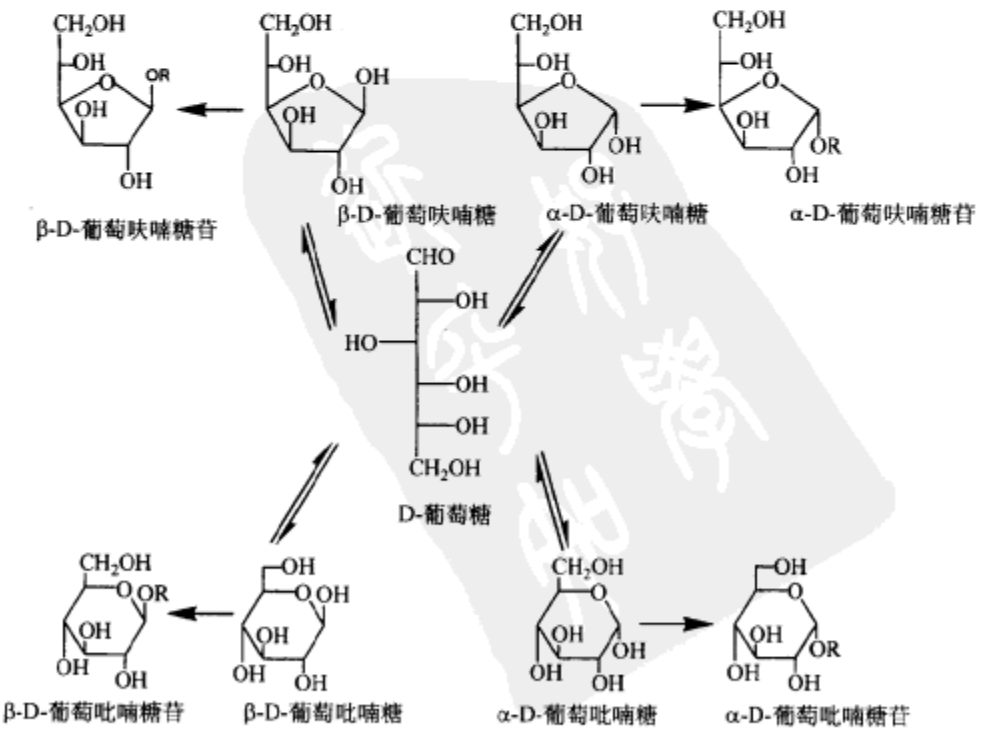
糖类(Saccharide)亦称碳水化合物(carbohydrates),是植物光合作用的初生产物,同时也是绝大多数天然产物生合成的初始原料。它们除了作为植物的贮藏养料和骨架成分外,有些在抗肿瘤、抗肝炎、抗心血管疾病、抗衰老等方面还具有独特的生物活性,在某些天然药物中糖类亦是它们的有效成分[2]。糖类在天然药物中分布十分广泛,常常占植物干重的80%~90%。一些具有营养、强壮作用的药物,如人参、灵芝、黄芪、枸杞子、香菇、刺五加等都含有大量的糖类,亦是它们之中的有效成分。由于糖类在生物合成以及在细胞间的识别、受精卵、胚胎形成、神经细胞发育、激素激活、细胞增殖、病毒和细菌的感染、肿瘤细胞转移等许多基本生命过程中的重要作用,对糖类的研究一直十分活跃[3]。苷类(glycosides)亦称苷或配糖体,是由糖或糖的衍生物,如氨基酸、糖醛酸等与另一非糖物质(称为苷元或配基,aglycone 或 genin)通过糖的半缩醛或半缩酮羟基与苷元脱水形成的一类化合物。几乎所有的天然产物如黄酮素、蒽醌素、苯丙素、萜类、生物碱素等均可与糖或糖的衍生物形成苷,故苷的性质千变万化,结构各异。苷的共性是糖和苷键,由糖与糖及糖的衍生物组成的化合物虽然不称为苷,但糖与糖及糖的衍生物形成的化学键均称为苷键,故本章重点介绍糖类及苷键的性质,从这个意义上讲本章也是后几章的一个总论。

第一节 单糖的立体化学

单糖(monosaccharide)是多羟基醛或多羟基酮类化合物,亦是组成糖类及其衍生物的基本单元。表示单糖结构式的方法有三种,即 Fischer 投影式、Haworth 投影式和优势构象式。在 Fischer 投影式中主碳链上下排列,氧化程度较高的一端在上,水平方向的价键和与之相结合的基团指向纸面的前方,主碳链上下两端的价键和所结合的基团指向纸面后方。因此 Fischer 投影结构式只能在纸面上转动 n180°(n=1,2,3,...),而不能使之翻转[4]。由于发现单糖在水溶液中主要以半缩醛的环状结构形式存在(这也是单糖在水溶液中比旋度发生变化的原因),Fischer 投影式不能表示单糖在水溶液中的真实存在形式,因此又有了 Haworth 投影式。在 Haworth 投影式中环状结构 Fischer 投影式的右侧基团一律写在环的面下,左侧基团一律写在面上。现以 D-葡萄糖为例,说明单糖的开链式、环状式以及 Fischer 式和 Haworth 式的相互转换关系。将环状 Fischer 式的成环碳原子(第四个或第五个碳原子)旋转 120°,使环张力为最小,然后将此投影式向右倾倒 90°就得 Haworth 投影式。



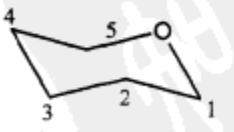
糖在水溶液中主要以环状半缩醛或半缩酮的形式存在。理论上，糖在形成半缩醛或半缩酮时，C_5、C_4、C_3、C_2 上的羟基均可与羰基碳成环。而实际上由于五元、六元环的张力最小，所以天然界糖都以六元或五元氧环形式存在。五元氧环的糖称为呋喃型糖(furanose)，六元氧环的糖则称为吡喃型糖(pyranose)。但一旦糖与糖结合或成苷形成缩醛或缩酮结构后就固定为一种结构了。



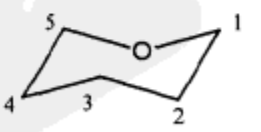
习惯上单糖的绝对构型仍以 D、L 表示，在 Fischer 投影式中距离羰基最远的那个手性碳原子上的羟基在右侧的称为 D 型糖，在左侧的称为 L 型糖。在 Haworth 投影式中对于五碳吡喃型糖，C_4 位羟基在面下的为 D 型糖，在面上的则为 L 型糖。对于甲基五碳、六碳吡喃型糖和五碳呋喃型糖，由于距离羰基最远的那个手性碳原子上的羟基已与羰基成环，故无法用羟基的取向判断糖的绝对构型，只能根据 C_4-R（五碳呋喃型糖）或 C_5-R（甲基五碳、六碳吡喃型糖）的取向来判断。由于成环碳原子上的取代基发生了旋转，故 C_4-R 或 C_5-R 的取向与 D、L 的关系正好与五碳吡喃型糖相反，即当 C_4-R 或 C_5-R 在面下时为 L 型糖，在面上时则为 D 型糖。对于甲基五碳呋喃型糖和六碳呋喃型糖，在 Haworth 投影式中，由于对于 C_5 羟基的写法并无约定成俗的规定，故无法判断它们的绝对构型。

单糖成环后形成了一个新的手性碳原子（不对称碳原子），该碳原子称为端基碳（anomeric carbon），形成的一对异构体称为端基差向异构体（anomer），有 α、β 二种构型。在 Fischer 投影式中，新形成的羟基与距离羰基最远的手性碳原子上的羟基为同侧者称为 α 型，异侧者则称为 β 型。在 Haworth 投影式中，对于五碳吡喃型糖，其端基碳上的羟基与 C_4 羟基在同侧者则称为 α 型，在异侧者则称为 β 型。对于五碳呋喃型糖、六碳或甲基五碳吡喃型糖，由于距离羰基最远的那个手性碳原子上的羟基已与羰基成环，故只能用 C_4-R（五碳呋喃型糖）或 C_5-R（六碳或甲基五碳吡喃型糖）来判断端基碳的构型，由于该碳原子上取代基发生了旋转，故其 α、β 的关系正好与五碳吡喃型糖相反，即 C_4-R 或 C_5-R 与端基碳上的羟基为同侧者称为 β 型，异侧者则称为 α 型。对于六碳或甲基五碳呋喃型糖，在 Haworth 投影式中则无法判断其构型（其原因见上段）。实际上 α、β 表示的仅是糖端基碳的相对构型，β-D 和 α-L、α-D 和 β-L 型糖的端基碳的绝对构型是一样的。虽然 Haworth 式表示方法较 Fischer 式有所改进，但它仍是一种简化了的表示方法，尚不能完全表示糖的真实存在状况。根据环的无张力学说，呋喃糖的五元氧环基本为一平面（如信封式），只有醛糖的 C_3 位和酮糖的 C_4 位（酮糖的羰基在 2 位，在呋喃环上酮糖的 C_4 位实际上就是醛糖的 C_3 位）超出环平面 0.05nm，并无明显的构象变化。吡喃型糖的六元氧环不在同一个平面上，有船式和椅式两类可能的构象。经实验证明吡喃型糖在溶液或固体状态时其优势构象是椅式构象，不是 C1 式便是 1C 式。这里的 C 表示椅式（chair form），以 C_2、C_3、C_5、O 四个原子构成的平面为准，当 C_4 在面上，C_1 在面下时，称为 $^4C_1$ 式，并简称为 C1 式或 N 式（normal form）；当 C_4 在面下，C_1 在面上时，称为 $^1C_4$ 式，简称为 1C 式或 A 式（alternative form）。吡喃糖的优势构象是 1C 式还是 C1 式，Angyal[5] 曾用计算自由能的方法分析了 1C 式和 C1 式的稳定性。该计算中不仅考虑了同边双竖位基团间的作用，同时也考虑到了邻位折式（gauche）相处的基团间的作用以及端基羟基的效应。根据计算，二种椅式构象的总自由能差值小于 0.7 千卡/摩尔者，二种构象呈平衡状态；差值大于 0.7 千卡/摩尔者，能量低的就是优势构象。也可用质子核磁共振的方法确定糖的优势构象。通常绝大多数单糖的优势构象是 C1 式，只有极少数如 L-鼠李糖等的优势构象是 1C 式。

( ) 为酮糖的编号



$^4C_1$ 式，简称 C1 式或 N 式 (normal form)



$^1C_4$ 式，简称 1C 式或 A 式 (alternative form)

对于β-D型和α-L型吡喃糖，当优势构象为C1式时，因其C_1-OH在环的面上，故处于横键上（亦称平伏键或e键，equatorial bond）；当优势构象为1C式时则在竖键上（亦称直立键或a键，axial bond）。对于α-D型和β-L型吡喃糖，当优势构象为C1式时，因其C_1-OH在环的面下，故处于竖键上；当优势构象为1C式时则在横键上。

竖键和横键的具体写法是：①在C1式中位于C_4、C_2面上和C_1、C_3、C_5面下的基团为竖键，在1C式中位于C_1、C_3、C_5面上和C_2、C_4面下的基团为竖键；②横键与环上的键隔键平行，如C_2上的横键与C_1-O和C_3、C_4之间的化学键平行；③横键或竖键在环的面上面下交替排列。

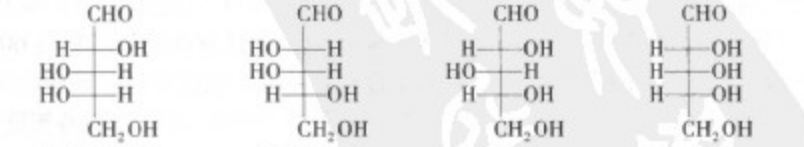
值得注意的是不能把C1式和1C式看作是唯一的两种固定构象。实际上无张力的这类歪斜构象（Skew conformation）有无数个，写成这种固定形式只是为了便于跟Haworth式联系起来。

第二节 糖和苷的分类

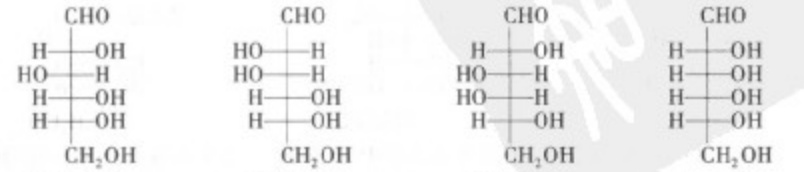
一、单糖类

已经发现的天然单糖有200多种，从三碳糖到八碳糖都有，以五碳、六碳糖最多。单糖命名词尾用-ose，酮糖则在表示碳数词干的后面加ul，糖醛酸的词尾用uronic acid，苷则是将词尾ose改为oside。多数单糖在生物体内呈结合状态，只有少数单糖如葡萄糖、果糖等以游离状态存在。下面列举一些常见的单糖及其衍生物。

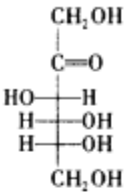
（一）五碳醛糖（aldopentose）



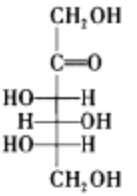
（二）六碳醛糖（aldohexoses）



（三）六碳酮糖（ketohexose，hexulose）

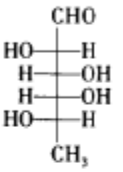


D-果糖
（D-fructose，Fru）

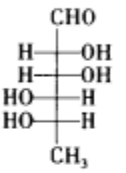


L-山梨糖
（L-sorbose）

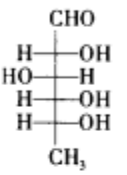
（四）甲基五碳醛糖



L-夫糖
（L-fucose）

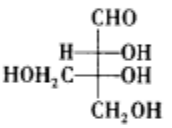


L-鼠李糖
（L-rhamaose，Rha）

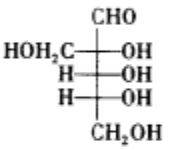


D-鸡纳糖
（D-guinovose）

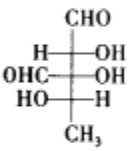
（五）支碳链糖



D-芹糖
（D-apiose）



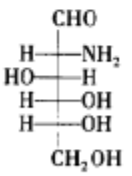
D-金缕梅糖
（D-hamamelose）



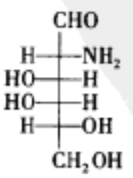
L-链霉糖
（L-streptose）

（六）氨基糖（amino sugar）

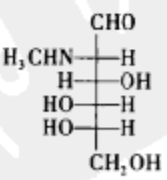
当单糖上的一个或几个醇羟基被氨基置换后，则该糖称为氨基糖。天然氨基糖大多为2-氨基-2-去氧醛糖，且主要存在于动物和微生物中。从龙虾甲壳中分离得到的2-氨基-2-去氧-D-葡萄糖（亦称葡萄糖胺），是在天然界第一个发现的氨基糖。现已发现的氨基糖有60余种，某些抗生素如庆大霉素、新霉素、卡那霉素、链霉素等中含有氨基糖。在含有氨基糖的结构中，糖部分对其药理作用具有明显的影响，从而促进了氨基糖合成化学的研究，开辟了制备新抗生素的一条新途径[6]。有些氨基糖存在于微生物的细胞壁及动物组织中，这些氨基糖在细胞-细胞相互作用方面具有十分重要的功能。



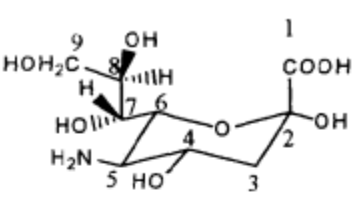
2-氨基-2-去氧-D-葡萄糖
（D-glucosamine）



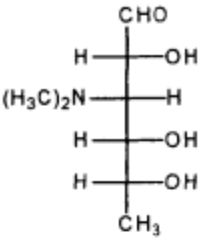
2-氨基-2-去氧-D-半乳糖
（D-galactosamine）



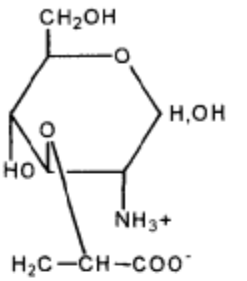
2-甲氨基-2-去氧-L-葡萄糖



D-神经胺酸
(D-neuraminic acid)



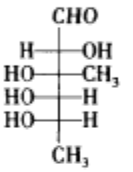
碳霉氨基酸
(D-mycaminose)



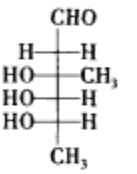
细菌细胞壁构成糖
(D-muramic acid)

(七) 去氧糖(deoxysugars)

单糖分子中的一个或两个羟基被氢原子取代的糖称为去氧糖,常见的有6-去氧糖、2,6-二去氧糖及其3-O甲醚等。去氧糖主要存在于强心苷和微生物代谢产物中,并具有一些特殊的性质。



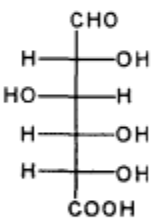
红霉糖(L-cadinose)



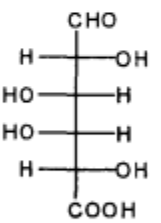
碳霉糖(L-mycarose)

(八) 糖醛酸(uronic acid)

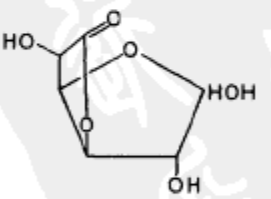
单糖中的伯羟基被氧化成羧基的化合物称糖醛酸。糖醛酸主要存在于苷和多糖类化合物中,常见的糖醛酸有葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等。糖醛酸在水溶液中易环合成内酯,以平衡状态存在。3-deoxy-2-keto-octulosonic acid是很多脂多糖和革兰阳性菌的成分。



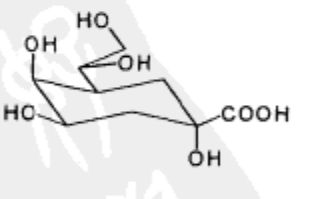
D-葡萄糖醛酸
(D-glucuronic acid)



D-半乳糖醛酸
(D-galactocuronic)



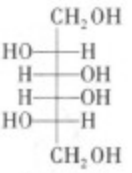
D-葡萄糖醛酸γ-内酯

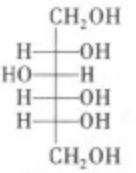


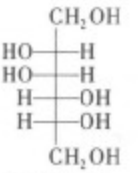
3-deoxy-2-keto-octulosonic acid

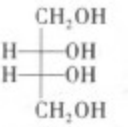
(九) 糖醇[7]

单糖中的羰基被还原成羟基的化合物称为糖醇,是天然界分布很广的一类成分,有的具有甜味。在有些多糖的末端连有糖醇。


L-卫矛醇
(L-evonymitol)

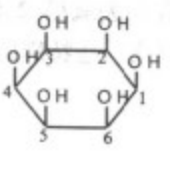

D-山梨醇
(D-sorbitol)

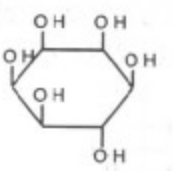

D-甘露醇
(D-mannitol)

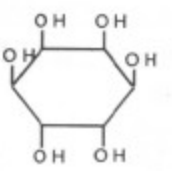

赤醇
(erythritol)

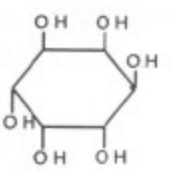
(十) 环醇(cyclitols)

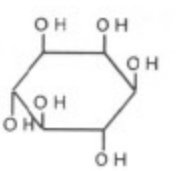
环状的多羟基化合物称为环醇,从生源看属于单糖衍生物。环醇常以游离体或成苷的形式存在于动植物中,具有很大的水溶性。环己六醇(亦称肌醇,inositols)是最常见的一类环醇,共有九个异构体,不同的异构体在名称前加前缀标明[6]。

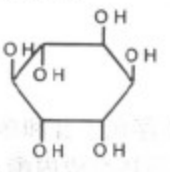

Cis-inositol

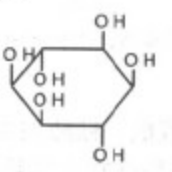

epi-

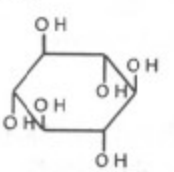

allo-

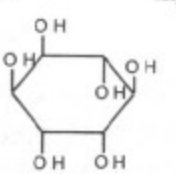

neo-


myo-


D-

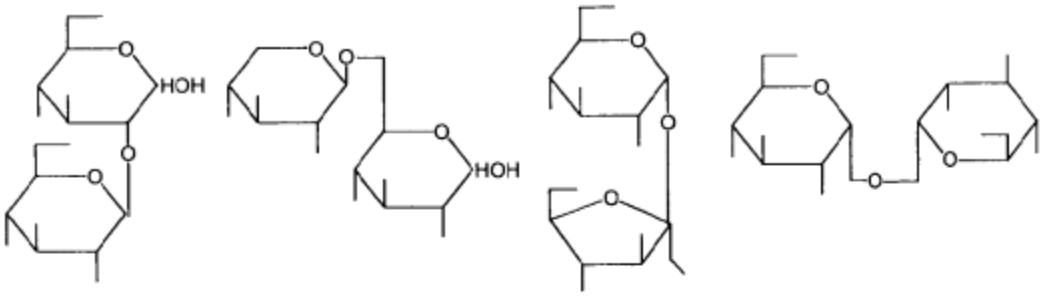

muco-


scyllo-


L-

二、低聚糖类

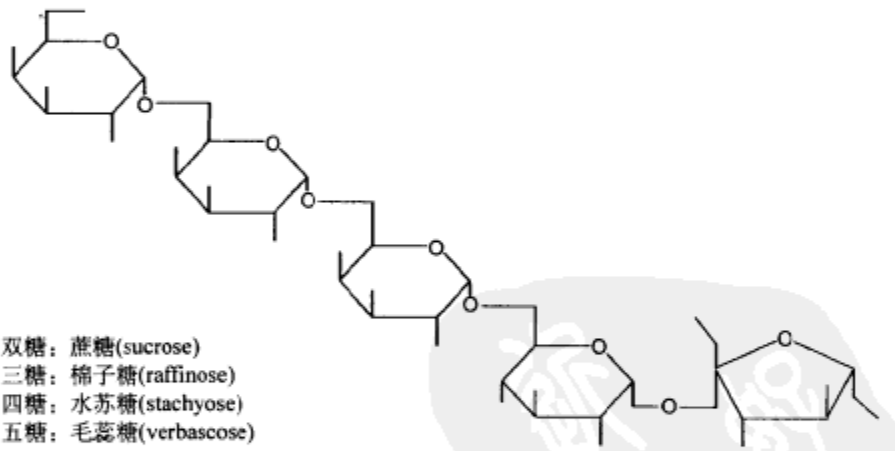
由2~9个单糖通过苷键结合而成的直链或支链聚糖称为低聚糖(oligosaccharides)。按含有单糖的个数又可将其分为二糖、三糖、四糖等。按是否含有游离的醛基或酮基又可将其分为还原糖和非还原糖。具有游离醛基或酮基的糖称为还原糖,如二糖中的槐糖(sophorose, D-葡萄糖1β→2-D-葡萄糖)、樱草糖(primverose, D-木糖1β→6-D-葡萄糖)是还原糖。如果二个单糖都以半缩醛或半缩酮上的羟基通过脱水缩合而成的聚糖就没有还原性,如海藻糖(trehalose, D-葡萄糖1α→1α-D-葡萄糖)、蔗糖(sucrose, D-葡萄糖1α→2β-D-果糖)等均为非还原糖。低聚糖的化学命名方法是以末端糖作为母体,末端以外的糖作为糖基,并标明糖与糖的连接位置,糖的成环形式以及苷键的构型等,如槐糖命名为2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucopyranose 或 β-D-glucopyranosyl-(1→2)-D-glucopyranose。



槐糖　　樱草糖　　蔗糖　　海藻糖

植物中的三糖(trisaccharides)大多是在蔗糖的基础上再连接一个糖而成的。故大多为非还原糖。四糖、五糖是在三糖(如棉子糖)结构上的再延长,故也为非还原糖。

在低聚糖结构中除了常见的单糖外,还常插入糖的衍生物如糖醇、氨基糖、糖醛酸等。值得注意的是目前所发现的许多低聚糖并非是生物体内的游离物质,而是各种酶或酸对多聚糖或苷的水解产物。



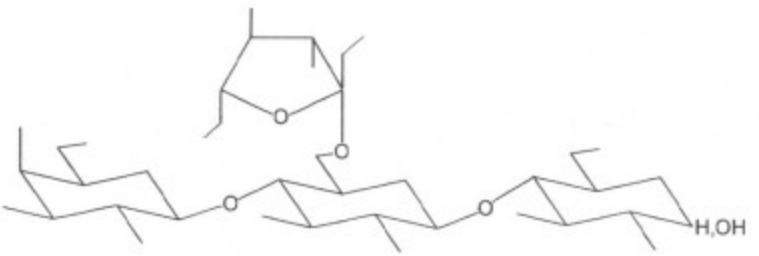
双糖:蔗糖(sucrose)
三糖:棉子糖(raffinose)
四糖:水苏糖(stachyose)
五糖:毛蕊糖(verbascose)

由 *Bacillus macerans* 等菌产生的一种淀粉酶,可将淀粉水解成一种由 6～8 个葡萄糖以-1,4-环状结合的结晶性低聚糖,该低聚糖称为 schardinger 糊精。其中的六、七、八聚体分别称为 α、β、γ-环糊精(α、β、γ-cyclodextrin)。环糊精具有良好的水溶性,环状分子内侧具有疏水性,有包结脂溶性药物的性能,可增加难溶性药物的溶解度,并对药物的氧化分解具有一定的保护作用。此外,由于环糊精具有多个手性中心,还可用于某些光学活性化合物的拆分。

为了比较简明的表示低聚糖的结构,常以单糖的缩写符号表示低聚糖的组成。如下面的四糖结构可用　α-D-Galp-(1→4)- β-D-Glcp-(1 → 4)-D-Glcp 来表示。

$$\begin{array}{c} 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta\text{-D-Fruf} \end{array}$$

其中的"p"表示吡喃型,"f"表示呋喃型,数字表示糖与糖之间的连接位置。



三、多聚糖类

由十个以上单糖通过苷键连接而成的糖称为多聚糖(polysaccharides)或多糖。通常多糖中的单糖都在一百个以上,多的可高达数千个,其性质已发生了很大的变化,如甜味和还原性消失等。按多糖在生物体内的功能又可将其分为二类,一类是动植物的支持组织,该类成分不溶于水,分子呈直链型,如植物中的纤维素、甲壳类动物的甲壳素等;另一类是动植物的贮存养料,该类成分可溶于热水成胶体溶液,能经酶催化水解释放出单糖为动植物提供能量,多数分子呈支链型,如淀粉、肝糖原等。按照单糖的组成可又将多糖分为均多糖(homosaccharide)和杂多糖(heterosaccharide)。由同种单糖组成的多糖称为均多糖,其系统命名是在糖名后加词尾-an,葡聚糖为 glucan、果聚糖为 fructan 等。为了方便常忽略末端糖基,用通式表示均多糖的组成,如葡聚糖通式为$(C_6H_{10}O_5)_n$。由两种以上单糖组成的多糖称为杂多糖,其系统命名是将几种糖名按字母顺序先后排列,然后再加词尾-an,如葡萄甘露聚糖为 glucomannan、半乳甘露聚糖为 galactomannan 等。

许多多糖中除含有单糖基外还含有糖醛酸、去氧糖、氨基糖、糖醇等,有的还含有 O-乙酰基、N-乙酰基、磺酸酯等。复杂多糖的结构常用它的重复单元(repeating unit)的结构来表示,单糖及其衍生物用英文缩写体表示。例如以下是具有抗肿瘤活性的香菇多糖(lentinan)的结构通式[9-11]。

$$\begin{array}{c} \beta\text{-D-glcp} \\ \quad 1 \\ \quad\downarrow \\ \quad 6 \end{array} \qquad\qquad \begin{array}{c} \beta\text{-D-glcp} \\ \quad 1 \\ \quad\downarrow \\ \quad 6 \end{array}$$

$$\{-\beta\text{-D-glcp-}(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glcp-}(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glcp-}(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glcp-}(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glcp}\}_n$$

许多天然药物中的多糖具有较强的生物活性,是该药的有效成分。如人参多糖具有明显的抗肿瘤作用和抗突变作用[12,13],茶叶多糖具有抗凝血、抗血栓和降血脂作用[14,15],女贞子多糖具有明显的增强免疫作用[16]等。多糖与蛋白质等生物大分子一样也具有明确的三维空间结构,可以用一、二、三、四级结构来描述。由于单糖的种类比氨基酸多,连接的位点也多,故具有多分支结构的杂多糖结构的确定比蛋白质困难得多。多糖与蛋白质一样,其活性不但与立体结构有关,也存在活性中心,而且还与它所结合的蛋白质、色素、金属离子等有关。

(一) 植物多糖

1. 淀粉(starch) 淀粉主要存在于植物的叶、根和种子中,呈颗粒状。颗粒状淀粉并不溶于水,只有经加热颗粒破裂后淀粉才能与水混合成胶态悬浮液。淀粉由直链的糖淀粉(amylose)和

支链的胶淀粉(amylopectin)组成。糖淀粉为 α1→4 连接的 D-葡萄吡喃聚糖,聚合度一般为 300～350,高的可达 1000,能溶于热水得澄明溶液,通常占淀粉总量的 17%～34%。胶淀粉也是 α1→4葡聚糖,但有 α1→6 的支链,平均支链长为 25 个葡萄糖单位,聚合度为 3000 左右,不溶于冷水,在热水中呈粘胶状。淀粉分子呈螺旋状结构,每一个螺环由六个葡萄糖组成。因碘分子或离子可以进入螺环通道中形成有色的包结化合物,故遇碘可显色。其呈现的颜色与聚合度有关。随着聚合度的增高,其颜色逐渐加深(由红色→紫色→紫蓝色→蓝色)。通常聚合度为 4～6 不呈色,12～18 呈红色,50 以上呈蓝色。因胶淀粉螺旋结构的通道在分支处被中断,虽然整个分子的聚合度很高,但其支链的平均聚合度只有 20～25,故遇碘仅呈紫红色。糖淀粉则遇碘呈蓝色。

2. 纤维素(cellulose) 纤维素是一类聚合度为 3000～5000 的 β1→4 结合的直链葡聚糖,分子结构呈直线状,具有一定的强度和刚性,不易被稀酸或碱水解,是植物细胞壁的主要组成成分。因为人类以及食肉动物体内能够水解 β-苷键的酶很少,故无法消化利用纤维素。而某些微生物、原生动物、蛇类和反刍动物则可消化利用纤维素,同时纤维素也是反刍动物的主要饲料。

3. 果聚糖(fructans) 果聚糖在高等植物及微生物中均有存在。菊淀粉(inulin)是一类广泛存在于菊科植物的果聚糖。通过 D-果糖 β2→4 连接在 D-葡萄糖上,其聚合度为 35 左右,可用于肾清除率的测定。levans 是另一类果聚糖,通过 β2→6 连接而成,其末端也是 D-葡萄糖,并有 β2→1分支,聚合度为 20～50 的存在于草的茎叶中。

4. 半纤维素[18](hemicellulose) 半纤维素是一类不溶于水但能被稀碱(2%～20% NaOH)溶出的酸性多糖,与纤维素、木质素共同组成了细胞壁,是植物的支持组织。半纤维素主要包括木聚糖、甘露聚糖、半乳聚糖以及由二种以上糖组成的杂多糖,如葡萄甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖等。在糖的支链上多连有糖醛酸,故为酸性多糖。

5. 树胶(gum) 树胶是植物受伤后或被毒菌类侵袭后的分泌物,干后成半透明块状物,如阿拉伯胶(acacia)和西黄蓍胶(tragacanth)。前者是一种有分支结构的杂多糖,来自于豆科*Acacia*属植物。后者则来自于豆科 *Astragalus* 属植物。

6. 粘液质(mucilage)和粘胶质(pectic substance) 粘液质是植物种子、果实、根、茎和海藻中存在的一类粘多糖,其在植物中的主要作用是保持水分。粘胶质可溶于热水,冷后呈冻状,有些具有较好的生物活性如人参果胶对 S-180 瘤株具有一定的抑制作用[19]。从化学结构上看粘液质和粘胶质都属于杂多糖类。

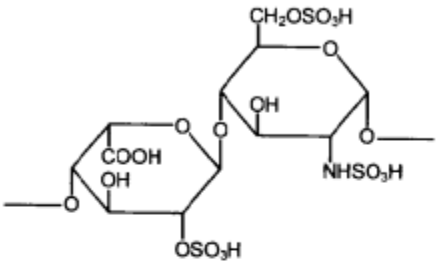
人参、黄芪、枸杞、刺五加、当归、猕猴桃、灵芝、银耳、茯苓、猪苓、猴头菌、裂褶菌、褐藻等中含有的多糖具有抗肿瘤、增强免疫、降血脂、降血糖、抗肝炎、抗衰老等广泛的生物活性。它们中既有均多糖,也有杂多糖,结构各异。有关它们的具体结构和生物活性限于篇幅不在此述,可参看有关参考书[20]。

(二)动物多糖

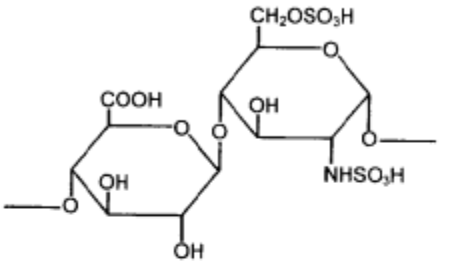
1. 糖原(glycogan) 糖原的结构与胶淀粉类似,只是聚合度比胶淀粉大,分支程度也高,平均支链长 12～18 个葡萄糖单位,故遇碘呈红褐色。糖原主要存在于肌肉和肝中,约占肝重量的 5%,肌肉重量的 0.5%,其主要作用是为动物及许多细菌和真菌贮存养料。

2. 甲壳素(chitin) 甲壳素的结构和稳定性与纤维素类似,由 N-乙酰基葡萄糖胺通过 β1→4 连接而成,大多在水中不溶,对稀酸和稀碱都很稳定,经酶解后其不同聚合度的低聚糖在医药、食品、农药上有广泛的应用。甲壳素主要存在于昆虫、甲壳类动物的外壳中,许多真菌和酵母菌的细胞壁中也有。

3. 肝素(heparin) 肝素由二种二糖单元 A 和 B 聚合而成,其分子量均为 5000 ~ 15000,属于一种高度硫酸酯化的右旋多糖。其中的 A 为 L-iduronic 酸和 D-葡萄糖胺通过 α1→4 连接而成,B 为 D-葡萄糖醛酸和 D-葡萄糖胺通过 β1→4 连接而成。其糖链上还常接有丝氨酸(serine)或小分子肽。肝素具有很强的抗凝血作用,其钠盐主要用于预防和治疗血栓。

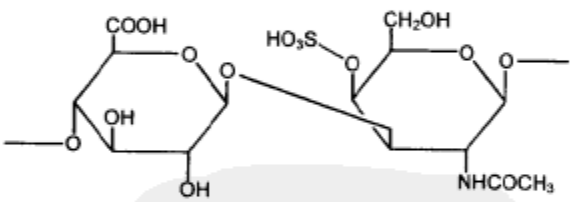


A



B

4. 硫酸软骨素(chondrotin sulfate) 硫酸软骨素具有降低血脂、改善动脉粥状硬化的作用,是动物组织的基础物质,在动物体内用以保持组织的水分和弹性。硫酸软骨素有 A、B、C 等数种,其中 A 是软骨的主要成分,由 D-葡萄糖醛酸 β1→3 和 4-硫酸酯基乙酰 D-半乳糖胺 β1→4 相间连接而成。当 C_6 羟基被硫酸酯化后则称为软骨素 C。由半乳糖胺和 L-伊杜糖醛酸组成双糖重复单位的聚合物则称软骨素 B,亦称硫酸皮肤素(dermatan sulfate)。



软骨素 A(chondroitin-4-sulfate)

5. 透明质酸(hyaluronic acid) 透明质酸是一种存在于眼球玻璃体、关节液、皮肤等组织中的酸性粘多糖,其主要功能是起润滑和撞击缓冲以及阻滞入侵的微生物及毒性物质的扩散。由于它是皮肤中的天然成分,近年来可用作护肤霜的基质。透明质酸是由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖通过 β1→3 连接组成的二糖单位为重复单位,每个重复单位通过 β1→4 相互连接而成,其分子量可达几百万。

由氨基己糖和糖醛酸组成重复单位的杂多糖称为酸性粘多糖(acid mucopolysaccharide),亦称糖胺聚糖(glycosaminoglycan),如上述的肝素、硫酸软骨素、透明质酸等均属于糖胺聚糖。虽然在不同的酸性粘多糖中,氨基己糖及糖醛酸不同,糖上的取代基也不同,但由于分子中都含有许多羧基和硫酸基,故均呈酸性。在生物体内,糖胺聚糖常以蛋白质结合状态存在,这种结合物质统称为蛋白聚糖(proteoglycan)[21]。

近年来大量实验研究结果表明,糖作为媒介在许多细胞-细胞相互作用中起着关键的作用。如细菌对人体的感染,首先细菌要与人体细胞依附(adherence),而这种依附作用与细菌表面糖链结构的调节有关。如果了解细菌表面多糖的结构以及细菌对人体细胞依附的机理,就可以根据其原理设计出防止细菌感染的高效药物[22,23]。

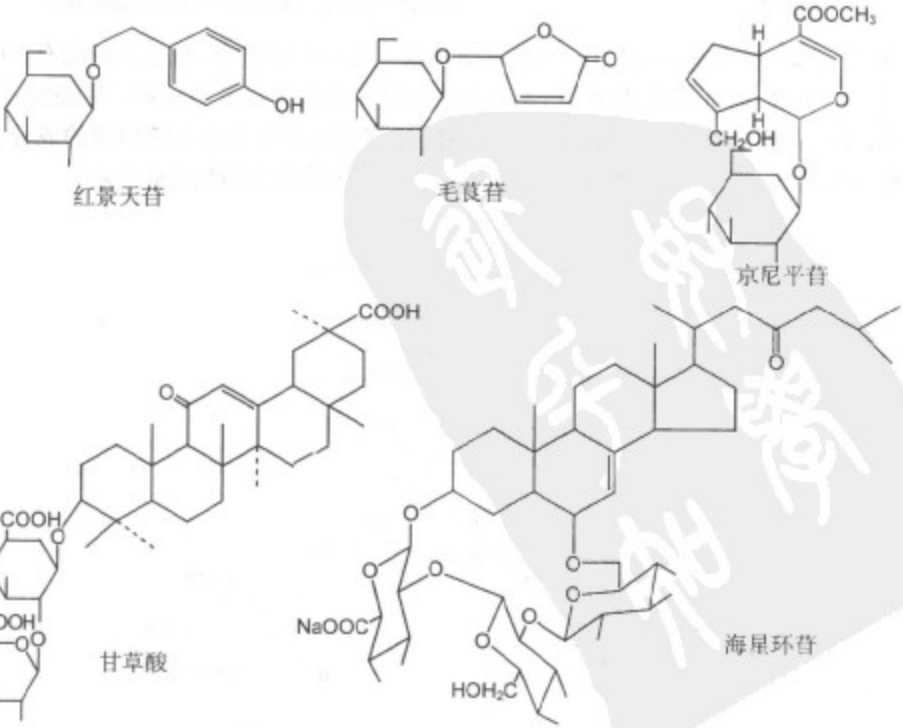
四、苷 类

根据苷在生物体内是原生的还是次生的可将苷分为原生苷和次生苷(从原生苷中脱掉一个以上单糖的苷称次生苷或次级苷)。根据苷中含有的单糖基的个数可将苷分为单糖苷、双糖苷、叁糖苷等。根据苷元上与糖连接位置的数目可将苷分为单糖链苷、双糖链苷等。根据苷元化学结构的类型可将苷分为黄酮苷、蒽醌苷、苯丙素苷、生物碱苷、三萜苷等。根据苷的某些特殊性质或生理活性可将苷分为皂苷、强心苷等。根据苷键原子又可将苷分为氧苷、氮苷、硫苷、碳苷等,其中氧苷最多。对于同一植物或天然药物可以存在不同类型的苷,它们可以是苷元相同,连接的糖的数目和种类不同;也可以是不同的苷元连接同种糖。如迄今从橘皮的甲醇提取物中已分离得到73种苷,其中黄酮苷51种,苯丙素苷9种,萜类苷7种,柠檬苦素苷2种,烷基苷4种[24]。最常见的苷类分类方法是按苷键原子分类,故下面重点介绍按苷键原子对苷类的分类。

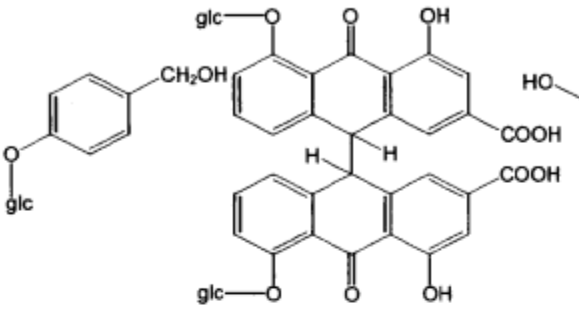
(一) 氧苷(O-苷)

根据苷元成苷官能团的不同又可将氧苷分为以下几类:

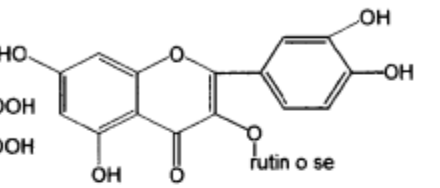
1. 醇苷 通过苷元上醇羟基与糖或糖的衍生物的半缩醛或半缩酮羟基脱一分子水缩合而成的化合物称醇苷。如具有强壮和增强适应能力的红景天苷(rhodioloside),杀虫抗菌作用的毛茛苷(ranunculin),泻下和利胆作用的京尼平苷(geniposide),抗肿瘤作用的甘草酸等均属于醇苷。醇苷的苷元以萜类和甾醇类化合物最多。此外近年来发现的环苷类化合物也属于醇苷,如从海星中(*Echinaster sepositus*)分得的一种环苷,是由三个糖单元与甾体 C_3、C_6 位结合而成的[25]。



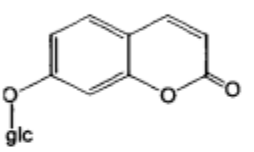
2. 酚苷　通过苷元上的酚羟基与糖或糖的衍生物的半缩醛或半缩酮羟基脱一分子水缩合而成的化合物称酚苷。如天麻中的镇静成分天麻苷(gastrodin),生大黄中的泻下成分番泻苷 A(sennoside A)、具有软化血管作用的芦丁(rutin),具有抗菌作用的秦皮素、存在于何首乌中的 2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄苷等。



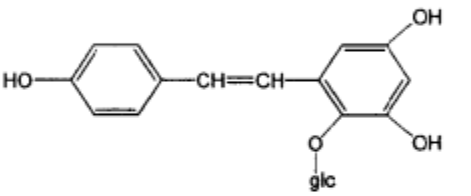
天麻苷　　番泻苷A



芦丁

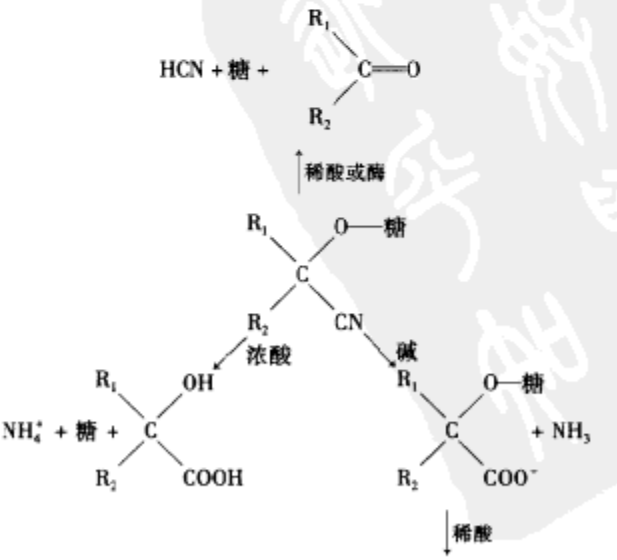


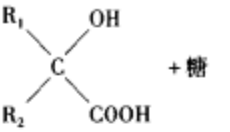
秦皮素



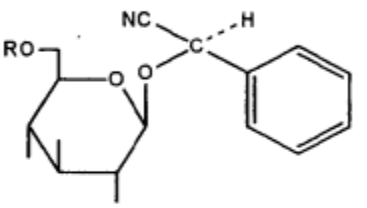
2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

3. 氰苷(cyanogenic glycoside)　氰苷主要是指一类 α-羟腈的苷,现已发现的有 50 余种。该类苷多数易溶于水,不易结晶,易水解,尤其是在有酸和酶催化时更易水解。生成的 α-羟腈苷元很不稳定,很快分解成醛或酮和氢氰酸;氢氰酸既是该类化合物具有止咳作用的成分,也是引起人和动物中毒的成分。在碱性条件下虽不易水解,但可异构化为羧酸类化合物。

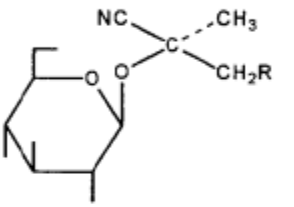




如苦杏仁苷(amygdalin)、野樱苷(prunasin)、亚麻氰苷(linamanin)和百脉根苷(lataustralin)等都属于α-羟腈苷。这些化合物都可在体内各种微生物产生的酶的作用下,分解成醛(酮)和氢氰酸,发挥镇咳作用;但食用剂量过大时可引起人及动物中毒,甚至死亡。当给动物事先服用乳糖或抗生素时,由于乳糖与该类化合物竞争体内的β-葡萄糖苷水解酶,抗生素可抑制微生物的生长从而降低了体内β-葡萄糖苷水解酶的含量,故对动物的中毒可起到一定的预防作用和提高LD_{50}的剂量。

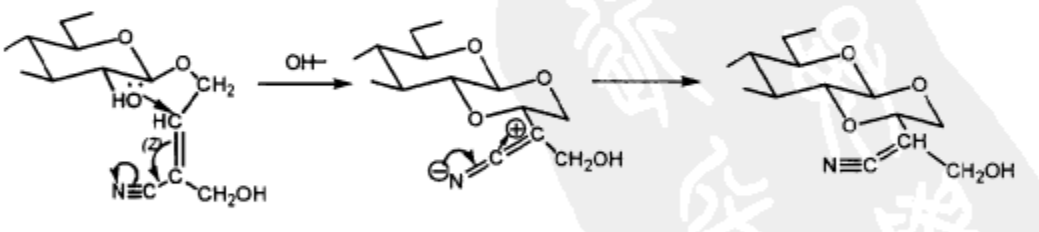


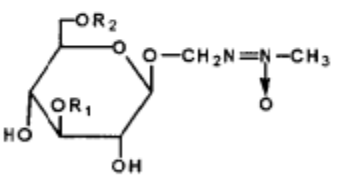
R=H 野樱苷
R=β-D-glc 苦杏仁苷



R=H 亚麻氰苷
R=CH_3 百脉根苷

除α-羟氰苷外还有一些其它的结构类型,如γ-羟氰苷和氧化偶氮类等,这类化合物经酸或酶水解后并不产生氢氰酸。如垂盆草(*sedum sarmentosum*)中具有降低血清谷丙转氨酶的活性成分垂盆草苷(sarmentosin)属于γ-羟氰苷类,该化合物遇稀碱可定量转变为无生物活性的异垂盆草苷[26]。苏铁(*cycas revoluta*)种子中的苏铁苷(cycasin)和新苏铁苷(neocycasin)属于氧偶氮苷类。苏铁苷和新苏铁苷在肝脏内可代谢成重氮甲烷,故家畜食后易中毒,并可导致肝癌。

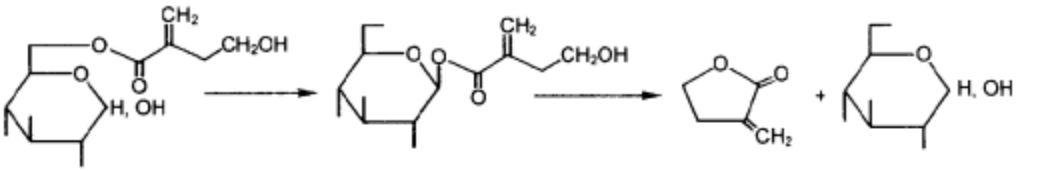




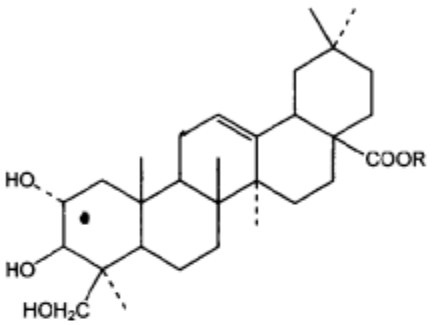
$R_1=R_2=H$ 苏铁苷
$R_1=\beta$-D-glc, $R_2=H$ 新苏铁苷A
$R_1=H$, $R_2=\beta$-D-glc 新苏铁苷B

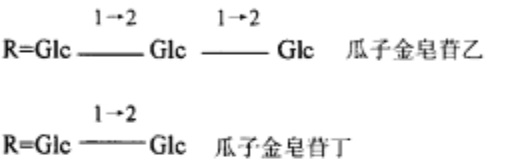
4. 酯苷(酰苷) 通过苷元上的羧基与糖或糖的衍生物的半缩醛(半缩酮)羟基脱一分子水缩合而成的化合物称酯苷或酰苷。如山慈菇苷A(tuliposide A)、瓜子金皂苷乙、丁[27]等均属于此类化合物。山慈菇苷A不稳定,放置日久酰基易从C_1-OH重排至C_6-OH,同时失去抗真菌活性,水解后苷元即环合成山慈菇内酯(tulipalin)。酰苷的苷键既有缩醛的性质又有酯的性质,易

被稀酸和稀碱水解。

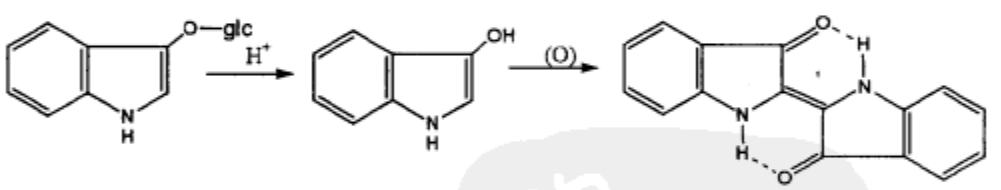


山慈菇苷A

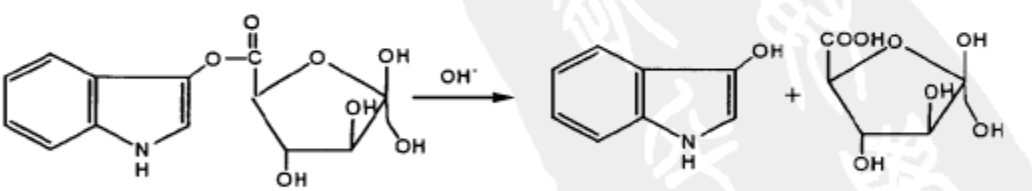




5. 吲哚苷　吲哚苷类较少，常见的是靛苷（indicum）和菘蓝苷（isatin B）。实际上菘蓝苷并不属于苷类，它是由羟基吲哚和果糖酮酸6位上的羧基形成的酯。



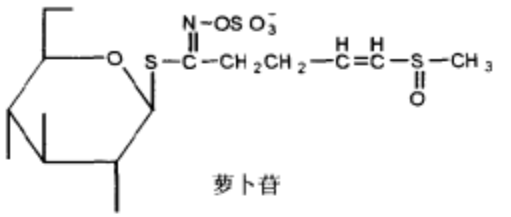
靛苷　　靛蓝



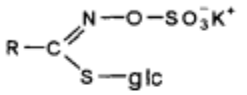
菘苔苷　　果糖酮酸

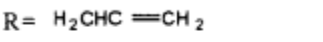
（二）硫苷（S-苷）

通过苷元上的巯基与糖或糖的衍生物的半缩醛（半缩酮）羟基脱一分子水缩合而成的化合物称硫苷。如萝卜中的萝卜苷（glucoraphenin）、黑芥子（*Brassia nigra*）中的黑芥子苷（sinigrin）以及白芥子（*B. alba*）中的白芥子苷（sinalbin）等均属于硫苷。该类苷的苷元均不稳定，水解后易进一步分解。如煮萝卜时的特殊气味即与含硫苷元的分解有关，芥子苷经酶解后形成的芥子油（mustard oils）实际上是异硫氰酸酯类、葡萄糖和硫酸盐的混合物，它们具有止痛和消炎的作用。

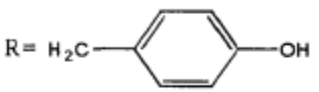


萝卜苷





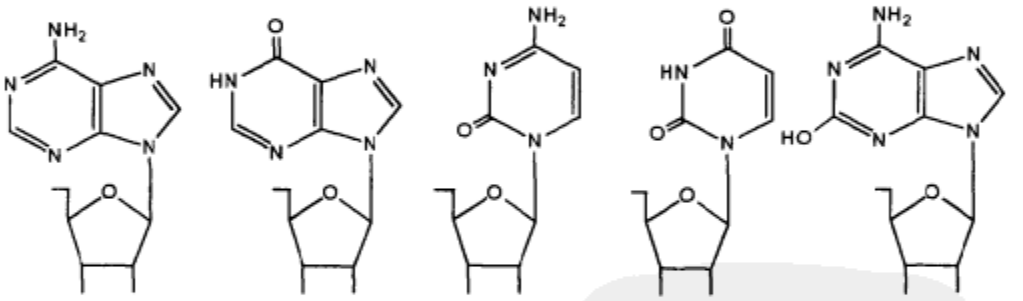
黑芥子苷



白芥子苷

（三）氮苷（N-苷）

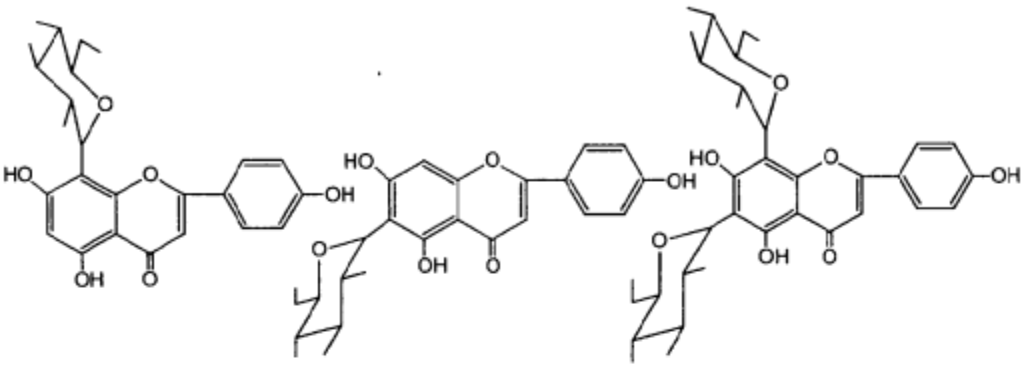
通过苷元上的胺基与糖或糖的衍生物的半缩醛（半缩酮）羟基脱一分子水缩合而成的化合物称氮苷。如腺苷（adenosine）、鸟苷（guanosine）、胞苷（cytidine）、尿苷（uridine）、巴豆苷（crotonside）等均属于氮苷。



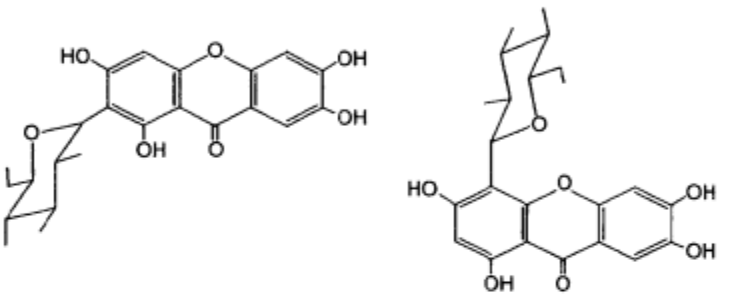
腺苷　　鸟苷　　胞苷　　尿苷　　巴豆苷

（四）碳苷（C-苷）

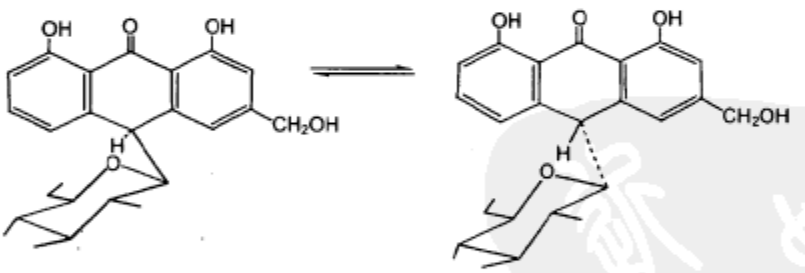
通过苷元碳上的氢与糖或糖的衍生物的半缩醛（半缩酮）羟基脱水缩合而成的化合物称碳苷。由于 OH 和 OR 的邻对位电子云密度较高，易形成碳苷，故苷元常为间苯二酚或间苯三酚类化合物，且多数情况下糖的两个邻位有 OH 或 OR 取代。碳苷的苷元主要有黄酮类、蒽醌类及酚酸类等，尤以黄酮碳苷最多，且在黄酮碳苷中糖基一般在 A 环，并仅限于在 C_6 或 C_8 位上。如牡荆毒素（vitexin）、异牡荆素（isovitexin）、三色堇素（violanthin）、芒果苷（mengiferin）、异芒果苷（isomengiferin）、芦荟苷（barbaloin or aloin）、胭脂酸（carminic acid）、矮地茶素（亦称岩白菜内酯，bergenin）等均属于碳苷。芦荟苷 A、B 实际上是一对差向异构体，由于糖基的邻位为 sp^2 杂化的碳，故可在一定条件下互相转换[28]。矮地茶素属于二氢异香豆素类化合物，从生合成上看它是甲基没食子酸碳葡萄糖苷所生成的内酯，该化合物在紫金牛属（*Ardisia*）植物中特别多。碳苷具有在各类溶剂中溶解度均小，难于水解获得原苷元等特点。但在消化道等某些微生物的作用下，可水解生成原苷元。



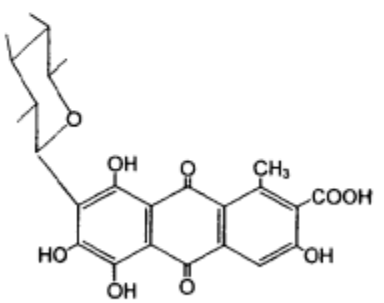
牡荆素　　异牡荆素　　三色堇素



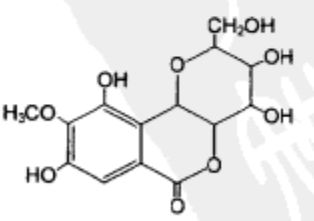
芒果苷　　异芒果苷



芦荟苷



胭脂酸



矮地茶素

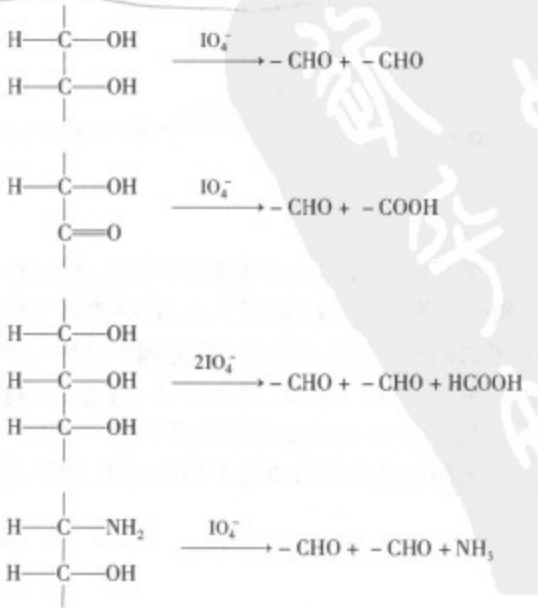
第三节 糖的化学性质

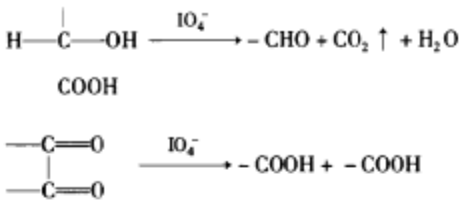
糖的化学性质在普通有机化学中已有详细的论述。下面仅就一些与糖及苷的分离和结构测定密切相关的化学性质做一介绍。

一、氧化反应

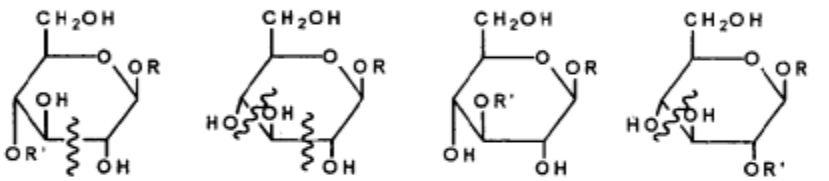
单糖分子有醛(酮)基、伯醇基、仲醇基和邻二醇基结构单元,通常醛(酮)基最易被氧化,伯醇次之。在控制反应条件的情况下,不同的氧化剂可选择性的氧化某些特定的基团。如 Ag^+、Cu^{2+} 以及溴水可将醛基氧化成羧基,硝酸可使醛糖氧化成糖二酸,过碘酸和四醋酸铅可氧化邻二羟基。以 Ag^+ 作氧化剂生成的是金属银,称之为银镜反应(Tollen reaction)。以 Cu^{2+} 作氧化剂生成的是砖红色的 Cu_2O,称之为弗林反应(Fehling reaction)。

在糖苷类和多元醇的结构研究中,过碘酸氧化反应是一个常用的反应[29]。该反应的特点是:①不仅能氧化邻二醇,而且对于 α-氨基醇、α-羟基醛(酮)、α-羟基酸、邻二酮、酮酸和某些活性次甲基也可氧化,只是对于 α-羟基醛(酮)反应慢,对酮酸反应非常慢;②在中性或弱酸性条件下,对顺式邻二醇羟基的氧化速度比反式快的多,如对 α-D-甘露醇吡喃糖甲苷的反应速度大大快于 β-D-葡萄吡喃糖甲苷;但在弱碱性条件下顺式和反式邻二醇羟基的反应速度相差不大;③对固定在环的异边并无扭曲余地的邻二醇羟基不反应,如过碘酸不与 1,6-β-D-葡萄呋喃糖酐反应;④对开裂邻二醇羟基的反应几乎是定量进行的,生成的 HIO_3 可以滴定,最终的降解产物(如甲醛、甲酸等)也比较稳定;⑤反应在水溶液中进行。通过测定 HIO_4 的消耗量以及最终的降解产物,可以推测糖的种类、糖的氧环的大小(吡喃糖或呋喃糖)、糖与糖的连接位置、分子中邻二醇羟基的数目以及碳的构型等。

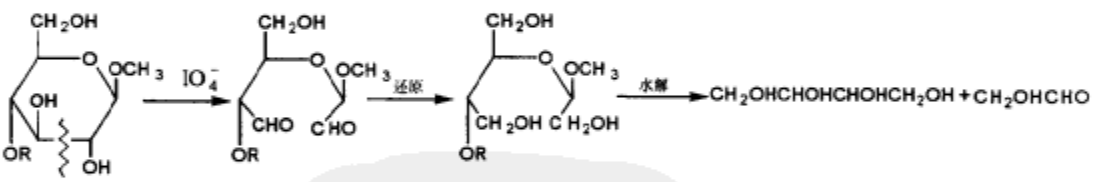


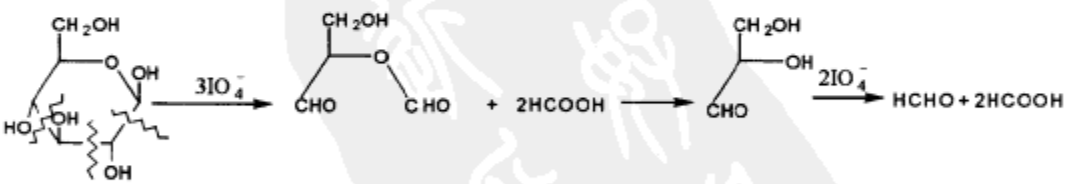


α-D-甘露吡喃糖甲苷　　β-D-葡萄吡喃糖甲苷　　1,6-β-D-葡萄呋喃糖酐

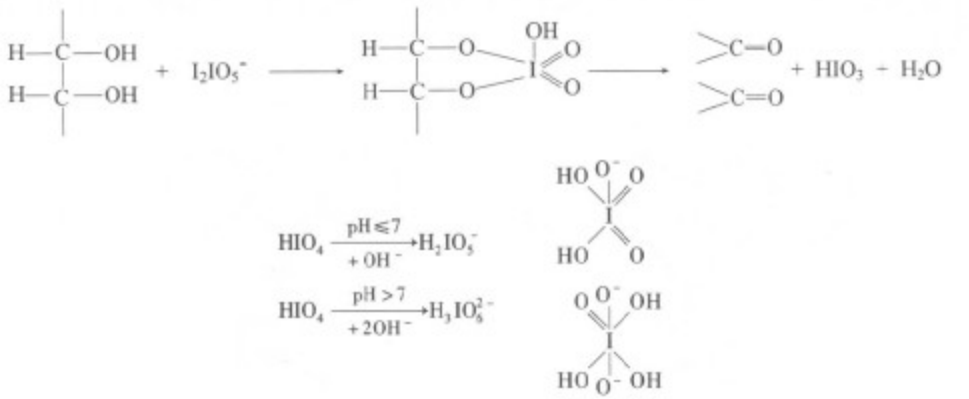


消耗过碘酸量：1摩尔　　2摩尔　　0摩尔　　1摩尔





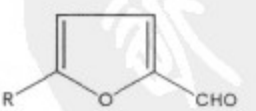
过碘酸氧化的作用机理是首先过碘酸与邻二醇羟基形成五元环状酯的中间体，然后再将醇羟基氧化成羰基。在酸性或中性介质中，过碘酸以一价的 $H_2IO_5^-$ 离子作用，其中碘离子呈六面体结构。这就是为什么在酸性或中性条件下对顺式的氧化比反式快得多的原因。虽然 a、e 键两面角相近，但 a、e 键可通过环的扭曲形成半船式，使 a、e 键上的醇羟基处于同一平面，有利于五元环状酯中间体的形成；而 e、e 键则无法通过环扭曲使 e、e 键上的醇羟基处于同一平面。在碱性条件下，由于碘离子是八面体，与 a、e 和 e、e 键上醇羟基都可形成稳定的中间体，故顺式和反式的反应速度相同。



四醋酸铅反应机理与过碘酸相似[30]，只是作用能力比过碘酸强，如过碘酸在室温下不能氧化草酸，而四醋酸铅可以；立体选择性更高，如对呋喃糖反式二醇羟基不能氧化；需要在有机溶剂中进行（如醋酸、二氧六环等），故在多糖类化合物研究中其应用受到一定限制。

二、糠醛形成反应[31]

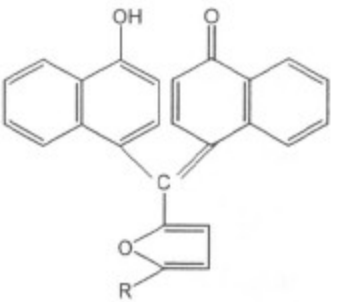
单糖在浓酸(4～10N)加热作用下，脱去三分子水，生成具有呋喃环结构的糠醛衍生物。多糖和苷类化合物在浓酸的作用下首先水解成单糖，然后再脱水形成相应的产物。五碳醛糖生成的是糠醛，甲基五碳醛糖生成的是5-甲基糠醛，六碳醛糖生成的是5-羟甲基糠醛，六碳糖醛酸生成的是5-羧基糠醛(往往会进一步脱羧最终形成糠醛)。通常在形成糠醛的反应中五碳醛糖和甲基五碳醛糖较六碳醛糖容易，生成的产物也较稳定；六碳酮糖较六碳醛糖容易，生成的5-羟甲基糠醛的产率也较高。



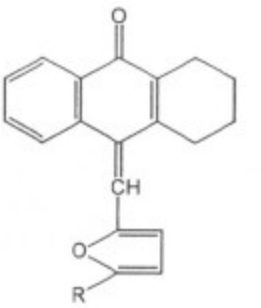
五碳糖	R＝H	糠醛	bp 161℃
甲基五碳糖	R＝CH_3	5-甲基糠醛	bp 187℃
六碳糖	R＝CH_2OH	5-羟甲基糠醛	bp 114～116℃/1mmHg
六碳糖醛酸	R＝COOH	5-羧基糠醛	

糠醛衍生物可以和许多芳胺、酚类以及具有活性次甲基基团的化合物缩合生成有色的化合物(酚和胺的缩合位置在邻对位)。许多糖的显色剂就是根据这一原理配制而成的。如常用于糖类和苷的检测反应—Molish反应的试剂就是浓硫酸和α-萘酚。常用的色谱显色剂是邻苯二甲酸和苯胺。在这些试剂中常用的酸有无机酸如硫酸、磷酸等，有机酸如三氯乙酸、邻苯二甲酸、草酸等，其中中强度酸具有水解苷键的作用。常用的酚有苯酚、间苯二酚、α-萘酚、β-萘酚等。常用的胺则有苯胺、二苯胺、氨基酚、联苯胺等。常用的具有活性次甲基的化合物是蒽酮等。由于各类糖形成糠醛衍生物的难易程度不同、生成的产物不同、产物的挥发度不同、形成的缩合产物

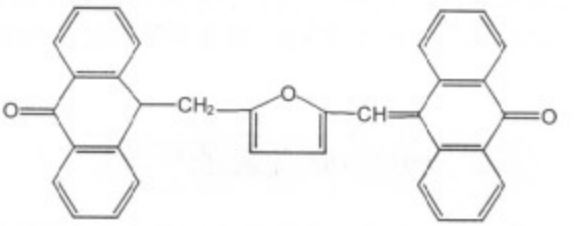
的呈色也不同，因此可利用糠醛反应形成的不同颜色来区别五碳糖、六碳酮糖、六碳醛糖以及糖醛酸等。



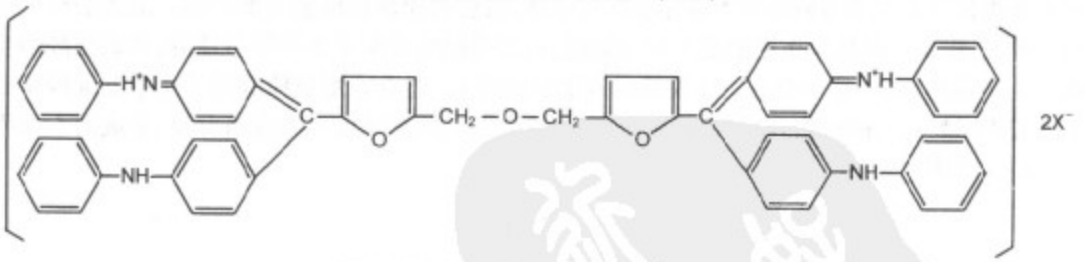
糠醛及衍生物与α-萘酚缩合物[32]
(紫色)



糠醛及衍生物与蒽酮缩合物[33]
(R=H或CH_3)



5-羟甲基糠醛与蒽酮的缩合物[34](蓝色)



5-羟甲基糠醛与二苯胺的缩合物[35](蓝色)

三、羟基反应

糖及苷的羟基反应包括醚化、酯化、缩醛(缩酮)化以及与硼酸的络合反应等。在糖及苷的羟基中最活泼的是半缩醛羟基，次之是伯醇羟基，再次之是 C_2-OH。这是因为半缩醛羟基和伯醇羟基处于末端，在空间上较为有利；C_2-OH 则受羰基诱导效应的影响，酸性有所增强。如在对 α-D-葡萄吡喃糖进行对甲苯磺酸酰化反应中，优先生成 6-O-对甲苯磺酸酯和 2,6-二-O-对甲苯磺酸酯。在环状结构中横键羟基较竖键羟基活泼。

(一) 醚化反应

最常用的糖及苷的醚化反应有甲醚化、三甲基硅醚化和三苯甲醚化等。

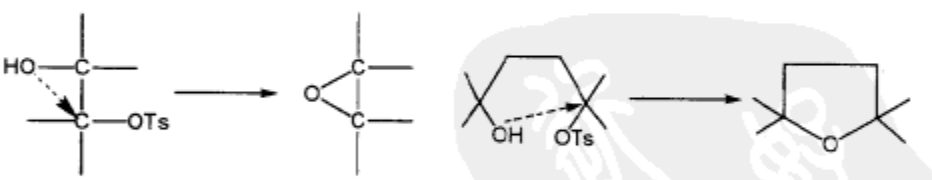
糖及其苷常用的甲醚化方法有 Haworth 法、Purdic 法、Kuhn 法、箱守法(Hakomori)。Haworth

法是以硫酸二甲酯作试剂，在浓 NaOH 中进行。该法的缺点是要获得全甲醚化产物需反复多次进行。如果控制试剂用量即试剂与反应物的摩尔比为 1∶1 时，则可获得糖的甲苷。Purdic 法是以碘甲烷作试剂，Ag_2O 作催化剂，该法虽然较 Haworth 法甲醚化能力强，但也需反复进行，且由于 Ag^+ 的存在不能用于还原糖的甲醚化。Kuhn 法所用的试剂及催化剂与 Purdic 法相同，只是所用的溶剂改为二甲基甲酰胺(DMF)，其甲醚化的能力有所增强。箱守法和改良箱守法的甲醚化能力最强，后处理也相对简单，是最常用的甲醚化方法。箱守法所用的试剂是 NaH 和 CH_3I，溶剂是二甲基亚砜(DMSO)。NaH 首先与二甲基亚砜生成二甲基亚砜阴碳离子，阴碳离子再与醇羟基反应生成氧负离子，最后氧负离子与 CH_3I 反应生成甲醚化物，由于阴碳离子的参与使甲醚化的速度大大加快，一次反应即可获得全甲醚化物。由于多数甲醚化方法都使用了碱作为催化剂，不但羧基不能甲醚化，而且在甲醚化过程中也会引起酯和酯苷键的断裂。在箱守法中由于能产生初生氢也会使某些基团还原，所以在实际应用中应引起注意。

如果要制备糖及苷的部分醚化物，则可利用后述的酯化、缩醛（酮）化反应，将不需醚化的羟基先进行保护，待醚化反应完成后再将保护基脱除。如糖和三苯甲氯在吡啶溶液中反应制备三苯甲醚，伯醇羟基的反应速率数倍于仲醇基，可以利用该反应对 C_6 或 C_5 羟基（伯羟基）进行保护。醚化后该保护基的脱除也很方便，在溴氢酸的醋酸溶液中室温放置即可。

（二）酰化反应

最常用的糖及苷的酰化反应是乙酰化和甲苯磺酰化。羟基的反应活性与醚化类似。如对甲苯磺酰化反应，由于受空间位阻的影响，主要发生在伯醇上。通常 C_3-OH 最难酰化，可能是两侧羟基被酰化后空间障碍较大的缘故。磺酸酯碱水解时常引起羟基的构型发生改变，如有游离羟基存在时，常可生成三环或五元环氧化物。

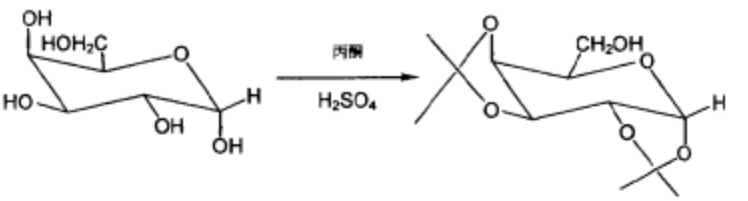


在糖及苷的分离、鉴定和合成时乙酰化反应是常用的反应。所用的溶剂多为醋酐，催化剂多为吡啶、氯化锌、醋酸钠等，通常在室温下放置即可获得全乙酰化物。但如果苷元对碱不稳定，则最好不用吡啶做催化剂。虽然糖的乙酰化反应无选择性，但反应条件不同所得糖的端基差向异构体也不同。如用醋酐-$ZnCl_2$ 乙酰化 D-葡萄糖得到的主产物是 α-乙酰化物，用醋酐-醋酸钠得到的主产物则是 β-乙酰化物。

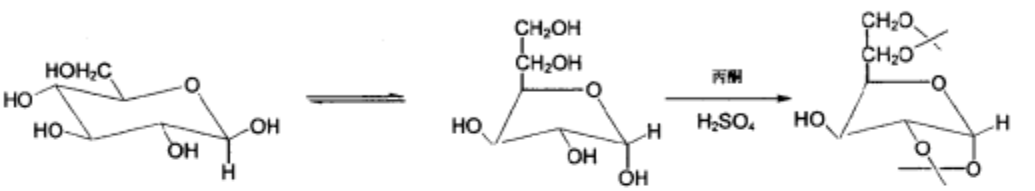
（三）缩酮和缩醛化反应[37]

醛或酮在脱水剂作用下易与具有适当空间的 1,3-二醇羟基或邻二醇羟基生成环状的缩醛(acetal)或缩酮(ketal)。常用的脱水剂是矿酸、无水氯化锌、无水硫酸铜等。通常醛易与 1,3-二醇羟基生成六元环状物，酮易与顺邻二醇羟基生成五元环状物。缩醛和缩酮衍生物与苷一样对碱稳定对酸不稳定，既可以利用缩醛、缩酮反应作为某些羟基的保护剂，也可以利用它来推测结构中有无顺邻二醇羟基或 1,3-二醇羟基。对于特定的糖则还可推测其氧环的大小。丙酮与邻二醇羟基生成的五元环状缩酮称为异丙叉衍生物，亦称丙酮加成物。在游离糖生成异丙叉衍生

物过程中，为了生成更多的异丙叉物，其氧环的大小可随之改变。

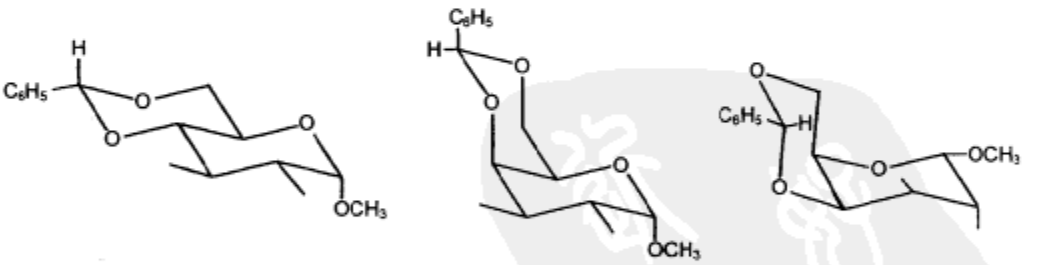


α-D-半乳糖　　1,2; 3,4-二-O-异丙叉-α-D-半乳吡喃糖



D-葡萄糖　　1,2; 5,6-二-O-异丙叉-α-D-葡萄吡喃糖

苯甲醛与糖生成的六元环状缩醛称为苯甲叉衍生物。苯甲醛与吡喃糖生成的苯甲叉衍生物有顺式和反式两种，其中顺式又有 O-内位和 H-内位两种。前者为 C1 式构象，以 O-内位构象较稳定。在反式苯甲叉衍生物中，虽然导入了一个手性碳原子，由于较大的取代基必定处于横键上，而且糖的氧环构象也不能发生改变（如改变则羟基和羟甲基将由 e、e 键变为 a、a 键，两环无法骈合），故没有异构体产生。



反式4,6-O-苯甲叉-α-D-葡萄吡喃糖甲苷　　顺式(O-内位)　　顺式(H-内位)

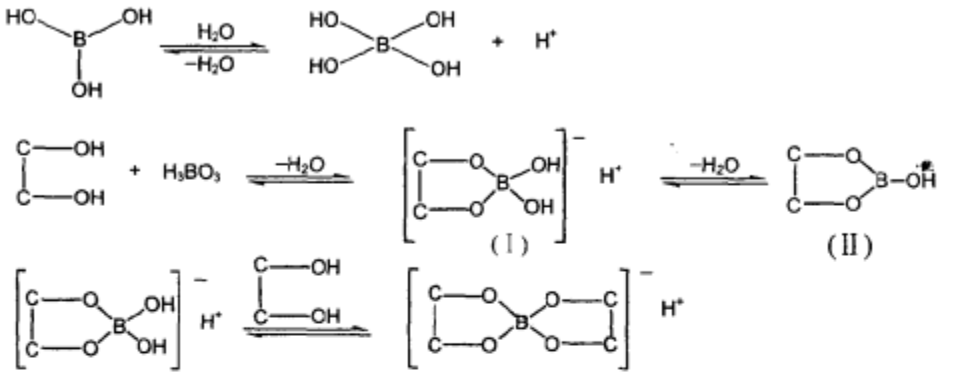
4,6-O-苯甲叉-α-D-半乳吡喃糖甲苷

（四）硼酸的络合反应

许多具有邻二羟基的化合物可与硼酸、钼酸、铜氨、碱土金属等试剂反应生成络合物，使它们的理化性质发生了较大的改变，据此可用于糖、苷等化合物的分离、鉴定以及构型的确定。

硼酸是一种 Lewis 酸，在水溶液中可与 OH 基络合，由原来的平面三叉体变为四面体，由于硼酸的四面体结构没有平面三叉体结构稳定，故硼酸仅为一种弱酸。硼酸能与具有适当空间位置的二羟基（1,2 或 1,3）结合形成五元或六元环状络合物，由于络合物的形成，使硼原子变成四面体结构，使其酸性和导电度均增加。该络合分两步进行，首先硼酸与邻二羟基或 1,3-二羟基化物络合形成 1∶1 的络合物（Ⅰ）。络合物（Ⅰ）不稳定，易脱水形成平面三叉体的中性酯（Ⅱ）；然后络合物（Ⅰ）再与另一分子络合形成 2∶1 的螺环状络合物（Ⅲ），该络合物四面体结构稳定，

酸性和导电性都有很大的增加，在溶液中完全离解，呈强酸性。实际上该三种络合物在硼酸溶液中均存在，彼此间处于平衡状态。其平衡的移动与溶液的 pH、羟基化合物和硼酸的比例以及化合物的结构有关，通常当硼酸量大时以 I 式占优势。



(Ⅲ)

与硼酸的络合反应对羟基位置的要求比较严格，只有处在同一平面上的羟基才能形成稳定的络合物。通常在开链化合物中，由于邻二醇羟基相互排斥往往呈对位交叉式构象，对于形成硼酸络合物并不有利，增加醇羟基可以改变这种局面。碳链上醇羟基愈多，愈容易造成有利位置，愈有利于与硼酸络合。α-羟酸与硼酸络合可使其导电度大大增加，这可能是—COOH 水化成—C(OH)$_2$的缘故。但 β-羟酸无此作用。芳环上的邻羟酸、五元酯环上的顺邻二羟酸都可与硼酸形成络合物，但反式则不能，所以可用与硼酸形成络合物的方法区别顺反异构体。对于芳环上的二酚羟基，则邻位的较间位和对位的易于形成络合物。五元酯环顺邻二羟基形成的络合物稳定，反式的络合物则不能形成。六元 1,3 二竖键羟基络合物的稳定性大于顺邻二羟基，反式的顺邻二羟基则不能形成络合物，这是因为 a、e 型二羟基可通过扭曲形成半椅式从而达到适当的空间位置，而 e、e 型则无法达到硼酸络合时对空间的要求。对于糖及其苷类化合物[38]，呋喃糖苷络合能力最强；单糖次之，吡喃糖苷最弱；由于六碳醛糖形成呋喃环的位阻较大，故五碳醛糖比六碳醛糖更易形成络合物。

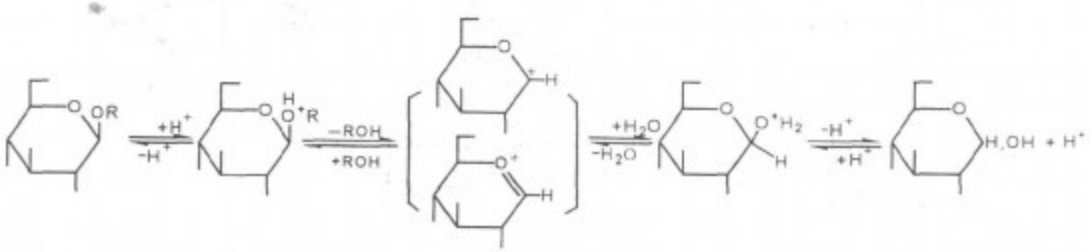
多羟基类化合物与硼酸络合后，使原来的中性变为酸性，因此可采用中和滴定的方法进行含量测定。由于羟基所处的位置及空间结构不同，与硼酸形成络合物的能力就不同，故可以通过离子交换、硅胶（在硅胶中掺加硼砂）、电泳等色谱方法进行分离和鉴定。糖自动分析仪（sugar analyzer）对糖的检测，其原理就是制成硼酸络合物后进行离子交换色谱分离。

第四节 苷键的裂解

苷键的裂解按裂解的程度可分为全裂解和部分裂解。部分裂解所用的试剂和方法有 8% ~ 10% 甲酸、40% ~ 50% 醋酸、酶解、乙酰解、甲醇解等。按所用的方法可分为均相水解和双相水解，双相水解可避免苷元长时间受酸、碱等的作用，有利于提高苷元的收率或获得原苷元。按所用催化剂可分为酸催化水解、碱催化水解、乙酰解、酶解、过碘酸裂解等。苷键的裂解对于了解苷元与糖及糖与糖的连接方式、苷键的构型等具有重要的作用。本节重点介绍苷键常用的裂解方法。

一、酸催化水解

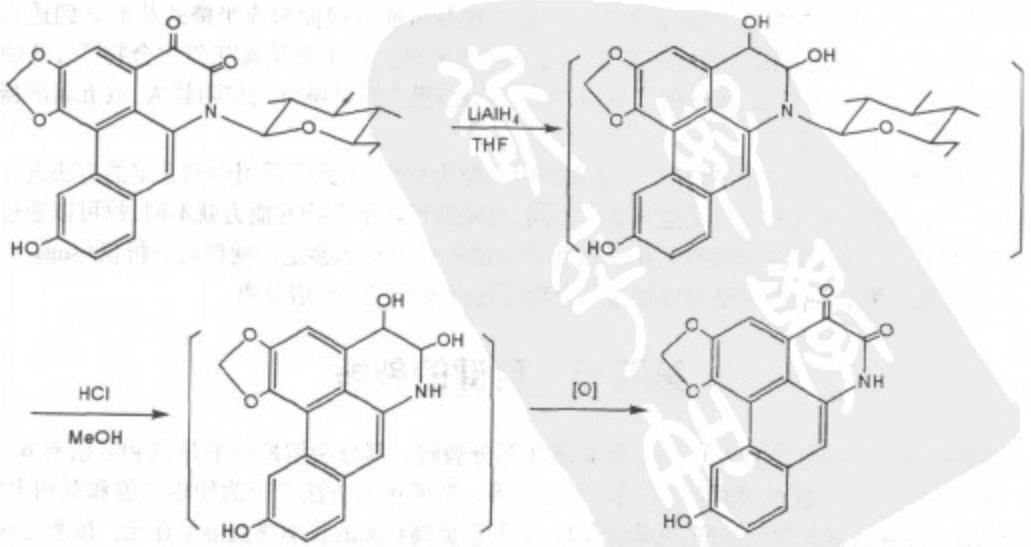
苷键为半缩醛(酮)结构,对酸不稳定,对碱较稳定,易被酸催化水解。酸催化水解常用的试剂是水或稀醇,常用的催化剂是稀盐酸、稀硫酸、乙酸、甲酸等。其反应机理是苷键原子先被质子化,然后苷键断裂形成糖基正离子或半椅型的中间体,该中间体再与水结合形成糖,并释放催化剂质子。以葡萄糖氧苷为例:



从酸催化水解反应机理可看出凡有利于苷键原子质子化和中间体形成的一切因素均有利于苷键的水解。通常苷水解的难易程度有以下规律:

1. 在形成苷键的 N、O、S、C 四个原子中,N 的碱性最强,最易质子化。碳上无共用电子时,几乎无碱性,最难质子化。故它们水解的易难程度是 C-苷 > S-苷 > O-苷 > N-苷。

2. 氮原子虽然碱性较强,易于质子化,但当氮原子在酰胺或嘧啶环上时,由于受到强烈的 p-π 共轭效应和诱导效应的影响,此时的氮已几乎没有碱性,甚至在酰亚胺中还有一定的酸性,所以这类苷很难水解。如朱砂莲(*Aristolochia tuberosa*)块根中的朱砂莲苷(tuberosinone-N-β-D-glucoside)不能被 10% HCl 水解,经氢化锂铝还原后才能被 1mol/HCl 水解[39]。



朱砂莲素

3. 因 p-π 共轭作用,酚苷及烯醇苷的苷元在苷键原子质子化时芳环或双键对苷键原子有一

定的供电作用，故酚苷及烯醇苷比醇苷易于水解。某些酚苷如蒽醌苷、香豆素苷等不用酸，只加热就有可能将其水解。

4. 由于氨基和羟基均可与苷键原子争夺质子，特别是2-NH_2和2-OH糖，当2位被质子化后使端基碳原子的电子云密度降低，不利于苷键原子的质子化，故氨基糖特别是2-氨基糖苷最难水解，其次是2-OH糖苷，然后依次是6-去氧糖、2-去氧糖和2,6-二去氧糖苷。如6-去氧糖苷比同样羟基糖苷快五倍；2,6-二去氧糖苷用0.02～0.05mol/L HCl即可将其水解。当羟基、氨基被乙酰化后，由于这种作用消失，水解又变得较容易了。

5. 由于五元呋喃环是平面结构，各取代基处于重叠位置比较拥挤，酸水解时形成的中间体使拥挤状态有所改善，环的张力减少，故呋喃糖苷较吡喃糖苷的水解速率大50～100倍。所以在多糖水解时最易水解的是果糖，当为了水解别的苷键而加剧水解条件时，往往会使果糖破坏。

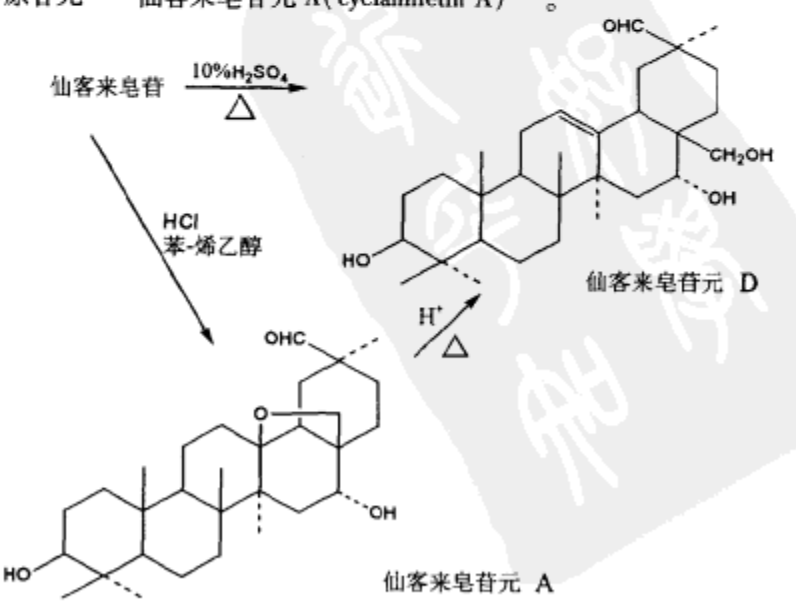
6. 由于酮糖多数为呋喃糖，而且在端基上又增加了一个-CH_2OH大基团，更增加了呋喃环的拥挤状况，故酮糖较醛糖易水解。

7. 在吡喃糖苷中由于C_5-上R会对质子进攻苷键造成一定的位阻，故R愈大，则愈难水解。其水解的难易程度是糖醛酸＞七碳糖＞六碳糖＞甲基五碳糖＞五碳糖。

8. 当苷元为小基团时，由于横键上的原子易于质子化，故横键的苷键较竖键易水解。当苷元为大基团时，其空间因素占主导地位，苷元的脱去有利于中间体的稳定，故竖键的苷键较横键易水解。

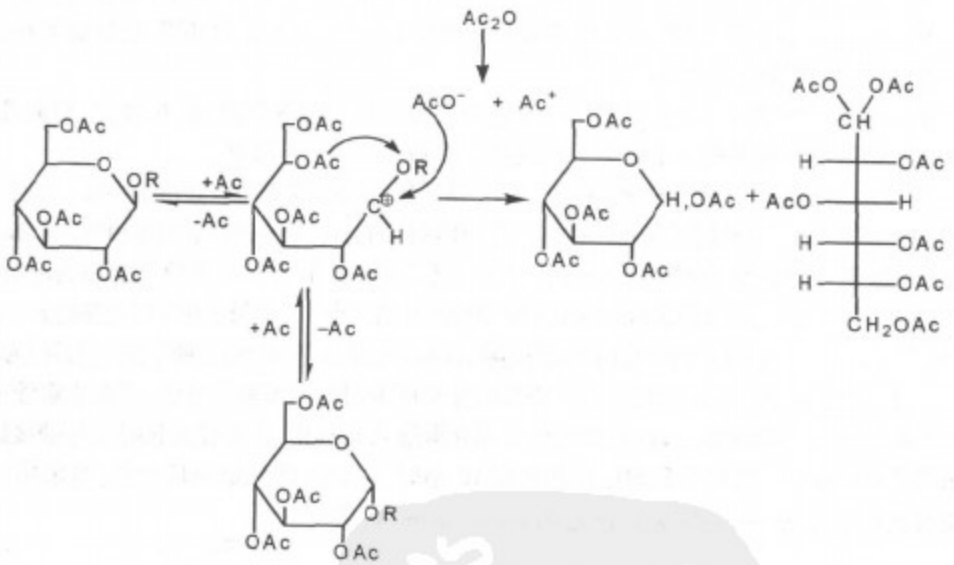
在天然糖苷中，通常果糖和核糖为呋喃型，阿拉伯糖二者都有，葡萄糖、半乳糖、甘露糖为吡喃型。由于酸催化水解后生成的是游离糖，故无法确定糖在苷中氧环的大小。对此可采用甲醇水解的方法来确定(HCl/MeOH)，因为生成的是糖的甲苷而不是游离糖，而呋喃型糖甲苷和吡喃型糖甲苷的色谱行为不同。

对于那些苷元对酸不稳定的苷，为了获得原苷元可采用双相水解的方法，即在水解液中加入与水不互溶的有机溶剂如苯等，使水解后的苷元立即进入有机相，避免苷元长时间与酸接触。如仙客来皂苷(cyclamin)用10% H_2SO_4加热水解12小时，生成的苷元是裂环产物，当采用双相水解时则可获得原苷元——仙客来皂苷元A(cyclamiretin A)[40]。



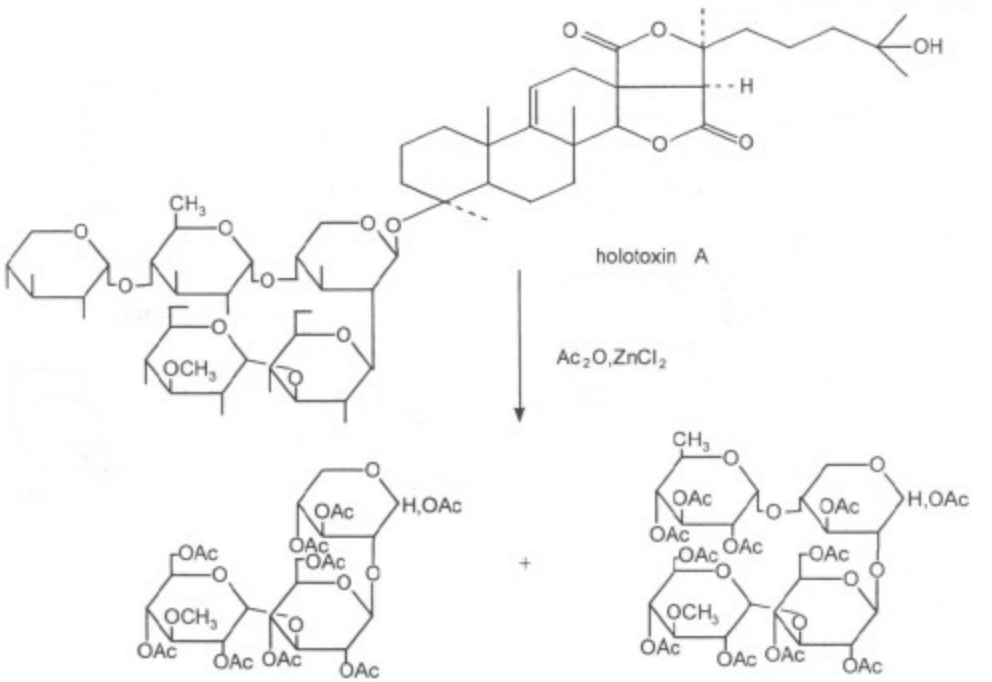
二、乙酰解反应(acetolysis)

乙酰解所用的试剂是醋酐和酸，常用的酸有 H_2SO_4、$HClO_4$、CF_3COOH 和 $ZnCl_2$、BF_3（lewis酸）等。其反应机理与酸催化水解相似，但进攻的基团是 CH_3CO^+ 而不是质子。虽然反应机理相似，在苷键裂解的难易程度上有时却相反。当苷键邻位羟基能乙酰化或苷键邻位有环氧基时，由于强的诱导效应致使苷键裂解反应变慢。从对双糖苷键乙酰解裂解的反应速度研究可知，β-苷键葡萄糖双糖乙酰解的难易程度是：(1→2) > (1→3) > (1→4) >> (1→6)[41]。



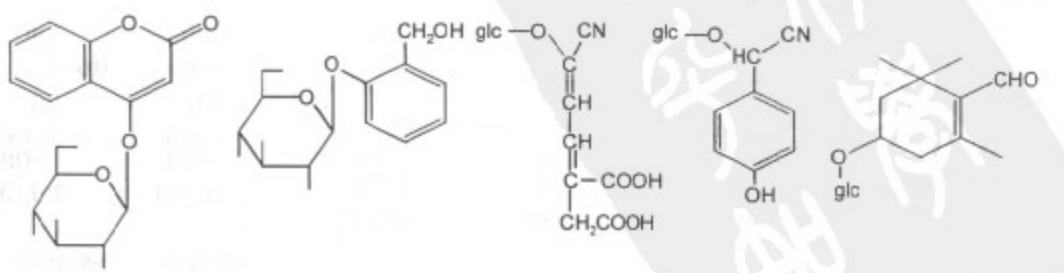
乙酰解具有反应条件温和，操作简便（通常室温放置数天即可），可开裂部分苷键，所得产物为单糖、低聚糖及苷元的酰化物，增加了反应产物的脂溶性，有利于提纯、精制和鉴定等优点。但应该引起注意的是乙酰解反应有时会使糖的端基发生异构化。此外对于在 C_2、C_3 有顺邻二羟基的呋喃型糖，其 C_2、C_3 位有时也会发生差向异构化，如由甘露呋喃型糖变为葡萄糖。

holotoxin A 是 *Stichopus japonica* 中的一个具有抗真菌活性的五糖皂苷，其糖的组成为 D-木糖、D-鸡纳糖、D-葡萄糖和 D-葡萄糖三甲醚。该化合物糖与糖的连接关系就是通过用醋酐-$ZnCl_2$ 乙酰解而确定的[42]。



三、碱催化水解和β-消除反应[43]

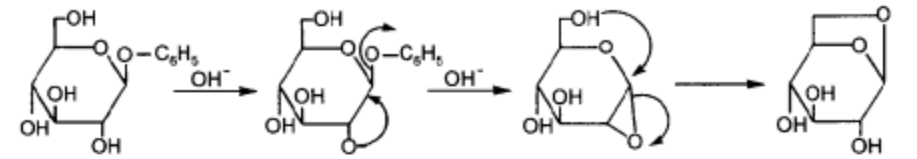
通常苷键对碱稳定，对酸不稳定，不易被碱水解。由于酚苷中的芳环具有一定的吸电作用，使糖端基碳上氢的酸性增强，有利于 OH^- 的进攻，形成正碳离子后，芳环对苷键原子又具有一定的供电能力，有利于正碳离子的稳定；与羰基共轭的烯醇类从插烯规律来看实际上具有酯的性质，故酰苷、酚苷、与羰基共轭的烯醇苷可被碱水解。如4-羟基香豆素苷、水杨苷、靛苷、海韭菜苷(triglochinin)等遇碱能够水解。

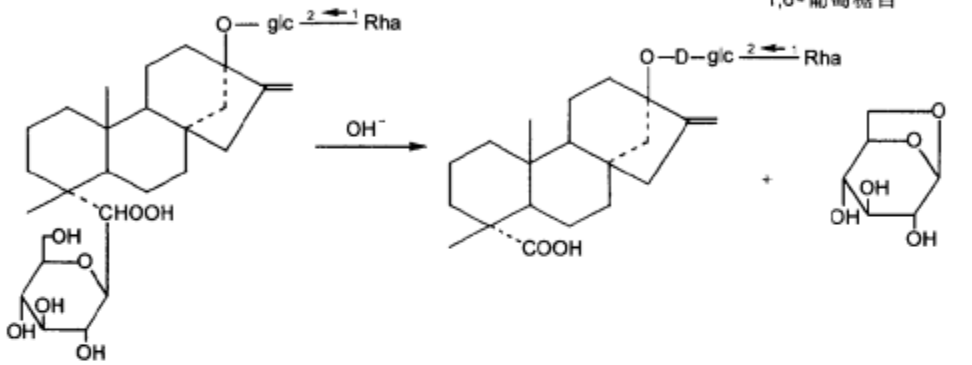


4-羟基香豆素苷　　水杨苷　　海韭菜苷　　蜀黍苷　　藏红花苦苷

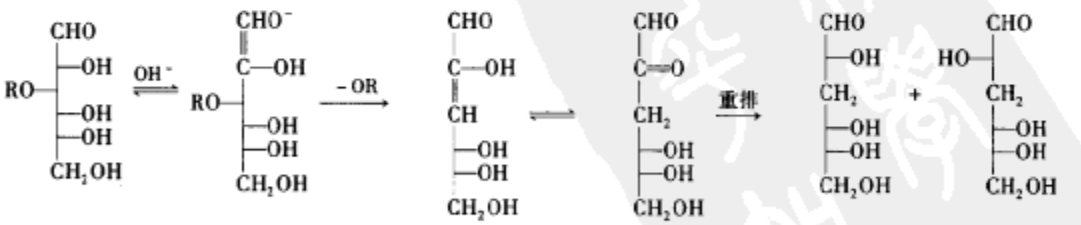
对于酚苷和酯苷，当糖的 C_2-OH 与苷键成反式时则较顺式易于水解。前者获得的是1,6-糖苷，后者则为正常的糖。1,6-糖苷的生成可能是发生了二次 walden 转换所致，据此可以判断苷键的构型。如存在于甜叶菊中的 dulcoside A 用碱水解获得1,6-葡萄糖苷，由此推定其连接在羟

基上的葡萄糖苷键的构型为β型。



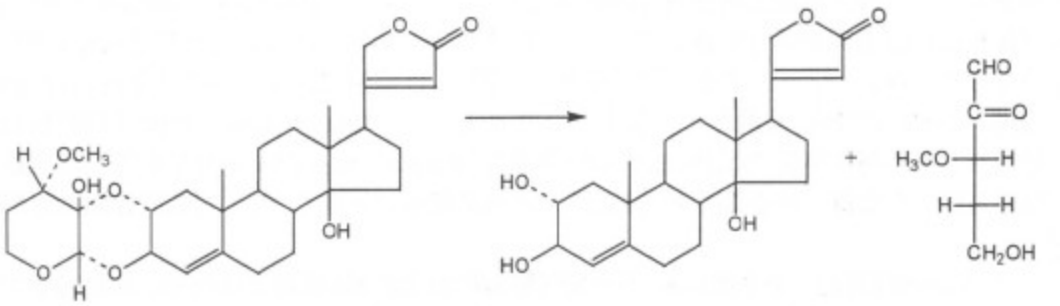


由于苷键β位吸电子基团能使苷元α-位氢活化，有利于OH^-的进攻，故苷键的β位有吸电子取代的苷如藏红花苦苷、蜀黍苷等在碱液中可与苷键发生消除反应而开裂苷键，此反应称为β-消除反应。由于游离的醛（酮）基能活化邻位的氢，故在1→3或1→4连接的聚糖中，碱能使聚糖还原端的单糖逐个剥落（peeling reaction），对非还原端则无影响。1→3连接聚糖还原末端剥落所形成的产物是3-脱氧糖酸，1→4连接聚糖的产物则是3-脱氧-2-羟甲基糖酸，二个以上取代的还原糖则很难形成糖酸，因此可根据所形成的产物推断还原糖的取代方式，这在聚糖的结构研究中是非常有用的。1→4连接聚糖还原末端剥落糖的反应机理虽然与1→3连接的相似，由于存在3位竞争性的脱羟基反应，故其降解速度比1→3连接慢得多[44,45]。



4,6-去氧六碳糖酮-2或4-去氧五碳糖酮-2的双连苷也可用碱催化水解。如存在于卫予科福木(*Elaeodendron glaucum*)中的福木苷B(elaeodendroside B)，用酸、过碘酸、酶水解均未获得苷元，而在甲苯中加入少量三乙胺、吡啶或Al_2O_3后回流就可获得苷元。该苷能被碱水解，可能与

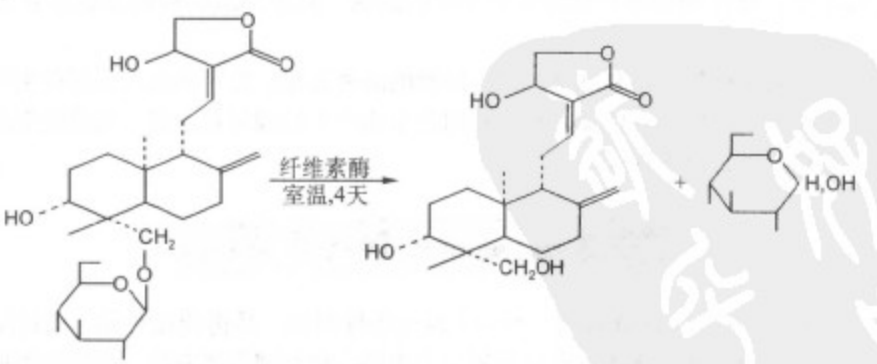
C_4 位上双键既可以活化 C_3 位上的氢，有利于 OH^- 的进攻，又可以增加 C_3 位脱掉质子后形成的碳正离子的稳定性有关。[46]



elaeodendroside B

四、酶催化水解反应[47]

酶催化水解具有反应条件温和，专属性高，根据所用酶的特点可确定苷键构型，根据获得的次级苷、低聚糖可推测苷元与糖及糖与糖的连接关系，能够获得原苷元等特点。如存在于穿心莲（*Andrographis paniculate*）中的穿心莲内酯 19-β-D-葡萄糖苷（andrographolide-19-β-D-glucoside）用硫酸水解时产生去氧和末端双键移位的苷元，而用纤维素酶水解则可获得原苷元[48]。再如碳苷用其它的方法水解很难获得原苷元，而用人或动物体内某些微生物产生的酶水解则可获得原苷元。

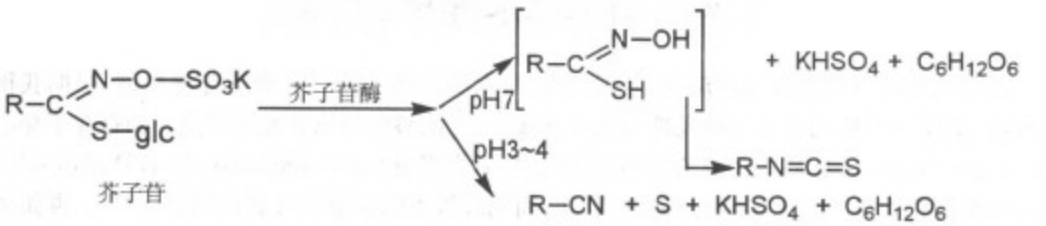


穿心莲内酯 19-β-D-葡萄糖苷　　穿心莲内酯

常用于苷键水解的酶有转化糖酶（invertase）、麦芽糖酶（maltase）、杏仁苷酶（emulsin）、纤维素酶（cellulase）等。此外蜗牛酶、高峰氏糖化酶（takadiastase）、橙皮苷酶（hesperidinase）、柑橘苷酶（naringenase）等也是常用的酶。其中转化糖酶只水解 β-果糖苷键，如对蔗糖、龙胆糖、棉子糖、水苏糖等只脱掉一分子果糖，麦芽糖酶只水解 α-D-葡萄糖苷键，纤维素酶只水解 β-D-葡萄糖苷键，杏仁苷酶只水解 β-六碳醛糖苷键，蜗牛酶只水解 β-苷键。

大多数酶均为基团特异性酶即同工酶，不论分子的结构、大小、形状如何，只要存在某种苷键，就可用某种酶酶解。但少数酶的立体选择性非常强，只能水解某个化合物的某个糖，如存在于毒毛旋花子中的β-D-葡萄糖苷酶（β-D-glucosidase）和毒毛旋花子双糖酶（strophanthobiase），前者只能水解 k-毒毛旋花子苷中的末端葡萄糖，后者则只能水解该苷末端的葡萄糖双糖（详见甾体及其苷类一章）。实际上，由于酶的分离纯化很困难，目前使用的酶大多为未提纯的混合酶，随着进一步的分离纯化，酶的专一性会有很大的改变。如幼高粱（*Sorghum vulgare*）的粗蛋白提取物具有β-葡萄糖水解酶的活性，能够水解蜀黍苷（dhurrin）、txiphyllin、4-硝基酚等。随着进一步分离纯化从中获得二种β-葡萄糖苷酶，该两种酶只能水解蜀黍苷，而对其它的苷则无水解作用。

pH 是影响酶解的一个重要因素，某些酶的酶解产物会随 pH 的改变而改变。如存在于十字花科植物中的芥子苷酶（mgrosinase），在 pH = 7 时对芥子苷的酶解产物是异硫氰酸酯，在 pH3 ~ 4 时则是腈和硫磺。



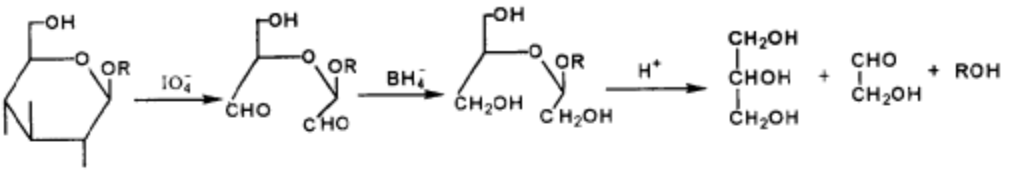
在植物中苷和能水解该苷的酶往往是共存的。由于它们不在同一位置，故无法将它们水解。只有当植物细胞被破坏后，酶和苷才能相遇，进而把苷水解。如幼高粱中蜀黍苷分布于表皮细胞的胞液中，而β-葡萄糖苷酶则集中于叶内细胞，只有当组织被粉碎后该苷才能被酶水解。

由于酶的分离纯化较困难和麻烦，市售的酶的品种有限。近年来有人采用微生物发酵的方法水解苷类。在微生物培养液中加入苷，利用微生物产生的酶将苷水解。某些微生物会把苷中糖当作碳源消耗掉而只留下苷元。

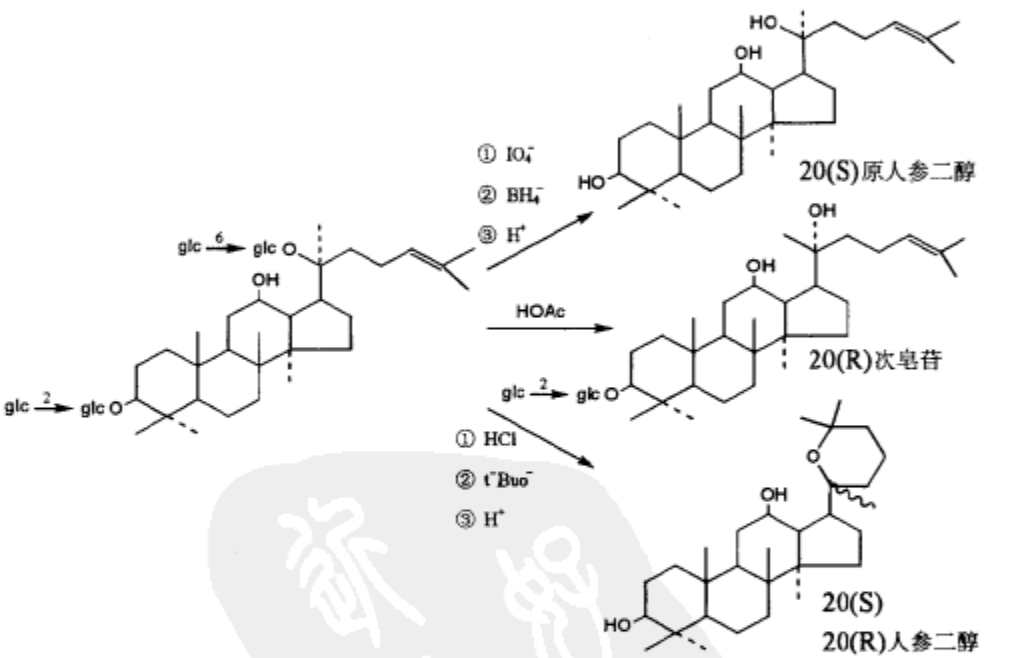
五、过碘酸裂解反应[49]

过碘酸裂解法亦称 Smith 降解法，是一个反应条件温和、易得到原苷元、通过反应产物可以推测糖的种类、糖与糖的连接方式以及氧环大小的一种苷键裂解方法。该法特别适合于那些苷元不稳定的苷和碳苷的裂解，但对于那些苷元上有邻二醇羟基或易被氧化的基团的苷则不能应用，因为过碘酸在氧化糖的同时它们也将随之被氧化。

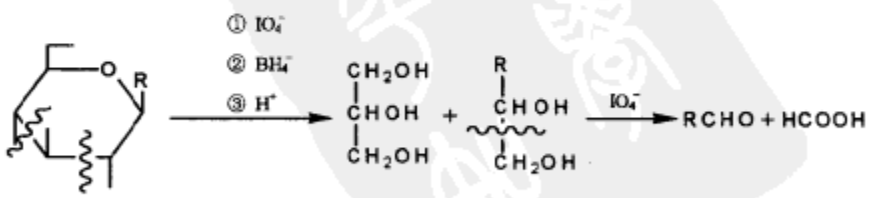
过碘酸裂解法所用的试剂是 $NaIO_4$ 和 $NaBH_4$，首先将样品溶于水或稀醇溶液中，加入 $NaIO_4$，在室温下将糖氧化开裂成二醛，然后用 $NaBH_4$ 将醛还原成伯醇，以防醛与醇进一步缩合。最后调节 pH2 左右，室温放置即可将其水解。由于这种醇的中间体具有真正的缩醛结构，故在非常弱的酸性条件下就可水解。



人参皂苷 Rb1（ginsenoside Rb1）用各种方法水解均未获得原苷元，只是采用 Smith 裂解法后才获得原苷元即 20-S-原人参二醇（20-S-protopanaxadiol）[50]，这也是为什么原人参二醇上有三个羟基但却称原人参二醇的原因。因为最早用其它裂解方法所获得的苷元上只有二个醇羟基，故将其称为人参二醇，只是用 Smith 裂解法后才知道原来获得的苷元实际上是一个人工产物，为了与原产物区别才在名称前加了一个“原”字。



碳苷用 Smith 裂解获得的是连有一个醛基的苷元。

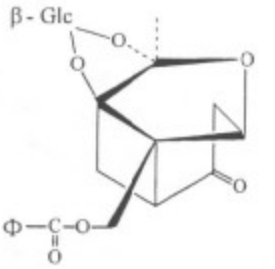


碳苷用 $FeCl_3$ 氧化法开裂苷键时，获得的糖并不是存在于原苷中的糖，而是其 C_1-C_2 间的开裂产物。如葡萄糖碳苷用 $FeCl_3$ 氧化法开裂，获得的糖是阿拉伯糖。

六、糖醛酸苷的选择性水解反应

许多苷和聚糖中都含有糖醛酸，特别是在皂苷和生物体内肝脏的代谢产物中，糖醛酸苷更为常见。糖醛酸苷键用普通的裂解方法很难开裂，常需加剧反应条件，其结果是造成糖醛酸和苷元的破坏，故糖醛酸苷键的裂解常需一些特殊的方法，如光解法、四醋酸铅分解法、醋酐-吡啶分解法、微生物培养法等（详见皂苷一章及有关参考书）[51]。

值得注意的是个别苷除了苷元用苷键与糖相连外，还用醚键与同一糖相连。如存在于赤芍（*Paeonia lactiflora*）根中的芍药新苷（lactiflorin），这种苷即使用前述方法将苷键开裂也无法获得苷元和糖[52]。在苷类化合物中，有些苷键很难开裂，有些苷键则很容易开裂，甚至在水和稀醇中加热稍长时间就可开裂，如人参皂苷 Rb_1 在加热中就容易脱掉 C_{20} 位上的糖基生成次皂苷 Rg_3，且该位的构型也由 S 型转变为 R 型。



lactiflorin

第五节　糖的核磁共振性质

核磁共振在解决糖及其苷类化合物的苷键构型、氧环的大小、优势构象、糖的种类、糖与糖的连接位置、糖与糖的连接顺序等方面具有重要的作用。下面仅就糖的一些基本核磁共振性质作一简单介绍。

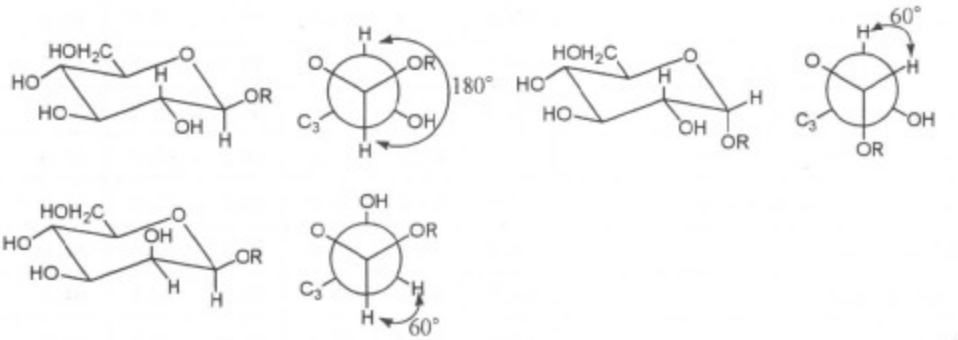
一、糖的 ^{1}HNMR 性质

与其它天然产物相比，糖在^{1}HNMR 中的信号分布于一个很狭窄的范围内，自旋系统的归属比较困难。通常糖的端基质子信号在 δ 4.3～6.0，甲基五碳糖的甲基信号在 δ 1.0 左右，其余信号在 δ 3.2～4.2 左右。糖的端基质子信号和甲基质子信号与其它信号相隔较远，易于辨认，在 2D-NMR 谱中糖的碳氢信号的归属和每个糖上自旋系统的归属常从端基质子信号或甲基质子信号开始。根据糖上端基质子信号的个数和化学位移值可推测连有糖的个数、糖的种类及糖与糖、糖与苷元的连接位置。根据甲基质子信号的个数和化学位移值可推测甲基五碳糖的个数、糖的种类及糖与糖、糖与苷元的连接位置等。如在黄酮类化合物中当 β-D-葡萄糖连在 3 位时，其端基质子的化学位移在 δ 5.7～6.0 左右，当连在 7，5，4′位时则化学位移在δ 4.8～

5.2 左右。又如在芦丁糖和新橙皮糖中鼠李糖甲基质子的化学位移值相差 0.3 个化学位移单位（详见黄酮类化合物一章）。还可根据端基质子的偶合常数确定苷键的构型。

低聚糖和多糖的^{1}HNMR 通常在 D_2O 中测定，会产生一个 HDO 的残峰，该峰的强弱与 D_2O 的质量有关，由于该峰正好落在端基质子的区域，会影响^{1}HNMR 谱的解析。HDO 信号会随温度改变而改变（0.01 化学位移单位/K），温度升高，则化学位移值向高场移动，所以可以通过改变温度的方法来解决这一问题。

质子的邻位偶合常数与两面角有关，当两面角为 90°时，偶合常数为 0；当两面角为 90°～180°时，随着角度的增大偶合常数变大；当两面角为 0°～90°时，随着角度的变小偶合常数增大。在吡喃环中当相邻的两个质子均为竖键时，其两面角为 180°，偶合常数为 6～8Hz；当一个为竖键，一个为横键时，其两面角为 60°，偶合常数为 2～4Hz。



对于优势构象为 C1 式且 C_2 羟基在环的面下（Haworth 式）或右侧（fischer 式）的吡喃型糖，当苷键为 β-D 或 α-L 型时，其端基质子和 C_2 位质子均为竖键，故偶合常数为 6～8Hz；当苷键为 α-D 或 β-L 时，其端基质子为横键，C_2 位质子为竖键，故偶合常数为 2～4Hz。由于甘露糖的 C_2 位质子在横键上，鼠李糖的优势构象是 1C 式，其 C_2 位质子也在横键上，故无法用此方法确定它们的苷键构型。对于呋喃型糖，无论其端基质子和 C_2 位质子是处于反式地位还是顺式地位，其偶合常数变化均不大（都在 0～5Hz），故无法用端基质子的偶合常数来判断它们的苷键构型。

二、糖的^{13}CNMR 性质

（一）化学位移及偶合常数

糖的甲基碳的化学位移在 δ18 左右，CH_2OH 在 δ62 左右，CHOH 在 δ68～85 左右，端基碳则在 δ95～105 左右。β-D 和 α-L 型苷键的端基碳化学位移值通常大于 100，当为酯苷、叔醇苷及个别的酚苷时，其化学位移值可降至 δ98。α-D 和 β-L 型苷键的端基碳化学位移值则小于 δ100。因此可根据 95～105 区域碳信号的个数和化学位移值来推测低聚糖及苷中所含糖的个数和苷键的构型。通常呋喃糖 C_3 和/或 C_5 位的化学位移值明显偏大，多数大于 80。因此可根据其化学位移值区别氧环的大小。

表 2-1 常见单糖及其衍生物的碳谱数据[53]

化合物	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	OCH_3
α-D-glucopyranose	92.9	72.5	73.8	70.6	72.3	61.6	
β-D-glucopyranose	96.7	75.1	76.7	70.6	76.8	61.7	
methyl-α-D-glucopyranoside	100.0	72.2	74.1	70.6	72.5	61.6	55.9
methyl-β-D-glucopyranoside	104.0	74.1	76.8	70.6	76.8	61.8	58.1
α-D-glucopyranosepentaacetate	89.2	69.3	69.9	68.0	69.9	61.6	
β-D-glucopyranosepentaacetate	91.8	70.5	72.8	68.1	72.8	61.7	
α-D-galactopyranose	93.2	69.4	70.2	70.3	71.4	62.2	
β-D-galactopyranose	97.3	72.9	73.8	69.7	76.0	62.0	
methyl-α-D-galatopyranoside	100.1	69.2	70.5	70.2	71.6	62.2	56.0
methyl-β-D-galatopyranoside	104.5	71.7	73.8	69.7	76.0	62.0	58.1
α-D-galactopyranose pentaacetate	89.5	67.2	67.2	66.2	68.5	61.0	
β-D-galactopyranose pentaacetate	91.8	67.8	70.6	66.8	71.5	61.0	
α-D-fructopyranose	65.9	99.1	70.9	71.3	70.0	61.9	
β-D-fructopyranose	64.7	99.1	68.4	70.5	70.0	64.1	
α-D-fructofuranose	63.8	105.5	82.9	77.0	82.2	61.9	
β-D-fructofuranose	63.6	102.6	76.4	75.4	81.6	63.2	
α-D-mannopyranose	95.0	71.7	71.3	68.0	73.4	62.1	
β-D-mannopyranose	94.6	72.3	74.1	67.8	77.2	62.1	
methyl-α-D-mannopyranoside	101.9	71.2	71.8	68.0	73.7	62.1	55.9
methyl-β-D-mannopyranoside	101.3	70.6	73.3	67.1	76.6	61.4	56.9
α-L-rhamnopyranose	95.1	71.9	71.1	73.3	69.4	17.9	
β-L-rhamnopyranose	94.6	72.5	73.9	72.9	73.2	17.9	
methyl-α-rhamnoside	102.6	72.1	72.7	73.8	69.5	18.6	
methyl-β-rhamnoside	102.6	72.1	75.3	73.7	73.4	18.5	
α-D-arabinopyranose	97.6	72.9	73.5	69.6	67.2		
β-D-arabinopyranose	93.4	69.5	69.5	69.5	63.4		
methyl-α-D-arabinopyranoside	105.1	71.8	73.4	69.4	67.3		58.1
methyl-β-D-arabinopyranoside	101.0	69.4	69.9	70.0	63.8		56.3
α-D-arabinofuranose	101.9	82.3	76.5	83.8	62.0		
β-D-arabinofuranose	96.0	77.1	75.1	82.2	62.0		

续表

化合物	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	OCH_3
methyl-α-D-arabino furanoside*	109.2	81.8	77.5	84.9	62.4		
methyl-β-D-arabino furanoside*	103.1	77.4	75.7	82.9	62.4		
α-D-ribopyranose	94.3	70.8	71.1	68.1	63.8		
β-D-ribopyranose	94.7	71.8	69.7	68.2	63.8		
α-D-ribofuranose	97.1	71.7	70.8	83.8	62.1		
β-D-ribofuranose	101.7	76.0	71.2	83.3	63.3		
α-D-xylopyranose	93.1	72.5	73.9	70.4	61.9		
β-D-xylopyranose	97.5	75.1	76.8	70.2	66.1		
methyl-α-D-xylopyranoside	100.6	72.3	74.3	70.4	62.0		56.0
methyl-β-D-xylopyranoside	105.1	74.0	76.9	70.4	66.3		58.3

* D_2O 中测定

在吡喃糖中端基碳的碳氢偶合常数($^1J_{C1\text{-}H1}$)也可用于确定苷键的构型。当端基质子处于横键时,其端基碳氢的偶合常数为170~175Hz左右,处于竖键时则为160~165Hz左右。即当偶合常数为170~175Hz左右时,为α-D或β-L型苷键;偶合常数为160~165Hz左右时,为β-D或α-L型苷键。由于鼠李糖的优势构象是1C式,故当为α-L型时其偶合常数是170~175Hz,β-D型时是160~165Hz左右。呋喃型糖苷则无法用端基碳的碳氢偶合常数判断其苷键的构型。

表2-2 甘露糖苷和鼠李糖苷的$^1J_{C1\text{-}H1}$值

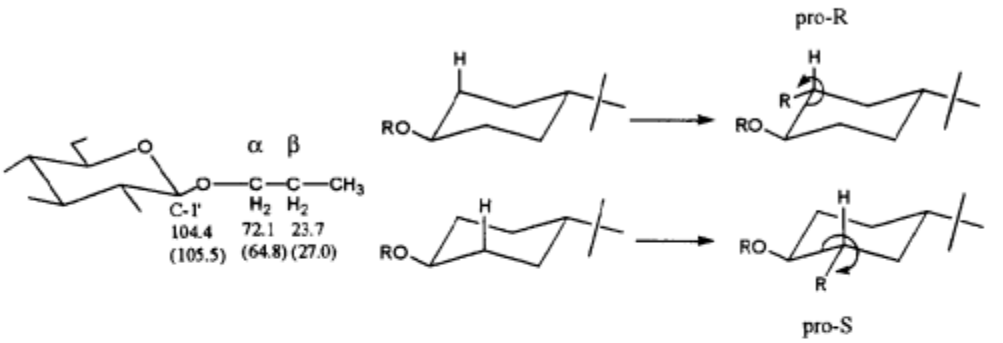
苷元	糖	$^1J_{C1\text{-}H1}$	δH_1	糖	$^1J_{C1\text{-}H1}$	δH_1
甲醇	α-D-甘露糖	166	5.10	β-D-甘露糖	156	4.62
	α-L-鼠李糖	168	5.04	β-L-鼠李糖	158	4.55
正丁醇	α-D-甘露糖	166	5.26	β-D-甘露糖	155	4.72
	α-L-鼠李糖	166	5.02	β-L-鼠李糖	152	4.60
仲醇	α-D-甘露糖	165	5.37	β-D-甘露糖	155	4.93
	α-L-鼠李糖	167	5.27	β-L-鼠李糖	154	4.72
d-薄荷醇	α-D-甘露糖	164	5.52	β-D-甘露糖	154	4.88
	α-L-鼠李糖	166	5.23	β-L-鼠李糖	152	4.83
l-薄荷醇	α-D-甘露糖	166	5.36	β-D-甘露糖	154	4.92
	α-L-鼠李糖	168	5.30	β-L-鼠李糖	152	4.90
叔丁醇	α-D-甘露糖	165	5.56	β-D-甘露糖	153	5.00
	α-L-鼠李糖	164	5.92	β-L-鼠李糖	153	4.87

(二) 苷化位移(glycosylation shift, GS)[54]

糖与苷元成苷后,苷元的α-C、β-C和糖的端基碳的化学位移值均发生了改变,这种改变称为苷化位移(glycosylation shift, GS),苷化位移值与苷元的结构有关,与糖的种类关系不大。苷化

位移在推测糖与苷元、糖与糖的连接位置、某些苷元被苷化碳的绝对构型和碳氢信号归属上具有重要的作用。糖与糖通过苷键相连虽然并不称为苷，但在解决它们相互之间的连接位置时，苷化位移仍然实用。

1. 伯醇苷　糖与伯醇成苷后，苷与苷元相比 α-C 向低场位移约 8 个化学位移单位（增大），β-C 向高场位移约 4 个化学位移单位（减小）；苷与该糖的甲苷相比，端基碳（C-1′）向高场位移约 1～2 个化学位移单位（减小）。

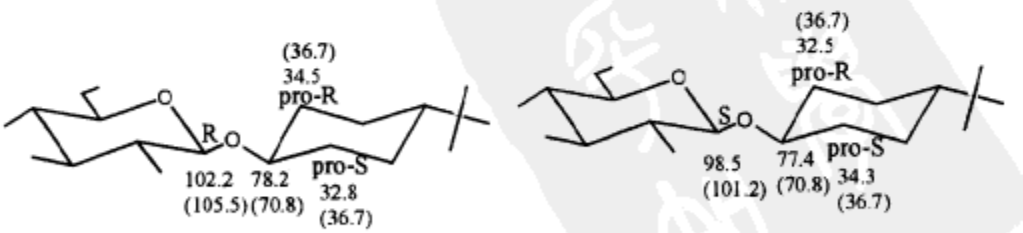


（括号中数值为苷元或糖的甲苷的化学位移值）

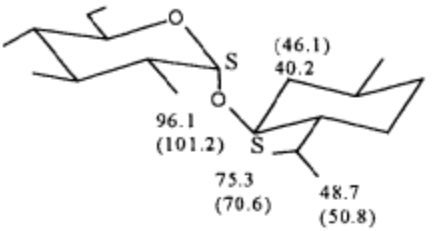
2. 环醇苷

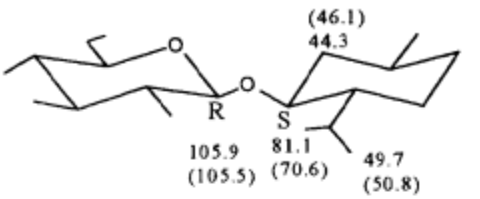
（1）两个 β-C 均为仲碳的苷：在一个对称碳上增加一个取代基后，该碳就变成了非对称碳，这样的碳称为前手性碳（prochiral carbon）或潜非对称碳。前手性碳又有 pro-S 和 pro-R 之分。对于环醇类化合物，在 e 键上增加一个基团，并将该基团的优先序列定为第三，按 R、S 命名规则进行命名，当为 R 构型时则称该碳为 pro-R 碳，反之则称 pro-S 碳。当氢原子在面下时，顺时针旋转为 R，逆时针旋转为 S，当氢原子在面上时则与之相反[56]。

糖与两个 β-C 均为仲碳的仲醇成苷后，苷与苷元相比 α-C 向低场位移约 7 个化学位移单位，糖与该糖的甲苷相比，糖的端基碳向高场位移约 1～4 个化学位移单位。其 β-C 的苷化位移与糖端基碳的构型有关，当糖端基碳的构型为 R 时，pro-S 碳和 pro-R 碳分别向高场位移约 4 和 2 个化学位移单位；当其构型为 S 时则与之相反。



（2）一个 β-C 为仲碳，另一个 β-C 为叔碳或季碳的苷：当苷元碳的绝对构型与糖端基碳的绝对构型相同时，α-C 向低场位移约 5 个化学位移单位，β-C 的苷化位移见表 2-3，糖的端基碳向高场位移约 4 个化学位移单位；当苷元碳和糖的端基碳的绝对构型不同时，α-C 向低场位移约 10 个化学位移单位，β-C 和糖端基碳的苷化位移见表 2-3。





3. 叔醇苷　糖与叔醇成苷后其 α-C 向低场位移约 7 个化学位移单位，β-C 向高场位移约 3 个化学位移单位，糖的端基碳向高场位移约 7 个化学位移单位。

4. 酯苷和酚苷　酯苷和酚苷的苷化位移比较特殊，其 α-C 通常向高场位移（酚苷详见黄酮类一章）。

苷化位移的数据较多，记起来较麻烦，只要记住同五异十其余七和同小异大两句话就可解决大部分问题。同五异十其余七的含意是当苷元和端基碳的绝对构型相同时，α-C 向低场位移约 5 个化学位移单位，不同时则位移约 10 个化学位移单位（当然仅限于两个 β-C 取代不同的环醇苷），其余的苷则位移约 7 个化学位移单位。同小异大的含意是当苷元 β-C 的前手性和端基碳的绝对构型相同时，β-C 向高场位移约 2 个化学位移单位，不同时则为约 4 个化学位移单位（当然仅限于两个 β-C 为前手性碳的环醇苷）。β-D 和 α-L 型糖的端基碳的绝对构型为 R 型，α-D 和 β-L 型糖端基碳的绝对构型则为 S 型（按糖的甲苷命名）。

表 2-3　苷化位移规律

苷元			C-1′	Cα	Cβ
伯醇			−1.2	8	−4
环醇	Cβ 均为仲碳	C-1′(R)	(−1)~(−4)	7.0	pro-S −4，pro-R −2
		C-1′(S)	(−1)~(−4)	7.0	pro-S −2，pro-R −4
	一个 Cβ 为仲碳，另一个为叔碳或季碳	C-1′和 Cα 构型相同	−4	5	仲碳 −5
					叔碳 −2
					季碳 −0.5
		C-1′和 Cα 构型相同	0±1.5	10	仲碳 −2
					叔碳 −1
					季碳 ±0.5
叔醇			−7	7	−3

用苷化位移确定糖与糖之间的连接位置，关键是首先要将糖中碳的信号正确归属，糖中碳的信号归属一旦出现错误，则糖与糖连接位置的准确性就会出现问题。在被苷化的糖中，通常 α-C 的位移较大，β-C 稍有影响，其它碳则影响不大。对于双糖苷在确定了苷中糖的基础上，可参考该糖甲苷的化学位移值归属末端糖中碳的信号，然后再根据内侧糖甲苷的化学位移值归属内侧糖的碳信号，最后根据苷化位移规律确定糖与糖的连接位置。对于叁糖以上的苷，糖中碳信号的

归属往往较困难，需要借助2D-NMR才能正确归属。

第六节　糖链的结构测定

多糖是生物高分子化合物，像蛋白质一样也具有一、二、三、四级结构，多糖的生物活性不仅与其分子量（通常中等的较好）、溶解度、粘度以及糖链的结构等一级结构有关，而且与其二、三级结构也有很大的关系。由于单糖的种类比氨基酸多，连接的位置也多，而且还有端基碳的构型等问题，故聚糖的糖链比蛋白质要复杂的多，如三个相同的氨基酸只能构成一种形式的三肽，而三个糖则能构成176个异构体，所以具有分支结构的多糖在一级结构测定方面比蛋白质要复杂的多。糖和苷的共性是糖链，在含有低聚糖的苷中，糖链的测定占主要的地位，苷元的组成种类繁多，结构各异，苷元的结构测定方法将会在以后章节中逐一介绍，故本节将重点介绍糖链的测定方法。糖链的测定主要包括单糖的组成、糖的氧环、糖与糖的连接位置和顺序、苷键的构型等。

一、糖链结构的测定

（一）纯度测定

多糖是高分子化合物，其纯度不能用小分子化合物的标准判断，即使是一种多糖纯品，其微观也并不均一。通常所说的多糖纯品实质上是一定分子量范围的均一组分。它的纯度只代表相似链长的平均分布。目前多糖纯度常用的测定方法有：

1. 超离心法　由于微粒在离心力场中移动的速度与微粒的密度、大小和形状有关，故当将多糖溶液进行密度梯度超离心时，如果是组分均一的多糖，则应呈现单峰。具体的做法是将多糖样品用0.1mol NaCl或0.1mol Tris盐缓冲溶液配制成1%～5%的溶液，然后进行密度超离心，待转速达到恒定后（通常是60000r/min），采用间隔照明的方法检测其是否为单峰。

2. 高压电泳法　由于中性多糖导电性差、分子量大、在电场中的移动速度慢，故常将其制成硼酸络合物进行高压电泳。多糖的组成不同、分子量不同，其与硼酸形成的络合物就不同，在电场作用下的相对迁移率也会不同，故可用高压电泳的方法测定多糖的纯度。通常高压电泳所用的支持体是玻璃纤维纸、纯丝绸布、聚丙酰胺凝胶、纤维素醋酸酯薄膜等。缓冲液是pH 9.3～12的0.03～0.1mol的硼砂溶液，电压强度约为30～50V/cm，时间是30～120min。由于电泳时会产生大量的热，所以要有冷却系统，将温度维持在0℃左右，否则会烧掉支持体。一般单糖、低聚糖因醛基而发生的颜色反应在多糖上不明显，电泳后常用的显色剂是p-茴香胺硫酸溶液（p-anisidine）和过碘酸希夫试剂等。

3. 凝胶柱色谱法　常用的凝胶为Sephadex、Sepharose和Sephacryl，展开剂为0.02～0.2mol NaCl溶液或0.04mol吡啶与0.02mol醋酸1:1的缓冲溶液，柱高与柱直径之比大于40。

4. 旋光测定法　在多糖水溶液中加入乙醇使其浓度为10%左右，离心得沉淀。上清液再加入乙醇使其浓度为20%～25%，离心所得二次沉淀，比较二次沉淀的比旋度。如果比旋度相同则为纯品，否则则为混合物。

5. 其它方法　官能团摩尔比恒定法，即如为纯品两次分离所得产物的官能团如—COOH、—NH_2、—SO_3H、—CHO等摩尔比应该恒定；类似的方法还有示差折射法、HPLC法等[57]。

通常要确定一种多糖的均一性,至少要有两种以上方法才能确定。

(二) 分子量测定

单糖、低聚糖及其苷的分子量测定目前大都采用质谱法。由于电子轰击质谱(EIMS)对于那些对热不稳定,易分解,不易气化,极性较大的化合物不能得到分子离子峰,故早期使用电子轰击质谱时常将单糖、低聚糖及其苷制成乙酰化、甲基化或三甲基硅醚化衍生物。现在对于这一类化合物分子量的测定已不用制成衍生物了,常用的质谱有场解析质谱[58](field desorption ionization, FDMS)、场致电离质谱(field ionization, FIMS)、快原子轰击质谱(fast atom bombardment, FABMS)、液体二次离子质谱(liquid secondary ion, LSIMS)、电喷雾质谱(electrospray ionization, ESIMS)等。电喷雾质谱不仅能测定小分子化合物的分子量,而且也可测定多糖、蛋白质等高分子化合物的分子量,近年来发展起来的基质辅助激光解析电离质谱或基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrixasisted laser desorption ionization/time of flight, MALDIMS 或 MALDI-TOF-MS)更是主要用于蛋白质、多糖等高分子化合物的分子量测定,为这些高分子化合物分子量的测定带来了极大的方便。多糖的分子量可以从几万到几百万,而且虽经提纯,实际上仍为大小分子不同的混合物,所测得的分子量只是一种统计平均值。测定高分子化合物分子量的许多物理方法如沉降法、光散射法、粘度法、渗透压法、超滤过法、超离心法等也适用于多糖,而且过去多糖的分子量大多是用这些方法测定的。在不同型号的 Sephadex 或 Sepharose 柱色谱上测定多糖分子量是一个用量小、操作较简便的方法(当然无法与质谱法相比)。工作中需要一系列结构相似的已知分子量的多糖作标准曲线,而且每次缓冲液及流速均需一致,否则会产生较大的误差。

用化学方法测定多糖末端,再推算出数均分子量也是常用的。末端分析较好的方法是甲基化法和过碘酸氧化法。如纤维素为直链分子,全甲基化后再水解,水解物中只有非还原端,可得四甲基化的葡萄糖,测定该产物在水解物中的比例就可求得平均链长。

(三) 单糖的鉴定

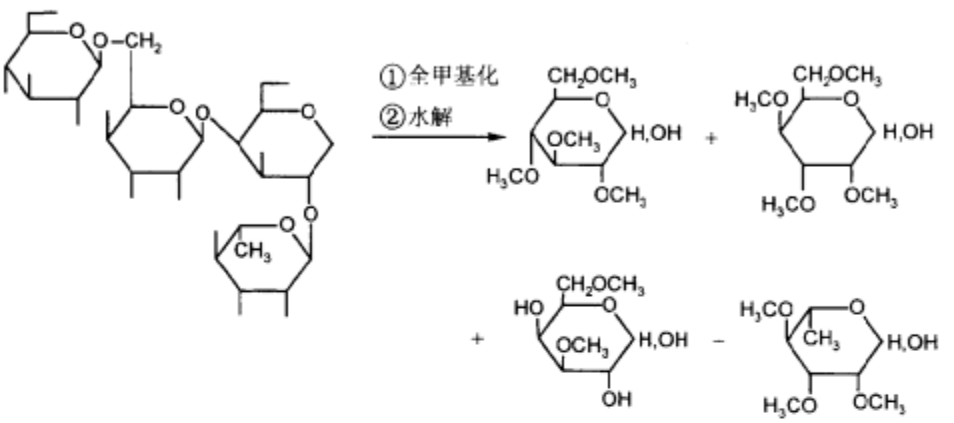
无论是多糖、低聚糖还是苷,在糖链测定之前都要首先了解它含有哪些单糖,各单糖之间的比例是多少。一般是将其苷键全部水解,然后再用纸色谱或薄层色谱的方法检出糖的种类,经显色后用薄层扫描的方法测定出各糖之间的分子比。当然也可采用气相色谱或 HPLC 的方法对各单糖进行定性定量分析。多糖用甲醇解方法把半缩醛甲基化,形成甲基糖苷后再三甲基硅醚化,可使 α、β 异构体减少,有利于分辨。气相色谱常以甘露醇或肌醇为内标,以已知的各种单糖做对照品。

(四) 糖连接位置的测定

糖连接位置的测定多是采用甲基化法完成的(简单的低聚糖及其苷可通过谱学方法直接完成糖的连接位置和连接顺序),即将被测物全甲基化,然后水解所有的苷键,用气相色谱的方法对水解产物进行定性定量分析。获知被测物中含有的糖的类型、甲基化的位置及相互之间的分子比等。通常具有游离羟基的部位即是糖的连接位点,全甲基化的单糖即是末端糖(含分支末端糖)。通过各甲基化物相互之间的比例,还可推测出糖链重复单位中各种单糖的数目。该法虽然可以获知哪些糖是末端糖、糖的连接位点是哪些、重复单位有哪些糖,但仍然无法获知糖的连接顺序,且在进行气相色谱分析时需要各种单糖的对照品。

对于全甲基化的多糖,通常是先用 90% 甲酸全水解,然后用 0.05mol/L H_2SO_4 或三氟乙

酸水解。水解条件要尽可能温和，否则会发生去甲基化反应和降解反应，导致得出错误的结论。采用甲醇解的方法虽然可获知糖的氧环大小、苷键构型及减少 α、β 异构体有利于气相色谱的分析，但因甲醇解有可能会造成糖连接位点的甲基化，故通常不用。Smith 裂解法也是分析糖连接位点的一个方法，只是分析碎片的工作比较繁杂，故较少应用。



^{1}HNMR 在解决糖的连接位点中具有重要的作用，将低聚糖及其苷乙酰化后，其 CHOAc 中 CH 质子的化学位移位于 δ4.75～5.4，CH_2OAc、CH_2OR 或 CHOR 中的 CH_2 或 CH 质子的化学位移位于 δ3.0～4.3，端基质子的化学位移位于两个区域之间，通过 2D-NMR 不难确定哪些是 CH_2OAc 中 CH_2 的质子，哪些是 CHOR 和 CH_2OR 中 CH 或 CH_2 中的质子。根据 CHOR 和 CH_2OR 的种类就不难判断出糖连接位点的情况。

通过苷化位移，不仅能推断出糖的连接位点，而且还能推断出糖的连接顺序，进而确定糖链的结构，但该法只适用于那些双糖及特殊的低聚糖或多糖（如均为 1，3、1，2、1，4 等连接的同种低聚糖或多糖），对于叁糖以上的糖则需通过其它方法如分步分解等才能确定糖链的结构（详见苷化位移部分）。

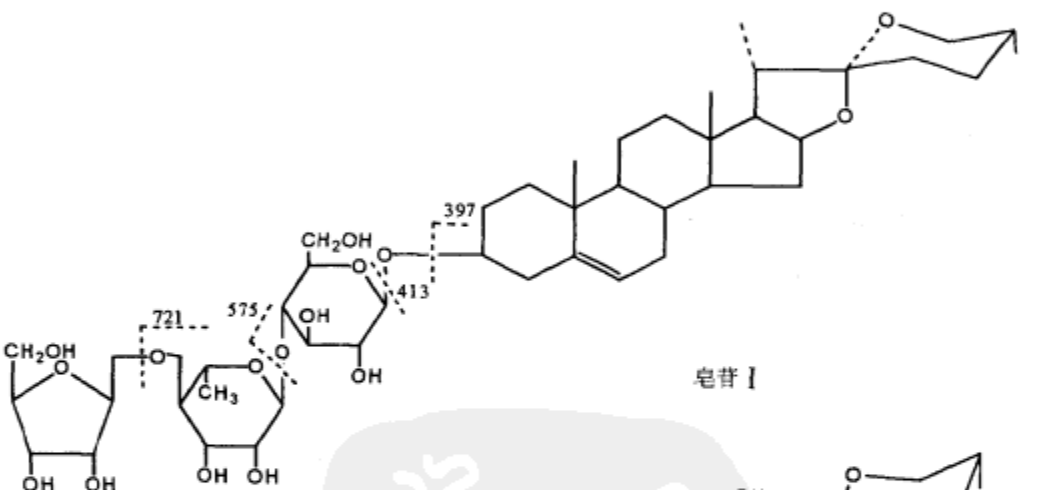
（五） 糖链连接顺序的确定

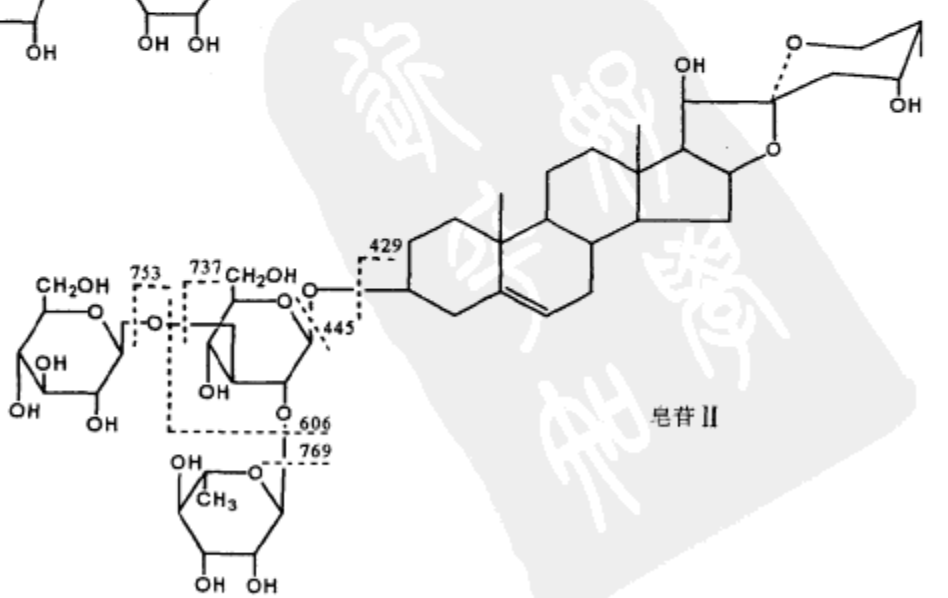
早期解决糖链连接顺序的方法主要是部分水解法，即稀酸水解、甲醇解、乙酰解、碱水解等方法，将糖链水解成较小的片段（各种低聚糖），然后根据水解所得的低聚糖推断整个糖链的结构（包括糖的连接位点、连接顺序、苷键构型、氧环的大小等）。如在 -16℃用浓盐酸溶解木聚糖，在 0℃条件下水解，不同时间取水解液，分析不同时间水解液中糖的组成及结构，最后根据这些实验结果推测木聚糖的结构。为了防止在水解条件下可能发生的聚合，多糖的浓度要小于 5%。

弛豫时间是 ^{13}CNMR 中的一个重要参数，碳的化学环境不同则弛豫时间不同。通常外侧糖的自旋晶格弛豫时间 T_1 比内侧糖大，而同一糖上各碳的 T_1 时间则基本相同，可以根据这种性质推测哪些糖是外侧糖，哪些糖是内侧糖，也可以为各糖碳信号的归属提供有力的依据。

质谱分析是解决低聚糖及其苷中糖连接顺序的一个有力工具，在了解了糖的组成后，可根据质谱中的裂解规律和该化合物的裂解碎片推测低聚糖及其苷中糖链的连接顺序。如皂苷 I 经酸水解，测得其糖为 D-核糖、L-鼠李糖和 D-葡萄糖，且分子比为 1∶1∶1。在 FABMS 谱中主要碎片有

m/z:877(M^+ + Na),855(M^+ +1),721,575,413,397,其 m/z885 碎片经 FABMS-MS 分析,在碰撞活化解离谱(collision-activated dissociation,CAD)亦称碰撞诱导解离谱(collision-induced dissociation,CID)中主要碎片有 m/z 721,575,413,397。根据这些碎片即可推断该化合物的末端糖为木糖,中间连接的糖为鼠李糖,与苷元直接相连的是葡萄糖。再如皂苷Ⅱ经酸水解测知含有葡萄糖和鼠李糖,且分子比为2:1。在 FABMS 谱中主要碎片有 m/z:917(M^+ +1),899(M^+ +1 - H_2O),753,557,445,429,411(429 - H_2O)。在 m/z 917 碎片的 FABMS-MS 碰撞活化解离谱中主要碎片有 m/z: 917, 899, 769, 753, 735(M^+ - H_2O-葡萄糖基), 606,445,429。根据这些碎片即可推断鼠李糖和其中一个葡萄糖为末端糖,而且这两个末端糖是连在同一个葡萄糖上[59]。值得注意的是在用质谱解决糖的连接顺序时,低聚糖及其苷中的糖不能是同一类糖如六碳醛糖、五碳醛糖、甲基五碳糖等。如果所连的糖是同一类糖如葡萄糖、甘露糖、半乳糖等,因其所丢失的质量相等,故无法推断糖的连接顺序。





现在测定糖链结构最常用的方法是 NMR 和 2D-NMR 法。首先通过碳氢相关谱(C-H COSY)或 HMQC 谱确定出糖中各质子的化学位移值(活泼氢除外)和在谱中的准确位置以及区分出 CH_2 和 CH 质子,然后根据氢氢相关谱(H-H COSY)、NOESY 或相关 NOE(PSNOE)、HOHAHA(在同一自旋系统中即同一糖中的质子具有相关峰)等谱准确地归属出糖中各个位置上的质子,再根据碳氢相关谱或 HMBC 谱确定糖的连接位点和相互的连接关系。在运用 NMR 确定糖链结构中,往往是各种谱(含一维谱和二维谱)综合运用、相互印证、优势互补、综合分析才能得出正确的结论,其中最关键的是糖中各个碳和氢信号的正确归属(活泼氢除外)。一旦碳氢信号归属出现问题,则极可能导致整个糖链结构出现错误。

(六) 苷键构型及氧环的确定

苷键构型的确定方法有核磁共振法、酶解法、红外法、分子旋光差法(Klyne 法)等,其中目前最常用的是核磁共振法。酶解法和核磁共振法在前面已做了介绍,其它方法目前都不太常用,故不再介绍。如有兴趣可参考本书前几版的糖苷一章。

糖的氧环测定有 ^{13}CNMR 法、红外法、甲醇解法、Smith 降解法等,其中多数方法在前面已作了介绍,故不再重复。

二、糖链结构研究实例

(一) 皂角苷A 的结构测定[60]

皂角苷 A(saponarioside A)是从 *Saponaria officinalis* 中分离得到的一个九糖三萜皂苷,为无定形粉末。经 HRFABMS 负离子源测得其分子量为 1831.7649[M-H]$^-$,结合 ^{13}CNMR、DEPT 谱确定其分子式为 $C_{82}H_{128}O_{45}$。^{1}HNMR 谱中 δ:4.89(1H, d, J = 7.3Hz), 4.99(2H, d, J = 7.6Hz), 5.13(2H, d, J = 7.1Hz), 5.32(1H, d, J = 7.7Hz), 5.55(1H, d, J = 7.3Hz), 5.93(1H, d, J = 8.2Hz), 6.29(1H, s)和 ^{13}CNMR 谱中 δ: 94.4, 100.9, 103.8, 104.2, 104.9, 105.5, 105.8, 106.2, 106.9 共振峰说明有九个单糖。碱水解后获得一个三糖苷,说明 C_{28} 位连有一个六糖(酯苷),酸水解后经气相色谱分析,证明含有呋糖、半乳糖、木糖、鸡纳糖和鼠李糖,且相互间的分子比为 1:1:4:1:1,经薄层酸水解并与标准品相对照证明含有的另外一个糖为葡萄糖醛酸。酸水解后所得苷元经各种波谱数据对照证明该苷的苷元为皂树皂苷元(quillaic acid)。ESIMS-MS 谱中:m/z 1699(M^--H-132)提示五碳醛糖即木糖为末端糖,m/z 955 峰提示脱掉的是一个六碳糖,在 C_3 或 C_{16} 位上连接的是一个由葡萄糖醛酸、半乳糖和木糖组成的三糖。根据 ^{1}HNMR、^{13}CNMR、DEPT、^{1}H-^{1}HCOSY、^{13}C-^{1}HCOSY、NOESY、PSNOE、HOHAHA 等谱将糖上所有的碳氢信号(活泼氢除外)进行归属(见表 2-4)。由于其中的两个木糖(E 和 F)以及一个鸡纳糖(G)和另一个木糖(H)的端基氢信号重叠在一起,故这几个糖的自旋系统的确定需从其它碳上的氢开始。在呋糖中由于 H-4 和 H-5 的偶合常数很小,故从端基质子开始只有 3 个相关峰,但从甲基开始则可观测到另外的相关峰。通过二者配合,结合 NOESY 谱即可归属呋糖的碳氢信号。最后通过 HMBC 谱确定了糖与糖、糖与苷元的连接关系以及乙酰基的连接关系。根据 C_1-H_1 偶合常数、端基质子与 C_2-H 的偶合常数、端基碳的化学位移确定了苷键构型,根据糖中碳的化学位移确定了所有的糖均为吡喃型糖。

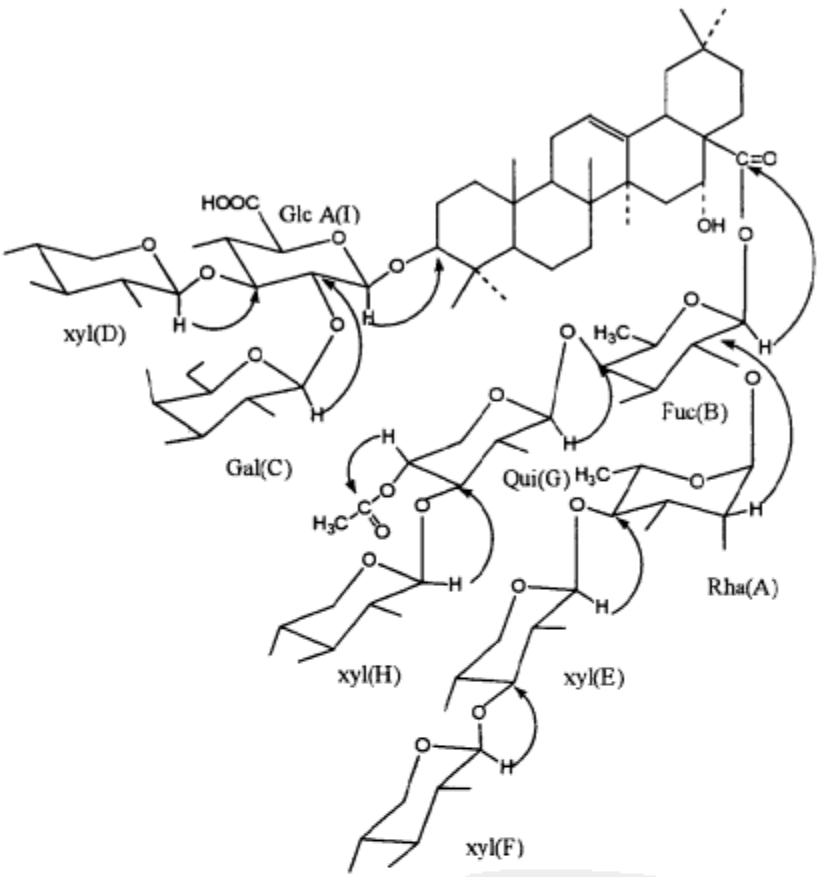


表 2-4 saponarioside A 的碳氢光谱数据

3-O-Glc A(I)	C	H	28-O-Fuc(B)	C	H
1	103.8(156)	4.89(7.3)	1	94.4(167)	5.93(8.2)
2	78.4	4.32	2	73.9	4.50
3	86.1	4.25	3	76.6	4.17
4	71.4	4.42	4	83.3	3.95
5	77.3	4.47	5	71.4	3.91
6	172.0		6	17.0	1.48(6.4)
Gal(C)	**C**	**H**	**Ghan(A)**	**C**	**H**
1	104.2(163)	5.55(7.6)	1	100.9(171)	6.29
2	73.7	4.46	2	71.7	4.68
3	75.4	4.14	3	72.4	4.60
4	70.2	4.55	4	83.7	4.32
5	76.7	3.93	5	68.3	4.35
6	61.7	4.36,4.51	6	18.5	1.53(5.8)

续表

Xyl(D)	C	H	Xyl(E)	C	H
1	104.9(152)	5.32(7.7)	1	106.2(150)	5.13(7.1)
2	75.2	3.95	2	75.3	3.94
3	78.5	4.10	3	87.2	3.97
4	70.7	4.10	4	68.9	3.98
5	67.3	3.64,4.24	5	66.8	3.40,4.13
Xyl(F)	**C**	**H**	**Xyl(H)**	**C**	**H**
1	105.8(156)	5.13(7.1)	1	106.9(151)	4.99(7.6)
2	75.1	4.02	2	75.7	3.91
3	78.1	4.09	3	78.3	4.12
4	70.8	4.14	4	70.9	4.12
5	67.3	3.63,4.24	5	67.5	3.65,4.28
Qui(G)	**C**	**H**			
1	105.5(162)	4.99(7.6)			
2	75.0	3.99			
3	84.7	4.08			
4	74.2	5.08			
5	70.4	3.66			
6	17.8	1.26(6.1)			

注:( )内为偶合常数

（二）人参果胶的结构研究[61]

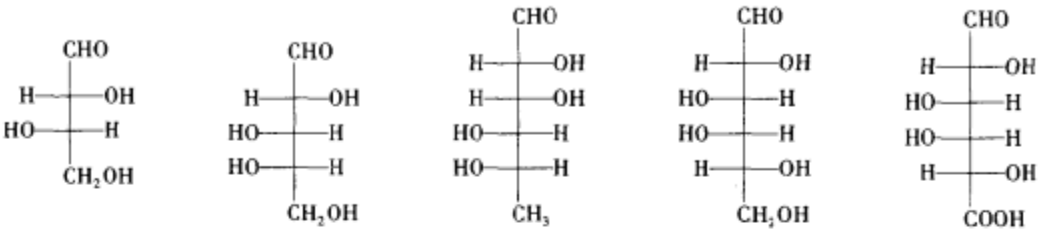
人参(*Panax ginseng*)为五加科植物人参的根,可大补元气、固脱生津、安神、治劳伤虚损及一切气血津液不足之症,其中的多糖具有增强免疫、抗肿瘤、抗辐射等多方面的生物活性。人参多糖由人参淀粉和人参果胶两部分组成,脱去淀粉后的人参果胶经分离纯化获得 SA 和 SB 两种酸性杂多糖。现以人参多糖 SA-1 结构研究为例,说明各类实验方法在多糖结构研究中的综合应用情况。

SA-1 用盐酸-甲醇进行甲醇解,甲醇解产物用六甲基二硅胺烷和三甲基氯硅烷混合液进行三甲基硅烷衍生化,经气相色谱分析,SA-1 含有半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖,其摩尔比为 1.7:3.7:1.8:1。

SA-1 用 0.1mol/L 过碘酸钠进行氧化,用紫外分光光度法监测过碘酸的消耗量,120 小时后过碘酸消耗量达到一稳定值,平均每摩尔糖基(以半乳糖基计)消耗 0.73mol 过碘酸,说明 SA-1 为一个多分支结构的多糖。

SA-1 经 Smith 降解,降解产物经 KBH_4 还原、甲醇解和三甲基硅烷衍生化后经气相色谱分析,检出甘油、赤藓糖(似为苏力糖)、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖及微量半乳糖醛酸,其中甘油为

34%，半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖的摩尔比为6.2:1:1。说明阿拉伯糖、鼠李糖和半乳糖醛酸的相对降解比例较大。



用碳化亚胺(C. M. C)将SA-1的羧基酯化，再用KBH_4还原，还原产物经hakomori法和purdie法全甲基化得羧基被还原的全甲基化物，然后经甲酸水解，KBH_4还原，醋酐-吡啶乙酰化，乙酰化物经气相色谱分析，结果见表2-5。

表2-5 甲基化单糖衍生物的GC分析

甲基化的糖	摩尔比	相对保留值						
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	均值	文献值
2,3,5-Ara	0.2	0.47	0.46	0.44	0.45	0.44	0.45	0.43
2,4-Rha	0.2	0.93	0.92	0.91	0.93	0.92	0.91	0.94
2,3-Ara	1.0	1.09	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07
2,3,4,6-Gal	1.0	1.18	1.18	1.16	1.17	1.17	1.17	1.19
3-Rha	3.0	1.67	1.69	1.64	1.67	1.67	1.67	1.67
2-Ara	3.1	1.82	1.85	1.79	1.82	1.82	1.82	—
2,4,6-Gal	6.0	2.02	2.07	2.10	2.02	2.03	2.03	2.03
2,3,6-Gal	8.0	2.16	2.23	2.23	2.17	2.19	2.21	2.22
2,3,4-Gal	6.0	2.83	2.91	2.79	2.84	2.85	2.84	2.88
2,6-Gal	2.1	3.17	3.18	3.14	3.11	3.10	3.14	3.14
2,3-Gal	12.9	4.95	5.13	4.95	5.02	5.07	5.03	5.10

2,3,5-Ara为2,3,5-三-O-甲基阿拉伯糖醇，其余同。

羧基被还原的各种甲基化单糖衍生物再经质谱进一步确证，其结果与气相色谱一致(见表2-6)。各种单糖甲基化衍生物的基峰均为43(CH_3CO^+)，依据衍生物受到电子轰击时分子裂解的规律(被甲基化、乙酰化的单糖分子中，带有甲氧基的碳原子容易与相邻碳原子间发生开裂形成正离子)，其1,5-二乙酰基，2，3，4，6-四-O-甲基半乳糖醇的主要离子碎片裂解机理(m/z 45，117，161，205)如图所示。

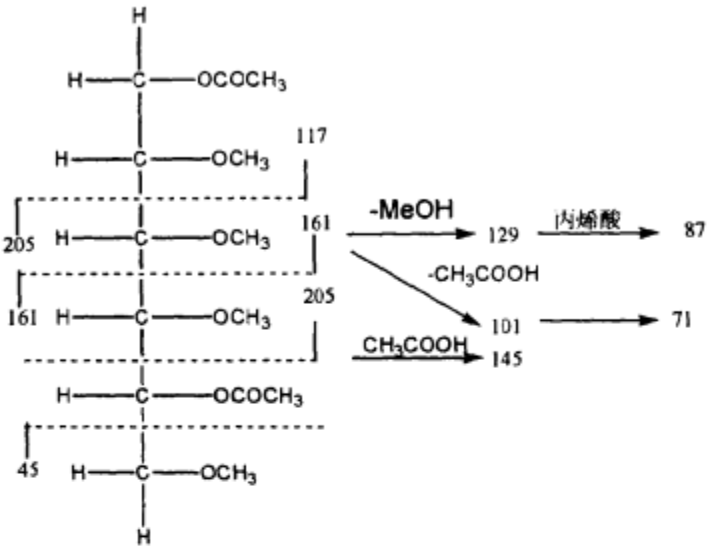


表 2-6 甲基化单糖衍生物的质谱分析

甲基化的糖	主 要 碎 片	连接点
2,3,5-Ara	43,45,71,87,101,117,129,161	1-
2,4-Rha	43,117,131,189	1,3-
2,3,4,6-Gal	43,45,71,87,101,117,129,145,161,205	1-
2,3-Ara	43,87,101,117,129,189	1,5-
3-Rha	43,87,101,129,143,189,203	1,2,4-
2-Ara	43,117,159,201,261	1,3,5-
2,4,6-Gal	43,45,87,101,117,129,161	1,3-
2,3,6-Gal	43,45,87,99,101,113,117,233	1,4-
2,3,4-Gal	43,87,99,101,117,129,161,189	1,6-
2,6-Gal	43,45,87,117,129	1,3,4-
2,4-Gal	43,87,117,129,189	1,3,6-

SA-1 用 Hakomorri 法和 Purdie 法全甲基化，然后经 $LiAlH_4$ 还原、酸水解、乙酰化处理等，获得的各种单糖甲基化衍生物进行气相色谱分析和质谱分析，其结果与前述的羧基被还原和各种单糖甲基化衍生物比较发现 2,3,4,6-四甲基半乳糖基消失，代之为 2,3,4-三甲基半乳糖含量增加；2,3,6-三甲基半乳糖基消失，代之以 2,3-二甲基半乳糖出现；说明半乳糖醛酸基以 1,4-苷键连接，一部分半乳糖醛酸位于分子非还原末端（先甲基化，然后再还原、水解，故糖醛酸上的羧基变为醇羟基）。

2,4,6-三甲基半乳糖和 2,4-二甲基半乳糖的存在，说明半乳糖以 1→3 相连，并有部分糖基 C_6 位有分支结构。SA-1 经部分酸水解及 Smith 降解获得了不被降解的 β-D-半乳聚糖片段，说明 β1→3 连接的 β-D-半乳聚糖构成了 SA-1 的主体结构。平均每三个半乳糖基带有两条侧链，说明

该多糖为多分支结构。2,3,4-三甲基半乳糖的存在,说明半乳糖基尚存在1→6连接键。

控制的部分酸水解可使SA-1分子中阿拉伯糖基与鼠李糖基大部分脱落,获得以半乳糖和半乳糖醛酸为主的多糖,说明阿拉伯糖与鼠李糖基可能位于分子的边缘和末端部位。2,3,5-三甲基阿拉伯糖的存在,说明末端存在阿拉伯糖基。2,3-二甲基阿拉伯糖和2-甲基阿拉伯糖的存在说明阿拉伯糖基以1→5苷键相连,而且部分阿拉伯糖基还带有侧链,分支点在C_3位。因为1→3,5苷键连接的阿拉伯糖基不被过碘酸氧化,故在Smith降解实验中做为产物被检出。

2,4-二甲基鼠李糖及3-甲基鼠李糖的检出说明鼠李糖基以1→3苷键相连,另有部分鼠李糖基则以1→4苷键相连,而且C_2位还带有侧链结构。以1→2,4苷键连接的鼠李糖基亦不被过碘酸破坏,作为Smith降解产物被检出。

在SA-1各种单糖甲基化衍生物中没有末端鼠李糖基衍生物—2,3,4-三甲基鼠李糖被检出,而且阿拉伯糖、鼠李糖基的甲基化衍生物在SA-1各种单糖甲基化衍生物中所占比例明显偏低(分别为8.2%和6.2%),而在SA-1的组分分析中这两种糖基的含量分别为22%和12%,这可能由于阿拉伯糖和鼠李糖末端基的甲基化衍生物沸点低,在制备各种单糖甲基化衍生物时(主要是在蒸发过程)这两种糖基的甲基化物被损失。

综上所述,SA-1分子的主体结构由β(1→3)-D-半乳糖基构成,平均每三个半乳糖基就带有两条侧链,其分支点在C_6位。另有部分半乳糖基以1→6苷键相连。分子侧链由半乳糖醛酸基、阿拉伯糖基、鼠李糖基组成。半乳糖醛酸基以1→4苷键连接,尚有部分半乳糖醛酸构成分子的末端基。阿拉伯糖基以1→5苷键相连,部分糖基C_3位有侧链。鼠李糖基或以1→3苷键相连,或以1→4苷键相连,同时C_2位上尚可能带有侧链。人参果胶SA-1是一种具有多分支、结构复杂的酸性多糖。

第七节 糖及苷的提取分离

一、提 取

单糖为多羟基衍生物,易溶于水,难溶于低极性有机溶剂。低聚糖与单糖的物理性质类似。苷类化合物随着分子中糖基的增多极性增大,极性低的苷元如萜醇、甾醇等单糖苷往往可溶于低极性有机溶剂,随着糖基的增多,苷元所占比例相应变小,亲水性随之增加。

通常提取单糖、低聚糖及苷类化合物常用水或稀醇、醇作为提取溶剂,回收溶剂后依次用不同极性有机溶剂进行萃取,在石油醚提取物中往往是极性小的化合物,在氯仿、乙醚提取物中为苷元,在乙酸乙酯提取物中可获得单糖苷,在正丁醇提取物中则可获得低聚糖苷。由于植物体内有水解酶共存,为了获得原生苷,必须采用适当的方法杀酶或抑制酶的活性。如采集新鲜材料,迅速加热干燥、冷冻保存、用沸水或醇提取、先用碳酸钙拌和后再用沸水提取等。

多糖随着聚合度的增加,性质和单糖相差越来越大,一般为非晶形,无甜味,难溶于冷水,或溶于热水成胶体溶液。粘液质、树胶、木聚糖、菊糖、肝糖原等可溶于热水而不溶于乙醇。酸性多糖、半纤维素可溶于稀碱,碱性多糖(如含有氨基的多糖)可溶于稀酸,而纤维素类则在各种溶剂中均不溶。

提取多糖常用的溶剂是冷水、热水、热或冷的0.1mol/L~1mol/L NaOH或KOH,热或冷的1%

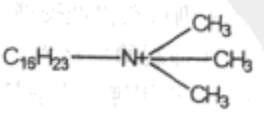
HAc 或苯酚等。通常是先用甲醇或 1:1 的乙醇、乙醚混合液脱脂，然后用水加热提取 2～3 次，每次 4～6 小时，最后再用 0.5mol/L NaOH 水溶液提取 2 次，将多糖分为水溶和碱溶两部分。提取液经浓缩后以等量或数倍量的甲醇或乙醇、丙酮等沉淀，所获的粗多糖经反复溶解与醇沉。从不同材料中提取多糖，究竟以何种溶剂提取为宜，需根据具体情况，先以小量样品摸索，观察提取效率，并应注意用不同溶剂提取有何特点，即可先用水、稀酸或稀碱、稀盐提取，也可分别先用水、稀酸、稀碱提取，方法不同所得产物往往不同。为防止糖的降解，用稀酸提取时时间宜短，温度最好不超过 5℃；用碱提取时，最好通入 N_2 气或加入硼氢化钾，提取结束后要迅速中和或透析除去碱。

采用醇沉或其它溶剂沉淀所获得的多糖，常混有较多的蛋白质，脱去蛋白质的方法有多种：如选择能使蛋白质沉淀而不使多糖沉淀的酚、三氯甲烷、鞣质等试剂来处理，但用酸性试剂宜短，温度宜低，以免多糖降解。①sevag 法：将氯仿按多糖水溶液 1/5 体积加入，然后加入氯仿体积 1/5 的丁醇，剧烈振摇 20min，离心，分去水层与溶液层交界处的变性蛋白。此法较温和，但需重复 5 次左右才能除去大部分蛋白。②酶解法：在样品溶液中加入蛋白质水解酶如胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、链霉蛋白酶等，使样品中的蛋白质降解。通常上述两个方法综合使用除蛋白质效果较好。③三氟三氯乙烷法：将 1 份三氟三氯乙烷加入到 1 份多糖溶液中搅拌 10 分钟，离心得水层，水层再用上述溶剂处理 2 次可得无蛋白多糖。④三氯醋酸法：在多糖水溶液中滴加 3% 三氯醋酸，直到不再继续浑浊为止，5～10℃放置过夜，离心除去胶状沉淀即可。某些多糖，因含有酸、碱性基团，易与蛋白质相互作用，虽不是糖蛋白，也较难去除。对碱稳定的糖蛋白，在硼氢化钾存在下，用稀碱温和处理可以把这种结合蛋白分开。

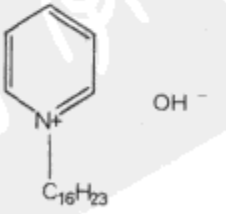
二、分　离

（一）季铵盐沉淀法[52]

季铵盐及其氢氧化物是一类乳化剂，可与酸性糖形成不溶性沉淀，常用于酸性多糖的分离。通常季铵盐及其氢氧化物并不与中性多糖产生沉淀，但当溶液的 pH 增高或加入硼砂缓冲液使糖的酸度增高时，也会与中性多糖形成沉淀。常用的季铵盐有十六烷基三甲胺的溴化物（CTAB）及其氢氧化物（cetyl trimethyl ammonium hydroxide，CTA-OH）和十六烷基吡啶（cetylpyridium hydroxide，CP-OH）。CTAB 或 CP-OH 的浓度一般为 1%～10%（W/V），在搅拌下滴加于 0.1%～1%（W/V）的多糖溶液中，酸性多糖可从中性多糖中沉淀出来，所以控制季铵盐的浓度也能分离各种不同的酸性多糖。值得注意的是酸性多糖混合物溶液的 pH 要小于 9，而且不能有硼砂存在，否则中性多糖将会被沉淀出来。



CAT-OH



CP-OH

（二）分解沉淀或分级溶解法

根据各种多糖在不同浓度的低级醇或丙酮中具有不同溶解度的性质，逐次按比例由小到大加入甲醇或乙醇或丙酮，收集不同浓度下析出的沉淀，经反复溶解与沉淀后，直到测得的物理常数恒定（最常用的是比旋光度测定或电泳检查）。这种方法适合于分离各种溶解度相差较大的多糖。为了多糖的稳定，常在 pH 7 进行，唯酸性多糖在 pH 7 时-COOH 是以-COO^- 离子形式存在的，需在 pH 2～4 进行分离，为了防止苷键水解，操作宜迅速。此外也可将多糖制成各种衍生物如甲醚化物、乙酰化物等，然后将多糖衍生物溶于醇中，最后加入乙醚等极性更小的溶剂进行分级沉淀分离。

（三）离子交换色谱[62]

根据糖类在纸色谱上具有很好分离效果这一事实，将纤维素改性，使离子交换和纤维素色谱结合起来制成一系列离子交换纤维素，用于多糖的分离效果良好。常用的阳离子交换纤维素有 CM-cellulose、P-cellulose、SE-cellulose，SM-cellulose；阴离子交换纤维素有 DEAE-cellulose、ECTEOLA-cellulose、PAB-cellulose 和 TEAE-cellulose 等。其中阳离子交换纤维素特别适用于分离酸性、中性多糖和粘多糖。交换剂对多糖的吸附力与多糖的结构有关，通常多糖分子中酸性基团增加则吸附力随之增加；对于线状分子，分子量大的较分子量小的易吸附；直链的较分枝的易吸附。在 pH 6 时酸性多糖可吸附于交换剂上，中性多糖则不能被吸附。当用硼砂将交换剂预处理后，则中性多糖也可以被吸附。分离酸性多糖所用的洗脱剂通常是 pH 相同离子强度不同的缓冲液，分离中性多糖的洗脱剂则多是不同浓度的硼砂溶液。

（四）纤维素柱色谱[62]

纤维素柱色谱对多糖的分离既有吸附色谱的性质，又具有分配色谱的性质，所用的洗脱剂是水和不同浓度乙醇的水溶液，流出柱的先后顺序通常是水溶性大的先出柱，水溶性差的最后出柱，与分级沉淀法正好相反。

（五）凝胶柱色谱

凝胶柱色谱可将多糖按分子大小和形状不同分离开来，常用的有葡聚糖凝胶（sephadex G）、琼脂糖凝胶（Sepharose Bio-gel A）、聚丙烯酰胺凝胶（Bio-gel P）等，常用的洗脱剂是各种浓度的盐溶液及缓冲液，但它们的离子强度最好不低于 0.02。出柱的顺序是大分子的先出柱，小分子的后出柱。由于糖分子与凝胶间的相互作用，洗脱液的体积与蛋白质的分离有很大差别。在多糖分离时，通常是用孔隙小的凝胶如 sephadex G-25、G-50 等先脱去多糖中的无机盐及小分子化合物，然后再用孔隙大的凝胶 sephadex G-200 等进行分离。凝胶柱色谱法不适合于粘多糖的分离。

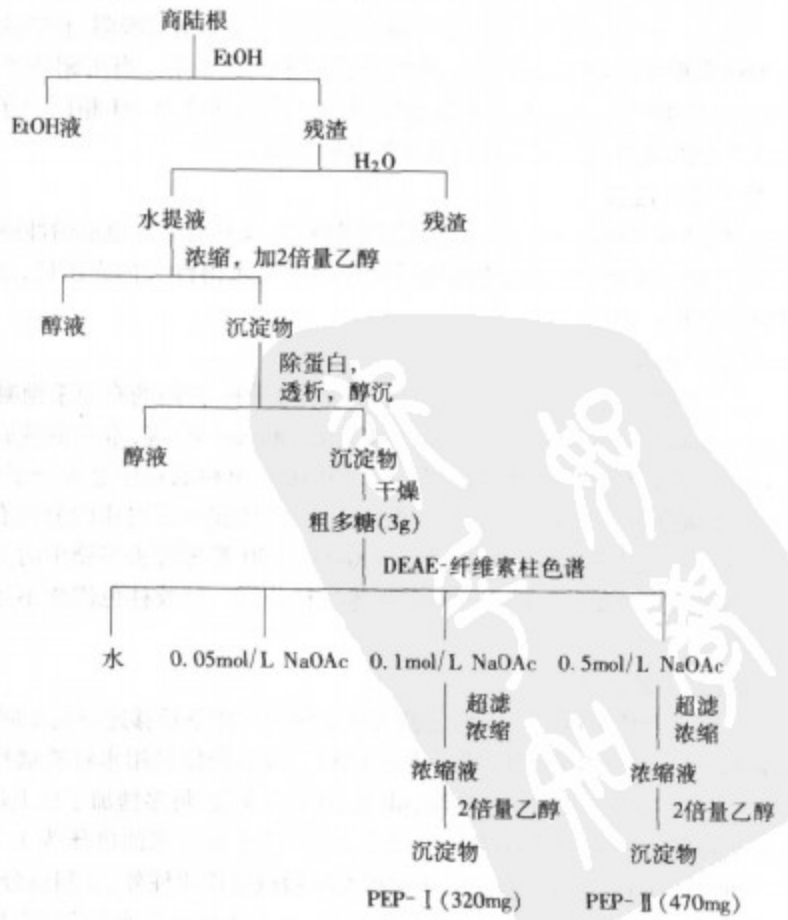
（六）制备性区域电泳

分子大小、形状及所负电荷不同的多糖其在电场的作用下迁移速率是不同的，故可用电泳的方法将不同的多糖分开，电泳常用的载体是玻璃粉。具体操作是用水将玻璃粉拌成胶状、装柱，用电泳缓冲液（如 0.05mol/L 硼砂水溶液，pH 9.3）平衡 3 天，将多糖加于柱上端，接通电源，上端为正极（多糖的电泳方向是向负极的），下端为负极，其单位厘米的电压为 1.2～2V，电流 30～35mA，电泳时间为 5～12 小时。电泳完毕后将玻璃粉载体推出柱外，分割后分别洗脱、检测。该方法分离效果较好，但只适合于实验室小规模使用，且电泳柱中必须有冷却夹层。

三、多糖的提取分离实例[63]

商陆是商陆科植物商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb)的干燥根,具有通便、泻水、散结、治水肿、胀满、脚气、喉痹、痈肿、恶疮等作用。其中的多糖具有明显的对小鼠脾淋巴细胞有直接促进增殖作用,在有丝分裂源 Con A 存在下,可对抗 Con A 促进脾淋巴细胞的增殖,抑制脾淋巴细胞的转化等。经过脱脂、水提、醇沉、柱色谱等方法从中分得二种酸性杂多糖 PEP-Ⅰ和 PEP-Ⅱ,其分子量分别为 9921 和 39749,其中 PEP-Ⅰ能显著增强巨噬细胞产生肿瘤坏死因子(TNF)和白细胞介素Ⅰ(IL-Ⅰ)。其具体分离过程如下:

取商陆,粉碎后用乙醇脱脂,脱脂后的商陆粉用水渗漉、浓缩。在浓缩液中加入 2 倍量乙醇,静置,滤取沉淀。将沉淀溶于水中,用 Saveg 法除去蛋白。水溶液用水透析除去无机盐及小分子化合物,加入 2 倍量乙醇沉淀,滤取沉淀物,依次用乙醇、无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,除去脂溶性成分和水分,干燥即得商陆粗多糖。取商陆粗多糖 3g,溶于 40ml 水中,用 DEAE-纤维素(醋酸型)柱色谱分离(4×19cm),依次用水,0.05mol/L、0.1mol/L和0.5mol/L醋酸钠水溶液洗脱,按每份20ml收



集。以苯酚-硫酸法比色检测，合并相同组分。0.1mol 醋酸钠水溶液洗脱物进行超滤，浓缩，在浓缩液中加入2倍量乙醇，滤取沉淀物，依次用无水乙醇、丙酮洗涤，P_2O_5 干燥，得 PEP-Ⅰ 320mg。0.5mol 醋酸钠水溶液洗脱物用上法处理得 PEP-Ⅱ 470mg。PEP-Ⅰ 和 PEP-Ⅱ 经醋酸纤维薄膜电泳和凝胶柱色谱检测均为单一组分。全水解后经薄层色谱和气相色谱检测，PEP-Ⅰ 和 PEP-Ⅱ 由半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖组成，其摩尔比分别为 1:0.18:0.32:0.16 和 1:0.07:0.12:0.15。

参考文献

[1] 姚新生. 天然药物化学(第三版). 北京：人民卫生出版社，2001.53～105
[2] 吴寿金、赵泰、秦永琪. 现代中草药成分化学. 北京：中国医药科技出版社，2002.1～41
[3] Boons, G. J. Carbohydate Chemistry. London: Blackie Academic & Professional ,1998
[4] 叶秀林. 立体化学. 北京：北京大学出版社，1999,12
[5] Angyal, S. J. Aust J Chem, 1968,21:2737
[6] 梅尺纯夫，有机合成化学协会志. 1996,24:85
[7] Bieleski, R. L. Encycl Plant Physiol New Ser. 1982,13A,158
[8] Angyal, S. J. J Chem Soc, 1952,686
[9] Satio H et al. Carbohydrate Research, 1977,58:293
[10] Satio H et al. Carbohydrate Research, 1979,74:227
[11] Sasuki T et al. Carbohydrate Research, 1976, 47:99
[12] 季宇彬等. 中成药研究，1988,5:26
[13] 杨桦等. 中国药理学报，1992,8(3):218
[14] 王淑如等. 中草药，1992,23(5):254
[15] 王丁刚等. 中国药科大学学报，1991,22(4):225
[16] 于鲁钢等. 中国药学杂志，1992,27(1):26
[17] Meuser F et al. Plant Polymeric carbohydrates,1993,1
[18] Lindberg. B pure and appl chem, 1962,5:67
[19] 李润秋等. 药学学报，1984,19:764
[20] 吴寿金、赵泰、秦永琪. 现代中草药成分化学. 北京：中国医药科技出版社，2002.32～36
[21] 陈惠黎等. 生物大分子的结构和功能. 上海：上海医科大学出版社，1999,368
[22] Montreuil. et al; Glycoproteins and Disease, Elsevier, Amsterdam,1996
[23] Witczak Z J and Nieforth K A, carbohydrates in Drug Design, Marcel dekker Inc. New York, 1997
[24] Sawabe A and Matsubara Y, Foods Ingredients J. JPN. 1996,169:37
[25] Riccio R, et al. Tetrahetron Letter, 1982,22:1157
[26] 方圣鼎. 化学学报，1982,40:273
[27] Kanwal K et al. Phytochemistry, 1985,24(12):3007
[28] Grun M et al. Pharmazie, 1979,34:669
[29] Bobbit J M. Adv carbohydr chem, 1956,11:1
[30] Perlin A S. Adv carbohydr chem, 1959,14:9
[31] Feather M S. Adv carbohydr chem. Biochem,1973,28:16
[32] 高田纯. 有机化学协会志，1976,34:466
[33] Sawamura R et al. Chem Pharm Bull, 1966,14:1054

[34] Hoermann H et al. Ann, 1968,714:174
[35] 百濑等. Chem Pharm Bull,1960,8:827
[36] 朱廷儒等, 中草药, 1983,14:339
[37] Geiss. J. Adv carbohydr Chem Biochem, 1981,30:71
[38] 刘景瑶、蒋丽金. 有机化学. 1984,428
[39] 朱大元等. 化学学报. 1983,41:74
[40] Tschesche R et al. Ann Chem,1964,680:107
[41] Rossenfeld L et al. carbohydra Res, 1974,32:287
[42] Kitagawa L et al. Chem Pharm Bul, 1976,24:266;1978,26:3723
[43] Ballon C E. Adv carbodr Chem,1954,9:59
[44] Aspinal G D. International Review of science, org chem. Series Two, Vol 7, carbohydrates,1967,206
[45] 方积年. 国外医学. 药学分册, 1981,4:222
[46] Shimada K et al. Planta Medica,1984,9
[47] Furukawa K et al. Saibo (cell in Japanese),1990,22:355
[48] 胡昌苛、周炳南. 药学学报. 1982,17:435
[49] Whistler R L. Methods in carbohydrate chemistry,1964, Vol 11,361
[50] Nagal M et al. Chem Pharm Bull,1972,20:1212
[51] 北川勋. 化学の领域(增刊),1980,125 号:45
[52] 郎惠英等, 药学学报, 1983,18:551
[53] Bock L et al. Adv carbohydr Chem Biochem 1983,4:27
[54] 田中治, 药学杂志(日). 1985,105:323
[55] Schols H A et al. carbodr Res, 1990,206:112
[56] 叶秀林. 立体化学. 北京:北京大学出版社, 1999,24
[57] Glassgen W E et al. J Chromato, 1992,589:81
[58] 陈耀祖、涂亚平. 有机质谱原理及应用. 北京:科学出版社, 2001,7~18
[59] 陈耀祖、涂亚平. 有机质谱原理及应用. 北京:科学出版社, 2001,177
[60] Jia Zhonghua. Koike K. Nikaido T. J Nat Prod,1998,61:1368
[61] 李润秋、张翼伸, 药学学报, 1986,21(12):912
[62] 方积年, 药学通报, 1984,19(10):47(623)
[63] 王著禄等, 第二军医大学学报, 1990,11(1):56

(裴月湖)

第三章
苯丙素类[1]

苯丙素类(phenylpropanoids)是一类含有一个或几个 C_6-C_3 单位的天然成分。这类成分有单

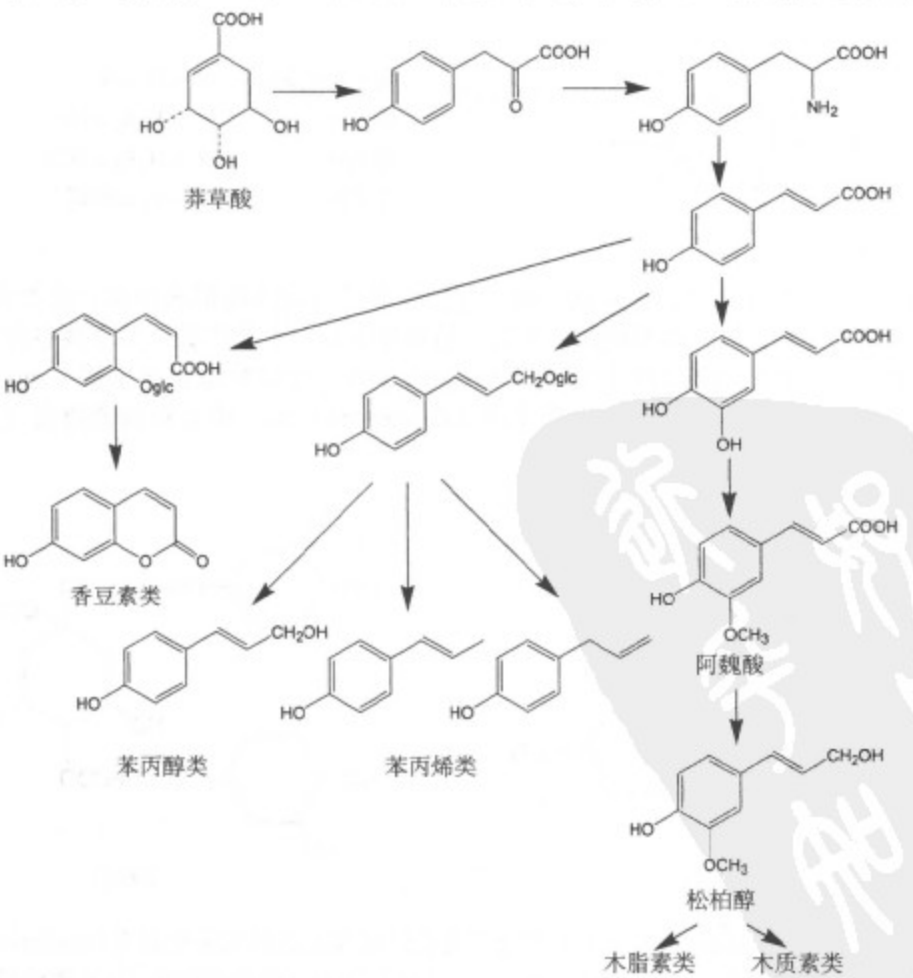
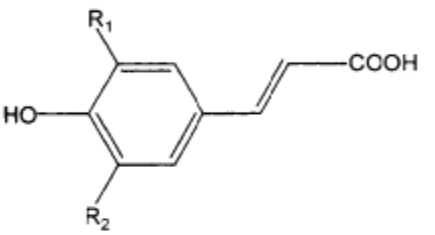


图 3-1　苯丙素类生源示意图

独存在的，也有以 2 个、3 个、4 个甚至多个单位聚合存在的，包括苯丙烯、苯丙醇、苯丙酸及其缩酯、香豆素、木脂素、黄酮和木质素等。从生合成途径来看，苯丙素类多数由莽草酸，通过苯丙氨酸和酪氨酸，再经脱氨、羟基化、偶合等反应形成最终产物。图 3-1 为苯丙素类化合物生物合成途径示意图。本章重点介绍苯丙酸类、香豆素类和木脂素类。

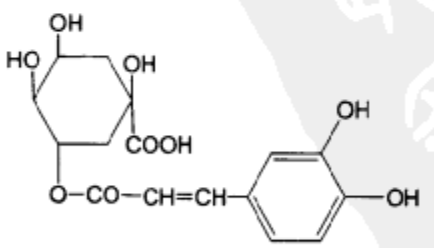
第一节 苯丙酸类

酚酸类成分在植物中广泛分布，其基本结构是酚羟基取代的芳香羧酸，其中不少属于具有 C_6-C_3 结构的苯丙酸类。植物中的苯丙酸类成分主要是桂皮酸的衍生物。由于羟基在苯环上的数目、排列方式和甲基化程度不同，以及 C_3 单位的饱和度和氧化状态不同，苯丙酸类的性质也有很大差别。常见的苯丙酸有对羟基桂皮酸（p-hydroxy cinnamic acid）、咖啡酸（caffeic acid）、阿魏酸（ferulic acid）和芥子酸（sinapic acid）等。

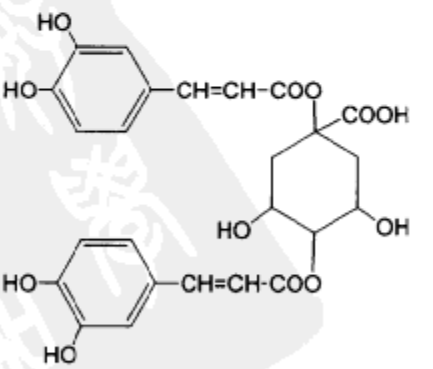


对羟基桂皮酸	$R_1=R_2=H$
咖啡酸	$R_1=H, R_2=OH$
阿魏酸	$R_1=H, R_2=OCH_3$
芥子酸	$R_1=R_2=OCH_3$

苯丙酸常与不同的醇、氨基酸、糖、有机酸等结合成酯的形式存在，这类成分不少都具有较强的生理活性。咖啡酸的衍生物在植物界中分布十分广泛，如许多中药（茵陈、苎麻、金银花等）中存在的绿原酸（chlorogenic acid）是咖啡酸和奎宁酸（quinic acid）的酯，是抗菌利胆的有效成分。而从菜蓟（*Cynara scolymus*）中分得的菜蓟素（cynarin）也是一种利胆保肝成分。

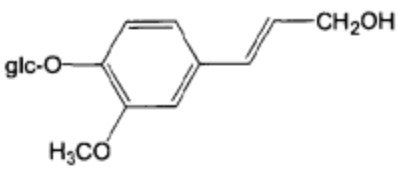


绿原酸

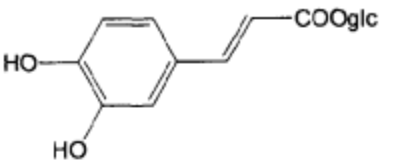


菜蓟素

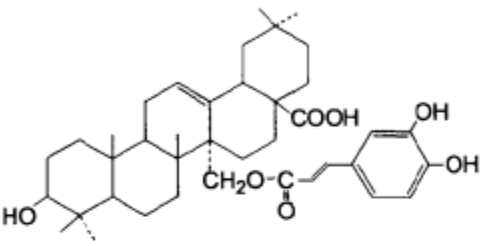
从日本蛇菰（*Balanophora japonica*）中分到的抗组胺释放活性成分松柏苷（coniferin）和咖啡酸葡萄糖酸苷[2]；从马尾树（*Rhoiptelen chilliantha*）中分得的三萜咖啡酸酯[3]；从粗糠树（*Ehretia mierophylla*）中得到的止泻成分 rosmarinic acid 等也都属于咖啡酸的衍生物[4]。



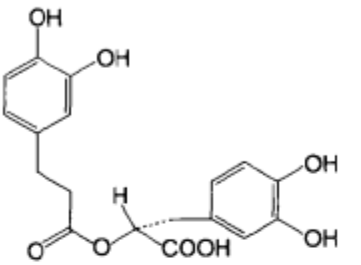
松柏苷



咖啡酸葡萄糖苷



3β, 27-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid caffeat



rosmarinic acid

植物中的苯丙酸类及其衍生物大多具有一定的水溶性，且常常与其它一些酚酸、鞣质、黄酮苷混在一起，分离有一定困难，一般要经纤维素、硅胶、大孔树脂或聚酰胺树脂等色谱法才能纯化。利用酚羟基性质，许多颜色反应可在薄层色谱和纸色谱上鉴别苯丙酸。常用的有：①1%～2% $FeCl_3$ 甲醇液。②Pauly 试剂：重氮化的磺胺酸。③Gepfner 试剂：1% 亚硝酸钠溶液与同体积 10% 醋酸混合，喷雾后在空气中干燥，再用 0.5mol/L 苛性碱甲醇液处理。④Millon 试剂：在紫外线下，这些化合物为无色或具有蓝色荧光，用氨水处理后呈蓝色或绿色荧光。

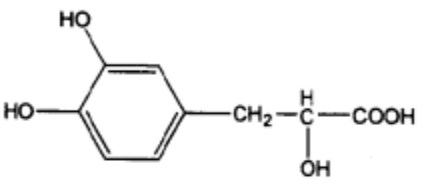
测定紫外光谱有利于苯丙酸类的鉴定。在中性溶液中，它的 UV 与其酯或苷相似，但加入醋酸钠后，谱带发生紫移，如加入乙醇钠，谱带则向红移。在碱性溶剂中，酚酸的光谱与它的酯的光谱有明显差别。

表 3-1 常见苯丙酸及其酯的紫外光谱

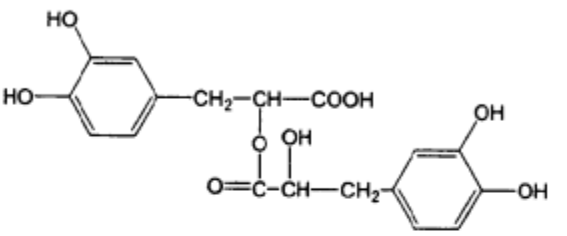
化合物	λ(MeOH,nm)	化合物	λ(MeOH,nm)
邻羟基桂皮酸	214,273,325	1-咖啡酰奎宁酸	245,327
间羟基桂皮酸	214,232,276,312sh	4-咖啡酰奎宁酸	246,328
对羟基桂皮酸	210,223,293sh,302sh,310	3-阿魏酰奎宁酸	325
咖啡酸	217,240,297sh,325	3-异阿魏酰奎宁酸	326
阿魏酸	217,233,298sh,320	1-阿魏酰葡萄糖	327,329
异阿魏酸	217,240,292,322	对羟基桂皮酰鼠李糖	229,312
绿原酸(3-咖啡酰奎宁酸)	240,325	1-咖啡酰葡萄糖	247,332
新绿原酸(5-咖啡酰奎宁酸)	245,328		

丹参(*Salvia miltiorrhiza*)为唇形科鼠尾草属植物,其根为常用中药。丹参的水溶性化学成分中主要含3,4-二羟基苯甲醛、丹参素甲、乙、丙等。药理实验证明这些成分具有耐缺氧、抗冠状动脉硬化、增加冠脉流量、抑制凝血和促进纤溶作用,是丹参治疗冠心病的有效成分[5]。

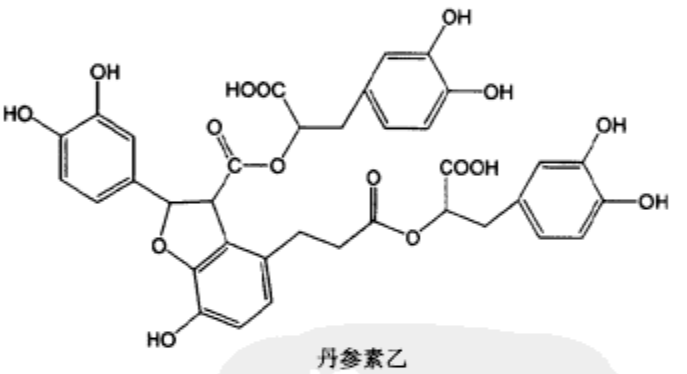
丹参素甲为D(+)β-(3,4-二羟基苯基)乳酸,属苯丙酸类,丹参素乙为丹参素甲的三聚体,丹参素丙为丹参素甲的二聚体[6]。



丹参素甲



丹参素丙

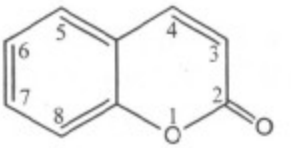


丹参素乙

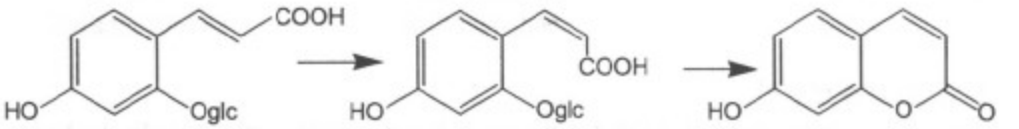
丹参素甲又简称丹参素,为白色针状结晶,熔点84~86℃,对三氯化铁显黄绿色,IR(KBr,cm^{-1})显示COOH(1732,2750~2550)和OH(3450~3150)的存在。^{1}HNMR[$(CD_3)_2CO$,δ]:2.86(2H,m),4.30(1H,dd),6.60(1H,d,J=7Hz),6.70(1H,d,J=7Hz),6.80(1H,s)显示三取代的苯环,其中有两个酚羟基处于邻位,并具有-CH_2-CH-结构单元。丹参素甲的结构由合成品的^{1}HNMR和薄层色谱R_f值一致得到验证[7],而它的手性碳原子的构型是根据文献报道,右旋者为D型,而推定[8]。丹参素可将其成盐进一步纯化和增加稳定性。丹参素甲钠盐为白色细针状结晶,$[\alpha]_D^{20}$ +35(1% H_2O);UVλ_{max}^{MeOH} nm 279,301sh;IR(KBr,cm^{-1})显示3590(OH),1530,1465(苯核),1560,1395(COO^-)。

第二节 香豆素类

香豆素(coumarin)是邻羟基桂皮酸的内酯,具有芳香气味。现已从自然界中分离到近900种香豆素类化合物[9],它们都具有苯骈α-吡喃酮母核基本骨架,90%以上的香豆素7-位有羟基或醚基。



香豆素广泛分布于高等植物中，尤其是伞形科、芸香科、菊科、豆科、兰科、茄科、瑞香科、虎耳草科和木樨科等植物以及微生物代谢产物中。香豆素在植物体的各个部位均有存在，且往往是一族混合物共存。同一科属植物中的香豆素常有相同的结构特征。部分香豆素在生物体内以邻羟基桂皮酸苷的形式存在，酶解后苷元邻羟基桂皮酸立即内酯化而成香豆素。如香草木樨和樱花中的香草木樨苷（melitotoside）在生物体内受酶水解后才内酯化成香豆素。



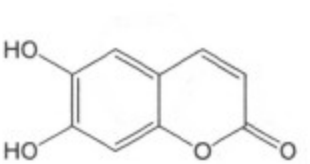
香豆素在紫外光下常常显蓝色荧光，有的在可见光下也能观察到荧光，在遇浓硫酸时也能产生特征的蓝色荧光，因此人们比较容易发现它们的存在。

一、香豆素的结构类型

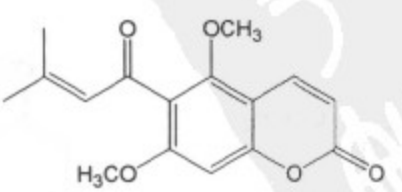
香豆素母核为苯骈α-吡喃酮。分子中苯环或α-吡喃酮环上常有羟基、烷氧基、苯基、异戊烯基等取代，其中异戊烯基的活泼双键又可与邻位酚羟基环合成呋喃或吡喃环的结构，根据其取代基及连接方式不同，常把香豆素粗分为以下几类。

（一）简单香豆素类

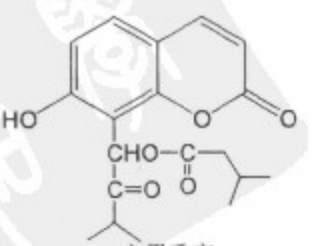
是指只有在苯环上有取代基的香豆素类。取代基包括羟基、甲氧基、亚甲二氧基和异戊烯氧基等。大多数香豆素在7-位都有含氧官能团存在。异戊烯基除接在O上外，也有直接接在环C上，而以C_6和C_8位上出现较多。从生物合成途径来看，C_6和C_8位电负性较高，易于烷基化。侧链异戊烯基有一个、二个或三个相连接的。其上的双键有时转换成环氧、邻二醇、酮基或接糖基而成苷。



七叶内酯
(esculetin)



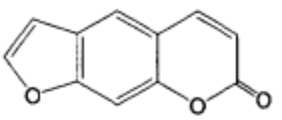
当归内酯
(angelicon)



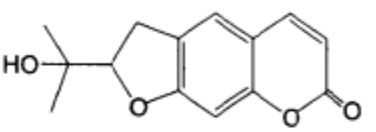
九里香定
(paniculatine)

（二）呋喃香豆素类

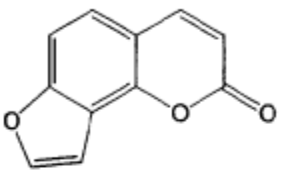
香豆素核上的异戊烯基与邻位酚羟基环合成呋喃环者称为呋喃香豆素。成环后常伴随着降解失去三个碳原子。呋喃香豆素又分直线型(linear)和角型(angular)两种结构。直线型分子是由 C_6-异戊烯基与 C_7-OH 环合而成，三个环在一直线上。角型分子是由 C_8-异戊烯基与 C_7-OH 环合而成，三个环处在一折角线上。



补骨脂内酯
(psoralen)



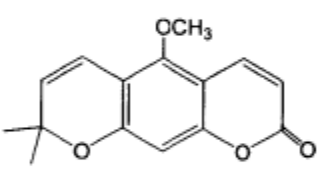
紫花前胡内酯
(nodakenetin)



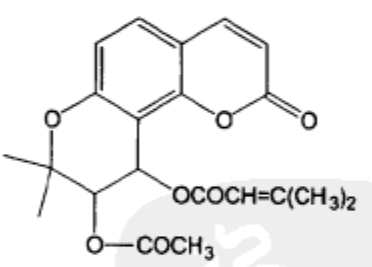
白芷内酯
(isopsoralen)

（三）吡喃香豆素类

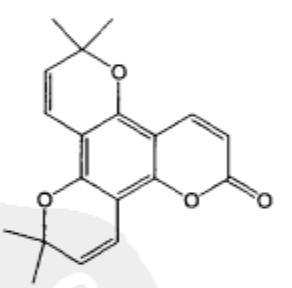
香豆素的 C_6 或 C_8 异戊烯基与邻酚羟基环合而成2,2-二甲基-α-吡喃环结构，形成吡喃香豆素。它们也分直线型和角型[10]。除 C_6,C_7-吡喃骈和 C_7,C_8-吡喃骈香豆素以外，还发现 C_5,C_6-吡喃骈和双吡喃骈香豆素的存在。



芙花椒内酯



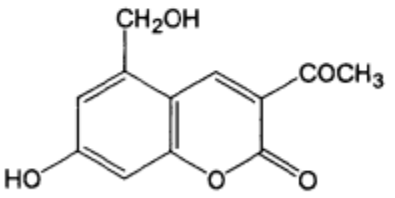
samidin



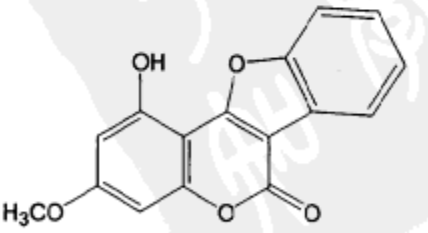
dipetalolactone

（四）其它香豆素类

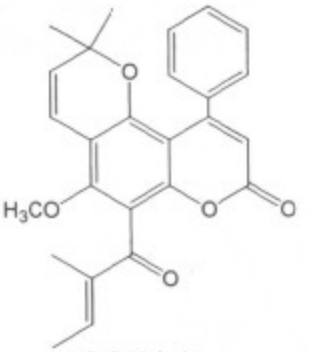
这类是指 α-吡喃酮环上有取代基的香豆素类。C_3,C_4 上常有苯基、羟基、异戊烯基等取代。C_3 苯代香豆素生源同异黄酮。



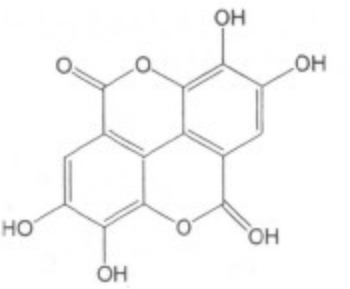
亮菌甲素
(armillarsin A)



蟛蜞菊内酯
(wedelolactone)

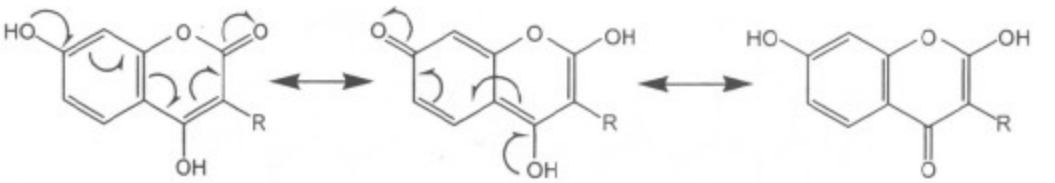


海棠果内酯
(callophylloide)



逆没食子酸
(ellagic acid)

C_4-OH 香豆素，当有 C_7-游离羟基存在时，易发生互变异构。

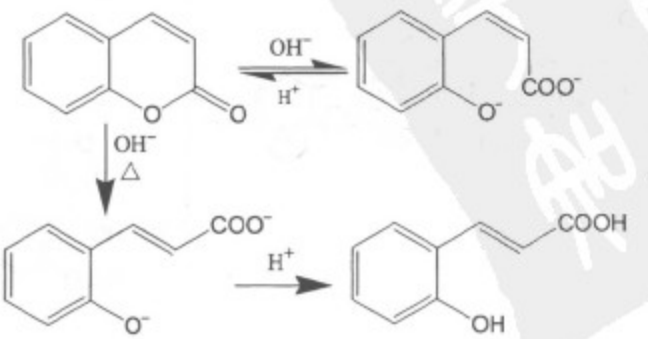


4,7-二羟基香豆素　　2,7-二羟色酮

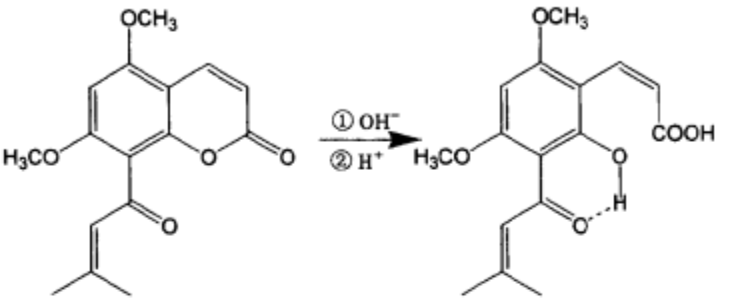
二、香豆素的化学性质

(一) 内酯性质和碱水解反应

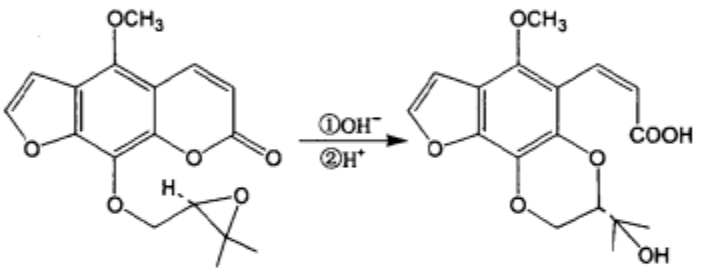
香豆素的 α-吡喃酮环具有 α、β-不饱和内酯性质，在稀碱液中渐渐水解成黄色溶液，生成顺式邻羟桂皮酸(coumarinic acid)的盐。其盐的水溶液一经酸化即闭环恢复为内酯。顺式邻羟桂皮酸不易游离存在，长时间碱液中放置或 UV 光照射，可转变为稳定的反式邻羟桂皮酸(coumaric acid)。



顺式邻羟桂皮酸不易获得，但某些具有特殊结构的香豆素，如 C_8 取代基的适当位置上有羰基、双键、环氧等结构者，和水解新生成的酚羟基发生缔合、加成等作用，可阻碍内酯的恢复，保留了顺式邻羟桂皮酸的结构。

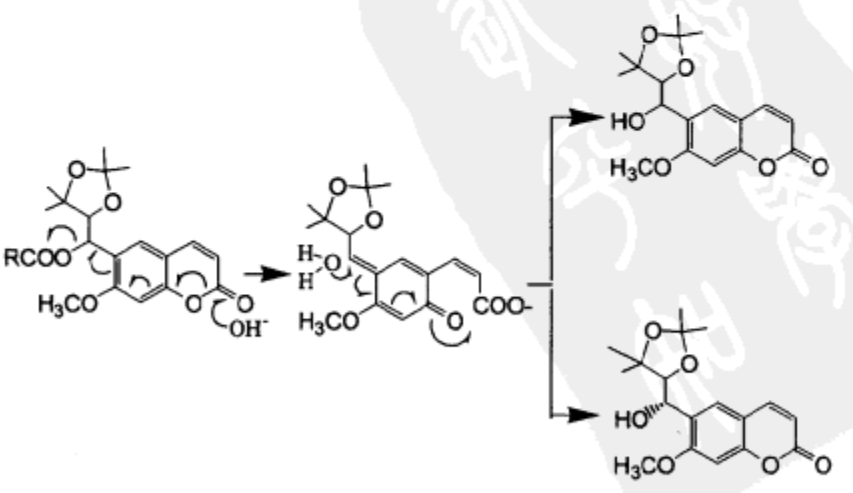


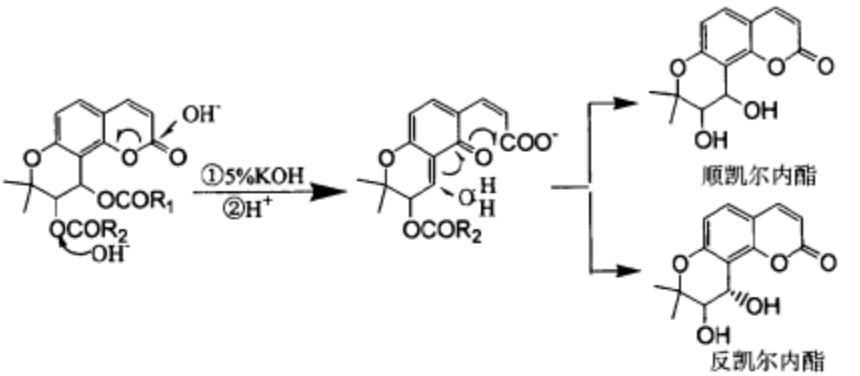
异当归内酯　　3-异戊烯酰-4, 6-二甲氧基-顺邻羟桂皮酸



byakangelicol　　isobyakangelicolic acid

香豆素侧链上的酯基如处在苄基 C 上极不稳定，碱水解后易生成二种异构化的醇。

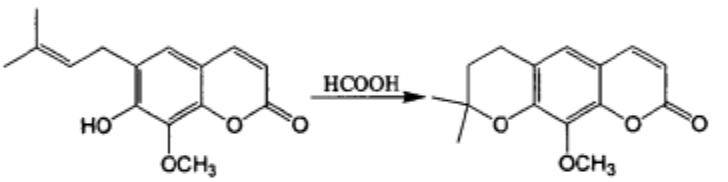




（二）酸的反应

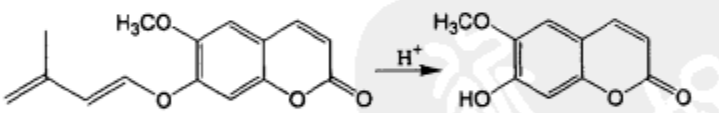
香豆素受酸的影响，可发生双键开裂、异戊烯基环合、环氧和酯基的水解、双键水合和羟基脱水等反应。

1. 环合反应　异戊烯基易与邻酚羟基环合。在实验条件下，较温和的酸几乎可定量地使异戊烯基侧链形成一含氧杂环。环合试验可以决定酚羟基和异戊烯基间的相互位置。



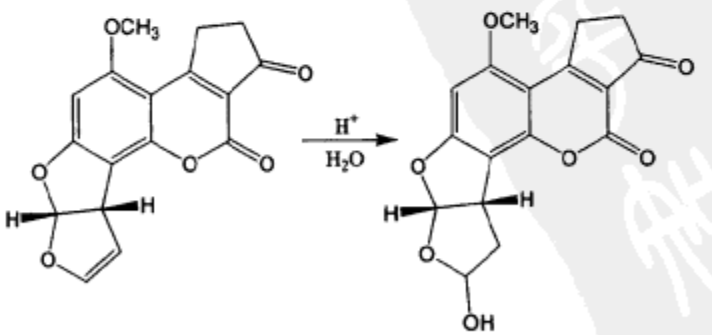
apigravin

2. 醚键的开裂　烯醇醚，遇酸易水解。



东莨菪内酯

3. 双键加水反应



黄曲霉素 B_1（aflatoxin B_1）
（高毒）

黄曲霉素 B_{2a}
（低毒）

三、香豆素的分离方法

香豆素一般可用甲醇或乙醇从植物中提取，然后用石油醚、乙醚、丙酮、甲醇等溶剂依次提取浸膏，分成极性不同部位，有时在提取液中就可获得结晶或混合结晶，多数需要进一步分离。常用分离方法如下：

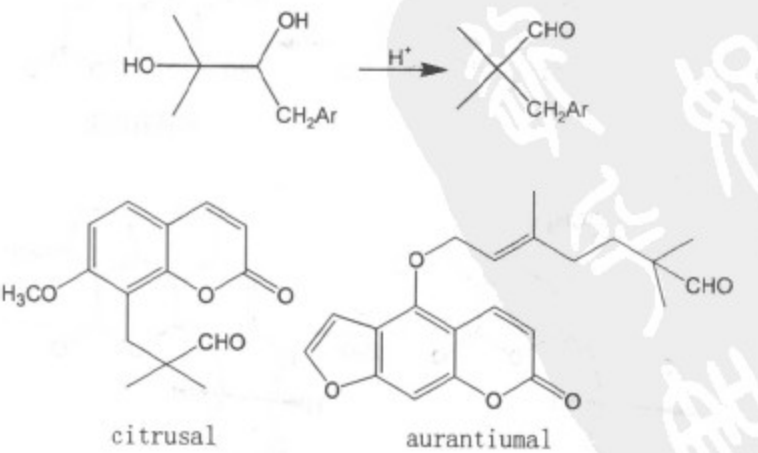
（一）酸碱分离法

早期曾利用内酯遇碱能皂化、加酸能恢复的性质分离香豆素。乙醚萃取液先以 $NaHCO_3$ 水溶液抽去酸性成分，再以稀和冷的 NaOH 水溶液抽出酚性成分，其中包括酚性香豆素，剩余的中性部分蒸去乙醚后，以 NaOH（或 KOH）的水或醇溶液进行水解，此时香豆素成盐而溶于水中，以乙醚抽提去不水解的中性成分，碱性水液以酸中和，再用乙醚萃取出香豆素内酯成分。此系经典方法，至今仍为有用，但有不少缺点，如对酸碱敏感的香豆素类，可能拿不到原存物质，象 C_8 有酰基的，水解后不易恢复成内酯；C_5 有羟基的，闭环时可能异构化；碱易使结构中的其它酯基水解，发生酯交换等，尤其是苄基上的酯基更活泼；侧链上有环氧基的遇酸易开环；烯醇醚和丙烯醚键极易为酸开裂；酸尚有使异戊烯基和邻酚羟基环合的作用。

（二）色谱方法

结构相似的香豆素多数情况下必须经色谱方法才能有效分离。

硅胶色谱是最常用的方法，洗脱剂可用己烷和乙醚、乙醚和乙酸乙酯等混合溶剂。硅胶薄层色谱展开剂可用己烷与乙酸乙酯或氯仿与乙酸乙酯等[11]。硅胶的酸性会带来一些副作用，如易使邻二醇基发生频哪醇重排。带醛基的 citrusal、aurantiumal 可能都是经此变化而来的次生产物。



citrusal　　aurantiumal

中性和酸性氧化铝也可用于香豆素的分离。常用洗脱剂为石油醚、氯仿、乙酸乙酯等[12]。

其他吸附剂也可用于香豆素的分离，如混以甲酰胺或乙二醇的纤维素，活性炭-硅藻土混合物、葡聚糖凝胶 sephadex G-25、LH-20 等[13]。除柱色谱外，其它色谱方法如制备薄层色谱、气相

色谱、高效液相色谱、逆流分溶法等都可用于香豆素的分离。

四、香豆素的波谱学特性

（一）荧光性质

香豆素在可见光下为无色或浅黄色结晶，在紫外光下显示蓝色荧光，C_7 位导入羟基后荧光增强，甚至在可见光下也能见到荧光，羟基醚化后则荧光减弱。7-羟基香豆素加碱可使荧光转为绿色，一般香豆素遇碱荧光都增强。7-羟基香豆素在 C_8 位导入羟基，荧光消失。导入非羟基取代基也将减弱荧光。呋喃香豆素荧光较弱。荧光和结构的关系尚不清楚。

（二）紫外光谱

香豆素的紫外光谱是一种很好的鉴定手段，它能将香豆素、色原酮、吖酮及黄酮类化合物加以鉴别。

无含氧官能团取代的香豆素，在紫外光谱下有两个高低不同的吸收峰，274nm（lgε4.03）和311nm（lgε3.72），分别代表苯环及 α-吡喃酮环的贡献。母核上引入烷基最大吸收值改变甚微，但母核上有氧原子取代时，最大吸收将向长波移动，移动多少与取代位置有关。7-羟基、7-甲氧基或 7-β-D-葡萄糖基的紫外光谱相似，即在 217nm 和 315～330nm 处有强吸收峰，而在 240 和 255nm 处出现弱峰。5,7-及 7,8-二氧取代香豆素的紫外光谱也与 7-氧取代物相似。与其它酚性化合物一样，测定紫外光谱时加入诊断试剂，将改变最大吸收峰的位置，这有利于官能团位置的鉴别。例如，4,5 或 7-羟基香豆素的紫外光谱因加入乙酸钠而使吸收峰产生红移，强度也增加；而 6,8-羟基者强度反而降低。邻二羟基香豆素与三氯化铝络合使最大吸收向长波移动。其原理与黄酮所述相似。

（三）红外光谱

在香豆素类化合物的红外光谱中，α-吡喃酮羰基的吸收带在 1750～1700cm^{-1} 之间，羰基附近如有羟基或羧基形成分子内氢键的，吸收带移至 1680～1660cm^{-1} 之间。芳环的双键吸收带在 1645～1625cm^{-1} 处。呋喃香豆素，除上述吸收带之外，另有呋喃环双键引起的 1639～1613cm^{-1} 间的强而尖的吸收带。

（四）核磁共振谱

香豆素母核上的质子，由于受内酯羰基吸电子共轭效应的影响，C_3、C_6 和 C_8 的质子信号在较高场，C_4、C_5 和 C_7 上的在较低场。简单香豆素 H-3 和 H-4 约在 δ6.1～6.4 化学位移单位和 δ7.5～8.3 化学位移单位之间，可见一对二重峰（J=9.5Hz）。C_7 位有氧取代时，由于共轭的结果，使 C_3 电子密度增加，其化学位移向高场移动 0.17 化学位移单位左右。C_5 氧取代时，也有类似影响。C_5 有基团取代时，由于迫位效应（tne peri effect），使 C_4 的化学位移向低场移动 0.3 化学位移单位，在 δ7.9～8.2 之间。常见简单香豆素的化学位移及偶合常数见表 3-2。

呋喃香豆素的呋喃环如果未取代，H-2′信号在 δ7.34～7.80，H-3′信号当为线型呋喃香豆素时在 6.7，当为角型呋喃香豆素时在 7.0，J=2.5Hz。

香豆素分子中有很多远程偶合。

香豆素母核上有 9 个碳原子，多数在 δ100～160 化学位移单位区域内，取代基效应明显，当某一碳原子上有 OR 取代后，直接相连的碳 +30 化学位移单位；邻碳则 −13；对碳 −8 左右。^{13}C-

NMR 谱数据对香豆素苷类中糖结构的确定十分有用，可以获知取代基位置、糖的种类和端基碳的构型等。香豆素母核上 C 化学位移值见表 3-3。

表 3-2 常见简单香豆素^{1}H-NMR 信号 δ(化学位移单位)及 J(Hz)

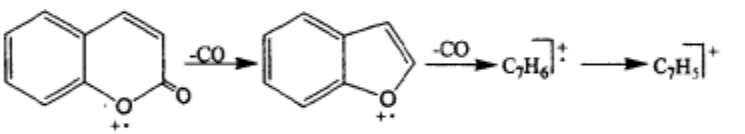
取代类型	7-羟基	7,8-二氧代	6,7-二氧代	6,7,8-三氧代
H-3	6.2(d, J=9)	6.1~6.2(d,J=9)	6.14~6.26(d,J=9)	6.19(d,J=9)
H-4	8.2(d,J=9)	7.8(d,J=9)	7.60~7.82(d,J=9)	7.8(d,J=9)
H-5	7.7(d,J=9)	7.25~7.35(d,J=8)	6.77~6.90(s)	6.78(s)
H-6	6.9(q,J=9,2.5)	6.95(d,J=8)		
H-8	7.0(d, J=2.5)		6.38~7.04(s)	

表 3-3 香豆素母核的^{13}C-NMR 化学位移值 δ(化学位移单位)

	C_2	C_3	C_4	C_{4a}	C_5	C_6	C_7	C_8	C_{8a}
δ	160.4	116.4	143.6	118.8	128.1	124.4	131.8	116.4	153.9

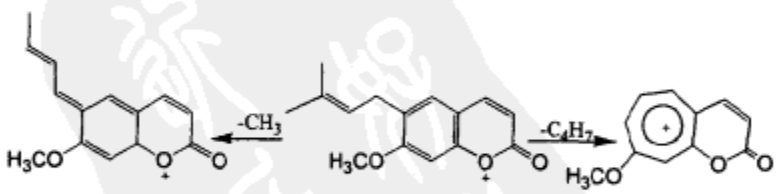
(五) 质谱

母体香豆素的分子离子峰较强，基峰是失去 CO 的苯骈呋喃离子。

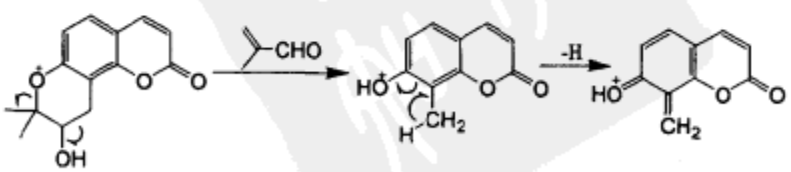


146(76%) 118(100%) 90(43%) 89(35%)

分子中有异戊烯基取代时，可失去甲基形成高度共轭的分子，或经历 β 开裂。



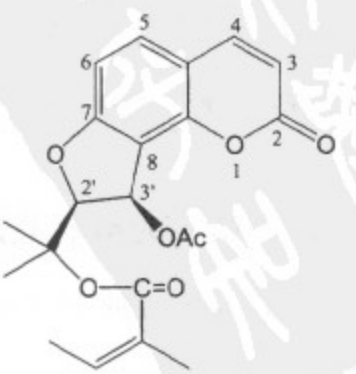
229(100%) 244(78%) 189(60%)



246(35%) 176(100%) 175(68%)

五、香豆素结构鉴定实例

竹叶防风(*Seseli mairei*)的根中含有多种香豆素类成分。现以异爱得尔庭(isoedultin)为例,说明分离和结构推测过程[14]。取竹叶防风根2kg,用95%乙醇渗漉提取,得浸膏271g,用己烷反复搅拌,得己烷可溶部分80g,再将此浸膏用己烷与90%甲醇(1:1)分配,甲醇层得浸膏39g,此浸膏上硅胶柱色谱,氯仿、氯仿-丙酮洗脱,再经硅胶制备薄层分离得一无色针晶,mp. 68~70℃(甲醇),元素分析确定分子式为 $C_{21}H_{22}O_7$,$[\alpha]_D^{20}$ -26.2°(C=1.5,$CHCl_3$),硅胶薄层色谱在365nm紫外灯下观察呈蓝色荧光斑点。UV λ_{max}^{MeOH} 256,295,320,显示有氧取代苯环和α-吡酮环(pyrone)。IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} 3000,1740,1730,1615,1450,1220,显示有两个酯基和苯环。^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ7.62(1H,d,J=9.7Hz,H-4)和6.24(1H,d,J=9.7Hz,H-3),说明此结构可能为C_3、C_4未取代的香豆素。7.42(1H,d,J=8.4Hz,H-5),7.01(1H,d,J=6.8Hz,H-2),6.86(1H,d,J=8.4Hz,H-6),6.24(1H,d,J=9.7Hz,H-3),6.07(1H,q,J=6.0Hz,H-3″),5.31(1H,d,J=6.8Hz,H-3′),2.06(3H,s,$COCH_3$),1.97(3H,d,J=6.0Hz,3″-CH_3),1.86(3H,br. s,2′-CH_3),1.76和1.68(各3H,s,偕甲基)。其中δ7.42,6.86和7.01信号提示此化合物是一种角型呋喃香豆素类。^{13}C-NMR($CDCl_3$)δ168.6(C-1″),166.0($COCH_3$),163.6(C-2),这三个季碳,其中163.6为香豆素内酯环的羰基,其它两个为酯基碳。160.0(C-4a),152.0(C-7),144.3(C-4),137.7(C-3″),131.3(C-5),128.0(C-2″),116.6(C-6),113.1(C-3),112.7(C-8),112.6(C-8a),88.6(C-2′),80.3(C-3′),68.6(C-4′),27.6(C-5″),22.5(C-5′),21.7(OCH_3),20.8(C-6′),15.6(C-4″)。EI-MS m/z 386(M^+),326(M^+-HOAc),311(M^+-HOAc-CH_3),286(M^+-$C_5H_8O_2$),226,213(100),198,186,158,102,83。其中^{1}H-NMR的δ2.06,^{13}C-NMRδ166.0,21.7和MS中失去60,说明含乙酰氧基。将此化合物用5%氢氧化钠甲醇溶液回流水解,得一有机酸,经与标准品TLC对照和^{1}H-NMR分析,证明此为当归酸,根据以上理化常数和光谱数据,并与文献比较,确定该化合物为异爱得尔庭[15]。



六、香豆素的生物活性

（一）植物生长调节作用

低浓度的香豆素可刺激植物发芽和生长，高浓度时抑制发芽和生长。

（二）光敏作用

许多香豆素具有光敏作用。呋喃香豆素外涂或内服后经日光照射可引起皮肤色素沉着，所以补骨脂内酯可用于治疗白斑病，8-甲氧基或5-甲氧基的补骨脂内酯作用更强。

（三）抗菌、抗病毒作用

中药秦皮治痢疾的有效成分是七叶内酯及其苷。从微生物中获得的抗生素 novobiocin 和 coumerungin 都具有香豆素结构。蛇床子和毛当归根中的奥斯脑（osthole）[16]可抑制乙型肝炎表面抗原（HBsAg），机制是增加乙型肝炎表面抗原的糖基化和在体外抑制乙型肝炎病毒的分泌。

（四）平滑肌松弛作用

伞形科植物中许多香豆素有血管扩张作用，早年发现凯刺（*Ammi visnage*）中获得的色原酮凯林（khellin）可用作冠状动脉扩张剂。后来相继发现的 samidin、dihydrosamidin、visnadin 等，都是7,8-吡喃香豆素，也都具有冠状动脉扩张作用。菌陈蒿（*Artemisia capillaris*）中的滨蒿内酯（scoparon），具有松弛平滑肌，解痉利胆作用。亮菌甲素也是一个利胆活性成分，松弛胆总管末端的括约肌，能显著促进胆汁分泌[17]。

（五）抗血凝作用

二分子4-羟香豆素和一分子甲醛缩合而成的双香豆素（dicoumarol），存在于腐败的牧草中，牛羊食后可因出血而致死。双香豆素的某些类似物，是临床实用的一类抗凝血药物，用以防治血栓形成。海棠果内酯有很强的抗凝血作用。香豆素的抗凝血作用可为维生素K所对抗。香豆素在人体内吸收快而作用缓慢，长期应用要防止其积聚，应注意凝血时间的测定。

（六）肝毒性

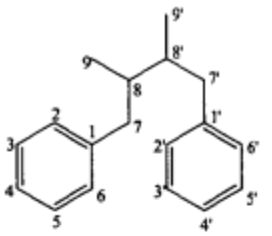
某些香豆素可能对肝有一定的毒性，必须引起注意。黄曲霉素在极低浓度就能引起动物肝的损害并导致癌变。其中以 aflatoxin B_1 毒性最高，结构中的呋喃环上的双键和不饱和内酯环是毒性的必要部分，饱和双键和打开内酯环可使毒性大大降低。

第三节 木脂素[18-21]

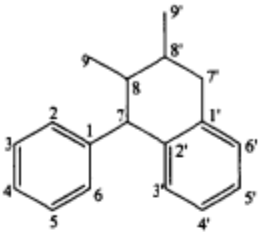
一、木脂素的结构类型

木脂素（lignans）是一类由苯丙素氧化聚合而成的天然产物，通常所指是其二聚物，少数是三聚物和四聚物。

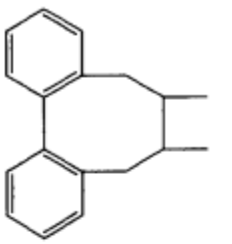
二聚物碳架多数是由侧链β-碳原子（8-8′）连接而成的，如以下1型和2型。之后陆续发现许多其他位置连接的类型，如4～15型。



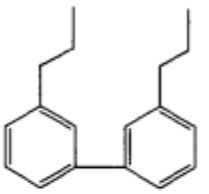
1型
(8-8′)



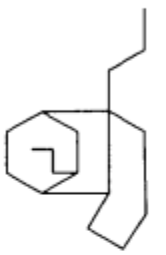
2型
(8-8′, 7-2′)



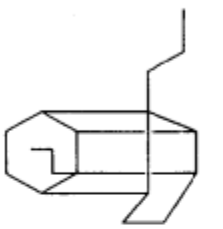
3型
(8-8′, 2-2′)



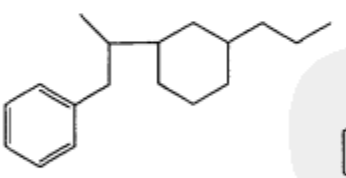
4型
(3-3′)



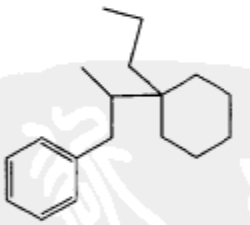
5型
(5-1′, 2-2′)



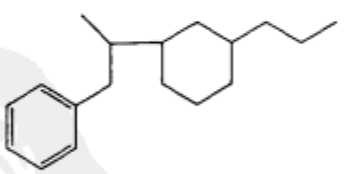
6型
(5-1′, 2-2′, 1-5′, 6-6′)



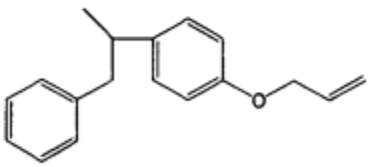
7型
(8-3′)



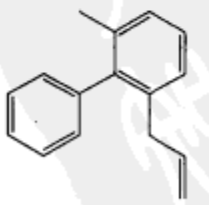
8型
(8-1′)



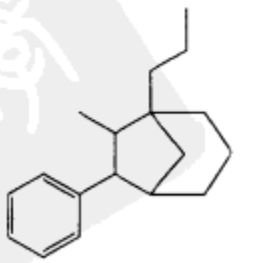
9型
(8-3′)



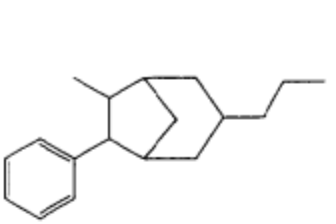
10型
(8-4′, 1-O-7′)



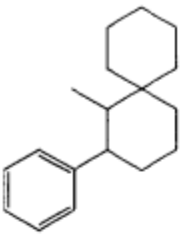
11型
(8-3′)



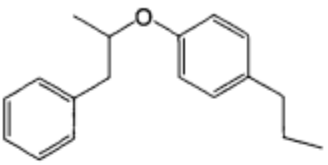
12型
(8-1′, 7-3′)



13 型
(8-3′, 7-5′)



14 型
(8-1′, 7-9′)



15 型
(8-0-4′)

组成木脂素的单体主要有四种：

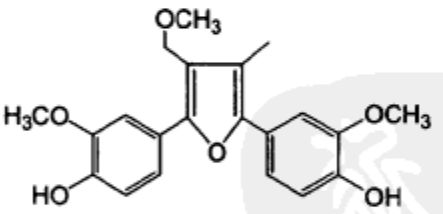
(1)桂皮酸(cinnamic acid)，偶有桂皮醛(cinnamaldehyde)

(2)桂皮醇(cinnamyl alcohol)

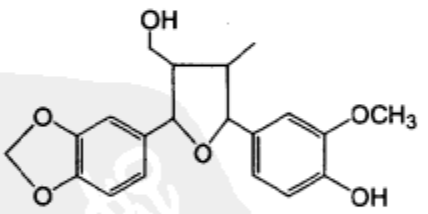
(3)丙烯苯(propenyl benzene)

(4)烯丙苯(allyl benzene)

木脂素可分为二类，一类由前二种单体组成，γ-碳原子氧化型的。Haworth 最早提出木脂素的定义时所指的即是这一种，称木脂素(lignan)[22]。另一类由后二种单体组成，γ-碳原子未氧化型的，称为新木脂素(neolignan)[23]。极少数木脂素可能由两种类型单体混合组成，如愈创木(*Guaiacum officinale*)中的 furoguaiacidin 和翼梗五味子(*Schizandra henryi*)中的恩施脂素。



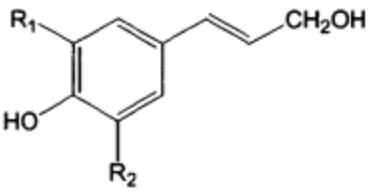
furoguaiacidin



恩施脂素

除上述两大类外，木脂素还有一些新的类型：①苯丙素低聚体，包括三聚体和四聚体，三聚体常被称为倍半木脂素(sesquilignan)，四聚体称为二木脂素(dilignan)；②杂木脂素(hybrid lignan)，系由一分子苯丙素与黄酮、香豆素或萜类等结合而成的天然化合物，根据结合分子的不同称为黄酮木脂素(flavonolignan)、香豆素木脂素(coumarinilignan)等；③去甲木脂素(norlignan)，这类木脂素的基本母核只有 16～17 个碳原子，比一般的木脂素少 1～2 个。

木脂素的两个苯环上常有含氧取代基。含氧官能团往往在 C_4 上，C_3、C_4 上，C_3、C_4、C_5 上。依取代基不同，组成木脂素的苯丙素单元分为对羟基肉桂醇(p-hydroxy-cinnamyl alcohol)、松柏醇(coniferol)和芥子醇(sinapyl alcohol)等。蕨类、裸子植物中的木脂素主要由松柏醇组成；被子植物的木脂素除松柏醇外，还有芥子醇；单子叶植物(如禾本科中的木脂素)则主要是由对羟基肉桂醇组成。

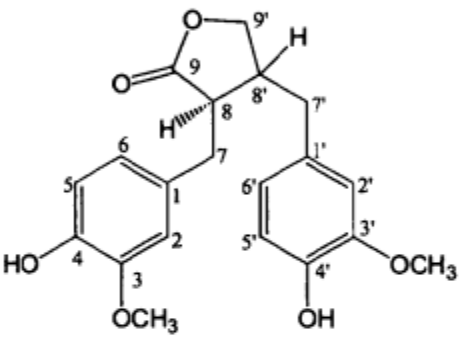


对羟基肉桂醇 $R_1=R_2=H$

松柏醇 $R_1=H, R_2=OCH_3$

芥子醇 $R_1=R_2=OCH_3$

木脂素的命名，大多采用俗名，也有系统命名的，一般左边的 C_6-C_3 编号 1～9，右边的 C_6-C_3 编号 1′～9′。前面冠以 C_8 的构型，含氧官能团的位置、名称、双分子连接的桥头碳编号，均用最小可能数。例如罗汉松脂素（matairesinol）命名为(8R,8′R)-4,4′-二羟基-3,3′-二甲氧基-9-氧代-8-8′,9-O-9′-木脂素。furognaiacidin 命名为 3,3′-二甲氧基-4,4′-二羟基-Δ7,7′-9-甲氧基-7-O-7′,8-8′-木脂素。在芳基萘和四氢呋喃类木脂素中，有时选择一些基本有机化合物为母体加以命名，因此存在着同一化合物有两种不同的编号和命名的情况。

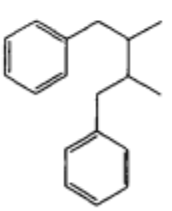


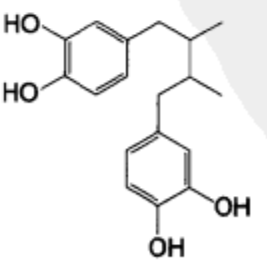
罗汉松脂素

木脂素由苯丙素双分子缩合而成各种碳架后，侧链 γ-碳原子上的含氧官能团，如羟基、羰基、羧基等，相互脱水缩合，又出现四氢呋喃、半缩醛、内酯等环状结构，使得木脂素的结构类型更加多样。常见的有下列类型：

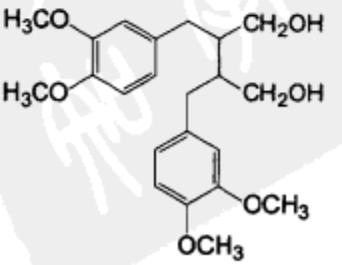
（一）二芳基丁烷类（dibenzylbutanes）

从蒺藜科植物 *Larrea divaricata* 中得到的一内消旋化合物去甲二氢愈创木脂酸（nordihydroguaiaretic acid，NDGA），结构中有邻二酚羟基，常用作抗氧化剂。由珠子草（*Phyllanthus niruri*）中分得的叶下珠脂素（phyllanthin）又称为二芳基丁二醇类（dibenzylbutanediols）。它们是其它类型木脂素的生源前体。





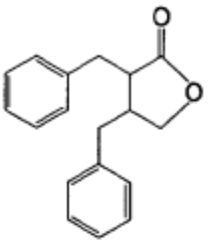
去甲二氢愈创木脂酸

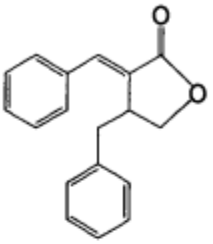


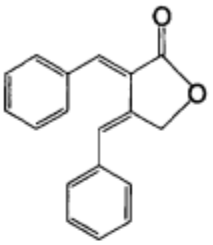
叶下珠脂素

（二）二芳基丁内酯类（dibenzyltyrolactones）

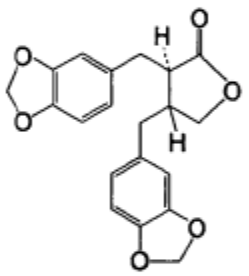
这是木脂素侧链形成内酯结构的基本类型，还包括单去氢和双去氢化合物。它们是生物体内芳基萘内酯类木脂素的合成前体。



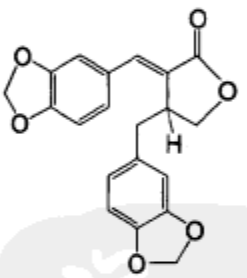




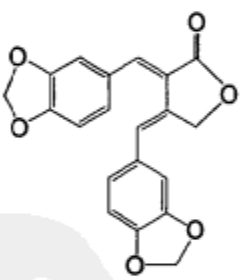
从罗汉松（*Podocarpus spicatus*）心材中获得的罗汉松脂素既属此类。扁柏脂素（hinokinin）是从日本扁柏（*Chamaecyparis obtuse*）的心材和叶中分得的。桧柏（*Juniperus sabina*）及台杉（*Tainania cryptomerioides*）心材中获得的桧脂素（salvinin），又称台湾脂素B（taiwanin B），是扁柏脂素的单去氢体。台湾脂素A（taiwanin A）是扁柏脂素的双去氢体。



扁柏脂素



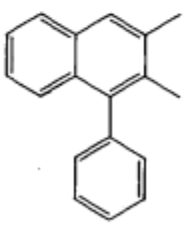
桧脂素（台湾脂素B）

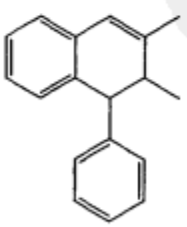


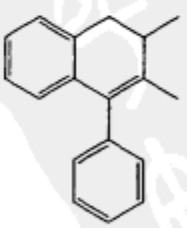
台湾脂素A

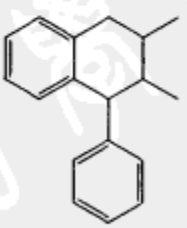
（三）芳基萘类（arylnaphthalenes）

有芳基萘、芳基二氢萘和芳基四氢萘（aryltetralins）三种结构。

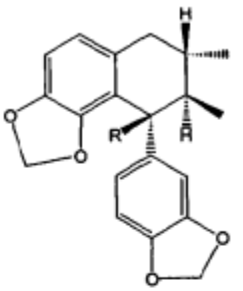




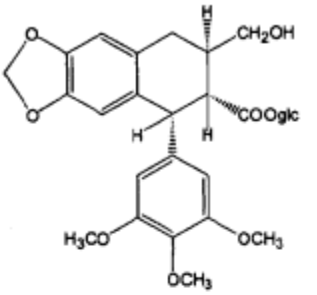




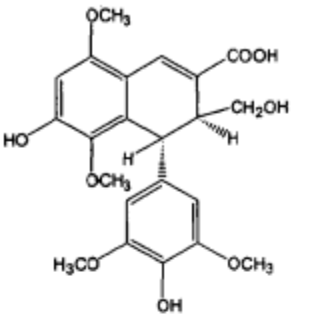
来自奥托肉豆蔻（*Myristica otoba*）果实的奥托肉豆蔻脂素（otobain）及其羟基衍生物均属此类。该类木脂素中，有的侧链γ碳原子被氧化成醇或酸，它们可能是生物体内形成芳基萘内酯的中间体，如去氧鬼臼毒素-β-D-葡萄糖酯苷和索马榆脂酸（thomasic acid）。



奥托肉豆蔻脂素（R=H）
羟基奥托肉豆蔻脂素（R=OH）

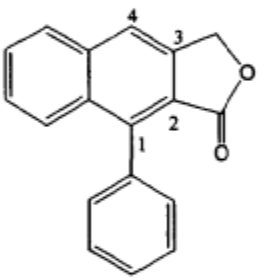


去氧鬼臼毒素-β-D-葡萄糖酯苷

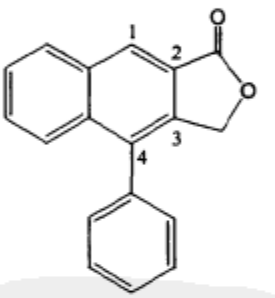


索马榆脂酸

芳基萘类木脂素常以氧化的γ碳原子缩合形成内酯，依内酯环合方式分上向和下向两种。以芳基萘内酯来说，下向的称1-苯代-2,3-萘内酯（1-arylnaphthalide），上向的称4-苯代-2,3-萘内酯（4-arylnaphthalide）。



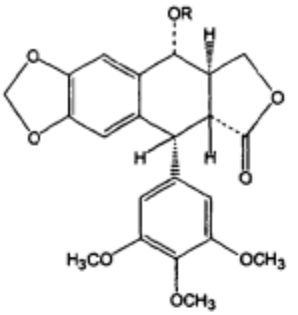
1-苯代萘内酯



4-苯代萘内酯

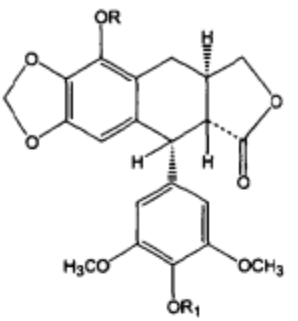
以鬼臼毒素（podophyllotoxin）为代表的芳基四氢萘内酯类木脂素是很重要的一类天然产物，主要存在于鬼臼属（*Podophyllum*）及其近缘植物中，其内酯环为反式，遇碱易异构化为顺式。

鬼臼毒素最早得自盾叶鬼臼（*P. peltatum*），从八角莲（*P. pleianthum*）、桃儿七（*Sinopodophyllum emodi*）和山荷叶（*Diphylleia grayi*）等近缘植物中也得到过，遇碱异构化为苦鬼臼脂素（picropodophylline）。1-鬼臼毒素-β-D-葡萄糖苷及其异构体苦鬼臼脂素-β-D-葡萄糖苷曾在桃儿七植物中分得。α-盾叶鬼臼脂素（α-peltatin）、β-盾叶鬼臼脂素（β-peltatin）及其葡萄糖苷均得自盾叶鬼臼。



1-鬼臼毒素 R = H

1-鬼臼毒素-β-D-葡萄糖苷 R = glc



α-盾叶鬼臼脂素 R = R_1 = H

α-盾叶鬼臼脂素-5-O-β-D-葡萄糖苷

R = glc, R_1 = H

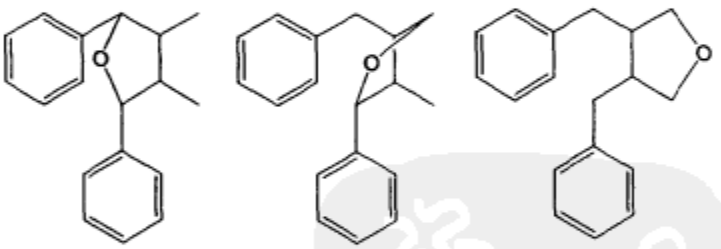
β-盾叶鬼臼脂素 R = H, R_1 = CH_3

β-盾叶鬼臼脂素-5-O-β-D-葡萄糖苷

R = glc, R_1 = CH_3

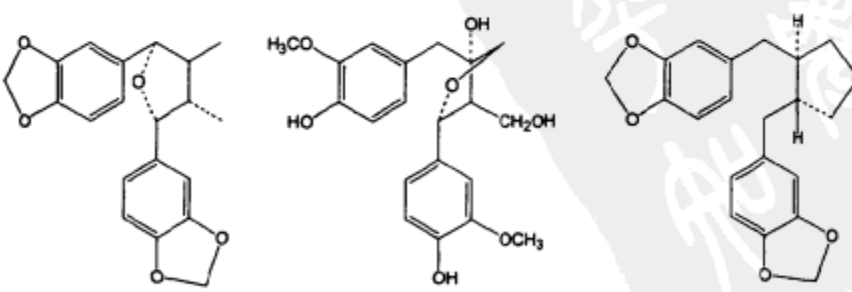
(四) 四氢呋喃类 (tetrahydrofurans)

因氧原子连接位置的不同,可形成7-O-7′,7-O-9′,9-O-9′三种四氢呋喃结构。



7-O-7′ 7-O-9′ 9-O-9′

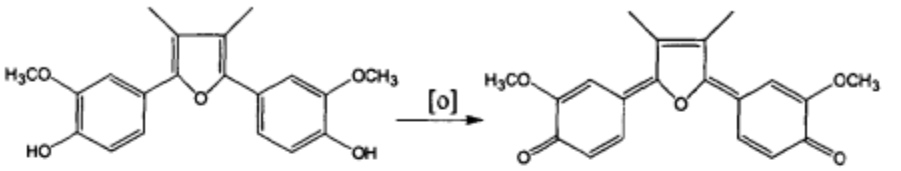
得自 *Himantondra baccata* 树皮的(−)-galbacin 为7-O-7′四氢呋喃环。*Olea europaea* 树脂中分得的橄榄脂素(olivil)为7-O-9′四氢呋喃环。从荜澄茄(*Piper cubeba*)果实中得到的荜澄茄脂



(−)-galbacin 橄榄脂素 荜澄茄脂素

素(cubebin)则为9-O-9′四氢呋喃环。

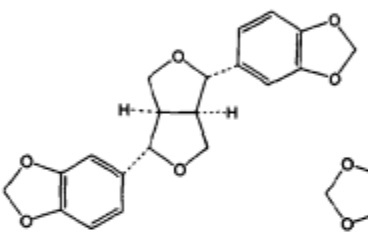
愈创木树脂中得到的furoguaiacin具有呋喃环结构,可称为取代呋喃类(substituted furans)木脂素,遇氧化酶或碱液氧化成醌式结构的愈创兰(guaiac blue)。



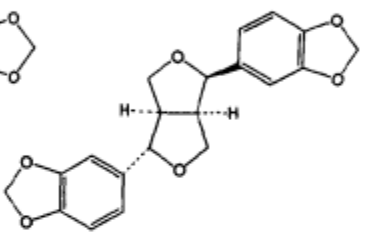
furoguaiadin　　guaiac blue

(五) 双四氢呋喃类

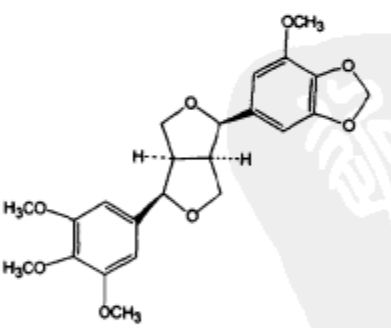
由两个取代四氢呋喃单元形成四氢呋喃骈四氢呋喃结构。如(+)-芝麻脂素((+)-sesamin)、(+)-细辛脂素((+)-asarinin)和diasesartemin。



(+)-芝麻脂素



(+)-细辛脂素



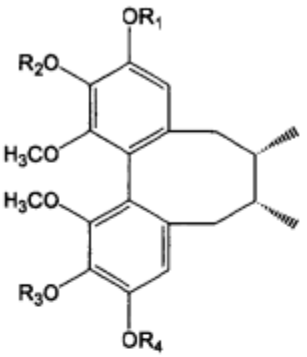
diasesartemin

双四氢呋喃类木脂素基本结构中有4个手性碳,但在天然产物中两个四氢呋喃环以顺式相骈,其立体异构体的最大可能数仅相当于3个手性碳。由于苄醚易于开裂,重新闭环时易发生异构化。

(六) 联苯环辛烯类(dibencyclooctenes)

此类木脂素集中存在于五味子科五味子属(*Schizandra*)和南五味子属(*Kadsura*)植物中,具有联苯骈环辛二烯结构。如从五味子(*Schizandra chinensis*)果实中获得的五味子甲素[(+)-deoxyschizandrin]、五味子乙素(γ-schizandrin)和五味子丙素(wuweizisu C)。华中五

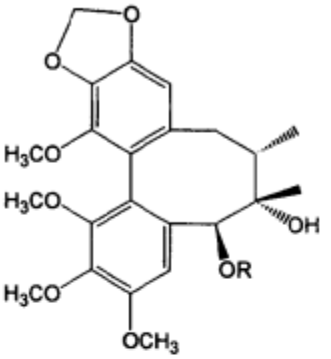
味子(*S. sphenanthera*)果实中分得的五味子酯(schisantherin)系列则是成酯的类型,如五味子酯甲、乙。



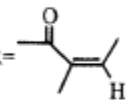
五味子甲素 $R_1=R_2=R_3=R_4=CH_3$

五味子乙素 $R_1+R_2=CH_2$, $R_3=R_4=CH_3$

五味子丙素 $R_1+R_2=R_3+R_4=CH_2$

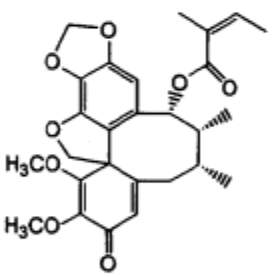


五味子酯甲 $R=-COC_6H_5$

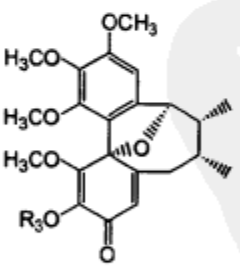


五味子酯乙 R=

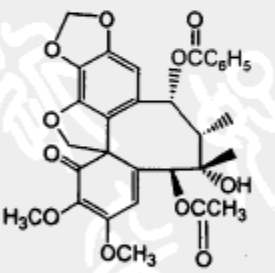
从内南五味子(*Kadsura interior*)藤茎中获得的内南五味子素(interiorin)是具有螺苯骈呋喃(spirobenzofuranoid)骨架的联苯环辛烯类木脂素[24],此类木脂素仅在南五味子属植物中获得,但羰基和氧原子的环合位置可有不同,如从黑老虎(*K. coccinea*)中分得的南五脂素A(kadsulignan A)和从长梗南五味子(*K. longipedunculata*)中得到的南五脂素C(kadsulignan C)[25]。



内南五味子素



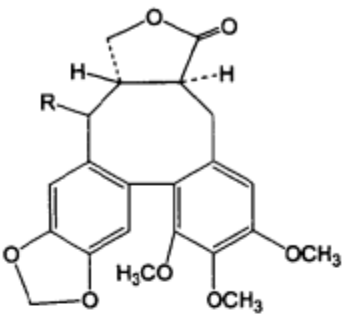
南五脂素A



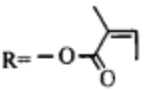
南五脂素C

联苯环辛烯类化合物有多个手性因素,立体异构体较多,以联苯S和R构型分为两大系列,八元辛烯环的构象多数为扭曲的船-椅式(TBC),少数为扭曲的船式(TB)。

stegnacin、stegnangin、steganol和stegnalone是一群γ碳原子呈氧化型并形成内酯结构的联苯环辛烯木脂素,由伞形科植物*Steganotaenia araliacea*中获得,有明显的抗白血病P388活性[26]。从生源来看,这些化合物与γ碳原子呈非氧化型的联苯环辛烯木脂素有不同的合成途径。



stegnacin R=—OAc(β)

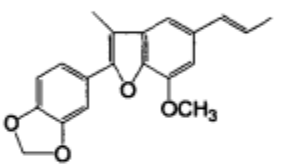
stegnangin R= 

stegnanol R=OH

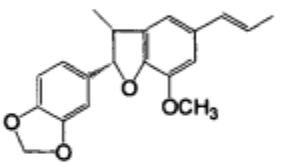
stegnalone R=O

（七）苯骈呋喃类（benzofurans）

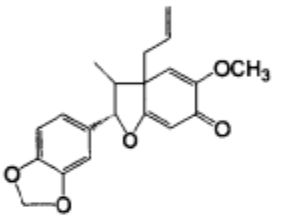
包括苯骈呋喃及其二氢、四氢和六氢衍生物，如 eupomatene、licarin A、burchellin 和 kadsurin A。从海风藤（*Piper futokadsura*）和山蒟（*P. hancei*）中得到的海风藤酮（kadsurenone）和山蒟素（hancinone）具有抑制血小板活化因子（PAF）的作用。



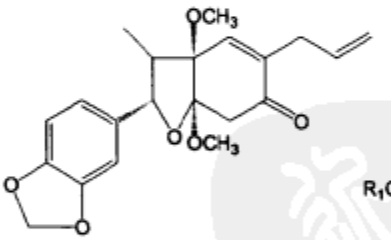
eupomatene



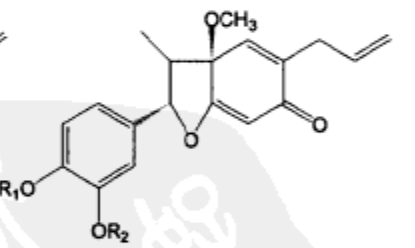
licarin A



burchellin



kadsurin A

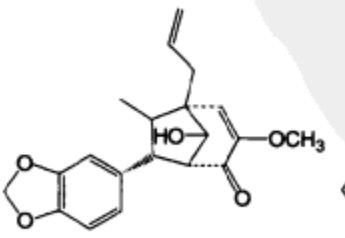


海风藤酮 $R_1=R_2=CH_3$

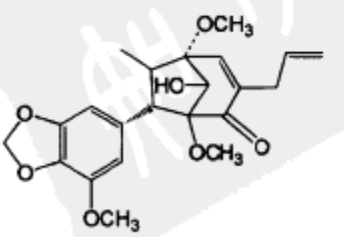
山蒟素 $R_1+R_2=CH_2$

（八）双环辛烷类（bicyclo［3，2，1］octanes）

如来自 *Aniba guaianensis* 的 guaianin 和从 *Licaria macrophylla* 中分得的 macrophyllin。



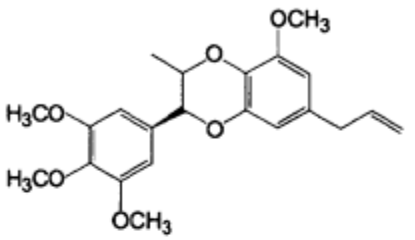
guaianin



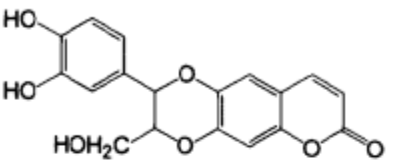
macrophyllin

（九）苯骈二氧六环类

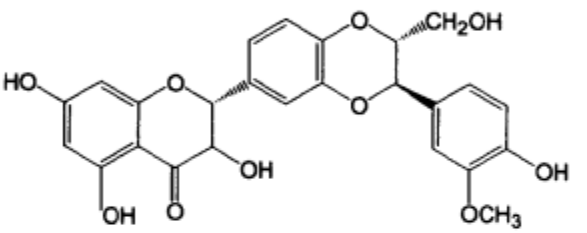
两分子苯丙素通过氧桥连接，形成二氧六环结构，如樟科植物 *Eusideroxylon zovagevi* 中获得的优西得灵（eusiderin）。猫眼草素（maoyancaosu）和水飞蓟素（silybin）也含有苯骈二氧六环结构，它们又分属于香豆素木脂素和黄酮木脂素。



优西得灵



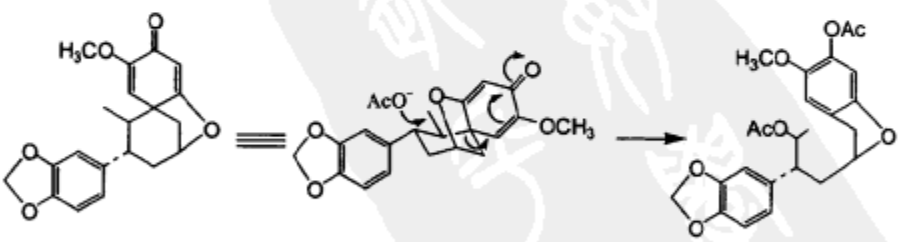
猫眼草素



水飞蓟素

（十）螺二烯酮类（spirodienones）

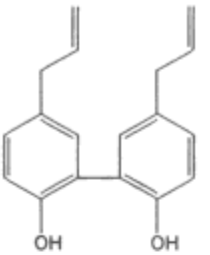
从海风藤（*Piper futokadsura*）茎叶中分得的呋胡椒脂酮（futoenone）具有螺二烯酮结构，乙酰化时，发生二烯酮-酚重排，生成二乙酰化物[27]。螺苯骈呋喃型联苯环辛烯木脂素也具有螺二烯酮结构，但其生源途径与呋胡椒脂酮显然不同。



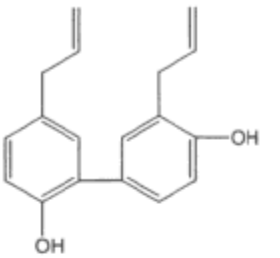
呋胡椒脂酮

（十一）联苯类（biphenylenes）

厚朴酚（magnolol）是从厚朴（*Magnolia officinalis*）树皮中获得，由日本厚朴（*M. obovata*）树皮中得到的和厚朴酚（honokiol）是其异构体。系两分子苯丙素的两个苯环 3-3′直接相连而成。



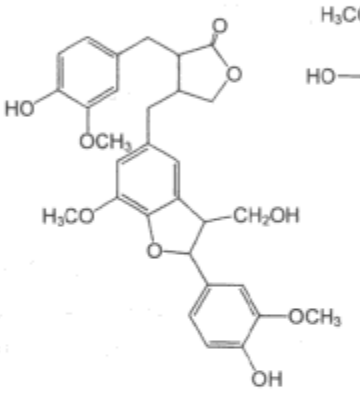
厚朴酚



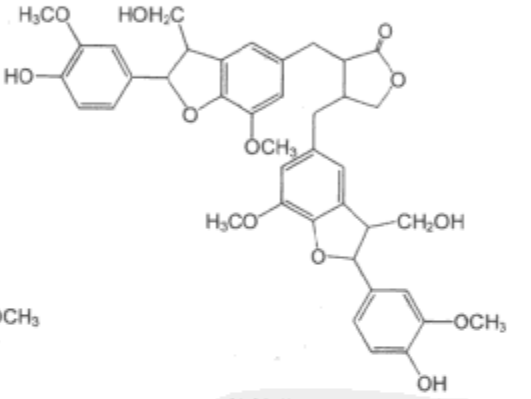
和厚朴酚

（十二）倍半木脂素（sesquilignans）*和二木脂素*（dilignans）

分别由3和4分子苯丙素聚合而成。如牛蒡子（*Arctium lappa*）中获得的拉帕酚A和F（lappaol A，F）[28]。



拉帕酚A



拉帕酚F

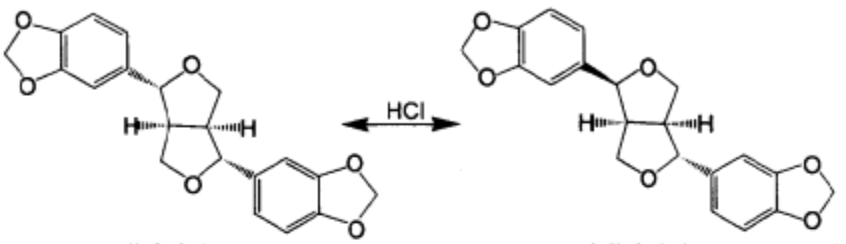
木脂素的结构类型很多，变化也较丰富，近年来，不少新的苯丙素低聚体、杂木脂素和去甲木脂素不断被发现，其新颖的化学结构和复杂的立体化学引起了天然产物化学家的兴趣，许多新方法和新技术的大量应用也加速了对木脂素的研究。

二、木脂素的理化性质

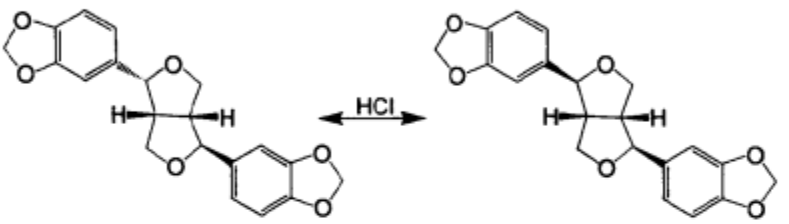
木脂素多数呈无色结晶，但新木脂素不易结晶。少数可升华，如去甲二氢愈创木酸。木脂素多数呈游离型，游离木脂素偏亲脂性，难溶于水，能溶于苯、氯仿、乙酸乙酯、乙醚、乙醇等溶剂。少数与糖结合成苷，水溶性增大，并易被酶或酸水解。

木脂素有多个不对称碳原子，除少数去氢衍生物外，大部分具有光学活性，遇酸易异构化。木脂素的生物活性常与不对称碳原子的构型有关。在提制过程中应注意操作条件，避免活性丧失或减弱。芝麻脂素为双四氢呋喃类木脂素，2个四氢呋喃环顺式骈环，有2个手性碳，故有4个异构体。d-芝麻脂素（d-sesamin）是从麻油的非皂化物中获得，为右旋体，在盐酸乙醇液中加热，部分转变为d-表芝麻脂素（d-episesamin），又名细辛脂

素（asarinin）。1-表芝麻脂素来自细辛根中，是左旋体，在盐酸乙醇液中加热，部分转变为1-芝麻脂素。这是由于呋喃环上的氧原子与苄基相连，易于开环，重新闭环时发生构型变化。



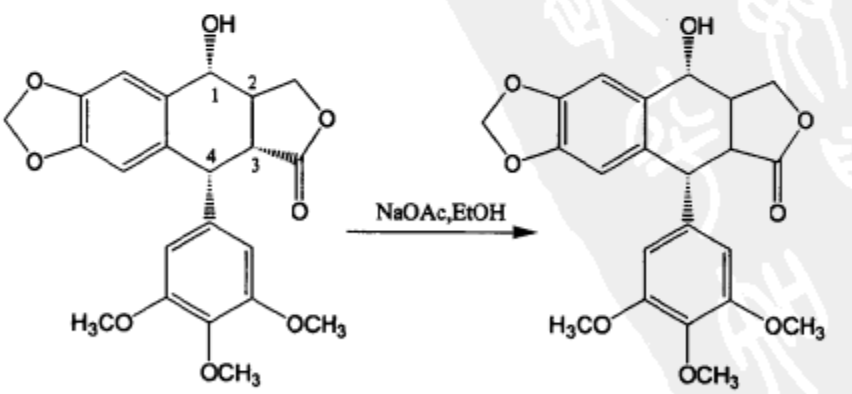
d-芝麻脂素　　d-表芝麻脂素



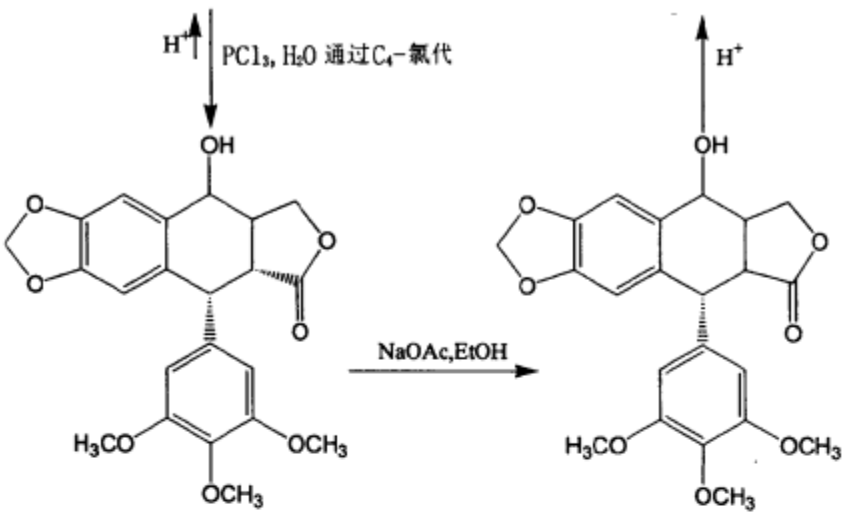
l-表芝麻脂素　　l-芝麻脂素

鬼臼属植物中的鬼臼毒素类属芳基四氢萘内酯木脂素，具有四氢萘环和反式内酯环结构，3，4顺式和2，3反式是其具有抗癌活性的必要结构要求，但此类成分遇碱易异构化，反式内酯变为顺式内酯。如天然鬼臼毒素为2β、3α构型，由于CO基邻C上有α-H，遇碱易异构化为苦鬼臼毒素；C_1位的苄醇遇酸也易异构化，生成系列衍生物。

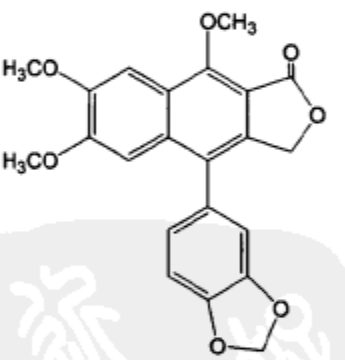
芳基萘内酯木脂素类，由于B环芳香化，所以无旋光活性，如爵床脂素C和台湾脂素C，常呈浅黄色，紫外光下有蓝色荧光，可与苯代四氢萘类区别。



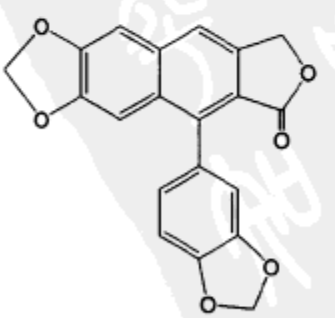
鬼臼毒素$[\alpha]_D^{20}$-133°（C=1.00，$CHCl_3$）　　苦鬼臼毒素$[\alpha]_D^{20}$+9°（C=1.00，$CHCl_3$）



表鬼臼毒素$[\alpha]_D^{20}$-74° (C=1.00, $CHCl_3$)　表苦鬼臼毒素$[\alpha]_D^{20}$+84° (C=1.00, $CHCl_3$)

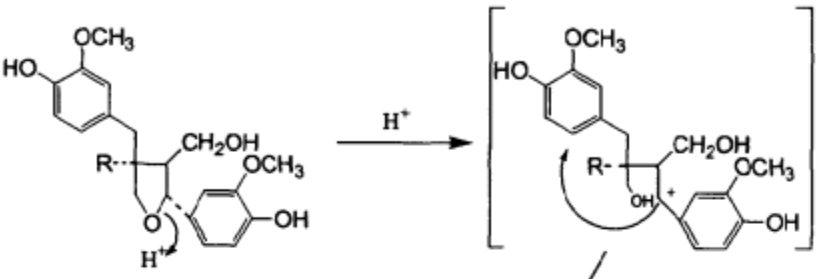


爵床脂素C

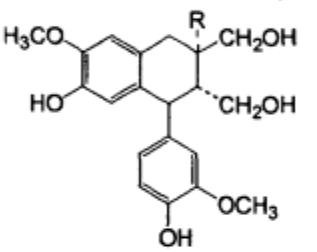


台湾脂素C

矿酸不仅能使木脂素构型发生变化，改变旋光性质，影响其生物活性，而且还能引起某些木脂素发生碳架重排。例如橄榄脂素易转变为环橄榄脂素（cycloolivil），落叶松脂素易转变为异落叶松脂素（isolariciresinol）[29]。

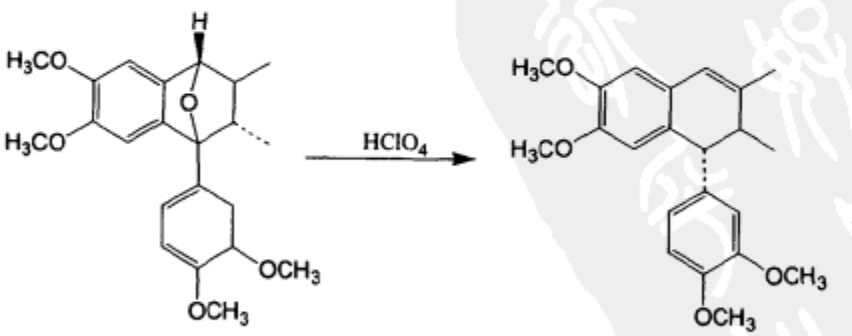


落叶松脂素 R=H
橄榄脂素 R=OH



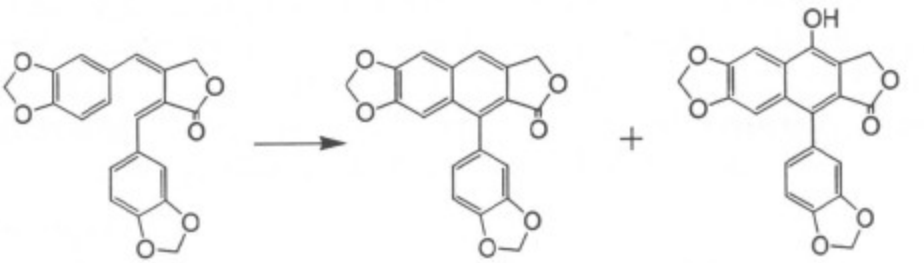
异落叶松脂素 R=H
环橄榄脂素 R=OH

来自 *Himantandra belgraveane* 树皮的 galgravin 是一个具有四氢呋喃结构的木脂素，在高氯酸条件下，重排、脱水生成苯基二氢萘衍生物。



galgravin

光能使木脂素起氧化环合等反应而发生碳架变化。如台湾脂素 A 在丙酮溶液中可以生成台湾脂素 C 和 E，此 3 个化合物在植物内也是共存的。



台湾脂素 A　　台湾脂素 C　　台湾脂素 E

从化学结构类型来看，木脂素并非一类成分，因此，它们没有共同的特征反应，但有一些非特征性的试剂可用于薄层色谱显色，如5%磷钼酸乙醇液、30%硫酸乙醇液，喷洒后加热数分钟，各类木脂素可显示不同颜色。结构中有亚甲二氧基的木脂素可与变色酸-浓硫酸溶液反应呈紫色，如五味子果实中的木脂素。

三、木脂素的提取分离

木脂素多数呈游离型，少数成苷，在植物体内常与大量树脂状物共存，本身在溶剂处理过程中也容易树脂化，这是提取分离木脂素的难点。游离木脂素是亲脂性物质，易溶于氯仿、乙醚，在石油醚和苯中溶解度较小，但通过多次提取，浓缩后易得到纯度较好的产品。由于低极性溶剂难于渗入植物细胞，提取效率较低，加之又不能提出可能存在的木脂素苷，现通行的方法是先用乙醇或丙酮等亲水溶剂提取，得到浸膏后再用氯仿、乙醚等溶剂依次抽提，氯仿、乙醚提出部分即是粗的游离总木脂素。

吸附色谱是分离木脂素的主要手段，常用吸附剂为硅胶，以石油醚-乙酸乙酯、石油醚-乙醚、苯-乙酸乙酯、氯仿-甲醇等逐步增加极性展开洗脱，可以获得较好的分离效果。中性氧化铝也可用于木脂素的吸附色谱。

分配色谱也可用于木脂素的分离。纸色谱较为方便，将滤纸浸以甲酰胺为固定相，苯为流动相，展开后用盐酸重氮盐或 $SbCl_3$、$SbCl_5$ 试剂使木脂素显色。分配色谱对木脂素苷的分离也有价值，如盾叶鬼臼的90%甲醇提取物经醋酸铅去鞣质后，用氯仿、正丁醇萃取后在水饱和的硅藻土柱上进行乙酸乙酯/水分配色谱，可以将苷元和木脂素苷分成3部分：①苷元，②鬼臼毒素和β-盾叶鬼臼毒素的葡萄糖苷，③4′-去甲鬼臼毒素和α-盾叶鬼臼毒素的葡萄糖苷，这些苷类再经硅胶柱色谱，以含水异丙基醚酸酯加入0.5%～2%甲醇的混合溶剂洗脱，达到完全分离。

具有内酯结构的木脂素，可以利用碱液使其皂化成钠盐后与其它脂溶性物质分离，但碱液易使木脂素发生异构化，此法不宜用于有旋光活性的木脂素。

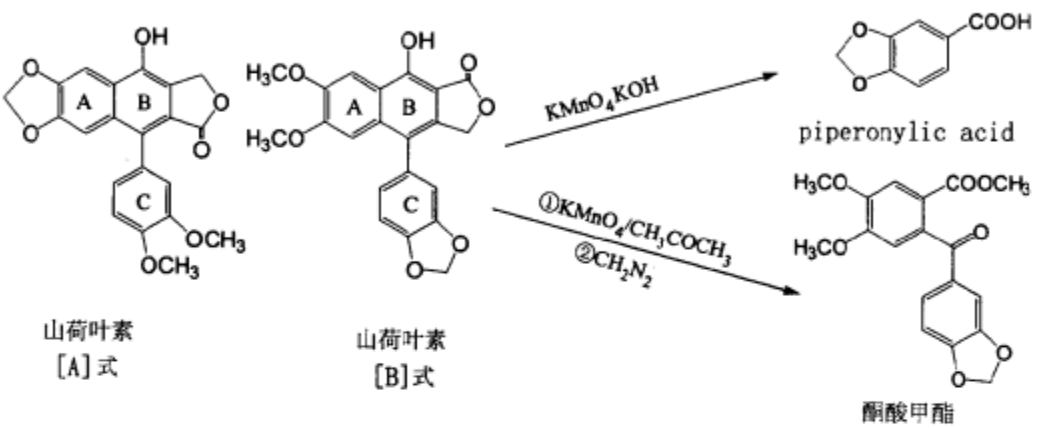
其它适于酚性苷的分离方法同样可用于木脂素苷类成分的分离。

四、木脂素的结构鉴定

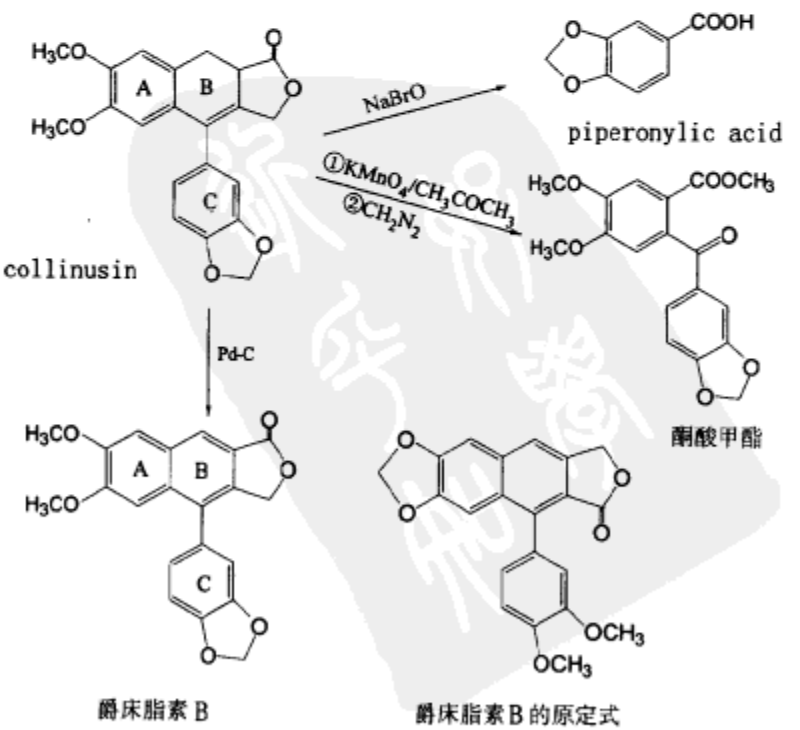
(一) 化学反应

木脂素的化学降解常用氧化法，可以获得保持苯环原来取代式样的降解衍生物。通过它们

的波谱性质和合成对照确定结构，从而解决木脂素的结构。氧化反应分剧烈氧化和缓和氧化。剧烈氧化以碱性 $KMnO_4$ 或次溴酸钠在水溶液中进行。缓和氧化以中性 $KMnO_4$ 在丙酮中进行。以山荷叶素为例，山荷叶素为苯代萘型木脂素，有二个甲氧基、一个亚甲二氧基和一个酚羟基。剧烈氧化得胡椒酸(piperonylic acid)。原定结构式 A，后经缓和氧化得酮酸，制成甲酯后，证明其结构如下，由此改为 B 式[30]。将亚甲二氧基定在 C 环，二个甲氧基定在 A 环上。

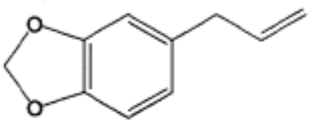


闭花木中有一个木脂素 collinusin 是苯代二氢萘型木脂素[31]，它的脱氢物同爵床脂素 B。collinusin 经剧烈氧化，得胡椒酸，在控制条件下氧化，得上述例子中相同的酮酸。collinusin 的 A 环和 C 环上的取代基可由此决定。爵床脂素 B 的原定结构式也因此得到改正。



（二）紫外光谱

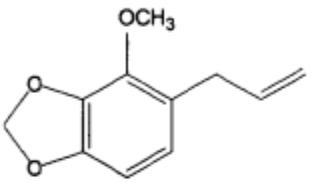
多数木脂素的二个取代芳环是两个孤立的发色团，两者紫外吸收峰位置相近，而吸收强度是两者之和，立体构型对紫外光谱没有影响。如鬼臼毒素和去氧鬼臼毒素，λmax 290～294nm（ε 4400～4800），系有两个发色团：亚甲二氧基苯 λmax 283nm（ε 3300）和三甲氧基苯 λmax 270nm（ε 650）的加和。峰位稍红移是由于 B 环存在，相当于烷基取代，黄樟醚（safrole）λmax 268nm（ε 4000）比亚甲二氧基苯红移可说明此点。



黄樟醚

λ max nm（ε）

268（4000）

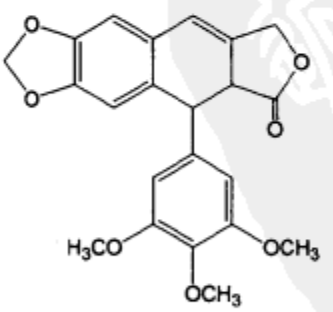


mirystisin

λ max nm（ε）

276(1400)

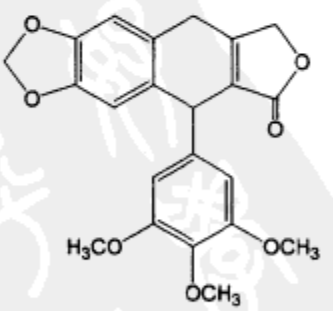
紫外光谱可用于区别芳基四氢萘、芳基二氢萘和芳基萘型木脂素，还可确定芳基二氢萘 B 环上的双键位置，通过鉴定失水物双键位置，还可确定 B 环上取代羟基的位置。以 α，β，γ-失水苦鬼臼脂素（apopicropodophyllin）和去氢鬼臼毒素为例说明。β-失水物的双键与两个苯环均无共轭，紫外吸收峰与鬼臼毒素相似，仅 α，β-不饱和内酯结构使短波处的吸收峰强度增加。由于共轭体系延长，α-失水物的吸收峰红移，γ-失水物的 B 环双键使二个苯环与 CO 共轭，其吸收峰的红移更加显著。去氢鬼臼毒素因 B 环芳香化，显示萘衍生物的吸收特征，其紫外吸收与前三者完全不同。



α-失水苦鬼臼脂素

λ max nm(lg ε)

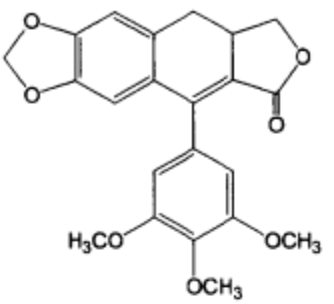
311（3.88）



β-失水苦鬼臼脂素

λ max nm(lg ε)

290（3.66）

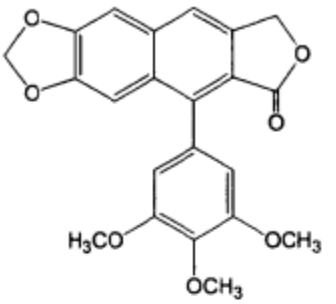


γ-失水苦鬼臼脂素

λ max nm(lg ε)

245.5（4.32）

350 （4.10）



去氧鬼臼毒素

λ max nm(lg ε)

266（4.49） 263（4.62）

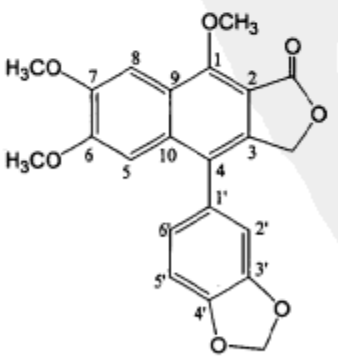
323（4.02） 356（3.72）

（三）核磁共振谱

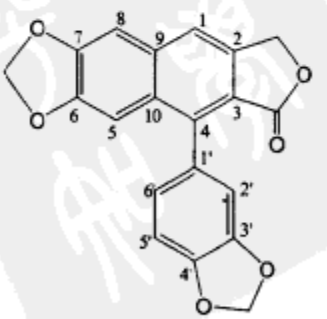
1. 氢谱(^{1}H-NMR) 氢谱是阐明木脂素结构的主要技术手段。对于芳基萘类和联苯环辛烯类木脂素的氢谱信号与结构间的关系，已经获知一些规律。

(1)芳基萘类木脂素：苯环上二个甲氧基信号的化学位移差距与取代位置有关。A 环：C_6-OCH_3 与 C_7-OCH_3 相差 11 ~ 14Hz，C_7-OCH_3 与 C_8-OCH_3 相差 4Hz；C 环：C_3'(C_5')-OCH_3 与 C_4'-OCH_3 相差 6 ~ 8Hz。

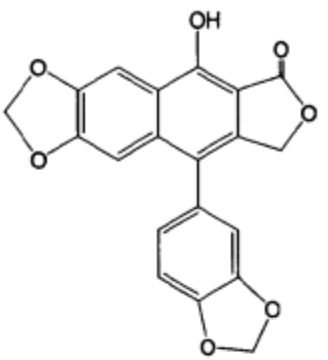
2-羰基化合物(内酯环向上，如爵床脂素 C)与 3-羰基化合物(内酯环向下，如台湾脂素 C)的内酯环 CH_2、H-1 和 CH_3O-1 的化学位移明显不同。2-羰基对 H-1 和 CH_3O-1 的去屏蔽作用使它们的化学位移向低场，内酯环-CH_2 则受 4-芳基的屏蔽，与 3-羰基化合物相比处于相对高场。依次可区别内酯环取向。如得自 *Tawania cryptomerioides* 的台湾脂素 E，原定结构为 1-羟基-2，3-萘内酯，经合成后发现性质不符，合成物(原定结构)的内酯环 CH_2 δ 5.18，与台湾脂素 C 的 δ 5.38 相比，说明存在苯环的屏蔽作用，而台湾脂素 E 为 δ 5.34，因此其羰基位置应与台湾脂素 C 相同[32]。(见表 3-4)



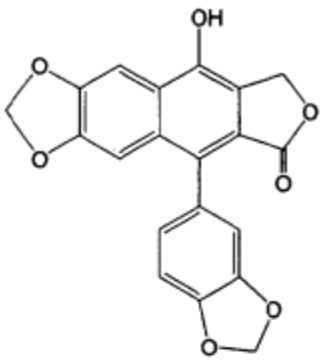
爵床脂素 C



台湾脂素 C



台湾脂素 E
原定式（合成物）



台湾脂素E
改定式

表 3-4 芳基萘类木脂素部分质子信号(δ)

质子	内酯环 CH_2	H-1	CH_3O-1
2-羰基化合物	5.08～5.23	8.30～8.70	4.30～4.40
3-羰基化合物	5.32～5.52	7.60～7.70	4.00～4.10

(2)联苯环辛烯类木脂素：两个芳香质子(H-4,H-11)的单峰信号在 δ 6.4～7.0，当具有对称平面结构时，两个芳香质子等价，如五味子甲素。天然木脂素中，C_7 和 C_8 无氧取代基时，两个甲基(CH_3-7,CH_3-8)通常为顺式，在 δ 0.70～1.00 出现两个不等价的双峰(J=7Hz)；C_7 或 C_8 有羟基取代时，一个甲基信号为单峰并向低场位移，在 TBC 构象中，竖键甲基因受芳环屏蔽在高场。若 C_6 或 C_9 有氧取代，当 H-6 与 H-7 或 H-8 与 H-9 反式，H-6 或 H-9(δ 5.5～5.9)为双峰(J=8Hz)；当 H-6 与 H-7 或 H-8 与 H-9 顺式，H-6 或 H-9 为单峰。H-6、H-7、H-8 和 H-9 的化学位移不仅受到八元环上极性取代基的影响，尚受取代基构型及八元环构象的影响，其构型与构象若使它们处于芳核的屏蔽或去屏蔽区内时，则分别移向高场或低场。CH_3O-1 和 CH_3O-14 因处于邻近芳环的屏蔽区内，与其它甲氧基相比处于相对高场。

溶剂位移特性用于确定甲氧基在芳环上的取代位置简便易行，这主要是利用苯或氘代苯对芳香质子邻位的甲氧基有明显的诱导位移。如果苯或氘代苯溶剂中所测甲氧基的化学位移值减去氘代氯仿或四氯化碳中测得的值后，其负值的绝对值大于 0.45，表明该甲氧基位于芳香质子邻位。

分子内 NOE 对于阐明此类木脂素的平面和立体结构非常有力。如五味子乙素和五味子丙素的亚甲二氧基分别误定 13,14 位和 1,2；13,14 位。NOE 和溶剂位移测定发现：前者只有一个甲氧基与芳香质子产生 NOE，也只有该甲氧基的苯诱导位移大于 0.45；后者既没有与芳香质子产生 NOE 的甲氧基，也没有苯诱导位移大于 0.45 的甲氧基。说明前者只有一个与芳香质子邻位的甲氧基，后者则没有甲氧基与芳香质子相邻，此两个木脂素的结构因此得以修正[33]。

2. 碳谱(^{13}C-NMR) 碳谱不仅用于确定木脂素的碳架和平面结构，对于其构型和构象的阐

明也很有用。

以联苯环辛烯类木脂素为例，芳香质子邻位的甲氧基比其它甲氧基高移约5，如 CH_3O-3 和 CH_3O-12 在 δ 55.0，其余甲氧基在 δ 60.5 左右。质子化芳香碳（C-4，C-11）的化学位移受其邻近取代基的影响有规律性的变化[34]。以下面的部分结构 A 来说，当八元环为 TBC 构象，有如下变化规律：①邻近甲基为竖键时，质子化芳香碳（C-6）在 δ 110.6 左右；为横键时，则在 δ 107.3 左右，发生高场位移。②邻位甲氧基（CH_3O-X）为羟基或乙酰氧基取代，质子化芳香碳低场位移 3 或 10。③对位甲氧基（CH_3O-Z）由羟基取代，质子化芳香碳高场位移约 3。④邻间位甲氧基（CH_3O-X，Y）代以亚甲二氧基，质子化芳香碳高场位移约 4。上述取代基的变化对其芳香碳的化学位移也有影响。（见表 3-5）

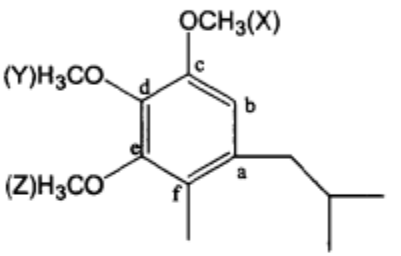


表 3-5　OH、OAc 和 OCH_2O 取代 CH_3O 对芳香碳化学位移的影响

芳香碳	$OCH_3(X)\rightarrow OH$	$OCH_3(X)\rightarrow OAc$	$OCH_3(Z)\rightarrow OH$	$OCH_3(X,Y)\rightarrow OCH_2O$	$OH(X)\rightarrow OAc$
C-a	+1.2 ±0.4	+0.7	+0.5	−0.9 ~ −2.0	−0.5
C-b	+2.8 ±0.3	+10.5	−2.8	−4.1 ±0.5	+7.5
C-c	−3.9 ±0.2	−9.0	−1.3	−3.5 ±0.5	−5.1
C-d	−2.4 ±0.3	+2.8	−6.7	−4.5 ±0.5	+4.9
C-e	−1.2 ±0.2	+0.1	−4.7	−10.4 ±0.4	+1.3
C-f	−0.8 ±0.2	+5.8	−6.3	−0.8 ~ −2.7	+6.4

此外，C-6 和 C-9 上有羟基或酯基取代时，其构型对该两个碳原子的化学位移也有一定影响。6β 或 9α 取代，C-6 或 C-9 位于低场（δ≥80）；6α 或 9β 取代，C-6 或 C-9 在相对高场（δ73）。

随着核磁共振新技术如 ^1H-^1H COSY，^{13}C-^1H COSY，NOESY 等各种二维核磁共振谱用于木脂素的结构研究，阐明木脂素的平面和立体结构已经不是什么难题。

***（四）旋光色谱*（ORD）*和圆二色谱*（CD）**

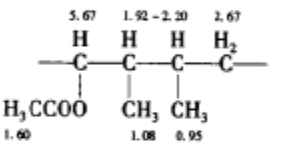
ORD 和 CD 是决定木脂素立体结构的有效手段。以芳基四氢萘类木脂素为例，C-4（编号同鬼臼毒素，下同）的构型可由 280 ~ 290nm 区内的 cotton 效应确定：4α-芳基为正的 cotton 效应，4β-芳基则为负的 cotton 效应，1 位为酮基时，其 $n\rightarrow\pi^*$ 跃迁（320nm 左右）的 cotton 效应符号可推定 C-2 的构型，2β-甲基为负 cotton 效应，2α-甲基为正 cotton。再如联苯环辛烯类木脂素，其联苯的绝对构型可由 ORD、CD 谱的 cotton 效应符号推定，在 250nm 附近出现负的 cotton 效应，联苯为 S 构型，相反为 R 构型，另外在 220nm 附近出现一个符号相反的

cotton 效应加以旁证。

（五）木脂素结构测定实例

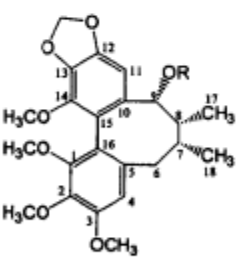
南五味子素(kadsurin)是五味子科植物日本南五味子(*Kadsura japonica*)茎中的一个木脂素，mp. 157～158℃；$[\alpha]_D^{25}$-39°(C=0.13，$CHCl_3$)；分子式 $C_{25}H_{30}O_8$，MS *m/z*：458(M^+)，398(M^+-HOAc)；IR ν_{max}^{nujul} cm^{-1}：1735(酯)，1615，1600，1585，1495(芳环)；UV λ_{max}^{MeOH} nm(ε)：230(26300)，254(11300)，278(3500)；^{1}H-NMR δ $CDCl_3$化学位移单位：0.95(3H，d，*J*=7.0Hz，CH_3-C_8)，1.08(3H，d，*J*=7.0Hz，CH_3-C_7)，1.60(3H，s，CH_3CO)，1.92～2.20(2H，m，H-7 和 H-8)，2.67(2H，d，*J*=4.2Hz，H_2-6)，3.65，3.83，3.89，3.92(各 3H，s，CH_3O ×4)，5.67(1H，br. s，H-9)，5.99(2H，br. s，—OCH_2O—)，6.48(1H，s，H-11)，6.60(1H，s，H-4)。

结构推导如下：由光谱数据看出，南五味子素是一个具有 2 个芳香质子(δ 6.48，6.60)的联苯化合物，其紫外光谱与五味子醇甲(schizandrin)极其相似，表明为联苯环辛烯类木脂素。从 ^{1}H-NMR 看，该化合物有 4 个 CH_3O-(3.65，3.83，3.89，3.92)，一个—OCH_2O—(5.99)，而且这些基团均位于芳环上，双照射实验证实有如下结构片段，因为照射 δ 1.92～2.20 信号中央，δ 0.95、1.08、2.67 和 5.67 四个双峰或宽单峰信号均变为尖锐单峰。



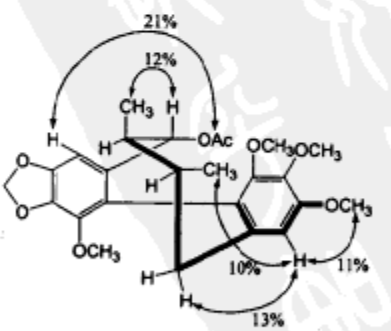
其中 CH_3COO—CH—的存在为 MS(*m/z*，398，M^+-HOAc)和 ^{1}H-NMR(δ 1.60，3H；δ 5.67，1H)所证实。当用 $LiAlH_4$ 还原时，南五味子素转化为一个相应的醇化合物($C_{23}H_{28}O_7$，ν_{max} 3560cm^{-1})，δ 1.60 的单峰信号消失，而 δ 5.67 信号移至 δ 4.64。酯基的存在也为 IR(ν_{max} 1735cm^{-1})所佐证。其平面结构因此建立。

南五味子素的立体结构最后通过分子内 NOE 实验得以阐明，其中两个苯环平面相互垂直，联苯的绝对构型为 S 型。(表 3-6)



南五味子素 R=CH_3CO-

还原产物 R=H



南五味子素立体结构

表 3-6 南五味子素 NOE 实验数据

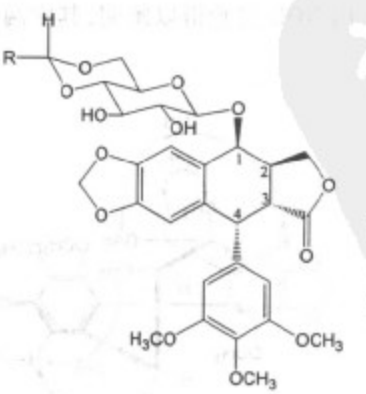
低强度照射信号(δ)	观察信号(δ)	信号增益(100%)	证明结构
H-9(5.67)	H-11	21	α-OAc
CH_3-17(1.08)	H-11	0	α-CH_3-17
CH_3O(3.65,3.83,3.89,3.92)	H-11	0	H-11 邻位有—OCH_2O—
CH_3-17(1.08)	H-9(5.67)	12	α-CH_3-17
H-9(5.67)	H-4(6.60)	0	
H-6(2.67)	H-4(6.60)	13	
CH_3-18(0.95)	H-4(6.60)	10	α-CH_3-18
CH_3O-3(3.92)	H-4(6.60)	11	H-11 邻位有 OCH_3

五、木脂素的生物活性

木脂素结构类型多样，生物活性广泛而且显著，主要的生物活性有如下几个方面。

（一）抗肿瘤作用

小檗科鬼臼属及其近缘植物中，普遍存在且含量较高的各种鬼臼毒素类木脂素，均显示强的细胞毒活性，能显著抑制癌细胞的增殖。其化学结构中，C_3 和 C_1 的构型对抗癌活性非常重要，天然鬼臼毒素为 2β,3α 构型，异构化成 2β,3β 的苦鬼臼脂素后，细胞毒活性大为降低，1β-OH 的表鬼臼毒素活性也较 1α-OH 的鬼臼毒素低，另外 C_1 位上取代基的极性也很重要。天然鬼臼毒素类木脂素毒性很大，难以临床应用，但其半合成产物如 VP-16(etoposide)和 VM-26(teniposide)已开发成抗癌药物应用于临床。伞形科植物 *Steganotaenia araliacea* 中得到的 steganacin 等联苯环辛烯内酯木脂素也具有很好的抗白血病 P388 活性。



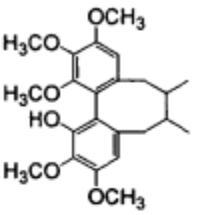
VP-16 R = CH_3

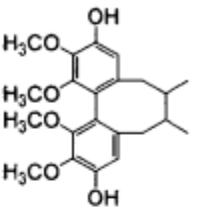
VM-26 R=

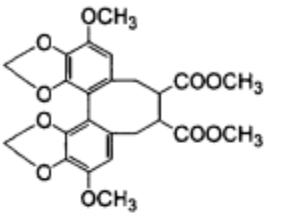
（二）肝保护和抗氧化作用

五味子和华中五味子果实中的各种联苯环辛烯类木脂素，均有保肝和降低血清谷丙转氨酶作用，如五味子酯甲及其类似物已在我国成为治疗肝炎的药物。化学结构中的亚甲二氧基可能是主要活性基团。近年来的研究发现，此类木脂素具有显著的抗脂质过氧化和清除氧自由基作用，酚羟基的存在可使其抗氧化活性大为增强，如含有一个酚羟基的五味子酚[35]和两个酚羟基

的戈米辛 J(gomisin J)[36]。联苯双酯(diphenyl dimethyl bicarboxylate)是我国研究五味子素类木脂素过程中合成开发的一个肝炎治疗新药[37]。


五味子酚


戈米辛 J


联苯双酯

(三) 中枢神经系统(CNS)的作用

一些木脂素对 CNS 既有抑制也有抗抑制作用。如 simplexoside 是镇静剂,但其苷元却是兴奋剂。五味子素木脂素类(如五味子醇甲)具有明显的中枢安定作用,其机制可能是通过增加大脑纹状体和下丘脑的多巴胺含量。厚朴的镇静和肌肉松弛作用也与其含有的木脂素厚朴酚与和厚朴酚有关[38]。

(四) 血小板活化因子(PAF)拮抗活性

海风藤中获得的新木脂素类成分对 PAF 受体结合有明显抑制作用,其中海风藤酮活性最强,浓度为 3.0μmol/L 时抑制率达 95%[39]。异型南五味子中得到的 R(+)-gomisin M_1 等多种联苯环辛烯类也具有 PAF 的拮抗活性,R(+)-gomisin M_1 的 IC_{50} 为 3μmol/L[40]。

(五) 抗病毒作用

鬼臼毒素类木脂素对麻疹和Ⅰ型单纯疱疹有对抗作用。从内南五味子中得到的戈米辛等数种木脂素对艾滋病毒(HIV-1)的增殖具有明显抑制[41]。

(六) 平滑肌解痉作用

五味子果实中的木脂素类成分对由 $PGF_{2\alpha}$ 和 $CaCl_2$ 引起的离体狗肠系膜动脉收缩具有抑制作用,显示钙拮抗活性,其中戈米辛 J 活性最强[42]。

(七) 毒鱼作用

爵床属植物 *Justicia hayata* 中的爵床脂素 A、B 和山荷叶素均有毒鱼作用,其毒性强度与鱼藤酮(rotenone)相当,对昆虫和高等动物则毒性较小。

(八) 杀虫作用

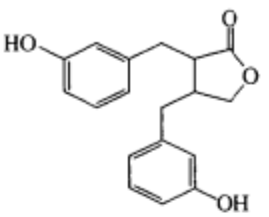
透骨草中的乙酰透骨草脂素具胃毒作用,是杀蝇成分[43]。芝麻素、细辛素、罗汉松脂素本身虽无杀虫作用,但对其它杀虫剂有增效作用。

(九) 其它作用

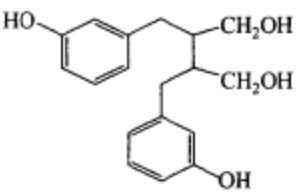
某些木脂素还具有 cAMP 磷酸二酯酶抑制活性、免疫增强、促进蛋白质和糖原的合成等多种作用。

在人和灵长类动物体内发现木脂素的存在引起科学家的极大兴趣[44]。在人、狒狒、velvet 猴和大鼠的尿中,enterolactone 和 enterodiol 以葡萄糖醛酸苷的形式被发现。有趣的是,enterolactone 在人尿、血浆和胆汁中的水平与甾体代谢物相当,在女性尿中,其浓度有周期变化,在黄体期和孕期出现高峰,提示其具有激素样活性。这些木脂素的化学结构与合成雌激素己烯雌酚非常相似,

但与植物中的木脂素不同，在丙基的间位有酚羟基，其生源可能是食物中的木脂素（如 secolariciresinol 苷）在肠道内被细菌转化而成。



enterolactone



enterodiol

参 考 文 献

[1] 胡昌奇. 天然药物化学. 第三版. 人民卫生出版社，2001，106
[2] Hirai，Y. et al. （日）生药志，1983，37：374
[3] Jiang Z. H. et al. Phytochemistry，1995，40(4)：1223
[4] Rimando，Am，et al. （日）生药志，1987，41：242
[5] 顾文华. 中草药，1981，12(2)：41
[6] 张德成等. 上海第一医学院学报，1980，7(5)：384
[7] 名古屋勉等. 日本特许公告，1965，12785
[8] Scarpati M. L. et al. CA1960，54：24520b
[9] Murray R. D. H. et al. The Natural Conmarins，Occurrence，Chemistry and Biochemistry，1982，John willy & Sons
[10] 孔令义等. 天然产物研究与开发，1994，6(1)：50
[11] 张如意等. 北京医学院学报，1985，17：104
[12] Komissarenko. NF. et al. Khim. Prir. Soedim. 1976，4：184
[13] 江苏亮菌研究所. 中国科学，1974，17：377
[14] 胡昌奇等. 天然产物研究与开发，1992，4(1)：6
[15] K. Hata. et al. Chem. Pham. Bull，1973，21：518
[16] R. C. Huang. Hepayology，1996，24(3)：508
[17] 孙奋治等. 药学学报，1981，16：401
[18] 潘德济. 天然药物化学，人民卫生出版社，1994：143
[19] 刘嘉森. 天然产物化学，科学出版社，1993：710
[20] Ward R. S. Natural Product Reports，1977，43；1995，183；1993，1
[21] Whiting D. A. Natural Product Reports，1990，349；1987，499；1985，191
[22] Haworth R. D. J. Chem. Soc.，1942，448
[23] Gottlieb O. R. et al. Fortschr Chem. Org. Naturst，1978，35：1
[24] Luo S. D. et al. Planta Medica，1988，440
[25] Liu J. S. et al. Can J Chem，1989，682；1991，1403
[26] Kupchan S. M. et al. J Am Chem. Soc，1973，1334
[27] Ogiso A. et al. Tetrahedron Lett，1968，2003-2-15
[28] Ichihara A. et al. Tetrahedron Lett，1976，3961

[29] Ayrea D. C. et al. J Chem. Soc,1965,3586
[30] T. R. Govindachari et al. Tetrahedron Lett. 1967,3517
[31] T. R. Govindachari et al. Tetrahedron Lett. 1967,4183
[32] Horii Z. et al. Tetrahedron Lett,1969,1079
[33] 刘嘉森等. 化学学报,1976,34:229
[34] Ikeya Y. et al. Chem. Pham. Bull,1980,2414
[35] Lu H. et al. Chem-Biol Interact,1991,77
[36] Peng H. L. et al. Acta Pharmacologica sinica,1996,538
[37] 刘耕陶. 药学学报,1983,714
[38] Fujita. M. et al. Chem. Pham. Bull,1972,212
[39] Chang M. N. et al. Phtochem,1985,2079
[40] Han G. Q. et al. J Chin Pharm Sci,1992,1(1):20
[41] Chen D. F. et al. Bioorg Med Chem,1997,1715
[42] 末川守,他. 药学杂志(日),1987,720
[43] Taniguchi E. et al. Tetrahedron Lett,1972,653
[44] Adlercreutz H. et al. J Steroid Biochem,1987,1135

（杨 君）

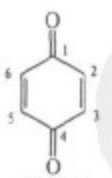
4 第四章 醌类化合物[1,2]

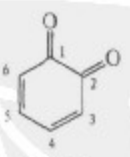
第一节 醌类化合物的结构类型

醌类化合物是天然产物中一类比较重要的活性成分，是指分子内具有不饱和环二酮结构（醌式结构）或容易转变成这样结构的天然有机化合物。天然醌类化合物主要分为苯醌、萘醌、菲醌和蒽醌四种类型。

一、苯 醌 类

苯醌类（benzoquinones）化合物从结构上分为邻苯醌和对苯醌两大类。邻苯醌结构不稳定，故天然存在的苯醌化合物大多数为对苯醌的衍生物。


对苯醌

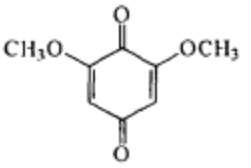

邻苯醌

在上述苯醌母核上常见的取代基有—OH、—OCH_3、—CH_3 或其它烃基侧链。

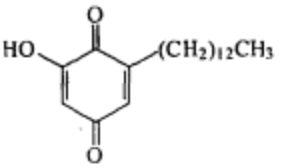
苯醌类化合物存在于 27 科高等植物中，在低等植物棕色海藻中也发现苯醌类化合物[3]。天然苯醌类化合物多为黄色或橙色的结晶体，如 2,6-二甲氧基对苯醌，为黄色结晶，存在于中药凤眼草（*Ailanthus altissima* Swingle）的果实中，具有较强的抗菌作用。

从中药朱砂根（*Ardisia crenata*）的根中分离得到化合物密花醌（rapanone），具有抗毛滴虫作用，有抗痢疾阿米巴原虫及抗阴道毛滴虫活性[4]。

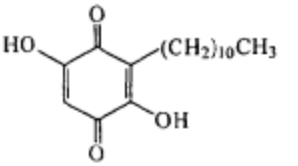
从白花酸藤果（*Embelia ribes* Burm.）的果实及木桂花（*E. oblongifolia* Hemsl.）果实中分离得到的驱绦虫有效成分信筒子醌（embelin）为橙红色的板状结晶，是带有高级烃基侧链的对苯醌衍生物。



2,6-二甲氧基苯醌



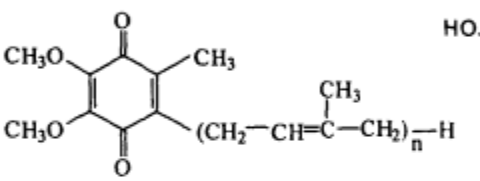
密花醌



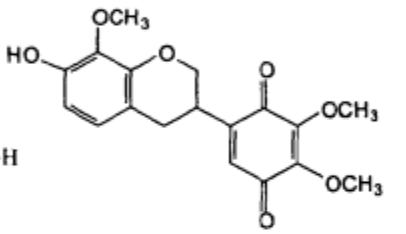
信筒子醌

广泛存在于生物界的泛醌类(ubiquinones)能参与生物体内的氧化还原过程,是生物氧化反应的一类辅酶,称为辅酶Q类(coenzymes Q),其中辅酶Q_{10}(n = 10)已用于治疗心脏病、高血压及癌症。

从紫穗槐属植物紫穗槐(*Amorpha fruticosa*)根中分离得到化合物amorphaquinone,为非晶型橙色固体,是一种类黄酮型苯醌,这类化合物在蝶形花科植物中含有较多[5]。

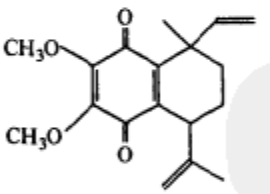


辅酶Q_{10} (n=10)

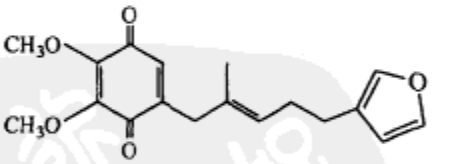


amorphaquinone

arnebinone和arnebifuranone两个化合物是从中药软紫草(*Arnebia euchroma*)根中分得的对前列腺素PGE_2生物合成具有抑制作用的微量活性物质[6],也属于对苯醌类化合物。

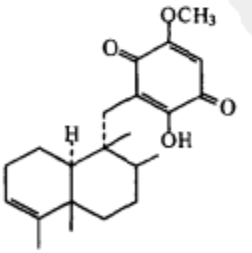


arnebinone

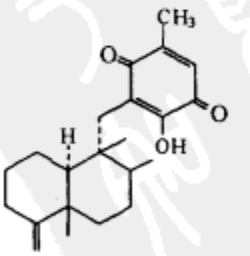


arnebifuranone

近年从澳大利亚一种海绵*Spongia hispida*中分离鉴定了一系列对苯醌和倍半萜聚合而成的化合物,如isospongiaquinone和ilimaquinone等[7]。



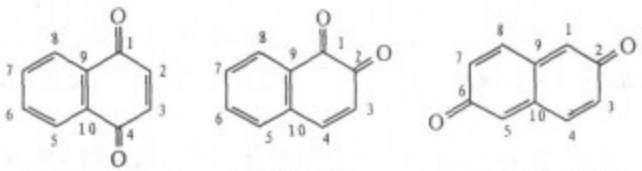
isospongiaquinone



ilimaquinone

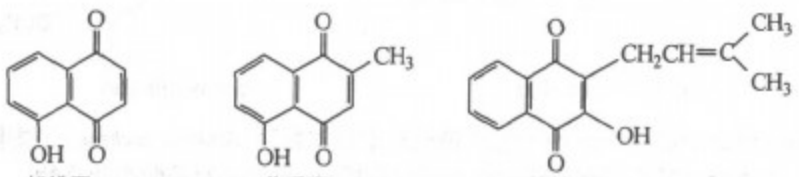
二、萘醌类

萘醌类(naphthoquinones)化合物从结构上考虑可以有α-(1,4)、β-(1,2)及amphi-(2,6)三种类型。但至今实际上从自然界得到的绝大多数为α-萘醌类。



α-(1,4)萘醌　　β-(1,2)萘醌　　amphi-(2,6)萘醌

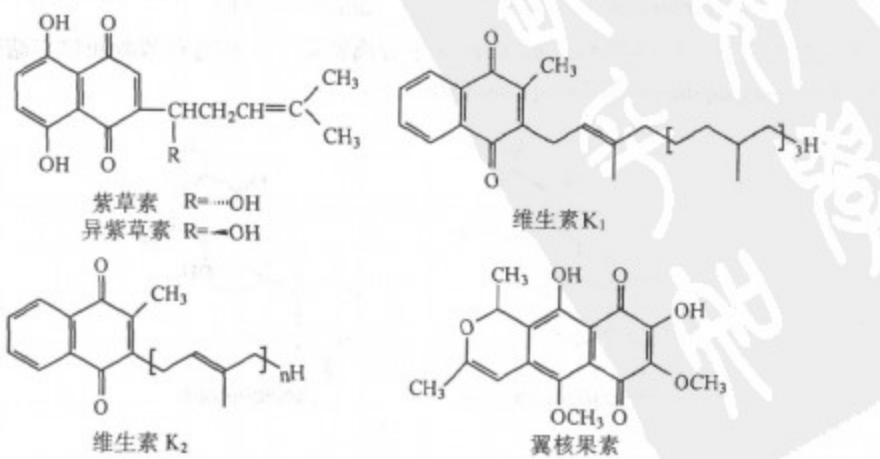
萘醌大致分布在20科的高等植物中,较富有的科为紫草科、柿科、蓝雪科、紫葳科等。在低等植物地衣类、藻类中也有分布。许多萘醌类化合物具有显著的生物活性。如胡桃醌(juglon)具有抗菌、抗癌及中枢神经镇静作用;蓝雪醌(plumbagin)有抗菌、止咳及祛痰作用;拉帕醌(lapachol)有抗癌作用。



胡桃醌　　蓝雪醌　　拉帕醌

从中药紫草及软紫草中分得的一系列紫草素(shikonin)及异紫草素(alkanin)类衍生物具有止血、抗炎、抗菌、抗病毒及抗癌作用,为中药紫草中的主要有效成分。维生素K类化合物,如维生素K_1及K_2也属于萘醌类化合物,具有促进血液凝固作用,可用于新生儿出血、肝硬化及闭塞性黄疸出血等症。

从鼠李科植物翼核果(*Ventilago leiocarpa* Benth.)根中分离鉴定的翼核果素(ventilagolin)实际上也是一种萘醌类化合物[8]。



紫草素　R=—OH
异紫草素　R=—OH

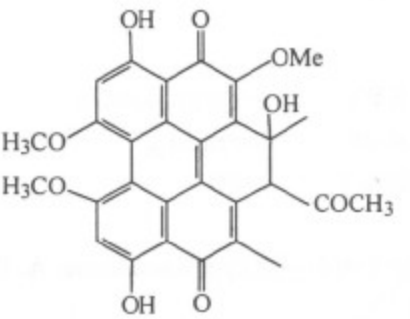
维生素K_1

维生素K_2

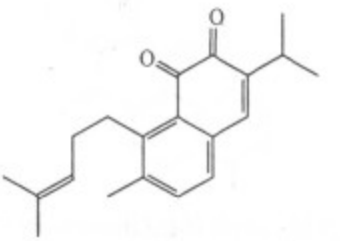
翼核果素

近年从子囊菌纲和半知菌类某些真菌中提取分离的一类聚合的二萘酮化合物，也称苝醌类化合物。由竹红菌（*Hypocrella bambusae*）中分离鉴定的化合物竹红菌甲素（hypocrellin A），具有显著的光敏活性[9]。

从唇形科植物红根草（*Salvia prionitis*）全草中分离鉴定的化合物红根草邻醌（saprothoquinone），有较明显的抗菌活性，且对 P-388 白血病细胞有细胞毒性[10]。



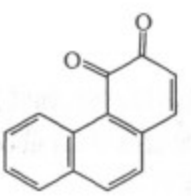
竹红菌甲素



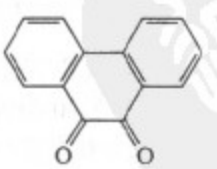
红根草邻醌

三、菲醌类

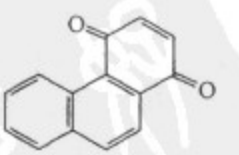
天然菲醌（phenanthraquinone）衍生物包括邻醌及对醌两种类型，含菲醌类的植物分布在唇形科、兰科、豆科、番荔枝科、使君子科、蓼科、杉科等高等植物中，在地衣中也有分离得到。例如从著名中药丹参（*Salvia miltiorrhiza* Bunge）根中提取得到的多种菲醌衍生物[11,12]，均属于邻菲醌类和对菲醌类化合物。



邻菲醌（Ⅰ）



邻菲醌（Ⅱ）

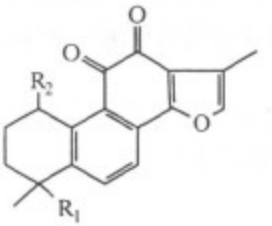


对菲醌

丹参醌类成分具有抗菌及扩张冠状动脉的作用，由丹参醌 ⅡA 制得的丹参醌 ⅡA 磺酸钠注射液可增加冠脉流量，临床上治疗冠心病、心肌梗死有效。

另外，从丹参的同属植物裂鼠尾草（*Salvia hians* Rogle）根中也分离得到一系列邻菲醌类化合物[13]。

丹参醌类成分虽然在结构上为菲醌类，但从其它共存的同系物结构来看，在生物合成上属于二萜类，故也可把丹参醌Ⅰ（tanshinone Ⅰ）看成是二萜萘醌的脱氢衍生物，归属到萘醌类中。

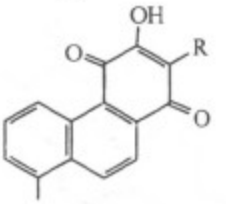


丹参醌 ⅡA　$R_1=CH_3$　$R_2=H$

丹参醌 ⅡB　$R_1=CH_2OH$　$R_2=H$

羟基丹参醌 ⅡA　$R_1=CH_3$　$R_2=OH$

丹参酸甲酯　$R_1=COOCH_3$　$R_2=H$



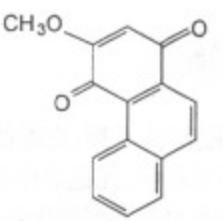
丹参新醌甲　$R=CH(CH_3)CH_2OH$

丹参新醌乙　$R=CH(CH_3)_2$

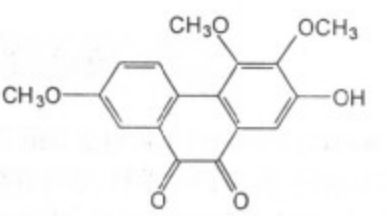
丹参新醌丙　$R=CH_3$

番荔枝科植物山番荔枝(*Annona montana*)的茎皮中分离得到 annoquinone A，具有抗枯草杆菌及藤黄细球菌活性，对 KB 细胞也有细胞毒性[14]。

由植物 *Bulbophyllum odoratissimum* 中分出一个邻菲醌(Ⅱ)型化合物 bulbophyllanthrone(Ⅰ)[15]。



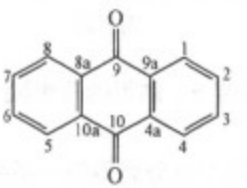
annoquinone A



bulbophyllanthrone (Ⅰ)

四、蒽醌类

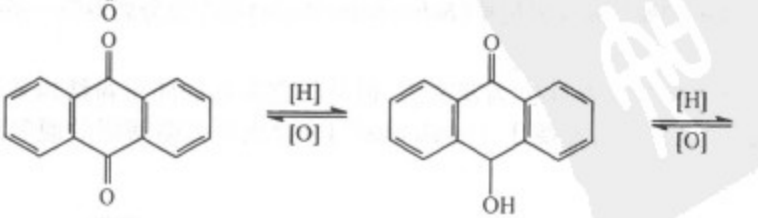
蒽醌类(anthraquinones)成分包括蒽醌衍生物及其不同程度的还原产物，如氧化蒽酚、蒽酚、蒽酮及蒽酮的二聚体等。蒽醌类化合物大致分布在 30 余科的高等植物中，含量较多的有蓼科、鼠李科、茜草科、豆科、百合科、玄参科等，在地衣类和真菌中也有发现。



1, 4, 5, 8 位为α-位

2, 3, 6, 7 位为β-位

9, 10 位为 meso-位



蒽醌　　氧化蒽酚

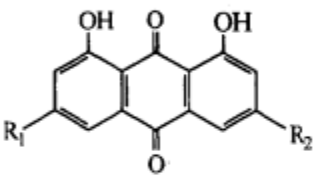
蒽酮　　蒽酚

（一）蒽醌衍生物

天然存在的蒽醌类成分在蒽醌母核上常有羟基、羟甲基、甲氧基和羧基取代。以游离形式及与糖结合成苷两种形式存在于植物体内。

根据羟基在蒽醌母核上的分布情况，可将羟基蒽醌衍生物分为两类。

1. 大黄素型　羟基分布在两侧的苯环上，多数化合物呈黄色。例如常用中药大黄中的主要蒽醌成分多属于这个类型。

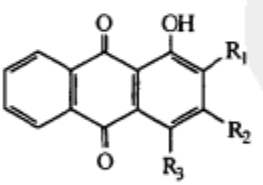


大黄酚	R_1=CH_3	R_2=H
大黄素	R_1=CH_3	R_2=OH
大黄素甲醚	R_1=CH_3	R_2=OCH_3
芦荟大黄素	R_1=H	R_2=CH_2OH
大黄酸	R_1=H	R_2=COOH

大黄中的羟基蒽醌衍生物多与葡萄糖结合成苷类，一般有单糖苷和双糖苷两种。

从中药巴戟天（*Morinda officinalis*）中分得的1,6-二羟基-2,4-二甲氧基蒽醌和1,6-二羟基-2-甲氧基蒽醌[16]及从虎刺（*Damnacanthus indicus*）中分得的1,5-二羟基-2-甲氧基蒽醌和1,3,5-三羟基-2-羧乙基蒽醌[17]也属于大黄素型。

2. 茜草素型　羟基分布在一侧的苯环上，化合物颜色较深，多为橙黄色至橙红色。例如中药茜草（*Rubia cordifolia*）中的茜草素等化合物即属此型。



茜草素	R_1=OH	R_2=H	R_3=H
羟基茜草素	R_1=OH	R_2=H	R_3=OH
伪羟基茜草素	R_1=OH	R_2=COOH	R_3=OH

茜草中除含有游离蒽醌苷元外，还含有木糖和葡萄糖的蒽醌苷类化合物，已分离得到的有单糖苷和双糖苷[18]。

（二）蒽酚（或蒽酮）衍生物

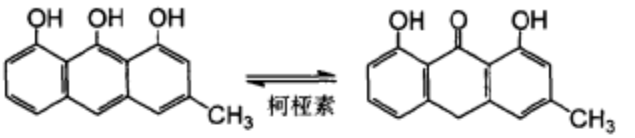
蒽醌在酸性条件下被还原，生成蒽酚及其互变异构体蒽酮。

蒽酚（或蒽酮）的羟基衍生物一般存在于新鲜植物中，该类成分可以慢慢被氧化成蒽醌类成分。如在新鲜大黄中含有的蒽酚类成分，经过贮存两年以上就再也检查不出这些蒽酚类成分了。

蒽酚类衍生物也以游离苷元和结合成苷两种形式存在。meso-位上的羟基与糖结合的苷，其性质比较稳定，只有经过水解除去糖以后才易被氧化。

羟基蒽酚类对霉菌有较强的杀灭作用，是治疗皮肤病有效的外用药，如柯桠素（chrysarobin）

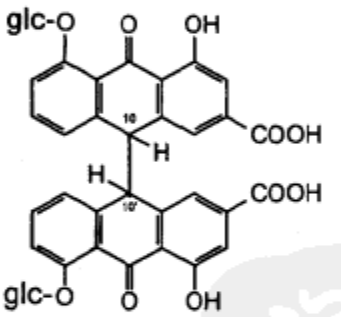
治疗疥癣等症，效果较好。



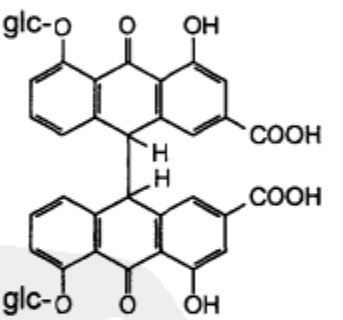
（三）二蒽酮类衍生物

二蒽酮类成分可以看成是两分子的蒽酮相互结合而成的化合物。例如大黄及番泻叶中致泻的主要有效成分番泻苷 A、B、C、D 等皆为二蒽酮衍生物。

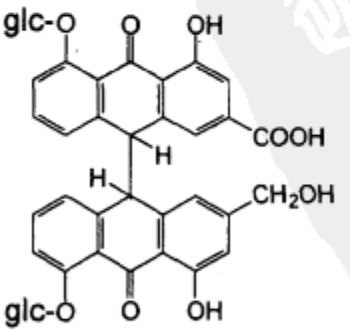
番泻苷 A（sennoside A）是黄色片状结晶，被酸水解后生成两分子葡萄糖和一分子番泻苷元 A（sennidin A）。番泻苷元 A 是两分子的大黄酸蒽酮通过 C_{10}-$C_{10'}$ 相互结合而成的二蒽酮类衍生物，其 C_{10}-$C_{10'}$ 为反式连接。番泻苷 B（sennoside B）水解后生成番泻苷元 B（sennidin B），其 C_{10}-$C_{10'}$ 为顺式连接，是番泻苷元 A 的异构体。番泻苷 C（sennoside C）是一分子大黄酸蒽酮与一分子芦荟大黄素蒽酮通过 C_{10}-$C_{10'}$ 反式连接而形成的二蒽酮二葡萄糖苷。番泻苷 D（sennoside D）为番泻苷 C 的异构体，其 C_{10}-$C_{10'}$ 为顺式连接。



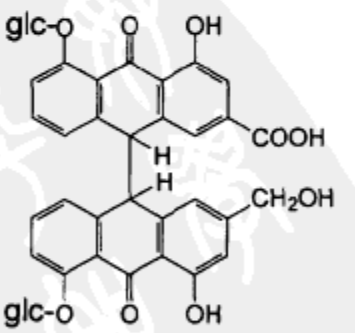
番泻苷 A



番泻苷 B

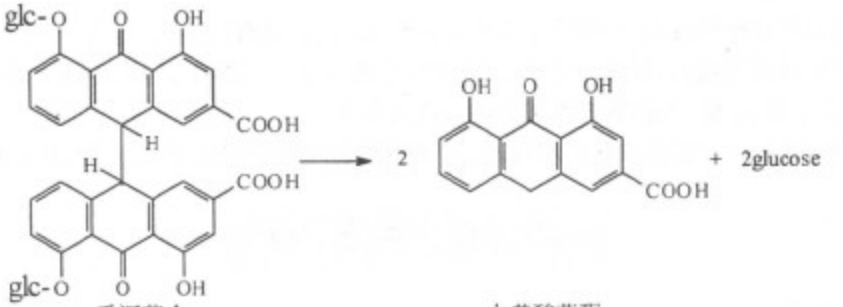


番泻苷 C



番泻苷 D

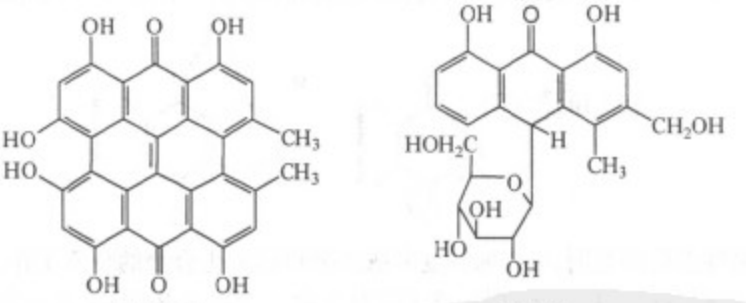
二蒽酮类化合物的 C_{10}-$C_{10'}$ 键与通常 C-C 键不同，易于断裂，生成稳定的蒽酮类化合物。如大黄及番泻叶中含有的番泻苷 A 的致泻作用是因其在肠内变为大黄酸蒽酮所致。



番泻苷A　　大黄酸蒽酮

二蒽酮衍生物除 C_{10}-$C_{10'}$ 的结合方式外，尚有其它形式。如金丝桃素（hypericin）为萘骈二蒽酮衍生物，存在于金丝桃属某些植物中，具有抑制中枢神经及抗病毒的作用。

以上三种主要的蒽醌类衍生物在植物体内除以游离苷元和与糖结合成氧苷两种形式存在外，还能结合成碳苷类，即糖作为侧链，其端基碳与蒽环上的碳直接通过 C-C 键相连。例如芦荟致泻的主要有效成分芦荟苷（barbaloin）就属碳苷类化合物。



金丝桃素　　芦荟苷

第二节　醌类化合物的理化性质

一、物理性质

（一）性状

醌类化合物如果母核上没有酚羟基取代，基本上无色。但随着酚羟基等助色团的引入则表现有一定颜色。取代的助色团越多，颜色也就越深，有黄、橙、棕红色以至紫红色等。天然存在的醌类成分因分子中多有取代故为有色晶体。苯醌和萘醌多以游离态存在，而蒽醌一般结合成苷存在于植物体中，因极性较大难以得到结晶。

（二）升华性

游离的醌类化合物一般具有升华性。小分子的苯醌类及萘醌类还具有挥发性，能随水蒸气蒸馏，可据此进行分离和纯化工作。

（三）溶解度

游离醌类苷元极性较小，一般溶于乙醇、乙醚、苯、氯仿等有机溶剂，基本上不溶于水。和糖结合成苷后极性显著增大，易溶于甲醇、乙醇中，在热水中也可溶解，但在冷水中溶解度大大降低，几乎不溶于苯、乙醚、氯仿等极性较小的有机溶剂中。

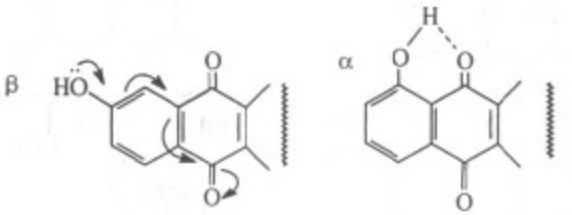
有些醌类成分含有易被氧化的取代基，对光不稳定，操作时应在暗处进行，并须避光贮存。

二、化学性质

（一）酸性

醌类化合物多具有酚羟基，故具有一定的酸性。在碱性水溶液中成盐溶解，加酸酸化后被游离又可重新沉淀析出。

醌类化合物因分子中酚羟基的数目及位置不同，酸性强弱表现出显著差异。例如2-羟基苯醌或在萘醌的醌核上有羟基时，实际上为插烯酸的结构，故表现出与羧基相似的酸性，可溶于 $NaHCO_3$ 水溶液中。萘醌及蒽醌苯环上的β-位羟基的酸性则次之，可溶于碱性稍强的 Na_2CO_3 水溶液中，而α-位上的羟基因与C═O基形成氢键缔合，表现出更弱的酸性，只有用NaOH水溶液才能溶解。

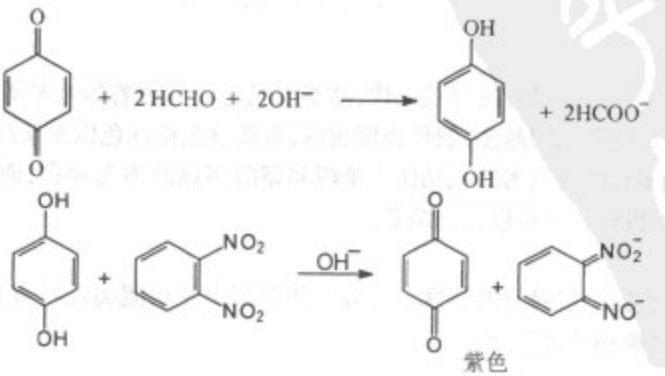


根据醌类酸性强弱的差别，可用碱梯度萃取法进行这类化合物的分离工作。以游离蒽醌类衍生物为例，酸性强弱按下列顺序排列：含-COOH > 含2个以上β-OH > 含一个β-OH > 含二个α-OH > 含一个α-OH。故可从有机溶剂中依次用5% $NaHCO_3$、5% Na_2CO_3、1% NaOH及5% NaOH水溶液进行梯度萃取，达到分离的目的。

（二）颜色反应

醌类的颜色反应主要取决于其氧化还原性质以及分子中的酚羟基性质。

1. Feigl反应[19] 醌类衍生物在碱性条件下经加热能迅速与醛类及邻二硝基苯反应，生成紫色化合物。其反应机理如下：

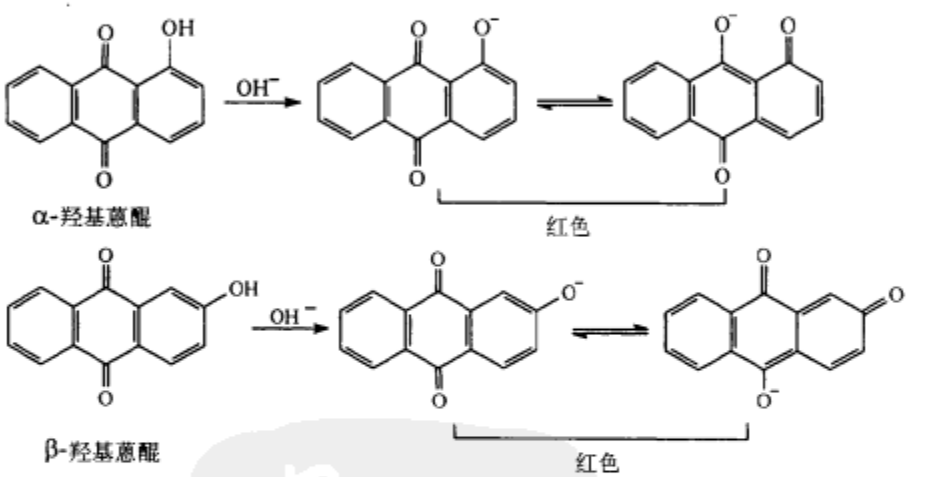


实际上，醌类在反应前后无变化，只是起到传递电子的媒介作用，醌类成分含量越高，反应速度也就越快。试验时可取醌类化合物的水或苯溶液 1 滴，加入 25% Na_2CO_3 水溶液、4% HCHO 及 5% 邻二硝基苯的苯溶液各 1 滴，混合后置水浴上加热，在 1 ~ 4 分钟内产生显著的紫色。

2. 无色亚甲蓝显色试验[20] 无色亚甲蓝溶液（leucomethylene blue）用于 PPC 和 TLC 作为喷雾剂，是检出苯醌类及萘醌类的专用显色剂。试样在白色背景上作为蓝色斑点出现，可借此与蒽醌类化合物相区别。

无色亚甲蓝溶液可按下法配制：取 100mg 亚甲蓝溶于 100ml 乙醇中，加入 1ml 冰醋酸及 1g 锌粉，缓缓振摇直至蓝色消失，即可备用。试样最低检出限约为 1μg/cm²。

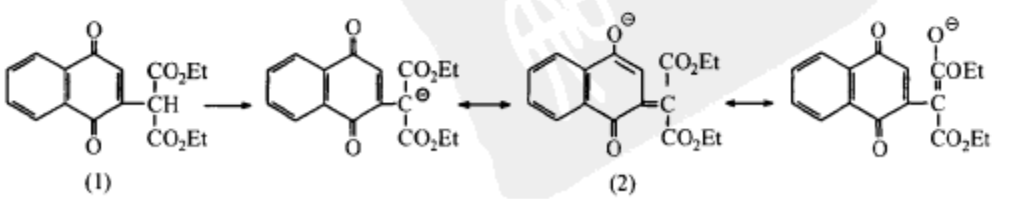
3. 碱性条件下的呈色反应 羟基醌类在碱性溶液中发生颜色改变，会使颜色加深。多呈橙、红、紫红色及蓝色。例如羟基蒽醌类化合物遇碱显红 ~ 紫红色的反应称为 Borntträger's 反应，其机理如下：



显然，该显色反应与形成共轭体系的酚羟基和羰基有关。因此羟基蒽醌以及具有游离酚羟基的蒽醌苷均可呈色，但蒽酚、蒽酮、二蒽酮类化合物则需氧化形成羟基蒽醌类化合物后才能呈色。

用本反应检查天然药物中是否含有蒽醌类成分时，可取中草药粉末约 0.1g，加 10% 硫酸水溶液 5ml，置水浴上加热 2 至 10 分钟，冷却后加 2ml 乙醚振摇，静置后分取醚层溶液，加入 1ml 5% 氢氧化钠水溶液，振摇。如有羟基蒽醌存在，醚层则由黄色褪为无色，而水层显红色。

4. 与活性次甲基试剂的反应（Kesting-Craven 法）[21] 苯醌及萘醌类化合物当其醌环上有未被取代的位置时，可在氨碱性条件下与一些含有活性次甲基试剂（如乙酰醋酸酯、丙二酸酯、丙二腈等）的醇溶液反应，生成蓝绿色或蓝紫色。以萘醌与丙二酸酯的反应为例，反应时先生成产物（1），再进一步变为（2）而显色。

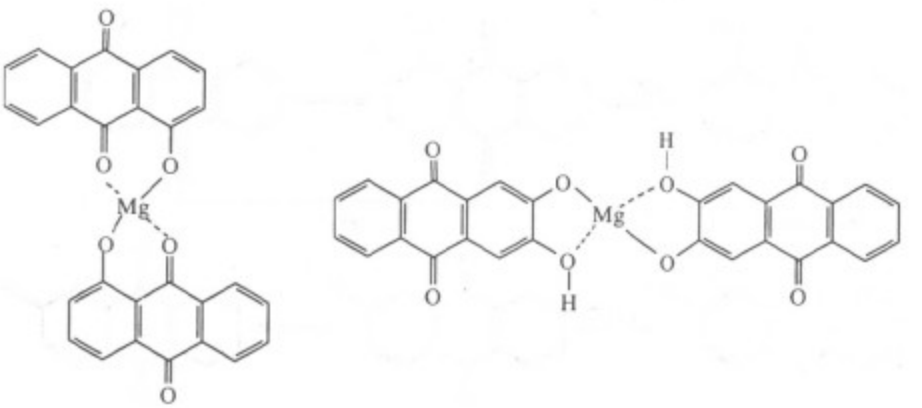


萘醌的苯环上如有羟基取代，此反应即会受到抑制。蒽醌类化合物因醌环两侧有苯环，不能发生该反应，故可加以区别。

5. 与金属离子的反应　在蒽醌类化合物中，如果有 α-酚羟基或邻位二酚羟基结构时，则可与 Pb^{2+}、Mg^{2+} 等金属离子形成络合物。以醋酸镁为例，生成产物可能具有下列结构。

与 Pb^{2+} 形成的络合物在一定 pH 值下还能沉淀析出，故可借此精制该类化合物。

当蒽醌化合物具有不同的结构时，与醋酸镁形成的络合物也具有不同的颜色，可用于鉴别。如果母核上有 1 个 α-OH 或 1 个 β-OH，或二个 OH 不在同环时，显橙黄～橙色；如已有一个 α-OH，并另有一个-OH 在邻位时，显蓝～蓝紫色，若在间位时显橙红～红色，在对位时则显紫红～紫色。据此可帮助决定羟基的取代位置。试验时可将羟基蒽醌衍生物的醇溶液滴在滤纸上，干燥后喷以 0.5% 的醋酸镁甲醇溶液，于 90℃ 加热 5 分钟即可显色。



第三节　醌类化合物的提取分离

醌类化合物结构不同，其物理性质和化学性质相差较大，而且以游离苷元以及与糖结合成苷两种形式存在于植物体中，特别是在极性及溶解度方面差别很大，没有通用的提取分离方法，但以下规律可供参考。

一、游离醌类的提取方法

1. 有机溶剂提取法　一般游离醌类的极性较小，故苷元可用极性较小的有机溶剂提取。将药材用氯仿、苯等有机溶剂进行提取，提取液再进行浓缩，有时在浓缩过程中即可析出结晶。

2. 碱提取-酸沉淀法　用于提取带游离酚羟基的醌类化合物。酚羟基与碱成盐而溶于碱水溶液中，酸化后酚羟基被游离而沉淀析出。

3. 水蒸气蒸馏法　适用于分子量小的苯醌及萘醌类化合物。

4. 其它方法　近年来超临界流体萃取法和超声波提取法在醌类成分提取中也有应用，既提

高了提出率，又避免醌类成分的分解。

二、游离羟基蒽醌的分离

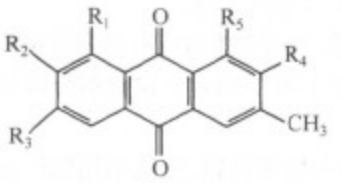
由于蒽醌是醌类化合物中最主要的结构类型，故利用羟基蒽醌中酚羟基位置和数目的不同，对分子的酸性强弱影响不同而进行分离是羟基蒽醌类化合物的一个重要分离方法。pH 梯度萃取法的分离原理前已叙及，以下流程图可作为这类化合物较通用的分离方法。

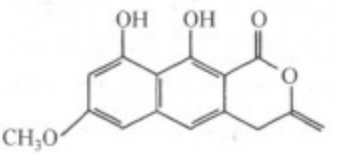
当然，色谱方法是系统分离羟基蒽醌类化合物的最有效手段，当药材中含有一系列结构相近的蒽醌衍生物时，必须经过色谱方法才能得到彻底分离。而且也不可能通过一次色谱分离就获得完全成功，往往需要反复多次色谱才能收到较好效果。

游离羟基蒽醌衍生物色谱常用的吸附剂主要是硅胶，一般不用氧化铝，尤其不用碱性氧化铝，以避免与酸性的蒽醌类成分发生化学吸附而难以洗脱。另外，游离羟基蒽醌衍生物含有酚羟基，故聚酰胺也有时作为色谱吸附剂使用。

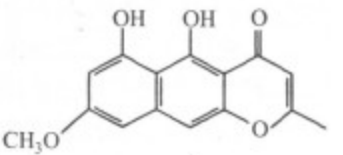
从日本决明子（*Cassia obtusifolia*）中主要用硅胶色谱法分离 13 种羟基蒽醌衍生物及类似物是一个典型的例子[22]。方法如下，5kg 粉碎的种子用 70% 甲醇提取二次，滤过后滤液减压浓缩至糖浆状，用苯进行提取，苯提取液减压浓缩，进行硅胶柱色谱，苯-乙酸乙酯（19:1）洗脱，分离得到大黄酚（chrysophanol，1），大黄素甲醚（physcion，2），inotoralactone（3），rubrofusarin（4），钝叶

素(obtusifolin, 5)，钝叶决明素(obtusin, 6)及两个化合物(7和8)的混合物。然后用苯-乙酸乙酯(4:1)洗脱，分离得到甲基钝叶决明素(chryso-obtusin, 9)及橙钝叶决明素(aurantio-obtusin, 10)与化合物(11)的混合物，还有questin(12)与苯甲酸(13)的混合物。(7)和(8))的混合物再进行聚酰胺柱色谱分离，洗脱剂为80%甲醇，(10)和(11)的混合物也进行聚酰胺柱色谱分离，洗脱剂为70%甲醇，可得到(7)、(8)、(10)和(11)四种单体化合物。而(12)和(13)的混合物可通过重结晶加以分离。





3



4

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
1	OH	H	H	H	OH
2	OH	H	OCH_3	H	OH
5	OH	H	H	OH	OCH_3
6	OH	OCH_3	OCH_3	OH	OCH_3
7	OCH_3	OCH_3	OCH_3	OH	OH
8	OH	OCH_3	OCH_3	OH	OH
9	OCH_3	OCH_3	OCH_3	OH	OCH_3
10	OH	OCH_3	OH	OH	OCH_3
11	OH	OCH_3	OH	OH	OH
12	OCH_3	H	OH	H	OH

三、蒽醌苷类与蒽醌衍生物苷元的分离

蒽醌苷类与蒽醌衍生物苷元的极性差别较大，故在有机溶剂中的溶解度不同。如苷类在氯仿中不溶，而苷元则溶于氯仿，可据此进行分离。但应当注意一般羟基蒽醌类衍生物及其相应的苷类在植物体内多通过酚羟基或羧基结合成镁、钾、钠、钙盐形式存在，为充分提取出蒽醌类衍生物，必须预先加酸酸化使之全部游离后再进行提取。同理在用氯仿等极性较小的有机溶剂从水溶液中萃取蒽醌衍生物苷元时也必须使之处于游离状态，才能达到分离苷和苷元的目的。

四、蒽醌苷类的分离

蒽醌苷类因其分子中含有糖，故极性较大，水溶性较强，分离和纯化都比较困难，一般应用色谱方法。但在色谱之前，往往采用溶剂法或铅盐法处理粗提物，除去大部分杂质，制得较纯的总苷后再进行色谱分离。

铅盐法：通常是在除去游离蒽醌衍生物的水溶液中加入醋酸铅溶液，使之与蒽醌苷类结合生成沉淀。滤过后沉淀用水洗净，再将沉淀悬浮于水中，按常法通入硫化氢气体使沉淀分解，释放出蒽醌苷类并溶于水中，滤去硫化铅沉淀，水溶液浓缩，即可进行色谱分离。

溶剂法：用正丁醇等极性较大的溶剂，将蒽醌苷类从水溶液中提取出来，再用色谱法作进一步分离。

色谱法：是分离蒽醌苷类化合物最有效的方法。过去主要应用的是硅胶柱色谱。但近年来葡聚糖凝胶柱色谱和反相硅胶柱色谱得到普遍应用，使极性较大的蒽醌苷类化合物得到有效分离。植物中存在的蒽醌苷类衍生物，只要结合使用葡聚糖凝胶 LH-20、正相硅胶柱色谱和反相硅胶柱色谱，一般都能获得满意的分离效果。近年高效液相色谱和制备型中、低压液相色谱仪也已广泛地应用于蒽醌苷类的分离。

应用葡聚糖凝胶柱色谱分离蒽醌苷类成分主要依据分子大小的不同，大黄蒽醌苷类的分离即是一例：将大黄的 70% 甲醇提取液加到凝胶柱上，并用 70% 甲醇洗脱，分段收集，依次先后得到二蒽酮苷（番泻苷 B、A、D、C），蒽醌二葡萄糖苷（大黄酸、芦荟大黄素，大黄酚的二葡萄糖苷）、蒽醌单糖苷（芦荟大黄素、大黄素、大黄素甲醚及大黄酚的葡萄糖苷）、游离苷元（大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素及大黄素）。显然，上述化合物是以分子量由大到小的顺序流出色谱柱的。

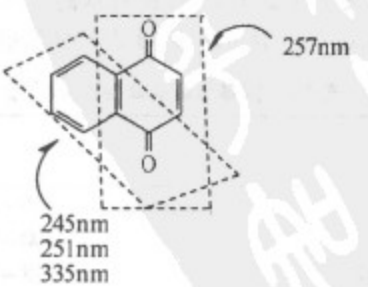
从茜草（*Rubia cordifolia*）中分离蒽醌苷类成分结合应用了正相硅胶柱色谱和反相硅胶柱色谱[18]。将茜草根的醇提物的正丁醇萃取物进行硅胶柱色谱，氯仿-甲醇梯度洗脱，不纯的馏分再进一步经反相硅胶 RP-8 柱分离，最后经重结晶和制备硅胶薄层色谱纯化，得到三种蒽醌衍生物的双糖苷单体化合物。

第四节 醌类化合物的结构测定

一、醌类化合物的紫外光谱

（一）苯醌和萘醌类的紫外光谱特征

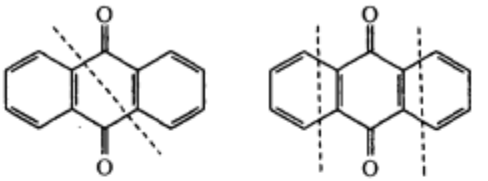
醌类化合物由于存在较长的共轭体系在紫外区域均出现较强的紫外吸收。苯醌类的主要吸收峰有三个：①～240nm，强峰；②～285nm，中强峰；③～400nm，弱峰。萘醌主要有四个吸收峰，其峰位与结构的关系大致如下所示：



当分子中放入-OH、-OMe 等助色团时，可引起分子中相应的吸收峰红移。例如 1,4-萘醌，当醌环上引入 + Ⅰ 或 + M 取代基时，只影响 257nm 峰红移，而不影响苯环引起的三个吸收带。但当苯环上引入上述取代基时，如 α-OH 时，将使 335nm 的吸收峰红移至 427nm。

（二）蒽醌类的紫外光谱特征

蒽醌母核有四个吸收峰，分别由苯样结构（a）及醌样结构（b）引起，如下所示：



(a) (b)

羟基蒽醌衍生物的紫外吸收基本与上述蒽醌母核相似。此外，多数在230nm附近还有一强峰，故羟基蒽醌类化合物有五个主要吸收带。

第Ⅰ峰：230nm左右

第Ⅱ峰：240～260nm（由苯样结构引起）

第Ⅲ峰：262～295nm（由醌样结构引起）

第Ⅳ峰：305～389nm（由苯样结构引起）

第Ⅴ峰：>400nm（由醌样结构中的C=O引起）

以上各吸收带的具体峰位与吸收强度均与蒽醌母核上取代基的性质、数目及取代位置有关。其中，峰带Ⅰ的最大吸收波长（λmax）与羟基数目及取代位置大致有如下关系（表4-1）。

表4-1 羟基蒽醌类紫外吸收光谱（第Ⅰ峰）

OH数	OH位置	λ_{max} nm
1	1-；2-	222.5
2	1，2-；1，4-；1，5-	225
3	1，2，8-；1，4，8- 1，2，6-；1，2，7-	230±2.5
4	1，4，5，8-；1，2，5，8-	236

峰带Ⅲ（262～295nm）受β-酚羟基的影响，β-酚羟基的存在可使该带红移，且吸收强度增加。峰带Ⅴ主要受α-羟基影响，α-羟基数目越多，峰带红移值也越大，如表4-2所示。

表4-2 羟基蒽醌类峰带Ⅴ的吸收

α-OH数		λ_{max} nm（lgε）
无		356～362.5（3.30～3.88）
1		400～420
2	1，5-二羟基	418～440
	1，8-二羟基	430～450
	1，4-二羟基	470～500（靠500nm处有一肩峰）
3		485～530（2至多个吸收）
4		540～560（多个重峰）

二、醌类化合物的红外光谱

醌类化合物的红外光谱的主要特征是羰基吸收峰以及双键和苯环的吸收峰。羟基蒽醌类化合物在红外区域有 $\nu_{C=O}$(1675～1653cm^{-1})、ν_{OH}(3600～3130cm^{-1})及 $\nu_{芳环}$(1600～1480cm^{-1})的吸收。其中 $\nu_{C=O}$吸收峰位与分子中 α-酚羟基的数目及位置有较强的规律性,对推测结构中 α-酚羟基的取代情况有重要的参考价值。

当9,10-蒽醌母核上无取代基时,因两个 C=O 的化学环境相同,只出现一个 C=O 吸收峰,在石蜡糊中测定的峰位为 1675cm^{-1}。当芳环引入一个 α-羟基时,因与一个 C=O 缔合,使其吸收显著降低,另一个未缔合 C=O 的吸收则变化较小。当芳环引入的 α-羟基数目增多及位置不同时,两个 C=O 的缔合情况发生变化,其吸收峰位也会随之改变。α-羟基的数目及位置对 $\nu_{C=O}$ 吸收的影响如表4-3所示[23]。

表4-3 蒽醌类 $\nu_{C=O}$与 α-OH 数目及位置的关系

α-OH 数	$\nu_{C=O}$(Nujol)cm^{-1}	α-OH 数	$\nu_{C=O}$(Nujol)cm^{-1}
None	1678～1653	2(1,8-)	1678～1661 and 1626～1616
1	1675～1647and 1637～1621	3	1616～1592
2(1,4-and 1, 5-)	1645～1608	4	1592～1572

三、醌类化合物的^{1}H-NMR 谱

(一) 醌环上的质子

在醌类化合物中,只有苯醌及萘醌在醌环上有质子,在无取代时化学位移 δ 值分别为 6.72(s)(p-苯醌)及 6.95(s)(1,4-萘醌)。

醌环质子因取代基而引起的位移基本与顺式乙烯中的情况相似。无论 p-苯醌或 1,4-萘醌,当醌环上有一个供电取代基时,将使醌环上其它质子移向高场。位移顺序在 1,4-萘醌中为:-OCH_3 > -OH > -$OCOCH_3$ > -CH_3,如表4-4所示。

表4-4 某些1,4-萘醌的^{1}H-NMR 谱(60MHz)δ 值

1,4-萘醌	H-2	H-3	H-5	H-6	H-7	H-8	其它
母体	6.95	6.95	8.06(m)	7.73(m)	7.76(m)	8.07(m)	
2-甲基-	—	6.79	—	—	—	—	Me, 2.13(d)
2-羟基-	—	6.37	—	—	—	—	
2-甲氧基-	—	6.17	—	—	—	—	MeO, 3.89
2-乙酰氧基-	—	6.76	—	—	—	—	
2-乙酰基-	—	7.06	—	—	—	—	
5-羟基-	6.97	6.97	—	7.25(m)	7.60(m)	7.70(m)	HO, 11.07

续表

1,4-萘醌	H-2	H-3	H-5	H-6	H-7	H-8	其它
5-羟基-7-甲基-	6.91	6.91	—	7.08(d)	—	7.41(d)	HO, 11.17;Me,2.42
5-羟基-3,7-二甲氧基-	6.98	—	—	6.60(d)	—	7.18(d)	HO, 11.03
5,8-二羟基-	7.13	7.13		7.13	7.13		HO, 12.57
5,8-二羟基-2-甲氧基-	—	6.17	—	7.23	7.23		HO, 12.37, 12.83
5,8-二羟基-2-乙基-	—	6.84(1)	—	7.20	7.20		HO, 12.55, 12.40
5,8-二羟基-2,7-二甲氧基-	—	6.40	—	6.40	—		HO, 13.88, 12.30

(二) 芳环质子

在醌类化合物中,具有芳氢的只有萘醌(最多4个)及蒽醌(最多8个),可分为α-H及β-H两类。其中α-H因处于C=O的负屏蔽区,受影响较大,共振信号出现在低场,化学位移值较大;β-H受C=O的影响较小,共振信号出现在较高场,化学位移值较小。1,4-萘醌的共振信号分别在8.06(α-H)及7.73(β-H),9,10-蒽醌的芳氢信号出现在8.07(α-H)及6.67(β-H)。当有取代基时,峰的数目及峰位都会改变[24,25]。

(三) 取代基质子

在醌类化合物中,特别是蒽醌类化合物中常见的各类取代基质子的化学位移δ值有如下规律:

1. 甲氧基 一般在δ3.8~4.2,呈现单峰。

2. 芳香甲基 一般在δ2.1~2.5,α-甲基可出现在δ2.7~2.8,均为单峰。若甲基邻位有芳香质子,则因远距离偶合而出现宽单峰。

3. 羟甲基($-CH_2OH$) CH_2的化学位移一般在δ4.4~4.7,呈单峰,但有时因为与羟基质子偶合而出现双峰。羟基吸收一般在δ4.0~6.0。

4. 乙氧甲基($-CH_2-O-CH_2-CH_3$) 与芳环相连的CH_2的化学位移一般在δ4.4~5.0,为单峰。乙基中CH_2则在δ3.6~3.8,为四重峰,CH_3在δ1.3~1.4,为三重峰。

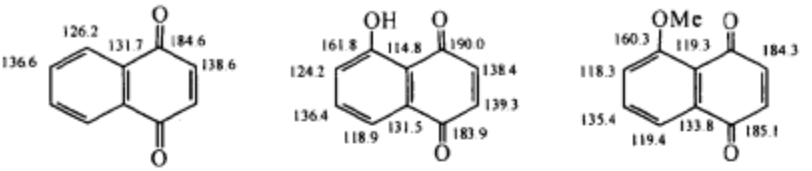
5. 酚羟基 α-羟基与羰基能形成氢键,其氢键信号出现在最低场。当分子中只有一个α-羟基对,其化学位移值大于δ12.25。当两个羟基位于同一羰基的α-位时,分子内氢键减弱,其信号在δ11.6~12.1。β-羟基的化学位移在较高场,邻位无取代的β-羟基在δ11.1~11.4,而邻位有取代的β-羟基,化学位移值小于δ10.9[26]。

四、醌类化合物的^{13}C-NMR谱

^{13}C-NMR作为一种结构测试的常规技术已广泛用于醌类化合物的结构研究。常见的^{13}C-NMR谱以碳信号的化学位移为主要参数,通过测定大量数据,已经积累了一些较成熟的经验规律。这里主要介绍1,4-萘醌及9,10-蒽醌类的^{13}C-NMR特征。

(一) 1,4-萘醌类化合物的^{13}C-NMR谱

1,4-萘醌母核的^{13}C-NMR化学位移值(δ)如下所示:



当醌环及苯环上有取代基时，则发生取代位移。

1. 醌环上取代基的影响　取代基对醌环碳信号化学位移的影响与简单烯烃的情况相似。例如，3-C 位有-OH 或-OR 取代时，引起 3-C 向低场位移约 20 个化学位移单位，并使相邻的 2-C 向高场位移约 30 个化学位移单位。

如果 2-C 位有烃基(R)取代时，可使 2-C 向低场位移约 10 个化学位移单位，3-C 向高场位移约 8 个化学位移单位，且 2-C 向低场位移的幅度随烃基 R 的增大而增加，但 3-C 则不受影响。

此外，2-C 及 3-C 的取代对 1-C 及 4-C 的化学位移没有明显影响。

2. 苯环上取代基的影响　在 1,4-萘醌中，当 8-C 位有-OH、-OMe 或-OAc 时，因取代基引起的化学位移变化如表 4-5 所示[27]。但当取代基增多时，对^{13}C-NMR 信号的归属比较困难，一般须借助偏共振去偶实验、DEPT 技术以及 2D-NMR 技术，特别是^{13}C-^{1}H 远程相关谱才能得出可靠结论。

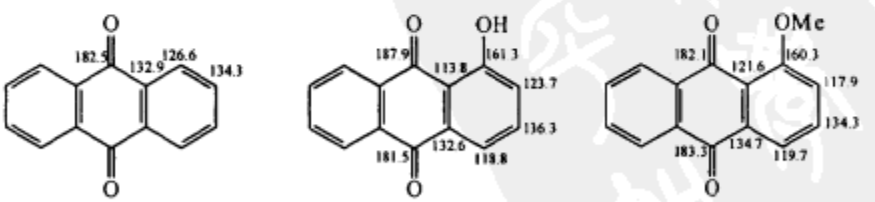
表 4-5　1,4-萘醌的取代基位移(Δδ)

取代基	1-C	2-C	3-C	4-C	5-C	6-C	7-C	8-C	9-C	10-C
δ-OH	+5.4	-0.1	+0.8	-0.7	-7.3	+2.8	-9.4	+35.0	-16.9	-0.2
δ-OMe	-0.6	-2.3	+2.4	+0.4	-7.9	+1.2	-14.3	+33.7	-11.4	+2.7
δ-OAc	-0.6	-1.3	+1.2	-1.1	-1.3	+1.1	-4.0	+23.0	-8.4	+1.7

注：+号示向低场位移；-示向高场位移

(二) 9,10-蒽醌类化合物的^{13}C-NMR 谱

蒽醌母核及 α-位有一个 OH 或 OMe 时，其^{13}C-NMR 化学位移如下所示：



当蒽醌母核每一个苯环上只有一个取代基时，母核各碳信号化学位移值呈现规律性的位移，如表 4-6 所示。

按照表 4-6 取代基位移值进行推算所得的计算值与实验值很接近，误差一般在 0.5 以内。可是当两个取代基在同环时则产生较大偏差，须在上述位移基础上作进一步修正[28,29]。

表 4-6 蒽醌^{13}C-NMR 的取代基位移值(Δδ)

C	C_1-OH	C_2-OH	C_1-OMe	C_2-OMe	C_1-Me	C_2-Me	C_1-OCOMe	C_2-OCOMe
1-C	+34.73	-14.37	+33.15	-17.13	+14.0	-0.1	+23.59	-6.53
2-C	-0.63	+28.76	-16.12	+30.34	+4.1	+10.1	-4.84	+20.55
3-C	+2.53	-12.84	+0.84	-12.94	-1.0	-1.5	+0.26	-6.92
4-C	-7.80	+3.18	-7.44	+2.47	-0.6	-0.1	-1.11	+1.82
5-C	-0.01	-0.07	-0.71	-0.13	+0.5	-0.3	+0.26	+0.46
6-C	+0.46	+0.02	-0.91	-0.59	-0.3	-1.2	+0.68	-0.32
7-C	-0.06	-0.49	+0.10	-1.10	+0.2	-0.3	-0.25	-0.48
8-C	-0.26	-0.07	0.00	-0.13	0.0	-0.1	+0.42	+0.61
9-C	+5.36	0.00	-0.68	+0.04	+2.0	-0.7	-0.86	-0.77
10-C	-1.04	-1.50	+0.26	-1.30	0.0	-0.3	-0.37	-1.13
10a-C	-0.03	+0.02	-1.07	+0.30	0.0	-0.1	-0.27	-0.25
8a-C	+0.99	+0.16	+2.21	+0.19	0.0	-0.1	+2.03	+0.50
9a-C	-17.09	+2.17	-11.96	+2.14	+2.0	-0.2	-7.89	+5.37
4a-C	-0.33	-7.84	+1.36	-6.24	-2.0	-2.3	+1.63	-1.58

当蒽醌母核上仅有一个苯环有取代基,另一苯环无取代基时,无取代基苯环上各碳原子的信号化学位移变化很小,即取代基的跨环影响不大。

五、醌类化合物的 2D-NMR 谱

应用^{13}C-NMR 谱分析醌类化合物的结构,虽然较^{1}H-NMR 谱大大提高了分辨率,但由于常规的^{13}C-NMR 谱主要应用化学位移(δ)一个参数,故一般需按有关经验规律加以计算,并和已知相似结构化合物比较确定结构,这样得不到取代基取代位置的直接证据。

现代 2D-NMR 技术的应用为醌类化合物的结构测定提供了强有力的手段。因为蒽醌类化合物中季碳较多,故^{13}C-^{1}H 远程相关谱(COLOC 或 HMBC 谱)和 NOESY 谱对确定蒽醌类化合物中取代基的取代位置具有决定作用。

六、醌类化合物的 MS

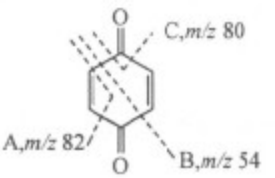
对所有游离醌类化合物,其 MS 的共同特征是分子离子峰通常为基峰,且出现丢失 1-2 个分子 CO 的碎片离子峰。

苯醌及萘醌还从醌环上脱去 1 个 CH≡CH 碎片,如果在醌环上有羟基,则断裂同时还得伴随有特征的 H 重排。

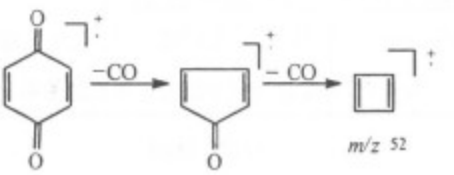
(一) P-苯醌的MS 特征

1. 苯醌母核的主要开裂过程如下图所示:

无取代的苯醌因 A、B、C 三种开裂方式,分别得到 *m/z*82、*m/z*80 及 *m/z*54 三种碎片离子。

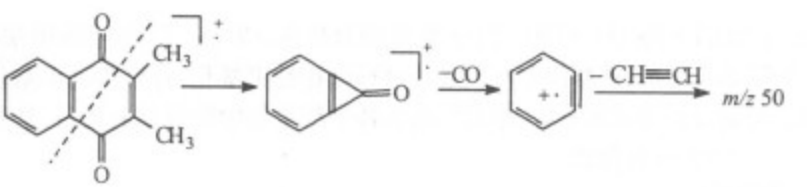


2. 连续脱去 2 个分子的 CO，无取代的苯醌将得到重要的 *m/z*52 碎片离子（环丁烯离子）。



（二）1,4-萘醌类化合物的MS 特征

苯环上无取代时，将出现 *m/z*104 的特征碎片离子及其分解产物 *m/z* 76 及 *m/z* 50 的离子。但苯环上有取代时，上述各峰将相应移至较高 *m/z* 处。例如 2,3-二甲基萘醌的开裂方式如下：



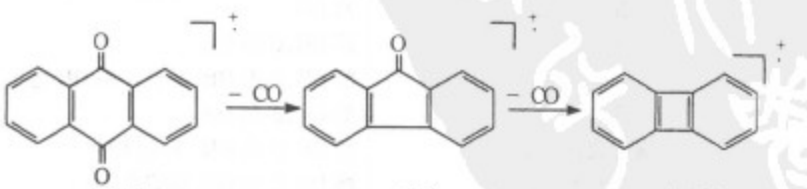
m/z 186　　*m/z* 104　　*m/z* 76

此外，羟基萘醌类化合物还经历一个特殊的氢重排过程，有关内容可参考文献[30]。

（三）9,10-蒽醌类化合物的MS 特征

游离蒽醌依次脱去 2 分子 CO，得到 *m/z*180（M-CO）及 152（M-2CO）以及它们的双电荷离子峰 *m/z* 90 及 *m/z* 76。

蒽醌衍生物也经过同样的开裂方式，得到与之相应的碎片离子峰。



m/z 208　　*m/z* 180　　*m/z* 152

但要注意，蒽醌苷类化合物用常规电子轰击质谱得不到分子离子峰，其基峰一般为苷元离子，需用场解吸质谱（FD-MS）或快原子轰击质谱（FAB-MS）才能出现准分子离子峰，以获得分子量的信息。

七、醌类化合物衍生物的制备

醌类化合物结构研究，现在主要是通过对上述各种光谱数据的分析，但有时也须结合必要的

衍生物制备等化学方法。在实际工作中主要制备醌类化合物的甲基化或乙酰化的衍生物，对于推测分子中羟基的数目和位置很有意义。

（一）甲基化反应

甲基化反应的难易及作用位置主要取决于醌类化合物苯环上羟基的类型与化学环境以及甲基化试剂的种类及反应条件。

结构类型及化学环境不同的羟基，甲基化反应按难易顺序依次为：醇羟基、α-酚羟基、β-酚羟基、羧基等，即羟基的酸性越强，则甲基化反应越容易进行。

常用甲基化试剂的反应能力强弱及其与反应官能团的大致关系如表 4-7 所示。

表 4-7 甲基化试剂与反应官能团的关系

甲基化试剂的组成	反应官能团
CH_2N_2/Et_2O	-COOH，β 酚 OH，-CHO
CH_2N_2/Et_2O + MeOH	-COOH，β 酚 OH，两个 α-酚 OH 之一，-CHO
$(CH_3)_2SO_4 + K_2CO_3$ + 丙酮	β-酚 OH，α-酚 OH
$CH_3I + Ag_2O + CHCl_3$	-COOH，所有的酚 OH，醇 OH，-CHO

表 4-7 说明，$CH_3I + Ag_2O + CHCl_3$ 的甲基化能力最强，CH_2N_2/Et_2O 液的甲基化能力最弱。据此，采用不同甲基化试剂，严格控制反应条件进行选择性甲基化，将可得到甲基化程度不同的衍生物，再通过光谱分析和元素分析，很容易确定各个衍生物中甲氧基的数目，从而可进一步推断原来分子中羟基的数目和位置。

（二）乙酰化反应

常用的乙酰化试剂按乙酰化能力强弱顺序排列为：

$$CH_3COCl > (CH_3CO)_2O > CH_3COOR > CH_3COOH。$$

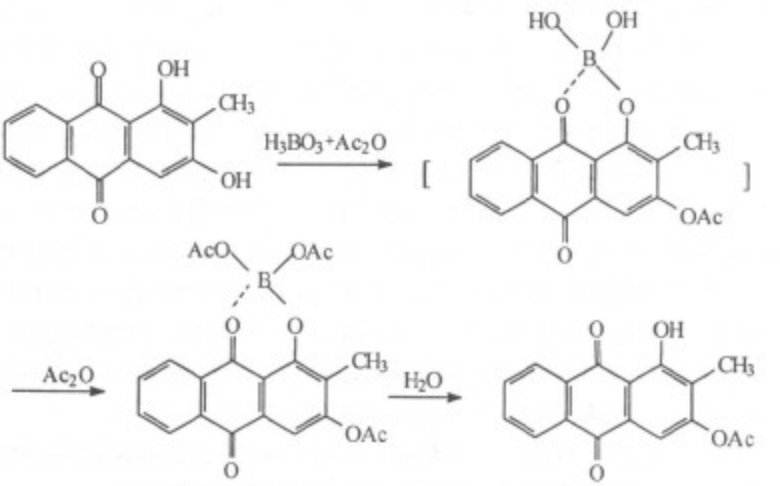
试剂和反应条件不同，影响乙酰化的作用位置，如表 4-8 所示。

表 4-8 乙酰化试剂和反应条件及作用位置

试剂组成	反应条件	作用位置
冰醋酸（加少量乙酰氯）	冷置	醇 OH
醋酐	加热　短时间	醇 OH，β-酚 OH
	长时间	醇 OH，β-酚 OH，两个 α-酚 OH 之一
醋酐 + 硼酸	冷置	醇 OH，β-酚 OH
醋酐 + 浓硫酸	室温放置过夜	醇 OH，β-酚 OH　α-酚 OH
醋酐 + 吡啶	室温放置过夜	醇 OH，β-酚 OH，烯醇式 OH

从表 4-8 可以看出，羟基的乙酰化，以醇羟基最易乙酰化，α-酚羟基则相对较难。乙酰化试剂中醋酐-吡啶的乙酰化能力最强，而冰醋酸最弱。醋酐-吡啶可使环上所有酚羟基乙酰化。如果控制反应时间不同，作用位置也会有些差别，但一般很难掌握。

有时为了保护 α-酚羟基不被乙酰化，可采用醋酐-硼酸作为酰化剂。因为硼酸能和羟基蒽醌中的 α-羟基形成硼酸酯，使 α-羟基不参与乙酰化反应，仅使 β-酚羟基乙酰化。反应产物再用冷水处理，使缔合的 α-硼酸酯水解恢复 α-酚羟基，这样就可以得到 β-羟基的乙酰化产物。



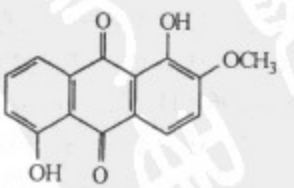
八、结构研究实例

实例1 1,5-二羟基-2-甲氧基-9,10-蒽醌的鉴定[17]

从中药虎刺[*Damnacanthus indicus* (L.) Gaertn. f.]中分得一种橙红色针晶,通过光谱分析确定了结构,其推导过程如下:

该化合物的高分辨质谱(HR-MS)给出分子离子峰(M^+)的质量数为270.0495,表明分子式为$C_{15}H_{10}O_5$。其UV有5个吸收带,IR有2个羰基吸收峰及苯环特征吸收峰,均和蒽醌类化合物的特征相符,表明为蒽醌衍生物。

UV中第Ⅴ峰的λ_{max}(lgε)为438nm(3.74),IR中出现ν_{max}为1630cm^{-1}和1610cm^{-1}的两个羰基吸收峰均说明为1,5-二羟基蒽醌衍生物。^{1}H-NMR中δ4.03(3H,s)为甲氧基信号,7.18(1H,d,J=8.4Hz)和7.89(1H,d,J=8.4Hz)为芳环上相邻两个质子信号,以上三种氢信号说明在醌母核的一侧苯环α-酚羟基的邻位有甲氧基取代。^{1}H-NMR中由δ7.13(1H,d,J=8.0Hz),7.67(1H,t,J=8.0Hz),7.84(1H,d,J=8.0Hz)三个芳香质子组成的ABC系统则表示蒽醌母核的另一侧苯环除α-酚羟基外没有其它取代基,综上所述,该化合物结构定为1,5-二羟基-2-甲氧基-9,10-蒽醌。



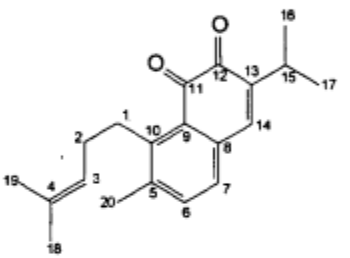
实例2 红根草邻醌的鉴定[10]

红根草邻醌是从红根草(*Salvia prionitis* Hance)的全草中分得红色针状结晶,其结构推导过程如下:

该化合物的高分辨质谱表明分子式为$C_{20}H_{24}O_2$。IR中出现ν_{max}为1685cm^{-1}和1655cm^{-1}的

两个羰基吸收峰说明存在共轭羰基，1632cm^{-1}为双键。UV 中 λ_{max} 为 430nm，提示为邻醌类化合物。^{1}H-NMR 中当对 δ1.14(6H，d)，δ3.01(1H，m)两个信号互相照射时，均可使对方变成单峰，显示有异丙基存在，双照射实验还表明该谱两个烯甲基(Me-18，19)在 δ1.60，1.68 为宽单峰，与化学位移在 δ5.28 处的烯质子(H-3)有远程偶合，另一个甲基信号在 δ2.36 处亦为宽单峰(Me-20)，与信号在 δ7.33 的芳香质子(H-6)有远程偶合。芳香质子(H-6)信号又与另一芳香质子(H-7) δ7.02 互为邻位(AB 峰，J=7.6Hz)，此外尚有一个芳香质子 δ7.06(1H，s，H-14)。另外两个质子(H-2)信号 δ2.16 的多重峰是与烯质子(H-3)和 δ3.02(2H，H-1)偶合所造成的。NOE 谱也可证明该化合物为邻醌而非对醌，当照射 δ7.06(H-14)信号时，在 δ7.02(H-7)信号和异丙基的甲基信号 δ1.14 (H-16，17)分别产生 7.99% 和 1.90% 的增值。这表明 C-14 上接氢质子，C-13 上接异丙基，C-11 及 C-12 为酮基，即为邻醌。相反，假若为对醌，则 H-7 将不产生 NOE 增值。质谱亦提示该化合物有异丙基(M-43)和异戊烯基侧链(M-69)存在。

将该化合物的光谱数据与具有类似骨架的 aethiopinone 的光谱数据比较，两者非常相近，其区别仅在于一个孤立双键的位置不同，这样进一步证明其结构如下所示。



实例3　arnebinone 的鉴定[31]

arnebinone 是从中药软紫草(*Arnebia euchroma*)根中分得的新化合物。其浓度为 20μg/ml 时，即显示对前列腺素 PGE_2 的生物合成具有明显的抑制作用。该化合物为橙黄色油状物，低温长期放置可析出橙黄色针晶，其物理常数和光谱数据如下：

高分辨质谱的分子离子峰(M^+)为 302.1518，表明分子式为 $C_{18}H_{22}O_4$。$[\alpha]_D^{20}$-4°(C=0.01，dioxane)。UV λ_{max}^{EtOH}nm(lgε)：207(4.13)，277(4.11)，410 (2.76)。IR ν_{max}cm^{-1}：3080，1730，1656，1647，1610，995，910。

^{1}H-NMR(400MHz，$CDCl_3$)：如图 4-1 所示。

^{13}C-NMR(25MHz，$CDCl_3$)：如图 4-2 所示图

根据颜色，并结合 UV 及 IR 特征，可推测该化合物具有苯醌样结构。在^{1}H-NMR 中 δ1.00(3H，s)为一个与季碳连接的甲基，δ1.76(3H，s)为与双键碳相连的甲基，δ4.00(6H，s)为两个等价的并与芳香环连接的甲氧基信号，δ4.96 (1H，d，J=17Hz)、4.98(1H，d，J=11Hz)、5.79(1H，dd，J=11，17Hz)三个烯质子组成典型的 ABX 系统。并显示这个乙烯基连接在季碳上。δ4.72(1H，s)和 4.90(1H，s)表明存在两个末端烯质子(CH_2=)结构。δ2.23(1H，dd，J=6，9Hz)显示有一个叔碳，且邻位有两个氢质子，2.32～2.64 处相当于 4 个 H 的多重峰则表示有两相互连接的 CH_2。^{13}C-NMR 谱说明该化合物分子中有 2 个 CH_3，2 个 OCH_3，4 个 CH_2，2 个 CH 和 8 个季碳(其中醌环上 1-C 和 4-C 重叠，2-C 和 3-C 重叠)，特别是证明结构中存在一个脂肪族季碳 δ38.1 和一个脂肪族叔碳 δ47.0 很有意义。这与^{1}H-NMR 谱得到的信息完全一致。综上所述，并考虑

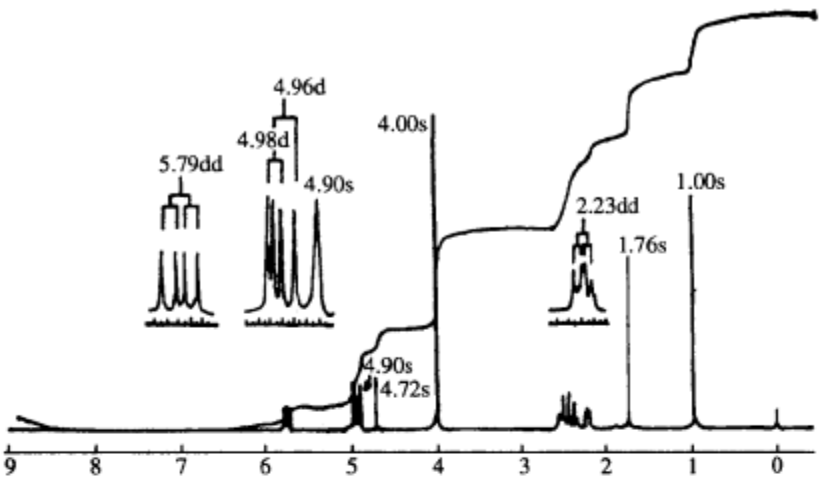


图 4-1 arnebinone 的 ^{1}H-NMR 谱

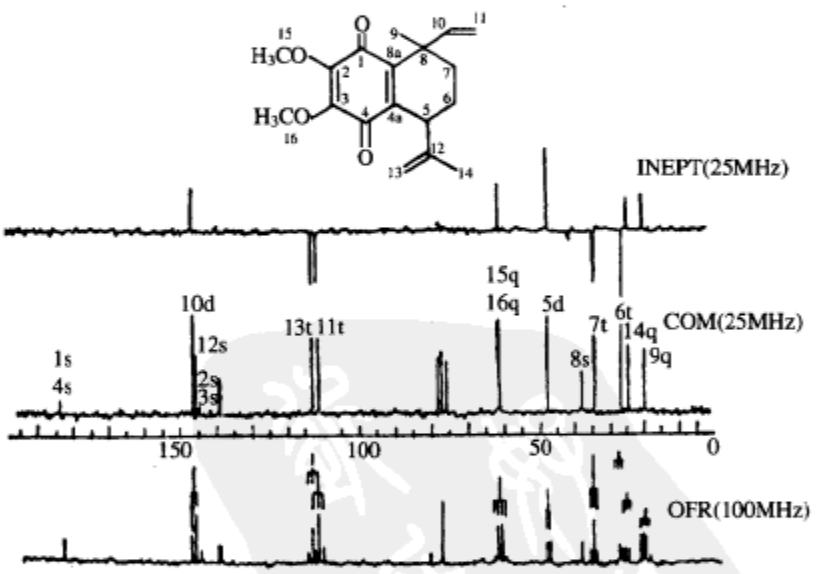
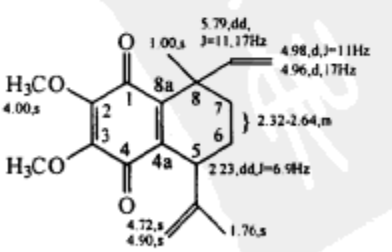


图 4-2 arnebinone 的 ^{13}C-NMR 谱

到 arnebinone 的生源途径，该化合物只能为下列结构才能符合上述全部光谱数据的要求。

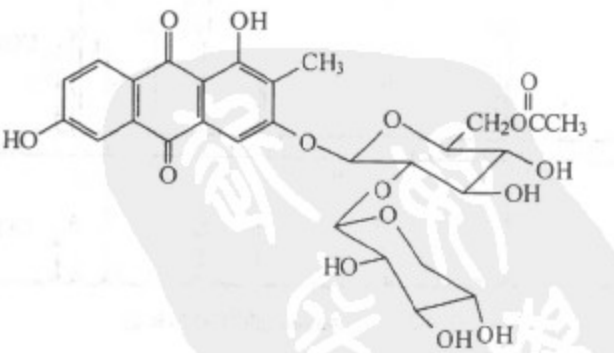


实例4　1,3,6-三羟基-2-甲基蒽醌-3-O-β-D-吡喃木糖(1→2)-β-D-(6′-O-乙酰基)吡喃葡萄糖苷的鉴定[18]

从中药茜草(*Rubia cordifolia* L.)根中提取分离得到的该化合物为黄色针晶,mp 284～286℃。Molish 反应阳性。FD-MS 出现 *m/z* 为 629(M + Na)$^+$ 的准分子离子峰,说明分子量为606,结合元素分析确定分子式为 $C_{28}H_{30}O_{15}$。UVλ_{max}^{MeOH} nm:215.6,274.0,413.2。IR(KBr)cm^{-1}:3400(OH),1670(非缔合 C=O),1625(缔合 C=O),1590,1575(苯环)。以上数据说明为羟基蒽醌苷类化合物。

^{1}H-NMR δ:8.08(1H,d,J=8.5Hz)、7.18(1H,dd,J=8.5,2.5Hz)、7.46(1H,d,J=2.5Hz)三个芳氢质子组成 ABX 系统,提示一侧环上只有 β 位取代,且为酚羟基。7.37(1H,s)说明另一侧环上三取代,2.04(3H,s)则说明其中一个取代基为甲基,而另两个取代基为酚羟基。该化合物酸水解后苷元部分经与标准品对照证明为1,3,6-三羟基-2-甲基蒽醌。

将该化合物的^{13}C-NMR 数据与苷元的数据相比较,可知 3-C 位的化学位移向高场位移 3.0 个化学位移单位,2-C 和 4-C 的化学位移也有改变,表明该化合物为 3 位羟基与糖结合的1,3,6-三羟基-2-甲基蒽醌苷,将其进行酸水解后检出葡萄糖和木糖,且^{1}H-NMR 中 δ4.45(1H,d,J=7.0Hz)和5.26(1H,d,J=7.0Hz)进一步说明葡萄糖和木糖的存在,且证明两个苷键均为 β 构型。另外,IR 中 1735cm^{-1},^{13}C-NMR 中 δ170.3 和 20.4 及^{1}H-NMR 中 δ2.13(3H,s)的信号均表明分子中有乙酰基。将其碳谱中糖部分信号与 β-葡萄糖甲苷相比较,发现其葡萄糖的 2-C 位化学位移值向低场移约 8 个化学位移单位,说明木糖连接在葡萄糖的 2-C 位上。葡萄糖 6-C 位化学位移值向低场移约 3 个化学位移单位,说明葡萄糖 6-C 位连有乙酰基。综上所述,该化合物结构确定为1,3,6-三羟基-2-甲基蒽醌-3-O-β-D-吡喃木糖(1→2)-β-D-(6′-O-乙酰基)吡喃葡萄糖苷。



第五节　醌类化合物的生物活性

一、泻下作用

致泻作用是蒽醌类化合物主要的生物活性。中药大黄的致泻作用早已被人们熟知。经过对大黄中各种蒽醌泻下活性的比较,发现其主要活性成分为具有二蒽酮类结构的番泻苷类成分,其

它蒽醌类成分如芦荟大黄素、大黄酸及其它们的8-葡萄糖苷活性较低，而大黄酚、大黄素甲醚及大黄素则无效[32]。另外，文献报道番泻苷类成分经回肠、盲肠和结肠中的细菌转化为大黄酸蒽酮，番泻苷类的泻下作用是通过其代谢产物大黄酸蒽酮而起作用[33]。

二、抗菌作用

蒽醌类化合物大多具有一定的抗菌活性，苷元的活性一般比苷类强。如大黄酸、大黄素、芦荟大黄素等对多种细菌具有抗菌作用。有些蒽酚类成分，如前面提到的柯桠素等具有较强的抗霉菌作用，是治疗某些皮肤病的有效药物。

三、其它作用

除上述两种生物活性外，有些蒽醌类化合物还具有较广泛的其它方面的生物活性。如对小鼠黑色素瘤、大鼠乳癌及艾氏腹水癌有明显的抑制作用；对cAMP磷二酯酶有显著的抑制作用；对异常高的免疫反应有强烈的抑制作用[34,35]。某些蒽醌类成分还具有抗真菌活性等。

参考文献

[1] 姚新生等. 天然药物化学，第二版，人民卫生出版社，北京，1994，166

[2] Thomson, R. H. Naturally Occuring Quinones, 2nd ed. Academic Press, London, 1971, 3rd ed.

[3] 吴寿金，赵泰，秦永琪等. 现代中草药成分化学，第一版，中国医药科技出版社，北京，2002，141

[4] 倪幕云等. 中药通报，1988，13(12)：737

[5] Shibata, H. et al. Heterocycles. 1978，10(1)：85

[6] Yao, X. S. et al. Tetrahedron Letters, 1983, 24(31)：3247；1984, 25(48)：5541

[7] Sylvia, U. et al. Journal of Natural Products, 1992, 55(11)：1638

[8] 王雪芬等. 药学学报，1993，28 (2)：122

[9] 胡晓等. 国外医药植物药分册，1991，6 (2)：51

[10] 杨保津等. 植物学报，1988，30(5)：524

[11] 杨保津等. 药学学报，1981，16(11)：837

[12] 房其年等. 化学学报，1976，34(3)：197

[13] Khadga, S. K. et al. Journal of Natural Products, 1992, 55(7)：947

[14] Wu, T. S. et al. Phytochemistry. 1987，26(6)：1623

[15] Majumder, P. L. et al. Phytochemistry. 1991，30(6)：2029

[16] 杨燕军等. 药学学报，1992，279(5)：358

[17] Lee, S. W. et al. Journal of Natural Products, 1994, 57(9)：1313

[18] 王素贤等. 药学学报，1992，27(10)：743

[19] Feigl, F. et al. Anal chem., 1956, 28(23)：397

[20] Linn, B. O. et al. J Amer Chem Soc, 1959, 81(15)：4007

[21] Jeffregs, J. A. D. J Chem Soc, 1959, 2153

[22] Kitanaka, S. et al. Chem Pharm Bull, 1984, 32(3)：860

[23] Bloom, H. et al. J Chem Soc, 1959, 178

[24] 宋国强等. 药学学报, 1983, 18(5):345
[25] McDonald, I. A. et al. Aust J Chem, 1977, 30(8):1727
[26] 宋国强等. 化学学报, 1985, 43(2):145
[27] Kobayashi, M. et al. Tetrahedron Letters, 1976, (8):619
[28] Berger, Y. et al. Org Magnetic Resonance, 1978, 11(8):375; 1980, 13(2):103
[29] 刘光明等. 国外医药植物药分册, 1989, 49(3):98
[30] Thomson, R. H. Naturally Occurring Quinones, 2nd ed. Academic Press, London,1971
[31] Yao, X. S. et al. Tetrahedron Letters, 1983, 24(31):3247
[32] Oshio, H. et al. Chem Pharm Bull, 1978, 26(8):2458
[33] Sasaki, K. et al. Planta Medica, 1979, 37(4):370
[34] Nikaido, T. et al. Chem Pharm Bull, 1984, 32(8):3075
[35] Wang, B. S. et al. Int J Immunopharmacol, 1984, 6(5):475

（孔令义）

5 第五章 黄酮类化合物

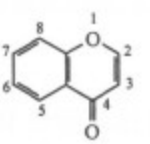
第一节 概 述

黄酮类化合物广泛存在于自然界，是一类重要的天然有机化合物。其不同的颜色为天然色素家族添加了更多的色彩。这类含有氧杂环的化合物多存在于高等植物及羊齿类植物中。苔类中含有的黄酮类化合物为数不多，而藻类、微生物、细菌中没有发现黄酮类化合物的存在。黄酮类化合物的存在形式既有与糖结合成苷的，也有游离体。

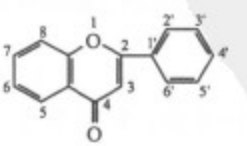
黄酮类化合物广泛分布于植物界中，而且生理活性多种多样，引起了国内外的广泛重视，研究进展很快。仅截止到1974年，国内外已发表的黄酮类化合物共1674个（主要是天然黄酮类，也有少部分为合成品，其中苷元902个，苷722个）[1]，并以黄酮醇类最为常见，约占总数的1/3，其次为黄酮类，占总数的1/4以上，其余则较少见。至于双黄酮类多局限分布于裸子植物，尤其松柏纲、银杏纲和凤尾纲等植物中。据统计，截止到1993年[2,3]，黄酮类化合物总数已超过4000个。

一、黄酮类化合物生物合成的基本途径

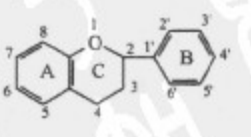
以前，黄酮类化合物（Flavonoids）主要是指基本母核为2-苯基色原酮（2-phenyl-chromone）类化合物，现在则是泛指两个具有酚羟基的苯环（A-与B-环）通过中央三碳原子相互连接而成的一系列化合物。



色原酮



2-苯基色原酮



C_6-C_3-C_6

经过多年对黄酮类化合物生物合成的研究，多数科学家认为黄酮的基本骨架是由三个丙二酰辅酶A和一个桂皮酰辅酶A生物合成而产生的。经同位素标记实验证明了A环来自于三个丙二酰辅酶A，而B环则来自于桂皮酰辅酶A。大体过程如图

5-1 所示。

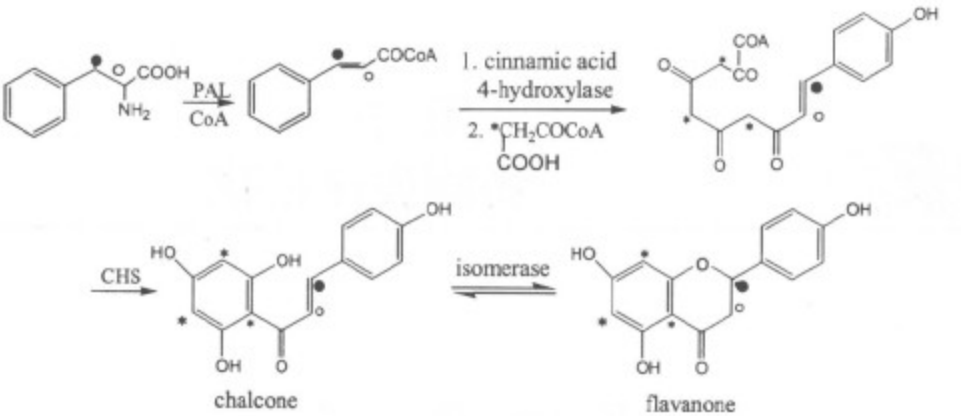


图 5-1 黄酮类化合物生物合成的基本途径

上述标记实验同时还证明了多数黄酮类化合物的 A 环虽然具有间苯三酚结构单元，但间苯三酚并不是黄酮类化合物生物合成的前体化合物。

更多的生物合成实验研究结果表明，桂皮酸和对羟基桂皮酸是黄酮类化合物 B 环更合适的生物合成前体，而 B 环的其它氧化（羟基取代）模式大多是在形成 C_6-C_3-C_6（黄酮）基本骨架后发生的。

黄酮类化合物结构中常连接有酚羟基、甲氧基、甲基、异戊烯基等官能团。此外，它还常与糖结合成苷。

二、结构分类及结构类别间的生物合成关系

根据中央三碳链的氧化程度、B-环连接位置（2-或 3-位）以及三碳链是否构成环状等特点，可将主要的天然黄酮类化合物分类，如表 5-1 所示。

此外，尚有由两分子黄酮，或两分子二氢黄酮，或一分子黄酮及一分子二氢黄酮按 C-C 或 C-O-C 键方式连接而成的双黄酮类化合物（biflavonoids）。另有少数黄酮类化合物结构很复杂，如水飞蓟素（silybin）为黄酮木脂体类化合物，而榕碱（ficine）及异榕碱（isoficine）则为生物碱型黄酮。

天然黄酮类化合物多以苷类形式存在，并且由于糖的种类、数量、连接位置及连接方式不同，可以组成各种各样的黄酮苷类。

组成黄酮苷的糖类主要有：

单糖类：D-葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖、L-鼠李糖、L-阿拉伯糖及 D-葡萄糖醛酸等（表 5-2）。

双糖类：槐糖（Glc β1→2glc）、龙胆二糖（Glc β1→6glc）、芸香糖（Rha α1→6glc）、新橙皮糖（Rha α1→2glc）、刺槐二糖（Rha α1→6gal）等（表 5-3）。

三糖类：龙胆三糖（Glc β1→6glc β1→2fru）、槐三糖（Glc β1→2glc β1→2glc）等。

表 5-1 黄酮类化合物的主要结构类型

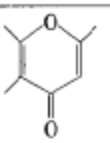
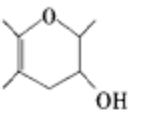
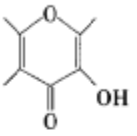
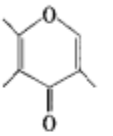
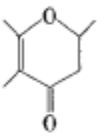
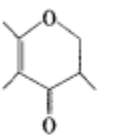
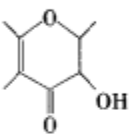
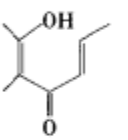
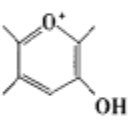
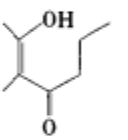
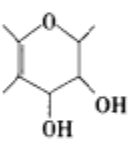
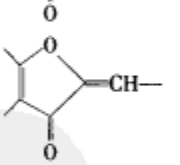
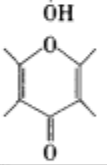
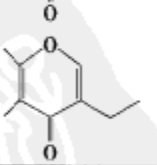
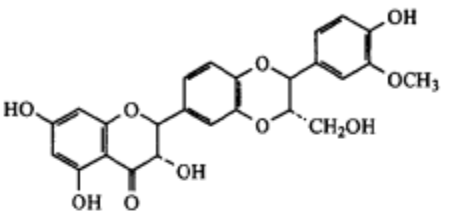
名 称	三碳链部分结构	名 称	三碳链部分结构
黄酮类 (Flavones)		黄烷-3-醇类 (Flavan-3-ols)	
黄酮醇类 (Flavonol)		异黄酮类 (Isoflavanones)	
二氢黄酮类 (Flavanones)		二氢异黄酮类 (Isoflavanones)	
二氢黄酮醇类 (Flavanonols)		查耳酮类 (Chalcones)	
花色素类 (Anthocyanidins)		二氢查耳酮类 (Dihydrochalcones)	
黄烷-3，4-二醇类 (Flavan-3,4-diols)		橙酮类 (噢哚类) (Aurones)	
双苯吡酮类 (酮类) (Xanthones)		高异黄酮类 (Homoisoflavones)	

表 5-2 黄酮体苷中常见的单糖

中 文 名	英 文 名	表 达 符 号
D-葡萄糖	*D*-glucose	*D*-Glc
D-半乳糖	*D*-galactose	*D*-Gal
D-甘露糖	*D*-mannose	*D*-Man
D-葡萄糖醛酸	*D*-glucuronic acid	*D*-Glu A
D-半乳糖醛酸	*D*-galacturonic acid	*D*-Gal A
L-鼠李糖	*L*-rhamnose	*L*-Rha
L-阿拉伯糖	*L*-arabinose	*L*-Ara
D-木糖	*D*-xylose	*D*-Xyl
D-芹菜糖	*D*-apiose	*D*-Api
D-阿洛糖	*D*-allose	*D*-All

酰化糖类:2-乙酰葡萄糖、咖啡酰基葡萄糖（caffeoylglucose）等。



水飞蓟素

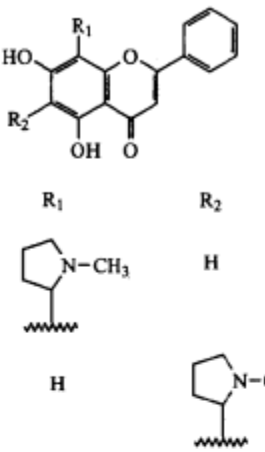


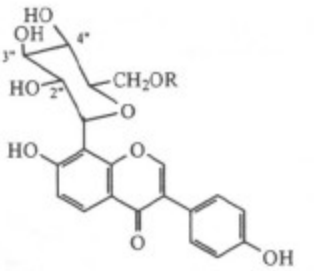
表 5-3 黄酮体苷中常见的二糖

中文名	英文名	表达符号
芸香糖	rutinose	α-*L*-Rha-(1→6)-*D*-Glc
新橙皮糖	neohesperidose	α-*L*-Rha-(1→2)-*D*-Glc
明萼草糖	rungiose	α-*L*-Rha-(1→3)-*D*-Glc
刺槐双糖	robinobiose	α-*L*-Rha-(1→6)-*D*-Gal
毒蚕豆糖	vicianose	α-*L*-Ara-(1→6)-*D*-Glc
香豌豆糖	lathyrose	α-*D*-Xyl-(1→2)-*D*-Gal
山布双糖	sambubiose	β-*D*-Xyl-(1→2)-*D*-Glc
槐糖	sophorose	β-*D*-Glc-(1→2)-*D*-Glc
昆布双糖	laminaribiose	β-*D*-Glc-(1→3)-*D*-Glc
龙胆双糖	gentiobiose	β-*D*-Glc-(1→6)-*D*-Glc
乳糖	lactose	β-*D*-Gal-(1→4)-*D*-Glc
海葱双糖	scillabiose	β-*D*-Glc-(1→4)-*L*-Rha
麦芽糖	maltose	α-*L*-Glc-(1→4)-*D*-Glc
α-*L*-鼠李糖基-(1→2)-*D*-半乳糖		α-*L*-Rha-(1→2)-*D*-Gal
α-*L*-阿拉伯糖基-(1→6)-*D*-半乳糖		α-*L*-Ara-(1→6)-*D*-Gal
β-*D*-半乳糖基-(1→4)-*L*-鼠李糖		β-*D*-Gal-(1→4)-*L*-Rha
β-*D*-甘露糖基-(1→2)-*D*-葡萄糖		β-*D*-Man-(1→2)-*D*-Glc
β-*D*-葡萄糖基-(1→4)-*D*-甘露糖		β-*D*- Glc-(1→4)-*D*-Man
β-*D*-阿洛糖基-(1→2)-*D*-葡萄糖		β-*D*-All-(1→2)-*D*-Glc
β-*D*-葡萄糖基-(1→6)-*D*-半乳糖		β-*D*-Glc-(1→6)-*D*-Gal
β-*D*-半乳糖基-(1→4)-*D*-半乳糖		β-*D*-Gal-(1→4)-*D*-Gal

黄酮苷中糖连接位置与苷元的结构类型有关。如黄酮醇类常形成 3-、7-、3′-、4′-单糖苷，或 3,7-、3,4′-及 7,4′-双糖链苷等。

除 O-糖苷外，天然黄酮类化合物中还发现有 C-键苷（C-glycosides），如葛根黄素（puerarin）、

葛根黄素木糖苷(puerarin xyloside),为中药葛根中的扩张冠状动脉血管的有效成分。



R=H, 葛根黄素
R=xylose, 葛根黄素木糖苷

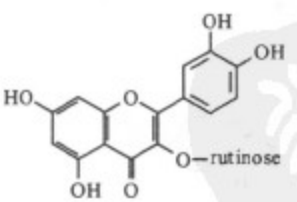
如前所述,三个丙二酰辅酶 A 和一个桂皮酰辅酶 A 在查耳酮合成酶的作用下生成查耳酮,再经过查耳酮异构化酶的作用形成二氢黄酮。其它黄酮类化合物大多是经过二氢黄酮在各种酶的作用下生物合成而得到的(如图 5-2 所示)。通过图 5-2 可以清楚地了解黄酮类化合物中各主要类别间的生物合成关系。

三、黄酮类化合物的生物活性[4]

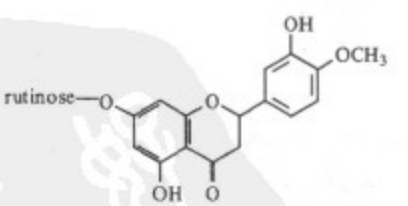
以下仅将迄今为止有关药效及临床试实验中得到的结果简述如下:

(一) 对心血管系统的作用

芦丁、橙皮苷、d-儿茶素(d-catechin)、香叶木苷(diosmin)等有维生素 P 样作用,能降低血管脆性及异常的通透性,可用作防治高血压及动脉硬化的辅助治疗剂。

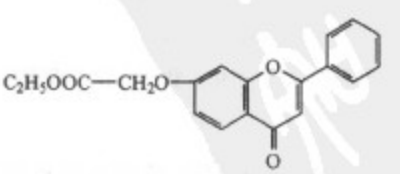


芦丁 (rutin)



橙皮苷 (hesperidin)

不少治疗冠心病有效的中草药或活血化瘀类中药中均含有黄酮类化合物。芦丁、槲皮素、葛根素、人工合成的立可定(recordin)等均有明显的扩冠作用,并已用于临床。有些黄酮类成分有降低血脂及胆固醇的作用。



立可定(合成品)

从桑根皮中分得的 Morucenin A、C 及 Kuwanon G、H 在大白鼠及家兔身上示有明显的降压作

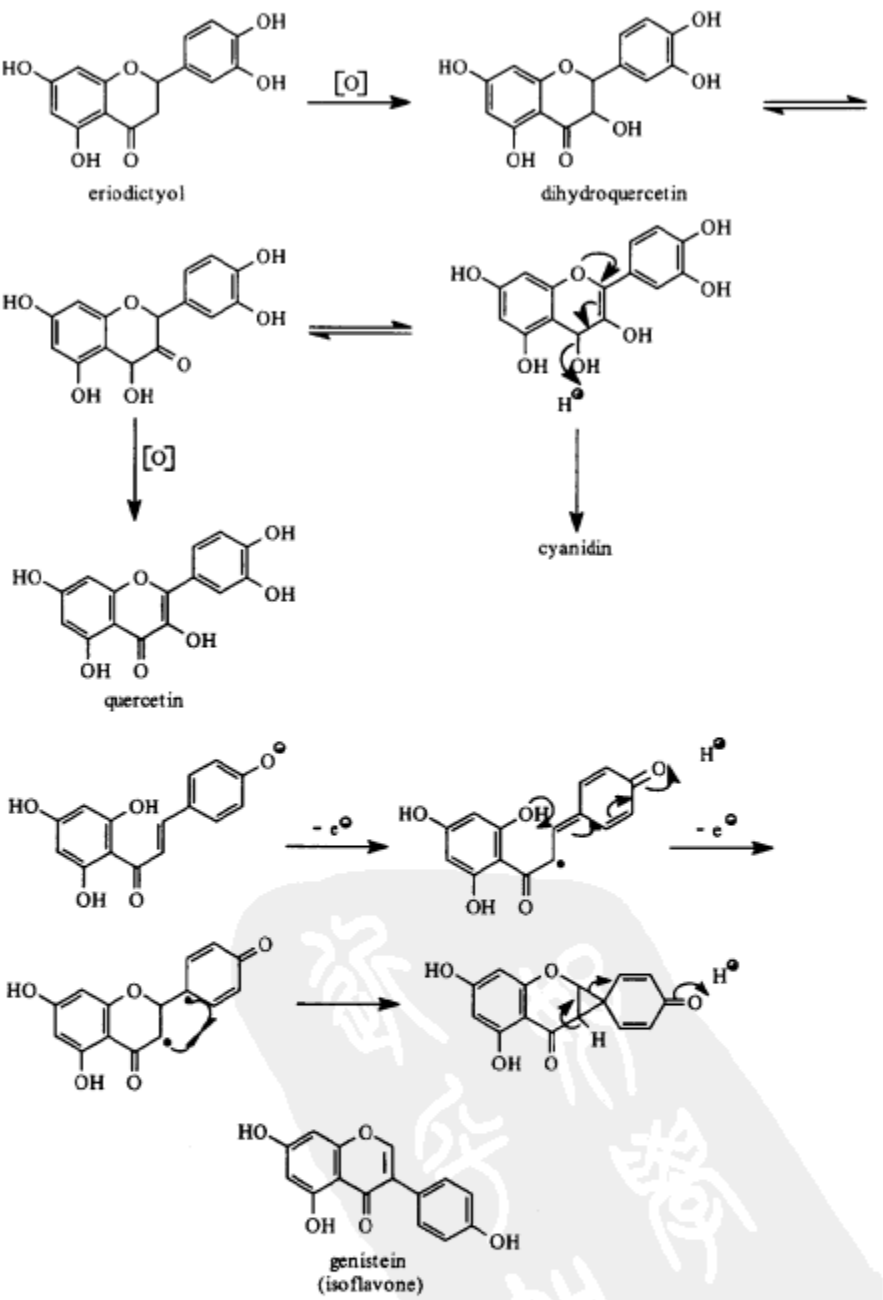


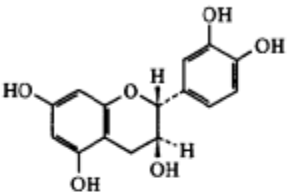
图 5-2 黄酮类化合物的生物合成途径

用[5]。

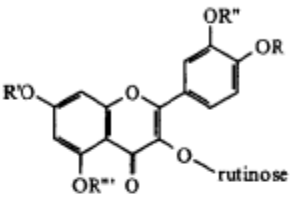
另据报道，槲皮素等黄酮类化合物对由 ADP、胶原或凝血酶引起的血小板聚集及血栓形成也有抑制作用[6]。这与一些含有黄酮类成分的活血化瘀类中草药的作用机制可能有某种程度的内在联系。

（二）抗肝脏毒作用

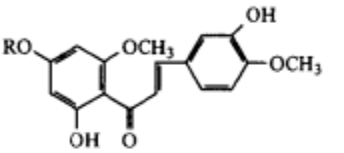
前已述及，从水飞蓟（*Silybum marianum*）种子中得到的水飞蓟素（silybin）、异水飞蓟素（silydianin）及次水飞蓟素（silychristin）等黄酮类物质经动物试验及临床实践均证明有很强的保肝作用。临床上用以治疗急、慢性肝炎，肝硬化及多种中毒性肝损伤等疾病均取得了较好的效果。另外（+）-儿茶素（商品名，Catergen）近来在欧洲也用作抗肝脏毒药物，对脂肪肝及因半乳糖胺或 CCl_4 等引起的中毒性肝损伤均示有一定效果。



(+)-儿茶素



羟乙基芦丁
R,R′,R″,R‴=H或CH_2CH_2OH



橙皮苷-甲基查耳酮
(HMC)

（三）抗炎作用

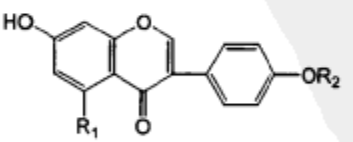
黄酮类化合物，如芦丁及其衍生物羟乙基芦丁（hydroxyethylrutin）、二氢槲皮素（taxifolin）以及橙皮苷-甲基查耳酮（HMC）等据报道对角叉菜胶、5-HT 及 PEG 诱发的大鼠足爪水肿、甲醛引发的关节炎及棉球肉芽肿等均有明显抑制作用。金荞麦（*Polygonum cymosum* Trev.）中的双聚原矢车菊苷元有抗炎、祛痰、解热、抑制血小板聚集与提高机体免疫功能的作用，临床用于肺脓肿及其它感染性疾病。

据报道，黄酮类化合物的抗炎作用可能与前列腺素（PEG）生物合成过程中的脂氧化酶（Lipoxygenase）受到抑制有关[7]。

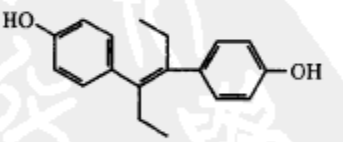
此外，羟乙基芦丁及棉花皮苷（gossypin）对胃溃疡示有治疗及预防作用。

（四）雌性激素样作用

染料木素（genistin）、金雀花异黄素（5,7-二羟基-4′-甲氧基异黄酮）、大豆素（daidzein）等异黄酮类均有雌性激素样作用，这可能是由于它们与己烯雌酚结构相似的原故[8]。



R_1=R_2=H，大豆素
R_1=OH，R_2=H，染料木素
R_1=OH，R_2=CH_3，金雀花异黄素



己烯雌酚

（五）抗菌及抗病毒作用

木犀草素、黄芩苷、黄芩素等均有一定程度的抗菌作用。

近来还有槲皮素、桑色素（morin）、二氢槲皮素及山柰酚（kaemferol）等抗病毒作用的报道[9]。

（六）泻下作用

如中药营实中的营实苷 A（multiflorin A）有致泻作用。

（七）解痉作用

异甘草素（isoliquiritigenin）及大豆素（daidzein）等具有类似罂粟碱（papaverine）解除平滑肌痉挛样的作用。大豆苷、葛根黄素等葛根黄酮类成分可以缓解高血压患者的头痛等症状。

此外，有些黄酮类化合物具有止咳、祛痰平喘作用，其平喘作用与分子中的 α，β-不饱和酮结构有关。据报道，有些黄酮类化合物对环核苷酸磷酸二酯酶具有一定程度的选择性抑制作用，且多数黄酮苷元的抑制作用要比黄酮苷强[10]。

由于黄酮类化合物在植物界中分布很广，甚至在人们日常生活中用到的粮食、蔬菜以及水果中也有相当大的含量。因此有的学者认为，黄酮类化合物与生物碱类不同，不大可能期望它们具有显著的生理活性[11]。但近期分子生物学的研究结果显示某些黄酮类化合物有着显著的生理活性。

第二节　黄酮类化合物的理化性质及显色反应

不论在黄酮类化合物的提取分离方面还是在其结构测定的研究方面，黄酮类化合物的理化性质及其呈色反应都发挥着谱学技术所替代不了的作用。下面仅就其与分离和结构测定密切相关的性质简介如下。

一、性　状

黄酮类化合物多为结晶性固体，少数（如黄酮苷类）为无定形粉末。游离的各种苷元母核中，除二氢黄酮、二氢黄酮醇、黄烷及黄烷醇有旋光性外，其余则无光学活性。苷类由于在结构中引入糖的分子，故均有旋光性，且多为左旋。黄酮类化合物是否有颜色与分子中是否存在交叉共轭体系及助色团（—OH、—OCH_3 等）的种类、数目以及取代位置有关。以黄酮为例来说，其色原酮部分原本无色，但在 2-位上引入苯环后，即形成交叉共轭体系，并通过电子转移、重排，使共轭链延长，因而显现出颜色。一般情况下，黄酮、黄酮醇及其苷类多显灰黄～黄色，查耳酮为黄～橙黄色，而二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮类，因不具有交叉共轭体系或共轭链短，故不显色（二氢黄酮及二氢黄酮醇）或显微黄色（异黄酮）。

显然，在上述黄酮、黄酮醇分子中，尤其在 7-位及 4′-位引入—OH 或—OCH_3 等助色团后，因其促进电子移位、重排，而使化合物的颜色加深。但-OH、-OCH_3，引入其它位置则影响较小。

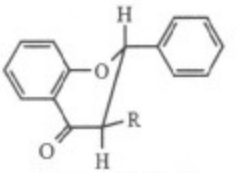
花色素及其苷元的颜色随 pH 不同而改变，一般显红（pH＜7）、紫（pH＝8.5）、蓝（pH＞8.5）等颜色。

二、溶　解　性

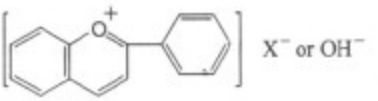
黄酮类化合物的溶解度因结构及存在状态（苷或苷元、单糖苷、双糖苷或三糖苷）不同而有很大差异。

一般游离苷元难溶或不溶于水，易溶于甲醇、乙醇、醋酸乙酯、乙醚等有机溶剂及稀碱水溶液中。其中黄酮、黄酮醇、查耳酮等平面性强的分子，因分子与分子间排列紧密，分子间引力较大，故更难溶于水；而二氢黄酮及二氢黄酮醇等，因系非平面性分子（如下图），故分子与分子间排列

不紧密，分子间引力降低，有利于水分子进入，溶解度稍大。



R=H，二氢黄酮
R=OH，二氢黄酮醇



花青素

至于花色苷元（花青素）类虽也为平面性结构，但因以离子形式存在，具有盐的通性，故亲水性较强，水溶度较大。

黄酮类苷元分子中引入羟基，将增加在水中的溶解度；而羟基经甲基化后，则增加在有机溶剂中的溶解度。例如，一般黄酮类化合物不溶于石油醚中，故可与脂溶性杂质分开，但川陈皮素（5,6,7,8,3′,4′-六甲氧基黄酮）却可溶于石油醚。

黄酮类化合物的羟基糖苷化后，水溶度即相应加大，而在有机溶剂中的溶解度则相应减小。黄酮苷一般易溶于水、甲醇、乙醇等强极性溶剂中，但难溶或不溶于苯、氯仿等有机溶剂中。糖链越长，则水溶度越大。

另外，糖的结合位置不同，对苷的水溶度也有一定影响。以棉黄素（3,5,7,8,3′,4′-六羟基黄酮）为例，其3-O-葡萄糖苷的水溶度大于7-O-葡萄糖苷。

三、酸性与碱性

（一）酸性

黄酮类化合物因分子中多具有酚羟基，故显酸性，可溶于碱性水溶液、吡啶、甲酰胺及二甲基甲酰胺中。

由于酚羟基数目及位置不同，酸性强弱也不同。以黄酮为例，其酚羟基酸性强弱顺序依次为：

7,4′-二 OH > 7-或 4′-OH > 一般酚 OH > 5-OH

此性质可用于提取、分离及鉴定工作。例如 C_7-OH 因为处于 C = O 的对位，在 p-π 共轭效应的影响下，酸性较强，可溶于碳酸钠水溶液中，据此可用以鉴定。

（二）碱性

γ-吡喃环上的1-氧原子，因有未共用的电子对，故表现微弱的碱性，可与强无机酸，如浓硫酸、盐酸等生成盐，但生成的鎓盐极不稳定，加水后即可分解。

黄酮类化合物溶于浓硫酸中生成的鎓盐，常常表现出特殊的颜色，可用于鉴别。某些甲氧基黄酮溶于浓盐酸中显深黄色，且可与生物碱沉淀试剂生成沉淀[12]。

四、显色反应

黄酮类化合物的颜色反应多与分子中的酚羟基及γ-吡喃酮环有关（表5-4）。

表 5-4 各类黄酮类化合物的显色反应

类 别	黄 酮	黄酮醇	二氢黄酮	查耳酮	异黄酮	橙酮
盐酸 + 镁粉	黄→红	红→紫红	红、紫、蓝	—	—	—
盐酸 + 锌粉	红	紫红	紫红	—	—	—
硼氢化钠	—	—	蓝→紫红	—	—	—
硼酸-柠檬酸	绿黄	绿黄*	—	黄	—	—
醋酸镁	黄*	黄*	蓝*	黄*	黄*	—
三氯化铝	黄	黄绿	蓝绿	黄	黄	淡黄
氢氧化钠水溶液	黄	深黄	黄→橙(冷) 深红→紫(热)	橙→红	黄	红→紫红
浓硫酸	黄→橙*	黄→橙*	橙→紫	橙、紫	黄	红、洋红

* 示有荧光

(一) 还原试验

1. 盐酸-镁粉(或锌粉)反应 此为鉴定黄酮类化合物最常用的颜色反应。方法是将试样溶于 1.0ml 甲醇或乙醇中,加入少许镁粉(或锌粉)振摇,滴加几滴浓盐酸,1~2 分钟内(必要时微热)即可显色。多数黄酮、黄酮醇、二氢黄酮及二氢黄酮醇类化合物显橙红~紫红色,少数显紫~蓝色,当 B-环上有-OH 或-OCH_3 取代时,呈现的颜色亦即随之加深。但查耳酮、橙酮、儿茶素类则无该显色反应。异黄酮类除少数例外,也不显色。

由于花青素及部分橙酮、查耳酮等在单纯浓盐酸酸性下也会发生色变,故须预先作空白对照实验(即在供试液中仅加入浓盐酸进行观察)。

另外,在用植物粗提取液进行预试时,为了避免提取液本身颜色的干扰,可注意观察加入浓盐酸后升起的泡沫颜色。如泡沫为红色,即示阳性。

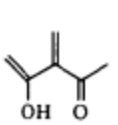
盐酸-镁粉反应的机制过去解释为由于生成了花色苷元所致,现在认为是因为生成了阳碳离子的缘故。

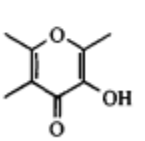
2. 四氢硼钠(钾)反应 $NaBH_4$ 是对二氢黄酮类化合物专属性较高的一种还原剂。与二氢黄酮类化合物产生红~紫色[13]。其它黄酮类化合物均不显色,可与之区别。方法是在试管中加入 0.1ml 含有试样的乙醇液,再加等量 2% $NaBH_4$ 的甲醇液,一分钟后加浓盐酸或浓硫酸数滴,生成紫~紫红色。

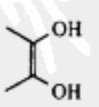
另外,近来报道二氢黄酮可与磷钼酸试剂反应呈现棕褐色,也可作为二氢黄酮类化合物的特征鉴别反应[14]。

(二) 金属盐类试剂的络合反应

黄酮类化合物分子中常含有下列结构单元,故常可与铝盐、铅盐、锆盐、镁盐等试剂反应,生成有色络合物。







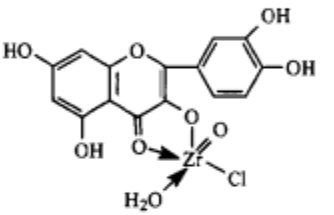
1. 铝盐 常用试剂为 1% 三氯化铝或硝酸铝溶液。生成的络合物多为黄色(λ_{max} =415nm),

并有荧光，可用于定性及定量分析。

2. 铅盐 常用1%醋酸铅及碱式醋酸铅水溶液，可生成黄～红色沉淀。黄酮类化合物与铅盐生成沉淀的色泽，因羟基数目及位置不同而异。其中，醋酸铅只能与分子中具有邻二酚羟基或兼有3-OH、4-酮基或5-OH、4-酮基结构的化合物反应生成沉淀，但碱式醋酸铅的沉淀能力要大得多。一般酚类化合物均可为之沉淀，据此不仅可用于鉴定，也可用于提取及分离工作。

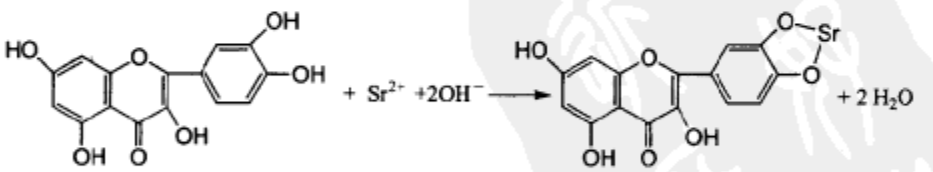
3. 锆盐 多用2%二氯氧化锆甲醇溶液。黄酮类化合物分子中有游离的3-或5-OH存在时，均可与该试剂反应生成黄色的锆络合物。但两种锆络合物对酸的稳定性不同。3-OH，4-酮基络合物的稳定性比5-OH，4-酮基络合物的稳定性强（仅二氢黄酮醇除外）。故当反应液中接着加入枸橼酸后，5-羟基黄酮的黄色溶液显著褪色，而3-羟基黄酮溶液仍呈鲜黄色（锆-枸橼酸反应）。方法是取试样0.5～1.0mg，用10.0ml甲醇加热溶解，加1.0ml 2%二氯氧化锆（$ZrOCl_2$）甲醇液，呈黄色后再加入2%枸橼酸甲醇溶液，观察颜色变化。

上述反应也可在纸上进行，得到的锆盐络合物多呈黄绿色，并带荧光，其结构如下[15]。



4. 镁盐 常用醋酸镁甲醇溶液为显色剂，本反应可在纸上进行。试验时在纸上滴加一滴供试液，喷以醋酸镁的甲醇溶液，加热干燥，在紫外光灯下观察。二氢黄酮、二氢黄酮醇类可显天蓝色荧光，若具有C_5-OH，色泽更为明显。而黄酮、黄酮醇及异黄酮类等则显黄～橙黄～褐色。

5. 氯化锶（$SrCl_2$） 氨性甲醇溶液中，可与分子中具有邻二酚羟基结构的黄酮类化合物生成绿～棕色乃至黑色沉淀。

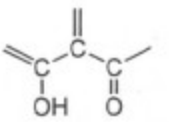


试验时，取约1.0mg检品置小试管中，加入1.0ml甲醇使溶（必要时可在水浴上加热），加入3滴0.01mol/L氯化锶的甲醇溶液，再加3滴已用氨蒸气饱和的甲醇溶液，注意观察有无沉淀生成。

6. 三氯化铁反应 三氯化铁水溶液或醇溶液为常用的酚类显色剂。多数黄酮类化合物因分子中含有酚羟基，故可产生阳性反应，但一般仅在含有氢键缔合的酚羟基时，才呈现明显的颜色。

（三）硼酸显色反应[16]

黄酮类化合物分子中当有下列结构时，在无机酸或有机酸存在条件下，可与硼酸反应，生成亮黄色。显然，5-羟基黄酮及2′-羟基查耳酮类结构可以满足上述要求，故可与其它类型区别。一般在草酸存在下显黄色并具有绿色荧光，但在枸橼酸丙酮存在的条件下，则只显黄色而无荧光。

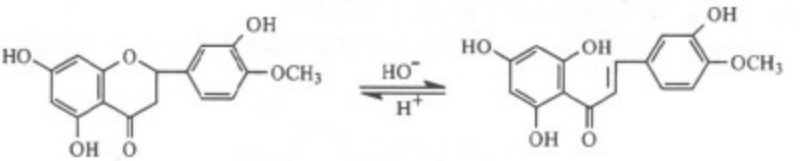


（四）碱性试剂显色反应

在日光及紫外光下，通过纸斑反应，观察试样用碱性试剂处理后的颜色变化情况，对于鉴别黄酮类化合物有一定意义。其中，用氨蒸气处理后呈现的颜色变化置空气中随即褪去，但经碳酸钠水溶液处理而呈现的颜色置空气中却不褪色。

此外，利用碱性试剂的反应还可帮助鉴别分子中某些结构特征。例如：

1. 二氢黄酮类易在碱液中开环，转变成相应的异构体——查耳酮类化合物，显橙～黄色。



2. 黄酮醇类在碱液中先呈黄色，通入空气后变为棕色，据此可与其它黄酮类区别。

3. 黄酮类化合物当分子中有邻二酚羟基取代或3，4′-二羟基取代时，在碱液中不稳定，易被氧化，由黄色→深红色→绿棕色沉淀。

第三节　黄酮类化合物的提取与分离[17]

一、提　取

黄酮类化合物的提取与分离可分别叙述如下：

黄酮类化合物在花、叶、果等组织中，一般多以苷的形式存在，而在木部坚硬组织中，则多为游离苷元形式存在。

黄酮苷类以及极性稍大的苷元（如羟基黄酮、双黄酮、橙酮、查耳酮等），一般可用丙酮、醋酸乙酯、乙醇、水或某些极性较大的混合溶剂进行提取。其中用得最多的是甲醇-水（1∶1）或甲醇。一些多糖苷类则可以用沸水提取。在提取花青素类化合物时，可加入少量酸（如0.1%盐酸）。但提取一般黄酮苷类成分时，则应当慎用，以免发生水解反应。为了避免在提取过程中黄酮苷类发生水解，也常按一般提取苷的方法事先破坏酶的活性。大多数黄酮苷元宜用极性较小的溶剂，如用氯仿、乙醚、醋酸乙酯等提取，而对多甲氧基黄酮的游离苷元，甚至可用苯进行提取。

对得到的粗提取物可进行精制处理，常用的方法有：

（一）溶剂萃取法

利用黄酮类化合物与混入的杂质极性不同，选用不同溶剂进行萃取可达到精制纯化的目的。例如植物叶子的醇浸液，可用石油醚处理，以便除去叶绿素、胡萝卜素等脂溶性色素。而某些提取物的水溶液经浓缩后则可加入多倍量浓醇，以除去蛋白质、多糖类等水溶性杂质。

有时溶剂萃取过程也可以用逆流分配法连续进行。常用的溶剂系统有水-醋酸乙酯、正丁醇-石油醚等。

溶剂萃取过程在除去杂质的同时，往往还可以收到分离苷和苷元或极性苷元与非极性苷元的效果。

（二）碱提取酸沉淀法

黄酮苷类虽有一定极性，可溶于水，但却难溶于酸性水，易溶于碱性水，故可用碱性水提取，再将碱水提取液调成酸性，黄酮苷类即可沉淀析出。此法简便易行，如芦丁、橙皮苷、黄芩苷提取都应用了这个方法。现以从槐米中提取芦丁为例说明该法的操作过程。槐米（槐树 *Sophora japonica* L. 的花蕾）加约 6 倍量水，煮沸，在搅拌下缓缓加入石灰乳至 pH 8～9，在此 pH 条件下微沸 20～30 分钟，趁热抽滤，残渣再加 4 倍量的水煎一次，趁热抽滤。合并滤液，在 60～70℃的条件下，用浓盐酸将合并滤液调至 pH 为 5，搅匀后静置 24 小时，抽滤。用水将沉淀物洗至中性，60℃干燥得芦丁粗品，用沸水重结晶，70～80℃干燥后得芦丁纯品。

在用碱酸法进行提取纯化时，应当注意所用碱液浓度不宜过高，以免在强碱性下，尤其加热时破坏黄酮母核。在加酸酸化时，酸性也不宜过强，以免生成铎盐，致使析出的黄酮类化合物又重新溶解，降低产品收率。当药材中含有大量果胶、粘液等水溶性杂质时，如花、果类药材，宜用石灰乳或石灰水代替其它碱性水溶液进行提取，以使上述含羧基的杂质生成钙盐沉淀，不被溶出。这将有利于黄酮类化合物的纯化处理。

（三）炭粉吸附法

主要适于苷类的精制工作。通常，在植物的甲醇粗提取物中，分次加入活性炭，搅拌，静置，直至定性检查上清液无黄酮反应时为止。滤过，收集吸苷炭末，依次用沸水、沸甲醇、7% 酚/水、15% 酚/醇溶液进行洗脱。对各部分洗脱液进行定性检查（或用 PC 鉴定）。通过对 *Baptisia lecontei* 中黄酮类化合物的研究证明，大部分黄酮苷类可用 7% 酚/水洗下。洗脱液经减压蒸发浓缩至小体积，再用乙醚振摇除去残留的酚，余下水层减压浓缩即得较纯的黄酮苷类成分。

二、分　离

现将较常用的分离方法介绍如下：

（一）柱色谱法

分离黄酮类化合物常用的吸附剂或载体有硅胶、聚酰胺及纤维素粉等。此外，也有用氧化铝、氧化镁及硅藻土等。

1. 硅胶柱色谱　此法应用范围最广，主要适于分离异黄酮、二氢黄酮、二氢黄酮醇及高度甲基化（或乙醚化）的黄酮及黄酮醇类。少数情况下，在加水去活化后也可用于分离极性较大的化合物，如多羟基黄酮醇及其苷类等。供试硅胶中混存的微量金属离子，应预先用浓盐酸处理除去，以免干扰分离效果。

2. 聚酰胺柱色谱　对分离黄酮类化合物来说，聚酰胺是较为理想的吸附剂。其吸附强度主要取决于黄酮类化合物分子中羟基的数目与位置及溶剂与黄酮类化合物或与聚酰胺之间形成氢键缔合能力的大小。聚酰胺柱色谱可用于分离各种类型的黄酮类化合物，包括苷及苷元、查耳酮与二氢黄酮等。以 *Baptisia lecontei* 为例[18]，黄酮类化合物从聚酰胺柱上洗脱时大体有下述规律：

(1)苷元相同,洗脱先后顺序一般是叁糖苷、双糖苷、糖苷、苷元。

(2)母核上增加羟基,洗脱速度即相应减慢。当分子中羟基数目相同时,羟基位置对吸附也有影响,聚酰胺对处于羰基间位或对位的羟基吸附力大于邻位羟基,故洗脱顺序为具有邻位羟基黄酮、具有对位(或间位)羟基黄酮。

(3)不同类型黄酮化合物,先后流出顺序一般是异黄酮、二氢黄酮醇、黄酮、黄酮醇。

(4)分子中芳香核、共轭双键多者易被吸附,故查耳酮往往比相应的二氢黄酮难于洗脱。

上述规律也适用于黄酮类化合物在聚酰胺薄层色谱上的行为。

3. 葡聚糖凝胶(Sephadex gel)柱色谱　对于黄酮类化合物的分离,主要用两种型号的凝胶:Sephadex-G 型及 Sephadex-LH20 型。

葡聚糖凝胶分离黄酮类化合物的机制:

分离游离黄酮时,主要靠吸附作用。凝胶对黄酮类化合物的吸附程度取决于游离酚羟基的数目;但分离黄酮苷时,则分子筛的性质起主导作用。在洗脱时,黄酮苷类大体上是按分子量由大到小的顺序流出柱体,见表 5-5。

表 5-5　黄酮类化合物在 Sephadex-LH20(甲醇)上的 Ve/Vo

黄酮类化合物	取代图式	Ve/Vo
芹菜素	5,7,4′-三羟基	5.3
木犀草素	5,7,3′,4′-四羟基	6.3
槲皮素	3,5,7,3′,4′-五羟基	8.3
杨梅素	3,5,7,3′,4′,5′-六羟基	9.2
山柰酚-3-半乳糖鼠李糖-7-鼠李糖苷	三糖苷	3.3
槲皮素-3-芸香糖苷	双糖苷	4.0
槲皮素-3-鼠李糖苷	单糖苷	4.9

表中 Ve 为洗脱试样时需要的溶剂总量或洗脱体积;Vo 为柱子的空体积。Ve/Vo 数值越小说明化合物越容易被洗脱下来。下表所列数据清楚地表明:苷元的羟基数越多,Ve/Vo 越大,越难以洗脱,而苷的分子量越大,其上连接糖的数目越多,则 Ve/Vo 越小,越容易洗脱。

葡聚糖凝胶柱色谱中常用的洗脱剂:

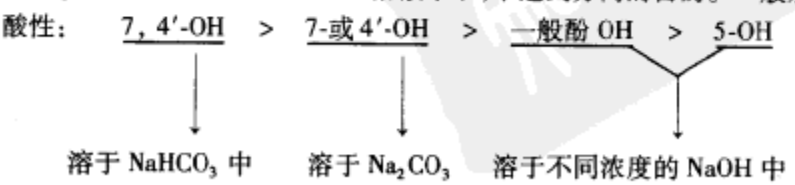
①碱性水溶液(如 0.1mol/L NH_4OH),含盐水溶液(0.5mol/L NaCl 等)。

②醇及含水醇,如甲醇、甲醇-水(不同比例)、t-丁醇-甲醇(3:1)、乙醇等。

③其它溶剂,如含水丙酮、甲醇-氯仿等。

(二) 梯度pH 萃取法

梯度 pH 萃取法适合于酸性强弱不同的黄酮苷元的分离。根据黄酮类苷元酚羟基数目及位置不同其酸性强弱也不同的性质,可以将混合物溶于有机溶剂(如乙醚)后,依次用 5% $NaHCO_3$、5% Na_2CO_3、0.2% NaOH 及 4% NaOH 溶液萃取,来达到分离的目的。一般规律大致如下:

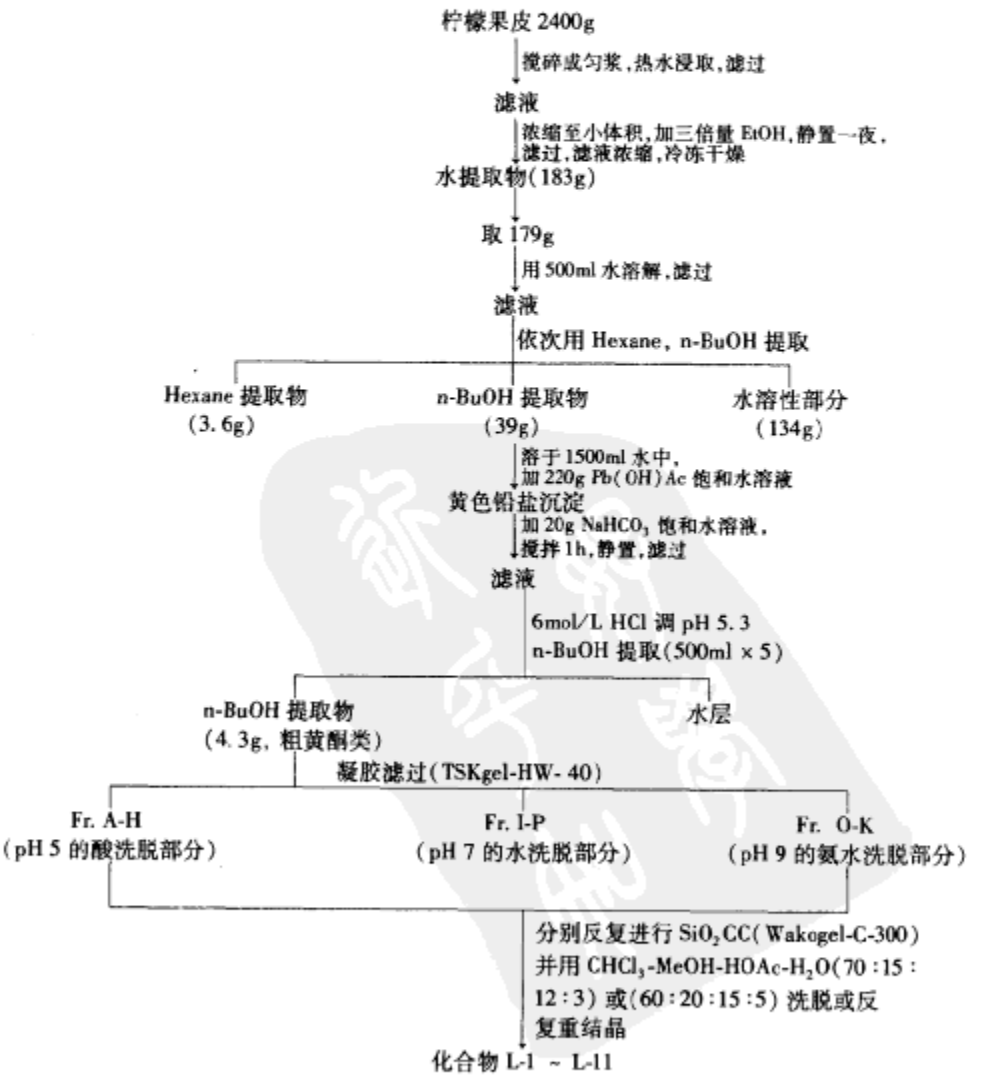


（三）根据分子中某些特定官能团进行分离

在黄酮类成分的混合物中，具有邻二酚羟基成分与无此结构的成分，可用铅盐法分离。有邻二酚羟基的成分可被醋酸铅沉淀，不具有邻二酚羟基的成分可被碱式醋酸铅沉淀，据此可将两类成分分离。与黄酮类成分混存的其它杂质的分子中如有羧基（如树胶、粘液、果胶、有机酸、蛋白质、氨基酸等）或邻二酚羟基（如鞣质等）时，也可被醋酸铅沉淀达到去杂质的目的。黄酮类化合物与铅盐生成的沉淀，滤集后按常法悬浮在乙醇中，通入 H_2S 进行复分解，滤除硫化铅沉淀，滤液中可得到黄酮类化合物。但初生态 PbS 沉淀具有较高的吸附性，因此现多不主张用 H_2S 脱铅，而用硫酸盐或磷酸盐，或用阳离子交换树脂脱铅。具有邻二酚羟基的黄酮可与硼酸络合，生成物易溶于水，借此也可与不具上述结构的黄酮类化合物相互分离。

在实际工作中，常将上述色谱法与各种经典方法相互配合应用，以达到较好的分离效果。

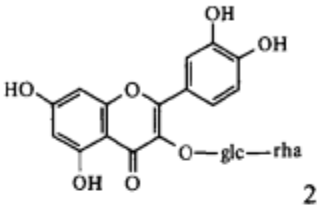
实例：从柠檬果皮中分离降血压有效成分[19]



柠檬柑橘类(*Citrus spp.*)果皮热水提取物对SHR-及SHP-SP型高血压大鼠有明显降压作用。为探讨其中含有的降压有效成分,进行了以上分离,所得化合物见表5-6。

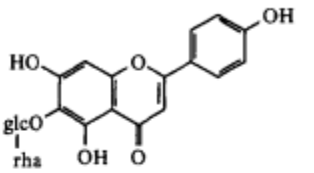
表5-6 从柠檬中分离得到的化合物L-1~L-11的化学结构和紫外光谱数据

[L-1]



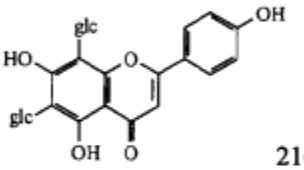
258, 274, 357nm

[L-2]



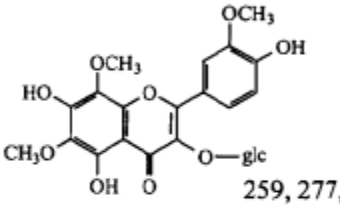
273, 338nm

[L-3]



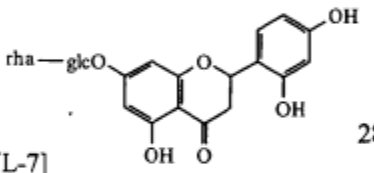
216, 273, 335nm

[L-4]



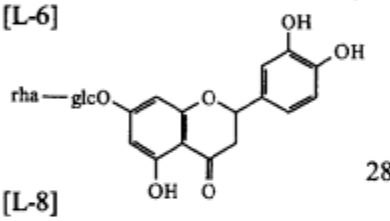
259, 277, 351nm

[L-5]



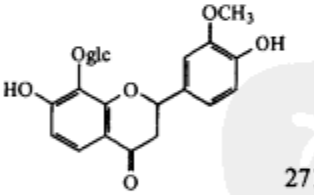
282, 330nm

[L-6]



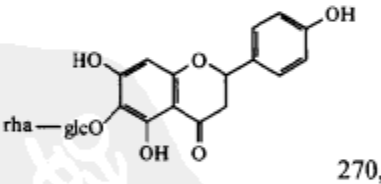
284, 340nm

[L-7]



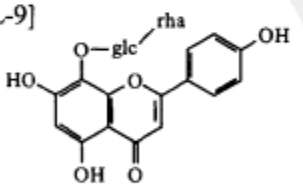
271, 338nm

[L-8]



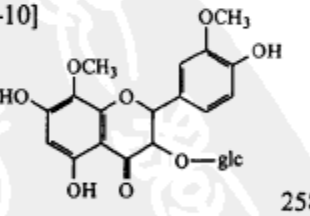
270, 336nm

[L-9]



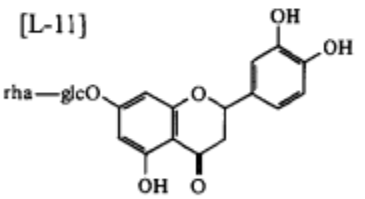
270, 330nm

[L-10]



258, 270, 344nm

[L-11]



275, 330, 412nm

第四节 黄酮类化合物的检识与结构鉴定

黄酮类化合物的检识与结构测定现在多依赖于谱学的综合解析，而化学方法和色谱方法已降至辅助地位。未知黄酮类化合物的鉴定，多在测定分子式的基础上，利用 PC 或 TLC 得到的 Rf 或 hRf 值与文献比较或分析对比试样在甲醇溶液中及加入各种诊断试剂后得到的紫外及可见光谱进行剖析。同时，对于化合物的颜色反应，以及在提取分离过程中所表现的行为（如溶解度、酸或碱中的溶解情况、铅盐沉淀等）也应注意分析。但这些方法均有一定局限性，并曾导致得出过一些错误结论。质子核磁共振（^{1}H-NMR）因为可定量测定 H 的个数，以及根据质子的化学位移和芳香氢核之间的自旋偶合所提供的信息（裂分数目及偶合常数大小），可确定黄酮母核上的取代模式。近来由于仪器分辨率的不断提高，加以同核去偶、溶剂位移以及 NOE 等核磁共振技术的使用，^{1}H-NMR 谱的测定对分析天然黄酮类化合物的结构已经成为一种非常重要的手段。但是正如以后谈到的那样，在黄酮类化合物的^{1}H-NMR 谱上，有时要想确切指认每个信号并不是一件容易的事情。例如当黄酮类母核的 A-环上只有一个芳香氢核时，要想与 H-3 信号区别，就是十分困难的。解决这种问题，碳-13 核磁共振（^{13}C-NMR）技术有很大的优势，加上各种取代基位移及苷化位移效应的发现，使得图谱的解析工作大大简化。因此，^{13}C-NMR 技术在黄酮类化合物的结构鉴定中发挥着越来越重要的作用。质谱（MS）技术，尤其场解析质谱（FD-MS）与快速原子轰击质谱（FAB-MS）及串联质谱（MS-MS）的出现与应用，使其成为黄酮类化合物结构鉴定的重要手段之一（质谱技术的优势是只需要微量的试样就可获得有关整个分子结构及其主要碎片结构的重要信息）。

实际工作中常常根据需要，灵活、综合运用上述方法和手段，并辅以必要的化学方法，以求结构鉴定获得满意的结果。

一、色谱法在黄酮类化合物鉴定中的应用

纸色谱（PC）适用于分离各种天然黄酮类化合物及其苷类的混合物。混合物的鉴定常采用双向色谱法[20]。以黄酮苷类来说，一般第一向展开采用某种醇性溶剂，如 n-BuOH-HOAc-H_2O（4:1:5 上层，BAW）、t-BuOH-HOAc-H_2O（3:1:1，TBA）或水饱和的 n-BuOH 等，这些主要是根据分配作用原理进行分离。第二向展开溶剂则用水或下列水溶液，如 2% ~6% HOAc、3% NaCl 及 HOAc-浓 HCl-H_2O（30:3:10）等。它们主要是根据吸附作用原理进行分离。

黄酮类化合物苷元一般宜用醇性溶剂或用 C_6H_6-HOAc-H_2O（125:72:3）、$CHCl_3$-HOAc-H_2O（13:6:1）、PhOH-H_2O（4:1）或 HOAc-浓 HCl-H_2O（30:3:3）进行分离。而花色苷及花色苷苷元，则可用含 HCl 或 HOAc 的溶液作为展开剂。

多数黄酮类化合物在纸色谱上用紫外光灯检查时，可以看到有色斑点，以氨蒸气处理后常产生明显的颜色变化。此外还可喷以 2% $AlCl_3$（甲醇）溶液（在紫外光灯下检查）或 1% $FeCl_3$-1% $K_3Fe(CN)_6$（1:1）水溶液等显色剂。

黄酮类化合物苷元中，平面性分子如黄酮、黄酮醇、查耳酮等，用含水类溶剂如 3% ~5% HOAc 展开时，几乎停留在原点不动（$Rf<0.02$）；而非平面性分子如二氢黄酮、二氢

黄酮醇、二氢查耳酮等，因亲水性较强，故 Rf 值较大（0.10～0.30）。黄酮类化合物分子中羟基苷化后，极性即随之增大，故在醇性展开剂中 Rf 值相应降低，同一类型苷元，Rf 值依次为苷元＞单糖苷＞双糖苷。以在 BAW 中展开为例，多数类型苷元（花色苷元例外）Rf 值在 0.70 以上，而苷则小于 0.70。但在用水或 2%～8% HOAc，3% Nacl 或 1% HCl 展开时，则上列顺序将会颠倒，苷元几乎停留在原点不动，苷类的 Rf 值可在 0.5 以上，糖链越长，则 Rf 值越大。另外，糖的结合位置对 Rf 值也有重要的影响。不同类型黄酮类化合物在双向 PC 展开时常常出现在特定的区域，据此可推测它们的结构类型以及判定是否成苷以及含糖数量。除 PC 外，TLC 用于黄酮类化合物的鉴定也日趋广泛。一般采用吸附薄层色谱，常用的吸附剂有硅胶与聚酰胺，其次是纤维素。

硅胶薄层色谱：用于分离与鉴定弱极性黄酮类化合物较好。分离黄酮苷元常用的展开剂是甲苯-甲酸甲酯-甲酸(5:4:1)，并可以根据待分离成分极性的大小适当地调整甲苯与甲酸的比例。另外尚有苯-甲醇(95:5)、苯-甲醇-醋酸(35:5:5)、氯仿-甲醇(8.5:1.5，7:0.5)、甲苯-氯仿-丙酮(40:25:35)、丁醇-吡啶-甲酸(40:10:2)等。分离黄酮苷元的衍生物如甲醚或醋酸乙酯等中性成分，可用苯-丙酮(9:1)、苯-醋酸乙酯(7.5:2.5)等为展开剂。

聚酰胺薄层色谱：适用范围较广，特别适合于分离含游离酚羟基的黄酮及其苷类。由于聚酰胺对黄酮类化合物吸附能力较强，因而展开剂需要较强的极性。在大多数展开剂中含有醇、酸或水。常用的展开剂有乙醇-水(3:2)、水-乙醇-乙酰丙酮(4:2:1)、水-乙醇-甲酸-乙酰丙酮(5:1.5:1:0.5)、水饱和的正丁醇-醋酸(100:1，100:2)、丙酮-水(1:1)、丙酮-95% 乙醇-水(2:1:2)、95% 乙醇-醋酸(100:2)、苯-甲醇-丁酮(60:20:20)等。

Stahl 总结前人的工作，介绍了一些黄酮苷元和黄酮苷用硅胶、聚酰胺与纤维素三种薄层色谱和四种混合溶剂作为展开剂所得到的 hRf 值，可供参考[21]。

二、紫外及可见光谱在黄酮类鉴定中的应用[22, 23]

紫外及可见分光光度法是鉴定黄酮类化合物结构的一种重要手段，一般程序如下：

①测定试样在甲醇溶液中的 UV 光谱。

②测定试样在甲醇溶液中加入各种诊断试剂后得到的 UV 及可见光谱。常用的诊断试剂有甲醇钠(NaOMe)、醋酸钠(NaOAc)、醋酸钠/硼酸($NaOAc/H_3BO_3$)、三氯化铝($AlCl_3$)及三氯化铝/盐酸($AlCl_3/HCl$)等。

③如试样为苷类，则可进行水解或甲基化后再水解，并测定苷元或其衍生物的 UV 光谱。各种诊断试剂的详细配制方法及测定程序可参看有关文献[22,24]。

将上述各种光谱图进行对比分析，即可获知有关结构的重要信息。

（一）黄酮类化合物在甲醇溶液中的UV 光谱特征

黄酮、黄酮醇等多数黄酮类化合物，因分子中存在如下所示的桂皮酰基(cinnamoyl)及苯甲酰基(benzoyl)组成的交叉共轭体系，故其甲醇溶液在 200～400nm 的区域内存在两个主要的紫外吸收带，称为峰带Ⅰ(300～400nm)及峰带Ⅱ(220～280nm)(如图 5-3 所示)。

例如：芦丁的各种 UV 光谱数据如图 5-4 所示。

1. 黄酮及黄酮醇类　两者 UV 光谱谱形相似，但带Ⅰ位置不同，可据此进行分类(图 5-5)：

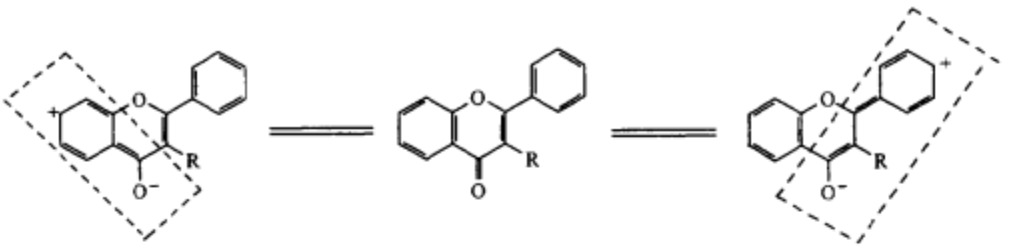
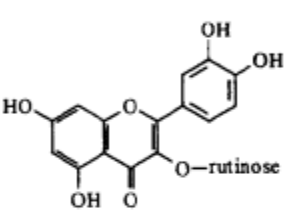


图 5-3 黄酮类化合物结构中的交叉共轭



UV spectral Data (λ max, nm)

MeOH	259, 266sh, 299sh, 359
NaOMe	272, 327, 410
$AlCl_3$	275, 303sh, 433
$AlCl_3$/HCl	271, 300, 364sh, 402
NaOAc	271, 325, 393
NaOAc/H_3BO_3	262, 298, 387

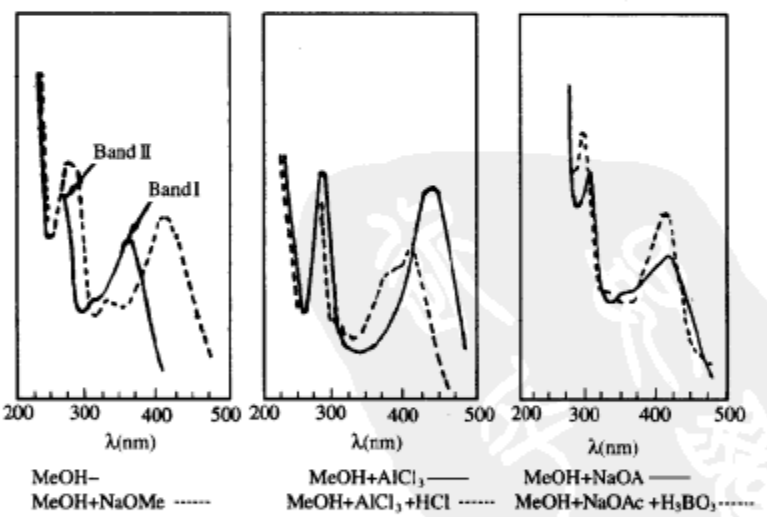


图 5-4 芦丁的 UV 光谱

在黄酮及黄酮醇母核上，如7-及4′-位引入羟基、甲氧基等供电基，将促进结构重排，有利于实现上述电子跃迁，可引起相应吸收带向红位移。通常，整个母核上氧取代程度越高，则带Ⅰ将越向长波方向位移（如表5-7所示）。

带Ⅱ的峰位主要受A-环氧取代程度的影响（表5-8），B-环的取代基对其峰位影响甚微，但可影响它的形状。例如当B-环上仅有4′-氧取代时，带Ⅱ为单峰；而当B-环上同时存在3′，4′-二

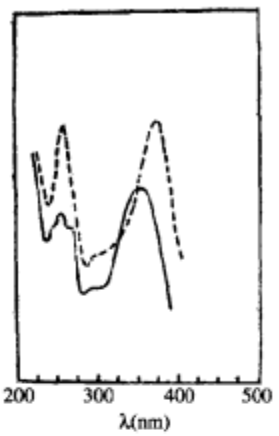


图 5-5 黄酮及黄酮醇类化合物的紫外光谱带Ⅰ
(λ_{max}^{MeOH}, nm)
木犀草素(黄酮类)—— 槲皮素(黄酮醇类)…… 黄酮类 304～350 黄酮醇(3-OH 被取代) 328～357 黄酮醇(3-OH 游离) 352～385

表 5-7 几种羟基黄酮类化合物的紫外吸收光谱(带Ⅰ)

化合物	带Ⅰ(λ_{max}^{MeOH}, nm)	
3,5,7-三羟基黄酮(高良姜素)	359	红移
3,5,7,4′-四羟基黄酮(山柰酚)	367	
3,5,7,3′,4′-五羟基黄酮(槲皮素)	370	
3,5,7,3′,4′,5′-六羟基黄酮(杨梅素)	374	

表 5-8 几种羟基黄酮类化合物的紫外吸收光谱(带Ⅱ)

化合物	带Ⅱ(λ_{max}^{MeOH}, nm)	
黄酮	250	红移
7-羟基黄酮	252	
5-羟基黄酮及5,7-二羟基黄酮	262	
5,6,7-三羟基黄酮	274	
5,7,8-三羟基黄酮	281	

氧取代时,则带Ⅱ将为双峰(或一个主峰,并伴有一个肩峰)(如图 5-4)。

综上所述,可以依据带Ⅰ、Ⅱ的峰位及形状,初步推测黄酮及黄酮醇母核上羟基取代的数目及取代模式。

黄酮及黄酮醇母核上的羟基甲基化或苷化时,将引起相应吸收带,尤其带Ⅰ向紫位移。当羟基乙酰化后,原来的酚羟基对光谱的影响将会完全消除。例如:具有 4′-羟基黄酮类在乙酰化后,将表现出与 4′-甲氧基黄酮十分相近的光谱,据此可以鉴定黄酮类化合物母核上烷氧基的取代位置。

2. 查耳酮及橙酮类 共同特征是带Ⅰ很强,为主峰;而带Ⅱ则较弱,为次强峰(图 5-6)。

查耳酮中,带Ⅱ位于 220～270nm,带Ⅰ位于 340～390nm,有时分裂为Ⅰa(340～390nm)及Ⅰb(300～320nm)。与黄酮、黄酮醇类化合物一样,环上引入氧取代基,也会引起吸收带,尤其是带Ⅰ红移(如表 5-9),在 2′位上引入-OH 时影响最大。

表 5-9 查耳酮类化合物的紫外吸收光谱(带Ⅰ)

化合物	带Ⅰ(λ_{max}^{MeOH}, nm)	化合物	带Ⅰ(λ_{max}^{MeOH}, nm)
查耳酮	312	4-羟基查耳酮	350
4′-羟基查耳酮	320	2′,4′,4-三羟基查耳酮	370

反之,2′-OH 甲基化或苷化时,可引起带Ⅰ紫移 15～20nm,但其余位置的结构变化对带Ⅰ影响不大。橙酮中,常显现 3～4 个吸收峰,但主要吸收峰(带Ⅰ)一般位于 370～430nm,天然来源的橙酮可为 388～413nm。羟基甲基化或苷化时对光谱并不产生显著影响,但 6,7-二羟基橙酮中的 7-羟基除外。后者如被甲基化或苷化,可使带Ⅰ紫移 18nm。

3. 异黄酮、二氢黄酮及二氢黄酮醇 这三类化合物中,除有由 A-环苯甲酰系统引起的带Ⅱ吸收(主峰)外,因 B-环不与吡喃酮环上的羰基共轭(或共轭很弱),故带Ⅰ很弱,常在主峰的长波方向处有一肩峰(图 5-7)。

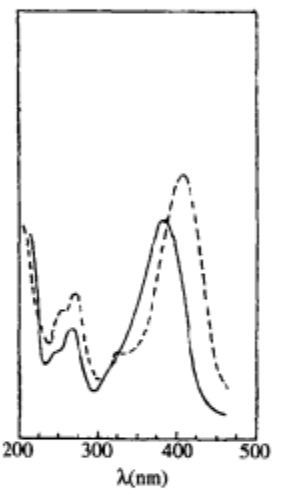


图 5-6 2,3,4-三羟基查耳酮—3′,4′-二羟基橙酮---

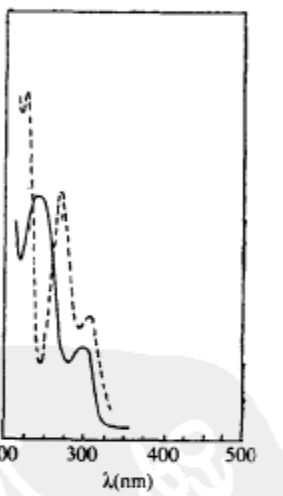


图 5-7 7-羟基异黄酮—4′,7-二羟基二氢黄酮---

根据主峰的位置,可以区别异黄酮与二氢黄酮及二氢黄酮醇类。前者在 245～270nm,后两者在 270～295nm。

(二) 加入诊断试剂后引起的位移及其在结构测定中的意义

以下仅以黄酮及黄酮醇为例进行说明。几种主要的诊断试剂引起的位移及其结构特征归属有如表 5-10 所示。

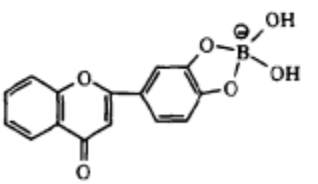
显然,从表 5-10 可以看出,黄酮类母核上的所有酚羟基因在甲醇钠强碱性下均可离解,故可引起相应峰带大幅度红移,但醋酸钠则不然。市售醋酸钠因含微量醋酸,碱性较弱,只能使黄酮母核上酸性较强的 7-OH 离解,并影响峰带红移;但醋酸钠经熔融处理后,碱性增强,使 7-OH 黄酮(醇)的 UV 图谱表现出与甲醇钠类似的位移效果。为了判断结构中是否有对碱敏感的取代图式,可在加入甲醇钠或醋酸钠后立即测定试样的 UV 光谱,5 分钟后再次测定该试样的 UV 图谱,

并比较两者差别。如有在碱性下易氧化的羟基取代图式时，则随着测定时间的延长，图谱上的吸收将会逐渐衰退。

表 5-10 加入诊断试剂的黄酮类化合物 UV 图谱及结构特征的归属

诊断试剂	带Ⅱ	带Ⅰ	归属
NaOMe		红移 40～60nm 强度不降	示有 4′-OH
		红移 50～60nm 强度下降	示有 3-OH，但无 4′-OH
	吸收谱随时间延长而衰退		示有对碱敏感的取代图式，如 3,4′-；3,3′,4′-；5,6, 7-；5,7,8-；3′,4′,5′ -羟基取代图式等
NaOAc（未熔融）	红移 5～20nm		示有 7-OH
		在长波一侧有 明显肩峰	示有 4′-OH，但无 3-及/或 7-OH
NaOAc（熔融）		红移 40～65nm， 强度下降	示有 4′-OH
	吸收谱图随时间延长而衰退		示有对碱敏感的取代图式（如同上示）
$NaOAc/H_3BO_3$	红移 5～10nm	红移 12～30nm	示 B 环有邻二酚羟基结构 示 A 环有邻二酚羟基结构（但不包括 5,6-位）
$AlCl_3$ 及 $AlCl_3/HCl$	$AlCl_3/HCl$ 谱图 = $AlCl_3$ 谱图		示结构中无邻二酚羟基结构
	$AlCl_3/HCl$ 谱图≠$AlCl_3$ 谱图 峰带Ⅰ（或Ⅰa）		示结构中可能有邻二酚羟基
	紫移 30～40nm		示 B 环上有邻二酚羟基
	紫移 50～65nm		示 A、B 环上均可能有邻二酚羟基
	$AlCl_3/HCl$ 谱图 = MeOH 谱图		示无 3-及/或 5-OH
	$AlCl_3/HCl$ 谱图≠MeOH 谱图		示可能有 3-及/或 5-OH
	峰带Ⅰ红移 35～55nm		示只有 5-OH
	红移 60nm		示只有 3-OH
	红移 50～60nm		示可能同时有 3-及 5-OH
	红移 17～20nm		除 5-OH 外尚有 6-含氧取代

黄酮类化合物分子中如果有邻二酚羟基结构单元时，可在醋酸钠碱性下，与硼酸络合，并引起相应峰带红移。



黄酮类化合物与硼酸形成的络合物

另外，分子中有邻二酚羟基，3-羟基-4-酮基或5-羟基-4-酮基时，还可以与三氯化铝络合，并引起相应吸收带红移。

生成的铝络合物相对稳定性按下列顺序排列：黄酮醇3-OH > 黄酮5-OH > 二氢黄酮5-OH > 邻二酚OH > 二氢黄酮醇3-OH。

如分子中同时有3-或5-OH及邻二酚羟基时，则可同时与三氯化铝螯合，生成二络合物（图5-8）。

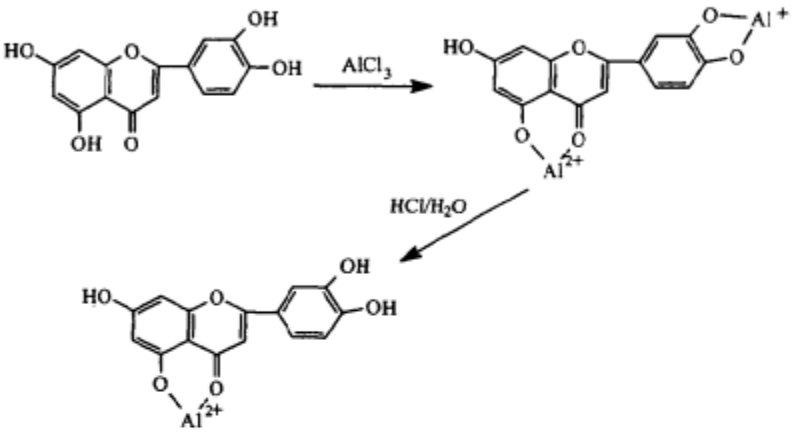


图5-8 黄酮类化合物与$AlCl_3$形成的络合物

上述邻二酚OH及二氢黄酮醇3-OH系统与三氯化铝形成的络合物很不稳定，加入少量酸水（如盐酸）时即可分解（见上式）。二氢黄酮醇的铝络合物可因在醋酸钠中不稳定而予以鉴别。

如以乙醇作测定溶剂时，其中含有的痕迹量水分可以抑制三氯化铝与邻二酚OH形成络合物，但甲醇则不然。因此多选用甲醇作UV光谱测定的溶剂。

黄酮类化合物中如同时有3-及5-OH时，优先生成3-羟基-4-酮基螯合物。实践工作中，多在测定以MeOH为溶剂的供试试样的UV光谱基础上，测定该试样的加$AlCl_3$光谱，然后加入盐酸，再测定试样的$AlCl_3$加HCl光谱，而后进行对比分析。

以上所述乃为一般经验规律。实践中尚须结合化学方法及其它光谱特征进行综合分析作出判断。例如邻二酚羟基还可以通过氯化锶反应加以识别，3-或5-OH基可借助于锆-枸橼酸反应进行识别等。

此外，同一试样在重复测定时，以甲醇为溶剂的UV光谱及加入甲醇钠的UV光谱的重现性较好，而加入其它诊断试剂的UV光谱的重现性较差。对于鉴定来说，光谱的谱线形状十分重要，差几个纳米可不必介意。B-环上有邻二酚OH时，带Ⅰ在$AlCl_3$中将较$AlCl_3$/HCl中红移约30～40nm。当在A-及B-环上均有邻二酚OH时，则在上述位移基础上将再增加20～25nm。

三、氢核磁共振在黄酮类结构分析中的应用[25]

氢核磁共振(^{1}H-NMR)现在已经成为黄酮类化合物结构分析的一种重要方法。所用溶剂有氘代氯仿、氘代二甲基亚砜(DMSO-d_6)、氘代吡啶等,具体情况因溶解度而异。

没有作成衍生物的黄酮类化合物常用无水 DMSO-d_6 作溶剂。它不仅溶解范围广,而且各质子信号的分辨率高,这对鉴别黄酮类母核上的酚羟基,是一个十分理想的溶剂。例如在3,5,7-三羟基黄酮^{1}H-NMR 谱上,羟基质子信号将分别出现在 δ12.40(5-OH),10.93(7-OH)及 9.70(3-OH)处。这些信号将因在试样中加入重水(D_2O)而消失。

此外也可将黄酮类化合物作成三甲基硅醚衍生物(图 5-9)溶于四氯化碳中进行测定。

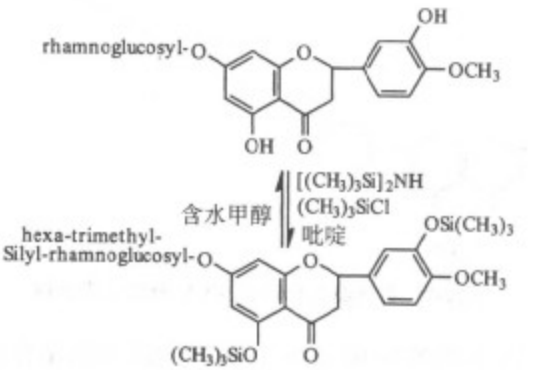
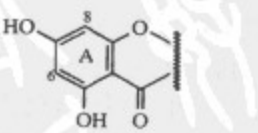


图 5-9 三甲基硅烷化的橙皮苷

归纳黄酮类化合物的质子核磁共振谱,有以下一些重要规律:

(一) A 环质子

1. 5,7-二羟基黄酮类化合物



其中,H-6 及 H-8 将分别作为二重峰(J=2.5Hz)出现在 δ5.70~6.90 区域内,且 H_6 信号总是比 H_8 信号位于较高的磁场区。当 7-OH 成苷时,则 H-6 及 H-8 信号均向低磁场方向位移(表 5-11 及图 5-10)。

表 5-11 5,7-二羟基黄酮类化合物中 H_6 及 H_8 的化学位移

化合物	H-6	H-8
黄酮、黄酮醇、异黄酮	6.00~6.20d	6.30~6.50d
上述化合物 7-O-糖苷	6.20~6.40d	6.50~6.90d
二氢黄酮、二氢黄酮醇	5.75~5.95d	5.90~6.10d
上述化合物 7-O-糖苷	5.90~6.10d	6.10~6.40d

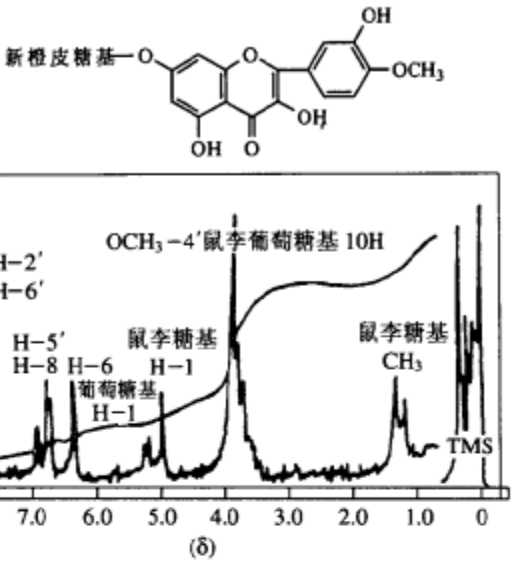
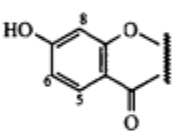


图 5-10 柽柳素 7-O-新橙皮苷 ^{1}H-NMR 谱

2. 7-羟基黄酮类化合物



A 环上有 H-5、H-6、H-8 三个芳香质子。H-5 因有 C_4 位羰基强烈的负屏蔽效应的影响，以及 H_6 的邻偶作用，将作为一个二重峰(J = Ca, 9.0Hz)出现在 δ8.0 左右，位于比其它芳香质子较低的磁场。H-6 因有 H-5 的邻偶(J = Ca, 9.0Hz)及 H-8 间偶(J = 2.5Hz)作用，将表现为一个双二重峰。H-8 因有 H-6 的间位偶合作用故显现为一个裂距较小的二重峰(J = 2.5Hz)。

与 5,7-二羟基黄酮类化合物比较，在 7-羟基黄酮类化合物中 H-6 及 H-8 均将出现在较低的磁场内，并且相互位置可能颠倒(表 5-12)。

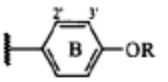
表 5-12 在 7-OH 黄酮类化合物中 H-5、H-6 及 H-8 的化学位移

化合物	H-5	H-6	H-8
黄酮、黄酮醇、异黄酮	7.90 ~ 8.20d	6.70 ~ 7.10dd	6.70 ~ 7.00d
二氢黄酮、二氢黄酮醇	7.70 ~ 7.90d	6.40 ~ 6.50dd	6.30 ~ 6.40d

d 为二重峰；dd 为双二重峰

(二) B 环质子

1. 4′-氧取代黄酮类化合物 该取代模式的 B 环质子可以分为 H-2′,6′及 H-3′,5′两组，构成 AA′BB′系统，其谱形可粗略地看成一个 AB 偶合系统(J = Ca, 8.5Hz)，出现在 δ6.50 ~ 7.90 处，大体上位于比 A 环质子稍低的磁场区。



H-3′,5′的化学位移总是比 H-2′,6′的化学位移值小，原因是有 4′-OR 取代基的屏蔽作用，以及 C 环对 H-2′,6′的负屏蔽效应。至于 H-2′、6′二重峰的具体峰位则取决于 C 环的氧化水平，参见表 5-13。

表 5-13 H-2′,6′及 H-3′,5′的化学位移（在 4′-氧取代黄酮类化合物中）

化 合 物	H-2′,6′	H-3′,5′
二氢黄酮类	7.10～7.30d	6.50～7.10d
二氢黄酮醇类	7.20～7.40d	
异黄酮类	7.20～7.50d	
查耳酮类（H-2,6 及 H-3,5）	7.40～7.60d	
橙酮类	7.60～7.80d	
黄酮类	7.70～7.90d	
黄酮醇类	7.90～8.10d	

2. 3′,4′-二氧取代黄酮及黄酮醇 H-5′作为一个二重峰（d，J=8.5Hz）出现在 δ6.70～7.10 处。H-2′（d，J=2.5Hz）及 H-6′（dd，J=8.5 及 2.5Hz）的信号出现在 δ7.20～7.90 范围内，两信号有时相互重叠不好分辨（见表 5-14）。

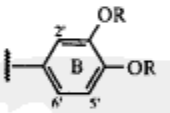


表 5-14 H-2′及 H-6′的化学位移（在 3′,4′-二氧取代黄酮类化合物中）

化 合 物	H-2′	H-6′
黄酮（3′,4′-OH 及 3′-OH，4′-Ome）	7.20～7.30d	7.30～7.50dd
黄酮醇（3′,4′-OH 及 3′-OH，4′-OMe）	7.50～7.70d	7.60～7.90dd
黄酮醇（3′-OMe，4′-OH）	7.60～7.80d	7.40～7.60dd
黄酮醇（3′，4′-OH，3-O-糖）	7.20～7.50d	7.30～7.70dd

显然，依据 H-2′及 H-6′的化学位移，可以区别黄酮及黄酮醇的 3′,4′-位上是 3′-OH，4′-OMe 还是 3′-OMe，4′-OH。

3. 3′,4′-二氧取代异黄酮、二氢黄酮及二氢黄酮醇 H-2′、H-5′及 H-6′将作为一个复杂的多重峰（常常组成两组峰）出现在 δ6.70～7.10 区域内。此时 C 环对其影响很小，各质子的化学位移将主要取决于它们相对于含氧取代基的位置。

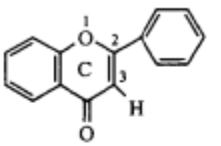
4. 3′,4′,5′-三氧取代黄酮类化合物 当 B 环有 3′,4′,5′-三羟基时，则 H-2′及 H-6′将作为相当于两个质子的一个单峰，出现在 δ6.50～7.50 范围内。但如 3′-或 5′-OH 甲基化或苷化时，则

H-2′及 H-6′将分别以不同的化学位移作为一个二重峰(J = Ca, 2.0Hz)出现。

(三) C 环质子

其所示特征是区别各类型黄酮类化合物的主要根据。

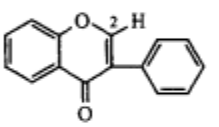
1. 黄酮类



黄酮

其上，H-3 常常作为一个尖锐的单峰信号出现在 δ6.30 处。因此，在 5，6，7-或 5，7，8-三含氧取代黄酮中，它将与 A 环的孤立芳氢（H-8 或 H-6）的单峰信号相混，应当注意区别。在 8-甲氧基黄酮中，H-6 因与 8-OCH_3 有远程偶合，致使信号变宽，峰强变弱，据此可与 H-3 相区别。另外，当对 5-OH 进行选择性氘代甲基硅烷化时，将会使 H-6、H-8 及 H-3 信号产生程度不等的位移：H-3 至少向低场位移 0.15 化学位移单位，H-8 则向高场位移 0.15 化学位移单位，但 H-6 基本上保持不变。至于三个信号之间的更大区别还可以通过其它核磁共振技术来得以实现。

2. 异黄酮类

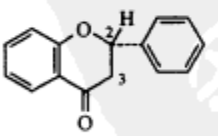


异黄酮

异黄酮上的 H-2，因正好位于羰基的 β 位，且通过碳与氧相接，故将作为一个单峰出现在比一般芳香质子较低的磁场区(δ7.60 ~ 7.80)，当用 DMSO-d_6 作溶剂时，还将进一步移到 δ8.50 ~ 8.70 处。

3. 二氢黄酮及二氢黄酮醇

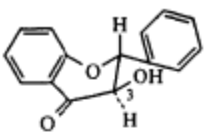
(1)二氢黄酮



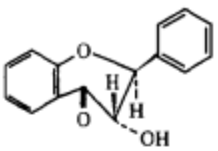
二氢黄酮

H-2 与两个磁不等同的 H-3 偶合(J_{trans} = Ca, 11.0Hz; J_{cis} = Ca, 5.0Hz)，故作为一个双二重峰出现，中心位于 δ5.20 处。两个 H-3，因有相互偕偶(J = 17.0Hz)及 H-2 的邻偶，将分别作为一个双二重峰出现，中心位于 δ2.80 处。但往往相互重叠。

(2)二氢黄酮醇：在天然存在的二氢黄酮醇中，H-2 及 H-3 多为反式二直立键，故分别作为一个二重峰出现（J = Ca, 11.0Hz）。H-2 位于 δ4.90 前后，H-3 则位于 δ4.30 左右，两者很容易区分，据此还可确定 C_2 及 C_3 的相对构型，即两质子互为反式，可用下式表示。



(2R,3R)-二氢黄酮醇



(2S,3S)-二氢黄酮醇

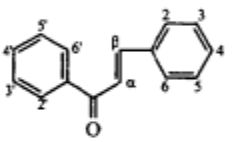
其绝对构型可用圆二色散谱，即 CD 谱加以确定。

当 3-OH 成苷时，则使 H-2 及 H-3 信号均向低磁场方向位移，如表 5-15。据此可以帮助判断二氢黄酮醇苷中糖的结合位置。

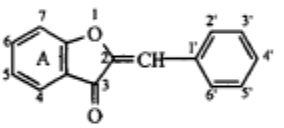
表 5-15 在二羟黄酮及二氢黄酮醇上 H-2 及 H-3 的化学位移

化合物	H-2	H-3
二氢黄酮	5.00～5.50dd	靠近 2.80dd
二氢黄酮醇	4.80～5.00d	4.10～4.30d
二氢黄酮醇-3-O-糖苷	5.00～5.60d	4.30～4.60d

4. 查耳酮及橙酮类



查耳酮



橙酮

在查耳酮中，H-α 以及 H-β 分别作为二重峰（J = Ca，17.0Hz）出现在 δ6.70～7.40（H-α）及 7.30～7.70（H-β）处。

在橙酮中，苄基质子则作为一个单峰出现在 δ6.50～6.70 处。如以 DMSO-d_6 作溶剂，则该信号将移至 δ6.37～6.94。其确切峰位取决于 A-及 B-环上的羟基取代图式。

（四）糖上的质子

1. 单糖苷类　糖与苷元相连时，糖上 C-1″-H（以下用 H-1″表示）与其它 H 比较，一般位于较低磁场区。其具体峰位可提供有关成苷位置、糖的种类等重要信息，详见表 5-16。

表 5-16 黄酮苷类化合物上糖的质子信号

化合物	糖上 H-1″
黄酮醇-3-O-葡萄糖苷	5.70～6.00
黄酮类-7-O-葡萄糖苷	4.80～5.20
黄酮类-4′-O-葡萄糖苷	
黄酮类-5-O-葡萄糖苷	
黄酮类-6-及 8-C-糖苷	
黄酮醇-3-O-鼠李糖苷	5.00～5.10
二氢黄酮醇-3-O-葡萄糖苷	4.10～4.30
二氢黄酮醇-3-O-鼠李糖苷	4.00～4.20

显然，对于黄酮类化合物葡萄糖苷来说，C-3-OH 上连接的糖可以很容易地与 C-4′、C-5 及 C-7 羟基上连接的糖相区别。而且黄酮醇 3-O-葡萄糖苷与 3-O-鼠李糖苷也可以清晰地区分。但在二氢黄酮醇 3-O-糖苷的^{1}H-NMR 谱上，无法区别 3-O-葡萄糖苷及 3-O-鼠李糖苷的 H-1″信号。

对鼠李糖苷来说，鼠李糖上的 C-CH_3 是很易识别的，它将作为一个二重峰（J=6.5Hz）或多重峰出现在 δ0.80～1.20 处。

2. 双糖苷类 黄酮类化合物双糖苷中，末端糖上的 C-1‴-H 因离黄酮母核较远，受到其负屏蔽影响相对较小，共振峰将移至比 H-1″较高磁场区，但移动程度则因末端糖的连接位置不同而异。

例如由葡萄糖、鼠李糖构成的黄酮类 3-或 7-O-双糖苷中，常见有下列两种类型：

（1）苷元-芦丁糖基［即苷元-O-β-D-葡萄糖(6→1)-α-L-鼠李糖］

（2）苷元-新橙皮糖基［即苷元-O-β-D-葡萄糖(2→1)-α-L-鼠李糖］

两种连接方式除通过二维核磁共振技术等方法进行确认以外，还可以通过比较鼠李糖上的 H-1‴及 H-6‴（CH_3）而予以鉴定，见表 5-17。

表 5-17 鼠李糖 H-1‴及 H-6‴的化学位移

化合物	H-1‴	H-6‴
芦丁糖基	4.20～4.40（d，J=2.0Hz）	0.70～1.00（d）
新橙皮糖基	4.90～5.00（d，J=2.0Hz）	1.10～1.30（d）

（五）6-及8-C-CH_3质子

其中，6-C-CH_3 质子信号恒定地出现在比 8-C-CH_3 质子小约 0.20 化学位移单位。对于异黄酮来说，化学位移分别为 δ2.04～2.27 及 2.14～2.45。

（六）乙酰氧基的质子

有时将黄酮类化合物制备成乙酰化物后进行结构测定。

通常，脂肪族乙酰氧基上的质子信号出现在 δ1.65～2.10 处；而芳香族乙酰氧基上的质子信号则出现在 δ2.30～2.50 处，两者很容易区分。根据脂肪族乙酰氧基上的质子数目往往可以帮助判断黄酮苷中结合糖的数目；而根据芳香族乙酰氧基上的质子数目，又可以帮助确定苷元上的酚 OH 的数目。

根据芳香族乙酰氧基上质子的具体峰位（见表 5-18），还可以帮助判断黄酮母核上酚羟基的位置。

表 5-18 黄酮类化合物乙酰氧基上质子的化学位移

乙酰基位置	δ
4′-O-$COCH_3$	2.30～2.35
7-O-$COCH_3$	2.30～2.35
5-O-$COCH_3$	2.45

（七）甲氧基上的质子

除若干例外，甲氧基质子信号一般在 δ3.50～4.10 处出现。

NOE 核磁共振技术及二维核磁共振技术可确定其存在的位置，见表 5-19。

表 5-19 在没有邻位取代基时，甲氧基质子信号的苯诱导位移值

甲氧基位置	$\Delta=(\delta CDCl_3-\delta C_6H_6)$	甲氧基位置	$\Delta=(\delta CDCl_3-\delta C_6H_6)$
C-3	-0.07 ~ +0.34	C-2′	+0.46 ~ +0.53
C-5	-0.43 ~ +0.58	C-4′	+0.54 ~ +0.71
C-7	+0.54 ~ +0.76		

四、碳核磁共振在黄酮类化合物结构鉴定中的应用

黄酮类化合物[13]C-NMR 信号的归属一般可以通过：①与简单的模型化合物如苯乙酮（aacetophenone）、桂皮酸（cinnamic acid）以及它们的衍生物的光谱进行比较；②用经验性的简单芳香化合物的取代基位移加和规律进行计算等方法加以解析。

但在比较复杂的系统中，信号化学位移的实测值与计算值有时差异较大。这时，对信号的指认尚须借助于各种一维及二维 NMR 技术[26, 27]。

（一）黄酮类化合物骨架类型的判断

在[13]C-NMR 谱上，可从下表（表 5-20）所示的中央三个碳核信号的位置以及它们在偏共振去偶谱中的裂分情况，推断黄酮类化合物的骨架类型[28]。

表 5-20 [13]C-NMR 谱中黄酮类化合物结构中的中央三碳核的信号特征

C═O	C-2（或 C-β）	C-3（或 C-α）	归属
168.6 ~ 169.8(s)	137.8 ~ 140.7(d)	122.1 ~ 122.3(s)	异橙酮类
174.5 ~ 184.0(s)	160.5 ~ 163.2(s)	104.7 ~ 111.8(d)	黄酮类
	149.8 ~ 155.4(d)	122.3 ~ 125.9(s)	异黄酮类
	147.9(s)	136.0(s)	黄酮醇类
182.5 ~ 182.7(s)	146.1 ~ 147.7(s)	111.6 ~ 111.9(d)（═CH—）	橙酮类
188.0 ~ 197.0(s)	136.9 ~ 145.4(d)	116.6 ~ 128.1(d)	查耳酮类
	75.0 ~ 80.3(d)	42.8 ~ 44.6(t)	二氢黄酮类
	82.7(d)	71.2(d)	二氢黄酮醇类

另外，双黄酮类化合物中，如果分子的两部分氧化水平不一致时，则会在不同磁场处出现两个 C═O 基吸收，如 volkensiflavone 因由黄酮及二氢黄酮两部分组成，故分别在 δ181.6 及 196.0 两处出现两个 C═O 基信号（图 5-11）。

（二）黄酮类化合物取代图式的确定方法

黄酮类化合物中芳香碳原子的信号特征可以用来确定取代基的取代图式，但不能据以确定骨架的类型。以黄酮为例，其[13]C-NMR 信号如下所示[29]：

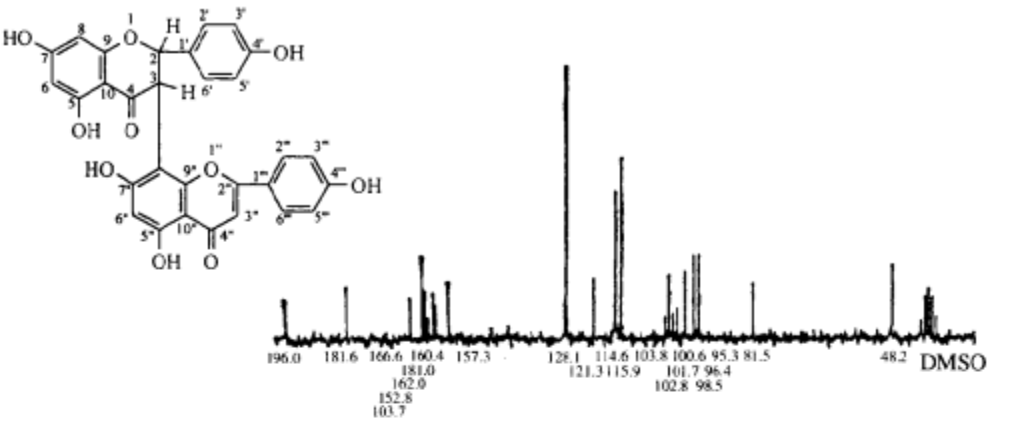
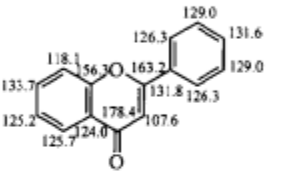


图 5-11 volkensiflavone 在 DMSO-d6 中的^{13}C-NMR(COM)谱



黄酮(flavone)

1. 取代基位移的影响 黄酮类母核,尤其 B-环上引入取代基(X)时,引起的位移大致符合简单苯衍生物的取代基位移效应(表 5-21)[30]。

表 5-21 黄酮类化合物的 B-环上引入取代基 X 时的取代基位移效应

X	Zi	Zo	Zm	Zp
OH	26.6	-12.8	1.6	-7.1
OCH_3	31.4	-14.4	1.0	-7.8

显然,-OH 及-OCH_3 的引入将使 Ipso-碳原子(α-碳)信号大幅度地向低场位移,邻位碳原子(β-碳)及对位碳则向高场位移。间位碳虽也向低场位移,但幅度很小。通常,A-环上引入取代基时,位移效应只影响到 A 环。与此相应,B-环上引入取代基时,位移效应只影响到 B 环。若是一个环上同时引入几个取代基时,其位移效应将具有某种程度的加和性。须强调指出,黄酮母核上引入 5-OH 时,不仅影响 A 环碳原子的化学位移,还因 C_5-OH 与 C_4 = O 形成分子内氢键缔合,故可使 C_4、C_2 信号向低场移动(分别为 +4.5 及 +0.9),而 C-3 信号向高场移动(-2.0)。显然,C_5-OH 如果被甲基化或苷化(氢键缔合遭到破坏),则上述信号将分别向高场位移。

2. 5,7-二羟基黄酮类中 C-6 及 C-8 信号的特征:对大多数 5,7-二羟基黄酮类化合物来说,C-6(d)及 C-8(d)信号在 δ90.0 ~ 100.0 的范围内出现,且 C-6 信号总是比 C-8 信号出现在较低的磁场。在二氢黄酮中两者差别较小,约差 0.9 个化学位移单位,但在黄酮及黄酮醇中差别较大,约为 4.8。上述参数可以通过去偶技术和二维核磁共振技术得以确认。

C-6 或 C-8 有无烷基或者芳香基取代可以很容易地通过观察^{13}C-NMR 上 C-6、C-8 信号是否发生位移而加以认定[31]。例如比较生松素(pinocembrin)及其 6-C-甲基及 8-C-甲基衍生物的 C-6,C-8 信号(表 5-22),可以看到:被甲基取代的碳原子将向低场位移 6.0 ~ 9.6,但未被取代的碳原子信号则无大的改变。

木犀草素(luteolin),即使因其 C-6 上连接的 H 被-OH 取代而向低场大幅度的位移,C-8 信号也未因此而发生大的改变。同理,6-C 糖苷或 8-C 糖苷或 6,8-二碳糖苷也可据此进行鉴定。因为 C-6 或 C-8 位结合成碳糖苷时将使相应的C-6或 C-8 信号向低场位移约 10 个化学位移单位,但未被取代的碳原子信号则无多大改变[见表 5-22 所示芹菜素(apigenin)、肥皂黄素(saponarin)及 apigenin-6, 8-di-C-glucoside]。

表 5-22 若干 5,7-二羟基黄酮类化合物 C-6 及 C-8 的化学位移

化 合 物	C-6	C-8
5,7-dihydroxyflavanone(pinocembrin)	96.1	95.1
6-C-methylpinocembrin	102.1	94.7
8-C-methylpinocembrin	95.7	101.9
3′,4′,5,7-tetrahydroxyflavone(luteolin)	99.2	94.2
8-C-benzylluteolin	98.6	103.8
6-hydroxyluteolin	140.4	93.6
4′,5,7-trihydroxyflavone(apigenin)	98.8	94.0
apigenin-6-C-β-D-glucopyranosyl-7-O-β-D-glucopyranoside(saponarin)	110.6	93.8
apigenin-6,8-di-C-glucoside	108.0	104.0

而且,上述规律对确定 C-C 连接的双黄酮类化合物中两个单黄酮分子间的结合位置是十分有用的。例如单纯检查 δ90.0 ~ 100.0 区域内信号的数目及其位移值就可以帮助判断两个 A 环是否参与了结合。

(三) 黄酮类化合物O-糖苷中糖的连接位置

黄酮类等酚性化合物在形成 O-糖苷后,无论苷元及糖均将产生相应的苷化位移。但因苷元上成苷的酚羟基位置以及糖的种类不同,苷化位移幅度也不相同。据此,可以判定糖在苷元上的结合位置。

1. 糖的苷化位移及端基碳的信号 酚性苷中,糖上端基碳的苷化位移约为 +4.0 ~ +6.0。黄酮苷类化合物当苷化位置在苷元的 7 或 2′、3′、4′时,糖的 C-1 信号将位于 δ100.0 ~ 102.5 范围内。但 5-O-葡萄糖苷及 7-O-鼠李糖苷例外,相应的 C-1 信号分别出现在 δ104.3 及 99.0 处[32]。因此可通过糖端基碳的化学位移确定糖的连接位置。

黄酮类双糖苷或低聚糖苷的^{13}C-NMR 中,糖的端基碳信号出现在 δ98.0 ~ 109.0 区域内,常与 C-6、C-8、C-3 及 C-10 混在一起而不易区别。这种情况下可采用 HMQC(^{1}H-detected heteronuclear multiple-quantum coherence)等二维核磁共振技术会收到较好的效果。

2. 苷元的苷化位移 对判断黄酮类化合物 O-糖苷中糖的连接位置来说,苷元的苷化位移具有非常重要的意义。通常,苷元糖苷化后 Ispo-碳原子向高场位移,其邻位及对位碳原子则向低场位移,且对位碳原子的位移幅度大而且恒定。在 7-OH、3-OH、3′-OH 及 4′-OH 糖苷化后均可看到这个现象[33](表 5-23)。因此, 对于判断糖在苷元母核上的连接位置来说, 苷元 Ipso-碳原子

表 5-23　黄酮类化合物^{13}C-NMR 谱上的苷化位移

苷化位置	苷元的苷化位移平均值														
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1'	2'	3'	4'	5'	6'
7-O-糖					+0.8		+1.1		+1.7						
						−1.4									
7-O-鼠李糖					+0.8		+1.0		+1.7						
						−2.4									
3-O-糖	+9.2		+1.5						+1.0		+1.1		+0.7		+1.5
		−2.1		+0.4						−0.8		−0.3		−0.4	
3-O-鼠李糖	+10.3		+2.0						+1.1						
		-1.1		+0.6											
5-O-葡萄糖	−2.8		−6.0		+4.4		+3.2		+4.3		−1.2		−0.8		−1.2
		+2.2		−2.7		−3.0		+1.4		−1.3		−0.4		−1.0	
3'-O-葡萄糖	−0.5										+1.6		+1.4		+3.2
		+0.4										0		+0.4	
4'-O-葡萄糖	+0.1									+3.7		+2.0		+1.4	
		+1.0									+0.4		−1.2		0

的对位及邻位碳原子的苷化位移比 Ipso-碳原子本身的苷化位移具有更确切的指导意义。应当强调指出，C-3-OH 糖苷化后，对 C-2 引起的苷化位移比一般邻位效应要大的多。这说明 $C_{2,3}$ 双键与一般芳香系统不同，更具有烯烃的特征。还有，C-7-OH 及 C-3-OH 与鼠李糖成苷时，C-7 或 C-3 信号的苷化位移比一般糖苷要大一些，据此也可与一般糖苷相区别。又 5-OH 糖苷化后，除可看到与上述相同的苷化位移效应外，还因 C_5-OH 与 C_4 ═O 的氢键缔合受到破坏，故对 C 环碳原子也将发生巨大的影响。C-2，C-4 信号明显地向高场位移，而 C-3 信号则移向低场。其结果正好与氢键缔合时看到的情况相反。另外，同一糖在 B 环上成苷比在 A 环上成苷时，苷化位移明显。

综上所述，比较苷及苷元中相应碳原子的化学位移可判断糖在苷元上的连接位置。

（四）双糖苷及低聚糖苷中分子内苷键及糖的连接顺序

黄酮类单糖苷中糖部分的信号可以根据以前报道的单糖及其甲基苷的数据进行比较解析[34, 35]。

双糖苷及叁糖苷的光谱则可以分解成相应的单糖苷或双糖苷的光谱进行比较而予以鉴定。研究结果表明：当糖上的羟基被苷化时将使该-OH 所在碳原子产生一个相当大的低场位移[36]。例如在黄酮类化合物芦丁[苷元-O-β-D-glucosyl-(6→1)-α-L-rhamnoside] 中，葡萄糖的 C-6 信号将向低场位移 5.8，但 C-5 则向高场位移约 1.4 [37]。

另外，在黄酮类化合物新橙皮糖苷[即苷元-O-β-D-glucosyl(2→1)-α-L-rhamnoside]中，葡萄糖的 C-2 信号将向低场位移 3.9，但 C-1 却向高场位移约 2.1。

但当槲皮素 3-O-葡萄糖苷与另一分子的 β-D-葡萄糖结合，形成槲皮素 3-O-葡萄糖基(2→1)葡萄糖苷时，槲皮素 3-O-葡萄糖上的 C-2 信号由原来的 δ74.2 向低场位移到 δ82.4(+8.2)。增加的这个位移数值在双糖及低聚糖中是典型的 β-D-糖苷化的参数。

黄酮类双糖苷及低聚糖苷中糖的连接顺序常采用 HMBC(^{1}H-detected heteromucler multiple-bond coherence)二维核磁共振技术进行确定。

五、质谱在黄酮类结构测定中的应用

多数黄酮类化合物苷元在电子轰击质谱(EI-MS)中因分子离子峰较强，往往成为基峰，故一般无须作成衍生物即可进行测定。但是当测定极性强、难气化以及对热不稳定的黄酮苷类化合物时，如不预先作成甲基化或三甲基硅烷化衍生物，则在 EI-MS 谱中将看不到分子离子峰。

1977 年 Schels，H. 等[38]曾首次报道：将黄酮的单糖苷、双糖苷及叁糖苷等作成三甲基硅烷化衍生物后测定 EI-MS，可以获得比甲基化衍生物更为清晰的分子离子峰，相对丰度至少可达 1%。此外，还将获得有关苷元及糖部分的结构、糖的连接位置、连接顺序以及分子内苷键等重要信息。

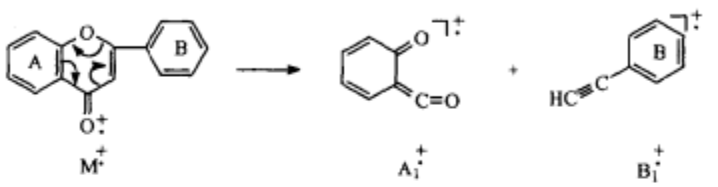
近来，FD-MS、FAB-MS 的出现大大扩展了质谱的应用范围[39]。黄酮类-O-糖苷类化合物即使不作成衍生物也可以用 FD-MS、FAB-MS 和 ESI-MS 等软电离质谱技术获得非常强的分子离子峰$[M]^+$及具有偶数电子的准分子离子峰(Quasi-molecularion peak)$[M+H]^+$。另外，还可以因改变发射丝电流强度以获得有关苷元及糖基部分的重要信息，为黄酮苷类化合物的结构鉴定提供了一种重要的手段。

（一）黄酮类化合物苷元的电子轰击质谱（EI-MS）[40]

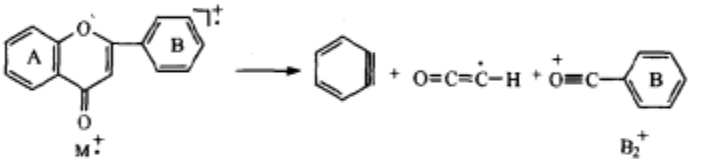
黄酮类化合物苷元的 EI-MS 中，除分子离子峰[M]$^{+\cdot}$外，也常常生成[M-1]$^{+}$即(M-H)基峰。如为甲基化衍生物，则可以得到[M-15]$^{+}$即(M-CH_3)离子。

对黄酮类化合物来说，由下列两种基本裂解途径得到的碎片离子，如 $A_1^{+\cdot}$ $B_1^{+\cdot}$、$B_2^{+\cdot}$ 等，因为保留着 A-及 B-环的基本骨架，且碎片 $A_1^{+\cdot}$ 与相应的 $B_1^{\cdot}$ 碎片的质荷比之和等于分子离子[M]$^{+\cdot}$的质荷比，故在鉴定工作上很有意义。

途径-Ⅰ（RDA 裂解）



途径-Ⅱ



通常，上述两种基本裂解途径是相互竞争，相互制约的。并且，B_2^{+} 及[B_2-CO]$^{+}$离子丰度大致与 $A_1^{+\cdot}$ 及 B_1^{+} 离子以及它们进一步裂解得到的子离子（如[A_1-CO]$^{+}$等）的丰度互成反比。

此外，还有由分子离子 $M^{+\cdot}$生成[M-1]$^{+}$(M-H)及[M-28]$^{+\cdot}$(M-CO)以及由碎片离子 A_1 生成[A_1-28]$^{+\cdot}$(A_1-CO)及 B_2 生成[B_2-28]$^{+\cdot}$(B_2-CO)等碎片离子。

兹择重点介绍黄酮类及黄酮醇类的质谱：

1. 黄酮类基本裂解途径（如图 5-12 所示） 其中，多数黄酮苷元分子离子峰[M]$^{+\cdot}$很强，往往成为基峰。但是，[M-28]$^{+\cdot}$及由途径-Ⅰ得到的 $A_1^{+\cdot}$ 及 B_1^{+} 峰也很突出。

显然，A-环的取代图式可通过测定 $A_1^{+\cdot}$ 的 *m/z* 的值进行确定。例如：由黄酮得到的 $A_1^{+\cdot}$ 的 *m/z* 值为 120；B_1^{+} 的 *m/z* 为 102；而由 5,7-二羟基黄酮裂解得到的 B_1^{+} 的 *m/z* 值虽然仍为 102，但 $A_1^{+\cdot}$ 碎片离子的 *m/z* 值却为 152，与黄酮比较增加了 32 个质量单位(m·u)（表 5-24），这就说明在化合物的 A-环上多了两个氧原子，即示 A 环可能有二羟基取代。

表 5-24 一些黄酮类化合物的质谱数据

化 合 物	$A_1^{+\cdot}$	B_1^{+}
黄酮	120	102
5,7-二羟基黄酮	152	102
5,7,4′-三羟基黄酮（芹菜素）	152	118
5,7-二羟基-4′-甲氧基黄酮（刺槐素）	152	132

同理，根据 B 环碎片离子的 *m/z* 值，也可精确测定 B 环的取代情况。例如，芹菜素及刺槐素

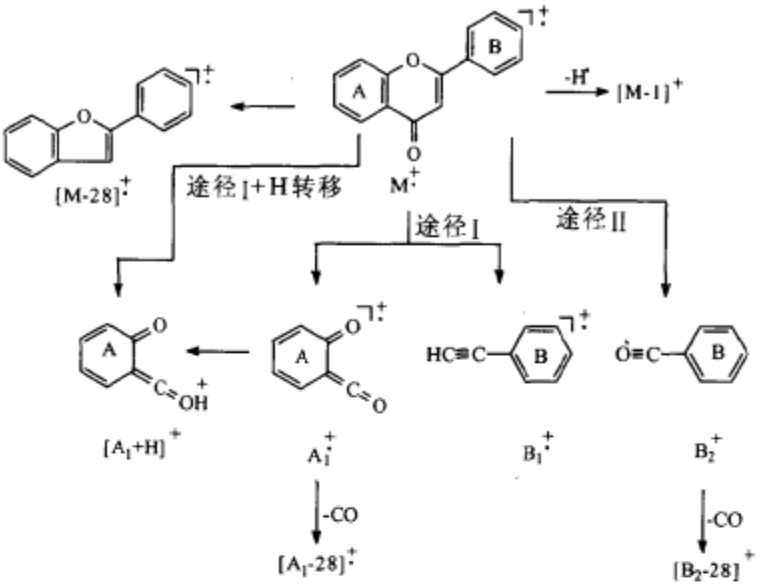
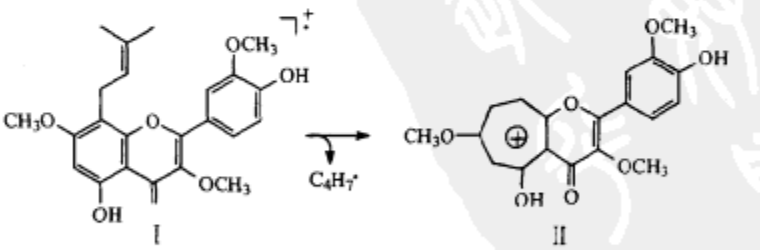


图 5-12　黄酮类化合物的基本裂解

在质谱上可以给出同样的 A_1^+ 碎片离子(m/z 152)，但 B_1^+ 碎片离子却相差 14 个质量单位(芹菜素为 118，刺槐素为 132)，这说明刺槐素在 B 环上具有一个甲氧基(表 5-24)。

应当注意，黄酮在有四个以上氧取代基时，常常给出中等强度的 A_1^+ 及 B_1^+ 碎片，它具有重要的鉴定意义；但是黄酮醇则不然，当氧取代超过四个以上时，只能产生微弱的 A_1^+ 及 B_1^+ 碎片离子。

在 3、6 及 8-位含有 C-异戊烯基的黄酮类，除一般黄酮裂解途径外，还将产生一些新的碎片离子，例如：在下列化合物(Ⅰ)中，A-环上的 γ，γ-二甲烯丙基可因 A-环在裂解过程中脱去 $C_4H_7^·$ 碎片，并重排成稳定的草鎓离子(Ⅱ)而得以证明。



至于在 6-及 8-位含有甲氧基的黄酮，在裂解过程中尚可失去 $CH_3^·$，得到[M-15]$^+$强峰(常为基峰)，随后又失去 CO，生成[M-43]$^+$离子，如图 5-13 所示：

1. 黄酮醇类质谱　裂解途径如图 5-14。

多数黄酮醇苷元，分子离子峰是个基峰，在裂解时主要按途径-Ⅱ进行。得到的 B_2^+ 离子，以及由它继续失去 CO 形成的[B_2-28]$^+$离子在鉴定工作中有重要意义。与途径Ⅱ相比，途径Ⅰ通常不太主要。其中，[A + H]$^+$是来自 A-环的主要离子，其上转移的 H 来自 3-OR 基团。

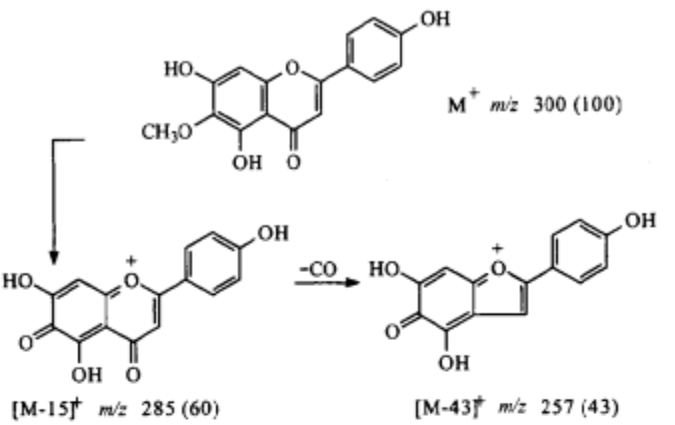


图 5-13 6-及 8-位含有甲氧基的黄酮的裂解途径

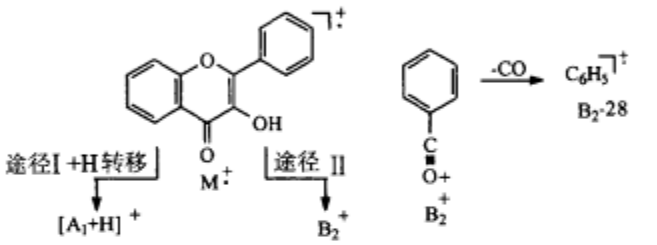


图 5-14 黄酮醇类化合物的裂解途径

前已述及,在黄酮类化合物质谱上,通常由途径-Ⅰ中得到的碎片离子(包括子离子)的丰度与途径-Ⅱ中得到的碎片离子(包括子离子)的丰度大致成反比。因此,如果在质谱图上看不到由途径-Ⅰ(RDA 裂解)得到的中等强度碎片离子时,则应当检查出 B_2^+ 离子。例如在黄酮醇分子中,如羟基数不超过三个时,则在其全甲基化衍生物的质谱图上,B_2^+ 离子应当出现在 m/z 105(B 环无羟基取代),或 135(-OCH_3,示 B 环有一个羟基),或 165(有两个-OCH_3,示 B 环有两个羟基)或 195(有三个-OCH_3,示 B 环有三个羟基)等处,其中最强的峰即为 B_2^+ 离子。通过考查 B_2^+ 离子与分子离子[M]间的 m/z 差别,可以帮助判断 A-环及 C-环的取代图式。

在黄酮醇苷元质谱上,除了上述 M^+,B_2^+ 及 $[A_1+H]^+$ 离子外,也还可以看到如[M-1]$^+$(M-H)、[M-15]$^+$(M-CH_3)、[M-43]$^+$[M-CH_3-CO]等碎片离子。这些也都为结构鉴定提供了具有一定价值的信息。

具有 2′-OH 或 2′-OCH_3 的黄酮醇类在裂解时有个重要特点,即可以通过失去 $OH^\cdot$ 或 $OCH_3^\cdot$,形成一个新的稳定的五元杂环(如图 5-15 所示)。

(二) 黄酮苷类化合物的 FD-MS[41]

黄酮苷类化合物在 EI-MS 上既不显示分子离子峰,也不显示糖基的碎片,故不宜用 EI-MS 测定。以 chrysoeriol-7-O-β-D-glucopyranoside 为例,得到的 EI-MS 谱与其苷元本身一致。主要开裂方式如图 5-16 所示。

上例化合物即使作成全甲基化(PDM)衍生物后再测 EI-MS(虽然可以看到分子离子,但强

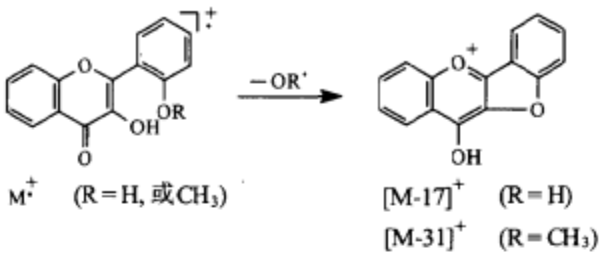


图 5-15 具有 2′-OH 或 2′-OCH_3 的黄酮醇类化合物的裂解特点

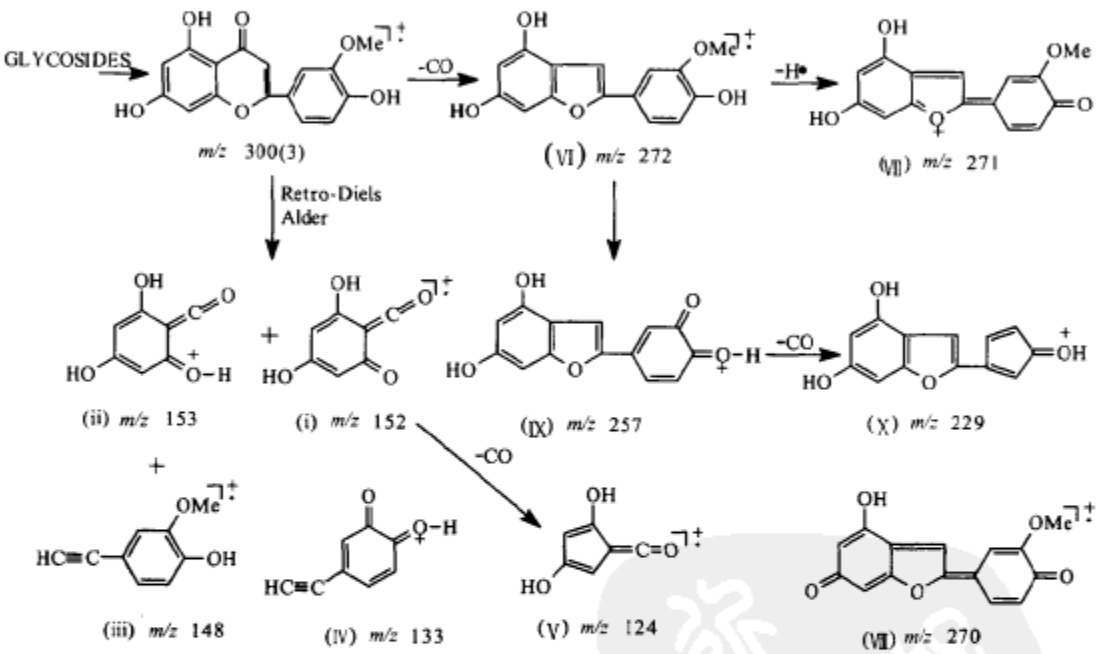


图 5-16 chrysoeriol-7-O-β-D-glucopyranoside 的 EI-MS 裂解方式

度很弱),且光谱上同时出现了一些无法进行圆满解释的强峰。与 EI-MS 相反,同一化合物在发射丝电流为 18mA 时测得的 FD-MS 谱(如图 5-17)中,m/z 462, 463 处示有特别醒目的 M 及 $[M+H]^+$(基峰)。此外,因为还出现葡萄糖基的某些碎片,为该化合物的结构鉴定提供了重要的信息。

图 5-17 上,m/z 404 及 58(乙二醇)的离子分别为在环氧及 C-1″间(b)以及 C-4″及 C-5″(c)之间的两处开裂生成。在 C-1″及苷氧原子之间的开裂(a),再加上 H 转移将产生 m/z 300(A + H)的离子。m/z 433 的碎片离子可能是从 $[M+1]^+$ 上脱掉 HCHO,再加上 H 转移后形成(d 开裂)。此外,图谱上于 m/z 485 处出现 $[M+{}^{23}Na]^+$ 离子,这可能是因为混存的盐类杂质在极性溶剂中阳离子化而形成。

在 FD-MS,因为 $[M+{}^{23}Na]^+$ 离子的强度随着溶剂极性及发射丝电流强度的改变而变化,故可用以帮助区别分子离子峰 $[M]^+$ 及伪分子离子峰 $[M+1]^+$。

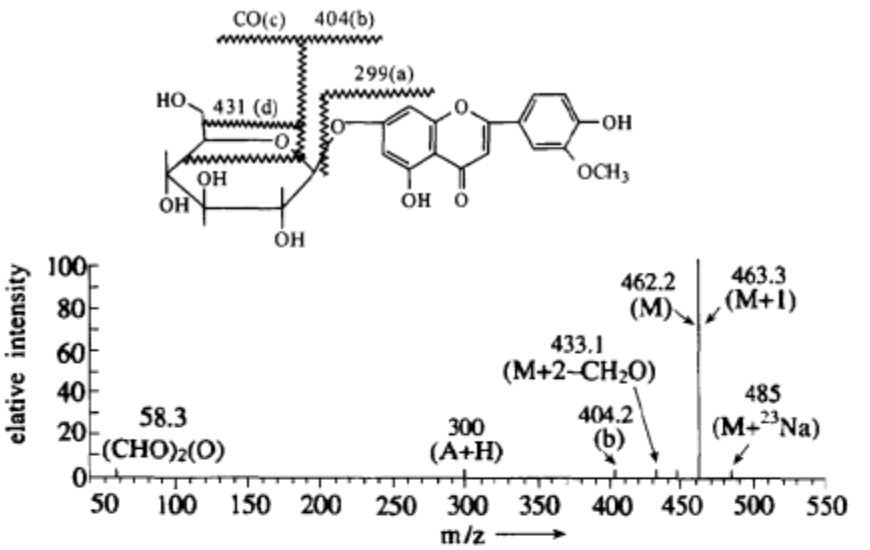


图 5-17 chrysoeriol 7-O-β-glucopyranoside 的 FD-MS 图
溶剂:MeOH/Me_2CO 发射丝电流强度:18mA

例如在 graveobioside 的 FD-MS 中,当发射丝电流强度为 20mA 时,分子离子[M]$^+$作为基峰在 m/z 594 处出现,且[M+1]$^+$及[M+^{23}Na]$^+$离子也十分清晰(图 5-18a);但当发射丝电流强度降低到 18mA 时,虽然[M]$^+$及[M+1]$^+$依然十分明显可见,但[M+^{23}Na]$^+$峰却从图上消失,并且看不到其它因苷元开裂生成的碎片,图谱大大趋向于简化(图 5-18b)。

另外,从图 5-18a 上明显看出,FD 谱将提供比 EI 谱更清晰的结构信息。例如 m/z 462 及 150 的离子分别因苷中糖链部分(2→1)结合的 b、c 开裂所生成。这种类型的开裂对鉴别黄酮类-O-低聚糖苷的末端糖具有一定意义。

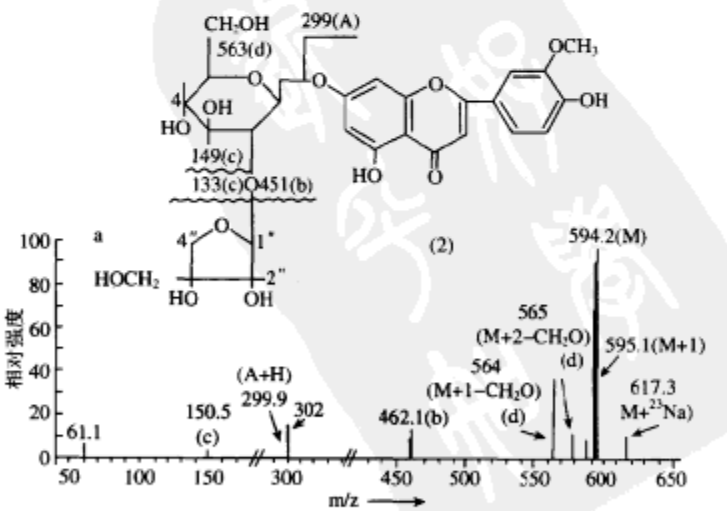


图 5-18a grabelbioside 的 FD-MS 图
(发射丝电流强度为 20mA)

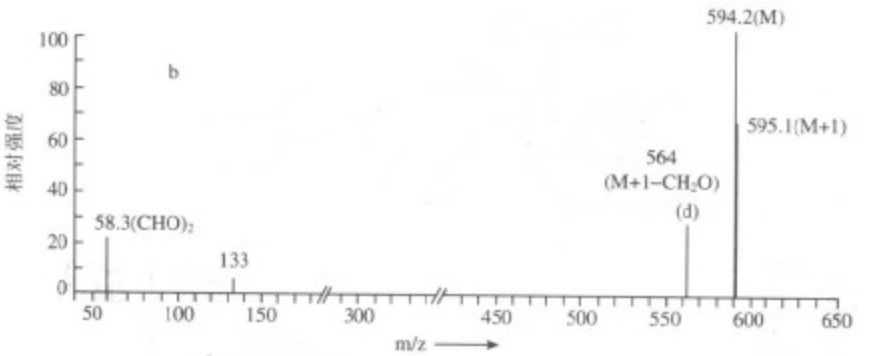


图 5-18b grabelbioside 的 FD-MS 图
（发射丝电流强度为 18mA）

如果进一步提高发射丝加热电流至 21mA 时，虽然[M]$^+$及[M+1]$^+$离子强度降低，但同时出现了一些有趣的变化。例如上述因糖链(2→1)结合开裂生成的 *m/z* 133 离子将先后丢失 HCHO(伴随 1,6-H 转移)、H_2O 及乙烯基，进一步生成 *m/z* 103，85 及 59 等离子，具体开裂图式如图 5-19。

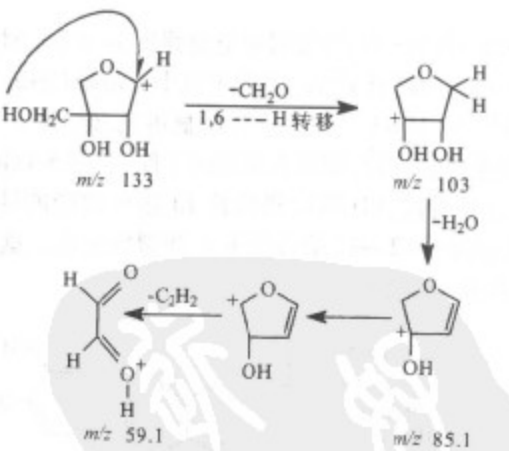


图 5-19

显然，这种典型的开裂对进一步鉴别黄酮类-O-低聚糖苷的末端糖是十分有用的。

第五节 黄酮类化合物结构研究中应注意的问题

一、Wessely-Moser 重排

黄酮类 6-及 8-C-糖苷在常规酸水解条件下不能被水解，但可发生互变(Wessely-Moser 重排)，成为 6-和 8-C-糖苷的混合物。例如下列 schaftoside(apigenin 6-C-β-D-glucopyranosyl-8-C-α-arabinopyranoside)在用 6% HCl 100℃处理 7 小时后，并不能水解，却可发生 Wessely-Moser 重排，

转变成其异构体 isoschaftoside（apigenin 6-C-α-arabinopyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside）。反之，isoschaftoside 在同样条件下进行处理，又可以经过重排转变成 schaftoside，这样互变的结果，最后得到的是两者的混合物（图 5-20）。

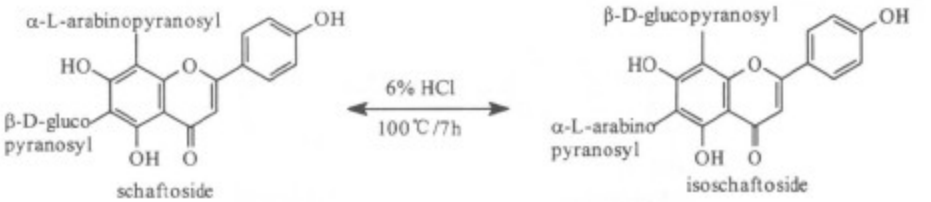


图 5-20 Wesselv-Moser 重排反应

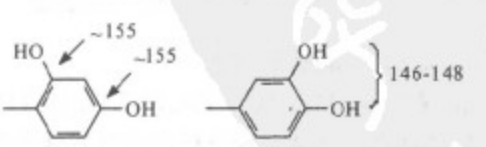
所以在解决该类苷的结构时尽量不用酸水解法，而常常通过一维核磁共振和二维核磁共振技术来确定其结构。

二、6 位取代基和 8 位取代基的确定

根据生物合成原理，黄酮类的 C-6 位及 C-8 位常有烷基取代（如异戊烯基、甲基、香叶烷基、熏衣草烷基等）。如前所述，对黄酮化合物来说，不论是 C-6 或 C-8，连有一个烷基取代基时，通过 C-6 及 C-8 的化学位移即可确定取代基的连接位置，但对二氢黄酮和二氢黄酮醇来说，很难用上述方法来确定烷基是结合在 C-6 上还是结合在 C-8 上。另外，即使是黄酮类化合物，当 C-6、C-8 同时连接不同烷基取代基时，也难于确定哪一个取代基结合在 C-6 上，哪一个取代基结合在 C-8 上。此时常采用 HMBC 等二维核磁共振技术进行取代基位置的确定。

三、B 环的取代基图式

在二氢黄酮、二氢黄酮醇、二氢黄烷类化合物的 B 环上常有 2′,4′-二氧取代或 3′,4′-二氧取代，此时，两种取代图式的 B 环上的质子构成的 ABX 系统几乎没有差异，特别是在二氢黄烷类化合物中更是如此。如若确定是 2′,4′-二氧取代还是 3′,4′-二氧取代，须用 ^{13}C-核磁共振数据。



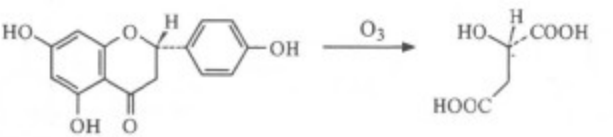
B 环的取代基图式

四、黄酮类化合物的立体化学问题

有立体化学问题的黄酮类化合物除取代基侧链外，就是二氢黄酮、二氢黄酮醇及其衍生物的 C-2 和 C-3 的立体化学问题。二氢黄酮、二氢黄酮醇及其衍生物的 C-2 和 C-3 绝对构型的测定可

使用的方法有如下几种：

1. 化学法　用不改变 C-2 构型的化学降解法使二氢黄酮降解成分子量较小的化合物后与构型已知的化合物的比旋光度进行比较，从而确定其绝对构型。如通过获得(－)-苹果酸可推测下述二氢黄酮的 C-2 绝对构型为 S[42]。



sakuranecin　　(－)苹果酸

2. X-射线单晶衍射法　该法是确定有机化合物的常用方法之一，可信度高，但该法须待测化合物为晶体，有的还须引入重原子，操作方法及数据处理复杂，对一般有机化学工作者来说，难于掌握，所以影响了该法的推广和应用。

3. 核磁共振法　对映异构体在使用手性氘代溶剂测试时，同一位置的质子或碳核因构型不同，可引起化学位移的差异，利用这种差异可确定其绝对结构。因该法使用的手性氘代试剂价格昂贵，加之在该领域中积累的经验不多，目前还难于推广使用。

4. 圆二色光谱(circular dichroic spectroscopy)及 CD 激子手性法(CD exciton chirality method)　上述两种方法是目前有机化合物绝对结构测定时经常使用的方法，例如(2R,3R)-(＋)-花旗松素的 CD 谱在 295nm 处为负 Cotton 效应，328nm 处为正 Cotton 效应，可推定 C_2 和 C_3 的绝对构型为 R,R[43,44]；而(2S,3S)-(－)-花旗松素的 CD 谱在 295nm 处显示正的 Cotton 效应，在 328nm 处呈现负的 Cotton 效应，故可以此与(2R,3R)-(＋)-花旗松素相区别[45]。

(2R,3R)-(+)-花旗松素　　(2S,3S)-(－)-花旗松素

五、结构研究实例

(一) 苦参醇A (Kushenol A)[45]的结构测定

苦参醇 A 为浅黄色针晶(苯)，mp. 172.0℃～174.0℃，[α]－115.6°(C＝0.40，MeOH)由其 MS 中 *m/z* 408 的分子离子峰的存在并结合元素分析可确定其分子式为 $C_{25}H_{28}O_5$，Mg-HCl 反应阳性。推测该化合物可能是黄酮类化合物。其 IR 图谱显示有羟基(3600，3200cm^{-1})、共轭羰基(1640cm^{-1})和苯环(1605cm^{-1})的存在，其 UV 光谱(295，340nm)及其因 NaOAc 的加入峰带Ⅱ红移了 39nm，可说明该化合物是 7-位有游离酚羟基的二氢黄酮或二氢黄酮醇。^{1}H-NMR 谱(aceton-d_6，TMS，δ)除显示有 lavandulyl 基的吸收(2.64～3.18，5H，m；5.00，1H，br. t，J＝7.0Hz；1.48，3H，s；1.56，3H，s；1.66，3H，s；4.60，2H，br. s)外，还有 12.56(1H，s，5-OH)，6.92～7.61(4H，m，芳香质子)，6.01(1H，s，芳香质子)，5.74(1H，dd，J＝12.0，4.5Hz，H-2)，

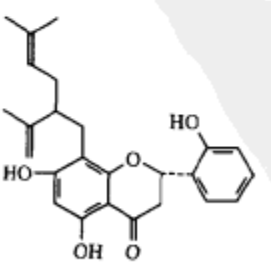
3.20(1H,dd, J=16.0, 12.0Hz, H-3α), 2.88(1H,dd, J=16.0, 4.5Hz, H-3β)的吸收。据此可推测该化合物是5,7-位有游离羟基的二氢黄酮的衍生物。余下的问题是lavandulyl基和5个芳香质子的指认。由该化合物的质谱中观测到了 m/z 120的碎片峰,故推测B环上除有一酚羟基外再无其它取代基(RDA开裂),而lavandulyl基一定结合在A环上。

表5-25 Kushenol A的^{1}H-NMR和^{13}C-NMR数据[a]

No.	δC	δH	Longe range correlations
2	75.5	5.74(1H,dd, J=12.0, 4.5Hz)	42.7(C_3), 197.7(C_4)
3	42.7	2.88~3.20(2H, m)	126.8($C_{1'}$), 154.7($C_{2'}$)
4	197.7		
5	163.1		
6	96.6	6.01(1H, s)	163.1(C_5), 165.3(C_7)
7	165.3		108.0(C_8), 103.3(C_{10})
8	108.0		
9	161.3		
10	103.3		
1′	126.8		
2′	154.7		
3′	116.3	6.92~7.61(4H,m)	
4′	130.0		
5′	120.7		
6′	127.4		
C_5-OH		12.56(1H, s)	163.1(C_5), 103.3(C_{10}), 96.6(C_6)

a Spectra run at 22.5 MHz in acetone-d_6, the data of lavandulyl were left out.

由HMBC二维核磁共振技术,确定了B环上的羟基结合在2′位上,而lavandulyl基结合在8位上,原因是δ5.74的H-2质子除与δ42.7(C-3), 197.7(C-4),161.8(C-9)有远程相关外还与δ154.7(C-2′),127.4(C-1′)相关,说明B环的2′位上有一氧取代基,而δ12.56的5-OH质子除与δ103.3(C-10),163.1(C-5)有相关外还与δ96.6(CH)的碳相关,说明6位上无取代基,所以Lavandulyl基只能结合在8位。另外通过CD谱确定了该化合物的C_2的绝对构型为S。综上分析该化合物为(-)-(2S)-8-lavandylyl-5,7,2′-trihydroxyflavanone,即苦参醇A。其^{1}H-NMR数据及^{13}C-NMR数据见表5-25。

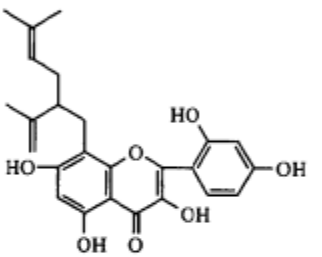


kushenol A

（二）苦参醇C的结构研究

苦参醇C为黄色粉末，[α]$_D$ -8.8°（C=0.28，MeOH）由质谱 *m/z* 438 的分子离子峰的存在并结合元素分析可确定该化合物的分子式为 $C_{25}H_{26}O_7$，其 Mg-HCl 反应阳性，锆-枸橼酸反应阳性，其 UV 光谱显示 7 位有游离酚-OH，提示该化合物可能为黄酮醇的衍生物。MS 谱中有 *m/z* 137，109 的碎片离子存在，推测 B 环上有两个酚羟基。其^{1}H-NMR 谱（Aceton-d_6，TMS，δ）除显示有 lavandulyl 基的吸收（2.59 ~ 3.20，5H，m；5.00，1H，br. t，*J* = 7.0Hz；1.50，3H，s；1.59，3H，s；1.72，3H，s；4.58，2H，br. s）外，还有 12.57（1H，s，5-OH），6.26（1H，s，芳香质子）及构成 ABX 系统的 6.30（1H，d，*J* = 2.0Hz），6.42（1H，dd，*J* = 8.0，2.0Hz），7.70（1H，d，*J* = 8.0Hz）三个芳香质子。

综上分析该化合物为3，5，7，2′，4′-五羟基黄酮衍生物。由^{13}C-NMR 中未观测到 δ94.0 左右的 CH 信号，而观测到了 δ98.5 的 CH 信号，故可推测 lavandulyl 基的取代位置在 8 位而不是在 6 位，由二维核磁共振技术可确证上述结论，即通过观测到了 δ12.57 的 5-OH 质子与 δ98.5（CH）有远程相关而得到了确证。故该化合物为（－）-8-lavandulyl-5，7，2′，4′-tetrahydroxyflavonol 即苦参醇 C。其^{1}H-NMR 数据及^{13}C-NMR 数据见表 5-26。



kushenol C

表 5-26 Kushenol C 的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据[a]

No.	δC	δH	No.	δC	δH
2	149.3		1′	114.2	
3	142.2		2′	159.0[b]	
4	179.6		3′	106.3	6.30（1H，d，*J* = 2.0Hz）
5	156.0[b]		4′	161.2[b]	
6	98.5	6.26（1H，s）	5′	108.3	6.42（1H，dd，*J* = 8.0，2.0Hz）
7	162.3[b]		6′	129.4	7.70（1H，d，*J* = 8.0Hz）
8	106.3		C_5-OH		12.57（1H，s）
9	161.7[b]				
10	103.9				

a Spectra run at 22.5 MHz in acetone-d_6，the data of lavandulyl were left out.
b Assignments may be interchanged.

参考文献

[1] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京：科学出版社，1981

[2] Harborne J B. The flavonoids, advances in research. London: Chapman and Hall, 1982

[3] Harborne J B. The flavonoids, advances in research. London: Chapman and Hall, 1988

[4] Gabor M. Flavonoids and bioflavinoids(ed. by Farkas L. et al). Elsevier, 1981. 363

[5] 朱大元. 中草药, 1982(13):43

[6] Beretz A. et al. Flavonoids and bioflavonoids(ed. by Farkas L. et al). Elsevier, 1981. 421

[7] Baumann J. et al. Flavonoids and bioflavonoids(ed. by Farkas L. et al). Elsevier, 1981. 411

[8] 柴田承二. 藥用天然生物活性物质. 1982

[9] Beladi I. et al. Flavonoids and bioflavonoids(ed. By Farkas, L. et al). Elsevier, 1981. 443

[10] 贺师鹏等. 北京医学院学报, 1982(14):253

[11] 柴田承二. 藥用天然生物活性物质. 1982. 317

[12] Briggs L H. J Chem Soc, 1949: 2157

[13] Horowitz B M. J Org Chem, 1957(22):1733

[14] 李景荣. 胡枝子属药用植物的化学研究. 中国药科大学博士学位论文. 1990

[15] Katyal M. Talanta, 1968(15):95

[16] Geissman T A. Modern methods of plant analysis(ed. by Peach K. et al). 1955(1):473

[17] Markham K R. The flavonoids(ed. by Harborne J B. et al). London: Charpmann and Hall, 1975. 2

[18] Markham K R. et al. Phytochemistry, 1968(7):791

[19] 松原文治, 他. 第 26 回天然有机化合物讨论会讲演要旨集(京都), 1983: 142

[20] Mabry, T J. et al. Systematic identification of flavonoids. Berlin: Springer-Verlag, 1970

[21] Stahl E. Thin-Layer chromatography(2nd ed). Berlin, New York: Springer-Verlas, 1969

[22] Mabry T J. et al. The systematic identification of flavonoids. Berlin: Sppringer-Verlag, 1970. 55

[23] Markham K R. et al. The flavonoids(ed. by Harborne J B. et al). 1975

[24] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京：科学出版社, 1981. 394

[25] Markham K R. et al. The flavonoids(ed. by Harborne J B. et al). London: Chapman and Hall, 1975. 62

[26] Chari V M. et al. Flavonoids and bioflavonoids, current research trends(ed. by Farkas L. et al). Amsterdam: Budapest and Elsevier, 1977. 49

[27] Chari V M. Flavonoids and bioflavonoids(ed. by Farkas L. et al). Elsevier, 1981. 279

[28] Petter A. et al. J C S Perkin 1, 1976: 2475

[29] Joseph-Natham P. et al. J Magnetic Resonance, 1974(16):447

[30] Breitmaier E. et al. ^{13}C NMR spectroscopy(2nd ed.). New York: Verlag Chemie, Weibelm, 1978. 213

[31] Chari V M. et al. Flavonoids current research trends(ed. By Farkas L. et al). Budapest and Elsevier, 1977. 49

[32] Chari V M. Flvanoids and bioflavonoids(ed. by Farkas L. et al). Elsevier, 1981. 2

[33] Markham K R. et al. Tetrahedron, 1973(34):1389

[34] Goren P A. et al. Can J Chem, 1975(53):1212

[35] Ritchie R G S. et al. Can J Chem, 1975(53):1424

[36] Yamoak N. et al. Tetrahedron Letters, 1971(23):2047

[37] Markham K R. et al. Tetrahedron, 1976(32):2607, 1978(34): 1389

[38] Schels H. et al. Phytochemistry, 1977(16):1019

[39] Ferreres F. et al. Studies in natural products chemistry(vol. 5 ed. by Atta-ur-Rahman). Elsever,1989.621
[40] Mabry T J. et al. The flavonoids(ed. by Harborne J B. et al). London: Chapmann and Hall,1975.78
[41] Biswas K M. et al. J Indian Chem Soc,1978: 1240
[42] 中崎昌雄. 立体化学Ⅰ-对称を中心に. 东京: 东京化学同人,1975.79
[43] Gaffield W. Circular Dichroism, optical rotatory dispersion and absolute configuration of flavanones, 3-hydroxyflavanones and their glycosides, determination of aglycone chirality in flavanone glycosides. Tetrahedron,1970(26): 4093
[44] Wu L J. et al. Chem Pharm Bull,1985(33):323
[45] 裴月湖,吴立军等. 仙鹤草根芽中新二氢黄酮醇苷的结构研究. 药学学报,1990(25):267

(吴立军)

第六章 萜类和挥发油

第一节 概 述

一、萜的含义和分类

萜类化合物(terpenoids)是一类骨架庞杂、种类繁多、数量巨大、结构千变万化、又具有广泛生物活性的一类重要的天然药物化学成分。从化学结构来看,它是异戊二烯的聚合体及其衍生物,其骨架一般以五个碳为基本单位,少数也有例外。但是,大量的实验研究证明,甲戊二羟酸(mevalonic acid,MVA)才是萜类化合物生物合成途径中关键的前体物,而不是异戊二烯。因此,凡由甲戊二羟酸衍生、且分子式符合$(C_5H_8)n$通式的衍生物均称为萜类化合物。

萜类化合物常常根据分子结构中异戊二烯单位的数目进行分类,如单萜、倍半萜、二萜等(见表6-1)。同时再根据各萜类分子结构中碳环的有无和数目的多少,进一步分为链萜、单环萜、双环萜、三环萜、四环萜等,例如链状二萜、单环二萜、双环二萜、三环二萜、四环二萜。萜类多数是含氧衍生物,所以萜类化合物又可分为醇、醛、酮、羧酸、酯及苷等萜类。

表6-1 萜类化合物的分类及分布

分类	碳原子数	通式$(C_5H_8)n$	存 在
半萜	5	n=1	植物叶
单萜	10	n=2	挥发油
倍半萜	15	n=3	挥发油
二萜	20	n=4	树脂、苦味质、植物醇
二倍半萜	25	n=5	海绵、植物病菌、昆虫代谢物
三萜	30	n=6	皂苷、树脂、植物、乳汁
四萜	40	n=8	植物胡萝卜素
多聚萜	$\sim 7.5\times10^3$ 至 $\sim 3\times10^5$	$(C_5H_8)n$	橡胶、硬橡胶

萜类化合物在自然界分布广泛,种类繁多,除主要分布于植物外,近来从海洋生物中发现了大

量的萜类化合物。据不完全统计，萜类化合物超过了 22000 种[1-3]。在天然药物化学成分的研究中，萜类成分的研究一直是较为活跃的领域，亦是寻找和发现天然药物生物活性成分的重要来源。

本章内容主要介绍单萜、倍半萜、二萜、二倍半萜等萜类以及挥发油类化合物。三萜在自然界分布亦很广泛，一些常用的植物药，如人参、甘草、柴胡、桔梗、远志等都含有三萜及其皂苷。由于三萜或三萜皂苷类化合物多含有一些特殊的生物活性，性质又独特，已另立专章叙述。四萜类化合物主要为胡萝卜烃（carotenoids）色素，多聚萜类化合物主要为橡胶（caoutchouc）及硬橡胶，四萜及多聚萜类化合物在有机化学中已简要介绍，本章不再赘述。

二、萜类的生源学说

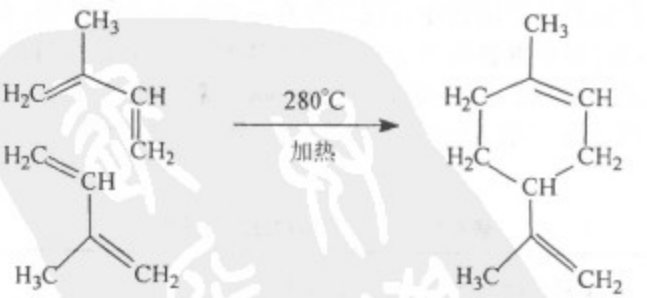
从萜类化合物的结构剖析，不难看出它们是由个数不等的 C_5 骨架片断构成的，表明萜类化合物有着共同的来源途径。萜类化合物的生源历来有如下两种观点，即经验的异戊二烯法则（empirical isoprene rule）和生源的异戊二烯法则（biogenetic isoprene rule）。

（一）经验的异戊二烯法则

早期在萜类化学的研究过程中，曾一度认为异戊二烯是萜类化合物在植物体内形成的生源物质，其理由如下：

1. 将橡胶进行焦化反应，或将松节油的蒸汽经氮气稀释后，在低压下通过红热的铂丝网时，均能获得产率很高的异戊二烯。

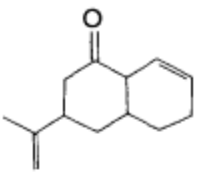
2. 1875 年 Boochardat 曾将异戊二烯加热至 280℃，发现每两分子异戊二烯由 Diels-Alder 反应聚合而成二戊烯。二戊烯是柠檬烯的外消旋体，是一个典型的萜类化合物，存在于多种植物的挥发油中。



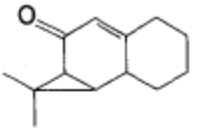
异戊二烯（isoprene）　　二戊烯（dipentene）

基于以上事实，Wallach 于 1887 年提出“异戊二烯法则”，认为自然界存在的萜类化合物都是由异戊二烯衍变而来，是异戊二烯的聚合体或衍生物，并以是否符合异戊二烯法则作为判断是否为萜类化合物的一个重要原则。

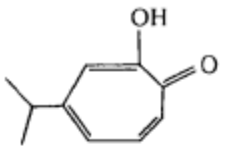
但是，后来研究发现有许多萜类化合物的碳架结构无法用异戊二烯的基本单元来划分，如艾里木酚酮（eremophilone）、土青木香酮（aristolone）和扁柏酚（hinokitol）等，而且当时在植物的代谢过程中也很难找到异戊二烯的存在。所以 Ruzicka 称上述法则为“经验的异戊二烯法则”，并提出所有萜类化合物的前体物是“活性的异戊二烯”的假设。



艾里木酚酮



土青木香酮



扁柏酚

（二）生源的异戊二烯法则

Ruzicka 提出的假设首先由 Lynen 证明焦磷酸异戊烯酯（isopentenyl pyrophosphate，IPP）的存在而得到验证，其后 Folkers 于 1956 年又证明 3（*R*）-甲戊二羟酸（3*R*-mevalonic acid，MVA）是 IPP 的关键性前体物质。由此证实了萜类化合物是经甲戊二羟酸途径衍生的一类化合物，这就是“生源的异戊二烯法则”。

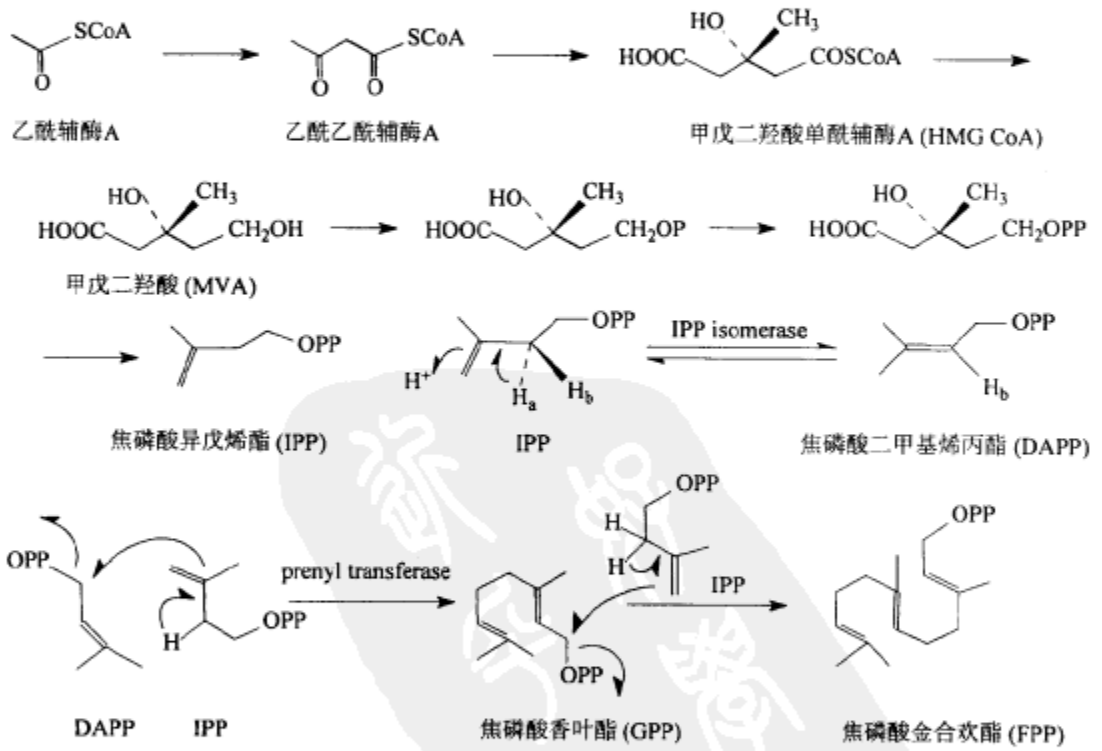


图 6-1 异戊烯链的生物合成途径

在萜类化合物的生物合成中，首先合成活性异戊烯前体物，即由乙酰辅酶 A（acetyl-CoA）与乙酰乙酰辅酶 A（acetoacetyl-CoA）生成甲戊二羟酸单酰辅酶 A（3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA，HMG-CoA），后者还原生成甲戊二羟酸（MVA）。MVA 经数步反应转化成焦磷酸异戊烯酯（Δ^3-isopentenyl pyrophosphate，IPP），IPP 经硫氢酶（sulphyhydryl enzyme）及焦磷酸异戊酯异构酶（IPP isomerase）转化为焦磷酸 γ，γ－二甲基烯丙酯（γ，γ-dimethylallyl pyrophosphate，DAPP）。IPP 和

DAPP 两者均可转化为半萜，并在酶的作用下，头-尾相接缩合为焦磷酸香叶酯（geranyl pyrophosphate，GPP），衍生为单萜类化合物，或继续与 IPP 分子缩合衍生为其它萜类物质[4]，其生物合成途径如图 6-1、图 6-2 所示。因此，IPP 和 DAPP 目前被认为是萜类成分在生物体内形成的真正前体，是生物体内的“活性的异戊二烯”物质，在生物合成中起着烷基化的作用。

图 6-2　萜类化合物的生物合成途径

天然的异戊二烯属半萜类（hemiterpenoids），可在植物的叶绿体中形成，虽广泛存在，但其量极微，其生源途径尚不清楚。自然界常有一些半萜结合在非萜类化合物结构的母核上，形成异戊烯基或异戊基支链，而成为一种混杂的萜类化合物，多见于黄酮和苯丙素类化合物中。

第二节　萜类的结构类型及重要代表物

一、单　萜

（一）概述

单萜类（monoterpenoids）是由 2 个异戊二烯单位构成，含 10 个碳原子的化合物类群，广泛分布于高等植物的腺体、油室和树脂道等分泌组织中，是植物挥发油的主要组成成分，在昆虫激素及海洋生物中也有存在。它们的含氧衍生物多具有较强的生物活性和香气，是医药、化妆品和食品工业的重要原料。有些单萜在植物体内以苷的形式存在，则不具有挥发性，不能随水蒸气蒸馏出来。

近年来单萜类化合物研究进展很快[3,5]，化合物颇多，已知基本骨架如图 6-3 所示。由上述基本骨架可见，单萜类化合物可分为链状型和单环、双环、三环等环状型两大类，其中以单环和双环型两种结构类型所包含的单萜化合物最多。构成的碳环多为六元环，也有五元环、四元环、三元环和七元环。

（二）链状单萜

链状单萜中比较重要的化合物是一些含氧衍生物，如萜醇、萜醛类。

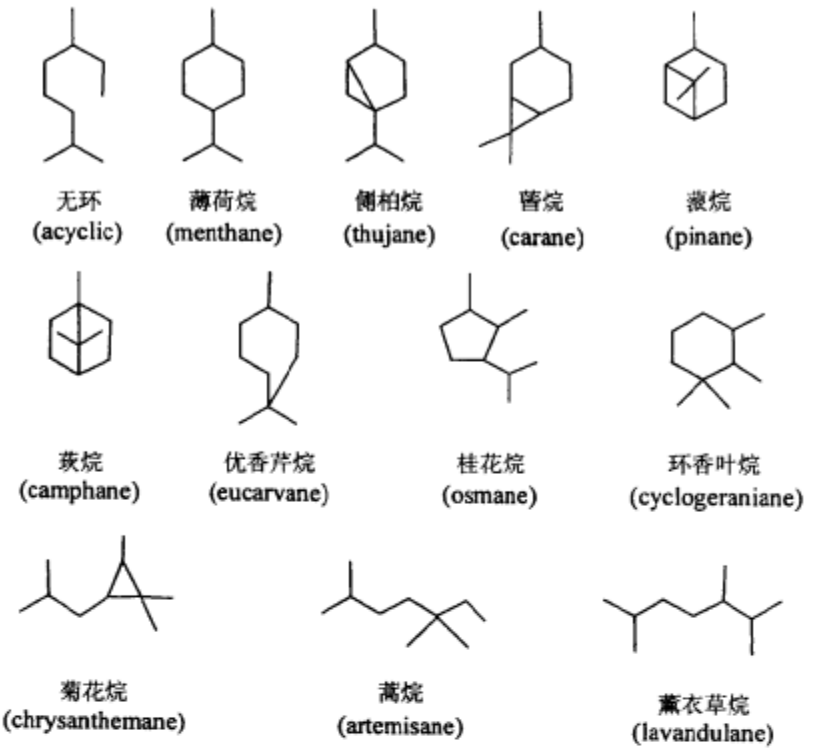
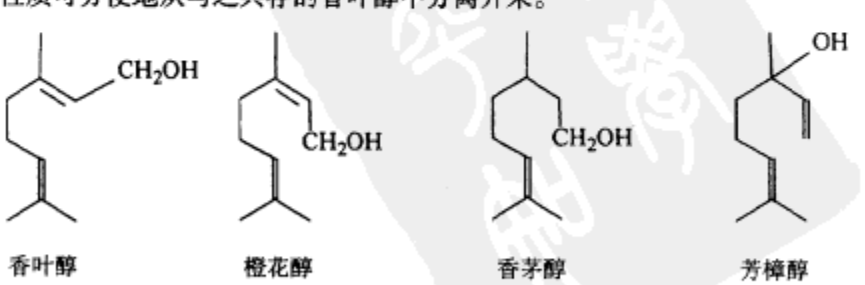


图 6-3 单萜的基本骨架

香叶醇(geraniol)又称"牻牛儿醇",与橙花醇互为顺反异构体,常共存于同一挥发油中。香叶醇是香叶油、玫瑰油、柠檬草油和香茅油等的主要成分,具有似玫瑰的香气,沸点 229 ~ 230℃。香叶醇可与无水 $CaCl_2$ 形成结晶性的分子复合物,利用此性质可方便地把它从挥发油中分离出来,所得结晶复合物加水分解后,再经真空蒸馏即可提纯。

橙花醇(nerol)存在于橙花油、柠檬草油和其它多种植物的挥发油中,具有玫瑰香气,沸点 255 ~ 260℃。橙花醇不能与无水 $CaCl_2$ 形成结晶性的分子复合物,但能与二苯胺基甲酰氯 $[(C_6H_6)_2NCOCl]$ 形成结晶性二苯胺基甲酸酯,此酯化合物加碱皂化后,再行真空蒸馏即可提纯,利用此性质可方便地从与之共存的香叶醇中分离开来。



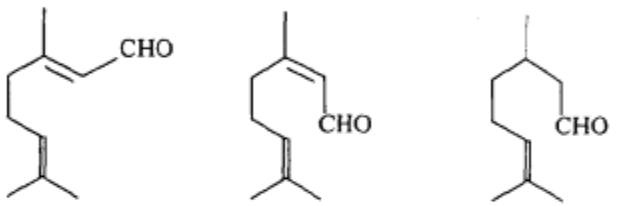
香茅醇(citronellol)存在于香茅油、玫瑰油等多种植物的挥发油中,亦可从香叶醇或橙花醇部分氢化还原后的产物中得到。香茅醇具有光学活性,其右旋体沸点 224 ~ 226℃,左旋体沸点 108 ~ 109℃,其中以左旋体的经济价值较高。

上述三种萜醇都是玫瑰香系香料，是很重要的香料工业原料。

芳樟醇(linalool)是香叶醇、橙花醇的同分异构体，左旋体在香柠檬油中含有，右旋体则存在于桔油及香馨花 *Jasminum grandiflorum* 的挥发油中。芳樟醇也在香料工业中用途极广。

柠檬醛(citral)具有顺反异构体，反式为 α- 柠檬醛，又称香叶醛(geranial)，顺式为 β-柠檬醛，又称橙花醛(neral)，通常是混合物，以反式柠檬醛为主。柠檬醛存在于多种植物的挥发油中，以柠檬草油和香茅油的含量较高，在香茅油中可达 70% ~85%。从挥发油中分离柠檬醛是采用加入亚硫酸氢钠使形成结晶性的加成物，经分离后用稀酸或碱液分解，再用真空蒸馏进行提纯。混合柠檬醛的沸点为 118℃，由 90% α-柠檬醛和 10% β-柠檬醛组成，沸点分别为 92 ~93℃和 91 ~92℃。

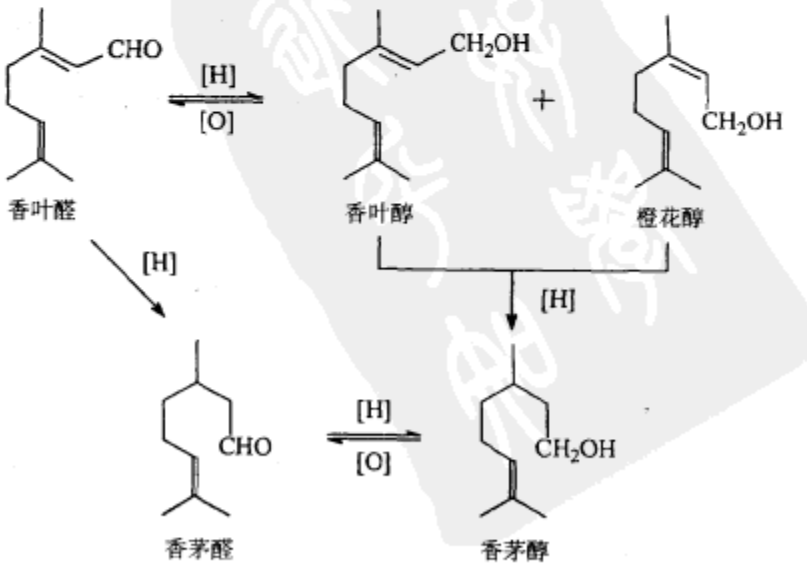
柠檬醛具有柠檬香气，作为柠檬香味原料应用于香料和食品工业。含大量柠檬醛的挥发油，如香茅油具有止腹痛和驱蚊作用，故在医药中有广泛用途。



香叶醛　　橙花醛　　香茅醛

香茅醛(citronellal)是香茅醇的氧化产物，大量存在于香茅油中，也存在于桉叶油、柠檬油等挥发油中。它同样可用形成亚硫酸氢钠加成物，经分离后再用蒸馏法加以提纯，其沸点 205 ~206℃。香茅醛也是重要的柠檬香气香料。

以上几种重要的链状单萜含氧衍生物可相互转化，其相互转化的关系可通过下面的简单反应式联系起来。所以这几种链状单萜的含氧衍生物常常交互共存于同一挥发油中。



（三）环状单萜

环状单萜是由焦磷酸香叶酯（GPP）的双键异构化生成焦磷酸橙花酯（neryl pyrophosphate，NPP），NPP 再经双键转位脱去焦磷酸基，生成具薄荷烷（menthane）骨架的阳碳离子后，进一步而成薄荷烷衍生物。而且薄荷烷阳碳离子进一步环化，衍生出蒎烷（pinane）、蒈烷（carane）、侧柏烷（thujane）等双环化合物骨架。蒎烷型离子再经 wagner-meerwein 转位重排，又衍生出菠烷（bornane）、葑烷（fenchane）、莰烷（camphane）等骨架[4]，如图 6-4 所示。

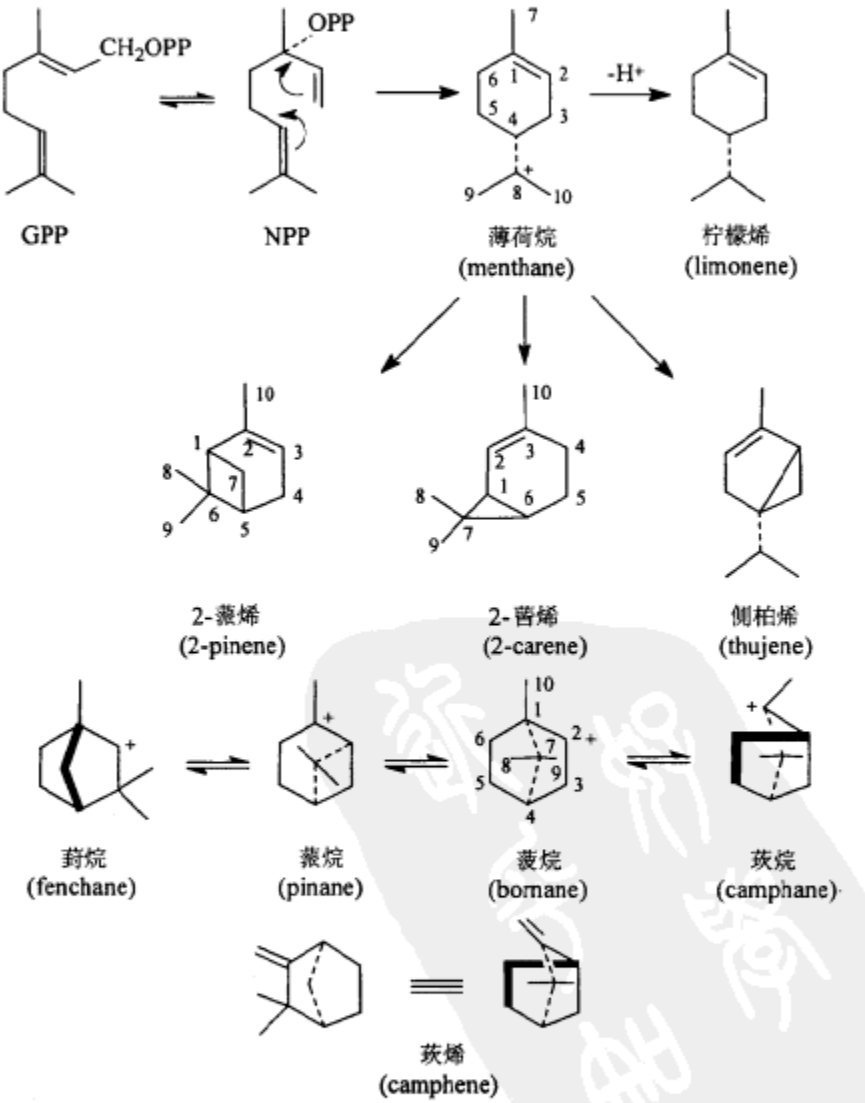
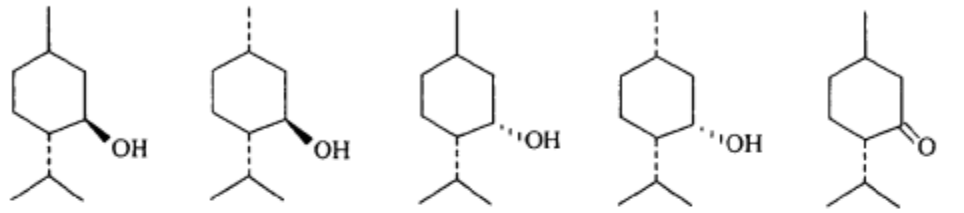


图 6-4 环状单萜的闭环和骨架转位示意图

薄荷醇（menthol）是薄荷 *Mentha arvensis var. piperasceus* 和欧薄荷 *Mentha piperita* 等挥发油中的主要组成成分。其左旋体（l-menthol）习称“薄荷脑”，为白色块状或针状结晶，熔点 42～43℃，

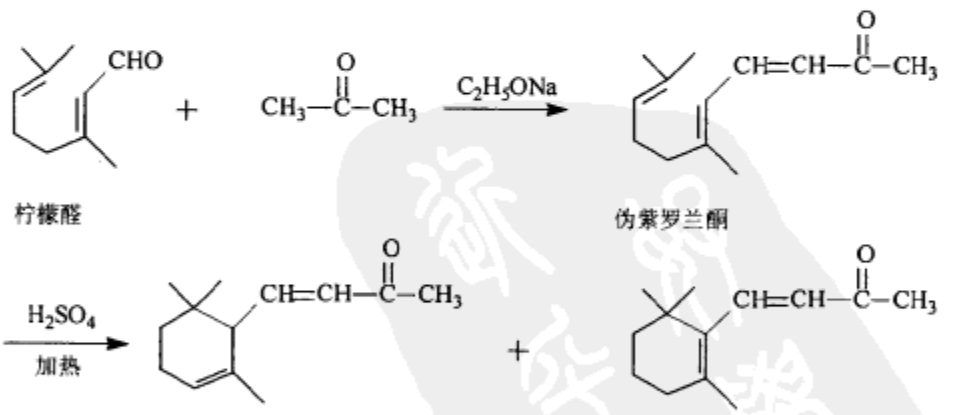
沸点 212℃。对皮肤和粘膜有清凉和弱的麻醉作用，用于镇痛和止痒，亦有防腐和杀菌作用，日本还用它作为牙膏和食品的香料。

薄荷醇有 3 个手性碳原子，应有 8 个立体异构体，即 l-薄荷醇（l-menthol）、异薄荷醇（isomenthol）、d-新薄荷醇（d-neomenthol）及新异薄荷醇（neoisomenthol），但在薄荷油中只存在 l-薄荷醇（l-menthol）及 d-新薄荷醇（d-neomenthol）。薄荷醇可氧化生成薄荷酮，在薄荷油中含左旋薄荷酮（menthone）约 10% ~25% 。



l-薄荷醇　异薄荷醇　d-新薄荷醇　新异薄荷醇　薄荷酮

紫罗兰酮（ionone）存在于千屈菜科指甲花挥发油中，工业上由柠檬醛与丙酮缩合制备，缩合产物环合后得到 α-紫罗兰酮（α-ionone）及 β-紫罗兰酮（β-ionone）的混合物。两者的分离是将其亚硫酸氢钠的加成物溶于水中，加入食盐使成饱和状态，则 α-紫罗兰酮首先以小叶状结晶析出，从而与 β-紫罗兰酮分离。α-紫罗兰酮具有馥郁的香气，用于配制高级香料，β-紫罗兰酮可作为合成维生素 A 的原料。



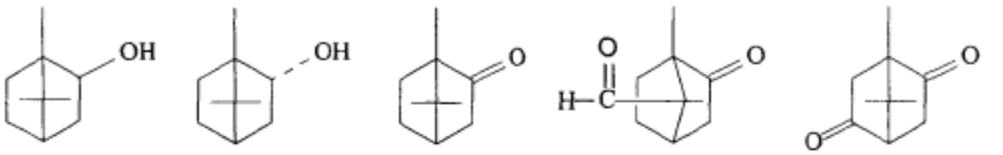
柠檬醛　伪紫罗兰酮　α-紫罗兰酮　β-紫罗兰酮

龙脑（borneol）俗称“冰片”，又称樟醇，为白色片状结晶，具有似胡椒又似薄荷的香气，有升华性，熔点 204 ~208℃。其右旋体主要得自白龙脑香树 *Dryobalanops aromatica Gaertn.* 的挥发油，左旋体存在于艾纳香 *Blumea balsmi fera* DG. 全草中，合成品为消旋体。

冰片不但有发汗、兴奋、解痉挛和防止虫蛀等作用，还具有显著的抗缺氧功能，它和苏合香脂配合制成苏冰滴丸代替冠心苏合丸治疗冠心病、心绞痛。此外冰片也是香料工业的原料。

樟脑（camphor）习称辣薄荷酮，为白色结晶性固体，熔点 179.8℃，易升华，具有特殊钻透性

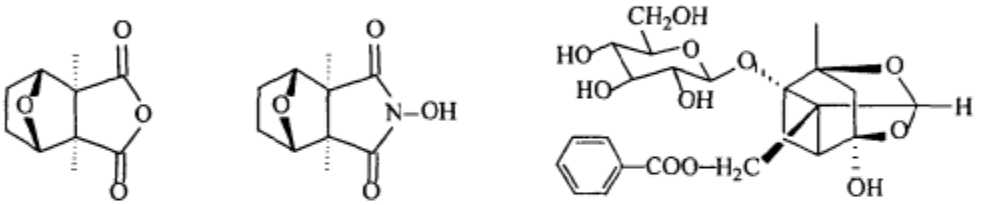
的芳香气体。天然樟脑由右旋体与左旋体共存，其右旋体在樟树 *Cinnamonus camphora* 挥发油中约 50%，左旋体存在于菊蒿 *Tanacetum vulgare* 的挥发油中，合成品为消旋体。



l-龙脑　　d-龙脑　　樟脑　　π-氧化樟脑　　对-氧化樟脑

樟脑有局部刺激作用和防腐作用，可用于神经痛、炎症和跌打损伤的擦剂，并可作为强心剂，其强心作用是由于其在体内氧化成 π-氧化樟脑（π-oxocamphor）和对氧化樟脑（p-oxocamphor）所致。

在环状单萜中，尚有单萜氧化物、过氧化物及其苷类，显示很好的生物活性。如：斑蝥素（antharidin），存在于斑蝥，芫青干燥虫体中，约含 2%，可作为皮肤发赤、发泡或生毛剂。用斑蝥素制备成的 N-羟基斑蝥胺（N-hydroxycantharidimide）试用于肝癌，有一定疗效[6]。



斑蝥素　　斑蝥素　　芍药苷

芍药苷（paeoniflorin）是从芍药 *Paeonia albiflora* 根中得到的蒎烷单萜苦味苷，对小鼠显示有镇静、镇痛及抗炎等药理作用。近年报导芍药苷具有防治老年性痴呆的生物活性。

（四）草酚酮类

草酚酮类（troponoides）化合物是一类变形的单萜，它们的碳架不符合异戊二烯定则，具有如下的特性：

1. 草酚酮具有芳香化合物性质，具有酚的通性，也显酸性，其酸性介于酚类和羧酸之间，即酚 < 草酚酮 < 羧酸。

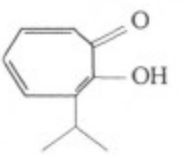
2. 分子中的酚羟基易于甲基化，但不易酰化。

3. 分子中的羰基类似于羧酸中羰基的性质，但不能和一般羰基试剂反应。红外光谱中显示其羰基（1650 ~ 1600cm^{-1}）和羟基（3200 ~ 3100cm^{-1}）的吸收峰，较一般化合物中羰基略有区别。

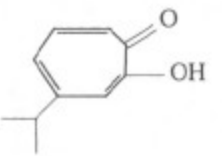
4. 能与多种金属离子形成络合物结晶体，并显示不同颜色，以资鉴别。如铜络合物为绿色结晶，铁络合物为赤红色结晶。

较简单的草酚酮类化合物是一些霉菌的代谢产物，在柏科的心材中也含有草酚酮类化合物。α-崖柏素（α-thujaplicin）和 γ-崖柏素（γ-thujaplicin）在欧洲产崖柏 *Thuja plicata*、北美崖柏 *Thuja occidentalis* 以及罗汉柏 *Thujosis dolabrata* 的心材中含有；β-崖柏素，也称扁柏素（kinokitol），存在于台湾扁柏 *Chamaecyparis taiwanensis* 及罗汉柏心材中。

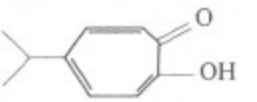
草酚酮类化合物多具有抗菌活性，但同时多有毒性。



α-崖柏素



扁柏素

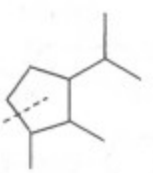


γ-崖柏素

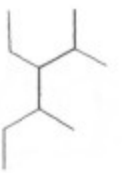
二、环烯醚萜

（一）概述

环烯醚萜（iridoids）为蚁臭二醛（iridoidial）的缩醛衍生物。从化学结构看，环烯醚萜又是含有环戊烷结构单元，其性质具有一定特点的环状单萜衍生物。该类化合物含有取代环戊烷环烯醚萜（iridoid）和环戊烷开裂的裂环环烯醚萜（secoiridoid）两种基本碳架。



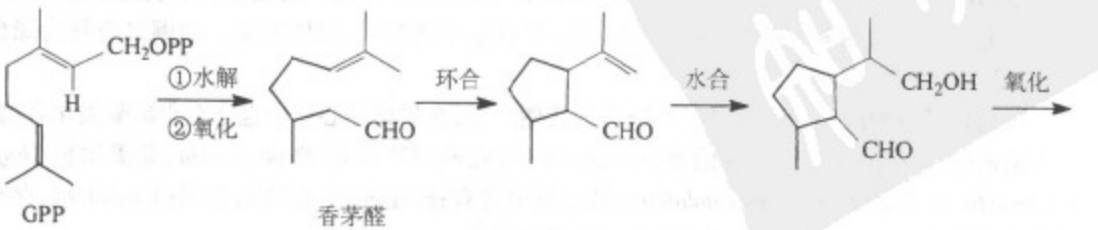
环烯醚萜骨架



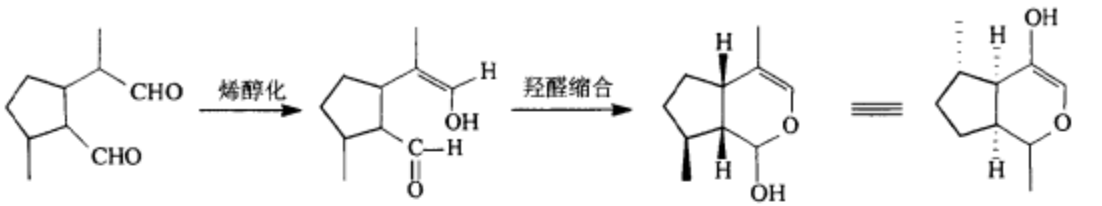
裂环环烯醚萜骨架

蚁臭二醛是从臭蚁 *Iridomyrmex detectus* 的防卫性分泌物中分离出来的物质，它是衍生环烯醚萜的关键性中间氧化物。按其生源，这类物质在植物体内是由活性焦磷酸香叶酯（GPP）衍生而成，但实际上其生物合成途径不同于单萜，它不是经由脱去 GPP 分子中焦磷酸基而直接产生闭环反应这一生源途径，而是 GPP 经水解脱去焦磷酸后，经氧化形成香茅醛，香茅醛在环合过程中发生双键转位，再水合成一个伯醇基，伯醇基进一步被氧化，衍生为蚁臭二醛。蚁臭二醛发生烯醇化后，再进行分子内的羟醛缩合，即产生环烯醚萜[7]，其生物合成途径如图 6-5 所示。

环烯醚萜 C_4 位甲基经生物氧化成羧基，再脱羧形成 4-去甲基环烯醚萜（4-demethyliridoid）。环烯醚萜中环戊烷部分的 C_7-C_8 处断裂，则形成裂环环烯醚萜（secoiridoid），后者 C_4 位甲基经氧化成羧基，闭环而衍生成裂环内酯环烯醚萜。

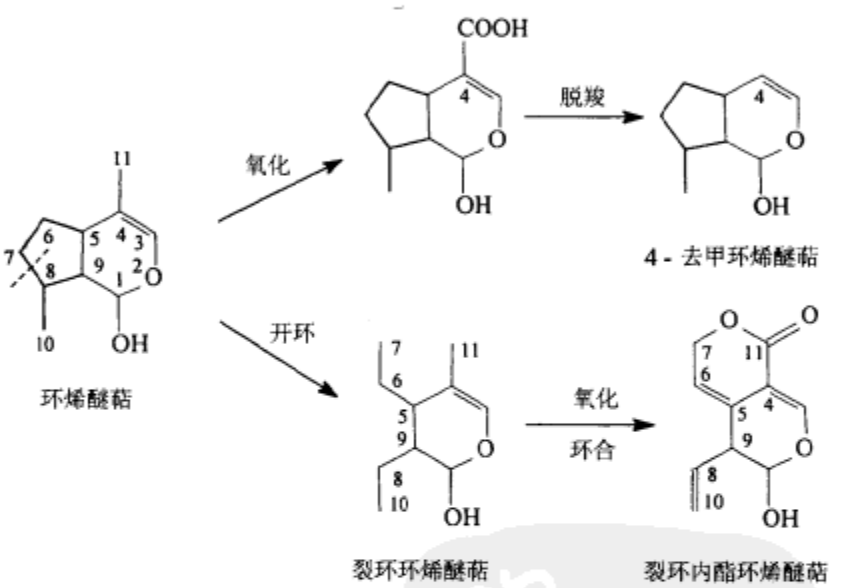


GPP　　香茅醛



蚁臭二醛　　环烯醚萜

图 6-5　环烯醚萜类化合物的生物合成途径



4 - 去甲环烯醚萜

环烯醚萜　　裂环环烯醚萜　　裂环内酯环烯醚萜

环烯醚萜及其苷类在植物界分布较广，以双子叶植物，尤其是唇形科、茜草科、龙胆科等植物中的分布相当广泛。据不完全统计，已从植物中分离并鉴定结构的环烯醚萜类化合物超过800种，其中大多数为苷类成分，非苷环烯醚萜仅占60余种，裂环环烯醚萜类30余种[8,9]。

（二）环烯醚萜的理化性质

1. 环烯醚萜苷和裂环环烯醚萜苷大多数为白色结晶体或粉末，多具有旋光性，味苦。

2. 环烯醚萜苷类易溶于水和甲醇，可溶于乙醇、丙酮和正丁醇，难溶于氯仿、乙醚和苯等亲脂性有机溶剂。

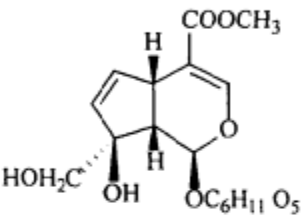
3. 环烯醚萜苷易被水解，生成的苷元为半缩醛结构，其化学性质活泼，容易进一步聚合，难以得到结晶苷元。苷元遇酸、碱、羰基化合物和氨基酸等都能变色。如车叶草苷(asperuloside)与稀酸混合加热，能被水解、聚合产生棕黑色树脂状聚合物沉淀；若用酶水解，则显深蓝色，也不易得到结晶形状的苷元。游离的苷元遇氨基酸并加热，即产生深红色至蓝色，最后生成蓝色沉淀。因此，与皮肤接触，也能使皮肤染成蓝色。苷元溶于冰醋酸溶液中，加少量铜离子，加热，也能显

蓝色。

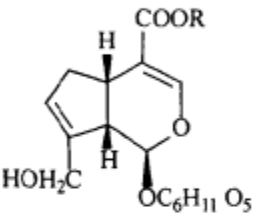
（三）结构分类及重要代表物

1. 环烯醚萜苷类　环烯醚萜类成分多以苷的形式存在，以 10 个碳的环烯醚萜苷占多数，其结构上 C_1 羟基多与葡萄糖形成苷，且大多为单糖苷；C_{11} 有的氧化成羧酸，并可形成酯。

栀子苷（gardenoside）、京尼平苷（geniposide）和京尼平苷酸（geniposidic acid）是清热泻火中药山栀子的主成分。其中京尼平苷显示有显著的泻下作用和利胆作用，并且京尼平苷和京尼平苷酸对应力负荷小鼠的性行为，学习行为低下示有预防效果；而京尼平苷苷元（ginipin 京尼平）具有显著的促进胆汁分泌作用和泻下作用。

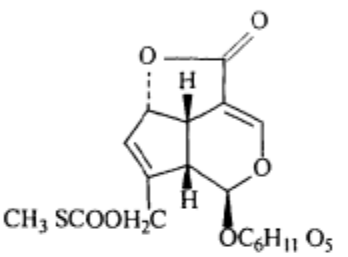


栀子苷



京尼平苷　R= CH_3

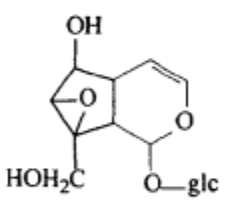
京尼平苷酸　R= H



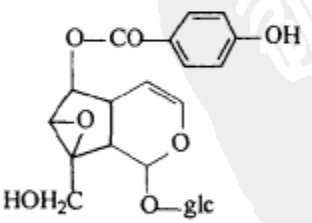
鸡屎藤苷

鸡屎藤苷（paederoside）是鸡屎藤的主成分，其 C_4 位羧基与 C_6 位羟基形成 γ-内酯，而 C_{10} 位的甲硫酸酯在鸡屎藤组织损伤时，由于酶解的作用而产生甲硫醇，故鸡屎藤叶具有鸡屎的恶嗅而得名。

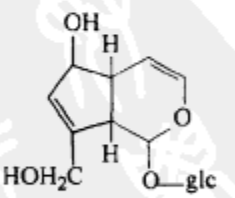
2. 4-去甲环烯醚萜苷类　4-去甲环烯醚萜苷是环烯醚萜的降解苷，由 9 个碳构成，环上取代情况与环烯醚萜类似。



梓醇



梓式



桃叶珊瑚甙

梓醇（catalpol）又称梓醇苷，是地黄中降血糖作用的主要有效成分，并有很好的利尿作用，这些与地黄的药效相一致。

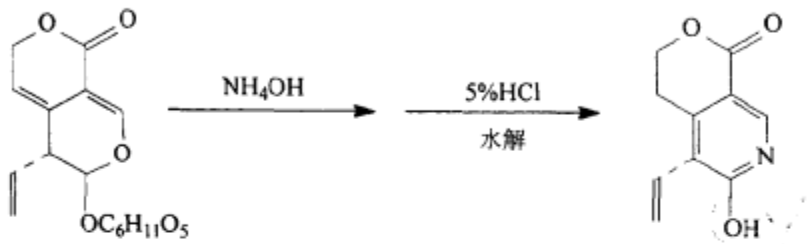
梓苷（catalposide）存在于梓实中，经实验表明，梓苷的药理作用与梓醇相似。

桃叶珊瑚苷（aucubin）是车前草清湿热、利小便的有效成分，药理实验证明桃叶珊瑚苷的苷元及其多聚体有抗菌作用，是一种抗菌素。

3. 裂环环烯醚萜苷　裂环环烯醚萜苷是由环烯醚萜苷苷元部分在 C_7、C_8 处开环衍生而来

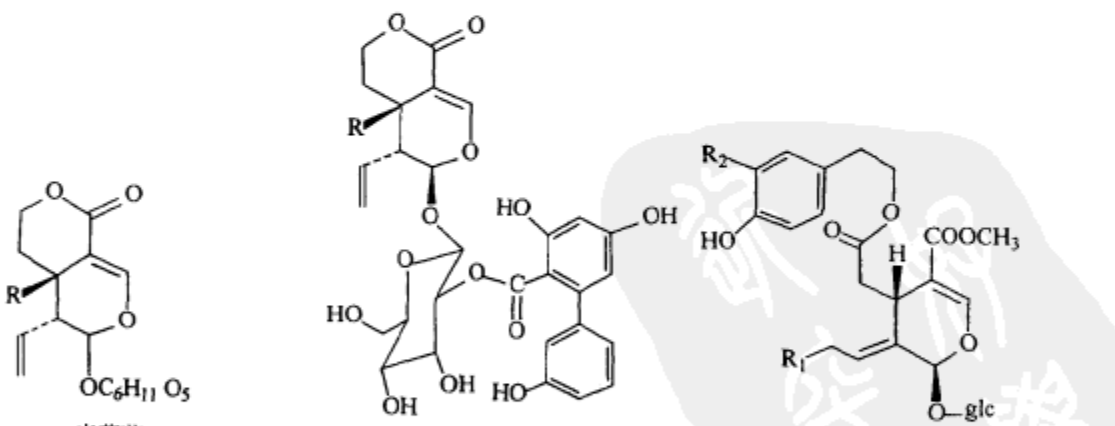
的苦味苷。这类化合物在龙胆科、茜草科、木樨科等植物中分布广泛，尤其在龙胆科的龙胆属和獐牙菜属植物中存在的更为普遍。

龙胆苦苷（gentiopicroside，gentiopicrin）是龙胆科植物龙胆 *Gentiana scabra* Bunge.、当药 *Swertia Pseudochinesis* Hara.、獐牙菜 *Swertia bimaculata*（*sieb. et zucc*）Hook. f. *et* Thoms. 等植物中的苦味成分。有人认为龙胆、当药等在提取过程中加氨水碱化，龙胆苦苷与氨水反应生成龙胆碱（gentianine），但据报导龙胆和当药中的龙胆苦苷与龙胆碱共存[10,11]，而且当用氨水处理龙胆苦苷时，先得到一种无定形的葡萄糖苷，继用5%盐酸水解，才生成龙胆碱[12]。



龙胆苦甙　　龙胆碱

当药苷（獐牙菜苷，sweroside）、当药苦苷（獐牙菜苦苷，swertamarin）均为当药和獐牙菜中的苦味成分。当药苦酯苷（龙胆苦酯，amarogentin）、羟基当药苦酯苷（amarowerin）在当药中含量较少，但其苦味比当药苦苷强100倍以上。

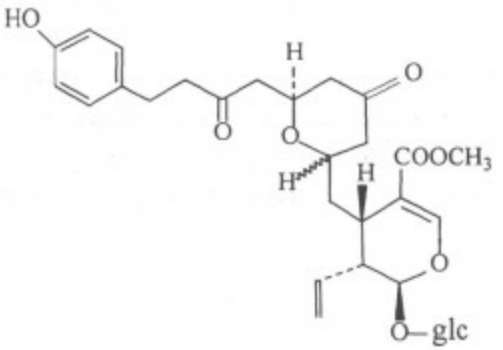


当药苷　R = H
当药苦苷　R = OH

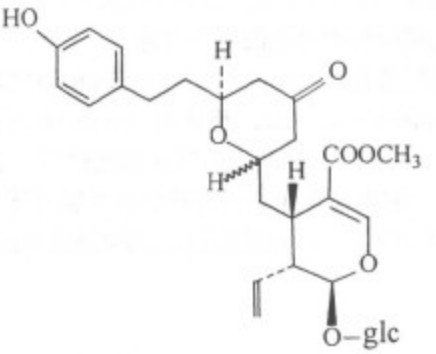
当药苦酯苷　R = H
羟基当药苦酯苷　R = OH

橄榄苦苷　R_1 = H　R_2 = OH
10-羟基女贞苷　R_1 = OH　R_2 = H

绣球内酯苦苷 A、B、C、D（hydrangenosides A、B、C、D）是绣球花 *Hydrangea macrophylla* 中的苦味成分，是由裂环番木鳖苷（secologanin）与1个 C_6-C_3 单位和2～3个醋酸单位组成的聚乙醛长链脱羧缩合而成的特殊裂环环烯醚萜苷。而橄榄苦苷（oleuroprin）和10-羟基女贞苷（10-hydroxyligustroside）只存在木樨科植物中，具有 $\Delta^{8,9}$ 双键，C_7 被氧化成羧基后而结合成酯，其特征在裂环环烯醚萜中少见。



绣球内酯苷A　7β-H
绣球内酯苷B　7α-H



绣球内酯苷C　7β-H
绣球内酯苷D　7α-H

三、倍半萜

（一）概述

倍半萜类（sesquiterpenoids）是由3个异戊二烯单位构成，含15个碳原子的化合物类群。骨架复杂多变的倍半萜类，生源上都是由前体物焦磷酸金合欢（farnesyl pyrosphate，FPP）衍生而成，绝大部分基本骨架都经由下述反应步骤：

1. *trans*，*trans*-FPP或它的异构体*trans*，*cis*-FPP中的焦磷酸基与分子中的相关双键结合而脱去，形成正碳离子。

2. 形成的正碳离子进一步进攻分子内的其它双键，形成新的环，并伴随着邻位氢原子的移动，发生wagner-meerwein重排，在闭环过程中，产生具有最终生成物骨架的正碳离子。

3. 这种正碳离子由于脱氢化或者水分子的进攻，最后形成各种烯烃。

由上述步骤形成的母核，再经进一步的修饰、重排，构成各种不同的倍半萜化合物，其主要的基本骨架名称和生物合成途径如图6-6a，图6-6b所示[4]。

倍半萜主要分布在植物界和微生物界，多以挥发油的形式存在，是挥发油高沸程部分的主要组成成分，在植物中多以醇、酮、内酯或苷的形式存在，亦有以生物碱形式存在。近年来，在海洋生物中的海藻和腔肠、海绵、软体动物中发现的倍半萜越来越多，且在昆虫器管和分泌物中也有发现。倍半萜的含氧衍生物多具有较强的香气和生物活性，是医药、食品、化妆品工业的重要原料。

倍半萜的研究，发展较快，无论是化合物的数目，还是结构骨架的类型都是萜类化合物中最多的一类。迄今结构骨架超过200种，化合物有数千种之多[2,3]，近年来在海洋生物中就发现有300种之多[13]。

倍半萜类化合物按其结构碳环数分为无环、单环、双环、三环、四环型倍半萜；按构成环的碳原子数分为五元环、六元环、七元环，直至十二元环等；也有按含氧功能团分为倍半萜醇、醛、酮、内酯等。

（二）无环倍半萜

金合欢烯（farnesene）、金合欢醇（farnesol）和橙花倍半萜醇（nerolidol）等都是链状倍半萜类衍生物。

金合欢烯又称麝子油烯，存在于枇杷叶、生姜、及洋甘菊的挥发油中。金合欢烯有α、β两种构型，其中β体存在于藿香、啤酒花和生姜挥发油中。

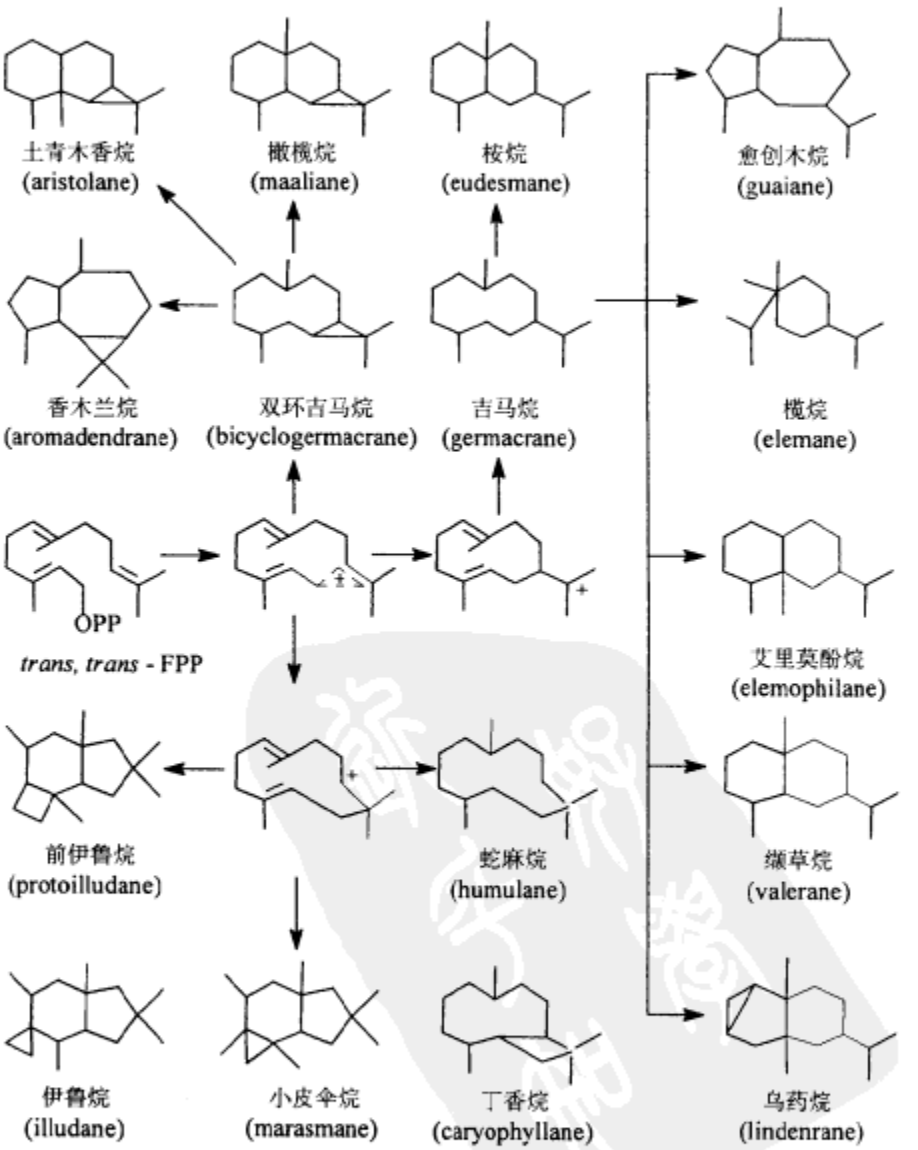


图 6-6a 倍半萜的生物合成途径与基本骨架名称（一）

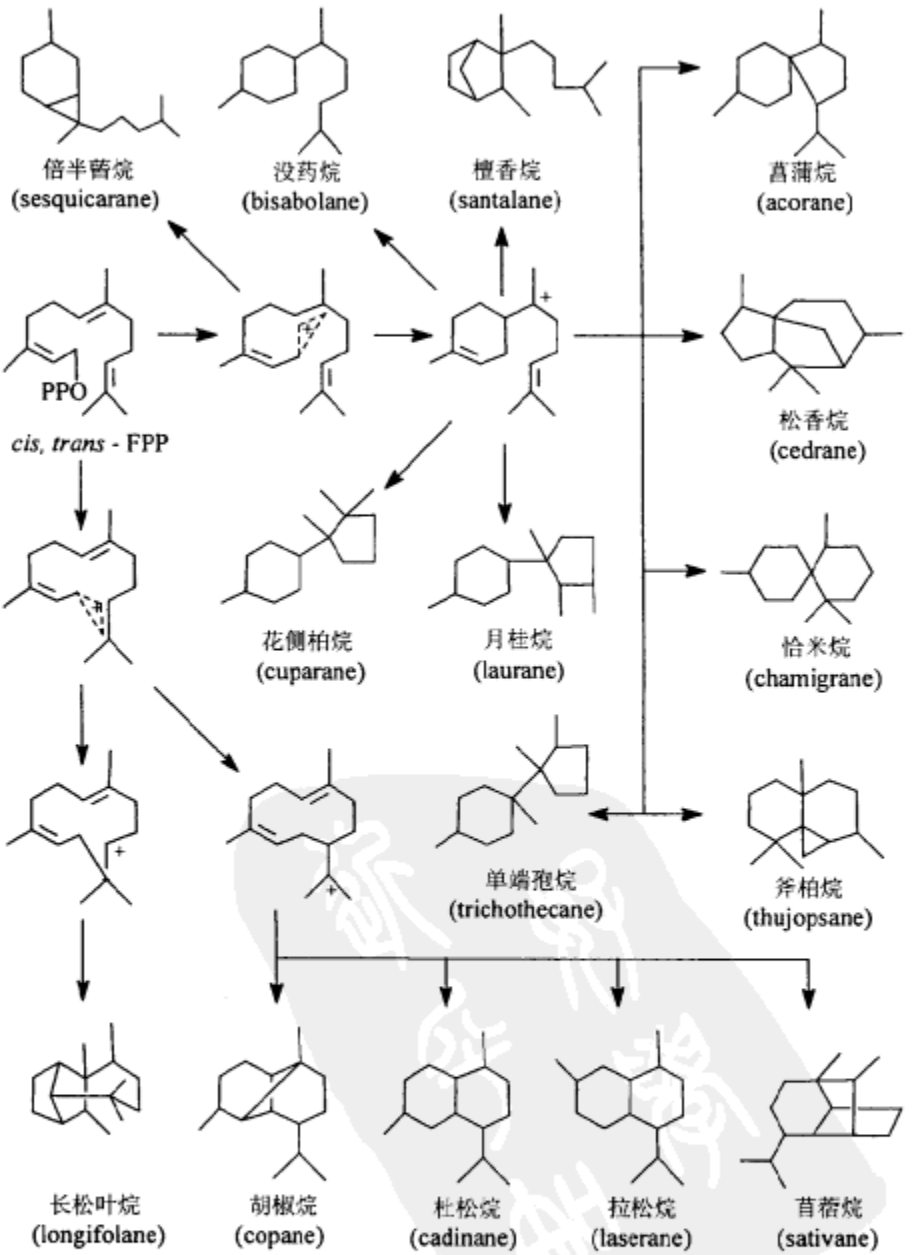
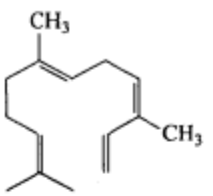
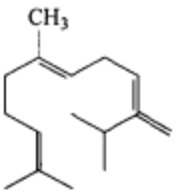


图 6-6b 倍半萜的生物合成途径与基本骨架名称(二)

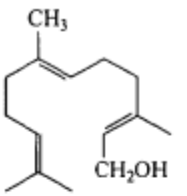
金合欢醇在金合欢 *Acacia farnesian* 花油、橙花油、香茅中含量较多,为重要的高级香料原料。橙花醇又称苦橙油醇,具有苹果香,是橙花油中的主要成分之一。



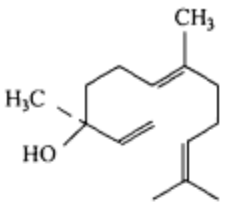
α-金合欢烯



β-金合欢烯



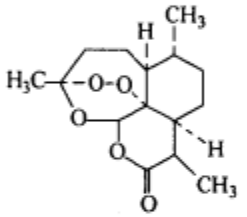
金合欢醇



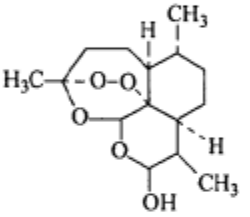
橙花醇

（三）环状倍半萜

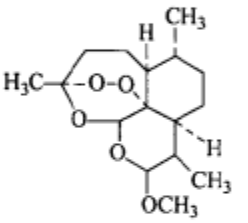
青蒿素（qinghaosu，arteannuin，artemisinin）是过氧化物倍半萜，系从中药青蒿（也称黄花蒿）*Artemisia annua* L. 中分离到的抗恶性疟疾的有效成分[14-17]。青蒿素在水中及油中均难溶解，影响其治疗作用的发挥，临床应用也受到一定限制。因此，曾对它的结构进行了修饰，合成大量衍生物，从中筛选出具有抗疟效价高、原虫转阴快、速效、低毒等特点的双氢青蒿素（dihydroqinghaosu），再进行甲基化，将它制成油溶性的蒿甲醚（artemether）及水溶性的青蒿琥珀酸单酯（artesunate），现已有多种制剂用于临床。



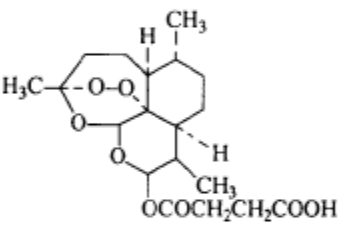
青蒿素



双氢青蒿素

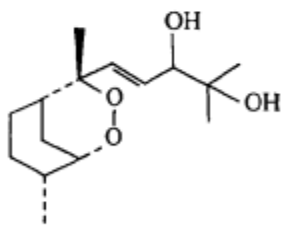


蒿甲素

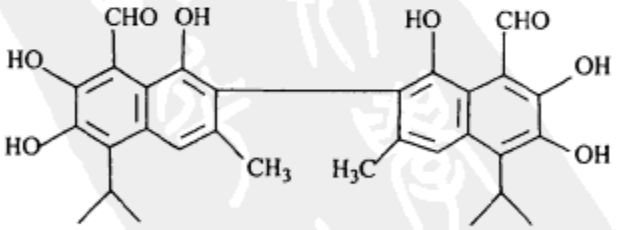


青蒿琥珀单酯

鹰爪甲素（yingzhaosu）是从民间治疗疟疾的有效草药鹰爪 *Artemisia annua* 根中分离出的具有过氧基团的倍半萜化合物，对鼠疟原虫的生长有强的抑制作用。



鹰爪甲素

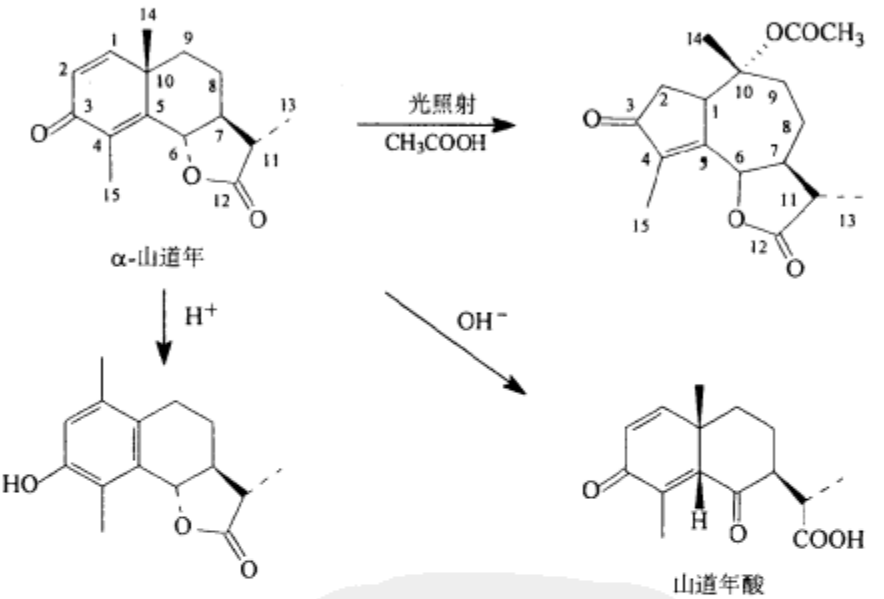


棉酚

棉酚（gossypol）为杜松烷型双分子衍生物，主要存在于棉籽中，约含 0.5%，在棉的茎、叶中亦含有，为有毒的黄色液体。棉酚具有杀精子的作用，我国学者曾试用作男性计划生育药，但因副作用大而未应用于临床。此外棉酚尚有抗菌杀虫活性。棉酚不含手性碳原子，但由于两个苯环折叠障碍而具有光学活性，在棉籽中为消旋体，有多种不同熔点的晶体：mp 184℃（乙醚），199℃（氯仿），214℃（石油醚）。从桐棉 *Thespesia populnea* 花中得到

棉酚右旋体，在石油醚中为淡黄色针晶，在丙酮中形成深黄色棱晶的丙酮加成物，在含水丙酮中为长片状结晶[18]。

α-山道年(α-santonin)是山道年草 *Artemisia cina* 或蒿蒿 *Artemisia incana* 未开放的头状花序或全草中的主成分。山道年是强力驱蛔剂，但服用过量可产生黄视症毒性，已被临床淘汰。由于山道年结构中具有1,4-二烯酮的交叉共轭(1,4-二烯-3-酮)体系，用光照射可引起变化，若用酸处理，可发生重排，二烯酮变成酚；碱处理则转变成山道年酸(santonic acid)。



(四) 薁类衍生物

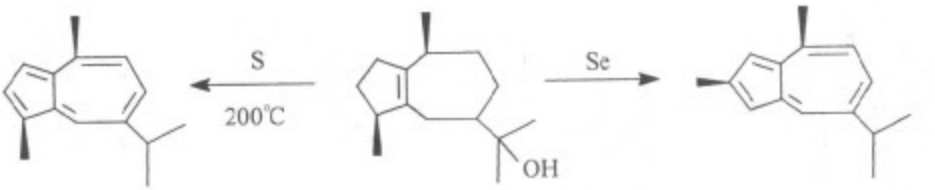
凡由五元环与七元环骈合而成的芳环骨架都称为薁类(azulenoids)化合物。这类化合物多具有抑菌、抗肿瘤、杀虫等生物活性。

薁类是一种非苯环芳烃化合物，但分子结构中具有高度的共轭体系，可与苦味酸或三硝基苯试剂作用，形成有敏锐熔点的π-络合物，可供鉴别使用。亦可在可见光(360～700nm)吸收光谱中观察到强吸收峰。

薁类化合物溶于石油醚、乙醚、乙醇、甲醇等有机溶剂，不溶于水，溶于强酸。故可用60%～65%硫酸或磷酸提取薁类成分，硫酸或磷酸提取液加水稀释后，薁类成分即沉淀析出。薁类化合物的沸点较高，一般在250～300℃，在挥发油分馏时，高沸点馏分可见到美丽的蓝色、紫色或绿色的现象时，表示可能有薁类化合物的存在。

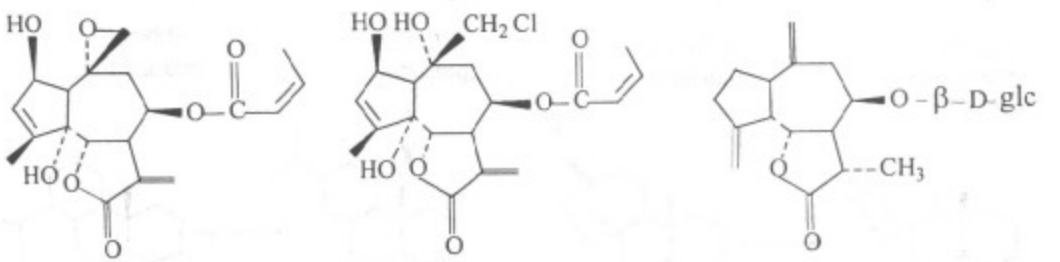
预试挥发油中的薁类成分时多用Sabety反应，即取挥发油1滴溶于1ml氯仿中，加入5%溴的氯仿溶液，若产生蓝紫色或绿色时，表明有薁类化合物存在。与Ehrlich试剂(对-二甲胺基苯甲醛浓硫酸)反应产生紫色或红色时，亦可证实挥发油中有薁类化合物存在。

愈创木醇(guaiol)存在于愈创木 *Guajacum officinale* 木材的挥发油中，属于薁类的还原产物。该化合物在蒸馏、酸处理时，可氧化脱氢而形成薁类。



愈创木奠　　愈创木醇　　2,4-二甲基 -7-异丙基奠

植物中的倍半萜奠类衍生物多半是其氢化衍生物，这些氢化衍生物多数失去芳香性，其结构以愈创木烷骨架类型较多。如圆叶泽兰 *Eupatorium rotundifolium* 中的抗癌活性成分泽兰苦内酯（euparotin）、泽兰氯内酯（eupachlorin）及从新疆雪莲 *Saussurea involucrata* 中得到的大苞雪莲内酯（involucratolactone）[19] 都属于愈创木烷型倍半萜内酯或其苷类化合物。



泽兰苦内酯　　泽兰氯内酯　　大苞雪莲内酯

四、二　萜

（一）概述

二萜类（diterpenoids）是由 4 个异戊二烯单位构成，含 20 个碳原子的化合物类群。它们的结构显示多样性，但都是由焦磷酸香叶基香叶酯（geranylgeranyl pyrophosphate，GGPP）衍生而成，几乎都呈环状结构。基于二萜的基本骨架，美国学者 J. W. Rowe 于 1968 年曾提出“环状二萜一般命名法”的提案[20]，并依此来分类，该提案虽然没有被 IUPAC 正式采用，但与原来习用的骨架命名比较，更为合理，且十分方便，现正广为应用。其主要骨架、立体结构[4] 及相互之间的转化如图 6-7 所示。其中贝壳杉烷、赤霉烷、阿替烷及乌头烷等骨架的对映体，即对映-贝壳杉烷（*ent*-kaurane）、对映-赤霉烷（*ent*-gibberellane）、对映-阿替烷（*ent*-atisane）及对映-乌头烷（*ent*-aconane）骨架的化合物在天然产物中有较多发现。

二萜广泛分布于植物界，植物分泌的乳汁、树脂等均以二萜类衍生物为主，尤以松柏科植物最为普遍。许多二萜的含氧衍生物具有多方面的生物活性，如紫杉醇、穿心莲内酯、丹参酮、银杏内酯、雷公藤内酯、甜菊苷等都具有较强的生物活性，有的已是重要的药物。除植物外，菌类代谢产物中也发现有二萜，而且从海洋生物中也分离到为数较多的二萜衍生物。

（二）链状二萜

链状二萜类化合物在自然界存在较少，常见的只有广泛存在于叶绿素的植物醇（phytol），与

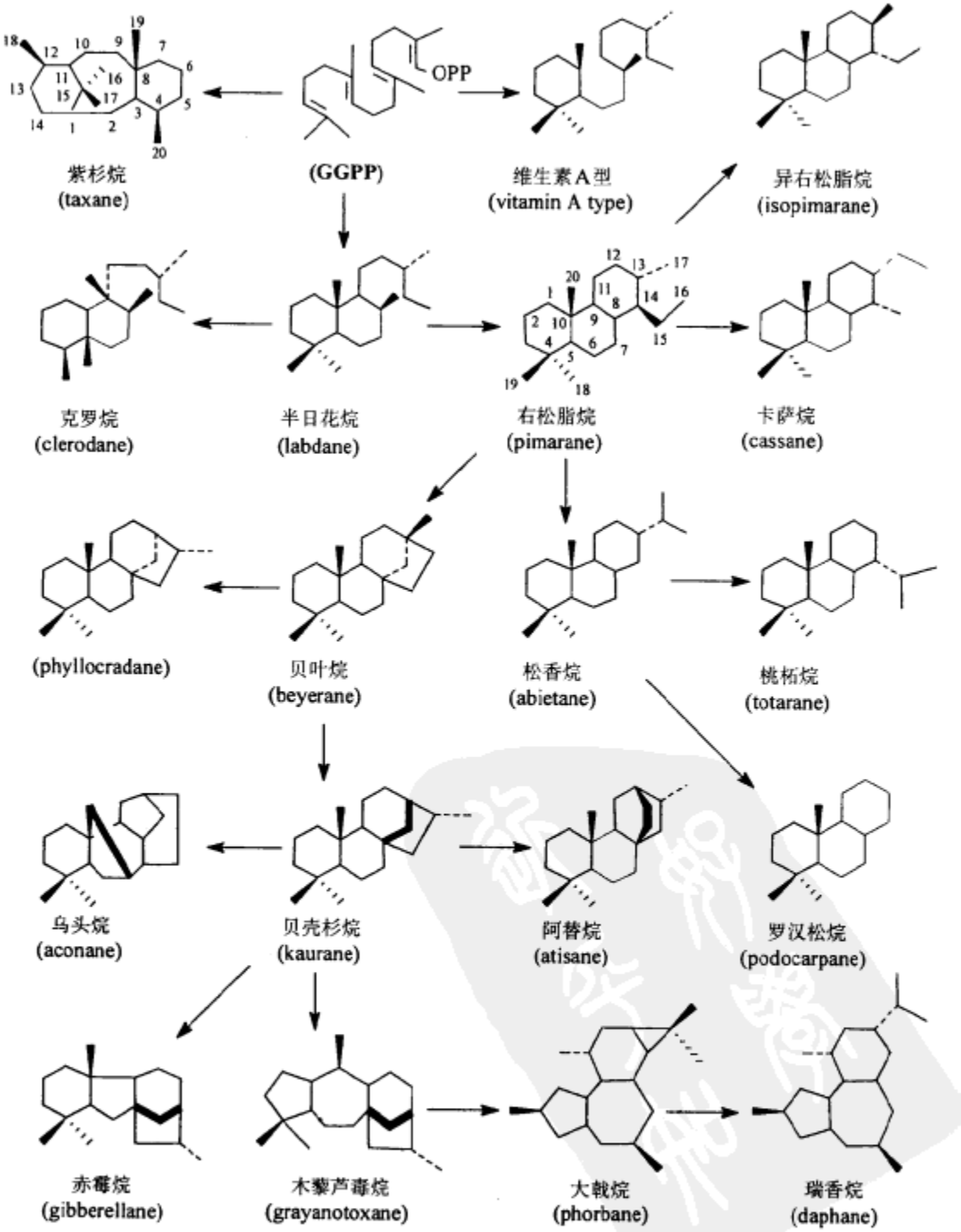
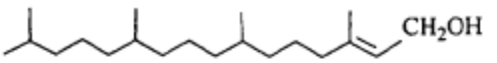
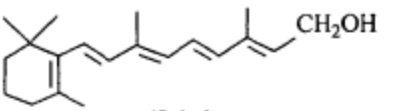


图 6-7　二萜的基本骨架、立体结构及生物合成

叶绿素分子中的卟啉(porphyrin)结合成酯的形式存在于植物中，曾作为合成维生素 E、K_1 的原料。



植物醇

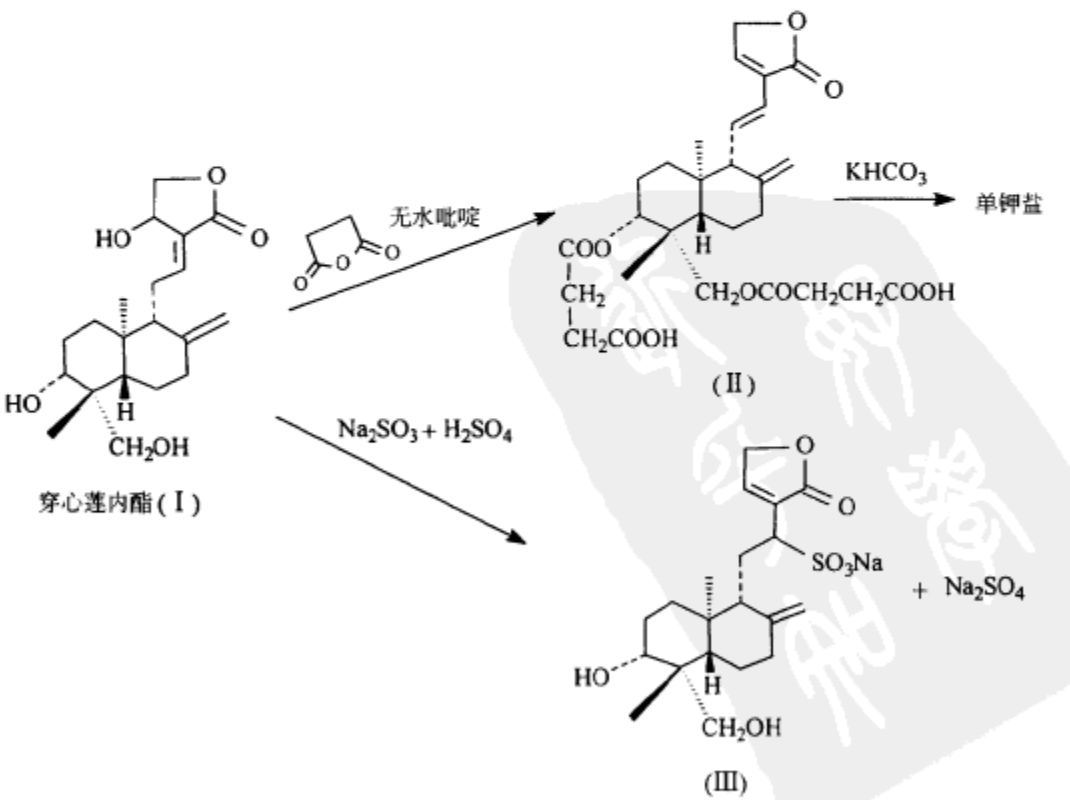


维生素A

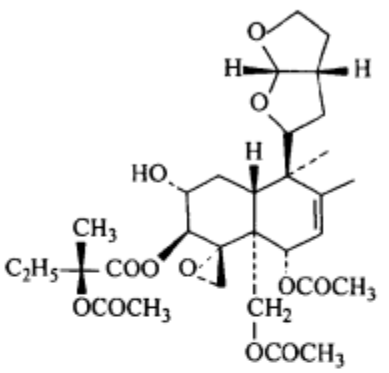
（三）环状二萜

维生素 A(vitamin A)是一种重要的脂溶性维生素，主要存在于动物肝脏中，特别是鱼肝中含量较丰富，如鲨鱼和鳕鱼的肝油中富含维生素 A。维生素 A 与眼睛的视网膜内的蛋白质结合，形成光敏感色素，是保持正常夜间视力的必需物质，而且维生素 A 也是哺乳动物生长必不可缺少的物质。

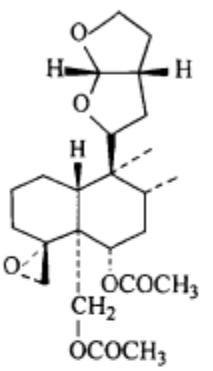
穿心莲 *Andrographis paniculata*(又称榄核莲、一见喜)叶中含有较多二萜内酯及二萜内酯苷类成分，其中穿心莲内酯(andrographolide)为抗炎作用的主要活性成分[21]，临床用于治疗急性菌痢、胃肠炎、咽喉炎、感冒发热等，疗效确切，但水溶性不好。为增强穿心莲内酯水溶性，将穿心莲内酯在无水吡啶中与丁二酸酐作用，制备成丁二酸半酯的钾盐[22]；与亚硫酸钠在酸性条件下制备成穿心莲内酯磺酸钠，而成为水溶性化合物，用于制备浓度较高的注射剂[23]。



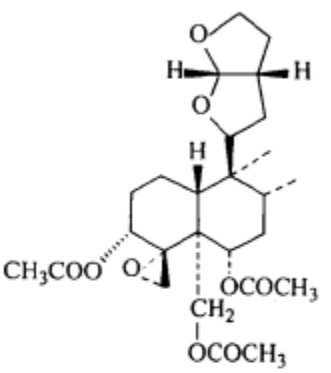
从马鞭草科植物欠愉大青 *Clerodendron infortunatum* 中分离得到的大青素(clerodin)、海州常山 *Clerodendron trichotonum* 中分离的海常黄素 A(clerodendrin A)及 *Caryopteris divaricata* 植物中分离的 caryoptin 都是具有新克罗烷(neoclerodane)骨架的苦味素,这类结构对昆虫幼虫显示有强的拒食活性。经实验证明其拒食作用的活性中心来自它们结构中共同的特征功能团,即全氢呋喃骈[2,3*b*]呋喃环。



海常黄素A

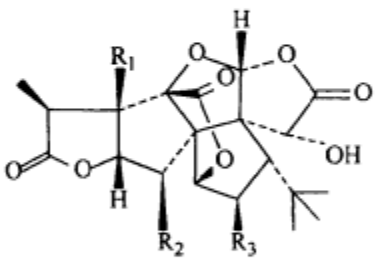


大青素



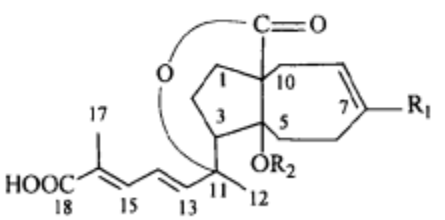
caryoptin

银杏内酯(ginkgolides)是银杏 *Ginkgo biloba* 根皮及叶的强苦味成分,已分离出银杏内酯 A、B、C、M、J(ginkgolides A,B,C,M,J)等多种内酯。银杏内酯类可作为拮抗血小板活化因子,可用来治疗因血小板活化因子引起的种种休克状障碍。所以银杏内酯及银杏双黄酮是银杏制剂中的主要有效成分,为治疗心脑血管疾病的有效药物[24]。



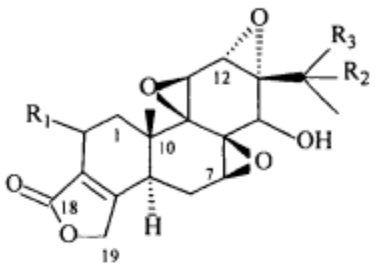
	R_1	R_2	R_3
银杏内酯 A	OH	H	H
银杏内酯 B	OH	OH	H
银杏内酯 C	OH	OH	OH
银杏内酯 M	H	OH	OH
银杏内酯 J	OH	H	OH

土荆酸甲、乙、丙、丙2(pseudolaric acid A,B,C,C_2)是由金钱松树皮中分离出的抗真菌成分。其中土荆酸乙为主成分,具有抗生育活性[25],使早孕大鼠子宫内膜及肌层血管血流量减少,是造成胚胎死的重要原因[26]。



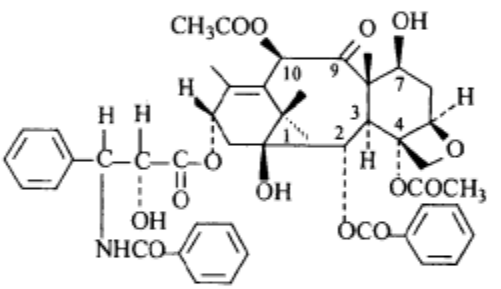
	R_1	R_2
土荆酸甲	CH_3	$COCH_3$
土荆酸乙	$COOCH_3$	$COCH_3$
土荆酸丙	$COOCH_3$	H
土荆酸丙2	COOH	$COCH_3$

雷公藤甲素(triptolide)、雷公藤乙素(tripdiolide)、雷公藤内酯(triptolidenol)及16-羟基雷公藤内酯醇(16-hydroxytriptolide)是从雷公藤 *Tripterygium wiefordii* Hook. f. 根中分离出来的抗癌活性物质。雷公藤甲素对乳腺癌和胃癌细胞系集落形成有抑制作用[27],16-羟基雷公藤内酯醇具有较强的抗炎、免疫抑制和雄性抗生育作用[28]。

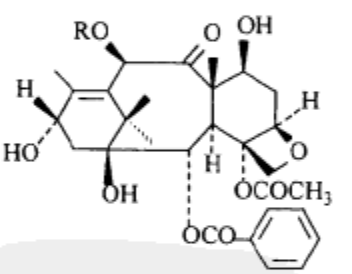


	R_1	R_2	R_3
雷公藤甲素	H	H	CH_3
雷公藤乙素	OH	H	CH_3
雷公藤内酯	H	OH	CH_3
16-羟基雷公藤内酯醇	H	H	CH_2OH

紫杉醇(taxol)又称红豆杉醇,为90年代国际上抗肿瘤药三大成就之一,最早从太平洋红豆杉 *Taxus brevifolia* 的树皮中分离得到[29],1972年底美国FDA批准上市,临床用于治疗卵巢癌、乳腺癌和肺癌疗效较好,颇受医药界重视,临床需求量较大。



紫杉醇

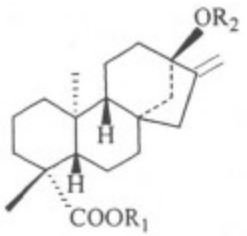


巴卡亭Ⅲ R = Ac

去乙酰基巴卡亭Ⅲ R = H

然而植物中紫杉醇的含量仅只有百万分之二,为了解决紫杉醇的来源问题,我国和欧美学者采用各种方法和途径,在紫杉醇组织细胞培养、寄生真菌培养、红豆杉栽培、紫杉醇全合成、紫杉醇半合成等方面作了大量的研究。其中以紫杉醇前体物巴卡亭Ⅲ(baccatin Ⅲ)和去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-deacetyl baccatin Ⅲ)为母核进行半合成制备紫杉醇途径出色与可行[30],而这两种化合物在红豆杉易再生的针叶和小枝中产率达0.1%。

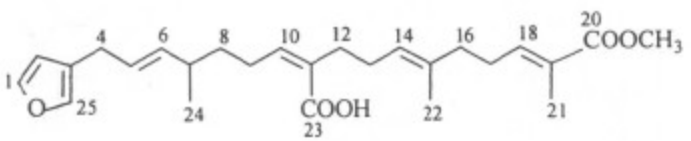
甜菊 *Stevia rebaudianum* Bertoni 叶中含有以对映-贝壳杉烷(*ent*-kaurane)骨架为母核,与不同糖组成的甜味苷,即甜菊苷(stevioside)及甜菊苷A、D、E(rebaudiosides A,D,E)等多种甜味苷。总甜菊苷含量约6%,其甜度约为蔗糖的300倍,其中又以甜菊苷A甜味最强,但含量较少。甜菊苷(stevioside)因其高甜度、低热量等优良特性,在医药、食品等工业中应用日益广泛。我国已大面积栽种甜菊,并生产甜菊苷。



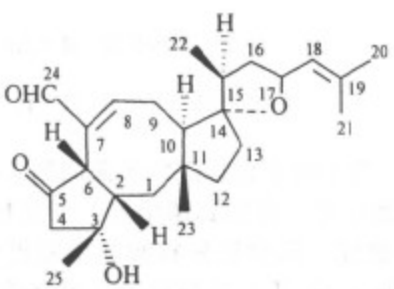
	R1	R2
甜菊苷	Glc	Glc(2→1)Glc
甜菊苷 A	Glc	Glc(2→1)Glc, Glc(3→1)Glc
甜菊苷 D	Glc(2→1)Glc	Glc(2→1)Glc, Glc(3→1)Glc
甜菊苷 E	Glc(2→1)Glc	Glc(2→1)Glc

五、二倍半萜

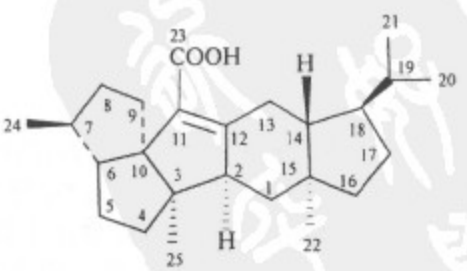
二倍半萜类化合物(sesterterpenoids)是由 5 个异戊二烯单位构成、含 25 个碳原子的化合物类群。1965 年发现第一个二倍半萜。这类化合物在生源上是由焦磷酸香叶基金合欢酯(geranylfarnesyl pyrophosphate,GFPP)衍生而成,多为结构复杂的多环性化合物。与其它各萜类化合物相比,数量少,迄今来自天然的二倍半萜有 6 种类型约 30 余种化合物,分布在羊齿植物,植物病源菌,海洋生物海绵、地衣及昆虫分泌物中。



呋喃海绵素-3



蛇孢假壳素 A



网肺酸

蛇孢假壳素 A(ophiobolin A)是从寄生于稻植物病源菌芝麻枯 *Ophiobulus miyabeanus* 中分离出的第一个二倍半萜成分,具有 C_5-C_8-C_5 骈环的基本骨架,该物质显示有阻止白藓菌、毛滴虫菌等生长发育的作用。

呋喃海绵素-3(furanospongin-3)是从海绵动物中得到的含呋喃环的链状二倍半萜;网肺酸(retigeranic acid)是从网肺衣 *Lobaria retigera* 及其地衣的近缘种中得到的具有五环骨架的二倍半萜;在昆虫分泌物中分离到多种大环二倍半萜。

第三节 萜类化合物的理化性质

萜类成分的范围很广，彼此间的结构与性质差异很大，但它们都由同一生源途径衍变而来，分子结构中绝大多数具有双键、共轭双键及活泼氢原子，较多萜类具有内酯结构，因而具有一些相同的理化性质及化学反应，下面仅就其共性作一归纳。某些特殊结构的萜类，如草酚酮类、环烯醚萜类、蒽类等化合物的特性已如前述，不再赘述。

一、萜类化合物的物理性质

（一）性状

1. 形态 单萜和倍半萜类多为具有特殊香气的油状液体，在常温下可以挥发，或低熔点的固体。单萜的沸点比倍半萜低，并且单萜和倍半萜随分子量和双键的增加，功能基的增多，化合物的挥发性降低，熔点和沸点相应增高。可利用该规律性，采用分馏的方法将它们分离开来。二萜和二倍半萜多为结晶性固体。

2. 味 萜类化合物多具有苦味，有的味极苦，所以萜类化合物又称苦味素。但有的萜类化合物具有强的甜味，如具有对映-贝壳杉烷骨架（*ent*-kaurane）的二萜多糖苷——甜菊苷的甜味是蔗糖的300倍，其相关的甜味二萜葡萄糖苷的开发应用正受到重视[31]。

3. 旋光和折光性 大多数萜类具有不对称碳原子，具有光学活性，且多有异构体存在。低分子萜类具有较高的折光率。

（二）溶解性

萜类化合物亲脂性强，易溶于醇及脂溶性有机溶剂，难溶于水，但单萜和倍半萜类能随水蒸气蒸馏。随着含氧功能团的增加或具有苷的萜类，则水溶性增加。具有内酯结构的萜类化合物能溶于碱水，酸化后，又自水中析出，此性质用于具内酯结构的萜类的分离与纯化。

萜类的苷化合物含糖的数量均不多，但具有一定的亲水性，能溶于热水，易溶于甲醇、乙醇溶液，不溶于亲脂性的有机溶剂。

应注意，萜类化合物对高热、光和酸碱较为敏感，或氧化，或重排，引起结构的改变。在提取分离或氧化铝柱色谱分离时，应慎重考虑。

二、萜类化合物的化学性质

（一）加成反应

含有双键和醛、酮等羰基的萜类化合物，可与某些试剂发生加成反应，其产物往往是结晶性的。这不但可供识别萜类化合物分子中不饱和键的存在和不饱和的程度，还可借助加成产物完好的晶型，用于萜类的分离与纯化。

1. 双键加成反应

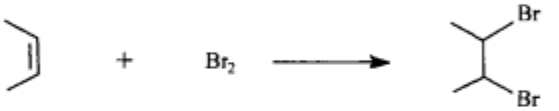
（1）与卤化氢加成反应：萜类化合物中的双键能与氢卤酸类，如氢碘酸或氯化氢在冰醋酸溶

液中反应，于冰水中析出结晶性加成产物。

例如柠檬烯与氯化氢在冰醋酸中进行加成反应，反应完毕加入冰水即析出柠檬烯二氢氯化物的结晶固体。

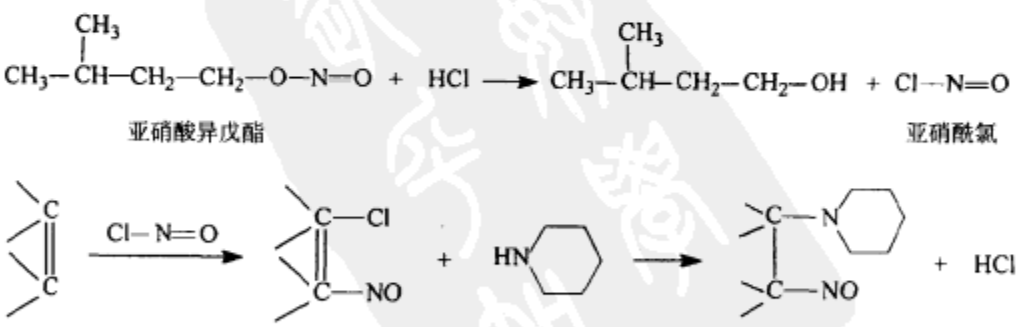
柠檬烯　　柠檬烯二氢氯化物

（2）与溴加成反应：萜类成分的双键在冰醋酸或乙醚与乙醇的混合溶液中，在冰冷却下，滤取析出的结晶性加成物。

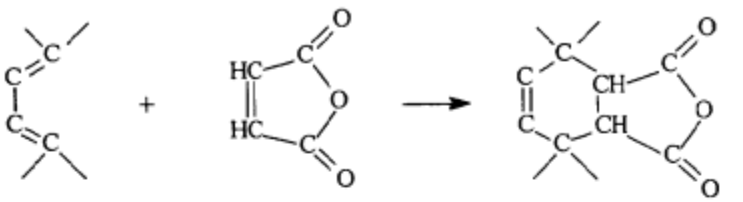


（3）与亚硝酰氯反应：许多不饱和的萜类化合物能与亚硝酰氯（tilden 试剂）发生加成反应，生成亚硝基氯化物。先将不饱和的萜类化合物加入亚硝酸异戊酯中，冷却下加入浓盐酸，混合振摇，然后加入少量乙醇或冰醋酸即有结晶加成物析出。生成的氯化亚硝基衍生物多呈蓝色～绿色，可用于不饱和萜类成分的分离和鉴定。

生成的氯化亚硝基衍生物还可进一步与伯胺或仲胺（常用六氢吡啶）缩合生成亚硝基胺类。后者具有一定的结晶形状和一定的物理常数，在鉴定萜类成分上颇有价值。



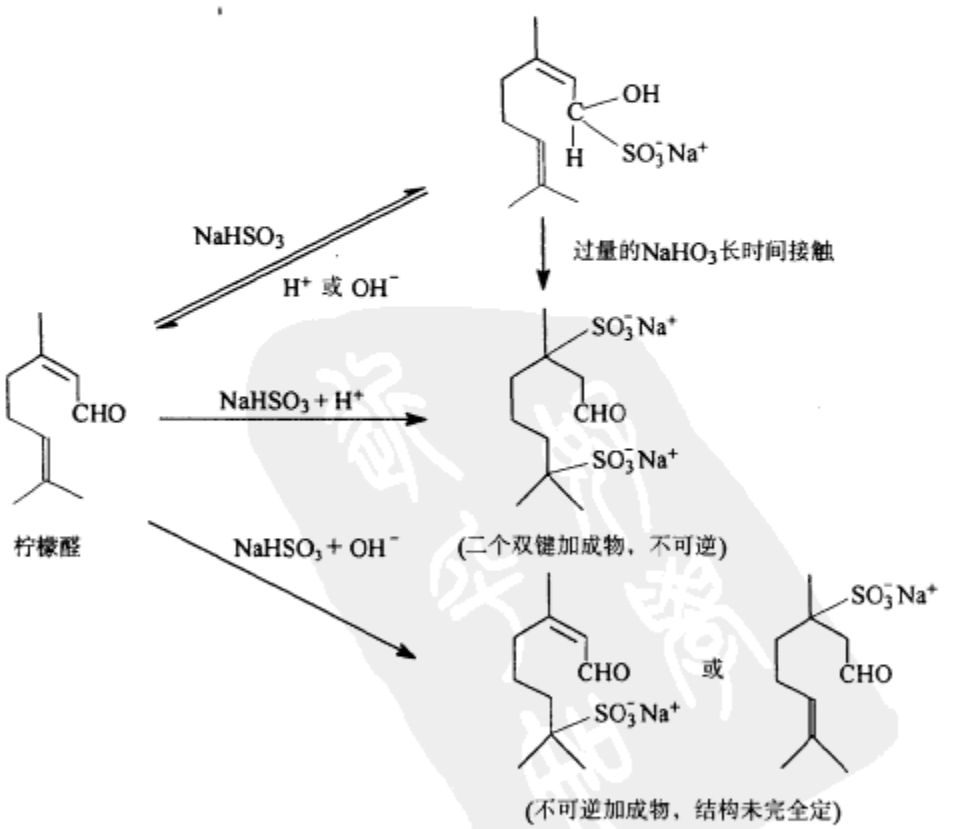
（4）Diels-Alder 加成反应：带有共轭双键的萜类化合物能与顺丁烯二酸酐产生 Diels-Alder 加成反应，生成结晶形加成产物，可借以证明共轭双键的存在。



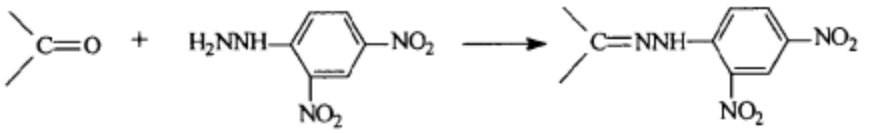
顺丁烯二酸酐

2. 羰基加成反应

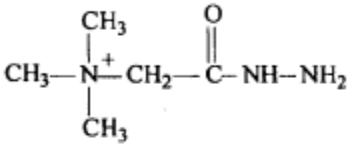
(1)与亚硫酸氢钠加成：含羰基的萜类化合物可与亚硫酸氢钠发生加成反应，生成结晶形加成物，复加酸或加碱使其分解，生成原来的反应产物，如从香茅油中分取柠檬醛。同时，含双键和羰基的萜类化合物在应用此法时要注意：反应时间过长或温度过高，可使双键发生加成，并形成不可逆的双键加成物，例如柠檬醛的加成，条件不同加成产物则各异。



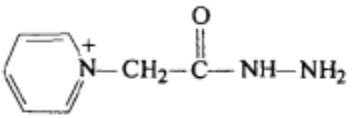
(2)与硝基苯肼加成：含羰基的萜类化合物可与对硝基苯肼或2,4-二硝基苯肼在磷酸中发生加成反应，生成对硝基苯肼或2,4-二硝基苯肼的加成物。



(3)与吉拉德试剂加成:吉拉德(Girard)试剂是一类带有季铵基团的酰肼,常用的 Girard T 和 Girard P,它们的结构式为:

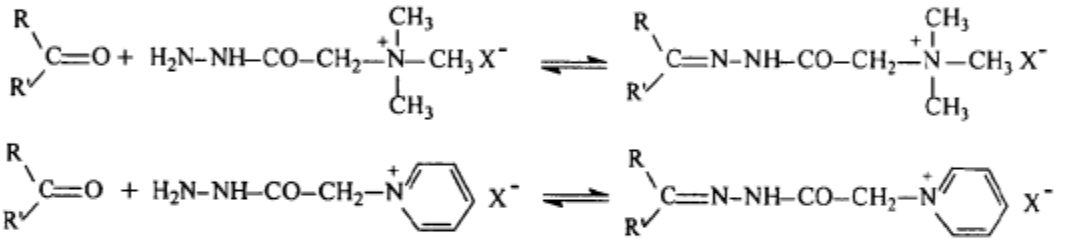


吉拉德试剂 T



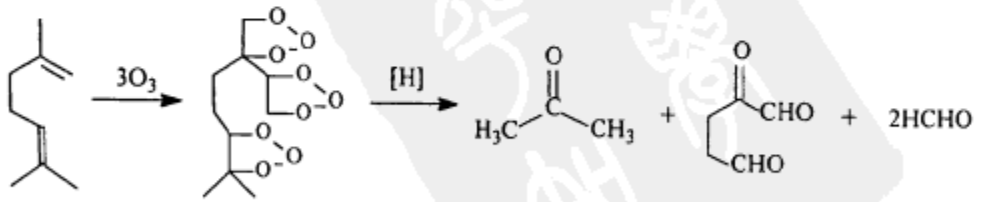
吉拉德试剂 P

将吉拉德试剂的乙醇溶液加入含羰基的萜类化合物中,再加入 10% 醋酸促进反应,加热回流。反应完毕后加水稀释,分取水层,加酸酸化,再用乙醚萃取,蒸去乙醚后复得原羰基化合物。



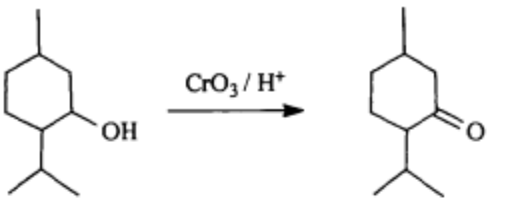
(二) 氧化反应

不同的氧化剂在不同的条件下,可以将萜类成分中各种基团氧化,生成各种不同的氧化产物。常用的氧化剂有臭氧、铬酐(三氧化铬)、四醋酸铅、高锰酸钾和二氧化硒等,其中以臭氧的应用最为广泛。例如臭氧氧化萜类化合物中的烯烃反应,既可用来测定分子中双键的位置,亦可用于萜类化合物的醛酮合成。



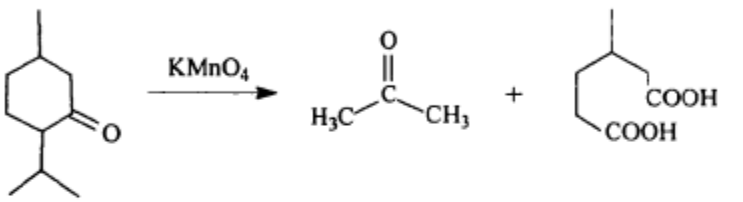
月桂烯　　丙酮　　α-羰基异戊醛　　甲醛

铬酐是应用非常广泛的一种氧化剂,几乎与所有可氧化的基团作用,利用强碱型离子交换树脂与三氧化铬制得具有铬酸基的树脂,它与仲醇在适当溶剂中回流,则生成酮,产率高达 73% ~ 98%,副产物少,产物极易分离、纯化。例如薄荷醇氧化成薄荷酮的反应如下:



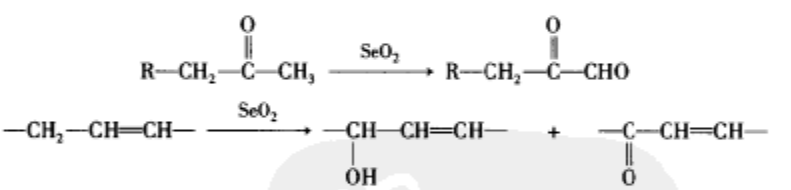
薄荷醇　　薄荷酮

高锰酸钾是常用的中强氧化剂，可使环断裂而氧化成羧酸。



薄荷酮　　丙酮　　β-甲基己二酸

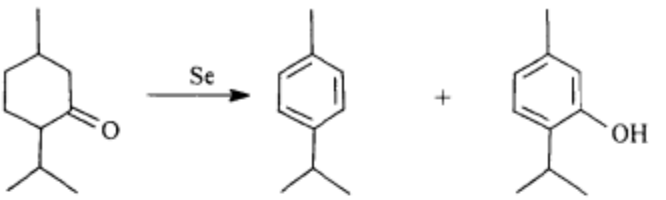
二氧化硒是具有特殊性能的氧化剂，它较专一地氧化羰基的 α-甲基或亚甲基，以及碳碳双键旁的 α-亚甲基。



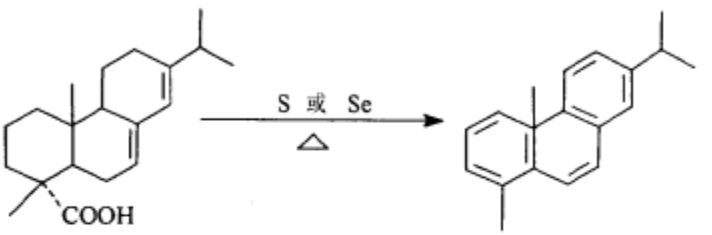
（三）脱氢反应

脱氢反应在研究萜类化学结构中是一种很有价值的反应，特别是在早期研究萜类化合物母核骨架时具有重要意义。在脱氢反应中，环萜的碳架因脱氢转变为芳香烃类衍生物，所得芳烃衍生物容易通过合成的方法加以鉴定。脱氢反应通常在惰性气体的保护下，用铂黑或钯做催化剂，将萜类成分与硫或硒共热（200～300℃）而实现脱氢，有时可能导致环的裂解或环合。

β-桉醇



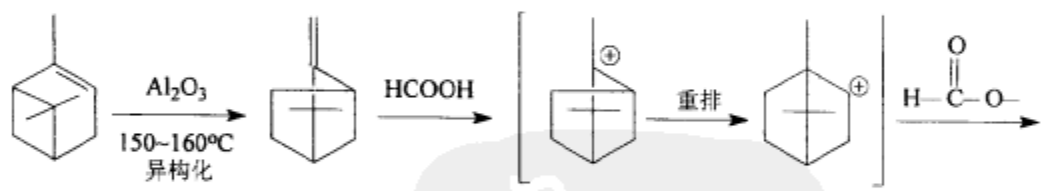
薄荷酮



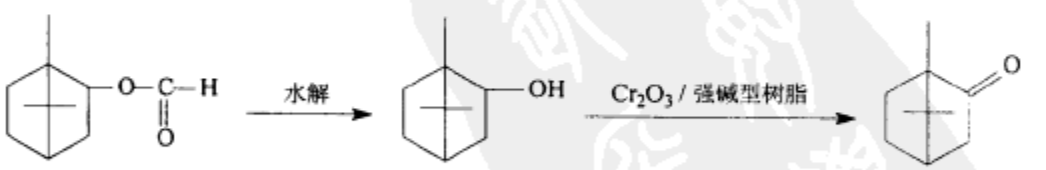
松香酸　　1-甲基-7-异丙基菲

（四）分子重排反应

在萜类化合物中，特别是双环萜在发生加成、消除或亲核性取代反应时，常常发生碳架的改变，产生 Wagner-Meerwein 重排。目前工业上由 α-蒎烯合成樟脑的过程，就是应用 Wagner-Meerwein 重排，再氧化制得[32]。



α-蒎烯



樟脑

第四节　萜类化合物的提取分离

萜类化合物虽都由活性异戊二烯基衍变而来，但种类繁多、骨架庞杂、结构包容极广。其中低分子萜类多为挥发油，单萜中的环烯醚萜多为苷类；倍半萜除构成挥发油的组份外，以内酯多见；乌头烷型二萜却以二萜生物碱的形式存在；还有具芳香性的草酚酮和奠类。因此，萜类结构的千变万化，提取分离的方法也就因其结构类型的不同而呈现多样化。

鉴于单萜和倍半萜多为挥发油的组成成分，它们的提取分离方法将在挥发油中重点论述，本节仅介绍环烯醚萜苷、倍半萜内酯及其二萜的提取与分离方法。

一、萜类的提取

在萜类化合物中，环烯醚萜以苷的形式较多见，而其它萜类则少见。环烯醚萜苷多以单糖苷的形式存在，苷元的分子较小，且多具有羟基，所以亲水较强，一般易溶于水、甲醇、乙醇和正丁醇等溶剂，而难溶于一些亲脂性强的有机溶剂，故多用甲醇或乙醇为溶剂进行提取。

非苷形式的萜类化合物具有较强的亲脂性，溶于甲醇、乙醇中，易溶于氯仿、乙酸乙酯、苯、乙醚等亲脂性有机溶剂中。这类化合物一般用有机溶剂提取，或甲醇或乙醇提取后，再用亲脂性有机溶剂萃取。

值得注意的是萜类化合物，尤其是倍半萜内酯类化合物容易发生结构的重排，二萜类易聚合而树脂化，引起结构的变化，所以宜选用新鲜药材或迅速晾干的药材，并尽可能避免酸、碱的处理。含苷类成分时，则要避免接触酸，以防在提取过程中发生水解，而且应按提取苷类成分的常法事先破坏酶的活性。

（一）溶剂提取法

1. 苷类化合物的提取　用甲醇或乙醇为溶剂进行提取，经减压浓缩后转溶于水中，滤除水不溶性杂质，继用乙醚或石油醚萃取，除去残留的树脂类等脂溶性杂质，水液再用正丁醇萃取，减压回收正丁醇后即得粗总苷。

2. 非苷类化合物的提取　用甲醇或乙醇为溶剂进行提取，减压回收醇液至无醇味，残留液再用乙酸乙酯萃取，回收溶剂得总萜类提取物；或用不同极性的有机溶剂按极性递增的方法依次分别萃取，得不同极性的萜类提取物，再行分离。

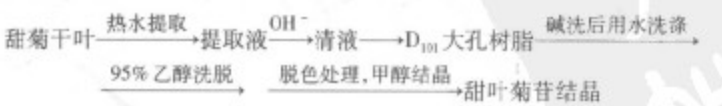
（二）碱提取酸沉淀法

利用内酯化合物在热碱液中，开环成盐而溶于水中，酸化后又闭环，析出原内酯化合物的特性来提取倍半萜类内酯化合物。但是当用酸、碱处理时，可能引起构型的改变，应加以注意。

（三）吸附法

1. 活性炭吸附法　苷类的水提取液用活性炭吸附，经水洗除去水溶性杂质后，再选用适当的有机溶剂如稀醇、醇依次洗脱，回收溶剂，可能得到纯品，如桃叶珊瑚苷的分离。

2. 大孔树脂吸附法　将含苷的水溶液通过大孔树脂吸附，同样用水、稀醇、醇依次洗脱，然后再分别处理，也可得纯的苷类化合物，如甜叶菊苷的提取与分离：



二、萜类的分离

（一）结晶法分离

有些萜类的萃取液回收到小体积时，往往多有结晶析出，滤除结晶，再以适量的溶媒重结晶，

可得纯的萜类化合物。

（二）柱色谱分离

分离萜类化合物多用吸附柱色谱法，常用的吸附剂有硅胶、氧化铝等，其中应用最多的是硅胶，几乎所有的萜类化合物都可以选用硅胶作柱色谱的吸附剂，待分离物与吸附剂之比约为1:30～1:60。

由于氧化铝在色谱分离过程中可能引起萜类化合物的结构变化，故选用氧化铝作吸附剂时要慎重，一般多选用中性氧化铝，待分离物与吸附剂之比约为1:30～1:50。

此外，亦可采用硝酸银色谱法进行分离，因萜类化合物结构中多具有双键，且不同萜类的双键数目和位置不同，与硝酸银形成π络合物难易程度和稳定性也有差别，可借此达到分离。有时可借萜类化合物性质上的差异，联合使用硝酸银-硅胶或硝酸银-中性氧化铝柱色谱分离，以提高分离效果。

萜类化合物的柱色谱分离一般选用非极性有机溶剂，如正己烷、石油醚、环己烷、乙醚、苯或乙酸乙酯作洗脱剂。但使用单一溶剂往往达不到分离的效果，故在实践中多选用混合溶剂，而且应根据被分离物质的极性大小来考虑。常用的溶剂系统有：石油醚-乙酸乙酯、苯-乙酸乙酯、苯-氯仿，多羟基的萜类化合物可选用氯仿-乙醇作洗脱剂。

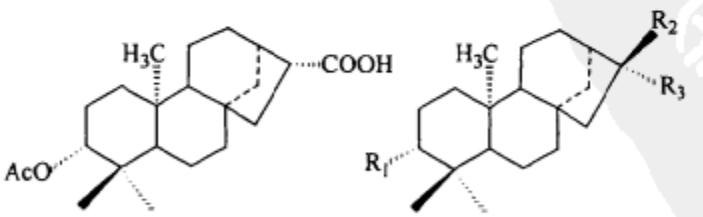
（三）利用结构中特殊功能团进行分离

可利用萜类化合物含氧功能团进行分离，如倍半萜内酯可在碱性条件下开环，加酸后又环合，借此可与非内酯类化合物分离；萜类生物碱也可用酸碱法分离。不饱和双键、羰基等可用加成的方法制备衍生物加以分离。

提取分离实例：

鄂北贝母中对映-贝壳杉烷型二萜的提取与分离

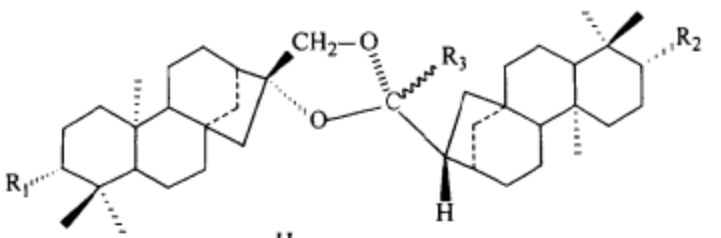
鄂北贝母 *Fritillaria ebeiensis* 系贝母属植物新种，原野生于随州市大洪山一带，民间已作药用，现已栽培成功。除从其鳞茎的总生物碱中分离、鉴定了六种异甾体生物碱[33,34]外，后来应用硅胶柱色谱分离方法，以石油醚-乙酸乙酯系统洗脱，从非生物碱部位成功地分离到18个对映-贝壳杉烷型（*ent*-kaurane）二萜及其二聚体，已鉴定出鄂贝酸（fritillebic acid，1）、*ent*-kauran-16β，17-diol（2）、*ent*-kauran-16α，17-diol（3）、鄂贝醇甲（fritillebeinol A，4）、*ent*-kauran-15-en-17-ol（5）、鄂贝缩醛A、B、C、D、E（fritillebinide A，B，C，D，E，6、7、8、9、10）及鄂贝酸酯A、B、C、D（fritillebin A，B，C，D，11、12、13、14）等14种二萜及其二聚体的结构[35-37]。在贝母属植物中发现众多的聚合二萜类群，较为罕见；而且在已研究的几种湖北贝母属植物中均发现有聚合二萜。



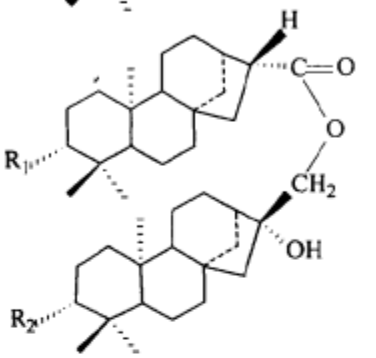
1

	R_1	R_2	R_3
2	H	CH_2OH	OH
3	H	OH	CH_2OH
4	OAc	CH_2OH	OH

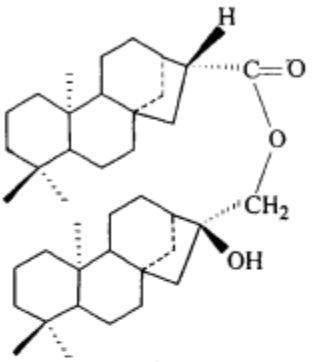
5



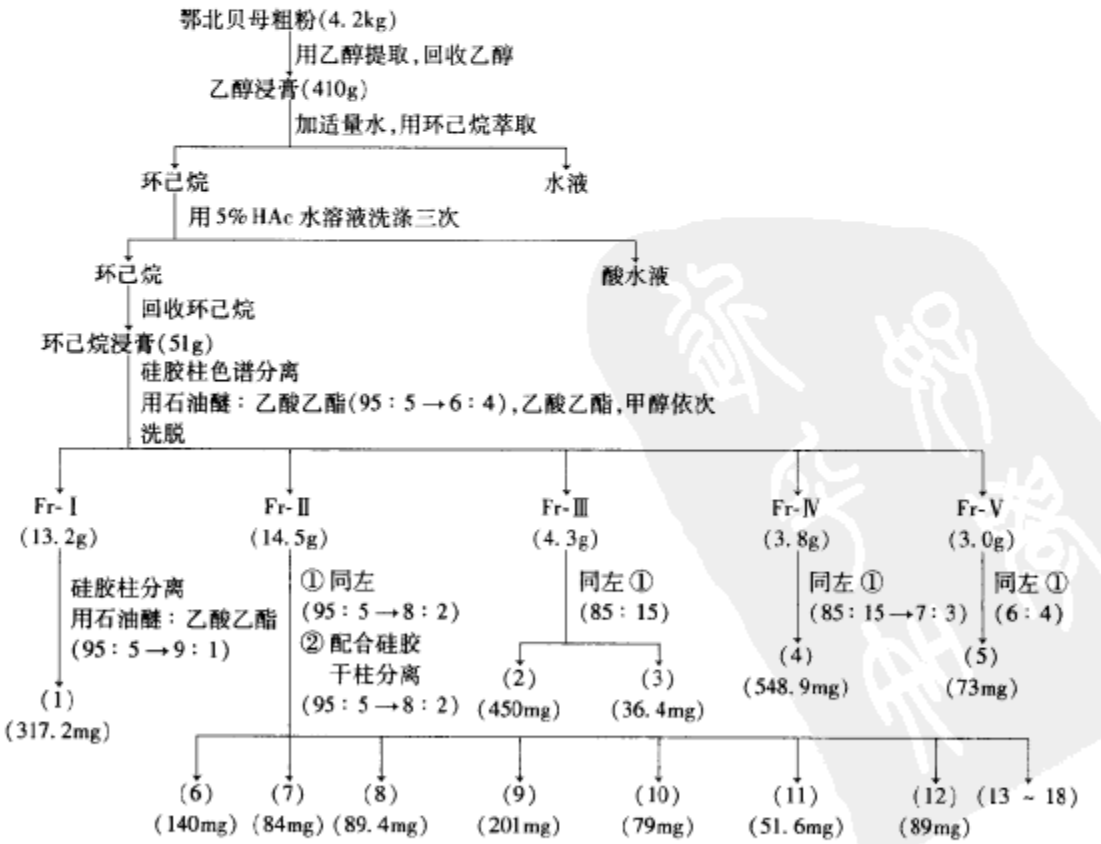
	R_1	R_2	R_3
6	H	H	β H
7	OAc	H	α H
8	OAc	H	β H
9	OAc	OAc	α H
10	OAc	OAc	β H



	R_1	R_2
11	OAc	H
12	OAc	OAc
13	H	H



14



第五节　萜类化合物的检识与结构测定

一、波谱法在萜类结构鉴定中的应用

萜类化合物目前是天然产物研究中最活跃的领域，其结构研究快速、微量、准确，这得益于现代波谱分析技术的应用，尤其是超导二维核磁共振新技术的应用使过去经典的化学方法降至辅助地位。

（一）紫外光谱

具有共轭双键或羰基与双键构成的共轭体系的萜类化合物，在紫外光区产生吸收，在结构鉴定中有一定的意义。一般共轭双烯在 λ_{max} 215～270（ε 2500～30000），而含有 α，β-不饱和羰基功能团的萜类则在 λ_{max} 220～250（ε 10000～17500）有最大吸收，但具有紫外吸收功能团的最大吸收波长将取决于该共轭体系在分子结构中的化学环境。例如链状萜类的共轭双键体系在 λ_{max} 217～228（ε 15000～25000）处有最大吸收；共轭双键体系在环内时，则最大吸收波长出现在 λ_{max} 256～265（ε 2500～10000）处；当共轭双键有一个在环内时，则最大吸收波长出现在 λ_{max} 230～240（ε 13000～20000）处。此外共轭双键的碳原子上有无取代基及共轭双键的数目也会影响最大吸收波长。

（二）红外光谱

红外光谱主要用来检测化学结构中的功能团。在萜类化合物中，绝大多数具有双键、共轭双键、甲基、偕二甲基、环外亚甲基和含氧功能团等，一般都能很容易地分辨出来。如偕二甲基在 υ_{max} 1370cm^{-1} 吸收峰处裂分，出现二条吸收带；而贝壳杉烷型二萜的环外亚甲基则通常在 υ_{max} 900cm^{-1} 左右有最大吸收峰。

红外光谱在解决萜类内酯的存在及内酯环的种类上有实际意义。在 υ_{max} 1700～1800cm^{-1} 间出现的强峰为羰基的特征吸收峰，可考虑有内酯化合物存在，而内酯环大小及有无不饱和键共轭体系，其最大吸收有较大差异。如在饱和内酯环中，随着内酯环碳原子数的减少，环的张力增大，吸收波长向高波数移动，六元环、五元环及四元环内酯羰基的吸收波长分别在 υ_{max} 1735、1770 和 1840cm^{-1}；不饱和内酯则随着共轭双键的位置和共轭的长短不同，其羰基的吸收波长亦有较大差异。

（三）质谱

萜类化合物结构类型纷杂，虽然质谱测定报道的数据很多[38]，但研究裂解的方式很少，即使进行了某些研究，所得的结果也常难以用来推测新化合物的结构。其原因是萜的基本母核多，无稳定的芳香环、芳杂环及脂杂环结构系统，大多缺乏“定向”裂解基团，因而在电子轰击下能够裂解的化学键较多，重排屡屡发生，裂解方式复杂。有些化合物的结构确定之后，容易解释其裂解方式，但对大多数化合物来说，如果缺乏高分辨精确质量测定、氘标记实验和亚稳离子等数据，常常很难判断离子的来源和结构。这种情形在单萜、特别是倍半萜中更为严重，实际上质谱的作用只是提供一个分子量而已。相对而言，二萜类化合物质谱的特征性则比倍半萜类稍强一些。

从众多化合物的裂解方式可找到萜类裂解的一些规律：

1. 萜类化合物的分子离子峰除以基峰形式出现外，一般较弱；

2. 在环状萜类化合物中常进行 RDA 裂解；

3. 在裂解过程中常伴随着分子重排裂解，尤以麦氏重排多见；

4. 裂解方式受功能基的影响较大，得到的裂解峰大都主要是失去功能基的离子碎片，例如有羟基或羟甲基存在时，多有失水或失羟甲基、甲醛等离子碎片。

青蒿素(qinghaosu)属于杜松烷类倍半萜化合物，但 A 环是氧化成醚型的七元环，且具有过氧结构，其质谱裂解如图 6-8 所示。

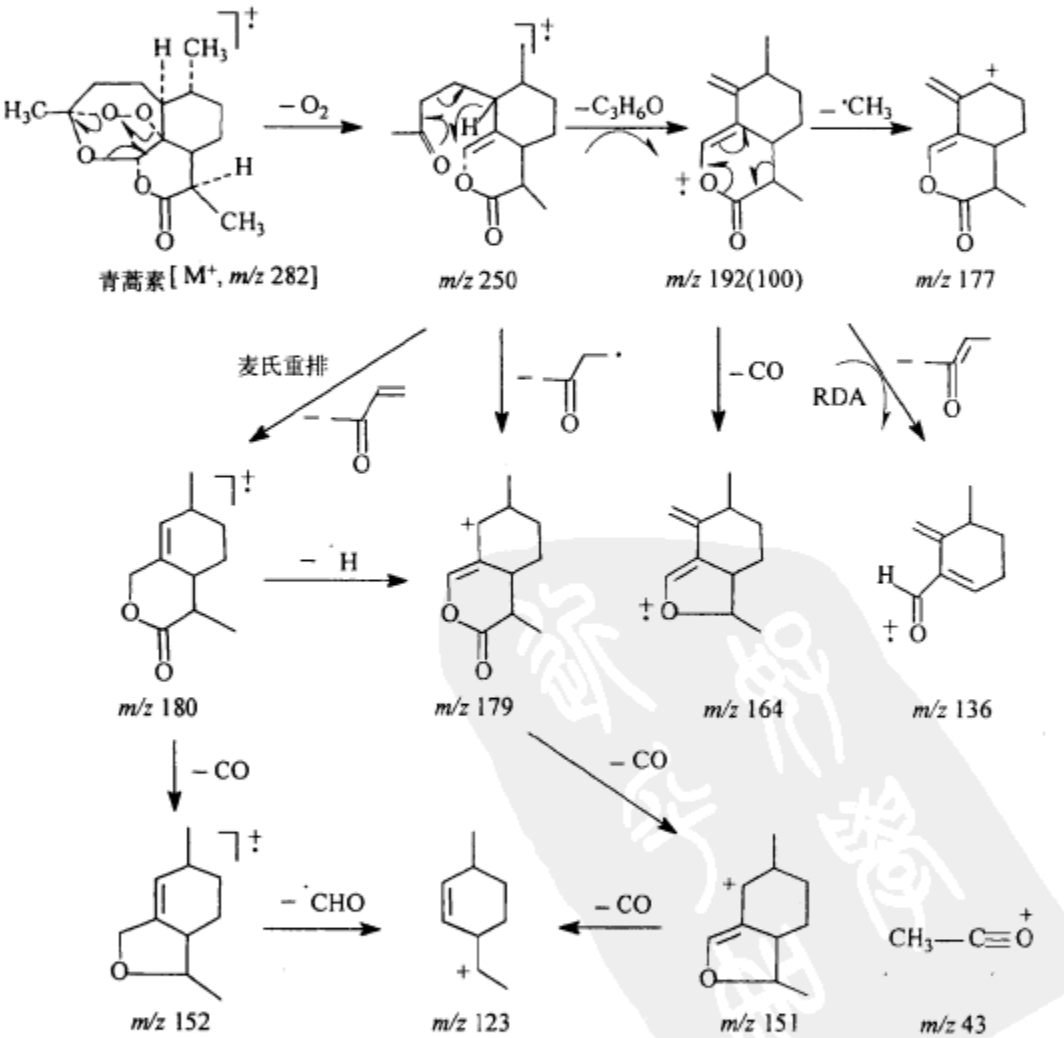


图 6-8 青蒿素 EI-MS 裂解图

该化合物分子离子峰 m/z 282 较弱，基峰为 m/z 192。高质量区的较强峰 m/z 250 是过氧醚环进行类似 RDA 裂解失去氧的产物，然后由亚稳离子 m/z 215.5 证明能继续失去

一分子水得离子 m/z 232，其水的来源可能是六元内酯环，这要经过比较复杂的重排过程才能完成。离子 m/z 250 再进行麦氏重排裂解，并失去丙酮得基峰 m/z 192，而失去丁烯酮和丁酮基得离子 m/z 180 和 179，m/z 180 和 179 各失去一氧化碳，可产生离子 m/z 152 和 151，离子 m/z 152 失去甲酰基或离子 m/z 151 失去一氧化碳，可得离子 m/z 123。离子 m/z 250 能失去丙酮得基峰 m/z 192 的裂解，说明离子 m/z 250 的结构片断中含有甲基酮部分。同时存在的次强峰 m/z 43（乙酰基离子），也能说明这一点。其它离子如 m/z 177，为离子 m/z 192 失去甲基的产物，离子 m/z 164 和 136 可由离子 m/z 192 分别失去一氧化碳和进行 RDA 裂解来解释。

（四）核磁共振谱

对于萜类化合物的结构测定来说，核磁共振谱是波谱分析中最为有力的工具，特别是近十年发展起来的具有高分辨能力的超导核磁分析技术和 2D-NMR 相关技术的开发和应用，不但提高了谱图的质量，而且提供了更多的结构信息，使得其它波谱分析黯然失色。鉴于萜类化合物类型多、骨架复杂、结构庞杂，难于在有限的篇幅中作全面总结和归纳，文献[39]收集整理了大量的氢谱、碳谱数据，对萜类化合物的结构测定有极其重要的参考价值。

值得注意的是，对于结构复杂的萜类化合物，仅靠单纯的氢谱或碳谱分析，鉴定出的结构往往不准确，必须仰赖于 2D-NMR 技术的应用。如前文在研究鄂北贝母中分离的对映-贝壳杉烷型（*ent*-kaurane）二萜及其二聚体结构时发现，以前这类骨架二萜的碳谱归属有误，其中 C-1、C-7、C-14 互为颠倒，通过对 *ent*-kauran-16β,17-diol 的 ^{1}H-^{1}H COSY、^{1}H-^{13}C COSY 和 NOESY 的综合分析得到证实，并重新进行了订正[40]。

二、结构鉴定实例

（一）青蒿素的结构鉴定

从民间抗疟草药黄花蒿 *Artemisia annua* 中分离出一种抗疟有效成分青蒿素（qinghaosu，artemisinin），无色针晶，熔点 156～157℃，$[\alpha]_D^{20}$ +66.3°（*c*，1.64，$CHCl_3$）。高分辨质谱示分子量为 282.1472，元素分析：C 63.72%，H 7.86%，分子式 $C_{15}H_{22}O_5$。青蒿素的 IR 光谱在 831、881、1115cm^{-1}示有过氧基的特征吸收峰，能与 1mol 的三苯基磷反应；质谱中有 m/z 250（M-32）的特征碎片；用 pd-$CaCO_3$ 催化氢化失去 1 个氧原子，形成环氧化合物，以上信息都表明青蒿素分子中含有 1 个过氧基。

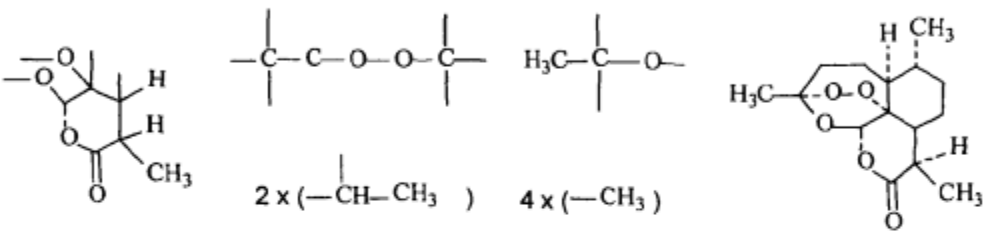
青蒿素的 IR 光谱在 1750cm^{-1}示有六元内酯环的特征吸收峰，与盐酸羟胺反应呈现内酯环的正反应；用 $NaBH_4$ 还原可生成仲羟基化合物，再用铬酐-吡啶氧化又生成青蒿素，用 NaOH 滴定，消耗 NaOH 的量为 1∶1 克分子，从而证明青蒿素分子中含有 1 个内酯基。

^{1}H-NMR（CCl_4，δ）：0.93（3H，d，J = 6Hz，H-14），1.06（3H，d，J = 6Hz，H-13），1.36（3H，s，H-15），3.26（1H，m，H-11），5.68（1H，s，H-5）。δ 1.36 低场甲基是氧同碳上的甲基，当照射 δ 3.08～3.44，可使 δ 1.06 的双峰变成单峰；反之照射 δ 1.06，可使 δ 3.08～3.44 的多重峰变成双峰，说明 δ 3.08～3.44 是与 δ 1.06 甲基相邻的一个氢。该质子因受内酯羰基的去屏蔽效应而位于较低磁场；由于照射 δ 1.06 的甲基，δ 3.08～3.44 的质子变成双峰，说明该质子邻近的碳上只有一个氢原子。在更低场的 δ 5.68（1H，s）处出现一个

单尖峰，推定是与两个氧原子相连碳上的一个氢，此质子无裂分，说明该氢原子所连的碳是与氧原子和叔碳原子相连接。

^{13}C-NMR（$CHCl_3$，22.63 MHz，δ）：在宽带去偶谱中出现相当于倍半萜的15个碳原子信号。在偏共振去偶谱中，δ 79.5（C-4）与δ 105.0（C-6）为两个季碳单峰，因位于较低磁场，提示过氧基接在这两个季碳上。δ 32.5（C-7），δ 33.0（C-10），δ 45.0（C-1）、δ 50.0（C-11）、δ 93.5（C-5）为五个叔碳双峰，其中之一位于较低磁场，可推定系与两个氧原子相连的碳原子；δ 25.0（C-8）、δ 25.1（C-9）、δ 35.3（C-2）和δ 37.0（C-3）为四个仲碳三重峰；δ 12.0（C-14）、δ 19.0（C-13）、δ 23.0（C-15）为三个甲基碳四重峰；δ 172.0为羰基碳的单峰。

根据以上分析，可以推定青蒿素有下列部分结构片断：



青蒿素(1)

通过X-射线衍射晶体分析最后确定了青蒿素的结构（1）。

（二）鄂贝酸的结构鉴定

鄂贝酸（fritillebic acid）[35]是从鄂北贝母（*Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji）中分离到的一种新的对映-贝壳杉烷（*ent*-kaurane）型二萜成分。

1. 理化常数测定　鄂贝酸为无色鳞片状结晶，mp 235～237℃，$[\alpha]_D^{20}$ −60.6°（c = 1.0，$CHCl_3$），易溶于氯仿，溶于甲醇、乙酸乙酯，不溶于水。与茴香醛-硫酸试剂显紫蓝色斑点。

2. 分子式的确定

（1）元素分析值（%）：C，72.95，H，9.39；计算值（$C_{22}H_{34}O_4$，%）：C，72.89，H，9.45。

（2）高分辨电子轰击质谱（HREI-MS）m/z：362.2458（M$^+$，$C_{22}H_{34}O_4$，计算值，362.2460）。

3. 功能团的分析　根据IR和氢谱综合分析确定鄂贝酸有3个叔甲基（δ 0.80，0.85，1.02），其中存在偕二甲基（1367，1384cm^{-1}），1个乙酰氧基（δ 2.05；1735，1250cm^{-1}），1个羧基（δ 11.53；3400～2500，1700cm^{-1}）。DEPT实验示有4个伯碳、8个仲碳、5个叔碳和5个季碳。

4. 基本骨架的确定

（1）推测：①鄂贝酸的分子式符合二萜通式；②IR光谱示有偕二甲基存在；③质谱碎片符合对映-贝壳杉烷型二萜的裂解规律；④鄂贝酸的不饱和度 Ω = 6；⑤文献报道从贝母属植物中分离到对映-贝壳杉烷型二萜。由此推测鄂贝酸具有对映-贝壳杉烷骨架。

（2）证明：①用^{1}H，^{13}CNMR和^{1}H-^{13}C COSY归属各个氢质子和碳的化学位移值和偶合常数（表6-2）；②氢、碳的化学位移值及DEPT测定的碳种类符合对映-贝壳杉烷骨架；③用DQF-COSY和RCT-COSY分析技术，证明氢相连的顺序与推测一致；④由鄂贝酸衍生物的分析进一步证实。

5. 取代基连接位置的确定　鄂贝酸中乙酰氧基的连接位置可由HMBC方法确定，即乙酰氧基同碳氢H-3（δ 4.47）与C-18（δ 28.4）、C-19（δ 16.6）以及乙酰氧基中的羧基碳（δ 171.0）之间

存在远程偶合；而且连有乙酰氧基的碳(δ 81.0)与 H-18(δ 0.85)、H-19(δ 0.84)之间也存在远程偶合[图 6-9(1)]，很显然，乙酰氧基连接在 C-3 位。而且 H-3 与 H-2 之间的偶合常数 J = 11.8,5.5Hz，表明存在 1,3-diaxial 关系，H-3 为直立键，乙酰氧基为平伏键。

表 6-2 鄂贝酸的氢谱(600MHz)和碳谱(75MHz)数据

H	δ, mult., (J, Hz)	C	δ, mult.	H	δ, mult., (J, Hz)	C	δ, mult.
1α	1.82dt(13.4,7.0)	1	38.4t	12α	1.52d(3.7)	15	44.5t
1β	0.96m	2	23.7t	12β	1.50d(3.3)	16	45.4t
2α	1.62m	3	81.0d	13	2.54br s	17	183.3s
2β	1.67m	4	37.8s	14α	1.88d(11.7)	18	28.4q
3	4.47dd(11.8,5.5)	5	55.2d	14β	1.21dd(11.6,4.9)	19	16.6q
5	0.83d(2.1)	6	20.4t	15α	1.72dd(13.5,5.9)	20	17.5q
6α	1.37dddd	7	40.8t	15β	1.64m	OAc	171.0s
	(12.1,12.1,4.2,4.2)	8	44.9s	16	2.64dd(8.9,6.1)		21.3q
6β	1.57m	9	55.7d	17	11.53br s		
7α	1.55m	10	38.9s	18	0.85s		
7β	1.53m	11	18.5t	19	0.84s		
9	0.98d(4.6)	12	31.2t	20	1.02s		
11α	1.59m	13	41.4t	OAc	s		
11β	1.59m	14	38.0t				

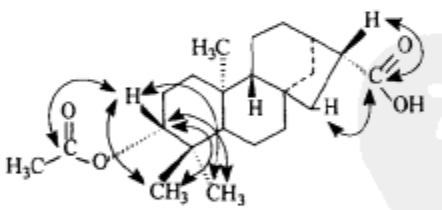


图 6-9(1) 鄂贝酸的 HMBC

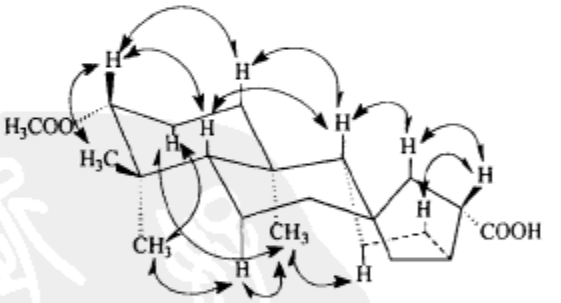


图 6-9(2) 鄂贝酸的 NOEsy

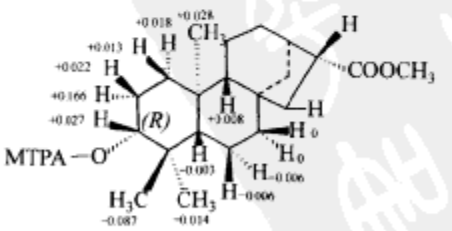
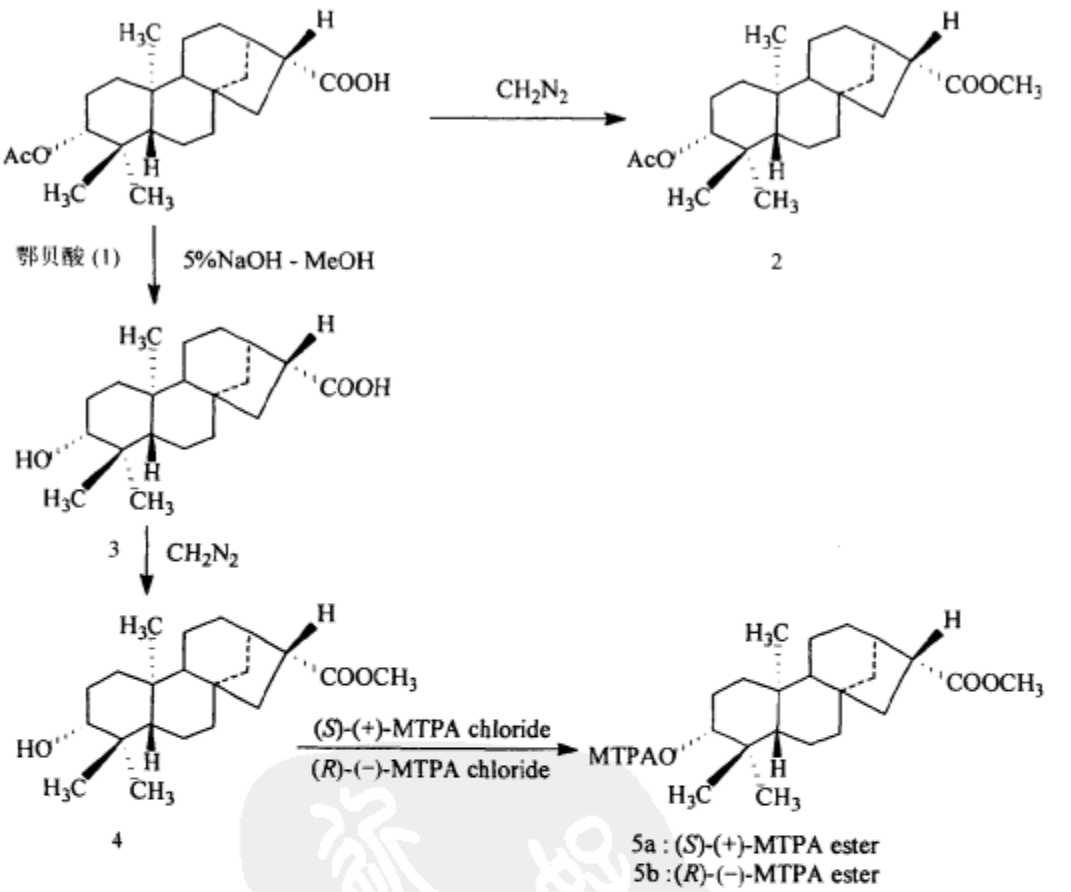


图 6-9(3) 5a,5bA 与 B 环 $\Delta\delta(\delta_s - \delta_R)$ 值

在一些对映-贝壳杉烷型二萜中，羧基往往连接在 C-16、C-18、C-19，但鄂贝酸结构存在偕二甲基 C-18、C-19。又在 DQF-COSY 谱中，H-15 除与羧基同碳氢 H-16(δ 2.64)以外，没有观察到与

任何氢存在偶合关系，证明 C-8 为季碳；另外 H-16 与 H-13 也无偶合关系，推测是由于两面角接近于 90°，而通常在贝壳杉烷型二萜中可被观察到。而且羧羰基碳 C-17（δ 183.3）与 H-15、H-16 之间存在 HMBC 相关性。上述所有结果都证实羧基定在 C-16 位。



6. 立体化学的确定

（1）相对构型：经 2D-NMR 全面分析，鄂贝酸中所有的氢质子和碳信号从化学位移值到偶合常数与 NOESY 分析的结果完全吻合，其相对构型如图 6-9(2) 所示。在 NOESY 谱中，H-20 与 H-11 存在 NOE 效应，但未观察到与 H-14 的相关峰，所以环 C 是船式构型。

（2）绝对构型：鄂贝酸的绝对构型经由新 Mosher's[41,42] 方法确定，即 1 的水解产物 3 经甲基化转变成甲酯 4，4 再与（*R*）-(+)-(*S*)-(−)-α-mathoxy-α-trifluo-romethylphenylacetic acid（MTPA）反应，生成（*S*）-MTPA 酯（5a）和（*R*）-MTPA 酯（5b），然后依据 ^{1}H -^{1}H COSY 归属 5a 和 5b 各个氢的信号，求出它们 A、B 环上对映氢的化学位移值差 $\Delta\delta(\delta_S - \delta_R)$，如图 6-9(3) 所示，+Δδ和 −Δδ 有规则的排列表明 C-3 构型为 *R* 型。而且 H-16 与 H-12β、H-15β 存在 NOE 相关峰，因此羧基存在于 C-16α 位。综上所述，鄂贝酸的绝对构型鉴定为对映-3β-乙酰氧基-16β-贝壳杉烷-17-羧酸（*ent*-3β-acetoxy-16β-kauran-17-oic acid）。

第六节 挥发油

一、概 述

挥发油(volatile oils)又称精油(essential oils),是一类具有芳香气味的油状液体的总称。在常温下能挥发,可随水蒸气蒸馏。挥发油是具有广泛生物活性的一类常见的重要成分,是古代医疗实践中较早注意到的药物,《本草纲目》中记载着世界上最早提炼、精制樟油、樟脑的详细方法。

(一) 分布和存在

挥发油类成分在植物界分布很广,主要存在种子植物,尤其是芳香植物中。在我国野生与栽培的芳香植物有56科,136属,约300种。特别是菊科植物中的菊、蒿、艾、苍术、白术、泽兰、佩兰、木香等,芸香科植物中的芸香、降香、花椒、橙、桔、枳、柠檬、佛手、吴茱萸等,伞形科植物中的小茴香、芫荽、川芎、白芷、前胡、防风、柴胡、当归、羌活、独活、蛇床等,唇形科植物中的薄荷、藿香、香薷、荆芥、紫苏、罗勒等,姜科植物中的郁金、姜黄、莪术、山柰、姜、高良姜、砂仁、豆寇等和樟科植物中的山鸡椒、乌药、肉桂、阴香、樟等最多;其次是木兰科植物中的五味子、八角茴香、厚朴、辛夷等,桃金娘科植物中的丁香、桉、白千层等,马兜铃科植物中的细辛、杜衡、马兜铃等,马鞭草科植物中的马鞭草、牡荆、蔓荆等,禾本科植物中的香茅、芸香草等,败酱科植物中的败酱、缬草、甘松等也富含挥发油;此外,如胡椒科、杜鹃花科、三白草科、松科、柏科、木犀科、蔷薇科、瑞香科、檀香科、藜科、天南星科、莎草科、毛茛科及萝摩科的某些植物中,也含有丰富的挥发油类成分。

挥发油存在于植物的腺毛、油室、油管、分泌细胞或树脂道中,大多数成油滴状存在,也有些与树脂、粘液质共同存在。还有少数以苷的形式存在,如冬绿苷。冬绿苷水解后产生葡萄糖、木糖及水杨酸甲酯,后者为冬绿油的主要成分。

挥发油在植物体中的存在部位常各不相同,有的全株植物中都含有,有的则在花、果、叶、根或根茎部分的某一器官中含量较多,随植物品种不同而差异较大。有的同一植物的药用部位不同,其所含挥发油的组成成分也有差异,如樟科桂属植物的树皮挥发油多含桂皮醛,叶中则主要含丁香酚,而根和木部含樟脑多。有的植物由于采集时间不同,同一药用部分所含的挥发油成分也不完全一样,如胡荽子当果实未熟时,其挥发油主含桂皮醛和异桂皮醛,成熟时则主含芳樟醇、杨梅叶烯。

(二) 生物活性与应用

挥发油多具有祛痰、止咳、平喘、驱风、健胃、解热、镇痛、抗菌消炎作用。例如香柠檬油对淋球菌、葡萄球菌、大肠杆菌和白喉菌有抑制作用;柴胡挥发油制备的注射液,有较好的退热效果;丁香油有局部麻醉、止痛作用;土荆芥油有驱虫作用;薄荷油有清凉、驱风、消炎、局麻作用;茉莉花油具有兴奋作用,等等。临床上早已应用的有樟脑、冰片、薄荷脑、丁香酚、百里香草酚等。随着“回归大自然”热潮的掀起,利用

精油的芳香疗法又重新崛起。

挥发油不仅在医药上具有重要的作用，在香料工业中应用也极为广泛。在香料工业生产上，尚有芳香“浸膏”、“净油”、“香膏”、“头香”等制品，多用低沸点的溶剂浸提而得。芳香浸膏是以香花为原料，经浸提、浓缩的制品。净油是将浸膏再经乙醇处理，回收乙醇而成的浓缩物，故净油有完全溶于乙醇的含义。有些芳香植物原料，以乙醇提取、浓缩的产品称为香膏。鲜花的浸提一般不直接用乙醇为溶剂，如桂花、茉莉花等浸膏多采用石油醚、苯冷浸制备，如用脂肪吸收法制备则称“香脂”。头香是用冷冻法或多孔聚合树脂吸附法所得到的鲜花芳香成分。多为鲜花中低沸点的组分，往往是能真实地反映鲜花天然香气的成分。

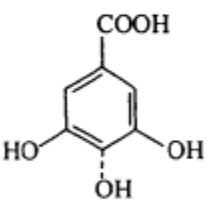
挥发油在日用食品工业及化学工业上也是重要的原料。

（三）组成和分类

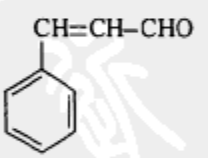
挥发油所含成分比较复杂，一种挥发油中常常由数十种到数百种成分组成，如保加利亚玫瑰油中已检出275种化合物。构成挥发油的成分类型大体上可分为如下四类，其中以萜类化合物为多见。

1. 萜类化合物　挥发油中的萜类成分，主要是单萜、倍半萜和它们含氧衍生物，而且含氧衍生物多半是生物活性较强或具有芳香气味的主要组成成分。如松节油中的蒎烯（pinene）含量为80%左右；薄荷油含薄荷醇（menthol）8%左右；山苍子油含柠檬醛（citral）8%；樟脑油含樟脑（camphor）约为50%等。前面所论及的单萜及倍半萜类化合物，除了它们的配糖体、内酯衍生物以及与其它成分混杂结合的化合物外，几乎均有挥发油存在。

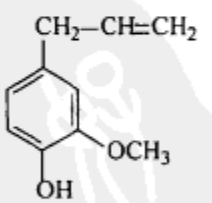
2. 芳香族化合物　在挥发油中，芳香族化合物仅次于萜类，存在也相当广泛。挥发油中的芳香族化合物，有的是萜源衍生物，如百里香草酚（thymol）、孜然芹烯（p-cy-



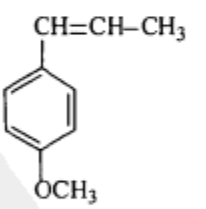
莽草酸



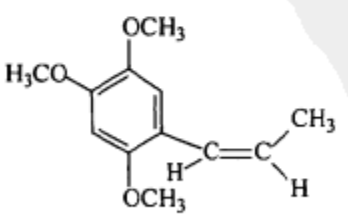
桂皮醛



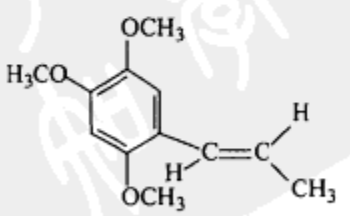
丁香酚



茴香醚



β-细辛醚

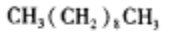


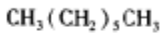
α-细辛醚

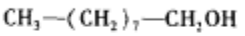
mene）、α-姜黄烯（α-curcumene）等。有一些是苯丙烷类衍生物，其结构多具有 C_6-C_3 骨架、多有一个丙烷基的苯酚化合物或其酯类。例如桂皮醛（cinnamaldehyde）存在于桂皮油中，茴香醚（anethole）为八角茴香油及茴香油中的主成分，丁香酚（eugenol）为丁香油中的主成分，α-细辛醚及β-细辛醚（α-asarone，β-asarone）为菖蒲及石菖蒲挥发油中的主成分。

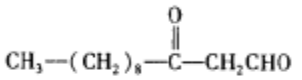
3. 脂肪族化合物　一些小分子脂肪族化合物在挥发油中常有存在。例如甲基正壬酮（methyl nonylketone）在鱼腥草、黄柏果实及芸香挥发油中存在，正庚烷（n-keptane）存在于松节油中，正癸烷（n-decane）存在于桂花的头香成分中。

甲基正壬酮

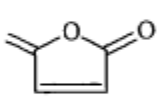

正癸烷

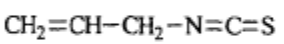

正庚烷

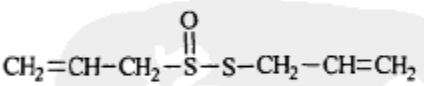

正壬醇

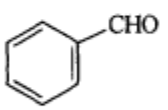

癸酰乙醛

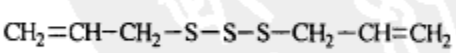
在一些挥发油中还常含有小分子醇、醛及酸类化合物。如正壬醇（n-nonyl alcohol）存在于陈皮挥发油中，异戊醛（isovaleraldehyde）存在于桔子、柠檬、薄荷、桉叶、香茅等挥发油中，癸酰乙醛（decanoylacetaldehyde），异戊酸（isovaleric acid）存在于啤酒花、缬草、桉叶、香茅、迷迭香等挥发油中。

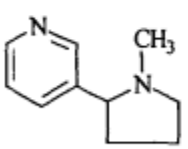

原白头翁素

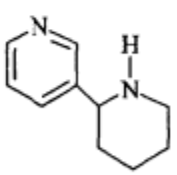

异硫氰酸烯丙酯

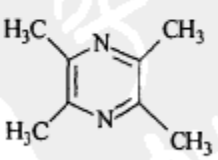

大蒜辣素


苯甲醛


大蒜新素


麻碱


毒藜碱


川芎嗪

4. 其它类化合物　除上述三类化合物外，还有一些挥发油样物质，如芥子油（mustard oil）、挥发杏仁油（volatile bitter almond oil）、原白头翁素（protoanemonin）、大蒜油（garlic oil）等，也能随水蒸气蒸馏，故也称之为“挥发油”。黑芥子油是芥子苷经芥子酶水解后产生的

异硫氰酸烯丙酯，挥发杏仁油是苦杏仁中苦杏仁苷水解后产生的苯甲醛，原白头翁素是毛茛苷水解后产生的物质，大蒜油则是大蒜中大蒜氨酸经酶水解后产生的物质，如大蒜辣素（allicin）等。

此外，如川芎、麻黄等挥发油中的川芎嗪（tetramethylpyrazine）以及苏碱（nicotine）、毒藜碱（anabasine）等生物碱，也是可以随水蒸气蒸馏的液体。但这些化合物往往不作挥发油类成分对待。

二、挥发油的性质

（一）性状

1. 颜色　挥发油在常温下大多为无色或微带淡黄色，也有少数具有其它颜色。如洋甘菊油因含有蓝类化合物而显蓝色，苦艾油显蓝绿色，麝香草油显红色。

2. 气味　挥发油大多数具有香气或其它特异气味，有辛辣烧灼的感觉，呈中性或酸性。挥发油的气味，往往是其品质优劣的重要标志。

3. 形态　挥发油在常温下为透明液体，有的在冷却时其主要成分可能结晶析出。这种析出物习称为“脑”，如薄荷脑、樟脑等。

4. 挥发性　挥发油在常温下可自行挥发而不留任何痕迹，这是挥发油与脂肪油的本质区别。

（二）溶解度

挥发油不溶于水，而易溶于各种有机溶剂中，如石油醚、乙醚、二硫化碳、油脂等。在高浓度的乙醇中能全部溶解，而在低浓度乙醇中只能溶解一定数量。

（三）物理常数

挥发油的沸点一般在70～300℃之间，具有随水蒸气而蒸馏的特性；挥发油多数比水轻，也有比水重的（如丁香油、桂皮油），比重在0.85～1.065之间；挥发油几乎均有光学活性，比旋度在+97°～177°范围内；且具有强的折光性，折光率在1.43～1.61之间。

（四）稳定性

挥发油与空气及光线接触，常会逐渐氧化变质，使之比重增加，颜色变深，失去原有香味，并能形成树脂样物质，也不能再随水蒸气而蒸馏了。因此，挥发油制备方法的选择是很重要的，其产品应贮于棕色瓶内，装满、密塞并在阴凉处低温保存。

三、挥发油的提取

（一）水蒸气蒸馏法

挥发油与水不相混合，当受热后，二者蒸气压的总和与大气压相等时，溶液即开始沸腾，继续加热则挥发油可随水蒸气蒸馏出来。因此，天然药物中挥发油成分可采用水蒸气蒸馏法来提取。提取时，可将原料粗粉在蒸馏器中加水浸泡后，直接加热蒸馏，或者将原料置有孔隔层板网上，当底部的水受热产生的蒸气通过原料时，则挥发油受热随水蒸气同时蒸馏出来，收集蒸馏液，经冷却后分取油层。

此方法具有设备简单，操作容易，成本低、产量大、挥发油的回收率较高等优点。但原料易受强热而焦化，或使成分发生变化，所得挥发油的芳香气味也可能变味，往往降低作为香料的价值，应加以注意。而且有的挥发油（如玫瑰油）含水溶性化合物较多，可将初次蒸馏液再重新蒸气蒸馏，并盐析后用低沸点有机溶剂萃取出来。

（二）浸取法

对不宜用水蒸气蒸馏法提取的挥发油原料，可以直接利用有机溶剂进行浸取。常用的方法有油脂吸收法、溶剂萃取法、超临界流体萃取法。

1. 油脂吸收法　油脂类一般具有吸收挥发油的性质，往往利用此性质提取贵重的挥发油，如玫瑰油、茉莉花油常采用吸附法进行。通常用无臭味的猪油 3 份与牛油 2 份的混合物，均匀地涂在面积 50cm × 100cm 的玻璃板两面，然后将此玻璃板嵌入高 5 ~ 10cm 的木制框架中，在玻璃板上面铺放金属网，网上放一层新鲜花瓣，这样一个个的木框玻璃板重叠起来，花瓣被包围在两层脂肪的中间，挥发油逐渐被油脂所吸收，待脂肪充分吸收芳香成分后，刮下脂肪，即为“香脂”，谓之冷吸收法。或者将花等原料浸泡于油脂中，于 50 ~ 60℃条件下低温加热，让芳香成分溶于油脂中，此则为温浸吸收法。吸收挥发油后的油脂可直接供香料工业用，也可加入无水乙醇共搅，醇溶液减压蒸去乙醇即得精油。

2. 溶剂萃取法　用石油醚（30 ~ 60℃）、二硫化碳、四氯化碳、苯等有机溶剂浸提。浸取的方法可采用回流浸出法或冷浸法，减压蒸去有机溶剂后即得浸膏。得到的浸膏往往含有植物蜡类等物质，可利用乙醇对植物蜡等脂溶性杂质的溶解度随温度的下降而降低的特性，先用热乙醇溶解浸膏，放置冷却，滤除杂质，回收乙醇后即得净油。

3. 超临界流体萃取法　二氧化碳超临界流体萃取方法和溶剂萃取技术相似，用这种技术提取芳香挥发油，具有防止氧化、热解及提高品质的突出优点。所得芳香挥发油气味与原料相同，明显优于其它方法。但由于工艺技术要求高，设备费用投资大，在我国应用还不普遍。

（三）冷压法

此法适用于新鲜原料，如桔、柑、柠檬果皮含挥发油较多的原料，可经撕裂，捣碎冷压后静置分层，或用离心机分出油分，即得粗品。此法所得挥发油可保持原有的新鲜香味，但可能溶出原料中的不挥发性物质。例如柠檬油常溶出原料中的叶绿素，而使柠檬油呈绿色。

四、挥发油成分的分离

从植物中提取出来的挥发油往往为混合物，根据要求和需要，可作进一步分离与纯化，以获得单体成分，常用方法如下：

（一）冷冻处理

将挥发油置于 0℃以下使析出结晶，如无结晶析出可将温度降至 -20℃，继续放置。取出结晶再经重结晶可得纯品。例如薄荷油冷至 -10℃，12 小时析出第一批粗脑，油再在 -20℃冷冻 24 小时可析出第二批粗脑，粗脑加热熔融，在 0℃冷冻即可得较纯薄荷脑。

（二）分馏法

由于挥发油的组成成分多对热及空气中的氧较敏感，因此分馏时宜在减压下进行。通常在35～70℃/10mmHg被蒸馏出来的为单萜烯类化合物，在70～100℃/10mmHg被蒸馏出来的是单萜的含氧化合物，在更高的温度被蒸馏出来的是倍半萜烯及其含氧化合物，有的倍半萜含氧化合物的沸点很高，所得的各馏份中的组成成分有时呈交叉情况。蒸馏时，在相同压力下，收集同一温度蒸馏出来的部分为一馏份，将各馏份分别进行薄层色谱或气相色谱。必要时结合物理常数如比重、折光率、比旋度等的测定，以了解其是否已初步纯化。还需要经过适当的处理分离，才能获得纯品。如薄荷油在200～220℃的馏份，主要是薄荷脑，在0℃下低温放置，即可得到薄荷脑的结晶，再进一步重结晶可得纯品。

（三）化学方法

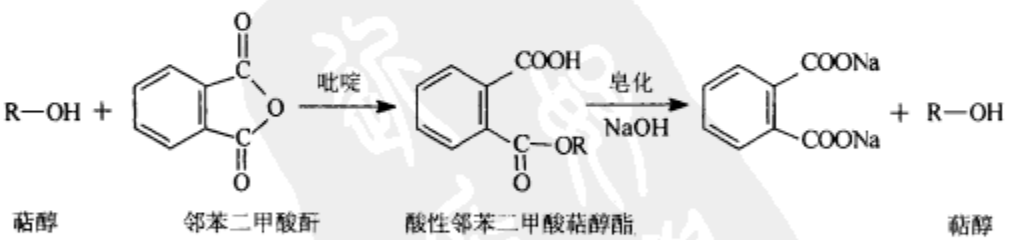
1. 利用酸、碱性不同进行分离

（1）碱性成分的分离：挥发油经过预试若含有碱性成分，可将挥发油溶于乙醚，加10%盐酸或硫酸萃取，分取酸水层，碱化，用乙醚萃取，蒸去乙醚可得碱性成分。

（2）酚、酸性成分的分离：将挥发油溶于等量乙醚中，先以5%的碳酸氢钠溶液直接进行萃取，分出碱水液，加稀酸酸化，用乙醚萃取，蒸去乙醚，可得酸性成分。继用2%氢氧化钠溶液萃取，分取碱水层、酸化后，用乙醚萃取，蒸去乙醚可得酚性成分。工业上从丁香罗勒油中提取丁香酚就是应用此法。

2. 利用功能团特性进行分离　对于一些中性挥发油，多利用功能团的特性制备成相应的衍生物的方法进行分离。

（1）醇化合物的分离：将挥发油与丙二酸单酰氯或邻苯二甲酸酐或丁二酸酐反应生成酯，再将生成物溶于碳酸钠溶液，用乙醚洗去未作用的挥发油，碱溶液皂化，再以乙醚提出所生成的酯，蒸去乙醚残留物经皂化而得到原有的醇成分。



萜醇　　邻苯二甲酸酐　　酸性邻苯二甲酸萜醇酯　　萜醇

（2）醛、酮化合物的分离：分别除去酚、酸成分的挥发油母液，经水洗至中性，以无水硫酸钠干燥后，加亚硫酸氢钠饱和液振摇，分出水层或加成物结晶，加酸或碱液处理，使加成物水解，以乙醚萃取，可得醛或酮类化合物。也可将挥发油与吉拉德试剂T或P回流1小时，使生成水溶性的缩合物，用乙醚除去不具羰基的组分，再以酸处理，又可获得羰基化合物。有些酮类化合物和硫化氢生成结晶状的衍生物，此物质经碱处理又可得到酮化合物。

（3）其它成分的分离：挥发油中的酯类成分，多使用精馏或色谱分离；醚萜成分在挥发油中不多见，可利用醚类与浓酸形成铎盐易于结晶的性质从挥发油中分离出来。如桉叶油中的桉油精（eucalyptol）属于醚成分，它与浓磷酸可形成白色的磷酸盐结晶。或利用Br_2、HCl、HBr、$NOCl_2$等试剂与双键加成，这种加成产物常为结晶状态，可借以分离和纯化。

用化学法系统分离挥发油中各种单一成分，其流程可用图 6-10 表示。

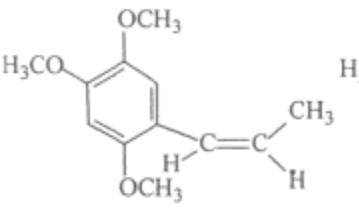
图 6-10 挥发油化学法系统分离流程图

（四）色谱分离法

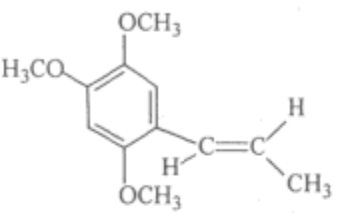
色谱法中以硅胶和氧化铝吸附柱色谱应用最广泛。由于挥发油的组成分多而复杂，分离多采用分馏法与吸附色谱法相结合，往往能得到较好效果。一般将分馏的馏份溶于石油醚或己烷等极性小的溶剂，使其通过硅胶或氧化铝吸附柱，依次用石油醚、己烷、乙酸乙酯等，按一定比例组成的混合溶剂进行洗脱。洗脱液分别以 TLC 进行检查，这样使每一馏份中的各成分又得到了分离。如香叶醇和柠檬烯常常共存于许多植物的挥发油中，如将其混合物溶于石油醚，使其通过氧化铝吸附柱，用石油醚洗脱，由于柠檬烯的极性小于香叶醇，吸附较弱，可被石油醚先洗脱下来，然后再改用石油醚中加入少量甲醇的混合溶剂冲洗，则香叶醇就被洗脱下来，使二者得到分离。

除采用一般色谱法之外，还可采用硝酸银柱色谱或硝酸银 TLC 进行分离。这是根据挥发油成分中双键的多少和位置不同，与硝酸银形成 π 络合物难易程度和稳定性的差别，而得到色谱分离。一般硝酸银浓度 2% ~2.5% 较为适宜。例如 α-细辛醚（α-asarone）、β-细辛醚（β-asarone）和欧细辛醚（eduasarone）的混合物，通过用 2% $AgNO_3$ 处理的硅胶柱，用苯-乙醚（5∶1）洗脱，分别收集，并用 TLC 检查。α-细辛醚苯环外双键为反式，与 $AgNO_3$ 络合不

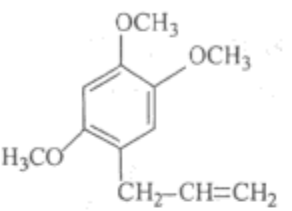
牢固，先被洗下来。β-细辛醚为顺式，与 $AgNO_3$ 络合的能力虽然大于 α-细辛醚，但小于欧细辛醚，因欧细辛醚的双键为末端双键，与 $AgNO_3$ 结合能力最强，故 β-细辛醚第二个被洗下来，欧细辛醚则最后被洗下来。



β-细辛醚



α-细辛醚



欧细辛醚

气相色谱是研究挥发油组成成分的好方法，有些研究应用制备性气—液色谱，成功地将挥发油成分分开，使所得纯品能进一步应用四大波谱加以确切鉴定。制备性薄层色谱结合波谱鉴定，也是常用的方法。

五、挥发油成分的鉴定

（一）物理常数的测定

相对密度、比旋度、折光率和凝固点等是鉴定挥发油常测的物理常数。

（二）化学常数的测定

酸值、皂化值、酯值是重要的化学常数，也是表示质量的重要指标。

1. 酸值　酸值是代表挥发油中游离羧酸和酚类成分的含量，以中和 1g 挥发油中含有游离的羧酸和酚类所需要氢氧化钾毫克数来表示。

2. 酯值　代表挥发油中酯类成分含量，以水解 1g 挥发油所需氢氧化钾毫克数来表示。

3. 皂化值　以皂化 1g 挥发油所需氢氧化钾毫克数来表示。事实上，皂化值等于酸值和酯值之和。

测定挥发油的 pH 值，如呈酸性反应，表示挥发油中含有游离酸或酚类化合物，如呈碱性反应，则表示挥发油中含有碱性化合物，如挥发性碱类等。

（三）功能团的鉴定

1. 酚类　将挥发油少许溶于乙醇中，加入三氯化铁的乙醇溶液，如产生蓝色、蓝紫或绿色反应，表示挥发油中有酚类物质存在。

2. 羰基化合物　用硝酸银的氨溶液检查挥发油，如发生银镜反应，表示有醛类等还原性物质存在，挥发油的乙醇溶液加 2,4-二硝基苯肼、氨基脲、羟胺等试剂，如产生结晶形衍生物沉淀，表明有醛或酮类化合物存在。

3. 不饱和化合物和萜类衍生物　于挥发油的氯仿溶液中滴加溴的氯仿溶液，如红色褪去表示油中含有不饱和化合物，继续滴加溴的氯仿溶液，如产生蓝色、紫色或绿色反应，则表明油中含有萜类化合物。此外，在挥发油的无水甲醇溶液中加入浓硫酸时，如有萜类衍生物应产生蓝色或紫色反应。

4. 内酯类化合物　于挥发油的吡啶溶液中，加入亚硝酰氯化钠试剂及氢氧化钠溶液，如出现红色并逐渐消失，表示油中含有 α、β 不饱和内酯类化合物。

（四）色谱法的应用

1. 薄层色谱　在挥发油的分离鉴定中 TLC 应用较为普遍，色谱条件如下：

吸附剂：多采用硅胶 G 或 Ⅱ ~ Ⅲ 级中性氧化铝 G

展开剂：(1) 石油醚

(2) 石油醚-乙酸乙酯：(95∶5；75∶25)

(3) 苯-甲醇(95∶5；75∶25)

显示剂：香草醛-浓硫酸，茴香醛-浓硫酸

2. 气相色谱法　气相色谱法现已广泛用于挥发油的定性和定量分析。用于定性分析主要解决挥发油中已知成分的鉴定，即利用已知成分的标准品与挥发油在同一条件下，相对保留值所出现的色谱峰，以确定挥发油中某一成分。对于挥发油中许多未知成分，同时又无标准品作对照时，则应选用气相色谱-质谱(GC/MS)联用技术进行分析鉴定。

3. 气相色谱-质谱(GC/MS)联用法　该法已成为对化学组成极其复杂的挥发油进行定性分析的一种有力手段。现多采用气相色谱-质谱-数据系统联用(GC/MS/DS)技术，大大提高了挥发油分析鉴定的速度和研究水平。分析时，首先将样品注入气相色谱仪内，经分离后得到的各个组分依次进入分离器，浓缩后的各组分又依次进入质谱仪。质谱仪对每个组分进行检测和结构分析，得到每个组分的质谱，通过计算机与数据库的标准谱对照的组分，则可根据质谱碎片规律进行解析，并参考有关文献数据加以确认。

（五）挥发油研究实例——水泽兰净油的研究

菊科植物水泽兰 *Eupatorium stoechadosmum* 又名佩兰。全草有行血散瘀作用，其挥发油对流感病毒有抑制作用，花和叶有淡雅的香气，在民间水泽兰用作中药和香料。

水泽兰净油是用新鲜叶片(2.2kg)加乙醇浸提，制取浸膏 30g，浸膏中加入无水乙醇 50ml，于 -30℃冷浴中放置过夜脱腊，蒸出溶剂后，减压精馏，在沸程 122 ~ 192℃/18mmHg 下收集挥发性成分 5.2g，为有清香气息的黄色透明液体。用气相色谱-质谱-数据系统联用(GC/MS/DS)技

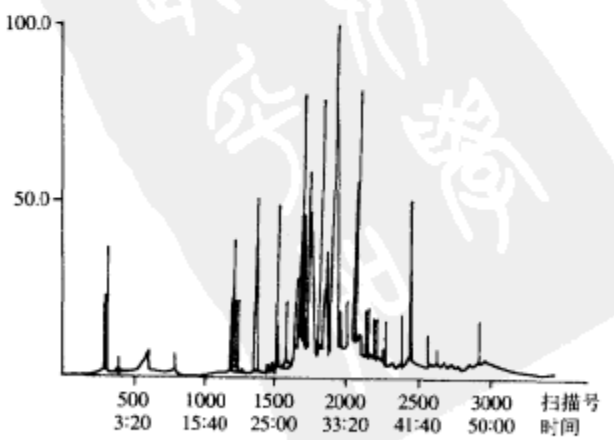


图 6-11　水泽兰净油总离子流图

术鉴定，结果得到有61个峰的总离子流图（图6-11）。

根据萜烯类化合物及其衍生物的裂解规律解析图谱，与标准图谱对照，并结合薄层色谱与光谱联用（TLC/SP）分析结果，确定了42个化学成分（表6-3）。其中β-反金合欢烯、α-金合欢烯、β-石竹烯（β-丁香烯）、香豆素、3-(4′,8′-二甲基-3′,7′-二烯-6′-壬酮）呋喃、对甲氧基苯乙酮、对甲氧基苯丙酮等是水泽兰净油的主成分[43]（表6-3）。

表6-3 水泽兰净油鉴定结果

峰号	扫描号	分子量	分子式	中文名称	鉴定方法
1	428	88	$C_4H_8O_2$	2-甲基丙酸	MS
2	578	102	$C_5H_{10}O_2$	2-甲基丁酸	MS
3	637	100	$C_5H_8O_2$	E-2-甲基巴豆酸	MS
4	659	100	$C_5H_8O_2$	E-2-甲基巴豆酸	MS
5	774	136	$C_{10}H_{16}$	非兰烯	MS
6	814	134	$C_{10}H_{14}$	对伞花烃	MS
7	822	136	$C_{10}H_{16}$	茨烯	MS
8	952	156	$C_{11}H_{24}$	正十一烷	MS
9	1214	152	$C_{10}H_{16}O$	桧醇	MS
10	1244	146	$C_{10}H_{10}O$	4,7-二甲基苯并呋喃	MS
11	1270	164	$C_{10}H_{12}O_2$	1-异丙基-2-甲氧基-4-甲苯	MS
12	1291	164	$C_{10}H_{12}O_2$	2-异丙基-1-甲氧基-4-甲苯	MS
13	1311	134	$C_9H_{10}O$	2-烯丙基苯酚	MS
14	1397	150	$C_9H_{10}O_2$	对甲氧基苯乙酮	MS
15	1477	126	$C_8H_{14}O$	3-甲基-5-庚烯-2-酮	MS
16	1495	104	$C_{15}H_{24}$	1,3,4,5,6,7-六氢-2,5,5-三甲基乙撑萘	MS
17	1541	204	$C_{15}H_{24}$	香树烯	MS IR
18	1557	204	$C_{15}H_{24}$	长叶松烯	MS
21	1607	204	$C_{15}H_{24}$	α-木罗烯	MS
22	1670	164	$C_{10}H_{12}O_2$	对甲氧基苯丙酮	MS
23	1698	194	$C_{12}H_{18}O_2$	1,4-二甲氧基-2,3,5,6-四甲苯	MS IR
24	1723	204	$C_{15}H_{24}$	β-石竹烯	MS IR
25	1733	204	$C_{15}H_{24}$	香柠檬烯	MS
26	1765	204	$C_{15}H_{24}$	β-顺金合欢烯	MS
27	1784	146	$C_9H_6O_2$	香豆素	IR NMR MS UV
28	1792	204	$C_{15}H_{24}$	β-瑟林烯	MS
30	1848	204	$C_{15}H_{24}$	α-金合欢烯	MS IR
31	1873	222	$C_{15}H_{26}O$	金合欢醇	MS
32	1882	204	$C_{15}H_{24}$	β-红没药烯	MS
33	1941	204	$C_{15}H_{24}$	β-反金合烯	MS IR
34	1956	222	$C_{15}H_{26}O$	τ-杜松醇	MS
35	1977	220	$C_{15}H_{24}O$	檀香醇	MS
38	2072	206	$C_{15}H_{26}$	氢化香附烯	MS

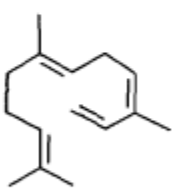
续表

峰号	扫描号	分子量	分子式	中文名称	鉴定方法
39	2094	232	$C_{15}H_{20}O_2$	3-(4′,8′-二甲基3′,7′-二烯-6′-壬酮)呋喃(E)	MS IR
45	2264	224	$C_{15}H_{28}O$	6,7-二氢顺式金合欢烯	MS
46	2273	220	$C_{15}H_{24}O$	4a,5,67,8,8a 六氢-7-异丙基-4a,8a-二甲萘酮-2	MS
47	2294	218	$C_{15}H_{22}O$	β-甜橙醛	MS
49	2403	232	$C_{15}H_{20}O_2$	Z-3-(4′,8′-二甲基-3′,7′-二烯-6′-壬酮)呋喃	MS
54	2608	268	$C_{18}H_{36}O$	6,10,14-三甲基-2-十五酮	MS
56	2654	240	$C_{16}H_{32}O$	正十六酮	MS
57	2711	268	$C_{18}H_{36}O$	正十八醛	MS
59	2867	206	$C_{11}H_{10}O_4$	梨莓素	MS

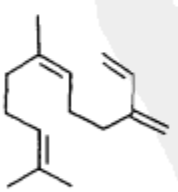
GC/MS/DS 条件:Finnigan 4021 色质联用仪,毛细管柱。固定相 DB-5 60M 50.24mm,程序升温 70~200℃,4℃/min,进样 0.6μl,分流比 1:30。气化温度 200℃;载气 He;离子源:电子轰击,电压 70eV,离子源温度:250℃;扫描范围:m/z 35~400

一般薄层分离是很难分离只是立体异构有差别(如β-反金合欢烯和β-顺金合欢烯),或其双键数目不同(如金合欢醇和6,7-二氢金合欢醇)的萜烯化合物,但在硝酸银浸渍薄层色谱上能够进行分离。通过离心、吸附和硝酸银浸渍薄层色谱分离出17、23、24、27、30、33、38、39、51、61等组分,分别测定其红外光谱,利用标准图谱和红外指纹区的对照,像三个金合欢烯的异构体能很快确定下来。

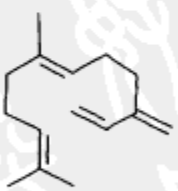
第30组分在800cm^{-1}处有吸收峰,在890cm^{-1}没有峰,说明没有—C═CH_2结构,应属α-型。第33组分在890cm^{-1}、920cm^{-1}、985cm^{-1}有吸收峰,而且890cm^{-1}吸收峰较强,无疑是β-型。这在质谱图上是难以区别的。再依照质谱峰相对强弱,确定了第26组分为顺式,第33组分为反式。从这三种金合欢烯的结构看,ν_{C-H}振动吸收峰应为:



α-金合欢烯
840~800 cm^{-1}
900、910 cm^{-1}



β-顺金合欢烯
840~800 cm^{-1}
900、910 cm^{-1}
890 cm^{-1}

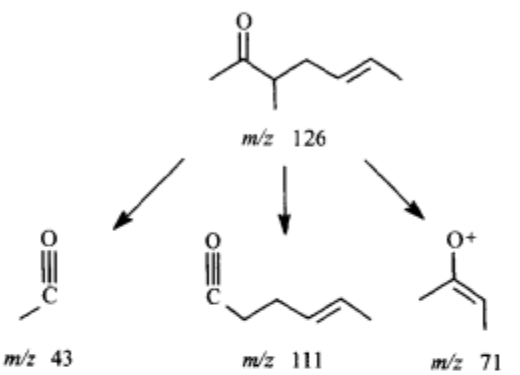


β-反金合欢烯
840~800 cm^{-1}
900、910 cm^{-1}
890 cm^{-1}

第27组分是净油中含量较高的成分,但依据GC/MS/DS给的结果难以确定,经过离心薄层色谱分离得到纯品,用红外光谱、核磁共振及紫外光谱测定,均可确定为香豆素,将香豆素纯品再与标准品在三种不同溶剂系统进行TLC对比,均获得一致的R_f值。利用薄层色谱原位反应,把香豆素进行水解并与香豆酸标准品进行薄层色谱对比,其R_f值也一致。

第15组分由GC/MS/DS给的数据也不好解释,根据质谱碎裂特点,参照非共轭脂肪酮裂规

律进行解析，126(M^+)、111、43 给出 $CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-C_6H_{11}$ 结构，参考大量该结构类似化合物标准图谱，只有 $CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-CH-CH=CH-CH_3$ 的结构才能给出较强的 *m/z* 71 峰。因此确定为3-甲基-5-庚烯-2-酮。



参 考 文 献

[1] Deron, T. K. et al Handbook of Naturally Occuring Compounds. Vol. II, Terpenes, Academic Press, 1972

[2] Glasby, J. S. Encyclopaedia of The Terpenoids (1807 ~ 1982), A ~ H, I ~ Z, John Wilye & Sons, 1984

[3] Connolly, J. D. & Hill, R. A. Dictionary of Terpenoids Vol. 1, 2, 3, Chaoman & Hall, 1991

[4] 三橋 博，他. 天然物化学. 改订第四版. 南江堂，1992. 33，92，97，99，115，117

[5] Robinson, T. The Organic Constituents of Higher Plants Cordus Press 1991; 133

[6] 刘纪云等. 药学学报 1980; 15: 271

[7] 肖崇厚主编. 中药化学. 上海科学技术出版社，1987. 340

[8] EL-Naggar Leticia J. *et al*. J. Nat. Prod. 1980; 43: 649

[9] Boros, C. A. et al. J. Nat. Prod. 1990; 53: 1055; 1991; 54: 1173

[10] 柴田承二，他. 药学杂志（日），1957; 77: 116

[11] 井上博之，他. 药学杂志（日），1966; 86: 1202

[12] Kubota, T. et al. Bull. Chem. Soc. Japan, 1961; 34: 1345

[13] 余竞光. 海洋药物 1983; (3): 166; (4): 207

[14] 青蒿素研究协作组. 科学通报 1977; 22(3): 142; 药学学报 1979; 14(2): 49

[15] 李英等. 科学通报 1979; 24(14): 667

[16] 刘静明. 化学学报 1979; 37(2): 12

[17] 赵凯存等. 药学学报 1993; 28(5): 342

[18] Buckingham John. Dictionary of Organic Compounds. Sixth supplement, G-60032, 1988

[19] 李瑜等. 高等学校化学学报 1985; 6(5): 416

[20] Rowe J W. The Common and Systematic Nameclature of Cyclic Diterpenoids, 1968

[21] 秦国伟等. 药学学报 1980；15(11)：41
[22] 四川中药研究所. 中草药通讯 1978；(8)：1
[23] 孟正木. 药学学报 1981；16(8)：571
[24] Sticher O. J. Medicinal Plant Research，1993；59(1)：1
[25] 李莲珠等. 化学学报 1982；40(8)：757
[26] 王伟成等. 中国药理学报 1982；3：118
[27] 魏一生等. 中国药理学报 1991；12(5)：406
[28] 马鹏程等. 药学学报 1991；26(10)：759
[29] Wani M C. et al. J. Am. Chem. Soc.，1971；94：1354
[30] 梁敬钰等. 中草药 1997；28(增刊)：39
[31] Hanson J R. et al. Natural Product Reports 1993；10：302
[32] 李明谦等. 化学通报 1985；12：15
[33] 吴继洲等. 中草药 1989；20(12)：533
[34] 吴继洲等. 高等学校化学学报 1992；13(5)：658
[35] Wu，J. Z. et al. Chem. Pharm. Bull. 1995；43(9)：1448
[36] 吴继洲等. 药学学报 1999；34(8)：600
[37] Wu J Z. et al. J. Asia Nat. Prod. Res. 1999，1(4)：251；2000；2(2)：167；2002；4(3)：309
[38] 丛浦珠. 质谱学在有机化学中的应用. 科学出版社，1987. 595-737
[39] 于德泉，等. 分析化学手册（第五分册）—核磁共振波谱分析. 化学工业出版社，1989. 282～372，675～711
[40] 吴继洲等. 中草药 2000；31(1)：8
[41] Kusumi T. et al. Tetrahedron Lett.，1988；29，4731
[42] Ohtani I. et al. J. Am. Chem. Soc.，1991；113，4092
[43] 林祖铭等. 北京大学学报（自然科学版）19856；(6)：61；化学通报 1984；(4)：30

（吴继洲）

第七章 三萜及其苷类

第一节 概 述

多数三萜(triterpenoids)是由30个碳原子组成的萜类化合物,根据"异戊二烯定则",多数三萜被认为是由6个异戊二烯(三十个碳)缩合而成的,该类化合物在自然界广泛存在,有的以游离形式存在,有的则与糖结合成苷的形式存在。该苷类化合物多数可溶于水,水溶液振摇后产生似肥皂水溶液样泡沫,故被称为三萜皂苷(triterpenoid saponins),该类皂苷多具有羧基,所以有时又称之为酸性皂苷。

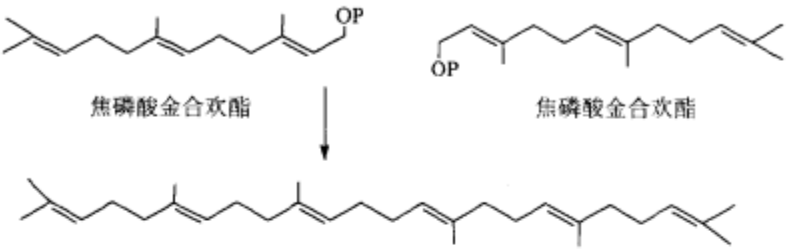
三萜及其皂苷广泛存在于自然界,菌类、蕨类、单子叶、双子叶植物、动物及海洋生物中均有分布,尤以双子叶植物中分布最多。文献报道游离三萜主要来源于菊科、豆科、大戟科、楝科、卫茅科、茜草科、橄榄科、唇形科等植物。三萜皂苷在豆科、五加科、葫芦科、毛茛科、石竹科、伞形科、鼠李科、报春花科等植物分布较多。

由于色谱等分离手段、波谱等结构测定技术、分子和细胞水平的活性测试方法的迅速发展,使结构相似的三萜类化合物及其皂苷的研究得到很大发展。越来越多的新的三萜及其皂苷被分离和鉴定,具有生物活性的该类化合物也不断被发现。如1963~1970年8年间报道的游离三萜为232个[1],1990~1994年5年间发现的新三萜类化合物约为330个,许多为新的骨架类型[2];1966~1972年7年间仅有30个皂苷[3]的结构被鉴定,而1987~1989年2年半中就有1000多个新皂苷[4]被分离鉴定。由于皂苷具有多种生物活性,显示出广泛的应用前景,所以皂苷类化合物已成为天然药物研究中的一个重要领域。

三萜皂苷是由三萜皂苷元(triterpene sapogenins)和糖组成的,常见的苷元为四环三萜和五环三萜。常见的糖有葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸,另外还有呋糖、鸡纳糖、芹糖、乙酰基和乙酰氨基糖等,多数糖为吡喃型糖,但也有呋喃型糖。有些苷元或糖上还有酰基等。这些糖多以低聚糖形式与苷元成苷,成苷位置多为3位或与28位羧基成酯皂苷(ester saponins),另外也有与16、21、23、29位等羟基成苷的。根据糖链的多少,可分单糖链苷(monodemosides)、双糖链苷(bisdemosides)、三糖链皂苷(tridesmosidic saponins)。当原生苷由于水解或酶解,部分糖被降解时,所生成的苷叫次皂苷(prosapogenins)。

第二节　三萜类化合物的生物合成

对三萜类化合物生物合成(biosynthesis)的研究表明三萜是由鲨烯(squalene)经过不同的途径环合而成,鲨烯是由倍半萜金合欢醇(farnesol)的焦磷酸酯尾尾缩合生成。

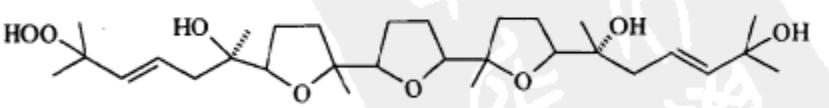


焦磷酸金合欢酯　　焦磷酸金合欢酯

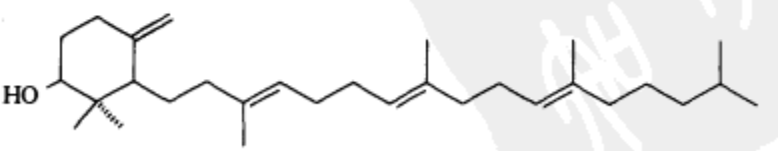
鲨烯

已发现的三萜类化合物结构类型很多,多数三萜为四环三萜和五环三萜,也有少数为链状、单环、双环和三环三萜。近几十年还发现了许多由于氧化、环裂解、甲基转位、重排及降解等而产生的结构复杂的高度氧化的新骨架类型的三萜类化合物[2],[5]。

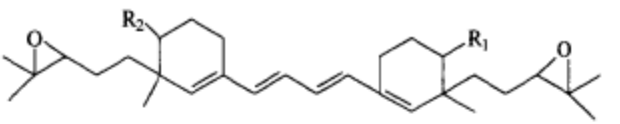
无环三萜多为鲨烯类化合物,从苦木科植物 *Eurycoma longifolia* 得到的一个鲨烯类三萜化合物 logilene peroxide,结构中有 8 个不对称碳,三个呋喃环[6]。单环三萜中的单环多为六元环,环上取代基除甲基和亚甲基外,还连有 1 ~ 3 个侧链。从蓍属植物 *Achillea odorata* 中分离得到蓍醇 A(achilleol A)具有新单环骨架,这是 2,3-环氧鲨烯(squalene-2,3-epoxide)在生物合成时环化反应停留在第一步的首例[7]。对双环和三环三萜的报道逐步增多,从一种太平洋的海棉中得到的 2 个双环三萜醇(naurol A 和 B)是一对立体异构体,在结构中心具有一个线型共轭四烯[8]。蓍醇 B(achilleol B)是和蓍醇 A 从同一植物获得的,具有新的三环结构骨架,从生源关系可知蓍醇 B 是从蓍醇 A 产生的,B 中另外 2 个双环(B 和 C 环)的形成与后述五环三萜(β-amyrin)D 和 E 环的形成是经历同样的途径[9]。



longilene peroxide

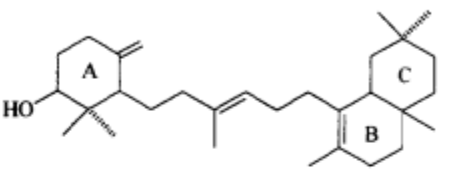


achilleol A



naurol A $R_1=R_2=\beta$ -OH

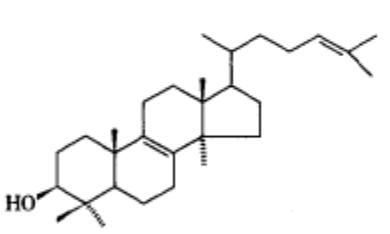
naurol B $R_1=R_2=\alpha$ -OH



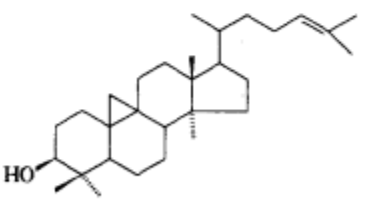
achilleol B

三萜生物合成所包括的内容非常广泛，Abe 等对鲨烯和环氧鲨烯通过酶环化形成甾醇和三萜的内容及此研究领域的一些进展进行了综述[10]，本章只涉及三萜生物合成的一些显著特点[2]。

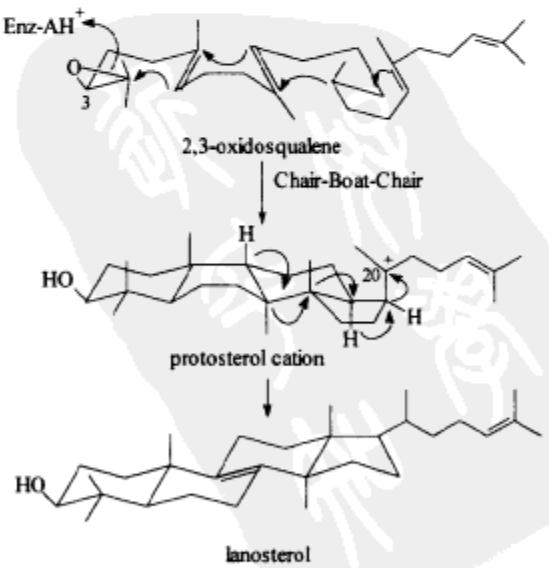
在甾体和三萜的生物合成中，在酶的作用下鲨烯和环氧鲨烯的环合是最重要的途径。现在，人们认为在动物和真菌中的羊毛甾醇（lanosterol）和植物体内的环阿屯醇（cycloartenol）是由（3S）-环氧鲨烯（oxidosqualene）环化形成的。此环化反应始于酶的氨基酸残基的酸（Enz-AH$^+$）催化的环氧乙烷开环反应，同时邻位有 π 键参与反应。羊毛甾醇或环阿屯醇可能由（3S）-环氧鲨烯的椅-船-椅式构象形成的。



lanosterol

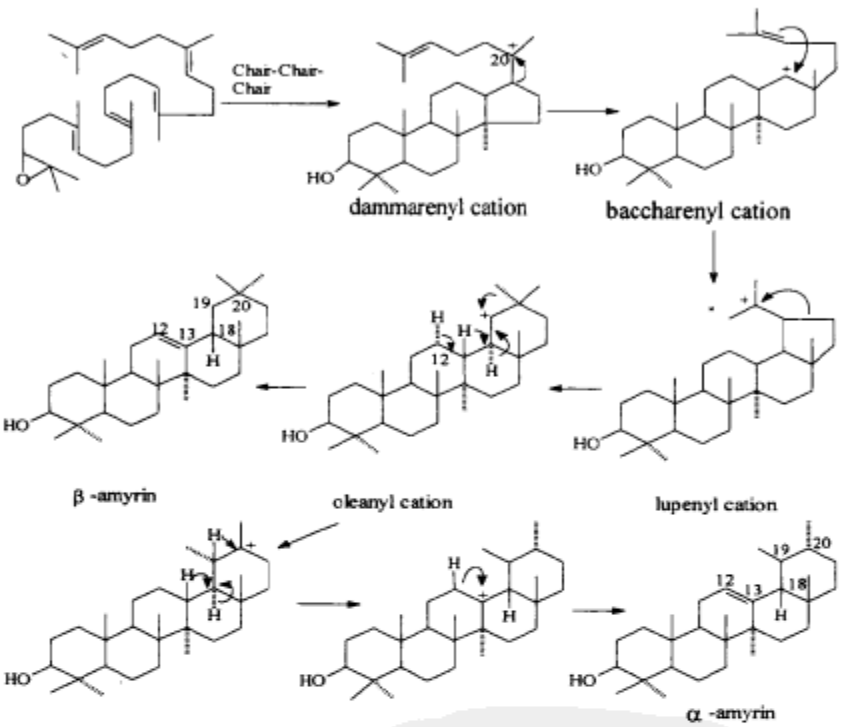


cycloartenol



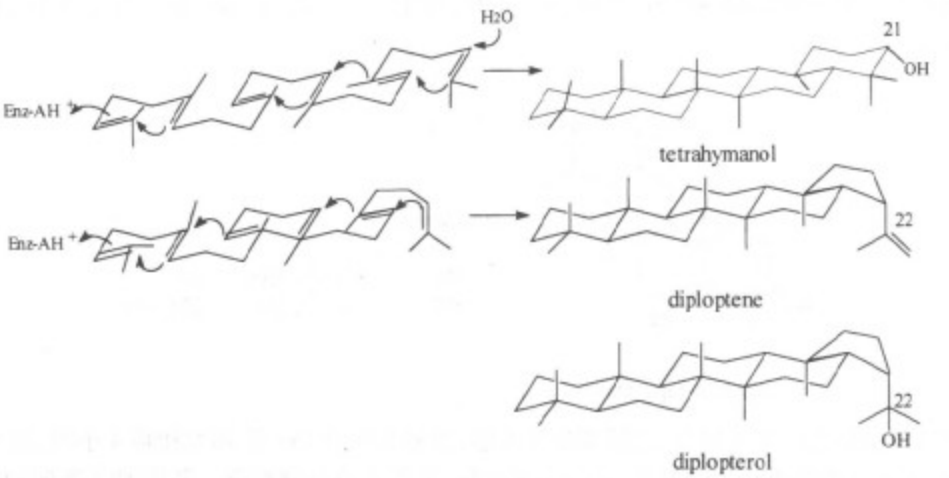
五环三萜是由椅-椅-椅式构象形成的。五环三萜的环化反应是先形成达玛烷 C-20 正离子（dammarenyl C-20 cation），再经过紫苑烷、羽扇豆烷和齐墩果烷碳正离子系（baccharenyl，lupenyl

and oleanyl cationic species)重排形成五环β-香树脂和α-香树脂(β-amyrin and α-amyrin)。在一种植物(*Rabdistia japonica*)细胞悬浮培养中把2位和5位进行氚标记的甲戊二羟酸酯作为前体形成了齐墩果酸和乌苏酸的生物合成过程进一步证明了上述β-和α-香树脂的形成机制。



近些年来,在对鲨烯环化酶(squalene cyclase)和环氧鲨烯酶的研究方面取得很大进展。Barton等在1975年报道了真核生物的环氧鲨烯环化酶只接受(3S)-环氧鲨烯,不接受(3R)-环氧鲨烯为底物。随后对细菌的鲨烯环化酶的研究表明这些酶只有很低的底物特异性,它们能环化天然底物的鲨烯和(3S)或(3R)-环氧鲨烯。有人认为原核生物鲨烯环化酶在进化的厌氧微生物期就已经存在了。鲨烯经环氧鲨烯而环化的过程是一个相对较晚的进化过程,只是在光合的生物体进化完后才发生。在原核生物和细菌中,由鲨烯环化成tetrahymanol或diploptene/diplopterol的过程没有碳骨架的重排,环化成tetrahymanol的过程首先是一个质子进攻末端双键然后在其产生的gammaceranyl C-21正离子中心进行H_2O的加成反应。何伯烷型三萜的形成过程是经C-22正离子形成五元环E环,然后或消除H-29或在C-22正离子中心进行H_2O的加成反应产生diploptene或diplopterol。

根据Ruzicha生源的异戊二烯规则,所有反式鲨烯的环化都是通过一个正常的前椅式和前船式构象,所有的变化都符合反式正离子1,2-加成、1,2-重排和1,2-消除的规则。Van Tamelen则认为一个复杂聚环化几乎不存在一个单一过渡态,而是经过一系列分离的结构相对稳定而且部分环化碳正离子中间体。从自然界中已分离到几种被认为是部分环化中间体的单环和双环三萜,证实了Van Tamelen假说的正确性。



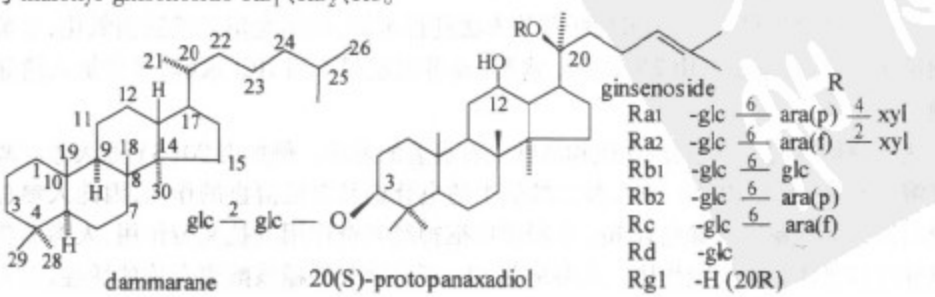
第三节 四环三萜

存在于天然界较多的四环三萜(tetracyclic triterpenoids)或其皂苷苷元主要有达玛烷、羊毛脂烷、甘遂烷、环阿屯烷(环阿尔廷烷)、葫芦烷和楝苦素型三萜类。

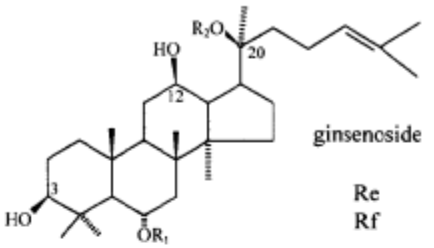
一、达玛烷型

达玛烷(dammarane)型四环三萜从环氧鲨烯由全椅式构象形成,其结构特点是8位有角甲基,且为β-构型。此外13位连有β-H,10位有β-CH_3,17位有β-侧链,C-20构型为R或S。

五加科植物人参(*Panax ginseng*)为名贵的滋补强壮药,国内外对人参属植物研究十分活跃,现已从人参分离鉴定了40多个皂苷。人参的主根和侧根及茎叶均含有多种人参皂苷(ginsenosides),其绝大多数属于达玛烷型四环三萜,在达玛烷骨架的3和12位均有羟基取代,C-20为S构型[11]。达玛烷型人参皂苷根据其6位碳上是否有羟基又分为二类:由20(S)-原人参二醇[20(s)-protopanaxadiol]衍生的皂苷为第一类,如人参皂苷Ra_1、Ra_2等属于此类。此外,尚发现有酰基取代的皂苷存在,如人参皂苷Rb_1、Rb_2、Rc的分子中,若在苷元3位糖链末端糖分子的6位有一个乙酰基,依次称为acetylginsenoside Rb_1、Rb_2、Rc[12],若取代一个丙二酰基(形成半酯)[13],则依次称为malonyl ginsenoside Rb_1、Rb_2、Rc。

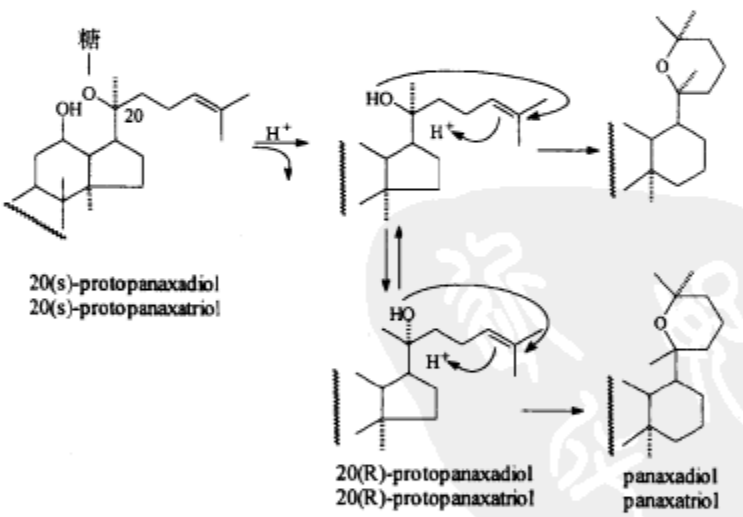


由20(S)原人参三醇[20(s)-protopanaxatriol]衍生的皂苷为第二类,如人参皂苷Re、Rf等属于此类。



20(S)-protopanaxatriol

由达玛烷衍生的人参皂苷,用缓和条件水解,例如50% HOAc于70℃加热4小时,20位苷键能断裂,生成较难溶于水的次级苷,进一步再水解,可使3位苷键裂解。若用HCl溶液加热煮沸水解,从水解产物中得不到原生的皂苷元。这是由于在HCl溶液中,20(S)-原人参二醇或20(S)-原人参三醇的20位上甲基和羟基发生差向异构化,转变为20(R)-原人参二醇或20(R)-原人参三醇,然后环合生成人参二醇(panaxadiol)或人参三醇(panaxatriol)的具有三甲基四氢吡喃环的侧链。

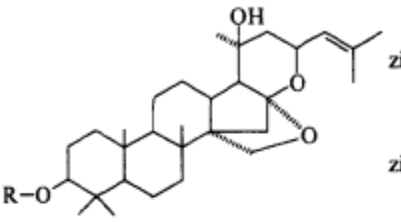


因此欲得到原生皂苷元,须采用缓和的方法进行水解,例如先用过碘酸钠氧化,水解后再用四氢硼钠还原,后在室温下用2N H_2SO_4 水解;或者在室温下用HCl水解,然后加入消除试剂叔丁醇钠[14]。

由达玛烷衍生的人参皂苷,在生物活性上有显著的差异。例如由20(S)-原人参三醇衍生的皂苷有溶血性质,而由20(S)-原人参二醇衍生的皂苷则具对抗溶血的作用,因此人参总皂苷不能表现出溶血的现象。人参皂苷 Rg_1 有轻度中枢神经兴奋作用及抗疲劳作用,人参皂苷 Rb_1 则有中枢神经抑制作用和安定作用。人参皂苷 Rb_1 还有增强核糖核酸聚合酶的活性,而人参皂苷

Rc 则有抑制核糖核酸聚合酶的活性。

鼠李科植物酸枣(*Zizyphus jujube* Mill var. *spinosa*)的成熟种子为常用中药,具有养肝、宁心、安神之功效,由其中曾分离出多种皂苷。



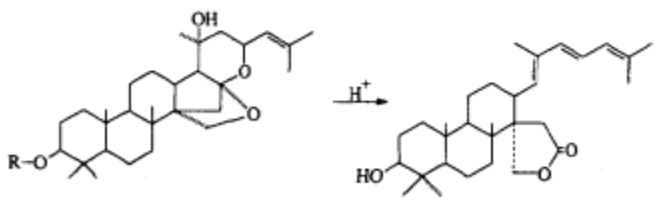
	R
jujubogenin	H
jujuboside A	glc(6→1)glc(3→1)ara-(2→1)xyl, rha
jujuboside B	xyl(2→1)glc(3→1)ara-(2→1)rha

	R
zizyphus saponin I	glc(3→1)ara-(2→1)6-deoxytalose
zizyphus saponin II	glc(3→1)ara-(2→1)rha
zizyphus saponin III	xyl(2→1)glc(3→1)ara-(2→1)6-deoxytalose
vulgariside	glc(3→1)ara-(2→1)fuc

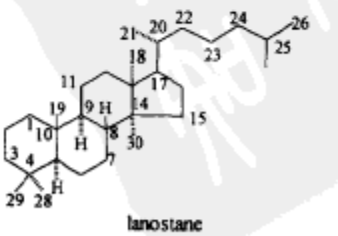
酸枣仁皂苷 A 和 B(jujuboside A and B)[15]中,酸枣仁皂苷 A 经柚皮苷酶或橙皮苷酶(naringinase 或 hesperidinase)酶解很易失去一分子葡萄糖而转变为酸枣仁皂苷 B。由大枣(*Z. jujuba*)的果实[16]中分离得到了枣皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ(zizyphus saponin Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ)。由同属植物 *Z. vulgaris* 的茎叶分离得到了皂苷 vulgariside[17]。这些皂苷均属于达玛烷型,都是由酸枣仁皂苷元(jujubogenin)衍生的皂苷。

酸枣仁皂苷 A 经蜗牛酶(snail enzyme)部分酶解可得到酸枣仁皂苷 B,再经 Smith-deMayo 降解反应[18],可得到真正皂苷元称酸枣仁皂苷元,是达玛烷衍生物,通过对其溴代苯甲酸单酯的 x-ray 单晶衍射,表明它的绝对构型 C-20 为 S,C-23 为 R。如果将这些皂苷用酸水解,则得到伊比林内酯(ebelin lactone)。或者将酸枣仁皂苷元用硫酸处理,亦可定量地得到伊比林内酯,后者的红外、紫外光谱显示结构中有内酯和共轭双键的吸收峰,而在皂苷结构中并无内酯及共轭双键的结构,因此伊比林内酯不是真正的皂苷元,是人工产物,是由酸枣仁皂苷元在酸的作用下转变而产生的次生物质。

伊比林内酯结构中只保留了 A、B、C 三个环系。从生源观点看,还保留了 D 环空间,仍可列入四环三萜范畴,可视为达玛甾烷型裂环衍生物。



jujuboside A　　ebelin lactone

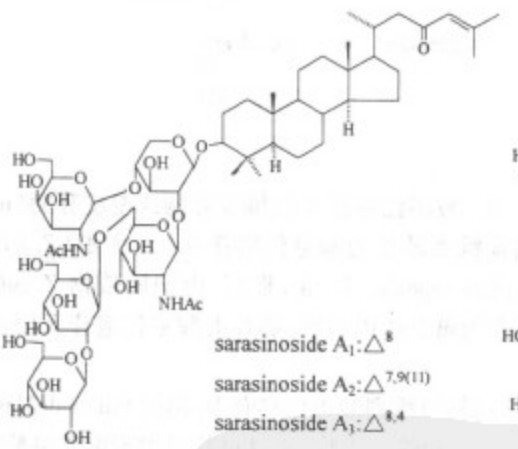


lanostane

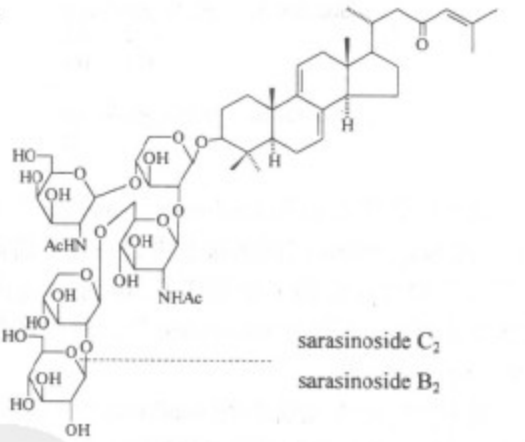
二、羊毛脂烷型

如前所述羊毛脂烷(lanostane)型四环三萜是环氧鲨烯经椅-船-椅构象式环合而成,其10、13、14位分别连有β、β、α-CH_3,C-20为R构型,A/B、B/C、C/D环均为反式,见上图。

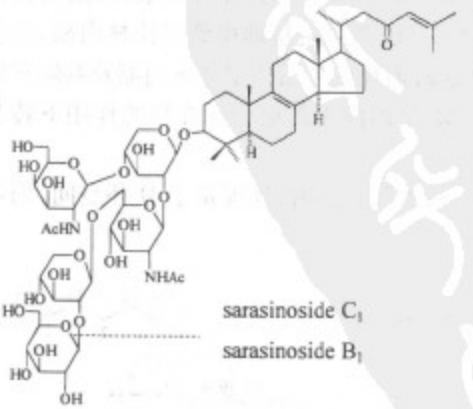
该类型皂苷广泛分布于植物界及海洋生物如海参、海星等。在海洋活性成分研究过程中Kobayashi[19]等从海绵 *Asteropus sarasinosum* 中分离得到9个30-去甲羊毛脂烷型三萜低聚糖苷(30-norlanostane-triterpenoidal oligoglycosides),被命名为sarasinosides A_1, A_2, A_3, B_1, B_2, B_3, C_1, C_2, C_3,糖与苷元3位成苷,其中2个糖为乙酰氨基糖,sarasinosides A_1, A_2, A_3 为苷元双键位置不同的异构体,C_1, C_2, C_3 为四糖苷,B_1, B_2, B_3 为五糖苷,sarasinosides A_1, B_1 有明显的毒鱼活性。LD_{50}分别为0.39和0.71μg/ml,而且可抑制海星授精卵的细胞分裂,LD_{100}为10μg/ml。



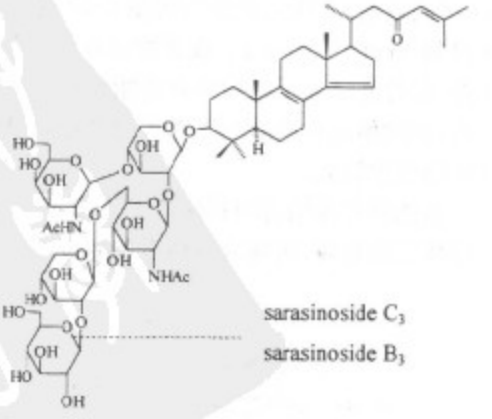
sarasinoside A_1: Δ^8
sarasinoside A_2: $\Delta^{7,9(11)}$
sarasinoside A_3: $\Delta^{8,14}$



sarasinoside C_2
sarasinoside B_2



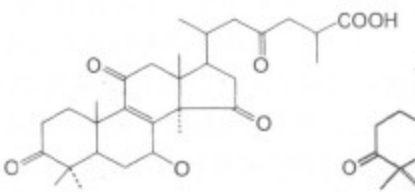
sarasinoside C_1
sarasinoside B_1



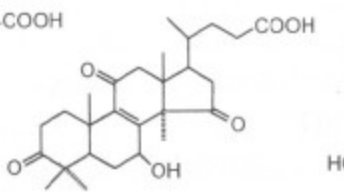
sarasinoside C_3
sarasinoside B_3

灵芝为多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* 和赤芝 *G. sinense* 的干燥子实体,是补中益气、扶正固本、延年益寿的名贵中药,由其中分离出四环三萜化合物已达100余个[20],属于羊毛甾烷高度氧化的衍生物。根据这些三萜分子中所含碳原子的数目,可分为C_{30}、C_{27}和C_{24}三种基本骨架,后2种为第一种三萜的降解产物,现各举一例,分别为ganoderic acid C, lucidenic acid A, luci-

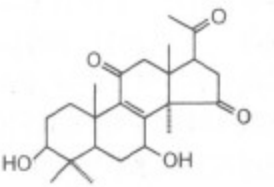
done A。



ganoderic acid C



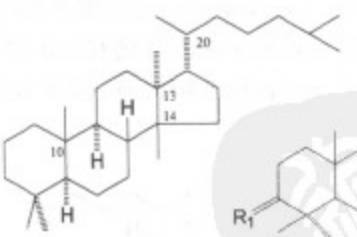
lucidenic acid A



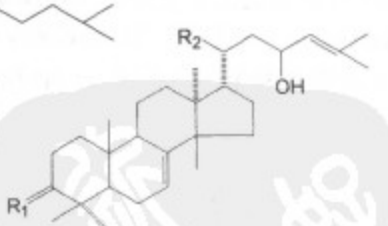
lucidone A

三、甘遂烷型

甘遂烷(tirucallane)型四环三萜同羊毛脂烷一样,A/B、B/C、C/D 环也均为反式,但 13、14 位连的 CH_3 与羊毛脂烷相反,分别为 α、β-CH_3,C-20 连有 α-侧链(20S)。从藤桔属植物 *Paramignya monophylla* 的果中分离得到 5 个甘遂烷型化合物(1~5),flindissone(1)为已知化合物,17 位有一个五元环醚。2~5 为新化合物,2 和 4 为 3 位有酮基的三萜:3-oxotirucalla-7,24-dien-23-ol(2),3-oxotircalla-7,24-diene-21,23-diol(4),3 和 5 为三萜醇:triucalla-7,24-diene-3β,23-diol(3)和 tirucalla-7,24-diene-3β,21,23-triol(5)。新化合物结构的确定主要是应用乙酰化、氧化等化学反应,将其制备为已知化合物进行对照鉴定的[21]。

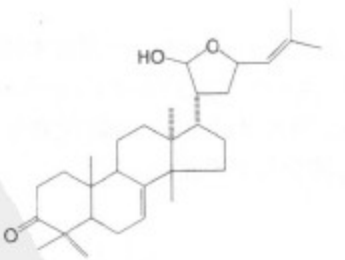


Tirucallane



2. R_1=O
3. R_1= β-OH, α-H
4. R_1=O
5. R_1= β-OH, α-H

R_2=CH_3
R_2=CH_3
R_2=CH_2OH
R_2=CH_2OH



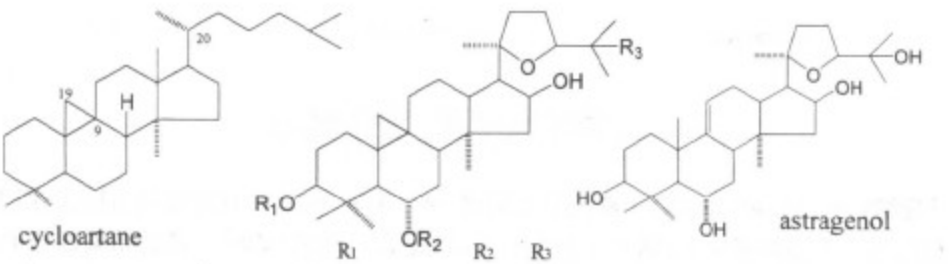
flindissone

四、环阿屯烷型

环阿屯烷(环阿尔廷,cycloartane)基本骨架与羊毛脂烷很相似,差别仅在于环阿屯烷 19 位甲基与 9 位脱氢形成三元环。

药典收载的膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus*)具有补气、强壮之功效。从黄芪中分离鉴定的皂苷有近 20 个,绝大多数为环阿屯烷型三萜皂苷,多数皂苷的苷元为环黄芪醇(cycloastragenol),化学命名为(20R,24S)-3β,6α,16β,25-tetrahydroxy-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostane,它在黄芪中与糖结合成单糖链、双糖链或三糖链的皂苷而存在。在双糖链皂苷中,如黄芪苷 I

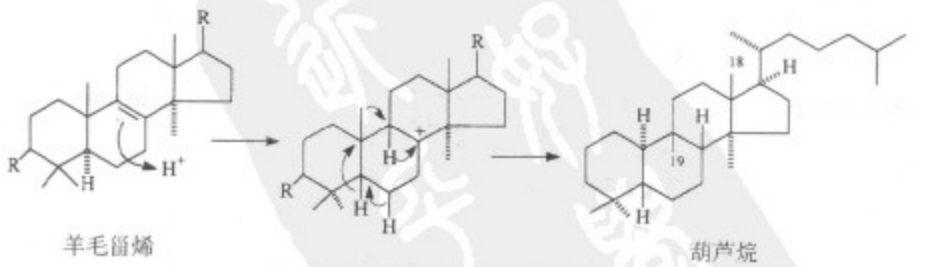
(astragaloside Ⅰ),其苷元的3和6位羟基分别各与一分子糖相连,糖分子上还有乙酰基取代,是植物体中原存的。黄芪苷Ⅴ,其皂苷元的3和25位羟基分别与糖相连。黄芪苷Ⅶ,则是自然界发现的第一个三糖链三萜苷(triterpene tridesmoside)。当这些皂苷在酸性条件下进行水解时,除获得共同皂苷元环黄芪醇,同时亦获得黄芪醇(astragenol),这是由于环黄芪醇结构中环丙烷环极易在酸水解时开裂,生成黄芪醇,具 $\Delta^{9(11)}$,19-CH_3 次生结构。因此后者不是真正的皂苷元,故一般采用两相酸水解或酶水解以避免环的开裂,黄芪研究的进展可参考有关综述[22]。



	R_1	R_2	R_3
cycloastragenol	H	H	H
astragaloside Ⅰ	xyl(2,3-diAc)	glc	H
astragaloside Ⅴ	glc—(2)—xyl-	H	glc
astragaloside Ⅶ	xyl	glc	glc

五、葫芦烷型

葫芦烷(cucurbitane)型基本骨架,可认为是由羊毛甾烯(lanostene)Δ^8 进行质子化(protonation),在8位产生正碳离子(carbonium cation),然后19-CH_3 转移到9位,9-H转移到8位[23]而形成的。因此A/B环上的取代和羊毛甾烷类型化合物不同,有5β-H、8β-H、10α-H,9位连有β-CH_3,其余与羊毛甾烷一样。

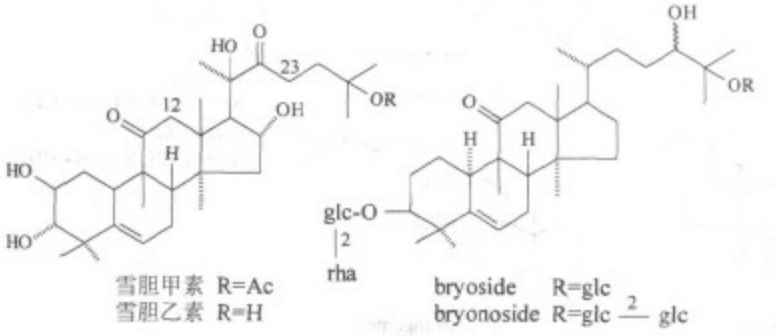


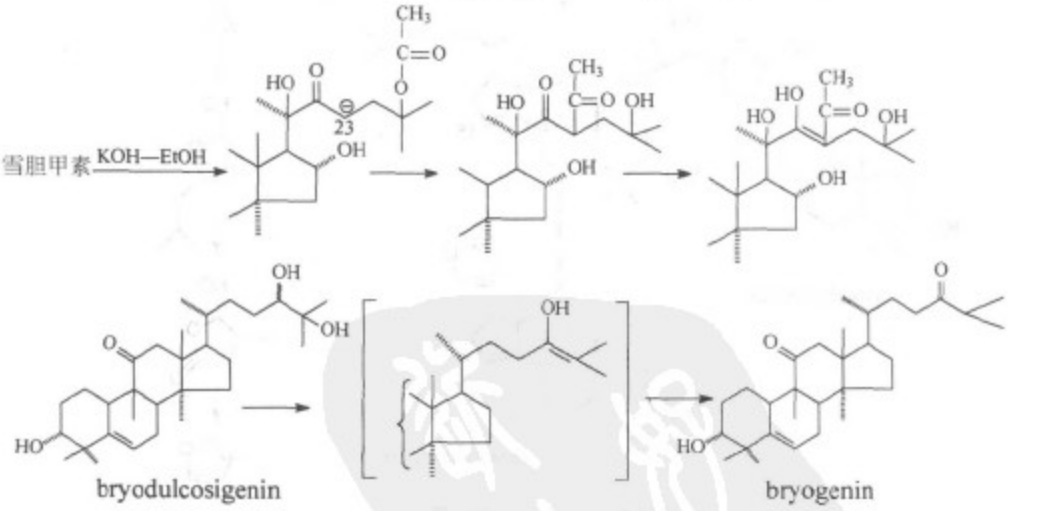
葫芦科许多属植物中含有此类成分,总称为葫芦苦素类(cucurbitacins),例如由雪胆属植物(*Hemsleya amabilis*)的根中分出雪胆甲素和乙素(cucurbitacin Ⅰa and Ⅱb),临床上试用于急性痢疾、肺结核、慢性气管炎的治疗,均取得较好疗效。雪胆甲素是雪胆乙素的25-乙酰酯,在研究过程中,将雪胆甲素用KOH-EtOH液进行皂解,以期得到雪胆乙素,但事实上却得到另一产物,分子中仍保留乙酰基,而且具有β-二羰体系的烯醇结构。这可能是由于雪胆甲素为叔醇酯,皂解反应速度低,而C-12和C-23位碳在碱性条件下均易形成碳负离子,其中23位的碳负离子对乙酰羰基进行分子内部的进攻,反应速度超过皂解速度,因

而酰基由氧向碳转移[24]，其反应见下图。

从葫芦科异株泻(*Bryonia dioica*)根中分到 bryoside(异株泻苷甲)和 bryonoside(异株泻苷乙)，亦为葫芦烷型双糖链皂苷，前者为三糖苷，后者为四糖苷[25]。

二者水解后所得皂苷元，系异株泻皂苷元 bryodulcosigenin 和 bryogenin(少量)的混合物，前者是真正的皂苷元，后者是人工产物，可以认为是由 bryodulcosigenin 在酸性条件下，经脱水并异构化而产生的。

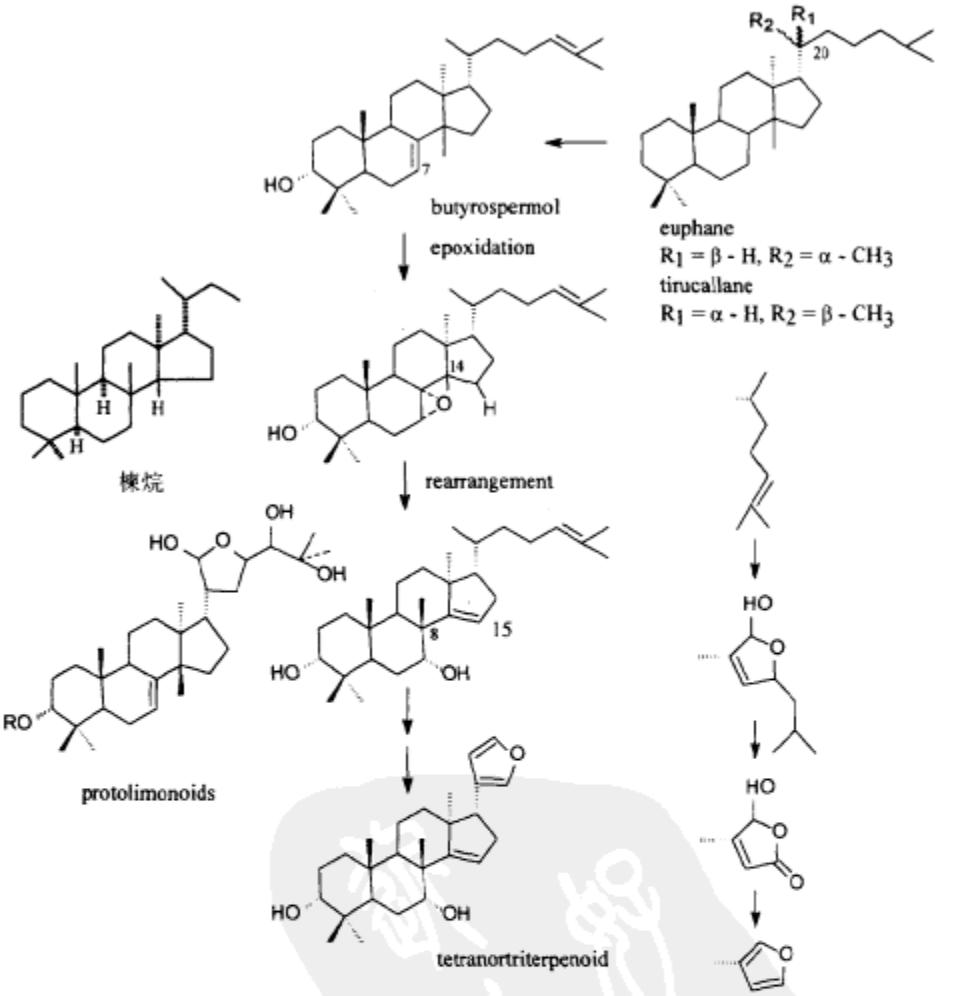




六、楝烷型

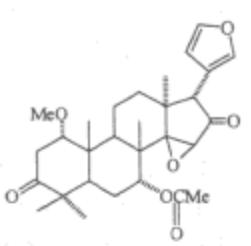
楝科楝属植物苦楝果实及树皮中含多种三萜成分，具苦味，总称为楝苦素类成分(meliacins)，其由 26 个碳构成，属于楝烷型(meliacane)。在芸香目植物中大多数该类化合物和三萜化合物都具有甘遂烷骨架，因此甘遂烷被认为是其前体，但 Ekong 发现在 *Azadirachte indica* 的叶子中，大戟烷(euphane)比甘遂烷(tirucallane)更能有效地转变成此类化合物。Δ^7-双键被氧化成 7-环氧，然后环氧键断开，通过 Wagner-Meerwein 重排，14-位甲基转移到 8-位，形成了 7-羟基，碳 14,15 位双键的产物。后侧链失去四个碳原子，形成了 17-呋喃环，称为降四环三萜(nor-tetracyclic triterpenoids)或四降三萜(tetranortriterpenoids)。这一步演变过程可由带有完整的 8 个碳

的侧链环合产物 protolimonoids 的存在证实[36]。

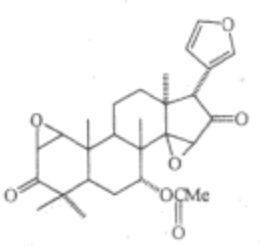


楝烷型三萜生物合成途径

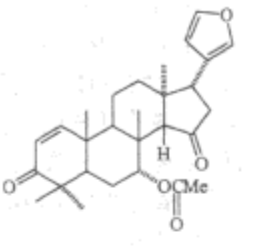
从楝科植物 *Azadirachta indica* 分离得到6个化合物[27]：1α-methoxy-1,2-dihydroepoxyazadiradione(1),1β,2β-diepoxyazadiradione(2),7-acetylneotri-chilenone(3),7-desacetyl-7-bezoylazadiradione(4),7-desacetyl-7-bezoyl-epoxyazadiradione(5),7-desacetyl-7-benzoyl-gedunin(6)。这些化合物均为高度氧化的四降三萜类化合物,17位有四氢呋喃环,3位和16位多有酮基,14～15位多有三元氧环,7位有乙酰基或苯甲酰基。化合物1～5为楝烷型,6为其D环裂解产物,裂环后又形成内酯。



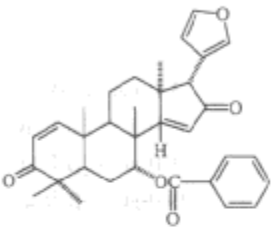
1



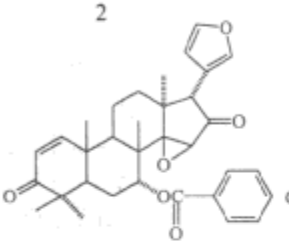
2



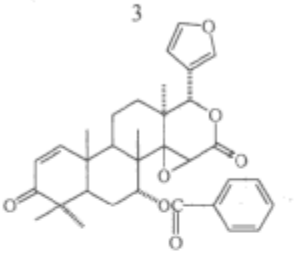
3



4



5



6

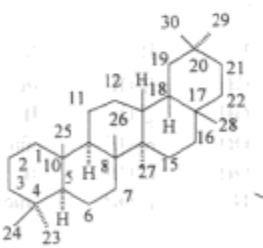
第四节　五环三萜的结构类型

五环三萜(pentacyclic triterpenoids)类型数目较多，主要的五环三萜为齐墩果烷型、乌苏烷型、羽扇豆烷型和木栓烷型。

一、齐墩果烷型

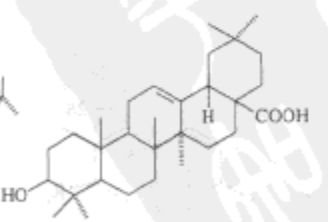
齐墩果烷(oleanane)型，又称β-香树脂烷(β-amyrane)型，此类三萜在植物界分布极为广泛，有的呈游离状态，有的成酯或苷的结合状态存在。

齐墩果酸(oleanolic acid)首先从木樨科植物油橄榄(*Olea europaea*，习称齐墩果)的叶子中分得，广泛分布于植物界，如在青叶胆全草、女贞果实等植物中以游离形式存在，但大多数与糖结合成苷存在。齐墩果酸经动物试验有降转氨酶作用，对四氯化碳引起大鼠急性肝损伤有明显的保护作用，用于治疗急性黄疸型肝炎，对慢性肝炎也有一定疗效[28]。



齐墩果烷

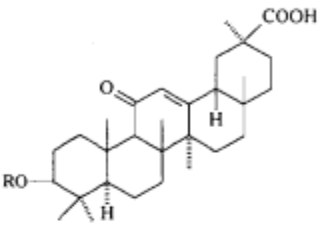
D/E cis



齐墩果酸

甘草为豆科甘草属植物，作为药用甘草有乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)和光果及胀果甘草(G. glabra，G. inflata)之根茎。其有缓急、解毒、调和诸药的作用。为常用中药，从古至今广为

药用，甘草酸及苷元甘草次酸为其主要有效成分。甘草次酸（glycyrrhetinic acid），D/E 环为顺式（即 18β-H），其异构体 D/E 环反式，即 18-α 甘草次酸，又称乌拉尔甘草次酸（uralenic acid）均存在于甘草中，甘草次酸在甘草中除游离存在外，主要是与二分子葡萄糖醛酸结合生成苷—甘草酸（glycyrrhizic acid）或称甘草皂苷（glycyrrhizin）而存在，由于有甜味，又称甘草甜素。甘草中除含有甘草酸外，后又从其中分离出二种新皂苷[29]，命名为乌拉尔甘草皂苷 A 和 B（uralsaponin A and B），由其同属植物黄甘草（*G. eurycarpa*）中亦分离得到一个新皂苷，称黄甘草皂苷（glyeurysaponin）[30]，这些皂苷的苷元，均为甘草次酸，只是二分子葡萄糖醛酸的连接位置或构型不同。

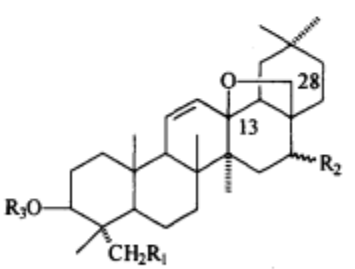


	R
甘草次酸	H
甘草酸	β-D-gluA 2α-D-gluA-
乌拉尔甘草皂苷 A	β-D-gluA 2β-D-gluA-
乌拉尔甘草皂苷 B	β-D-gluA 3β-D-gluA-
黄甘草皂苷	β-D-gluA 4β-D-gluA-

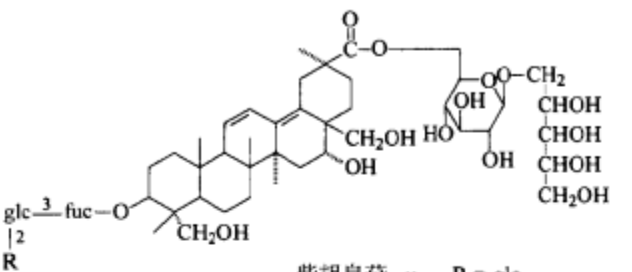
甘草酸和甘草次酸都有促肾上腺皮质激素（ACTH）样的生物活性，临床作为抗炎药，并用于胃溃疡病的治疗。但只有 18β-H 型的甘草次酸才具有 ACTH 样作用，18α-H 型没有此种生物活性。通过药理研究还发现甘草酸除有抗变态反应外，并有非特异性的免疫加强作用，同时能对抗 CCl_4 对肝脏的急性中毒作用。

柴胡属植物北柴胡（*Bupleurum chinensis*）和南柴胡（*B. scorzonerifolium*）是重要的中药，为疏散退热、舒肝升阳药。至今由柴胡属植物中已分离出近 100 个三萜皂苷[31]，均为齐墩果烷型，根据双键的位置可分为 4 种，有 Δ^{12}-齐墩果烯型、$\Delta^{9(11),12}$-齐墩果二烯型（同环双烯）、$\Delta^{11,13(18)}$—齐墩果二烯型（异环双烯）、Δ^{11}-13，28-环氧—齐墩果烯型。其中柴胡皂苷 a 和 d 等是柴胡的主要成分。柴胡皂苷 a、c 和 d（saikosaponin a，c，d）最早是由日本京都栽培柴胡（*Bupleurum falcatum*）的根中分离出的三种皂苷。柴胡皂苷 a 和 d 具有明显抗炎作用和降低血清胆固醇和甘油三酯作用，柴胡皂苷 c 则无此种活性。后由其中又分离出柴胡皂苷 e（saikosaponin e），柴胡皂苷 a、d 的单乙酰衍生物等。柴胡皂苷 a、d、c 的苷元分别为柴胡皂苷元 F、G、E（saikogenin F，G，E），柴胡皂苷 e 的苷元和柴胡皂苷 c 苷元相同。

近年又从南柴胡和北柴胡中分离得到双糖链皂苷，除 3 位羟基与糖成苷外，30 位羧基还成酯苷，而且糖链部分有直链多元醇，如柴胡皂苷 u 和 v（saikosaponin u and v）[32]。

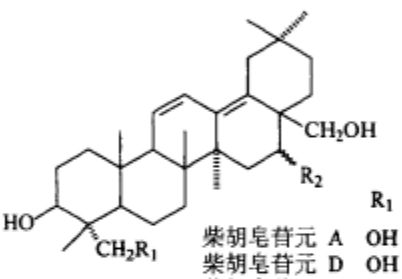


	R_1	R_2	R_3
柴胡皂苷 a	OH	β-OH	-fuc 3 glc
柴胡皂苷元 F	OH	β-OH	H
柴胡皂苷 d	OH	α-OH	-fuc 3 glc
柴胡皂苷元 G	OH	α-OH	H
柴胡皂苷 c	H	β-OH	-fuc 3 glc 4 rha
柴胡皂苷 e	H	β-OH	-fuc 3 glc
柴胡皂苷元 E	H	β-OH	H

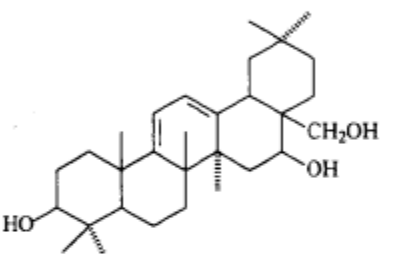


柴胡皂苷 u R = glc
柴胡皂苷 v R = H

以上具有13,28—氧环的化合物,氧环不稳定,在酸的作用下醚键可能会断裂生成人工产物异环或同环双烯结构,如柴胡皂苷元F、G在酸的作用下产生柴胡皂苷元A和D,柴胡皂苷元E产生柴胡皂苷元C和B。

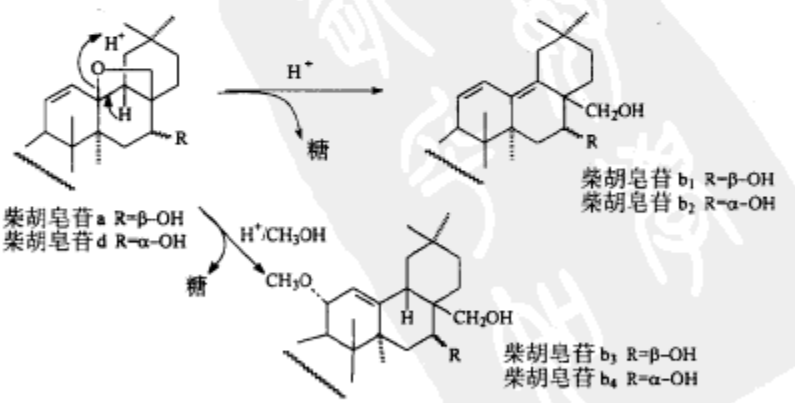


	R_1	R_2
柴胡皂苷元 A	OH	β-OH
柴胡皂苷元 D	OH	α-OH
柴胡皂苷元 C	H	β-OH

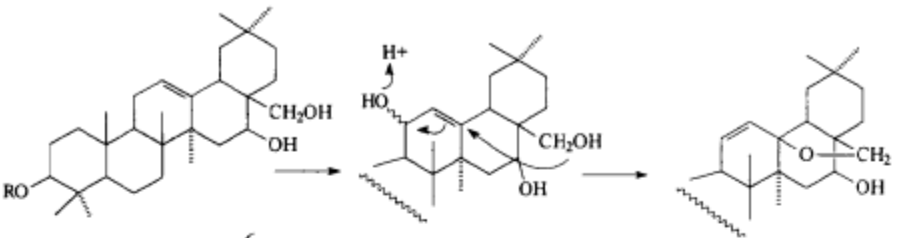


柴胡皂苷元 B

又如柴胡皂苷a和d在提取过程中亦易受酸性影响,转变为具异环双烯的柴胡皂苷 b_1 和 b_2,如果同时有甲醇存在,则醚环裂解,产生有11-OCH_3和Δ^{12}的苷 b_3 和 b_4。如果在提取溶液中加少量吡啶,则可减少如上结构改变。所以柴胡皂苷b系列化合物可能是提取过程中的人工产物。



柴胡皂苷f(saikosaponin f)是长刺皂苷元(longispinogenin)的叁糖苷。长刺皂苷元可能是作为其他皂苷元的前体而存在。如下式所示,可能以烯丙基的羟基化作用为开端,接着形成28和13的醚链,双键移位,脱水而形成柴胡皂苷元E,如再在23位进行羟基化,又可形成柴胡皂苷元F。



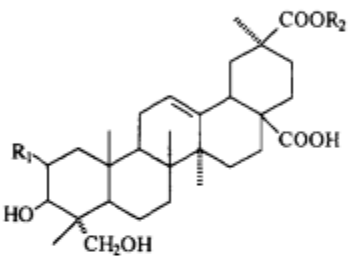
柴胡皂苷 f　R=-glc(6→1)glc
　　|4
　　rha

长刺皂苷元　R=H

lemmatoxin

柴胡皂苷元 E

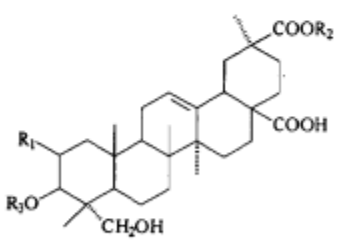
中药商陆(*Phytolacca esculenta*)和其同属植物美商陆(*P. americana*)的根中含有多量皂苷，皂苷水解后曾分离出四种皂苷元：商陆酸(esculentic acid)、商陆酸 30-甲酯(phytolaccagenic acid)、2-羟基商陆酸(2-hydroxyesculentic acid 或 jaligonic acid)和 2-羟基商陆酸-30-甲酯(美商陆皂苷元，phytolaccagenin)[33]。



	R_1	R_2
商陆酸	H	H
商陆酸-30-甲酯	H	CH_3
2-羟基商陆酸	OH	H
2-羟基商陆酸-30-甲酯	OH	CH_3

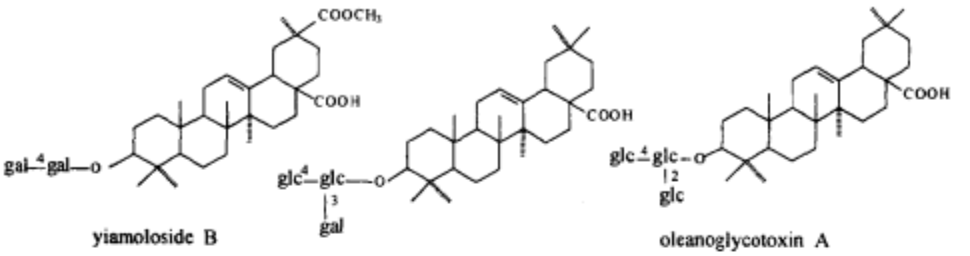
从南朝鲜的美商陆根[34][35]曾先后分离出美商陆皂苷 A、B、D、E 和 G(phytolaccoside A, B, D, E and G)。这五种皂苷均具有抗炎活性。美商陆皂苷 B 并具有强的抗风湿作用。美商陆皂苷 E 则具有弱的镇静作用，并有舒筋、解热、镇痛和对副交感神经的抑制作用。

由中药商陆中分离出 18 个皂苷，命名为商陆皂苷甲、乙、丙、丁、戊、己等(esculentoside A, B, C, D, E, F ~ R)，其中商陆苷丁和己为新皂苷，其余四种成分证明依次分别与由美商陆中分到的美商陆皂苷 E、B、D、G 为同一化合物。药理实验表明商陆皂苷能显著促进小鼠白血球的吞噬功能，能对抗由抗癌药羟基脲引起的 DNA 转化率的下降，并能诱生 γ-干扰素[36]。



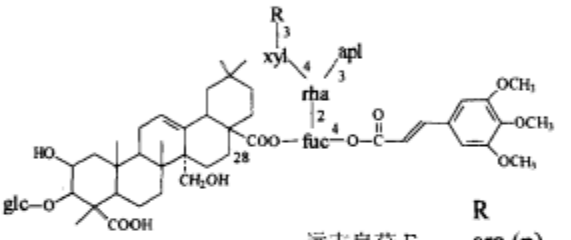
	R_1	R_2	R_3
商陆皂苷甲 = E	OH	Me	-xly(4→1)glc
商陆皂苷乙 = B	OH	Me	-xly
商陆皂苷丙 = D	H	Me	-xly(4→1)glc
商陆皂苷丁	OH	Me	-glc
商陆皂苷戊 = G	OH	H	-xly
商陆皂苷己	OH	H	-xly(4→1)glc
美商陆皂苷 A	H	Me	-xly

产于澳洲的商陆(*P. octandra*)，由其活性部分分离出具有抑制霉菌活性的皂苷，称为 yiamoloside B[37]；由十蕊商陆(*P. dodecandra*)中则分出 lemmatoxin[38]和 oleanoglycotoxin A[39]，二者均是齐墩果酸的支链三糖苷。前者在体外对人的精子有杀灭作用。

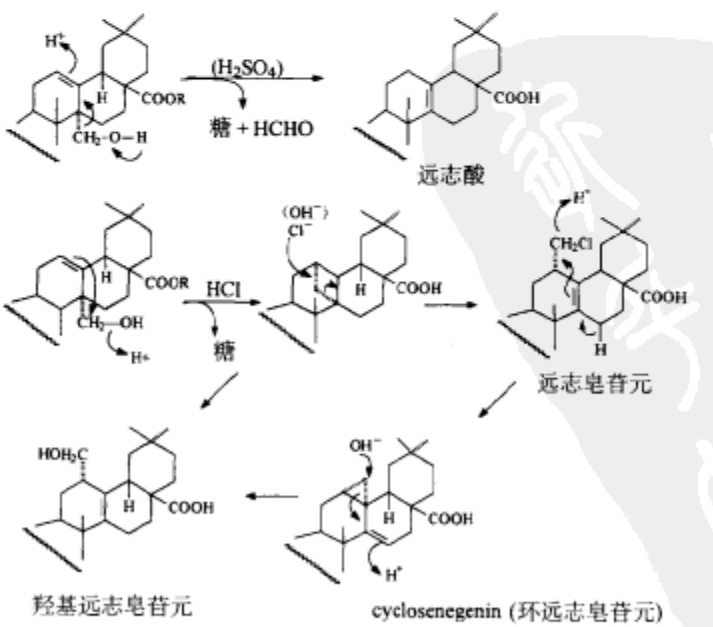


yiamoloside B　　oleanoglycotoxin A

远志为远志科远志属植物，药典收载了远志（*Polygala tenuifolia*）和卵叶远志（*P. sibirica*）作为正品，具有安神益智、祛痰、消肿之功效。已从远志属植物分离鉴定了80多个皂苷，例如远志皂苷F和G（onjisaponin F and G），是由原远志皂苷元（presenegenin）又称细叶远志皂苷元（tenuigenin）和木糖、鼠李糖、呋糖（fucose）、芹糖（apiose）、葡萄糖组成的双糖链酯皂苷，在呋糖的4位尚有三甲氧基桂皮酰基取代。



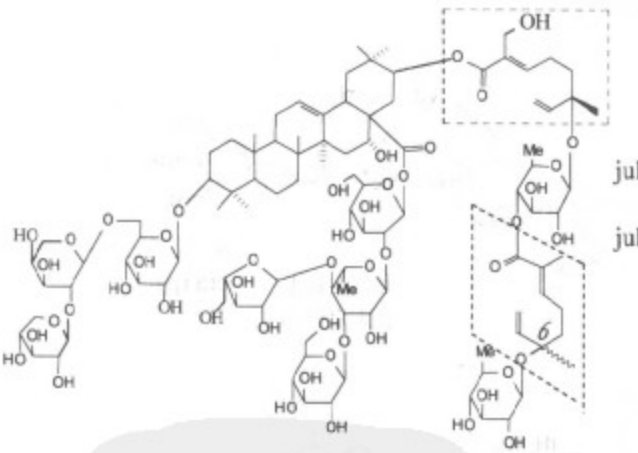
	R
远志皂苷F	ara (p)
远志皂苷G	H



远志皂苷被酸水解，可得远志酸（senegenic acid，polygalic acid）、远志皂苷元（senegenin）和羟

基远志皂苷元(hydroxy senegenin)。远志酸是只含29个碳原子的三萜酸,远志皂苷元竟是一个含氯的化合物[40],这些三萜酸被认为是次生皂苷元,因为分析其原生皂苷,并不含氯。如将皂苷先用过碘酸钠氧化,后用KOH醇溶液水解,则获得真正皂苷元——原远志苷元。

豆科植物中药合欢(*Albizia julibrissin*)为中国药典收载的解郁安神、活血消肿药。邹坤等从中分离得到20多个皂苷,均为三糖链皂苷,苷元多为金合欢酸(acacic acid)。糖除了常见的糖外,还有呋糖、鸡纳糖、乙酰氨基糖,1个三糖与苷元3位成苷,1个四糖和苷元28位成酯苷,另外苷元21位则连有一个含有1~2单萜酸的糖链。这些苷中有几对由于外侧单萜酸6位构型不同产生的立体异构体(R或S),还有几对由于21位糖上的单萜酸连接位置不同而产生的位置异构体。如合欢皂苷J_1和J_9(julibroside J_1和J_9)[41]均为金合欢酸9个糖并连有2个单萜酸的皂苷,其外侧单萜酸6位构型不同,在体外有显著的抑制人癌KB细胞活性。合欢皂苷酸水解时得到的苷元不是原生苷元,而是金合欢酸内酯(28→21β-内酯,acacic acid lactone)。

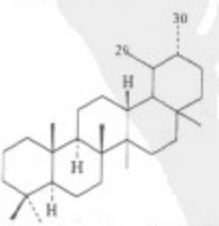


julibroside J_1 (6R)

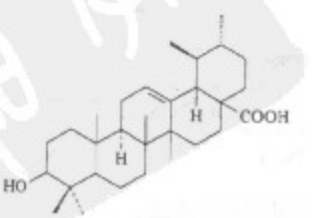
julibroside J_9 (6S)

二、乌苏烷型

乌苏烷(ursane)型,又称α-香树脂烷(α-amyrane)型,此类三萜大多是乌苏酸的衍生物。乌苏酸(ursolic acid),又称熊果酸,在植物界分布较广,如在熊果叶、栀子果实、女贞叶、车前草、白花蛇舌草、石榴的叶和果实等中均有存在。该成分在体外对革兰阳性菌、阴性菌、酵母菌有抑制活性,能明显降低大鼠的正常体温,并有安定作用。

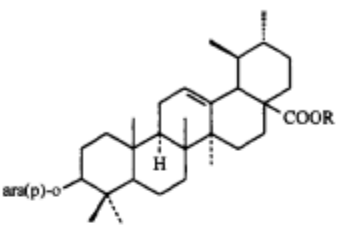


乌苏烷



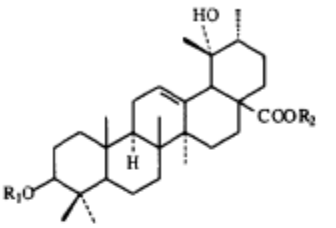
乌苏酸

中药地榆(*Sanguisorba officinalis*)的根和根茎,能凉血、止血,除含有大量鞣质,还含有皂苷。曾由其中分离出地榆皂苷 B 和 E(sanguisorbin B and E),二者均是乌苏酸的苷。后又分离出地榆皂苷Ⅰ和Ⅱ(ziyu-glucoside Ⅰ and Ⅱ),是19α-羟基乌苏酸的苷[42][43]。



地榆皂苷 B R=H

地榆皂苷 E R=3-Ac-glc

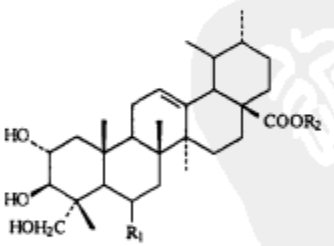


19α-羟基乌苏酸 $R_1=R_2=H$

地榆皂苷Ⅰ R_1=ara(p), R_2=H

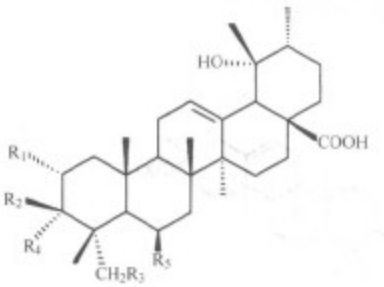
地榆皂苷Ⅱ R_1=ara(p), R_2=glc

积雪草是伞形科植物 *Centella asiatica* 的全草,其粗皂苷是一种创伤愈合促进剂。由其中曾分离出多个皂苷[44],其主要成分为积雪草苷,或称亚细亚皂苷(asiaticoside),是由二分子葡萄糖、一分子鼠李糖和积雪草酸(或称亚细亚酸,asiatic acid)分子中羧基结合形成的酯苷。与积雪草苷伴存的还有羟基积雪草苷(madecassoside),亦是一种酯苷[45]。水解后得到苷元为羟基积雪草酸(madecassic acid),其糖部分的结构与积雪草苷相同,亦是由二分子葡萄糖和一分子鼠李糖组成。其他共存的皂苷,也大多为乌苏酸衍生的酯苷。



积雪草酸	$R_1=H$,	$R_2=H$
羟基积雪草酸	$R_1=OH$,	$R_2=H$
积雪草苷	$R_1=H$,	R_2=-glc 6 glc 4 rha
羟基积雪草苷	$R_1=OH$,	R_2=-glc 6 glc 4 rha

从意大利来源的枇杷(*Eriobotrya japonica*)的叶子中分离得到7个乌苏烷型的游离的三萜类化合物,化合物1~4为新化合物,其23-OH或2-OH与咖啡酰或对香豆酰成酯:23-trans-p-coumaroyl tormentic acid(1),23-cis-p-coumaroyl tormentic acid(2),3-O-trans-caffeoyl tormentic acid(3),3-O-trans-p-coumaroyl tormentic acid(4)。对7个化合物的体外抗病毒实验研究表明化合物3在浓度为20μg/ml时具有对抗 HRV IB 的活性。构效关系分析可能和化合物3具有邻位酚羟基有关[46]。



1 $R_1=R_2=OH$, $R_3=OCO-C(H)=C(H)-C_6H_4-OH$, $R_4=R_5=H$

2 $R_1=R_2=OH$, $R_3=OCO-C(H)=C(H)-C_6H_4-OH$, $R_4=R_5=H$

3 $R_1=OH$, $R_2=OCO-C(H)=C(H)-C_6H_3(OH)-OH$, $R_3=R_4=R_5=H$

4 $R_3=OH$, $R_2=OCO-C(H)=C(H)-C_6H_4-OH$, $R_1=R_4=R_5=H$

5 $R_1=R_4=OH$ $R_2=R_3=R_5=H$

6 $R_1=R_3=R_4=H$ $R_2=R_5=OH$

7 $R_1=R_2=R_3=OH$ $R_4=R_5=H$

三、羽扇豆烷型

羽扇豆烷(lupane)三萜类E环为五元碳环,且在E环19位有异丙基以α-构型取代,A/B、B/C、C/D及D/E均为反式。此类成分主要有羽扇豆(*Lupinus luteus*)种子中存在的羽扇豆醇(lupeol),酸枣仁中的白桦醇(betulin)、白桦酸(betulinic acid)等。由它们衍生的皂苷,为数不多,但近年有所发现。

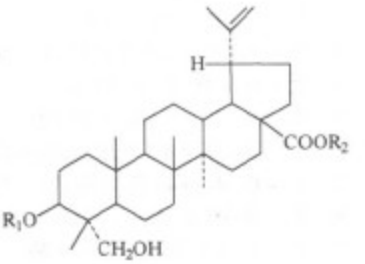
毛茛科白头翁属植物白头翁(*Pulsatilla chinensis*)含有多种羽扇豆烷型三萜皂苷,皂苷元为23-羟基白桦酸(23-hydroxybetulinic acid),白头翁皂苷A_3(pulchinenoside A_3)为单糖链皂苷,白头翁皂苷B_4(pulchinenoside B_4)为双糖链皂苷[47]。

爵床科老鼠簕属植物老鼠簕(*Acanthus illicifolius*)是构成我国南部海岸红树林的重要树木之一,印度民间用于治疗中风和气喘。从其中分得一个由羽扇豆醇和阿拉伯糖、葡萄糖醛酸组成的双糖苷(A)[48]。

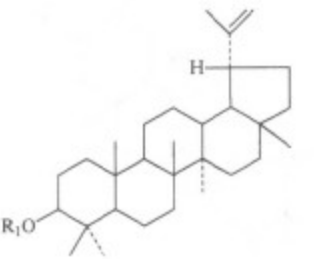
紫草科破布木属植物(*Cordia obliqua*)中的皂苷由羽扇豆醇和麦芽糖(maltose)组成[49]。麦芽糖是由二分子葡萄糖于1→4位以α-苷键相连的双糖,皂苷结构为lupa-20(29)-en-3-O-β-maltoside或lupeol-3-O-α-D-glc(p)-(1→4)β-D-glc(p)(B)。

羽扇豆烷

羽扇豆醇 R= CH_3
白桦醇 R= CH_2OH
白桦酸 R= COOH



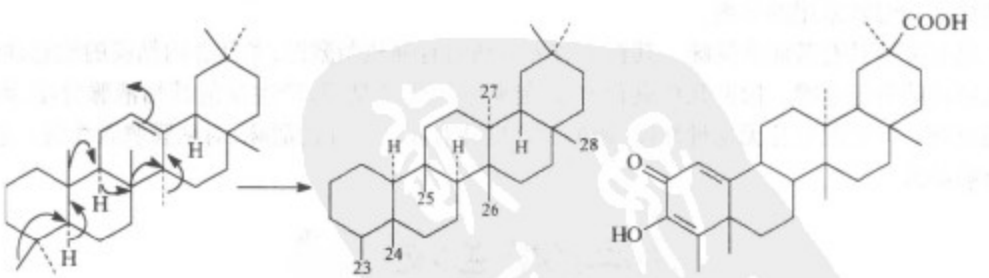
23-羟基白桦酸 $R_1=R_2=H$
皂苷A R_1=-ara^{2}rha, R_2=-ara^{2}rha
皂苷C R_1=-ara^{2}rha, R_2=-glc^{6}glc^{4}rha



A R_1=-glu A^4-α-L-rha
B R_1=-glc-α-L-rha

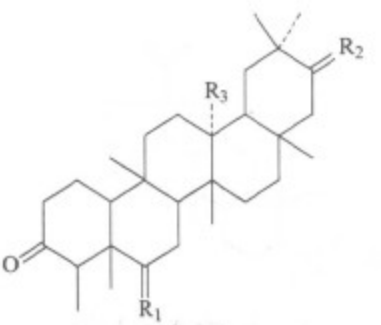
四、木栓烷型

木栓烷(friedelane)在生源上是由齐墩果烯甲基移位演变而来的。雷公藤(*Tripterygium wilfordii*)为卫茅科植物,在我国作为民间用药有很长历史,近几年临床应用日趋广泛,特别是对类风湿疾病有独特疗效,引起国内外广泛重视。从中已分离得到多种三萜,有一类为木栓烷类三萜。如雷公藤酮(triptergone)[50]是由雷公藤去皮根中心分离出的三萜化合物,化学名为3-hydroxy-25-nor-friedel-3,1(10)-dien-2-one-30-oic acid,是失去25位甲基的木栓烷型衍生物。



齐墩果烯　　木栓烷　　雷公藤酮

从卫茅科植物 *Kokoona zeylanica* 已分离鉴定的木栓烷类化合物或其降解产物有20余个,Leslie等人从该植物茎皮得到11个化合物:fredelin(1),D:A-friedo-oleanane-3,21-dione(2),21α-hydroxy-D:A-friedo-oleanane-3-one(3),kokoonol(4),kokoononol(5),kokoondiol(6),zeylanol(7),zeylanonol(8),zeylandiol(9),kokzeylanol(10)和kokzeylanonol(11),化合物11具有抗癌活性[51]。这些化合物均为木栓烷-3-酮类化合物,21位有羟基或酮基取代,有的6位有羟基,而且可能有27-CH_2OH。



1 $R_1=R_2=H_2, R_3=Me$
2 $R_1=H_2, R_2=O, R_3=Me$
3 $R_1=H_2, R_2=\alpha\text{-}OH, \beta\text{-}H, R_3=Me$
4 $R_1=R_2=H_2, R_3=CH_2OH$
5 $R_1=H_2, R_2=O, R_3=CH_2OH$
6 $R_1=H_2, R_2=\alpha\text{-}OH, \beta\text{-}H, R_3=CH_2OH$
7 $R_1=\beta\text{-}OH, \alpha\text{-}H, R_2=H_2, R_3=Me$
8 $R_1=\beta\text{-}OH, \alpha\text{-}H, R_2=O, R_3=Me$
9 $R_1=R_2=\beta\text{-}OH, \alpha\text{-}H, R_3=Me$
10 $R_1=\beta\text{-}OH, \alpha\text{-}H, R_2=H_2, R_3=CH_2OH$
11 $R_1=\beta\text{-}OH, \alpha\text{-}H, R_2=O, R_3=CH_2OH$

第五节 理化性质

一、性状及溶解度

三萜类化合物多有较好结晶，能溶于石油醚、苯、乙醚、氯仿等有机溶剂，而不溶于水。三萜化合物若与糖结合成为苷类，尤其寡糖皂苷，由于糖分子的引入，使羟基数目增多，极性加大，不易结晶，因而皂苷大多为无色无定形粉末，可溶于水，易溶于热水、稀醇、热甲醇和热乙醇中，几乎不溶或难溶于乙醚、苯等极性小的有机溶剂，含水丁醇或戊醇对皂苷的溶解度较好，因此是提取和纯化皂苷时常采用的溶剂。

皂苷多数具有苦而辛辣味。其粉末对人体粘膜有强烈刺激性，尤其鼻内粘膜的敏感性最大，吸入鼻内能引起喷嚏。因此某些皂苷内服，能刺激消化道粘膜，产生反射性粘液腺分泌，而用于祛痰止咳。但有的皂苷无这种性质，例如甘草皂苷有显著而强的甜味，对粘膜刺激性弱。皂苷还具有吸湿性。

二、颜色反应

三萜化合物在无水条件下，与强酸（硫酸、磷酸、高氯酸）、中等强酸（三氯乙酸）或 Lewis 酸（氯化锌、三氯化铝、三氯化锑）作用，会产生颜色变化或荧光。具体作用原理还不清楚，主要是使羟基脱水，增加双键结构，再经双键移位、双分子缩合等反应生成共轭双烯系统，又在酸作用下形成阳碳离子而呈色。因此，全饱和的、3 位又无羟基或羰基的化合物呈阴性反应。本来就有共轭双键的化合物呈色很快，孤立双键的呈色较慢，常见呈色反应如 1 ~5 所述。

1. 醋酐-浓硫酸反应（Liebermann-Burchard reaction） 将样品溶于醋酐中，加浓硫酸-醋酐（1∶20），可产生黄→红→紫→蓝等颜色变化，最后褪色。

2. 五氯化锑反应（Kahlenberg reaction） 将样品氯仿或醇溶液点于滤纸上，喷以 20% 五氯化锑的氯仿溶液，该反应试剂也可选用三氯化锑饱和的氯仿溶液代替（不应含乙醇和水），干燥后

60～70℃加热，显蓝色、灰蓝色、灰紫色等多种颜色斑点。

3. 三氯醋酸反应(Rosen-Heimer reaction) 将样品溶液滴在滤纸上，喷25%三氯醋酸乙醇溶液，加热至100℃，生成红色渐变为紫色。

4. 氯仿-浓硫酸反应(Salkowski reaction) 样品溶于氯仿，加入浓硫酸后，在氯仿层呈现红色或蓝色，氯仿层有绿色荧光出现。

5. 冰醋酸-乙酰氯反应(Tschugaeff reaction) 样品溶于冰醋酸中，加乙酰氯数滴及氯化锌结晶数粒，稍加热，则呈现淡红色或紫红色。

皂苷作为三萜衍生物，也具有上述三萜化合物的显色反应。

三、表面活性

皂苷水溶液经强烈振摇能产生持久性的泡沫，且不因加热而消失，这是由于皂苷具有降低水溶液表面张力的缘故。因此皂苷可作为清洁剂、乳化剂应用。皂苷的表面活性与其分子内部亲水性和亲脂性结构的比例相关，只有当二者比例适当，才能较好地发挥出这种表面活性。某些皂苷由于亲水性强于亲脂性或亲脂性强于亲水性，就不呈现这种活性。

四、溶血作用

皂苷的水溶液大多能破坏红细胞而有溶血作用，若将其水溶液注射进入静脉中，毒性极大，低浓度水溶液就能产生溶血作用。通常称皂苷为皂毒类(sapotoxins)，就是指其有溶血作用而言。皂苷水溶液肌内注射易引起组织坏死，口服则无溶血作用，可能与其在肠胃不被吸收有关。各类皂苷的溶血作用强弱不同，可用溶血指数表示。溶血指数是指在一定条件下能使血液中红细胞完全溶解的最低浓度，例如甘草皂苷的溶血指数为1:4000。从某一药材浸出液及其提纯皂苷溶液的溶血指数，可以推算样品中所含皂苷的粗略含量。例如某药材浸出液测得的溶血指数为1:1M，所用对照标准皂苷的溶血指数为1:100M，则药材中皂苷的含量约为1%。

皂苷能溶血，是因为多数皂苷能与胆甾醇(cholesterol)结合生成不溶性的分子复合物。当皂苷水溶液与红细胞接触时，红细胞壁上的胆甾醇与皂苷结合，生成不溶于水的复合物沉淀，破坏了血红细胞的正常渗透，使细胞内渗透压增加而发生崩解，从而导致溶血现象。但并不是所有皂苷都能破坏细胞产生溶血现象，例如人参总皂苷就没有溶血的现象，但经过分离后，其中以人参萜三醇及齐墩果酸为苷元的人参皂苷则具有显著的溶血作用，而以人参二醇为苷元的人参皂苷，则有抗溶血作用。皂苷溶血活性还和糖部分有关，以单糖链皂苷作用明显，某些双糖链皂苷无溶血作用，可是经过酶解转为单糖链皂苷，就具有溶血作用。还有一些三萜酯皂苷具有溶血作用，但当E环上酯键被水解，生成物仍是皂苷，却失去了溶血作用。如果在A环上有极性基团而在D环或E环上有一中等极性基团的三萜皂苷，一般有溶血作用。苷元3位有β-OH，16位有α-OH或C=O时，溶血指数最高，如果D环或E环有极性基团，如28位连有糖链，或具有一定数量的羟基取代，则可导致溶血作用消失[52]。

另外植物粗提液中有一些其它成分也有溶血作用，如某些植物的树脂、脂肪酸、挥发油等亦能产生溶血作用，鞣质则能凝集血细胞而抑制溶血。要判断是否由皂苷引起溶血，除进一步提纯

再检查外，还可以结合胆甾醇沉淀法。如沉淀后的滤液无溶血现象，而沉淀分解后有溶血活性，表示确系皂苷引起的溶血现象。

五、沉淀反应

皂苷的水溶液可以和一些金属盐类如铅盐、钡盐、铜盐等产生沉淀。酸性皂苷（通常指三萜皂苷）的水溶液加入硫酸铵、醋酸铅或其他中性盐类即生成沉淀。中性皂苷（通常指甾体皂苷）的水溶液则需加入碱式醋酸铅或氢氧化钡等碱性盐类才能生成沉淀。利用这一性质可进行皂苷的提取和初步分离。

第六节 提取分离

一、三萜化合物的提取与分离

三萜化合物的提取与分离方法大致分四类：①用乙醇、甲醇或稀乙醇提取，提取物直接进行分离；②用醇类溶剂提取后，提取物依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯等溶剂进行分步提取，然后进一步分离，三萜成分主要从氯仿部位中获得；③制备成衍生物再作分离，即将提取物先用乙醚提取，用重氮甲烷甲基化，制成甲酯衍生物，或将提取物按常法进行乙酰化制成乙酰衍生物，然后进行分离；④有许多三萜化合物在植物体中是以皂苷形式存在，可由三萜皂苷水解后获得，即将三萜皂苷进行水解，水解产物用氯仿等溶剂萃取，然后进行分离。但有些三萜在酸水解时，由于水解反应比较强烈，发生结构变异而生成次生结构，得不到原生皂苷元，如欲获得原生皂苷元，则应采用温和的水解条件，两相酸水解、酶水解或 Smith degradation 等方法。

三萜化合物的分离通常是采用反复硅胶吸附柱色谱。先经常压或低压硅胶柱做初步分离，样品纯度有所提高，再经中压柱色谱、薄层制备、高效液相色谱制备等方法。硅胶柱色谱常用溶剂系统为石油醚-氯仿、苯-乙酸乙酯、氯仿-乙酸乙酯、氯仿-丙酮、氯仿-甲醇、乙酸乙酯-丙酮等。

二、三萜皂苷的提取与分离

三萜皂苷常用醇类溶剂提取，若皂苷含有羟基、羧基极性基团较多，亲水性强，用稀醇提取效果较好。提取液减压浓缩后，加适量水，必要时先用石油醚等亲脂性溶剂萃取，除去亲脂性杂质，然后用正丁醇萃取，减压蒸干，得粗制总皂苷，此法被认为是皂苷提取的通法。此外亦可将醇提取液减压回收醇后，通过大孔吸附树脂，先用少量水洗去糖和其它水溶性成分，后改用30%～80%甲醇或乙醇梯度洗脱，洗脱液减压蒸干，得粗制总皂苷。由于皂苷难溶于乙醚、丙酮等溶剂，可将粗制总皂苷溶于少量甲醇，然后滴加乙醚或乙酸乙酯或丙酮或乙醚-丙酮（1∶1）等混合溶剂，混合均匀，皂苷即析出。如此处理数次，可提高皂苷纯度，

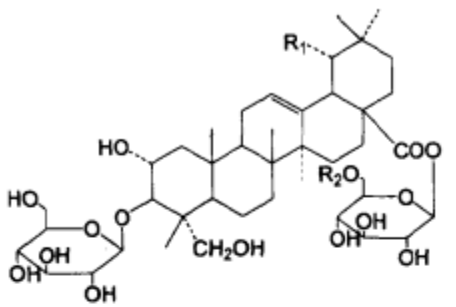
再进行分离。

三萜皂苷的分离，采用分配柱色谱法要比吸附柱色谱法好，常用硅胶为支持剂，以 $CHCl_3$-MeOH-H_2O 或 CH_2Cl_2-MeOH-H_2O 或 EtOAc-EtOH-H_2O 等溶剂系统进行梯度洗脱，也可用水饱和的 n-BuOH 等作为洗脱剂。制备薄层色谱用于皂苷分离，可取得较好效果。同时，反相色谱方法，也得到了广泛应用。通常以反相键合相，Rp-18、Rp-8 或 Rp-2 为填充剂，常用 CH_3OH-H_2O 或乙腈-水等溶剂为洗脱剂。反相色谱柱需用相对应的反相薄层色谱进行检识，有预制的 Rp-18、Rp-8 等反相高效薄层板。在总皂苷中常因含有亲水性色素等杂质，在用薄层寻找分离条件时在薄层板上得不到分离度较好的斑点，而是一条线。在用硅胶等色谱法已分离得到的较纯的皂苷中也往往掺杂一些其他杂质，这时采用 Sephadex LH-20，以 MeOH 等为洗脱剂进行纯化可得到令人满意的结果。如被分离的皂苷结构相似，难以分离，亦有将皂苷进行乙酰化制成乙酰酯，如果皂苷结构中有羧基，可用 CH_2N_2 甲酯化制成甲酯，然后用硅胶柱色谱分离，常以己烷、乙酸乙酯等为溶剂，纯化后在碱性条件下脱乙酰基或甲基。分离皂苷常常需将多种方法结合使用才能得到满意的结果。

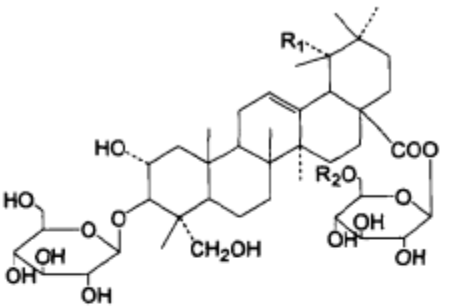
三、提取分离三萜皂苷实例

（一）生藤皂苷[53]

生藤（*Stelmatocrypton khasianum*）为萝藦科须药藤属植物，在民间用于治疗感冒、风湿疼痛等症。生藤中含有齐墩果型和乌苏烷型及 C-21 甾体皂苷，生藤茎的 95% 和 50% 的乙醇提取物用水悬浮后用石油醚、乙酸乙酯及正丁醇萃取，正丁醇部分经分离得到 4 个 C-21 甾体皂苷及 4 个三萜皂苷，详见流程图（图 7-1）。



1. R_1=OH, R_2=H
2. R_1=H, R_2=β-D-glc

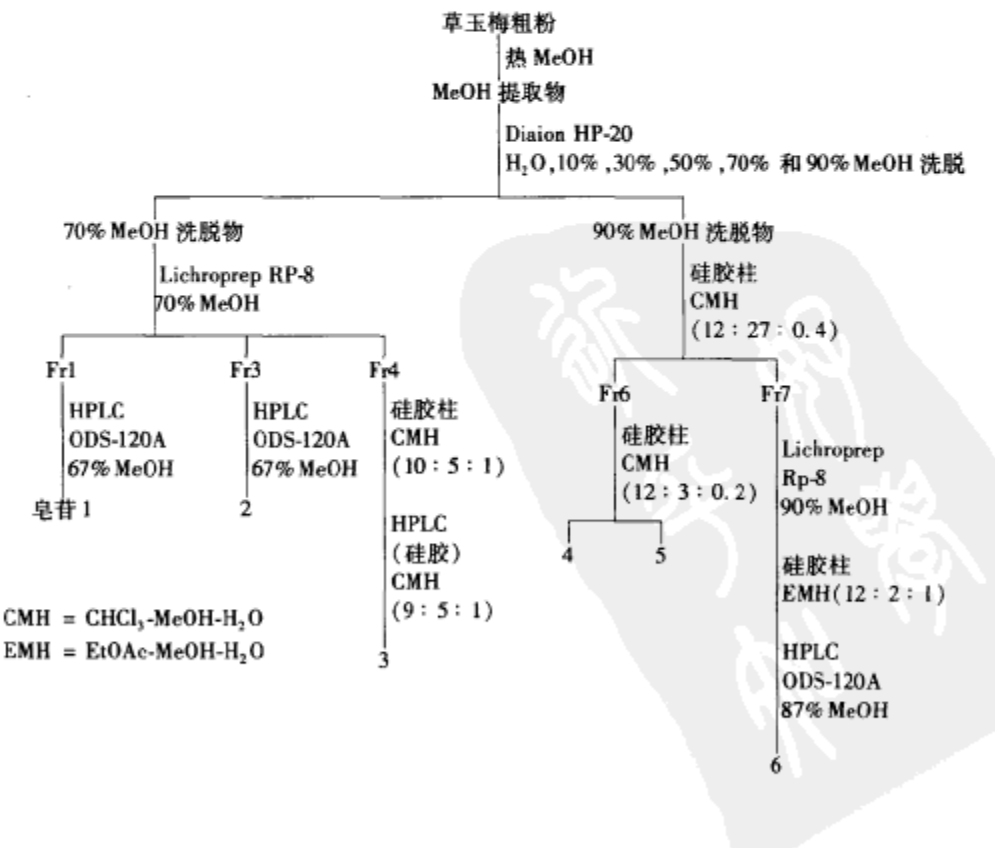


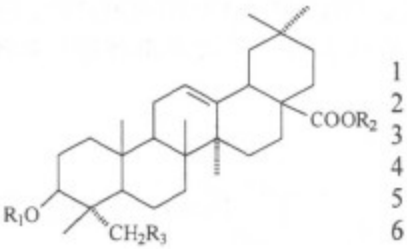
3. R_1=OH, R_2=H
4. R_1=H, R_2=β-D-glc

图 7-1 三萜皂苷提取流程图

（二）草玉梅皂苷

从草玉梅(*Anemone rivularis*)的根中用甲醇提取皂苷，经大孔树脂纯化，后经多种色谱法，分离得到 6 个皂苷[54]，如图 7-2 所示。





	R_1	R_2	R_3
1	ara-rha-rib	glc-glc-rha	OH
2	ara-rha-rib	glc-glc-rha	H
3	xyl-rha-rib	glc-glc-rha	H
4	ara-rha-rib	H	H
5	xyl-rha-rib	H	H
6	ara-rha-rib	H	OH

图 7-2 草玉梅皂苷提取流程图

第七节 结构测定

三萜及其皂苷的结构测定主要依照生源关系并采用化学和波谱等方法。由于生源关系，同属植物常含有结构类似的化学成分，所以查阅同属植物的化学成分研究报道，对确定所研究植物中的三萜及皂苷的结构会有很大帮助。在化学方法中可用一般的颜色反应，如用 Liebermman-Burchard 反应和 Molish 反应可初步推测化合物是否为三萜及其皂苷。经苷键裂解得到较小分子的苷元和糖，会使结构测定简单化。苷键裂解方法除常规方法外，对难水解的糖醛酸苷需采用一些特殊的方法，如光解法，四醋酸铅-醋酐法，醋酐-吡啶法、微生物转化法等。苷元结构的确定也可采用氧化、还原、脱水、甲基或双键转位、乙酰化、甲酯化等化学反应[55]将未知苷元结构转变为已知化合物，然后将其 IR、mp、Rf 或其它光谱数据与已知物数据对照的方法推测其结构。也可采用半合成或全合成方法制备相应的合成产物以确证天然产物的结构[4]。另外一些母核新颖较复杂的三萜类化合物的结构可采用 2D-NMR 和单晶 X-射线衍射分析等方法进行确定。由于波谱技术特别是核磁共振技术的发展，目前皂苷结构的确定常主要采用波谱法，现将自然界存在最多的齐墩烷型三萜及其皂苷的主要波谱特征作一简单介绍。

一、紫外光谱

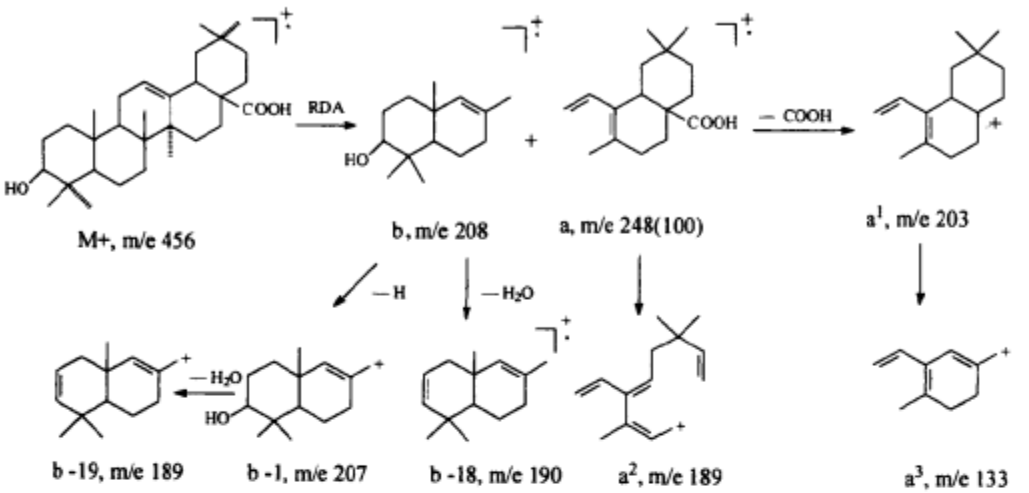
紫外光谱可用于判断齐墩果烷三萜化合物结构中双键类型，如结构中只有一个孤立双键，仅在 205～250nm 处有微弱吸收，若有 α，β-不饱和羰基，最大吸收在 242～250nm。如有异环共轭双烯，最大吸收在 240、250、260nm。同环共轭双烯最大吸收则在 285nm。此外，11-oxo，Δ^{12}-齐墩果烷型化合物，可用紫外光谱判断 18-H 的构型，当 18-H 为 β 构型，最大吸收为 248～249nm，18-H 为 α 构型，最大吸收为 242～243nm[56]。

二、质 谱[57,58]

（一）Δ^{12}齐墩果烯类三萜

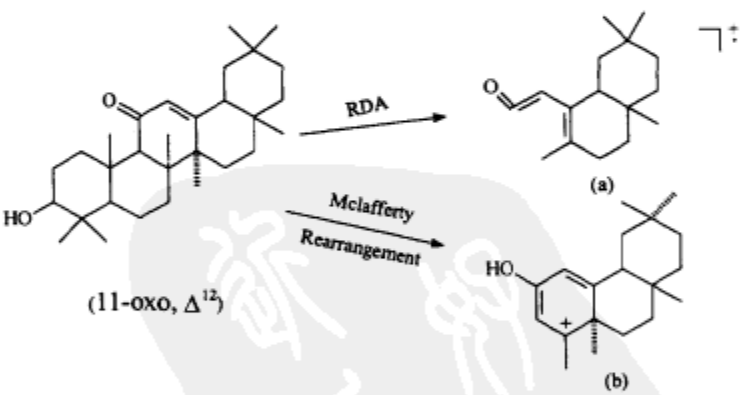
EI-MS 等主要用于游离三萜类化合物的分子离子峰及裂解碎片峰的研究，其可提供该类化合物的分子量、可能结构骨架或取代基位置的信息。三萜类化合物为数最多的是 Δ^{12}-齐墩果烯

类化合物，其 EI-MS 显示分子离子峰[M]$^+$·及失去 CH_3、OH 或 COOH 等碎片峰，主要特征是由于双键的存在，化合物在电子撞击下，C 环易产生 RDA 裂解，产生含 A、B 环和 C、D 环的离子。



(二) 11-OXO，Δ^{12}-齐墩果类三萜

具有 11-oxo，Δ^{12}结构的三萜，其除发生 RDA 裂解外，同时还有麦氏重排发生。

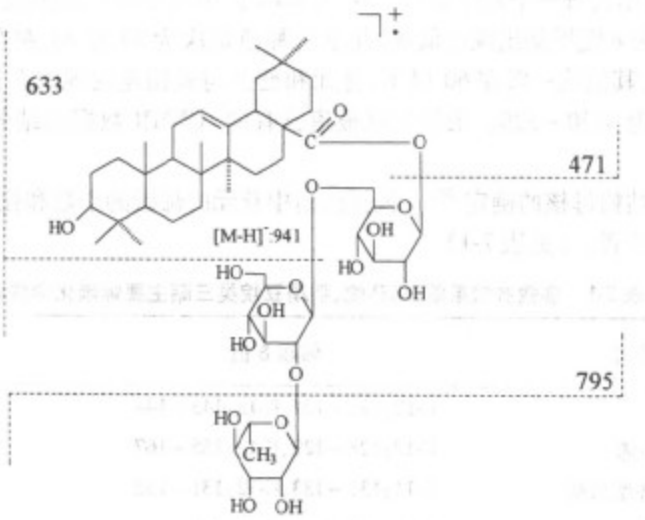


其他三萜如同环双烯、异环双烯及双键不在 12 和 13 位的三萜的裂解规律又不同，具体裂解方式可参见文献[55,58]。

(三) 三萜皂苷

由于皂苷的难挥发性，所以电子轰击质谱(EI-MS)和化学电离质谱(CI-MS)技术在三萜皂苷的应用受到限制，只有制备成全乙酰化物和全甲基化等衍生物才有可能。但不依赖样品挥发的质谱技术如场解析质谱(FD-MS)和正或负离子快原子轰击质谱(FAB-MS)在皂苷的结构检测中得到了广泛应用，该两种质谱的应用可以得到皂苷的准分子离子峰(quasi-molecular ion peaks)[M+H]$^+$、[M+Na]$^+$和[M+K]$^+$等，负 FAB-MS 给出[M-H]$^-$峰。分析准分子离子峰与碎片峰还可以给出一些分子中糖单元连接顺序的信息。如从植物 *Cussonia barteri* 中分离得到的皂苷 cussonoside A[59]的 negative ion FAB-MS 呈现了 941[M-H]$^-$准分子离子峰及 795[M-H-146]$^-$、

633[M-H-146-162]⁻、和471[M-H-146-162-162]⁻碎片峰，以上数据给出苷元与糖的连接顺序如图所示，末端糖为鼠李糖。



FAB-MS of cussonoside A

另外二级离子质谱（secondary ion-MS，SI-MS）[60]、飞行时间质谱（TOF-MS）、电喷雾质谱（ESI-MS）和激光解析质谱（LD-MS）[61]等也被成功地应用于皂苷的研究。

三、核磁共振谱

（一）核磁共振氢谱

在氢谱中可获得三萜及其皂苷中甲基质子、连氧的碳上质子、烯氢质子及糖的端基质子信号等重要信息。一般甲基质子信号在0.625～1.50间。在^{1}HNMR谱的高场出现多个甲基单峰是三萜类化合物的最大特征。羽扇豆烷型三萜的30-CH_3，因与双键相连，δ值在1.63～1.80间，具有烯丙偶合（第二版359页），呈宽单峰。乙酰基中甲基信号为δ1.82～2.07，甲酯部分的甲基信号在δ3.6左右。与角甲基、羽扇豆烷型30-CH_3、乙酰基及甲酯中甲基信号为单峰不同，乌苏烷型三萜29-CH_3和30-CH_3均为二重峰，δ值为0.8～1.0，J值约为6Hz。6-去氧糖5位连接的CH_3虽然也为二重峰（J=5.5～7.0Hz）但δ值为1.4～1.7。烯氢信号的化学位移值一般为δ4.3～6。环内双键质子的δ值一般大于5，环外烯氢的δ值一般小于5。如在Δ^{12}三萜中12位烯氢在δ4.93～5.50处出现一宽峰或分辨度不好的多重峰；若11位引入羰基，和双键共轭，则烯氢可因去屏蔽而向低场位移，在δ5.55处出现一单峰。具$\Delta^{9(11),12}$同环双烯化合物，在δ5.50～5.60处出现2个烯氢信号，均为二重峰。若为$\Delta^{11,13(18)}$异环双烯三萜，一个烯氢为双峰，在δ5.40～5.60，另一个烯氢为2个二重峰，出现在6.40～6.80处。

三萜化合物常有OH取代，连OH的碳上质子信号一般出现在δ3.2～4。连OAc的碳上的质子信号一般为δ4～5.5。三萜皂苷糖部分^{1}HNMR特征如同在第三章糖苷中介绍的一样，可识别的主要是端基质子，其偶合常数可用于确定苷键构型。

（二）核磁共振碳谱

^{13}CNMR 是确定三萜及其皂苷结构最有用的技术，由于分辨率高，一个三萜或其皂苷的 ^{13}CNMR谱几乎可给出其每一个碳的信号。在^{13}CNMR 谱中角甲基一般出现在 δ8.9～33.7，其中 23-CH_3 和 29-CH_3 为 e 键甲基出现在低场，化学位移值依次为 28 和 33 左右。苷元中除与氧连接的碳和烯碳等外，其他碳一般在 60 以下，苷元和糖上与氧相连的碳的 δ 值为 60～90，烯碳在 δ109～160，羰基碳为 δ170～220。根据文献报道已有的^{13}CNMR 数据总结分析结果可以解决许多结构问题。

1. 双键位置及结构母核的确定[55] 根据碳谱中苷元的烯碳的个数和化学位移值不同，可推测一些三萜的双键位置。（见表 7-1）

表 7-1 多数齐墩果烷、乌苏烷、羽扇豆烷类三萜主要烯碳化学位移

三萜及双键位置	烯碳 δ 值	其他特征碳
Δ^{12}-齐墩果烯	C-12:122～124，C-13:143～144	
11-oxo，Δ^{12}-齐墩果烯	C-12:128～129，C-13:155～167	11-C=O:199～200
Δ^{11}-13,28-epoxy-齐墩果烯	C-11:132～133，C-12:131～132	
$\Delta^{11,13(18)}$-齐墩果烯（异环双烯）	C-11:126～127，C-12:126 C-13:136～137，C-18:133	13-C:84～85.5
$\Delta^{9(11),12}$-齐墩果烯（同环双烯）	C-9:154～155，C-11:116～117 C-12:121～122，C-13:143～147	
Δ^{12}-乌苏烯	C-12:124～125，C-13:139～140	
$\Delta^{20(29)}$-羽扇豆烯	C-29:109 C-20:150	

2. 苷化位置的确定 糖与苷元羟基成苷和糖与糖连接位置产生的苷化位移如在糖苷一章所述是向低场位移，如三萜 3-OH 苷化，一般 C-3 向低场位移 δ8～10[62]，而且会影响 C-4 的 δ 值。糖之间连接位置的苷化位移约为 +3～8。但糖与 28-COOH 成酯苷，苷化位移是向高场位移，羰基碳苷化位移约为 −2，糖的端基碳一般位移至 δ95～96。

3. 羟基取代位置及取向的确定[63] 对各种齐墩果烷型的单羟基或多羟基取代三萜的^{13}C-NMR 数据进行研究发现，羟基取代可引起 α-碳向低场移 δ34～50，β-碳向低场移 2～10，而 γ-碳则向高场移 0～9。

（1）29,30-COOH 和 CH_2OH 位置的确定：与 29,30 位甲基取代比较，C-29,30 位羧基或羟甲基取代时，C-19,21 化学位移值向高场位移 δ4～6；C-20 向低场位移，如为羧基取代，位移 13 左右，如为羟甲基取代则位移 5 左右，这时 C-20 连接的甲基碳的化学位移值向高场位移 4～5。C-29 和 C-30 氧取代的主要区别是，当为 29-COOH（或 CH_2OH，e 键）取代时，C-29 化学位移值为 181.4(73.9)，C-30(CH_3)化学位移值为 19～20；当为 30-COOH（或 CH_2OH，a 键）取代时，C-30 化学位移值为 176.9(65.8)，C-29(CH_3)化学位移值为 28～29。

（2）23,24-OH 位置的确定：23-CH_2OH（e 键）化学位移值约为 68，比 24-CH_2OH（约为 64）总处于低场；和 23,24-CH_3 比较，具 23-CH_2OH 取代时，使 C-4 向低场位移约 4，C-3，C-5 和 C-24（CH_3）向高场位移约 4.3，6.5 和 2.4。具 24-CH_2OH 取代时，也使 C-4 的化学位移值向低场位移

约4，C-23(CH_3)向高场位移约4.5，但对C-3和C-5影响较小。

(3)2、3-OH构型的确定：3β-OH取代与相应的3α-OH取代的化合物比较，C-5的化学位移向高场位移4.2～7.2，C-24向低场位移1.2～6.6。当2位有羟基取代时，C-2的化学位移值(66.5～71.0)总是比C-3(78.2～83.8)处于高场，而且使C-1的化学位移值向低场位移5～10。

(4)16-OH构型的确定：三萜化合物分别具有16α-OH和16β-OH构型，两者的不同很容易从C-16的化学位移得到区别。具有16β-OH的C-16化学位移(～67.5)比其具有16α-OH构型的异构体的C-16化学位移(～74.0)向高场位移6.5。但在异环双烯三萜中相反，如为α-OH，C-16为δ68左右，β-OH时，C-16为δ77左右[31]。

4. 糖上乙酰基的确定　糖上乙酰化可能发生在任一羟基上，有的还出现双羟基乙酰化，一般乙酰化后，连接乙酰化位置的碳δ值向低场位移(+0.2～1.6)，其邻位碳向高场位移(-2.2～3.5)，但邻位双乙酰化时，乙酰化及其邻位碳一般均向高场位移[31]。

(三) 其他核磁共振技术

DEPT、H-H COSY和一些2D-NMR技术广泛用于三萜及其皂苷的结构确定中。H-H COSY主要通过分析相邻质子的偶合关系，用于苷元及糖上质子的归属，DEPT用于确定碳的类型(CH_3、CH_2、CH、C)。C-H COSY和通过氢检测的异核多量子相关谱HMQC主要用于进行碳连接质子的归属，测试HMQC谱所用化合物样品量较少。苷中糖的连接位置可由苷化位移确定，已在糖苷一章讲述，糖的连接位置确定还可采用NOE实验，照射糖的端基质子可观察到与糖连接位置的碳上质子增益[64]。近些年由氢检测异核多键相关实验(HMBC)已被广泛用于苷中糖的位置的确定，在HMBC谱中糖的端基氢与连接位置的碳有明显的相关点。另外全相关谱TOCSY(HOHAHA)对于糖环的连续相互偶合氢的归属特别有用，特别是在糖上氢信号互相重叠时，往往可以通过任何一个分离较好的信号(如端基氢)，得到所有该信号偶合体系中的其他质子信号，进行归属[22]。

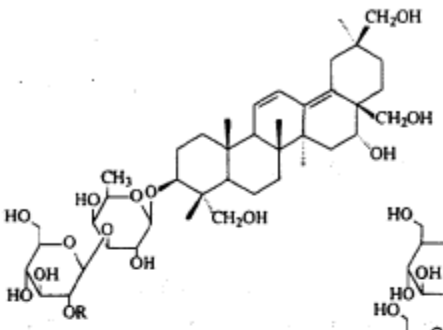
四、结构测定实例

(一) 化合物P1（柴胡皂苷r，saikosaponin r)[65]

白色粉末，mp 241～243℃，Libermann-Burchard反应和Molish反应均为阳性。TOF-MS实验给出分子离子加钠峰 m/z 981$[M+Na]^+$。^{1}H-NMR谱中5个角甲基信号δ0.89，0.99，1.02，1.23和1.67显示P1为五环三萜类皂苷。UV λ_{max}^{MeOH} nm：243，251，260，提示苷元具有11，13(18)异环双烯结构。这一结论由^{1}H-NMR谱中的烯氢信号δ6.77(1H，d，J=10.6Hz)，5.69(1H，d，J=10.6Hz)，以及^{13}C-NMR谱中的异环双烯碳信号：δ136.5，133.0，126.4，126.2进一步确证。P1苷元部分的^{13}C-NMR谱信号δ68.2，64.6，65.3，73.6和82.4显示P1的苷元具有5个羟基；δ82.4为苷元3位β-羟基苷化后的化学位移值。通过对比P1和柴胡皂苷1(saikosaponin 1)[66]苷元部分的^{13}C-NMR谱数据，发现两者完全一致；并且两者的薄层酸水解实验证实它们苷元的Rf值相同，从而可以确定P1的苷元为3β，16α，23，28，30-五羟基-齐墩果烷-11，13(18)-二烯。

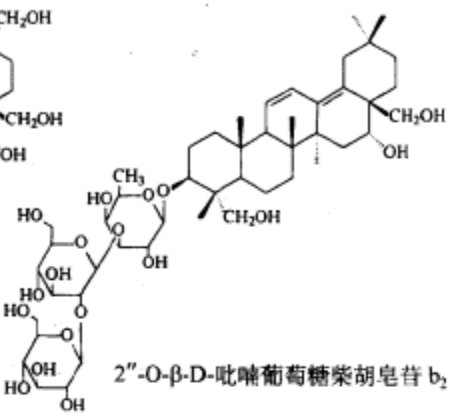
通过与标准品对照，P1的薄层酸水解给出呋糖和葡萄糖。结合^{1}H-NMR谱信号δ4.96(1H，d，J=7.8Hz)，5.08(1H，d，J=7.9Hz)和5.11(1H，d，J=7.8Hz)以及^{13}C-NMR谱信号δ104.6，105.3，107.2，62.1(glc 6-C)，62.4(glc 6-C)，17.4(fuc 6-C)，可以推断P1分子中具有一分子呋

糖和两分子葡萄糖，并且都为β构型。温和的酸水解只给出葡萄糖，说明分子中呋糖为内侧糖。



R = β—D—glc 柴胡皂苷 r

R = H 柴胡皂苷 l



2″-O-β-D-吡喃葡萄糖柴胡皂苷 b_2

将 P1 与柴胡皂苷 l 糖部分的 ^{13}C-NMR 谱数据进行对比，可见 P1 中的一葡萄糖 2 位发生了苷化位移(δ75.9→86.1)。因此可以推断 P1 与柴胡皂苷 l 的差异仅在于在一葡萄糖 2 位上连接了另一葡萄糖。并且 P1 与 2″-O-β-D-吡喃葡萄糖-柴胡皂苷 b_2[67] 糖部分 ^{13}C-NMR 谱数据完全一致，这一推断为 HMBC 实验证实，在 HMBC 谱中显示 fuc 1-H 与苷元 3-C，1 个 glc 1-H 与 fuc 3-C，另一个 glc 1-H 与前 1 个 glc 2-C 有相关关系。根据以上分析，将 P1 的结构确定为：3β,16α,23,28,30-五羟基-齐墩果烷-11,13(18)-二烯-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→3)-β-D-吡喃呋糖苷，其为新皂苷，命名为柴胡皂苷 r(saikosaponin r)。

(二) 化合物 C[68]

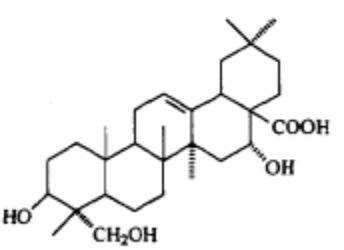
无色针状结晶(甲醇)，mp. 262 ~ 264℃；Molish 反应和 Liebermann-Burchard 反应均为阳性。FAB-MS *m/z* 743[M + Na]$^+$。^{1}H-NMR 谱中有 6 个角甲基单峰质子信号 δ0.79,0.98,1.05,1.16,1.50,1.86，提示可能为三萜类化合物；^{13}C-NMR 谱中有 δ122.2,145.1 烯碳特征信号、δ179.9 羧基碳信号和 1 组六碳糖的信号，^{1}H-NMR 谱中有 δ5.6(s,br.)信号，因此推测化合物 C 为具有 olean-12-en 基本骨架的三萜皂苷，且具有一羧基。^{1}H-NMR 谱中只有 6 个角甲基单峰信号，说明一个角甲基被 CH_2OH 取代，另一个角甲基被 COOH 取代；将化合物 C 与已知化合物碳谱数据 Ⅰ[69] 和 Ⅱ[70] 对照，发现化合物 C 苷元的 A、B 环 ^{13}C-NMR 数据，除由于 3-OH 成苷，C-2、C-3、C-4 产生苷化位移外，其它数据与化合物 Ⅱ 的 A、B 环均一致，C、D 环与化合物 Ⅰ 数据一致，所以确定苷元为 3β,16α,24-三羟基齐墩果-12-烯-28-酸，HMBC 谱也证明该推论正确；将化合物 C 进行薄层水解，与标准品对照确定糖为葡萄糖，再将糖部分 ^{13}C-NMR 化学位移值与文献葡萄糖值比较，除 6 位略高外，其它基本一致，所以确定为葡萄糖，端基 H 的偶合常数 J = 7.8Hz，所以苷键为 β 构型。另外还有 4 个碳信号，其 ^{13}C-NMR 谱化学位移分别为 δ13.7,19.3,30.9,170.2，通过 C-H COSY 谱确定了碳信号连接的 3 组氢信号，此 3 组氢信号在 ^{1}H-^{1}H COSY 谱中呈现明显的相互偶合关系，结合 DEPT 谱及 HMBC 谱给出的主要相关关系，确认这 4 个碳为一丁酰基，其中羰基碳信号与葡萄糖的 6 位 H 和 5 位 H 相关，所以丁酰基与葡萄糖的 6 位碳上的羟基成酯；HMBC 谱呈现葡萄糖端基氢与苷元 3 位碳相关，所以糖连接在苷元的 3 位氧上；根据 ^{1}H-^{1}H COSY，^{13}C-^{1}H COSY，DEPT 及 HMBC 谱，对碳信号、重要的氢信号及其相互连接位置进行了归属。所以化合物

C 的化学结构鉴定为 3β,16α,24-三羟基齐墩果-12-烯-28-酸-3-O-(6′-丁酰基)-β-D-吡喃葡萄糖苷,为一新化合物,命名为夏枯草皂苷 B(vulgarsaponin B)。

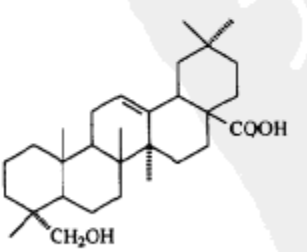
夏枯草皂苷 B 的结构及 HMBC 主要相关关系

表 7-2 皂苷 P1 和 C 的^{13}C NMR 数据(C_5D_5N)

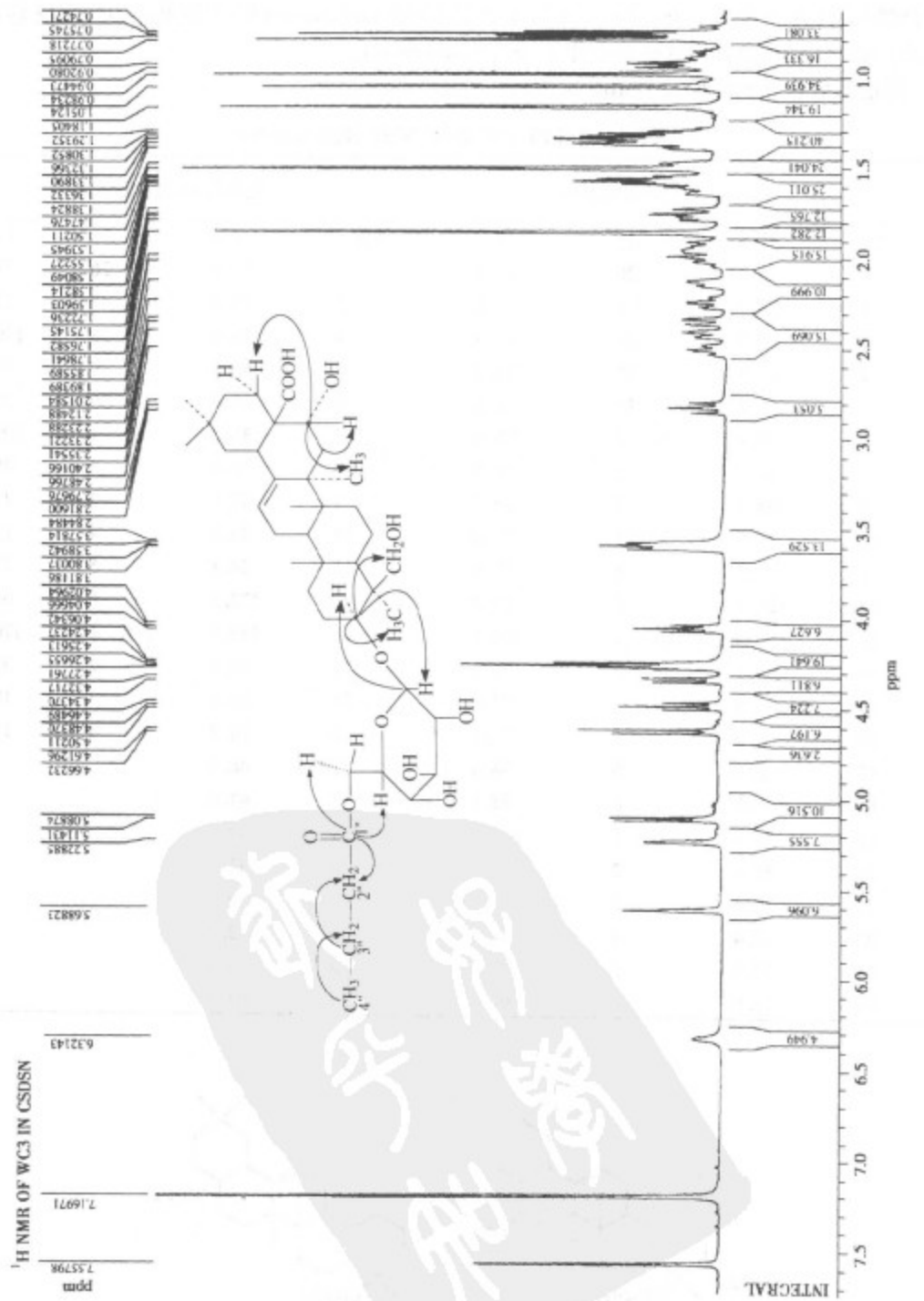
	P1(柴胡皂苷 r)				化合物 C(夏枯草皂苷)		
苷元 1	38.6	25	18.8	苷元 1	38.6	25	15.4
2	26.2	26	17.4	2	26.9	26	17.4
3	82.4	27	22.1	3	89.2	27	27.2
4	43.7	28	65.3	4	44.8	28	179.9
5	47.7	29	21.2	5	56.3	29	33.4
6	18.4	30	73.6	6	18.9	30	24.8
7	32.1	fuc 1	105.4	7	33.8	glc 1	106.5
8	41.2	2	71.7	8	39.9	2	75.3
9	54.1	3	86.8	9	47.1	3	77.5
10	36.7	4	71.9	10	36.8	4	73.1
11	126.2	5	70.9	11	24.1	5	77.9
12	126.4	6	17.2	12	122.3	6	65.0
13	136.5	glc 1	104.7	13	145.1	丁酰 1	170.2
14	42.1	2	86.1	14	42.2	2	30.9
15	32.5	3	77.8	15	36.2	3	19.3
16	68.2	4	71.1	16	74.7	4	13.7
17	45.9	5	78.4	17	48.9		
18	133.0	6	62.1	18	41.5		
19	34.1	glc 1	107.2	19	47.3		
20	38.4	2	76.6	20	31.1		
21	30.4	3	77.9	21	36.1		
22	24.4	4	70.7	22	32.8		
23	64.6	5	79.1	23	23.3		
24	13.0	6	62.4	24	63.2		

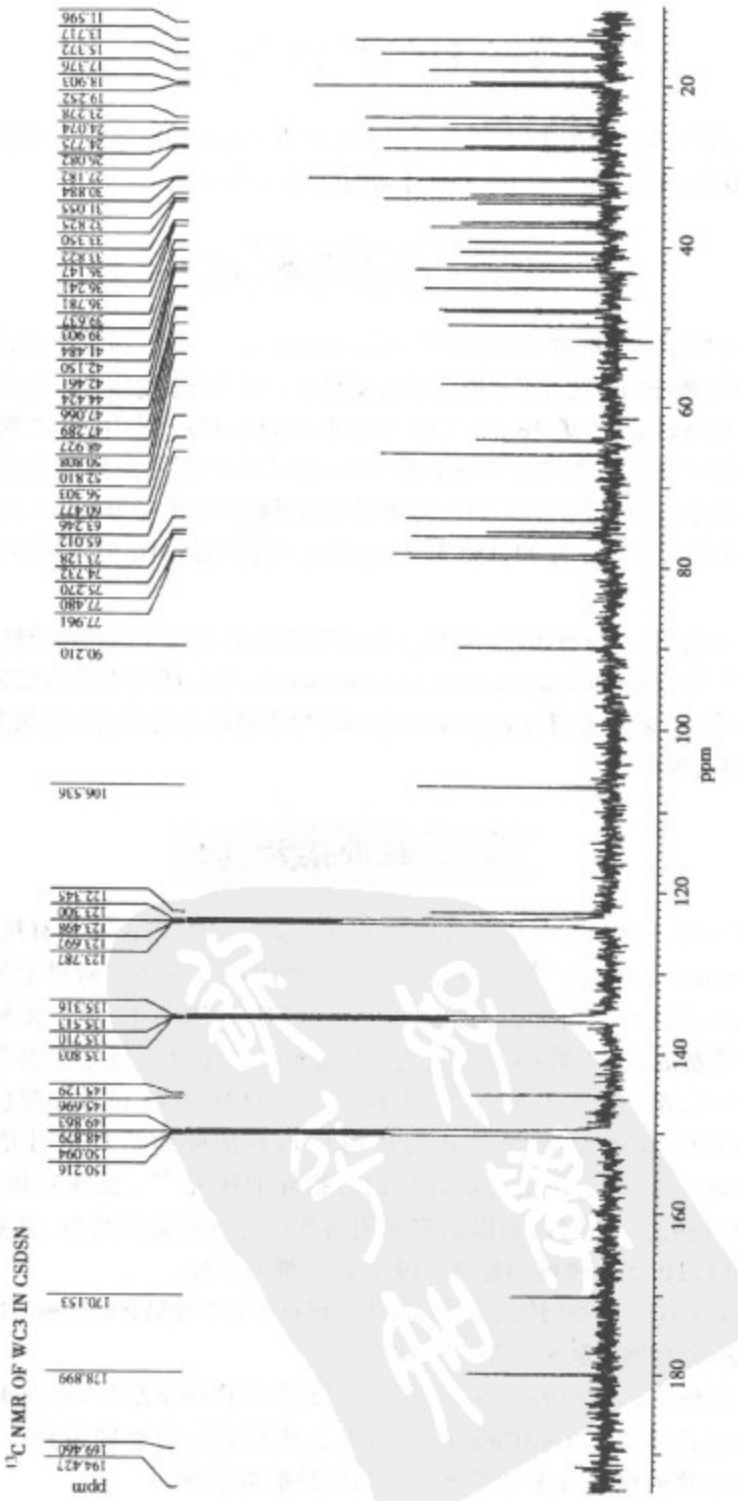


I



II


^{1}H NMR OF WC3 IN CSDSN
ppm
INTECRAL
ppm
COOH
OH
CH$_3$
CH$_2$OH
H$_3$C
OH
OH
OH
CH$_3$
CH$_2$
CH$_2$
CH$_3$


11.596
13.717
15.172
17.176
18.903
19.252
23.278
24.074
24.775
26.082
27.182
30.884
31.055
32.824
33.350
33.922
35.147
35.241
36.781
39.637
39.903
41.484
42.150
42.461
44.424
47.066
47.289
48.927
90.808
92.810
96.303
103.877
63.246
65.012
71.128
74.732
75.270
77.480
77.961
90.210
106.536
122.345
123.900
125.498
125.697
125.787
135.316
135.517
135.710
135.801
145.129
145.696
149.863
149.879
150.094
150.216
170.153
178.899
189.460
194.427
ppm
^{13}C NMR OF WC3 IN CSDSN
20
40
60
80
100
120
140
160
180
ppm

第八节 生物活性

三萜及其皂苷具有广泛的生物活性，对许多可得的三萜及其皂苷的生物活性及毒性研究结果显示其具有溶血、抗癌、抗炎、抗菌、杀软体动物、抗生育等活性。

一、抗炎活性

关于三萜及其苷类具有抗炎活性的（antiinflammatory activity）报道较多，如以花生四烯酸（arachidonic acid）诱导的小鼠耳部水肿为动物模型对一些齐墩果烷型三萜的抗炎活性进行了筛选研究，结果表明齐墩果-12-烯-3β,30-二醇、齐墩果-9(11),12-二烯-3β,30-二醇和齐墩果-11,13(18)-二烯-3β,30-二醇的双邻苯二甲酸单酯（dihemiphthalate）的衍生物无论是局部用药还是口服都有较强的抑制小鼠耳部水肿的活性，局部用药的半数抑制浓度为1.9、2.8和1.7mg/ear，口服给药的半数抑制浓度 ID_{50} 为90,130和88mg/kg。局部用药 ID_{50} 值与去甲二氢愈创木酸相当[71]。

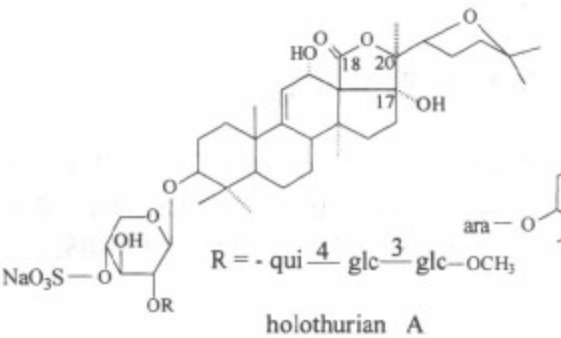
而且有些三萜已作为药物在临床应用，例如齐墩果酸已应用于临床治疗肝炎。甘草次酸琥珀酸半酯的钠盐，称甘珀酸钠（biogastrone，carbenoxolone），系自60年代至今临床常用抗溃疡药，收载于《中国药典》。雷公藤（*Tripterygium wilfordii*）提取物临床用于治疗类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮和肾炎等病[72]。

二、抗肿瘤活性

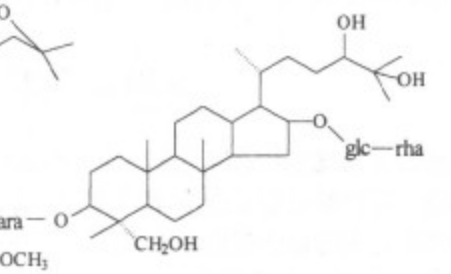
文献报道一些三萜和三萜皂苷特别是具有羧基的该类化合物具有抗肿瘤活性（antitumour or anticancer activity）[73]。Ling[74]等对一些四环和五环三萜对七种人癌细胞的抗癌活性的构效关系进行了研究，发现3β,16α-二羟基-齐墩果-12烯在体外对HE6-1-A等6种癌细胞有抑制活性，半数抑制浓度为10μg/ml，而且16α-羟基是必需的。18α-齐墩果-12烯-3β,28-二醇[75]，对7,12-二甲基苯[a]并芘（DMBA）和佛波酯（TPA）刺激小鼠皮肤肿瘤有显著的抑制活性，是被认为体内外均有抗肿瘤活性的甘草酸（glycyrrhetic acid）活性的100倍以上。以生物活性测试为指导的研究[76]，发现夏枯草（*Prunella vulgaris*）等三种植物有抗癌活性，追踪研究表明乌苏酸为抗癌活性成分，其对淋巴细胞型白血病P388和L1210及人肺癌细胞A-549有显著抑制活性。

从 *Holothurin mexicana* 得到的三萜皂苷holothurian A等4种皂苷的抗癌活性研究表明具有4个糖的苷活性最强，糖增加至6个活性不再增加[77]。

对从多叶唐松草（*Thalictrum foetidum*）得到的多叶唐松草皂苷foetoside C[78]等进行小鼠体内抗肿瘤活性研究（30～50mg/kg），结果表明其对抗药性肿瘤具有很好的活性，作者认为多叶唐松草的糖苷有希望发展为新的抗肿瘤抑制剂。



holothurian A

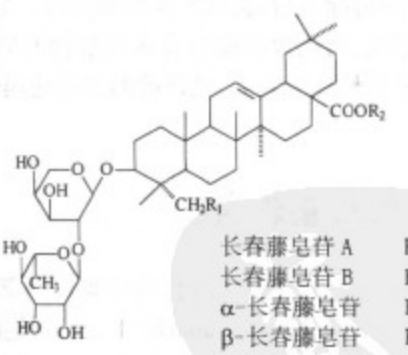


foetoside C

三、抗菌和抗病毒活性

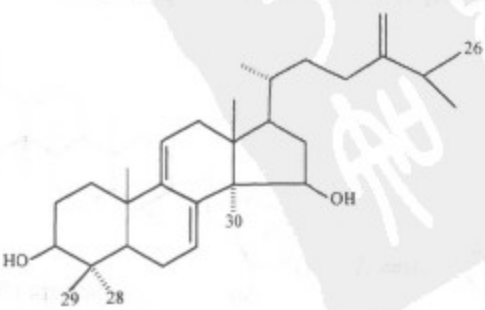
一些皂苷有抗菌活性(antibacterial activity),如用菌种 *Saccharomyces carlsbergenesiss* 在体外进行实验,研究了 49 种五环三萜类化合物的抗真菌活性,研究结果表明 C-27 或 28 位有游离羧基的齐墩果酸和长春藤皂苷元(hederagenin)的皂苷具有较强的抗真菌活性[79]。

对某些来源于植物的三萜皂苷进行抗致病霉菌、酵母和皮肤真菌活性进行了研究,以两性霉素 B 和酮康唑为对照,研究结果也显示常春藤皂苷活性最强[80]。



长春藤皂苷 A	R_1=OH	R_2=-glc_6_glc_4_rha
长春藤皂苷 B	R_1=H	R_2=-glc_6_glc_4_rha
α-长春藤皂苷	R_1=OH	R_2=H
β-长春藤皂苷	R_1=H	R_2=H

某些三萜类化合物具有抗病毒活性(antiviral activity)如 suberosol[81],一种新的 31 个碳的羊毛脂烷型三萜是从番荔枝科暗罗属植物(*Pollyathia subarosa*)中得到的,其能在 H 9 淋巴细胞中抑制 HIV 复制(ED_{50}为 3μg/ml)。甘草中的三萜可使输血用的血制品中的病毒失活,甘草次酸



(glycyrrhetinic acid)可100%的抑制疱疹性口炎病毒[82]。

四、降低胆固醇作用

实验研究发现皂苷有降低胆固醇(cholesterol-lowering action)的作用,其作用机理是由于肠腔内皂苷与胆固醇形成复合体,使胆固醇很难再被吸收。甘草酸可降低胆固醇。柴胡皂苷可降低由于饲喂胆固醇而引起的血浆胆固醇、三油酸甘油酯和磷脂的升高,其中柴胡皂a和d有该活性,柴胡皂苷c没此作用[83,84]。

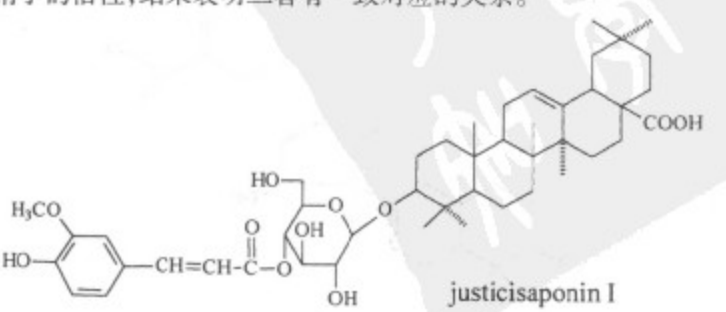
五、杀软体动物活性

皂苷对用鳃呼吸的动物如软体动物、鱼类等显示很强的毒性,这种毒性可能是由于鳃上皮细胞浸透性增加,使血浆中维持生命的重要电解质渗出的缘故。因此皂苷可作为血吸虫中间宿主钉螺杀灭剂。例如在齐墩果烷五环三萜部分列出的从澳洲商陆得到的lemmatoxin和oleanoglycotoxin A二个皂苷,在低浓度就具有杀螺活性(molluscacidal activity)。

为了寻找具有选择性高和强效的杀螺剂,曾将19种五环三萜皂苷(由齐墩果酸和常春藤皂苷元衍生的皂苷),2种达玛烷型皂苷进行杀螺活性试验[85],结果表明单糖链皂苷有活性,双糖链皂苷均无活性。双糖链皂苷中,将羧基上糖链除去后,就可产生强的活性。皂苷分子4位连接的甲基如被—CH_2OH取代,一般可使活性增强,因此常春藤皂苷元衍生物的皂苷与相应的齐墩果酸衍生的皂苷,在连有相同的糖链时,前者活性比后者大,供试验的二种达玛烷型皂苷、常春藤皂苷元和齐墩果酸均没有杀螺活性。

六、抗生育作用

上述皂苷lemmatoxin,在体外对人的精子有杀灭作用。由喜马拉雅山西部民间著名延年益寿植物*Justicia simplex*(爵床科)中分离出的三萜皂苷justicisaponin Ⅰ,具有抗生育活性[86],且经药理试验证实它是通过对精子顶体膜的稳定作用,干扰精子中酸性水解酶和蛋白质的释放,从而阻止卵细胞受精。柳叶牛膝(*Achyranthes longifolia*)的总皂苷对雌性小鼠有中期引产和抗生育作用[87],从总皂苷分离出的齐墩果酸,对小鼠也有一定抗生育作用。且有人试验了6种植物皂苷的溶血指数和杀精子的活性,结果表明二者有一致对应的关系。



justicisaponin I

七、其他活性

三萜及其苷除具有以上活性外，还有其他许多生物活性（miscellaneous activity）被研究。皂苷有溶血活性（homolytic activity，见皂苷的性质部分）。三萜及其皂苷对代谢的作用（action on metabolism）表现多样[4,73,88]，如人参皂苷对肾上腺皮质激素的分泌和血浆中皮质酮的升高有促进作用。有些皂苷对心血管及免疫系统也有作用，如人参皂苷 b_2，柴胡皂苷 a 可降低高血脂[89]，绞股蓝皂苷对大鼠血小板聚集及实验性血栓有明显的抑制作用[90]。茶叶、茶子中的皂苷有降压作用。人参和黄芪皂苷可增强机体的免疫功能[91]。大豆（黄豆）中的大豆皂苷（soyasaponins）可抑制血清中脂类氧化及过氧化脂质生成并有减肥作用[92][93]。另外由于皂苷能降低表面张力的活性可被用来作乳化稳定剂、洗涤剂和起泡剂等。

参考文献

[1] Kulshreshtha, M. J. et al. Phytochemistry 1972, 11: 2369
[2] Mahato, S. B. et al. Phytochemistry 1997 44: 1185
[3] Agarwal, S. K. et al. Phytochemistry 1974, 13: 2623
[4] Mahato, S. B. et al. Phytochemistry 1991 30: 1357
[5] 甘露等. 西北药学杂志 1997, 12: 135
[6] Itokawa, H. et al. Chem Lett 1991: 2221
[7] Barrero, A. F. et al. Tetrahedron Letters 1989, 30: 3351
[8] Deguzman, F. S. et al. J Org Chem 1991, 56: 55
[9] Barrero, A. F. et al. Tetrahedron 1990, 46: 8161
[10] Abe, I. et al. Chem Rev 1993, 93: 2189
[11] Morita, T. et al. Chem Pharm Bull 1983, 31: 3205
[12] Kassi, R. et al. Chem Pharm Bull 1983, 31: 2120
[13] Kitagawa, I. et al. Chem Pharm Bull 1983, 31: 3353
[14] Tanaka, O. et al. Chem Pharm Bull 1972; 20: 1212
[15] Otsuka, H. et al. Phytochemsitry 1978, 17: 1349
[16] Okamura, N. et al. Chem Pharm Bull 1981, 29: 676
[17] Ikram, M. et al. J Nat Prod 1981, 44: 91
[18] Dugan, J. J. et al. Can J Chem 1965, 43: 2033
[19] Kobayashi, M. et al. Chem. Pharm. Bull. 1991, 39: 2867
[20] 陈若云等. 药学学报 1990, 25: 940
[21] Kumar, V. et al. Phytochemistry 1991, 30: 1231
[22] 何侃等. 药学学报 1988, 23: 873; 吴军等. 国外医药·植物药分册 2000, 10: 235
[23] Barton, D. H. et al. J. Chem. Soc (C), 1969, 1050
[24] 梁晓天. 化学学报 1983; 41: 95
[25] Hylands, Peter J. et al. Phytochemistry 1982; 21: 1379
[26] Donald, E. C. et al. Phytochemistry, 1992, 31: 377
[27] Kraus, W. et al. Phytochemistry 1981, 20: 117

[28] 田丽婷等. 中国中药杂志,2002,27:884
[29] 张如意等. 药学学报 1986,21:510
[30] 蔡立宁等. 药学学报 1991,26:447
[31] 贾琦等. 药学学报 1989,24:961;刘沁舡等. 国外医药·植物药分册 2000,10:190
[32] Tan Li,et al. Phytochemistry 1999,50:139
[33] Johnson ,A. et al. Tetrahedron 1974,30:2033
[34] Woo,W. S. et al. Phytochemistry 1976,15:1315
[35] Woo,W. S. et al. Planta Medica 1978,34:87
[36] 王蓍禄等. 药学学报 1984,19:825
[37] Moreno,M. et al. Phytochemistry 1981;20:1446
[38] Parkurst,R. M. et al. Can J Chem 1974;52:702
[39] Parkhurst,R. M. et al. Phytochemistry 1973;12:1437
[40] Dugan,J. J. et al. Tetrahedron Letters 1964,2567
[41] Zou,K. et al. Carbohydrate Research 2000,324:182
[42] Itiro,y. et al. Chem Pharm Bull 1971,19:1700
[43] Juan,Qin wen et al. Phytochemistry 1986,25:913
[44] 罗思齐等. 中草药 1980,11:244
[45] Inhas,P. H. ,et al. Bull Soc Chem Fr 1968;1888;1890[CA,1967,67:108934^e;1968,68:29901^j]
[46] Tommasi N. D. et al. J Nat prod 1992,55:1067
[47] 陈文侃等. 化学学报 1990,48:501
[48] Minocha,P. K. et al. Phytochemistry 1981,20:135
[49] Chauhan,J. S. et al. Phytochemistry. 1987,17:1005
[50] 张东明等. 药学学报 1991,26:341
[51] Gunatilaka,L. A. A. et al. Tetrahedrou 1984,40:805
[52] 黄宝山等. 国外医学·药学分册 1982,4:204
[53] Zhang Q. Y. et al. Chem pharm Bull 2003,51(5)
[54] Mizutani K. et al. Planta Medica 1984:327
[55] 姚新生主编. 天然药物化学 北京:人民卫生出版社 第二版 1994:348,358
[56] Ricca,G. S. et al. Org Magn Res 1978,11:163
[57] Budzikiewicz,H. et al. J Am Chem Soc 1963,85:3688
[58] 丛甫珠主编. 质谱学在有机化学中的应用 北京:科学出版社 1987:686,694
[59] Dubois,M. A. et al. Planta Medica 1986:80
[60] Kitagawa,L. et al. Chem Pharm Bull 1988,36:2819
[61] Schope,T,et al. J Nat Prod. 1995,58:152
[62] 高冬英等. 北京医科大学学报 1993,25:463
[63] 王祝举等. 中国中药杂志 2000,25:518
[64] 罗何生等. 药学学报 1995,30:435
[65] Tan,L. et al. Journal of Chinese pharmaceutical Sciences 1996,5:128
[66] 陈喜奎等. 药学学报 1993,28:352
[67] Ishii,H. et al. Chem Pharm Bull 1980,28:2367
[68] 王祝举等. 药学学报 1999,34:670
[69] Becchi M. et al. Eur. J. Biochem. 1980,108:271 ~277

[70] Kizu H. et al. Chem. Pharm. Bull. 1982,30: 3340 - 3346
[71] Inoue, H. et al. J Pharm pharmacol 1988,40: 272
[72] Qin, W. Z. et al. Chin Med J 1981,94: 827
[73] Shashi, B. et al. Phytochemistry 1992,31: 2199
[74] Ling, H. C. et al. Chem Abs 1982,97: 120120
[75] Nishino, H. et al. Cancer Res 1988,48: 5210
[76] Lee, K. H et al. planta Medica 1988,54: 308
[77] Kitagawa, I. et al. Chem pharm Bull 1981,29: 1951
[78] Ra Khimov, K. R. et al. Khim -Farm Zh 1987,21: 1434
[79] Manik, C. D et al. Phytochemistry 1983,22: 1071
[80] Favel, A. et al. Planta Medica 1994,60: 50
[81] Li, H. Y. et al. J. Nat Prod 1993. 56: 1130
[82] Shanbrom, E. et al. US patent, US 5,128,150 1992(C. A. 117: 178293V)
[83] Basu, N. et al. Phytochemistry 1967,6: 1249
[84] Chandel, R. S. et al. Phytochemistry 1980,19: 1889
[85] Hostettmann, K. et al. planta Medica 1982,44: 34
[86] Ghosal S. et al. Planta Medica 1981,42: 279
[87] 吴乃居等. 中草药 1982,13: 5
[88] Shashi, B. et al. Phytochemistry 1988,27: 3037
[89] 吴寿金等. 国外医药·植物药分册 1994,9: 246
[90] 齐刚等. 中草药 1997,28: 163
[91] 赵世明. 国外医药·植物药分册 1998,13: 3
[92] 王章存. 中草药 1995,26: 607
[93] Khushbatova, et al. 1986, Jap. Patent 61265,068[8625,068]

（赵玉英）

8 第八章 甾体及其苷类

第一节 概 述

甾体化合物是天然广泛存在的一类化学成分，种类很多，但结构中都具有环戊烷骈多氢菲（cyclopentano-perhydrophenanthrene）的甾核。甾核四个环可以有不同的稠合方式。甾核 C_3 位有羟基取代，可与糖结合成苷。甾核的 C_{10} 和 C_{13} 位有角甲基取代，C_{17} 位有侧链。根据侧链结构的不同，天然甾类成分又分为许多类型，如表 8-1 所示。

表 8-1 天然甾类化合物的分类及甾核的稠合方式

	C_{17} 侧链	A/B	B/C	C/D
C_{21} 甾类	羟甲基衍生物	反	反	顺
强心苷类	不饱和内酯环	顺、反	反	顺
甾体皂苷类	含氧螺杂环	顺、反	反	反
植物甾醇	脂肪烃	顺、反	反	反
昆虫变态激素	脂肪烃	顺	反	反
胆酸类	戊酸	顺	反	反

从生源观点来看，甾体化合物都是通过甲戊二羟酸的生物合成途径转化而来[1,2]，如图 8-1 所示。

乙酰辅酶 A→角鲨烯（squalene）→2，3-氧化角鲨烯（2，3-oxidosqualene）

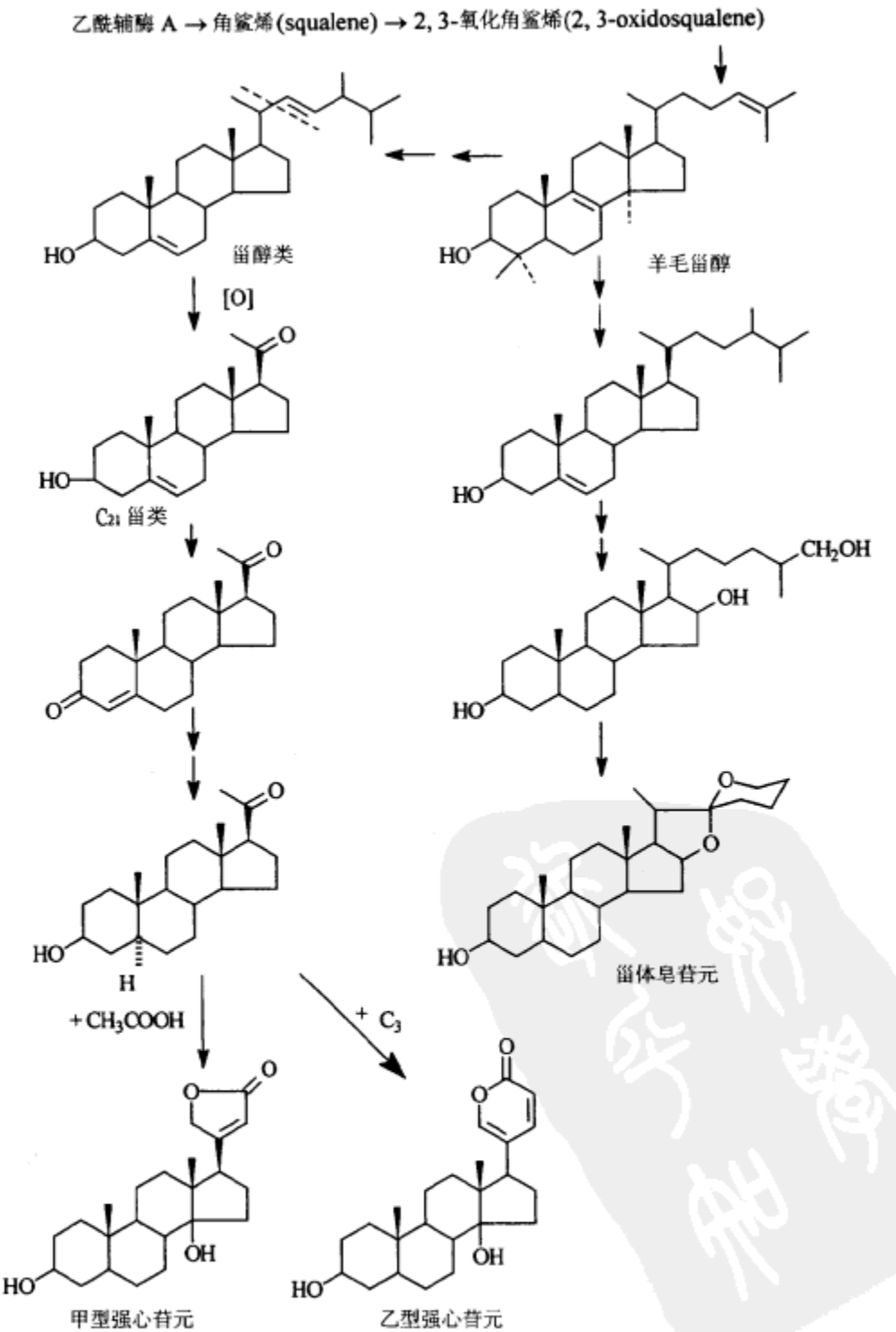


图 8-1 甾体化合物生源合成途径

天然甾类成分的 C_{10}、C_{13}、C_{17} 侧链大都是 β-构型。C_3 位有羟基取代，由于此羟基的空间排列，具有二种异构体：C_3-OH 和 C_{10}-CH_3 为顺式，称为 β-型（以实线表示）；C_3-OH 和 C_{10}-CH_3 为反式，称为 α-型或 epi-（表-）型（以虚线表示）。甾体母核的其他位置还可以有羟基、羰基、双键、环氧醚键等功能基的取代。本章主要介绍 C_{21} 甾、强心苷和甾体皂苷三类成分。

甾类成分在无水条件下，遇强酸亦能产生各种颜色反应，与三萜化合物类似。

1. Liebermann-Burchard 反应　将样品溶于冰醋酸，加浓硫酸-醋酐（1∶20），产生红→紫→蓝→绿→污绿等颜色变化，最后褪色。

2. Salkowski 反应　样品溶于氯仿，沿管壁滴加浓硫酸，氯仿层显血红色或青色，硫酸层显绿色荧光。

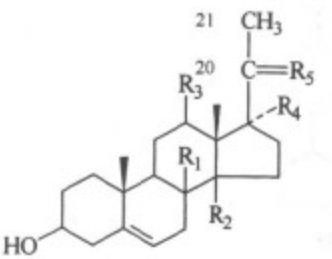
3. Rosenheim 反应　样品和 25% 三氯醋酸的乙醇溶液反应可显红色至紫色。将 25% 三氯醋酸乙醇液和 3% 氯胺 T（chloramine T）水溶液以 4∶1 混合，喷在滤纸上与强心苷反应，干后 90℃ 加热数分钟，于紫外光下观察，可显黄绿色、蓝色、灰蓝色荧光，反应较为稳定，且可用于毛地黄强心苷类的区别，也可用氧化苯甲酰[3]、次氯酸盐、过氧化氢等代替氯胺 T[4]。

4. 三氯化锑或五氯化锑反应　将样品醇溶液点于滤纸上，喷以 20% 三氯化锑（或五氯化锑）氯仿溶液（不应含乙醇和水），干燥后，60～70℃ 加热，显黄色、灰蓝色、灰紫色斑点。

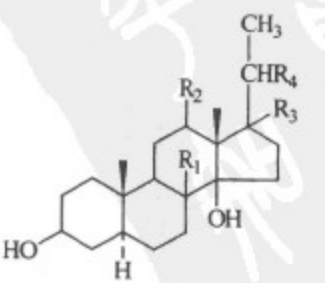
第二节　甾体化合物

一、C_{21} 甾类化合物

C_{21} 甾（C_{21}-steroides）是一类含有 21 个碳原子的甾体衍生物，是目前广泛应用于临床的一类重要药物，具有抗炎、抗肿瘤、抗生育等方面生物活性，尤其是从天然产物中寻找高效低毒的 C_{21} 甾体直接应用于临床或作为新药合成的研究，更是得到世界卫生组织和各国学者的重视。目前由植物中分离出的 C_{21} 甾类成分的种类已经很多，它们都是以孕甾烷（pregnane）或其异构体为基本骨架。在 C_5、C_6 位大多有双键，C_{20} 位可能有羰基，C_{17} 位上的侧链多为 α-构型，但也有 β-构型。C_3、C_8、C_{12}、C_{14}、C_{17}、C_{20} 等位置上都可能有 β-OH，C_{11} 位上则可能有 α-OH，其中 C_{11}、C_{12} 羟基还可能和醋酸、苯甲酸、桂皮酸等结合成酯存在。主要结构类型有以下二种。



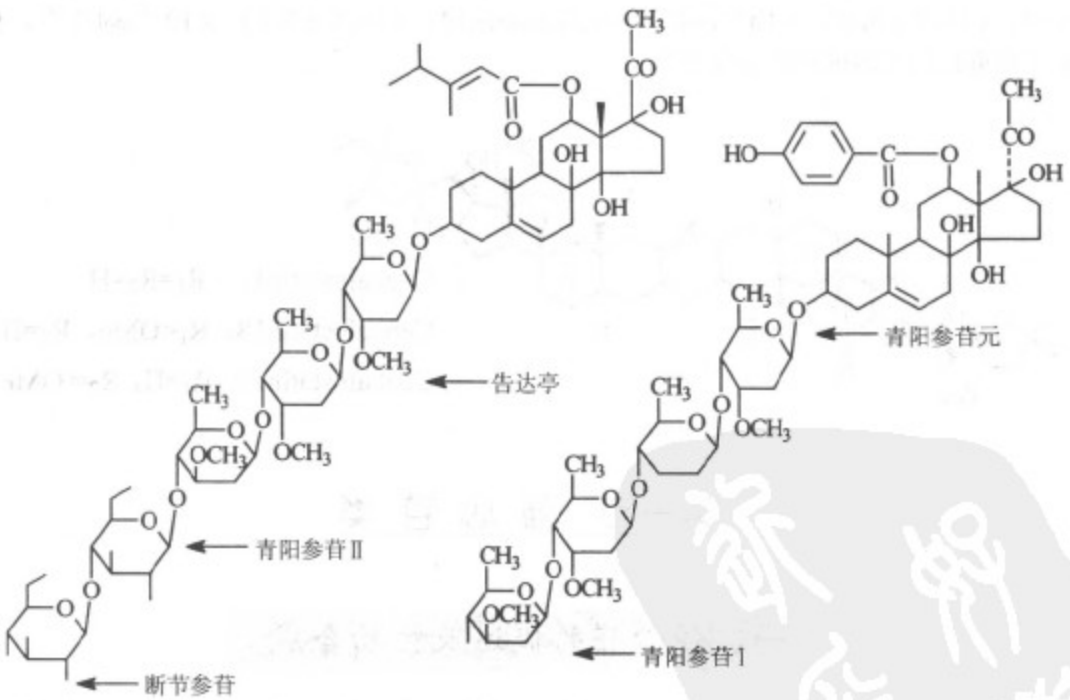
I



II

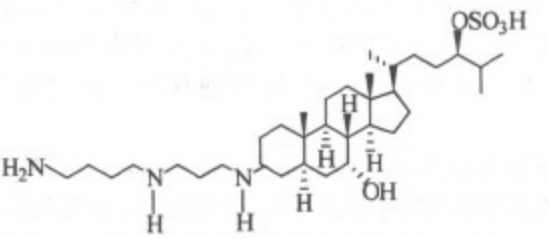
C_{21}甾类成分在植物中除游离方式存在外，也可和糖缩合成苷类存在。糖链多和C_3-OH相连，但也发现有连在C_{20}位的OH上。C_{21}甾苷类化合物具有甾类皂苷的性质，分子中除含有2-羟基糖外，有时还有2-去氧糖的存在，因之能呈Keller-Kiliani颜色反应。

对C_{21}甾苷类成分的研究，近年来已引起重视。除玄参科、夹竹桃科、毛茛科等植物中有C_{21}甾苷类成分发现外，而在萝摩科植物中发现有C_{21}甾苷类成分更为普遍。例如萝摩科鹅绒藤属植物断节参(*Cynanchum wallichii*)，又名昆明杯冠藤，民间用其根治风湿性关节炎及跌打损伤，由其根中分离得到的断节参苷(wallicoside)[5]，是告达亭(caudatin)的五糖苷。从其同属植物青阳参(*C. otophyllum*)根茎中分离得到青阳参苷Ⅰ(qing yang shenside Ⅰ)和青阳参苷Ⅱ。前者为青阳参苷元(qing yang shen genin)的三糖苷，后者为告达亭的三糖苷，糖的组成完全一样，二者均具有抗惊厥的作用，是青阳参治疗癫痫的有效成分。



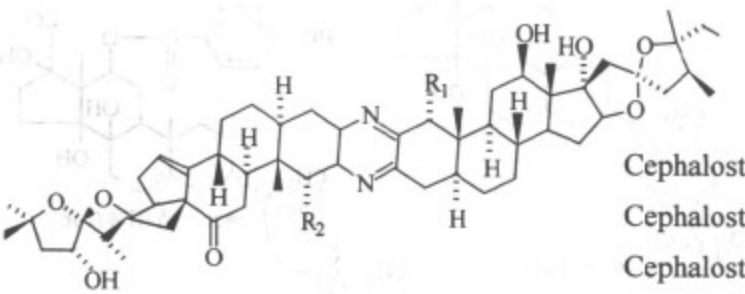
二、海洋甾体化合物

海洋药物研究目前已成为天然药物化学的一个新的发展方向，现已发现不少海洋甾体化合物具有显著的抗肿瘤活性，并正在进行新药的开发。海洋甾体化合物具有活性强、结构复杂的特点，如从白斑角鲨*Squalus acanthias*中获得的一种甾体生物碱squalamine，为有效的内皮细胞增殖抑制剂，目前作为新生血管抑制剂类抗癌药物已进入Ⅱ期临床试验[6][7]。



squalamine

从南非一种海洋蠕虫 *Cephalodiscus gilchristi* 中提取的一系列甾体生物碱 cephalostatins，对多种肿瘤细胞株具有强的细胞毒性，由 NCI 进行的 60 种人肿瘤细胞株的体外试验表明，平均半数抑制浓度分别为 cephalostatin1：$(2.20 \pm 1.21) \times 10^{-9}$ mol/L，cephalostatin18：$(21.7 \pm 9.9) \times 10^{-9}$ mol/L，cephalostatin19：$(16.6 \pm 9.5) \times 10^{-9}$ mol/L[8]。目前正在进行深入的抗肿瘤活性评价。



Cephalostatin1： $R_1=R_2=H$

Cephalostatin18： $R_1=OMe$，$R_2=H$

Cephalostatin19： $R_1=H$，$R_2=OMe$

第三节 强心苷类

一、强心苷的概述及生物合成

强心苷(cardiac glycosides)是存在于植物中具有强心作用的甾体苷类化合物。目前临床上应用的达二、三十种，主要用以治疗充血性心力衰竭及节律障碍等心脏疾患，如西地兰、地高辛、毛地黄毒苷等。强心苷存在于许多有毒的植物中，据统计，仅 1976 至 1995 年新发现的强心苷成分达 250 种以上[9]。已知主要有十几个科几百种植物中含有强心苷，特别以玄参科、夹竹桃科植物最普遍，其他如百合科、萝摩科、十字花科、卫矛科、豆科、桑科、毛茛科、梧桐科、大戟科等亦较普遍。主要存在于植物的果、叶或根中。

动物中至今尚未发现有强心苷类存在，而蟾蜍皮下腺分泌物中所含强心成分为蟾毒配基(bufogenins)及其酯类(称蟾酥毒类，bufotoxins)，而非苷类成分。哥伦比亚箭毒蛙中所含的强心成分 batrachotoxin A 则系一生物碱[10]。

强心苷的生物合成是以甾醇为母体经多次转化而逐渐生成，涉及到大约 20 种酶的作用，如还原酶、氧化还原酶、苷化酶、乙酰化酶等，以毛地黄中的强心苷元形成的过程为例，主要有以下步骤[10]（图 8-2）：

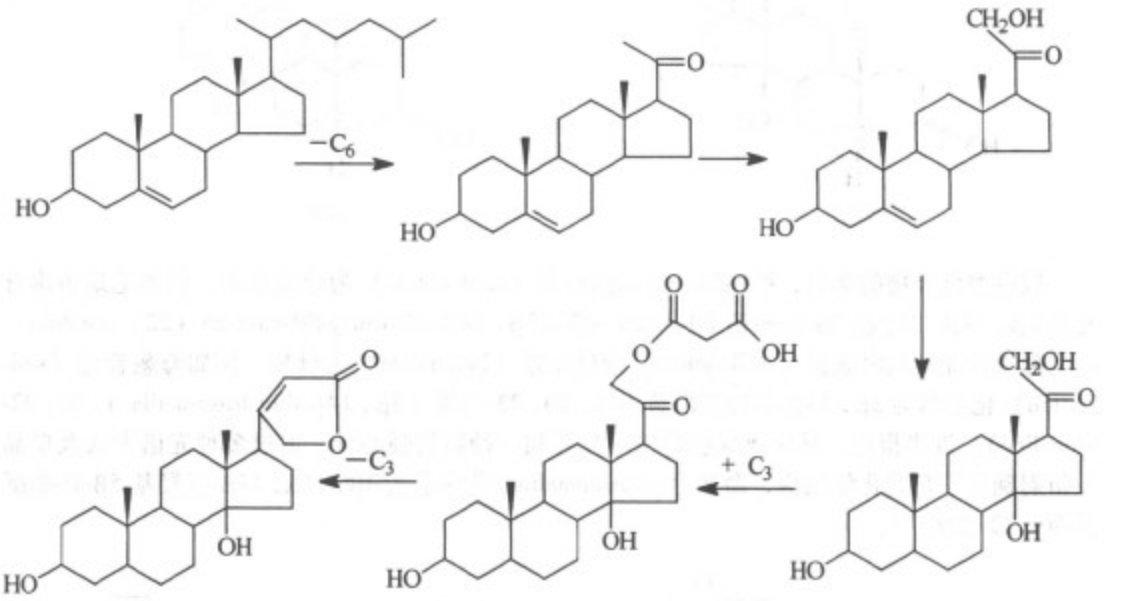


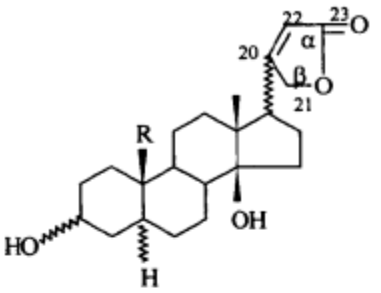
图 8-2 强心苷生物合成途径

二、强心苷的化学结构和实例

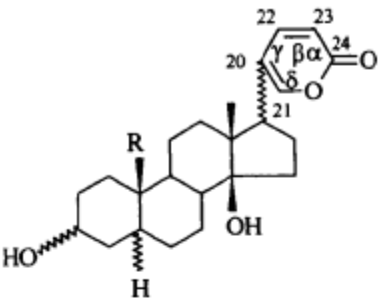
强心苷的结构比较复杂，是由强心苷元（cardiac aglycone）与糖两部分构成的。强心苷元中甾体母核四个环的稠合方式与甾醇不同。天然存在的强心苷元的 B/C 环都是反式，C/D 环都是顺式，A/B 环二种稠合方式都有，以顺式稠合的较多，如毛地黄毒苷元（digitoxigenin）。反式稠合的较少，如乌沙苷元（uzarigenin）。

在强心苷元分子的甾核上，C_3 和 C_{14} 位都有羟基取代，C_3-OH 大多是 β-构型，少数是 α-构型，命名时冠以表（epi）字，如毛地黄毒苷元的 C_3-异构体称为 3-表毛地黄毒苷元（3-epidigitoxigenin）。C_{14} 羟基由于 C/D 环是顺式，所以都是 β-构型。甾核其他位置上还可能有更多的羟基，一般位于 1β、2α、5β、11α、11β、12α、12β、15β、16β。甾核上 C_{16}-β-OH 还可能与不同脂肪酸如醋酸、甲酸、异戊酸（isovaleric acid）等结合成酯。结构中还可能含有环氧基，一般位于 7、8β，8、14β 或 11、12β 位。甾核上也可能有羰基或双键存在，羰基一般在甾核 C_{11} 或 C_{12} 位，双键一般在 C_4、C_5 或 C_5、C_6 位。也可能在 C_9、C_{11} 或 C_{16}、C_{17} 位。

强心苷元甾核的 C_{10} 上大多是甲基，也可能是醛基、羟甲基、羧基，都是 β-构型。C_{13} 上都是甲基。C_{17} 位侧链为不饱和内酯，有为五元环的 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ-内酯，称为甲型强心苷元；也有为六元环的 $\Delta^{\alpha\beta,\gamma\delta}$，-δ-内酯，称为乙型强心苷元，都属于 β-构型（个别为 α-构型，命名时标以 17β-H）。

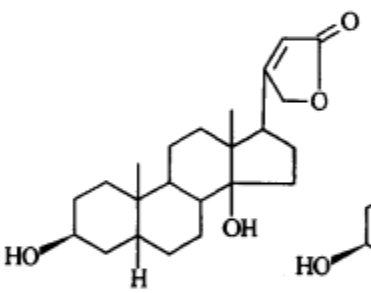


甲型

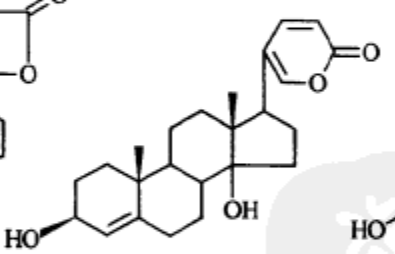


乙型

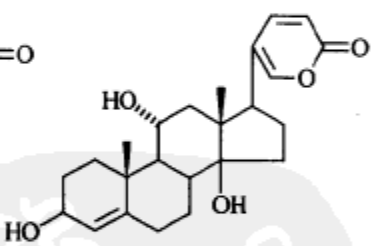
按甾类化合物的命名，甲型强心苷以强心甾（cardenolide）为母核命名，例如毛地黄毒苷元为3β，14β-二羟基-5β-强心甾-20（22）-烯（3β，14β-dihydroxy-5β-card-20（22）-enolide）。乙型强心苷元则以海葱甾（scillanolide）或蟾酥甾（bufanolide）为母核，例如海葱苷元（scillarenin）化学名为3β，14β-二羟基海葱甾-4，20，22-三烯（3β，14β-dihydroxy-acilla-4，20，22-trienolide）。近来报道，从中亚绿色蟾蜍中分离到一种新的强心苷，通过多种光谱方法及单晶X-衍射确定了它的化学结构，命名为gamabufotalin，化学名为3β，11α，14β-三羟基-5β-H-蟾酥甾-20，22-二烯[11]。



毛地黄苷

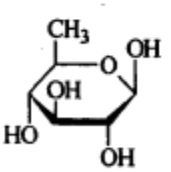


海葱苷元

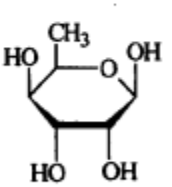


gamabufotalin

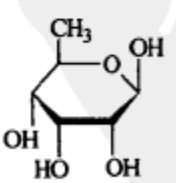
强心苷中糖均与苷元 C_3-OH 结合形成苷，可多至5个单元，以直链连接。除有六碳醛糖、6-去氧糖、6-去氧糖甲醚和五碳醛糖外，还有仅存在于强心苷中特殊的2，6-二去氧糖、2，6-二去氧糖甲醚。如图8-3所示：



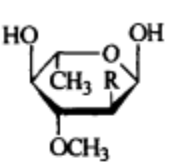
D-鸡纳糖
(D-quinovose)



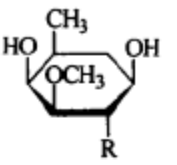
D-弩箭子糖
(D-antiarose)



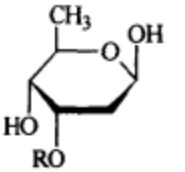
D-6-去氧阿洛糖
(D-6-deoxy allose)



L-黄花夹竹桃糖 R=OH
(L-thevetose)
L-夹竹桃糖 R=H
(L-oleandrose)



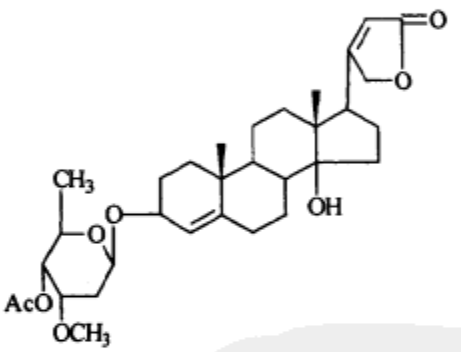
D-毛地黄糖 R=OH
(D-digitalose)
D-地芰糖 R=H
(D-diginose)



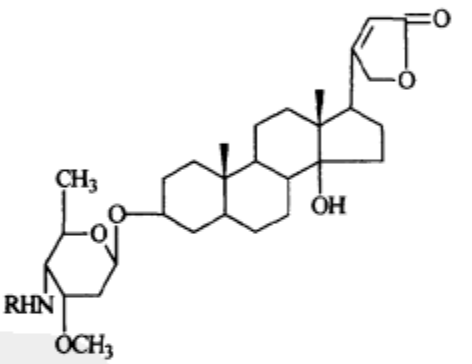
D-毛地黄毒糖 R=H
(D-digitoxose)
D-加拿大麻糖 R=CH_3
(D-cymarose)

图 8-3 强心苷中常见的去氧糖

强心苷糖基上还可能有乙酰基，如毛花毛地黄强心苷和 4′-乙酰基加拿大麻苷(4′-acetyl cymaroside)。个别强心苷元还和氨基糖相结合，例如米替非林(mitiphyllin)和 N-去甲米替非林(N-demethyl mitiphyllin)[12]。



4′-乙酰加拿大麻苷

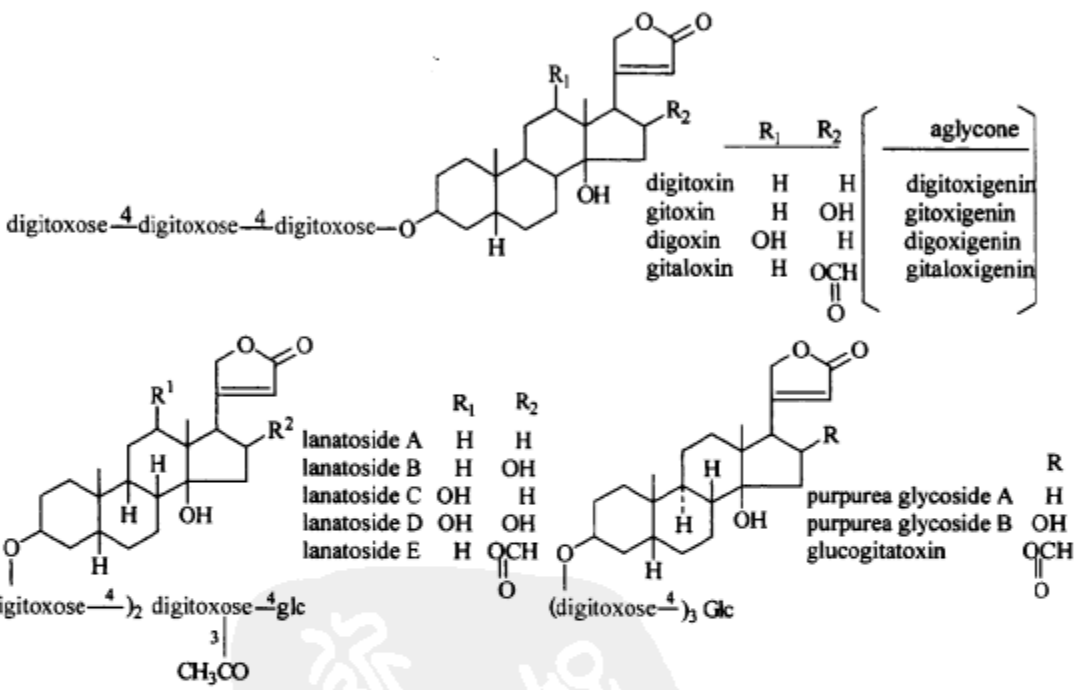


米替非林 R=CH_3
N-去甲米替非林 R=H

(一) 五元内酯环强心苷类

毛地黄强心苷 毛地黄品种很多，主要有毛花毛地黄（*Digitalis lanata*）和紫花毛地黄（*D. Purpurea*）。由毛花毛地黄叶中分离出强心苷，已达 30 多种，是由五种强心苷苷元—毛地黄毒苷元、羟基毛地黄毒苷元（gitoxigenin）、异羟基毛地黄毒苷元（digoxigenin）、双羟基毛地黄毒苷元（diginatigenin）和吉他洛苷元（gitaloxigenin）与不同糖缩合所形成的，大多数是次级苷。属于一级苷存在的如毛花毛地黄苷 A、B、C、D 和 E（lanatoside A、B、C、D and E），分子中还连有乙酰酯基。紫花毛地黄叶中分离出强心苷已达 20 多种，是由毛地黄毒苷元、羟基毛地黄毒苷元和吉他洛苷元三种强心苷苷元衍生的，大多数亦为次级苷，属于一级苷的有紫花毛地黄苷 A、B（purpurea glycoside A、B）和葡萄糖吉他洛苷（glucogitatoxin）等。这些成分中供临床应用的除毛地黄苷 C 为一级苷，亲水性强，适于注射外，其余均为次级苷。如毛地黄毒苷（digitoxin）亲脂性较强，口服吸收完全，作用持久而缓慢，可注射或口服，但多口服用于慢性病例。羟基毛地黄毒苷

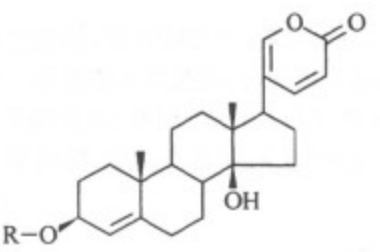
（gitoxin）由于在 C_{16} 位引入羟基，亲脂性低，难以吸收，长期被视为废物不被利用，但乙酰化后，脂溶性提高，易吸收，在吸收过程中脱去乙酰基，脂溶性降低，易经肾排泄，故蓄积性小，治疗宽度较大，易于控制。异羟基毛地黄毒苷（狄戈辛，digoxin），在 C_{12} 位引入羟基，亲脂性降低，口服不易吸收，但可制成注射液用于急性病例，作用迅速，蓄积性小。去乙酰毛花毛地黄苷 C（deslanoside，西地兰），比一级苷毛花毛地黄苷 C 少一个乙酰基，亲水性更强，口服吸收不好，适于注射，作用基本与狄戈辛相似，毒性小，安全性大，为一速效强心苷。



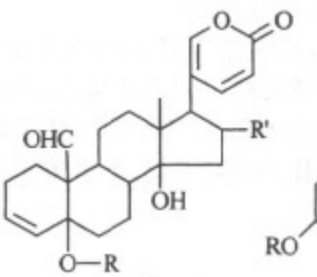
G-毒毛旋花子苷（G-strophanthin），又称乌本苷（ouabain）是由 *Strophanthus thugratus* 成熟种子中分得，为乌本苷元（ouabagenin）的 L-鼠李糖苷，为速效强心苷，并作为测定强心苷生物效价的标准品。

（二）六元内酯环强心苷

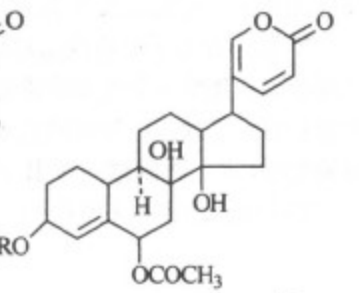
目前此类强心苷成分仅发现存在于百合科、景天科、鸢尾科、毛茛科、檀香科、楝科 6 个科中，尤以百合科分布最多，已发现有 100 多种，如海葱（*Scilla maritima*）中含有的原海葱苷 A（proscillaridin A）、海葱苷 A（scillaren A）与葡萄糖海葱苷 A（glucoscillaren A）等，都是海葱苷元（scillarenin）的衍生物。绿海葱苷（scilliglaucoside）是绿海葱苷元（scilliglaucogenin）的 5-O-葡萄糖苷，也存在于海葱中，红海葱（海葱的变种）中主要成分红海葱苷（scilliroside）是红海葱元（scillirosidin，海葱罗西定）的 D-葡萄糖苷，毒性为海葱苷 A 的 300～500 倍，作为杀鼠剂应用。



	R
海葱苷元	H
原海葱苷 A	−Rha
海葱苷A	−Rha−glc
葡萄糖海葱苷	A−Rha−glc−glc

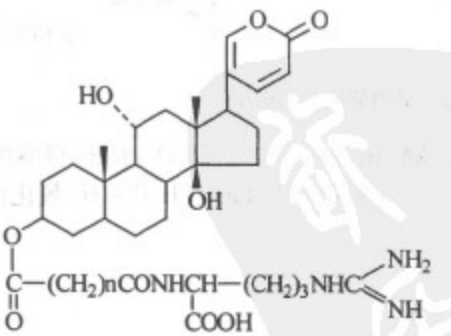


	R	R'
绿海葱苷元	H	H
绿海葱苷	−glc	H
scillicyanogenin	H	$OCOCH_3$
scillicyanosid	−glc	$OCOCH_3$



	R
红海葱苷元	H
红海葱苷	glc

蟾酥由蟾蜍（*Bufobufo gargarizans*）耳后腺、皮下腺分泌的白色浆液经加工而制成。有攻毒散肿、通窍止痛功效。经药理试验和临床证明它有强心利尿、升压抗炎、镇咳祛痰、抗癌、升白细胞等多方面活性。蟾酥所含成分较复杂，它的毒性成分是蟾毒配基类（bufogenins）及其酯类即蟾毒类（bufotoxins），它们都属于六元内酯环型强心苷元的衍生物。目前由蟾酥中分离出的蟾毒配基在 10 种以上。蟾毒配基在蟾酥中不是以苷的形式存在，而是其 C_3-OH 与辛二酰精氨酸（suberoylarginine）等结合成酯，作为蟾酥毒苷存在于蟾蜍体内。例如由日蟾酥它灵与辛二酰、庚二酰、己二酰和丁二酰精氨酸形成的酯类，称为日蟾蜍它灵毒类（gamabufotalitoxins）。



n=2 succinoylarginine
n=4 adipoylarginine
n=5 pimeloylarginine
n=6 suberoylarginine

gamabufotalitoxins

这类成分有较强强心作用，但毒性也大，其中以来西蟾酥毒配基（resibufigenin）的毒性最小，具强心、升压、呼吸兴奋作用，临床用作心力衰竭、呼吸抑制的急救药。

三、强心苷的理化性质

（一）理化性质

1. 强心苷多为无色结晶或无定形粉末，可溶于水、丙酮及醇类等极性溶剂，略溶于醋酸乙酯、含醇氯仿，几乎不溶于醚、苯、石油醚等非极性溶剂。它们的溶解度也因糖分子数目和性质以

及苷元分子中有无亲水性基团而有差异。

2. 强心苷分子中有内酯环结构，当用 KOH 或 NaOH 的水溶液处理，内酯环开裂，但酸化后又环合。如用醇性苛性碱溶液处理，内酯环异构化，这种变化是不可逆的，遇酸亦不能复原。甲型强心苷元是通过内酯环的质子转移，双键转位，然后 C_{14}-OH 质子与 C_{20} 亲电加成，形成内酯型异构化物（Ⅰ），再因碱的作用，内酯环开裂，形成开链型异构化物（Ⅱ），如有 C_{16}-OH，则可形成 16，22-环氧衍生物。（图 8-4）

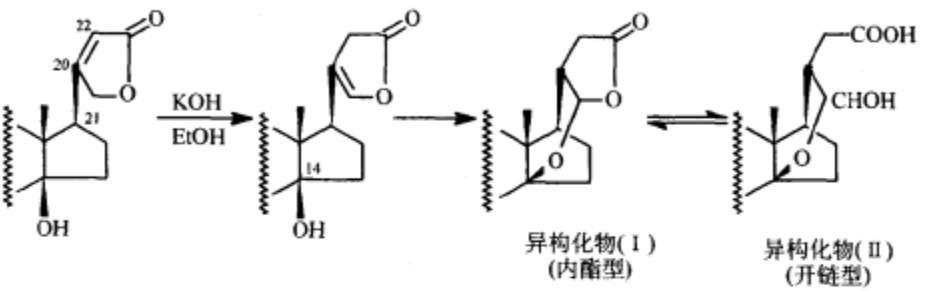


图 8-4 甲型强心苷内酯环开裂过程

乙型强心苷在醇性苛性碱溶液中，内酯环开裂生成酯，再脱水生成异构化物。（图 8-5）

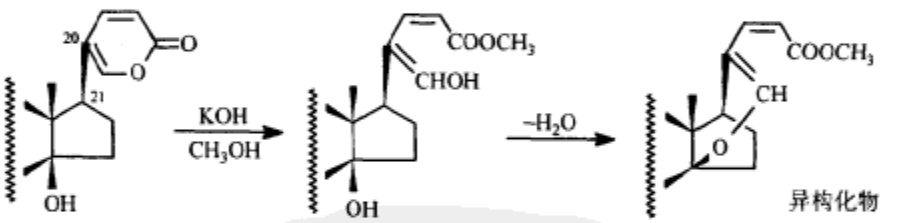


图 8-5 乙型强心苷内酯环开裂过程

3. 强心苷内酯环上双键经臭氧氧化可得酮醛化合物，再经 $KHCO_3$ 水解，得酮醇化合物，最后用过碘酸氧化，可得 17-羰基化合物。内酯环也可直接用 $KMnO_4$-CH_3COCH_3 氧化得 17-羧基化合物。（图 8-6）

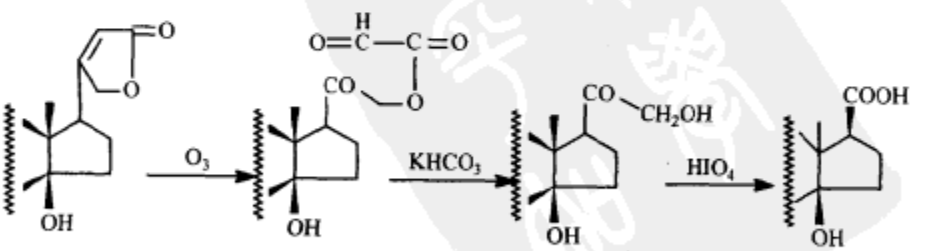


图 8-6 甲型强心苷内酯环氧化开裂过程

4. 强心苷元中 5β-羟基和 14β-羟基均系叔羟基，极易脱水，故含此取代基的苷类在酸水解时，常得次生的脱水苷元。如将 C_3-OH 氧化为酮基，则更使 C_5 叔羟基活化，在

温热下即可脱水而形成烯酮。同样 C_{16}-OH 被氧化为酮基，也能促使 C_{14}-叔羟基脱水而形成烯酮。

5. 强心苷如果 C_{10}位有醛基取代，在冷甲醇中用盐酸处理，C_3-OH 能与 C_{10}-醛基形成半缩醛的结构。

6. 强心苷 C_{17}β-内酯，在二甲基甲酰胺（DMF）中，与甲苯磺酸钠（NaOTs）和醋酸钠加热 110℃反应 24 小时，即可异构化为 17α-内酯构型。

7. 强心苷分子中如有邻二羟基取代，可被 $NaIO_4$ 氧化，生成双甲酰化合物，继续被 $NaBH_4$ 还原，可得二醇衍生物。如果邻二羟基在 A 环的 C_2、C_3 位，同时 C_{11}又有羰基取代，反应如下式进行，形成半缩醛结构。常法乙酰化，则可恢复羰基结构，而得二乙酰衍生物。（图 8-7）

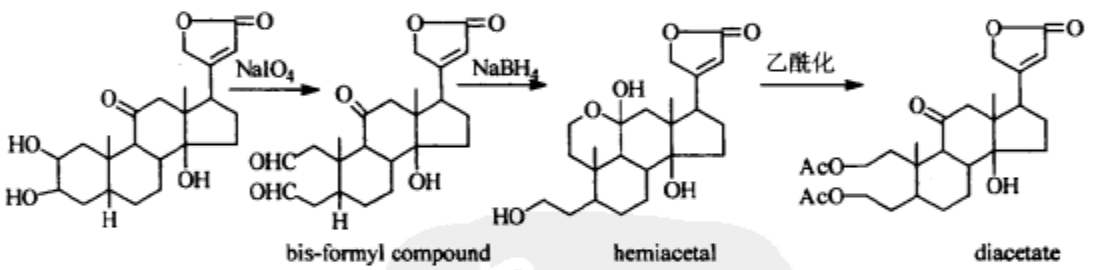


图 8-7 强心苷元上邻二羟基氧化开裂过程

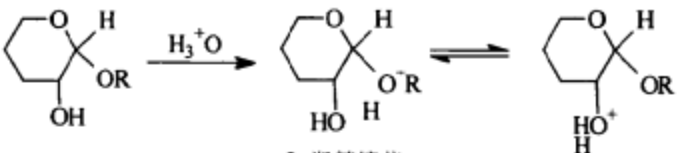
（二）苷键的水解

强心苷和其他苷类成分相似，其苷键亦能被酸、酶所水解，分子中如有酯键结构，还可被碱水解，唯强心苷中苷键由于糖的结构不同，水解难易有区别，水解产物也有差异。

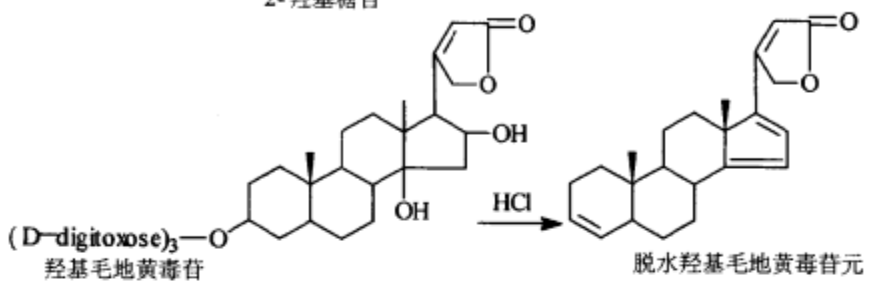
1. 酸催化水解

（1）温和的酸水解：用稀酸（0.02～0.05mol/L 的 HCl 或 H_2SO_4）在含水醇中经短时间（半小时至数小时）加热回流，可水解去氧糖的苷键。2-羟基糖的苷，在此条件，不易断裂。

（2）强酸水解：2-羟基糖的苷，由于 2-位羟基的存在，产生下式互变，阻扰了水解反应的进行，水解较为困难，必须增高酸的浓度（3%～5%），延长水解时间，或同时加压。但由于反应比较强烈常引起苷元的脱水，产生缩水苷元。如羟基毛地黄毒苷，用盐酸水解，不能得到羟基毛地黄毒苷元，而得到它的叁脱水产物。



2-羟基糖苷



羟基毛地黄毒苷　　脱水羟基毛地黄毒苷元

(3)盐酸丙酮法(Mannich 水解):强心苷于丙酮溶液中,室温条件下与氯化氢长时间反应(约二周,反应液中含 HCl 量 0.4% ~1%),糖分子中 C_2-OH 和 C_3-OH 与丙酮反应,生成丙酮化物,进而水解,可得到原来的苷元和糖的衍生物。以铃兰毒苷为例:(图 8-8)

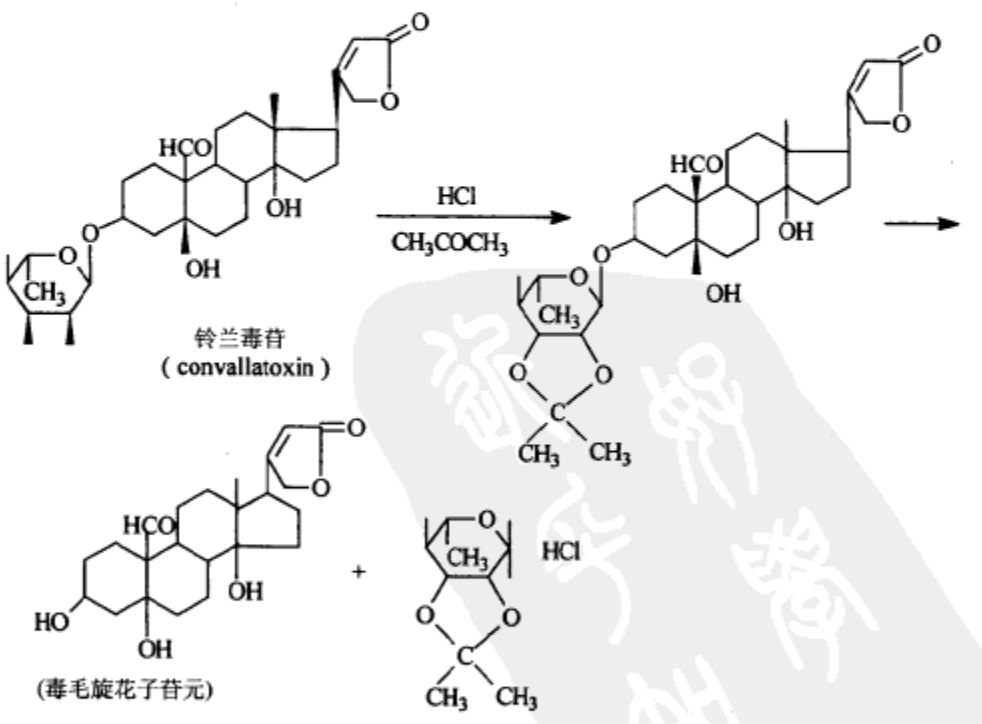
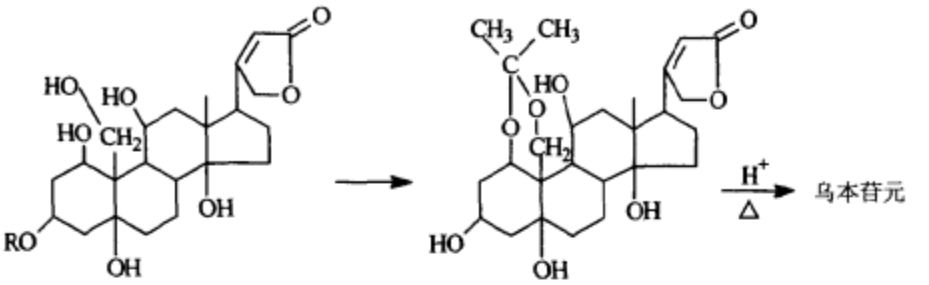


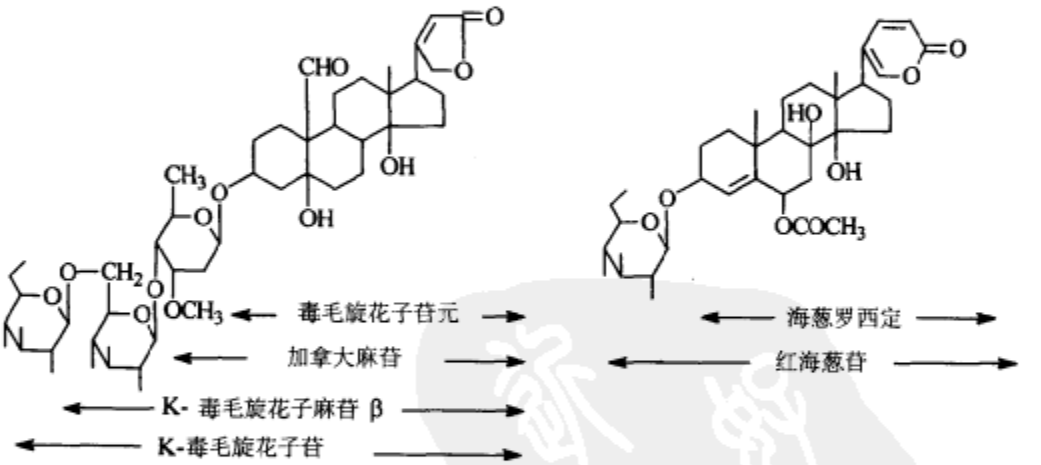
图 8-8　盐酸丙酮法水解过程

如果苷元分子中亦有二个相邻羟基,也能被丙酮化而生成苷元丙酮化物,如乌本苷的水解,需再用稀酸加热水解而得到乌本苷元。



乌本苷R=鼠李糖　　乌本苷元单丙酮化合物

2. 酶催化水解　酶的水解有一定选择性(专属性),不同性质的酶作用于不同性质的苷键。紫花毛地黄叶中存在的酶,称紫花苷酶(digipurpidase),只能使紫花毛地黄苷 A 和 B 脱去一分子葡萄糖,依次生成毛地黄毒苷和羟基毛地黄毒苷。又如毒毛旋花子中含有的 β-D-葡萄糖苷酶(β-D-glucosidase)和毒花旋花子双糖酶(strophanthobiase)。用前者酶解,可使 K-毒毛旋花子苷生成 K-毒毛旋花子次苷 β,用后者酶解则得到加拿大麻苷。



除了植物中与强心苷共存的酶外,其他生物中的水解酶亦能使某些强心苷水解。尤其是蜗牛消化酶(snail enzyme,蜗牛肠管消化液经处理而得),是一种混合酶,几乎能水解所有苷键。能将强心苷分子中糖链逐步水解,直至获得苷元,常用来研究强心苷的结构。

从粉绿小冠花(*coronilla*)中所得到的酶,能将红海葱苷(scilliroside)水解,得到用化学方法不能得到的苷元海葱罗西定(scillirosidin)。

毛花毛地黄苷和紫花毛地黄毒苷,用紫花苷酶酶解,酶解速率不同,前者糖基上有乙酰基,对酶作用阻力大,故水解慢,后者水解快。紫花苷酶和毛花苷酶对紫花毛地黄苷的水解速率相同。苷元类型不同,被酶解难易也有区别。一般来说乙型强心苷较甲型强心苷易被酶水解。

(三) 显色反应

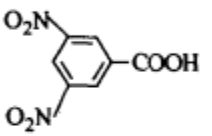
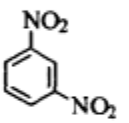
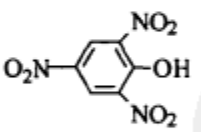
强心苷除甾体母核所产生的显色反应外,还可因结构中含有不饱和内酯环和 2-去氧糖而产生显色反应。

1. 由于不饱和内酯环产生的反应　甲型强心苷类由于 C_{17} 侧链上有一个不饱和五元内酯环，在碱性溶液中，双键转位能形成活性次甲基，从而能够与某些试剂反应而显色。反应物在可见光区往往具有特殊最大吸收，故亦用于定量。乙型强心苷在碱性溶液中不能产生活性次甲基，故无此类反应产生。

此类反应可以在试管内进行，也可以作为薄层层析和纸层析的显色剂。先喷以硝基苯类试剂，再喷醇性氢氧化钠溶液，即可呈现有色斑点，放置渐渐消退。

Legal 反应机理可能是由于亚硝酰铁氰化钠试剂中的亚硝基和活性次甲基反应生成肟基衍生物而留在络合阴离子内，Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+}。

表 8-2　活性次甲基显色反应

反应名称	试　剂	颜　色	λ_{max} (nm)
Legal 反应	$Na_2Fe(NO)CN_5 \cdot 2H_2O$ 亚硝酰铁氰化钠	深红或蓝	470
Kedde 反应	 3，5-二硝基苯甲酸	深红或红	590
Raymond 反应	 间二硝基苯	紫红或蓝	620
Baljet 反应	 苦味酸	橙或橙红	490

2. 由于 2-去氧糖产生的反应

(1) Keller-Kiliani 反应：强心苷溶于含少量 Fe^{3+} ($FeCl_3$ 或 $Fe_2(SO_4)_3$) 的冰醋酸，沿管壁滴加浓硫酸，观察界面和醋酸颜色变化。如有 2-去氧糖存在，醋酸层渐呈蓝色或蓝绿色。界面的呈色，是由于浓硫酸对苷元所起的作用渐渐扩散向下层，其色随苷元不同而异。如毛地黄毒苷呈草绿色，羟基毛地黄毒苷呈洋红色，异羟基毛地黄毒苷呈黄棕色。放置久后因碳化而转化为暗色。

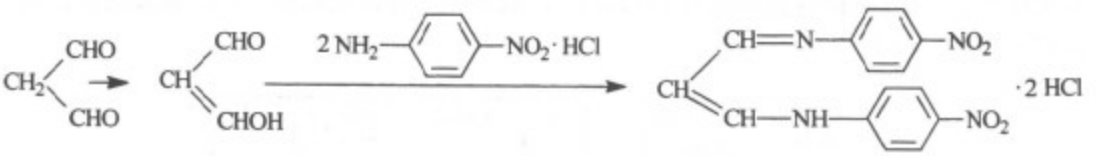
此反应只对游离的 2-去氧糖或在反应的条件下能水解出 2-去氧糖的强心苷显色。例如紫花毛地黄苷 A 和毛地黄毒苷，它们虽都有三分子毛地黄毒糖，但前者的呈色深度为后者的 2/3。这可能是由于前者在此条件下只能水解出二分子的毛地黄毒糖。另一分子毛地黄毒糖与葡萄糖相连，较难水解而不能呈色。又如 K-毒毛旋花子苷和 K-毒毛旋花子次苷 β，它们虽有一分子加拿大麻糖，但因与葡萄糖相连，均呈阴性反应，对乙酰化的 2-去氧糖也不呈色。因此对此反应不显色的，并非绝对没有 2-去氧糖的组成。

(2) 对二甲氨基苯甲醛反应：将强心苷醇溶液滴在滤纸上，干后，喷对二甲氨基苯甲醛试剂 (1% 对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液-浓盐酸 4:1)，并于 90℃ 加热 30 秒钟，如有 2-去氧糖，可显灰红

色斑点。

(3)占吨氢醇(xanthydrol)反应:取强心苷固体样品少许,加呫吨氢醇试剂(10mg 呫吨氢醇溶于100ml 冰醋酸,加入1ml 浓硫酸),置水浴上加热3分钟,只要分子中有2-去氧糖都能显红色。

(4)过碘酸-对硝基苯胺反应:过碘酸能与强心苷分子中的2-去氧糖氧化生成丙二醛,再与对硝基苯胺缩合而呈黄色。



这个显色反应可作为薄层层析和纸层析的显色。在薄层上先喷过碘酸钠溶液(1份过碘酸钠饱和水溶液,加2份蒸馏水),室温放置10分钟,再喷对硝基苯胺试液(1%对硝基苯胺乙醇溶液-浓盐酸4:1),立即在灰黄色背底上出现深黄色斑点,在紫外光下,在棕色背底上现黄色荧光斑点。如再喷以5% NaOH-MeOH 溶液,斑点变为绿色。

四、强心苷的波谱特征

(一) 紫外光谱

具有 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯的强心苷,在紫外光谱中于约220nm(lg ε 约4.34)处呈现最大吸收。具有 $\Delta^{\alpha\beta,\gamma\delta}$-δ 内酯的强心苷在295~300nm(lg ε 约3.93)处有吸收,借此可区别二类强心苷。分子中如引入非共轭双键,在紫外区无吸收。若引入 $\Delta^{16(17)}$ 与 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯共轭,则另外在约270nm 处产生强的共轭吸收。若引入 $\Delta^{8(9),14(15)}$-双烯和内酯环不共轭,一般在244nm 左右有吸收(lg ε 约1.8)。强心苷元在 C_{11} 或 C_{12} 位有酮基,因受空间阻碍较大,不易为化学反应检出,但在紫外光下可示290nm(lg ε 约1.90)的低峰。C_{11}、C_{12} 均为酮基的双酮,吸收峰更向长波移动。

(二) 红外光谱[13]

强心苷所有功能基在红外光谱中都有相应吸收,其中最特征吸收来自 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯,一般在1800~1700cm^{-1}有两个羰基吸收,较低波数的是 αβ 不饱和羰基产生的正常吸收。较高波数的是不正常吸收,随溶剂性质改变,在极性大的溶剂中,吸收强度减弱甚至消失,而正常吸收在极性溶剂中,吸收强度基本不变或略加强。如3-乙酰毛地黄毒苷元在二硫化碳溶液中,红外光谱有三个羰基峰(1738,1756,1783cm^{-1})。其中1738cm^{-1}是乙酰基上羰基吸收,1756和1783cm^{-1}都来自 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯的羰基。1756cm^{-1}是正常吸收,因有 $\Delta^{\alpha\beta}$ 共轭而向低波数位移(二氢毛地黄毒苷元羰基在1786cm^{-1}有吸收)。1783cm^{-1}是非正常吸收,溶剂极性增大,吸收强度显著减弱,但峰位不变(图8-9A,B)。毒毛旋花子苷元,在 $CHCl_3$ 溶液中亦有三个羰基峰,其中1719cm^{-1}是 C_{10} 醛羰基吸收,1756cm^{-1}是来自 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯的羰基,是正常吸收,1783cm^{-1}为非正常吸收,因溶剂极性影响而显著减弱(图8-9C)。14-去水羟基毛地黄毒苷元(二乙酰酯)、16-去水羟基毛地黄毒苷元(单乙酰酯)和14,16-双脱水羟基毛地黄毒苷元的红外光谱,无论在 CS_2 或

$CHCl_3$ 中的吸收情况，均与毛地黄毒苷元相似。从而说明 D 环引入双键，不论是否与不饱和内酯环共轭，对红外光谱的影响不大。具六元不饱和内酯环的强心苷，在 1800～1700cm^{-1}也有二个吸收峰，只是由于环内共轭程度增高，峰位向低波数移动 40cm^{-1}。如蟾酥毒配基（bufalin）和嚏根草苷元（hellebrigenin），在氯仿溶液中均出现 1718cm^{-1}和 1740cm^{-1}两个峰。前者为正常峰，后者为非正常峰，亦因溶剂极性增大而吸收强度减弱。嚏根草苷元 C_{10}醛基的羰基峰也在 1718cm^{-1}，故不再另外出现峰位。D 环引入双键，对吸收亦无影响。（图 8-9）

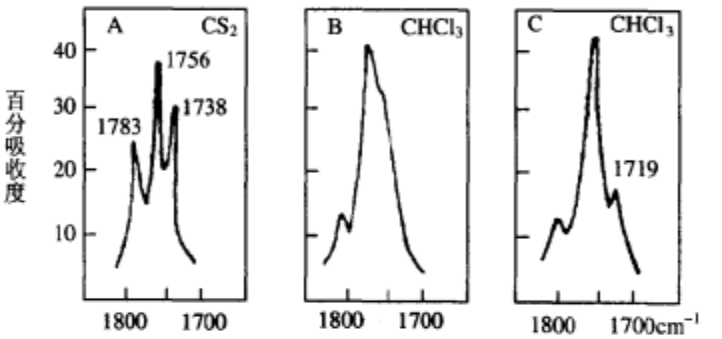
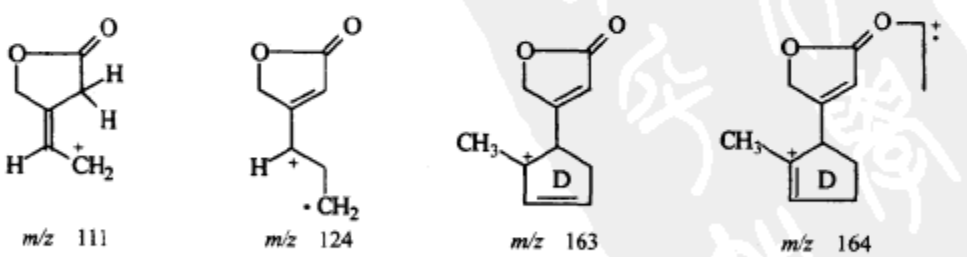


图 8-9 A. 3-乙酰毛地黄毒苷元(CS_2) B. 3-乙酰毛地黄毒苷元($CHCl_3$) C. 毒毛旋花子苷元($CHCl_3$)

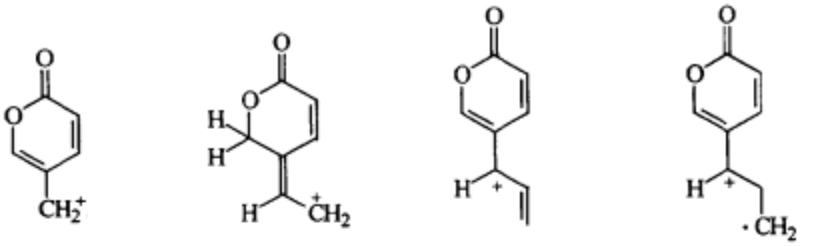
根据红外光谱不但可区别甲型和乙型强心苷，而且可依据其中非正常峰因溶剂的极性增强而吸收强度削弱或甚至消失的现象，用来指示不饱和内酯环的存在与否。

（三）质谱[14]

强心苷苷元质谱裂解方式较多也较复杂，除羟基的脱水，醛基脱 CO、脱甲基、脱 C_{17}-内酯侧链和双键的逆 Diels-Alder 裂解外，还可出现一些由较复杂的裂解方式产生的特征碎片。甲型强心苷元 C_{17}侧链为$\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯，质谱裂解产生 *m/z* 111、*m/z* 124、*m/z* 163 和 *m/z* 164 等含有 γ-内酯环或内酯环或内酯环加 D 环的碎片离子。

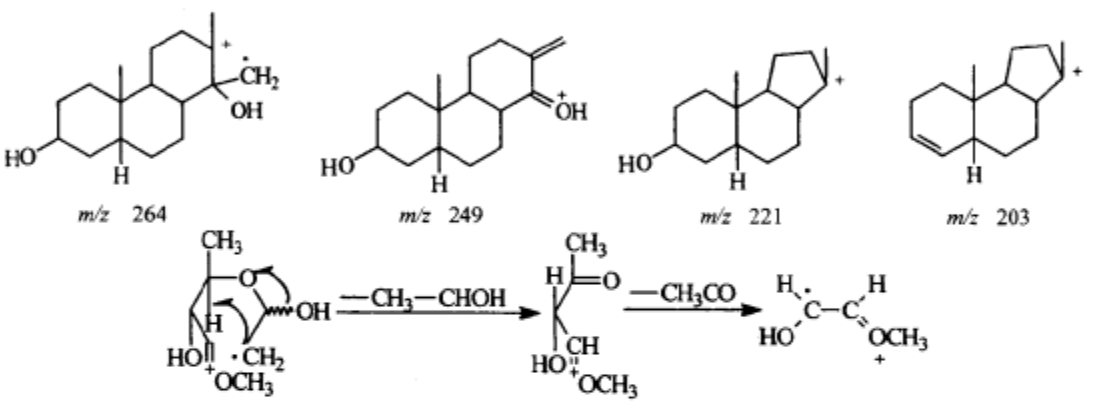


乙型强心苷元 C_{17}侧链为$\Delta^{\alpha\beta;\gamma\delta}$，-δ 内酯，质谱裂解产生 *m/z*109、*m/z*123、*m/z*135、*m/z*136 等含有 δ-内酯环的碎片。由于取代基性质不同，还可能产生更为复杂的裂解碎片[15]。



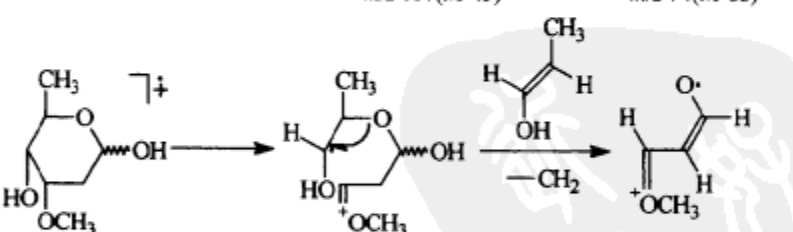
m/z 109　　*m/z* 123　　*m/z* 135　　*m/z* 136

来自甾核的离子，如由 D 环 C_{13}-C_{17} 键和 C_{15}-C_{16} 键断裂的 *m/z*264，由 C_{13}-C_{17} 键和 C_{14}-C_{15} 键断裂的 *m/z*249，D 环 C_{13}-C_{17} 键断裂后还可和 C_{14}-OH 引起复杂的重排，产生 C 环缩为五元环的 *m/z*221 和 *m/z*203 离子。如果甾核上有羟基或羰基取代，这些离子的质荷比会产生相应的质量位移[16]。

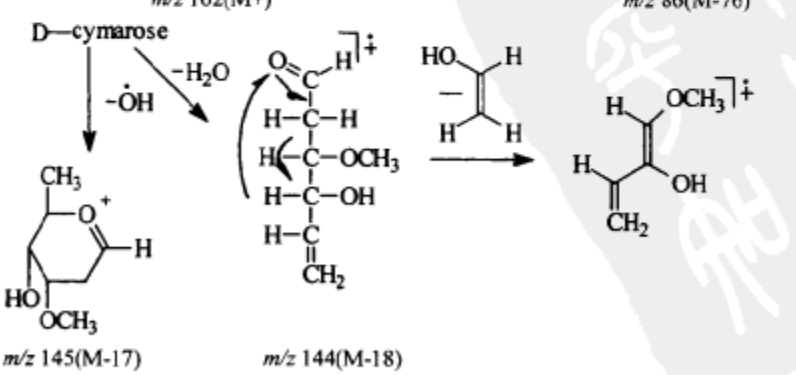


m/z 264　　*m/z* 249　　*m/z* 221　　*m/z* 203

m/z 117(M-45)　　*m/z* 74(M-88)



m/z 162(M+)　　*m/z* 86(M-76)



m/z 145(M-17)　　*m/z* 144(M-18)

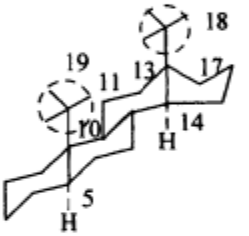
图 8-10　2，6-去氧糖甲醚质谱裂解过程

强心苷中常见有 2，6-二去氧糖的甲醚，其质谱裂解，可用加拿大麻糖为例。（图 8-10）

（四）核磁共振氢谱（^{1}HNMR）

核磁共振氢谱是测定强心苷类化合物结构的一种重要方法。在氢谱中强心苷元于 δ1.00 左右，可出现二个叔甲基单峰，示 C_{10}、C_{13} 位各有一个甲基取代。这二个甲基的化学位移值与甾核 C_5、C_{14} 位的构型有关[17]。

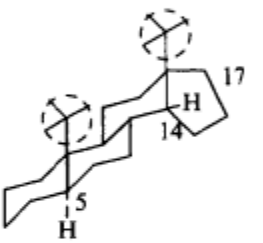
由于强心苷 C/D 环都是顺式稠合（14β-H），因而强心苷中 18-CH_3 的化学位移要比 19-CH_3 处于较低场。若 C_{10} 位为醛基取代，则 C_{10} 位甲基峰消失，而在 δ9.50 ~ 10.00 内出现一个醛基质子的单峰。若 C_{10} 位为羟甲基取代，可出现二个与氧同碳质子的信号，处于较低场，酰化后则更向低场位移，一般在 δ4.00 ~ 4.50 内呈 ABq 峰，J = 12Hz。当 C_{16} 无含氧基团取代时，C_{16} 位上二个质子应在 δ2.00 ~ 2.50 间呈多重峰，而 C_{17} 位上一个质子在 δ2.80 左右，呈多重峰或 dd 峰，J = 9.5Hz。甲型强心苷 $\Delta^{\alpha\beta}$-γ 内酯环中 C_{22} 位烯氢质子在 δ5.60 ~ 6.00 范围呈宽的单峰，C_{21} 位二个质子在 δ4.50 ~ 5.00 内呈宽单峰或三重峰或 ABq 峰，J = 18Hz。乙型强心苷 $\Delta^{\alpha\beta,\gamma\delta}$-δ 内酯中 C_{21} 位烯氢质子在 δ7.2 左右，为一单峰，C_{22} 和 C_{23} 位质子分别在 δ7.8 和 δ6.3 左右，各出现一个烯氢双峰。C_3 位质子一般为多重峰在 δ3.90 左右，成苷后向低场位移。



5α-H, 14α-H

19-CH_3 δ0.792

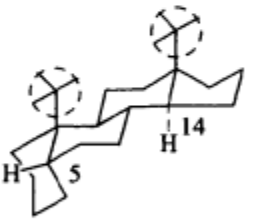
18-CH_3 δ0.692



5α-H, 14β-H

19-CH_3 δ0.767

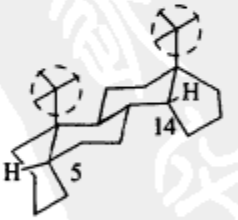
18-CH_3 δ0.992



5β-H, 14α-H

19-CH_3 δ0.925

18-CH_3 δ0.692



5β-H, 14β-H

19-CH_3 δ0.900

18-CH_3 δ0.992

强心苷的糖部分，除常见的糖外，还有一些特殊的糖，均有一些特征的信号可以识别。例如葡萄糖有 C_5 位羟甲基信号，当乙酰化后常为三重峰或 ABq 峰出现在 δ4.00 ~ 4.50 间，6-去氧糖 C_5 位甲基，呈一个二重峰（J = 6.5Hz）或多重峰，出现在 δ1.0 ~ 1.5 之间。2-去氧糖中 C_2 位上二个质子，处于高场区，并与端基质子有二种不同程度的偶合，可用去偶实验关联。甲氧基糖分子中应出现甲氧基的单峰，δ3.50 左右。糖分子中与氧同碳的质子信号，一般在 δ3.5 ~ 4.5 之间，

而端基质子处于最低场(δ5.0),其δ值与J值因糖的种类和构型而异。如β-D-葡萄糖苷中端基质子C_1-H和C_2-H呈二直立键偶合系统,$J=6\sim8$Hz。α-L-鼠李糖苷中C_1-H和C_2-H呈二平伏键偶合系统,$J=2$Hz或为单峰。在β-D-2-去氧糖苷中C_1-H呈dd峰,与C_2-2H有二重偶合系统(Jaa和Jae偶合)。

强心苷在某些极性溶剂中测定时,往往部分信号为未氘代完全的溶剂信号所掩盖。另外糖上质子和苷元部分与氧同碳的质子信号常会重叠,但除去糖或全乙酰化后测定时,能获得较易解析的图谱。一般极性较大的强心苷或苷元可在氘代吡啶、氘代丙酮、氘代甲醇或氘代氯仿与氘代甲醇的混合溶媒中测定,而极性较小的强心苷或苷元可在氘代氯仿中测定。

(五) 核磁共振碳谱(^{13}CNMR)

在研究甾类化合物的基础上,K. Tori等首先报道[18]了10种毛地黄毒苷元及其衍生物的碳谱,并用化学位移理论、偏共振去偶和宽带去偶以及与结构相关化合物进行了比较,归属了所有碳的信号,其化学位移值列于表8-3,可供参考。

表8-3 毛地黄毒苷元及其衍生物的^{13}C谱化学位移值(TMS)($CDCl_3$:CD_3OD)(1.5:1)

	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	Ⅹ
C-1	30.0	30.0	30.0	30.7	30.8	30.8	30.8	30.7	30.0	24.8
C-2	28.0	28.0	27.9	25.2	25.4	25.3	25.4	27.9	27.9	27.4[a]
C-3	66.8	66.8	66.8	71.1	71.4	71.3	71.3	66.7	66.6	67.2
C-4	33.5	33.5	33.4	30.7	30.8	30.8	30.8	33.5	33.3	38.1
C-5	35.9[a]	36.4	36.4	37.2	37.4	37.4	37.3	36.8[a]	36.4	75.3
C-6	27.1	27.0	26.9	26.6	26.8	26.8	26.6	26.6	26.9	27.0
C-7	21.6[b]	21.4[a]	21.2[a]	20.9[a]	21.6	20.6[a]	20.2[a]	24.0	21.9	18.1[b]
C-8	41.9	41.8	41.8	41.6	41.8	41.5	41.2	36.7[a]	41.3	42.2[c]
C-9	35.8[a]	35.8	35.9	35.8	36.1	36.2	36.8	45.1	32.6	40.2[c]
C-10	35.8	35.8	35.6	35.4	35.8	35.5	35.4	36.2	35.5	55.8
C-11	21.7[b]	21.9[a]	21.3[a]	21.4[a]	21.6	21.2[a]	21.3[a]	21.4	30.0	22.8[b]
C-12	40.4	41.2	41.0	40.9	40.3	31.3	40.6	37.7	74.8	40.2
C-13	50.3	50.4	50.7	50.5	50.3	49.5	52.6	54.2	56.4	50.1
C-14	85.6	85.2	84.1	83.8	85.6	86.1	85.7	146.3[c]	85.8	85.3
C-15	33.0	42.6	39.5	39.9	33.0	31.3	38.8	108.3[d]	33.0	32.2
C-16	27.3	72.8	75.0	74.7	27.3	24.8	133.8	135.8[d]	27.9	27.5[a]
C-17	51.5	58.8	56.8	56.6	51.5	8.9	161.2	158.0[c]	46.1	51.4
C-18	16.1	16.9	16.1	16.1	16.0	18.5	16.6	20.1	9.4	16.2
C-19	23.9	23.9	23.9	23.8	23.9	24.0	24.1	24.0	23.8	195.7
C-20	177.1[c]	171.8[b]	171.5[b]	171.5[b]	177.1[a]	173.6[b]	172.8[b]	173.5[b]	177.1[a]	177.2[d]
C-21	74.5	76.7	76.8	76.8	74.7	74.8	72.6	72.1	74.6	74.8
C-22	117.4	119.6	121.3	121.3	117.4	116.6	111.7	119.5	117.0	117.8
C-23	176.3[c]	175.3[b]	175.8[b]	175.8[b]	176.3[a]	175.8[b]	176.3[b]	176.8[b]	176.3[a]	176.6[d]

$-OCOCH_3$, 21.3 ± 0.3; $-OCOCH_3$, 171.4 ± 0.4 in Ⅱ-Ⅶ a, b, c, d values in any vertical column may be reversed.
Ⅰ. digitoxigenin Ⅱ. gitoxigenin Ⅲ. 16-acetyl gitoxigenin Ⅳ. 3, 16-diacetyl gitoxigenin Ⅴ. 3-acetyl digitoxigenin Ⅵ. 17β-H-digitoxigenin acetate Ⅶ. Δ^{16}-digitoxigenin acetate Ⅷ. $\Delta^{14,16}$-digitoxigenin Ⅸ. digoxigenin Ⅹ. strophanthidin

在5α-H系列的强心甾烯(如乌沙苷元等)的A/B环中大多数碳的δ值比5β-H系列强心甾

烯(如毛地黄毒苷元等)处于低场2~8。但前者 C_{10} 甲基δ值一般在12.0左右,而后者(5β系列)一般为24.0左右。

尽管上述经验性总结尚不完善,但对于强心苷元的结构分析,能提供有益的参数。若配合 ^{1}H-NMR 进行分析,则可提供更多的信息。

强心苷分子中,常常含有2,6-二去氧糖和6-去氧糖以及它们的甲氧基糖。这些糖也与普通糖一样,在 ^{13}C 谱中各碳原子也都有各自的化学位移值(表8-4)。因此可根据这些信号,采用分析对比的方法,解决强心苷中有关糖的种类、数目以及连接的位置。

表8-4 2,6-二去氧糖和6-去氧糖的^{13}C谱化学位移值

Compounds \ Carbon NO.	1′	2′	3′	4′	5′	6′	OCH_3
L-夹竹桃糖	95.9	35.8	79.3	77.1	69.1	18.6	56.9
D-加拿大麻糖	97.6	36.4	78.8	74.0	71.1	18.9	58.1
D-地芰糖	98.2	33.1	79.1	67.0	71.2	17.6	55.1
D-沙门糖	97.3	33.6	80.3	67.9	69.9	17.5	56.7
L-黄花夹竹桃糖	98.9	73.8	84.8	76.6	68.9	18.5	60.6
D-毛地黄糖	103.6	70.9	85.1	68.7	71.0	17.4	57.2
D-6-去氧-3-O-甲基阿洛糖	104.3	71.6	85.2	74.6	68.5	18.4	60.7

五、强心苷提取分离

植物体中所含强心苷比较复杂,大多含量又较低。多数强心苷是多糖苷,常常与糖类、皂苷、色素、鞣质等共存,这些成分的存在往往能影响或改变强心苷在许多溶剂中的溶解度。同时植物中还含有能酶解强心苷类的酶,植物原料在保存或提取过程中均可促使强心苷酶解产生次级苷,增加了成分的复杂性。因此提取过程中,要注意酶的问题。如果要提取原生苷,必须抑制酶的活性,原料要新鲜,采集后要低温快速干燥。如果提取次级苷,可利用酶的活性,进行酶解(25~40℃)可获得次级苷。此外,还要注意酸、碱对强心苷结构的影响。

(一) 提取

一般原生苷易溶于水而难溶于亲脂性溶剂,次级苷则相反,易溶于亲脂性溶剂而难溶于水。提取时可根据强心苷的性质选择不同溶剂,例如乙醚、氯仿、氯仿-甲醇混合溶剂、甲醇、乙醇等。但常用的为甲醇或70%乙醇,提取效率高,且能使酶破坏失去活性。

(二) 纯化

1. 溶剂法 原料如为种子或含油脂类杂质较多时,一般宜先采用压榨法或溶剂法进行脱脂,然后用醇或稀醇提取。另外,也可先用醇或稀醇提取,浓缩提取液除去醇,残留水提液用石油醚、苯等萃取,除去亲脂性杂质。水液再用氯仿-甲醇混合液萃取,提出强心苷,亲水性杂质则留在水层而弃去。若原料为地上部分,叶绿素含量较高,可将醇提液浓缩,保留适量浓度的醇,放置使叶绿素等脂溶性杂质成胶状沉淀析出,过滤除去。

2. 铅盐法 铅盐法是一种比较有效的纯化方法,但铅盐与杂质生成的沉淀能吸附强心苷而

导致损失。这种吸附和溶液中醇的含量有关。当增加溶液中醇的含量，能降低沉淀对强心苷的吸附，但纯化效果也随之下降。例如提取毛地黄强心苷时，水提取液用 $Pb(Ac)_2$ 试剂处理，强心苷损失达14%，若增加含醇量为40%，则并无损失；醇的量若大于50%，则纯化效果较差。另外过量的铅试剂能引起一些强心苷的脱酰基反应，例如在稀甲醇液中用 $Pb(Ac)_2$ 长时间处理，能使葡萄糖吉他洛苷(glucogitaloxin)脱去甲酰基而变为紫花毛地黄苷B。

3. 吸附法　强心苷稀醇提取液通过活性炭，提取液中的叶绿素等脂溶性杂质可被吸附而除去。当提取液通过 Al_2O_3，溶液中糖类、水溶性色素、皂苷等可吸附，从而达到纯化目的。但强心苷亦有可能被吸附而损失，而且吸附量与溶液中乙醇的浓度有关，是应该注意的。

（三）分离

1. 两相溶剂萃取法：利用强心苷在二种互不相溶的溶剂中分配系数的不同而达到分离。例如毛花毛地黄总苷中苷A、B、C的分离，由于在氯仿中苷C溶解度(1∶2000)比苷A(1∶225)和苷B(1∶550)小，而三者在甲醇(1∶20)和水(几乎不溶)中溶解度均相似。用氯仿-甲醇-水(5∶1∶5)为溶剂系统进行二相溶剂萃取，溶剂用量为总苷1000倍，苷A和苷B容易分配到氯仿层，苷C集中留在水层，分出水层，浓缩到原体积的1/50，放置结晶析出，收集结晶，用相同溶剂再进行第二次两相溶剂萃取，可得到纯的苷C。

2. 逆流分配法　亦是依据分配系数的不同，使混合苷分离。例如黄花夹竹桃苷A (thevetin A)和B(thevetin B)的分离，以氯仿∶乙醇(2∶1)750ml/水150ml为二相溶剂，氯仿为移动相，水为固定相，经九次逆流分配(0～8管)，最后由氯仿层6～7管中获得苷B，水层2～5管中获得苷A。

3. 色谱分离　分离亲脂性单糖苷、次级苷和苷元，一般选用吸附色谱，常以硅胶为吸附剂，用正己烷-乙酸乙酯、苯-丙酮、氯仿-甲醇、乙酸乙酯-甲醇为溶剂，进行梯度洗脱。对弱亲脂性成分宜选用分配色谱，可用硅胶、硅藻土、纤维素为支持剂，常以乙酸乙酯-甲醇-水或氯仿-甲醇-水进行梯度洗脱。逆流液滴色谱法(DCCC)亦是分离强心苷的一种有效方法。F. Abe 等人[19]曾采用氯仿-甲醇-水(5∶6∶4)为溶剂成功地自夹竹桃科植物 *Anodendron affine* 中分离出多种强心苷。

当组分复杂时，往往须几种方法配合应用反复分离，才能达到满意的分离效果。

（四）提取实例

1. 毛地黄毒苷的提取　发酵、提取、析胶：紫花毛地黄叶粉，加等量水充分混匀，通过8～10号筛孔制成颗粒，平铺恒温(28～31℃)放置8～10小时(防止水分挥散)。发酵的温度和时间，要视原料新鲜程度而定，新鲜原料酶活性大，时间可缩短。发酵好的毛地黄叶加2.7倍量70%乙醇，于50℃左右浸渍2小时，随时搅拌，再继续保温5小时，放冷，离心甩滤，滤渣先后用0.6倍乙醇和0.3倍水洗涤，合并滤液和洗液，浓缩至半量，浓缩液中含醇量应为20%，降温至28～31℃，放置4～6小时，使胶质(叶绿素等脂溶性杂质)充分沉淀，倾出上清液，过滤。

脱色、析晶：合并上清液和滤液，用 $CHCl_3$ 萃取3次(30℃左右)，合并 $CHCl_3$ 液，加5% NaOH水溶液洗涤，洗去有色杂质，然后用水洗至中性，再用蒸馏水洗2次，$CHCl_3$ 液用无水硫酸钠脱水后，回收 $CHCl_3$，至无 $CHCl_3$ 味，加入等量无水丙酮，于0～5℃放置24小时，滤取结晶，用少量丙酮冲洗，至结晶呈淡绿色。于50℃干燥，是为粗制毛地黄毒苷。

精制：粗品磨成粉，加40倍量 $CHCl_3$，放置8小时，溶解后过滤，滤液加活性炭(为粗品的5～8%)，脱色4小时，过滤，回收 $CHCl_3$ 至浓稠状，并有细微结晶析出，趁热加入等量丙酮，于0～5℃放置24小时，滤集结晶，用少量丙酮洗涤，50～60℃烘干，即为毛地黄毒苷成品。

2. 西地兰(去乙酰毛花毛地黄苷丙)的提取　提取、析胶:毛花毛地黄叶粉加70%乙醇温浸(50~60℃)2小时,共温浸2次,合并浸出液,减压浓缩至1/4容量,15℃放置过夜,胶质沉淀完全,分出上清液,继续减压浓缩至无醇味,放冷,加1/3容量$CHCl_3$,萃取、除去亲脂性杂质和部分毛地黄苷A和B。分出水层,加入浓乙醇使含醇达22%,再加入$CHCl_3$作两相萃取,先后3次($CHCl_3$用量分别为混液量的1/2, 1/3, 1/4),合并$CHCl_3$萃取液,减压蒸干为粗制总苷,甲醇重结晶,得精制总苷。

分离:毛花毛地黄总苷中,一般含苷C量约为37%,苷A约为47%。但经过以上操作,苷C量有所提高,苷A量有所减少。再利用苷C在$CHCl_3$中溶解度比苷A小,在甲醇和水中的溶解度和苷A相似的性质,将精制总苷于$CHCl_3$-MeOH-H_2O(5∶1∶5)中作两相溶剂萃取,分出水层浓缩到原体积的1/50,放置,苷C可沉淀或结晶析出,收集沉淀或结晶,再如上作一次两相溶剂萃取。

脱乙酰基:将苷C溶于25倍量的热甲醇中,加入0.15% $Ca(OH)_2$溶液(苷C 1g约需$Ca(OH)_2$40mg)混合均匀,放置过夜,混液应呈中性(如果pH大于7或小于7,应用HCl或$Ca(OH)_2$调到pH=7),减压浓缩至约1/5容量,放置过夜,滤集析出沉淀或结晶,自甲醇中重结晶一次即得西地兰纯品。

六、强心苷的生理活性

强心苷是治疗心力衰竭不可缺少的重要药物,但在临床应用中发现治疗宽度狭窄和不易控制等缺点,故目前仍有必要继续寻找和研究新的强心苷[20]。

强心苷的化学结构与其强心作用之间有着密切的关系。其苷元甾核要有一定立体结构,A/B环顺式或反式,C/D环必须是顺式稠合,才能显现强心作用。如果C/D环为反式或C_{14}-OH脱水生成脱水苷元,强心作用消失。在甾核的17位,必须有一个不饱和内酯环,且为β-构型,如异构化为α-构型或开环,强心作用将变得很弱甚至消失。内酯环中双键被饱和后,强心作用虽减弱,但毒性亦减弱,较为安全,有一定的实用价值。C_{10}位的甲基氧化成羟甲基或醛基后,作用稍有增强,毒性亦加大。在甲型强心苷元中,A/B顺式稠合,C_3-OH为β-构型时强心作用大于其α-构型的异构体。在A/B反式异构体中,C_3-OH构型对强心作用无明显的影响。其他位置引入取代基,对强心作用的影响是不完全相同的。例如以毛地黄毒苷元的强心作用为1,当其C_2位引入α-OH,同时在C_4、C_5间引入双键,强心作用降为0.06~0.09。

糖部分没有强心作用,但在强心苷中,糖的性质及数目对强心作用有影响。例如在表8-5中[21],毛地黄毒苷元和葡萄糖结合成苷(如化合物Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ),它们的强心活性和毒性均随分子中糖的数目增加而减弱。但与毛地黄毒糖结合成苷(如化合物Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ),糖分子数目增加,对活性无明显的影响,而毒性却随之增大。比较双糖苷(Ⅲ和Ⅵ)或叁糖苷(Ⅳ和Ⅶ),毛地黄毒糖的苷均比相应的葡萄糖苷的分配系数(水/油)小,显示有较强的作用和毒性。比较化合物Ⅱ和Ⅴ二个单糖苷,前者为葡萄糖的苷,后者为2,6-二去氧糖的苷,它们分配系数近似,所显示强心作用的有效浓度和毒性亦比较接近。这些结果可以说明强心苷中的糖的性质和数目,很可能是影响到强心苷在水/油中的分配系数,从而影响到强心苷的活性和毒性。

一般来说,2,6-二去氧糖衍生的苷,对心肌和中枢神经系统比葡萄糖苷有较强的亲和力,这

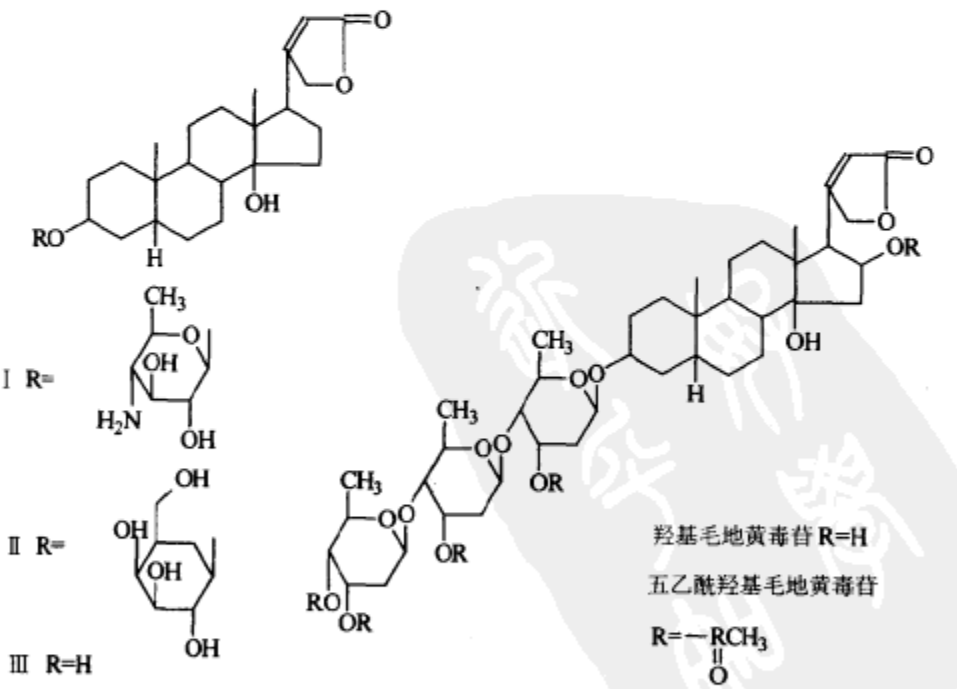
类苷的强心活性、毒性和亲脂性成平行关系。而葡萄糖苷虽然强心活性不及2，6-二去氧糖的苷类强，但毒性较弱，认为有可能发展为一类更为安全的药物。

表 8-5 毛地黄毒苷元及其苷类强心活性及毒性与分配系数之间关系

	化合物	强心活性*浓度(M)				LD_{50} nano mole /10g 体重	分配系数 37℃ (H_2O/n-BuOH)
		2×10^{-5}	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}		
Ⅰ	毛地黄毒苷元(ROH)	−	+	+	+	36	0
Ⅱ	R-O-glc	−	+	+	+	>310	4.65×10^{-2}
Ⅲ	R—O—glc $\xrightarrow{6\text{-}1}$glc	−	−	±	+	>780	25.2×10^{-2}
Ⅳ	R—O—glc $\xrightarrow{6\text{-}1}$glc $\xrightarrow{6\text{-}1}$glc	−	−	−	+	>730	128×10^{-2}
Ⅴ	R-O-dig	−	+	+	+	203	2.61×10^{-2}
Ⅵ	R—O—dig $\xrightarrow{4\text{-}1}$dig	−	+	+	+	126	1.82×10^{-2}
Ⅶ	R—O—dig $\xrightarrow{4\text{-}1}$dig $\xrightarrow{4\text{-}1}$dig	−	+	+	+	85	1.37×10^{-2}

glc = glucose，dig = digitoxose，* 心肌收缩效应

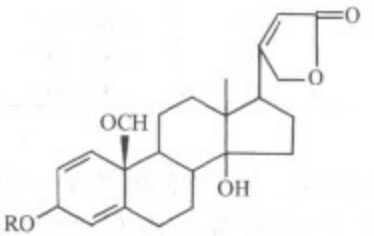
为了寻找安全范围大、治疗宽度大的强心药，曾进行了不少的研究。例如化合物Ⅰ[22]是一种半合成的4-氨基糖强心苷，与天然的β-D-半乳糖类似物(Ⅱ)和毛地黄毒苷元(Ⅲ)相比，(Ⅰ)的强心活性(对狗心肺增加左心室心搏作用)要比(Ⅱ)大3倍多，比(Ⅲ)大2倍多，并且延长作用时间。



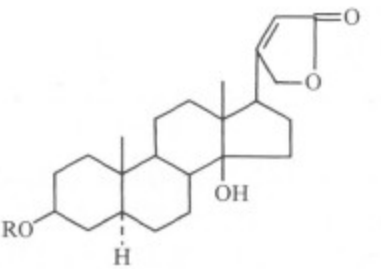
羟基毛地黄毒苷对离体心脏的强心作用虽与毛地黄毒苷基本相同，然而由于前者分子中C_{16}位多一个羟基，对溶解产生不利影响，使它几乎不溶于水和注射用溶剂，不适于作静脉注射，也不易为肠道所吸收。另一方面，却由于C_{16}-OH的存在使它的中枢神经系统的毒性要比毛地黄毒苷小得多(这正

是这类强心苷治疗心力衰竭的一种主要副作用),因此利用药物潜伏化(drug latentiation)原理,制成五乙酰基衍生物(仲羟基都酯化)作为前体药物供临床上应用。通过临床[23](2700 例以上)对心力衰竭患者的治疗,证实五乙酰羟基毛地黄毒苷具有适应性好、副作用小、生物活性迅速而安全等优点。

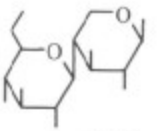
近年也发现某些强心苷对动物肿瘤(主要是细胞毒作用)有效。例如 hyrcanoside 和其次级苷 deglucohyrcanoside(得自多变小冠花 *Coronilla Varia* 种子)对人鼻咽表皮癌(KB)细胞均有明显抑制作用,其半数有效量前者为 0.1 ~ 1.0μg/ml,后者为 0.02 ~ 0.52μg/ml。前者在 1.25mg/kg 剂量时,并对 P_{388} 淋巴肉瘤有抑制作用[24]。马利筋属植物民间用于治疗许多癌症,近年自 *Asclepias albicans* 中分得三个细胞毒活性的强心苷元 uzarigenin(Ⅰ)及其单葡萄糖苷(Ⅱ)和双葡萄糖苷(Ⅲ),它们的活性剂量在 1 ~ 3.5μg/ml(KB 细胞抑制作用)。而化合物Ⅲ在 15 ~ 60mg/kg 剂量时,对小鼠 P_{388} 有明显活性[25]。



hyrcanogenin



uzarigenin



hyrcanoside

deglucohyrcanoside

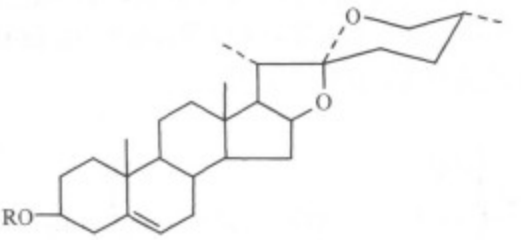
uzarigenin	单葡萄糖苷	R=β-D-glc	
uzarigenin	双葡萄糖苷	R=glc 4 β-D-glc	

第四节 甾体皂苷

一、甾体皂苷概述

甾体皂苷(steroidal saponins)是一类由螺甾烷(spirostane)类化合物与糖结合的寡糖苷,在植物中有着广泛的分布,迄今发现的甾体皂苷类化合物已达一万种以上,主要分布在薯蓣科、百合科、玄参科、菝葜科、龙舌兰科等植物中。六、七十年代国内外学者均作了大量研究,寻找开发甾体皂苷元用于合成甾体避孕药和激素类药物的原料。进入九十年代,随着甾体皂苷化学的发展,许多新的生物活性逐渐被发现,特别是防治心脑血管疾病、抗肿瘤、降血糖和免疫调节等作用引起了国际上的广泛关注,一些新的甾体皂苷类药物开始进入临床使用,并取得满意的结果。如由黄山药(*Dioscorea panthaica*)植物中提取的甾体皂苷制成的地奥心血康胶囊,内含有 8 种甾体皂苷[26],含量在 90% 以上,对冠心病、心绞痛发作疗效显著,总有效率为 91%[27]。心脑舒通为蒺藜(*Tribulus terres tris*)果实中提取的总皂苷制

剂，临床用于心脑血管病的防治，具有扩冠、改善冠脉循环作用，对缓解心绞痛、改善心肌缺血有较好疗效[28]。自云南白药重楼(*Paris polyphylla*)中分离到的甾体皂苷Ⅰ和Ⅳ，对 P_{388}、L1210 和 KB 细胞均有显著的抑制作用[29]。从中药薤白(*Allium maerostemon* Bunge)中分离到的薤白皂苷经体外试验显示具有较强的抑制 ADP 诱导的人血小板聚集作用[30]。



Ⅰ R=-glc(1→4)-β-D-arab
　　|2
　　rha

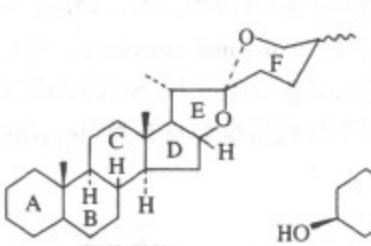
Ⅳ R=-glc(1→4)-rha
　　|2
　　glc

糖链对皂苷的生物活性也起着一定的影响。如黄芪中含有 16 种皂苷，由于糖链的差异，只有其中 5 种具明显的降压作用。地奥心血康中的甾体皂苷具有显著的扩张血管作用，而水解产生的薯蓣皂苷元却不具上述作用，反而具有明显的细胞毒作用[31]。

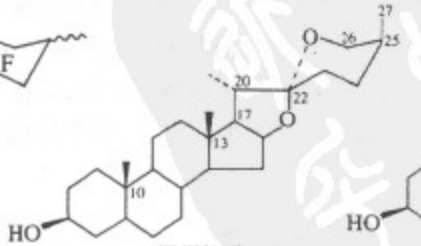
二、甾体皂苷的化学结构和实例

甾体皂苷的皂苷元基本骨架属于螺甾烷(spirostane)的衍生物，依照螺甾烷结构中 C_{25} 的构型和环的环合状态，可将其分为四种类型：

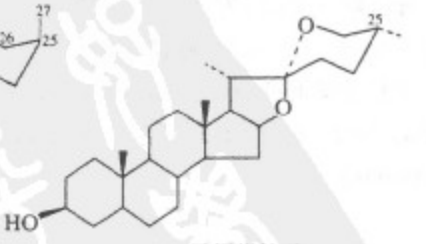
1. 螺甾烷醇类(spirostanols)　C_{25} 为 S 构型
2. 异螺甾烷醇类(isospirostanols)　C_{25} 为 R 构型
3. 呋甾烷醇类(furostanols)　F 环为开链衍生物
4. 变形螺甾烷醇类(pseudo-spirostanols)　F 环为五元四氢呋喃环。



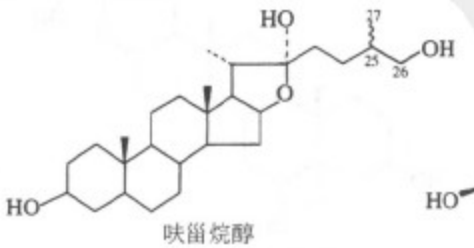
螺旋甾烷



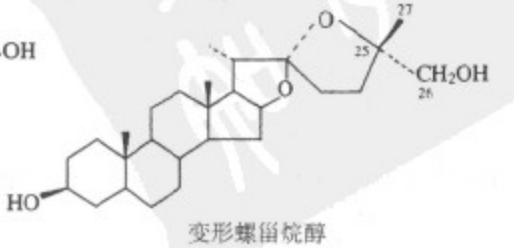
螺甾烷醇



异螺甾烷醇

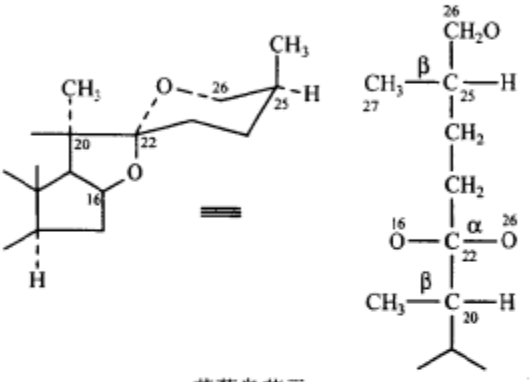


呋甾烷醇

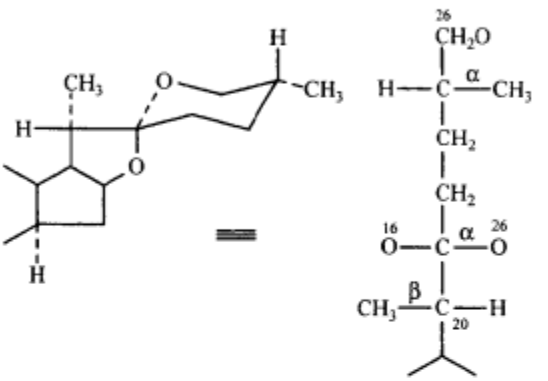


变形螺甾烷醇

植物界存在的甾体皂苷元具有和自然界甾醇类相似的甾核构型，即 A/B 环有顺式和反式（5β 或 5α），B/C 环和 C/D 环均为反式（即 8β、9α、13β、14α）。C_{17} 位侧链为 β-构型，侧链中的 C_{22} 和 C_{16} 形成了一个骈合五元含氧杂环。C_{22} 和 C_{26} 亦通过氧原子形成一个六元含氧杂环。因此 C_{22} 是 E 环与 F 环共享的碳原子，以螺缩酮（spiroketal）的形式相连，从而构成了螺旋甾烷的基本骨架。在 C_{17} 侧链上有三个不对称碳原子（C_{20}、C_{22} 和 C_{25}）。依照 Fischer 投影式，即将氧原子和相应碳原子间的键打开（O—C_{26} 键和 O—C_{16} 键），碳链直立地向背面投影，C_{26} 位-CH_2O[H] 基指定向上，取代基在碳链左侧为 β 定向，在右侧为 α 定向[32]。如：

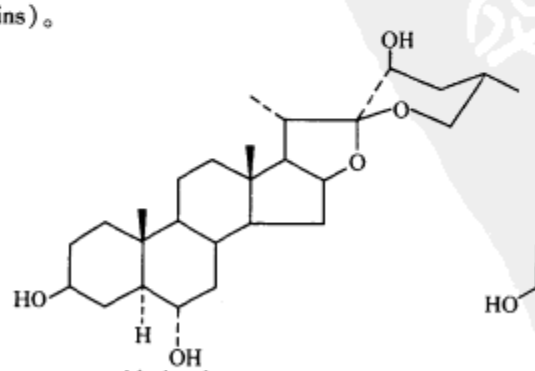


菠萝皂苷元
(5β,20β_F,22α_F,25β_F-spirostan-3β-ol)

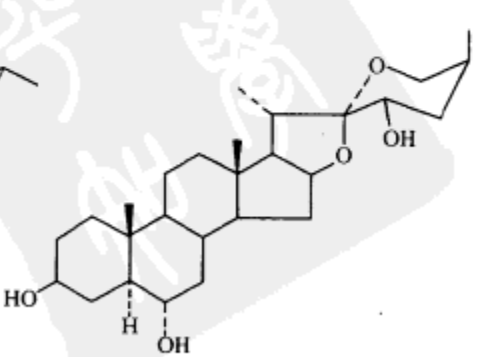


异菠萝皂苷元
(5β,20β_F,22α_F,25α_F-spirostan-3β-ol)

由上式可见 C_{20} 位甲基均为 β-构型（20β_F），C_{22} 位含氧侧链为 α-构型（22α_F）。但个别有例外[33]，如由 *Solanum hispidum* 叶子中曾分出一个皂苷，经 Smith 降解反应，由反应产物中分出皂苷元，称 hispigenin，系 22β-O-螺甾烷醇衍生物，当用 6M 醇性盐酸室温反应，即可异构化为 22α-O-螺甾烷醇衍生物——paniculogenin。C_{25} 位甲基则有两种差向异构体，当 C_{25} 位上甲基位于 F 环平面上的竖键时，为 β-定向，其绝对构型为 S 型，又称 L 型或 neo 型（即 25S，25L，25β_F，neo），即为螺旋甾烷。由螺旋甾烷衍生的皂苷，属于螺甾烷醇皂苷类（spirostanol saponins）。当 C_{25} 位甲基位于 F 环平面下的横键时，为 α-定向，其绝对构型为 R 型，又称 D 型或 iso 型（即 25R、25D、25α_F、iso），即为异螺旋甾烷。由异螺旋甾烷衍生的皂苷，属于异螺甾烷醇皂苷类（isospirotanol saponins）。

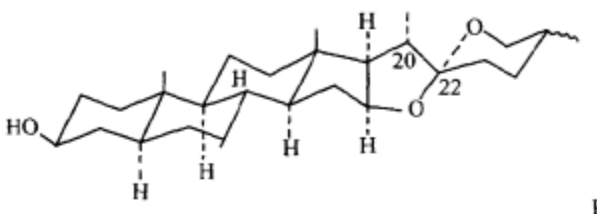


hispigenin

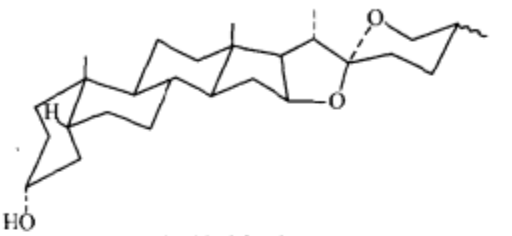


paniculogenin

螺甾烷醇和异螺甾烷醇二者互为异构体，常常是共存于植物体中，由于25R型较稳定，因此25S型极易转化为25R型。它们整个分子具有复杂的空间构型。



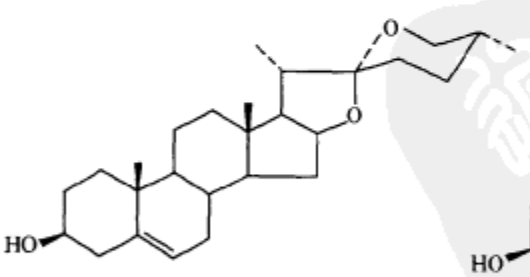
A/B环反式(5α-H)



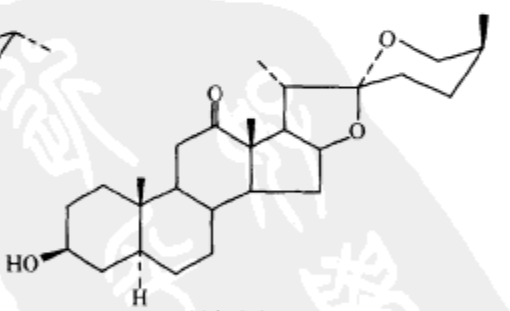
A/B环顺式(5β-H)

甾体皂苷元分子中含有多个羟基，大多数C_3位有羟基，且多为β-取向，少数为α-取向，若A/B为顺式，C_3-OH为α-取向(e键)较为稳定。其他位置上(如C_1、C_2、C_4、C_5、C_6、C_{11}、C_{12}…)也均可能有羟基取代，各羟基可以是β-取向，也有α-取向，而且分子中可以同时有多个羟基的取代。某些甾体皂苷元分子中还含有羰基和双键，羰基常在C_3、C_6、C_7、C_{11}、C_{12}、C_{15}位，但大多数位于C_{12}位，是合成肾上皮质激素所需要的条件。双键一般在$C_5 \sim C_6$之间，亦可能在$C_9 \sim C_{11}$间，与C_{12}羰基成为α,β-不饱和酮基。少数双键为$\Delta^{25[27]}$。

例如，薯蓣皂苷元(diosgenin)，是异螺甾烷的衍生物，化学名为Δ^5-20β_F,22α_F,25α_F螺旋甾烯-3β-醇，或简称Δ^5-异螺旋甾烯-3-β-醇，为薯蓣科薯蓣属植物根茎中薯蓣皂苷(diosein)的水解产物，是制药工业中重要原料。剑麻皂苷元(sisalagenin)，是螺甾烷醇的衍生物，C_{12}位有羰基，化学名为3β-羟基-5α,20β_F,20α_F,25β_F-螺旋甾-12-酮，或简称3β-羟基-5α-螺旋甾-12-酮，得自剑麻，是有价值的合成激素的原料。



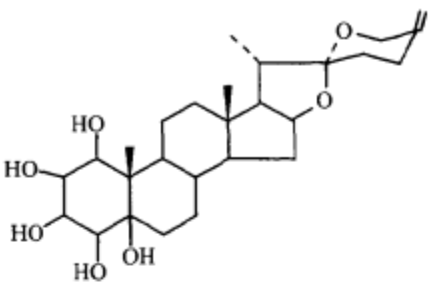
薯蓣皂苷元



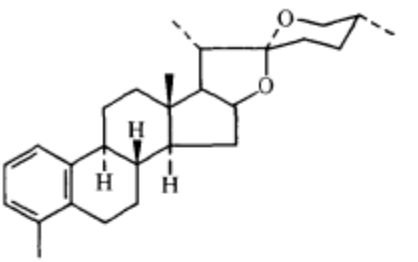
剑麻皂苷元

新潘托洛皂苷元(neo-pentologenin或$\Delta^{25(27)}$-pentologenin)[34]的A环上有五个羟基取代，并有一个双键为$\Delta^{25(27)}$。鲁维皂苷元(luvigenin)[35]为带芳香环的异螺甾烷醇衍生的皂苷元。此种皂苷元从植物生源学观点，认为不是植物中原存的，而可能是由于皂苷水解过程中引起化学变化所产生的。

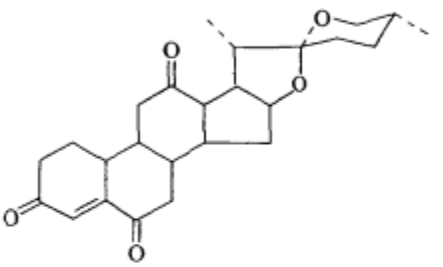
此外，自然界还常见一些含羰基或含双键的皂苷元，如从刺蒺藜中分离到的新的甾体皂苷元25R-spirostan-4-ene-3，6，12-trione，分子中含有三个羰基[36]，从薤白中分离到的薤白苷为20(22)双键的新甾体皂苷[37]。



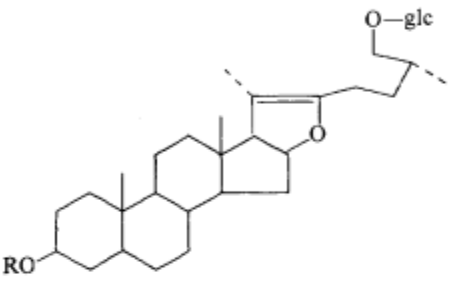
新潘托洛皂苷元



鲁维皂苷元



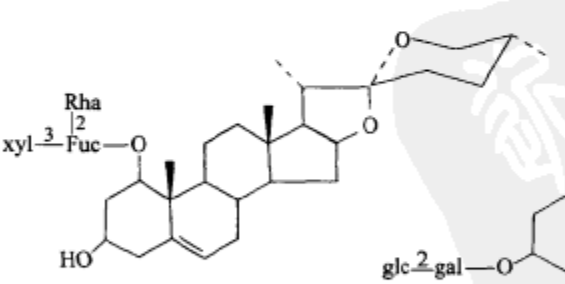
25R-spirostan-4-ene-3,6,12-trione



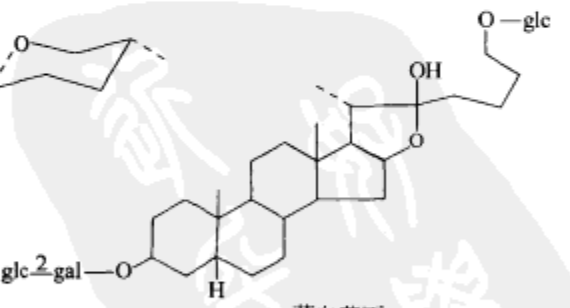
R=-β-D-gala$\overset{2}{}$β-D-gala

薤白皂苷

糖基大多数是和皂苷元中 C_3-OH 相连，但少数情况，C_3-OH 游离，而糖基和其他位置羟基相连，如沿阶草皂苷 D(ophiopogonin D)中，糖和皂苷元 C_1-OH 相连。而呋甾烷醇衍生物和变形螺甾烷醇衍生物中 β-D-葡萄糖则与 C_{26}-OH 相连，如薤白苷丁，为双糖链苷[38]。



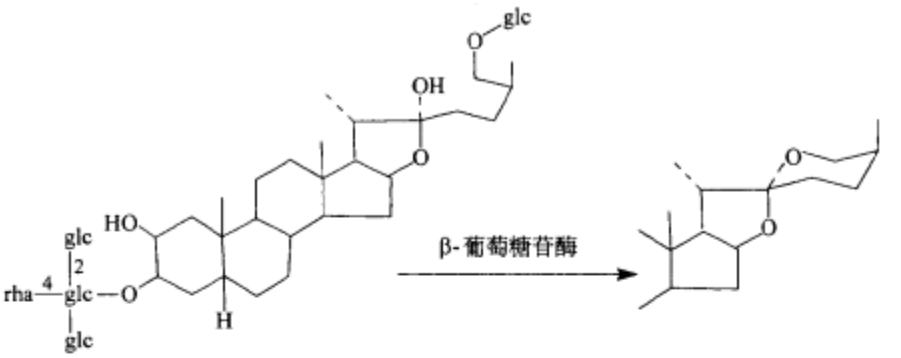
沿阶草皂苷 D



薤白苷丁

这种由 F 环裂环而衍生的皂苷称为呋甾烷醇皂苷(furostanol saponins)。由 F 环裂环后形成的苷键易被酶解，除去 C_{26} 位上的葡萄糖，成为单糖链皂苷，F 环随之环合转为具有正常螺甾烷或异螺甾烷侧链的皂苷，分子中 C_3 位或其他位置上羟基所形成的苷键仍保留苷键结合的状态。

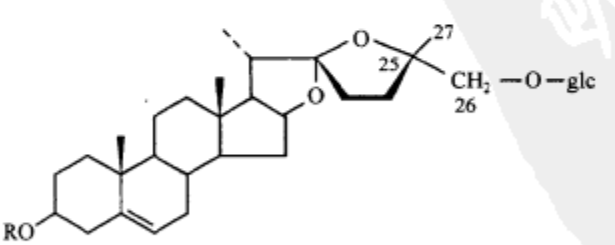
例如菝葜皂苷[39](parillin)是菝葜(*Smilax aristolochiaefolia*)根中的单糖链皂苷，其皂苷元称菝葜皂苷元(sarsasapogenin)，属于螺甾烷醇类。与菝葜皂苷伴存的双糖链皂苷，称为原菝葜皂苷(sarsaparilloside)，是 F 环开裂衍生的苷，易被 β-葡萄糖苷酶酶解，失去 C_{26} 位的葡萄糖，同时 F 环重新环合，转为具有正常螺甾烷侧链的菝葜皂苷。



F 环裂解的双糖链皂苷对盐酸二甲氨基苯甲醛试剂(Ehrlich 试剂,简称 E 试剂)能显红色反应,对茴香醛(Anisaldehyde)试剂(简称 A 试剂)则显黄色,而 F 环闭环的单糖链皂苷和螺旋甾烷衍生皂苷元,只对 A 试剂显黄色,对 E 试剂不显色[40]。

F 环裂解的双糖链皂苷不具有某些皂苷的通性,如没有溶血作用,不能和胆甾醇形成复合物,也没有抗菌活性等。但属于螺旋甾烷衍生的单糖链皂苷,却有明显的抗霉菌作用,或兼有抗细菌作用。例如原菝葜皂苷既没有皂苷的溶血作用,也不能与胆甾醇结合生成不溶性的复合物,更没有抗菌活性。而菝葜皂苷则具有强抗霉菌活性,也有一定程度的抗细菌作用。欧铃兰次皂苷不但有溶血作用和起泡性质,并有显著的抗霉菌作用,对细菌也有抑制作用,唯活性较弱。

变形螺甾烷醇类皂苷,天然产物中尚不多见,如 aculeatiside A 和 B 可作为此类皂苷的例子[41],二者是由民间用于治疗支气管炎和风湿病的茄科植物 *Solanum aculeatissimum* 根中提得的。都是纽替皂苷元(nuatigenin)的衍生物,F 环是一个五元四氢呋喃环,C_{26}位羟基和 β-D-葡萄糖结合成苷键。而 C_3 位糖是有区别的,前者 C_3-OH 连有马铃薯三糖(β-chacotriose),后者 C_3-OH 连有茄三糖(β-solatriose)。



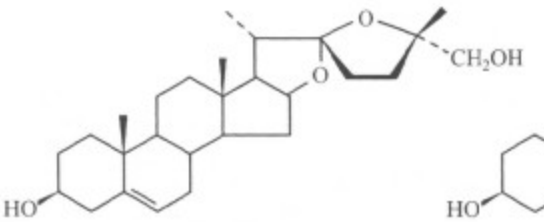
aculeatigide A

R=rha 4 glc-(β-chacotriose)-
2
rha

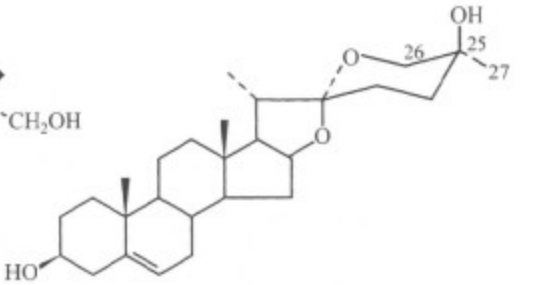
aculeatigide A

R=glc 3 gal-(β-solatriose)-
2
rha

当上述二种变形螺甾烷醇皂苷经酸性水解,在水解产物中可分离得到纽替皂苷元和异纽替皂苷元(isonuatigenin)。这是由于纽替皂苷元中四氢呋喃环(F 环)上羟甲基与葡萄糖形成苷,当水解除去葡萄糖后,F 环能迅速重排为六元环的异纽替皂苷元,而具有正常的螺旋甾烷侧链,唯 C_{25}位有羟基取代。纽替皂苷元不是正常的螺甾烷醇衍生物,认为是变形的螺甾烷醇衍生物。



纽替皂苷元



异纽替皂苷元

三、甾体皂苷的理化性质

1. 甾体皂苷元多有较好结晶态，能溶于石油醚、氯仿等亲脂性溶剂中，而不溶于水，它的熔点常随着羟基数目增加而升高，单羟基物都在208℃以下，三羟基物都在242℃以上，多数双羟基或单羟基酮类介乎二者之间。

甾体皂苷元若与糖结合成为苷类，尤其是与寡糖结合成皂苷后，则一般可溶于水，易溶于热水、稀醇，几乎不溶于或难溶于石油醚、苯、乙醚等亲脂性溶剂。

2. 甾体皂苷所具有的表面活性和溶血作用等与三萜皂苷相似，但F环开裂的皂苷往往不具溶血作用，而且表面活性降低。此外甾体皂苷水溶液可与碱式醋酸铅或氢氧化钡等碱性盐类生成沉淀。

3. 甾体皂苷与甾醇形成分子复合物，甾体皂苷的乙醇溶液可被甾醇（常用胆甾醇）沉淀。生成的分子复合物用乙醚回流提取时，胆甾醇可溶于醚，而皂苷不溶，从而达到纯化皂苷和检查是否有皂苷类成分存在。除胆甾醇外，其他凡是含有 C_3 位β-OH的甾醇（如β-谷甾醇、豆甾醇、麦角甾醇等）均可与皂苷结合生成难溶性分子复合物。若 C_3-OH为α构型，或者是当 C_3-OH被酰化或者生成苷键，就不能与皂苷生成难溶性的分子复合物。而且当甾醇A/B环为反式相连，或具有 Δ^5 的结构，形成的分子复合物溶度积最小。三萜皂苷与甾醇形成的分子复合物不及甾体皂苷稳定。

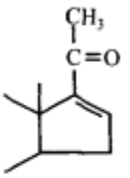
4. 甾体皂苷在无水条件下，遇某些酸类亦可产生与三萜皂苷相类似的显色反应。只是甾体皂苷与醋酐-硫酸反应，在颜色变化中最后出现绿色，三萜皂苷最后出现红色。与三氯醋酸反应时，三萜皂苷须加热到100℃才能显色，而甾体皂苷加热至60℃，即发生颜色变化。

四、甾体皂苷元的波谱特征

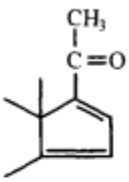
（一）紫外光谱

饱和的甾体化合物，在200～400nm间没有吸收，如果结构中引入孤立双键、羰基、α，β-不饱和酮基或共轭双键，则可产生吸收。一般来说，含孤立双键苷元在205～225nm有吸收（ε 900左右），含羰基苷元在285nm有一弱吸收（ε 500）。具α，β-不饱和酮基在240nm有特征吸收（ε为11000），共轭二烯系统在235nm有吸收。但不含共轭体系的甾体皂苷元，如先

用化学方法，制备成具有共轭体系的反应产物，然后测定产物的紫外光谱，可以为结构鉴定提供线索。例如当甾体皂苷元经降解、氧化、脱水，若得到的产物，含有 α，β-不饱和酮的部分结构（Ⅰ式），在 239nm 处应有吸收。若皂苷元 C_{14} 位有羟基取代，反应后则应得到具有 $\triangle^{14,16}$-二烯-20-酮的部分结构的产物（Ⅱ式），在 307～309nm 处应有典型吸收，借此可用来判断 C_{14} 位是否有羟基的存在[42]。



(Ⅰ)(239nm)



(Ⅱ)(307~309nm)

如将甾体皂苷元溶于浓硫酸，40℃加热 1 小时，于 220～600nm 间测定吸收峰和 1g ε 值，并和标准品光谱进行对照，可借以鉴别不同的甾体皂苷元[43]。

（二）红外光谱[44,45]

甾体皂苷元含有螺缩酮结构的侧链，在红外光谱中几乎都能显示出 980cm^{-1}（A）、920cm^{-1}（B）、900cm^{-1}（C）和 860cm^{-1}（D）附近的四个特征吸收谱带。且 A 带最强。在 25S 型皂苷或皂苷元中，B 带 > C 带。在 25R 皂苷或皂苷元中则是 B 带 < C 带。因此能借以区别 C_{25} 位二种立体异构体。例如以菝葜皂苷元代表 25S 型化合物，丝兰皂苷元代表 25R 型化合物，比较它们的光谱（图 8-11）。

在 25S 型化合物中，921cm^{-1}（B）吸收强度大于 897cm^{-1}（C）的吸收强度。而 25R 型化合物中正好相反，920cm^{-1}（B）强度小于 900cm^{-1}（C）[46]。如果是二种差向异构体的混合物，则 B 带 C 带的强度应相近。甾体皂苷元若是 $\triangle^{25(27)}$ 衍生物，在 920cm^{-1} 附近有强吸收，更应有因 $\diagdown C{=}CH_2$ 引起的 1658 和 878cm^{-1} 的吸收峰。C_{25} 上有羟基取代的皂苷元[47]，除保留 25S 苷元中 B 带强吸收和 25R 苷元中 C 带强吸收外，A 带都很弱。如果 C_{25} 上有羟甲基取代，红外光谱变化较大，无法用上述四条谱带来讨论 C_{25} 的立体化学，其特点是 25S 在 995cm^{-1} 处显示强吸收，25R 在 1010cm^{-1} 附近的强吸收。F 环开裂后亦无这种螺缩酮（spiroketal）结构的特征吸收。

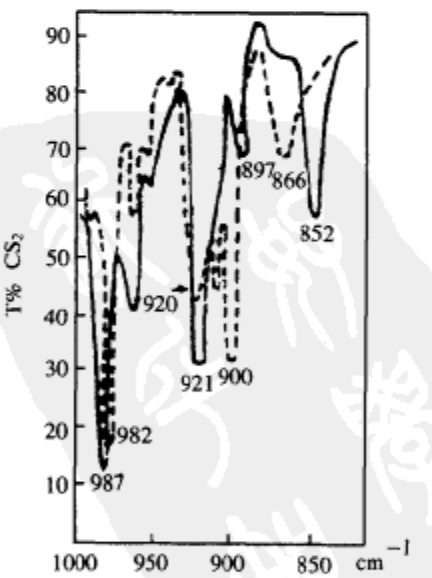


图 8-11 甾体皂苷元螺缩酮结构的红外吸收特征
乙酰基菝葜皂苷元(26S)——
乙酰基丝兰皂苷元(25R)------

甾体皂苷元的羟基其红外伸展频率约为 3625cm^{-1}，弯曲频率在 1080～1030cm^{-1}，C_3-OH 的红外与 A/B 环的构型有一定关系[48]。故当 C_3-OH 构型为已知时，可利用 C_3-OH 于红外光谱中表现的特征峰来推测 A/B 环的构型（表 8-6）。因为所有甾体衍生物（包括甾体皂苷元），C_3-OH 在 1050～

1000cm^{-1}左右均有吸收。

表 8-6 C_3-OH 甾体衍生物的红外光谱特征

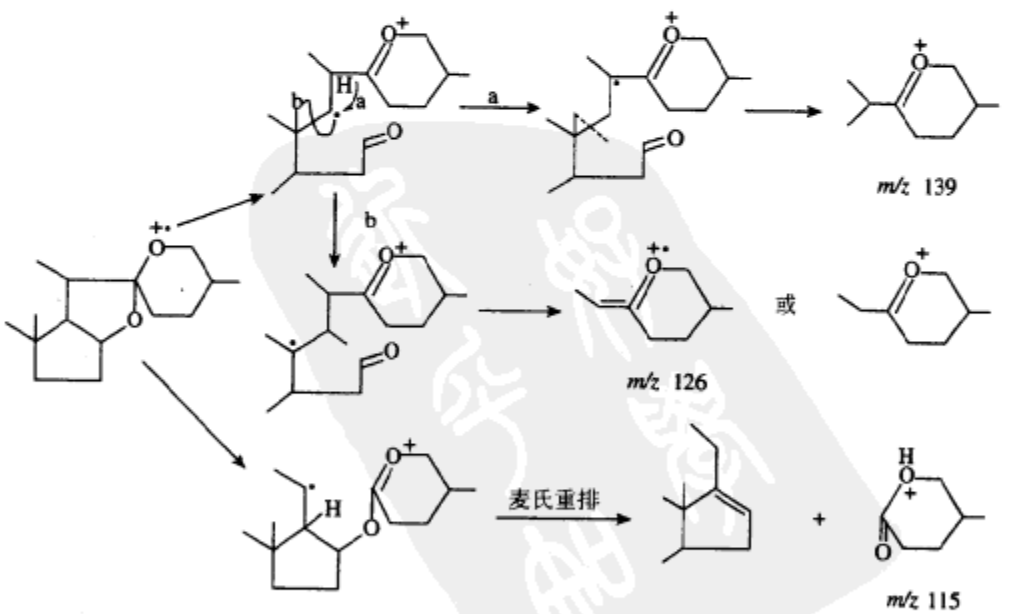
A/B	C_3-OH	υ_{OH}cm^{-1}	C_3-OH	υ_{OH}cm^{-1}
顺(5β-H)	α(e)	1037 ~ 1044	β(a)	1036 ~ 1032
反(5α-H)	β(e)	1037 ~ 1040	α(a)	1002 ~ 996
Δ^5	β(e)	1050 ~ 1052	α(a)	1034*

* 石蜡糊,其余为 CS_2 溶液,e: 横键,a: 竖键

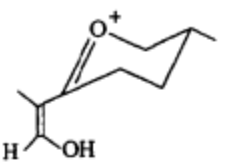
甾体皂苷元中 C_{11}或 C_{12}位为羰基时(非共轭体系),有一个吸收峰在 1715 ~ 1705cm^{-1},C_{11}位羰基的频率稍偏高于 C_{12}位羰基。如果 C_{12}位羰基成为 α,β-不饱和酮的体系,则有 1605 ~ 1600cm^{-1}($\upsilon_{C=C}$)及 1679 ~ 1673cm^{-1}($\upsilon_{C=O}$)二个吸收峰。

(三) 质谱[49]

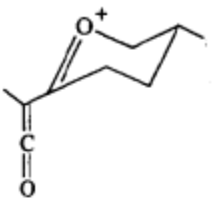
甾体皂苷元由于分子中有螺甾烷侧链,在质谱中均出现很强的 *m/z*139 的基峰,中等强度的 *m/z*115 的碎片离子峰及一个弱的 *m/z*126 辅助离子峰。这些峰的裂解途径可解释如下:



若 C_{25}或 C_{27}位有羟基取代,这三个峰均发生质量位移,上移 16amu 为 *m/z*155、*m/z*131 及 *m/z*142。C_{25}、C_{27}位有双键取代时,这三个峰均下移 2amu,为 *m/z*137、*m/z*113 及 *m/z*124。但 C_{23}位有羟基取代的皂苷元,其 *m/z*139 基峰消失,也没有质量位移的相应峰。C_{17}位有 α-OH 取代,*m/z*139 峰强减弱,而 *m/z*126 成为基峰,并出现 *m/z*155(72%)、*m/z*153(33%)的二个峰[51]。

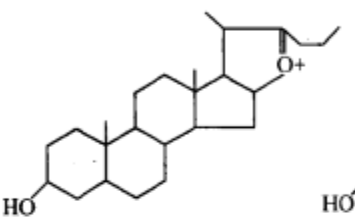


m/z 155

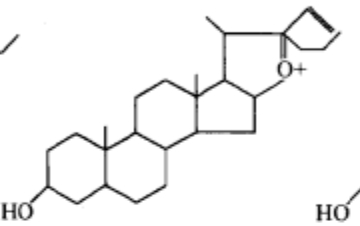


m/z 153

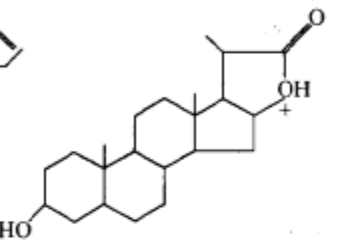
此外尚有来自甾核或甾核加 E 环的离子，主要有 *m/z*386，*m/z*357，*m/z*347，*m/z*344，*m/z*302，*m/z*287，*m/z*273，*m/z*122，这些碎片离子可解释为下列各式：



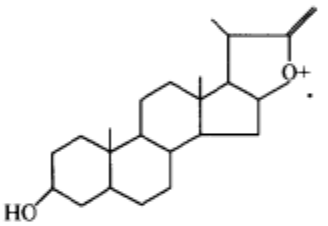
m/z 386



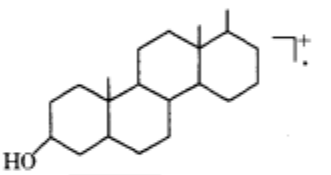
m/z 357



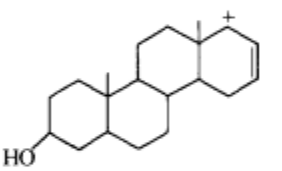
m/z 347



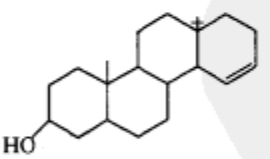
m/z 344



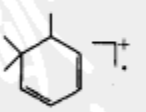
m/z 302



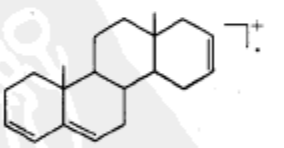
m/z 287



m/z 273



m/z 122



m/z 282

这些离子的质荷比可因取代基的性质和数目发生相应的质量位移，同时还可能产生一些失水或失 CO 的离子，例如 C_5 和 C_6 间有双键的皂苷元，C_3-OH 都易失水产生 *m/z*282 的强峰，可能是因失水后形成共轭体系，较为稳定。

根据这些特征峰，可以鉴别是否为甾体皂苷元，并可推测取代基性质、数目以及取代位置，因此质谱对甾体皂苷元结构测定是很有意义的。

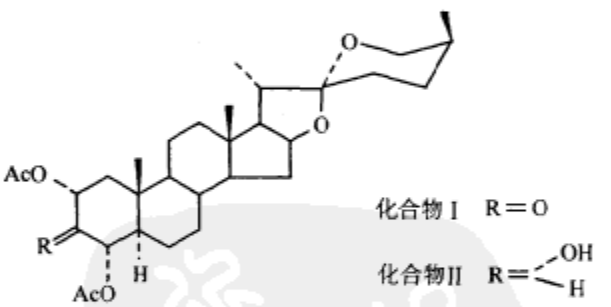
（四）核磁共振氢谱

甾体皂苷元的核磁共振氢谱中，在高场区有四个甲基（即 18、19、21、27 位甲基）的特征峰。18-CH_3 和 19-CH_3 为角甲基，均为单峰，前者处于较高场，21-CH_3 和 27-CH_3 因被邻位氢偶合，均为双峰，后者处于较高场，容易辨认。如果 C_{25} 位有羟基取代，则 27-CH_3 成为单峰，并向低场位移。C_{16} 位和 C_{26} 位上的氢是与氧同碳的质子，处于较低场，亦比较容易辨认。而其他各碳原子上

氢的化学位移相近，彼此重叠，难于识别。

27-CH_3 的化学位移值，还因其构型不同而有区别。甲基为 α-取向（横键）（25R 构型）的化学位移值要比 β-取向（竖键，25S 构型）处于较高场，因此可利用 27-CH_3 的 δ 值来区别 25R 和 25S 二种异构体。27-CH_3 的取向也可用溶剂效应进行测定，在 $CDCl_3$ 和 C_6D_6 中分别测定 $\Delta\delta_{CDCl_3-C_6D_6}$ 值，如 27-CH_3 为 α 键（25R）时，$\Delta\delta_{CDCl_3-C_6D_6}$ 值为 0.08 ~ 0.13；为 β 键（25S）时，为 -0.02。此二种异构体在核磁共振氢谱中的区别，还表现在 C_{26} 两个氢的谱带。在 25R 异构体中，C_{26} 二个氢的化学位移相似，25S 异构体中，二个氢的化学位移差别较大[51]。例如 bahamgenin[52]（25R 型），在 $CDCl_3$ 中测定，C_{26} 位二个氢的化学位移值都是 δ3.36ppm。而菝葜皂苷元（25S 型）的 C_{26} 位二个氢的化学位移值分别为 δ3.30 和 δ3.95。

除化学位移外，偶合常数也是确定结构的重要参数。例如化合物Ⅰ，已知 C_5-H 为 β-H，在氢谱中 C_4-H 的化学位移为 δ5.63（d，$J_{4,5}$ = 12Hz），根据 J 值示 C_4-H 与 C_5-H 是反式双直立关系，因此推断 C_4-OAc 是横键，β-取向；即 C_4-H 为竖键，α-取向。C_2-H 化学位移为 δ5.35（q，J = 6，14Hz）与 C_1 位二个氢的偶合常数分别是 6 与 14，为 Jae、Jaa 偶合，说明 C_2-H 是竖键，α-取向，因此 C_2-OAc 应为横键，β-取向。在化合物Ⅱ的氢谱中，C_3-H 为 δ3.52（1，J = 9.0 和 9.5Hz），说明 C_3-H 和 C_2-H、C_4-H 均为反式双直立关系。从而推断化合物Ⅱ中三个羟基是 2β、3α、4β 构型[53]。



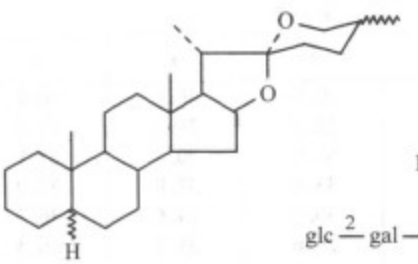
（五）核磁共振碳谱

由于碳谱宽度比氢谱约大 30 倍，分子微小差异就能引起碳谱化学位移的区别，并可利用全氢去偶、偏共振去偶和高分辨碳谱及弛豫时间测量，得到的参数几乎可以将皂苷元分子中 27 个碳（包括季碳和羰基碳）的特征峰都能辨认出来。如碳原子上有羟基取代，化学位移将向低场位移 40 ~ 45，如羟基与糖结合成苷，则发生苷化位移，再向低场位移 6 ~ 10 化学位移单位；碳原子形成双键后，将向低场位移至 δ115 ~ 150 范围内；碳原子形成羰基后，将移值至 δ200 左右；18，19，27 位的 3 个甲基的化学位移均低于 20 化学位移单位，但当 A/B 环为顺式连接时（即 5-βH），19-CH_3 将向低场位移至 23 化学位移单位，同时 1 ~ 9 位碳都不同程度向高场位移。16 位碳因连接氧，其化学位移一般在 δ80 左右，22 位连氧碳则在 δ109 左右，这二个碳在图谱中都易于找到。

根据已知皂苷的 ^{13}C 谱化学位移数据，并参考取代基对化学位移的影响，采用分析比较的方法，有可能确定各种甾体皂苷元各个碳的化学位移，推定皂苷元可能的结构。表 8-7 提供常见的甾体皂苷元及皂苷的 ^{13}C-NMR 数据[54, 55]，有关糖链的结构测定，请参照第二章内容。

表 8-7 常见的甾体皂苷元和皂苷的^{13}C-NMR 数据(400MHz, C_5D_5N)

碳	化合物						
	1	2	3	4	5	6	7
1	37.0	38.6	29.9	29.9	36.5	40.4	40.1
2	31.5	22.2	27.8	27.8	31.2	67.3	67.3
3	71.2	26.8	67.0	67.0	70.7	82.1	82.1
4	38.2	29.0	33.6	33.6	37.8	32.0	31.9
5	44.9	47.0	36.3	36.5	44.6	36.7	36.6
6	28.6	29.0	26.5	26.6	28.3	26.3	26.3
7	32.3	32.4	26.5	26.6	31.4	26.8	26.9
8	35.2	35.2	35.3	35.3	34.4	35.6	35.3
9	54.4	54.8	40.3	40.3	55.5	40.7	41.4
10	35.6	36.4	35.3	35.3	36.0	37.2	37.1
11	21.1	20.6	20.9	20.9	37.8	21.4	21.5
12	40.1	40.1	39.9	39.9	213.0	40.7	40.6
13	40.6	40.6	40.7	40.6	55.0	41.2	43.9
14	56.3	56.5	56.5	56.4	55.8	56.3	54.7
15	31.8	31.7	31.8	31.7	31.5	32.4	31.5
16	80.7	81.3	80.9	80.9	79.1	81.2	84.6
17	62.2	62.0	62.4	62.1	53.5	64.1	64.7
18	16.5	16.5	16.4	16.5	16.0	16.7	14.5
19	12.4	12.3	23.8	23.9	12.0	23.9	23.9
20	41.6	41.5	41.6	42.1	42.2	41.5	103.7
21	14.5	14.4	14.4	14.3	13.2	16.3	11.9
22	109.0	108.8	109.1	109.5	109.0	112.7	152.4
23	31.4	24.7	31.4	27.1	31.2	30.9	34.4
24	28.8	32.7	28.8	25.8	28.8	28.3	23.7
25	30.3	66.6	30.0	26.0	30.2	34.3	33.5
26	66.7	68.9	66.8	65.0	66.8	75.2	75.0
27	17.1	27.0	17.1	16.1	17.1	17.2	17.4
Gal-1						103.4	103.5
2						81.9	81.7
3						75.2	75.2
4						69.8	69.7
5						77.0	77.0
6						62.0	62.0
Glc-1						106.3	106.3
2						77.0	77.0
3						78.1	78.0
4						71.8	71.8
5						78.5	78.5
6						62.9	62.9
C-26 sugar							
Glc-1						105.0	104.9
2						75.2	75.2
3						78.7	78.6
4						71.8	71.8
5						78.5	78.5
6						62.9	62.9



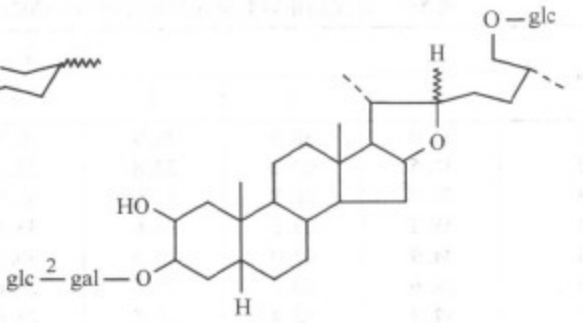
1 (25R)-5α-螺甾-3-醇

2 (25S)-5α-螺甾-25-醇

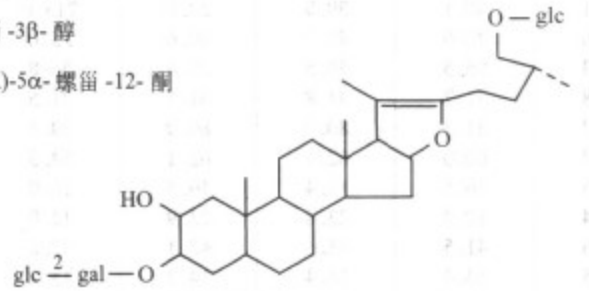
3 (25R)-5β-螺甾-3β-醇

4 (25S)-5β-螺甾-3β-醇

5 3β-羟基-(25R)-5α-螺甾-12-酮



6 薤白苷J



7 薤白苷L

五、甾体皂苷的提取与分离

甾体皂苷的提取与分离方法，基本与三萜皂苷相似。只是甾体皂苷一般不含羧基，呈中性（因此甾体皂苷俗称中性皂苷），亲水性较弱。甾体皂苷元如薯蓣皂苷元、剑麻皂苷元、海可皂苷元为合成甾体激素和甾体避孕药物的重要原料。因此将甾体皂苷进行水解，提取其皂苷元较为有实用价值。现介绍薯蓣皂苷元的提取方法如下：

我国薯蓣科薯蓣属植物资源丰富，种类多，分布南北各地。其根茎中含有大量的薯蓣皂苷。作为薯蓣皂苷元生产原料的植物主要有盾叶薯蓣（俗称黄姜），是 *Dioscorea Zingiberensis* 的根茎和穿龙薯蓣（又称穿地龙），是 *D. Hipponica* 的根茎。生产上多采用所谓酸水解法，是先将植物原料加水浸透后，再加水 3.5 倍，并加入浓硫酸，使成 3% 浓度。然后通蒸气加压进行水解反应（8 小时）。水解物用水洗去酸性，干燥后粉碎（含水量不超过 6%），置回流提取器中，加 6 倍量汽油（或甲苯）提取 20 小时。提取液回收溶剂，浓缩至约 1∶40，室温放置，使结晶完全析出，离心甩干，用酒精或丙酮重结晶，活性炭脱色，即得薯蓣皂苷元，此法收率比较低，只有 2% 左右，如果将植物原料在酸水解前，经过预发酵或自然发酵，就缩短水解时间，又能提高薯蓣皂苷元的收率，文献有报道[56]带水提取薯蓣皂苷元的工艺，即水解物含水 50% 即用汽油进行提取。

此外也可根据甾体皂苷元难溶于或不溶于水，而易溶于多数常见的有机溶剂的性质，自原料

中先提取粗皂苷，将粗皂苷加热加酸水解，然后用苯、氯仿等有机溶剂自水解液中提取皂苷元。

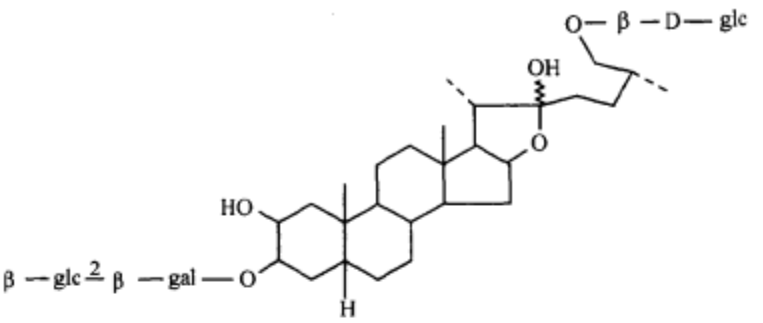
甾体皂苷目前研究很多，实验室和工业生产中多采用溶剂法提取，主要使用甲醇或稀乙醇作溶剂，提取液回收溶剂后，用水稀释，经正丁醇萃取或大孔吸附树脂纯化，得粗皂苷，最后用硅胶柱色谱进行分离或高效液相制备，得到单体，常用的洗脱剂有不同比例的氯仿-甲醇-水混合溶剂和水饱和的正丁醇。

六、甾体皂苷提取分离和结构测定实例

百合科植物小根蒜（*Allium macrostemon* Bunge）的干燥鳞茎为中药薤白的主要药源。主产于东北、华北等地。具理气宽胸、通阳散结之功效，中医临床长期用于治疗胸痹、心痛彻背等，与现代医学中的心绞痛、心肌梗死、动脉粥样硬化等心血管疾病有一定的关系。《金匮要略》中所载的瓜蒌薤白白酒汤、瓜蒌薤白半夏汤和枳实薤白桂枝汤等均将薤白作为主要成分。为了寻找薤白中作用于上述疾病的活性成分，为进一步开发新药提供先导化合物，同时也为中医临床用药提供科学依据，姚新生等对其进行了系统的化学成分研究，从中分离鉴定了10余种薤白苷，体外活性试验显示，对ADP诱导的人血小板聚集具较强的抑制作用，现将其中的薤白苷J的提取分离和结构测定介绍如下[54]。

提取分离：薤白鳞茎36kg以75%乙醇提取，回收乙醇得浸膏，用水稀释后依次用氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取，正丁醇萃取部分通过大孔树脂，水洗除去糖类成分，再用甲醇洗脱得总苷60g，总苷经硅胶柱色谱，以不同比例氯仿-甲醇-水作洗脱剂进行梯度洗脱，共得5个组分。组分Ⅲ再经大孔树脂柱色谱，依次以水和甲醇洗脱，得80%甲醇洗脱物22.5g，再经硅胶柱色谱，以氯仿-甲醇-水（80∶20∶5）下层洗脱得极性较大部位（11.8g），再经中低压Lobar柱（RP-8）反复层析分离，流动相为甲醇-水（7∶3），最后通过HPLC分离制备，得薤白苷J（10mg）。

结构测定：薤白苷J，白色无定形粉末，mp. 230～232℃，Ehrlich反应、李布曼反应和Molish反应均呈阳性，说明该化合物为F环开环的甾体皂苷。元素分析结合FAB-MS确定分子式$C_{45}H_{76}O_{20}$。根据^{13}C-NMR谱中C-5（36.7）、C-9（40.7）和C-19CH_3（23.9）的化学位移，推测该化合物为5β-呋喃甾皂苷。FAB-MS显示*m/z*919（M+H-H_2O）$^+$、595（M+H-2glc）$^+$和433（苷元+H-H_2O）$^+$，说明苷元上除C_{22}-OH外，另外还存在一个游离羟基，同时还说明分子中含有二分子葡萄糖，且均为末端糖。酶解给出葡萄糖和一次级苷，说明F环连有葡萄糖；酸水解得沙莫皂苷元，结合的半乳糖和葡萄糖的比例为1∶2。红外光谱905cm^{-1}峰强度>930cm^{-1}，显示C-25为R构型。^{1}H-NMR（400MHz）δ化学位移单位：0.87（3H，s，18-CH_3）、0.97（3H，s，19-CH_3），0.99（3H，d，J=6.6Hz，27-CH_3），1.34（3H，d，J=6.8Hz，21-CH_3）；4.84（1H，d，J=7.8，端基H）、5.02（1H，d，J=7.6Hz，端基H）、5.30（1H，d，J=7.6Hz，端基H）、3.8～4.6（m，糖上H）。从糖端基氢的偶合常数，推测糖均为β构型。^{13}C-NMR（见表8-7）中观察到C-3羟基的苷化位移，说明另一糖链连接在C_3-OH上；同时观察到半乳糖C-2向低场位移5化学位移单位，说明C-2位连有另一个糖。这样，该皂苷确定为沙莫皂苷元呋甾双糖链皂苷，化学结构为（25R）-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-2β，3β，26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基（1→2）-β-D-吡喃半乳糖苷，为一新化合物。



薤白苷 J

参 考 文 献

[1] Paolo Manito. Biosynthesis of Natural Products. New York, John wiley & sons, 1981, 315 ~ 345
[2] Daniele Debieu et al. Phytochem, 1992, 31(4): 1223
[3] Kurasawa Y, et al. Chem Pharm Bull, 1976, 24: 373
[4] Kurasawa Y, et al. Chem Pharm Bull, 1976, 24: 487
[5] 张壮鑫等. 化学学报, 1983, 41: 1058
[6] Fusetani, N. Drugs from the sea Basel. Freiburg Paris London New York, 2000, pp 1-5
[7] Proksch, P. et al. Appl. Microb. Biotechnol. 2002, 59: 125-134
[8] Jacobs-MS and Kitching-W. Current-Organic-Chemistry, 1998, 2(4): 395-436
[9] Liselotte Krenn and Brigitte kopp, Phytochemistry, 1998, 48(1): 1 ~ 29
[10] Thomas R, et al. J Pharmaceut Sci, 1974, 68: 1649
[11] Tashmukhamedov M. S. , et al. Chemistry of Nat. Comp, 1995, 31: 214
[12] Leboeuf M, et al. Phytochem, 1972, 11: 843
[13] Jones R. N, et al. JACS, 1959, 81: 5242
[14] Brown P, et al. Helv Chem Acta, 1972, 55: 531
[15] Brown P, et al. Org Mass Spectrometry, 1972, 6: 47; 613
[16] 王宪楷主编. 天然药物化学,北京: 人民卫生出版社 1988,484
[17] Bhacca and williams. Applications of NMR spectroscopy in org chem Illustation from the steroid field
[18] Tori K, et al. Tetrahedron Lett, 1973,13: 1077
[19] Abe F, et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30: 1183; 3897
[20] 吕富华. 药学学报, 1979, 14: 632
[21] Takiura K, et al. Chem Pharm Bull, 1974, 22: 2263
[22] Bristol JA, et al. Annu Rep Med Chem, 1981, 16(10): 93
[23] Megges R, et al. Pharmazie, 1977, 32: 665
[24] Kupchan S. M, et al. Science, 1964, 146: 1685
[25] Koike K, et al, Chem Pharm Bull, 1980, 28: 401
[26] 李伯钢等. 新药与临床, 1994, 13(2): 75
[27] 冯子王. 新药与临床, 1994, 13(3): 152-155

[28] 王博文等. 新药与临床, 1990, 12(6): 85-87
[29] Barikumar PP. J. Pharm. Sci, 1979, 67(7): 900-905
[30] 彭军鹏等. 药学学报, 1993, 28(7): 526～531
[31] 刘美正等. 有机化学, 1997, 17: 307～318
[32] Shoppee, Charles W. Chemistry of the steroids Znd ed, 1964, 5～7
[33] Chakravarty A. K, et al. Tetrahedron Letters, 1978, 3875
[34] Hirai, Yasuaki et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30: 3476
[35] Igarashi K, Chem Pharm Bull, 1961, 9: 722
[36] 徐一新等. Phytochem, 1998, 49(1): 199～201
[37] 彭军鹏等. 药学学报, 1993, 28(7): 526～531
[38] 彭军鹏等. 药学学报, 1994, 29(7): 526～531
[39] Tschesche R, et al. Tetrahedron Letters, 1967, (29): 2785
[40] Kiyosawa S, et al. Chem Pharm Bull, 1968, 16: 1162
[41] Saijo R, et al. Phytochem, 1983, 22: 733
[42] Takeda K, et al. Tetrahedron, 1959, 7: 62
[43] Walens H. A, et al. Anal Chem, 1954, 26: 325
[44] Rolandeddy C, et al. Anal Chem, 1953, 25: 266
[45] Jones RN, et al. J Am Chem Soc, 1953, 75: 158
[46] Rothman H. S, et al. J Am Chem Soc, 1952, 74: 4013
[47] Takeda K, et al. J Am Chem Soc, 1963, 4815
[48] 林启寿. 中草药成分化学, 1977, 415
[49] Dijerassi C, et al. Org Mass Spectrum, 1970, 3: 1187
[50] Makato S. B, et al. Phytochem, 1981, 20: 1943
[51] Williams D, et al. Tetrahedron, 1965, 21: 1841
[52] Coll F, et al. Phytochem, 1983, 22(3): 787-788
[53] Fumio Y, et al. J Chem Soc C, 1967, 2397
[54] 彭军鹏等. 药学学报, 1994, 29(7): 526～531
[55] 于德泉等. 分析化学手册, 化学工业出版社, 1989, 802 页
[56] 昆明制药厂. 中草药通讯, 1975, (2): 18

（易杨华）

9 第九章 生物碱

生物碱（alkaloids）是一类重要的天然有机化合物。自从1806年德国学者F. W. Sertürner从鸦片中分出吗啡碱（morphine）以后，迄今已从自然界分出10 000多种生物碱。生物碱广泛地分布于植物界，其中许多重要的植物药如鸦片、麻黄、金鸡纳、番木鳖、汉防己、莨菪、延胡索、苦参、洋金花、秋水仙、长春花、三尖杉、乌头（附子）等都主要含有生物碱成分。生物碱具有多种多样的生物活性。附录中列出46种药用生物碱的主要来源及其作用与用途。生物碱又是天然有机化学的重要研究领域之一。在生物碱研究中，创立和发现了不少新的方法、技术和反应，对天然有机化学的发展有着重要的促进作用。有关生物碱的文献数目繁多，且与日俱增。其中两个系列的评述性专著[1,2]是最重要的。

第一节 概 述

一、生物碱的定义

生物碱的定义至今尚无一个令人满意的表述。事实上，随着生物碱研究的不断深入发展，其定义的严格性总是伴随着种种新的限制。

目前，多数教科书定义生物碱是天然产的含氮有机化合物。这里不包括：低分子胺类如甲胺、乙胺等，非环甜菜因类（betaines）、氨基酸、氨基糖、肽类（除肽类生物碱如麦角克碱ergocristine等）、蛋白质、核酸、核苷酸、卟啉类（porphyrines）和维生素类。比较确切的表述是：生物碱是含负氧化态氮原子、存在于生物有机体中的环状化合物[3]。环状结构排除了小分子的胺类、非环的多胺和酰胺。负氧化态氮则包括胺（-3）、氮氧化物（-1）、酰胺（-3）化合物，但排除含硝基（+3）和亚硝基（+1）的化合物如马兜铃酸（aristolochic acid）等。生物有机体是从实用考虑将其范围限于植物、动物和其它生物有机体，而排除上述简单定义中所限制的所有的化合物。但同时却包括经典定义中例外的大多数化合物如秋水仙碱、胡椒碱（piperine）、苯丙胺类（如麻黄碱）和嘌呤类（如咖啡因）等。

二、生物碱在植物界的分布[4,5]

生物碱主要分布于植物界，迄今为止在动物中发现的生物碱极少。

生物碱在植物界分布的一般规律是：

1. 在系统发育较低级的类群中，生物碱分布较少或无。表现在：①藻类、水生植物(除伸出水面部分如睡莲科植物外)、异养(腐生、寄生)植物中未发现生物碱。②菌类植物如麦角菌类等少数植物中含有生物碱。③地衣、苔藓类植物中仅发现少数简单的吲哚类生物碱。④蕨类植物中除简单类型的生物碱如烟碱外，结构复杂的生物碱则集中地分布于小叶型的真蕨如木贼科、卷柏科、石松科等植物中。

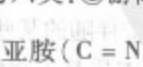
2. 生物碱集中地分布在系统发育较高级的植物类群(裸子植物，尤其是被子植物)中。表现在：①裸子植物中，仅紫杉科红豆杉属(*Taxux*)、松柏科松属(*Pinus*)、云杉属(*Picea*)、油杉属(*Ketelearia*)、麻黄科麻黄属(*Ephedra*)、三尖杉科三尖杉属(*Cephalotaxus*)等植物含有生物碱。②少数被子植物的单子叶植物中，生物碱主要分布于百合科、石蒜科和百部科等植物中。③在被子植物古生花被类双子叶植物中，生物碱主要分布于毛茛科、木兰科、小檗科、防己科、马兜铃科、罂粟科、番荔枝科、芸香科等植物中。④在被子植物后生花被类双子叶植物中，生物碱主要分布在龙胆科、夹竹桃科、马钱科、茜草科、茄科、紫草科、菊科等植物中。

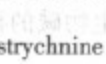
3. 生物碱极少与萜类和挥发油共存于同一植物类群中。

4. 越是特殊类型的生物碱，其分布的植物类群就越窄。如莲花氏烷(hasubanane)型异喹啉生物碱类，仅分布在毛茛科千金藤属(*Stephania*)植物中。又如二萜生物碱主要分布于毛茛科乌头属(*Aconitum*)和翠雀属(*Delphinium*)植物中。这在植物化学分类上是十分重要的。

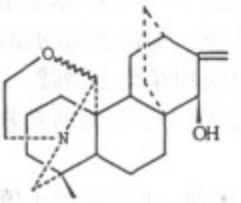
各类生物碱在植物界的分布规律参见本章第三节。

三、生物碱的存在形式

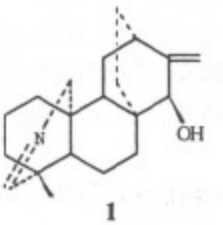
根据分子中氮原子所处的状态主要分为六类：①游离碱；②盐类；③酰胺类；④*N*-氧化物( )；⑤氮杂缩醛类；⑥其它如亚胺(C = N)、烯胺()等。

在植物体内，除以酰胺形式存在的生物碱外，仅少数碱性极弱的生物碱如那碎因(nareeine)、那可丁(narcotine)等以游离形式存在。而绝大多数生物碱是以盐的形式存在的。形成盐的酸有草酸、柠檬酸、硫酸、盐酸、硝酸等。以酰胺形式存在的生物碱如秋水仙碱、喜树碱等。在植物体中，已发现的*N*-氧化物逾120种。主要是吡咯里西丁类如一野百合碱，*N*-氧化物等。有些生物碱分子中含氮杂缩醛体系，又称*O*,*N*-混合缩醛(*O*, *N*-mixed acetals)，如阿马林(ajmaline)等。某些二萜碱则以噁唑啉环形式存在，如阿替生(atisine)等。这种特殊结构的存在，导致许多有趣的反应如成盐、差向异构化、异构化等。极少数生物碱是以亚胺(如1等)、烯胺(如新士的宁neostrychnine等)，甚至  (如*N*-cyano-secopseudostrychnine等)形式存在。个

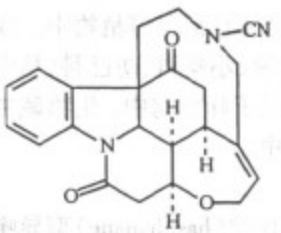
别生物碱如 geneserine 等则以 $\rangle N\text{—}O$ 键形式存在。该结构单元的存在，导致亲水性增强。同时，质谱并无 M-18 和 M-17 碎片峰，且氢谱显示正常的 $N\text{-}CH_3$ 信号的 δ 值，所有这些均不同于 *N*-氧化物[5]。极少数生物碱如 xylostostidine 等则以硫氮杂环形式存在。此外，少数单萜吲哚碱、单萜碱以及甾体生物碱等分子中又存在苷的结构。



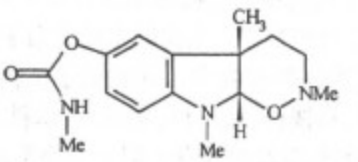
阿替生



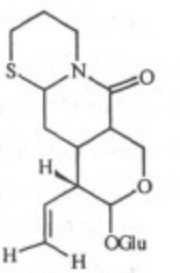
1



N-cyano-seco-pseudostrychnine



geneserine



xylostostidine

第二节　生物碱生物合成的基本原理[7,8]

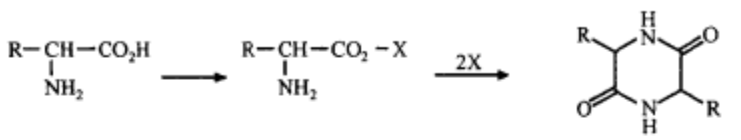
生物合成的研究表明存在于植物界的上万种生物碱，仅来源于有限的前体氨基酸、甲戊二羟酸和醋酸酯等。与生物碱生物合成有关的主要氨基酸有鸟氨酸、脯氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、邻氨基苯甲酸、组氨酸和烟酸等。生物碱生物合成的化学原理则仅涉及少数的环合反应、C—N 键和 C—C 的裂解反应以及经常伴随的某些重排、取代基的形成、增减、消除、转化等。生物碱骨架类型的形成与转化的生物化学本质是生物体在其本身存在的酶参与下，所发生的 C—C 键、C—N 键、C—O 键的形成与裂解。生物碱生物合成基本原理的研究，不仅对揭示其在植物体中的形成、转化及其相互关系的本质，而且对生物碱的化学关联、结构改造、仿生合成等都有着极其重要的指导意义。生物碱生物合成的基本原理主要包括：环合反应、C—N 键和 C—C 键的裂解。

一、环合反应

根据生物碱生物合成中环合的先后次序，环合反应分为一级环合和次级环合两类。前者是最先形成 *N*-杂环的反应。主要包括：内酰胺形成、希夫碱（Schiff's base）形成。曼尼希（Mannich）氨甲基化反应和氨基的加成反应。次级环合反应是指具备 N-杂环生物碱的再环合。最重要的次级环合反应是酚氧化偶联反应。

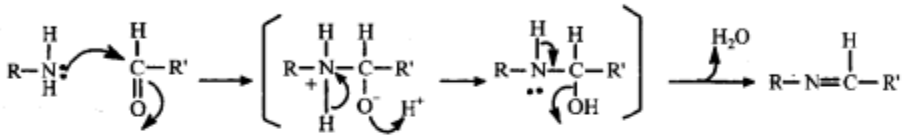
（一）一级环合反应

1. 内酰胺形成　该反应主要限于肽类生物碱等的生物合成。反应前，氨基酸（A）中羰基须先被 ATP 或 CoA 酶催化激活成(B)后，再与分子内(间)氨基反应生成内酰胺(C)。



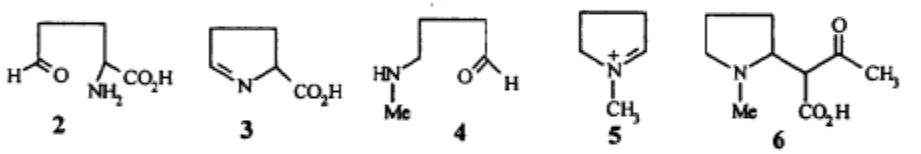
A　　B　　C

2. 希夫碱形成　含氨基(A)和羰基(B)的化合物易经加成-脱水形成希夫碱(C)。



A　　B　　C

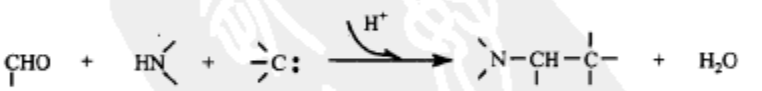
若为伯胺如 2，有时，则为协同反应生成 3。若为仲胺如 4，与分子内羰基反应形成 *N*-甲基吡咯亚胺盐 5。5 又易进一步与乙酰乙酸反应生成 6。



2　　3　　4　　5　　6

许多类型的生物碱如吡咯类、托品类、吡咯里西丁类、哌啶类、喹诺里西丁类等的生物合成中，都涉及希夫碱的形成。

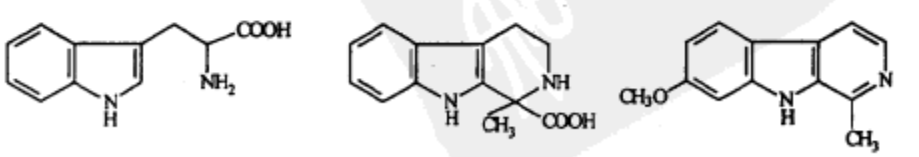
3. 曼尼希氨甲基化反应　醛（A）、胺(一级胺或二级胺或氨)(B) 和负碳离子(C)(含活泼氢的化合物)发生缩合反应，结果是活泼氢被氨甲基所取代，得到曼尼希碱(D)。



A　　B　　C　　D

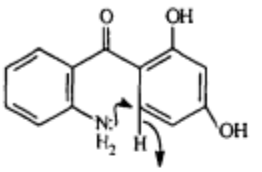
在生物碱的曼尼希缩合反应中，提供碳负离子(即亲核试剂)者常为芳香碳。如由色氨酸与乙酰甲酸形成 7，7 再反应生成哈满尼(harmanine)。

生物碱，尤其是苄基异喹啉和吲哚生物碱的生物合成中，许多一级环合都是通过曼尼希缩合而完成的。

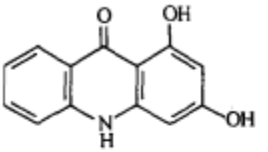


色氨酸　　7　　哈满尼

4. 加成反应　所谓加成反应是特指一亲核氨基与芳香或醌类体系中亲电中心的加成反应。如8经加成反应环合成吖啶酮类生物碱冉特可林酮(retacridone) 9。



8



9

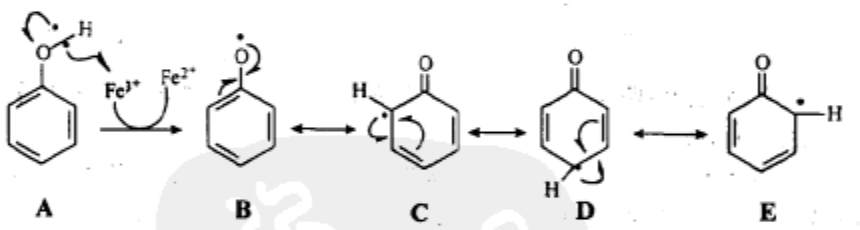
综上所述，氨基和羰基反应体是生物碱生物合成中最重要的形成*N*-杂环体系的前体物。这中间希夫碱形成和曼尼希缩合所需的醛类以及酶的催化作用则是关键因素。

(二) *次级环化反应*

最重要的次级环化反应是酚氧化偶联。而代表性的实例则是由苄基四氢异喹啉类生物碱生物合成形成阿朴菲类生物碱。其次，亚胺盐的次级环合反应也比较重要。

1. **酚氧化偶联**(oxidative coupling of phenols)　酚氧化偶联的大致过程可归纳为:酚自由基形成→自由基偶联→再芳香化。

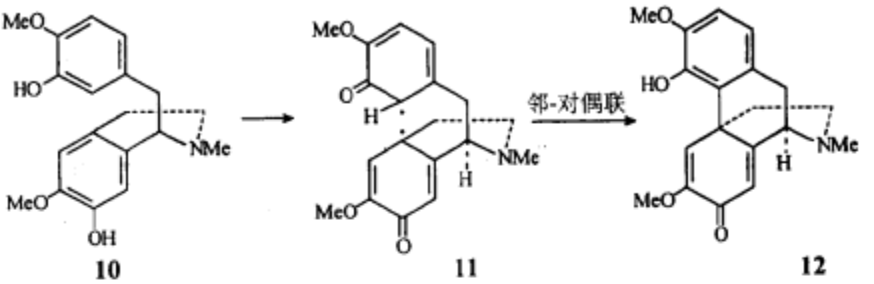
(1)酚自由基形成:酚(A)中羟基氢易被一个电子转移的氧化剂如$FeCl_3$、碱性铁氰化钾等氧化生成高反应活性的中介酚盐自由基(B-E)。

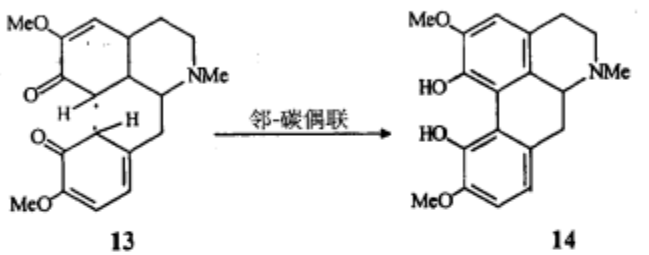


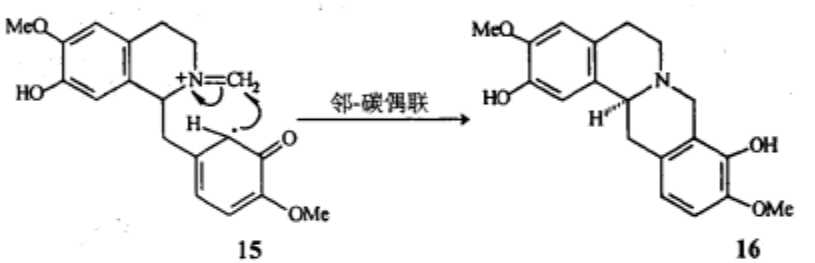
A　B　C　D　E

同样的，在植物体内可在酶催化下产生类似的中介酚盐自由基。

(2) 自由基偶联形成C—C键、C—O键和C—N键:自由基(B—E)易彼此间或自身之间发生偶联，即自由基的配对反应(pairing reaction)，形成新的C—C键、C—O键。配对反应又分为分子间配对反应(如形成双苄基异喹啉生物碱)和分子内配对反应。后者主要是由苄基四氢异喹啉生物碱形成众多骨架类型的异喹啉类生物碱。根据自由基偶联的方式分为:邻-对偶联、对-对偶联和邻-邻偶联。在四氢异喹啉类生物碱中多发生酚氧化的邻-对偶联反应。如:(S)-网状番荔枝碱[(S)-reticuline]10→12(吗啡碱类)。可能因为立体位阻的原因，生物碱中酚氧化的邻-邻偶联方式较少。少数的例子如10→13→紫堇块茎碱(corytuberine)14。另一类重要的酚氧化偶联反应是:自由基(C—E)与可极化的双键反应形成新的C—C键。一个重要的例子是由(S)-网状番荔枝碱10氧化形成15，15再经邻-碳偶联成原小檗碱型的S-斯可任(S-scoulerine)16。



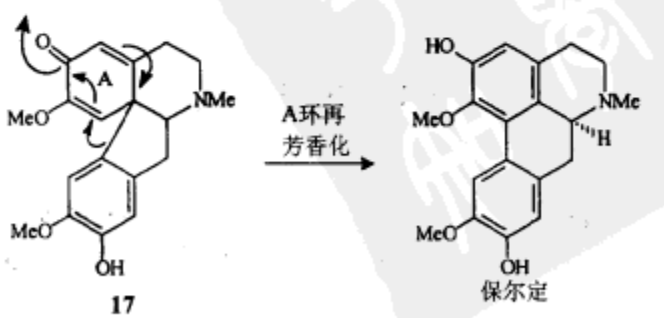




(3)再芳香化:酚自由基偶联后的再芳香化主要通过三种方式进行:烯醇化、C—C 键迁移和 C—C 键的裂解。

①烯醇化-再芳香化:此时,芳香化必须的条件是偶联位置上有氢存在。如由(S)-网状番荔枝碱 10 经 13 形成紫堇块茎碱 14。

②C—C 键迁移-再芳香化:若偶联位置上氢被一碳(如 C—C 键)所代替,则不能经烯醇化方式进行偶联后再芳香化。如由酚氧化偶联形成 17。此时,需经二烯酮(醇)重排发生 C—C 键迁移-再芳香化形成保尔定。



兹以环己二烯酮(a→d)和环己二烯醇(e→h)为例说明其重排机制如图 9-1。

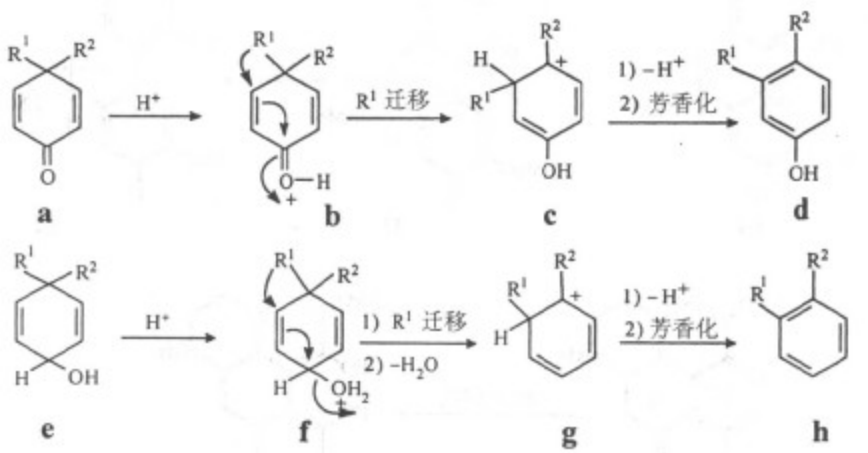
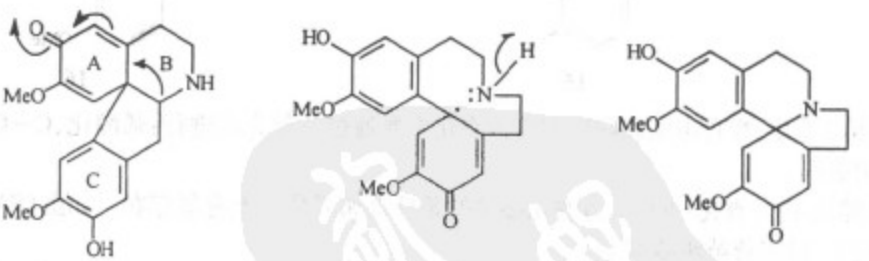


图 9-1

实验表明，上述两种重排普遍存在于生物碱，尤其是四氢异喹啉类生物碱中。

③C—C 键裂解-再芳香化：除 C—C 键迁移外，对酚氧化后偶联位置上无氢的生物碱的再芳香化，某些情况下，须经 C—C 键的裂解而完成。如 18 中 A 环芳香化后经 19 形成刺桐定(erythridine)型生物碱 20。



2. 亚胺盐次级环合反应　亚胺盐往往是生物碱生物合成中次级环合的有利结构单元。最典型的例子是由 Δ^1-吡咯亚胺盐 21 形成托品类生物碱 22。亚胺盐次级环合反应在生物合成石松碱类等生物碱中颇为重要。

二、C—N 键的裂解

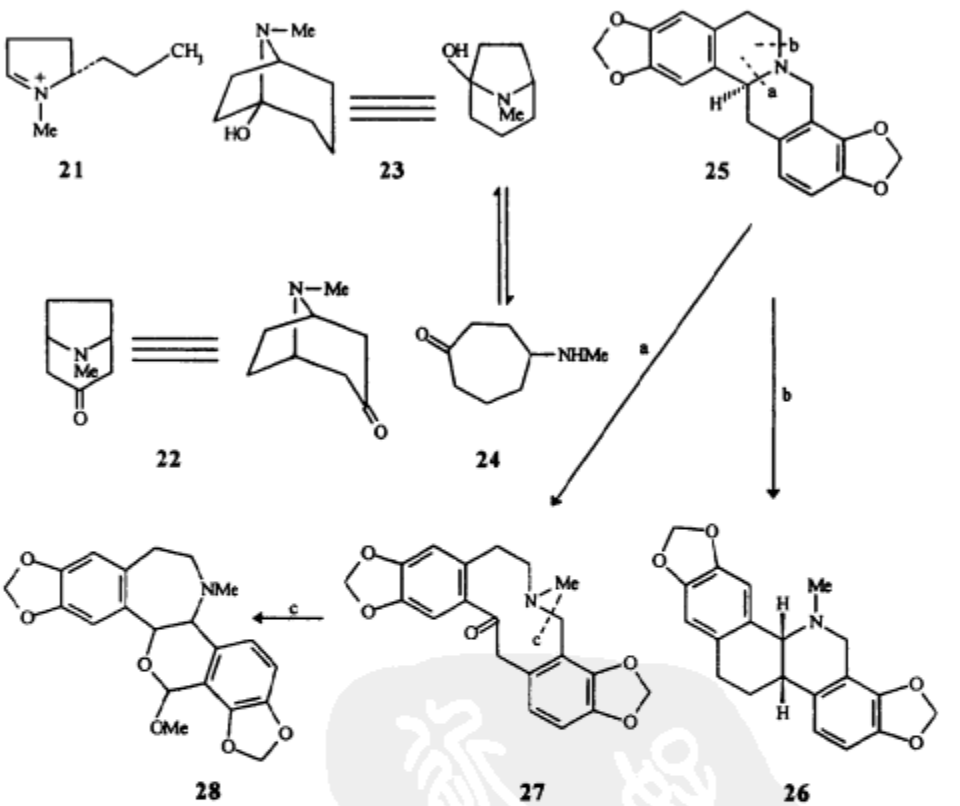
(一) 内酰胺开环

最简单的 C—N 键裂解是内酰胺开环反应。某些情况下，仲胺可通过氧化转化成内酰胺，再进行 C—N 键的裂解。此外，具有 *O*,*N*-混合缩酮结构的化合物如 physoperuvine 23 易开环裂解 C—N 键生成 24，且反应是可逆的。

(二) Hofmann 降解和 von Braun 降解

在生物体内同样可以化学上等价地进行这两种降解反应。兹以原小檗碱类生物碱 S-刺罂粟碱(S-munitagine) 25→白屈菜碱(chelidonine) 26、25→普罗托品(protopine) 27→丽春花定(rhoeadine) 28 为例加以说明。

很显然，a、b 式裂解 C—N 键为 Hofmann 降解，c 式裂解则为 von Braun 降解。而 27→28 则伴随着再环合反应。



此外，在微生物的代谢过程中，可裂解芳香物的苯核(C—C 键裂解)变成脂肪化合物。但在高等植物中，苯核的 C—C 键裂解多伴随着再环合反应。萜类化合物典型特征之一是 C—C 键的裂解。所以，环烯醚萜吲哚生物碱和吐根碱类生物碱中单萜部分因 C—C 键裂解，导致骨架的变化而复杂化。

第三节 生物碱的分类、生源关系及其分布[9,10,11]

生物碱的分类主要有三种方法：①来源分类，如鸦片生物碱、麦角生物碱等；②化学分类，如托品烷生物碱、异喹啉生物碱等；③生源结合化学分类，如来源于鸟氨酸的吡咯生物碱等。分类依据不同，各有利弊。不过，目前似乎以后一种分类方法为主。原因是该法最能反映生物碱的生源和化学本质及其相互关系。生物碱种类繁多，兹就已知生物碱初步分类如图 9-2。再对主要类型的生物碱的化学分类、生源关系及其在植物界的分布作简要讨论。

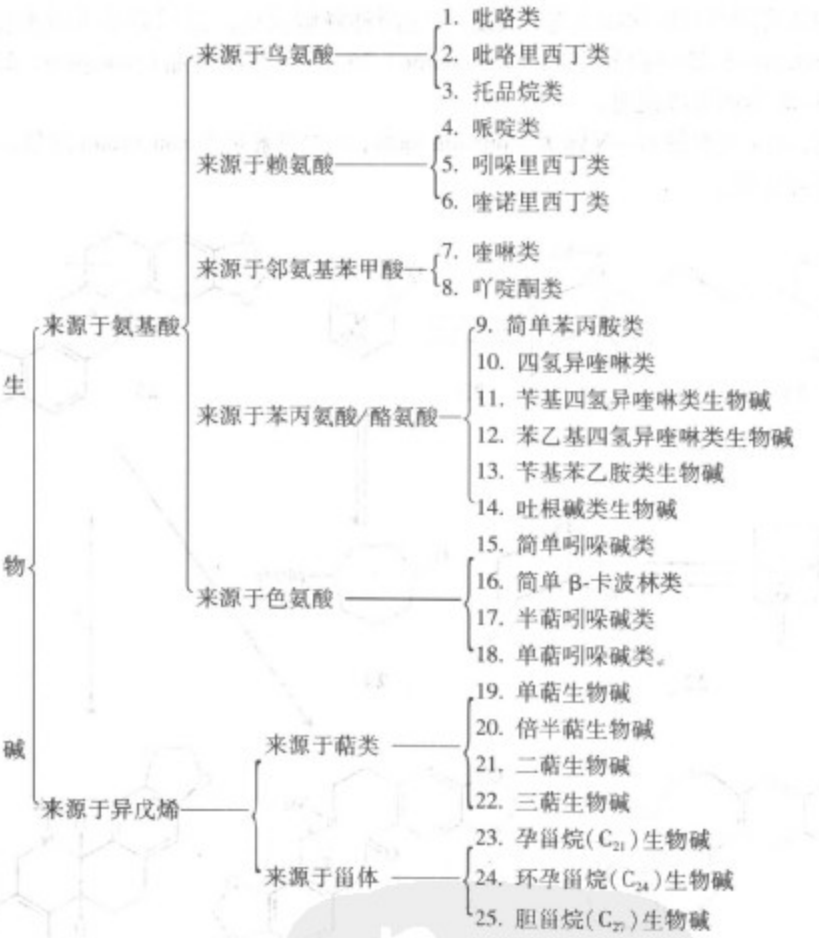


图 9-2 生物碱的分类

一、来源于鸟氨酸的生物碱

本类主要包括吡咯类(A)、托品类(B)和吡咯里西丁类(C)(图9-3)。

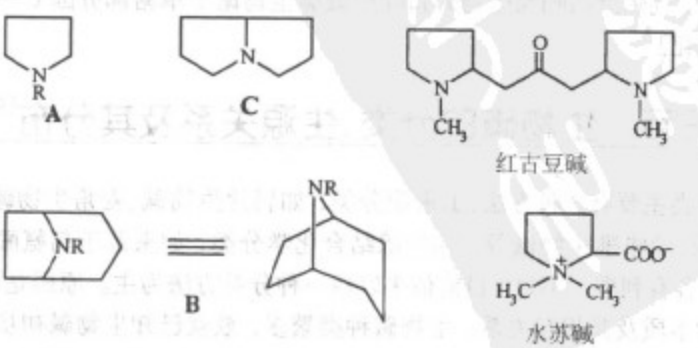


图 9-3 吡咯类生物碱

（一）吡咯类（pyrrolidines）生物碱

这类生物碱结构简单，数目较少。如红古豆碱（cuskohygrine）、水苏碱（stachydrine）等。其生物合成的关键中间体是*N*-甲基吡咯亚胺盐及其衍生物。

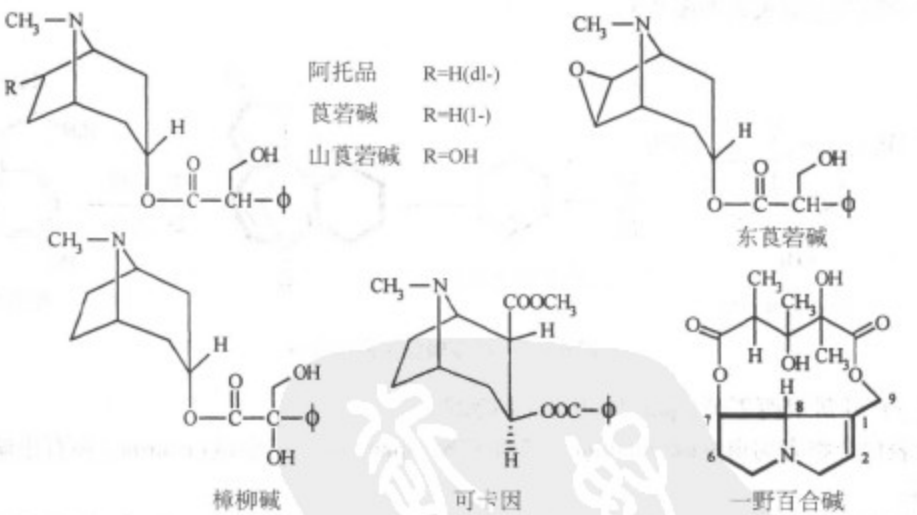
（二）托品烷类（tropanes）生物碱

本类结构由两部分组成：双环-1（R）、5（S）-托品烷环系和有机酸，二者多在3-位结合成酯。重要的化合物有莨菪碱（hyoscyamine）、阿托品（atropine）、山莨菪碱（anisodamine）、东莨菪碱（scopolamine）、樟柳碱（anisodine）和可卡因（cocaine）等。

生源上关键中间体也是*N*-甲基吡咯亚胺盐及其衍生物。主要分布于茄科颠茄属（*Atropa*）、天仙子属（*Hyoscyamus*）、曼陀罗属（*Datura*）、莨菪属（*Scopolia*）等植物中。

（三）吡咯里西丁类（pyrrolizidines）生物碱

结构由胺醇和酸两部分组成。二者多以11或12元双内酯形式结合。少数以单酯存在。代表化合物主要有野百合碱（monocrotaline）等。生源上不同于前二类生物碱，胺醇部分的形成较为复杂。本类生物碱主要分布于菊科千里光属（*Senecio*）植物中。



二、来源于赖氨酸的生物碱

本类包括哌啶类（A）、吲哚里西丁类（B）和喹诺里西丁类（C）（图9-4）。

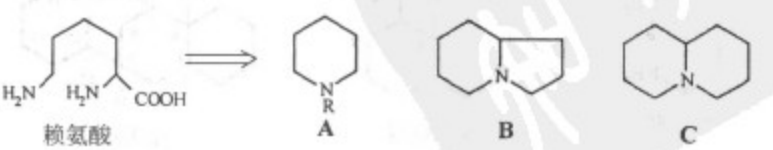
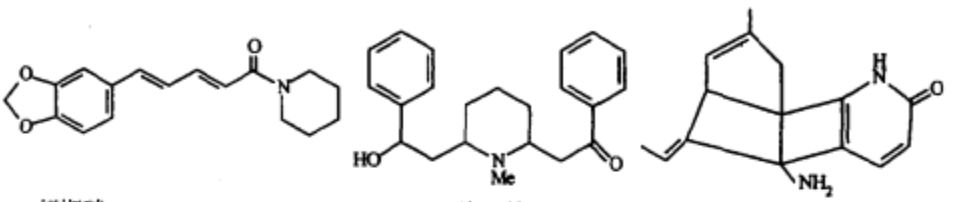


图9-4 来源于赖氨酸的生物碱

（一）哌啶类（piperidines）生物碱

结构简单，生源上最关键的前体物是哌啶亚胺盐类，分布广泛，其代表化合物有胡椒碱、洛贝林（loberine）和石杉碱甲（huperzine A）等。



（二）吲哚里西丁类（indolizidines）生物碱

本类主要有简单吲哚里西丁类（如 dendroprimine）和一叶萩碱类（如一叶萩碱 securinine）等。前者分布较分散，后者则主要分布于大戟科一叶萩属（*Securinega*）植物中。以一叶萩碱为例说明一叶萩碱类生源关系如图 9-5。

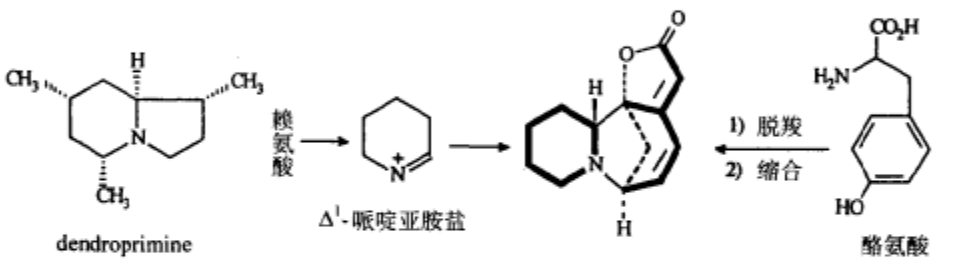
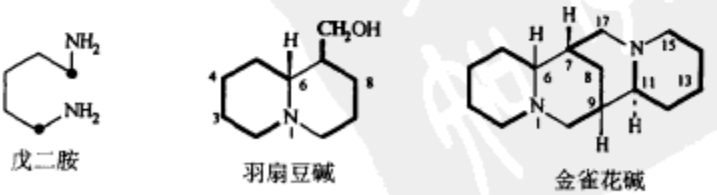


图 9-5 一叶萩碱类生源关系图

（三）喹诺里西丁类（quinolizidines）生物碱

代表化合物有羽扇豆碱（lupinine）、金雀花碱（sparteine）、苦参碱（matrine）和石松碱（lycopodine）等。

生源关系[12,13] ①由赖氨酸衍生的戊二胺（cadverine）（C_5N 单元）为最关键的前体物。分别由 2 和 3 分子的戊二胺缩合形成羽扇豆碱和金雀花碱以及苦参碱类生物碱。②赖氨酸衍生物石榴碱（pelletierine）（C_8N 单元），可能是几乎所有石松碱类生物碱的关键前体物（图 9-6）。



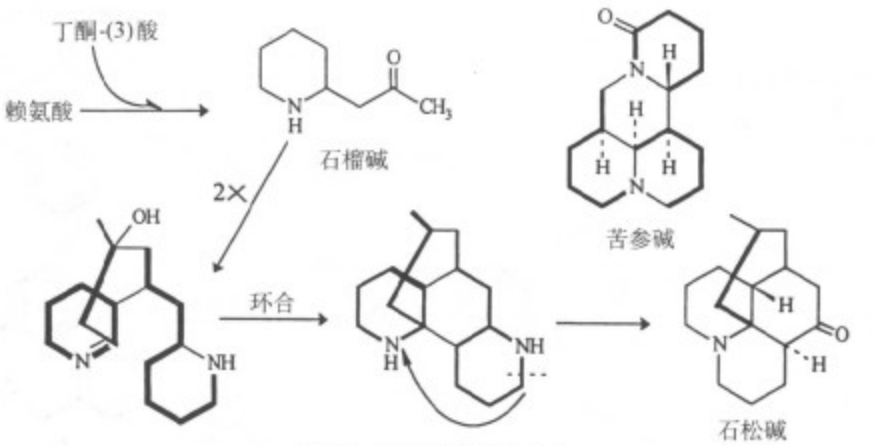


图 9-6 石松碱的生源合成

羽扁豆碱类、金雀花碱类和苦参碱类主要分布于豆科植物中，石松碱类仅分于石松科石松属(*Lycopodium*)植物中。

三、来源于邻氨基苯甲酸的生物碱

本类主要包括喹啉类(如 29 等)和吖啶酮类(如冉特可林酮等)生物碱。主要分布于芸香科植物中。生源上均由邻氨基苯甲酸衍生而成(图 9-7)。

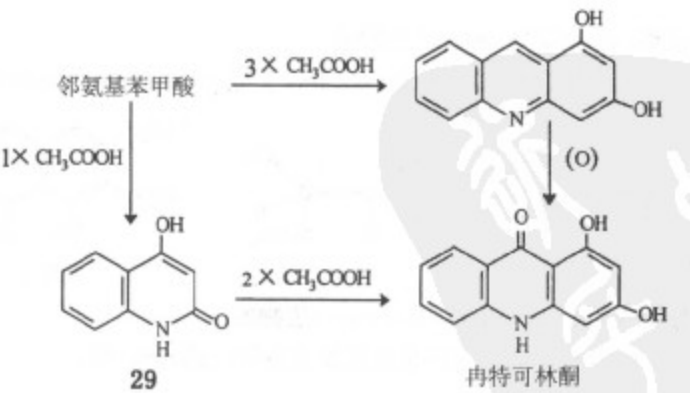


图 9-7 冉特可林酮的生源合成

四、来源于苯丙氨酸和酪氨酸的生物碱[14,15]

本类生物碱数量多(约 1000 多种)、分布广、药用价值大、结构类型复杂。根据生源上关键前体物的骨架类型初步分为六类：苯丙胺类(A)、四氢异喹啉类(B)、苄基四氢异喹啉类(C)、苯乙基四氢异喹啉类(D)、苄基苯乙胺类(E)和吐根碱类(F)(图 9-8)。

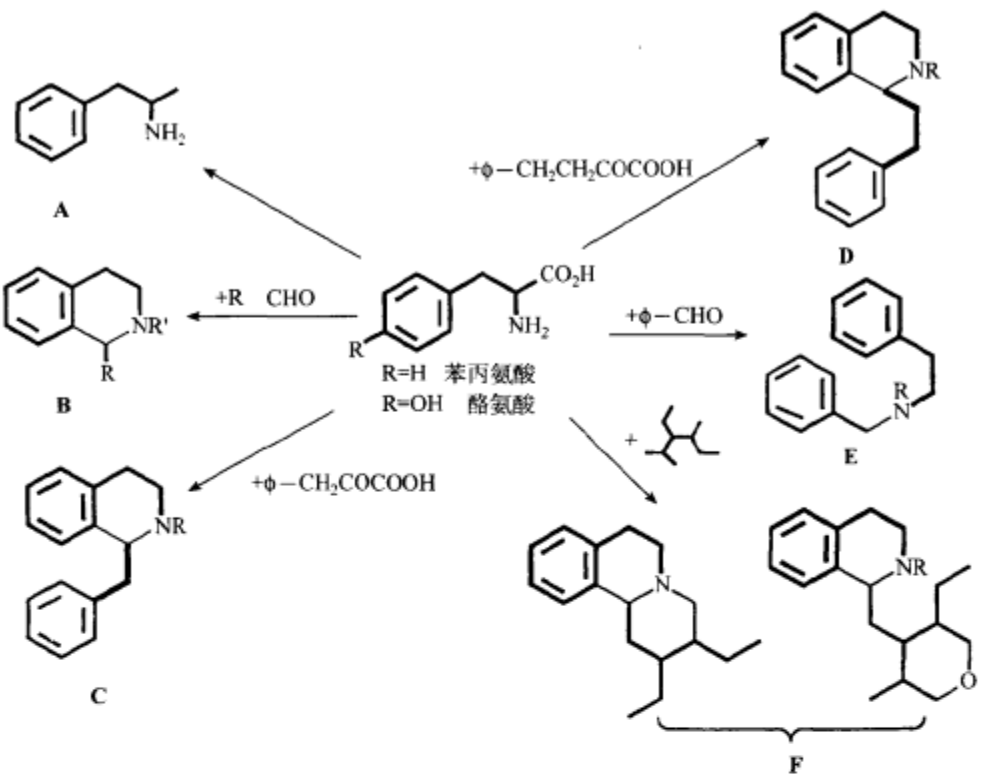
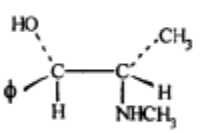


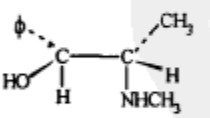
图 9-8 由苯丙氨酸与酪氨酸转化而成的生物碱

（一）苯丙胺类（phenylalkylamines）生物碱

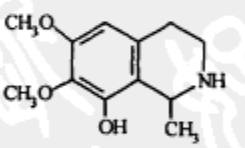
本类较少，其代表性化合物如麻黄碱（ephedrine）、伪麻黄碱（pseudoephedrine）等。



麻黄碱



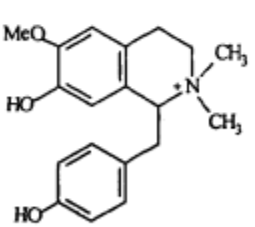
伪麻黄碱



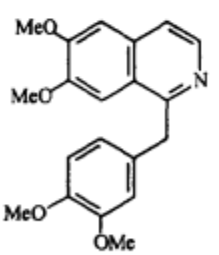
哌劳亭

（二）四氢异喹啉类（tetrahydroisoquinolines）生物碱

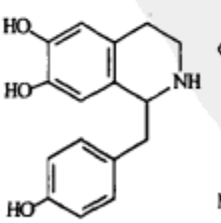
本类生物碱很少，分布分散。具体化合物如哌劳亭（pellotine）等。



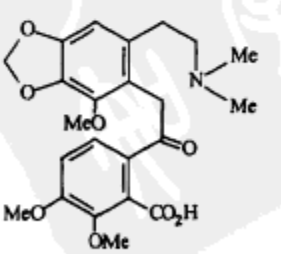
厚朴碱



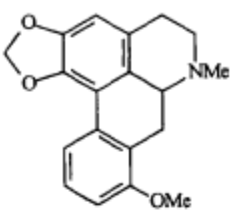
罂粟碱



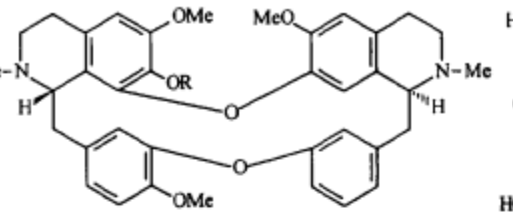
去甲乌药碱



那碎因

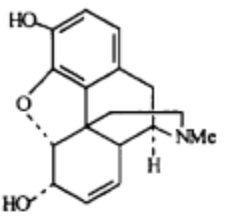


千金藤碱

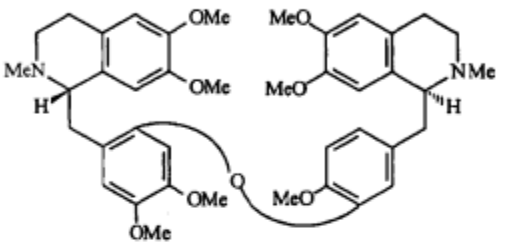


汉防己甲素 R=CH_3

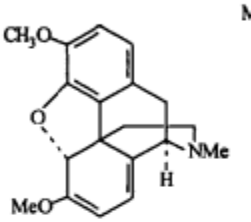
防己诺林 R=H



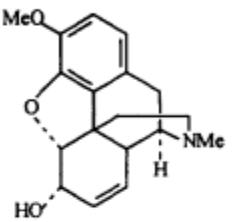
吗啡碱



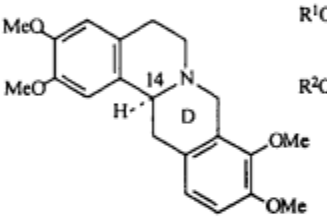
厚果唐松草碱



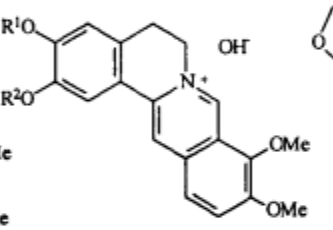
蒂巴因



可待因



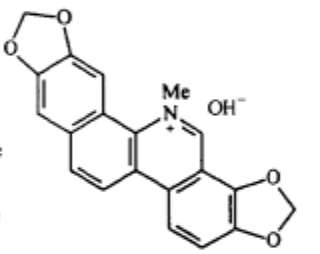
四氢巴马亭



小檗碱 R^1=R^2=$-CH_2-$

1-巴马亭 R^1=R^2=Me

药根碱 R^1=Me R^2=H



血根碱

（三）苄基四氢异喹啉类（benzyltetrahydroisoquinolines）*生物碱*

这是一类很重要的生物碱，数量多、结构类型复杂，但其生源关系十分明确。

1. 化学分类　本类生物碱按骨架分为15类，其中主要有7类：

（1）苄基四氢异喹啉类：重要的化合物如厚朴碱（magnocurarine）、罂粟碱（papaverine）、那碎因、*dl*-去甲乌药碱（*dl*-demethylcoclaurine）等。

（2）阿朴菲类（aporphines）生物碱：如千金藤碱（stephanine）等。

（3）双苄基四氢异喹啉类（bisbenzyltetrahydroisoquinolines）：由相同或不同的分子经酚氧化偶联产生醚氧键而成二聚体或多聚体生物碱。如粉防己碱（tetrandrine）、防己诺林（fangchinoline）和厚果唐松草碱（thalicarpine）等。

（4）吗啡烷类（morphanes）生物碱：本类代表化合物如吗啡碱、蒂巴因（thebaine）、可待因（codeine）等。

（5）原小檗碱和小檗碱类（protoberberines & berberines）生物碱：二者区别在于D环氢化程度不同。原小檗碱类如1-四氢巴马亭（颅痛定）（1-tetrahydropalmatine）等，小檗碱类如小檗碱

(berberine)、巴马亭(palmatine)、药根碱(jatrorrhizine)等。

(6) 普罗托品类(protopines)生物碱:与原小檗碱和小檗碱类区别的是 C—N 键裂解成三环体系,且多具14-酮基。如普罗托品 27 等。

(7) 苯菲啶类(benzophenanthridines)生物碱:代表性化合物如白屈菜碱 26 和血根碱(sauguinarine)等。

2. 生源关系 ①苄基四氢异喹啉类(如网状番荔枝碱 10 等)是最重要的生源前体物;②如第二节所述,苄基四氢异喹啉类(A),经次级环合、C—N 键和 C—C 键裂解等反应,可直接形成其它类型生物碱;③原绿刺桐碱类是一个生源分支点。由它再形成阿朴菲类;④另一个关键的生源分支点是原小檗碱类,由它再形成其它类型生物碱(图 9-9)。

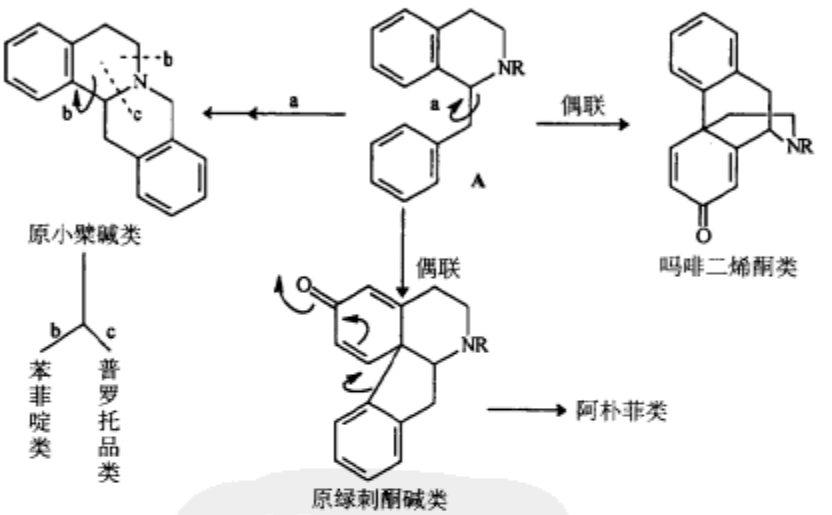


图 9-9 苄基四氢异喹啉类生物碱

3. 分布 主要分布于木兰科、防己科、大戟科、樟科、马钱科、番荔枝科、马兜铃科、小檗科、罂粟科、毛茛科、芸香科等植物中。

(四) 苯乙基四氢异喹啉类(phenethyltetrahydroisoquinolines)生物碱

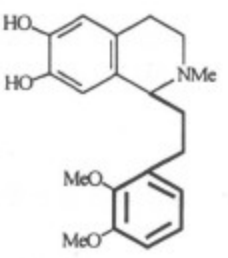
代表化合物如奥特那明(autunamine)、秋水仙碱(colchicine)、秋裂碱胺(colchicinamine)、三尖杉酯碱(harringtonine)、高三尖杉酯碱(homoharringtonine)等。粗榧碱类生物碱的生源关系复杂。主要分布于百合科、罂粟科和三尖杉科 *Cephalotaxus* 属植物中。

(五) 苄基苯乙胺类(benzylphenethylamines)生物碱

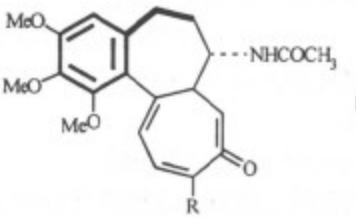
本类重要的化合物有如加兰他敏(galanthamine)、石蒜碱(lycorine)等,本类生物碱几乎全分布于石蒜科石蒜属(*Lycoris*)、水仙属(*Narcissus*)以及 *Haemanthus* 属植物中。

(六) 吐根碱类(emetines)生物碱

化学结构由来源于多巴胺衍生物(1 或 2 分子)或色胺与裂环番木鳖苷(secologanin)两部分或三部分组成。代表化合物如 1-吐根碱(1-emetine)等。本类生物碱主要分布于茜草科和八角枫科植物中。

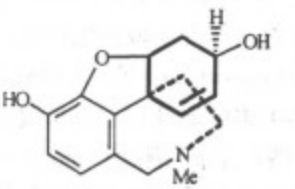


奥特那明

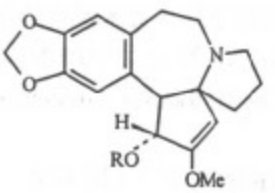


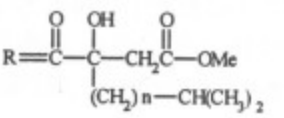
秋水仙碱 R=OMe

秋裂碱胺 $R=NH_2$



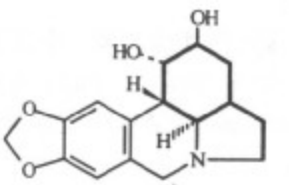
加兰他敏



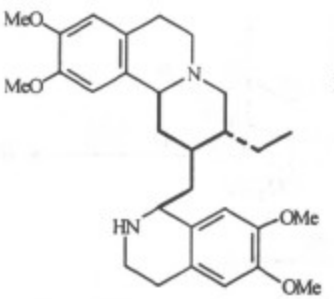


三尖杉酯碱 (n=2)

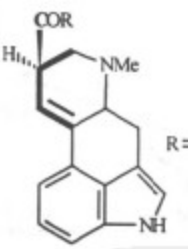
高三尖杉酯碱 (n=3)

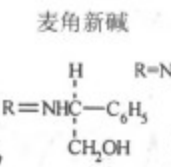


石蒜碱

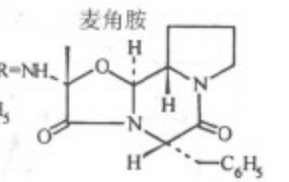


1-吐根碱





麦角新碱



麦角胺

五、来源于色氨酸的生物碱[16]

本类生物碱又称吲哚类(indoles)生物碱，是最大最复杂的一类生物碱。约占已知生物碱的1/4。关于此类生物碱的结构、化学反应、立体化学、合成、许多重要药用化合物的研究等等，极大地吸引着众多的有机化学家和药物化学家。根据生源，将其初步分成四大类：简单吲哚类、β-卡波林碱类、半萜吲哚碱类和单萜吲哚碱类。值得指出的是，此类生物碱生物合成的研究已相当充分。而其生源关系的讨论，对学习掌握此类化合物的分类有关键作用。

(一) 简单吲哚碱类 (simple indoles)***生物碱***

结构中除吲哚核外，别无杂环(如色胺 tryptamine 等)。分布十分广泛(25科植物)，主要是禾木科和豆科植物中。

(二) 简单β-卡波林碱类 (simple β-carbolines)***生物碱***

代表化合物如哈满尼(harmanine)等。分布颇分散(26科63属植物中)。

（三）半萜吲哚类（semiterpenoid indoles）生物碱

本类又称麦角碱类生物碱，分子中含一个四环的麦角碱核体系，如麦角新碱（*ergometrine*）、麦角胺（ergotamine）等，麦角碱核生源上由 MVA 酸（半萜部分）与色氨酸及其衍生物一级环合而成。本类集中地分布于麦角菌类。

（四）单萜吲哚类（monoterpenoid indoles）生物碱

本类是最重要的来源于色氨酸的生物碱，已知碱逾 1100 多个。分子中具有一个吲哚核和一个 C_9 或 C_{10} 的裂环番木鳖萜及其衍生物的结构单元。

根据生源并结合化学结构分成三类：单萜吲哚类碱、双分子吲哚类碱、与单萜吲哚类碱相关的生物碱。

1. 单萜吲哚类生物碱　生源上此类生物碱分子中单萜部分来源于裂环番木鳖萜类（a）及其重排衍生物（b）和（c）。（a）、（b）、（c）再与色胺缩合分别形成柯南因-士的宁碱类（corynantheine-strychnines）（A）、白坚木碱类（aspidospermines）（B）和依波加明碱类（ibogamines）（C）（图 9-10）。

值得注意，通常按生源关系对单萜吲哚类生物碱进行骨架结构的编号[17]（图 9-10）。

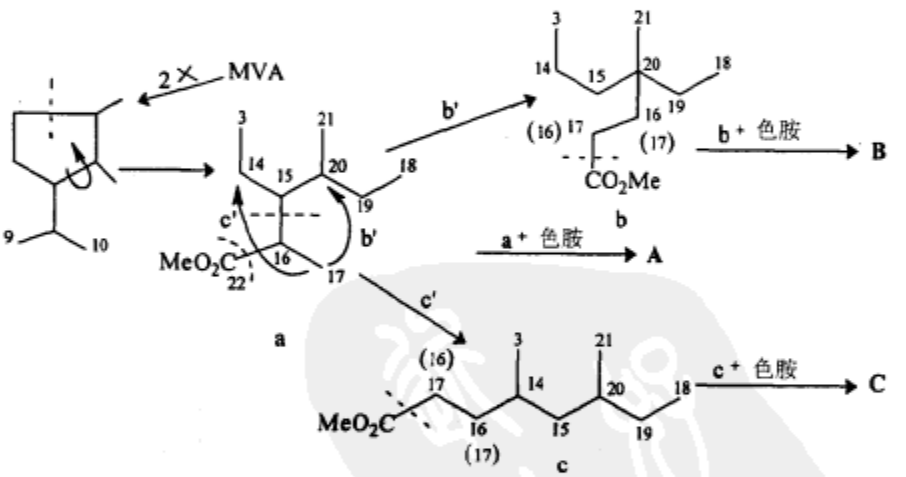


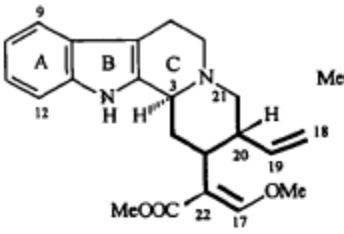
图 9-10　单萜吲哚类生物碱

（1）柯南因-士的宁碱类[18]：本类代表性的化合物如柯南因（corynantheine）、利血平（reserpine）、士的宁（strychnine）等。

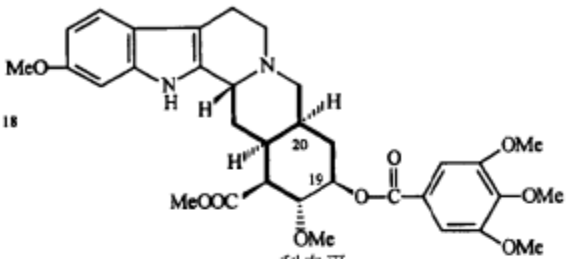
（2）白坚木碱类：是最大的一类吲哚生物碱。其重要的药用化合物如长春胺（vincamine）等。

（3）依波加明碱类：这是一类结构复杂的生物碱。代表化合物如依波加明（ibogamine）等。

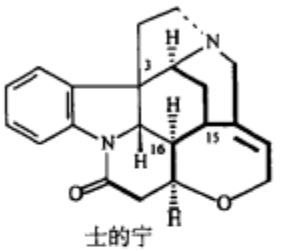
2. 双吲哚类生物碱（bisindole alkaloids）　本类由不同单萜吲哚类生物碱经分子间缩合而成。典型例子是从长春花分得的抗癌药长春碱（vinblastine，VLB）、长春新碱（vincristine，VCR）等。



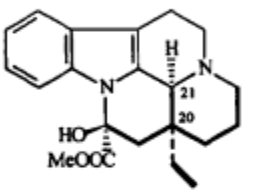
柯南因



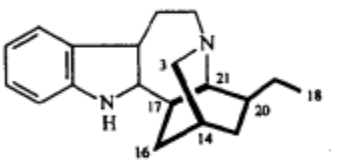
利血平



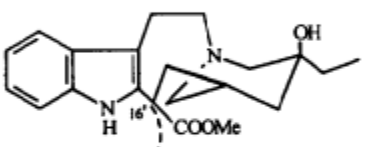
士的宁

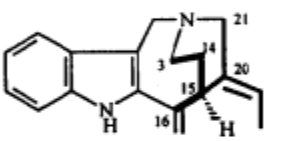


长春胺

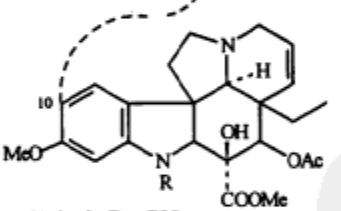


依波加明



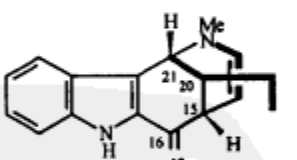


阿巴利生



长春碱 R=CH_3

长春新碱 R=CHO



乌勒因

3. 与单萜吲哚类碱有关的生物碱　生源上与单萜吲哚类碱有关的生物碱有阿巴利生类、乌勒因类、喜树碱类以及金鸡宁碱类。

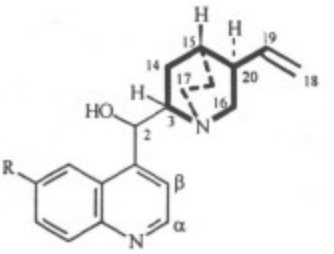
（1）阿巴利生类（apparicines）和乌勒因类（uleines）生物碱：分子中单萜部分与柯南因-士的宁类相同，但色胺部分少 1 或 2 个碳原子。代表化合物如阿巴利生（apparicine）、乌勒因（uleine）等。此类生物碱主要分布于夹竹桃科白坚木属（*Aspidosperma*）植物中。

（2）喜树碱类（camptothecines）生物碱：分子中单萜部分与柯南因-士的宁类相同，但吲哚核中 C_2-C_7 键裂解成 B-高-C-去甲（B-homo-C-nor）体系。代表化合物如从喜树（*Camptotheca acumina*）种子中分得的喜树碱（camptothecine）、羟基喜树碱（10-hydroxycamptothecine）等。

（3）金鸡宁类（cinchonines）生物碱：生源上来源于柯南因-士的宁类碱，唯色胺部分成喹啉核结构。如金鸡宁（cinchonine）、奎宁碱（quinine）、奎尼丁（quinidine）等。分布于茜草科 *Cinchona* 和 *Remijia* 两属植物中。

喜树碱 R=H

羟基喜数碱 R=OH



金鸡宁 R=H (3R, 2S)

奎宁碱 R=OMe (3S, 2R)

奎尼丁 R=OMe (3R, 2S)

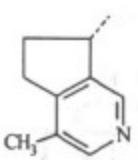
六、来源于萜类的生物碱

（一）单萜类生物碱（monoterpenoid alkaloids）

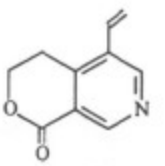
本类主要包括由环烯醚萜衍生的生物碱。不同于前面所述的是无氨基酸参与生物合成。代表化合物如猕猴桃碱（actinidine）、秦艽碱甲（gentianine）等。主要分布于龙胆科植物，且常与单萜吲哚碱类生物碱共存。

（二）倍半萜类生物碱（sesqueterpenoid alkaloids）

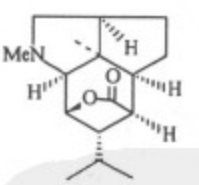
代表化合物有如石斛碱（dendrobine）、萍蓬定（nupharidine）等。主要分布于石斛科石斛属（*Dendrobium*）和睡莲科萍蓬草属（*Nuphar*）植物中。



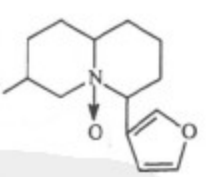
猕猴桃碱



秦艽碱甲



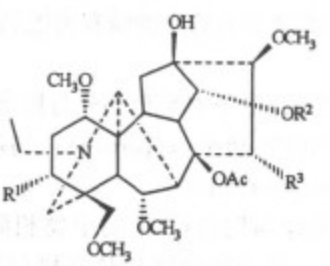
石斛碱



萍蓬定

（三）二萜生物碱（diterpenoid alkaloids）

是四环二萜（反考烷 ent-kaunanes）或五环二萜（乌头烷 aconanes）分子中具有-β-氨基乙醇、

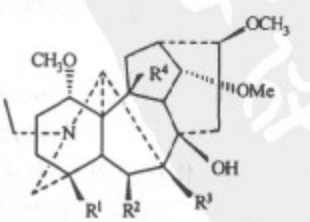


乌头碱 R^1=R^3=OH R^2=Bz

3-乙酰乌头碱 R^1=OAc R^2=Bz R^3=OH

粗茎乌碱甲 R^1=R^3=H

R^2=OCC_6H_4-OMe(*p*)

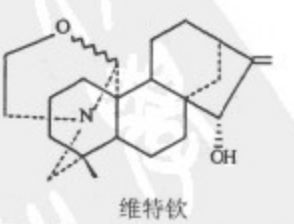


高乌碱 R^2=R^3=H R^4=OH

R^1=$OOCC_6H_4NHCOCH_3$(*o*)

牛扁碱 R^4=H R^2=OMe

R^1=CH_2OH R^3=OH



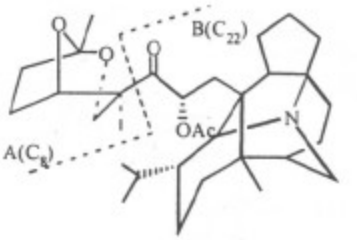
维特钦

甲胺或乙胺的杂环化合物。

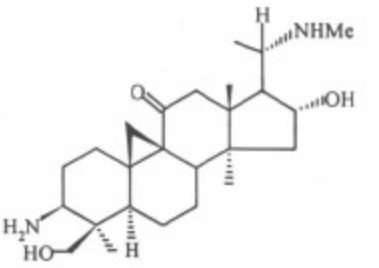
分为两类：去甲二萜碱（C_{19}）[19]和二萜碱（C_{20}）。代表性化合物如乌头碱（aconitine）、3-乙酰乌头碱（3-acetylaconitine）、粗茎乌碱甲（crassicauline A）、高乌碱甲（lappaconitine A）、牛扁碱（lycoctonine）、阿替生（atisine）、维特钦（veatchine）、关附甲素（guan-fu base A）等。主要分布于毛茛科乌头属（*Aconitum*）和翠雀属（*Delphinium*）植物中。

（四）三萜生物碱（triterpenoid alkaloids）[20]

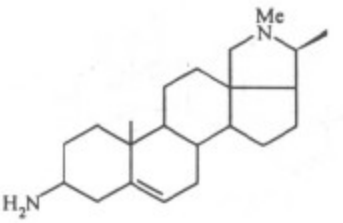
本类主要包括分自交让木科（*Daphniphyllaceae*）交让木属（*Daphniphyllum*）植物中生物碱。有人曾归为二萜碱，但从生源及其骨架看，划归三萜生物碱较宜。分子中包含两个结构单元：C_6 缩醛或内酯部分（A）和 C_{22} 的胺部分（B）。代表化合物如交让木碱（daphniphylline）等。



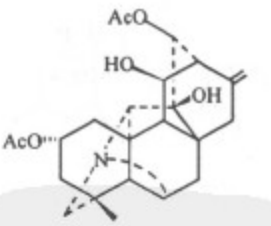
交让木碱



环氧黄杨木己碱



康斯生



关附甲素

七、来源于甾体的生物碱

本类被认为是天然甾体的含氮的简单衍生物，又与萜类生物碱统称为伪生物碱。根据甾核的骨架分为三类：①孕甾烷（C_{21}）生物碱；②环孕甾烷（C_{24}）生物碱；③胆甾烷（C_{27}）生物碱。此再细分为胆甾烷碱类与异胆甾烷碱类。

（一）孕甾烷（C_{21}）生物碱（pregnane alkaloids）

代表化合物有康斯生（conssine）等。本类主要分布于夹竹桃科植物中，少数则在黄杨木科植物中。

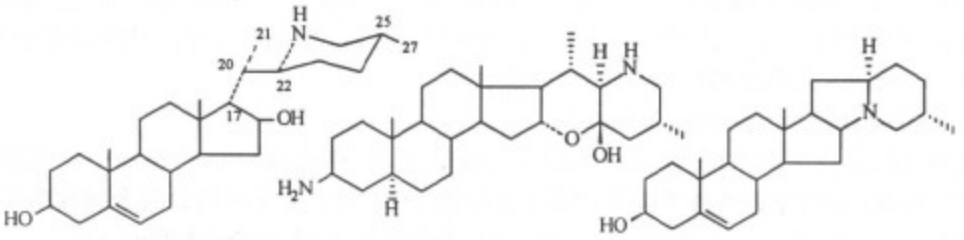
（二）环孕甾烷（C_{24}）生物碱（cyclopregnane alkaloids）

代表化合物有环氧黄杨木己素（cycloxobuxidine-F）等。本类仅分布于黄杨木科植物中。

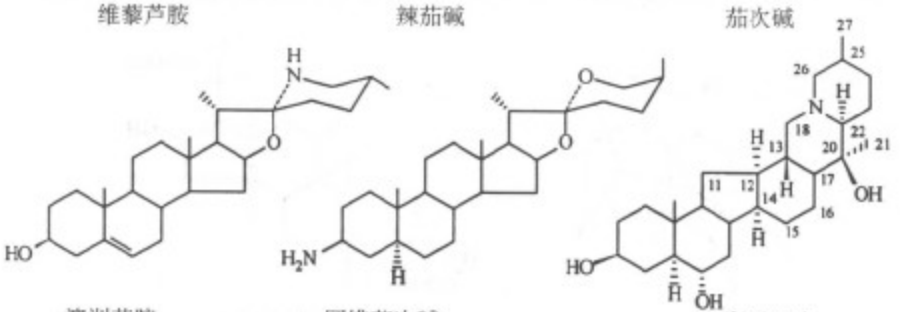
（三）胆甾烷（C_{27}）生物碱（cholestane alkaloids）

1. 胆甾烷碱类　代表化合物有维藜芦胺（veralkamine）、辣茄碱（solanocarpsine）、澳洲茄胺（solasodine）、茄次碱（solanidine）、园维茄次碱（jurabidine）等。

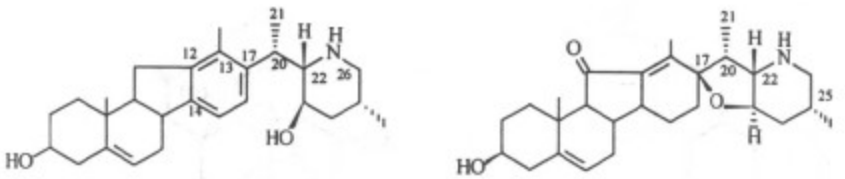
2. 异胆甾烷碱类　代表化合物有藜芦胺(veratramine)、介藜芦碱(jervine)、浙贝甲素(verticine)等。



维藜芦胺　　辣茄碱　　茄次碱



澳洲茄胺　　园维茄次碱　　浙贝甲素



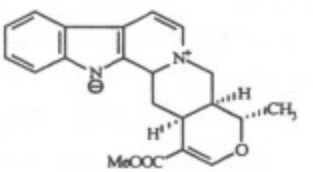
藜芦胺　　介藜芦碱

第四节　生物碱的理化性质

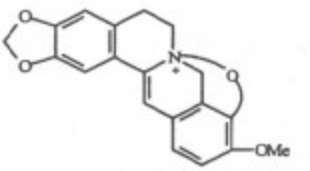
一、性　状

绝大多数生物碱由C、H、O、N元素组成。极少数分子尚含有Cl、S等元素。多数生物碱呈结晶形固体，有些为非晶形粉末，而少数是液体，如烟碱、毒芹碱等。除个别生物碱如槟榔碱等外，液体生物碱(分子中多无氧原子)以及某些生物碱如麻黄碱等，常压下可随水蒸气蒸馏而逸出。生物碱多具苦味，有些味极苦如盐酸小檗碱。有些刺激唇舌有焦灼感。固体生物碱多具确定的熔点，极个别有双熔点如防己诺林等。少数有升华性，如咖啡因等。

绝大多数生物碱呈无色状态，仅少数具有高度共轭体系结构的生物碱显种种颜色。如小檗碱(黄色)、蛇根碱(serpentine)(黄色)、小檗红碱(berberubine)(红色)等。



蛇根碱



小檗红碱

二、旋光性

凡是具有手性碳原子或本身为手性分子的生物碱，则有旋光性质。反之，如小檗碱、罂粟碱等则无这种性质。某些情况下，生物碱的旋光性易受 pH、溶剂等因素影响。如中性条件下，烟碱、北美黄连碱(hydrastine)呈左旋光性，但酸性条件下，则变为右旋光性。麻黄碱在氯仿中呈左旋光性，但在水中，则变为右旋光性。有时，游离碱与其相应盐类的旋光性质并不一致。如氯仿中吐根碱呈左旋光性，但其盐酸盐则呈右旋光性。生物碱的生理活性与其旋光性密切相关。一般地，左旋体呈显著的生理活性，而右旋体则无或很弱。如 1-莨菪碱的散瞳作用大于 d-莨菪碱的 100 倍。去甲乌药碱仅 1-体具有强心作用。与此相反，少数生物碱如 d-古柯碱的局部麻醉作用则大于 l-古柯碱。

三、溶解度

生物碱及其盐类的溶解度与其分子中 N 原子的存在形式、极性基团的有无、数目以及溶剂等密切有关。绝大多数仲胺和叔胺生物碱具有亲脂性，溶于有机溶剂如甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、苯和卤代烷类(如 CH_2Cl_2、$CHCl_3$、CCl_4)等，不溶于碱水中。但有不少例外，如伪石蒜碱不溶于有机溶剂，而溶于水。喜树碱仅溶于酸性 $CHCl_3$ 中。含酚羟基的吗啡碱难溶于一般有机溶剂中。小分子的麻黄碱同时溶于有机溶剂和水中。水溶性生物碱主要包括季铵碱类和某些含 *N*-氧化物的生物碱。前者如小檗碱、益母草碱甲等，后者如氧化苦参碱等，二者均易溶于水。某些分子中含有酸性基团如含羧基的生物碱，由于本身形成内盐而易溶于水，如那碎因等。另外，液体生物碱如烟碱等也易溶于水。苷类生物碱多数水溶性较大。某些生物碱分子中具有酸性基团(如酚、羧基等)，如含酚基的药根碱易溶于稀碱水中。另外，某些含内酯的生物碱，如喜树碱、毛果芸香碱等，遇碱水内酯环开裂成盐而溶解，加酸复又还原。但是，不具有上述酸性基团的多花水仙碱(tazettine)不溶于有机溶剂，而溶于氢氧化钠溶液中。生物碱盐类一般多易溶于水。但仍有不少例外，如高石蒜碱(homolycorine)的盐酸盐不溶于水，而溶于氯仿。又如盐酸小檗碱难溶于水等。分子中含有二个氮原子的奎宁碱与硫酸可成酸性盐(一元盐基)和中性盐(二元盐基)。前者溶于水(1:9)，难溶于氯仿。而后者难溶于水(1:810)，溶于氯仿，且任意溶于氯仿-无水乙醇(2:1)溶剂中。同一生物碱与不同酸所成的盐类溶解度不同。一般地，无机酸盐的水溶性大于有机酸的盐类。

四、生物碱的检识

在生物碱的预试、提取分离和结构鉴定中，常常需要一种简便的检识方法。最常用的是生

物碱的沉淀反应与显色反应。沉淀反应是利用大多数生物碱在酸性条件下，与某些沉淀剂反应生成弱酸不溶性复盐或络合物沉淀。生物碱的沉淀剂种类较多，其中最常用的有碘化铋钾试剂（Dragendorff's reagent）、改良的碘化铋钾试剂、碘-碘化钾试剂（Wagner's reagent）、碘化汞钾试剂（Mayer's reagent）和硅钨酸试剂（Bertrad's reagent）等。对大多数生物碱来说，最常用的显色剂是改良的碘化铋钾试剂，主要用于薄层色谱中。此外，在生物碱的检识中应注意假阳性结果的排除。

五、生物碱的化学性质和反应

在生物碱的化学研究中，发现了许多化学性质与反应。这在生物碱如吗啡碱、士的宁、乌头碱等的经典结构测定中，曾发挥了重要的作用。现在，结构阐明的工作虽已基本被光谱法代替。但是，在生物碱的结构修饰、化学转化、合成等研究中仍有重要意义。生物碱的化学性质和反应十分丰富，本节仅选择与氮原子有关的重要而共同的化学性质碱性和成盐，加以讨论。

（一）碱性[21,22]

1. 碱性的产生及其强度表示　生物碱都具有碱性。因为其分子中氮原子上的孤电子对能接受质子而显碱性。酸碱强度的测定，多在水（作为酸）中进行。其强度的定量尺度是分别用酸式离解指数 p*K*a 和碱式离解指数 p*K*b 表示。p*K*b 值越小，酸性越大；相反，p*K*a 值越大，碱性越强。为统一强度标准，碱性强度也用 p*K*a 值表示。

$$pKa = pKw - pKb = 14 - pKb$$

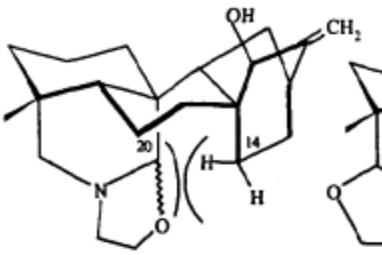
碱性强度与 p*K*a 值关系：p*K*a <2（极弱碱）、p*K*a 2～7（弱碱）、p*K*a 7～12（中强碱）、p*K*a >12（强碱）。碱性基团的 p*K*a 值大小顺序一般是：胍基[—NH(C=NH)NH_2] > 季铵碱 > 脂肪胺基 > 芳杂环（吡啶）> 酰胺基。

2. 碱性与分子结构的关系　生物碱的碱性强弱与氮原子的杂化度、诱导效应、诱导-场效应、共轭效应、空间效应以及分子内氢键形成等有关。

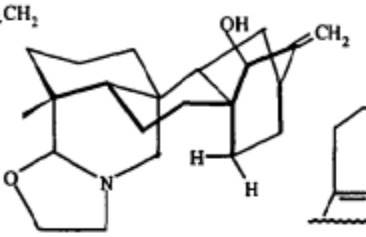
（1）氮原子的杂化度：生物碱分子中氮原子孤电子对处于杂化轨道中，其碱性强度随杂化度升高而增强，即 $sp^3 > sp^2 > sp$。如氰基（sp）呈中性，吡啶（p*K*a5.17）和异喹啉（sp^2）（p*K*a 5.4）碱性较弱，2-甲基-甲基吡咯（sp^3）（p*K*a 10.26）碱性较强。异喹啉（sp^2）氢化成四氢异喹啉（sp^3）（p*K*a 9.5）后，碱性增强。季胺碱如小檗碱因羟基以负离子形式存在而显强碱性（p*K*a 11.5）。

（2）诱导效应：生物碱分子中氮原子上电荷密度受到分子中供电基（如烷基等）和吸电基（如芳环、酰基、醚氧、双键、羟基等）诱导效应的影响。供电基使电荷密度增多，碱性变强；吸电基则降低电荷密度，碱性减弱。如碱性强弱次序是：二甲胺（p*K*a 10.70）> 甲胺（p*K*a 10.64）> 氨（p*K*a 9.75）。显然，甲基的供电性使二甲胺碱性稍强些。又如，由于可卡因分子中 CO_2CH_3 基的吸电作用，其碱性（p*K*a 8.31）弱于托哌可卡因（tropococaine，p*K*a 9.88）。同样，石蒜碱分子中双键的吸电性，使其碱性（p*K*a 6.4）弱于二氢石蒜碱（p*K*a 8.4）。以氮杂缩醛形式存在的生物碱的碱性是有趣的。通常这种结构易于质子化而显示强碱性：如阿替生（p*K*a 12.9）等均呈强碱性。但是，由于受 Bredt's 规则限制，若氮杂缩醛体系中氮原子处于稠环"桥头"时，则不能发生上述质子化而呈强碱性。相反，却因 RO（如羟基 R=H）基的吸电性碱性减弱。如阿马林碱性（p*K*a 8.15）较弱。当阿马林乙酰化成二乙酰阿马林时，由于酯酰基的吸电性强于羟基，碱

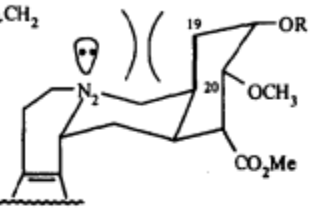
生(isoatisine)，其碱性却不同。前者 pKa 为 12.9，后者为 10.0。原因是阿替生分子中 14-H 与噁唑啉环之间的空间位阻，导致噁唑啉环不稳定，更易质子化开环、碱性增强[23]。



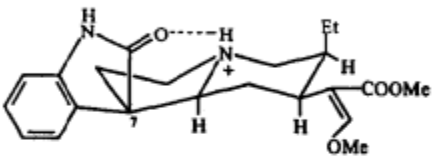
阿替生



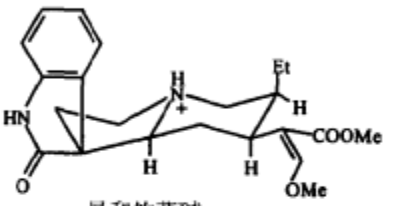
异阿替生



利血平部分结构



和钩藤碱



异和钩藤碱

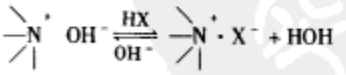
(6) 分子内氢键形成：分子内氢键形成对生物碱碱性强度的影响颇为显著。如和钩藤碱(rhychophylline)盐的质子化氮上氢可与酮基形成分子内氢键，使其更稳定。而异和钩藤碱(isorhychopylline)的盐则无类似氢键的形成，故前者碱性(pKa 6.32)大于后者(pKa 5.20)[24]。

对具体化合物，上述几种影响生物碱碱性强度的因素，必须综合考察。一般来说，空间效应和诱导效应共存时，前者居于主导地位。诱导效应和共轭效应共存时，往往后者的影响为大。此外，除分子结构本身影响生物碱的碱性强度外，外界因素如溶剂、温度等也可影响其碱性强度。

(二) 成盐

绝大多数生物碱可与酸形成盐类。对质子化来说，仲胺、叔胺生物碱成盐时，质子多结合于氮原子上。但是，对以季铵碱、氮杂缩醛、烯胺以及具有涉及氮原子的跨环效应形式存在的生物碱，质子化则往往并非发生在氮原子上。

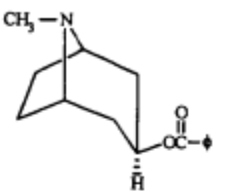
1. 季铵生物碱的成盐　季铵生物碱 A 与酸成盐 B 时，质子与 OH^- 结合成水：



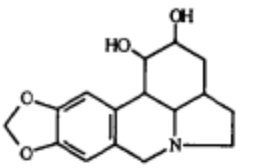
A　　B

通常，盐类 B 遇碱又复成季铵碱 A，但对以亚胺盐(immonium salts)形式如 3，4-二氢异喹啉类、小檗碱类和苯菲啶类等存在的季铵盐，其在酸碱溶液中存在形式比较特殊。曾认为这些生物碱通常以季铵型、醛式和氮杂缩醛三种方式平衡存在。后两者以小檗碱为例，表示如 34(醛式)和 35(氮杂缩醛)。应用物理分析方法研究结果表明[25]，在碱水液中，以氮杂缩醛形式存在。季铵向氮杂缩醛的转化受溶剂极性、化合物结构类型、异喹啉骨架上给电子取代基的位置与数目的影响。在酸性液中，则以季铵盐形式为主。但在酸或碱性液中，均未发现醛式。同样，3，4-二氢异喹啉类和苯菲定类生物碱在碱性介质中也无醛式存在。

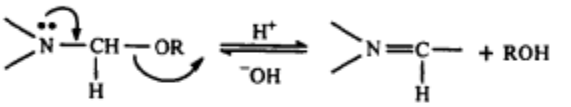
性变得更弱(p*K*a 4.9)。



托哌可卡因



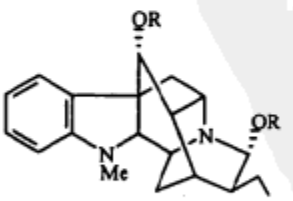
二氢石蒜碱



(3) 诱导-场效应:生物碱分子中如同时含有 2 个氮原子时,即使其处境完全相同,碱度总是有差异的。一旦第一个氮原子质子化后,就产生一个强的吸电基团—$^{+}NHR_2$。此时,它对第二个氮原子产生两种碱性降低的效应:诱导效应和静电场效应。前者通过碳链传递,且随碳链增长而渐降低。后者则是通过空间直接作用的,故又称为直接效应。二者可统称为诱导-场效应。若此时强的吸电基和第二个氮原子在空间上接近时,则直接效应对其碱度的影响就更显著。如吐根碱分子中两个氮原子都在脂杂环体系中,中间相隔 5 个碳原子,空间上相距较远,彼此受诱导-场效应的影响较小,故 Δp*K*a 仅为 0.89。但是,金雀花碱分子中二个氮原子碱度相差悬殊,Δp*K*a 为 8.1。原因是二个氮原子相隔仅 3 个碳原子,且空间上很接近,存在着更显著的诱导-场效应的影响。

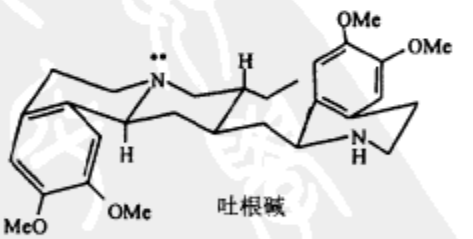
(4)共轭效应:若生物碱分子中氮原子孤电子对成 p-π 共轭体系时,通常情况下,其碱性较弱。生物碱中,常见的 p-π 共轭效应主要有三种类型:苯胺型、烯胺型和酰胺型。

①苯胺型:苯胺氮原子上孤电子对与苯环 π-电子成 p-π 共轭体系,碱性(p*K*a 4.58)比相应的环己胺(p*K*a 10.14)弱得多。毒扁豆碱(physostigmine)分子中两个氮原子 N_1 与 N_2 的碱性相差悬殊,前者 p*K*a 为 7.88,后者仅为 1.76。原因是 N_2 处于 p-π 共轭体系中。

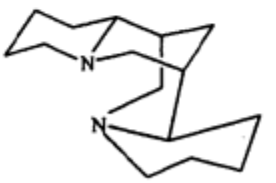


阿马林 R= H

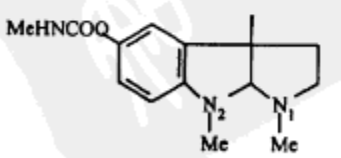
二乙酰阿马林 R= Ac



吐根碱

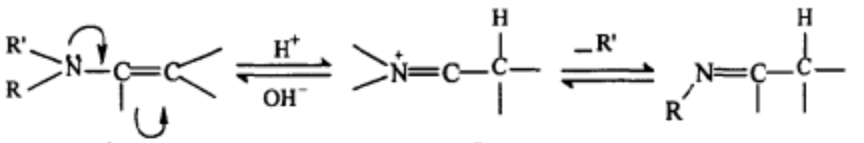


金雀花碱



毒扁豆碱

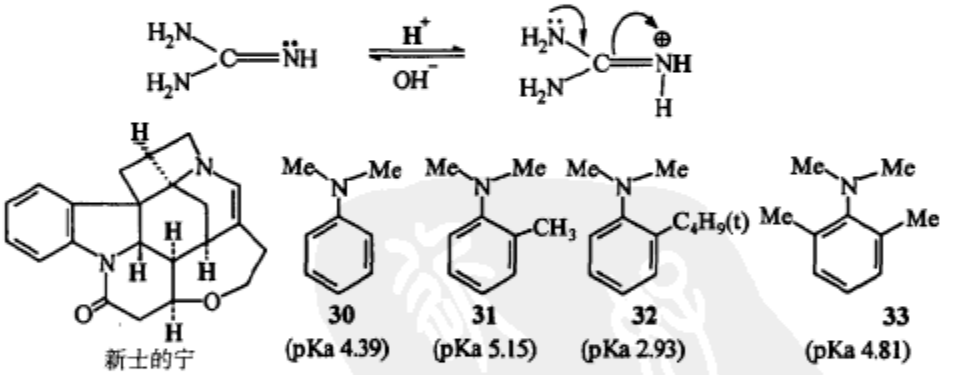
②烯胺(*enamines*)型:通常烯胺化合物存在以下平衡:



A　　B　　C

仲烯胺(R 或 R′ = H)A 的共轭酸 B 极不稳定，平衡向 C 进行，碱性较弱。反之，如叔烯胺(R，R′为烷基)A 的共轭酸 B 比较稳定，平衡易向 B 进行，碱性较强。如 N-甲基-2-甲基二氢吡咯的 p*K*a 为 11.94。可是，吡咯因是多 π-N-芳杂环，氮原子孤电子对参与芳香六 π 电子的组成(p-π 共轭)碱性极弱(p*K*a 0.4)。同理，吲哚碱仅为中性。相反，吡啶因是缺 π-N-芳杂环，未共享电子对与环共面，不参与共轭，故碱性较强(p*K*a 5.25)，可与强酸结合成盐。当氮原子处于稠环的桥头位置时，因受 Bredt's 规则限制，烯胺型体系不易发生如前述那样的质子化，而呈双键的诱导效应影响，碱性反而减弱。如新士的宁(p*K*a 3.8)的碱性弱于士的宁(p*K*a 8.20)。

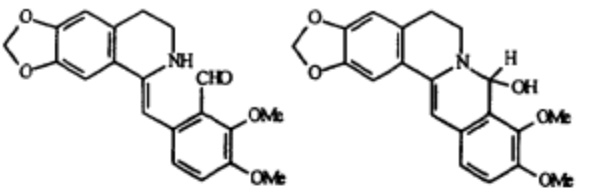
③酰胺型:若氮原子处于酰胺结构中，由于氮上孤电子对与酰胺羰基的 p-π 共轭效应，其碱性很弱。如胡椒碱的 p*K*a 为 1.42，秋水仙碱为 1.84，咖啡因为 1.22。并非所有的 p-π 共轭效应都减低碱性强度。如胍由于接受质子后形成季铵离子，呈更强的 p-π 共轭，体系稳定性增大，而成为最强碱(p*K*a 13.6)。



新士的宁　　30 (pKa 4.39)　　31 (pKa 5.15)　　32 (pKa 2.93)　　33 (pKa 4.81)

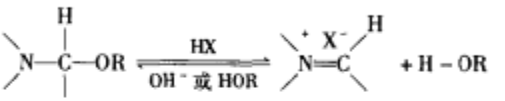
应指出的是，氮孤电子对和共轭体系中 π 电子产生 p-π 共轭的立体条件必须是二者的 p-电子轴共面。否则，这种共轭效应减弱或消失，都将使碱性增强。具体例子如(30～33)所示。显然，31 和 33 由于邻位基团妨碍了 p-π 共轭，碱性较强。但当引入太大的基团于邻位后(如 32)，因受空间位阻影响，碱性反而变弱。

(5) 空间效应:尽管质子的体积较小，但生物碱氮原子质子化时，仍受到空间效应的影响，使其碱性增强或减弱。甲基麻黄碱(p*K*a 9.30)碱性弱于麻黄碱(p*K*a 9.56)，原因是甲基的空间位阻。如前所述，取代苯胺类实际上存在两种效应 p-π 共轭效应和空间效应。前者使其碱性减弱，后者使 31、33 碱性增强，而使 32 碱性降低。环己氮杂体系中，与氮孤电子对处于 1,3-双直立关系的键如利血平(p*K*a 6.07)中 C_{19}-C_{20} 键，则使其碱性减弱。东莨菪碱分子中 N 原子附近的环氧的空间位阻，使其碱性(p*K*a 7.50)弱于莨菪碱(p*K*a 9.65)。前已述及，含氮杂缩醛结构的生物碱因易于质子化开环成亚胺盐(一种季铵盐)，一般碱性较强。但是，同样含噁唑啉环的阿替生和异阿替



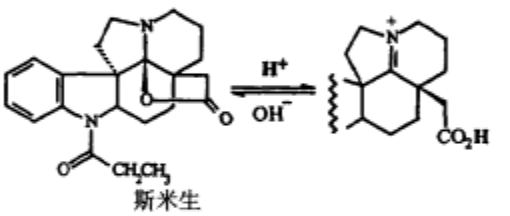
34　　35

2. 含氮杂缩醛生物碱的成盐　这类生物碱 A 与酸作用成亚胺盐 B，质子是与 RO^- 结合成醇或水：



A　　B

具体的例子如阿替生等。从 *Haplophyto cimicidum* 中分得的吲哚类生物碱斯米生(cimicine)与酸成盐时，内酯环开裂，质子与 COO^- 结合(图 9-11)。螺甾碱型的甾体生物碱是一类重要的含氮杂缩醛结构的生物碱。但是，遇酸成盐时，则发生如图 9-12 变化。与上相反，阿马林与酸成盐时，质子化则直接发生在 N_2 上。



斯米生

图 9-11　斯米生在酸碱条件下的转化

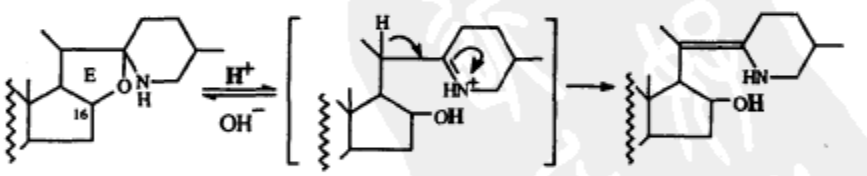


图 9-12

原因是受 Bredt's 规则的限制，处于桥头位置的 N_2 难于形成亚胺盐类。

3. 涉及氮原子跨环效应生物碱的成盐　若生物碱分子中氮孤电子对空间上靠近酮基时，则多产生跨环效应，导致许多理化性质的变化。这类生物碱 A 与酸成盐 B 时，质子化发生在酮基上，且伴随着 C—N 键的形成(图 9-13)。具体例子如普罗托品类和二甲氧基皮拉菲林(dimethoxypicraphylline)等。

图 9-14 示出同时具有氮杂缩醛和跨环效应的二萜生物碱 36 和 39 的两种竞争性成盐过程。溶液中三种化合物 37、38 和 39 平衡存在。溶剂不同，其各自所占比例不同。甲醇中以 37 为主，难于观察到 38 的存在。而在水或 F_3CCOOH 中，则有少量的 38，且游离碱 36 与 39 成 1∶1 比例存在。

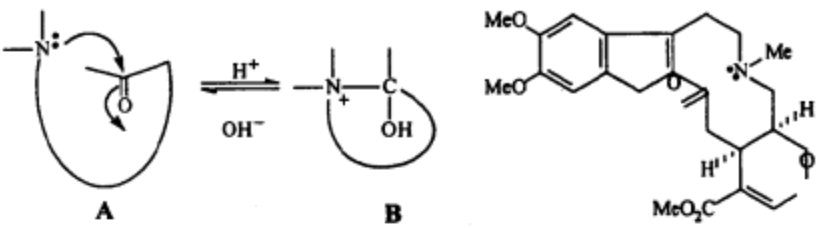


图 9-13

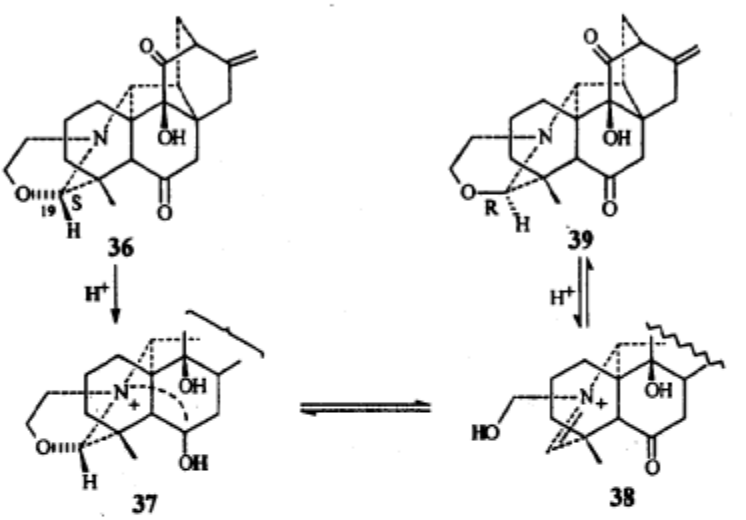
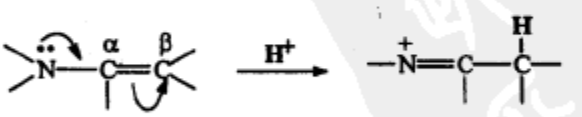


图 9-14

应指出的是具有 19*R*-构型的 39 所成盐的张力太大而不能存在。同时 36→39 须经过 38[26]。

4. 具有烯胺结构生物碱的成盐　此类生物碱质子化多在 β-碳上，而非氮原子。



例如，二氢奥斯冬宁(dihydroalstonine) ⟹40(图 9-15)[27]。吡咯与烯胺不同，因其孤电子

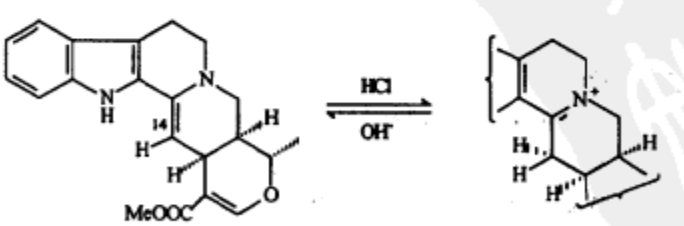


图 9-15

对参与芳香体系，氮原子被极化呈正性而排斥电子，故碱性极弱。但若强行质子化时，质子则加在α-碳上。作为例外，新士的宁虽有烯胺结构，但与酸成盐时，质子却结合于 N_2 上，而非β-碳。原因是其分子中 N_2 处于稠环桥头，受 Bredt's 规则限制，难于形成亚胺盐类。所以新士的宁分子中 N_2 类似于叔胺而非烯胺。

第五节　生物碱的提取与分离[28~30]

一、总生物碱的提取

总生物碱的提取方法有溶剂法、离子交换树脂法和沉淀法。

（一）溶剂法

这是最常见的方法。提取速率与溶剂用量（一般7~15倍）、原料粉碎度、操作条件（如温度、搅拌）等因素有关。如采用超声波工业规模地提取萝芙木根生物碱时，提取时间从原来的120小时缩短为5小时。含油脂多的植物材料，则应预先脱脂。苷类生物碱的提取，宜采用新鲜原材料或先进行杀酶处理。

1. 水或酸水-有机溶剂提取法　提取原理是生物碱盐类易溶于水，难溶于有机溶剂；其游离碱易溶于有机溶剂，难溶于水。一般操作是用水或0.5%~1%矿酸水液提取。提取液浓缩成适当体积后，再用碱（如氨水、石灰乳等）碱化游离出生物碱，然后用有机溶剂如氯仿、苯等进行萃取。此时，如有沉淀析出，则需滤集。最后浓缩萃取液得亲脂性总生物碱。本法简便易行，但不适用于含大量淀粉或蛋白质的植物材料，且操作上提取液浓缩较难。

2. 醇-酸水-有机溶剂提取法　本法基于生物碱及其盐类易溶于甲醇或醇。故用醇代替水或酸水提取生物碱。醇提取物含不少非生物碱成分，需进一步纯化。常用适量酸水使生物碱成盐溶出，过滤，酸滤液再如上述方法碱化、有机溶剂萃取、浓缩得亲脂性总生物碱。

3. 碱化-有机溶剂提取法　一般操作方法是将提取材料用碱水（石灰乳、Na_2CO_3 溶液或10%氨水等）润湿后，再用有机溶剂如 CH_2Cl_2、$CHCl_3$、CCl_4 或苯等直接进行固-液提取。回收有机溶剂后即得亲脂性总生物碱。由于弱碱性生物碱难以稳定的盐类形式存在于植物中，所以，如欲提取总弱碱性生物碱，只需用水或稀有机酸如酒石酸、乙酸等润湿后，再用有机溶剂进行固-液提取、回收溶剂，即得。本法所得总生物碱较为纯净。同时，提取过程中完成与其它强碱性生物碱的分离。

4. 其它溶剂法　某些亲水性生物碱如 *N*-氧化物等，常用与水不相混溶的有机溶剂如正丁醇、异戊醇等进行提取。

（二）离子交换树脂法[31]

将酸水液与阳离子交换树脂（多用磺酸型）进行交换，以与非生物碱成分分离。交换后树脂，用碱液或10%氨水碱化后，再用有机溶剂（如乙醚、氯仿、甲醇等）进行洗脱，回收有机溶剂得总生物碱。树脂的交联度十分重要，以1%~3%为宜。操作上，若用乙醚洗脱，则碱化十分关键，以有润湿感为指标。本法有很重要的实用价值。许多药用生物碱如筒箭毒碱（tubocurarine）、奎宁、麦角碱类、东莨菪碱、石蒜碱、咖啡因、一叶萩碱等都是应用此法生产的。不过，个别

情况下，如 vincanidine 离子交换后，因强吸附作用而难于用有机溶剂洗脱下来。

（三）沉淀法

季胺生物碱因易溶于碱水中，除离子交换树脂法外，往往难于用一般溶剂法将其提取出来。此时常采用沉淀法进行提取。以雷氏铵盐为例，一般操作如下：①将季胺生物碱的水溶液，用酸水调到弱酸性，加入新鲜配制的雷氏铵盐饱和水溶液至不再生成沉淀为止。滤取沉淀，用少量水洗涤 1～2 次，抽干，将沉淀溶于丙酮（或乙醇）中，过滤，滤液即为雷氏生物碱复盐丙酮（或乙醇）溶液。②于此滤液中，加入 Ag_2SO_4 饱和水液，形成雷氏铵盐沉淀，滤除，滤液备用。③于滤液中加入计算量 $BaCl_2$ 溶液，滤除沉淀，最后所得滤液即为季胺生物碱的盐酸盐。整个反应过程如下：

（Ⅰ）$B^+ + NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \rightarrow B[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \downarrow$

（Ⅱ）$2B[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] + Ag_2SO_4 \rightarrow B_2SO_4 + 2Ag[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \downarrow$

（Ⅲ）$B_2SO_4 + BaCl_2 \rightarrow BaSO_4 \downarrow + 2B \cdot Cl$

B = 季铵生物碱阳离子

二、生物碱的分离

分离程序一般有系统分离与特定生物碱的分离。前者带有基础研究的性质；后者则侧重于生产实用，具有应用开发价值。二者对分离方法的设计均有定向作用。系统分离通常采用总碱→类别或部位→单体生物碱的分离程序。类别是指按碱性强弱或酚性、非酚性粗分的生物碱类别。部位主要指最初色谱中洗脱的极性不同的生物碱。类别生物碱的一般分离流程如图 9-16 所示 。

特定生物碱的分离是基于对欲分离的特定生物碱的结构、理化特性的充分理解。许多药用生物碱的生产都是属于这种分离[参见本节三中（二）]。

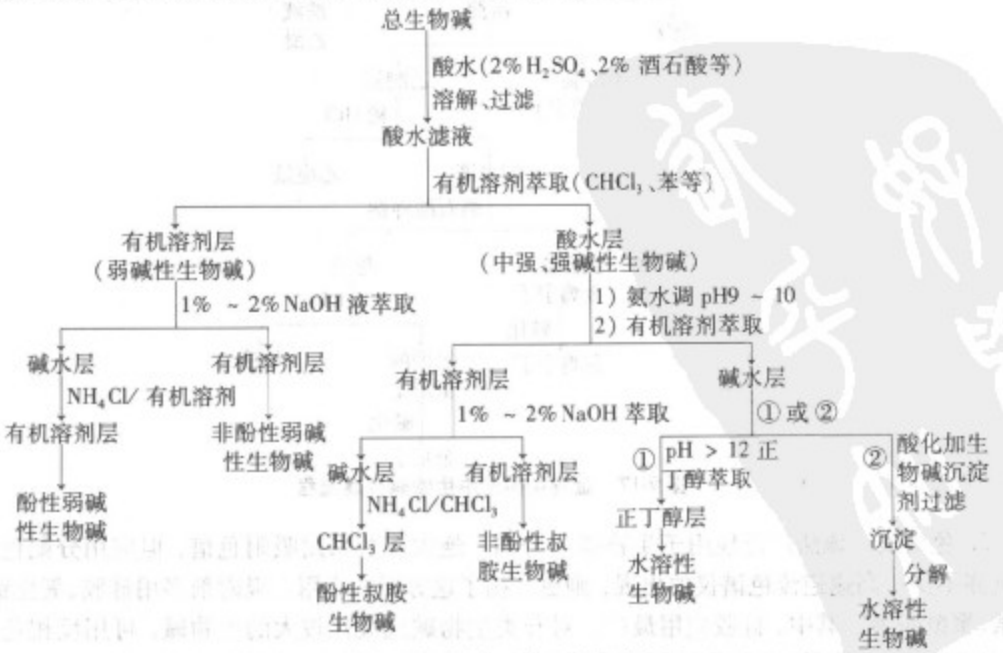


图 9-16 类别生物碱的一般分离流程

1. 利用生物碱的碱性差异进行分离　同一植物中含有生物碱的碱性往往不同。据此，可采用不同的 pH 值下，用水不溶性有机溶剂萃取进行生物碱的分离。若欲利用这种方法系统分离生物碱，则常采用 pH 梯度萃取。萃取时，应用缓冲液调制 pH 梯度。

2. 利用生物碱及其盐溶解度的差异进行分离　某些生物碱对有机溶媒的溶解度不同，由此可以将它们彼此分离。如从唐古特山莨菪中将莨菪碱和红古豆碱与山莨菪碱、樟柳碱分离时，就是采用 pH 9 时，依次利用 CCl_4 和 $CHCl_3$ 萃取，前二者溶于 CCl_4，而后二者溶于 $CHCl_3$ 中。另外，常常利用生物碱盐的溶解度不同来进行分离。少数情况下，可直接从原料中以特殊的盐类形式分出单一生物碱。典型的例子是金鸡纳(*Chincohna succirabra*)树皮中四种生物碱奎宁、奎宁丁、金鸡宁(cinchonine)和金鸡宁丁(cinchonidine)的分离。硫酸奎宁、酒石酸金鸡宁丁和氢溴酸奎尼丁均在水中溶解度较小，金鸡宁不溶于乙醚。据此在不同分离的步骤制备成相应的难溶盐类而彼此分离。分离流程如图 9-17[32]：

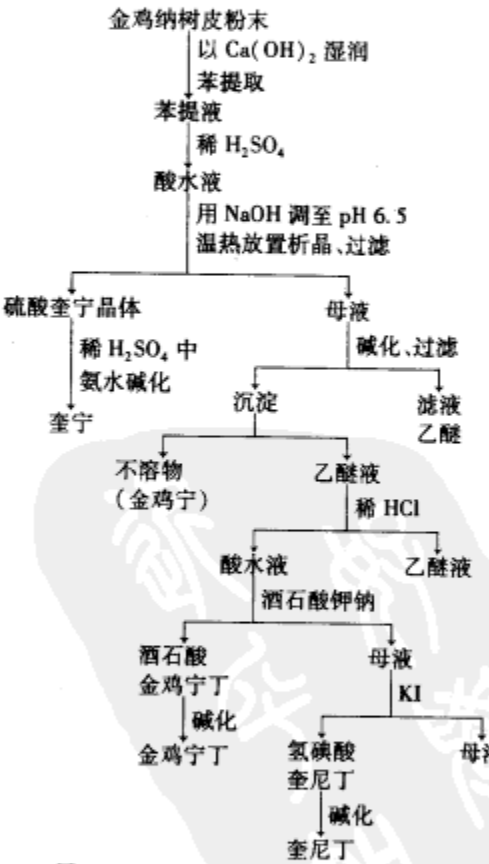


图 9-17　金鸡纳树皮中生物碱分离流程

3. 色谱法　该法广泛地用于生物碱的分离。绝大多数采用吸附色谱，但应用分配色谱的实例亦不少。高速逆流色谱仪的出现，则更开拓了这方面的应用。吸附剂多用硅胶、氧化铝、纤维素、聚酰胺等。其中，硅胶应用最广。对苷类生物碱或极性较大的生物碱，可用反相色谱材料(如 RP-8、RP-18 等)或葡聚糖凝胶进行分离。HPLC 虽有快速、高效的特点，但用于较大量制

备性分离仍有困难。实际工作中，常是运用中压或低压柱色谱、制备薄层色谱进行分离。其它如 GLC、电泳等分离方法，仅少数情况下采用，不在赘述。应强调的是，一个成功的系统分离常需若干色谱或同一色谱方法交替反复使用。

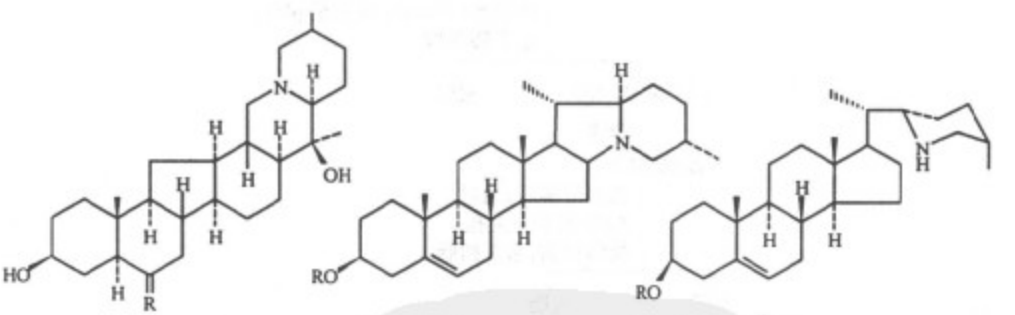
4. 其它方法　个别情况下，可利用使欲分离生物碱分子中某种基团如羟基、内酯或内酰胺等，发生可逆性化学转换的方法进行分离。如酯化用于美登木碱的分离、喜树碱分离中的皂化以及苦参碱分离中应用内酰胺开环-闭环反应等。

综上所述，生物碱的提取与分离，方法较多，各有特点。多数情况下，总是视分离对象、目的不同，灵活地综合运用各种方法进行提取分离。

三、生物碱提取分离的实例

（一）浙贝母中生物碱的分离

浙贝母（*Fritillaria thunbergii*）是常用中药，已知含有生物碱、甾体及其苷类、二萜类以及有机酸等。浙贝母地上部分生物碱的系统分离方法如图 9-18[33]：



41 R=α-OH, β-H
42 R=O

43 R=-glc$\overset{2}{-}$rha
44 R= -glc$\overset{4}{-}$glc
|2
rha

45 R= -glc$\overset{2}{-}$rha

（二）药用生物碱的分离

1. 表 9-1 列出 21 种药用生物碱工业生产的主要分离方法。由表 9-1 看出：①工业上多数药用生物碱的分离主要基于生物碱盐类溶解度的差异。如麻黄碱、伪麻黄碱、小檗碱、1-四氢巴马亭、利血平、士的宁、马钱碱、加兰他敏、长春碱和长春新碱等。②若欲分离的生物碱，在原料中含量较高（如黄藤中巴马亭高达 4.5%）或为主成分（如洋金花中东莨菪碱），则分离的难度降低。反之，若含量很低，则必然操作繁多。如加兰他敏（含量万分之几）、长春碱（含量万分之一）和长春新碱（含量百万分之一）等的分离。③分离时组分的相对含量亦有影响。如士的宁与马钱碱分离中，须视组分含量多少，确定分离的先后顺序。何者居多，则优先成盐结晶分出。

2. 综合利用是药用生物碱工业生产中的重要任务。通常采用两种方式：①一物多用。如由罂粟果中同时分出吗啡碱、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁。又如从麦角中分离麦角新碱和麦有胺以及由唐古特山莨菪中分出莨菪碱、山莨菪碱、樟柳碱、东莨菪碱、红古豆碱与后马托品等。②分出相关生物碱，再转化成药用生物碱。如由爱康宁（ecgonine）、长春碱（VLB）分别转化成药

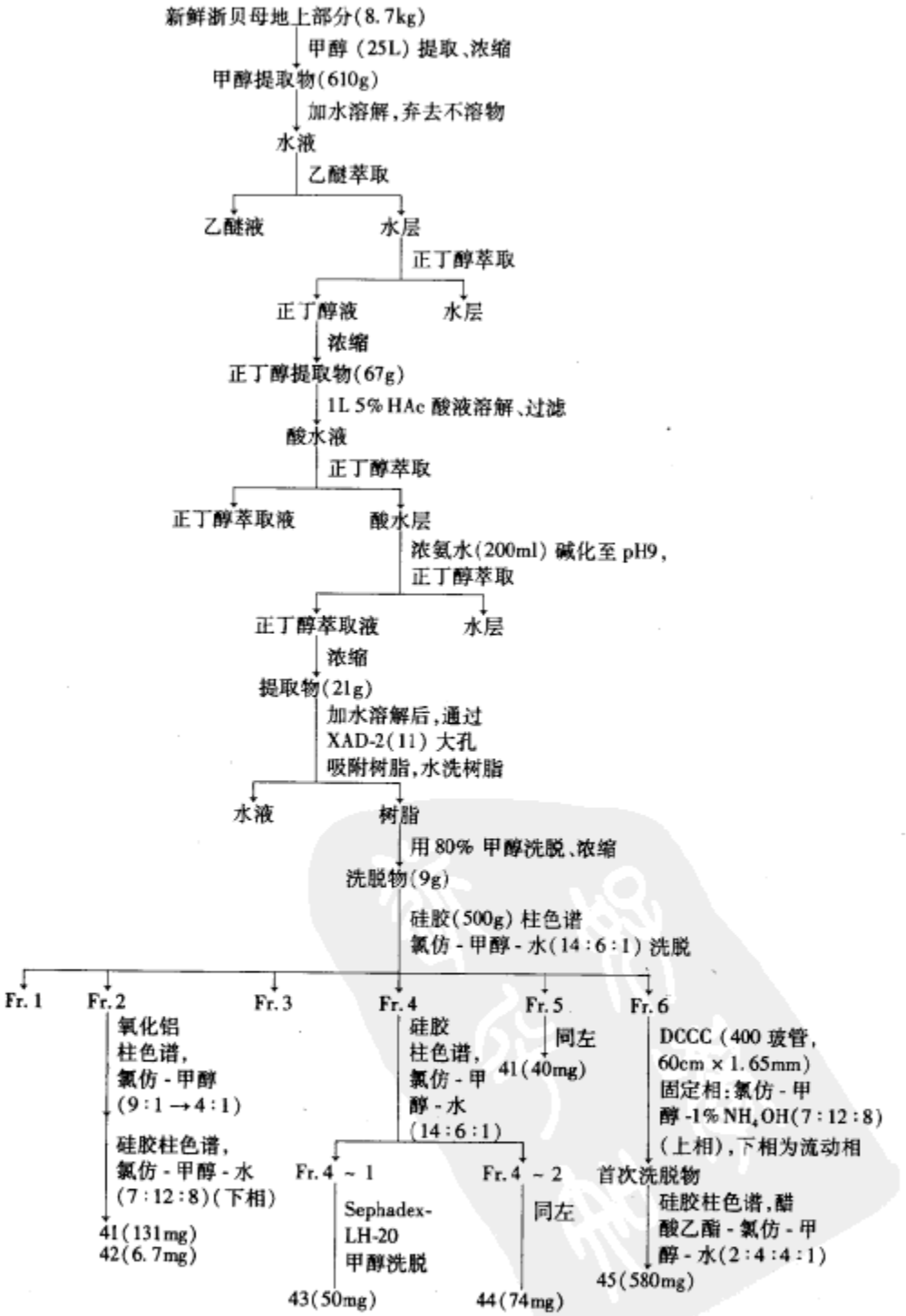


图 19-18　浙贝母地上部分生物碱的分离流程

表 9-1　主要药用生物碱的提取分离方法及原理

生物碱	植物原料	提　取	分　离	分离原理
麻黄碱 伪麻黄碱	麻黄(全草)	碱化甲苯提取	草酸 → 沉淀(草酸伪麻黄碱)→伪麻黄碱 草酸 → 母液 $\xrightarrow{HCl}$ 盐酸麻黄碱	A
东莨菪碱	洋金花	离子交换树脂法	$\xrightarrow{HBr}$ 氢溴酸东莨菪碱	A、C
莨菪碱、山莨菪碱、樟柳碱、红古豆碱	唐古特山莨菪(根)	碱化/氯仿 提取 $\xrightarrow{2\%\ H_2SO_4}$ 酸水液	pH9 → CCl_4(莨菪碱 + 红古豆碱) pH9 → 碱水液 $\xrightarrow{CHCl_3}$ $CHCl_3$ 液 $\xrightarrow[水]{pH8}$ 碱水液 $CHCl_3$ → 氯仿(樟柳碱) $CHCl_3$ → 碱水液 $\xrightarrow{pH9}$ CCl_4(莨菪碱,少量) $CHCl_3$ → 碱水液 $\xrightarrow{pH9}$ 碱水液(山莨菪碱)	A、B
小檗碱、小檗胺	三颗针(根)	酸水浸取(渗漉)液	盐析 NaCl → 母液 $\xrightarrow{pH\ 9\ 以上}$ 沉淀(小檗碱) 盐析 NaCl → 沉淀 $\xrightarrow{pH\ 8.5\sim9}$ 滤液 $\xrightarrow[HCl]{pH\ 2\sim8}$ 沉淀(盐酸小檗碱)	A、B
巴马亭	黄藤(根)	0.5% ~ 1% H_2SO_4 渗漉	$\underset{NaCl}{pH9}$ 沉淀 $\xrightarrow[EtOH,\Delta]{85\%\sim90\%}$ 滤液 $\xrightarrow[HCl]{pH2\sim8}$ 盐酸巴马亭	A、C(4.5%)
1-四氢巴马亭	华千金藤(根)	酸水渗漉液	40% NaOH → 混悬糊液 $\xrightarrow[HCl]{pH2\sim3}$ 酸滤液 $\xrightarrow{NaCl}$ 沉淀 40% NaOH → 上清液(弃去) $\underset{95\%\ 乙醇,\Delta}{pH7\sim7.5}$ 粗品	A
汉防己甲素	粉防己(根)	酸水渗漉	$\underset{石灰乳}{pH9\sim10}$ 沉淀 $\underset{苯提}{干燥}$ 苯提液(粗品) $\xrightarrow{丙酮/苯}$ 精品	B、D

续表

生物碱	植物原料	提　取	分　离	分离原理
利血平 士的宁马钱碱	催吐萝芙木（根） 皮氏马钱（种子）	水润湿 → 苯提 → 苯提液 石灰水碱化/苯提取液	加甲醇-冰醋酸/水 → 滤液 → 硫氰酸钾 → 沉淀（粗品） → 加 NH_4OH → 利血平 6% HCl → 沉淀（盐酸士的宁）（粗品） 6% HCl → 苯液 → HCl 萃取 → 酸提液 → pH12 → $CHCl_3$ 液 → $CHCl_3$ 液 视二者含量多少，优先用 ①HCl 或 ②H_2SO_4 → ① 沉淀（盐酸士的宁）；② 沉淀（硫酸马钱碱）	A
一叶萩碱	一叶萩（叶，茎）	离子交换树脂法或酸水活性炭吸附法	Et_2O → Et_2O 提液 → 95% EtOH 析晶 → 晶体（一叶萩碱） Et_2O → 沉淀（X）	B、D
加兰他敏	紫花石蒜（鳞茎）	醇提取	pH9～10 / $CHCl_3$ → $CHCl_3$ 液 → 5% HCl → 酸液 → pH8 / EtOAc → EtOAc 提取物 无水乙醇 / HBr → 粗品（氢溴酸加兰他敏）	A、B、C
喜树碱	喜树（根）	酸水渗漉	$CHCl_3$ → 氯仿提取物 → 氯仿：甲醇（1∶1），回流 → 滤液 → 析晶 → 粗品	B
秋水仙碱	丽江山慈菇（鳞茎）	醇提-酸转溶	酸水液 → $CHCl_3$ → 氯仿提物 → EtOAc → EtOAc 提取物（粗品）	B，F
长春碱 长春新碱	长春花（全草）	水润湿/苯提取/酒石 pH6～7 / 氯仿 → 酸，萃取 氯仿提液（总弱碱）	pH3.8～4.1 / 5% H_2SO_4-无水乙醇 → 硫酸盐晶体 → 游离 → 弱碱 Al_2O_3 / 苯-氯仿（d = 1.3） → 前段（长春碱）；后段（长春新碱） 无水乙醇/5% H_2SO 无水乙醇 / pH8.8～4.1 → 硫酸长春碱；硫酸长春新碱	A（控制 pH 8.8～4.1 成盐） G

A：盐溶解度差异；B：碱溶解度差异；C：高含量；D：较高含量或主成分；E：碱性差异；F：弱碱性；G：色谱法。

用的可卡因和长春新碱(VCR)等。

第六节 生物碱的结构鉴定与测定

生物碱的结构鉴定与测定方法包括化学法与光谱法。60 年代以前，以化学法为主，经脱氢、氧化降解、官能团分析、全合成等，测其结构。自后，光谱法不断发展，迄今已取代经典化学方法而居首位。

一、光谱法在生物碱结构测定中的应用

最常用的光谱法有 UV、IR、MS 和 NMR(^{1}H-、^{13}C-和 2D-NMR)谱。CD 或 ORD 和单晶 X-射线衍射分析较少应用，这里不再赘述。

(一) 紫外光谱[34]

生物碱的 UV 谱反映了其基本骨架或分子中生色团的结构特点，是结构测定的手段之一。

1. 生物碱的结构分类与 UV 谱的关系　由生色团在分子中的位置分为：①生色团在分子的非主体部分；②生色团在分子的整体结构部分；③生色团在分子的主体结构部分。

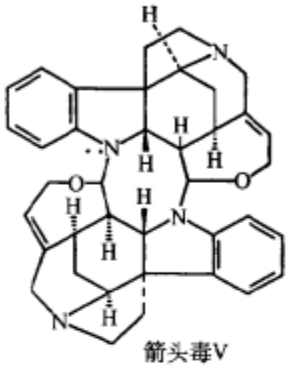
(1) 生色团在分子的非主体部分：这类生物碱主要有吡咯里西丁、喹诺里西丁、萜类和甾体生物碱类等。UV 谱不能反映分子的骨架特征，对测定结构来说，其作用十分有限。

(2) 生色团在分子的整体结构部分：生色团组成分子的基本骨架与类型。如吡啶、喹啉、氧化阿朴菲、吲哚碱类等。UV 谱可反映生物碱的基本骨架与类型特征，且受取代基的影响很小或甚微。对此类生物碱骨架的测定有重要作用。

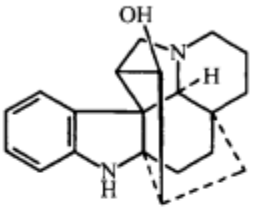
(3) 生色团在分子的主体结构部分：可分为两类：①含一个生色团者，许多类型的生物碱如托品类、苄基四氢异喹啉类、普罗托品类、二氢吲哚类等，都属于此类。②含两个生色团者，如吗啡碱类、刺桐碱类等。其共同特征是：不同类型的生物碱具有相同或相似的 UV 谱。故不能由其 UV 谱推断生物碱的骨架类型，UV 谱仅有辅助作用。

2. 生物碱 UV 谱与 pH 值的关系　某些生物碱的 UV 谱受 pH 值影响颇为显著。主要有以下 3 种情况：①若碱性氮原子参与生色团或直接相连接时，则酸性与中性液中测定的 UV 谱不同。属于这种情况的有喹啉碱、吲哚碱类、吖啶酮类等。例如，喹啉 $UV\lambda_{max}^{EtOH}$ nm(lgε)：227(4.56)、280(3.56)、314(3.56)；$UV\lambda_{max}^{10\%HCl}$ nm(lgε)：233(4.50)、236(4.45)、307(3.76)、313(3.79)。②若非碱性 N 原子与生色团直接相连时，则酸性液中，不影响其 UV 谱。例如，箭头毒 V(caracurine V)：$UV\lambda_{max}^{H_2O}$ nm(lgε)：256(3.85)、292(3.70)。N_1 虽处于生色团取代苯胺中，但因其碱性甚弱，在 2N HCl 液中其 UV 谱[λ_{max} nm (lgε)：256(3.80)、290(3.77)]基本不变。又如，酸对二氢吲哚碱的 UV 谱影响，与二个 N 原子的间距有关。若二者间隔 3 个以上碳原子时，酸性液中因二个氮原子均可质子化，导致 UV 谱变化。如柯蒲醇(kopsanol) $UV\lambda_{max}^{EtOH}$ nm(lgε)：246(3.78)、249sh(3.24)、297(3.39)和 $UV\lambda_{max}^{5NHCl}$ nm(lgε)：256sh(3.24)、262(3.30)、269(3.26)。反之，若二个氮原子间隔少于 3 个碳原子时，则因 N_2^+ 降低 N_1 的碱性(诱导-场效应)，N_1 难于质子化，故酸性液中仍保持二氢吲哚的 UV 吸收带。如，皮克尼宁(picrinine) $UV\lambda_{max}^{EtOH}$ nm(lgε)：237(3.90)、287(3.51)和 $UV\lambda_{max}^{10\%HCl}$ nm(lgε)：239(3.65)、244(3.64)、305(3.67)。

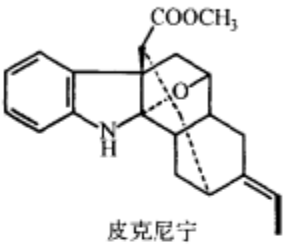
仍基本保持 N_1 无取代基的二氢吲哚碱类的 UV 谱(λ_{max} ~240，~295nm)。③若 N 原子不与生色团相连，则虽与酸成盐，也不影响紫外吸收。如那可丁 UVλ_{max}^{EtOH}nm(lgε)：209(4.86)、291(3.60)、309~310(3.69)，而其盐酸盐 UV$\lambda_{max}^{H_2O}$nm(lgε)：211(4.76)、291(3.40)、313(3.54)。④若生色团中含有羟基取代苯类结构，则遇碱成酚氧负离子，使吸收峰发生红移。



箭头毒V



柯蒲碱



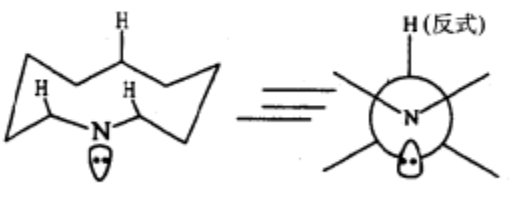
皮克尼宁

（二）红外光谱[35]

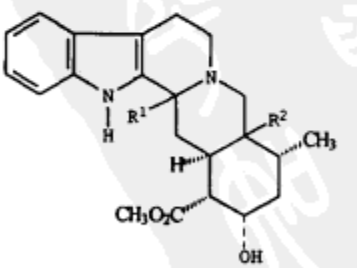
主要用于功能基的定性和与已知碱对照鉴定。对生物碱来说，共同的特征不多，现仅叙述两点。

1. 酮基 νC=O 吸收　处于跨环效应时，νC=O 吸收在 1660~1690cM^{-1}区域，比正常酮基吸收移向低波数。例如，普罗托品中 νC=O 为 1661~1658cM^{-1}，紫乌定(episcopalidine)6-酮基吸收为 1695cM^{-1}。

2. Bohlmann 吸收带　是指在反式喹诺里西丁环中，凡氮原子邻碳上的氢有二个以上与氮孤电子对呈反式双直立关系者(A)，则在 2800~2700cM^{-1}区域有 2 个以上明显的吸收峰(νC-H)，而顺式异构体则此区域无峰或极弱(图 9-19)。实际中，若采用氯仿溶液，则多为二个峰，而溴化钾压片则为一簇峰。通常呈现 Bohlmann 吸收带的生物碱有喹啉里西丁类、吐根碱类、吲哚碱类中柯南因-阿马利新组和育亨宾组、异甾碱中原介蒽芦碱组和西蒽芦碱组等生物碱。所以，Bohlmann 吸收带在这些生物碱结构测定中有指导意义。例如，在育亨宾类生物碱中，若为 3α-H（如别系的育亨宾 46)，则有 Bohlmann 吸收带（2800~2700cm^{-1})。反之，若为 3β-H（如伪或表别育亨宾 47)，则无此种吸收。



交叉式



46 R^1=R^2=αH
47 R^1=R^2=βH

图 9-19

（三）质谱[36]

生物碱的质谱数据非常丰富。兹主要根据文献[36]，结合主要生物碱类型的质谱特征，归纳总结生物碱质谱的一般规律如下。

1. 难于裂解或由取代基或侧链的裂解产生特征离子　其特点是 M^+ 或 M^+-1 多为基峰或强峰。一般观察不到由骨架裂解产生的特征离子。主要包括两大类结构不同的生物碱：①芳香体系组成分子的整体或主体结构者。如喹啉类、4-喹酮类（A）、吖啶酮类、β-卡波林类（B）、去氢阿朴菲类、酮式阿朴菲类等。②具有环系多、分子结构紧密的生物碱。如马钱碱类、吗啡碱类（如吗啡碱 M^+ 为基峰）、苦参碱类（如苦参碱 M^+ 为基峰）、秋水仙碱类（C）、萜类生物碱、取代氨基甾体生物碱类（如丰土那明丙素 fubtuphyllamine C 等）（图 9-20）。

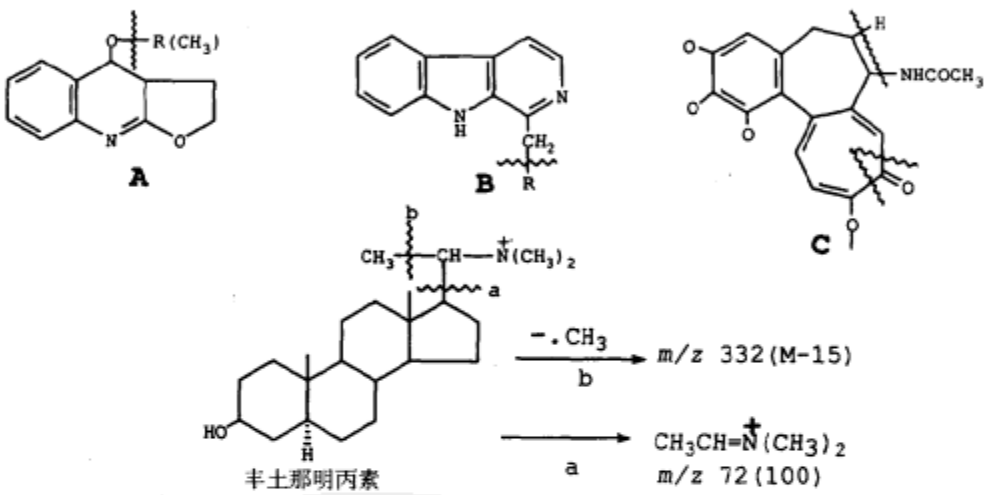


图 9-20

2. 主要裂解受氮原子支配　主要裂解方式是以氮原子为中心的 α-裂解，且多涉及骨架的裂解，故对生物碱基本骨架的测定有重要意义。特征是基峰或强峰多是含氮的基团或部分，如杂氮环己烷及其衍生物、四氢异喹啉环、四氢 β-卡波林环等。具有这种裂解特征的生物碱类型很多。主要有金鸡宁类、托品类、石松碱类、甾体生物碱类等。现以金鸡宁碱类和甾体生物碱类为例加以说明。

（1）金鸡宁碱类：今以金鸡宁为例，其裂解特征是先 α-裂解断 C_2—C_3 键形成一对互补离子 a 和 b，基峰离子 b 又经 α-裂解等产生其它离子（图 9-21）。

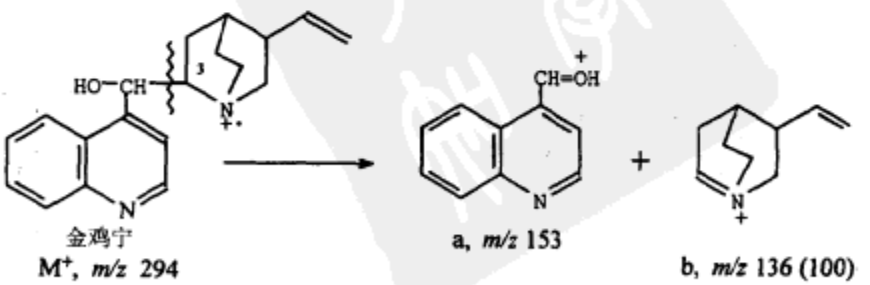


图 9-21

（2）甾体生物碱类：甾核多无特征性裂解，几乎所有的主要裂解均涉及氮原子，呈现非常典型的受氮支配的裂解规律。现以维藜芦胺和浙贝甲素为例说明如图 9-22。

3. 主要由 RDA 裂解产生特征离子　属于这种裂解的生物碱主要有含四氢 β-卡波林结构的吲哚类碱、四氢原小檗碱类、普罗托品类以及无 *N*-烷基取代的阿朴菲类等。裂解后产生一对强的互补离子，由此可确定环上取代基的性质和数目。今以文卡明（vincadifformine）为例加以说明（图 9-23）。

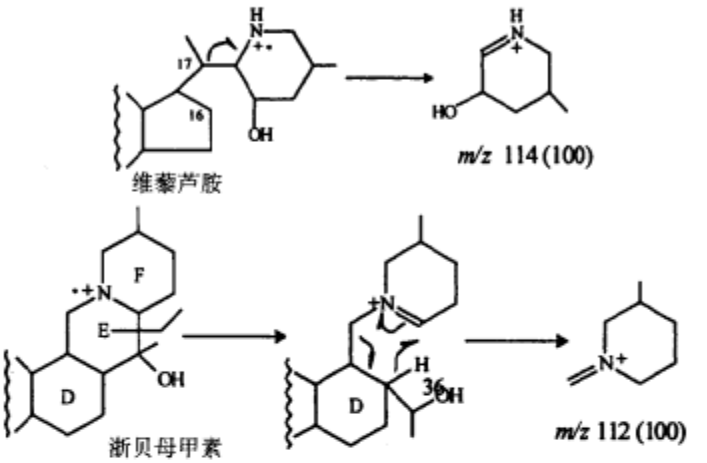


图 9-22

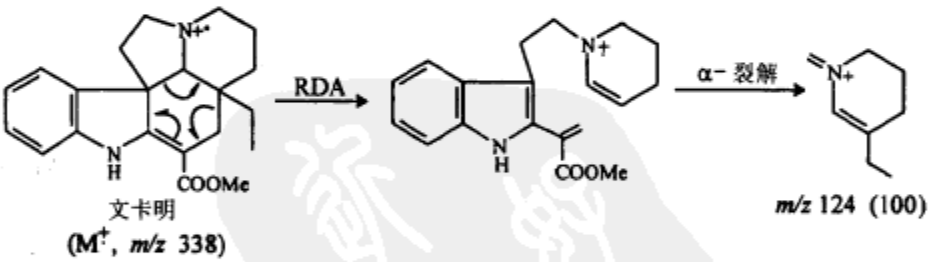


图 9-23

而二氢吲哚类碱（如白坚木碱 aspidospermine 等）特征离子则来源于非典型的 RDA 与 α-裂解（图 9-24）。

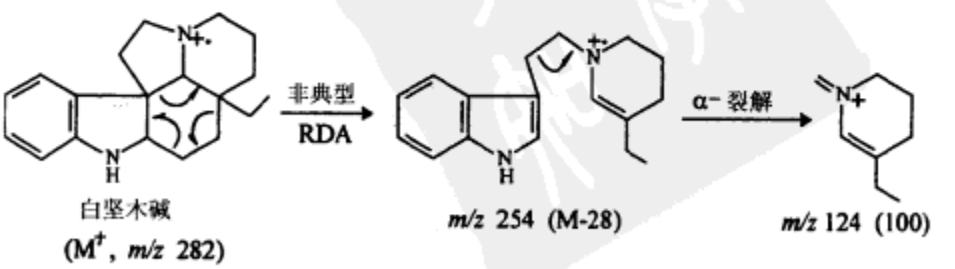


图 9-24

4. 主要由苄基裂解产生特征离子 苄基四氢异喹啉类、双苄基四氢异喹啉类等是最典型的代表。裂解后得到一对互补离子，如图 9-25 所示。

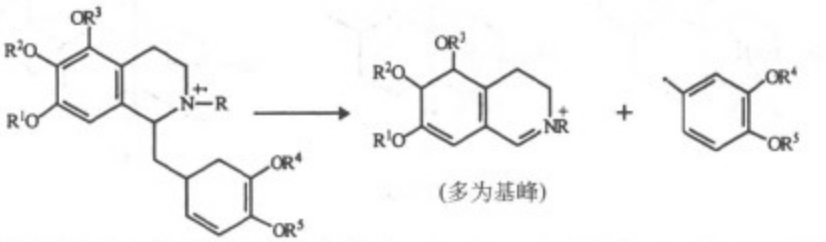


图 9-25

最后应强调的是，实际应用中须针对具体对象，灵活运用上述一般规律。

(四) 核磁共振谱[37,38]

核磁共振谱是生物碱结构测定的最强有力的工具之一。氢谱可提供有关功能基（如 NMe、NEt、NH、OH、MeO、双键、芳氢等）和立体化学的许多信息。碳谱、高分辨氢谱（300～750MHz）和 2D-NMR 谱，所提供的结构信息的数量与质量，又是任何光谱法所无法比拟的。由于生物碱的核磁共振谱内容非常庞杂，限于篇幅，难于如 MS 谱那样作全面归纳总结。文献[37-38]收集整理了大量的 NMR（^1H、^{13}C）数据，对生物碱的结构测定有重要参考价值。

二、生物碱结构测定的实例

紫乌定的结构测定[39]

紫乌定分自苍山乌头(*Aconitum contortum* Finet et Gagnep)根茎[40]。药理实验表明，紫乌定有预防滇乌碱引起的中毒作用。

光谱分析

1. 物理常数 紫乌定为无色棱柱状晶体，熔点 210～212℃，$[\alpha]_D^{21}$ -80^0($c=0.6$, $CHCl_3$)。易溶于有机溶剂(甲醇、乙醇、乙醚、氯仿、丙酮等)，不溶于水，分子式为 $C_{30}H_{33}O_6N$(HR-MS)。不饱和度为 15。

2. 功能基的定性与定量 由 IR 和氢谱确定紫乌定具有：$NCH_3\times1$(δ_H 2.44)、OAc×1(1730、1250cm^{-1}；δ2.04)、C_6H_5-$CO_2\times1$[1710、1580、1280、700cm^{-1}；δ_H 7.44、7.58、7.97 (5H, m)]、>$=CH_2\times1$[1640、891cm^{-1}；δ_H 4.82、4.98 (各 1H, s)]、CO×1 或 2[1710、1690cm^{-1}；δ_C 210.8；CD：[θ]300nm = 2.2×10^4、CE：(−)]。

3. 确定基本骨架

(1)推测阶段：主要根据：①乌头属植物主要含二萜生物碱；②紫乌定的示性式：$C_{20}H_{22}$[1×BzO−1×AcO-NCH_3-2×O(酮)]；③不饱和度 = 15；④文献报告的已知的符合 $C_{21}H_{31}N$ = 297 的 C_{20}—二萜生物碱的骨架类型。由此，推测紫乌定可能有 3 种骨架类型 A、B 和 C(图 9-26)。前两种为阿替生型，后一种为维特钦型。

(2) 证明阶段：①与类似物比较 C(16)的碳谱数据：A、B、C 三者主要区别是 D 环桥接位置

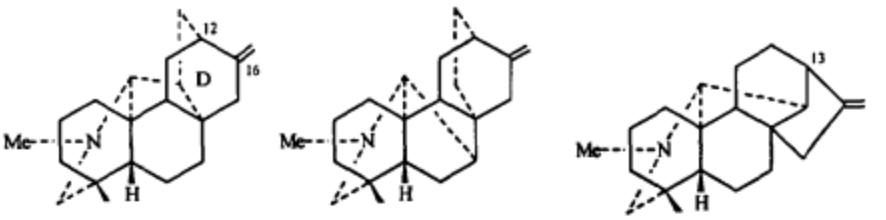


图 9-26

不同，前二者是C(12)位，后者则为C(13)位。文献[41]指出C(16)的δ值范围可反映骨架类型的特征，即维特钦型要比阿替生型大3～7（如阿替生的C(16)：δ157.5；维特钦的C(16)：δ161.2）。与无15-羟基取代的阿诺朴特灵(anopterine)比较，紫乌定C(16)的δ值(141.6)要小得多。所以，紫乌定的骨架很可能为A或B。②化学反应证明臭氧化：若将A、B、C三种骨架臭氧化后，则可预期前二者产物应示出六元环酮红外特征吸收（～1700cm^{-1}），而后者则为五元环酮吸收（>1700cm^{-1}）。紫乌定臭氧化产物的IR示出1700cM^{-1}的六元环酮基吸收，所以排除了C式。③再结合6-酮基定位(见后)以及7-H_2的氢谱[δ2.27、2.25(ABq，J=12Hz)]，确定紫乌定骨架为A式。因为B式不可能示出ABq型的7-H_2信号来。至此，可以写出部分结构式(图9-27)。

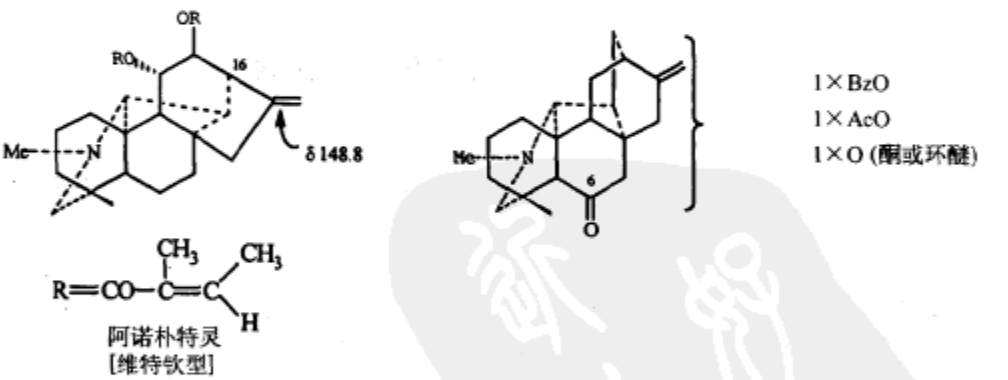


图 9-27

4. 取代基定位

(1)双酯（BzO与AcO)：氢谱显示两个酯基的偕碳质子信号的化学位移分别为δ4.88(d，J=4.5Hz)和5.53(六重峰，J_1=4.5 Hz，J_2=2.2 Hz)。其偶合常数表明，它们彼此处于邻位关系。显然这只能安排在1、2或2、3位上。但是，前者可以排除，因为当照射4-CH_3(δ1.58，s)时，δ4.88处一个质子给出NOE增益(21%)。这样，δ5.53处一个质子信号就应指定为2β-H，且由此推知2-酯基取α-向。为进一步证明以上论证，又将紫乌定水解，其水解物分别与丙酮/$HClO_4$和HIO_4反应。前者产物经TLC与IR证明为丙酮缩合物，后者反应产物的氢谱显示醛基信号(δ9.98)。由此，双酯定在2-、3-位。再根据BzO基吸电性大于AcO基，将它们分别指定在2-和3-位。

(2)6-酮基:其定位主要基于:①生源上此类化合物如海替定(hetidine)等多具6-酮基;② 4-甲基明显地移向低场(δ1.58, s),而无6-酮基者,4-CH_3 多在 δ1 附近;(3)还有一个氧尚待安排;由于 IR 谱中仅明显地示出 3 个羰基吸收峰(1730、1710、1690 cM^{-1})以及碳谱显示出 1 个酮基信号(δ210.4),故将此氧安排成环醚形式。

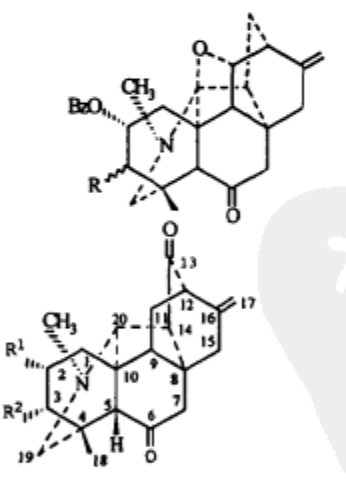
综上所述,提出紫乌定的平面结构式为48。

5. 立体化学的确定　已由 H-2 的偶合常数推定 2-BzO 为 α-取向。还须确定 3-AcO 的构型。此处是由 NOE 方法证明的。即当照射 4-甲基时,3β-H 获得 NOE 增益。根据以上光谱分析,紫乌定的结构推定为49。

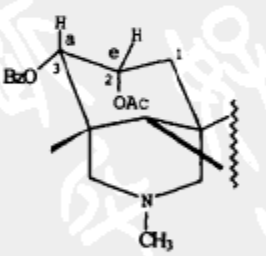
单晶 X-射线衍射分析结果表明,提出的结构49并不正确,应修正为50。有两处修正:①两个酯基位置互调;②变氮杂缩醛为13-酮基。错误出在哪里?值得进一步研究。

结构修正后的化学与光谱分析工作

1. 双酯定位　由图9-28看出,H-2 与 H-3 的 δ 值受立体因素(H-2e 应比 H-3a 更移向低场,Δδ ~0.5)和取代基的诱导效应($\Delta\delta_{BzO\text{-}AcO}$ =0.5)的影响。此时,两种效应恰好相反。但是,结果是立体因素占据主导作用。仅考虑诱导效应而忽视立体效应,是造成双酯定位错误的原因。事实上,难于由以上两种因素作出肯定判断的。因此,设计以下方法(50→51→52)证明。51 经全乙酰化后,其化学位移的变化 Δδ 是:2e-H(-0.1)、3a-H (-0.24)。而 $\Delta\delta_{(H\text{-}2)\text{-}(H\text{-}3)}$ =0.79。显然,δ 值变化最大的 H-3a 即是指示 OBz 基连接的位置。



48 R=OAc
49 R=αOAc

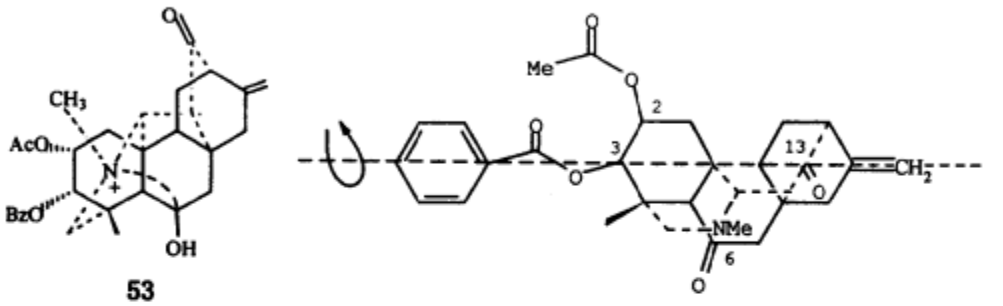


50 R^1=OAc R^2=OBz
51 R^1=R^2=OH
52 R^1=R^2=OAc

图 9-28

2. "13"-酮基定位　曾试图用不同频率的核磁共振仪(90、100、200MHz)测定紫乌定分子中"13"-酮基信号,但未成功。当累加间隔时间为5秒时,则明显可见新增的酮基信号(δ200.2)。但后来证实这个信号不属于13-酮基。因为紫乌定成盐后该信号消失,所以原先的 δ210.8 实为13-酮信号,δ200.2 处信号则为6-酮基。有趣的是,对紫乌定及其类似物碳谱研究表明:在非充

分碱化条件下测得的6-酮基δ值不可靠，是酮式50(δ~207)和半缩酮式(53)(δ~104)的加权平均值。由此说明，δ200.2并非紫乌定6-酮基的真正化学位移值，其真值在δ207附近[42]。由于紫乌定分子中可能的转动主轴的存在(图9-29)，使离轴近的13-酮基的T_1小于相应的离轴远、运动快的6-酮基，故在累加间隔时间1秒时，难于观察到6-酮基的信号。相反，紫乌定水解物或其衍生物等，则因此转动主轴的消失导致易于测出6-酮基信号[42]。以上研究再次证实了紫乌定分子中跨环效应的存在。



53

图9-29

参考文献

[1] Manske, R. H. F. The Alkaloids: Chemistry and Physiology, Vols. 1~20, New York, Academic Press, 950~1979; Brossi, A. ibid, 21~39, New York, Academic Press, 1981~1990; Cordell, G. A. ibid, Vols, 40~55, New York, Academic Press, 1991~2001

[2] The Chemical Society, The Alkaloids (London), Vols. 1~13, London. Burlington, 1971~1983; Pelletier, S. W. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives, Vols. 1~14, New York, John Wiley, 1983~2000

[3] Pelletier, S. W. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives. Vol. 1, New York, Jhon Wiley, 1983, 26

[4] 周荣汉. 药用植物化学分类学. 上海科学技术出版社, 1988年, 50~52

[5] 陈孝泉. 植物化学分类学. 高等教育出版社, 1990年, 305~326

[6] Saxton, J. E. Indoles, Part 4. New York, John Wiley, 1983, 88

[7] Goodwin, T. W. et al. Introduction to Plant Biochemistry, 2 ed, Pergamon Press, 1985, 86~490

[8] Mothers, K. et al. Biochemistry of Alkaloids. Berlin, VEB Dertscher Verlag der Wissen Schaftan, 1985, 88~89

[9] Cordell. G. A. Introduction to Alkaloids, New York, John Wiley, 1982, 80~924

[10] Mothers. K, et al. Biochemistry of Alkaloids. Berlin, VEB Deutscher Verlag der Wissenchaftan, 1985, 106~348

[11] 三桥博等. 天然产物化学. 南江堂, 1986, 257~283

[12] Rother, A, et al. Lloydia, 1975, 38:477

[13] Gastillo, M, et al, Can J Chem, 1970, 48;2911; Ho. Y. K, et al, Can J Chem, 1971; 49;3352; Gupta, R. N. et al. J Am Chem Soc, 1968, 90:1360

[14] Mothers, K, et al. Biochemistry of Alkaloids, Berlin, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1985, 188~271

[15] Shamma. M. The Isoquinoline Alakloids, New York, Academic Press, 1972,1-522. Shamma; M, et al. Isoquinoline Alkaloids Research, New Yok, Plenum Press, 1978, 1~394

[16] Saxton, J. E. Lndoles, Part 4, New York, Jhon Wiley, 1983, 1～882
[17] Men. J. Le, et al, Experientia 1965, 21:508
[18] Koskinen, A, et al, In Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (by W. Hertz, ed.), New York, Springer-Verlag/Wien, 1983, 43:268～345
[19] Pelletier, S. W, et al; Magn Reson Chem, 1989, 27:1057
[20] Yamamura, S, et al, In "The Alkaloids" (R. H. F. Manske, ed) Vol. 15, New York, Academic Press, 1975, 41～82
[21] 任友达. 酸碱理论及其在有机化学中的应用. 人民教育出版社, 1979年, 46～66
[22] 上海第一医学院药学系中草药教研组. 中草药化学, 1977, 110～123
[23] Pelletier, S. W. Chemistry of The Alkaloids. New York, Van Nostrand Reinhold, 1970, 526
[24] Hooteles, Tetrahedron Lett, 1969, 2713; Robison, B. et al. J Chem Sce(C), 1970, 2077
[25] Simanek, V. et al. Collect Czech Chem Comm, 1972, 37:2746
[26] Liang, Xao-tian, et al. Heterocycles, 1987, 26:19
[27] Buzas, A. et al. C R Acad Sci Ser C, 1976, 283:763
[28] 中国科学院上海药物所. 中草药有效成分提取与分离(第二版). 上海科学技术出版社,1983, 263-296
[29] 北京医学院等. 中草药成分化学. 人民卫生出版社, 1985, 111-163
[30] Tolkachev, O. N. et al. Chem. Nat. Compds, 1984, 378
[31] 方起程等. 药学学报, 1966, 18:57
[32] 王宪楷等. 天然药物化学. 人民卫生出版社, 1988, 118
[33] Kawasaki, J, et al, Phytochem, 1982, 21; 187
[34] 黄量等. 紫外光谱在有机化学中的应用. 下册. 科学出版社, 1988, 1-204
[35] 谢晶曦. 红外光谱在有机化学和药物化学中的应用. 科学出版社, 1987, 364～382
[36] 丛浦珠. 质谱在天然有机化学中的应用. 科学出版社, 1987, 85～463
[37] Crabb, T. A. Nuclear Magnetic Resonance of Alkaloids. in "Annual Report on NMR Spectroscopy", New York, Academic Press, 1975, Vol. 6A, 250-387, 1978, Vol. 8, 1～198; 1982, Vol. 13, 60～210
[38] 于德泉等. 分析化学手册(第五分册): 核磁共振波谱分析. 化学工业出版社, 1989, 578～674, 1999
[39] 王锋鹏等. 药学学报, 1983, 18:514
[40] 杨亲二等. 云南植物研究, 1990, 12:247
[41] 王锋鹏. 有机化学, 1982, (3):161
[42] 王锋鹏等. 有机化学, 1986, (1):19

(王锋鹏)

10

第十章 海洋天然药物

第一节 概 述

海洋占地球表面积的71%，生物量占地球总生物量的87%，生物种类达20多万种。与人们对陆生植物开发利用相比，目前人们对海洋生物的认识仍相当有限，利用率仅为1%左右。海洋生物生活在具有一定水压、较高盐度、较小温差、有限的溶解氧、有限光照的海水化学缓冲体系中，生长环境与陆生生物迥然不同，海洋生物在新陈代谢、生存繁殖方式、适应机制等方面具有显著的特性。因此，体现在次生代谢产物有着独特的结构。目前，从海洋生物中分离得到大量结构独特的化合物，表现出各种各样的生理活性。显然，开展海洋天然药物研究具有重要的理论意义和实际价值。

尽管海洋生物这个巨大宝库早为人所认识，在传统中药中也有应用海洋生物治疗疾病的历史，但对海洋天然产物的深入研究是从20世纪60年代以后。60年代初河豚毒素(tetrodotoxin)结构测定成功，1971年完成其人工合成并对其生理活性进行了深入研究，该化合物毒性极强，引起动物死亡的最小剂量约为0.008μg/g。它是Na^+离子通道的选择性抑制剂，阻止Na^+进入细胞内，阻断神经和肌肉产生兴奋活动。随着回归自然呼声的高涨和人们对海洋生物认识水平的提高，掀起了对海洋天然药物的研究的高潮。从70年代以后，已从海藻、海绵、腔肠动物、被囊动物、软体动物、棘皮动物和微生物体内分离得到天然产物达3000多个，其中许多具有抗真菌、抗病毒、止血、抗凝血、抗肿瘤等药理活性。海洋天然产物的研究已成为目前的热门课题，每年都有近千篇有关海洋天然产物的文献报道[1-3]。以研究海洋生物活性物质为中心任务的海洋天然药物化学已经成为天然药物研究中最为活跃的分支。

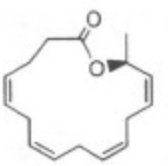
海洋天然产物的结构千差万别，新的骨架结构不断被发现，常见的化合物有萜类化合物、甾体化合物、多糖、蛋白质、脂肪烃等化合物及一些海洋生物中特有的结构类型。下面仅就海洋天然产物中结构特殊、生理活性明显的几种类型化合物加以介绍。

第二节 大环内酯类

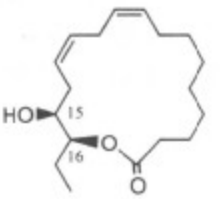
大环内酯类化合物(macrolides)是海洋生物中常见的一类具有抗肿瘤活性的化合物，结构中含有内酯环，环的大小差别较大，从十元环到六十元环都有。根据结构类型不同可以分为：

一、简单大环内酯化合物

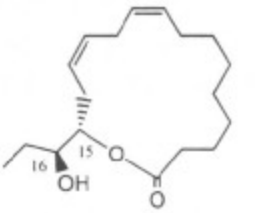
这类化合物尽管环的大小各异，但环上仅有 OH 或烷基等取代基，多数仅有一个内酯环，为长链脂肪酸形成的内酯。如从海洋软体动物(*Aplysia depilans*)皮中分离得到的 aplyolide A (1)、B (2)、D (3)，为长链多不饱和脂肪酸的内酯。作为动物本身的化学防御物质，该类化合物具有强的毒鱼活性[4]。



1

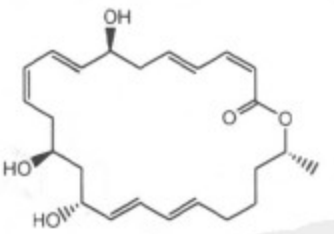


2

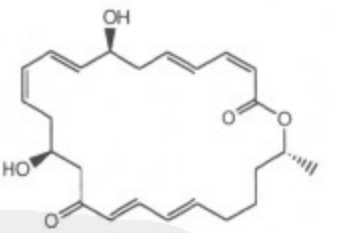


3

又如从海洋微生物中分离得到的化合物 (－)-macrolactin A (4)、(＋)-macrolactin E (5) 具有一定的抗病毒活性，并从 Bacillus 属的其他微生物中分离到该类化合物的琥珀酸酯[5]。



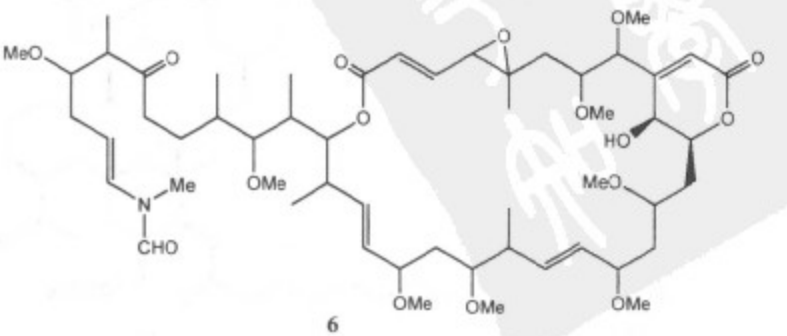
4



5

二、内酯环含有氧环的大环内酯

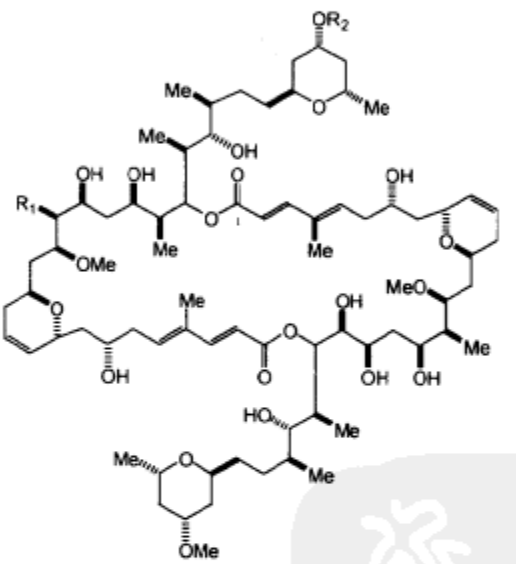
该类大环内酯化合物由于环结构上含有双键、羟基等，在次生代谢过程中氧化、脱水，形成含氧环的大环内酯类化合物，氧环的大小有三元氧环、五元氧环、六元氧环等。



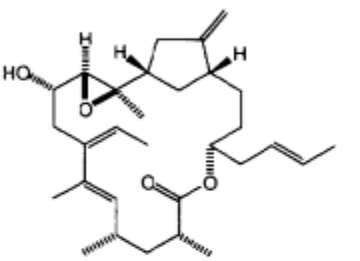
6

如从海绵 *Neosiphonia superstes* 中分离得到的细胞毒活性成分 sphinxolide E（6），从海绵 *Theonell swinhoei* 中分离得到的具有广谱抗肿瘤活性和抗真菌活性的大环内酯化合物 swinholide A（7）、B（8）、C（9），从扁虫 *Amphiscolops sp.* 中分离得到细胞毒活性物质的 amohidinolide P（10）、K（11）等均属于大环内酯类化合物，在其环上存在不同大小的含氧环。

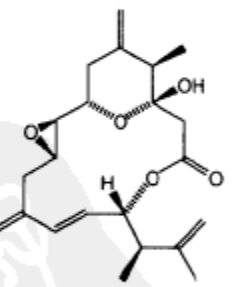
从红海海绵（*Latrunculia magnifolia*）中分离得到的 latrunculin A（12）有很强的毒鱼作用，是结构中含有 S 原子的化合物。从南加州的海洋无脊椎动物青苔 *Bugula neritina* 中分离得到的一种 bryostatin 类化合物，为内酯环高度氧化物质，对治疗白血病、淋巴癌、黑色素瘤及其他肿瘤具有奇效。目前已经解明结构的该类化合物达 20 个，由于该类化合物具有较高的抗肿瘤活性和较低的毒性，是较有发展前途的一类抗肿瘤活性物质[6]。bryostatin-1（13）还具有免疫增强、诱导分化、增强其他细胞毒药物活性等作用，已进入Ⅱ期临床研究。



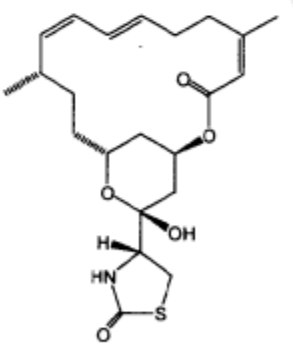
7 R_1=R_2=Me
8 R_1=H, R_2=Me
9 R_1=Me, R_2=H



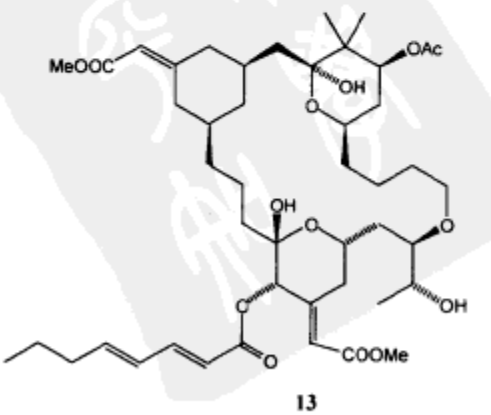
10



11



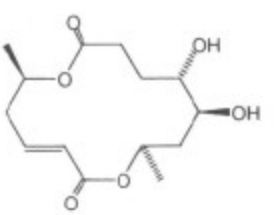
12



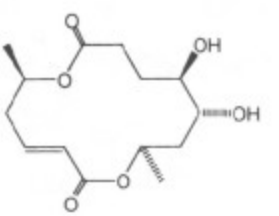
13

三、多聚内酯

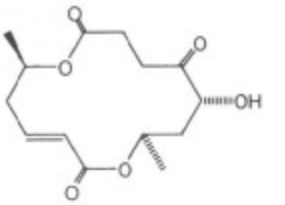
该类化合物属于大环内酯，但脂环上有超过一个的酯键存在。如从红藻（*Varicosporina ramulosa*）中分离得到的 celletodiol（14，15）和 celletoketol（16），具有一定的抗真菌活性。从海洋微生物 *Hypoxylon oceanicum* LL-15G256 中分离得到的 15G256γ（17）和 15G256δ（18）同样具有抗真菌活性[5]。



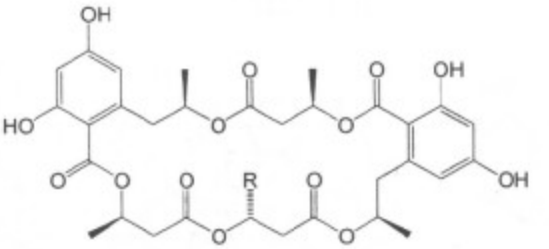
14



15



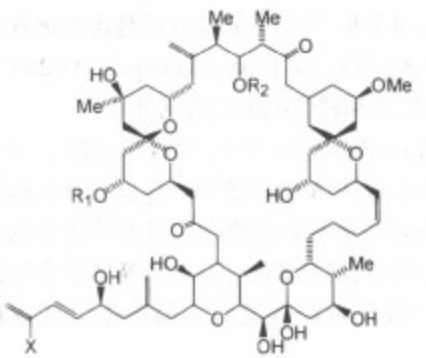
16



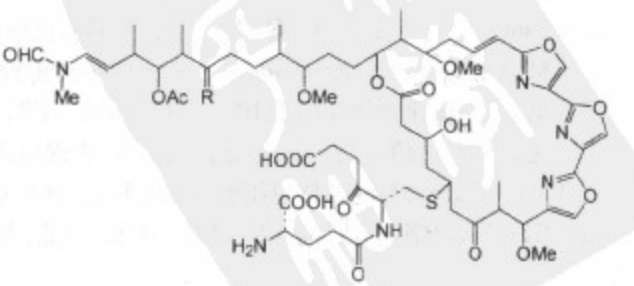
17 R=CH_2OH
18 R=Me

四、其他大环内酯类

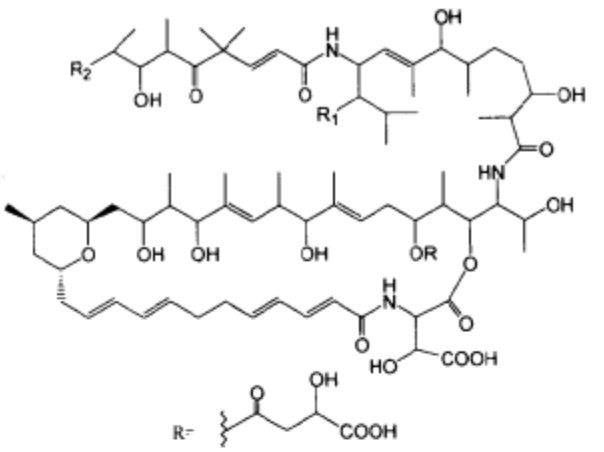
海洋中的大环内酯类化合物是活性最广的一类化合物，结构类型也复杂多样，除上述介绍的



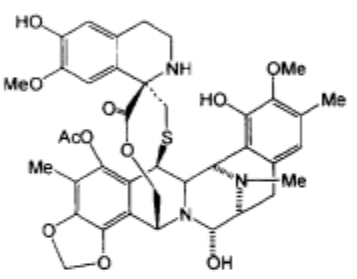
19 X=Cl,R_1=R_2=Ac
20 X=Br,R_1=R_2=Ac
21 X=H,R_1=R_2=H
22 X=Cl,R_1=Ac,R_2=H



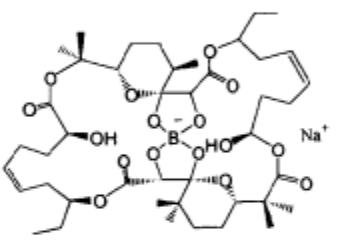
23 R=O
24 R=HOCOCH(OMe)CH_2OMe



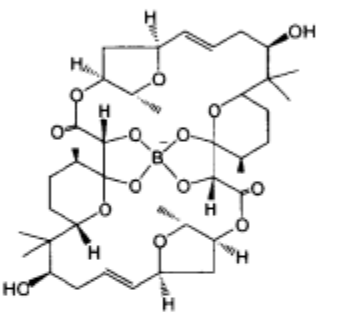
25 R_1=OH, R_2=$COOCH_3$
26 R_1=H, R_2=$COOCH_3$
27 R_1=H, R_2=H



28



29



30

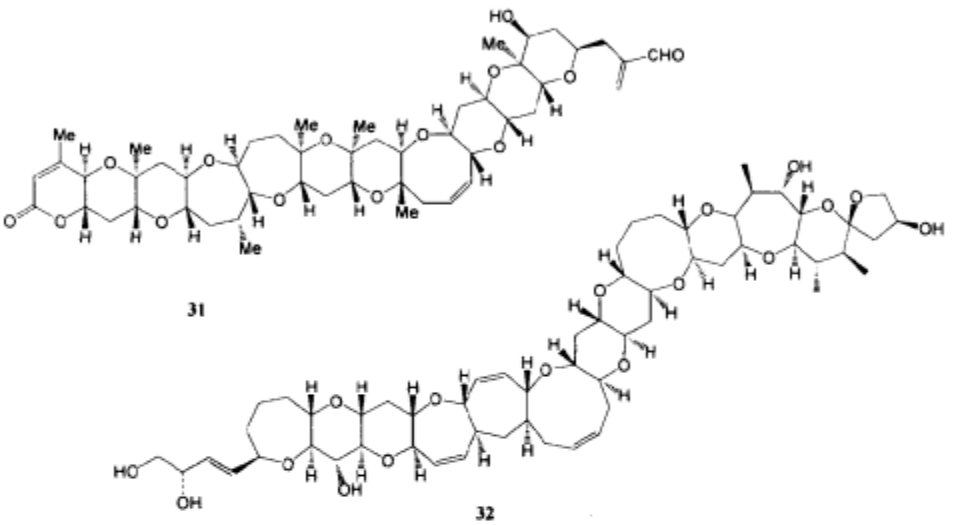
化合物外，在海洋天然药物中经常可以见到内酯环含有氢化吡喃螺环的化合物。如从海绵 *Hartio altum* 中分离得到的 altohyrtin A(19)、B(20)、C(21)，cinactryolide A(22)(从 *Cinachyra* 中分离)等。这类化合物细胞毒活性高，NCI 研究证明该类化合物抗瘤谱特殊，活性高，IC_{50} 在 0.03nM，是目前发现的细胞毒活性最高的一类[7]。thiomycalolide A(23)、B(24)则是含有噻唑环的一类内酯，从 *Ircinia* 属海绵中分离得到的 chondropsin A(25)、73-deoxychondropsin A(26)和 chondropsin C(27)则是新型内酯酰胺化合物，具有抗细胞增生和较强的细胞毒活性[8]。

从被囊动物海鞘 *Ecteinascidia turbineta* 中分离得到的 ecteinascidin 743(ET743)(28)，与一般烷化剂不同，该化合物作用于 DNA 双螺旋间的沟槽，与组成 DNA 的鸟嘌呤结合，使 DNA 构象发生变化，ET743 的第三个环又与蛋白质结合，表现出特殊的抗肿瘤作用机理。目前该化合物已进入Ⅱ期临床试验，对晚期软组织癌症如直肠癌、乳腺癌、肺癌、黑色素瘤、间皮癌等显示有好的疗效。ET743 能够阻止诱导产生 MDR1 基因，因此，与一般化疗药物比较不易产生多药耐药性[9,10]。

此外，从海洋微生物 *Nostoc linckia* 中分离到 borophycin(29)是含有硼原子的大环内酯化合物，对人 KB 细胞和 LoVo 肿瘤具有明显的抑制作用。类似的化合物如抗疟霉素(aplysmomycin 30)也是从海洋微生物灰色链球菌中分离得到的含有硼原子的化合物。

第三节 聚醚类化合物

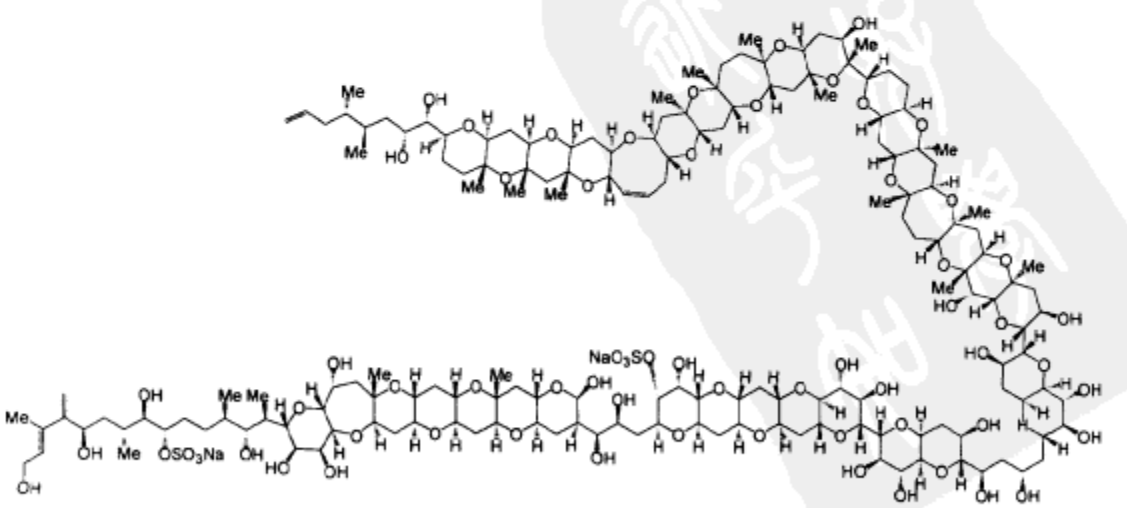
聚醚化合物是海洋生物中一类毒性成分，如形成赤潮的涡鞭毛藻 *Ptychodiscus brevis* 分离得到的毒性成分 brevetoxin B（31），沿海赤潮可以引起大量鱼类死亡。从一些泥鳗或其他海藻类（如 *Gambierdiscus tixicus*）分离到的西加毒素（cigatoxin）（32）等都属于聚醚类化合物[11]。



31

32

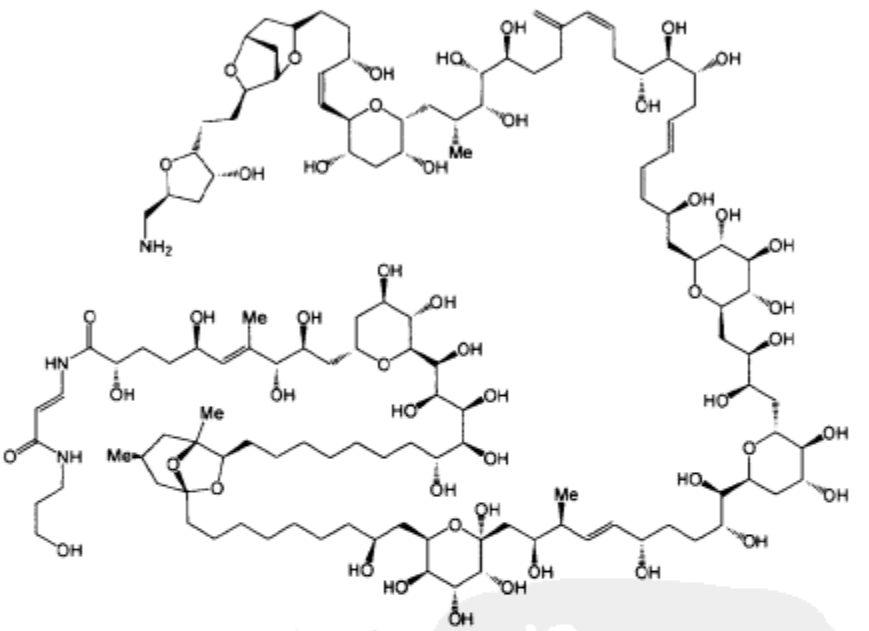
聚醚类化合物的特点是结构中含有多个以六元环为主的醚环，醚环间反式骈合，形成骈合后聚醚的同侧为顺式结构，氧原子相间排列，形成一个梯子状结构，又称“聚醚梯”（polyether lad-



33

der)，聚醚梯上有无规则取代的甲基等。这类化合物极性低，为脂溶性毒素。这些毒性成分能够兴奋钠通道，在16ng/ml浓度即显示毒鱼作用，被贝壳类食用，当人吃了这种贝类后，往往导致中毒。中毒类型往往是神经毒性或胃肠道反应，严重者危及生命。

从 *Gambierdiscus tixicus* 中分离得到的 maitotoxin(33)是目前分离得到的结构最大的聚醚类化合物，该化合物的结构通过3DNMR技术、化学降解、与已知合成小分子化合物比较并于1993年将结构确定下来[12]。该化合物被认为是目前发现的非蛋白质类毒性最大的化合物之一。

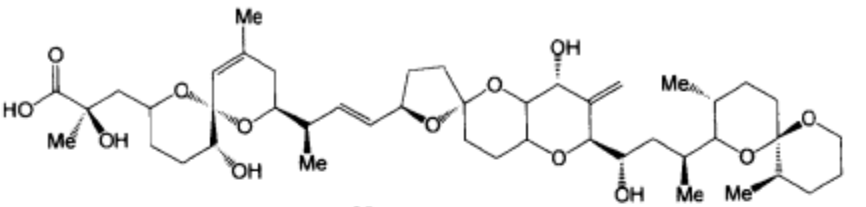


34

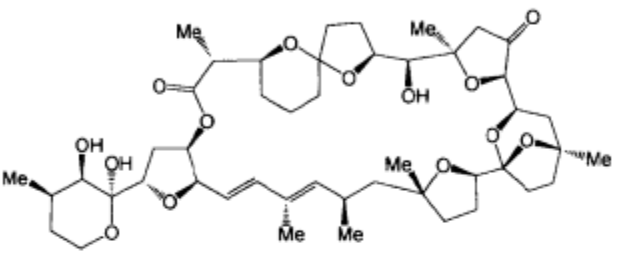
另一类聚醚化合物，同样含有高度氧化的碳链，但仅部分羟基形成醚环，多数羟基游离，与聚醚梯类化合物不同，该类聚醚属于水溶解性聚醚。如岩沙海葵(*Palythoa toxicus*)毒素类(palytoxin 34)，该化合物含有129个碳原子，64个手性中心。NMR信号利用^{1}H，^{13}C和^{15}N-NMR，对信号进行了完全归属[13]。

与聚醚梯相比，该类聚醚属于线型聚醚。岩沙葵毒素对兔 LD_{50} 为25ng/kg，可与Na/K泵结合，抑制ATP酶活性。再如大海软海绵酸(okadaik acid)(35)也属于线型聚醚，极性介于上述两者之间。

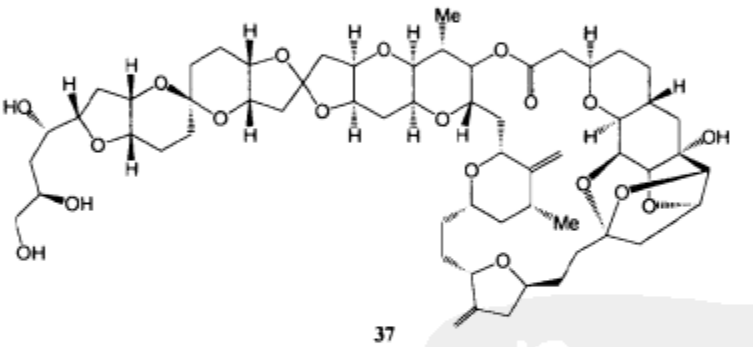
有的聚醚类化合物可以首尾相连，形成大环内酯，如扇贝毒素(pectenotoxin 2，PTX_2)(36)；有的聚醚局部形成大环，如从海绵(*Halichondrai okadai*)中分离得到的halichondrin B(37)、isohalichodrin B(38)，它们对B-16黑色瘤细胞的 IC_{50} 分别为0.093ng/ml左右、5.0μg/kg halichondrin B对接种了B-16黑色素瘤细胞和 P_{388} 小鼠的生命延长率(T/C)高达244%和236%[14]。



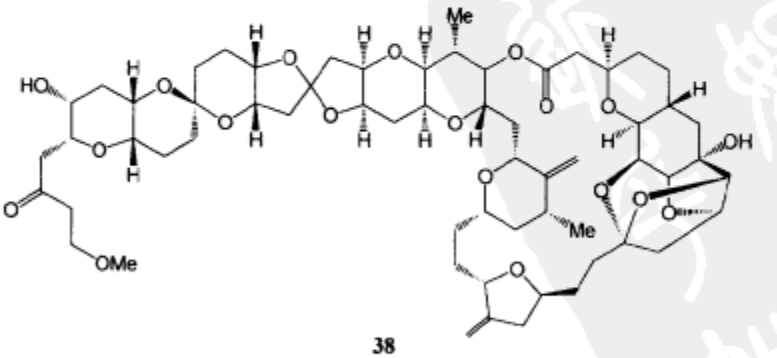
35



36



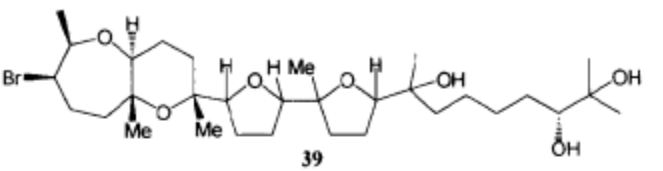
37



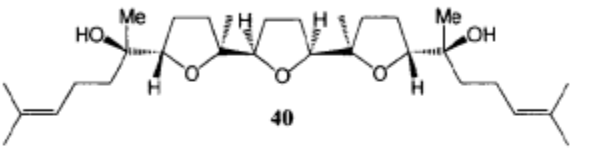
38

聚醚三萜为红藻和一些海绵中所含有的一类化合物，该类化合物氧化度高，与第七章三萜一样，其生源过程是由角鲨烯衍生而来。化合物 auniol（39），teuriene（40），intricatetraol（41）等化合物是从红藻（*Laurencia intricatea*）中分离得到的聚醚三萜，该类化合物表现出较强的细胞毒活性，对 Hela S_3 细胞 IC_{50} 为 4.3μg/ml。化合物 sipholenone B（42）、sipholenol（43）、sipholenone A（44）则是从海绵 *Siphonochalina siphonella* 中分离得到[15]。这类化合物具有抗

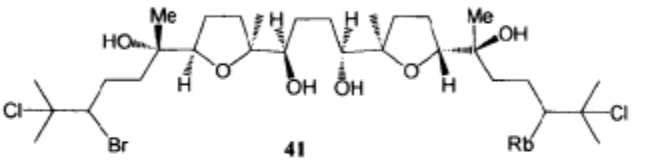
结核作用。



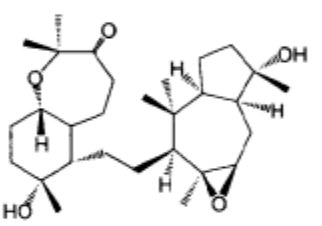
39



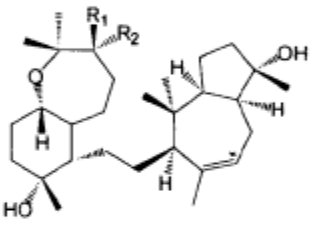
40



41



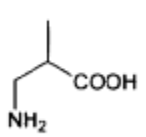
42



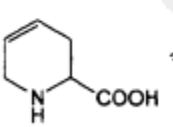
43 R_1=H, R_2=OH
44 R_1=R_2=O

第四节 肽类化合物

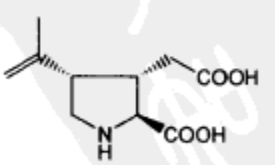
肽类化合物是另一大类海洋生物中所含有的生理活性物质，由于海洋特殊的环境，组成海洋多肽化合物的氨基酸除常见的氨基酸外，还有大量的特殊氨基酸，如 β-氨基异丁酸（45），L-baikiain（46），海人酸（α-kainic acid，47），软骨藻酸（domoic acid，48）等。有些氨基酸本身具有多种生理活性。



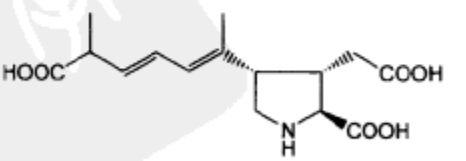
45



46

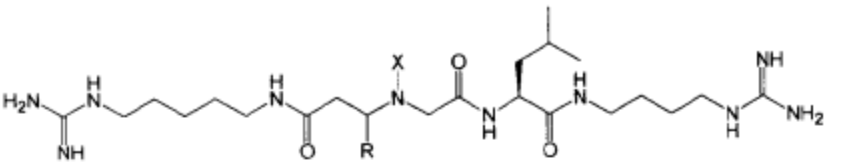


47



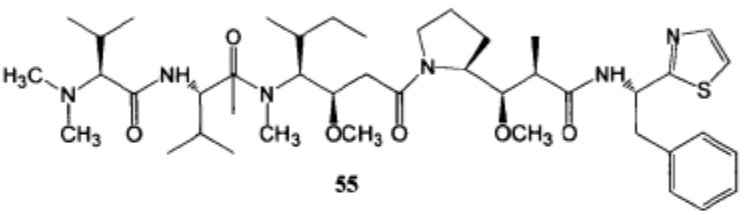
48

海洋肽类化合物常见的有直链肽、环肽等，如从被囊类生物 *Didemnum rodriguesi* 中分离到的 minalemines A ~ F（48 ~ 53）为含有胍基的肽，且有的肽含有磺酸基，具有高的水溶解性[16]。

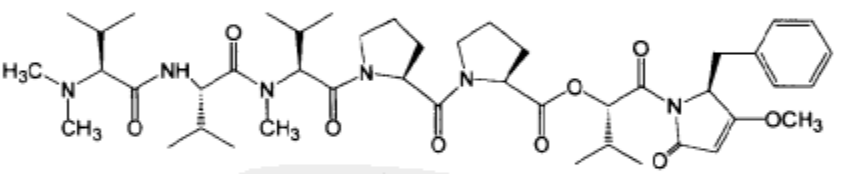


	X	R
49	H	C_7H_{15}
50	H	C_8H_{17}
51	H	C_9H_{19}
52	SO_3H	C_7H_{15}
53	SO_3H	C_8H_{17}
54	SO_3H	C_9H_{19}

dolastatin 10（55）、dolastatin 15（56）是从海兔（*Dolabella auricularia*）中分离到的直链肽。目前，dolastatin 10 已进入临床Ⅱ期研究，对 P388 白血病细胞的 IC_{50} 为 0.04ng/ml[17]。



55



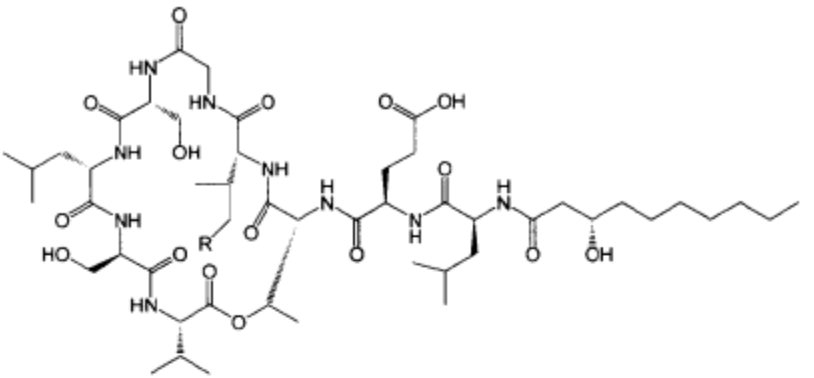
56

从 *Nostoc ellipsosporum* 微生物中分离得到的 cynanovirin（57）为一含 101 个氨基酸的蛋白质，对多种类型的 AIDS 病毒有抑制作用，目前已进入临床研究[18]。

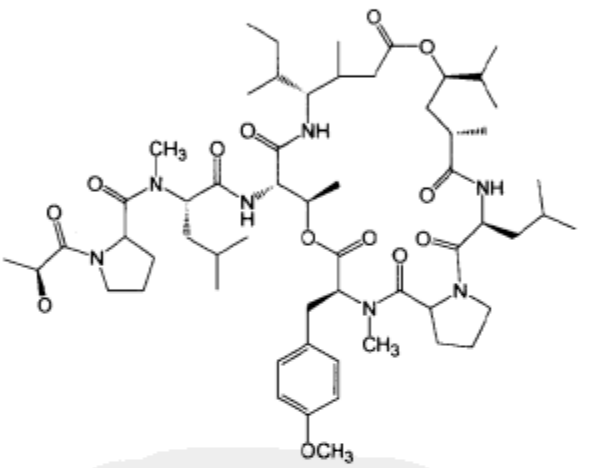
NH_2— L G K F S Q T C N
S A I Q G S V L S
T C E R T N G G N
T S S I D L N S I
E N V D G S L K Q
P S N F T E T C N
T Q L A G S S E A
A E C K T R A Q F
V S T K T N L D H
A N I D G T L Y E —COOH

57

massetolide A（58）和 viscosin（59）为从 *Pseudomoas* 属的海藻中分离得到的环肽化合物，具有较强的抗结核杆菌活性，MIC 分别在 5～10 和 10～20μg/ml[19]。didemnin B（59）是另一个进入临床研究的环肽化合物，从加拉比海藻 *Tridemnum solidum* 中分离得到[18]。

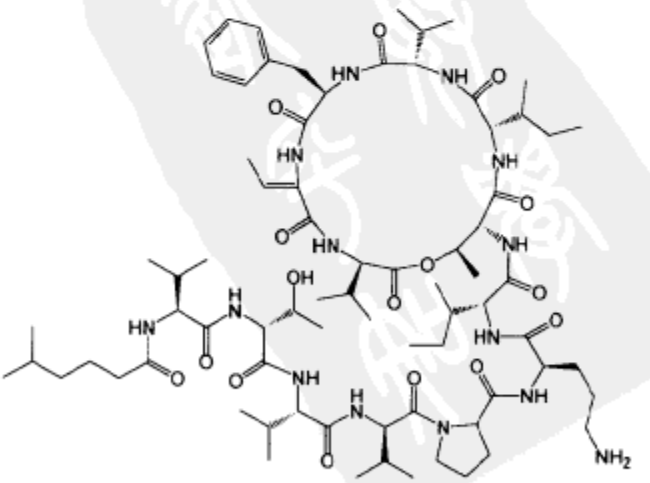


58 R=CH_3, **59** R=H

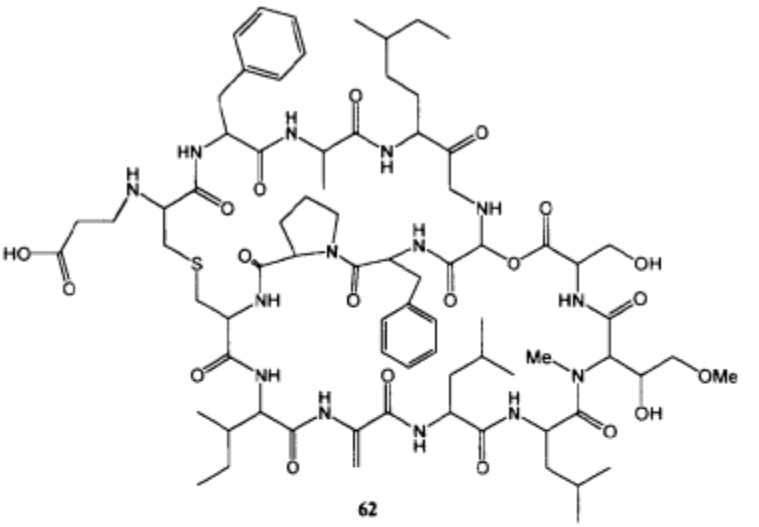


60

从软体动物 *Elysia rufescens* 中分离得到的环肽 kahalalide F（61）对结核杆菌具有较高的抑



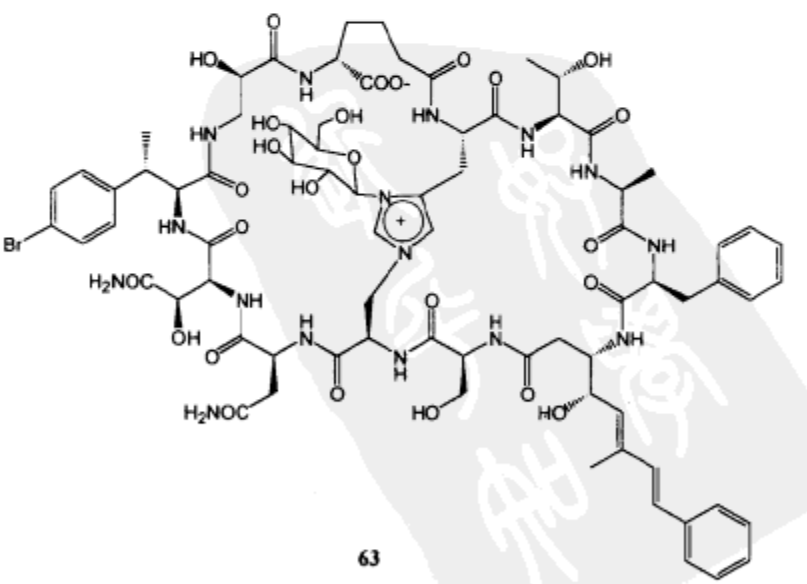
61



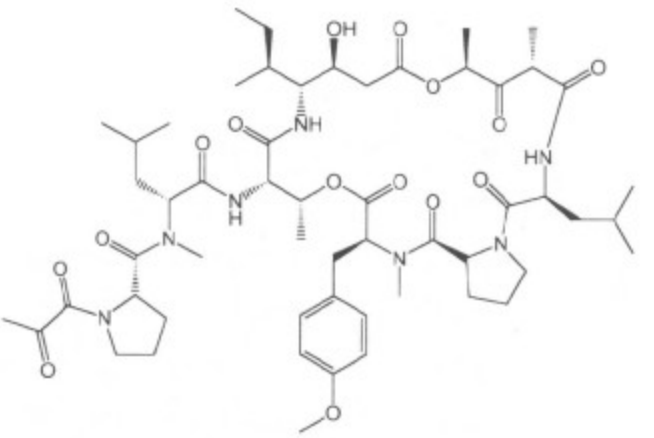
62

制活性。从海鞘 *Didemnum cuculiferum* 中分离得到的 vitilevuamide (62) 为双环肽，对多种肿瘤细胞具有强的杀伤作用，IC_{50} 为 6 ~ 111ng/ml，其作用机理是抑制细胞微管的聚合[20]。

化合物 theopalauamide (63) 则是从海绵 *Theonella swinhoei* 中分离得到的双环糖肽，该化合物从其寄生的微生物中亦分离得到[5]。从海鞘 (*Aplidium albicans*) 分离得到的 aplidine (64) 治疗多种肿瘤有效，目前已经进入临床研究Ⅱ期[21]。



63



64

随着对海洋中存在的肽类化合物的研究日益深入，一些结构新颖、活性广泛的新肽不断被发现。已经从海藻、海螺、腔肠动物、软体动物、被囊动物等海洋生物及其寄生在这些生物体中的微生物中发现肽类化合物。有分子量小的二肽、寡肽，也有分子量大的多肽、蛋白质，是活性化合物的重要来源，如芋螺毒素（conotoxins）作为一类具有神经药理活性的多肽，存在于芋螺属（*Conus*）这类软体动物中，此类毒素一般含有 7～41 各氨基酸，种类繁多，具有镇痛、神经保护、抗惊厥、镇咳等作用应用潜力巨大。目前已经进入Ⅲ期临床研究[22]。

第五节　C_{15} 乙酸原化合物

乙酸原化合物（acetogenin）系指从乙酸乙酯或乙酰辅酶 A 生物合成的一类化合物，陆生番荔枝科（annonaceae）等植物含有该类型化合物达 300 多个，主要是含有 32 或 34 个碳原子的 laccer-oic acid（64）或 ghedoic acid 的衍生物[23]。本节主要介绍从十六碳-4，7，10，13-四烯酸衍生而来的是五个碳原子的非萜类化合物。

65

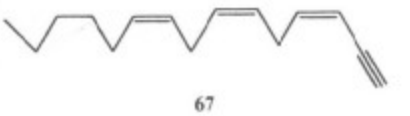
非萜类 C_{15} 乙酸原化合物主要发现存在于红藻 *Laurencia* 属中，从其生源合成过程可以看出该类化合物要么以直链型结构存在，要么则形成不同大小的环状化合物，结构相对简单，结构上往往含有氧原子或其他卤族原素取代。根据结构特点分为以下不同的结构类型：

一、直链化合物

无氧取代的 C_{15} 乙酸原化合物，如 laurencenyne（65）、neolaurencenyne（66）、trans-laurence-nyne（67）和 trans-neolaurencenyne（68），结构中含有三键。除此之外，直链化合物可以被氧化形成含有羟基或被卤族元素所取代。如化合物 68 和 69 相应的 6，7-二醇为双键被氧化的化合物

70 和 71。

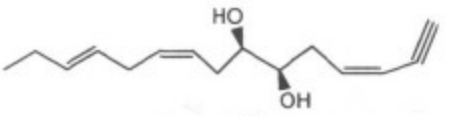
66



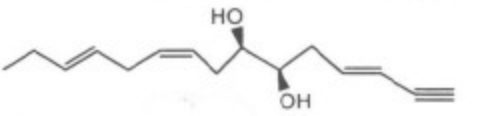
67

68

69



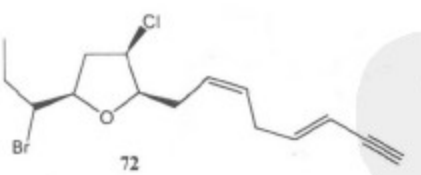
70



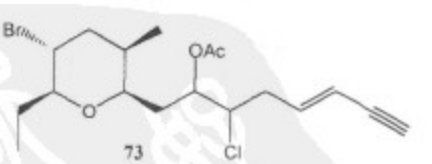
71

二、环氧化合物

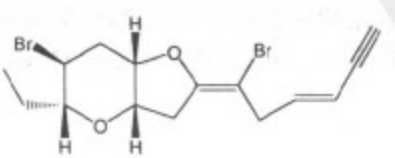
不同位置的双键被氧化后，可以形成不同大小的氧环，从三元氧环到十二元氧环不等。如化合物 bisezakyne A（72）、B（73）为含有五元氧杂环和六元氧杂环的 C_{15} 原化合物[24]。从 *Laurencia japonensis* 中分离得到的 Japonenyne-A（74）、B（75）、C（76）和 laurenenyne A（77），B（78）分别是含有五元与六元含氧环稠合的化合物，且在结构中多见含有 Br 原子取代[25]。



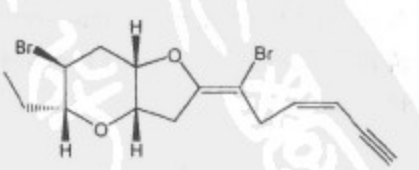
72



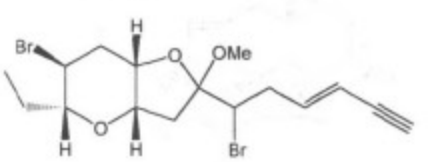
73



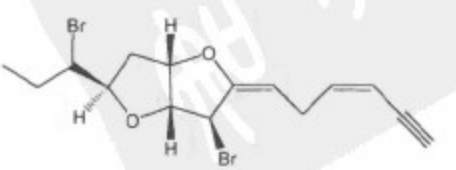
74



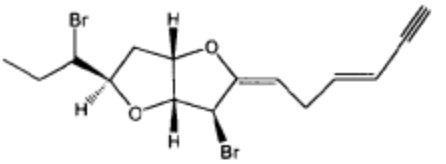
75



76

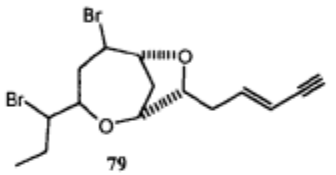


77

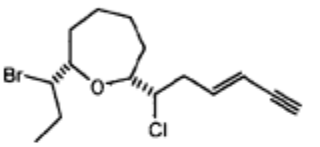


78

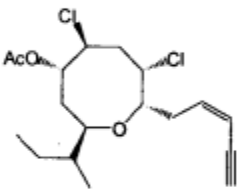
E-isoprelaurefucin（79）和 Z-isoprelaurefucin（80）为七元含氧化合物，laurencienyne B（81）、（+）-laurencin（82）为八元含氧化合物，（+）-obtusenyne（83）和 3*Z*-和 3*E*-obtusenyne（84）混合物为九元含氧化合物，分别从 *Laurencia* 不同种的红藻中分离得到[26]。



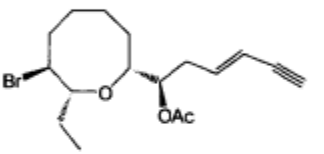
79



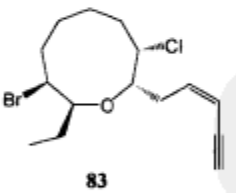
80



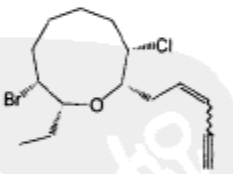
81



82

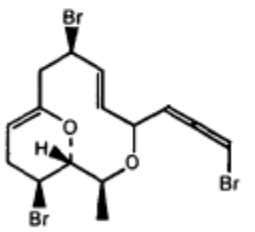


83

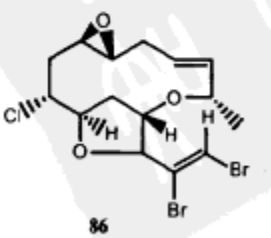


84

从 *L. obtuse* 中分离得到的 obtusallene Ⅰ（85）其结构中含有十二元氧环，同时还含有六元氧环桥和丙二烯结构。*L. poitei* 中分离得到的 poitediene（86）则是氧化度相对较高的二溴代化合物。



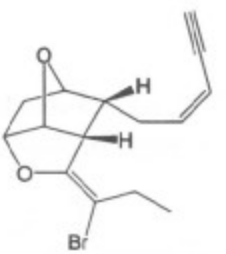
85



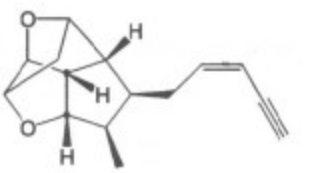
86

三、碳环化合物

马来西亚红藻中分离得到的 lembyne A（87）和 B（88）是分子中含有碳环的化合物，前者结构中含有一个六碳环，后者结构中则含有一个五碳环，且结构中均含有五元氧环[27]。



87



88

四、其它类似乙酸原化合物

从海洋生物中分离得到的有些化合物，在结构中含有类似的乙烯或乙炔结构，结构成直链或成环，无分支，这样的化合物生源途径与 C_{15} 乙酸原化合物相同。如从海绵（*Xestospongia muta*）中分离得到的炔酸（89），是一个十六碳溴代不饱和酸，从海绵（*Xestospongia naria*）中分离到的溴代二炔酸（90）即属于 C_{15} 乙酸原类似化合物。

89

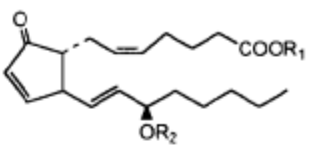
90

综上所述，目前发现的绝大多数 C_{15} 乙酸原非萜类化合物有共轭的烯炔或丙二烯侧链，有一个溴取代，常常有氯原子取代，虽然结构并不复杂，但由于含有手性中心较多，双键又存在顺反异构，结构确定工作不很容易，有些情况下采取 X-射线衍射法。

第六节 前列腺素类似物

前列腺素（prostaglandin）是一类具有重要生理活性的化合物，由于合成获得大量前列腺素化合物比较困难。1969 年 Weinheimer 等人由海洋腔肠动物佛罗里达珊瑚（*Plexaura homommalla*）体内，首次分离得到前列腺类似物（15R）-PGA_2（91）及其衍生物（92）。这一发现，引起人们从海

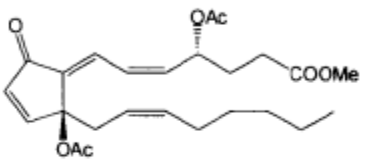
洋生物中寻找前列腺素的兴趣。陆续从海洋生物中分离得到了多种前列腺素类似物。



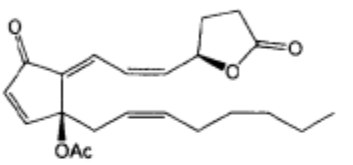
91 $R_1=R_2=H$

92 $R_1=CH_3$ $R_2=Ac$

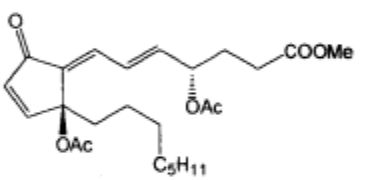
从日本珊瑚 *Clavularia viridis* 中分离得到的前列腺素类似物有：17,18-dehydroclavulone Ⅰ(93)、clavulactone Ⅰ(94)、4-epiclavulones Ⅱ(95)、Ⅲ(96)。从海鞘中分离到 clavirins Ⅰ(97)、Ⅱ(98)[27]。



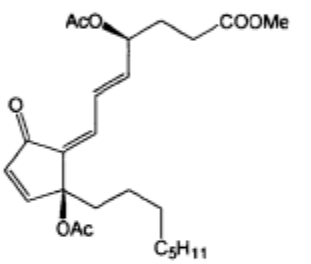
93



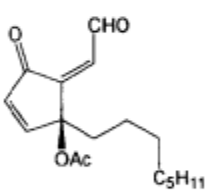
94



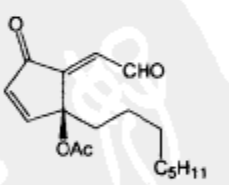
95



96

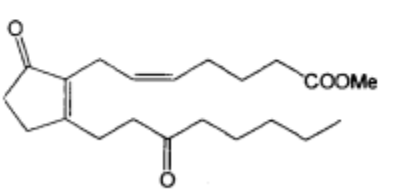


97

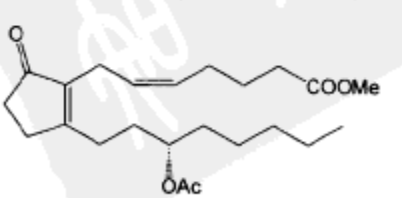


98

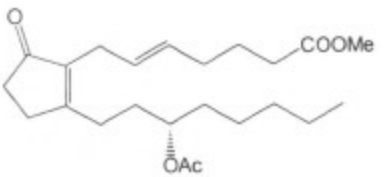
从印度 *Sarcophylon crassocaule* 分离得到15-含酮基的前列腺素(99)，从 *Plexaura nina* 中分离得到(5*Z*,15S)-15-acetylprostaglandin B_2 methyl ester (100)、(5*E*,15S)-15-acetylprosta- glandin B_2 methyl ester (101)及(5*Z*,13*Z*)-9-oxoprosta-5,10,13-trienoic acid methyl ester (102)等。



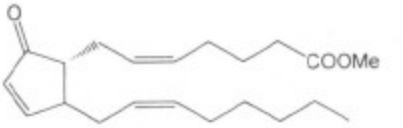
99



100



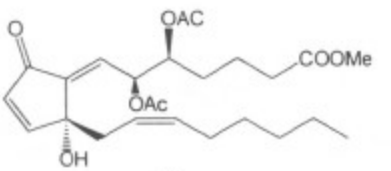
101



102

此外，用 HPLC 法测定，研究了光照及季节变化对红藻 *Gracilaria verrucosa* 中含有 PGA_2，PGE_2，PGF_2 和 15-keto-PGE_2 等前列腺物质的影响[28]。最近又从软珊瑚 *Clavularia viridis* 中还分离到含有氯原子的前列腺素化合物[29]。

从海洋生物中分离得到的前列腺素类化合物，除表现前列腺素样活性外，还表现出一定的抗肿瘤活性，特别是一些含有卤族元素取代的化合物[30]，如从八放珊瑚（*Telesto riisei*）中分离到的 punaglandin（103）作为抗肿瘤药临床实验有效。



103

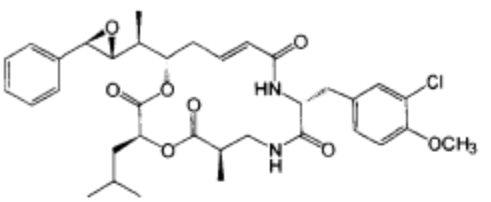
第七节　海洋天然产物研究实例

由于海洋天然产物结构的复杂与多样性，从海洋生物中分离得到的化合物具有广泛的生理活性。对海洋天然产物的研究主要集中在：一是新结构的发现，从新的海洋生物或从已知的海洋生物中分离微量成分发现新结构；其次是活性化合物的研究与开发，对发现的活性化合物进行结构修饰或化学合成，克服天然资源来源少的困难；第三是海洋生物工程，利用分离自海洋中有价值的生物基因，以可以产业化的海生生物或陆生微生物、植物进行表达，以期大量获得高质价廉的目标化合物。下面主要介绍海洋药物研究。

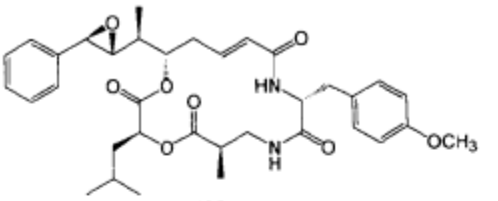
一、海洋活性化合物的研究

1. 海洋抗肿瘤物质　对海洋生物活性物质的研究特别是海洋抗肿瘤物质的研究，主要集中在海鞘（*tunicate*）、海绵（*sponge*）、海兔（*sea hare*）、软珊瑚（*soft coral*）等海洋生物的研究方面，化合物类型主要是大环内酯、聚醚和海洋多肽等。表 10-1 列出了海洋生物中得到的抗肿瘤化合物及其作用机理。

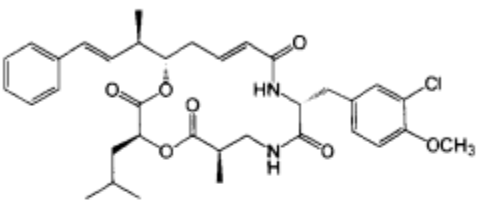
除前面所给出结构的化合物外，aplidine（64）为肽类化合物，crptophycins 为内酯酰胺，已发现的化合物有 cryptophycin 1（104）、2（105）、3（106）、4（107），discodermolide（108）则为含有一六元内酯环的化合物，该化合物具有免疫抑制活性。eleutherobin（109）则为萜类生物碱。



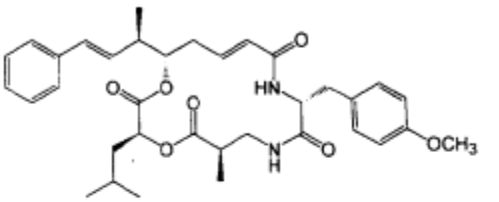
104



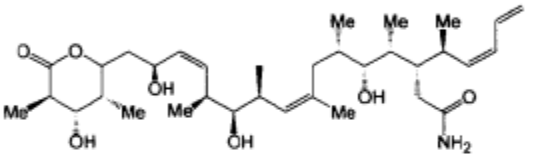
105



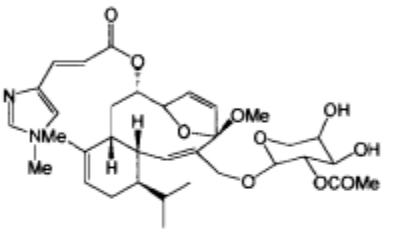
106



107



108



109

表 10-1 临床研究抗肿瘤海洋药物[31,32]

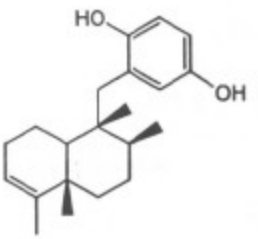
化合物	临床目的	作用机理	临床研究进展
Citarabin（海绵）	白血病、淋巴肿瘤	抑制 DNA 合成	临床
Bryostatin 1（苔藓虫）	临床试验	PKC 激活	临床Ⅰ/Ⅱ期
Dolastatin 10（海兔）	临床试验	微管抑制、促进凋亡	临床Ⅱ期
Ecteinascidin 743(海鞘)	临床试验	DNA 烷基化	临床Ⅱ期
Aplidine（海鞘）	临床试验	抑制细胞分裂，蛋白质合成抑制	临床Ⅰ/Ⅱ期
Halicongdrin B（海绵）	临床试验	作用于微管，抗有丝分裂	临床前
Discodermolide（海绵）	试验中	稳定微管	临床前
Cryptophycin(蓝绿藻)	试验中	Bcl-2 高磷酸化	临床前
Eleutherobin（软珊瑚）	试验中	抗有丝分裂	临床前

2. 神经作用物质　神经系统作用物质研究，主要为海洋毒素，如海兔毒素、石房蛤毒素（STX）、河豚毒素（TTX）、海参毒素、芋螺毒素等，作用于离子通道，对神经系统起作用。

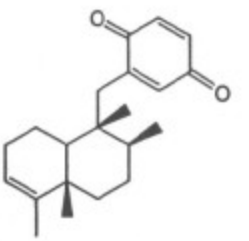
3. 心血管作用物质　从 *Anisodoris nobilis* 中分离得到的 doridosine 属于核苷类药物，可以减慢心律、减弱心肌收缩力、舒张冠脉血管，具有持续降压作用。岩沙海葵毒素（PTX）、类水母毒素等具有降压、抗心律失常等作用。一些硫酸多糖如藻酸双酯钠等在降血脂、改善心脑供血方面具

有作用。

4. 抗 AIDS 海洋药物　从海绵(*Dysidea avara*)中分离得到的 avarol (110)和 avarone (111)为海洋萜类化合物,具有抑制 HIV 逆转录酶活性,且对病毒的装配和释放也有阻断作用。海藻硫酸多糖能够干扰 HIV 病毒吸附和渗入细胞,阻断病毒与靶细胞的结合,并可以与病毒结合形成无感染力的多糖病毒复合物。



110



111

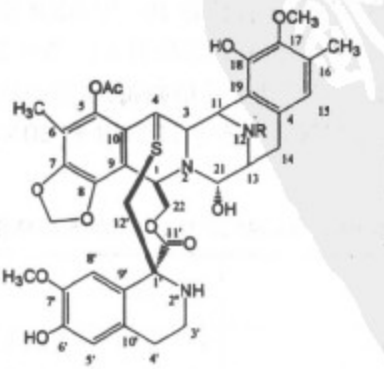
其它还有免疫抑制[33]、抗结核[19]等作用物质从海洋微生物中分离得到。

二、分离实例

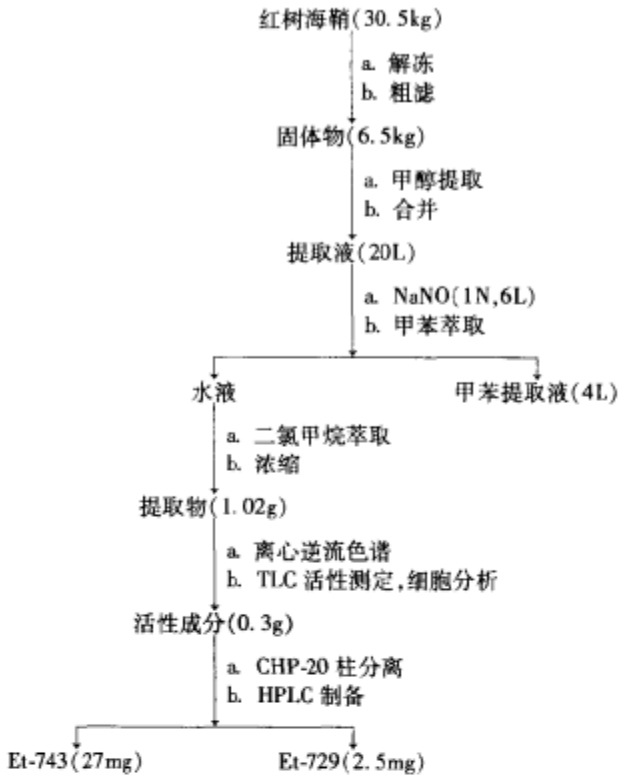
(一) 从红树海鞘(Ecteinascidia turbinata)中分离抗肿瘤物质 *Ecteinascidin743* (Et-743)[34]

1972 年,美国伊利诺斯大学实验室发现加拉比海红树海鞘(*Ecteinascidia turbinata*)提取物含有抗肿瘤活性物质,随后开展了对抗肿瘤活性成分的分离和结构鉴定工作,1990 年发现 Et-743,该化合物为大环内酯生物碱,利用 NMR 及 X-射线衍射法确定化合物结构,1996 年实现化合物的全合成。目前,该化合物已进入Ⅱ期临床试验。

1. Et-743 的提取与分离　有关 Et-743 分离的方法包括专利方法较多,其分离过程大体如下:



28 Et 743 R=CH_3
112 Et 729 R=H



说明：新鲜采集红树海鞘的样品(30.5kg)，在采集地速冻，解冻后，粉碎、过滤，固体物用甲苯萃取脱脂，水溶液二氯甲烷萃取，浓缩回收二氯甲烷，活性跟踪进行柱层析分离，HPLC 纯化得到 Et-743(27mg)，Et-729(2.5mg)

2. 结构确定　有关 Et-743 的结构确定过程主要依靠现代波谱技术取定，详细的推导过程这里不再赘述，这里仅给出主要的质谱裂解特征和^{1}H-、^{13}C-NMR 数据归属。

质谱：FAB MS/MS 测定，高分辨质谱测定结果 M－1＝760.2522。对于 Et-743 的结构确定至关重要，MS/MS 质谱的信号可以方便质谱碎片的归属，质谱碎片的形成情况见图 10-1。

NMR 信号归属：NMR 的信号归属通过测定 1DNMR 和 2DNMR 结果确定。信号归属情况见表 10-2。

表 10-2　Et-743 的^{1}H-、^{13}C-NMR 信号归属

No	C	H	No	C	H
1	56.3, d	4.78, br s	1′	65.3,s	
3	58.8, d	3.72*	3′	40.3,t	3.13,dt(4.0,11.0)
4	42.7, d	4.58,br s			2.77,ddd(3.5,5.5,11.0)
5	142.2, s		4′	28.6,t	2.60,ddd(5.5,10.5,16.0)
6	113.9, s				2.42,ddd(3.5,3.5,16.0)
7	146.5, s*		5′	115.6,d	

续表

No	C	H	No	C	H
8	141.9, s		6′	146.4, s*	
9	116.0, s		7′	146.4, s*	
10	122.0. s		8′	111.3, d	6.42, br s
11	55.6, d	4.40, br d(3.5)	9′	125.4, s	
13	54.0, d	3.52, br s	10′	128.8, s	
14	24.5, t	2.91, 2H, br d(4.5)	11′	173.1, s	
15	120.9. d	6.55, s	12′	43.1, t	3.38, br d(15.5)
16	131.2, s				2.05*
17	145.1, s		13′		
18	149.8, s		14′		
19	119.2, s		5OAc(C=O)	169.8, s	
20	131.5, s		(CH_3)	20.5, q	2.29, s
21	92.1, d	4.26, d(3.0)	6 CH_3	9.9, q	2.01, s
22	61.2, t	5.14, d(11.0)	16 CH_3	16.1, q	2.28, s
		4.09, dd(11.0, 2.0)	17 OCH_3	60.2, q	3.72, s
OCH_2O	103.1, t	6.07, d(1.0)	7′ OCH_3	55.7, q	3.58, s
		5.98, d(1.0)	12 NCH_3	41.1, q	2.23, s

注：根据 COSY 和去偶合谱归属氢信号，碳谱的归属根据 APT、DEPT 的归属。测定溶剂为 CD_3OD: $CDCl_3$(3:1)。* 信号与甲基信号重叠，* 信号可以互换；( ) 中的数据为耦合常数。

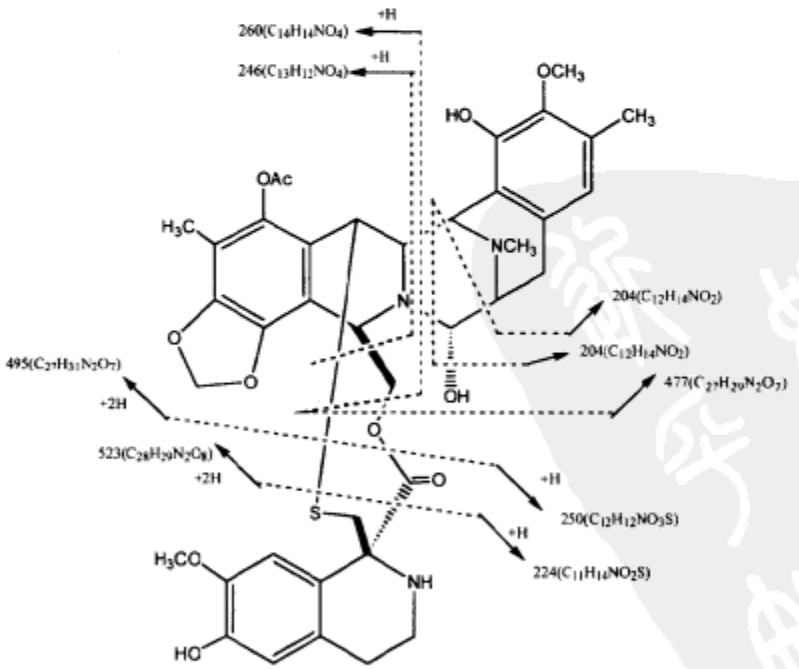


图 10-1 Et-743 的质谱信号对应的质谱裂解过程

HMBC 信号归属：Et-743 的 HMBC 谱可以归属 H 与 C 间的相互关系，确定化合物中 C 的连接关系，对进一步确定骨架结构非常重要。H 与 C 间的相关性见图 10-2。

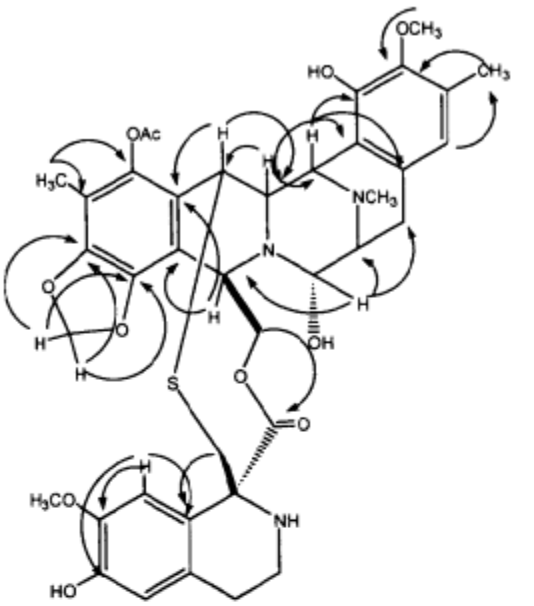


图 10-2 HMBC 确定的 Et-743 结构中 H 与 C 间的相关

3. 生物合成 Et-743 的生物合成过程符合氨基酸途径，其可能过程如图 10-3[35]。

4. 抗肿瘤试验 体外抑瘤试验见表 10-3，体内抑瘤实验见表 10-4。Et-743 抗肿瘤作用机理是抑制 DNA 和 RNA 的合成；对 DNA 双螺旋中 Guanine N2 选择性烷基化，抑制 RNA 聚合酶活性，对 DNA 聚合酶活性影响较小。目前临床应用：2mg/日，静脉注射给药。

表 10-3 Et-743 体外抑瘤试验结果

肿瘤类型	IC_{50}	肿瘤类型	IC_{50}
Colon（直肠癌）	<1pM	SCL（小细胞肺癌）	23pM
CNS（中枢神经瘤）	<1pM	Breast（乳腺癌）	<100pM
Melanoma（黑色素瘤）	<1pM	Ovarian（卵巢癌）	2,020pM
Renal（肾癌）	<1pM	Prostate（前列腺癌）	3,430pM
NSCL（非小细胞肺癌）	4pM	Leukemia(白血病)	>10,000pM

表 10-4 Et-743 体内抑瘤试验结果

动物模型	肿瘤类型	活性	T/C%	无肿瘤(天)
MX-1	乳腺癌	9/10 CR	<1	9/10(23)→4/10(58)
MEXF989	黑色素瘤	6/6 CR	0.2	6/6(35)
LXFL529	非小细胞肺癌	3/4 CR	0.1	3/7(33)
HOC22	卵巢癌	5/6 CR	<1	5/6(120)
MRIH121	肾癌	5/5 PR	30	-/5(39)
PC2	前列腺癌	5/5 PR	44	-/5(20)

Et-743 对不同肿瘤细胞具有一定的选择性，图 10-4 列出了 Et-743 对不同肿瘤细胞的抑制作用。

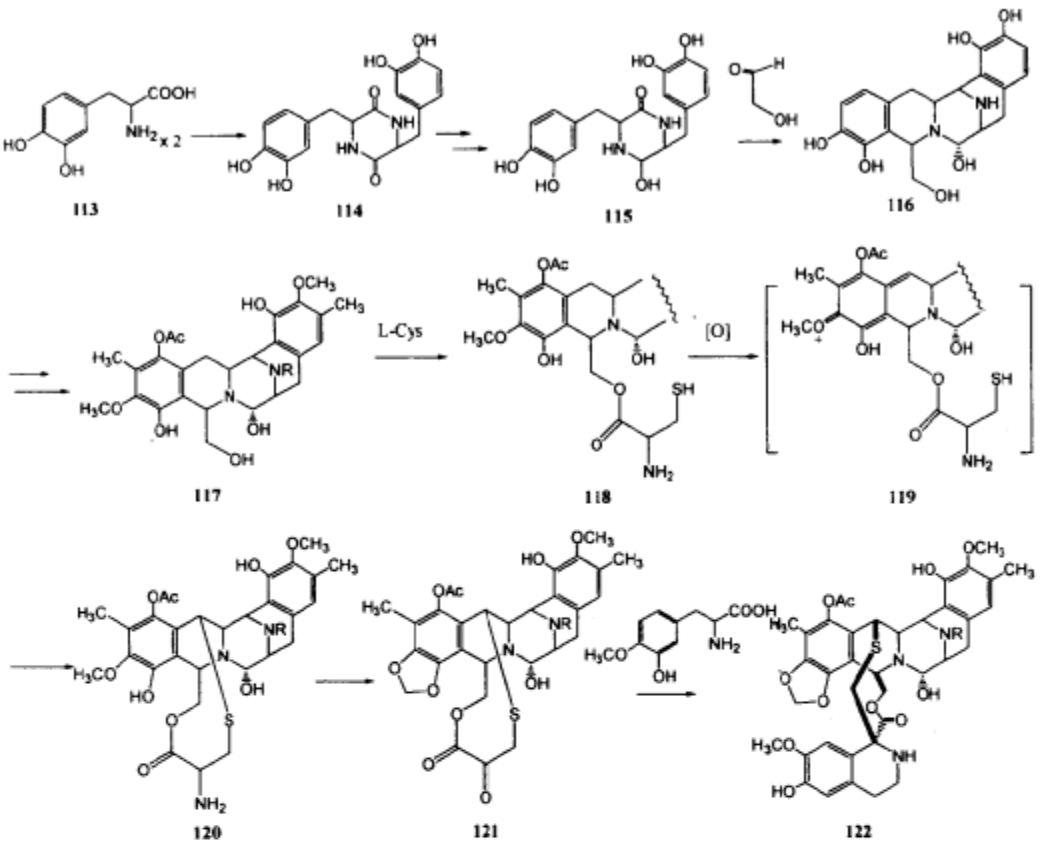


图 10-3 Et-743 生物合成过程

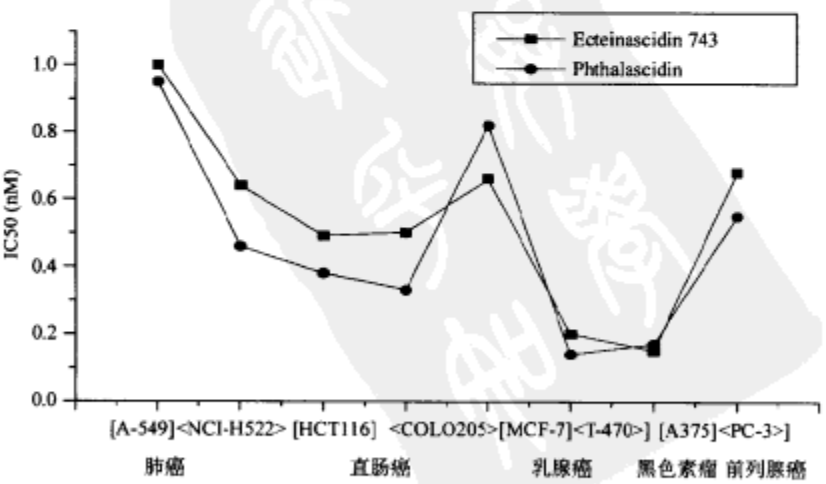


图 10-4 Et-743 对不同肿瘤细胞的杀伤作用
（以 Et-743 衍生物 Phthalascidin 为对照）

5. 构效关系　通过研究 Et-743 及其衍生物与抗肿瘤活性的关系，发现结构中的关键基团对抗肿瘤的作用至关重要，如 $C_{1,4}$ 位的含硫的桥环打开不影响抗肿瘤作用，但 C_4 位的内酯、酰胺结构对抗肿瘤作用非常关键。此外 C_{14} 位的取代基 OH 或 CN 被置换，抗肿瘤作用明显下降；C_{18} 位置的 OH、C_5 位的乙酰基、$C_{7,8}$ 位的次甲二氧基对发挥抗肿瘤作用都是必须的。以 Et-743 的衍生物 phthalascidin 为例，构效关系说明如图 10-5：

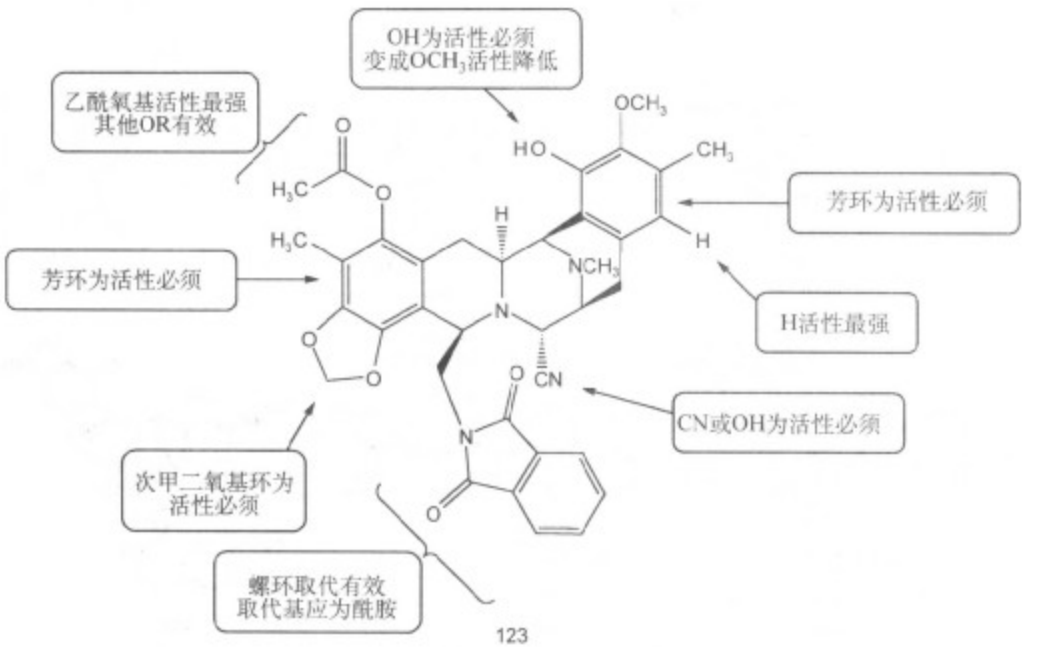
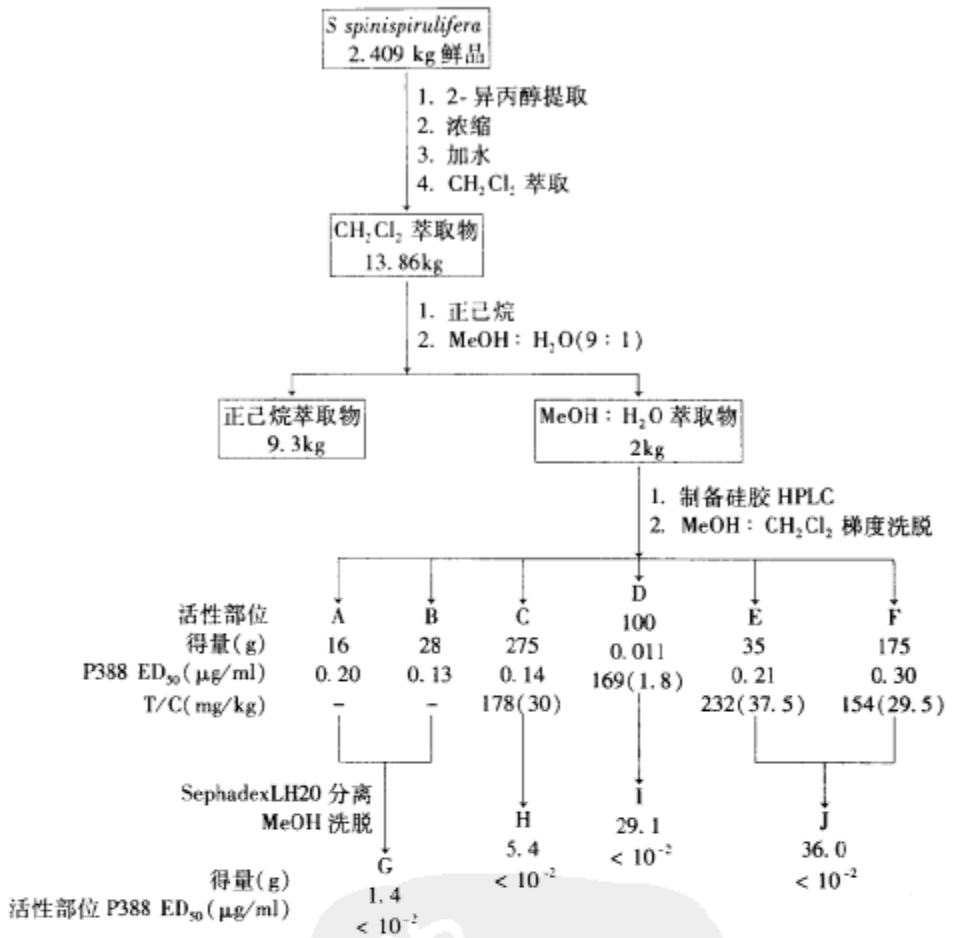


图 10-5　Et-743 衍生物 Phthalascidin（123）的构效关系

5. 化学全合成　有关化学合成 Et-743 的报道较多，这里介绍 Corey 实验室采用的合成路线[36]。由于考虑到合成不是本教材所涉及的主要内容，有关合成过程可以参考文献记述[37]。

三、抗肿瘤多肽化合物海绵毒素 Spongistatins 的分离

Spongistatins（124 ~ 128）是从海绵（*Spirastralla spinispirulifera*）中分离的大环内酯类化合物，对多种肿瘤细胞有抑制作用，对肿瘤多药耐药细胞亦有较强的抑制活性，对真菌亦有较强的抑制作用。目前发现该类化合物达 9 种。这里简要介绍其在活性追踪条件下的提取分离方法，分离流程如下：



按照上述分离流程获得的活性部位，进一步分离纯化，可以得到相应的单体化合物。对活性部位 G，硅胶分离，正己烷与丙酮混合溶剂梯度洗脱，得到的组分活性检测，活性高的部位利用制备 HPLC 纯化可以得到化合物 124～126，同样的方法，利用硅胶色谱、Sephadex LH-20 色谱、Rp-18 HPLC 制备分离组分 I 得到活性成分 127～128，化合物的结构确定工作往往采用多维核磁共振技术来实现。以 127 为例，将其核磁共振谱列于表 10-5。

表 10-5 Spongistatin 5(127)的 NMR 信号归属

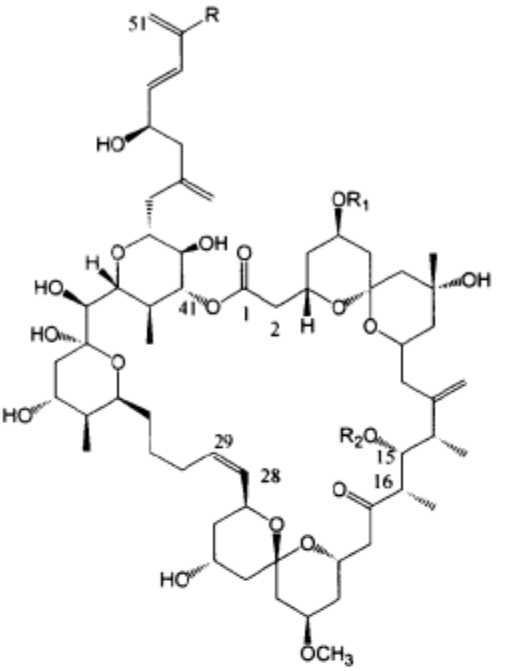
(测定溶剂为 CD_3OD，括号内数字为耦合常数)

^{13}CNMR(100MHz)		^{1}HNMR 400 MHz	HMBC (500MHz, C to H)
1	173.80		H-2, H-41
2	40.15	2.70*, 2.70*	
3	63.28	4.56 m	H-2, H-4
4	37.92	1.78*, 1.63*	H-6
5	65.54	4.07 br. s	H-6
6	40.62	1.86*, 1.74*	H-8

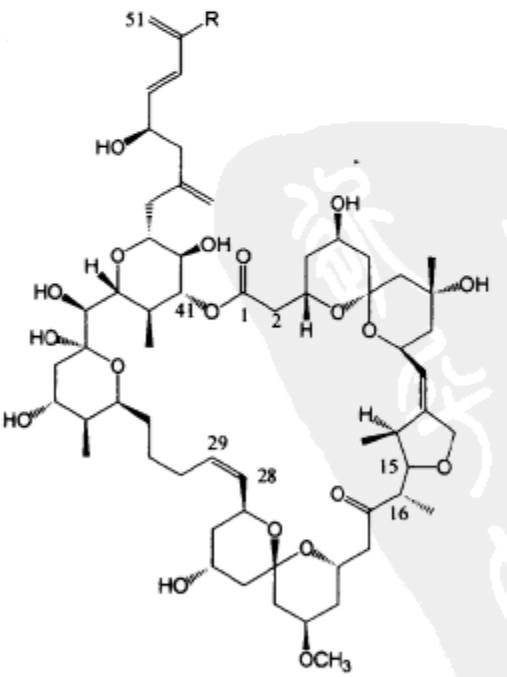
续表

^{13}CNMR(100MHz)		^{1}HNMR 400 MHz	HMBC (500MHz, C to H)
7	101.49		H-8, H-5, H-6
8	45.99	1.74*, 1.58*	H-9a, H-10
9	69.46		H-9a, H-8
9a	30.05	1.14 *s*	H-10
10	45.01	1.57*, 1.48 dd(11, 12)	H-9a, H-8
11	67.23	5.28 brdd (9, 11)	H-10
12	120.13	5.24 brd (11)	H-13a, H-10
13	148.64		H-14a, H-13a
13a	70.72	4.47 brd (13)	H-12, H-14
		4.09 brd (13)	
14	37.82	3.29 brm	H-14a, H-12, H-16
14a	15.09	1.01 d (6.7)	H-15
15	84.46	3.92 dd (3.7, 10)	H-16a, H-14a, H-13a, H-16
16	47.03	2.86 dq (7, 11)	H-16a
16a	14.56	1.14 d (7.0)	H-16
17	213.24		H-16a, H-18, H-15
18	50.99	2.95 dd (10, 19)	
		2.82 brd (19)	
19	66.79	4.14 brt (11)	H-18, H-20
20	38.06	2.07*, 1.03*	H-22
21	74.60	3.58 m	H-20, H-OMe, H-22
22	44.14	2.05*, 1.18 ddd (12, 12, 12)	
23	100.17		H-22, H-24
24	34.77	2.40 brd (14), 1.63*	H-22
25	65.12	4.02 brs	H-24
26	39.14	1.62*, 1.62*	H-24
27	61.91	5.04 ddd (5, 9, 10)	H-29
28	131.26	5.38 dd (10, 11)	H-30
29	134.05	5.47 dt (7, 11)	H-30
30	28.30	2.13*, 2.13*	H-29
31	27.42	1.65*, 1.25*	H-30
32	33.21	1.46*, 1.30*	H-30
33	67.99	4.21 brd (9)	H34a, H-35
34	39.57	1.62*	H-34a, H-36
34a	11.49	0.90 d (7.1)	H-34, H-33
35	72.03	3.75*	H-34a, H-36, H-34
36	34.26	2.00*, 1.63*	H-38
37	99.40		H-38, H-36, H-35
38	73.32	3.38 brs	
39	81.76	3.76*	H-40a, H-40
40	37.60	2.02*	H-40a, H-41
40a	13.00	0.85 d (6.7)	H-41, H-40
41	80.72	4.88 dd (9, 11)	H-40a, H-42, H-39, H-40
42	73.81	3.18 t (9)	H-41, H-44
43	79.69	3.44 brt (11)	H-42, H-39, H-44
44	40.49	2.80*, 2.19*	H-45a, H-46, H-42
45	143.83		H-44, H-46, H-47, H-45a, H-43
45a	116.34	4.97 brs, 4.95 brs	H-44, H-46
46	44.34	2.34 brdd(7.3,14)	H-45a, H-44, H-47
		2.25 brdd(6.1, 14)	
47	71.03	4.38 ddd(6.5, 6.5, 6.5)	H-46, H-48, H-49
48	138.77	6.13 brdd(6, 15)	H-46, H-47
49	127.87	6.41 BRD(15)	H-51, H-47
50	139.61		H-48, H-49, H-51
51	116.16	5.42 brs	H-49
		5.33 brs	
OMe	55.87	3.31 s	H-21

*耦合常数因信号重叠而无法测定



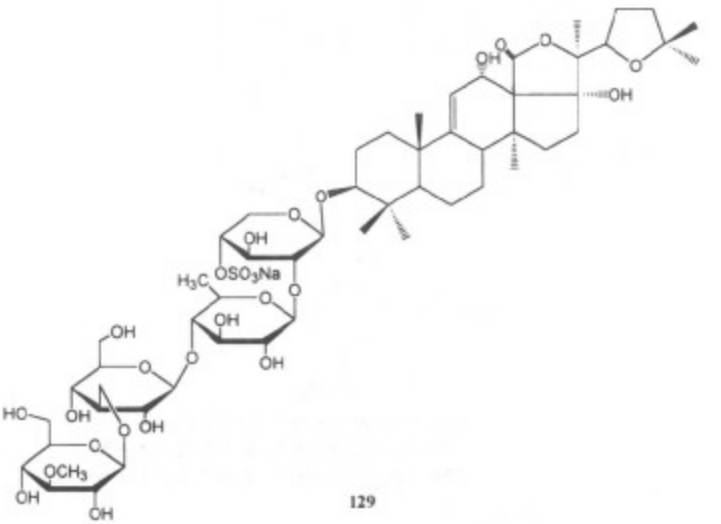
124 Spongistatin 1 R=Cl, R_1=R_2=Ac
125 Spongistatin 2 R=H, R_1=R_2=Ac
126 Spongistatin 3 R=Cl, R_1=H, R_2=Ac



127 Spongistatin 5 R=Cl
128 Spongistatin 7 R=H

四、海参皂苷的分离[37]

海参皂苷 A(holothurin A, 129)是分布最广的一种从海洋中分离的皂苷,存在于 *Holothurin* 及 *Actinopyga* 两属所有的 26 种海参中。具有较强的溶血活性,其破坏红血球的主要机制是海参皂苷为阴离子表面活性剂,其分离工艺如下:

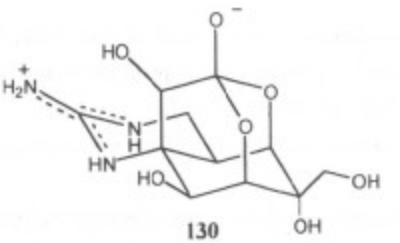


129

首先将新鲜海参体壁用丙酮浸泡，除去色素的同时，磨碎，过滤，所得到的干粉用苯和甲醇提取除去色素和脂质，在用70%的乙醇提取，所得提取物(3.94g)悬浮于50ml水中，反相大孔树脂(Amberlite XAD-2)柱分离，先用水洗脱无机盐，再用含水的醇洗脱得到粗总皂苷，取228mg总皂苷用硅胶H柱色谱分离，$CHCl_3$:MeOH:H_2O混合溶剂洗脱，分离得到海参皂苷A167mg。

五、河豚毒素的分离

河豚毒素(tetrodotoxin 129)为含有胍基的化合物，在河豚的卵巢和肝脏中含有的河豚毒素往往导致中毒。由于其结构的特殊性，该化合物不溶解于水及有机溶剂，仅能溶解在稀醋酸和稀矿酸中，分离提取过程如下：



130

将新鲜的河豚卵巢对半切开，取100kg加去离子水100L浸泡，不断搅拌，放置两天，用纱布过滤上清液，如此反复三次得200L滤液，分批(10L)加热煮沸，放冷后析出大量蛋白质沉淀，减压过滤得到淡黄色透明溶液，通过8L的Amberlite IRC-50(胺型)离子交换树脂，流出液用小鼠检测有无毒性，直到洗脱液出现毒性为止，约可以吸附200L滤液，水洗后用13L10%乙酸洗脱，再用10L水洗，最初3L无毒，弃去，其次10L毒性最强，用氨水调节PH至8~9，加200g活性炭，时时搅拌混匀，2小时后过滤，活性炭吸附操作三次，合并活性炭，用0.5%乙酸的20%酒精提取三次，每次250ml，提取液减压浓缩至50ml，氨水调节PH至9，置冰箱中放置析出结晶性沉淀，滤取后溶解于稀醋酸，加稀氨水沉淀，得1~2g白色结晶性毒素粗品，粗品加苦味酸精制得到精品。

参考文献

[1] Munro HG, et al: The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential, *J Biotechnology*, 1999,70:15~25

[2] Faulkner DJ, Marine Natural Products, *Nat Prod Rep*, 2002, 19:1~48

[3] Faulkner DJ, Highlights of marine natural products, *Nat Prod Rep*, 2000, 17:1~6

[4] Spinella A, et al: First total synthesis of natural aplyolides B and D, ichthyotoxcic macrolides isolated from the skin of the marine moolusk Aplysia depilans, *Tetrahedron Lett*, 2002, 43:1681-83

[5] Faulkner DJ, Marine natural products, *Nat Prod Rep*, 2000, 17:7~55

[6] Mutter R & Wills M, Chemistry and clinical biology of the bryostatins, *Bioorganic & Med Chem*, 2000, 8:841-1860

[7] Evans DV, et al: Enanticselective total synthesis of altohyrtin C, *Tetrahedron*, 1999, 55:8671~26

[8] Mohanmmad AR, et al: New chondrospin macrolide lactams from marine sponges in the genus Ircinia, *Tetrahedron Lett*, 2001, 42: 1623 ~ 26

[9] Fricker J, Underwater treasures for cancer treatment, *DDT*, 2001, 6: 603 ~ 604

[10] Erba E., et al: Ecteinascidin-743, a natural marine compound, with a unique mechanicsm of action, *Europ J Cancer*, 2001, 37: 97 ~ 105

[11] Rein KS & Borrone J, Polyketides from dinoflagellates: origins, pharmacyology and biosythesis, *Comp Biochem Physio B*, 1999, 124: 117 ~ 31

[12] Murata M., at al: *J Am Chem Soc*, 1993, 35: 1675

[13] Kan Y., et al: Complete NMR signal assignment of palytoxin and N-acetylpalytoxin, *Tetrahedron Lett*, 2001, 42: 3197 ~ 3202

[14] Uemura D et al: Norhalichordrin A, an antitumor polyether macrolides from a marine sponge, *J Am Chem Soc*, 1985, 107: 4796 ~ 98

[15] Fernandez JJ, et al: Marine polyether triterpenes, *Nat Prod Rep*, 2000, 17: 235 ~ 246

[16] Exposito MA, et al: Minalemines A-F: totemic acid peptide guanidine deriveatives isolated from tunicate Didemnum rodriguesi, *Tetrahedron*, 1998, 54: 7539 ~ 50

[17] Schwartsmann G., et al: Marine organism as a source of new anticancer agents, *Lancet Oncology*, 2001, 2: 221 ~ 225

[18] Burja AM, et al: Marine cyanobacteria-a prolixfic source of natural products, *Tetrahedron*, 2001, 57: 9347 ~ 9377

[19] Sayed KA, et al: Marine natural products as antituberculosis agents, *Tetrahedron*, 2000, 56: 949 ~ 953

[20] Edler MC, et al: Inhibition of tubulin polymerization by vitilevuamide, a bicyclic marine peptide, *Biochem Pharmacol*, 2002, 63: 707 ~ 715

[21] López-Lázaro L, Guzmán C., Jimeno J, Armand JP, Raymond E, Ady-Vagol N, Ribrag V, Phase I and pharmacokinetic study of aplidine, a marine derived compound, given as a 24h infusion every 2 weeks in patients (pts) with advanced solid tumors and non-Hodgkin lymphoma (NHL). *Annals of Oncology*, 2000, 11: 134

[22] 黄凤玲,等. 芋螺毒素的研究进展,国外医学药学分册 2001, 28(5): 289 ~ 292

[23] Szlosek M, et al: Acetogenins of anonaceae. Part 86, *New J Chem*, 2000, 24: 337 ~ 342

[24] Suzuki M, et al: Bisezakyne-A and -B, halogenated C_{15} acetogenins from a Japanese Laurencia species, *Phytochemistry*, 1999, 51: 657 ~ 662

[25] Takahashi Y., et al: Japonenynes, halogenated C_{15} acetogenins from Laurencia japonensis, *Phytochemistry*, 1999, 50: 799-803

[26] Faulkner DJ, et al: Marine natural products, *Nat Prod Rep*, 2001, 18: 1 ~ 49

[27] Vairappan CS, et al: Atibacterial halogenated metabolites from the Malaysian Laurencia species, *Phytochemistry*, 2001, 58: 291 ~ 297

[28] Imbs AB, et al: Response of prostaglandin content in the red alga Cracilaria verrucosa to season and solar irradiantce, *Phytochemistry*, 2001, 58: 1067 ~ 1072

[29] Watanabe K, et al: New halogenated marine prostanoids with cytotoxic activity from the Okinawan soft coral Clavularia viridis, *J Nat Prod*, 2001, 64: 1421-5

[30] 缪辉南,戴建凉,海洋生物抗肿瘤活性物质的研究进展,生物工程进展,1995;15: 8 ~ 14

[31] Rocha AB, et al: Natural products in anticancer therapy, *Current Opinion in Pharmacol*, 2001, 1: 364 ~ 369

[32] Altmann KH, Microtubule-stabilizing agents: a growing class of important anticancer drugs, *Current Opinion Chem Biol*, 2001, 5: 424 ~ 431

[33] Mann J, Natural products as immunosuppressive agents, *Nat Prod Rep*, 2001, 18: 417 ~ 430

[34] Rinebart RL, Antitumor compounds from tunicates, *Medicinal Research Review*, 2000, 20 (1): 1 ~ 27

[35] Jeedigunta S, et al: Diketopiperazines as advanced intermediates in the biosynthesis of Ecteinascidins, *Tetrahedron*, 2000, 56: 3303 ~ 3307

[36] Corey EJ, et al: *J Am Chem Soc*, 1996, 118: 9202 ~ 9203

[37] 徐任生,天然产物化学,科学出版社,1993,p813

(娄红祥)

11 第十一章 天然药物的研究开发

一、天然药物的研究开发程序

从天然药物或中药中开发新药至少包括以下五种形式：

第一种形式：经过文献资料或民间用药的调研或通过现代药理学的筛选研究（含体内、体外等研究），发现某种动物、植物、矿物或微生物具有药用价值，然后将其开发成新药。

第二种形式：已知某种成分或某类成分具有药用价值或已成为新药，根据动植物的亲缘关系，寻找含有这种或这类成分的动植物，进而将其开发成新药。如来自于黄连、黄柏中的黄连素具有抗菌、消炎的作用，临床疗效良好，但因黄连、黄柏均系贵重药材，资源有限，故限制了黄连素的广泛使用。根据植物的亲缘关系发现三颗针中也含有黄连素，进而将三颗针开发成一个新药。又如人参皂苷是人参中的主要有效成分，具有多方面的药理作用。通过对人参茎叶的研究发现人参茎叶中含有大量的皂苷，且与人参中的皂苷类似，进而将人参茎叶中的皂苷开发成一个新药，广泛用于保健药物和某些中药复方。再如具有良好镇痛作用的延胡索乙素，其在延胡索中的含量很低，而对其全合成成本又很高，从而限制了延胡索乙素的使用。根据植物亲缘关系研究发现防己科植物黄藤（*Fibraurea tinctoria*）的根和根茎中含有大量的巴马汀（可高达2.5%～3%），巴马汀经锌粉和硫酸还原就可方便地转化成延胡索乙素，从而解决了延胡索乙素的资源问题。

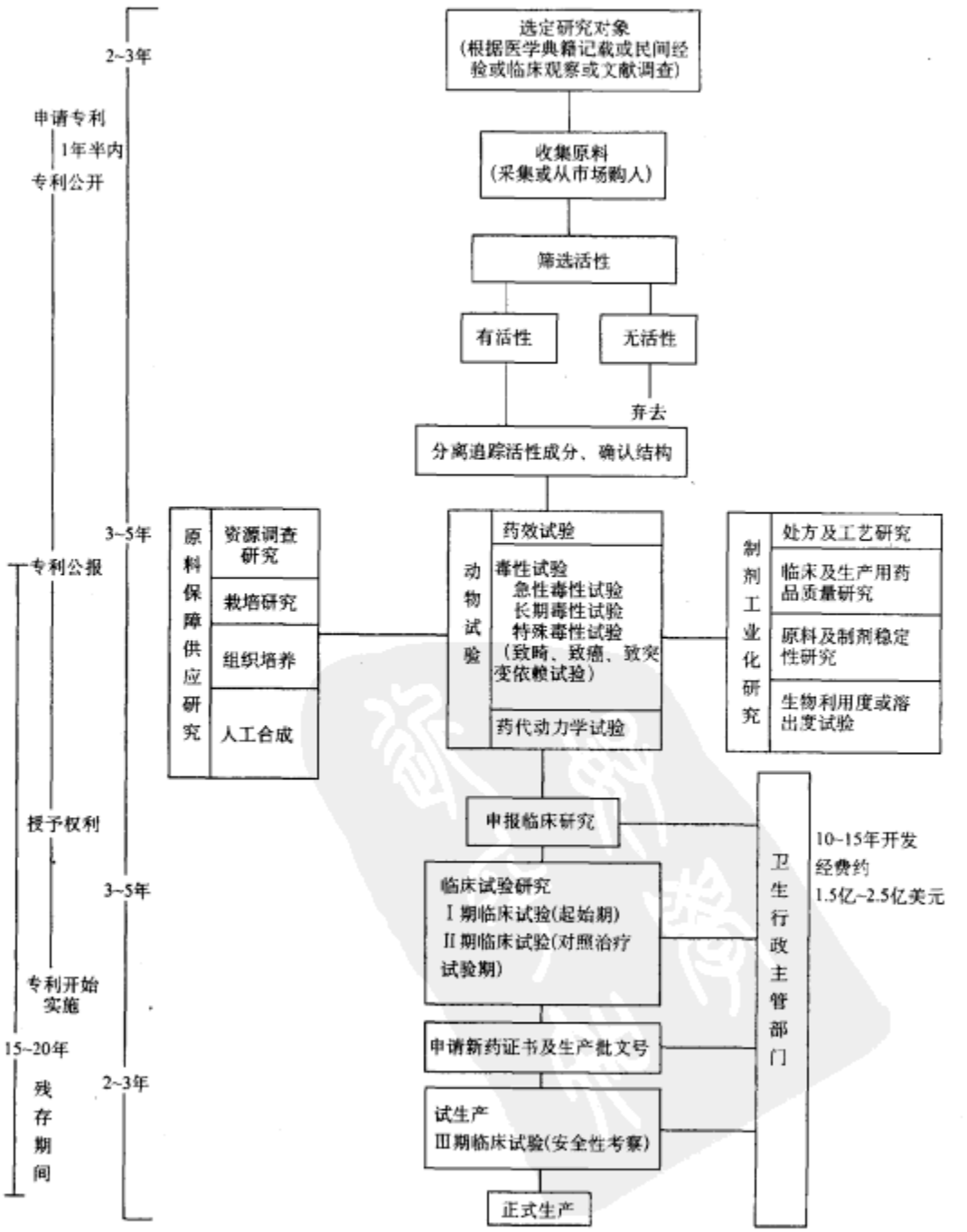
第三种形式：在不明确有效成分的基础上，将临床疗效明确的经典方、经验方或经药效学研究具有开发价值的复方中药开发成新药，或将现有的新药改变剂型如由口服液改为片剂、注射剂等（现临床上使用的大部分中药即属于这种形式的新药）。采用这种形式开发的新药虽然有效成分不明确，药品的质量控制难度较大，但它具有生产工艺不太复杂、成本较低、比较符合我国国情等特点。

第四种形式：在基本上搞清了有效成分和有效部位的基础上，将有效部位开发成新药，如目前在临床上广泛使用的地奥心血康、银杏叶制剂等。因有效成分已明确或基本明确，故采用这种方法开发的新药具有药品的均一性较易控制、临床疗效稳定、质量易于得到保证等特点。

第五种形式：通过天然药物或中药中的有效成分或生物活性成分的研究，从中发现有药用价值的活性单体或潜在药用价值的活性单体即先导化合物（有一定的生物活性，但因其活性不够显著或毒副作用较大，无法将其开发成新药的具有潜在药用价值的化合物称先导化合物）。通过对先导化合物构效关系的研究，进而发现有药用价值的化合物，然后按照国际惯例经过一系列的研究将其开

发成新药。如麻黄素、黄连素、长春碱、长春新碱、紫杉醇等均是直接从天然药物中开发出来的新药，蒿甲醚、普鲁卡因、镇痛新、β-甲基地高新等则都是经天然先导化合物构效关系的研究和结构修饰开发出来的新药。虽然这些新药均起源于对天然药物或中药中生物活性物质的研究，但在

表 11-1 天然物药品(一类新药)的开发研究过程



工业生产中它们并不局限于从天然药物中提取，通过对材料来源、经济效益、环境保护等综合因素考虑，可以从直接从天然药物中提取、半合成或全合成三种方法中任选取一种。

虽然从天然药物或中药中开发新药的方法多种多样，但是对于具体情况要做具体分析，不可能采用一个固定的模式，应根据具体研究课题的特点采用不同的途径，但无论采用何种方法和途径开发新药都要大体经过以下三个阶段，即：①临床前研究；②临床研究；③试生产（Ⅲ期临床实验，主要是考察其安全性）。表 11-1 是国际上开发新药的大致过程和各个阶段所需的时间和经费，可供参考。

二、天然药物中生物活性成分的研究方法

从天然药物或中药中开发创新药物的关键是能否从天然药物或中药中分离得到有药用价值或潜在药用价值的活性化合物。没有新结构、新活性的化合物，创新药物的研究开发就成了无源之水、无本之木。中药具有数千年的用药历史，对某些疾病具有独特的疗效，临床基础非常雄厚，其中的化学成分种类繁多、结构新颖，是创新药物及其先导化合物的重要来源，这也是为什么近 20 年来国际上对于从天然药物中开发新药非常重视的根本原因。

（一）天然药物及中药中原生生物活性成分的研究

①通过调研或广泛筛选需要开发的天然药物，然后采用体内的方法对该药进行药效学评价，以便再次确认该药的开发价值并在有效部位或活性部位寻找所使用的活性测试模型或指标。对于没有经过体外活性测试的药物还需确定在活性成分追踪分离中所使用的体外活性测试方法及指标。②根据原料药中化学成分的性质将其粗分成几个部分，按等剂量不等强度的原则对每部分均进行活性测试，确定有效部位。如果每部分均有活性，但活性均不强，则说明粗分失败，需要改用其它方法进行粗分，直到找到其中某一部分或几部分活性强、剩余部分无活性或活性很弱为止。由于这部分往往得量较高，加之某些天然成分属于前体药物（即本身并无活性，在体内代谢后其代谢产物具有活性），故在活性测试时最好采用体内方法。最常用的粗分方法是将其中的化学成分按极性大小不同分成几部分，如水煎、醇沉，依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇等提取，或将原料药物依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇、水等提取。当然也可根据其中化学成分的不同类型采用不同的粗分方法。③采用各种色谱方法和其它方法对活性部位进行分离，每次分离所得组分均需经过活性测试（由于所得量均较少，常采用体外的方法进行活性测试），对于无效的组分常弃去不再研究，只研究那些有效或有活性的组分，直到追踪到活性成分。虽然采用活性追踪的方法其活性测试样品和工作量以及所需费用均大大增加，而且还需有简易、灵敏、快速、可靠的活性测试方法及与药理工作者有良好的工作配合条件，有时因配合不便还需由分离工作者自己承担，需要同时配置分离及活性测试两方面的仪器设备，以及同时具备分离和生物活性测定的知识等等。但采用这种方法可大大减少分离工作的盲目性和在分离过程中造成的活性成分的丢失特别是微量活性成分的丢失（通常微量活性成分其活性往往很强），以即使在分离过程第一阶段，由于化合物本身的原因或选择方法失当导致活性化合物分解变化或流散，也能查明原因，采取有关补救措施获得分解变化或流散的活性成分，所以大多已采用这种方法进行活性成分研究。而只追踪活性部位，进而对活性部位中的化学成分进行系统研究，最后通过测试所得化学成分的活性来阐明天然药物中活性成分的研究方法已逐渐不被人们所采用。④根据理化

性质和波谱数据确定单体的化学结构，对已明确化学结构的单体进行活性评价（由于确定化学结构通常并不消耗样品，而进行活性评价则需消耗样品，故先确定结构，后测试活性）。⑤对有开发价值的化合物进行结构修饰和构效关系的研究，进而将其开发成创新药物。（图 11-1）

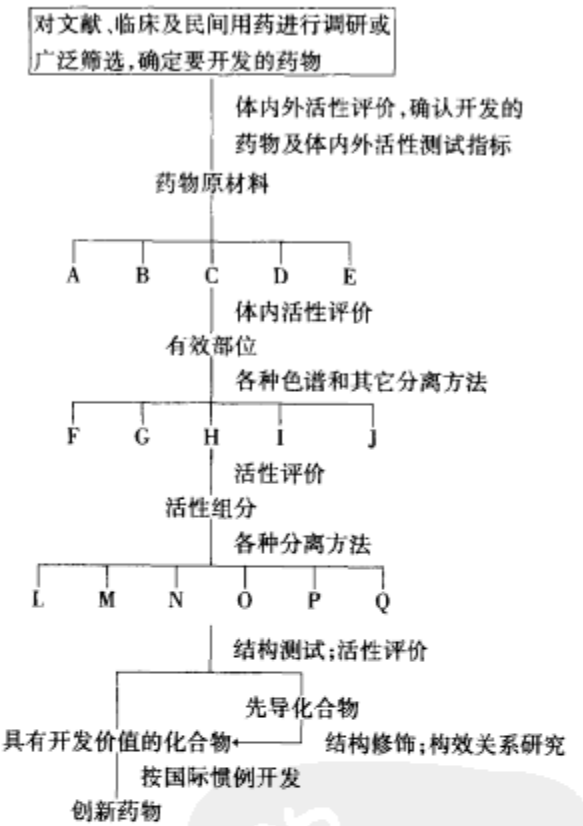


图 11-1

（二）天然药物及中药中前体活性成分的研究

有些中药中的化学成分本身并无生物活性，但经体内代谢后所产生的代谢产物具有很强的生物活性，这实际上也是它们中的有效成分。如中药秦皮具有清热利湿的作用，在临床上用于治疗痢疾效果良好，其中的主要成分秦皮素并无抗菌活性，但经体内代谢成 3，4-二羟基苯丙酸后，其抗菌作用则优于氯霉素。对于天然药物中这类生物活性成分的研究常采用体内代谢的方法进行。即将天然药物（既可以是天然药物中的某种成分，也可以是动植物原材料）给动物食用后，分别收集动物的粪便、尿、胆汁，然后采用各种提取分离方法分离它们中的代谢产物，并采用谱学和与标准品对照的方法确定它们的化学结构，在化学结构已知的情况下进行生物活性评价，对于有开发价值的化合物可采用上述法进行进一步开发。（图 11-2）

图 11-2

(三) 血清药化学和血清药理学

一种天然药物中含有的化学成分少则数十种,多则数百种。复方中药中的化学成分的数量将会更加巨大,要对这些所有的化学成分进行系统的研究,进而阐明天然药物及中药的药效物质基础,需要花费大量的人力、物力和财力,有时即使有充足的财力,由于种种原因实际上也难以完成。除了治疗消化道系统疾病或某些特殊的成分,通常天然药物中化学成分只有吸收入血后才能发挥药效。一个天然药物中虽然含有数十个甚至数百个化学成分,但能吸收入血的成分毕竟有限,如果只研究吸收入血的化学成分(血清药化学)及药理作用(即血清药理学),必将大大简化所要研究的成分,而且还可排除那些虽然体外有活性但因其不能吸收入血无法发挥药效的伪活性成分的干扰及找出前体活性成分。由于天然药物中化学成分的含量相差巨大,多的可达百分之几,少的则仅有十万甚至百万分之几;化学成分与血浆蛋白的结合率随成分不同而异;化学成分吸收入血后会很快被代谢、分布、排泄,不同时间检测同一种成分含量会有很大差异;动物所用剂量毕竟有限,难于积累到足量样品;所用的结构测定方法绝大多数只能依靠质谱如 LC-MS 等,而用质谱测定化学结构不但需要对该天然药物中的化学成分要有透彻的了解,而且有时还需要对照品,可靠性也差,所以目前采用血清药物化学方法研究天然药物中生物活性成分的进展并不大,从中研究出的一些成分多数是含量较高的已知成分或其代谢产物。

(四) 天然药物中生物活性成分研究需要注意的几个问题

1. 从表 11-1 可看出,创新药物的开发是一个高技术、高风险、高投入、高回报、知识密集型的系统工程,涉及化学、药理、制剂、临床医学、毒理等多学科领域。据统计,开发成功一个创新药物需要筛选 1 万甚至数万个化合物,故成功率极低,难度极大,所用时间约 10 ~ 12 年,所需经费约 2 亿 ~3 亿美元,但回报率也很高(一个大品种的创新药物其单品种的年销售额以出厂价计则可达到 50 余亿美元)。这也是世界经济强国都对创新药物的研究开发极为重视的一个原因。固然由于天然药物及中药有数千年临床实践经验的积累,从中开发一些新药的成本会相对较低,成功率较高,所需时间较短,但也不能认为仅对某一个天然药物或中药的活性成分进行研究就可开发成一个创新药物。因为创新药物和一个具有活性甚至活性很好的天然产物毕竟是两码事,作为创新药物不仅要考虑到它的体内药效,而且还要考虑到它的急性毒性、长期毒性、临床药效、是否易于制成制剂、生物利用度及在体内的分布、排泄、原料是否易得成本如何、与现有同类药物相

比有何特点等等多方面的问题。如果其中的活性成分无法开发成创新药物，但活性部位又具有开发价值，则可考虑将活性部位直接开发成新药。

无论是开发创新药物还是将活性部位开发成新药都要投入大量的人力、物力和财力，故要特别注重知识产权的保护。一旦获得具有开发价值的活性单体或活性部位，总是要在适当的时机申请专利，求得知识产权的保护。只有在确保知识产权的情况下，才能做大量、长期、全面的战略投入，并在研究过程中随时分析、调整开发计划，以求获得最好效果。

2. 活性测试方法选择的正确与否是活性追踪分离能否取得成功的关键。常用的活性测试方法有整体动物、动物的器官、组织、酶、受体以及药物对体内某些生物活性物质的抑制或促进等。无疑采用整体动物进行试验与人比较相近，但所需实验费用很大、现象复杂、时间长，加以动物个体差异以及病理模型难于建立等因素，实际上用其指导活性追踪分离难于做到。最好的方法是寻找活性部位时用整体动物试验，追踪分离成分选用体外的方法。理想的体外活性测试方法应具有简易、快速、不需特殊设备、方便、抗干扰性强、假阳性和假阴性均较低、临床相关性强等优点，但在实际工作中理想的活性测试方法往往很难找到，只有综合分析考虑，根据实际情况、条件以及研究开发的课题选择较理想的活性测试方法。同时也要根据实践经验积累和科学技术的发展，改进现有的一些活性测试方法和建立一些新的活性测试方法。由于一个药物疗效的发挥并不只取决于它与药物靶点的作用强弱，还与它的吸收、分布、代谢、排泄、到达靶点的浓度及持续时间、体内对外影响的综合平衡能力等有关因素，所以体外活性测试方法所得结果与药物在体内实际作用并不平行。即使是动物整体实验，由于种族的差异以及病理模型与临床上的实际病症并不完全一样，所以也存在动物实验与临床疗效不平行的问题，故在实践工作中应予以注意。

图 11-3 植物粗提取物抗肿瘤活性的筛选方案

3. 确保供试材料具有活性是能够追踪到活性化合物的前提。在活性追踪分离之前一定要采用体内、体外多种方法，多个指标对实验材料进行活性测试，其目的是再次确证实验材料的活性，确定有无进一步研究的价值；二是为选择活性追踪分离所用的活性测试方法提供依据。图 11-3 的流程是美国癌症研究中心（NCI）用于筛选确认植物或动物粗提物抗肿瘤活性的改进方

案，可供工作时参考。通过该方案确认的实验材料至少有以下三个优点：①不至于丢失活性低或含量少的化合物；②增加了分离出新化合物的机会；③有可能分离到具有不同作用机理或新的作用机理的化合物。

由于植物原材料中所含的化学成分及活性成分与产地、采收季节、气候、品种及放置时间等有关，为了保证所用实验材料质量的稳定性，在正式开始活性追踪分离之前，最好要一次性采集或购买到所需的实验材料，并经简易的方法再次确认活性和一次性提取完毕，将提取物置于冰箱中保存。

4. 天然药物及中药在临床上往往具有多方面的治疗作用，在动物实验上具有多方面的活性，在体外实验中具有多个作用靶点。研究者应当从这些杂乱的实验现象中找出其中最本质的作用，选择建立能反映临床治疗特点且效果与之平行的活性测试体系才有可能追踪分离出有开发价值的活性成分及先导化合物，表 11-2 是这方面工作的一些典型实例。

表 11-2 活性成分及先导化合物发现实例

供试材料	生理活性	生理活性测试方法	目的活性物质	文献
乌头（*Aconitum spp.*）	强心、利尿兴奋、镇痛	Yagi-Hartung 法（离体蛙心）	去甲基乌药碱（higenamine）	[12]
大黄（*Rheum coreanum* 及 *R. palmatum* 的杂交种）	健胃、缓泻	致泻活性（小鼠）	番泻苷（sennoside）	[13]
茵陈蒿（*Artemisia capillaris*）	利胆、抗炎	胆汁分泌促进作用	茵陈色原酮（capillarisin）等	[14]
贝（日本产）（*Babylonia japonica*）	口渴、视力减退、瞳孔散大、言语障碍、便秘	atropine 定量法（小鼠散瞳率试验）	surugatoxin	[15]
软紫草（*Arnebia euchroma*）	止血、抗炎、抗菌、抗病毒、抗癌	前列腺素 PGE_2 合成抑制活性	arnebinol arnibinone arnebifuranone	[16]

5. 在分离过程中要按“等剂量不等强度原则”对每一阶段所得组分进行活性定量评估并与母体进行比较，追踪分离活性最强的馏分。通常如与母体比较所得几个组分活性强弱参差不齐，则说明活性分离与物质分离平行，预示可能获得良好的分离效果；如果某个组分活性显著增强，则说明在分离过程中可能除去了某种具有拮抗作用的物质；如果所得各组分活性均明显减弱，即使将其合并，其活性与母体相比也大大减弱，则提示活性成分可能发生分解、破坏或产生了不可逆吸附；如果所得各组分分别测试其活性虽然明显降低，但将其合并后其活性与母体相当，则提示是活性成分被分散或该药中的成分存在明显的协同作用（相加或相乘），故分离后反而导致活性的减弱或消失。如附子的水煎剂对蛙心呈现明显的强心作用，当除去水煎剂中的钙离子后则对蛙心的强心作用明显降低，但单纯的钙离子的作用并没有附子水煎剂强。经系统研究发现附子的水煎剂中存在微量的乌头碱；虽然乌头碱本身对蛙心并不表现多大的强心作用，但微量乌头碱与钙离子混合后却具有明显的强心作用，其作用强度与附子水煎剂类似，说明其强心作用的有

效成分是钙离子和乌头碱的混合物，且它们之间存在明显的协同作用。以上说明在活性追踪分离中具体问题应作具体分析，并在查明原因后采取相应对策处理。

6. 传统天然药物及中药多为汤剂，从某种意义上来讲，只有溶于汤剂中的成分即水溶性成分才是有效成分，但脂溶性成分是否就一定不是有效成分？实际上未必，其原因有三，一是在煎煮过程中有些本不溶于水的脂溶性成分会因互溶而溶于汤剂中；二是古人会用增大剂量的方法提高脂溶性成分的用量，从而达到防病治病的目的；三是受科技发展的限制，古人没有意识到的并不是不存在的，所以脂溶性成分也可能是天然药物及中药的有效成分。

（五）活性追踪分离的几个实例

1. 大黄泻下活性成分的研究[2] 大黄是蓼科植物掌叶大黄（*Rheum palmatum* L.）、唐古特大黄（*Rheum tanguticum*）或药用大黄（*R. officinale*）的干燥根及根茎，具有泻下通肠、凉血解毒、逐瘀通经之功效。生大黄在临床上用于术前清肠和治疗便秘具有良好的效果。生大黄粉碎后依次用正己烷、氯仿、丙酮、乙醇、水提取，各提取物以大白鼠口服后观察其致泻作用作为活性追踪指标。从表11-3中可看出正己烷提取物在剂量达500mg/kg时仍无效；氯仿提取物和丙酮提取物亦基本上无泻下作用；乙醇提取物虽有泻下作用，但较弱，在剂量为100mg/kg以下时无效，200mg/kg剂量时，10只大白鼠中只有两只有效，到500mg/kg的大剂量时亦只有7只大白鼠有效；而水提取物泻下作用最强，50mg/kg剂量时有4只大白鼠有效，200mg/kg时10只大白鼠全部具有泻下作用，故其主要活性部位应为水提取物。（图11-4）

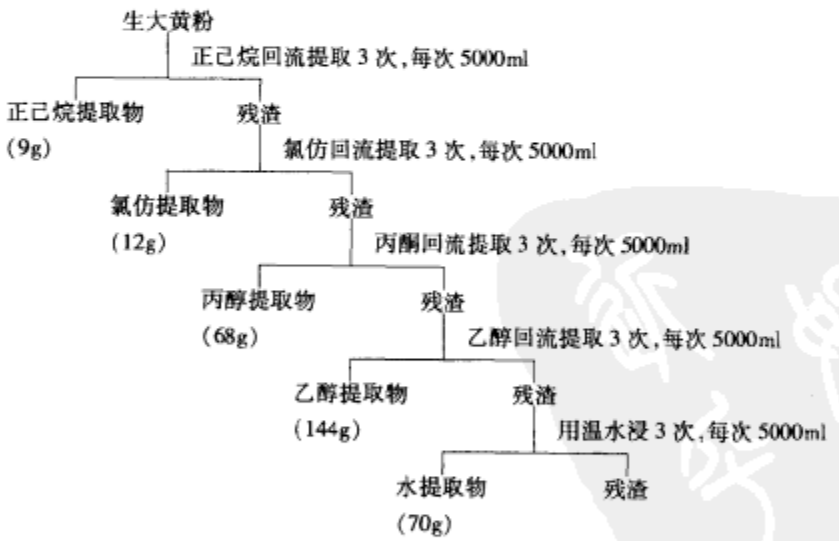
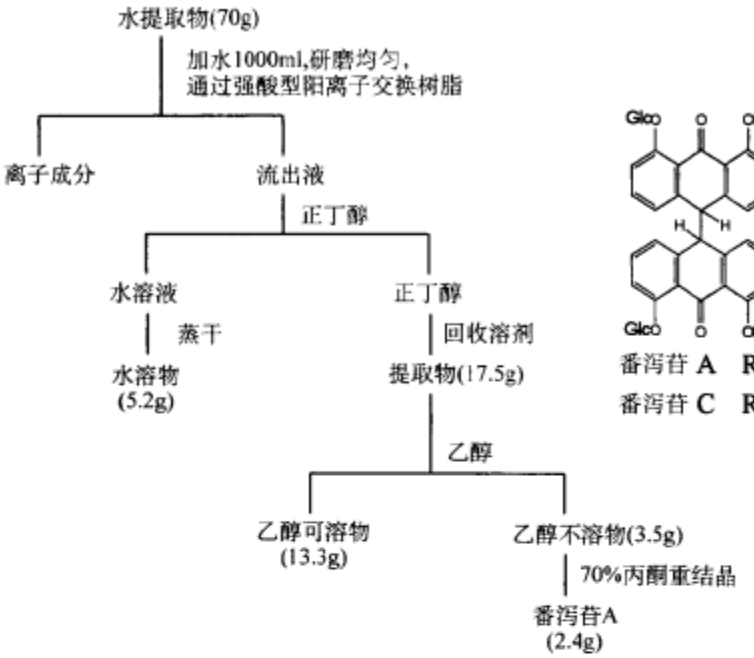


图11-4

取水提取物70g，加水1000ml，研磨均匀后通过阳离子交换树脂除去离子成分，流出液用正丁醇提取，正丁醇提取物加入乙醇溶解，乙醇不溶物用丙酮重结晶，得番泻苷A2.4g，各部分分别进行活性测试，结果见表11-4。由表11-4可看出水溶物无效，乙醇可溶物虽略有效，但不是主要有效部分，乙醇不溶物才是它的有效部位或组分，番泻苷A的作用较乙醇不溶物强，应该是它的泻下有效成分。此外通过色谱方法从乙醇不溶物中还检出番泻苷B和C，可能也是其泻下的有效成分。（图11-5）



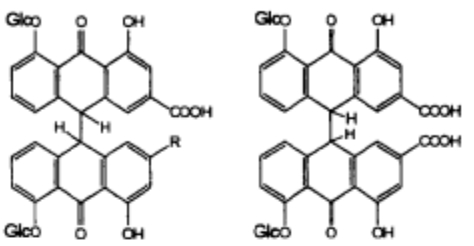


图 11-5

表 11-3 生大黄提取物泻下作用

提取物	剂量(mg/kg)				
	20	50	100	200	500
正己醇提取物	—	—	—	—	—
氯仿提取物	—	—	—	—	2
丙酮提取物	—	—	—	—	2
乙醇提取物	—	—	—	2	7
水提取物	—	4	4	10	10

各组实验动物均为 10 只大白鼠;表中数值为具有泻下作用的动物数。

表 11-4 生大黄各组分泻下作用

组 分	剂 量(mg/kg)										
	5	8	10	12	15	18	20	50	100	200	500
水溶物	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
乙醇可溶物	—	—	—	—	—	—	—	1	7	9	10
乙醇不溶物	—	3	4	5	7	7	9	10	10	10	10
番泻苷 A	2	4	4	5	8	8	9	10	10	10	10

2. 茜草根中抗肿瘤活性成分研究[3,4] 茜草为茜草科植物茜草(*Rubia cordifolia*)的根,系川等经体内抗肿瘤活性筛选发现茜草根对 S180 荷瘤小鼠具有活性,随后以 S180 为活性测试指标对茜草根中抗肿瘤活性成分进行追踪分离,从中分离得到了具有抗肿瘤活性的 RA-Ⅴ、Ⅶ等环肽类化合物。

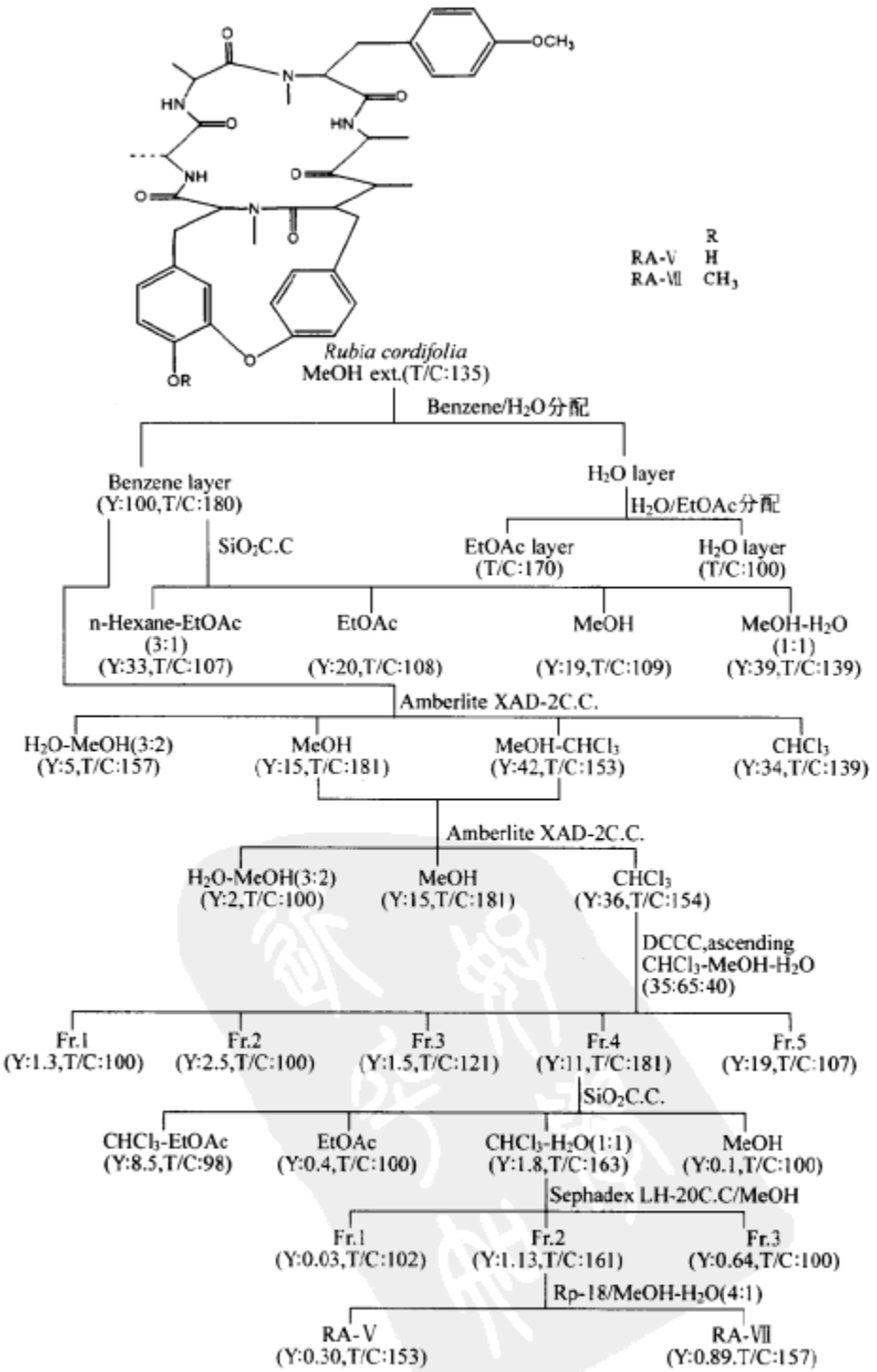
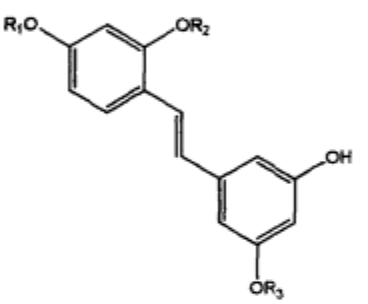


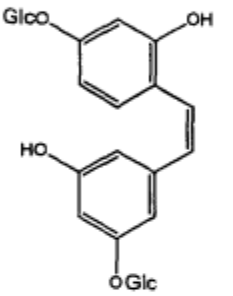
图 11-6

T/C：给药组动物平均存活天数(T)与对照组动物平均存活天数(C)的比值×100%

按等剂量不等强度进行活性测试，甲醇、苯、乙酸乙酯及水提取物按 200mg/kg 剂量给药，其余的则按 200 × (Y/100) mg/kg 剂量给药(Y 为以苯提取物为 100 时各组分的收率，故实际上各组分的剂量与苯提取物剂量相当，测得的活性有定量的比较意义)，给药方式为腹腔注射，每日一次，连续五次。(图 11-6)

3. 桑白皮平喘活性成分的研究　桑白皮是桑科植物桑(*Morus alba*)的干燥根皮，具有宣肺平喘、利水消肿之功效。邱峰等采用体内代谢的方法对桑白皮中平喘活性成分进行了研究。大白鼠口服桑白皮水提取物后，分别收集胆汁和尿，经 3D-HPLC 分析发现血液中含有 trans-mulberroside A(M-1)和 cis-mulberroside A(M-2)，胆汁中含有 oxyresveratrol(2,3′-di-O-β-D-glucuronide(M-3)、oxyresveratrol(M-4)、oxyresveratrol 2-O-β-D-glucuronide-3′-O-sulfate(M-5)和 M-1，尿中含有 M-3、M-4、M-5。经体外活性测试表明 M-1 和 M-2 对豚鼠支气管平喘肌无松弛作用，而 M-4 在 50μg/ml 浓度下具有明显的松弛作用且有一定的量效关系。由此提示，桑白皮的平喘有效成分可能是 mulberroside A，而真正起平喘作用的是其苷元 oxyresveratrol，即 mulberroside 为一个前体活性成分。





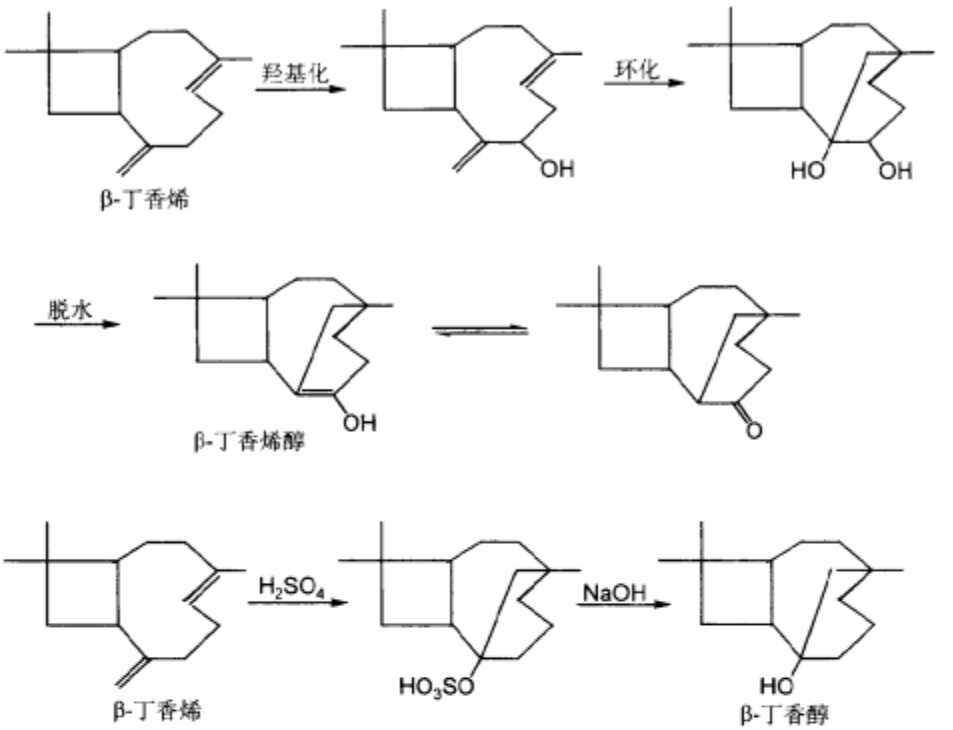
M-1　R_1=R_2=Glc　R_2=H　　M-2

M-3　R_2=R_3=Glc A　R_1=H

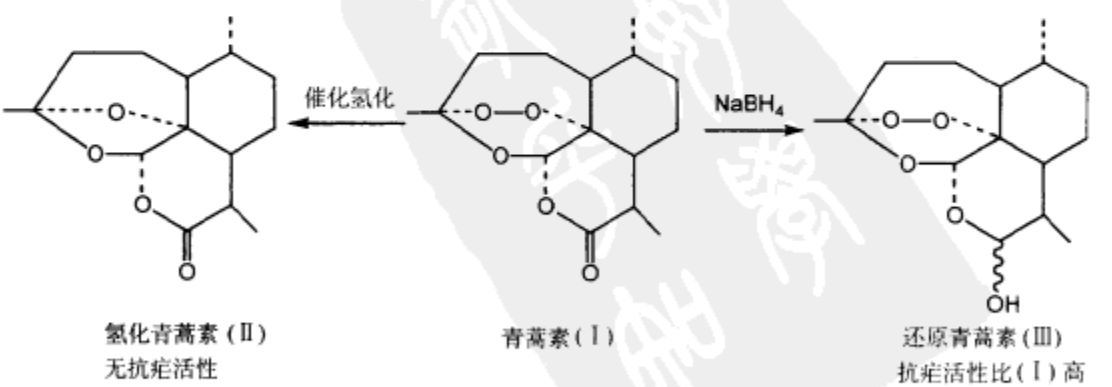
M-4　R_1=R_2=R_3= H

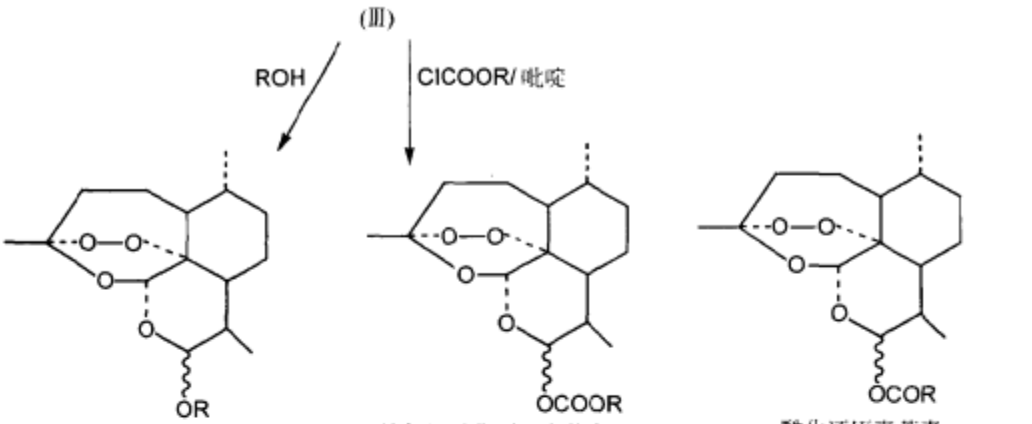
M-5　R_2= Glc A　R_3=SO_3^-　R_1=H

4. 艾叶中止咳平喘有效成分的研究[5]　艾叶为菊科植物艾(*Artemisia argyi*)的干燥叶，具有驱蚊虫、抗菌等作用，民间用其挥发油治疗慢性气管炎。经研究发现其中的主要有效成分为 β-丁香烯(β-caryophyllene)，其口服制剂在临床上疗效良好，但当其制成气雾剂时，则失去了平喘作用。经对其在体内的代谢研究发现，β-丁香烯在胃中很快被代谢成 β-丁香烯醇。经体外活性测试表明，β-丁香烯在体外对支气管平喘肌没有作用，但 β-丁香烯醇具有很强的作用，说明 β-丁香烯为一个前体药物。通过对 β-丁香烯醇的结构修饰研究从中发现了一个作用持久、毒性更小的治疗慢性气管炎的新药 β-丁香醇。



5. 青蒿中抗疟活性成分研究[6-11]　青蒿亦称黄花蒿，系菊科植物青蒿（*Artemisia annua*）的全草，民间用其治疗疟疾效果良好。经研究发现其中治疗疟疾的有效成分为青蒿素（arteannuin），青蒿素生物利用度低，影响其疗效的发挥，故以其为先导化合物对其构效关系进行了研究，从数十种衍生物中研究开发出治愈率高、退热时间短、疟原虫转阴快、复染率低、毒副作用小的油溶性抗疟新药蒿甲醚（artemether）和水溶性抗疟新药青蒿琥珀酸单酯（artesunate）等。





烷化还原青蒿素
共18个
R=CH_3 蒿甲醚

烷氧甲酰化还原青蒿素
共3个

酰化还原青蒿素
共12个
R=CH_2CH_2COOH 青蒿琥珀酸单酯

参考文献

[1] 姚新生. 天然药物化学. 第三版，北京：人民卫生出版社，2001，389～399
[2] 北京医学院，北京中医学院. 中草药成分化学. 北京：人民卫生出版社，1982，506
[3] 系川秀治等. 第25回天然有機化合物討論講演集. 1982. 467
[4] Itokawa H et al. Chem Pharm Bull. 1983；31，1424
[5] 孙静英等. 药学学报，1987
[6] 中科院上海药物所抗疟研究组，医药工业. 1979，1：30
[7] 姚新鹤. 药学通报. 1983，18(6)，36
[8] 青蒿素研究协作组. 药学通报. 1979，14(2)：49
[9] 李英等. 科学通报. 1979，24(14)：667
[10] 刘静明. 化学学报. 1979，37(2)：12
[11] 赵凯存等. 药学学报. 1993，28(5)：342
[12] Kosuge，T.；Yokota，M. Chem Pharm Bull 1976，24，176
[13] Oshil，H. et al. Chem Pharm Bull，1974，22，823
[14] 小宫威弥等. 药学雜志，1976，96，841；1976，96，855
[15] 全田浩フアルマッア，1972，7，646
[16] Yao xin-sheng et al. Chem Pharm Bull，1991，39(11)，2956

（裴月湖　姚新生）

附录　药用天然化合物

一、生物碱类

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
3-乙酰乌头碱*	3-acetyl-aconitine	毛茛科植物伏毛铁棒锤 *Aconitum flarum*	镇痛
氢溴酸山莨菪碱	anisodamine hydrobromide	茄科植物唐古特山莨菪 *Scopolia tangutica*、	抗胆碱药。用于胃肠道绞痛，急性微循环障碍，有机磷中毒
硫酸阿托品	atropine sulfate	茄科植物莨菪 *Hycscyamus niger* 和白曼陀罗 *Datura metel*	抗胆碱药。可解除平滑肌痉挛，用于急性微循环障碍，有机磷中毒，眼科用于散瞳
盐酸小檗碱	berberine chloride	毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 小檗科植物台湾十大功劳 *Mahonia japonica*	抑菌。用于肠道感染、菌痢、眼结膜炎、化脓性中耳炎等
咖啡因	caffeine	茜草科植物咖啡 *Coffea arabica* 山茶科植物茶 *Camellia sinensis*	中枢兴奋药。用于中枢性呼吸及循环功能不全
喜树碱*	camptothecine	珙桐科植物喜树 *Compototheca acuminata*	抗肿瘤药
磷酸可待因	codeine phosphate	罂粟科植物罂粟 *Papaver somniferum*	止咳药
盐酸可卡因	cocaine hydrochloride	古柯科植物古柯 *Erythroxylum coca*	局麻药。用于表面麻醉
秋水仙碱	colchicine	百合科植物丽江山慈菇 *Iphigenia indica* 和秋水仙 *Colohicum autumnale*	抗肿瘤药、抗痛风药
北山豆根碱*	dauricine	防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum*	具降压、解痉作用
左旋多巴	l-dopa	豆科植物油麻藤 *Mucuna sempervirens*	抗震颤麻痹药

续表

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
马来酸麦角新碱	ergometrine maleate	麦角菌科麦角菌 *Clavicepn purpurea* 寄生在黑麦 *Secale cereale* 子房中形成的菌核	收缩子宫。用于产后止血，加速子宫复原
盐酸麻黄碱	ephedrine hydrochloride	麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 等	拟肾上腺素药，有松弛支气管平滑肌，收缩血管，兴奋中枢作用
酒石酸麦角碱	ergotamine tartrate	麦角菌科麦角菌 *Clavicepa purpurea* 寄生在黑麦 *Secale cereale* 等子房所形成的菌核	能使脑动脉血管的过度扩张与搏动恢复正常。主要用于偏头痛
水杨酸毒扁豆碱*	eserine salicylate	豆科植物毒扁豆 *Physostigma venenosum*	有抗胆碱酯酶作用，主要用于治疗青光眼
氢溴酸加兰他敏	galanthamine hydrobromide	石蒜科植物黄花石蒜 *Lycoris aurea* 等	抗胆碱酯酶药。用于重症肌无力，小儿麻痹后遗症
高三尖杉酯碱	homoharringtonine	粗榧科植物三尖杉 *Cephalotaxus fortunei* 等	抗肿瘤药
石杉碱甲*	huperzine A	石松科植物千层塔 *Huperzia serrata*	抗老年痴呆症
刺乌头碱*	lappaconitine	毛茛科植物乌头 *Aconitum sinomontanum*	止痛、局麻
山梗菜碱	lobeline	桔梗科植物山梗菜 *Lobelia sessilifolia* 和北美山梗菜 *Lobelia inflata*	中枢兴奋药，用于治疗呼吸衰竭。并有祛痰作用，治疗呼吸道疾病
野百合碱*	monocrotaline	豆科多种植物	具抗癌和降血压作用
盐酸吗啡	morphine hydrochloride	罂粟科植物罂粟 *Papaver somniferum*	镇痛药
那可丁	narcotine	罂粟科植物罂粟 *Papaver somniferum* 和丽春花 *Paparer rhoeas* 芸香科植物甜橙 *Citrus sinensis*	镇咳药

续表

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
盐酸罂粟碱	papaverine hydrochloride	罂粟科植物罂粟 *Papaver somniferum*	血管扩张药。用于解除动脉痉挛
硝酸毛果芸香碱	pilocapine nitrate	芸香科植物毛果芸香 *Pilocarpus jaborandi*	兴奋胆碱反应系统、缩瞳、收缩平滑肌。主要用于治疗青光眼
硫酸奎尼丁	quinidine sulfate	茜草科植物金鸡纳树 *Cinchona succirubra*	抗心律失常药
盐酸奎宁	quinidine hydrochloride	茜草科植物金鸡纳树 *Cinchona succirubra*	抗疟药
利血平	reserpine	夹竹桃科植物萝芙木 *Rauwolfia verticillate* 云南萝芙木 *Rauwolfia yunnanensis*	降血压药
颅痛定	rotundine	防己科植物华千金藤 *Stephania rotunda*	镇痛药
氢溴酸东莨菪碱	scopolamine hydrobromide	茄科植物东莨菪 *Scopolia japinica* 莨菪 *Hyoscyamine niger* 颠茄 *Atropa belladonna*	抗胆碱药。用于镇静、晕动、麻醉药辅助药
硝酸一叶萩碱*	securinine nitrate	大戟科植物一叶萩 *Securinega suffruticosa*	用于小儿麻痹后遗症，面神经麻痹
延胡索乙素*	dl-tetrahydropalmatine	罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* 防己科植物黄藤 *Fibraurea resisa* 含 *Palmatine*	镇痛药
川芎嗪*	chuanxiongzine	伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong*	用于缺血性脑血管疾病
粉防己碱*	tetrandrine	防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra*	具有镇痛、消炎、降压、肌肉松弛以及抗菌、抗癌等作用
可可碱	theobromine	梧桐科植物可可 *Theobroma cacao* 山茶科植物茶 *Camellia sinensis*	扩张冠状动脉、兴奋心肌及松弛支气管平滑肌。利尿
茶碱	theophylline	山茶科植物茶 *Camellia sinensis*	平滑肌松弛。用于支气管性哮喘
硫酸长春碱	vinblastine sulfate	夹竹桃科植物长春花 *Catharanthus roseus*	抗肿瘤药
硫酸长春新碱	vincristine sulfate	夹竹桃科植物长春花 *Catharanthus roseus*	抗肿瘤药

二、萜　类

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
穿心莲内酯*	andrographolide	爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata*	抗菌、消炎。用于上呼吸道感染、菌痢
青蒿素	artemisinin	菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua*	抗疟药
龙脑	borneol	姜科植物姜 *Zingiber officinale* 樟科植物乌药 *Lindera strychnifolia* 南天星科植物白菖蒲 *Acorus calamus*	开窍醒神，清热止痛
樟脑	camphor	樟科植物樟 *Cinnamomum camphora*	皮肤刺激药
薯蓣皂苷元*	diosgenin	薯蓣科多种植物所含皂苷的水解产品	制药工业原料
甘草次酸*	glycyrrhetinic acid	豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis*	具肾上腺皮质激素样作用。抗炎、抗免疫、抗肿瘤。镇咳、祛痰、利尿
愈创木醇*	guaiol	桃金娘科植物柠檬桉 *Eucalyptus citriodora*	镇咳、祛痰。用于治疗支气管炎
关附甲素*	guan-fu base A	毛茛科植物黄花乌头 *Aconitium koreanum*	抗心律不齐
薄荷脑	menthol	唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx*	刺激、清凉、抗炎等作用
齐墩果酸*	oleanolic acid	木犀科植物齐墩果 *Olea europaea* 女贞 *Ligustrum lucidum* 等	降转氨酶。用于治疗急性黄疸型肝炎
松醇*	pinitol	松科植物糖松 *Pinus lambertiana* 豆科植物夜门关 *Lespedeza cuneata* 和葛 *Pueraria lobata*	镇咳、祛痰。用于治疗多年慢性气管炎
山道年*	santonin	菊科植物山道年 *Artemisia cina* 滨蒿 *Artemisia maritima*	驱蛔虫
甜菊苷	stevioside	菊科植物甜叶菊 *Stevia rebaudiana*	甜味剂

续表

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
紫杉醇*	taxol	紫杉科植物紫杉 *Taxus caspidata* 和短叶紫杉 *Taxus brevifolia*	抗癌药
麝香草酚	thymol	唇形科多种植物	具杀菌、祛痰作用。用于治疗气管炎、百日咳等
川楝素*	toosendanin	楝科植物川楝 *Melia toosendan*	驱蛔虫药
雷公藤甲素*	triptolide	卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* 和昆明山海棠 *Triptreygium hypoglaucum*	抗白血病和抑制肿瘤
芫花酯甲*	yuanhuacin A	瑞香科植物芫花 *Daphne genkwa* 和瑞香 *Daphen odora* 大戟科植物乌桕 *Stillingia sylvatica*	中期妊娠引产药、有抗癌作用

三、香豆素、黄酮类

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
亮菌甲素*	armillarisin A	白蘑科真菌假蜜环菌 *Armillariella tabescens*	促进胆汁分泌。用于急性胆道感染
黄芩苷*	baicalin	唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis*	清热、解毒、消炎。用于急、慢性肝炎，上呼吸道感染
灯盏花素*	breviscarpin	菊科植物短亭飞蓬 *Frigeron breviscapus*	增加脑血流量
大豆素*	daidzein	豆科植物红车轴草 *Trifolium pratense*	具有雌激素样作用。解痉、抗缺氧作用
双香豆素	dicoumarin	豆科植物紫苜蓿 *Medicago Sativa* 的腐草，红车轴草 *Trifolium pratense* 的鲜草	抗凝血药
秦皮乙素*	esculetin	木犀科植物苦枥白蜡树 *Fraxinus rhynchophylla*	抗炎、抗菌

续表

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
木犀草素*	luteolin	豆科植物落花生 *Arachis hypogaea* 忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica*	具抗菌、抗炎、解痉、祛痰和抗癌作用
8-甲氧基补骨脂素*	8-MeO-psoralen (8-MOP)	豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia*	光敏作用。用于治疗白癜风、牛皮癣
葛根素*	puerarin	豆科植物葛 *Pueraria lobata*	扩张冠脉，改善冠脉循环、脑循环及周围血管微循环
芦丁*	rutin	豆科植物槐 *Sophora japonica*	心血管疾病的辅助治疗药物
水飞蓟素*	silymarin	菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum*	抗肝炎药

四、强心苷类

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
铃兰毒苷*	convallatoxin	百合科植物铃兰 *Convallaria keishei*	强效强心药
去乙酰毛花苷丙（西地兰）	deslanoside (cediland)	玄参科植物毛花洋地黄 *Digitalis lanata* 中的毛花苷丙去乙酰基而得	速效强心药
洋地黄毒苷	digitoxin	玄参科植物毛花洋地黄 *Digitalis lanata*	强心药
地高辛	digoxin	玄参科植物毛花洋地黄 *Digitalis lanata* 中的毛花苷丙去葡萄糖、去乙酰基而得	强心药
蟾力苏*	resibufogenine	蟾蜍科植物中华大蟾蜍 *Bufo gargarizans*	强心、升压、兴奋呼吸等作用。用于心力衰竭、外伤性休克
毒毛旋花子苷 K*	k-strophanthoside	夹竹桃科植物毒毛旋花 *Strophanthus kombe*	强心药。用于急性心肌衰竭

五、挥发油

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
丁香罗勒油	丁香酚 eugenol	唇形科植物丁香罗勒 *Ocimum gratissmum*	局部止痛、防腐
八角茴香油	茴香醚 anethole	木兰科植物八角茴香 *Illicium verum*	芳香调味剂、健胃药
肉桂油	桂皮醛 cinnamaldehyde	樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia*	驱风药、健胃药
芸香草油*	胡椒酮 piperitone	禾本科植物芸香草 *Cymbopogon distans*	平喘、松弛支气管平滑肌。用于慢性支气管炎
松节油	α及β-派烯 α,β-pinene	松科松属多种植物	皮肤刺激药，用于肌肉、关节疼痛
桉油	桉油精 eucalyptol	桃金娘科植物蓝桉 *Eucalyptus globulus*	解热、镇痛、抗菌

六、其它类

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
海藻酸	alginic acid	海带科植物海带 *Laminaria japonica* 翅藻科植物昆布 *Ecklonia kurome*	抗肿瘤
鹤草酚*	agrimophol	蔷薇科植物仙鹤草 *Agrimonia pilosa*	抗菌、驱绦虫
咖啡酸	caffeic acid	菊科植物一枝黄花 *Solidago virga-urea*	抗菌、抗病毒和蛇毒
斑蝥素*	cantharidin	芫青科昆虫南方大斑蝥 *Mylabris phalerata*	抗肿瘤药
南瓜子氨酸*	cucurbitine	葫芦科植物南瓜 *Cucuribita moschata* 和西葫芦 *Cucuribita pepo*	驱虫药
鱼腥草素*	decanoyl acetaldehyde	三白草科植物蕺菜 *Houttuynia cordata*	抗菌消炎药
叶酸	Folic acid	伞形科植物东当归 *Angelica acutiloba* 和北海当归 *Angelica acutiloba var. sugiyama*	适用于叶酸缺乏而引起的巨幼细胞性贫血

续表

中文名	英文名	主要来源	作用与用途
没食子酸	gallic acid	五倍子鞣质水解而得	抑菌、制药工业原料
天麻素*	gastrodin	兰科植物天麻 *Gastrodia elata*	镇静、抗惊厥
海柯皂素*	hecogenin	龙舌兰科植物剑麻 *Agave sisalana*	制药工业合成甾体激素原料
靛玉红*	indirubin	豆科植物木兰 *Indigofera tinctora* 十字花科植物菘蓝 *Isatis tinctora*	抗肿瘤药
甘露醇	mannitol	玄参科植物水蔓青 *Veronica spuria*	镇咳、祛痰、平喘。治疗慢性支气管炎，提高血浆渗透压、降低颅内压、眼内压，治疗青光眼
土大黄苷	rhaponticin	蓼科药用大黄 *Rheum officinale*	治疗高血脂症
水杨酸	salicylic acid	毛茛科植物升麻 *Cimicifuga foetida* 百合科植物郁金香 *Tulipa gesneriana*	外用作防腐剂和抗真菌剂。治疗皮肤病
五味子酯甲*	schisantherin A	木兰科植物华中五味子 *Schizandra sphenanthera*	保肝和降低血清谷丙转氨酶(SGPT)作用，治疗慢性肝炎
山梨醇	d-sorbitol	蔷薇科植物鸟梨 *Pyrus aucuparia*	渗透性利尿药

注：* 为非药典收载，但具有显著活性的药用天然化合物。

（孔令义）

索　引

A

abietane　松香烷　238
absorbance(A)　吸收度　42
acacetin, robinin　刺槐素　207
acacia　阿拉伯胶　63
Acacia farnesian　金合欢　63,234
acacic acid　金合欢酸　288
acacic acid lactone　金合欢酸内酯　288
Acanthus illicifolius　老鼠簕　290
acetal　缩醛　75
acetate-malonate pathway(AA-MA)　醋酸-丙二酸途径　9
acetoacetic acid　乙酰醋酸　9
acetoacetyl-CoA　乙酰乙酰辅酶 A　7
acetogenin　乙酸原化合物　408
acetolysis 乙酰解反应　80
acetophenone 苯乙酮　202
acetyl CoA 乙酰辅酶 A　7,12,221
2-acetylglucose　2-乙酰葡萄糖　175
3-acetylaconitine　3-乙酰乌头碱　371
acetyl-CoA　乙酰辅酶 A　7
4′-acetylcymaroside　4′-乙酰基加拿大麻苷　319
acetylginsenosideRb$_1$　乙酰人参皂苷 Rb$_1$　275
acetylginsenosideRb$_2$　乙酰人参皂苷 Rb$_2$　275
acetylginsenosideRc　乙酰人参皂苷 Rc　275
(5Z,15S)-15-acetylprostaglandinB$_2$ methylester　412
Achillea odorta　272
achilleol B　蓍醇 B　272
Achyranthes longifolia　柳叶牛膝　308
acid mucopolysaccharide　酸性粘多糖　64
aconane　乌头烷　238,370
aconitine　乌头碱　371
acorane　菖蒲烷　234
ACTH　促肾上皮质激素　284
actinidine　弥猴桃碱　370
action on metabolism　代谢的作用　309
aculeatiside　341
acyclic　无环　223
acylation shift　酰化位移　46
adenosine　腺苷　69
adherence　依附　64
adipoylanginine　己二酰基精氨酸　321
aflatoxin B$_1$　黄曲霉素 B$_1$　115,120
aglycone　苷元　54
ajmaline　353
Albizia julibrissin　合欢　288
Aldohexoses　六碳醛糖　57
aldopentose　五碳醛糖　57
alkanin　异紫草素　148
allicin　大蒜辣素　261
Allium magerostemon Bunge　薤白　337,349
D-allose　D-阿洛糖　57,175
β-D-allose-(1→2)-D-glucose　β-D-阿洛糖基-(1→2)-D-葡萄糖　176
allyl benzene　烯丙苯　122
aloe-emodin　芦荟大黄素　151
aloin　芦荟苷　69
alternative forml　C 式或 A 式　56
altohyrtin　A、B、C　400
amarogentin　当药苦酯苷，龙胆苦酯　231
amarowerin　羟基当药苦酯苷　231

amino acid pathway 氨基酸途径 14,15
amino sugar 氨基糖 58
aminogalactose, chondrosamine, galactosamine 半乳糖胺 58
Ammi visnage 凯刺 120
amohidinolide P,K 398
amorphaquinone 147
Amphiscolops sp. 扁虫 398
amplitude(a) 振幅 49
amygdalin 苦杏仁苷 67
amylopectin 胶淀粉 63
amylase 糖淀粉 62
α-amyrane α-香树脂烷 288
β-amyrane β-香树脂烷 283
α-amyrin α-香树脂醇 274
β-amyrin β-香树脂醇 272,274
anabasine 毒藜碱 261
Andrographis paniculata 穿心莲,一见喜 239
andrographolide 穿心莲内酯 83,239
andrographolide-19-β-D-glucoside 穿心莲内酯 19-β-D-葡萄糖苷 83
Anemone rivularis 草玉梅 296
anethol 茴香脑 7
angelicon 当归内酯 111
Aniba guaianensis 129
Anisaldehyde 茴香醛 341
p-anisidine p-茴香胺硫酸溶液 92
anisodamine 山莨菪碱 361
anisodine 樟柳碱 361
Anisodoris nobilis 414
Annonaceae 番荔枝科 408
annoquinone A 150
Anodendron affine 333
Anomer 端基差向异构体 56
anomeric carbon 端基碳 56
antharidin 斑蝥素 227
anthocyanidin 花青素 175
anthocyanidin 花色苷苷元 189
anthocyanidins 花色素类 175
anthocyanin 花色苷 189
anthraquinone 蒽醌 150
anthvanilicacid 邻氨基苯甲酸 14
D-antiarose D-弩箭广糖 318
antibacterial activity 抗菌活性 307
anti-inflammatory activity 抗炎活性 306
antiviral activity 抗病毒活性 307
apigenin 芹菜素 204
apigravin 115
aplidine 407,413
Aplidium albicans 海鞘 407
aplyolide A、B、D 397
Aplysia depilans 397
aplysmomycin 抗疟霉素 400
apopicropodophyllin 失水苦鬼臼脂素 137
aporphine 阿朴啡型 14,365
apparicine 阿巴利生 369
L-arabinose L-阿拉伯糖 57,175
α-L-arabinose-(1→6)-D-galactose α-L-阿拉伯糖基-(1→6)-D-半乳糖 176
arachidonic acid 花生四烯酸 306
Arctium lappa 牛蒡子 131
Aristolane 土青木香烷 233
Aristolone 土青木香酮 220
armillarsinA 亮菌甲素 112
arnebifuranone 软紫草素呋喃酮 147
arnebinone 软紫草酮 147,169
aromadendrane 香木兰烷 233
arteannuin 青蒿素 235
artemether 蒿甲醚 235
artemisane 蒿烷 223
Artemisia annua 鹰爪 235
*Artemisia annua*L. 青蒿,黄花蒿 235
Artemisia capillaris 茵陈 120
Artemisia cina 山道年 236
Artemisia incana 蚓蒿 236
artemisinin 青蒿素 235,439
Artesunate 青蒿琥珀酸单酯 235,439
arylnaphthalenes 芳基萘类 124
1-arylnaphthalide 1-苯代-2,3-萘内酯 125
aryltetralins 芳基四氢萘 124

asarinin 细辛脂素 127,132
α-asarone α-细辛醚 260
β-a sarone β-细辛醚 260
Asclepias albicans 336
asiaticacid 亚细亚酸 289
asiaticoside 亚细亚皂苷 289
asperuloside 车叶草苷 229
aspidospermine 白坚木碱 368,390
asymmetry 电荷不对称 26
Asteropus sarasinosum 海绵 278
astragaloside Ⅰ 黄芪苷Ⅰ 280
Astragalus membranaceu s 膜荚黄芪 279
astragenol 黄芪醇 280
atisane 阿替烷 238
atisine 阿替生 353,371
ATP 三磷酸腺苷 6
atropine 阿托品 361
aucubin 桃叶珊瑚苷 230
auniol 403
aurantio-obtusin 橙钝叶决明素 158
aurantiumal 116
aurones 橙酮类 175
autitumouror anticancer activity 抗肿瘤活性 142,306
autunamine 奥特那明 366
avarol 415
avarone 415
averufin 奥佛尼红素 11
axial bond 竖键(直立键或a键) 57
Azadirachte indica 281
azulenoids 蓝类化合物 236

B

baccatin Ⅲ 巴卡亭Ⅲ 241
bahamgenin 346
L-baikiain 404
Balanophora japonica 日本蛇菰 108
Baljet 反应 拜吉特反应 326
barbaloin 芦荟苷 69,153
batrachotoxin A 蛙毒素A 316
Benzofurans 苯骈呋喃类 129
Benzoquinone 苯醌 146
benzoyl 苯甲酰基 191
benzylisoquinoline 苄基异喹啉型 14
berberine 小檗碱 8,365
berberubine 小檗红碱 372
bergenin 矮地茶素(岩白菜内酯) 69
betulin 白桦醇 290
betulinicacid 白桦酸 290
beyerane 贝叶烷 238
bicyclo[3,2,1]octanes 双环辛烷类 129
bicyclogermacrane 双环吉马烷 233
biflavonoids 双黄酮类化合物 174
biogastrone, carbenoxolone 甘珀酸钠 306
bio-Gel P 丙烯酰胺凝胶 33
Bio-gel P 聚丙烯酰胺凝胶 33
biogenetic isoprene rule 生源的异戊二烯法则 220
biosynthesis 生物合成 272
biphenylenes 联苯类 130
bisabolane 没药烷 234
bisdemosides 双糖链苷 271
bisezakyne A、B 409
Bis-formylcompouol 双甲酰基化合物 323
Blumea balsmifera DG 艾纳香 226
bombykol 蚕蛾醇 3
bornane 菠烷 225
borneol 龙脑,樟醇 226
borophycin 400
breadth(b) 宽幅 49
brevetoxin B 401,4
broad band decoupling(BBD) 宽带去偶 47
bryodulcosigenin 281
bryogenin 281
bryoniadioica 异株泻 281
bryonoside 281
bryoside 281
bufalin 蟾酥毒配基 328
bufanolide 蟾酥甾 318
bufogenins 蟾毒配基类 316,321
bufotoxins 蟾毒类 316,321
Bugula neritina 青苔 398

bulbophyllanthrone 150
Bupleurum chinensis 北柴胡 284
Bupleurum falcatum 山岛柴胡 284
Bupleurum scorzonerifolium 南柴胡 284
Burchellin 129
byakangelicol 白当归醇 114

C

Cadinane 杜松烷 234
L-cadinose L-红霉糖 59
caffeic acid 咖啡酸 108
caffeoyl glucose 咖啡酰基葡萄糖 176
3-O-trans-caffeoyltormentic acid 289
callophylloide 海棠果内酯 113
camphane 莰烷 223,225
camphene 莰烯 225
camphor 樟脑 226,259
camptothecine 喜树碱 369
cannabidiolic acid 大麻二酚酸 16
cannabigerolic acid 大麻萜酚酸 16
caoutchouc 橡胶 220
capillarisin 茵陈色原酮 434
caracurineV 箭头毒 V 387
carane 蒈烷 223,225
carbohydrates 碳水化合物 54
carbonium cation 正碳离子 280
cardenolids 强心甾 318
cardiacaglycones 强心苷元 317
cardiacglycosides 强心苷 316
carene 2-蒈烯 225
carminic acid 胭脂酸 69
carotene β-胡萝卜素 8
carotenoids 类胡萝卜素化合物 12,220
caryophyllane 丁香烷 233
cassane 卡萨烷 238
catalpol 梓醇 230
catalposide 梓苷 230
catechin D-儿茶素 177
catergen (+)-儿茶素 179
caudatin 告达亭 315
CCD 反流分布法 19,21
CD 圆二色谱 140,214
cedrane 松香烷 234
Celletodiol 399
Celletoketol 399
cellulase 纤维素酶 83
cellulose 纤维素 63,83,103
Centella asiatica 289
β-chacotriose 马铃薯三糖 341
chair form 椅式 55
chalcones 查尔酮 16,174
Chamaecyparis obtuse 日本扁柏 124
Chamaecyparis taiwanensis 扁柏 227
chamigrane 恰米烷 234
chelidonine 白屈菜碱 359
chemical adsorption 化学吸附 25
Chemical ionization 化学电离 39
Chemical shift 化学位移 44
chilleol A 著醇 A 272
chitin 甲壳素 63
Chloramine T 氯胺 T 314
chlorogenic acid 绿原酸 108
cholesterol 胆甾醇 293
cholesterol-loweringaction 降低胆固醇 308
chondropsin A 400
chondropsin C 400
chondrotin sulfate 硫酸软骨素 64
chorismic acid 予枝酸 14
chromone 色原酮 173
chrysanthemane 菊花烷 223
chrysarobin 柯桠素 151
chryso-obtusin 甲基钝叶决明素 158
chrysophanol 大黄酚 157
CI 化学电离 40
cigatoxin 西加毒素 401
cimicin 斯米生 378
cinactryolide A 400
cinchonidine 金鸡宁丁 382
cinchonine 金鸡宁 369
cinnamaldehyde 桂皮醛 122,260

cinnamic acid 桂皮酸 122,202
cinnamic acid pathway 桂皮酸途径 13
Cinnamonus camphora 樟树 227
cinnamoyl 桂皮酰基 191
cinnamyl alcohol 桂皮醇 122
citral 柠檬醛 224,259
citrinin 橘霉素 10
citronellal 香茅醛 224
citronellol 香茅醇 223
Citrus spp. 柠檬柑橘类 188
citrusal 116
clavulactoneI 412
Clavularia viridis 日本珊瑚 412,413
clerodane 克罗烷 238
clerodendrin A 海常黄素 240
Clerodendron infortunatum 欠愉大青 240
Clerodendron trichotonum 海州常山 240
clerodin 大青素 240
CM-Sephadex 羧甲基交联葡聚糖凝胶 33
cocaine 可卡因 3,361
codeine 可待因 365
coenzyme Q 辅酶 Q 147
colchicinamine 秋裂碱胺 366
colchicines 秋水仙碱 366
collinusin 136
coniferin 松柏苷 108
coniferol 松柏醇 122
conssine 康斯生 371
convallatoxin 铃兰毒苷 324
copane 胡椒烷 234
Cordia obliqua 290
Coronilla varia 多变小冠花 336
Coronilla 绿小冠花 325
correlation peak 相关峰 48
corynantheine 柯南因 368
corytuberine 紫堇块茎碱 356
coumaric acid 反式邻羟桂皮酸 113
coumarin 香豆素 110
coumarinic acid 顺邻羟桂皮 113
coumarini lignan 香豆素木脂素 122
coumarins 香豆素类 13
23-cis-p-coumaroyltormenticacid 289
23-trans-p-coumaroyltormenticacid 289
3-O-trans-p-coumaroyltormenticacid 289
coumerungin 120
counter current distribution 逆流分溶法 21
coupling constant 偶合常数 44
crassicauline A 粗茎乌碱甲 371
cross peak 相关峰 48
crotonside 巴豆苷 69
cryptophycin 413
cubebin 荜澄茄脂素 127
cucurbitacin Ia and Ib 280
cucurbitacins 葫芦苦素类 280
cucurbitane 葫芦烷 280
cuparane 花侧柏烷 234
cuskohygrine 红古豆碱 361
Cussonia barteri 298
Cussonoside A 298
cyaniding 双聚原矢车菊苷元(矢车菊素) 178
cyanogenic glycoside 氰苷 66
N-cyano-secopseudo strychnine 353
cycasin 苏铁苷 67
cyclamen 仙客来皂苷 79
cyclamiretin A 仙客来皂苷元 A 79
cyclitols 环醇 60
cycloartane 环阿屯烷(环阿尔廷) 279
cycloartenol 环阿屯醇 273
cycloastragenol 环黄芪醇 279
cyclodextrin 环糊精 61
cyclogeraniane 环香叶烷 223
cycloolivil 环橄榄脂素 134
cyclopentano-perhydrophenanthrene 环戊烷骈多氢菲 312
cycloxobuxidine F 黄杨木已素 371
D-cymarose 加拿大麻糖 319
p-cymene 孜然芹烯 259
Cynanchum otophyllum 青阳参 315
Cynanchum wallichi i 断节参 315
cynanovirin 405

Cynara scolymus 菜蓟 108
Cynarin 菜蓟素 108
cytidine 胞苷 69
C_{21} steroids C_{21} 甾 314
curcumene 姜黄烯 260

D

D:A-friedo-oleanane-3,21-dione 291
daidzein 大豆素 179
daidzin 大豆苷(大豆黄酮苷) 180
danshenxinkun A,B,C 丹参新醌甲、乙、丙 150
daphane 瑞香烷 238
daphniphylline 交让木碱 371
DCCC 液滴逆流色谱法 19,25,333
D-diginose D-地芰糖 319
D-digitalose D-毛地黄糖 319
D-digitoxose D-毛地黄毒糖 319
10-deacetylbaccatin Ⅲ 去乙酰基巴卡亭Ⅲ 241
DEAE-Sephadex 二乙氨基交联葡 33
n-decane 正癸烷 260
decanoyl acetaldehyde 癸酰乙醛 260
deglucohyrcanoside 脱葡萄糖凯卡罗苷 336
17,18-dehydroclavulone Ⅰ 412
dehydroshikimic acid 去氢奎宁酸 14
dehydroshikimic acid 去氢莽草酸 14
delaytime 弛豫时间 48
dl-demethylcoclaurine dl-去甲乌药碱 365
4-demethyliridoid 4-去甲基环烯醚萜 228
N-demethylmitiphyllin N-去甲米替非林 319
dendrobine 石斛碱 370
dendroprimine 362
D-6-deoxyallose D-6-去氧阿洛糖 318
7,3-deoxychondropsin A 400
(+)-Deoxyschizandrin 五味子甲素 127
deoxysugars 去氧糖 59
dermatan sulfate 硫酸皮肤素 64
7-desacetyl-7-bezoylazadiradione 282
7-desacetyl-7-benzoyl-gedunin 282
7-desacetyl-7-bezoylepoxyazadiradione 282
deslanoside 去乙酰毛花毛地黄苷 C 320
dhurrin 蜀黍苷 84
diacetate 双醋酸盐(酯) 323
3,16-diacetylgitoxigenin 3,16-双乙酰基毛地黄毒苷元 331
diagonal peak 对角峰 48
diaporthin 腐皮壳菌素 10
diasesartemin 127
dibencyclooctenes 联苯环辛烯类 127
dibenzyl butane 二芳基丁烷 123
dibenzyl butanediols 二芳基丁二醇类 123
dibenzyl tyrolactones 二芳基丁内酯类 124
dicoumarol 双香豆素 120
didemnin B 405
Didemnum cuculiferum 海鞘 407
Didemnum rodriguesi 404
dielectrie constant 介电常数 26
Diels-Alder 狄尔斯-阿德尔加成反应 220
1β,2β-diepoxyazadione 282
dig(digitoxose) 毛地黄毒糖 319,324
diginatigenin 双羟基毛地黄毒苷元 319
diginose 2-脱氧毛地黄糖 319
digipurpidase 紫花苷酶 325
Digitalis lanata 毛花毛地黄 319
Digitalis purpurea 紫花毛地黄 319
digitalose 洋地黄糖 319
17β-H-digitoxigeninacetate 17β-H-毛地黄毒苷元乙酸酯 331
digitoxigenin 毛地黄毒苷元 317
digoxigenin 异羟基毛地黄毒苷元 319
dihemiphthalate 双邻苯二甲酸单酯 306
dihydroalstonine 二氢奥斯冬宁 379
dihydroflavones 二氢黄酮 16
dihydroqinghaosu 双氢青蒿素 235
3β,14β-dihydroxy-5β-card-20(22)-eonlide 3β,14β-二羟基-5β-强心甾-20(22)-烯 318
3β-14β-dihydroxy-acilla-4,20,22-trienolide 3β,14β-二羟基海葱甾-4,20,22-三烯 318
dilignan 二木脂素 122
dimethoxypicraphylline 二甲氧基皮拉菲林 378
γ,γ-dimethylallylpyrophosphate(DAPP) 焦磷酸 γ,γ-

二甲基烯丙酯 221
Dioscorea deltoides 三叶薯蓣 17
Dioscorea hipponica 348
Dioscorea zingiberensis 原叶薯蓣(黄姜) 348
diosein 薯蓣皂苷 339
diosgenin 薯蓣皂苷元 339
diosmin 香叶木苷 177
Diosoovea panthaica 黄山药 336
dipentene 二戊烯 220
dipetalolactone 112
diphenyl dimethyl bicarboxylate 联苯双酯 143
Diphylleiagrayi 山荷叶 125
diploptene 274
diplopterol 274
dipolemoment 偶极矩 26
discodermolide 413
distortionless enhancement bipolarization transfer(DEPT) 48
diterpenoids 二萜化合物 12,222,237
DMBA 7,12-二甲基苯[a]并芘 306
DMF 二甲基甲酰胺 75,323
1 D-NMR 二维核磁共振 47,387
2 D-NMR 一维核磁共振 47,387
Dolabella auricularia 405
dolastatin 405
domoic acid 软骨藻酸 404
dopa 多巴 7
doublet(d) 二重峰 44
Drug Latentiation 药物潜伏化 336
Dryobalanops aromatica Gaertn 白龙脑香树 226
DVB 二乙烯苯 33
Dysidea avara 415

E

ebelin lactone 伊比林内酯 277
ecdyson 蜕皮激素 4
Ecteinascidia turbineta 海鞘 400,415
ecteinascidin 743(ET743) 400,415
eduasarone 欧细辛醚 264
Ehretia mierophylla 粗糠树 108
Ehrlich 试剂 对-二甲胺基苯甲醛浓硫酸试剂 236,341
EI 电子轰击法 39
elaeodendrosideB 福木苷 B 82
electron impactinonization 电子轰击法 39
electro sprayionization(SEI) 电喷雾电离 93
elemane 榄烷 233
elemophilane 艾里莫酚烷 233
eleutherobin 413
ellagic acid 逆没食子酸 113
Elysia rufescens 406
embelin 信筒子醌 146
l-emetine l-吐根碱 366
emodin 大黄素 11
empirical isoprene rule 经验的异戊二烯法则 220
emulsion 杏仁苷酶 83
endocrocin 内向藏花素 11
ent-aconane 对映-乌头烷 237
ent-atisane 对映-阿替烷 237
enterodiol 143
enterolactone 肠内酯 143
ent-gibberellane 对映-赤霉烷 237
ent-kaurane 对映-贝壳杉烷 237,241,243
Ephedra spp. 麻黄 1
ephedrine 麻黄碱 364
l-ephedrine 左旋麻黄素 1
4-epiclavulones Ⅱ,Ⅲ 412
Epicoceum nigrum 苔藓 17
3-epidigitoxigenin 3-表毛地黄毒苷元 317
episcopalidine 紫乌定 388
d-episesamind 表芝麻脂素 131
Epi- 表- 317
equatorial bond 横键(平伏键或 e 键) 57
eremophilone 艾里木酚酮 220
ergocristine 麦角克碱 352
ergotamine 麦角胺(麦角碱) 368
Eriobotrya japonica 枇杷 289
erythose-4-phosphate(E.4.P.) 赤鲜糖-4-磷酸 6
erythritol 赤醇 60
esculentic acid 商陆酸 286

esculentosideA、B、C、D、E、F～R 商陆皂苷甲、乙、丙、丁、戊、己等 286
esculetin 七叶内酯 111
ESI-MS 电喷雾质谱 93
essential loils 精油 258
ester saponins 酯皂苷 271
etoposide 依托泊苷 142
eucalyptol 桉油精 264
eucarvane 优香芹烷 223
eudesmane 桉烷 233
eugenol 丁香酚 7,260
eupachlorin 泽兰氯内酯 237
euparotin 泽兰苦内酯 237
Eupatorium rotundifolium 圆叶泽兰 237
Eupatorium stoechadosmum 水泽兰 266
euphane 大戟烷 281
eupomatene 129
Eurycoma longifolia 272
eusiderin 优西得灵 130
Eusideroxylon zovagevi 130
L-evonymitol L-卫矛醇 60
excited state 激发态 42
exclusion chromatography 排阻色谱 31

F

fangchinoline 防己诺林 365
farnesene 金合欢烯 233
farnesol 金合欢醇 233,272
farnesylpyrosphate(FPP) 焦磷酸金合欢酯 222,232
FarPP 焦磷酸金合欢酯 12
fast atom bombardment(FAB) 快原子轰击质谱 93
Fehling reaction 弗林反应 71
fenchane 葑烷 225
ferulic acid 阿魏酸 108
FI 场致电离 40
ficine 榕碱 174
FID 自由诱导衰减 46
field desorption ionization 场解析质谱 93
field ionization 场致电离 93
finger printregion 指纹区 42
Fisther 投影费歇尔投影 54
Flash chromatography 快速色谱 23
flavan-3-ols 黄烷-3-醇类 175
flavanones 二氢黄酮类 175
flavanonols 二氢黄酮醇类 175
flavones 黄酮类 175
flavonoids 13,173
flavonol 黄酮醇 175,191
flavonolignan 黄酮木脂素 122
flindissone 279
foetoside C 306
Fourier translation 傅里叶变换 46
fredelin 291
friedelane 木栓烷 291
Fritillaria ebeiensis G. D. Yu *et* G. Q. Ji 鄂北贝母 250
fritillebeinol A 鄂贝醇甲 250
fritillebicacid 鄂贝酸 250
fritillebinA, B, C, D 鄂贝酸酯 A、B、C、D 250
fritillebinide A, B, C, D, E 鄂贝缩醛 A、B、C、D、E 250
fructans 果聚糖 62
D-fructose D-果糖 58
Fubtuphyllamine 丰土那明丙素 389
L-fucose L-夫糖 58,287
Functional group region 特征频率区 42
furanose 呋喃型糖 55
furanospongin-3 呋喃海绵素-3 242
furoguaiacidin 122
furoguaiacin 127
furostanol saponins 呋甾烷醇皂苷 340
furostanols 呋甾烷醇类 337
futoenone 呋胡椒脂酮 130

G

G. pallidiflora maxim 刺果甘草 37
D-galactosamine 2-氨基-2-去氧-D-半乳糖 58
β-D-galactose-(1→4)-D-galactose β-D-半乳糖基-(1→4)-D-半乳糖 176
β-D-galactose-(1→4)-L-rhamnose β-D-半乳糖基-(1→4)-L-鼠李糖 176

D-galactose D-半乳糖 57,175
D-galacturonic acid D-半乳糖醛酸 59,175
galangin 高良姜素 192
galanthamine 加兰他敏 366
(-)-galbacin 126
galgravin 134
gallic acid 没食子酸 17
gamabufotalin 3β,11α,14β-三羟基-5β-H-蟾酥甾-20,22-二烯 318
gamabufotalitoxins 日蟾蜍它灵毒类 321
Gambierdiscus tixicus 401,402
gammaceranyl C-21 正离子 274
ganodecic acid C 278
gardenoside 栀子苷 230
garlicoil 大蒜油 260
gastrodin 天麻苷 66
gauche 邻位折式 56
gelfiltration 凝胶过滤法 31
gel permeation chromatography 凝胶渗透色谱 31
geneserine 354
genin 配基 54
geniposide 京尼平苷 65,230
geniposidic acid 京尼平苷酸 230
genistein 金雀花异黄素 178
genistin 染料木素 179
Gentiana scabra Bunge. 龙胆 231
gentianine 龙胆碱 231,370
gentianose 龙胆三糖 174
gentiobiose 龙胆二糖 174
gentiopicrin 龙胆苦苷 231
gentiopicroside 龙胆苦苷 231
geranial 香叶醛 224
geraniol 香叶醇 223
Geranium hyperacium 老鹳草 17
geranyl farnesyl-PP(GFPP) 焦磷酸香叶基金合欢酯 222
geranyl geranyl-PP(GGPP) 焦磷酸香叶基香叶酯 12,222
geranyl pyrophosphate(GPP) 焦磷酸香叶酯 222
germacrane 吉马烷 233
GerPP 焦磷酸香叶酯 12
ghedoic acid 408
gibberallane 赤霉烷 238
ginipin 京尼平 230
Ginkgo biloba 银杏 240
ginkgolides A, B, C, M, J 银杏内酯 A、B、C、M、J 240
ginkgolides 银杏内酯 240
ginsenoside Rb_1 人参皂苷 Rb_1 85
ginsenosides 275
Girard P 吉拉德试剂 P 247
Girard T 吉拉德试剂 T 247
gitaloxigenin 吉他洛苷元 319
gitaloxin 吉他洛苷元 319
gitoxigenin 羟基毛地黄毒苷元 319
gitoxin 羟基毛地黄毒苷元 320
glc(lucose) 葡萄糖 57
glucogitaloxin 葡萄糖吉他洛苷 319
glucoraphenin 萝卜苷 68
D-glucosamine 2-氨基-2-去氧-D-葡萄糖 58
Glucoscillaren A 葡萄糖海葱苷 A 320
β-D-glucose-(1→4)-D-mannose β-D-葡萄糖基-(1→4)-D-甘露糖 176
β-D-glucose-(1→4)-L-rhamnose β-D-葡萄糖基-(1→4)-L-鼠李糖 176
β-D-glucose-(1→6)-D-galactose β-D-葡萄糖基-(1→6)-D-半乳糖 176
D-glucose D-葡萄糖 57,175
β-D-glucosidase β-D-葡萄糖苷酶 84,325
D-glucuronic acid D-葡萄糖醛酸 59,175
glycogan 糖原 63
glycosaminoglycan 糖胺聚糖 64
glycosides 苷类 54,176
glycosylation shift 苷化位移 48,89
glycyrrhetic acid 甘草酸 284
glycyrrhetinic acid 甘草次酸 284
Glycyrrhiza. eurycarpa 黄甘草 284
Glycyrrhiza uralensis 乌拉尔甘草 1,283
glycyrrhizic acid 甘草酸 284,306
glycyrrhizin 甘草皂苷 1,284

glyeury saponin 黄甘草皂苷 284
glypalli sapogenin A 刺果甘草皂苷元A 38
gomisin J 戈米辛J 143
gossypetin 棉黄素 179
gossypin 棉花皮苷 179
gossypol 棉酚 235
Gracilaria verrucosa 413
grayanotoxane 木藜芦毒烷 238
griseofulvin 灰黄霉素 10
groundstate 基态 42
G-strophanthin G-毒毛旋花子苷 320
guaiacblue 愈创兰 127
Guaiacum officinale 愈创木 122,236
guaiane 愈创木烷 233
guaianin 129
guaiol 愈创木醇 236
guan-fubase A 关附甲素 371
guanosine 鸟苷 69
D-guinovose D-鸡纳糖 58
gum 树脂 63

H

Hakomori 箱守法 99
Halichondrai okadai 402
halichondrin B 402
D-hamamelose D-金缕梅糖 58
hancinone 山荷素 129
harmanine 哈满尼 355
harringtonine 三尖杉酯碱 366
Hartio altum 400
hasubanane 莲花氏烷 353
hederagenin 长春藤皂苷元 307
hellebrigenin 嚏根草苷元 328
hemiacetal 半缩醛 323
hemicellulose 半纤维素 63
hemiterpenoids 半萜化合物 222
Hemsleya amabilis 280
heparin 肝素 64
heptaketide 聚庚酮类 11
hesperidinase 橙皮苷酶 83
hesperidin-methylchalcone(HMC) 橙皮苷-甲基查耳酮 179
hesperidin 橙皮苷 177
heterosaccharide 杂多糖 62
hetidine 海替定 393
10E,10Z-hexadien-1-ol 蚕蛾醇 3
hexaketide 聚己酮类 11
hexulose 六碳酮糖 58
Himantandra belgraveane 134
Himantondra baccata 126
hinokinin 扁柏脂素 124
hinokitol 扁柏酚 220
hispigenin 螺甾三醇 338
HMG CoA 甲戊二羟酸单酰辅酶A 12
holothurian A 306,424
holothurin A, 海星皂苷A 306
Holothurin mexicana 306
homodecoupling 同核去偶 45
homoharringtonine 高三尖杉酯碱 366
homoisoflavones 高异黄酮类 175
homolycorine 高石蒜碱 373
hemolytic activity 溶血活性 309
homosaccharide 均多糖 62
honokiol 和厚朴酚 130
HPLC 高压液相色谱法 5,24
HR-MS 高分辨质谱 38
HSCCC 高速逆流色谱 19,25
humulane 蛇麻烷 233
hybrid lignan 杂木脂素 122
Hydrangea macrophylla 绣球花 231
hydrangenosides A、B、C、D 绣球内酯苦苷A、B、C、D 231
hydrastine 北美黄连碱 373
3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) 甲戊二羟酸单酰辅酶A 221
23-hydroxyl betulinic acid 23-羟基白桦酸 290
(-)hydroxy-butanedioic acid, Malicacid, Oxysuccinic acid (-)苹果酸 214
10-hydroxycamptothecine 羟基喜树碱 369
N-hydroxycantharidimide N-羟基斑蝥胺 227

4-hydroxycinnamic acid 对羟基桂皮酸 108
2-hydroxyesculentic acid 2-羟基商陆酸(jaligonicacid) 286
hydroxyethyl rutin 羟乙基芦丁 179
10-hydroxyligustroside 10-羟基女贞苷 231
hydroxysenegenin 羟基远志皂苷元 288
16-hydroxytriptolide 16-羟基雷公藤内酯醇 241
hyoscyamine 莨菪碱 361
hypericin 金丝桃素 153
hypocrellin A 竹红菌甲素 149
hyrcanogenin 凯卡罗苷元 336
hyrcanoside 凯卡罗苷 336

I

ibogamine 依波加明 368
ilimaquinone 147
illudane 伊鲁烷 233
in *vitro* 体外试验 428
in *vivo* 体内试验 428
indicum 靛苷 68
infraredspectra(IR) 红外光谱 42
inositols 环己六醇(肌醇) 60
inotoralactone 157
interiorin 内南五味子素 128
intricatetraol 403
inulin 菊淀粉 63
invertase 转化糖酶 83
involucrato lactone 大苞雪莲内酯 237
ionone 紫罗蓝酮 226
β-ionone β-紫罗兰酮 226
IPP 焦磷酸异戊烯酯 12
IPP isomerase 焦磷酸异戊酯异构酶 221
Iridoid 环烯醚萜 228
iridoidial 蚁臭二醛 228
Iridomyrmex detectus 臭蚁 228
isatinB 菘蓝苷 68
isoatisine 异阿替生 377
isobutyryl CoA 异丁酰辅酶 A 10
isobyakangelicolic acid 114
isoedultin 异爱得尔庭 119
isoficine 异榕碱 174
isoflavanones 二氢异黄酮类 175
isoflavones 异黄酮类 175,178
isohalichodrin B 402
isolariciresinol 异落叶松脂素 134
isoliquiritigenin 异甘草素 180
isomengiferin 异芒果苷 69
isomenthol 异薄荷醇 226
isonuatigenin 异纽替皂苷元 341
isopentenyl-异戊烯基 119,120
isopentenyl pyrophosphate (IPP) 焦磷酸异戊烯酯 221
isopimarane 异右松脂烷 238
Z-isoprelaurefucin 410
isoprene 异戊二烯 8
isopsoralen 白芷内酯 112
isorhychophylline 异和钩藤碱 377
isospirostanol saponins 异螺甾烷醇皂苷类 338
isospirostanols 异螺甾烷醇类 337
isospongiaquinone 147
isovaleraldehyde 异戊醛 260
isovaleric acid 异戊酸 260,317
isovitexin 异牡荆素 69

J

jaligonic acid 286
japonenyne-A, B, C 409
Jasminum grandiflorum 香馨花 224
jatrorrhizine 药根碱 366
jervine 介藜芦碱 372
juglon 胡桃醌 148
jujubogenin 酸枣仁皂苷元 277
jujuboside A 酸枣仁皂苷 A 277
jujuboside B 酸枣仁皂苷 B 277
Juniperussabina 桧柏 124
jurabidine 园维茄次碱 371
Justicia hayata 143
Justicia simplex 308
justicisaponin I 308

K

K 分配比 19
kadsulignan A,C 南五脂素 A,C 128
Kadsura interior 内南五味子 128
Kadsura japonica 日本南五味子 128,141
Kadsura 南五味子属 127
kadsurenone 海风藤酮 129
kadsurin 南五味子素 128,129
kaempferol 山柰酚 179
kaempferol-3-galactoseglucose-7-rhamnoside 山柰酚-3-半乳糖葡萄糖-7-鼠李糖苷 186
kahalalide F 406
Kahlenbergreaction 五氯化锑反应 292
kainic acid 404
kaurane 贝壳杉烷 238
K. coccinea 黑老虎 128
Kedde 反应凯迪反应 326
Keller-Kiliani 反应,K-K 反应 315
keptane 正庚烷 260
ketal 缩酮 75
ketohexose 六碳酮糖 58
khellin 凯林 120
r'-Kinokitol r'-崖柏素,扁柏素 227
K. long ipedunculata 长梗南五味子 128
Kokona zeylanica 291
kokoondiol 291
kokoonol 291
kokoononol 291
kokzeylanol 291
kokzeylanonol 291
kopsanol 柯蒲醇 387
K. W. Schelle 舍勒 2
kushenol 苦参醇 214

L

labdane 半日花烷 238
lacceroic acid 408
lactiflorin 芍药新苷 86
lactose 乳糖 176
laminaribiose 昆布双糖 176
Lanatoside 毛花毛地黄苷 319
lanostane 羊毛脂烷 278
lanosterol 羊毛甾醇 273
lapachol 拉帕醌 148
lappaconitine 高乌甲素 371
lappaol A,F 拉帕酚 A、F 131
Larrea divaricata 极叉开拉瑞阿 123
laserane 拉松烷 234
lataustralin 百脉根苷 67
lathyrose 香豌豆糖 176
Latrunculia magnifolia 红海海绵 398
latrunculin A 398
laurane 月桂烷 234
Laurencia intricatea 红藻 403
Laurencia japonensis 409
Laurencia obtuse 410
Laurencia. poitei 410
laurencienyne B 410
Laurenenyne A 409
lavandulane 薰衣草烷 223
Legal 反应 326
lembyne A、B 411
lemmatoxin 286,308
lentinan 香菇多糖 62
Licaria macrophylla 129
licarin A 129
Liebermann-Burchard reaction 醋酐-浓硫酸反应 292,314
lignans 木脂素 13,120,122
lignins 木质素类 13
limonene 柠檬烯 225
linalool 芳樟醇 224
linamanin 亚麻氰苷 67
lindenrane 乌药烷 233
liquid secondaryion 液体二次离子质谱 93
Lobaria retigera 网肺衣 242
Lobar 柱 罗巴柱 24,25,349
loberine 洛贝林 362
logilene peroxide 272

long range selective proton decoupling spectrum (LSPD) 远程选择氢核去偶谱 47
longifolane 长松叶烷 234
longispino genin 长刺皂苷元 285
lucidenic acid 278
lucidone A 278
lupane 羽扇豆烷 290
lupenyl 273
lupeol 羽扇豆醇 290
lupinine 羽扇豆碱 362
Lupinus luteus 羽扇豆 290
luteolin 木犀草素 204
luvigenin 鲁维皂苷元 339
lycoctonine 牛扁碱 371
lycopodine 石松碱 362
lycorine 石蒜碱 366
lysine 赖氨酸 16

M

M. obovata 日本厚朴 130
maaliane 橄榄烷 233
(−)-macrolactin A 397
(+)-macrolactin E 397
macrolides 大环内酯 396
macrophyllin 129
madecassicacid 羟基积雪草酸 289
madecassoside 羟基积雪草苷 289
magnocurarine 厚朴碱 365
Magnolia officinalis 厚朴 130
magnoline 木兰碱 8
magnolol 厚朴酚 130
maitotoxin 402
malonyl CoA 丙二酸单酰辅酶 A 7
malonyl ginsenoside Ra_1 275
malonyl ginsenoside Ra_2 275
malonyl ginsenoside Rc 275
maltase 麦芽糖酶 83
maltose 麦芽糖 176,290
mannich 曼尼希 15,16,324
Mannich 水解 盐酸丙酮法 324
D-mannitol D-甘露醇 60
β-D-*mannose*-(1→2)-D-glucose β-D-甘露糖基-(1→2)-D-葡萄糖 176
D-mannose D-甘露糖 57,175
maoyancaosu 猫眼草素 130
marasmane 小皮伞烷 233
massetolide A 405
matairesinol 罗汉松脂素 123
matrine 苦参碱 362
meliacane 楝烷型 281
meliacins 楝苦素类成分 281
melitotoside 香草木樨苷 111
mengiferin 芒果苷 69
Mentha arvensis var. piperasceus 薄荷 225
menthane 薄荷烷 223,225
Mentha piperita 欧薄荷 225
l-menthol l-薄荷醇 8,225
menthone 薄荷酮 226
1α-methoxy-1,2-dihydroepoxyazadione 282
α-methylbutyryl CoA α-甲基丁酰辅酶 A 10
methylnonylketone 甲基正壬酮 260
methyl 甲基 10
methymalonyl CoA 甲基丙二酸单酰辅酶 A 10
mevalonic acid (MVA) 甲戊二羟酸 8,11,219
mevaloyl 5-pyrophosphate 甲戊二羟酸 5-焦磷酸 12
mgrosinase 芥子苷酶 84
minalemines A ~ F 404
mirystisin 137
miscellaneous activity 生物活性 309
Mitiphyllin 米替非林 319
molecular sieve filtration 分子筛过滤 31
Molish 反应 73
monocrotaline 野百合碱 361
monodemosides 单糖链苷 271
monosaccharide 单糖 54
monoterpenoids 单萜化合物 12,222
morin 桑皮素 179
morphine 吗啡碱 3,352
morphine 吗啡型 14
Mosher's 257

MS 质谱 4,5,37,39,189
mucilage 粘液质 63
multiflorin A 营实苷 A 179
multiplet (m) 多重峰 44
S-munitagine S-蓟罂粟碱 359
D-muramicacid 细菌细胞壁构成糖 59
mustardoil 芥子油 68,260
D-mycaminose 碳霉氨基酸 59
L-mycarose 碳霉糖 59
myricetin 杨梅素 186
Myristica otoba 奥托肉豆蔻 124

N

NADPH 辅酶 I 6
nanomole 毫克分子 335
NaoTs 甲苯磺酸钠 323
Naphtho quinone 萘醌类 148
narceine 那碎因 353
narcotine 那可丁 353
naringenase 柑桔苷酶 83
naurol A 272
naurol B 272
negative ion 298
neoclerodane 新克罗烷 240
neocycasin 新苏铁苷 67
neohesperidin 新橙皮糖苷 206
neohesperidose 新橙皮糖 176
neoisomenthol 新异薄荷醇 226
Neolignan 新木脂素 122
d-neomenthol d-新薄荷醇 226
D-neuraminic acid D-神经胺酸 59
Neo-pentologenin/25(27)-pentologenin 新潘托洛皂苷元 339
Neosiphonia superstes 398
neostrychnine 新士的宁 353
Neo-新- 338
neral 橙花醛 224
nerol 橙花醇 223
nerolidol 橙花倍半萜醇 233
nerylpyrophosphate(NPP) 焦磷酸橙花酯 225
nicotine 蒜碱 261
NMR 核磁共振 4,5
n-nonylalcohol 正壬醇 260
nodakenetin 紫花前胡内酯 112
nordihydroguaiaretic acid 去甲二氢愈创木脂酸 123
30-norlanostane-triterpenoidaloligoglycosides 30-去甲羊毛脂烷型三萜皂苷 278
norlignan 去甲木脂素 122
normalform C1 式或 N 式 56
Nostoc ellipsosporum 405
Nostoc linckia 400
novobiocin 新生霉素 8,120
nuatigenin 纽替皂苷元 341
nupharidine 萍蓬定 370

O

obtusallene I 410
(+)-obtusenyne 410
3E-obtusenyne 410
3Z-obtusenyne 410
obtusifolin 钝叶素 158
obtusin 钝叶决明素 158
octantrule 八区律 51
okadaik acid 大海软海绵酸 402
Oleaeuropaea 齐墩果 126
oleanane 齐墩果烷 283
L-oleandrose L-夹竹桃糖 319
oleano glycotoxin A 286,308
oleanolic acid 齐墩果酸 8,283
oleuroprin 橄榄苦苷 231
oligosaccharides 低聚糖 60
olivil 橄榄脂素 126
onjisaponin F 远志皂苷 F 287
onjisaponin G 远志皂苷 G 287
ophiobolin A 蛇孢假壳 A 242
Ophiobulus miyabeanus 芝麻枯病菌 242
ophiopogonin 沿阶草皂苷 340
optical rotatory dispersion (ORD) 旋光光谱 48
ornithine 鸟氨酸 16
osmane 桂花烷 223

osthole 奥斯脑 120
otobain 奥托肉豆蔻脂素 124
ouabagenin 乌本苷元 320
ouabain 乌本苷 320
2,3-oxidosqualene 2,3-氧化角鲨烯 273,312
oxidosqualene 环氧鲨烯 273
p-oxocamphor 对氧化樟脑 227
(5Z, 13Z)-9-oxoprosta-5, 10, 13-trienoicacidmethyl ester 412
3-oxotircalla-7,24-diene-21,23-diol 279
3-oxotirucalla-7,24-dien-23-ol 279

P

paederoside 鸡屎藤苷 230
Paeonia albiflora 芍药 227
paeoniflorin 芍药苷 227
PAF 血小板活化因子 129,143
PAL 苯丙氨酸脱氨酶 11
palmatine 巴马亭 366
Palythoa toxicus 岩沙海葵 402
palytoxin 沙海葵毒素 4
palytoxin 岩沙海葵毒素 402
Panax ginseng 人参 275
panaxadiol 人参二醇 276
panaxatriol 人参三醇 276
paniculatine 九里香定 111
paniculogenin 异螺甾三醇 338
papaverine 罂粟碱 8,180,365
Paramignya monophylla 279
parillin 菝葜皂苷 340
Paris polyphyll a 重楼 337
PC 纸层色谱 189
pecteno toxin 2 402
pectic substance 粘胶质 63
peeling reaction 剥落反应 82
pelletierine 石榴碱 362
pellotine 哌劳亭 364
peltatin 盾叶鬼臼脂素 125
pentacyclictriterpenoids 五环三萜 283
pentaketide 聚戊酮类 10
PEP 磷酸烯醇丙酮酸 6
P. hancei 山莓 129
Phenanthraquinone 菲醌 149
phenyl alanine 苯丙氨酸 13,16
phenyl alanineammonialyase 苯丙氨酸脱氨酶 13
2-phenyl-chromone 2-苯基色原酮 173
phenyl propanoids 苯丙素类 107
phenyl alanine 苯丙氨酸 364
phenyl propanoids 苯丙素类 107
pheromone 雌性信息素 3
phorbane 大戟烷 238
phthalascidin 419
p-hydroxy-cinnamic acid 对羟基桂皮酸 108
p-hydroxycinnamyl alcohol 对羟基肉桂醇 122
phyllanthin 叶下珠脂素 123
Phyllanthus niruri 珠子草 123
phyllocardane 238
physcion 大黄素甲醚 10,157
physical adsorption 物理吸附 25
physoperuvine 358
physostigmine 毒扁豆碱 375
phytofluene 六氢番茄烃 12
phytol 植物醇 237
Phytolacca esculenta 商陆 286
Phytolacca. americana 美商陆 286
Phytolacc. dodecandra 十蕊商陆 286
Phytolacca. octandra 商陆 286
phytolaccagenic acid 商陆酸 286
phytolaccagenin 2-羟基商陆酸-30-甲酯(美商陆皂苷元) 286
phytolaccoside A,B,D,E,G 美商陆皂苷 A、B、D、E、G 286
pimarane 右松脂烷 238
pimaric acid 海松酸 8
Pimeloylarginine 庚二酰基精氨酸 321
pinane 蒎烷 223,225
pinene 蒎烯 225,259
pinocembrin 生松素 204
Piper cubeba 荜澄茄 126
Piper futokadsura 海风藤 129,130

piperine 胡椒碱 352
piperonylic acid 胡椒酸 136
Plexaura homommalla 佛罗里达珊瑚 411
Plexaura nina 412
plumbagin 蓝雪醌 148
podocarpane 罗汉松烷 238
Podocarpus spicatus 罗汉松 124
podophyllotoxin 鬼臼毒素 125
Podophyllum 鬼臼属 125
poitediene 410
polarizability 极化度 26
poliamide 聚酰胺 28
Pollyathia subarosa 307
Polyether 聚醚 401
Polygala tenuifolia 远志 287
Polyketides 聚酮类 9
Polysaccharides 多聚糖 62
porphyrin 卟啉 239,352
P. pleianthum 八角莲 125
Prename 孕甾烷 314
presenegenin 原远志皂苷元 287
primary metabolites 一次代谢产物 7
primverose 樱草糖 60
procaine 普鲁卡因 3
prochiral carbon 前手性碳 90
propenyl benzene 丙烯苯 122
propyonyl CoA 丙酰辅酶 A 10
prosapogenins 次皂苷 271
ProscillaridinA 原海葱苷 320
proteoglycan 蛋白聚糖 64
protoanemonin 白头翁素 260
protoberberine 原小檗碱型 14,365
protoilludane 前伊鲁烷 233
proto limonoids 282
proton complete decoupling(COM) 全氢去偶 46
proton noise decoupling spectrum 噪音去偶谱 46
protonation 质子化 280
proto panaxatriol 276
20(S)-protopanaxatriol 20(S)-原人参三醇 276
20(S)-protopanaxdiol 20(S)-原人参二醇 85,275
protopine 普罗托品 359
prunasin 野樱苷 67
pseudo ephedrine 伪麻黄碱 364
pseudo purpurin 伪羟基茜草素 151
pseudo-spiostanols 变形螺甾烷醇类 337
psoralen 补骨脂内酯 112
PTFE 聚四氟乙烯 25
Ptychodiscus brevis 401
puerarin 葛根黄素 176
puerarin xyloside 葛根黄素木糖苷 177
Pulsatilla chinensis 白头翁 290
pulse FT-NMR 脉冲傅里叶变换核磁共振 45
P. peltatum 盾叶鬼臼 125
purpura glycoside 紫花毛地黄苷 319
purpurin 羟基茜草素 151
pyranose 吡喃型糖 55
pyruvic acid 丙酮酸 6

Q

QAE-Sephadex 苯胺乙基交联葡聚糖凝胶 33
Qing Yang Shengenin 青阳参苷元 315
Qing Yang Shenside I 青阳参苷 I 315
qinghaosu 青蒿素 235,253
quartet(q) 四重峰 44
quasi-molecular ion peak 准分子离子峰 206,298
quercetin 槲皮素 178
questin 大黄素-8-甲醚 158
quillaic acid 皂树皂苷元 96
quinicacid 奎宁酸 108
quinidine 奎尼丁 369
quinine 奎宁 369

R

rabdistia japonica 274
raffinose 棉子糖 61
ranunculin 毛茛苷 65
rapanone 密花醌 146
Raymoncl 反应 雷孟德反应 326
rebaudiosides A,D,E 甜菊苷 A、D、E 241
recordin 立可定 177

repeating unit 重复单元 62
reserpine 利血平 3,368
resibufi genin 来西蟾酥毒配基 321
retacridone 冉特可林酮 356
retigeranicacid 网脉酸 242
reverse phase partition chromatography 反相分配色谱 23
L-rhamaose L-鼠李糖 58
α-L-rhamnose-(1→2)-D-galactose α-L-鼠李糖基-(1→2)-D-半乳糖, 176
rhein 大黄酸 151
rhodioloside 红景天苷 65
rhoeadine 丽春花定 359
Rhoiptelen chilliantha 马尾树 108
Rhus typhina 漆树 17
rhychopylline 和钩藤碱 377
D-ribose D-核糖 57
robinobiose 刺槐二糖 176
Rosenheim 反应 三氯醋酸-氯胺T 314
Rosen-Heimerreaction 三氯醋酸反应 293
rosmarinic acid 108
rotenone 鱼藤酮 143
rubrofusarin 红镰刀菌素 10,157
rungiose 明萼草糖 176
rutin 芦丁 66,177
rutinose 芸香糖 176

S

saccharide 糖类 54
Saccharomyces carlsbergenesiss 307
safrole 黄樟醚 137
saikogeninE 柴胡皂苷元E 284
saikogeninF 柴胡皂苷元F 284
saikogeninG 柴胡皂苷元G 284
saikosaponina 柴胡皂苷a 284
saikosaponinc 柴胡皂苷c 284
saikosaponind 柴胡皂苷d 284
saikosaponine 柴胡皂苷e 284
saikosaponinf 柴胡皂苷f 285
saikosaponinl 柴胡皂苷l 284,301
saikosaponinr 柴胡皂苷r 284,301
saikosaponinu 柴胡皂苷u 284
saikosaponinv 柴胡皂苷v 284
Salkowsk reaction 氯仿-浓硫酸反应 293
Salkowski 反应 磷钨酸反应 314
Salvia miltiorrhiza 丹参 110,149
Salvinin 桧脂素 124
Sambubiose 山布双糖 176
Samidin 萨米定 112
Sanguisorba officinalis 地榆 289
sanguisoubinB 地榆皂苷B 289
sanguisoubinE 地榆皂苷E 289
santalane 檀香烷 234
santonic acid 山道年酸 236
α-santonin α-山道年 8,236
saponarin 肥皂黄素 204
saponariosideA 皂角苷A 96
sapotoxins 皂毒类 293
saprothoquinone 红根草邻醌 149
sarasinosides A_1,A_2,A_3 278
sarasinosides A_1,A_2,A_3 278
sarasinosides B_1,B_2,B_3 278
sarasinosides C_1,C_2,C_3 278
Sarcophylon crassocaule 412
sarmentosin 垂盆草苷 67
sarsaprilloside 原菝葜皂苷 340
sarsasapogenin 菝葜皂苷元 340
sativane 苜蓿烷 234
sauguinarine 血根碱 366
Saussurea involucrate 新疆雪莲 237
schardinger 糊精 61
schisantherin 五味子酯 128
Schizandra chinensis 五味子 127
Schizandra henryi 翼梗五味子 122
Schizandra 五味子属 127
γ-schizandrin 五味子乙素 127
scillabiose 海葱双糖 176
Scillamaritima 海葱 320
scillanolids 海葱甾 320
scillarenA 海葱苷A 320

scillarenin 海葱苷元 318
scillicyanoside 乙酰绿海葱苷 320
scilliglaucogenin 绿海葱苷元 320
scilliglaucoside 绿海葱苷 320
scilliroside 红海葱苷 320,325
scillirosidin 红海葱元 320,325
scoparon 滨蒿内酯 120
scopolamine 东莨菪碱 361
scutellarein 黄芩素 179
secoiridoid 裂环环烯醚萜 228
secologanin 裂环番木鳖苷 231,366
secondaryion-MS,SI-MS 二级离子质谱 299
secondary metabolites 二次代谢产物 7
securinine 一叶萩碱 362
selectrive proton decoupline spectrum(SPD) 选择氢核去偶谱 47
semi-chemical adsorption 半化学吸附 26
senegenic acid,polygalic acid 远志酸 287
senegenin 远志皂苷元 287
sennoside A,B,C,D 番泻苷A、B、C、D 152
sennoside A 番泻苷A 66
Sephadex G 葡聚糖凝胶 31,92,103,116,186
Sephadex LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶 31,32,33,116,186
Sepharose Bio-GelA 琼脂糖凝胶 33,103
serine 丝氨酸 64
serpentine 蛇根碱 372
(+)-sesamin (+)-芝麻脂素 127,131
Seseli mairei 竹叶防风 119
sesquicarane 倍半蒈烷 234
sesquilignan 倍半木脂素 131
sesquiterpenoids 倍半萜化合物 12,222,232
sesterterpenoids 二倍半萜化合物 222,242
shikimic acid pathway 莽草酸途径 6,13
shikonin 紫草素 148
siglet(S) 单峰 44
silybin 水飞蓟素 130,174,179
silychristin 次水飞蓟素 179
silydianin 异水飞蓟素 179
simplexoside 143
sinalbin 白芥子苷 68
sinapic acid 芥子酸 108
sinapylalcohol 芥子醇 122
sinigrin 黑芥子苷 68
Sinopodophyllum emodi 桃儿七 125
sipholenol 403
sipholenone A、B 403
Siphonochalina siphonella 海绵 403
sisalagenin 剑麻皂苷元 339
skewconformation 歪斜构象 57
skikimicacid 莽草酸 6
slachyose 水苏糖 61
Smilax aristolochiaefolia 菝葜 340
Smith 降解 史密斯降解 85
snail enzyme 蜗牛酶 277,325
solanidine 辣茄碱 371
solanocarpsine 澳洲茄胺 371
Solanum aculeatissimum 多皮刺茄 341
β-solatriose 茄三糖 341
Solanum hispidum 338
solasodine 茄次碱 371
sophorose 槐糖 60,176
D-sorbitol D-山梨醇 60
L-sorbose L-山梨糖 58
sparteine 金雀花碱 362
Spirastralla spinispirulifera 海绵 420
spirobenzo furanoid 螺苯骈呋喃 128
spirodienones 螺二烯酮类 130
Spiroketal 螺缩酮 338,343
5β,20β_F,22α_F,25β_F-spirostan-3β-ol 菝葜皂苷元 340
5β,20β_F,22α_F,25α_F-spirostan-3β-ol 异菝葜皂苷元 340
25R-spirostan-4-ene-3,6,12-trione 25R-螺旋甾烷-4-烯-3,6,12-三酮 339
Spirostane 螺甾烷 336
Spirostanol saponins 螺甾烷醇皂苷类 338
Spirostanols 螺甾烷醇类 337
spongistatins 海绵毒素 420
sp-Sephadex 磺丙基交联葡 33

squalamine 角鲨胺 315
squalene-2,3-epoxide 2,3-环氧鲨烯 272
squalenecyclase 鲨烯环化酶 274
squalene 角沙烯 222,272
S-reticuline *S*-网状番荔枝碱 356
S-scoulerine *S*-斯可任 356
S. sphenanthera 华中五味子 128
stachhydrine 水苏碱 361
starch 淀粉 62
steganacin 五加前胡素 128,142
steganangin 五加前胡精 128
steganol 128
Steganotaenia araliacea 五加前胡 128,142
stegnalone 128
stephanine 千金藤碱 365
steroidal saponins 甾体皂苷 336
steroids 甾体 12,222,314
Stevia rebaudianum Bertoni 甜菊 241
stevioside 甜菊苷 241
L-streptose L-链霉糖 58
strophanthidin 毒毛旋花苷元 320
strophanthobiase 毒花旋花子双糖酶 84,325
Strophanthus thugratus 320
strychnine 士的宁 368
suberosol 307
suberoylarginine 辛二酰精氨酸 321
substitution shift 取代基位移 48
succinoylarginine 丁二酰基精氨酸 321
sucrose 蔗糖 60
sugeranalyzer 糖自动分析仪 77
sulphyhydryl enzyme 硫氢酶 221
sweroside 当药苷,獐牙菜苷 231
swertamarin 当药苦苷,獐牙菜苦苷 231
Swertia bimaculata (*sieb. etzucc*) Hook. f. *et*Thoms 獐牙菜 231
Swertia Pseudochinesis Hara 当药 231
swinholide A、B、C 398

T

Tainania cryptomerioides 台杉 124,138
taiwaninB 台湾脂素 B 124
takadiastase 高峰氏糖化酶 83
Tanacetum vulgare 菊蒿 227
tanshinone 丹参醌 149
taxane 紫杉烷 238
taxifolin 二氢槲皮素 179
taxifolin 花旗松素 214
taxol 紫杉醇 4,241
Taxus brevifolia 太平洋红豆杉 241
tazettine 多花水仙碱 373
TB 扭曲的船式构象 128
TBC 扭曲的船-椅式构象 128
TCA 三羧酸 7
Telesto riisei 八放珊瑚 413
teniposide 替尼伯苷 142
tenuigenin 细叶远志皂苷元 287
terpenoids 萜类化合物 219
tetrahydrofurans 四氢呋喃类 126
tetracyelic triterpenoids 四环三萜 275
1-tetrahydropalmatine 1-四氢巴马亭 365
tetrahymanol 274
tetramethylpyrazine 川芎嗪 261
tetrandrine 粉防己碱 365
tetranor-triterpenoids 降四环三萜 281
tetrodotoxin 河豚毒素 396,425
teuriene 403
thalicarpine 厚果唐松草碱 365
Thalictrum foetidum 多叶唐松草 306
thebaine 蒂巴因 365
Theonell swinhoei 398
theopalauamide 407
Thespesia populnea 桐棉 235
Thevetin 黄花夹竹桃苷 333
L-thevetos L-黄花夹竹桃糖 319
thiomycalolide A 400
thomasic acid 索马榆脂酸 124
Thuja occidentalis 北美崖柏 227
Thujaplicata 崖柏 227
γ-thujaplicin γ-崖柏素 227
thujane 侧柏烷 223

thujene 侧柏烯 223
thujopsane 斧柏烷 234
Thujosis dolabrata 罗汉柏 227
thymol 百里香草酚 259
Tilden 试剂 亚硝酰氯试剂 244
tirucalla-7,24-diene-3β,21,23-triol(5) 279
tirucallane 甘遂烷 281
TMS 化 三甲基硅烷化 40
TOCSY(HOHAHA) 301
TOF-MS 飞行时间质谱 299
Tollen reaction 银镜反应 71
torachrysone 10,11
totarane 桃柘烷 238
TPA 佛波酯 306
tragacanth 西黄蓍胶 63
transamination 氨化 16
trans-squalene 反式角鲨烯 12
trehalose 海藻糖 60
Tribulus terres tris 蒺藜 336
trichothecane 单端孢烷 234
tridesmosidic saponins 二糖链皂苷 271,280
Trididemnum solidum 加拉比海藻 405
triglochinin 海韭菜苷 81
tripdiolide 雷公藤乙素 241
triplet(t) 三重峰 44
triptergone 雷公藤酮 291
Tripterygiumw iefordii Hook. f 雷公藤 241
triptolide 雷公藤甲素 241
triptolidenol 雷公藤内酯 241
trisaccharides 三糖 61
triterpenesapogenins 三萜皂苷元 271
triterpenetridesmoside 271
triterpenoidsaponins 三萜皂苷 271
Triterpenoids 三萜 12,271
triucalla-7,24-diene-3β,21,23-triol 279
triucalla-7,24-diene-3β,23-diol 279
tropococaine 托哌可卡因 374
troponoides 卓酚酮类 227
tryptophane 色氨酸 14,16
Tschugaeffreaction 冰醋酸-乙酰氯反应 293
tuberosinone-N-β-D-glucoside 朱砂莲苷 78
tubocurarine 筒箭毒碱 380
tulipalin 山慈菇内酯 67
tuliposide A 山慈菇苷 67
tyrosine 酪氨酸 7,16
tyrosine ammonialyase 酪氨酸脱氨酶 13

U

ubiquinone 泛醌 147
uleine 乌勒因 369
uralenic acid 乌拉尔甘草次酸 284
uralsaponinA 乌拉尔甘草皂苷 A 284
uralsaponinB 乌拉尔甘草皂苷 B 284
uridine 尿苷 69
uronic acid 糖醛酸 57,59
ursane 乌苏烷 288
ursolic acid 乌苏酸 288
uzarigenin 乌沙苷元 317,336

V

valerane 缬草烷 233
Varicosporina ramulosa 红藻 399
veatchine 维特钦 371
ventilagolin 翼核果素 148
veralkamine 维藜芦胺 371
veratramine 藜芦胺 372
verbascose 毛蕊糖 61
verticine 浙贝甲素 372
vinblastine 长春碱 368
vincadifformine 文卡明 390
vincamine 长春胺 368
vincanidine 381
vicianose 毒蚕豆糖 176
vincristine 长春新碱 368
violanthin 三色堇素 69
viscosin 405
visnadin 阿密茴定 120
vitaminA 维生素 A 239
vitaminAtype 维生素 A 型 238
vitaminK_1, K_2 维生素 K_1、K_2 148

vitexin 杜荆毒素 69
vitilevuamide 407
Volatileoils 挥发油 258,260
vulgariside 皂苷 277
vulgarsaponinB 夏枯草皂苷 B 303

W

Wagner-Meerwein 225,232,248
wallicoside 断节参苷 315
wedelolactone 蟛蜞菊内酯 112
wuweizisuc 五味子丙素 127

X

D-xylose D-木糖 57,175
xanthones 双苯吡酮类(酮类) 175
Xanthydrol 反应 呫吨氢醇反应 327
Xestospongia muta 海绵 411
Xestospongi anaria 海绵 411
X-Ray crystal Analysis X 线单晶衍射 4
xylostostidine 354

Y

yiamoloside B 286
yingzhaosu 鹰爪甲素 235
yohimbine 育亨宾 380

Z

zearalenone 玉米赤霉烯酮 11
zeylandiol 291
zeylanol 291
zeylanonol 291
Ziayphus vulgaris 277
ziyu-glucoside Ⅰ and Ⅱ 地榆皂苷Ⅰ和Ⅱ 289
zizyphus saponin Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ枣皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 277
Zizyphus spinosa 酸枣 277
β 分离因子 19
θ 脉冲宽度 46