

天然产物化学

李炳奇 马彦梅 主编



化学工业出版社

· 北京 ·



天然产物化学

李炳奇 马彦梅 主编 □

TIANRAN
CHANWU
HUAXUE



化学工业出版社

天然产物化学

TIANRAN
CHANWU
HUAXUE



化学工业出版社 | 教学资源网
www.cipedu.com.cn
专业教学服务支持平台

ISBN 978-7-122-08988-5



9 787122 089885 >

定价：20.00元

《天然产物化学》编写组

主 编 李炳奇 马彦梅

副主编 刘 红 高旭红 汪河滨 陈韩英 李 红

编 者 (以姓氏笔画为序)

马彦梅 (石河子大学)

杨金凤 (石河子大学)

刘 红 (石河子大学)

周忠波 (塔里木大学)

汪河滨 (塔里木大学)

孟庆艳 (塔里木大学)

陈韩英 (石河子大学)

高旭红 (云南师范大学)

李炳奇 (石河子大学)

廉宜君 (石河子大学)

李 红 (石河子大学)



前 言

随着社会的发展和人们生活水平的提高，人类渴望回归自然的愿望越来越强烈，天然产物化学以其特有的“天然性”，成为化学和相关学科的研究热点，以天然植物为原料的研究与开发形成浪潮，发展迅猛，其产品在世界各国日益受到青睐，天然产物的研究成果已广泛应用于医药、农药、食品、日用品等相关领域。

我国疆土辽阔，植物资源丰富，对天然产物的研究与开发具有得天独厚的基础。特别是具有独特自然生态环境的西北、西南地区，孕育着许多独特的药用植物资源，从这些天然资源发掘有生理活性的天然化合物，具有极大的潜力。

我们根据多年的工作积累，并参考国内外有关文献资料，编写了本书。全书共设三篇。第一篇主要介绍天然活性成分的提取、分离与鉴定方法，包括经典提取分离方法、现代提取分离方法和波谱技术在天然产物结构研究中的应用；第二篇为重要天然产物各论，分别对重要的天然活性成分——生物碱、活性多糖、黄酮类化合物、苷类化合物、萜类化合物、挥发油、蒽醌类物质的结构、性质、提取分离方法及生理作用进行了介绍；第三篇为特色药用植物简介，介绍了我国特别是西北和西南地区 12 种特色药用植物的分布、应用价值、研究现状及应用前景等。全书深入浅出地介绍了天然产物化学的基本知识和特色药用植物的应用价值。

本书力图集基础与应用于一体，精选内容，既避免篇幅过于冗长，又尽可能将一些新技术新方法写入书中。本书由石河子大学、云南师范大学、塔里木大学合作编写，参加本书编写的有马彦梅、刘红、汪河滨、陈韩英、李炳奇、李红、杨金凤、高旭红、廉宜君、周忠波、孟庆艳等同志，最后由李炳奇、马彦梅统编定稿。

本书可作为化学及相关专业高年级本科生和研究生的教材，也可供从事医药、农药、食品等方面科学研究、技术开发及生产的工作者参考。

本书在编写过程中得到了化学工业出版社的大力支持和帮助，在此深表谢意。由于天然产物化学内容广泛，加之编写时间紧促，本书难免有疏漏之处，敬请广大读者批评指正。

编 者
2010 年 6 月

本书根据编者多年的工作积累,并参考国内外有关文献资料,深入浅出地介绍了天然产物化学的基础知识,包括活性成分的提取、分离与鉴定方法,重要天然活性成分的结构、性质、提取分离方法及生理作用,还对我国特别是西北和西南地区 12 种特色药用植物的分布、应用价值、研究现状及应用前景等作了详细介绍。

本书可用作化学及相关专业高年级本科生和研究生的教材,也可供从事医药、农药、食品等方面科学研究、技术开发及生产的工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

天然产物化学/李炳奇,马彦梅主编. —北京:
化学工业出版社, 2010. 8

ISBN 978-7-122-08988-5

I. 天… II. ①李…②马… III. 天然有机化合物 IV. O629

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 124507 号

责任编辑: 宋林肯

文字编辑: 唐晶晶

责任校对: 宋 玮

装帧设计: 史利平

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张 10 $\frac{3}{4}$ 字数 265 千字 2010 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 20.00 元

版权所有 违者必究

目 录

第一篇 有效成分的提取、分离与鉴定

第一章 经典的提取与分离方法	1	应用	33
第一节 一般提取分离方法	1	第二节 红外光谱在天然产物结构分析中的	
第二节 色谱分离方法	9	应用	37
第二章 现代提取与分离方法	19	第三节 核磁共振谱在天然产物结构分析中	
第一节 现代提取方法	19	的应用	41
第二节 现代分离方法	25	第四节 质谱在天然产物结构分析中的	
第三章 波谱技术在天然产物结构研究		应用	45
中的应用	33	第五节 其他分析方法	54
第一节 紫外光谱在天然产物结构分析中的		第六节 构效关系研究简介	57

第二篇 重要天然产物各论

第四章 生物碱	61	第四节 糖和糖苷的提取分离方法	91
第一节 生物碱的性质与鉴别	61	第五节 皂苷、氰苷和强心甘	94
第二节 生物碱的提取与分离	64	第七章 萜类和挥发油	100
第五章 黄酮类化合物	68	第一节 萜类化合物的结构类型	100
第一节 结构和分类	69	第二节 萜类化合物的理化性质	104
第二节 理化性质和显色反应	73	第三节 萜类化合物的提取与分离	105
第三节 黄酮类化合物的提取和分离	75	第四节 挥发油	106
第四节 黄酮类化合物的结构鉴定	78	第八章 其他几类天然产物	111
第六章 糖和糖苷	81	第一节 醌类化合物	111
第一节 结构与分类	81	第二节 香豆素类化合物	115
第二节 糖和糖苷的性质	84	第三节 木脂素类化合物	119
第三节 糖链结构的测定	88	第四节 碳环芳香族酸酐性化合物	123

第三篇 特色药用植物简介

甘草	125	贝母	142
肉苁蓉	128	沙枣	145
红景天	131	红豆杉	148
薰衣草	134	云木香	150
新疆一支蒿	137	见血封喉	152
麻黄	139	雷公藤	154
附录			158
附录一 常见化学成分的预试	158	附录二 化学成分检出试剂的配制	162
主要参考书目			165

第一篇 有效成分的提取、分离与鉴定

第一章 经典的提取与分离方法

中国幅员辽阔，天然产物资源十分丰富。为了研究和充分开发天然产物资源，首先必须从复杂的植物组成中提取、分离出具有价值的化学成分，鉴定出有活性的单体纯品，才能更好地加以研究和利用，所以提取分离是天然有机化合物研究的起点，也是这一学科的重要任务。

天然产物的活性成分是由复杂的化学物质组成的，一般认为具有药用价值的物质主要有生物碱、萜类、甾体、苷类、黄酮体、蒽醌、香豆素、有机酸、单糖、低聚糖、多糖、氨基酸、蛋白质、酶及鞣质等，而纤维素、叶绿素、蜡、油脂、树脂和树胶等被认为是具有经济价值的成分，对它们的分离纯化不在本书中叙述。

天然产物的提取、分离就是利用某种介质尽量使需要的成分和不需要的成分分开，即将具有生理活性的有效成分从天然有机化合物中分离的过程。在进行植物成分提取分离前，应重视所用原植物品种的鉴定、来源和采集季节，并查阅有关文献资料，了解前人对该植物或同属植物中化学成分的分离条件，加以分析，吸取可资借鉴的经验，这会给提取分离工作带来重要的启示。通过化学成分的预试验及探索性实验，再选择设计适当的提取、分离方法，不仅可以保证所需有效化学成分的提出，还可以尽量避免杂质的干扰。譬如，经过预试验表明含有较多的生物碱时，可按生物碱的提取分离方法，先提取总生物碱，然后进行单一成分的分

离。总之，天然产物的提取和分离方法很多，传统提取方法主要包括溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、升华法等。这些提取和分离方法应用广泛、工艺简单、成本低廉，所以至今仍为经典。本章仅从实用观点出发，将一些经典的提取与分离方法归纳介绍。

第一节 一般提取分离方法

天然产物的提取方法很多，按形成的先后和应用的普遍程度可以分为经典提取及分离方法和现代提取及分离方法。经典提取及分离方法是指出现的时间较早且迄今一直被普遍采用的传统方法，即一般提取分离方法。一般提取分离方法包括溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、吸附法、盐析法、透析法、沉淀法、结晶法等，不需要特殊的仪器设备，操作简单、易行。

一、溶剂提取法

溶剂法是最常用的提取方法，它采用“相似相溶”的原理，一般选用对所需成分溶解度大而对其他成分溶解度小的溶剂将所需的成分从植物组织内溶解出来。

1. 溶剂的选择

根据天然产物有效成分的结构特点可以选择惰性溶剂和反应溶剂进行提取。惰性溶剂是

指水、乙醇等与化合物基本不起化学反应的溶剂，常用甲醇、丙酮、氯仿、乙酸乙酯等有机溶剂；反应溶剂通常是稀酸、稀碱的水溶液或醇溶液等，内酯类化合物常利用此类溶剂与其他杂质分离。

一般来说，天然产物有效成分在溶剂中的溶解度与溶剂的性质有直接关系，同样也与其分子结构有关。两种基本母核相同的成分，分子中官能团的极性越大或极性官能团数量越多，亲水性基团越多，则整个分子的极性就越大，表现出强的亲水性，而其亲脂性就越弱。反之，若分子中非极性部分越大或碳链越长，则分子极性小，表现出强的亲脂性，而其亲水性就越弱。各种溶剂都具有不同程度的亲水性或亲脂性，选择适当的溶剂，就可以比较顺利地将需要的有效化学成分提取出来。适宜溶剂的选择必须符合以下要求：与植物中的化学成分不起化学反应；对所需成分溶解度大而对杂质溶解度小，或反之；经济易得，使用安全，可回收，不污染环境；沸点适中，便于回收重复使用。

2. 溶剂的极性

常见溶剂的极性强弱可以根据介电常数大小来判断，介电常数越大，溶剂的极性越强。常见有机溶剂极性顺序如下：

石油醚(低沸点→高沸点) < 二硫化碳 < 四氯化碳 < 三氯乙烷 < 苯 < 二氯甲烷 < 氯仿 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇 < 乙腈 < 水 < 吡啶 < 乙酸。

按照所需成分不同，可选用合适的提取溶剂，常用的提取溶剂主要有以下三类。

(1) 强极性溶剂 水是最经济且常用的溶剂，可以溶解许多天然有机化合物中的无机盐、分子量较小的糖类、氨基酸、蛋白质、鞣质、有机酸盐、生物碱盐及苷类等。例如，将槐花米用水煎煮，水煎液冷却后即析出结晶；用水作为溶剂自阿片中提取生物碱，再结合各生物碱的性质不同，能将五种主要生物碱分离为单一纯品。水提取法的缺点首先是提取液中含有无机盐、蛋白质、糖和淀粉等较多的水溶性杂质，进一步分离的困难较大。其次，次生物质有许多为亲脂性成分，在水中的溶解度不大，提取不完全，得到的提取液中杂质较多，若不及时处理易发生霉变。最后，若水提取液中含有皂苷及黏液类成分时，会产生泡沫，致使浓缩难度增大。因此，用水作提取溶剂时，有时需要加入少量甲苯、甲醛或氯仿等作防腐剂；为了增加某些成分的溶解度，也常采用酸性水或碱性水，酸性水有利于提取生物碱，碱性水有利于溶出有机酸、黄酮、蒽醌、内酯、酚类成分等。例如，将三颗针的根粗粉用水浸泡或渗漉，渗漉液用盐酸酸化，加食盐饱和，即析出小檗碱盐酸盐晶体；将甘草的水提取液加热煮沸，使蛋白质类物质变性被沉淀分出，过滤，滤液加硫酸酸化，分液得甘草酸粗品。

(2) 亲水性有机溶剂 乙醇、甲醇、丙酮等都是常用的有机溶剂，能与水混溶。其中乙醇最为常用，它可以溶解生物碱及其盐、苷类及苷元、萜类、木脂素、挥发油、树脂、色素、有机酸等。与水相比，用乙醇作为溶剂具有很多优点。首先，乙醇用量少，提取时间短，溶出的水溶性杂质少，对亲脂性成分的溶解度较好。其次，乙醇提取液毒性小，价格便宜，沸点适中（仅为78℃），可重复使用，还具有杀菌作用，不易发霉变质。甲醇的性质同乙醇相似，沸点较低（64℃），但有毒，应慎用。

(3) 亲脂性有机溶剂 亲脂性有机溶剂主要有石油醚、己烷、氯仿、苯等。亲脂性溶剂选择性强，透入植物组织的能力较弱，不易溶出亲水性的杂质。例如，将细辛在石油醚中回流，提取液浓缩后即析出细辛素结晶。但是，若植物材料中含有较多水分，则难以溶出其有效成分，且其挥发性较大，大多易燃、有毒，价格昂贵。因此，使用这类溶剂直接作为提取溶剂具有一定的局限性。

因不同极性溶剂中各有效成分的溶解度差异，根据天然有机化合物的性质可以选择单一溶剂提取，也可选择几种不同的极性溶剂，由低极性到高极性进行分步提取，使其得到分离。一般情况下，首先采用极性低的亲脂性溶剂，如石油醚、己烷、氯仿、苯及乙醚等提取，再选择极性稍大的能与水互溶的乙醇、丙酮等有机溶剂，最后用水提取，就可彻底提取其中有效的化学成分。对含有淀粉量多的天然产物，不宜磨成细粉后加水煎煮，以避免糊化。目前常用的两种溶剂系统为：①己烷→乙醚→甲醇→水；②己烷→二氯甲烷→甲醇→水。在室温条件下依次提取，这样可使天然产物中非极性与极性化合物得到初步分离。

3. 影响提取效率的因素

天然产物有效成分的提取效果主要取决于提取试剂、提取方法和提取工艺的选择，原料、温度、时间等也有不同程度的影响。

(1) 材料 粗细适当的原料颗粒有利于提高溶出效果。新鲜植物水分含量大, 有机溶剂难以渗入, 应用干燥材料。若用水提取含有大量脂类成分的材料时, 则应先脱脂。

(2) 提取温度 选定溶剂后, 提高温度是增大天然产物有效成分的溶解度、提高溶出率的有效途径。但是温度过高, 杂质溶出量也相对增多, 同时热不稳定成分的损失也大, 还会导致活性成分湿热降解或异构化。例如, 在大豆蛋白的分离、提取中, 提取温度过高, 黏度越大, 分离越困难, 所以通常情况下的提取温度应控制在 $30\sim 70^{\circ}\text{C}$ 为宜。

(3) 提取时间 天然产物提取过程中, 提取时间的正确掌握对提取效果有重要的影响。溶出平衡之前, 随时间延长溶出率增加, 但达到平衡后, 增加提取时间也无益。一般用水加热煮沸 0.5~2h、用乙醇加热提取 1h 为宜, 若达到溶解平衡, 需更换新鲜溶剂多次提取。

(4) 浓度差 植物组织内的溶液浓度与外周溶液浓度的差异称为浓度差。梯度越大, 溶出率越大。通过搅拌、更换溶剂、渗漉等均可有效地保持较大的浓度梯度, 提高溶出效率。

二、水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法是将与水互不相溶的被蒸馏分在比原沸点低的温度下沸腾，随水蒸气一同蒸馏出来，经冷凝后进行分离的一种方法。只有当被提取物中的挥发性成分不溶或难溶于水，于100℃左右时有一定的蒸气压，在沸腾时与水能长期共存且不发生化学变化时，才能采用水蒸气蒸馏法。水蒸气蒸馏法是目前挥发油提取中应用较为普遍的方法之一。通常将植物原料粉碎后装入烧瓶，通过水蒸气蒸馏法蒸出油水混合物，再萃取分离得到精制挥发油，或将馏出液中挥发性成分用低沸点非极性溶剂如石油醚、乙醚等提取出来。其工艺流程如下：

```

graph LR
    A[植物原料] --> B[水蒸气蒸馏]
    B --> C[冷凝]
    C --> D[油水分离]
    D --> E[粗品]
    D --> F[馏出物]
    F --> G[萃取]
    G --> H[粗品]
    E --> I[合并脱水脱溶剂]
    H --> I
    I --> J[挥发油]
  
```

例如，将丁香的水提取液用水蒸气蒸馏，用二氯甲烷提取，干燥后蒸除二氯甲烷，得到丁香挥发油；大蒜的乙醇提取液，减压蒸除大部分乙醇后，加水稀释，再减压蒸馏，馏出液为大蒜素与水的混合物，用乙醚提取、浓缩至干，即得大蒜素挥发油。麻黄碱、菸碱、槟榔碱等小分子生物碱等也可应用水蒸气蒸馏法提取。例如，将麻黄的水提取液中加入氢氧化钙后，进行水蒸气蒸馏，馏出液中加草酸，析出的麻黄碱草酸盐结晶用 CaCl_2 处理即得麻黄碱盐酸盐。

三、分馏法

分馏是一种高级的蒸馏方法，根据天然产物中各有效化学成分的沸点不同，用分馏柱代替普通的蒸馏头，可将液体混合物从低沸点成分到高沸点成分依次进行常压或减压

分馏，从而达到分离、精制纯化的目的。分馏柱有两类：简单分馏柱和精密分馏柱。简单分馏柱内部有突出的刺形物。精密分馏又叫精馏，优点是不需填料，易装易洗。分子蒸馏真空度高、操作温度低、受热时间短、能极好地保证植物原料的天然品质，不仅能有效地除去液体中的低分子物质，如有机溶剂、臭味剂等，还可以选择性地分离挥发油等液体有机化合物。

分馏法在天然产物提取分离中应用较为广泛，例如，分离毒芹总碱中的毒芹碱和羟基毒芹碱以及石榴皮中的伪石榴皮碱、异石榴皮碱和甲基异石榴皮碱时，均可利用它们的沸点不同进行常压或减压分馏，然后再精制纯化。多糖酯是蔗糖分子中6个羟基发生酯化反应生成的一类蔗糖酯，将反应混合物依次用醇水混合物、乙醇、低碳烷烃洗涤后，经分馏法处理，即得油状蔗糖多酯纯品。大豆油脱臭馏出物用甲醇酯化，分离出溶剂后，经高真空分馏，多级蒸馏，可得纯度在70%以上的维生素E浓缩物。采用分馏技术进行高碳醇的精制，不仅能避免有机溶剂对环境的污染，还能有效脱除工序的残留溶剂。此外，分馏法在羊毛油的精制、天然芳香油的提取、食用植物油的提取、油脂化学工业提取等方面都得到了应用。

四、吸附法

固体物质表面或液体表面对气体或液体中溶质的附着现象称为吸附。吸附法的目的，一是吸附色素、鞣质等杂质，二是用氧化铝、氧化镁、酸性白土和活性炭等吸附剂处理样品，吸附所需物质。吸附剂是决定吸附分离效果的首要因素。活性炭常用于食品工业的脱色、脱臭和净化等。硅胶易吸附极性物质，能吸附水分，难吸附非极性物质。分子筛是一种非极性吸附剂，常用于深度干燥。用活性炭吸附法，可从叶萩水提取液中分离叶萩碱；羊角拗苷的提取中，将羊角拗种子用石油醚脱脂后，经95%乙醇提取，减压蒸干提取液，加热水溶解，用乙酸铅和碱式乙酸铅除杂，滤液脱铅，加硫酸铵饱和，析出棕色强心甘粗品，用乙醇-丙酮混合溶剂处理粗品，去除无机物后加乙醚析出粗苷，干燥，甲醇溶解，加新煅烧的氧化镁拌匀，低于60℃烘干，用乙醇在索氏提取器中回流抽提，浓缩后加丙酮即析出白色粉末总苷。

五、盐析法

在较低浓度的盐溶液中，酶和蛋白质的溶解度随盐溶液浓度升高而增大，称为盐溶。当盐浓度增大至一定程度后，酶和蛋白质的溶解度又减小，称为盐析。盐析法通常是指向水提取液中加入易溶性无机盐至一定浓度或达到饱和状态，降低植物中某些化学成分在水中的溶解度，并以沉淀形式析出或被有机溶剂提取，从而达到与水溶性杂质分离的方法。盐析法常用于蛋白质粗品的分级沉淀及酶制品的制备。合理选择中性盐是盐析沉淀的关键因素，常用作盐析的无机盐有氯化钠、氯化铵、硫酸铵、硫酸钠、硫酸镁等。例如，将滇三七粉用戊醇提取得三七皂苷甲，再用乙醇提取残渣，加水溶解乙醇提取物，过滤除去不溶物后，加硫酸镁近饱和即析出三七皂苷乙。

六、透析法

利用提取液中的小分子或离子易通过半透膜、大分子物质不能通过半透膜的性质，进行分离、精制的方法，称透析法。透析法常用于分离、纯化皂苷、多糖、蛋白质和多肽等化合物，并且可以除去其中的无机盐、单糖、双糖等。反之，也可将大分子的杂质留在半透膜内，而小分子物质通过半透膜进入膜外溶液，从而加以分离。膜孔的大小与透析是否成功密切相关，所以应该根据欲分离成分分子的大小选择适当规格的透析膜。常用的半透膜有动物膜（如猪、牛的膀胱）、火棉胶膜、蛋白质胶膜（明胶）和玻璃纸膜等。在进行透析时应经

常更换膜外清水，增加透析膜内外溶液的浓度差，必要时可适当加温并加以搅拌，以加快透析速率。亦可在其中加一电磁场并进行搅拌，使透析速率加快，此称为电透析法。在电场中进行时，带正电荷的阳离子物质向阴极移动，带负电荷的阴离子物质向阳极移动，而中性化合物及高分子化合物留在膜内。例如，将天花粉块根去皮、捣碎、压汁过滤，上清液加硫酸铵得蛋白质沉淀，加水溶解，置于半透膜袋中进行透析，至透析液无硫酸根反应为止，袋内液体冷冻干燥即得天花粉蛋白。

七、升华法

固体物质加热时直接变成气态，遇冷凝结成原来固体的现象称为升华。植物中凡具有升华性质的化合物均可用此法进行纯化。例如，茶叶中的咖啡因、樟木中的樟脑以及植物材料中的苯甲酸等均可用升华法提取。此法操作简便，但是因为直接用火加热易焦化，常伴有分解现象，提取不完全，产率低，很少用于大规模制备。为了避免某些成分分解，操作时可采用减压下加热升华的方法。

八、萃取法

萃取法是用来提取或纯化有机化合物的常用方法之一。利用物质在不同溶剂中的溶解度不同，把固体或液体混合物提取分离的操作方法叫做萃取。根据萃取相的不同，萃取法可以分为液-固萃取，液-液萃取和气-液萃取。因气-液萃取较少使用，下面主要介绍前两种萃取方法。

1. 液-液萃取

液-液萃取即两相溶剂萃取，将样品溶液与萃取剂充分混合后，因各组分在互不相溶的溶剂中分配系数不同，从而达到分离。分配定律是萃取分离的主要理论依据：

$$K = c/c'$$

式中 K ——分配系数；

c ——所需组分在萃取剂中的浓度；

c' ——所需组分在原样品溶液中的浓度。

分配系数 K 可以近似地看做是组分在萃取剂和原样品溶液中的溶解度之比。 K 值越大，萃取剂用量越少，溶质越容易被萃取出来，分离效果越好。 K 值取决于温度、溶剂和被萃取物的性质，而与组分的最初浓度、组分和溶剂的质量无关。萃取过程的分离效果主要表现为被分离物质的萃取率和分离纯度。被萃取物与原溶液中该物质在萃取剂中的质量之比为萃取率，萃取率越高，分离效果越好。萃取次数对于萃取效果的影响可以通过薄层色谱来确定，一般 3~4 次即可。

萃取剂的选择对萃取效果影响很大，主要依据为“相似相溶”原理。若有效成分是亲脂性物质，可用石油醚、苯等有机溶剂萃取；偏于亲水性的物质，在亲脂性溶剂中难溶，多用乙酸乙酯、丁醇、戊醇等弱亲脂性溶剂作为萃取剂。例如，将切碎的海绵体用 95% 乙醇提取，减压浓缩乙醇提取液，依次用水、乙酸乙酯处理，乙酸乙酯提取部分使用柱色谱，甲醇重结晶得针状海绵生物碱；将木犀科的栲属植物茎皮用 95% 乙醇加热回流提取，减压浓缩乙醇提取液，残渣加水，依次用氯仿、乙酸乙酯提取，乙酸乙酯提取部分干燥、浓缩、加甲醇即析出七叶苷内酯，水溶部分浓缩析出七叶苷。

利用天然产物有效成分在不同溶剂中溶解度的差异，可用多种溶剂处理使之分离。混合溶剂的萃取效果往往比单一溶剂的萃取效果好得多。若要萃取亲水性有效成分，可在氯仿或二氯甲烷中加少量甲醇或乙醇等亲水性的溶剂处理。在水相中萃取有机物，可以加入适当无

机盐。例如，常山碱难溶于水、乙醇，不溶于乙醚、苯，仅溶于氯仿和石油醚，提取时采用有机溶剂分段析晶法。在分离生物碱时常采用 pH 梯度萃取，可使强碱性生物碱与弱碱性生物碱得到初步分离。

液-液萃取法是植物化学有效成分分离的常用方法。该方法近年来迅速发展，根据萃取物的性质不同，采用改进的现代提取手段，往往可以取得良好的效果。例如，对于乳化严重的液-液萃取，采取逆流连续萃取法可以提高效率。各组分性质相似的混合物，可采用逆流分配萃取法。双水相萃取技术因操作条件温和，能在常温常压下进行，已用于生物大分子如酶、人体激素、 β -干扰素的提取。

2. 固-液萃取

把固体混合物研碎，加入适当的溶剂溶解，过滤或倾析，使萃取液与残留固体分离的方法即为固-液萃取。常用的有浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流提取法及连续回流提取法等。

(1) 浸渍法 常用水或乙醇做溶剂，将原料粉末每次浸泡 3~5 天后过滤，另加新溶剂，浸泡 2~3 次，合并提取液，浓缩。此法操作简便，适用于热不稳定、易分解或破坏，如含淀粉、树胶、果胶及黏液质等植物成分的提取。但此法提取时间长，溶剂用量大，提取效率不高，若以水为提取液还有可能发霉变质，所以需加入适当的防腐剂。

(2) 渗漉法 将原料粉末加入适量浸出溶剂润湿，装入渗漉筒内，压实后，在上端不断添加溶剂，使之渗过材料，溶出的可溶性成分即从下口流出。此法提取效率高，但提取时间长，提取液体积太大，浓缩困难。

(3) 煎煮法 将原料粉末加水连续煎煮，使其大部分有效成分被不同程度地提取出来。此法得到的提取液杂质较多，而且对于含有挥发性成分及热不稳定成分的植物不宜使用。

(4) 回流提取法 采用回流加热装置，用有机溶剂回流提取，一般需提取 3 次，每次约 0.5~1h。

(5) 连续回流提取法 采用较少溶剂，用索氏提取器（又称脂肪提取器）或连续加热提取器进行提取，效率高，节省溶剂，但提取常需数小时甚至几十小时，溶出的成分在烧瓶内受热时间长，热不稳定成分易被破坏。

九、沉淀法

在样品溶液中加入某些溶剂或沉淀剂，通过化学反应或改变溶液的 pH 值、温度等条件，使某些天然产物有效成分以沉淀形式被分离的方法叫做沉淀法。根据沉淀剂和沉淀条件的不同，沉淀法主要分为两类：溶剂沉淀和沉淀剂沉淀。

沉淀反应是可逆的，能否使有效成分从溶液中析出，主要取决于被分离物质的溶解度。例如，利用叶绿素不溶于水的性质，可以把叶绿素浸提液放置于冰箱中冷藏，即得沉淀。丙酮、乙醇等有机溶剂可以使水溶性的多糖、鞣质、酶、蛋白质等以沉淀形式析出，所以用冷乙醇沉淀法可以从活性乳蛋白中分离免疫球蛋白，分级沉淀法可以分离天花粉。对于溶解度相差较大的多糖，依次按比例由小到大加入甲醇、乙醇和丙酮，使浓度递增，进行分步沉淀，可使之初步分离。沉淀法多用于有机胺类生物碱的分离和精制，雷氏铵盐是分离生物碱的常用试剂。例如，将益母草叶的乙醇提取物用水或盐酸溶解，加入雷氏铵盐水溶液使沉淀完全，用丙酮溶解褐色沉淀，至加入硫酸银溶液没有沉淀时为止，离心分离，取上层清液加氯化钡溶液至无沉淀，过滤，滤液浓缩后用无水乙醇溶解，醇液浓缩至干，在甲醇及丙酮中析晶得益母草碱盐酸盐。先加碱性溶液，再加酸处理，能使橙皮苷、芦丁、黄芩苷、甘草皂苷等以沉淀形式析出。例如，槐米的热热水提取物用石灰乳调匀，酸化、过滤，浓缩水提取液

析出芦丁沉淀；黄芩根粉的热水提取物，经酸化、过滤，用氢氧化钠调 pH 值，加乙醇水浴热后过滤，酸化得黄芩苷粗品。以苦味酸、氢氧化铜、氯化钙等作为沉淀试剂，能使有机酸、苷类、氨基酸等生成不溶于水的沉淀，与其他化合物分离。例如，用氯化钙作为沉淀剂可以从番泻叶提取物中分离和纯化番泻苷。

沉淀剂需根据天然产物有效成分的结构特点来选择。铅盐沉淀法是经典的分离、提纯方法之一。常用醋酸铅、碱式醋酸铅等作为沉淀剂，利用中性醋酸铅和碱式醋酸铅在水及醇溶液中能与多种天然产物成分生成难溶的铅盐或络盐沉淀而与其他成分分离。例如，石油醚脱脂后的金银花蕾溶液用乙醇加热回流提取，提取液经浓缩、热水溶解后，加乙酸铅至不再有沉淀，经过滤、水洗、脱铅，减压蒸馏得绿原酸粗品，橙酮、查尔酮等含有邻二酚性羟基的黄酮类似物，在其乙醇提取液中加入中性乙酸铅，得不溶性盐沉淀，经过滤、洗涤，加乙醇，通入硫化氢气体使之分解并转化为不溶性硫化铅沉淀，脱铅后得黄酮类成分。常采用硫酸、磷酸、硫酸钠、磷酸钠等作为脱铅试剂，虽然方法简便，但是由于硫酸铅、磷酸铅在水中有一定的溶解度，脱铅不彻底。实验室常用的沉淀剂见表 1-1。

表 1-1 实验室常用的沉淀剂

常用沉淀剂	化 合 物
中性乙酸铅	酸性、邻位酚羟基化合物，有机酸，蛋白质，黏液质，鞣质，树脂，酸性皂苷，部分黄酮苷
碱式乙酸铅	除上述物质外，还可沉淀某些苷类、生物碱等碱性物质
明矾	黄芩苷
雷氏铵盐	生物碱
碘化钾	季铵生物碱
咖啡碱、明胶、蛋白	鞣质
胆固醇	皂苷
苦味酸、苦酮酸	生物碱
氯化钙、石灰	有机酸

铅盐沉淀法的主要缺点就是溶液中可能有多余的硫化氢存在，需进行脱硫处理。脱硫的方法主要有两种：一是通入空气或二氧化碳；二是将溶液置于蒸发皿内，水浴加热浓缩，但是此法仅适用于对热稳定的化合物。

十、结晶法

经过溶解、除杂、静置等操作，析出晶状物质的过程称为结晶。大多数天然化学成分达到一定浓度时，选择合适的溶剂都能结晶。根据其溶解度的不同，利用反复结晶的方法，从不纯的晶体中制得纯度高、晶形好的结晶物的过程称为重结晶。纯化合物的结晶有一定的熔点和结晶学特征，有利于化合物性质的判断。利用结晶法提纯化合物的关键在于溶剂及温度等结晶条件的选择。

1. 温度及溶剂的影响

(1) 温度的影响 结晶通常是在加温的情况下，使化合物溶解、过滤、除杂、浓缩、冷却和结晶的过程。固态物质在一定溶剂中的溶解度随温度变化而变化，一般是温度升高溶解度增大，冷却后溶解度降低。其重要条件是使结晶的溶液呈过饱和状态，让溶剂挥发到适当的浓度，室温条件下（最合适的温度为 5~10℃）析出结晶。有时室温不能析晶时，可放置于阴凉处或冰箱里结晶。在结晶过程中，若析晶温度过低，析晶的速度过快，超过了化合物晶核的形成和分子定向排列的速度，得到的颗粒就小，夹杂的杂质就多，往往只能得到无定

形粉末。若要获得 X 射线衍射用的单晶,最好能在室温析晶。因为晶体的形成过程较长,有时需要放置几天或更长时间。如溶液太浓,或黏度大,则不易结晶。析晶浓度适中,逐渐降温,则可能析出纯度高、晶形好的晶体。

(2) 结晶溶剂的选择 利用溶剂对被提纯物质或杂质的溶解度不同,可以使被提纯物质结晶,或使杂质从过饱和溶液中析出,从而达到提纯的目的。结晶时选择理想的溶剂是关键。所用溶剂既可以是单一溶剂,也可以是混合溶剂。理想的溶剂应具备以下条件:

① 不与所分离的物质发生化学反应;

② 待结晶的物质在此种溶剂中随温度改变,溶解度差异较大,即低温溶解度小,高温溶解度大;

③ 杂质在此溶剂中,无论低温或高温,溶解度不是很大就是很小;

④ 沸点不宜过高,要有一定的挥发性;

⑤ 待提纯物在此溶剂中易于成核,晶形良好;

⑥ 廉价易得,易回收,无毒性。

选择合适的溶剂是形成结晶的关键。要找到合适的溶剂,一方面可查阅有关资料及参阅同类型化合物的结晶条件,另一方面也可进行少量探索,参考“相似相溶”的溶解度规律加以考虑。一般情况下,生物碱类物质可溶于苯、乙醚、氯仿、乙酸乙酯等溶剂;苷类可溶于醇、丙酮、乙酸乙酯等溶剂;杂环化合物可溶于醇,难溶于乙醚或石油醚;芳香族化合物易溶于苯和乙醚等溶剂。

不能选择理想的单一溶剂时,可选用两种或两种以上的混合溶剂。混合溶剂要求待提纯物质在低沸点溶剂中的溶解度大,高沸点溶剂中的溶解度小。有时重结晶选用的溶剂不同,结晶出的化合物熔点差别很大。例如,血根碱(sanguinarine)在乙醚、氯仿和乙醇三种溶剂中析晶的熔点分别为 266℃、242~243℃ 和 195~197℃,且结晶形状随结晶的条件不同而异。

在结晶或重复结晶时要注意化合物是否和溶剂结成加成物或含有结晶溶剂的化合物,有时也利用此性质使本来不易形成结晶的化合物得到结晶。例如,穿心莲亚硫酸氢钠加成物在稀丙酮中容易结晶,蝙蝠葛碱能和氯仿或乙醚形成加成物结晶。

2. 制备结晶的步骤

(1) 制备样品的饱和溶液 结晶的过程包括晶核的形成与结晶的增长两个阶段。选择适当的溶剂制备提纯物的饱和液是形成晶核的关键。通常将化合物溶于适当溶剂中,过滤、浓缩至适当体积后,塞紧瓶塞,静置。溶剂不宜太多,否则静置后物质结晶不完全甚至不能得到结晶,此时可松动瓶塞,使溶剂自行挥发,溶液浓度增大后结晶。

(2) 脱色及热滤 粗品中常含有杂质,使结晶带有颜色,可加入适量的活性炭脱色。所加活性炭的量视杂质的量而定,通常为粗品的 1%~5%。具体操作:将热的样品饱和溶液冷却,加入适量活性炭,煮沸 5~10min,热滤(常压热滤或减压热滤)。常压热滤应使用菊花状滤纸,快速有效,可防止晶体过早地在漏斗中析出,否则应该重新加热溶解,再进行热滤。

(3) 析晶 过滤得到的溶液最好在室温冷却下自然结晶,这样析出的晶体杂质少,晶粒大、晶形好。迅速冷却析出的晶体颗粒小,杂质多,多呈粉末状。若溶剂过多则结晶不完全甚至不析晶,可采用降低温度及自然挥发等条件促使晶核的形成。或者采用玻璃棒蘸取过饱和液于空气中挥发除去部分溶剂后再摩擦玻璃容器内壁的办法,以诱导方式形成结晶。加入少量晶种也是诱导晶核形成的有效途径。晶体的形成具有高度的选择性,加入同种分子,结

晶便会立即增长。

(4) 重结晶及纯度的判断 每种纯化合物的结晶都有一定的形状、色泽和熔点, 所以比较重结晶前后结晶的形状和熔点可以初步鉴定化合物的纯度。单纯化合物结晶的熔点熔距应在 0.5°C 左右 (由于晶体结构的原因可允许在 $1\sim 2^{\circ}\text{C}$ 内), 色泽均匀, 形状一致。但是也有例外, 有些化合物仅有分解点, 而熔点不明确。例如, 乌头中乌头碱、次乌头碱和新乌头碱的混合物, 若仅从晶形、熔点、熔距来看, 容易误认为纯物质; 土槿皮酸从晶形、熔点、熔距来看, 具有纯化合物的特征, 但薄层检测到三个斑点, 实际上是其立体异构体的混合物。另外, 有些化合物具有双熔点的特性, 即在某一温度已全部熔化, 继续升高温度时固化, 达到更高温度时又熔化或分解, 与糖结合的苷类化合物具有此性质, 最简便的纯度检测方法是薄层色谱法。

第二节 色谱分离方法

色谱法 (chromatography) 又叫色层法, 旧称层析法, 是分离、提纯和鉴定有机化合物的重要方法之一。早在 1903~1906 年, 俄国植物学家茨维特 (Tswett) 首先应用液固吸附色谱 (adsorption chromatography) 成功地分离了植物色素, 从而使色谱法问世。但当时未受到重视, 直到 1931 年 Kubn 和 Lederer 在氧化铝和碳酸钙柱上制备性地分离了 α, β 胡萝卜素后才引起化学家的重视, 得到较多的应用。1941 年 Martin 和 Synge 利用硅胶进行液液分配色谱 (partition chromatography), 进一步扩大了色谱法的应用范围。在此基础上, 在 20 世纪 40 年代出现了新的分离方法——纸色谱 (paper chromatography) 法, 50 年代又产生了薄层色谱 (thin layer chromatography), 从而色谱法逐步发展成为一种重要的分离分析手段。

色谱法是利用不同物质在固定相 (stationary phase) 和流动相 (mobile phase) 中不同的分配系数进行分离的一种方法。根据分离时流动相所处的状态, 可分为液相色谱 (流动相为液体) 和气相色谱 (流动相为气体)。如按其分离原理分类, 有吸附色谱 (利用吸附剂表面对不同组分吸附性能的差异达到分离目的)、分配色谱 (利用不同组分在流动相和固定相之间的分配系数不同而分离)、排阻色谱 (利用分子大小不同而阻滞作用不同进行分离)、离子交换色谱 (利用不同组分对离子交换剂亲和力不同进行分离) 等。下面对目前常用的色谱方法作一简单介绍。

一、硅胶色谱

硅胶是最常使用的吸附剂之一, 适用范围广, 既能用于极性化合物, 也能用于非极性化合物。硅胶属于多孔性物质, 可用通式 $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 表示。分子中具有硅氧环及 $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ 的交链结构, 由于其骨架表面具有很多游离、键合和键合-活性状态的硅醇基团, 因此能够通过氢键与极性或饱和分子相互作用, 同时也能吸附水分。硅胶的吸附性能取决于硅胶中硅醇基的数目和含水量, 随着含水量的增加吸附能力降低, 若含水量超过 12%, 吸附力极弱, 此时不能用作吸附色谱, 但可用作分配色谱的载体。当加热活化 ($100\sim 110^{\circ}\text{C}$) 时, 硅胶表面因氢键所吸附的水分能可逆地除去, 但温度不能太高, 加热 170°C 以上即有少量结晶水失去。

色谱分离用硅胶是中性无色颗粒, 由于在制备过程中接触强酸, 常带有酸性, 所以在使用前应检查其酸度, 使 pH 值不低于 5 时方可使用, 否则应用水洗至中性, 再活化 24h 后使用。在特殊情况下, 硅胶须经 $6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸及氯仿等有机溶剂预洗, 以除去所含的铁离子

及有机脂溶性杂质。硅胶在甲醇、水等强极性溶剂中有一定的溶解性,约为 0.01%,当溶液 pH 值在 9 以上则溶解度急剧上升,此点在选择溶剂时需注意,否则会将流分中溶解的硅胶误认为是样品成分。

为了改良吸附性能,提高分离效果,硅胶色谱有时还可以加入一种复合试剂。例如用硝酸银处理硅胶对不饱和烃类有极好的分离作用,改良吸附剂制备一般用 1%~10% 复合试剂的水或丙酮溶液与硅胶混匀,待稍干后于 110℃ 干燥即可。

1. 硅胶色谱原理

硅胶色谱法的分离原理是根据被分离物质在硅胶上的吸附力的不同而得到分离,一般情况下极性较大的物质容易被硅胶吸附,极性较弱的物质不易被硅胶吸附,整个色谱分离过程就是吸附、解吸、再吸附、再解吸的过程。

2. 装柱

硅胶装柱有两种方式:湿法装柱和干法装柱。一般多采用湿法,即将硅胶混悬于溶剂中,不断搅拌,排除气泡,然后连同溶剂一起倾入色谱柱中,色谱柱中硅胶段直径与长度之比一般为 1:(20~30)。硅胶最好一次倾入,否则会由于不同粒度大小的硅胶沉降速度不一而使硅胶柱有明显的分段现象,影响分离效果。欲采用干法装柱,则将所需硅胶一次倾入柱中,然后敲紧至硅胶高度不改变为止,欲分离样品与吸附剂的比例约为 1:(30~60),若作为分配色谱比例应加大,主要根据分离物质的难易确定。

当采用分配色谱时,应先将预先选定的固定相溶剂如水、缓冲溶液或极性溶剂加入硅胶中,一般比例为 1:(0.5~1) 较为适中,搅拌混合均匀,倾入预先选定的流动相溶剂中并充分搅拌,使两相互相饱和达到平衡。色谱柱中事先放入用固定相溶剂剧烈振摇饱和后的流动相,将上述吸着固定相的硅胶按湿法装柱,不断轻敲管壁,使均匀紧密,另外亦可采用加硅胶于固定相饱和的流动相中,按湿法装柱,然后用固定相饱和的流动相通过硅胶柱,使达到色谱稳定的平衡条件。

样品上柱亦可采取两种方式,如样品能溶于流动相可用少量流动相溶解,从柱顶加入,注意使样品带尽可能窄,然后展开,如样品难溶于流动相,则可溶于适当的溶剂,拌于干燥硅胶上,待溶剂挥发尽后,加适量的流动相拌匀再上柱,并在上面覆盖一薄层石英砂,然

表 1-2 常用溶剂的介电常数 (ϵ) 后用流动相展开。

己烷	1.88	洗脱力依次增
苯	2.29	
乙醚(无水)	4.47	
氯仿	5.20	
乙酸乙酯	6.11	
丙酮	21.5	
乙醇	26	
甲醇	31.2	
水	81.0	

3. 流动相的选择

色谱分离过程中流动相的选择对组分分离关系极大,一般没有固定的规律,通常是根据吸附剂的种类、活度和被分离混合物的组成及各成分性质的具体情况而定。一般的原则是,被分离物质和流动相之间的极性关系应符合“相似相溶原理”,也就是说:被分离物质的极性较小,流动相的极性也较小;被分离物质的极性大,被分离物质的极性也就较大。在实际吸附色谱中采用从低极性逐步递增极性的梯度洗

脱方式,溶剂的洗脱力随介电常数(见表 1-2)增高而增大,硅胶薄层色谱的分离条件基本上可以套用于柱色谱,两者之不同在于样品与硅胶的用量比例,故通常柱色谱所用的溶剂比薄层色谱展开剂极性略偏小。还可参阅前人分离同类型物质时所用的溶剂系统条件。如采用分配色谱可先用纸色谱方法探索分离条件。

4. 硅胶的再生

硅胶的再生一般可用乙醇或甲醇洗涤,也可用索氏提取器连续抽提去除杂质,挥去溶剂

后, 烘干活化处理即可使用。必要时用 0.5%~1% 氢氧化钠水溶液浸泡洗涤 (亦可加热煮沸 30min), 过滤, 水洗, 再以 5%~10% 的盐酸浸泡洗涤 (亦可加热煮沸 30min), 后用蒸馏水洗至中性, 110~120℃ 活化, 过筛即可。

二、氧化铝色谱

氧化铝是由氢氧化铝在高温下 (约 600℃) 脱水制得。氧化铝色谱适用于亲脂性成分的分离, 具有廉价、分离效果好、活性易控制等优点。由于制备工艺的原因常带有微碱性, 适合分离生物中的碱性成分如生物碱, 但不宜用于醛、酮、酯和内酯等类型化合物的分离, 因为有时碱性氧化铝可与上述成分发生次级反应, 如异构化、氧化和消除反应等。除去氧化铝中的碱性杂质可用水洗至中性, 再活化得中性氧化铝。若用 5% 乙酸溶液甚至用 5% 盐酸浸泡处理, 再用水洗至弱酸性或中性, 此时氧化铝颗粒表面带有阴离子, 具有离子交换剂的性质, 可避免由于碱性引起的副反应。目前除了生物碱等碱性物质, 很少用氧化铝色谱, 基本上被硅胶色谱取代, 但硅胶对杂质的吸附能力较差, 样品处理量相应地比氧化铝低。

1. 氧化铝的活性

在实际工作中经常会遇到氧化铝活性不符合实验要求的情况, 因而必须改变其活性。氧化铝的活性与含水量关系极大, 一般在 200℃ 左右加温 4~6h 活化, 除去其中水分, 可得 I~II 级氧化铝; 若要降低活性, 可加入一定量的水 (见表 1-3)。活化时氧化铝表面的氧能与水分子结合形成羟基, 具有离子交换性质, 但温度不宜过高 (<400℃), 否则会引起氧化铝晶格的改变, 形成不可逆的吸附力下降, 而不能供色谱分离用。通常色谱分离用氧化铝宜用 III 级, 过高使吸附的选择性能差, 有时亦可加适量乙酸降低活性。

表 1-3 氧化铝含水量与活性的比较

活 性	加入水量/%	活 性	加入水量/%
I	0	IV	10
II	3	V	15
III	6		

2. 洗脱剂的选择

吸附在氧化铝上物质的洗脱能力与氧化铝活性、被吸附物质的性质、温度及溶剂的性质有关。就溶剂而言, 同硅胶色谱一样, 极性溶剂的洗脱能力较非极性溶剂大, 所以逐步递增溶剂的极性, 可使吸附在氧化铝柱上的不同化合物依极性大小依次洗脱, 达到分离的目的。

3. 氧化铝的再生

层析后的氧化铝可先弃去柱顶端加样部位, 然后倾出置于烧杯中, 用甲醇、稀乙酸、稀氢氧化钠溶液和水依次洗涤, 再经高温 (200℃) 活化以后, 可重复使用。

三、活性炭色谱

活性炭一般分为动物炭、植物炭和矿物炭三种, 分别采用动物的骨头、木屑、煤屑高温炭化而成。活性炭色谱主要用来分离水溶性物质, 对生物中的氨基酸、糖类及某些苷类等成分具有较好的分离效果。该法具有上样量大、分离效果好、来源容易、价格便宜等优点, 适用于大量制备性分离。但由于活性炭的生产原料、制备方法不同, 因而到目前为止尚无理想的测定其吸附力的方法。

目前市售的色谱用活性炭多以木屑做原料, 加氯化锌在 700~800℃ 高温炭化、活化, 经适当处理除去杂质而制成。通常有粉末状和颗粒状两种。粉末活性炭颗粒极细、总表面积大、吸附力及吸附量也大, 但由于其颗粒太细, 流速慢, 在色谱分离过程中需要加压或减压

操作。因此色谱用活性炭通常是颗粒状,虽然总表面积减少,但流速易于控制。活性炭的吸附作用,在水溶液中最强,在有机溶剂中较弱,故用有机溶剂脱吸附。例如以乙醇-水进行洗脱时,则随乙醇浓度的递增而洗脱力增加,有时亦用稀甲醇、稀丙酮、稀乙酸溶液洗脱。在一定条件下,活性炭对不同物质的吸附力也不同,一般有如下规律:对芳香族化合物的吸附力大于对脂肪族化合物,利用这一特点可将芳香族氨基酸与脂肪族氨基酸(二者氨基和羧基数目相同)分开;对大分子化合物的吸附力大于对小分子化合物,例如对多糖的吸附力大于对单糖,对肽的吸附力大于对氨基酸;对极性基团多的化合物的吸附力大于对极性基团少的化合物,如活性炭对酸性氨基酸和碱性氨基酸的吸附力大于中性氨基酸。因此可以利用这些吸附性能的差别,将水溶性芳香族化合物与脂肪族化合物,氨基酸与肽、单糖与多糖分开。

活性炭的吸附力很强,对气体的吸附力和吸附量都很大,所以在使用前先应将活性炭于 120°C 加热4~5h,使所吸附的气体除去。有时将粉末状活性炭制成颗粒状锦纶活性炭(1:2)或与硅藻土(1:1)混合后装柱,以增加流速。

四、离子交换色谱

离子交换色谱(ion exchange chromatography, IEC)是通过固定相表面带电荷的基团与样品离子和流动相离子进行可逆交换、离子-偶极作用或吸附而实现分离的一种方法,主要用于分离离子型化合物。离子交换剂是一种不溶性的高分子化合物,其分子中具有解离性离子交换基团,外观均为球状颗粒,不溶于水,但可在水中溶胀。离子交换树脂由母核部分和离子交换基团两个部分组成。母核部分是苯乙烯通过二乙烯基苯交联而成的大分子网状结构。网孔大小用交联度表示,交联度越大,网孔就越小,质地越紧密,水中越不易膨胀;反之亦然。离子交换基团有羧基、氨基、磺酸基等。离子交换树脂可分为两大类,即阳离子交换树脂与阴离子交换树脂。阳离子交换树脂的分子中含有活泼的酸性基团,能交换阳离子;阴离子交换树脂中含有活泼的碱性基团,能交换阴离子。

阳离子交换树脂:强酸型 $-\text{SO}_3\text{H}$;弱酸型 $-\text{COOH}$, $-\text{PO}_3\text{H}$;

阴离子交换树脂:强碱型 $-\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{X}$;弱碱型 $-\text{NR}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{NH}_2$ 。

根据上述原理可采用不同型号的离子交换树脂,将植物中在水中具有一定溶解度的酸、碱性成分分开。目前大部分采用合成离子交换剂,一种是单体在聚合前本身就含有交换基团,另一种是首先形成聚合物,然后引进交换基团。

影响离子交换效果的主要有以下因素。

(1) 溶液的酸碱度 溶液的酸碱度对离子交换有很大的影响。当交换溶液中氢离子的浓度显著增高时,因同离子效应,抑制了阳离子交换剂中酸性基团的解离,离子交换反应就很少进行。通常强酸性交换剂交换液的pH值应大于2,弱酸性交换剂的交换液的pH值应大于6。同样在阴离子交换剂中,当溶液的pH值增大时,亦会发生同样的情况,故强碱性交换剂交换液的pH值应小于12,弱碱性交换剂交换液的pH值应在7以下。

(2) 交换离子的选择性 离子交换剂对交换化合物来说,主要取决于化合物的解离离子的电荷、半径及酸碱性的强弱。解离常数大、酸碱性强者容易置换,但洗脱相对来说较难。解离离子价数越高,电荷越大,它的吸附性越强,越易在交换树脂上交换。

(3) 被交换物质在溶液中的浓度 离子交换操作通常是在水溶液或含有水的极性溶剂中进行,这样有利于解离。交换浓度低的溶液对离子交换剂的选择性大,在高浓度时解离度会趋向减少,有时会影响吸附次序及选择性;浓度过高时,亦会引起树脂表面及内部交联网孔收缩,影响离子进入网孔。所以一般实验操作时所用溶液的浓度应

略高,有利于提取分离。

(4) 温度 稀溶液温度的改变对交换的性能影响不大,但在 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上浓度时,温度升高对水合倾向大的离子容易交换吸附,同时离子的活性系数增大。对弱酸、弱碱交换剂来说,温度对其交换率有较大的影响,一般温度增高,离子交换速率加快,在洗脱时亦可提高洗脱能力。但对不耐热的交换剂应注意提高温度的条件,避免引起交换剂的破坏。

(5) 溶剂 离子交换通常在水中进行,亦可采用含水的极性溶剂。但在极性小的溶剂中难以进行交换或不进行交换,而且选择性也减少或消失。

此外,就交换树脂本身来说,交联度大,结构中的网眼较小,大分子离子就不容易进入;反之,交联度小,交联网孔直径大,则易于离子的扩散与交换。因此交联度的大小可以增加交换树脂对被交换物质的选择性。树脂颗粒的大小亦会影响交换速率,颗粒小,表面积大,有利于与溶液中的离子接触,增加交换速率。强酸和强碱性的交换树脂交换基团的解离能力强,则容易与溶液中的离子交换。

五、大孔吸附树脂色谱

大孔吸附树脂是一种不含交换基团的具有大孔结构的高分子吸附剂,也是一种亲脂性物质。大孔吸附树脂多为白色球状颗粒,粒度多为 20~60 目,按极性可分为极性、中极性和非极性,是 20 世纪 70 年代以来发展起来的一种新型吸附剂,具有较好的吸附性能。目前常用的为苯乙烯型和丙烯腈型,它们的理化性质稳定、对有机物的选择性好、不受强离子低分子化合物及无机盐类的影响。

大孔树脂在干燥状态下其内部具有较高的孔隙率,且孔径较大,在 100~1000nm 之间,故称为大孔吸附树脂。1964 年, Rohm&Haas 公司开发了对硼进行选择络合吸附的吸附树脂 Amberlite XE-243,这可看作是最早开发的吸附树脂。20 世纪 60 年代末,日本三菱化成公司也开发生产了 Diaion HP 系列的大孔吸附树脂。中国吸附树脂的研究工作开展于 1974 年,现已有 H 系列、CHA 系列、NKA 系列等多个系列产品。

1. 大孔树脂吸附原理

大孔吸附树脂为吸附和分子筛原理相结合的分选材料,它的吸附性是由于范德瓦尔斯力或生成氢键的结果;筛分原理是由其本身多孔性结构所决定的。由于吸附和筛分原理,有机化合物根据吸附力的不同及分子量的大小在大孔吸附树脂上经一定的溶剂洗脱而分开,这使得有机化合物尤其是水溶性化合物的提纯得以大大简化。

大孔吸附树脂可以有效地吸附具有不同化学性质的各种类型化合物,具有各种不同的表面性质。譬如疏水性的聚苯乙烯,能将低极性有机化合物吸附,主要依靠分子中的亲脂键、偶极离子及氢键的作用,这种吸附力的特点是解吸容易。当吸附过程以亲脂键为主时,随着被吸附物的分子量增大,吸附量也随着增加。吸附剂的表面积越大,吸附量越高。但对一些有机分子立体结构较大的化合物要考虑树脂的孔径,使分子能进入颗粒间隙。大孔吸附树脂具有选择性好、机械强度高、再生处理方便、吸附速率快等优点,因此适用于从水溶液中分离低极性或非极性化合物,组分间极性差别越大,分离效果越好。

2. 大孔树脂分类

大孔吸附树脂按其极性大小和所选用的单体分子结构不同,可分为非极性、中极性和极性三类。

(1) 非极性大孔吸附树脂 非极性大孔吸附树脂是由偶极矩很小的单体聚合制得的,不

带任何功能基,孔表面的疏水性较强,可通过与小分子内的疏水部分作用吸附溶液中的有机物,适于在极性溶剂中吸附非极性物质。常见的有苯乙烯、二乙烯苯聚合物等。

(2) 中等极性大孔吸附树脂 中等极性大孔吸附树脂是含酯基的吸附树脂,以多功能团的甲基丙烯酸酯作为交联剂。其表面兼有疏水和亲水两种功能,既可在极性溶剂中吸附非极性物质,又可在非极性溶剂中吸附极性物质。例如聚丙烯酸酯型聚合物。

(3) 极性大孔吸附树脂 极性大孔吸附树脂是指含酰氨基、氰基、酚羟基等极性功能基的吸附树脂,它们通过静电相互作用吸附极性物质。如丙烯酰胺。

3. 大孔树脂预处理与再生

大孔树脂预处理时,通过乙醇(或甲醇)与水交替反复洗脱,可除去树脂中的残留物,一般洗脱溶剂用量为树脂体积的2~3倍,交替洗脱2~3次,最终以水洗脱后,保持分离使用前的状态。树脂经过多次使用后,其吸附能力有所减弱,需再生处理后继续使用。再生时一般用甲醇或乙醇浸泡洗涤即可,必要时可用 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸或氢氧化钠溶液依次浸泡,然后用蒸馏水洗涤至中性,浸泡在甲醇或乙醇中备用,使用前用蒸馏水洗涤除尽醇即可应用。

六、凝胶色谱

凝胶色谱又称为凝胶排阻色谱(gel exclusion chromatography)、分子筛色谱(molecular sieve chromatography)、凝胶过滤(gel filtration)、凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography)等。它是以多孔性凝胶填料为固定相,按分子大小顺序分离样品中各个组分的液相方法。1959年, Porath 和 Flodin 首次用一种多孔聚合物-交联葡聚糖凝胶作为柱填料,分离水溶液中不同分子量的样品,称为凝胶过滤。1964年, Moore 制备了具有不同孔径的交联聚苯乙烯凝胶,能够进行有机溶剂中的分离,称为凝胶渗透色谱(流动相为有机溶剂的凝胶色谱一般称为凝胶渗透色谱)。随后这一技术得到不断的完善和发展,目前广泛地应用于生物化学、高分子化学等很多领域。

1. 凝胶色谱原理

凝胶具有许多孔隙的三维网状结构的固体,当被分离物质的分子大小不同时,它们能够进入凝胶内部的能力也不同。凝胶中的孔隙大小与分子大小有相仿的数量级,当加入样品混合物,用同一溶剂洗脱时,由于凝胶网孔半径的限制,比孔隙小的分子可以自由渗入并扩散到凝胶颗粒内部,而比孔隙大的分子就不能进入(即被排阻在凝胶粒子外部),只能在凝胶颗粒间移动,因此在移动速率方面就发生了差异,大分子不被滞留而随溶液走在前面,小分子则由于向孔隙内扩散或移动得到滞留,所以落后于大分子而得到分离。

2. 凝胶的种类及性质

凝胶的种类很多,常用的有葡聚糖凝胶(Sephadex G)和羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)。葡聚糖凝胶由葡聚糖及交联剂交联聚合而成,凝胶颗粒网孔大小取决于所用交联剂的数量及反应条件。加入的交联剂越多(交联度越大),网孔结构越紧密,孔径越小,吸水膨胀的程度也越小;反之,交联度越小,网孔结构越疏松,空隙越大,吸水膨胀的程度也越大。凝胶的商品型号即按交联度大小分类,并以吸水量多少表示。例如 Sephadex G-25, G 为凝胶(Gel),后附数字等于吸水量乘以10,故 G-25 的吸水量为 $2.5\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。Sephadex G 型仅适合在水中应用,属亲水性凝胶。

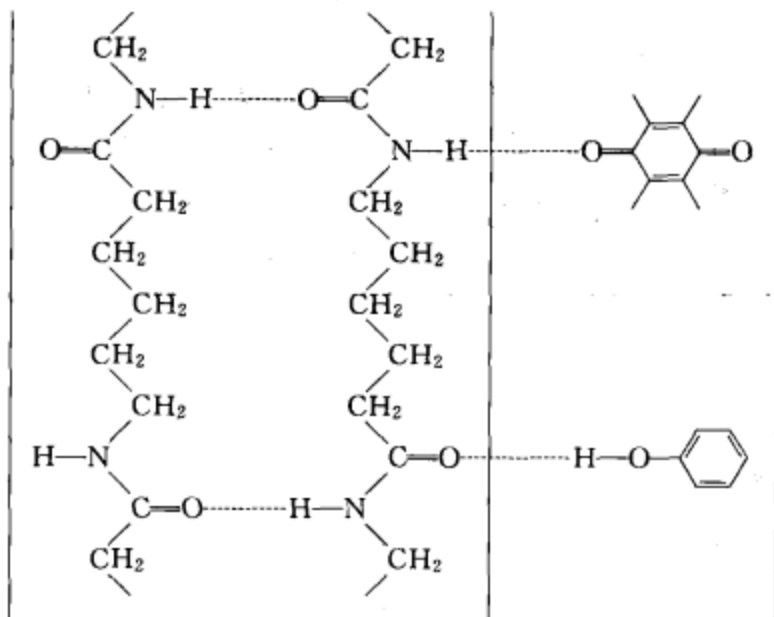
羟丙基葡聚糖凝胶是 Sephadex G-25 经羟丙基化处理后得到的产物。此时,葡聚糖凝胶分子中的葡萄糖部分与羟丙基结合成醚键,从而使它不仅可以在水中使用,而且也可以在难

溶于水的亲脂性有机溶剂中使用。

七、聚酰胺色谱

聚酰胺吸附 (polyamide chromatography) 属于氢键吸附。聚酰胺是通过酰胺键聚合而成的一类高分子化合物, 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。聚酰胺分子中含有丰富的酰胺键, 可与酚类、酸类、醌类、硝基化合物等形式的氢键结合而被吸附, 与不能形成氢键的化合物分离, 用途十分广泛, 极性物质和非极性物质均可适用。

吸附原理如图所示:



聚酰胺的吸附强弱取决于各种化合物与之形成氢键缔合的能力。在含水溶剂中吸附规律大致如下: 化合物分子中形成氢键的基团越多, 则吸附力越强; 形成氢键的位置与吸附力有很大关系, 对位、间位酚羟基使吸附力增大, 邻位使吸附力减小; 芳香核、共轭双键多的吸附力也大; 易形成分子内氢键的化合物, 会使化合物的吸附力减少。从聚酰胺柱上洗脱被吸附的化合物是通过一种溶剂分子取代酚类化合物来完成的, 也就是说以一个新的氢键代替原有氢键的脱吸附而完成的。

聚酰胺与酚类等化合物形成氢键缔合的能力在水中最强, 在含水醇中则随着浓度的增高而相应减弱, 在高浓度或其他有机溶剂中则几乎不缔合。在色谱分离时, 通常用水装柱, 样品也尽可能做成水溶液装柱以利于充分吸附, 洗脱时在水中递增甲醇或乙醇的含量, 逐步增强洗脱能力。

随着聚酰胺色谱的不断发展, 有许多现象难以用“氢键吸附”解释。例如某些很难与聚酰胺形成氢键的物质——萜类、甾体、生物碱等也可以用聚酰胺色谱分离。又如黄酮体苷元与苷的分离, 当用稀醇作洗脱剂时, 黄酮体苷比其苷元先洗脱下来; 而非极性溶剂洗脱其结果恰恰相反, 即黄酮体苷元比苷先脱下来, 后者不能用“氢键吸附”解释。这表明聚酰胺具有“双重色谱”的性能, 因聚酰胺分子中既有非极性的脂肪键, 又有极性的酰胺键。当用含水极性溶剂为移动相时, 聚酰胺作为非极性固定相, 其色谱行为类似反相分配色谱, 所以黄酮体苷比苷元容易洗脱。当用非极性氯仿-甲醇为移动相时, 聚酰胺则作为极性固定相, 其色谱行为类似正相分配色谱, 所以苷元比其苷容易洗脱。另外, 由于聚酰胺对鞣质的吸附特强, 几乎不可逆, 故用于中草药粗提物的脱鞣质处理。

色谱分离中常用的聚酰胺是由己内酰胺聚合而成的尼龙-6 及由己二酸与己二胺聚合而成的尼龙-66, 既亲水又亲脂, 性能比较好, 既可分离水溶性物质, 又可分离脂溶性物质。使用过的聚酰胺一般用 5% NaOH 溶液洗涤, 然后水洗, 再用 10% 醋酸溶液洗, 最后用蒸馏水洗至中性即可。聚酰胺色谱也有柱色谱和薄层色谱两种。薄层色谱是将聚酰胺溶于甲酸中涂布在涤纶片基上制成膜片, 待甲酸挥发干燥后即可使用, 可用作聚酰胺柱色谱探索分离条件, 又可检查柱色谱各流分的成分和纯度。

八、反相色谱

反向色谱 (reverse phase chromatography) 是在非极性固定相上, 用极性较大的液体作为流动相, 进行物质分离、分析的一种方法。反相色谱的广泛应用是由于流动相的特殊溶剂效应和大范围的溶剂强度变化, 从纯水流动相到非极性溶剂, 其溶剂强度变化能使溶质保留值变化 1~2 个数量级。反相色谱技术的成功在很大程度上也归功于非极性键合材料的商品化。硅胶键合了烷基更加强了疏水性, 能观察到保留方式的最大变化, 使硅胶上保留值太大或无保留化合物易于分离。反相色谱与正相色谱的区别见表 1-4。

表 1-4 正相色谱与反相色谱的比较

项 目	正相色谱	反相色谱
固定相的极性	大	小
流动相的极性	小-中等	中等-大
组分的流出顺序	极性小的先流出	极性大的先流出
流动相与保留时间的关系	极性增大保留时间变小	极性增大保留时间变大
主要分离对象	极性物质	极性较低物质

反相色谱的固定相最主要的是烷基键合材料, 已使用的烷基链长有 C_2 、 C_4 、 C_6 、 C_8 、 C_{16} 、 C_{18} 、 C_{22} 等。此外还有苯基和多环芳烃。其中应用最多的是十八烷基键合硅胶 (octadecylsilane), 通常称为 ODS。反相色谱的流动相用极性溶剂及其混合物, 溶剂极性越低, 其洗脱能力越强; 溶剂极性越高, 洗脱能力越小。水是反向色谱最弱的溶剂, 也是使用最广泛的流动相。乙腈、甲醇、乙醇、丁醇、四氢呋喃等有机溶剂是常用的反向色谱流动相。

反向色谱的机理是比较复杂的, 人们提出了许多不同的假设和观点, 如“疏溶剂理论”、“溶解度参数理论”、“强制吸附机理”等。利用有机硅烷与硅胶表面的游离羟基产生化学键合反应, 形成 $Si-O-Si-C$ 键, 这种化学键牢固, 耐各种溶剂, 耐热, 柱效高, 样品容量大, 有机官能团可以改变, 流动相更能灵活选择, 既可以分离非离子型化合物, 又可以分离能解离的离子型化合物。反向色谱法也有不足之处, 以硅胶为基质的柱填料能使用的酸碱性范围为 $pH=2\sim7.5$ 。在硅胶表面往往留有一定量的硅醇基, 这些活性作用点能吸附溶质, 而导致峰形不好。

九、纸色谱

纸色谱 (paper chromatography, PC) 属分配色谱, 是以滤纸作为支持剂, 用一定的溶剂系统展开而达到分离分析目的的方法。纸色谱法的一般操作为: 将待试样品溶于适当溶剂, 点样于滤纸一端, 挑选适当的溶剂系统作为流动相置于一个密闭的缸内, 然后将滤纸吊放在缸内, 使滤纸被流动相的蒸气所饱和, 流动相从点样的一端通过毛细现象向另一端展开, 在此过程中各组分逐渐得到分离。展开完毕后, 取出滤纸, 干燥, 以适当显色剂显色即可。样品经色谱分离后用比移值 R_f 表示某一化合物于纸色谱谱中的位置。

R_f = 原点至组分斑点中心的距离 / 原点至溶剂前沿的距离

因此纸色谱可以看作是溶质在固定性和流动相之间的连续抽提，依靠溶质在两相间的分配系数不同而达到分离的目的。固定相为结合于滤纸纤维的水分，据报道适用于纸色谱的滤纸其纤维素能吸收 20%~25% 的水分，其中 6% 左右的水分通过氢键与纤维素上的羟基结合，形成液液色谱中的固定相。纸本身是惰性的，不参与分离组分的过程，只起负载水分的作用。

在纸色谱中，分离是在滤纸上进行的，因此滤纸的选择很重要，是影响分离效果的重要因素之一。常用的国产滤纸有新华纸厂生产的各种色谱用滤纸，国外产的多用华德门 (Whatman) 滤纸。表 1-5 列出了新华滤纸的不同型号与性能，供使用时参考。

表 1-5 新华滤纸的型号与性能

型号	标重 (g/m ²)	厚度 (mm)	吸水性 (30min 内上升高度/mm)	灰分 (g/m ²)	展开 速率	备注
1	90	0.17	120~150	0.08	快	相当于华德门 1 号
2	90	0.16	90~120	0.08	中	
3	90	0.15	60~90	0.08	慢	
4	180	0.34	120~150	0.08	快	相当于华德门 3 号
5	180	0.32	90~120	0.08	中	
6	180	0.30	60~90	0.08	慢	

需要注意的是，不同厂家、不同型号的滤纸，由于生产方式与条件不尽相同，吸收水分量不完全相同，有时 pH 值也可能不同，因此按同一条件分离，同一组分的移动情况即 R_f 值也会不完全相等，有时还可能有较大差别。所以，在用纸色谱进行定性鉴别时，应尽量将样品与已知标准品在同一张滤纸上进行展开，然后比较其 R_f 值，这样可避免由于纸的来源不同而引起的差别。

色谱分离用的滤纸应保存在洁净的环境中，避免与各种化学物质及烟雾等接触，否则有可能在滤纸上吸附这些物质，使滤纸变性。纸色谱的优点是便于保存，对亲水性强的成分分离较好（如酚类、氨基酸），缺点是费时。

十、薄层色谱

薄层色谱 (thin layer chromatography, TLC) 是一种快速、简单及高效的分离分析方法。早在 1938 年首次应用，直至 1956 年德国 Stahl 研究设计了一种涂布仪器，并商品化。同时 Merck 公司把薄层用的硅胶加入一定量的石膏制成规格化的商品，从此，薄层色谱开始被广泛使用。20 世纪 70 年代，又在薄层色谱原有的基础上发展为高效薄层色谱，具有更快速、分离效能更好，以及检出灵敏度更高的特点。薄层色谱的操作方法是将适宜的吸附剂均匀地涂布于平面如玻璃板上，形成薄层，把待分析的样品点加到薄层上，然后用合适的溶剂展开而达到分离、鉴定的目的。其原理与柱色谱基本相似。

薄层色谱用的吸附剂与其选择原则和柱色谱相同。常用的吸附剂有硅胶 G、硅胶 GF、硅胶 H、硅胶 HF₂₅₄，氧化铝、氧化铝 G、硅藻土、硅藻土 G、微晶纤维素等。其中硅胶和氧化铝由于吸附性能好，适用于各类成分的分离，应用最广。用于薄层色谱的吸附剂一般活度不易太高，以 II~III 级为宜。而展开距离则随薄层的粒度粗细而定，粒度越细，展开距离越短，一般不超过 10cm，否则可引起色谱扩散，影响分离效果。

当吸附剂活度为一定值时，对多组分的样品能否获得满意的分离效果，取决于展开剂的选择。展开溶剂主要使用低沸点的有机溶剂，一般分析纯和化学纯即可，选择的原则主要根

据样品的极性、溶解度，在薄层色谱专著中展开剂的系统很多是根据溶剂的极性、化合物的吸附性和它在溶剂中的分配系数来选择，也可参考前人的经验，但最重要的还是根据具体情况亲自实践。薄层色谱不仅已成为分离鉴定中草药有效成分的常用方法之一，而且在分析化学、药物分析、染料、农药、贵金属等的分离鉴定、定量等各个领域均得到广泛的应用。但薄层色谱亦有不足之处，它的比移值重现性较纸色谱差，薄层板较大时展开容易出现边缘现象，色谱图不易保存等，因此在鉴定物质时通常将标准品与样品在同一板上展开，以克服其比移值重现性较差的缺点。

鄧平舫
PDG

第二章 现代提取与分离方法

天然产物化学研究的对象涉及多种生物活性成分，而遇到的化学成分又往往结构新颖且非常复杂，因而对新技术的要求更为迫切。目前许多新技术已普遍应用于天然产物的提取、分离及其他领域，为许多化学工作者所熟悉。随着科学的进步，这些技术又派生出许多新的使用方法，充实了许多新的内容。以下对这些新技术作简单介绍。

第一节 现代提取方法

一、超临界流体萃取技术

超临界流体萃取 (supercritical fluid extraction, SFE) 技术是一种新型的提取技术，由于它具有高效、方便、安全、环保、选择性好等优点，使得这项技术在天然产物活性成分的提取方面得到广泛应用，应用范围和种类在不断扩大。

1. 超临界流体萃取的基本原理

任何物质都有三种相态，它们随压力和温度的变化而变化。超临界流体 (supercritical fluid, SCF) 是指超临界温度和临界压力状态下的高密度流体。超临界流体具有气体和液体的双重特性，其黏度与气体相似，但扩散系数比液体大得多，其密度和液体相近。1869 年，Andrews 首先发现临界现象，此后各种研究工作陆续开展起来。1879 年，Haney 和 Hogarth 测量了固体在超临界流体中的溶解度。1937 年，Michaels 等准确地测量了 CO_2 近临界点的状态。由于超临界流体具有与液体相近的密度，故对物质有较强的溶解能力；又具有气体的高扩散性和低黏度，因而在提取样品时很容易渗透到样品内部，缩短提取时间并提高提取效率。正是这种双重性使得超临界流体对物料有良好的渗透性和较强的溶解能力。超临界流体萃取的分离过程正是利用压力和温度对超临界流体溶解能力的影响而实现的。在超临界状态下，超临界流体与待分离的物质接触，通过控制压力和温度使其有选择性地溶解不同极性、不同沸点和分子量的成分萃取出来，然后借助减压等方法使超临界流体变成普通气体，被萃取物质则自动析出，从而达到分离提纯的目的。

2. 超临界流体萃取的特点

可以作为超临界流体萃取的溶剂很多，如甲醇、乙醇等。但由于超临界 CO_2 密度大，溶解能力强，临界压力适中 (7.38MPa)，临界温度 (31.06℃) 接近常温，不影响萃取物的生理活性，而且无毒无味，化学性质稳定，生产过程中容易回收，无工业三废，无环境污染，同时价格低廉、不易爆、不易燃等一系列优点，当前绝大部分超临界流体萃取都采用 CO_2 作为溶剂。

超临界 CO_2 萃取技术 (CO_2 -SFE) 在很大程度上可以避免传统提取过程中的缺陷和环境弊端，具有以下优越性。

① 工艺简单，操作方便，物耗、能耗小。如青蒿素的超临界 CO_2 萃取的提取率比传统工业生产中的溶剂法 (汽油和稀乙醇) 提高了 11%~59%。

② 萃取能力强，提取率高。 CO_2 -SFE 技术的萃取能力取决于温度和压力的控制，以达到选择性地对中药中多种成分的提取和分离，这样可相对减少杂质量，增加有效成分的提取

率, 优于传统方法。

③ 提取时间快, 生产周期短。超临界流体 CO_2 从萃取到分离一步完成, 一般提取 10min 左右便有成分析出, 2~4h 便可完全提取。同时, 它不需要进行过滤、浓缩等处理步骤, 即使加入夹带剂也可直接进样分析或只作简单处理, 可以大大地缩短时间。

④ 有效成分不易破坏, 较易发现新成分。超临界流体 CO_2 临界温度低, 操作温度低, 能更好地保存有效成分不被破坏。尤其适合对热敏感性强、容易氧化分解的成分的提取。

⑤ 用 CO_2 代替了传统方法中的有毒溶剂, 同时具有灭菌作用, 有利于保证和提高产品质量, 而且用超临界 CO_2 提取, 温度和压力等操作参数容易控制, 有利于提高有效成分的提取率和保证产品质量的稳定。

因此, 超临界 CO_2 萃取技术 (CO_2 -SFE) 为我国天然产物的开发利用提供了一条全新的途径。

3. 超临界 CO_2 萃取的影响因素

(1) 萃取压力 压力是影响 CO_2 流体溶解能力的关键因素之一。研究表明, CO_2 压缩气体对物质的溶解能力与 CO_2 流体的密度成比例关系。随着压力的增加, CO_2 流体的密度增加, 溶解度也相应增大, 收率增加, 特别是临界点附近压力的影响特别显著, 之后压力对 CO_2 流体密度增加的影响较小, 对物质溶解能力的增加效应也变缓。但过高的压力对设备和操作提出了更高的要求, 同时生产成本也会相应增加。因此, 不同物质的最佳萃取压力需要通过实验确定。

(2) 萃取温度 温度是另一个影响超临界萃取效率的重要参数, 对超临界 CO_2 萃取有两方面的影响: 一是温度增加, 超临界 CO_2 流体密度减小, 成分溶解度下降, 不利于萃取, 且温度过高会增加操作能耗, 成本增加; 二是温度增加, 分子的扩散系数增大, 超临界 CO_2 流体的黏度下降, 传质系数增加, 有利于萃取。因此, 在一定的压力下, 物质的溶解度往往出现最低值。在最低点温度以下, 前者占主导地位, 溶解度随温度的增加而下降; 在最低点温度以上, 后者占主导地位, 溶解度随温度的增加而上升。

(3) 夹带剂 夹带剂是指纯 CO_2 气体中加入的一种少量的、可与之混溶的、挥发性介于被分离物质与超临界组分之间的物质。夹带剂对萃取过程具有显著的影响, 主要通过影响溶剂的密度和溶质与夹带剂分子间的作用力两方面影响溶质在 CO_2 流体中的溶解度和选择性。一般来说, 加入少量的夹带剂对溶剂气体的密度影响不大, 甚至还会使超临界溶剂密度降低; 而夹带剂与溶质分子间的作用力是影响溶解度与选择性的关键因素。

4. 超临界流体萃取技术在天然产物提取中的应用

超临界流体萃取技术在天然产物提取中的应用非常广泛, 以下列出其主要的應用。

(1) 提取挥发油类和挥发性成分 挥发油类成分分子量较小, 具有亲脂性和低沸点等特点, 采用超临界 CO_2 萃取易得到, 且操作温度低, 可大量保存热不稳定及易氧化的成分。利用超临界 CO_2 萃取藏药波棱瓜种子油, 结果发现其主要含有各类不饱和脂肪酸, 其中亚麻酸、亚油酸、油酸的相对含量分别为 12.271%、20.149% 和 52.282%。我国核桃产量居世界首位, 采用超临界 CO_2 流体萃取技术可以生产出天然活性成分高、品质优良、具有保健功能的食用核桃油。蛇床子具有燥湿、祛风、杀虫等功效, 有效成分是以蛇床子素为主的香豆素及挥发油类, 用超临界 CO_2 提取, 收率比常规提取方法提高近 1 倍, 生产周期大大缩短, 质量稳定, 不仅保持了传统中医的药用效果, 而且减少了提取过程中的污染问题。超临界 CO_2 提取姜黄油, 其收油率是水蒸气法的 1.4 倍, 生产周期只是旧工艺的 1/3。对所得的姜黄油进行 GC/MS 分离鉴定, 其化学物质主要由姜黄酮等 26 个成分组成, 目前已用于

生产。

(2) 提取生物碱类 生物碱是自然界中广泛存在的一类天然含氮有机化合物, 有比较特殊而显著的生理活性, 是许多药用植物的有效成分, 如从罂粟中提取的吗啡具有强烈的镇痛作用, 麻黄中的麻黄碱具有平喘作用。超临界 CO_2 流体萃取百合中的秋水仙碱, 较溶剂法更为快速、简便和准确, 可用于秋水仙碱原料、制剂及其他植物中秋水仙碱含量的测定。采用超临界 CO_2 萃取法萃取延胡索中有效成分延胡索乙素, 结果表明, 提取的固含物较少, 有效成分含量高, 延胡索乙素提取率高达 89.30%, 且该法操作简便、快速, 具有低温操作、耗能低、无有机溶剂残留等优点。

(3) 提取黄酮类化合物 超临界流体方法萃取银杏叶有效成分银杏黄酮和内酯, 质量高于国际公认的标准。超临界 CO_2 萃取技术萃取杜仲叶总黄酮, 采用紫外分光光度法对萃取物中的总黄酮进行定量分析, 在优化工艺条件后 (45℃、2.5h、30MPa, 夹带剂用量为 $3.5\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$), 黄酮提取率为 73.26%, 产品纯度为 19.82%。丹参是一味常用中草药, 其脂溶性有效成分之一为丹参酮, 用超临界 CO_2 萃取法提取, 可以减少丹参酮的降解, 提取率比传统的醇提工艺大大提高, 达 90% 以上, 不仅含量高, 而且可以直接用于制剂生产, 综合评价高于醇提工艺。

(4) 提取香豆素苷和木脂素 香豆素苷和木脂素因其极性大而无法有效提取, 极性强者可加入夹带剂以增加溶解度。蛇床子为伞形科植物蛇床 (*Cnidium monnieri*) 的果实, 中医上主要用于妇科炎症的治疗。采用超临界 CO_2 提取, 工艺上表现出有效成分收率高、提取时间短、质量稳定容易控制、保持中药的医疗效果等优越性。此外, 川芎中川芎内酯、茵陈蒿中滨蒿内酯、桑白皮中桑白素、五味子中五味子甲素等都可以采用 SFE 萃取分离。

(5) 提取醌类及其衍生物 采用超临界 CO_2 萃取技术萃取新疆紫草中的紫草素及其衍生物, 不仅产品色泽好, 产率高, 无氧化现象, 还可提取出一些新成分。超临界流体萃取大黄中的五种有效蒽醌类物质 (大黄酚、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸和大黄素甲醚), 在最优条件下, 大黄游离蒽醌的萃取率达 1.15%。何首乌为蓼科植物的块根, 蒽醌类是其重要的活性成分, 采用超临界 CO_2 萃取法提取, 以甲醇为夹带剂, 结合反相高效液相色谱法进行分离测定。结果表明, 超临界 CO_2 萃取法比超声波法提取时间短, 提取效率高, 后处理简单。醌类及其衍生物极性较大, 在应用 SFE 时一般压力较大, 需要加入适当的夹带剂。

(6) 提取萜类成分 紫杉醇是短叶红豆杉树皮中具有抗癌活性的二萜类化合物, 采用含夹带剂的超临界 CO_2 萃取法对紫杉醇进行萃取, 萃取效果比传统工艺方法提高 1.29 倍。青蒿素是来自菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua*) 的一种倍半萜内酯类成分, 是我国唯一得到国际承认的抗疟新药。超临界 CO_2 萃取工艺比传统法 (如汽油法) 优越, 萃取率在 95% 以上, 萃取物纯度在 10% 以上。

(7) 提取皂苷及多糖 用超临界 CO_2 萃取法从藏药雪灵芝中提取出了总皂苷和多糖类成分, 已用于治疗肺热、咳嗽和高血压等常见疾病。

目前, 超临界流体萃取的研究重点已转移到在超临界条件下的反应研究, 特别是超临界 CO_2 条件下的各类反应研究。有关超临界流体技术的基础理论研究不断取得进展, 成为其逐步得到广泛应用的有力保障。但是超临界流体 CO_2 萃取技术也有其不足之处: 超临界 CO_2 萃取较适合亲脂性、分子量较小的物质的萃取, 对于极性大、分子量大的物质的萃取, 要加夹带剂或在很高的压力下进行, 这就给工业化生产带来一定的难度, 且设备一次性投资较大。另外, SFE 技术的基础研究还很薄弱, 要发展 SFE 技术, 必须对其局限性予以重视, 加强和完善对超临界状态物质的基础研究, 使其真正为人类服务。

二、超声波辅助提取技术

早在 1927 年, W. T. Richards 和 A. L. Loomis 就已发现了超声的化学效应, 但由于当时的电子和超声技术水平较低, 超声的研究和应用受到很大限制。20 世纪 50 年代, 人们把超声波用于提取花生油和啤酒花中的苦味素、鱼组织中的鱼油等。随着科学技术的进步, 各种高效、经济的功率超声源的制备和提供已经变为现实, 使超声波辅助提取技术在食品、生物、化学、医药等方面展示出良好的应用前景。

1. 超声波辅助提取的基本原理

超声波 (ultrasonic wave) 是一种弹性机械振动波, 它能产生强烈振动, 产生高速率、强烈的空化效应、搅动作用。超声波提取技术 (ultrasonic wave extraction) 是利用超声波产生的强烈的空化效应、机械振动、高的加速度、乳化、扩散、击碎和搅拌作用, 增大物质分子运动频率和速率, 增加溶剂穿透力, 从而加速药物有效成分进入溶剂, 促进提取的进行。由于超声波能破坏植物细胞, 使溶剂能渗透到植物细胞中, 从而加速药材中有效成分在溶媒体中的溶解, 缩短提取时间, 提高有效成分的提出率, 从而为中草药成分的提取提供了一种快速、高效及环保的新方法。

2. 超声波辅助提取的特点

实验表明, 超声波提取可以缩短提取时间, 提高有效成分的提出率, 提高药材的利用率, 节约能源, 并且避免了高温对提取成分的影响。不过, 超声波提取技术虽然能提高提取率, 但它对提取瓶放置的位置和提取瓶的瓶壁玻璃厚度要求较高, 这两个因素直接影响超声效果, 而且目前超声波提取技术主要用在实验室和工厂小规模提取, 要用于大规模的工业生产, 还要解决有关工业设备放大的问题。

3. 超声波提取技术在天然产物提取中的应用

研究表明, 超声波提取陆生植物中的萜类, 不仅操作工艺简单方便, 而且提取时间比常规方法快了 3 倍。超声波提取陆生植物中的生物碱比常规方法快 6~20 倍, 而且提取工艺简便, 提取率高, 选择性好。应用超声波从大黄中提取蒽、醌类成分的研究表明, 超声处理 10min, 提取率可达 99.8%, 且经纸色谱及高效液相色谱 (HPLC) 两种方法对提取产物进行分析, 超声处理对产物结构无影响。以乙醇为溶剂, 用超声波法提取茶叶中茶多酚, 茶多酚粗品提取率为 11.13%, 粗品中茶多酚的含量为 70.57%, 此法与传统有机溶剂提取法相比, 具有提取时间短、溶剂用量少、成本低、操作简便、提取效率高、产品品质好等优点。同样, 以乙醇为溶剂, 用超声波法提取芦荟中的蒽醌, 可以在短时间内得到较高的蒽醌得率, 在节约时间和降低能源损耗方面具有明显优势。据最新报道, 以双低菜籽粕为原料, 采用超声微波辅助提取菜籽蛋白, 最终蛋白得率为 38.76%, 蛋白含量为 75.77%, 粗蛋白中硫苷含量为 $0.61\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此法较传统的碱提酸沉方法能大大提高效率, 适合工业化连续生产。超声波提取作为一种优良新型的提取技术, 现已广泛应用, 并取得了良好的效果。

三、微波辅助提取 (MAE) 技术

微波技术自问世以来, 在 20 世纪 60 年代最早用于军事及木柴干燥等方面。20 世纪 70 年代在医学、生物领域的灭菌、诊断、免疫化学等方面得到应用。早在 1969 年, 美国科学家 Vanderhoff 就利用家用微波炉加热进行了丙烯酸酯、丙烯酸和 α -甲基丙烯酸的乳液聚合, 意外地发现与常规加热相比微波加热会使聚合速率明显加快。这是微波用于有机合成的最早记载, 但当时并没有引起人们的重视。1986 年 Ganzler 首先报道了微波用于天然产物成分的提取。微波萃取是利用微波提高萃取率的一种最新发展起来的技术, 近年来, 此项技术已广泛应用于食品、生物、制药、环境样品及天然产物的提取。

1. 微波辅助提取技术的基本原理

微波是波长介于远红外与超短波之间的高频电磁波。微波对处于微波场下的物质发生作用,物质中的分子在电场作用下可被电离而极化,形成极化分子,极化分子具有正负二极,它们在电场中定向排列,物料内的极化分子随着微波电磁场的交替变化发生高频振荡。微波辅助萃取(microwave-assisted extraction, MAE)是利用极性分子可迅速吸收微波能量的特点,将样品放在不吸收微波的样品杯中,加溶剂后置于密封的萃取罐中进行萃取。天然植物的有效成分往往包埋在细胞壁或液泡内。植物细胞壁主要是由纤维素构成的,具有一定的硬度,是植物有效成分提取的主要屏障。微波辐照导致细胞内的极性物质尤其是水分子吸收微波能量而产生大量的热,使细胞内温度迅速升高,液态水经汽化产生的压力可将细胞膜和细胞壁冲破,形成微小孔洞。进一步加热,细胞内部和细胞壁水分减少,细胞收缩,表面出现裂纹。孔洞和裂纹的存在使细胞外液体易于进入细胞内,溶解并释放细胞内物质。

值得注意的是,并不是任何物质都可以吸收微波能而转化为热,只有具有介电常数和传导损耗的物质才能吸收微波能,也就是说,只有极性物质才能吸收微波能,且极性越大吸收越多。目前,借助提取过程中随时引入新鲜溶剂,动态微波提取技术得到发展,这样便使得提取效率更高,导出的提取液与分析仪器在线联用,易于实现自动化。

2. 微波辅助提取的特点

微波提取技术作为一种新型的提取技术,有其独特的特点。首先体现在微波的选择性,因其对极性分子选择性地加热,从而对其选择性地溶出。其次 MAE 大大降低了萃取时间,提高了提取速率,传统的方法需要几小时甚至几十个小时,微波提取只需几分钟到十几分钟,提高了几十倍至几百倍。另外,微波提取由于受溶剂亲和力的限制较小,可提供选择的溶剂较多,也减少了溶剂的用量。微波辅助提取如果用于大生产,生产线组成简单,节省投资,安全无污染,属于绿色工程。

3. 微波辅助提取技术在天然产物研究中的应用

微波提取技术应用于天然产物有效成分的提取,可以克服传统提取方法本身固有的种种缺陷,表现出良好的发展前景和巨大的应用潜力。基于微波提取技术提取的成分已涉及生物碱类、蒽醌类、黄酮类、皂苷类、多糖、挥发油、色素等。具体研究结果表明,采取微波技术提取海带多糖,与传统加热浸提相比,多糖提取量高,准确、快速,操作成本和原料预处理成本低,并且对环境无害。用微波加热法从茶叶中提取茶多酚,与传统水浸取相比,微波加热法省时、省能源,可以防止茶叶中有效成分的破坏和损失。采用微波萃取法提取香菇多糖,发现香菇多糖提取率达到 79.87%,与传统提取方法相比,该法具有时间短、节省能源、降低环境污染、提取率高等优点。采用微波辅助萃取技术从射干中提取大豆异黄酮素,以乙醇为溶剂,最后利用紫外分光光度计和高效液相色谱测得大豆异黄酮素、射干苷和鸢尾苷的含量分别为 8.8%、67.6%和 16.3%,与直接加热法相比,此方法省时、节省溶剂,大大提高了提取率和纯度。微波辅助提取法用于中药大黄的提取具有高效省时的特点。

总之,与传统提取方法相比,微波提取可以加快反应速率,从而缩短提取时间,降低能源和溶剂的消耗,且精密度高,同时微波辐射下不引起反应物、产物的改变,可以提高收率和提取物纯度。它的优越性不仅在于设备投资和运行费用降低,而且还具有清洁、污染少等特点,也符合环境保护的要求。微波的应用几乎遍及化学的每一个分支领域,有着无法估量的前景。但到目前为止,它主要还是用在实验室,在制备上尤其是大规模制备上有一定限制。针对天然产物的特点设计合理的 MAE 方案以及开发工业化微波提取设备将会成为未来研究的主要问题。

四、酶法提取和半仿生提取技术

1. 酶法提取

酶法提取 (enzyme extraction) 是根据植物细胞壁的构成, 利用酶反应所具有高度专一性的特点, 选择相应的酶, 将细胞壁的组成成分 (纤维素、半纤维素和果胶质) 水解或降解, 破坏细胞壁结构, 使细胞内的成分溶解、混悬或胶溶于溶剂中, 从而达到提取目的, 且有利于提高成分的提取率。但酶法提取对实验条件要求较高, 为使酶发挥更大作用, 需先通过实验确定最适温度、pH 值及最适时间等。要拓宽其应用领域, 还需要进一步深入探讨酶的浓度、底物的浓度、温度、pH 值、抑制剂和激动剂等对提取物的影响。

酶提取技术是近几年发展起来的一种重要的提取技术。传统的提取方法如煎煮、有机溶剂浸提方法等, 提取温度高、提取率低、浪费乙醇、成本高、不安全, 而选用适当的酶, 可以通过酶反应温和地将植物组织分解, 加速有效成分的释放提取。选用相应的酶还可将影响液体制剂澄清度的杂质如淀粉、蛋白质、果胶等分解去除, 也可促进某些极性低的脂溶成分转化成糖苷类等水溶性成分而有利于提取。

用酶法提取天然产物, 收率明显提高, 具有较大的应用潜力。已有研究表明酶法可显著提高中草药中黄酮类成分的提取率, 而提取物性质不发生变化。用酶法辅助提取银杏 (*Ginkgo biloba*)、香椿 (*Toona sinensis*)、罗汉果 (*Momordica grosvenori*) 等植物中的黄酮, 提取率与传统方法相比有显著提高。且在单纤维素酶法辅助提取的基础上, 果胶酶与纤维素酶组合可以进一步提高黄酮提取率, 酶组合法已在牡丹 (*Paeonia suffruticosa*)、仙人掌 (*Opuntia antiquorum*) 等多种植物中得到应用, 效果显著。利用纤维素酶提取黄芪 (*Astragalus lepsensis*) 多糖, 提取的多糖质量分数达 9.78%, 总糖质量分数为 50.2%, 提取率比传统水煮醇沉法有明显提高。在提取竹子中多糖含量前先用彩绒革盖菌 B1 的纤维素酶发酵液预处理, 结果发现预处理后多糖含量提高了 37.0%。酶法提取黄连 (*Coptis chinensis* Franch) 中的小檗碱, 除使小檗碱提取率提高外, 薄层色谱结果显示, 加酶组和未加酶组提取的成分一致, 黄连有效成分未受影响。复合酶法提取松针粉挥发油的提取率比常规法提取率高 37.9%。用纤维素酶法提取松针中的天然香料, 与普通的水提取法相比, 提取率可以提高 40% 以上。用果胶酶提取番茄红素, 不但有较好的提取率, 而且缩短了提取时间。此外, 中草药在提取有效成分的过程中常因淀粉、蛋白质、果胶等成分混杂而影响提取液的质量, 所以可以选用恰当的酶, 通过温和的酶解反应将液体制剂中的杂质组分分解去除, 从而提高提取体系的澄清度和药材质量。随着研究的不断深入, 酶法提取技术必将为天然产物的提取提供一条新的途径。

2. 半仿生提取

半仿生提取法 (semi-bionic extraction method, SBE) 是近几年提出的新方法。它是从生物药剂学的角度, 将整体药物研究法与分子药物研究法相结合, 模拟口服药物经胃肠道转运吸收的环境, 采用活性指导下的导向分离方法, 是为经消化道口服给药的制剂设计的一种新的提取工艺。它的意义在于既体现了中医临床用药的综合作用特点, 又能体现现代科学技术水平, 在中药提取中坚持了“有成分论, 不唯成分论”。具体做法是, 先将药材用酸水提取, 再以碱水提取, 提取液分别经过滤、浓缩制成制剂, 其目的是提取含指标成分高的“活性混合物”。这种提取方法可以提取和保留更多的有效成分, 缩短生产周期, 降低成本。这是从生物学的角度考虑而提出的一种新方法。

半仿生提取法在天然产物提取方面已有报道, 采用 SBE 法和 WE 法 (水提法) 对麻黄的提取液成分含量进行比较, 以麻黄总生物碱、麻黄碱和浸膏得率为指标, 结果 SBE 法显

著优于 WE 法。对甘草进行“饮片颗粒化”研究中,以甘草次酸、甘草总黄酮和浸膏量为指标,对 SBE 法和 WE 法进行了比较,发现 SBE 液中甘草总黄酮是 WE 液的 14 倍,其他两项指标也均高于 WE 液。以小檗碱、总生物碱和干浸膏量为指标,对黄柏的 SBE 法和 WE 法进行了比较,结果显示,黄柏饮片制备颗粒剂,采用 SBE 法效果优于水提法。以乌头总碱、酯型乌头碱和浸膏得率为指标,川乌用两种提取法进行比较,结果 SBE 法优于 WE 法。

半仿生提取法的局限性在于仍沿袭高温煎煮法,使许多热敏性物质受到破坏,降低了药效。针对半仿生提取法的局限性,人们研制了仿生提取法。它模拟人体胃、肠的内环境,提出用人工胃液、人工肠液在低温下提取中药,并且引进酶催化,使药物转化成人体易综合利用的活性混合物,初步试验已显示出良好的效果。

第二节 现代分离方法

利用不同提取方法得到的提取物仍然是混合物,需要进一步除杂、分离及纯化方可得到纯品。而传统的分离方法对于结构类似成分和微量成分的分离有一定局限,因此,一些新的分离技术不断应用到天然产物的研究中。本节做一基本介绍。

一、色谱分离法

色谱分离法(chromatographic resolution, CR)是 1906 年俄国植物学家 M. Tswett 创立的,他成功地分离了植物色素。色谱分离法是一种物理的分离方法,它是利用多组分混合物中各组分物理化学性质(如吸附力、分子极性、分子形状和大小、分子亲和力、分配系数等)的差别,使各组分以不同程度分配在两个相中。其中一个相为固定的,称为固定相;另一相是携带被测样品流过固定相的流动体,称为流动相。当多组分混合物随流动相流动时,由于各组分物理化学性质的差别,而以不同速率移动,使之分离。目前色谱分离法已广泛应用于许多领域,成为十分重要的分离分析手段。

(一) 逆流色谱

逆流色谱(counter current chromatography, CCC)是由美籍日本学者伊东洋一郎(Y. Ito)于 20 世纪 60 年代末至 70 年代初期发明的一种无固体载体的连续液-液分配色谱新技术,可以在短时间内实现高效分离和制备。

1. 逆流色谱(CCC)的基本原理及特点

流体动力学中有一种特殊的动力学平衡现象,即单向流体动力学平衡现象,CCC 即利用了这种特殊的流体动力学原理,利用螺旋管方向性与高速行星式运动相结合产生的一种独特的流体动力学现象,使相对移动的互不相溶的两相在螺旋管中实现高效的接触、混合、分配和传递,并按照分配系数的不同依次洗脱而获得分离。目前开发的逆流色谱设备主要可归为两大类:一类是基于流体静力平衡体系(HSES)的非螺旋管式逆流色谱仪,如液滴逆流色谱仪、回旋腔室逆流色谱仪等;另一类是基于流体动力平衡体系(HDES)的螺旋管式逆流色谱仪,如环绕螺旋管离心分离仪、同步螺旋管行星式离心分离仪、非同步流通型螺旋管行星式离心分离仪、正交轴同步螺旋管行星式离心分离仪、慢转螺旋管分离仪等。

逆流色谱技术由于不需要采用固体固定相,故具有以下不同于常规色谱技术的特点:①逆流色谱无需固体载体,不会出现吸附、污染、峰形拖尾以及样品损失等现象,经过多次重复分离,均可以实现较好的重现性以及得到较高的回收率,且避免了样品在分离过程可能存在的变性问题;②操作简单易行,没有传统制备方法如重结晶、柱色谱和高效液相色谱(制

备型)等的操作周期长、步骤繁琐等不足,无需对样品进行复杂的处理,粗样可以直接上样而不会对柱子造成任何损害,出峰可以在线检测,且可以和灵敏度高的检测技术联用,方便快捷准确;③应用范围广,通过改变两相溶剂体系,可以实现多种化合物的分离;④产品纯度高,选择正确的溶剂,可以将样品分离后得到纯度高于90%的产品;⑤比高效液相色谱的制备量大,且费用低,不需要昂贵的色谱柱。

2. 逆流色谱(CCC)的应用

逆流色谱是一种独特的、不用固态载体的液相分配色谱技术,是一种能实现连续、有效分离的实用分离制备技术。目前已广泛应用于医药、化工、食品、生物工程、天然产物化学、有机合成、环境分析、地质、材料等领域,所涉及的分离对象包括植物、海洋生物、微生物发酵产物等材料中的生物活性组分,并在稀土元素的分离方面也取得了一些进展。

逆流色谱从产生至今,经过不断的发展与完善,其技术和设备都已趋近于成熟。至今,已发展形成了高速逆流色谱(high-speed countercurrent chromatography, HSCCC)、双向逆流色谱(dual countercurrent chromatography, DuCCC)、正交轴逆流色谱(cross-axis coil planet centrifuge, X-axis CPC)、pH区带精制逆流色谱(pH-zone-refining countercurrent chromatography)、离子对逆流色谱(ion-pairing countercurrent chromatography)、离子交换顶替离心分配色谱(ion-exchange displacement CPC)等逆流色谱新技术。现在分析型逆流色谱(HSCCC)分离效率可与高效液相色谱(HPLC)相媲美;能实现从微克、微升量级的分析分离到数克甚至数十克量级的制备提纯;适用于未经处理的粗制样品的中间级分离,特别是逆流色谱与质谱(MS)、傅里叶红外光谱(FTIR)、蒸发光散射(ELSD)、高效液相色谱(HPLC)以及其他新型检测器联用,为逆流色谱技术的应用提供了新型多维分离分析方法,为制备标准品、建立指纹图谱、研究天然药物化学成分以及开发新药等提供了强大的技术支持。

(二) 加压薄层色谱

将高效液相色谱中施于流动相的压力运用到薄层色谱中,产生了加压薄层色谱(over-pressure layer chromatography, OPLC),它是一种将薄层色谱法和高效液相色谱法结合起来的新技术。

1. 加压薄层色谱(OPLC)的基本原理及特点

加压薄层色谱是一种水平的薄层色谱板上覆盖有一弹性气垫的色谱方法。它是将薄层板置于加压密封室中,吸附剂上盖有一层弹性膜,并用压缩气体压紧,展开剂由泵连续稳定地注入,样品在动态中加入进行分离的一种薄层色谱技术。

加压薄层色谱法的展开剂不是靠毛细作用,而是靠泵压被强制流动,因此可以采用更细颗粒的吸附剂和更长的色谱板,具有分离时间短、扩散效应小、分离效果更好的特点。

20世纪60年代出现了薄层色谱超微展开室,这种展开室在展开过程中用一块玻璃或塑料膜覆盖在薄层板的表面,从而减少了薄层分离中气相的影响。1979年 Tyihak 在超微展开室的基础上,在覆盖薄层板的塑料膜上加以一定的压力,并将展开剂压入薄层板,从而发展了OPLC技术。在此之后,该方法在理论、分析条件及应用等方面的研究得到了不断的深入,商品化的OPLC仪及其专用的薄层板也不断推出。

薄层板夹(cassette)是OPLC技术的关键部分。板夹主要由两层构成,上层为聚四氟乙烯薄膜层,下层为一块钢板,薄层板吸附剂面向上,置于聚四氟乙烯薄膜与钢板之间。在聚四氟乙烯薄膜两边均有一个小孔,溶剂通过这两个小孔进出薄层板。在孔的两侧与薄层板接触的一面刻有凹槽,使溶剂可以快速到达薄层板边缘,从而保证薄层板中间和边缘几乎同

时开始展开。在薄层板的边缘有一圈约 2mm 宽的吸附剂被刮掉,再用高分子材料加上一层密封条,以防止加压展开时展开剂从薄层板边缘溢出。板夹下层的钢板主要起支撑作用。OPLC 中常用的薄层板有 5cm×20cm、10cm×20cm 以及 20cm×20cm 等规格,不同大小的薄层板使用不同的板夹。

2. 加压薄层色谱 (OPLC) 在天然产物分离中的应用

加压薄层色谱法结合了薄层色谱法和高效液相色谱法两者的长处,具有一些独特的优点。凡能用一般薄层色谱法分离的物质均可用加压薄层色谱法分离,有些一般薄层色谱法很难分离的物质,用加压薄层色谱法却很容易分离。如 Dallenbach-Toelke 等采用普通薄层色谱、高效薄层色谱 (HPTLC)、OPLC 和超微室离心薄层色谱 (ultra-micro-chamber centrifugal layer chromatography, UCLC) 对药用婆婆纳 (*Veronica officinalis*) 中的环烯醚萜苷类化合物进行了分离。展开剂均为醋酸-丁酮-氯仿-水 (体积比为 25:37.5:37.5:7.5)。目标化合物在普通薄层色谱中的展距为 9cm;在 HPTLC 中的展距为 4.5cm;在 OPLC 和 UCLC 中的展距均为 17cm。结果表明,普通薄层色谱不能将玉叶金花苷 (mussaenoside) 和米内苷 (minecoside) 分开, HPTLC 仅能将两者刚刚分开,而 OPLC 和 UCLC 均可获得较好的分离效果,其中以 OPLC 效果最好。目前加压薄层色谱法已成功用于强心苷、生物碱、香豆素等天然产物的分离。

(三) 离心薄层色谱

传统制备型薄层色谱 (PTLC) 具有操作和设备简单、费用低廉以及应用范围广的特点,但其也有一些不足之处,主要有:需将被分开的化合物色带从薄层板上刮下,并将其从吸附剂上提取出来,而对一些无紫外吸收或喷显色剂而无吸收的化合物并不适用;分离所需时间较长;此外,在用溶剂对色带进行提取时,可能会混入来自吸附剂的杂质和残留物。为了克服上述缺点,人们发明了离心薄层色谱 (centrifugal thin-layer chromatography, CTLC)。

1. 离心薄层色谱的基本原理及特点

离心薄层色谱又叫旋转薄层色谱,是在传统薄层色谱和柱色谱的基础上发展起来的一种离心型连续洗脱的环形薄层色谱分离技术。离心薄层色谱的洗脱剂是运用离心力促使其加速流动,而不是依靠“毛细”作用。因此,与传统薄层色谱相比,具有以下特点:操作简单,分离速率可调控;无需刮去吸附剂,洗脱剂用量少,吸附剂中杂质的溶出量少;色谱板可以再生反复使用 (理论上);可以直接上样,可梯度洗脱,敏感物质的氧化更少,样品的回收率更高。

运用离心力进行分离,可以减少破坏,对沸点高、分子量大的化合物有利,可用于分离 100mg 左右的样品。所用吸附剂除了普通薄层色谱用的硅胶、氧化铝外,还可采用离子交换剂、葡聚糖凝胶等。

2. 离心薄层色谱在天然产物分离中的应用

虽然离心薄层色谱的分辨率低于制备型薄层色谱,但与其相比具有更大的优点,因此广泛应用于香豆素类化合物、生物碱类化合物、萜类化合物、甾类化合物等天然产物的分离制备中。Hostettmann 等采用离心薄层色谱法,以甲醇-氯仿为洗脱剂进行梯度洗脱,从龙胆科植物 (*Gentiana striatiflora*) 中分离黄酮类化合物仅需 30min,而相应地用聚酰胺常压柱色谱分离至少需要 12h。

对结构相似化合物呋喃香豆素类的分离,以往采用制备型薄层色谱或柱色谱,需时长,分离较难。Sticher 等在研究 *Heracleum sphondylium* 的成分时,用离心薄层色谱法将所含的

佛手柑内酯等五种结构相似的呋喃香豆素完全分离, 仅需半天时间。由此可见, 离心薄层色谱是分离结构相似、复杂天然化合物的简便、快速的有效方法。

(四) 高效液相色谱

高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 是在 20 世纪 60 年代末发展起来的一种快速分离、分析技术。由于其适用范围广, 分离速率快, 灵敏度高, 色谱柱可以反复使用, 样品用量少, 还可以收集被分离的组分, 特别是计算机等新技术的引入使其自动化与数据处理能力大大提高, HPLC 技术得到飞速发展。

1. 高效液相色谱 (HPLC) 法的基本原理及特点

高效液相色谱是以溶剂或某种溶液为流动相, 以装在柱子里的固体填料为固定相, 用高压输液泵将流动相压入柱子, 使样品组分在柱子里进行分离的柱色谱法。按固定相的不同, 可以分为液-固吸附色谱、液-液分配色谱、离子交换色谱和排阻色谱等不同分离机制的色谱法。差速迁移和谱带的扩散是色谱分离的两大特点, 在任何色谱中都存在。物质在液相分配色谱中的差速迁移是由于不同化合物在固定相和流动相之间的分配系数的不同引起的。色谱里的谱带扩散是由于同一个化合物的不同分子在通过柱子时平均迁移速率不同造成的, 谱带的扩散随着柱子的加长或柱子内停留时间的延长而加大。

在国际市场上各主要高效液相色谱仪的生产厂家不断推出各种新型号的 HPLC, 虽然各种型号的仪器性能和结构复杂程度各异, 但其主要组成部分是相同的, 主要由输液泵、进样器、色谱柱、检测器、计算机、记录仪等几大系统组成。其中, 色谱柱是高效液相色谱仪的关键部件之一, 色谱柱的结构、制造精度、填料和装柱技术都直接影响分离效果。高效液相色谱的色谱柱一般是用不锈钢制造的, 从材质上要求能耐酸、碱和盐的腐蚀。高效液相色谱的检测器种类较多, 常用的有紫外吸收、示差折光、电化学和荧光检测器等。其中紫外吸收、电化学和荧光检测器属于选择检测器, 它们对某些组分能检测, 有些组分不能被检测; 示差折光检测器又叫折光指数检测器, 为通用性检测器, 对所有样品组分都可检测。

目前, 高效液相色谱的发展主要体现在载体品种的改进、多波段检测器的应用、联用技术、高通量技术、微量研究以及微型化技术等方面。近年来一种新的多波段检测器应用直线光敏二极管阵列 (linear photodiode array) 技术已逐步推广, 选用波长范围为 4~400nm, 由于与电子计算机联用, 可在 0.4s 内感应, 因而灵敏度高, 可供选择范围很广。色谱柱微型化是目前 HPLC 发展的又一主要特点, 分析用的微型柱为 15cm×0.15cm, 由于 FT-NMR、FT-IR 的发展, 毫克级以下样品即可测出各种光谱数据, 因而一根半微量柱 25cm×1cm 即可供制备分离, 经过多次分离, 可于一二天内累积分离出足够测试用的毫克级样品。

2. 高效液相色谱的应用

高效液相色谱适宜于挥发性及热稳定性差、分子量大的高分子化合物以及离子型化合物, 对生物碱、氨基酸、蛋白质、核酸、维生素、抗生素等尤为有利。手性分子的分离和分析也是 HPLC 法的重要研究领域。将 HPLC 法引入生物技术领域, 对生物工程已形成深远的影响, 新一代的制备色谱技术已引起越来越多的关注, 特别是在工业规模制备提纯化合物中得到了广泛应用。

高效液相色谱的应用, 使生物碱的分离达到了快速、准确、微量及高效的水平。在分离生物碱时, 常采用高于 pH=7 的移动相, 一般 pH 值在 8~10 之间, 可抑制生物碱的离子化作用, 获得尖锐峰形, 不过 pH 值高于 8 的移动相, 硅胶易于溶解。现已对填充剂硅胶进行了改进, 使其可以在 pH=11 的移动相中不致溶解。目前色谱法能使一些含量低、组分复杂的生物碱分离到单体。例如从长春花中分离得到了 60 多个生物碱; 从萝芙木中分离到 30

多个。

近年来,由于各种液相色谱-质谱(LC-MS)联用接口的研制成功及仪器的商品化,使得LC-MS的样品前处理简单,一般不需要水解或衍生化处理,可直接用于天然产物和药物代谢的分离与鉴定。而且,随着质谱技术以及液质接口技术的不断发展,液相色谱-质谱联用终将成为天然产物及药物代谢研究的十分有利的分离与分析的手段。

二、双水相萃取技术

双水相萃取技术(two-aqueous phase extraction, ATPE),又称水溶液两相分配技术(partition of two aqueous phase extraction),是近年来出现的引人注目并极有前途的新型分离技术。ATPE技术始于20世纪60年代,从1956年瑞典伦德大学的Albertsson发现双水相体系到1979年德国GBF的Kula等人将双水相萃取分离技术应用于生物产品分离,虽然只有20多年的历史,但由于其条件温和,容易放大,可连续操作,目前已成功地应用于蛋白质、核酸和病毒等生物产品的分离和纯化,涉及医药化学、细胞生物学、生物化工和食品工业等领域。20世纪90年代以来,双水相萃取技术开始应用于天然产物的分离纯化以及生物转化及生物分析中。

1. 双水相萃取技术的原理及特点

将两种不同的水溶性聚合物的水溶液混合时,当聚合物浓度达到一定值,体系会自然地分成互不相溶的两相,这就是双水相体系。双水相体系的形成主要是由于高聚物之间的不相溶性,即高聚物分子的空间阻碍作用,相互无法渗透,不能形成均一相,从而具有分离倾向,在一定条件下即可分为两相。一般认为,只要两聚合物水溶液的憎水程度有所差异,混合时就可发生相分离,且憎水程度相差越大,相分离的倾向也就越大。

双水相萃取与水-有机相萃取的原理相似,都是依据物质在两相间的选择性分配,但萃取体系的性质不同。当物质进入双水相体系后,由于表面性质、电荷作用和各种力(如憎水键、氢键和离子键等)的存在和环境的影响,使其在上、下相中的浓度不同。对于某一物质,只要选择合适的双水相体系,控制一定的条件,就可以得到合适的分配系数,从而达到分离纯化的目的。

双水相萃取技术具有以下特点。

① 整个体系的含水量高(70%~90%),萃取是在接近生物物质生理环境的条件下进行,故不会引起生物活性物质失活或变性。

② 单级分离提纯效率高。通过选择适当的双水相体系,一般可获得较大的分配系数,也可调节被分离组分在两相中的分配系数,使目标产物有较高的收率。

③ 传质速率快,分相时间短。双水相体系中两相的含水量一般都在80%左右,界面张力远低于水-有机溶剂两相体系,故传质过程和平衡过程均快速。

④ 操作条件温和,所需设备简单。整个操作过程在室温下进行,相分离过程非常温和,分相时间短。大量杂质能与所有固体物质一起去掉,大大简化了分离操作过程。

⑤ 过程易于放大和进行连续化操作。双水相萃取易于放大,各种参数可以按比例放大而产物收率并不降低,易于与后续提纯工序直接相连接,无需进行特殊处理,这对于工业生产来说尤其有利。

⑥ 不存在有机溶剂残留问题。高聚物一般是不挥发性物质,因而操作环境对人体无害。

⑦ 双水相萃取处理容量大,能耗低。主要成本消耗在聚合物的使用上,而聚合物可以循环使用,因此生产成本较低。

2. 双水相萃取技术在天然产物分离中的应用

一直以来,双水相萃取技术主要用于分离生物有机大分子(蛋白质、核酸、酶等),然而自20世纪90年代以来,用双水相萃取技术分离各种有机物小分子也取得了较为理想的效果。中草药是我国医药宝库中的瑰宝,已有数千年的历史,但由于天然植物中所含的化合物众多,特别是中草药有效成分的确定和提取技术发展缓慢,使我国传统中药难以进军国际市场。双水相萃取技术可用于许多天然产物的分离纯化,效果明显。目前,温度诱导双水相萃取技术从天然药物中提取分离有效成分已成为一种快捷、简便和廉价的技术,有望实现工业化。应用双水相萃取技术对有机物质的提取分离获得了比较好的效果,例如:在商业上用作杀虫剂或用于某些疾病诊断指示剂的蜕皮激素和羟基蜕皮激素的萃取分离;具有抗血小板凝集、抗肿瘤、降血脂、降压利尿和清除自由基等作用;具有重要的药理活性的黄芩中黄芩苷的萃取分离;芦丁、三七皂苷、加杨叶总黄酮、甘草皂苷等物质的萃取分离等。不过,天然产物有效成分含量低,难于富集,体系复杂,大分子与小分子、生命物质与非生命物质共存,特别是存在结构异构体等都使分离提纯工作的难度加大。ATPE技术在天然产物的分离和纯化等方面的应用还有待进一步研究。

另外,双水相技术作为一种生化分离技术,由于其条件温和,易操作,可调节因素多,并可借助传统溶剂萃取的成功经验,而被认为是一种生物下游工程初步分离的单元操作。在发酵工程方面,由于发酵液中成分比较复杂,目标产物含量低,而传统的分离纯化方法步骤繁琐,导致产品回收率低,成本居高不下。目前国内外已经有利用双水相体系从发酵液萃取分离目标产物的报道和研究,并取得了一些成绩。此外,双水相萃取技术还可用于稀有金属/贵金属分离。

目前,随着双水相萃取技术的发展,还可以与生物转化、膜分离、细胞破碎过程相结合,用于众多生化产品的分离提纯,并显示出众多其他分离技术不具备的优点,是一种应用前景广阔的新型物质分离技术。但是,要将这一技术开发应用到大规模生产过程,还有许多理论和实践方面的技术问题有待解决。

三、膜分离技术

膜分离技术(membrane separation technique, MST)是一项新兴的高效分离技术,已被国际公认为20世纪末到21世纪中期最有发展前途的一项重大高新技术,是利用天然或人工合成的具有选择透过性的薄膜,以外界能量或化学位差为推动力,对双组分或多组分体系进行分离、分级、提纯或富集的技术。

1. 膜分离技术的原理及特点

膜分离技术的实质是使用具有选择透过性的膜为分离介质,当膜两侧存在某种推动力(如压力差、浓度差、电位差等)时,物料依据滤膜孔径的大小或通过或被截留,选择性地透过滤膜,达到分离和提纯的目的。

膜分离技术按被分离物质分子量的大小分为以下几种。

① 微滤(micro-porous filtration, MF),作为最早使用的膜技术,是以多孔薄膜为过滤介质,使不溶物浓缩过滤的操作。截留粒子的范围约为 $0.1\sim 10\mu\text{m}$,目前常用的微滤膜有金属膜、无机陶瓷膜、高分子膜等。

② 超滤(ultra filtration, UF),是20世纪六七十年代发展起来的一种膜分离技术,以微孔滤膜(超滤膜)为过滤介质,在常温下依靠一定的压力和流速使药液流经膜表面,迫使低分子物质透过膜,高分子物质被截留。超滤膜能截留相对分子质量在上千至数十万的大分子,粒子的范围在 $10\sim 100\text{nm}$ 之间,除能完成微滤的除颗粒、除菌及澄清作用外,还能除

去微滤膜不能除去的病菌、热原、胶体和蛋白质等大分子化合物，主要用于物质的分离、提纯以及浓缩。在医药行业中超滤膜是发展最快的膜分离技术。

③ 纳滤 (nano filtration, NF)，是近年来国外发展起来的另一种滤膜系列——纳米过滤。它介于反渗透与超滤之间，能分离除去相对分子质量为 300~1000 的小分子物质，粒子的范围在 1~10nm 之间，填补了由超滤和反渗透所留下的空白部分。纳滤膜集浓缩与透析为一体，可使溶质的损失达到最小。

④ 反渗透 (reverse osmosis, RO)，是从水溶液中除去无机盐及小分子物质的膜分离技术。反渗透膜所用的材料为有机膜，其分离特点是膜仅能透过水等小分子物质，粒径 $\leq 1\text{nm}$ 的范围内，而截留各种无机盐、金属离子和分子。反渗透膜在医药行业中的应用主要是制备各种高品质的医用水、注射用水、医用透析水等，可代替离子交换树脂，进行水的脱盐纯化。

膜分离技术具有以下特点：①在常温下操作，适于热敏性物质的分离、浓缩和纯化；②分离过程不发生相变（除渗透汽化外），无二次污染，具有浓缩功能；③能耗低；④分离系数大；⑤操作方便，易于自动化。因此，膜分离技术是现代分离技术中一种效益较高的分离手段，可以部分取代传统的过滤、吸附、冷凝、重结晶、蒸馏和萃取等分离技术，在分离工程中具有重要作用。

2. 膜分离技术在药用植物有效成分分离中的应用

药用植物中的化学成分十分复杂，通常含有生物碱、氨基酸、有机酸、酚类、皂苷、甾体、萜类化合物以及蛋白质、黏液质、鞣质、糖类、淀粉、纤维素、无机盐等。其分子量的分布很宽。通常药物有效成分的提取主要是采用有机溶剂萃取的方法，然后通过色谱、重结晶等分离技术使中药有效成分的纯度进一步提高，最后应用于临床。由于中药的有效部分和非药用成分的分子量有巨大差别，因此，用截留适宜分子量的超滤膜能够很容易地将两者分开。与传统的化学分离方法相比较，膜分离的方法不仅效率高、操作简便，而且成本低、经济效益好，所以越来越多地应用于中药有效成分的提取，特别是超滤技术的应用较多。采用超滤法从唇形科植物黄芩中提取黄芩苷，产率可达 6.93%~7.68%，比传统工艺高出近 1 倍。麻黄碱是中药麻黄的主要成分，传统工艺是采用苯提法，需经过脱色、提纯及浓缩三个过程，工艺路线比较复杂，而且使用大量甲苯作提取剂，毒性大。采用超滤装置来提取麻黄，经过一次处理就可得到麻黄碱 98.1%，色素除去率达 96% 以上。与传统工艺相比，不仅收率提高，产品质量好，生产安全可靠，生产成本显著降低，而且也避免了对环境的污染。金银花为常用的清热解毒药，其主要成分为绿原酸，相对分子质量为 354.3，采用截留相对分子质量为 1 万的超滤膜进行分离，可除去其中的多糖、蛋白质等大分子杂质。有效成分收率比传统的醇沉法大幅度提高，由 67.8% 提高到 95.4%。用截留相对分子质量为 1 万的超滤膜提取银杏叶中的黄酮苷，得到淡黄色的结晶体，替代了原来使用的醇沉工艺。采用中空纤维超滤膜从苦豆子盐酸提取物中纯化生物碱，结果总生物碱的回收率达 93.5%，同时可以除去 87.3% 的蛋白质和 64.7% 的固形物，总生物碱的纯度为 52.3%。超滤法的优点在于不消耗溶剂，操作简单，生物碱损失小。虽然总生物碱纯度较低，但超滤液可直接结合阴离子交换树脂对生物碱进行进一步纯化，减少许多中间步骤。

值得注意的是，有些中药中所含的高分子成分也具有一定的生理活性或疗效。如一些禾本科及菌类植物中的抗癌有效成分是多糖，天花粉中具有引产作用的有效成分是蛋白质，魁寄生中具有抗癌作用的有效成分是毒肽类等。因此，在用超滤法制备此类中药的浸膏制剂时，如果直接超滤，这些高分子有效成分会损失，应采取一定措施，如可以用微滤或其他方

法先将药液中的这些大分子成分分离出来。此外,采用微滤、超滤和纳滤集成技术从七叶参中提取皂苷也已取得了满意的效果。制备具有特殊药理作用的药物,使中药中不同分子量的组分用于不同的治疗目的,达到药物的综合利用,这也是膜分离的潜在功能。

资源和环境是目前人们最关心的话题。现代工业迫切需要节能、资源再生和循环利用。膜分离作为一种新型的分离单元操作过程,在技术进步、产品结构调整、节省能源及污染防治方面日益显示出其强大的生命力和竞争能力。但膜的发展受到了几个方面的制约:一是膜产品的价格较高;二是膜污染问题;三是膜分离性能需进一步提高。相信随着新材料、新技术的不断出现,膜技术在天然产物化学和生物工程中的应用将显示出令人瞩目的前景。

四、固相萃取法

固相萃取法(solid phase extraction, SPE),也称为固液萃取法(solid liquid extraction, SLE),是20世纪80年代中期在国外流行并逐步发展起来取代传统的液-液萃取技术的样品前处理方法。经过多年的发展,固相萃取技术在国内也越来越引起人们的重视,固相萃取技术在样品前处理中的角色也显得日益重要。现已广泛应用在医药、食品、环境、商检、化工等领域。

1. 固相萃取法的基本原理和基本程序

固相萃取是一个包括液相和固相的物理萃取过程。在固相萃取过程中,固相对分析物的吸附力大于样品的基液。当样品通过固相柱时,分析物被吸附在固体填料表面,其他样品组分则通过柱子。分析物再用适当的溶剂洗脱下来。

固相萃取(SPE)的基本原理与高效液相色谱(HPLC)相同,但目的完全不同。HPLC是要在短时间内将各化合物分离并保持好的峰形,而SPE是要从复杂的基液中分离人们感兴趣的化合物并将其浓缩,以便进一步分析。因此,传统的SPE柱填料的颗粒往往比HPLC柱的填料颗粒要大得多,而且是不规则的颗粒,以增加接触样品的表面积。目前用得最广泛的是键合硅胶柱(bonded silica column),其次是聚合树脂柱。

固相萃取是靠固体填料上的键合功能团与待分类化合物之间的作用力将目标化合物与基液分离达到样品净化浓缩的目的。因此,在进行固相萃取时必须考虑的因素是吸附剂和分析物之间的作用力,主要包括非极性作用力(存在于吸附剂功能团的碳氢键和分析物的碳氢键之间)、极性作用力(包括氢键、偶极力/偶极力、诱导偶极力、 π - π 作用等)、离子作用力(发生在具有相反作用的分子功能团之间的作用力)等。此外,分析物与基液之间、基液与吸附剂之间也存在一定的作用力。总之,在应用固相萃取方法时应综合考虑各种作用力对萃取过程的影响。

固相萃取的基本程序可分为以下五个步骤:固相柱的预处理,添加样品,固相柱的洗涤,固相柱的干燥和分析物的洗脱。但在实际应用时可根据最后分析手段对样品的要求对这五个步骤进行增减。比如,当使用离子交换原理进行样品萃取时就需要增加调节萃取体系pH的步骤。

2. 固相萃取的特点及其应用

SPE由于萃取效率高、选择性好、适用范围广、操作简单、省时等优点,目前已广泛应用于糖类、苷类、苯丙素类、醌类化合物、黄酮类化合物、萜类和挥发油、三萜及其苷类、甾体及其苷类、生物碱等几大类成分的分离、纯化和浓缩。与传统的液液萃取法相比较,可以提高分析物的回收率,更有效地将分析物与干扰组分分离,简化样品预处理过程。

第三章 波谱技术在天然产物结构研究中的应用

结构研究是天然产物化学一项重要的研究内容。植物有效化学成分经提取、分离得到单体化合物后，必须经过结构鉴定，才能为更好地进一步人工合成或进行结构修饰提供可靠的依据。在近代物理方法问世前，需要几代人不懈的努力才能鉴定一个天然产物的结构。例如阿片中的咖啡，1804 年分离得到纯品，1847 年确定分子式，1925 年才基本确定其化学结构。天然产物的结构研究难度很大，因为即使不是新的化合物，其未知因素仍然很多，难以采用经典的化学方法，必须依靠现代波谱学技术对未知化合物进行结构分析或对已知化合物进行结构鉴定。

结构鉴定前必须先确定化合物的纯度，以便进行物理常数测定。物理常数的测定包括熔点、沸点、比旋光度、折射率、溶解度以及色谱行为、灼烧试验、化学定性反应等。利用测得的物理常数，结合有关文献手册，可以初步推断化合物的类型，确定样品是已知物还是未知物。其次，进行元素分析求出实验式，结合分子量的测定，计算化合物的分子式。通过计算化合物的不饱和度，结合前面的理化性质测定以及 UV、IR、NMR、MS 等光谱数据，综合分析推断分子中含有的官能团，进一步确证分子结构的基本骨架。最后还可以借助测定 NOE 或 2D NMR 谱图、X 射线衍射分析等，推断分子的构型、构象，确证主体结构。

第一节 紫外光谱在天然产物结构分析中的应用

一、紫外吸收光谱的产生

紫外吸收光谱 (ultraviolet spectrum, UV) 的波长范围是 100~400nm。其中 100~200nm 是远紫外区，空气中的 N_2 、 O_2 、 CO_2 和 H_2O 等在此波长范围内都有吸收，因此必须在真空中进行研究，又称真空紫外；200~400nm 为近紫外区；400~800nm 为可见光区。常见的分光光度计包括紫外和可见两部分，波长范围在 200~800nm，称紫外-可见分光光度计。

分子内部的运动主要有转动、振动和电子运动三种，因此分子具有转动能级、振动能级和电子能级。其中电子能级的跃迁所需能量最大，约在 1~20eV 之间，根据 $E=h\nu=hc/\lambda$ ，需要吸收光的波长范围在 200~1000nm 之间，恰好落在紫外-可见光区域。因此，紫外吸收光谱是由于分子中价电子的跃迁而产生的电子光谱。紫外光谱的产生取决于双键和未共用电子的共轭情况以及几何排列，揭示了分子中价电子跃迁时能量的变化与化合物颜色之间的密切关系，主要反映分子中共轭体系和芳香族化合物的结构特征。

紫外光谱图是以吸收波长对吸收强度作图所得到的吸收曲线，吸收谱带的特征通常用最大吸收波长和对应的最大吸收强度表示。从紫外光谱的谱带位置及摩尔吸光系数可以识别化合物属于哪种类型。例如，在 200~250nm 区域具有强吸收带 ($\epsilon=10000$) 的化合物，可能含有两个不饱和的共轭体系，可能是共轭双键，也可能是 α,β -烯酮等。如果类似的强吸收落

在 260~300nm ($\epsilon=101000$), 则表示可能有苯环。如果在 290nm 左右 ($\epsilon=20\sim100$), 则可能是醛或酮类。

紫外吸收有一个优点, 即在各种不同复杂的分子中能辨认出特征基团。但是如果一个复杂分子的特征基团相同, 而分子的其他部分截然不同, 得到的是一个十分相似的紫外谱图。

二、各类化合物的紫外吸收

有机化合物的紫外-可见吸收光谱是 σ 电子、 π 电子和 n 电子三种电子跃迁的结果。

分子轨道理论认为一个成键轨道必定有一个相应的反键轨道。通常情况下, 外层电子均处于分子轨道的基态, 即成键轨道或非键轨道上, 能量次序大致为 $\sigma < \pi < n < \pi^* < \sigma^*$ 。当外层电子吸收紫外或可见辐射后, 电子从基态向激发态(反键轨道)跃迁, 主要有四种跃迁, 所需能量 ΔE 由高到低的顺序为: $\sigma \rightarrow \sigma^* > \pi \rightarrow \pi^* > n \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \pi^*$ 。

1. 饱和烃类及其含杂原子的烃类衍生物

饱和烃分子只有 C—C 和 C—H 的 σ 键, 只能发生 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 跃迁。 σ 电子不易激发, 跃迁时需要较大能量, 必须在波长较短的远紫外光的辐射照射下才能发生, 约 150nm, 即吸收光的波长均小于 200nm, 在近紫外区, 为不可见光。如果饱和烃中的氢原子被 O、S、N 等杂原子取代, 由 $n \rightarrow \sigma^*$ 的跃迁可以产生 R 带吸收, 吸收光谱一般在 200nm 左右, 位于远紫外区。因此, 这两类化合物常用作溶剂。例如, CH_3Cl 172nm (弱), CH_3OH 183nm ($\epsilon=150$), CH_3Br 204nm ($\epsilon=200$), CH_3NH_2 215nm ($\epsilon=600$), CH_3I 258nm ($\epsilon=365$)。

2. 不饱和脂肪族化合物

C=C 双键可以发生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, ϵ 在 5000~100000 左右。单个 C=C 或 C $\equiv$ N 叁键的 π 电子跃迁的吸收峰出现在 170~200nm 处, 在近紫外区一般检测不到。例如, 乙烯的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生 K 带吸收, $\lambda_{\max}=185\text{nm}$ 。如果分子中存在两个或两个以上的双键形成共轭体系, 因为发生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所需的能量减少, K 带吸收向长波位移, ϵ 值也增大。如: 丁烯 $\lambda_{\max}=185\text{nm}$ ($\epsilon=10000$); 1,3-丁二烯 $\lambda_{\max}=217\text{nm}$ ($\epsilon=21000$); 1,3,5-己三烯 $\lambda_{\max}=258\text{nm}$ ($\epsilon=35000$); 癸五烯 $\lambda_{\max}=335\text{nm}$ ($\epsilon=118000$), 呈淡黄色; 二氢- β -胡萝卜素 (含 8 个双键) $\lambda_{\max}=415\text{nm}$ ($\epsilon=210000$), 呈橙黄色; 番茄红素 $\lambda_{\max}=470\text{nm}$ ($\epsilon=185000$), 呈红色。所以紫外光谱主要用于有多个共轭体系化合物的结构鉴定。K 带 ($\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的共轭非封闭体系) 烯烃, 最大吸收波长随共轭链的增长 (或溶剂效应) 向长波方向移动的现象称为红移。除了取代基的影响, 溶剂对溶质分子还可以有偶极极化、氢键等影响, 也会使溶质的吸收波长发生位移。如 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 极性溶剂对激发态的作用比基态强, 可使激发态能量降低很多, 吸收峰向长波位移, 产生红移现象。

3. 羰基化合物

有些基团存在双键和孤电子对, 如 C=O、N=O、C=S、N=N 等。这些基团除了发生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁外, 还可发生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 这种跃迁所需能量较少, $\lambda_{\max}$ 约为 290nm, 但是由于这类跃迁为光禁阻, 所以 ϵ 值不大, 一般在十到几百。如丙酮 (环己烷作溶剂) 的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁 $\lambda_{\max}=279\text{nm}$ ($\epsilon=15$)。当这些基团与双键共轭时, 其吸收峰会向长波位移。如 2-丁烯醛 ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCHO}$) 的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁 $\lambda_{\max}=217\text{nm}$, $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁 $\lambda_{\max}=312\text{nm}$ 。

有些取代基或原子团单独存在时, 不能观察到紫外吸收光谱, 但是与其他基团相连后, 则位于紫外可见区域内。凡是能在一段光波内产生吸收的基团, 就称为生色基(团)。这种效应称为生色效应。紫外光谱的生色基一般是碳碳共轭结构或含杂原子的共轭结构, 即能进行 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 在近紫外区能吸收的原子或基团。因此, 常见的生色团有 C=C—C=C、C=O、—COOH、C=C、—Ph、—NO₂、—CONH₂、—COCl、—COOR 等。具有非键电子的原

子或基团与双键或共轭体系相连时, 形成 $p-\pi$ 共轭, 使电子的活动范围增大, 吸收峰向长波位移, 使颜色加深且吸收强度增加, 这样的基团称为助色基(团), 这种效应称助色效应。常见的助色团有 $-X$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NR_2$ 、 $-SR$ 等。例如:

$X-CH=CH-CH=O$	$X:$	$-NR_2$	$-OR$	$-SR$	$-Cl$	$-Br$
λ_{max} (增值, nm):		95	50	85	20	30

具有 $n-\pi^*$ 跃迁的 $C=O$ 等基团, 如果直接连接烷烃或含有孤电子对的助色团, 使最大吸收波长向短波方向移动, 这种现象称为蓝移。例如, 由于 $n-\pi^*$ 跃迁, 质子溶剂可使 N 、 O 发生质子化, 使 n 电子更靠近核而能量降低, 跃迁所需能量增大, 吸收向短波位移, 产生蓝移。因此, 在记录吸收波长时, 需标明所用溶剂。通常选用水、甲醇、乙醇、己烷、环己烷、醚等为溶剂。

	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3-C-H \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3-C-CH_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3-C-OH \end{array}$
λ_{max} (nm)	290	279	204
溶剂	己烷	己烷	乙醇

4. 芳香族化合物

芳香族化合物都具有环状共轭体系, 它们都产生三个吸收带。如苯的三个吸收带为: E_1 带, $\lambda_{max}=184nm$ ($\epsilon=47000$); E_2 带, $\lambda_{max}=204nm$ ($\epsilon=6900$); B 带, $\lambda_{max}=255nm$ ($\epsilon=230$)。B 带有精细结构。苯及其衍生物的 E_1 带不易检测到, E_2 带和 B 带都在近紫外区吸收。稠环化合物的共轭体系比苯长, 其 E_1 带在近紫外区吸收, 可用于两者的鉴别。

当苯环的取代基为烃基时, 由于超共轭效应的影响, 使 E_2 带和 B 带红移, 并且 B 带精细结构特征减弱。若取代基为 $-OH$ 等助色团, 不但显示上述现象, 还会产生新的 R 谱带, 但是因强度较低, 很容易被增强的 B 带掩盖。若取代基为生色团, 由于延长了 $\pi-\pi^*$ 共轭体系, 不但能使 B 带产生红移和吸收强度增加, 还新增了 $\pi-\pi^*$ 分子轨道的 K 带吸收, 这种 K 带吸收会与 E_1 带合并, 出现在 E_2 带和 B 带之间, 随着共轭链增长 λ_{max} 进一步红移, ϵ 吸收强度更大。

5. 杂环化合物

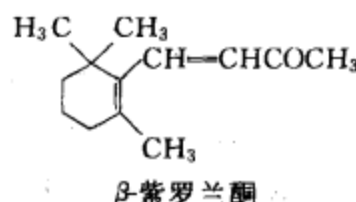
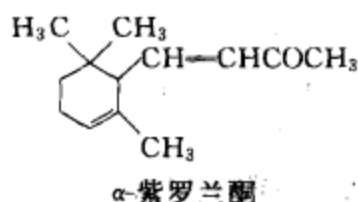
只有不饱和的杂环化合物才能有近紫外吸收峰, 环状二烯烃类化合物的 CH 被 N 、 O 等杂原子取代形成的杂环化合物产生的紫外光谱与相应的碳环类似。

三、紫外光谱在天然产物结构鉴定中的应用

紫外光谱图中可获得如下结构信息。

- ① 200~400nm 无吸收峰, 可能为饱和烃或无共轭双键的化合物。例如单烯烃。
- ② 270~350nm 有弱吸收峰 ($\epsilon_{max}=10\sim100$), 可能为 $n-\pi^*$ 跃迁所产生, 含有 $C=O$ 等官能团。例如醛、酮。
- ③ 200~300nm 有中等强度的吸收峰 ($\epsilon_{max}=200\sim2000$), 表示有芳环的特征吸收 (具有精细结构的 B 带)。
- ④ 200~300nm 有强吸收峰 ($\epsilon_{max}\geq 10^4$), 表明含有共轭体系。可能为共轭烯烃、 α, β -不饱和醛酮等化合物。
- ⑤ 若只改变介质 pH 值使光谱发生显著的变化, 表示含有与共轭体系有关的离子化基团。例如 pH 值由小变大, 谱带显著红移, 酸化后又恢复原位, 则可能为酚类、烯醇或不饱和羧酸类化合物; 反之, 则表示可能为芳胺类化合物。

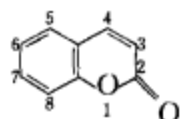
⑥ 可以利用 $\epsilon_{\max}$ 及 $\lambda_{\max}$ 的数值判断构型及构象。例如, 紫罗兰酮有 α 和 β 两种异构体, α -异构体在 228nm ($\epsilon_{\max}=14000$) 有吸收峰, β -异构体在 296nm ($\epsilon_{\max}=11000$) 有吸收峰。比较结构与数值, β -异构体 $\lambda_{\max}$ 值较大, 其紫外吸收有红移, 所以正确的结构应该如下:



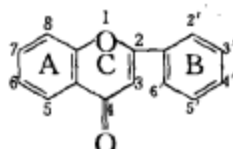
紫外-可见吸收光谱在萜类化合物结构的鉴定中应用较广泛。如分子中存在两个或两个以上不饱和基团, 可以利用紫外光谱确定这些基团是否处于共轭的位置。还可用 Woodward 规则计算, 此规则是 Woodward 于 1941 年首先提出, 然后由 Fieser 和 Scott 进行了修正。

利用紫外光谱能将香豆素、色原酮、呋酮及黄酮类化合物加以鉴别。例如, 香豆素母核在 274nm ($\epsilon_{\max}=104$) 和 311nm ($\epsilon_{\max}=108$) 呈现苯环和 α -吡酮环的吸收峰。当 C3 被烷基取代, 则 311nm 最大吸收值略向蓝移; C5 被烷基取代, 则 274nm 最大吸收值略向红移, 而 311nm 最大吸收值保持不变。

黄酮类化合物是以黄酮为主要骨架的多羟基衍生物, 可以根据紫外光谱谱带的变化推测共轭体系中取代基的位置和性质。黄酮类化合物在甲醇溶液中的紫外光谱有谱带 I 和谱带 II 两个吸收带: 谱带 I 为 297nm, 由肉桂酰系统电子跃迁引起; 谱带 II 为 250nm, 由苯甲酰系统电子跃迁引起。若 A 环、B 环或双键上引入羟基等助色团, 相应谱带会发生红移: 谱带 I 为 300~400nm, 谱带 II 为 250~285nm。黄酮及黄酮醇类化合物的峰强度表现在, I 带、II 带皆为强峰; 对于异黄酮、二氢黄酮类化合物, II 带吸收峰强, I 带吸收峰弱, 表现为肩峰; 对于查耳酮及橙酮类化合物, I 带吸收峰强, II 带吸收峰弱。

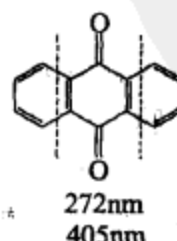
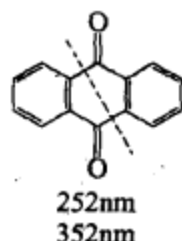
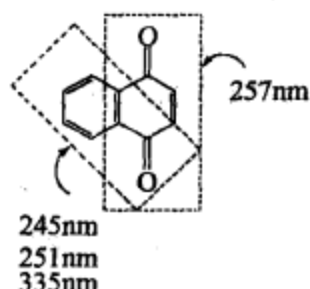


香豆素母核



黄酮母核

醌类化合物的结构测定是一个难点, 结构分析时, 一般先通过显色反应确定属于醌类成分后, 重点分析紫外及红外光谱数据。其紫外光谱主要特征为, 由于存在较长的共轭体系, 所以有强紫外吸收。三个主要吸收峰如下: ①约 240nm, 强峰; ②约 285nm, 中强峰; ③约 400, 弱峰。当分子中有一OH、—OMe 助色团, 相应吸收峰红移, 且并不影响苯环的三个吸收峰值; 若引入助色团 (α -OH) 到苯环, 则分子中 335nm 的吸收峰红移至 427nm。例如, 萘醌类母核则有四个主要吸收峰。



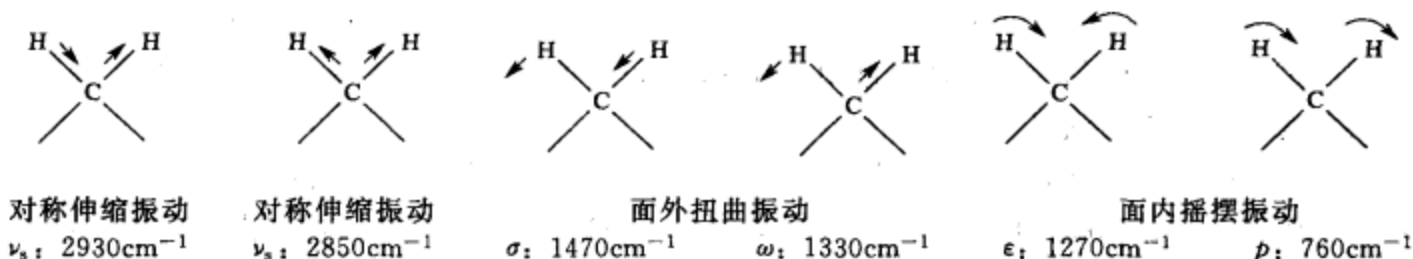
第二节 红外光谱在天然产物结构分析中的应用

一、红外吸收光谱的产生

红外光谱 (infrared spectrum, IR) 是指波长为 $2.5 \sim 25 \mu\text{m}$ ($2500 \sim 25000 \text{nm}$), 波数在 $400 \sim 4000 \text{cm}^{-1}$ 区域内的分子吸收光谱。红外光谱是分子振动能级间跃迁而产生的, 因电子振动能级跃迁的同时伴随着转动能级的跃迁, 所以又称为振-转光谱。它的重要性是可以揭示分子中存在的官能团或分子骨架, 所以红外光谱已成为鉴定官能团、测定分子结构的有力工具之一。用红外光谱进行样品分析, 有用量少, 易回收, 灵敏度高, 气、液、固态样品均适用的优点。红外光谱数据在结构分析中表现出高度的特征性, 能进行定性和定量分析。但是对结构复杂的分子, 红外光谱解析不是一件易事。

1. 分子振动

双原子分子的振动可以采用谐振子模型研究, 近似地看成简谐振动, 但是真实分子具有非谐性。多原子分子的振动比双原子分子要复杂得多, 其振动可以认为是简正振动, 包含多种振动。一般情况下可将其分成两类: 伸缩振动和弯曲振动。原子沿键轴方向伸缩, 键长发生变化而键角不变的振动称为伸缩振动, 用符号 ν 表示, 它又可以分为对称伸缩振动 (ν_s) 和不对称伸缩振动 (ν_{as})。键角发生周期变化而键长不变的振动称为弯曲振动, 分为面外扭曲振动和面内摇摆振动。对同一基团, 不对称伸缩振动的频率要稍高于对称伸缩振动。例如亚甲基的振动形式主要有:



2. 偶合共振与费米共振

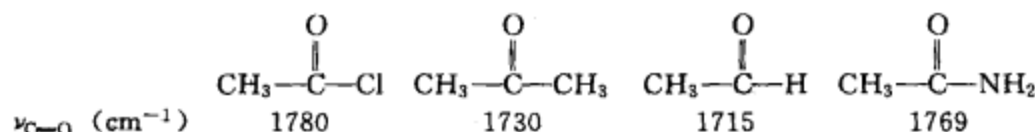
多原子中, 分子从基态 $\nu=0$ 跃迁到第一激发态 $\nu=1$ 时, 吸收红外光产生基频带。分子从基态 $\nu=0$ 跃迁到激发态 $\nu=2, 3, \dots$ 时, 又会得到倍频峰。两个或多个基频之和或差, 得到吸收频率很弱的组合频。当分子中的两个邻近基团基频振动峰相同或相近时, 就会发生较强的相互作用, 引起吸收频率一个向高频移动、另一个向低频移动的现象, 称为偶合共振。例如, 异丙基结构中的 $-\text{CH}_3$ 的基频峰为 1380cm^{-1} , 因为偶合共振分别在 1385cm^{-1} 和 1375cm^{-1} 出现两个吸收峰。当倍频或组合频位于某基频附近时, 由于发生振动的强烈偶合, 分别在高于和低于基频及倍频或组合频的频率处出现两个红外振动吸收, 并产生倍频或组合频的吸收峰强度增加的现象, 这种振动称为费米共振。例如, 芳香族化合物中, 苯环的基频峰为 1485cm^{-1} 和 1585cm^{-1} , 二倍频峰为 3070cm^{-1} , 由于费米共振会在 3099cm^{-1} 和 3045cm^{-1} 有振动吸收带。在红外光谱中这两种振动均很常见。

二、影响基团特征吸收频率的因素

多原子分子的振动较复杂, 各基团的振动不是孤立的, 会受到整个分子其他邻近基团的影响, 有时也会因为外围环境包括溶剂、物态等条件的变化略有波动, 但是不同分子中相同基团的振动吸收总是在一定范围内波动。

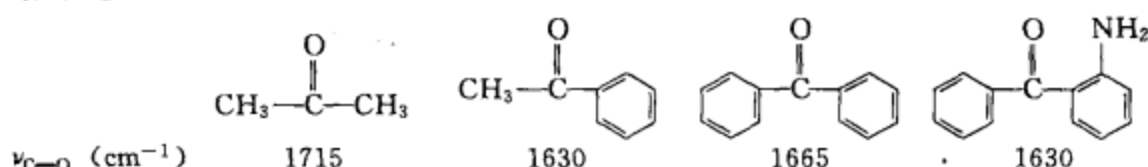
1. 内部因素的影响

(1) 电子效应 电子效应分为诱导效应和共轭效应两类。诱导效应有吸电子诱导效应(+I)和推电子诱导效应(-I)。诱导效应会引起电子云密度的改变,使相应化学键的振动能量发生改变,最终可以使吸收频率相应改变。如羰基上连有吸电子基可增强C=O双键性,吸收峰向高频位移;反之,推电子诱导效应的影响则向低频位移。例如:



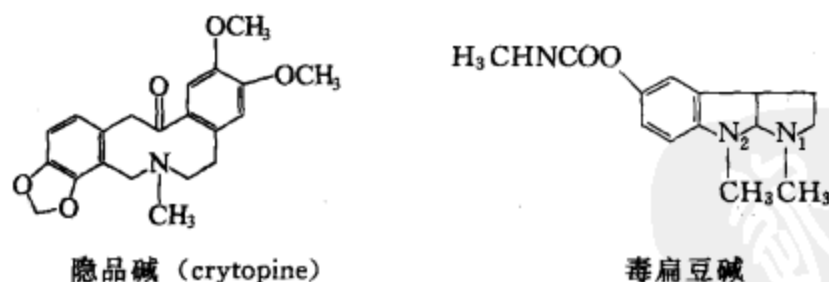
生物碱碱性强弱与分子中氮原子的诱导效应有关。若氮原子上的电荷密度受到吸电子诱导效应的影响,使其电荷密度降低,碱性减弱;反之,受到推电子效应的影响,碱性增强。例如,可卡因(pK_a=8.31)分子中有一COOCH₃的吸电子基团,其碱性弱于托派可卡因(pK_a=9.88)。同样,石蒜碱(pK_a=6.4)分子受到双键的诱导效应影响,使其碱性弱于二氢石蒜碱(pK_a=8.4)。

具有孤对电子的氧、硫、氮等原子,因为与相邻不饱和基团产生p-π共轭,使不饱和基团极性增加,双键性减弱,移向低波数的现象,称为共轭效应。例如,苯乙酮和二苯甲酮中C=O伸缩振动吸收具有明显的差异。受到给电子基团的影响,共轭效应使C=O的振动吸收向低波数位移。

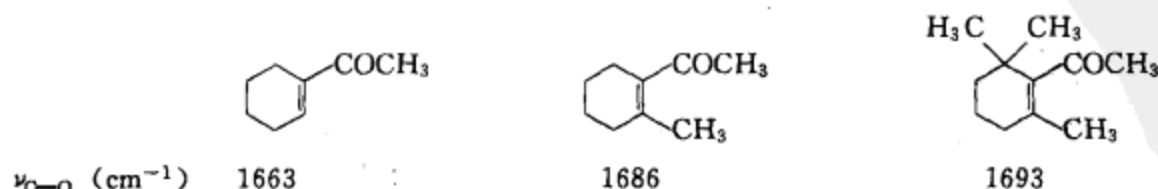


一种中药成分隐品碱的红外光谱中,在1675cm⁻¹处检测到C=O的振动吸收,比一般酮羰基的振动频率要低得多。

通常情况,生物碱分子中的氮原子上的孤对电子,由于受到p-π共轭效应的影响,碱性减弱。例如,毒扁豆碱中的两个氮原子因受到p-π共轭效应的影响,碱性相差很大,N1的pK_a为7.88,而N2的pK_a仅为1.76。

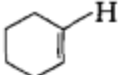
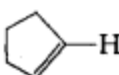
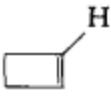


(2) 立体效应 立体效应包括空间效应及环张力。空间效应的实质是位阻效应,体积较大的官能团在空间产生的位阻效应使邻近基团之间的键角发生改变,导致共轭体系的共平面性偏离或被破坏,官能团的吸收频率将移向高波数。例如1-乙酰环己烯是典型的α,β-不饱和酮,其羰基与双键处于共平面,C=O的伸缩振动频率为1663cm⁻¹,随邻近基团被立体障碍大的甲基取代的程度不同,吸收峰发生变化。

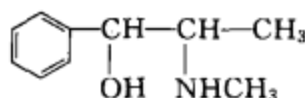


场效应的实质是键角效应的影响。环越大,键角越大,环张力越小,使得环外双键的伸

缩振动频率逐渐升高, 环内双键的伸缩振动频率逐渐降低。

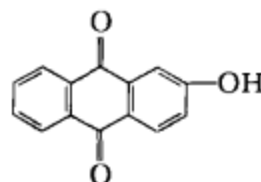
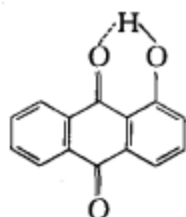
			
$\nu_{C=O}$ (cm^{-1})	1645	1610	1565
ν_{CH} (cm^{-1})	3017	3040	3060

若生物碱分子中的氮原子质子化, 受到空间效应的影响, 碱性强弱有明显变化。例如, 由于空间效应的影响, 甲基麻黄碱的碱性较麻黄碱弱。



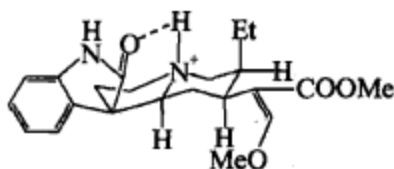
麻黄碱

(3) 氢键效应 氢键的生成使基团 ($O-H$, $N-H$) 的键力常数变小, 伸缩振动频率减弱, 因此缔合的 $O-H$ 和 $N-H$ 键向低波数位移; 缔合氢键的形态也较未缔合基团有所不同, 其峰形宽, 且浓度越大, 缔合体越多, 峰形越宽。

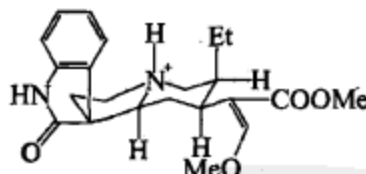


$\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) (缔合)	1622	$\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) (游离)	1676, 1673
$\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) (游离)	1675	ν_{OH} (cm^{-1}) (游离)	3615~3605
ν_{OH} (cm^{-1}) (缔合)	2843		

分子内氢键对生物碱的碱性强度影响较大。例如, 和钩藤碱盐的质子化形式中, 氮上的氢原子可以与酮羰基形成分子内氢键使分子更稳定。而异和钩藤碱的盐则无氢键, 碱性较前者弱。



和钩藤碱



异和钩藤碱

2. 外部因素的影响

样品的制备方法、结晶条件、所用溶剂的性质以及仪器的型号等均会影响吸收峰的位置及强度。

吸收峰的位置是基团在红外光谱中的特征之一, 吸收峰的强度是其另一重要的特征。吸收峰的强弱主要取决于基团偶极矩改变的难易程度, 官能团极性越大, 吸收峰强度越大, 所以羰基伸缩振动吸收总是最强的吸收峰之一。

三、重要官能团的吸收区域

有机基团的特征吸收频率通常出现在 $4000 \sim 1300 \text{cm}^{-1}$, 称特征频率区。该区的吸收峰数目较少, 易于鉴别, 对官能团的确定非常有用, 故又称官能团的特征频率区或官能团区(基频峰)。在 $1300 \sim 600 \text{cm}^{-1}$ 区域内, 谱图的精细结构复杂, 在此范围内主要发生键的弯曲振动, 可识别出分子结构的微小差别, 正如人的指纹一样, 因此称为指纹区。

根据分子的振动频率及各基团在 IR 中出现的吸收谱带的次序,可将其分为四个重要区段,见表 1-6。

表 1-6 常见基团的红外吸收带

X—H 伸缩振动区 ($>3000\text{cm}^{-1}$)	三键或累积双键吸收区 ($2400\sim1950\text{cm}^{-1}$)	C=X 双键振动区 ($1800\sim1300\text{cm}^{-1}$)	指纹区 C—X 伸缩或弯曲振动区 ($1300\sim600\text{cm}^{-1}$)
O—H $3600\sim3200$ N—H $3500\sim3100$ C—H $3300\sim2700$	C $\equiv$ C $2260\sim2100$ C $\equiv$ N $2400\sim2100$ C—Y—Z 约 1950	C=O $1800\sim1650$ C=C $1690\sim1600$ 芳环 $1600\sim1450$ C=N $1960\sim1460$ N—H $1650\sim1500(\delta)$ C—H $1475\sim1300(\delta)$	C—O $1300\sim1000$ C—N $1360\sim1030$ C—C $1200\sim600$ =C—H $1000\sim650(\delta)$

四、红外光谱在天然产物结构鉴定中的应用

推断化合物结构时,应该结合特征官能团的峰位置、峰形、峰强度及测定条件多方面解析。峰位置是指伸缩振动或弯曲振动的吸收频率;峰形是指峰钝或尖锐的形状;峰强度一般分为强(s)、中强(m)和弱(w)。

分析红外图谱时,一般有下列步骤。

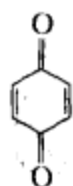
① 了解样品参数。分子式、分子量的计算,识别基峰、倍频峰等。

② 利用基团特征峰指认官能团,推断分子结构类型。若 $4000\sim2500\text{cm}^{-1}$ 有吸收峰可判断是否含有 X—H 键(X=O, N, C, S)。 3000cm^{-1} 以上的吸收峰可能为 N—H、O—H 等活泼氢及不饱和氢的伸缩振动。 3000cm^{-1} 以下为饱和 C—H 的伸缩振动。若 $2500\sim1900\text{cm}^{-1}$ 有吸收峰可判断有叁键、累积双键等。 $1900\sim1500\text{cm}^{-1}$ 的吸收峰可判断有无羰基或苯环,并且可以根据 C=O 吸收峰的位置不同粗略推断是否为酸酐、酯、酮、酰胺等。

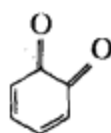
③ 判断精细结构。指纹区的指认,有利于判断分子结构中链的长短,解决烯烃双键、苯环的取代类型及构型问题。

④ 与标准谱图对照。萨特勒红外标准谱图给出了化合物的名称、分子量、分子式、结构、熔点、沸点、样品来源、样品制作方法及所用仪器型号等具体的信息。推断化合物结构时,要经常与标准谱图核对,尤其注意指纹区的谱图比对。

利用红外光谱可以鉴定许多天然产物的结构。例如,醌类化合物红外光谱的主要特征是羰基、双键和苯环的吸收峰,芳环碳碳的骨架振动在 $1600\sim1480\text{cm}^{-1}$, 羰基的吸收峰在 $1675\sim1653\text{cm}^{-1}$ 。苯醌母核上常见—OH, —OCH₃, —CH₃ 及其他烃基侧链。羟基蒽醌类化合物则还会在 ν_{OH} ($3600\sim3130\text{cm}^{-1}$) 出现羟基的吸收峰。可以根据 $\nu_{\text{C=O}}$ 与分子中 α -OH 的数目及位置的关系推断 α -酚羟基的不同取代情况。例如,有两个羰基峰,若一个在较低波数,因两者所处化学环境不同,其一必然是与 α -OH 形成了氢键,故推测此化合物可能含有 α -OH; 当两峰相差 $24\sim38\text{cm}^{-1}$ 时,可以推断只含有一个 α -OH; 当两峰相差 $40\sim57\text{cm}^{-1}$ 时,则推断可能是 1,8-二羟基的萘醌类化合物。若只含有一个羰基峰,情况有两种:一种是几个 α -OH 分别与两个羰基形成了氢键;另一种情况是此化合物无 α -OH 结构,此时 $\nu_{\text{C=O}}$ 出峰在 1675cm^{-1} 附近。



对苯醌



邻苯醌

木脂素结构受到羟基、甲氧基、亚甲二氧基、芳环及内酯环等基团的影响。其红外光谱主要有以下特征：①均有苯环的骨架振动 ν_{C-C} ($1600 \sim 1450 \text{ cm}^{-1}$)；②有内酯环中羰基的伸缩振动吸收峰 $\nu_{C=O}$ ($1700 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$)，有 ν_{C-O} ($1200 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$) 的强吸收峰；③在 1450 cm^{-1} 附近有较强的甲基弯曲振动吸收峰。

香豆素中的吡喃酮、苯环、呋喃环在 $3175 \sim 3025 \text{ cm}^{-1}$ 出现两个或三个中等强度的吸收峰，为苯环、呋喃环上的 C—H 伸缩振动峰，而母核 C—H 伸缩振动峰在 $3000 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$ 左右。 α -吡喃酮 C=O 的伸缩振动在 $1750 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ ，其吸收峰的位置受邻近基团影响较大，有时位移至 $1680 \sim 1660 \text{ cm}^{-1}$ 。双香豆素的 C=O 的伸缩振动在 $1680 \sim 1660 \text{ cm}^{-1}$ 区域，主要是羰基附近有羟基、羧基等能与之形成氢键的缘故。二氢吡喃香豆素 C=O 的伸缩振动在 $1750 \sim 1735 \text{ cm}^{-1}$ 。香豆素一般在 $1660 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 有三个 C=C 强吸收峰，而色酮在此区域内谱图简单，所以可以利用红外光谱中 C=O、C=C 的吸收峰位置与色酮简单区别。

第三节 核磁共振谱在天然产物结构分析中的应用

核磁共振技术（简称 NMR），是由美国两位物理学家波赛尔（E. M. Purcell）和布洛赫（F. Bloch）于 1946 年创始的。因为具有样品用量少，衍生物制备简单，测定快速、准确的优点，广泛应用于分子生物学、天然产物化学、医药、石油化工等多个领域，并已发展成为天然产物结构分析最有用的工具之一。用核磁共振技术可以解决化合物的纯度检查、结构测定或鉴定，一定条件下可测定构型和构象；用于混合物分析时，若主要信号不重叠，可测定混合物中各组分的比例；也可利用质子交换、单键旋转、环的转化等化学变化速率的测定，分析物质分子的空间构型，进行动力学研究等。

一、核磁共振氢谱基本原理 (^1H NMR)

1. 原子核的自旋

原子核与电子一样是自旋的，不同原子核的自旋运动情况不同。原子核自旋时产生自旋角动量 P ，用核的自旋量子数 I 表示（见表 1-7）。自旋量子数与原子的质量和原子序数之间有一定的关系，大致分为三种情况： $I=0$ 的原子核可看成是一种非自旋的球体； $I=1/2$ 的核可看作是一种电荷分布均匀的自旋球体； $I>1/2$ 的核可看作是一种电荷分布不均匀的自旋椭球体。

表 1-7 自旋量子数 I 与原子核的自旋

分类	质量数	原子序数	自旋量子数(I)	NMR 信号	示例
I	偶数	偶数	0	无	^{12}C
II	偶数	奇数	整数 1, 2, 3, ...	有	^2H , ^{14}N
III	奇数	偶数或奇数	半整数 $1/2, 3/2, 5/2, \dots$	有	^1H , ^{13}C , ^{15}N

具有核磁矩的原子核经电磁波照射，在磁场中产生能级跃迁获得的共振信号被记录，就是核磁共振波谱。实验证明，原子核作为带电荷的质点，自旋时可以产生磁矩。但并非所有的原子核自旋都产生磁矩，只有原子序数或质量数为奇数的原子核自旋时才具有磁矩，才能产生核磁共振信号，如 ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{19}F 、 ^{29}Si 、 ^{31}P 等。 $I=1/2$ 的原子核，在外磁场作用下自旋量子数分别有 $+1/2$ 和 $-1/2$ 两种取向，两个自旋态的能量不等。能量低的自旋磁场

与外磁场方向平行, 能量高的自旋磁场与外磁场反向平行, 两者能量差为 ΔE 。

2. 核磁共振的条件

当满足两个相邻自旋态能量间的能量差 ΔE , 质子就由低自旋态跃迁到高自旋态, 发生核磁共振。质子跃迁所需电磁波频率大小与外磁场强度成正比。

$$h\nu = \Delta E = \gamma \hbar B_0$$

式中, h 为普朗克物理常数; ν 为共振频率; ΔE 为能量差; γ 为磁旋比; $\hbar = h/2\pi$; B_0 为外磁场强度。

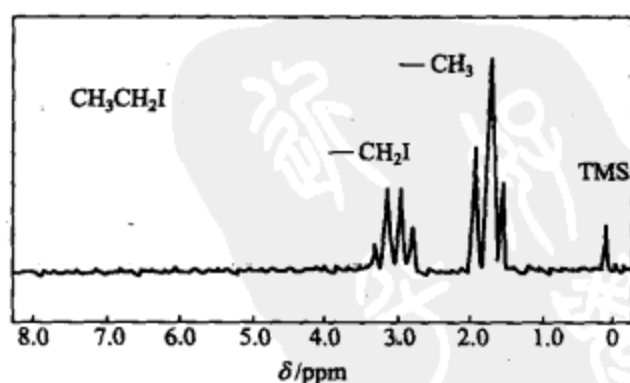
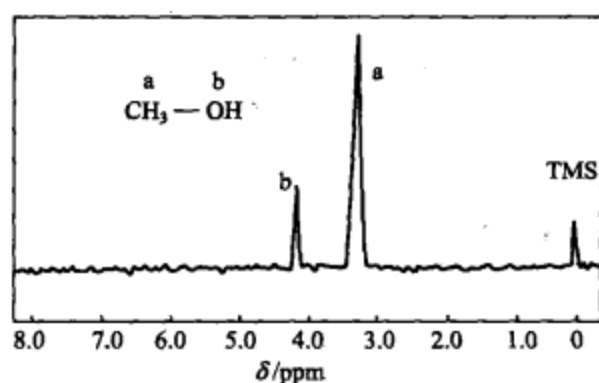
实现核磁共振的方式有两种: ①保持外磁场强度不变, 改变电磁波辐射频率, 称为扫频; ②保持电磁波辐射频率不变, 改变外磁场强度, 称为扫场。两种方式的核磁共振得到相同的谱图。

二、 ^1H NMR 的化学位移

化合物中的氢核 (H_1^1) 与裸露的质子 (H_0^1) 不同, 它周围还有电子。在不同化学环境的影响下, 分子中的质子对外磁场的屏蔽作用会引起核磁共振吸收峰的位置变化, 这种现象称为化学位移 (chemical shift), 用符号 δ 表示。分子中的质子与裸露质子相比较, 由于周围电子将其包围, 对其产生屏蔽效应。由于核外电子对外加磁场的抵消作用引起质子由低场向高场位移的现象称为屏蔽, 反之称为去屏蔽。一个质子的化学位移是由质子周围的化学环境决定的, 在一个分子中, 不同环境的质子有不同的化学位移, 环境相同的质子有相同的化学位移。化学位移值的大小直接反映了分子结构状态。

质子的化学位移主要受到邻近基团电子效应及磁各向异性的影响。

(1) 电子效应 元素的电负性越大, 通过诱导效应, 使氢核的核外电子云密度降低, 屏蔽效应减小, 共振信号移向低场, δ 值越大。原子距离质子的距离越远, 电负性对化学位移的影响就越弱。例如, 烷烃质子受到与烷基相连电子取代基诱导效应的影响, 质子去屏蔽, 化学位移值出现在低场。 CH_3OH 中 $-\text{OH}$ 与 $-\text{CH}_3$ 的 δ 值分别为 4.10 和 3.12, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$ 中 $-\text{CH}_2$ 与 $-\text{CH}_3$ 的 δ 值分别为 3.01 和 1.76。



	$\text{H}-\text{CH}_2\text{F}$	$\text{H}-\text{CH}_2\text{Cl}$	$\text{H}-\text{CH}_2\text{Br}$	$\text{H}-\text{CH}_2\text{I}$
δ (ppm)	4.28	3.05	2.68	2.16
	$\text{H}-\text{CH}_2\text{Br}$	$\text{H}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$	$\text{H}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{Br}$	$\text{H}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{Br}$
δ (ppm)	2.68	1.65	1.04	0.90

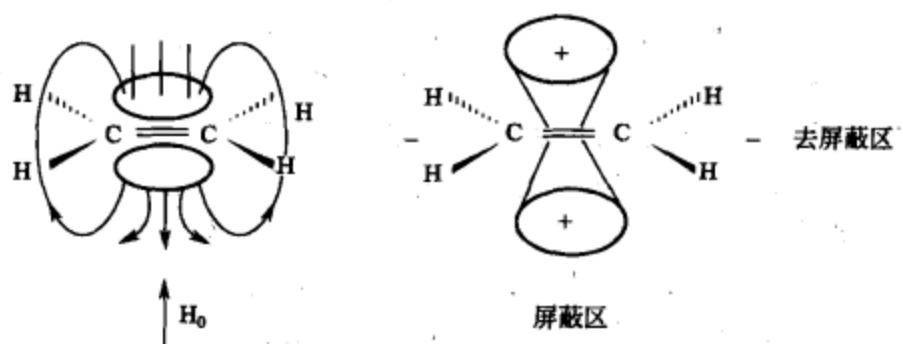
(2) 磁各向异性效应 当分子中某些基团的电子云排布不呈球形对称时, 它对邻近氢核产生一个各向异性的磁场, 从而使某些空间位置的氢核受屏蔽, 而另一些空间位置的氢核去屏蔽, 这一现象称为磁各向异性效应。

例如, 下列分子的 δ 值不能用电负性来解释, 其大小与分子的空间构型有关。

	CH_3CH_3	$\text{CH}_2=\text{CH}_2$	$\text{CH}\equiv\text{CH}$	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{H}$	RCHO
δ (ppm)	0.96	5.25	2.80	7.26	7.8~9.8

烯烃双键碳上的 H 质子受去屏蔽效应影响, 使烯烃双键碳上质子的共振信号移向低场, $\delta=4.5\sim5.7$ 。同理, 羰基碳上的质子与烯烃双键碳上的质子相似, 也是处于去屏蔽区, 存在去屏蔽效应, 但因氧原子电负性的影响较大, 其质子的共振信号出现在更低的场, $\delta=7.8\sim9.8$ 。芳香族化合物由于芳环的磁各向异性, 苯环质子处于去屏蔽区域, 所以共振信号与大多数质子相比在低场, $\delta=6.5\sim7.8$ 。炔烃是直线型结构, 叁键上的质子受屏蔽效应处于屏蔽区, 其共振信号移向较高的磁场区, $\delta=2.0\sim3.0$ 。除了以上两个影响因素外, 其他如溶剂、氢键、范德瓦尔斯效应等都能使质子的化学位移发生移动。而活泼氢的化学位移与氢键密切相关, 因此与样品的温度、浓度及所用溶剂的化学性质有很大的关系, 从而只能列出大致范围。

质子的化学位移见表 1-8。



乙烯的屏蔽、去屏蔽示例

表 1-8 质子的化学位移

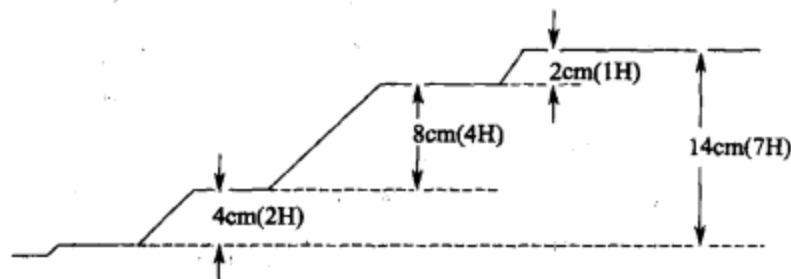
质子类型	化学位移(δ)/ppm	质子类型	化学位移(δ)/ppm
RCH_3	0.9	RCH_2Cl	3.3~4.5
R_2CH_2	1.3	RCH_2Br	3.5~4.4
R_3CH	1.5	RCH_2I	3.2~4.4
环丙烷	1.2	$\text{ROH}(\text{NH}_2)$	0.5~5.5(不尖锐, 呈小坡形)
$-\text{CH}_2-$	4.5~5.9	ArOH	4.5~7.7
$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$	5.3	RCH_2OH	3.4~4.0
$\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$	1.5~2.5	$\text{R}-\text{OCH}_3$	3.5~4.0
$\text{C}=\text{CH}$	5.2~5.7	RCHO	9.0~10.0
$\text{Ar}-\text{C}-\text{H}$	2.2~3.0	CHR_2COOH	10.0~12.0
ArH	6.0~8.5	$\text{H}-\text{C}-\text{COOR}$	2.0~2.3
RCH_2F	4.0~4.5	$\text{RCOO}-\text{CH}_3$	3.7~4.0

三、自旋偶合与偶合常数

1. 峰面积与氢原子数

一个化合物究竟有几组吸收峰, 取决于分子中氢核的化学环境。有几种不同类型的氢核, 就有几组吸收峰。不同环境下的质子具有不同的化学位移值, 称为化学不等价质子; 相

同环境下的质子具有相同的化学位移值，称为化学等价质子。NMR 谱的另一特征是等价质子的数目越多，吸收峰的面积越大，吸收峰的面积与质子的数目成正比。面积的计算方法通常采用积分曲线高度法。自动积分仪对峰面积进行自动积分，画出一个阶梯式的积分曲线。将每一个阶梯的高度进行测量，各个阶梯高度的比值即为各吸收峰的氢原子数目之比，再根据氢原子总数计算各个吸收峰的氢原子数目。例如：



2. 自旋偶合和自旋裂分

使用低分辨率的核磁共振仪时，各类化学环境等同的质子只形成一个单峰。当使用高分辨率的核磁共振仪时，则发现吸收峰分裂成多重峰。谱线的这种精细结构是由于邻近质子的相互作用引起能级裂分而产生的。这种由于邻核的自旋而产生的相互干扰作用称为自旋-自旋偶合；由自旋偶合引起谱线增多的现象称为自旋-自旋裂分。氢核与其邻近质子偶合裂分情况符合 $n+1$ 规律，即氢核周围有 n 个邻近质子与之偶合，该核裂分为 $n+1$ 重峰。峰裂分强度满足 $(a+b)^n$ 展开式中各项的系数比。例如，乙基中次甲基显示四重峰，强度比为 $1:3:3:1$ ，表示它有 3 个相邻的氢原子；甲基显示三重峰，强度比为 $1:2:1$ ，表示它有 2 个相邻的氢原子。很多复杂化合物峰裂分的情况不能用裂分为 $n+1$ 规律和 $(a+b)^n$ 裂分强度来解释，此时必须考虑二级裂分的处理。

3. 偶合常数

自旋偶合的量度称为自旋偶合常数，用 J 表示，单位是 Hz。 J 的大小表示偶合作用的强弱。自旋核间的相互干扰是通过成键电子传递的，所以偶合常数的大小与方向主要与核间键的数目及键的性质有关，不随外磁场的改变而改变。 $J_{\text{同}}$ 表示同碳质子偶合，即 2J ； $J_{\text{邻}}$ 表示邻碳质子偶合，即 3J 。影响 3J 的因素很多，如取代基的电负性、环的大小等。超过三个碳的偶合称为远程偶合。 J_{ab} 表示 H_a 被 H_b 裂分。互相偶合的两组质子，其 J 值相同。如： $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Br}$ ， $J_{ab} = J_{ba}$ 。—OH、—COOH、—CHO 等活性氢，通常情况下只出现单峰，可看作无偶合。化学位移和偶合常数是化合物核磁共振谱图解析时两个重要的参数。

对于高级谱图难以直接解析，通常采用合理的方法简化谱图。常用的方法有增大磁场强度、双照射（去偶）法、NOE（nuclear overhauser effect）效应（对相邻两个核的其中之一进行双照射，则另一个核的信号加强）、重氢交换及加入位移试剂等，使化合物中的各种质子的化学位移产生不同程度的变化，使重叠的谱图展开，易于分辨和解析。

四、核磁共振氢谱在天然产物结构鉴定中的应用

利用核磁共振动力学可以解释活泼氢、基团立体异构中的构象异构、互变异构等现象，所以核磁共振技术在化合物结构鉴定中应用广泛。

根据 ^1H NMR 谱图正确地推导化合物的结构，通常有以下步骤。

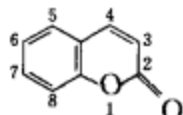
- ① 了解样品参数（不饱和度、分子式的计算及标识杂质峰等）。
- ② 根据积分曲线计算各组峰的相应质子数。
- ③ 根据 δ 值归属相应质子峰。

④ 根据 J 值和峰形确定基团之间的相互关系。

⑤ 采用重水交换法识别活泼氢。

⑥ 综合各种分析, 推断化合物的结构。

例如, 简单香豆素类的 ^1H NMR 有以下特征。以 CDCl_3 作溶剂。首先, $\delta=6.1\sim 8.1$ ($J=9.0\text{Hz}$) 处出现两组二重峰, 分别为 C3—H 和 C4—H 信号, 其母核环上质子因受内酯羰基吸电子共轭效应影响, 使 C4—H、C5—H 及 C7—H 的质子信号出现在较低场, 而 C3—H、C6—H 及 C8—H 的质子信号在较高场。其次, 芳环上的甲氧基质子信号在 $\delta=3.8\sim 4.0$; 绝大多数香豆素的 C7 具有烷氧基团, 此时芳环上 3 个质子中, $\delta=7.38$ ($J=9.0\text{Hz}$) 出现二重峰为 C5—H 的共振吸收, 而 C6—H 和 C8—H 均出现在较高场, 且呈双峰。若 C5 接有烷氧基团, 也有类似影响, 但影响较弱。



香豆素母核

与其他天然产物相比, 核磁共振技术在解决糖及其糖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、连接顺序等方面具有重要的作用。糖在 ^1H NMR 中的信号分布于一个很窄的范围内, 自旋系统的归属比较困难。通常端基质子信号 $\delta=4.3\sim 6.0$, 甲基五碳糖端基质子的信号在 1.0 左右, 其余 $\delta=3.2\sim 4.3$ 。C1—H 和甲基质子信号与糖环上其他质子信号相隔较远, 易于辨认。根据糖环上质子的信号以及化学位移的数值可以推测连接糖基的个数、种类以及糖与糖、糖与苷元的连接位置。对于优势构型为 C1 式且 C2 羟基在环的下方或右侧的吡喃型糖, 当苷键为 β -D 式或 α -L 式, 其端基质子和 C2 质子均为直立键, 所以偶合常数为 $J_{1,2}=6\sim 9\text{Hz}$; 当苷键为 α -D 式或 β -L 式, 其端基质子为平伏键, C2 质子为直立键, 所以偶合常数为 $J_{1,2}=2\sim 4\text{Hz}$ 。

第四节 质谱在天然产物结构分析中的应用

质谱技术在近年的发展速度甚至超过了核磁共振, 已成为有机化学、药物化学、生物化学等学科领域越来越重要的结构分析手段。质谱并不伴随有电磁辐射的吸收或发射, 所以不属于光谱。质谱可以用于确证分子量及求算分子式等提供其他结构信息。此外, 根据一定条件下得到的碎片裂解方式, 把试样与标准品比对, 根据同一条件下测得的 EI-MS 图, 可以鉴定两者是否为同一化合物。如为未知化合物, 根据分子离子丢失的碎片大小或碎片离子的质荷比以及裂解特征可以推断或复核分子的部分结构。但是质谱不能直接给出立体化学的信息, 例如不能获得六碳糖是吡喃型还是呋喃型, 也不能判断 C1 构型是 α 异构体还是 β 异构体。

一、质谱的发展

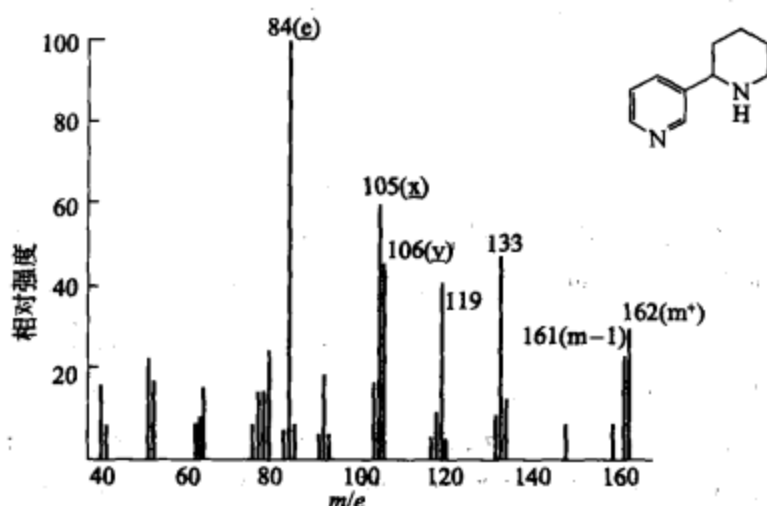
1. 基本原理

质谱 (mass spectrum, MS) 的原理较为简单。用具有一定能量的电子束 (电子轰击源, EI 源) 在离子源中轰击气态分子, 分子失去电子, 成为带正电荷的分子离子 M^+ 。在高能量的电子束轰击下, 分子离子会继续发生化学键的断裂, 生成阳离子、不带电荷的中性分子等碎片离子。在电场、磁场作用下, 各种离子流出现不同信号, 按 m/e 的大小依次检出, 记录所产生的信号, 即得到样品的质谱。由于分子离子或碎片离子往往只有一个电荷,

这样质谱所绘出的质荷比信号就可表示为分子离子或碎片离子的质量。分析 m/e 碎片，结合化合物断键的规律可以推断化合物的分子结构。

2. 质谱图

质谱仪记录的是由五单元检流计记录下的质谱图。为了表示得更清楚，化学文献中常用条图（棒图）代表实际记录的质谱峰，图中的横坐标表示质核比（ m/e ），纵坐标表示峰强度。图谱中相对强度最大的峰称为基峰，按照峰高的比例标出各峰的相对强度；其中小于基峰强度 3% 的弱峰都被略去。对于低分辨质谱法，除了用条图表示外，也可以用列表表示。高分辨方法则以元素图表表示，推断分子式也更为准确，这里就不一一介绍了。例如八角枫碱的条形质谱图如下。



八角枫碱的质谱图

3. 质谱的发展

质谱技术的每一次发展都源于离子化方法的改进。MS 采用电子轰击质谱 (electron ionization mass spectrum, EI)，即硬电离。测定 EI-MS 时，需要先将样品加热气化，使之进入离子室，再电离。因此容易发生热分解的化合物或是难以气化的化合物，如醇、糖苷类，往往不能测得分子离子峰，只能看到碎片峰。大分子物质，如糖的聚合物、肽类等，又因难以气化而无法测定。

软电离技术包括化学电离 (CI)、场致电离 (FI)、场解吸电离 (FD)、快原子轰击电离 (FAB) 和激光辅助基质解析电离 (LDI) 等。

化学电离的原理是将反应气体通入离子室，借助离子-分子碰撞反应使样品分子离子化，形成初级离子和次级离子，最后产生 $(M+R)^+$ 或 $(M-R)^+$ 的准分子离子。由 CI 容易得到分子量或分子式，而由 EI 易得到较多的断裂信息，两者结合有利于化合物结构的推断。但是，化学电离虽然可以准确推断分子量，对于热不稳、挥发性低的样品不太适用。

场致电离 (FI) 和场解吸电离 (FD) 源于 20 世纪 60 年代，两者实验原理基本一样。FI 是气态分子在强电场作用下的电离。FD 技术无须将样品加热气化即可使化合物电离，特别适用于对热不稳定、极性大、难挥发化合物的测定。应用 FD-MS 技术，糖类化合物中经常可见由 $(M+Na)^+$ 或 $(M+K)^+$ 依次脱去糖的碎片，而糖苷、氨基酸、肽类、核酸等化合物均能显示明显的 $(M+H)^+$ 、 $(M+Na)^+$ 、 $(M+K)^+$ 峰，并且随着电流强度的降低，碎片离子峰越来越少，而 $(M+H)^+$ 峰越发突出。

快速原子轰击质谱 FAB 得到的碎片类型与 FD 类似，由于配备了阴离子捕获器，还可

以给出相应的阴离子质谱,与阳离子质谱相互补充,大大增加了信息来源及可信程度。与FD相比较,除了给出分子量及糖的碎片信息外,在低质量端还给出苷元的结构碎片,从而弥补了FD的不足。

为了弥补样品分子结构受到破坏,分子离子峰变弱,多用激光辅助基质解析电离。这种方法可用于蛋白质、核酸、酶等生物大分子的分析。但是,激光辅助基质解析电离要求所用基质必须能很好地溶解于待测样品所用的溶剂中,并且要有很好的激光吸收性能,因此,这种电离方法的应用受到了限制。

二、质谱中的离子

1. 分子离子和分子离子峰

分子被电子束轰击失去一个电子形成分子离子,也可称为自由基离子,与分子离子相对应的峰称分子离子峰。大多数有机物的质谱都有分子离子峰,由此可确定分子量。



分子离子峰的特点是:①分子离子峰一定是奇电子离子;②分子离子峰的质量要符合氮规则,即不含氮或含偶数氮的有机物其相对分子质量数为偶数,含奇数氮的有机物其相对分子质量为奇数。

2. 同位素离子和同位素离子峰

质谱图中除了分子离子峰以外,还有 $M+1$ 、 $M+2$ 、... 的同位素离子峰。碳的同位素相对丰度为 1.1%,即 ^{13}C 的天然丰度,如分子中有 n 个 C 原子,则同位素离子峰 $M+1$ 的相对丰度约为 $n \times 1.1\%$,由此可计算分子中的碳原子数。Br、Cl、S 的同位素天然丰度较大,因此,根据其同位素峰的相对强度可判断分子中是否含有这些元素。因此,同位素离子峰对于鉴定分子中的氯、溴、硫原子很有用。根据实验测得质谱中的同位素离子峰的相对强度和贝诺(Beynon)表,经过合理的分析可以确定化合物的分子式。

3. 亚稳离子和碎片离子

分子离子在离子源中,加速进入磁场前又被分裂,丢失中性碎片得到的低峰度离子称为亚稳离子。亚稳离子的重要用途在于阐明质谱反应的裂解途径,识别分子离子峰。质谱仪检测到的由分子离子裂解产生的所有离子统称为碎片离子。除此之外,碎片离子经重排以后又能形成重排离子。因此,了解质谱裂解的规律对于推断化合物的结构具有非常重要的意义。

三、质谱的裂解机理

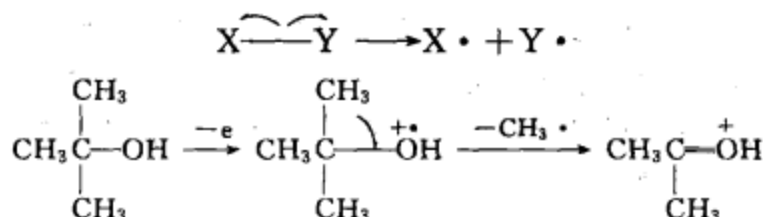
1. 裂解反应类型

分子失去一个电子生成带正电荷的分子离子 $M^{\cdot+}$,正电荷应标记在分子中的哪一个位置、分子离子怎样裂解、碎片离子怎样进一步断裂等,都涉及质谱裂解反应的机理。尽管可利用亚稳离子法、同位素标记法等研究裂解反应,但目前质谱裂解机理仍不十分清楚,其原因在于质谱仪内的裂解反应瞬间即逝,难以捕捉。裂解反应与有机反应虽有相似之处(如醇脱水生成烯),但二者毕竟有很大差别。

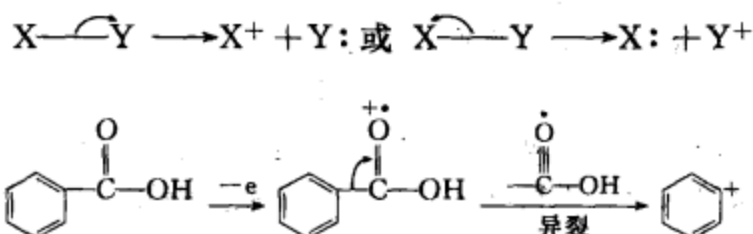
McLafferty 提出的“电荷-自由基定位理论”被广泛用于裂解反应机理的探讨。认为分子离子中电荷或自由基定位在分子的某个特定位置上(应首先确定这个特定位置),然后以一个电子(单鱼钩)或电子对(箭头)转移来“引发”裂解。单电子转移发生的裂解反应称均裂,双电子转移发生的裂解反应称异裂。裂解主要发生在分子中的薄弱环节, σ 键较 π 键稳定不易开裂,芳环的稳定性大于脂环。裂解方式主要有均裂、异裂和半异裂

三种。

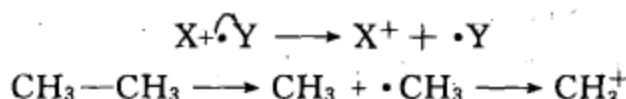
(1) 均裂 先简单裂解, 生成自由基再失去电子, 得到两种碎片离子的裂解方式称为均裂。例如:



(2) 异裂 当一个单键断裂时, 构成该键的两个电子向同一方向转移的裂解方式称为异裂。例如:



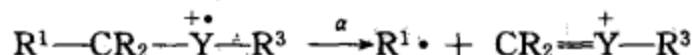
(3) 半异裂 已电离的 σ 键继续裂解称为半异裂。例如:



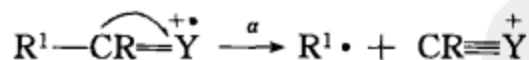
2. 分子电离与离子裂解的基本机理

(1) 自由基引发 (α -断裂) 奇电子离子中, 自由基有强烈的电子配对倾向, 它提供电子与 α 位置的电子形成新键, 导致 α 原子的另一个键发生断裂的方式称为 α -裂解 (α -断裂)。含有 C—X 或 C=X 基团 (X=O, N, S) 的化合物中, α -裂解很普遍, 多属于均裂, 是最重要的引发机制。

例如, 含有饱和杂原子的化合物:



含有不饱和杂原子的化合物



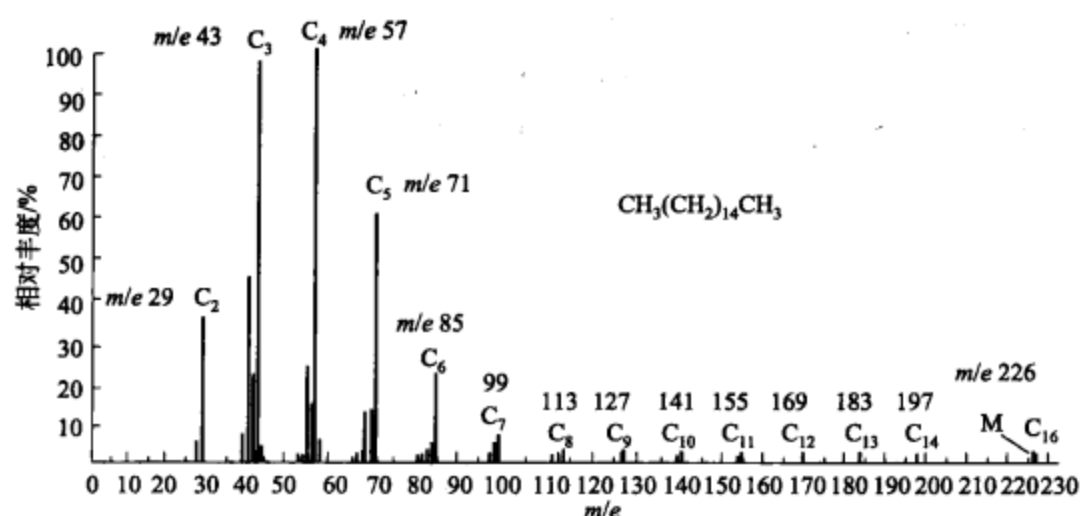
(2) i -断裂 (或叫正电荷诱导裂解) i -断裂是由正电荷 (阳离子) 引发的碎裂过程, 一般都产生一个碳正离子。 α -断裂与 i -断裂是竞争反应。例如:



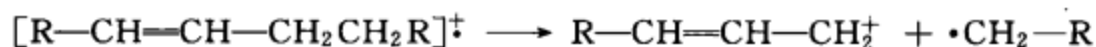
3. 裂解反应的方向

(1) 离子的稳定性 质谱裂解中奇电子离子、自由基和碳正离子等的稳定性决定了反应的方向。例如, 碳正离子中的稳定性顺序是叔碳 > 仲碳 > 伯碳, 因为叔碳正离子最稳定, 所以此碳氢键最易断裂。

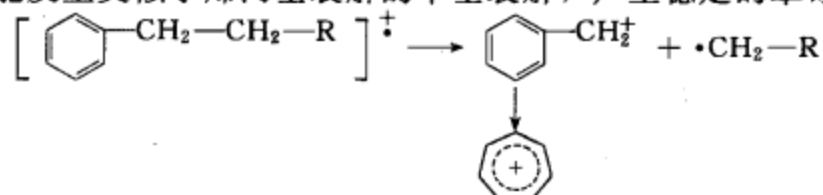
饱和烷烃类化合物 M^+ 峰较弱, 并且随分子量增加而降低。谱图中除了出现系列 $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}^+$ 峰, C_3H_7^+ (m/e 43) 和 C_4H_9^+ (m/e 57) 常是基峰或强峰。支链烷烃的分子离子峰相对较强, 支链处易开裂, 生成稳定的仲碳或叔碳正离子。



具有双键的烯烃化合物常发生烯丙基裂解，形成的烯丙基离子最稳定。例如：

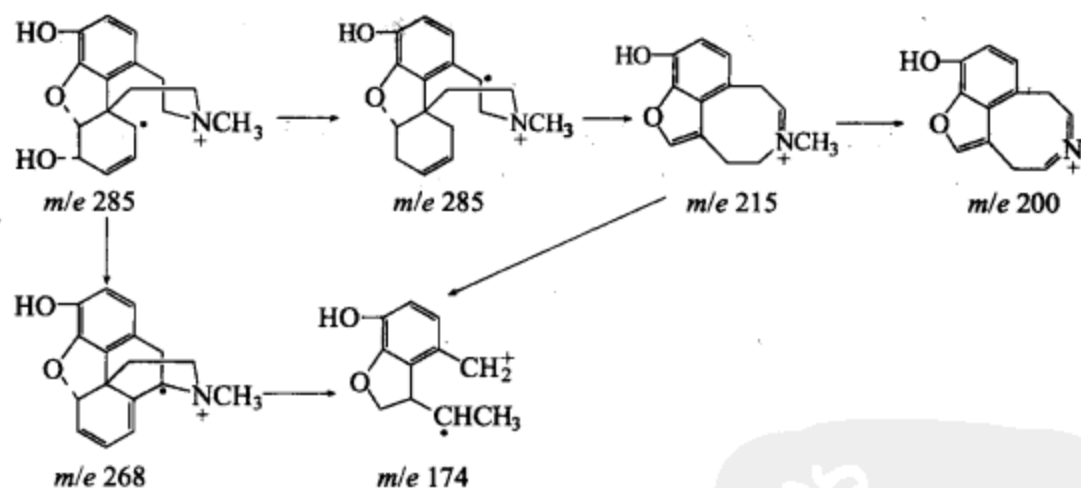


芳香族化合物能发生类似于烯丙基裂解的苄基裂解，产生稳定的苄基离子。例如：

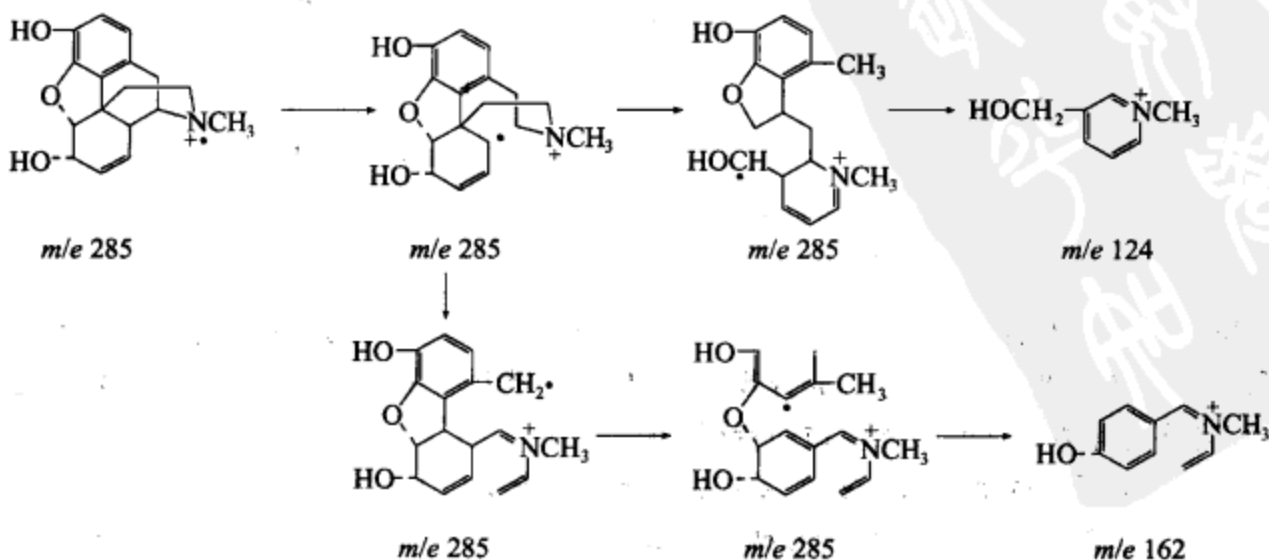


具有镇痛作用的吗啡就有以下两种质谱裂解方式。

烯丙基离子裂解方式：

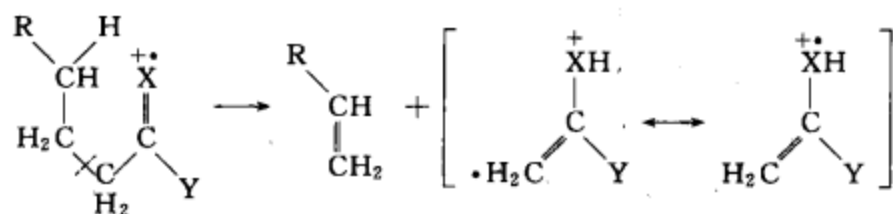


苄基离子裂解方式：

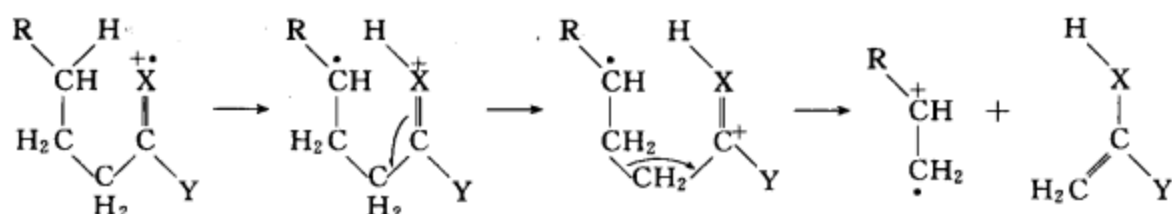


(2) 氢重排 (γ -H) 氢重排包括麦氏重排、双氢重排及某些含杂原子的重排。由自由基中心引发, 通过六元环过渡态, 发生两个键断裂, 脱去中性分子的重排方式称为麦氏重排。只要有机化合物中含有不饱和基团 (有 γ 氢), 都能发生麦氏重排。生成的重排离子有两种方式。

方式一:

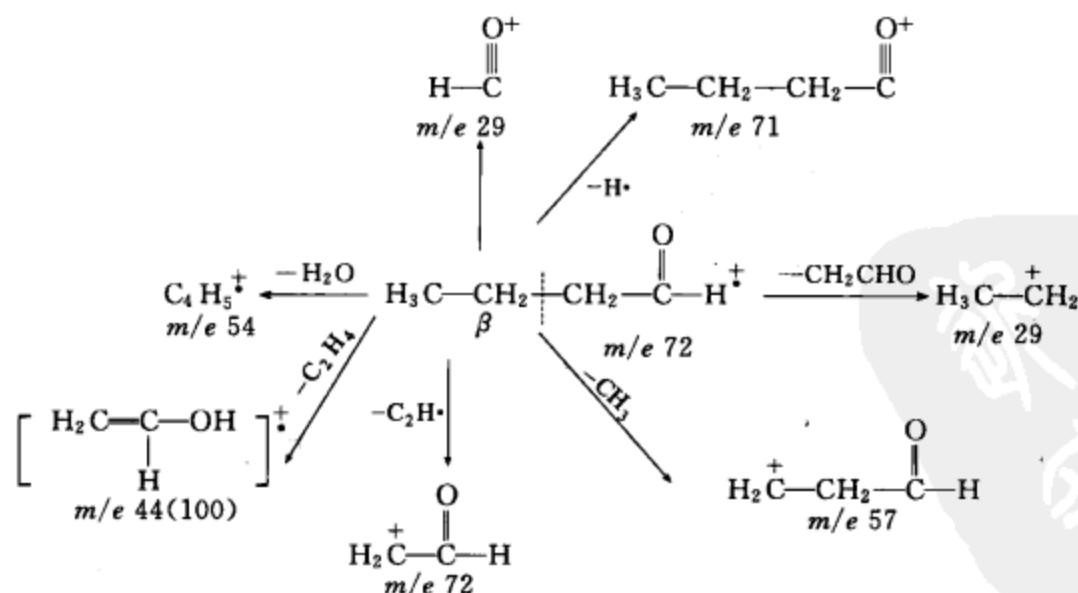


方式二:



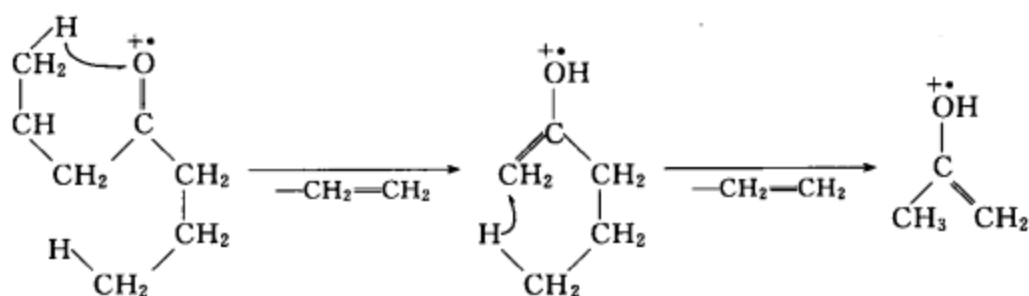
由此可见, 麦氏重排是含有 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{N}$ 、 $\text{C}=\text{S}$ 及 $\text{C}=\text{C}$, 且有 γ 碳与双键相连, 并在 γ 碳有 H 原子 (γ 氢), 经六元环过渡态, γ -H 转移到杂原子上, 同时 β 键发生断裂, 生成一个中性分子和一个自由基阳离子的过程。若产物能继续满足麦氏重排的结构要求, 还可以发生连续重排。

脂肪族醛类化合物的分子离子峰为中强峰, 具有 γ -H 的脂肪醛, 能发生麦氏重排, 产生偶数质荷比的重排离子 ($m/e 44+14n$), 有时为基峰。

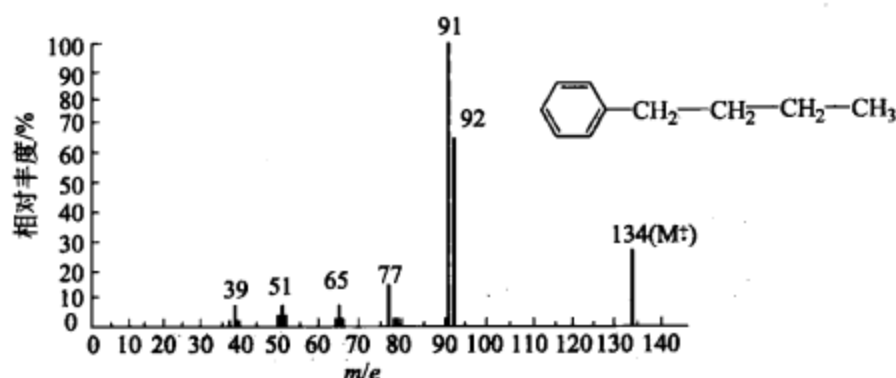


在质谱图上, 有较简单开裂离子多两个质量单位的碎片, 这是由于脱离的基团有两个 H 转移到该离子上产生的, 这种重排现象称为双氢重排。双氢重排常见于酯类 (乙酯以上)、酰胺及具有类似官能团化合物的特征分解。

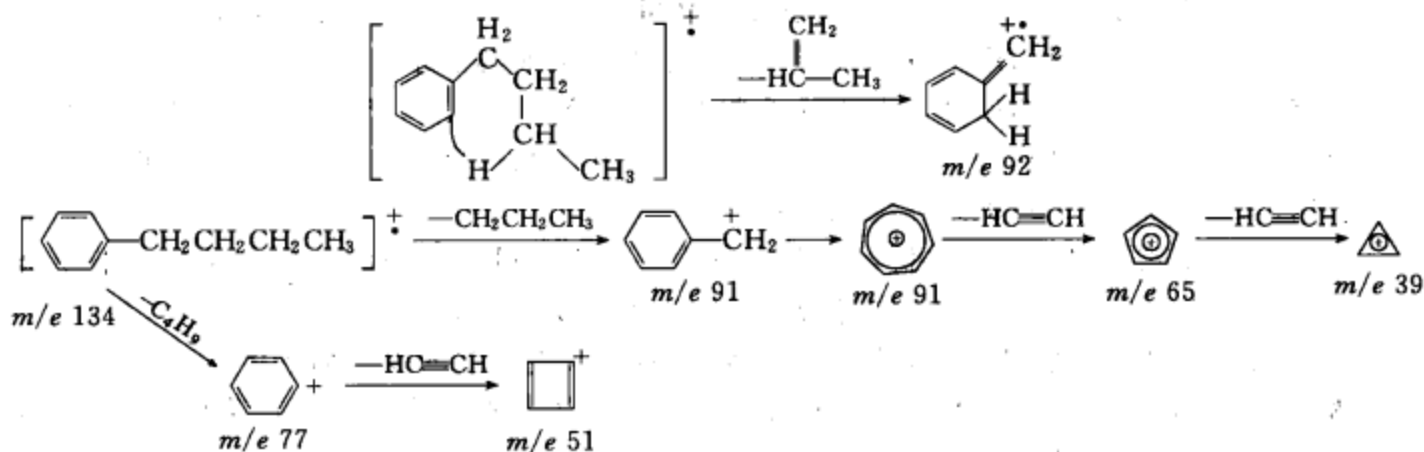
例如, 4-庚酮有两个 γ -H, 发生两次麦氏重排。当 γ -C 上有烷基取代时, 重排优先发生在有较大取代基的 γ -H 上, 次序为叔碳 > 仲碳 > 伯碳。



在直链烷基取代苯中, 当烷基碳数 ≥ 3 时, 常发生麦氏重排, 产生 m/e 92 峰。另外, 谱图中会生成丰度不大的 $C_6H_5^+$ (m/e 77)。正丁基苯的质谱裂解如下图所示。

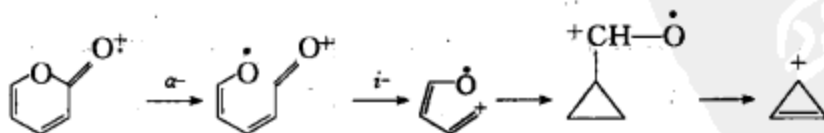


正丁基苯的质谱图

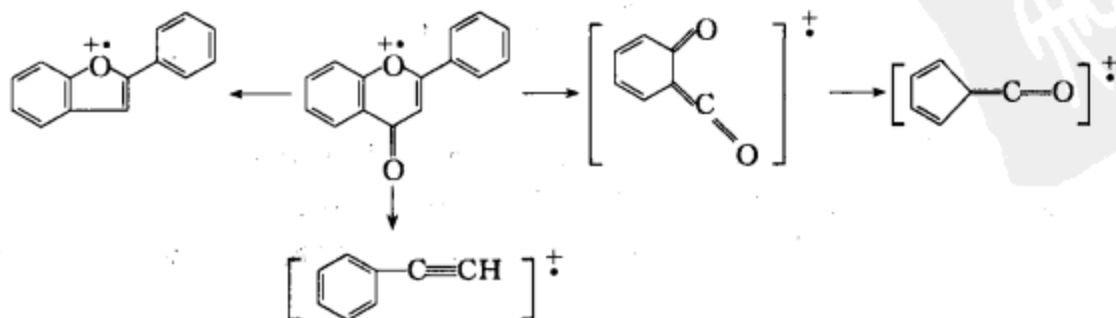


醇、硫醇、卤代烃等一些含饱和官能团的杂原子分子, 氢原子还可以通过环空间的排列过渡态转移到杂原子上, 接着发生消除反应, 失去 H_2O 、 HX 等稳定性较高的中性分子。

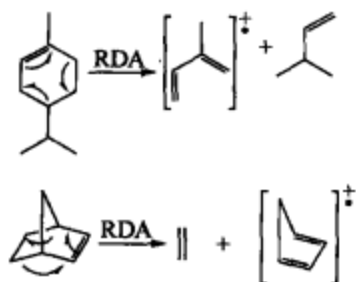
(3) 环裂解 一些环状化合物, 尤其是吡喃、呋喃等杂环类化合物的裂解, 可能伴随两个或多个键裂解。例如, α -吡喃酮的裂解:



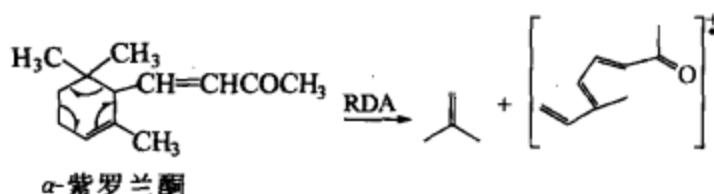
香豆精、黄酮类化合物都有类似 α -吡喃酮的裂解。例如:



逆狄尔斯-阿德尔裂解也是一种重要的环裂解。例如：



α -紫罗兰酮因为发生逆狄尔斯-阿德尔裂解，在 m/e 136 出现强峰：



四、质谱在天然产物结构分析中的应用

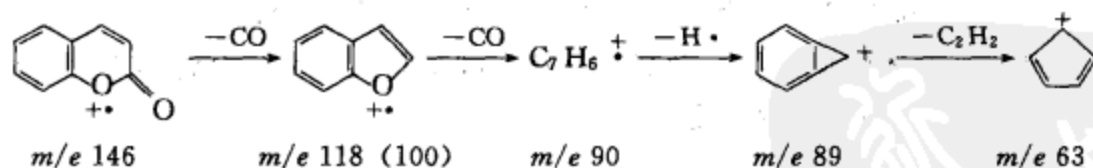
利用质谱推断分子量、分子式与分子结构是鉴定化合物常用且非常有效的现代分析手段。质谱解析步骤如下。

① 确定分子离子峰与分子量。一般情况下都可由图谱看出分子量，并且分子离子峰应为质量数最大的峰，即最右端的峰。分子离子峰不够稳定或其他原因都会影响分子离子峰不出现在质谱图中；有时质谱中并不形成分子离子，有 $(M+1)^+$ 、 $(M-1)^+$ 与之并存。各类化合物分子离子峰稳定性次序大约如下：芳香族化合物 > 酯类化合物 > 共轭烯 > 直链烷烃 > 酰胺 > 酮 > 醛 > 胺 > 醚 > 羧酸 > 支链烃 > 腈 > 醇。

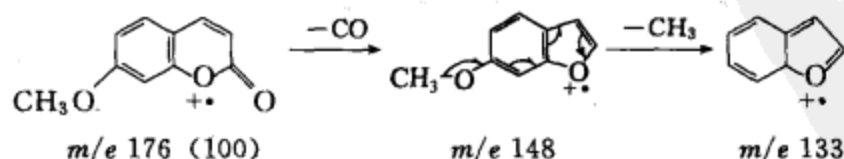
② 确定分子式。根据元素分析，结合高分辨率质谱，可以准确地给出分子量，推断出分子式。可以借助同位素峰丰度法在低分辨率质谱中推断分子式。

③ 确定结构式。一般情况下，质谱中高质量端与低质量端的碎片离子大致可以推断出化合物的基本裂解途径。对于复杂化合物而言，特征离子与亚稳离子在质谱裂解中的辨认，对于推断化合物的完整结构具有非常重要的作用。

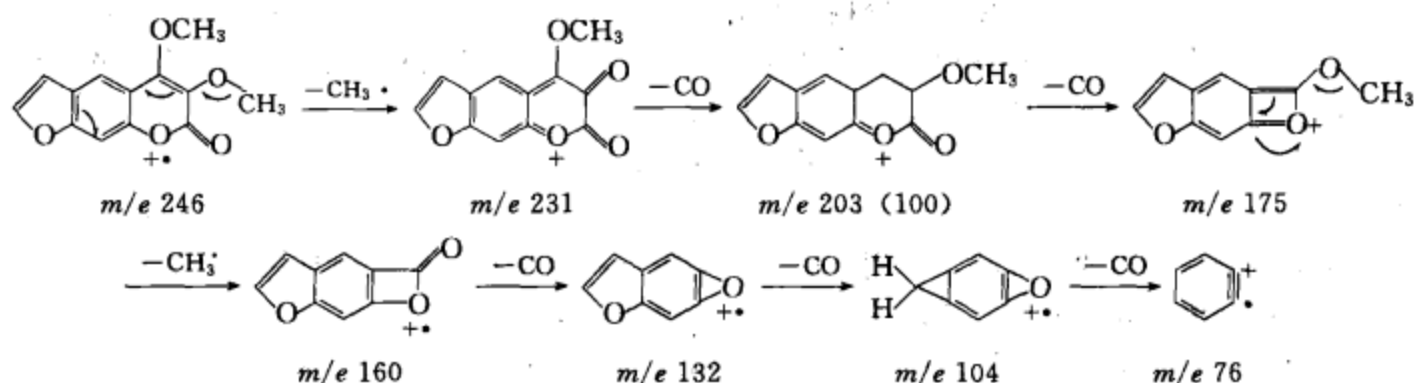
许多天然有机化合物都有其基本裂解途径。例如，大多数香豆素母核都具有此特征：



脱肠草内酯的基峰为分子离子峰 (m/e 176)，由于分子中 C7 连接甲氧基基团，且与吡喃酮环氧原子成间位，得到 $M-CO-CH_3$ 的碎片离子 (m/e 133)，无 $M-CH_3$ 的碎片离子 (m/e 151)，其裂解过程如下：

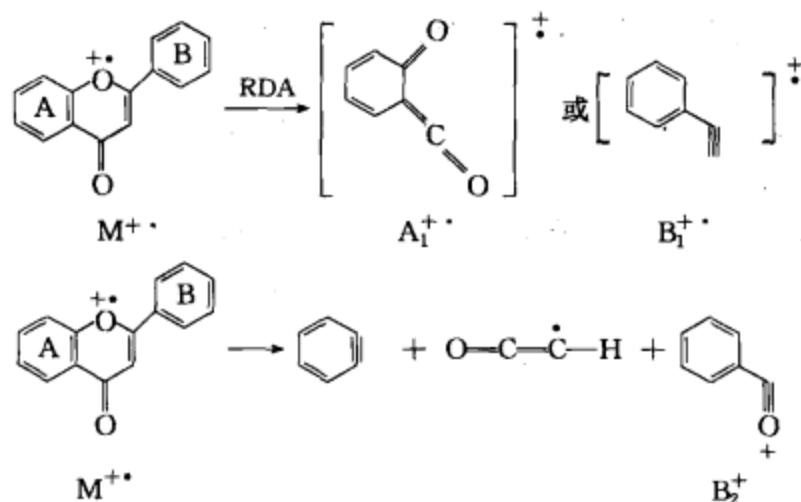


简单取代的呋喃香豆素类化合物，主要裂解方式与上式基本相同，只是随呋喃环的增加，失去 CO 的数目也增加，若 C3、C4 为甲氧基取代，则首先失去 C3 位 $-OCH_3$ 的甲基，而 C4 位 $-OCH_3$ 的甲基失去的几率较小。例如哈肯内酯 (halkendin) 的质谱裂解如下：



黄酮类化合物经 EI 轰击不但能够得到很强的分子离子峰作为基峰，还常有 $(M-H)^+$ 峰，其基本裂解主要有两种方式。

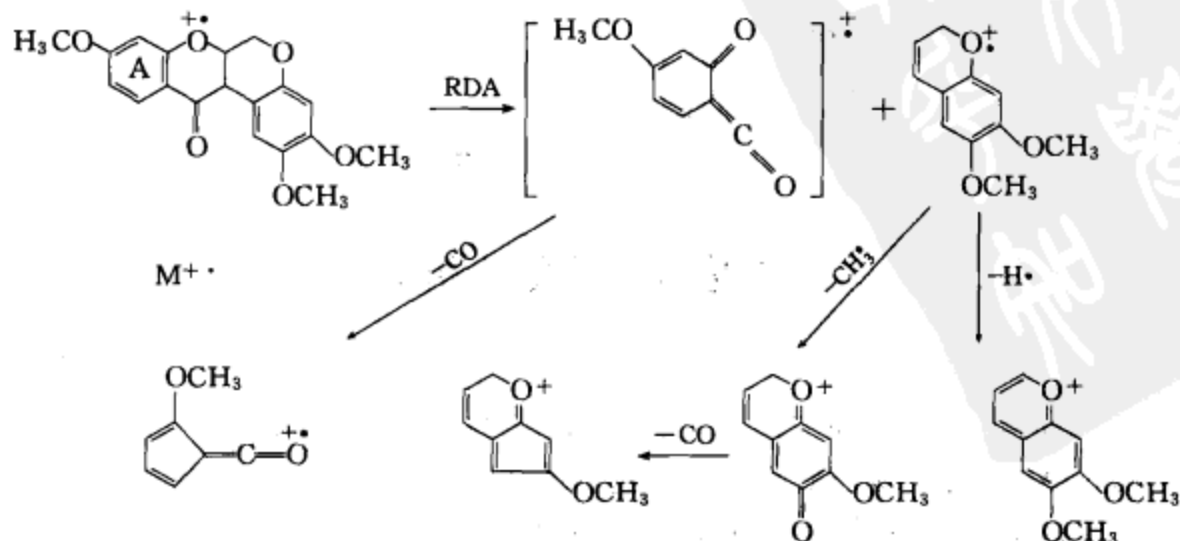
方式一：



方式二：

黄酮类化合物多数为方式一的裂解，黄酮醇类则为方式二的裂解，如有甲氧基取代，则可得 $(M-CH_3)^+$ 离子，且因其取代位置的不同裂解特征也不同，C8-OCH₃ 失去甲基的几率最大，且产生很强的 $(M-CH_3)^+$ ，有时为基峰。2'-羟基取代的二氢黄酮类化合物裂解时经常产生 $(M-H_2O)^+$ 的基峰。

异黄酮类化合物 RDA 裂解产生 $(A_1+1)^+$ 。若有 C6-OCH₃，产生 $(M-CH_3)^+$ ；若有 C2'-OCH₃，则产生 $(M-OCH_3)^+$ 的碎片离子。例如，鱼藤酮类化合物主要由方式一裂解，其裂解过程如下：

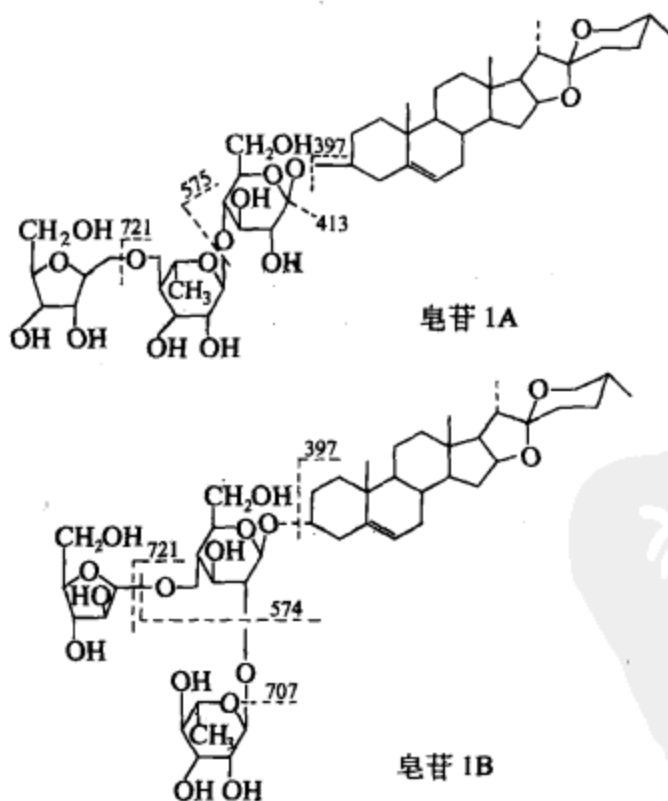


多糖的相对分子质量从几万到几百万，即使经过提纯，所测得分子量只是一种统计平均

分子量。质谱分析是解决单糖、低聚糖及其苷中糖连接顺序的有力工具之一。在了解糖的组成后,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,测定糖苷的分子量,鉴定苷元、糖基顺序等。

由于糖苷是难以挥发和不稳定的物质,因此必须采用软电离质谱。最常用的是快原子轰击质谱(FAB-MS),它不但能获得 $(M+H)^+$ 、 $(M+Na)^+$ 或 $(M+K)^+$ 等碎片峰,还可以获得脱去糖基片段的碎片峰,可用于确定糖与糖之间的连接顺序。但是快原子轰击质谱往往给出的碎片离子峰少而弱,不利于糖基序列的分析。为了克服此缺点,可以采用串联质谱即(FAB-MS/MS),可得到 $(M+H)^+$ 的碎片峰,再根据CAD(collision induced dissociation)推断糖基序列。近年来,基质辅助激光解析电离质谱、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱的发展为蛋白质、多糖等高分子化合物分子量的测定提供了便利条件。但值得注意的是,若采用质谱解决糖的连接顺序,低聚糖及其苷中的糖不能是同一类糖,如六碳醛糖、五碳醛糖等。如果所连接的糖为同一类糖,如鼠李糖、呋糖、鸡纳糖等,因其丢失的质量相等,无法推断糖的连接顺序。

例如,皂苷I经酸水解后,测得含有D-核糖、L-鼠李糖和D-葡萄糖。利用FAB技术得到碎片有 m/e 877 $(M+Na)^+$ 、 m/e 855 $(M+H)^+$ 、 m/e 721、 m/e 575、 m/e 413 和 m/e 397。 m/e 855 $(M+H)^+$ 碎片经FAB-MS分析,在CAD谱中得到的主要碎片有 m/e 721、 m/e 575、 m/e 413 和 m/e 397,无 m/e 707 的碎片峰,因此而推断其结构为皂苷IA,而不是皂苷IB。



第五节 其他分析方法

一、碳谱 (^{13}C NMR)

有机物中的主要元素为C、H、N、O等, ^1H 、 ^{13}C 为磁性核。 ^1H 的天然丰度较大(99.98%),磁性较强,易于观察到比较满意的核磁共振信号,因而用途最广。 ^{13}C 丰度较低,只有 ^1H 的1.1%,灵敏度只有 ^1H 的1.59%。但现代技术使碳谱 ^{13}C NMR在有机结构分析中仍然起着重要作用。

与 ^1H NMR 谱图相比, ^{13}C NMR 谱有以下特点:① ^{13}C 的化学位移值比氢大得多, ^{13}C 的 δ 值大多在 $0\sim 250\text{ppm}$ 之间,由于其范围宽,由分子结构的微小差异所引起的化学位移变化在碳谱上就有所区别,因此碳谱比氢谱能给出更多的有关结构的信息;②氢谱中必须考虑氢核之间的偶合裂分,经常会有谱线重叠现象,使氢谱难以辨认,而在碳谱中,若消除碳与氢的偶合,每个碳原子都对应一条尖锐可分辨的谱线,没有积分曲线;③弛豫时间对氢谱的解析用途不大,而在碳谱中不同化学环境下的碳核弛豫时间差别很大,只要测定了弛豫时间,就可根据碳谱中各谱线的相对强度帮助碳原子的识别,有助于推断结构。因此,可以根据 ^{13}C NMR 的特征化学位移可以鉴定许多含碳官能团。例如,羰基碳原子在 $\delta=160\sim 220$ 。羧酸及其衍生物中的羰基出现在 $\delta=160\sim 180$,醛羰基出现在 $\delta=185\sim 205$,酮羰基出现在 $\delta=190\sim 220$ 。其他一些特征官能团中,氰基 $\delta=110\sim 120$,异氰基 $\delta=135\sim 150$,硫氰酸酯 $\delta=110\sim 120$,异硫氰酸酯 $\delta=125\sim 140$ 等。除此之外,还可以根据官能团对周围核的化学位移的影响间接地鉴定官能团。

利用 ^{13}C NMR 谱推断苷键的构型,快捷而准确。通常情况下,糖的甲基碳的化学位移在 $\delta=18$ 左右, $-\text{CH}_2\text{OH}$ 在 $\delta=62$ 左右, $-\text{CHOH}$ 在 $\delta=68\sim 85$,端基碳在 $\delta=95\sim 105$ 。 $\beta\text{-D}$ 和 $\alpha\text{-L}$ 型苷键的端基碳的 δ 值通常大于 100 ,当为酯苷、叔醇苷及个别的酚苷时,其 δ 值可以位移到 98 。 $\alpha\text{-D}$ 和 $\beta\text{-L}$ 型苷键的端基碳的 δ 值通常小于 100 ,因此可以根据 $95\sim 105$ 区域内碳的信号个数和化学位移值推测低聚糖及其苷中所含糖的个数和苷键的构型。在吡喃型糖中,端基碳的碳氢偶合常数($^1J_{\text{C-H}}$)也可用于确定苷键的构型。当端基质子处于 e 键时,即为 $\alpha\text{-D}$ 或 $\beta\text{-L}$ 型,其端基碳氢的偶合常数 J 为 $170\sim 175\text{Hz}$;当端基质子处于 a 键时,即为 $\beta\text{-D}$ 或 $\alpha\text{-L}$ 型,其偶合常数 J 为 $160\sim 165\text{Hz}$ 。但是,吡喃型糖苷无法用端基碳的碳氢偶合常数判断其苷键的构型。

在测定氢谱的条件下,碳谱难以测定,需要增加测定样品的用量或累加次数。而且 ^{13}C 与其直接相连的氢核及邻近氢核均会发生偶合作用,从而使谱线彼此交叠,谱图复杂化。因此,要通过去偶处理,使谱图变得清晰可辨。去偶的方法很多,例如质子噪声去偶(宽带去偶)用于识别不等性碳核,质子偏共振去偶(部分去偶)用于识别碳的类型,选择去偶用于标识谱线等。

(1) 质子偶合碳谱 质子偶合碳谱保持着所有质子对碳原子的偶合作用。除季碳外,其他各类碳原子均为多重峰。因此,可以根据 ^{13}C 偶合裂分呈现多重峰数目、偶合常数值判断碳原子上直接连接氢原子的数目。例如, $-\text{CH}_3$ 中的碳原子被偶合裂分为四重峰, $-\text{CH}_2$ 为三重峰, $-\text{CH}$ 为二重峰;而季碳因没有氢原子,谱图上呈单峰。

(2) 质子噪声去偶碳谱(broadband decoupling) 质子噪声去偶又称质子宽带去偶,采用异核双共振技术,消除全部 ^1H 对 ^{13}C 的偶合,使 ^{13}C 均为单峰。这是一种最常用的碳谱,谱图上显示的谱峰数就代表着碳原子的数目。因为照射 ^1H 后产生的核间奥氏效应(NOE)使连有 ^1H 的 ^{13}C 峰强增加,而季碳因 ^1H 信号较弱,所以此法得到的谱图中各峰的强度比不能代表峰所指配的碳原子数目比。

(3) 偏共振去偶碳谱(off-resonance decoupling) 设法降低 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 偶合,既能保持谱线的多重性,又能不使谱线重叠,就是偏共振去偶碳谱。 $-\text{CH}$ 为双峰, $-\text{CH}_2$ 为三重峰, $-\text{CH}_3$ 为四重峰,季碳为单峰,能为碳谱的解析提供基本的重要数据。目前,偏共振去偶实验常由DEPT等实验代替。

(4) 选择性去偶碳谱(selective proton decoupling) 选择性去偶是偏共振去偶的特例,用于归属与该质子直接键合的碳原子,产生一个单峰,其他的碳原子则被偏共振去偶。

(5) 门控去偶碳谱 (gated decoupling) 利用发射门和接收门控制去偶, 完全偶合的 ^{13}C 谱可由门控异核去偶技术观察, 同时仍可用 NOE 增益。此条件下, 全去偶的碳谱具有较小的 NOE 影响, 谱线高度正比于碳原子的数目。

(6) 反门控去偶碳谱 反门控去偶碳谱是没有任何 NOE 增益的 ^{13}C 谱, 此谱图比偏共振去偶所得谱线稠密。

(7) DEPT (无畸变极化转移增益法, distortionless enhancement by polarization transfer) 此法主要用于确定碳原子的级数。通过改变照射 ^1H 的第三脉冲宽度 θ , 作 45° 、 90° 、 135° 变化而得出 ^{13}C NMR 谱。当 $\theta=90^\circ$ 时, 仅 CH 出峰; $\theta=135^\circ$ 时, CH、 CH_3 向上出峰, CH_2 向下出峰。由此可以确定全去偶碳谱中各碳原子的级数。

碳谱不仅在有机物的结构测定中十分有用, 而且在生物大分子的合成研究, 合成高分子的结构与立体规整性和序列分布的研究, 金属络合物结构特点的研究, 反应机理的研究, 分子动态过程如构型、构象的转换, 互变异构体的转变、化学变化、反应速率等多方面的研究及应用都十分广泛。

二、二维核磁共振 (2D NMR)

一维核磁共振谱中的信号复杂, 或堆积在一起难于辨认时, 识别信号间的偶合将十分困难, 采用二维核磁共振技术则会有良好的效果。

1. 同核相关谱

(1) H-H COSY (H-H correlated spectroscopy) 该谱中的相关峰主要反映 2J 和 3J 的偶合关系。

(2) TOCSY (全相关谱, total correlation spectroscopy) 这是很有用的 2D NMR 技术, 从某一个氢出发, 能找到与它处在同一个自旋体系中所有质子的相关峰。

2. 异核相关谱

(1) H-C COSY (H-C correlated spectroscopy) H-C COSY 谱是直接相连的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 的相关谱图, 图谱直观, 容易分析, 其作用相当于 HMQC (检测氢的异核多量子相干谱, ^1H -detected heteronuclear multiple-quantum coherence) 和 HSQC (氢的异核单量子相干谱, ^1H -heteronuclear single-quantum coherence)。

(2) COLOC (H-C correlation spectroscopy via long-range coupling) COLOC 是 ^{13}C 的异核相关谱, 得到 n 键偶合的交叉峰。

(3) HMBC (检测氢的异核多键相关谱, ^1H -detected heteronuclear multiple-bond correlation) 把 ^1H 核和远程偶合的 ^{13}C 核关联起来, 与 HMQC 相比较, 则没有去偶, 其作用相当于长程 H-C-COSY 或 COLOC。

总之, 未知物的 NMR 图谱解析步骤一般如下所示。

- ① 根据 ^{13}C NMR 谱, 确定碳的总数。
- ② DEPT 谱确认伯、仲、叔、季碳, 确定碳的骨架单元。
- ③ 根据 ^{13}C - ^1H COSY 实现直接相连 C-H 的确认。
- ④ 根据 H-H COSY 找出各氢原子之间的链接及相互偶合的关系, 确定可能的结构单元。
- ⑤ 由 HMBC 将各单元链接。
- ⑥ NOESY 考虑空间效应。
- ⑦ 确证分子结构。

2D NMR 是确定糖链结构的很好的二维核磁方法, 不但能够确定糖的连接顺序, 还可以确定糖的链接位点、具体链接位置、氧环的大小、苷键的构型、糖的种类等。一般情况

下,采用 2D NMR 法确定糖链的化学结构,首先通过碳氢相关谱 (C-H COSY) 或 HMQC 确定糖链中各质子的化学位移值 (活泼氢除外),根据在谱中的准确位置以及区分出的 CH_2 及 CH 质子,再根据氢氢相关谱 (H-H COSY)、NOESY 或相关 NOE 谱准确地归属糖中各质子的化学位移值,最后通过碳氢相关谱 (C-H COSY) 或 HMQC 确定糖的链接位点和相互的链接关系。

三、X 射线衍射

在化合物的结构鉴定中,了解分子的立体结构,确定天然有机化合物的绝对构型极其重要。单晶 X 射线衍射法不仅可以定量给出分子立体结构参数,还能够完成化合物分子相对构型与绝对构型的测定,特别是在有机化合物分子立体结构中的构型确定、构象分析,以及固体化合物样品的晶形与分子排列规律、有机分子的异构体及其含量测定方面,例如药物分子的立体构型与受体间的相互关系、生化反应过程的立体选择性与分子立体构型间的关系以及天然有机化合物的立体构型与它们所表现出的生物活性间的关系等。天然有机化合物的结构大多较复杂,目前,单晶 X 射线衍射法是能够测定单晶样品相对分子质量在 10 万以上的唯一分析技术,该技术不需借助任何其他波谱学方法,能独立完成被测样品的晶体结构分析工作,但是应用这一技术要求样品本身能够获得较好的单晶。

四、圆二色谱

圆二色谱在确定化合物绝对结构的过程中应用广泛,具有样品用量少的特点,可用于非结晶型化合物立体构型的确定,但是要求样品本身具有或通过反应引入发色团,然后根据经验分析手性中心的绝对构型。

第六节 构效关系研究简介

天然产物化学研究内容广泛,研究成果已广泛应用于医药、农药、食品、化妆品等多种领域。天然产物主要以原生药、浸膏和有效成分三种形式入药,可以根据有效成分直接提取、分离或人工合成。但是,许多天然产物所含的有效化学成分结构复杂,人工不易合成,因此人们希望简化其结构,结合药物作用机制找出化学结构与生物活性之间的关系,根据基本结构设计新药的合成母体,筛选高效、低毒的药物。

具有某种生物活性的天然产物能在受体内发挥生理活性,不但与分子整体的化学结构关系密切,也与其理化性质、某些基本结构以及含有的特定官能团之间的联系密不可分。例如,各类酚类抗氧化剂分子本身可以释放出氢离子,能够破坏或终止油脂氧化过程的过氧化物。多糖的化学结构是其显示生物活性的基础。例如香菇多糖是由 β -(1 $\rightarrow$ 3) 糖苷键连接的葡聚糖;金针菇多糖也是由 β -(1 $\rightarrow$ 3) 糖苷键连接的葡聚糖,化学结构与香菇多糖相似;银耳多糖是由 β -(1 $\rightarrow$ 3) 糖苷键连接的甘露聚糖;灵芝多糖是主链以 β -(1 $\rightarrow$ 3) 糖苷键连接的葡聚糖。以上几种真菌多糖都具有增强免疫力、抗肿瘤功能的作用。

化合物的生物活性依赖于分子的整体结构,虽然分子中某些官能团具有某种理化性质,但是一旦改变某些化学结构就会失去原有的生物活性,或将其活性结构部分修饰,疗效就会显著增强或减小,这些都是由分子的整体结构决定的。

一、整体结构

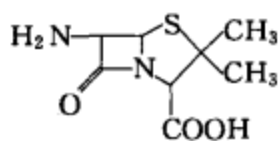
整体结构主要由基本结构、潜效基团和载体三个基本部分组成。

1. 基本结构

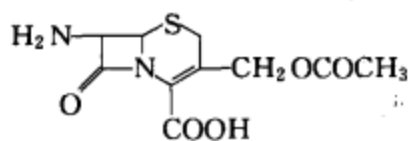
具有相同药理作用的药物，化学结构与生物活性之间有密切的联系，具有相同的结构单元。各类药物药效不同，所含基本结构单元也不同。有些化合物虽然没有共同的化学结构，但是能找到共同的基本结构。

(1) 消炎抗菌类药物 广泛应用的抗生物类药物主要有青霉素类和头孢类药物。

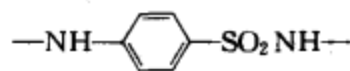
大多数青霉素类药物的基本结构为 6-APA，即无侧链青霉素。头孢菌素具有广谱抗菌性，增加了对耐药菌株的作用能力。其基本结构为 7-ACA，即 7-氨基头孢霉烷酸的系列衍生物。磺胺类药物能用于局部和全身性细菌感染，其系列药物中也能找到基本结构。



6-APA

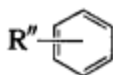


7-ACA

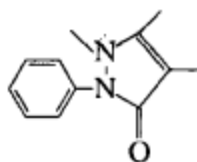


磺胺类药物

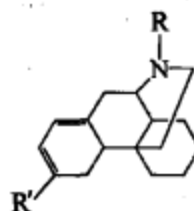
(2) 解热镇痛类药物 解热镇痛药大多具有类似于水杨酸衍生物、吡唑酮等基本结构。通过分析、比较一些相同药理作用化合物的结构，在吗啡类镇痛药中也找到了基本结构。



水杨酸类药物

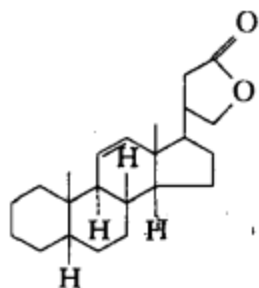


吡唑酮类药物

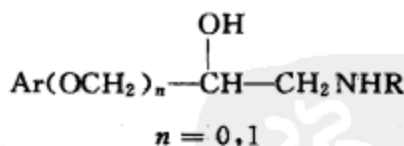


吗啡类药物

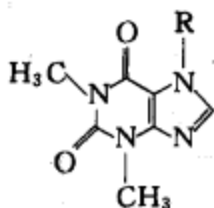
(3) 心血管系统类药物 用于心血管系统疾病治疗的强心苷类药物中，大部分都有强心甙的基本单元；作为 β 受体阻断剂的药物中也找到了具有相同结构；用于降血压、降血脂作用的利血平类药物都是吲哚类生物碱。



强心甙

 β 受体阻断剂

(4) 中枢兴奋类药物 茶碱和咖啡都有兴奋中枢神经、消除疲劳、排毒利尿、扩张血管和冠状动脉、促进新陈代谢的功能，也具有相同的活性基本结构。



R=H: 茶碱

R=OCH₃: 咖啡因

在许多具有相同疗效的药物中均能找出相同或相似的基本单元，数不胜数。例如，千里光药用全草、海绵生物碱等都是含有吡咯母核的生物碱，具有抗炎、抗肿瘤、抗疟疾等作用；罂粟碱、莲心碱、小檗碱等均具有不同程度的镇咳的作用，都是含有异喹啉母核的生

物碱等。

2. 潜效基团

分子内某些具有生物活性的基团因为参与化学反应被转变为非活性部分,在体内经吸收、运转等酶解或水解作用,再缓慢释放活性部分,这类基团称为潜效基团。这种使药物缓释而长效的作用称为潜效作用。许多天然产物直接或间接入药毒性大,药效差,利用化学修饰后发挥潜效作用,主要目的是延缓有效成分的释放,稳定有效成分的活性,赋予其长效性质,减少毒副作用。例如,甾体类药物虽然在体内的吸收较好,但是容易变化,可采用脂肪酸酯化的方法使之长效化;用于治疗青光眼的肾上腺素本身有毒副作用,应用受到限制,利用潜效基团制成双特戊酸酯,经酯分解酶作用缓释出母体药物,药效强,且副作用减少;将抗疟药奎尼丁与聚半乳糖醛酸反应为奎尼丁盐,强心药物羟基洋地黄毒苷制成五乙酰基羟基洋地黄毒苷,均能减小原药的毒性。

3. 载体

某些物质本身不具有显著的生物活性,但通过与具有特定生物活性基团相结合,可共同参与体内新陈代谢,使药物的靶向作用更强,这些物质称为载体。糖类、氨基酸、甾体等是常用的药物载体。分子中的活性结构部分如果与亲水性化合物结合,胃肠道不易吸收,这种药物可以用于治疗肠道感染等。例如琥珀磺胺噻唑、缩甲苯甲酰磺胺噻唑等。有生物活性的结构部分若与亲脂性化合物结合,则容易通过血脑屏障对中枢神经系统发挥作用。例如作为单胺氧化酶抑制剂的有机胍类化合物,既可以与脑内单胺氧化酶作用治疗抑郁症,也可以与肝内单胺氧化酶作用而引起中毒性肝炎。若有机部分是乙基、异丙基等较小的基团,则化合物的脂溶性小,不宜穿过血脑屏障,对肝脏的毒性很大。若胍基上取带的基团为苯类衍生物,则脂溶性增强,易透过血脑屏障,可以治疗精神病。

二、影响药物生物活性的因素

1. 溶解度与解离度

药物只有通过溶解、吸收和转运的过程才能与受体结合发生理化效应,所以分子的溶解度与解离度必须考虑。药物的溶解度影响生物活性。增加同系物碳链或引入亲脂性基团均会增大脂溶性,能使药物缓释和长效化,生物活性会增加,但是会阻碍药物在受体内的运转。引入亲水性基团或结构会增大水溶性,不易穿透皮肤,不易被胃肠道吸收或穿过血脑屏障,生物活性会降低,但是更易于口服。例如,在8-羟基喹啉环上引入亲水性的杂原子,会降低抑菌性;引入烃基,就会增强抑菌性。吸入性全身麻醉剂大多数都是水溶性较小而脂溶性较大的乙醚、氯仿等小分子量的化合物。局部性麻醉药兼具水溶性和脂溶性的双重溶解性,因为分子结构中一端为亲水性基团,另一端为亲脂性基团,亲水与亲脂部分存在平衡是其表现出麻醉活性的重要因素。

解离度越小的化合物越容易通过生物膜在体内分布,但是药物往往以离子形式发生药理作用,因此要求药物有合适的解离度。离子不易通过受体内的生物膜,而未解离的分子可以通过,并使在膜两边的浓度趋于平衡。例如,口服类药物要通过胃肠道吸收,药物可吸收形式的浓度越大,即未解离药物浓度越大,越易被吸收。

2. 取代基

分子整体的化学结构决定了化合物所表现的生物活性,但是通过引入不同的官能团会改变分子的结构,或对其官能团进行修饰,可以增强或减弱化合物的化学和生物活性,有时甚至产生与原药相反的理化作用。因此,对结构修饰,保留药物有效活性的基本单元,可以实现高疗效、低毒性的优良效果。例如,长春花碱具有一定的持久降血糖作用,抗癌成分主要

为长春新碱和长春碱，两者的区别只在于前者是 $N\text{-CHO}$ 而后者为 $N\text{-CH}_3$ ，在白血病和癌症的治疗中，前者仅用小剂量，疗效远远高于后者。喹啉类生物碱中的喜树生物碱、10-羟基喜树生物碱、10-甲氧基喜树生物碱被认为是有希望的抗癌药物活性成分，而去氧喜树生物碱则无抗癌活性。

分子结构中引入羟基，既增大了脂溶性，也会增加药物分子中邻近基团之间的空间位阻影响。例如，当青霉素分子中的 N 原子上用苯氧乙基或苯氧丙基取代，新化合物就更能抵御青霉素酶的水解。卤素是一类强吸电子基团，按照氟、氯、溴、碘的顺序，随电性效应的不同，对化合物生物活性的影响有显著改变。氟原子的引入能显著提高农药活性，其除草活性尤其显著，因此，含氟农药的研究已成为热点研究之一。含羟基类化合物的生物活性与化学活性有关。一般情况下，分子中引入羟基可以增强与受体的结合力，使水溶性增加，具有易氧化、易排出的特点，虽然毒性降低，活性也更低。磺酰基的引入会明显改变化合物的理化性质，如水溶性增加、脂溶性降低、电离度增加等，导致该类化合物的药效活性和毒副作用明显改变。具有碱性的胺类化合物在生理酸碱环境下易于形成铵离子，表现出多样的生物活性。

3. 立体异构

研究表明，即使两个化合物的有效基本结构相同，取代基也相同，但是基团的空间排列情况不同或有旋光性差异等，则两者的生物活性也会有明显的差异。

生物碱的生理活性与其旋光性密切相关。一般情况下，左旋体呈显著的生理活性，而右旋体则无生理活性或很弱。吲哚类生物碱中的麦角生物碱，是人们最先认识到的一类真菌霉素的活性成分，具有收缩血管和肌肉纤维的作用，也有可能影响中枢神经系统。然而麦角化合物的六对旋光异构生物碱中，只有左旋麦角生物碱具有优异的生物活性。左旋莨菪碱的散瞳作用比右旋体强几十倍。去甲乌头碱的左旋体具有强心作用，而右旋体无强心作用。但也有少数生物碱与此相反，如右旋古柯碱的局布麻醉作用大于左旋古柯碱。

基团在空间的排列方式、构型及构象均能影响药物在受体内的吸收与运转。例如，桂皮酰胺类化合物的反式异构体对中枢神经具有抑制作用，而顺式异构体却具有兴奋作用。具有降压作用的利血平类药物受椅式构象、平伏键、直立键的影响，若变为异利血平或新利血平，便会失去降压作用。

4. 正电中心

正电中心是药物与受体的结合部位，许多药物具有正电中心，并通过正电中心表现生物活性，所以也被称为“生物活性中心”。如普鲁卡因酯基中的碳原子就是正电中心，对其结构修饰时不影响正电中心的强度，仍保留局部麻醉的生物活性。因此，修饰化学结构时必须考虑正电中心对化合物生物活性的影响。

总之，从天然产物中分离、提纯、鉴定出活性成分，需要的时间可能较长；有效化学成分的药效可能发挥得不好，毒副作用较大；也可能结构复杂，不利于人工合成。因此，需要从多方面考虑对先导化合物进行结构修饰，以便开发出理想的新药。

第二篇 重要天然产物各论

第四章 生物碱

生物碱 (alkaloids) 是指存在于生物体 (主要为植物) 中的一类除蛋白质、肽类、氨基酸及维生素 B 以外的含氮碱基的有机化合物, 有类似碱的性质, 能与酸结合成盐。无论从数量上或生理活性方面看, 此类化合物在天然产物研究中都占有及其重要的地位, 它在人类疾病的治疗和化学药物的开发方面都起到了很大作用。自从 1806 年德国学者 F. W. Sertürner 从鸦片中分出吗啡碱 (morphine) 以来, 迄今已从自然界分离出大约 1 万多种生物碱。

生物碱类化合物大多具有生物活性, 往往是许多药用植物包括许多中草药的有效成分, 例如鸦片中的镇痛成分吗啡、麻黄的抗哮喘成分麻黄碱、颠茄的解痉成分阿托品、长春花的抗癌成分长春新碱、黄连的抗菌消炎成分黄连素 (小檗碱) 等。但也有例外, 例如多种乌头和贝母中的生物碱并不代表原生药的疗效。有些甚至是中草药的有毒成分, 例如马钱子中的土的宁。

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。生物碱在植物中的分布较广, 存在于约 50 多个科的植物中。在系统发育较低级的类群 (如藻类、菌类、地衣类、蕨类植物等) 中分布较少或无分布, 而集中分布在系统发育较高的植物类群 (裸子植物, 尤其是被子植物) 中, 例如裸子植物的红豆杉科、松柏科、三尖杉科等植物, 单子叶植物的百合科和石蒜科等植物, 双子叶植物的毛茛科、茄科、罂粟科、豆科、防己科、番荔枝科、小檗科、芸香科、马钱科、龙胆科、紫草科、夹竹桃科、茜草科等植物中均含有生物碱。生物碱极少与萜类和挥发油共存于同一植物类群中; 越是特殊类型的生物碱, 其分布的植物类群就越窄。

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, 仅少数碱性极弱的生物碱以游离形式存在, 如那可定、那可因等; ②盐类, 这是大多数生物碱的存在形式, 与之形成盐的酸有草酸、酒石酸、柠檬酸、硫酸、盐酸等; ③酰胺类, 如秋水仙碱; ④N-氧化物及亚胺 ($C=N$)、烯胺 ($N-C=N$) 等形式存在的生物碱, 其中以 N-氧化物的形式最多; ⑤苷类, 分为氮苷和氧苷, 尤以吲哚类和甾体类生物碱较多; ⑥与其他杂原子如 S、Cl、Br 结合的生物碱, 如美橙素。

生物碱在植物体内一般被认为是次级代谢产物, 起着保护植物或促进植物生长与代谢的作用, 但它们的真正作用仍不清楚, 因为一些不含或含微量生物碱的植物或生物同样生长发育良好, 因此生物碱在生物体内的功能仍有待研究。

第一节 生物碱的性质与鉴别

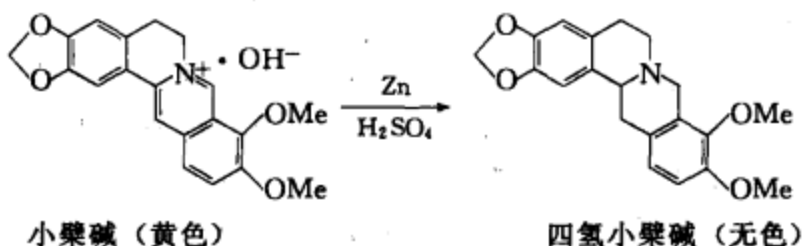
一、性状

绝大多数生物碱由 C、H、O、N 几种元素组成, 极少数分子含有 Cl、S 等元素。生物

碱大多为结晶形固体，有一定的熔点，只有少数是非结晶形的粉末（如乌头中的乌头原碱）。无氧原子的生物碱多为液态，如烟碱、毒芹碱等。

液体生物碱在常压下可以蒸馏或随水蒸气蒸馏而不被破坏。固体生物碱有极少数如麻黄碱能随水蒸气蒸馏出来。有的可升华，如咖啡因等。除少数生物碱有挥发性（如液体生物碱）外，一般无挥发性。生物碱多具苦味，甚至有些生物碱味极苦（如盐酸小檗碱）。有些刺激唇舌有焦灼感。

生物碱一般是无色或白色的化合物，只有少数具有高度共轭体系结构的生物碱显其他颜色。例如小檗碱呈黄色（经硫酸和锌粉还原后，生成四氢小檗碱，呈无色）、蛇根碱呈黄色、小檗红碱显红色等。



二、旋光性

大多数生物碱分子中有手性碳原子，有光学活性，且多数为左旋。某些情况下，生物碱的旋光性易受 pH 值、溶剂等因素影响。如中性条件下，烟碱、北美黄连碱呈左旋，在酸性溶液中则变为右旋；麻黄碱在氯仿中呈左旋，但在水中则变为右旋。有时，游离生物碱与其盐类的旋光性并不一致。如氯仿中吐根碱呈左旋，但其盐酸盐则呈右旋。

生物碱的生理活性与其旋光性密切相关。一般左旋体有显著的生理活性，而右旋体则无生理活性或很弱。如去甲乌头碱，左旋具有强心作用，右旋无强心作用。但也有少数生物碱与此相反，如右旋古柯碱的局麻作用大于左旋古柯碱。

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、极性基团的类型与数目以及溶剂等密切相关。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，不溶于碱溶液。但有不少例外，如伪石蒜碱不溶于有机溶剂而溶于水，喜树碱仅溶于酸性氯仿，小分子的麻黄碱同时溶于有机溶剂和水。季铵碱类和某些含 N-氧化物的生物碱为水溶性生物碱，如小檗碱、益母草碱甲、氧化苦参碱等。某些分子中含有酸性基团（如含羧基、酚羟基的生物碱），易溶于水，如吗啡碱、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好。某些生物碱分子中具有酸性基团（如酚、羧基等），如含酚羟基的药根碱易溶于稀碱溶液。另外，含内酯结构的生物碱，如喜树碱、毛果芸香碱等，遇碱溶液内酯环开裂成盐而溶解。生物碱盐类一般大多易溶于水。一般地，无机酸盐的水溶性大于有机酸的盐类，同一生物碱与不同酸所成的盐类溶解度不同。但仍有不少例外，如高石蒜碱的盐酸盐不溶于水，而溶于氯仿。又如盐酸小檗碱难溶于水等。同一生物碱与不同酸所成的盐溶解度不同。

四、碱性

生物碱一般都具有碱性，只是碱性强弱不同而已。因为其分子中氮原子上的孤电子对能接受质子而显碱性。碱性基团的 pK_a 值大小顺序一般是：胍类 > 季铵碱 > 脂肪胺 > 芳杂环（吡啶） > 酰胺类。

生物碱的碱性强弱与氮原子的杂化类型、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因素有关。

1. 氮原子的杂化类型

一般情况下,生物碱的碱性随N原子的杂化度升高而碱性增强,即 $sp^3 > sp^2 > sp^1$ 。例如吡啶氮(sp^2)碱性小于四氢吡啶环上的氮(sp^3)。

2. 诱导效应

供电子的诱导效应使氮原子电子云密度增大,碱性增强;反之,吸电子的诱导效应使氮原子电子云密度减小,碱性减弱。当然,容易形成季铵型碱的叔胺生物碱除外,因为季铵碱的氮阳离子和羟基呈离子键形式,碱性增强。

3. 共轭效应

如果分子中氮原子孤电子对处于 $p-\pi$ 共轭体系中,一般而言,其碱性较弱。生物碱中,常见的 $p-\pi$ 共轭效应主要有三种类型:苯胺型、烯胺型和酰胺型。

4. 诱导-场效应

生物碱分子中如同时含有两个氮原子时,即使其处境完全相同,碱性强弱总是有差异的。一旦第一个氮原子质子化后,则产生一个强的吸电子基团,此时它对第二个氮原子产生两种碱性降低的效应,即诱导效应和静电场效应。

5. 空间效应

甲基麻黄碱($pK_a=9.30$)碱性弱于麻黄碱($pK_a=9.56$),这是甲基的空间位阻所致。东莨菪碱分子中N原子附近的环氧环的空间位阻,使其碱性($pK_a=7.5$)弱于莨菪碱($pK_a=9.65$)。氮杂六元环体系中,与氮的电子对处于1,3-双直立关系的键,如利血平($pK_a=6.07$)中C19—C20键,使其碱性减弱。

6. 分子内氢键

分子内形成氢键可使生物碱的碱性增强。如钩藤碱盐的质子化氮上氢可与酮基形成分子内氢键,使其更稳定,碱性增强,其 $pK_a=6.32$ 。而异钩藤碱的盐则无类似氢键的形成,所以其 $pK_a=5.20$,碱性小于前者。

需要注意的是,判断一个生物碱的碱性强弱,必须综合考虑各因素的影响。一般情况下,空间效应和诱导效应共存时,前者起主要作用;诱导效应和共轭效应共存时,后者的影响较大。此外,除了分子结构本身影响外,外界因素如溶剂、温度等也可影响其碱性强度。

五、生物碱的检识

在生物碱的预试、提取分离纯化和结构鉴定中,往往需要一种简单、快捷、灵敏的检识方法。最常用的是生物碱的沉淀反应与显色反应。

1. 沉淀反应

生物碱或生物碱的盐类水溶液能和某些酸类、重金属盐类以及一些较大分子量的复盐反应,生成单盐、复盐或络盐沉淀。这些能与生物碱产生沉淀的试剂称为生物碱沉淀试剂。利用这个性质可以检查植物中是否含有生物碱以及用于分离生物碱。

生物碱沉淀试剂的种类很多,其中较为常用的有以下几种。

① 碘化汞钾试剂(Mayer试剂, $HgI_2 \cdot 2KI$)。在酸性溶液中与生物碱反应生成白色或淡黄色沉淀,若加过量试剂,沉淀又被溶解($B \cdot HgI_2 \cdot 2HI$)。

② 碘化铋钾试剂(Dragendoff试剂, $BiI_3 \cdot KI$)。在酸性溶液中与生物碱反应生成红棕色沉淀($B \cdot BiI_3 \cdot HI$)。

③ 碘-碘化钾试剂(Wagner试剂, $KI-I_2$)。在酸性溶液中与生物碱反应多生成棕褐色沉

淀 ($B \cdot I_2 \cdot HI$)。

④ 3%氯化金试剂 (Seric chloride, $HAuCl$)。在酸性溶液中与生物碱反应生成黄色晶形沉淀 ($B_2 \cdot HAuCl_4$ 或 $B_2 \cdot 4HCl \cdot 3AuCl_3$)。

⑤ 硅钨酸试剂 (Bertrand 试剂, $SiO_2 \cdot 12WO_3$)。在酸性溶液中与生物碱反应生成浅黄色、灰白色或乳白色沉淀 ($4B \cdot SiO_2 \cdot 12WO_3 \cdot 2H_2O$)。

⑥ 苦味酸试剂 (Hager 试剂, 2,4,6-三硝基苯酚)。在中性溶液中与生物碱反应生成黄色晶形沉淀。

⑦ 雷氏铵盐 (硫氰酸铬铵试剂)。在酸性溶液中与生物碱反应生成难溶性复盐, 往往有一定晶形、熔点或分解点 (紫红色沉淀) $\{BH^+[Cr(NH_3)_2](SCN_4)\}$ 。

在实验时, 通常选用三种或三种以上生物碱沉淀试剂进行试验, 如均为正反应, 表明溶液中可能有生物碱存在。

2. 显色反应

生物碱能和某些试剂反应生成特殊的颜色, 叫做显色反应, 用于鉴别生物碱。生物碱显色反应原理尚不太明了, 一般认为是氧化反应、脱水反应、缩合反应或氧化、脱水与缩合的共同反应。用于生物碱的显色试剂很多, 它们往往因生物碱的结构不同而显示不同的颜色。但是, 颜色反应仅可作为识别生物碱的参考, 因为生物碱纯度不同, 显色就有差别, 通常生物碱越纯, 颜色越明显。

常用的显色剂有以下几种。

① Mandelin 试剂 (1%钒酸铵的浓硫酸溶液)。与阿托品显红色, 奎宁显淡橙色, 吗啡显蓝紫色, 可待因显蓝色, 土的宁显蓝紫色到红色。

② Marquis 试剂 (0.2mL 30%甲醛溶液与 10mL 浓硫酸混合)。与吗啡显橙色至紫色, 可待因显洋红色至黄棕色, 古柯碱和咖啡碱不显色。

③ Froehde 试剂 (1%钼酸钠或 5%钼酸铵的浓硫酸溶液)。与乌头碱显黄棕色, 吗啡显紫色转棕色, 可待因显暗绿色至淡黄色, 黄连素显棕绿色, 秋水仙碱显黄色。

④ 浓盐酸。与藜芦碱显红色, 小檗碱在加氨水的情况下可显红色, 其他大部分生物碱均不显色。

⑤ 浓硝酸。与吗啡显红蓝色至黄色, 可待因显黄色, 土的宁显黄色, 乌头碱显红棕色, 阿托品、古柯碱、咖啡碱不显色。

⑥ 浓硫酸。与秋水仙碱显黄色, 可待因碱显淡蓝色, 小檗碱显绿色, 阿托品、古柯碱、吗啡及土的宁等不显色。

⑦ Labat 反应 (5%没食子酸的醇溶液)。与具有亚甲二氧基结构的生物碱显翠绿色。

⑧ Vitali 反应 (发烟硝酸和苛性碱醇溶液)。若结构中有苄氢存在则呈阳性反应。

此外, 生物碱与酸性染料如溴麝香草酚蓝、溴甲酚绿等, 在一定 pH 值的缓冲液中也可形成复合物而显色, 此种复合物定量地被氯仿等有机溶剂提出而用于比色测定, 是应用广泛的一种测定微量生物碱的方法。

第二节 生物碱的提取与分离

一、生物碱的提取

生物碱的提取方法有溶剂法、离子交换树脂法和沉淀法等。在提取分离生物碱时, 首先应考虑到生物碱在中草药中的存在形式和生物碱的特性, 以便选择合适的提取分离方法。

1. 溶剂法

溶剂法是最常用的方法。根据生物碱的存在形式不同,可选择不同的溶剂进行提取。如以游离状态存在,可用苯或氯仿等有机溶剂提取。

对苷类生物碱的提取,一般直接将植物样品用甲醇或乙醇渗漉或浸泡,浓缩后进行柱色谱分离。注意宜采用新鲜原材料或先进行灭酶处理,但避免用酸或碱处理,否则会被水解。含油脂多的植物材料,则应预先脱脂。

(1) 水或酸溶液-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。一般用酸性水溶液,如 0.1%~1% 的 H_2SO_4 、 HCl 或 HOAc 等进行提取。可使中药中的生物碱转化为盐类,提高了生物碱在水中的溶解度,从而把生物碱从中草药中提取出来。提取液浓缩至适当体积后,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,最后浓缩萃取液得亲脂性总生物碱。本法简便易行,但提取液的体积较大,浓缩困难;提取液中水溶性杂质(如皂苷、蛋白质、糖类、鞣质及水溶性色素等)多,不适用于含大量淀粉或蛋白质的植物材料。如果杂质多,可再用离子交换树脂法进一步提纯。

(2) 醇-酸溶液提取法 提取原理是生物碱及其盐类易溶于甲醇或乙醇。故用醇代替水或酸溶液提取生物碱。此法应用最为普遍。提取方式可以是渗漉法、浸渍法或加热回流法。醇提取物常含有不少非生物碱成分,需进一步纯化。常用适量酸溶液使生物碱成盐溶出,过滤,酸滤液再用氨水或氢氧化钠碱化、有机溶剂萃取、浓缩得亲脂性总生物碱。

(3) 碱溶液-有机溶剂提取法 常用方法是将提取材料用碱溶液(石灰乳、 NaCO_3 溶液或 1%~10% 的氨水)充分湿润后,再用有机溶剂如 CH_2Cl_2 、 CHCl_3 、 CCl_4 或苯等直接固-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,因此,要提取总弱碱性生物碱,则需用水或稀有机酸溶液如酒石酸、乙酸等湿润后,再用有机溶剂进行固-液提取,回收溶剂即可。本法的优点是所得总生物碱较为纯净;缺点是有时提取不完全。

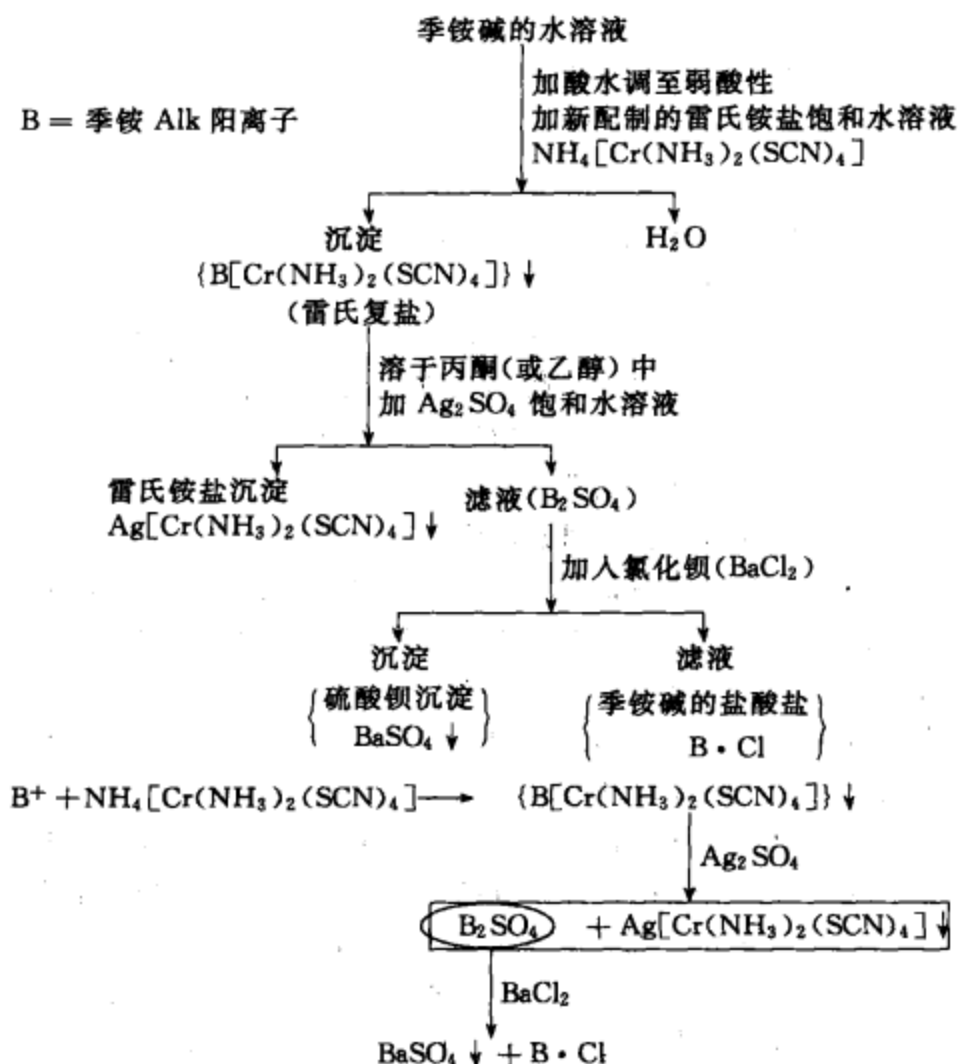
2. 离子交换树脂法

将水或酸溶液提取液通过强酸性阳离子交换树脂进行交换,以便于非生物碱成分分离。将酸溶液提取液通过阳离子交换树脂柱,生物碱被树脂吸附,杂质随溶液流出。交换后的树脂用 10% 的氨水碱化,再用乙醚、氯仿、甲醇等洗脱,浓缩得总生物碱。树脂多用强酸性且是磺酸型的,交联度十分重要,以 3%~8% 为宜。操作上,若用乙醚洗脱,则碱化十分关键,以有湿润感为指标。此法有很重要的实用价值。许多药用生物碱如奎宁、咖啡因、一叶萩碱、麦角碱类、东莨菪碱、石蒜碱等都是应用此法生产的。不过,有时个别生物碱离子交换后,因强吸附作用而难被有机溶剂洗脱下来。

3. 沉淀法

季铵类生物碱极易溶于水,用碱化或盐析的方法一般不易得到沉淀。又由于它在有机溶剂中溶解度不大,亦不便应用溶剂提纯法。因此常用沉淀法进行提取。常用雷氏铵盐为沉淀试剂,使之与生物碱结合为雷氏复盐,因难溶于水而沉淀析出。

一般操作如下:将季铵碱的水溶液用酸溶液调到弱酸性,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。于此滤液中加入 Ag_2SO_4 饱和水溶液,形成雷氏铵盐沉淀,滤除;滤液备用。于滤液中加入计算量的氯化钡溶液,滤除沉淀,最后所得滤液即为季铵生物碱的盐酸盐。过程如下:



4. 其他方法

挥发性生物碱(如麻黄碱)可用水蒸气蒸馏法提取,易升华的生物碱可用升华法提取(如咖啡碱),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、异戊醇等提取。

二、生物碱的分离纯化

生物碱的分离通常分为系统分离与特定分离。系统分离带有基础研究的性质,通常采用总碱分离成类别或部位再进一步分离成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,部位主要指经色谱柱根据其极性不同而粗分的部分。特定分离则侧重于生产实用,具有应用开发价值。

生物碱的一般分离流程如图 2-1 所示。

经提取和粗分后获得的总生物碱,可采用下法进行分离。

(1) 根据生物碱及其盐的溶解度不同进行分离 根据生物碱在有机溶剂中的溶解度不同,可以将它们彼此分离。如从唐古特山莨菪碱中将莨菪碱、红古豆碱和山莨菪碱、樟柳碱分离时,就是采用 $\text{pH}=9$ 时,依次用 CCl_4 和 CHCl_3 进行萃取,前者易溶于 CCl_4 ,而后者易溶于 CHCl_3 ,从而得以分离。

许多生物碱的盐比其游离碱容易结晶,故可利用生物碱各种盐类在不同溶剂中的溶解度差异分离纯化生物碱。例如麻黄碱和伪麻黄碱的分离,即因为草酸麻黄碱在水中溶解度小于草酸伪麻黄碱,草酸麻黄碱能够先行结晶析出,草酸伪麻黄碱则留在母液中。

金鸡纳树皮中四种主要生物碱[奎宁碱、奎宁丁、金鸡宁(cinchonine)和金鸡宁丁

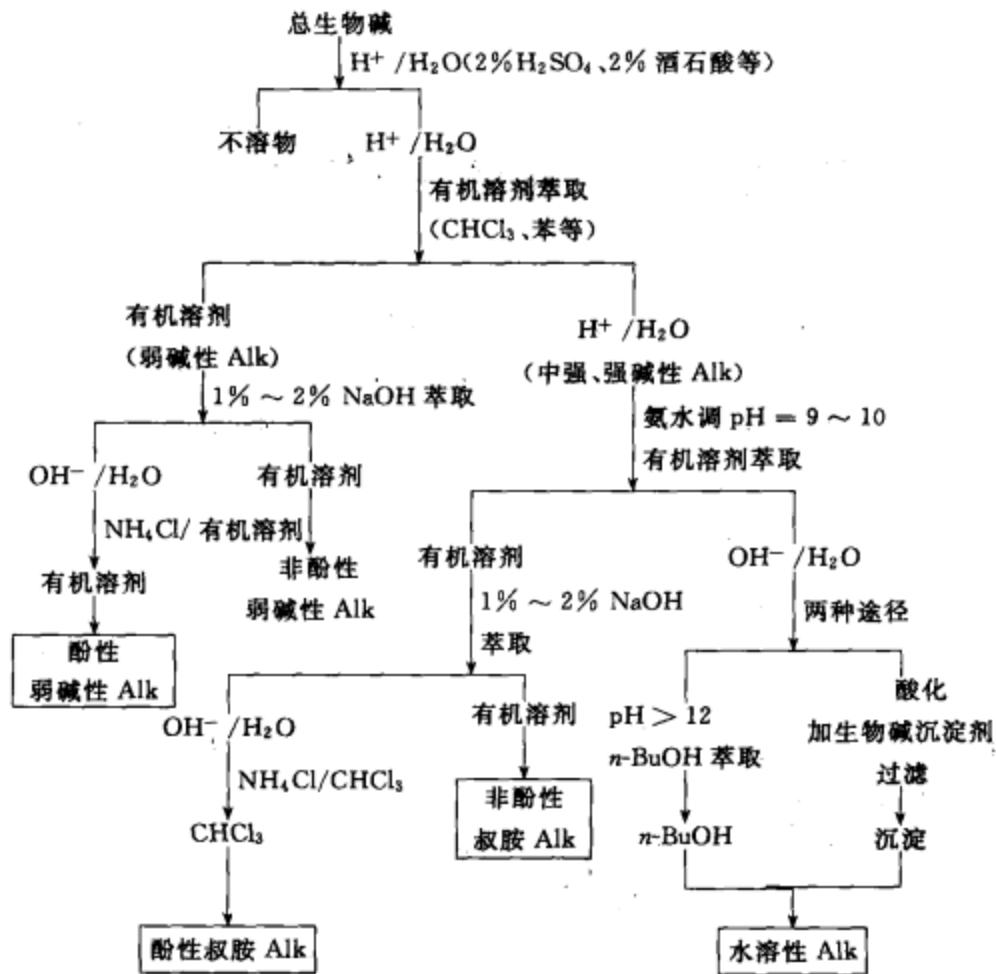


图 2-1 生物碱的一般分离流程图

(cinchonidine)] 的分离，就是利用硫酸奎宁、酒石酸金鸡宁丁和氢溴酸奎尼丁在水中溶解度均较小，而金鸡宁不溶于乙醚的性质，在分离的不同步骤制备成相应的难溶盐类而达到彼此分离的目的。

(2) 利用生物碱碱性强弱的不同进行分离 同一植物中含有生物碱的碱性往往不同。因此，可采用生物碱的碱性差异进行分离纯化生物碱，此法称为 pH 梯度萃取法。其原理是：碱度不同的混合生物碱在酸溶液中加入适量的碱液、有机溶剂萃取，则弱碱先游离析出转入有机溶剂层，强碱与酸式盐仍留在水溶液中，如逐步添加碱，则游离出生物碱的强度也逐步增强；反之，将总碱溶于有机溶剂，添加不足以中和总碱的适量酸溶液提取，则强碱先成盐而优先转入酸溶液层，提取出来生物碱的碱度随添加酸溶液量的增加而减弱。根据上述原理，可分离不同碱度的生物碱。萃取时，应用缓冲溶液调节 pH 梯度，每调节 pH 值一次，用有机溶剂萃取 2~3 次。反之，也可采用 pH 值由高到低的方法。

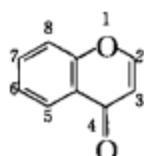
(3) 利用色谱法进行分离 色谱法广泛地用于生物碱的分离。多数采用吸附色谱，但应用分配色谱的实例也不少，是目前常用的分离方法。吸附剂常用中性或弱碱性氧化铝，有时也用硅胶、纤维素、聚酰胺等。对苷类生物碱或极性较大的生物碱可用反相材料（如 RP-8、RP-18 等）或葡聚糖凝胶进行分离。实验过程中，常运用中压或低压柱色谱、制备薄层色谱进行分离。

(4) 利用生物碱分子中特殊功能基团的性质进行分离 例如具有酚羟基的生物碱易溶于氢氧化钠溶液中，从而与非酚性碱分离；具有内酯结构的生物碱，利用其溶于碱液开环成盐，加酸又环合析出的性质，从而与非内酯生物碱分离；具有酰胺键的生物碱，于氢氧化钾的乙醇溶液中加热，能因皂化反应生成盐，增大了水溶性，从而与不能或不易皂化的其他生物碱分离。

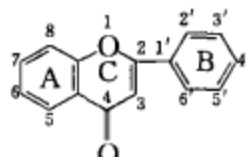
第五章 黄酮类化合物

黄酮类化合物 (flavonoids) 是植物中分布广泛的一类物质, 几乎每种植物体内都含有, 目前已发现的黄酮类化合物总数已超过 9000 个。它们在植物体内常以游离态或与糖结合成苷的形式存在, 对植物的生长、发育、开花、结果以及抵御异物的侵入起着重要的作用。

在 1952 年以前, 黄酮类化合物主要指基本母核为 2-苯基色原酮 (2-phenylchromone) 的一系列化合物。



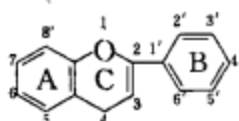
色原酮



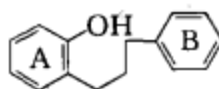
2-苯基色原酮

这类化合物大多呈黄色或淡黄色, 故得名黄酮。由于它们能与矿酸成醚盐, 所以过去也曾把黄酮类化合物称为黄碱素类化合物。

目前该类化合物泛指两个苯环 (A 与 B) 通过三个碳原子相互连接而成的具有 $C_6-C_3-C_6$ 结构特点的一系列化合物, 具有以下基本骨架:



或



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。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, 黄酮类化合物在植物体内的形成是由葡萄糖分别经莽草酸路线和乙酸-丙二酸路线生成对羟基桂皮酸和三分子乙酸, 合成查耳酮, 然后再衍变为各类黄酮化合物。

黄酮类化合物实际上存在于植物的所有部分, 如根、心材、边材、树皮、叶、果实和花中, 花、叶、果中的黄酮类化合物常以苷的形式存在, 而木质部分中多为游离的黄酮类, 且大多存在于一些有色植物中, 陈皮、槐米、黄芩、葛根、枳实、银杏叶、甘草等植物中都含有黄酮类化合物。

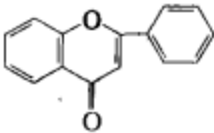
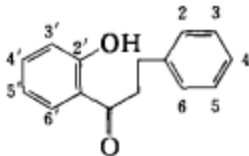
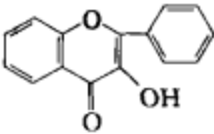
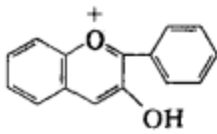
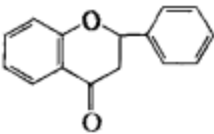
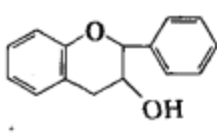
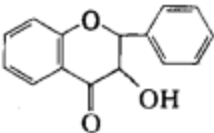
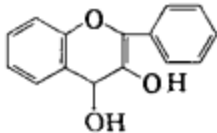
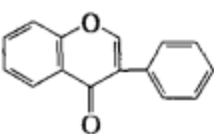
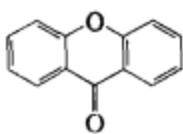
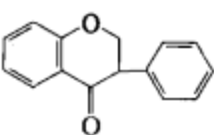
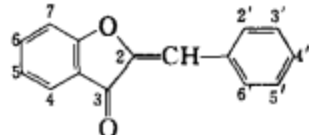
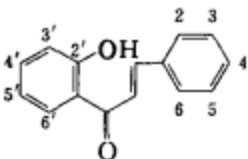
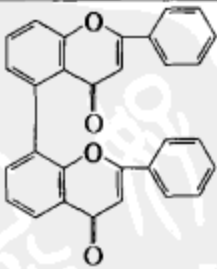
黄酮类化合物是药用植物中的主要活性成分之一, 具有清除自由基、抗氧化、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、降血脂、降胆固醇、增强免疫力、抗菌、抑菌、保肝等广谱的生理活性和较低的毒性。槲皮素、芦丁、山柰酚、儿茶素、葛根素、甘草黄酮等均具有清除自由基的作用。芦丁、槲皮素、槲皮苷能增强心脏收缩, 减少心脏搏动数。芦丁、橙皮苷、*d*-儿茶素、香叶木苷等具有维生素 P 样作用, 能降低血管脆性及异常的通透性, 可用作防治高血压及动脉硬化的辅助治疗。槲皮素、芦丁、金丝桃苷、灯盏花素、葛根素以及葛根、银杏总黄酮等均对缺血性脑损伤有保护作用。柠檬素、石吊蓝素、淫羊藿总黄酮、银杏叶总黄酮等具有降压作用。黄芩苷、木犀草素等有抗菌消炎作用。牡荆素、汉黄芩素等具有抑制肿瘤细胞的作用。水飞蓟素、异水飞蓟素、次水飞蓟素等具有明显的保肝作用, 可用于毒性肝损伤, 急、慢性肝炎, 肝硬化等疾病的治疗。另外有些黄酮类化合物还可用作食品、化妆品的天然添加剂。

黄酮类化合物分布范围广、种类多、活性强, 已引起了国内外的广泛重视, 近年来研究进展很快。

第一节 结构和分类

根据中央三碳链的氧化程度, B 环(苯基)连接的位置(2-位或 3-位)以及三碳链是否与 B 环构成环状结构等特点, 可将主要的天然黄酮类化合物分类, 如表 2-1 所示。

表 2-1 黄酮类化合物的主要结构类型

类 型	基本结构	类 型	基本结构
黄酮 (flavone)		二氢查耳酮 (dihydrochalcone)	
黄酮醇 (flavonol)		花色素 (anthocyanidin)	
二氢黄酮 (dihydroflavone)		黄烷-3-醇 (flavan-3-ol)	
二氢黄酮醇 (dihydroflavonol)		黄烷-3,4-二醇 (flavan-3,4-diol)	
异黄酮 (isoflavone)		双苯吡酮(吡酮) (xanthone)	
二氢异黄酮 (dihydroisoflavone)		橙酮(噢呀) (aurone)	
查耳酮 (chalcone)		双黄酮 (biflavone)	

天然黄酮类化合物多为上述基本母体的衍生物, 母环上常连有—OH、—OCH₃等取代基。此外, 黄酮类化合物在自然界常以苷类形式存在。由于糖的种类不同, 连接位置不同, 苷元不同, 可以组成各种各样的黄酮苷。组成黄酮苷的糖类主要有以下四类。

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。

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。

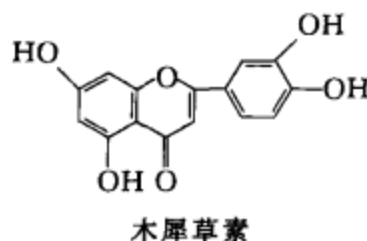
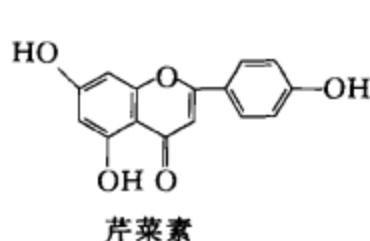
三糖类: 龙胆三糖 (glc β1→6glcβ1→2gal)、槐三糖 (glc β1→2glc β1→2glc) 等。

酰化糖类：2-乙酰葡萄糖、咖啡酰基葡萄糖 (caffeoylglucose) 等。

下面介绍几种常见类型的黄酮类化合物。

1. 黄酮类

广泛分布于被子植物中，以唇形科、玄参科、爵麻科、苦苣苔科、菊科等植物中存在较多。该类化合物中以木犀草素和芹菜素最为常见。

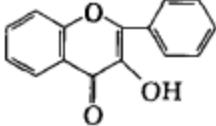


天然黄酮 A 环的 5、7 位几乎同时带有羟基，而 B 环常常在 4' 位有羟基或甲氧基，3' 位有时也有羟基或甲氧基。黄酮苷主要为 C—O—C 键的糖苷，其中有生理功能的大部分是 C7 位糖苷，也有以 C—C 键相连的，前者易水解，后者较稳定。

2. 黄酮醇类

黄酮醇类化合物经常与花色苷元伴生，含于花瓣中。该类化合物以山柰酚、槲皮素、杨梅素最为常见。黄酮醇类化合物的种类较多，每一种黄酮醇又能形成多种苷，如山柰酚可形成 31 个以上不同的苷，槲皮素可形成 36 个以上不同的苷。中药中常见的黄酮醇及其苷类见表 2-2。

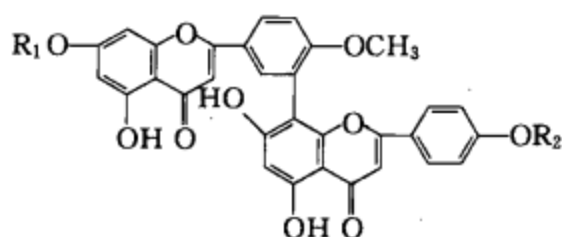
表 2-2 几种常见的黄酮醇类化合物

名 称	结构 	存在处
槲皮素	3,5,7,3',4'-五羟基	槐花米、紫菀、银杏叶、高良姜
芦丁	槲皮素-3-O-芸香糖	槐花米、荞麦叶、桑椹子
异槲皮素	槲皮素-3-O-葡萄糖	问荆、棉叶
金丝桃苷	槲皮素-3-O-β-半乳糖	满山红叶、贯叶连翘
异金丝桃苷	槲皮素-3-O-α-半乳糖	满山红叶
山柰酚	3,5,7,4'-四羟基	高良姜、银杏叶
问荆苷	山柰酚-7-O-(葡萄糖) ₂	问荆
杨梅素	3,5,7,3',4',5'-六羟基	满山红叶
桑色素	3,5,7,2',4'-五羟基	桑枝
腊梅苷	槲皮素-3-O-(葡萄糖) ₂	腊梅花
人参黄酮苷	山柰酚-3-O-半乳糖-O-二葡萄糖	人参

3. 双黄酮类化合物

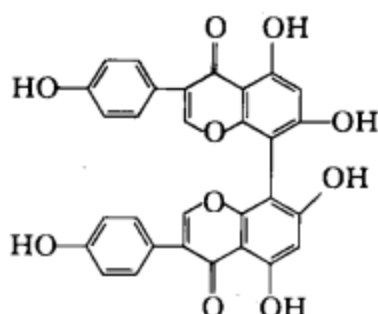
双黄酮是由两分子黄酮衍生物聚合生成的二聚物。集中分布于除松科以外的裸子植物中，尤以银杏纲为普遍，蕨类植物的卷柏属中亦有存在。根据它的结合方式可分为以下三类。

(1) 3,8'-双芹菜素型 3 位 C 与 8' 位 C 键结合，例如由银杏叶中分离出的银杏素、异银杏素和白果素等双黄酮即属此型。银杏双黄酮具有解痉、抑制肝癌细胞、降压和扩张血管的作用。

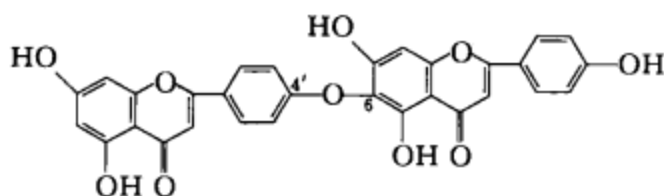


银杏素	$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{H}$
异银杏素	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3$
白果素	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}$

(2) 8,8'-双芹菜素型 8位C与8'位C键结合, 例如柏黄酮。



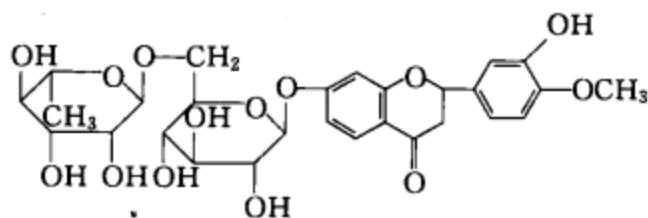
(3) 双苯醚型 由二分子芹菜素通过醚键连接而成。例如扁柏黄酮。



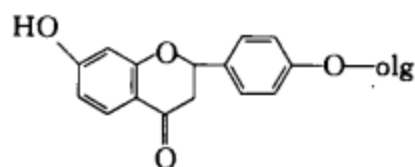
4. 二氢黄酮类化合物

二氢黄酮类主要分布于被子植物中的蔷薇科、芸香科、豆科、杜鹃花科、菊科、姜科等70余科植物中。

陈皮中的橙皮苷以及甘草中的甘草苷均为二氢黄酮类化合物。



橙皮苷

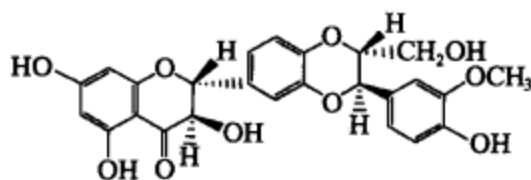


甘草苷

5. 二氢黄酮醇类化合物

二氢黄酮醇类化合物存在于裸子植物、单子叶植物姜科的少数植物中, 双子叶植物中较普遍存在, 在豆科植物中也较多。二氢黄酮是黄酮醇的还原产物, 常与相应的黄酮醇类存在于同一植物体中。

水飞蓟中的水飞蓟素具有较强的保肝作用, 临床上用于治疗急、慢性肝炎, 肝硬化及代谢中毒性肝损伤等, 取得了较好的效果。



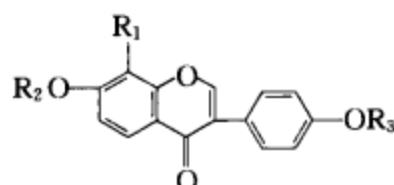
水飞蓟素

6. 异黄酮类化合物

黄酮C2上的苯基转移到C3的化合物为异黄酮。主要分布于被子植物中, 以豆科蝶形花亚科和鸢尾科植物中存在较多。

豆科植物葛根中所含的大豆素、大豆苷、大豆素-4',7-二葡萄糖苷、葛根素和7-木糖葛

根素等均属于异黄酮类化合物。



大豆素 $R_1 = R_2 = R_3 = H$

大豆苷 $R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{葡萄糖基}$

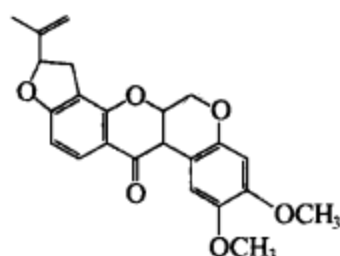
葛根素 $R_2 = R_3 = H, R_1 = \text{葡萄糖基}$

大豆素-7,4'-二葡萄糖苷 $R_1 = H, R_2 = R_3 = \text{葡萄糖基}$

7-木糖葛根素 $R_1 = \text{葡萄糖基}, R_2 = \text{木糖基}, R_3 = H$

葛根总黄酮有增加冠状动脉血流量及降低心肌耗氧量等作用。大豆素具有类似罂粟碱的解痉作用。大豆苷、葛根素及大豆素均能缓解高血压患者的头痛等症状。

毛鱼藤中所含的鱼藤酮等也属于二氢异黄酮的衍生物。鱼藤酮具有较强的杀虫作用,对蚜虫的毒性较烟碱大10~15倍,对苍蝇的毒性比除虫菊强6倍,但对人畜无害。水中鱼藤酮的浓度为 $1:1.3 \times 10^7$ 时,即可使鱼昏迷死亡。

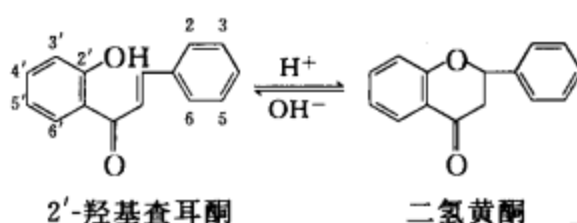


鱼藤酮

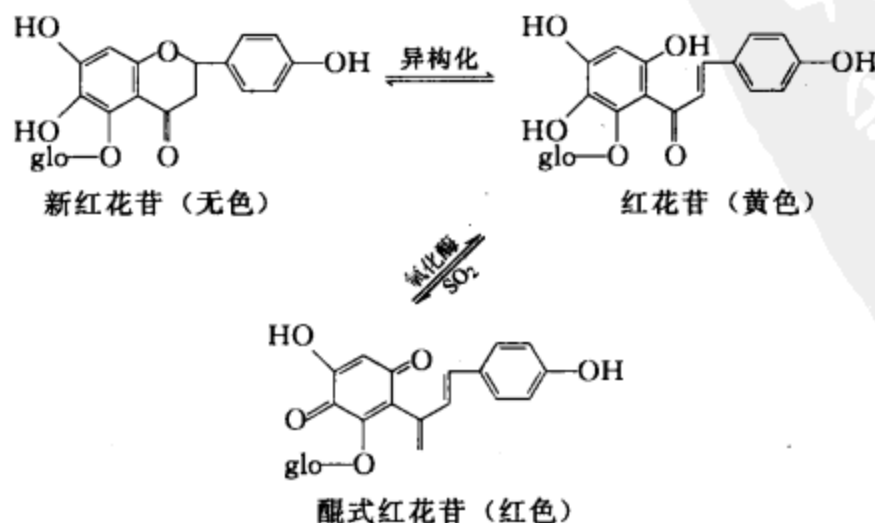
7. 查耳酮类化合物

此类化合物较多分布于菊科、豆科、苦苣苔科植物中。查耳酮的定位与其他黄酮类化合物不同。

查耳酮为苯甲醛缩苯乙酮类化合物,其2'-羟基衍生物为二氢黄酮的异构体,两者可以相互转化,在酸的作用下转为无色的二氢黄酮,碱化后又转为深黄色的2'-羟基查耳酮。



红花的花中含红花苷、新红花苷和醌式红花苷。开花初期主要含无色的新红花苷及微量的红花苷,开花中期主要含黄色的红花苷,开花后期则受酶的作用氧化变成红色的醌式红花苷。



陈皮中也存在着2'-羟基查耳酮类化合物,如柚皮苷双氢查耳酮和新陈皮苷双氢查耳酮,

前者和后者分别比蔗糖甜 300、200 倍，这为人工合成和寻找甜味剂提供了基础。

第二节 理化性质和显色反应

一、性状

黄酮类化合物多为结晶性固体，少数（如黄酮苷类、花色苷及苷元）为无定形粉末。

黄酮类化合物的颜色与分子中是否存在交叉共轭体系及助色团（ $-\text{OH}$ ， $-\text{OCH}_3$ ）的种类、数目以及取代位置有关。可见光下具有交叉共轭系统的黄酮、黄酮醇及其苷类多呈灰黄～黄色，查耳酮为黄～橙黄色，而二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮类因在分子结构中不存在交叉共轭体系，故不呈黄色，几乎为无色。如果在黄酮、黄酮醇分子中，尤其在 7 位或 4' 位引入 $-\text{OH}$ 及 $-\text{OCH}_3$ 等助色团后，产生 $p-\pi$ 共轭，促进电子重排，使共轭系统延长，而使化合物颜色加深。但 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 引入分子结构中其他位置，则对颜色影响较小。

花色苷及其苷元所显的颜色随 pH 不同而改变，一般 $\text{pH} < 7$ 显红色， $\text{pH} = 7$ 为无色， $\text{pH} = 8.5$ 显紫色， $\text{pH} > 8.5$ 显蓝色。pH 不同，可能促进结构产生可逆变化。

二、旋光性

从结构可见，二氢黄酮、二氢黄酮醇、黄烷醇、二氢异黄酮及其衍生物、紫檀素、鱼藤酮分子内含有不对称碳原子，因此具有旋光性。其余黄酮苷元无光学活性。黄酮苷类由于在结构中引入了糖分子，故均有旋光性，且多为左旋。

三、溶解性

黄酮类化合物的溶解度因结构及存在状态不同而有很大差异。

① 一般情况下，黄酮苷元难溶或不溶于水，易溶于甲醇、乙醇、氯仿、乙醚等有机溶剂及稀碱溶液。其中黄酮、黄酮醇、查耳酮等平面型分子因分子间排列紧密，分子间引力较大，故难溶于水。而二氢黄酮及二氢黄酮醇等因系非平面型分子，故排列不紧密，分子间引力降低，有利于水分子进入，因而在水中溶解度稍大。

异黄酮类化合物的 B 环受吡喃环羰基的立体阻碍，也不是平面分子，故亲水性比平面性分子强，水溶性介于平面型分子和非平面型分子之间。

花色苷类虽然也属于平面型结构，但因以离子形式存在，具有盐的通性，亲水性较强，水溶性较大。

② 黄酮类苷元分子引入羟基，将增加其在水中的溶解度，羟基引入得越多，水溶性越大；引入甲氧基或异戊烯基后，脂溶性增加，可溶于苯、氯仿或乙醚，有的甚至可溶于石油醚，一般黄酮苷元及单糖苷溶于乙酸乙酯。

③ 黄酮类化合物的羟基糖苷化后，水溶性即相应增强，脂溶性降低，一般易溶于热水、甲醇、乙醇、吡啶等强极性溶剂，而难溶或不溶于乙醚、氯仿、石油醚等有机溶剂。糖链越长，则水溶度就越大。

苷分子中糖基的数目多少和结合的位置对溶解度亦有一定的影响。一般多糖苷比单糖苷水溶性大；3-羟基苷比相应的 7-羟基苷水溶性大。

四、酸碱性

1. 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。其酸性强弱与酚羟基数目的多少和取代位置有关。例如黄酮的酚羟基酸性由

强到弱顺序是：7,4'-二羟基>7-或4'-羟基>一般酚羟基>5-羟基。

利用黄酮类化合物的这一性质可将其从混合物中提取或分离出来,可用 pH 梯度法分离黄酮类化合物。在紫外光谱鉴定黄酮结构时也可利用这一性质,确定羟基是否以游离态存在及其可能存在的位置。

2. 碱性

黄酮类化合物分子中 1 位上的氧原子有未共用电子对,故表现弱碱性,可与强无机酸如浓硫酸、盐酸等生成醚盐,该醚盐极不稳定,加水后即分解。

黄酮类化合物溶于浓硫酸中生成的醚盐常常表现出特殊的颜色,这一性质可用于黄酮类化合物的鉴别。

五、显色反应

黄酮类化合物的颜色反应主要是利用分子中的酚羟基及 γ -吡喃酮环的性质。

1. 还原显色反应

(1) 盐酸镁粉(或锌粉)反应 将样品的乙醇或甲醇溶液中加入少许镁粉(或锌粉)振摇,再滴加几滴浓盐酸,1~2min 即显出颜色。黄酮、黄酮醇类、二氢黄酮类和二氢黄酮醇类化合物一般显红色至紫红色,个别显蓝或绿色(如 7,3',4'-三羟基二氢黄酮)。分子中特别是在 B 环上有一 OH 或 $-OCH_3$ 取代时呈现的颜色随之加深。

黄酮类化合物如 3 位没有羟基或虽有羟基但被糖苷化,则显色反应不明显。花色素类及部分橙酮、查耳酮类在浓盐酸中也会产生颜色变化,所以必要时应先做一组对照实验(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,应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,或者进行对照试验排除干扰。

(2) 钠汞齐还原反应 向黄酮类化合物的乙醇溶液中加入钠汞齐,放置数分钟至数小时或加热,过滤,滤液用盐酸酸化,则黄酮、二氢黄酮、异黄酮、二氢异黄酮类显红色,黄酮醇类显黄色至淡红色,二氢黄酮醇类显棕黄色。

(3) 硼氢化钠还原反应 二氢黄酮、二氢黄酮醇类可被硼氢化钠还原生成红色至紫红色的物质。若 A 环与 B 环有一个以上 $-OH$ 或 $-OCH_3$ 取代则颜色加深。其他黄酮类均不显色,据此可与之区别。方法是取样品化合物的甲醇溶液,加等量 2% 的 $NaBH_4$ 的甲醇溶液,1min 后,再滴加浓盐酸或浓硫酸数滴,呈红色至紫红色。此法也可在滤纸上进行,先在滤纸上喷上 2% 的 $NaBH_4$ 的甲醇溶液,1min 后熏浓盐酸蒸气,则二氢黄酮类或二氢黄酮醇类的斑点被还原显色。

2. 金属盐类试剂的络合显色反应

黄酮类化合物分子中若具有 3-羟基、5-羟基、4-羰基或邻二酚羟基,则可以与铝盐、铅盐、镁盐、镉盐、锆盐等金属盐类试剂反应,生成有色的络合物。

(1) 铝盐 常用 1% 的三氯化铝或硝酸铝溶液,生成的络合物多为黄色 ($\lambda_{max}=415nm$),并有荧光,可用于定性及定量分析。

(2) 铅盐 常用试剂为 1% 的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-羟基、4-酮基或 5-羟基、4-酮基结构的化合物反应生成沉淀;碱性醋酸铅与一般酚类化合物均可生成沉淀。据此不仅可用于鉴定,也可用于提取分离。

(3) 镁盐 常用醋酸镁甲醇溶液为显色剂,可用于喷雾显色。二氢黄酮、二氢黄酮醇类可显天蓝色荧光;若有 5-羟基,色泽更明显。而黄酮、黄酮醇和异黄酮类等显黄色~橙黄

色~褐色。

(4) 锑盐 黄酮类化合物的分子中如果有邻二酚羟基, 则氯化锑在胺性甲醇溶液中可与之生成绿色~棕色乃至黑色沉淀。

(5) 锆盐 可以用来区别黄酮类化合物分子中 3-羟基或 5-羟基的存在。试剂多用 2% 的二氯氧锆 ($ZrOCl_2$) 甲醇溶液。黄酮类化合物分子中有游离的 3-羟基或 5-羟基存在时, 均可与该试剂反应生成黄色的锆络合物。若出现黄色, 说明两种络合物对酸的稳定性不同, 稳定性强弱顺序为: 3-羟基、4-酮基 (黄酮醇) > 5-羟基、4-酮基 (黄酮、二氢黄酮) > 3-羟基、4-酮基 (二氢黄酮醇)。在反应中再加入枸橼酸后, 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)。

上述显色反应也可在滤纸上进行, 得到的锆盐络合物斑点多呈黄绿色并有荧光。

3. 硼酸显色反应

具有 5-羟基的黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮及 2'-羟基查耳酮等, 在无机酸或有机酸存在条件下可与硼酸反应, 呈亮黄色。一般在草酸存在下显黄色并具有黄绿色荧光; 在枸橼酸丙酮存在条件下只显黄色而无荧光。

4. 碱性试剂显色反应

不同的黄酮类化合物在碱性溶液显色情况不同。

① 二氢黄酮类在碱性条件下开环, 易转化为查耳酮化合物, 呈橙~黄色。

② 黄酮醇类在碱液中先呈黄色, 当溶液中通入空气后, 因 3 位羟基易氧化, 溶液即转变为棕色。

③ 黄酮类化合物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, 被氧化, 由黄色→深红→棕绿色沉淀。

根据上述颜色变化情况, 可以粗略地分辨样品属于何种黄酮类化合物。也可将样品与碳酸钠水溶液或氨蒸气等碱性试剂通过纸斑反应后, 在可见光或紫外光下观察颜色变化情况来鉴别黄酮类化合物。

第三节 黄酮类化合物的提取和分离

一、提取方法

1. 溶剂提取法

黄酮苷类和极性较大的苷元, 一般可用丙酮、乙酸乙酯、乙醇、甲醇、水或某些极性较大的混合溶剂如甲醇-水 (1:1) 进行提取。大多数黄酮苷元宜用极性较小的溶剂如氯仿、乙醚、乙酸乙酯等提取, 一些多糖苷可以用沸水提取; 花青素类可加入少量酸 (0.1% 的盐酸) 提取, 但提取一般黄酮苷成分时则不应加酸, 避免发生水解。对多甲氧基黄酮类苷元用苯提取。

传统的水提法效率很低, 所以经常加入一些有机溶剂来强化提取, 其中常用的溶剂有乙醇、氨水、丙酮等。采用的手段有加热回流法、渗漉法、冷浸法等。

可以利用溶剂萃取法初步纯化黄酮类化合物, 如用乙酸乙酯萃取可富集极性大的黄酮苷元和黄酮苷成分。醇提取液用石油醚萃取, 可除去叶绿素、植物甾醇等脂溶性杂质。有时提取液用石油醚萃取除去脂溶性杂质后, 直接以乙酸乙酯萃取制备总黄酮。

2. 碱提酸沉法

黄酮苷类成分大多具有酚羟基, 故可用碱性水溶液或碱性稀醇提取, 再将碱溶液提取液

调成酸性,黄酮苷类即可析出。此法简便易行,如用于橙皮苷、芦丁、黄芩苷的提取。5%的氢氧化钠稀乙醇液浸出效果好,但浸出液酸化后,析出的黄酮类化合物在稀醇中有一定的溶解度,降低了产品收率。稀氢氧化钠水溶液浸出能力强,但浸出杂质较多,如将其浸出液酸化,迅速过滤(30min内),先析出的沉淀物多半是杂质;滤液中再析出的沉淀物可能是较纯的黄酮类化合物。石灰水的浸出效果不如稀氢氧化钠水溶液,且有些黄酮类化合物能与钙结合成不溶性物质,不被溶出。但可使含有多羟基的鞣质或含有羧基的果胶、黏液质等水溶性杂质生成钙盐沉淀,不被溶出,有利于浸出液的纯化(如芦丁的提取)。

用此法提取时,为了防止结构变化和提高收率,应当注意所用的碱浓度不宜过高,以免在强碱下加热时破坏黄酮类化合物母核。酸化时,避免酸性过强,以免析出的黄酮化合物生成盐重新溶解,降低产品收率。当有邻二酚羟基时,可加硼酸保护。

3. 酶法

中药制剂的杂质大多为淀粉、果胶、蛋白质等,针对杂质可选用合适的酶予以分解除去。酶反应较温和地将植物组织分解,可以较大幅度地提高收率,故酶解不失为一种最大限度从植物体内提取有效成分的方法。酶法提取成本低,耗能低,是一项很有前途的新技术。

4. 微波辅助提取法

微波辅助提取法是利用微波能来提高萃取率的一种新技术。它的原理是在微波场中,由于吸收微波能力的差异使得基体物质的某些区域或萃取体系中的某些组分被选择性加热,从而使得被萃取物质从基体或体系中分离,进入到介电常数较小、微波吸收能力相对差的萃取剂中。具有选择性高、加热时间短、加热均匀、产品质量好、较易实现自动化控制等一系列优点,其应用已受到科技工作者的广泛关注,近几年在这方面的研究较多。

5. 超声波提取法

超声波提取法是利用超声波产生的机械振动作用和空化作用破坏植物细胞,加速有效成分的释放与溶出的一种新方法。早在20世纪50年代,人们就把超声波用于提取花生油、鱼油、啤酒中的苦味素、动物组织浆中的夷质等,证明超声条件下可明显缩短提取时间,提高提取率。此法操作简便快速,无需加热,经济,高效,省时,选择性好,且结构不被破坏。已应用于银杏黄酮、甘草黄酮、水芹黄酮、山楂黄酮、杭白菊总黄酮以及黄芩苷、橘皮苷、芦丁、淫羊藿苷、橙皮苷、甘草酸等的提取。

6. 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法(SCFE)是以超临界CO₂为萃取剂,近20年应用于黄酮化合物提取的方法。超临界CO₂萃取法在近常温的条件下提取,提取产率高,产品不含有害物质,产品纯度高,收率高,操作简单,对环境无污染。目前已用于银杏叶、蜂胶黄酮等的提取。

SCFE技术对于提取分离挥发性成分、脂溶性物质、高热敏性物质以及贵重药材的有效成分显示出独特的优势。但SCFE设备属高压设备,一次性投资较大,运行成本高,因此这一技术在工业生产中尚未普及。

二、分离方法

黄酮类化合物的分离主要包括两方面:一是黄酮类化合物与非黄酮类化合物的分离,二是黄酮类化合物中的单体分离。单体分离主要靠各种色谱法,除经典的柱色谱法、薄层色谱和纸色谱法仍然常用外,近几年来又应用了各种新的色谱方法,如HPLC、HSCCC、离心薄层等。

1. 梯度pH萃取法

梯度pH萃取法适合于酸性强弱不同的游离的黄酮苷元的分离。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,将混合物溶于有机溶剂后,依次用5%的 NaHCO_3 (萃取出7,4'-二羟基黄酮)、5%的 Na_2CO_3 (萃取出7-或4'-羟基黄酮)、0.2%的 NaOH (萃取出具有一般酚羟基黄酮)、4%的 NaOH (萃取出5-羟基黄酮)萃取而达到分离的目的。

2. 柱色谱法

柱色谱法是分离黄酮类化合物的常用方法。柱填充剂有硅胶、聚酰胺、葡聚糖凝胶、氧化铝和大孔树脂等,其中以硅胶、聚酰胺最常用。

(1) 硅胶柱色谱 硅胶柱色谱主要适用于分离异黄酮、二氢黄酮、二氢黄酮醇及高度甲醚化的羟基黄酮及黄酮醇类,常用的洗脱溶剂系统有氯仿-丙酮、氯仿-甲醇、石油醚-丙酮、石油醚-乙酸乙酯等。少数情况下,加水去活化后也用于分离极性较大的多羟基黄酮醇及其苷类。

(2) 聚酰胺柱色谱 聚酰胺对黄酮类化合物有较好的分离效果。其吸附强度主要取决于黄酮类化合物分子中羟基的数目和位置、连接糖的数目以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,包括黄酮苷及苷元、二氢黄酮、查耳酮、异黄酮类等。

黄酮类化合物从聚酰胺柱上洗脱时有下述规律。

① 苷元相同,连接糖苷数目越多,吸附越弱。洗脱先后顺序一般是:三糖苷、双糖苷、单糖苷、苷元。

② 不同类型黄酮化合物的洗脱先后顺序一般是:异黄酮、二氢黄酮醇、黄酮、黄酮醇。

③ 分子中芳香核、共轭双键多者易被吸附,因此,查耳酮往往比相应的二氢黄酮醇难于洗脱。

④ 母核上羟基越多,越难洗脱。当分子中羟基数目相同时,羟基位置对吸附也有影响,聚酰胺对处于羟基间位或对位的羟基吸附力大于邻位羟基,故洗脱顺序为:具有邻位羟基的黄酮先于具有对位(或间位)羟基的黄酮。

(3) 氧化铝柱色谱 氧化铝对黄酮类化合物吸附力很强,特别是具有3位或5位游离羟基、4-羰基及邻二酚羟基结构的黄酮类化合物与铝产生螯合物难以洗脱,所以很少应用。但是有时对3位和5位没有羟基的黄酮类化合物,或虽有上述结构但羟基已被甲基化时,往往也可用氧化铝柱分离。例如葛根中四种异黄酮的分离。

(4) 葡聚糖凝胶柱色谱 对于黄酮类化合物的分离,主要使用Sephadex G型凝胶和Sephadex LH-20型凝胶。分离苷元时主要靠吸附作用,因吸附力的强弱不同而分离。凝胶对苷元的吸附程度取决于游离酚羟基的数目,但分离黄酮苷时主要靠分子筛起主导作用。在洗脱时,黄酮苷类一般是按分子量由大到小的顺序洗出柱体。

黄酮类化合物从Sephadex LH-20柱上洗脱时有下述规律。

① 黄酮苷 苷元相同或相近,连接糖数目越多,吸附越弱。洗脱先后顺序一般是:叁糖苷、双糖苷、单糖苷、苷元。

② 游离黄酮 母核上酚羟基越多,吸附越强,后被洗脱。

(5) 大孔吸附树脂柱色谱 大孔吸附树脂柱色谱法主要用于黄酮类化合物富集和总黄酮的制备。大孔吸附树脂是一种不含离子交换基团、具有大孔网状结构的高分子吸附剂,其骨架结构主要有苯乙烯、丙烯酸酯、丙烯腈、异丁烯等,兼有吸附性和分子筛的作用。吸附性是由范德瓦尔斯引力或产生氢键的结果;分子筛作用是由多孔性结构决定的。

由于骨架不同,树脂的极性也不同,通常分为非极性树脂、弱极性树脂和极性树脂。目前国内外已有很多厂家生产商品树脂,国外主要有XAD系列(美国)、Diaion HP和SP系

列(日本)、Posapak 系列及 Chromosorb 系列等,国内亦有多种型号。常用的型号有 D101、DA201、NKA-9、AB-8、X-5、LD605、XDA-1 以及进口的 HP、SP、HPMG、XAD 系列等。

洗脱剂可以用乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯等,一般常用乙醇-水或甲醇-水系统进行梯度洗脱。用 70% 的乙醇可洗脱黄酮及苷类,如葛根总黄酮、银杏黄酮醇的制备。

大孔吸附树脂物理化学性质稳定,不溶于水、酸、碱及有机溶剂,热稳定性较好,可在 150℃ 以下使用。具有吸附性能好、效率高、能重复使用、再生容易等优点。

3. 薄层色谱法

薄层色谱法主要用于黄酮类化合物的鉴定。制备薄层色谱可用于微量成分的分离,分离效果一般较柱色谱好。

硅胶薄层是目前分离与鉴定黄酮类化合物采用较多的一种方法。用硅胶 G 薄层和混合溶剂甲苯-甲酸甲酯-甲酸 (5:4:1) 分离黄酮苷效果较好,不仅可以将黄酮苷元分离开,而且某些结构近似的化合物也可以得到分离。

聚酰胺薄层特别适合于含游离酚羟基的黄酮及其苷类的分离和鉴定。聚酰胺对黄酮类化合物吸附能力较强,故展开剂需要较强的极性。常用的展开剂有乙醇-水 (3:2)、水-乙醇-甲酸-乙酰丙酮 (10:3:2:1)、水-乙醇-乙酰丙酮 (4:2:1)、水饱和的正丁醇-醋酸 (100:1, 100:2) 等。

4. 高效液相色谱法

高效液相色谱 (HPLC) 不仅适用于结构相近的黄酮化合物的分离,更广泛用于黄酮化合物的定性定量测定、指纹图谱测定等。

用于此法分离黄酮类化合物的流动相有甲醇-水、乙腈-水-四氢呋喃、甲醇-0.5% 醋酸水溶液。高效液相色谱在黄酮苷分离中取得较好的效果。如反相柱 SenshuPak Pegasil ODS (20mm×150mm, 5μm), 用 40% 甲醇作流动相,可将土茯苓中四个二氢黄酮醇苷的非对映异构体分开。

HPLC 法具有速度快、自动化程度高、分离效果较理想等特点,但考虑到其分离成本较高,更多的是用于黄酮类化合物的定性检测、定量分析或少量样品的制备等。

5. 高速逆流色谱法

高速逆流色谱是一种液-液分配色谱分离技术,被分离物质根据其在两相溶剂中的分配系数的不同而达到分离。可用于极性物质的制备和分离纯化。高速逆流色谱主要用于异黄酮及其苷类、多羟基黄酮、儿茶素类、花色苷等物质的分离。

此法常用的溶剂系统有:分离黄酮、黄酮醇用氯仿-甲醇-水 (4:3:2 或 5:10:5)、氯仿-甲醇-正丁醇-水 (5:0.5:3:1);分离黄酮或黄酮苷类用氯仿-甲醇-水 (7:13:8 或 8:10:5)、正己烷-正丁醇-甲醇-水 (1:4:2:6);分离儿茶碱类可用乙酸乙酯-乙醇-水 (25:1:25 到 10:1:10)、正己烷-乙酸乙酯-水 (1:4:5 或 1:9:10);分离异黄酮及苷类可用乙酸乙酯-正丁醇-水 (2:1:3)、乙酸乙酯-乙醇-正丁醇-水 (30:10:6:50)、正己烷-氯仿-甲醇-水 (1:3:3:2)、乙酸乙酯-乙醇-水 (5:1:5) 等。

第四节 黄酮类化合物的结构鉴定

目前,黄酮类化合物的结构鉴定主要应用谱学手段,理化鉴别对判断化合物类型有一定的辅助作用。核磁共振谱和质谱已成为黄酮类化合物结构鉴定的重要方法。CD 谱多用于研

究黄酮类化合物的立体结构。在无核磁可用的情况下,可用紫外光谱判断化合物的结构类型和羟基取代情况。

一、紫外光谱

紫外吸收光谱 (UV) 是黄酮类化合物结构分析中重要的技术之一。使用紫外吸收光谱技术可以帮助鉴定黄酮类化合物的类型并确定氧化模式。并且,可通过在样品溶液中加入各种诊断试剂,观察吸收峰移动的情况,判断黄酮类化合物分子上未被取代的位置。常用诊断试剂有甲醇钠、醋酸钠、醋酸钠和硼酸、三氯化铝以及三氯化铝与盐酸。

多数黄酮类化合物的甲醇溶液在 200~400nm 区域内存在两个主要的吸收带,称为峰带 I (300~400nm) 和峰带 II (240~280nm),根据峰位及形状推断黄酮类化合物结构类型(见表 2-3)。分子中取代基的性质、位置和数目决定吸收带的波长、强度和波形,有的除主带外还伴有肩峰或双肩峰。

表 2-3 黄酮类化合物在甲醇溶液中的紫外光谱特征

黄 酮 类 型	UV/nm		谱 形
	峰带 I	峰带 II	
黄酮	240~280	304~350	峰带 I、峰带 II 等强峰
黄酮醇	240~280	352~385	
黄酮醇(3-OH 被取代)	240~280	328~357	
查耳酮	220~270	340~390	峰带 I 强峰
橙酮	220~270	370~430	峰带 II 次强峰
异黄酮	245~270		峰带 II 主峰
二氢黄酮、二氢黄酮醇、二氢查耳酮	270~295		峰带 I 弱(肩峰)

由于诊断试剂引起的位移受许多因素的影响,而总结的位移特征是经验规律,有些化合物可能出现例外,因此,需结合其他手段进行结构鉴定。

二、核磁共振谱

核磁共振谱 (NMR) 是测量原子核对射频辐射的吸收,仅在高磁场中才能产生。 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 是鉴定黄酮类化合物结构类型、确定取代基的位置和进行结构研究的有效方法。尤其是 ^{13}C NMR,它能够确定结构中三个环的氧化型、甲氧基的数目和位置、糖的个数及 α 或 β 型的连接方式、碳氢侧链等,提供黄酮类化合物的结构信息。

1. ^1H NMR

黄酮类化合物核磁共振谱一般用氘代氯仿、氘代二甲基亚砜 ($\text{DMSO}-d_6$)、氘代吡啶 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 为溶剂进行测定。

没有制成衍生物的黄酮类化合物常用无水 $\text{DMSO}-d_6$ 作溶剂。它不仅溶解范围广泛,而且各质子信号的分辨率高,并给出酚羟基活泼质子信号。还可以加入 D_2O ,利用羟基 H 峰来判断羟基的数量。此外,也可将黄酮类化合物制成三甲基硅醚衍生物,溶于四氯化碳中进行测定。

在 ^1H NMR 中, A 环质子在高场 $\delta=6.0\sim7.0$ (5-H 除外,因为受酮基的去屏蔽影响,在 $\delta\approx8$ 的低场); B 环质子在低场 $\delta=6.5\sim8.0$, 2'-H 和 6'-H 受 C 环去屏蔽作用,在较低场 $\delta=7.0\sim8.0$, 如果有 3-OH 的影响, δ 值将进一步向低场偏移 0.2~0.3。如果 C 环 2、3 位被氢化,则使 2'-H 和 6'-H 的 δ 值向高场位移 0.6 左右。此外, B 环上的质子化学位移还受环上含氧取代基对邻位质子的屏蔽效应的影响。一些黄酮类化合物 B 环质子的化学位移见表 2-4。

表 2-4 黄酮类化合物 B 环质子的化学位移 ($\delta/J \cdot \text{Hz}^{-1}$)

类 型	2'-H	6'-H	3'-H	5'-H
4'-H 氧取代黄酮	7.70~7.90(d, $J=8.5$)		6.50~7.10(d, $J=8.5$)	
4'-H 氧取代黄酮醇	7.90~8.10(d, $J=8.5$)		6.50~7.10(d, $J=8.5$)	
4'-H 氧取代黄酮醇	7.10~7.30(d, $J=8.5$)		6.50~7.10(d, $J=8.5$)	
4'-H 氧取代黄酮醇	7.20~7.40(d, $J=8.5$)		6.50~7.10(d, $J=8.5$)	
3',4'-二氧取代黄酮	7.20~7.30 (d, $J=8.5$)	7.30~7.50 (q, $J, J=8.5, 2.5$)		6.70~7.10 (d, $J=8.5$)
3',4'-二氧取代黄酮醇	7.50~7.70 (d, $J=8.5$)	7.60~7.90 (q, $J, J=8.5, 2.5$)		6.70~7.10(d, $J=8.5$)
3',4',5'-三羟基黄酮	6.50~7.50(s)			

在 ^1H NMR 中, 质子间的耦合方式是非常重要的信息, 常常根据质子间的耦合关系推定取代基位置。酚羟基乙酰化后, 分别使得邻间位质子信号向低场位移约 0.15、0.5, 可据此推断羟基位置。

2. ^{13}C NMR

黄酮类化合物各碳的化学位移主要出现在 40~200, 骨架类型的判断可以根据 C 环上三个碳核信号的化学位移和它们在偏共振去偶谱中的裂分情况或 DEPT 谱进行分析判断。

^{13}C NMR 能够通过羰基碳的化学位移值判定黄酮的结构中 2、3 位有无双键、3 位有无醇羟基或 A 环 5 位有无酚羟基, 还可以判断糖苷的类型和糖的端基碳原子构型等。

黄酮类化合物的 ^{13}C NMR 多采用 $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ 混合溶剂或 $\text{DMSO}-d_6$ 测定。二维核磁共振技术如 HMBC、HMQC 等也应用于黄酮体结构的鉴定, 并取得了较好的效果。

根据黄酮类化合物的 ^{13}C NMR 基本数据, 可提供的主要结构信息有: ①黄酮的类型; ②碳原子的总数、母核上含氧碳原子的数目和糖基上碳原子的数目; ③与 C (或 O) 连接的糖和 C 连接的糖的位置; ④糖与糖的连接位置。

三、质谱

质谱法是鉴定复杂分子结构的重要方法之一。目前, 色质联用技术 (LC/MS) 已成为一种分析天然产物化学等复杂体系中化学成分的强有力工具, 且将分离和结构鉴定有效地结合。利用质谱不仅可以获得分子量, 而且利用碎片离子可以获得一些结构特征的信息, 尤其借助配有碰撞诱导解离的多级串联质谱还可以获得更为详细而系统的结构信息, 可实现黄酮等天然产物的在线结构鉴定。

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, 常常成为基峰。但在测定黄酮苷类化合物时在 EI-MS 谱中看不到离子峰, 需要制成甲基化或三甲基硅烷化衍生物才能在 EI-MS 谱中看到分子离子峰, 或直接利用电喷雾质谱 (ESI-MS)、快速原子轰击质谱 (FAB-MS)、场解析质谱 (FD-MS) 等软电离质谱技术测定, 即可获得非常强的分子离子峰或准分子离子峰 $(\text{M}+\text{H})^+$ 。另外, 还可以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, 为黄酮类化合物的结构鉴定提供便利。

根据黄酮类化合物的质谱分析可获得的主要结构信息有: ①黄酮苷元的结构; ②黄酮苷中糖的类型 (单糖、二糖、三糖或四糖, 六碳糖、去氧六碳糖或五碳糖) 或其他取代基的存在; ③取代基在苷元上的位置; ④多糖链各个糖的连接顺序; ⑤末端单糖的立体化学归属。

第六章 糖 和 糖 苷

糖类化合物 (saccharide) 又称碳水化合物 (carbohydrates), 在自然界分布很广, 是生物体内最基本的物质之一。在生物体内不仅作为能量来源或结构材料, 更重要的是参与了生命现象中细胞的各种活动, 具有多种多样的生物学功能。某些具有高度特异序列的多糖可作为病毒、细菌和寄生物的特异受体, 并作为自身免疫和异体免疫反应的抗原。多糖与维持生物机能密切相关, 同时在抗肿瘤、抗病毒、降血糖和抗衰老等方面发挥着重要作用。

从化学结构上看, 糖类化合物是多羟基醛 (酮) 及多羟基醛 (酮) 的缩聚物。苷是由糖或糖的衍生物如糖醛酸、氨基糖等与非糖物质通过糖的端基原子连接而成的化合物, 其中非糖部分称为苷元或配基 (aglycone)。黄酮苷、氰苷、强心苷等均为常见的糖苷。

第一节 结构与分类

一、糖的结构与分类

根据糖分子水解反应的情况, 可将其分为单糖、低聚糖和多糖。

单糖: 不能水解的糖称单糖。如葡萄糖、鼠李糖、甘露糖、果糖等。

低聚糖: 水解后能够生成十个以下单糖分子的糖。如蔗糖、乳糖、麦芽糖等。

多糖: 水解后能生成几十到几千个单糖分子的糖。如淀粉、纤维素等。

单糖在水溶液中可以环状 (α -, β -) 和链状两种结构形式存在, 处于链状结构时可用 Fischer 式表示, 处于环状结构时可用 Haworth 式表示。单糖成环后新形成的一个不对称碳原子称为端基碳 (anomeric carbon), 生成的一对差向异构体 (anomer) 有 α 、 β 两种构型。从 Haworth 式看半缩醛羟基与决定构型的羟基处于环同侧的为 α 型, 异侧的为 β 型。

二、糖苷的结构与分类

前已述及, 糖苷是由糖和苷元两部分组成的, 糖端基碳与苷原子之间连接的键称为苷键。在苷的生成过程中, 糖端基碳上的羟基通常与苷元分子中的羟基、羧基、氨基、巯基或活泼氢原子等不同基团缩合脱水, 因而在苷的分子中, 苷键部分常含有氧、氮、碳等不同的原子, 称为苷 (键) 原子。

构成苷类分子常见的糖为单糖或双糖。其中单糖最常见的是葡萄糖, 此外还有鼠李糖 (rhamnose)、阿拉伯糖 (arabinose)、半乳糖 (galactose)、甘露糖 (mannose)、果糖 (fructose) 等。与苷元连接的双糖常见的有芸香糖 (rutinose)、槐糖 (sophorose)、樱草糖 (primverose)、新橙皮糖 (neohesperidose) 等。苷的共性在糖部分, 而组成苷的苷元部分结构类型差别很大, 这也是苷种类繁多的主要原因。常见的如苯环或芳稠环、苯并吡喃 (酮)、内酯、萜类、甾体、生物碱、木脂素等均可作为苷元, 它们性质各异, 是非常重要的天然化学成分。

糖苷的分类方法有以下几种。

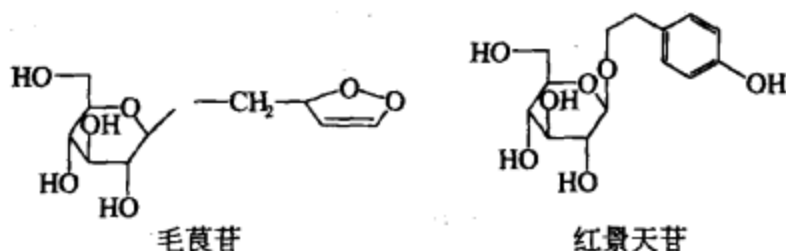
1. 按苷原子不同分类

根据苷键原子的不同, 可以将糖苷分为氧苷 (O-苷)、氮苷 (N-苷)、硫苷 (S-苷)、碳

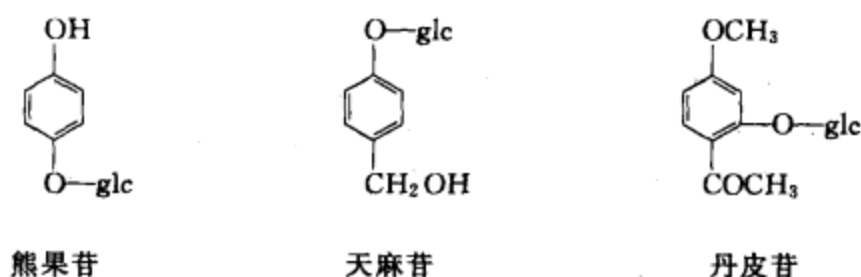
苷 (C-苷) 等, 其中氧苷最为常见。

(1) 氧苷 苷元通过氧原子和糖相连接而成的苷称为氧苷。氧苷是数量最多、最常见的糖苷类化合物。根据形成苷键的苷元羟基类型不同, 又可分为醇苷、酚苷、酯苷和氰苷等, 其中以醇苷和酚苷居多, 酯苷较少见。

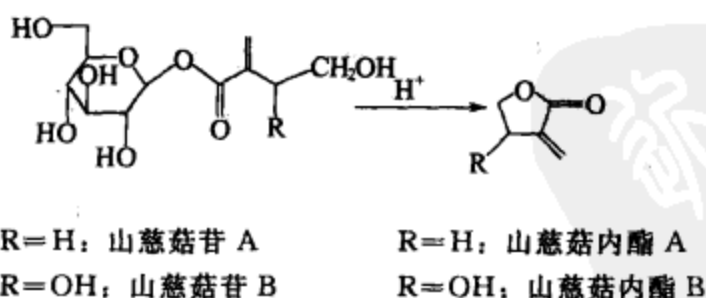
① 醇苷 是通过醇羟基与糖端基羟基脱水而成的苷。如具有杀虫、抗菌作用的毛茛苷 (ranunculin)、具有强壮和增强适应能力的红景天苷 (rhodioloside) 等。醇苷的苷元以萜类和甾醇类化合物居多。



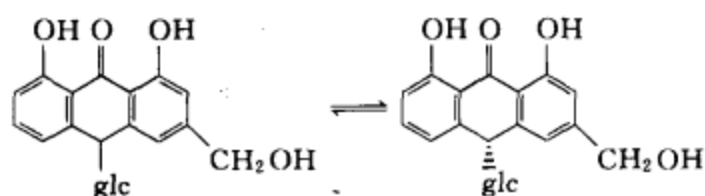
② 酚苷 是通过酚羟基与糖端基羟基脱水缩合而成的苷。如天麻中的镇静成分天麻苷 (gastrodin)、丹皮中的丹皮苷 (paeonolide) 及熊果苷等。



③ 酯苷 苷元以羧基和糖缩合而成的是酯苷, 其苷键既有缩醛的性质又有酯的性质, 易为稀酸和稀碱所水解。如具有抗真菌活性的山慈菇苷 A 和山慈菇苷 B (tuliposide A, B), 水解后苷元立即环合成山慈菇内酯 A 和山慈菇内酯 B (tulipalin A, B)。



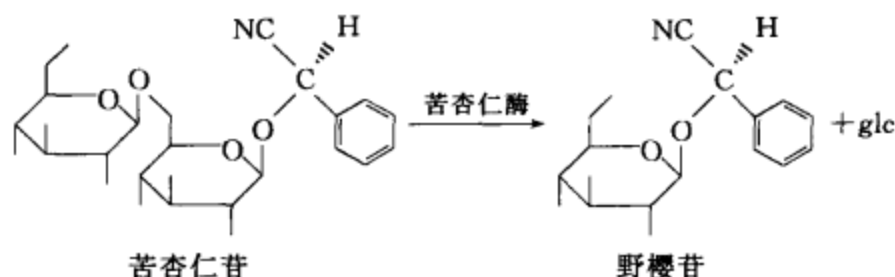
④ 氰苷 是指一类含 α -羟腈的苷, 数目不多, 但分布广泛, 现已发现的有 50 余种。这种苷易水解, 尤其是在有稀酸和酶催化时水解更快, 生成的苷元 α -羟腈很不稳定, 立即分解为醛 (酮) 和氢氰酸。在浓酸作用下, 苷元中的 $-\text{CN}$ 易氧化成 $-\text{COOH}$, 并产生 NH_4^+ ; 在碱性条件下, 苷元容易发生异构化而生成 α -羟基羧酸盐。常见的有苦杏仁苷 (amygdalin) 和野樱苷 (prunasin)。苦杏仁苷是原生苷, 水解后生成的野樱苷是次生苷。



芦荟苷

2. 按生物体内的存在形式分类

在植物体内原本存在的苷称为原生苷，如苦杏仁苷。原生苷水解掉一个糖或结构发生改变形成的苷称为次级苷，如野樱苷。

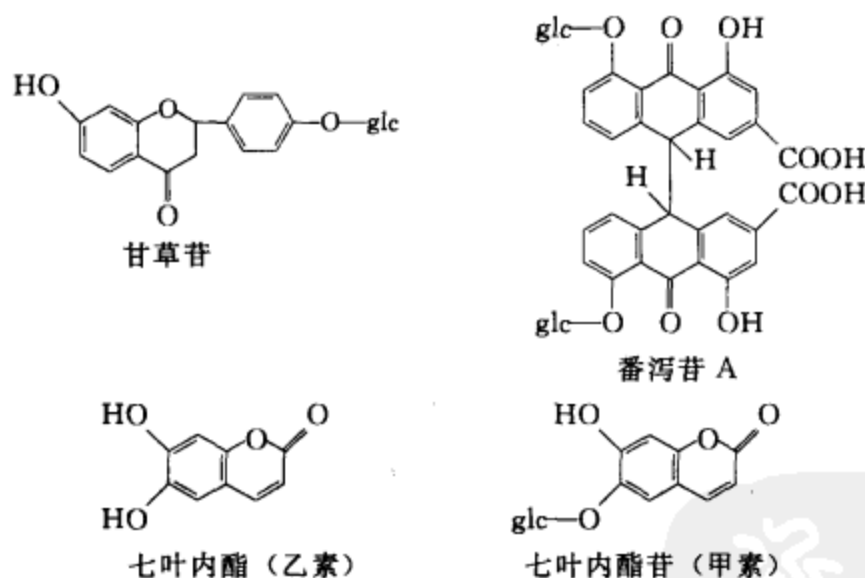


苦杏仁苷

野樱苷

3. 按苷元不同分类

根据苷元的结构可分为黄酮苷、氰苷、木脂素苷、蒽醌苷、香豆素苷等。如甘草苷（黄酮苷）、番泻苷 A（蒽醌苷）、七叶内酯苷（香豆素苷）、苦杏仁苷（氰苷）等。



甘草苷

番泻苷 A

七叶内酯 (乙素)

七叶内酯苷 (甲素)

另外还有按端基碳构型分类的 α -糖苷和 β -糖苷、按连接的单糖个数分类的单糖苷、双糖苷、三糖苷等。

第二节 糖和糖苷的性质

一、物理性质

1. 性状

糖苷类化合物多数是固体，其中糖基少的可以成结晶，糖基多的如皂苷则多为具有吸湿性的无定形粉末。糖苷一般无味，但也有很苦的和有甜味的，如人参皂苷有苦味，而从甜叶菊的叶子中提取得到的甜菊苷 (stevioside) 比蔗糖甜 300 倍。苷类化合物的颜色由苷元的性质决定，糖部分没有颜色。

2. 溶解性

在中药各类化学成分中，苷类属于极性较大的物质，在甲醇、乙醇、含水正丁醇等极性

大的有机溶剂中有较大的溶解度，一般也能溶于水，而苷元一般呈亲脂性。

苷类由于糖基的引入，结构中增加了亲水性的羟基，因而亲水性增强。其亲水性与糖基的数目有密切的关系，往往随着糖基的增多而增大，大分子苷元（如甾醇等）的单糖苷常可溶于低极性的有机溶剂。如果糖基增多，则苷元占的比例相应变小，亲水性增加，在水中的溶解度也就增加。因此，用不同极性的溶剂顺次提取药材时，在各提取部分都有发现苷类化合物的可能。

碳苷的溶解性较为特殊，和一般苷类不同，无论是在水还是在其他溶剂中，碳苷的溶解度一般都较小。

3. 旋光性

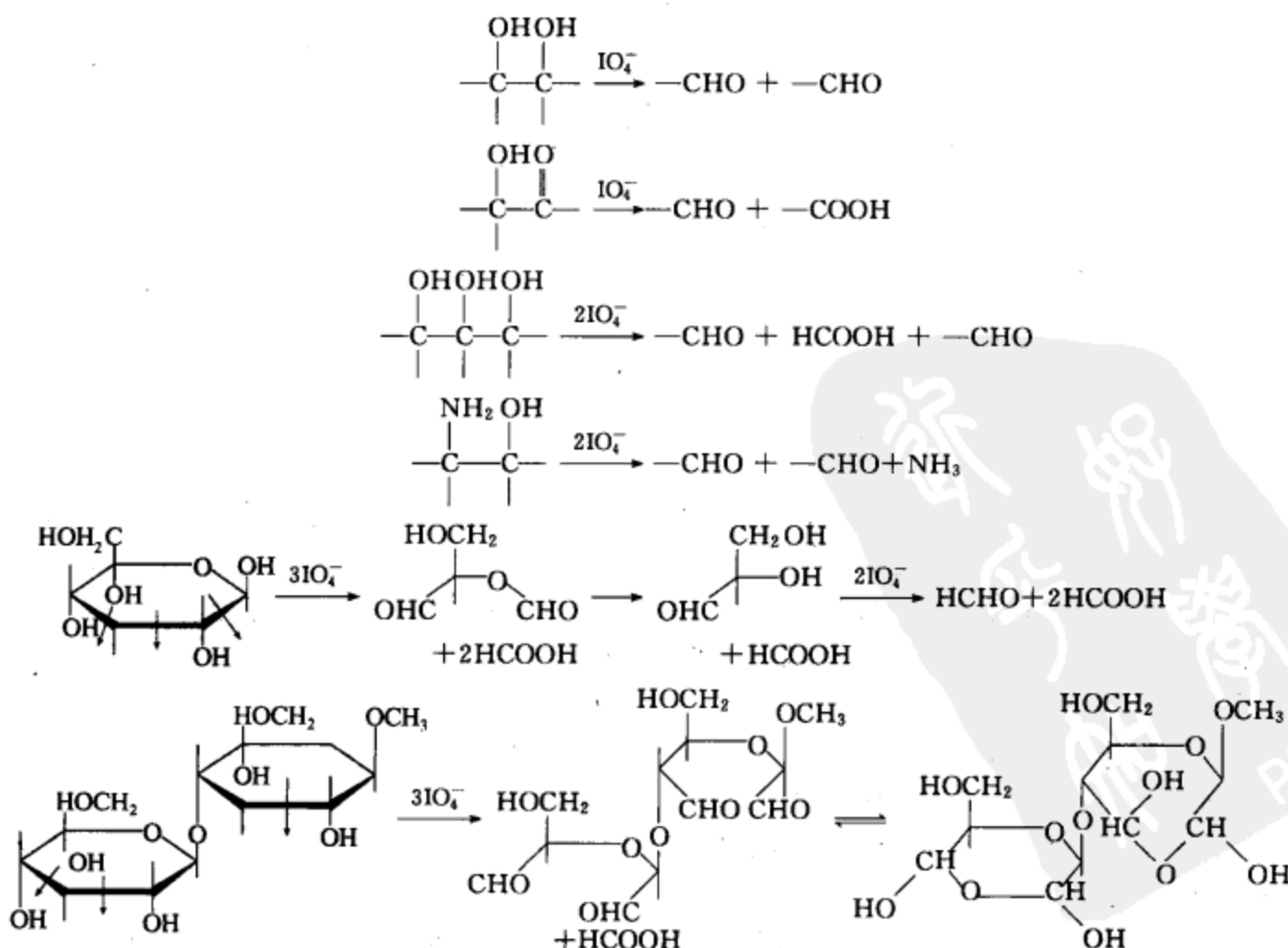
多数苷类化合物呈左旋，但水解后，由于生成的糖常是右旋的，因而使混合物呈右旋。因此，比较水解前后旋光性的变化也可以用以检识苷类化合物的存在。但必须注意，有些低聚糖或多糖的分子也都有类似的性质，因此一定要在水解产物中确定苷元的有无，才能判断苷类的存在。

二、化学性质

1. 氧化反应

单糖分子中有醛（酮）、醇羟基和邻二醇等结构，均可以与一定的氧化剂发生氧化反应，一般都不无选择性。但高碘酸和四醋酸铅的选择性较高，一般只作用于邻二羟基上。以高碘酸氧化反应为例。

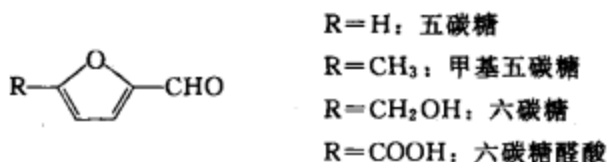
高碘酸反应作用缓和，选择性高，限于同邻二醇、 α -氨基醇、 α -羟基醛（酮）、邻二酮和某些活性次甲基上，基本反应如下：



作用机理：先生成五元环状酯的中间体。在酸性或碱性介质中，高碘酸以一价的 H_2IO_5^- （水合离子）作用。上述机理可以解释在弱酸或中性介质中，顺式 1,2-二元醇比反式的反应快得多，因为顺式结构有利于五元环中间体的形成。另外，有些结构刚性较强，使得反式邻二醇固定在环的两侧而无扭转的可能，此时虽有邻二醇也不能发生高碘酸反应。因此，对阴性结果的判断应慎重。

2. 糠醛形成反应 (Molish 反应)

单糖在浓酸作用下失去三分子水，生成具有呋喃环结构的糠醛类化合物。多糖则在硫酸存在下先水解成单糖，再脱水生成同样的产物。由五碳糖生成的是糠醛 ($\text{R}=\text{H}$)，甲基五碳糖生成的是 5-甲基糠醛 ($\text{R}=\text{Me}$)，六碳糖生成的是 5-羟甲基糠醛 ($\text{R}=\text{CH}_2\text{OH}$)。

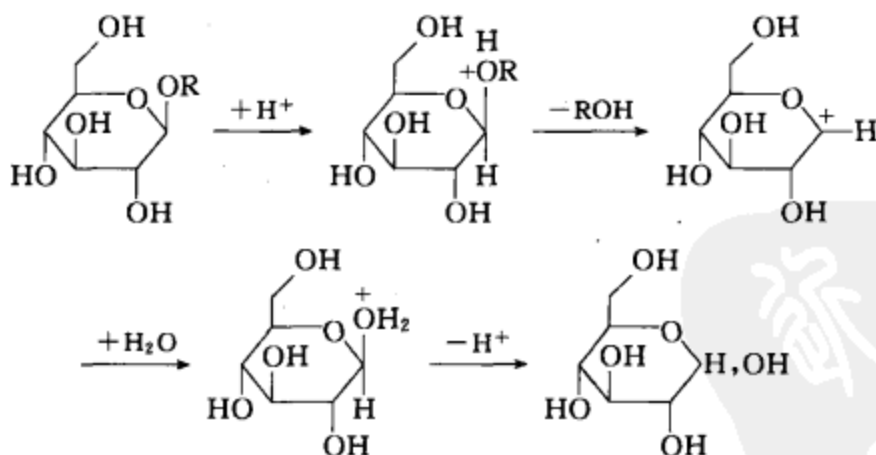


糠醛衍生物可与许多芳胺、酚类化合物缩合形成有色物质，可用于糖的显色和鉴别。

3. 苷键的裂解

苷键的裂解反应是一类研究多糖和苷类化合物的重要反应。通过该反应可以将苷键切断，从而更方便地了解苷元的结构、所连糖的种类和组成、苷元与糖的连接方式以及糖与糖的连接方式。常用的方法有酸水解法、碱水解法、酶水解法、氧化开裂法等。

(1) 酸催化水解法 糖苷键属于缩醛结构，易为稀酸催化水解。反应一般在水或稀醇溶液中进行。常用的酸有盐酸、硫酸、乙酸和甲酸等。糖苷发生酸催化水解反应的机理是：糖苷键原子首先发生质子化，然后苷键断裂生成苷元和糖的正碳离子中间体，在水中正碳离子经溶剂化，再脱去氢离子而形成糖分子。下面以氧苷中的葡萄糖苷为例，说明其反应历程。



从上述反应机理可以看出，影响水解难易程度的关键因素在于苷键原子的质子化是否容易进行，有利于苷原子质子化的因素就可使水解容易进行。主要包括两个方面的因素：苷原子上的电子云密度以及苷原子的空间环境。具体到化合物的结构，则有以下规律。

① 按苷键原子的不同，酸水解难易程度为： $\text{N} > \text{O} > \text{S} > \text{C}$ 。原因： N 最易接受质子，而 C 上无未共享电子对，不能质子化。

② 呋喃糖苷较吡喃糖苷易水解，水解速率大 50~100 倍。原因：五元呋喃环中取代基处在重叠位置，形成水解中间体可使张力减小，有利于水解。

③ 酮糖较醛糖易水解。原因：酮糖多呋喃环结构，且端基上接大基团 $-\text{CH}_2\text{OH}$ ，水解反应可使张力减小。

④ 吡喃糖苷中，吡喃环 $\text{C}5$ 上取代基越大越难水解，故：五碳糖 $>$ 甲基五碳糖 $>$ 六碳糖 $>$

七碳糖>5位接-COOH的糖。原因：吡喃环C5上的取代基对质子进攻有立体阻碍作用。

⑤ 反应活性顺序为：2-去氧糖>2-羟基糖>2-氨基糖。原因：2位羟基对苷原子的吸电子效应及2位氨基对质子的竞争性吸引。

⑥ 芳香类糖苷（如酚苷）因苷元部分有供电子结构，水解比脂肪类糖苷（如蒽苷、甾苷等）容易得多。某些酚苷如蒽醌苷、香豆素苷不用酸，只加热也可能水解。即芳香苷>脂肪苷。原因：苷元的供电子效应使苷原子的电子云密度增大。

⑦ 苷键类型对糖苷水解有一定的影响。苷元为小基团者，苷键为平伏键的比苷键为直立键的易水解，因为平伏键上的原子易于质子化；苷元为大基团者，苷键为直立键的比苷键为平伏键的易水解，这是由于苷的不稳定性促使水解。原因：小苷元的苷键为直立键时，环对质子进攻有立体阻碍作用。

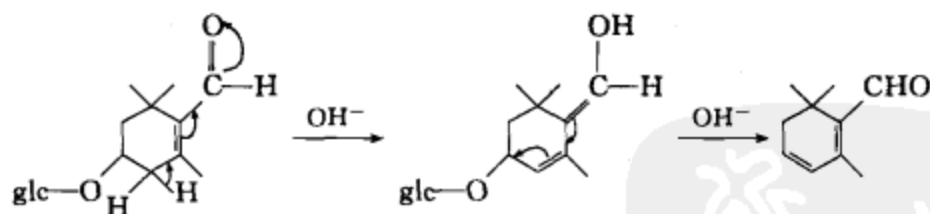
⑧ N-苷易接受质子，但当N处于酰胺或嘧啶位置时，N-苷也难于用矿酸水解。原因：吸电子共轭效应减小了N上的电子云密度。

(2) 乙酰解反应 在多糖苷的结构研究中，为了确定糖与糖之间的连接位置，常应用乙酰解开裂一部分苷键，保留另一部分苷键，然后用薄层或气相色谱鉴定在水解产物中得到的乙酰化单糖和乙酰化低聚糖。反应应用的试剂为乙酸酐与不同酸的混合液，常用的酸有硫酸、高氯酸和Lewis酸（如氯化锌、三氟化硼等）。

乙酰解反应的操作较为简单，一般可将苷溶于乙酐与冰乙酸的混合液中，加入3%~5%的浓硫酸，在室温下放置1~10天，将反应液倒入冰水中，并以碳酸氢钠中和至pH=3~4，再用氯仿萃取其中的乙酰化糖，然后通过柱色谱分离，就可获得不同的乙酰化单糖或乙酰化低聚糖，再用TLC对它们进行鉴定。

苷发生乙酰解反应的速率与糖苷键的位置有关。如果在苷键的邻位有可乙酰化的羟基，则由于电负性，可使乙酰解的速率减慢。从二糖的乙酰解速率可以看出，苷键的乙酰解一般以1→6苷键最易断裂，其次为1→4苷键和1→3苷键，而以1→2苷键最难开裂。

(3) 碱催化水解 一般的苷对碱是稳定的，不易被碱催化水解，故多数苷采用稀酸水解。但是酯苷、酚苷、氰苷、烯醇苷和β-吸电子基取代的苷易为碱所水解，如藏红花苦苷、旋苷、蜀黍苷都可为碱所水解。但有时得到的是脱水苷元。例如藏红花苦苷的水解：

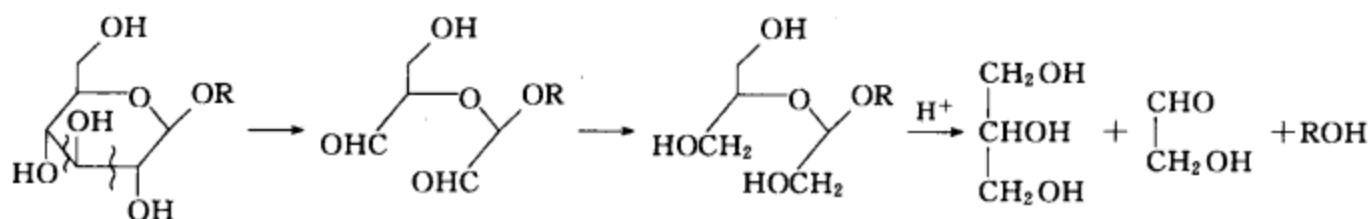


原因：其中藏红花苦苷苷键的邻位碳原子上有受吸电子基团活化的氢原子，当用碱水解时引起消除反应而生成双烯结构。

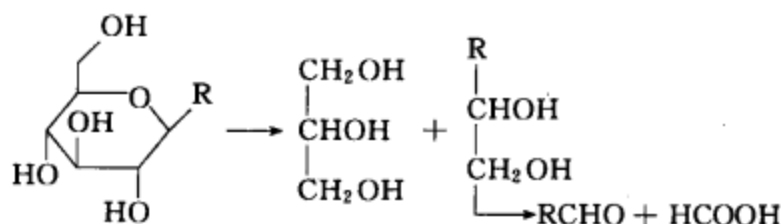
(4) 酶催化水解反应 对难以水解或不稳定的糖苷，应用酸水解法往往会使苷元发生脱水、异构化等反应，而得不到真正的苷元，而酶水解条件温和（30~40℃），不会破坏苷元的结构，可得到真正的苷元。酶具有高度专属性，α-苷酶一般只能水解α-苷，β-苷酶一般只能水解β-苷。例如麦芽糖酶（maltase）是一种α-苷酶，它只能使α-葡萄糖苷水解；苦杏仁酶（emulsin）是β-苷酶，它主要水解β-葡萄糖，但专属性较差，也能水解一些其他六碳糖的β-苷键。由于酶的专属性，苷类水解还产生部分水解的次生苷。因此，通过酶水解可以获知有关糖的类型、苷键及糖苷键的构型、连接方式等信息。

(5) 氧化开裂法（Smith降解法） 糖苷类分子中的糖基具有邻二醇结构，可以被高碘酸氧化开裂。Smith降解法是常用的氧化开裂法。此法先用高碘酸氧化糖苷，使之生成二元

醛以及甲酸,再用四氢硼钠还原成相应的二元醇。这种二元醇具有简单的缩醛结构,比苷的稳定性差得多,在室温下与稀酸作用即可水解成苷元、多元醇和羟基乙醛等产物。



Smith 降解法在糖苷的结构研究中具有重要的作用。对难水解的碳苷也可用此法进行水解,以避免使用剧烈的酸进行水解,可获得连有一个醛基但其他结构保持不变的苷元。此外,对一些苷元结构不太稳定的苷类,如某些皂苷,为了避免酸水解使苷元发生脱水或结构上的变化以获取真正的苷元,也常用 Smith 降解法进行水解。



以上简要介绍了主要糖苷键的水解方法。对于一些特殊的糖苷键,要采取一些特殊的水解方法。如糖醛酸的苷键很难用稀酸水解,可采用特殊的选择性水解反应——紫外光照射法、四醋酸铅分解法等。值得注意的是,有些糖苷键极不稳定,在较弱的酸性或在水或稀醇液中稍长时间加热即能水解。因此,在保存糖苷时,要注意环境,防止水解。

第三节 糖链结构的测定

一、糖的鉴定

在中草药成分分离工作中,或在糖苷和多糖的水解产物中,常常会得到一些单糖成分,需要加以证明。目前发现新单糖需要进行结构鉴定的机会较少,多数工作为进行糖的验证。

糖的水溶性很大,且不易获得结晶,有些物理常数不易测定,给验证工作带来困难。以往用化学方法制成衍生物,再作分离鉴定,手续繁复。现多采用各种色谱技术,对糖进行鉴定。

1. 纸色谱

此法常用水饱和的有机溶剂以上行、下行或径向的方式展开,如用正丁醇-醋酸-水(4:1:5)、正丁醇:乙醇:水(4:1:2.2)、水饱和苯酚等溶剂系统展开。常用的显色剂有邻苯二甲酸苯胺、硝酸银试剂、三苯四氮唑盐试剂、3,5-二羟基甲苯盐酸试剂、高碘酸-联苯胺等。显色原理是利用糖的还原性或形成糠醛后引起的一些显色反应。

2. 薄层色谱

常采用络合薄层色谱,吸附剂可采用硅胶,常用 $0.03\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸液、 $0.3\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠或磷酸二氢钠、 $0.02\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠、 $0.02\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸盐缓冲液、 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚硫酸氢钠等无机盐的水液代水制板。其特点是可增加糖在固定相中的溶解度,使硅胶薄层吸附能力下降,利于斑点集中,又可增加样品的承载量。显色剂除纸色谱应用的显色剂以外,还有 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ 或乙醇溶液以及茴香醛-硫酸试剂、苯胺-二苯胺磷酸试剂等。

3. 气相色谱

将糖制备成三甲基硅醚（增加其挥发性），醛糖用 NaBH_4 还原成多元醇（制成乙酰化物或三氟乙酰化物，避免形成端基异构体）后进行气相色谱。

4. 离子交换色谱

糖的硼酸络合物可进行离子交换色谱，其优点是不必制成衍生物，而直接用水溶液进行分离。

5. 液相色谱

该法亦不必制备成衍生物，填充材料为化学修饰的硅胶，适合分析对热不稳定的、不挥发的低聚糖和多糖。分析单糖和低聚糖，其灵敏度不及气相色谱。

二、糖链结构的测定

天然产物中的糖苷类多为固体化合物，其结构鉴定应通过以下程序进行。

1. 纯度的测定

纯度的测定一般用薄层层析（TLC）、测熔点、色谱鉴别等。

2. 分子量及分子式的测定

近年来广泛应用质谱分析的方法测定分子量和分子式。苷类化合物一般极性较大，无挥发性，遇热气化时易于分解，采用电子轰击质谱（EI-MS）常常不能获得分子离子峰。现多采用化学电离质谱（CI-MS）、场解吸质谱（FD-MS）、快原子轰击质谱（FAB-MS）和电喷雾质谱（ESI-MS）等方法获得分子离子峰，尤其是 ESI-MS 及 FAB-MS 两种质谱法更是目前测定苷类分子量常用的方法。

3. 苷元和单糖的鉴定

将糖苷用稀酸或酶进行水解，使生成苷元和各种单糖，然后再对这些水解产物进行鉴定。

（1）苷元的结构鉴定 苷元的结构类型不一，需要通过某些化学反应先确定其结构类型和基本母核结构，再按照所属类型分别进行研究，其方法将在有关章节中介绍。

（2）糖苷中糖的种类鉴定 通常采用纸色谱（PC）、薄层色谱（TLC）等方法对水解液进行鉴定，也可以直接通过二维 NMR 谱进行鉴定。糖类的 PC 常用的展开剂大多为含水的溶剂系统，如正丁醇-醋酸-水（4：1：5）、EtOAc-吡啶-水（2：1：2）等，其 R_f 值与溶剂的含水量有关，因此配制展开剂时必须注意。尤其对于三元展开剂，其混合比例更应力求正确，并需用标准品同时点样作为对照。糖类的 TLC 常选用硅胶薄层，由于糖的极性很强，一般点样量不能大于 $5\mu\text{g}$ ，但这一缺点在用硼酸溶液或一些无机盐的水溶液代替水调制吸附剂进行铺板时，就能显著提高上样量，并改善分离效果。制备这种硅胶薄层时，所用的盐一般是强碱弱酸（或中强酸）的盐，如 $0.3\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸氢二钠或磷酸二氢钠的水溶液。用这种盐溶液制备的硅胶板分离糖时，其上样量可达 $400\sim 500\mu\text{g}$ 。糖类硅胶薄层色谱常用的展开剂为正丁醇-丙酮-水、正丁醇-醋酸-水或正丁醇-吡啶-水。

糖的 PC 或 TLC 所用的显色剂有些是相同的，其显色原理主要是利用糖的还原性或由于形成糖醛后引起的呈色反应。有些显色剂不仅可以决定糖的斑点的位置，尚可区分其类型。常用的显色剂有苯胺-邻苯二甲酸试剂；三苯四氮盐试剂（TTC 试剂）、间苯二酚-盐酸试剂、双甲酮-磷酸试剂等。这些显色剂对不同的糖往往显不同的颜色。如硝酸银试剂，使还原糖显棕黑色；三苯四氮唑盐试剂，使单糖和还原性低聚糖呈红色；苯胺-邻苯二甲酸盐试剂，使单糖中的五碳糖和六碳糖所呈颜色略有区别；用 3,5-二羟基甲苯-盐酸试剂，使酮糖和含有酮糖的低聚糖呈红色；高碘酸加联苯胺，使糖、苷和多元醇中有邻二羟基结构的呈

蓝底白斑。有些显色剂中含有硫酸,因此只能用于 TLC,如茴香醛-硫酸试剂、间苯二酚-硫酸试剂、 α -萘酚-硫酸试剂、百里酚-硫酸试剂、酚-硫酸试剂等,喷后一般要在 100℃ 左右加热数分钟至斑点显现。以 CMC-Na 为黏合剂的硅胶薄层,在使用含浓硫酸的显色剂时亦应注意加热的温度与时间。

(3) 糖苷中糖的数目测定 利用 PC 或 TLC 法鉴定苷水解液中糖的种类,还可进一步采用光密度扫描法测定各单糖斑点的含量,算出各单糖的分子比,以推测组成糖苷的糖的数目。

近年来,糖苷中糖的数目大多是通过光谱测定完成的。例如,利用质谱测定糖苷和苷元的分子量,然后计算其差值,并由此求出糖的数目。利用氢谱,根据出现的糖端基质子的信号数目确定糖苷中糖分子的数目;或是将糖苷制成全乙酰化或全甲基化衍生物,根据在氢谱中出现的乙酰氧基或甲氧基信号的数目推测出所含糖的数目。常见的是利用碳谱,根据出现的糖端基碳信号的数目(一般位于 90~112ppm 处),或者根据糖苷分子的总碳信号数目与苷元碳信号数目的差值,推断出糖的数目。

4. 苷元和糖、糖和糖之间连接位置的确定

(1) 苷元和糖之间连接位置的确定 以前通过分析由化学降解或酶解得到的产物确定糖与苷元之间的连接位置,现在这种方法逐渐被 NMR 谱的解析所取代。 ^{13}C NMR 谱是确定苷元与糖之间连接位置的有效方法。在碳谱中,苷元羟基与糖结合成苷,故可产生苷化位移。利用苷化位移规律,将苷和苷元的碳谱相比较,就可以很容易地辨别出苷元的哪个碳原子与糖相连接。

(2) 糖与糖之间连接位置的确定 可采用化学方法或光谱分析法进行。

① 化学方法部分水解法 以缓和酸水解和酶水解法最为常用。缓和酸水解多使用低浓度的无机强酸或中强度的有机酸进行水解,可使糖苷中的部分糖水解脱去。

利用糖苷的乙酰解开裂一部分苷键,保留另一部分苷键,分析水解产物中得到的乙酰化低聚糖,也可以确定糖的连接顺序。此外还可以将苷的全甲基化物进行甲醇解,然后分析其甲醇解产物,也可以获得有关糖与糖之间连接顺序的信息。一般方法是:先将糖苷进行全甲基化,然后用含 6%~9% 盐酸的甲醇进行甲醇解,即可得到未完全甲醚化的各种单糖,而连接在最末端的一定是全甲醚化的单糖。根据这些甲醚化的单糖中羟基的位置,即可对糖与糖之间的连接位置作出判断。

糖苷的甲基化反应常用的方法主要有以下四种,前两种为经典的方法,后两种是半微量的现代方法。

Haworth 法:用硫酸二甲酯和氢氧化钠(或碳酸钠、碳酸钾),可使醇羟基甲基化。其缺点是甲基化能力较弱,如果要进行全甲基化反应,必须进行多次反应才能达到目的。

Purdie 法:用碘甲烷和氧化银为试剂(一般可在丙酮或四氢呋喃中进行),可使醇羟基甲基化。但因氧化银具有氧化作用,只能用于苷的甲基化,而不能用于还原糖的甲基化。

Kuhn 改良法:在二甲基甲酰胺(DMF)溶液中,加入碘甲烷和氧化银或硫酸二甲酯及氢氧化钡(或氧化钡),在搅拌下进行甲基化。本法的缺点是反应较缓慢。

Hakomari 法(箱守法):在二甲基亚砜(DMSO)溶液中,加入氢化钠,以碘甲烷进行甲基化反应。其反应机理是二甲亚砜与氢化钠首先生成甲基亚磺酰阴碳离子,然后在甲基亚磺酰阴碳离子的存在下进行甲基化反应,由于亚磺酰阴碳离子具有强脱质子作用,使苷中糖上的醇羟基脱氢,从而使全甲基化反应可以迅速完成,二甲亚砜只起催化作用。此法反应迅速、完全、无需特殊装置、可在室温下连续反应,是目前最常用的全甲基化方法。但因在反

应中所用二甲亚砜和 NaH 均呈强碱性, 故分子中有酯键的苷类不宜用本法, 而应采用 Kuhn 改良法进行全甲基化。

② 波谱分析法——MS 法 主要利用质谱中归属于有关糖基的碎片离子峰或各种分子离子脱糖基的碎片离子峰, 可对糖的连接顺序作出判断。在 EI-MS 中, 由于苷类是非挥发性的, 常制备成全乙酰化物、全甲基化物或全三甲基硅醚化物等进行测定。在它们的 MS 谱中, 常出现各种特征性的糖基离子峰、全乙酰化的单糖及低聚糖的特征性碎片离子峰, 这些特征峰的存在均可提示该糖处于糖链的末端位置。利用糖苷的 FD-MS 谱或 FAB-MS 谱, 有时亦能确定糖与糖之间的连接顺序。

5. 糖苷键构型的确定

糖与苷元之间的糖苷键及糖与糖之间的苷键均属于缩醛键, 因而都存在糖端基碳原子的构型问题。确定糖苷键构型的方法主要有以下几种。

(1) 利用酶水解进行测定 如麦芽糖酶一般能水解 α -苷键, 能被苦杏仁苷酶水解的大多为 β -苷键。

(2) 利用 NMR 谱法测定 利用端基质子的偶合常数、 α -苷键和 β -苷键端基碳的化学位移差别和 2D NMR 谱确定。

第四节 糖和糖苷的提取分离方法

一、糖的提取与分离

1. 糖的提取

自植物中直接提取糖类成分宜用水或稀醇。若先以低极性溶剂除去亲脂性成分, 再以水或稀醇提取, 可以减少杂质。对水溶醇不溶的糖类, 亦可先用醇去杂质, 再以水提取。如此有利于以后的分离。获得粗的糖提取液后, 除去共存杂质, 进行混合糖的相互分离。糖类的分离纯化是困难的, 尤其是多糖用一种方法不易得到均一成分, 常必须综合使用多种方法。

2. 糖的分离

(1) 活性炭柱色谱法分离 活性炭吸附量大、效率高, 分离水溶性物质较好, 如氨基酸、糖类及某些苷类。根据活性炭颗粒的大小, 把常用的活性炭主要分为三种类型: 一种是粉末状活性炭, 其特点是颗粒细, 总表面积大, 吸附力及吸附量大, 但是其流速慢, 使用时则需与硅藻土 (1:1) 混合后, 再用蒸馏水调成糊状装柱; 另一种是颗粒状活性炭, 其特点是颗粒较上者大, 吸附力及吸附量较上者次之; 第三种是锦纶-活性炭, 它是以锦纶为黏合剂, 将粉状活性炭制成颗粒, 吸附力最弱, 但可以克服粉状活性炭流速慢的缺点。

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, 在水中对该类物质表现出强的吸附。溶剂极性降低, 则活性炭对该类物质的吸附能力也随之降低。活性炭在水溶液中的吸附力最强, 在有机溶剂中吸附力较弱。

活性炭的吸附规律如下。

① 对极性基团多的化合物吸附力大于极性基团少的化合物 (分子量相当的两个化合物比较)。

② 对芳香族化合物吸附力大于脂肪族化合物 (极性基团相同时)。

③ 对分子量大的化合物吸附力大于分子量小的化合物 (多糖 > 低聚糖 > 单糖)。

活性炭在装柱前要先进行预处理。一般预处理是将活性炭加热 (150℃, 4~5h), 除去

大多数被吸附的气体。有时为了除去混杂的金属离子,使活力增强,则需要严格预处理,通常是把活性炭用 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 枸橼酸缓冲液洗涤后用蒸馏水反复洗,或者用 $2\sim 3\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸煮沸几次后用蒸馏水反复洗。

经过预处理的活性炭装柱时通常采用蒸馏水湿法装柱,样品制成 $25\%\sim 50\%$ 的水溶液上样。先用蒸馏水洗脱无机盐、单糖等,然后在水中逐渐增加乙醇的浓度,逐步洗出二糖、三糖以及多糖。

活性炭来源容易,价格低廉,而且样品上柱量大,分离效果较好,适合大量制备。但是其缺点是无测定其吸附力级别的理想方法。

(2) 纤维素色谱法分离 此法采用的溶剂系统为水、丙酮、水饱和的正丁醇等。原理与 PC 相同,属分配色谱。用水溶性的溶剂如 $\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}$ 进行展开时,其原理属吸附色谱。

(3) 凝胶柱色谱法分离

① 葡聚糖凝胶的性质 葡聚糖凝胶是由葡聚糖和交联剂(环氧氯丙烷)通过醚桥形式相交而成的多孔性网状结构物质。为非水溶性的白色球状颗粒,在酸性环境中能水解,在碱性环境中稳定。凝胶颗粒的表面有许多网眼,网眼的大小是影响分离效果的主要因素。交联度大,网状结构紧密,孔隙小,吸水膨胀率就越大,可用于小分子量物质的分离;反之,交联度小,结构疏松,孔隙大,吸水膨胀率就越小,可用于大分子量物质的分离。主要用于分离糖、蛋白质、苷类等。

② 常用葡聚糖凝胶商品的名称及型号 商品凝胶的型号一般是按交联度的大小来分类的。一般有葡聚糖凝胶(商品名: Sephadex G。G 代表葡聚糖凝胶,有 G-10、G-15、G-200 等)、琼脂糖凝胶(Sepharose, Bio-Gel A)、聚丙烯酰胺凝胶(Bio-Gel P)、羟丙酰基交联葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)等。

③ 操作步骤 将凝胶在适当的洗脱剂溶液中浸泡,待充分膨胀后装入色谱柱,上样,用洗脱液洗脱,收集、回收洗脱液,干燥。

④ 洗脱溶剂的选择 分离阻滞较大的组分用水和有机溶剂的混合液,如水-甲醇、水-乙醇、水-丙酮等;分离中性物质用水及电解质溶液,如酸、碱、盐溶液及缓冲液。Sephadex LH-20 是在葡聚糖凝胶 G 的分子中引入羟丙基代替分子中羟基上的氢而形成新型凝胶,既有亲水性,又有一定的亲脂性,用于分离黄酮、蒽醌、香豆素、酚类等。

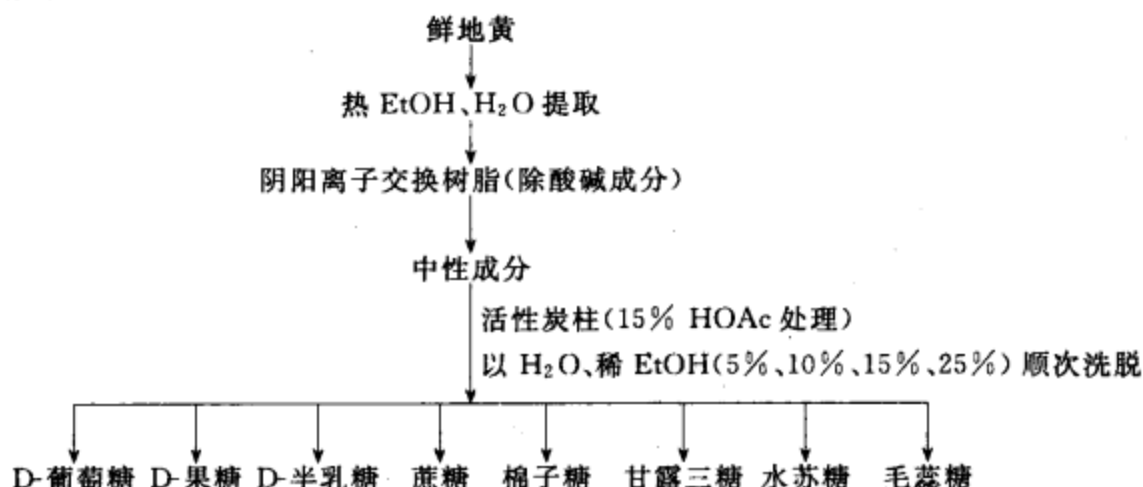
(4) 季铵氢氧化物沉淀法分离 季铵氢氧化物是一类乳化剂,季铵氢氧化物和酸性糖(含 $-\text{COOH}$) 反应产生沉淀,以此进行分离。

(5) 离子交换柱色谱法分离 是利用离子交换树脂上的功能基在水溶液中与溶液的其他离子进行可逆交换的性质,以离子交换树脂作为固定相,使混合成分中离子型与非离子型物质或具有不同解离度的离子化合物得到分离的色谱方法。可以除去水提液中的酸、碱性成分和无机离子。制成硼酸络合物-强碱性阴离子交换树脂(不同浓度硼酸盐液洗脱),操作方法与柱色谱法基本相似。

(6) 分级沉淀或分级溶解法分离 在糖的水溶液中,逐步增大加入的乙醇浓度,即可得到各部分的沉淀物。

(7) 蛋白质除去法分离 用分级沉淀法得到的多糖,其中常含有较多的蛋白质,通常选择能使蛋白质沉淀而使多糖不沉淀的试剂除去,如酚、三氯乙酸、鞣酸等。在处理时间上要短,温度要低,以避免多糖的降解。通常用三氟三氯乙烷法和 Sevag 法(用氯仿与戊醇或丁醇按 4:1 混合),对避免多糖的降解有较好的效果。

3. 糖的提取分离实例

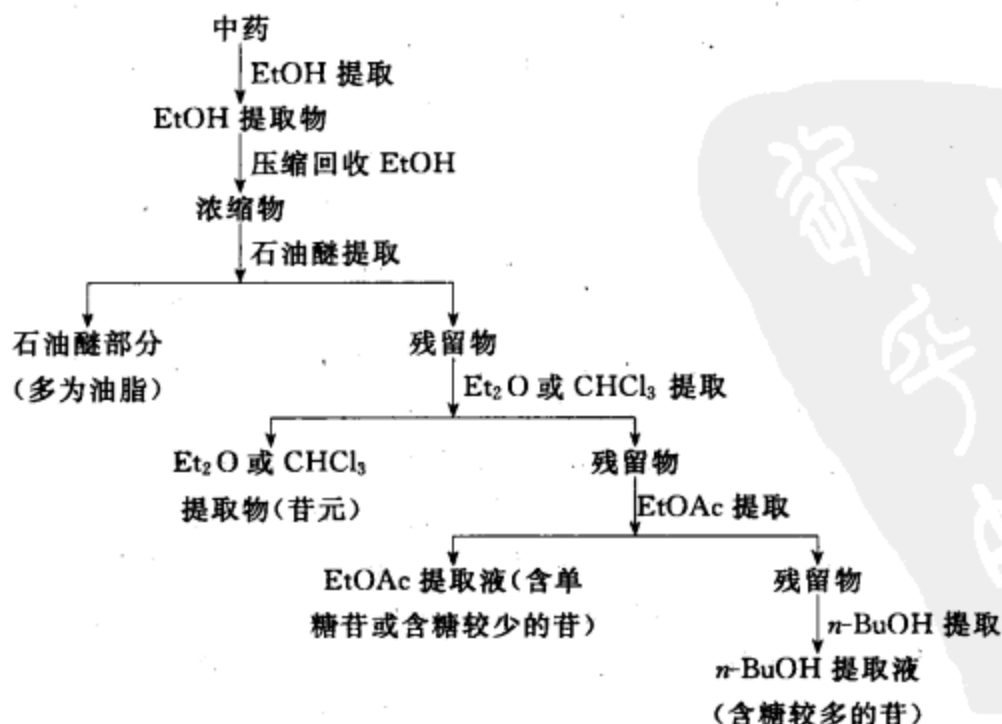


二、糖苷的提取和分离

提取苷类化合物时，首先应考虑到糖苷的水解特性。在植物体内，糖苷类常常与能水解苷的酶共同存在于不同的细胞中，如在潮湿的空气中碾碎中药原材料，或用冷水浸泡原料药粉末，都会使糖苷与酶接触而发生酶解，生成次级糖苷或苷元。所以在提取糖苷时必须设法抑制或破坏酶的活性，才能提得原存于植物体中的原生苷。抑制酶活性的做法包括对新鲜的植物材料迅速干燥（多用晒干或晾干），若为中药材应避免高温处理，在提取时宜用沸水、甲醇、60%以上的乙醇等溶剂提取，亦可在中药材料中加入一定量的碳酸钙拌匀后再用沸水提取。新鲜的植物材料还可以加硫酸铵水溶液研磨以促使酶变性，达到抑制或破坏酶活性的目的。

各种糖苷类分子中，由于苷元的结构不同，所连接糖的种类和数目也不一样，因而极性差异也很大，很难用统一的方法提取苷类，如果用不同极性的溶剂，按极性由小到大的次序进行提取，则在每一溶剂部分都有可能发现糖苷的存在，因此选择提取用的溶剂最好结合欲提取苷类的性质考虑。不过从多数情况来看，糖苷在甲醇、乙醇或乙酸乙酯中的溶解度比较大，所以选用这些溶剂提取比较多见，若糖苷类的亲脂性较强，也可选用氯仿提取。

下面为糖苷的系统溶剂提取法流程：



第五节 皂苷、甾苷和强心苷

一、皂苷

1. 概述

皂苷 (saponins) 是存在于植物界的一类比较复杂的苷类化合物。它的水溶液易引起肥皂样泡沫, 且多数具有溶血等特性, 这些物理及生物学性质构成了皂苷的经典含义。目前, 最常用的方法是按照其苷元结构将皂苷划分为两大类: 甾体皂苷 (steroidal saponins) 和三萜皂苷 (triterpenoid saponins)。甾体皂苷主要分布在薯蓣科、百合科、玄参科、蓼科、龙舌兰等科植物中; 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、报春花科等植物中分布较多。皂苷是由皂苷元和糖两部分组成。形成皂苷的糖常见的有 D-葡萄糖、D-半乳糖、L-鼠李糖、L-阿拉伯糖、D-木糖、D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖醛酸等。皂苷的研究工作开始于 20 世纪初, 许多皂苷元的结构已被阐明, 但是皂苷的化学结构工作进展缓慢, 这是由于皂苷分子量大, 极性较高, 难以分离提纯。近年来, 由于各种分离技术的显著发展, 皂苷的研究工作取得了巨大的进展。

2. 性质

(1) 性状 皂苷分子量较大, 不易结晶, 大多为无色或乳白色的无定形粉末, 仅少数为晶体, 而皂苷元大多有完好的结晶。皂苷多数具有苦而辛辣味, 其粉末对人体各部分的黏膜有强烈的刺激性, 尤以鼻内黏膜最为灵敏, 吸入鼻内能引起喷嚏。某些皂苷内服, 能刺激反射性黏液腺分泌, 而用于祛痰止咳。皂苷具有吸湿性。

(2) 溶解度 大多数皂苷极性较大, 可溶于水, 易溶于热水、稀醇、热甲醇和热乙醇, 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性较好, 所以丁醇常作为提取皂苷的溶剂。次级苷在水中溶解度降低, 易溶于醇、丙酮、乙酸乙酯。皂苷元则不溶于水而溶于石油醚、苯、乙醚、氯仿等低极性溶剂。皂苷有助溶性能, 可促进其他成分在水中的溶解。

(3) 发泡性 皂苷有降低水溶液表面张力的作用, 多数皂苷的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, 用发泡试验可以区别三萜皂苷与甾体皂苷。

(4) 溶血性 皂苷有使红细胞破裂的作用, 常用溶血指数作为皂苷定量的指标。所谓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皂苷浓度。如甘草皂苷, 溶血指数为 1:4000, 溶血性能较强。皂苷水溶液能与红细胞壁上的胆甾醇结合, 生成不溶于水的分子复合物, 破坏红细胞的正常渗透, 使细胞内渗透压增加而发生崩解, 从而导致溶血现象, 故皂苷又称为皂毒素 (saptoxins)。因此, 皂苷水溶液不能用于静脉注射或肌肉注射。但并不是所有的皂苷都具有溶血作用, 如以人参二醇为苷元的皂苷则无溶血作用。

(5) 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。此性质可用于皂苷的分离。先用金属盐使皂苷沉淀下来, 分离出来之后再对其分解脱盐。如三萜皂苷和 PbAc_2 生成沉淀, 然后分解脱铅, 得到总皂苷。此法的缺点为铅盐吸附力强, 容易带入杂质, 并且在脱铅时铅盐会带走一些皂苷, 脱铅也不一定能脱干净。三萜皂苷为酸性皂苷, 可用中性 PbAc_2 沉淀; 而甾体皂苷则为中性皂苷, 须用碱性 PbAc_2 沉淀。

(6) 熔点与旋光度 皂苷常在熔融前就分解, 因此无明显的熔点。苷元的熔点随羟基数目的增加而升高, 甾体皂苷元单羟物熔点都在 208°C 以下, 三羟物都在 240°C 以上, 多数双羟或单羟酮在两者之间。可是它们的混熔点或乙酰化物的混熔点往往不下降, 因此甾体皂苷

在鉴定上不能单靠熔点。旋光度的测定更有意义,如甾体皂苷及其苷元的旋光度几乎都是左旋。旋光度与双键间有密切的关系,未饱和的苷元或乙酰化物均较相应的饱和化合物为负,因此在推定结构上有重要作用。

(7) 皂苷的水解 皂苷的苷键可以被酶、酸或碱水解,随水解条件不同,产物可以是次皂苷、皂苷元和糖。皂苷的水解有两种方式:可以一次彻底水解,生成苷元及糖;也可以分步水解,即部分糖先被水解,或以皂苷中先水解一条糖链形成次生苷或前皂苷元。由于皂苷所含的糖是 α -羟基糖,因此水解条件较为剧烈。例如具重要活性的人参皂苷(ginsenosides),在盐酸中,20(S)原人参二醇或20(S)原人参三醇20位羟基发生异构,转变成20(R)原人参二醇或20(R)原人参三醇,再环合生成人参二醇或人参三醇。因此,选择水解条件,采用温和的水解方法,如氧化降解法、土壤微生物培养法、光解法等以得到真正皂苷元,是研究三萜皂苷结构的关键。

3. 提取分离

(1) 提取 常用不同浓度的乙醇或甲醇作为溶剂提取,然后回收溶剂,将残渣溶于水,水溶液再用石油醚、苯等亲脂性有机溶剂萃取,除去油脂、色素等脂溶性杂质,最后用正丁醇对水溶液萃取,分取正丁醇溶液,得粗制总皂苷。

(2) 分离 皂苷的分离方法主要有分段沉淀法、胆甾醇沉淀法、铅盐沉淀法、色谱法和反相色谱法等。

分段沉淀法:利用皂苷难溶于乙醚、丙酮等溶剂的性质,先将粗总皂苷溶于少量的甲醇或乙醇,然后加入乙醚或丙酮至浑浊,放置产生沉淀,过滤得到极性较大的皂苷。母液继续加入乙醚或丙酮,放置产生极性较小的皂苷。反复处理,可初步分离不同极性的皂苷。

胆甾醇沉淀法:甾体皂苷可与甾醇形成难溶性的分子复合物,甾体皂苷的乙醇溶液可被甾醇(常用胆甾醇)沉淀,与其他水溶性成分分离,达到精制的目的。

铅盐沉淀法:在粗皂苷的乙醇溶液中加入中性醋酸铅,酸性皂苷可与之产生沉淀,滤液再加入碱性醋酸铅,中性皂苷可产生沉淀,然后按常法脱铅,可获得提纯的酸性皂苷和中性皂苷。

色谱法:主要是分配柱色谱法,以硅胶为支持剂,用 $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ 、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ 、 $\text{EtOAc-EtOH-H}_2\text{O}$ 或水饱和的正丁醇等溶剂系统洗脱。

反相色谱法:以反相键合相 RP-18、RP-8 或 RP-2 为填充剂,常用 $\text{CH}_3\text{OH-H}_2\text{O}$ 或 $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ 为洗脱剂。

二、氰苷

1. 概述

氰苷类(cyanogenic glucosides)是一类分子中含有氰基,主要以苷的形式广泛存在于自然界的化合物,尤其存在于高等植物的种子和叶子中,如桃、杏、樱桃等植物中含量较高,通常可被酸或酶水解后释放出氢氰酸,故食过量此类植物或果实会引起中毒。目前报道有110余科属中2050余种植物中含有氰苷成分。氰苷的积蓄与植物年代、土壤、气候和地理环境的变化密切相关,当氮的代谢最旺盛时,氰苷的含量也达到了高峰。早在1803年 Schrader 在研究苦杏仁成分时就发现了此类成分,直到1830年 Robiquet 等从中分离出苦杏仁苷,迄今它已成为医药上常用的祛痰止咳剂,并有杏仁水、杏仁露等制剂。氰苷类化合物的研究已有200余年的历史,但目前人们仅对200余种植物进行过活性成分的研究,从中分得约60种有关化合物。对此类成分的研究目前仍处于发展阶段。这类化合物在水的溶解度较大,且与水易形成含水化合物,较难结晶,故在分离上存在着一定的难度。

2. 氰苷类化合物的性质

氰苷类常形成含水化合物,故不易结晶。大多数化合物在水中的溶解度较大,在乙醇中溶解度较小,但往往可溶于沸乙醇或乙酸乙酯等溶剂。在乙醚、苯、二硫化碳和四氯化碳等溶剂中几乎不溶。若制备成相应的乙酰化合物,则可溶于非极性溶剂。氰苷通常容易水解,甚至在水溶液中亦可逐渐分解。当酸或酶存在时可加速水解反应的进行。

3. 氰苷类化合物的鉴定

检查植物中是否含有氰苷类化合物,主要基于在酶存在下分解氰苷,测定所释放出的氢氰酸,此属非特异性检出,仅限于酶解能释放氢氰酸的氰苷类化合物。

将欲测试植物捣碎,或加少许 $\text{pH}=6\sim 8$ 的磷酸盐缓冲液,置于试管中,加一滴氯仿。另取苦味酸-碳酸钠试剂湿润滤纸条,悬置于试管口,用塞子密闭, 35°C 恒温酶解,前者滤纸呈橙红-红褐色,后者呈蓝色表明阳性反应。若有硫化氢、二氧化硫、醛和酮等挥发性成分存在时,对苦味酸试剂有干扰。亦可以用对硝基甲醛-邻二硝基苯试剂,若有 CN^- ,则呈紫色。目前常采用 Feigl-Anger 试纸,样品酶解后加少许酸,若有氢氰酸存在,遇试纸呈蓝色,色泽深浅与含量成正比。如果欲测试植物样品经过处理后所产生的氢氰酸含量极微,则取样量相应要多,并用水蒸气蒸馏等方法使所产生的氢氰酸收集于合适的试剂中,再进行检测。亦可采用气相色谱法检测。或将植物提取物用纸或硅胶板展层、晾干,然后喷上酶液酶解,再用上述试剂显色。

4. 分离和纯化

氰苷类化合物的提取分离首先要防止其结构的异构和分解,通常先用非极性溶剂提取除去类脂质后,用乙醇、甲醇、水或其混合溶剂提取。若材料为新鲜植物,为了避免所含酶引起成分的变化,采用 80% 的乙醇或加水煮沸数分钟,破坏其中酶活力,然后继续采用回流、温浸或冷渗等方法提取。若是醇提取液则浓缩去醇,残渣加水,用石油醚提取,除去脂溶性成分。亦可用乙酸乙酯等溶剂与水进行液液分离提取,或用甲醇与乙酸乙酯混合溶剂提取,这样可避免大量极性化合物如糖、氨基酸等成分的溶出。或将所得水溶液先用醋酸铅、聚酰胺或混合型离子交换树脂等法进行预处理,除去其中酸性、酚性及离子性化合物,但氰苷结构中含有上述基团时应慎用或避免使用。经处理后的水溶液减压浓缩,再用柱色谱进行分离纯化。

几乎大多数的氰苷均可用纤维素柱色谱进行分离纯化,常用以正丁醇-水混合液作为移动相。据报道海韭菜花的水提取物通过聚酰胺除去其中酚性物质,然后通过弱碱性离子交换树脂,用不同浓度的醋酸洗脱,最后用 $5\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸洗脱,所得部分经微晶纤维素柱色谱,分得海韭菜苷。硅胶柱色谱也常用来分离纯化氰苷类化合物,由于它对极性化合物具有较大的亲和力,所以能达到较好的分离效果。最常用的展开溶剂是氯仿-甲醇的不同配比 (5:1, 8:3 或 4:3, 体积比),这由化合物的极性强弱而定。除了上述方法外,还有采用聚酰胺色谱及制备性纸色谱和硅胶薄层色谱进行分离纯化,也有将化合物进行三甲基硅烷化用气相色谱分离鉴定,近年来高压液相色谱法已应用到氰苷类化合物的分离和鉴定中。

三、强心苷

1. 概述

强心苷是一类能增强心肌收缩作用的甾体配糖体化合物,其结构的共同点是甾体骨架, C_{17} 位带有不饱和五元内酯环或双不饱和六元内酯环, C_3 位连有各种六碳糖。Nativelle 于 1869 年首先从紫花洋地黄中分得强心配糖体。1935 年 Stau 等发现科学家们早期所分到的强心苷大多是已经酶解过的次生苷,并不是植物中原生的配糖体,次生苷虽有强心作用,但却

远比原生苷弱。于是，他们在解除植物中酶影响的条件下首先从紫花洋地黄中分到了原生苷，以后又先后从毛花洋地黄、康毗毒毛旋花、海葱、夹竹桃等植物中分到许多原生的强心苷。

到现在为止，已从十几个科一百多种植物中发现了强心苷类化合物，常见的有黄花夹竹桃、紫花洋地黄、毛花洋地黄、杠柳、铃蓝、海葱、福寿草等。目前临床应用的有二三十种，用于治疗充血性心力衰竭及节律障碍等心脏疾病，如西地兰、地高辛、毒毛旋花素 K、铃兰毒苷、毛地黄毒苷等。国内除毒毛旋花素 K 外均已能生产，它们常用以治疗急慢性充血性心力衰竭与节律障碍，用得最多的是洋地黄类强心药物。

2. 强心苷的性质

(1) 性状 强心苷多为无色结晶或无定形粉末，中性物质，有旋光性。C17 侧链为 β -构型的味苦； α -构型味不苦，但无效。对黏膜有刺激性。

(2) 溶解度 强心苷的溶解性与所连糖的种类和数目有关，一般可溶于水、甲醇、乙醇、丙酮等极性溶剂，难溶于乙醚、苯、石油醚等非极性溶剂。一般糖基多的原生苷比次生苷或苷元的亲水性强、亲脂性弱，可溶于水等极性溶剂而难溶于低极性溶剂，多为无定形粉末。洋地黄毒苷是一个三糖苷，但 3 分子糖都是洋地黄毒糖，整个分子只有 5 个羟基，故在水溶液中溶解度小 (1:100000000)。当糖基与苷元上的羟基数目相同时，苷元上的羟基不能形成分子内氢键的比能形成分子内氢键的水溶性大。如毛花洋地黄苷乙和毛花洋地黄苷丙都是四糖苷，整个分子中有 8 个羟基，4 个糖的种类也相同，苷元上羟基的数目也相同，仅位置不同，前者是 C14、C16 二羟基，其中 C16 羟基能和 C17 内酯环的羰基形成分子内氢键，后者是 C12、C14 二羟基，不能形成分子内氢键，所以毛花洋地黄苷丙在水中的溶解度 (1:18500) 比毛花洋地黄苷乙大。在氯仿中的溶解度，毛花洋地黄苷丙 (1:1750) 小于毛花洋地黄苷乙 (1:550)。但糖基和苷元上羟基数目的多少对溶解性也有一定的影响，如乌本苷是一个单糖苷，却有 8 个羟基，水溶性很大 (1:75)，难溶于氯仿。

(3) 脱水反应 强心苷混合强酸 (3%~5% 盐酸) 加热水解时，苷元往往发生脱水反应。C14-OH 最易发生脱水反应生成缩水苷元；同时存在 C14-OH 和 C16-OH，也易脱水，得到二缩水苷元。如将 C3-OH 氧化为酮基，则更使 C5 叔羟基活化，在温热条件下即可脱水而形成烯酮。同样，C16 被氧化为酮基，也能促使 C14-叔羟基脱水而形成烯酮。若 C4 位有双键，可促使 C3-OH 与 C4-H 脱水，生成共轭双键。

(4) 水解反应 水解反应是研究强心苷组成的常用方法，分化学方法和生物方法两大类，化学方法主要有酸水解、碱水解和乙酰解，生物方法主要有酶水解。糖部分不同，其水解产物难易及产物均不同。

3. 强心苷的检测

除检测甾体常用的醋酐-浓硫酸反应 (Liebermann-burchard reaction) 与检测糖常用的 Molish 反应 (硫酸- α -萘酚) 外，专用于检测强心苷的颜色反应有以下几种。

(1) Kedde 反应 取样品的甲醇或乙醇溶液于试管中，滴加 Kedde 试剂 (3,5-二硝基苯甲酸试剂) 3~4 滴，产生红或紫红色。

(2) Legal 反应 取样品 1~2mg，溶于 2~3 滴吡啶中，滴加 Legal 试剂 (3% 的亚硝酰铁氰化钠溶液) 和一滴 $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液，样品液呈深红色并渐渐褪去。

(3) Keller-Kiliani (K-K) 反应 此反应是 α -去氧糖 (2-去氧糖) 的特征反应，对游离的 α -去氧糖或在反应条件下能水解出 α -去氧糖的强心苷都可显色。取样品 1mg 溶于 5mL 冰

乙酸中，加一滴 20% 的三氯化铁水溶液，倾斜试管，沿试管壁加入 5mL 浓硫酸。若有 α -去氧糖存在，乙酸层渐呈蓝或蓝绿色。若不显色，不能说明无 α -去氧糖。

4. 强心苷的提取与分离

从植物中分离提纯强心苷是比较复杂与困难的工作，这是因为它在植物中的含量一般都在 1% 以下，又常常与糖类、皂苷、色素、鞣质等共存，这些成分的存在可影响强心苷在溶剂中的溶解度。同时，强心苷的原生苷和次生苷共存，且很多结构相似的苷共存，故提取分离较难。所以用一般分离方法常要通过多次反复处理或色谱方法才能分得纯晶。因酸碱可使强心苷发生水解、脱水和异构化，故提取分离时应注意控制酸碱碱性。

(1) 原生苷的提取 植物中的酶容易水解原生苷，因此提取原生苷时首先要抑制酶的作用。一般可用冷冻干燥、快速提取、快速干燥等方法破坏酶的活力，或用硫酸铵等无机盐盐析，使酶沉淀除去。原料最好用新鲜植物经 60℃ 以下烘干或晒干，将生药粉末在低温下与等量硫酸铵调成糊状后装入布袋，压汁，渣中的原生苷用乙酸乙酯或氯仿等溶剂提取，或者生药粉末直接用 80% 左右乙醇冷浸或加热提取。上述乙酸乙酯、氯仿提取液或醇提取液减压浓缩后，加水，过滤，滤液进一步用吸附法、铅盐法、溶剂法提纯。

铅盐法：滤液先用乙醚提去其中叶绿素和油脂等杂质，然后加饱和醋酸铅水溶液至不再产生沉淀为止。滤液加适量乙醇使乙醇含量为 50%，按常法脱铅。

吸附法：滤液用新煅烧的氧化镁或活性炭吸附，再用甲醇或其他适当溶剂解析，浓缩即得总苷。

溶剂法：滤液用氯仿等极性小的溶剂洗涤以除去脂溶性杂质，然后加乙醇，再加氯仿或乙酸乙酯提取，蒸干提取液即得总苷。

(2) 次生苷的提取 次生苷的提取远比原生苷简便。通常先利用植物中的酶自行水解后再进行提取，即将生药粉末加等量水拌匀湿润后，在 30~40℃ 保持 6~12h，进行发酵酶解，然后用乙酸乙酯或乙醇等按上述提取原生苷的方法提取和纯化，即得次生苷。也可先提出原生苷再进行酶解，即将原生苷的水溶液加原植物中分离出来的酶（一般为原植物用水低温浸泡的提取液）或其他来源性质相同的酶在 30~40℃ 保持 6~12h，使酶解完全后用有机溶剂提取，即得相应的次生苷。

(3) 强心苷的分离和纯化 上述方法所得总苷，一般应先选择适当溶剂进行多次分步结晶，或利用混合苷中各单体在两种互不相混的溶剂中分配系数不同而进行分离，但在多数情况下往往需要配合多种方法反复分离，才能得到单一成分。

溶剂萃取法：利用强心苷在两种互不相溶的溶剂中的溶解系数不同而达到分离。如毛花洋地黄总苷中 A、B、C 的分离，由于在氯仿中苷 C 最小，而三者中在甲醇中溶解度都较大，在水中几乎不溶，用氯仿-甲醇-水 (5:1:5) 为溶剂系统进行二相溶剂萃取，溶剂用量为总苷的 1000 倍，苷 A 和苷 B 被配到氯仿层，苷 C 在水层，分出水层，放置析晶，然后进行二次萃取，可得到纯的苷 C。

逆流分配法：根据分配系数不同，使混合苷得到分离。如黄花夹竹桃苷 A 和苷 B 的分离，以 750mL 氯仿-乙醇 (2:1) 混合液和 150mL 水为二相溶剂系统，氯仿层为移动相，水层为固定相，经多次逆流分配后，最后从氯仿层获得苷 B，水层获得苷 A。

色谱法：分离亲脂性强心苷和苷元，一般选用硅胶吸附色谱。对于极性较大的强心苷，可用分配色谱法分离。早期，Stoll 等曾仔细研究过硅胶色谱分离各种海葱苷、洋地黄苷与

毒毛旋花素苷的条件、硅胶中水的含量对分离各种苷的影响，并用人工混合的苷与植物中含的混合苷的分离作了比较，认为硅胶中含水量的减少将增加混合苷的分配能力，但水分过少又会使各流分成分减少，拉长分离的时间。有时可用提高溶剂中甲醇的含量的方法使成分集中，如分离毛花洋地黄甲、毛花洋地黄乙、毛花洋地黄丙混合苷时，用水饱和的硅胶（样品量 100 倍左右）色谱，水饱和的乙酸乙酯（含 0.5% MeOH）洗脱，总共用去 250~300mL 溶剂，即能使三种苷分别提纯。

此外，液滴逆流色谱法和 HPLC 法也是强心苷分离纯化的有效方法。

数字水印
PDG

第七章 萜类和挥发油

萜类化合物 (terlenoids) 是一类广泛存在于自然界的天然产物。凡由甲戊二羟酸衍生且分子式符合 $(C_5H_8)_n$ 通式的衍生物统称为萜类化合物。

按组成分子的异戊二烯基本结构单元的数目将萜类化合物分为单萜、倍半萜、二萜、二倍半萜、三萜、四萜和多萜 (表 2-5)，每种萜类化合物又可分为直链、单环、双环、三环、四环和多环等，其含氧衍生物还可分为醇、醛、酮、酯、酸、醚等。

表 2-5 萜类化合物的分类及分布

名 称	通式 $(C_5H_8)_n$	碳原子数	主要存在形式
半萜	$n=1$	5	植物叶
单萜	$n=2$	10	植物精油
倍半萜	$n=3$	15	植物精油
二萜	$n=4$	20	树脂、苦味质、植物醇、乳汁
二倍半萜	$n=5$	25	海绵、植物病菌、地衣
三萜	$n=5$	30	皂苷、树脂、乳汁
四萜	$n=8$	40	植物色素
多聚萜	$(C_5H_8)_n$	$7.5 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5$	橡胶、硬橡胶、多萜醇

萜类化合物在自然界分布广泛，种类繁多。低级萜类主要存在于高等植物、藻类、苔藓和地衣中，在昆虫和微生物中也有发现。据不完全统计，萜类化合物在有花植物的 94 个目中均有存在。单萜主要存在于唇形目、菊目、云香目、红端木目、木兰目中；倍半萜主要存在于木兰目、云香目、唇形目中；二萜主要存在于无患子目中；三萜主要存在于毛茛目、石竹目、山茶目、玄参目、报春花目中。这些化合物中有为人们所熟悉的成分，如橡胶和薄荷醇；也有用作药物的成分，如青蒿素、紫杉醇；而有的则是甜味剂，如甜菊苷。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。在天然药物化学成分的研究中，萜类化合物的研究一直是较为活跃的领域，是发现和寻找天然药物 (包括农药) 生物活性成分的重要源泉。

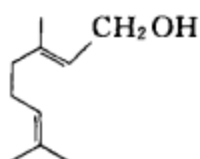
第一节 萜类化合物的结构类型

一、单萜类化合物

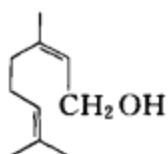
单萜类化合物 (monoterpenoids) 广泛存在于高等植物中，常存在于唇形科、伞形科、樟科、松科等植物的分泌组织如油室、腺体、树脂道中，是植物挥发油中沸点较低 ($140 \sim 180^\circ\text{C}$) 部分的主要组成成分。较高沸点 (约 $200 \sim 230^\circ\text{C}$) 的单萜含氧衍生物，多具有较强的香气和生理活性，常是医药、化妆品、食品工业的重要原料。有些单萜以苷形式存在。

近年来，单萜类物质研究进展很快，其基本骨架就有 30 多种。单萜化合物一般常按其结构的碳环数分类，有无环、单环、双环、三环型等，其中大多为六元环，也有五元环、四元环、三元环、七元环等。

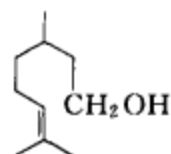
1. 无环单萜



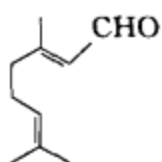
香叶醇 (牻牛儿醇, geraniol)
(是玫瑰油、柠檬草油、香叶油、香茅油的主成分, 具有似玫瑰的香气。)



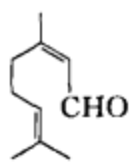
橙花醇 (nerol)
(是橙花油、柠檬草油等挥发油的主成分, 具玫瑰香气。)



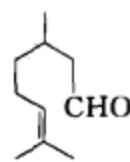
香茅醇 (citronellol)
(是香茅油、玫瑰油等挥发油的主成分, 具玫瑰香气。)



香叶醛 (geranial)
 α -柠檬醛 (反式)



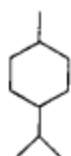
橙花醛 (neral)
 β -柠檬醛 (顺式)



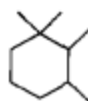
香茅醛 (citronella)

2. 环状单萜

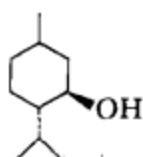
根据环和方式的不同, 将单环单萜化合物分为对薄荷烷型、环香叶烷型和其他类型。



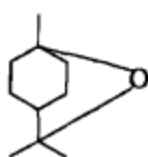
对薄荷烷型



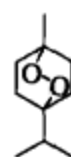
环香叶烷型

(1) 对薄荷烷型 (*p*-menthane)

l-薄荷醇 (*l*-menthol)
(具有清凉、麻醉作用, 亦有防腐和杀菌作用, 用于镇痛和止痒。)

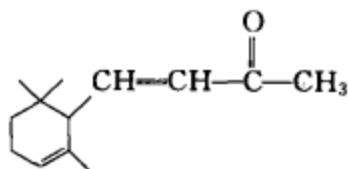


桉油精
(桉叶挥发油的主成分, 具有解热、消炎、抗菌、防腐作用。)

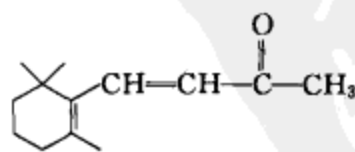


驱蛔素
(土荆芥油的主成分, 强力驱蛔虫药。)

(2) 环香叶烷型 (cyclogeraniane) 紫罗兰酮存在于千屈菜科指甲花挥发油中。

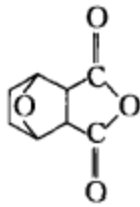


α -紫罗兰酮
(用于配制高级香料。)

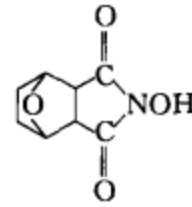


β -紫罗兰酮
(合成 VA 的原料。)

(3) 其他类型

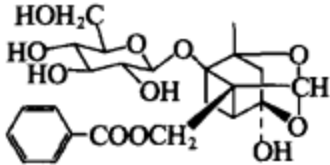


斑螋素 (cantharidin)
(存在于斑螋、芫青科干燥虫体中,
作为皮肤发赤、发泡、生毛剂。)



N-羟斑螋胺 (N-hydroxycantharidimide)
(用于治疗肝癌。)

3. 双环单萜



芍药苷 (paeoniflorin)
(从芍药根中得到, 镇静、镇痛、
抗炎、防治老年性痴呆。)

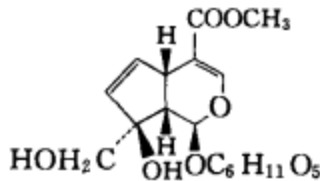


樟脑 (camphor)
(易升华, 特殊的钻透性具有局部刺激
作用和防腐作用, 可作为强心剂。)

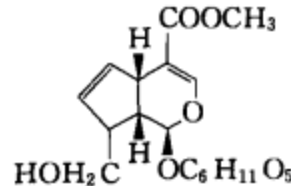
4. 环烯醚萜类化合物

环烯醚萜是环戊烷单萜衍生物, 为溴蚁二醛 (iridodial) 的缩醛衍生物。

(1) 环烯醚萜及其苷 环烯醚萜类成分多以苷的形式存在, 以 10 碳环烯醚萜苷占多数; C11 羟基多与葡萄糖成单糖苷; C11 有的氧化成羧酸, 并可成酯。

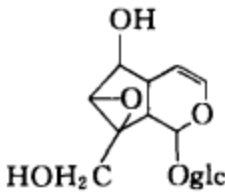


栀子苷 (gardenoside)

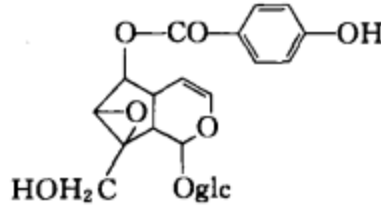


京尼平苷 (geniposide)

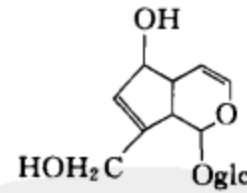
(2) C4-去甲环烯醚萜及其苷 是环烯醚萜的降解苷, 由 9 个碳构成。



梓醇 (catalpol)
(地黄中)

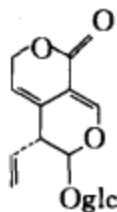


梓苷 (catalposide)
(梓实中)

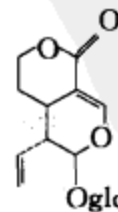


桃叶珊瑚苷 (aucubin)
(车前草)

(3) 裂环环烯醚萜及其苷



龙胆苦苷 (gentiopicroside)



当药苷 (獐牙菜苷, sweroside)

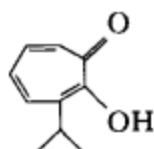
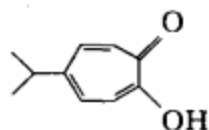
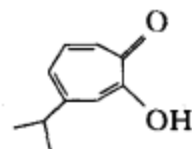
5. 卓酚酮型单萜

卓酚酮类单萜是一类变形的单环单萜, 其碳架结构不符合异戊二烯规则, 结构中都有一个七元芳环的基本结构。

其性质如下。

① 具有芳香性和酚的通性, 酸性大于酚而小于羧酸。

- ② 酚羟基易于甲基化，但不易酰化。
 ③ 羰基的性质似羧酸中的羰基，不能和一般的羰基试剂反应。
 ④ 与金属离子形成络合物，呈各种鲜明的颜色。铜络合物为绿色结晶，铁络合物为赤色结晶。

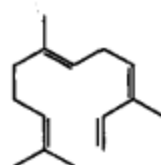
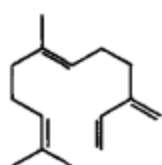
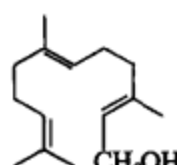
 α -崖柏素 γ -崖柏素

扁柏素

二、倍半萜类化合物

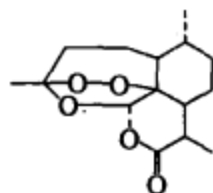
按倍半萜类化合物结构中的碳环数可将其分为无环、单环、双环、三环、四环型等；按环上碳原子数可分为五、六、七元环，直到十二元大环。

1. 无环（链状）倍半萜

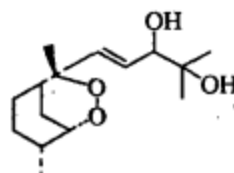
 α -金合欢烯 β -金合欢烯

金合欢醇

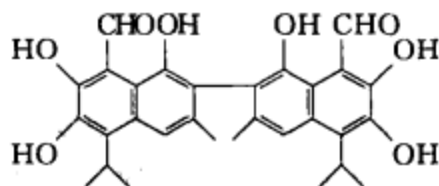
2. 环状倍半萜



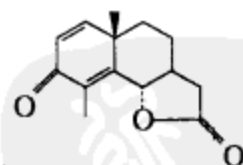
青蒿素 (arteannuin, artemisinin)



鹰爪素 (yingzhaosu)



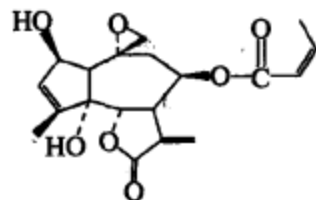
棉酚 (gossypol)

 α -山道年 (α -santonin)

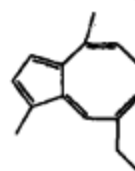
3. 萹类 (azulenoids) 衍生物

凡由五元与七元环并合的芳环骨架都称为萹类化合物。

植物中的倍半萜萹类多数是其氢化衍生物，失去芳香性多数为愈创木烷类。



泽兰苦内酯 (euparotin)

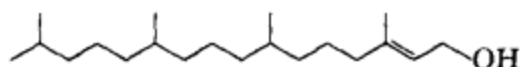


洋甘菊萹 (chamazulene)

三、二萜类化合物

由 4 个异戊二烯单位构成 $(C_5H_8)_4$ ，含 20 个碳原子的化合物类群。

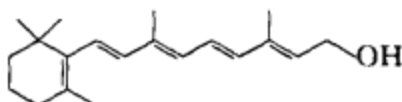
1. 链状二萜



植物醇 (phytol)

2. 环状二萜

包括单环、双环、三环和四环二萜。



维生素 A (vitamin A)

3. 二倍半萜类化合物

由 5 个异戊二烯组成, 含 25 个碳原子的化合物。

第二节 萜类化合物的理化性质

一、物理性质

1. 性状

单萜和倍半萜常温下多为具有特殊香气的油状液体或低熔点的固体, 可以挥发。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。可利用此规律采用分馏的方法进行分离。二萜和二倍半萜多为晶体性固体。

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。但有的化合物具有较强的甜味, 如甜菊苷, 其甜味是蔗糖的 300 倍。

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。低分子萜类化合物具有较高的折射率。

2. 溶解性

一般萜类化合物亲脂性较强, 易溶于苯、氯仿、乙酸乙酯等有机溶剂, 难溶或微溶于水, 但单萜和倍半萜能随水蒸气蒸馏。随着分子中含氧功能团的增加, 水溶性增加, 易溶于甲醇、乙醇、丙酮等极性溶剂。具有内酯结构的萜类化合物能溶于碱溶液, 酸化后又自水中析出, 利用此性质可分离纯化具有内酯结构的萜类化合物。

萜类化合物在高温、光照和酸碱存在的条件下可发生氧化或重排, 引起结构的改变。在提取分离时, 应慎重考虑。

二、化学性质

大多数萜类化合物分子中含有双键、醛基、酮基等官能团, 因此化学性质活泼, 可发生氧化、分子重排等许多化学反应。利用这些性质可以鉴别、分离和提纯萜类化合物。

1. 加成反应

含有双键的萜类化合物可与氢卤酸类 (如氢碘酸或氯化氢)、溴、亚硝酰氯、顺丁烯二酸酐等试剂发生加成反应, 生成结晶性的加成产物, 可用于萜类的分离与纯化。

含有羰基的萜类化合物可与饱和亚硫酸氢钠、硝基苯肼、亚硝酸钠、吉拉德试剂等试剂发生加成反应, 生成结晶加成产物, 再在烯酸或稀碱的条件下水解, 可生成原来的成分。

2. 氧化反应

萜类化合物中的多种基团可以被氧化剂氧化。氧化剂不同,氧化的条件不同,生成的氧化产物也各不相同。常用的氧化剂有高锰酸钾、臭氧、铬酐(三氧化铬)、二氧化硒和四醋酸铅等,其中以臭氧的应用最广泛,既可用于测定分子中双键的位置,亦可用于萜类化合物的醛酮合成。

3. 脱氢反应

萜类化合物的脱氢反应一般是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。在脱氢反应中,环萜的碳架因脱氢转变为芳香烃类衍生物,所得芳香烃类衍生物可以通过合成的方法加以鉴定。脱氢反应对研究萜类化合物母核骨架是一种很有价值的反应。

4. 分子重排反应

萜类化合物在进行加成、消除、亲核取代反应时,常常发生碳架的改变,引起重排。

三、萜类化合物的鉴别

萜类化合物常用 TLC 鉴别,常用的试剂有 0.5% 的茴香醛硫酸冰乙酸溶液、0.5% 的香草醛硫酸乙醇溶液、10% 的硫酸乙醇溶液、5% 的对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液即 Ehrlich 试剂等。如芍药苷与 10% 的硫酸乙醇溶液加热后显紫褐色等。

第三节 萜类化合物的提取与分离

萜类化合物的结构千变万化,提取分离方法因其结构类型的不同而呈现多样化。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。因此,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。

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。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,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,易溶于氯仿、乙酸乙酯、苯、乙醚等亲脂性有机溶剂。这类化合物一般用有机溶剂提取,或用甲醇或乙醇提取后再用亲脂性有机溶剂萃取。

需要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重排,二萜类易聚合而树脂化,导致结构的变化,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方法事先破坏酶的活性。

1. 溶剂提取法

(1) 苷类化合物的提取 常用甲醇或乙醇为溶剂进行提取,经减压浓缩后转溶于水中,滤除水中不溶性杂质,继用乙醚或石油醚萃取,除去残留的树脂等脂溶性杂质,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顺序依次分别萃取, 得不同极性的萜类提取物, 再进行分离。

2. 碱提取酸沉淀法

利用具有内酯结构的化合物在热碱液中开环成盐而溶于水, 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。但当用酸、碱处理时可能引起构型的改变, 应加以注意。

3. 吸附法

(1) 大孔树脂吸附法 将含苷的水溶液通过大孔树脂吸附, 用水、稀醇、醇依次洗脱, 再分别处理, 可得纯的苷类化合物。如甜菊干叶热水提取液, 碱化后上大孔吸附树脂柱, 水洗后用 95% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 脱色处理, 用甲醇结晶, 即得甜叶菊苷结晶。

(2) 活性炭吸附法 苷类的水提取液通过活性炭吸附柱, 用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, 有可能得到纯品, 如桃叶珊瑚苷的分离。

二、萜类的分离

1. 结晶法分离

有些萜类的萃取液浓缩到小体积时往往会有结晶析出, 滤除结晶, 再以适量的溶剂重结晶, 可得纯的萜类化合物。

2. 柱色谱分离

萜类化合物的分离多用吸附柱色谱法, 常用的吸附剂有硅胶、中性氧化铝等, 其中应用最多的是硅胶。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)。选用氧化铝作吸附剂时, 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, 也可采用硝酸银柱色谱进行分离, 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 络合物的难易程度和稳定性也有不同, 可利用此规律进行分离。可根据实际情况, 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。

萜类化合物柱色谱分离一般选用非极性或弱极性有机溶剂, 如正己烷、环己烷、石油醚、乙醚、苯或乙酸乙酯或混合溶剂作洗脱剂。在实际操作中应根据被分离物的极性大小来考虑。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、氯仿-丙酮作洗脱剂。

3. 利用结构中特殊官能团进行分离

具有内酯结构的萜类化合物可在碱性条件下开环, 加酸后又环合, 利用此性质可与非内酯类化合物分离, 如倍半萜内酯的分离。此外, 含有不饱和双键、羰基等的萜类化合物可用加成的方法制备成衍生物加以分离, 萜类生物碱也可用酸提取碱沉淀法进行分离。

第四节 挥发油

挥发油 (volatile oil) 又称精油 (essential oil), 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。

迄今为止已发现含有挥发油的植物有 3000 余种。在我国野生与栽培的芳香植物有 56 科, 136 属, 约 300 种。例如芸香科植物芸香、降香、花椒、橙、柠檬、佛手、吴茱萸等,

伞形科植物小茴香、芫荽、川芎、白芷、防风、柴胡、当归、独活等，菊科植物菊、蒿、艾、白术、泽兰、木香等，唇形科植物薄荷、藿香、荆芥、紫苏、罗勒等，樟科植物山鸡椒、乌药、肉桂、樟等，木兰科植物五味子、八角茴香、厚朴等，桃金娘科植物丁香、桉、白千层等，马兜铃科植物细辛、马兜铃等，姜科植物姜黄、姜、高良姜、砂仁、豆蔻等，马鞭草科植物马鞭草、牡荆、蔓荆等，禾本科植物香茅、芸香草等，败酱科植物败酱、缬草、甘松等都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，大多数呈油滴状存在，也有些与树脂、黏液质共同存在，还有少数以苷的形式存在。

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。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，而根和木部则含樟脑多。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，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。

一、挥发油的性质

1. 性状

挥发油在常温下大多为无色或微带淡黄色的透明液体，也有少数因含有萜类化合物或溶有色素而具有其他颜色。如苦艾油显蓝绿色，麝香草油显红色。

挥发油大多数具有特殊的气味，有辛辣烧灼的感觉，呈中性或酸性反应。挥发油的气味，往往是其品质优劣的重要标志。

挥发油在常温下为液体，有的在冷却时其主要成分可能析出结晶。习惯上将这种结晶称为“脑”，如薄荷脑、樟脑等。

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。

2. 溶解度

挥发油易溶于石油醚、乙醚、二硫化碳、油脂等有机溶剂中，不溶于水。在高浓度乙醇中能全部溶解，而在低浓度乙醇中只能部分溶解。

3. 物理常数

挥发油几乎均有光学活性，比旋光度在 $+97^{\circ}$ ~ 177° 范围内；具有强的折射性，折射率在1.43~1.61之间；挥发油的沸点一般在70~300℃之间，可以随水蒸气蒸馏；挥发油多数比水轻，也有比水重的（如丁香油、桂皮油），相对密度在0.85~1.065之间。

4. 稳定性

挥发油与空气、光等长时间接触会逐渐氧化变质，使挥发油香味丧失，颜色变深，密度增加，并能形成树脂样物质，不能随水蒸气蒸馏。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、密封、低温避光保存。

二、挥发油的组成

挥发油所含成分比较复杂，一种挥发油中常常含有几十种到上百种化学成分。构成挥发油的成分物质类型主要可分为如下四类化合物，其中以萜类化合物为多见，有些含有脂肪族或小分子的芳香族化合物。

(1) 萜类化合物 挥发油中的萜类成分，主要是单萜、倍半萜及它们的含氧衍生物，其中含氧衍生物大多是生物活性较强或具有芳香气味的主要组成成分。如人参挥发油中含有较

多的 β -榄香烯(β -elemene),薄荷油中含8%左右的薄荷醇(menthol),樟脑油中约含50%的樟脑(camphor)等。

(2) 芳香族化合物 芳香族化合物在挥发油中的含量仅次于萜类。挥发油中的芳香族化合物有的是萜类衍生物,如百里香草酚(thymol)、孜然芹烯(*p*-cymene)、 α -姜黄烯(α -curcumene)等;有些是苯丙烷类衍生物,结构具有C6-C3骨架,如桂皮油中的桂皮醛(cinnamaldehyde)、八角茴香油及茴香油中的主要成分茴香醚(anethole)、丁香油中的主要成分丁香酚(eugenol)等。

(3) 脂肪族化合物 挥发油中常存在一些分子脂肪族化合物。如甲基正壬酮存在于鱼腥草、黄柏果实及芸香挥发油中,正庚烷存在于松节油中,正癸烷存在于桂花的头香成分中。

有些挥发油中还常含有小分子醇、醛及酸类化合物。如异戊醛存在于橘子、柠檬、薄荷、桉叶、香茅等挥发油中,癸酰乙醛(decanylacetaldehyde)异戊酸存在于啤酒花、缬草、桉叶、香茅、迷迭香等挥发油中。

(4) 其他类化合物 除上述三类化合物外,还有一些物质,如芥子油(mustard oil)、挥发杏仁油(volatile bitter almond oil)、大蒜油(garlic oil)等,也能随水蒸气蒸馏,也常称之为“挥发油”。它们在植物中多以苷的形式存在。黑芥子油是芥子苷经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,大蒜油则是大蒜中大蒜氨酸经酶水解后产生的大蒜辣素(allicin)等物质。

另外,某些液体生物碱,如川芎嗪(tetramethylpyrazine)、菸碱(nicotine)、毒藜碱(anabasine)等,也可随水蒸气蒸馏,但这些化合物往往不作挥发油类成分对待。

三、挥发油的提取

1. 水蒸气蒸馏法

从挥发油的性质可知,该类化合物与水不相混溶、挥发性大,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以利用水蒸气蒸馏法提取。

此法虽然设备简单、操作容易、成本低、产量大、挥发油的收率较高,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发生改变,往往降低作为香料的价值,应加以注意。有些挥发油含水溶性杂质较多,可将初次蒸馏液重新蒸馏,盐析后再用低沸点有机溶剂萃取。

2. 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。常用的方法有溶剂萃取法、油脂吸收法、超临界流体萃取法等。

(1) 溶剂萃取法 挥发油可采用回流浸出法或冷浸法。用石油醚(30~60℃)、二硫化碳、四氯化碳、苯等有机溶剂浸提,回收有机溶剂后即得浸膏,浸膏再用热乙醇溶解,放置冷却,滤除杂质,回收乙醇后即得净油。

(2) 油脂吸收法 利用油脂类可以吸收挥发油的性质,提取贵重的挥发油。如玫瑰油、茉莉花油常采用此法进行。常用无臭味的猪油3份与牛油2份的混合物均匀地涂在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。

(3) 超临界流体萃取法 用二氧化碳超临界流体萃取法提取芳香挥发油，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，明显优于其他方法。如柠檬油、桂花油、香兰素的提取。但由于其工艺技术要求高，设备费用投资大，在我国应用还不普遍。

3. 冷压法

此法适用于含挥发油较多的新鲜植物原料。如橘、柑、柠檬果皮等的原料，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。本法所得挥发油可保持原有的香味，但可能溶出原料中的不挥发性物质，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

1. 物理方法

(1) 冷冻处理 通常将挥发油置于 0°C 以下使其析出结晶，如无结晶析出可将温度降至 -20°C ，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°C ，冷冻 12h 析出第一批粗脑，再在 -20°C 冷冻 24h 可析出第二批粗脑，粗脑加热熔融，在 0°C 冷冻，可得较纯薄荷脑。

(2) 分馏法 用此法分离挥发油时常在减压下进行。单萜烯类化合物通常在 $35\sim 70^{\circ}\text{C}/1.333\text{kPa}$ 被蒸馏出来，单萜的含氧化合物在 $70\sim 100^{\circ}\text{C}/1.333\text{kPa}$ 被蒸馏出来，倍半萜烯及其含氧化合物在更高的温度被蒸馏出来，有些倍半萜含氧化合物的沸点很高，所得的各馏分中的组成成分有时有交叉的情况。

2. 化学方法

(1) 利用酸、碱性不同进行分离

① 酚、酸性成分的分离：将挥发油溶于等量乙醚中，先后以 $3\%\sim 5\%$ 的碳酸氢钠和氢氧化钠溶液进行萃取，分出碱溶液，酸化后用乙醚萃取，回收乙醚，前者可得酸性成分，后者可得酚性成分。工业上从丁香罗勒油中提取丁香酚就是应用此法。

② 碱性成分的分离：含有碱性成分的挥发油溶于乙醚后，加稀盐酸或稀硫酸萃取，所得酸溶液层碱化后用乙醚萃取，回收乙醚可得碱性成分。

(2) 利用官能团特性进行分离 对于一些中性挥发油，多利用官能团的特性制备成相应的衍生物的方法进行分离。

① 醇类成分的分离：挥发油与丙二酸单酰氯或丁二酸酐反应生成酯，再将生成物溶于碳酸钠溶液，用乙醚洗去未反应的挥发油，碱溶液皂化，再以乙醚萃取所生成的酯，回收乙醚后，残留物经皂化，可得到原有的醇类成分。

② 醛、酮成分的分离：将除去酚、酸性成分的挥发油用水洗至中性，以无水硫酸钠干燥后，加饱和亚硫酸氢钠溶液充分振摇，将生成的结晶加成物加酸或碱液处理，使加成物水解，再用乙醚萃取，可得醛或酮类化合物。

③ 其他成分的分离：挥发油中的酯类成分可用精馏或色谱法分离。挥发油中的醚萜成分可利用醚类与浓酸形成钡盐易于结晶的性质，进行分离，如桉叶油中的桉油精 (eucalyptol) 的分离就可应用此法。

3. 色谱法

以硅胶和氧化铝吸附柱色谱应用最广泛。由于挥发油的组分多而复杂，分离用色谱法与

分馏法配合常可获得较好的效果。一般将分馏馏分溶于石油醚等极性小的溶剂中，通过氧化铝或硅胶柱，依次用石油醚、石油醚-乙酸乙酯等溶剂洗脱，洗脱液分别以薄层色谱进行检查，直到获得单体成分。

挥发油的色谱除采用一般常规方法外，还可采用硝酸银柱色谱或硝酸银薄层色谱进行分离。依据萜类化合物双键数目和位置不同，与硝酸银形成 π 络合物的难易及稳定性不同，使其得到分离。硝酸银在吸附剂中的含量一般以2%~2.5%比较适宜。

此外，气相色谱和制备性薄层色谱也是分离挥发油常用的方法。

鄧平舫
贈
PDG

第八章 其他几类天然产物

第一节 醌类化合物

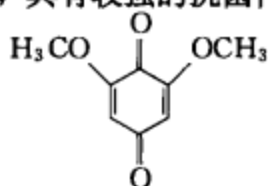
醌类化合物是一类比较重要的活性成分，广泛存在于自然界，特别是在海洋生物、细菌、真菌、地衣、高等植物中更为普遍。源于植物的醌类主要集中于紫草科、茜草科、紫葳科、胡桃科、百合科等类群。

一、醌类化合物的结构和分类

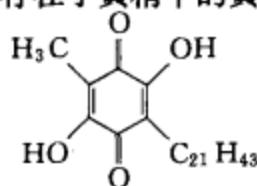
天然醌类化合物主要有苯醌、萘醌、菲醌和蒽醌四种类型。母核上多具有酚羟基、甲氧基、甲基、异戊烯基和脂肪侧链以及稠合氧杂环等。

1. 苯醌类化合物

苯醌类化合物可分为对苯醌和邻苯醌两大类。邻苯醌结构不稳定，因此天然存在的苯醌类化合物多数是对苯醌的衍生物。天然存在的对苯醌衍生物多为黄色或橙色的结晶，如凤眼草中的 2,6-二甲氧基对苯醌为黄色结晶，具有较强的抗菌作用。此外存在于黄精中的黄精醌也是黄色结晶。



2,6-二甲氧基苯醌

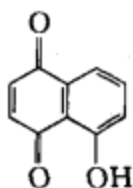


黄精醌

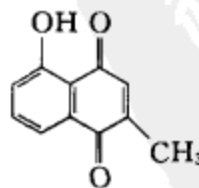
2. 萘醌类化合物

萘醌类化合物从结构上来看大多数是 1,4-二萘醌的衍生物，多为橙色或橙红色结晶，少数呈紫色。

许多萘醌类化合物具有显著的生物活性。如胡桃叶及其未成熟果实中含有的胡桃醌具有抗菌、抗癌及中枢神经镇静作用；毛膏菜和白雪花中的蓝雪醌（又名矾松素）有抗结核杆菌的作用，它能干扰结核杆菌的正常代谢，从而抑制结核杆菌的生长。



胡桃醌

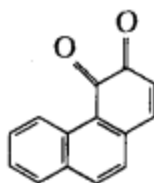


蓝雪醌

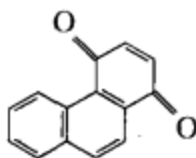
从中药紫草中分得的多种萘醌色素也具有广泛的生物活性，为中药紫草中的主要有效成分。

3. 菲醌类化合物

天然存在的菲醌衍生物包括邻菲醌和对菲醌两种类型，其基本结构如下。



邻菲醌



对菲醌

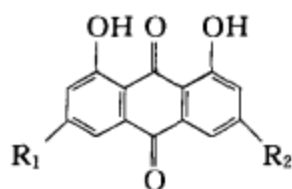
例如中药丹参中含有的多种菲醌衍生物都属于邻菲醌和对菲醌类化合物。草药落羽松中分离出的落羽酮及落羽松二酮也具有菲醌样结构。二者都有抑制肿瘤生长的作用。

4. 蒽醌类化合物

蒽醌类化合物是一类广泛存在于自然界的重要天然色素。主要包括蒽醌衍生物以及不同程度的还原产物, 如蒽酚、氧化蒽酚、蒽酮及蒽酮的二聚体等。

(1) 蒽醌衍生物 根据—OH 在蒽醌母核中位置不同, 可将羟基蒽醌衍生物分为两类。

① 大黄素型 羟基分布在两侧苯环上, 多数呈棕-黄色。例如中药大黄中主要蒽醌成分大多属于这个类型。



$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{H}$: 大黄酸

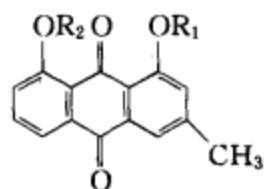
$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{OH}$: 大黄素

$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{OCH}_3$: 大黄素甲醚

$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$: 芦荟大黄素

$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COOH}$: 大黄酸

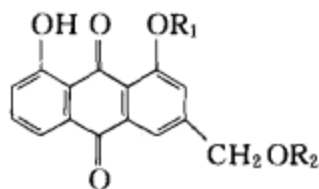
羟基蒽醌衍生物多与葡萄糖、鼠李糖等结合成苷而存在, 有单糖苷, 也有双糖苷, 具体实例如下:



$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{glc}$: 大黄酚葡萄糖苷

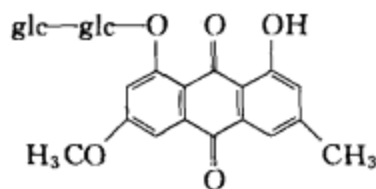
(大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷)

$R_1 = \text{glc}, R_2 = \text{H}$: 大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷



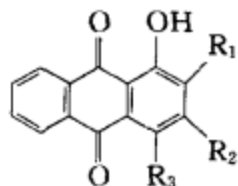
$R_1 = \text{glc}, R_2 = \text{H}$: 芦荟大黄素葡萄糖苷

$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{glc}$: 芦荟大黄素-ω-O-β-D-葡萄糖苷



大黄素甲醚-ω-O-β-D-龙胆双糖苷

② 茜草素型 羟基分布在一侧苯环上, 颜色多为橙黄-橙红色。例如中药茜草中的茜草素等化合物就是这种类型。



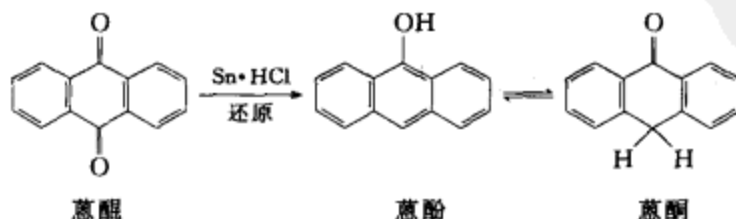
$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}$: 茜草素

$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OH}$: 羟基茜草素

$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{COOH}, R_3 = \text{OH}$: 伪羟基茜草素

目前已从茜草中分离出 19 中蒽醌类化合物, 主要有茜草素、羟基茜草素、伪羟基茜草素等多种蒽醌类化合物。

(2) 蒽酚(或蒽酮)衍生物 蒽醌在酸性溶液中被还原, 则生成蒽酚及其互变异构体蒽酮。



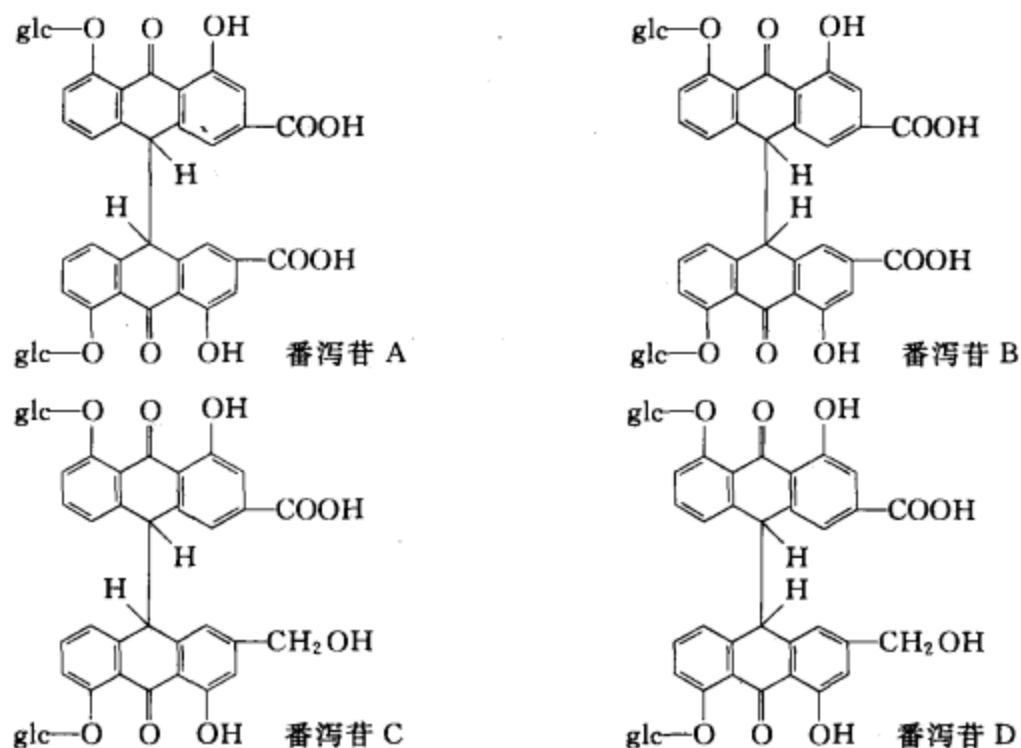
蒽酮、蒽酚类化合物性质不稳定, 故只存在于新鲜植物中, 该类成分可以慢慢被氧化成蒽醌类成分。例如鲜大黄中所含的蒽酚类成分经过几年贮存即检测不出。

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

(3) 二蒽酮类衍生物 二蒽酮类化合物可以看成是两分子的蒽酮相互结合而成的化合物。如大黄和番泻叶中致泻的主要有效成分番泻苷 A、B、C、D 均为二蒽酮类衍生物。

番泻苷 A 是由两分子大黄酸蒽酮通过 C10—C10' 相互结合（反式排列）而成。 $[\alpha]_D^{20} -167^\circ$ (70% 丙酮)，不溶于水、苯、乙醚或氯仿，难溶于甲醇、乙醇或丙酮，但在与水相混的有机溶剂中的溶解度随含水量的增加而增大，溶剂中含水量达 30% 时溶解度最大，能溶于碳酸氢钠水溶液，易被酸水解生成 2 分子葡萄糖和 1 分子番泻苷元 A，具有右旋性。

番泻苷 B 性质与番泻苷 A 相似，是番泻苷 A 的异构体。 $[\alpha]_D^{20} -100^\circ$ (70% 丙酮)，水解后生成 2 分子葡萄糖和番泻苷元 B。苷元 B 是苷元 A 的内消旋体。



番泻苷 C 是由 1 分子大黄酸蒽酮与 1 分子芦荟大黄素蒽酮通过 C10—C10' 相互结合（反式排列）形成的二蒽酮二葡萄糖苷， $[\alpha]_D^{24} -123^\circ$ (70% 丙酮)。

番泻苷 D 是番泻苷 C 的异构体。

番泻苷 A 和番泻苷 C 具有相同的立体结构，水解后产生具有光学活性的苷元。由于 C10—C10' 键的旋转受阻，所有苷元 B、苷元 D 是内消旋的，而苷 B、苷 D 的旋光性是由糖部分造成的。

大黄及鼠李皮中也存在着许多二蒽酮的衍生物，从大黄中也能分离得到番泻苷 A、番泻苷 B、番泻苷 C、番泻苷 D，并进一步得到番泻苷 E 和番泻苷 F，它们是番泻苷 A 和番泻苷 B 的草酸盐。

二蒽酮类衍生物除 C10—C10' 的结合方式外，还有其他形式。如金丝桃素为萘并二蒽酮类衍生物，存在于金丝桃属植物中，是贯叶连翘的抗病毒、抗抑郁、抗肿瘤的活性成分。

二、醌类化合物的理化性质

1. 醌类的物理性质

醌类化合物一般都有良好的晶形，成苷后难以得到好的晶体，多数为无定形粉末。苯醌

和萘醌大多以游离态存在，蒽醌一般结合成苷存在与植物体中，因极性较大而难以得到结晶。分子中没有酚羟基的醌类化合物几乎无色，但随着酚羟基等助色团的引入即显现出不同的颜色，引入的助色团越多颜色越深，有黄、橙、棕红、紫红色等。

游离的醌类化合物具有升华性，分子量较小的苯醌及萘醌类还具有挥发性，可随水蒸气蒸馏。

多数游离醌类化合物能溶于乙醇、乙醚、苯和氯仿等有机溶剂，微溶或不溶于水。和糖结合成苷后极性增大，易溶于甲醇、乙醇-水等极性溶剂，也可溶解于热水，几乎不溶于乙醚、苯和氯仿等极性较小的有机溶剂中。

此外，有些醌类化合物遇光不太稳定，因而在处理样品时应尽可能在暗处进行，避光保存。

2. 醌类化合物的化学性质

(1) 酸性 分子中含有酚羟基的醌类化合物一般显酸性，在碱性水溶液中成盐溶解，酸化时又析出沉淀。

醌类化合物分子中酚羟基的数目及位置不同，其酸性强弱也不同。例如萘醌的醌核上若连有羟基，其酸性就类似于低级羧酸，可溶于 NaHCO_3 溶液。萘醌及蒽醌苯环上 β -羟基的酸性则次之，可溶于 Na_2CO_3 溶液。而 α -羟基由于能与 $\text{C}=\text{O}$ 形成分子内氢键，酸性较弱，只能溶于 NaOH 溶液。

蒽醌类衍生物的酸性强弱顺序为：含羧基 > 含 2 个以上 β -酚羟基 > 含 1 个 β -酚羟基 > 含 2 个 α -酚羟基 > 含 1 个 α -酚羟基。故可在有机溶剂中分别用 5% NaHCO_3 、5% Na_2CO_3 、1% NaOH 和 5% NaOH 水溶液进行梯度萃取，可分离酸性不同的蒽醌化合物。

(2) 显色反应 醌类化合物由于分子中含有酚羟基、羰基及共轭体系，可以和一些试剂发生显色反应。并且羟基的位置不同，产生的颜色也不同。

① Feigl 反应 醌类及其衍生物在碱性条件下加热能迅速与醛类及邻二硝基苯反应，生成紫色化合物。实验时取醌类化合物的水或苯溶液 1 滴，加入 25% 的 Na_2CO_3 水溶液、4% 的 HCHO 、5% 的邻二硝基苯的苯溶液各 1 滴，混合后置水浴上加热，1~4min 内出现紫色。醌类化合物的浓度越高，反应速率越快。

② 亚甲基蓝显色反应 将 100mg 亚甲基蓝溶解于 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。该溶液用做纸色谱和薄层色谱的显色剂，样品以蓝色斑点出现，专用于检测出苯醌及萘醌，可与蒽醌类化合物相区别。

③ 碱性条件下的呈色反应 (Bornträger 反应) 羟基蒽醌或其苷类化合物在碱性溶液 (NaOH 、 Na_2CO_3 及氨水) 中发生颜色改变，多呈橙、红、紫红色及蓝色等颜色。用本法鉴定是否含有蒽醌类成分时，取样品 0.1g 加 10% H_2SO_4 5mL，水浴加热 2~10min，冷却后加 2mL 乙醚，静置后分出醚层，加 5% NaOH 溶液 1mL，如醚层由黄色变为无色，而水层显红色，则说明有羟基蒽醌存在。

④ Kesting-Craven 反应 (活性次甲基试剂反应) 活性次甲基试剂有乙酰醋酸酯、丙二酸酯、丙二腈等。当醌或萘醌化合物的醌环有未取代的位置时，可在氨碱性下与活性次甲基反应，生成显蓝绿色或蓝紫色的物质。萘醌的苯环上如有羟基取代，反应受到抑制。蒽醌类化合物不能发生反应。

⑤ 与金属离子的反应 有 α -酚羟基或邻位二酚羟基结构的蒽醌类化合物，可与 Pb^{2+} 、 Mg^{2+} 等金属离子形成络合物而显色。例如，将羟基蒽醌衍生物的醇溶液滴在滤纸上，然后喷以 0.5% 的醋酸镁甲醇或乙醇溶液，于 90℃ 加热 5min，即可生成橙红、紫红或蓝紫色络合物。反应比较灵敏，可用于鉴别羟基蒽醌的存在及作薄层色谱或纸色谱的显色剂。与

Pb^{2+} 形成的络合物在一定 pH 值条件下能沉淀析出, 可用于精制蒽醌类化合物。

三、醌类化合物的提取分离

醌类化合物结构不同, 其性质相差较大, 故没有通用的提取分离方法。以下介绍游离醌类及醌苷类化合物的常用提取分离方法。

1. 游离醌类化合物的提取分离方法

游离醌类化合物的提取分离方法主要有以下几种。

(1) 有机溶剂提取法 将植物样品用氯仿、乙醚、苯等有机溶剂进行提取, 然后浓缩。有时在浓缩过程中即可析出晶体, 必要时可进行重结晶等精制处理。

(2) 碱提取酸沉淀法 此法可用于提取带酚羟基或羧基的醌类化合物。酚羟基与碱成盐而溶于碱溶液中, 酸化后又沉淀析出。游离羟基蒽醌的分离, 可采用 pH 梯度萃取法和色谱法。

(3) 水蒸气蒸馏法 该法适用于分子量小的苯醌及萘醌类化合物。

(4) 色谱法 常用硅胶柱色谱或制备薄层色谱分离游离醌类衍生物。如果分离结构相近的同系物, 有时需要改变吸附剂或洗脱剂, 进行反复色谱分离或用制备型 HPLC 分离精制, 才能取得较好的分离效果。

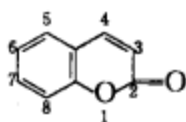
2. 醌苷类化合物的提取分离方法

蒽醌苷类化合物的分离与精制较为复杂, 常常先用氯仿、乙醚、苯或铅盐法预先除去大部分杂质, 获得较纯的总苷后, 再用柱色谱进行分离。实际操作中常采用中等极性的溶剂, 如乙酸乙酯、正丁醇等将蒽醌苷类化合物从水溶液中提取出来, 再用色谱法进一步分离。柱色谱时常把吸附柱色谱或分配柱色谱结合起来使用, 常用的固定相有聚酰胺、硅胶及葡萄糖凝胶等。其中聚酰胺色谱法对分离羟基蒽醌类衍生物效果较好, 因为不同的羟基蒽醌苷类成分羟基数目及位置不同, 与聚酰胺形成氢键的能力不同, 因而吸附强度也不相同。

需要注意的是, 一般羟基蒽醌类衍生物及其相应的苷类化合物在植物体内多以酚羟基或羧基结合成盐, 如以钠盐、钙盐等形式存在, 为提高提取效率, 应先加酸使之游离后再用醇提取。

第二节 香豆素类化合物

香豆素 (coumarin) 是具有苯并 α -吡喃酮结构骨架的一类次生代谢产物的总称, 是由顺式邻羟基桂皮酸形成的内酯, 绝大多数在 7 位有羟基或醚基取代, 具有芳香气味。迄今为止, 从自然界已分离得到近 900 种香豆素类化合物, 它们都具有以下的基本母核结构:



香豆素类化合物广泛分布于高等植物中, 尤其是在伞形科、芸香科、菊科、豆科和茄科等植物中的分布更为普遍。它们大多以游离态或与糖结合成苷的形式存在于植物的花、果实、叶、茎中。

香豆素类化合物在紫外光下常常显蓝色荧光, 有的在可见光下也常能观察到荧光, 在遇到浓硫酸时能产生特征的蓝色荧光, 据此很容易发现它的存在。

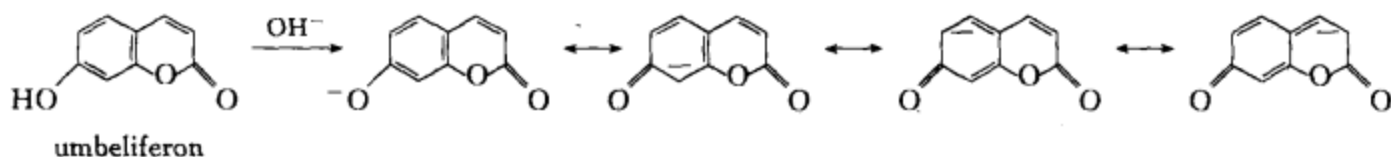
一、香豆素类化合物的结构

香豆素母核上常有羟基、烷氧基、苯基、异戊烯基等。其中异戊烯基的活泼双键可与邻

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的不同,通常将香豆素类化合物分为简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素、异香豆素和其他香豆素类等。

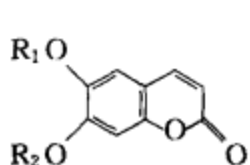
1. 简单香豆素类化合物

简单香豆素是指只在苯环上有取代基的香豆素类化合物。取代基包括羟基、甲氧基、亚甲二氧基和异戊烯基等。



绝大部分香豆素在 C7 位都有含氧官能团存在, 900 多个香豆素仅少数例外, 因此可以认为 umbeliferon 为香豆素的基本母核。其他 C5、C6、C8 都有存在含氧官能团的可能, 常见的有 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 等。

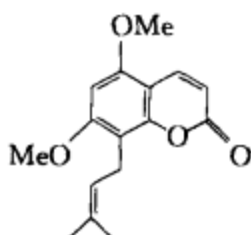
侧链异戊烯基有一个、两个或三个相连接的, 其上双键有时转换成环氧、邻二醇、酮基或接糖基而成苷。



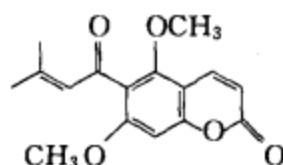
$R_1 = R_2 = H$: 七叶内酯 (esculetin)

$R_1 = \text{glc}$, $R_2 = H$: 七叶内酯苷 (esculin)

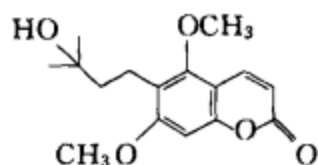
$R_1 = R_2 = CH_3$: 滨蒿内酯 (scoparon)



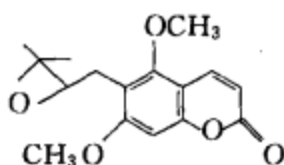
coumurrayin



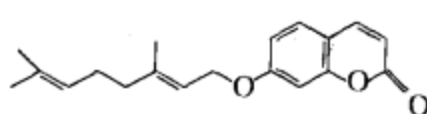
当归内酯
(angelicon)



筋钩内酯
(toddalolacton)



缩水筋钩内酯
(aurepten)



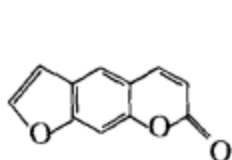
葡萄内酯
(aurepten)

2. 呋喃香豆素类化合物

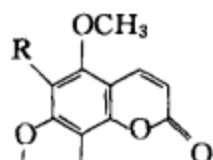
呋喃香豆素 (furocoumarins) 是指香豆素核上的异戊烯基常与邻位酚羟基环合成呋喃而成的香豆素类化合物。成环后有时伴随降解, 失去 3 个碳原子。根据呋喃环并合的位置可将此类化合物分为线型和角型。呋喃环与香豆素母核在 6、7 位并合, 三个环在一直线上, 称线型 (linear); 呋喃环在 5、6 或 7、8 位并合, 三个环处在一折角线上, 称角型 (angular)。

(1) 线型 即 6,7-呋喃并香豆素型 (linear)。以补骨脂内酯为代表, 又称补骨脂内酯型。

(2) 角型 即 7,8-呋喃并香豆素型 (angular), 又称异补骨脂内酯型。



补骨脂内酯



异补骨脂内酯

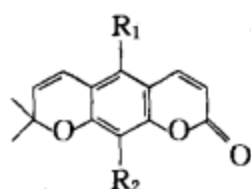
$R = H$: 异香柑内酯 (isobergaptin)

$R = OCH_3$: 茴芹内酯 (pimpinellin)

3. 吡喃香豆素类

吡喃香豆素类 (pyranocoumarins) 是由香豆素苯环上异戊烯基常与其邻位酚羟基环合形成 2,2-二甲基- α -吡喃环结构的香豆素类化合物。与呋喃香豆素相似, 也可分为线型和角型。

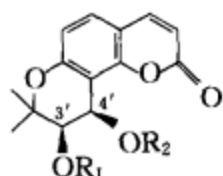
(1) 线型 即 6,7-吡喃并香豆素 (linear)。



$R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{H}$: 美花椒内酯 (xanthoxyletin)

$R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OCH}_3$: 鲁望橘内酯 (luvangatin)

(2) 角型 即 7,8-吡喃并香豆素类 (angular)。

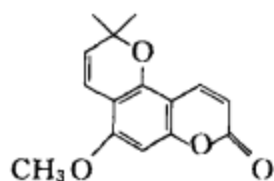


$R_1 = R_2 = \text{H}$: (+) 顺凯尔内酯

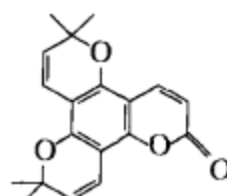
$R_1 = \text{COCH}_3$, $R_2 = \text{COCH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$: 沙米丁 (Samidin)

$R_1 = \text{COCH}_3$, $R_2 = \text{COCHCH}_2\text{CH}_3$: 维斯纳丁 (Visnadin)

(3) 其他吡喃香豆素类化合物



别美花椒内酯
(alloxanthoxyletin)



狄佩它妥内酯
(dipetalolactone)

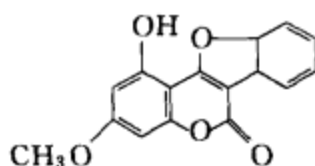
4. 异香豆素类化合物

异香豆素类 (isocoumarin) 是香豆素的异构体, 分布与香豆素不同, 比较零散, 而且局限在少数科属中。例如, 从伞形科植物芫荽中获得的芫荽酮 A、芫荽酮 B 及芫荽酮 C 属于此类化合物。

5. 其他香豆素类化合物

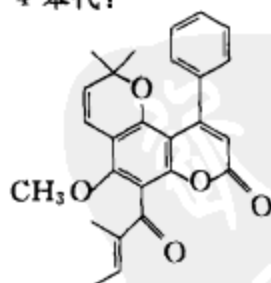
指 α -吡喃酮环上有取代基的香豆素。C3 或 C4 上常有苯基、羟基、异戊烯基等取代。

3-苯代:



蜚蜚菊内酯
(wedelolactone)

4-苯代:



海棠果内酯
(callophylloide)

二、香豆素类化合物的理化性质

1. 物理性质

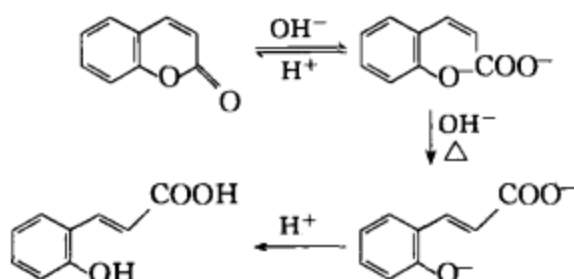
游离的香豆素多为结晶形固体, 有一定熔点, 大多具有香气, 具有升华性质, 分子量小的有挥发性 (可随水蒸气蒸出); 香豆素苷类大多无香味、无挥发性、不能升华。

游离的香豆素能溶于沸水, 难溶于冷水, 易溶于甲醇、乙醇、氯仿和乙醚; 香豆素苷类能溶于水、甲醇和乙醇, 难溶于乙醚、苯等极性小的有机溶剂。

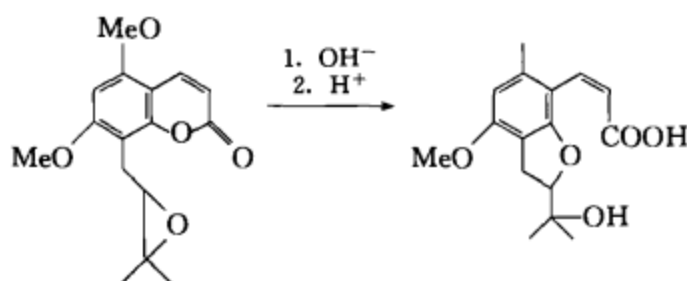
香豆素类化合物在可见光下为无色或浅黄色结晶，在紫外光下常常显出蓝色荧光，在碱溶液中荧光加强。一般在 7 位引入羟基后荧光增强，甚至在可见光下也可辨认，加碱后可变为绿色荧光，但羟基醚化后则荧光减弱。若在 8 位再引入一个羟基，则荧光极弱或消失。

2. 化学性质

(1) 内酯性质和碱水解反应 香豆素的 α -吡喃酮环具有 α, β -不饱和内酯结构，在稀碱液中逐渐水解成黄色溶液，生成顺邻羟基桂皮酸盐，经酸化后又可闭环恢复为原来的内酯。如果长时间在碱溶液中加热放置或经紫外光照射，可转变为稳定的反邻羟基桂皮酸。



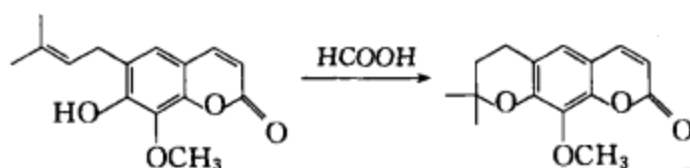
C8 有 C=O、双键、环氧者易得顺邻羟基桂皮酸衍生物：



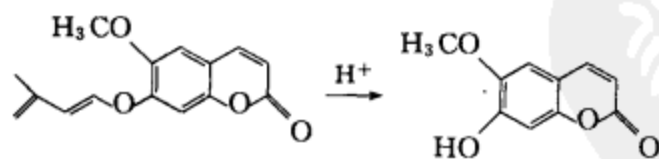
碱水解的速率与芳环上尤其是 C7 位取代基的性质有关，难易顺序：7-OH 香豆素 < 7-OCH₃ 香豆素 < 香豆素。

(2) 与酸的反应

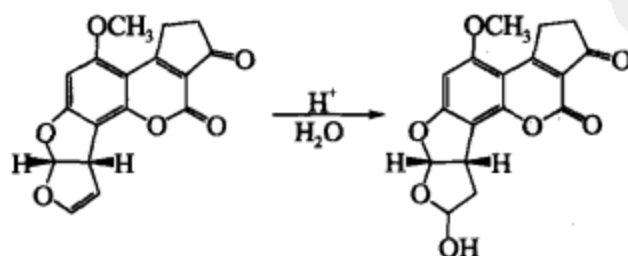
① 环合反应 异戊烯基易与邻酚羟基环合，由此可以决定酚羟基和异戊烯基间的相对位置。



② 醚键的开裂反应 烯醇醚遇酸易水解。



③ 双键加水反应



黄曲霉素 B1 (aflatoxin B1)
(高毒)

黄曲霉素 B2a
(低毒)

(3) 显色反应

① 三氯化铁显色反应 含有酚羟基的香豆素可与三氯化铁发生颜色反应。

② 异羟肟酸铁反应 (识别内酯) 香豆素有内酯结构, 在碱性条件下与盐酸羟胺缩合成异羟肟酸, 再于酸性条件下与三价铁离子络合成盐而显红色。

③ Gibbs 反应 2,6-二氯 (溴) 苯醌氯亚胺在弱碱性条件下可与酚羟基对位的活泼氢缩合成蓝色化合物。

④ Emerson 反应 氨基安替比林和铁氰化钾可与酚羟基对位的活泼氢生成红色缩合物。

注意, 只有香豆素分子中有游离的酚羟基且此酚羟基的对位没有取代基时才可以发生 Gibbs 和 Emerson 反应。

三、香豆素的提取分离

香豆素的提取, 一般先用甲醇或乙醇从植物中提取, 浓缩回收溶剂后得浸膏, 然后用石油醚、乙醚、丙酮、甲醇等极性递增的溶剂依次萃取浸膏, 分成极性不同的部位, 有时在溶剂提取物中就可获得结晶或混合结晶。多数需要进一步分离。常用的方法有以下几种。

1. 碱提取酸沉淀法

利用香豆素类可溶于热碱液中, 加酸又析出的性质, 用 0.5% 氢氧化钠水溶液 (或醇溶液) 热溶提取物, 冷却并用乙醚除去杂质, 然后加酸调解 pH 至中性, 适当浓缩, 再酸化, 使香豆素类或其苷沉淀析出。但必须注意, 对酸碱敏感的香豆素类化合物所使用碱、酸试剂的浓度不能太高, 并应避免长时间加热, 以防破坏香豆素结构。

2. 真空升华或蒸馏法

小分子的香豆素类因为有挥发性, 可采取水蒸气蒸馏法提取。

3. 色谱方法

硅胶色谱是最常用的方法, 洗脱溶剂常用己烷与乙醚、己烷与乙酸乙酯、二氯甲烷或四氯化碳与乙酸乙酯等。

氧化铝色谱也可用于分离香豆素, 常用酸性氧化铝或中性氧化铝。洗脱剂用苯、石油醚、氯仿或乙酸乙酯等。

此外, 葡聚糖凝胶也可用于分离香豆素。

第三节 木脂素类化合物

木脂素 (lignans) 是一类广泛存在于自然界, 由苯丙素类氧化聚合而成的天然产物。通常是指其二聚物, 少数为三聚物和四聚物。

一、木脂素类化合物的结构

木脂素类化合物可分为木脂素 (lignans) 和新木脂素 (neolignans) 两大类。前者是指两分子苯丙烷一侧链中 β 碳原子 ($8-8'$) 连接而成的化合物, 后者是指两分子苯丙烷以其他方式 (如 $8-3'$, $3-3'$) 相连而成的化合物。

除上述两大类型外, 还有一些其他类型的木脂素类化合物, 杂木脂素 (hybrid lignan) 是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, 如黄酮木脂素、香豆素木脂素、萜木脂素等; 去甲木脂素 (norlignan), 基本母核只有 16~17 个碳原子, 比一般的木脂素少 1~2 个碳; 另外还有倍半木脂素 (三聚体)、二木脂素 (四聚体)、苯丙素低聚体等其他类型的木脂素。

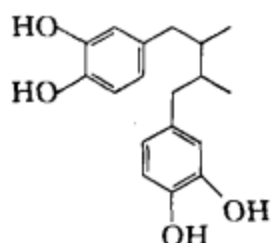
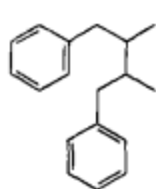
木脂素的组成单体主要有四种: 肉桂醇 (cinnamyl alcohol)、肉桂酸 (cinnamic acid)、

丙烯基酚 (propenyl phenol) 及烯丙基酚 (allyl phenol)。少数木脂素可能由两种类型单体混合组成。木脂素的两个苯环上常有含氧取代基, 根据取代基不同, 组成木脂素的苯丙素单元分为对羟基肉桂醇、松柏醇和芥子醇等。

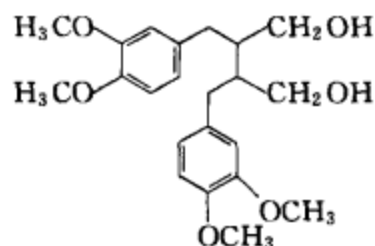
木脂素由双分子苯丙烷缩合形成各种碳架后, 侧链 γ -碳原子上的含氧官能团如羟基、羰基、羧基等相互脱水缩合, 形成半缩醛、内酯、四呋喃等环状结构, 使得木脂素类化合物的结构类型更加多样化。以下简单介绍几种常见的类型。

1. 二芳基丁烷类 (dibenzylbutanes)

此类型的木脂素是其他类型木脂素的生源前体。



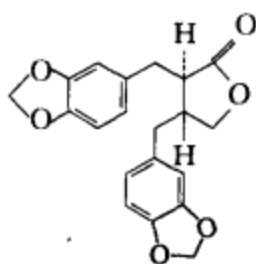
去甲二氢愈创木脂酸



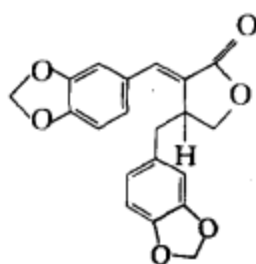
叶下珠脂素

2. 二芳基丁内酯类 (dibenzyltyrolactones)

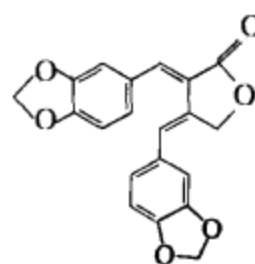
这是木脂素侧链形成内酯结构的基本类型, 还包括单去氢和双去氢化合物, 它们是芳基萘内酯类木脂素的合成前体。



扁柏脂素



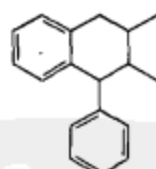
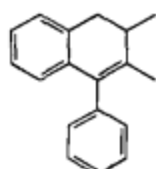
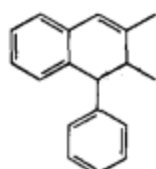
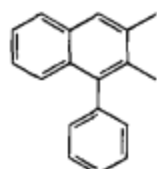
桉脂素 (台湾脂素 B)



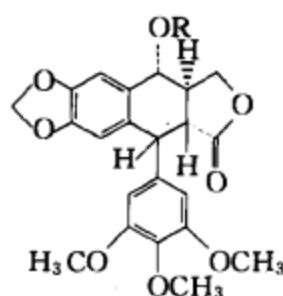
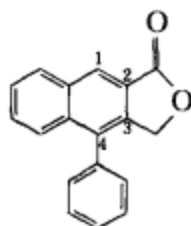
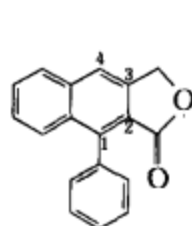
台湾脂素 A

3. 芳基萘类 (arylnaphthalenes)

有芳基萘、芳基二氢萘和芳基四氢萘三种结构。



芳基萘类木脂素常以氧化的 γ -碳原子缩合形成内酯。例如:

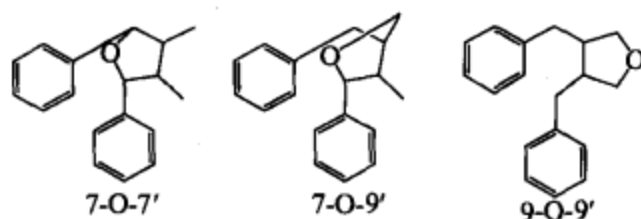


R=H: 1-鬼臼毒素

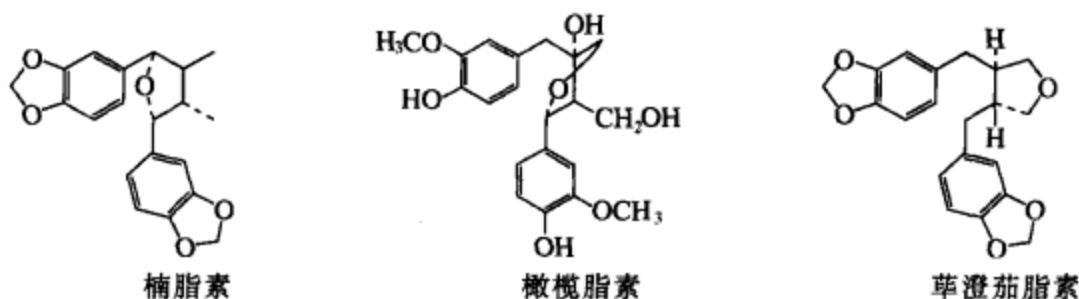
R=glc: 1-鬼臼毒素葡萄糖苷

4. 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' 三种结构。

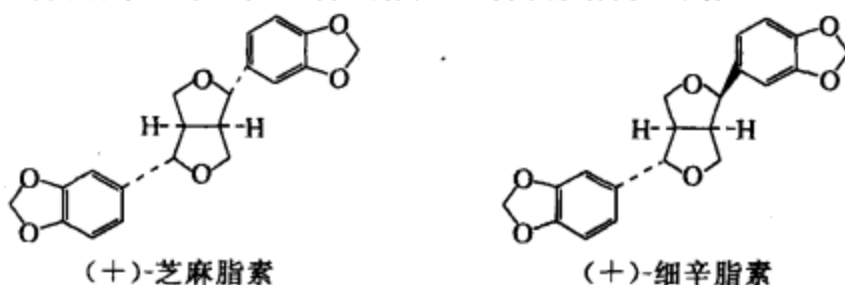


例如：



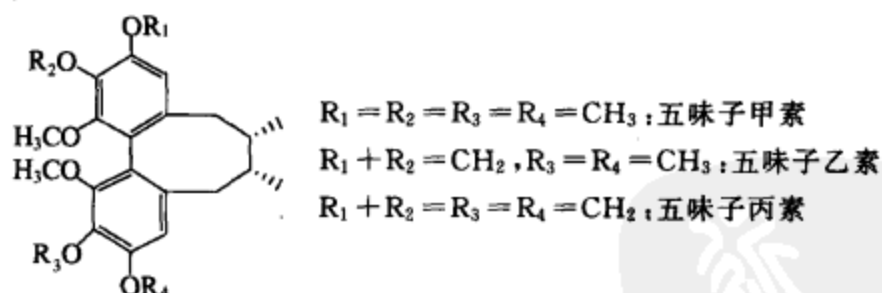
5. 双四氢呋喃类

由两个取代四氢呋喃单元形成四氢呋喃并四氢呋喃结构。例如：

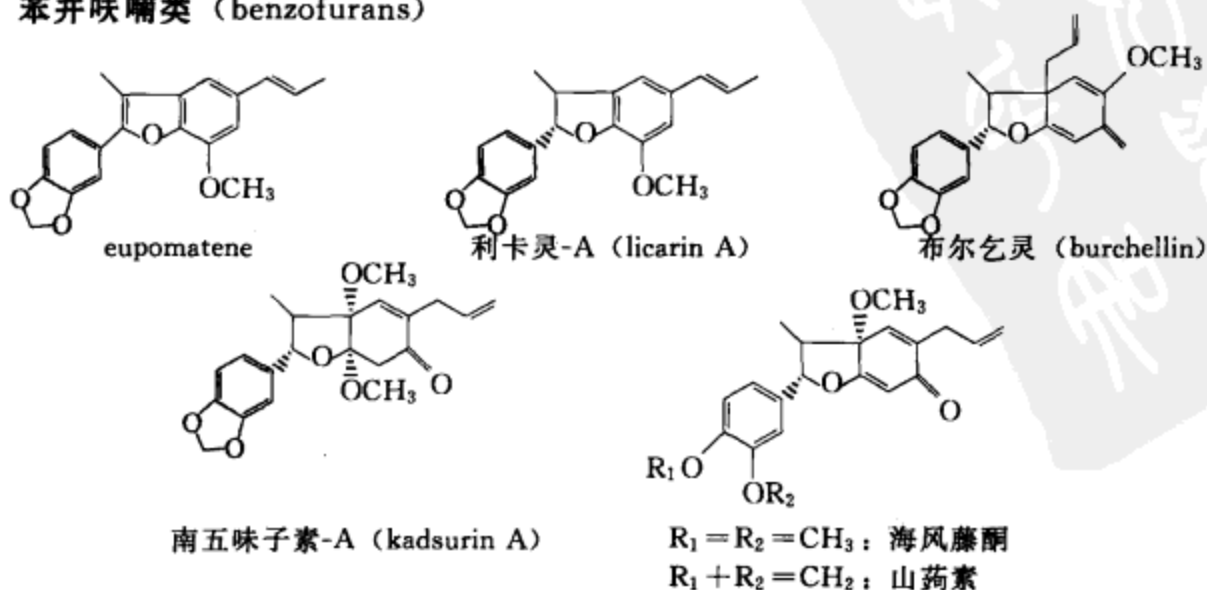


6. 联苯环辛烯类(dibencyclooctenes)

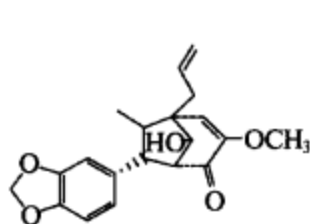
此类木脂素集中存在于五味子属(*Schizandra*)和南五味子属(*Kadsura*)植物中,具有联苯并环辛二烯结构。



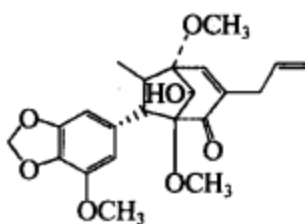
7. 苯并呋喃类 (benzofurans)



8. 双环辛烷类 (bicyclo [3. 2. 1] octanes)

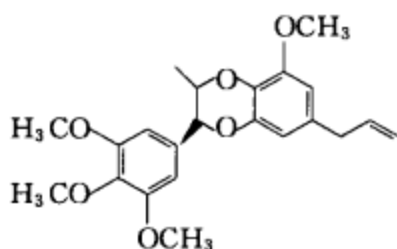


圭安宁 (guaianin)

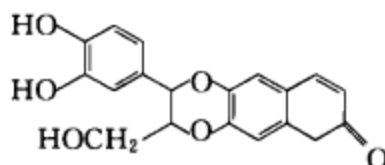


大叶素 (macrophyllin)

9. 苯并二噁烷类

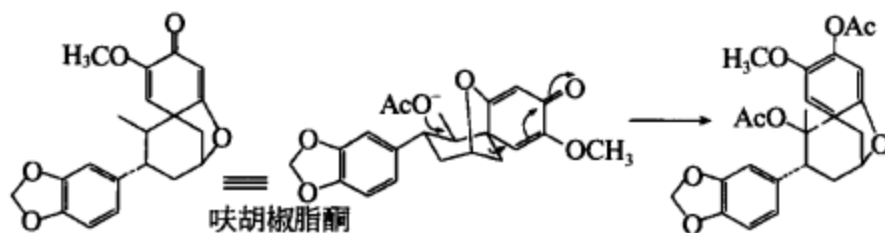


优西得灵



猫眼草素

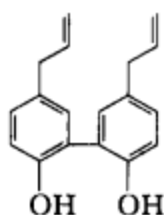
10. 螺二烯酮 (spirodienones)



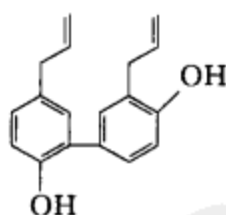
呋胡椒脂酮

11. 联苯类 (biphenylenes)

两分子苯丙素的两个苯环通过 3-3' 直接连结而成。例如：

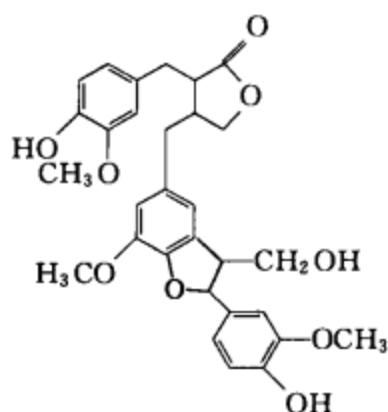


厚朴酚

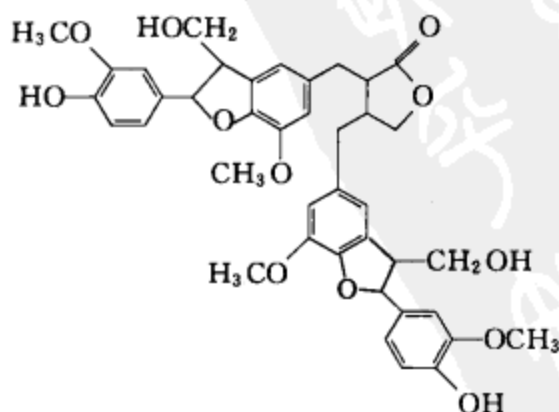


和厚朴酚

12. 倍半木脂素 (sesquilignans) 和二木脂素 (dilignans)



拉帕酚 A



拉帕酚 F

二、木脂素的理化性质

木脂素通常多为无色结晶，但新木脂素较难结晶，少数可升华。木脂素多数以游离形式

存在于植物体内，能溶于苯、乙酸乙酯、乙醚、乙醇等亲脂性溶剂，难溶于水；少数成苷后水溶性增大。

木脂素类化合物多数具有光学活性，遇酸易异构化。矿物酸可使木脂素发生碳架重排，使其构型发生变化，旋光性质改变，生物活性亦发生改变。因此，在提取过程中应注意操作条件，避免活性变弱或消失。

木脂素类化合物从结构类型来看，没有共同的特征反应，但有一些非特征性试剂可用于薄层色谱显色。例如5%或10%磷钼酸乙醇溶液、10%硫酸乙醇溶液、茴香醛硫酸试剂等，喷洒后于100~120℃加热数分钟，各类木脂素可表现出不同颜色。含有亚甲二氧基的木脂素加浓硫酸后，再加没食子酸，可产生蓝绿色，称之为Labat反应。

三、木脂素的提取分离

大多数木脂素以游离态存在，成苷的为数不多，常与大量树脂状物共存于植物体中，本身在溶剂处理过程中也容易树脂化，这给木脂素的提取分离造成了一定的困难。实验中往往先用乙醇或丙酮等亲水溶剂提取，再用氯仿、乙醚等依次萃取，回收溶剂后即得粗的游离总木脂素。

木脂素的分离常采用色谱方法，其中吸附色谱是最常用的方法。吸附剂常用硅胶或中性氧化铝柱，洗脱剂常用石油醚-乙酸乙酯、石油醚-丙酮、石油醚-乙醚、苯-乙酸乙酯、氯仿-甲醇等。此外，分配色谱也可用于分离木脂素。

除上述方法外，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他脂溶性物质分离，但碱液易使木脂素发生异构化，所以此法不宜用于有旋光活性的木脂素。

其他适于酚性苷的分离方法，同样可以用于木脂素苷类化合物的分离。

第四节 碳环芳香族酸酚性化合物

碳环芳香族酸酚类化合物是一类分子中含有酚羟基并具有一定酸性的一类化合物的总称，普遍存在于自然界，包括苯、萘、蒽、菲等，它们的环上有一个或多个取代的羟基或烷氧基，或者存在羟基或酯的形式。

许多天然酚性化合物具有较强的生物活性，因此，对碳环芳香族酸酚性化合物的研究开始得比较早，是天然有机化合物中最早发展的一类。但是近几十年来酚性化合物中仍能发现一些结构类型比较新颖的化合物，因此，天然产物化学工作者从未放弃对酚性化合物的研究。

一、结构类型

碳环芳香族酸酚类化合物主要分为以下几类：①苯及苯酚类衍生物，如苯环芳香族的醇、醛、酮、酸、醚、酯类化合物，其中有些以苷的形式存在；②苯环二元酚类，如邻苯二酚、间苯二酚及对苯二酚；③间苯三酚类，如仙鹤草中的鹤草酚；④连苯三酚类，如各种单宁类化合物；⑤萘环衍生物，如柿酚、棉酚等；⑥二苯烯类及其衍生物，如土大黄苷；⑦地衣酚类，如扁枝衣酸；⑧大麻酚类，如四氢大麻酚；⑨蒽菲类衍生物，如马兜铃酸；⑩七元环类，如柔毛青霉酸；⑪其他复杂类型，如白芥子苷等。除了以上几类外，木脂体、萘醌、蒽醌等也应属于碳环芳香族酸酚性化合物。

二、生物活性

碳环芳香族酸酚性化合物种类繁多，其中有很多具有重要的生物活性。例如，简单的酚

性化合物如愈创木酚、丁香酚等都有不同强度的抗菌、消毒作用，麝香草酚抗菌作用较强，早期曾用于驱肠虫。

单宁类酚性化合物一般均有抗菌作用。很多有细胞毒和抗肿瘤作用。

大麻酚类具有较强的中枢神经作用，主要有镇静、催眠、镇痛，特别是致幻方面的生理作用。

硝基菲酸类如马兜铃酸具有细胞毒作用和抗生育作用，低剂量能增加人和动物吞噬细胞的吞噬作用。但较大剂量有致癌作用。

很多含有多聚间苯三酚化合物的植物临床曾用作为驱蛔虫、绦虫药物，例如鳞毛蕨属植物 (*Dryopteris*) 绵马和贯众、蔷薇科的苦苏 (*Hagenia abyssinica*) 曾于国外药典收载。我国得益于民间使用越冬仙鹤草根治疗绦虫病的经验，从中分得有效成分鹤草酚，临床治绦虫病，有效率基本上可达 100%，并且不须加服泻药。从仙鹤草的全草中除可以得到少量鹤草酚外，还分得仙鹤草酚 A、仙鹤草酚 B、仙鹤草酚 C、仙鹤草酚 D、仙鹤草酚 E，它们均有抗疟作用，但由于有强烈的致腹泻、呕吐作用，临床未曾使用。仙鹤草酚类有细胞毒作用。

柿酚 (diospyrol) 是从柔毛柿中分离得到的酚性化合物。动物实验对钩虫病、绦虫病有效。棉酚 (gossypol) 除有抗生育作用外，动物试验对单纯疱疹病毒和淋巴白血病有效。

姜黄色素 (curcumine) 是来自郁金香的黄色素，具有局部和全身抗炎作用。

鄧子勉 贈
PDG

第三篇 特色药用植物简介

甘 草

1. 概述

甘草是豆科 (Leguminosae) 蝶形花亚科 (Papilionatae Taub.) 甘草属 (*Glycyrrhiza*) 植物。甘草在全球有 29 个种 6 个变种, 其中我国产 18 个种, 3 个变种。《中华人民共和国药典》收录的有 3 种: 乌拉尔甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、胀果甘草 (*Glycyrrhiza inflata* Bat.)、光果甘草 (*Glycyrrhiza glabra* L.)。以其根及根茎入药, 是最常用又很有用的中药材, 在中医处方中占有举足轻重的作用, 被医药界誉为“众药之王”、“药中百搭”、“药之国老”“软黄金”等。

甘草具有抗寒、耐热、耐旱、抗盐碱、喜光等优良特性, 适生性强、生命力旺盛, 为干旱地区的重要植物资源之一。甘草生长的地方多为大陆性气候, 夏季酷热, 冬季严寒, 昼夜温差大, 海拔在 0~2500m 之间, 有一定的水分供应, 不发生积水的地带。土壤为轻壤、重壤、黏壤及盐碱地等多种质地。在我国主要分布的地区有东北 (包括黑龙江、吉林、辽宁等省)、华北 (包括内蒙古的昭乌达盟、哲里木盟、伊克昭盟、巴彦淖尔盟、阿拉善盟及河北等地)、西北 (包括宁夏黄河河套两岸, 甘肃河西走廊等地区、新疆、青海、陕西省)、华东 (包括山东、江苏北部) 以及华中的河南。其垂直分布在海拔 250~1400m 之间。但由于长期以来甘草资源遭到大肆采挖和开垦荒地的破坏, 野生甘草的面积减少了 70%, 储量减少了 80%, 其资源面临枯竭。近年来, 甘草胚胎学研究提示了雌雄配子体内部与外部形态的对应关系及规律性, 对人工栽培、组织培养具有一定指导意义。

人类应用甘草有近 4000 年的历史, 我国医籍文献记载甘草最早见于《神农本草经》(公元 1~2 世纪), 列为上品, 称有坚筋骨、长肌肉、倍力气和解毒之功, 能治五脏腹寒、热邪气及金疮肿。东汉医圣张仲景 (公元 2 世纪) 在其《伤寒论》中使用的处方 74% 有甘草。梁朝名医陶弘景 (公元 5 世纪) 编辑的《名医别录》中称其为“美草、蜜甘、国老”, 并冠以“众药之王”的称号。明朝李时珍在其《本草纲目》中把甘草放于 1074 种中药的第一位, 收录于 12 卷之首。清朝吴其俊在其《植物名实图考》中对甘草亦有较详细的考证。《本草正》中写道“甘草得中和之性, 有调补之功, 故毒药得其解其毒, 刚药得之和其性, 表药得之助其外, 下药得之缓其速。随气药入气, 随血药入血, 无往不可, 故称国老”。

甘草经我国传统医学长期临床实践验证, 确认其有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功效, 可用于治疗脾胃虚弱、倦怠乏力、心悸气短、咳嗽多痰、腹腔和四肢疼痛、痈肿疮毒等症, 并用之缓解其他药的毒性。

20 世纪 50 年代以后, 各国学者对甘草进行了较为深入的研究。随着研究的深入和新技术的不断应用, 人们对甘草的认识和应用也越来越广泛。甘草不仅广泛应用在医学方面, 还

应用于食品、卫生、轻工等方面。甘草植物本身还具有防沙固沙、改良土壤、防止水土流失及改善生态环境等作用。

2. 研究现状

近年来,我国学者对甘草的化学成分进行了大量研究。舒永华等从内蒙古产的乌拉尔甘草中提取、分离出7个皂苷元,其中4个化合物为已知成分。张如意等自乌拉尔甘草中分离出2个新的皂苷类化合物,经鉴定分别为:3 β -羟基-11-氧化齐墩果-12-烯-30-羧酸-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖醛酸基(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖吡喃糖醛酸苷,命名为乌拉尔甘草皂苷甲(uralsaponin A);3 β -羟基-11-氧化齐墩果-12-烯-30-羧酸-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖醛酸基(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-葡萄糖吡喃糖醛酸苷,命名为乌拉尔甘草皂苷乙(uralsaponin B)。刘丙灿等从乌拉尔甘草的稀碱提取液中分离得到甘草葡聚糖 GBW,并进行了结构测定。

刘勤等自黄甘草 *G. eurycarpa* 的根及根茎中分离得到4个黄酮苷:甘草苷、异甘草苷、夏佛托苷和黄甘草苷,经鉴定前三种为已知成分,而黄甘草苷(glycyroside)为新化合物,结构推定为芒柄花素-7-O-[D- β -D-呋喃芹糖基(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-吡喃葡萄糖苷。曾路等则研究了云南甘草 *G. yunnanensis* 的化学成分,并分离获得云南甘草皂苷元 A、云南甘草皂苷元 B、云南甘草皂苷元 F(glyyunnans-apogenin A、glyyunnans-apogenin B、glyyunnans-apogenin F)、云南甘草次皂苷元 D(glyyunnansapogenin D)等10种新的三萜类成分。高东英等又从中分离获得羟基查耳酮和后莫紫檀素;胡金锋等分离鉴定得到新成分:甲基化英迪紫檀素、5-羟基-7-氧二氢黄酮,后者命名为云甘(glyyunnarin)。曾路等运用 HPLC 法对国内15个产地的8种甘草中的12个化合物,即甘草酸、乌拉尔甘草皂苷甲、乌拉尔甘草皂苷乙、甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草香豆素(glycy coumarin)、异甘草香豆素(isoglycy coumarin)、甘草查耳酮(licochalcone A)、甘草酚(glycyrol)、异甘草酚(isoglycyrol)进行了分离和含量测定,并根据测定的结果对国产甘草的质量进行了综合评价。杨岚等应用反相高效液相色谱技术对从6种甘草属植物(乌拉尔甘草、胀果甘草、光果甘草、黄甘草、粗毛甘草、刺果甘草)根中提取的10个黄酮类化合物进行了分离,并分析了黄酮类化合物的组成,结果表明不同种的甘草中所含黄酮类化合物的成分和含量均不同。王晓强运用薄层光密度法对黄甘草、胀果甘草、欧甘草、乌拉尔甘草、欧甘草变种 *G. glabravar* 和 *G. glandalifera* 中所含的甘草苷、异甘草苷进行了含量测定,结果表明,甘草苷的含量在胀果甘草中最多,黄甘草、乌拉尔甘草、欧甘草变种及欧甘草中的含量依次降低,异甘草苷的含量在黄甘草中最高,胀果甘草、欧甘草、乌拉尔甘草、欧甘草变种中含量依次降低。

邱春等对甘草根、茎、叶不同部位的氨基酸含量进行了测定,报道甘草中含有18种氨基酸。河南师范大学的王彩兰等对圆果甘草 *G. squamunosa* 的化学成分进行了研究,刘伯衡等对新疆产甘草属植物的化学成分含量进行了研究,新疆大学的薛良驹对新疆甘草的微量元素进行了分析。

3. 应用前景

甘草既有重要的药用价值,又大量被应用于食品工业和烟草工业。甘草在医药中一般用于缓和、祛痰、解毒。对消化性溃疡也有治疗作用,能影响胃酸分泌,还有抗炎、抗病毒、镇咳、抗菌、抗肿瘤和治疗陈伤的作用。甘草、甘草浸膏、甘草粉和甘草霜是新疆的出口商品,因属天然野生产品,备受国外市场欢迎。

据报道,甘草黄酮是一类生物活性较强的物质,有抗溃疡、抗菌、抗炎、解痉、降血

脂、镇痛等作用。傅乃武证实甘草中的黄酮类成分有明显的抗氧化作用。1986年以来还发现甘草黄酮具有防治艾滋病的功效。甘草黄酮类化合物对人宫颈癌细胞 (Hela)、乳腺癌细胞 (Bcap-37) 以及肝癌细胞 (Bel-7404) 的增殖均具有显著的抑制及诱导细胞凋亡的效果; 甘草酸在高浓度时对人胃癌细胞 (MGC-803) 显示出较强的抑制增殖作用。

甘草多糖具有抗肿瘤及提高免疫力的作用, 而且也能使环磷酰胺造成的机体免疫功能低下状态得到显著改善。甘草多糖还对水疱性口炎病毒、腺病毒 II 型、HSV-I 和牛痘病毒均有明显的抑制作用。甘草多糖不但可以直接灭活上述四种病毒, 而且对细胞内的病毒也有作用, 可阻止水疱性口炎病毒和腺病毒 II 型吸附与进入细胞。有关甘草多糖分离提纯、结构分析以及生理功能有待进一步深入研究。

现代科学研究表明, 甘草酸是非常珍贵的天然解毒剂, 有显著的促进肾上腺皮质激素的作用, 可用于人体抗衰老、抗炎症、降压和增强机体免疫力等研究, 提高生理机能, 维持水盐代谢平衡。国内外都有研究报导, 甘草酸能促进艾滋病患者免疫力的恢复, 诱导干扰素, 抑制癌细胞的生长。现在国内外一些研究人员已尝试提取甘草的主要成分进行结构改造, 能显著降低副作用, 增强疗效。

甘草在国外被誉为“仙草”、“神草”。随着对甘草的研究, 甘草的新用途日新月异, 现在正广泛应用到食品、饮料、烟草、化妆、化工、酿造、国防等行业, 甘草资源正在得到更深入的开发和利用。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部). 北京: 人民卫生出版社, 1977.
- [2] 舒永华, 赵玉英, 张如意. 甘草三萜皂甙元的分离和结构鉴定 [J]. 药学学报, 1985, 20 (3): 193.
- [3] 张如意, 张建华, 王茂田. 乌拉尔甘草中皂甙的研究 [J]. 药学学报, 1986, 21 (7): 5101.
- [4] 刘丙灿, 方积年. 甘草葡聚糖的分离纯化与化学结构 [J]. 药学学报, 1991, 26 (9): 672-675.
- [5] 刘勤, 刘永隆. 黄甘草化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1989, 24 (7): 525.
- [6] 曾路, 王动. 云南甘草次皂甙和云南甘草皂甙元的结构鉴定 [J]. 药学学报, 1990, 25 (10): 750-757.
- [7] 杨岚, 刘永, 林寿全. 六种甘草属植物根中黄酮类成分的高效液相色谱分析 [J]. 药学学报, 1990, 25 (11): 840.
- [8] 王晓强. 薄层光密度法测定甘草中甘草甙的含量 [J]. 西北药学杂志, 1990, 5 (1): 25.
- [9] 王彩兰, 韩永生, 张新迎等. 圆果甘草化学成分研究 [J]. 河南师范大学学报 (自然科学版), 1994, 22 (3): 48-50.
- [10] 刘伯衡, 李学禹, 田丽萍等. 新疆产甘草属植物化学成分的研究 [J]. 干旱区研究, 1992, 9 (1): 39-45.
- [11] 薛良驹, 于建心, 康金国等. 新疆甘草微量元素分析 [J]. 新疆大学学报, 1992, 9 (1): 60.
- [12] Winston J Craig, Health-promoting properties of common herbs [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1999, 70 (3): 491S-499S.
- [13] Ma Jing, Fu Nai-Yang. Apoptosis Induced by Isoliquiritigenin in Human Gastric Cancer MGC-803 Cells [J]. Plantamedica, 2001, 67 (8): 754-757.
- [14] 傅乃武, 刘朝阳, 张如意等. 甘草黄酮类和三萜类化合物抗氧化作用的研究 [J]. 中药药理与临床, 1994, 5: 26.
- [15] 汪河滨, 周忠波, 罗锋等. 甘草黄酮提取方法及抗氧化活性研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19: 2106-2107.
- [16] S. C. Lee, S. C. Zou, K. F. Ho, L. Y. Chan. Direct ultrasonic agitation for rapid extraction of organic mat-

- ter from airborne particulate [J]. Fresenius J Anal Chem, 2001, 369: 166-169.
- [17] A. Otterbach, B. W. Wenclawiak. Ultrasonic/S Soxhlet/supercritical fluid extraction kinetics of and allethrin from paper strips [J]. Pyrethrums from flowers Fresenius J Anal Chem, 1999, 365: 472-474.
- [18] 木合布力, 热娜, 马淑燕等. 甘草中光甘草定的提取和抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19: 675-677, 682.
- [19] Xue-jun Pan, Hui-zhou Liu. microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root [J]. Biochemical Engineering Journal, 2000, 5: 173-177.
- [20] 杨玲, 汪河滨, 罗锋. 甘草多糖清除自由基活性的研究 [J]. 塔里木大学学报, 2007, 19 (3): 1-3.
- [21] 孙芸, 阿依努尔·吾买尔, 燕雪花等. 甘草黄酮的提取方法及药理作用研究进展 [J]. 新疆中医药, 2009, 27 (1): 72-75.
- [22] 叶泉英, 陈启生, 区永练等. 甘草酸联合应用山莨菪碱在实验性胆汁淤积大鼠的疗效 [J]. 亚太传统医药, 2009, 5 (8): 13-14.
- [23] 索田栋, 张军良, 郭燕文等. 甘草酸及其衍生物的研究进展 [J]. 精细与专用化学品, 2006, 14 (17): 13-16.
- [24] 王忱, 谢广茹, 史玉荣等. 甘草多糖的体内抑瘤作用及其机制的研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2003, 8 (2): 85-86.
- [25] 王岳五, 张海波, 史玉荣等. 甘草多糖 GPS 对病毒的抑制作用 [J]. 南开大学学报, 2001, 34 (2): 126-128.
- [26] 汪河滨, 李炳奇, 郁晓艺. 甘草的利用价值及开发前景 [J]. 特种经济动植物, 2004, 9: 23.

肉苁蓉

1. 概述

肉苁蓉 (*Herba Cistanche*) 为列当科 (Orobanchaceae) 植物肉苁蓉 (*Cistanche deserticola* Y. C. Ma) 的带鳞片的干燥肉质茎, 又名苁蓉、大芸、金笋、地精。本属植物全世界约有 18 个种, 我国约有 4 个种 1 个变种, 分别为肉苁蓉 (*Cistanche deserticola* Y. C. Ma)、盐生肉苁蓉 [*C. salsa* (C. A. Mey.) G. Beck]、管花肉苁蓉 [*C. tubulosa* (Schenk) R. Wight]、白花盐肉苁蓉 (*C. salsa* var. *albiflora* P. F. Tu et Z. C. Lou) 及沙苁蓉 (*C. sinensis* G. Beck), 《中药大辞典》收载有 3 种: 盐生肉苁蓉、肉苁蓉、迷肉苁蓉 [*C. ambigua* (Bge.) B. Beck]。《中华人民共和国药典》仅收载了药用肉苁蓉。

肉苁蓉为多年生草本植物, 生于盐碱地、干河沟、沙地、戈壁滩一带, 寄生于红沙、盐爪爪、着叶盐爪、珍珠、西伯利亚等植物的根上。分布于内蒙古、陕西、甘肃、宁夏、新疆等地, 在新疆分布于伊宁、察布查尔、乌鲁木齐、阿图什等地区, 适于在阳光充足、雨量少、干旱、积温高、昼夜温差大的条件下生长, 具有一定的抗寒和抗旱性。

肉苁蓉始载于《神农本草经》, 列为上品。《本草经疏》曾提到: “肉苁蓉, 滋肾补精血元之要药, 气本做温, 相传以为热者误也。甘能除热补中, 酸能入肝, 咸能滋肾, 肾肝为阴, 阴气滋长, 则五脏元劳热自退。肾肝足, 则精血日盛。”《本草汇言》提到: “肉苁蓉, 养命门, 滋肾气, 补精血之药也。”《玉楸药解》提到: “肉苁蓉滋木清风, 养血润肠, 善滑大肠。”《本草正义》提到: “能温养精血而通阳气, 故日益精气。”李时珍在《本草纲目》中曾提到: “此物补而不峻, 故有从容之号。”

肉苁蓉味甘、咸，性温，具有补肾阳、益精血、润肠通便的功能，用于肾虚、阳痿、老年习惯性便秘、体虚引起的眩晕、眼花及腰脚酸痛等疾，另还可用于食少、腹泻、瘫痪及贫血等症，由此可见肉苁蓉是中华药库中重要的一员。1991~1998年中华人民共和国卫生部颁标准中4152种药品中，就有约14种处方药是以肉苁蓉为主药的药品，如补肾益精丸、回春如意胶囊、益肾壮阳胶囊、便秘通、长春药酒等。肉苁蓉的发展逐渐走向产业化，药品的制剂剂型越来越多，从简单传统煮药发展到提取有效成分制成胶囊、口服液、酊剂等，以适合不同情况的人的需要。

2. 研究现状

从20世纪80年代开始，国内外对肉苁蓉的化学成分进行了大量研究，随着分离提取和检测技术的飞速发展，已分离出多种类型的物质，主要可分为苯乙醇苷类、环烯醚萜类、木脂素类、多糖、生物碱等。

现代研究表明，肉苁蓉具有壮阳、抗衰老、提高免疫功能、增强记忆力、降血脂和通便等作用，有“沙漠人参”之美誉，其主要活性成分是苯乙醇苷类(PhGs)化合物。据文献报道，苯乙醇苷类化合物具有抗不良刺激、增强学习记忆力和助阳等多方面功能。国内学者对*C. deserticola*研究较多。堵年生等从中分得松果菊苷、肉苁蓉苷A、类叶升麻苷、乙酰类叶升麻苷。徐文豪等从中分离得到类叶升麻苷、乙酰类叶升麻苷、松果菊苷、肉苁蓉苷A、肉苁蓉苷B、肉苁蓉苷C、肉苁蓉苷H等。徐朝晖从中分得红景天苷等。由于PhGs的紫外吸收很强，尤其适用于高效液相色谱法(HPLC)分析，已有多位学者对本属各植物中的PhGs成分进行了研究，发现所研究的7个植物样品中皆含有大量的PhGs，其中土耳其产盐生肉苁蓉的PhGs总量最高，国产盐生肉苁蓉、卡塔尔产鳃苁蓉、巴基斯坦产和巴林产管花肉苁蓉的PhGs总量较多，而国产荒漠肉苁蓉和管花肉苁蓉的PhGs总量较少，其中荒漠肉苁蓉、栽培的荒漠肉苁蓉、盐生肉苁蓉、盐生油肉苁蓉、白花盐苁蓉和管花肉苁蓉所含PhGs成分相似，而沙苁蓉与其他种差别较大。

堵年生、曲淑慧等从新疆产*C. salsa*中用水蒸气蒸馏法提取精油，用MS/DS手段分析了精油中的成分和相对含量，共鉴定出38个化学成分。马熙中等利用超临界流体萃取技术测定了*C. deserticola*中挥发性组分中的30多个化合物，并将其分为三类：正构烷烃C₁₆~C₂₈；酯类化合物中有三个主要成分是邻苯二甲酸二丁酯、癸二酸二丁酯和邻苯二甲酸二异辛酯；含氧含氮化合物以丁子香酚为主，其次为香草醛和异丁子香酚等。回瑞华等用同时蒸馏-萃取法提取肉苁蓉挥发性物质，测得肉苁蓉挥发油的含量为3.5%；利用GC/MS法分离确认出24种化学成分；用峰面积归一化法得出各化学成分在挥发油中的相对含量，其中主要成分为丁香酚，占总挥发油的83.60%；又用单离子法分离出丁香酚，并用IR、EI-MS分析确认。

徐文豪等从*C. deserticola*中分得8-表马钱子苷酸。罗尚凤等从*C. deserticola*中分得8-表马钱子酸葡萄糖苷。日本小林弘美等对我国内蒙古产肉苁蓉*C. salsa*进行了系统研究，从中分得8-表马钱子酸(8-Epiloganic acid)、Mussaenoside acid、Leonuride(ajugol)、8-表去氧马钱子酸(8-Epideoxyloganic acid)、Glucoside、京尼平酸(Geniposidic acid)、Bartsioside、6-Deoxycatalpol、苁蓉氯素(Cistanchlorin)等化合物。徐文豪等还从*C. deserticola*中分得葡萄糖、蔗糖、甜菜碱、琥珀酸、甘露醇、 β -谷甾醇、胡萝卜苷等。薛德钧从*C. tubulosa*中分得 β -谷甾醇、D-甘露醇、D-葡萄糖、D-果糖、胡萝卜苷、琥珀酸等。又从产地不同的*C. deserticola*中分离出杂多糖，并进行了定性定量分析，发现产地不同的肉苁蓉中多糖的含量不同，且组成多糖的单糖成分也不同，内蒙阿盟产的肉苁蓉游离单糖为阿糖和

葡萄糖,其多糖中单糖组分为鼠李糖、阿糖、半乳糖,多糖含量为13%,新疆天山以南产肉苁蓉中的游离单糖为果糖、半乳糖,组成多糖的单糖为鼠李糖、阿拉伯糖、果糖和葡萄糖,多糖含量为8.5%。赵中岩等从野生肉苁蓉的茎中分离出水溶性多糖和粗多糖,是以葡萄糖和半乳糖为主,兼有阿拉伯糖、鼠李糖和甘露糖的中性杂多糖。

3. 应用前景

有关实验显示肉苁蓉能增强单核巨噬细胞的吞噬能力,从而提高人体免疫力。肉苁蓉为常用补肾壮阳的中药,其水溶成分中甜菜碱、麦角甾苷具有雄性激素作用,据实验,将肉苁蓉酒精浸出物加入饮水中饲养幼鼠,其体重增长相对较快,游泳时间延长,有抗疲劳作用。肉苁蓉能显著提高羟基豚型阳虚动物肝、脾中DNA合成率,可以认为其对动物阳虚病症有着明显的强壮和治疗作用。

用肉苁蓉喂养小鼠、果蝇,发现肉苁蓉可延长幼虫期和全虫的生命期。还有研究认为,肉苁蓉能提高机体应变能力,直接或间接消除自由基对机体的损害,抑制J型单胺氧化酶活力,从而达到延缓衰老的目的。肉苁蓉有两种抗衰老活性成分:D-甘露醇和肉苁蓉多糖。这两种成分在延缓皮肤衰老、增强肌体免疫功能、激活超氧化物歧化酶和降低体内脂褐质堆积方面具有显著作用。D-甘露醇具有使老龄动物的LPO/SOD水平向正常成年动物逆转的趋势。

肉苁蓉还能显著提高小鼠小肠推进度,缩短小鼠通便时间,能有效对抗阿托品的抑制排便作用,同时对大肠的水分吸收也有明显的抑制作用,并认为肉苁蓉缓泻成分——无机盐类及亲水性胶质类多糖是肉苁蓉“滑肠通便”的有效组分。郭利平等研究表明,肉苁蓉具有与已知抗AS作用的维生素相似的作用,能显著抑制家兔AS模型平滑肌细胞的变性增殖,改善其超微结构变化,降低平滑肌细胞内氧化脂质含量,提高其超氧化物歧化酶活性,从而发挥拮抗家兔AS作用。肉苁蓉对性腺的影响,不单是对主体的直接作用而且对丘脑单胺类神经有逆质作用。另外,肉苁蓉还可抗蛋白质分布,有调整肝脏细胞超微结构、促进蛋白质合成、降低血压等用途。

日本将从肉苁蓉中提出的肉苁蓉苷作为应激性机能障碍的改善剂或治疗剂,用于治疗各种机能性障碍,特别是性机能障碍和健忘症,并认为它们对心身疾病也具有预防或治疗作用,属于低毒安全的功能改善药物。从中提取的苯乙醇苷类成分甚至应用于化妆品上,用于防治各种类型的脱发。我国也开始在临床上用肉苁蓉治疗老年慢性便秘和消除子宫肌瘤。作为一种抗衰老药,肉苁蓉很有发展前途。目前,我国对这方面的研究工作已经起步,但与日本等国家的差距还很大,限制了肉苁蓉的应用。所以,一方面应采取有效经济的方法以提取、分离肉苁蓉中的有效成分;另一方面,利用先进的制剂方法,改变目前仅有丸剂、片剂、冲剂、口服液等少数几种剂型的现象,扩大其应用范围。同时,肉苁蓉可作为营养滋补、强身壮体型保健食品的添加剂,在食品工业上有很好的前景。而且,提取成分后的肉苁蓉残渣还可用作饲料添加剂和肥料。所以,肉苁蓉的综合开发利用还有大量工作要做。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 2000: 103.
- [2] 肖培根, 李大鹏, 杨世林等. 中药志. 北京: 化学工业出版社, 2001, 107-114.
- [3] 李天然, 许月英, 戈建新等. 肉苁蓉(*Cistanche deserticola* Ma)种子的萌发及与寄主梭梭(*Haloxylon ammodendron* Bunge)的关系[J]. 内蒙古大学学报, 1989, 20(3): 395-400.
- [4] 罗廷彬, 陈亚宁, 任巍等. 肉苁蓉研究进展[J]. 干旱区研究, 2002, 19(4): 56-58.

- [5] Hiromi Kobayashi, Hiroko Karasawa, Toshio Miyase, et al. Studies on the Constituents Cistanchis Herba. III. Isolation and Structures of new Phenylpropanoid Glycosides, Cistanosides A and B [J]. Chem Pharm Bull, 1984, 32 (10): 3009-3014.
- [6] Hiromi Kobayashi, Hiroko Karasawa, Toshio Miyase, et al. Studies on the Constituents Cistanchis Herba. IV. Isolation and Structures of Two New Phenylpropanoid Glycosides, Cistanosides C and D [J]. Chem Pharm Bull, 1984, 32 (10): 3880-3885.
- [7] 堵年生, 刘峻岭. 管花肉苁蓉化学成分的研究 [J]. 中国药科大学报, 1993, 24 (1): 46-48.
- [8] 徐文豪, 邱声祥, 赵继红. 肉苁蓉化学成分的研究 [J]. 中草药, 1994, 25 (10): 509.
- [9] 徐朝晖, 杨峻山, 吕瑞绵等. 肉苁蓉化学成分的研究 [J]. 中草药, 1999, 30 (4): 244-246.
- [10] 堵年生, 曲淑惠, 热西丹等. 肉苁蓉精油化学成分研究 [J]. 有机化学杂志, 1988, 27.
- [11] 回瑞华, 侯冬岩, 李铁纯等. 肉苁蓉挥发性化学成分分析 [J]. 分析化学, 2003, 31 (5): 601-603.
- [12] 罗尚凤, 黄仲达. 肉苁蓉的成分及药理学研究近况 [J]. 西北药学杂志, 1990, 5 (1): 47-48.
- [13] 唐沪ひろ子, 小林弘美, 淹沪信夫等. Studies on the Constituents of Cistanchi VII. Isolation and structure of Cistanoside H and I [J]. 药学杂志 (日), 1986, 106 (7): 562-566.
- [14] 唐沪ひろ子, 小林弘美, 淹沪信夫等. Studies on the Constituents of Cistanchis Herba. VII. Isolation and structure of a New Phenylethanoid Glycoside, Cistanoside G [J]. 药学杂志 (日), 1986, 106 (8): 721-724.
- [15] 薛德钧. 管花肉苁蓉的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22 (3): 170.
- [16] 任璐. 栽培管花肉苁蓉中苯乙醇苷的提取与纯化研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [17] YANG Jang-hua, DU Nian-sheng, RENA-Kasimu. Phenylethanoid glycosides from cultivated Cistanche salsa. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2005, 14 (4): 242-245.
- [18] 魏英勤, 魏培海, 李明国等. HPLC 法测定肉苁蓉中毛蕊花苷的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 422-424.
- [19] 杨宏新, 杨勇, 闫晓红. 肉苁蓉抗运动性疲劳机制的实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15 (4): 24-28.
- [20] 龚梦鹏, 刘新民, 王立为. 肉苁蓉对阳虚小鼠抗疲劳作用的研究 [J]. 中医药导报, 2007, 13 (11): 8-10.
- [21] 蒋晓燕, 王晓雯, 商小英等. 肉苁蓉总苷对照射损伤小鼠敏感器官超微结构的保护作用 [J]. 西北药学杂志, 2001, 16 (2): 63-64.
- [22] 张洪泉, 翁晓静, 陈莉莉等. 管花肉苁蓉麦角甾苷对衰老小鼠端粒酶活性和免疫功能的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2008, 22 (4): 270-273.
- [23] 孙云, 徐峰, 杨轩瑛等. 肉苁蓉多糖对衰老小鼠肺一氧化氮及细胞凋亡的影响 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19 (6): 683-685.
- [24] 徐辉, 魏晓东, 张鹏霞等. 肉苁蓉多糖对衰老大鼠肝线粒体保护作用的研究 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28 (5): 866-867.

红景天

1. 概述

红景天来源于景天科红景天属 (*Rhodiola* L.) 植物狭叶红景天, 为多年生草本或亚灌木植物, 喜生于高山坡较湿地或石缝中, 民间多以其匍匐的根状茎为药用。红景天全世界有

96 个种, 分布于东亚、中亚、西伯利亚以及北美地区。我国有 73 个种, 主要分布在东北、甘肃、新疆、四川、西藏及云贵等省, 主产于青藏高原。前苏联、伊朗、蒙古等亦有分布。

除少数种生长于海拔 2000m 左右的高山草地、林下灌丛或沟旁岩石附近外, 大部分的种生长于海拔 3500~5000m 的石灰岩、花岗岩山地冰川、山梁草地或山谷岩石上, 常呈数十平方米密集生长的片状分布, 少见散生。红景天属植物能在极其恶劣而多变的自然环境中生长, 如缺氧、低温、干燥、狂风、强紫外线照射、昼夜温差大等, 这就意味着它从遗传学上必须适应高寒多变的恶劣环境, 具备了其他植物所没有的特殊适应性的物质。植物形态为多年生草本, 高 10~20cm。根粗壮, 圆锥形, 肉质, 褐黄色, 根颈部具多数须根。从茎顶端之叶腋抽出数条花茎, 花茎上下部均有肉质叶, 叶片椭圆形, 边缘具锯齿, 先端尖锐, 基部楔形, 几乎无柄。聚伞花序顶生, 花红色。7~9 月采收, 以地下块根及根茎入药。

我国对于红景天的使用已有很久的历史。远在清代, 在红景天产区就有人将它用作滋补强壮药, 消除疲劳, 抵御寒冷。在东北部分地区, 民间常用其作为补品和治疗疾病, 用它煎水或泡酒来消除重体力劳动带来的疲劳及抵抗高寒山区的冬季寒冷。藏族人民利用红景天的历史更早, 在《晶珠本草》、《藏药图鉴》中均有记载。西藏民间更常用红景天治疗咳血、咯血、肺炎咳嗽和妇女白带等症。红景天中所含的红景天苷和苷元酪醇具有抗疲劳、抗缺氧、抗微波辐射、抗毒以及对神经系统和新陈代谢的双向调节作用, 而且是一种环境适应药。

2. 研究现状

国内外学者一直致力于对红景天的研究。大量的实验研究和临床观察研究表明, 红景天具有治疗心血管疾病、增加机体免疫力、抗应激反应、抗衰老、抗辐射等功效, 还具有增强心肌收缩力, 加速心肌收缩, 降低平均动脉压的作用。高血压病患者经红景天治疗后, 能明显降低 PAI (纤溶酶原激活物抑制物), 升高血中组织型纤溶酶原激活物, 血小板 TXB₂ (血小板血栓 B₂) 下降。有研究报道, 高血压病患者早期存在 P 选择素的高表达, 红景天能抑制 P 选择素的表达, 改善高血压病患者的血小板活化, 这可能是治疗高血压病的机制之一。用红景天苷处理心肌缺血-再灌注损伤大鼠模型, 发现其心肌组织过氧化物歧化酶 SOD 活力增加, 明显减轻氧化应激反应的程度, 降低脂质过氧化产物 MDA 的含量, 减少 NO 的合成, 使 NO 对细胞的毒性作用降低, 心肌损伤程度减轻, 心肌细胞释放乳酸脱氢酶 (LDH) 减少, 从而起到保护缺血-再灌注心肌细胞的作用。红景天注射液可明显降低花生四烯酸 (AA) 和胶原诱导的家兔血小板聚集率, 显著缩短大鼠血栓长度, 减轻血栓湿重及干重, 降低中切速 30S-1 及低切速 5S-1 下的全血黏度及血浆黏度, 具有活血化瘀的作用。Agnieszka Majewska 等研究了红景天提取物对人早幼粒白血病 HL-60 细胞的影响, 发现红景天提取物能有效抑制 HL-60 细胞从 G₂ 期进入 M 期, 从而抑制 HL-60 细胞的有丝分裂, 使得细胞凋亡或坏死, 其中并没有染色体畸变或微核的产生。这可能是红景天提取物抗癌作用机理之一。

红景天的红景天苷和根状茎水溶性粗多糖 RSP 具有丝裂原样作用, 可刺激小鼠脾细胞增殖作用, 促进细胞产生抗体, 刺激巨噬细胞杀伤 HCa-F 小鼠肝癌细胞, 通过非特异性免疫功能的调节促进 PEM ϕ (腹腔巨噬细胞) 的杀瘤效应, 可能是介导双向免疫调节作用的有效成分之一。其根部提取液 (RSE) 能作为一个次级引发信号, 协同诱导 RAW264.7 巨噬细胞中 iNOS (诱导型 NO 合成酶) 基因的表达, 这可能是其具有治疗效果的一个作用机制。可以认为, 红景天多糖是一种很有前途的新型的生物反应调节剂。

近年来, 我国学者对红景天的化学成分也进行了大量研究。红景天中含有多种化学成分, 大多以苷类的形式存在, 其中红景天苷和苷元酪醇是迄今研究最多的已知有效成分。由

于红景天苷含量较高,常用来评价红景天属植物药用价值。此外还含有黄酮类,包括槲皮素(queretin)、山柰酚(kaempferol)、花色苷(anthocyan)、异槲皮苷(iso-eretin)、芦丁苷(rutin)等,以及酚羧酸、多糖类和香豆素类;狭叶红景天含挥发油约0.3%。经气相色谱-质谱联用分析,得到47种化合物,主要有二十一烷(3.439%)、壬醇(2.696%)、十九烷(1.417%)、香草醛(1.324%),其他还有乙基异丙基醚、戊醛、乙缩醛、乙醛、乙醇、苯甲醛、2-甲基丁醛缩二乙醇、苯甲醇、己酸等。从挥发油组成来看,单萜、倍半萜较少,脂肪醇和脂肪烃占多数。

Zhou R H等研究了库页红景天(*Rhodiola saccharinensis* A. Bor.)中无机元素的含量,镁、钙、钾、磷、铝、铁等含量都大于 $100\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,钡、锰、锶、锌、钛、铜含量也较高,大都在 $2\sim 20\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,另外还含有铬、铀、镍、钴等微量元素。Vladimir等指出红景天所含的脂肪类化合物中亚麻酸盐(linolenate)、亚油酸盐(linoleate)和棕榈酸(palmitate)盐占到72%~90%。汉丽萍等从高山红景天中提取水溶性粗多糖,采用酸性乙醇分级,进行多糖的分级纯化及均一级分的组成分析,从粗多糖中分离出均一多糖并研究其单糖组成,得酸性杂多糖,相对分子质量约为50000。孙萍等运用MCL-3型连续微波反应器以水提醇沉法从狭叶红景天根茎中提取多糖,用酚-硫酸比色法测定红景天多糖的含量为3.90%,平均回收率为98.88%,结果应用微波技术从狭叶红景天提取多糖,反应时间缩短到1/12,多糖含量由传统方法的2.82%提高到3.90%。

3. 应用前景

红景天作为一种珍贵的药用植物,其安全性、有效性、扶正固本以及适应原样等作用越来越受到人们的重视。红景天具有产生多种药理作用主要和它含有的多种化学成分有关。红景天苷是红景天的主要有效成分,具有调节神经系统、改善学习记忆力、镇静等作用;红景天苷可使偏离正常水平的中枢神经递质(如5-HT, DA)含量得到纠正或达到正常水平,因而推测红景天苷能改善抑郁症,但尚未得到研究证实,有待进一步研究;红景天苷及其衍生物在体外能有效地清除自由基,因此具有抗衰老的作用;多元酚类化合物和黄酮类化合物具有抗氧化作用,因而能调节心脑血管系统,并且对心血管有保护作用;红景天多糖可通过胃肠吸收、肌肉注射、静脉吸收等方式增加血液中胰岛素水平,从而产生明显的降血糖的作用;此外,红景天多糖还具有增强免疫力、抗病毒及抗肿瘤作用。

我国红景天天然药源丰富,人工栽培技术相对成熟,发展前景十分广阔。而且已经进行了大量的药理作用研究,作用机理较清楚。红景天含有红景天苷元酪醇、18种氨基酸、34种微量元素和7种维生素等极丰富的药用滋补成分,目前作为保健品已广泛应用。红景天中锌含量较高,锌作为自由基的清除剂,亦是蛋白质和核酸合成酶的成分,能提高DNA的复制能力,加速核酸的合成过程,从而可增强细胞活力。根据药理学和病理学以及临床疗效观察,红景天已被证明是一种对心脑血管疾病有显著疗效的天然中药。它可清除血中过多的脂质,防止动脉粥样斑块的形成,降低血液黏滞度,加速红细胞流动,改善微循环,并使外周阻力降低,从而降低动脉压。红景天能够有效地扩展冠状动脉,抗心肌缺血,提高心脏功能,亦可改善脑组织的血液循环,加快脑梗塞病灶的恢复,对缓解头痛、解除疲劳、增强记忆力等也有显著功效。长期服用红景天可预防或减缓脑中风和心脏病的发生。红景天是治疗和预防冠心病、高血压、脑血管病、更年期综合征、神经衰弱等疾病及其所引发的心绞痛、胸闷、心悸、气短、失眠、神疲乏力、高原反应等的良药,对多种癌症亦有明显的辅助疗效。红景天针剂、美容制剂还有待开发,并且在军事医学、运动医学、保健医学等方面都具有十分重要的意义,具有很好的开发和应用前景。

参 考 文 献

- [1] Seo W G, Pae H O, Oh G S, et al. The aqueous extract of *Rhodiola sacra*-*Rinensis* root enhances the expression of inducible nitric oxide synthase gene in RAW 264 · 7 macrophages [J]. *Ethnopharmacol*, 2001, 76 (1): 119-123.
- [2] 余静, 阎炜, 赵锋等. 藏药红景天对高血压病患者血小板功能及纤溶系统的影响 [J]. *高血压杂志*, 2002, 10 (3): 133-135.
- [3] 孙萍, 李艳, 崔琳. 狭叶红景天多糖的微波提取及含量测定 [J]. *基层中药杂志*, 2002, 16 (6): 24-25.
- [4] 汉丽萍, 梁忠岩, 张丽萍等. 高山红景天多糖 RSA 的分离纯化和组成分析 [J]. *中国药学杂志*, 2002, 37 (6): 418-421.
- [5] 谢乐斯, 刘艳丽, 董丹等. 红景天苷对小鼠免疫功能的影响及杀瘤效应 [J]. *大连医科大学学报*, 2003, 25 (1): 22-23.
- [6] Vladimir D T, William W C, Elizabeth Y B, et al. Identification of unusual fatty acids of four alpine plant species from the Pamirs [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65 (19): 2695-2703.
- [7] Mo SR, Lu B, Liang F. Effect of *Rhodiola sacra* SH Fu on heart hemodynamics and myocardial contractility [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2005, 9 (1): 204-206.
- [8] 金露, 罗海明. 红景天对高血压病患者 P 选择素的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2005, 21 (9): 988-990.
- [9] 宋斌, 黄山杉, 刘庆国等. 红景天苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *辽宁中医杂志*, 2005, 32 (3): 256-258.
- [10] 储载农, 张早华, 刘建勋等. 红景天注射液对家兔血小板聚集率、大鼠体外血栓形成及血液黏度的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11 (5): 39-41.
- [11] 曲智威. 红景天的研究进展 [J]. *中华实用中西医杂志*, 2005, 7 (18): 1063-1066.
- [12] Wang Qiang, Ruan Xiao. Quantitative analysis of lotaustralin in roots of *Rhodiola* L. Plants [J]. *Chin. J. Pharm. Anal.* 2005, 25 (9): 1026-1029.
- [13] Agnieszka M Hoser G, Furmanowa M, et al. Antiproliferative and antimitotic effect Sphase accumulation and induction of apoptosis and necrosis after treatment of extract from *Rhodiola rosea* rhizomes on HL-60 cells [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103 (1): 43-52.
- [14] 王强, 阮晓, 李荷迪等. 珍稀药用资源植物红景天研究现状、问题与对策 [J]. *自然资源学报*, 2007, 22 (6): 880-889.
- [15] 崔雄, 朴锦花, 刘宇等. 高山红景天提取物对糖尿病大鼠谷胱甘肽过氧化物酶活性及丙二醛含量的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2007, 18 (9): 2142-2143.
- [16] 安伟建, 陈冠, 王文彤等. HPLC 法测定不同产地红景天属植物中红景天苷 [J]. *中草药*, 2007, 38 (7): 1096-1097.
- [17] 王强, 阮晓, 颜启传. 珍稀药用植物红景天. 北京: 科学出版社, 2007.
- [18] 任延明, 袁明, 文绍敦. 狭叶红景天提取物抗衰老的实验研究 [J]. *中国老年学杂志*, 2007, 27 (9): 855-856.
- [19] 龚钢明, 王化田, 荣绍丰等. 红景天超临界 CO₂ 提取物抗氧化作用研究, *食品工业*, 2007, 13-15.

薰衣草

1. 概述

薰衣草又名灵香草, 原产于地中海沿岸、欧洲各地及大洋洲列岛, 如法国南部的小镇普

罗旺斯,后被广泛栽种于英国及南斯拉夫,现在美国的田纳西州、日本的北海道也有大量种植。我国新疆的天山北麓与法国普罗旺斯地处同一纬度带,且气候条件和土壤条件相似,是薰衣草种植基地,也是我国的薰衣草之乡,新疆的薰衣草已列入世界八大知名品种之一。目前薰衣草全世界原生种共有 28 个种,主要分为 3 类:原生薰衣草,又称英国薰衣草,品质最佳,多用来制造高级香水及香料,叶子较细,花穗较短;长穗薰衣草,又称薄荷薰衣草,叶子较宽,花茎及花穗较长;混种薰衣草,是以上两种的混种,被大量栽培。其他九种常见的薰衣草有狭叶薰衣草 (*Lavandula angustifolia*)、加那利薰衣草 (*Lavandula canariensis*)、齿叶薰衣草 (*Lavandula dentata*)、绵毛大薰衣草 (*Lavandula lanata*)、宽叶薰衣草 (*Lavandula latifolia*)、蕨叶薰衣草 (*Lavandula multifida*)、羽叶薰衣草 (*Lavandula pinnata*)、西班牙薰衣草 (*Lavandula stoechas*)、绿薰衣草 (*Lavandula viridis*)。我国早在 1952 年引入薰衣草,栽培两种,主要分布在新疆、陕西、江苏等省区,新疆栽培较多,多为狭叶薰衣草,伊犁地区种植面积达数万亩,精油产量占全国总量的 95%。

植物形态为多年生草本或小矮灌木,虽称为草,实际是一种紫蓝色小花。薰衣草丛生,多分枝,常见的为直立生长,株高依品种有 30~40cm、45~90cm,在海拔相当高的山区单株能长到 1m。叶互生,椭圆形披尖叶,或叶面较大的针形,叶缘反卷,窄长的叶片呈灰绿色。花形如小麦穗状,有着细长的茎干,花上覆盖着星形细毛,末梢上开着小小的紫蓝色花朵,穗状花序顶生,长 15~25cm;花冠下部筒状,上部唇形,上唇 2 裂,下唇 3 裂;花长约 1.2cm,有蓝、深紫、粉红、白等色,常见的为紫蓝色,花期 6~8 月。

薰衣草是珍贵的中药材和食品香料。有研究表明薰衣草可利湿、健胃、清脑,用于风寒感冒等疾病。薰衣草还是新疆维吾尔医的传统用药,维医用它治疗胸腹胀痛、感冒咳嗽、头晕头痛、心悸气短、关节骨痛等,清热解毒,凉散风热,还用于痈肿疮、喉痹、丹毒、热血毒痢、风热感冒、温病发热等。研究表明,薰衣草精油具有抗惊厥、镇静作用,可以代替安眠药,同时具有抗脂质过氧化、利胆的作用,还具有驱风、抗胃肠气胀、抗急性腹痛的特性,对蚊虫也有很好的驱杀作用。

2. 研究现状

精油是薰衣草的主要化学成分,薰衣草精油是由许多不同类型的芳香族化合物组成的复杂混合物。近年来,随着分析技术和分析手段的不断更新,对薰衣草精油化学成分的研究有了很大的进展。陈行烈等运用气相色谱-质谱联用的方法鉴定了新疆伊犁薰衣草精油的 27 种化合物,并和印度进口薰衣草精油的 36 种化合物进行了对比,结果表明,由于产地的不同,精油的化学成分有较大的差异,其中只有 1,8-桉叶素、芳樟醇等 13 种化合物相同。解成喜等采用毛细管气-质联用法对新疆伊犁产地薰衣草挥发油的化学成分进行了研究,结果表明,薰衣草主要含有挥发油,其挥发油主要化学成分为芳樟醇 (linalool, 相对含量为 37.60%)、乙酸芳樟酯 (linalyl acetate, 35.79%)、4-甲基-1-(1-异丙基)-3-环己烯-1-醇 [4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol, 4.51%]、乙酸薰衣草酯 (lavandayl acetate, 4.115%) 等,化合物类型以乙酸酯、醇、烯烃化合物为主。

目前从薰衣草中获得提取物的方法主要有传统的水蒸气蒸馏法、有机溶剂萃取法、超临界 CO₂ 萃取法等。薰衣草精油的生产基本采用传统的水蒸气蒸馏法。一般认为水蒸气蒸馏法的产品品质较好,而溶剂萃取法的产品产率更高。吕阳成等采用不同溶剂萃取得到的薰衣草精油与水蒸气蒸馏法制备的精油进行比较得出:水蒸气蒸馏法制备的精油芳樟醇含量高,但该方法收率低,资源利用率低;溶剂萃取法制备的油收率高,提取物中乙酸芳樟酯含量较高。车国勇等采用超临界 CO₂ 萃取技术,在萃取压力为 10MPa、萃取温度为 321K、萃取时

间为 120min 的条件下得到橙色透明油状物,得率约为 2.0%~2.5%。与水蒸气蒸馏法相比较可以看出,产物中乙酸薰衣草酯的含量低于水蒸气蒸馏法中的含量,而乙酸芳樟酯的含量远远高于水蒸气蒸馏法中的含量。超临界 CO₂ 萃取技术能耗小,无三废污染,且提高了得油率,是值得大力推广应用的现代工艺提取技术。薰衣草精油的成分组成与含量可能会受到蒸馏工艺的影响,但主要是由植物种类决定的。用来分析薰衣草精油化学成分的方法有多种,包括气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 或气相色谱-红外联用标准分析 (GC-IRFT) 技术。通常用水蒸气蒸馏的方法从薰衣草的花和叶子中提取精油,但由于多数精油都在花中,因此,从叶和花中提取的精油中的化学成分相差很大。

3. 应用前景

薰衣草是当今世界重要的香精原料。薰衣草又可作药用,还是良好的蜜源植物。薰衣草有“芳香药草”的美誉,适合任何皮肤,可促进细胞再生,加速伤口愈合,改善粉刺、脓肿、湿疹,平衡皮脂分泌,对烧烫伤晒伤都有奇效,还可抑制细菌、减少疤痕。自古就广泛使用于医疗方面,茎和叶都可入药,有健胃、发汗、止痛的功效,是治疗伤风感冒、腹痛、湿疹的良药。其疗效广,可以治疗至少七十种以上的疾病;分布广,易获取。全株均具芳香,植株晾干后香气不变,花朵还可做香包。其香气能醒脑明目,使人舒适,还能驱除蚊蝇。放几棵干薰衣草在衣柜、书柜里,能驱虫防蛀,香味几年不散。花汁有助皮肤调节作用,可促进上皮细胞组织的更新,平衡皮脂分泌,提神醒脑,杀菌、排菌、排毒,减少失眠,提高睡眠质量,缓解精神压力,愉悦心情,在都市白领阶层已成美容消费的主流。而作为香水的原料也已经有许多年的历史,著名的法国香水“香奈尔 5 号”里的主要成分之一就是薰衣草油。目前,薰衣草精油主要应用于芳香疗法或按摩方面,并被证明有许多益处。有人还提出,宽叶薰衣草精油中桉树脑含量较高,是一个好的止痛剂,有益于慢性或顽固性头痛的治疗。随着人们生活水平的提高,具备多种功能的薰衣草愈来愈受到关注,预示着薰衣草产业有着巨大的市场开发潜力。

薰衣草及其精油在医药、化妆及保健领域的应用,充分体现了其良好的经济和社会价值,尤其体现了其多种的药理活性。虽然近几年对薰衣草及其精油的药理活性研究取得了一定的进展,但药理作用的机理仍不十分清楚,毒理、安全性的研究资料也很少,国内在这方面的研究几乎是空白,另外薰衣草精油的化学成分分析不够细致及检测方法欠统一,这些都阻碍了其在临床治疗作用的分析和评价。随着近几年科学工作者对薰衣草及其精油研究的不断深入,期待着薰衣草及其精油药用标准的出台,使薰衣草药用资源得到更好的开发。

参 考 文 献

- [1] 新疆维吾尔自治区卫生厅编. 维吾尔药材标准 [S]: 上册. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 394.
- [2] 陈行烈, 翟建军, 赵凡智等. 新疆薰衣草油化学分析的研究 [J]. 新疆大学学报, 1991, 8 (4): 81.
- [3] 刘勇民, 维吾尔药志 (下). 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 905-909.
- [4] 解成喜, 王强, 崔晓明. 薰衣草挥发油化学成分的 GC-MS 分析 [J]. 新疆大学学报 (自然科学出版), 2002, 19 (3): 294-296.
- [5] 王玉芹, 孙亚军, 施献儿. 薰衣草精油的化学成分与药理活性 [J]. 国外医药·植物药分册, 2004, 19 (1): 5.
- [6] 希雨. 薰衣草油可缓解重度痴呆患者的狂躁行为 [J]. 国外医药·植物药分册, 2004, 19 (5): 217.
- [7] 陈和平, 周贺新, 贺瑞振等. 薰衣草在新疆的研究现状及对策 [J]. 农垦医学, 2005, 27 (5): 371-372.

- [8] 吕阳成, 宋进, 骆广生. 薰衣草油提取和切割方法的研究 [J]. 精细化工, 2005, 22 (4): 280-282, 313.
- [9] 车国勇, 庞浩, 廖兵等. 超临界 CO₂ 萃取薰衣草的挥发性组分 [J]. 色谱, 2005, 322-323.
- [10] 吕阳成, 宋进, 骆广生. 薰衣草油提取和切割方法的研究 [J]. 精细化工, 2005: 280-282.
- [11] 胡喜兰, 韩照祥, 刘玉芬等. 薰衣草挥发油的抗氧化活性测定和成分比较 [J]. 食品科技, 2006, 9: 115-117.
- [12] 肖克来提, 郭英芳. 维药薰衣草的国内外应用简介 [J]. 中国民族医药杂志, 2006, 4: 31-32.
- [13] 张秋霞, 江英, 张志强. 薰衣草精油的研究进展 [J]. 香料香精化妆品, 2006, 6: 21-24.
- [14] 龚钢明, 肖作兵, 张键. 超临界 CO₂ 萃取薰衣草精油的研究 [J]. 中国野生植物资源, 2007, 26 (1): 49-51.
- [15] 吴霞, 刘净, 于志斌等. 薰衣草化学成分的研究 [J]. 化学学报, 2007, 65 (16): 1649-1653.
- [16] 张键, 蔡宝国, 章苏宁等. 薰衣草精油化学成分的 GC-MS 分析比较 [J]. 食品工业, 2007, 5: 52-54.
- [17] 吴霞, 刘净, 于志斌等. 薰衣草中黄酮类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (9): 821-823.
- [18] 张秋霞, 陈计峦, 江英. 薰衣草精油的提取工艺研究 [J]. 食品科技, 2007, 5: 123-125.
- [19] 张群, 扎灵丽. 薰衣草的研究和应用 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19 (6): 1312-1314.
- [20] 程鹏, 潘勤, 许善初. 薰衣草精油的生物活性 [J]. 国外医药·植物药分册, 2008, 23 (1): 7-11.

新疆一支蒿

1. 概述

新疆一支蒿来源于菊科艾属植物一枝蒿, 又名伏毛铁棒锤, 主要分布于我国新疆阿尔泰山、天山和昆仑山区海拔 1600~4500m 的森林草原带。国外哈萨克斯坦、蒙古、俄罗斯以及欧洲等国和地区亦有分布。植物形态为多年生草本, 高 20~50cm, 根稍粗壮, 根茎匍匐。茎一至数个斜升, 具不发育枝; 幼时被柔毛, 老时多脱落, 常呈紫红色。基生叶及不发育枝丛生, 长约 4cm, 宽约 3cm; 茎上部叶互生, 较短, 向上渐小, 羽状或不裂; 基生叶有柄, 茎上部叶无柄。头状花序半球形, 生于叶腋或枝端, 直径约 5mm。花序托凸起, 具污白色托毛, 花众多, 管状黄色。瘦果狭卵形, 长约 1mm, 顶端无冠毛。花期为 7~8 月, 果期为 9~10 月。以全草入药, 夏秋采全草, 晒干。

新疆一支蒿性苦、辛、温, 有大毒, 入心, 归肺经, 具有清热解毒、消食健胃、利胆、解蛇毒的功效。用于治疗消化不良、腹胀胃痛、肝炎等; 外用可治痔疮出血、无名肿毒、跌打损伤、毒蛇咬伤、荨麻疹、神经性皮炎等病症。历来是西北地区民间常用的中草药。在西藏地区, 作为藏药“榜那”的基源植物, 具有祛风止痛、消肿拔毒、祛风定惊的功效, 用于治疗流感、瘟疫、热毒、疮疗等。而在甘肃、宁夏、青海、四川, 一支蒿则被用于祛风除湿、活血止痛, 主治跌打损伤、风湿关节痛等病症。

2. 研究现状

从 20 世纪 80 年代开始, 我国学者对一支蒿的化学成分进行了研究。朱子清等首次报道他们从中分离出的乌头碱 (aconitine) 和 3-乙酰乌头碱 (3-acetylaconitine)。此后, 张帆等采用正、反相硅胶柱色谱分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定结构, 从其根部的乙醇提

取物中分离鉴定出 11 个二萜生物碱, 分别为 3-脱氧乌头碱、3-脱氧乌头原碱-8-亚油酸酯、3-乙酰乌头碱、16,17-二氢-12 β , 16 β 环氧欧乌头碱、尼奥灵、宋果灵、乌头原碱-8-亚油酸酯、乌头碱、12-表欧乌头碱、欧乌头碱和 6-O-去甲基尼奥灵。孙文基等从一支蒿中分离鉴定出 β 谷醇 (β -sitosterol)、华北乌头碱 (songorine) 和一种新的乌头碱, 并命名为 8-去乙酰氧基-8-乙氧基-3-乙酰乌头碱。而对于一支蒿地上部分 (花、茎、叶) 化学成分的研究则始于 1997 年李洪刚等的研究, 他们首次从一支蒿地上部分 (花、茎、叶) 中分离出 4 种生物碱结晶, 经鉴定为脱氧乌头碱 (Deoxyaconitine)、3-乙酰乌头碱 (3-acetylaconitine)、乌头碱 (Aconitine) 和一种尚待鉴定的不明结晶物。关于一支蒿种子的化学成分, 据中科院植物所分析, 其种子含油率为 46.9%, 油的碘值为 119.6, 皂化值 195.5; 油的脂肪酸组成 (%) 为: 月桂酸 0.2%, 肉豆蔻酸 5.0%, 棕榈酸 4.5%, 硬脂酸 1.6%, 十六碳烯酸微量, 油酸 38.4%, 亚油酸 47.6%, 亚麻酸 2.5%。

现代药理研究证实, 一支蒿具有抗炎、麻醉止痛、抗肿瘤等作用。在抗炎作用方面, 研究证实, 乌头碱、去氧乌头碱以及 3-乙酰乌头碱均有较强的抗炎活性, 可显著抑制角叉菜胶、蛋清、组织胺及 5-HT 等多种致炎剂引起的大鼠足跖肿胀以及二甲苯致小鼠耳肿, 组织胺、5-HT 引起的毛细血管通透性增加, 减轻炎性渗出液中白细胞的渗出。乌头碱类化合物的抗炎作用是否与垂体肾上腺轴有直接联系, 目前实验结果不一, 但大多认为关系不大。在镇痛作用方面, 一支蒿无论内服或外用都具有显著的镇痛作用, 在临床上常用于多种痛症的治疗, 如头痛、胁痛、痹痛、癌痛等。有研究表明, 小鼠热板法测得去氧乌头碱的小鼠镇痛 ED_{50} 为 $(0.41 \pm 0.10) \text{ mg/kg (ip)}$, 其镇痛治疗指数 (6.37) 高于 3-乙酰乌头碱 (4.60)。一支蒿总碱注射液, 成人每次肌注 1mL, 每日 2 次, 作为非成瘾性镇痛剂, 用于创伤性手术后疼痛及晚期肿瘤疼痛, 获得了非常好的效果。关于镇痛作用机理目前多认为与中枢去甲肾上腺素能系统及中枢 Ca^{2+} 有密切关系, 但其作用的机理研究有待于进一步加强。一支蒿的镇痛作用与局麻作用密切相关, 乌头碱能刺激局部皮肤, 使皮肤黏膜感觉神经末梢产生兴奋现象, 产生瘙痒与灼热感, 继以麻醉, 丧失知觉。

3. 应用前景

一支蒿大量分布于我国西北地区且资源丰富, 其全草所含有毒物质主要为二萜类生物碱。研究表明, 其有毒成分作为新型的植物源杀虫剂, 具有广阔的开发利用前景。一支蒿水煎剂有抗蛇毒作用, 对眼睛蛇毒效果较好, 对蝮蛇毒也有一定作用。一支蒿的醇和水提取物对小白鼠的移植性腹水癌和大白鼠的瓦氏癌有较强的抑制作用。一支蒿水煎酒沉液对实验性过敏有一定抑制作用。一支蒿水煎剂对流脑球菌有一定的抑制作用, 对鸡新城疫有预防作用。一支蒿对乌头中毒有轻微的解毒效果, 对主动致敏的变态反应有抑制作用。一支蒿作为西北地区民间常用中草药, 具有广泛的民间应用基础, 且因其所含有的 3-乙酰乌头碱是一类不成瘾性的镇痛剂以及其所含有的脱氧乌头碱具有良好的抗炎、镇痛、解热作用, 在临床极具开发应用价值。

参 考 文 献

- [1] 朱子清, 程东亮, 常贵桃等. 伏毛铁棒锤生物碱的研究 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 1980, 10 (3): 26-28.
- [2] 宋东江, 陆满文. 去氧乌头碱的抗炎、镇痛和解热作用 [J]. 中国药理学通报, 1987 (3): 157.
- [3] 孙文基, 沙振方, 王艾兴等. 铁棒锤化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1989, 24 (1): 71-74.
- [4] 倪志诚. 西藏经济植物 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1989.

- [5] 李洪刚, 杨建萍, 田义杰等. 伏毛铁棒锤地上部分生物碱成分研究 [J]. 中草药, 1997, 28 (5): 265-266.
- [6] 胡学军, 钟燕珠. 乌头类中药及其制剂的镇痛作用 [J]. 中医药研究, 2001, 17 (4): 56-58.
- [7] 王勇, 刘淑莹, 刘志强等. 雪上一枝蒿中乌头碱类生物碱的电喷雾串联质谱分析 [J]. 分析化学, 2003, 31 (2): 139-142.
- [8] 符华林. 我国乌头属药用植物的研究概况 [J]. 中药材, 2004, 27 (2): 149-152.
- [9] 胡本祥, 李华, 王宇鹏等. 铁棒锤的显微鉴别 [J]. 西北药学杂志, 2004, 19 (4): 17-19.
- [10] 杨智锋, 刘建峰, 张红等. 铁棒锤药材质量标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (22): 1771-1773.
- [11] 张宏利, 韩崇选, 杨学军等. 铁棒锤对小白鼠的毒杀活性研究 [J]. 西北林学院学报, 2005, 20 (2): 125-126.
- [12] 张帆, 彭树林, 白冰如等. 伏毛铁棒锤根中总生物碱的串联质谱分析 [J]. 质谱学报, 2006, 27 (2): 71-73.
- [13] 张帆, 王兴明, 彭树林等. 伏毛铁棒锤根部二萜生物碱的研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41 (24): 1851-1853.
- [14] 姜海山, 哈英霞, 黄执霞. 铁棒锤止痛涂膜的体外透皮吸收试验 [J]. 陕西中医, 2007, 28 (11): 1544-1545.
- [15] 陈凤娥. 铁棒锤的研究进展 [J]. 2007, 35 (32): 10353-10360.
- [16] 曾洪学, 王俊, 张守宗等. 伏毛铁棒锤研究概况 [J]. 江苏中医药, 2007, 39 (6): 64-65.
- [17] 李满, 杨浩, 康建宏等. 宁夏濒危药用植物铁棒锤的资源利用与保护 [J]. 宁夏农林科技, 2007 (1): 43-44.
- [18] 杨建忠, 刘建峰, 党秋萍. 铁棒锤中总生物碱的含量测定 [J]. 陕西中医, 2007, 28 (2): 220-222.
- [19] 桑育黎, 郝延军, 杨松松. HPLC 法测定复方一支蒿胶囊中靛玉红的含量 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9 (4): 158.
- [20] 王亭, 徐敬海, 徐海燕等. 伏毛铁棒锤的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19 (9): 2162-2163.

麻 黄

1. 概述

麻黄来源于麻黄科 (Ephedraceae) 小灌木草麻黄 (*Ephedra sinica* Stapf.)、木贼麻黄 (*E. equisetina* Bge.) 或中麻黄 (*E. intermedia* Schrenk et CA. Mey.) 的草质茎。最早见于《神农本草经》，记载其功效为“主中风，伤寒头痛，温疟，发表出汗，去邪热气，止咳逆上气，除寒热，破积聚”。麻黄属植物已知有 67 个种。国内常用的主要有 3 种：第一种为木贼麻黄，直立小灌木，高 80~150cm，喜生于砾质山坡、山脊及山间谷地海拔 1200~1500m 处，分布于河北、山西、内蒙古、陕西、甘肃、新疆等省区，国外前苏联中亚地区亦有分布；第二种为中麻黄，小灌木，高 50~120cm，喜生于干旱荒漠、干旱草原及低山砾石地带，分布于内蒙古、河北、山东、陕西、甘肃、新疆、青海、宁夏等省区，国外前苏联、蒙古亦有分布；第三种为膜果麻黄，灌木，高 50~240cm，喜生于荒漠草原、戈壁滩、旱山坡及干河谷的砾石质地带，分布于内蒙古、青海、甘肃、新疆等省区，国外前苏联、蒙古亦有分布。

麻黄是我国宝贵的药用植物，它耐干旱、盐碱，抗严寒，广泛分布于我国西北部地区的荒漠、高坝、丘陵地区。已知麻黄中含有生物碱、黄酮、黄烷、鞣质、挥发油、有机酸、多糖等多种化学成分，但目前对其药理及毒理作用研究较明确的只有生物碱类。近年来有关麻黄生物碱类毒副作用的报道日趋增多，影响了对麻黄资源的开发利用。麻黄具有发汗解表、平喘、利尿之功效，可用于外感风寒表湿证、咳喘湿证、水肿小便不利之症。此外，还可以治疗风寒所致疮疹或皮肤瘙痒、鼻塞不通或流涕不止。现代药理研究表明，麻黄具有拟肾上腺素能神经作用，麻黄具有平喘、镇咳、祛痰、发汗、利尿、抗炎、解热、抗变态反应、抗病原微生物、兴奋中枢及影响神经肌肉传递等作用。

2. 研究现状

现代研究表明，麻黄提取物和 L-麻黄碱具有抑制高血糖作用。进一步研究发现麻黄、麻黄生物碱、L-麻黄碱都能促进链脲菌素 (STZ) 所致萎缩的胰岛再生，提示麻黄能使糖尿病模型小鼠胰岛再生，恢复胰岛素的分泌，从而纠正血糖过高。张连茹等用热水提取法从麻黄中提取到水溶性多糖，实验研究发现麻黄多糖对邻苯三酚的自氧化产生较强的抑制作用，说明麻黄多糖具有清除自由基的作用。Okawa 等研究亦表明麻黄具有清除自由基的作用，该作用由黄酮类成分产生。在影响免疫功能方面也有新的报道。陈荣明等以接触性超敏反应、胸腺和脾脏的脏器系数、血液中 T 淋巴亚群 ($CD4^+$, $CD8^+$) 为主要观察指标，研究麻黄不同提取物对细胞免疫的抑制作用，发现所分离的麻黄-9905 能减轻二硝基氯苯所致的小鼠耳廓肿胀，使胸腺萎缩，调整二硝基氯苯所致的血液中 $CD4^+$ / $CD8^+$ 的失调，认为麻黄-9905 对小鼠的细胞免疫有抑制作用。杨康等报道，从草麻黄水提取物中获得了一种单体成分，体外实验证实该成分具有良好的补体抑制活性，对补体经典途径、替代途径、后段成分都有剂量依赖的抑制作用，其中对经典途径最为显著。此外，该成分对人和猫血清的补体抑制活性有显著差异，对人血清的作用明显优于对猫血清。

近年来又发现麻黄具有改善慢性肾功能衰竭的作用，经口投入麻黄干浸膏及其单宁成分，观察其对实验性慢性肾衰大鼠的治疗作用，结果发现同期投药即诱发后投药，麻黄干浸膏能使肾衰大鼠血中尿素氮下降 37%，肌酐下降 35%，甲基胍下降 76%，胍基琥珀酸下降 83%，血磷下降 39%，血钙升高 28%，尿中甲基胍排泄量平均降低 49%~65%。表明麻黄干浸膏可明显改善慢性肾衰大鼠的肾功能，纠正高磷低钙血症，明显抑制甲基胍的产生。其作用机制是抑制了肌酐和羟自由基 ($\cdot OH$) 的产生，从而使甲基胍的产生量减少。但是麻黄的单宁成分 Fraction2 和 Fraction3 无改善慢性肾衰的作用。麻黄还具有促进脂肪细胞脂肪合成的作用。蒋明等用正常大鼠附睾处脂肪细胞，分别观察麻黄对 ^{14}C 标记的葡萄糖转化的脂肪合成及由去甲肾上腺素 (NE) 促进的脂肪分解的作用。结果表明，麻黄可促进由葡萄糖转化的脂肪合成，并且这种作用与基质溶解的 pH 值有关；麻黄尚可抑制由 NE 促进的脂肪分解作用。即中药麻黄在脂肪细胞的脂质代谢中显示了胰岛素样的活性。他们还研究发现该活性不是由麻黄碱引起的，这就使麻黄在糖尿病的预防和治疗领域的开发利用有了一个有意义的起点。

麻黄的成分随种而异。麻黄茎主要含有生物碱，三种麻黄均含左旋麻黄碱、右旋麻黄碱、右旋甲基伪麻黄碱、右旋去甲基麻黄碱、右旋去甲基伪麻黄碱，以及麻黄根碱 A、麻黄根碱 B、麻黄根碱 C。草麻黄茎中生物碱含量约 1.3%，其中 1-麻黄碱占 60% 以上，其次为 *d*-伪麻黄碱、微量的 1-*N*-伪麻黄碱、麻黄次碱、麻黄噁烷等。黄酮类含芹菜素、小麦黄素、山柰酚、芹菜素-5-鼠李糖苷、草棉黄素等。有机酸类含对羟基苯甲酸、香草酸、肉桂酸、对香豆素、原儿茶酸，还含有麻黄多糖、儿茶酚鞣质、无机元素 Se 等。吉力等用气相色谱-

质谱联用法分析了草麻黄、中麻黄和木贼麻黄挥发油的化学成分,并测定了各成分的相对含量。共鉴定 127 个化学成分,1- α -松油醇 (31.64%)、1,4-桉叶素 (12.80%)、十六烷酸 (26.22%) 分别是草麻黄、中麻黄、木贼麻黄挥发油中的主要成分。徐必达等采用超临界 CO₂ 萃取技术 (SFE) 从麻黄中提取挥发油,并用 GC-MS 技术分离鉴定其化学组成,从中鉴定出 47 个成分。据报道市售麻黄的麻黄碱总含量为 0.32%~4.93%。比较麻黄碱与伪麻黄碱在总含量中所占的比例发现,河北、黑龙江、巴基斯坦的麻黄中麻黄碱的含量高;陕西、山西、内蒙古、辽宁、吉林、四川、新疆的麻黄中麻黄碱的含量大致相同,但其中一部分的伪麻黄碱含量高;甘肃、青海的麻黄中伪麻黄碱的含量均高,占 70%~100%。几乎所有的麻黄中去甲基麻黄碱在 10% 以下、甲基麻黄碱在 22% 以下,未见到变动较大的地域差异,但也有去甲基麻黄碱 (48%) 等比麻黄碱或伪麻黄碱含量高的麻黄,伪麻黄碱含量高的麻黄多集中在甘肃和青海的麻黄中,有其地域性。

3. 应用前景

新疆麻黄天然药源丰富,人工栽培技术相对成熟,发展前景十分广阔。而且已经进行了大量的药理作用研究,作用机理较清楚。麻黄所含的挥发油对人工发热的兔有解热作用,对正常小鼠有降温作用;麻黄碱能使血管通透性降低,呈现抗炎作用;并有镇咳作用,挥发油及麻黄碱、伪麻黄碱有平喘作用;煎剂有抑菌作用,挥发油及煎剂有抗病毒作用;麻黄的水或醇提取物有抗过敏作用;伪麻黄碱有显著的利尿作用;麻黄碱对中枢神经系统有明显的兴奋作用,可引起失眠、神经过敏、不安等症状,并能使心肌收缩力增强,血压上升,胃肠平滑肌松弛,还能抑制血小板聚集、降低血液黏度等。所含麻黄碱能兴奋中枢神经系统和升高血压,故高血压及失眠患者慎用。

一直以来国内外有关麻黄的研究工作做得很多,但大部分是针对其主要成分麻黄碱类。近年来,国外有关麻黄的不良反应报道屡见不鲜,甚至因其原药材及相关制剂增加心脏病和中风的发作,美国 FDA 已禁止非处方使用,这就给我国丰富的麻黄资源利用带来了困难。所幸的是麻黄中其他成分的药理作用近年来也不断有报道,尤其是其中的多糖类成分具有较好的降血糖、抗氧化以及影响脂质代谢等作用,因此加强对麻黄中其他成分尤其是多糖类成分的化学和药理活性的研究必将解决麻黄资源的利用难题。麻黄的疗效确切,现已广泛应用于单味制剂和复方药物中。随着对其化学成分研究的深入,揭示其作用机制和临床疗效,作为解表药应用数千年的麻黄应用将不断扩大。

参 考 文 献

- [1] 田中俊弘. 市售麻黄各种成分的比较研究: 关于麻黄类生物碱 [J]. 国外医学. 中医中药分册, 1996, 18 (5): 56.
- [2] 吉力. 草麻黄中麻黄和木贼麻黄挥发油化学成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22 (8): 489.
- [3] 张连茹, 邹国林, 杨天鸣. 麻黄水溶性多糖的提取及其清除氧自由基作用的研究 [J]. 氨基酸与生物资源, 2000, 22 (3): 24.
- [4] 杨康, 刘维永, 白云. 草麻黄中补体抑制成分的纯化和活性 [J]. 第四军医大学学报, 2000, 21 (12): 1558.
- [5] Okawa M, Kinjo J, Nohara T, et al. DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2001, 24 (10): 1202.
- [6] 陈荣明, 朱耕新, 许芝银. 麻黄中不同提取物对细胞免疫的影响 [J]. 南京中医药大学学报: 自然

科学版, 2001, 17 (4): 234.

- [7] 查丽行, 苏志国, 张国政. 麻黄资源的利用和研究进展 [J]. 植物学通报, 2002, 19 (4): 396-405.
- [8] 徐必达, 陈康, 林文津等. 麻黄超临界萃取物 CO₂ 萃取物 GC-MS 分析 [J]. 中药材, 2003, 26 (10): 722-723.
- [9] 解成喜, 符继红, 张力静. 麻黄中挥发油化学成分的分析 [J]. 新疆大学学报, 2004, 21 (3): 285.
- [10] 陈晓成. 麻黄的药理作用研究进展 [J]. 实用中医药杂志, 2005, 21 (1): 58.
- [11] Fillippo C, Leonardo B, Laura C, et al. Phenolic constituents from *Ephedra nebrodeusis* [J]. Nat Prod Res, 2005, 19 (2): 117.
- [12] 李姿娇, 杨屹, 丁明玉等. 麻黄非麻黄碱部分中黄酮、生物碱和有机酸的分析 [J]. 分析试验室, 2005, 24 (4): 67.
- [13] Takara K, Horibe S, Obata Y, et al. Effects of 19 herbal extracts on the sensitivity to paclitaxel or 5-fluorouracil in Hela cells [J]. Biol Pharm Bull. 2005, 28 (1): 138.
- [14] Cottiglia F, Bonsignore L, Casu L. Phenolic constituents from *Ephedra nebrodeusis* [J]. Nat Prod Res, 2005, 19 (2): 117.
- [15] 丁丽丽, 施松善, 崔健等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (20): 1661-1664.
- [16] 陈德军, 王吉德, 刘玉梅. 顶空固相微萃取对新疆麻黄挥发成分的分析 [J]. 精细化工, 2007, 24 (1): 55-59.
- [17] 吴海, 易伦朝, 高敬铭等. 野生与人工栽培麻黄不同部位成分的比较研究 [J]. 中草药, 2007, 38 (9): 1298-1301.
- [18] 木尼热·阿布都克热木, 木合塔尔·吐尔洪, 王楠楠等. 新疆戈壁野生木贼麻黄挥发油的成分分析 [J]. 中成药, 2007, 29 (9): 1338-1341.
- [19] 周玲, 吴德康, 唐于平等. 麻黄中化学成分研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24 (1): 71-73.
- [20] 范盎然, 赵晓春, 邱彦. 麻黄药理作用及其临床应用进展 [J]. 山西中医, 2008, 24 (4): 44-45.

贝 母

1. 概述

贝母为百合科多年生草本植物川贝母 (*Fritillaria cirrhosa* D. Don)、暗紫贝母 (*F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia)、甘肃贝母 (*F. przewalskii* Maxim.) 或梭砂贝母 (*F. delavayi* Franch.) 的鳞茎, 全世界 60 余种, 主要分布于北半球温带区。其中药用的有 25 个种和 2 个变种, 以四川 (8 种) 和新疆 (6 种) 种类最为丰富。2005 年版《中华人民共和国药典》记载的贝母有 5 种: 川贝母 (*Bulbus fritillariae cirrhosae*, 主产于四川、青海、云南等地)、浙贝母 (*Bulbus fritillariae thunbergi*, 主产于浙江、江苏、安徽等地)、平贝母 (*Bulbus fritillariae ussuriensis*, 主产于黑龙江、辽宁、吉林等地)、伊贝母 (*Bulbus fritillariae pallidiflorae*, 主产于新疆) 和湖北贝母 (*Bulbus fritillariae hupehensis*, 主产于湖北利川等地)。

川贝母为多年生草本, 鳞茎圆锥形, 花通常紫色, 较少绿黄色, 具紫色斑点或小方格, 蜜腺窝在北面明显凸出, 蒴果具 6 纵翅。浙贝母为多年生草本, 植株光滑无毛, 株高 30~80cm, 鳞茎扁球形, 由 2~3 鳞片抱合而成, 底部长有须状根, 单叶无柄披针形至线披针

形，下部叶互生，上部叶多对生或轮生，顶端叶呈卷须状，有一至数朵花，种子扁平瓜子状。新疆贝母为多年生草本，高 25~50cm，喜生于近山山坡草丛或灌林中，新疆北部多有分布，国外哈萨克斯坦、俄罗斯等亦有分布。暗紫贝母，叶仅下面的 1~2 对为对生外，均为互生或近于对生，先端不卷曲，花被深紫色，略有黄色小方格，蜜腺窝不明显，果棱上的翅很狭。伊贝母为多年生草本，高 20~50cm，生于山坡草甸的杂草和灌丛中，主产于新疆伊犁地区，全国有栽培，前苏联亦有分布。

川贝母因主产于四川而得名，故简称川贝，但在西藏、甘肃、新疆、华北、东北均有出产。浙贝母因主产于浙江而得名，故简称浙贝，因其原产于浙江象山，故又称为象贝母，简称象贝，目前在江苏、安徽、湖南等地也有出产。土贝母是葫芦科多年生攀缘植物假贝母的块茎，主产于河北、陕西、山西等地。新疆贝母是一种与川贝、浙贝齐名的贵重中药材，其中包括伊犁贝母、费尔干贝母、滩贝母等 9 种贝母属植物，统称为新疆贝母，以新疆贝母和伊贝母产量最大。伊贝母主产于新疆伊宁、霍城地区，轮叶贝母主产于塔城地区，滩贝母生产于霍城、察布查尔地区，费尔干贝母新疆许多地方都有分布。

2. 研究现状

贝母为常用的止咳化痰药。中医传统认为浙贝母清热化痰、散结消肿；川贝母润肺止咳。李萍等对目前市场上常用的暗紫贝母、浙贝母等 11 种商品贝母进行了镇咳药理作用筛选，发现 11 种贝母的总生物碱部分对小鼠氨水引咳均有显著或非常显著的镇咳作用。除梭砂贝母和伊贝母外，其余 9 种贝母的乙醇提取物亦有显著的镇咳作用。用小鼠氨水引咳法、豚鼠机械刺激引咳法及电刺激猫喉上神经引咳法观察了浙贝母碱和去氢浙贝母碱的镇咳作用，结果证实了这两种生物碱是浙贝母镇咳的有效成分。李萍等对几种生物总碱作了进一步的分离提取，从鄂北贝母总碱中分离出鄂贝定碱，从蒲贝总碱中得到蒲贝酮碱和 9207N，经小鼠氨水引咳和豚鼠枸橼酸引咳实验证实这 3 种生物碱及单体成分均具有显著的镇咳作用，且有用量小、毒性低的优点，是很有开发前途的天然高效止咳药。通过对贝母的镇咳机制进行探讨，发现皖贝对电刺激神经干无影响，也不对抗尼可刹米的呼吸兴奋作用，因此认为贝母抑制咳嗽中枢而不抑制呼吸中枢，这对治疗慢性支气管炎并发肺气肿咳嗽者更为有利。Gilani 等从王贝母 *F. imperialis* 中分离得到一种生物碱——鄂贝乙素，它选择性地作用于 M2 受体，与 M2 受体的亲和力高于 M3，为 M2 受体拮抗剂，这可能与贝母的作用机制有关。

贝母属植物中的化学成分大致可分为两大类：生物碱类和非生物碱类。我国学者朱子清等从 1932 年开始研究贝母碱的骨架结构，经过多年的努力工作，取得了巨大的进展，沟通了贝母属生物碱和藜芦属生物碱的关系，确定了贝母属生物碱的骨架。目前已发现的贝母生物碱绝大部分属甾体生物碱，其中多为异甾衍生物，胆甾衍生物次之。异甾衍生物可以分为西藜芦碱类 (cevine group) 和介藜芦碱类 (jervine group)；胆甾衍生物又可分为白藜芦碱类 (verazine group) 和茄次碱类 (solanidine group)。目前已从浙贝母中分得贝母甲素 (pемminine)、贝母乙素 (peiminine)、贝母辛 (peimissine)、贝母乙素的两个异构体和贝母甲素、贝母乙素的氮氧化物。这些生物碱的 D/E 和 E/F 环均为反式。另外，还分离出茄碱类生物碱。

20 世纪 90 年代从浙贝母中分离出一种新生物碱——浙贝宁 (zhebinine)，经鉴定为浙贝甲素 27-CH₃ 的差向异构体。还分离出了浙贝素 (zhbeiresinol)。川贝生物碱成分有川贝碱 (fritimine)、西贝素 (sipeimine)，青贝中有青贝碱 (chinpeimine)，白松贝中有松贝碱 (sonpeimine)，黄炉贝中有炉贝碱 (fritiminine)，白炉贝中有白炉贝素，甘肃贝母中有岷贝

碱 (minpeimine)。王化远等从四川家种贝母新种——瓦布贝母 (*Bulbus fritillaria wabuensis* S. Y. Tang et S. C. Yueh) 鳞茎中还分离出一种西贝素氮氧化物, 对化学结构及构型进行了研究, 确证该生物碱为自然界中极少见的西贝素- β -氮氧化 (imperialine- β -N-Oxide)。湖北贝母主要含甾体生物碱, 已分离鉴定有贝母素甲、贝母素乙、湖贝甲素 (hupehenine)、湖贝乙素 (hupehenirine)、湖贝嗪 (hupehenizine)、湖贝新 (hupehensine)、湖贝啉 (hepehenidine)、湖贝苷 (hupehemonoside) 及鄂贝新 (ebeiensine), 其中含量较高者有贝母素甲、贝母素乙及湖贝甲素。平贝母的主要有效成分类型为甾体生物碱, 主要有西贝素 (imperialine)、贝母辛、贝母甲素平贝碱甲 (pingoeimin A)、平贝碱乙 (pingoeimin B)、平贝碱丙、平贝碱苷 (petilinine glucoside)、平贝定苷 (pijingbeidinoside) 等。伊犁贝母 (*Fritillaria pallidiflora* Schrenk) 产量高, 生物碱的含量在同类贝母中相对较高, 抗病力强且药材价格低廉, 特别是其祛痰、镇咳等生理活性较川贝母略强, 近年来备受人们的关注。伊犁贝母的主要成分为异甾体生物碱和苷, 尤以西贝素 (imperialine) 和西贝素苷 (imperialine- β -D-glucoside) 为主要成分。杂交贝母是以利川贝母 (*Fritillaria lichuanensis* P. Li et C. P. Yang) 为父本, 湖北贝母 (*F. hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia) 为母本杂交而成。江西彭泽贝母 (*Fritillaria monantha* Migo) 又称天目贝母, 主产于江西省九江地区长江流域的各县。彭泽贝母作川贝母使用已有多年应用历史。彭泽贝母中有浙贝乙素、贝母辛、浙贝甲素、湖贝甲素。

对贝母属植物化学成分的研究主要集中在生物碱上, 对非生物碱成分的研究始于 1944 年, 主要有 β -谷甾醇、硬脂酸、软脂酸、二萜的酯聚物及缩醛聚物等。晁若冰等采用 HPLC, 以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相, 甲醇-水 (69 : 31) 为流动相 (内含 $7.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS), 用外标法测定了国内贝母药材主要来源品种中的贝母辛的含量, 回收率为 97.3%, $RSD=0.69\%$ 。李文彦等采用柱前衍生化高效液相色谱法, 先使苯甲酰氯和总碱中的西贝素反应生成西贝素苯甲酸酯, 以 ODS 柱为色谱柱, 以甲醇-水 (90 : 1) 为流动相 (内含 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的三乙胺), 在 227nm 波长检测, 对伊犁贝母中西贝素进行定量。张庆林等通过柱前 2,4-二硝基苯肼衍生, 在 Hypersil C_{18} 色谱柱上, 采用乙腈-乙酸铵 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH}=5.0$) (39 : 61) 为流动相, 测定了小鼠血浆中的贝母乙素含量, 方法灵敏, 重现性好, 回收率高。

3. 应用前景

川贝母含有川贝母碱等多种生物碱, 川贝母碱有降低血压、兴奋子宫等多种药理作用。川贝母流浸膏、川贝母碱均有不同程度的祛痰作用; 贝母总生物碱及非生物碱部分均有镇咳作用; 贝母总碱尚有抗溃疡作用。此外, 川贝母、西贝母碱均有降压作用; 西贝母碱亦能解痉。体外实验表明, 川贝母有抑制大肠杆菌及金黄色葡萄球菌的作用。浙贝母含浙贝碱、贝母醇等, 浙贝碱有明显镇咳作用, 低浓度浙贝碱有扩张支气管平滑肌的作用。此外, 还有兴奋子宫、降压、散瞳、镇静、镇痛及中枢抑制等作用。用浙贝母花制成流浸膏或片剂治疗上呼吸道感染及慢性支气管炎咳嗽, 效果好。土贝母具有清热解毒、消肿散结、消痈排脓等功能, 临床常与牡蛎、天花粉、薏苡仁、鱼腥草、皂角刺、穿山甲、夏枯草、海藻、昆布等配伍, 用于乳痈、瘰癧痰核、疮疡肿毒、流行性腮腺炎、急性淋巴结炎、淋巴结核等病症的治疗, 因而具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 李萍, 季晖, 徐国钧等. 贝母类中药的镇咳祛痰作用研究 [J]. 中国药科大学学报, 1993, 24 (6):

360-362.

- [2] 季晖, 李萍, 姚力等. 蒲贝酮碱的镇咳作用研究 [J]. 中国药科大学学报, 1993, 24 (2): 95-97.
- [3] 于晓琳, 季晖, 王长礼. 贝母的药理作用研究概况 [J]. 中草药, 2000, 31 (4): 313-315.
- [4] 徐惠波, 孙晓波, 温富春等. 伊犁贝母和梭砂贝母生理活性的初步比较 [J]. 中国中药杂志, 2000, 7 (25): 391~393.
- [5] 李全, 胡凯文, 陈信义等. 浙贝母对呼吸系统耐药金黄色葡萄球菌逆转作用的临床研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24 (5): 51-52.
- [6] 李萍. 无紫外吸收的贝母总生物碱定量分析方法研究 [J]. 中国药学杂志, 2002, 37 (8): 614.
- [7] 肖培根. 湖北贝母的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (10): 726-728.
- [8] 朱丹妮, 谭丰萍. HPLC-ELSD 分析测定贝母类药材中生物碱成分 [J]. 药物分析杂志, 2002, 20 (2): 87.
- [9] 曾令杰, 林鸽, 李萍. 伊贝母生物碱的 HPLC 分析及药代动力学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14 (1): 37~38.
- [10] 张勇慧, 阮汉利, 吴继洲. 贝母的药理作用研究概况 [J]. 医药导报, 2003, 22 (11): 797-799.
- [11] 李兴斌, 高燕飞, 李吉良. 平贝母化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中医药信息, 2004, 21 (4): 28-29.
- [12] 余华, 姜艳, 李萍等. 中药川贝母定量分析方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (8): 572~575.
- [13] 张国欣, 李娟, 张鹏等. 湖北贝母的 HPLC 指纹图谱分析 [J]. 药学学报, 2005, 40 (9): 850-853.
- [14] 吴晓民, 王艳红, 郑友兰. HPLC 测定不同产地平贝母中贝母甲素的含量 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41 (20): 1535-1537.
- [15] 洪梅, 马彧, 李秀芬等. HPLC-ELSD 测定平贝母中贝母素甲的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (12): 1032~1033.
- [16] 肖培根. 湖北贝母的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 27 (10): 726-729.
- [17] 魏金莹, 朱宏吉, 魏静娜等. 酶法提取贝母中总生物碱的工艺研究 [J]. 中草药, 2007, 38 (9): 1344-1346.
- [18] 皮慧芳, 张久亮, 吴广等. 高效液相色谱法分析湖北贝母花中生物碱成分 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27 (8): 1078-1080.
- [19] 程显隆, 肖新月, 夏德豪等. 平贝母药材质量控制中适宜测定指标的研究 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28 (1): 28~31.
- [20] 童志远, 颜晓燕. 贝母化学成分及质量控制方法研究进展 [J]. 西南军医, 2009, 11 (2): 260-261.

沙 枣

1. 概述

沙枣又名香柳、桂花柳、银柳、七里香等, 属胡颓子科胡颓子属 (*Elaeagnus*) 植物。沙枣起源于中亚中心和近东-小亚细亚中心, 也就是现在的印度西北部、阿富汗、塔吉克、乌兹别克、高加索、伊朗、土库曼等地。在我国主要分布在新疆、甘肃、陕西等西北各省区和内蒙古西部, 也有少量分布于华北北部、东北西部, 大致为北纬 34°以北的地区。天然沙枣林集中在新疆塔里木河和玛纳斯河、甘肃疏勒河以及内蒙古额济纳河两岸, 内陆河岸的沙

枣林多呈疏林状态。沙枣树喜光，根系发达，繁殖容易，生长迅速，具有耐干旱、耐盐碱、耐瘠薄及固氮改良土壤等作用，它对阻止沙漠移动、防止风沙灾害、增加空气湿度、改善农区的小气候有着重要作用，是改造干旱、沙地、荒地、盐渍地造林的优良树种之一，因此在新疆营造有大面积沙枣防护林和防风固沙林。近年，山西、河北、辽宁、黑龙江、山东、河南等省区也在沙荒地和盐碱地引种栽培。

沙枣树高4~15m，无刺或具刺，刺长30~40mm，棕红色。幼枝密被银白色鳞片，老时脱落，呈栗褐色。单叶互生，具银白色纤细的柄，叶片薄纸质，长圆状披针形，长3~7cm，宽1~1.3cm，基部楔形，全缘，顶端钝尖或钝形，上面幼时具银白色鳞片。1~3花簇生于小枝下部叶腋，花银白色，密被银白色鳞片，芳香；萼筒钟形，上端4裂，裂片宽卵形或卵状长圆形，内面被白色星状柔毛；无花瓣；雄蕊4，几无花丝；花柱上端弯曲，有圆锥形花盘包围于花柱的基部。果椭圆形，长9~12mm，直径6~8mm，粉红色，密被银白色鳞片，果肉粉质，乳白色。花期5~7月，果期8~10月。

《中国植物志》中记载了沙枣的2个种和1个变种，分别是沙枣、东方沙枣、尖果沙枣。《新疆高等植物检索表》中记载了尖果沙枣和大果沙枣两个种。黄俊华和买买提江确定新疆地区分布有胡颓子属的3个种和1个变种，分别是尖果沙枣(*E. oxycarpa* Schlecht.)、沙枣(*E. angustifolia* L.)、东方沙枣[*E. angustifolia* var. *orientalis* (L.) Kuntze]和大果沙枣(*E. moorcroftii* Wall. ex Schlecht.)。

沙枣具有镇静、固精、健胃、止泻、利尿、排毒去湿热，调节人体血液循环，降血压、血糖、血脂等保健功能。沙枣的枝、叶、花、果也都具有开发和利用的价值，目前在我国广泛应用于食品、药物、造纸、饲草、木材、家具等方面。

2. 研究现状

沙枣树全身都是宝，果实、种子和叶片都含有多种有用的营养成分，具有较高的利用价值和经济价值。据资料报道，果实含糖43%~59%（其中果糖约占20%）、蛋白质约10%，以及鞣质、黄酮类、黏液质及沙枣多酚等。花含挥发油0.2%~0.4%，主要为反式肉桂酸乙酯、山柰酚、花白素、脂肪油等，其中反式肉桂酸乙酯约占油的78%。根和树皮含生物碱以及树胶、鞣质等。叶中含咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、芥子酸、新绿原酸、维生素C及黄酮类化合物，果实还含齐墩果酸、花含芦丁等。

现代研究表明，新疆沙枣水提物、醇提物及粉末均能减少番泻叶、蓖麻油所致腹泻小鼠的腹泻指数和稀便率，抑制正常与推进功能亢进小鼠小肠运动，具有抗腹泻作用，其抗腹泻机理可能与抑制肠道功能有关。

沙枣果肉中的原花青素有较好的抗脂氧化能力，从沙枣熟果、青果、浆果、嫩叶、老叶中提取的沙枣多酚对羟自由基($\text{HO}\cdot$)、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、DPPH自由基均有良好的清除作用。沙枣叶提取物对慢性气管炎、腹泻和菌痢、冠心病、烧伤创面等有一定疗效。沙枣果实中含有鞣质和胶质的浓缩物，可作为收敛剂用于结肠炎，大量服用能改善消化器官的功能与状态。

沙枣多糖具有抗呼吸道合胞病毒感染，提高呼吸道合胞病毒感染小鼠T淋巴细胞增殖能力、NK细胞活性和IL-2活性等提高机体免疫功能的作用。沙枣多糖还具有直接接触抑制呼吸道合胞病毒，且降低呼吸道合胞病毒感染小鼠肺指数和肺组织病毒量的作用。

研究还发现，新疆大沙枣果实乙醇提取物有较强的抑菌能力，对目前抑菌实验中常用的供试菌种都有一定的抑制生长作用。

3. 应用前景

沙枣繁殖力强, 生长迅速, 是西北居民理想的薪材。沙枣果实可以生食或磨面食用。沙枣叶片的营养价值接近苜蓿, 为家畜良好的饲料。沙枣花多而密, 是沙区良好的蜜源植物。沙枣的花、果、枝、叶均可入药, 能治疗烧伤、慢性支气管炎、消化不良、神经衰弱、肠炎和痢疾等。沙枣种子含油率较高, 其油脂可用于制皂或作润滑油用。新疆用沙枣花研制成沙枣花精型系列化妆品, 对皮肤有营养价值, 并具有增强皮肤细胞活力的作用。沙枣树液含树脂, 提制出的沙枣胶或胡颓子胶可作为阿拉伯胶、黄芪胶的代用品。沙枣还可以制造酱油、提炼味精等调味品, 并研制出了沙枣果酱、沙枣果汁、沙枣浓缩汁、沙枣羊羹、沙枣汽水、沙枣香槟、沙枣果丹皮等沙枣系列产品。

由此可见, 沙枣树是“百宝树”, 在新疆有“大漠三宝, 沙枣、沙棘和甘草”之称。但目前沙枣树仅作为生态林看待, 其经济价值尚未引起重视, 我国沙枣仅有少部分被药用、食用或初步加工, 大部分沙枣的果、叶成熟后自然落地腐烂废弃, 利用率极低, 造成这一宝贵资源的极大浪费。因此, 今后应加强沙枣的深加工和综合利用研究, 将沙枣林由生态林变为生态-经济林, 在充分发挥生态效应的同时发挥其经济效应。

参 考 文 献

- [1] 黄俊华, 买买提江, 杨昌友等. 沙枣研究现状与展望 [J]. 中国野生植物资源, 2005, 24 (3): 26-28.
- [2] 辛艳伟. 沙枣的开发和利用 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (2): 399-400, 402.
- [3] 王青宁, 吕兴连, 彭韵硕等. 沙枣多糖 EAP-2 的提取纯化及初步分析 [J]. 食品科学, 2007, 28 (1): 43-46.
- [4] 江发寿, 刘金荣, 但建明等. 沙枣多糖的超声提取及含量测定 [J]. 西北药学杂志, 2002, 17 (1): 13-14.
- [5] 董世林. 植物资源学. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1994.
- [6] 时永杰, 高万林. 沙枣 [J]. 中兽医医药杂志, 2003, S1: 154-155.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 52 卷. 第 2 分册. 北京: 科学出版社, 1983.
- [8] 董凡德. 沙枣育苗造林技术 [J]. 林业科技开发, 2005 (1): 761.
- [9] 刘铸晋. 沙枣花净油化学成分的研究 [J]. 有机化学, 1986 (4): 301-304.
- [10] 李兆林. 沙枣花挥发油化学成分的研究 [J]. 高等学校化学学报, 1989, 10 (8): 804-808.
- [11] 刘晔玮, 邸多隆. 沙枣花挥发油的化学成分及其指纹图谱的研究 [J]. 食品科学, 2003 (7): 111-112.
- [12] 王妍, 王立新. 沙枣花中微量元素的含量分析 [J]. 食品科技, 2004 (3): 98-99.
- [13] 江发寿, 谢建新. 沙枣的营养成分分析及沙枣油的理化常数测定 [J]. 石河子大学学报, 2002 (3): 20-21.
- [14] 马丽娟. 沙枣的开发利用 [J]. 宁夏科技, 2000 (4): 37.
- [15] 刘清, 黄海涛, 刘琼等. 原子吸收光谱法测定沙枣叶中矿物元素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006 (4): 1163-1164.
- [16] 聂小兰. 沙枣的研究现状及展望 [J]. 北方园艺, 2007 (4): 67-69.
- [17] 江发寿, 谢建新, 刘金荣. 沙枣的营养成分分析及沙枣油的理化常数测定 [J]. 石河子大学学报, 2002, 6 (1): 20-21.
- [18] 石翠芳, 孙智达, 刘畅等. 沙枣果肉原花青素的分离纯化 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33 (4): 137-139.
- [19] 田丽丽. 沙枣多糖抗呼吸道合胞病毒作用及其机制研究 [D]. 吉林: 吉林大学, 2005.
- [20] 陶大勇, 李树伟, 应璐等. 沙枣化学成分的提取分离及药敏实验 [J]. 中兽医医药杂志, 2005 (3):

10-13.

- [21] 何艳熙, 李炳奇, 刘红等. 沙枣中黄酮类化合物提取工艺条件的研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15 (7): 57-58.
- [22] 马彦梅, 何艳熙, 李炳奇等. 大孔树脂对沙枣黄酮吸附及解吸性能的研究 [J]. 现代食品科技, 2009, 25 (2): 144-145.
- [23] 郅洁, 李炳奇, 廉宜君等. 沙枣多糖的提取及其抗氧化活性的研究 [J]. 中成药, 2009, 31 (5): 796-798.
- [24] 廉宜君, 李炳奇, 肖芙蓉等. 沙枣多糖对小鼠免疫功能影响的研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20 (5): 1126-1127.
- [25] 孙萍, 马彦梅, 李炳奇. 正交实验优化沙枣果肉中黄酮的酶辅助提取研究 [J]. 中草药, 2009, 40: 165-167.
- [26] 李红, 郅洁, 马彦梅等. 沙枣黄酮的提取及其抗氧化活性研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21 (1): 35-36.
- [27] 廉宜君, 李元元, 李炳奇等. 超临界萃取和水蒸气蒸馏法萃取沙枣花挥发油工艺的比较研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17 (1): 51-53.

红豆杉

1. 概述

红豆杉也称紫杉, 是红豆杉科 (Taxaceae) 红豆杉属 (*Taxus*) 植物的总称。红豆杉属植物大约有 11 种, 在全世界自然分布极少, 主要分布于北半球温带、寒温带及热带、亚热带高山地区, 起源于古老的第三纪, 是第四世纪冰川后遗留下来的世界珍稀濒危植物, 因此又称之为植物王国里的“活化石”。由于红豆杉种群竞争力弱、天然更新缓慢和地理分布局限等客观因素, 导致红豆杉属植物的资源储量日渐稀少, 尤其是近年来随着抗癌新药紫杉醇的开发利用, 对红豆杉属植物的需求日益增大, 致使其资源遭到了严重的破坏, 个别种已经极度濒危。世界各国早已将其列入保护树种。我国也于 1999 年 8 月批准颁发的《国家重点保护野生植物名录 (第一批)》中将我国红豆杉属的 5 种全部列入国家一级保护植物。云南红豆杉 (*Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu) 是以云南为中心分布区的地方特有种, 在阴坡、半阴坡的中山、亚高山缓坡, 沟谷、溪流两岸暗针叶林、中山针阔叶混交林、常绿阔叶林中散生或块状生长, 形成该林分乔木第二、三层。

此种植物由于紫杉醇及相关的紫杉烷类化合物含量高而成为研究的热点。作为一种从红豆杉树中分离得到的双萜类天然产物, 紫杉醇及紫杉烷类化合物不仅可治疗常规化疗无效的卵巢癌、乳腺癌和非小细胞肺癌, 而且对食管癌、头颈癌等其他一些恶性肿瘤也有一定疗效。

2. 研究现状

自 1971 年 Wani 等从短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*) 中得到具有显著抗癌活性的紫杉醇以来, 对该属植物的研究受到极大重视。研究表明, 虽然红豆杉的树皮、枝叶、根部甚至种子均可提取紫杉醇, 但红豆杉植物中紫杉醇含量在万分之二以下, 极其低微。短叶红豆杉树皮中紫杉醇含量最高, 其次为中间红豆杉树皮; 东亚产四种红豆杉中, 云南红豆杉枝叶中紫杉醇含量最高, 东北红豆杉和美丽红豆杉次之; 而叶中紫杉醇含量则以短叶红豆杉最高,

东北红豆杉及云南红豆杉次之。

关于红豆杉化学成分的研究,在我国开展比较早的是兰州大学的张宗平等,1989年他们从红豆杉的茎叶中分离到两个新的紫杉烷二萜(taxagifine I, taxagifine II)和一个已知的紫杉烷二萜(taxagifine)。陈未名等从云南红豆杉的树皮中分离出7个紫杉烷类二萜化合物,其中两个是新化合物,分别命名为云南红豆杉醇(yunnanxol)和云南红豆杉胺(yunnanxamine);陈章玉等也从云南红豆杉的树皮中分离得到4个紫杉烷类二萜化合物和1个黄烷醇类化合物,分别是紫杉醇 C-7-木糖苷(taxol C-7-xylose)、紫杉醇 B(taxol B)、10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-deacetylbaicatin)、紫杉素(taxusin)和2R, 3R-儿茶精(2R, 3R-catechin)。通过对云南红豆杉各部位的广泛研究发现了80个新的紫杉烷类化合物,而且在红豆杉中紫杉烷类化合物含量均远高于紫杉醇。红豆杉中除含有紫杉醇和紫杉烷类化合物外,还含有300多种其他化合物,有些化合物本身具有药用价值,有的则是紫杉醇的合成前体,可作为半合成紫杉醇的重要原料。如7-木糖基紫杉醇、三尖杉宁碱、7-木糖基三尖杉宁碱等紫杉醇类似物可通过修饰和结构改造转化为紫杉醇;10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-DAB)、巴卡亭Ⅲ等也是半合成紫杉醇的重要原料,特别是巴卡亭Ⅲ与紫杉醇同为红豆杉的活性成分,且结构相似,具有独特的抗癌和抗纤维化机理,也已成为研究热点,陈小因等发现了其对大鼠肺纤维化的干预作用。此外,据报道红豆杉中也有多种黄酮类成分。

最近的研究表明,红豆杉种子油对鼻咽癌细胞株 CNE2 有很强的杀伤作用,机制主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡,具有进一步研究价值。韦正波等用索氏法从红豆杉种子中提取出油状物质,红豆杉种子油的粗提取物获得率为19.45%。显微镜观察发现,加入红豆杉种子油后,瘤细胞逐渐变圆、悬浮,部分细胞碎裂形成凋亡小体,第3天最明显;细胞毒实验显示,红豆杉种子油肿瘤抑制率随着浓度和作用时间的增加而增高,且 $24\sim 32\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 是最佳浓度,作用第3天抑制率达到最高;流式细胞仪显示,随着红豆杉种子油浓度的提高,肿瘤细胞凋亡率亦增高。

3. 应用前景

紫杉醇是20世纪90年代国际上抗肿瘤药三大成就之一。紫杉醇作为一种新型广谱抗肿瘤药物已广泛用于临床,特别是在晚期卵巢癌、乳腺癌、非小细胞肺癌等恶性肿瘤的治疗中具有明确疗效。该药无论是在一线治疗还是二线治疗,单用或与其他抗癌药联合应用,都得到临床实践证明。同时紫杉醇作为腹腔化疗用药比静脉化疗的毒副作用小,局部抗肿瘤作用增大,虽然由于紫杉醇单用或联合用于腹腔化疗的临床研究尚不足,仍有待于进一步研究,不过根据近几年的临床研究结果,紫杉醇作为腹腔化疗用药在提高患者生存率和改善生活质量方面将会有很好的前景。目前,紫杉醇仍主要来自于植物提取,但植物中紫杉醇的含量极低,单从植物中提取远不能满足临床需求,因此,大力种植红豆杉、植物细胞培养、化学合成等是解决紫杉醇来源的重要方法。同时相关部门也应该加大对红豆杉资源的保护力度。在基础研究方面,对紫杉醇的研究还有待加强,如紫杉醇内生真菌的培养、细胞培养、人工合成等。随着科学的发展及各学科的交叉融合,对紫杉醇的研究会越来越深入,治疗方案会不断得到优化,众多患者将摆脱癌症痛苦。

参 考 文 献

- [1] 杨玉林,宋学东,董京祥等. 红豆杉属植物资源及其世界分布概况[J]. 森林工程,2009,25(3): 5-10.
- [2] 肖颖,赵玉斌. 红豆杉中紫杉醇抗癌研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2008,17(35):

5557-5558.

- [3] 张宗平, 贾忠建, 朱子清等. 红豆杉化学成分的研究 [J]. 科学通报, 1989, 21: 1630-1632.
- [4] 王玉震, 仝川, 柯春婷等. 红豆杉植株紫杉醇含量研究进展 [J]. 亚热带植物科学, 2008, 37 (4): 59-63.
- [5] 陈小因, 田菊霞, 陈河等. 红豆杉活性成分巴卡亭Ⅲ对大鼠肺纤维化的干预作用 [J]. 浙江中医杂志, 2009, 44 (3): 192-193.
- [6] 孔繁晟, 严春艳, 贲永光等. 紫外分光光度法测定云南红豆杉枝叶中总黄酮的含量 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20 (2): 471-472.
- [7] 陈章于, 陈于澍. 云南红豆杉化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21 (4): 230-232.
- [8] 陈未名, 张佩玲, 周金云等. 云南红豆杉化学成分的研究Ⅳ: 二个新紫杉烷类三环二萜成分的分离和鉴定 [J]. 药学学报, 1994, 29 (10): 751-757.
- [9] 钟瑞建, 谢宁, 闵知大. 美丽红豆杉化学成分的研究 [J]. 江西中医学院学报, 1995, 7 (1): 26.
- [10] 罗迎春, 潘炉台, 杨立勇. 云南红豆杉木心化学成分的研究 [J]. 贵州教育学院学报, 2003, 14 (4): 59-60.
- [11] 王春霖, 曹聪梅, 张嫚丽等. 紫杉烷类化合物的研究进展 [J]. 河北医药, 2005, 27 (9): 684-688.
- [12] 韦正波, 谢莹, 陈全斌等. 红豆杉种子油的提取和抗肿瘤活性初探 [J]. 广西医科大学学报, 2009, 26 (2): 237-240.
- [13] 邱德有, 吴小红, 黄璐琦. 木本药用植物红豆杉研究的新进展 [J]. 林业科学研究, 2009, 22 (3): 439-445.
- [14] 李耀辉. 红豆杉紫杉烷类化合物超临界二氧化碳萃取及其抑瘤作用研究 [J]. 陕西医学杂志, 2009, 38 (4): 426-427.
- [15] 李海峰, 赵志莲, 刘光明. 从云南红豆杉细胞培养物中分离鉴定 10-去乙酰巴卡亭Ⅲ [J]. 大理学院学报, 2008, 7 (12): 1-3.
- [16] 陈淑娟, 刘佳佳, 龚汉祥等. 红豆杉内生真菌次生代谢物的分离鉴定及其抗菌活性分析 [J]. 生物工程学报, 2009, 25 (3): 368-374.
- [17] 刘春兰, 杨宇, 李转秀等. 红豆杉培养物水溶性多糖的提取及清除自由基活性的研究 [J]. 中央民族大学学报, 2009, 18 (2): 10-15.
- [18] 苏建荣, 缪迎春, 张志钧. 云南红豆杉紫杉醇含量变异及其相关的 RAPD 分子标记 [J]. 林业科学, 2009, 45 (7): 16-20.
- [19] 袁鸿文. 云南红豆杉生态习性研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37 (20): 9738-9741.
- [20] 王达明, 周云, 张裕农等. 不同海拔高度及植被类型的云南红豆杉林木枝叶紫杉烷含量分异性研究 [J]. 西部林业科技, 2008, 37 (4): 1-7.
- [21] 郑法新, 程璐, 李侠等. 红豆杉内生菌的分离及抗植物病害活性物质的初步筛选 [J]. 现代农业科技, 2009, 5: 108-109.

云木香

1. 概述

云木香 (*Saussurea lappa* C. B. Clarke) 又名广木香、青木香, 为菊科 (Compositae) 凤毛菊属 (*Saussurea*) 植物。该属植物全世界有 400 多个种, 主要分布于亚洲和欧洲。云木香自印度引种入我国, 曾用拉丁名 (*Aucklandia lappa* Decne.), 为多年生高大菊科草本

植物。现我国有近 300 种，分布于西南和西北各省区。云木香性温，味辛、苦，以其根茎入药，药用历史悠久，是众多中成药配方主要原料药材之一，主要治疗风湿性关节炎、跌打损伤、妇科疾病、食物中毒、外伤出血、骨折、胃部胀满、消化不良、呕吐、腹痛和腹泻、高原反应等，具有解除平滑肌痉挛、降压、抗菌、芳香健胃、行气止痛的功效，同时其根浸膏和净油具有浓郁的动物型香气，广泛用作调配香料的原料。

2. 研究现状

云木香的主要化学成分为倍半萜和倍半萜内酯，也是其重要的活性成分。倍半萜类化合物不仅种类繁多，而且含量丰富，从结构类型上可分为桉叶烷 (eudesmane)、愈创木烷 (guaiane)、石竹烷 (caryophyllane)、葎草烷 (humulane)、雪松烷 (himachalane) 和榄香烷 (elemene) 型等结构，其中以桉叶烷型的化合物为最多。杨辉等从云南丽江产云木香 (*Saussurea lappa* C. B. Clarke) 的根中分离得到了 14 个倍半萜化合物，其中化合物 4 β -hydroxy-11 (13)-桉叶烷-12-醇是一种新化合物；他们还分离出另外 7 个化合物，分别是孕甾烯醇酮 (pregnenolone)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、胡萝卜苷 (daucosterol)、苯丙素苷 (syringin)、木质素苷 (1-hydroxypinoresinol-1- β -D-glucopyranoside)、油酸 [(Z, Z)-9, 12-octadecadienoic acid] 和油酸-1, 3-甘油二酯 [(Z, Z)-9, 12-octadecadienoic acid-2-hydroxy-1, 3-propanediny ester]。尹宏权等利用硅胶、大孔树脂、Sephadex LH-20 柱色谱及 HPLC 等方法从云木香中分离得到 8 个化合物，分别是脱氢木香内酯 (dehydrocostus lactone)、木香烯内酯 (costunolide)、arbusculin A、白桦脂醇 (betulin)、5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfuraldehyde)、3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛 (3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyde)、正丁基- β -D-吡喃果糖苷 (*n*-butyl- β -D-fructopyranoside)、油酸-1-甘油单酯 [9, 12-octadecadienoic acid (Z, Z)-2, 3-dihydroxypropyl ester]，其中前两个化合物具有较强的稻瘟霉分生孢子变形活性，其最小活性质量浓度均为 $8\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。李硕等也从云木香中分离得到 9 个化合物，除了上述的脱氢木香内酯、木香烯内酯、arbusculin A，还有 reynosin、4-烯丙基-2, 6-二甲氧基苯基葡萄糖苷 (4-allyl-2, 6-dimethoxyphenol glucoside)、紫丁香苷 (syringin)、costunolid-15- β -D-glucopyranoside 和氯原酸 (chlorogenic acid)。最新的化学成分研究是张婷等利用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 和反相 RP-18 柱色谱等手段从云木香中分离得到 11 个化合物，除了上述已提到的 β -谷甾醇、5-羟甲基糠醛、3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛和胡萝卜苷外，还有 5, 7-二羟基-2-甲基色原酮 (5, 7-dihydroxy-2-methylchromone)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde)、3, 5-二甲氧基-4-羟基苯乙酮 (3, 5-dimethoxy-4-hydroxyacetophenone)、ethyl 2-pyrrolidinone-5(S)-carboxylate、棕榈酸 (palmitic acid)、丁二酸 (succinic acid) 和葡萄糖 (glucose)。此外，张兰胜等采用水蒸气蒸馏法从云木香中提取挥发油，用气相色谱-质谱联用法对化学成分进行分析，以归一化法计算各个化学成分的相对含量，研究发现，云木香挥发油的主要成分为 (Z, Z, Z)-9, 12, 15-十八碳三烯-1-醇 (20.07%)、1, 2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7-八氢-1, 4-二甲基-7-(1-甲基乙基)-[1R-(1 α , 3a β , 4 α , 7 β)] 萹 (10.04%)、石竹烯 (6.69%) 以及 3a, 4, 6a, 7, 8, 9, 9a, 9b-八氢-6-甲基-3, 9-二亚甲基-[3aS-(3aa, 6aa, 9aa, 9b β)] 奥 [4, 5-b] 呋喃-2(3H)-酮 (6.37%)，其中倍半萜类化合物含量最高 (占 50% 以上)，其次是单萜类化合物，还含有一些内酯类、酮类、醇类化合物。

3. 应用前景

云木香在我国不仅产量大，而且该植物所含化学成分丰富，具有广泛的生物活性。因此，

无论作为药用还是用作香料都具有较高的应用价值。此外,其所含丰富的倍半萜内酯还可作为合成其他化合物的原料,值得进行深入研究,从而为云木香的开发利用开辟更广阔的天地。

参 考 文 献

- [1] 谢双吉. 浅析云木香 [J]. 中药研究与信息, 2005, 7 (10): 47-48.
- [2] 杨辉, 谢金伦, 孙汉董. 云木香化学成分研究 [J]. 云南植物研究, 1997, 19 (1): 85-91.
- [3] 尹宏权, 齐秀兰, 华会明等. 云木香化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15 (4): 217-220.
- [4] 李硕, 胡立宏, 楼凤昌. 云木香化学成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2 (1): 62-64.
- [5] 张婷, 王洪庆, 杜冠华. 云木香化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34 (10): 1223-1224.
- [6] 张兰胜, 杨志勇, 董光平. 云木香挥发油化学成分的研究 [J]. 大理学院学报, 2007, 6 (12): 9-12.
- [7] 钟惠民, 许泳吉, 文丽荣等. 野生植物云木香的营养成分 [J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12 (2): 58-59.
- [8] 李秀芳, 林青, 代蓉. 云木香丙酮提取物对大鼠实验性胃溃疡模型的影响 [J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28 (6): 34-35.
- [9] Singh I P, Talwar K K, Chhabra B R, et al. A biologically active guaianolide from *Saussurea lappa* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31 (7): 2529-2531.
- [10] Talwar K K, Singh I P, Kalsi P S. A sesquiterpenoid with plant growth regulatory activity from *Saussurea lappa* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(1): 336-338.

见血封喉

1. 概述

见血封喉 [*Antiaris toxicaria* (Pers.) Lesch.] 为桑科见血封喉属 (*Antiaris*) 植物, 别名有加布、剪刀树、箭毒木, 据说是世界上木本植物中最毒的树种。见血封喉属植物有 4 个种 3 个变种, 分布于东南亚。我国仅产 1 种, 即见血封喉, 分布于海南、云南、广东、广西等地。见血封喉在云南省的景洪市、勐腊县和屏边县均有分布, 生长于海拔 1000m 以下的热带雨林中。在勐腊县城内的白象山上, 生长着一株高 47m、胸径 260cm 的箭毒木, 其树干灰白、笔直挺拔, 枝青叶茂, 形如擎天巨伞, 是云南省目前已知的最大一株箭毒木, 已被列为云南省重点保护的古树名木。在这株树的根基部位长有 3 条形同木板似的大板根, 其中最大的一条面积竟有 4m² 之多, 令人惊奇不已。见血封喉在我国已被列为三级濒危珍稀植物。

见血封喉的鲜树汁乳白色, 味苦、性辛温, 有剧毒, 其种子也有毒。其鲜树汁沿着皮肤伤口进入人或动物的体内后, 能使肌肉松弛, 心跳趋缓, 在短时间内便会因心脏停止跳动而导致死亡。如不小心让树汁进入眼内, 眼睛顿时便会失明。被涂有此树汁的箭射中的兽类, 只能走三五步便会倒毙。见血封喉的鲜树汁入药用于泄泻、催吐、强心, 还可用作麻醉剂; 种子也有毒, 入药解热止泻, 用于痢疾。在印度尼西亚、马来西亚、缅甸以及我国的海南和云南等地, 当地人用见血封喉的乳汁作箭毒, 射杀野兽。

2. 研究现状

见血封喉化学成分的研究始于 20 世纪 40 年代, 已分离鉴定出 37 个化合物, 其中有 26

个强心苷及其苷元、10个黄酮类化合物和1个其他类型化合物。国内有关见血封喉化学成分的研究报道较少。20世纪80年代,谢家敏等从见血封喉的根和茎的乙醇提取物中分离得到8个化合物,分别是莽草酸(shikimic acid)、1-环己烯-1-羧酸-5-羟基-3,4-异亚丙基二氧(1-cyclohexene-1-carboxylic acid-5-hydrox-3,4-isopropylidene dioxy)、氧双(5-亚甲基-2-呋喃醛)[oxybis(5-methylene-2-furaldehyde)]、 β -谷甾醇(β -sitosterol)、十六烷酸(palmitic acid)、十八烷酸(stearic acid)、二十四烷酸(tetracosanoic acid)和三十一烷(hentriacontane)。

见血封喉的乳汁和种子中均富含强心苷类化合物。见血封喉强心苷的苷元结构类型有7种,而苷元的3位羟基所连的糖基有9种,通过苷元与糖基的不同组合产生了种类繁多的强心苷。目前报道的见血封喉强心苷的苷元均为五元内酯环型,并且以见血封喉苷元(anti-arigenin)和毒毛旋花子苷元(strophanthidin)为主。而糖基部分,除了铃兰毒原苷(convallioside)连接的是双糖外,其余均为单糖。见血封喉乳汁和种子中的强心苷的糖基,除了 α -L-鼠李糖为二者共有,其余的均不相同。此外,强心苷化合物的组成在见血封喉的乳汁和种子中也存在较大差异。如 α -、 β -见血封喉苷在乳汁中作为主要成分大量存在,在种子中则只有极少量的 β -见血封喉苷,而 α -见血封喉苷未在种子中发现。目前发现同时存在于乳汁和种子中的强心苷只有 β -见血封喉苷、弩箭子苷(antioside)和铃兰毒苷(convallatoxin)。1990年,日本科学家Hano等从印度尼西亚产的见血封喉根皮中分离得到系列具有异戊二烯基取代的新的黄酮类化合物antiarone A~I和一个已知的黄酮化合物(±)-sigmoidin A,其中antiarone A、B为噢弄酮,antiarone C~E为查耳酮,antiarone F~I和sigmoidin A为二氢黄酮,sigmoidin A据报道有抗炎活性。在日本专利中还报道了从见血封喉根皮中分离得到2-[2,3-dihydro-4-hydroxy-2-(1-hydroxy-1-methylethyl)-5-methoxy-6-(3-methyl-2-buten-yl)-1H-inden-1-yl]-1-(2,4,6-trihydroxyphenyl) ethanone,为抗肿瘤药物。

此外,国内学者还分别采用伤口滴注法和体内注射法对见血封喉乳汁的毒性进行过初步的动物试验,结果经伤口滴注的动物未见中毒反应和死亡,而经体内注射的动物30~40min后中毒死亡。伤口滴乳汁法未能将动物毒死,估计与乳汁未能成功进入体内血液系统有关。

由于见血封喉的乳汁可用于猎杀动物,而猎杀致死的动物却可以安全地食用,表明见血封喉的毒性是通过血液系统产生作用,而不能通过消化道产生作用。这可能是由于见血封喉乳汁中的强心苷难以口服吸收造成的。但目前对见血封喉中的强心苷的口服作用效果尚未见报道。

3. 应用前景

见血封喉中的强心苷种类繁多,其中大多数与目前临床上应用的强心苷药物在苷元或糖基的结构上存在差异。这些结构上的差异是否会导致药理作用方面的差异,是否可能通过结构修饰和构效关系研究获得作用更强、安全范围更宽的先导化合物,还有待于对其药理作用和构效关系以及药动学等方面进行更为深入的研究。

目前,有人已经将箭毒木的种子作药,用于治疗湿热腹泻和痢疾等疾病,并已收到了良好的效果。有的医务人员已将箭毒木的鲜树汁用于治疗腹泻、催吐以及强心等方面。还有人将其制成肌肉松弛剂,以治疗痉挛症。也有人将其树汁提取物制成麻醉剂,用于临床。总之,人们对箭毒木毒液、毒素的研究开发、利用正在进行中。

参 考 文 献

- [1] 谢家敏,陈于澍,赵树年等. 毒箭木化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(5): 36-37.
- [2] 梅文莉,干玉娟,戴好富. 见血封喉化学成分与药理活性研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(1):

151-154.

- [3] Won Y K, Ong C N, Shen H M. Parthenolide sensitizes ultraviolet (UV) -B-induced apoptosis via protein kinase C-dependent pathways [J]. Carcinogenesis, 2005, 26 (12): 21492-21561.
- [4] 蔡良真. 木犀草素对人白血病 HL260 细胞内蛋白激酶 C 的抑制作用 [J]. 右江医学, 2005, 33 (2): 106-108.
- [5] Voss O H, Kim S, Wewers M D, et al. Regulation of monocyte apoptosis by the protein kinase C delta-dependent phosphorylation of caspase-3 [J]. J Biol Chem, 2005, 280 (17): 17371-17379.
- [6] Vargo M A, Voss O H, Poustka F, et al. Apigenin induced apoptosis mediated by the activation of PKC delta and caspases in leukemia cells [J]. Biochem Pharmacol, 2006, 72 (6): 681-692.
- [7] 康胜利, 任守忠, 欧阳林旗等. 见血封喉树叶急性毒性研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19 (9): 2256-2257.
- [8] 易观路, 许方宏, 罗建华等. 优良濒危珍稀植物——见血封喉 [J]. 热带林业, 2004, 32 (1): 20.
- [9] Hano Y, Mitsui P, Nomura T. Two new prenylaurones, antiarones A and B, from the root bark of *Antiaris toxicaria* Lesch [J]. Heterocycles, 1990, 30 (2): 10231.
- [10] Hano Y, Mitsui P, Nomura T. Seven prenylphenols, antiarones C, D, E, F, G, H, and I from the root bark of *Antiaris toxicaria* Lesch [J]. Heterocycles, 1990, 31 (7): 1315.
- [11] Njamen D, Mbafor J T, Fomum Z T, et al. Anti-inflammatory activities of two flavanones, sigmoidin A and sigmoidin B, from *Erythrina sigmoidea* [J]. Planta Med, 2004, 70 (2): 1041.
- [12] 吕富华. 强心甘研究的重要目的和途径 [J]. 药学学报, 1979, 14 (10): 6321.

雷公藤

1. 概述

雷公藤 (*Tripterygium Wilfordii* Hook. f.) 又名黄藤、黄藤木、黄腊藤、断肠草等, 属卫矛科植物, 是我国的传统中药。卫矛科雷公藤属植物在我国有 3 种, 产于浙江、湖南、安徽、福建、台湾等省, 主要在长江中下流地区; 昆明山海棠 [*T. hypoglaucum* (Levl.) Hutch.] 形态与雷公藤相似, 产于长江流域及西南, 主要分布在西南地区; 黑曼 (*T. regelii* Sprague) 又称东北雷公藤, 产于东北和日本。雷公藤的主要药用部分是根。近年来发现雷公藤在临床上对器官移植的排斥反应、自身免疫性疾病、肾病综合征、癌症等方面疗效显著。临床上用于风湿性关节炎、类风湿性关节炎、跌打损伤、肾小球肾炎、红斑狼疮、肾病综合征等疑难病症。还发现有抗炎、免疫抑制、抗生育、抗肿瘤、抗菌、止痛等活性。目前已有相应的临床制剂, 如雷公藤叶的提取物雷诺酯片, 其根茎提取物雷公藤多苷片, 根提取物雷公藤片等, 均已取得较好的临床效果, 但由于其有效成分亦就是其有毒成分, 所以雷公藤的应用一直受到限制, 如何在不影响其疗效的基础上降低或者消除其毒性, 一直是研究人员广为关注的重要问题。

2. 研究现状

雷公藤的主要化学成分有雷公藤碱、雷公藤次碱、雷公藤宁碱、雷公藤晋碱等生物碱, 此外还含二萜类、三萜类、倍半萜类、糖类及卫矛醇、卫矛碱、蒽醌、 β -谷甾醇、L-表儿茶酸和苷等。早在 1936 年赵承嘏首先从雷公藤根部提取到萜类色素雷公藤红 (tripterine), 至今已提取到近 70 种成分, 其中二萜类和生物碱类是主要活性成分。夏志林等从雷公藤茎与

叶中提取到 3 个二萜内酯类化合物, 雷公藤内酯醇 (Triptolide, I), 雷公藤内酯二醇 (Triptdiolide, II) 和雷醇内酯 (Triptolidenol, III), 其中前两个化合物的药理实验都具有抗白血病活性, 化合物 II 已被美国国立癌症研究所癌症治疗部认可为有效的抗癌药物。雷公藤中的二萜类化合物还有: 贝壳杉烷型二萜 (16-hydroxy-19, 20-epoxykaurane)、山海棠二萜内酯 A (Tripterfordin)、蜜橘黄素 (Nubilnetin) 等。邓福孝等从雷公藤植物根皮的乙醇提取物中得到 11 种二萜化合物, 其中 IV ~ XI 均为新化合物, 首次从自然界中分得, 它们可能是抗白血病的有效成分。近几年来人们对雷公藤生物碱的化学成分和药理等方面进行了大量的研究, 不断发现了多种单体, 其中有些单体具有明显的免疫抑制、抗肿瘤作用和较小的毒性。雷公藤中的生物碱类主要有 5 种, 分别称为雷公藤晋碱 (Wilforagine)、雷公藤定碱 (Wilfordine)、雷公藤灵碱 (Wilforine)、雷公藤春碱 (Wilfortrine) 及雷公藤增碱 (Wilforzine)。林绥等从雷公藤的根皮中分离得到两种倍半萜生物碱, 碱 I 是 Wilfordine, 碱 II 是 peritassines A, 碱 II 是首次从雷公藤中分离得到的。日本学者在 20 世纪 90 年代初从本国产的雷公藤的果实中相继分离得到 23 个新倍半萜酯类化合物。对雷公藤茎叶中分离出的 3 个倍半萜生物碱化合物, 即雷公藤吉碱 (I)、雷公藤特碱 (II) 和雷公藤次碱 (III)。进行的毒性研究表明, II 和 III 有抑制体液免疫的作用, III 是治疗类风湿性关节炎的有效成分。井莉等从雷公藤地上部分的乙醇提取物中分离得到 7 个倍半萜生物碱类化合物, 其中化合物 aquifoliunine E-III (6) 与 2-O-deacetyl-euonine (7) 为首次从雷公藤属植物中分离得到的。张纬江等从雷公藤的去皮根部分离得到 7 个三萜成分 (T1 ~ T7), 其中 T7 为雷酚内酯 (Triptophenolide, TN), 对由刀豆素 A (ConA) 引起的淋巴细胞增殖有明显的抑制作用; 张崇璞等从雷公藤多苷中分离得到 8 个三萜化合物, 其中雷藤三萜酮酸 A (triptotriter-penonic acid A) 为一种新的齐墩果烯类三萜酸化合物。夏志林等从雷公藤的茎叶中首次分离得到四个三萜化合物, 分别是 β -谷甾醇、雷公藤内酯甲 (wilforlide A)、 $3\beta, 22\alpha$ -二羟基- Δ^{12} -齐墩果烯-29-羧酸 ($3\beta, 22\alpha$ -dihydroxy- Δ^{12} -oleanen-29-oic acid) 和 3-epikatonic acid。郭夫江等从雷公藤的根心中分离得到 8 个三萜化合物, 其中 triptotin C 为新化合物。杨光忠等从雷公藤中分离得到 9 个三萜化合物: 雷公藤素 D (1), 雷公藤素 E (2), 直楔草酸 (3), 雷公藤素 H (4), 22β -羟基-3-氧代-12-齐墩果烯-29-羧酸 (5), 雷公藤三萜酸 C (6), 雷公藤素 G (7), 雷公藤酸 A (8), 雷公藤醇 A (9)。抗肿瘤生物活性体外筛选实验表明: 化合物 7 和 9 对 P-388 小鼠白血病细胞的生长表现出强的抑制性, 化合物 1 对人肺腺癌 A-549 表现出强的抑制性, 说明除了已知雷公藤内酯醇、雷公藤内酯二醇和红素等有抗癌作用外, 还存在其他抗肿瘤的的成分。2006 年, 杨光忠等又从雷公藤根心中分离得到一个新三萜化合物 $3\beta, 22\beta$ -dihydroxy-29-nor-D: A friedoolean-21-one-2 β , 24-lactone。此外, 夏志林等从雷公藤的茎叶中分离出一个新的蒽醌化合物 1,8-二羟基-4-羟甲基蒽醌; 彭晓云等还从雷公藤根皮的乙醇提取物中分离得到新化合物萨拉子酸-3-乙基醚 (salaspermic acid-3-ethylic aether); 陈玉等首次从雷公藤根心的乙醇提取物中分离得到 5α -stigmastane- $3\beta, 6\alpha$ -diol、epigallocatechin、2,5-二甲氧基苯醌、琥珀酸 4 个化合物; 阙慧卿等首次从雷公藤根皮提取物中分离到雷公藤醌 A (triptoquinonoic acid A)。另外, 还有雷公藤多苷, 它含有微量二萜类、生物碱及一些五环三萜类化合物。郑家润等对从雷公藤总苷 (TII) 中分离出的 T1 ~ T8 8 个组分进行了抗炎免疫与抗生育成分的活性筛选, 他们又对从 8 个组分中进一步分离得到的 T2、T3、T4、T5 和 T6 五个单体进行了抗炎免疫与抗生育成分的活性筛选, 发现它们都有明确的抗炎作用, 而 T4 单体

兼有抗体生成抑制作用及抗生育作用。

3. 应用前景

雷公藤化学成分复杂, 药理作用广泛, 临床应用历史悠久, 而且各少数民族都有其独特的用法, 经验丰富。临床应用方面, 如何使其毒性降低, 而不影响疗效是雷公藤研究发展的一个动态及方向, 这方面的研究思路不能仅仅停留在对毒性单体化合物的分离与提纯上, 应对其所含的所有活性化合物进行不分离状态下的整体研究。有在整体条件下的转化研究, 临床应用才具有真正的价值, 转化条件一致的情况下, 各种化合物产生的变化既是独立的又是相互影响的, 获得的研究结果才能真正评价雷公藤生物转化后药性的改变是否具有临床价值。要解决雷公藤毒副作用的问题, 必须要有创新的思路和方法。今后应进一步加强对雷公藤药物化学和药理作用及临床应用的研究, 通过提取、纯化、化学修饰、合成等途径, 生产出高效低毒的有效成分或衍生物, 提高安全性和应用价值。使雷公藤在免疫抑制及器官移植, 抗生育和男性节育, 抗菌及抗炎免疫, 活血化瘀及降低血液黏度, 抗癌防癌及治疗疑难杂症方面发挥作用。

参 考 文 献

- [1] 夏焱, 段宏泉, 张铁军等. 雷公藤属药用植物的研究进展. 中草药, 2005, 6 (7): 1093-1096.
- [2] 徐央丽. 雷公藤的研究进展. 现代中西医结合杂志, 2008, 17 (12): 1941-1942.
- [3] 杨芳. 雷公藤的研究进展. 第一军医大学分校学报, 2003, 26 (2): 159-160.
- [4] 李汉保, 王玉玺, 徐学银. 雷公藤叶与根主要有效成分的比较. 中国中药杂志, 1994, 19 (4): 206-207.
- [5] 夏志林, 黄寿卿, 陈俊元等. 雷公藤茎和叶的化学成分研究 [J]. 中药通报, 1988, 13 (10): 36-37.
- [6] 邓福孝, 黄寿卿, 周炳南等. 雷公藤二萜成分研究. 福建医药杂志, 1986, 8 (4): 26-27.
- [7] 邓福孝, 黄寿卿, 王振登等. 雷公藤化学成分的研究 II. 药学学报, 1981, 16 (2): 155-157.
- [8] 邓福孝, 周炳南, 宋国强等. 雷公藤化学成分的研究 III. 药学学报, 1982, 17 (2): 146-150.
- [9] 周琳, 高飞, 孙淑君. 雷公藤生物碱的化学成分及杀虫作用研究进展. 河南农业科学, 2009, (1): 14-17.
- [10] 舒孝顺, 高中洪, 杨祥良. 雷公藤生物碱的化学和药理活性研究进展. 广东药学院学报, 2003, 19 (2): 150-152.
- [11] 夏志林, 邓福孝. 雷公藤果中新的倍半萜酯类化合物. 国外医药-植物药分册, 1992, 7 (5): 203-204.
- [12] 林媛, 樱井信子, 刘丹红. 雷公藤倍半萜生物碱的分离与结构. 中草药, 1995, 26 (9): 458-460.
- [13] 井莉, 柯昌强, 李希强等. 雷公藤中倍半萜生物碱的分离与结构鉴定. 中国药用化学杂志, 2008, 18 (3): 210-214.
- [14] 张纬江, 潘德济, 张罗修, 等. 雷公藤三萜化学成分研究. 药学学报, 1986, 21 (8): 592-598.
- [15] 张崇璞, 言政. 雷公藤多甙三萜成分研究. 中国医学科学院学报, 1994, 16 (6): 466-468.
- [16] 夏志林, 徐榕青, 郭舜民等. 雷公藤茎叶三萜化学成分研究. 中草药, 1995, 26 (12): 627-628.
- [17] 郭夫江, 方佩芬, 李援朝. 雷公藤三萜成分. 药学学报, 1999, 34 (3): 210-213.
- [18] 杨光忠, 李援朝. 雷公藤抗肿瘤三萜成分的研究. 林产化学与工业, 2006, 26 (4): 19-22.
- [19] 彭晓云, 杨培明. 雷公藤化学成分研究. 中国天然药物, 2004, 2 (4): 208-210.
- [20] 陈玉, 杨光忠, 李援朝. 雷公藤化学成分的研究. 天然产物研究与开发, 2005, 17 (3): 301-302.

- [21] 阙慧卿, 耿莹莹, 林绥等. 雷公藤化学成分的研究. 中草药, 2005, 36 (11): 1624-1625.
- [22] 侯励, 邓宏伟. 雷公藤中抑制免疫反应和抗炎的主要成分及作用. 中药研究, 2004, 32 (4): 14-17.
- [23] 潘晓东, 陈晓春. 雷公藤提取物在神经免疫性疾病中的药理效应和机制研究进展. 药学学报, 2008, 43 (12): 1179-1185.
- [24] 郑家润, 方家麟, 顾克显等. 雷公藤抗炎免疫及抗生育活性成分的筛选. 中国医学科学院学报, 1987, 9 (5): 317-322.
- [25] 姚发兴, 徐斌, 童秀英等. 雷公藤的化学成分及提取物的检验方法探讨. 湖北师范学院学报, 2000, 20 (4): 35-39.

鄧子如 贈
PDG

附录

附录一 常见化学成分的预试

中草药中所含的化学成分比较复杂,种类很多,在提取分离某种有效成分前一般可通过简单的预试验初步了解药材中可能含有哪些化学成分,以便进一步选用适当的方法对其进行提取和分离。

1. 水溶性成分的检识实验

取样品粗粉 5g,加入蒸馏水 50mL,浸泡过夜或于 50~60℃ 水浴中温浸 2h,过滤,滤液供检查下列各类成分。

(1) 糖类和苷类化合物

① α -萘酚 (Molish) 试验:取水提取液试样(以下简称水提样) 1mL,加入 10%的 α -萘酚乙醇试剂 1~2 滴,振摇后倾斜试管,沿管壁徐徐加入浓硫酸 0.5mL,静置,观察溶液界面变化。如出现紫红色环,可能含有糖类或苷类。

② 费林 (Fehling) 试验:取水提样 1mL,加入新鲜配制的斐林试剂 4~5 滴,在沸水浴上加热数分钟。如形成氧化亚铜砖红色或黄色沉淀,表明可能含有还原性糖。

另取水提样 1mL,加 1%的盐酸 1mL,煮沸 5~30min,使多糖和苷类水解,冷后溶液以碳酸钠试剂中和,再加斐林试剂 4~5 滴,在沸水浴中加热 4~5min。如果产生氧化亚铜砖红色沉淀,且沉淀量较未水解前多,表明可能有苷或多糖存在。

③ 苯胺-邻苯二甲酸试验:取水提样点在滤纸上,干燥后,喷洒苯胺-邻苯二甲酸试剂,在 105℃ 加热数分钟。如显棕色或红棕色,表明可能含有还原糖。

④ 间苯二胺试验:取水提样点在滤纸上,喷洒间苯二胺试剂,在 105℃ 加热 5min。如呈现黄色荧光,表明可能含有糖。

(2) 氨基酸、多肽和蛋白质

① 茚三酮 (ninhydrin) 试验:取水提样 1mL,加 0.2%的茚三酮乙醇试剂 2~3 滴,摇匀,在沸水浴中加热数分钟。冷却后溶液如显蓝色或蓝紫色,表明可能含有氨基酸、多肽或蛋白质。

此试验可在滤纸片上进行,即取水提样点在滤纸片上,喷洒茚三酮试剂后,在 100℃ 左右的烘箱中放置 2min。如呈现紫红色或者蓝色斑点,表明可能含有氨基酸、多肽等(有少数氨基酸的基本反应呈黄色斑点)。

② 双缩脲 (Biuret) 试验:取水提样 1mL,加 10%的氢氧化钠试剂 1 滴,摇匀,再逐渐加入 5% 的硫酸铜溶液,边加边摇匀。溶液如呈现紫色或红紫色,表明可能含有多肽或蛋白质。

③ 吡啶酮 (isatin) 试验:取水提样少许点于滤纸片上,干燥后,滴上或喷洒吡啶酮试剂,用吹风机吹干,待醋酸味不太浓时置于 100℃ 烘箱中烘 5~10 min。如显色,表明可能含有氨基酸或小分子肽类物质。

④ 酸性萘醌紫 (商品名: Solway purple) 试验:取水提样点于滤纸片上,滴上或喷洒

酸性蒽醌紫试剂。如果呈紫色，为阳性反应，表明可能含有蛋白质（氨基酸、多肽均无此反应）。

（3）酚类和鞣质类化合物

① 三氯化铁试验：取水提样 1mL，加醋酸酸化后，加 1% 的三氯化铁试剂数滴。溶液如呈现绿、蓝绿、蓝黑或暗紫色，表明可能含有酚性成分或鞣质。没食子酸系统的鞣质呈蓝色，儿茶酚系统的鞣质呈绿色。

② 香草醛-盐酸试验：取水提样点于滤纸片上，干燥后，喷洒香草醛-盐酸试剂。如立即呈不同程度的红色，表明含有间苯二酚或间苯三酚结构的化合物。

③ 三氯化铁-铁氰化钾试验：取试样水提取液点于滤纸片上，干燥后，喷洒三氯化铁-铁氰化钾试剂。如立即呈现蓝色斑点，表明可能含有鞣质、酚类或还原性化合物。喷本试剂时间较长后，背景也能逐渐呈蓝色。如欲使纸上的斑点保存下来，当纸片仍湿润时，用稀盐酸洗涤，再用水洗至中性，置于室温干燥后即可。

④ 4-氨基安替比林-铁氰化钾（Emerson）试验：取试样水提取液或乙醇提取液滴在滤纸片或薄层板上，置氨气中 30s，然后滴加 2% 的 4-氨基安替比林乙醇溶液及 5% 的铁氰化钾水溶液。如为阳性反应，应该立即呈红色。本试验对一元酚检出的灵敏度很高，但若对位有取代基则往往不能显色。

（4）有机酸

① pH 试纸试验：取水提样，以 pH 试纸检查。如呈酸性，表示可能含有酚性成分或有机酸。

② 溴酚蓝试验：取水提样点于滤纸片上，喷洒 1% 溴酚蓝的 70% 乙醇溶液。如含有机酸，应立即在蓝色背景上显黄色的斑点。如显色不明显，可再喷洒氨水，然后暴露于盐酸蒸气中，背景逐渐由蓝色变为黄色，而有机酸的斑点仍然为蓝色。

（5）皂苷

① 泡沫试验：取水提样 1~2mL 置于试管内，激烈振摇 2min。如产生多量持续性泡沫，再把溶液加热至沸或加入乙醇，再振摇。如仍能产生多量持续性泡沫，表明可能含有皂苷。

② 溶血试验：取水提样滴于滤纸片上，干燥后，将红细胞混悬液喷雾洒上。数分钟后，如在红色背底上出现白色或浅黄色斑点，表明可能有皂苷存在（本试验也可在试管中进行）。

2. 醇溶性成分的检识实验

取样品粗粉 10g，加乙醇 100mL，在沸水浴上回流提取 1h，过滤。滤液回收乙醇，浓缩至无醇味。

甲项试验试验液：取浓缩液体积的三分之一，加乙醇 10mL 溶解，供做酚类、鞣质、有机酸、黄酮类、蒽醌类、甾体、三萜类等成分的检测。

乙项试验试验液：将上一步剩余的浓缩液加 5% 的盐酸 10mL，充分搅拌，过滤，滤液部分供做生物碱的检测。

丙项试验试验液：将上一步盐酸处理后的酸水不溶部分加乙酸乙酯 10mL 溶解，乙酸乙酯用 5% 的氢氧化钠溶液振摇洗涤 2 次（每次 2~3mL），弃去碱水层（除酸），乙酸乙酯层再用蒸馏水洗 1~2 次，至水洗液呈中性反应，弃去水洗液（除去酸碱及水溶性杂质），置水浴上蒸发除去乙酸乙酯，残留物用乙醇 15mL 溶解，供做强心苷类、香豆素及内酯类等化合物的检测。

（1）酚类和鞣质类化合物 同前述水溶性成分的检识。

（2）有机酸 同水溶性成分检识。

(3) 黄酮类化合物

① 三氯化铝试验：取试样乙醇提取液点于滤纸片上，喷洒三氯化铝试剂。干燥后，如呈黄色斑点，并于紫外灯下观察有明显荧光，表明可能有黄酮类成分。

② 盐酸-镁粉或锌粉试验：取试样乙醇提取液 1mL，加入浓盐酸 4~5 滴及少量镁或锌粉。在沸水浴中加热 3min。如呈现红色，表明含有游离黄酮类或黄酮苷类成分。

样品中如含有花青素时，对此反应有干扰。为了鉴别花青素的存在，在另一试管中按同法试验，但不加锌或镁粉，如产生同样红色反应，表明含有花青素。

③ 氨熏试验：取试样乙醇提取液滴在滤纸片或者硅胶薄层板上，置于氨气中熏片刻，呈亮黄色或深黄色。置于紫外灯下观察，如有黄色荧光，表示有黄酮类化合物。

④ 锆-枸橼酸试验：取试样乙醇提取液 1mL，加热蒸干乙醇，再用甲醇 1mL 溶解，加入二氯化锆 ($ZrOCl_2$) 甲醇溶液数滴。如有鲜黄色产生，表明有 5-羟基黄酮及 3-羟基黄酮。然后再加入枸橼酸甲醇溶液，颜色显著褪去的为 5-羟基黄酮，颜色无变化的为 3-羟基黄酮。

(4) 蒽醌类化合物

① 碱液试验 (Bornträger 反应)：取试样乙醇提取液 1mL，加 10% 的苛性碱试剂呈红色，再加酸使成酸性。如红色褪去，表明含有蒽醌类化合物。

② 醋酸镁试验：取试样乙醚提取液 1mL，加入醋酸镁试剂数滴。如产生橙红、紫等颜色，表明可能含有蒽醌类化合物。此反应也可在滤纸片上或薄层板上进行。

③ 硼酸试验：取试样乙醇提取液点于滤纸片上，干燥后，喷洒 2% 的硼酸水溶液。如呈黄橙、红色或有荧光，表明可能含有蒽醌及其苷。

(5) 甾体和三萜类化合物

① 醋酐-浓硫酸试验 (Liebermann-Burchard 反应)：取试样乙醇提取液 1mL，置于蒸发皿上蒸干，加入冰醋酸 1mL 使残渣溶解，再加醋酐 1mL，最后滴入浓硫酸 1 滴。颜色变化如为黄-红-紫-墨绿，表明可能含有甾体类成分。但三萜类成分不呈墨绿色，多为玫瑰红。

② 氯仿-浓硫酸试验 (Salkowski)：取试样乙醇提取液 1mL，置于蒸发皿上蒸干，向残渣中加入氯仿 1mL 使其溶解，氯仿液放置于试管内，滴入浓硫酸 1 滴。如氯仿层呈红色或者青色，硫酸层有绿色荧光，表明可能含有甾体或皂苷。也可将反应后的硫酸层用吸管吸出，滴在硅胶薄层板上，置于紫外灯下观察荧光。

③ 三氯化锑试验：取试样乙醇提取液滴加于滤纸片，干燥后，喷洒三氯化锑试剂，于 100℃ 加热 5min。如呈现各种颜色，表明可能含有甾体或三萜。

④ 五氯化锑试验：取试样乙醇提取液滴加于滤纸片或硅胶薄层板上，喷洒五氯化锑试剂，于 120℃ 加热至斑点出现，并于紫外灯下观察。如显荧光，表明可能含有甾体或皂苷。

⑤ 间二硝基苯试验：取试样乙醇提取液点于滤纸片，喷洒 2% 的间二硝基苯试剂后，置空气中干燥 10min。如呈黄褐色，表明可能含有甾体或皂苷。

(6) 生物碱类化合物

① 碘化铋钾 (Dragendorff) 试验：取试样水溶液 1mL，加碘化铋钾试剂 1~2 滴。如生成浅黄色或红棕色沉淀，表明含有生物碱成分。若有乙醇存在时会干扰此反应，需先将乙醇去除，再做预试测定。此试验在滤纸片上进行较为敏感。

② 硅钨酸试验：取试样水溶液 1mL，加硅钨酸试剂 2~3 滴。如产生黄色或灰白色沉淀或结晶，表明可能含有生物碱。

③ 碘化汞钾 (Mayer) 试验：取试样水溶液 1mL，加碘化汞钾试剂 2~3 滴。如有白色

或淡黄色沉淀,表明可能含有生物碱。若试剂过量,则沉淀又被溶解。

④ 碘-碘化钾 (Wagner) 试验:取试样水溶液 1mL,加入碘-碘化钾试剂 2~3 滴。如产生褐色或暗褐色沉淀,表明可能含有生物碱。

(7) 强心苷类化合物

① 三氯醋酸试验:取供丙项试验的乙醇液滴于滤纸片,干燥后,喷洒三氯醋酸试剂,于 110~120℃ 烘 10min,取出,在紫外灯下观察。如呈现蓝紫、紫、黄褐、黄等各种颜色,表明可能含有强心苷。

② 碱性 3,5-二硝基苯甲酸 (Kedde) 试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加等量新鲜配制的碱性 3,5-二硝基苯甲酸试剂。溶液如产生红色或紫色,表明可能含有强心苷。此反应也可在滤纸片或者薄层板上进行。

③ 碱性苦味酸钠 (Baljet) 试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加入等量碱性苦味酸钠液剂。溶液如立即(或放置 15min 后)有红色或橙色,表明可能含有强心苷类成分存在。

④ 亚硝酰铁氰化钠-氢氧化钠 (Legal) 试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加入亚硝酰铁氰化钠试剂 1~2 滴,混匀,再滴加 10% 的氢氧化钠试剂。溶液如呈深红色,而后又渐渐褪去,表明可能含有强心苷。

⑤ 2-去氧糖试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,水浴上蒸干,残留物用三氯化铁-冰醋酸试剂 0.5mL 溶解,沿管壁加入浓硫酸 1mL,使分成两层。如冰醋酸层渐呈蓝色或绿色,交界面上出现紫或红色环,表明可能含有 2-去氧糖。

(8) 香豆素及内酯类化合物

① 异羟肟酸铁试验:取供丙项试验的乙醇液,滴于滤纸片上,吹干,喷洒碱性羟胺试剂,在约 100℃ 的恒温箱中(或电炉上方)加热,5min 后取出,再喷洒酸性三氯化铁试剂。如呈现紫红色斑点,背景为黄色至淡黄色,表明可能含有香豆素或者内酯类化合物。若将显色后的滤纸片重新置于其中片刻,可减轻黄色背景,更易于观察。

② 荧光试验:取供丙项试验的乙醇液,滴于滤纸片上,干燥后置于紫外灯下观察。如呈现蓝-绿色荧光,再喷雾 1% 的氢氧化钾试剂,荧光加强,表明可能含有香豆素类化合物。

③ 内酯环开环-闭环试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加 1% 的氢氧化钠试剂 2~3 滴,在沸水浴中煮沸 3~4min,得澄清溶液,再加 2% 盐酸 3~5 滴酸化。溶液如变为混浊,表明可能含有内酯类化合物。

④ 重氮化试剂试验:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加 5% 的碳酸钠试剂数滴,置沸水浴中加热数分钟,冷却后加新配制的重氮盐试剂数滴。如呈红色或紫红色,表明可能含有香豆素类化合物。

⑤ 间二硝基苯试验:取供丙项试验的乙醇液滴于滤纸片上,喷洒 2% 的间硝基苯乙醇试剂液,等乙醇挥发后,再喷 $2.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钾水溶液,置 70~100℃ 的恒温箱中。如呈紫红色斑点,表明可能含有内酯类化合物。本试验也可在试管中进行。

⑥ Gibbs 反应:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加入 Gibbs 试剂。如呈现蓝色,表明含有游离酚羟基的化合物,且其对位无取代。

⑦ Emerson 反应:取供丙项试验的乙醇液 1mL,加入 Emerson 试剂。如呈现红色,表明含有游离酚羟基的化合物,且其对位无取代。

3. 石油醚溶性成分的检识实验

取样品粗粉 2g,加石油醚 10mL,室温浸渍 2~3h,过滤,滤液即为石油醚提取液。

(1) 甾体和三萜类化合物 取石油醚提取液 8mL,置于蒸发皿中,水浴上加热蒸发至

干, 残渣用 95% 的乙醇 2mL 溶解, 分置于 2 支试管中, 分别进行以下试验。

① 醋酸-浓硫酸试验: 同醇溶性成分甲项试验。

② 氯仿-浓硫酸试验: 同醇溶性成分甲项试验。

(2) 挥发油和脂肪油类化合物

① 油斑试验: 取试样石油醚提取液滴加在滤纸片上, 室温挥干。滤纸片上若留有油斑, 表明含有脂肪酸或挥发油。若稍经加热油斑消失或减少, 表明可能含有挥发油。如油斑无变化, 可能为脂肪油。

② 香草醛-60%硫酸试验: 取试样石油醚提取液滴于滤纸片上或薄层板上, 喷洒香草醛-60%硫酸试剂。如显红、蓝、紫等各种颜色, 表明可能含有挥发油、萜类、甾体和甾醇。

③ 荧光素试验: 取石油醚提取液滴于滤纸片上, 喷洒 0.05% 荧光素试剂后, 将滤纸片暴露在溴蒸气中 (或碘蒸气中)。如呈现黄色, 背景很快变为淡红色, 表明可能含有不饱和化合物。

④ 磷钼酸试验: 取石油醚提取液滴于滤纸片上, 喷洒 25% 的磷钼酸试剂后, 放入 115~118℃ 烘箱中 2min。如呈现黄色, 背景为黄绿色或藏青色, 表明可能含有还原性物质、甾体和类脂类。

中草药化学成分的预试验, 除上述用试管、滤纸和薄层板的点滴反应外, 还可使用色谱法进行。用色谱法进行预试验, 不仅可以减少成分间的相互干扰, 反应结果容易判断, 而且还可根据色斑的 R_f 值及展开剂的组成进一步推断药材中成分的极性大小和溶解性。甚至通过与标准对照进行色谱分离, 可以初步判断样品中含有何种化合物。

附录二 化学成分检出试剂的配制

1. 生物碱沉淀试剂

(1) 碘化铋钾 (Dragendorff) 试剂 取次硝酸铋 3g 溶于 30% 的硝酸 (相对密度为 1.18) 17mL 中, 在搅拌下慢慢加碘化钾浓水溶液 (27g 碘化钾溶于 20mL 水), 静置过夜, 取上层清液, 加蒸馏水稀释至 100mL。

附: 改良的碘化铋钾试剂。

甲液: 0.85g 次硝酸铋溶于 10mL 冰醋酸, 加水 40mL; 乙液: 8g 碘化钾溶于 20mL 水中。

溶液甲和乙等量混合, 于棕色瓶中可以保存较长时间, 可作沉淀试剂用。如作色谱显色剂用, 则取上述混合液 1mL 与醋酸 2mL, 混合即得。

目前市场上碘化铋钾试剂可直接供配制: 碘化铋钾 7.3g, 冰醋酸 10mL, 加蒸馏水 60mL。

(2) 碘化汞钾 (Mayer) 试剂 氯化汞 1.36g 和碘化钾 5g 各溶于 20mL 水中, 混合后加水稀释至 100mL。

(3) 碘-碘化钾 (Wagner) 试剂: 2g 碘和 5g 碘化钾溶于 100mL H_2O 中, 加热, 加醋酸 2mL, 再用水稀释至 100mL。

(4) 硅钨酸试剂 5g 硅钨酸溶于 100mL 水中, 加盐酸少量至 pH=2 左右。

2. 糖的检出试剂

(1) 碱性酒石酸铜 (Fehling) 试剂 本品分甲液与乙液, 应用时取等量混合。甲液: 结晶硫酸铜 6.23g, 加水至 100mL; 乙液: 酒石酸钾钠 34.6g 及氢氧化钠 10g, 加水

至 100mL。

(2) α -萘酚 (Molish) 试剂 甲液: α -萘酚 1g, 加 75% 乙醇至 10mL; 乙液: 浓硫酸。

3. 酚类化合物的检出试剂

(1) 三氯化铁试剂 1% 的三氯化铁水溶液或醇溶液。

(2) 三氯化铁-铁氰化钾试剂 甲液: 2% 的三氯化铁水溶液; 乙液: 1% 的铁氰化钾水溶液。应用时甲液、乙液等体积混合或分别滴加。

(3) 4-氨基安替比林-铁氰化钾 (Emerson) 试剂 甲液: 2% 的 4-氨基安替比林乙醇液; 乙液: 3% 的铁氰化钾水溶液 (或用 0.9% 的 4-氨基安替比林和 5.4% 的铁氰化钾水溶液)。

(4) 重氮化试剂 本试剂系由对硝基苯胺和亚硝酸钠在强酸下经重氮化作用而成, 由于重氮盐不稳定很易分解, 本试剂应临用时配制。

甲液: 对硝基苯胺 0.35g, 溶于浓盐酸 5mL, 加水至 50mL; 乙液: 亚硝酸钠 5g, 加水至 50mL。应用时取甲、乙液等量在冰水浴中混合后, 方可使用。

4. 内酯、香豆素类化合物的检出试剂

(1) 异羟肟酸铁试剂 甲液: 新鲜配制的 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 羟胺盐酸盐 ($M=69.5$) 的甲醇液; 乙液: $1.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钾 ($M=56.1$) 的甲醇液; 丙液: 三氯化铁溶于 1% 的盐酸中且其含量为 1% 的溶液。应用时甲、乙、丙三液按次序滴加, 或甲、乙两液混合滴加后再加丙液。

(2) 开环-闭环试剂 甲液: 1% 的氢氧化钠溶液; 乙液: 2% 的盐酸。

(3) 间二硝基苯试剂 甲液: 2% 的间二硝基苯乙醇液; 乙液: 14% 的氢氧化钾甲醇液。用前甲、乙两液等量混合。

(4) Gibb 试剂 甲液: 0.5% 的 2,6-二氯苯醌-4-氯亚胺的乙醇溶液; 乙液: 硼酸-氯化钾-氢氧化钾缓冲液 ($\text{pH}=9.4$)。

5. 黄酮类化合物的检出试剂

(1) 盐酸镁粉试剂 浓盐酸和镁粉。

(2) 三氯化铝试剂 2% 的三氯化铝甲醇溶液。

(3) 锆-枸橼酸试剂 甲液: 2% 的二氯氧化锆 (ZrOCl_2) 甲醇液; 乙液: 2% 的枸橼酸甲醇液。

6. 蒽醌类化合物的检出试剂

(1) 氢氧化钾试剂 10% 的氢氧化钾水溶液。

(2) 醋酸镁试剂 0.5% 的醋酸镁甲醇溶液。

(3) 1% 的硼酸试剂 1% 的硼酸水溶液。

(4) 浓硫酸试剂 浓硫酸。

7. 强心苷类化合物的检出试剂

(1) 3,5-二硝基苯甲酸 (Kedde) 试剂 甲液: 2% 的 3,5-二硝基苯甲酸甲醇液; 乙液: $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钾甲醇溶液。应用前甲、乙两液等量混合。

(2) 碱性苦味酸 (Baljet) 试剂 甲液: 1% 的苦味酸水溶液; 乙液: 10% 的氢氧化钠溶液。

(3) 亚硝基铁氰化钠-氢氧化钠 (Legal) 试剂 甲液: 0.5% 的亚硝基铁氰化钠溶液; 乙液: 10% 的氢氧化钠溶液。

8. 皂苷类化合物的检出试剂

(1) 溶血试验 2% 的血球生理盐水混悬液: 新鲜兔血 (由心脏或耳静脉取血) 适量,

用洁净小毛刷迅速搅拌, 除去纤维蛋白并用生理盐水反复离心洗涤至上清液无色后, 量取沉降红血球, 用生理盐水配成 2% 的混悬液, 贮冰箱内备用 (贮存期 2~3 天)。

(2) 醋酐-浓硫酸 (Liebermann) 试剂 甲液: 醋酐; 乙液: 硫酸。

(3) 浓硫酸试剂 浓硫酸。

9. 含氰苷类化合物的检出试剂

(1) 苦味酸钠试剂 适当大小的滤纸条, 浸入苦味酸饱和水溶液, 浸透后取出晾干, 再浸入 10% 碳酸钠水溶液内, 迅速取出晾干即得。

(2) 亚铁氰化铁 (普鲁士蓝) 试剂 甲液: 10% 的氢氧化钠溶液; 乙液: 10% 的硫酸亚铁水溶液, 用前配制; 丙液: 10% 的盐酸; 丁液: 5% 的三氯化铁溶液。

10. 萜类、甾体类化合物的检出试剂

(1) 香草醛-浓硫酸试剂 5% 香草醛浓硫酸溶液 [或 0.5g 香草醛溶于 100mL 硫酸-乙醇 (4:1) 中]。

(2) 三氯化锑 (Carr-Price) 试剂 25g 三氯化锑溶于 15g 氯仿中 (亦可用氯仿或四氯化碳的饱和溶液)。

(3) 五氯化锑试剂 五氯化锑-氯仿 (或四氯化碳) 1:4, 用前新鲜配制。

(4) 醋酐-浓硫酸试剂 甲液: 醋酐; 乙液: 硫酸。

(5) 氯仿-浓硫酸试剂 甲液: 氯仿 (溶解样品); 乙液: 浓硫酸。

(6) 三氯醋酸试剂 3.3g 三氯醋酸溶于 10mL 氯仿, 加入 1~2 滴过氧化氢。

(7) 间二硝基苯试剂 甲液: 2% 的间二硝基苯乙醇液; 乙液: 14% 的氢氧化钾甲醇液。用前甲、乙两液等量混合。

11. 鞣质类化合物的检出试剂

(1) 三氯化铁试剂 1% 的三氯化铁的水溶液或醇溶液。

(2) 三氯化铁-铁氰化钾试剂 甲液: 2% 的三氯化铁水溶液; 乙液: 1% 的铁氰化钾水溶液。应用时甲液、乙液等体积混合或分别滴加。

(3) 3,4-氨基安替比林-铁氰化钾试剂 甲液: 2% 的 4-氨基安替比林乙醇液; 乙液: 3% 的铁氰化钾水溶液。或用 0.9% 的 4-氨基安替比林和 5.4% 的铁氰化钾水溶液。

12. 氨基酸、多肽和蛋白质的检出试剂

(1) 双缩脲 (Biuret) 试剂 甲液: 1% 的硫酸铜溶液; 乙液: 40% 的氢氧化钠液。应用前等量混合。

(2) 茚三酮试剂 0.3g 茚三酮溶于 100mL 正丁醇中, 加醋酸 3mL (或 0.2g 茚三酮溶于 100mL 乙醇或丙酮中)。

13. 有机酸的检出试剂

溴麝香草酚蓝试剂: 0.1% 的溴麝香草酚兰, (或溴酚蓝, 或溴甲酚绿) 乙醇液。

14. 其他检出试剂

(1) 荧光素-溴 甲液: 0.1% 的荧光素乙醇液; 乙液: 5% 的溴的四氯化碳溶液。甲液喷、乙液熏。

(2) 磷钼酸、硅钨酸或钨酸试剂 3%~10% 的磷钼酸或钨酸乙醇溶液。

主要参考书目

- [1] 徐任生主编. 天然产物化学 [M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2004
- [2] 吴立军主编. 实用天然产物有机化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007
- [3] 哈成勇主编. 天然产物化学与应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003
- [4] 孙文基主编. 天然产物有效成分的分离与制备 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1999
- [5] 高锦明主编. 植物化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003
- [6] 肖崇厚主编. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007
- [7] 谭仁祥主编. 植物成分分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [8] 宁永成编著. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学 [M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2000
- [9] 陈洁, 宋启泽编著. 有机波谱分析 [M]. 北京: 北京理工大学出版社, 2003
- [10] R M 西尔弗斯坦, G C 巴斯勒, T C 艾里尔. 有机化合物光谱鉴定 [M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1988
- [11] 马礼仪主编. 高等结构分析 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2001
- [12] 汪茂田, 谢培山, 王忠东等编著. 天然有机化合物提取分离与结构鉴定 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004

鄧子如
贈
PDG