

Isolation and Structure Identification
of Marine Natural Products

海洋天然产物的 分离纯化与结构鉴定

邓松之 主编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

Isolation and Structure Identification
of Marine Natural Products

海洋天然产物的 分离纯化与结构鉴定



化学工业出版社
生物·医药出版分社
·北京·

图书在版编目 (CIP) 数据

海洋天然产物的分离纯化与结构鉴定/邓松之主编.
北京: 化学工业出版社, 2007. 1
ISBN 978-7-5025-9260-8

I. 海… II. 邓… III. ①海洋生物-分离②海洋
生物-提纯③海洋生物-分子结构-鉴定 IV. Q178.53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 103371 号

海洋天然产物的分离纯化与结构鉴定

Isolation and Structure Identification of Marine Natural Products

邓松之 主编
责任编辑: 杨燕玲
文字编辑: 周 侗
责任校对: 李 林
封面设计: 胡艳玮

*

化学工业出版社 出版发行
生物·医药出版分社
(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
购书咨询: (010)64518888
购书传真: (010)64519686
售后服务: (010)64518899
<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销
大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷
三河市前程装订厂装订
开本 720mm×1000mm 1/16 印张 18½ 字数 358 千字
2007 年 1 月第 1 版 2007 年 1 月北京第 1 次印刷
ISBN 978-7-5025-9260-8
定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

海洋天然产物的分离纯化与结构鉴定是研究海洋生物中的代谢产物，特别是具有生理活性的代谢产物分离纯化及其化学结构鉴定的应用技术工作。其研究必将对环境科学、生命科学和材料科学起着推动作用，特别是对海洋生物制药起着指导性作用。

海洋中生存着地球上 80% 以上的生物资源，海洋生物的生态环境和陆地生物有很大的差别，海洋生物中蕴藏着大量化学结构新颖、生物活性极其强烈的代谢产物。我国海域辽阔，纵跨暖温带、亚热带和热带三个气候带，生物物种、生态类型和群落结构方面有显著的多样性特点，正是我国海洋天然产物的重要资源。随着人类以往所依赖的陆地生物资源的日益减少，丰富多彩的海洋生物资源已成为人类研究开发的新目标。

我国是最早利用海洋生物为人类防治疾病的国家之一，早在公元前 11 世纪的周代《诗经》就记载了海洋生物药物 18 种，以后各个朝代的医药专著都有新的海洋生物药物记载。由于以前条件所限，无法说明哪些成分是有有效的、哪些成分是无效的、哪些成分是有毒副作用的，甚至危害人类的生命健康，所以没有充分发挥海洋生物资源这个巨大宝库的作用，在 20 世纪 60 年代以前，海洋天然产物的分离纯化工作基本上是在分离出单个化合物以后再进一步进行生理活性筛选，这种方法对有效成分的研究速度较慢。20 世纪 60 年代以后逐渐以活性指标追踪有效化学成分的分离纯化，有效成分的得率较高，而且不容易丢失有效成分，这大大加速了海洋天然产物分离纯化工作的进程。海洋天然产物化学结构鉴定，主要是依靠化学方法，把化合物断裂成多个片段，再按照化学的原理，推测出各个片段的化学结构，然后再拼凑出该化合物的完整结构，甚至最后用合成方法合成出该化合物才能确证其化学结构。这种经典的方法，消耗样品较多，步骤多，时间长。例如，河豚鱼肉是人们喜爱吃的，但不少人因吃河豚鱼肉而中毒死亡，其原因是河豚毒素。从河豚毒素的命名到 1971 年由 Goto 等和 Keana 等分别通过不同的化学方法完成了河豚毒素的全合成工作确定其化学结构为止，经历了近百年的时间。由此可见，这种方法大大地影响到海洋天然产物的分离纯化和结构鉴定的研究速度。

由于近三四十年以来，深水采集样品技术、冷冻干燥样品贮存技术和活性离体测定等技术的广泛使用，科技工作者广泛使用了具有高分离效果的填料和高效液相色谱法（HPLC）等现代先进科学仪器的分离纯化手段，从而可以从海洋生物中获得含量极低和结构极其相似的有效成分。现代先进的化学分析仪器有了飞速发展，有机化学工作者通常使用的核磁共振谱（氢谱、碳谱）、质谱、红外光谱和紫外光

谱等“四谱”的性能和使用方法有了很大进步，加上圆二色光谱和单晶-X射线衍射光谱等的发展和成熟，目前，主要通过“四谱”测定的方法，就能准确地鉴定结构比较复杂的海洋天然产物的化学结构，必要时才使用一些有关的化学方法（化学方法只是作为辅助的方法来使用）。所以现在已经能够分析测试数量极微少的海洋天然产物的化学结构，使得海洋天然产物的结构鉴定研究工作有了飞速的发展。据说，目前已从海洋生物中分离纯化和鉴定出 10000 多种结构新颖的天然有机化合物，它们大多数具有生理活性，一些已经成为先导化合物，一些正在被开发或已被开发成为海洋新药。这是有机化学家在海洋天然产物的分离纯化和结构鉴定时，广泛使用了现代的高新技术的结果，相信在 21 世纪中，这些高新技术必将在环境科学、生命科学和材料科学中，特别是在海洋生物制药中发挥更大的作用。

本书主要描述海洋天然产物的分离纯化与结构鉴定的基本知识和一些实验技巧。书中上篇介绍海洋天然产物的提取、分离纯化的经典常规和现代先进的科学技术的基本知识，以及应用这些技术从海洋生物中获得海洋天然产物活性成分的应用实例；下篇介绍鉴定海洋天然产物化学结构的过程中，有机化学工作者常用的“四谱”和相关化学方法的基本知识，列举了相当数量的综合实例，以帮助读者提高鉴定海洋天然产物化学结构的能力，特别是提高使用“四谱”方法鉴定海洋天然产物化学结构的综合能力。

本书第 1 章由暨南大学化学系岑颖洲教授编写；第 2~4 章由中国科学院广州化学研究所邓松之研究员编写；第 5 章由邓松之研究员和岑颖洲教授编写；第 6 章的 6.1~6.7 由邓松之研究员和中国科学院广州化学研究所肖定军副研究员编写，6.8 由岑颖洲教授编写；英汉对照主题索引由邓松之研究员编写；全书由邓松之研究员统一修改和定稿。

在本书的编写和整理编辑过程中，中国科学院广州化学研究所闭英阳、吴孔燕、马伟杰、王雷、周琨和梁利岩等研究生完成了书稿的打印、制图等工作；对本书的出版化学工业出版社给予了大力支持和帮助，作者深表谢意。

本书可供科研机构和制药企业等单位研究海洋药物、海洋天然产物的科技工作者和管理人员以及高等院校的相关专业师生参考。

限于作者水平有限，加上时间仓促，存有疏漏和错误之处，敬请各位读者批评指正！

邓松之
2006 年 8 月

目 录

上篇 海洋天然产物的提取和分离纯化

1 海洋天然产物的提取	6
1.1 水提取法	6
1.2 水蒸气蒸馏法	7
1.3 有机溶剂提取法	7
1.3.1 强极性溶剂	8
1.3.2 半极性溶剂	8
1.3.3 非极性溶剂	8
1.4 离心法	9
1.4.1 离心过滤	9
1.4.2 离心沉降	9
1.4.3 离心与超离心分离	9
1.5 超临界流体提取法	9
参考文献	10
2 海洋天然产物的分离纯化	11
2.1 经典常规的分离方法	11
2.1.1 溶剂法	11
2.1.2 水蒸气蒸馏法	12
2.1.3 沉淀法	12
2.1.4 盐析法	13
2.1.5 透析法	13
2.1.6 重结晶法	14
2.1.7 色谱法	15
2.2 现代科学仪器及其分离方法	35
2.2.1 气相色谱法	35
2.2.2 高效液相色谱法	37
2.2.3 逆流色谱法	49
2.2.4 超临界流体色谱法	57
参考文献	59

3	海洋天然产物分离纯化的实例	61
3.1	冲绳海绵 <i>Hippospongia</i> sp. 中抗菌活性成分的提取分离及其衍生物的制备	61
3.2	南海海绵 <i>R. globostellata</i> 中有效成分的分离及其衍生物的制备	63
3.3	中国产日本菊花螺 <i>S. japonia</i> 化学成分的分离	64
3.4	南海柳珊瑚 <i>Isis</i> sp. 化学成分的分离	65
3.5	南海海洋真菌 No. 1403 次级代谢物的分离	66
3.6	南海软珊瑚 <i>S. cervicornis</i> 代谢产物的分离	67
3.7	水溶性甲壳质、甲壳胺及其衍生物的制备	67
3.8	具有抗肿瘤活性的刺参黏多糖的制备	69
3.9	羊栖菜 <i>Sargassum furi forme</i> 中具有抑制 HepG2 细胞作用多糖的制备	70
3.10	常规法提取分离鱼油中的多烯脂肪酸	71
3.11	超临界 CO ₂ 分离法从鱼油中制备高纯度的二十二碳六烯酸的研究	72
3.12	从马面鲀烤鱼片下脚料中分离制备亮氨酸	73
3.12.1	方法 1: 离子交换-沉淀法	73
3.12.2	方法 2: 对甲苯磺酸沉淀法	74
	参考文献	75

下篇 海洋天然产物的结构鉴定

4	物理方法(波谱法)在结构鉴定中的应用	79
4.1	紫外光谱	79
4.1.1	概述	79
4.1.2	紫外光谱的基本原理	79
4.1.3	紫外光谱表示方法	80
4.1.4	紫外光谱的基本术语	81
4.1.5	溶剂的选择	82
4.1.6	各类型有机化合物的紫外光谱	82
4.1.7	紫外光谱图解析规则	86
4.2	红外光谱	87
4.2.1	概述	87
4.2.2	红外光谱的基本原理	88
4.2.3	红外光谱的测定方法	89
4.2.4	红外光谱表示方法	89
4.2.5	各类型有机官能团的红外特征吸收频率	91

4.2.6	红外光谱的重要术语	97
4.2.7	红外光谱图的8个重要区域	97
4.2.8	红外光谱图解析要点	99
4.3	质谱	100
4.3.1	概述	100
4.3.2	质谱的基本原理	101
4.3.3	质谱仪的基本构造	102
4.3.4	质谱表示方法	105
4.3.5	质谱中离子的主要类型	106
4.3.6	各类有机物的质谱裂解规律	108
4.3.7	质谱在有机物结构鉴定中的应用	110
4.3.8	质谱的解析要点	113
4.3.9	标准质谱图检索	114
4.3.10	质谱的解析实例	114
4.4	核磁共振谱	119
4.4.1	概述	119
4.4.2	核磁共振的基本原理	119
4.4.3	核磁共振的基本知识	120
4.5	核磁共振氢谱	123
4.5.1	概述	123
4.5.2	氢谱的测定方法	123
4.5.3	氢谱的表示法	124
4.5.4	影响质子化学位移的因素	125
4.5.5	各类有机官能团 ¹ H核的化学位移	126
4.5.6	¹ H- ¹ H偶合常数(J_{HH})	128
4.5.7	氢谱的两类谱图	128
4.5.8	氢谱图的简化方法	131
4.5.9	氢谱的解析顺序	132
4.6	核磁共振碳谱	133
4.6.1	概述	133
4.6.2	碳谱的表示方法	134
4.6.3	碳谱的重要参数	135
4.6.4	碳谱的几种测试方法	139
4.6.5	碳谱的解析顺序	144
4.7	二维核磁共振谱	147

4.7.1	<i>J</i> 分解谱	147
4.7.2	化学位移相关谱	148
4.7.3	NOESY 谱	150
4.7.4	检测 ¹ H 的异核位移相关谱	150
	参考文献	154
5	化学方法在结构鉴定中的应用	156
5.1	水解法	156
5.2	脱水反应	157
5.3	氧化反应	158
5.3.1	臭氧	158
5.3.2	铬酸及其相关化合物	159
5.3.3	Oppenauer 法	160
5.3.4	高锰酸钾及二氧化锰	161
5.3.5	四氧化钨	162
5.4	还原反应	162
5.4.1	氢化锂铝	162
5.4.2	硼氢化合物	163
5.4.3	硫醚类化合物	164
5.4.4	催化氢化	164
5.5	脱氢反应	165
5.6	官能团的保护	167
5.6.1	羟基的保护	167
5.6.2	羧基的保护	168
5.6.3	氨基的保护	169
	参考文献	171
6	海洋天然产物结构鉴定的综合实例	172
6.1	脂肪族化合物	173
6.2	芳香族化合物	185
6.3	萜类化合物	195
6.4	杂环化合物	208
6.5	甾体化合物	224
6.6	神经酰胺类化合物	245
6.7	苷类化合物	253
6.8	多糖类化合物	267
6.8.1	多糖的提取与纯化 (以螺旋藻多糖 PSP 的提取为例)	268

6.8.2 化学分析方法	268
6.8.3 酶水解	270
6.8.4 光谱分析方法	271
参考文献	273
英汉对照	276

上篇

海洋天然产物的提取和分离纯化

海洋天然产物的分离纯化是指从海洋生物中分离纯化出天然的有机化合物，特别是具有生物活性的天然有机化合物的研究工作，是一种技术性很强的研究工作，也是研究海洋天然产物的一个重要任务。

海洋是生命的摇篮，占地球表面积的 71%，地球 80% 以上的生物生息繁衍在海洋中。在自然界 36 个动物门中，海洋生物就有 35 个门，其中 13 个是海洋生物特有的。由于海洋生物的生态环境和陆地生物有很大差异，它们长期生活的高盐、高压、低温和无光照的封闭体系中，因此海洋生物中蕴藏着大量化学结构新颖、生物活性极其强烈的天然物质。海洋生物物种的多样性及其代谢产物化学结构的多样性，形成了海洋天然产物的巨大宝库，因此，海洋天然产物是目前天然产物化学研究中最活跃的研究领域之一。

我国海域辽阔，纵跨暖温带、亚热带和热带 3 个气候带。生物物种、生态类型和群落结构方面有显著的多样性特点。在我国海域已有记载的生物共有 2 万多种，它们隶属于 44 个门，其中 12 个门是特有的，如此丰富的海洋生物资源为海洋天然产物的研究与开发提供了极为良好的条件。作为海洋天然产物的原料，北方以大宗产品为优势，而南海地处热带，海洋生物种类众多，有名、优、特产品，正是我国海洋天然产物的重要资源。

海洋天然产物是指海洋生物中的代谢产物，它们的大多数具有生理活性。海洋天然产物的化学结构类型主要分为：聚醚类、大环内酯、萜类、生物碱、多肽、甾醇、苷类、多糖类和饱和脂肪酸等。其中，以甾醇为数最多，其次是萜类，生物碱也占有一定的比例。这些海洋天然产物多数来自于海藻、海绵和腔肠动物，而苔藓动物、棘皮动物、被囊动物、海兔、鱼贝类等海洋动植物和海洋微生物也提供了不少结构新颖的海洋天然产物。

我国是最早应用海洋生物为人类防治疾病的国家之一。早在公元前 11 世纪的周代《诗经》记载海洋生物药物 18 种；春秋战国的《山海经》记载海洋生物药物 27 种；《神农本草经》记载海洋生物药物 10 种，湖泊

药物 34 种；明代李时珍著《本草纲目》已记载海洋生物药物 90 余种；到了清代赵学敏著《本草纲目拾遗》新增海洋生物药物 10 种。虽然我国应用海洋生物药物为人类防治疾病的历史悠久，但是在海洋天然产物方面的研究起步较晚，其研究水平与世界上发达国家相比仍有较大的差距。由于古代的条件有限，无法说明哪些成分是有有效的、哪些成分是无效的、哪些成分是有毒副作用的，甚至危害人类的生命健康，所以没有充分发挥海洋生物资源的宝库作用。20 世纪 60 年代以前，海洋天然产物的研究工作基本上是在海洋生物中分离纯化出纯的有机化合物以后再继续进行生理活性筛选，这种方法对有效成分的发展速度较慢，在 60 年代以后，逐渐以生物活性指标追踪有效化学成分的分离纯化，有效成分的得率较高，而且不容易丢失，同时，化学工作者广泛使用了具有高分离效果的填料和高效液相色谱等现代先进的科学仪器的分离纯化方法，因此大大加速了海洋天然产物分离纯化的工作效率。

目前，海洋天然产物分离纯化的程序大致如下：试样采集—试样贮存—试样鉴定—试样粉碎—天然产物提取—天然产物分离纯化—纯有机化合物。

(1) 试样采集和试样贮存 对于海洋天然产物的研究来说，试样采集和试样贮存这两项工作几乎是同时进行的，因为海洋生物样品的采集和贮存比陆地生物困难得多，需要的经费也比较多。从潮汐地带到水深数千米的各大海洋均有海洋生物的存在，由于海洋天然产物的含量较低，海洋生物经人工采集、晒干或工业酒精浸泡贮存直到使用，这些过程中也损失了部分有效成分，所以要特别注意海洋生物样品的贮存工作。有条件的最好是海洋生物试样被采集后，马上用干冰冷冻干燥，运回实验室后仍然贮存在低温贮藏室内，直到从中获得单一的活性成分。

近三四十年以来，深水采集技术、干冰冷冻或冷冻干燥样品贮存技术、活性离子测定技术等广泛使用，在欧美有些国家已建立了海上生物实验室，进行大规模的海洋生物样品的采集，使得海洋生物活性成分的大量初筛工作在现场条件即可完成，这大大提高了海洋天然产物的研究效率。

(2) 试样鉴定 在进行海洋天然产物的提取分离之前，应先将所采集到的海洋生物试样送交有关专家进行生物种属的鉴定，随后还应对有关海洋生物物种和采集地点的资料进行查阅工作，以便对前人的工作有所了解，避免与前人的工作重复，并吸取借鉴别人的经验。

(3) 试样粉碎 使用组织搅碎机或其他工具将海洋生物试样粉碎，这有利于溶剂从海洋生物中抽提出有效成分。一般来说，海洋生物试样的颗粒越细越有利于溶剂将海洋天然产物的活性成分提取出来。

(4) 天然产物提取 海洋天然产物的提取可分为水提取法、水蒸气蒸馏法、有机溶剂提取法、离心法和超临界流体提取法等。

水是一种强极性溶剂，其介电常数为 80。水作为海洋天然产物的提取剂是经

济、方便和安全的。但是水的提取液要及时处理，要注意防腐烂的问题。

水蒸气蒸馏法也是利用水作为介质的一种提取、富集有机物的常用方法。对于许多易挥发的海洋天然产物，可以根据它们易挥发的特性采用此法进行有效的提取。由于该法是在高温下进行的，所以应考虑到样品的某些组分会因受热而分解的问题。

在对海洋天然产物的提取液进行浓缩和萃取处理的过程中，常会生成含有固体颗粒的悬浮液或乳浊液。对这样的液体，往往难以用一般的过滤或静置分层方法进行处理。使用离心法可以有效地解决这一难题。离心法不仅可用于悬浮液中的液体或固体的直接回收，也可用于形成乳浊液的两相不相溶的液体的分离。

溶剂提取法是使用最多的方法，其基本原理是当溶剂加到经适当粉碎过的海洋生物样品中后，经扩散、渗透作用慢慢进入到生物体的细胞壁，再进入到细胞内，溶解出可溶解的物质，而造成细胞内外的浓度差，于是细胞内浓溶液不断地向外扩散，如此多次的来回，直到细胞内外溶液浓度达到动态平衡时，将此饱和溶液滤出。反复多次加入新溶剂，能把所需要的海洋天然产物几乎完全或大部分抽提出来。

溶剂可分为亲水性有机溶剂和亲脂性有机溶剂。被抽提出来的海洋天然产物有亲水性和亲脂性两种物质。

使用有机溶剂时要考虑海洋生物样品中的天然产物在溶剂中的特性，所以在选择溶剂时要注意：①溶剂不能与被提取的活性成分起任何化学反应；②溶剂对活性成分的溶解度要大，对杂质的溶解度要小；③溶剂要容易得到，使用安全、经济，最好能回收等。

溶剂提取法可分浸渍法、渗漉法、回流提取法、连续提取法、煎煮法等。这些方法有其自身的特点，要考虑到海洋生物样品的粉碎度、提取时间、设备条件等因素。浸渍法较简单易行，在实验室里进行海洋天然产物的筛选时，多数使用此方法。在进行海洋天然产物的粗提时，不管使用哪种方法进行各个步骤时，最好采用生物活性试验来追踪以确保活性成分的部位所在。

超临界流体提取法的介质主要有二氧化碳和水两种，水作为介质要考虑到设备的耐腐蚀问题；所以二氧化碳作为介质使用较为普遍。由于超临界 CO_2 具有化学惰性，兼有液、气双重特点，既有与液体相当的密度、溶解能力，又有与气体相近的扩散系数和渗透能力，与传统的溶剂提取法相比，该方法提取速度快，有较好的过程选择性，无需使用大量的有机溶剂，特别适用于对热和化学物质不稳定的海洋天然产物的提取，它将萃取、分离和除去溶剂的过程合二为一，简化工艺不存在溶剂处理问题。

(5) 天然产物分离纯化 通常海洋生物试样的粗提物是一种胶状的混合物，需要进一步除去杂质，经过多次的分离纯化才能获得纯有机化合物。

早期经典常规的分离纯化方法有溶剂法、水蒸气蒸馏法、沉淀法、盐析法、透析法、重结晶法等，这些方法的特点是无需特殊的设备，操作比较简单，在很大程度上是凭经验进行的。但是，得到的往往是低分子量和容易获得的简单成分或者含量较高的成分，存在微量成分、性质相似的成分不容易获得和得率不高等问题。

随着科学技术的发展，在海洋天然产物的分离纯化中，科学工作者在使用经典常规的色谱法进行分离时，除了使用氧化铝、活性炭和硅胶等常规的填料以外，还广泛使用了高性能的正相硅胶或反相硅胶以及各种类型的凝胶、离子交换树脂、大孔树脂等高分离效果的填料。人们针对经典常规的柱色谱法在分离纯化时的不足之处，又开发出加压或减压柱色谱法、高效制备薄层色谱法，特别是针对海洋天然产物的特点而研究开发出许多精密、准确和快速的分离纯化的现代先进科学仪器方法。例如，气相色谱法（GC）对海洋天然产物的分析分离速度快、效能高，但是气相色谱法对难气化和热稳定差的物质有局限性；高效液相色谱法（HPLC）与气相色谱法和经典的液相色谱法相比，具有分析速度快、分离效率高、检测灵敏度高和应用范围广等优点，特别适用于大分子、高沸点、极性大和热稳定性较差的海洋天然产物的分析分离工作；逆流色谱法（CCC）对被分离样品能定量回收、样品不存在不可逆吸附作用和变性的问题，以及节约溶剂等优点；离心分配色谱法（CPC）具有分离速度快和分配效率高的特点，在某些情况下已接近 HPLC 的功能；超临界流体 CO₂ 分离法（SFI-CO₂）具有萃取、分离纯化和除去溶剂等流程合二为一、简化流程和不污染环境等特点。经典常规的分离纯化方法和现代先进科学仪器的分离纯化的各种方法，各有其优缺点，进行海洋天然产物的分离纯化时，通常是先使用经典常规的分离纯化方法，因为这些方法比较方便和经济。如果使用经典常规方法得不到纯的有机化合物时，才使用现代先进的科学仪器方法。在现代科学仪器的分离纯化方法中，使用得最多的是高效液相色谱法。高效液相色谱法特别适合于对微量成分的分離纯化。科学工作者使用这些先进的分离纯化手段，可以获得含量极低的成分和结构极其相似的海洋天然产物的有效成分，如海生毒素等。

由于海洋生物的分布和生态环境等诸因素是未知的，所以进行海洋天然产物的提取、分离纯化的过程与陆地生物有些不同。海洋生物有效化学成分的性质一般是未知的，而且含量较少，所以在分离纯化有效活性成分的过程中，最好也采用生物活性试验来追踪，以确保其有效成分的部位所在，最后才能获得更多有效的纯有机化合物；如果海洋天然产物的成分是已知的，一般是先查阅有关资料，特别是工业生产的方法更是如此，以便吸取别人的研究工作经验。

(6) 纯有机化合物 如何确定通过上述方法所获得的物质是纯有机化合物？因为单一成分的物质具有固定的组成和结构，所以在固定的压力下，纯有机化合物均有恒定的沸点、熔点，所以可以通过测定该化合物的沸点、熔点来衡量其纯度。沸程、熔程越小，该化合物的纯度越高。同时还可以通过薄层色谱法（TLC）、气相

色谱法 (GC) 或高效液相色谱法 (HPLC) 来鉴定所获得的海洋天然产物是否为纯的有机化合物。所谓“纯化合物”只是相对的,不是绝对的,在自然界中不存在 100% 纯的物质。从海洋生物中获得的海洋天然产物也不可能是 100% 单一成分的物质,但是应该说获得的有机化合物纯度越高,越有利于海洋天然产物的化学结构的鉴定工作,所以在进行海洋天然产物的分离纯化时,应尽量设法使获得的海洋天然产物为单一成分的物质。

上篇是介绍从海洋生物中分离纯化出海洋天然产物的基本方法,同时还列举一些具有代表性的实例,比较详细地阐明如何利用这些方法从海洋生物中获得具有生物活性的天然产物的过程。但是,读者要根据海洋生物的物种及其所含海洋天然产物类型的具体情况来选择有关分离纯化的方法,才能获得比较满意的结果。

(邓松之)

参 考 文 献

- 1 北京医学院,北京中医学院. 中草药成分化学. 北京:人民卫生出版社,1983
- 2 徐任生. 天然产物化学. 北京:科学出版社,1993. 4~45
- 3 许实波. 海洋生物制药. 北京:化学工业出版社,2002. 2~11, 65~70
- 4 孔垂华,徐效华. 有机物的分离和结构鉴定. 北京:化学工业出版社,2003

1 海洋天然产物的提取

海洋天然产物来源的多样性及化学结构的特殊性，往往增加了提取工作的难度。为了更有效地进行有机物的分离、结构鉴定和生物活性研究，研究者首先需要根据自己的研究目的和重点，有针对性地采用各种合适的提取技术把有机物质从生物体中有效地提取出来。俗话说：“万事开头难”，这些提取和预处理方法是否采用得当，决定着今后研究工作的难易。一条好的提取和预处理路线不仅要保证将所需要的有机物尽可能完整地提取出来，而且要把其他杂质或不打算研究的部分尽可能地排除在外，以达到“事半功倍”的效果。因此，尽可能全面地掌握各种传统的和现代的提取方法以及在事前认真查阅有关文献是很有必要的，但研究工作者在自己的研究工作中能不断地通过积累经验和努力提高自己的灵活运用及操作水平可能更为重要。

1.1 水提取法

提取溶剂只有水和有机溶剂两种。水提取法（water extraction）可分为水浸法、水煎法和水渗漉法，也可用酸水提法或碱水提法。水的介电常数达到 80，是一种强极性溶剂。这种溶剂几乎到处都有，具有价廉易得，使用安全、方便等优点。水由于其分子小，所以它的穿透力很强，可以很容易地进入生物样中把亲水的强极性物质提取出来，如无机盐、小分子有机酸、生物碱、鞣质、氨基酸、单糖和低聚糖、多酚、蛋白质、多肽、苷类等物质。另外通过调节水的 pH 值，可以更有效地把某些物质提取出来，如酸性水可以与生物样中的生物碱或胺类物质作用成盐，因而提高了其溶解度，使之更有效地溶出。同理，用碱性水可以更有效地把有机酸、酚类、黄酮及其他弱酸性的有机物质提出。根据想要获得物质的酸碱性，通过合理调控水溶液的 pH 值，再辅以恰当的后处理步骤（如将提取液调回中性，再用合适的有机溶剂萃取），可以很方便地获得这类具有酸性（弱酸性或强酸性）或具有碱性（强碱性或弱碱性）的性质较为相似的组分，因而可大大简化后续的分选工作。

虽然水提取法具有上述显而易见的优点，但也存在严重的局限。其中最突出的缺点是，水也会非常容易地将生物体中的淀粉、果胶和一些黏液物质一同提取出来，把提取到的样品搞得“一塌糊涂”，这样就使得后面的过滤、萃取等后处理工

作变得十分麻烦，也往往使样品的提取量遭受损失。另外，单用水作溶剂也往往容易使生物体中的一些有机物发生水解或酶解等反应，使得后面的纯化和结构鉴定工作变得更为复杂。

1.2 水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法 (water vapor distillation) 也是利用水作为介质的一种提取、富集有机物的常用方法。对于许多易挥发的有机化合物，可以根据它们易挥发的特性采用该法进行有效的提取。一些在常压下达到沸点温度时易分解的海洋生物中的易挥发组分、挥发油和一些含有分子内氢键的有机化合物特别适宜用该法进行提取。在一定的温度范围内，任何一种液体都有其相应的蒸气压，对于混合液体而言，则溶液的蒸气压就是各液体的蒸气压之和。一般来说，只有待分离的物质完全或者几乎不溶于水，并且不会与水发生化学反应时，才能考虑采用水蒸气蒸馏。馏出的产物经过静置分层，就可与水完全分离。理论上，混合组分的蒸气压等于在一定的温度下纯水与被分离物质的蒸气压之总和。如果在 1atm^{\bullet} 下对一混合组分进行水蒸气蒸馏，不论被分离物质的沸点有多高，其水蒸气蒸馏的温度都不会超出 100°C 。如松节油的沸点是 185°C ，若选择 0.1MPa 蒸气压的条件用水蒸气蒸馏法提取，在 95°C 左右就可成功地把松节油从混合物中提取出来。

对存在于少量样品中的挥发性物质的提取，可采用实验室常用的水蒸气蒸馏装置。对于大量的样品中挥发性物质的提取，可采用容积较大的一般蒸馏装置，在 100°C 下将水与样品一道煮沸，挥发性的有机物往往可与水一并馏出，经过简单的处理后即可得到挥发性的有机组分。

水蒸气蒸馏法尽管在提取挥发油等易挥发有机物组分时具有独特的优点，但该方法毕竟是在较高的温度下进行的，样品中的某些组分可能会因受热而分解，这是在决定采用该法提取前应当考虑的。

1.3 有机溶剂提取法

水作为一种提取溶剂，虽然具有价廉、易得且使用安全等突出优点，但它一般只适宜用来直接提取强极性的有机物，对于绝大多数的有机化合物来说，只有用有机溶剂才能把它们直接提取出来。有机溶剂提取法 (organic solvent extraction) 一般有浸提和抽提两种方法。各种有机化合物由于化学结构的差异，它们对各种有机溶剂的作用也就有所不同。根据相似相溶的原理，待提取组分与溶剂的分子极性越相近，它在溶剂中的溶解度越大，也就越容易被提取出来。溶剂分子可通过渗透、扩散及吸收等作用进入样品，然后通过样品的内外浓度差异将样品中的有机物提取

[●] $1\text{atm}=101325\text{Pa}$ 。