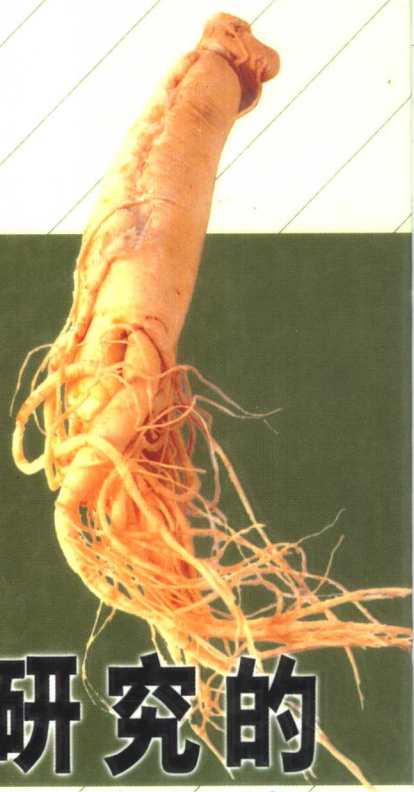




中药

现代化研究的 化学法导论



陈耀祖 主 编

陈绍瑗 副主编



科学出版社

www.sciencep.com

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

中药现代化研究的化学法导论

陈耀祖 主 编
陈绍瑗 副主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书全面阐述中药现代化研究中的各种化学方法,其特点是既介绍了经典分离和分析方法的原理及应用,也介绍了近年来发展起来的新技术和新方法,并提供了它们在天然产物活性成分结构测定中的具体应用实例。全书共十三章,全面介绍了中药现代化研究中的化学方法和各类化学成分的提取分离;重点介绍了色谱法、紫外光谱法、红外光谱法、质谱法、核磁共振法、HPLC/NMR、毛细管电泳等方法在中药现代化研究中的应用;最后介绍了方剂药物代谢动力学的分析方法和中药质量控制方法。

本书内容全面、新颖,具有先进性、实用性和系统性,对我国从事药物分析和中药研究、开发、生产的人员具有重要的参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

中药现代化研究的化学法导论/陈耀祖主编,陈绍瑗副主编. —北京:科学出版社,2003

ISBN 7-03-010119-7

I. 中… II. ①陈…②陈… III. 中药现代化-研究-化学法导论
IV. R284

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 009343 号

责任编辑:刘俊来 杨 震 / 责任校对:朱光光

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:王 浩

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003年10月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2003年10月第一次印刷 印张:31 3/4 插页:1

印数:1—2 500 字数:725 000

定价:64.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)



授人以魚 不如

授人以漁

陈耀祖
2000年11月20日

陈耀祖院士(1927~2000),浙江夫学和兰州大学教授,著名的有机化学和化学教育家,中国有机分析化学的奠基人之一。他博采众长,独辟新径,为我国有机化学,特别是有机分析化学的发展做出了突出的贡献。由他主编出版的《半微量有机分析》、《近代有机定量分析》、《有机微量定量分析》、《有机分析》和《有机质谱原理及应用》五部专著,被学术界誉为有机分析学科中的经典之作。他的主要科研成果:创立了反应质谱法测定有机分子立体结构;运用现代波谱分析技术测定了上百种药用植物的化学成分,为中药现代化研究提供了理论依据;建立和发展了一套有机化合物微量体系的鉴定方法,为鉴定自然界中的微量物质提供了一套科学、快速的鉴定方法。他在国内外的科学刊物上发表了 500 多篇学术论文,为国家培养了 240 多名博士、硕士研究生。

《中药现代化研究的化学法导论》

编委会

主 编 陈耀祖

副主编 陈绍瑗

编写人员

第一、六、七、八章	陈耀祖	中国科学院院士
第二、三章	丁立生	中国科学院成都生物研究所 研究员
第四、五章	邹汉法	中国科学院大连化学物理研究所 研究员
第九章	陈绍农	美国芝加哥大学药学院 博士
	陈绍瑗	浙江大学生物系 副教授
第十章	赵 昱	中国科学院昆明植物研究所 研究员 浙江大学 “长江学者”
第十一章	付小芸	浙江大学 教授
	吕建德	浙江大学 副教授
第十二章	黄 熙	第四军医大学 教授
第十三章	曾 苏	浙江大学药学院 教授

序 言

中药现代化研究是我国一项重大科技行动。这项科技行动的顺利实施,不仅将推动我国中药和整个现代医药产业的迅速发展,推动我国人口与健康领域国家目标的实现,产生巨大的社会效益和经济效益,而且将会促进中药产品进入西方发达国家的主流医药市场,对于弘扬我国的传统文化,促进现代医学科学和生命科学的发展,也将产生不可估量的影响。

众所周知,中药多是组方应用。中药的药效主要体现为方剂的药效。方剂组成改变,不仅作用强度随之改变,甚至作用性质也会发生变化。由此,几百种常用、较常用中药组成了现在临床应用的几千种常用方剂。方剂可谓是中药的精髓。阐明方剂发挥作用的物质基础,探讨其作用原理对推进中药现代化、实现中药现代化具有至关重要的意义。

中药现代化就是要将千百年来临床实践证明有效的中药及其方剂,采用现代科学实验方法探讨其发挥作用的物质基础,阐明其作用原理,并且按照国际规范化要求建立起科学的质量监控指标和监控方法,务使产品质量达到“安全、有效、稳定、可控”;工业生产条件应当符合优质医药产品生产(GMP)的规定;有关其临床功效的评价应当是采用“双盲对照、随机分组、多点观察”等现代临床科学实验方法得到的结果;对其功效、主治等中医理论的深奥说明应当力求用现代医学工作者所能理解的科学语言进行表达。只有这样,传统中药产品才能登堂入室、进入世界医学科学殿堂,才能走出国门、融入国际医药主流社会。

在阐明方剂作用物质基础及作用原理过程中,化学方法的应用和化学、生物学研究手段的相互配合具有关键性的重要意义。而进行质量监控、稳定性测试、药物代谢动力学分析、毒副杂质鉴定乃至考察制备过程中发生的物质变化,判断成分之间的相互作用等也都离不开各种化学方法的应用。

目前,在近代有机分析技术方面已有许多参考书,但有关介绍这些技术和手段在中药现代化研究中系统应用的参考书尚不多见。该书独特之处在于它既介绍了经典分离和分析方法的原理及应用,也介绍了近年来发展起来的新技术和新方法,提供了它们在天然产物活性成分结构测定中的具体应用实例。本书不仅可以作为采用现代分析技术从事中药方剂研究的入门读本,对该领域研究人员也有重要的指导意义,应是进行中药方剂化学研究的必备参考书之一。

该书的作者皆为天然产物分析和药理学研究领域的专家和学者。主编陈耀祖院士是我国有机分析化学研究的奠基人之一,也是中药方剂现代化研究的倡导人之一。陈耀祖院士所创立的反应质谱法也已成为测定有机分子绝对构型的主要方法之一。

陈耀祖院士为编著此书倾注了许多心血,真正做到了“鞠躬尽瘁、死而后已”,是我等学习的光辉榜样。受他生前委托,值此书出版之际简单作序,谨对他不遗余力为推动中药现代化做出的贡献表示衷心的感谢和追念。我们将继承他的遗志,为推进中药现代化、使

祖国传统医药文化遗产在全世界发扬光大,共同努力做出我们应有的贡献。

中国工程院 院士

沈阳药科大学教授

姚新生 博士

2001 年 11 月

前 言

中药经历数千年的临床实践,不断发展并总结出一整套具有我国特色的中医学。中药是中华民族灿烂文化宝库中的瑰宝之一。作为防病治病的药物,它曾经为中华民族的繁衍昌盛发挥了重要作用。在人类进入 21 世纪,现代科学技术迅猛发展的形势下,尤其是在生命科学的发展和“回归自然”的世界潮流中,世界卫生组织(WHO)为实现 21 世纪全世界人人享受保健的目标,大力提倡发展传统医药。我国传统中医药在世界各国传统医药中独树一帜,其历史悠久,内容丰富,医疗水平之高居世界前列。

中药用药主要形式是中药复方,它体现了中医治病的辩证论治理论。中药对某些慢性病、老年疾病和疑难杂病往往奏效。如发现某些中药对老年痴呆症、心血管病、风湿痛和癌症有疗效,甚至抗艾滋病也寄希望于中药。中药的这些功效可以弥补西药之不足,从而日益受到世人的重视。

近年来,日本、韩国和欧美等国纷纷开展中药研究。1994 年在美国洛杉矶成立世界中医药学会,欧美一些高等院校也设立有关中医药的课程或讲座。可见中医药走向世界已是大势所趋,为中药的发展迎来了前所未有的机遇。

我国有发展中药的优势:我们有丰富的药用动植物和矿物的资源。经 8 个部委,历时 10 年(1984~1994),在 29 个省市调查发现:目前全国有中药资源 12 806 种,其中药用植物资源 11 145 种,药用动物资源 1581 种,药用矿物 80 种。这表明我国不愧为世界天然药物资源最丰富的国家之一。我国拥有极为丰富的中药处方和中医药典籍资料,东汉张仲景的《伤寒论》,明代李时珍的《本草纲目》是其代表。自两汉至晚清出现的方剂数以万计。这些都是研究中药的可贵依据和有用信息。

中药虽然发源于我国,在历史上也曾发展获得辉煌成就,但是非常令人触目惊心的是:在近代,特别是最近数十年来中药的研究与生产仍然停留在传统经验水平,基本上与科学脱轨。无论在中药理论现代化研究方面或是现代化中药开发方面,目前我国都屈居日本等国之后。在全世界中药市场份额中,我国产品只占 4%,其余 96% 为日、德等亚欧国家所占有(日本约占 70%)。不但我国中药产品出口滞销,反而“洋中药”涌入我国。这种情况在我国加入 WTO 之后将可能更加严重。我们应该急起直追,积极开展中药现代化研究,迎头赶上,以免失去我们的优势,失去发展中药、振兴中药事业的良机,致使我们的传统国宝落入他人之手。这也就是为什么国家将中药现代化研究列为一项重大科技行动的原因。

所谓中药现代化,其内容大体是:(1)明确中药的有效成分,清楚作用机制,其质量控制、剂型、生产工艺等均符合国际标准;(2)用现代科学理论和概念诠释经典中药的理论和中药复方的组方原则,发展中药理论,并在此基础上创制新方;(3)从中药复方中寻找先导化合物,创制新药。

为了深入探讨中药复方的作用机制,创制新的现代中药,首先必须深入研究其药效作用的物质基础——中药复方的有效成分。不仅如此,还必须开展质量控制、稳定性测试、

药物代谢动力学分析、毒副杂质鉴定,制备过程中的物质变化和产生协同作用和拮抗用的物质鉴定等一系列研究。这些研究主要依赖于各种化学方法的应用。

随着近 10 年来科学技术的突飞猛进,应用于中药研究的化学方法和技术也有了迅速的发展,各种新技术不断涌现。中药复方是一个非常复杂的体系,目前尚没有成熟的方法可以拿来就用。必须在研究过程中,在原有的方法发展基础上探索创建新方法。所以不少学者强调指出:关于中药复方研究“应该把方法学研究当作当前研究的中心部分。”(王夔. 化学家怎样看中药复方研究. 化学进展, 1999, 11(2): 184);“在中药物质基础的研究中,最重要的是方法学的研究”。(王小如. 中药现代化基础理论研究的几点思考, 化学进展, 1999, 11(2): 197)。从科学发展史上可以看到不少实例示出:一种科学方法的创立往往能大大推进某一学科的发展。中药现代化的发展期待着新研究方法的创立。

有鉴于此,所以编写本书。其内容是从理论到应用,从基础到新进展,由浅入深,循序渐进地介绍各种研究中药所需的主要化学方法,包括获取中药有效成分的萃取分离法和色谱法,测定有效成分分子结构的波谱法、光谱法、质谱法、MS/MS 联用法、HPLC/MS 色谱法以及如何在中药质量控制分析和中药药物代谢动力学分析中运用化学法。作者希望本书能为中药现代化研究者在运用化学方法和创建新方法方面起到铺路搭桥的作用。这就是编写本书的宗旨所在。

由于作者知识水平的局限,本书的谬误之处在所难免,恳请读者指正。

作者

2001 年 11 月

目 录

序言

前言

第一章 绪论	1
1.1 中药现代化的意义和必要性	1
1.2 中药现代化的目标	2
1.3 实现中药现代化的策略	3
1.4 中药现代化与化学	5
参考文献	7
第二章 提取和分离方法	8
2.1 引言	8
2.2 中草药的提取和初步分离	8
2.2.1 溶剂提取法	8
2.2.2 水蒸气蒸馏法	10
2.2.3 分馏法	10
2.2.4 吸附法	10
2.2.5 沉淀及盐析法	10
2.2.6 升华法	11
2.2.7 萃取法	11
2.2.8 结晶和重结晶	12
2.2.9 膜分离方法	12
2.2.10 超临界流体提取法	14
2.3 色谱分离方法	14
2.3.1 柱色谱	14
2.3.2 薄层色谱	15
2.3.3 纸色谱	19
2.3.4 几种常用的色谱材料	21
参考文献	26
第三章 各类化学成分的提取分离	28
3.1 引言	28
3.2 生物碱的提取分离	28
3.2.1 生物碱盐类的提取	28
3.2.2 游离生物碱的提取	30
3.2.3 挥发性生物碱的提取	30
3.2.4 生物碱的分离纯化方法	31

3.3 糖苷的提取分离	32
3.3.1 强心苷的提取分离	33
3.3.2 皂苷的分离	34
3.4 黄酮、蒽醌、苯丙素酚类和鞣质的提取分离	36
3.4.1 黄酮类	36
3.4.2 醌类和蒽衍生物	38
3.4.3 苯丙素酚类化合物	39
3.4.4 鞣质的提取分离	40
3.5 萜类化合物的提取分离	42
3.5.1 单萜化合物	42
3.5.2 倍半萜类	43
3.5.3 二萜类化合物	43
3.5.4 三萜类化合物	44
3.6 糖类的分离	45
参考文献	47
第四章 色谱法(I)	48
4.1 概述	48
4.1.1 色谱法发展简史	48
4.1.2 色谱法的分类	50
4.1.3 不同色谱分离模式的特征	52
4.2 色谱理论基础	53
4.2.1 色谱基本概念和基本参数	54
4.2.2 塔板理论	60
4.2.3 气相色谱速率理论	64
4.2.4 液相色谱质量平衡理论	68
4.3 气相色谱法	71
4.3.1 气相色谱仪器系统	71
4.3.2 气相色谱分离条件的选择	73
4.3.3 定性与定量	78
4.3.4 气相色谱在中药分析中的应用	82
4.4 薄层色谱法和纸色谱法	87
4.4.1 基本原理	87
4.4.2 基本操作	89
4.4.3 色谱条件的选择	91
4.4.4 定性	95
4.4.5 定量	97
4.5 中草药和中成药的成分分析	98
参考文献	119

第五章 色谱法(Ⅱ)	121
5.1 液相色谱的热力学过程	121
5.1.1 中性化合物的物理化学模型	121
5.1.2 基于离子静电作用力的色谱保留机制	128
5.2 液相色谱固定相和流动相	132
5.2.1 液相色谱流动相	132
5.2.2 高效液相色谱常用固定相	138
5.2.3 液相色谱中各种参数对保留值的影响	147
5.3 微渗析—HPLC 方法	152
5.3.1 微渗析	152
5.3.2 超滤膜技术	154
5.4 液相色谱在中药分析中的应用	155
5.4.1 色谱技术方面的进展	155
5.4.2 HPLC 在中药及药用植物分析中的应用	157
5.5 生物色谱应用于中药活性成分的筛选和分离分析	163
5.5.1 中药活性成分筛选的现状和发展趋势	163
5.5.2 分子生物色谱的基本生理及特点	164
5.5.3 分子生物色谱分离分析中药研究的进展	165
5.5.4 发展思路和策略	166
参考文献	168
第六章 紫外光谱法	170
6.1 概述	170
6.2 紫外光谱原理及分析方法	171
6.2.1 基本原理	171
6.2.2 仪器装置	172
6.2.3 实验技术	173
6.2.4 紫外吸收与分子结构	174
6.2.5 应用示例	185
6.3 定量分析	189
参考文献	190
第七章 红外光谱法	191
7.1 引言	191
7.2 基本原理	191
7.3 仪器	192
7.4 实验技术	193
7.5 各种官能团的特征吸收	195
7.6 应用	207
7.6.1 定性鉴定	207
7.6.2 定量分析	209

7.6.3 测定有机化合物结构	210
参考文献	215
第八章 质谱法	216
8.1 引言	216
8.2 有机质谱仪器	216
8.2.1 进样系统	216
8.2.2 电离方式和离子源	218
8.2.3 质量分析器	224
8.3 质谱裂解机制	229
8.3.1 游离基中心引发的裂解	229
8.3.2 电荷中心引发的裂解	230
8.3.3 游离基中心引发的重排	231
8.3.4 电荷中心引发的重排	232
8.3.5 其他裂解反应	233
8.3.6 影响离子丰度的因素	233
8.4 MS/MS 法	236
8.4.1 MS/MS 质谱法的原理	236
8.4.2 MS/MS 仪器	237
8.4.3 MS/MS 质谱法的应用	238
8.5 应用示例	244
第九章 核磁共振法	258
9.1 引言	258
9.2 核磁共振仪	258
9.2.1 核磁共振仪的分类	258
9.2.2 核磁共振仪的结构组成	259
9.3 核磁共振基本原理	260
9.3.1 原子核的磁性	260
9.3.2 核自旋能级——在磁场中的取向	261
9.3.3 核磁共振的产生	262
9.4 化学位移	262
9.4.1 屏蔽常数 σ	262
9.4.2 化学位移	263
9.4.3 影响化学位移的因素	264
9.5 自旋-自旋偶合	270
9.5.1 自旋-自旋偶合和自旋-自旋裂分	270
9.5.2 “ $n+1$ ”规律	271
9.5.3 自旋偶合图和偶合常数 J	272
9.5.4 影响偶合常数的因素	273
9.6 自旋体系	282

9.6.1 核的等价性	282
9.6.2 自旋系统的分类	284
9.6.3 几种常见的自旋系统	284
9.7 核磁共振氢谱	285
9.7.1 核磁共振氢谱	285
9.7.2 各类质子的化学位移	287
9.8 核磁共振碳谱	290
9.8.1 碳键状态与 ^{13}C 化学位移的关系	290
9.8.2 ^{13}C 化学位移的计算	291
9.8.3 碳谱中的耦合现象及各种去偶方法	300
9.8.4 碳谱的解析	300
9.9 核磁共振二维谱	301
9.9.1 二维核磁共振原理	301
9.9.2 二维J分解谱	303
9.9.3 化学位移相关谱	306
9.9.4 NOE 二维谱(NOESY)	317
9.10 应用示例	320
参考文献	335
第十章 核磁共振波谱与其他色谱及提取分离方法联用技术^[1~10]	336
10.1 引言	336
10.2 HPLC-NMR 原理	337
10.3 HPLC-NMR 操作技术类型	338
10.3.1 流动型采样模式	338
10.3.2 间歇式采样模式	340
10.3.3 “峰”泊位型(停车场型)采集模式	342
10.4 用于天然产物化学成分分析实例	342
10.5 SFE-NMR	354
10.6 SFC-NMR 超临界色谱-核磁共振联用简介	360
10.7 凝胶渗透色谱-核磁共振(GPC-NMR)联用技术简介	364
10.8 气相色谱-核磁共振(GC-NMR)联用技术简介	365
10.9 毛细管电泳-核磁共振(CE-NMR)联用	368
参考文献	371
第十一章 毛细管电泳法	372
11.1 引言	372
11.1.1 电泳分类	372
11.1.2 毛细管电泳特点	373
11.1.3 毛细管电泳与常规电泳比较	373
11.1.4 毛细管电泳与高效液相色谱比较	374
11.2 原理	374

11.2.1	电泳和电渗	374
11.2.2	FSCE 分离原理	377
11.2.3	毛细管胶束电动色谱(MEKC)	381
11.2.4	环糊精与毛细管电泳手性分离	387
11.3	仪器	390
11.3.1	进样	390
11.3.2	分离	392
11.3.3	检测	392
11.3.4	数据记录和处理	396
11.3.5	定性定量分析	396
11.4	应用实例	398
11.4.1	用毛细管胶束电动色谱法对某些药物的分离试验	398
11.4.2	喹诺酮类药的毛细管电动色谱分离	399
11.4.3	毛细管胶束电动色谱测定解热镇痛药成分	400
11.4.4	电泳法测定中药当归中阿魏酸的含量	401
11.4.5	槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析	402
11.4.6	高效毛细管电泳测定中草药川乌、草乌中乌头碱的含量	404
11.4.7	牡丹皮及芍药中牡丹酚和芍药苷测定	405
11.4.8	银黄冲剂中黄芩苷和绿原酸的毛细管电泳分离分析	406
11.4.9	血中苯妥英钠和苯巴比妥钠的高效毛细管电泳优化分析	407
11.4.10	常见毒品的毛细管电泳分析	409
11.4.11	毛细管胶束电动色谱在扁桃酸合成中的应用	410
11.4.12	手性化合物的毛细管胶束电动色谱分离研究	411
11.4.13	以羟丙基- β -环糊精为手性选择剂碱性药物对映体的毛细管电泳分离	412
11.4.14	苯丙醇胺对映体的毛细管电泳分离和定量	414
	参考文献	415
第十二章	方剂药物代谢动力学的分析方法	416
12.1	引言	416
12.1.1	方剂的非血药浓度法(非化学分析法、生物效应法)	416
12.1.2	方剂的血药浓度法(化学分析法)	419
12.2	中药药物代谢动力学研究中的样品预处理	419
12.2.1	中药药物代谢动力学样本的特点	419
12.2.2	样品预处理的主要作用	420
12.2.3	样品预处理技术	421
12.3	中药药物代谢动力学研究的分析方法各论	433
12.3.1	分光光度法	433
12.3.2	色谱法	437
12.3.3	免疫法	451

12.3.4 其他方法·····	452
12.4 中药单体成分药物代谢动力学分析方法·····	453
12.4.1 测定方法的选择·····	453
12.4.2 测定方法的建立和要求·····	454
12.5 方药研究·····	456
12.5.1 单味药的药物代谢动力学·····	457
12.5.2 中成药的药物代谢动力学·····	457
12.5.3 方剂的药物代谢动力学·····	459
12.5.4 实例应用·····	459
12.6 评价与展望·····	461
参考文献·····	462
第十三章 中药质量控制方法 ·····	463
13.1 样品的前处理及提取净化方法·····	463
13.1.1 液-固提取 ·····	463
13.1.2 液-液提取 ·····	465
13.1.3 色谱法·····	466
13.1.4 水蒸气蒸馏法·····	467
13.1.5 超临界流体提取·····	467
13.2 中药材质量控制方法·····	467
13.2.1 鉴别·····	467
13.2.2 检查·····	470
13.2.3 浸出物测定·····	472
13.2.4 含量测定·····	473
13.3 中药制剂质量控制方法·····	474
13.3.1 鉴别·····	474
13.3.2 检查·····	476
13.3.3 含量均匀度检查·····	477
13.3.4 溶出度检查·····	477
13.3.5 注射剂检查项目·····	478
13.3.6 浸出物·····	479
13.3.7 含量测定·····	479
13.4 中药新药质量标准用对照品研究的技术要求·····	482
13.4.1 化学对照品·····	482
13.4.2 对照药材·····	483
13.4.3 对照品使用说明·····	483
13.5 中药新药质量稳定性研究的技术要求·····	483
13.5.1 中国药品监督管理局对中药新药质量稳定性研究的规定·····	483
13.5.2 中药新药稳定性试验要求·····	484
13.6 中药分析方法实验认证·····	484