

中草药现代研究

(仪器分析卷)

中国医学科学院药物研究所 编著



北京医科大学中国协和医科大学联合出版社

R33

中 草 药 现 代 研 究

(仪器分析卷)

中国医学科学院药物研究所 编著

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

中草药现代研究：仪器分析卷/中国医学科学院药物研究所编著. - 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1998

ISBN 7-81034-932-5

I. 中… II. 中… III. ①中草药-中医现代化研究②中草药-仪器分析 IV. R28

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 29663 号

2V36/30 2/1

中草药现代研究 (仪器分析卷)

编 著：中国医学科学院药物研究所

责任编辑：刘家崧

技术设计：栾广明

责任校对：李爱萍

责任印制：姜文祥

出版发行：北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65228583)

经 销：新华书店总店北京发行所

印 刷：北京迪鑫印刷厂

开 本：787×1092 毫米 1/16 开

印 张：31

字 数：764 千字

版 次：1999 年 4 月第一版 1999 年 4 月北京第一次印刷

印 数：1—3000 册

定 价：68.00 元

ISBN 7-81034-932-5/R·930

(凡购本书，如有缺页、倒页、脱页及其它质量问题，由本社发行部调换)

《中草药现代研究》编辑委员会

主 编 宋振玉

副主编 周同惠 方起程 巢心明

编 委 (按姓氏笔划排列)

于德泉 方起程 朱蔚华 朱英和

刘耕陶 宋振玉 宋万志 冯孝章

何丽一 周同惠 张均田 赵知中

梁晓天 徐承熊 韩 锐 黄 量

巢心明 钮心懿 谢明智 谢晶曦

雷海鹏 鲁桂琛 黎莲娘

序

中国医学科学院药物研究所建所以来，遵循医药科学要为发展国民经济、防治疾病、保护人民健康服务的方针，通过艰苦奋斗、辛勤工作，努力提高学术水平，使药物研究取得较大的进展和显著成绩。30多年来在研制和寻找防治危害人民健康最严重的疾病和计划生育急需的新药及继承发扬中国医药学方面获得了一批重要成果，研制出新药60多种，获得部级以上科技成果奖120余项，与此同时还培养出一批科学人才，创造出较大的社会和经济效益，为提高人民健康水平，发展药学科学事业作出了贡献。

他们在继承我国传统医药学遗产的基础上，运用现代科学技术，吸取国际药学研究的新方法和新技术，对中草药进行了发掘、研究、整理和提高，不仅弘扬了祖国医药学，并从中研制出一批新药，发挥了防治疾病的作用，走出了一条适合我国国情和具有我国特色的新药研究途径。

为了总结这方面的经验，他们将这些年来的研究工作以学术著作的方式，加以编印，分卷出版，本书将以中草药品种为单元，分别阐述围绕该药各学科综合研究的内容。此书的出版对促进我国药学科学的学术交流提供有益的参考和借鉴，发挥积极的作用。为此，特为之作序。

陈敏章

1994年6月

前 言

中国医学科学院药物研究所建所以来，已有 40 年历程，在一批有志于创建我国医药事业的科技工作者的努力下，从无到有，从小到大，走过了艰辛的创业之路，并探索出一条符合我国特色的药物科研道路，他（她）们按照“中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高”的精神，在研究其它药物的同时，把重点放在研究我国几千年来与疾病斗争有丰富经验的中医药和民间药上，用现代科学知识和方法来发掘、整理和研究，并努力把它提高到新的水平，经过多年实践，取得了一些成果和经验，证明这条道路是符合我国国情的，是发展我国药学事业及创制具有我国特色的防治疾病新药的有效途径。这些成绩的取得，得到国内外同行的重视和肯定。

我们从调查和整理我国传统中药和民间行之有效的民间药入手，对多种中草药用现代科学技术开展了生物学、化学、药理学、生物化学、农学等学科的综合研究，对其化学成分进行分离提取、结构鉴定、药理作用及作用原理的研究，明确了其物质基础，肯定了疗效。有的还进行了人工合成，结构改造，从而创制出多个来源于中草药又高于母体结构（或先导化合物）的新药。对一些依靠野生资源或栽培落后的珍稀贵重中药进行引种驯化和栽培技术的研究，提高了产量和质量，对来源于稀有野生动物的贵重中药麝香，在弄清成分及作用的基础上，研制出了人工代用品。对我国珍贵的药用真菌类中药如灵芝、麦角、冬虫夏草等用现代生物技术发酵培养的方法生产，从而开辟了广泛的用途，以上这些研究无疑对发扬和发展我国医药科学事业作出了积极的贡献。

回顾我们走过的道路和所取得的成功经验及存在的问题，我们有责任遵循实事求是的科学态度，将我们的研究历程用学术著作的方式，编辑成书陆续付印，以便与国内外药学工作者进行交流，共同为药学事业的发展 and 进步而努力奋斗。

我们已将研究过的中草药，选择其中较重要的品种，符合于已取得较大成绩或获得过奖励，并体现多学科综合研究的 50 种中草药加以总结，分别编印到本书的一、二、三卷中。同时我们在研究过程中也体会到应用现代的科学技术和方法的重要性，特别是应用仪器分析方法快速、准确测定化学结构的工作是中草药研究中的技术关键之一。从 60 年代以来，我所在卫生部、医科院支持下，在国内较早引进了紫外分光光度计、红外光谱仪、核磁共振仪、质谱仪，用于有机化合物的结构测定，后来又引进了圆二色谱仪及 X 射线衍射仪，对研究工作起了很大的推动作用，不仅测定了成千上万个化合物结构，也取得了不少经验和进展。由于红外、紫外的应用已较普及，这里特选择核磁共振、质谱、圆二色谱以及 X 射线衍射 4 种方法总结一些带规律性的认识以及应用实例，编成一册，称为“仪器分析卷”，以飨读者。

书中难免有错误及疏漏，欢迎各界朋友指正。

《中草药现代研究》编委会

1998 年 6 月

目 录

第一章 核磁共振 (NMR) 谱在中草药化学成分结构测定中的应用	(1)
第一节 藁本酮和赤芝孢子内酯等的碳谱和氢谱分析	(4)
第二节 吲哚类生物碱的氢谱和碳谱	(19)
第三节 丹酚酸类化合物的核磁共振谱	(82)
第四节 天然紫杉烷类二萜化合物的核磁共振碳谱规律	(89)
第五节 二苯乙烯及其低聚物的核磁共振谱	(101)
第六节 抗癌有效成分番荔枝内酯化合物的核磁共振谱规律	(125)
第七节 结构分析中常遇到的一些问题	(139)
第二章 有机质谱学在中草药化学成分结构测定中的应用	(157)
第一节 概论	(157)
第二节 有机化合物的质谱基本裂解方式	(158)
第三节 有机质谱中的次级定向裂解中心	(165)
第四节 天然产物的类型裂解方式	(169)
第五节 质谱的地貌学	(213)
第六节 分子式的推定	(221)
第七节 根据类型裂解方式测定结构	(229)
第八节 根据一般有机质谱裂解方式测定结构	(263)
第九节 使用质量比较法测定结构	(276)
第十节 利用其它方法测定结构	(282)
第三章 旋光光谱 (ORD) 与圆二色谱 (CD) 在中草药成分立体结构测定中的应用	(285)
第一节 旋光光谱和圆二色谱的测定原理及其 Cotton 效应与识别	(285)
第二节 旋光光谱和圆二色谱的应用原则	(289)
第三节 圆二色谱的测定	(289)
第四节 饱和环酮的八区律及应用	(293)
第五节 α , β 不饱和环酮的八区律及应用	(301)
第六节 β , γ 不饱和酮的分析规则及应用	(309)
第七节 内酯的八区律和扇形规律及应用	(318)
第八节 苯环的规则	(326)
第九节 邻近性规则 (vicinity)	(337)
第十节 CD 激发态手征性方法	(338)

第十一节	比较的方法在八区律规则中的应用·····	(355)
第四章	X射线衍射分析与中草药化学成分的结构测定·····	(366)
第一节	X射线衍射分析原理(Ⅰ)—几何晶体学·····	(367)
第二节	X射线衍射分析原理(Ⅱ)—X射线晶体学基础·····	(388)
第三节	X射线衍射分析原理(Ⅲ)—晶体结构分析方法·····	(410)
第四节	中草药化学成分的X射线衍射晶体结构分析·····	(430)
第五节	X射线衍射分析常见名词简表·····	(475)

第一章 核磁共振 (NMR) 谱在中草药 化学成分结构测定中的应用

在过去 20 年中,核磁共振 (NMR) 技术的发展已涉及到自然科学中多种学科,包括物理学、化学、生物学、医学科学和材料学等,成为有机化学家、药物化学家、物理学家以及医学家等不可缺少的工具。在有机化学和药物化学中,用 NMR 方法尤其是近代核磁共振谱学方法,包括各种二维 NMR 技术,测定复杂天然产物的结构及其立体化学或进行已知化合物的结构鉴定都起着非常重要的作用。NMR 技术提供的结构信息是多种多样丰富多彩的并具有其独到之处,是其他方法不能提供的。瑞士 NMR 谱学家 Ernst 博士由于在 NMR 技术的研究发展中做出了突出贡献,获得了 1991 年诺贝尔 (Nobel) 化学奖。

我所使用 NMR 方法测定有机天然产物的结构始于 50 年代末期,在国内是最早使用 NMR 的单位,首次用 NMR 谱测定秦艽乙素 (1) 的结构。60 年代末我所购进一台 60MHz NMR 仪,尽管该仪器的磁场低些,但当时在国内也是为数不多的,它对抗疟有效成分鹰爪甲素 (2) 的结构研究起到关键性的作用,由于使用了其中的去偶技术,确定了分子中过氧环骨架。以后相继购进 90MHz 等 NMR 仪。在此后近 20 年的工作实践中,利用 NMR 仪确定了多种中草药化学成分的结构,样品来自国内四面八方。例如五味子素 (3)、黄皮酰胺 (4)、密环菌素 (5)、胆木碱 (6)、雷公藤成分 (7)、白元胡碱 (8) 和野木瓜皂甙 (9) 等。通过大量化合物的结构研究,积累了比较丰富的四谱〔紫外 (UV)、红外 (IR)、质谱 (MS)、核磁共振 (NMR)〕方法测定化学结构的经验。1988 年我所引进国内第一台 500MHz FT 超导 NMR 仪,该仪器性能国际先进,可以测试多种一维或二维 NMR 谱,从而使我所使用 NMR 技术解决结构问题的水平与世界水平接轨。用此仪器做了大量的工作,完成了许多复杂天然产物的结构测定,发表一系列高质量的论文,为新药研究做出应有的贡献。因为内容很多,不可能详细介绍,本文拟举例简单介绍如何用 NMR 技术解决复杂天然产物的结构问题。化合物 1~9 的结构如图 1-0-1。

用 NMR 方法阐明结构的步骤

1. 对一个未知化合物来说,要确定它的结构,首先必须确定该物的分子式。可采用高分辨质谱 (HRMS) 法或质谱 (MS) 法,加元素分析法,HRMS 法用量小,结果准确可靠;用元素分析法用量相对多些,但也仅是毫克水平。根据分子式可算出该物的不饱和度,计算方法也很简单,可用链状饱和碳氢化合物的组成通式 C_nH_{2n+2} 为基础进行计算。凡分子式中含一价元素如卤素 (F, Cl, Br, I) 则每个卤素相当于一个氢;若分子式中含 3 价元素如 N,则每个 N 要从分子式中扣去一个氢;若分子式中含 2 价元素如 O, S 等,则分子式中的氢数目计算时不变。如此计算出的实验式 C_nH_x 与 C_nH_{2n+2} 比较得出缺少的氢数,再被 2 除,则得到不饱和度数,即分子中所含的多重键数和环的个数。粗略检查 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱,若不含不饱和键的信号,则不饱和键数便是该物所含环的数目。当然,IR, UV 光谱对不饱和键的存在也会提供重要的信息,也是要重视的。

2. 一个高质量的 1H NMR 谱对阐明结构是至关重要的。要先将 1H NMR 谱中每个能辨认

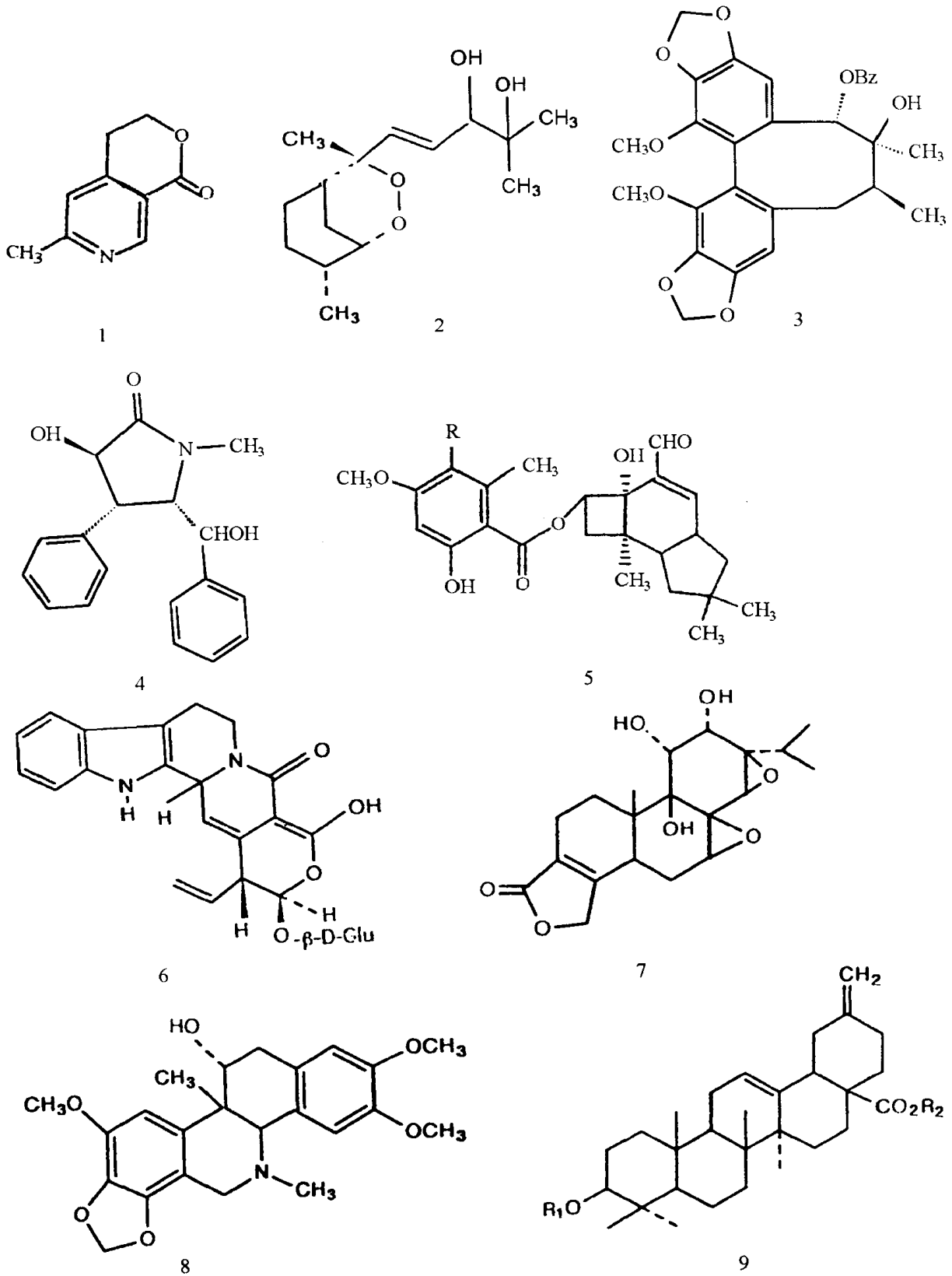


图 1-0-1 化合物 1-9 的结构式

的 ^1H 信号，自左至右分别标号，如 A, B, C, D……。对于重叠的信号，根据其所含 H 数目（由积分求出）也要分别用字母标出，如 EFGH 等。谱中所标出的 H 数应与分子式中 H 数目相当。若是一个对称性分子，则只能观察到分子中一半氢的信号。

3. 测一个 ^{13}C NMR 谱，包括全去偶和 DEPT 或 INEPT 谱，以确定该分子所含碳原子的数目和种类，以及每个碳原子连氢的数目。然后再测二个二维核磁共振相关谱（COSY 谱）即 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY 和 $^1\text{H}^{13}\text{C}$ COSY, $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY - 45° 是最常用的，用以确定分子中 H 和 H 之间的关系，并要将其对角线中表示的化学位移进行标号，应与 ^1H NMR 谱的标号相当。 $^1\text{H}^{13}\text{C}$ COSY 谱最好测异核相关谱（HMQC 谱），因为 HMQC 谱的灵敏度高。HMQC 谱可确定分子中碳原子和氢原子的关系，使分子中直接相连的碳氢对号入座。HMQC 谱也进行标号，从而与 ^1H NMR 和 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY 谱联系起来，从 HMQC 谱的耦合信息可确定 ^1H NMR 谱中哪些 H 是同碳氢，哪些氢是邻位氢。再由 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY 谱进一步确定 H 和 H 之间的耦合关系，为比较方便可列出氢碳相关的表，以表示它们的相关性。这里要注意的是分子中一些远程耦合问题，通常是 W 型耦合。由于已知 HH 间的耦合，也知道某些 HC 间的关系，所以便可确定某些氢碳之间的连接问题。

4. 分子中耦合氢片段的确定可通过 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY 谱分析而完成。具体做法是从 ^1H NMR 谱中找出能明确鉴定的信号做为分析的起点，通常是从图谱中最低场端的信号入手，由其相关峰，确定其高场部份相互耦合的信号，再由此信号出发逐个找出相互耦合的信号，依次找出关联，直至找出该耦合片段的终端信号的关联为止，再结合 C - H 耦合信息，即可确定分子中碳氢耦合片段。分子中可能有几个不同的碳氢耦合片段，可用上述方法逐个进行归属。

除 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY 谱之外，也可用 HOHAHA 或 TOCSY 谱来完成分子中 HH 之间的耦合网络关系，即找出分子中耦合碳氢片段结构。HOHAHA 谱的特点是凡分子中直接发生耦合 H 的片段，经不同的延迟时间，都能出现相应信号，所以只要描准一个 H 信号则与其存在直接耦合关系的 H，都出现信号而且呈现耦合关系的峰型。而与其不发生耦合关系的 H 则不呈现信号。从而可明确找出含氢碳的碳氢耦合结构片段。

5. 用上述数据仅可解决分子中直接相互耦合的碳氢间的关连问题，通常可得到分子中含氢碳的碳氢耦合的结构片段。这些结构片段如何拼接而成为分子结构，则必须解决绕过季碳或杂原子的连接方法。常采用远程异核相关谱，即相隔 2、3 个键（间或 4 键）的碳氢相关谱，多用 HMBC 谱或 COLOC 谱，前者灵敏度高，数据可信性强，以此解决通过季碳或杂原子而将分子中不同的结构片段结合起来，以构成更大的结构片段或构成整个分子结构。有时也用 NOE 谱或 NOESY 谱来解决结构片段的连接。当然，若样品量充足，必要时也可用 INADEQUATE 法直接测定分子中碳碳连接的信息，从而确定分子的碳碳连接顺序即分子骨架。

6. 测定分子的立体化学通常放在结构测定的后期进行。一维 NOE 差谱是优先采用的解决相对立体构型的方法，有时也可用二维 NOESY 谱或 ROESY 谱。绝对立体构型的确定或 ee 值的测定常用手性位移试剂法或手性衍生化试剂法。

以上所述可概括为以下流程图图 1-0-2。

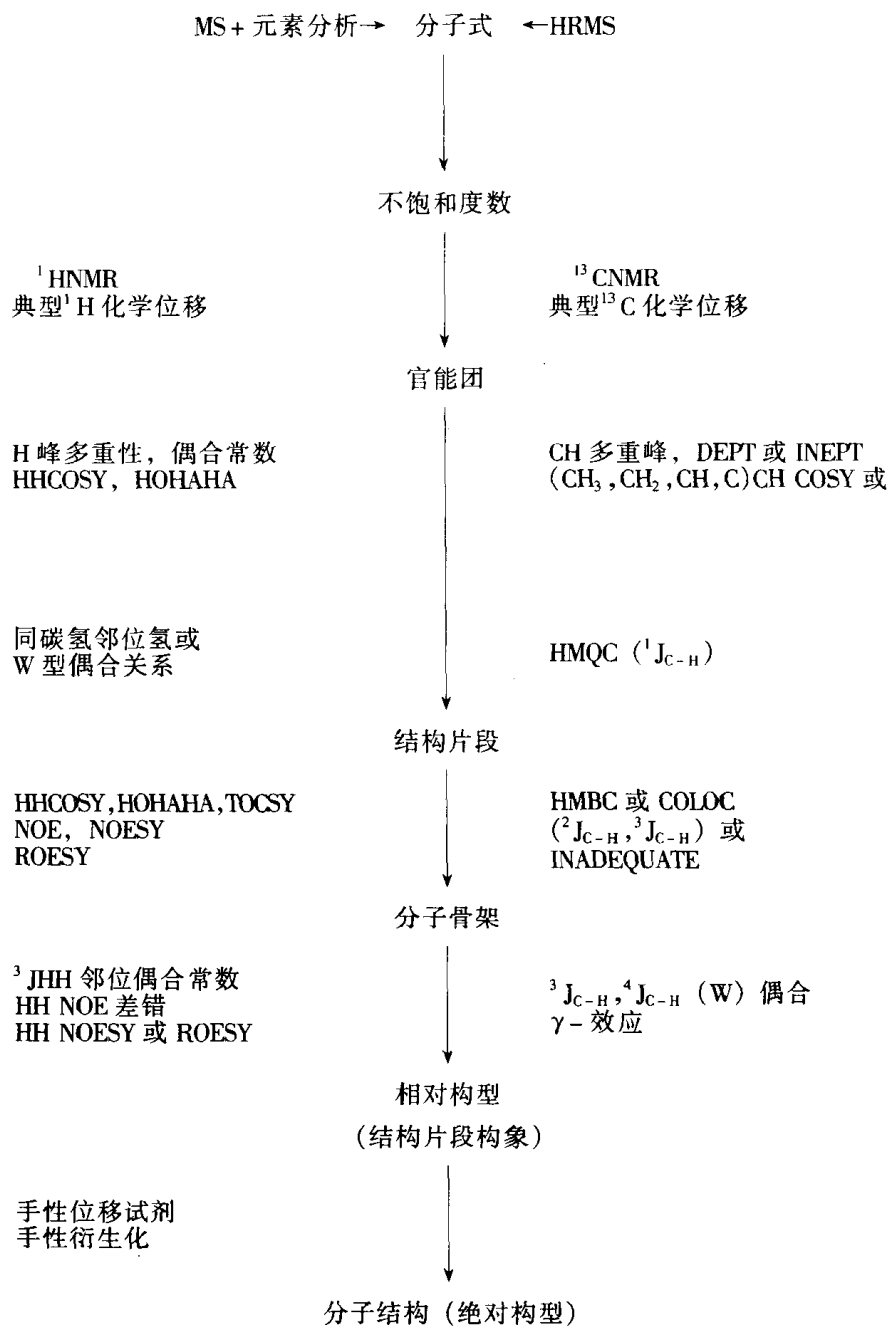


图 1-0-2 用 NMR 方法阐明结构的步骤

(于德泉 梁晓天)

第一节 藁本酮和赤芝孢子内酯等的碳谱和氢谱分析

一、藁本酮

藁本酮 (10) 是从常用中药藁本 (*Ligustium sinense* Oliv) 中分到的一个倍半萜成分, 由 MS 和元素分析确定其分子式为 C₁₅H₂₀O₃, 不饱和度为 6, 该物的 UV 光谱显示 2 个吸收峰, λ^{MeOH} 245nm (logε 4.56) 和 252nm (logε 4.32), 提示该分子中存在 α, β- 不饱和羰基系统。IR 光谱 1640cm⁻¹ 的吸收和 ¹³C NMR δ 196.59, 117.98 和 159.66ppm 的信号都支持分子中存在 α,

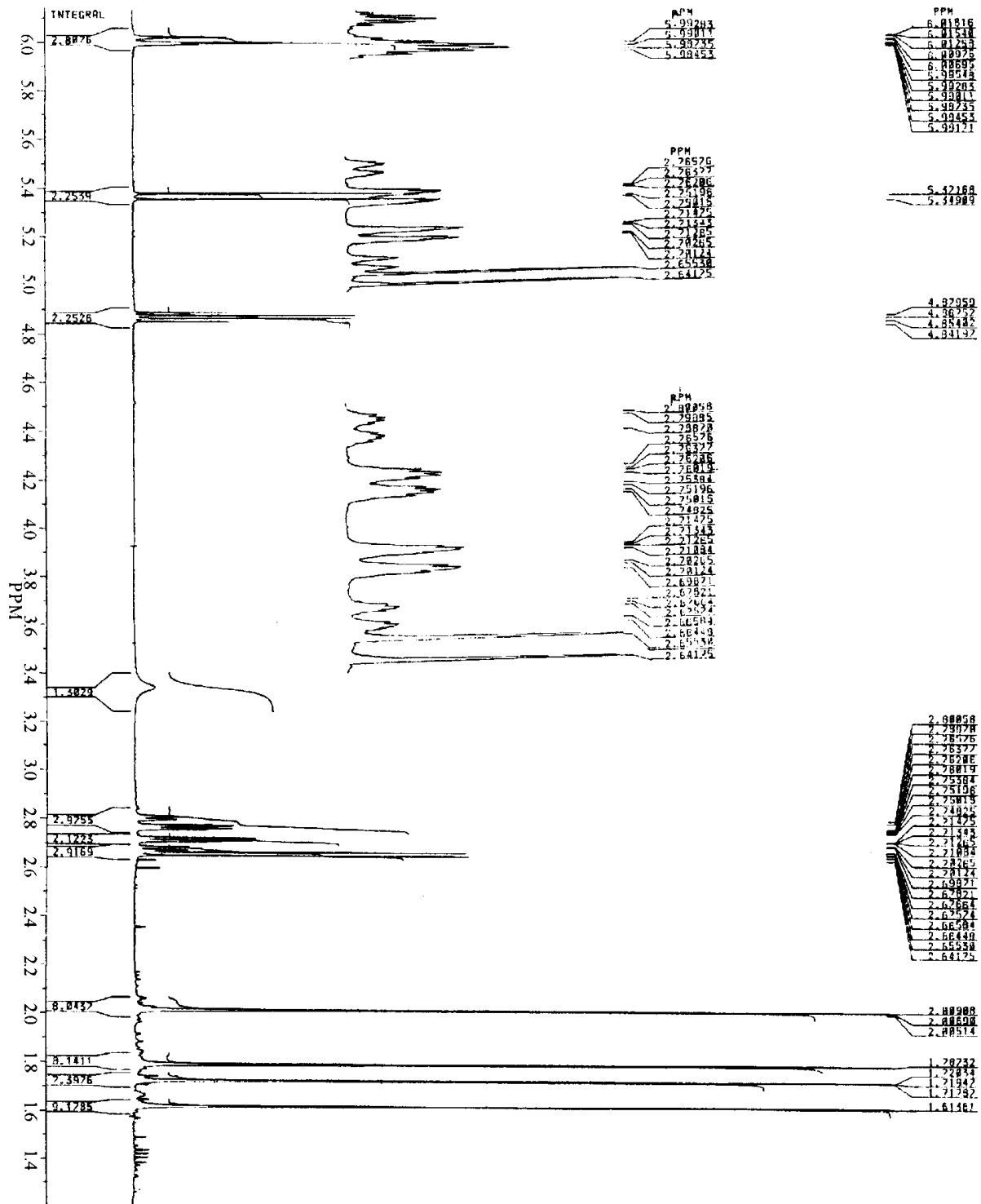


图 1-1-1 萘本酮的¹H-NMR 谱

β - 不饱和羰基系统。¹H NMR 谱图 1-1-1 显示分子中全部 20 个 H 的信号, 将其从左至右编号 A~L, 其中 E 为可交换的信号说明为 OH, I~L 由其积分强度各为 3 个 H, 图 1-1-1 说明分别是 4 个 CH₃ 信号。由信号 D, F 和 G 的峰型和偶合常数分析, 3 者构成 ABX 系统, 其中 AB 部分的 8 条线又被 CH₃ 裂分为 4 重峰, 但其偶合常数很小, 提示呈弱偶合关系。信号

A, B 和 C 属于双键 H 的化学位移范围, A 和 B 强度约 2 个 H, 由峰型分析似由一个双宽峰和一个单宽峰构成。信号 C 为一个双峰, 其偶合常数似与 A, B 信号之一偶合。藁本酮的¹³C NMR 谱和 DEPT1-1-2 和 1-1-3 谱图 1-1-2 和图 1-1-3 显示 5 个季碳, 5 个叔碳, 1 个仲碳和 4 个伯碳, 其中 1 个羰基, 3 个双键, 4 个甲基和 3 个含氧碳。藁本酮的¹H¹³C COSY 谱图 1-1-4 确定了分子中图 1-1-4 碳和氢的连接关系, 归属了分子中 CH, CH₂ 和 CH₃ 的信号定位 (表 1-1-1), 由此并可区别分子中的同碳偶合 F 和 G 信号, 和其他邻位偶合信号。藁本酮的¹H¹H COSY 谱图 1-1-5 显示分子中存在 2 个结构片段:

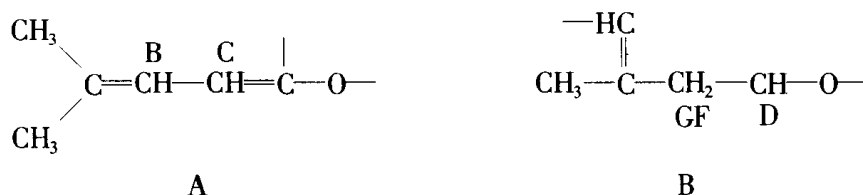


表 1-1-1 藁本酮分子中的 CH, CH₂ 和 CH₃ 信号和相连碳的关联

CH 信号	CH ₂ 信号	CH ₃ 信号
A (117.98)	FG (35.03)	I (24.45)
B (127.30)		J (25.93)
C (94.49)		K (18.13)
D (76.19)		L (27.39)

一个由信号 B 和 C 组成, 结合分子中双键甲基有远程偶合裂分, 并考虑信号 C 偏高场的化学位移提示存在片段 A; 另一个由信号 D, G 和 F 以及 H 组成片段 B。除片段 A 和 B 外, 分

子中尚含有一个 C=O 基和一个含氧季碳可能为 $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{—C—O—} \\ | \end{array}$ 。将这些片段和基团结合起来

便可形成藁本酮的结构。有趣的是在片段 B 中, 信号 D 呈现间隔相同的四重峰, 这是由于在 ABX 系统中 J_{BX} 和 J_{AX} 相同, 皆为 6.03Hz, 而且信号 D 与 H 间的偶合常数也是 6.03Hz。所以信号 D 的四重峰来源于 3 个相同的偶合常数。

根据藁本酮分子所含的不饱和度, 扣去 3 个双键和一个羰基, 该分子应由 2 个环系 (碳环或氧环) 构成。

由于分子中含有 3 个氧原子, 已知一个羟基和一个羰基, 另外¹³C NMR 尚有 2 个含氧碳, 说明分子中必须有一个含氧环, 所以藁本酮分子只能由一个碳环骨架构成, 常见的单环倍半萜有以下 3 种骨架: 见图 1-1-6。

从上述 3 种基本骨架考虑, 结合已证明的结构片段 A 和 B 以及官能团 CO 和

$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{—C—O—} \\ | \end{array}$, 藁本酮的结构可有以下两种可能性 10 和 11 式。10 和 11 式的差别在于二者

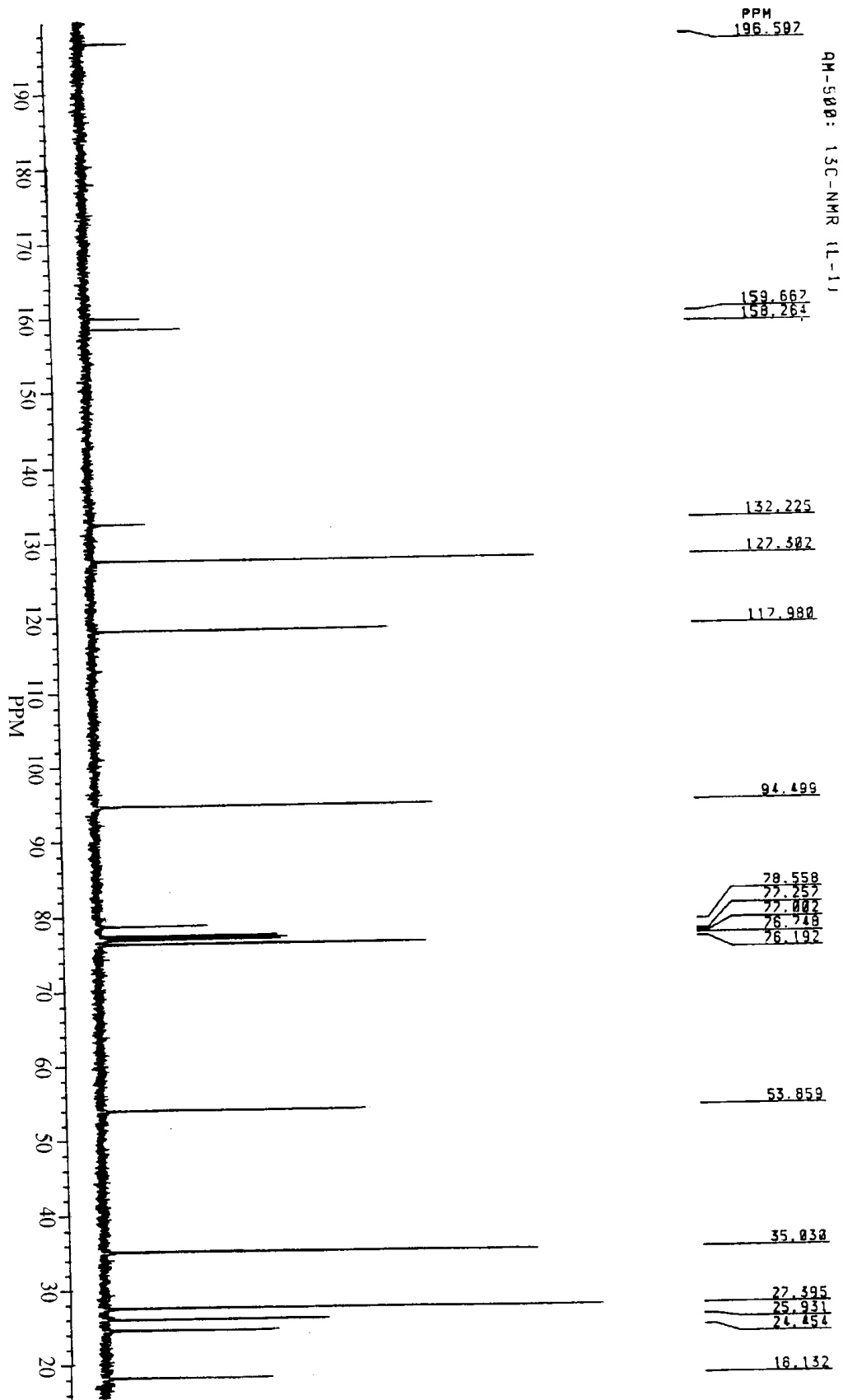


图 1-1-2 藜本酮的¹³C-NMR 谱

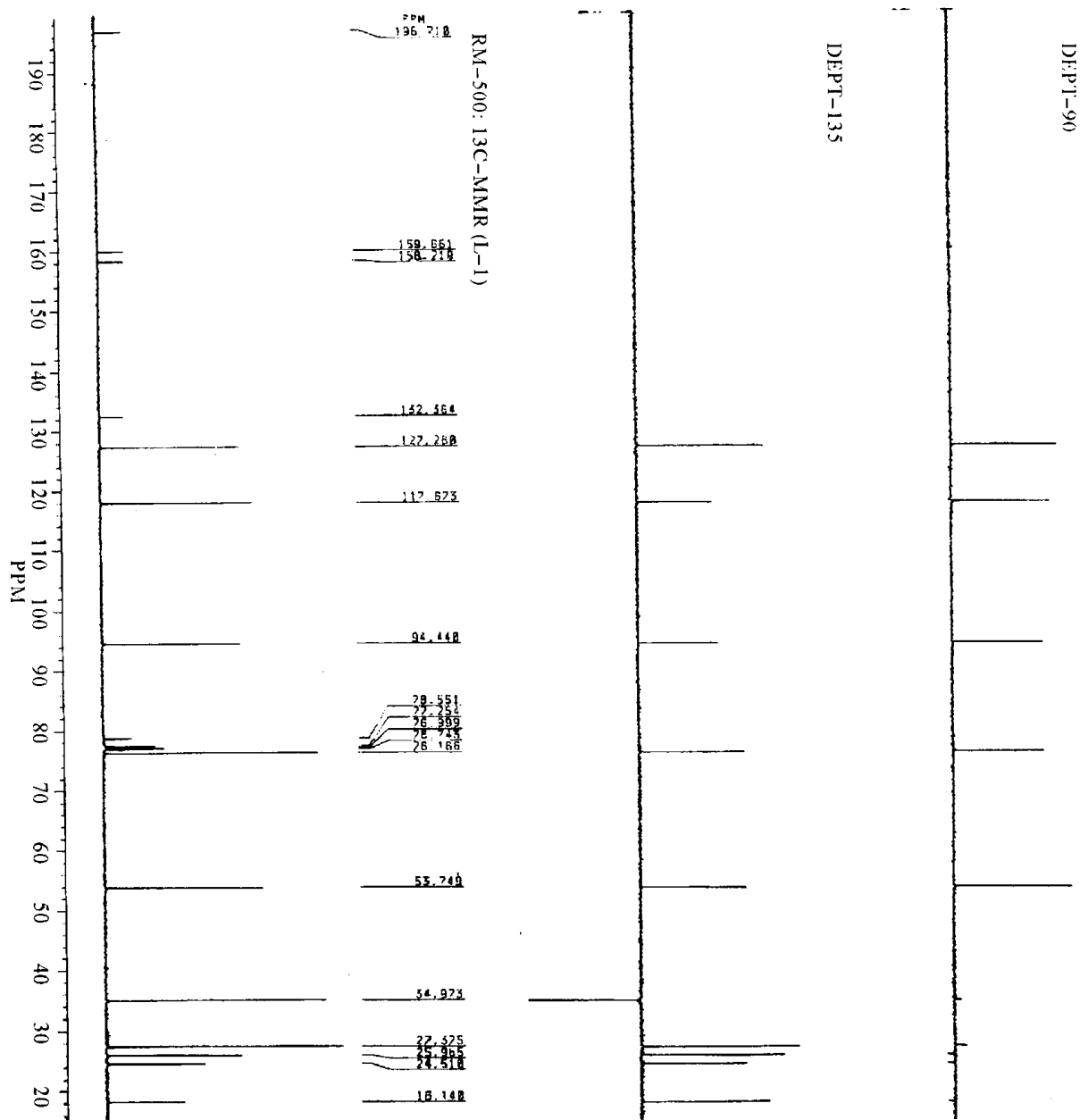


图 1-1-3 藁本酮的 DEPT 谱

的基本骨架不同，由此造成分子中羰基和 1 个甲基处于不同的位置。采用远程异核相关谱或 NOE 谱可对二者加以区别。

藁本酮的 HMBC 谱显示 2-H 与 C-1, C-3 和 C-15 相关；4-H 与 C-2, C-3 和 C-10 相关；5-H 与 C-8 和 C-10 相关；6-H 与 C-7 和 C-12 相关；10-H 与 C-1, C-5 和 C-9 相关；14-H 与 C-9 和 C-10 相关。由此确定 10 式的平面结构。藁本酮的 ^{13}C NMR 数据见表 1-1-2。

藁本酮分子中有 C-5, C-9 和 C-10 3 个手性碳原子，它们的相对立体化学是通过 NOE 差谱确定的。照射 5-H (δ 4.86), 10-H 和 4-H 信号增强；照射 10-H, 5-H 和 14-H 信号增强；照射 12-H, 7-H 信号增强；照射 13-H, 6-H 信号增强。照射 14-H, 7-

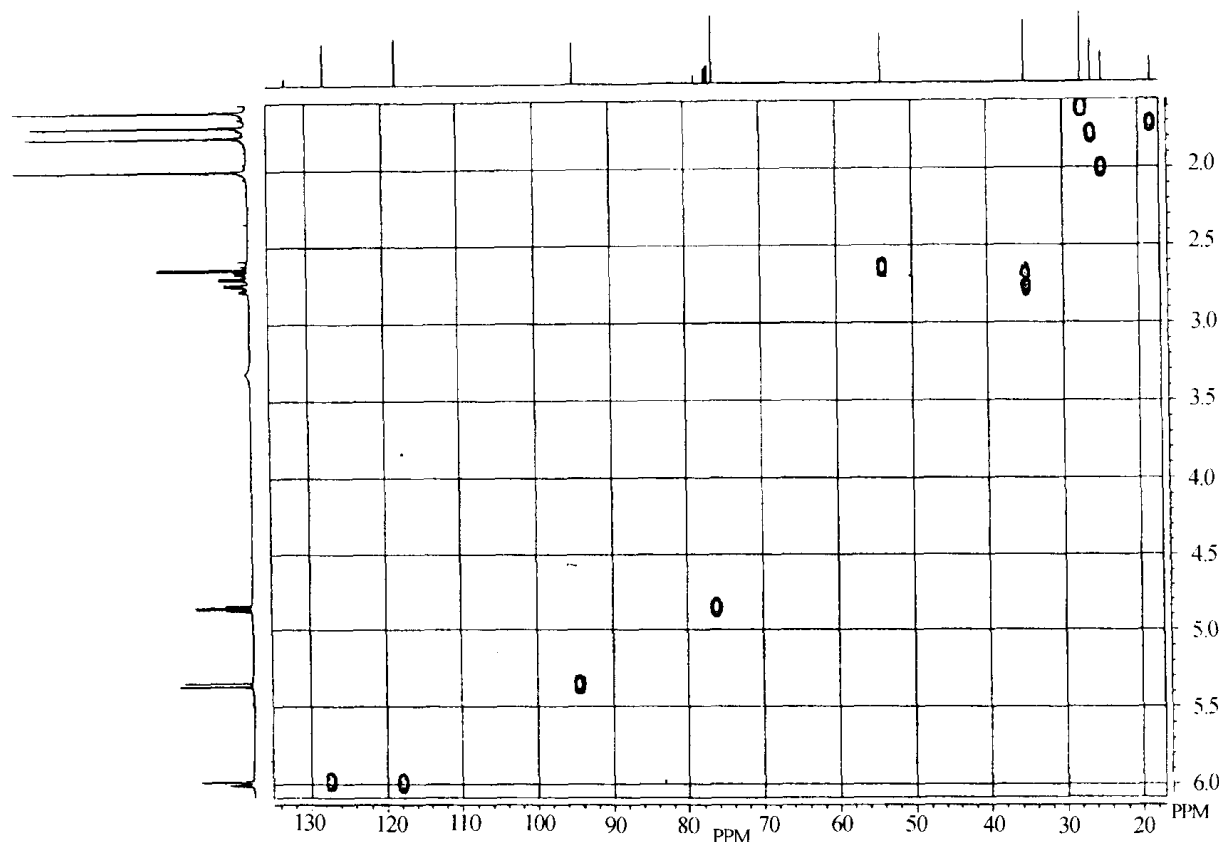


图 1-1-4 藁本酮的¹H¹³C COSY 谱

表 1-1-2 藁本酮¹³CNMR 的化学位移 (125MHzCDC13)

碳原子	¹³ C 化学位移	碳原子	¹³ C 化学位移	碳原子	¹³ C 化学位移
1	196.59 (s)	6	127.20 (d)	11	132.22 (s)
2	117.98 (d)	7	94.49 (d)	12	24.45 (q)
3	159.66 (s)	8	158.26 (s)	13	25.93 (q)
4	35.03 (t)	9	78.55 (s)	14	27.39 (q)
5	76.19 (d)	10	53.85 (d)	15	18.13 (q)

-H 和 10-H 信号增强。由此说明 5-H, 10-H 和 14-H 处于相同空间取向, 同时也证明藁本酮分子中的共轭双烯具有 10a 式几何构型, 而非 10b 式, 见图 1-1-7。

藁本酮的绝对构型系采用 CD 谱证明。藁本酮的 CD 谱在 $\lambda 330\text{nm}$ 为正 Cotton 效应, $\Delta\epsilon = +1.12$; 在 $\lambda 253\text{nm}$ 呈现强的负 Cotton 效应, $\Delta\epsilon = -3.66$ 。对照文献, 已知绝对构型并具类似发色团化合物的 CD 数据, 确定藁本酮分子中的 10-H 为 β -构型, 由此 5-H, 10-H 以及 9-CH₃ 皆为 β -构型, 其绝对构型分别为 5R, 9S 和 10S。

至此完成了藁本酮的结构测定, 包括其绝对构型测定。这里所谈的结构测定主要是采用 NMR 技术, 而少涉及其它谱学方法。但在实际工作中则是多种谱学方法合理的配合应用, 很少只用一种方法, 要取每种方法的特点, 针对性地解决问题, 我们强调“四谱”联合应