

## 利用分子识别包结结晶法选择性分离 小茴香挥发油中的化学组分

郭文生<sup>\*</sup> 郭放 王秀梅 常怀春 杨春常  
唐宪达 葛春华 佟键 王洪波<sup>a</sup>

(辽宁大学化学科学与工程学院 <sup>\*</sup>应用化学研究所 沈阳 110036)

蔡云萍 由键 程光荣

(辽宁省分析测试研究中心 沈阳 110015)

**摘要** 用 GC-MS 方法测定了小茴香挥发油的全组分, 其中对-丙烯基茴香醚的含量为 82.65%。采用包结结晶方法对小茴香挥发油中的对-丙烯基茴香醚进行了选择性分离, 以 1,1,6,6-四苯基-2,4-己二炔-1,6-二醇(简称 D.D)作为主体分子, 小茴香挥发油中的对-丙烯基茴香醚作为客体分子, D.D 选择性地与之形成超分子包结物晶体。采用 IR, <sup>1</sup>H NMR, 单晶 XRD 确定了包结物的形成及其主客体分子摩尔比为 2:1, 包结物晶体属于 *PI* 空间群, 晶胞参数:  $a = 1.2972(2)$  nm,  $b = 1.5119(2)$  nm,  $c = 1.6799(2)$  nm,  $\alpha = 100.57(1)^\circ$ ,  $\beta = 104.89(1)^\circ$ ,  $\gamma = 113.58(1)^\circ$ ,  $Z = 2$ 。利用 Kugelrohr 真空蒸馏技术从包结物晶体中蒸出被分离的化学组分, 用 IR, <sup>1</sup>H NMR 和 MS 方法, 确定了它的结构为反式对-丙烯基茴香醚。用 GC 方法测定了选择分离出的挥发油化学组分, GC 分析结果表明, 分离的反式对-丙烯基茴香醚的化学纯度为 97%, 回收率为 75.28%。

**关键词** 反式对-丙烯基茴香醚, 小茴香挥发油, 分离方法, 包结化合物

## Selective Isolation of Chemical Component from Volatile Oil of Xiaohuixiang by Molecular Cognition Inclusion Crystalline Method

GUO Wen-Sheng<sup>\*</sup> GUO Fang WANG Xiu-Mei CHANG Huai-Chun  
YANG Chun-Chang TANG Xian-Da GE Chun-Hua TONG Jian WANG Hong-Bo<sup>a</sup>

(College of Chemical Science and Engineering, <sup>a</sup>Institute of Applied Chemistry, Liaoning University, Shenyang, 110036)

CAI Yun-Ping YOU Jian CHENG Guang-Rong

(Liaoning Provincial Center of Analysis Testing and Research, Shenyang, 110015)

**Abstract** The chemical components of volatile oil from *Foeniculum Vulgare Mill* were determined by GC-MS. Anethole accounted for 82.65% of the whole oil. Selective isolation of anethole from the volatile oil was carried out using an inclusion crystalline method with 1,1,6,6-tetraphenylhexa-2,4-diyne-1,6-diol (abbreviate as D.D) as a host molecule and anethole as a guest molecule, D.D could selectively form an inclusion complex with anethole. The crystal structure of the inclusion complex was determined by IR, <sup>1</sup>H NMR and single crystal XRD techniques. The host-guest molar ratio in complex was found to be 2:1. Crystal structure of inclusion compound belong to space group *PI*,  $a = 1.2972(2)$  nm,  $b = 1.5119(2)$  nm,  $c = 1.6799(3)$  nm,  $\alpha = 100.57(1)^\circ$ ,  $\beta = 104.89(1)^\circ$ ,  $\gamma = 113.58(1)^\circ$ ,  $Z = 2$ . The isolated chemical component was isolated from the inclusion crystal complex by using Kugelrohr vacuum distillation technique and

• E-mail: wensguo@lnu.edu.cn

收稿日期: 2001-04-03, 修回日期: 2001-06-08, 定稿日期: 2001-07-01, 国家自然科学基金(29875035)资助项目

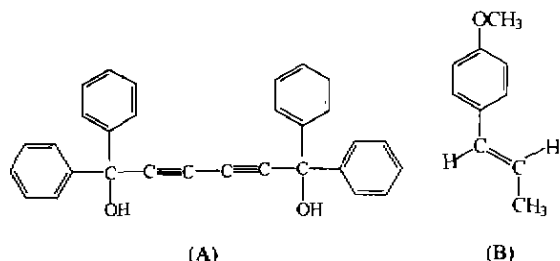
(Received April 3, 2001. Revised June 8, 2001. Accepted July 1, 2001)

was identified to be *trans* - anethole by means of IR,  $^1\text{H}$  NMR, and MS spectroscopy. The results of GC analysis showed that chemical purity of *trans* - anethole isolated from volatile oil was 97% and the yield was 75.28%.

**Keywords** *trans* - anethole, volatile oil, isolation method, inclusion complex

小茴香为伞形科植物茴香 *Foeniculum Vulgare* Mill 的干果实, 它是中国烹调常用的调味品, 在医学上有散寒止痛, 理气和胃的功能. 常用小茴香的挥发油含量为 1.7% ~ 4.6%<sup>[1]</sup>. 李昌阳<sup>[2]</sup>等用毛细管气相色谱法分析出炮制前小茴香的挥发油中的化学组分, 主成分为对 - 丙烯基茴香醚 (anethole) (B) (含量 69.2%), 小茴香酮 (8.7%), 对 - 烯丙基茴香醚 (5.65%). 其中对 - 丙烯基茴香醚为小茴香药理活性的主要成分, 有升高白细胞作用, 临床试用于治疗癌症及长期接触放射线或药物所致的、或原因不明的低白血病症<sup>[3]</sup>. 人们的前期工作主要集中在挥发油的萃取技术和色谱分离技术的改进, 如彭滨<sup>[4]</sup>等采用超临界  $\text{CO}_2$  萃取法得到 14 种化学组分的提取物. 陈耀祖<sup>[5]</sup>等采用闪蒸 - 毛细管气相色谱 - 质谱技术, 分析出 11 种化学组分. 由于挥发油成分复杂且不很稳定, 其化学组分的分离方法, 或者借助精馏方法先将挥发油进行粗分, 最后经柱层析分离出单一组分, 或采用冷冻结晶法分离和精制低熔点组分等. 利用主客体分子识别原理, 选择性地分离挥发油中化学组分的方法至今未见报道.

利用挥发油各化学组分的分子形状、大小 (几何拓扑性质), 官能团的数量和位置 (键力性质) 的不同, 通过主体分子对客体分子选择识别, 形成的超分子包结物以结晶方式析出, 从而达到从挥发油中选择性地分离化学组分的目的. 本文选取 1,1,6,6 - 四苯基 - 2,4 - 己二炔 - 1,6 - 二醇 (1,1,6,6 - tetraphenylhexa - 2,4 - diyne - 1,6 - diol), 简称 D.D (diyne - diol) 作为主体分子 (A). 它能与许多有机小分子如醇、醚、环氧化合物、醛、酮、酯、内酯等形成包结物晶体<sup>[6]</sup>, 应用 D.D 选择性识别功能, 它与小茴香挥发油中化学组分 (B) 形成包结物结晶, 从而达到选择性分离.



## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

X4 显微熔点测定仪 (北京第三光学仪器厂, 温度计未校正), Perkin - Elmer FT - 1730 红外光谱仪, Bruker AC80 核磁共振仪, Bruker AXS P4 四圆衍射仪, HP5890 - II 气相型色谱仪. 小茴香 (市售), D.D 按文献<sup>[7]</sup>方法合成, m. p. 145 ~ 146℃, 与文献<sup>[7]</sup>数值一致. 乙醚、丙酮、石油醚 (60 ~ 90℃) 均为分析纯.

### 1.2 挥发油提取和组分分析

称取 100.0 g 小茴香加入 500 mL 圆底烧瓶中, 加入适量的水, 加热控制在 120℃, 用水蒸气蒸馏提取器蒸馏 7 h, 分离出油层用无水硫酸钠干燥, 得到淡黄色半透明油状物 2.2 g, 产率 2.2%.

采用 JMS - D300, JMA - 2000 数据系统色谱 - 质谱联用仪, 在分辨率 1000, 扫描速度 1 ~ 800 a. m. u/5 s, 扫描质量范围 20 ~ 350 a. m. u, 离子化电压 70 eV, 离子化电流 300  $\mu\text{A}$ , 离子流温度 200℃ 的条件下, 对提取挥发油进行组分分析.

### 1.3 包结晶析及主客体分离

称取 D.D 1.0 g 放入 50 mL 锥形瓶中, 加入小茴香挥发油 2.0 g 和 5 mL 乙醚溶解后, 再加入 6 mL 石油醚室温静置. 待晶体析出后, 按上述条件将所得晶体进行重结晶, 得到无色透明的棒状包结化合物 1.0 g, m. p. 98 ~ 99℃. 按加入主体分子和挥发油的总量计算, 产率为 33.3%. 采用同样的方法即可得到用于四圆衍射测试用的单晶.

采用 Kugelrohr 真空蒸馏器蒸馏包结物中挥发油组分, 准确称取欲处理的包结化合物 0.9697 g, 置于 10 mL 圆底烧瓶中, 串联上四个的 Kugelrohr 瓶, 连接到旋转真空管后, 送入管状炉. 管状炉的温度控制在 180℃, 真空度为 667 Pa, 在连接旋转真空管的 Kugelrohr 瓶处, 用冰水冷却, 将减压蒸出的包结化合物中挥发油化学组分冷凝在该瓶处得以分离. 得到 0.1337 g 小茴香挥发油的化学组分, 产率 13.79%.

### 1.4 包结物单晶的结构测试

用 Bruker Axs P4 四圆衍射仪收集包结物单晶的

衍射强度数据,衍射实验用单晶  $0.3 \text{ mm} \times 0.6 \text{ mm} \times 0.4 \text{ mm}$ ,采用石墨单色化  $\text{MoK}\alpha$  辐射,以  $\theta/2\theta$  方式扫描,扫描范围为  $3.5^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$ ,获得独立衍射点为 6431 个,可观察点  $[I > 2\sigma(I)]$  4068 个.在微机上采用直接法(SHELXS-97)解析晶体结构,最终获得可靠因子为  $R_f = 0.060$ ,计算晶体密度  $D_c = 1.175 \text{ g/cm}^3$ .

### 1.5 选择分离效果检测

采用 HP5890-II 气相型色谱仪,对小茴香挥发油的粗提物和分离的化学组分进行色谱分析.石英毛细管 ULTRA1 柱,25 m,  $\phi = 0.32 \text{ mm}$ ,涂层厚度为  $0.52 \mu\text{m}$ ,柱温  $60^\circ\text{C}$  开始,以  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $200^\circ\text{C}$ ,载气流速  $40 \text{ mL}/\text{min}$ ,进样口温度  $250^\circ\text{C}$ ,检测器温度  $300^\circ\text{C}$ ,进样量为  $0.2 \mu\text{L}$ .

## 2 结果与讨论

### 2.1 包结化合物形成的确认

将 A, B 以及所形成的包结化合物的红外特征吸收峰加以比较,包结物的红外谱图比 A 的红外谱图多了  $2957 \sim 2844 \text{ cm}^{-1}$  甲基吸收峰,  $1261 \text{ cm}^{-1}$  ( $\phi - \text{OC}$ , asym),  $1040 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{OCH}_3$ ),  $1658 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ ),  $3009 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{CH}$ ),多出的吸收峰正是 B 的吸收峰;它们的红外谱图如图 1 所示.

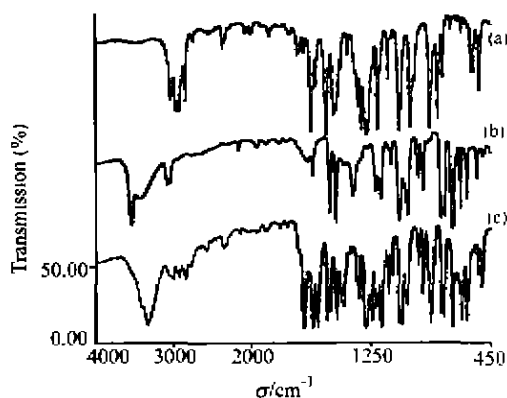


图 1 从挥发油包结物中分离出的组分(a),主体分子(b)和它们的包结物(c)红外光谱图

Fig.1 IR spectra of isolated component from inclusion compounds of volatile oil (a), free host (b) and their inclusion compounds (c)

包结物的  $^1\text{H NMR}$   $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 1.81 ~ 1.87(d, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.85(s, 4H, OH), 3.76(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.8 ~ 7.6[m, 44H, Ar-H(包括主体分子苯环上的 40 个 H 和客体分子苯环上的 4 个 H)], 6.10 ~ 6.27(m, 2H,

$\text{CH}=\text{CH}$ ), 因此,计算积分面积的结果是包结物的 A 和 B 的摩尔比为 2:1.根据常用的重量法计算,从 0.9697 g 包结物中分离出 0.1337 g 对-丙烯基茴香醚,相当于 0.0009 mol,剩余 D.D 为 0.8360 g,相当于 0.0020 mol,包结物晶体的主客体摩尔比为 2:1.两者的分析结果一致.用单晶四圆衍射方法也测得包结物的摩尔比及结构.包结物的单晶四圆衍射测试结果如图 2 和 3 所示.

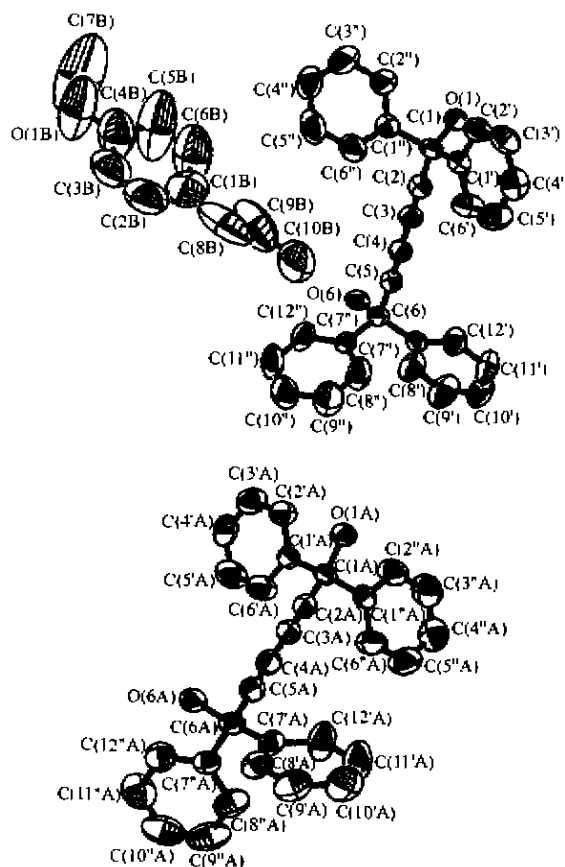


图 2 D.D 与反式对-丙烯基茴香醚包结物单晶立体图

Fig.2 Stereodrawing of single crystal of inclusion compound formed by D.D with trans-anethole

包结物晶体属于  $P\bar{1}$  空间群,晶胞参数为  $a = 1.2972(2) \text{ nm}$ ,  $b = 1.5119(2) \text{ nm}$ ,  $c = 1.6799(2) \text{ nm}$ ,  $\alpha = 100.57(1)^\circ$ ,  $\beta = 104.89(1)^\circ$ ,  $\gamma = 113.58(1)^\circ$ ,  $Z = 2$ .在包结物晶体中,两个主体分子之间以氢键联系,  $\text{O}(1) \cdots \text{O}(6)$  ( $-x, 1-y, 1-z$ );  $0.2718(2) \text{ nm}$ ,  $\text{O}(1) \cdots \text{O}(6A)$  ( $x-1, y, z-1$ );  $0.2739(2) \text{ nm}$ ,  $\text{O}(1A) \cdots \text{O}(6)$  ( $x+1, y, z-1$ );  $0.2712(1) \text{ nm}$ ,  $\text{O}(1A) \cdots \text{O}(6A)$  ( $2-x, 1-y, -z$ );  $0.2739(7) \text{ nm}$ , A 和 B 之间未形成氢键,以范德华力进行堆积. A 和 B 分子摩尔比为 2:1.

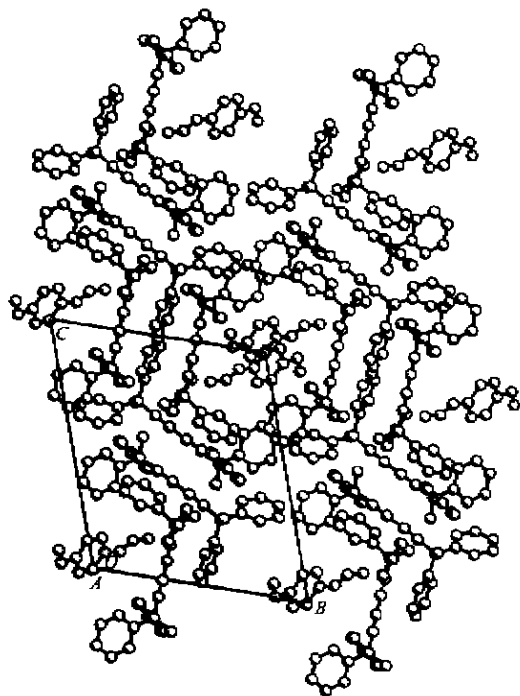


图3 D.D与反式对-丙烯基茴香醚包结物单晶沿A轴方向的投影填充图

Fig.3 Packing projection diagram of single crystal of inclusion compound D.D with *trans*-anethole along A axis

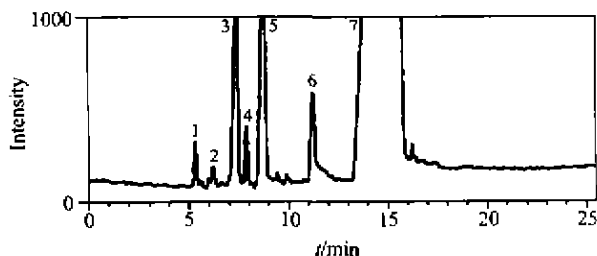


图4 挥发油粗提物化学组分的总离子流出图

Fig.4 Total ion current chromatogram of the crude extract of volatile oil from *Foeniculum Vulgare* Mill

1— $\alpha$ -pinene 0.8%, 2-myrcene 0.25%, 3-l-limonene 4.79%,  
4- $\gamma$ -terpinene 0.87%, 5-Anisaldehyde 5.5%,  
6-p-allylanisole 2.7%, 7-Anethole 82.65%.

## 2.2 选择分离出挥发油化学组分的表征

选择分离出挥发油的化学组分,  $m.p.$  20 ~ 21 °C, (文献[5]值, 21.4 °C),  $^1\text{H NMR}$   $\delta$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.83 ~ 1.89(d, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.77(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.8 ~ 7.3(m, 4H, Ar-H), 6.10 ~ 6.27(m, 2H,  $J = 12.9$  Hz,  $\text{CH}=\text{CH}$ ),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2958, 2934, 2850, 2836, 3094, 3023, 1608, 1576, 1510, 1465, 1248, 1037 和 965.  $m/z$ : 148, 133, 117, 77.  $^1\text{H NMR}$ , IR, MS 与文献[5]报道的反式对-丙烯基茴香醚相一致. 单晶四圆衍射测试结果

也确认为反式对-丙烯基茴香醚.

挥发油粗提物及分离物的气相色谱-质谱-计算机结果分别见图4.5. 图5中的1号杂质峰与图4中的6号峰相同,  $m/z$ : 148, 133, 121, 117, 77, 为对-丙烯基茴香醚; 图5中的2号峰与图4中的7号峰相同,  $m/z$ : 148, 133, 117, 77, 为反式对-丙烯基茴香醚. 二者为同分异构体.

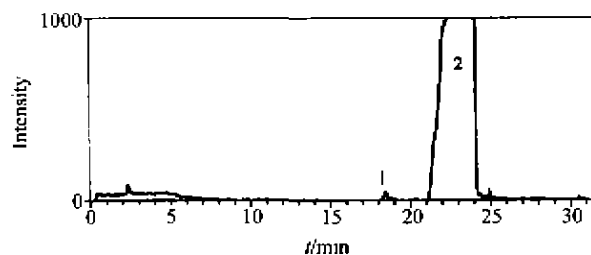


图5 从包结物中分离的挥发油化学组分的总离子流出图

Fig.5 Total ion current chromatogram of volatile oil components separated from the inclusion compound

1—p-allylanisole 3.0%, 2-anethole 97.0%.

## 2.3 选择分离效果

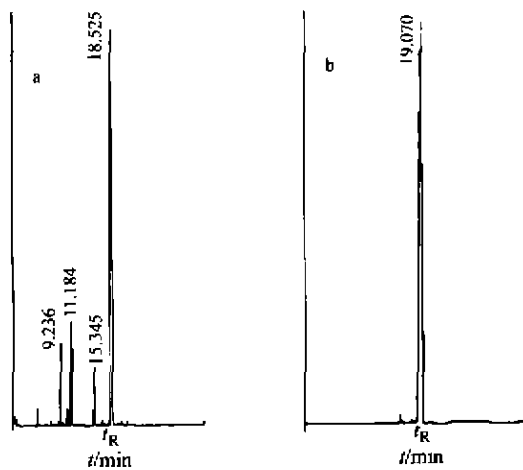
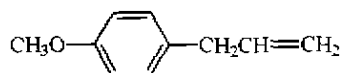


图6 挥发油粗提物(a)和从包结物中分离出的挥发油化学组分(b)的色谱图

Fig.6 Chromatograms of crude extract of volatile oil (a) and components separated from the inclusion compound (b)

小茴香挥发油的粗提物和分离的化学组分色谱分析结果见图6(a, b). 结果表明, 小茴香挥发油粗提物主要成分的色谱保留时间在9 ~ 19 min之间, 而由包结物分离出来的反式对-丙烯基茴香醚保留时间为19.070 min处出峰, 含量达97%. 说明主体分子对反式对-丙烯基茴香醚达到了很好的分离效果. 按理论计算, 1.0 g 主体分子相当于2.4 mmol, 它

所包结的反式对-丙烯基茴香醚为 0.1776 g,那么它的分离出的客体分子的产率为 $(0.1337 \div 0.1776) \times 100\% = 75.28\%$ .说明该方法是可行的.杂质峰的保留时间为 15.345 min 的化学组分为对-烯丙基茴香醚,与图 4,5 以及参考文献[2]色-质谱图中该峰的相对位置一致.对-烯丙基茴香醚的结构如下:



对-烯丙基茴香醚的结构和反式对-丙烯基茴香醚的结构相似,它也可以与 D.D 形成包结物;但是,从分离效果来看,反式对-丙烯基茴香醚从粗提物的 82.65% 提高到 97%,增幅为 17.36%;而对-烯丙基茴香醚从 2.7% 提高到 3%,增幅为 11.1%,说明 D.D 对反式对-丙烯基茴香醚的包结选择性优于对-烯丙基茴香醚.由于对-烯丙基茴香醚在挥发油中的含量较少,它和 D.D 形成的包结物混杂在由反式对-丙烯基茴香醚形成的大量的包结物晶体之中,给进一步分离带来一定的困难.这有待采用其它的主体分子或借助其它的分离方法加以彻底解

决.实验结果表明,主客体分子相互识别形成包结物晶体的方法,是利用了分子间的弱相互作用,避免了使用酸碱或长时间加热的不足,减少了对挥发油化学成分的破坏机会.该方法分离挥发油化学组分选择性高,速度快,方法简单.

## References

- 1 Xu, G. - J.; He, H. - X.; Xu, L. - S.; Jin, R. - L. *Chinese Medicinal Materials*, Vol. 2, Chinese Medicine Science and Technology Press, Beijing, 1996, 1130 (in Chinese).
- 2 Li, C. - M.; Wang, A. - Y. *J. Medicine Analysis*, 1989, 9, 336 (in Chinese).
- 3 Information Center of Chinese Traditional Medicine of National Drug Administration, *Handbook of Effective Components of Plant Medicine*, People's Health Publishing House, Beijing, 1986, p. 56 (in Chinese).
- 4 Peng, B.; Guo, Z. - D.; Zhang, J. - C. *J. Chin. Pharmacology*, 1997, 32, 337 (in Chinese).
- 5 Chen, Y. - Z.; Li, Z. - L.; Xue, D. - Y.; Han, H.; Yang, Y. - C. *Chem. Res. Chin. Univ.*, 1985, 6, 1075 (in Chinese).
- 6 Tanaka, K.; Toda, F. *Chemistry and Industry*, 1988, 1643.
- 7 Toda, F.; Ward, D. L.; Hart, H. *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 3865.

(Ed. SHEN Hong)

(DONG Hua - Zhen)