

## 第四节 黄酮类化合物的检识与结构鉴定

目前主要采用的方法有：

- ①与标准品或与文献对照PPC或TLC得到的 $R_f$ 或 $hR_f$ 值 ( $R_f \times 100$ )
- ②分析对比样品在甲醇溶液中及加入诊断试剂后得到的UV光谱
- ③ $^1\text{H}$ -NMR
- ④ $^{13}\text{C}$ -NMR
- ⑤MS

# 一、色谱在黄酮类鉴定中的应用

## 1. 纸层析(PPC)

- 苷类成分可采用双向展开，第一相展开采用醇性溶剂，如BAW系统（正丁醇：醋酸：水4：1：5上层）；第二相展开用水性溶剂，如氯仿：醋酸：水（3：6：1）  
苷元则多采用醇性溶剂。  
花色苷及其苷元，可用含盐酸或醋酸的溶剂。
- 显色剂：2%三氯化铝甲醇液（紫外光下检测）；1% $\text{FeCl}_3$  / 1% $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1:1)混合液。

## 2. 薄层层析(TLC)

### 1) 硅胶薄层

用于弱极性黄酮较好。

常用甲苯：甲酸甲酯：甲酸（5：4：1）；  
苯：甲醇（95：5）或苯：甲醇：冰醋酸  
（35：5：5）等。

## 2) 聚酰胺层析

- 适用范围广，可分离含游离酚羟基或其苷类。
- 常用展开系统：乙醇：水（3：2）；丙酮：水（1：1）等。

## 二、紫外光谱在黄酮类鉴定中的应用

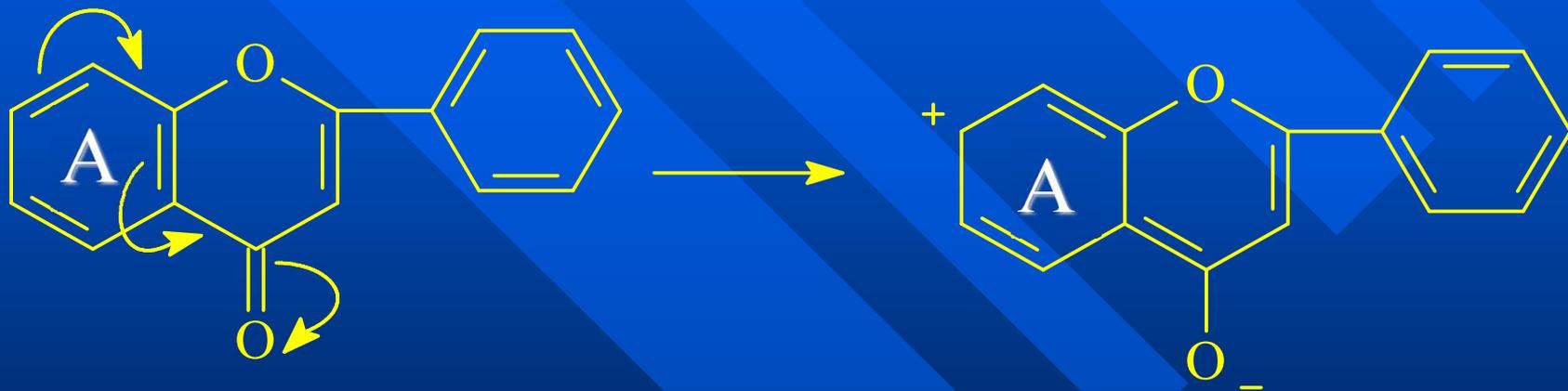
- 可用于确定黄酮母核类型及确定某些位置是否含有羟基。
- 一般程序：
  - ①测定样品在甲醇中的UV谱以了解母核类型；
  - ②在甲醇溶液中分别加入各种诊断试剂后测UV谱和可见光谱以了解3,5,7,3',4'有无羟基及邻二酚羟基；
  - ③苷类可水解后（或先甲基化再水解），再用上法测苷元的UV谱以了解糖的连接位置。

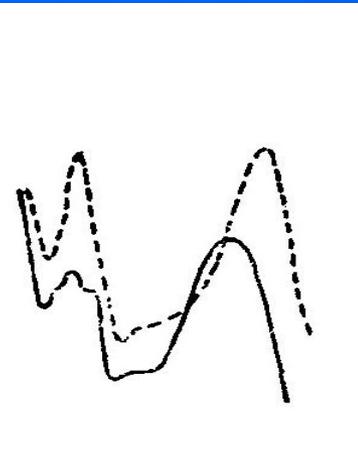
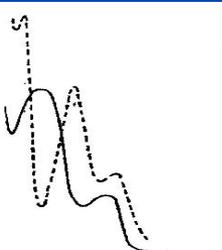
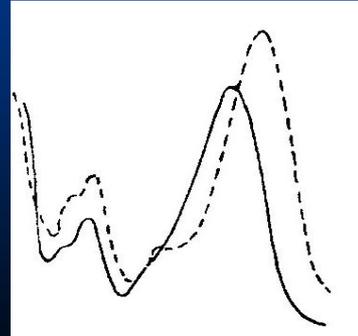
## (一) 黄酮类化合物在甲醇溶液中的紫外光谱

- 多数黄酮类化合物由两个主要吸收带组成：  
带I在300-400nm区间，由B环桂皮酰系统的电子跃迁所引起。

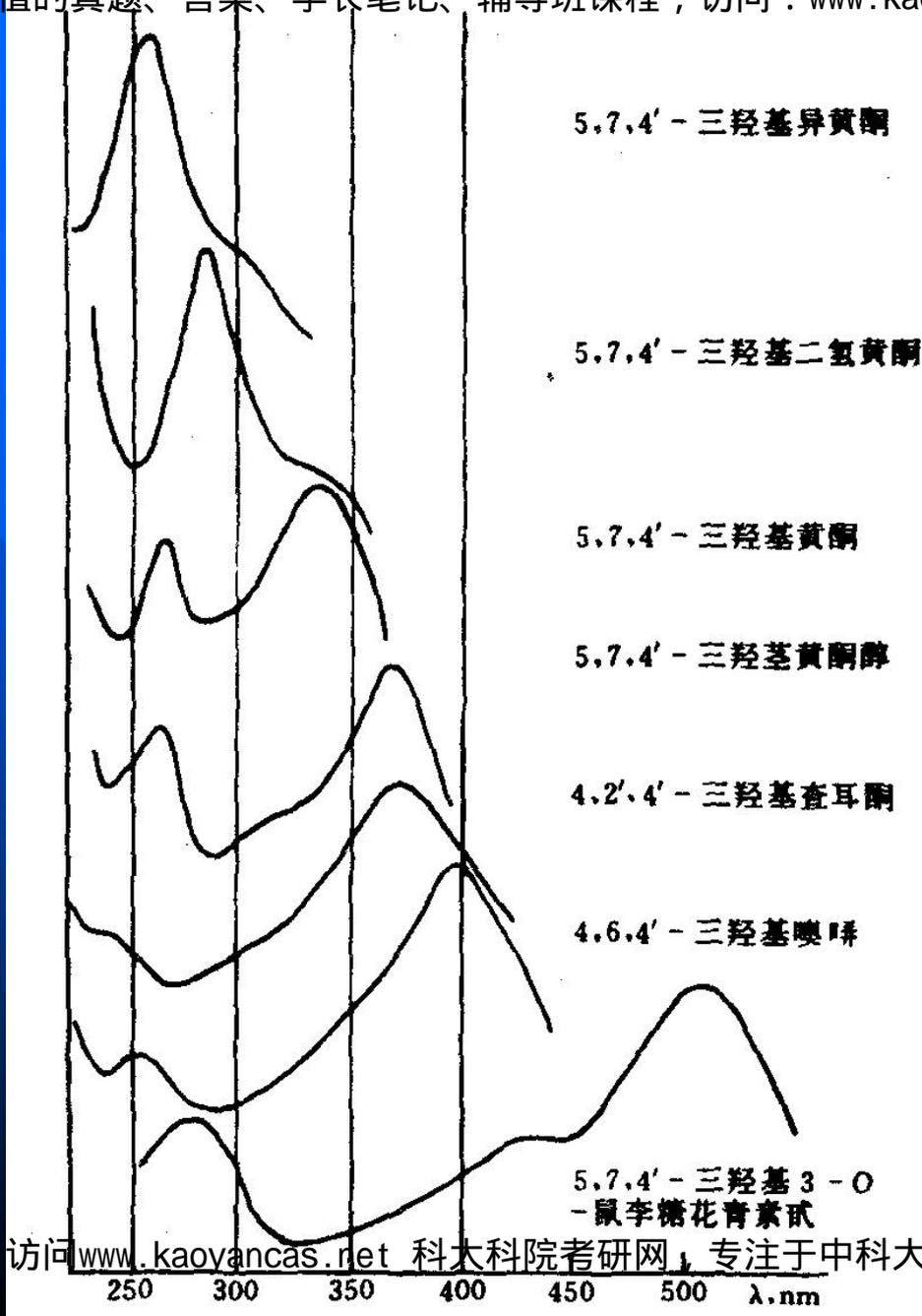


带II在240-285nm区间，由A环苯甲酰系统的电子跃迁所引起。



	带II(240-285nm) (苯甲酰系统)	带I(300-400nm) 桂皮酰系统	类型	说明
	250-285	304-350	黄酮类	-OH越多，带I带II越红移
		328-357	黄酮醇类 (3-OR)	B环3',4'有-OH基，带II为双峰（主峰伴肩峰）
		352-385	黄酮醇类 (3-OH)	
	245-270 270-295	300-400	异黄酮类 二氢黄酮 (醇)	B环上有-OH, OCH3对带I影响不大
	220-270	340-390 或340-390(Ia) 300-320(Ib)	查耳酮类	查耳酮2'-OH使带I红移的影响最大
		370-430(3-4个小峰)	橙酮类	

# 不同类型黄酮类化合物的紫外光谱



## 2. 加入诊断试剂后引起的位移及结构测定

加入试剂	带II	带I	说明
样品+MeOH (黄酮类及黄酮醇类)	250-285	304-385	两峰强度基本相同，具体位置与母核上电负性取代基(-OH, -OCH <sub>3</sub> )有关，-OH, -OCH <sub>3</sub> 越多，越长移
+NaOMe	A环有-OH，红移小，无意义	$\Delta 40-60\text{nm}$ ( $\epsilon$ 不变或增强) $\Delta 50-60\text{nm}$ ( $\epsilon$ 下降)	有4'-OH，无3-OH 有3-OH，无4'-OH
	带I, II随加NaOMe时间延长，逐渐衰减		有3,4'-OH或3,3',4'-OH (衰减更快)
		320-330nm有吸收，成苷后消失	7-OH
+NaOAc (未熔融)	$\Delta 5-20$	在长波一侧有明显的肩峰	7-OH

+NaOAc (熔融)		$\Delta$ 40~65	有4'-OH
+NaOAc/ H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	$\Delta$ 5 - 10	$\Delta$ 12-30	有6,7-OH或7,8-OH (5,6-OH无) B环有邻二酚羟基
AlCl <sub>3</sub> / HCl		$\Delta$ 60 $\Delta$ 50-60 $\Delta$ 35-55 $\Delta$ 17-20 $\Delta$ 0	有3-OH 有3,5-二OH 有5-OH, 无3-OH 有6-OR 无3-OH, 5-OH
AlCl <sub>3</sub> 光谱- AlCl <sub>3</sub> / HCl光谱		30-40 50-65 0	B环有邻二酚羟基 A,B环皆有邻二酚羟基 A,B环皆无邻二酚羟基

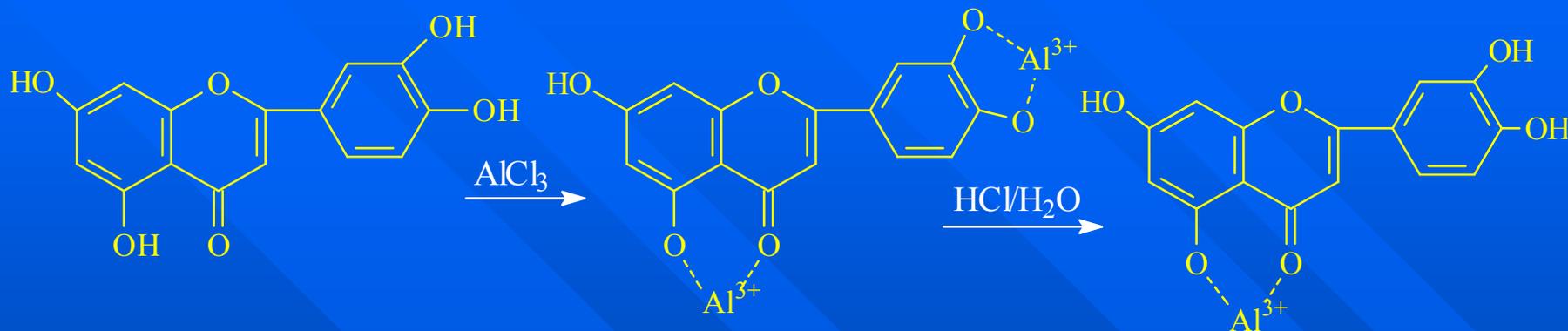
## 说明：

(1) +NaOMe或NaOAc,  $\text{OH} \rightarrow \text{ONa}$ , 变为离子化合物，共轭系统中的电子云密度增加，红移

另有3,4'-OH或3,3',4'-OH时，在NaOMe作用下易氧化破坏，故峰有衰减。

(2) NaOAc为弱碱，仅使酸性较强，如7,4'-OH解离。

(3)



形成络合物的能力：

黄酮醇3-OH > 黄酮5-OH（二氢黄酮5-OH） > 邻二酚羟基 > 二氢黄酮醇5-OH

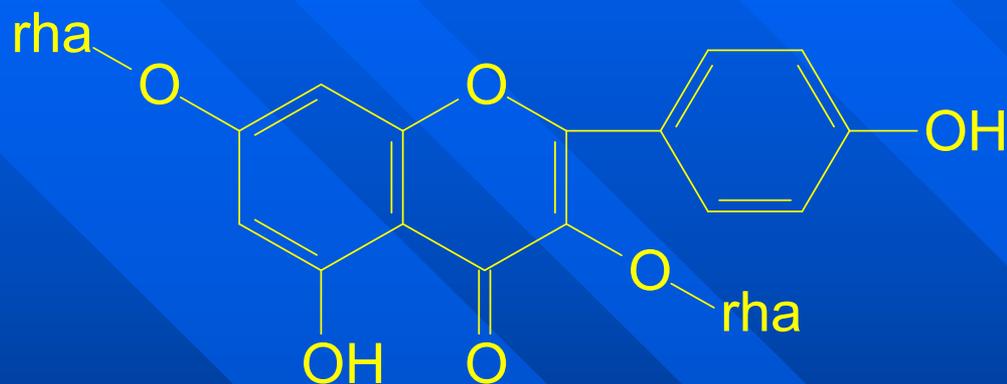
邻二酚羟基和二氢黄酮醇5-OH在酸性条件下不与AlCl<sub>3</sub>络合；

但不在酸性条件下，五者皆与Al<sup>3+</sup>络合；  
形成络合物越稳定，红移越多。

(4) 根据只加 $\text{AlCl}_3$ 和加入 $\text{AlCl}_3$ 及盐酸的紫外光谱吸收峰位相减的结果，可以判断邻二酚羟基的取代情况。

从中药柴胡中分离得到山柰苷，经酸水解后，用PC检出有鼠李糖，山柰苷及山柰酚的紫外光谱数据如下：

UV $\lambda$ max(nm)	山柰苷		山柰酚	
	带II	带I	带II	带I
MeOH	265	345	267	367
NaOMe	265	388	278	416 (分解)
AlCl <sub>3</sub>	275	399	268	424
AlCl <sub>3</sub> /HCl	275	399	269	424
NaOAc	265	399	276	387
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	265	345	267	367

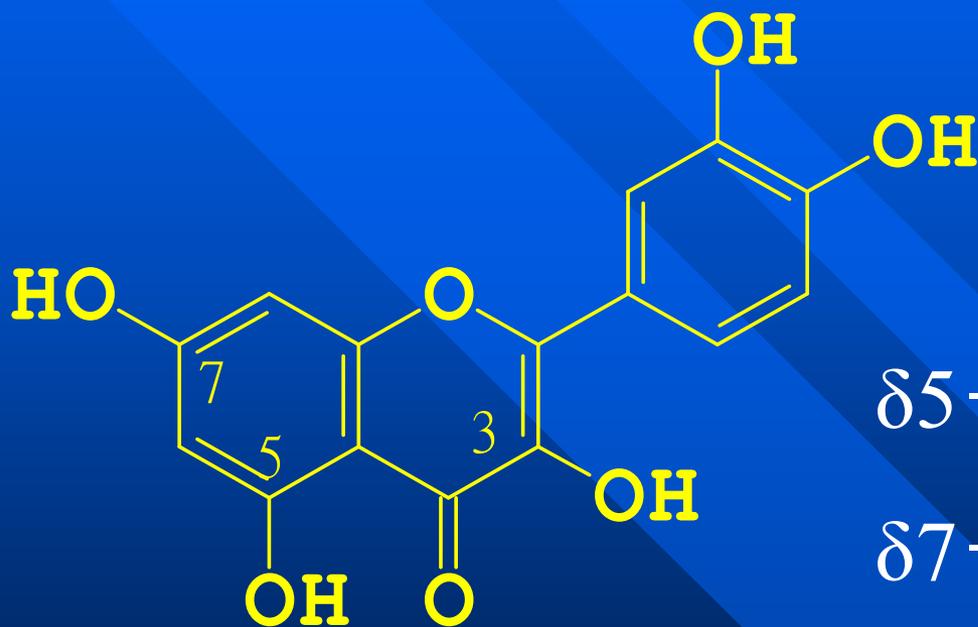


山柰酚3, 7-二鼠李糖苷

## 三、 $^1\text{H-NMR}$

- 常用溶剂：氘代氯仿 ( $\text{CDCl}_3$ )，氘代二甲基亚砷 ( $\text{DMSO-d}_6$ )，氘代吡啶 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )。
- 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。

# 黄酮类化合物<sup>1</sup>H-NMR谱(DMSO-d<sub>6</sub>)羟基的特征



$\delta 5-\text{OH}: \approx 12 \text{ ppm}$

$\delta 7-\text{OH}: \approx 11 \text{ ppm}$

$\delta 3-\text{OH}: \approx 10 \text{ ppm}$

- 氘代二甲基亚砷（DMSO-d<sub>6</sub>）对鉴别黄酮母核上的酚羟基，是十分理想的溶剂，在试样中加入重水（D<sub>2</sub>O）羟基质子信号消失。

# 黄酮类<sup>1</sup>H-NMR (三甲基硅醚衍生物溶于四氯化碳中测定)

## (一) A环质子

### 1. 5,7-二-OH黄酮



H-6, H-8,  $\delta$ 5.7-6.9,  $J=2.5\text{Hz}$

H-6较H-8高场

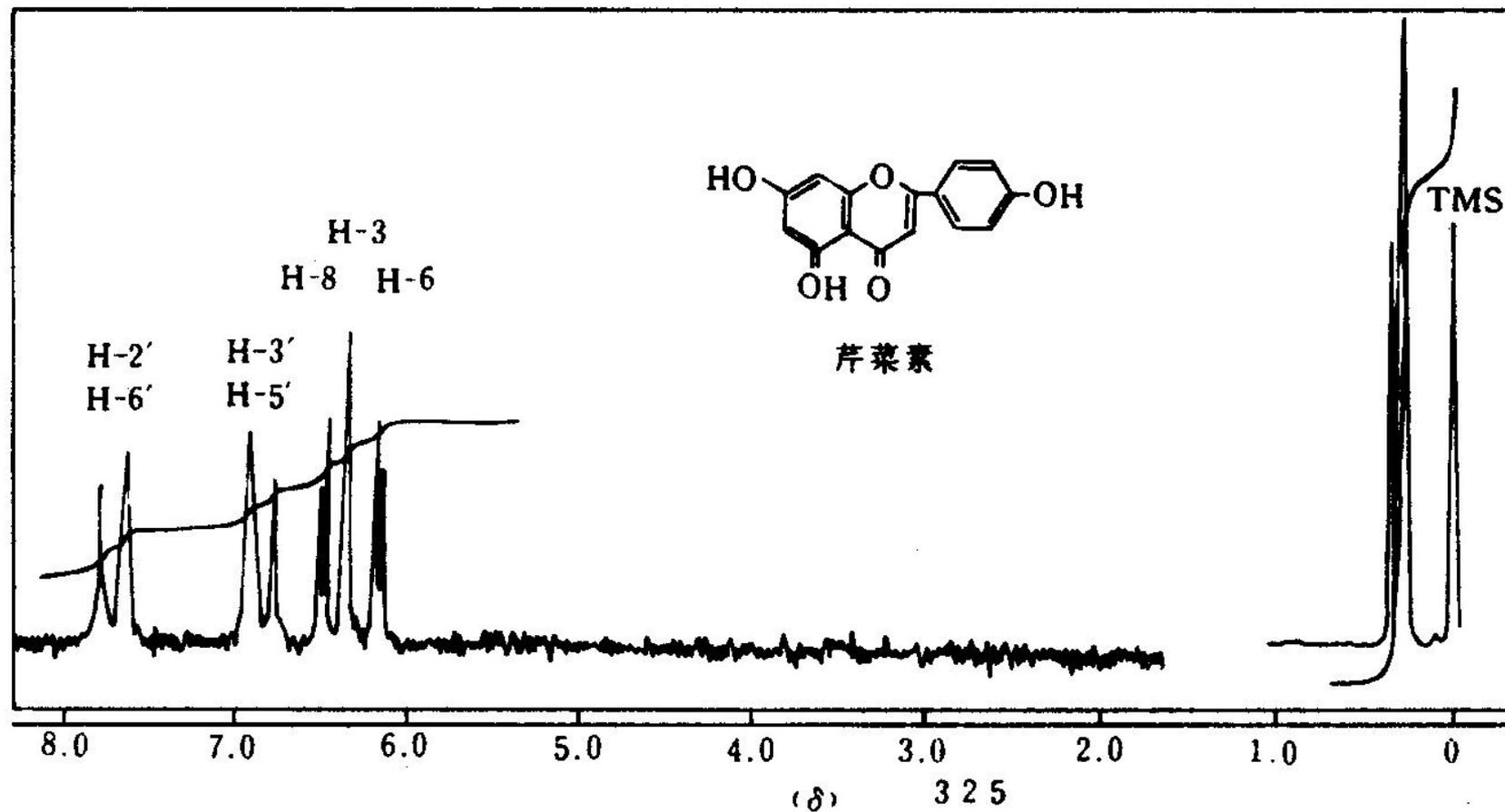
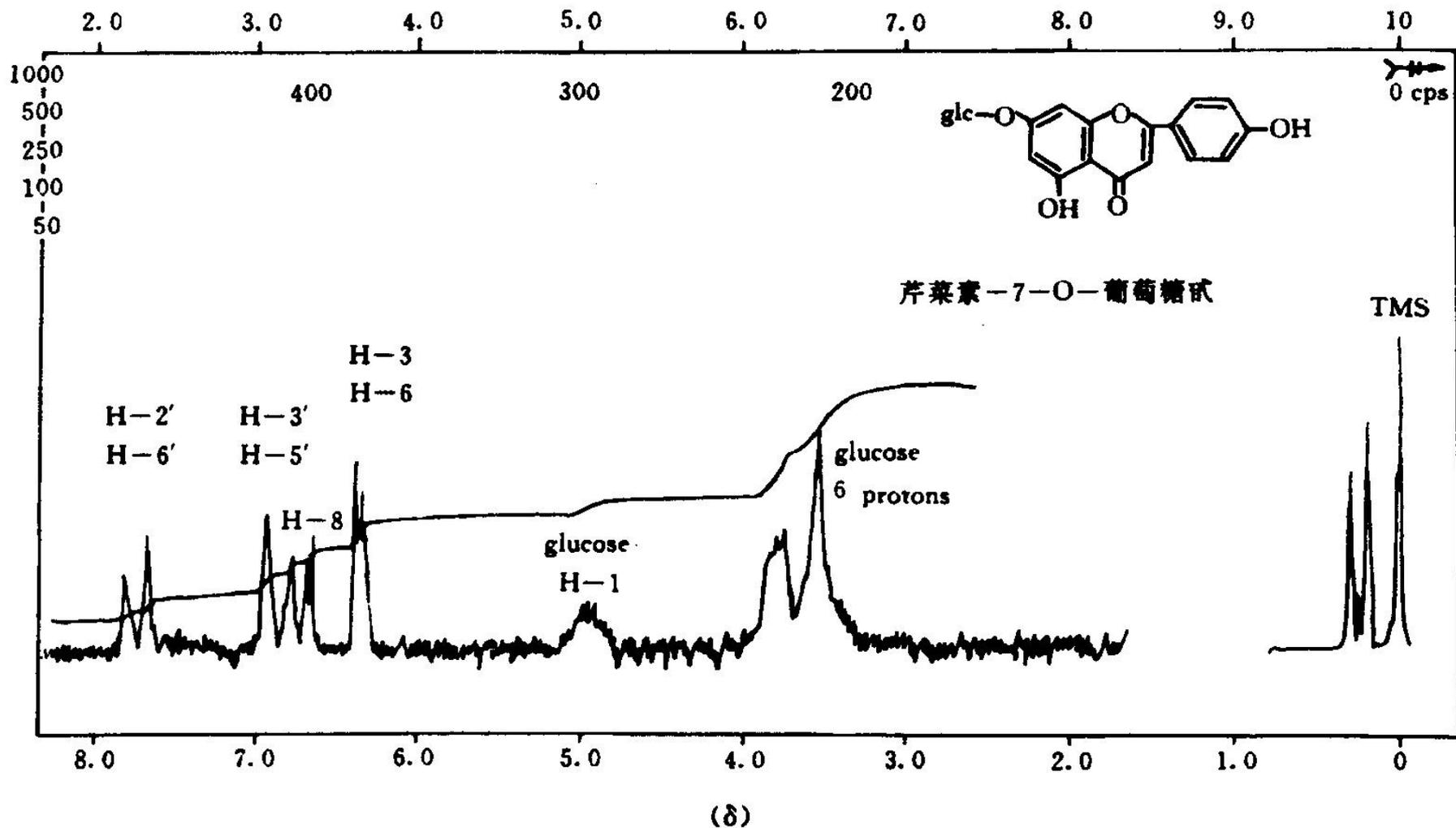
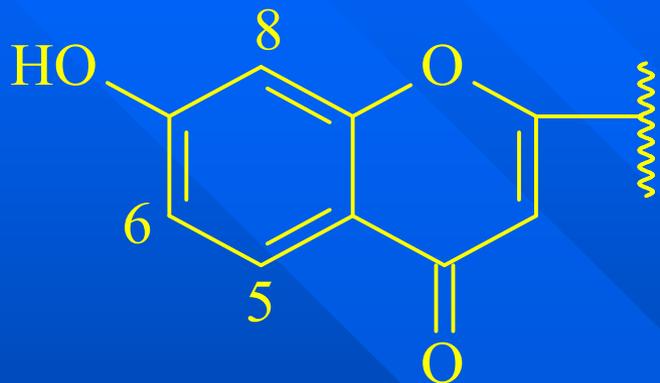


图 7-10 芹菜素三甲硅醚在四氯化碳中的核磁共振谱

- 当7-OH成苷时，则H-6及H-8信号均向低场方向位移。



## 2. 7-OH黄酮



H-5  $\delta$  7.7-8.2 (d,  $J=9\text{Hz}$ )

H-6  $\delta$  6.4-7.1 (dd,  $J=9, 2.5\text{Hz}$ )

H-8  $\delta$  6.8-7.0 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ )

H-5较H-6、H-8低场，是由于羰基的负屏蔽效应的影响。

H-6、H-8较5, 7-二OH黄酮在较低场，且相互位置可能颠倒。

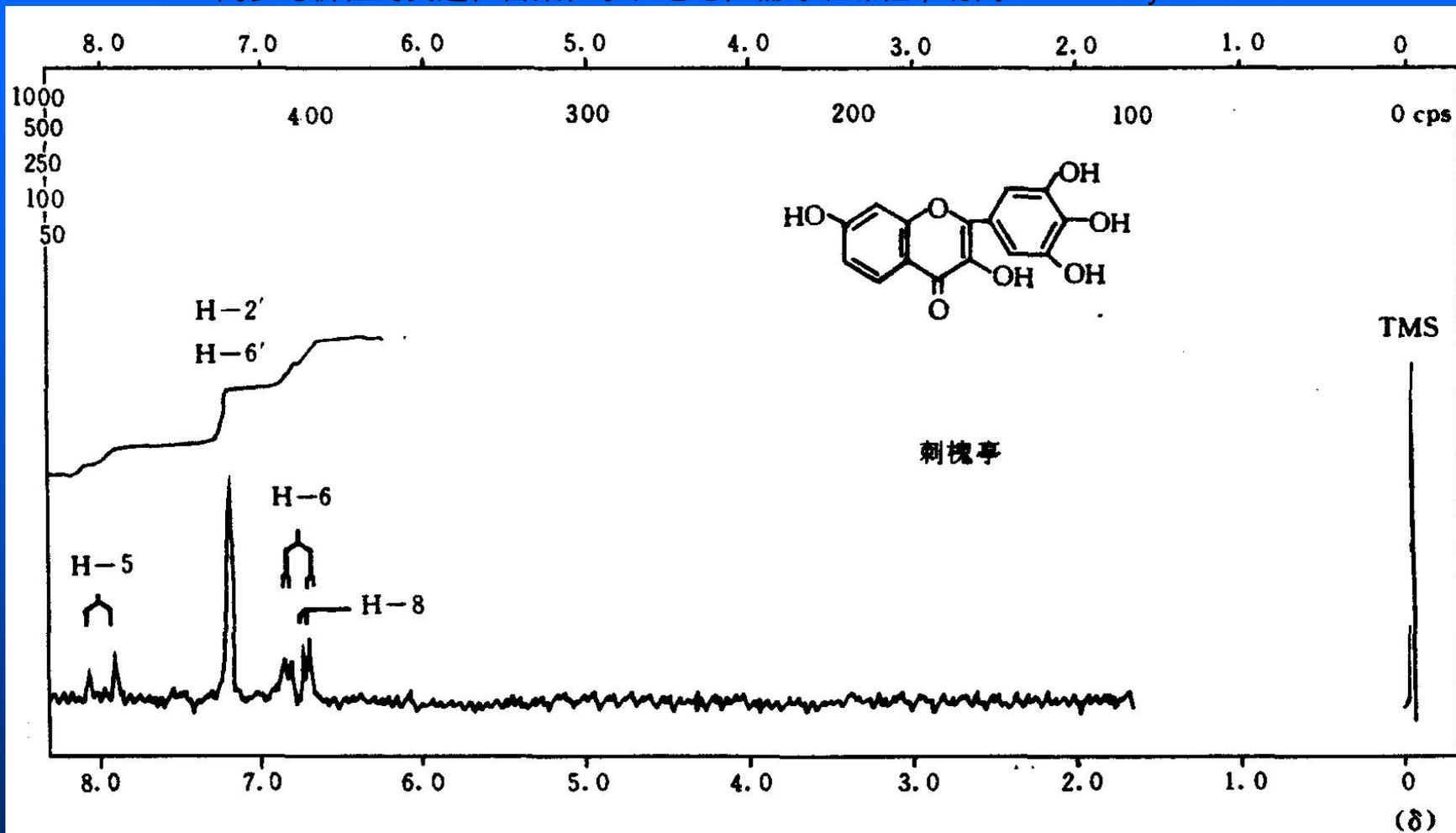
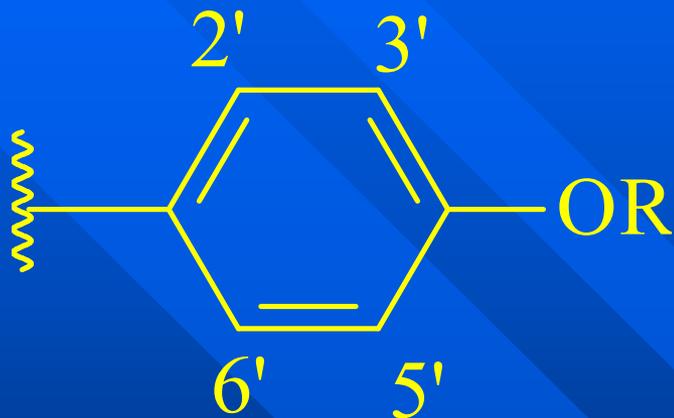


图 7-12 刺槐亭三甲硅醚衍生物在四氯化碳中的核磁共振谱

## (二) B环质子 $\delta$ 6.5-8

### 1. 4'-氧取代黄酮类化合物



H-3', 5'  $\delta$  6.5-7.1, d,  $J=8.5\text{Hz}$

H-2', 6'  $\delta$  7.1-8.1, d,  $J=8.5\text{Hz}$

由于C环对H-2', 6'的负屏蔽作用大于对H-3', 5', 且H-3', 5'受4'-OR的屏蔽作用，故前者较低场；

C环氧化程度越高，H-2', 6'处于越低场的位置。

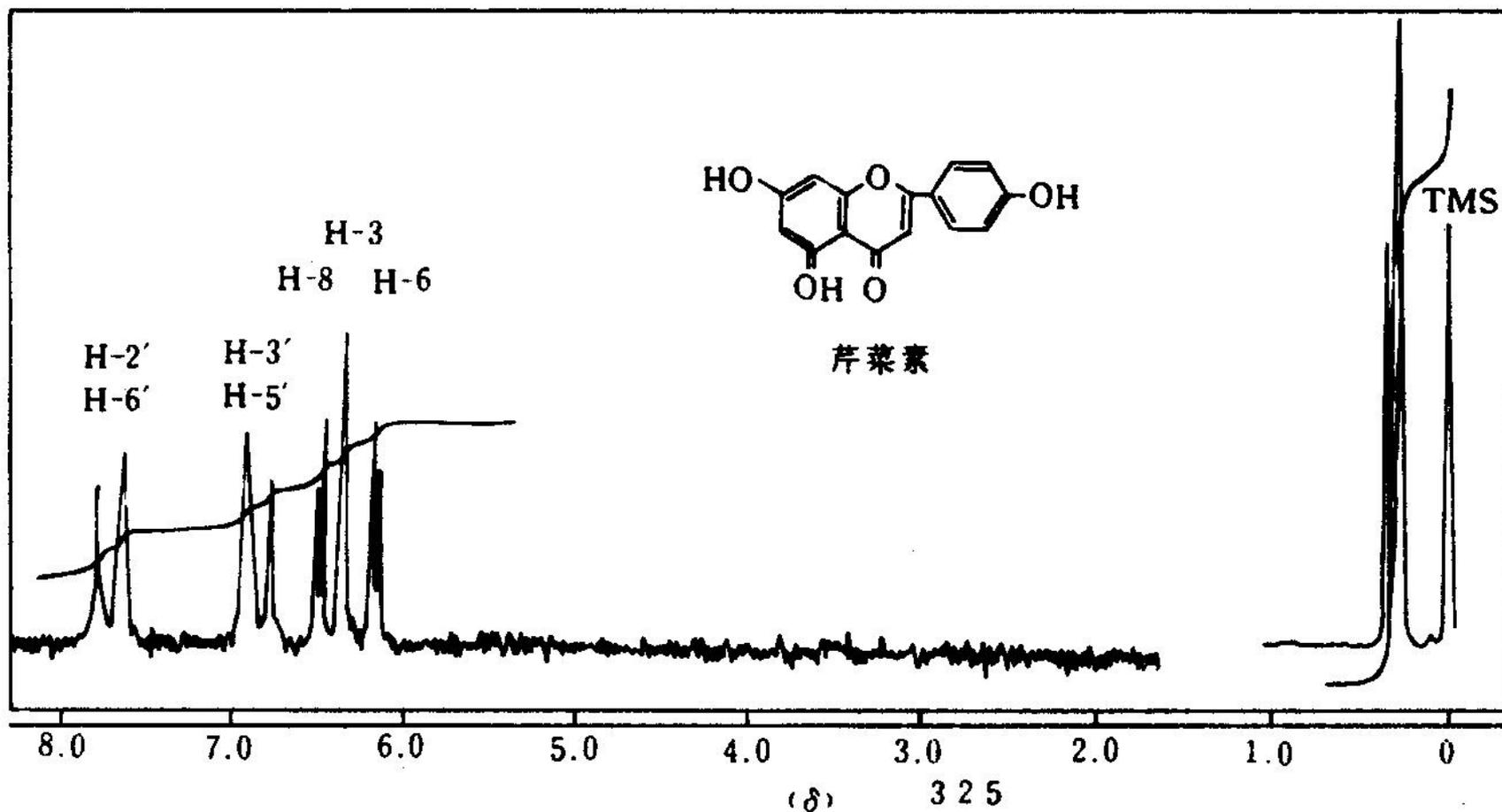
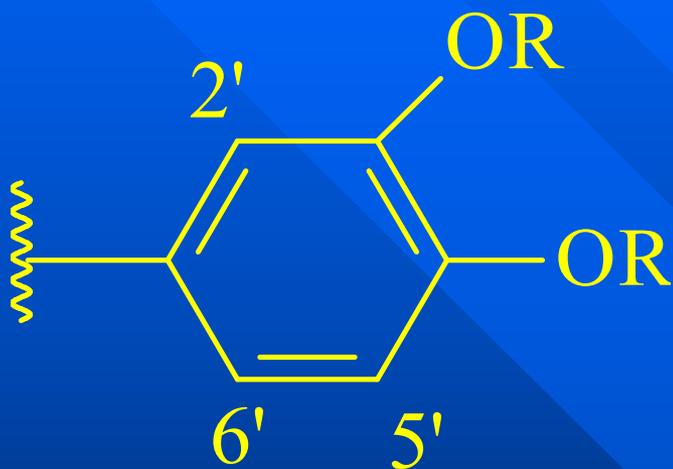


图 7-10 芹菜素三甲硅醚在四氯化碳中的核磁共振谱

## 2. 3', 4'-二氧取代黄酮类化合物



(1) 3', 4'-二氧取代黄酮及黄酮醇

H-5'  $\delta$  6.7-7.1 d,  $J=8.5\text{Hz}$

H-2'  $\delta$  7.2 d,  $J=2.5\text{Hz}$

H-6'  $\delta$  7.9 dd,  $J=2.5, 8.5\text{Hz}$

H-2' 受C环负屏蔽和3'-OR屏蔽作用，H-6' 也受C环负屏蔽作用，而H-5' 则仅4'-OR屏蔽作用。故由低场到高场的顺序为：H-6'  $\rightarrow$  H-2'  $\rightarrow$  H-5'。

但有时也会发生H-2'和H-6'重叠的现象。

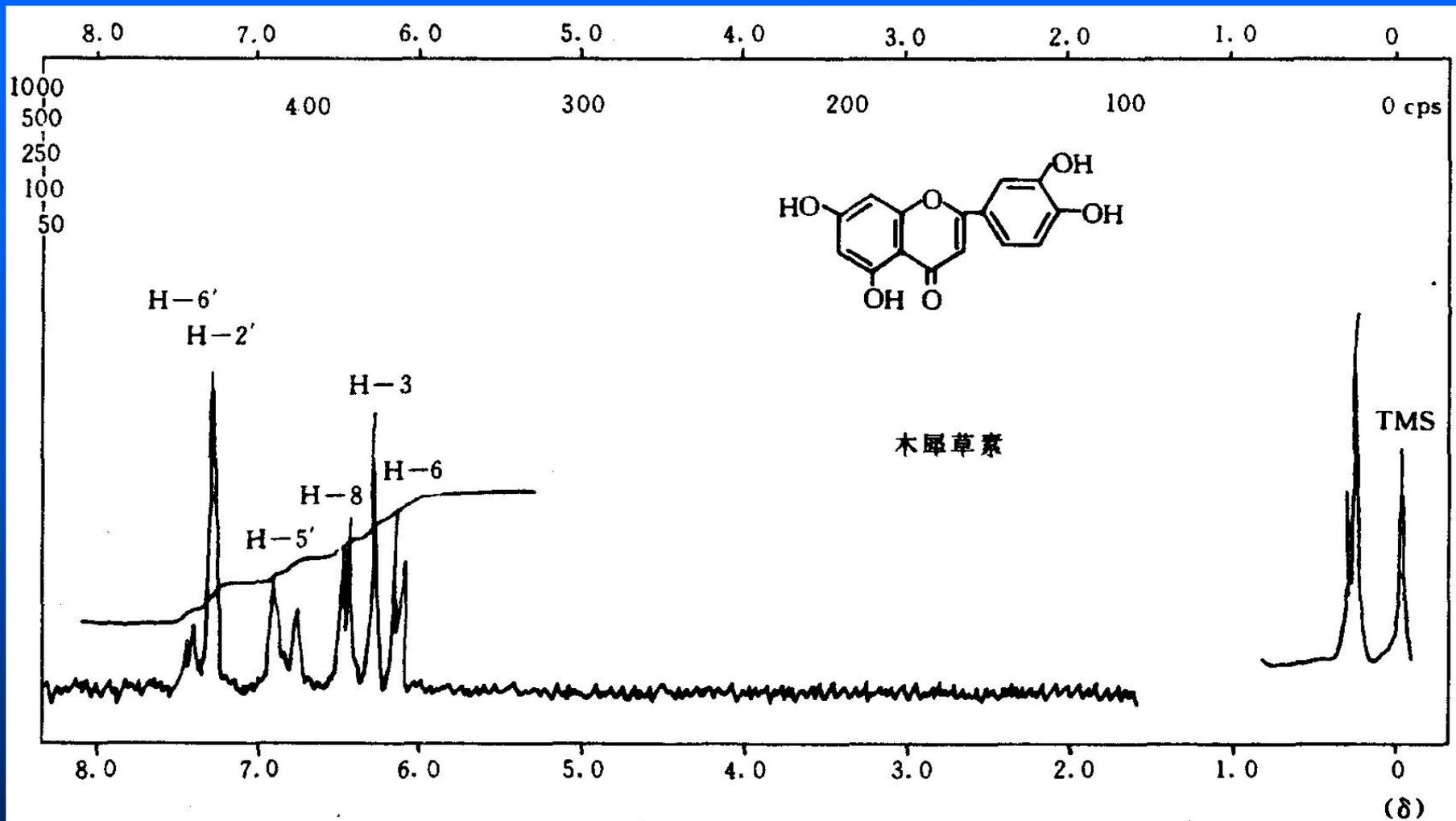


图 7-13 木犀草素三甲硅醚衍生物在四氯化碳中的核磁共振谱