

摘要

本文以茶叶粗提物酯型儿茶素为研究对象,设计和合成了杯芳烃及其衍生物为萃取剂,并研究了萃取剂分子与酯型儿茶素单体分子萃取性能的相关性。主要内容有以下三方面:

1. 合成了 3 种不同空腔大小的杯芳烃,再通过对对叔丁基杯[8]芳烃下缘酚羟基进行化学修饰,制备了 1 种对叔丁基杯[8]芳烃酯的衍生物和 7 种不同烷基链长的对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物,并对所合成的化合物的结构进行了表征。

2. 采用不同空腔的杯芳烃作为萃取剂,研究了天然酯型儿茶素单体分别在含有疏水性杯芳烃萃取剂的氯仿-水两相体系中的萃取分配行为,考察了不同的萃取剂、对叔丁基杯[8]芳烃的浓度及萃取温度对分配系数 K 和分离因子 α 的影响。实验结果表明,对叔丁基杯[8]芳烃为最佳的萃取剂,它与 GCG(没食子儿茶素没食子酸酯)形成复合物的稳定性比与其它两种单体 EGCG(表没食子儿茶素没食子酸酯)和 ECG(表儿茶素没食子酸酯)形成的复合物的稳定性大;且当对叔丁基杯[8]芳烃的浓度为 3.79mmol/L ,温度为 4°C , K_{GCG} 、 K_{ECG} 和 K_{EGCG} 分别为 0.987, 0.629 和 0.449, 分离因子 α_1 和 α_2 分别为 1.45 和 1.596;影响杯芳烃萃取性能的关键是空腔的大小和氢键。

3. 采用不同烷基链的对叔丁基杯[8]芳烃醚萃取剂,研究了天然酯型儿茶素单体分别在含 7 种不同烷基链长的对叔丁基杯[8]芳烃醚萃取剂的氯仿-水两相体系中的萃取分配行为,考察了不同的萃取剂、对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的浓度及萃取温度对酯型儿茶素的分配系数 K 和分离因子 α 的影响。实验结果表明,对叔丁基杯[8]芳烃己基醚为最佳的萃取剂,它与 ECG 形成包合物的稳定性比 EGCG 和 GCG 形成的包合物的稳定性大;在对叔丁基杯[8]芳烃己基醚浓度为 0.052mol/L ,温度为 5°C , K_{GCG} 、 K_{ECG} 和 K_{EGCG} 分别为 0.53, 1.42 和 0.30, 分离因子 α_1 和 α_2 分别为 2.68 和 1.78。

关键词 对叔丁基杯[n]芳烃, 合成, 酯型儿茶素单体, 萃取

ABSTRACT

In this paper, the polyphenol (the rough extract from tea) was used as study object, calixarene and its derivatives were designed and synthesized as extractant, the relationship of extraction behavior between extractant and ester catechins monomer was investigated. The main contents contain the three following respects:

1. Three tert-butylcalix[n]arene ($n=4, 6, 8$) in different cavity size were synthesized. Tert-butylcalix[8]arene was modified by introducing many kinds of functional groups at the "lower" rim. Octaacetate of tert-butylcalix[8]arene and seven different Octaalkylethers of tert-butylcalix[8]arene were prepared. The structures of the compounds synthesized were determined by IR, ^1H NMR, MS spectra and elemental analysis.

2. All calixarene as extractants dissolved in the chloroform. Distribution behaviors of ester catechins monomers was studied in the aqueous and chloroform of two-phase system containing one of calixarene. The influence of different extractants, different concentrations of tert-butylcalix[8]arene and extraction temperatures on the partition coefficients K and the separation factors α for ester catechins monomers were investigated. The experiment results show that the tert-butyl calix[8]arene is the best extractant that forms a more stable complex with GCG (galocatechin gallate) than with EGCG (epigallocatechin gallate) or ECG (epicatechin gallate). When the concentration of p-tert-butylcalix[8]arene is 3.79 mmol/L, the extraction temperature is 4°C, the partition coefficients of K_{GCG} , K_{ECG} , K_{EGCG} are 0.987, 0.629, 0.449, the separation factors of α_1 and α_2 are 1.45, 1.596, respectively. The important factors influencing the extraction properties of calixarene were discovered to be its cavity size and hydrogen bonding.

3. A series of octaalkylethers of tert-butylcalix[8]arene as extractants dissolved in the dichloromethane. Distribution behaviors of ester catechins monomers was studied in the aqueous and dichloromethane of

two-phase system containing one of octaalkylethers of tert-butylcalix[8]arene. The influence of different extractants, different concentrations of octahexylether of tert-butylcalix[8]arene and extraction temperatures on the partition coefficients K and the separation factors α for ester catechins monomers were investigated. The experiment results show that the octahexylether of tert-butylcalix[8]arene is the best extractant that forms a more stable complex with ECG (epicatechin gallate) than with EGCG (epigallocatechin gallate) or GCG (gallocatechin gallate). When the concentration of octahexylether of tert-butylcalix[8]arene is 0.052 mol/L, the extraction temperature is 5°C, the partition coefficients of K_{GCG} , K_{ECG} , K_{EGCG} are 0.53, 1.42, 0.30, the separation factors of α_1 and α_2 are 2.68, 1.78; respectively.

KEY WORDS tert-butylcalix[n]arene, synthesis, ester catechins monomers, extraction

原创性声明

本人声明，所提交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了论文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中南大学或其他单位的学位或证书而使用过的材料。与我共同工作的同志对本研究所作的贡献均已在在论文中作了明确的说明。

作者签名：_____ 日期：_____年__月__日

关于学位论文使用授权说明

本人了解中南大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以采用复印、缩印或其它手段保存学位论文；学校可根据国家或湖南省有关部门规定送交学位论文。

作者签名：_____ 导师签名  日期：07年4月21日

第一章 绪论

超分子化学在化学、生命科学和材料科学方面已展现出很好的应用前景。杯芳烃是对位取代的苯酚与甲醛反应得到的环状缩合物,是继冠醚和环糊精之后的第三代主体化合物。具有可调节大小的疏水性内腔,容易进行化学修饰,能衍生出功能各异的杯芳烃衍生物。利用这些性质,杯芳烃已作为萃取剂广泛用于金属离子和中性分子的萃取^[1-8]。

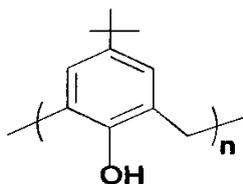
天然酯型儿茶素的研究始于 20 世纪 90 年代,目前广泛应用于化妆品、日用化工、精细化工、医药和保健品等。现代临床医学证明,茶多酚的突出药理功能由儿茶素决定^[9-10],且茶多酚中功能活性最强的是具有烷基的酯型儿茶素,即表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)^[9-15]。酯型儿茶素各单体的结构和性质相近,采用一般的化学分离富集方法很难实现各单体的分离。目前,国内外制备儿茶素单体的方法主要有:儿茶素的高速逆流层析制备法、高效液相制备色谱法、溶剂法富集等^[16-18]。但是,这些方法都存在产品二次污染、工艺流程复杂、分离周期长、产率低等不足。

因此,以茶叶粗提物酯型儿茶素作为研究对象,采用具有分子识别功能的杯芳烃及其衍生物作为萃取剂,结合中空纤维膜分步萃取技术,进行制备性分离研究,这将大幅度提高分离纯化效率、降低成本,具有较大的理论价值和非常广阔的应用前景。

1.1 杯芳烃及其衍生物合成的研究进展

1.1.1 杯芳烃的制备

杯芳烃(calixarene)是一类由对烷基酚与甲醛经缩合反应形成的大环化合物。其结构的底部排列着数个羟基,而在其结构的上部具有疏水空穴,分子模型的形象像个杯子,故称之为“杯芳烃(calixarene)”^[19-20]。其中“Calix”在拉丁文和希腊文中意思是“杯”,而“arene”则是芳烃的意思。为了区分不同腔环大小的杯芳烃,通常在“杯”(Calix)和“芳烃”(arene)间插入“n”,其中“n”代表环状低聚物中苯酚单元数目,如杯[6]芳烃(calix[6]arene)。



$$n=4-20$$

图 1-1 杯芳烃的结构

从分子结构上看，杯芳烃具有很多特点：（1）具有由亚甲基相连的苯环所构成的大小可调的空腔和环状排列的酚羟基，可分别与离子及中性分子形成主-客体包合物；（2）合成方法简单，易于大量制备；（3）易于可进行化学修饰；（4）具有与酚醛树脂相似的化学稳定性和热稳定性（包容冠醚和环糊精二者之长），因此杯芳烃被誉为继冠醚和环糊精后的第三代主体分子^[21]，在超分子化学领域有着广泛的应用前景。杯芳烃的合成方法一般可分为三类：一步合成法、逐步合成法和片段缩合法。

一步合成法是指用酚类化合物与醛在酸碱催化下合成杯芳烃，最初是由 Zinke 等发现的，后来被 Comforth, Gutsche^[22-23]等改进和完善。对叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基杯[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃这三种杯芳烃的合成研究已相当成熟了，即用对叔丁基苯酚和甲醛在适当的碱和适当的溶剂中加热反应 4-6h。这三种杯芳烃容易制备，且产量和纯度高。但是奇数的杯芳烃如杯[5]芳烃、杯[7]芳烃产量就相当低了，但还是有文献记载将对叔丁基苯酚和甲醛溶于三氯甲烷中，用对甲苯磺酸为催化剂，可以得到对叔丁基杯[9]芳烃到对叔丁基杯[20]芳烃这一系列杯芳烃的混合物^[24]。

虽然上述杯芳烃都是以对叔丁基苯酚为起始原料，但是用其他的一些对位取代的酚同样也可以制备某些杯芳烃，如对苄基杯[5]芳烃、对特辛基杯[8]芳烃^[25]、对甲基杯[6]芳烃等。

一步法合成杯芳烃的最突出的优点是方法简单易于操作，由于酚醛之间的反应复杂，致使该法适应性较差，用该法合成奇数杯芳烃就不易，另外也不能直接合成带有不同取代基的杯芳烃。

逐步法合成杯芳烃首先是由 Hays 和 Hunter 提出的。该方法是以邻卤代对取代苯酚通过亚甲基逐步与对取代苯酚相连，得到一端是卤素，另一端是羟甲基的线型低聚物，然后脱卤关环成为杯芳烃。关环步骤的产率一般是较好的，但因为步骤多，总产率低。合成线路见图 1-2。

逐步法合成虽然反应步骤较多，却在一定程度上弥补了一步法在这方面的不

足。

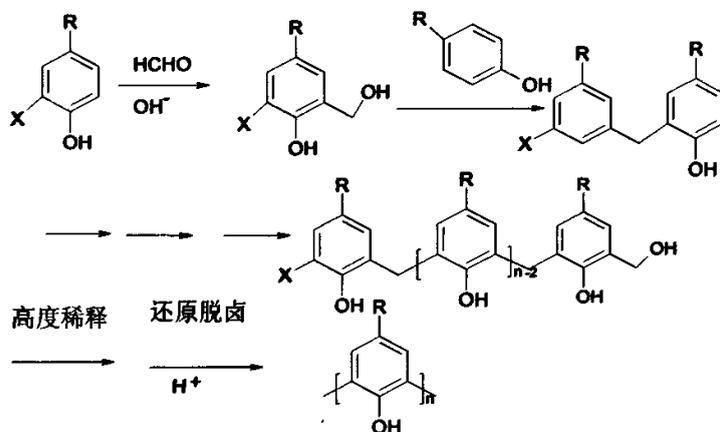


图 1-2 逐步法合成杯[n]芳烃

针对上述缺陷, Kammerer 提出以邻双(羟甲基)对取代苯酚一步合成线型三聚体, 然后与邻双(卤甲基)对取代苯酚关环的方法, 使反应步骤大大简化。合成线路如下:

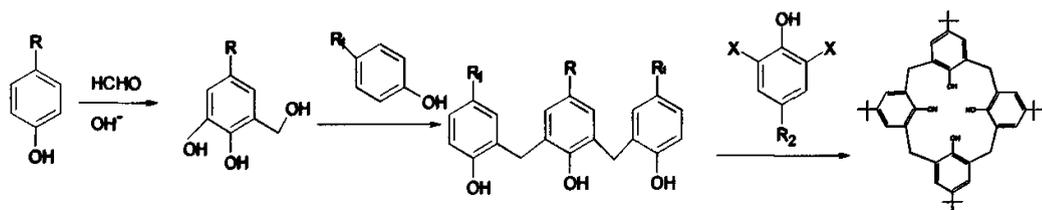


图 1-3 逐步法合成杯[n]芳烃

逐步合成法的反应步骤虽然多且总收率较低, 但特别适用于合成一些特殊带有不同取代基的杯芳烃, 如手性杯芳烃。这个优势是一步法所不能取代的。

为了保持逐步合成法的灵活性, 而又克服其步骤多的缺点, 人们又提出了片段缩合法。它采用分子间缩合关环代替逐步法的分子内缩合关环, 从而简化了反应步骤。常采用的有“3+1”^[26]、“2+2”、“2×1+2×1”、“2+2×1”、“4×1”等几种方法。

在杯芳烃的合成方法中, 一步法简单易行, 是目前做常用的合成杯芳烃的方法, 由于酚醛之间反应复杂, 致使该法适应性较差, 用该法合成奇数杯芳烃就不易。与一步法相反, 逐步法具有适应性广的优点, 理论上可以合成各种取代基及各种大小环的杯度烃, 其缺点是步骤多, 但仍是合成不对称杯芳烃及手性杯芳烃的主要方法。

1.1.2 杯[8]芳烃的修饰

杯芳烃不仅易于大量合成,而且还能作为分子平台,通过化学反应在其上、下缘位置引入特定的基团制成多种衍生物^[27-31]。

杯芳烃的衍生化反应分为两大类:一类为酚羟基反应,即将酚羟基转化为醚、酯、酰胺等官能团^[32],这也就是所谓的杯芳烃下沿衍生化。另一类反应是首先用无水 AlCl_3 处理,使之脱叔丁基,然后通过亲电取代^[33]、克莱森重排^[34]、氯甲基化^[35]、曼尼奇反应^[36]、磺化、磷酸化^[37]等反应来进行。由于杯[4]芳烃构象明确且较易控制,所以对于杯[4]芳烃的研究比较多^[37]。杯[8]芳烃由于柔韧性大构象易变,其分子识别有其特殊之处,目前衍生化研究并不多见。本文的内容以杯[8]芳烃的衍生化为主,所以,以下部分重点介绍杯[8]芳烃的衍生化。

1.1.2.1 上缘的衍生化

杯[8]芳烃上缘的衍生化仍是以通过脱去对叔丁基后,得到羟基对位空置的杯芳烃,然后引入偶氮基^[38],水溶性的磺酸基^[39],水溶性的对一二甲氨基^[40]。

1.1.2.2 下缘的衍生化

杯[8]芳烃下缘的衍生化研究也不多见,C D Gutsche^[22]用对叔丁杯[8]芳烃与乙酸酐反应,制得了八乙酰基的对叔丁基杯[8]芳烃,后来李鸿图用无水 AlCl_3 作催化剂,酰卤为酰基化试剂合成了相应的酯类衍生物^[41]。对叔丁杯[8]芳烃与氯乙酸反应生成水溶性的化合物^[42],此化合物因为羧基的氢能形成很强的分子内氢键而保持锥形构形,故可作为主体化合物。对叔丁基杯[8]芳烃和溴乙酸乙酯在 K_2CO_3 /丙酮反应体系中回流反应 5~7 d,可得到了氧代乙酸乙酯衍生物,是进行杯芳烃衍生化的常用方法^[43]。后来蔡亚华等将氧代乙酸乙酯衍生物用过量的脂肪族二胺在甲苯和乙醇混合溶剂中加热回流,酯基转化为酰胺基,得到了杯芳烃酰胺衍生物,再与水杨醛在乙醇中反应生成席夫碱衍生物,以用作合成多取代的杯芳烃树状化合物的起始分子^[44]。P Neri和G Corratelli^[45]用杯[8]芳烃与对甲基苄溴在 CsF 存在下,制得了一系列醚:单取代的、二取代、三取代、四取代、五取代、六取代、七取代。但反应96h,仍没有得到八醚化的产物,后用氯化钠作催化剂才得到八醚化的产物。

杯[8]芳烃由于柔韧性大构象易变,其分子识别有其特殊之处,进行衍生化后,有望成为新的主体化合物。

1.2 杯芳烃在萃取分离上的应用

杯芳烃是由亚甲基连接苯酚单元构成的大环受体,在杯芳烃(p-tert-butyl-calix[n]arene)的杯状结构底部紧密而有规律的排列着n个酚羟基,而杯状结构的上部具有疏水性的空穴。前者能螯合和输送阳离子,后者则能与中性分子形成包合物。由于杯芳烃这种独特的结构,离子和中性分子均可作为其形成包合物的客体^[1-6]。

1.2.1 杯芳烃对金属阳离子的识别分离

在杯芳烃上引入酰基、酰胺基、羧基等构成的人工受体对许多金属离子均能识别,与其形成稳定的配合物,并可显示独特的性能。目前已经报道的有碱金属离子、过渡金属离子(如: Cd^{2+} , Ti^{4+} , Pb^{2+} , Ru^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Ag^{+} 等)及副族金属离子等(如: U^{3+} , Th^{4+} , Eu^{3+} 和 Tb^{3+} 等)^[46-48]。其在贵金属的提取、分离及金属传感器设计等方面具有广阔的应用前景。

1.2.2 杯芳烃对金属阴离子的识别分离

1994年 Rudkovich^[49]报道了一类杯芳烃-萨罗芬双功能受体,其兼具对阴、阳离子的结合部位,能选择性的识别 Na^{+} 和 $\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$ 离子。这类受体可用于液膜输送和分离碱金属磷酸盐。1996年 Beer 等^[50]报道了上沿修饰的双胺取代杯[4]芳烃可作为阴离子受体。

1.2.3 杯芳烃对有机分子的识别分离

设计合成对中性分子具有识别性能的人工受体是生物有机化学中富于挑战性课题。Gutch 等几个研究组报道杯芳烃能识别多种有机小分子,并与其形成固态或液态包结物^[19, 51-52]。同时众多的杯芳烃衍生物也能包结一些中性有机分子。分子识别方式是以氢键、CH- π 作用、疏水作用为主要推动力,以孔穴大小、几何匹配作为选择性的主要根据。同时杯芳烃上、下缘取代基的数目、种类的不同以及构象的变化对识别亦有影响。Shinkai 研究了水溶性杯[n]芳烃对三甲胺型阳离子客体的识别作用,发现其与客体形成 1:1 (n=4,6)或 1:2 (n=8)配合物^[53],并且杯芳烃的多种构象异构体中只有锥式异构体才能与客体良好地匹配。识别的主要推动力为静电作用和疏水作用^[52-53]。最近报道,杯芳烃类受体能识别分子较大的有机分子,与多种醌、二茂铁、甾体、氯化血红素、核黄素、 VB_{12} 、碳笼、染料

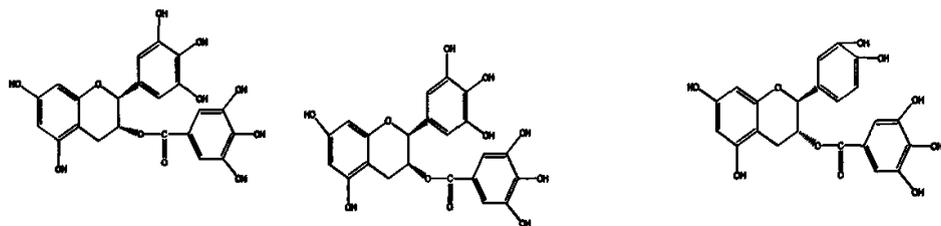
分子等均能形成稳定的配合物^[54]，显示了很大的应用潜力。

1.3 天然酯型儿茶素的研究

1.3.1 天然酯型儿茶素的概述

茶叶的种植和应用在我国已有几千年的历史，《神农食经》、《本草纲目》等典籍中均有描述，陆羽“茶经”说“诸药为诸病之药，茶为万病之药”。可见，茶叶既是食品，又是药品，是大自然赐予人类的一大宝物。喝茶有利于健康早已被人们所接受，喝茶可以预防疾病也已被实验所证实^[55-56]。研究表明，茶叶中对人体健康最有益的物质是具有很强抗氧化能力的茶多酚，它能有效清除自由基和脂类自由基，预防脂质的过氧化，而且具有抑制肿瘤发生，延缓衰老等功能。

茶多酚(Green Tea Polyphenols, 简称 GTP)是茶叶中黄烷醇类、黄烷双醇、黄酮类、酚酸类和花色素类化合物的总称，系呈浅绿色或汪黄色的粉末，约占茶叶干重的 15%-25%。其中黄烷醇类所占比例最大，占多酚类总量的 80%，通常把黄烷醇类称儿茶素^[57]。主要有以下几种：表儿茶素(EG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表没食子儿茶素(EGC)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)、儿茶素(C)，其中含量最高的几种为 EGCG、EGC、ECG(结构如图 1)和 EC，分别占 50%-60%，15%-20%，10%-15%，5%-10%^[58-59]。儿茶素类化合物因多含酚性羟基，故极易发生氧化、聚合、缩合等变化，决定其具有较好的抗氧化能力和清除自由基能力。研究表明儿茶素类物质具有明显的抗衰老、防癌抗突变、去脂减肥、降低血糖、血脂和胆固醇、预防心血管疾病等药理功能，已广泛用于食品加工、医药保健和日用化工等领域^[60-61]。儿茶素药理功能是多种有活性组分综合作用的结果，但各儿茶素单体的药效活性都不同，尤其是酯型儿茶素 EGCG 和 ECG，它们在许多方面表现出的功效远远大于其他儿茶素组分，其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)活性最强，是绿茶提取物的最主要的活性成分。其中极具抗氧化、抗癌和清除体内自由基的活性成分为 EGCG，被世界公认为是“继紫杉醇后从天然植物中提取的最理想的抗癌药物”。研究表明，EGCG 的抗氧化、防辐射作用是维生素 E 的 200 倍。还有研究表明，EGCG 具有防治糖尿病肾病的作用，可能通过抑制氧化应激和增强机体的抗氧化的防御功能，并改善和降低 Hcy，从而对肾脏具有保护作用^[62]。GCG 为 EGCG 的反式异构体，除具有 EGCG 的药效功能外，还具有一些优异的独特性能，如降压、降胆固醇、抑制酪氨酸酶等。但由于儿茶素单体(结构如图 1-4 所示)的化学结构和性质十分相近，而且极易氧化、聚(缩)合，因而很难得到高纯度的儿茶素各组分单体^[63]。



EGCG (表没食子儿茶素没食子酸酯) GCG (没食子儿茶素没食子酸酯) ECG (表儿茶素没食子酸酯)

图 1-4 酯型儿茶素单体分子结构图

1.3.2 天然酯型儿茶素的应用研究

1.3.2.1 血管清道夫

酯型儿茶素具有降低低密度酯蛋白和提高高密度酯蛋白功效,使血液黏稠度下降,可预防因高血脂引起的高血压、心脏病、心肌梗塞、冠心病、脑血栓、脑梗塞以及动脉粥样硬化等一系列心脑血管疾病^[63-66]。

1.3.2.2 作保健品

酯型儿茶素不仅可以防治因高血压、高血脂引起的一系列心脑血管疾病,还有抗衰老、抗辐射、抗菌抗病毒、防治龋齿、除臭、减肥等保健功能^[67-69]。

酯型儿茶素作为从茶叶中提取的植物提取物,具有其他中药保健品所没有的特点,即含量清楚,化学结构明确,组分相对单一,符合国外流行的第三代保健食品发展方向和消费需求。因此,茶类黄酮作为保健食品首先进入市场将有十分光明的前景。

1.3.2.3 抗肿瘤

目前,国内外医学机构(如美国国家癌症研究所、日本国立遗传学研究所,广州军区武汉总医院等),对儿茶素(特别是酯型儿茶素 EGCG、ECG)的医药功能,如抗肿瘤的机理进行广泛的研究,并证实酯型儿茶素能诱导癌细胞分化和凋亡。中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所发现 GCG、EGCG、ECG 有明显的抗癌抑癌作用,证明它有抑制黄曲霉素、苯并芘等一系列致癌物质诱导细胞回复突变作用。H Babich 等^[70]研究了 ECG 在人类口腔中的 HSC-2 癌细胞和正常的 HGF-2 纤维原细胞中的生物活性,发现 ECG 是口腔癌的一种很有效的化学预防剂。Zong Ping Chen 等^[71]的研究发现绿茶中的 EGCG 对癌细胞有显著的抑制作用,而对正常细胞的生长没有影响。大量实验表明,这种成分对一些肿瘤的生长有明显的抵制作用,对体外培养的人急性早幼粒白血病细胞株、肝癌细胞株、肺癌细胞株的生长也有明显的抑制作用。所以,将茶类黄酮做好防癌前病变片剂或胶囊保健品,将

有巨大的市场拓展空间。

1.3.2.4 作抗氧化剂

由于绿茶提取物出色的抗氧化作用^[72], 欧洲越来越多的企业进入绿茶提取行业, 用高纯度的产品 EGCG 来冲击市场。诸如 DSM 高纯度的 EGCG 产品 Tawvigo, 法国 Greentech 的化妆品 Charins L'oreal 剂, Arkopharma 公司的保健品 Exolise, Roche 的 TEAVIGOTM(中文商品名称为: 茶维力 TM)。近几年, 从中国和印度出口的绿茶提取物多用于饮料行业的原料。虽然绿茶饮料本身在多数欧洲市场很小, 但不少提取物厂家均看好其未来作为食品补充剂的巨大潜力。2003 年欧洲的需求量约为有 500t, 在国际市场上 40%EGCG 价格范围约 90 英镑/Kg, 多数用于饮料和化妆品, 但食品添加剂将会占有越来越大的市场份额。

1.3.3 天然酯型儿茶素的分离提取现状的研究

随着科学技术的不断发展, 人们对茶叶的研究已经从早先对茶叶品质的要求, 即色、香、味、形发展到了从生物化学的角度对茶叶的主要成分及含量进行深层次的研究, 并开发出了具有抗氧化、抗肿瘤、防治心血管疾病等功能的一系列产品, 如茶多糖、茶多酚、儿茶素(如 EGCG、EGC、ECG、EC)等。而已形成产业化的茶多酚是儿茶素类及其它多酚类化合物组成的混合物, 其儿茶素组成复杂, 酯型儿茶素相对含量低, 因此, 茶多酚的医药保健功效不理想。同时, 茶多酚的苦涩味(即收敛性)太强和很容易产生病变, 在饮料、保健品、医药等领域的应用受到限制, 目前只能作为抗氧化剂在油脂食品中使用。儿茶素的单位物质, 如表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素(EC)、儿茶素(C)等, 由于其单体在茶多酚中的含量不高和化学性质不稳定, 因而分离纯化成本很高。总之, 国内外茶叶生化领域的产业化开发一直停留在茶多酚阶段, 因此, 寻求低成本提取高含量的稳定儿茶素(尤其是 EGCG、ECG)生产工艺和产品已成为茶叶生化研究努力的方向。

下面介绍几种国内外制备儿茶素单体的方法: 逆流分配法、液相色谱法、溶剂法。但是, 这些方法都存在产品二次污染、工艺流程复杂、分离周期长及产率低等不足。

1.3.3.1 儿茶素的高速逆流制备法

HSCCC 法是 80 年代发展起来的新技术, 其特点是高速运转产生的重力场使固定相能在分离柱中实现高的保留, 从而大大提高了分离能力。中国农业科学

院茶叶研究所杜琪珍等^[73]采用高速逆流色谱法分离天然酯型儿茶素单体,将溶剂系统中各种溶剂按比例在分液漏斗中充分振摇,待分层后将上、下相分开备用,用下相将儿茶素混合样品充分溶解,制成溶液,用于进样。当进样量小于 1g 时才能实现儿茶素混合物的较好分离;当进样量大于 1g 时则不能实现儿茶素混合物的较好分离。Cao 等用正己烷-乙酸乙酯-水作为溶剂系统,在 1: 20: 30 和 1: 3: 4 的条件下成功分离纯化得 EGCG 和 ECG 单体,二者纯度达 98%以上。虽然用 HSCCC 可以实现儿茶素混合物较好的分离,但不能大规模生产。

1.3.3.2 高效液相制备色谱法

高校液相色谱法是经柱色谱法衍生而来的,1959 年 Vuataz L 首次报道采用纤维柱色谱法分离酯型儿茶素单体 EGCG 的方法^[74];随后, Wilkns C K 采用 Sephedex LH-20 柱色谱法来分离制备 EGCG。Ozawa T^[75]用 Toyopearl HW-40F 柱色谱分离儿茶素,以丙酮按浓度梯度进行洗脱,但淋洗液易出现气泡,影响分离效果,且操作不易控制。Saijo Ryoyasu^[76]利用葡萄糖凝胶 LH-20 柱分离儿茶素,使用甲醇、正己烷、乙酸乙酯等多种有机溶剂作为展开剂,且经过重复柱色

普及重结晶的方法可得到纯度较高的 EGCG。纤维素柱色谱法^[24]和 Sephedex LH-20 柱色谱法^[77]也能够获得酯型儿茶素粗品。后来,戴军等^[78]将 Sephedex LH-20 柱色谱与半制备型 HPLC 法结合起来,将儿茶素粗品加水溶解,过滤后上 Sephedex LH-20 柱,用丙酮/水梯度洗脱,得到 EGCG、GCG、ECG 馏分,再将此馏分浓缩除去丙酮,加甲醇/水溶解,然后注入 ODS 半制备色谱柱系统,收集相应馏分,浓缩、冷冻干燥得到较高纯度的酯型儿茶素单体。最后,钟世安等^[79]采用反相液相色谱法分离制备了 EGCG、ECG 和 GCG 三种酯型儿茶素。该法为大型液相色谱分离酯型儿茶素单体提供了很好的参考模式,但是也有其局限性:

(1) 整个过程需二次浓缩、冷冻干燥,操作步骤多,收率低;(2) 采用 ODS 半制备色谱柱,离工业化还有很大一段差距;(3) 整个过程中使用大量甲醇等有毒溶剂,操作环境差;另外,所生产的酯型儿茶素单体甲醇残留率高,不利于作为药物原料。

1.3.3.3 溶剂法富集 EGCG

Copeland 等^[80]提出秋用咖啡碱沉淀和溶剂分配层析的方法从绿茶中制备表没食子儿茶素没食子酯 ((-) -EGCG)。张星海等^[81]提出了一种富集儿茶素和纯化 EGCG 单体的工艺。其流程为:称取高纯度茶多酚,加 2-4 份的 1 号溶剂(可选乙酸乙酯、无水乙醇、丙酮,以乙酸乙酯为最佳)使之溶解(若有部分不溶,滤除),得红棕色溶液。然后在低温下慢慢加入与 1 号溶剂体积比为 1: 5-8 的 2

号溶剂（可选氯仿、乙醚、丙酮，以氯仿为最佳），待沉淀完全，搅拌使结块，等体积的 2 号溶剂沉淀，如此重复不少于 3 次，取滤渣，用无水乙醇溶解后冷冻干燥，得橘黄色粉末。产品中儿茶素含量大于 95%。用上述富集儿茶素混合物，经 Sephadex LH-20 柱层析，以 40%乙醇洗脱，收集第 2 馏分，浓缩冰冻干燥，得类白色粉末，经 HPLC 测定，EGCG 含量大于 95%。

综上所述，天然酯型儿茶素单体的提取和纯化，国内外都有一定的研究，但都存在诸如产品二次污染，工艺复杂，分离周期长，产率低等缺点，目前尚未有大批量生产的报道。因此，研究开发儿茶素单体新的制备性分离技术将成为一热门课题。

1.3.4 天然酯型儿茶素分析方法

儿茶素作为茶多酚中含量最高、药理作用最明显的组分，已引起了广泛的重视。对儿茶素组分的分析方法更是多种多样，主要有：色谱法（包括高效液相色谱、薄层层析、气相色谱、纸层析）、毛细管电泳法、生物传感器、核磁共振法及比色法等。但是层析可以分离鉴定各种儿茶素，但操作费时，且定量可靠性差；茶儿茶素的气相色谱法研究至今仍无多大进展；毛细管电泳的高分离性能和超微量进样已成为痕量化合物分离分析的一大优势，但同时也有检测灵敏度检测方法在毛细管电泳色谱体系的应用及分析条件的优化仍是儿茶素组分综合分析问题获得解决的关键；而高效液相色谱法以其选择性好、鉴别能力强、分析速度快、灵敏度高等特点日益得到迅速的发展和广泛应用，是最常用的儿茶素定量和定性分析方法^[82]。

1.4 本人的工作

1.4.1 本文的研究内容

本文的研究内容来源于国家自然科学基金资助 (No.20576029)，作为此项目的重要内容的重要部分，我的工作的内容主要在以下两个方面：

- 合成具有分子识别性能的萃取剂杯芳烃—对叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃；再从对叔丁基杯[8]芳烃出发，通过对对叔丁基杯[8]芳烃的下缘酚羟基进行化学修饰，制备了八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃和一系列对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物，烷基分别为 $n\text{-CH}_3$ 、 $n\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 、 $n\text{-C}_3\text{H}_7$ 、 $n\text{-C}_4\text{H}_9$ 、 $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$ 、 $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$ 和 $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$ 。
- 以茶叶的粗提物茶多酚为研究对象，用柱色谱法从茶多酚中分离提取酯型

儿茶素溶液 (EGCG, GCG, ECG), 以合成的杯芳烃及其衍生物为萃取剂, 研究萃取剂分子和 EGCG, GCG, ECG 分子识别规律和萃取性能相关性。

1.4.2 创新之处

本文合成了 3 种不同空腔大小的杯芳烃, 再通过对叔丁基杯[8]芳烃进行化学修饰, 制备了 1 种对叔丁基杯[8]芳烃酯的衍生物和 7 种不同烷基链长的对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物, 并对所合成的化合物的结构进行了表征。再以合成的杯芳烃及其衍生物为萃取剂, 研究萃取剂分子和 EGCG, GCG, ECG 分子识别规律和萃取性能相关性。其中 6 种醚的衍生物的合成均未见文献报道。研究萃取剂分子和 EGCG, GCG, ECG 萃取性能相关性, 研究成果可以再结合中空纤维膜逆流分级分步萃取技术, 进行酯型儿茶素制备性分离研究。

1.4.3 研究意义

由于儿茶素单体的化学结构和性质十分相近, 而且极易氧化、聚(缩)合, 因而很难得到高纯度的儿茶素各组分单体。目前, 茶叶中天然酯型儿茶素的分离纯化主要通过制备色谱方法来实现, 但效率不高、成本过大, 导致产品价格相当昂贵。本文的研究成果主要是为中空纤维膜逆流分级分步萃取酯型儿茶素单体提供理论依据和技术参数。该法若用于酯型儿茶素制备性分离研究, 将大幅度提高分离纯化效率、降低成本, 具有较大的理论价值和非常广阔的应用前景。另外, 这种高效天然产物分离纯化新技术对彻底改变中国天然产物开发层次低、生产方式粗放、技术落后局面有重要作用, 对我国中药现代化及改造和提升传统中药行业有重要意义。

第二章 杯芳烃及其衍生物的合成

杯芳烃是一类由对烷基酚与甲醛经缩合反应形成的大环化合物,是继环糊精和冠醚之后的第三代超分子化合物。利用杯芳烃为平台设计和制备具有不同结构和功能的衍生物,并从中筛选出具有高度选择性的主体化合物,是当代化学急待解决的课题之一。在现有的文献报道中已报道最多的是杯[4]芳烃衍生物的合成,杯[8]芳烃由于柔韧性大构象易变,其分子识别有其特殊之处,进行衍生化后,有望成为新的主体化合物,然而对于它的研究并不多见。本章合成具有分子识别性能的萃取剂杯芳烃—对叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃;再从对叔丁基杯[8]芳烃出发,通过对对叔丁基杯[8]芳烃的下缘酚羟基进行化学修饰,制备了八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃和七种对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物,烷基分别为 $n\text{-CH}_3$ 、 $n\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 、 $n\text{-C}_3\text{H}_7$ 、 $n\text{-C}_4\text{H}_9$ 、 $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$ 、 $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$ 和 $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$ 。

2.1 实验部分

2.1.1 实验主要仪器与试剂

本实验所用仪器与试剂见下表 2-1, 2-2。

表 2-1 主要仪器表

仪器名称	厂 家
磁力搅拌器	江苏金坛大地自动化仪器厂
真空干燥箱	郑州长城科工贸有限公司
370FT-IR 红外光谱仪	美国 Nicolet 公司
X-4 型数字显微熔点测定仪	北京泰克仪器有限公司
INOVA-300 型核磁共振仪	美国 Varian 公司
PE-2400 型元素分析仪	美国 PE 公司
液质联用仪	Agilent 1100 Series LC/MSD(四极杆)
质谱仪	美国 Thermo-Finnigan LCQ-Advantage 型

表 2-2 主要试剂表

试剂名称	试剂规格	厂 家
4-对叔丁基苯酚	化学纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯甲烷	分析纯	湖南汇虹试剂有限公司
多聚甲醛	分析纯	天津市东丽区天大化学试剂厂
无水硫酸镁	分析纯	天津市东丽区天大化学试剂厂
甲苯	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
氢氧化钠	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
氢氧化钾	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
二甲苯	分析纯	长沙市国蓉延风化学试剂厂
丙酮	分析纯	长沙安泰精细化工实业有限公司
甲醛	分析纯	湖北大学化工厂
乙酸乙酯	分析纯	湖北大学化工厂
乙醚	分析纯	天津市瑞金特化学品有限公司
4-对叔丁基苯酚	化学纯	国药集团化学试剂有限公司
三氯甲烷	分析纯	湖南汇虹试剂有限公司
多聚甲醛	分析纯	天津市东丽区天大化学试剂厂
无水硫酸镁	分析纯	天津市东丽区天大化学试剂厂
甲苯	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
氢氧化钠	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
氢氧化钾	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
二甲苯	分析纯	长沙市国蓉延风化学试剂厂
丙酮	分析纯	长沙安泰精细化工实业有限公司
甲醛	分析纯	湖北大学化工厂
乙酸乙酯	分析纯	湖北大学化工厂
乙醚	分析纯	天津市瑞金特化学品有限公司
薄层层析硅胶	分析纯	天津市瑞金特化学品有限公司
二苯醚	化学纯	青岛海浪硅胶干燥剂厂
碘甲烷	分析纯	中国医药上海化学试剂公司
碘乙烷	分析纯	浙江海川化学品有限公司
正溴丙烷	化学纯	中国医药上海化学试剂公司
正溴丁烷	化学纯	中国五联化工厂
正溴戊烷	分析纯	中国医药上海化学试剂公司
正溴辛烷	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

N, N-二甲基甲酰胺	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
四氢呋喃	分析纯	长沙市湘科精细化工厂
4-对叔丁基苯酚	化学纯	国药集团化学试剂有限公司

2.1.2 合成线路

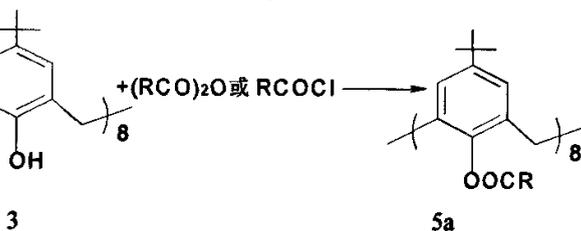
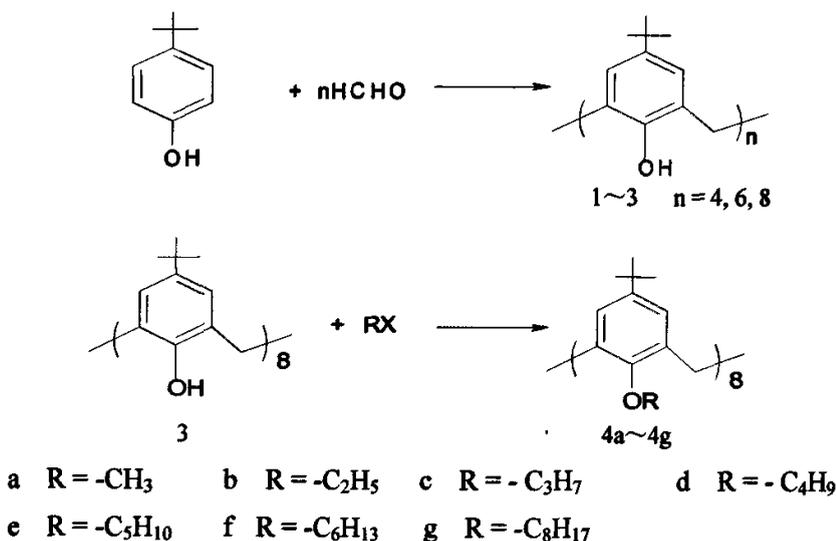


图 2-1 杯芳烃及其衍生物的合成路线图

2.1.3 不同空腔的杯芳烃的合成

2.1.3.1 对叔丁基杯[4]芳烃的合成

参照文献[22]合成：准确称取16.8 g (0.11 mol) 对叔丁基苯酚和0.156 g (4 mmol) 氢氧化钠，置于250 mL三口烧瓶中，再加入17 mL 37% (0.21mol) 的甲醛溶液，装上分水器和冷凝装置，通氮气，加热至回流至瓶中混合物变为亮黄色胶状固体时停止加热，冷却至室温。将瓶中固体尽可能研碎，加入120 mL温热的二苯醚，装上分水器和冷凝装置，搅拌的同时缓缓加热，直至固体完全溶解。继续缓慢加热至回流，同时快速吹入氮气以带走其中水分。开始液体暴沸并有水分出，而后回流逐渐趋于平稳。在此过程中溶液由黄色渐变为亮棕色并有沉淀物

产生。当水被蒸完后，继续保持回流2h，期间沉淀物溶解形成棕黑色溶液。停止加热，冷却至室温，加入140 mL乙酸乙酯，机械搅拌30 min 后静置30 min，抽滤，先用2×20 mL 乙酸乙酯洗涤，再用2×20 mL 乙酸洗涤，得到灰白色固体粗产物。烘干，用甲苯重结晶，得到白色细小晶体8.91 g，产率为50%。

2.1.3.2 对叔丁基杯[6]芳烃的合成

参照文献[22]合成：取 10.0 g 对叔丁基苯酚，13.9 mL 36% 甲醛溶液，1.5 g 氢氧化钾放入三口瓶中，加热搅拌，15 min 后通入 N₂。在维持反应回流的状态下，加大 N₂ 的通入速度，以带出反应体系中的水。反应体系由澄清变成柠檬黄，当它变成金色粘稠时加入 100 mL 近沸的二甲苯，迅速升温 160 °C，并加大 N₂ 的流通速度，迅速带出反应体系中的水。回流 3 h，冷却，抽滤得白色固体，倒入 20 mL 二甲苯洗涤，抽滤，真空干燥，得粗产品 9 g。用 250 mL 氯仿 80 mL 1 mol/L 的盐酸溶解所得的固体物质，水相加入 25 mL 的氯仿萃取，合并氯仿，加入无水硫酸镁干燥，过滤。取滤液蒸馏至 100 mL，趁热加入近沸的丙酮，冷却，过滤，有 5.29 g 白色沉淀析出，产率 48%。

2.1.3.3 对叔丁基杯[8]芳烃的合成

(1) 三步法合成

参照文献[22]合成：取对叔丁基苯酚 20 g，19 mL 37% 甲醛溶液，5 mol/L NaOH 溶液 12 mL，混合后于 50-55 °C 的水浴中加热 2 h，再在 100-110 °C 的液体石蜡油浴中加热回流 2 h，得到一种浅黄色块状固体，将其研细后加入 200 mL 的 1 mol/L 的 HCl 溶液以中和碱，搅拌 1 h 后过滤，用水清洗后于 110-120 °C 烘干。接着加入导热剂 70 g 二苯醚，在 N₂ 气氛中 210-220 °C 反应 2 h 后冷却至室温，加入 250 mL 乙酸乙酯搅拌 0.5 h，抽滤后得 13.5 g 的灰白色粉末，将该粉末加入适量的氯仿进行重结晶可得到 10.2 g 对叔丁基杯[8]芳烃，产率 47%。

(2) 一步法合成

参照文献[41]合成：取 10 g 对叔丁基苯酚，3.5 g 多聚甲醛，60 mL 的二甲苯放入三口瓶中，再加入 0.08 g 的 NaOH，在从 N₂ 保护下油浴加热，搅拌使之加热均匀，待回流后再反应 4 h 后冷却，过滤。随后用 40 mL 甲苯、乙醚、丙酮以及水清洗，真空干燥后得粗产物 7 g，用氯仿二次重结晶得到 6.76 g 白色针状晶体，产率 61%。

2.1.4 对叔丁基杯[8]芳烃酯的衍生物的合成

八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃

方法一：

参照文献[22]合成：取2.0 g (1.54 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃溶于50 mL的乙酐，并滴加 2 滴浓H₂SO₄，反应加热回流2 h。冷却，有无色固体从深棕色的溶液中沉淀出来，过滤分离，得1.0 g白色固体。用乙酐重结晶，得白色固体0.5 g，产率为40%。

方法二：

参照文献[41]合成：在 250 mL 干燥的三口瓶中加入 0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 25 mL 的三氯甲烷，使其溶解，将 1.3 g(96 mmol)AlCl₃、1.49 g (0.019mmol) 的乙酰氯和 20 mL 的三氯甲烷于恒压滴液漏斗中混合均匀并在搅拌下缓慢滴加到上述三口瓶中。室温下反应 2 h，反应完后，将反应物倒入冰中，分离有机层，用无水硫酸钠干燥，除去溶剂，用氯仿和甲醇的混合液重结晶得白色固体 0.35 g，产率 43%。

方法三：

在 250 mL 干燥的三口瓶中加入 0.5 g(0.38 mmol)对叔丁杯[8]芳烃和 1.2 mL 的三乙胺和 30 mL 的三氯甲烷，使其溶解，冰浴，将 1.49 g (0.019 mmol) 的乙酰氯与 20 mL 的三氯甲烷于恒压滴液漏斗中混合均匀并在搅拌下缓慢滴加到上述三口瓶中。室温下反应，TLC 跟踪反应进程，反应完后，将反应物倒入碳酸氢钠溶液中，分离有机层，水洗至中性，用无水硫酸钠干燥，除去溶剂，用氯仿和甲醇的混合液重结晶，得白色固体 0.55 g，产率 67%。

2.1.5 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的合成

2.1.5.1 八甲基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

向带有氯化钙干燥管的回流冷凝管的250 mL三口瓶中通入氮气，加入0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃，溶于100 mL四氢呋喃和10 mL N,N-二甲基甲酰胺混合液中，搅拌溶解，加入1 g (41.6 mmol)氢化钠，升温至75-80 ℃，搅拌0.5 h，再加入6.38 g (45 mmol)卤代烃，溶液变成乳状液，TLC跟踪反应进程，反应完后，冷却至室温，倒入0.1 mol/L的盐酸溶液中，用2×50 mL二氯甲烷萃取，静置分层，取油层干燥，蒸去溶剂，有白色固体析出，得化合物2a，用氯仿和甲醇重结晶，得0.37 g白色晶体2a，产率为69%。

2.1.5.2 八乙基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

向带有氯化钙干燥管的回流冷凝管的250ml三口瓶中通入氮气，加入0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃，溶于100 mL四氢呋喃和10 mL N,N-二甲基甲酰胺混合液中，搅拌溶解，加入1 g (41.6 mmol)氯化钠，升温至75-80 °C，搅拌0.5 h，再加入67.02 g (45 mmol) 碘乙烷溶液变成白色乳状液，TLC跟踪反应进程，反应完后，冷却至室温，倒入0.1 mol/L的盐酸溶液中，用2×50 mL二氯甲烷萃取，静置分层，取油层干燥，蒸去溶剂，有白色固体析出，得化合物2a，用氯仿和甲醇重结晶，得0.34 g白色晶体2b，产率为59%。

2.1.5.3 八丙基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

用类似的方法从0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 5.54 g(45 mmol) 正溴丙烷反应，用乙醚重结晶，得 0.36 g 白色晶体 2c，产率为 58%。

2.1.5.4 八丁基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

用类似的方法从0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 6.3 g(46 mmol) 正溴丁烷反应，用丙酮重结晶，得 0.30 g 白色晶体 2d，产率为 45%。

2.1.5.5 八戊基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

用类似的方法从0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 6.95 g(46 mmol) 正溴戊烷反应，用丙酮重结晶，得 0.31 g 白色晶体 2e，产率为 43%。

2.1.5.6 八己基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

用类似的方法从0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 7.59 g(46 mmol) 正溴己烷反应，用丙酮重结晶，得 0.30 g 白色晶体 2f，产率为 39%。

2.1.5.7 八辛基醚对叔丁基杯[8]芳烃的合成

用类似的方法从0.5 g (0.38 mmol) 对叔丁基杯[8]芳烃和 8.88 g(46 mmol) 正溴辛烷反应，用丙酮重结晶，得 0.30 g 白色晶体 2g，产率为 35%。

2.2 结果与讨论

2.2.1 反应机理

2.2.1.1 对叔丁基杯[n]芳烃的合成机理

在碱性的条件下，对叔丁基苯酚会转化为对叔丁基苯酚氧负离子。其作为亲核试剂进攻甲醛上的碳原子，经过一系列转化最终形成较稳定的邻位羟甲基对位

叔丁基苯酚。邻位羟甲基对叔丁基苯酚 1 在碱性条件下脱水生成邻亚甲基对叔丁基氢化苯酮 2。对叔丁基苯酚氧负离子 3 作为亲核试剂对其进行进攻得到邻亚甲基二对叔丁基苯酚 4，反应历程如下，这一历程类推可产生不同大小的环的杯[4]芳烃、杯[6]芳烃、杯[8]芳烃，通过控制反应的温度，反应中所用的溶剂、碱的种类及碱的浓度等反应条件，可以控制成环的大小。

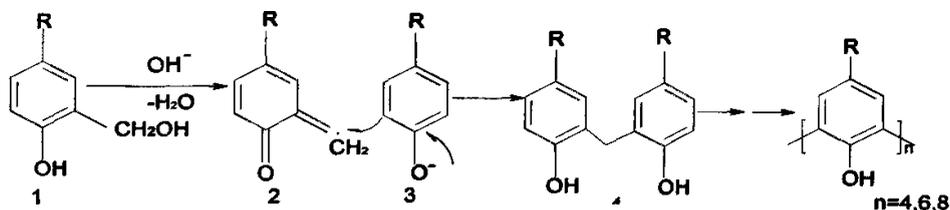


图 2-2 对叔丁基杯[n]芳烃的合成机理

2.2.1.2 对叔丁基杯[8]芳烃醚的合成机理



R 代表杯芳烃

图 2-3 对叔丁基杯[n]芳烃的合成机理

2.2.2 不同空腔的杯芳烃的表征

2.2.2.1 不同空腔杯芳烃的 R_f 值的测定

表 2-3 不同空腔杯芳烃 R_f 值的测定

化合物	R _f (展开剂为 V _{CHCl₃} /V _{hexane} =3:4; V/V)
对叔丁基杯[4]芳烃	0.53
对叔丁基杯[6]芳烃	0.64
对叔丁基杯[8]芳烃	0.75

对产品用薄层色谱进行分析，碘蒸气显色，得一个光斑，合成化合物的纯度较高。

2.2.2.2 不同空腔杯芳烃的红外表征

将所得产品用溴化钾压片，得不同空腔杯芳烃的红外光谱图（见附图），分析结果如下：

表 2-4 不同空腔杯芳烃的红外分析

化合物	IR (cm ⁻¹)
对叔丁基杯[4]芳烃	3247(-OH) 3056、3014 (Ar-H) 1210 (Ar-O)
对叔丁基杯[6]芳烃	3411、3158 (-OH) 3056、3014 (Ar-H) 1208 (Ar-O)
对叔丁基杯[8]芳烃	3170 (-OH) 3037 (Ar-H) 1200 (Ar-O)

2.2.2.3 不同空腔杯芳烃的核磁表征

表 2-5 不同空腔杯芳烃的核磁数据

化合物	$^1\text{H NMR}$ (300MHz)
对叔丁基杯[8]芳烃	9.6 (s, 8H, ArOH), 7.17 (s, 16H, ArH), 4.3 (br d, 8H, ArCH ₂ Ar), 3.4 (br d, 8H, ArCH ₂ Ar), 1.25 (s, 72H, C(CH ₃) ₃).
对叔丁基杯[6]芳烃	10.519 (s, 6H, ArOH), 7.14 (s, 12H, ArH), 3.8 (s, 12H, ArCH ₂ Ar), 1.25 (s, 54H, C(CH ₃) ₃)
对叔丁基杯[4]芳烃	10.338 (s, 4H, ArOH), 7.04 (s, 8H, ArH), 4.3 (s, 4H, ArCH ₂ Ar), 3.5 (s, 4H, ArCH ₂ Ar), 1.25 (s, 36H, C(CH ₃) ₃)

2.2.2.4 不同空腔杯芳烃的质谱表征

表 2-6 不同空腔杯芳烃的质谱数据

化合物	MS
对叔丁基杯[4]芳烃	LC/MSD(四极杆) m/z (%): 647.4 (M^+ , 100)
对叔丁基杯[6]芳烃	LC/MSD(四极杆) 971.8 (M^+ , 100)
对叔丁基杯[8]芳烃	(APCI) 1296.7 (M^+ , 100)

2.2.3 对叔丁基杯[8]芳烃酯的衍生物表征

八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃

对产品用薄层色谱进行分析, 展开剂: $V_{\text{CHCl}_3}/V_{\text{丙酮}}=20:1$, 碘蒸气显色, 得一个光斑, $R_f=0.442$ 。

将所得产品用溴化钾压片, 得八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃的红外光谱图(见图 2-4)。

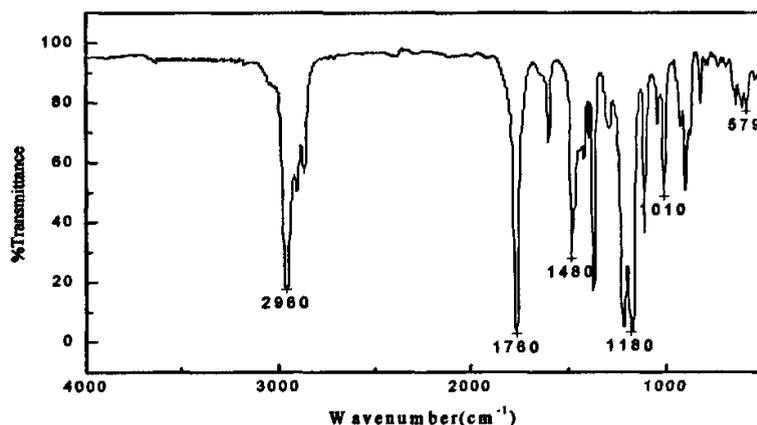


图 2-4 八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃的红外光谱图

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ : 6.95 (s, 16H, ArH), 3.62 (s, 16H, CH_2), 1.89 (s, 24H, OCOCH_3), 1.17 [s, 72H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$].

以上结果都表明所合成的物质为目标物质。

2.2.4 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的特征

2.2.4.1 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的熔点及 TLC 的 R_f 值的测定

表 2-7 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的熔点及 R_f 值的测定

化合物	m. p./($^{\circ}\text{C}$)	TLC (展开剂为乙酸乙酯:石油醚=3: 10, V/V)
八甲基醚对叔丁基杯[8]芳烃	292-294	0.53
八乙基醚对叔丁基杯[8]芳烃	288-290	0.63
八丙基醚对叔丁基杯[8]芳烃	282-284	0.69
八丁基醚对叔丁基杯[8]芳烃	277-279	0.74
八戊基醚对叔丁基杯[8]芳烃	269-271	0.78
八己基醚对叔丁基杯[8]芳烃	256-258	0.83
八辛基醚对叔丁基杯[8]芳烃	219-221	0.85

熔点测定表明化合物在 2°C 以内均能熔化, 另外对产品用薄层色谱进行分析, 碘蒸气显色, 得一个光斑, 合成化合物的纯度较高。

2.2.4.2 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的红外特征

杯芳烃醚类主要的结构特征是酚羟基被醚化。下图 2-5 是对叔丁基杯[8]芳烃及对叔丁基杯[8]芳烃甲基醚的红外图, 可以明显发现, OH 基的峰消失, 而出现强的 C-O-C 的不对称伸缩振动峰。

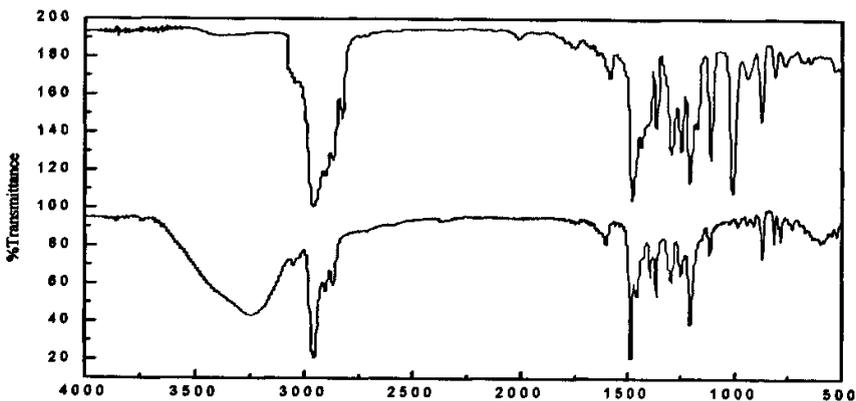


图 2-5 对叔丁基杯[8]芳烃及对叔丁基杯[8]芳烃甲基醚的红外图

2.2.4.3 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的核磁表征

在 ^1H NMR 谱图中酚羟基的质子化学位移消失, 另外对叔丁基杯[8]芳烃的亚甲基均为一对双峰, 化学位移分别在 4.3 和 3.4 左右, 但是醚化后, 亚甲基的化学位移为一个单峰 (4.0 左右), 说明醚化后, 分子构象发生了改变。对叔丁基杯[8]芳烃醚化后有望成为用来包结客体分子的新的主体化合物。

表 2-8 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的核磁数据

化合物	^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz)
对叔丁基杯[8]芳烃	9.6 (s, 8H, ArOH), 7.17 (s, 16H, ArH), 4.3 (br d, 8H, ArCH ₂ Ar), 3.4 (br d, 8H, ArCH ₂ Ar), 1.25 (s, 72H, C(CH ₃) ₃)
八甲基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.92 (s, 16H, ArH), 4.038 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.414 (s, 24H, OCH ₃), 1.070 [s, 72H, C(CH ₃) ₃]
八乙基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.94 (s, 16H, ArH), 4.028 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.467~3.514 (m, 16H, OCH ₂), 1.08 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 1.048~1.080 (t, J=9.0Hz, 24H, CH ₃)
八丙基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.97 (s, 16H, ArH), 4.032 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.405~3.448 (t, J=12.0Hz, 16H, OCH ₂), 1.483~1.507 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂), 1.09 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 0.668~0.717 (t, J=14.7Hz, 24H, CH ₃)
八丁基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.96 (s, 16H, ArH), 4.040 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.484~3.532 (t, J=12.6Hz, 16H, OCH ₂), 1.496~1.542 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂), 1.224~1.293 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.083 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 0.650~0.699 (t, J=14.7Hz, 24H, CH ₃)
八戊基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.951 (s, 16H, ArH), 4.049 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.480~3.488 (t, J=2.4Hz, 16H, OCH ₂), 1.528~1.565 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂), 1.256~1.329 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.079 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 1.010~1.189 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 0.692~0.740 (t, J=14.4Hz, 24H, CH ₃)
八己基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.948 (s, 16H, ArH), 4.044 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.515~3.524 (t, J=3.3Hz, 16H, OCH ₂), 1.513~1.653 (m, J=12Hz, 16H, OCH ₂ CH ₂), 1.256~1.329 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.118~1.161 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.074 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 0.957~1.028 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 0.693~0.738 (t, J=13.5Hz, 24H, CH ₃)
八辛基醚对叔丁基杯[8]芳烃	6.905 (s, 16H, ArH), 4.040 (s, 16H, ArCH ₂ Ar), 3.560~3.600 (t, J=12Hz, 16H, OCH ₂), 1.639~1.689 (m, J=15Hz, 16H, OCH ₂ CH ₂), 1.463 (m, 16H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.257~1.267 (m, 64H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.034 [s, 72H, C(CH ₃) ₃], 0.832~0.877 (t, J=13.5Hz, 24H, CH ₃)

2.2.4.4 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的元素分析及质谱分析

元素分析结果表明, C、H、O 含量的实验值与理论计算基本吻合。

表 2-9 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的元素分析及质谱数据

化合物	分子式	C(%)		H(%)		MS
		Found	calcd	found	calcd	
八甲基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{96}H_{128}O_8$	81.71	81.77	9.20	9.15	MS (APCI) m/z (%): 1409.1 (M^+ , 100)
八乙基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{104}H_{144}O_8$	82.12	82.06	9.48	9.53	MS (APCI) m/z(%): 1521.3 (M^+ , 100).
八丙基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{112}H_{160}O_8$	82.35	82.30	9.79	9.87	MS (APCI) m/z(%): 1633.2 (M^+ , 100)
八丁基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{120}H_{176}O_8$	82.56	82.52	10.11	10.16	MS (APCI) m/z(%): 1746.1 (M^+ , 100)
八戊基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{128}H_{192}O_8$	82.76	82.70	10.36	10.41	MS (ESI) m/z(%): 1857.6 (M^+ , 100)
八己基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{136}H_{208}O_8$	82.80	82.87	10.71	10.64	MS (ESI) m/z(%): 1970.1 (M^+ , 100)
八辛基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	$C_{152}H_{240}O_8$	83.21	83.15	10.93	11.02	MS (ESI) m/z(%): 2194.3 (M^+ , 100)

2.2.5 合成的讨论

2.2.5.1 杯芳烃的合成

综上合成对叔丁基杯[8]芳烃最好选用一步法 NaOH 作为催化剂。在加热至回流温度的过程中, 应注意缓慢升温, 这样获得对叔丁基杯[8]芳烃的产率要比迅速升温至回流温度情况下的产率要高许多。

在合成对叔丁基[6]芳烃时, 应注意掌握反应过程中加热的时间并保证氮气的持续通入。

合成对叔丁基杯[4]芳烃时为了保证产物正确, 必须严格控制碱的浓度。此外, 应注意温度的控制以免反应物炭化, 同时整个反应过程都必须在氮气保护下进行, 并要保证水分能够蒸出。

2.2.5.2 对叔丁基杯[8]芳烃酯类衍生物的合成

杯芳烃中酚羟基由于强的氢键作用使其酯化反应困难, 它与有机酸不能直接酯化成酯。可行的办法是用酸酐或酰卤等强酰化试剂制备酯类衍生物。乙酯酐是较普通的试剂, 在与杯芳烃酯化反应中可以作为溶剂。在少量硫酸催化下, 反应

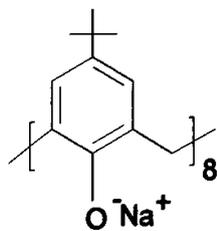
易于进行且收率高。

酰卤是易于制备的酰基化试剂，且在酯化反应中活性比酸酐强。李鸿图教授^[41]曾用无水三氯化铝作催化剂，酰氯为酰基化试剂的方法制备了多种杯[8]芳烃酯类衍生物。本文用三乙胺作缚酸剂，三氯甲烷为溶剂，酰氯为酰基化试剂的方法制备了八乙酰基杯[8]芳烃酯类衍生物。

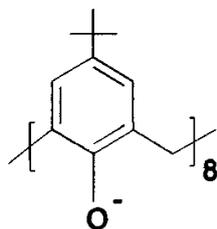
由于酰卤反应活性非常强，溶剂及其缚酸剂的干燥成为本合成的关键。

2.2.5.3 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的合成

对叔丁基杯[8]芳烃醚的衍生物(4a~4g)的合成属于威廉姆逊(Williamson)合成法。使用碱的种类对合成有很大的影响。Neri P和Corrattelli G^[46]用对叔丁基杯[8]芳烃与对甲基苄溴在碱CsF作用下反应，反应96h，仍没有得到全部醚化的产物。因为CsF不能使所有的酚羟基完全失去质子，反而F与部分酚羟基了很强的氢键，故只能产生部分带电的亲核试剂中间体。而在强碱氢化钠作用下，对叔丁基杯[8]芳烃下缘酚羟基发生离子型反应生成亲核试剂：



其亲核部分为：



加入二甲基甲酰胺，增强该亲核部分中间体的溶解性（形成均相），有利于亲核取代反应的进行。

另外溶剂四氢呋喃和二甲基甲酰胺的干燥也是合成的关键。使用氦气保护也是为了保持无水环境。

2.3 本章小结

(1) 以对叔丁基苯酚、多聚甲醛为原料，合成了对叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基杯[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃，以及八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃的衍生物，并用红外、核磁、质谱对其结构进行了表征。

(2) 通过对对叔丁基杯[8]芳烃的下缘酚羟基全部烷基化, 制备了一系列对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物, 烷基分别为 $n\text{-CH}_3$ 、 $n\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 、 $n\text{-C}_3\text{H}_7$ 、 $n\text{-C}_4\text{H}_9$ 、 $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$ 、 $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$ 和 $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$, 并用红外、核磁、元素分析、质谱对所合成的化合物进行了表征。

第三章 杯芳烃对酯型儿茶素萃取性能的研究

3.1 萃取分离的原理和方法

3.1.1 萃取分离的基本理论

萃取分离主要是基于化学热力学原理和质量守恒定律。

在液-液两相萃取过程中,把水相和有机相看作一个体系,则体系中各物质遵循质量守恒方程

$$X_i + \beta Y_i = X_{i0} + \beta Y_{i0}$$

其中 X_i 和 Y_i 分别为体系中某物质在萃取平衡时水相和有机相中的总浓度; X_{i0} 和 Y_{i0} 分别为该物质在萃取前水相和有机相中的总浓度; β 为相比,定义为

$$\beta = \frac{V_{org}}{V_{aq}}$$

对于酯型儿茶素而言,则有:

$$X_{EGCG} + \beta Y_{EGCG} = X_{iEGCG} + \beta Y_{iEGCG}$$

$$X_{GCG} + \beta Y_{GCG} = X_{iGCG} + \beta Y_{iGCG}$$

$$X_{ECG} + \beta Y_{ECG} = X_{iECG} + \beta Y_{iECG}$$

其中 X_{EGCG} 、 Y_{EGCG} 、 X_{GCG} 、 Y_{GCG} 、 X_{ECG} 、 Y_{ECG} 分别为体系中某物质在萃取平衡时水相和有机相的总浓度; X_{iEGCG} 、 βY_{iEGCG} 、 X_{iGCG} 、 Y_{iGCG} 、 X_{iECG} 、 Y_{iECG} 分别为体系中该物质在萃取前水相和有机相中的总浓度;

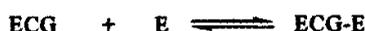
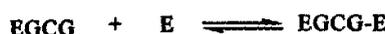
同时存在分配系数 K_{EGCG} 、 K_{GCG} 和 K_{ECG} , 可分别按下面的式子求得:

$$K = \frac{[A]_{org}}{[A]_{aq, 萃取后}} = \frac{[A]_{aq, 原} - [A]_{aq, 萃取后}}{[A]_{aq, 萃取后}}$$

在传统溶剂萃取中,萃取分离效果常用分配比 (K) 和分离因子 (α) 来表示,分配比 (K) 是溶剂萃取中的一个重要参数。

被萃物的分配比愈大,表明该物质愈易被萃取。

天然酯型儿茶素在含有杯芳烃有机相中分配,是由于杯芳烃具有疏水性空腔,与酯型儿茶素之间具有极化、诱导、氢键等多种分子间作用力和空间位阻效应而形成三种不同的超分子化合物 (E 代表杯芳烃):



在萃取过程中, 由于杯芳烃与 EGCG、GCG、ECG 存在的氢键、疏水作用、 π - π 作用、范德华力等非共价键协同作用和空间位阻效应存在较大差异, 也就是说其在疏水性有机溶剂中的稳定性不同, 因此, 可用分配的自由能差($-\Delta(\Delta G)$) 来表示。 $-\Delta(\Delta G)$ 可通过 $-\Delta(\Delta G) = RT \ln \alpha$ 来获得。理论上, 只要 $-\Delta(\Delta G)$ 不等于 0, 即 α 不等于 1, 在一定级数下就可实现酯型儿茶素单体的分离^[85,86]。

$$\begin{aligned} -\Delta(\Delta G) &= -\Delta G_{II} - (-\Delta G_I) \\ &= RT \ln (K_{II}/K_I) \\ &= RT \ln \alpha \end{aligned} \quad (7)$$

其中:

$-\Delta(\Delta G)$ ——分配自由能差, (J/mol)

$$K_{II} \geq K_I$$

本文中: $K_1 = K_{EGCG}$; $K_2 = K_{GCG}$; $K_3 = K_{ECG}$

$$\alpha_1 = K_2/K_3, \alpha_2 = K_3/K_1$$

3.2 实验部分

3.2.1 实验主要仪器与试剂

仪器: 美国惠普公司 HP1100 高效液相色谱仪, Hypersil ODS 柱 [4.6 mm (i.d.) \times 250 mm]; 聚酰胺树脂 (上海医药公司); 旋转蒸发器 (郑州长城科工贸有限公司); SHA-2 智能水浴恒温振荡器 (上海浦东物理光学仪器厂); 其它玻璃仪器均为市售。

试剂: 甲醇, 色谱纯, 天津东丽区天大化学试剂有限公司; 乙酸, 分析纯, 天津东丽区天大化学试剂有限公司; 其它试剂均为市售分析纯, 且做萃取用的三氯甲烷经提纯 (除去乙醇) 和干燥处理。

3.2.2 实验过程

3.2.2.1 酯型儿茶素的制备

称取一定量的多酚类混合物, 用水超声溶解, 配制成 1.5 g/L 茶多酚溶液 1000 mL。将处理好的聚酰胺树脂湿法装柱。多酚类混合物水溶液以 2 mL/min 的流速过柱。先用蒸馏水洗脱, 再用 5% 的乙醇水溶液洗脱至流出液为无色, 最后用 95% 的乙醇溶液洗脱。收集 95% 乙醇洗脱液至洗脱液基本无色。将所收集的 95% 乙醇洗脱液旋转蒸发, 冷冻干燥。得到酯型儿茶素混合物固体样品。将所得样品溶于 1000 mL 水溶液, 用乙酸调节其 pH 值约为 3-4, 冷藏备用^[87, 89]

3.2.2.2 分析方法

酯型儿茶素分析采用的是高效液相色谱法。所用色谱条件, 参考文献[88, 89]: Hypersil ODS 柱 [4.6 mm (i.d) ×250 mm]; 流动相为甲醇、水和乙酸 (体积比为 27: 72.5: 0.5); 流速为 1 mL/min; 检测波长 278 nm; 进样量: 20 μ L。

3.2.2.3 萃取分配实验

将已合成的杯芳烃萃取剂分别取一定量溶于氯仿, 并配成同样浓度。分别取含萃取剂的有机相 (4 mL) 与酯型儿茶素溶液 (4 mL) 置于带塞的大试管。在 4 $^{\circ}$ C 时让其充分达到平衡。分液后取水相用 HPLC 分析酯型儿茶素的含量, 有机相中的酯型儿茶素浓度采用差减法求得。分配系数可通过 $K=(C_i-C_{aq})/C_{aq}$ 求得, 其中 C_i 为水相中酯型儿茶素的起始浓度, C_{aq} 为萃取平衡时, 水相中的浓度, 分离因子 α_1 可通过 K_{GCG} 和 K_{ECG} 的比值求得, α_2 可通过 K_{ECG} 和 K_{EGCG} 的比值求得。

3.3 结果与讨论

3.3.1 酯型儿茶素的制备

用 HPLC 分别分析多酚类混合物水溶液和酯型儿茶素混合物水溶液得到谱图 3-1 和图 3-2。从以下两图对比可以看出, 用聚酰胺树脂吸附提纯得到了比较理想的效果。这是由于聚酰胺树脂对咖啡因的吸附量很小, 而对儿茶素的吸附量很高。

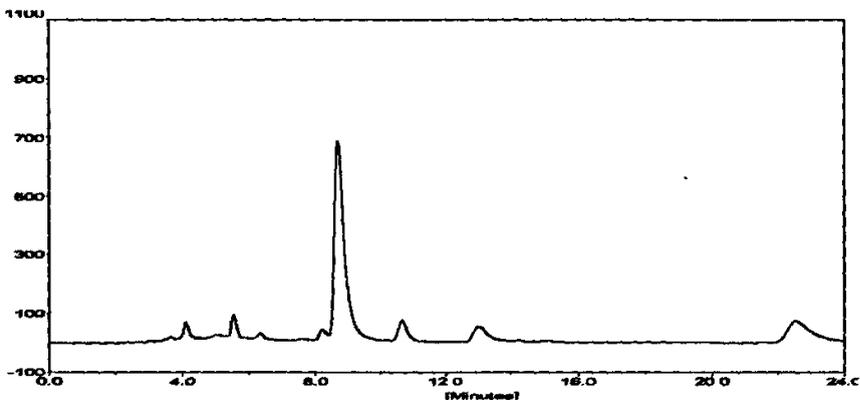


图 3-1 吸附提纯前多酚类混合物的 HPLC 图

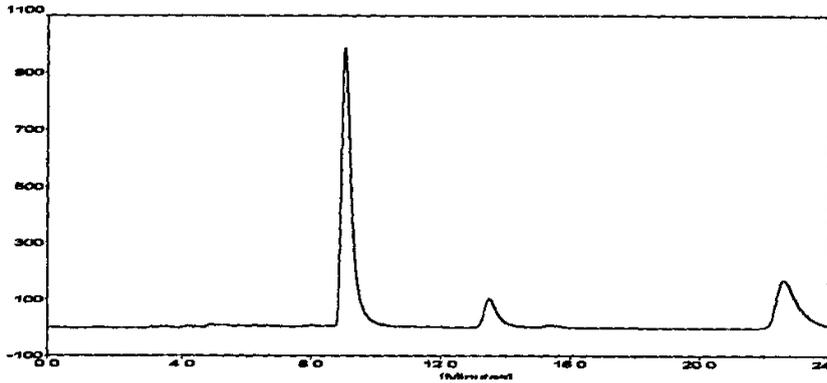
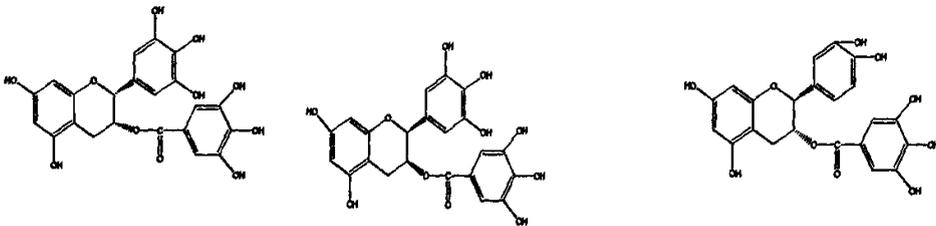


图 3-2 聚酰胺树脂吸附提纯后的 HPLC 图

3.3.2 萃取过程中的分子识别机理

杯芳烃能识别多种有机分子，并与其形成超分子化合物。分子识别的方式是以氢键为主要推动力，以孔穴大小作为选择性的主要根据^[52, 85]。图 3-3 所示为酯型儿茶素单体 EGCG、GCG、ECG 的结构式。其中 GCG 是 EGCG 的同分异构体。EGCG 和 ECG 相对于 GCG 而言，位阻较大。另外，这三种单体都含有较多的羟基，这些羟基能为氢键的形成提供作用点。除此之外，苯环和羰基也是也可能成为杯芳烃分子识别的贡献因素。利用杯芳烃萃取剂与酯型儿茶素单体分子形成的超分子化合物的非共价键协同作用和空间位阻效应存在较大差异，在萃取后，将更多的存在于一相中，从而导致了三个单体在二相中的分配比不同，采用中空纤维膜逆流分级分步萃取分离（如图 3-4），即可以得到酯型儿茶素的三种单体^[86]。



EGCG（表没食子儿茶素没食子酸酯）GCG（没食子儿茶素没食子酸酯）ECG（表儿茶素没食子酸酯）

图 3-3 酯型儿茶素单体的结构式

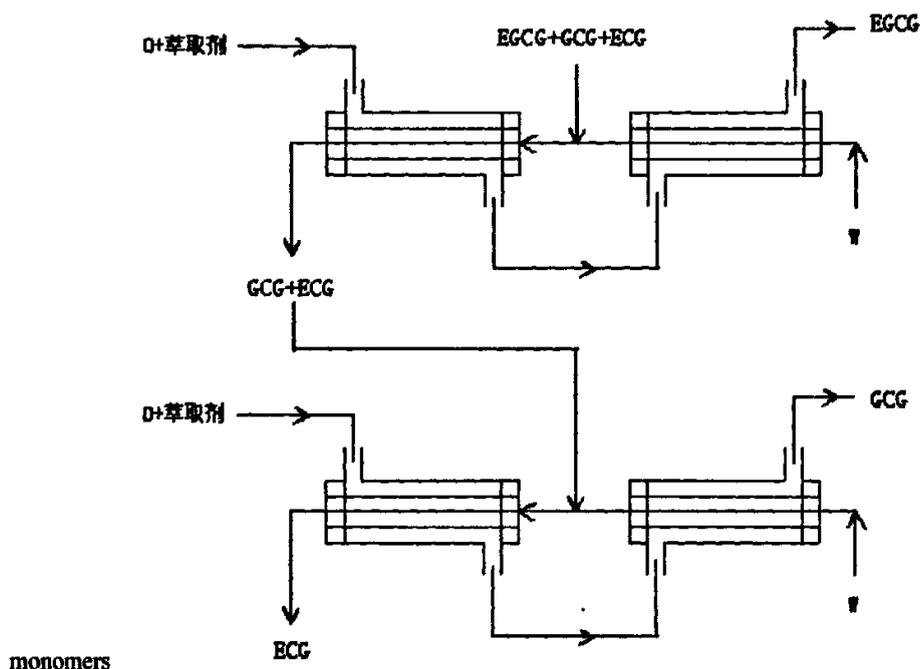


图 3-4 中空纤维膜逆流分级分步萃取分离EGCG、GCG和ECG示意图

3.3.3 不同的杯芳烃对分配系数和分离因子的影响

天然酯型儿茶素在含有杯芳烃有机相中分配，主要取决于杯芳烃与酯型儿茶素形成的三个超分子化合物的分配的自由能差(- $\Delta(\Delta G)$)。因此，杯芳烃的分子结构对酯型儿茶素的萃取分配行为有很大的影响。以三氯甲烷为有机溶剂，考察了不同的萃取剂对酯型儿茶素的萃取行为。

表 3-1 不同萃取剂对 K 、 α 和 $-\Delta(\Delta G)$ 值的影响

萃取剂	K_{EGCG}	K_{GCG}	K_{ECG}	α_1	α_2	$-\Delta(\Delta G)_1$	$-\Delta(\Delta G)_2/(kJ.mol^{-1})$
对叔丁基苯酚	0.044	0.099	0.030	2.25	1.47	1.87	0.89
对叔丁基杯[4]芳烃	0.012	0.026	0.018	1.4	1.5	0.78	0.94
对叔丁基杯[6]芳烃	0.019	0.037	0.032	1.16	1.68	0.34	1.20
对叔丁基杯[8]芳烃	0.115	0.189	0.139	1.35	1.20	0.69	0.42
八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃	0.025	0.070	0.029	2.4	1.16	2.02	0.34

如表 3-1 所示，叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基杯[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃和八乙酰基杯[8]芳烃在有机相的浓度均为 2.4 mM。为了保持羟基的数目与对叔丁基杯[8]芳烃一致，对叔丁基苯酚的浓度为 19.2 mM。对叔丁基杯[8]芳烃在所有的萃取剂中表现出最高的萃取效能，这是因为对叔丁基杯[8]芳烃的空腔大小与目标分子的大小

最为匹配，而对叔丁基杯[6]芳烃、对叔丁基杯[4]芳烃的空腔太小而不能包结客体分子。这就表明杯芳烃的空腔的大小影响其萃取效果的一个重要因素。另外，从表 3-1 可以看到，对叔丁基苯酚也能萃取酯型儿茶素，但是对叔丁基杯[8]芳烃乙酰化后，分配系数明显降低，因为其与酯型儿茶素形成氢键的能力降低，说明了氢键在萃取分离中起了很重要的作用。因此可以得出结论，在 K_{EGCG} 、 K_{GCG} 和 K_{ECG} 较大的前提下，基于 α 最大原理，对叔丁基杯[8]芳烃是最佳的萃取剂；影响杯芳烃萃取性能的最重要的因素是空腔的大小和氢键的作用。

3.3.4 对叔丁基杯[8]芳烃的浓度对分配系数和分离因子的影响

由于萃取过程中涉及到对叔丁基杯[8]芳烃与酯型儿茶素单体（EGCG、GCG、ECG）形成的超分子化合物，所以对叔丁基杯[8]芳烃的浓度不但会影响分配系数，而且必将影响分离因子。因此，深入研究对叔丁基杯[8]芳烃的浓度对 K 和 α 的影响是十分必要的（图 3-5 和图 3-6）。以氯仿为溶剂，考察了对叔丁基杯[8]芳烃的浓度对 K 和 α 的影响。随着浓度的提高，反应将向右进行，形成更多的超分子化合物，而形成超分子化合物的增多使得萃取效果得到了加强，也就是 K 和 α 都增大。但是由于所形成的超分子化合物在稳定性上的差异，使得它们在二相中出现分配的差异。从图中还可以看出， K_{GCG} 总是大于 K_{EGCG} ， K_{EGCG} 总是大于 K_{ECG} ，这说明了与 EGCG 和 ECG 相比，对叔丁基杯[8]芳烃的空穴与 GCG 分子的大小更加匹配，更容易形成稳定的超分子化合物。

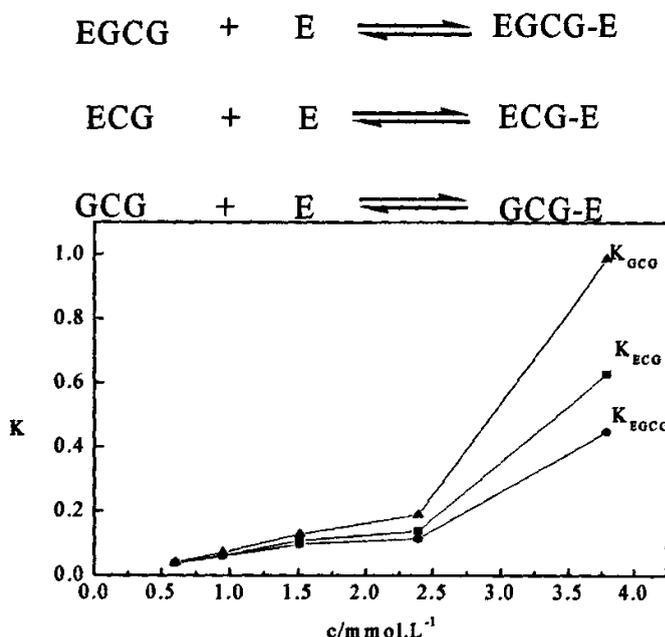


图 3-5 对叔丁基杯[8]芳烃的浓度对分配系数的影响

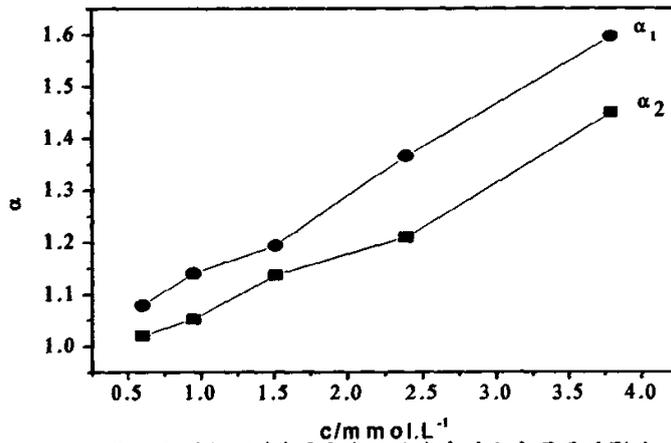


图 3-6 对叔丁基杯[8]芳烃的浓度对分离因子的影响

3.3.5 萃取温度对分配系数和分离因子的影响

对叔丁基杯[8]芳烃与 EGCG、GCG、ECG 形成超分子化合物的过程，是极化、诱导、氢键等多种分子间作用力和空间位阻效应共同作用的结果，而温度对氢键又有很大的影响，所以萃取温度不但对分配系数有较大的影响，而且必将影响分离因子。下面就以氯仿为溶剂，考察了萃取温度对 K 和 α 的影响。从下图（图 3-7 和图 3-8）可以看出，随着温度的升高，分配系数和分离因子都降低。这是因为低温有利于酯型儿茶素单体的羟基与杯芳烃的羟基形成氢键，故在此温度时 K 值与 α 值都很高。随着温度升高，分子热运动加剧，不利于酯型儿茶素单体与杯芳烃的羟基氢键的形成，故 K 值与 α 值都降低。

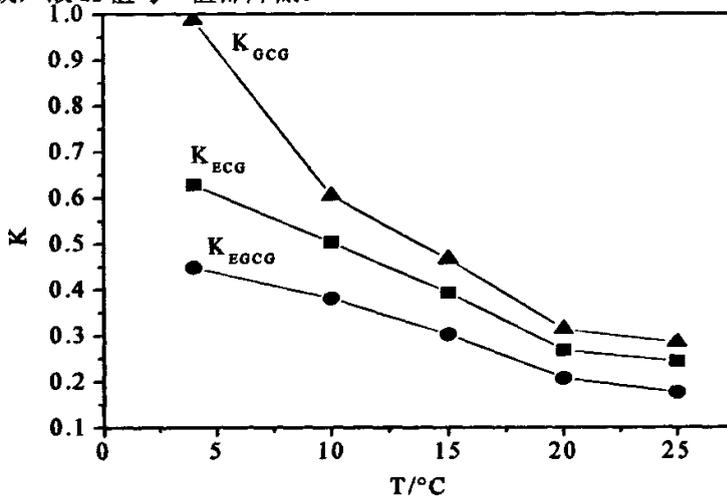


图 3-7 不同的萃取温度对分配系数 K 的影响

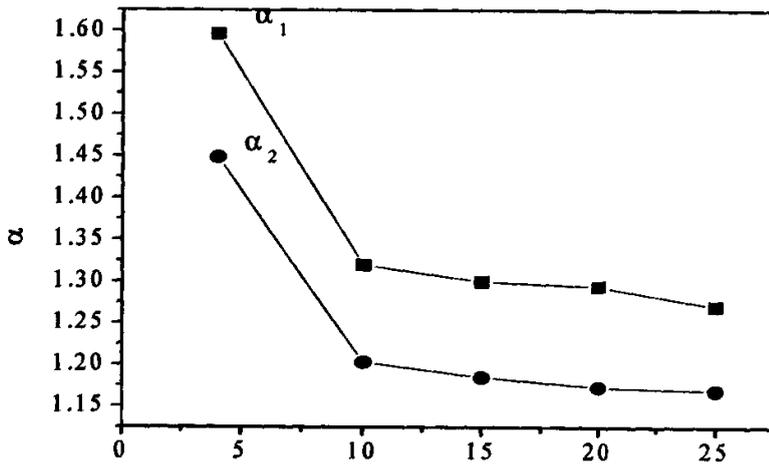


图 3-8 不同的萃取温度对分离因子的影响

3.4 小结

(1) 对叔丁基杯[8]芳烃适合萃取分离天然酯型儿茶素单体, 而且对叔丁基杯[8]芳烃与 GCG 在有机相中形成的复合物的稳定性要大于其它两种酯型儿茶素单体 EGCG、ECG, 即对叔丁基杯[8]芳烃对 GCG 的萃取能力大于对 EGCG 和 ECG。

(2) 对叔丁基杯芳烃空腔的大小及其浓度、萃取温度对 K 和 α 值都有一定的影响。本试验中对叔丁基杯[8]芳烃的萃取效果最好, 且当对叔丁基杯[8]芳烃的浓度为 3.79mmol/L , 温度为 4°C , K_{GCG} 、 K_{ECG} 和 K_{EGCG} 分别为 0.987 , 0.629 和 0.449 , 分离因子 α_1 和 α_2 分别为 1.45 和 1.596 。但是对叔丁基杯[8]芳烃的溶解性不好, 并且溶解度随温度降低而降低, 所以对其进行改性, 提高其溶解度将是一项十分有意义的工作。

第四章 杯芳烃醚类衍生物对酯型儿茶素萃取性能的研究

4.1 实验部分

4.1.1 实验主要仪器与试剂

仪器：美国惠普公司 HP1100 高效液相色谱仪，Hypersil ODS 柱 [4.6 mm(i.d)×250 mm]; SHA-2 智能水浴恒温振荡器（上海浦东物理光学仪器厂）

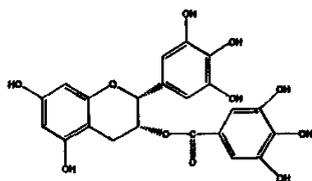
试剂：甲醇，色谱纯，天津东丽区天大化学试剂有限公司；其它试剂均为市售分析纯，且做萃取用的二氯甲烷经处提纯与干燥处理。

4.1.2 实验过程

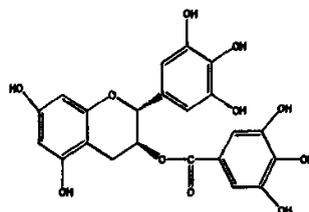
将已合成的一系列对叔丁基杯[8]芳烃醚分别溶于二氯甲烷，并配成相同的浓度作有机相。分别取 4 mL 酯型儿茶素水溶液（水相）和 4 mL 有机相溶液置于带塞的大试管，在 5℃下让其达到分配平衡，两相离心分离，取水相进行高效液相色谱(HPLC)分析，有机相中的酯型儿茶素浓度采用差减法求得。分配系数可通过 $K=(C_i-C_{aq})/C_{aq}$ 求得，其中 C_i 为水相中酯型儿茶素的起始浓度， C_{aq} 为萃取平衡时，水相中的浓度，分离因子 α_1 可通过 K_{EGCG} 和 K_{GCG} 的比值求得， α_2 可通过 K_{GCG} 和 K_{EGCG} 的比值求得。

4.2 结果与讨论

4.2.1 酯型儿茶素单体及对叔丁基杯[8]芳烃醚的结构



EGCG（表没食子儿茶素没食子酸酯）



GCG（没食子儿茶素没食子酸酯）

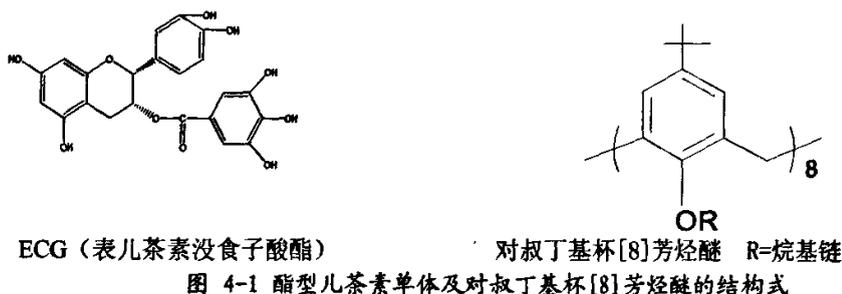
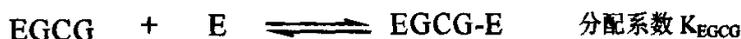


图 4-1 所示为酯型儿茶素单体 EGCG、GCG、ECG 和对叔丁基杯[8]芳烃醚的结构式。天然酯型儿茶素在含有杯芳烃醚的有机相中分配，是由于杯芳烃醚与酯型儿茶素之间具有极化、诱导、氢键等多种分子间作用力和空间位阻效应。在萃取过程中，虽然 EGCG、GCG、ECG 都存在的苯基和羟基，但是其大小和羟基的数目不同，因此，它们与杯芳烃醚作用的氢键、疏水作用、 $\pi-\pi$ 作用、范德华力等非共价键同作用存在较大差异，那么分配系数也存在较大差异，也就是说其在疏水性有机溶剂中的稳定性不同。



杯芳烃醚对酯型儿茶素单体的选择性即分离因子 (α)，主要取决于杯芳烃醚与酯型儿茶素之间形成超分子化合物 (E 代表杯芳烃醚) 的稳定性差的大小，即两相中的分配自由能差 ($-\Delta(\Delta G)$)， $-\Delta(\Delta G)$ 可通过下式推导出来：

$$-\Delta(\Delta G) = -\Delta G_{II} - (-\Delta G_I) = RT \ln K_{II} - RT \ln K_I = RT \ln K_{II}/K_I = RT \ln \alpha$$

本实验中 $K_{\text{ECG}} > K_{\text{GCG}} > K_{\text{EGCG}}$

$$-\Delta(\Delta G)_1 = RT \ln K_{\text{ECG}}/K_{\text{GCG}} = RT \ln \alpha_1$$

$$-\Delta(\Delta G)_2 = RT \ln K_{\text{GCG}}/K_{\text{EGCG}} = RT \ln \alpha_2$$

理论上，只要 $-\Delta(\Delta G)$ 不等于 0，即 α 不等于 1，结合中空纤维膜分步萃取技术，在一定级数下就可实现酯型儿茶素单体的分离。

4.2.2 不同的杯芳烃醚对分配系数和分离因子的影响

对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物对酯型儿茶素的萃取拆分的本质推动力是它与酯型儿茶素单体形成三个超分子化合物，而两相存在自由能差。因此，对叔丁基杯[8]芳烃醚的烷基链长将对酯型儿茶素单体分配产生重要的影响。以二氯甲烷为有机溶剂，考察了不同烷基链长的对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物酯型儿茶素的

分配系数和分离因子的影响。(如表 4-1)

表 4-1 不同萃取剂对 K 、 α 和 $-\Delta(\Delta G)$ 值的影响

萃取剂	K_{EGCG}	K_{GCG}	K_{ECG}	α_1	α_2	$-\Delta(\Delta G)_1$	$-\Delta(\Delta G)_2/(kJ.mol^{-1})$
八甲基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.01073	0.0645	0.2853	4.42	6.01	3434.9	4145.1
八乙基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.0121	0.0744	0.3412	4.586	6.1488	3520.1	4197.9
八丙基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.0665	0.077	0.336	4.36	1.157	3403.3	337.1
八丁基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.0707	0.119	0.37	3.11	1.68	2622.4	1199.1
八戊基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.0903	0.192	0.483	2.52	2.13	2136.2	1747.6
八己基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.1499	0.251	0.655	2.61	1.67	2217.3	1185.3
八辛基醚对叔 丁基杯[8]芳烃	0.1077	0.213	0.5904	2.77	1.98	2354.85	1578.8

萃取条件: 杯芳烃的浓度为 $0.02mol.L^{-1}$, 溶剂为氯仿, 萃取温度 $5^{\circ}C$

从表 4-1 可以看出, 对于 7 种不同烷基链长的对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物萃取酯型儿茶素单体, 总是 K_{ECG} 大于 K_{GCG} , 而 K_{GCG} 大于 K_{EGCG} , 这意味着对叔丁基杯[8]芳烃醚的衍生物与 ECG 形成的超分子化合物在疏水性有机相中的稳定性比与 GCG 形成的超分子化合物大, 而对叔丁基杯[8]芳烃醚的衍生物与 GCG 形成的超分子化合物在疏水性有机相中的稳定性比与 EGCG 形成的超分子化合物大。另外, 从表 4-1 还可以看出, 随着对叔丁基杯[8]芳烃醚衍生物的烷基链的增长, 分配系数随之增大, 到对叔丁基杯[8]芳烃己基醚时达到最大值。这可能与对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的结构有关。由于对叔丁基杯[8]芳烃醚化后, 下沿不同链长的烷基相互排斥使得其疏水性空腔的大小不同, 而可能是对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的空腔的大小与酯型儿茶素单体更匹配, 更有利于形成稳定的超分子化合物。表 4-1 列出的分配系数相对于大多数传统萃取来说是较小的, 要达到完全萃取分离, 需使用大的相比和足够的传质单元数, 但结合高效中空纤维膜分步萃取技术达到完全分离是相对容易实现的。

4.2.3 对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的浓度对分配系数和分离因子的影响

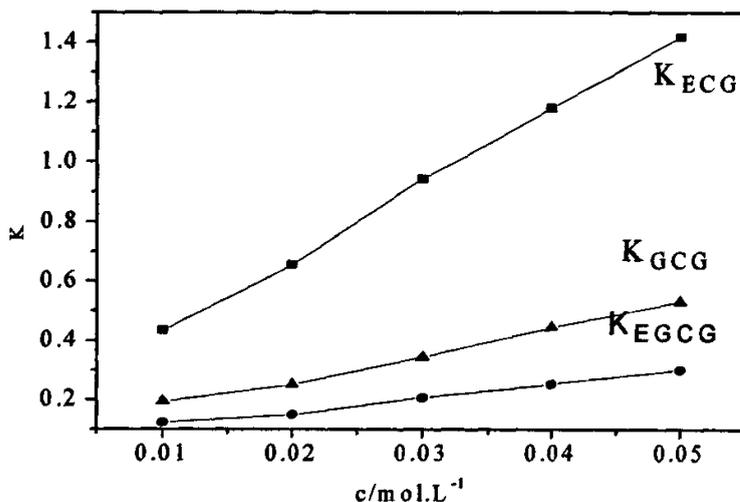


图 4-2 对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的浓度对分配系数 K 的影响

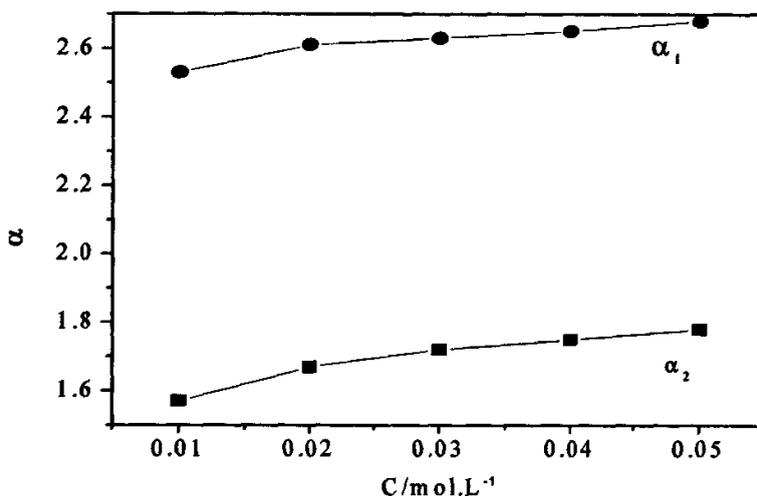


图 4-3 对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的浓度对分离因子的影响

萃取条件：萃取剂为对叔丁基杯[8]芳烃己基醚，溶剂为二氯甲烷，萃取温度 5℃。

由于在萃取过程中对叔丁基杯[8]芳烃己基醚与酯型儿茶素单体之间依靠多种分子间作用力生成超分子化合物，对叔丁基杯[8]芳烃己基醚的浓度对分配系数和分离因子具有较大的影响。从图 4-2 和图 4-3 可以看出，酯型儿茶素单体的分配系数和分离因子随着浓度的增加而增大，浓度越高，萃取效果越好。

4.2.4 萃取温度对分配系数和分离因子的影响

对叔丁基杯[8]芳烃己基醚与 EGCG、GCG、ECG 形成超分子化合物的过程，是极化、诱导、氢键等多种分子间作用力和空间位阻效应共同作用的结果，而温度对分子间作用力的影响又有很大的影响，所以萃取温度不但对分配系数有较大的影响，而且必将影响分离因子。下面就以氯仿为溶剂，考察了不同的温度对对

K 和 α 的影响。从图 4-4 和图 4-5 可以看出, 随着温度的升高, 分配系数和分离因子都降低。这是因为温度越低分子间的作用力越强, 随着温度升高, 分子热运动加剧, 不利于对叔丁基杯[8]芳烃己基醚与酯型儿茶素单体形成超分子化合物的形成, 故分配系数和分离因子值都降低。

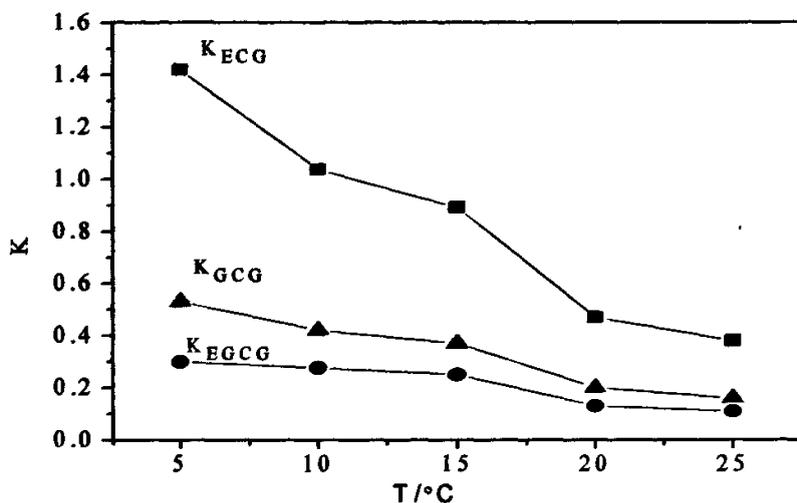


图 4-4 萃取温度对分配系数 K 的影响

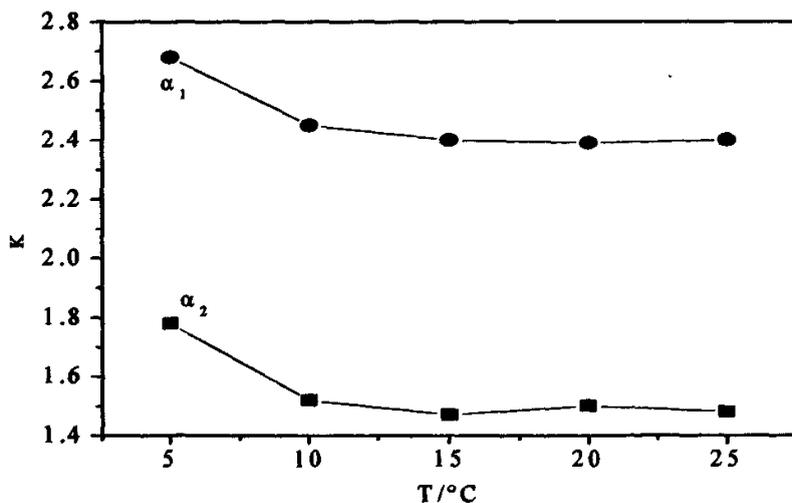


图 4-5 萃取温度对分离因子的影响

萃取条件: 萃取剂为对叔丁基杯[8]芳烃己基醚, 浓度为 $0.052\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 溶剂为二氯甲烷

4.3 小结

(1) 对叔丁基杯[8]芳烃醚化后溶解性能大大增强, 对天然酯型儿茶素单体

也能较好的萃取分离, 而且对叔丁基杯[8]芳烃醚化物与 ECG 在有机相中形成的超分子化合物的稳定性要大于其它两种酯型儿茶素单体 EGCG、GCG, 即对叔丁基杯[8]芳烃醚化物对 ECG 的萃取能力大于对 EGCG 和 GCG。

(2) 对叔丁基杯[8]芳烃醚化后, 其空腔大小发生变化, 其浓度、萃取温度对 K 和 α 值都有一定的影响。本试验中对叔丁基杯[8]芳烃己基醚是最佳的萃取剂, 而在对叔丁基杯[8]芳烃己基醚浓度为 0.052mol/L , 温度为 5°C 时, K_{GCG} 、 K_{ECG} 和 K_{EGCG} 分别为 0.53, 1.42 和 0.30, 分离因子 α_1 和 α_2 分别为 2.68 和 1.78。

第五章 结论

本文是以茶叶提取物酯型儿茶素作为分离对象,合成了不同空腔大小的杯芳烃及其醚衍生物作为萃取剂,并对萃取剂的萃取性能进行了考察。得出的结论如下:

1、通过薄层色谱对所合成物进行纯度测定,并用红外、核磁、元素分析、质谱对所合成化合物的表征,证实了所合成的物质为目标物质。

2、考察了对叔丁基杯[4]芳烃、对叔丁基杯[6]芳烃、对叔丁基杯[8]芳烃和八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃这一系列萃取剂对酯型儿茶素单体的萃取性能。在 K_{EGCG} 、 K_{GCG} 、 K_{ECG} 较大的前提下,基于 α 最大原理,得出对叔丁基杯[8]芳烃是最佳的萃取剂,在浓度越高,温度越低时, K 和 α 具有最好。但是对叔丁基杯[8]芳烃的溶解性不好,并且溶解度随温度降低而降低,所以对其进行改性,提高其溶解度将是一项十分有意义的工作。

3、考察了7种不同烷基链的杯[8]芳烃醚萃取剂对酯型儿茶素单体的萃取性能。在 K_{EGCG} 、 K_{GCG} 、 K_{ECG} 较大的前提下,基于 α 最大原理,得出对叔丁基杯[8]芳烃己基醚是最佳的萃取剂,在浓度越高,温度越低时, K 和 α 具有最好。

以上研究成果仅揭示了杯芳烃萃取剂和儿茶素单体萃取性能的相关性,为连续化制备和分离天然酯型儿茶素提供重要的理论依据和技术参数。但由于时间关系,没有萃取剂与酯型儿茶素分子识别机理进行研究。总而言之,希望本项研究工作留下的一些结论为以后相关工作提供有益的参考和启示。

附图

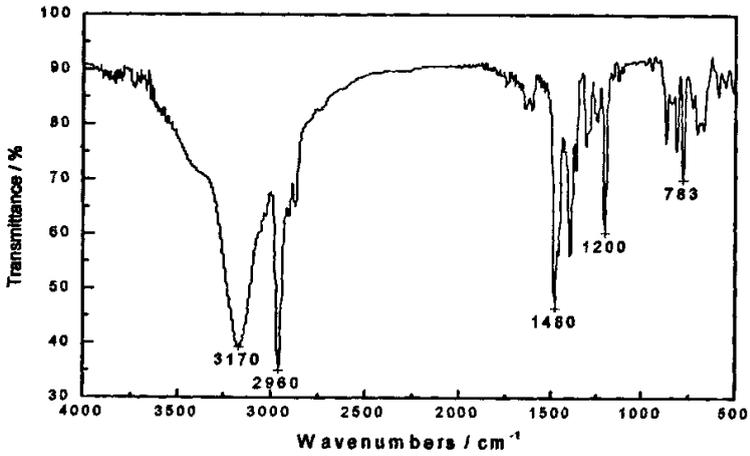


图 1 对叔丁基杯[4]芳烃的红外光谱图

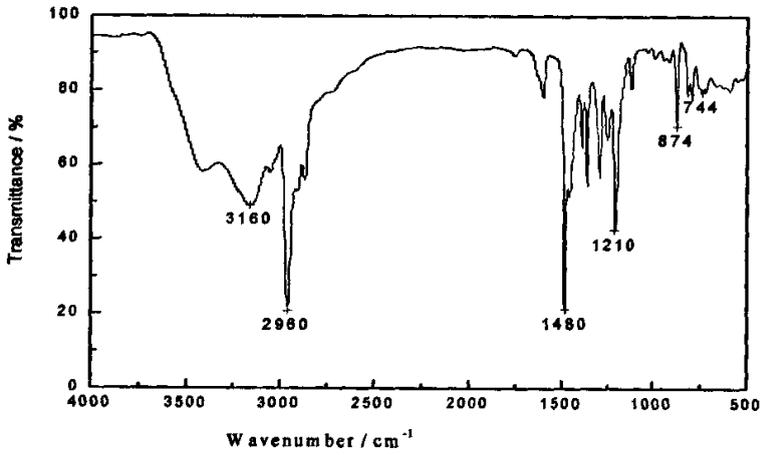


图 2 对叔丁基杯[6]芳烃的红外光谱图

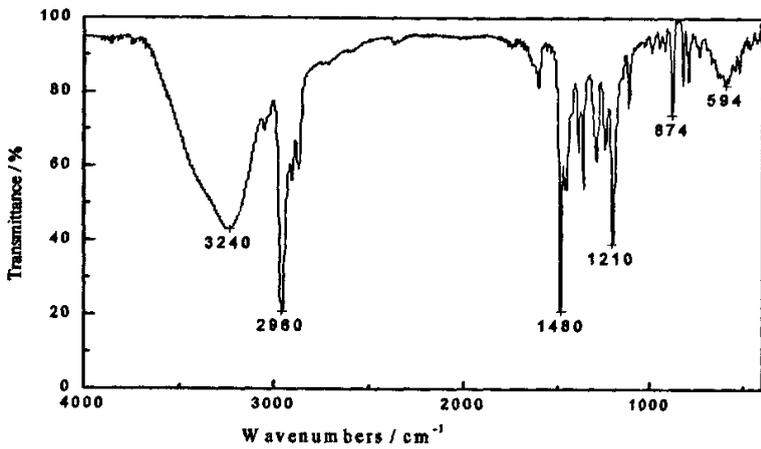


图 3 对叔丁基杯[8]芳烃的红外光谱图

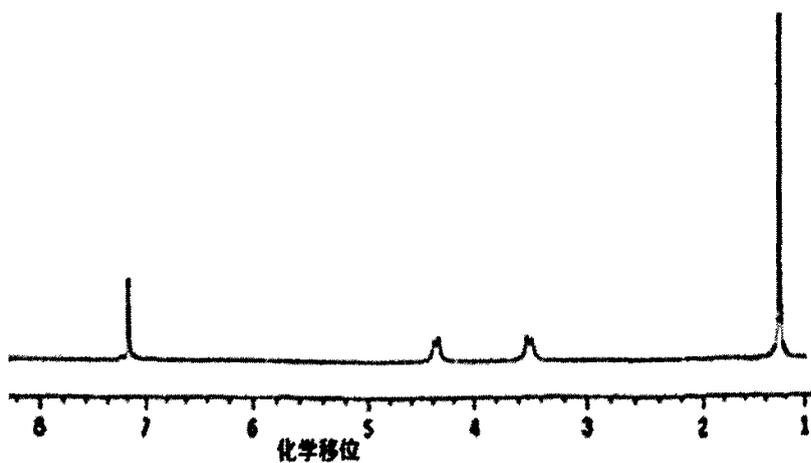


图 4 对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

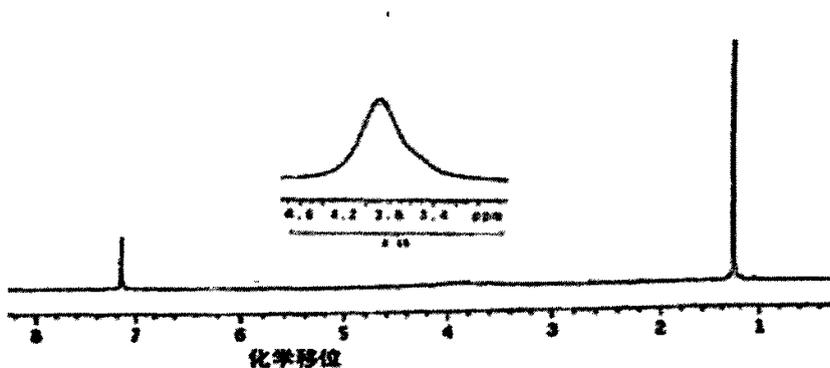


图 5 对叔丁基杯[6]芳烃的核磁谱图

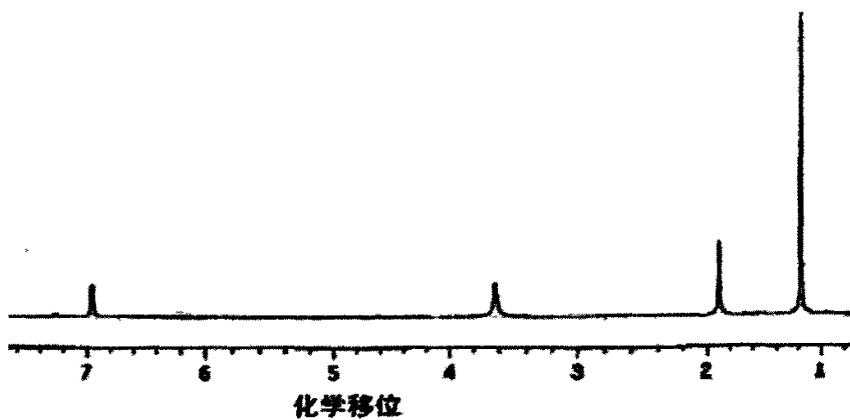


图 6 八乙酰基对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

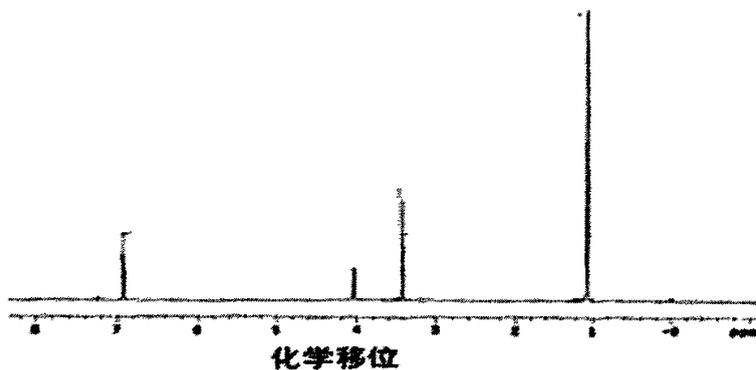


图 7 八甲基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

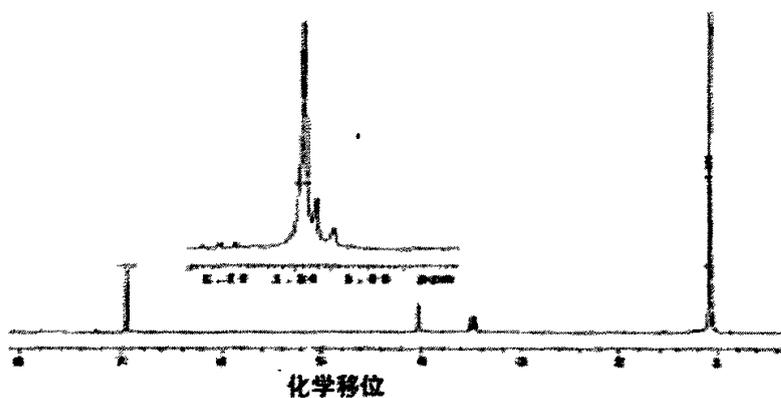


图 8 八乙基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

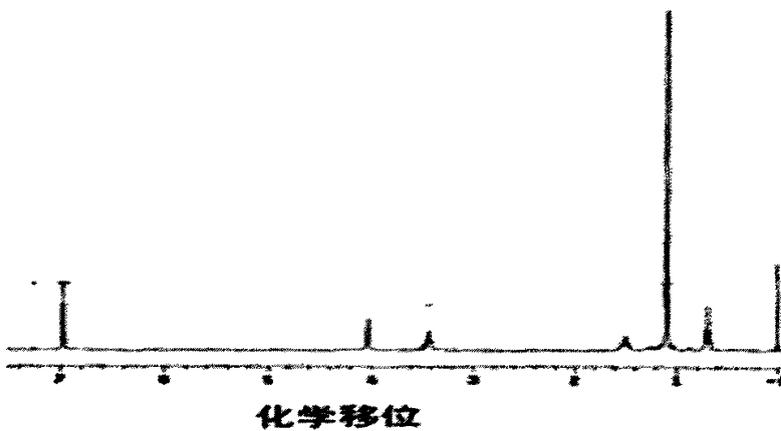


图 9 八丙基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

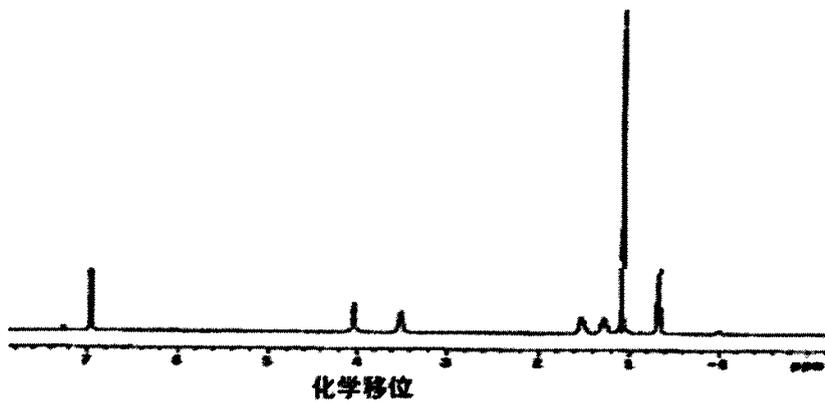


图 10 八丁基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

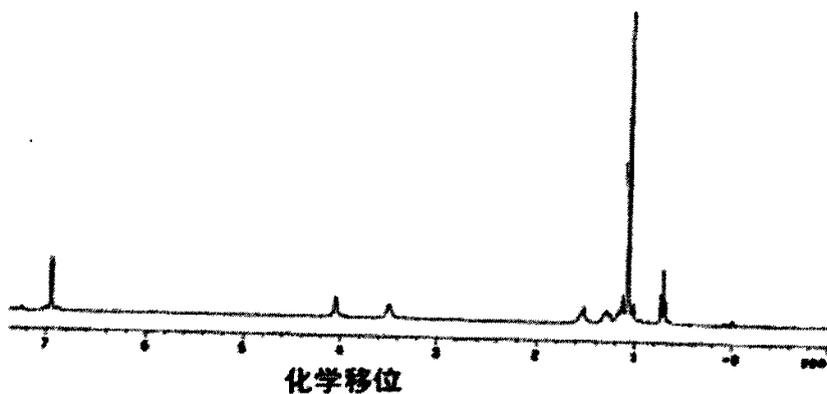


图 11 八戊基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

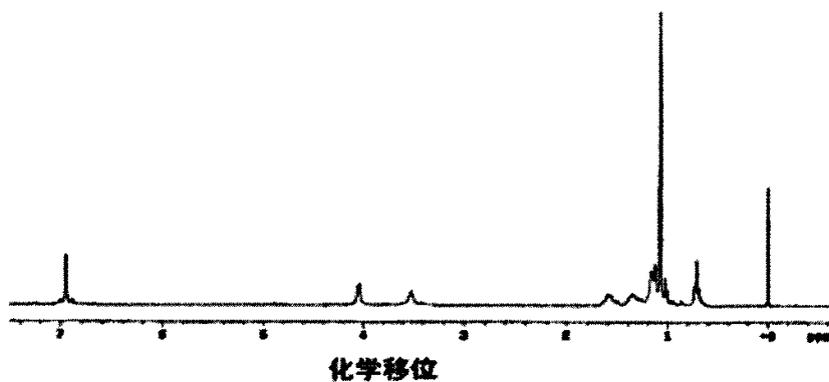


图 12 八己基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

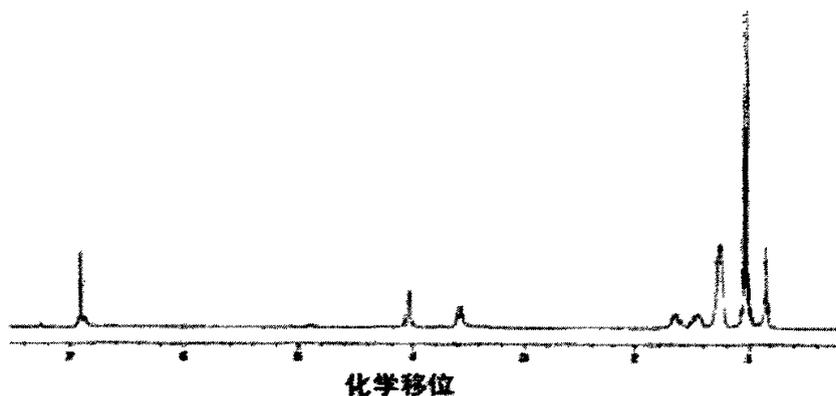


图 13 八辛基醚对叔丁基杯[8]芳烃的核磁谱图

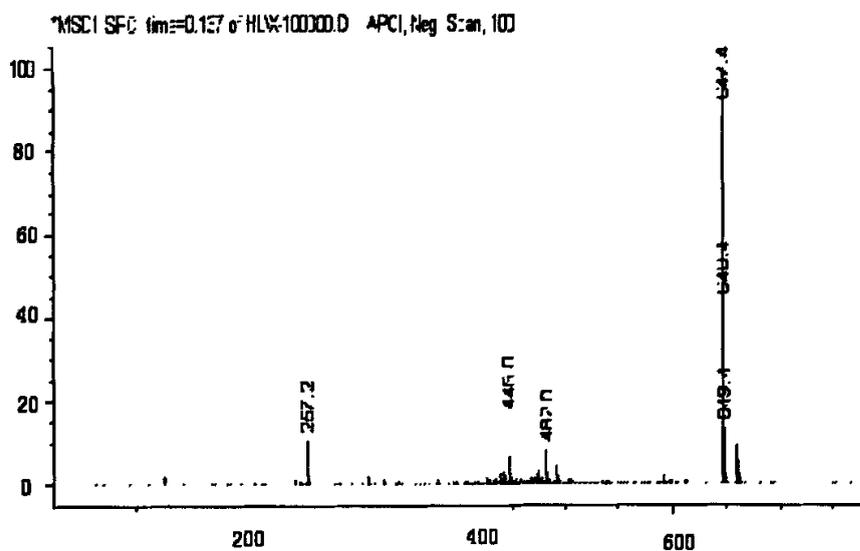


图 14 对叔丁基杯[4]芳烃质谱图

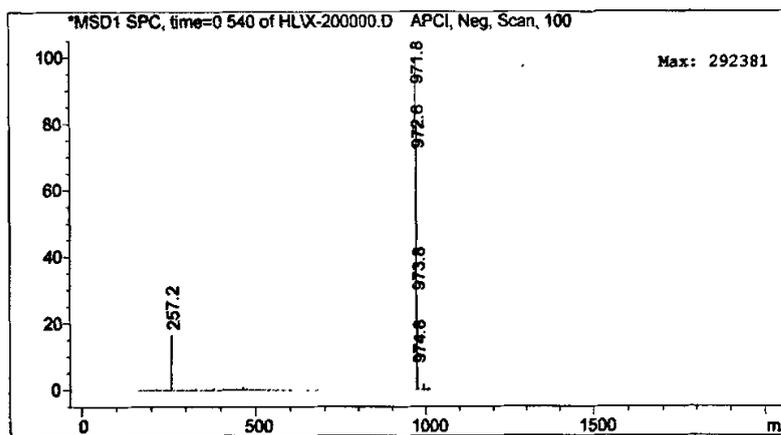


图 15 对叔丁基杯[6]芳烃质谱图

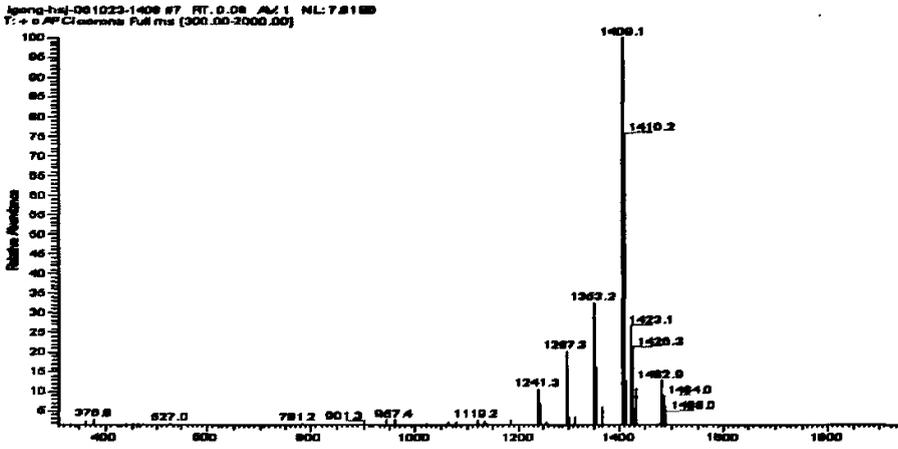


图 16 八甲基醚对叔丁基杯[8]芳烃质谱图

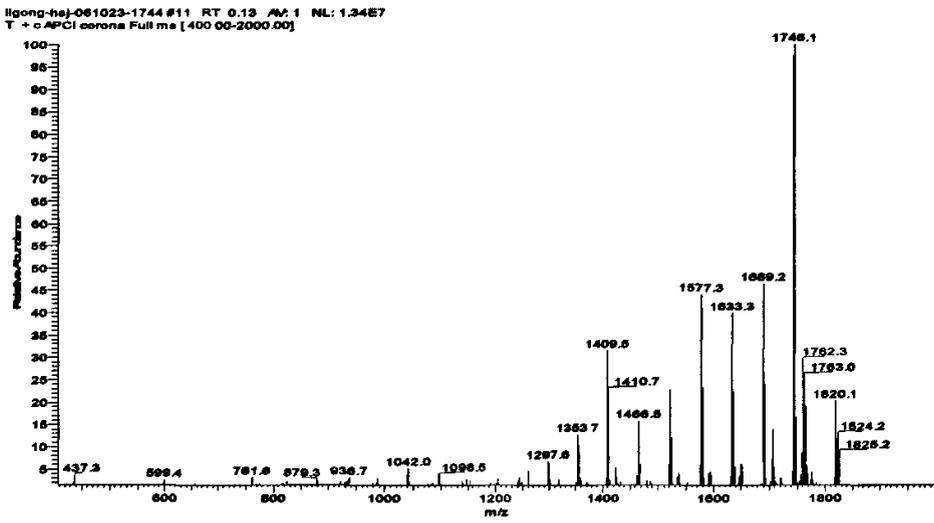


图 17 八丁基醚对叔丁基杯[8]芳烃质谱图

参考文献

- [1] Atwood J L, Koutsantnis G A, Raston C L. Purification of C_{60} and C_{70} by selective complexation with calixarenes[J]. *Nature*, 1994, 368: 229-231
- [2] Baralat N, Burgard M, Asfari Z, et al. Solvent extraction of alkaline-earth ions by dicarboxylated calix[4]arenes[J]. *Polyhedron*, 1998, 17(20): 3649-3656
- [3] Shimojo K, Oshima T, Goto M. Calix[6]arene acid extraction specificity with respect to nucleobases[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 521: 63-171
- [4] a. Yu Liu, En-Cui Yang, Yong Chen, et al. Molecular Selective Binding of Pyridinium Guest Ions by Water-Soluble Calix[4]arenes Eur[J]. *J Org Chem*, 2005, 21: 4581-4588
b. Yu Liu, Bang-Tun Zhao, Lang-Xing Chen, et al. Liquid membrane transport and silver selective electrode based on novel bis(3-pyridinecarboxylate) calix[4]-arene as ionophore[J]. *Microchemical Journal*, 2000, 65, 75-79
- [5] Shimojo K, Goto M. Synergistic extraction of nucleobase by the combination of calixarene and D2EHPA[J]. *Separation and Purification Technology*, 2005, 44: 175-180
- [6] Oshima T, Goto M, Furusaki S. Extraction Behavior of Amino Acids by Calix[6]-arene Carboxylic Acid Derivatives[J]. *J Inclusion Phenom Macrocyclic Chem*, 2002, 43:77-86
- [7] Mutihac L, Jurgen H, Buschmann, et al. Some Aspects of Extractability and Transport of Amino Acid Esters by Calixarenes[J]. *J Inclusion Phenom Macrocyclic Chem*, 2003, 47: 123-128
- [8] Oshima T, Goto M, Furusaki S. Complex Formation of Cytochrome with a Calixarene Carboxylic Acid Derivative: A Novel Solubilization Method for Biomolecules in Organic Media[J]. *Biomacromolecules*, 2002, 3: 438-444
- [9] Y Sawai, J H Moon. NMR analytical approach to clarify the molecular mechanisms of the antioxidative and radical-scavenging activities of antioxidants in tea using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl[J]. *Agriculture Food Chemistry*, 2000, 48(12): 6247-6253
- [10] T Nakagawa, T Yokozawa, K Terasawa, et al. Protective activity of green tea against free radical –and glucose-mediated protein damage[J]. *Agriculture Food*

- Chemistry, 2002, 50(8): 2418-2422
- [11] Saeki K, Hayakawa X, Isenura N, et al. Important of a pyrogallol-type structure in catechin compounds for apoptosis-inducing activity[J]. *Phytochemistry*, 2000, 53: 391-394
- [12] Hae Y C, Takako Y, Do Y S, et al. Peroxynitrite-scavenging activity of tea tannin[J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 4484-4486
- [13] Ikuro A, Takahiro S, Kaoru U, et al. Green tea polyphenols: Novel and potent inhibitors of squalene epoxidase[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2000, 268: 767-771
- [14] Yen G C, Chen H Y. Relationship between antimutagenic activity and major components of various tea[J]. *Mutagenesis*, 1996, 11(1): 37-41
- [15] Stoner G D, Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agents[J]. *Cell Biochem*, 1995, 22: 169-180
- [16] 张盛, 刘仲华, 黄建安, 等. 吸附树脂法制备高纯儿茶素的研究[J]. *茶叶科学*, 2002, 22(2):125-130
- [17] 张莹, 施兆鹏, 聂洪勇, 等. 制备型逆流色谱分离绿茶提取物中儿茶素单体[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 29(5): 408-417
- [18] 王洪新, 戴军, 张家骊, 等. 茶叶儿茶素单体的分离纯化及鉴定[J]. *无锡轻工大学学报*, 2001, 20(2): 117-121
- [19] Gutsche C D. Calixarenes[J]. *Acc Chem Res*, 1983, 16: 163-170
- [20] Gutsche C D, Muthukrishnan R. Analysis of the product mixtures produced by the base-catalyzed condensation of formaldehyde with para-substituted phenols[J]. *J Org Chem*, 1978, 43, 4905-4907
- [21] Shinkai S. Calixarenes—the third generation of supramolecules[J]. *Tetrahedron*, 1993, 49(40): 8933-8968
- [22] C D Gutsche, B Dhawan, Kwang H N, et al. The Synthesis, Characterization, and Properties of the Calixarene from P-tert-Butylphenol[J]. *J Am Chem Soc*. 1981, 103: 3782-3792
- [23] C D Gutsche, M. Iqbal. P-tert-butylcalix[4]arene[J]. *Organic Syntheses*, 1990, 68: 234-235
- [24] Donald R, Stewart, Gutsche C D. Isolation, Characterization, and Conformational Characteristics of P-tert-Butylcalix[9-20]arenes[J]. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 4136-4146
- [25] K Araky, A Yanagi, S Shinkai. Designed From Calix[4]arene[J]. *Tetrahedron*,

- 1993, 49, 6763-6772
- [26] V Böhmer, F Marschollek, L Zetta, Calix[4]arenes with four differently substituted phenolic units[J]. *J Org Chem*, 1987, 52(15): 3200~3205
- [27] Jian Zhang, Ganna Podoprygorina, Ganna Podoprygorina, et al. Functionalized Calix[8]arenes, Synthesis and Self-assembly on Graphite. *Chem Mater*, 2005, 17: 2290-2297
- [28] Tracy A, Hanna, Lihua Liu, et al. Synthesis, Structures, and Conformational Characteristics of Calixarene Monoanions and Dianions. *J Am Chem Soc*, 2003: 125: 6228-6238
- [29] Mei-Xiang Wang, Hai-Bo Yang. A General and High Yielding Fragment Coupling Synthesis of Heteroatom-Bridged Calixarenes and the Unprecedented Examples of Calixarene Cavity Fine-Tuned by Bridging Heteroatoms. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 15412-15422
- [30] Alessandro Casnati, Riccardo Ferdani, Andrea Pochini, et al. *p*-(Benzyloxy) calix[8]arene: One-Pot Synthesis and Functionalization. *J Org Chem*. 1997, 62: 6236-6239
- [31] Eui-Hyun Ryu, Yan Zhao. Efficient Synthesis of Water-Soluble Calixarenes Using Click Chemistry. *Organic Letters*, 2005, 7(6): 1035-1037
- [32] a. C D Gutsche. In *Calixarenes*; Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989
b. Gutsche C D. *Calixarenes Revisited: Monographs in Supramolecular Chemistry*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 1998
- [33] S Shinkai, S Mori, T Tsubaki, et al. New water-soluble host molecules derived from calixarene[J]. *Tetrahedron Letters*, 1984, 25(46): 5315-5318
- [34] T Arimura, S Shinkai, T Matsuda, et al. Fries Rearrangement in Calixarene Esters: A New Entry for the Synthesis of *p*-Substituted Calixarenes[J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1988, 61, 3733-3734
- [35] Ikeda A, S Shinkai, et al. On the Origin of High Ionophoricity of 1,3- Alternate Calix[4]arenes: π - Donor Participation in Complexation of Cations and Evidence for Metal - Tunneling through the Calix[4]arene Cavity[J]. *J Am Chem Soc*, 1994, 116(7): 3102-3110
- [36] C D Gutsche and I Alam, *Calixarenes-23, The Complexation and Catalytic Properties of Water Soluble Canxarenes*[J]. *Tetrahedron*, 1988, 44, 4689
- [37] 吕鉴泉, 何锡文, 陈郎星, 等. 功能化杯芳烃在识别分析中的研究进展[J]. *分析化学*, 2001, 29(11): 1336-1342

- [38] 刘爱林, 傅崇岗, 张立云, 等. 羧基苯偶氮基杯[8]芳烃衍生物的合成及表征[J]. 合成化学, 2003, 11(1): 72-75
- [39] C D Gutsche, Lee-Gin Lin. The synthesis of functionalized calixarene[J]. Tetrahedron, 1986, 42: 1633-1640
- [40] Gutsche C D, Nam K C. Synthesis, Propertise and Metal Complexation of Aminocalixarenes[J]. J Am chem. Soc. 1988, 110: 6153- 6162
- [41] 李鸿图, 范平, 玛哈.默哈穆德, 等. 对叔丁基杯[8]芳烃酯类衍生物的合成[J]. 辽宁大学学报, 199, 26(3): 253-256
- [42] K Ohto, MYano, K Inoue, et al. Solvent Extraction of Trivalent Rare Earth Metal Ions with Carboxylate Derivatives of. Calixarenes[J]. Anal Sci, 1995, 11: 893-890.
- [43] Arnaud-Neu F, Collins EM, Deasy M, et al.. Synthesis, X-ray crystal structures, and cation-binding properties of alkyl calixaryl esters and ketones; a new family of macrocyclic molecular receptors[J]. J Am Chem Soc ,1989, 111: 8681-8691
- [44] 蔡亚华, 王云艳, 颜朝国. 杯芳烃多齿水杨醛亚胺衍生物的合成[J]. 2005, 25(5): 576~578
- [45] P Neri, G Corratelli. "Alternate Alkylolation" of P-tert-Butylcalix[8]arene in the Presence of Weak Base[J]. J.Org.Chem, 1995, 60: 4126-4135
- [46] 施宪法, 丁时超, 杨宇翔, 等. 杯芳烃的配位化学(IV)对叔丁基杯[8]芳烃与钙、镉配合物的合成与表征[J]. 无机化学学报, 1994, 10(4): 431-437
- [47] 朱志良, 叶剑, 顾金英, 等. 杯[8]芳烃羧酸衍生物对铁、镉的萃取研究. 核化学与放射化学. 2000,22(3): 161-165
- [48] Suk-kyu Chang, Whan Cho,. New Metal Cation-Selective Ionophores Derived From Calixarene: Their Synthesis and Ion Binding Properties[J]. J Chem Soc, Perkin Trans I. 1986:211-214
- [49] Dmitry M R. Calix[4]arene Salenes:A Bifunctional Receptor for NaH₂PO₄. J Org Chem, 1994 , 59 :3683-3686
- [50] Beer, Paul D, Drew, Michael G B; et al. Anion recognition properties of new upper-rim bis[rhenium(II) bipyridyl, ruthenium(II) bis(bipyridyl), cobaltocenium calix[4]arene receptors dictated by lower-rim substituents. Chem Commun, 1996, 18: 2161-2162
- [51] Chem S H, Lao G R. "Bioorganic Chemistry", Sichuan Daxue Publishing House,1991,272(in Chinese)
- [52] Shinkai S. "Bioorganic Chemistry Fronties 1", Ed by Dugas H, Springer-Verlag

- Berlin Heidelberg, 1990, 178 and references cited therein
- [53] Shinkai S, Araki K, Manabe O. NMR Determination of Association Constant for Calixarene Complexes. Evidence for the Formation of a 1:2 Complex with Calix[8]arene[J]. *J Am Chem Soc*, 1988,110: 7215-7217
- [54] 陈淑华, 李东红, 袁立华, 等. 杯芳烃类受体的分子识别作用研究进展[J]. *有机化学*, 1999, 19, 339-347
- [55] Jankum J, Selman S H. Swiercz R, et al. Why drinking green tea could prevent cancer[J]. *Nature*, 1997, 387 : 501-504
- [56] Cao Y, Cao R. Angiogenests inhibited by drinking tea[J]. *Nature*, 1999, 398: 381-385
- [57] Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer[J]. *Jnat CancerInst*, 1993, 85: 1038-1049
- [58] 李楠, 张建华. 茶叶饮料中 EGCG 的反相高效液相色谱定量测定[J]. *大连理工大学学报*, 1995, 38(1): 123-124
- [59] Pard O, Swaisgood H E, Allen J C. Calciumbinding of phosphopeptides derived from hydrolysis of α 1 -casein or β -casein using immobilized trypsin[J]. *J Dairy Sci*[J], 1998, (81): 2850-2857
- [60] 刘学铭, 梁世中. 茶多酚的保健和药理作用及应用前景[J]. *食品与发酵工业*, 1998, 24 (5): 47-51
- [61] Yokozawa T X, Dong E X, Nakagawa T X, et al. In vitro and in vivo studies on the radical scavenging activity of tea[J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46(6): 2143-2150
- [62] 李彩蓉, 杨晓, 朱忠华, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯治疗大鼠糖尿病肾病[J]. 2005, 24 (10): 877-879
- [63] Douglas J T, Michael L K. Molecular dynamics simulwtions of a calcium carbonate/calaium sulfonate reverse micelle[J]. *J Phys Chem*, 1996, 100(16): 6637-6648
- [63] D Blache, P Durand, M Prost, et al. (+)-Catechin inhibits platelet hyperactivity induced by an acute iron load in vivo[J]. *Free radical biology and medicine*, 2002, 33(12): 1670-1680
- [65] F Sanae ,Y Miyaichi, H Kizu, et al. Effects of catechins on vascular tone in rat thoracic aorta with endothelium[J]. *Life Science*, 2002, 71(21): 2553-2562
- [66] 张星海. 茶多酚对心脑血管疾病防治作用的研究进展[J]. *福建茶叶*, 2001, 4: 16~18
- [67] H L Lung, W K Ip, C K Wong, et al. Anti-proliferative and differentTiation

- inducing activities of the green tea catechin epigalloCatechin-3- gallate(EGCG) on the human eosinophilic leukemia Eol-1 cell line[J]. *Life Science*, 2002, 72(3): 257-268
- [68] G.Sadik, R.Islam, M.M.Rahman, et al. Antimicrobial and cytotoxic constituents of *Loranthus globosus*[J]. *Fitoterapia*, 2003, 74(3): 308-311
- [69] S.Asfar, S.Abdeen, H.Dashti, et al. Effect of green tea in the prevention and reversal of fasting-induced intestinal mucosal damage[J]. *Nutrition*, 2003, 19(6): 536-540
- [70] H Babich, M E Krupka, H A Nissim, et al. Differential in vitro cytotoxicity of (-)-epicatechin gallate(ECG) to cancer and normal cells from the human oral cavity[J]. *Toxicology in vitro*, 2005, 19: 231-242
- [71] Zong Ping Chen, John B Shell, Chi-Tang Ho, et al. Green tea epigallocatechin gallate shows a pronounced growth inhibitory effect on cancerous cells but not on their normal counterparts[J]. *J.Cancer Letters*, 1998, 129: 173-179
- [72] 姜绍通, 潘丽军. 茶多酚—猪油和乳化体系的抗氧化效果[J]. *食品科学*, 1999, 20(5): 9-11
- [73] 杜琪珍, 等. 单台与双台串联高速逆流色谱分离能力的比较[J]. *中国茶叶*, 1996, 18(2): 20-21
- [74] 良边文久. A simple preparation chromatography separation of green tea catechins[J]. *Nippon Kaishi Nigeikagaku*, 1989, 63(4): 845-847
- [75] Ozawa T. The separation of catechins from green tea[J]. *Agriculture Biochemistry*, 1982, 46(7): 1082-1097
- [76] Ryoyasu Saijio. Isolation and chemical structure of two new catechins[J]. *NipponKaishi Nigeikagaku*, 1989, 63(4): 878-880
- [77] 陈瑞峰, 李名君. 茶叶科学论文集[M], 上海: 上海科学技术出版社, 1991:157-169
- [78] 王洪新, 戴军, 张家骊, 等. 茶叶儿茶素单体的分离纯化及鉴定[J]. *无锡轻工大学学报*, 2001, 20(2): 117-121
- [79] 钟世安, 周春山, 杨娟玉. 高效液相色谱法分离纯化酯型儿茶素的研究[J]. *化学世界*, 2003, (5): 237-249
- [80] Copeland E L, Williams C M, Williams C M. Preparation of (-) epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition[J]. *Food Chemistry*, 1998, 61: 81-87
- [81] 张星海, 郭碧花, 沈生荣. 儿茶素富集和 EGCG 单体纯化新工艺研究茶叶[J],

- 2002, 3: 136~137
- [82] 钟萝主编. 茶叶品质理化分析. 上海: 上海科学技术出版社
- [83] 万小兵. 杯芳烃衍生物的合成: [硕士学位论文]. 南京: 南京大学, 2001
- [84] TANG Ke-Wen, Chun-Shan. Enantioselective Extraction of Terbutaline Enantiomers by Lipophilic Tartaric Acid[J]. J CENT SOUTHUNIV TECHNOL, 2003, 10(1): 44-48
- [85] Iwamoto K; Shinkai S, Syntheses and ion selectivity of a conformational isomers of tetrakis ((ethoxycarbonyl) methoxy) calix[4]arene[J]. J Org Chem, 1992, 57: 7066-7073
- [86] 唐课文, 周春山. 疏水性 L-酒石酸酯立体选择性萃取分离扁桃酸对映体[J]. 应用化学, 2003, 20(11): 1108-1110
- [87] 唐课文, 周春山, 钟世安, 等. 聚酰胺树脂对茶多酚和咖啡因吸附选择性研究[J]. 谱学与光谱分析, 2003, 23(1): 143-145
- [88] 罗晓明, 蒋雪薇. 高效液相色谱快速测定茶叶中儿茶素的含量[J]. 湖北化工, 2003 (1): 46-48
- [89] 易健民, 李宝容, 唐果文, 等. 用没食子酸酯萃取分离酯型儿茶素单体[J]. 中南大学学报 (自然科学版), 2006(37): 1127-1131

致 谢

本论文是在导师黄可龙、易健民和唐课文三位教授的精心指导和悉心关怀下完成的。从论文选题到实验的每一步进展无不浸透着老师的心血。导师治学严谨，人格高尚，真诚正直，是我学习的榜样和楷模。在此，怀着深深的敬意，谨向导师致以最真挚的谢意！

同时衷心感谢阎建辉老师和廖德仲老师在实验中给予我的无私帮助。本论文是在湖南理工学院的各位老师关心和支持下完成的，在此要感谢湖南理工学院各位老师。

还要感谢张国丽、刘强、王素琴等同学三年来在学习和生活方面给予的帮助和支持。

.....

感谢身边的关心和帮助过我的所有人！

感谢国家自然科学基金项目(No. 20576029)的资助。

攻读硕士期间发表的论文

1. 黄赛金, 黄可龙, 易健民, 唐课文. 对叔丁基杯[8]芳烃醚类衍生物的合成[J]. 合成化学, 2007, 15 (1): 79-81.
2. YI Jian-min, HUANG Sai-Jin, TANG Ke-wen, HUANG Ke-long. The Synthesis of Calixarenes and Their Extraction Performance For Ester Catechins[J] 《J.CENT.SOUTHUNIV.TECHNOL》已接收.