

甘草酸水溶液的辐解

何永克·刘天伟 袁荣尧 吴季兰

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

摘要 甘草酸的辐解可分为两个过程: (1) 生色团 α 、 β 不饱和酮的破坏; (2) 抽氢反应导致甘草酸结构破坏, 但生色团不破坏。用 HPLC 分离出四个辐解产物, 其一是甘草次酸并测定了它们的 G 值。用加入俘获剂(甲酸钠)的方法, 证明 $\text{OH}\cdot$ 自由基的作用可使配糖键断裂, 生成甘草次酸和未知辐解产物 II, $\text{OH}\cdot$ 和 $\text{HO}_2\cdot$ 的作用可生成未知辐解产物 I, 未知辐解产物 III 是次级产物。用竞争反应动力学得到 $\text{OH}\cdot$ 自由基与甘草酸的反应速率约为 $10^{10}\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

关键词 甘草酸, 甘草次酸, 甘草, 甲酸钠, γ 辐解

甘草(glycyrrhiza)广为药用, 有通经脉、利血气、解百毒, 调和诸药之功^[1]。现代医学研究表明, 甘草药理作用的主要成分是甘草酸(GAH)及甘草次酸(GL)^[2,3]。Canonica 等和 Elgamal 等^[4,5]对甘草酸和甘草次酸的性质和化学行为进行了较详细的研究。舒永华和张如意等^[6,7]分离并研究了甘草酸的同分异构体皂甙和皂甙元。Mousseron 等^[8]研究过甘草次酸的光异构化反应。 γ 射线辐照甘草酸时, 发现干的甘草对 γ 射线不敏感, 甘草中甘草酸含量的损失随甘草含水量的增加而增大^[9]。因此研究甘草酸水溶液的辐射分解具有理论和实际意义。

1 实验方法

1.1 仪器及操作条件

高效液相色谱仪(HPLC), Varian 公司产品, LC 5060 型; 色谱柱: 十八烷基硅烷(ODS) 4 mm $\times$ 150 mm; 淋洗剂: $\text{CH}_3\text{OH} + 0.88\%\text{HCOOH}-\text{H}_2\text{O}(8:2)$; 检测波长 250 nm, 流速 1 ml/min, 柱温 30°C。

紫外可见光谱仪, 岛津 UV 240 型。红外光谱仪 PE 683 型。

1.2 试剂

甘草酸单钠盐, 经多次重结晶纯化。甘草次酸由中国药品生物制品检定所提供。

1.3 辐照

^{60}Co γ 辐射源, 剂量率 $1.06 \times 10^{18}\text{eV/g}\cdot\text{min}$ 。样品管分别以 N_2O 、 O_2 或 N_2 饱和, 或抽真空至 $1.3 \times 10^{-3}\text{Pa}$ 后封管。

2 结果和讨论

2.1 过氧化氢产额

图 1 是不同气体饱和的甘草酸水溶液(pH 12.3, $1.16 \times 10^{-3}\text{mol/L}$)过氧化氢 G 值与吸收剂

国家自然科学基金委员会部分资助课题
稿件收到日期: 1991-12-09

量的关系。剂量小于 $1.5 \times 10^{18} \text{eV/g}$ 时, $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)\text{N}_2} = 0.1 \pm 0.02$, $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)\text{N}_2\text{O}} = 0.86 \pm 0.13$, $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)\text{O}_2} = 2.72 \pm 0.22$. $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)\text{N}_2}$ 仅为 0.1, 这可能由于 H_2O_2 积累后, $\text{e}^{-\text{aq}}$ 还原 H_2O_2 , $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{e}^{-\text{aq}} \rightarrow \text{OH} + \text{OH}^-$. 而 N_2O 饱和体系, $\text{e}^{-\text{aq}}$ 被转化为 OH , 测得的 H_2O_2 产额与水中 H_2O_2 的初始分子产额 $G_{\text{H}_2\text{O}_2}$ 近似. $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)\text{O}_2}$ 为 2.72, 比含氧水辐解后 H_2O_2 的产额大 0.4, 这说明由 $\text{e}^{-\text{aq}}$ (或 H) 与 O_2 生成的 HO_2 或 O_2^- 除了发生歧化反应生成 H_2O_2 外, 还可能与甘草酸(GAH)发生抽氢反应生成 H_2O_2 [10], $\text{HO}_2 + \text{GAH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{GA}$. 根据 $G_{(\text{H}_2\text{O}_2)}$ 的数值及溶液呈碱性现象, 可估算在 N_2 饱和体系中 $G_{\text{OH}} = 3.3$, $\text{e}^{-\text{aq}} = 2.0 - 2.1$, $G_{\text{H}} = 0.43$; 在 N_2O 饱和体系中, $G_{\text{OH}} = 5.4 - 6.0$; 在 O_2 饱和体系中 $G_{\text{OH}} = 2.7$, $G_{\text{HO}_2 + \text{O}_2^-} = 3.3$.

2.2 辐照前后紫外吸收光谱的变化

甘草酸水溶液的紫外吸收光谱的最大吸收波长为 249 nm, 是由甘草酸甙元中 α, β 不饱和羰基引起的, 其摩尔消光系数为 $\lg \epsilon = 3.96$. γ 射线辐照真空、 O_2 和 N_2O 饱和体系的甘草酸水溶液 ($\text{pH} 12.3$, $c = 1.16 \times 10^{-3} \text{mol/dm}^3$), 没有发现有新的紫外吸收峰和吸收峰发生移位. 发现 λ 为 249 nm 处的吸收峰的强度有所减弱. 在 $1.06 - 8.74 \times 10^{18} \text{eV/g}$ 剂量范围内, 真空条件下辐照的吸光度的减弱略大于 N_2O 饱和体系. O_2 饱和体系在吸收剂量较小时, 吸光度变化甚小, 而当吸收剂量达 $2 \times 10^{18} \text{eV/g}$ 时即 O_2 损耗较多时, 吸光度明显减弱. 上述现象表明 OH 、 H 和 $\text{e}^{-\text{aq}}$ 等活性粒子都能使 α, β 不饱和羰基生色基团遭到破坏. γ 射线辐照甘草酸水溶液引起紫外光谱变化的另一现象是使波长小于 200 nm 区域的吸光度有所增加, 在 N_2O 饱和体系这一现象尤为明显, 这可能是 OH 的抽氢反应形成新的不饱和碳碳双键所致.

2.3 辐解产物及其产额测定

图 2 是甘草酸水溶液辐解后的 HPLC 流出曲线. 用标准样品保留时间法测定表明, 峰 2 是甘草酸(GAH), 峰 5 是甘草次酸(GL), 峰 1、3、4 是未知辐解产物. 用外标法定量测定辐照后

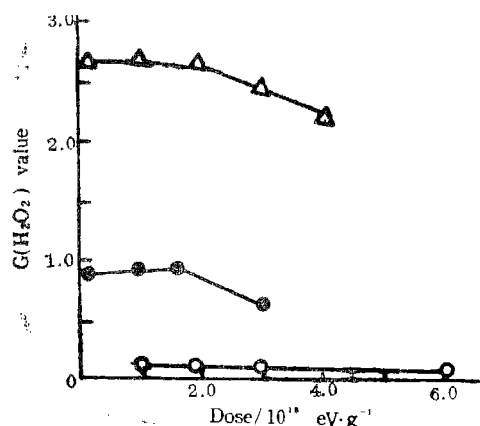


Fig 1. Dependence of H_2O_2 G value in GHA solution under different atmospheres on absorbed dose
(○) solution saturated with N_2
(Δ) solution saturated with O_2
(●) solution saturated with N_2O
(○) solution saturated with O_2

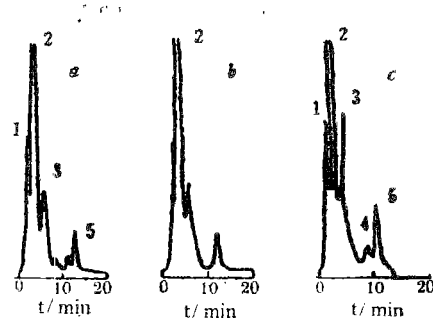


Fig 2. Chromatogram of radiolysis products
(a) solution saturated with O_2
(b) deaerated solution
(c) solution saturated with N_2O

甘草酸及甘草次酸的浓度。假定未知物 I、II 的摩尔消光系数与甘草酸近似相等, 未知物 III 的摩尔消光系数与甘草次酸近似相等, 可推算出未知辐解产物的浓度。在所研究的剂量范围内, 辐解产物的生成浓度和吸收剂量均呈线性关系, 见图 3—6。不同气体饱和下甘草酸的分解 G 值及辐解产物的生成 G 值见表 1。

Tab 1. The G values of radiolysis of glycyrrhizic acid (GAH) and its radiolytic products

	G(-GAH)	G(unknown I)	G(unknown II)	G(GL)	G(unknown III)	G(-chromophore)
deaerated	1.4	0.09	0.28	0.08	—	0.95
N ₂ O	2.3	0.8	0.43	0.15	0.02	0.90
O ₂	2.1	1.15	0.22	0.08	0.06	0.59

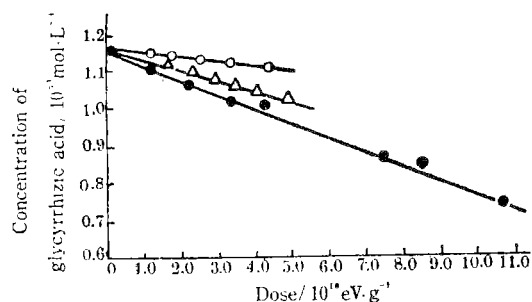


Fig 3. Change of concentration of glycyrrhizic acid with absorbed dose under different atmospheres
(○) deaerated (△) O₂ (●) N₂O

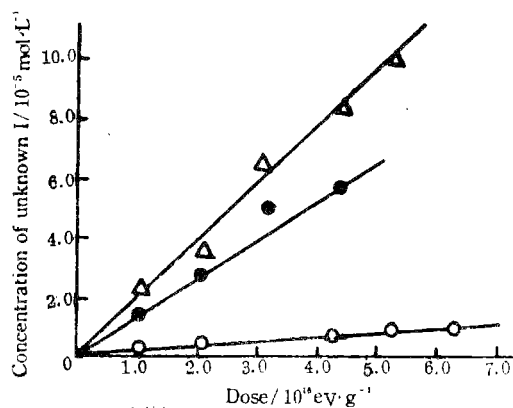


Fig 4. Concentration of unknown I as a function of dose
(○) deaerated (△) O₂ (●) N₂O

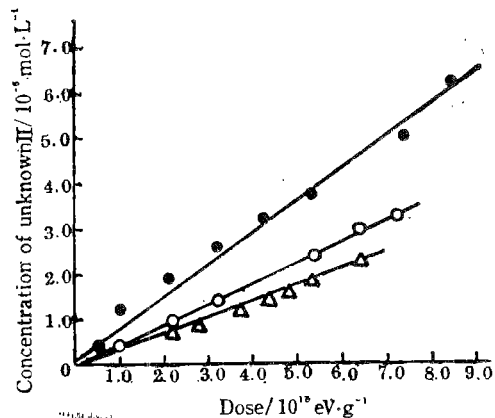


Fig 5. Concentration of unknown II as a function of dose
(○) deaerated (△) O₂ (●) N₂O

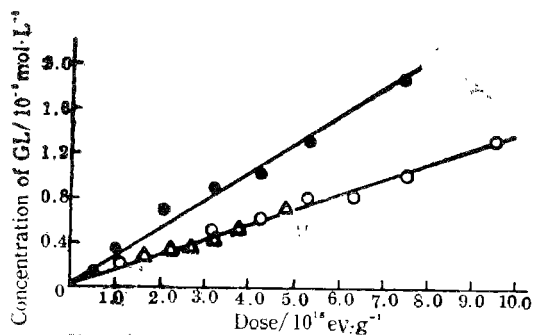


Fig 6. Concentration of GL as a function of dose
(○) deaerated (△) O₂ (●) N₂O

由表1可见, $G(\text{一生色基团})_{\text{真空}} > G(\text{一生色基团})_{\text{N}_2\text{O}} > G(\text{一生色基团})_{\text{O}_2}$, 该结果与紫外吸收谱测定的结果是一致的。在水溶液中活性粒子 e^-_{aq} 、 H 和 OH 常优先与含 α, β 不饱和羰基的化合物发生加成反应, 其反应速率常数接近于扩散控制反应, 如 $e^-_{\text{aq}} + \text{CH}_2 = \text{CH} - \text{COO}^- \rightarrow [\text{CH}_2\text{CHCOO}]^{2-}$, $K = 5.3 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $\text{pH } 9.2$, $\text{OH} + \text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CHO} \rightarrow \text{HOCH}_2\dot{\text{C}}\text{HCHO}$, $K = 7 \times 10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, 加成反应生成的自由基, 可发生重合或歧化而导致 $\text{C} = \text{C}$ 双键消失。由于 α, β 不饱和酮基的摩尔消光系数甚大, 故 $\text{C} = \text{O}$ 的存在不会显著影响(分光光度)吸收光谱的测定。

实验求出在不同气氛下, $G(\text{一生色基团})$ 之比为 $G_{\text{真空}} : G_{\text{N}_2\text{O}} : G_{\text{O}_2} = 0.95 : 0.90 : 0.59$ (表1), 大致与它们活性粒子 (OH , e^-_{aq} , H) 数比相近, $6:6:2.7 = 1:1:0.45$ 。在 O_2 气氛中导致分解偏高, 可能是由于活性粒子 (如 OH) 与甘草酸 (GAH) 加成后生成的自由基 (如 $[\text{GAHOH}] \cdot$), 与 O_2 反应, 生成 $[\text{GAHOH}] \text{O}_2 \cdot$, 再进一步分解有关, 导致重合与歧化反应的机率减少。总甘草酸的损失, 除生色基团损失外, 另一部分为大分子其他部分的破坏 (不破坏生色基团), 如发生抽氢反应 $\text{GAH} + \text{OH} \rightarrow \text{GA} \cdot + \text{H}_2\text{O}$; $\text{GAH} + \text{HO}_2 \rightarrow \text{GA} \cdot + \text{H}_2\text{O}_2$, 抽氢反应导致结构破坏, 在 O_2 中甘草酸分解 G 值为1.51, 与在 N_2O 中的几乎一致, 这可能亦由于形成 $(\text{GAHO}_2 \cdot)$ 过氧自由基效应引起的^[11]。在真空条件辐照下的仅为0.45, 表明存在 $\text{GAH} \cdot$ 与 e^-_{aq} , H 的重合反应。

Tab 2. G value of destruction of chromophore and GAH structure

	Deaerated	N_2O	O_2
Active species	$G_{\text{OH}} = 3.3$ $G_{e_{\text{aq}}} = 2.0$ $G_{\text{H}} = 0.43$	$G_{\text{OH}} = 5.4 - 6.0$	$G_{\text{OH}} = 2.7$ $G_{\text{O}_2} = 2.3$
$G(-\text{chromophore})$	0.95	0.90	0.59
G Value of destruction of GAH	0.45	1.4	1.51

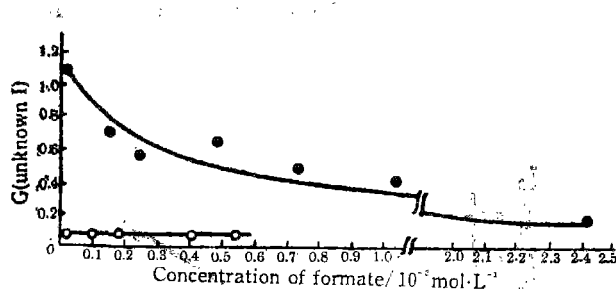


Fig 7. Effect of concentration of formate on G value of unknown I
($\circ$) N_2 ($\bullet$) O_2

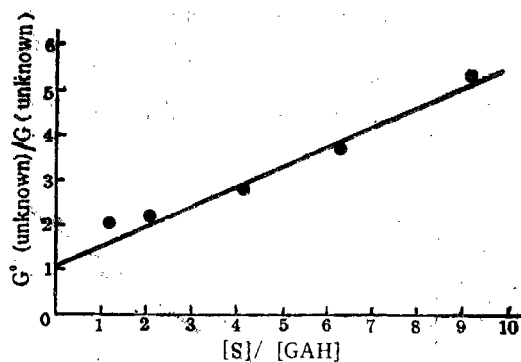
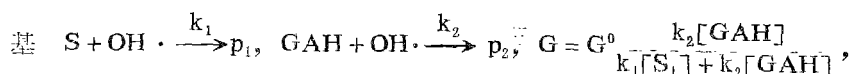


Fig 8. Plot of $G^o(\text{unknown})/G(\text{unknown})$ Vs $[\text{S}]/[\text{GAH}]$

在真空条件辐照下, 几乎未检测到未知物 III, 鉴于在真空条件辐照下未知物 I 的 G 值甚小, 且未知物 I 和未知物 III, 在 O_2 饱和溶液中的 G 值又比在 N_2O 饱和溶液中的大, 故未知物 III 可能是未知物 I 的次级辐解产物。

2.4 自由基俘获剂对甘草酸水溶液辐解过程的影响

在甘草酸水溶液中, 加入甲酸钠作为 OH 自由基俘获剂 (S), S 与甘草酸 (GAH) 竞争 OH 自由



$$\text{即 } G^0/G = 1 + \frac{k_1[S]}{k_2[\text{GAH}]},$$

式中 G^0 为未加俘获剂时甘草酸分解或辐解产物生成 G 值, G 为加俘获剂后的 G 值。

图 7 是甲酸钠浓度对未知物 I 生成产额的影响。分别在 N_2 和 O_2 饱和溶液中增加甲酸钠浓度, 发现未知物 I 的 G 值均不能被抑制到零。这说明未知物 I 的生成不仅有 OH 的作用, 而且 HO_2 的作用也不容忽视。考虑到 HO_2 对未知物 I 生成的影响, 由图 8 得到斜率为 0.44 的一条直线, 从而求出未知物 I 与 OH 反应速率常数 $k_2(\text{OH 形成未知物 I})_{\text{O}_2}$ 为 $9.3 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。由高效液相色谱分析结果可知, 未知物 I 的保留时间比甘草酸短, 即未知物 I 的极性比甘草酸大。

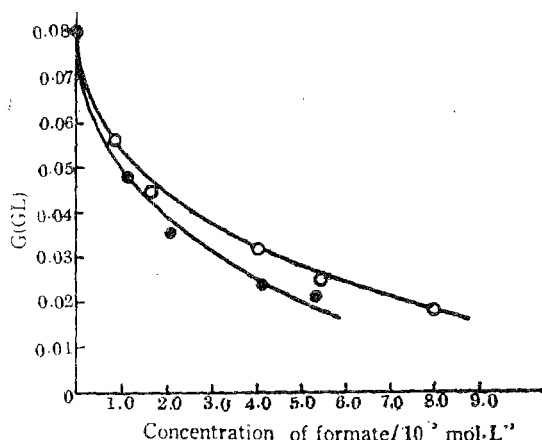


Fig 9. Effect of concentration of formate on G value of GL

(○) solution saturated with N_2
(●) solution saturated with O_2

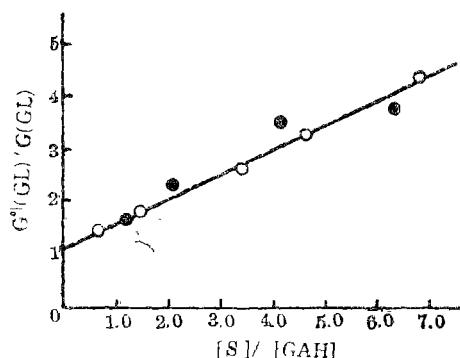


Fig 10. Plot $G^0(\text{GL})/G(\text{GL})$ Vs $[S]/[\text{GAH}]$

(○) N_2 (△) O_2

根据 Philips 等^[11] 对葡萄糖醛酸水溶液 γ 辐解的研究, $H_{(\text{H}_2\text{O}_2)} = 2.3$, 表明在其水溶液辐解过程中, HO_2 不能抽取糖基的 $\alpha\text{-H}$ 生成 H_2O_2 , 但未知物 I 的生成与 HO_2 也有关, 可能是 HO_2 与甙元中的 α 活泼氢发生抽氢反应, 形成了过氧化氢。 O_2 的存在可能抑制了脱氧自由基的重合和歧化反应, 故 $G(\text{未知物})_{\text{O}_2} = 1.15 > G(\text{未知物 I})_{\text{N}_2} = 0.8 > G(\text{未知物 I})_{\text{真空}} = 0.09$ 。

图 9 是甘草次酸(GL)生成 G 值与甲酸钠浓度的关系。由图可知, 甲酸钠抑制了甘草次酸的生成。以 $G^0(\text{GL})/G(\text{GL})$ 对 $[S]/[\text{GAH}]$ 作图(图 10), $G^0(\text{GL})/G(\text{GL})$ 与 $[S]/[\text{GAH}]$ 之间是较好的线性关系。在 N_2 和 O_2 饱和溶液中, 直线的斜率分别为 0.43 和 0.42, 从而得到 $k_2(\text{OH 形成 GL})_{\text{N}_2}$ 为 $9.8 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $k_2(\text{OH 形成 GL})_{\text{O}_2}$ 为 $9.5 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这说明甘草次酸的生成是 OH 自由基与甘草酸作用, 使配糖键断裂而生成甙元。

以同样的方法处理, 得到甲酸钠浓度与未知物 II 生成 G 值的关系(图 11), 并得到 $G^0(\text{未知物 II})/G(\text{未知物 II})$ 与 $[S]/[\text{GAH}]$ 呈线性关系(见图 12)。求出在 N_2 和 O_2 饱和溶液中, 二条直线的斜率分别为 0.49 和 0.48, 从而求出 $k_2(\text{OH 形成未知物 II})_{\text{N}_2}$ 为 $8.4 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $k_2(\text{OH 形成未知物 II})_{\text{O}_2}$ 为 $8.6 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这说明未知物 II 的生成类似于甘草次酸生成, 可能是 OH 作用于二聚糖, 使配糖键断裂^[12]。未知物 II 的保留时间比甘草酸保留时间长, 其极性小于甘草酸。

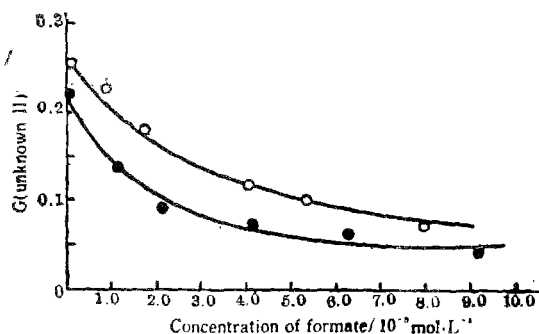


Fig 11. Effect of concentration of formate on G value of unknown II
(○) N_2 (●) O_2

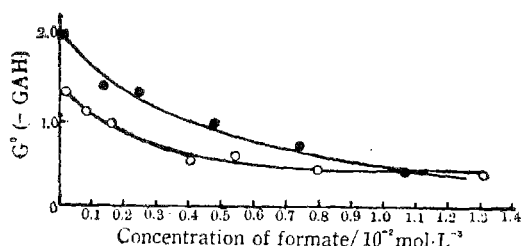


Fig 13. Effect of concentration of formate on G value of radiolysis of GAH
(○) N_2 (△) O_2

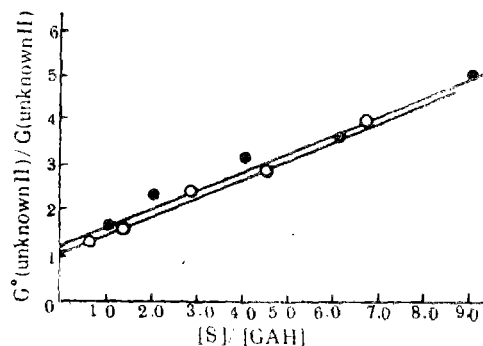


Fig 12. Plot of $G^o(\text{unknown II}) / G(\text{unknown II})$ vs $[S]/[GAH]$
(○) N_2 (●) O_2

图 13 是加入不同量的甲酸钠后, 甘草酸分解 G 值的变化。若考虑到 N_2 饱和溶液中 HO_2 引起的损失, 估算出甘草酸与 OH 作用的速率常数约为 $10^{10} \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

3 小 结

3.1 γ 射线辐照甘草酸水溶液, 甘草酸的辐解可分为两个过程: (1) 生色基团 (α, β 不饱和酮) 的破坏, 生色基团破坏的 G 值为 $G_{\text{生色}} = 0.95$, $G_{N_2O} = 0.90$, $G_{O_2} = 0.59$ 。(2) 抽氢反应导致甘草酸结构破坏, 而生色基团不破坏, 结构破坏的 G 值为 $G_{\text{结构}} = 0.45$, $G_{N_2O} = 1.41$, $G_{O_2} = 1.51$ 。总的辐解 G 值为 $G_{\text{总}} = 1.4$, $G_{N_2O} = 2.3$, $G_{O_2} = 2.1$ 。

3.2 用高效液相色谱分离出 4 个辐解产物, 未知物 I 的 $G_{\text{生色}} = 0.09$, $G_{N_2O} = 0.8$, $G_{O_2} = 1.15$, 未知物 II 的 $G_{\text{生色}} = 0.28$, $G_{N_2O} = 0.43$, $G_{O_2} = 0.22$; 未知物 III 的 $G_{N_2O} = 0.02$, $G_{O_2} = 0.06$; 甘草次酸的 $G_{\text{生色}} = 0.08$, $G_{N_2O} = 0.15$, $G_{O_2} = 0.08$ 。未知物 I 的生成, 可能是 OH 和部分 HO_2 自由基作用的结果。OH 自由基的作用, 可使配糖键断裂生成未知物 II 和甘草次酸。未知物 III 的量很少, 可能是未知物 I 的次级产物, OH 自由基与甘草酸反应的反应速率常数约为 $10^{10} \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海人民出版社, 1977; 567
- 2 王浴生. 中药药理与应用. 北京人民卫生出版社, 1983; 264
- 3 胡志厚. 中草药通讯. 1979, 6: 14
- 4 Canonica Luigi et al., Gazz. Chim. Ital., 1966, 96: 772
- 5 Elgamel MHA et al., Tetrahedron, 1974, 30: 4803
- 6 舒永华等. 药学学报, 1985, 20(3): 193
- 7 张如意等. 药学学报, 1986, 21(7): 510
- 8 Mousseron M et al., Bull. Soc. Chim. Fr. 1969, (1): 239
- 9 Philips G O, Worthington N W. Radiat. Res., 1970, 43: 34
- 10 Sonntag C von, The Chemical Basis of Radiation Biology: 382 Taylor & Francis Ltd.
- 11 ibid; 380

(下转第 150 页 Continued to P 150)

A STUDY ON KINETICS OF GEL FORMATION OF LLDPE/EVA AND LLDPE/EPDM BLENDS BY GAMMA IRRADIATION

Zhang Wanxi He Zhongda Li Shuzhong

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica, Changchun 130022)

ABSTRACT In this paper, the relationship between sol fraction (S) and irradiation dose (R) in the radiation crosslinking of LLDPE/EVA blend and LLDPE/EPDM blend was studied. It was found that the Charlesby's and Chen-liu-Tang's expression, which are only in good agreement with radiation crosslinking of some polymers, do not fit to the radiation crosslinking of LLDPE/EVA and LLDPE/EPDM blends. A expression characterizing S-R relationship for polymer blends was established as follows: $R(S + \sqrt{S}) = 1/q_0 u_1 + \alpha_0 R^{\beta_b}/q_0$ and $\beta_b = \sum w_i \beta_i$. The results calculated from the above expression are in good agreement with ones obtained from the experiments.

KEYWORDS Polymer blends, Radiation crosslinking, Sol fraction, Irradiation dose, Low density polyethylene, Ethylene-vinyl acetate copolymer, EPDM

(上接134页 Continued from p 134)

RADIOLYSIS OF AQUEOUS SOLUTION OF GLYCYRRHIZIC ACID

He Yongke Liu Tianwei Yuan Rongyao Wu Jilan

(Department of Technical Physics, Peking University, Beijing 100871)

ABSTRACT A study was made on radiolysis of glycyrrhizic acid in dilute aqueous alkaline solution. Radiolysis of glycyrrhizic acid would be divided into two processes: (1) Chromophore (unsaturated ketones) was destroyed; (2) Structure of glycyrrhizic acid was destroyed due to hydrogen abstraction reaction, but chromophore was not destroyed. The G values of radiolysis of glycyrrhizic acid under different atmospheres have been determined. Four radiolytic products were separated by HPLC. Using scavenger method, it showed that glycyrrhetinic acid and unknown products are formed by OH attack. OH attack leads to glucosidic bond rupture. Unknown product is formed by OH and HO_2 . Unknown III may be secondary product. Using competition kinetics $k_{\text{OH-GAH}} \sim 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ was got.

KEYWORDS Glycyrrhizic acid, Glycyrrhetinic acid, Glycyrrhiza, Sodium formate, Radiolysis