

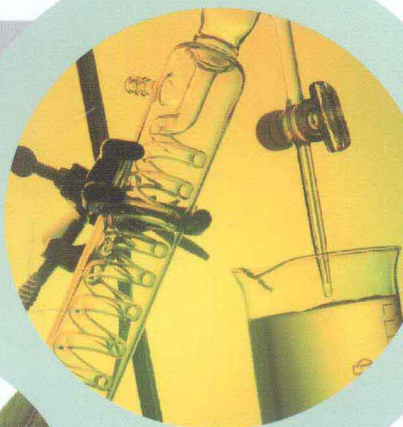
西南交通大学 323 实验室工程 系列教材

天然药物 化学实验

主编 谭睿 副主编 任瑶瑶

主审 西南交通大学实验室及设备管理处

TIANRAN YAOWU
HUAXUE SHIYAN



西南交通大学出版社
[Http://press.swjtu.edu.cn](http://press.swjtu.edu.cn)

天然药物 化学实验

主编 曹 颖 副主编 曹颖

编者 刘淑娟 曹颖 曹颖 曹颖 曹颖 曹颖

ISBN 978-7-122-28111-1

定价：35.00元



西南交通大学“323 实验室工程”系列教材

天然药物化学实验

主编 谭 睿 副主编 任瑶瑶
主审 西南交通大学实验室及设备管理处

西南交通大学出版社
· 成 都 ·

图书在版编目 (C I P) 数据

天然药物化学实验 / 谭睿主编. — 成都: 西南交通大学出版社, 2011.7

西南交通大学“323 实验室工程”系列教材

ISBN 978-7-5643-1233-6

I. ①天… II. ①谭… III. ①生物药-药物化学-化学实验-高等学校-教材 IV. ①R284-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 125327 号

西南交通大学“323 实验室工程”系列教材

天然药物化学实验

主编 谭 睿

| | |
|-------|---|
| 责任编辑 | 牛 君 |
| 封面设计 | 本格设计 |
| 出版发行 | 西南交通大学出版社 (成都二环路北一段 111 号) |
| 发行部电话 | 028-87600564 87600533 |
| 邮政编码 | 610031 |
| 网 址 | http://press.swjtu.edu.cn |
| 印 刷 | 成都中铁二局永经堂印务有限责任公司 |
| 成品尺寸 | 185 mm × 260 mm |
| 印 张 | 9.875 |
| 字 数 | 241 千字 |
| 版 次 | 2011 年 7 月第 1 版 |
| 印 次 | 2011 年 7 月第 1 次 |
| 书 号 | ISBN 978-7-5643-1233-6 |
| 定 价 | 18.00 元 |

图书如有印装质量问题 本社负责退换
版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

编 委 会

主 编 谭 睿

副主编 任瑶瑶

编 委 江南屏 陈学宏

罗 琴 李 洋

前 言

本书是顺应药理学学科发展，根据教育部“新世纪高等教育改革工程”和“十五”期间教材建设与改革的意见精神编写的。

本实验教材是在“无机化学、有机化学、分析化学、物理化学”四大基础化学实验的基础上，结合天然药物化学实践教学的特点，精选出现代天然药物化学学科的新理论、新技术、新方法，并将天然药物化学实验设计的一般流程及原理、天然药物化学基础实验等汇编成册，理论与实践有机结合，以便学生更系统、更全面地掌握天然药物化学学科知识，增强实践能力。

在编写过程中，编者参考了近年来国内外的有关研究文献及专著，并结合自身多年来的实践教学和科研工作经验，部分内容直接来自于编者的科研，力求反映出天然药物化学实践研究的最新成果。本实验教材内容安排上与理论教材同步，为了使学生在学习过程中便于把握与理解教材的重点内容，根据教学大纲的要求，每个实验都按照重点与难点进行了归纳总结，提纲挈领地阐述、指出各章节具体的要领和需要重点掌握的内容并编写思考题。

本书共分为实验基础知识部分和实验选编部分。在实验基础知识中介绍了天然药物化学成分中提取分离方法、基本检测技术；在实验部分中共选编了10个实验以及1个预实验；附录给出了天然药物化学成分检出试剂配制法。

现代天然药物化学发展日新月异，各种新技术、新方法层出不穷，因编者水平有限，书中难免存在缺陷与不足，敬请广大师生和读者予以批评指正。

编 者

2010.11

目 录

第一部分 实验基础知识

| | |
|------------------|----|
| 绪 论 | 3 |
| 第一章 天然药物化学成分提取技术 | 6 |
| 第一节 天然产物的提取技术 | 6 |
| 第二节 天然产物的分离、纯化技术 | 14 |
| 第三节 闪式提取与闪蒸技术 | 21 |
| 第二章 色谱分离技术 | 24 |
| 第一节 薄层色谱 | 25 |
| 第二节 柱色谱 | 37 |
| 第三节 纸色谱 | 43 |
| 第四节 离子交换色谱 | 47 |
| 第五节 高效液相色谱 | 50 |
| 第六节 气相色谱 | 58 |
| 第七节 质谱 | 65 |
| 第三章 基本检测技术 | 77 |
| 第一节 一般鉴别试验 | 77 |
| 第二节 熔点测定 | 84 |
| 第三节 水分测定 | 85 |
| 第四节 灰分测定 | 87 |
| 第五节 挥发油测定 | 88 |
| 第六节 重金属测定 | 89 |
| 第七节 农药残留测定 | 91 |

第二部分 实验选编

| | |
|--------------------------|-----|
| 第四章 基础实验 | 97 |
| 实验一 薄层板的制备、活度测定及应用 | 98 |
| 实验二 黄柏皮中小檗碱的提取 | 102 |
| 实验三 汉防己生物碱的提取、分离与鉴定 | 105 |
| 实验四 苦参生物碱的提取、分离与鉴定 | 109 |
| 实验五 槐米中芦丁的提取、分离与鉴定 | 113 |
| 实验六 葛根中黄酮类化合物的提取、分离及鉴定 | 118 |
| 实验七 虎杖中游离羟基蒽醌成分的提取、分离及鉴定 | 121 |
| 实验八 穿山龙中薯蓣皂苷元的提取、分离与鉴定 | 125 |
| 实验九 挥发油的定性和定量分析 | 129 |
| 实验十 八角茴香中挥发油成分的提取、分离与鉴定 | 133 |
| 实验十一 天然药物化学成分的系统预试验 | 135 |
| 附录 天然药物化学成分检出试剂配制法 | 144 |
| 参考文献 | 150 |

第一部分

实验基础知识

绪 论

天然药物化学实验室注意事项

一、实验室规则

(1) 严谨的科学作风、严密的科学思维、严格的科学训练是培养高素质人才的基本保证。严格遵守实验室规则是顺利完成实验的必要保证。

(2) 学生进入实验室，应严格遵守实验室的各项规章制度。注意安全，爱护仪器，节约药品，保持实验室秩序。

(3) 实验前应认真预习，明确实验目的、方法和基本原理，了解有关仪器的性能、配置，熟悉其操作步骤及安全注意事项。

(4) 实验过程中学生应严肃认真，严格按照规定步骤操作，独自动手完成，细致观察实验现象并如实记录实验数据，培养独立思考、科学操作的学风以及严谨的科学态度和分析问题、解决问题的能力。实验完毕后，整理实验数据，认真分析问题，完成实验报告。

(5) 实验过程中要做到整齐、清洁。保持桌面、仪器、水槽、通风橱、地面洁净。任何固体物质不能投入水槽中，废纸、废屑应投入废纸箱内，废溶液应倒入废液缸内。切勿将可燃或易燃挥发性溶剂倒入水槽或缸内。

(6) 使用实验仪器时，应严格遵守操作规程，若发现异常现象应立即停止使用。

(7) 实验室内禁止吸烟。

(8) 实验完毕离开实验室时，应整理好仪器、桌面和通风橱等实验用品，值日生负责打扫实验室卫生，离开实验室时，关闭水、电、门、窗，以免发生事故，确保安全。

二、实验室安全守则

在天然药物化学实验中，常使用甲醇、乙醇、乙醚、石油醚等易挥发、易燃烧、有毒或具有腐蚀性的试剂、药品及易碎的玻璃仪器。若操作不慎，很容易发生事故。常见的事故有火灾、爆炸、外伤、中毒等。为防止事故的发生，应注意以下几点：

(1) 实验开始前应检查仪器是否完整无损，装置是否正规。回流蒸馏时，冷凝水是否通畅，干燥管是否阻塞不通。若在常压下进行蒸馏或回流，仪器装置必须与大气相通，不能密

闭（如密闭加热可导致容器内压力增加，从而引起装置爆裂，特别是使用明火时，装置中的可燃液体会着火）。

（2）回流或蒸馏低沸点易燃液体时，瓶内液体的量不能超过蒸馏瓶体积的 $2/3$ ，不能用明火加热，最好使用水浴或电热套。液体内要放几颗沸石或素烧瓷片，以防止暴沸。若在加热过程中发现未加入沸石，不得立即揭开瓶盖补放，而应停止加热，待液体冷却后再加入沸石。另外，加热过程中也不得加入活性炭脱色，否则也会发生暴沸。减压蒸馏使用的玻璃仪器质量要好，要用圆底烧瓶，以防止因机械强度不够，引起爆炸。

（3）试剂、药品、公用器具使用后应立即放回原处，注意不要调错试剂瓶塞或滴管，以免污染药品。装有易燃性液体的瓶子，不要放在灯火旁。加热乙醚、乙醇、石油醚、苯等易挥发易燃液体时应采用水浴，切忌明火加热。蒸馏乙醚时，有产生过氧化物的可能性，所以不要蒸干，以免发生爆炸。

（4）蒸馏、回流易燃、易挥发、有毒液体时，仪器装置切勿漏气，冷凝管流出液应用弯接管导至接收瓶中，余气应用橡皮管通往室外或水槽里。

（5）减压系统应装有安全瓶，加压柱色谱实验的层析柱及储液瓶机械性能要高，连接要牢固，注意控制压力，以防爆炸。

（6）使用电气设备（如电烘箱、电冰箱、真空泵、离心机等）及各种分析仪器时一定要弄清电路及操作规程。使用时，注意仪器和电线不要放在潮湿处，手上有水时切勿接触电源。

三、实验室防火常识

实验室一旦发生火灾事故，应保持镇静，切勿惊慌失措，应立即采取各种相应措施，以减少事故的损失。首先要立即断绝火源（如电源、煤油炉、煤气等），并移开附近的易燃物质。少量溶剂（几毫升）着火，可任其烧完；三角瓶内溶剂着火可用石棉网或湿布盖熄；小火可用湿布或黄沙盖熄；火势较大时，应根据具体情况采用下列灭火器材。

（1）泡沫灭火器：内部分别装有碳酸氢钠溶液和硫酸铝溶液，使用时将筒颠倒，两种溶液立即反应生成硫酸氢钠、氢氧化铝以及大量的二氧化碳。灭火器筒内压力突然增大，大量的二氧化碳泡沫喷出，即可灭火。泡沫灭火器主要用于扑灭各种油类火灾，如汽油、苯等起火。

（2）二氧化碳灭火器：二氧化碳灭火器是实验室中最常用的一种灭火器，它的钢筒内装有压缩的液体二氧化碳，使用时打开开关，二氧化碳气体即会喷出，用来扑灭有机物及电器设备着火。使用时应注意，一手提灭火器，一手应握在喷二氧化碳喇叭筒的把手上。因喷出的二氧化碳压力骤然降低，温度也骤降，手若握在喇叭筒上易被冻伤。

无论使用何种灭火器，都应从火的四周开始向中心扑灭，油浴和有机溶剂着火时绝不能用水浇，因为这样反而会使火焰蔓延开来。

若衣服着火，切勿奔跑，应立即脱下衣服或用厚的外衣包裹致熄。较严重者应躺在地上（以免火焰烧向头部），打开附近的自来水开关用水冲淋熄灭。

四、急救常识

(1) 玻璃割伤。如为一般轻伤，应及时挤出污血，用消毒过的镊子取出玻璃碎片，用蒸馏水清洗伤口后，涂上红药水和碘酒并包扎好。如为大伤，应立即用绷带扎紧伤口上部，使伤口停止出血，并立即送医院。

(2) 烧伤。轻伤涂甘油或硼酸、凡士林，重伤送医院。

(3) 试剂灼伤。酸液或碱液灼伤皮肤时，伤口处首先用大量清水冲洗。若为酸液灼伤，再用 5% 的碳酸氢钠溶液冲洗；若为碱液灼伤，则用 1% 的醋酸冲洗。最后用水冲洗，再涂上油膏、凡士林。

(4) 酸液或碱液溅入眼睛中时，抹去溅在眼睛外面的酸液和碱液，立即用大量水冲洗。若为酸液，再用 1% 的碳酸氢钠溶液冲洗；若为碱液，则用 1% 的硼酸冲洗。最后再用水冲洗，滴入蓖麻油。

(5) 酸液或者碱液洒在衣服上，先用水冲洗。若为酸液再用稀氨水洗；若为碱液，则用 10% 的醋酸溶液洗涤，然后用氢氧化铵中和多余的醋酸，最后用水洗涤。

(6) 酸液洒在地板上，先撒石灰粉，再用水冲洗。

上述各种急救方法，仅为暂时减轻疼痛的措施。在急救之后，应速送医院。

第一章 天然药物化学成分 提取技术

提取、分离、纯化、鉴定是贯穿于天然药物化学实验全过程的基本操作单元。正确掌握和灵活处理各个环节的操作技能是训练学生严格认真的科学态度与良好工作习惯，促进理论与实践结合的一个重要环节。

天然药物主要来源于植物、动物、矿物、海洋生物等，大部分是植物。其特点是所含成分复杂，常见结构相似的产物共存一体，甚至同时含有多种活性成分，有着多方面的临床用途。天然药物品种繁多，因地区用药习惯、文献记载混乱等诸多原因，常致品名混乱。即使同一品种其所含成分、含量也因产地、取材部位、采集时间、储存条件及存放时间等的不同而变化。因此，在实验之前，必须对材料进行品种鉴定，确定学名、记录采集地和时间、药用部位，并留样备查。

研究天然药物时，应查阅有关文献资料，了解前人对该植物或同属植物中化学成分的分、药理及临床研究情况，特别应搜集该成分的各种提取分离方法、工业生产方法，再根据具体条件进行设计，确定提取分离路线。

第一节 天然产物的提取技术

提取是天然产物研究的重要步骤，是采用适宜的溶剂和适当的方法，将所需成分尽可能完全地从天然药物中提取出来，同时注意避免或减少其他杂质提出。常用的提取方法有：溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、升华法。提取方法设计是否合理和操作是否正确将直接影响下一步分离、纯化。

溶剂的提取过程是溶剂对药材组织细胞不断进行扩散、渗透、溶解的过程。药材组织细胞外的溶剂不断向内渗透，溶解化学成分；同时，药材组织细胞内的化学成分也在不断向外扩散，直到化学成分的浓度达到内外平衡为止。影响提取的因素除了药材粉碎度之外，还有溶剂的选择、提取的方法、时间、温度等。

一、样品提取前处理

1. 药用植物的干燥及储存

采集的植物鲜品，水洗去泥土，室温下置通风干燥处，避免阳光中紫外线对植物成分造成破坏；亦可置于 40 °C 以下的烘箱中干燥。植物鲜品需存放于通风处，避免微生物繁殖造成成分破坏。若需研究新鲜植物的化学成分，必须杀酶，并立即对新鲜的植物进行提取等处理，以阻止酶解反应造成的苷类等化合物水解。

药用植物因储存会使某些化学成分受到损失或者发生变化，储存前须对少量新鲜植物样品进行溶剂提取，用薄层层析检测，留作对照。

2. 药用植物样品粉碎

在溶剂提取前，将植物进行适度粉碎会提高提取效率，通常，药材粉碎的粒度越小，溶剂提取效率越好，但过度的粉碎会给后期的浸提及过滤操作带来困难。因此，粒度以能过 3 mm 的筛（6 目）为佳。

药材置于粉碎机（图 1.1）中，盖上盖，接通电源约 30 s 即可完成粉碎。新鲜的植物样品须在搅拌机（即组织匀浆机）中事先进行破碎。人员在粉碎操作过程中要注意安全，切记加样或取样前要先切断电源才能进行操作，以免发生危险。

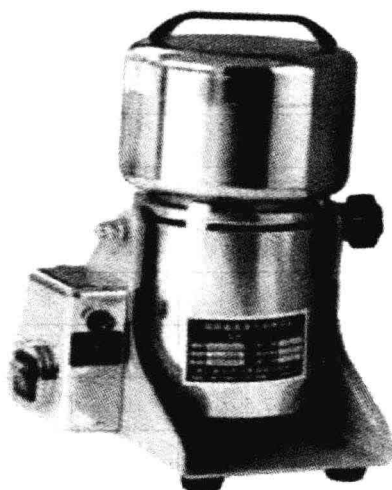


图 1.1 粉碎机

二、常用提取溶剂的性质

溶剂提取法主要是根据化合物在极性相似的溶剂中有较好的溶解性，即“相似者相溶”这一原理进行的。化合物极性越大或极性官能团数目越多，则整个分子的极性就越大，表现

亲水性越强，越易溶于水。相反，极性越小，就越难溶于水。故采用极性不同的溶剂可以将植物中的不同化合物成分提取出来。化合物的这种亲水性和亲脂性程度大小与其分子结构直接相关，一般来说，两种母核基本相同的成分，其分子中官能团的极性越大或极性官能团数目越多，则整个分子的极性越大，亲水性越强，而亲脂性越弱。

各类溶剂的性质，与其分子结构也有密切关系。如常用的溶剂石油醚、苯和氯仿极性较小，因为它们含有烃基或卤代烃基，这些基团属于憎水基团，故难溶于水，表现出较强的亲脂性；乙醚和乙酸乙酯等溶剂极性中等；正丁醇分子中虽有羟基，但分子中的碳链较长，与水也就较疏远，所以它们彼此仅能部分互溶，在它们互溶达到饱和状态后，能与水分层，常用于水中萃取极性较大的物质，如皂苷等；甲醇、乙醇等极性较大，结构中存在与水分子结构近似的羟基，因此属于亲水性比较强的溶剂，可和水以任意比例混溶。

常见溶剂（表 1.1）的极性强弱顺序可表示如下：

石油醚（低沸点→高沸点）<二硫化碳<四氯化碳<三氯乙烯<苯<二氯甲烷<氯仿<乙醚<乙酸乙酯<丙酮<乙醇<甲醇<乙腈<水<吡啶<乙酸

表 1.1 常用有机溶剂的主要物理性质

| 溶剂名称 | 比重 | 沸点/°C | 溶解性 | |
|------|-------|--------------------------|--------|----------------------|
| | | | 在水中 | 在有机溶剂中 |
| 甲醇 | 0.792 | 64.6 | 混溶 | 能溶于醇类、乙醚类 |
| 乙醇 | 0.789 | 78.4 | 混溶 | 能溶于醇类、乙醚、苯、氯仿、石油醚等 |
| 正丙醇 | 0.804 | 97.8 | 混溶 | 溶于乙醇、乙醚等 |
| 异丙醇 | 0.786 | 82.4 | 混溶 | 能溶于醇类、乙醚等 |
| 正丁醇 | 0.810 | 117.7 | 9 g | 能溶于乙醇、乙醚等 |
| 正戊醇 | 0.814 | 137.8 | 2.19 g | 微溶于水；能溶于乙醇、苯、乙醚等 |
| 异戊醇 | 0.811 | 131.4 | 2.6 g | 微溶于乙醇、乙醚、苯、氯仿、石油醚等 |
| 丙酮 | 0.792 | 56.3 | 混溶 | 能溶于醇类、乙醚、氯仿等 |
| 乙酸乙酯 | 0.902 | 77.1 | 8.6 g | 能溶于乙醇、乙醚、氯仿等 |
| 乙醚 | 0.713 | 34.6 | 7.5 g | 能溶于乙醇、苯、氯仿、石油醚、油类等 |
| 石油醚 | | 30~60 60~90 90~120 | 不溶 | 能溶于无水乙醇、乙醚、苯、氯仿、油类等 |
| 氯仿 | 1.484 | 61.2 | 1 g | 能溶于醇类、乙醚、苯、石油醚等 |
| 四氯化碳 | 1.592 | 76.7 | 0.08 g | 能溶于醇类、乙醚、苯、氯仿、石油醚等 |
| 苯 | 0.879 | 80.1 | 0.08 g | 能溶于乙醇、乙醚、四氯化碳、丙酮、乙醚等 |
| 甲苯 | 0.867 | 110.6 | 0.04 g | 能溶于乙醇、乙醚、氯仿、丙酮、乙酸等 |

通常根据“相似相溶”原理来选择提取溶剂，溶剂选择是否适当，是能否顺利将目标成分提取出来的关键。另外，在选择溶剂时还应遵循以下四个原则：① 溶剂对所需成分的溶解度应远大于对杂质的溶解度；② 溶剂不能与天然药物成分发生化学反应，即使反应也只能是可逆的，通过适当的条件控制能转变为原来的化合物；③ 溶剂要经济易得，低毒安全；④ 沸点适中，便于回收利用。

（一）常见天然化合物的极性与溶解性

化合物的极性取决于分子中极性基团与非极性基团的性质以及其相对数量的多少。极性基团越多，则分子极性越大；当极性基团数目一致时，分子越大，非极性基团所占比例越大，则分子极性相对越小。

蛋白质：分子中含有多个酰胺基团，有形成氢键的能力，具备酸碱二性，易溶于水，难溶于亲脂性溶剂。

淀粉、多糖：为多羟基化合物（-OH），但是因为分子较大只溶于热水。

单糖、寡糖（如葡萄糖、蔗糖等）：属多羟基化合物，易溶于水和醇水溶液。

季胺、N→O化物：为极性离子型分子，溶于水。

氨基酸：偶极离子型化合物，易溶于水，可溶于醇。

苷类：分子中含有多羟基的糖基，可溶于水、醇水溶液。

苷元：具亲脂性，溶于亲脂性溶剂。

（二）常用提取剂

1. 水

水易得、安全，溶解范围广，做溶剂常用于中药复方的提取。单独用水做溶剂提取活性成分的情况很少，一般常采用醇-水混合溶液作为提取溶剂。水做提取溶剂的优点是穿透力强，易进入植物细胞，廉价，易得，无毒；缺点是专属性差，提取物杂质较多，过滤困难，另外水的沸点较高，浓缩困难。

可溶生物碱盐、极性大的苷类（皂苷、黄酮苷等）、有机酸盐、氨基酸、蛋白质、鞣质、糖类（单糖、低聚糖及淀粉、树胶、黏液质）、无机盐等都用水进行提取。酸性水可溶解碱性成分（生物碱等），碱性水可溶解酸性成分（有机酸、多羟基黄酮、蒽醌、香豆素、酚类成分及内酯类成分）。因此水的适用范围非常广泛。

2. 乙醇、甲醇

乙醇、甲醇亲水性较强，做提取溶剂具有廉价，低度，穿透力强，易进入植物细胞，可抑制酶的活性，提取液不易发霉变质、提取后仍可以回收利用，对大多数次级代谢产物均具有较好的溶解性等优点；其缺点是专属性差，少数情况下会与待提取活性成分发生反应。例