

植物成份化学进修班

植物药化学成份 的 提取和分离

云大化学系有机专业

一九七五年九月

植物药化学成分的提取与分离 目次

总论

植物药中的化学成分及其研究

步骤----- 1

(一) 植物药中的化学成分--- 1

(二) 植物细胞的组成和化学成分在植物体中的分布--- 1

(三) 植物药有效成分的研究步骤----- 2

植物成分的初步观察和系统预

试----- 3

(一) 植物成分的初步观察--- 3

(二) 植物药化学成分的系统预试----- 3

1. 预试验溶液的制备--- 3

2. 预试验试剂的配制和各类成分的检查----- 4

(1) 生物硷

(2) 氨基酸和肽

(3) 有机酸

(4) 酚类和鞣质

(5) 糖、多糖和甙类

(6) 皂甙

(7) 甾体

(8) 萜酮类

(9) 香豆素与蒽类内酯化合物

(10) 强心甙

(11) 萜醌类

(12) 蛋白质

(13) 挥发油和油脂

三 植物药化学成分的提取和

分离方法----- 1

(一) 各种提取法----- 1

1. 用水提取

2. 用有机溶剂提取

3. 酸性、硷性有机溶剂提取

4. 水蒸汽蒸馏法

5. 酶解或抑制酶解

6. 化学处理

7. 升华法

(二) 各种分离纯化方法----- 24

1. 溶剂处理

2. 酸碱处理

3. 制备衍生物

4. 吸附法

5. 沉淀法

6. 分馏法

7. 盐析法

8. 透析法

关于几种杂质的处理----- 32

1. 鞣质、叶绿素

2. 叶绿素

3. 油脂、蜡和树脂

4. 蛋白质

5. 无机盐

6. 糖和淀粉

(三) 重结晶和有效成分纯度的

判断----- 34

1. 溶剂的选择

2. 分步结晶法

3. 结晶的形状

4. 有效成分的判断

(四) 怎样确定分离到的有效成分
是“已知”的还是“未知”的化合物 --- 41

- (1) 元素定性
- (2) 元素定量

(3) 测定基团的定量分析
资料查阅的一般方法 --- 45

各 论

生物硷	49
生物硷的分类	51
生物硷的一般性质	58
生物硷的颜色反应	58
生物硷的鉴别	59
生物硷的提取方法	59
1. 有机溶剂提取	59
2. 极性溶剂提取	60
3. 水或酸水提取	60
4. 弱硷的提取	61
5. 水溶性生物硷和季胺硷的提取	61
6. 挥发性生物硷的提取	62
生物硷的分离和纯化	62
1. 分步结晶	62
2. 制备衍生物	62
3. 利用不同酸硷度	64
4. 分馏	64
5. 层析法	64

实例

[1] 麻黄硷	65
[2] 莨菪烷类生物硷	69
[3] 黄连素	78
[4] 延胡索生物硷	80

[5] 野靛硷或金雀花硷	83
[6] 苦参硷	84
[7] 山豆根总硷	84
[8] 常山生物硷	85
[9] 汉防己甲素	87
[10] 一叶萩硷	88
[11] 石蒜生物硷	91
[12] 喜树硷	95
[13] 长春硷与长春新硷	97
[14] 秋水仙硷	99
[15] 莨菪木生物硷	101
[16] 农吉莉硷	102
[17] 麦角生物硷	104
[18] 普木鱉硷与马钱子硷	106

二. 强心甙

强心甙的性质	109
强心甙的鉴别	111
强心甙的提取与分离	112
1. 原生甙的提取	112
1) 铅盐法	
2) 吸附法	

3. 溶剂法

4. 化学法

2. 次生式的提取 --- 113

3. 强心式的分离纯化 --- 114

实例 1. 洋地黄强心式类 --- 114

2. 铃兰强心式类 --- 124

3. 羊奶拗式 --- 125

4. 黄芩夹竹桃强心式 --- 127

三 皂式 --- 129

皂式的性质 --- 129

皂式的颜色反应 --- 131

皂式的鉴别 --- 131

皂式的提取与分离 --- 131

实例 1. 白头翁皂式 --- 131

2. 甘草酸及甘草次酸 --- 133

3. 薯蓣皂式及薯蓣皂式元 --- 134

4. 远志皂式 --- 136

5. 七叶一枝花皂式 --- 136

6. 三七皂式 --- 137

四 黄酮类化合物 --- 138

黄酮类的性质 --- 143

黄酮类的颜色反应 --- 143

黄酮类的提取与分离 --- 145

1. 黄酮式的提取法 --- 145

(1) 溶剂法

(2) 铅盐法

2. 黄酮式元的分离 --- 146

(1) 溶剂法

(2) 水解法

3. 黄酮类的层析 --- 147

(1) 氧化铝层析

(2) 聚酰胺层析

(3) 硅胶或硅胶层析

(4) 薄层层析分离

实例 1. 芦丁或芸香式的提取 --- 148

2. 橙皮式的提取 --- 150

3. 黄芩式的提取 --- 150

4. 补骨脂黄酮 --- 151

5. 花青素 --- 151

五 蒽醌类 --- 154

蒽醌类的颜色反应 --- 154

蒽醌类的提取与分离 --- 156

实例 1. 大黄蒽醌的提取与分离 --- 157

2. 决明子蒽醌的提取与分离 --- 160

六 香豆精类 --- 162

香豆精的性质 --- 167

香豆精的提取分离法 --- 169

实例 1 秦皮香豆素 --- 169

2 矮地茶素 --- 170

3 白花前胡香豆素 --- 171

七 木脂体 --- 173

[1] 1,4-二芳基丁烷衍生物

- 1) 愈创木脂酸
- 2) 去甲二氢愈创木脂酸
- 3) 牛蒡酚
- 4) 毕澄茄素

[II] 2,5-二芳基四氢呋喃衍生物

[IV] 4-芳基四氢化萘衍生物

离儿七中足叶草毒素及脱氢

足叶草毒素的提取分离 ---179

八 甙类 ---181

甙类的性质 ---181

甙类的预试法 ---181

甙类的提取法 ---182

实例 苦杏仁甙的提取 ---182

九 芥子油甙及含硫化合物的提

取方法 ---185

焯菜素的提取 ---185

十 酚类 ---185

酚类的性质 ---186

酚类的提取法 ---186

十一 萜类 ---187

(一) 精油 ---187

精油的一般性质 ---188

精油的测定 ---188

精油的提取 ---190

精油的初步分离 ---191

1. 酸酚性物质的分离

2. 醛酮类的分离

3) 醇的分离

精油的分离和纯化 ---192

实例 1 亚硫酸氢钠辣薄荷

酮 ---194

2 樟脑 ---195

3 兴安杜鹃油 ---196

(二) 倍半萜内酯 ---197

1 萜型

2. 氢化萜型

3. 大环型

4. 其它

内酯的鉴别 ---199

倍半萜内酯的提取和

分离 ---200

1. 有机溶剂提取法

2. 利用内酯特性提取法

实例 山道年 ---200

(三) 二萜类化合物 ---201

实例 1. 金果榄中的古吨宾 ---202

2. 穿心莲内酯 ---203

(四) 三萜类化合物 ---205

三萜类化合物的鉴定 ---205

三萜类化合物的提取

和分离 ---205

实例 1 白花蛇舌草中的

熊果酸 ---206

2 旋复花中的蒲公英

英醇 ---206

3. 桑寄生中的土当归酸

(齐墩果酸) 5β -香树脂-207

4. 苦楝素 -----209

十二 有机酸 -----210

有机酸的性质 -----210

有机酸的鉴别 -----210

有机酸的提取和分离 -----211

1. 有机溶剂提取

2. 水或硷水直接提取

3. 离子交换法

4. 某些低级脂肪酸或
芳香酸的水蒸汽蒸
餾法分离提取

实例 1. 土槿皮酸 -----213

2. 咖啡酸 -----213

十三 氨基酸 -----215

氨基酸的分类 -----215

氨基酸的性质 -----216

氨基酸的提取 -----217

氨基酸的分离 -----218

实例 1. 美古藻酸甲 -----219

2. 使君子酸 -----220

3. 南瓜子氨酸 -----221

4. 板兰根中的氨基酸-221

十四 蛋白质和酶 -----224

蛋白质和酶的性质 -----224

植物蛋白质或酶的提取和

分离 -----225

1. 部分分级沉淀法

(1) 有机溶剂分级沉淀法

(2) 盐分级沉淀法

(3) pH分级沉淀法

2. 吸附法

3. 透析法 单蛋白质的干燥

实例 1. 淀粉酶 -----227

2. 木瓜蛋白酶 -----227

3. 菠萝蛋白酶 -----228

4. 天花粉蛋白质 -----228

十五 其它成分的提取与分离 -----230

(一) 醌类 -----230

苯醌类的呈色反应 -----230

萘醌类的呈色反应 -----230

实例 1. 恩贝素 -----231

2. 砒松素 -----232

3. 紫草素 -----232

(二) 环酮 -----232

实例 蛇麻酮和葎草酮 ---233

(三) 脂肪油及蜡 -----233

性质 -----234

提取分离方法 -----235

(四) 糖类 -----235

1. 单糖 -----236

检查糖类的定性反应 -----

- (1) 铜盐还原反应
- (2) 糠醛及其衍生物的生成反应
- (3) 去氧糖反应

2. 低聚多糖 -----238

3. 多糖类 -----240

(五) 鞣质 -----241

两类鞣质具有的共通性

两类鞣质的区别反应

鞣质的提取法 -----243

1 水提取法

2 铅法

实例 1 五倍子鞣质的提取 -----245

2. 茶叶中没食子儿茶

精的提取 -----247

(六) 含抗菌素成分的地衣

物质 -----248

松萝酸的提取 -----249

松萝酸钠的制备

植物药化学成分的预试、提取和分离

总 论

一、植物药中的化学成分及其研究步骤

(一) 植物药中的化学成分

植物的化学成分很复杂，普遍含有蛋白质，糖类，淀粉，纤维素，树脂，叶绿素及无机盐等。有些植物还含有生物碱，甙类，（皂甙，强心甙，黄酮甙，萜甙等）。有机酸，挥发油，内酯化合物，鞣质，氨基酸，苦味质等一些其他化学成分。这些化学成分常具有一定的生理活性，而被认为是植物药的有效成分。但是有些植物中的蛋白质，多数亦可作为有效成份。因此有效，无效仅仅是相对的说法而已。

(二) 植物细胞的组成和化学成分在植物中的分布

植物体是由各种细胞所组成。每一个细胞都有一层包被着细胞全体的细胞壁，大多数植物的细胞壁是由纤维素构成的。在植物生长过程中，细胞壁可以发生木质化，木栓化（角质化）和黏^质化。细胞内有原生质，它是一种黏^质性的液体，具胶体的特性，内含水分50~80%，蛋白质及其分解产物氨基酸，脂肪，此外，还含有其他有机物质如生物碱、甙类、挥发油，有机酸，鞣质，内酯化合物，树脂，树脂等。由于细胞膜是由于不溶于水，醇等一般有机溶剂的纤维素，木质素等所组成，在提^取过程中，溶剂进入细胞膜内很缓慢，因此在提取细胞膜内的有效成分时，需要先把植物原料进行粉碎，并用溶剂浸泡一定的时间。

此外，在细胞之间常含有一种果胶质，当植物细胞或组织被破坏后，则常生成半透明或透明的胶体物质叫做树脂。如桃胶。这种胶体吸水膨胀，粘度增大，是影响提取因素之一。

植物体各部分常含有不同的化学成分，因此所表现的药理作用也各不相同。如：紫苏叶、发散风寒；苏子、去痰；桑叶，治劳热咳嗽，高血压；桑枝（嫩枝）治风气，利小便；木槿花、治痢疾，

腹胀；木槿茎皮、治风痹，疥疮；木槿子（果实）、治肺风痰喘，咳嗽音哑。临床应用应根据需要而选用植物的全草或植物的某一部分。如石松（祛风，散寒）；马齿苋（消炎，利尿，治血痢），福寿草（强心），白屈菜（镇痛），荠菜（止血，利尿）用全草；菊花（清凉，镇静）；款冬花（咳嗽气喘）；芙蓉花（癰疽疔疮）；槐花米（赤血痢疾，吐血，妇人血崩）；山茶花（收敛，止血）用花或花蕾；马兜铃（肺气上逆，咳嗽喘促）；土荆芥（驱虫）；地肤子（淋痛，利尿，消炎）用果实；广陈皮、葫芦果皮、石榴果皮用果皮；蔓荆子，牛蒡子，南瓜子，莲子用种子；苦竹叶，茶叶，枇杷叶，桉叶等用叶。香附子，广木香，川木香，土木香，黄连，细辛，大黄用根茎；荔枝，麻黄，木贼，石斛，鸡血藤、附基；黄柏，肉桂，杜仲，金鸡纳等用树皮。

(三) 植物药有效成分的研究步骤

(1) 在临床实践的基础上，确定研究的植物药。通过预试与调查研究，了解所研究的植物药或其同属植物中所含有的化学成分、药理作用，临床疗效以及民间用药经验等。拟定出提取方案，进行其成分的提取。

(2) 通过药理试验，确定植物药提取物中的有效部分，再经分离精制，继续进行药理实验，逐步缩小范围，最后找出有效部分。

(3) 进行有效成分的临床试验前的药理实验。在安全有效的情况下，拟定用药剂量，推荐到临床验证疗效。

(4) 研究有效成分的生产工艺方法，并制订有效成分的质量控制标准，包括鉴别与定量测定方法，以保证每批药物质量的一致性，使观察到的临床效果可靠。

(5) 对有效成分进行化学鉴定，确定它是已知成分还是未知成分，如是未知成分，可进一步确定其化学结构。在此基础上可改选研究人工合成方法。以开辟新药源，或改造其结构，以寻求更好的药物；也可在与原来的植物药原料的近科近属的植物中去寻求含量更高与更

多的植物资源，以便获得更丰富的生产原料，以充分满足临床应用需要。

二、植物成分的初步观察和系统予试

(一) 植物成分的初步观察

各类植物成分常常可以借助于其外观、色、嗅、味作初步的判断以提供进一步检查的参考。

色：植物样品切断后，断面如呈橙黄、棕黄色，予料可能含有羟基萜类生物。如有白色粉屑出现，可能有淀粉、糖存在。

嗅：如断面有油点且具特殊香气，则除萜类油脂外，还可能含有芳香油，香豆精，内酯和某些挥发性成分存在。

味：如味苦，可能有生物碱，甙类，苦味质存在，如有收敛性涩味的感觉，可能有鞣质存在。如有甜味，可能含有糖类，甘草皂甙。若酸味：若酸味常凉爽感觉，可能含有柠檬酸，苹果酸等羧基酸；若酸味愉快的感觉，可能含有氨基酸，天门冬氨酸，谷氨酸钠以及甜菜碱等。

(二) 植物药化学成分的系统予试

植物药化学成分的系统予试方法，主要分为两类。一类是系统予试法，即用简单的定性方法对植物药中的各类成分进行较全面的检查。另一类是单项予试法，即根据工作需要，有重点地检查某类成分。

一般利用适宜的溶剂，使植物药样品中的绝大部分成分溶出，利用沉淀剂或显色反应于试管中或滤纸上进行予试，近年来也配合纸层析或薄层析进行予试。根据予试结果，判断可能有那些类型的化学成分，然后按所含成分的性质，设计进行有效成分分离的具体方法。

1. 预试验滤渣的制备：

(1) 水浸提渣：取植物原料粉末5克，加蒸馏水50毫升，在50~60℃的水浴上加热约1小时后过滤。此滤渣即可在试管及滤纸上作苷、多糖、有机酸、皂甙、甙类、酚类、鞣质、氨基酸、蛋白质、生物碱等项的预试验。

(2) 酒精提取液：取植物原料粉末 5 克，加 50 毫升 95% 酒精，在水浴上回流 1 小时后过滤，滤液可进行酚类，鞣质，有机酸等项试验。其后将滤液低压浓缩至糖浆状，置于研钵中，用少量 5% 的盐酸溶解，取盐酸水溶液进行生物硷的预试验。原来糖浆复以少量乙醇溶解，其溶液可进行黄酮类，萜醌，酚类，甙类，有机酸，香豆素，蒽类以及蒽类内酯化合物，络体化合物等项的预试验。

如被试植物为树叶，其中含很多叶绿素，应尽量先将叶绿素除去，才不致妨碍予试验的进行。其方法如下：将植物原料用 95% 乙醇回流后的浸出液，加入适量的水，使 95% 的乙醇稀释至 70% 的浓度。搅匀后，倒入分液漏斗，再加等体积的石油醚或汽油振摇，使叶绿素转移至上层石油醚溶液。分取下层 70% 乙醇提取液，於水浴上减压蒸发至糖浆状，再作上项试验。

不用石油醚，也可改用乙醚，办法是将植物原料 10 克加 100 毫升乙醚，於沸水浴上回流 10 分钟后过滤。分取乙醚提取液，可在滤布上，或用层析法，检查内酯，酯类，游离香豆素，游离萜醌，游离黄酮和挥发油等。经乙醚处理过的药渣，让乙醚挥发再用上法处理进行予试。

(3) 石油醚提取液：取植物原料粉末 1 克，加 10 毫升石油醚（沸程 60~90°C），放置 2~3 小时。过滤，滤液放在表面皿上，让石油醚挥发掉，用残留物作蒽类，甾体，脂肪等项的检查。

2. 预试验试剂的配制和各类成分的检查

(1) 生物硷：

1) 碘化汞钾试剂 (Mayer 试剂)：二氯化汞 1.35 克与碘化钾 5 克，分别溶于 60 及 30 毫升蒸馏水中。然后将两溶液均匀混合，再加水稀释至 100 毫升。

取水提取液约 2 毫升，加盐酸或醋酸酸化至酸性，或酒精提取物经稀盐酸溶解部分，加上试剂 1~2 滴，如有白色沉淀，可能含有生物硷。

ii). 碘化铋钾试剂 (Dragendorff 试剂), 配制法有二:

法 a). 取次硝酸铋 8 克, 溶于 17 毫升 30% 硝酸 (比重 1.18) 中, 于搅拌下慢慢加到含有碘化钾 27.2 克的 20 毫升水溶液里。静置一夜, 取上层清液, 加水稀释至 100 毫升, 贮存于棕色瓶中。

法 b). 溶液 I: 0.85 克次硝酸铋溶于 10 毫升冰醋酸 40 毫升水中。

溶液 II: 8 克碘化钾溶于 20 毫升水中。

制备液 I + II 等体积混合, 可用棕色瓶中保存备用。

试验液同上, 也呈酸性, 加碘化铋钾试剂立即有橘红色沉淀, 可能含有生物硷。本反应于滤片上进行较为敏感。

iii). 硅钨酸试剂: 1 克硅钨酸溶于 20 毫升水中, 加 10% 盐酸使呈酸性。

试验液同上, 加硅钨酸试剂如生灰白色沉淀, 可能含有生物硷。

[註: 盐基性氨基酸, 内酯化合物和生物胺 (Biogenamine) 与上述生物硷试剂均有类似反应]。

(2) 氨基酸和肽:

i). 茚三酮 (Ninhydrin) 试剂: 样品点在滤片上, 滴上或喷洒上 0.2% 茚三酮的酒精溶液后, 在 100°C 的烘箱中放置 2 分钟, 如有氨基酸和肽, 就呈紫红色或兰色斑点, 也有少数氨基酸呈黄色斑点。

[註: 除了上述成分外, 伯胺也会呈色]。

ii). 吡啶醌 (Isatin) 试剂: 100 毫升 1% 吡啶醌丙酮溶液, 加 10 毫升醋酸即可。将样品点在滤片上, 滴上或喷洒吡啶醌试剂后, 在 120°C 加热 5 分钟, 就呈各种颜色。

(3) 有机酸:

i). 用 PH 试纸检查。植物药水浸液和酒精提取液如呈酸性, 就可能含有游离酸或酸性化合物。

ii). 溴酚兰溶液：点试样于滤纸片上，喷洒 0.1% 溴酚兰溶液（溶于 70% 乙醇中）立即在兰色的背景上显黄色的斑点。如觉得这样还不够明显，再喷洒氨水，然后将其暴露在盐酸气体中，背景逐渐由兰色变为黄色，而有机酸盐的斑点仍然为兰色。经过这样一个反复，用 pH 试纸难以确定的有机酸样品也可检出。

(4) 酚类化合物和鞣质：

i). 1% 三氯化铁试剂：样品溶液如为酸性，即可直接进行检查。如为硷性，可加醋酸酸化后再滴加三氯化铁试剂。如呈兰、墨绿或兰紫色，证明可能含有酚类或鞣质，没食子酸系统的鞣质呈兰色，而儿茶酚系统的鞣质呈绿色。酚类化合物在滤片上单独用三氯化铁显色时灵敏度较差。此时可采用下列试剂：

ii). 香草醛^{*}—盐酸试剂：0.5 克香草醛溶解于 50 毫升的盐酸中。将样品点在滤片上，稍干燥后，喷洒上述试剂，立即显不同程度的红色。对具有间苯二酚和间苯三酚结构的化合物呈阴性反应。

* 香草醛，即 3-甲氧基 4-羟基苯甲醛。

iii) 三氯化铁—铁氰化钾试剂配制：

① 0.5 克三氯化铁溶解于 50 毫升水中。

② 0.5 克铁氰化钾溶解于 50 毫升水中。

临用时，①、② 二液等体积混合。

将样品点在滤片上，喷洒上述溶液，立即显明显的兰色斑点。但时间较长后，背景也能逐渐呈兰色。如欲使滤片上的斑点保存下来，当滤片仍湿润时，用稀盐酸洗涤，再用水洗至中性，置室温干燥后即可。

[註：本反应可检查鞣质，一切酚类化合物，以及还原性化合物]。

iv) 快速兰盐-B (Fast blue salt-B) 试剂：

配制：① 0.5 克快速兰盐-B 溶解于 100 毫升水中（须新鲜配制）。

② 0.1 N 氢氧化钠溶液。

将样品点在帘上，先喷①试剂，再喷②试剂，立即呈红色斑点。

[注：本反应检查酚类及胺盐化合物，生成重氮盐]

为了进一步证明是一般酚类化合物还是鞣质，可利用鞣质与生物硷或明胶能产生沉淀而去除鞣质后再作试验。生物硷可选择0.1%咖啡硷水溶液；明胶溶液的配置，可用0.5%的明胶水溶液加等体积的10%食盐溶液即可。

(5) 糖、多糖、和甙类。

i) 费林试剂 (Fehling 试剂)：

配制：① 硫酸铜结晶 6.93 克，溶于 100 毫升蒸馏水中。

② 酒石酸钾钠结晶 34.6 克，氢氧化钠 10 克，溶于 100 毫升水中，贮存于带橡皮塞的试剂瓶中。使用时①②等量混合。

水浸提液加费林试剂，在沸水浴上加热数分钟。如果产生红色的氧化低铜 (Cu_2O) 沉淀，证明含还原糖。若试样不含还原糖，可将水浸液加少量盐酸煮沸约半小时后，加氢氧化钠溶液中和至硷性，然后再加费林试剂在沸水浴上加热数分钟。如果产生红色的沉淀，就可能含有多糖或甙类化合物。

ii) α -萘酚试剂：

配制：10% 的 α -萘酚的乙醇溶液。

样品以稀乙醇或水溶解。置试管中，加入 α -萘酚试剂数滴，此后，沿试管壁滴加入浓硫酸，如与浓硫酸的接触处呈紫红色环，即有还原糖或其他还原性物质存在之证。

iii) 碱性硝酸银试剂 (多倫斯 <Tollens> 试剂)：0.1N 硝酸银溶液和 5N 的氨水等量混合。样品点在帘片上，喷洒此试剂，在 100°C 加热 5~10 分钟，还原糖呈棕褐色。

iv) 苯胺—邻苯二甲酸盐：苯胺 0.93 克和邻苯二甲酸 1.6 克溶于 100 毫升水饱和的正丁醇中。将样品点在帘片上，喷洒此试剂，

在 105°C 加热 5 分钟，还原糖就呈桃红色。有时也呈棕色斑点，一般说，呈红色为戊醛糖和 2-乙酮戊酸，呈棕色的为乙醛糖和 5-乙酮糖酸。

V) 间苯二脲试剂：0.2 M 间苯二脲 70% 乙醇溶液。将样品点在滤纸上，喷洒此种试剂，在 105°C 加热 5 分钟呈黄色荧光即证明含糖。

以上试管法及点滴法均可证明被检出的样品中含有还原糖或其他还原性物质，检查甙类或多糖类化合物可用下列方法：

(a) 取 10 毫升水浸液，20 毫升斐林试剂，在沸水浴上加热半小时。滤取所产生的沉淀（不含单糖）。在 100°C 干燥 2 小时称量。

(b) 取 10 毫升水浸液加盐酸 2 毫升回流 1 小时后，加氢氧化钠使成硷性。然后加斐林试剂，在沸水浴上加热半小时。滤取所产生的沉淀。在 100°C 干燥 2 小时后称量。如果 (b) 明显地比 (a) 重，或或试验 (a) 后的滤液加盐酸至酸性后再作试验 (b)，如有沉淀即证明水浸液中含甙或多糖。为了进一步确证是甙，还可进行如下试验：水浸液加醋酸铅水溶液。如果产生沉淀，就可能含有有机酸，粘液质、鞣质、蛋白质和甙。使沉淀完全后，滤去沉淀，滤液加硷性醋酸铅水溶液，如果产生沉淀，就可能含有甙。

为了进一步证明是多糖，可作如下试验：取水浸液 5 毫升置蒸发皿内，于水浴上浓缩至干，复加水 1 毫升，使溶解，以后再加 5 倍量的乙醇使产生沉淀，加热过滤，并用少量热乙醇洗涤沉淀。再将此沉淀溶于 3 毫升水中，进行多糖试验。取此水溶液 1 毫升，加少量碘液或碘化钾-碘试液，观察颜色变化情况，如呈褐色则为糊精，兰黑色则为地衣糖，兰色加热后消失则为淀粉。

(6) 皂甙：

1) 取水浸液 1~2 毫升置于试管中，激烈振摇，如果产生持续性泡沫，就可能含有皂甙、高级脂肪酸盐、蛋白质或粘液^质。皂甙和脂肪酸盐，泡沫特别显著，在试管内持续 10 分钟以上，即依加热加酒

精，光抹也不明显地减少。

ii) 醋酐液硫酸反应 (Liebermann-Burchard 反应): 取酒精提取液，于水浴上蒸发去酒精，残留物溶解或悬浮于醋酐 0.5 毫升中，滴加 1 滴浓硫酸，如呈现紫红色，并且溶液上层逐渐变绿，就表明含有甾体三萜类或皂甙。

iii) 溶血试验:

2% 红血球悬液: 自哺乳动物静脉取血 2 毫升，用洁净竹签搅拌去除纤维蛋白，以 2000 转/分速度离心分离红血球，用生理盐水洗涤三次，最后用 100 毫升生理盐水均匀混合制备成红血球悬液。

a). 取水浸液和红血球悬液放于载玻片上于显微镜下观察如有溶血现象，即示有皂甙存在。

b). 取 4 支试管，分别加入 0.25, 0.5, 0.75 或 1 毫升水浸液，然后分别加入 2.25, 2.0, 1.75 和 1.5 毫升生理盐水，混匀，使每管内液体总量为 2.5 毫升。再向每管加入 2.5 毫升 2% 红血球悬液，轻轻摇匀，观察溶血现象。必要时取出少量混合液在显微镜下观察溶血现象。

(7) 甾体:

i) 间二硝基苯试剂: 依用前制备 2% 间二硝基苯乙醇溶液和 16% 氢氧化钾乙醇溶液的等量混合液，将样品点在滤上。喷洒上述试剂后，置空气中干燥约 10 分钟，就呈黄褐色或紫色。

[注: 间二硝基苯试剂对强心甙也有类似颜色]

ii) 三氯化锑溶液: 先制备三氯化锑的氯仿饱和溶液。临用时加氯化亚砷 ($\frac{1}{10} \sim \frac{1}{5}$ 量)，甾体化合物能呈各种颜色。若不加氯化亚砷，单独使用三氯化锑的氯仿溶液也能呈色。有些甾体样品需要加热至 100°C 左右后 3~5 分钟，才能呈现各种颜色。

[注: 三氯化锑与强心甙、三萜类均能发生类似的颜色反应]

iii) 醋酐液硫酸试验: 取乙醇提取液在水浴上蒸去溶剂至干，

残留物加入1毫升冰醋酸溶解之，再加1毫升醋酐，最后滴加1滴浓硫酸。如果有黄色转变为红→紫→兰→污绿色的一系列颜色变化，则表示有甾醇、甾体皂甙的甙元及三萜类化合物。其中甾体化合物颜色变化较快，而三萜类化合物相应颜色变化较慢。如乙醇提取液颜色较深，不易观察其色反应的颜色变化时，可采用使乙醇提取液蒸干成膏状物，用5%盐酸醇溶液除去生物硷。酸水不溶的膏状物以乙酸乙酯溶解。所得乙酸乙酯溶液取1毫升，再蒸干，残留物加冰醋酸溶解后再作上述试验。

(8) 黄酮类：

i) 1%的三氯化铝乙醇溶液（或5%三氯化铝水溶液）：用乙醇提取液点于滤纸上，喷洒上述试剂，干燥后，黄色斑点于紫外灯下显明显的荧光。

ii) 盐酸镁粉反应：取乙醇提取液1毫升于试管中加镁粉或锌粉适量，再注入浓盐酸数滴（1次加入），在泡沫处如呈桃红色，则可能含有黄酮类化合物。水浸提液亦可进行此试验：取水浸提液3-4毫升在蒸发皿中蒸干，再加95%乙醇加热使溶解（不溶物不必过滤），在溶液中进行上述法进行盐酸镁粉反应。如被检查的试液加浓盐酸后不加镁粉即呈红色，说明被检试样可能含有花色素。为进一步验证是否含花色素，可取乙醇提取液1毫升，加硫酸使呈酸性，即有红色出现，继加碳酸钠调到硷性，即变为紫色继转变为兰色，即表明有花色素存在。

[注]：此反应系黄酮类的常用反应，但也有一些黄酮类化合物如查耳酮，噢哢，异黄酮类等并不显色。

iii) 浓氨水溶液：把乙醇提取液点于滤纸条上，在浓氨水瓶口上熏之，立即置于荧光灯下观察，则显明显的黄色荧光。

iv) 硼酸的饱和丙酮溶液-10%柠檬酸丙酮溶液：取乙醇提取液1毫升置小瓷皿中，在水浴上蒸干，加入上述两试液各1毫升再使蒸干，将残留物于紫外灯下照射，如产生强烈的荧光，即示有黄酮类化