

中 草 药 学

(下 册)

— 中 草 药 化 学 —

南 京 药 学 院

一 九 七 五 年 五 月

毛主席语录

路线是个纲，纲举目张。

备战、备荒、为人民。

把医疗卫生工作的重点放到农村去。

中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高。

古为今用，洋为中用。

马克思主义的哲学认为十分重要的问题，不在于懂得了客观世界的规律性，因而能够解释世界，而在于拿了这种对于客观规律性的认识去能动地改造世界。

编写说明

这本教材的内容是学习中草药有效成分的提取、分离、鉴定的基本知识和技能，为进行中草药有效成分、有效制剂的生产，以及中草药的整理提高打下基础。

中草药化学涉及范围比较广泛，就以中草药有效成分的提取、分离、鉴定来说，在教材中也不能一一列举。这本教材的取材上注意到结合专业的需要，以医疗上应用较多的中草药有效成分为主要内容，按挥发油、生物碱、甙、其他成分分章叙述；对各类有效成分的实例是选用了我国实际的生产工艺，或科学实验中较有代表性的例子；有关中草药成分的预试、研究试验方法，在最后一章加以讨论；对于中草药群众运动中，常见病、多发病所应用中草药有效成分的丰富实践，科学实验，特别是无产阶级文化大革命以来在中草药有效成分方面所取得的丰硕成果，尽可能在有关章节最后加以归纳，并吸收了国外某些有益的资料。后一部分内容主要是作为进行生产实践、专题作业时的自学参考材料。另外，在教学过程中拟请有实践经验的老师傅或科技人员进行几次专题讲座，以补充教材中不足的知识。这样的安排，希望能达到学习时重点清楚，由浅入深，由个别到一般，使学员既能在较少的学时中对本门课程的主要内容、基本知识得以掌握，又能使理论联系实际，扩大学员的知识面。

为了便于学员查阅参考资料，对有关药用植物多附有拉丁学名，并在化学成分名称后附以英文名称。

我们学习马、列著作和毛主席著作很不够，收集资料有限，加以缺乏实践经验，缺点错误一定很多。遵循伟大领袖毛主席关于“实践、认识、再实践、再认识，……”的教导，我们希望和工农兵学员一齐在教育革命的实践中，共同学习讨论，不断地加以充实和提高。

目

录

绪论..... 1

第一章 层析分离方法..... 4

 一、薄层层析..... 4

 二、纸层析及其它形式的分配层析.....11

 三、应用柱层析进行物质的分离与纯制.....12

 四、离子交换层析.....14

 五、凝胶过滤.....16

第二章 挥发油.....19

 第一节 挥发油的性质.....20

 第二节 挥发油的化学成分及分类.....20

 第三节 挥发油各类成分的鉴定.....23

 第四节 挥发油的提取分离.....24

 第五节 挥发油提取实例(薄荷油和薄荷脑、芸香草油、大牻牛儿酮).....25

 第六节 中草药中常见的其它挥发性油样成分(实例:牡丹酚).....28

 第七节 临床应用的挥发油中所含有效单体化合物、挥发油及常用的含挥发油中草药简介.....29

 一、临床应用的挥发油中所含有效单体化合物.....29

 二、临床应用的挥发油.....32

 三、常用的含挥发油中草药.....34

 四、含其它挥发性油样成分及挥发性成分的中草药.....46

第三章 生物碱.....47

 第一节 生物碱总论.....47

 一、生物碱的分布.....47

 二、生物碱的性质.....48

 三、生物碱的提取方法.....50

 四、生物碱的分离与纯化.....54

 五、生物碱的分类.....54

 第二节 生物碱提取分离举例.....58

 一、延胡索生物碱.....58

 二、小檗碱.....61

 三、防己生物碱.....62

 四、石蒜生物碱.....64

 五、颠茄生物碱——硫酸阿托品和氢溴酸东莨菪碱.....65

 六、农吉利生物碱.....68

 七、喜树碱.....70

 八、麻黄碱.....71

 九、萝芙木生物碱.....74

 十、长春碱与长春新碱.....75

 第三节 重要生物碱及含生物碱常用中草药简介.....77

 一、胍胺类.....77

 二、吡啶类.....79

 三、吡咯及双稠吡咯啶类.....80

 四、托派类.....82

 五、喹啉类.....85

 六、异喹啉类.....86

 七、喹啉类.....95

 八、吲哚类.....95

 九、咪唑类.....99

 十、喹唑啉类..... 100

 十一、嘌呤类..... 100

 十二、二萜类..... 101

 十三、甾类..... 102

 十四、其他氮杂环生物碱类..... 104

第四章 甑类..... 106

第一节 概述.....	106	第五节 皂 甙.....	153
一、甙类的通性.....	106	一、皂甙的一般性质.....	153
二、甙类中糖的鉴定.....	107	二、甾体皂甙.....	154
三、甙类的分类.....	108	三、三萜皂甙.....	155
第二节 强心甙.....	108	四、皂甙及皂甙元的提取与	
一、强心甙的基本结构.....	108	分离.....	157
二、强心甙甙元的识别与鉴定.....	110	五、实例(薯蓣皂甙元、甘草	
三、强心甙的提取分离.....	110	次酸).....	157
四、实例(去乙酰基毛花洋地黄		六、皂甙类中草药科学实验情况简介	
丙、狄高辛、强心灵).....	110	(甾体皂甙类及有关甾醇类化合	
五、临床应用的强心甙及强心甙类		物、三萜皂甙类及有关三萜类化	
药物科学实验情况简介.....	117	合物).....	159
第三节 黄酮甙.....	123	第六节 香豆素甙.....	171
一、黄酮类化合物的基本结构		一、香豆素衍生物的基本结构与	
与分类.....	123	分类.....	171
二、黄酮类化合物的性质与显		二、香豆素类化合物的性质.....	172
色反应.....	126	三、香豆素类化合物的鉴别	
三、黄酮类化合物的提取.....	127	反应.....	172
四、实例(黄芩素、芸香甙、补骨		四、实例(秦皮乙素).....	172
脂甲素及乙素).....	128	五、香豆素类中草药科学实验情况	
五、黄酮类药物科学实验情况		简介(香豆素类、呋喃香豆素	
简介.....	131	类、吡喃香豆素类、异香豆素	
(一)黄酮(131) (二)双黄酮(133)		类).....	173
(三)二氢黄酮(133) (四)查耳酮		第七节 其他甙类.....	179
(135) (五)二氢查耳酮(135)		一、酚 甙.....	179
(六)噢啉(136) (七)异黄酮(136)		二、含硫甙.....	180
(八)异二氢黄酮(137) (九)黄酮		三、氰 甙.....	181
醇(137) (十)二氢黄酮醇(139)		四、内酯甙.....	182
(十一)其他黄酮类物质(139)		五、环臭蚁醛甙(环烯醚萜甙).....	182
第四节 蒽 甙.....	145	六、吡啶甙.....	183
一、概 述.....	145	七、木脂素甙.....	184
二、蒽醌类化合物的性质.....	146	八、生物碱甙等.....	185
三、蒽醌类化合物的鉴别反应.....	146	第五章 其他各类成分.....	186
四、蒽醌类化合物的提取分离.....	146	第一节 鞣 质.....	186
五、实例(大黄中蒽甙及游离蒽		一、鞣质的通性.....	186
醌的提取分离).....	147	二、鞣质的化学.....	186
六、苯醌、萘醌.....	148	三、鞣质的去除.....	189
七、蒽醌类中草药科学实验情况		四、鞣质的提取.....	190
简介.....	149	五、鞣质的用途.....	190

第二节 糖类..... 191

一、单糖类(醛糖、酮糖、去氧糖)..... 191

二、低聚多糖类..... 193

三、多糖类(淀粉、菊糖、树胶、粘液质)..... 193

四、糖类的检识..... 194

第三节 有机酸..... 194

第四节 氨基酸..... 196

一、氨基酸的化学..... 197

二、氨基酸的检识反应..... 198

三、实例(南瓜子氨酸)..... 198

第五节 蛋白质..... 199

一、中草药中检识蛋白质的反应..... 199

二、中草药制剂中去除蛋白质的方法..... 199

三、蛋白质的提取和分离(天花粉)..... 200

第六节 内酯(蛔蒿、穿心莲)..... 200

第七节 树脂类..... 203

第八节 油脂和蜡..... 204

第九节 中草药的抗菌成分(酚类、酚酸类、醌类、不饱和内酯

类、含硫化合物类及其他化合物)..... 205

第十节 中草药的驱虫、杀虫成分(鹤草酚)..... 208

第十一节 植物色素..... 210

第六章 中草药化学成分的试验方法..... 213

第一节 中草药化学成分预试验..... 213

一、中草药性状的观察..... 213

二、中草药化学成分系统预试(供试溶液的制备、各类成分的检验方法)..... 213

第二节 中草药化学成分的提取和分离..... 218

一、提取方法(溶剂法、水蒸汽蒸馏法、升华法、压榨法)..... 218

二、分离法(溶剂法、酸碱处理法、层析分离法、逆流分溶法、升华法、分馏法、透析法、沉淀法、盐析法、制备衍生物)..... 219

第三节 中草药化学成分的鉴定..... 223

一、物理常数的测定..... 223

二、分子式的测定..... 223

三、结构式的测定..... 224

中 草 药 学

(下 册)

— 中草药化学 —

绪 论

中国医药学是几千年来我国劳动人民同疾病作斗争中极为丰富的经验总结，对我国各民族的发展壮大有着巨大的贡献。自鸦片战争以来，我国反动统治阶级的压榨更加残酷，帝国主义的侵略日益疯狂，祖国医药学几乎被摧残中辍。解放后，在毛主席的革命路线指引下，中医中药和我国医药工业都得到了很大的发展，旧中国那种“黄金有价药无价”，“地主有钱治病，劳动人民无钱丧命”的景象早已一去不复返了。但是由于刘少奇一伙反革命修正主义卫生路线的干扰，“洋奴哲学”、“爬行主义”、“名利思想”的流毒仍极严重，使很多人所做的中草药化学研究工作脱离了三大革命的实际需要，不能为工农兵服务。无产阶级文化大革命运动彻底摧毁了刘少奇、林彪一伙的资产阶级司令部，广大革命的医药工作人员提高了路线斗争觉悟，意气风发，遵循伟大领袖毛主席关于“中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高”的教导，深入实际，调查研究，发掘出许多有效的验方和中草药，为中草药化学工作展示了广阔的前景。

我国中草药资源极为丰富，随着农村合作医疗制度的巩固发展，更有力地促进了中草药的群众运动，各地就地取材，因地制宜、土法上马、土洋并举，生产出大量的有效中草药制剂及中西结合的药物，品种多、价格低、疗效好，深受劳动人民欢迎。“人民要求普及，跟着也就要求提高，要求逐年逐月地提高”，对有效中草药及其制剂做进一步的研究，去粗取精，提高疗效，制造出更多更好的药物，是广大工农兵的希望，是生产实际的要求。因此运用现代科学的知识和方法，分析研究中草药的有效化学成分，是发掘、提高祖国医药遗产的一个重要组成部分。目前，全国各地对中草药有效成分的提取、分离、鉴定工作正积极开展，并取得了丰硕的成果。

一、中草药的有效成分

中草药来源于动物、植物和矿物，但以植物药材为主。中草药所含有的成分，就以植物中草药来讲，也是极为复杂。一般植物通常含有蛋白质、酶、氨基酸、糖类、淀粉、纤维素、半纤维素、油脂、蜡、树脂、叶绿素、色素、鞣质和无机盐等；有些植物还含有生物碱、甙类或挥发油等。中草药可因药用部分不同而所含成分的种类和量有所不同，例如叶子中多含有叶绿素、黄酮甙、蜡等，根中多含有淀粉、糖类，而种子则多含蛋白质、油脂等；又如挥发油多存在于叶、花、果皮部分，生物碱则在树皮、叶及种子中为常见。这些成分中凡具有明显生理活性的物质，称为“有效成分”，反之称为“无效成分”。一种成分是有效

的还是无效的是相对的，同时也是随着科学实验的发展而有所变化的，有些过去认为无效的成分，如糖类、蛋白质、油脂等，现在又不断发现有一些具有生理活性而成为人们重视的一种新动向。例如天花粉的引产成分是一种蛋白质；蘑菇、赤竹、茯苓等的多糖类物质具有一定的抑制肿瘤作用；古柯叶碱（红古豆碱）过去作为废物，但经过氢化成为古柯叶醇碱后与乙酰苦杏仁酰氯合成，产生苦杏仁酸古柯叶醇酯，成为治疗胃炎、胃溃疡的有效物质；又如鞣质在一般中草药中，对治疗疾病不起主导作用时，可视为无效成分，但在五倍子、地榆、儿茶或某些中草药中用于收敛、止血、止泻、消炎时，则为有效成分。此外，有些中草药还存在有毒副作用物质，如芫花中的油状刺激成分，当利用其黄酮类成分为止咳、祛痰药时，则应作为有毒成分除去，如将芫花用为利水致泻或发泡药时，则为有效成分；满山红叶中的有毒成分杜鹃毒素也是如此，作为止咳平喘药时，必须将它除去，但当利用其作为杀蛆剂时，就又为有效成分。

中草药的各类化学成分已在中草药学(上册)试用教材的第三章中作了介绍，请在学习本课程前先作一次复习，特别要注意各类成分的主要理化性质，以利于在本教材的有关章节中作进一步的讨论。

二、学习中草药化学的目的

中草药化学的内容主要是针对中草药的有效成分，对于中草药有效制剂或有效部位的有关化学知识，也同样不可忽视。在学习、研究中草药有效成分时，应力求运用辩证唯物主义的科学方法，来分析、认识有效成分的有关性质、提取、分离、鉴定的一般规律。通常说的“有效成分”是指单体的纯成分而言，具有一定的理化常数，能用分子式、结构式表示。如果是混合物或制剂，而在药理和临床上有效，能够代表原来中草药的疗效，则称为“有效部位”或“有效制剂”。有效中草药、有效制剂、有效部位、有效成分都是人民群众和广大医药工作人员在医疗实践中的宝贵经验总结，在人民卫生保健事业中起了巨大的作用。只有在认真学习这些经验的基础上通过各种方法分离提纯其中所含成分，并通过相应的动物模型筛选，以及临床验证，这样多次反复实践才能找到所需要的有效单体成分。

对中草药提取、分离其有效成分，首先是为了更好地制备三小（毒性小、反应小、用量小）、三效（高效、速效、长效）和五方便（生产、运输、使用、携带、保管方便）制剂，改进剂型和控制生产质量。中草药的应用，多沿用汤剂或粉剂形式，这在一般情况下是行之有效的服用方法，但服用量较大，携带、服用较不方便，而且，中草药的有效成分多半是动、植物体的代谢产物，其含量常受生长环境、采集季节、加工炮制等条件的影响而有变化，致使制剂的含量和临床疗效不稳定，有时需要经过提取、分离其有效成分后，才有可能较准确地粗取精、改进剂型、保证质量。例如对民间草药仙鹤草根芽的驱绦虫有效成分的研究，在弄清其有效成分的同时，又摸索出简便的制备有效部位、有效成分的方法，大大缩小了服用剂量，既便利服用又提高了医疗效果。

减低毒性、提高中草药的疗效也是很重要的。对有效中草药寻找其有效成分或有效部位的过程，也就是除去其无效或有毒副作用成分和提高其疗效的过程。例如长春花含有六十余种生物碱，其中只有少数生物碱如长春碱、长春新碱是临床上应用的有效抗癌成分，它们在植物中的含量极低，如不提取分离纯化则难以显示疗效。又如满山红叶、芫花的黄酮化合物，只有除去其有毒或有刺激性的成分后，才能保证用药安全有效。

寻找新的有效成分，更好地为医疗服务。例如对金银花的研究，过去只知含有木犀草

素，近年来发现其主要有效成分为异绿原酸；对黄芩、芫花的研究，对它们的成分有了新的补充，并对黄芩加工炮制质量有了新的认识，还通过动物试验证明黄芩药材比已知的主要有效成分——黄芩甙的降压、退热作用强约20倍，说明还可能还有其他有效成分存在，有待继续研究；又如对仙鹤草的研究，先后发现了驱绦虫成分鹤草酚及抗原虫成分仙鹤草酚C等。

寻找中草药新的资源，同样是中草药化学的重要任务之一。例如延胡索乙素为有效的镇痛、镇静药，而在中药延胡索中只有万分之几，但在黄藤中含有掌叶防己碱（巴马汀），含量可达4%，氢化后即转变为延胡索乙素；又如小檗碱（黄连素）为贵重中药黄连的主成分，而在小檗科、防己科、芸香科的很多植物中含有此成分，可以作为提取原料。

提取分离有效成分，研究其结构，改造其结构或人工化学合成，这也是中草药化学所涉及的内容之一。“自由是对必然的认识”，伟大领袖毛主席教导我们“马克思主义的哲学认为十分重要的问题，不在于懂得了客观世界的规律性，因而能够解释世界，而在于拿了这种对于客观规律性的认识去能动地改造世界。”有些中草药资源虽然丰富，但需要量巨大，有时难以满足需求；有些有效成分含量很低，难以提取应用；有些有效成分所具作用选择性不高，副作用较大，用药不够理想。如果找出其有效成分后，弄清其化学结构，就可以探索它们结构与作用的关系，改造其结构或通过人工合成方法来生产。例如可的松类皮质激素及一些甾体避孕药物需要量很大，可以利用天然资源薯蓣皂甙元进行半合成制备；咖啡、茶叶中的有效成分咖啡碱，目前已采用人工合成方法大量生产；古柯叶中的有效成分古柯碱，虽有很强的麻醉作用，但毒性较大，易于成瘾，人们通过研究找到了普鲁卡因等一系列的结构较简单、毒性较低的局部麻醉药物；近年来对唐古特山莨菪有效成分的研究，分离出山莨菪碱、樟柳碱并已人工合成，成为较好的治疗中毒性休克常用急救药品。

此外，探索中草药治病的原理，努力创造我国统一的新医学、新药学，是中草药化学的光荣任务。对有效中草药进一步研究其作用原理，弄清其治病道理，这对于发掘、整理祖国医药学，提高医疗水平有着重要的意义。如果一种有效中草药在弄清其有效成分后，就有利于研究其作用机制、化学结构与疗效、毒性之间的关系，以及在人体内的吸收、分布和代谢等等，也有利于中西结合，创造中国统一的新医学、新药学，为人类做出较大的贡献。

第一章 层析分离方法

层析方法是一种物理的分离方法，近年来广泛应用于中草药及其制剂的分离提纯。层析法分离的原理是利用混合物中各个成分的物理化学性质的差别，当选择某一个条件使各个成分流过支持剂或吸附剂时，各成分可由于其物理化学性质的不同而得到分离。层析法能否获得满意的分离效果其关键在于条件的选择。

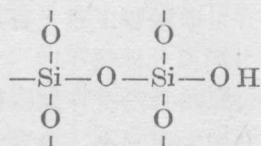
层析法按照分离的原理，可分为下列三种：（1）吸附层析：主要利用吸附剂对不同物质的吸附能力的差别而进行分离。适用于对脂溶性成分的分离，如油脂、甾体、各种甙元等。（2）分配层析：利用被分离物质在两种互不混溶的溶剂中分配比（分配系数）不同而进行分离。如一般纸层析多为分配层析（纸即是起支持剂作用），适用于对水溶性成分的分离，如氨基酸、糖等。（3）离子交换层析：利用离子解离度不同进行分离，常用的离子交换树脂有强酸性（磺酸型）、强碱性（季铵型）、弱酸性（羧酸型）、弱碱性（伯、仲、叔胺型）。一般适用于水溶性成分的分离，如氨基酸、水溶性抗菌素等。此外近年来还有利用分子筛如葡聚糖凝胶（Sephadex）等进行层析的，称为排阻层析或凝胶过滤，适合于对高分子物质的分离纯化，并用来测定分子量等。现分别就几种主要的层析方法说明如下：

一、薄层层析 (Thin Layer Chromatography, T.L.C.)

薄层层析是将一种吸附剂或支持剂均匀地铺在一块玻璃板上成一薄层，层析即在这薄层上进行，因此称为薄层层析。薄层层析是一种微量快速的层析方法，它不仅可用于纯物质的鉴定，也可用于混合物的分离、提纯及含量测定，也可以通过薄层层析来确定柱层的洗脱条件，配合柱层析进行制备性的分离。近年来由于各种吸收光谱和质谱等方法的广泛应用，薄层手段为分离、研究微量成分提供了有利条件。

1. 常用吸附剂的选择与处理：

（1）硅胶（ $\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ）系多孔性物质，其表面具有很多硅醇（ $-\text{Si}-\text{OH}$ ）基团，能吸着多量水分，这些水分当加热至 100°C 左右即可被可逆地除去。硅胶的活性与水分含量有关（见下表），含水量高则吸附力减弱，当游离水含量高达17%以上，则吸附力极低，可用为分配层析的载体（支持剂）。



氧化铝和硅胶含水量与活性的关系

硅胶含水量(%)	活性级别	氧化铝含水量(%)
0	I	0
5	II	3
15	III	6
25	IV	10
38	V	15

层析硅胶应是中性无色颗粒，但在处理过程中常可带有酸性，如酸性不强于 pH5 即可供使用。硅胶的分离性能与其粒度有关，一般用于薄层层析的，其粒度应在 200 目左右。用于柱层析时其粒度多在 100 目左右。

层析硅胶的制备举例如下：

取工业硅胶，拣去杂质，用水浸泡，以粉碎机轧碎，过筛，用水漂洗，除去细粉，取 100~200 目硅胶，以盐酸浸泡，至滤液不再有杂色（主要除去无机离子），然后用自来水洗去酸液，再用蒸馏水煮洗一次，滤干后，于 100℃ 烘 7~8 小时即得层析硅胶。

硅胶适用于酸性物质及中性物质的分离，如用于分离生物碱，多数情况须选用碱性溶剂系统或在氨气缸中进行。

(2) 氧化铝 层析用氧化铝按其制备方法不同，可分为下列三种：

碱性氧化铝：系直接由氢氧化铝脱水制得。碱性氧化铝应用于碳氢化合物的分离以及对碱性溶液较稳定的中性成分及生物碱类成分的分离。

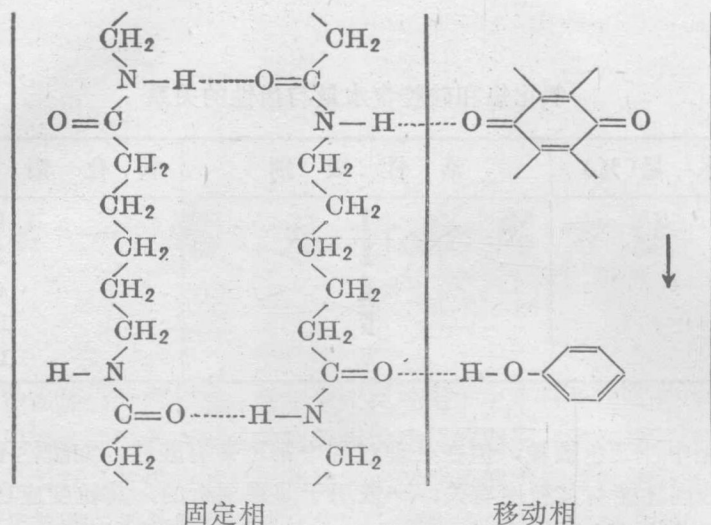
中性氧化铝：可取层析用碱性氧化铝加入蒸馏水，在不断搅拌下加热煮沸，然后倾去上层清液，反复处理至水洗液的 pH 在 7.5 左右，然后滤干，活化后即可应用。

中性氧化铝适用于醛、酮，以及对酸碱不稳定的化合物如酯、内酯等化合物的分离。

酸性氧化铝：取工业氧化铝用水调成糊状，加入 2 N 盐酸，使混合物对刚果红试纸呈酸性反应，倾去上清液，再用蒸馏水洗，至溶液对刚果红试纸呈淡紫色，然后滤取氧化铝，加热活化即得。酸性氧化铝适用于酸性成分的分离。

(3) 滑石粉 在分离极性基团较多的物质时，或采用分配层析时可选用滑石粉。一般采用药用规格的滑石粉不需经特殊处理即可制成薄层应用，适合于分离强心甙及其它多糖甙。

(4) 聚酰胺 聚酰胺是由酰胺聚合而成的一类高分子物质。层析用的聚酰胺主要是锦纶（尼龙 6，卡普隆）经过一定的加工制备而成的颗粒（制法见第四章第三节中黄酮类化合物的提取部分）。聚酰胺对极性物质特别是酚类、黄酮类成分有较好的分离效果。其吸附原理是锦纶分子内的许多酰胺键与酚类、酸类等化合物形成氢键，因而对这些物质产生吸附作用。

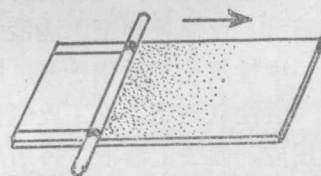


锦纶与各类化合物形成氢键的能力，与溶剂介质有关。一般在水中形成氢键能力最强，在有机溶剂中形成氢键能力较弱，在碱性溶剂中形成氢键能力最弱。因此，不同溶剂的洗脱能力的大小次序是：

水 < 乙醇或甲醇 < 丙酮 < 稀 NH_4OH 水液或稀 NaOH 水液

2. 制板：制板就是将吸附剂均匀地铺在玻璃板上，使成为一定厚度的薄层。常用的有两种形式：一种是不加粘合剂的薄层，又称软板，现用现铺；另一种是加粘合剂的薄层，又称硬板，制备后可便于长期保存应用。

(1) 软板的制备：选用一支直径 1 厘米左右的玻璃管，在玻璃管两端绕几圈胶布，胶布的厚度视所需薄层的厚度而定，常用的厚度为 0.3~1 毫米。也可在玻璃管两端套上塑料环等。把经过活化的吸附剂倒在玻板上，将玻板的一端固定然后用玻棒压在玻板上把吸附剂向一个方向推动，即成薄层。如图所示。



(2) 硬板（粘合）薄层的制备：粘合剂常用的有石膏（Gypsum）、淀粉、羧甲基纤维素钠（Sodium Carboxymethyl Cellulose，简称 CMC 或 CMC-Na）等。市售的吸附剂如标以硅胶 G 或氧化铝 G 的就表明已混有一定比例的石膏（G 表示石膏，如氧化铝 G 是含有 5% 煅石膏的氧化铝，硅胶 G 含煅石膏 13%）。

硅胶 CMC 薄层的制备：取 0.8~1 克羧甲基纤维素钠溶于 100 毫升水中，再加入硅胶粉 55 克（或氧化铝 60~80 克）调拌成糊状，铺层。铺板时可用二块 3 毫米厚的玻璃板中间夹一块 2 毫米厚的玻片（面积根据需要）将硅胶糊倒在中间的玻片上，然后用另一块边缘光滑的玻片把硅胶糊刮向一边，即成一定厚度的薄层。将该薄层放置室温下干燥或在 80℃ 以下干燥，干燥后可放在 110~130℃ 烘箱中活化半小时，得活度 I~II 级的薄层。置干燥器中贮存，可长期备用。

采用 CMC 粘合的薄层，制板容易，机械强度牢，耐磨，不易脱落，并可采用一般腐蚀性试剂如醋酐——硫酸等试剂，但加热温度一般不宜超过 130℃，以免薄层焦化。此外，

该薄层放水中浸泡，亦不致脱落，因此在显色后尚可进行脱底色的处理。

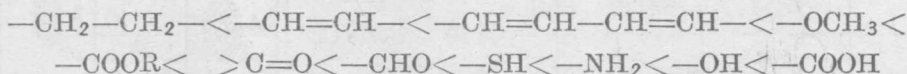
聚酰胺薄层的制备：根据制备形式亦有软板和硬板两种。软板的制备是将供薄层用的聚酰胺细粉均匀地洒在一块层析用玻璃板上，其厚度视工作需要而定。然后用另一块较大的玻璃板覆盖其上并加压，取下覆盖的玻璃板即成。

聚酰胺硬板的制备是将锦纶废丝用95%乙醇加热浸泡2~3次，除去腊质。取已去腊质的锦纶丝1克，置锥形瓶中，加甲酸5ml，于热水浴上加热使溶，再加95%乙醇6ml，继续在水浴上加热使完全溶解成透明胶状溶液，将此溶液适量倒在薄层用玻璃板上，并用玻棒将其摊匀，厚度约0.5~1mm，置空气中干燥2小时，或待其稍固化后就放在有水气饱和的容器内约五小时以上，锦纶完全固化发白，再泡在水中二小时，用水洗去甲酸，空气中干燥，105℃烘箱中加热活化半小时，冷后置干燥器中贮存备用。

3. 层析操作：层析操作主要包括点样、展开与检出三个步骤，其中的重点是展开剂的选择与调整。分述如下：

(1) 点样：将被检的样品用合适的溶剂溶解，一般可用氯仿、丙酮，如溶解不完全可酌加些乙醇或甲醇使溶。浓度一般可控制在毫克/毫升为宜。点样时采用一般毛细管或定量点样管，滴加5~10微升，如为混合物则宜多滴加些。点样时宜分次滴加以免原点直径扩散过大，一般在2~3毫米左右。点样时应距薄层底端1.5厘米左右，点与点之间应有1厘米间距。

(2) 展开：展开时的主要要求是选择一种密闭的容器，并且容器形状应规则，一般的标本缸均可代用。展开的关键问题在于寻找合适的展开剂系统，展开剂的选择，首先是根据被分离物质的极性与溶解度的性质来决定。化合物极性的大小与其结构中极性基团的种类和数量有关。各种官能团的极性大小次序为



极性小的化合物可在极性小的溶剂中溶解，而极性大的化合物只能溶于极性大的溶剂，在极性小的溶剂中溶解度很小或是不溶。例如极性较小的不含氧的萜类化合物可用极性较小的石油醚为展开剂展开，而极性大的含氧的萜类化合物在石油醚中溶解度小，用石油醚为展开剂展不动，故要选用极性较大的石油醚—乙酸乙酯混合溶剂，或用氯仿、丙酮等溶剂试行展开，然后根据分离结果再予以调整。对水溶性成分如糖、氨基酸或各种甙类，原则上可选用分配层析，其所应用的展开剂多为用水饱和的丁醇或酚——水系统。

现就层析中所常用的溶剂按极性大小（从小到大）排列如下：

石油醚<苯<乙醚<氯仿<乙酸乙酯<正丁醇<丙酮<乙醇<甲醇<水

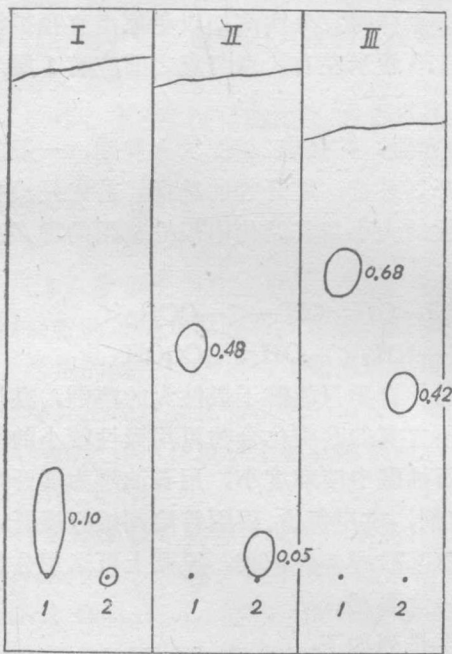
现将具体调整方法举例说明如下：在一个层析谱上滴加样品的点称原点或起始线，溶剂通过起始线到达的另一端称为溶剂前沿，而被分离的物质则必然分布在这两个界线之内。调整展开剂的目的，是为了防止两个或两个以上不同成分的物质发生重叠。形成重叠的原因有以下两种情况：一种是采用的展开剂极性过大，被分离物质的比移值*多在0.5以上，或接近溶剂前沿，降低展开剂的极性即可达到分离目的；另一种情况是被分离物质的比移值在0.1

$$* \text{比移值} (R_f \text{值}) = \frac{\text{化合物斑点中心到原点中心的距离}}{\text{展开剂前沿到原点中心的距离}}$$

以下，或停留在原点，表明所用展开剂极性过小，加大展开剂的极性，即可顺利解决。调整展开剂须要注意的第二个因素就是展开剂与吸附剂的酸碱性。一般分离酸性成分，特别是易于解离的弱酸，应在展开剂中加入一定比例的酸，可防止曳尾现象。而分离碱性物质，如某些生物碱，多数情况是选用氧化铝，展开剂可采用中性溶剂，如采用硅胶为吸附剂时，则选用碱性溶剂为宜。但对某些碱性较弱的生物碱如喜树碱则可在硅胶上采用中性溶剂进行分离。现举例如下：

例① 咖啡酸与绿原酸的分离：在硅胶薄层上进行分离，当选用氯仿—丙酮(8:2)展层时，咖啡酸 R_f 值为 0.1，绿原酸仍在原点。因此，可加大展开剂极性，改用氯仿—丙酮—甲醇—醋酸(7:2:1.5:0.5)，此时咖啡酸 R_f 值为 0.48，绿原酸为 0.05，因而达到了分离。但如需确定绿原酸的纯度与性质，上述展开剂仍不要求，可改用正丁醇—醋酸—水(4:1:1)，此时绿原酸 R_f 值可达到 0.42，咖啡酸则相应增高为 0.68 (如图)。由这一组 R_f 值的变化亦间接说明绿原酸较咖啡酸具有更大的水溶性与极性。

例② 喜树果中三萜酸与喜树碱的分离：在硅胶薄层上当选用氯仿—丙酮—甲醇(7:2:1)展层，然后以硫酸钨试剂显色，由所得图谱可见该三萜酸(呈紫红色)与喜



不同展开剂对咖啡酸与绿原酸的薄层分离影响

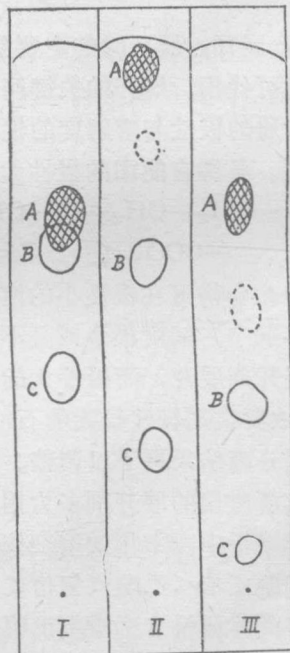
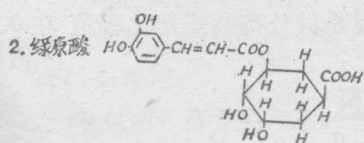
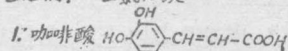
吸附剂：硅胶 CMC

展开剂：I. 氯仿—丙酮(8:2)

II. 氯仿—丙酮—甲醇—醋酸(7:2:1.5:0.5)

III. 正丁醇—醋酸—水(4:1:1)

显色剂：三氯化铁



不同展开剂对喜树果提取物的薄层分离影响

吸附剂：硅胶 CMC

展开剂：I. 氯仿—丙酮—甲醇(7:2:1)

II. 氯仿—丙酮—甲醇(14.5:5.5:0.5)

III. 氯仿—丙酮(8:2)

显色剂：硫酸钨试剂

- A. 桦皮酸(紫红色)
- B. 喜树碱(黄绿色荧光)
- C. 羟基喜树碱(米黄色荧光)

树碱发生重叠。因此，需适当降低展开剂极性，如氯仿—丙酮—甲醇（14.5:5.5:0.5）或氯仿—丙酮（8:2），即可获得分离（如图）。由上述实例说明调整展开剂的一般方法，但从发生两个成分的重叠的原因来看，多数情况是由于选用展开剂极性过大，特别在接近溶剂前沿附近的色斑，虽为一点，但不能认为必定是单一成分，在降低展开剂极性后，往往可进一步分离。以下列举一些常用的展开剂系统，可供试验时参考。

溶度组	展开剂 (v/v)	分离物质	举例供硅胶 CMC 薄层参考
脂溶弱极性	1. 石油醚—苯 (1:1)	烷烃、烯烃、酯	挥发油
	2. 苯—氯仿 (1:1)	酯、酮、弱极性的酚	挥发油、脂肪、醛酮的2,4-二硝基苯腙衍生物
脂溶中极性	3. 苯—乙酸乙酯 (8:2)	单元酚、二元酚、单羟基醇、醚、甾类、三萜酸	三萜酸、甾体激素（孕酮0.52*，睾丸素0.18、雌酮0.74、雌二醇0.35、雌三醇0.02）
	4. 氯仿—丙酮 (8:2)		酚类（酚0.63、儿茶酚0.27、没食子酚0.08）、酚酸（原儿茶酸0.10、咖啡酸0.10、绿原酸0）、喜树碱0.22、羟基喜树碱0.06
	5. 苯—无水乙醇 (8:2)		酚及酚酸（牡丹酚0.87、水杨酸0.41、原儿茶酸0.31）
	6. 氯仿—丙酮—甲醇—醋酸 (7:2:1.5:0.5)	多元酚、中极性酚酸	酚酸（原儿茶酸0.44、咖啡酸0.48、绿原酸0.05）。
水溶性	7. 正丁醇—醋酸—水 (4:1:1)	多羟基化合物，如还原糖、氨基酸、水溶性酚酸、甙。	咖啡酸0.77、绿原酸0.44、氨基酸、还原糖、蟾蜍色胺、黄酮甙。
	8. 乙酸乙酯—吡啶—水 (2:1:2)		还原糖、黄酮甙
	9. 酚—水 (4:1)		氨基酸、还原糖
碱性物质	10. 氯仿—丙酮—二乙胺 (5:4:1)		东莨菪碱0.65、阿托品0.51、四氢小檗碱0.89、喜树碱0.63、羟基喜树碱0.11、小檗碱0.08
	11. 氯仿—甲醇 (8:2) 氨气饱和		

* 数字表示 R_f 值，余同。

（3）层析图谱的检出：在分离的基础上，选用在薄层微量检出反应中呈明显阳性反应的试剂，进行喷雾检出。试剂的配制、应用及检出范围参阅附表。为了使分离后的各种无色物质得到物理的（如萤光、憎水性）、化学的检出，即不但要肯定某一成分的存在，而且能进一步就该成分的理化性质给予初步的说明。现将采用的检出方法及程序分述如下：

展层后的薄层吹干溶剂后，如薄层上含有色素的斑点可先用铅笔圈出，如蒽醌类、某些黄酮类可呈黄色、橙色等。进一步观察有无萤光物质，然后再将薄层置氨气中熏几分钟，或喷 1% 三氯化铝溶液后再观察其萤光的颜色及强度改变，如萤光增强，说明可能为黄酮类或一些较复杂的酚类。如被分离的物质含有羧酸，则可喷指示剂，如溴甲酚绿，当斑点呈黄色

时,可确定羧酸的存在。如为氨基酸则可喷茚三酮试剂,多数呈紫色,个别氨基酸呈黄色,检出后再喷硫酸镍水溶液,可转呈红色。对还原性物质、含酚羟基物质,可喷三氯化铁-铁氰化钾试剂,此试剂灵敏度较高,显色后为保存起见,可将薄层置0.1 N盐酸水中浸泡以脱去底色,然后用流水冲洗,除去酸液。当将薄层置水中浸湿的瞬间,一些具有明显憎水性的物质,即可呈现灰暗白色斑,用铅笔圈出,将薄层烘干后再喷5%磷钼酸乙醇液或硅钨酸试剂,上述憎水性物质如与磷钼酸反应呈兰黑色,则多为含羟基的植物甾醇或三萜酸。对还原糖一般可喷氨性硝酸银,醛、酮化合物则喷2,4-二硝基苯肼,生物碱喷碘化铋钾试剂等。对暂不能确认的物质可喷碱性高锰酸钾等以便先行检出。这样可以获得一组层析图谱,供今后的分析参考。

附 表

	试 剂 名 称	配 制 方 法 及 使 用 方 法	适 用 检 出 范 围
1	碘化铋钾试剂	425毫克次硝酸铋溶于20毫升水,加5毫升冰醋酸,再加40%碘化钾10毫升,可长期保存,用前须除尽薄层上的碱性溶剂。	生物碱及其它含氮物。
2	碘-碘化钾	1克碘和10克碘化钾加50毫升水,加热使溶,再加入2毫升醋酸,然后稀释至100毫升(用法同上)。	生物碱。
3	硫酸铈-硫酸	0.1克硫酸铈混悬于4毫升水中,加入1克三氯醋酸,煮沸,然后加入浓硫酸直至混浊消失。	生物碱,如喜树碱、马钱子碱、毒扁豆碱、秋水仙碱等,三萜醇。
4	三氯化铁-高氯酸	1毫升0.5M三氯化铁加入50毫升35%高氯酸。	可检出吲哚类生物碱。
5	茚三酮	0.5%丙酮溶液	可检出胺类,如麻黄碱、氨基酸。
6	三氯化铁-铁氰化钾	等体积的0.6%铁氰化钾与0.9%三氯化铁水液,临用前混匀。显色后可将薄板放入0.1%盐酸水溶液中,洗去多余试剂,再用净水冲洗后烘干,可喷其它显色剂。	还原性物质、酚类、鞣质、芳香胺、吲哚、雌激素、含羟基甾醇等。
7	醋酐-硫酸	5毫升醋酐在冰浴上与5毫升浓硫酸逐滴混匀,将此混合液(在冷却条件下)加入50毫升无水乙醇。100℃加热10分钟。	胆甾醇及其酯、某些甾体、三萜。
8	三氯化铝乙醇液	1%三氯化铝溶于95%乙醇。喷试剂前后观察荧光变化。	黄酮类。
9	溴甲酚绿	0.04克溶于100毫升乙醇,以0.1N氢氧化钠调节至蓝色刚消失,<pH3.8显黄色。	羧酸。
10	3,5-二硝基苯甲酸试剂	1克3,5-二硝基苯甲酸溶于50毫升甲醇,50毫升2N氢氧化钾。	强心甙。
11	2,4-二硝基苯肼	0.2% 2N盐酸水溶液或配成0.1% 2N盐酸乙醇溶液。	醛、酮、酮甾体(3酮或4-烯3酮)。
12	碱性醋酸铅	25%碱性醋酸铅水溶液,喷试剂前后观察荧光变化。	黄酮类。
13	碱性高锰酸钾	1%高锰酸钾,5%碳酸钠等体积混合。	一般检出试剂。
14	氨性硝酸银	2.6克硝酸银溶于50毫升水,加入氨水直至所形成的棕色沉淀刚消失为止。	还原性物质、醛、还原糖。

15	三氯醋酸	3.3克三氯醋酸溶于10毫升氯仿，加入1~2滴30%过氧化氢。	强心甙。
16	对甲苯磺酸	5%对甲苯磺酸乙醇溶液。	含羟基甙体、黄酮类。
17	三氯化铁	1克溶于100毫升水。	酚羟基，鞣质，黄酮。
18	磷钨酸	5克溶于100毫升95%乙醇。	脂肪、甙类、类脂、三萜酸、生物碱。
19	硅钨酸	5%水溶液，内含1%盐酸。	羟基甙类、生物碱。
20	三氯化锑	三氯化锑饱和氯仿溶液。	强心甙、甙体皂甙元及其衍生物。
21	重氮化试剂	(I) 0.35克对硝基苯胺溶于5毫升浓硫酸中，用水稀释至50毫升。 (II) 5克亚硝酸钠溶于50毫升水中。临用前在冰水浴上等体积混和。	酚类及香豆素类。
22	异羟肟酸铁试剂	(I) 9.7%盐酸羟胺甲醇溶液。 (II) 10%氢氧化钾甲醇溶液。 (III) 10%三氯化铁盐酸溶液(6N)。 临用前将(I)、(II)等量混匀，喷后在60℃加热2~3分钟，再喷(III)。	香豆素、内酯。
23	香荚兰醛-盐酸	5克香荚兰醛溶于100毫升浓盐酸。	挥发油。

二、纸层析(Paper Chromatography, P.C.)及其它形式的分配层析

纸层析是用滤纸为支持剂，选用一定的溶剂系统进行展层而达到分离，特别适合于对水溶性成分的分离与鉴定，它的分离机制是属于分配层析，其原理如下：滤纸纤维有较强的吸湿性，通常可含20~30%的水分，这些水分以络合物或氢键缔合的形式与纤维素结合在一起。通常把吸着在滤纸纤维上的水看作为一个相，由于这个相是静止不动的，因此称它为固定相，而滤纸纤维则是起到一个惰性支持物的作用。层析时，通常是选用一种有机溶剂，如以水饱和的正丁醇，或以水饱和的酚来展层，因为这个溶剂是向上移动的（称上行法）或向下移动的（称下行法），所以又称为流动相。将某一个被分离的物质滴加在滤纸一端后，当滤纸条与有机溶剂接触时，由于毛细管作用使有机溶剂向上移动，有机溶剂经过原点与样品接触后，样品即在水相和有机相之间发生分配，这种分配过程随着溶剂向前行就不断的进行。可以看到，当样品中有两种分配系数不同的物质存在时，它们的移动速率表现也是不一样。在流动相中溶解度较大的物质将会移动得快一些，因而具有较大的比移值；而在移动相中溶解度较小的物质，则移动得慢些，具有较小的比移值。由于物质间的移动速率不一样，所以经过一定时间后两种物质的距离便逐渐拉开，达到了分离的目的。

1. 滤纸的选择与处理：国产滤纸用作层析的有北京层析滤纸和新华层析滤纸。对层析滤纸的要求是具有一定的机械强度，当滤纸为溶剂润湿后仍能维持原来形状不致折倒；要求一定的纯度，如杂质过多往往影响分离效果，或增加不应有的斑点，如进行氨基酸层析时滤纸不宜过多用手接触，否则会形成很多对茚三酮显色的斑点。此外，滤纸纤维须松紧适当，一般实验以使用中速滤纸较多。国产层析滤纸（通常选用新华牌层析滤纸）的性能如下。