

高等医药院校教材

天然药物化学实验指导

张永红 主编



厦门大学出版社
XIAMEN UNIVERSITY PRESS

国家一级出版社
全国百佳图书出版单位

天然药物化学实验指导

主 编 张永红(福建医科大学)

编 者 (按姓氏笔画排列)

石冬梅(福建医科大学)

李 鹏(福建医科大学)

吴 莺(福建医科大学)

厦门大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

天然药物化学实验指导/张永红主编. —厦门:厦门大学出版社, 2013. 12
ISBN 978-7-5615-4833-2

I. ①天… II. ①张… III. ①生药学-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(2013)第 288808 号

厦门大学出版社出版发行

(地址:厦门市软件园二期望海路 39 号 邮编:361008)

<http://www.xmupress.com>

xmup@xmupress.com

南平市武夷美彩印中心印刷

2013 年 12 月第 1 版 2013 年 12 月第 1 次印刷

开本:720×970 1/16 印张:8

字数:135 千字 印数:1~2 000 册

定价:19.00 元

本书如有印装质量问题请直接寄承印厂调换

前 言

天然药物化学是运用现代科学理论与技术研究天然药物中生物活性成分的一门科学,是药学专业学生必修的一门重要专业课。天然药物化学是一门实践性很强的学科,实践教学在天然药物化学中占据着重要的地位。为配合天然药物化学理论课的教学,帮助学生在掌握天然药物化学基本理论的同时,进一步理论联系实际,培养学生的动手能力以及创新能力,我们编写了这本实验指导书。

本实验指导是天然药物化学的实践课教材,全书分为十一章,第一章介绍实验室规则和一般常识,第二章至第四章系统地介绍了天然药物成分的提取技术、经典的提取分离方法、色谱分离法、预实验等内容,后七章按天然药物化学成分的结构类型分别编写。全书共选编 20 个实验。附录摘编了一些实验中的相关内容,如常用溶剂的回收及精制方法、常用干燥剂性能、薄层色谱常用显色剂等,以便于学生查阅。

本书主要适用于医药院校药学类专业或中药学专业本科生学习使用,也可以作为成人教育和自学考试参考教材。

本书由张永红教授主编,具体章节编写分工如下:第一章、第二章、第三章、实验五、实验十三由李鹏编写,实验四、实验七由吴莺编写,实验九、实验十二由石冬梅编写,其余各部分由张永红负责编写。

由于编者水平有限,本书仍有不足之处,望各院校在使用过程中提出宝贵意见,以便进一步修订提高。

编者

2013 年 12 月

目 录

第一章 实验室规则和一般常识	1
第二章 天然药物化学成分提取技术	3
一、溶剂提取法	3
二、水蒸气蒸馏法	6
三、升华法	6
第三章 天然药物化学成分分离方法	7
一、萃取法	7
二、沉淀法	8
三、盐析法	8
四、透析法	9
五、分馏法	9
六、结晶法	10
七、色谱法	11
第四章 薄层色谱与天然药物化学成分的预实验	25
实验一 薄层色谱(TLC)	25
实验二 天然药物化学成分的预实验	28
第五章 苯丙素类化合物	35
实验三 补骨脂素、异补骨脂素的提取、分离和鉴定	35
实验四 厚朴中厚朴酚等成分的提取、分离与鉴定	39
第六章 醌类化合物	42
实验五 大黄中蒽醌类化合物的提取分离	42
实验六 大黄中游离蒽醌类成分的提取、分离与鉴定	45
实验七 虎杖中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的提取、分离与鉴定	50

第七章 黄酮类化合物	54
实验八 芦丁的提取与鉴定	54
实验九 葛根中异黄酮的提取、分离和鉴定	58
第八章 萜类和挥发油	61
实验十 烈香杜鹃挥发油的含量测定	61
实验十一 丹皮酚的提取、分离和制剂鉴别	63
实验十二 陈皮挥发油的提取与鉴定	67
第九章 三萜及其苷类化合物	70
实验十三 甘草酸的提取	70
实验十四 女贞子中齐墩果酸的提取、分离与鉴定	73
第十章 甾体及其苷类化合物	76
实验十五 薯蓣皂苷元的提取、精制和鉴定	76
实验十六 黄花夹竹桃中强心苷类成分的提取、分离和鉴定	79
第十一章 生物碱	84
实验十七 从三棵针中提取、分离小檗碱与小檗胺	84
实验十八 从洋金花中提取分离东莨菪碱和莨菪碱	87
实验十九 黄连中盐酸小檗碱的提取、分离与鉴定	91
实验二十 汉防己生物碱的提取、分离和鉴定	93
附 录	98
附录一 常用溶剂的回收及精制方法	98
附录二 常用干燥剂性能	104
附录三 薄层色谱常用的显色剂	108
附录四 常用试剂配制及显色方法	111

第一章 实验室规则和一般常识

一、实验规则

1. 严格遵守实验室各项规章制度,注意安全,爱护仪器,节约药品。
2. 实验前应认真预习,明确实验目的、方法、步骤和基本原理。
3. 实验过程中要操作规范,仔细观察,深入思考,做好原始记录。
4. 根据实验记录,应认真处理数据,分析问题,写出实验报告按时呈交指导老师,并需提交实验所得产品(标明产品名称、重量、实验组号及日期)。
5. 实验完毕,应整理好仪器、桌面等。值日生负责打扫卫生,离开实验室时,应关闭水、电、门、窗,以免发生安全事故。

二、实验室一般安全规则

1. 实验前应做好预习工作,熟悉每步具体操作中的安全注意事项,熟悉实验室及其周围的环境和水的开关、电闸及灭火器的位置。
2. 使用电器设备及各种分析仪器时,要弄清电路及操作规程,不要用湿的手、物接触电插销,谨防触电。实验后,应把连接电源的插销拔下。
3. 实验完毕后,应检查水、电源、煤气是否关严。值日生和最后离开实验室的工作人员都应负责再检查一遍,并把水和煤气的总开关关闭,关闭电闸。
4. 有机溶剂(如乙醚、乙醇、苯、丙酮等)易燃,使用时要远离火源,用后要盖紧瓶塞,置于阴凉处。加热、回流提取或回收溶剂时,必须在水浴上进行,切不可用直火加热,瓶内液体的量不能超过蒸馏瓶体积的 $2/3$ 。
5. 回收溶剂时,应在加热前投入 1~2 粒沸石,每添加一次溶剂,应重新添加沸石,加热中途不得加入沸石,严防溶液发生暴沸或因恒沸而发生爆炸。若在加热过程中发现未放入沸石,应停止加热,待液体冷却后再加入。
6. 强酸、强碱(如硫酸、盐酸、氢氧化钠等)具强腐蚀性,勿洒在皮肤或衣物上,以免造成化学灼伤,强酸烟雾刺激呼吸道,使用时应倍加小心。
7. 绝不允许各种化学药品任意混合,也切勿把任何试剂或溶剂倒回储

瓶,以免发生意外事故。残渣废物丢入废物缸内,用过的易燃有机溶剂不得倒入下水道,否则有燃烧爆炸的危险。

8. 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盖或滴管,以免污染药品。

三、实验室灭火常识

实验室一旦发生火灾,应保持镇静,不要慌乱。首先要立即断绝火源,并立即移开附近的可燃物,防止火势扩大。

1. 锥形瓶内溶剂着火,只需用湿布盖熄。溶剂泼倒后着火,可用湿布、黄沙、麻袋或灭火器扑灭。不可用水冲,以免因水流而扩大燃烧面。

2. 衣服着火,切勿奔跑,应立即脱下衣服或用厚的外衣、麻袋包裹致熄,或赶快卧倒在地上滚灭,或打开附近的自来水开关用水冲淋熄灭。

3. 火势较大时,应根据具体情况采用灭火器灭火,常用的有以下两种:

(1)泡沫灭火器。使用时将筒颠倒(碳酸氢钠和硫酸铝溶液作用,产生氢氧化铝和大量的二氧化碳泡沫),喷射起火处,泡沫就把燃烧的物体包住与空气隔绝,使火焰熄灭。主要扑灭汽油、苯等起火。

(2)二氧化碳灭火器。是实验室最常用的灭火器(其侧筒内装有压缩的液态二氧化碳),使用时打开开关即可灭火。主要用来扑灭有机物及电器设备等着火。

四、实验室一般伤害的救护

1. 玻璃划伤。在伤口上用双氧水消毒或涂抹红汞。

2. 烧烫伤。在伤口上涂抹甘油、硼酸或凡士林。

3. 酸碱腐伤。伤口处首先用大量清水冲洗。若为酸腐伤,再用5%的碳酸氢钠溶液或稀氨水洗;若为碱腐伤,再用1%醋酸溶液洗。最后均用水冲洗,再涂上油膏、凡士林。

4. 若是酸或碱液溅入眼内,应立即用水冲洗。若为酸液,再用1%碳酸氢钠溶液冲洗;若为碱液,则用1%硼酸溶液冲洗,最后均应用水冲洗。

上述各种伤害伤势较重者经急救后,应速送医院检查和治疗。

第二章 天然药物化学成分提取技术

植物体内化学成分较为复杂,往往含有大量的无效成分或杂质,而有效成分含量很少,多则百分之十几,少则百万分之几,甚至更少,且可能多种有效成分共存。提取就是用适当的溶剂或适当的方法将植物中的化学成分从植物组织中抽提出来的过程。在进行提取时,尽量设法使杂质不被提取出来,或在处理过程中尽可能地除去杂质,最后获得有效成分。用任何一种溶剂或任何一种方法提取而得到的提取液和提取物仍然是包含几种或多种化学成分的混合物,尚需进一步分离和精制。

一、溶剂提取法

(一)溶剂提取法的原理

溶剂提取法是根据天然药物中各种成分在溶剂中的溶解性质,选用对有效成分溶解度大,对无效成分或杂质溶解度小的溶剂,而将有效成分从天然药物组织内溶解出来的方法。当溶剂加到天然药物中时,溶剂由于扩散、渗透作用逐渐通过细胞壁透入细胞内,溶解了可溶性物质,而造成细胞内外的浓度差,于是细胞内的浓溶液不断向外扩散,溶剂又不断进入天然药物组织细胞中,直至细胞内外溶液浓度达到动态平衡时,将此饱和溶液滤出,继续多次加入新溶剂,就可以把所需要的成分近于完全溶出或大部分溶出。

(二)常用提取溶剂的性质

天然药物化学成分在溶剂中的溶解度直接与溶剂性质有关。溶剂可分为水、亲水性有机溶剂及亲脂性有机溶剂,被溶解的化学成分也有亲水性及亲脂性的不同。只要天然药物化学成分的亲水性和亲脂性与溶剂的此项性质相当,就会在其中有较大的溶解度,即所谓“相似相溶”的规律。这是选择适当溶剂自中草药中提取所需要成分的依据之一。

1. 水

水是一种强的极性溶剂。天然药物中的无机盐、糖类(单糖、低聚糖及淀

粉、树胶、黏液质等)、鞣质、氨基酸、蛋白质、有机酸盐、可溶生物碱盐及极性大的苷类等都可用水进行提取。酸性水可使生物碱与酸生成盐类而溶出,碱性水可使有机酸、黄酮、蒽醌、内酯、香豆素以及酚类成分溶出。水作提取溶剂的优点是廉价、易得、无毒,适用范围广泛;缺点是专属性差,提取物杂质较多,过滤及浓缩较困难,提取液易霉变变质,不易保存。

2. 亲水性有机溶剂

与水能混溶的有机溶剂,如乙醇、甲醇、丙酮等,以乙醇最常用。乙醇的穿透力强,溶解性能比较好。亲水性的成分(除蛋白质、黏液质、果胶、淀粉和部分多糖等外)和亲脂性成分大多能在乙醇中溶解。根据被提取物质的性质,可以采用不同浓度的乙醇进行提取。用乙醇提取,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,且毒性小,价格便宜,来源方便,因此用乙醇提取是最常用的方法之一。甲醇的性质和乙醇相似,沸点较低(64°C),但有毒性,使用时应注意。

3. 亲脂性有机溶剂

与水不能混溶的有机溶剂,如石油醚、苯、氯仿、乙醚、乙酸乙酯、二氯甲烷等。这些溶剂的选择性能强,不能或不容易提出亲水性杂质。但这类溶剂挥发性大,多易燃(氯仿除外),一般有毒,价格较贵,设备要求较高,且它们透入植物组织的能力较弱,往往需要长时间反复提取才能提取完全。如果药材中含有较多的水分,用这类溶剂就很难浸出其有效成分,因此,大量提取中草药原料时,直接应用这类溶剂有一定的局限性。

另外,选择溶剂还需注意以下四点:①溶剂对有效成分溶解度远大于对杂质的溶解度;②溶剂不能与天然药物的成分起化学变化;③溶剂要经济、易得,使用安全;④溶剂要便于回收。

(三)常用溶剂提取方法

用溶剂法提取常采用浸渍、渗漉、煎煮、回流提取及连续回流提取等操作方法。在选择时应根据天然药物所含化学成分的性质选择合理的提取方法。提取时,一般采用玻璃或搪瓷器皿。

1. 浸渍法

是在常温或低热($<80^{\circ}\text{C}$)条件下用适当的溶剂浸渍药材以溶出其中成分的方法。将药材的粗粉或碎块装入适当的容器中,加入适宜的溶剂(一般用水或稀醇),以浸没药料稍过量为度,时常振摇或搅拌,放置一段时间,滤出提取液,药渣另加新溶剂再浸渍。如此数次,合并提取液,浓缩即得提取物。适

用于有效成分遇热不稳定或含大量淀粉、树胶、果胶、黏液质的药材的提取。本法简单易行,但提取时间长,出膏率低。用水浸渍时,必要时应加适量防腐剂以防霉变。

2. 渗漉法

是将中草药粉末装在渗漉筒中,不断添加新溶剂,使其渗透过药材,自上而下从渗漉筒下部流出浸出液的方法。当溶剂渗进药粉溶出成分比重加大而向下移动时,上层的溶液或稀浸液便置换其位置,造成良好的浓度差,使扩散能较好地进行,故浸出效果优于浸渍法。但该法消耗溶剂量大,费时较长。该法也在常温下进行,因此也适用于遇热不稳定成分的提取。

3. 煎煮法

是在中药材中加入水后加热煮沸,将有效成分提取出来的方法。操作时将药材粉末或薄片装入适宜的容器中,加水浸没药粉,充分浸泡后,直火或蒸气加热至沸,保持微沸一定时间,滤出煎出液。药渣依法再煎煮数次,合并各次煎出液,过滤浓缩后即得提取物。此法简单但杂质溶出较多,且不宜用于含挥发性成分及有效成分遇热易分解的药材的提取。

4. 回流提取法

是用易挥发的有机溶剂加热回流提取药材成分的方法。需采用加热回流装置,以免溶剂挥发损失。小量提取时,一般将药材粗粉置于圆底烧瓶中,添加溶剂至烧瓶容积的 $1/2 \sim 2/3$ 处,接上冷凝装置,水浴回流数次。合并滤液,减压回收溶剂即得提取物。大量提取时,一般使用有蒸气加热隔层的提取罐。此法提取效率较冷浸法高,但溶剂消耗仍较大,操作也较麻烦,且含受热易破坏成分的药材不宜用此法。

5. 连续回流提取法

弥补了回流提取法中溶剂消耗量大,操作繁琐的缺点,实验室可采用索氏提取器来完成本法操作。该法所需溶剂量较少,提取也较完全,但提取成分受热时间长,对受热易分解的成分不宜采用此法。

6. 超声波提取法

超声提取法是采用超声波辅助提取溶剂进行提取的方法。超声波是一种弹性机械振动波,其传播的振动频率在弹性介质中高达 20 kHz。由于超声波可产生高速、强烈的空化效应和搅拌作用,因此能破坏植物药材的细胞,使提取溶剂能渗透到药材的细胞中,从而加速药材中的有效成分溶解于溶媒中,提高有效成分的提取率。超声波提取不会改变有效成分的化学结构,并可缩短

提取时间,提高提取效率,从而为重要成分的提取提供了一种快速、高产的提取方法。

二、水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法只适用于具有挥发性,能随水蒸气蒸馏而不被破坏,且难溶或不溶于水的成分的提取。该法主要用于挥发油的提取,也可用于某些小分子生物碱如麻黄碱、槟榔碱和某些小分子的酚性物如牡丹酚等的提取。此类成分沸点在 100 ℃ 以上,且在约 100 ℃ 时有一定蒸气压。当与水一起加热时,其蒸气压和水的蒸气压总和为一个大气压时,水蒸气将挥发性成分一并带出。馏出液往往分为油水两层,将油层分出即得挥发性成分,如馏出液不分层,则将馏出液经盐析并用低沸点溶剂(常用乙醚)将挥发性成分萃取出来,回收溶剂即得。

三、升华法

某些固体化学成分受热直接变成气态,遇冷后又凝固为固体的性质称为升华。天然药物中有些化学成分具有升华的性质,利用升华的方法可以将这些成分直接从药材粉末中提取出来。具有升华性的化学成分较少,仅见于少数单萜类、生物碱、游离羟基蒽醌、香豆素和有机酸类成分。

第三章 天然药物化学成分分离方法

天然药物化学成分经提取浓缩后,得到的仍是含有多种成分的混合物,需选用适当的方法将其中所含各种成分逐一分开,并把所得化合物加以精制纯化,这一过程称为分离。常用的分离和精制的方法有萃取法、沉淀法、盐析法、透析法、结晶法、分馏法和色谱分离法等。

一、萃取法

萃取是天然药物化学实验中用于分离纯化的常用操作。其原理是利用混合物中各成分在两种互不相溶的溶剂中分配系数的不同而达到分离。化合物在一定温度和压力下,溶解在两种互不相溶的溶剂里,达到平衡后,该化合物在两相中浓度之比是一常数,称为分配系数(K)。萃取时如果各成分在两相溶剂中分配系数相差越大,则分离效率越高。

(一)液—液萃取法

萃取时为两相液体,其中一相通常为水相,另一相为与水不相混溶的有机相。在分离时,可将提取得到的提取物加适量水稀释混悬后,再用极性由小到大的有机溶剂依次萃取,这样便将总提取物中各化学成分按极性由小到大分成若干个组分,是一种常用的部分分离方法。在水提取液中的有效成分是亲脂性物质,一般多用亲脂性有机溶剂如氯仿或乙醚进行两相萃取;如果有效成分是偏于亲水性的物质,则用弱亲脂性的溶剂萃取,如正丁醇等。

在进行液—液萃取时,水提取液的浓度最好在比重 1.1~1.2 之间,过稀则溶剂用量太大,影响操作。溶剂与水溶液应保持一定量的比例,第一次提取时,溶剂要多一些,一般为水提取液的 1/3,以后的用量可以少一些,一般为 1/4~1/6。一般萃取 3~4 次即可。另外,要尽量避免萃取过程中出现乳化现象。一旦乳化,可将乳化层分出,再用新溶剂萃取;或将乳化层抽滤,或将乳化层稍稍加热;或较长时间放置并不时旋转,令其自然分层。

(二)pH 梯度萃取法

pH 梯度萃取法是分离酸性、碱性、两性成分常用的手段。其原理是由于

溶剂系统 pH 变化改变了化合物的存在状态(游离型或解离型),从而改变了它们在溶剂系统中的分配系数。如混合蒽醌苷元,由于结构中羧基、酚羟基的数目和位置不同,各自所呈酸性强弱不同,可使之溶于有机相(如乙醚),依次用 5%碳酸氢钠、5%碳酸钠、1%氢氧化钠、5%氢氧化钠的水溶液萃取而达到分离的目的。分离碱性强弱不同的游离生物碱,可用 pH 由高至低的酸性缓冲溶液顺次萃取,使碱性由强到弱的生物碱分别萃取出来。

二、沉淀法

最常用的是铅盐法,可以用于除去杂质,也可以用于沉淀有效成分。醋酸铅及碱式醋酸铅在水及醇溶液中能与多种天然药物化学成分生成难溶的铅盐或络盐沉淀,故可利用这种性质使有效成分与杂质分离。中性醋酸铅可与酸性物质或某些酚性物质结合成不溶性铅盐。因此,可以沉淀有机酸、氨基酸、蛋白质、黏液质、鞣质、树脂、酸性皂苷、部分黄酮等。碱式醋酸铅沉淀范围更广,除了上述能被醋酸铅沉淀的物质外,还可沉淀某些苷类、糖类及一些生物碱等碱性物质。通常将中草药的水或醇提取液先加入醋酸铅浓溶液,静置后滤出沉淀,并将沉淀洗液并入滤液,于滤液中加碱式醋酸铅饱和溶液至不产生沉淀为止,这样就可得到醋酸铅沉淀物、碱式醋酸铅沉淀物及母液三部分。

然后将铅盐沉淀悬浮于新溶剂中,通以硫化氢气体,使分解并转为不溶性硫化铅而沉淀。含铅盐母液亦需先如法脱铅处理,再浓缩精制。硫化氢脱铅比较彻底,但溶液中可能存有多余的硫化氢,必须先通入空气或二氧化碳让气泡带出多余的硫化氢气体,以免在处理溶液时参与化学反应。新生态的硫化铅多为胶体沉淀,能吸附药液中的有效成分,要注意用溶剂处理回收。脱铅方法也可用硫酸、磷酸、硫酸钠、磷酸钠等除铅,但硫酸铅、磷酸铅在水中仍有一定的溶解度,除铅不彻底。用阳离子交换树脂脱铅快而彻底,但要注意药液中某些有效成分也可能被交换上去,同时脱铅树脂再生也较困难。

除了铅盐以外,还有其他物质,比如醋酸钾、氢氧化钡、氢氧化铜、氯化钙、石灰和苦味酸等也能和有机酸、苷类及氨基酸等生成不溶于水的重金属盐沉淀,从而与其他化合物分离。

三、盐析法

在中草药的水提液中加入无机盐(常用氯化钠、硫酸钠、硫酸铵等)饱和时,可使某些成分在水中的溶解度降低沉淀析出,而与水溶性大的杂质分离。

在三七的水提取液中加硫酸镁至饱和状态,三七皂苷乙即可沉淀析出。自黄藤中提取掌叶防己碱,自黄柏中提取小檗碱,自羊角拗中分离强心苷都是用氯化钠或硫酸铵盐析制备。有些成分如原白头翁素、麻黄碱、苦参碱等水溶性较大,在提取时,往往先在水提取液中加入一定量的食盐盐析,再用有机溶剂萃取。

四、透析法

利用小分子物质在溶液中能通过半透膜,而大分子物质不能通过半透膜的性质,达到分离的方法。例如分离和纯化皂苷、蛋白质、多肽、多糖等物质时,可用透析法以除去无机盐、单糖、双糖等杂质。反之,也可将大分子的杂质留在半透膜内,而将小分子的物质通过半透膜进入膜外溶液中,而加以分离精制。透析是否成功与透析膜的规格关系极大。透析膜的膜孔有大有小,要根据欲分离成分的具体情况而选择。透析膜有动物性膜、火棉胶膜、羊皮纸膜(硫酸纸膜)、蛋白质胶膜、玻璃纸膜等。通常多用市售的玻璃纸或动物性半透膜扎成袋状,外面用尼龙网袋加以保护,小心加入欲透析的样品溶液,悬挂在清水容器中。经常更换清水使透析膜内外溶液的浓度差加大,必要时适当加热,并加以搅拌,以利透析速度加快。为了加快透析速度,还可应用电透析法,即在半透膜旁边纯溶剂两端放置两个电极,接通电路,则透析膜中带有正电荷的成分如无机阳离子、生物碱等向阴极移动,而带负电荷的成分如无机阴离子、有机酸等则向阳极移动,中性化合物及高分子化合物则留在透析膜中。透析是否完全,需取透析膜内溶液进行定性反应检查。

五、分馏法

分馏法是用于分离液体混合物的一种方法,是利用液体混合物中各组分沸点的差别,经在分馏柱中多次反复蒸馏而达到分离。在天然药物化学研究中,分馏法常用于挥发油和一些液体生物碱的分离。

在分离液体混合物时,如液体混合物各成分沸点相差 100°C 以上,可将溶液重复蒸馏多次即可达到分离的目的。如相差 25°C 以下,则需采用分馏柱,沸点相差越小,则需要的分馏装置愈精细。若液体混合物能生成恒沸混合物,则达到恒沸点时,由于相互平衡的液体和蒸气的成分一致,只能得到恒沸化合物,因此不能继续用分馏法分离,必须用化学方法处理才能得到纯组分。用分馏法分离挥发油时,由于挥发油中各成分沸点较高,并且有些成分在受热时易

发生化学变化,因而常常需在减压情况下进行操作。且由于挥发油成分较复杂,有些成分沸点相差小,用分馏法很难得到单体成分,但常常得到成分较简单的组分,然后配合其他分离方法如层析法便容易得到单体。

六、结晶法

化合物由非晶型经过一定的操作形成晶体的过程称为结晶。初析出的晶体往往不纯,将晶体溶解后,又重新从溶液中结晶的过程称为重结晶。结晶和重结晶是分离和精制固体化学成分最常用的方法,是利用混合物中各成分在某种溶剂或某种混合溶剂中的溶解度不同来达到分离的方法。结晶和重结晶没有本质上的区别,它们除了处理的原料有所区别外,操作原理和方法基本相同。结晶后的母液经处理又可分别得到第二批、第三批结晶,这种方法则称为分步结晶。结晶状化合物在反复重结晶过程中,结晶的析出总是越来越快,纯度也越来越高。分步结晶各部分所得结晶,其纯度往往有较大差异,获得的结晶常含一种以上的化学成分,在未检查前不要贸然混在一起。

结晶和重结晶包括以下几个主要步骤:

(1)溶解:将需要结晶处理的固体物质或粗晶溶解于沸腾或近于沸腾的适宜溶剂中。

(2)热滤:将溶解了样品的热溶液趁热过滤,以除去不溶性杂质。

(3)析晶:将滤液慢慢冷却放置,结晶析出。

(4)过滤:用抽滤法滤出结晶,必要时用适宜的溶剂洗涤结晶。

制备出结晶的关键是结晶溶剂的选择,选择时必须符合下面几个条件:①该溶剂与欲结晶的成分不发生化学反应。②溶剂的沸点不宜太高或太低,宜在 30~150℃ 之间,溶剂沸点过低易挥发逸失,过高则不易将结晶表面附着的溶剂除去。③该溶剂对欲纯化的成分热时溶解度大,冷时溶解度小,而对杂质则冷热都不溶或冷热都易溶。④尽可能安全、价廉、易得。⑤能给出好的晶型。当然,理想的溶剂有时很难找到。寻找合适的溶剂一般要通过查阅文献资料,参考同类化合物的一般溶解性质和结晶条件,并且经小量摸索试验而确定。常用溶剂:常用的单一溶剂有水、甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、石油醚等。常用的溶剂不能结晶时,有时可考虑一些不常用溶剂,如二氧六环、二甲亚砜、二甲基甲酰胺、吡啶等。常用的混合溶剂有乙醇—水、丙酮—水、乙醚—甲醇、苯—石油醚、乙醚—石油醚、氯仿—乙醇或醚等。

七、色谱法

色谱法是分离、提纯和鉴定有机化合物的重要方法,有着极其广泛的用途。

色谱法的基本原理是利用混合物中各组分在某一物质中的吸附或溶解性能(即分配)的不同,或其他亲和作用性能的差异,使混合物的溶液流经该物质时进行反复的吸附或分配等作用,从而将各组分分开。流动的混合物溶液称为流动相,固定的物质称为固定相(可以是固体或液体)。根据组分在固定相中的作用原理不同,可分为吸附色谱、分配色谱等。吸附色谱常用氧化铝和硅胶作固定相;分配色谱中以硅胶、硅藻土和纤维素作为支持剂,以吸收较大量的液体作固定相,而支持剂本身不起分离作用。根据操作条件不同,可分为薄层色谱、纸色谱、柱色谱、气相色谱及高效液相色谱等类型。本书主要介绍学生实验中常用的薄层色谱、柱色谱及高效液相色谱法。

(一)薄层色谱(Thin-Layer Chromatography, TLC)

薄层色谱法是一种将固定相(如硅胶)薄薄地均匀涂敷在底板(或棒)上,试样点在薄层一端,在展开罐内展开,由于各组分在薄层上的移动距离不同,形成互相分离的斑点,测定各斑点的位置及密度就可以完成对试样定性、定量分析的色谱法。薄层色谱法具有技术比较简单,操作容易,分析速度快,高分辨能力,结果直观,不需昂贵仪器设备就可以分离较复杂混合物等特点。适用于小量样品(几到几十微克,甚至 $0.01\text{ }\mu\text{g}$)的分离。薄层色谱是一种非常有用的跟踪反应的手段,在进行化学反应时,常利用薄层色谱观察原料斑点的逐步消失来判断反应是否完成。还可指导柱色谱分离中展开剂的选择,也可监视柱色谱分离状况和效果。

最常用的薄层色谱属于液—固吸附色谱,把吸附剂(如氧化铝、硅胶)和黏合剂(如煅石膏 CaSO_4 、羧甲基纤维素钠等)均匀地铺在一块玻璃板上形成薄层,将分离样品滴加在薄层的一端,当利用毛细作用使流动相沿着吸附剂薄层(固定相)移动时,吸附剂借各种分子间力(包括范德华力和氢键)作用于混合物中各组分,各组分以不同的作用强度被吸附。被分离组分在固定相与流动相之间进行分配或吸附,经过反复无数次的分配平衡或吸附平衡,不同组分的极性化合物就会在薄层板上移动不同的距离。极性强的化合物与极性吸附剂结合比较牢固,在薄板上移动的距离比较短,而非极性的物质在薄层板上可移动较大的距离。化合物移动的距离大小用 R_f 值表示,是介于 $0\sim 1$ 之间的数值。它的定义为: