

天然产物现代分离技术

戴好富 梅文莉 主编

TIANRANCHANWUXIANDAIFENLIJISHU

中国农业大学出版社

天然产物现代分离技术

戴好富 梅文莉 主编

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

天然产物现代分离技术/戴好富,梅文莉主编. —北京:中国农业大学出版社,2006. 12
ISBN 7-81117-111-2

I. 天… II. ①戴… ②梅… III. 天然有机化合物-分离-研究 IV. 0629

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 135470 号

书 名 天然产物现代分离技术

作 者 戴好富 梅文莉 主编

策划编辑 潘晓丽 司建新

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62731190,2620

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2006 年 12 月第 1 版 2006 年 12 月第 1 次印刷

规 格 787×1092 16 开本 17.75 印张 438 千字

印 数 1~1050

定 价 30.00 元

责任编辑 孟 梅

责任校对 王晓凤 陈 莹

邮政编码 100094

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编 戴好富 梅文莉

副主编 吴 娇 于海川

主 审 彭 明

前言

天然产物活性成分的结构类型丰富,理化性质差异较大,因此提取分离的方法也不尽相同。要从一个粗提物中分离得到纯化合物,需要经过许多纯化步骤,其过程往往相当繁琐、耗时,且花费很大。因此,正确掌握提取分离的实验操作以及熟悉快速、有效的新的提取分离技术,在分离目的化合物中就显得尤为重要。只有先通过提取分离技术,纯化得到单体化合物后,才能进一步利用波谱技术鉴定其化学结构,测定其理化性质和生物活性;同时提供其作为制药原料、对照品及合成工作的起始资料。

来自于自然界植物、微生物、海洋生物中的多数天然产物,是天然药物、天然食品添加剂和天然化妆品活性成分的重要来源。这些有机化合物结构复杂,种类繁多,用途广泛,含量往往较低,并与许多其他化学成分共存,因此要很好地发掘我国丰富的天然资源,充分研究和利用这些天然产物,就必须先经过提取分离和纯化过程。

本书共十五章,其中主要介绍了天然产物的提取技术,以及超临界流体萃取技术、离子交换层析技术、低压柱层析技术、制备高效液相色谱技术、制备薄层层析技术、高速逆流层析技术、重结晶技术等常用天然产物分离纯化技术的基本原理、仪器设备和研究实例,并对现代科学技术在天然产物分离中的应用在已知化合物的鉴别、排重技术和与天然产物相关的生物技术两个方面等进行了专门论述。

如果本书能为读者提供一些参考和借鉴,我们将感到十分欣慰。

在本书编写过程中,始终得到中国热带农业科学院华南热带农业大学院校领导及热带生物技术研究所有领导的大力支持,天然产物化学研究组全体成员对本书的定稿工作做出辛勤劳动,在此一并表示感谢。

由于编者水平所限,不足之处恳请批评指正!

编者

2006年8月

目 录

第一篇 天然产物的常规提取与分离

第一章 绪论	3
第一节 概述	3
第二节 如何着手天然产物的提取与分离	7
第三节 层析	10
第四节 常规分离策略	24
第五节 小结	28
第二章 微生物中天然产物的提取	30
第一节 固-液分离	30
第二节 溶剂提取	32
第三节 固相萃取	35
第四节 扩张床吸附	39
第三章 植物中天然产物的提取	46
第一节 概述	46
第二节 方法	46
第三节 干扰化合物	51
附录 1 天然产物的常规检测试剂	53
附录 2 常用干燥剂的应用范围	58
附录 3 《中华人民共和国药典》筛号和工业用筛的关系	59
附录 4 植物材料中天然产物的常规提取方案	60
第四章 海洋天然产物的提取	67
第一节 概述	67
第二节 海洋生物的采集和保存	69
第三节 提取	72
第四节 设计提取方法	73
第五节 柱层析	74
第六节 影响海洋天然产物分离的其他因素	75
第七节 小结	83

第二篇 现代分离技术

第五章 水溶性天然产物的分离与纯化	89
-------------------	----

第一节	概述	89
第二节	大孔吸附树脂技术	94
第三节	1-H-5,11-DIDEOXYTETRODOTOXIN 和蝶螈的其他河豚毒素 衍生物的分离	99
第四节	硅藻中 Domoic Acid 的分离	101
第五节	金银花中水溶性化合物的分离	102
第六章	柱色谱分离技术	105
第一节	概述	105
第二节	基本原理	105
第三节	固定相类型	106
第四节	柱色谱操作	112
第五节	实例	120
第七章	离子交换层析分离技术	124
第一节	概述	124
第二节	离子交换原理	124
第三节	离子交换剂	124
第四节	操作及应用	125
第八章	制备薄层层析分离技术	135
第一节	概述	135
第二节	吸附剂的选择	136
第三节	TLC 检测天然产物	137
第四节	制备薄层层析	140
第五节	离心制备薄层层析	142
第六节	TLC 生物自显影法	143
附录 1	薄层层析常用吸附剂	147
附录 2	常用有机溶剂的性能	148
第九章	制备型高效液相色谱分离技术	151
第一节	概述	151
第二节	实施制备型 HPLC 分离	156
第三节	放大	170
第四节	流份收集和整理	173
第五节	制备型 HPLC 应用在天然产物化学中的一些特殊考虑	175
第六节	小结	177
第十章	高速逆流色谱技术	179
第一节	概述	179
第二节	分离原理	179
第三节	仪器设备	181
第四节	粗提物的分离	182
第五节	相关类似物的分离	182

第六节 操作	182
第七节 HSCCC 技术的特点	184
第八节 分离植物有效成分的应用实例	185
第十一章 超临界流体萃取技术	187
第一节 概述	187
第二节 超临界流体萃取的基本原理	188
第三节 超临界二氧化碳萃取技术的特点	190
第四节 CO ₂ -SFE 的影响因素	192
第五节 设备及操作	194
第六节 超临界二氧化碳萃取技术在天然产物提取上的应用	196
第七节 超临界流体萃取技术在天然产物除杂及精制中的应用	200
第八节 小结	201
第十二章 重结晶和最后阶段的纯化	203
第一节 概述	203
第二节 纯度的概念	203
第三节 脱盐和浓缩	203
第四节 干燥	204
第五节 重结晶	205
第十三章 天然产物中已知化合物的排重与部分鉴定	212
第一节 概述	212
第二节 分离	213
第三节 化学鉴定	216
第四节 色谱-波谱联用技术	222
第五节 生物活性检测模型	230
第六节 文献数据库	232
第七节 天然产物排重的范围	233
附录 1 薄层层析常用显色剂配制及其显色方法	238

第三篇 新技术在天然产物分离中的应用

第十四章 发展中的天然产物提取分离新技术	247
第一节 微波萃取技术	247
第二节 双水相萃取技术	250
第三节 超声提取技术	254
第四节 分子蒸馏技术	256
第五节 膜分离技术	259
第六节 小结	261
第十五章 生物技术在天然产物研究中的应用	264
第一节 概述	264

第二节	植物组织、细胞培养生产次生代谢产物	264
第三节	毛状根培养生产次生代谢产物.....	267
第四节	利用转基因植物生产次生代谢产物.....	269
第五节	利用植物内生真菌生产次生代谢产物.....	270
第六节	小结.....	271

第一篇

天然产物的常规 提取与分离

第一章 绪 论

第一节 概 述

要从成分复杂的粗提物中分离出一组纯化合物是一件非常艰难的任务。这些分子在生物体中的含量可能仅仅有十万分之几或百万分之几,并且分散在整个组织中,可能还和其他分子紧密地结合在一起。就如同要在干草堆中拿到针一样,在不知道针的形状和它在干草中的位置的情况下,你不得不移走大量的干草而只留下针。

一、天然产物的概念

严格地讲,任何一个生物分子都是天然产物。但现在“天然产物”这个词通常只指次生代谢产物,即产生于生物体中但并不是这种生物体生存所必需的小分子(相对分子质量 <1500),它们不像常见的大分子如蛋白质,核酸和多糖等是组成生物体的基本元件。

次生代谢产物种类繁多,它包括逆境时生物体产生的大量的代谢产物、生殖时期产生的逃避代谢产物、防御代谢产物、调节分子等。它们的结构迥异,一般可分为酚类化合物、萜类化合物、含氮有机碱3大类,包括酚类、黄酮类、香豆素、木脂素、生物碱、糖苷、萜类、甾类、皂苷和有机酸等。如果一个次生代谢产物在产生它的生物体分化、形态建成、运输、调节或代谢等任何一个水平中没有不利的影响,它可能被保留相当长的时间,并且在它的存在使生物体有了一种选择性优势。这个理论可被下面这个事实支持,即次生代谢产物通常只产生于一个特别的种或一类器官,如拒食素、性吸引素和抗生素,还有许多没有明显生物学功能的化合物。对于大多数植物而言,次生代谢产物的合成与积累往往受制于所处环境的变化。它们根据所处环境的变化来决定合成次生代谢产物的种类和数量,只有在特定环境下才合成特定的次生代谢产物,或者显著地增加特定的次生代谢产物在体内的含量^[1]。在植物的某个发育期或某个器官里,次生代谢产物甚至成为代谢库的主要成分,如橡胶树大量产生橡胶就是其中一个典型例子。

由于天然产物比蛋白质、核酸和糖类更小、更具化学多样性,因此天然产物的分离方法不同于普通的生物大分子,必须重视其分离方法。

二、天然产物提取的目标

在提取开始时应该考虑的两个最基本的问题是:

(一)要分离什么?

分离的目标可能有:

- (1)具有一种特殊生物活性的未知化合物。
- (2)产生于一种特殊生物体的某一化合物。

(3)产生于一种生物体中,在某些方面相关的一类化合物,例如具有相同结构特征的母核。

(4)同属的两个种或不同条件下生长的同一种产生的所有代谢产物。

(5)为了描述所有有趣的代谢产物,对生物体进行化学解剖,通常限于其次生代谢产物,或天然产物的来源并不是普遍存在的一类生物体。

(二)为什么要分离?

第二个基本问题是要有一个明确的目标,并把工作量减小到最小。例如:

(1)为了部分或全部的描述一个化合物的特征需要纯化足够多的化合物。

(2)为确证一个已知化合物的结构,通常只需和一个已知的化合物做比较,这样就需要较少的材料或纯品。

(3)为了后续工作(如更广泛的生物活性检测),需要得到一个已知化合物。(有时化学合成这个化合物更有效,通常是由于需要大量的这个天然产物用于研究和应用,才考虑化学合成。)

三、纯度

明确分离的目的即是明确需要纯化的水平。而明确了需要纯化的水平就可以选择合适的纯化方法。

例如,如果试图完全描述一个在提取物中浓度较低的天然产物的特征,就需要足够的量以进行 NMR 检测。所需要的纯度依赖于杂质化合物的性质,但是要完全地描述一个复杂化合物的结构,需要达到 95%~100% 的纯度。如果这个化合物在原材料中含量高并且有标准品可以相比较,用较低纯度的材料就可以确定结构,而且纯化步骤也可能较少。

通过 Ghisalberti 的研究可以看出天然产物分离纯度的重要性。Ghisalberti 同时发表了两篇论文报道 *ent-kauran-3-oxo-16,17-diol* 的分离。其中一篇论文提到这个化合物的熔点是 173~174 °C, $[\alpha]_D - 39.2$ °C (CHCl₃); 在另外一篇论文中,这个化合物的 $[\alpha]_D - 73.1$ °C (CHCl₃), 熔点没有被报道。说明这个化合物中存在杂质,其中一个比另外一个纯。

要进行生物活性筛选,至少需要知道它的纯度(这一点是很重要的),最好同时知道杂质的性质。有时很可能是杂质部分地或全部产生了生物活性。如果一个化合物用于药理学或药代动力学试验,为避免具有生物活性的杂质产生影响,通常需要高纯度的样品(>99%)。

在有些情况下,样品仅需要被部分纯化。例如,在一个混合物中检测到某一结构特征的缺乏或一个特殊的最大紫外吸收峰的缺乏,可以推断这个混合物中不含有某一个化合物。在另外一些情况下,例如 X-ray 单晶衍射测试样品必须达到很高的纯度,通常需要 >99.9%。

值得注意的是,样品的纯度和样品的数量非常接近指数幂的关系。从一个粗的复杂的混合物中去除大量的杂质是相当容易的,但是要去除微量杂质,把样品的纯度从 99.5% 提高到 99.9% 却相当困难。这种指数关系使得样品的纯度通常与产量之间产生矛盾。正如没有化学反应达到 100% 的产量一样,也没有提取步骤可使天然产物的回收率达到 100%。在分离化合物的每一步中都会有损失,因此,为了得到高纯度的产品,往往会损失掉大量所需要的材料^[2]。

四、流份

所有的分离过程都包括把一个混合物分成大量的离散的流份。这些流份具有明显的物理

的离散性,例如液-液提取中的两相,或者来自一个层析柱的相邻的洗出液。

流份的类型取决于单独的每一份样品和分离的目的。正在洗脱中的柱子,按相等体积接收得到多个洗脱液流份,同时进行流份的分析,确定出含有目标化合物的流份(100 mL 床体积硅胶柱的洗脱液或许就变成了 20 mL $\times$ 5 mL 流份)。很明显,将洗脱液按等体积收集为大量的小体积流份,意味着每一个流份中都有可能包含一个纯化合物,但是这就需要作大量的工作去分析每一个流份。同时存在把目标化合物散布到了很多流份中的可能性,如果最初这个化合物以低浓度存在,可能在任何一个流份中都检测不到它。因此如果分离程序是粗糙的,采取少流份而大量的收集方式可能更明智,并能快速地追踪到目标。

还可以选择进行在线监控从而分流洗脱液。这个通常用在分离较少量混合物的后面阶段,具有代表性的是,使用 HPLC 分离 UV 监控,并根据相应的单独的峰识别和分离样品。

五、检测

有一点很重要,即是要从复杂的混合物中分离一个或一类化合物,需要一种方法可以在整个分离程序中跟踪目标化合物。主要有两种方式:①物理检测:如 TLC, HPLC, LC-MS 或标准品对照;②生物活性检测。

生物活性筛选不在本书中详细讨论,这个领域发展迅速,一些有代表性的生物活性筛选见表 1-1。

表 1-1 代表性的生物活性筛选模式

活性	常规检测模式
抗细菌	接种琼脂扩散;浑浊度测定
抗真菌	接种琼脂扩散;浑浊度测定
酶抑制	紫外;比色;放射性同位素示踪;闪烁邻近测定
抗肿瘤	细胞株
毒性	整个生物体
抗寄生虫	整个生物体,如,昆虫幼虫,蠕虫
受体结合	酶联免疫测定(ELISA);放射性免疫测定(RIA);化学发光;荧光

在检测流份时应该注意以下一些基本要点:

(1)如果流份中的溶剂与溶解样品的初始溶剂不同,流份应过滤或离心以去除任何不溶解的物质。待检的样品应包括溶解样品的溶剂,样品通常要被完全地干燥后,在原始提取溶剂、水或可能溶解这个化合物的其他溶剂中再溶解。例如,将一种菌液的甲醇提取物分成几等份,分别被干燥,然后在水-氯仿中萃取并分层。再将两相分别干燥后,用等体积的甲醇溶解后进行检测。这样就可能使后面的检测更容易,理由如下:①保证检测溶剂与检验协调;②将这两相再用同一溶剂溶解以使样品在数量和质量上的比较更容易,尤其是如果其中一个溶剂非常不稳定,浓缩时容易由于蒸发而使浓度产生差异。

(2)酸化或碱化的样品,其 pH 值应该重新调到最初 pH 值以预防它们干扰检测。如果是挥发性的酸或碱可通过蒸发将其除去。

(3)对照应是由不含样品的溶剂或缓冲液,酸等组成。它通常应该保证所观测到的试验结果的确是由天然产物产生的。如果分离产生的流份没有相似的背景可能影响检测结果。例如,随着一个梯度层析系统产生流份的渐增,虽然浓缩回收有机溶剂容易,但它本身却会影响

检验。为了弥补这种差异产生的影响,在这种情况下应检测一系列的对照样品,对于从空白梯度下来的没有样品的流份的结果要从检测结果中减去。或者所有的流份采用同一种方法处理以使它们在检测中的存在形态一样。这当然意味着样品需要被干燥后再用同一种溶剂溶解。一定要把样品再溶解到与检测相协调的溶剂中,如 MeOH, DMSO, 这些溶剂可使化合物增溶, 以使其能从极性到非极性的梯度洗脱中洗脱出来。此外, 由于有时很难再溶解所有成分, 样品不完全干燥通常更好些。样品可以通过挥发或真空离心而被部分干燥, 这样更多的挥发性有机溶剂被去除而只留下水提取物; 然后调整体积到同一个浓度。还可以选择把样品吸附到固相上然后用小体积的适合的溶剂洗脱。脱盐可能适合于浓缩和进一步纯化样品, 以使化合物与极性材料、无机成分分离开, 因为无机成分有时会污染层析的流动相, 进而影响检测。

(4) 样品经层析柱分离后, 化合物的活性被稀释, 这样的话不浓缩样品可能就检测不到活性, 因此不表现出活性的流份并不意味着它没有这个活性, 有时只是由于浓度太低, 检测不十分灵敏。由于这个原因, 在分离的每个阶段都需要对目标化合物进行近似地量化。

上述这些问题听起来或许是明显而又微不足道的, 但是采用一种合适的方式制备待检测的流份样品可能是耗时和相当麻烦的过程, 也通常是生物鉴定指导的提取工作的主要部分。

有时, 在 TLC 检验的基础上, 将分离和生物活性检测结合起来是可能的。通常反应物的形态是固定不动的, 用凝胶体浇铸或喷涂在板上而使结果形象化。最常用的检验形式是抗菌检验, 它是在铺有琼脂的板上接种微生物并培养, 然后除了含有抗菌成分区域, 微生物在其他区域可以很好的生长。

只要检验可以形象化(如通过明显的微生物的生长或使用颜色反应产物), 这个原理就可以被广泛地运用, 包括酶和受体结合检测。TLC 是检测大量样品最方便快捷的方式, 广泛用于检测所有分离下来的流份。

六、量化

在天然产物整个分离过程中, 如果可能, 跟踪化合物并在每一个阶段都给予量化是必要的。这通常采用常规分析技术来做, 有时涉及到一个标准的运用。

在一个未知生物活性的化合物的分离过程中, 需要跟踪每一阶段的活性来监控化合物。同时对它的生物活性进行近似的量化也是有用的。近似量化通常是通过分离过程中每一个阶段的每一个流份经一系列稀释后的检测来实施的。为了检测活性的峰值需要检测一定稀释范围的流份, 它可以显示出每一个流份中的化合物与活性的相关程度。这样就可以看到活性成分在所有流份中的位置, 而且还需要考虑与原材料相关的所有活性流份的回收。

例如, 你或许得到了含有活性成分的流份, 但是很快估算出只有大约 5% 的活性流份从柱子上下来, 对于这种活性的消失有许多可能的解释, 如:

- (1) 不止一种活性成分而且主要化合物没有洗脱出来。
- (2) 大部分的活性成分已经被降解或在分离过程中发生变化。
- (3) 最初样品的制备与流动相不协调, 因此加样的时候大部分的活性成分被沉淀。

(4) 大部分的活性成分扩散到大范围的流份中, 而流份中活性成分的浓度太低以至于不能被检测到。

由于类似的原因, 在分离程序的每一个阶段应谨慎保留起始样品, 在检测样品时放在旁边做对照。

第二节 如何着手天然产物的提取与分离

如何开始一个天然产物的分离？首先，为了确定分离程序需要了解化合物的一些性质。

一、化合物性质的确定

在分离的早期阶段有必要确定的常规特性包括：溶解性、酸碱性、稳定性、分子量大小、电荷。

(1) 如果目的是分离一个生物体所有代谢产物而且不强调一个特殊的分子，这些信息或许不是很重要，但对于了解研究一系列的化合物是有用的。

(2) 如果目的是为了分离一个已知的化合物，这些信息都是明确的，而且从结构上看是明显的。

(3) 如果目标是一个未知的分子，很可能对这个化合物的性质一无所知。在早期阶段，可对混合物的小部分样品进行一系列的预试验。

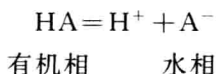
(一) 疏水性/亲水性

要确定化合物的极性，可取少量的混合物进行干燥，然后按极性范围用少许 3~4 种溶剂再溶解它。适合的溶剂有水、甲醇、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、石油醚、正己烷。

如果干燥后的样品都可以再溶解，结果就很明显，但是如果混合物很复杂，样品可以先被离心或过滤，用上清去确定需要的天然产物的溶解度（注：一定要小心确保样品被完全转移。例如，如果样品在一个热的真空离心机干燥几个小时，样品或许在管子的底部结成很硬的皮就很难被完全转移出来。还有一种危险就是一个可溶解的材料由于被粘上了不可溶的材料而显示不可溶了。在这种情况下，可考虑采用超声波或机械混合样品）。进行一系列的溶剂分配试验可得到同样的信息，代表性的是在水和乙酸乙酯、氯仿、二氯甲烷或正己烷中来检验化合物是如何分配的（注：如果化合物在任一相中都检测不到，检查它是否形成了不溶物的一部分，或有时在分配的两相之间的接触面形成了乳状液）。

(二) 酸碱性

通过进行一系列 pH 值分配试验（代表性的是 3, 7, 10）可进一步获得有用的信息。用一滴或两滴酸或碱或缓冲液调节水溶液，然后加溶剂混合后检验这两相。



倘若已知目标化合物的 pK_a 信息，这些检验对确定它们在不同 pH 值下的稳定性是有用的。（注：如果检测所需的样品量非常有限，就很难用少量体积进行溶剂-溶剂提取，而少量溶剂在短时间内又很容易挥发或在管壁上蔓延，这样的少量损失在整个过程成比例放大和后续检测结果中会产生很大误差。使用的许多溶剂（尤其是与水互不相溶的溶剂）在生物检测前都将需要被重蒸。因此待检样品可用一种更适合的溶剂再溶解，如甲醇或 DMSO，然后稀释到一种合适的浓度。与此相似的是，如果检测前需要使样品干燥，采用挥发性的酸或缓冲液调

pH 值,使它们容易去除,这样就可以减少它们对检测或化合物干扰的机会。)

(三)电荷

可以通过增加一定范围的离子交换剂到混合物中来获得化合物的电荷属性信息。

当处理一个没有定量的化合物时,不可能知道如何添加。重要的是需要使添加到每一个混合物中的黏合能力接近同一个量,以使结果具有可比性。初始的浓度大约是 100 mg 树脂/1 mL 菌液。

在样品与强和弱的阴离子交换剂和阳离子交换剂混合后,悬浮在样品上面的部分应该用一系列 pH 值如 3,7,10 来检测。从这里可以得出化合物是一个强的或弱的酸或碱。这样可以给分离程序提供建议,是采用离子交换还是吸附层析进行分离。(注:应重视检验控制的重要性。尤其是当运用生物活性检测时。从树脂上洗脱下来的检验干扰物质或溶剂中的污染物在整个程序中被浓缩聚集,产生了误导的生物活性或甚至是假的层析峰是很常见的。)

(四)热稳定性

如果一个具有生物活性的天然产物或天然来源的任何产物,对热不稳定,它有可能是蛋白质。如果是这样的情况,所观察到的生物活性可能是酶活性的结果或仅仅是与蛋白质结合的一个非特异的附着物产生的干扰或错误的活性。大部分天然产物化学家(尤其是为发现具有潜在生物活性的化合物或对化学分类感兴趣的天然产物化学家)通常对小的非蛋白质次生代谢产物感兴趣,而蛋白质是不需要的一个让人分心的成分。

具有代表性的热稳定检验是将样品在 80~90 °C 水浴 10 min(考虑样品体积的损失或任何物理的变化如凝固、聚集等),然后检测化合物。当用物理方法难以检测混合物中一个化合物的分解时,生物学检测是最适合的。

根据检测结果,可以由于缺乏深一层的兴趣就停止分离,也可以不受检测结果的影响继续分离。然而,值得注意的是热也可能使其他天然产物变性或被修饰。

许多样品在检测前是用与水互溶的溶剂进行提取的,如甲醇。由于蛋白质在不含有水的大部分有机溶剂中几乎不溶解,将提取物完全干燥后,再用甲醇提取,这样就可以确保最后的提取物中没有水。因此,通过在检验前将样品完全干燥,可将蛋白质从提取物中去除。

(五)大小

蛋白质也可以被检测并通过超滤膜去除。如果已知样品的分子量,可采用过滤先把小分子物质和蛋白质分开。但不常用于由小分子组成的混合物的分离中。渗析管也是按同样的方法使用,即小分子能通过渗析管进入到周围介质中,而蛋白质被留在渗析管中。

二、化合物的定位

在提取之前,首要问题之一是回答天然产物的定位问题。首先应明确目标天然产物是否已被定位在生物体的某个部位。

(一)菌液——细胞内或细胞外

如果目标产物在培养基中,可能比较容易进行分离,尤其是从液体培养基中分离化合物就