

国家级药学实验教学（示范）中心实验系列教材

天然药物化学 实验教程

主 编 邓 君
副主编 陈前锋

Natural Medicinal
Chemistry Experiment



科学出版社

国家级药学实验教学(示范)中心实验系列教材

天然药物化学实验教程

邓 君 主 编

陈前锋 副主编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书分为3章。第一章集中介绍本书所收录实验中常用的实验方法和操作步骤,并强调天然药物化学实验室注意事项;第二章收录了22个验证性实验,除“第一节 天然药物化学成分系统预试验”外,其余均按照化合物结构类型分节编写,对应于《天然药物化学》第6版(吴立军主编)的编撰体系,每个结构大类收录了3种结构亚类的化合物的提取分离,便于各院校相关专业的师生根据各自的实验条件和需要自行选择;第三章在第二章实验的基础上编写了3个设计性实验,既可作为实验项目,也可作为思考题。本书收录的实验几乎都是综合性实验,各实验所用药材和试剂都廉价、易得;产品大多是已进入市场流通的提取物或化合物。为适应技术进步,除一些经典实验外,本书还收录了一些采用较先进技术(如制备高效液相色谱、高速逆流色谱分离纯化化合物)的实验。

本书可用作药学、中药学以及相关专业的在校本科生和高等专科学校学生的学习教材,也可用作成人高等教育和自学的参考教材。

图书在版编目(CIP)数据

天然药物化学实验教程 / 邓君主编. — 北京: 科学出版社, 2015.6

国家级药学实验教学(示范)中心系列教材

ISBN 978-7-03-045035-7

I. ①天… II. ①邓… III. ①生物药-药物化学-化学实验-教材 IV. ①R284-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 132132 号

责任编辑: 杨 岭 华宗琪 / 封面设计: 墨创文化

责任校对: 葛茂香 / 责任印制: 余少力

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

http://www.sciencep.com

成都创新包装印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015年6月第一版 开本: 787×1092 1/16

2015年6月第一次印刷 印张: 8 1/4

字数: 190千字

定价: 26.00元

西南大学 国家级药学实验教学（示范）中心
国家级药学虚拟仿真实验教学中心

实验系列教材编委会

主任	黄承志			
副主任	陈章宝	胡昌华	罗永煌	
委员	黄承志	陈章宝	胡昌华	罗永煌
	付爱玲	邹祥	陈敏	袁吕江
	邓君	刘艳飞	刘伟	杨星刚
	廖国建	祝慧凤		

总 序

创新是以新思维、新发明和新描述为特征的一种概念化过程，创新是一个民族发展的灵魂，是一个民族进步的不竭动力，提高自主创新能力，建设创新型国家，是国家发展战略的核心，是提高综合国力的关键，创新更是引领发展的第一动力。因此，培养大学生创新能力是 21 世纪高等教育适应经济社会发展需要，是提高人才培养质量的必然要求，但这也是目前高校人才培养中普遍存在的薄弱环节。实验教学是理论教学的一种延续，既能让学生对课堂上所学知识进行消化和吸收，又能有效地训练学生的实验技能，培养学生的观察能力、实践能力、创新能力、创新精神和科学素养。因此，实验教学作为教学活动的有机组成部分，是培养高素质创新型人才的重要教学环节，其地位无可替代。实验教材则是体现实验内容、教学方法和人才培养思想的载体，是培养高素质创新型人才的重要保证。因此，强化以培养创新能力为目标的实验教材建设，对改革实验教学体系、提高实验教学质量、实现人才培养目标具有重大的作用。

为了加强大学生实践能力和创新能力的培养，西南大学国家级药学实验教学(示范)中心在教学实践中坚持“以学生为本，将知识传授、能力培养和素质提高贯穿于实验教学始终”的指导思想，秉持“实践创新，能力至上”的实验教学理念，按照“能力培养，虚实结合、从基础到专业，从认知训练到创新应用，从学校到社会”的原则建立和完善实验教学体系。中心结合多年开展实践教学的有益经验和实验教学体系，组织长期从事本科实践教学的教师编写本套实验教材，旨在与国内药学领域的专家和兄弟院校交流，分享中心取得的点滴经验和成果，也为药学类专业的实践教学和人才培养提供实践教学指导。为了进一步促进大学生实践创新能力的培养，我们推出了本套药学创新实验系列教材。教材按照实验的基本要求、验证性实验、综合性实验、设计性实验和虚拟仿真实验等层次进行编写。

西南大学国家级药学实验教学(示范)中心(<http://etcpl.swu.edu.cn/>)由真实实验教学和虚拟仿真实验教学组成，是西南大学开展药学类专业及相关专业人才培养、科研服务和文化遗产的核心平台之一，她承担着西南大学药学类及相关专业的实验教学及研究任务，并面向社会开放，承担着全国高校、院所和企业的实验技能培训、大学生夏令营和冬令营的实验教学工作。中心自 2003 年开始建设以来，不断整合校内药学类相关实验教学资源进行建设，于 2007 年成为西南大学校级药学实验教学示范中心，2009 年成为重庆市市级药学实验教学示范中心，2012 年经教育部批准为“十二五”国家级药学实验教学(示范)中心。作为实验教学的一个重要补充，西南大学国家级药学虚拟仿真实验教学中心(<http://yxxf.swu.edu.cn/>)于 2014 年被教育部批准为全国首批 100 个虚拟仿真实验教学中心之一，也是全国首批 3 个药学/中药学虚拟仿真实验教学中心之一。

西南大学实验教学的发展得到了国内外各兄弟院校和同仁的支持与帮助，在此向他们表达诚挚的谢意。同时，也希望在各方的支持与帮助下，中心的实践教学得到更好的发展。

药学创新实验教材编委会

2015年2月于重庆北碚

前 言

天然药物化学是药学及相关专业的专业基础课，牢固掌握天然药物化学知识，对于学生日后学习其他专业课以及在医药领域进一步深造或开展药品研发、生产、质量控制、临床应用等工作，都必不可少。但天然药物化学的知识点庞杂，课堂讲授较抽象，学习难度较大，容易消磨学生的学习热情。鉴于天然药物化学来源于实践，应用于实践，用直观的产品、实际的操作、生动的实验现象可以帮助学生理解本课程的理论和知识点，加深记忆，激发学生的兴趣，所以实验教学对于天然药物化学的教学十分重要。

虽然目前已有很多天然药物化学实验指导或类似的书籍，但为了跟上天然化合物提取分离技术的发展，并紧密结合天然产物提取物的生产实际，西南大学药学院总结多年本科实验教学经验，编撰了本书。

本书分为3章。第一章简要介绍本书所收录实验中常用的实验方法和操作步骤。由于学科特点，本书收录的实验都是综合性实验，很多操作都出现在多个实验中，但因为目前高校教育压缩教学学时，实际能开出的实验有限，为方便学生学习并节省篇幅，本书将一些共用的实验方法和技术集中在第一章中讲述。第二章收录了22个验证性实验，除“第一节 天然药物化学成分系统预试验”外，其余均按照化合物结构类型分节编写，对应于高等医药院校规划教材供药学类专业用《天然药物化学》第6版(吴立军主编)的编撰体系，每个结构大类收录了3种结构亚类的化合物的提取分离，便于各院校相关专业的师生根据各自的实验条件和需要自行选择；第三章在第二章实验的基础上，编写了3个设计性实验，既可作为考察用实验项目，也可作为思考题。为降低教学成本，本书收录的实验所用药材、试剂都廉价、易得；为帮助学生建立理论与实际的联系，所收录的实验大多是已进入市场流通的提取物或化合物的提取分离，甚至是耳熟能详的产品，如银杏黄酮、水飞蓟素、辣椒碱等的提取纯化；为适应技术进步，本书除收录一些经典实验外，还收录一些采用较先进技术(如制备高效液相色谱、高速逆流色谱分离纯化化合物)的实验。

本书的编写部分参考了《天然药物化学实验指导》第3版(吴立军主编)、《天然药物化学实验与指导》第二版(梁敬钰主编)、《天然药物化学实验教程》(王军主编)、《天然药物化学实验》(李嘉蓉主编)以及《中草药有效成分提取与分离》第二版(中国科学院上海药物研究所编著)等书，引用了很多期刊论文和学位论文，在此向其作者致以诚挚的谢意。

对于本书的编写，编者做了很大的努力，但因学术水平和编写能力有限，不妥和疏漏之处在所难免，敬请广大师生和读者指正。

编 者

目 录

第一章 天然药物化学实验基本方法和技能	1
第一节 天然药物化学实验室注意事项	1
第二节 天然药物化学实验基本技能	3
第二章 验证性实验	20
第一节 天然药物化学成分系统预试验	20
实验一 葫芦巴、虎杖、艾叶化学成分的系統预试验	20
第二节 苯丙素类	26
实验二 秦皮中七叶苷、七叶内酯的提取、分离和鉴别	26
实验三 南五味子中总木脂素的提取、分离与结构鉴定	28
实验四 水飞蓟素的提取和水飞蓟宾的分离纯化	31
第三节 醌类	35
实验五 大黄中游离蒽醌的提取、分离和鉴别	35
实验六 大黄中蒽醌苷的提取和分离	39
实验七 丹参醌类的提取、分离和鉴别	42
第四节 黄酮类	46
实验八 银杏叶总黄酮苷元的提取、分离和鉴别	46
实验九 芦丁的提取、分离与结构鉴定	49
实验十 葛根中异黄酮类化合物的提取、分离与结构鉴定	52
第五节 萜类和挥发油	56
实验十一 水蒸气蒸馏法和超临界 CO ₂ 萃取法制备木香油及木香烯内酯和去 氢木香内酯的分离、鉴定	56
实验十二 地黄中总环烯醚萜苷的提取及梓醇的纯化和鉴定	59
实验十三 穿心莲内酯的提取、分离、鉴定及亚硫酸氢钠加成物的制备	62
第六节 三萜及三萜皂苷	65
实验十四 女贞子中齐墩果酸的提取、分离和鉴定	65
实验十五 人参叶总皂苷的提取、分离和结构鉴定	68
实验十六 甘草酸的提取、分离和鉴定	72
第七节 甾体及其苷类	75
实验十七 夹竹桃叶中原生强心苷和次生强心苷的提取、纯化及鉴别	75
实验十八 黄山药中总甾体皂苷的提取、纯化及鉴定	78
实验十九 穿山龙中薯蓣皂苷元的提取、分离及鉴定	81
第八节 生物碱	84
实验二十 粉防己总生物碱的提取、分离及鉴定	84

实验二十一	苦豆子总生物碱的提取纯化及生物碱单体的分离鉴定	88
实验二十二	辣椒中辣椒色素和辣椒碱的提取分离	91
第三章	设计性实验	95
实验二十三	黄连中生物碱的提取、分离及鉴定	95
实验二十四	陈皮中川陈皮素和橘皮素的提取和分离	96
实验二十五	苦参中总生物碱和总黄酮的提取和分离	97
附录 I	常用检测试剂及其配制方法	98
附录 II	常用有机溶剂的物理参数	110
附录 III	常用有机溶剂的精制方法及再生方法	112
附录 IV	常用干燥剂的性能	115
附录 V	常用有机溶剂的毒性、危险性	118
附录 VI	常用有机溶剂与水的互溶度(质量分数)	119
参考文献	121

第一章 天然药物化学实验基本方法和技能

第一节 天然药物化学实验室注意事项

一、实验室规则

(1)进入实验室，须穿实验服。

(2)必须遵守实验室各项制度，听从指导老师的合理安排，尊重实验室工作人员的职权。

(3)实验时不能阅读与本实验无关的书籍，不要高声谈笑、打闹，不能玩游戏或看视频，不能擅自离开，严禁将食物、饮料带入实验室，杜绝在实验室内吸烟。

(4)不违章操作，严防爆炸、着火、中毒、触电、漏电等事故发生。若发生事故，应立即报告指导老师。

(5)保持实验室内清洁、安静，实验台面要干净整齐，与实验无关的物品不得放在台面上。

(6)仪器使用应轻拿轻放，贵重仪器未经指导老师许可不得擅自用。一旦仪器损坏，应及时报损、补领，不得乱拿、乱用别人的仪器。

(7)使用过的仪器、用具及时清洗干净后，存放于实验柜内。破损仪器、用具要填写报告单并注明原因，由指导老师按规定处理。

(8)固体废物不能投入水槽，废纸、废屑应投入垃圾桶，废酸、废碱、废有机溶剂应分门别类倒入指定的废液缸中。切勿将可燃或易挥发溶剂倒入水槽。

(9)实验结束时，应清理好各自的台面，值日生要负责打扫整个实验室的卫生，关好水、电、门和窗。

(10)严禁将实验室内的仪器、药品携带至实验室外。

二、实验注意事项

天然药物化学实验中所用的药品、试剂大多易燃、有毒，有腐蚀性、挥发性、刺激性，甚至爆炸性，实验操作又常在加热加压条件下进行，需要各种热源、电器及其他仪器，操作不慎，易造成火灾、爆炸、中毒或触电事故，因此，要严格遵守操作规程，谨防事故发生。

(1)实验前须认真预习，明确实验目的和要求，充分了解实验原理和操作程序，安排好实验计划，切勿盲目开展实验。

(2)实验开始前应清点仪器、用具，检查仪器是否正常、装置是否正确，合格后才能开始实验。

(3)实验过程中应随时注意实验情况,养成及时记录的习惯,随时如实记录观察到的现象、结果及有关数据。

(4)实验中对自己所做的成品、半成品以及有关的试剂,要随时做好标记,以免混淆。

(5)爱护所使用的仪器,节约药品,公用物品使用后立即放回原处,盖好瓶塞。药匙不能调错,试剂瓶塞不能塞错,以免产生交叉污染。

(6)实验过程中要节约用水、用电。

(7)使用电气设备时应先了解操作规程,不要用湿手触摸电器。

(8)实验完毕,要认真总结,写好实验报告。实验所得的提纯物要包好,贴上标签,交给指导老师。

三、实验室安全守则

(1)消防器材应随时处于备用状态,不得随意移动、玩弄消防器材。

(2)使用明火时,实验台面周围不得放置易燃性有机溶剂。

(3)倾倒和存放易燃、易挥发性有机溶剂时要远离火源,切勿倾倒入水池内,必须倒入指定容器内。

(4)加热乙醇、乙醚、石油醚、苯等易挥发可燃的液体时,应根据溶剂沸点选用水浴或油浴加热,且使用装有冷凝管的烧瓶。

(5)加热易燃性有机溶剂时,蒸馏瓶装量不应超过容积的2/3,加热前应放入沸石或一端封死的毛细管,防止暴沸,若在加热时未放沸石则应冷却后再加,不可热时追加;添加溶剂时应离开热源,稍冷后再添,并应重新加入沸石。

(6)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入接收瓶,尾气应用橡皮管通往室外或水槽中。

(7)存放于冰箱中的有机溶液须置于带塞容器内,并注明标签、定时清扫和检查。乙醚、石油醚等闪燃点低的溶剂不能置于冰箱中保存。

(8)乙醚闪燃点低,漏气遇火易引起爆炸,且在蒸馏过程中,产生的过氧化物浓度增加易引起爆炸,故蒸馏乙醚时不可蒸干;使用乙醚进行实验时,应熄灭一切明火。

(9)不得在烘箱内干燥带有机溶剂的仪器或物品。

(10)苦味酸是易爆物,一般保存在水中。

(11)万一不慎引起着火,要保持镇静,立即切断室内所有电源和火源,搬走易燃品,用石棉布或其他物品将着火部位盖严,使其隔绝空气而熄灭,或视火势情况选用不同的灭火器材。实验室使用二氧化碳灭火器较好,其具有不腐蚀、不导电的优点。

(12)使用灭火器应从火的四周向中心扑灭,油浴和有机溶剂着火时切忌用水浇。

(13)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,用附近的自来水将火冲淋熄灭。

(14)加压柱色谱时,要保证色谱柱和储液瓶连接牢固,并注意控制压力,以防装置炸裂。

(15)取用毒物时,勿洒在容器外,勿接触皮肤和口腔,用吸管吸取有毒液体(或烈性液体如强酸、强碱)时,切勿用嘴,要用橡皮球。

(16)室内保持良好的通风状况。

(17)产生毒气的操作应在通风橱中进行，毒物不得随意乱倒。

四、急救常识

(1)玻璃割伤。如伤势轻，应及时挤出污血，用消毒后的镊子取出玻璃碎片，用蒸馏水清洗伤口后，涂抹红药水或碘酒，并包扎。如伤势重，应立即用绷带扎紧伤口上方以止血，并立即送医院。

(2)烧烫伤。轻伤涂甘油或硼酸凡士林；重伤送医院。

(3)试剂灼伤。首先用大量清水冲洗灼伤部位。若为酸液灼伤，再用5%碳酸氢钠溶液冲洗；若为碱液灼伤，再用1%硼酸冲洗。最后用清水冲洗，涂上凡士林。

(4)酸液或碱液溅入眼睛。立即用大量清水冲洗，并冲去溅在眼睛外周的酸液或碱液。若为酸液，再用1%碳酸氢钠溶液冲洗；若为碱液，再用1%硼酸溶液冲洗。最后用清水冲洗，滴入蓖麻油。

(5)毒物进入口内。将5~10 mL 稀硫酸铜溶液加入一杯温开水中，内服，或用手指伸入咽喉部促使呕吐。严重者急救后送医院。

第二节 天然药物化学实验基本技能

一、常用提取方法

(一)渗漉法

渗漉法是将适度粉碎的药材置于渗漉筒中，由上部不断添加溶剂，溶剂渗过药材层向下流动过程中浸出药材成分的方法。渗漉属于动态浸出方法，溶剂利用率高，有效成分浸出完全，可直接收集浸出液。适用于贵重药材、毒性药材及高浓度制剂；也可用于有效成分含量较低的药材提取。但对新鲜、易膨胀、无组织结构的药材不宜选用。该法常用不同浓度的乙醇或白酒做溶剂，故应防止溶剂的挥发损失。

渗漉法的主要设备为渗漉筒，如图 1-1 所示。

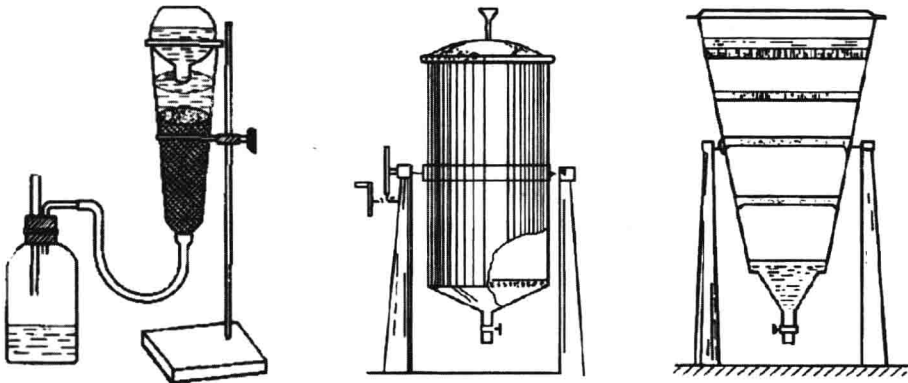


图 1-1 渗漉装置

渗漉法的特点:

(1)溶剂自上而下,由稀渐浓,但始终在药粉和溶剂之间保持连续的浓度差,促进药材成分的溶出。渗漉法相当于无数次浸渍,是一个动态过程,可连续操作,浸出效率高。

(2)渗漉筒底部带有过滤装置,不必单独过滤,节省工序。

(3)冷渗可以保护有效成分。

(4)渗漉过程时间较长,不宜用水做溶剂。

1. 单渗漉法

单渗漉法指用一个渗漉筒的常压渗漉方法。其操作一般包括药材粉碎→润湿→装筒→排气→浸渍→渗漉 6 个步骤。

具体操作过程如下:

(1)药材粉碎。粉碎度应适宜,一般以粗粉或最粗粉为宜。过细易堵塞;过粗不易压紧,溶剂消耗量大,浸出效果差。

(2)润湿药粉。药粉应先用适量浸提溶剂润湿,使之充分膨胀,避免药粉在渗漉筒中膨胀而造成堵塞。

(3)药粉装筒。渗漉筒底部铺垫适宜滤材(如棉花、玻璃纤维等),或在活动的多孔底板上覆盖 2~4 层纱布,将已润湿膨胀的药粉分次装入渗漉筒,下部药粉宜粗,上部药粉宜细,层层压紧,表面压平,上部用滤纸或纱布覆盖,并加少量重物,以防加溶剂时药粉浮起。样品高度不超过渗漉筒高度的 2/3。

(4)排除气泡。将渗漉筒底部的活塞旋至开放状态,从药粉上部添加溶剂至渗漉液从出口流出,溶剂浸没药粉表面数厘米,关闭活塞。

(5)药粉浸渍。一般浸渍 24~48 h,使溶剂充分渗透扩散。

(6)渗漉。在渗漉筒下方放置接收容器,打开活塞,放出渗漉液。渗漉液流出速度以 1000 g 药材计算,通常为 3~5 mL/min;大量生产时,流速一般为每小时 1/10~1/5 倍于药材体积。渗漉过程中应不断补充溶剂,使溶剂始终浸没药粉。至渗漉液颜色极浅或渗漉液总体积为原药材的 4~5 倍时,不再加入新的溶剂,直至全部液体放出,终止渗漉。

2. 重渗漉法

重渗漉法是将多个渗漉筒串联排列,前一个渗漉筒中流出的渗漉液用作下一个渗漉筒中新药粉的溶剂,提高渗漉液浓度、节省溶剂用量的方法。重渗漉法溶剂利用率高,浸出效率高。渗漉液中有效成分浓度高,可不必加热浓缩,避免了有效成分受热分解或挥发损失。但所占容器多,操作较麻烦。

(二) 回流提取法

回流提取法是用乙醇等挥发性有机溶剂加热浸提药材成分,馏出的溶剂被冷凝后流回浸出器中,保持溶剂量基本不变,直至药粉内外溶液中的成分达到提取平衡。包括回流热浸法(溶剂用量较多,提取时循环使用,但不能更新)和回流冷浸法(溶剂用量较少,提取时可循环和更新)。该法由于浸提液受热时间较长,故不适用于受热易破坏的药材成分的浸出。

回流提取法的主要设备为回流提取装置,如图 1-2 所示。

(三) 连续回流提取法

连续回流提取法也是回流提取法的一种，提取效率高，节省溶剂，但提取时间较长。提取出的成分在提取瓶中长时间受热，热不稳定的成分易发生结构变化。

实验室常用索氏提取器(又名脂肪抽提器)(图 1-3)操作。

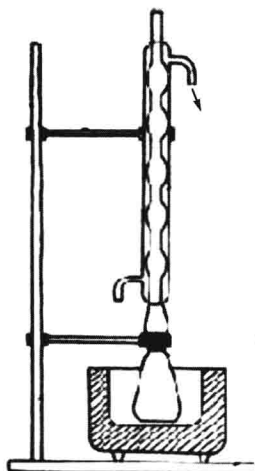


图 1-2 回流装置

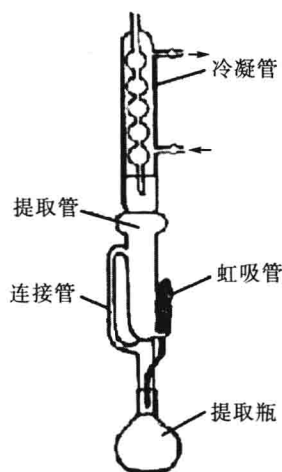


图 1-3 索氏提取器

索氏提取器操作步骤：

(1)把滤纸卷成圆筒，直径与提取器内径相当，封住一端，然后把需要提取的样品放入滤纸筒内，装入提取器。注意滤纸筒既要紧贴器壁，又要方便取放。滤纸筒上可以套一圈棉线，方便提取完成后取出滤纸筒。被提取物高度不能超过虹吸管顶部，否则被提取物不能被溶剂充分浸泡，影响提取效果。被提取物亦不能漏出滤纸筒，以免堵塞虹吸管。如果试样较轻，可以用脱脂棉压住试样。

(2)在提取瓶中加入提取溶剂和沸石(没有沸石可以用玻璃珠或碎瓷片，目的就是防止暴沸)。

(3)连接好提取瓶、提取管和冷凝管，接通冷凝水，水浴加热提取瓶。溶剂沸腾后，蒸气从连接管进入冷凝管，冷凝后的溶剂回流到滤纸筒中，浸提样品。溶剂在提取管内积累，当液面超过虹吸管顶部时，就携带所提取的物质从虹吸管流入提取瓶中。溶剂就这样在仪器内循环流动，把所要提取的物质集中到下面的提取瓶内。

(四) 水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法是将含有挥发性成分的药材与水共蒸馏，使挥发性成分随水蒸气一并馏出，经冷凝使挥发性成分和水分相，分取挥发性成分的提取方法。该法适用于具有挥发性、能随水蒸气蒸馏而不被破坏、在水中稳定且难溶或不溶于水的成分的提取。

实验室常用设备为挥发油提取器，如图 1-4 所示。也可用间接水蒸气蒸馏法，装置如图 1-5 所示。

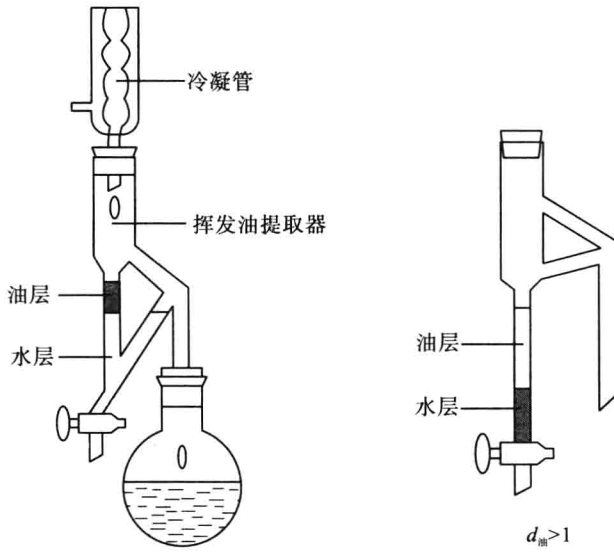


图 1-4 挥发油提取装置

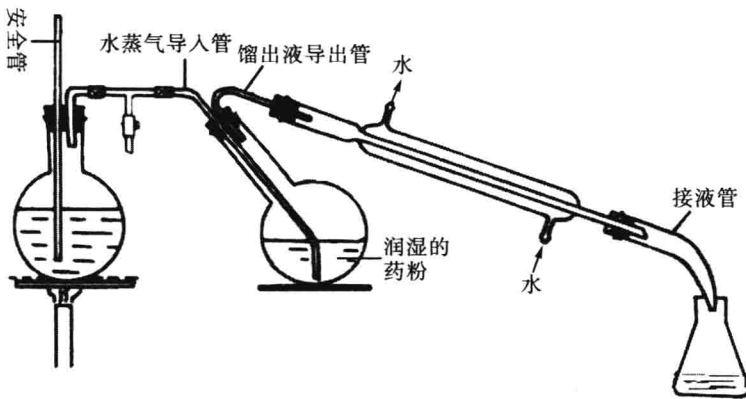


图 1-5 间接水蒸气蒸馏法提取挥发油装置图

二、常用分离精制方法

(一) 萃取法

萃取法是利用溶质在互不相溶的溶剂里溶解度不同，用一种溶剂把溶质从另一溶剂所组成的溶液里提取出来的操作方法。萃取分离物质时，使用分液漏斗。

萃取分离物质的操作步骤：

- (1)混合。将溶液和萃取溶剂先后倒入分液漏斗中。
- (2)振荡。分液漏斗密塞，倒转过来，用力振荡；振荡过程中不时旋转漏斗下端旋塞，放出溶剂蒸气。
- (3)静置。将分液漏斗正放在铁架台上，旋转上端玻璃塞，使上面的凹槽正对磨口上的小孔，静置使溶剂体系分相。
- (4)分液。当两相溶液界面清晰后，旋转漏斗下面的旋塞使之处于打开状态，从下端放出下层液体，关闭旋塞，从上端倒出上层液体。

(二) 结晶法

结晶法是利用混合物中各成分在同一种溶剂里溶解度不同, 或在不同温度下溶解度有显著差异, 而将这些成分加以分离的操作方法。一般而言, 结晶的形成表明化合物纯度已较高。结晶法是精制固体化合物的重要方法之一。初次析出的结晶往往纯度较低, 将不纯的结晶通过再次结晶制成纯度更高的结晶的过程叫重结晶。

从饱和溶液中析出晶体的常见方法有加热蒸发溶剂和降温两种。加热蒸发溶剂的方法多用于水溶液, 当固体在水中的溶解度随温度变化不大或欲得到溶液中的全部固体溶质时, 采用该方法。操作时, 将样品放入蒸发皿中加热, 并用玻棒不断搅拌; 当溶液中析出较多晶体时, 立即停止加热, 加速搅拌, 防止晶体迸溅。降温结晶使用较普遍, 它适用于溶解度随温度变化显著的情况。降温结晶常需先加热, 适当浓缩得到热饱和溶液, 然后趁热过滤除去不溶性杂质, 再冷却结晶, 并过滤分离结晶和母液。得到的晶体中可能还含有一些杂质, 若要进一步提纯, 则应进行重结晶。

三、色谱分离方法

(一) 薄层色谱法

薄层色谱(TLC)法是将吸附剂或支持剂在玻璃板或其他薄板上铺成薄层的色谱形式, 是色谱法中应用最普遍的方法之一, 具有分离速度快, 效率高等特点。薄层色谱法适用于微量样品的分离鉴定, 在药物化学成分的研究中, 其作用包括跟踪反应进程和提取分离进程, 检测试剂、原料和产品纯度, 为柱色谱选择适当的洗脱剂, 应用十分广泛。

1. 薄层色谱的吸附剂和支持剂

常用于铺制薄层的吸附剂和支持剂如下。

1) 硅胶

硅胶是应用最广泛的吸附剂, 微酸性, 适用于酸性物质和中性物质的分离。常用的薄层硅胶有以下几种。

(1) 硅胶 G(Type 60)。硅胶中添加了 15% 石膏做黏合剂, G 即石膏英文 gypsum 的首字母, Type 60 是指硅胶颗粒的孔径为 60 \AA ($6 \times 10^{-9} \text{ m}$)。调制的糊状物很快会因为石膏与空气中的二氧化碳生成碳酸钙而凝结。

(2) 硅胶 H。不含有石膏及其他有机黏合剂的硅胶, 制成薄层后, 也有一定的黏合力。适用于分离与石膏有反应的化合物。调制的糊状物可以保存。

(3) 硅胶 HF₂₅₄。不含黏合剂, 但添加了一种无机荧光粉, 在 254 nm 波长的紫外光激发下, 产生很强的绿色荧光。适用于分离不易显色或用显色剂能引起化学变化的化合物, 或对 254 nm 波长的紫外光有吸收但不产生荧光的化合物。

(4) 硅胶 HF₂₅₄₊₃₆₆(Type 60)。不含黏合剂, 但添加了两种荧光粉: 一种是受 254 nm 波长的紫外光激发产生很强的绿色荧光的无机荧光粉; 另一种是受 366 nm 波长的紫外光激发产生浅紫色荧光的有机荧光粉。适用于分离不易显色或用显色剂会引起化学变化的化合物, 或对 254 nm 和/或 365 nm 波长的紫外光有吸收的化合物。须注意的是, 有机荧光

物质能被一些有机溶剂溶解，如用于制备薄层分离，易导致被分离物质重新被污染。

(5) 硅胶 HR。纯硅胶，不含有任何黏合剂。适用于需要特别纯的薄层，如被分离物质需要定量测定或用于光谱研究。

上述吸附剂及其预制板均有国产商品出售。铺制软板的硅胶颗粒大小以 140~180 目为宜，太粗，分离效果不好；太细，铺制难度大。

2) 氧化铝

氧化铝的应用也很广泛，仅次于硅胶。氧化铝是微碱性吸附剂，适用于碱性物质和中性物质的分离，特别适用于生物碱的分离。

(1) 氧化铝 G (Type 60/E)。添加了 5% 石膏做黏合剂的氧化铝，Type 60 是指氧化铝颗粒的孔径为 $60 \text{ \AA} (6 \times 10^{-9} \text{ m})$ ，E 表示制备氧化铝的方法。氧化铝的制备方法代号有两种：E 和 T，其中 E 型适用于一般的分离鉴定。

(2) 碱性氧化铝 H (Type 60/E)。不含黏合剂但具有一定的黏合力。

(3) 碱性氧化铝 HF₂₅₄ (Type 60/E)。黏合剂和无机荧光粉的添加情况同硅胶 HF₂₅₄。用于铺制软板的氧化铝颗粒应细于 150 目。

3) 聚酰胺

聚酰胺薄膜色谱既有氢键吸附色谱的性质，又有分配色谱的性质，既可用于分离酚酸类化合物、醌类化合物、芳香硝基类化合物，又可分离其他类型的化合物，尤其对酚酸类、醌类、芳香硝基类化合物的分离有明显的优势。

市售聚酰胺有很多类型，如锦纶 6、锦纶 66、锦纶 11、锦纶 1010 等，锦纶后面的数字代表取代基或酰胺单元中的碳原子数目。锦纶 6 和锦纶 66 既有亲水性，又有亲脂性，故既可用于分离水溶性成分，又可用于分离脂溶性成分，在色谱中最常用。而锦纶 11 和锦纶 1010 的亲水性较差，不能使用含水量较高的溶剂系统洗脱，也不能喷洒水溶液显色剂，故在色谱中应用较少。

锦纶 6 和锦纶 66 可溶于浓盐酸、甲酸、热的冰乙酸，微溶于乙酸、苯酚，不溶于水、甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、三氯甲烷(氯仿)、苯等常用有机溶剂。聚酰胺分子中的酰胺结构对酸尤其是对无机酸的稳定性很差，在加热时就更敏感。碱也会影响聚酰胺的结构。

4) 纤维素粉

纤维素薄层色谱是分配色谱，纤维素是支持剂，其上吸附的水才是固定相。纤维素薄层色谱适用于分离极性较大的化合物。

纤维素粉既可购买市售商品，也可自己制备。具体制备方法如下：取脱脂棉或滤纸适量，剪成小块，加 5% 盐酸适量，直火加热煮沸 3 h，冷却，过滤。滤集物用蒸馏水洗至无氯离子，然后用乙醇洗涤 3 次，最后用乙醚洗涤 1 次。挥发去溶剂后，于 105 °C 下干燥 2 h。筛取 80~200 目粉，根据需要选取适当细度的颗粒。

5) 键合硅胶

键合硅胶是在硅胶表面的硅醇基上化学键合上不同极性的有机基团形成的固定相。若键合基团为低极性的烃基，如十八烷基、辛烷基、乙基等，则为反相键合硅胶；若键合的是极性基团，如氰基(—CN, cyano—)，二醇基[—(OH)₂, diol—]，氨基(—NH₂, amino—)等，则为正相键合硅胶。

键合硅胶增加了薄层色谱固定相的种类，而且键合硅胶作为薄层色谱的固定相，具有