

· 全国高等学校配套教材
· 供药学类专业用


天然药物 化学实验

供药学类专业师生用

药学类专业用

供药学类专业用

主 编 裴月湖
主 审 吴立军

 人民卫生出版社

全国高等学校配套教材

供药学类专业用

天然药物化学实验

主 编 裴月湖

主 审 吴立军

编 者 (以姓氏笔画为序)

孔令义(中国药科大学)

吴继洲(华中科技大学同济药学院)

张庆英(北京大学医学部药学院)

李良琼(四川大学华西药学院)

杨劲松(四川大学华西药学院)

杨 君(上海复旦大学药学院)

柳润辉(第二军医大学药学院)

高慧媛(沈阳药科大学)

楼红祥(山东大学药学院)

裴月湖(沈阳药科大学)

R914-33

P1

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

天然药物化学实验/裴月湖主编. —北京:

人民卫生出版社, 2005. 2

ISBN 7-117-06571-0

I. 天… II. 裴… III. 药物化学-化学实验-医学院校-教学参考资料 IV. R914-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 130368 号

裴月湖 主编

吴立军 审主

(南京中医药大学) 曹 融

(中国药科大学) 刘 宇

(湖南中医药大学) 熊攀吴

(北京中医药大学) 姜大雁

(四川大学华西药学院) 廖身李

(四川大学华西药学院) 谢皎蔚

(甘肃中医药大学) 薛 蔚

(南京中医药大学) 魏晓晴

(南京中医药大学) 魏慧高

天然药物化学实验

(南京中医药大学) 魏晓晴

主 编: 裴月湖

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京机工印刷厂 (天运)

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 19.5

字 数: 452 千字

版 次: 2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06571-0/R·6572

定 价: 26.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

编写说明

天然药物化学是一门实践性很强的学科。实验教学在天然药物化学教学中占据着重要的地位。为了配合天然药物化学的教学,培养学生的创新能力、动手能力和自学能力,而编写了与高等医药院校规划教材供医药专业用《天然药物化学》第四版(吴立军主编,人民卫生出版社,2003)配套的天然药物化学实验教材。

本书是天然药物化学系列教材之一。该系列教材由《天然药物化学》第四版、《天然药物化学实验》、《天然药物化学习题集》所组成。

为了既能适应较多院校的实验条件和药学各专业的需要,又能保持本书的系统性、相对独立性和使用的方便性,全书共分为十一章,其中前四章较系统的介绍了天然药物化学经典的提取分离方法、色谱分离方法、纯度判断及结构鉴定、预实验等内容,后七章则按天然药物化学成分的结构类型分别编写,全书共选编实验 26 个。为了扩大学生的知识面,提高学生的分析问题和解决问题的能力,本书增加了利用波谱确定天然产物化学结构的内容,并附有部分天然产物的波谱图。

本书编写任务由裴月湖(沈阳药科大学,第二章、附录)、张庆英(北京大学医学部药学院,第九章)、孔令义(中国药科大学,第六章)、杨劲松、李良琼(四川大学华西药学院,第十一章)、吴继洲(华中科技大学同济药学院,第八章)、柳润辉(第二军医大学药学院,第十章)、高慧媛(沈阳药科大学,第七章)、楼红祥(山东大学药学院,第一、三、四章)、杨君(上海复旦大学药学院,第五章)等 10 位教授、副教授分担,裴月湖教授担任主编,吴立军教授(沈阳药科大学)担任主审。

本书编写过程中,始终得到人民卫生出版社和兄弟院校有关同行的热情鼓励和支持,提出了很多宝贵的意见和建议,沈阳药科大学博士生孙奕对本书的定稿工作做出了辛勤劳动,在此一并表示衷心的感谢!

尽管我们做了许多努力,但因编者水平和编写能力有限,不当之处在所难免,敬请广大师生和读者予以指正。

编者

2004 年 5 月

目 录

28	四
32	五
36	六
40	七
44	八
48	九
52	十
56	十一
60	十二
64	十三
68	十四
72	十五
76	十六
80	十七
84	十八
88	十九
92	二十
96	二十一
100	二十二
104	二十三
108	二十四
112	二十五
116	二十六
120	二十七
124	二十八
128	二十九
132	三十
136	三十一
140	三十二
144	三十三
148	三十四
152	三十五
156	三十六
160	三十七
164	三十八
168	三十九
172	四十
176	四十一
180	四十二
184	四十三
188	四十四
192	四十五
196	四十六
200	四十七
204	四十八
208	四十九
212	五十
216	五十一
220	五十二
224	五十三
228	五十四
232	五十五
236	五十六
240	五十七
244	五十八
248	五十九
252	六十
256	六十一
260	六十二
264	六十三
268	六十四
272	六十五
276	六十六
280	六十七
284	六十八
288	六十九
292	七十
296	七十一
300	七十二
304	七十三
308	七十四
312	七十五
316	七十六
320	七十七
324	七十八
328	七十九
332	八十
336	八十一
340	八十二
344	八十三
348	八十四
352	八十五
356	八十六
360	八十七
364	八十八
368	八十九
372	九十
376	九十一
380	九十二
384	九十三
388	九十四
392	九十五
396	九十六
400	九十七
404	九十八
408	九十九
412	一百

四、活性炭柱色谱的一般操作	38
五、活性炭柱色谱的操作实例	39
第四节 聚酰胺柱色谱	39
一、色谱用聚酰胺	40
二、聚酰胺吸附原理及吸附力与结构的关系	41
三、聚酰胺柱色谱的一般操作	44
四、聚酰胺柱色谱的操作实例	46
第五节 干柱色谱	47
一、干柱色谱的一般操作	48
二、干柱色谱的操作实例	51
第六节 薄层色谱	54
一、薄层色谱的吸附剂和支持剂	56
二、薄层色谱的一般操作	57
三、制备性薄层色谱	62
四、薄层色谱的应用实例	63
五、各类化合物常用的薄层色谱条件	65
第七节 纸色谱	66
一、纸色谱的一般操作	66
二、纸色谱的操作实例	71
三、纸色谱的常用展开剂	72
第八节 离子交换色谱	73
一、离子交换树脂	73
二、离子交换色谱的一般操作	77
三、离子交换柱色谱的应用	79
第九节 大孔吸附树脂色谱	80
一、大孔吸附树脂	81
二、影响大孔吸附树脂吸附力的因素	82
三、大孔吸附树脂色谱的一般操作	83
四、大孔吸附树脂的应用	84
第十节 凝胶柱色谱	86
一、凝胶的性质及类型	86
二、凝胶色谱的分离原理	90
三、凝胶色谱的一般操作	91
第三章 纯度判断和结构鉴定	95
第一节 化合物的纯度判断	95
第二节 结构研究程序	95
第三节 结构研究中采用的主要方法	96
一、红外光谱(IR)	96
二、紫外-可见吸收光谱(UV-VIS)	97
三、核磁共振谱(NMR)	97
四、质谱(MS)	104

五、旋光谱(ORD)和圆二色散谱(CD)	107
第四节 结构鉴定实例	107
第四章 天然药物化学成分的预实验	114
第一节 概述	114
第二节 预实验的方法	115
一、样品试液的制备(初步分离)	115
二、各类成分的预试检查方法与试液试剂的配制	116
第五章 苯丙素类化合物	127
实验一 溶剂法提取分离七叶内酯	127
实验二 酸碱法提取分离七叶内酯	130
实验三 鬼臼素的提取分离	133
实验四 连翘叶中连翘苷的提取分离	136
第六章 醌类化合物	141
实验一 大黄中大黄素的提取、分离和鉴定	141
实验二 茜草中醌类成分的提取、分离和鉴定	147
第七章 黄酮类化合物	154
实验一 碱-酸法提取芦丁	154
实验二 沸水法提取黄芩苷	158
实验三 金银花苷的提取、分离与鉴定	162
实验四 银杏叶中总黄酮苷元的提取	166
实验五 补骨脂黄酮体的提取、分离和鉴定	169
实验六 紫外及可见光谱在黄酮类鉴定中的应用实例	173
第八章 萜类和挥发油	191
实验一 丹参酮ⅡA 磺酸盐的制备、鉴定及含量测定	191
实验二 挥发油的定性和定量分析	194
实验三 莪术中莪术醇的提取、鉴定及含量测定	196
实验四 山道年的提取、鉴定及含量测定	200
实验五 穿心莲内酯的提取、分离、鉴定及亚硫酸氢钠加成物的制备	203
第九章 三萜及其苷类化合物	210
实验一 甘草次酸及其甲酯的提取、分离和结构鉴定	210
实验二 酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 和 B 的分离和鉴定	216
实验三 柴胡皂苷的提取、分离及结构鉴定	221
第十章 甾体及其苷类化合物	233

实验一	穿山龙中薯蓣皂苷及薯蓣皂苷元的提取、分离与检识	233
实验二	重楼中甾体皂苷及薯蓣皂苷元的提取、分离与检识	239
第十一章 生物碱		250
实验一	汉防己中汉防己甲素、乙素的提取、分离和鉴定	250
实验二	氧化苦参碱的提取、分离和鉴定	253
实验三	洋金花中生物碱的提取、分离和鉴定	256
实验四	茶叶中咖啡因的提取、分离和鉴定	259
附录		262
附录一	常用显色剂的配制及显色方法	262
附录二	常用有机溶剂的物理常数及精制方法	283
附录三	常用有机溶剂的介电常数	286
附录四	常用有机溶剂与水的互溶度	287
附录五	常用有机溶剂的共沸混合溶剂	288
附录六	常用有机溶剂的三元共沸混合溶剂	288
附录七	常用有机溶剂的物理常数	289
附录八	常用气代试剂残留氢的化学位移	289
附录九	乙醇浓度稀释表	289
附录十	常用酸碱的密度和浓度	290
附录十一	密度与波美度换算表	291
附录十二	常用缓冲溶液的配制	291
附录十三	常用树脂的性能表	298
附录十四	高效液相色谱常用的色谱柱	302
附录十五	薄层色谱常用的固定相	304
191 由受辨味类药 章八第	
191 宝断量含双宝鉴, 各味酌益润制 A II 晒冬丹 一鉴美	
191 润位量宝味野宝的部类群 二鉴美	
199 宝断量含双宝鉴, 双辨酌精木葶中木葶 三鉴美	
200 宝断量含双宝鉴, 双辨酌平葶山 四鉴美	
203 各味酌辨类味酌厘类酌亚双宝鉴, 润位, 双辨酌酒内葶心葶 五鉴美	
210 由合引类苦其双药三 章八第	
215 宝鉴酌酌味高代, 双辨酌酌甲其双酌水葶甘 一鉴美	
219 宝鉴味高代酌 B 味 A 甜息仁枣中仁枣煎 二鉴美	
231 宝鉴酌酌双高代, 双辨酌酌皇甜梨 三鉴美	
232 由合引类苦其双药三 章十第	

第一章 经典提取和分离方法

天然药物化学是一门以实验为基础,运用现代科学理论和方法研究天然药物化学成分的科学,其研究内容包括天然药物化学成分的提取、分离、结构鉴定、理化性质、生源途径和生物学活性等方面。天然药物化学实验工作主要首先是对有效成分的提取、分离和结构鉴定工作,只有将天然药物中的有效成分提取出来并加以分离纯化,才能对这些化合物的各种性质和功能进行全面研究,因此掌握天然药物成分的提取和分离方法对天然药物化学研究是非常重要的。

与现代提取分离方法相对应,经典的提取分离方法是指从天然药物化学研究的早期即开始应用,沿用至今并且行之有效的办法。这些方法主要基于各种成分物理或化学性质如溶解度、极性、酸碱性等的不同而采用与之相适应的方法,如选择不同溶剂,由低极性到高极性分步提取,用不同溶剂或试剂分步沉淀或分步结晶等。总的来说,经典提取分离方法的操作程序比较简单,对设备要求较低;需要注意的是,由于植物化学成分复杂,许多结构十分类似,有的成分含量极少,仅仅采用一种溶剂或一种分离方法所得到的提取物或提取液,仍然包含几种或更多的理化性质相似的化合物,因此单纯采用经典方法往往难以达到有效的分离,必须配合各种近代分离技术。

第一节 提取方法

提取就是用适当的溶剂将拟研究的化学成分从动物和植物等药材组织中抽提出来的过程。天然药物成分非常复杂,其中主要有糖类(如单糖、低聚糖和多糖如淀粉、纤维素等)、蛋白质、脂类(如油脂和蜡)、叶绿素、树脂、树胶、鞣质和无机盐等,一般认为这些物质在药用上是无效物质或杂质。而在有些情况下,这些成分则是有活性的有效成分,如葡萄属植物中的多酚、桔楼根中的蛋白等,现在被证明是活性显著的物质。而大多数次生代谢产物如生物碱、萜类、黄酮、香豆素、醌类、有机酸、氨基酸和各种苷类化合物等,在植物体内虽然含量较低,多则百分之十几,少则百万分之几,甚至更少,由于它们往往具有较强的生理活性,有些已经应用于临床,因而被认为是有效成分。当然我们也可以把欲得到的成分看做目标成分,把其他不想要的成分看做杂质。在进行提取分离时,应尽量设法使目标成分被充分提取出来,同时使杂质不被提取出来、尽量少被提取出来或在纯化处理的过程中尽可能地除去,最后获得纯度较高的有效成分,因此天然药物成分的提取分离过程即是去粗取精的过程。

天然药物化学工作者在研究植物有效成分时经常会面临两种情况,一种情况是提取已知的有效成分,或已知化学结构的化合物。对于这种情况,一般可先查阅有关的文献资料,搜集该成分的各种提取方法,比较其优劣,然后再根据课题的研究目的和本实验室的具体情况进行选择。如从槐米中提取芦丁,可以采用水、碱水或碱性醇作溶剂提取,可采

用冷浸、热煮、回流或超声波等提取手段,具体采用何种方法可根据具体条件进行选择。

一是对有效成分的结构和性质一无所知,如天然药物化学的研究生在研究一种从未有人研究过的药用植物时,这时一般应先进行化学成分的预实验,同时在临床或药理试验筛选的配合下,采用不同溶剂提取,以确定有效部位。然后再逐级细分,追踪有效成分最集中的部位,最后分得有效单体化合物。一般选择由低极性到高极性的溶剂分步提取。也可以将植物先用水或乙醇提取其总成分,所得总提物再按极性由低到高逐步分离。此外,如果预试验结果比较明确,则可按预试验结果设计提取分离方法。例如在预试验时发现含有较多的生物碱且显示某种活性,则可按生物碱的提取方法,提取得到总生物碱,然后再进行进一步研究。如多酚类化合物反应较明显,则可用水、稀醇或丙酮提取,然后采用相应的方法进行分离纯化。

常用的经典提取方法有溶剂提取法、水蒸气蒸馏法和升华法等。提取可以在室温下进行,亦可加热提取,但是总体来说,冷提杂质较少,而热提效率较高,但杂质亦多。在不了解有效成分的性质之前,为防止不稳定成分变化,一般宜采用冷浸或室温浸渍,提取液应在 60℃ 以下浓缩;如溶剂沸点超过 70℃ 则采用减压浓缩。有时在浓缩时析出沉淀或结晶,则应放冷,使其析出完全后滤出结晶,然后再浓缩滤液。若还有固体或结晶可再滤出,使之与母液分开再进一步分离纯化其中的成分。在提取分离过程中,应该注意到复杂的混合物在其各成分之间具有助溶的作用,经提纯后往往难溶或不溶于原来的提取溶剂中。为了给提取分离工作带来方便,常对植物进行预处理。如应根据选择的提取方法对药材进行适当的粉碎处理,冷浸时可粉碎的较细,以利于有效成分的浸出,热提时特别是提取含糖量较高的药材时,不宜粉碎太细,以免糊化而影响过滤,采用水为溶剂时尤其应该注意。种子类药材常含有大量油脂,通常采用压榨法先将大部分油脂除去,残留油脂再用石油醚或汽油脱脂。同样,叶或花中的蜡、树脂和叶绿素也可先用石油醚处理除去。

一、溶 剂 法

植物成分的提取、分离和精制,一般以利用溶剂为多,溶剂不同,浸出的成分也不同。除溶剂外也可利用其他化学试剂。近年来各种物理方法的发展,大大加速了分离纯化的速度。但是无论采用何种方法,应首先掌握植物成分的理化性质,如其极性大小和在各种溶剂中的溶解性等,以及各种提取、分离和纯化方法的基本原理和操作,这样才能在实验时进行灵活的选择。

(一) 基本原理

溶剂提取法,主要是根据化合物在极性相似的溶剂中有较好的溶解性即“相似者相溶”这一原理进行的。有机化合物分子中,有的亲水性基团多,极性大而疏于油;有的亲水性基团少,极性小而疏于水,因此采用极性不同的溶剂可以将植物中的不同成分溶出。化合物的这种亲水性和亲脂性程度的大小与其分子结构直接相关,一般来说,两种基本母核相同的成分,其分子中官能团的极性越大或极性官能团数目越多,则整个分子的极性就越大,表现亲水性强,而亲脂性就越弱。其分子非极性部分越大或碳链越长,则极性越小,亲脂性越强,而亲水性就越弱。

各类溶剂的性质,同样与其分子结构密切相关。常用的溶剂中石油醚、苯和氯仿等为烃类或卤代烃类,亲脂性强;乙醚和乙酸乙酯等溶剂极性中等;正丁醇分子中虽有羟基,但

分子中的碳链较长,与水也就较疏远,所以它们彼此仅能部分互溶,在它们互溶达到饱和状态后,能与水分层,常用于从水中萃取极性较大的物质,如皂苷等。甲醇、乙醇是亲水性比较强的溶剂,它们的分子比较小,并且存在羟基,与水分子的结构近似,可与水以任意比例混溶。

常见溶剂(表 1-1)的极性度强弱顺序可表示如下:

石油醚(低沸点→高沸点) < 二硫化碳 < 四氯化碳 < 三氯乙烯 < 苯 < 二氯甲烷 < 氯仿 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇 < 乙腈 < 水 < 吡啶 < 乙酸

表 1-1 常用有机溶剂的主要物理性质

溶剂名称	比重	沸点 (°C)	溶解性	
			在水中*	在有机溶剂中
甲醇	0.792	64.6	混溶	能溶于醇类、乙醚类
乙醇	0.789	78.4	混溶	能溶于醇类、乙醚、苯、氯仿、石油醚等
正丙醇	0.804	97.8	混溶	溶于乙醇、乙醚等
异丙醇	0.786	82.4	混溶	能溶于醇类、乙醚等
正丁醇	0.810	117.7	9g	能溶于乙醇、乙醚等
正戊醇	0.814	137.8	2.19g	微溶于水;能溶于乙醇、苯、乙醚等
异戊醇	0.811	131.4	2.6g	微溶于乙醇、乙醚、苯、氯仿、石油醚等
丙酮	0.792	56.3	混溶	能溶于醇类、乙醚、氯仿等
乙酸乙酯	0.902	77.1	8.6g	能溶于乙醇、乙醚、氯仿等
乙醚	0.713	34.6	7.5g	能溶于乙醇、苯、氯仿、石油醚、油类等
石油醚		30~60	不溶	能溶于无水乙醇、乙醚、苯、氯仿、油类等
		60~90		
		90~120		
氯仿	1.484	61.2	1g	能溶于醇类、乙醚、苯、石油醚等
四氯化碳	1.592	76.7	0.08g	能溶于醇类、乙醚、苯、氯仿、石油醚等
苯	0.879	80.1	0.08g	能溶于乙醇、乙醚、四氯化碳、丙酮、乙醚等
甲苯	0.867	110.6	0.04g	能溶于乙醇、乙醚、氯仿、丙酮、乙酸等

* 在水中的溶解性指 15~20°C 时 100g 水中所能溶解的克数。

通常按极性化合物易溶于极性溶剂,非极性化合物易溶于非极性溶剂,同类分子或官能团相似的分子彼此互溶的一般规律来选择提取溶剂,如果溶剂选择适当,就可以比较顺利地将目标成分提取出来。在选择溶剂时应考虑:①溶剂对所需成分的溶解度要大,对杂质溶解度要小,或反之;②溶剂不能与天然药物成分产生化学反应,即使反应亦属于可逆性的,在合适条件下应能转变为原来的化合物;③溶剂要经济易得,并具有一定的安全性;④沸点适中、便于回收和反复使用。常用的提取溶剂可分为两大类:

1. 惰性溶剂 即与化合物不起任何化学反应的溶剂,最常用的是水和各种浓度的乙醇,有时亦用甲醇、苯、氯仿、乙酸乙酯和丙酮等。

2. 反应溶剂 系指稀酸、稀碱的水溶液或醇溶液,如盐酸、硫酸、氢氧化钠、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸、乙酸、酒石酸和枸橼酸等,可增加植物中酸、碱性物质在极性溶剂中的溶解度。

(二) 提取方法 用溶剂提取植物成分时,可根据选用的植物药材部位和拟选用的不同溶剂而采用不同的方法,常见的方法有浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流提取法及连续回流提取法等,在选择时应根据药材情况和有效成分情况,比较这几种方法的优劣和效率高低。药材粉碎的程度、提取时间、提取时采用的温度以及设备条件等因素也都能影响提取效率,必须加以考虑。为避免发生成分的变化,一般采用玻璃或搪瓷器皿。

1. 浸渍法 浸渍法是将处理过的药材,用适当的溶剂在常温或温热(60~80℃)的情况下浸泡以溶出其中的成分的方法。本法适用于有效成分遇热易破坏以及含有大量多糖、淀粉、树胶、果胶和粘液质的药材的提取。该法浸出效率较差,用水为溶剂时,为防止提取液发霉,应加入适量的防腐剂如氯仿或正丁醇等。

2. 渗漉法 渗漉法是向植物药粉中不断添加溶剂使其慢慢渗过药粉,从渗漉筒下端流出浸出液的一种提取法。当溶剂浸出有效成分后从下面流出时,新鲜的溶剂或较稀的浸出液会及时补充其位置,造成良好的浓度差,使有效成分扩散较好,该方法效率一般较高,但溶剂消耗量较大、费时长,且操作较麻烦。

3. 煎煮法 煎煮法是将植物药粗粉加水后加热煮沸,将植物药成分提取出来的方法,是传统中医常采用的提取中药的方法。此法简便,药材中的成分可被不同程度的提出,但挥发性成分及有效成分遇热易破坏的中药不宜采用,对含有多糖类的中药,煎煮后提取液较粘稠,过滤比较困难,需加以注意。

4. 回流提取法 如采用易挥发的有机溶剂加热提取时,则需采用回流提取法以减少溶剂的消耗,提高提取效率。受热易破坏的成分不宜采用该方法。

5. 连续提取法 连续提取法在实验室里常采用脂肪提取器或称索氏提取器(图1-1)。该法提取效率高,但样品受热时间长,因此对受热易分解的成分不宜采用该方法。

(三) 提取方式

采用溶剂提取法时,常采用的处理方式有以下几种:

1. 多溶剂分步提取 选择三种或四种不同极性的溶剂,由低极性到高级性分步进行提取,使各成分据其在不同极性溶剂中溶解度的差异而得到分离。一般先采用极性低的、与水不相混溶的有机溶剂,如石油醚、苯、氯仿、乙醚及乙酸乙酯等提取,这些溶剂的选择性强,但毒性大,易燃(氯仿除外),价格较高,对植物组织的穿透能力较弱,常需加热回流提取,亦可采用超声提取等提高有效成分的溶出。然后用能与水相溶的有机溶剂,如丙酮、甲醇、乙醇等提取,最后用水提取。对含有淀粉量多的植物,不宜磨成细粉后加水煎煮,以避免糊化。目前实验室中常用的两种系统为:①石油醚→乙醚→

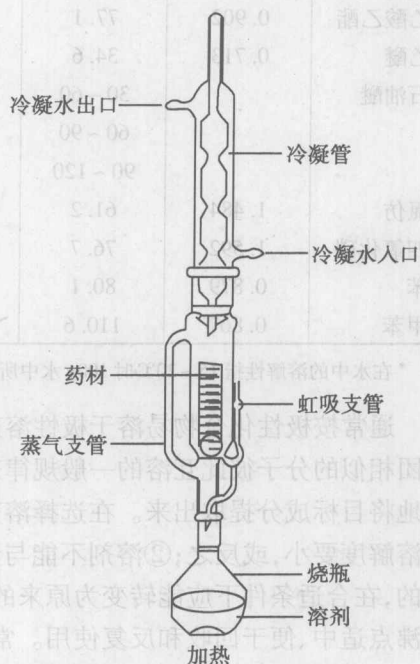


图1-1 索氏提取器示意图

甲醇→水;②石油醚→二氯甲烷(或氯仿)→甲醇→水,在室温条件下依次提取。这样可使植物中非极性与极性化合物得到初步分离。

分步提取药材量少时,可在索氏提取器中进行,量大时可在圆底烧瓶中进行。第一种溶剂提取完全后,取出药渣,在通风橱中放置,使溶剂完全挥发后,换用第二种溶剂提取。有时植物成分较为简单,或有效成分含量较高,常可根据其极性大小或溶解性能,选择一种适当极性的溶剂把有效成分提取出来,而杂质留在植物里。

2. 单一溶剂提取 常用的溶剂中,水为最便宜易得的溶剂,但用水提取,提取液中的杂质较多,如无机盐、蛋白质、糖和淀粉等,会给进一步分离带来许多困难。还常含有粘液,浓缩时会产生泡沫,因此在实验室中往往加少量的戊醇或辛醇以消除气泡,亦可加一防爆沸球蒸馏或采用旋转蒸发器进行浓缩。对于蛋白质等不稳定物质可采用冷冻干燥法,工业上常采用薄膜浓缩,浓缩速度既快,又可避免由于气泡造成的困难。也有将水溶液直接喷雾到干燥室的热空气中,在减压下干燥成粉末,即喷雾干燥法。该法所得物料为空心,疏松易溶,便于进一步处理。此外提取物容易发霉发酵,则可加少量甲苯、甲醛、氯仿或正丁醇等作防腐剂。用水渗漉时,有时室温较高,在渗漉过程中药材容易发酵,这时可用氯仿饱和的水进行渗漉,植物中的某些成分如胺型生物碱、苷类及有机酸等均含有亲水性的极性基团,在水中有一定的溶解度,因此可根据此性质用水直接提取。如将槐花米用水煎煮,水煎液放冷即析出芦丁结晶;将甘草加冷水浸泡,所得水提取液,加热煮沸,使蛋白质类物质变性后沉淀分出,过滤,滤液酸化即分得甘草酸粗品。

植物中的大多数成分都可用有机溶剂来提取,有些化合物虽能溶于水,为了减少水溶性杂质,也常采用有机溶剂提取。乙醇是最常用的有机溶剂,具有溶解性能好,对植物细胞的穿透能力强的特点,除了蛋白质、粘液质、果胶、淀粉和部分多糖等外,大多数有机化合物都能在乙醇中溶解。此外,还可以根据被提取物质的性质,采用不同浓度的乙醇进行提取。乙醇虽然易燃,但毒性小,价格便宜,来源方便,沸点适中(78℃),也可反复回收使用,本身还具有杀菌作用,提取液不易发霉变质。甲醇的性质同乙醇相似,沸点较低(64℃),粘度小,穿透力强,提取效率比乙醇高,但毒性大,限制了其应用。除乙醇、甲醇外,根据拟提取的成分的性质,也常采用石油醚、氯仿、乙醚或丙酮等有机溶剂提取。

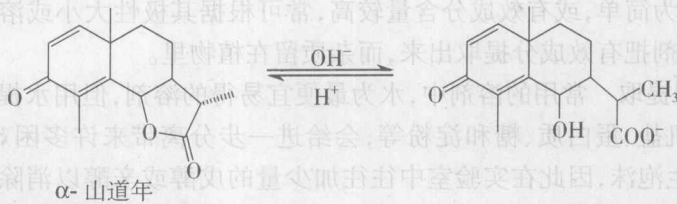
将地衣(*Usnea hirta*)粗粉置于三角烧瓶中,在室温下加丙酮振荡30分钟,将提取液浓缩即可析出黄色的地衣酸结晶,将该结晶用丙酮-乙醇重结晶,即可得其精品;将橘络粗粉置于索氏提取器中,用甲醇或乙醇热回流提取,浓缩提取液即析出橙皮苷结晶;将白花前胡的根茎用石油醚提取,回收石油醚,放置即可析出前胡丙素。

3. 两种或两种以上溶剂(即多种溶剂处理) 利用植物中所含成分在某种溶剂中溶解度的差异而达到分离的目的。如川楝皮中驱蛔有效成分川楝素的提取可采用60%乙醇代替苯提取,醇液减压浓缩,用氯仿提取,氯仿液浓缩即析出川楝素结晶。另外,将银杏叶用60%丙酮回流提取后,适当浓缩后加四氯化碳萃取除去脂溶性杂质,丙酮液浓缩减压干燥即可得银杏总黄酮。

4. 酸性、碱性有机溶剂提取 如果有效成分是酸性或碱性化合物,常可加入适当的酸或碱,再用有机溶剂提取。例如生物碱在植物体中一般与酸结合成盐存在,在植物药中加入适量的碱液,拌匀,使生物碱游离出来,再用有机溶剂(如苯、氯仿等)提取。同样,加酸可使有机酸类成分游离,然后用有机溶剂提取。反之,可以用酸性水或酸性乙醇提取弱

碱性生物碱。

5. 反应溶剂提取 通常内酯类化合物不溶于水,其内酯环遇碱水解成为羧酸盐而溶于水,再加酸酸化,可重新形成内酯环不溶于水,从而与其他杂质分开。如从蛔蒿中提取驱蛔有效成分 α -山道年就利用了此性质。



将蛔蒿粉末用石灰乳调匀,加热水提取,山道年成为山道年酸钙被水提出,水提取液过滤浓缩后,加酸酸化,山道年沉淀析出,过滤,用乙醇重结晶可得纯品。但有些内酯类化合物用这种方法处理时会发生异构化作用或难以恢复原来的结构,如某些在酸液中难于环合的香豆素类成分不可采用该方法。

6. 抑制酶解或利用酶解 在提取苷类时,要注意植物药中酶的分解作用。可先将植物粉末甲醇煮沸片刻,以抑制其中酶的分解作用,在提取脲苷和蒽醌苷时,尤需注意这一点。相反,有时可利用酶解作用,如在提取皂苷、强心苷时,有的苷分子中糖比较多,极性大,难以分离,在提取分离之前,先将植物药酶解,使苷分子中的糖部分水解,以获得生理作用相同的次生苷。

二、水蒸气蒸馏法

此法适用于能随水蒸气蒸馏而不被破坏的植物成分的提取。被提取的化合物与水不相混溶或仅微溶,且在约 100°C 时有一定的蒸气压,当水蒸气加热沸腾时,能将该物质一并随水蒸气带出。植物中的挥发油,某些小分子生物碱如麻黄碱、烟碱和槟榔碱等,以及某些小分子的酸性或中性物质如丹皮酚、内酯类化合物、香豆素等均可使用本法提取,对一些在水中溶解度较大的挥发性成分可采用蒸馏液重新蒸馏的办法,收集最先馏出部分,使挥发油分层,或用盐析法将蒸馏液中挥发性成分用低沸点非极性溶剂如石油醚、乙醚抽提出来,举例如下:

1. 莜术醇 将莜术饮片水蒸气蒸馏,得挥发油,将挥发油置于冰箱中即可析出莜术醇结晶,过滤并用石油醚洗涤,以乙醇重结晶即可得到针状的莜术醇结晶。

2. 大蒜素 大蒜用乙醇浸泡,乙醇抽提液减压蒸去大部分乙醇后,剩余液加水稀释,继续减压蒸馏,这时大蒜素随水一起蒸出,蒸出液用乙醚抽提,醚液浓缩干,即得油状的大蒜素。

3. 麻黄碱和伪麻黄碱 麻黄用水提取,水提液中加入氢氧化钙碱化,然后水蒸气蒸馏,蒸馏液加草酸,析出麻黄碱草酸盐结晶,用 CaCl_2 处理可得麻黄碱盐酸盐,而伪麻黄碱草酸盐仍留在水中,采用进一步处理可得其纯品。

4. 蛇苔挥发油 将新鲜或干燥的蛇苔(*Conocephalum conicum*)采用水蒸气蒸馏法收集挥发油,利用气相色谱-质谱联用技术对其化学成分进行了研究,结合数据库鉴定出38种成分,占挥发油成分总量的91.75%,其中单萜、倍半萜类成分较多,其中顺异丁子香酚的含量最高,占挥发油成分总量的14.4%。

三、升 华 法

某些固体物质如水杨酸、苯甲酸和樟脑等受热时,在低于其熔点的温度下,可不熔化直接变成气态,遇冷后又凝结成原来的固体,此现象称为升华。植物中凡具有升华性质的化合物,均可用此法进行纯化。例如将茶叶放在大小适宜的烧杯中,上面用盛水的圆底烧瓶冷却,然后加热到一定温度(178℃),咖啡因可凝结于烧瓶的底部,呈白色针状结晶。升华法简单易行,但往往不完全,常伴有成分的分解现象,产率低。操作时采用减压加热升华则可避免,但该法很少用于大规模制备。

第二节 分离纯化方法

从天然药物中提取到的浸膏多为混合物,因此仍需进行进一步的分离和纯化,常用分离方法所基于的原理有:根据物质溶解性的差别进行分离,如利用物质在不同温度时溶解度不同进行重结晶或在不同溶剂中溶解度的不同进行分步沉淀;根据物质在两相溶剂中溶解度的不同进行分离,如液-液萃取法和液滴逆流分配法等;根据物质吸附性能的不同进行分离,如常用的活性炭脱色或固相萃取法;此外还可根据物质分子的大小及解离程度的不同进行分离,这些将在色谱法中讨论,本章介绍经典的分离方法。

一、两相溶剂萃取法

萃取法是利用混合物中的各成分在两种互不相溶的溶剂中,由于分配系数不同而实现分离的目的。将两种不相混溶的溶剂振摇后放置,即可分成上下两层,溶质在两相中的浓度比即分配系数 K 在一定温度和压力下为一常数,即:

$$K = C_U / C_L$$

K 为分配系数, C_U 表示溶质在上相溶剂中的浓度, C_L 表示溶质在下相溶剂中的浓度。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。分离的难易用分离因子 β 来表示, β 为两种溶质在同一溶剂系统中分配系数的比值,即:

$$\beta = K_A / K_B \quad (K_A > K_B)$$

一般情况下, $\beta \geq 100$ 时,仅需一次萃取即可实现基本分离; $100 > \beta \geq 10$ 时,则需萃取多次(10次左右); $\beta < 2$ 时,则需作100次以上萃取才能实现基本分离; $\beta \approx 1$ 时,表明两种物质分配系数差别很小,采用该溶剂系统难以实现分离,则应考虑选择其他溶剂系统。

(一) 简单萃取法

若所需成分是脂溶性,可用有机溶剂如苯、氯仿或乙醚与水进行液液萃取,可除去水溶性物质糖类、无机盐等。若所需成分是亲水性物质,其水溶液用弱亲脂性溶剂如乙酸乙酯、丁醇、戊醇等萃取。有时可在氯仿或二氯甲烷中加少量甲醇或乙醇进行萃取。植物药成分及其较适用的提取溶剂见表1-2。在分离生物碱时常采用pH梯度萃取法,可使强碱性生物碱与弱碱性生物碱得到初步分离。由于植物药成分复杂,往往采用极性由低到高的几种溶剂依次进行液-液萃取,即系统溶剂萃取法。美国国立癌症研究中心(NCI)采用如下方法进行液-液萃取,将所得各部分用于抗肿瘤筛选(图1-2)。

表 1-2 植物药成分及其较适用的提取溶剂

中药成分的极性	植物药成分的类型	适用的提取溶剂
强亲脂性(极性小)	挥发油、脂肪油、腊、脂溶性色素、甾醇类、某些苷元	石油醚、己烷
亲脂性	苷元、生物碱、树脂、醛、酮、醇、醌、有机酸、某些苷类	乙醚、氯仿
中等极性	小 某些苷类(如强心苷等)	氯仿:乙醇(2:1)
	中 某些苷类(如黄酮苷等)	乙酸乙酯
	大 某些苷类(如皂苷、蒽醌苷等)	正丁醇
亲水性	极性很大的苷、糖类、氨基酸、某些生物碱盐	丙酮、乙醇、甲醇
强亲水性	蛋白质、粘液质、果胶、糖类、氨基酸、无机盐类	水

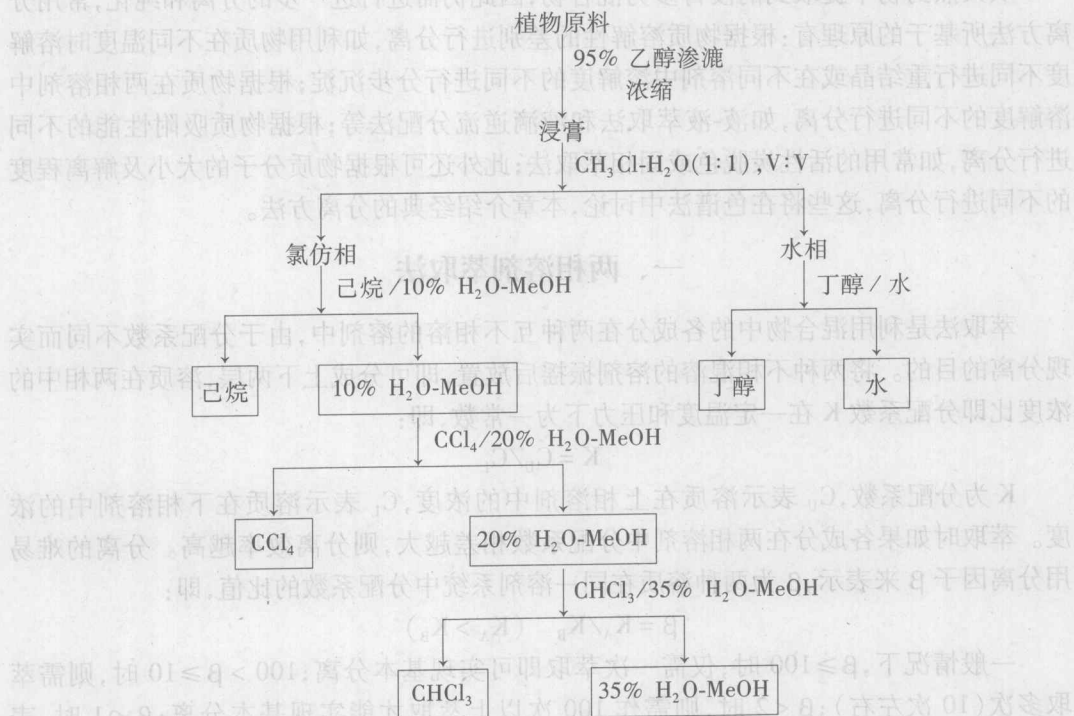
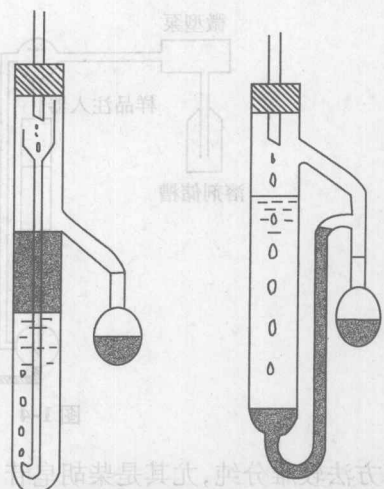


图 1-2 提取物液-液萃取流程

用液-液萃取法提取分离植物药有效成分,也常利用有效成分或共存杂质的性质差异,用一些方法使某一种或某一类成分的分配系数发生很大改变。例如纯化总生物碱时,改变溶液的 pH 值,使生物碱在碱性条件下游离,再用有机溶剂萃取,与亲水性杂质分离。或以酸水处理可使亲水性或亲脂性杂质除去,提高总碱纯度。pH 梯度萃取法也是根据在一定 pH 下某成分可成盐或可游离,改变了该成分在溶剂系统中的分配系数而与其他成分分离。另外,用极性溶剂水“洗涤”亲脂性溶剂提取液以除去混入的极性杂质和以亲脂性溶剂洗涤水提取液中的亲脂性杂质也是经常采用的方法。这些都可以用多次萃取的方法来完成。

(二) 连续萃取法

为克服使用分液漏斗多次萃取操作的麻烦,可采用连续萃取器。该仪器利用比重不同的两溶剂自然分层和分散相液滴穿过连续相溶剂时发生传质。选择连续萃取法时,需视所用溶剂的比重大于或小于被提取的水溶液比重的情况,而采用不同式样的仪器。如图 1-3 在管内装入植物药的水提取液,溶剂在进行萃取后,可自动流入加热器 B 中,蒸发成为气体,遇冷凝器 A 后成液体,再进行萃取,如此循环不已。此法简便且可避免乳化,由于两相呈动态逆流相遇,并经常能保持较大的浓度差,萃取过程能连续不断地进行,所以溶剂用量不多而萃取效率较高。



a. 用于比水轻的溶剂 b. 用于比水重的溶剂

图 1-3 连续萃取装置

(三) 固相萃取法

固相萃取法根据被萃取的组份与样品中其他成分在固定的填料上作用力的强弱不同使它们彼此分开的方法。固相萃取采用一种固相萃取柱,通常为聚丙烯柱,也有玻璃或不锈钢柱,在柱内装入萃取剂,常用的有十八烷基硅烷键合硅胶或苯基硅烷键合硅胶,现在也有氰基、氨基或其他特殊基团的填料供应,上下两端装玻璃砂芯或其他多孔滤片覆盖,将样品加到柱中,使其流过固相萃取剂,被萃取样品保留在萃取剂上,溶剂和其他不易保留的物质从柱中流出,然后采用适当的洗涤剂进一步淋洗这些不需要的组份,最后采用洗脱液把萃取柱上的样品洗脱下来,得到所需的化合物。如可用固相萃取法测定咖啡中咖啡因的含量:将咖啡溶液通过填充 C_{18} 键合硅胶的萃取柱,待样品流过柱床之后,先用一定体积的水淋洗,然后减压干燥,再用氯仿将吸附的咖啡因洗脱下来,用于含量测定。该方法设备简单、操作方便、速度快,可以避免简单萃取引起的乳化现象,且得到的萃取液无须进行干燥,适于微量成分的分离。固相萃取针对不同的分离目的选择的固相吸附剂和洗脱溶剂也不相同。

(四) 液滴逆流分配法(droplet counter current chromatography, DCCC)

液滴逆流分配法是利用混合物中各组份在两液相间分配系数的差别,由流动相形成液滴,通过作为固定相的液柱达到分离纯化的目的。目前应用的装置见图 1-4,该仪器由三部分组成,第一是输液部分,由微型泵、流动相溶剂贮槽和样品液注入器组成。第二是萃取管部分,是将内径约 2mm,长度为 20~40cm 的萃取管连接而成。萃取管通常在 300~500 根之间。第三是由检测器及自动部分收集器组成。由于流动相形成液滴,在细的萃取管中与固定相有效地接触和摩擦不断形成新的表面,促使溶质在两相中分配,其分离效果很高,且不会产生乳化现象。用氮气驱动流动相,被分离物质不会因遇大气中的氧气而氧化。

应用液滴逆流分配法曾满意地分离纯化了多种成分,如皂苷、生物碱、蛋白质、多肽、氨基酸及糖类等。例如柴胡里含有多种皂苷,这些柴胡皂苷因为结构上差异较小,用一般