

全国高等医学院校配套教材

天然药物化学实验及学习指导

堵年生 王晓梅 王新玲 主编



科学出版社

www.sciencep.com

全国高等医学院校配套教材

天然药物化学实验及学习指导

主 编 堵年生 王晓梅 王新玲

副主编 王小青 热娜·卡斯木

编 委 (按姓氏笔画排序)

王晓文

丛媛媛

米仁沙·牙库甫

依布拉音·司马义

帕丽达·阿不力孜

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书是全国高等医学院校配套教材之一,共分两部分,第一部分实验指导介绍了6个实验,着重讲述了天然药物活性成分的提取、分离和结构鉴定的原理和具体操作方法。第二部分学习指导以统编《天然药物化学》教材的内容为核心,紧紧围绕教学大纲,每章设立了“学习要求”、“重点难点内容解析”及“强化训练”,对教学内容进行了分析、归纳,学生可对课堂知识进行自我检测。书后附有中草药化学成分检出试剂配制法、常用溶剂的回收及精制方法、常用干燥剂性能的说明、常用溶剂性质表,以方便读者查阅。

本教材适合药学专业本、专科学生使用。

图书在版编目(CIP)数据

天然药物化学实验及学习指导/堵年生,王晓梅,王新玲主编.—北京:科学出版社,2006.9

(全国高等医学院校配套教材)

ISBN 7-03-017921-8

I. 天… II. ①堵…②王…③王… 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(2006)第100874号

责任编辑:方 霞 夏 宇 / 责任校对:刘亚琦

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用。

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>

铭浩彩色印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006年9月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2006年9月第一次印刷 印张:9 1/2

印数:1—2 000 字数:183 000

定价:27.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

《天然药物化学》是运用现代科学理论与技术研究天然产物中生物活性物质的一门学科,是药学专业学生必修的一门重要的专业课。本课程以有机化学、分析化学、波谱学、药用植物学及生药学等课程为基础,重点研究天然产物中生物活性物质的化学结构、生理活性、理化性质、提取分离、结构鉴定、天然药物的开发等。这门课程内容繁多,涉及的知识面较宽,学生学习起来有一定的难度,为了帮助学生更好地理解和掌握这门课程,我们特编写了这本实验及学习指导书。

由于天然药物化学课程是一门理论与实践结合很紧密的学科,我们根据教学大纲和实验大纲要求,将理论教学内容与实验教学内容编排在一起,使学生在掌握天然药物化学基本理论的前提下,再进一步结合实践,理论联系实际,从而可帮助学生熟悉和掌握这门课程的基本内容,同时也可以培养学生的动手能力、自学能力、分析问题与解决问题的能力以及创新能力。

本书在理论教学内容方面,我们针对该学科特点,按照教材的内容和章节顺序编排,每章由“学习要求”、“重点难点解析”和“强化训练”三部分组成。“学习要求”按掌握、熟悉、了解三级教学要求列出,使学习者明确目标,有的放矢;“重点难点解析”针对本章的重点、难点进一步透彻讲解,并在学习方法上给予提示、点拨,可使学生对学习内容融会贯通,抓住重点,攻克难点;“强化训练”采用选择题、名词解释、填空题和问答题等题型,A₁型题、A₂型题、B型题突出《天然药物化学》的知识要点,难易度相宜,适用于高等医学院校药学专业、中药学专业本、专科学生使用,也可作为成人教育或自学用参考书,对报考天然药物化学研究生的学生也有裨益。

本书在实验教学内容方面,为了能适应不同的实验条件和药学专业的需要,共选编了6个实验。前5个实验主要涉及几个重要的天然药物成分类型的提取、分离和结构鉴定;第6个实验是一个设计性的实验。每一实验内容以提取、分离为主,鉴定为辅,在提取方面列举了几种方法,希望学生能举一反三,灵活运用。

本书附录中摘编了一些实验中相关内容,如:常用溶剂性质表、常用溶剂回收及精制方法等,有利于学生查阅。

本教材各部分分别由以下人员分工编写而成:实验须知、实验一、第一章、第二章、第九章由王新玲编写;实验二、实验五、第三章、第四章、第七章由王晓梅编写;

实验三、实验四由 [堵年生]、王新玲编写;实验六、第五章、第六章及第八章由王小青、热娜·卡斯木编写;附录由各编委联合完成。

尽管我们作了种种努力,但因编者水平及能力有限,不当及谬误之处在所难免,敬请广大师生和读者予以指正,以便不断改正、补充和完善。

编 者
2006 年 8 月

目 录

前言

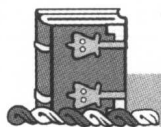
第一部分 实验指导

实验须知	(3)
实验一 芦丁的提取和鉴定	(5)
实验二 虎杖中羟基蒽醌的提取与分离	(14)
实验三 大孔树脂吸附法分离肉苁蓉中苯乙醇总苷成分	(19)
实验四 皂苷、香豆素、强心苷定性	(22)
实验五 掌叶防己碱的提取与分离及延胡索乙素的制备	(24)
实验六 中草药化学成分预试验	(30)

第二部分 学习指导

第一章 总论	(39)
第二章 糖和苷类	(50)
第三章 苯丙素类	(59)
第四章 醌类化合物	(65)
第五章 黄酮类化合物	(74)
第六章 萜类和挥发油	(86)
第七章 三萜及其苷类	(99)
第八章 甾体及其苷类	(105)
第九章 生物碱	(113)
参考答案	(125)
参考文献	(128)
附录一 中草药化学成分检出试剂配制法	(129)
附录二 常用溶剂的回收及精制方法	(135)
附录三 常用干燥剂性能的说明	(139)
附录四 常用溶剂性质表	(142)

第一部分 实验指导



实验须知

一、实验规则

(1) 进实验室前,必须首先预习实验内容,明确实验目的和要求,了解实验的基本原理、内容和方法。

(2) 实验室中应保持安静,不许抽烟,不许大声喧哗,精力要集中,不得擅自离开操作台。

(3) 爱护公物。公用仪器及药品用完后要放回原处,损坏仪器应填写破损单,注明原因交给指导老师。

(4) 保持室内卫生,学生轮流做值日,做到桌面、地面、水槽、仪器四净,实验完毕,清倒垃圾箱和废物缸,离开实验室前一定要检查门、窗、水、电是否关闭。

(5) 在实验室内,必须树立“安全为了实验,实验必须安全”思想。有关安全问题,可参阅下面安全常识介绍。

二、实验室安全常识

进行天然药物化学实验,经常要使用易燃、易爆溶剂,如甲醇、乙醇、乙醚、苯等;有些溶剂也有一定的毒性,如苯、 CHCl_3 ;有些无机酸、碱也有一定的腐蚀性,所以在操作过程中,必须树立安全第一的思想,绝不允许马虎大意,一旦草率操作,发生事故,轻则损伤衣服、皮肤,重则着火爆炸,既影响人身安全又损坏公物,严重者还要被追究责任。

为了避免不应发生的事故,除了思想上高度重视外,我们还必须有如何预防和处理事故的一般常识。

(一) 事故和预防

(1) 实验前必须明确实验原理,细心检查玻璃仪器是否有裂缝、破损等。实验装置必须安全、稳当,严格遵守操作规程。

(2) 严禁在实验室内吸烟、吃食物。

(3) 易燃、易爆的有机溶剂必须注意远离火源、电源。多余的或回收的有机溶剂切勿倒入废物缸中。浓缩溶剂时,切勿直接加热挥发于空气中,这样既易着火,又不利于健康。常用易燃溶剂蒸气爆炸极限量见表1。

表 1 常用易燃溶剂蒸汽爆炸极限表

名 称	BP(℃)	闪燃点(℃)	爆炸范围(体积%)
甲醇	64.96	11	6.72 ~ 36.50
乙醇	78.5	12	3.28 ~ 18.95
乙醚	34.51	-45	1.85 ~ 36.5
丙酮	56.2	-17.5	2.55 ~ 12.80
苯	80.1	-11	1.41 ~ 7.10

(4) 实验中如出现有毒或有腐蚀性气体的操作应在通风橱内进行。

(二) 事故的处理和急救

倘若出现事故应立即采取适当措施并报告指导教师,下面着重介绍火灾的处理。

(1) 一旦发生了火灾,应保持沉着镇静,不要惊惶失措,首先应立即熄灭火源,如切断电炉电源,关闭煤气等,并移开附近的易燃物质。

(2) 小量溶剂(几毫升)着火,可用湿布盖熄。锥形瓶内溶剂着火,可用石棉网或湿布盖熄,切不可乱扔,使火焰蔓延。稍大的火焰可用黄沙或湿拖把盖灭。

(3) 发生大火,应用灭火器扑灭,实验室内均有灭火器备用,平时就要了解各种灭火器的性能和使用方法,以防临阵慌乱,不知所措。

(4) 无论何种灭火器,皆应自火的四周向中心扑灭。

(5) 有机溶剂着火绝对不能用水浇,因为这样反而会使火焰蔓延开来。

(6) 若衣服着火,切勿奔跑,用厚的外衣包裹使熄,较严重者应躺在地上滚动(以防火焰烧向头部),用自来水冲淋熄灭。

(7) 严重受伤者应立即送医院治疗。

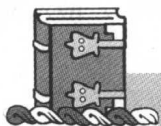
常用的灭火器有以下几种:

(1) 四氯化碳灭火器:用以扑灭电器内或电器附近之火。 CCl_4 ,本身有毒;且在高温下生成光气(剧毒),故不能在不能通风的实验室内使用。

(2) 二氧化碳灭火器:是化学实验室常用的一种,也可扑灭电器发生的火灾,注意使用时压缩的 CO_2 液体不要喷在手掌上,以免温度聚降造成手冻伤。

(3) 泡沫灭火器:内分别装有 NaHCO_3 溶液和硫酸铝溶液,使用时将筒身颠倒,二溶液反应生成 NaHSO_4 、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 及大量 CO_2 ,所以灭火机制仍然是 CO_2 泡沫。因为后处理麻烦,故一般在大火时使用。

任何事故的发生不仅造成实验失败,而且影响人身安全及公共财物的损坏。只有时时处处小心,消除产生事故的一切隐患,才能防患于未然!



实验一 芦丁的提取和鉴定

芦丁(Rutin)亦称芸香苷(Rutoside),广泛存在于植物界中,其中以槐花米和荞麦叶含量较高,可作为提取芦丁的原料。

槐花米系豆科植物 *Sophora japonica* L. 的花蕾,自古作为止血药。槐花米中所含主要成分芸香苷,有减少毛细血管的通透性作用,临床上主要用为防治原发性高血压病的辅助治疗药物。此外,芦丁对于放射线伤害所引起的出血症亦有一定作用。

一、目的要求

(1) 根据提取成分的极性度和溶解性能,选择提取溶剂的方法、比较各种方法的优缺点。

(2) 提取过程中防止或减少苷水解的方法。

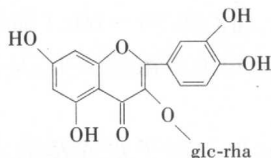
(3) 黄酮苷和黄酮苷元的分离。

(4) 熟悉黄酮苷的鉴定:包括酸水解后层析鉴定苷元和糖;衍生物的制备;苷和苷元的化学性质试验,以及 UV、IR 光谱鉴定等内容。

二、槐花米中已知主要成分的理化性质

槐花米中芦丁的含量可高达 20%,另含少量皂苷,皂苷水解后,可得到桦皮醇(Betulin, $C_{30}H_{50}O_2$)及槐二醇(Sophoraadiol, $C_{30}H_{50}O_2$)。

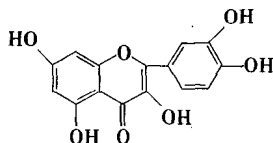
1. 芦丁(芸香苷 Rutin) 本品为淡黄色细小针状结晶, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, 熔点(mp) $177 \sim 178^\circ\text{C}$, 无水物熔点 190°C (不完全), $214 \sim 215^\circ\text{C}$ 发泡溶解。芦丁溶于热水(1:200), 难溶于冷水(1:8000), 溶于热甲醇(1:7), 冷甲醇(1:100); 热乙醇(1:30), 冷乙醇(1:300), 难溶于乙酸乙酯、丙酮; 不溶于苯、氯仿、乙醚及石油醚等易溶于碱液中呈黄色, 酸化后又析出。



2. 槲皮素(Quercetin) 即芸香苷苷元,为黄色结晶, $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$, mp $313 \sim$

314℃, 无水物 mp 316℃。

槲皮素溶于热乙醇(1:23), 冷乙醇(1:300)。可溶于冰醋酸、吡啶、乙酸乙酯、丙酮等溶剂。不溶于石油醚、苯、乙醚、氯仿和水中。



3. 皂苷 易溶于水、吡啶, 能溶于甲醇。经酸水解后得桦皮醇及槐二醇, 均溶于苯、乙醚、氯仿、丙酮、乙酸乙酯、乙醇、甲醇中。

三、自槐花米中提取芦丁

1. 提取方法

(1) 碱溶酸析法: 取槐花米 40g (未压碎), 置于 100ml 烧杯中, 用冷水快速清洗去泥沙等杂质, 沥干水。加 0.4% 硼砂水溶液 400ml, pH 6 ~ 7 左右, 在搅拌下以石灰乳调至 pH 8, 加热微沸 30 分钟。补充失去的水分, 并保持 pH 8, 静置约 5 ~ 10 分钟, 倾出上清液, 用尼龙布过滤。重复提取一次, 合并滤液。将滤液用盐酸调至 pH 5 左右, 再加 0.5ml 尼泊金, 放置过夜, 抽滤, 沉淀用水洗 3 ~ 4 次, 放置空气中自然干燥得粗芦丁, 计算得率。

(2) 醇提法: 取槐花米 20g, 置于 500ml 圆底烧瓶中, 加乙醇 150ml 加热回流 1 小时, 稍冷后抽滤, 滤渣再加乙醇 100ml 回流 1 小时, 合并乙醇提取液, 放冷, 析出絮状沉淀, 过滤, 滤液浓缩至约 50ml, 放置过夜, 滤取析出结晶, 母液继续浓缩一半, 放置又析出结晶。合并结晶。用乙醚 30 ~ 50ml 分次洗去脂溶性成分 (油脂、叶绿素等), 再用丙酮 10ml 洗涤一次, 得粗芦丁, 计算得率。

(3) 直接水提法: 取槐花米 20g, 研碎, 置 1000ml 烧杯中加沸水 600ml, 煮沸 30 分钟 (烧杯上盖一表面皿以防水分蒸发), 趁热过滤 (四层纱布加脱脂棉), 滤渣再重复用沸水提取二次 (每次用水 300ml, 煮沸 20 分钟, 再过滤, 三次滤液合并, 静置 24 小时, 析出沉淀, 然后抽滤, 并用少量水洗涤 2 ~ 3 次, 得芦丁粗品, 在实验室中自然干燥, 计算得率。

2. 重结晶法

(1) 方法一: 取粗芦丁 2g, 加乙醇 50 ~ 60ml 加热溶解, 趁热抽滤, 将溶液浓缩至约 20 ~ 30ml 放置, 析出结晶, 母液再浓缩一半, 又析出结晶。合并结晶再用乙醇重结晶一次。

(2) 方法二: 取粗芦丁 2g, 加去离子水或蒸馏水 400ml, 加热煮沸, 趁热抽滤 (以滑石粉助滤), 放置过夜析晶 (或放冷析晶)。抽滤, 得精制芦丁。

四、鉴定方法

(一) 苷的水解——苷元和糖的鉴定

1. 酸水解和苷元的分离 称取芦丁(芸香苷)1g,加2% H_2SO_4 80ml,小火加热微沸回流30分钟至1小时,开始加热10分钟为澄清溶液,逐渐析出黄色小针状结晶,即槲皮素,抽滤之结晶(保留滤液20ml,以检查其所含单糖)。加50%乙醇(按1g用90ml量)加热回流使槲皮素粗晶溶解,趁热抽滤,放置析晶。抽滤得精制品,在减压下110℃干燥可得槲皮素无水物。测熔点,进行纸层析鉴定。

2. 糖的鉴定

(1) 纸层析鉴定:取上述滤除槲皮素时保留的水解滤液20ml,加 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 的细粉(约2.6g)中和至pH7,滤除生成的 BaSO_4 沉淀(可用滑石粉助滤),滤液浓缩至约1ml,供纸层析点样用。

展开剂:正丁醇:醋酸:水=4:1:5 上层溶液或4:1:1。

对照品:葡萄糖、鼠李糖水溶液。

显色剂:苯胺邻苯二甲酸盐试剂喷后105℃烘10分钟,显棕色或棕红色斑点。

(2) 糖脎的制备及鉴定:余下水解母液小心用5% NaOH 中和,滤去棕红色沉淀物,滤液减压浓缩至30ml左右。加入盐酸苯肼1g。醋酸钠2g,沸水浴中加热半小时,析出黄色的混合糖脎,停止加热,从水浴上取出烧瓶,冷却,取结晶少许置于载玻片上显微镜下观察,鼠李糖脎为菊花形聚针晶,葡萄糖脎为扫帚状聚针晶,吸滤取出糖脎结晶,用水洗涤。干燥后,使溶于丙酮(约用5~7ml丙酮)。滤过,滤液加水适量使成30%丙酮液,葡萄糖脎即析出,抽滤后以少量丙酮重结晶一次,mp 209℃。滤去葡萄糖脎后的母液,再加水稀释;鼠李糖脎即析出,以稀乙醇重结晶,mp 185℃。

(二) 芦丁和槲皮素的层析鉴定

1. 纸层析鉴定 点样:取新华滤纸(1号)15cm长,宽度视需要而定,在离一端8cm处画一线,每隔1.5cm点一样品。

(1) 样品

1) 芦丁(自制)

2) 芦丁(标准品)

3) 槲皮素(自制)

4) 槲皮素(标准品)

(2) 展开剂:用下列溶剂系统之一。

1) 正丁醇-醋酸-水(4:1:5 上层或4:1:1)

2) 25% 醋酸水溶液

(3) 显色

- 1) 可见光下观察黄色斑点。紫外光下观察荧光斑点。
- 2) 经氨气熏后再观察。
- 3) 喷三氯化铝试剂后再观察。

2. 芦丁和槲皮素的聚酰胺薄层

(1) 样品

- 1) 芦丁(自制)
- 2) 芦丁(标准品)
- 3) 槲皮素(自制)
- 4) 槲皮素(标准品)

(2) 展开剂:乙醇-水(7:3)

(3) 显色

- 1) 可见光下观察黄色斑点。紫外光下观察荧光斑点。
- 2) 经氨气熏后再观察。
- 3) 喷三氯化铝试剂后再观察。

(三) 衍生物的制备

1. 槲皮素五酰化物的制备 取槲皮素 200mg, 置于 50ml 圆底烧瓶内, 加入 4ml 无水吡啶, 上接空气冷凝管, 于水浴上加温, 振摇使其完全溶解, 再加入 5ml 醋酐, 摇匀, 于水浴上加热反应 30 分钟, 放冷, 将反应液在搅拌下倾入 150ml 冰水中, 一直搅拌至油滴消失, 固体沉淀析出, 抽滤析出的白色沉淀, 用水洗至中性, 干燥, 用 95% 乙醇重结晶, 得细针状结晶, 测定其熔点, 并与文献记载的五乙酰基槲皮素的熔点 (193 ~ 195℃) 对比。恒温干燥器内干燥后, 送做红外吸收光谱与标准图谱对照。图 1 为槲皮素红外光谱图, 图 2 为五乙酰基槲皮素红外光谱图。

2. 槲皮素五甲醚的制备 取槲皮素结晶 400mg, 置于 150ml 的三颈瓶中, 加 50ml 无水丙酮, 装上电动搅拌器、冷凝管及温度计。加热回流搅拌, 每间隔一适当时间加入无水碳酸钾 0.2g 和硫酸二甲酯 0.2ml, 大约在 1.5 小时左右加完 4 克无水碳酸钾和 4ml 硫酸二甲酯, 继续加热回流搅拌直至溶液黄色完全消退为止, 约需 4 ~ 5 小时。停止加热, 取下烧瓶, 反应液经过滤, 沉淀用热丙酮洗涤数次, 合并洗、滤液, 蒸馏回收部分丙酮, 留存 10 ~ 15ml, 放置, 渐渐析出无色结晶, 母液浓缩, 复得一批结晶, 如母液浓缩后呈糖浆状不能析出结晶, 表示过量的硫酸二甲酯存在。应加 5% 的 NaOH 数滴, 振摇使硫酸二甲酯水解, 此时又可析出一小部分结晶(检查所析出结晶对 1% FeCl₃ 的反应, 甲基化完全者应呈负反应), 合并, 以乙醇重结晶, 得槲皮素五甲醚 (mp 152 ~ 153℃)。甲基化不完全时对三氯化铁呈正反应, 主要产物为槲皮素 3,7,3',4' 四甲醚, mp 161 ~ 161.5℃。

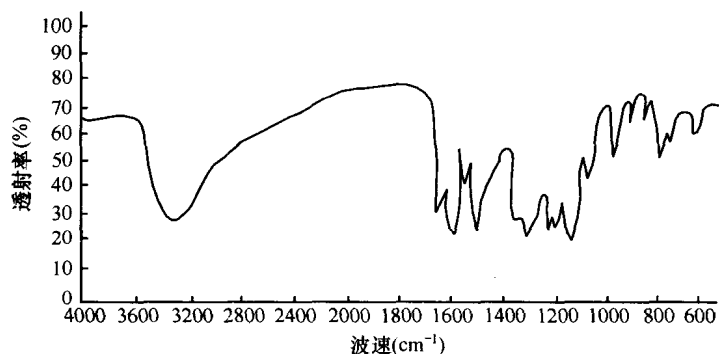


图1 槲皮素红外光谱图

(固相,溶剂:KBr 浓度 1%,厚度 0.5mm,扫描时间 6')

IR ν_{max} KBr cm^{-1} : 3600 ~ 2800 (broad. —OH), 1640 (C=O) 1500, 1600 (芳环)

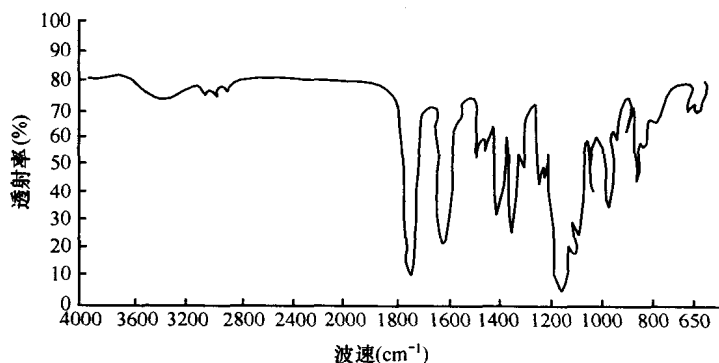


图2 五乙酰基槲皮素红外光谱图

(固相,溶剂,KBr 浓度 1%,厚度 0.5mm,扫描时间 6')

IR ν_{max} KBr cm^{-1} : 1760 (—C—CH₃), 1600 (芳环), 1420 (W) 1360 (S) (酰基特征峰)

(四) 苷和苷元的性质试验

1. Molish 反应 取试料数毫克置小试管中,加乙醇 0.5ml,加 α -萘酚数毫克,振摇使溶解。斜置试管沿管壁注入浓 H_2SO_4 约 0.5ml,静止,观察两层溶液的界面变化。出现紫红色环者为阳性反应,是试样为糖或分子中含糖基的结构。比较芦丁与槲皮素的不同。

2. 盐酸-镁粉试验 取样品(芦丁、槲皮素)1mg 置于试管内,加 50% 乙醇 2ml,在水浴上加热溶解,加镁粉约 50mg,再滴加浓盐酸 2 滴,溶液由黄色变为红色。



3. 硼氢化钾(钠)反应 专门还原二氢黄酮而呈现红至紫色。

取橙皮苷溶于50%乙醇液5滴,置于试管内,加硼氢化钾一粒(米粒大),再滴加浓盐酸,观察呈现颜色变化。

4. 锆-枸橼酸反应 取槲皮素,黄芩素各0.1mg,分别置于试管内,加甲醇加热溶解,再分别加2%二氯氧锆3~4滴,具有 C_3 -OH或 C_5 -OH的黄酮即呈鲜黄色,然后分别加2%枸橼酸甲醇溶液3~4滴,具有 C_3 -OH的黄酮黄色不褪,具有 C_5 -OH的黄酮黄色减退。

5. 三氯化铝反应 取一样品数毫克,溶于甲醇,加1%三氯化铝甲醇溶液,黄酮类应呈鲜黄色并有荧光。

6. 醋酸镁反应 取样品(芦丁、橙皮苷)数毫克,溶于50%乙醇中,在试管中或点样于滤纸片上,加1%醋酸镁甲醇液,黄酮类(芦丁)呈黄色荧光,二氢黄酮类(橙皮苷)呈天蓝色荧光。

7. 醋酸铅沉淀反应 取葛根的水浸液、芦丁水溶液各1~2ml,分别置于试管内,各滴加醋酸铅试剂数滴观察其有无沉淀,一般应将水溶液加醋酸铅试剂产生沉淀,滴加至不再产生沉淀时,过滤或离心除去沉淀,取其上清液,再加碱式醋酸铅数滴,观察有无沉淀发生。

或:取少量样品溶于热水或稀甲醇,加入5%中性醋酸铅溶液数滴,观察有无沉淀,再加碱式醋酸铅溶液数滴,观察有无沉淀产生。

8. 三氯化铁反应 取样品数毫克溶于水或乙醇中,加1% $FeCl_3$ 溶液1滴。注意呈色变化,一般对黄酮类化合物3-羟基呈绿色,3,5-双羟基呈深绿色,8-羟基也呈绿色,而对4,6,7-羟基不呈色,试比较芦丁与槲反素的呈色反应。

9. 浓 H_2SO_4 和浓HCl的反应 取芦丁数毫克置于白色有孔磁板上,滴加浓硫酸应成盐,呈橙色,待加酸溶解后,加较多量水稀释后转为浅黄色,并析出芦丁黄色沉淀。

10. 对不同强度碱度的溶解度试验 取小试管四只一组,每管中加入试料数毫克。分别加稀氨溶液、5% $NaHCO_3$ 水溶液、5% Na_2CO_3 水溶液和1%NaOH水溶液各1ml。振摇后观察溶解情况,溶解的溶液应呈黄色,再加HCl数滴酸化,黄色褪去或变浅并有沉淀或混浊析出。

(五) 槲皮素的紫外光谱鉴定

1. 原理 利用紫外吸收光谱,测定黄酮化合物在加入各种电解质或络合剂后吸收峰的位移,根据位移的情况,以判断该化合物羟基的位置。

2. 试剂配制

(1) 无水甲醇:用分析纯的甲醇,加入10%CaO,放置24小时后并加热回流1小时。回流时,冷凝管顶端应安装 $CaCl_2$ 干燥管,然后蒸馏得无水甲醇。

(2) 甲醇钠溶液:取0.25g金属钠,剪碎,小心的加入无水甲醇10ml中,此溶

液储存在玻璃瓶中,用橡皮塞密封。

(3) 氢氧化钠溶液:用 2.5g 氢氧化钠,加 10ml 水溶解。

(4) 三氯化铝溶液:2.5g 无水三氯化铝(显黄绿色)小心地加入无水甲醇 50ml 中,放置 24 小时后全溶。

(5) 醋酸钠:用无水粉状醋酸钠。

(6) 硼酸饱和液:将无水硼酸加入适量无水甲醇,配成饱和溶液。

依照上述方法制备的储备液可放置 6 个月。

3. 测定方法

(1) 黄酮羟基位置的测定:精密称取黄酮样品(槲皮素)约 1.2mg,用无水甲醇溶解,再稀释至 100ml。

1) 黄酮光谱:取样品溶液约 3mg 置于石英杯中(1cm),在 200 ~ 500nm 波段内进行扫描。重测一次,观察光谱的再现性。

2) 氢氧化钠光谱:取样品溶液 3ml 置于石英杯中,加 NaOH 2 ~ 3 滴立即测定。放置 5 分钟后,再进行测定。

3) 甲醇钠光谱:取样品溶液约 3ml 置于石英杯中,加入甲醇钠溶液 5 ~ 7 滴后,立即进行测定。放置 5 分钟后,再测定一次。

4) 三氯化铝光谱:在盛有约 3ml 样品溶液的石英杯中,加入 AlCl_3 溶液 6 滴,放置一分钟后进行测定。测定后,加入 3 滴盐酸溶液(浓盐酸:水 = 1:1),再测定一次。

5) 醋酸钠光谱:取样品溶液约 3ml 置于石英杯中,加入适量的无水醋酸钠固体,摇匀;杯底剩有约 2ml 的醋酸钠时,两分钟内进行测定。

槲皮素加上上述位移试剂后测定的 UV 光谱图分别见图 3 ~ 图 5。

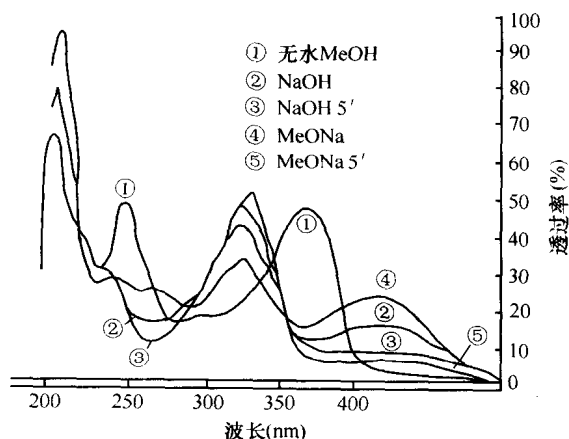


图 3 槲皮素加位移试剂