

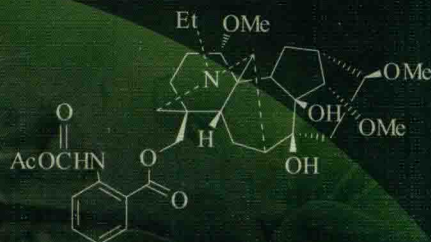
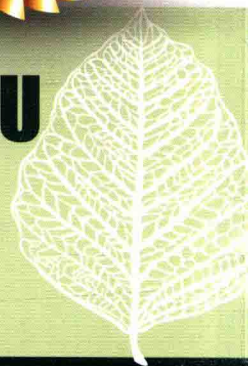
高等学校教材

天然产物化学

汪河滨 杨金凤 主编



**TIANRAN CHANWU
HUAXUE**



化学工业出版社

高等学校教材

天然产物化学

第二版

汪河滨 杨金凤 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

《天然产物化学》根据编者多年的教学与科研工作积累,并参考国内外有关文献资料,深入浅出地介绍了天然产物化学的基础知识,包括天然产物有效成分的提取、分离与鉴定方法,以及重要天然活性成分的结构、性质、提取分离方法及生理作用。此外,还对我国特别是西北和西南地区 15 种特色药用植物的分布、化学成分、提取分离方法、鉴定定量方法、药理作用及开发应用状况共六个方面作了详细介绍。

《天然产物化学》可用作化学及相关专业高年级本科生和研究生的教材,也可供从事医药、农药、化工、食品等方面科学研究、技术开发及生产的工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

天然产物化学/汪河滨,杨金凤主编. —2版. —北京:化学工业出版社,2016.7
高等学校教材

ISBN 978-7-122-27177-8

I. ①天… II. ①汪…②杨… III. ①天然有机化合物-高等学校-教材 IV. O629

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 115098 号

责任编辑:宋林青 褚红喜

装帧设计:王晓宇

责任校对:宋 玮

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装:三河市延风印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 16½ 字数 413 千字 2016 年 9 月北京第 2 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

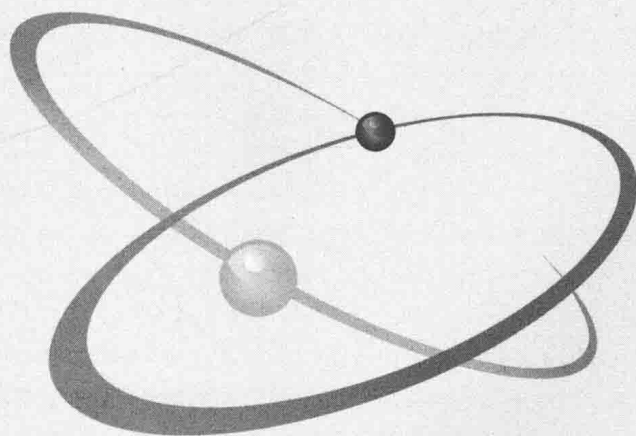
定 价: 35.00 元

版权所有 违者必究

《天然产物化学》 编写组

主 编 汪河滨 杨金凤
副主编 高旭红 李艳宾 李 鑫 李 红 张 琴
编 者 (以姓氏笔画为序)

李元元 李 红 李艳宾 李 鑫
杨金凤 汪河滨 张 琴 高旭红
梁鹏举 葛振红 戴 勋





FOREWORD 前言

《天然产物化学》首次于2010年出版，至今已有6年。在此期间，天然产物的研究水平有了快速的发展，新技术、新方法不断涌现，天然产物化学也逐渐成为许多综合性院校和农林、医药院校中许多专业的必修（或选修）课程。在此形势下，我们根据多年的教学与科研工作积累，结合使用本书过程中的体会以及兄弟院校读者的意见和建议，对《天然产物化学》进行了修订。

《天然产物化学》（第二版）梳理了第一版的特点与不足，我们将第一版的特点继续予以保留，不足之处予以补充和完善。尤其是第三篇特色药用植物的内容，进行了大量的整理增加工作，主要包括以下几个方面：①特色药用植物由12种增加至15种，进一步突出代表性及区域特色；②注重现代科学技术方法的应用，增加了现代提取、分离、检测等新技术、新方法；③理论内容介绍更加系统化、条理化，便于读者学习、掌握与应用。

《天然产物化学》（第二版）由石河子大学、塔里木大学和云南师范大学共同编写，汪河滨和杨金凤任主编。参加编写的人员有（以姓氏笔画为序）李元元、李红、李艳宾、李鑫、杨金凤、汪河滨、张琴、高旭红、梁鹏举、葛振红、戴勋。全书由汪河滨和杨金凤统稿定稿。

本书可作为化学及相关专业高年级本科生和研究生的教材，也可供从事医药、农药、化工、食品等方面科学研究、技术开发及生产的工作者参考。

本书在编写过程中得到了参编单位和化学工业出版社的大力支持，在此深表感谢。

由于时间较为仓促，且限于编者的知识水平，可能仍有诸多不足之处，敬请广大读者批评指正。

编 者

2016年3月



FOREWORD 第一版前言

随着社会的发展和人们生活水平的提高,人类渴望回归自然的愿望越来越强烈,天然产物化学以其特有的“天然性”,成为化学和相关学科的研究热点,以天然植物为原料的研究与开发形成浪潮,发展迅猛,其产品在世界各国日益受到青睐,天然产物的研究成果已广泛应用于医药、农药、食品、日用品等相关领域。

我国疆土辽阔,植物资源丰富,对天然产物的研究与开发具有得天独厚的基础。特别是具有独特自然生态环境的西北、西南地区,孕育着许多独特的药用植物资源,从这些天然资源发掘有生理活性的天然化合物,具有极大的潜力。

我们根据多年的工作积累,并参考国内外有关文献资料,编写了本书。全书共设三篇。第一篇主要介绍天然活性成分的提取、分离与鉴定方法,包括经典提取分离方法、现代提取分离方法和波谱技术在天然产物结构研究中的应用;第二篇为重要天然产物各论,分别对重要的天然活性成分——生物碱、活性多糖、黄酮类化合物、苷类化合物、萜类化合物、挥发油、蒽醌类物质的结构、性质、提取分离方法及生理作用进行了介绍;第三篇为特色药用植物简介,介绍了我国特别是西北和西南地区 12 种特色药用植物的分布、应用价值、研究现状及应用前景等。全书深入浅出地介绍了天然产物化学的基本知识和特色药用植物的应用价值。

本书力图集基础与应用于一体,精选内容,既避免篇幅过于冗长,又尽可能将一些新技术新方法写入书中。本书由石河子大学、云南师范大学、塔里木大学合作编写,参加本书编写的有马彦梅、刘红、汪河滨、陈韩英、李炳奇、李红、杨金凤、高旭红、廉宜君、周忠波、孟庆艳等同志,最后由李炳奇、马彦梅统编定稿。

本书可作为化学及相关专业高年级本科生和研究生的教材,也可供从事医药、农药、食品等方面科学研究、技术开发及生产的工作者参考。

本书在编写过程中得到了化学工业出版社的大力支持和帮助,在此深表谢意。由于天然产物化学内容广泛,加之编写时间紧促,本书难免有疏漏之处,敬请广大读者批评指正。

编 者

2010 年 6 月



CONTENTS 目录

第一篇 天然产物有效成分的提取、分离与鉴定

第一章 经典的提取与分离方法	2	应用	36
第一节 一般提取分离方法	2	第二节 红外吸收光谱在天然产物结构分析中的	
第二节 色谱分离方法	10	应用	40
第二章 现代提取与分离方法	21	第三节 核磁共振谱在天然产物结构分析中	
第一节 现代提取方法	21	的应用	44
第二节 现代分离方法	27	第四节 质谱在天然产物结构分析中的	
第三章 波谱技术在天然产物结构研究		应用	49
中的应用	36	第五节 其他分析方法	58
第一节 紫外吸收光谱在天然产物结构分析中的		第六节 构效关系研究简介	61

第二篇 重要天然产物各论

第四章 生物碱	66	第四节 糖和糖苷的提取分离方法	98
第一节 生物碱的性质与鉴别	66	第五节 皂苷、甾苷和强心苷	101
第二节 生物碱的提取与分离	70	第七章 萜类和挥发油	107
第五章 黄酮类化合物	74	第一节 萜类化合物的结构类型	107
第一节 黄酮类化合物的结构和分类	75	第二节 萜类化合物的理化性质	111
第二节 黄酮类化合物的理化性质和显色		第三节 萜类化合物的提取与分离	112
反应	79	第四节 挥发油	114
第三节 黄酮类化合物的提取和分离	81	第八章 其他几类天然产物	118
第四节 黄酮类化合物的结构鉴定	85	第一节 醌类化合物	118
第六章 糖和糖苷	88	第二节 香豆素类化合物	122
第一节 糖和糖苷的结构与分类	88	第三节 木脂素类化合物	127
第二节 糖和糖苷的性质	91	第四节 碳环芳香族酸酐性化合物	131
第三节 糖链结构的测定	95		

第三篇 特色药用植物简介

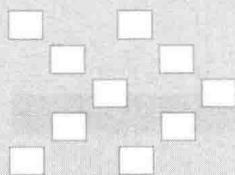
甘草	134	药桑	191
沙枣	142	小檗	201
薰衣草	148	肉苁蓉	210
新疆一支蒿	155	红景天	220
麻黄	158	贝母	229
恰玛古	164	红豆杉	235
苦豆子	173	云木香	245
黑果枸杞	180		
附录			251
附录一 常见化学成分的预试	251	附录二 化学成分检出试剂的配制	255
主要参考书目			258

第一篇

天然产物有效成分的 提取、分离与鉴定

第一章

经典的提取与分离方法



中国幅员辽阔，天然产物资源十分丰富。为了研究和充分开发天然产物资源，首先必须从复杂的植物组成中提取、分离出具有价值的化学成分，鉴定出有活性的单体纯品，才能更好地加以研究和利用，所以提取分离是天然有机化合物研究的起点，也是这一学科的重要任务。

天然产物的活性成分是由复杂的化学物质组成的，一般认为具有药用价值的物质主要有生物碱、萜类、甾体、苷类、黄酮体、蒽醌、香豆素、有机酸、单糖、低聚糖、多糖、氨基酸、蛋白质、酶及鞣质等，而纤维素、叶绿素、蜡、油脂、树脂和树胶等被认为是具有经济价值的成分，对它们的分离纯化不在本书中叙述。

天然产物的提取分离就是利用某种介质尽量使需要的成分和不需要的成分分开，即将具有生理活性的有效成分从天然有机化合物中分离的过程。在进行植物成分提取分离前，应重视所用原植物品种的鉴定、来源和采集季节，并查阅有关文献资料，了解前人对该植物或同属植物中化学成分的分离条件，加以分析，吸取可资借鉴的经验，这会给提取分离工作带来重要的启示。通过化学成分的预试验及探索性实验，再选择设计适当的提取分离方法，不仅可以保证所需有效化学成分的提出，还可以尽量避免杂质的干扰。譬如，预试验表明该植物含有较多的生物碱时，可按生物碱的提取分离方法，先提取总生物碱，然后进行单一成分的分离。

总之，天然产物的提取和分离方法很多，传统提取方法主要包括溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、升华法等。这些提取和分离方法应用广泛、工艺简单、成本低廉，所以至今仍为经典的提取分离方法。本章仅从实用观点出发，将一些经典的提取与分离方法归纳介绍。

第一节 一般提取分离方法

天然产物的提取方法很多，按形成的先后和应用的普遍程度可以分为经典提取及分离方法和现代提取及分离方法。经典提取及分离方法是指出现的时间较早且迄今一直被普遍采用的传统方法，即一般提取分离方法。一般提取分离方法包括溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、吸附法、盐析法、透析法、沉淀法、结晶法等，不需要特殊的仪器设备，操作简单、易行。

一、溶剂提取法

溶剂提取法是最常用的提取方法，它采用“相似相溶”原理，一般选用对所需成分溶解度大而对其他成分溶解度小的溶剂将所需的成分从植物组织内溶解出来。

1. 溶剂的选择

根据天然产物有效成分的结构特点，可以选择惰性溶剂和反应溶剂进行提取。惰性溶剂是指水、乙醇等与化合物基本不起化学反应的溶剂，常用甲醇、丙酮、氯仿、乙酸乙酯等有

机溶剂；而反应溶剂通常是稀酸、稀碱的水溶液或醇溶液等，内酯类化合物常利用此类溶剂与其他杂质分离。

一般来说，天然产物有效成分在溶剂中的溶解度与溶剂的性质有直接关系，同样也与其本身分子结构有关。两种基本母核相同的成分，分子中官能团的极性越大或极性官能团数量越多，亲水性基团越多，则整个分子的极性就越大，表现出强的亲水性，而其亲脂性就越弱。反之，若分子中非极性部分越大或碳链越长，则分子极性小，表现出强的亲脂性，而其亲水性就越弱。各种溶剂都具有不同程度的亲水性或亲脂性，选择适当的溶剂，就可以比较顺利地将需要有效化学成分提取出来。适宜溶剂的选择必须符合以下要求：与植物中的化学成分不起化学反应；对所需成分溶解度大而对杂质溶解度小，或反之；经济易得，使用安全，可回收，不污染环境；沸点适中，便于回收重复使用。

2. 溶剂的极性

常见溶剂的极性强弱可以根据介电常数大小来判断，介电常数越大，溶剂的极性越强。常见有机溶剂极性顺序如下：

石油醚(低沸点→高沸点) < 二硫化碳 < 四氯化碳 < 三氯乙烷 < 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。

按照所需成分不同，可选用合适的提取溶剂，常用的提取溶剂主要有以下三类。

(1) 强极性溶剂 水是最经济且常用的溶剂，可以溶解许多天然有机化合物中的无机盐、分子量较小的糖类、氨基酸、蛋白质、鞣质、有机酸盐、生物碱盐及苷类等。例如，将槐花米用水煎煮，水煎液冷却后即析出结晶；用水作溶剂自阿片中提取生物碱，再结合各生物碱的性质不同，能将五种主要生物碱分离为单一纯品。

水提取法的缺点：首先，提取液中含有无机盐、蛋白质、糖和淀粉等较多的水溶性杂质，进一步分离的困难较大；其次，次生物质有许多为亲脂性成分，在水中的溶解度不大，提取不完全，得到的提取液中杂质较多，若不及时处理易发生霉变；最后，若水提取液中含有皂苷及黏液类成分时，会产生泡沫，致使浓缩难度增大。因此，用水作提取溶剂时，有时需要加入少量甲苯、甲醛或氯仿等作防腐剂。为了增加某些成分的溶解度，也常采用酸性水或碱性水溶液作提取溶剂，酸性水有利于提取生物碱，碱性水有利于溶出有机酸、黄酮、蒽醌、内酯、酚类成分。例如，将三颗针的根粗粉用水浸泡或渗漉，渗漉液用盐酸酸化，加食盐饱和，即析出小檗碱盐酸盐晶体；将甘草的水提取液加热煮沸，使蛋白质类物质变性被沉淀分出，过滤，滤液加硫酸酸化，静置沉淀，抽滤得甘草酸粗品。

(2) 亲水性有机溶剂 乙醇、甲醇、丙酮等都是常用的有机溶剂，能与水混溶。其中乙醇最为常用，它可以溶解生物碱及其盐、苷类及苷元、萜类、木脂素、挥发油、树脂、色素、有机酸等。与水相比，用乙醇作为溶剂具有很多优点：首先，乙醇用量少，提取时间短，溶出的水溶性杂质少，对亲脂性成分的溶解度较好；其次，乙醇提取液毒性小，价格便宜，沸点适中（仅为 78℃），可重复使用，还具有杀菌作用，不易发霉变质。甲醇的性质同乙醇相似，沸点较低（64℃），但有毒，应慎用。

(3) 亲脂性有机溶剂 亲脂性有机溶剂主要有石油醚、正己烷、氯仿、苯等。亲脂性溶剂选择性强，透入植物组织的能力较弱，不易溶出亲水性的杂质。例如，将细辛在石油醚中回流，提取液浓缩后即析出细辛素结晶。但是，若植物材料中含有较多水分，则难以溶出其有效成分，且其挥发性较大，大多易燃、有毒，价格昂贵。因此，使用这类溶剂直接作为提

盐酸盐。

三、分馏法

分馏是一种高级的蒸馏方法,根据天然产物中各有效化学成分的沸点不同,用分馏柱代替普通的蒸馏头,可将液体混合物从低沸点成分到高沸点成分依次进行常压或减压分馏,从而达到分离、精制纯化的目的。分馏柱有两类:简单分馏柱和精密分馏柱。简单分馏柱内部有突出的刺形物。精密分馏又叫精馏,优点是不需填料,易装易洗。分子蒸馏真空度高、操作温度低、受热时间短、能极好地保证植物原料的天然品质,该方法不仅能有效地除去液体中的低分子物质,如有机溶剂、臭味剂等,还可以选择性地分离挥发油等液体有机化合物。

分馏法在天然产物提取分离中应用较为广泛。例如,分离毒芹总碱中的毒芹碱和羟基毒芹碱以及分离石榴皮中的伪石榴皮碱、异石榴皮碱和甲基异石榴皮碱时,均可利用它们的沸点不同进行常压或减压分馏,然后再精制纯化。多糖酯是蔗糖分子中6个羟基发生酯化反应生成的一类蔗糖酯,将反应混合物依次用醇水混合物、乙醇、低碳烷烃洗涤后,经分馏法处理,即得油状蔗糖多酯纯品。大豆油脱臭馏出物用甲醇酯化,分离出溶剂后,经高真空分馏,多级蒸馏,可得纯度在70%以上的维生素E浓缩物。采用分馏技术进行高碳醇的精制,不仅能避免有机溶剂对环境的污染,还能有效脱除工序的残留溶剂。此外,分馏法在羊毛油的精制、天然芳香油的提取、食用植物油的提取、油脂化学工业提取等方面都得到了应用。

四、吸附法

固体物质表面或液体表面对气体或液体中溶质的附着现象称为吸附。吸附法的目的:一是吸附色素、鞣质等杂质;二是用氧化铝、氧化镁、酸性白土和活性炭等吸附剂处理样品,吸附所需物质。吸附剂是决定吸附分离效果的首要因素。活性炭常用于食品工业的脱色、脱臭和净化等。硅胶易吸附极性物质,能吸附水分,难吸附非极性物质。分子筛是一种非极性吸附剂,常用于深度干燥。用活性炭吸附法,可从叶菰水提取液中分离叶菰碱;在羊角拗苷的提取中,将羊角拗种子用石油醚脱脂后,经95%乙醇提取,减压蒸干提取液,加热水溶解,用乙酸铅和碱式乙酸铅除杂,滤液脱铅,加硫酸铵饱和,析出棕色强心苷粗品,用乙醇-丙酮混合溶剂处理粗品,去除无机物后加乙醚析出粗苷,干燥,甲醇溶解,加新煅烧的氧化镁拌匀,低于60℃烘干,用乙醇在索氏提取器中回流抽提,浓缩后加丙酮即析出白色粉末总苷。

五、盐析法

在较低浓度的盐溶液中,酶和蛋白质的溶解度随盐溶液浓度升高而增大,称为盐溶。当盐浓度增大至一定程度后,酶和蛋白质的溶解度又减小,称为盐析。盐析法通常是指向水提取液中加入易溶性无机盐至一定浓度或达到饱和状态,降低植物中某些化学成分在水中的溶解度,使其以沉淀形式析出或被有机溶剂提取,从而达到与水溶性杂质分离的方法。盐析法常用于蛋白质粗品的分级沉淀及酶制品的制备。合理选择中性盐是盐析沉淀的关键因素,常用作盐析的无机盐有氯化钠、氯化铵、硫酸铵、硫酸钠、硫酸镁等。例如,将滇三七粉用戊醇提取得三七皂苷甲,再用乙醇提取残渣,加水溶解乙醇提取物,过滤除去不溶物后,加硫

酸镁近饱和即析出三七皂苷乙。

六、透析法

利用提取液中的小分子或离子易通过半透膜而大分子物质不能通过半透膜的性质,进行分离、精制的方法,称透析法。透析法常用于分离、纯化皂苷、多糖、蛋白质和多肽等化合物,并且可以除去其中的无机盐、单糖、双糖等。反之,也可将大分子的杂质留在半透膜内,而小分子物质通过半透膜进入膜外溶液,从而加以分离。膜孔的大小与透析是否成功密切相关,所以应该根据欲分离成分分子的大小选择适当规格的透析膜。常用的半透膜有动物膜(如猪、牛的膀胱)、火棉胶膜、蛋白质胶膜(明胶)和玻璃纸膜等。在进行透析时,应经常更换膜外清水,增加透析膜内外溶液的浓度差,必要时可适当加温并加以搅拌,以加快透析速率。亦可在其中加一电磁场并进行搅拌,使透析速率加快,此称为电透析法。在电场中进行时,带正电荷的阳离子物质向阴极移动,带负电荷的阴离子物质向阳极移动,而中性化合物及高分子化合物留在膜内。例如,将天花粉块根去皮、捣碎、压汁过滤,上清液加硫酸铵得蛋白质沉淀,加水溶解,置于半透膜袋中进行透析,至透析液无硫酸根反应为止,袋内液体冷冻干燥即得天花粉蛋白。

七、升华法

固体物质加热时直接变成气态,遇冷凝结成原来固体的现象称为升华。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,茶叶中的咖啡因、樟木中的樟脑以及植物材料中的苯甲酸等均可用升华法提取。此法操作简便,但是因为直接用火加热易焦化,常伴有分解现象,提取不完全,产率低,很少用于大规模制备。为了避免某些成分分解,操作时可采用减压下加热升华的方法。

八、萃取法

萃取法是用来提取或纯化有机化合物的常用方法之一。利用物质在不同溶剂中的溶解度不同,把固体或液体混合物提取分离的操作方法叫做萃取。根据萃取相的不同,萃取法可以分为固-液萃取、液-液萃取和气-液萃取。因气-液萃取较少使用,下面主要介绍前两种萃取方法。

1. 液-液萃取

液-液萃取即两相溶剂萃取,将样品溶液与萃取剂充分混合后,因各组分在互不相溶的溶剂中分配系数不同,从而达到分离。分配定律是萃取分离的主要理论依据:

$$K = c/c'$$

式中 K ——分配系数;

c ——所需组分在萃取剂中的浓度;

c' ——所需组分在原样品溶液中的浓度。

分配系数 K 可以近似地看做是组分在萃取剂和原样品溶液中的溶解度之比。 K 值越大,萃取剂用量越少,溶质越容易被萃取出来,分离效果越好。 K 值取决于温度、溶剂和被萃取物的性质,而与组分的最初浓度、组分和溶剂的质量无关。萃取过程的分离效果主要表现为被分离物质的萃取率和分离纯度。被萃取物与原溶液中该物质在萃取剂中的质量之比为萃取率,萃取率越高,分离效果越好。萃取次数对于萃取效果的影响可以通过薄层色谱来

确定,一般 3~4 次即可。

萃取剂的选择对萃取效果影响很大,主要依据为“相似相溶”原理。若有效成分是亲脂性物质,可用石油醚、苯等有机溶剂萃取;偏于亲水性的物质,在亲脂性溶剂中难溶,多用乙酸乙酯、丁醇、戊醇等弱亲脂性溶剂作为萃取剂。例如,将切碎的海绵体用 95%乙醇提取,减压浓缩乙醇提取液,依次用水、乙酸乙酯处理,乙酸乙酯提取部分使用柱色谱分离,甲醇重结晶得针状海绵生物碱;将木犀科的柞属植物茎皮用 95%乙醇加热回流提取,减压浓缩乙醇提取液,残渣加水,依次用氯仿、乙酸乙酯提取,乙酸乙酯提取部分干燥、浓缩、加甲醇即析出七叶苷内酯,水溶部分浓缩析出七叶苷。

利用天然产物有效成分在不同溶剂中溶解度的差异,可用多种溶剂处理使之分离。混合溶剂的萃取效果往往比单一溶剂的萃取效果好得多。若要萃取亲水性有效成分,可在氯仿或二氯甲烷中加少量甲醇或乙醇等亲水性的溶剂处理。在水相中萃取有机物,可以加入适当无机盐。例如,常山碱难溶于水、乙醇,不溶于乙醚、苯,仅溶于氯仿和石油醚,提取时采用有机溶剂分级析晶法。在分离生物碱时常采用 pH 梯度萃取,可使强碱性生物碱与弱碱性生物碱得到初步分离。

液-液萃取法是植物有效化学成分分离的常用方法。该方法近年来迅速发展,根据萃取物的性质不同,采用改进的现代提取手段,往往可以取得良好的效果。例如,对于乳化严重的液-液萃取,采取逆流连续萃取法可以提高效率。各组分性质相似的混合物,可采用逆流分配萃取法。双水相萃取技术因操作条件温和,能在常温常压下进行,已用于生物大分子如酶、人体激素、 β -干扰素的提取。

2. 固-液萃取

把固体混合物研碎,加入适当的溶剂溶解,过滤或倾析,使萃取液与残留固体分离的方法即为固-液萃取。常用的有浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流提取法及连续回流提取法等。

(1) 浸渍法 常用水或乙醇作溶剂,将原料粉末每次浸泡 3~5 天后过滤,另加新溶剂,浸泡 2~3 次,合并提取液,浓缩。此法操作简便,适用于对热不稳定、易分解或破坏,如含淀粉、树胶、果胶及黏液质等植物成分的提取。但此法提取时间长,溶剂用量大,提取效率不高,若以水为提取液还有可能发霉变质,所以需加入适当的防腐剂。

(2) 渗漉法 将原料粉末加入适量浸出溶剂润湿,装入渗漉筒内,压实后,在上端不断添加溶剂,使之渗过材料,溶出的可溶性成分即从下口流出。此法提取效率高,但提取时间长,提取液体积太大,浓缩困难。

(3) 煎煮法 将原料粉末加水连续煎煮,使其大部分有效成分被不同程度地提取出来。此法得到的提取液杂质较多,而且对于含有挥发性成分及热不稳定成分的植物不宜使用。

(4) 回流提取法 采用回流加热装置,用有机溶剂回流提取,一般需提取 3 次,每次约 0.5~1h。

(5) 连续回流提取法 采用较少溶剂,用索氏提取器(又称脂肪提取器)或连续加热提取器进行提取,效率高,节省溶剂,但提取常需数小时甚至几十小时,溶出的成分在烧瓶内受热时间长,热不稳定成分易被破坏。

九、沉淀法

在样品溶液中加入某些溶剂或沉淀剂,通过化学反应或改变溶液的 pH 值、温度等条

件，使某些天然产物有效成分以沉淀形式被分离的方法叫做沉淀法。根据沉淀剂和沉淀条件的不同，沉淀法主要分为两类：溶剂沉淀和沉淀剂沉淀。

沉淀反应是可逆的，能否使有效成分从溶液中析出，主要取决于被分离物质的溶解度。例如，利用叶绿素不溶于水的性质，可以把叶绿素浸提液放置于冰箱中冷藏，即得叶绿素沉淀。丙酮、乙醇等有机溶剂可以使水溶性的多糖、鞣质、酶、蛋白质等以沉淀形式析出，所以用冷乙醇沉淀法可以从活性乳蛋白中分离免疫球蛋白；采用分级沉淀法可以分离天花粉。对于溶解度相差较大的多糖，依次按比例由小到大加入甲醇、乙醇和丙酮，使浓度递增，进行分步沉淀，可使之初步分离。

沉淀法多用于有机胺类生物碱的分离和精制，雷氏铵盐是分离生物碱的常用试剂。例如，将益母草叶的乙醇提取物用水或盐酸溶解，加入雷氏铵盐水溶液使沉淀完全，用丙酮溶解褐色沉淀，至加入硫酸银溶液至没有沉淀时为止，离心分离，取上层清液加氯化钡溶液至无沉淀，过滤，滤液浓缩后用无水乙醇溶解，醇液浓缩至干，在甲醇及丙酮中析晶得益母草碱盐酸盐。

此外，向天然产物提取物中先加碱性溶液，再加酸处理，能使橙皮苷、芦丁、黄芩苷、甘草皂苷等以沉淀形式析出。例如，槐米的热水提取物用石灰乳调匀，酸化、过滤，浓缩水提取液析出芦丁沉淀；黄芩根粉的热水提取物，经酸化、过滤，用氢氧化钠调 pH 值，加乙醇水浴热后过滤，酸化得黄芩苷粗品。

以苦味酸、氢氧化铜、氯化钙等作为沉淀试剂，能使有机酸、苷类、氨基酸等生成不溶于水的沉淀，与其他化合物分离。例如，用氯化钙作为沉淀剂可以从番泻叶提取物中分离和纯化番泻苷。

沉淀剂需根据天然产物有效成分的结构特点来选择。铅盐沉淀法是经典的分离、提纯方法之一，常用醋酸铅、碱式醋酸铅等作为沉淀剂。利用中性醋酸铅和碱式醋酸铅在水及醇溶液中能与多种天然产物成分生成难溶的铅盐或络盐沉淀而与其他成分分离。例如，石油醚脱脂后的金银花蕾溶液用乙醇加热回流提取，提取液经浓缩、热水溶解后，加醋酸铅至不再有沉淀，经过滤、水洗、脱铅，减压蒸馏得绿原酸粗品；橙酮、查尔酮等含有邻二酚羟基的黄酮类似物，在其乙醇提取液中加入中性醋酸铅，得不溶性盐沉淀，经过滤、洗涤，加乙醇，通入硫化氢气体使之分解并转化为不溶性硫化铅沉淀，脱铅后得黄酮类成分。常采用硫酸、磷酸、硫酸钠、磷酸钠等作为脱铅试剂，虽然方法简便，但是由于硫酸铅、磷酸铅在水中有一定的溶解度，脱铅不彻底。实验室常用的沉淀剂见表 1-1。

表 1-1 实验室常用的沉淀剂

常用沉淀剂	化 合 物
中性醋酸铅	酸性、邻位酚羟基化合物，有机酸、蛋白质，黏液质，鞣质，树脂，酸性皂苷，部分黄酮苷
碱式醋酸铅	除上述物质外，还可沉淀某些苷类、生物碱等碱性物质
明矾	黄芩苷
雷氏铵盐	生物碱
碘化钾	季铵生物碱
咖啡碱、明胶、蛋白	鞣质
胆固醇	皂苷
苦味酸、苦酮酸	生物碱
氯化钙、石灰	有机酸

铅盐沉淀法的主要缺点就是溶液中可能有多余的硫化氢存在，需进行脱硫处理。脱硫的方法主要有两种：一是通入空气或二氧化碳；二是将溶液置于蒸发皿内，水浴加热浓缩，但是此法仅适用于对热稳定的化合物。

十、结晶法

经过溶解、除杂、静置等操作，析出晶状物质的过程称为结晶。大多数天然化学成分达到一定浓度时，选择合适的溶剂都能结晶。根据其溶解度的不同，利用反复结晶的方法，从不纯的晶体中制得纯度高、晶形好的结晶物的过程称为重结晶。纯化合物的结晶有一定的熔点和结晶学特征，有利于化合物性质的判断。利用结晶法提纯化合物的关键在于温度及结晶溶剂等结晶条件的选择。

1. 温度及结晶溶剂的影响

(1) 温度的影响 结晶通常是在加温的情况下，使化合物溶解、过滤、除杂、浓缩、冷却和结晶的过程。固态物质在一定溶剂中的溶解度随温度变化而变化，一般是温度升高溶解度增大，冷却后溶解度降低。其重要条件是使结晶的溶液呈过饱和状态，让溶剂挥发到适当的浓度，室温条件下（最合适的温度为 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ ）析出结晶。有时室温不能析晶时，可放置于阴凉处或冰箱里结晶。在结晶过程中，若析晶温度过低，析晶的速度过快，超过了化合物晶核的形成和分子定向排列的速度，得到的颗粒就小，夹杂的杂质就多，往往只能得到无定形粉末。若要获得 X 射线衍射用的单晶，最好能在室温析晶。因为晶体的形成过程较长，有时需要放置几天或更长时间，如溶液太浓或黏度大，则不易结晶。析晶浓度适中，逐渐降温，则可能析出纯度高、晶形好的晶体。

(2) 结晶溶剂的选择 利用溶剂对被提纯物质或杂质的溶解度不同，可以使被提纯物质结晶或使杂质从过饱和溶液中析出，从而达到提纯的目的。结晶时选择理想的溶剂是关键。所用溶剂既可以是单一溶剂，也可以是混合溶剂。

理想的溶剂应具备以下条件：

- ① 不与所分离的物质发生化学反应；
- ② 待结晶的物质在此种溶剂中随温度改变，溶解度差异较大，即低温溶解度小，高温溶解度大；
- ③ 杂质在此溶剂中，无论低温或高温，溶解度不是很大就是很小；
- ④ 沸点不宜过高，要有一定的挥发性；
- ⑤ 待提纯物在此溶剂中易于成核，晶形良好；
- ⑥ 廉价易得，易回收，无毒性。

选择合适的溶剂是形成结晶的关键。要找到合适的溶剂，一方面可查阅有关资料及参阅同类型化合物的结晶条件，另一方面也可进行少量探索，参考“相似相溶”的溶解度规律加以考虑。一般情况下，生物碱类物质可溶于苯、乙醚、氯仿、乙酸乙酯等溶剂；苷类可溶于醇、丙酮、乙酸乙酯等溶剂；杂环化合物可溶于醇，难溶于乙醚或石油醚；芳香族化合物易溶于苯和乙醚等溶剂。

不能选择理想的单一溶剂时，可选用两种或两种以上的混合溶剂。混合溶剂要求待提纯物质在低沸点溶剂中的溶解度大，在高沸点溶剂中的溶解度小。有时重结晶选用的溶剂不同，结晶出的化合物熔点差别很大。例如，血根碱（sanguinarine）在乙醚、氯仿和乙醇三

种溶剂中析晶的熔点分别为 266℃、242~243℃和 195~197℃，且结晶形状随结晶条件不同而不同。

在结晶或重结晶时要注意化合物是否和溶剂结成加成物或含有结晶溶剂的化合物，有时也利用此性质使本来不易形成结晶的化合物得到结晶。例如，穿心莲亚硫酸氢钠加成物在稀丙酮中容易结晶，蝙蝠葛碱能和氯仿或乙醚形成加成物结晶。

2. 制备结晶的步骤

(1) 制备样品的饱和溶液 结晶的过程包括晶核的形成与结晶的增长两个阶段。选择适当的溶剂制备被提纯物的饱和溶液是形成晶核的关键。通常将化合物溶于适当溶剂中，过滤、浓缩至适当体积后，塞紧瓶塞，静置。溶剂不宜太多，否则静置后物质结晶不完全甚至不能得到结晶，此时可松动瓶塞，使溶剂自行挥发，溶液浓度增大后结晶。

(2) 脱色及热过滤 粗品中常含有杂质，使结晶带有颜色，可加入适量的活性炭脱色。所加活性炭的量视杂质的量而定，通常为粗品的 1%~5%。具体操作：将热的样品饱和溶液冷却，加入适量活性炭，煮沸 5~10min，热过滤（常压热过滤或减压热过滤）。常压热过滤应使用菊花状滤纸，快速有效，可防止晶体过早地在漏斗中析出，否则应该重新加热溶解，再进行热过滤。

(3) 析晶 热过滤得到的溶液最好在室温冷却下自然结晶，这样析出的晶体杂质少，晶粒大、晶形好。迅速冷却析出的晶体颗粒小，杂质多，多呈粉末状。若溶剂过多则结晶不完全甚至不析晶，可采用降低温度及自然挥发等条件促使晶核的形成。或者采用玻璃棒蘸取过饱和溶液于空气中挥发除去部分溶剂后再摩擦玻璃容器内壁的办法，以诱导方式形成结晶。加入少量晶种也是诱导晶核形成的有效途径。晶体的形成具有高度的选择性，加入同种分子，结晶便会立即增长。

(4) 重结晶及纯度的判断 每种纯化合物的结晶都有一定的形状、色泽和熔点，所以比较重结晶前后结晶的形状和熔点可以初步鉴定化合物的纯度。单纯化合物结晶的熔距应在 0.5℃左右（由于晶体结构的原因可允许在 1~2℃内），色泽均匀，形状一致。但是也有例外，有些化合物仅有分解点，而熔点不明确。例如，乌头中乌头碱、次乌头碱和新乌头碱的混合物，若仅从晶形、熔点、熔距来看，容易误认为纯物质；土槿皮酸从晶形、熔点、熔距来看，具有纯化合物的特征，但薄层检测到三个斑点，实际上是其立体异构体的混合物。另外，有些化合物具有双熔点的特性，即在某一温度已全部熔化，继续升高温度时固化，达到更高温度时又熔化或分解，如与糖结合的苷类化合物具有此性质。因此，最简便的纯度检测方法是薄层色谱法。

第二节 色谱分离方法

色谱法 (chromatography) 又叫色层法，旧称层析法，是分离、提纯和鉴定有机化合物的重要方法之一。早在 1903~1906 年，俄国植物学家茨维特 (Tswett) 首先应用液固吸附色谱 (adsorption chromatography) 成功地分离了植物色素，从而使色谱法问世。但当时未受到重视，直到 1931 年 Kubn 和 Lederer 在氧化铝和碳酸钙柱上制备性地分离了 α, β -胡萝卜素后才引起化学家的重视，得到较多的应用。1941 年 Martin 和 Synge 利用硅胶进行液液分配色谱 (partition chromatography)，进一步扩大了色谱法的应用范围。在此基础上，在