

揭阳职业技术学院  
生物工程系

授 课 教 案

2025 -- 2026 学年度第一学期

课程名称 天然药物化学

班 级 药学三二分段 241、242

教 研 室 药学教研室

授课教师 黄乾峰

## 课程信息表

课程属性		专业必修课程		有无大纲	有	
授课总学时		48	学分	3	周学时	3
选 用 教 材	教材名称	天然药物化学				
	出版社	上海浦江教育出版社				
	编（著）者	谭雄斯、吴漫晔、胡明月				
	版次	第一版				
课程所需参考资料		《天然药物化学》人民卫生出版社吴剑峰第三版				
班级		药学三二分段 241、 242	总人数	100		
考核方式		考试				
主要教学方法及手段		多媒体讲授、师生互动、案例分析、实训				
备注						

章节名称	第一章 绪论		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	2
教学目标	<p>知识要求 掌握天然药物化学研究的内容和目的, 掌握各类化学成分的溶解性能; 熟悉研究天然药物化学的意义和应用; 了解天然药物化学的研究进展与前景。</p> <p>能力要求 熟练应用天然药物化学各类化学成分的溶解性能按照相似相溶原则, 在提取、分离天然药物化学各类化学成分的操作过程中, 正确选用溶剂</p> <p>职业素质和态度目标 培养学生严谨、求真、公正、敬业, 具有良好的职业道德和社会责任感。</p>		
课程思政元素	<p>我国古代探索天然药物的发展史, 记录了我国人民在医药方面的创造和成就着丰富的实践经验和理论知识, 是先人在长期同疾病作斗争中积累起来的经验结晶, 也是世界医药学的宝贵遗产。中医药文化的核心价值观与社会主义核心价值观存在内在统一性。通过我国科学家屠呦呦获得诺贝尔生理学或医学奖案例, 以直接渗入式融入习近平新时代中国特色社会主义思想, 增强中药文化自信。全课程围绕坚定学生理想信念以宣扬祖国优秀传统文化、弘扬爱国主义精神和社会主义核心价值观为目标, 以培养学生严谨、求真、公正、敬业为主, 培育学生爱党、爱国、爱社会主义, 学习及工作中应治学严谨、求真务实、依法守法、爱岗敬业, 应具有良好的职业道德和社会责任感, 培育对党、对国家、对社会有益的中药学专业工作者。</p>		
教学方法	<p>1、教师讲授为主, 学生自学、查阅文献为辅。</p> <p>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</p> <p>3、多媒体辅助教学, 虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</p>		
教学重点难点	<p>重点: 熟练应用天然药物化学各类化学成分的溶解性能按照相似相溶原则, 在提取、分离天然药物化学各类化学成分的操作过程中, 正确选用溶剂</p>		
教学内容: 思维导图:			

## 一、概述

(一) 定义: 运用现代科学理论、方法与技术研究**天然药物**中的**化学成分**的一门学科。

(二) 研究内容: 研究天然产物的化学成分的:

- ① 结构特点
- ② 物理化学性质
- ③ 提取分离方法
- ④ 主要类型化学成分的结构鉴定
- ⑤ 操作技术及实际应用

(三) 研究对象: 天然药物

### 1、植物药物

#### 世界范围

高等植物13~15万种, 其中药用植物约14500种以上。活性筛选仅占5%, 化学成分研究则更少。

#### 中国

我国自然资源丰富, 植物品种繁多, 其中种子植物就有25700余种, 药用植物12000多种, 常用5000余种。

### 2海洋生物

海洋占整个地球的表面的71%, 蕴藏着极其丰富的生物资源, 是巨大的天然库, 现在已成为研究的热点。我国在海洋区也有近700种天然药物资源。

### 3微生物

主要指益生菌, 它是指能够在人或动物体内存活, 对宿主的生命健康有益的一类微生物。

#### 单体化合物:

指具有一定分子量、分子式、理化常数和确定的化学结构式的化学物质。

#### 有效成分:

具有生物活性, 能起到防治疾病作用, 能用结构式表示, 具有一定的物理常数的单体化合物。

#### 单体化合物:

指具有一定分子量、分子式、理化常数和确定的化学结构式的化学物质。 有效成分:

#### 分:

具有生物活性, 能起到防治疾病作用, 能用结构式表示, 具有一定的物理常数的单体化合物。

#### 无效成分:

与有效成分共存的其它成分, 没有生物活性, 俗称杂质。

#### 如何理解天然药物中的有效成分

一种天然药物中含有多种有效成分, 故有多种临床用途。

有效成分和无效成分的划分是相对的

#### 有效部位:

含有一种主要有效成分或一组结构相近的有效成分的提取分离部分。如人参总皂苷、银杏总黄酮等。

#### 有效部位群:

含有两类或两类以上有效部位的中药提取或分离部分。

## 二、天然药物化学的研究进展与前景

### 国内发展史:

1575年,明代李时珍《医学入门》, 发酵法从五倍子中得到没食子酸的过程。

1518-1592, 李时珍《本草纲目》, 轻粉由汞 (Hg)、白砂[KH(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]、食盐(NaCl)配伍, 经升华而得。

1637年, 宋应星《天工开物》, 锌的冶炼和氧化锌(亚铅华)的制备。

1711年, 洪遵《集验方》, 升华法制备纯化樟脑过程。

评价: 医药化学源于中国

### 国际发展史

- 1.天然药物化学的建立与形成
- 2.天然有机合成化学的建立与发展
- 3.大规模寻找天然活性物质

## 三、研究天然药物化学的意义和作用

开辟扩大药物资源、促进新药开发;

探索天然药物防治疾病原理;

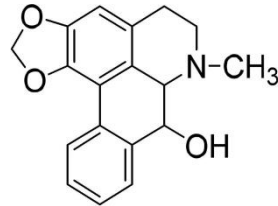
控制天然药物及其制剂的质量;

改进药物剂型、提高临床疗效;

为中药炮制提供现代科学依据；

#### 四、天然药物各类化学成分简介和溶解性能

##### (一) 生物碱



天然含氮有机化合物，主要分布在植物界高等植物中，生物活性好

溶解性:游离生物碱易溶于三氯甲烷、乙醇、丙酮、乙醚等有机溶剂；生物碱盐易溶于水、乙醇

(二) 黄酮类化合物:由C6-C3-C6骨架构成，多数与糖类结合成苷，部分为游离苷元，显酸性，数量位于天然酚性化合物之首。

溶解性: 黄酮苷元可溶于乙酸乙酯，溶于热水和亲水性有机溶剂；难溶于苯、乙醚、三氯甲烷等有机溶剂

(三) 蒽醌类化合物: 包括蒽醌衍生物及其氧化蒽醌、蒽酚、蒽酮及蒽酮的二聚体等不同程度的还原产物，显酸性，以游离或苷的形式存在。

(四) 香豆素和木脂素类: 香豆素类具有苯骈 $\alpha$ -吡喃酮母核，结构上可看作是邻羟基桂皮酸失水而成的内酯。

溶解性: 游离香豆素可溶于热水，易溶于甲醇、乙醇、三氯乙烷、苯和乙醚；香豆素苷可溶于水、甲醇、乙醇，不溶于三氯乙烷、苯和乙醚。

木脂素: 是一类有苯丙素氧化聚合而成的天然产物，结构多样、复杂，多数呈游离状态，亲脂性较强

溶解性: 游离木脂素易溶于乙醚、乙酸乙酯三氯甲烷；可溶于甲醇、乙醇，难溶于水；成苷后极性增大，水溶性增加。

##### (五) 萜类和挥发油

由甲戊二羟酸衍生的分子式符合(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>通式的衍生物的总称，可分为单萜、倍半萜等。挥发油的主要成分是单萜、倍半萜及其衍生物，具有芳香性，油状。

溶解性

不溶于水，可溶于大多数有机溶剂，高浓度乙醇中全部溶解。

##### (六) 强心苷

具有强心作用的甾体苷类化合物

溶解性

强心苷可溶于甲醇、乙醇，难溶于乙醚、苯、三氯甲烷等极性小的溶剂；溶于乙醚、乙酸乙酯三氯甲烷

##### (七) 皂苷

水溶液经振摇产生大量持久的肥皂样泡沫，大多数皂苷极性较大。

溶解性

皂苷在含水丁醇和戊醇中溶解度较好，易溶于热甲醇、乙醇，能溶于水，难溶于乙醚、丙酮

次级苷易溶于醇、丙酮、乙酸乙酯

皂苷元溶于石油醚、苯、乙醚、三氯甲烷

##### (八) 鞣质

又称单宁或鞣酸，结构复杂，多元酚，极性较大。一般使用明胶溶液和重金属盐沉淀鞣质 可溶于水、甲醇、乙醇、丙酮

可溶于乙酸乙酯、乙醚和乙醇的混合溶剂

不溶于石油醚、二硫化碳、四氯化碳等亲脂性溶剂

##### (九) 有机酸

结构中具有羧基(不包括氨基酸)的一类酸性有机物，常见的有柠檬酸、苹果酸等。 溶解性

低级脂肪酸易溶于水、乙醇 高级级

脂肪酸易溶于有机溶剂

有机酸盐溶于水，难溶于有机溶剂

##### (十) 多糖

由10个以上单糖通过糖苷键聚合而成的高分子化合物，无一般单糖的性质。常见的有淀粉、菊糖、果胶、树胶等

#### (十一) 氨基酸、蛋白质和酶

分子中含有氨基和羧基的化合物成为氨基酸，构成生物有机体蛋白质的氨基酸大多是 $\alpha$ -氨基酸。  
溶解性

一般易溶于水，难溶于有机溶剂等电点时，水中溶解度最小

蛋白质是由 $\alpha$ -氨基酸通过肽链结合而成的一类高分子化合物，大多能溶于水成胶体溶液 酶是生物体内具有催化能力的蛋白质，它的催化作用具有专一性

#### 小结

##### 水溶性成分

单糖及低聚糖，淀粉，粘液质，氨基酸，蛋白质，有机酸盐，无机成分

##### 水、醇共溶成分

苷（黄酮、蒽醌、香豆素、木脂素、强心苷、皂苷）、生物碱盐、鞣质、低级脂肪酸

##### 醇、脂共溶成分

苷元（黄酮、蒽醌、香豆素、木脂素、强心苷）、游离生物碱、部分高级脂肪酸、挥发油、树脂

##### 脂溶性成分

油脂、蜡、叶绿素

#### 注意

- 1、给类化学成分的溶解性能一般是指较纯的成分在较纯的溶剂中溶解
- 2、醇溶性成分主要指溶于95%乙醇的成分，脂溶性成分主要指溶于乙酸乙酯、乙醚、三氯甲烷、苯、石油醚等有机溶剂成分。
- 3、蛋白质在热水中可凝固变性；淀粉溶于热水成胶体溶液，不溶于冷水；
- 4、某些成分在某一溶剂中溶解性能较好；
- 5、常用有机溶剂的极性排列顺序

石油醚<汽油<庚烷<己烷<二硫化碳<二甲苯<甲苯<氯丙烷<苯<溴乙烷<溴化苯<二氯乙烷<三氯甲烷<异丙醚<硝基甲烷<乙酸丁酯<乙醚<乙酸乙酯<正戊烷<正丁醇<苯酚<甲醇<叔丁醇<四氢呋喃<二氧六环<丙酮<乙醇<乙腈<甲醇<氮氮二甲基甲酰胺<水

#### 复习思考题、作业题

1. 天然药物化学研究的内容是什么？
2. 如何理解有效成分和无效成分？

#### 下次课预习要点

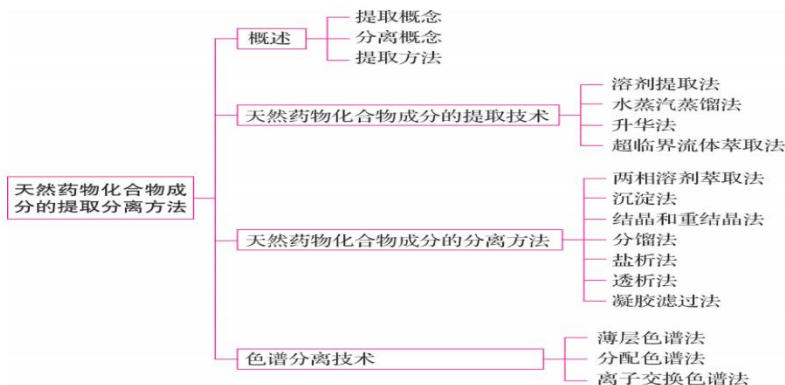
天然药物有效成分的提取、分离方法

教 学  
后 记



章节名称	第二章 天然药物化学成分的提取技术与分离方法		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	8
教学目标	<p>知识要求</p> <p>掌握各种提取、分离和鉴定的操作技术，操作要点和适用范围</p> <p>熟悉各种提取、分离和鉴定方法的基本原理和影响因素</p> <p>了解溶剂的极性和选用原则以及提取液的浓缩方法</p> <p>能力要求</p> <p>能熟练的应用常规的提取法和分离法对已知成分的天然药物进行提取、分离</p> <p>职业素质和态度目标</p> <p>指出在天然药物化学成分研究领域，国内的研究处于领先地位引导。本领域国内研究的优势和成就，引导学生树立民族自信心，增强民族自豪感。</p>		
课程思政元素	<p>通过讲述吗啡的发现到最终结构的确定经历了100多年时间，以及当时所用的技术方法，对比利用现在的技术方法，可用不到一天时间即可鉴定出一个化合物成分结构同时指出在天然药物化学成分研究领域，国内的研究处于领先地位，引出本领域国内研究的优势和成就，引导学生树立民族自信心，增强民族自豪感。</p>		
教学方法	<p>1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。</p> <p>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</p> <p>3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</p>		
教学重点难点	<p>重点：</p> <p>天然药物有效成分的提取、分离方法以及各种提取方法的优缺点。</p> <p>溶剂提取法的基本原理，常用溶剂的极性强弱顺序，溶剂和提取方法的选择。</p>		

教学内容：  
思维导图：



## 第一节 提取方法与技术

### 一、溶剂提取法

根据天然药物中各种有效化学成分的溶解性能，选择对有效成分溶解度大而对其他成分溶解度小的溶剂，用适当的方法将所需化学成分尽可能完全地从药材组织中溶解提取的方法。

#### 1、基本原理：

- (1) 溶剂在渗透扩散的作用下渗入药材组织细胞的内部，溶解可溶性成分
- (2) 细胞内外溶质形成浓度差，带动溶质作不断往返运动

#### 2、提取前的预处理

- ① 粉碎成粗粉或切成小段、薄片
- ② 种子类药材先脱脂（压榨或用石油醚）再粉碎
- ③ 苷类成分的提取可用乙醇或沸水处理
- ④ 苷元或次生苷 提取要注意保留酶的活性

#### 3、影响因素

选择合适的溶剂是溶剂提取法的关键溶剂选择的三原则

- (1) 对有效成份溶解度大，对杂质溶解度小（相似相溶原则）。
- (2) 不与成份起化学反应。
- (3) 要经济，易得，使用安全。

#### 4、溶剂的极性

介电常数越大，极性越大。

常用溶剂的极性

极性大小：水 (H<sub>2</sub>O) > 甲醇 (MeOH) > 乙醇 (EtOH) > 丙酮 (Me<sub>2</sub>CO) > 正丁醇 (n-BuOH) > 乙酸乙酯 (EtOAc) > 乙醚 (Et<sub>2</sub>O) > 氯仿 (CHCl<sub>3</sub>) > 苯 (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) > 四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) > 正己烷 ≈ 石油醚 (Pet. et)

。

水类还包括酸水、碱水；

亲水性有机溶剂包括甲醇、乙醇、丙酮；

亲脂性有机溶剂为正丁醇后所有的。这三类溶剂间互溶情况：水和亲水性有机溶剂可互溶，水和亲脂性有机溶剂间不互溶，有机溶剂间除甲醇和石油醚不互溶外，其它均互溶。常见官能团极性比较：

羧基 > 酚羟基 > 醇羟基 > 氨基 > 酰氨基 > 醛、酮 > 酯基 > 醚基 > 烯基 > 烷基 选择原

则：相似相溶

极性溶剂（如水）易溶解极性物质

非极性溶剂（如苯、汽油、四氯化碳、酒精等）能溶解非极性物质

含有相同官能团的物质互溶，如水中含羟基（—OH）能溶解含有羟基的醇、酚、羧酸。

#### （一）浸渍法

指将药材用适当的溶剂在常温或温热的条件下浸泡一定时间，浸出有效成分的一种方法。

##### 1、操作技术：冷浸法和温浸法

（1）冷浸法：将药材粗粉置适宜容器中，以适当溶剂在常温下浸泡。多以水类或稀醇为溶剂。浸渍时间1-2天。

（2）温浸法：操作基本同冷浸法，浸渍温度40-60℃

2、适用范围：适于成分遇热易破坏或含糖较多的天然药物的提取。

3、特点：操作方便，简单易行，缺点为浸出效果较差，水提取液易发霉，提取液体积大，浸出时间长。

4、提示：可浸提2-3次，必要时加入适量防腐剂如 甲苯、甲醛或三氯甲烷。

#### （二）渗漉法

将药材粗粉置渗漉装置中，连续添加溶剂使渗过药粉，自上而下流动，浸出有效成分的一种动态浸提方法。

##### 1、操作技术

（1）粉碎

（2）用规定量的溶剂（一般每1000g药粉约用600-800mL）溶剂润湿，密闭放置15min-6 h

（3）装筒：用浸润后的脱脂棉垫在渗漉筒底部，分次装入已润湿的药粉，压平（注：药粉装量一般不超过渗漉筒体积的2/3）盖上纱布，压上石块

（4）排气

（5）浸渍：排气后，关闭出口，继续加溶剂使保持高出药面浸渍。浸渍时间：24-48h

（6）渗漉：浸渍后，即可打开出口进行渗漉

（7）收集渗漉液：一般为药材重量的8-10倍，收集完之后浓缩。

2、使用范围：适用于提取遇热易被破坏的成分

##### 3、特点

优点：保持良好的浓度差，提取效率高于浸渍法 缺点：  
溶剂消耗多，提取时间长

4、提示：本法常温下进行，选用溶剂多为水，酸液、碱液及不同浓度的乙醇（多为高浓度）

（三）煎煮法：将药材加水加热煮沸，滤过去渣后取煎煮液的一种传统方法

##### 1、操作技术

要点：煎器勿使用铁器，以砂锅或瓷锅为宜；一般以煎煮2-3次为宜；小量提取，第一次煮沸20-30min，大量生产，第一次约煎煮1-2小时

##### 2、适用范围

有效成分能溶于水且不易被水、热破坏的天然药物的提取

##### 3、特点

操作简单，提取率高于冷浸法

##### 4、提示

不宜用于提取含挥发油成分及遇热易破坏的天然药物，含糖类丰富的药材

#### （四）回流提取法

使用低沸点有机溶剂加热提取药物中有效成分时，为减少溶剂的挥发损失，保持溶剂与药材的持久接触，通过加热浸出液，使溶剂受热蒸发，经冷凝后变为液态流会浸出器，如此反复。

##### 1、操作技术

要点：添加溶剂至盖过药面（一般至烧瓶容积1/2-2/3处）回流2-3次

##### 2、适用范围

适用于脂溶性较强的天然药物化学成分的提取，如甾体、萜类、蒽醌等，亦用于虽然能溶于水，但为了使杂质尽量少提出的某些化合物。

### 3、特点

提取效率较高，但溶剂消耗量仍较大，操作较麻烦

### 4、提示

由于受热时间较长，对热不稳定成分的提取不宜用该法

#### (五) 连续回流提取法

是在回流提取法的基础上进行了改进，引进了索氏提取器

### 1、操作技术

要点：圆底烧瓶内放入沸石；药材粉末应装在滤纸袋或筒中再放入提取器中，高度低于虹吸管顶部；溶剂自冷凝管加到烧瓶内；温控加热

提取过程：萃取前先将固体物质研碎，以增加固液接触的面积。然后将固体物质放在滤纸套内，置于提取器中，提取器的下端勺盛有溶剂的圆底烧瓶相连，上面接回流冷凝管。加热圆底烧瓶，使溶剂沸腾，蒸气通过提取器的支管上升，被冷凝后滴入提取器中，溶剂和固体接触进行萃取，当液面超过虹吸管的最高处时，含有萃取物的溶剂虹吸回烧瓶，因而萃取出了一部分物质，如此重复，使固体物质不断为纯的溶剂所萃取、将萃取出的物质富集在烧瓶中。

### 2、适用范围

适用于脂溶性化合物，药量少时多用该法

提取效率高，溶剂用量少但浸出液受热时间长，故不适用于对热不稳定成分的提取

为了防止长时间受热，成分易被破坏，也可在提取1-2小时后更换新溶剂。

#### (六) 超声提取法

是一种利用超声波浸提有效成分的方法

基本原理：利用超声波的空化作用，破坏植物药材的细胞，使溶剂易于渗入细胞内

同时超声波的强烈振动能传递巨大的能量给浸提的药材和溶剂，使他们作高速运动，加强了细胞内物质的释放、扩散和溶解，加速有效成分的浸出。

### 1、操作技术

### 2、适用范围

适用于遇热不稳定成分的提取，也适用于各种溶剂的提取

### 3、特点

提取时间短，提取效率高，无需加热，能避免高温高压对目标成分的破坏

### 4、提示

对容器壁的厚薄及放置位置要求高，大规模生产还有待解决设备问题

影响提取效率的因素：

- 1) 药材粉碎度：药粉越细、表面积越大，提取效率越高。但太细，药粉对成分的吸附也越强。因此水提取宜用粗粉；用有机溶剂可细些，以20目为好。
- 2) 提取温度：一般热提效率高，但要考虑有些成分温度高易破坏，应选择适宜温度。
- 3) 提取时间：一般提取时间长提出量大。但被提成分在细胞内外溶解一旦平衡，时间长即无意义。一般热水提以1/2-1h为宜，乙醇提1h为宜。

## 二、其他提取方法

### (一) 水蒸气蒸馏法

是一种利用某些挥发性成分与水或水蒸气共同加热，能随水蒸气一并被蒸馏出，经冷凝后分取获得的性质，使之从药物中提取出来的方法

原理：

互不相溶的液体成分共存时，整个体系的总蒸汽压等于两组分蒸汽压之和，压力增大，沸点降低，

在较低温度下，混合物即可被蒸馏出来

- 1、操作技术
- 2、适用范围

水蒸气蒸馏法只适用于具有挥发性的，能随水蒸气蒸馏而不被破坏，与水不发生反应，且难溶或不溶于水的成分的提取。

- 3、特点：

工艺简单、操作方便，实用性强，易于推广

- 4、提示

需对蒸馏瓶采取保温措施，以免部分水蒸气冷凝 中断或  
停止时需先通气再断加热电源

若某些在水中溶解度稍大的挥发性成分，溜出液 可再蒸  
馏一次，以提高纯度

## （二）升华法

是利用某些固体物质具有在低于其熔点的温度下受热后，不经熔融就直接转化成蒸气，遇冷后又凝固为原来的固体的性质，使之从天然药物中提出的方法

- 1、操作技术
- 2、适用范围

具有升华性的某些生物碱类、香豆素类、有机酸的提取

- 3、特点

操作时间长，损失较大，易使天然药物炭化、分解。

- 4、提示

加热方法以水浴，油浴等为宜，实际提取较少使用

## （三）超临界流体萃取技术

超临界流体萃取（supercritical fluid extraction, SFE）是一种利用某种物质在超临界区域形成的流体，对天然药物中有效成分进行萃取分离的新型技术，集提取和分离为一体

- 1、概念

超临界流体是指当某种物质处于其临界温度和临界压力以上时，形成一种既非液体也非 气体的特殊相态。以二氧化碳为最常用

- 2、基本原理

超临界流体随温度和压力变化，溶解物质的能力具有选择性，通过调节压力和温度提取 不同极性的化学成分，然后再升温，减压将超临界流体回复成气体，被萃取成分分离析出

- 3、操作技术

- 4、适用范围

提取分离挥发性成分、脂溶性成分、高热敏性成分及易氧化分解成分

- 5、特点

易于操作、可调节范围广，选择性和溶解性能好，萃取率高，速度快等

- 6、提示

对极性大或分子量大的成分萃取较难，需加入与溶质亲和力较强的夹带剂（甲烷、乙醇等）以提高溶解度

设备要求高，投资大，运行成本高

## 第二节 分离精制和鉴定的方法与技术

由于所得的提取液体积一般较大，所含成分较低，故分离精制之前常进行浓缩，以提高浓度。  
常用方法：

蒸发、常压蒸馏、减压蒸馏、薄膜蒸发、反渗透法、超滤法 旋转蒸发器  
实验室常用的减压蒸馏装置。

构造：旋转蒸馏瓶、冷凝器、接收器等

### 一、系统溶剂分离法

按极性由大到小的顺序选用不同极性的溶剂组成溶剂系统，依次提取分离提取液中的不同成分，使各溶解度有差异的成分得到分离的方法

#### 1、操作技术

#### 2、适用范围

适用于有效成分尚未明确的天然药物提取液的分离

#### 3、特点

操作繁琐，不易于浓集，较大地限制了微量成分、结构性质相似成分的分离提取

#### 4、提示

目前仍是研究不明成分最为常用的方法

### 二、两相溶剂萃取法

1、概念：指往提取液中加入一种与其互不相容的溶剂配成两相溶剂系统，利用混合物中各种成分分配系数的差异而将所需成分萃取出来的分离方法。

2、原理：利用混合物中各单体组分在两相溶剂中的分配系数（K）不同而达到分离的方法。

溶剂分配法的两相往往是互相饱和的水相与有机相。混合物中各成分在两相中分配系数相差越大，则分离效果越高。

#### 分配系数（K）

指在一定温度和压力下，某种物质溶解在两相互不相溶的溶剂中，当达到动态平衡时，根据分配定律，该物质在两相溶剂中的浓度之比为一常数，称为分配系数。

#### 分离因子（ $\beta$ ）

指两种溶质在同一溶剂系统中分配系数的比值 当

$\beta \geq 100$  只需作一次简单萃取

$100 \geq \beta > 10$  需萃取10-12次

当 $\beta \approx 1$  无法用该法达到分离

#### 3、提示

有机溶剂的亲水性越大，与水作两相萃取的效果越差对于碱性、酸性、两性成分的萃取，选用pH梯度萃取法

##### （一）简单萃取

#### 1、操作要点

#### 2、适用范围

分配系数差异较大的成分的分离

#### 3、特点

操作简便，设备简单，实验室常用

#### 4、提示

① 水提液的密度最好在相对密度1.1-1.2

② 萃取溶剂第一次用量一般为水提液的1/2-1/3,后面的用量可以减少为1/4-1/6。

③ 若分配系数差别较大，一般萃取3-4次

④ 若选用三氯甲烷萃取，易产生乳化现象

⑤ 若乳化现象已形成，需采用破乳措施

⑥ 中量萃取可在较大的下口瓶中进行。若大量萃取可在密闭萃取缸中进行

##### （二）逆流连续萃取法

利用两相互不相溶的溶剂相对密度的不同，使相对密度小的相液作为移动相（分散相），逆流连续穿过相对密度大的作为固定相（连续相）的相液，借以交换溶质达到分离的一种连续萃取技

术

#### 1、操作技术

要点：密度小的相液置于高位贮存器中，作为流动相

密度大者作为固定相置萃取管中，萃取管数目不定，管内填充小瓷环或小不锈钢圈

#### 2、适用范围

适用于各种密度的溶剂萃取

#### 3、特点

操作简便，萃取较完全

#### 4、提示

为避免简单萃取法操作有时会发生乳化现象，可选用此法

#### （三）逆流分溶法（C C D）

也称逆流分配法、逆流分布法或反流分布法

#### 1、操作技术

相对密度大的溶剂作为流动相溶剂，从0号管开始加入相对密度小的溶剂作为固定相溶剂，置于分液漏斗中分液漏斗多个需反复进行多次振摇、静置、分离和转移等萃取步骤。

#### 2、适用范围

分离中等极性、分离因子较小及不稳定的物质

#### 3、特点

分离效果好，效率高，操作条件温和，但本法操作较繁，消耗溶剂多

#### 4、提示

分离因子较小时，可选用该法；含量微小的成分易损失，系统易产生乳化象；试样极性过大或过小，或分配系数受温度或浓度；影响过大，易产生乳化的溶剂体系不宜采用该法

#### （四）液滴逆流分配法（D C C C）

又称液滴逆流色谱法，利用混合物中各成分在两相间的分配系数的差异，使移动相形成液滴，通过作为固定相的液柱实现逆流分配，从而达到分离的目的

#### 1、操作技术要点：

固定相充入全部萃取管内分离试样先溶于（1：1）两相溶剂中由微型注液泵注入移动相

若有氮气驱动移动相，可避免被分离组分的氧化

#### 2、适用范围

适用于皂苷类化学成分的分

#### 3、特点

使用溶剂较少，可定量回收试样，分离效果较C C D好

#### 4、提示

已广泛用于分离纯化多种天然药物化学成分常用的破乳措施

（1）较长时间放置

（2）可用金属丝在乳化层中搅拌

（3）将乳化层抽滤

（4）将乳化层加热或冷冻

（5）分出乳化层，再用新溶剂萃取

（6）加入少量电解质（如食盐）

（7）加入少量破乳剂（如短链醇、磺化蓖麻油等）

#### 三、沉淀法

指在天然药物的提取液中加入某些试剂，是产生沉淀或降低溶解性而从溶液中析出，从而获得有效成分或去除杂质的方法

### (一) 酸碱沉淀法

是一种利用某些成分能在酸（或碱）中溶解，继而又在碱（或酸）中生成沉淀的性质达到分离的方法

#### 1、操作技术

### (二) 试剂沉淀法

试剂沉淀法是一种利用一些成分能与某些试剂产生沉淀的性质，或利用某些成分在不同溶剂中溶解度的差异，通过加入特定试剂或溶剂，使生成沉淀，与其他成分分离的方法

#### 1、操作技术

#### 2、适用范围

适用于能与某些试剂产生沉淀或不同溶剂中溶解度有差异的化学成分的分离

#### 3、特点

沉淀反应可逆或不可逆

#### 4、常用的沉淀试剂

①雷氏铵盐：能与水溶性生物碱类生成沉淀，可用于分离水溶性生物碱与其它生物碱；

雷氏铵盐又称硫氰化铬银.这主要是一种生物试验用品.比如水溶性生物碱(一类在水中溶解度大的伯、仲、叔胺型生物碱)和季铵型生物碱两类碱.具体操作为水提取液滴加饱和的雷氏铵盐水溶液,使生物碱沉淀完全.过滤后,将沉淀溶于丙酮,再在此溶液中加入饱和的硫酸银水溶液,使生物碱雷氏铵盐沉淀转变为溶于水的硫酸生物碱盐,而雷氏盐转变为银盐

(硫氰化铬银)沉淀,过滤后除去。

②胆固醇：能和甾体皂苷沉淀，可使其与三萜皂苷分离；

③明胶：能沉淀鞣质，可用于分离或除去鞣质。

④水提醇沉法：如采用不同浓度的乙醇，分别沉淀蛋白质、淀粉、树胶、黏液质等

⑤醇提水沉法：例如用水沉淀出树脂、叶绿素等

⑥ 铅盐沉淀法：利用中性醋酸铅或碱式醋酸铅在水或稀醇溶液中能与许多物质生成难溶的铅盐或络盐沉淀而分离的方法。中性醋酸铅可沉淀具有邻二酚羟基和羧基的成分；碱式醋酸铅的沉淀范围较广，可沉淀含酚羟基和羧基及中性皂苷等。如沉淀为杂质，则可弃去；如沉淀为所要成分，则可将沉淀悬浮于水或稀醇中，通 $H_2S$ 气体或加入稀 $H_2SO_4$ 、 $Na_2SO_4$ 等脱铅，成分即可分离。

#### ⑦盐析法

于天然药物水提取液中加入某些无机盐至一定浓度或达到饱和状态，可使某些成分由于溶解度降低而沉淀析出。常用的无机盐有 $HCl$ 、 $Na_2SO_4$ 等。

如：

三七的水提液中加入硫酸镁→三七皂甙乙↓

三颗针中提取小檗碱→氯化钠或硫酸铵盐析。

⑧其他：如在含有皂苷的乙醇溶液中逐滴加入数倍量的丙酮或乙醚或丙酮-乙醚的混合液，可逐段沉淀出溶解度不同的皂苷

### 四、结晶与重结晶法

#### 结晶法：

利用混合物中各成分在溶剂中因温度不同引起溶解度的改变，使部分成分析出结晶，从而达到分离精制目的分离方法

重结晶：选择适当的溶剂让结晶再一次溶解和析出结晶的过程。

重结晶指由纯度低结晶处理成纯度高结晶的操作过程。二者从操作角度差别是起始物不同。

#### 1、结晶溶剂的选择条件

①不与结晶物质发生化学反应

②对结晶物质的溶解度随温度的不同有显著差异

③对可能存在的杂质溶解度非常大或非常小（冷热时都溶解，或冷热时都不溶解）

④沸点适中

⑤能给出较好的结晶常用的

溶剂

水、乙酸、甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、三氯甲烷等，除用单一溶剂外，天然药物成分的结晶常用一定比例的混合溶剂。

常用的混合溶剂有：水-乙醇、水-丙酮、乙醇-乙醚、乙醇-氯仿、乙醇-醋酸乙酯-乙醚等。

2、结晶的条件

3、结晶纯度的判断

①色泽是否均匀

②晶型是否一致

③熔点是否一定，熔距（熔点范围或称熔距、熔程）是否在合适的范围（初熔至全熔的温度 不超过  $0.5-1^{\circ}\text{C}$ ）

④在纸色谱或薄层色谱中是否有单一近圆形的斑点

一个单体纯化化合物一般都有一定的熔点和较小的熔距，同时在薄层色谱或纸色谱中经数 种不同展开剂系统检定，也为一个斑点者，一般可以认为是一个单体化合物。

4、操作技术

5、适用范围

适用于分离纯化固体化学成分

6、特点

是分离纯化固体成分的重要方法之一，可获得较纯的单体

7、提示

①要选择合适的溶剂

②注意影响结晶的因素 包括：杂质的去除、有效成分的含量、溶液的浓度、合适的温度和时间等

③选择沸点适中的溶剂（沸点低于欲结晶物质）

④若所选溶剂的沸点较低，则应制成在熔点温度以下的饱和溶液

⑤结晶的合适温度 $5-10^{\circ}\text{C}$  五

透析法

透析法是利用透析膜具有选择性透过的特点，使提取液中小分子物质可通过透析膜，而 大分子不能通过，分子量差异较大的物质获得分离的方法。透析法分离量较小，时间长，一般在实验室中应用较多。

1、操作技术要点

①需不断更换缸内的水，保持膜内外的浓度差

②可搅拌或适当加温，也可在膜两侧放置电极（电透析）

③用定性反应对膜内药液有效成分或指标成分进行检查分析，判断透析是否完全

2、适用范围

适用于分离纯化天然药物化学成分中的大分子物质如：皂苷、蛋白质、多肽、多糖

3、特点

操作简单，分离较完全

4、提示

选择的半透膜是否合适是透析成败的关键

常用半透膜：动物性膜、火棉胶膜、羊皮纸膜（硫酸纸膜）、玻璃纸膜、蛋白胶（明胶）膜等

## 六、分馏法

此法是利用混合物中各成分沸点的不同，在分馏过程中产生高低不同的蒸汽压，从而收集到不同沸点的馏分，达到分离的目的。

### 1、操作技术

要点：圆底烧瓶中加入沸石；蒸馏时，分馏柱的外围尽量用石棉绳包住；选择合适的热浴加热；当烧瓶中的液体开始沸腾时，就要注意调节温度

### 2、适用范围

适用于能够完全互溶的液体混合物的分离。在中药化学成分的研究工作中，常用分馏法分离挥发油及一些液体生物碱。

### 3、特点

操作简单，因加热可能会破坏某些成分

### 4、提示

注意保持柱内适当的温度梯度，一般用石棉进行保温；严格控制热源的温度

## 七、色谱法

### 1、概念

是一种分离、纯化和鉴定化合物的物理化学方法。

### 2、基本原理

利用混合物中各成分在固定相和移动相中吸附、分配及亲和力的差异二达到分离

### 3、应用

非极性成分：硅胶或氧化铝吸附色谱

极性较大：分配色谱或弱吸附色谱剂吸附色谱

酸、碱、两性成分：离子交换色谱、吸附色谱、分配色谱

分子量大小有差异：凝胶滤过色谱

#### (一)柱色谱法

柱色谱法是一种将分离材料装入柱状容器中，以适当的洗脱剂进行洗脱而使不同成分得到分离的色谱分离方法，是色谱法最早出现的形式，常用于制备性分离。可分为：吸附柱色谱法、分配柱色谱法、离子交换柱色谱法和凝胶过滤色谱法

#### 1、吸附柱色谱法

是利用作为固定相的吸附剂对被分离化合物分子的吸附能力的差异，而实现分离的一类色谱。

##### (一)基本原理

被分离物质在固定相和移动相中不断反复的进行着吸附-解吸附的可逆过程，利用各成分在两相中的迁移速度的不同而达到分离。

分为：化学吸附、半化学吸附、物理吸附

物理吸附：也称表面吸附，由分子间力的相互作用所引起。

特点：

无选择性，吸附与解吸可逆，遵循“相似易于吸附”的经验规律是，可快速进行，故在实际工作中用得最广。如硅胶、氧化铝。

化学吸附：如黄酮等酚酸性物质被碱性氧化铝吸附，或生物碱被酸性硅胶吸附等。

特点：

有选择性，吸附牢固，有时不可逆，故很少使用。

半化学吸附：如聚酰胺对黄酮类、醌类等化合物之间的氢键吸附，力量较弱，介于上述二者之间。

##### (2)常用的吸附剂

氧化铝、硅胶、硅藻土、氧化镁、硅酸钙、聚酰胺、活性炭等

##### 1) 硅胶：

层析用硅胶为一微呈酸性的多孔性物质，常用 $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 表示，分子中具有硅氧烷的交链结构，

同时在颗粒表面又有很多硅醇基。硅胶吸附作用的强弱与硅醇基的含量多少有关。硅醇基能够通过氢键的形成而吸附水分，因此硅胶的吸附力随吸着的水分增加而降低。

吸附原理：

硅醇基与化合物形成氢键 硅醇基与水形成氢键

硅胶吸附的水分愈多，吸附其他化合物的能力愈弱。吸水量超过17%，不能作为吸附剂了。

加热到100~110℃时可除去水，恢复吸附活力，这一过程称为硅胶的活化。加热时间也30分钟。硅胶是一种酸性吸附剂，适用于中性或酸性成分的层析。同时硅胶又是一种弱酸性阳离子交换剂，其表面上的硅醇基能释放弱酸性的氢离子，当遇到较强的碱性化合物，则可因离子交换反应而吸附碱性化合物。

#### 2) 氧化铝：

一种吸附力很强的亲水性吸附剂，有酸性、碱性、中性三种规格。活性与水有关

氧化铝带有碱性，对于分离一些碱性中草药成分，如生物碱类的分离颇为理想。但是氧化铝不宜用于醛、酮、酸、内酯等类型的化合物分离。因为碱性氧化铝可与上述成分发生次级反应，如异构化、氧化、消除反应等。

用稀硝酸或稀盐酸处理氧化铝，不仅可中和氧化铝中含有的碱性杂质，并可使氧化铝颗粒表面带有NO<sub>3</sub>或Cl<sup>-</sup>的阴离子，从而具有离子交换剂的性质，适合于酸性成分的层析，这种氧化铝称为酸性氧化铝。

#### 3) 聚酰胺

由酰胺聚合而成的一类高分子化合物。商品名又称为锦纶、尼龙。色谱常用聚己内酰胺（锦纶6）聚己二酰己二胺（锦纶66）

属于氢键吸附，不但适用极性物质也适用于非极性物质的分离。特别适合酚类、醌类、黄酮类、鞣质的分离。

吸附容量大，范围广，凡能与=C=O，—NH—形成氢键的成份都可用于分离，一般说，吸附能力与形成氢键有如下关系：

- A、形成氢键的基团越多，吸附力越强。
- B. 与形成氢键的基团的位置有关
- C、芳香化程度越高，共轭双键越多，吸附力越强（共轭程度）。

不同溶剂对聚酰胺层析中洗脱能力如下：

水 < 甲醇 < 乙醇 < 丙酮 < 稀碱 < 二甲基甲酰胺 < 尿素水溶液  
洗脱力增强                      吸附力增强

#### 4) 活性炭

是一种非极性吸附剂。

活性炭主要用于分离水溶性成分，如氨基酸、糖类及某些苷。活性炭为吸附作用，在水溶液中最强，在有机溶剂中则较低弱。故水的洗脱能力最弱，而有机溶剂则较强。例如以醇-水进行洗脱时，则随乙醇浓度的递增而洗脱力增加。

#### (3) 移动相

洗脱剂的选择，须根据被分离物质与所选用的吸附剂性质这两者结合起来加以考虑。在用极性吸附剂进行层析时，当被分离物质为弱极性物质，一般选用弱极性溶剂为洗脱剂；被分离物质为强极性成分，则须选用极性溶剂为洗脱剂。如果对某一极性物质用吸附性较弱的吸附剂（如以硅藻土或滑石粉代替硅胶），则洗脱剂的极性亦须相应降低。

#### (4) 被分离物质

被分离成分与吸附剂、展开剂共同构成了吸附色谱中的三要素。

在指定的吸附剂与洗脱剂的条件下，各个成分分离情况，直接与被分离物质的结构与性质有关。对极性吸附剂而言，成分的极性大，吸附性强。

对硅胶、氧化铝等极性吸附剂来说，对极性大的化合物吸附强，移动慢， $R_f$ 值小；而对极性小的化合物吸附弱， $R_f$ 值大，从而将各成分分离开。全面考虑吸附剂、展开剂和被分离成分三者的相互关系，是分离成败的关键。

化合物的极性及其强弱判断

①官能团的极性强弱

②化合物的极性

化合物的极性则由分子中所含官能团的种类、数目及排列方式等综合因素所决定。

极性基团的数目愈多，化合物的极性越大，被吸附的性能就会更大些，在同系物中碳原子数目少些，被吸附也会强些。总之，只要两个成分在结构上存在差别，就有可能分离，关键在于条件的选择。

②化合物的极性

(5) 操作技术

1) 选择色谱柱：色谱柱的内径与柱长之比，常在1: 15—1: 20。

2) 装柱；吸附剂的粒度以100目左右大小为宜。

分离试样与吸附剂的用量比约为1: 30—1: 60 (1: 100—1: 200) 湿法装柱：

①取干净干燥的层析柱，底部铺一层脱脂棉

②柱内加入少量的洗脱剂，排气，之后拧紧活塞，保持洗脱剂高度约为1/5柱高

③将吸附剂与适量的洗脱剂混合均匀，不断搅拌排除气泡（粘稠状）

④连续缓慢地倒入层析柱内，打开活塞，低速放出洗脱剂，确保液面高出吸附剂的面，轻敲柱壁，至沉降完全，再使洗脱剂流动一段时间之后拧紧活塞，静置备用。

要点：一般吸附剂的高度为层析柱高度的3/4，柱体内不能出现气泡、疏密不均或裂缝。

3) 上样

湿法上样：

要点：不要使试样粘附在柱壁上吸附剂

表面不要被搅动

干法上样：

试样溶于适量的低沸点的极性有机溶剂，再用少量吸附剂搅拌均匀，挥干溶剂，置干燥器中吸除残余的溶剂和水分。

吸附剂均匀加在吸附剂的上面，并盖上一层约0.5cm厚的石英砂（或一层滤纸和玻璃珠层）

4) 洗脱：

要点：选择合适的洗脱剂

洗脱过程中应注意保持液面的高度，勿使柱面洗脱剂流干控制流速，若色谱柱长40cm，流速为3-4ml/分钟，保持匀速

若试样有色，收集色带，若无色，采用等分收集，如所用吸附剂的量为50g，则每份收集的洗脱液为50ml。

(6) 特点

硅胶：酸性、亲水性的吸附剂，吸附容量高，机械强度高，分离范围广，应用最广泛。 不易分离碱性成分

氧化铝：分离效果好，再生容易，对杂质的吸附能力及分离试样的用量优于硅胶，不宜分离醛、酮、酯、内酯等类型化合物。

活性炭：价廉易得，试样上柱量大，分离效果好。 聚酰胺：

吸附容量大，分离效果好

(7) 适用范围：

硅胶：中性或酸性成分的分离（包括非极性化合物和极性较小的化合物），如挥发油、 黄酮、葱醌、强心苷、皂苷、有机酸及酚性化合物、氨基酸等。

氧化铝：碱性或中性的亲脂性成分的分离，如生物碱、甾体化合物、强心苷等 活性炭：  
分离水溶性成分如氨基酸、糖类及某些苷类，适用于大量制备性分离  
聚酰胺：化合物的制备性分离，常用于分离黄酮类、酚类、醌类等化合物，去除粗提物 中的鞣质。

#### (8) 提示

- ①硅胶吸附色谱具有吸附、分配色谱的双重性质
- ②活性炭的吸附力不易控制，应用受限
- ③聚酰胺吸附剂与试样的用量比常为：1:10-1:20。如果洗脱剂为含水的溶剂系统，以水装柱，用水、从稀到浓的乙醇溶液依次洗脱。洗脱剂为非极性的溶剂系统，以系统中极性较低的 溶剂装柱；若以三氯甲烷装柱，上样时应放出底端的三氯甲烷，加样要快，脱脂棉或玻璃珠 压顶，以防聚酰胺浮起扰乱色带。

### 2、分配柱色谱法

在柱状容器中，利用混合物中各成分在互不相容的两相溶剂中分配系数的不同，来达到 分离的色谱分离方法。

(1) 基本原理：两相溶剂中的一相需作为固定相（以某种惰性固体吸住该相溶剂）另一相溶 剂作为流动相。

#### (2) 支持剂

常用的有吸水硅胶、硅藻土、纤维素粉、滤纸

反相分配色谱多采用碳十八烷基（ $-C_{18}H_{37}$ ）、辛基（ $-C_8H_{17}$ ）或乙基（ $-C_2H_5$ ）键合硅胶作为固定相。键合固定相亦可通过键合不同极性的基团而改变其极性，如硅胶表面键合的基团若为氨基或腈基，则用于正相色谱。

#### (3) 溶剂系统

分配色谱中的固定相和移动相多采用复合两相溶剂系统。常用纸色谱摸索具体的分离条件

#### (4) 被分离物质：

#### (5) 操作技术

1) 装柱：固定相和支持剂以0.5:1-1:1的用量置于一定容器内，搅拌均匀，抽滤除去多余的 固定相；倒入所用移动相溶剂中，剧烈搅拌使两相饱和平衡。先将饱和后的移动相溶剂加入 色谱柱内，再加入吸着固定相的支持剂。

2) 加样：支持剂的用量为试样量的100-1000倍

3) 洗脱；

#### (6) 特点

(7) 适用范围：正相色谱用于分离极性较大的成分；反相色谱分离极性较小的脂溶性化合物。

(8) 提示：操作前，必须使固定相与移动相预饱和。实验过程保持恒温，合理控制上样量

### 3、离子交换色谱

是一种利用离子交换树脂上的功能基能在水溶液中与溶液的其他离子进行可逆性交换的性质，以离子交换树脂作为固定相，使混合成分中离子型与非离子型物质、或具有不同离解度的离子化合物得到分离的一种色谱方法

#### (1) 基本原理

离子交换树脂是一类含有解离性功能基团的特殊高分子化合物，一般呈球形或无定型粒状

离子交换色谱是以离子交换树脂为固定相，以水或含有机溶剂的缓冲液为流动相。离子交换色谱的原理可用下列平衡式表示：

#### (2) 离子交换树脂的选择

①被分离物质带正电荷（如生物碱盐），选择阳离子交换树脂；若带负电荷（如有机酸），选择阴离子交换树脂

②被分离物质的解离能力强，酸碱性强，选用弱酸型或弱碱型离子交换树脂，以免洗脱和再生困难，反之选择强酸型或强碱型离子交换树脂

③若被分离物质的分子量大，选择低交联度的树脂，分子量小，选择交联度高的树脂

④一般的色谱分离，树脂粒度：200-400目之间提取离子

性成分，树脂粒度：100目左右 制备去离子水，粒度16-60目之间

### (3) 操作技术

1) 树脂的预处理：由于市售的树脂通常含有可溶性小分子有机物和铁、钙等杂质，故使用前须进行预处理。预处理是用水反洗除去树脂中的机械杂质，再经酸、碱处理除去可溶物，并用相应的试剂将树脂转为基准型。

#### 步骤

阳离子交换树脂：酸 碱 酸

阴离子交换树脂：碱 酸 碱

氢氧化钠溶液：称取40g化学纯氢氧化钠，加入少量纯水溶解后，稀释至1000mL。

盐酸溶液：量取84mL 化学纯盐酸，稀释至1000mL。

氯化钠溶液：称取59g 化学纯氯化钠，加入少量纯水溶解后，稀释至1000mL。

纯水：电导率(25℃)小于 $2\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

0.1%甲基橙指示液

1%酚酞指示液

5%硝酸银指示液：称取5g 硝酸银，溶于95g 纯水中。

#### 反洗

取50mL 试样，置于交换柱中，用纯水或自来水进行反洗，试样展开率为50%~100%，直至试样中无可见机械杂质并出水澄清为止。

#### 试样的酸碱处理

在预处理装置中进行，依次用50mL盐酸溶液、100mL 纯水、50mL氢氧化钠溶液和100mL 纯水，自上而下通过树脂层。试剂流量为 $1.8\sim 2.0\text{mL}/\text{min}$ ，纯水流量为 $10\text{mL}/\text{min}$ 。在每次转换试剂时，使液面高出树脂层1cm，保证树脂层中无气泡。此操作进行2 次

#### 基准型试样的制备(在预处理装置中进行)

强酸性阳离子交换树脂：用400mL氯化钠溶液通过树脂层，流量为 $13\sim 14\text{mL}/\text{min}$ 。然后用 纯水洗涤，直至用硝酸银指示液检验流出液中无白色沉淀时停止洗涤。将柱中试样全部转入清洁的广口瓶里待用。

弱酸性阳离子交换树脂：用400mL 盐酸溶液通过树脂层，流量为 $6\sim 7\text{mL}/\text{min}$ 。然后用纯水洗涤，直至用甲基橙指示液检验流出液呈黄色时停止洗涤。将柱中试样全部转入清洁的广 口瓶里待用。

强碱性阴离子交换树脂：用400mL 盐酸溶液通过树脂层，流量为 $13\sim 14\text{mL}/\text{min}$ 。然后用纯水洗涤，直至用甲基橙指示液检验流出液呈黄色时停止洗涤。将柱中试样全部转入清洁的 广口瓶里待用。

弱碱性阴离子交换树脂：用400mL氢氧化钠溶液通过树脂层，流量为 $6\sim 7\text{mL}/\text{min}$ 。然后用 纯水洗涤，直至用酚酞指示液检验流出液为无色时停止洗涤。将柱中试样全部转入清洁的广口瓶里待用。

2) 欲将更多的试样转为基准型，所用试剂也相应地成比例增加即可。装柱

树脂用蒸馏水充分浸泡，溶胀，赶净气泡，清洗至上层液透明，溶胀后的树脂加少量水搅拌，连续倒入色谱柱中，打开活塞，缓缓放出水液，使树脂均匀下沉。

#### 3) 上样

将试样溶于适当溶液中配成浓度较稀的的试样液，将试样液加入柱内，打开活塞，至试样溶液流出后，用蒸馏水冲洗树脂柱，将残液洗净。

#### 4) 洗脱

常用的洗脱剂有酸、碱、盐的水溶液或各种不同离子浓度的缓冲液等。洗脱速度通常为1-2mL/min

#### 5) 再生

方法基本同预处理

钠型强酸性阳树脂：可用10%NaCl 溶液再生，用药量为其交换容量的2倍（用NaCl量为117g/升树脂）；

氢型强酸性树脂：用强酸再生，用硫酸时要防止被树脂吸附的钙与硫酸反应生成硫酸钙 沉淀物。为此，宜先通入1~2%的稀盐酸再生。

氯型强碱性树脂，主要以NaCl 溶液来再生，但加入少量碱有助于将树脂吸附的色素和有机物溶解洗出，故通常使用含10%NaCl + 0.2%NaOH 的碱盐液再生，常规用量为每升树脂用150~200g NaCl ，及3~4g NaOH。

OH型强碱阴树脂：则用4%NaOH溶液再生。

4、一些脱色树脂（特别是弱碱性树脂）宜在微酸性下工作。此时可通入稀盐酸，使树脂 pH 值下降至6左右，再用水正洗，反洗各一次。

#### (4) 特点

树脂可反复使用，离子交换过程可逆，应用范围广

#### (5) 适用范围

具有分离能力的酸性、碱性及两相化合物，如生物碱、氨基酸、有机酸、酚类、肽类等

#### (6) 提示

阳离子交换树脂，样品量可加至全交换容量的1/2。

阴离子交换树脂，样品量可加至全交换容量的1/3-1/4。

离子交换树脂的保管：

在新树脂使用前与旧树脂停用时，均采用适当的保管措施，否则会直接影响树脂的使用寿命，和其交换容量。树脂在出厂时，其含水量是饱和的，在贮存保管过程中，必须防止水分消失。如发现树脂变干时，切忌将树脂直接置于水中浸泡，而应将它置于饱和食盐水中浸泡，使树脂缓慢膨胀，然后再逐渐稀释食盐溶液。树脂的贮存时间不易过长，最好不要超过 一年。尤其是阴离子交换树脂可能因交换基因的分解，而降低树脂的交换容量。

防止树脂受冻和受热。一般贮存树脂的环境温度为5-40℃。若在0℃以下，会使树脂内水分冰冻，影响质量。若温度低于5℃，又无保温条件，这时可根据食盐溶液与冰冻点的关系，选用一定的浓度的食盐溶液，将树脂置于其中浸泡，使之达到防冻的目的。

#### (2) 凝胶的种类及性能

商品凝胶的种类很多，常用的有葡聚糖凝胶和羟丙基葡聚糖凝胶。

葡聚糖凝胶具有亲水性，但不溶于水、稀酸、碱和盐溶液，能在水中溶胀成胶粒，在pH3-10内稳定，适用分离水溶性成分如蛋白质、肽、氨基酸、糖及苷类等，应用最为广泛。

羟丙基葡聚糖凝胶（Sephadex LH-20）是葡聚糖凝胶G-25经羟丙基化处理得到的产物。此时，羟丙基代替了葡聚糖分子中羟基上的氢，成醚键结合状态：

LH-20在pH>2的无氧化剂溶液中呈稳定状态，应用范围较广，不仅可以分离水溶性化合物，还可用于分离一些难溶于水或具有一定程度亲脂性的化合物，如黄酮、蒽醌、香豆素等。

#### 3) 聚丙烯酰胺凝胶（pH2-10）：

聚丙烯酰胺凝胶（PAM）是一种人工合成凝胶，是以丙烯酰胺为单位，由甲叉双丙烯酰胺交联成的，经干燥粉碎或加工成形制成粒状，即丙烯酰胺和少量交联剂甲叉双丙烯酰胺，在催化剂过硫酸铵作用下聚合形成凝胶，分子量100~500万。控制交联剂的用量可制成各种型号的凝胶。交联剂越多，孔隙越小。

聚丙烯酰胺凝胶的商品为生物胶—P（Bio-Gel P），有两种商品形式，一种是粉末状的

，另一种是胶体，还有聚丙烯酰胺乳液。

聚丙烯酰胺易溶于冷水，速度很慢，高分子量的聚丙烯酰胺当浓度超过10%以后，就会形成凝胶状结构。提高温度可以稍微促进溶解，但温度不得超过50℃，以防发生分子降解。

难溶于有机溶剂。

适合蛋白和多糖的纯化。

#### 5) 琼脂糖凝胶：

琼脂糖 Agarose，缩写为 AG，是琼脂中不带电荷的中性组成成份，也译为琼胶素或琼胶糖。

把琼脂糖，即几乎不含硫酸根的主要成分为多糖的琼脂，溶于热水，冷却制成的凝胶就是琼脂糖凝胶。琼脂糖凝胶是依靠糖链之间的次级链如氢键来维持网状结构，网状结构的疏密依靠琼脂糖的浓度。一般情况下，它的结构是稳定的，可以在许多条件下使用（如水，pH4-9范围内的盐溶液）。琼脂糖凝胶在40℃以上开始融化，也不能高压消毒，可用化学灭菌活处理。

适于用sephadex不能分级分离的大分子的凝胶过滤，若使用5%以下浓度的凝胶，也能够分级分离细胞颗粒、病毒等。利用其吸附性小的特点，有时用它代替琼脂、以作为免疫电泳或凝胶内沉降反应的支持物。

#### 5) 聚苯乙烯凝胶

商品为Styrogel，具有大网孔结构，可用于分离分子量1600到40000000的生物大分子，适用于有机多聚物，分子量测定和脂溶性天然物的分级，凝胶机械强度高，洗脱剂可用甲基亚砷

#### (3) 操作技术1) 凝

#### 胶的选择

各成分分子量悬殊：选用10-150目粒度较粗的颗粒 各成分

分子量接近：200目左右的粒度

肽类及低分子量的物质的脱盐处理：选用G-10、G15、G-25等凝胶。 大分子

物质中除去小分子物质：选择交联度较大是型号，反

#### 2) 凝胶的浸泡溶胀

商品凝胶是干燥的颗粒使用前需直接在欲使用的洗脱液（相当于其吸水量的10倍）中膨胀。为了加速膨胀，可用加热法，即在沸水浴中将湿凝胶逐渐升温至近沸，这样可大大中速膨胀，通常在1-2小时内即可完成。特别是在使用软胶时，自然膨胀需24小时至数天，而用加热法在几小时内就可完成。这种方法不但节约时间，而且还可消毒，除去凝胶中污染的细菌和排除胶内的空气。

#### 3) 装柱

采用湿法装柱，填充时需排除气泡，填充后用相同洗脱剂以2-3倍总体积稳定柱长。 4) 加样

#### 5) 洗脱

常选用水、酸、碱、盐和缓冲液等作为洗脱剂，LH-20还可选用各种有机溶剂。控制适当流速

#### 6) 再生

通常在50℃左右用含2%NaOH，和4%NaCl的混合液浸泡，再用蒸馏水洗净

#### (4) 特点

设备简单，易于操作，分离效果好，但分离速度较慢。

#### (5) 适用范围

凝胶色谱法在中药化学成分分离纯化工作中被广泛应用，尤其是一些大分子化合物如蛋白质、酶、多肽、甙体、多糖、苷类等的分离，效果较好。另外还可用于脱盐、吸水浓缩、除热源及粗略测定高分子物质的分子量等方面。

#### (6) 提示

制备的凝胶浆不能过稀，易造成装柱时不均匀

用0.2%蓝色葡聚糖加洗脱液配制成溶液通过柱床，判断填充的均匀程度。 试样上

#### 柱前要预处理

品溶液如有沉淀应过滤或离心除去，如含脂类可高速离心或通过Sephadex G-15短柱除去。

样品的粘度不可大，含蛋白为超过4%，粘度高影响分离效果。上柱样品液的体积根据凝胶床体积的分离要求确定。分离蛋白质样品的体积为凝胶床的1-4%（一般约0.5-2ml），进行分族分离时样品液可为凝胶床的10%，在蛋白质溶液除盐时，样品可达凝胶床的20-30%。分级分离样品体积要小，使样品层尽可能窄，洗脱出的峰形较好。

若组分对热不稳定，需进行冷冻干燥防止微生物的污染

交联葡聚糖和琼脂糖都是多糖类物质，防止微生物的生长，在凝胶层析中十分重要，常用的抑菌剂有：

##### (1) 叠氮钠 ( $\text{NaN}_3$ )

在凝胶层析中只要用0.02%叠氮钠已足够防止微生物的生长，叠氮钠易溶于水，在20℃时约为40%；它不与蛋白质或碳水化合物相互作用，因此叠氮钠不影响抗体活力；不会改变蛋白质和碳水化合物的层析特性。

##### (2) 可乐酮 [ $\text{Cl}_3\text{C}-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$ ]

在凝胶层析中使用浓度为0.01-0.02%。在微酸性溶液中它的杀菌效果最佳，在强碱性溶液或温度高于60℃时易引起分解而失效。

##### (3) 乙基汞代巯基水杨酸钠

在凝胶层析中作为抑菌剂使用浓度为0.05-0.01%。在微酸性溶液中最有效。重金属离子可使乙基代巯基的物质结合，因而包含巯基的蛋白质可在不同程度上降低它的抑菌效果。

##### (4) 苯基汞代盐

在凝胶层析中使用浓度为0.001-0.01%。在微碱性溶液中抑果最佳，长时间放置时可与卤素、硝酸根离子作用而产生沉淀；还原剂可引起此化合物分解；含巯基的物质亦可降低或抑制它的抑菌作用。

#### 5、大孔吸附树脂

大孔吸附树脂是一种具有多孔立体结构人工合成的聚合物吸附剂，具有较好的吸附性能。它的吸附作用是通过表面吸附、表面电性或形成氢键。

大孔树脂吸附分离技术是采用特殊的吸附剂，选择地吸附其中的有效成分，去除无效成分的一种提取精制的新工艺。

##### (1) 大孔吸附树脂的性质

大孔吸附树脂多为白色的球状颗粒。粒度多为20-60目，通常分为非极性和极性两大类，根据极性大小还可分为弱极性、中等极性和强极性。

常用的为苯乙烯型和丙烯腈型，在树脂合成时根据需要引入极性基团则成为极性树脂从而增强吸附能力。

大孔吸附树脂的理化性质稳定，不溶于酸、碱及有机溶剂。对有机物的选择性较好，不受无机盐类及强离子低分子化合物存在的影响。

##### (2) 大孔吸附树脂的分离原理

吸附性 范德华引力或生成氢键的结果。

筛选原理 本身多孔性结构所决定。

由于吸附和筛选原理，有机化合物根据吸附力的不同及分子量的大小，在大孔吸附树脂上经一定的溶剂洗脱而分开。

##### (1) 有机物与无机物的分离

一般的吸附树脂对溶液中的无机离子没有任何吸附能力，在吸附混合物时，有机物被树脂吸附，无机离子则随水流出，因而很容易将二者分离。在中药成分的提取中，此特征可使提取物中的重金属和

灼烧灰分降至要求的范围内。

## (2) 解离物与非解离物的分离

吸附树脂对有机解离物与非解离物的吸附能力有很大差异。因此，可将二者分离。如有机酸在高pH值成盐，很难被吸附，因此在碱性条件下可把有机酸分离出来。生物碱在酸性介质中可以成盐，因而能通过调节pH值进行分离。

## (3) 一般有机物与强水溶性物质的分离

一般有机物，包括大多数中药有效成分，是指有一定的水溶性，但溶解度不大的物质，这些物质容易被树脂吸附。强水溶性物质如低级醇类、低级胺类、糖及多糖、多数氨基酸、肽类、蛋白质等，难被普通吸附树脂吸附。用普通树脂可很容易地将此两类物质分离。

## (4) 大孔吸附树脂分离条件的确立

### 1、树脂的选择

首先，要根据被分离化合物的分子体积的大小通过预实验确定适当孔径的树脂。

其次，要根据分子中是否含有酚羟基、羧基或碱性氮原子来确定树脂的型号和分离条件。

### 2、洗脱液的选择

对非极性大孔吸附树脂，洗脱剂极性越小，洗脱能力越强。对中等极性大孔树脂和极性较大的化合物来说，则用极性较大的洗脱剂为佳。

根据吸附力强弱选用不同的洗脱剂及浓度。为达到满意的效果，可通过几种洗脱剂浓度的比较来确定最佳洗脱浓度。实际工作中甲醇、乙醇、丙酮应用较多。

## (5) 大孔吸附树脂在中药生产中的应用的优点

### 1、缩小剂量，提高制剂的内在质量

大孔吸附树脂处理可减少提取物中的杂质，提高有效成分的含量，使制剂剂量减小，有利于制成现代剂型的中药制剂，并便于质量控制。

### 2、减小产品的吸湿性

传统的提取方法所提的中成药大部分具有较强的吸潮性，是中药生产及储藏中长期存在的问题。而经大孔吸附树脂处理可有效去除吸潮成分，增强产品的稳定性。

3、有效去除重金属 既保证了患者的用药安全，同时也解决了中药重金属超标的难题，为中药进入国际市场创造了条件。

## (6) 大孔吸附树脂在中药生产中的应用

(1) 活性成分的提取分离 如皂甙（人参总皂甙、菝葜总皂昔）、黄酮（葛根总黄酮、山楂总黄酮、淫羊藿总黄酮）、内酯、生物碱等化合物；

## (2) 质量标准制定

除去干扰成分，如金向群等在用薄层扫描法测定益寿永真口服液中人参皂甙Rg1的含量时，用YPR<sub>1</sub><sup>II</sup>型大孔吸附树脂对样品进行处理，70%乙醇的洗脱液即为含人参皂甙Rg1的流分，由于去除了人参皂甙Rg1的色谱位置的干扰成分，可进行薄层扫描来确定人参皂甙Rg1的含量，为复方中的人参皂甙Rg1的含量测定提供了一个简便可行的方法。

## (7) 大孔吸附树脂的处理

市售大孔吸附树脂一般含有未聚合的单体、致孔剂（多为长碳链的脂肪醇类）、分散剂和防腐剂等杂质，使用前必须经过处理。

处理方法是：采用乙醇湿法装柱，随用乙醇在柱上作流动清洗，并不时检查流出的乙醇，直至流出的乙醇液与水混合不呈现白色乳浊现象即可，然后用大量蒸馏水洗去乙醇。

## (8) 大孔吸附树脂柱色谱

样品一般用水溶液上柱。洗脱时根据吸附作用强弱不同选用不同浓度的甲醇、乙醇等含水溶剂，直至纯的甲醇、乙醇，乃至丙酮、乙酸乙酯等。对非极性大孔吸附树脂，洗脱溶剂极性越小，洗脱能力越强。对于中等极性的大孔吸附树脂和极性较大的化合物来说，则以用极性较大的溶剂为宜。

## (二) 薄层色谱法

是一种在平面载板上均匀涂布适宜的固定相形成一薄层，将要分离的试样于薄层板上点样，随着移动相溶剂进行展开，混合物中各成分获得分离。

### (1) 基本原理

与柱色谱法的原理基本一致，常用的有吸附薄层色谱和分配薄层色谱

#### 常用参数

①比移值：在0.2-0.7为宜，最佳范围是0.3-0.5

②相对比移值： $R_r$ ，可以大于1也可以小于1

③分离度： $R=2(L_2-L_1)/(W_1+W_2)$ ， $R>1$ 较适宜

④分离数（SN）：在相邻斑点的分离度为1.177时，在 $R_f=0$ 和 $R_f=1$ 两种组分斑点之间能容纳的色谱斑点数。

$$SN = L_0 / (b_0 + b_1) - 1$$

式中 $b_0$ 和 $b_1$ 分别为薄层扫描所得的 $R_f=0$ 和 $R_f=1$ 的组分的半峰宽

SN越大，表面的容量越大，一般薄层板的SN为7-10，高效薄层板的SN为10-20

### (2) 薄层色谱的分类

吸附薄层色谱法：固定相为吸附剂的薄层色谱法

该法中，分配系数大，则在板上移动速度慢，比移值小，反之则较大。一般极性大的组分移动速度慢，极性小的组分移动速度快

分配薄层色谱法：利用试样中各组分在固定相与流动相之间的分配系数的不同，各组分在板上的迁移速度不同而获得分离的方法，一般，分配色谱的固定相是液体，吸留在载体上

#### (2) 常用吸附剂

氧化铝、硅胶、硅藻土、聚酰胺、纤维素

#### (3) 展开剂的选择

吸附薄层色谱过程是组分分子与展开剂分子争夺吸附剂表面活性中心的过程，展开剂选择是薄层分离成功的重要条件之一。

若分离某些酸性或碱性成分，可在所选溶剂中加入少量的酸（如甲酸、乙酸）或碱（如氨水、二乙胺），或将一小杯挥发性酸或碱放置色谱缸内，以提高效率。

#### (4) 显色的方法

常用紫外线照射法、喷雾显色法、碘蒸气显色法

#### (5) 操作技术

载板：玻璃板、塑料膜或铝箔

软板：不加黏合剂，吸附剂直接涂铺于载板上制作而成

硬板：将吸附剂加黏合剂或溶剂调成糊状后涂铺于载板上制作而成

常用黏合剂：羧甲基纤维素钠（CMC-Na，0.5%-1%）和煅石膏（ $CaSO_4 \cdot 1/2H_2O$ ）

铺板方法：倾注法、平铺法、机械图铺法

板的活化：自然干燥后进行

硅胶板：100-105℃活化30-60分钟

氧化铝板：150-160℃活化4小时获得III-IV级活性的薄板；在200℃活化4小时获得II级活性的薄板

### 3) 点样

①配制样品溶液：先配制成高浓度的（约5%）使用时再稀释到1%-0.01%

②配制样品的溶液应与展开剂相近或易于挥发，尽量避免使用水

③点样处距底边1-1.5cm

- ④试样点直径不大于2-3cm
- ⑤样品的间隔在0.5-1.0cm
- ⑥各斑点要在同一水平线上，可用电吹风来除去原点残留的溶剂

#### 4) 展开

- ①在密闭的色谱缸内进行
- ②常用展开方法：上行、下行、近水平、环形单项二次展开等上行展开

又分倾斜上行与垂直上行二法。溶剂放在槽的底部，薄层点有试样的一端向下，使溶剂因毛细管作用被向上吸动，移过薄层。要注意不使试样点浸入于流动相溶剂中。倾斜上行法最为常用，薄层板上端垫高，使板与水平面约呈20-30°角度。垂直上行法仅适用于粘合剂的薄层板，板与槽底成直角或接近直角。当溶剂移动规定的距离或行至近于板的上端时即为展开完毕，取出挥干溶剂，进行定位观察

下行展开  
也可有倾斜下行与垂直下行两种。点有试样的一端在上，并用滤纸吸引流动相溶剂自板上端向下移动。这种展开方式对移动距离小的组分分离有利，可不受展开距离限制，可使溶剂不断自板下端流出，以加大组分移动距离。

#### 双向展开

又称二维展开，即在两个不同方向展开两次。试样点在方形薄层板的一角，按正常展开一次之后，将板取出，挥干溶剂，转动90度，再用同一溶剂或另一溶剂系统沿另一方向展开，如此可得较好分离，但一块板上只能点一个试样点。此法一般仅用于难分离或组分复杂试样的分高

#### 其他方法

除上述展开方法外，还有一些其他展开方式，如圆心展开法，试样点在圆心附近，流动相自圆心处加入，向圆周移动径向展开法，将试样点两边的吸附剂刮去一部分，使展开剂在向上移动经过原点时受到限制，然后再向前移动，得到与圆心展开相似的效果；

三角形展开法为将薄层板上吸附剂划成三角形，试样点在三角形底边部分，溶液向上移动时，由于顶部尖窄，组分斑点比较集中，对移动距离大的组分较为有利，可提高检测灵敏度。

向心展开法将试样点在圆形薄层的圆周，溶剂自圆周向圆心移动，效果与三角形展开相仿，使用这种展开方式，需有专门设备，一般只用于高效薄层色谱。

此外，对不易分离的混合物，还有多次展开或程序多次展开方式，即展开一次后，待溶剂挥干，再用同一溶剂或另一系统沿同方向展开，如此重复多次，展开距离可以逐次递增，也可保持恒定，可得较好效果。

#### 展开剂

所用溶剂可为单一溶剂，也可为几种溶剂的混合液。展开剂的选择还是经验式的，主要根据被分离组分的性质（如极性、溶解度等）及吸附剂的性质而定。在正相色谱法中，使用极性小的有机溶剂为展开剂，吸附剂或亲水性物质分配色谱为固定相。极性大的溶剂能使组分移动较大距离，因此可以用不同极性溶剂如三氯甲烷与甲醇、己烷与乙酸乙酯等按不同比例配制几种展开剂，比较分离效果。也可再加入第三或第四种溶剂，进而选出较好的展开系统。在反相色谱法中，固定相为极性小的或非极性物质，如烃类或烷基键合相等，而以亲水性的极性大的溶剂为流动相。此时情况恰与以上相反，极性大的组分移动在前，常用不同比例的水-甲醇或水-乙腈为展开剂，有时再加入一些其他物质以改进分离在

- ③展开前展开缸需预饱和片刻
- ④薄层板需在缸内支架上饱和20-30分钟，之后再下端浸入展开剂中0.5cm深处
- ⑤展开完成后可自然挥干、热风吹干、烘箱烘干等

#### 5) 显色

- ①在日光下观察，划出有色物质的斑点位置
- ②在紫外灯（254nm或365nm）下观察
- ③荧光薄层板检测，适用于有紫外吸收物质

④既无色又无紫外吸收的物质，可采用显色剂显色

通用显色剂：

碘：对许多有机化合物都可显色，显色反应可逆

10%硫酸乙醇溶液：使大多数有机化合物呈有色斑点，被炭化的化合物常出现荧光

0.05%荧光黄甲醇溶液：芳香族与杂环化合物的通用显色剂

常用化合物薄层色谱显色剂

6) 计算比移值

(6) 特点

(7) 适用范围

广泛用于天然药物化学成分的分​​离鉴定、定量分析、微量制备等。

(8) 提示

(三) 纸色谱法

系指以滤纸为支持剂，滤纸是上吸着的水为固定相，用一定的溶剂系统为移动相进行展开，利用混合物中各成分分配系数的差异而达到分离的一种分配色谱法

纸色谱原理

滤纸由纤维素组成，通常它可以吸附20%的水，其中约6%的水是与纤维素结合成复合物，构成纸色谱的固定相。而流动相为不与水相溶的有机溶剂。这样的纸色谱法属于分配色谱。在纸色谱分离过程中，由于滤纸纤维素的毛细管现象，使溶剂在纸上渗透展开(development)，这样样品组分在两相中作反复多次分配达到分离。

(1) 操作技术

1) 的选滤纸择

层析滤纸由高纯度的棉花制成，它与普通滤纸的差别在于滤纸的质量，包括杂质的含量。对滤纸总的要求是“均匀、紧密、纯净”。

商品层析滤纸分为快速、中速、慢速；以及厚薄型等规格。中速薄型层析滤纸，如新华 2#层析滤纸适合一般用途分离。

滤纸的形状可以是长条、方形和圆形等。

2) 点样：与薄层色谱法类似

3) 展开

展开剂的选择，对纸色谱分离来说是起决定作用的。应根据分离对象、溶剂的性质选择展开剂。通常采用二元或三元溶剂系统，以保证样品在展开剂中有一定的溶解度和足够的分离度。如分离氨基酸可采用正丁醇-醋酸-水(12:3:5)三元展开剂系统。

纸色谱法展开必须在一密闭容器中(纸色谱管、色谱圆缸、具盖的标本瓶)进行。展开前，应先将溶剂置于容器内，使其为溶剂蒸气充分饱和。必要时，容器内壁应衬滤纸，以保持层析室的溶剂蒸气饱和。

上行法：将滤纸上端挂起，下端浸入展开剂展开。

下行法：将滤纸上端折纹浸入展开剂中，向下方展开。

辐射法：展开剂由圆形滤纸中央向四周展开。

双向展开法：先后用两种不同的展开剂在垂直方向展开

4) 显色

纸色谱展开完毕后，应用笔画下展开剂前沿，并将滤纸风干。先用日光或紫外灯光下观察，标记位置。对无色物质需要显色确定组分斑点的位置，通常采用特定的显色剂喷湿滤纸显色。如茚三酮显色剂鉴别氨基酸；硝酸银显色剂鉴别糖类物质；亚铁氰化钾溶液鉴别某些金属离子等。

5) 计算比移值

(2) 特点

### (3) 适用范围

亲水性化合物的分离

### (4) 提示

实际工作中常用于定性鉴别及提取分离过程中有效成分的跟踪监测

## (四) 高效液相色谱法

也称高压液相色谱仪、高速效液相色谱法。特指一种用液体为流动相的色谱分离分析方法。它在经典色谱理论的基础上,采用了高压泵、化学键合固定相高效分离柱、高灵敏专用检测器等新实验技术建立的一种液相色谱分析法。

### (1) 基本原理

根据被分离物质中各组分在固定相及流动相中的吸附能力、分配系数、离子交换作用或分子量大小的差异而获得分离。可分为;

分配色谱法、吸附色谱法、离子交换色谱法、凝胶滤过色谱法(空间排阻色谱法)

按固定相的聚集状态也可分为液液色谱法和液固色谱法两大类

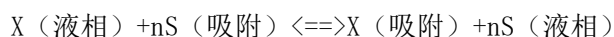
#### 1) 液-固色谱法(液-固吸附色谱法)

固定相是固体吸附剂,它是根据物质在固定相上的吸附作用不同来进行分配的。

##### ①液-固色谱法的作用机制

吸附剂:一些多孔的固体颗粒物质,其表面常存在分散的吸附中心点。

流动相中的溶质分子X(液相)被流动相S带入色谱柱后,在随载液流动的过程中,发生如下交换反应:



其作用机制是溶质分子X(液相)和溶剂分子S(液相)对吸附剂活性表面的竞争吸附。吸附反应的平衡常数K为:

K值较小:溶剂分子吸附力很强,被吸附的溶质分子很少,先流出色谱柱。 K值较

大:表示该组分分子的吸附能力较强,后流出色谱柱。

发生在吸附剂表面上的吸附-解吸平衡,就是液-固色谱分离的基础。

##### ②液-固色谱法的吸附剂和流动相

常用的液-固色谱吸附剂:薄膜型硅胶、全多孔型硅胶、薄膜型氧化铝、全多孔型氧化铝、分子筛、聚酰胺等。

一般规律:对于固定相而言,非极性分子与极性吸附剂(如硅胶、氧化铝)之间的作用力很弱,分配比k较小,保留时间较短;但极性分子与极性吸附剂之间的作用力很强,分配比k大,保留时间长。

对流动相的基本要求:

试样要能够溶于流动相中流动

相粘度较小

流动相不能影响试样的检测

常用的流动相:甲醇、乙醚、苯、乙腈、乙酸乙酯、吡啶等。

##### ③液-固色谱法的应用

常用于分离极性不同的化合物、含有不同类型或不同数量官能团的有机化合物,以及有机化合物的不同的异构体;但液-固色谱法不宜用于分离同系物,因为液-固色谱对不同相对分子质量的同系物选择性不高。

#### 2) 液-液色谱法(液-液分配色谱法)

将液体固定液涂渍在担体上作为固定相。

##### ①液-液色谱法的作用机制

溶质在两相间进行分配时,在固定液中溶解度较小的组分较难进入固定液,在色谱柱中向前迁移速度较快;在固定液中溶解度较大的组分容易进入固定液,在色谱柱中向前迁移速度较慢,从而达到分离的目的。

液-液色谱法与液-液萃取法的基本原理相同，均服从分配定律： $K=C_{固}/C_{液}$   $K$ 值大的组分，保留时间长，后流出色谱柱。

### ②正相色谱和反相色谱

正相分配色谱用极性物质作固定相，非极性溶剂（如苯、正己烷等）作流动相。

反相分配色谱用非极性物质作固定相，极性溶剂（如水、甲醇、己腈等）作流动相。一般地，正相色谱是固定液的极性大于流动相的极性，而反相色谱是固定相的极性小于流动相的极性。正相色谱适宜于分离极性化合物，反相色谱则适宜于分离非极性或弱极性化合物。

### ③液-液色谱法的固定相

常用的固定液为有机液体，如极性的 $\beta'$ -氧二丙腈（ODPN），非极性的十八烷（ODS）和异二十烷（SQ）等。

缺点：涂渍固定液容易被流动相冲掉。

采用化学键合固定相则可以避免上述缺点。

使固定相与载体之间形成化学键，例如在硅胶表面利用硅烷化反应：形成Si-O-Si-C型键，把固定液的分子结合到担体表面上。

优点：

化学键合固定相无液坑，液层薄，传质速度快，无固定液的流失。固定液上

可以结合不同的官能团，改善分离效能。

固定液不会溶于流动相，有利于进行梯度洗提。

### ④液-液色谱法的应用

液-液色谱法既能分离极性化合物，又能分离非极性化合物，如烷烃、烯烃、芳烃、稠环、染料、留族等化合物。化合物中取代基的数目或性质不同，或化合物的相对分子质量不同，均可以用液-液色谱进行分离。

### 3) 离子交换色谱法

原理：离子交换色谱法是基于离子交换树脂上可电离的离子与流动相中具有相同电荷的 被测离子进行可逆交换，由于被测离子在交换剂上具有不同的亲和力（作用力）而被分离。

#### ①离子交换色谱法的作用机制

聚合物的分子骨架上连接着活性基团，如： $-SO_3^-$ ， $-N(CH_3)_3^+$ 等。为了保持离子交换树脂的电中性，活性基团上带有电荷数相同但正、负号相反的离子X，称为反离子。活性基团上的反离子可以与流动相中具有相同电荷的被测离子发生交换。

#### ②溶剂和固定相

两种类型：多孔性树脂与薄壳型树脂。

多孔性树脂：极小的球型离子交换树脂，能分离复杂样品，进样量较大；缺点是机械强度不高，不能耐受压力。

薄壳型离子交换树脂：在玻璃微球上涂以薄层的离子交换树脂，这种树脂柱效高，当流动相成分发生变化时，不会膨胀或压缩；缺点是但柱子容量小，进样量不宜太多。

#### ③离子交换色谱法的应用

主要用来分离离子或可离解的化合物，凡是在流动相中能够电离的物质都可以用离子交换色谱法进行分离。

广泛地应用于：无机离子、有机化合物和生物物质(如氨基酸、核酸、蛋白质等)的分离。

### 4) 凝胶色谱法（空间排阻色谱法）

凝胶是一种多孔性的高分子聚合体，表面布满孔隙，能被流动相浸润，吸附性很小。凝胶色谱法的分离机制是根据分子的体积大小和形状不同而达到分离目的。

#### ①凝胶色谱法的作用机制

体积大于凝胶孔隙的分子，由于不能进入孔隙而被排阻，直接从表面流过，先流出色谱柱；小分子可以渗入大大小小的凝胶孔隙中而完全不受排阻，然后又从孔隙中出来随载液流动，后流出色谱柱；中等体积的分子可以渗入较大的孔隙中，但受到较小孔隙的排阻，介乎上述两种情况之间。

凝胶色谱法是一种按分子尺寸大小的顺序进行分离的一种色谱分析方法。

## ②凝胶色谱法的固定相

软质凝胶、半硬质凝胶和硬质凝胶三种。

## ③凝胶色谱法的应用特点

保留时间是分子尺寸的函数，适宜于分离相对分子质量大的化合物，相对分子质量在 $400 \sim 8 \times 10^5$ 的任何类型的化合物。

保留时间短，色谱峰窄，容易检测。

固定相与溶质分子间的作用力极弱，趋于零，柱的寿命长。

不能分辨分子大小相近的化合物，分子量相差需在10%以上时才能得到分离。

## (2)高效液相色谱仪的基本构造输液泵

操作注意事项：

防止固体微粒进入泵体

流动相不应含有腐蚀性物质 防止溶剂瓶内的流动相被用完不超过规定的最高压力

流动相一般应该先脱气二、分离和进样系统

进样器

进样阀（六通阀）、自动进样装置色谱柱

由柱管和固定相组成分析柱、制备柱

## 三、检测系统

### 紫外检测器 检测原理：

朗伯—比尔 (Lambert-Beer) 定律，响应信号（吸光度）与浓度成正比 $A=\epsilon C l$  特点：  
灵敏度较高（ $10^{-6}$ — $10^{-9}$  g/ml），噪音低，线性范围宽，稳定性好，适于梯度，不破坏样品，应用广（分析、制备）。局限：

只能检测有紫外吸收的物质，流动相的截止波长应小于检测波长。 专属型、浓度型检测器

固定波长检测器：254nm 可变波

长检测器：

光源：氘灯（和钨灯）， 200-400（800）nm，单色器，流通池（试样），光电管光路系统和紫外分光光度计相似

光电二极管阵列检测器：

一系列光电二极管，一个二极管对应接受光谱上约1nm谱带宽的单色光

光电二极管阵列检测器

工作原理：复光通过流通池，再进入单色器，分光后照射在二极管阵列装置上，同时获得各波长的信号强度，即获得组分的吸收光谱。获得三维光谱—色谱图。

用途：吸收光谱用于组分的定性，色谱峰面积用于定量，判断峰纯度。

荧光检测器

检测原理：

化合物受紫外光激发后，发射出比激发光波长更长的光，称为荧光； 特点：  
选择性好，专属型检测器

灵敏度比紫外检测器高（检测限 $10^{-10}$  g/ml）激发波

长( $\lambda_{ex}$ )和发射波长( $\lambda_{em}$ )的选择

## 四、数据记录处理系统

### (3) 特点

具有高压、高速、高分离效能、操作自动化、检测范围广

### (4) 适用范围

适于溶解后能制成溶液的样品（包括有机介质溶液），不受样品挥发性和热稳定性的限制，对分子量大、难气化、热稳定性差的生化样品及高分子和离子型样品均可检测用途广泛，占有有机物的80%

### (5) 提示

流动相需达到色谱纯流动

相需过滤、抽气

每次由有机相变流动相或流动相变有机相均需用重蒸馏水清洗

## (五) 气相色谱法

简称GC，以气体为流动相的柱色谱分离技术

气相色谱的流动相种类很少，主要是惰性气体氮气或氦气，有时也用氩气或氢气。样品在固定相中的保留主要是吸附和分配机理。

### (1) 基本原理

气固色谱、气液色谱

气相色谱中被分离物随着载气的流动，被测组分在吸附剂表面进行吸附，脱附，再吸附，再脱附这样反复的过程不同物质在色谱柱中的保留时间不同而达到分离的目的。

气-液色谱中被分离物随着载气的流动，被测组分在固定液中进行溶解，挥发，再溶解，再挥发的过程，使不同物质在色谱柱中的保留时间不同而达到分离的目的。

在一定温度下，组分在两相之间分配达到平衡时的浓度（ $g \cdot mL^{-1}$ ）比称为分配系数，以K表示。

待测组分在固定相和流动相之间发生的吸附，脱附或溶解，挥发的过程叫做分配过程。分配系数K是由组分及固定液的热力学性质决定的，随柱温，柱压变化，与柱中气相、液

相的体积无关。

当 $K=1$ 时，组分在固定相和流动相中浓度相等；

当 $K>1$ 时，组分在固定相中的浓度大于在流动相中的浓度；当 $K<1$ 时，组分在固定相中的浓度小于在流动相中的浓度。

不同物质的分配系数相同时，它们不能分离。

色谱柱中不同组分能够分离的先决条件是其分配系数不等。

分配系数K小的组分：在气相中停留时间短，较早流出色谱柱。

分配系数大的组分：在气相中的浓度较小，移动速度慢，在柱中停留时间长，较迟流出 色谱柱。

两组分分配系数相差越大，两峰分离的越好。气-液色谱的固定相：

涂渍在惰性多孔固体基质（载体或担体）上的液体物质，常称固定液。

使用过的气-液色谱固定液上千种，常用的固定液有聚二甲基硅氧烷、聚乙二醇、含5%或20%苯基的聚甲基硅氧烷、含氰基和苯基的聚甲基硅氧烷、50%三氟丙基聚硅氧烷，另外，用于分离手性异构体的手性固定相则主要有手性氨基酸的衍生物、手性金属配合物和环糊精衍生物。

常用的基质：无机载体（如硅藻土、玻璃粉末或微球、金属粉末或微球、金属化合物）和有机载体（如聚四氟乙烯、聚乙烯、聚乙烯丙烯酸酯）。

## 2. 气-固色谱

常用的固体吸附剂有碳质吸附剂（活性炭、石墨化碳黑、碳分子筛）、氧化铝、硅胶、无机分子筛和高分子小球。

气-固色谱不如气-液色谱应用广泛，主要用于永久气体和低沸点烃类的分析，在石油化工领域应用很普遍。

### (2) 操作技术

气相色谱仪的构造：分为载气系统、进样系统、分离系统、检测系统

## 一、载气系统

气相色谱仪是一个载气连续运行、气密的气体流路系统。气路系统的气密性、载气流速的稳定性及测量的准确性，都影响色谱仪的稳定性和分析结果。

## 二、进样器

1. 阀进样器-气体样品的进样
2. 隔膜进样器-填充柱液体样品的进样
3. 分流进样器-毛细管柱液体样品的进样

## 三、分离系统

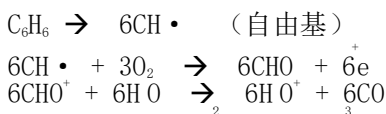
## 四、检测系统

### 1、热导检测器

基于载气和样品的导热系数的差异，并用惠斯登电桥检测。

### 2、氢火焰离子化检测器

含碳有机物在氢火焰中燃烧时，产生化学电离，发生下列反应：



在电场作用下，正离子被收集到负极，产生电流。

### 3、电子捕获检测器

以 $^{63}\text{Ni}$ 或 $^3\text{H}$ 作放射源，当载气（如 $\text{N}_2$ ）通过检测器时，受放射源发射的 $\beta$ 射线的激发与电离，产生一定数量的电子和正离子，在一定强度电场作用下形成一个背景电流（基流）。在此情况下，如载气中含有电负性强 的样品，则电负性物质就会捕捉电子，从而使检测室中的基流减小，基流的减小与样品的浓度成正比。

#### （3）特点

分离效率高、分析速度快、试样用量少，选择性好。

不足：不适宜分离高沸点、热稳定性差、高极性的化合物，柱的载样量较小，无法进行大规模制备性分离。

#### （4）适用范围

具有沸点低，易挥发特性的挥发油成分的分离、鉴定和定量分析

#### （5）提示

根据被分离物质的性质选用适当的固定相

注意开气的顺序、压力以及关气顺序、防止爆炸进样口温度一般高于柱温 $30\text{--}50^\circ\text{C}$ ，以免水汽凝结 使用专用注射器，并快速进样

进样时防止注射器中有气泡

等温度降至 $50^\circ\text{C}$ 以下才能关主机

复习思考题、作业题

下次课预习要点

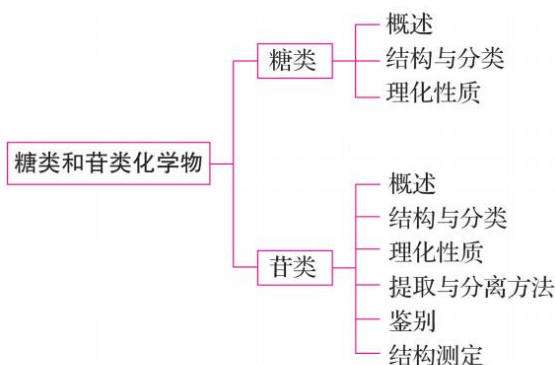
教 学  
后 记



章节名称	第三章 糖和苷		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	6
教学目标	<p><b>知识要求</b>          掌握糖与苷的结构类型、苷键的酸催化水解及其应用          熟悉苷的一般性状和溶解性、旋光性、糖的化学检识；          熟悉苷键的碱催化水解、酶催化水解和苷的提取分离方法          解苷的氧化开裂</p> <p><b>能力要求</b>          熟练应用苷的结构特点、识别苷的结构类型；熟练应用苷的酸水解性，制备苷元及鉴别苷类；能够应用苷和糖的性质进行化学鉴别和色谱鉴别学会利用苷的有关性质对苷进行提取</p> <p><b>职业素质和态度目标</b>          引导学生培养学科兴趣，培养学生学有所成的获得感，不断开拓学生视野，有利于激励学生树立远大志向。</p>		
教学方法	1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。 2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。 3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。		
课程思政元素	通过学习解糖类与苷类化合物的差异苷类化合物的组成，以及传统中药中苷类有效成分的广泛药理作用及临床应用，引出苷类化合物作用广泛等优点，苷类有效成分研究是一个等待挖掘的资源库，引导学生培养学科兴趣，培养学生学有所成的获得感，不大志向，为今后开发苷类化合物作准备，为传断开拓学生视野，有利于激励学生树立远统中药可持续发展和人类健康事业作贡献。		
教学重点难点	重点： 糖与苷的结构类型、苷键的酸催化水解及其应用		

教学内容:

思维导图:



## 第一节 结构类型

### 一、糖的结构与分类

糖类又称碳水化合物，是植物光合作用的初生产物，是一类丰富的天然产物，如：蔗糖、粮食(淀粉)、棉布的棉纤维等。

糖类、核酸、蛋白质、脂质——生命活动所必需的四大类化合物。

化学结构：多羟基内半缩醛(酮)及其缩聚物。根据其分子水解反应的情况，可以分为单糖、低聚糖和多糖。

结构类型

糖的表示式

单糖是多羟基醛或酮。从三碳糖至八碳糖自然界都有存在。

单糖在水溶液中形成半缩醛环状结构，即成呋喃糖和吡喃糖。

具有六元环结构的糖——吡喃糖 (pyranose)

具有五元环结构的糖——呋喃糖 (furanose)

糖处游离状态时用Fischer式表示，苷化后

成环用Haworth式表示

Fischer与Haworth的转换及其相对构型

Haworth式C1-OH与C5 (或C4) 上取代基之间的关系:

同侧为 $\beta$ ，异侧为 $\alpha$ 。

糖的绝对构型 (D、L) 以 $\alpha$ -OH甘油醛为标准，将单糖分子的编号最大的不对称碳原子的构型与甘油醛作比较而命名分子构型的方法。

Fischer式中最后第二个碳原子上-OH向右的为D型，向左的为L型。Haworth式中C5向上为D型，向下为L型。

糖的主要结构与实

例

单糖

不能水解的最简单的多羟基内半缩醛(酮)。糖的最小单位，又分为五碳糖、六碳糖、七碳糖。据取代基不同，又分为去氧糖、糖醛酸、羟基糖等

低聚糖

由2~9个单糖通过苷键结合而成的直链或支链聚糖称为低聚糖。主要有：二糖、三糖、四

糖、五糖等。可分为还原性低聚糖与非还原性低聚糖  
多糖

由10个以上单糖通过苷键连接而成的糖类称做多聚糖或多糖。

植物多糖：淀粉、纤维素、半纤维素、树胶、粘液质等。

动物多糖：糖原、甲壳素、肝素、硫酸软骨素、透明质酸等。

## 二、苷的结构与分类

苷类也称苷或配糖体，是糖或糖的衍生物端基碳原子上的羟基与另一非糖物质（苷元）通过糖的半缩醛或半缩酮羟基与苷元脱水（苷键）形成的一类化合物。

苷的分类：根据苷键上的原子（苷键原子）不同分为：氧苷、氮苷、硫苷、碳苷等；

根据苷键的构型不同有 $\alpha$ -苷和 $\beta$ -苷之分，自然界常见的多为 $\beta$ -构型。

根据苷元结构类型分为：黄酮苷、生物碱苷、单萜苷、二萜苷、三萜苷等；

根据用途分为：强心苷、皂苷等。

## 第二节 理化性质

苷类多为无形性粉末，糖基少的可为结晶性固体，具有吸湿性。多数无色，一般无味。

糖基数目多，苷元上极性基团多则亲水性大，C-苷和O-苷在所有溶剂中均难溶或不溶苷元部分因不含糖，显脂溶性，不溶或难溶于水

### 二、旋光性

苷类均具有旋光性，天然苷类多具左旋光性，水解后生成糖而呈右旋。

### 三、糖的检识

#### （一）化学鉴定

#### 1、Molish反应（ $\alpha$ -萘酚-浓硫酸反应）

取供试液，加3%  $\alpha$ -萘酚乙醇溶液摇匀，沿管壁加浓硫酸，出现两液层，液层交界面呈紫红色环（又称紫环反应）。Molisch反应可以鉴定单糖的存在。

#### 2、Fehling（菲林）反应

为还原性糖的反应，产生砖红色氧化亚铜沉淀 菲林试剂：

硫酸铜与酒石酸钾钠的碱溶液

#### 3、Tollen（多伦）反应（银镜反应）

用于还原性糖的检识，析出的银在试管壁上呈光亮银镜

多伦试剂又叫银氨溶液，化学式为 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{OH}$

#### （二）色谱鉴定

#### 1、纸色谱

糖类极性大，适合进行纸色谱法

常用展开剂：正丁醇-乙酸-水（4：1：5，取上层）

常用显色剂：硝酸银试剂，显棕褐色斑点

#### Rf判断

单糖中，碳原子越少，Rf越大去氧

糖>酮糖>醛糖

#### 2、薄层色谱

常用固定相：硅胶

常用展开剂：极性较大的溶剂，如：正丁醇-乙酸-水（4：5：1，取上层），三氯甲烷-甲醇-水（65：35：10，取下层）

常用显色剂：硝酸银，硫酸的水或乙醇溶液、茴香醛-浓硫酸

注意：

糖的极性大，点样量不宜过大

用盐溶液代替水制备薄层，能增加糖在固定相中的溶解度，同时使硅胶薄层吸附力下降，使斑点集中。

### 第三节 苷键的裂解

#### 一、酸催化水解反应

苷键属于缩醛结构，易为稀酸催化水解。水解反应是苷原子先质子化，然后断键生成阳碳离子或半椅型的中间体，在水中溶剂化，脱去氢离子成糖。

常用的酸为稀盐酸、稀硫酸、8%-10%甲酸、40%-50%乙酸等 酸水解反

应剧烈，水解产物一般为苷元和糖

两相酸水解法：

向待水解液中加入与之不相混溶的有机溶剂，使 苷元生成后马上转溶于有机溶剂中，避免与酸的接触时间过长，从而获得真正的苷元。

#### 二、碱水解法

苷键为缩醛型醚键，理当对碱稳定，不易发生碱水解，但若苷元为酯苷、酚苷、烯醇苷和 $\beta$  位有吸电子取代基时（苷键便具有一定的酯的性质），能被碱催化水解。如：

#### 四、氧化裂解法（Smith降解法）可得到

原苷元

（除酶解外，其它方法可能得到的是次级苷元）

试剂：过碘酸(HIO<sub>4</sub>)、四氢硼钠(NaBH<sub>4</sub>)、稀酸

### 第四节 苷的提取与分离

#### 一、天然药物中常见多糖的提取

多糖按其生物体内的功能可分为两类；

一类是起支持作用的，该类成分一般不溶于水，分子呈直链型，如植物中的纤维素，甲壳 类动物的甲壳素等，它们在提取过程中不必特殊处理。

另一类是动植物的贮存养料，该类成分可溶于热水呈胶体溶液。如淀粉、果胶、树胶、黏 液质等。

水溶性多糖的一般提取流程：

#### 二、分离

分离苷类常用色谱法，一般极性小的苷类，常采用硅胶吸附色谱进行分离，极性较大的 苷类多采用分配色谱进行分离

#### 补充：如何判断还原性糖

还原糖：羰基碳（异头碳）没有参与形成糖苷键，即分子内含有醛基（酮基），或具有还原性的半缩醛羟基

一般情况下，单糖的还原能力主要来自它的醛基，如葡萄糖，而多糖则大多因为半缩醛 羟基的存在。还原后，自己会变成糖酸。如葡萄糖就会变成葡萄糖酸。

所有的单糖（除二羟丙酮），不论醛糖、酮糖都是还原糖。大部分双糖也是还原糖，蔗 糖例外。

#### 复习思考题、作业题

1、用显色反应鉴别下列各组： 苷与

苷元；蔗糖与槐糖

2、苷键有哪些裂解方法？

3、苷的提取应注意哪些问题？

4、实例分析

写出蔗糖的化学结构，分析能否发生Fehling反应、Tollen反应、Molisch反应；为何不被苦杏仁苷水解，

若要使蔗糖酶解，应用何种酶？

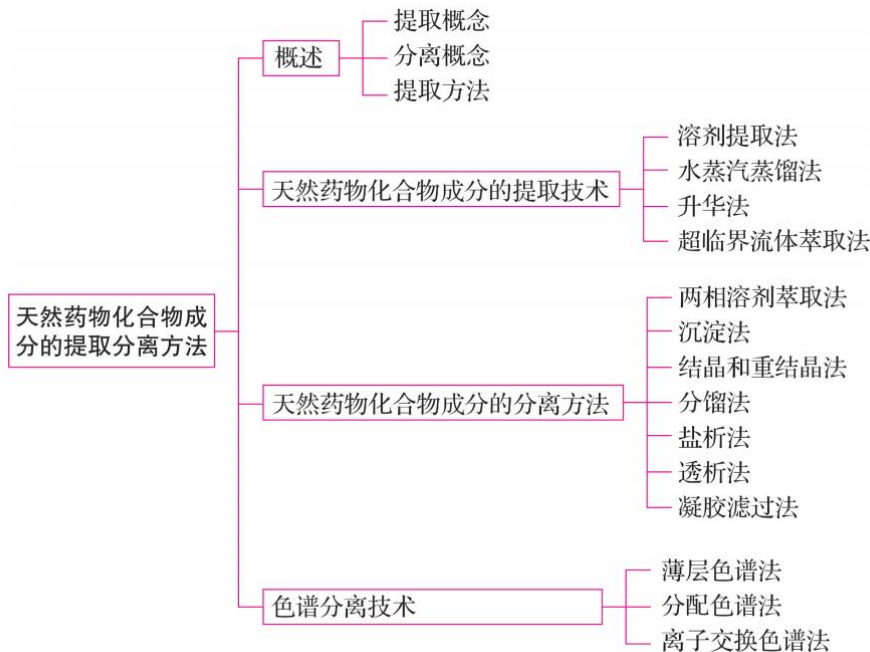
下次课预习要点  
香豆素的结构类型

教 学  
后 记



章节名称	第四章 香豆素与木脂素		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	6
教学目的要求	<p><b>知识要求</b></p> <p>掌握香豆素的结构类型，溶解性、碱水解、内酯环和显色反应等性质及其应用</p> <p>掌握溶剂提取法及其应用</p> <p>熟悉香豆素的性状、荧光性及色谱鉴别</p> <p>熟悉木脂素的结构类型及色谱鉴定</p> <p>了解香豆素的水蒸气蒸馏提取法</p> <p>了解木脂素的理化性质及提取实例</p> <p><b>能力要求</b></p> <p>熟练应用香豆素的结构特点、识别香豆素的结构类型；熟练应用香豆素的理化性质进行提取、并进行显色反应鉴别</p> <p>学会利用香豆素的有关性质进行荧光鉴别和色谱鉴别，并能进行水蒸气蒸馏法提取；学会识别木脂素的结构类型，并能利用木脂素的理化性质进行色谱鉴别</p> <p><b>职业素质和态度目标</b></p> <p>通过指出药物的研发或发现源于生活，源于创新，引导学生培养创新思维。</p>		
教学方法	<p>1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。</p> <p>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</p> <p>3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</p>		
课程思政元素	<p>在讲解香豆素类成分分类、生物活性等知识时，引出华法林抗凝血药物的发现历程，从最开始动物出血不止的生活现象、到灭鼠药的出现，最后华法林药物的临床应用整个过程，指出药物的研发或发现源于生活、源于创新，引导学生培养创新思维。</p>		
教学重点难点	<p>重点：</p> <p>香豆素的结构类型</p> <p>应用香豆素的理化性质进行提取</p>		

教学内容：  
思维导图：



## 第一节 香豆素

香豆素是一类具有母核为苯骈 $\alpha$ -吡喃酮的天然产物的总称。环上常有取代基。

### 一、结构类型

- (一) 简单香豆素类
- (二) 呋喃香豆素类(线型和角型)
- (三) 吡喃香豆素类(线型和角型)
- (四) 其他香豆素类

通常将香豆素分为四类：

#### (一) 简单香豆素类

只有苯环上有取代基的香豆素。取代基：  
羟基、烷氧基、苯基、异戊烯基等。

由于绝大多数香豆素在C7位都有含氧官能团(-OH)存在，因此，7-羟香豆素可以认为是香豆素类成分的母体。

#### (二) 呋喃香豆素类(线型和角型)

香豆素核上的异戊烯基常与邻位酚羟基(7-羟基)环合成呋喃或吡喃环，前者称为呋喃香豆素。

#### (三) 吡喃香豆素类(线型和角型)

香豆素C-6或C-8异戊烯基与邻酚羟基环合而成2,2-二甲基- $\alpha$ -吡喃环结构，形成吡喃香豆素。这一类天然产物并不多见。

#### (四) 其他香豆素类

指 $\alpha$ -吡喃酮环上有取代基的香豆素类。还包括二聚体和三聚体。C3、C4上常有取代基：苯基、羟基、异戊烯基等。

### 二、理化性质

#### (一) 性状

游离状态——

结晶形固体，有一定熔点；大多具有香气；具有升华性质

分子量小的有挥发性（可随水蒸汽蒸出）

UV下显蓝色荧光，碱液中荧光增强

成苷——粉末状，大多无香味、无挥发性、不能升华。

## （二）溶解性

游离——

能溶于沸  $H_2O$ ，不溶或难溶冷  $H_2O$ ，  
可溶MeOH、EtOH、 $CHCl_3$ 和乙醚等溶剂。

成苷——

溶于 $H_2O$ 、OH-/ $H_2O$ 、MeOH、EtOH等。

难溶极性小的有机溶剂。

## （三）与碱的作用（内酯性质）

注意：在用碱液提取香豆素类成分时，必须注意碱液的浓度，并避免长时间加热，以免破坏内酯环

## （四）荧光性

可见光：无色或浅黄色结晶

UV光：显蓝色荧光

① C7-OH，荧光↑；-OR后，荧光↓

② C7-OH甲基化或为非羟基基团时，荧光减弱或消失

③ 多烷氧取代的呋喃香豆素类荧光颜色为黄绿色或褐色

## （五）呈色反应

### 1. 异羟肟酸铁反应（识别内酯）

碱性条件下，香豆素内酯开环，并与盐酸羟胺缩合成异羟肟酸，再在酸性条件下与三价铁离子络合成盐而显红色。

### 2 与酚羟基反应

（1）具有酚羟基，可与 $FeCl_3$ 试剂产生颜色反应，污绿色至蓝绿色，酚羟基数目越多，颜色 越深。

（2）若酚羟基的对位未被取代，或6-位上没有取代，则能与重氮化试剂反应生成红色或紫红色的偶氮化合物

（3）Emerson反应：符合以上条件的香豆素的碱性溶液中，加入2%的4-氨基比林和8%的铁氰化钾试剂与酚羟基对位活泼氢缩合成红色化合物。

## 三、提取分离

### （一）提取

### （二）分离

#### 1. 酸碱分离法（少用）

依据——内酯遇碱能皂化，加酸能恢复的性质。

注意：注意提取条件，保护内酯环对酸碱敏感的香豆素不宜用此法

#### 2. 水蒸气蒸馏法

小分子游离香豆素具有挥发性，可用此法进行提取

#### 3. 层析方法

（常用）柱色谱

吸附剂——硅胶、酸性或中性氧化铝

洗脱剂——石油醚—乙酸乙酯、石油醚—丙酮、氯仿—丙酮、氯仿—甲醇

等制备薄层色谱

显色——可观察

荧光高效液相色谱

极性小

正相香豆苷

反相

#### 四、鉴定

##### (一) 薄层色谱法

吸附剂：硅胶、纤维素和氧化铝

展开剂：

偏酸性的混合溶剂或中等极性的混合溶剂

简单香豆素：甲苯-甲酸乙酯-甲酸（5：4：1）

呋喃香豆素：正己烷-乙酸乙酯（7：3）

##### (二) 纸色谱法

展开剂：

正丁醇-乙酸-水（4：1：5，取上层）

显色剂：首选荧光

香豆素的生物活性

1. 毒性——肝毒性，黄曲霉素

2. 抗病毒作用——canolide A

（抗艾滋病蛇床子素）：

抑制乙肝表面抗原

3. 抗肿瘤作用——7-羟基香豆素

4. 抗骨质疏松作用——蛇床子总香豆素、蛇床子素

5. 抗凝血作用——双香豆素

6. 对心血管系统作用——前胡丙素

7. 光敏作用——可引起皮肤色素沉着；补骨脂内酯可治白斑病

## 第二节 木脂素

一类由2-4分子苯丙素衍生物聚合而成的天然产物。通常指其二聚物，少数为三聚物和四聚物。

### 一、结构类型

简单木脂素

环木脂素

联苯木脂素

### 二、理化性质

形态：多呈无色晶形，新木脂素不易结晶

溶解性：游离——亲脂性，难溶于水，溶苯、氯仿等

成苷——水溶性增大

挥发性：多数不挥发，少数有升华性质

旋光性：大多有光学活性，遇酸易异构化。遇酸易发生异构化：

### (三) 显色反应

#### 1、酚羟基的反应

可发生三氯化铁、重氮化试剂反应

#### 2、亚甲二氧基的反应

具有亚甲二氧基的木脂素可发生此反应

Labat试剂（没食子硫酸试剂）反应：样品加浓硫酸后再加没食子酸，可产生蓝绿色 Ecgrine试剂

（变色酸硫酸试剂）反应：样品加浓硫酸后再加变色酸，并保持温度在70-80℃ 20分钟，可产生蓝紫

色

### 3、异羟肟酸铁反应

含内酯环的木脂素可发生异羟肟酸铁反应，溶液变为紫红色

### 三、提取分离

#### (一) 提取

多用乙醇或丙酮等提取，浓缩成浸膏后，再用极性较小的溶剂如：乙醚、氯仿等进行萃取。

### 四、鉴定

硅胶薄层色谱

展开剂：苯-甲醇，三氯甲烷-甲醇等显色：

紫外灯下呈暗斑

通用显色剂：

①1%茴香醛浓硫酸试剂，110℃加热5分钟

②5%磷钼酸乙醇溶液，120℃加热至斑点出现

③10%硫酸乙醇溶液，110℃加热5分钟

④直接用硅胶GF254 五、

生物活性

#### 1.抗肿瘤作用

鬼臼毒素类木脂素能显著抑制癌细胞的增殖: 2.肝保

护和抗氧化作用

五味子果实中的各种联苯环辛烯类木脂素,均有保肝和降低血清谷丙转氨酶作用,用于肝炎的治疗。

五味子酯甲，联苯双酯

#### 3.抗HIV病毒作用——鬼臼毒素类和五味子素类木脂素

4.对中枢神经系统的作用——如：镇静、兴奋作用

5.血小板活化因子拮抗活性

6.平滑肌解痉作用

7.毒鱼作用

8.杀虫作用

其他作用

复习思考题、作业题

#### 一、选择题

1、补骨脂中的香豆素属于（ B ）

A. 简单香豆素 B. 呋喃香豆素 C. 吡喃香豆素 D. 双香豆素 E. 异香豆素

2、游离香豆素可溶于热的氢氧化钠水溶液,是由于其结构中存在（ C ）

A. 甲氧基 B. 亚甲二氧基 C. 内酯环 D. 酮基 E. 苯环

3、区别七叶内酯和七叶苷可用的显色反应是（ C ）

A. 异羟肟酸铁反应 B. Emerson 反应 C. Molish 反应 D. 三氯化铁反应

4、7-羟基香豆素在紫外灯下的荧光颜色为（ C ）

A. 红色 B. 黄色 C. 蓝色 D. 绿色 E. 橙色

5、香豆素及其苷发生异羟肟酸铁反应的条件为（ C ）

A. 在酸性条件下 B. 在碱性条件下 C. 先碱后酸 D. 先酸后碱

6、五味子酯甲的结构类型为（ C ）

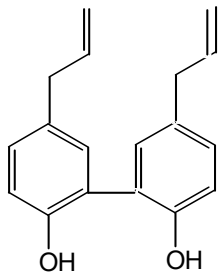
A. 简单木脂素 B. 环木脂素 C. 联苯木脂素 D. 双环氧木脂素

7、组成木脂素的单体结构为 D

A. C<sub>5</sub> — C<sub>3</sub> B. C<sub>6</sub> — C<sub>6</sub> C. C<sub>6</sub> — C<sub>4</sub> D. C<sub>6</sub> — C<sub>3</sub>

8、下列结构的母核属于 B

- A 简单木脂素
- B 联苯木脂素
- C 环木脂内酯
- D 双环氧木脂素



9. 主要成分为木脂素的中药 A

- A 五味子
- B 人参
- C 薄荷
- D 柴胡
- E 三七

## 二、多选题

1、香豆素类成分的荧光与结构的关系是 (A B C D )

- A. 羟基香豆素显蓝色荧光
- B. 在碱溶液中荧光加强
- C. 7位羟基取代, 荧光增强
- D. 7位非羟基取代, 荧光减弱
- E. 呋喃香豆素荧光更强

2、小分子游离香豆素的性质是 (A B C E )

- A. 可溶于乙醇
- B. 有香气
- C. 有挥发性
- D. 可发生 Molish 反应
- E. 可发生异羟肟酸铁反应

3、香豆素成分的提取方法有 (A C D )

- A. 溶剂提取法
- B. 活性炭脱色法
- C. 碱溶酸沉法
- D. 水蒸气蒸馏法
- E. 色谱分离法

4、香豆素类成分的生物活性主要有 (A B E )

- A. 抗菌作用
- B. 光敏活性
- C. 强心作用
- D. 保肝作用
- E. 抗凝血作用

下次课预习要点

蒽醌类化合物的提取、分离

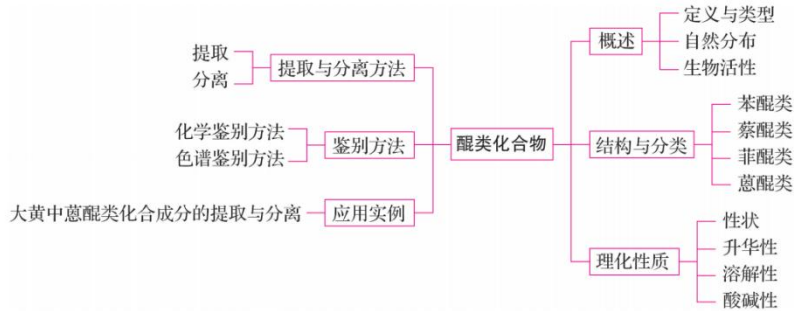
教 学  
后 记

--	--



章节名称	第五章 蒽醌类化合物		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	4
教学目的要求	<p><b>知识要求</b>          掌握蒽醌类化合物的提取、分离及鉴定技术          熟悉蒽醌类化合物的结构及性质          熟悉大黄中蒽醌类化合物的提取分离技术          了解蒽醌类化合物的分布、存在及生物活性。</p> <p><b>能力要求</b>          熟练掌握天然药物中蒽醌类化合物的提取、分离及鉴定技能；          学会蒽醌类化合物的色谱鉴定技术</p> <p><b>职业素质和态度目标</b>          引导学生要实事求是，尊重客观规律，在不违反客观规律前提下充分创新。</p>		
教学方法	1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。 2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。 3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。		
教学重点难点	<p><b>重点：</b>          掌握蒽醌类化合物的提取、分离及鉴定技术熟悉蒽醌类化合物的结构及性质。          熟悉大黄中蒽醌类化合物的提取分离技术。          了解蒽醌类化合物的分布、存在及生物活性。</p>		
课程思政元素	蒽醌类化合物章节主要是讲述蒽醌类成分结构特点、理化性质、鉴别试验、分离纯化等内容，指出蒽醌化合物的结构决定理化性质，是物质的固有属性，引导学生要实事求是、尊重客观规律，在不违反客观规律前提下充分创新。		

教学内容：  
思维导图：



## 第一节 结构类型

依据其还原程度的不同，将其分成以下几类：

蒽醌、蒽酚、蒽酮、大黄酚蒽酮、二蒽酮

## 第二节 理化性质

### 一、性状

颜色——多为有色固体

如：黄、红、橙、紫红等游离蒽醌多为有色晶体 一般都具荧光

### 二、升华性

游离蒽醌类多具有升华性。即常压下加热可升华而不分解，一般来说其升华温度随酸性增强而升高。

### 三、溶解性

游离蒽醌：溶于乙醇、乙醚、苯、氯仿等有机溶剂，难溶于水。

蒽醌苷类：易溶于甲醇、乙醇，溶于热水，不溶于乙醚、苯、氯仿。

### 四、酸碱性

#### (一) 酸性

蒽醌类化合物多数带有羧基、酚羟基，因此具有酚的通性，呈弱酸性。

规律如下：

1. 有-COOH的酸性 > 无-COOH (Ph-OH)

2.  $\beta$ -OH > Ph-OH >  $\alpha$ -H

3. 酚-OH数目增多，

酸性 ↑

以游离蒽醌类衍生物为例，酸性强弱将按下列顺序排列：

含-COOH > 2个以上 $\beta$ -OH > 1个 $\beta$ -OH > 2个 $\alpha$ -OH > 1个 $\alpha$ -OH

#### (二) 碱性

蒽醌类化合物羰基上的氧原子有微弱的碱性，能溶于浓硫酸中成盐，再转成阳碳离子，同时伴有颜色的显著变化。

## 五、显色反应

### (一) Borntrager's reaction(碱液试验)

羟基蒽醌类遇碱显红-紫红色，这是蒽醌类一个很重要的鉴别反应。

## (二) 乙酸镁反应

羟基蒽醌和0.5%醋酸镁的甲醇或乙醇液生成稳定的橙红色或紫色络合物。

生成的颜色随分子中羟基的位置而有所不同。

因此此反应不仅作为蒽醌的一般定性检查，而且可以提供羟基取代位置的线索，有利于结构的推测。多用作 PC、TLC 显色剂。

## (三) 对亚硝基-二甲苯胺反应

蒽醌类化合物尤其是1, 8-二羟基蒽酮衍生物，其羰基对位亚甲基上的氢很活泼，可与%对亚硝基-二甲苯胺吡啶溶液反应缩合而成共轭体系较长的化合物，呈现各种颜色。

1, 8-二羟基蒽酮类均为绿色。

## 第三节 提取与分离

### 一、提取

一般先选用甲醇、乙醇作为提取溶剂，可以把不同类型、性质互异的蒽醌类成分提取出来。羟基及含羧基蒽醌在植物体内常以盐的形式存在，提取时应先酸化成为游离状态，再提取。

1. 游离蒽醌衍生物的分离：常采用梯度PH萃取法。

A. 由于蒽醌羟基位置、数目及羧基的有无，其酸度大小是有区别的，可分别溶于不同碱性的水液，故可采用梯度PH萃取法。此法为分离游离蒽醌衍生物的经典方法，也为常用方法。

5%NaHCO<sub>3</sub>液---含—COOH及两个以上β-酚OH

5%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>液---含一个β-酚OH蒽醌类

1%NaOH液---含两个α-酚OH蒽醌类

5%NaOH液---含一个α-酚OH蒽醌类

B. PH梯度萃取法对蒽衍生物进行初步分离，对性质相似，酸性强弱相差不大的羟基蒽醌类则不能很好分离，故初分后再结合层析法进一步分离。

多用吸附柱层析，以硅胶、磷酸氢钙、聚酰胺粉为吸附剂，不宜用氧化铝，尤其是碱性氧化铝，因为羟基蒽醌能与氧化铝形成牢固螯合物，难以洗脱。

2. 蒽醌苷类与蒽衍生物苷元的分离：根据它们的溶解性不同分离。

苷元----极性小，难溶于水，易溶于乙醚、氯仿等有机溶剂。

苷----极性大，溶于水，难溶于乙醚、氯仿等有机溶剂。

3. 蒽醌苷类的分离：常用层析法。

这类成分水溶性强，分离及精制工作都较为困难，层析前用铅盐法或溶剂法处理，得较纯总苷后再进一步分离。

溶剂法是用中等极性的有机溶剂如乙酸乙酯、正丁醇等，从除去游离蒽醌衍生物的水溶液中，将蒽醌苷萃取出来，再作进一步分离。

复习思考题、作业题

1. 蒽酚衍生物一般只存在于新鲜药材中，贮存两年以上药材内几乎不再存在，其原因 C  
A. 自然挥发散去 B. 结合成苷 C. 被氧化成蒽醌  
D. 物 E. 转化成蒽酮

2. 总游离蒽醌的乙醚溶液，用5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液萃取可得到 B  
A. 带一个  $\alpha$ -OH 蒽醌 B. 有一个  $\beta$ -羟基蒽醌 C. 有两个  $\alpha$ -OH 蒽醌  
D. 1,8-二羟基蒽醌 E. 含有醇羟基蒽醌

4. 番泻苷A属于 C  
A. 大黄素型蒽醌衍生物 B. 茜草素型蒽醌衍生物 C. 二蒽酮衍生物  
D. 二蒽醌衍生物 E. 蒽酮衍生物

5. 下列蒽醌有升华性的是 B  
A. 大黄酚葡萄糖苷 B. 大黄酚 C. 番泻苷  
D. 大黄素龙胆双糖苷 E. 芦荟苷

6. 关于蒽醌类衍生物酸性强弱的说法，正确的是 A  
A 酚羟基越多，酸性越强  
B 氨基越多，酸性越强  
C 芳基越多，酸性越强  
D 甲基越多，酸性越强  
E 甲氧基越多，酸性越强

7. 某中草药水煎剂经内服后有显著致泻作用，可能含有的成分是 D  
A. 蒽醌苷 B. 游离蒽酚 C. 游离蒽醌 D. 游离蒽酮 E. 葡萄糖苷

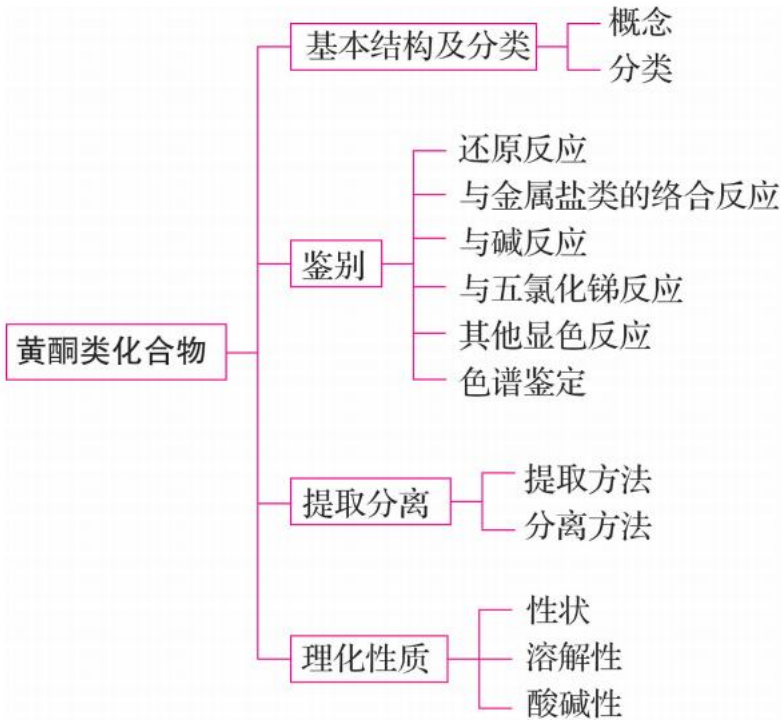
下次课预习要点

黄酮类化合物的基本构造、结构类型

教 学  
后 记

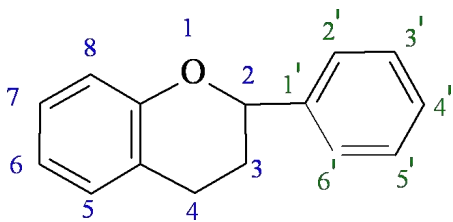


章节名称	第六章 黄酮类化合物		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	6
教学目的要求	<p><b>知识要求</b>          掌握黄酮类化合物的基本构造、结构类型、理化性质、提取分离的方法          熟悉黄酮类化合物的性状和鉴定的基本知识          了解紫外光谱、核磁共振谱在黄酮类化合物结构鉴定中的应用。</p> <p><b>能力要求</b>          熟练掌握槐米中黄酮类化合物的提取技术          学会应用化学方法、色谱鉴定黄酮类化合物的操作技术</p> <p><b>职业素质和态度目标</b>          强调重点难点知识的学习要更加努力，积极克服畏难心理，端正学习态度。</p>		
课程思政元素	在讲解黄酮类成分的理化性质、鉴别试验等知识时，引出黄酮类化合物章节的重难点是各类型黄酮类成分的鉴别试验等知识，引出对于重点、难点知识的学习要更加努力，积极克服畏难心理，端正学习态度。		
教学方法	1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。 2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。 3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。		
教学重点难点	<p><b>重点：</b>          掌握黄酮类化合物的基本构造、结构类型、理化性质、提取分离方法          熟悉黄酮类化合物的性状和鉴定的基本知识</p>		
教学内容： 思维导图：			



### 第一节 结构类型

两个具有酚羟基的苯环（A与B环）通过中央三碳链相互连接（6C-3C-6C）



分类依据：

三碳链氧化程度

B环（苯基）连接位置（2-或3-位） 三碳链

是否构成环状

1. 黄酮类（flavones）
2. 黄酮醇类

槲皮素(quercetin)具有抗炎、止咳祛痰等作用。降低血压、增强毛细血管抵抗力、扩张冠状动脉；

芦丁(rutin)是槲皮素的3-O芸香糖苷。用于治疗毛细血管脆弱引起的出血病,并用作高血压及动脉硬化的辅助治疗剂。

豆科植物 槐中药槐米中含有芦丁和槲皮素。

### 3. 二氢黄酮类

#### 4. 二氢黄酮醇类

水飞蓟素是二氢黄酮醇与苯丙素衍生物缩合成的黄酮木脂素类成分。具有保肝作用,用于治疗急、慢性肝炎及肝硬化,代谢中毒性肝损伤。

#### 5. 查尔酮类

查尔酮为苯甲醛缩苯乙酮类化合物,其邻羟基衍生物可视为二氢黄酮的异构体,二者可相互转化。

红花在开花初期,花冠呈淡黄色;开花中期,花冠呈深黄色;开花后期或采收干燥过程中由于酶的作用,氧化成红色。

#### 6. 异黄酮类(isoflavones)

#### 7. 二氢异黄酮类/紫檀素类

#### 8. 双黄酮类

由二分子黄酮衍生物聚合生成的二聚物,多分布于裸子植物中。银杏中含有多种双黄酮,如银杏素。银杏叶片(舒血宁片)

银杏叶片提取物被法国、德国列为降血压特效药、天然药品;被日本列为抗衰老、治老年痴呆症特效药品。

#### 9. 花色素类

使花、叶、果、茎等呈现蓝、紫、红等颜色的色素。以苷的形式存在于细胞液中,经水解可生成苷元——花色素及糖。

#### 10. 黄烷-3-醇(flavan-3-ols)及黄烷-3,4-二醇(flavan-3,4-diols)类

#### 11. 双苯吡酮类

#### 12. 橙酮类

黄酮类化合物的生物活性

##### 1. 对心血管系统的作用

**Vp样作用:**芦丁、橙皮苷等有Vp样作用,能降低血管脆性及异常通透性,可用作防治高血压及动脉硬化的辅助治疗剂。

**扩冠作用:**芦丁、槲皮素、葛根素、人工合成的力可定。

**降血脂及胆固醇:**木犀草素

##### 芦丁片

芦丁是从中国所独有的国槐的花蕾中提取的植物药,也称维生素P,具有降低毛细血管的异常通透性和脆性的作用,是心脑血管保护药,国内用于心脑血管药品制剂的主要成分,国外还大量用于食品添加剂和化妆品。

##### 2. 抗肝脏毒作用

从水飞蓟种子中得到的水飞蓟素具有保肝作用,用于治疗急、慢性肝炎、肝硬化及多种中毒性肝损伤。

(+)-儿茶素(catergen)也可抗肝脏毒作用,治疗脂肪肝及因半乳糖胺或四氯化碳等引起的中毒性肝损伤。

##### 3. 抗炎 芦丁及其衍生物羟乙基芦丁、二氢槲皮素等具抗炎作用。

##### 4. 抗菌及抗病毒作用

如木犀草素、黄芩苷、黄芩素

##### 5. 解痉作用

异甘草素、大豆素:解除平滑肌痉挛;

大豆苷、葛根素及葛根总黄酮可缓解高血压患者的头痛等症状;

杜鹃素、川陈皮素、槲皮素、山奈酚、芫花素、羟基芫花素:止咳祛痰。

## 6. 雌性激素样作用

大豆素(daidzein)等异黄酮具有雌性激素样作用，可能与它们的结构与己烯雌酚结构类似。

## 7. 清除人体自由基作用

黄酮类化合物多具有酚羟基，易氧化成醌类而提供氢离子，故有显著的抗氧化特点。

另外还有降血脂、血糖，抗动脉粥样硬化及抗癌抗突变等作用。

## 第二节 理化性质及颜色反应

### 一、性状

1. 多为结晶性固体，少为（如黄酮苷类）无定形粉末。

2. 旋光性：游离苷元中，除二氢黄酮、二氢黄酮醇、黄烷、黄烷醇有旋光外，其余无旋光性。

苷类由于结构中引入糖的分子，均有旋光性，且多为左旋。

### 3. 颜色：

与 ①分子中是否存在交叉共轭体系

②助色团的数目

③取代基的位置有关。

色原酮部分原本无色，但在2位引入苯环后，即形成交叉共轭体系，且通过电子的转移，重排，使共轭链延长，而表现出颜色。

黄酮、黄酮醇及苷类 灰黄-黄色查耳

酮 黄-橙黄色

二氢黄酮、二氢黄酮醇 无色异黄

酮 微黄色

其中，黄酮、黄酮醇及苷类、查耳酮等因分子中存在交叉共轭体系，在7, 4' 位引入-OH, -

OCH<sub>3</sub>等供电子基团则促进电子移位、重排，使化合物颜色加深。

花色苷及其苷元的颜色随pH的不同而改变：呈现红（pH<7），紫（pH=8.5）、兰（pH>8

.5）

### 二、溶解度

#### 1. 游离苷元难溶或不溶于水，易溶于MeOH, EtOH, EtOAc, Et<sub>2</sub>O

黄酮、黄酮醇及查耳酮是平面型分子，分子堆砌紧密，分子间引力较大，更难溶于水。花色苷元（花青素）类虽系平面型分子，但因以离子形式存在，具有盐的通性，故亲水性较强，水溶度较大。

黄酮苷元引入羟基越多，水溶性越强，羟基甲基化后，则增加在有机溶剂中的溶解度。如一般黄酮类化合物(多羟基化合物)不溶于石油醚中，可与脂溶性杂质分开，但川陈皮素却可溶于石油醚。

2. 黄酮类化合物的羟基苷化后，水溶性相应增大，而在有机溶剂中的溶解度相应减小。黄酮 苷一般易溶于H<sub>2</sub>O, MeOH, EtOH等，难溶或不溶于苯，氯仿等。

### 三、酸碱性

#### 1. 酸性

黄酮类化合物多具有酚羟基而呈酸性，可溶于碱性水液，吡啶，甲酰胺及二甲基甲酰胺。 酸性强弱顺序：7, 4'-二羟基 > 7, 或4'羟基 > 一般酚羟基 > 5-羟基

此性质可用于提取、分离及鉴定工作。

#### 2. 碱性

γ-吡喃酮上的1-位氧原子上有未共用电子对，表现微弱的碱性，可与强无机酸如浓硫酸， 盐酸生成yang盐，但极不稳定，加水即可分解。

酮类化合物溶于浓硫酸中生成的yang盐常表现特殊的颜色，可用于鉴别。 四、显色反应

(一)还原反应

1. 盐酸-镁粉（盐酸-锌粉）反应

黄酮、黄酮醇及二氢黄酮、二氢黄酮醇类在盐酸-镁粉作用下，易被氢化还原，迅速生成红-紫红（个别有绿-兰色）：将样品溶于甲醇或乙醇，加少量镁粉振摇，滴加几滴浓盐酸，1-2分钟内（必要时微热）即可出现颜色。多显橙红-紫红色，少数兰-紫色，B环有-OH或OCH<sub>3</sub>取代时，颜色随之加深，查耳酮、橙酮、儿茶素类则不反应。

花色素及部分查耳酮、橙酮等在浓盐酸酸性条件下也会发生色变，故须先做一空白对照。

2. 四氢硼钠反应

与二氢黄酮（醇）类化合物产生红-紫色。

取样品10mg溶于甲醇，加NaBH<sub>4</sub> 10mg，再滴加1%浓盐酸或浓硫酸，呈红-紫色。其他黄酮类化合物均不显色。

(二) 金属盐类试剂的络合反应

黄酮类化合物分子结构中多有3-OH, 4=O; 5-OH, 4=O; 邻二酚羟基，常可与铝盐、铅盐、锆盐、镁盐等试剂生成有色络合物。

1. 铝盐

1%AlCl<sub>3</sub>或Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>:

生成络合物为黄色(λ<sub>max</sub>=415nm)，并有荧光。

2. 锆盐: 2%二氯化锆甲醇液



原因: 3-OH, 4-酮基络合物稳定性 > 5-OH, 4-酮基络合物

3. 镁盐

醋酸镁甲醇液作显色剂，可在纸上进行。

二氢黄酮（醇）类显天蓝色荧光，若具有C5-OH，色泽更明显。而黄酮、黄酮醇及异黄酮类则显黄-橙黄-褐色。

4. 氯化锶(SrCl<sub>2</sub>)

使具有邻二酚羟基的黄酮显绿-棕色-黑色沉淀。

5. 氯化铁(FeCl<sub>3</sub>)

检查酚羟基。多数黄酮类化合物具有酚羟基，可产生正反应，生成绿、蓝、黑、紫等颜色。

6. 铅盐

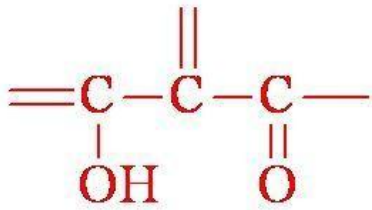
1%PbAc<sub>2</sub>或碱式醋酸铅水液。生成黄-红色沉淀。色泽因羟基数目及位置不同而异。醋酸铅可沉淀具有邻二酚羟基或兼有3-OH, 4=O或5-OH, 4=O者。

碱式醋酸铅沉淀能力要大得多，可沉淀一般酚类化合物。据此不

仅可用于鉴定，也可用于提取及分离工作。

(三) 硼酸显色反应

1 具有下列结构（5-羟基黄酮，2'-羟基查耳酮）



## 2 有无机酸或有机酸存在

在草酸存在下，显黄色并带绿色荧光。

在枸橼酸丙酮存在条件下，只显黄色而无荧光。

### (四) 碱性试剂显色反应

日光及紫外光下，通过纸斑反应，观察样品用碱性试剂处理后的色变情况。

1. 二氢黄酮类易在碱液中开环，转变成相应异构体——查耳酮类化合物，显橙-红色。
2. 黄酮醇类在碱液中先呈黄色，通入空气后变为棕色，据此可与黄酮类区别。
3. 黄酮类化合物当分子中有邻二酚羟基取代或3,4'-二羟基取代时，在碱液中不稳定，很快氧化，由黄色→深红色→绿棕色沉淀。

## 第三节 提取分离

### 一、提取

黄酮类化合物在花、叶、果等组织中，多以苷的形式存在；在木部坚硬组织中，多以游离苷元形式存在；

根据化合物极性不同，溶解性不同，采用不同溶剂提取。

1. 苷元 多用CHCl<sub>3</sub>、Et<sub>2</sub>O、EtOAc等极性较小溶剂提取；对于多OCH<sub>3</sub>的成分，用苯、石油醚提取；对于极性大的成分，如查耳酮、橙酮、双黄酮、羟基黄酮等，用EtOAc、EtOH、Me<sub>2</sub>CO、MeOH:H<sub>2</sub>O(1:1)等溶剂提取。

### 苷类

水或热水提取，（多糖苷在热水中溶解度较大，在冷水中溶解度较小）；也可用EtOH、MeOH、EtOAc提取。

2. 含羟基的苷或苷元，可用碱水提取。

提取花青素类可加入少量酸。

### 常见的提取方法

#### (一) 碱溶酸沉法

适用于含酚羟基的化合物，如槐米中芦丁的提取。

常用碱液：

饱和石灰水溶液、5%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液及稀氢氧化钠溶液等

注意事项：

- ①石灰乳的加入可除去果胶、粘液等水溶性酸性杂质
- ②邻二酚羟基的保护：碱性条件下，邻二酚羟基易被氧化，加硼砂保护
- ③酸碱度不宜过大

强碱：加热时易破坏黄酮母核

强酸：生成yang盐而溶解

### 二、溶剂提取法

#### 1. 醇提取法

乙醇和甲醇是最常用的提取溶剂。

60%左右的稀醇提取黄铜苷类

90-95%提取黄酮苷元

石油醚可除去醇提取液中的杂质如叶绿素、胡萝卜素等脂溶性色素

## 2. 水提取法

用热水提取黄酮苷类

其中蛋白质、多糖等大分子水溶性物质可以用多倍量的浓醇沉淀除去

## 3. 系统溶剂提取法

实验室常用极性由小到大的溶剂依次将黄酮类化合物按相应的极性顺序提取出来

二、分离

(一) pH梯度萃取法

(二) 柱色谱法

### 1、聚酰胺层析：

其原理是酰胺羰基与黄酮酚羟基形成氢键缔合而吸附，吸附能力与酚羟基多少、位置及氢键缔合力大小有关。

各种溶剂在聚酰胺柱上洗脱能力由弱至强依次为：

水，甲醇，丙酮，氢氧化钠水溶液，甲酰胺，二甲基甲酰胺，脲素水溶液。

黄酮类化合物从聚酰胺柱洗脱时有下列规律：

① 苷元相同，洗脱先后顺序一般为：三糖苷>双糖苷>单糖苷>苷元

② 母核上增加羟基，洗脱速度相应减慢

羟基位置的影响：具有羰基邻位羟基黄酮比具有对位（或间位）羟基黄酮先洗脱下来

③ 不同类型的黄酮类化合物，先后流出顺序一般是：异黄酮>二氢黄酮醇>黄酮>黄酮醇

④ 分子中芳香核、共轭双键多者吸力强，故查耳酮往往较相应的二氢黄酮难于洗脱。

### 2、硅胶层析

适于分离异黄酮、二氢黄酮（醇）及高度甲基化（或乙醚化）的黄酮（醇）类

① 对酚羟基多的黄酮类，如多羟基黄酮及其苷类，硅胶减活性使用

② 对酚羟基少的黄酮类，如甲基化、乙酰化黄酮及二氢黄酮、异黄酮，则无须减活性。

### 3. 炭粉吸附法

适用于苷类的精制工作。

植物的甲醇提取液加活性炭至吸附完全，过滤得吸附苷的活性炭粉末。

依次用沸甲醇、沸水、7%酚/水洗脱，分步收集、检查、合并。

大部分苷类可用7%酚/水洗下，经减压浓缩至小体积，乙醚除酚，余下水层经减压浓缩得较纯黄酮苷。

## 4. 利用分子大小不同，用葡聚糖凝胶分子筛分离

分离游离黄酮主要是吸附作用，极性小→大洗脱。

分离黄酮苷类，主要是分子筛作用，分子大→小洗脱。

总的洗脱顺序：糖多的苷→糖少的苷→游离苷元（极性小→大）常用洗脱

剂：①碱性水溶液，含盐水溶液

②醇及含水醇

③含水丙酮，甲醇-氯仿

## 复习思考题、作业题

1. 试述黄酮类化合物的基本母核及分类依据，常见黄酮类化合物结构类型可分为哪几类？

黄酮类化合物的基本母核为 2-苯基色原酮，现泛指两个(A 环与 B 环)通过三碳链相互连接而成的一系列化合物。它们大多具有如下  $C_6-C_3-C_6$  的基本骨架。

黄酮类化合物主要根据母核中三碳链的氧化程度，三碳链是否成环以及 B 环的连接位置不

同进行分类。常见的结构类型有：黄酮和黄酮醇类；二氢黄酮和二氢黄酮醇类；异黄酮和二氢异黄酮类；查耳酮和二氢查耳酮；花色素类；黄烷醇类。

2. 举出两种以黄酮类化合物为主要有效成分的天然药物, 并写出所含黄酮主要成分的名称及主要生物活性。

槐米的主要活性成分为芦丁, 可改善血管通透性, 辅助治疗高血压。黄芩的主要活性成分为黄芩苷, 具保肝、抗氧化作用等。

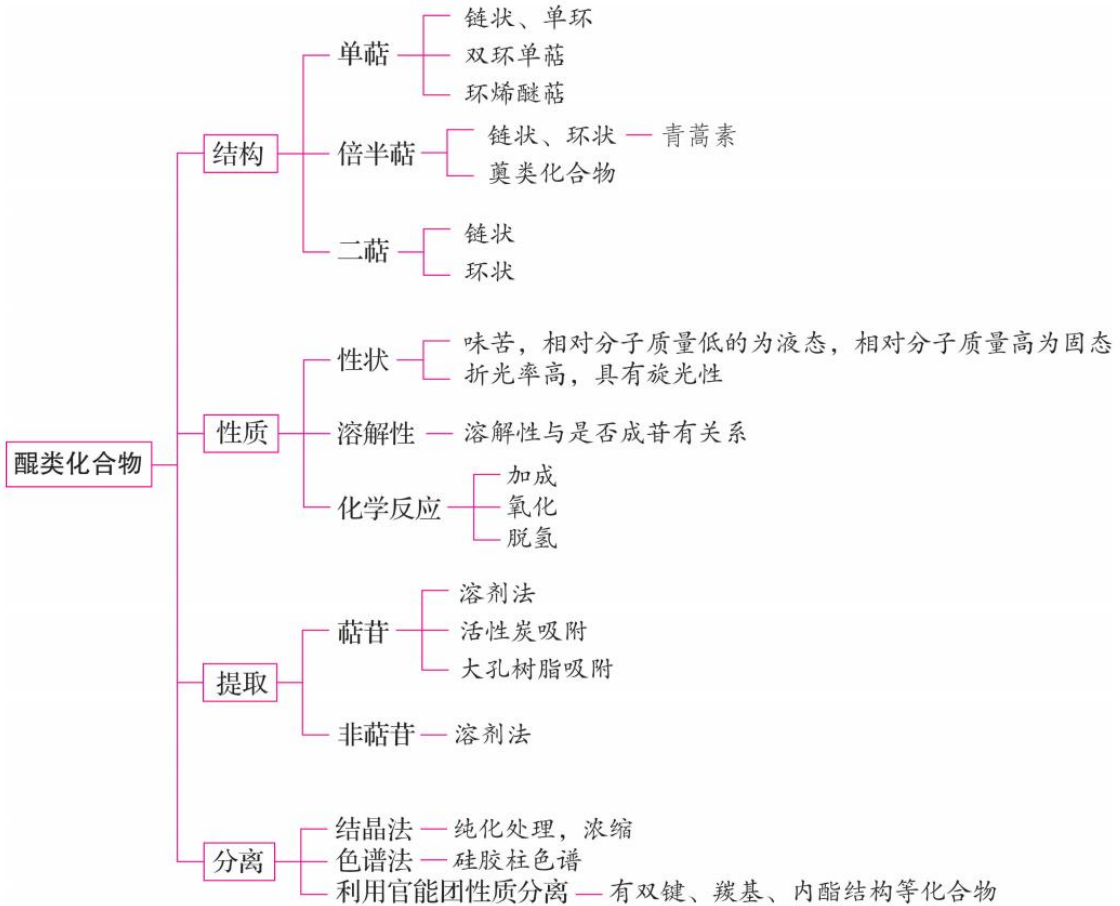
下次课预习要点

单萜和倍半萜主要的代表化合物及生物活性

教 学  
后 记



章节名称	第七章 萜类和挥发油		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	4
教学目标	<p><b>知识要求</b></p> <p>掌握单萜和倍半萜主要的代表化合物及生物活性；          掌握挥发油的概念、化学组成、理化性质和主要的提取方法；          熟悉挥发油分离、鉴定的原理和方法；          熟悉萜类和挥发油提取分离的典型应用实例；          了解萜的概念、分类和萜类化合物的重要理化性质。</p> <p><b>能力要求</b></p> <p>能够辨认常见萜类化合物的结构类型和主要的代表化合物；          学会鉴别挥发油的常用方法和操作技术；学会利用水蒸气蒸馏法提取天然药物中挥发油的方法和操作技术。</p> <p><b>职业素质和态度目标</b></p> <p>培养学生在工作和学习中要持之以恒，不能轻易放弃，在正确的道路上要坚持不懈，要有爱岗敬业的优良作风。</p>		
课程思政元素	<p>在讲解萜类的结构分类、生物活性等知识时，引出青蒿素药牧拓展青蒿素药物的研发过程，因青蒿素的应用获得诺贝尔奖的屠呦呦老师青蒿素在其他疾病的、以及目前应用等知识，引出屠呦呦爱岗敬业、扎实工作的优良作风，以及坚持不懈的精神。</p>		
教学方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。</li> <li>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</li> <li>3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</li> </ol>		
教学重点难点	<p><b>重点：</b></p> <p>掌握单萜和倍半萜主要的代表化合物及生物活性；          掌握挥发油的概念、化学组成、理化性质和主要的提取方法；          熟悉挥发油分离、鉴定的原理和方法；          熟悉萜类和挥发油提取分离的典型应用实例；          了解萜的概念、分类和萜类化合物的重要理化性质。</p>		
教学内容： 思维导图：			



## 第一节 萜类

所有异戊二烯聚合及其含氧衍生物的总称。分子式符合 $(C_5H_8)_n$ 通式。

特点：骨架庞杂、种类繁多、数量巨大、结构千变万化、生物活性广泛。

化学结构特点：大多具有异戊二烯结构片断，其骨架以5个碳为基本单位。

分类与分布

分类	碳原子数	通式 $(C_5H_8)_n$	存在
半萜	5	$n=1$	植物叶
单萜	10	$n=2$	挥发油
倍半萜	15	$n=3$	挥发油
二萜	20	$n=4$	树脂、苦味质
二倍半萜	25	$n=5$	海绵、细菌

三萜	30	n=6	皂苷、树脂
四萜	40	n=8	色素
多聚萜	103-105	(C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub>	橡胶

## 一、结构类型

### (一) 单萜

单萜类 (monoterpenoids)：2个异戊二烯单位、含10个C的化合物类群，挥发油的主要组分。分子量小，脂溶性。

其含氧衍生物多具有较强的生物活性和香气，是医药、化妆品和食品工业的重要原料。

成苷时，不具挥发性，不能随水蒸气蒸馏。

分类：链状型和环状型(单环、双环、三环等)

(1) 链状单萜

(2) 环状单萜 (单环单萜、双环单萜、三环单萜)

### (二) 环烯醚萜

环烯醚萜理化性质

苷大多为白色结晶或粉末，多具旋光性，味苦；

苷易溶水和甲醇，

苷可溶乙醇、丙酮和正丁醇；

苷难溶于氯仿、苯等亲酯性有机溶剂；

其苷易水解，苷元为半缩醛结构容易聚合，难得到结晶苷元

苷元遇酸、碱、巯基化合物和氨基酸能变色，与皮肤接触会变蓝 苷元在冰

醋酸溶液中，加少量铜离子，加热显蓝色

### (三) 倍半萜

通式：(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>3</sub>

分布：挥发油高沸点部分。海洋低等动物(海藻、软体动物等)、昆虫中也有发现

存在形式：挥发油，醇、酮、内酯或苷，生物碱。含氧衍生物多具有香气和生物活性骨架繁杂，超过200余种

分类：

按碳环数：无环、单环、双环、三环、四环型；

按环的碳原子数：五元环、六元环、七元环等；

按含氧官能团：倍半萜醇、醛、酮、内酯等。

萜衍生物

萜类：五元环+七元环的非苯环芳烃化合物，分子结构中具有高度的共轭体系。多具有抑菌、抗肿瘤、杀虫等生物活性。

性质：

1、萜类可与苦味酸或三硝基苯形成具有敏锐熔点的p络合物，用于鉴别

2、沸点高，挥发油分馏时可见美丽的蓝、紫、绿色现象时，示有萜类存在

3、Saberty反应：挥发油1滴溶于加、1mL三氯甲烷中，再加入5%溴的三氯甲烷溶液，产生蓝紫色或绿色。

## 四、二萜概述

由4个异戊二烯单位构成、含20个C的化合物类群。

分布：植物界广泛，植物分泌的乳汁、树脂等均以二萜类衍生物为主，松柏科最多，菌类代谢产

物，海洋生物。

生物活性强：紫杉醇、穿心莲内酯、关附甲素、雷公藤内酯、甜菊苷等。

分类

链状二萜、单环二萜、双环二萜、三环二萜、四环三萜

五、二倍半萜

由5个异戊二烯单位构成、含25个C。

生源：由焦磷酸香叶基金合欢酯（GFPP）衍生而成。

多为结构复杂的多环性化合物，数量少。

二、物理性质

（一）性状：

1、形态

单萜和倍半萜：油状液体，可挥发，或为低熔点固体二萜  
和二倍半萜：结晶性固体。

2、味 苦味，或极苦，又称苦味素。但甜菊苷例外

3、旋光性 具有光学活性。

（二）溶解性

亲脂性强

在水中的溶解度随着分子中含氧官能团的极性的增大、数量增多而增大  
萜类的苷有一定的亲水性。

具内酯结构萜可用碱溶酸沉法分离纯化。萜类对高  
热、光、和酸碱敏感。

（三）化学性质

1、加成反应

1. 双键加成

（1）与HX加成：

（2）与溴加成：

（3）与亚硝酰氯反应

2. 羰基加成

（1）与NaHSO<sub>3</sub>加成反应

（2）与硝基苯肼加成反应

（3）与吉拉德试剂加成反应

2）氧化反应

氧化剂：O<sub>3</sub>，CrO<sub>3</sub>，KMnO<sub>4</sub>，SeO<sub>2</sub>

3）脱氢反应

在惰性气体的保护下，用铂黑或钯做催化剂，将萜类成分与硫或硒共热（200-300℃）而实现脱氢。  
环萜的碳架因脱氢转变为芳香烃类衍生物，所得芳香烃类衍生物容易通过波谱或化学方法鉴定。

脱氢反应可用作萜类化合物的结构鉴定。

## 第二节 挥发油

挥发油又称为精油（essential oils），具芳香气味的油状液体的总称。常温下能挥发，可随水蒸气蒸馏。

分布：

56科，136属，约300种

菊 科：菊、蒿、艾、苍术、白术、佩兰

芸香科：芸香、降香、桔、橙、柠檬

伞形科：川芎、小茴香、当归、柴胡  
唇形科：薄荷、藿香、香薷、紫苏、荆芥  
姜 科：姜、姜黄、莪术、山奈、

存在

植物的全株、根茎、根、花、果、叶  
具体部位：植物的腺毛、油室、油管、分泌细胞、树脂道。

挥发油的生物活性与应用

一般具有祛风和局部刺激。生物活性多种多样 例如：

香柠檬油——抗菌

柴胡挥发油——退热作用 丁香油 ——局麻止痛

土荆芥油——驱虫

薄荷油——清凉、驱风、局麻

茉莉花油——兴奋

临床应用：冰片、樟脑、薄荷脑等

一、挥发油的组成

1. 萜类——单萜和倍半萜类

如：樟脑油中的樟脑（50%）

桉叶油中的桉油精（70%）

松节油中蒎烯（80%）

薄荷油中薄荷醇（8%）

2. 芳香族化合物——多为苯丙素类(C6-C3)

3. 脂肪族成分:多为小分子(C9-C3)

4. 其它类成分——多为苷代谢产物或挥发性生物碱

二、理化性质

(一) 性状

1. 颜色——多数无色、微黄，

2. 气味——多为香气和辛辣味，少数特异味

3. 形态——常温透明液体，低温——析脑如：薄荷脑，樟脑，龙脑

4. 挥发性——常温下可以挥发不留痕迹（与脂肪油区别）

(二) 溶解性：不溶于水（溶解部分为含氧化合物），易溶于石油醚、乙醚、二硫化碳、油脂。

(三) 物理常数

1. 沸点[b.p]: 70~300℃

2. 相对密度[d]:

<1（单萜、倍半萜类）

>1（芳香类，丁香油、桂皮油）

3. 光学活性[α]: 几乎均有旋光+97°~177°

4. 折光率[n<sub>D</sub>]: 1.43~1.63

5. 稳定性: 易(O)， [d]↑，颜色↑，树脂状物，不挥发。

三、提取与分离

(一) 提取

1、水蒸气蒸馏法

1) 操作技术

要点：蒸馏瓶中容积不能超过1/3

馏出液由浑浊变澄清，表示蒸馏基本完成该法为

通入水蒸气蒸馏，一般无需热源导入的蒸汽有助于避免混合物暴沸

## 2) 适用范围

水蒸气蒸馏法只适用于具有挥发性的，能随水蒸气蒸馏而不被破坏，与水不发生反应，且难溶或不溶于水的成分的提取。

## 3) 特点:

工艺简单、操作方便，实用性强，易于推广

## 2、溶剂提取法

## 3、冷压法

压力            离心

鲜果皮        油与水        分层特点:

杂质较多

除杂: 再进行水蒸气蒸馏，除去非挥发性成分。

## 4、超临界流体萃取法 (SFE)

超临界流体 (Supercritical Fluid SF)

处于临界度 ( $T_c$ )，临界压力 ( $P_c$ ) 以上的流体。

如 $CO_2$ 、 $NH_3$ 、 $CH_2=CH_2$ 、丙烯、水等，目前最常用的是 $CO_2$ 作为超临界流体进行植物中一些成分的提取。

利用一种物质在超临界区域形成的流体进行提取的方法称为超临界流体萃取。

超临界流体 (SF) 的特性:

SF的密度类似液体的高密度——溶解能力强。

SF的粘度类似气体的低粘度

SF的扩散系数约是液体的100倍——穿透力强。

该项技术在月见草、桂花、柠檬、生姜等药材挥发油的提取应用上获得了良好的效果。

## (二)、分离

### 1、冷冻法

### 2、分馏法

分馏法分离的依据: 沸点不同一般规律是:

沸点是:

沸点随分子量增大、双键增多而升高; 萜烯的

沸点小于相应含氧衍生物的沸点; 沸点随含氧官

能团的极性增大而升高

三个馏分

(1) 低沸程馏分 (35-70°C/1.333kPa)

单萜烯类化合物

(2) 中沸程馏分 (70-100°C/1.333kPa)

单萜含氧化合物, 包括醛、酮、醇、酚和酯等

(2) 高沸程馏分 (100-140°C/1.333kPa)

倍半萜烯及其含氧衍生物和萘类化合物

## 3、化学法

### 1. 利用酸碱性不同进行分离

(1) 碱性成分的分离:

挥发油/乙醚→1%硫酸→酸水液→碱化→乙醚萃取, 蒸去乙醚 (碱性成分)

(2)羧酸、酚性成分的分离:

羧酸/乙醚液: 5%碳酸氢钠萃取酚类/乙

醚液: 2%氢氧化钠萃取

2.利用官能团不同进行分离

(1)醛酮类成分的分离:

NaHSO<sub>3</sub>试剂加成反应: 醛酮类Girard

T(P)吉拉德试剂: 醛酮类

(2)醇类成分的分离:

丙二酸单酰氯、邻苯二甲酸酐、丁二酸酐成酯

萜醇与邻苯二甲酸酐反应形成酯。

(3)其它类成分的分离

醚类: 与浓酸成盐溶于水与乙醚分层, 水解后  
又转移至乙醚层

萜烯: Br<sub>2</sub>、HCl、HBr、NOCl<sub>2</sub>加成 萜类:

浓硫酸萃取, 萃取液稀释后析出

4、色谱法

(1).硅胶层析: 萜烯与含氧萜衍生物

(2).氧化铝层析: 萜烯与含氧萜衍生物

(3).硝酸银络合层析: 萜烯类硝酸银

络合层析: 萜烯类

原理: AgNO<sub>3</sub> + π键 → π络合物

依据: 萜烯双键数量与位置(空间位阻) 铺板:

硅胶 + 2~2.5% AgNO<sub>3</sub>

规律: (从双键数量和空间位阻考虑) 双键

多吸附力 > 双键少吸附力

环外双键吸附力 > 环内双键吸附力末端

双键吸附力 > 中间双键吸附力顺式双键

吸附力 > 反式双键吸附力

复习思考题、作业题

下列哪种药材中所含的挥发油成分, 具有抗癌活性 C

A. 薄荷

B. 丁香

C. 温莪术

D. 八角茴香

E. 甘草

2. 在青蒿素的结构中, 具有抗疟作用的活性基团是 B

A. 羰基

B. 过氧基

C. 醚键

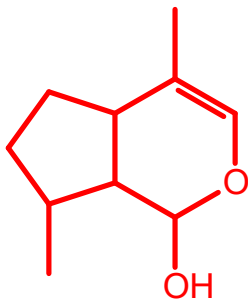
D. 内酯环

E. 苯环

3下列化合物可制成油溶性注射剂的是 A

A. 二氢青蒿素甲醚

- B. 青蒿琥珀酯钠  
 C. 青蒿素  
 D. 穿心莲内酯磺酸钠  
 E. 穿心莲内酯丁二酸单酯钾
4. 开链萜烯通开链烯的分子组成符合下述哪项通式D  
 A.  $(C_6H_8)_n$   
 B.  $(C_4H_8)_n$   
 C.  $(C_3H_6)_n$   
 D.  $(C_5H_8)_n$   
 E.  $(C_nH_n)_n$
5. 组成挥发油最主要的成分是 D  
 A. 四萜 B. 三萜 C. 二萜类 D. 单萜、倍半萜 E 二倍半萜类
6. 下列化合物应属于 D



- A. 双环单萜  
 B. 单环单萜  
 C. 萜类  
 D. 环烯醚萜  
 E. 黄酮类
7. 提取某些含油量高, 且是新鲜药材中的挥发油, 常选用的方法是 C  
 A. 水蒸气蒸馏法  
 B. 升华法  
 C. 压榨法  
 D. 浸取法  
 E. 吸收法

下次课预习要点

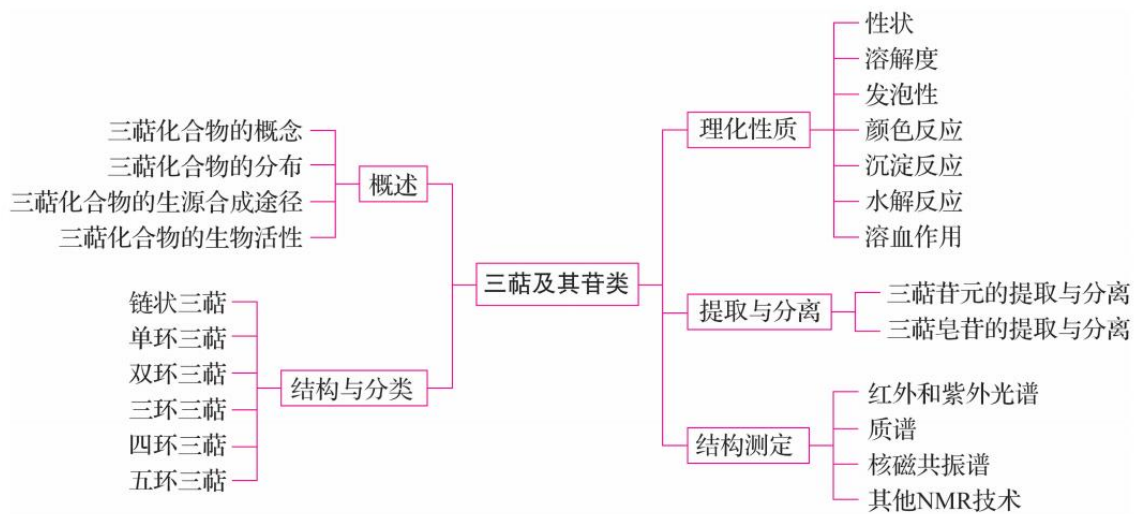
皂苷的结构与分类

教 学  
后 记



章节名称	第八章 三萜及其苷类		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	4
教学目标	<p><b>知识要求</b></p> <p>掌握皂苷的结构与分类；          掌握皂苷的溶解性、表面活性、溶血作用；          掌握皂苷的提取、分段沉淀法、胆固醇沉淀法分离；          熟悉皂苷的性状、显色反应；          熟悉皂苷的色谱法分离；          熟悉皂苷的实例分析。</p> <p><b>能力要求</b></p> <p>熟练应用皂苷的性质区别甾体皂苷与三萜皂苷；          熟练应用皂苷的提取分离技能；          学会皂苷的鉴别方法</p> <p><b>职业素质和态度目标</b></p> <p>培养学生的学科兴趣，提升学生对药学的专业认同感，职业认同感，职业素养，开拓创新思维，增强文化自信。</p>		
课程思政元素	<p>本章节的课程思政思路主要以人参中皂苷类成分为切入点介绍本节课程内容，分析人参中的皂苷成分，指出其中的有效成分和一些具有溶血作用的毒性成分，引出本课程在药物研究中的重要意义，利于培养学生的学科兴趣，提升学生对药学的专业认同感职业认同感、职业素养，开拓创新思维、增强文化自信等思政元素。引导学生投身药物科学研究中，为人类健康事业作出贡献。</p>		
教学方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。</li> <li>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</li> <li>3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</li> </ol>		
教学重点难点	<p><b>重点：</b></p> <p>掌握皂苷的结构与分类；          掌握皂苷的溶解性、表面活性、溶血作用；          掌握皂苷的提取、分段沉淀法、胆固醇沉淀法分离；          熟悉皂苷的性状、显色反应；          熟悉皂苷的实例分析。</p>		

教学内容：  
思维导图：



皂苷是一类结构比较复杂的苷类化合物。它的水溶液振摇后能产生大量持久性、类似肥皂样的泡沫，

故名皂苷

分布

在自然界分布广泛，菌类、蕨类、单子叶、双子叶植物、动物及海洋生物中均有分布，尤以双子叶植物中分布最多。

主要分布于菊科、石竹科、五加科、豆科、远志科、桔梗科、玄参科、薯蓣科、百合科、玄参科、菝葜科、龙舌兰科等单子叶植物中。

含有三萜类成分的主要中药如人参、甘草、柴胡、黄芪、桔梗、川楝皮、泽泻、灵芝等。

生物活性

抗生育：杀灭精子、抗早孕

主要用作合成甾体避孕药和激素类药物的原料。

降血糖：伪原知母皂苷AIII和原知母皂苷AIII

降低胆固醇和免疫调节

抗真菌、杀虫等

## 第一节、化学结构

多以游离或成苷、成酯的形式存在

常见的糖：葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、鼠李糖，糖醛酸，特殊糖（如芹糖、乙酰氨基糖等）

分类

糖链数目不同：单糖链皂苷、双糖链皂苷、三糖链皂苷

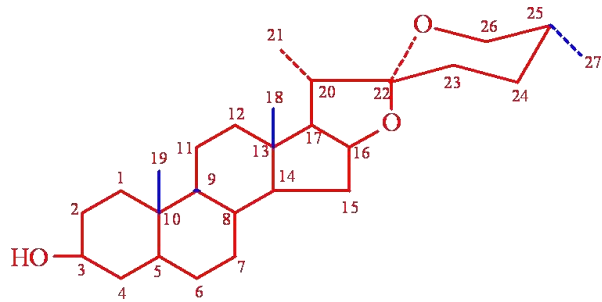
是否含有羧基：酸性皂苷、中性皂苷、酯皂苷

苷元化学结构：甾体皂苷、三萜皂苷

次皂苷：原生苷被部分降解的产物

一、甾体皂苷

甾体皂苷元共有27个碳原子组成：基本骨架为螺旋甾烷和异螺旋甾烷。



(1) 分子中含有A,B,C,D,E,F六个环, A,B,C,D为甾体母核---环戊烷多氢菲, C22是E环和F环共有的碳原子, 以螺缩酮的形式相联。

(2) 分子中有含有多个羟基, 大多在C3位有羟基取代。多数为 $\beta$ -型, 少数为 $\alpha$ -型。羰基和双键也是常见取代基。

(3) 一般B/C 和C/D环稠合为反式( $8\beta, 9\alpha, 13\beta, 14\alpha$ ), 而A/B环有顺式或反式 ( $5\beta$ 或 $5\alpha$ )。

(4) 在甾体皂苷元的E,F环中有3个手性碳原子, 为C20、C22、C25。

C20甲基为 $\alpha$ 型, 即C20-甲基位于E环平面的背面, 对E环来说是 $\alpha$ 型, 但对F环来说是 $\beta$ 型。C22也为 $\alpha$ 型。

C25甲基有两种构型, 当C25甲基位于环平面上的直立键时为 $\beta$ 型, 其绝对构型为S型 ( $25S, 25L, 25\beta F, Neo$ ); S型即为螺旋甾烷, 由其衍生的皂苷为螺旋甾烷醇皂苷类 (spirostanol saponins)。

当C25甲基位于环平面下的平伏键时为 $\alpha$ 型, 其绝对构型为R型 ( $25R, 25D, 25\alpha F, Iso$ )。

R型即为异螺旋甾烷。由其衍生的皂苷为异螺旋甾烷醇皂苷类(isospirostanol saponins)。

两者互为异构体, 常共存于植物体内, 25R型较稳定

(5) 甾体皂苷分子中不含羧基, 呈中性, 故又称中性皂苷。

#### 结构分类

甾体皂苷的皂苷元基本骨架属于螺旋甾烷的衍生物, 依照螺旋甾烷结构中C25的构型和环的环合状态, 可将其分为四种类型

1. 螺旋甾烷醇类C25为S构型。
2. 异螺旋甾烷醇类 (isospirostanols)C25为R构型
3. 呋甾烷醇类 (furostanols) F环为开链衍生物
4. 变形螺旋甾烷醇类 (pseudo-pirostanols) F环为五元四氢呋喃环

#### 二、三萜皂苷

三萜及其苷类由于结构复杂, 分离难度也较大, 在过去研究进展不快, 近年来, 由于分离技术和结构鉴定方法的发展, 使皂苷类研究进展很快, 同时, 尤其是三萜皂苷类的生理活性的多样性, 如人参皂苷具有促进RNA蛋白质的生物合成, 增强机体免疫等作用, 柴胡皂苷 等, 具有抑制中枢神经系统和抗炎作用等。由于这些作用, 三萜皂苷被认为是许多中药的有效成份, 得到国内外学者的普遍重视, 使其研究发展极为迅速。

由30个碳原子组成的萜类化合物, 符合“异戊二烯定则”(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>6</sub>

大多与糖结合成苷, 大多溶于水, 水溶液振摇会产生持久的泡沫, 因此称为三萜皂苷。

因为许多三萜皂苷具有羧基, 因此又称为“酸性皂苷”。

广泛存在于自然界, 双子叶植物中分布最多三萜苷元

分类: 四环三萜、五环三萜

##### (一) 四环三萜皂苷

四环三萜(tetracyclic triterpenoids) 在生源上可视为由鲨烯变为甾体的中间体, 大多数结构和甾醇很相似, 亦具有环戊烷骈多氢菲的四环甾核。在4、4、14位上比甾醇多三个甲基, 也有认为是

植物甾醇的三甲基衍生物。存在于自然界较多的四环三萜或其皂苷元主要有达玛烷、羊毛脂烷、甘遂烷、环阿屯烷（环阿尔廷烷）、葫芦烷、楝烷型三萜类。

### 一、达玛烷型

从环氧鲨烯由全椅式构象形成，其结构特点是A/B、B/C、C/D环均为反式，C18 -CH<sub>3</sub>由

C13位转位到C8位连接（C环内） 如：人参中的人参皂苷

### 二、羊毛脂甾烷型

从环氧鲨烯由全椅-船-椅式构象形成，其A/B、B/C、C/D环均为反式。10、13、14位分别连有 $\beta$ 、 $\beta$ 、 $\alpha$ -CH<sub>3</sub>，即C18  $\beta$ -CH<sub>3</sub>连接在C13位上。

从灵芝中分离出一个三萜化合物，具有扶正固本之功。它的结构与羊毛甾烷相比，多了3=O，11=O，15=O，23=O，27-CH<sub>3</sub>→27-COOH，是羊毛甾烷的高度氧化化合物。

### 三、葫芦烷型

基本骨架与羊毛脂烷相似，但它有5 $\beta$ -H，10 $\alpha$ -H，9 $\beta$ -CH<sub>3</sub>（羊毛脂烷为5 $\alpha$ -H，10 $\beta$ -CH<sub>3</sub>，9 $\alpha$ -H）

#### （二）五环三萜

多数三萜皂苷元以五环三萜形式存在。其C3-OH与糖结合成苷，苷元中常含有羧基，故又称酸性皂苷，在植物体中常与钙、镁等离子结合成盐。

五环三萜主要有下面几种类型：

#### （1）齐墩果烷型(oleanane)

又称 $\beta$ -香树脂烷型( $\beta$ -amyrane)，在植物界分布极为广泛。其基本碳架是多氢蒎的五环母核，环的构型为A/B、B/C、C/D均为反，D/E顺，母核上有8个甲基，其中C4、C20上的均为偕二甲基，C8、C10、C17的甲基均为 $\beta$ -型，C17位上的甲基为 $\alpha$ -型，一般C3位上的羟基为 $\beta$ -型，并与糖结合成苷

#### （2）乌苏烷型

又称 $\alpha$ -香树脂烷型( $\alpha$ -amyrane)或熊果烷型，其分子结构与齐墩果烷型不同之处是E环上两个甲基位置不同，即C29、C30甲基分别连接在C19、C20位上，构型分别是 $\beta$ 和 $\alpha$ 型。

#### （3）羽扇豆烷型

羽扇豆烷三萜类E环为五元碳环，且在E环19位有异丙基以 $\alpha$ 构型取代，A/B、B/C、C/D及D/E均为反式。

白桦脂醇(betulin)存在于中草药酸枣仁、桦树皮、槲寄生、槐花等中。

白桦脂酸(betulinic acid)存在于酸枣仁、桦树皮、柿蒂、天门冬、石榴树皮及叶、睡菜叶等中。

羽扇豆醇(lupeol)存在于羽扇豆种皮中。

## 第二节、理化性质

### 一.性状

甾体皂苷元有较好晶形。皂苷多为无定形粉末，味苦而辛辣，对人体黏膜有强烈的刺激性；但甘草皂苷有显著而强的甜味，对黏膜刺激性弱。皂苷还具吸湿性。皂苷多具旋光性，且多为左旋。

### 二.溶解性

皂苷一般可溶于水，易溶于热水、稀醇，难溶于石油醚、苯、乙醚等亲脂性溶剂。

皂苷在含水正丁醇或戊醇中有较大溶解度，可利用此性质从含皂苷水溶液中用该溶剂进行萃取。

皂苷在提取的过程中会产生次级苷，水溶性下降，溶于中等极性有机溶剂（醇，乙酸乙酯）。

皂苷元：不溶于水，易溶于石油醚、苯、CHCl<sub>3</sub>、Et<sub>2</sub>O。

### 三、表面活性

亲水性基团为糖，亲脂性基团为苷元，当二种基团比例适当时具有表面活性。皂苷水溶液经强烈振荡能产生持久性的泡沫，且不因加热而消失。因此皂苷可作为清洁剂、乳化剂应用。

区别皂苷与蛋白质

蛋白质水溶液	} 加热	} 蛋白质凝固，泡沫消失
皂苷水溶液		

区别甾体皂苷与三萜皂苷

0.1mol/L HCl 5mL	} 中药提取液	} 泡沫高度一样：三萜皂苷
0.1mol/L NaOH 5mL		

#### 四.溶血作用

皂苷水溶液能与红细胞壁上的胆甾醇结合，生成不溶于水的分子复合物，破坏了红细胞的正常渗透，使细胞内渗透压增加而发生崩解，从而导致溶血现象，故皂苷又称为皂毒素(saptoxins)。因此，皂苷水溶液不能用于静脉注射或肌肉注射。

但并不是所有的皂苷都具有溶血作用，如以人参二醇为苷元的皂苷则无溶血作用。

溶血指数：指在一定条件下能使血液中红细胞完全溶解的最低皂苷浓度。如甘草皂苷，溶血指数1: 4000，溶血性能较强。

#### 五.显色反应

##### 1) 浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-醋酐 (Liebermann-burchard反应)

样品溶于冰醋酸，加浓硫酸-醋酐(1:20)，产生黄→红→紫→蓝等颜色变化，最后褪色。

甾体皂苷也有此反应，但颜色变化快，在颜色变化的最后呈现污绿色；而三萜皂苷颜色变化稍慢，且不出现污绿色。

##### 2) 三氯甲烷-浓硫酸反应 (Salkowski反应)

试样溶于三氯甲烷、加入浓硫酸，三氯甲烷层显红色或蓝色，浓硫酸层显绿色荧光

##### 3) 三氯乙酸 (Rosen-Heimer) 反应

样品溶液点于滤纸上，喷25%三氯醋酸乙醇溶液，加热至60℃ (甾体皂苷) 或100℃ (三萜皂苷)，显红色→紫色斑点。

三氯化铋或五氯化铋 (kahlenberg) 反应

将样品醇溶液点于滤纸上，喷以20%三氯化铋 (或五氯化铋) 氯仿溶液 (不应含乙醇和水) 干燥后，60-70℃加热，显黄色、灰蓝色、灰紫色斑点，在紫外灯下显蓝紫色荧光。

注意：五氯化铋腐蚀性很强，宜少量配置，用后倒掉。

##### 5) 冰醋酸-乙酰氯 (Tschugaeff) 反应

样品溶于冰醋酸，加乙酰氯数滴及氯化锌 结晶数粒，稍加热，则呈现淡红色或紫红色。

##### 6) 氯仿-浓硫酸 (salkowski) 反应

将样品溶于氯仿，加入浓硫酸后，在氯仿层呈现红色或兰色，硫酸层有绿色荧光出现。

小结

反应类型	操作	现象
醋酐-浓硫酸反应	取少量皂苷样品溶于醋酐中，加入醋酐-浓硫酸试剂	呈现黄→红→蓝→紫→绿的颜色变化。甾体皂苷在颜色变化中最后出现绿色，而三萜皂苷只能转变为红或蓝或紫，最后不出现绿色。
三氯醋酸反应	将皂苷溶液滴在滤纸上，再滴加三氯醋酸试剂，加热	生成红色渐变成紫色。甾体皂苷反应快只需加热至60。C即显色，而三萜皂苷反应较慢，需加热至100。C才能显色。
氯仿-浓硫酸反应	将溶于氯仿，加入浓硫酸	氯仿层呈现红或蓝色，浓硫酸层有绿色荧光。
五氯化锑反应	皂苷与五氯化锑的氯仿溶液反应	呈紫色
冰醋酸-乙酰氯反应	皂苷溶于冰醋酸中，加入乙酰氯数滴及氯化锌结晶数粒，稍加热	呈现淡红色或紫红色

## 六.沉淀反应

皂苷的水溶液可以和一些金属盐类如铅盐、钡盐、铜盐等产生沉淀。此性质可用于皂苷的分离：先用金属盐使皂苷沉淀下来，分离出来之后在对其分解脱盐。

如：三萜皂苷+PbAc<sub>2</sub>→沉淀→分解脱铅→皂苷

缺点：铅盐吸附力强，容易带入杂质，并且在脱铅时铅盐也会带走一些皂苷，脱铅也不一定能脱干净。

三萜皂苷为酸性皂苷，可用中性PbAc<sub>2</sub>沉淀，而甾体皂苷则为中性皂苷，须用碱性PbAc<sub>2</sub>沉淀。

另：甾体皂苷可与甾醇形成分子复合物，甾体皂苷的乙醇溶液可被甾醇（常用胆甾醇）沉淀。除胆甾醇外，凡是含有C3位β-OH的甾醇都可与皂苷结合生成难溶性分子复合物。若C3-OH为α构型，或者是当C3-OH被酰化或生成苷键，就不能与皂苷生成难溶性的分子复合物。生成的分子复合物用乙醚回流提取时，胆甾醇可溶于醚，但皂苷不溶，从而达到纯化皂苷和检查是否有皂苷成分的存在。

## 第三节 提取与分离

### 1.皂苷的提取

皂苷提取通法：

- ①甲醇或乙醇提取。
- ②回收溶剂（约1/3），转溶于水。
- ③水溶液用石油醚，氯仿等萃取。除去油脂和脂溶性成份。
- ④正丁醇萃取，将皂苷转溶出来。与亲水性杂质分离。
- ⑤回收正丁醇，得粗制总皂苷。其他方法：

先用石油醚脱脂，再用醇类溶剂提取，冷却后，皂苷难溶于冷乙醇而析出。

碱提取、酸沉淀的方法:酸性皂苷的提取，某些酸性皂苷难溶于冷水，易溶于碱性水溶液，采用碱提取、酸沉淀的方法。

### 2.精制与分离

### (一) 分段沉淀法

粗皂苷溶于少量的甲醇或乙醇中，逐滴加入乙醚或丙酮至混浊，放置产生沉淀，得极性较大的皂苷。

母液继续滴加乙醚或丙酮，至析出沉淀得极性较小的皂苷。

### (二) 胆固醇沉淀法

粗皂苷溶于少量乙醇中，再加入胆固醇的饱和溶液，直至不再析出沉淀（混合后需稍加热），浓集沉淀。用水、乙醇、乙醚依次洗涤，除去糖类、色素、油脂及游离的胆固醇。

沉淀干燥，用乙醚连续回流提取。

### (三) 色谱法

1. 分配柱层析法 以硅胶为支持剂， $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ ， $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ ， $\text{EtOAc-EtOH-H}_2\text{O}$ 或水饱和的正丁醇等溶剂系统洗脱。

#### 2. 吸附色谱法

吸附剂常用硅胶，适用于分离亲脂性皂苷元，用混合溶剂洗脱

#### 3. 高效液相色谱法

以反相键合相RP-18、RP-8或RP-2为填充剂，常用 $\text{CH}_3\text{OH-H}_2\text{O}$ 或乙腈-水为洗脱剂。

#### 4. 大孔树脂吸附法

① 甲醇或乙醇提取，回收溶剂，残渣溶于水。

② 通过大孔树脂。

③ 洗脱：

(a) 先用少量水洗，洗去糖类及水溶性杂质。

(b) 0~50%乙醇洗脱皂苷，与黄酮等分离。

④ 将醇洗脱部分减压浓缩，得粗制总皂苷。

### 复习思考题、作业题

属于达玛烷衍生物的是 ( A )

A 猪苓酸

B 菝葜皂苷

C 熊果酸

D 人参三醇

E 甘草酸

下列成分的水溶液振摇后能产生大量持久性泡沫，并不因加热而消失的是 ( )

A 蛋白质

B 黄酮苷

C 蒽醌苷

D 皂苷

E 生物碱

制剂时皂苷不适宜的剂型是 ( )

A 片剂

B 糖浆剂

C 合剂

D 注射剂

E 冲剂

不符合皂苷通性的是 (A)

- A 大多为白色结晶
- B 味苦而辛辣
- C 对粘膜有刺激性
- D 振摇后能产生泡沫
- E 大多数有溶血作用

从水液中萃取皂苷最好用 (D)

- A 丙酮
- B 乙醚
- C 醋酸乙酯
- D 正丁醇
- E 甲醇

溶血指数是指在一定条件下,能使血液中红细胞完全溶解的皂苷溶液

- A. 最高浓度 B. 最低浓度 C. 较高浓度 D. 较低浓度 E. 物质的量浓度

B.

含三萜皂苷水溶液,分别加入盐酸(酸管)和氢氧化钠(碱管)后振摇,结果是 ( C )

- B. 酸管泡沫高于碱管几倍
- A. 碱管泡沫高于酸管几倍
- C. 两管泡沫高度相同
- D. 酸管有泡沫,碱管无碱管
- E. 两管泡沫产生后立即消失

#### 课程思政

引出本节课的内容皂苷类成分。以一个耳熟能详的名贵中药的内容引出课程重点,同时以此作为思政元素的切入点,引导学生深入了解课程在实际药物研究中的意义,可提升学生对本学科的兴趣。

本节课主要讲解皂苷类成分的结构分类、理化性质、提取分离与鉴定、生理活性等内容,通过介绍传统名贵药材人参的现代药理学作用,具有治疗心血管系统疾病、治疗糖尿病、增强人体免疫力和造血机能等方面发作用,提出人参中起到这些作用的成分是什么类型的成分?人参中的某些有效成分和“毒性”成分为不同种的皂苷类成分,理化性质也有差异性。具有显著生理活性的人参皂苷类成分,可开发相关中成药或保健产品,学习应该有开拓思维和创新意识。利用“毒性”成分理化性质的差异性对其进行鉴别,也具有实际应用价值。人参作为传统中药,当前以此为对象的科学研究一直在进行,充分体现中国中药文化的悠久历史和应用价值,彰显民族文化自信心。

#### 下次课预习要点

强心苷的结构与分类、水解性、显色反应

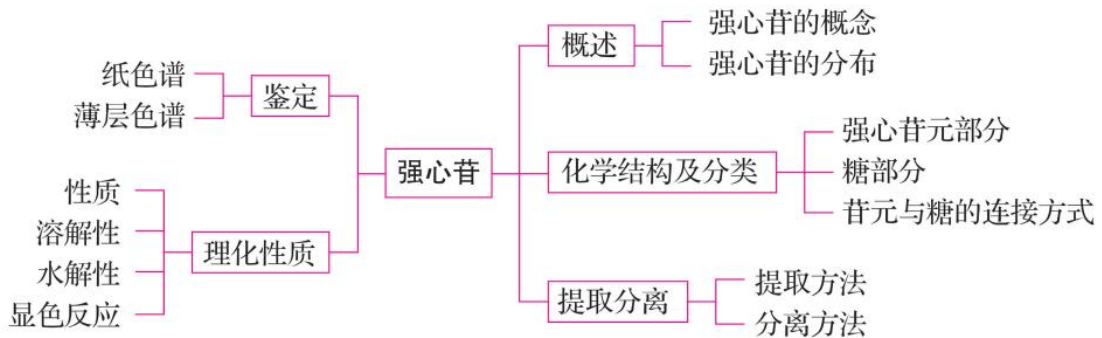
教 学  
后 记

--	--



章节名称	第九章 强心苷		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	4
教学目标	<p><b>知识要求</b>          掌握强心苷的结构与分类、水解性、显色反应          熟悉强心苷的性状、溶解性、提取分离、色谱鉴定、实例分析          了解强心苷的结构与强心作用的关系</p> <p><b>能力要求</b>          熟练应用强心苷的显色反应区别甲型与乙型强心苷          熟练应用强心苷的提取与分离技能。          学会强心苷的鉴别方法</p> <p><b>职业素质和态度目标</b>          引导学生培养中药文化自信，逐渐培养民族自豪感，激励学生投身传统文化的传承事业。</p>		
课程思政元素	以中药来源的一线强心作用药作为主线引入课程思政元素，逐渐培养民族自豪感，激励学生升课堂思政的育人效果。的临床药物，从中提取思政元素、提		
教学方法	1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。 2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。 3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。		
教学重难点	<p><b>重点：</b>          掌握强心苷的结构与分类、水解性、显色反应          熟悉强心苷的性状、溶解性、提取分离、实例分析          了解强心苷的结构与强心作用的关系</p>		

教学内容：  
思维导图：



### 一、定义

强心苷是存在于植物中具有强心作用的甙体苷类化合物，由强心苷元和糖缩合而产生的一类苷。

强心苷是治疗室率过快心房颤动的首选药和慢性心功能不全的主要药物。

目前临床应用的有二、三十种，用于治疗充血性心力衰竭及节律障碍等心脏疾病，如西地兰、地高辛、毛地黄毒苷等。

但强心苷类能兴奋延髓催吐化学感受区而引起恶心、呕吐等胃肠道反应；且有剧毒，若超过安全剂量时，可使心脏中毒而停止跳动。

其中某些强心苷对动物肿瘤有效，主要是细胞毒作用。1785年，国外使用洋地黄叶治疗水肿，到现在已从十几个科一百多种植物中发现强心苷类，主要有夹竹桃科、玄参科、萝藦科、卫矛科、百合科、大戟科等等。尤其在玄参科和夹竹桃科植物中最多。

较重要的植物有黄花夹竹桃、紫花洋地黄、毛花洋地黄、杠柳、铃蓝、海葱、福寿草、羊角拗等。

动物中尚未发现有强心苷类成分，蟾蜍中所含的蟾毒也对心肌有兴奋作用，具强心作用，但其非苷类，而属甙类。

常见的含强心苷的天然药物

铃兰、紫花洋地黄

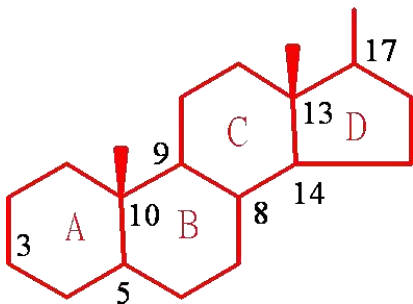
黄花夹竹桃

羊角拗

蟾蜍

### 第一节、结构和分类

#### 一、强心苷元部分



强心苷元是由甙体母核与C17取代的不饱和内酯环组成

(1) 苷元母核

苷元母核A,B,C,D四个环的稠合构象对强心苷的理化及生理活性有一定影响。自然界存在的强心苷元B/C环是反式，C/D环是顺式，A/B环大多数为顺式-----洋地黄毒苷元(digitoxigenin)，少数为反式---乌沙苷元(uzarigenin)。

## (2) 取代基

苷元母核上的C3,C14位上都有羟基：

C3位-OH多为 $\beta$ -型---洋地黄毒苷元，少数为 $\alpha$ -型(命名时冠以“表”字)——3-表洋地黄毒苷元(3-epidigitoxigenin)。C14位-OH都是 $\beta$ -型(C/D环顺式)。C10, C13,

C 17位有侧链，C10, C13多为 $\beta$ -CH<sub>3</sub>。

C 17位侧链为不饱和内酯环。

C11,C12和C19位可能连羰基；C4,5、C5,6、C9,11、C16,17可能有双键。

## 2.结构类型

根据C17位侧链的不饱和内酯环不同分为：

甲型：C17位侧链为五元环的 $\Delta\beta\alpha$ - $\gamma$ 内酯

乙型：C17位侧链为六元环的 $\Delta\beta\alpha$ - $\delta\gamma$ - $\gamma$ 内酯

这两类大都是 $\beta$ -构型，个别为 $\alpha$ -构型， $\alpha$ -型无强心作用。

甲型强心苷元：

C17位上连五元不饱和内酯环，即 $\Delta\alpha\beta$ - $\gamma$ -内酯----强心甾烯型。以强心甾(cardenolide)为母核命名。

乙型强心苷元

C17位上连六元不饱和内酯环，即 $\Delta\alpha\beta$ ,  $\gamma\delta$ ---双烯- $\delta$ -内酯，称为海葱甾二烯或蟾蜍甾二烯。以海葱甾(scillanolide)或蟾蜍甾(bufanolide)为母核命名。

## 二、糖部分

构成强心苷的糖有20多种，根据C2位上有无-OH分为 $\alpha$ -OH (2-OH)糖及 $\alpha$ -去氧糖(2-去氧糖)两类。后者主要见于强心苷。

### 1. $\alpha$ -羟基糖

除广泛分布于植物界的D-葡萄糖、L-鼠李糖外，还有：

(1) 6-去氧糖如：L-夫糖、D-鸡纳糖等。

(2) 6-去氧糖甲醚如：L-黄夹糖、D-洋地黄糖等。

### 2. $\alpha$ -去氧糖

(1) 2,6-二去氧糖如：D-洋地黄毒糖等。

(2) 2,6-二去氧糖甲醚如：L-夹竹桃糖、

D-加拿大麻糖等。

构成强心苷的糖对强心作用的影响

构成强心苷的糖数目和种类不同，对强心苷活性影响不同。

甲型强心苷元及其苷的毒性规律一般为：

苷元<单糖苷>二糖苷>三糖苷单糖

苷的毒性次序为：

葡萄糖苷>甲氨基糖苷>6-去氧糖苷 >2, 6-去氧糖苷乙型

强心苷元及其苷的毒性规律一般为：

苷元>单糖苷>二糖苷

乙型强心苷元的毒性>相应的甲型强心苷元

## 三、糖和苷元的连接方式

强心苷中，多数是几种糖结合成低聚糖形式再与苷元的C3-OH结合成苷，少数为双糖苷或单糖苷。糖和苷的连接方式有三种：

I 型: 苷元-(2,6-去氧糖)<sub>x</sub>-(D-葡萄糖)<sub>y</sub>

II 型: 苷元-(6-去氧糖)<sub>x</sub>-(D-葡萄糖)<sub>y</sub>

III 型: 苷元-(D-葡萄糖)<sub>Y</sub> X=1-3; Y=1-2

一般初生苷其末端多为葡萄糖。

天然存在的强心苷多数属于 I 型和 II 型, III 型较少。结构举

例

## 第二节 理化性质一.

性状

强心苷多为无色结晶或无定形粉末, 中性物质, 有旋光性, C17 侧链为β-构型的味苦, α-构型味不苦, 但无效。对粘膜有刺激性。二. 溶解

性

强心苷的溶解性与所连糖的种类和数目有关, 一般可溶于水、甲醇、乙醇、丙酮等极性溶剂; 难溶于乙醚、苯、石油醚等非极性溶剂。

弱亲脂性苷微溶于氯仿-乙醇(2:1), 亲脂性苷微溶于乙酸乙酯、含水氯仿、氯仿-乙醇(3:1)。

一般糖基多的原生苷比次生苷或苷元的亲水性强、亲脂性弱, 可溶于水等极性溶剂而难溶于低极性溶剂, 多为无定形粉末。洋地黄毒苷是一个三糖苷, 但3分子糖都是洋地黄毒糖, 整个分子只有5个羟基, 故在水溶液中溶解度小(1:100000000), 溶于氯仿(1:40)。

当糖基与苷元上的羟基数目相同时, 苷元上的羟基不能形成分子内氢键的比能形成分子内氢键的水溶性大。

但糖基和苷元上羟基数目的多少对溶解性也有一定的影响。如乌本苷是一个单糖苷, 却有8个羟基, 水溶性很大(1:75), 难溶于氯仿。

### 三. 水解性

水解反应是研究强心苷组成的常用方法, 分化学方法和生物方法两大类, 化学方法主要有酸水解、碱水解和乙酰解; 生物方法主要有酶水解。糖部分不同, 其水解产物难易及产物均不同。

#### (一) 酸催化水解

##### 1. 温和酸水解:

用稀酸(0.02-0.05mol/L)的盐酸或硫酸在含水醇中经短时间(半小时至数小时)加热回流, 可使 I

型强心苷水解成苷元和糖。主要水解苷元和α-去氧糖之间的苷键或α-去氧糖与α-去氧糖之间的糖苷键。而α-去氧糖与葡萄糖之间的糖苷键不易断裂。对苷元影响较小, 不会引起脱水反应。但不适于16位有甲

酰基的洋地黄强心苷类, 在此种条件下, 16位甲酰基水解为羟基, 得不到原生苷元。

##### 2...强烈酸水解

用较浓酸(3%--5%)长时间加热回流或同时加压, 可水解 II 型和 III 型强心苷, 得到定量的葡萄糖。可水解α-羟基糖。因为α位的羟基阻碍了苷原子的质子化, 使水解较困难。但此法常引起苷元失去1分子或数分子水, 形成脱水苷元。

##### 3. 酶水解法

酶水解具有反应温和、专一性强的特点

含强心苷的植物中, 有水解葡萄糖的酶, 在适宜条件下, 能水解糖链末端的葡萄糖。但无水解α-去氧糖的酶, 所以能水解除去分子中的葡萄糖而保留α-去氧糖。

蜗牛酶(一种混合酶, 蜗牛肠管消化液经处理而得)几乎能水解所有的苷键, 能将强心苷分子的糖逐步水解, 直至获得苷元, 常用来研究强心苷的结构。

##### 4. 碱水解法

强心苷的苷键为缩醛结构，可被酸或酶水解，而不被碱水解。碱试剂主要使分子中的酰基水解、内酯环裂开、 $\Delta^{20(22)}$ 转位及苷元异构化等。

#### A. 酰基的水解

在强心苷的苷元或糖基上常有酰基存在，一般可用碱试剂处理使酯键水解脱去酰基。

$\text{NaHCO}_3, \text{KHCO}_3$ ----使 $\alpha$ -去氧糖上的酰基水解，而 $\alpha$ -羟基糖及苷元上的酰基多不被水解；

$\text{Ca}(\text{OH})_2, \text{Ba}(\text{OH})_2$ --- 使 $\alpha$ -去氧糖、 $\alpha$ -羟基糖及苷元上的酰基水解；

$\text{NaOH}$ 碱性太强，不但使所有酰基水解，还使内酯环开裂，故很少使用。

#### B. 内酯环的水解

$\text{NaOH}$ 或 $\text{KOH}$ 的水溶液使内酯环开裂，酸化后又闭环。但在强心苷的醇溶液中加入 $\text{NaOH}$ 或 $\text{KOH}$ 内酯环开裂，酸化后不能闭环。

#### 四. 显色反应

强心苷颜色反应很多，根据颜色反应发生在分子的不同部位可分为三类：

(一) 作用于甾体母核的反应：

1. 醋酐-浓硫酸反应

(Liebermann-burchard reaction)

2. 氯仿-浓硫酸反应 (Salkowski reaction)

3. 三氯化锑或五氯化锑反应

(二) 作用于 $\alpha, \beta$ 不饱和内酯环的反应：

甲型强心苷在碱性醇溶液中，发生双键转移，生成活性亚甲基，故可与活性亚甲基试剂作用而显色。乙型强心苷无此类反应。

甲型强心苷在醇性 $\text{KOH}$ 溶液中，通过内酯环的双键转移和质子转移形成 $\text{C}22$ 活性亚甲基， $\text{C}14$ 羟基质子对 $\text{C}20$ 的亲电性加成作用而生成内酯型异构化苷，再经皂化作用开环而生成开链型异构化苷。

乙型强心苷在醇性 $\text{KOH}$ 溶液中，不发生双键转移，但内酯环开裂生成酯，再脱水形成开链型异构化苷。

1. Legal反应 (亚硝酰铁氰化钠试剂)：

取样品1-2mg，溶于2-3滴吡啶中，加一滴3%亚硝酰铁氰化钠溶液和一滴2mol/L  $\text{NaOH}$ 溶液，样品液呈深红色并渐渐褪去。

2. Raymond反应 (间二硝基苯试剂)：

取样品约1mg，以少量的50%乙醇溶解后加入0.1ml 1%间二硝基苯乙醇溶液，摇匀后再加入0.1 ml 20%  $\text{NaOH}$ 溶液，呈紫红色。

3. Kedde反应 (3,5-二硝基苯甲酸试剂)

取样品的甲醇或乙醇溶液于试管中，加入3,5-二硝基苯甲酸试剂3-4滴，产生红或紫红色。

4. Baljet反应 (碱性苦味酸试剂)

取样品的甲醇或乙醇液于试管中，加入碱性苦味酸试剂数滴，呈现橙或橙红色。有时需放置15min后显色。

小结

反应名称	试剂	颜色	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$
Legal反应	亚硝酰铁氰化钠	深红或蓝	470
Kedde反应	3,5-二硝基苯甲酸	深红或红	590

Raymond反应	间二硝基苯	紫红或蓝	620
Baljet反应	苦味酸试剂	橙或橙红	490
条件:	碱性,	颜色共性: 红色系列	
试剂:	缺 $\pi$ 类		

### (三) 作用于2-去氧糖的反应

#### 1. Keller-kiliani(K-K)反应

此反应是 $\alpha$ -去氧糖(2-去氧糖)的特征反应, 对游离的 $\alpha$ -去氧糖或在反应条件下能水解出 $\alpha$ -去氧糖的强心苷都可显色。取样品1mg溶于5ml冰乙酸中, 加一滴20%三氯化铁水溶液, 倾试管, 沿试管壁加入5ml浓硫酸, 若有 $\alpha$ -去氧糖存在, 乙酸层渐呈蓝或蓝绿色。若不显色, 不能说明无2-去氧糖。

2. 占吨氢醇反应: 取样品加入占吨氢醇试剂, 置沸水浴中3min, 如含2-去氧糖显红色。

3. 过碘酸-对硝基苯胺反应: 含2-去氧糖样品反应后呈深黄色斑点, 紫外灯下为棕色背底上出现黄色荧光斑点。

4. 对-硝基苯肼反应: 样品反应后呈红色或紫红色。对 $\alpha$ -去氧糖和葡萄糖结合的, K-K反应阴性的也可呈阳性反应。

对-二甲氨基苯甲醛反应: 样品反应后呈灰红色斑点。

### 第三节 提取分离

强心苷含量很低, 多与糖类、皂苷、色素、鞣质等共存, 这些成分的存在可影响强心苷在溶剂中的溶解度。同时, 强心苷的原生苷和次生苷共存, 且很多结构相似的苷同存, 故提取分离较难。

因酸碱可使强心苷发生水解、脱水和异构化, 故提取分离时应注意控制酸碱性。

注意的问题:

1. 共存物质: 糖类、皂苷、色素、鞣质

2. 原生苷水解问题

(一) 原生苷: 抑制酶的活性

(1) 新鲜药材, 采后低温速干

(2) 直接沸水或60~70℃水提取

(3) 70~80%乙醇或甲醇提取

(4) 药材加中性盐如硫酸铵等, 再提取

(二) 次生苷:

利用酶的活性药材+水→25~40℃

发酵12h以上, 醇提

二、纯化

1. 溶剂法:

种子药材: (1) 脱脂, 再醇提取

(2) 醇提浓缩液, 石油醚萃取油脂 (氯仿: 甲醇) 萃取苷

茎叶药材: 去脂溶性色素的方法

醇提浓缩, 冷置析胶 (叶绿素析出胶状物醇提浓

缩, 石油醚萃取色素

醇提浓缩, NaOH, 叶绿素被皂化醇提取

液，活性炭脱色

## 2. 铅盐法:

醋酸铅沉淀醇提取液中: 酸、酚酸、皂苷类, 强心苷易被沉淀吸附

## 3. 吸附法:

活性炭短柱吸附: 醇提液中叶绿素等脂溶性色素

氧化铝短柱吸附:

醇提液中糖、水溶性色素、皂苷被吸附

强心苷易被沉淀吸附损失

## 三、分离

(一) 两相溶剂萃取法:

(二) 逆流分配法 (CCD):

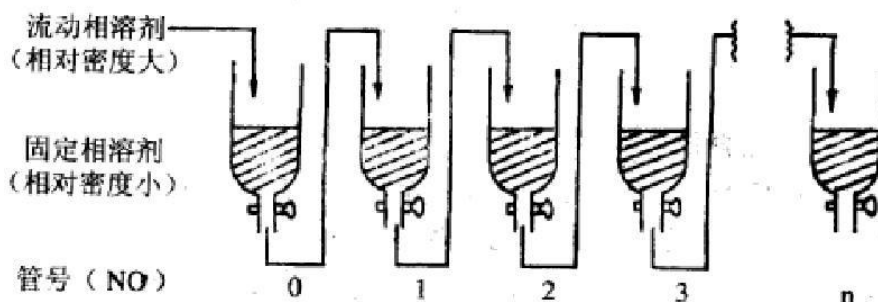


图 1-12 CCD 法的分离过程示意图

如: 流动相:  $\text{CHCl}_3$ , 固定相: 水,  $n=3$  时, 得到3个流动相  $\text{CHCl}_3$  (亲脂性成分) 3个固定相水相 (亲水性成分)

分离因子 $\beta$ 较小, 简单萃取几次效果不佳所以采取多次、连续的萃取分离过程。

例如: 黄花夹竹桃苷A、B的分离

9次CCD

氯仿层6~7管: 苷A 水层

2~5管: 苷B

(三) 色谱分离法:

吸附色谱: 苷元、次级苷、单糖苷

分配色谱: 弱亲脂性苷类

液滴逆流色谱 (DCCC):

高速逆流色谱 (HSCCC):

后二者克服固体载体的不可逆吸附、样品峰拖尾等弊端。

## 第四节 色谱鉴定

### 一、纸色谱强亲脂性

性

固定相: 甲酰胺、丙醇

移动相: 甲酰胺饱和的苯、甲苯或苯-三氯甲烷 (9:1)

弱亲脂性

固定相: 甲酰胺

移动相: 二甲苯-丁酮-甲酰胺 (25:25:2)

亲水性

固定相: 水

移动相: 水饱和的丁醇或丁醇-甲苯-水 (6:3:1)

## 二、薄层色谱

### 吸附薄层色谱

吸附剂：硅胶

展开剂：二氯甲烷-甲醇-甲酰胺（80:19:1）、乙酸乙酯-甲醇-水（80:5:5）

吸附剂：反相硅胶

展开剂：甲醇-水或三氯甲烷-甲醇-水分配

### 薄层色谱

支持剂：硅胶、硅藻土、纤维素

固定相：甲酰胺、10%-15%甲酰胺丙酮溶液、二甲基甲酰胺

常用显色剂：

3, 5-二甲基苯甲酸试剂

25%三氯乙酸乙醇溶液强心

### 苷的生理活性

强心苷为心脏兴奋剂，主要作用是延长传导时间，兴奋心肌。其强心作用主要取决于苷元部分，但糖部分可增加强心苷对心肌的亲合力，故对强心苷的生理活性也有影响。

#### 苷元结构与强心作用的关系

1. 强心苷元甾体母核必须具有一定的构象和C17位连接的不饱和内酯环及其 $\beta$ -构型是不可缺少的，若异构化为 $\alpha$ -型或开环或不饱和内酯环被氢化或双键位移，强心作用将变得很弱，甚至消失。

2. C/D环必须是顺式稠合才有强心作用。

3. C14位上-OH只有是 $\beta$ -构型的才有效，C14- $\beta$ -OH 如与邻近的碳原子上的H脱水形成双键或与C8脱氢成氧桥，均使强心作用减低或消失。C14- $\beta$  OH可能是保持氧的功能和C/D环为顺式构象的重要因素。

4. A/B环顺式的甲型强心苷元，C3-OH必须是 $\beta$ -构型， $\alpha$ -型无活性。

5. C10-CH<sub>3</sub>氧化成羟甲基或醛基或羧酸后，可影响强心作用的强度或毒性，但不是决定因素。

6. 引入5 $\beta$ -、11 $\alpha$ -、12 $\beta$ - OH有增强活性作用，而引入1 $\beta$ -、6 $\beta$ -、16 $\beta$ - OH有降低活性作用。

7. 在母核上引入双键，对强心作用的影响不一致，引入4（5）与引入5 $\beta$ -OH的影响相似，能增强活性，而引入16（17）则活性消失或显著下降。

无论在苷元或糖基上增加乙酰基都有增强活性的作用。

### 复习思考题、作业题

1 洋地黄毒苷溶解性的特点是（ A ）

- A 易溶于水
- B 易溶于石油醚
- C 易溶于二氯甲烷
- D 易溶于氯仿
- E 易溶于环己烷

2 强心苷元是甾体母核 C<sub>17</sub>位侧链为不饱和内酯环，甲型强心苷元 C<sub>17</sub>位侧链为（ B ）

- A 六元不饱和内酯环
- B 五元不饱和内酯环
- C 五元饱和内酯环
- D 六元饱和内酯环
- E 七元不饱和内酯环

3 在温和酸水解的条件下可水解的糖苷键是 ( A )

- A 强心苷元- $\alpha$ -去氧糖
- B  $\alpha$ -羟基糖 (1-4)-6-去氧糖
- C 强心苷元- $\alpha$ -羟基糖
- D  $\alpha$ -羟基糖 (1-4)- $\alpha$ -羟基糖
- E 强心苷元- $\beta$ -葡萄糖

4 强烈酸水解法水解强心苷,其主要产物是 ( B )

- A 真正苷元
- B 脱水苷元
- C 次级苷
- D 双糖
- E 三糖

5 III型强心苷是 ( A )

- A 苷元 - (D-葡萄糖)<sub>y</sub>
- B 苷元 - (6-去氧糖甲醚)<sub>x</sub> - (D-葡萄糖)<sub>y</sub>
- C 苷元 - (2,6-去氧糖)<sub>x</sub> - (D-葡萄糖)<sub>y</sub>
- D 苷元 - (6-去氧糖)<sub>x</sub> - (D-葡萄糖)<sub>y</sub>
- E 苷元 - (D-葡萄糖)<sub>y</sub> - (2,6-二去氧糖)<sub>x</sub>

6提取强心苷常用的溶剂为 ( C )

- A 水 B 乙醇 C 70%-80%乙醇 D 含水氯仿 E 含醇氯仿

7强心苷中的特殊糖是 D

- A. 葡萄糖 B. 6-去氧糖 C. 6-去氧糖甲醚 D. 2,6-二去氧糖 E. 鼠李糖

### 课程思政

本节内容主要以讲解强心苷类成分相关知识为主线,介绍强心苷类化合物的结构分类、理化性质、鉴别试验、分离纯化等内容。介绍了各类型成分中代表物质西地兰和地高辛,毛花洋地黄中提取分离得到西地兰和地高辛成分、这两个成分被开发成强心作用的药品,是一线治疗心力衰竭的药物。在当前新冠疫情下,中医药发挥了积极影响,同时获得了世界卫生组织的认可,明确表明中医药能有效防治新冠,我们更应树立中药文化自信,更具民族自豪感,应该为弘扬中药文化做贡献,通过所见所学为传承传统文化献策献力。

下次课预习要点

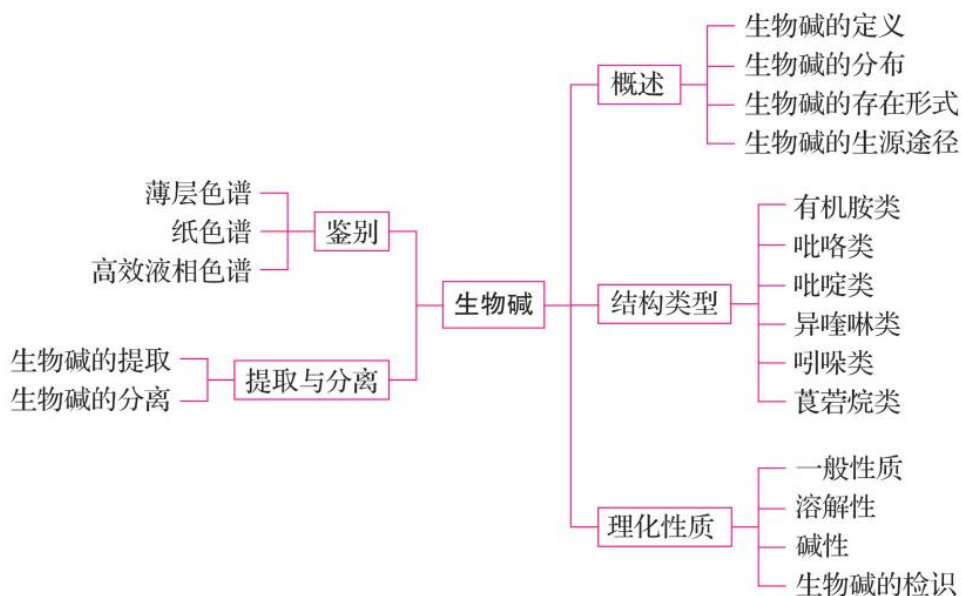
生物碱的含义、分布及存在形式

教 学  
后 记



章节名称	第十章 生物碱		
授课方式	理论课(√)、实践课( )、习题题( )、其它( )	教学时数	4
教学目的要求	<p><b>知识要求</b>          掌握生物碱的理化性质、提取分离及鉴定的基本知识；          掌握生物碱的结构特征和实际应用；          了解生物碱含义、分布和生理活性。</p> <p><b>能力要求</b>          熟练掌握生物的提取分离基本操作技能，能提出合理的提取分离步骤和方案。          学会化学检识法和色谱法初步鉴别生物碱的基本技术。</p> <p><b>职业素质和态度目标</b>          通过真实事件警示学生坚守法律底线。</p>		
课程思政元素	<p>在讲解生物碱类成分的结构分类、生物活性等知识时，引出麻黄碱物质非法应用可用于合成冰毒，以及国家明文规定不得以制造毒品为目的购买麻黄碱等知识，引出毒品与药品的关系，警醒学生远离毒品，筑牢毒品校园防线。</p> <p>引导学生正确认识药品的治疗作用与毒副作用，坚守职业底线，远离毒品。还可通过真实事件警示学生坚守法律底线，让课堂思政效果更加显著。</p>		
教学方法	<p>1、教师讲授为主，学生自学、查阅文献为辅。</p> <p>2、对学科发展史、学科基础知识建议以问题为基础的教学。</p> <p>3、多媒体辅助教学，虚拟动画、ppt 课件、网络资源演示。</p>		
教学重点难点	<p>重点：          生物碱的含义、分布及存在形式；          生物碱的理化性质、显色反应及提取分离、检识方法。</p>		

教学内容：  
思维导图：



## 第一节

### 生物碱的定义

1) 广义的生物碱(alkaloid)是指存在于生物体内的一类含氮有机化合物(蛋白质、肽类、氨基酸和维生素B除外),大多具有复杂的环状结构,多呈碱性,能与酸结合成盐,故称为生物碱。但由于有部分生物碱不具有以上特征,故对于生物碱目前并没有一个严格而确切的定义。

2) 派勒蒂埃于1983年提出的:生物碱是指含负氧化态氮原子、存在于生物有机体中的环状化合物,这一表述目前得到大多数学者的认可。

### 生物碱的分布

大多数天然生物碱来源于植物界,动物界有少量分布。分布规律如下:

- 1) 绝大多数生物碱分布于高等植物,尤其是双子叶植物中,如毛茛科、罂粟科、防己科、茄科、夹竹桃科、芸香科、豆科、小檗科等。
- 2) 极少数生物碱分布在低等植物中。
- 3) 同科同属植物可能含相同结构类型的生物碱。
- 4) 一种植物体内有数种或数十种生物碱共存,且它们的化学结构有相似之处。

### 生物碱的存在形式

生物碱的机构特征是分子中含有氮原子,而生物碱可根据氮原子所处的状态不同,将其存在形式分为六类。

#### 1. 游离型生物碱

碱性极弱,以游离碱的形式存在。

#### 2. 生物碱盐

大部分生物碱与酸结合成盐的形式存在于植物体类,形成盐的酸具体又分为:有机酸(酒石酸、柠檬酸、草酸等)、无机酸(硫酸、盐酸等)。

#### 3. 酰胺碱

以酰胺形式存在的生物碱,常见的有秋水仙碱、胡椒碱。

#### 4. N-氧化合物

结构中存在N-O配位键,如氧化苦参碱。

## 5. 氮杂缩醛类

O,N-混合缩醛，如阿马林。

## 6. 其他类

极少数以季铵碱、亚胺、烯胺、酯的形式存在。

### 第二节 结构与分类

#### 苯烃胺类

苯烃胺类生物碱又称有机胺类生物碱，其特点是氮原子不在环状结构内。如麻黄碱和伪麻黄碱。

#### 吡咯类

由吡咯和四氢吡咯衍生的生物碱，如古红豆碱。

#### 吡啶类

由吡啶或四氢吡啶衍生的生物碱。主要分为：简单吡啶衍生物(结构简单，有的以液体存在)、喹诺里西啶、吲哚里西啶三大类型。

#### 莨菪烷类

本类生物碱大多是由莨菪醇与莨菪酸缩合而成的酯，如植物颠茄中的生物碱。

#### 异喹啉类

本类生物碱具有异喹啉环结构，数量较多，分布广泛，大多结构复杂。主要包括1-苯甲基异喹啉型、原小檗碱型、吗啡烷型。

#### 吲哚类

本类药物数目较多，且大多数结构复杂，代表性产物包括硝酸士的宁和利血平

### 第三节 理化性质

#### 一般性质

形态	大多为结晶形固体，只有少数是非结晶形的粉末，有一定的熔点；少数在常温时为液体，液体生物碱大多都不含氧，如果分子中含氧原子则氧原子也多结合成酯键。	液体生物碱： <p>毒藜碱      菸碱      槟榔碱</p>
颜色	生物碱一般是无色或白色的化合物，只有少数有色。颜色与共轭系统有关，共轭系统长则颜色深，共轭系统短则颜色浅。	小檗碱呈黄色，由于其结构中具有较长的共轭体系 
味觉	生物碱多具苦味	如：盐酸小檗碱味极苦；胡椒碱则具有辣味
挥发性	一般无挥发性，少数有挥发性	一般液体生物碱具有挥发性，如麻黄碱
旋光性	大多数生物碱分子有手性碳原子存在，有光学活性，且多数为左旋光性。	生物碱的生理活性与其旋光性密切相关。一般地，左旋体呈显著的生理活性，而右旋体则无或很弱 如：乌头 { 左旋——去甲乌头碱具有强心作用 右旋——去甲乌头碱无强心作用

## 二 溶解性

生物碱的溶解性与生物碱分子结构中氮原子的存在状态、分子大小、分子中极性基团的种类和数目

以及溶剂的种类有关

大多数游离生物碱均不溶或难溶于水，能溶于氯仿、乙醚、丙酮、醇或苯等有机溶剂；而生物碱盐多易溶于水，可溶于醇，难溶于亲脂性有机溶剂；但其中，有部分生物碱溶解性较为特殊。

存在形式	分类	结构类型	代表性产物
游离型生物碱	亲脂性生物碱	叔胺及仲胺型生物碱	如：阿托品
	亲水性生物碱	季铵型生物碱	如：小檗碱
		含 N→O 配位键的生物碱	如：氧化苦参碱
		小分子生物碱	如麻黄碱、烟碱
		酰胺型生物碱	如秋水仙碱、咖啡因
	含有特殊官能团的生物碱 (可溶于碱水)	两性生物碱	结构中具有酚羟基或羧基
含有内酯结构的生物碱		如：喜树碱	
存在形式	溶剂性规律		
生物碱盐	无机酸盐水溶性强于有机酸盐		
	含氧酸盐水溶性强于卤代酸盐		
	小分子有机酸盐水溶性强于大分子有机酸盐。		
	特例：小檗碱盐酸盐、麻黄碱草酸盐等难溶于水		

## 碱性

碱性是生物碱的重要性质之一。生物碱因分子中氮原子能够给出电子或接受质子而显碱性。生物碱的碱性强弱主要取决于分子结构中氮原子周围的电子云密度，若电子云密度升高，则碱性增强，若电子云密度降低，则碱性减弱。

生物碱碱性大小常用酸式解离常数 $pK_a$ 值表示， $pK_a$ 值越大，则表示生物碱碱性越强， $pK_a$ 值越小，则表示生物碱碱性越弱。

## 第四节 提取与分离

生物碱类化合物大多数是与有机酸(如苹果酸、酒石酸等)结合成盐存在于天然药物中，有些则与一些特殊的酸结合，如吗啡与罂粟酸、乌头碱与乌头酸相结合。有少数生物碱如小檗碱与盐酸结合成盐，存在于黄连中。而延胡索中的某些季铵碱则与盐酸、硝酸或氢溴酸结合成盐。个别生物碱由于碱性弱或很弱，不易或不能和酸结合生成盐，从而可能在中药中呈游离状态。也有少数生物碱与糖结合成苷的形式存在。

因此，在提取分离生物碱时，首先应考虑到生物碱在天然药物中的存在状态和生物碱的特性，以便选择合适的方法进行提取与分离。

### 一、提取

#### (一)脂溶性生物碱的提取

脂溶性生物碱主要包括叔胺碱及仲胺碱，其溶解性为易溶于亲脂性有机溶剂，可溶于醇，难溶于水。故对于该类生物碱的提取，根据其溶解特性，可采用酸水提取法、醇溶剂提取法、有机溶剂提取法三种类型

##### 1. 酸水提取法

此方法利用脂溶性生物碱显碱性，可与酸发生中和反应成盐从而溶于酸水的性质进行生物碱的提取。可选用0.5%~1%的硫酸、盐酸、醋酸、酒石酸等作为提取溶剂，采用浸渍法或渗漉法进行提取。

但一般情况下，该提取方法得到的提取液体积较大，浓缩困难且含有较多杂质。为解决以上问

题，便于后期生物碱的分离，一般得到的酸水提取液可采用离子交换树脂法、有机溶剂萃取法、沉淀法等进行进一步处理。

#### (1) 离子交换树脂法

原理：将酸水提取液（主要是生物碱的盐，在水中解离成离子）通过阳离子交换树脂柱，生物碱能被树脂吸附，而一些不能离子化的杂质则随溶液流出，借以分离，然后用碱液处理树脂，溶剂洗脱，则得到游离的脂溶性生物碱。

#### (2) 有机溶剂萃取法

酸水提取液中生物碱以生物碱盐的形式存在，此时酸水液中同时存在水溶性和脂溶性生物碱。故对于脂溶性生物碱的提取，可在酸水液中加入碱水，使生物碱游离，再加入亲脂性有机溶剂萃取。

#### (3) 沉淀法

利用游离生物碱难溶于水而产生沉淀。在酸水提取液中加入加入碱水，使生物碱游离，水溶性减小而沉淀析出。

### 2. 醇类溶剂提取法

甲醇和乙醇为亲水性有机溶剂，其分子比较小，容易透入药材组织中，生物碱及其盐易溶于甲醇、乙醇等醇类溶剂，故采用醇类作为提取溶剂也是一种常用的生物碱提取方法。其特点是可避免水溶性的多糖、蛋白质、无机盐溶入，但不可避免的会使树脂、脂溶性色素的溶解增加。具体的提取方法可采用浸渍法、渗漉法、回流提取法。

### 3. 有机溶剂提取法

生物碱在植物体内大多数是以成盐状态存在，提取时应先将中药粉末加碱水湿润（常用石灰乳、10%氨水或碳酸钠的水溶液），使药材吸水膨胀、生物碱转成游离状态，然后加亲脂性有机溶剂，按浸渍法或连续回流提取法提取脂溶性生物碱。

#### (二) 水溶性生物碱的提取

水溶性生物碱主要包括季铵碱、含氮氧配位键生物碱、小分子生物碱、酰胺型生物碱，一般可采用沉淀法、溶剂法进行提取。

##### 1. 沉淀法

如季铵碱的提取可用雷氏铵盐沉淀法。雷氏铵盐可与季铵碱反应生成复盐，不溶于水而沉淀析出。

##### 2. 溶剂提取法

针对水溶性生物碱易溶于水，可溶于醇，难溶于亲脂性有机溶剂的特点，可选用醇溶液作为提取溶剂，采用浸渍法或回流提取法对水溶性生物碱进行提取。

### 课程思政

本节内容主要以讲解生物碱成分相关知识为主线，介绍生物碱类化合物的结构分类、理化性质、鉴别试验、分离纯化等内容。生物碱类成分分类以及各类型萜类成分中代表物质都属于精神药品，常见的有吗啡、喜树碱等，麻黄碱是从中药麻黄中提取得到的生物碱类成分，是合成“冰毒”的主要原料；异喹啉类生物碱成分吗啡碱，吗啡碱是从罂粟中分离得到的，具有镇痛作用有效成分，也是一种具有成瘾性的物质，可用于治疗疾病，但用法不当会造成严重后果，导致不良事件的发生，我们应正确认识药物的治疗作用与毒副作用，树立用药安全的职业素养。

麻黄碱是从中药麻黄中提取得到的生物碱类成分，具有镇咳平喘、扩张气管等作用，同

时麻黄碱还是制造“冰毒”的主要原料，国家明文规定购买麻黄碱的不能用于非法用途，我们应遵守法律法规，坚守职业底线，远离毒品，筑牢毒品防线；同时充分发挥专业优势，宣传类似药物的正确使用，体现专业职业的社会价值，增强职业自豪感。

教 学  
后 记



## 实训一 秦皮中七叶内酯的提取分离与鉴定

学时

9

### 一、实训目的

1. 能够运用回流法、萃取法和结晶法的操作技术对秦皮中的七叶内酯和七叶苷进行提取和分离。
2. 运用薄层色谱法和化学法鉴定七叶内酯和七叶苷。
3. 熟悉基本操作过程及注意事项。

### 二、实训内容

#### (一) 实训用品

1. 仪器圆底烧瓶、水浴锅、冷凝管、三角烧瓶、分液漏斗、布氏漏斗、抽滤瓶、烧杯、试管、层析缸等。
2. 试药 秦皮粗粉、乙醇、甲醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯、甲酸甲酯、甲酸、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{HCl}$ 、 $\text{NaOH}$ 、 $\text{FeCl}_3$ 、硅胶、七叶内酯对照品、七叶苷对照品等。

#### (二) 实训方法与操作步骤

七叶内酯又称秦皮乙素，为黄色针晶， $\text{mp. } 276^\circ\text{C}$ ；溶于稀碱呈蓝色荧光，易溶于热乙醇、冰醋酸、微溶于沸水、乙醇、乙酸乙酯，不溶于

乙醚，具有还原性，与三氯化铁试剂有绿色反应。

七叶苷又称秦皮甲素，为白色或淡黄色结晶，mp. 206℃（165℃变软）。难溶于冷水，溶于沸水、热乙醇、甲醇、吡啶、乙酸乙酯和醋酸。

本试验利用七叶内酯与七叶苷易溶于乙醇进行提取。利用七叶内酯有亲脂性，用乙酸乙酯萃取而与七叶苷分离。利用荧光性和内酯环的性质进行鉴别。

1. 提取与分离秦皮中香豆素的提取分离流程。

2. 检识

(1) 荧光试验

(2) 异羟肟酸试验

### 三、实训注意

1. 商品秦皮混杂品种较多，有些伪品中不含香豆素，因此在选择原料时应注意鉴定真伪。

2. 萃取过程应注意避免乳化，以轻轻旋转式萃取为宜。

3. 三氯甲烷、乙酸乙酯应水饱和后再进行萃取操作，防止萃取过程中有机溶剂层吸收水层水分，使水层溶剂减少导致样品析出。

4. 加无水硫酸钠的目的是为了脱水，因此，盛放乙酸乙酯的容器应干燥。

5. 残留物用温热甲醇溶解时，要在通风橱中进行。
6. 使用分液漏斗要注意，用三氯甲烷与水萃取时，分液漏斗下口活塞要用甘油-淀粉为润滑剂，当用乙酸乙酯与水萃取时，要用凡士林作润滑剂。

#### 四、思考题

1. 减压蒸馏操作应如何进行？
2. 萃取操作应注意何问题？
3. 秦皮中的七叶内酯和七叶苷除了采用乙醇提取外，还可用何种方法提取？请设计流程。

#### 实训二 大黄中游离蒽醌的提取分离与鉴定

	学时	9
--	----	---

##### 一、实训目的

1. 能够运用回流和连续回流法、pH梯度萃取法对大黄中游离蒽醌进行提取和分离。
2. 会用显色反应、色谱法进行蒽醌类成分的检识。
3. 熟悉基本操作过程及注意事项。

##### 二、实训内容

###### (一) 实训用品

1. 仪器500ml圆底烧瓶、冷凝管、研钵、索氏提取器、水浴锅、分液漏斗、烧杯。
2. 试剂大蓼粗粉、20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 50. , 三氯甲烷、pH8缓冲溶液、pH9.9缓冲溶液、盐酸、乙酸, 4党、  
5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、5% NaOH、乙酸乙酯、2%NaOH、石油醚（沸程60-90℃）、纤维素粉（柱色谱）、新华色谱滤纸（20cm×7cm）、苯-乙酸乙酯（8:2）、氨水、甲苯、0.5%醋酸镁、1%大黄酸对照品三氯甲烷溶液、1%大黄素对照品三氯甲烷溶液、1%芦荟大黄素对照品三氯甲烷溶液、硅胶CMG-Na薄层板。

## （二）实训方法与操作步骤

大黄系蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄和药用大黄的干燥根及根茎。大黄中含有多种游离蒽醌配类化合物及其糖苷，总含量2%~5%。结构见前述。

本实验是根据大黄中的羟基蒽醌苷经酸水解成游离蒽醌苷元，苷元可溶于三氯甲烷而被提出，再利用各羟基蒽醌类化合物酸性不同，采用pH梯度萃取法分离而得到各单体苷元。

1. 游离蒽醌的提取取大黄粗粉50g，置于500ml圆底烧瓶中，加20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液100ml，在水浴中加热回流4小时，稍放冷，过滤，滤渣用水洗至近中性后，于70℃左右干燥。

取干燥后的药渣置研钵中研碎，装入滤纸筒内，置于索氏提取器中，以

三氯甲烷为溶剂（约200ml），在水浴上回流提取3~4小时，得游离蒽醌的三氯甲烷提取液。

2. 大黄酸的分离向三氯甲烷提取液中一次性加入pH8的缓冲溶液70ml（约为三氯甲烷溶液的1/3量），振摇萃取，静置，充分分层后，分取缓冲液于烧杯中，保留三氯甲烷溶液。缓冲液用盐酸调至pH3，可析出黄色大黄酸沉淀，静置，过滤，沉淀用蒸馏水洗至近中性，低温干燥，再用冰醋酸重结晶，得大黄酸黄色针晶。

3. 大黄素的分离分离大黄酸后的三氯甲烷溶液，再一次性地加入pH9.9缓冲液100ml（约为三氯甲烷溶液的1/2量），振据萃取，静置，使充分分层，分取缓冲液于烧杯中，保留三氯甲烷溶液缓冲液用盐酸调至pH3，析出大黄素沉淀，静置，过滤，沉淀用蒸馏水洗至近中性，低温干燥，再用此啖重结晶。得大黄素橙色结晶。

4. 芦荟大黄素的分离 分离大黄素后的三氯甲烷液，一次性地加入5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> -5% NaOH（9：1）碱性溶液200ml（约为三氧甲烷液的1倍），振摇萃取，静置充分分层，分取碱性溶液于烧杯中，保留三氯甲烷液。碱液用盐酸调pH3，析出芦荟大黄素沉淀，静置。过滤，沉淀用蒸馏水洗至近中性低干燥，用乙酸乙酯重结晶，得芦荟大黄素橙色结晶。

5. 大黄酚和大黄素甲醚的分离 分离芦荟大黄素的三氯甲烷液，再以2%NaOH水溶液振摇萃取至碱水层近无色为止（3~4次），合并NaOH萃取液于烧杯中，用盐酸调至pH3，析出沉淀，静置。过滤，沉淀用蒸馏水洗至近中性，低温干燥。取干燥后的沉淀溶于小体积石油健中，作为走色诺的样品溶液。

装柱：取纤维素粉约8g，加入已装有水饱和石油醚（沸点60–90℃）的色谱柱中，待纤维素粉完全沉降后，打开色谱柱下端活塞，将色谱柱内液体放至与柱床面平齐，关闭活塞。

样品上柱：将样品溶液用移液管小心加于色谱柱柱床顶端。

洗脱：用水饱和的石油醚（沸程60~90℃）洗脱，分段收集，每份10ml，分别浓缩，经纸色谱检查，相同组分合并，分别得到大黄酚和大黄素甲醚。

## 6. 鉴定

（1）碱液试验：分别取蒽醌化合物结晶少许，置试管中，加1ml乙醇溶解，加数滴10%氢氧化钾试剂振摇。溶液呈红色。

（2）醋酸镁试验：分别取各蒽醌化合物结晶少许，置试管中，加1ml乙醇溶解，加数滴醋酸镁试剂，产生橙、红、紫等颜色。

## 三、实训注意

1. pH 8缓冲液为磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液。配制方法0.2mol/L磷酸氢二钠溶液194.5ml与

0.1mol/L柠檬酸溶液55ml混合，即得；pH9.9的缓冲溶液为Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaHCO<sub>3</sub>缓冲液。配制方法：取0.1mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液50ml与0.1mol/L NaHCO<sub>3</sub>溶液50ml混合，即得。

2. 用各缓冲液进行萃取时，采用一次性加入的方法，实验证明，如将缓冲液分次萃取，分离效果不理想。

#### 四、实训思考

1. 简述本次实验应用的基本原理。
2. 大黄中5种游离羟基蒽醌化合物的极性如何？薄层鉴别时比移值顺序如何？

#### 实训三 槐米中黄酮的提取分离与鉴定

	学时	9
--	----	---

#### 一、实训目的

1. 能够运用碱溶解酸沉法和结晶法的操作技术对槐米中的芦丁进行提取分离。
2. 能够运用酸水解的操作技术对槐米中芦丁进行水解。
3. 能够运用纸色谱、聚酰胺薄层色谱法和化学法鉴定芦丁和槲皮素。
4. 熟悉基本操作及注意事项。

#### 二、实训内容

##### (一) 实训用品

1. 仪器紫外光分析仪、水泵、试管、烧杯、三角烧瓶、回流提取器、抽滤瓶、玻璃漏斗、布氏漏斗、聚酰胺薄膜、色谱缸等。
2. 试剂槐米、盐酸、硫酸、硼砂、石灰水、镁粉、三氯化铝试剂、醋酸镁试剂、 $\alpha$ -萘酚-浓硫酸试剂、枸橼酸试剂、芦丁和槲皮素对照品等。

## (二) 实训方法与操作步骤

(1) 使用碱溶酸沉法提取芦丁

(2) 芦丁的精制

(3) 水解芦丁

## 4. 鉴定

呈色反应：molisch反应、盐酸镁粉反应、醋酸镁反应、三氯化铝滤纸反应。

## 三、实训注意

1. 提取前将槐米捣碎，使有效成分易于被热水溶出。直接用沸水提取芦丁，破坏酶的活性，收

率稳定，操作简便。

2. 用碱溶酸沉法提取，加入石灰乳既可达到调节碱性的目的，还可以除去槐米中的多糖类，黏液质等，但碱性不宜过高，一般不超过pH10，如碱性太强，加热可使芦丁水解破坏。酸化时加盐酸

控制pH在2~3，如果pH<2，容易使芦丁形成鲜盐，不易析出沉淀，降低收率。

3. 提取液中加入0.4%硼砂水的目的，是因为硼砂可以与邻二羟基络合，保护邻二羟基不被氧化，又避免了钙离子与酚羟基、羰基形成难溶于水的整合物，降低收率。

4. 以热水或乙醇重结晶，是利用芦丁在热水和热乙醇中溶解度较大，在冷水及冷乙醇中溶解度较小的性质。

5. 芦丁水解时，应注意观察使水解完全。水解液处理采用氢氧化钡，可生成硫酸钡的沉淀，有利于进一步鉴定。

#### 四、思考题

1. 槐米中提取芦丁的过程中应注意哪些问题？
2. 试解释在水解过程中出现的浑浊→澄清→浑浊现象的原因？
3. 实验中的色谱原理是什么？解释化合物结构与R<sub>f</sub>值的关系？
4. 怎样正确鉴定芦丁？

#### 实训四 黄连中盐酸小檗碱的提取分离与鉴定

	学时	9
--	----	---

##### 一、实训目的

1. 能够运用煎煮法、盐析法和结晶法的操作技术对黄连中的小檗碱进行提取和分离。
2. 运用薄层色谱法和化学法鉴定小檗碱。
3. 熟悉基本操作过程及注意事项。

##### 二、实训内容

###### (一) 实训用品

1. 仪器烧杯、电炉、玻璃漏斗、布氏漏斗、抽滤瓶、紫外灯、层析缸等。
2. 试药 黄连粗粉、石灰乳、NaCl、HCl、NaOH、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、HNO<sub>3</sub>、丙酮、乙醇、甲醇、乙酸、漂白粉、硅胶、盐酸小檗碱对照品等。

## (二) 实训方法与操作步骤

小檗碱又名黄连素，分子式C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO，分子量336.37。自水或稀乙醇中结晶得到的小檗碱为黄色针状结晶，盐酸小檗碱为黄色小针状结晶。小檗碱能缓溶于冷水（1：20），易溶于热水和热乙醇，难溶于丙酮、三氯甲烷、苯。盐酸小檗碱微溶于冷水，易溶于热水，不溶于冷乙醇、三氯甲烷和乙醚。

小檗碱的提取是利用小檗碱盐的溶解性，通过用稀硫酸水溶液提取小檗碱硫酸盐，再用浓盐酸把小檗碱硫酸盐转化为小檗碱盐酸盐，再结合盐析法而使结晶析出。并且利用小檗碱在冷热水中的溶解性差异大，用水重结晶进行精制。

1. 提取黄连中盐酸小檗碱的提取流程。
2. 精制
3. 检识

## 三、实训注意

1. 提取用的稀硫酸浓度应控制在0.2%~0.3%，使黄连中的小檗碱全部转化为硫酸盐而溶解。

如果硫酸浓度过高，小檗碱会转化为硫酸氢盐，从而降低溶解度，影响提取效率。

2. 用石灰乳调pH，可以使硫酸小檗碱游离成小檗碱，并可沉淀果胶、黏液质等多糖杂质。

3. 加氯化钠的目的是利用盐析的作用降低盐酸小檗碱在水中的溶解度，其浓度不超过10%，否则会造成细小的盐酸小檗碱结晶呈悬浮状而给过滤造成困难。盐析用的食盐尽可能选用杂质较少、纯度较高的食盐。

4. 在精制盐酸小檗碱时，因为盐酸小檗碱几乎不溶于冷水，放冷易析出结晶，所以水浴加热溶解后，要趁热滤过，防止盐酸小檗碱在滤过时析出结晶，使滤过困难，产量降低。

#### 四、思考题

1. 写出酸水提取黄连中盐酸小檗碱的流程，并说明各步骤的原理。

2. 分析每一步骤中小檗碱的存在形式。

3. 说出提取过程中所用试剂的作用。