

中药化学实验指导

药物化学教研室

中药化学实验指导

一. 说明

中药化学是一门实验学科,实验教学占重要地位,通过实验要达到以下目的。

1. 能检验学生在课堂上所学的理论知识。使学生对理论知识的理解更加深入,掌握的更加牢固。

2. 训练学生的基本操作技能,培养学生分析问题和解决问题的能力,使学生获得从事中药化学科研工作和实际工作的基本训练。

3. 使学生养成严谨的科学态度和良好的科学作风。

实验中,重点是加强对学生基本技能的训练。

二. 实验须知

1. 遵守实验室制度,维护实验室安全,不违章操作,严防爆炸、着火、中毒、触电、漏水等事故的发生。若发生事故应立即采取措施并报告指导老师。

2. 实验前做好预习,明确实验内容,了解实验的基本原理和方法。安排的实验计划,争取准时结束,实验过程中应养成及时记录的习惯,凡是观察到的现象和结果及有关数据,应随时如实地记录。实验完毕,要认真总结,写好实验报告,实验所得的提纯物要包好,贴上标签,交给老师。

3. 实验室内应保持安静,不得大声喧嚷,不许抽烟。进入实验室必须穿工作服,实验过程中,不许随便离开。

4. 实验台前应保持整洁,与实验无关的物品不得放在台前。实验中废弃的固体物,要丢入废物桶内。

5. 爱护仪器,节约药品,仪器损坏后应填写报损单,注明原因,由指导教师按规定处理。

6. 实验过程中要节约用水、用电。

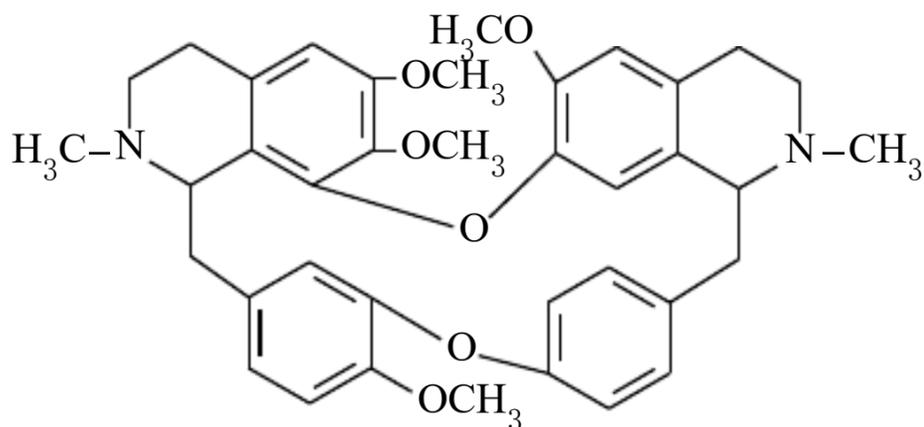
7. 每次实验结束后,值日生应将实验室打扫干净,倾倒废物桶,关好水、电、门窗,方可离去。

实验一 粉防己生物碱的提制和鉴识

粉防己是防己科千金藤植物粉防己 *Stephania tetrandra* S.Moore 的根。又名汉防己、倒地拱、百木香，是一种解热镇痛药。中医用于风湿止痛、利尿消肿以及毒蛇咬伤等。

粉防己的有效成分是生物碱，其总碱含量为 1.2%左右，主要是粉防己碱 (Tetrandrine) 和防己诺林碱 (Fangchinoline) 及轮环藤酚碱 (Cyclanoline)，本实验经提取，分离可得到这 3 个生物碱结晶。它们的物理性质如下：

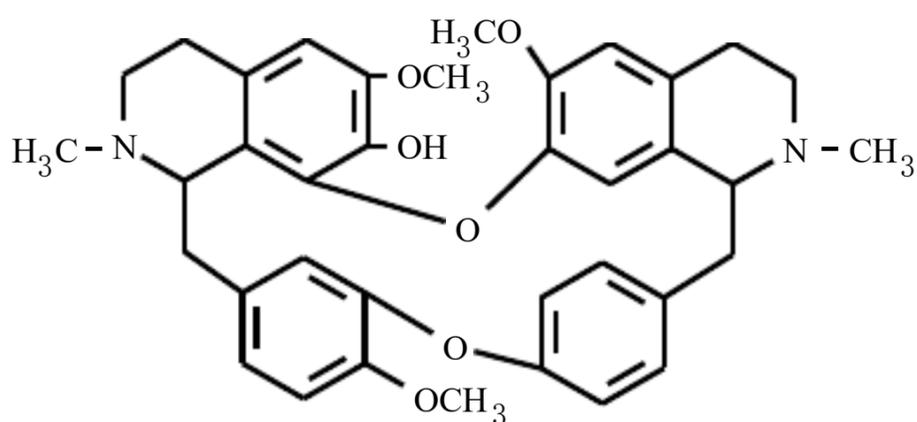
1. 粉防己碱 (Tetrandrine, 亦称汉防己甲素)



无色针状结晶，丙酮中结晶有双熔点：126~127°C/217~218°C，即结晶测至 126~127°C 熔融。继续加热于 153°C 固化，温度上升至 217~218°C 复融化。

不溶于水、石油醚，易溶于乙醇、乙醚、氯仿等有机溶剂及稀酸水溶液。

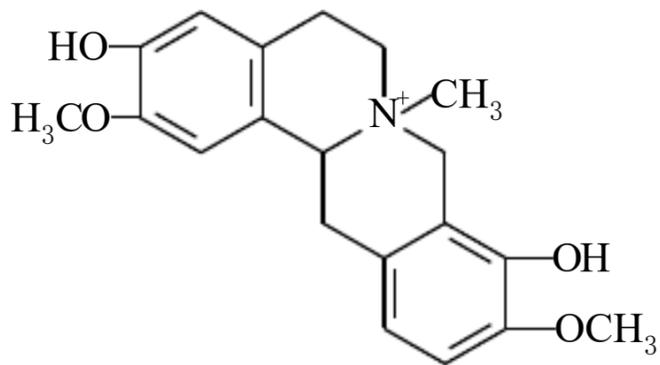
2. 防己诺林碱 (Fangchinoline, 汉防己乙素)



细棒状结晶，同样有双熔点现象，丙酮中结晶 mp.134~136°C/238~240°C，甲醇中结晶 mp.177~179°C/238~240°C。

溶解度与粉防己碱相似，但极性稍大，故在冷苯中的溶解度小于粉防己碱，而在乙醇中溶解度稍大于粉防己碱，具隐性酚羟基，不溶于 NaOH 溶液。

3. 轮环藤酚碱 (Cyclanoline)



氯化物 无色八面体状结晶 216~6℃

碘化物 无色丝状结晶 185℃

苦味酸盐 黄色结晶 154~6℃

水溶性季铵型生物碱，不溶于低极性有机溶剂。

一、实验目的

1. 掌握各种生物碱的分离纯化方法，包括脂溶性碱与水溶性碱分离，脂溶性碱中酚性碱与非酚性碱的分离，水溶性与非生物碱水溶性成分的分离，脂溶性碱单体的分离

2. 学习生物碱的各种鉴识方法，包括：层析方法（TLC 及 PC），沉淀反应，衍生物制备鉴识。

3. 学习各种实验技能

提取：回流提取

分离：萃取、柱层析

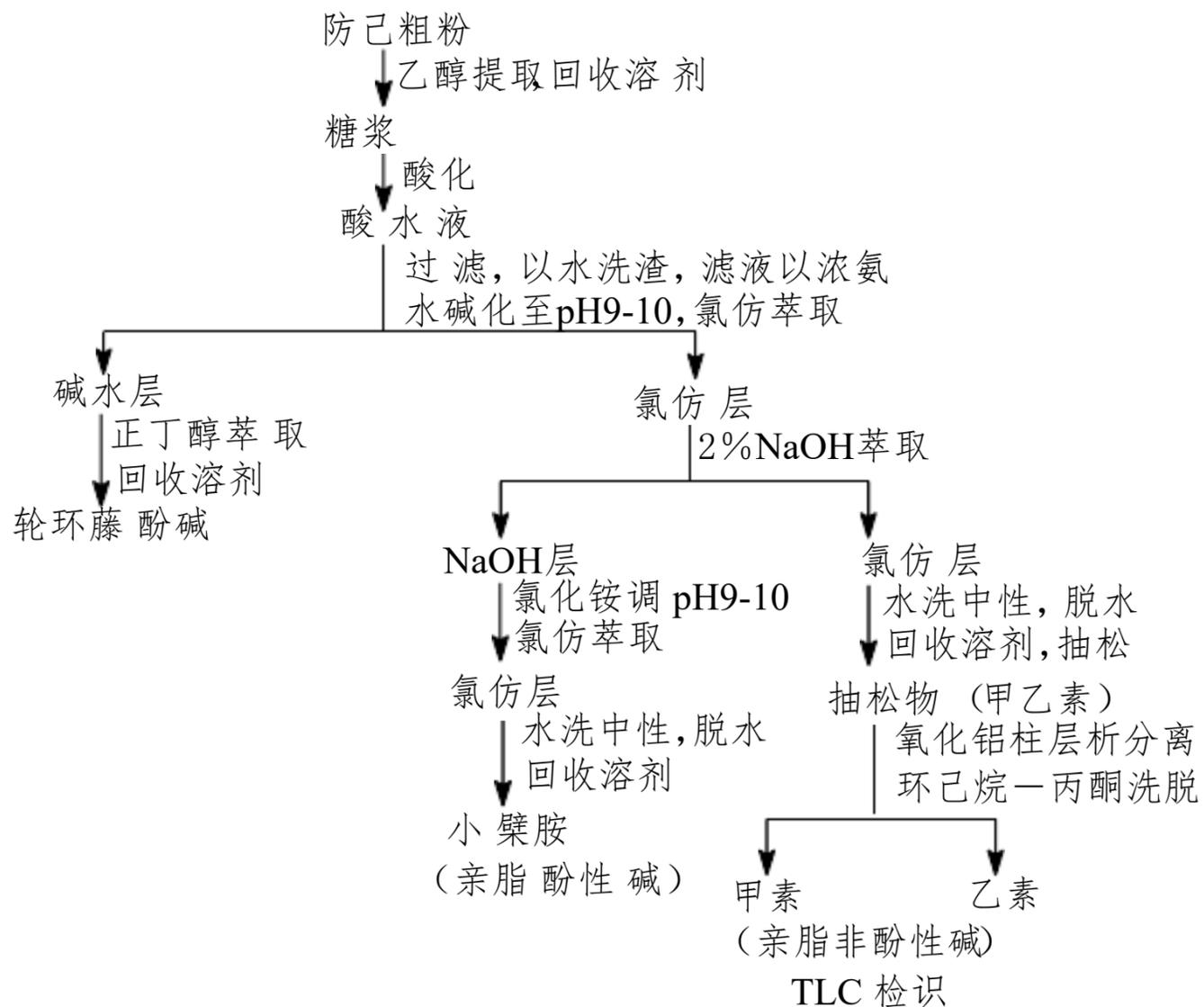
净化精制：沉淀法、柱层析法

鉴识：层析法、化学法

二、实验原理

根据一般生物碱的亲脂通性及季铵型生物碱易溶于水，不溶于有机溶剂的特性，提取分离脂溶性生物碱和水溶性生物碱，利用汉防己甲、乙素结构上的差别，用吸附柱层析分离二者，利用季铵碱可与雷氏铵盐产生沉淀的性质与其它水溶性成分分离。本实验涉及的知识点有：溶剂提取法、两相溶剂萃取法、色谱法等。

三、实验流程



四、实验方法

(一) 总生物碱的提取

称取粉防己粗粉 200g, 用 95%EtOH 回流提取二次 (500ml 1 小时, 400ml 45 分钟), 两次提取液合并, 减压回收乙醇至无醇味, 得糖浆状物。

(二) 分离

1. 亲脂性生物碱与水溶性生物碱的分离

在糖浆状总提取物中加入 1% 的盐酸约 200ml, 充分搅拌使生物碱溶解, 放置过滤。滤渣用水洗涤 2~3 次后弃去, 滤液合并后移至 500ml 分液漏斗中加 150ml CHCl_3 。再滴加浓氨水调 PH9-10, 振摇萃取 (此时再向水层滴加、浓氨水至无沉淀析出), 稍静置, 放出 CHCl_3 层, 碱水层以新 CHCl_3 萃取 4 次, 依次加入 80ml \times 4, 最后一次萃取的 CHCl_3 层中应基本没有生物碱时认为 CHCl_3 萃取基本完全 (取 CHCl_3 液滴在滤纸上, Drangedorff 试剂显色不明显为止)。合并 CHCl_3 液即为亲脂性生物碱的提取液。碱水层则为水溶性生物碱, CHCl_3 提取液和碱水层分别在下述 (2)、(3) 项中处理。

2. 亲脂性生物碱中酚性与非酚性碱的分离

上述 CHCl_3 液置分液漏斗中, 用 2%NaOH 水溶液萃取 2 次, 每次 50ml, 此时碱水层色已很浅, 示酚性脂溶性碱已基本被萃取到 NaOH 层, 合并 NaOH 萃

取液，将 NaOH 层与 CHCl_3 液分置 2 个分液漏斗中，可同时操作：

(1) NaOH 层加固体 NH_4Cl 至 PH9 左右，然后 CHCl_3 萃取 2 次(80ml, 50ml)，第 2 次 CHCl_3 层生物碱应极弱示萃取基本完全，弃去水相，合并 CHCl_3 层并用蒸馏水洗至中性，加无水 Na_2SO_4 脱水 24 小时以上，过滤，回收 CHCl_3 ，得粗酚性生物碱。

(2) CHCl_3 层用蒸馏水洗至中性，脱水，回收，残留物抽松，得非酚性生物碱的抽松物，称重，取出 50mg 作第 4 项，其余用 $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ 结晶 (1: 15)。

3. 季铵型生物碱的分离纯化

碱水液用正丁醇萃取 (50ml \times 2)，回收正丁醇，水精制得轮环藤酚碱。

4. 非酚性碱中汉防己甲素和乙素的分离纯化。

柱层析分离条件：

吸附剂，中性 Al_2O_3 300-200 目，II-III 级，装柱 15cm。

样品：拌样上样，取非酚性碱的油松物 50mg，用少量 CHCl_3 溶液于吸附剂中分散均匀，边加热挥去 CHCl_3 。

装柱：湿法装柱 (干法装柱也可以)

洗脱剂：环己烷，丙酮 2: 1。

将样品加于柱顶，倒入洗脱剂，然后于柱顶加低压层析分离，流速控制在 5ml/分，收集各流份 (5-10ml/份)，各流份回收溶剂，用硅胶 GTLC 检查，合并相同流份，回收溶剂至干，分别用 $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ 重结晶 1-2 次，可得汉防己甲素，乙素精品。

附：(1) 湿法装柱法。取吸附 30g 左右于烧杯中，加洗脱剂一定湿润，搅匀，打开层析柱活塞。将吸附剂缓缓倒入柱内。待其自然沉降后即可。柱顶留 5ml 左右洗脱剂。倒入拌好的样品。敲平 (此时洗脱剂不能被样品吸干，应有余量)，即可开始层析。

(2) 干法装柱法。打开柱活塞，倒入干的吸附剂装 15cm 高，敲匀，然后倒入拌样的吸附剂再敲平，沿柱壁均匀加入洗脱剂，待流出第 1 滴流出液时，加满洗脱剂，开始层析。

(3) 硅胶 GTLC 制备与层析，铺板，一块板用吸附剂 1.5g，板规格 15 \times 5cm，每克吸附剂用水 3ml，在乳体中研匀后铺板，每人铺板 6 块，自然干燥后用前在 100-105 $^{\circ}\text{C}$ 活化 30 分钟。

层析条件：

对照品：甲素、乙素。

展开剂： CHCl_3 : $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (1: 1) 展开前浓氨水饱和 15 分钟。

显色剂：改良 Drangendorff 试剂

(三) 鉴识

1. 层析鉴识

(1) 硅胶 GCMC 板 TLC

条件均与柱层析 TLC 条件一致，结果参照柱层析的结果，可不重复。

(2) 叔胺碱多缓冲纸层析

I 多缓冲滤纸的制备

取滤纸条 ($2 \times 30\text{cm}^2$)，离下端 6cm 处开始用铅笔划一原点线，然后向上每隔 2cm 划一平行线。并自下而上在每隔 2cm 的行间顺次涂布 PH 值不同的缓冲液 (6.0, 5.4, 5.0, 4.6, 4.0)。如图示



涂布时勿使缓冲液渗出线外，涂完后将滤纸悬挂在空中自然干燥。

II 点样

分别在两条滤纸起始线上点下列样品的氯仿溶液。

汉防己甲素

汉防己乙素

III 展开

溶剂皿内置展开剂 $\text{CHCl}_3:\text{H}_2\text{O}$ (1:1) (水预先饱和过的)，将点样后的滤纸悬挂在筒内，密闭，饱和 30 分钟后展开。

IV 显色

喷以改良 Dragendorff 试剂

2. 衍生物的制备

(1) 汉防己甲素苦味酸盐的制备

取甲素 10mg 溶于 $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ 1ml 中，滴加饱和苦味酸试剂至不再析出黄色沉淀，稍放置。抽滤收集沉淀，依次用少量 H_2O , EtOH 洗涤，再以乙醇重结晶，得甲素苦味酸盐，mp235~242°C。

3. 定性反应

取甲素（乙素）溶于稀 HCl 中，分置 4 支试管中，加下列试剂 1~3 滴。观察现象。

A 碘化汞钾试剂

B 碘——碘化钾试剂

C 硅钨酸试剂

D 碘化铋钾试剂

五、思考题

1. 有机溶剂提取必须用什么方式？为什么？

2. 减压回收较常压回收有哪些特点？影响减压回收速度的关键是什么，如何控制？

3. 萃取操作的好坏对实验结果会有什么影响，为什么说分离是影响产品产量及质量的主要因素。

4. 怎样防止产生乳化，怎样消除乳化？

5. 为什么有机溶剂必须洗至中性方能浓缩或放置？

6. 何时有机相需要脱水干燥，何时不必？

7. 如何用 TLC 摸索层条件（包括切割柱层，洗脱柱层）？

8. 为什么 PC 中的展开剂必须用固定相预先饱和？

9. 什么叫假阳性和假阴性反应？有什么意义，能消除吗？

10. 粉防已中各种生物碱的分离原理是什么？

11. 为什么用 NH_3 或 NH_4Cl 调 PH，而不用其它碱和酸。

六、主要参考文献

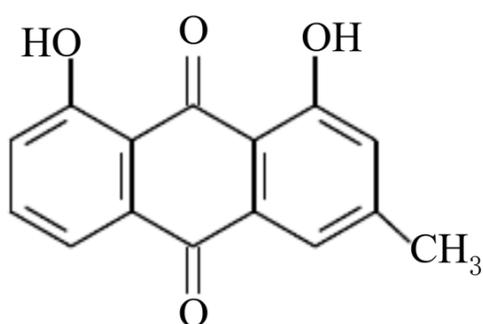
- | | |
|----------------------|-------------------|
| 1. 药学杂志（日） | 48; 107; 1928 |
| | 77; 807; 1957 |
| | 82; 741; 1962 |
| | 87; 316; 1967 |
| 2. 化学学报 | 23; 405; 1957 |
| 3. 中成药研究 | 3; 36; 1980 |
| 4. 中草药通讯 | 1: 10; 2; 8; 1976 |
| 5. Science Record | 3; 107; 1950 |
| 6. Chinese J Physiol | 9 (3); 267, 1935 |
| | 13 (2); 167, 1938 |

实验二 虎杖蒽醌类成分及白黎芦醇苷的提制和鉴定

虎杖系蓼科蓼属植物 *polyganum cuspidatum siebet zucc.* (即 *Reynoutrin japonica Houoblun*) 的根茎。又名阴阳莲。民间用于消炎、杀菌、利尿、通经和镇痛。近年来用于烫伤、止血、消结石和降血脂均有疗效。虎杖根茎中含有大量的蒽醌类成分和二苯乙烯类成分。后者具有降血脂的作用。

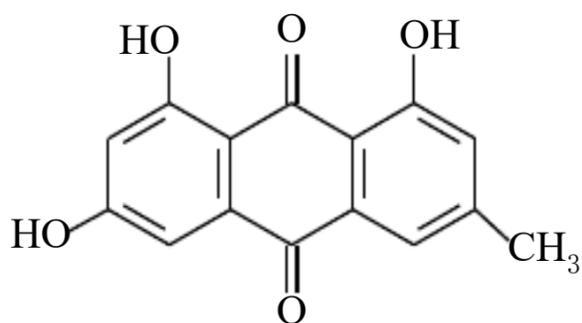
一、部分已知成分的物理性质

1. 大黄酚 (chrysophanol)



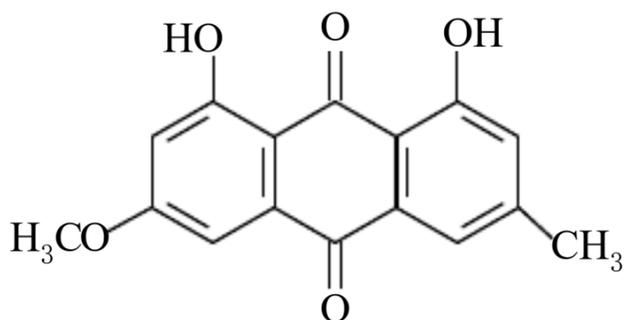
金黄色六角形状结晶 (丙酮中结出) 或针状结晶 (乙醇中结出) 196°C, 能升华。不溶于水, 易溶于苯、氯仿、乙醚、乙醇、冰醋酸, 稍溶于甲醇, 难溶于 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 水溶液可溶于 NaOH 及热水溶液。

2. 大黄素 (Emodin)



橙黄色长针晶 (丙酮中结出者为橙色, 甲醇中为黄色), mp256~7°C, 能升华, 其溶解度如下: Et_2O 0.14%, CCl_4 0.01%, CHCl_3 0.0718%, CS_2 0.009%, 几乎不溶于水, 易溶于乙醇, 可溶于 NH_4OH 、 Na_2CO_3 和 NaOH 水溶液。

3. 大黄素-6-甲醚 (physion)



金黄色针晶。熔点 207°C。能升华, 溶解性质与大黄酚相似。

4 polygonin)

为大黄素的苷。结构未明，可能是混合物，浅黄色针状结晶。203~5℃。以甲醇、乙醇或乙酸乙酯重结晶时，若急速冷却，呈胶冻状，多次重结晶后慢慢冷却，得浅黄色针状结晶，不溶于乙醚，难溶于丙酮，可溶于热的乙酸乙酯、热的甲醇或乙醇，冷后均较难溶，可溶于 NaHCO₃ 水溶液，冷水中溶解度不大。

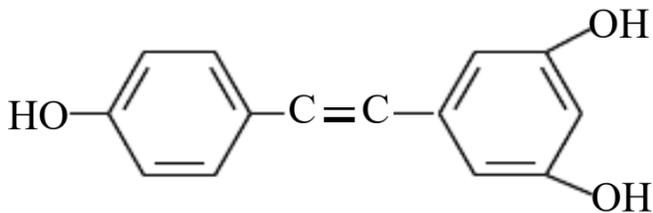
5. 大黄素 β-D-葡萄糖苷 (Emodin monoglycoside)

mp190~1℃，为浅色针晶（稀乙醇中结出，含一分子结晶水）。

6. 大黄素 6-甲醚-8-D 葡萄糖苷

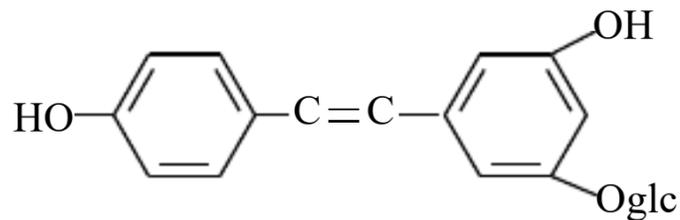
mp230~2℃，为黄色针晶（稀甲醇中结出）。

7. 白黎芦醇 (resveratrol)



无色针状结晶，mp256~7℃，261℃，264℃，能升华，易溶于乙醚、氯仿、甲醇、丙酮等。

8. 白黎芦醇葡萄糖苷 (polydatin, peceid)



又名 3, 4, 5-三羟基芪-3-β-D-葡萄糖苷，mp225℃，232℃，易溶于甲醇、丙酮、热水，可溶于 EtOAc，稍溶于冷水，但可溶于 NaCO₃ 和 NaOH 水溶液，难溶于乙醚。

（附注：此化合物具顺，反二种异构体，能够互相转化，所得常是二者的混合物，以反式为多，故前人工作中所报导的熔点有所不同，按本实验方法所得的白黎芦醇苷结晶仿呈分子结晶水，在 130~140℃时先融化，继续加热又固化，至 225~6℃全熔）。

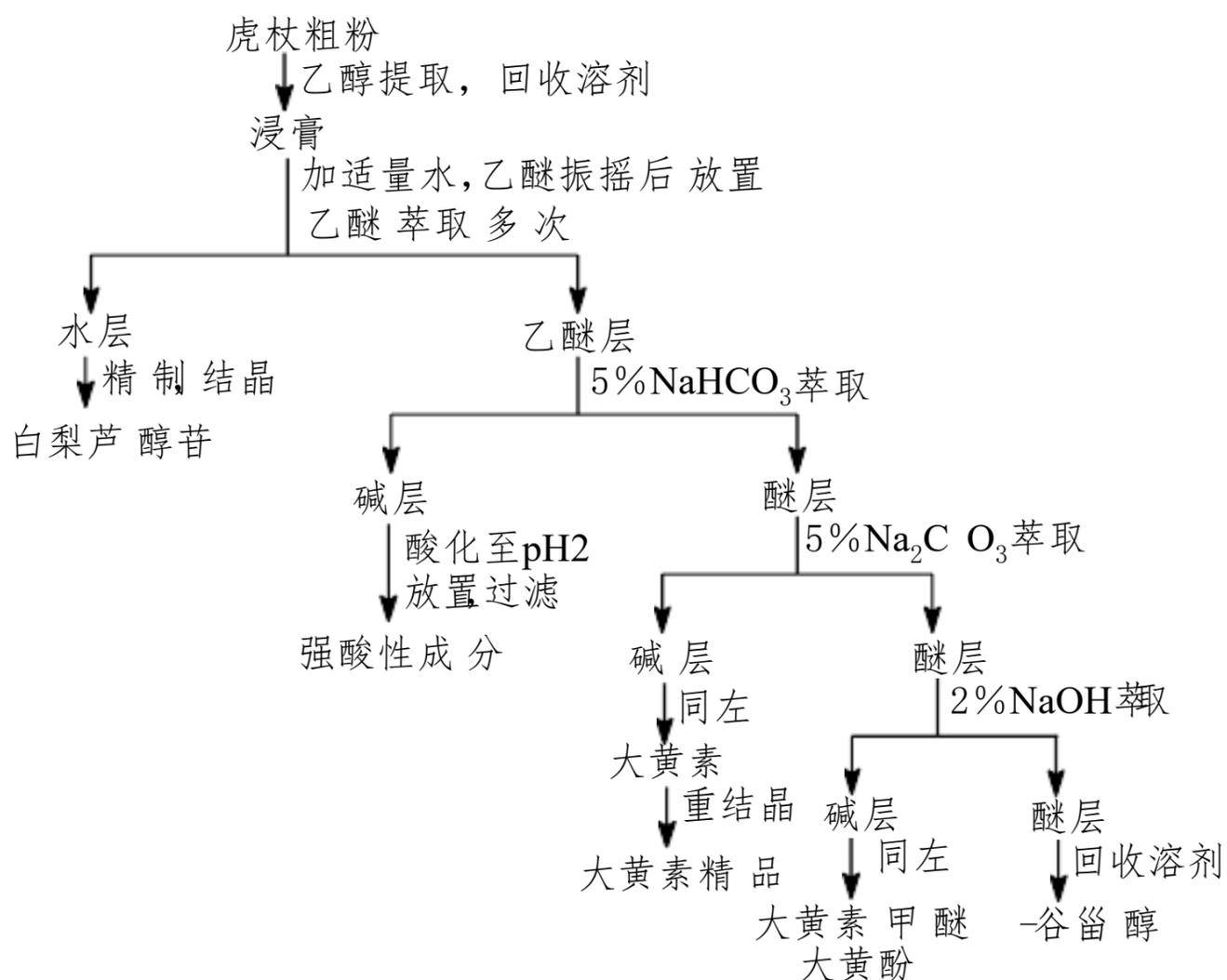
二、实验目的

1. 学习用 PH 梯度萃取法分离本性不同的蒽醌类成分。
2. 学习脂溶性成分和水溶性成分的分离方法。
3. 了解蒽醌类成分的一般性质和鉴别反应。

三、实验原理

强度的酸性，根据此性质，在乙醚萃取出脂溶性成分后，碱度递增的水溶液（5%NaHCO₃，5%NaCO₃，2%NaOH）自乙醚中提出游离蒽醌类成分，达到分离目的。本实验涉及的知识点：溶剂提取法、萃取、pH 梯度萃取法、色谱检识、重结晶等。

四、实验流程



鉴识：TLC，定性反应

五、实验方法

1. 乙醇总提取物的制备

取虎杖粗粉 200g，用 95% 乙醇回流提取二次（500ml 回流 1hr，450ml 回流 30'）。合并乙醇液。放置如有沉淀。抽滤一次，减压回收乙醇至糖浆状（要求乙醇回收至无醇味。）

2. 总游离蒽醌的提取

将上述提取转移至三角瓶中，加入 30ml 水，溶解后加 100ml 乙醚，不断振摇后放置，将上层乙醚倾入另一 500ml 三角瓶中（切勿将水倒出），或用吸管吸出，瓶中糖浆状物再以乙醚多次萃取，每次萃取的乙醚用量顺序为 50ml，40ml×4，合并乙醚液为总游离蒽醌，乙醚提取的剩余物含水溶性成分，上继续分离，在第 4 项中做。

3

(1) 强酸性成分的分离

上述乙醚液移至分液漏斗中，用 5%NaHCO₃ 水溶液（测定 pH 值）取 3-4 次（40, 30×2），合并碱液，在搅拌下慢慢滴加 6NHCl 调 PH 为 2。放置，抽滤，水洗沉淀至近中性，干燥，得深褐色粉末，为强酸性部分。

(2) 中等酸性成分——大黄素的分离

以上用 NaHCO₃ 取过的乙醚液用 5%（测定 pH 值），取 5~9 次（40×3, 30×4）。碱液用量视碱水层萃取液色较浅为止。合并碱液。加浓 HCl 调 PH2。稍放置。抽滤。沉滤以水洗至中性，干燥，称重，用丙酮结晶一次（1: 15）。再用甲醇重结晶（1: 15~20）。得大黄素结晶。mp.256~7℃。

(3) 弱酸性成分——大黄酚和大黄素 6—甲醚的分离

以上用 Na₂CO₃ 萃取过的乙醚液用 2%NaOH（测 pH 值）萃取 4—5 次。每次 20ml 合并 NaOH 液。同（2）法处理。干燥后粗品以 CHCl₃—MgOH（1: 1）重结晶，再用乙醇重结晶。

(4) 中性成分——甾醇类化合物的分离

上述 NaOH 萃取过的乙醚液，用水洗至中性，以无水 Na₂SO₄ 脱水，回收乙醚得残留物，即得 β-谷甾醇粗品。

用甲醇少量溶解 β-谷甾醇，作 TCL 鉴识用。

4. 白黎芦醇葡萄糖苷的分离

取“2”中乙醚提取过的糖浆状物，挥去乙醚，置烧杯中加 500ml 水，搅拌混合后，直火加热 20~30'。倾出上层液，稍冷过滤。滤液加活性炭煮沸 10'。趁热过滤。滤液置蒸发皿中。水浴浓缩至 15~20ml。水液用乙酸乙酯（约 30ml）萃取。回收乙酸乙酯。

5. 鉴识

层析法鉴定

(1) 游离蒽醌的硅胶 GTLC

对照品：大黄素甲醚与大黄酚的混合物。

样品：大黄素、大黄素甲醚。强酸性部分。

展开剂：苯：乙酸乙酯（8: 2），石油醚—已烷—甲酸乙酯—甲酸（1: 3: 5: 1, 5: 0.1）加 0.5ml 水，上层。

显色剂：5%KOH 喷色。

(2) 甾醇类成分的硅胶 GTLC。

样品：β-谷甾醇粗品

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/59610112222010230>