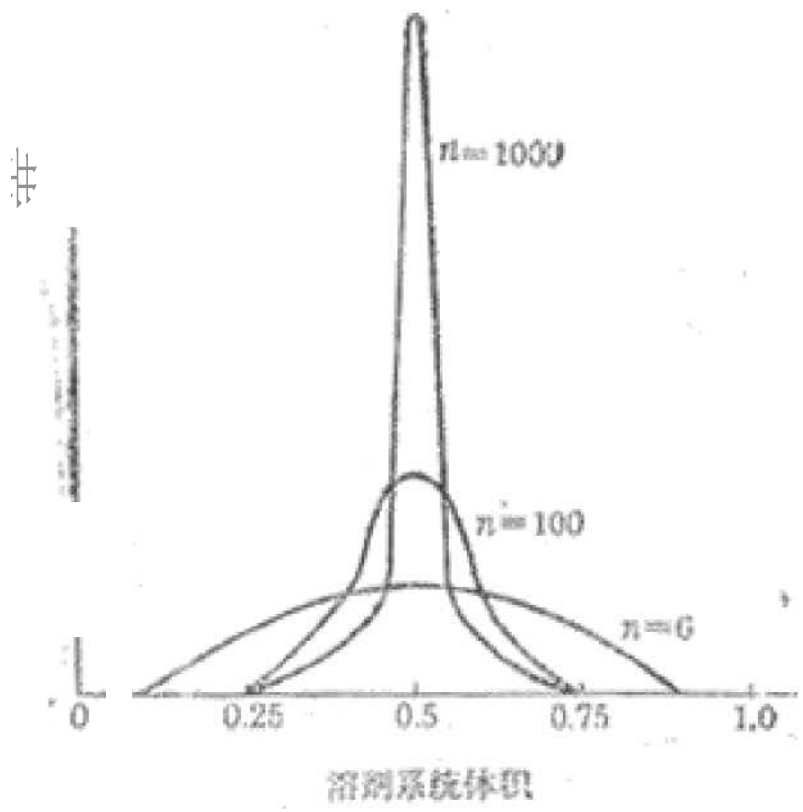
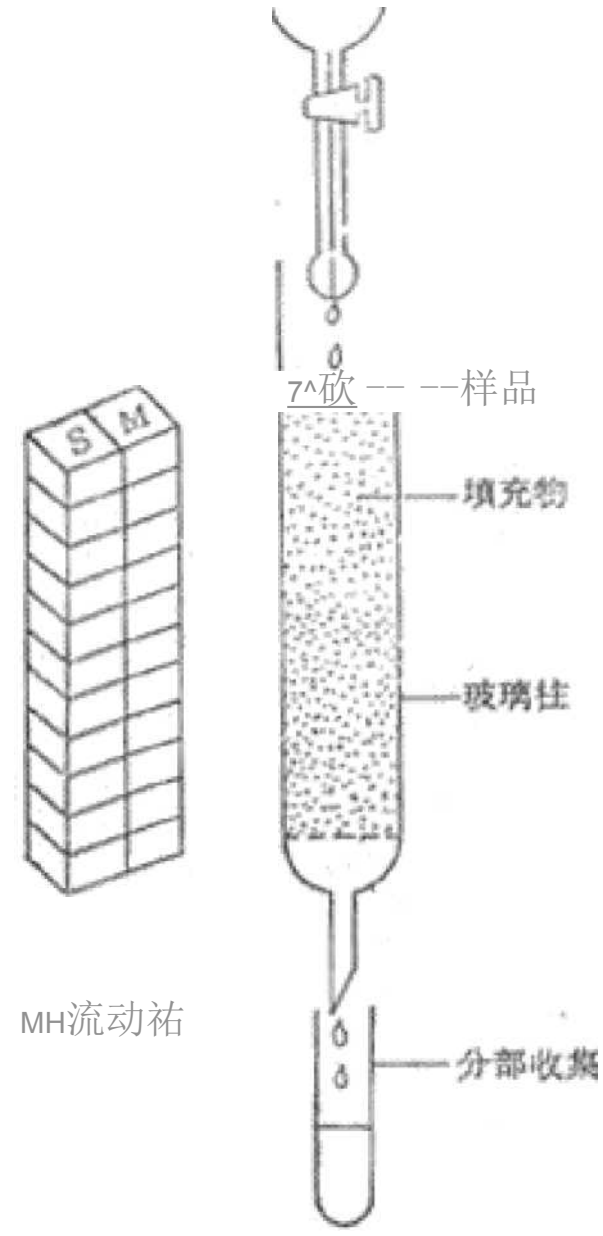


圈能壬o分排曲锐与牌睿次数
伽论坂变。甘佝荣他关第



7^砍 -- --样品

MH流动祐

透3-20骐昕

通用试剂

(1)重络酸钾-硫酸:检查一般有机物.

喷洒剂： 5克重络酸钾溶于100毫升40%硫酸中.

薄层检查:喷洒后加热到150℃至班点出现

(2) 荧光素-溴:检查不饱和化合物

喷洒剂： 0.1克荧光素溶于100毫升乙醇中

澳试剂:5%的澳的四氯化碳溶液

喷洒后处理:喷洒荧光素溶液后， 放置存有澳溶液的缸内， 可于紫外线分析灯下检查荧光， 荧光素与澳化和成曙红(Eosin)(无萤光)，

而

不饱和化合物则成澳加成物， 保留了原有荧光;若点样较多， 则呈黄色斑点,底板呈红色.

(3)碘:检查一般有机物.

方法:a层析谱放密闭缸内或瓷盘内，缸内预先放有碘结晶少许，大部分有机化合物呈棕色斑点。

B层析谱放碘蒸气中5分钟(或喷5%碘的氯仿溶液)取出置空气中待过量的碘蒸气全部挥发后，喷1 %淀粉的水溶液，斑点转

成蓝色。

(4)硫酸：通用

喷洒剂：5%的浓硫酸乙醇溶液，或15%浓硫酸正丁醇溶液，或浓硫酸一醋酸(1： 1)

喷洒后处理：空气中干燥15分钟，再热至110C直至出现颜色或荧光。

(5)硝酸银一氢氧化铵(Tollen-Zaffaroni)试剂：检查还原性物质。

溶液I : 0.1%N硝酸银； 溶液II: 5N氢氧化铵

喷洒剂： I和II以1:5混合(临用前混合）

喷洒后处理： 105℃加热5~10分钟,至深黑色斑点出现.

(6)磷钼酸或磷钨酸， 硅钨酸:检查还原性物质， 类脂体,生物碱， 甾体

喷洒剂:5~10%磷钼酸或磷钨酸或硅钨酸乙醇溶液

喷洒后处理： 120C加热至斑点出现.

沉淀试剂： 1克硅钨酸溶于20毫升水中， 加10%盐酸至强碱性.

生物碱

(7)硫酸？?=硫酸:检查生物碱及含碘化合物

喷洒剂:0.1克硫酸?混悬于4毫升水中， 加入1克三氯醋酸， 加热至沸， 逐滴加入浓硫酸至澄清.

喷洒后处理： 110C加热数分钟至斑点出现.

(8)碘化铋钾(Dragendorff)试剂:检查生物碱及其他含氟化合物.

溶液I: 0.85克次硝酸铋溶于10毫升冰醋酸40毫升水中

溶剂II： 8克碘化钾溶于20毫升水中.

制备液I+II,等体积混合.可用于棕色瓶中保存较长时间， 一般制备液可作沉淀试剂用.

喷洒液： 制备液1毫升与2毫升醋酸,10毫升水混合即得

(9).碘化汞钾(Mayer)试剂： 检查生物碱.

制备液： 13.55克氯化汞和49.8克碘化钾各溶于20毫升水中， 等体积混合并用水稀释至1000毫升.

喷洒液： 制备液加1/10体积的17%盐酸.

喷洒后处理： 观察斑点， 并于紫外线荧光分析灯下检出.

(10) ?酸纳-浓硫酸(Mandelin)试剂:检查生物碱.

1%＞酸纳的浓硫酸溶液.与多种生物碱呈不同颜色.

(11)碘一碘化钾(Wagner)试剂:检查生物碱.

1克碘及10克碘化钾， 溶于50毫升水中， 加热， 加2毫升醋酸,再用水稀释至100毫升.

可作纸层板显色剂， 液可作沉淀试剂.

酚类， 鞣质

(12)三氯化铁:检查酚类及？？酸.

喷洒剂:1~5%三氯化铁的水溶液或乙醇溶液.并加盐酸少许.？？酸呈红色斑点， 酚类称蓝色或绿色斑点.

(13) 铁氰化钾-三氯化钾:检查酚类， 芳香胺类及还原性物质.

喷洒剂： 1%铁氰化钾水溶液,2%三氯化铁水溶液.临用前等体积混合.

喷洒后处理： 喷洒后酚性物质呈蓝色斑点.再喷2N盐酸,能使颜色加深， 纸谱可用烯盐酸洗去喷洒液.

(14) 4-胺基安替比林-铁氰化钾(Emerson反应)： 检查酚类.

喷洒剂： I . 2%4-氨基安替比林乙醇溶液；

II. 8%铁氰化钾水溶液.

或用0.9%4-氨基安替比林和5.4%铁氰化钾水溶液

方法： 先喷洒I,再喷洒II,即显色， 或再放入密闭缸中， 缸内放25%氢氧化铵， 即产生橙色至深红色.

(15)对氨基苯磺酸， 重氮盐(Pauly试剂)： 检查酚类,芳香胺类及能偶合的杂环化合物.

喷洒剂:4.5克对氨基苯磺酸， 加热溶于45毫升12N盐酸中， 用水稀释至500毫升， 取10毫升稀释液用冰冷却， 加10毫升冷4.5%

亚硝酸钠水溶液,0C放15分钟(此试剂于0C可保存3天),用前加等体积1%碳酸钠水溶液.

一般重氮化试剂,也可用联苯胺， 对硝基苯胺等.

(16)对甲苯磺酸： 检查甾体,黄酮,鞣质.

喷洒剂:20%对甲苯磺酸氯仿溶液.

喷洒后处理： 100C加热数分钟， 紫外线分析灯下检查荧光斑点.
含氧杂环及蒽醌类’

(17) 三氯化铝： 检查黄酮体.

喷洒1%三氯化铝乙醇液于紫外线荧光分析灯下检示呈黄色荧光

(18) 碱式醋酸铅： 检查黄酮体.

喷洒剂： 饱和碱式醋酸铅(或饱和醋酸铅)水溶液.

于紫外线荧光分析灯下检查荧光斑点.

(19)醋酸镁： 检查蒽醌甙， 甙元及黄酮体

喷洒剂:0.5%醋酸镁甲醇溶液

方法:90°C加热5分钟,呈红色至紫色斑点.

(20)氢氧化钾： 检查香豆素， 蒽醌甙及甙元

喷洒剂:5~10%氢氧化钾的甲醇溶液.

于日光及紫外线荧光分析灯下检示斑点.

萜类， 甾体

(21)三氯化锑(Carr-Price试剂)： 检查甾体， 萜类， 皂类.

喷洒剂:25克三氯化锑溶于75克氯仿中(亦可以用氯仿或四氯化碳的饱和溶液).

喷洒后处理： 100C加热5分钟， 于紫外线荧光分析灯下检示荧光

(22)五氯化锑： 检查甾体， 萜类， 皂甙.

喷洒剂： 五氯化锑-氯仿或四氯化碳(1:4)， 用前新鲜配制.

喷洒后处理： 120C加热至斑点出现， 并于紫外线荧光分析灯下检示.

(23)香兰醛-硫酸： 检查高级醇类， 酚类， 甾体， 萜类， 芳香油.

喷洒剂： 1克香兰素溶于100毫升浓硫酸， 或0.5克香兰醛溶于100毫升硫酸-乙醇(4:1)中.

喷洒后处理： 室温或120C加热观察显色斑点.

(24) 4-二甲氨基苯甲醛， 醋酸， 磷酸(E.P.试剂)： 检查？ Azulene及？前体Proazulene.

喷洒剂:0.25克4-二甲氨基苯甲醛， 溶于50毫升醋酸5克85%磷酸和20毫升水的混合液中(棕色瓶中保存数月)

?:烃室温即成蓝紫色斑点,＞前体于80C加热10分钟出现蓝紫色斑点.

(25)氯胺T一三氯醋酸： 检查强心甙.

喷洒剂： I. 3%氯仿T水溶液新鲜制备.

II. 25%三氯醋酸乙醇溶液(能保存数天).

10毫升I加40毫升II,用前混合.

喷洒后处理： 110C加热7分钟， 紫外线荧光分析灯下检示呈蓝色或黄色荧光

(26)亚硝酸基铁氰化钠-氢氧化钠(Legal试剂)： 检查不饱和内酯;甲基酮或活性次甲基， 常用于强心甙

喷洒剂： 1克亚硝基铁氰化钠溶于100毫升2N氢氧化钠-乙醇(1:1)的水溶液.

显红色或紫色斑点.

(27) 3,5-二硝基苯甲酸(Legal试剂)： 检查强心甙，a, -不饱和内酯.

喷洒剂： 1克3,5-二硝基苯甲酸溶于50毫升甲醇， 加入1N氢氧化钾50毫升.

强心甙呈紫红色斑点.

糖类

(28)邻苯二甲基苯胺： 检查还原糖.

喷洒剂:0.93克苯氨,1.66克邻苯二甲酸溶于100毫升水饱和的正丁醇中.

喷洒后处理： 105C加热10分钟.

(29) 2,3,5-Triphenyl-tetrazolium chloride (T.T.C.)：检查还原糖及其他还原物质。

溶液I： 4%(T.T.C.)甲醇溶液； 溶液II： 1N氢氧化钠。

喷洒液：I，II，临用前等体积混合。

喷洒后处理：100℃加热5～10分钟，得红色斑点。

（30）Keller-Kiliani试剂：检查广去氧糖，常用于强心甙。

试液：100毫升冰醋酸加三氯化铁试液0.5毫升混合均匀.

试样1毫克加试液2毫克溶解后， 沿试官管壁滴入浓硫酸2毫升， 接触面即显棕色， 渐变浅绿， 蓝色.最后冰醋酸层全部燃呈蓝色.

(31) 1,3-二羟基萘-磷酸： 检查糖类.

喷洒液： 0.2%1,3-二羟基萘(Naphthoresorcinol)乙醇溶液100毫升， 与10毫升85%磷酸混合.

(32)费林溶液(Fehling):检查还原糖.

溶液I: 69.3克结晶硫酸铜溶于1000毫升水中.

上述二溶液如不清可滤过.临用前等体积混合.

氨基酸

(33) 茚三酮： 检查氨基酸及氨基糖.

喷洒剂： 0.3克茚三酮溶于100毫升正丁醇， 加入3毫升醋酸;或0.2克茚三酮溶于100毫升乙醇(或丙酮中).

喷洒后处理： 110C加热至斑点出现.

(34) 吲哚醌： 检查氨基酸和一些肽.

喷洒剂:0.2%吲哚醌(Isatin)丙酮溶液， 含4%醋酸;或用100毫升1%吲哚醌丙酮溶液加10毫升醋酸.

喷洒后处理： 100-110C加热10分钟.

(35) 1,2-萘醌-4-硫磺酸(Folin试剂)： 检查氨基酸.

喷洒剂： 新鲜制备0.02克1,2-萘醌-4-磺酸钠， 溶于100毫升5%碳酸钠中.

喷洒后处理： 室温放于,不同氨基酸出现不同颜色.

有机酸

(36)酸碱指示剂： 检查有机酸.

喷洒剂:0.05%溴酚蓝(或溴甲酚绿， 或溴麝香草酚蓝)的乙醇溶液.

(37)氧化还原显色剂： 检查有机酸.

喷洒剂：I. 0.075%溴甲酚绿及0.025%溴酚蓝的无水乙醇液.

II. 0.5%高锰酸钾及1%碳酸钠.10H2O的蒸馏水液.临用前， 取I和II按1:1混合后喷酒.

喷酒后处理： 稳定时间为5~10分钟.对不同的有机酸在纸谱上呈现不同颜色

(38) ??? (Acridine):检查酸.

喷洒剂： 0.005%的？？乙醇溶剂.

紫外线分析灯下呈黄色荧光.

(39) 芳香胺-还原糖： 检查酸.

喷洒剂： 芳香胺(如苯氨5克)和还原糖(如木质糖5克)溶于50%含水乙醇中.

喷洒后处理： 125-130C加热出现棕色斑点.

实验16氧化苦参碱的提取和鉴定

中药苦参是豆科植物苦参(Sophors Flavescens Ait)的干燥根，味苦，性寒，有清热燥湿，杀虫等作用.临床上用于治疗痢病，黄胆和皮
肤瘙痒症.近年还发现具有抗肿瘤，升白，抗病毒性肝炎等药理作用，苦参中主要含生物碱，此外还有黄铜类成分.

一，苦参中主要已知生物碱的结构和性质

1. 氧化苦参碱(oxymarrine) C12H24N2O2,白色棱晶，易溶于水，甲醇，乙醇，氯仿，不溶于乙醚，苯。溶点：207～208°C(不含结晶水)162～163℃(含一个结晶水)77～78℃(含多个结晶水)结晶水可在145-150ˆ/0= 002mmHg下除去，

可于许多金属离子如Fe2+ Cu2+ Cr3+等生成沉淀，[a]??+47.7℃(乙醇).

2. 苦参碱(matrine)C15H24N2O在轻石油醚中结晶时，由于温度等条件不同，可以得到ap6三种结晶(溶点分别为76C 87C 84C)和一种流体即Y型。通常室温下结晶得到的是a型，易溶于水，甲醇，乙醇，氯仿，溶于苯在乙醚中溶解度小。[a]??

+39.11[乙醇]

3. 脱氢苦参碱(槐果碱)(sophocarpine) C15H24N2O白色棱晶。溶点80-81C，易溶于甲醇乙醇氯仿，略溶于苯和乙醚，在

水中溶解度小=[a]？-29.44(乙醇)

4.槐定(sophoridine)C15H24N2O白色棱晶，溶点106～108C，为苦参碱的一种空间异构体。

二. 实验目的与要求

(1) 通过苦参生物碱的提取掌握用渗滤法和离子交换法提取生物碱的方法。

(2) 掌握沙氏提取器的使用方法。

(3) 掌握氧化铝吸附薄层层离法和柱层层离法鉴定和分离生物碱的方法。

三. 原理

氧化苦参碱为喹诺里西汀类生物碱，叔胺氮氧化合物与酸成盐溶于水与非生物碱分开，提取的生物碱盐的阳离子部分与H+型 树脂发生交换生物碱吸附在柱上，吸附有生物碱的树脂，碱化呈游离生物碱，可被氯仿等有机溶剂提取。

R-SO3-Na+ + H+CL ---------->R-SO3-H+ + NaCL

SO3Na + H2O

生物碱

四.实验方法.

1酸水提取和离子交换

(1) 渗漉法

取苦参碱400克，加入适量0.5%(g/v)的盐酸湿润后放置一小时装入渗滤液的PH值及生物碱反应 使渗滤液通过离子交换脂柱 待经过树脂柱的滤液生物碱反应或微弱的反应时，停止交换，将树脂倒入烧杯中，酮蒸馏水洗涤几次，滤干，树脂放入搪瓷盘

中自然晾干。

(2) 浸提法

300克？？ 0.5HCL(g/v) 6倍量浸泡48小时，浸出浸液，。。在处理1～2次，2次浸液全体合并。

2总生物碱的洗脱

将晾干的树脂放入烧杯中，加14%氨水，搅匀，使温度适宜(树脂充分膨胀，但又无过剩的水)约用氨水50～60毫升，静置 20分钟后，装入沙氏提取器中，用400毫升95%的乙醇回流洗脱4～5小时(或用氯仿回流提取5～8小时)回收溶剂至干， 所得浸膏用70～80毫升氯仿溶解，并转入分液漏斗，充分静置后，弃掉上层油状物，过滤氯酚溶液后用无水硫酸钠干燥，回 收氯仿至干，残留物用2～3倍量丙酮处理，即析出固体粉末，放置，过滤，得生物碱粗品，丙酮重结晶一次得浅黄色产品。

3苦参生物碱的氧化铝薄层鉴定。

样品：氧化苦参碱标准品，粗品，母液

溶剂系统：氯仿：甲醇= 19： 1 (二次展开)

石油醚：乙醚：甲醇=9： 9： 1

显色剂：改良碘化铋钾(改良Dragendorff)

4氧化苦参碱的分离与纯制

(1)取0.2克氧化苦参碱粗品用少量氧化铝搅伴,30克氧化铝(80~120目,I~III)装柱(1 *45),先加30毫升氯仿洗脱，

再用氯仿和

甲醇(99:1)混合溶剂洗脱.速度控制在1毫升/分左右，每10毫升收集一份，经薄层检识，将氧化苦参碱的流份合并，回收溶剂至干，用少量丙酮溶解,放置吸晶，得氧化苦参碱纯品，薄层检识后，干燥，侧溶点.

(2) 苦参总碱0.1克进行低压柱层析

吸附剂:薄层用硅胶15克(已用NH4OH减活)

洗脱剂:CHCL3 50 毫升,CHCL3-MeOH(98:2)100 毫升,(95:5)100 毫升,MeOH100 毫升

流速1毫升/分10毫升收集一份.

5. 氧化苦参碱的还原

取氧化苦参碱粗品1.0克，溶于15毫升10%盐酸水溶液中，放入1.0克锌粉，室温放置，不时摇动，放置24小时后过滤,浓度调到PH=9~10,用500毫升乙醚分多次提取.合并乙醚溶液,无水硫酸钠干燥过夜，回收乙醚淡黄色粘稠体放置于冰箱中，得浅黄色固 体,石油醚重结晶后得白色结晶，测熔点.

薄层检识

氧化铝干板(120目以上)

样品:苦参碱标准品，氧化苦参碱标准品，苦参碱

溶剂系统:氯仿:甲醇=8:2

显色剂:改良碘化铋钾溶液

附:阳离子交换树脂的处理

(1) 预处理及转型：

将100克聚苯乙烯磺酸钠型树脂(交联度1~7%粒度范围16~50目)放入烧杯中，用80℃蒸馏水温热使之充分膨胀1小时, 后加入2N盐酸300毫升 洗,水洗至PH5~7,5%NaOH浸泡1H???????浸泡过夜(注意开始要搅动几次).次日把树脂装入层离柱, 并使全部酸液流过树脂柱，用蒸馏水洗至中性至无氯离子反应为止，可用于无生物碱交换.

(2) 再生

将已洗去生物碱的树脂，置渗滤筒中，加2倍的2N盐酸浸泡过夜，次日树脂上面的盐酸慢慢流过树脂，用水洗至中性,然后用 5%的氢氧化钠浸泡1~2小时，时常搅伴，倾倒出上层碱液，用馏水洗至中性,在空气中晾干，留作下一次使用.

四. 思考题

1. 酸水法及离子交换树脂法提取分离生物碱的原理

2. 应如何检查(1)渗滤液中是否含有生物碱？

(2)渗滤液中生物碱是否可以被交换在树脂上？

(3) 离子交换树脂是否已达到饱和？

3. 氧化铝薄层层析的原理是什么?适用于什么成分的分离鉴定？

4. 当用硅胶薄层板层析时应如何操作？

五.参考文献.

1. 江苏中医学院:中药大辞典 上海人民出版社1977年

2. 张宁芳：中草药通讯1977(1):38 1977(2):39. 1977

3. 中国医科院第五研究室：放射医学1977(1):1.1977

4. 白世泽等：中草药13(4);8.1982

5. Shigenobu Okuda : Chem Pharm Bull 13:485.1965

实验13芦丁的提取，分离及鉴定

芦丁(Rutin)亦称芸香苷(Rstinoside)，广泛存在于植物界中，其中以槐米和养麦叶的含量较高，可作为提取芦丁的原料。槐花米系豆科植物, Sophora japonica的花蕾，自古作为止血药。槐花米中所含主要成分芸香苷有减少毛细血管的通透性作用，临床上主要为防止高血压病的辅助治疗药物。此外，芦丁对于放射性伤害所引起的出血症亦有一定作用。

一•实验的目的和要求

1. 以芦丁为实例学习黄酮类成分的提取分离方法。

2. 掌握黄酮类成分的主要性质及黄酮昔，甙元和糖部分的鉴定方法。

3. 通过？皮素紫外吸收光谱的测定及应用化学位移确定黄酮类烃基位量的方法。

4. 通过？皮素与其五乙酰化合物的红外光谱测定该化合物的功能团并与标准谱对照。

二. 槐花米中已知主要成分的理化性质：

槐花米中芦丁的含量可高达20%,另含少量的皂苷,皂苷水解后,可得到桦皮醇(Betulin C30H50O2)及槐二醇(Sophoradiol, C30H50O2)。

1. 芦丁（芸香苷Rutin）

本 品为淡黄色细小针状结晶，C27H36O16。3H2O, MP为177～178°C，无水物MP190°C （不完全），214～215°C发泡分解。芦丁溶于热 水（1： 200），难溶于冷水（1： 8000）；溶于热乙醇（1： 7），冷乙醇（1： 100）；热乙醇（1： 30）。冷乙醇 （1： 300），难溶于乙酸乙酯，丙酮，不溶于苯，氯仿，乙醚，及石油醚等溶剂。易溶于碱液中呈黄色，酸化后又析出。

2. ?皮素（Quercettin）

即云香苷苷元，为黄色结晶，C13H10O7, MP313～314C，无水溶点316C。？皮素溶于热乙醇（1： 23），冷乙醇（1： 300）。可溶于冰醋酸，吡啶，乙酸乙酯，丙酮等溶剂。不溶于石油醚，苯，乙醚，氯仿和水中。

3. 皂苷

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

三. 自槐花米中提取芦丁：

1. 提取方法：

方法1 :取槐花米40克（完整），置于100毫升烧杯中，用冷水快速清洗去泥沙等杂质沥干水，加0.4%硼砂水沸熔液400毫升， 直火加热微沸,即时侧PH值， 当PH数值改变成微酸性时， 以石灰乳调至PH8,继续加热微沸30分钟， 随时补充水份,同时保持PH8,静置约5~10分钟， 倾出上清液， 用尼龙布过滤， 重复提取一次， 合并滤液， 将滤液用盐酸调至PH3左右， 再加泥泊金， 放置过

夜， 抽滤用水洗3~4次， 空气自然干燥得粗芦丁.

方法2：取槐花米20克， 置于500毫升圆底烧瓶中,加乙醇150毫升， 加热回流1小时， 稍冷后抽滤， 滤渣再加乙醇100毫升回流1 小时，合并乙醇提取液， 放冷， 析出絮状沉淀.过滤， 滤液浓缩至50毫升， 放置过夜， 析出结晶， 滤去母液继续浓缩一半， 放置又析出结晶.

合并结晶,用乙醚30~50毫升分次洗去脂溶性成分（油脂， 叶绿素等）， 再用丙酮10毫升洗涤一次， 得粗芦丁.

2. 重结晶方法

方法一：取粗芦丁 2克，加乙醇50～60毫升加热溶解，呈热抽滤，将滤液浓缩至20～30毫升，放置，析出结晶，母液再浓缩一半，又析出结晶。合并结晶再用乙醇重结晶一次。

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

思考题：提取芦丁工艺中影响产量和质量的因素是什么？为什么药加硼砂水溶液？

记录：粗芦丁得率多少？精制芦丁得率多少？溶点？

3. 芦丁的水解

取芦丁 1克，加2%H2SO4 80毫升，小火加热微沸回流30分钟至1小时。开始加热10分钟为澄清溶液，逐渐析出黄色小针 状结晶，即？皮素，抽滤取结晶（保留滤液20毫升，以检查其中所含单糖），加50%乙醇（按1克90毫升量）加热回流使？ 皮素粗晶溶解，趁热抽滤，放置结晶，抽滤得精制品，在减压下110C干燥可得？皮素无水物。测熔点，进行纸层析法鉴定。

思考题：芦丁水解不完全时将产生什么结果？

记录：芦丁的水解产物是什么？主要产物得率？溶点？

四. 芦丁，？皮素，糖及？皮素衍生物的鉴定：

1. 纸层析：

新华一号层析滤纸

样品：自制芦丁，？皮素

对照品：芦丁，？皮素

展开剂：（1）正丁醇一醋酸一水（4： 1： 5上层或4： 1： 1）

（2） 25%醋酸水溶液

（3） 85%醋酸水溶液

显色：（1）可见光下观察，再在紫外灯下观察

（2）经氨气熏后再观察

（3）喷三氯化铝试剂后再观察

2. 芦丁和？皮素的聚酰胺薄层鉴定：

样品：同纸层析

展开剂：乙醇一水（7： 3）

显色：同纸层析

3. 糖的检出——纸层析法

取上述滤出？皮素时保留的水解滤液200毫升，加Ba（OH）2细粉（约2.心克）中和至PH7，滤除生成的BaSO4沉淀（可用滑石粉助滤），滤液浓缩至1毫升,供纸层析法点样用.

展开剂：正丁醇一醋酸一水（4： 1： 5上层或4： 1： 1）

对照品：葡萄糖，鼠李糖水溶液

显色剂：苯氨邻苯二甲酸试剂喷后，105℃烘10分钟，显棕色或棕红色斑点。

4. 红外光谱测定：

5. ?皮素五甲醚的制备：

取？皮素结晶400Mg置于150毫升三颈瓶中，加50毫升无水丙酮，装上电动搅拌器，冷凝管及温度计，加热回流搅拌，每间 隔一适当时间加入无水碳酸钾0.2克和硫酸二甲醇0.2毫升，大约1.5小时后加完4克无水碳酸二甲酮，继续加热回流搅拌直至溶 液黄色完全消退为止，约需4~5小时，停止加热，取下烧杯，反应液经过滤，沉淀用热丙酮洗涤数次,合并系，滤液，蒸馏回收部分丙酮， 留存10~15毫升，放置，渐渐析出无色结晶，表示过？的硫酸二甲酯存在，应加5%NaOH数滴，振摇使硫酸二甲酯水解,此时又可析出一小部分结晶（检查所析出结晶对1%FeCL3的反应，甲基化完全者呈负反应），合并，以乙醇重结晶，得？皮素五甲醚（MP152~153

C）.甲基化不完全者时对三氯化铁出呈正反应主要产品为3,7,3”,4”甲醚,MP161~161.5C.

6. ?皮素的降解

取？皮素50Mg，置于50毫升的圆底烧瓶中，加水50毫升，乙醇6毫升，KOH?，置水浴上加热回流10小时，蒸去乙醇，加水50毫升溶解，用稀盐酸酸化至PH2～3,用乙醚萃取3次，合并乙醚液，回收乙醚，蒸滞小体积供薄层层析点样用。

7. ？皮素降解产物的薄层层析：

硅胶一CMC—Na薄层

对照品：原儿茶酸（Protocatechuic acid），间苯三酚 9Phlorog山oinol）。

展开剂：氯仿一丙酮一醋酸（8： 2： 0.5）

显色剂：三氯化铁试剂

思考题：

（1）芦丁和？皮素用不同展开剂系统展开层将出现什么结果？为什么？

（2）芦丁和？皮素聚酰胺薄层将出现什么结果？为什么？

（3）试比较？皮素红外光谱图和五酰基？皮素红外光谱图的差异。

记录：

（1）芦丁和？皮素的纸层析，聚酰胺薄层层析结果。

（2）糖的检出纸层析结果。

8. 紫外吸收光谱测定？皮素

（一）原理

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

。

（二）试剂配制

1. 无水乙醇：用分析纯的甲醇加入10%CaO,放置24小时后并加热回流1小时，回流时冷凝管顶端应安装CaCL2干燥管，

然后蒸馏得无水甲醇。

2. 甲醇钠溶液：取0.25克金属钠，剪碎，小心的加入无水甲醇50毫升中，放置24小时后全溶.

3. 氢氧化钠溶液：取2.5克无水三氯化铝，加10毫升水溶解.

4. 三氯化铝溶液：2.5克无水三氯化铝(呈黄绿色)小心的加入无水甲醇50毫升中，放置24小时后全溶.

5. 醋酸钠：用水粉状醋酸钠。

6. 硼酸饱和液：将无水硼酸加入适量无水甲醇，制成饱和溶液。

依照上述方法制备的贮备液可放置6个月。

(三) . 测定方法：

1. 酮烃基位置的测定：

精密称取黄酮样品(？皮素)约1.2mg,用无水甲醇溶解，在稀释至100毫升。

(1) 黄酮光谱：取样品溶液约3毫升置于石英杯(1CM)中，在200～300nm波段内进行扫描。重测一次，视光谱的再现性。

(2) 氢氧化钠光谱：取样品溶液约3毫升置于石英杯中，加入氢氧化钠溶液2～3滴立即测定。放置5分钟后，在进行测定。

(3) 甲醇钠光谱：取样品溶液约3毫升置于石英杯中，加入甲醇钠溶液5～7滴后，立即测定。放置5分钟后，再进行测定。

(4) 三氯化铝光谱：在盛有约3毫升样品溶液的石英杯中，加入三氯化铝溶液6滴，放置1分钟后进行测定。测定后，加入

3滴盐酸溶液(浓盐酸：水=1： 1)，再进行测定。

(5) 醋酸钠光谱：取样品溶液约3毫升置于石英杯中，加入过量的无水醋酸钠固体，摇匀；杯底剩有2mm的醋酸钠后，二分

内进行测定。

(三)测定结果：

?皮素加位移试剂结界表()

加入试剂编号II峰I峰位移值羟基

无水甲醇1 256 371

NaOH 2 430 I 峰ˆ59 4‘一OH

NaOH 5 2‘ 分解分解 3，4‘一OH

MeONa 3 416 I 峰M5 3—OH

MeONa5 3‘ 分解分解 3，4‘一OH

ALCL 4 270 450 I 峰夕9 3，5 及 3‘，4‘一OH

ALCL，/HCL 4‘ 265 425 I 峰ˆ54 3，4‘ —OH

NaAc 5 277 387 II 峰A21 7—OH

NaOAc / H3BO3 6 259 385 I 峰ˆ14 3，4‘一OH

克分子吸收系数的测定：根据已测定的黄酮光谱，测量吸收峰的波长和吸收峰前后20nm的波长范围。然后取样 品溶液约3毫升，置于1cm的石英杯中，用紫外光谱仪，仔细测量在上述波长范围内的各波长的吸收值，反复测定3次。

记录：

(1) 位移测定结果

(2) 测定克分子吸收系数皂吸收峰前后20nm波长范围内，依次测定波长和吸收值，用方格纸作图，精确的测出吸收峰的波长和吸收值，记录测定结果。

实验三薄层层析应用

定形点滴反应

鉴别天然产物中的化学成分，类别，纯度和异同.

薄层板上原位化学反应

一 •定性点滴反应

1. 样品

(1) .氨基酸混合液

(2) .薄荷油

(3).芦丁甲醇溶液

(4) 甘草次酸乙醇液

(5) 原儿茶酸乙醇液

(6) 小檗碱乙醇液

2. 检出试剂

(1) .三氯化铁1%乙醇溶液

(2) .三氯化铝1%乙醇溶液

(3) .茚三酮0.2%乙醇溶液

(4).碘化铋钾(见附录I)

(5).*香草醛-硫酸0.5%硫酸-乙醇(4:1)溶液

(6)??酸5%乙醇溶液.

3. 实验方法.

取硅胶CMC-Na薄层板1~2块,用软铅笔按下图划线，构成方格，将各样品先滴加于相应的格子中，再将各试剂分别自空白其5逐点点加试剂，观察并记录反应变化.具腐蚀性试剂也可用空白磁板.

(1) (2)(3)(4)(5)(6)(7)

空白

(1)

(2)

(3)

(4)

*香草醛-硫酸为1克香草醛(Vanillin)溶于100毫升浓硫酸，或0.5克香草醛溶于100毫升硫酸-乙醇(4:1)中，喷洒后用电吹风加热至120℃,观察颜色变化.

二.鉴别中草药中的化学成分

1.单向展层

例一.(1)硅胶CMC-Na薄层(载玻片板)

(2)样品薄荷油，薄荷脑的0.1%乙醇溶液

(3) 展开剂①石油醚

② 乙酸乙酯

③ 石油醚一乙酸乙酯(85： 15)

(4) 显色剂 香草醛一硫酸(压板法)

点样展层后，稍干，后扣在一块同样大小并涂布一层(不可多加，多了会使斑点扩散)显色剂的玻璃板上，压紧稍后一下，取除玻璃片，使薄层面向上，观察层面向上，观察颜色变化。由结果判断何种展开剂最适合分离薄荷油？

例二. (1)硅胶CMC—Na薄层(载玻片板)

(2) 样品四季青提取物

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/876133042134010111