

本章目录

第1节 概 述

第2节 生物碱的化学结构及分类

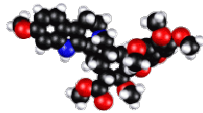
第3节 生物碱的理化性质

 第4节 生物碱的提取与分离

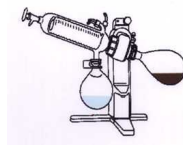
第5节 生物碱的结构鉴定



1



如何获得生物碱



2

第4节 生物碱的提取与分离

Extraction & Isolation



3

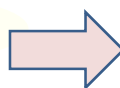
综合考虑



存在状态

碱性差异

个体特性




选择合适的提取分离方法！

首先要考虑生物碱的**存在形式**及**特性**：

- ▶ 大多数与酸成**盐**的形式存在
- ▶ 个别由于碱性较弱而呈**游离状态**存在
- ▶ 少数与糖成**苷**的形式存在

4



一、总生物碱的提取

Extraction of total alkaloids



5



溶剂法 (solvent methods)

- ▶ 水/酸水-有机溶剂提取法
 - ▶ 醇-酸水-有机溶剂提取法
- ▶ 碱化-有机溶剂提取法
 - ▶ 水溶性季铵类生物碱的提取
- ▶ 其它溶剂提取方法 —— 特例*





利用：

- 生物碱盐 --- 易溶于水，难溶有机溶剂
- 游离分子 --- 难溶于水，易溶有机溶剂

◆ 提取效率与以下有关：

- 原药粉碎度
- 提取温度
- 提取装置
- 提取时间
-



7



▶ 溶剂法缺点：

- 提取液体积较大
- 某些水溶性杂质一并提取出来
- 浓缩麻烦
- 或有其它成分干扰
- 有可能霉变
-



8



一般操作要求

溶 剂：7~10 倍量的水或酸水。


碱化试剂：氨水、氢氧化钙、碳酸钠/钙等。

有机溶剂：苯、氯仿、四氯化碳、二氯甲烷等。

采用方法：多采用冷浸或渗漉技术。

注 意：杀酶，脱脂。



见下页详细说明 

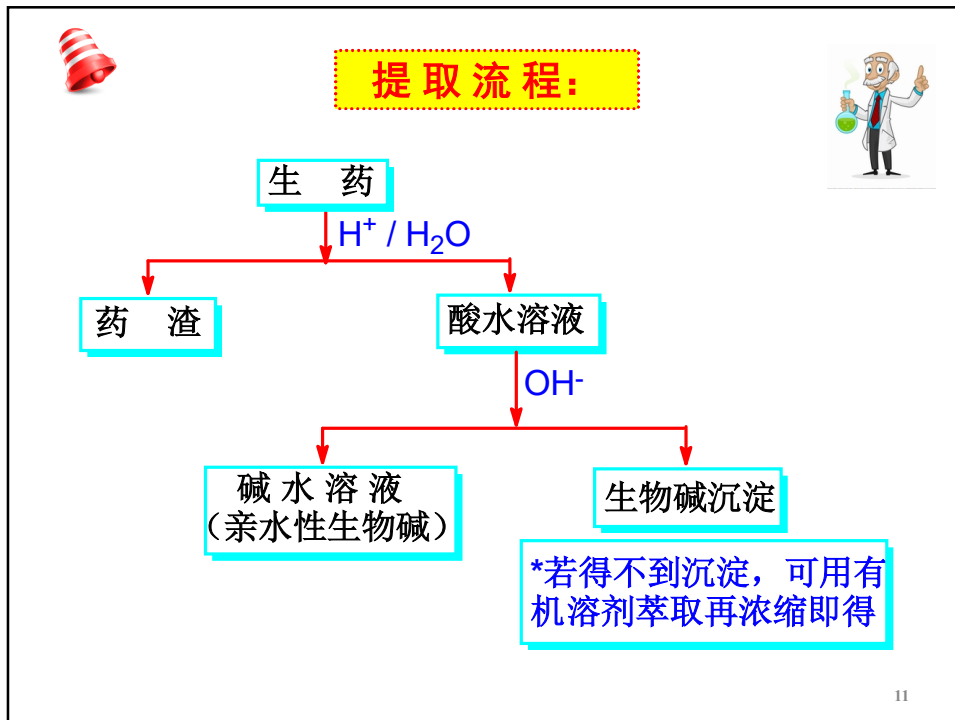
9



(一) 水/酸水-有机溶剂提取法



10



作业:

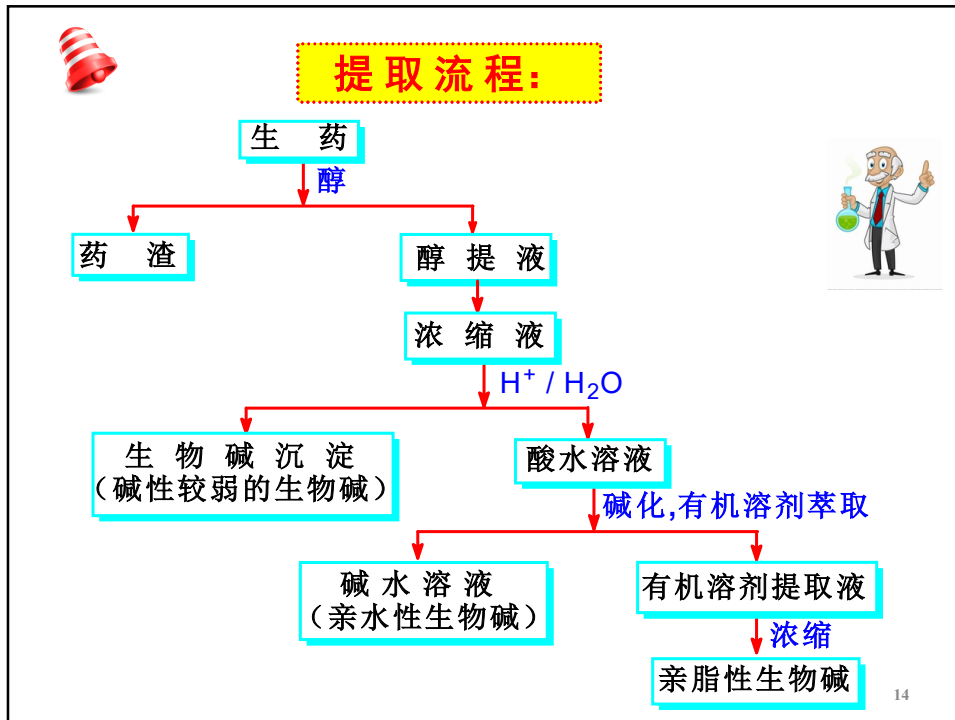
写出酸水-有机溶剂法提取生物碱的流程图。



12

(二) 醇-酸水-有机溶剂提取法





13





作 业：

写出醇-酸水-有机溶剂法提取生物碱流程图。



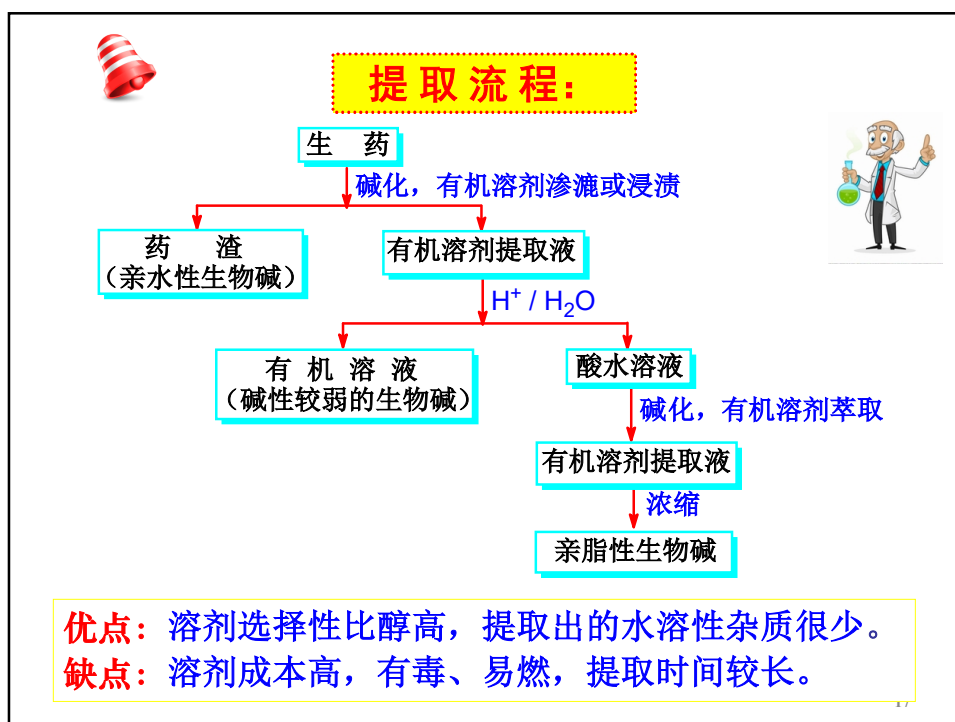
15



(三) 碱水-有机溶剂提取法



16



作业：

写出碱水-有机溶剂法提取生物碱的流程图。

18



(四) 水溶性季铵类生物碱的提取



19



主要适用于提取水溶性季铵类生物碱类。

★ 有机溶剂很难将季铵类生物碱提取出来。

▶ 常采用 **雷氏铵盐沉淀法**提取：

雷氏铵盐 (Reinecke salt) :



👉 提取的化学原理见下页详细介绍。



👉 也可以用离子交换树脂法提取。

20


雷氏铵盐提取季铵生物碱的化学原理

季铵生物碱

$\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]$

$\text{BH}^+\cdot\text{OH}^-$


$\text{NH}_4^+\cdot\text{A}^-$



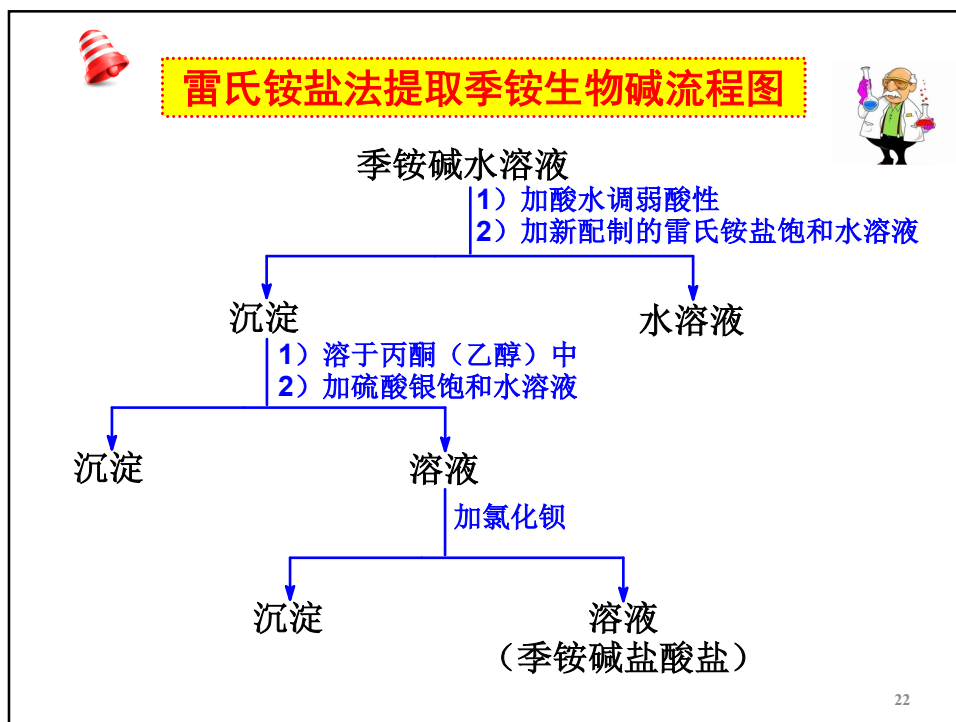
(1). $\text{BH}^+ + \text{NH}_4^+\text{A}^- \xrightarrow{\text{弱酸性}} \text{BH}^+\text{A}^- + \text{NH}_4^+$

(2). $\text{BH}^+\text{A}^- + \text{Ag}_2\text{SO}_4 \xrightarrow{\text{丙酮或乙醇溶液}} (\text{BH}^+)_2\text{SO}_4^{2-} + \text{AgA} \downarrow$

(3). $(\text{BH}^+)_2\text{SO}_4^{2-} + \text{BaCl}_2 \xrightarrow{\text{醇/水溶液}} \text{BaSO}_4 \downarrow + \text{BH}^+\text{Cl}^-$


★ 最后得到季铵生物碱的盐酸盐。 

21





水溶性生物碱的提取法还有：

 **溶剂法：**

用正丁醇或正戊醇提取。

 **大孔吸附树脂法：**

主要是富集生物碱的目的。

◆ 实际工作要参考有关文献。



23




作 业：

写出雷氏铵盐法提取季铵生物碱的化学原理。



24



* (五) 其它特例提取方法



25



★ 根据个别生物碱的**特性**来进行的提取设计。

⇒ 易挥发的生物碱可用水蒸汽蒸馏法。

例：烟碱，麻黄碱。



⇒ 易升华的生物碱可用升华法。

例：咖啡因，可可碱。

⇒ 某些极性较大的生物碱，在水中溶解度较大，可用水提后再加盐析出法。

例：黄藤稀酸水提液调pH=9，加NaCl盐析，饱和后可将掌叶防己碱沉淀下来。


26

★ 根据个别生物碱的**特性**来进行的提取设计。

例：弱碱性利血平可用苯直接从萝芙木中提取。


例：亲水性生物碱（如：N-氧化物）可直接用正丁醇或正戊醇提取。

例：黄连水提液中加盐酸可使小檗碱沉淀（盐酸小檗碱难溶于水）。



27

提取得到的生物碱，往往是多种结构相似的混合物，少则几种、多则几十种，通常称为**总（生物）碱**。

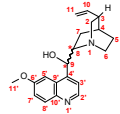


$$\begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{CH}_3 \\ | \quad | \\ \text{Ph}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{NHCH}_3 \end{array}$$

麻黄碱
(ephedrine)

$$\begin{array}{c} \text{Ph} \quad \text{CH}_3 \\ | \quad | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{NHCH}_3 \end{array}$$

伪麻黄碱
(pseudoephedrine)



金鸡宁 (cinchonine, R = H, 8R,9S)
金鸡宁丁 (cinchonidine, R = H, 8S,9R)
奎宁碱 (quinine, R = OCH₃, 8S,9R)
奎尼丁 (quinidine, R = OCH₃, 8R,9S)

28



如何得到生物碱单体

29



二、生物碱的分离
Isolation

30

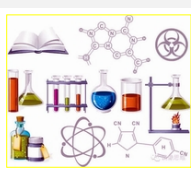

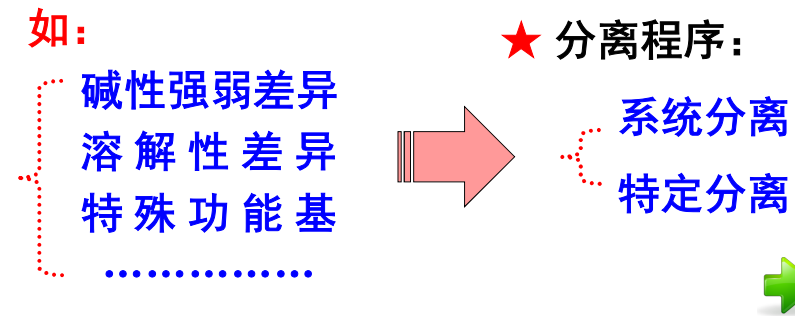
分离总碱，可利用个性不同，
将其逐步分离、精制。

如：

- 碱性强弱差异
- 溶解性差异
- 特殊功能基
-

★ 分离程序：

- 系统分离
- 特定分离



31

① 系统分离：

先将总碱分离成类别或部位，再进一步分离成单体生物碱的分离程序。

此常应用于基础性研究。

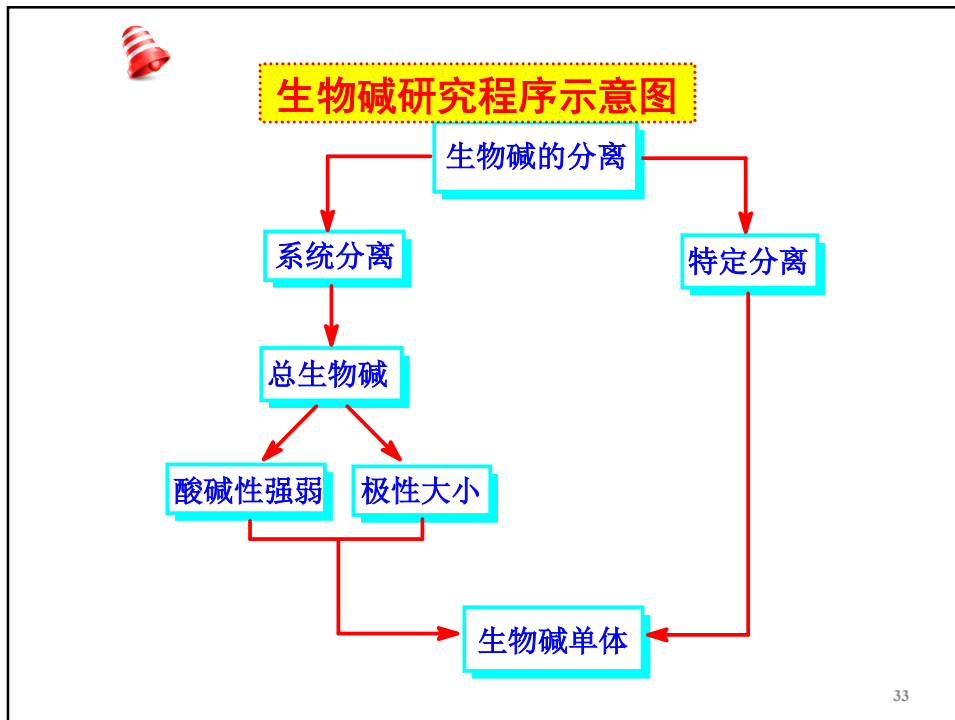
② 特定分离：

基于对待分离生物碱的结构、理化特性的充分理解，具体针对一种或几种生物碱的分离、获取。

此主要应用于开发、生产。



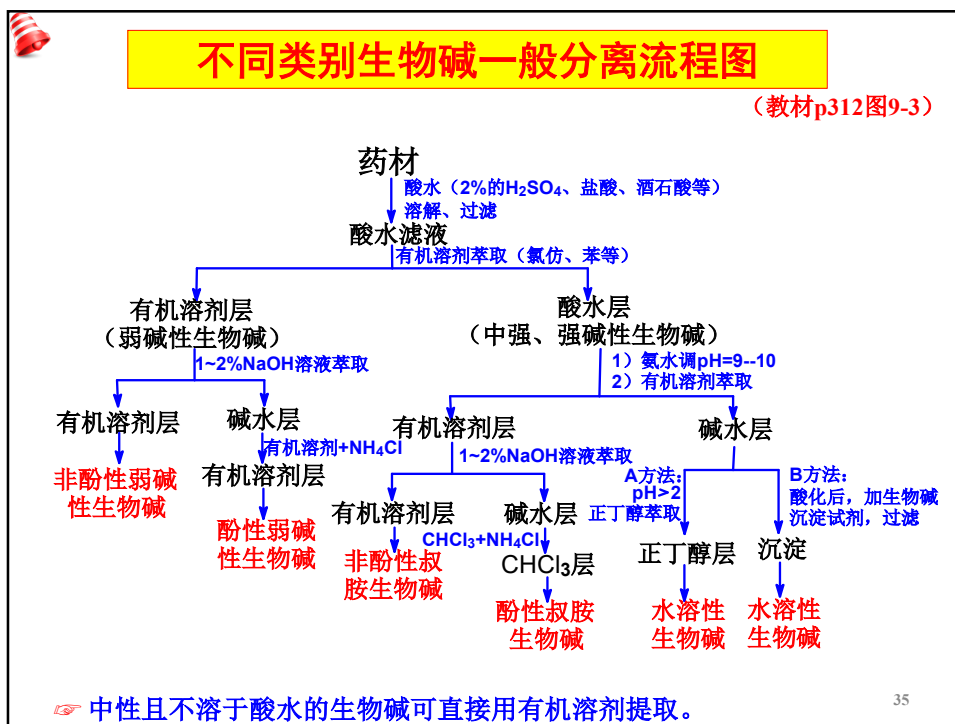
31



(一) 不同类别生物碱的分离

根据碱性差异表现出
在不同溶剂中的溶解
度不同将其大致分离

34




35

(二) 利用生物碱的碱性差异进行分离

根据碱性差异不同，采用pH梯度萃取法分离



36




1. pH 逐渐增大（梯度）法



酸水提液中，逐渐由低到高调节pH值（即：逐渐增大提取液的碱性）。

☞ 每调节一次溶液的 pH 值，加入氯仿或其它有机溶剂萃取。

★ 碱性较弱的生物碱先游离出来，转溶于有机溶剂中。





37




作业：

写出 pH增大梯度法分离生物碱的流程图。



38




2. pH 逐渐减少（梯度）法



将总碱溶于氯仿或其它有机溶剂中，再由高至低逐渐调其pH值，由酸性水缓冲液顺次萃取。

各部分水萃取液碱化后，再加氯仿或其它有机溶剂萃取。

★ 碱性较强的生物碱先成盐，先转溶于水中被萃取出来。





39



作业：

写出 pH减小梯度法 分离生物碱的流程图。



40

3. 缓冲溶液梯度法色谱分离

不同碱性的生物碱在不同缓冲条件下的状态不同，在平面色谱（纸色谱、薄层色谱）上展开的比移值不同。

主要目的：找到 pH 梯度萃取法找到适宜的缓冲条件。

见下页示意图

41

梯度色谱展开示意图-1

★ 不同pH缓冲溶液做为固定相

- 碱性弱的生物碱比移值大
- 碱性强的生物碱比移值小

混合物中含：A+B
(初始样品中生物碱呈分子状态)

缓冲溶液带

pH5	pH6.5	pH7.5	pH8.5
●	●	●	●
●	●	●	●
●	●	●	●
●	●	●	●

混合物

展开剂：水饱和的亲脂有机溶剂

42



上页图操作示例：

取一条15cm×5cm的色谱滤纸，用铅笔距底端2cm划起始线，再垂直于起始线画三条等距纵线，即将滤纸分为四等分窄条。

用棉球沾取不同pH的缓冲水溶液（pH依次为5、6.5、7.5、8.5的柠檬酸-碳酸氢二钠缓冲液）按顺序涂布于滤纸的各条带上，涂布操作要求均匀、快速，且尽量避免缓冲液向邻近区间扩散。涂毕后将湿滤纸条夹在两张干滤纸之间吸去多余的水分。

用毛细管吸取总生物碱溶液分别点于色谱滤纸各条缓冲带的起始线处。

以水饱和的氯仿为展开剂，展开。

展开高度约10cm后取出，以碘化铋钾试剂喷雾显色。

记录不同pH缓冲带下样品的比移值，根据此值选择样品中生物碱分离的适宜pH缓冲条件。

43

梯度色谱展开示意图-2

☞ 碱性弱的生物碱比移值大

★ 不同pH缓冲溶液做为固定相

☞ 碱性强的生物碱比移值小

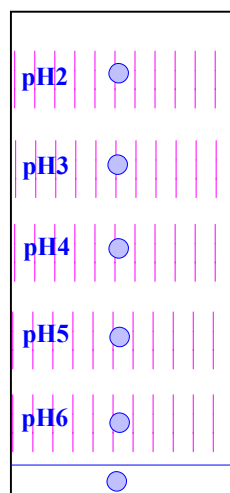
混合物中含：A+B+C+D+E
(初始样品中生物碱呈分子状态)



缓冲溶液带

混合物

展开剂：水饱和的亲脂有机溶剂



(参考教材p313图9-4)⁴⁴






作业：

简述pH梯度色谱法分离生物碱的原理。



45




4. 逆流连续萃取法
(CCD, counter current distribution)

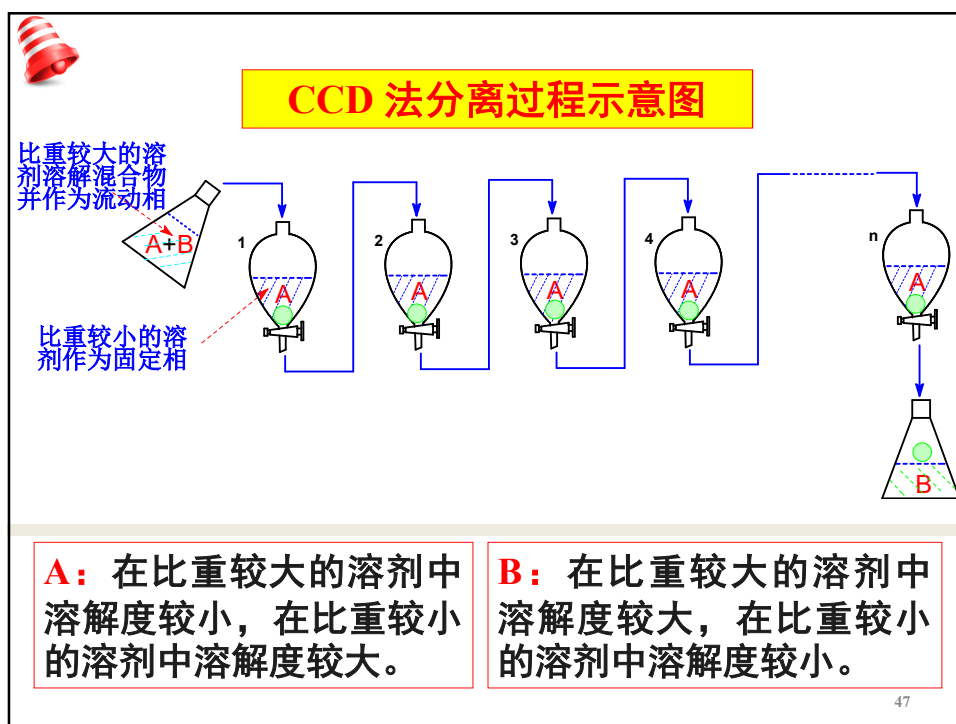
为一种连续的两相溶剂萃取法，即具有数个萃取的装置。

此法条件温和，样品易回收，效率较高，溶质较小时也适用。

☞ 为常用的萃取分离技术。

☞ 见下页图 

46



例：洋金花中东莨菪碱（scopolamine）和莨菪碱（hyoscyamine）的分离。

东莨菪碱: $K_b = 3.5 \times 10^{-7}$

莨菪碱: $K_b = 4.5 \times 10^{-5}$

☞ 选择合适pH值下萃取。在此pH条件下，碱性较小的东莨菪碱以分子状态溶解在有机溶剂中，而碱性较大的莨菪碱以离子状态溶解在水中，从而达到分离的目的。

☞ 见下页图

48

CCD 法分离 莨菪碱/东莨菪碱 过程示意图

氯仿溶解混合物
并作为流动相

A: 莨菪碱
B: 东莨菪碱

缓冲盐水溶液
作为固定相

*柠檬酸-碳酸氢钠缓冲盐调水溶液 pH = 6.5

莨菪碱（离子状态）： 在比重较小的水中溶解。	东莨菪碱（分子状态）： 在 比重较大的氯仿中溶解。
----------------------------------	-------------------------------------

49

作业：

简述CCD法分离生物碱的原理。

50

(三) 利用生物碱及盐溶解度的差异进行分离

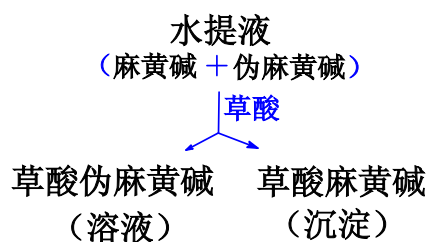


51

利用某些特例生物碱或其盐在不同溶剂中溶解度的不同，从而进行的分离。

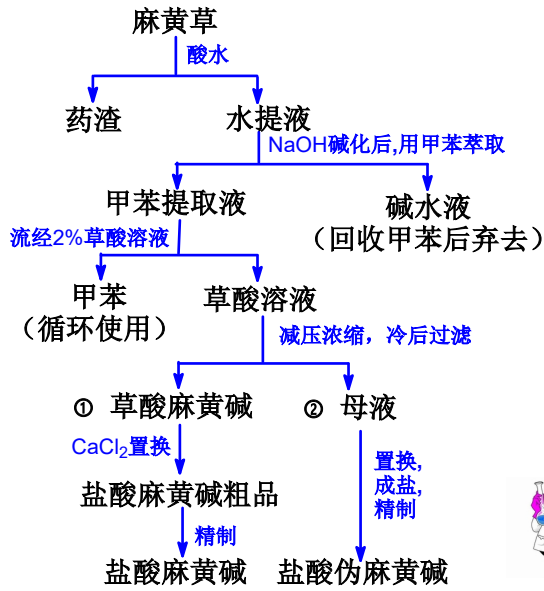
👉 目前规律性还不太清楚。

例：



52

例：麻黄碱与伪麻黄碱的提取分离流程。



(教材 p313图9-5)

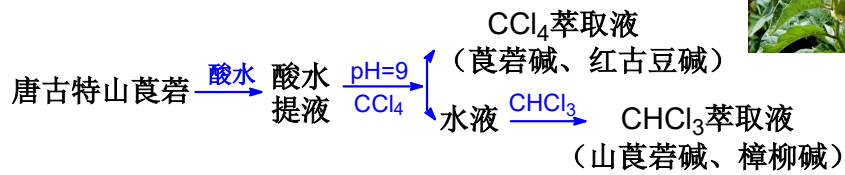


53

例：从中药苦参的根中提取氧化苦参碱。

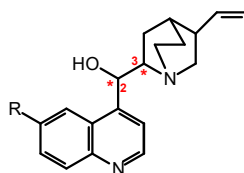


例：从植物唐古特山莨菪中提取生物碱。



54

例：从金鸡纳 (*Chinchoha succirabra*) 树皮中分离生物碱的流程图。



金鸡宁 (cinchonine, R = H, 3R 2S)

金鸡宁丁 (cinchonidine, R = H, 3S 2R)

奎宁碱 (quinine, R = OCH₃, 3S 2R)

奎尼丁 (quinidine, R = OCH₃, 3R 2S)

★ 根据其生物碱不同酸盐在水中溶解度不同。

☞ 见下页。

55

金鸡纳生物碱盐类在水中溶解度

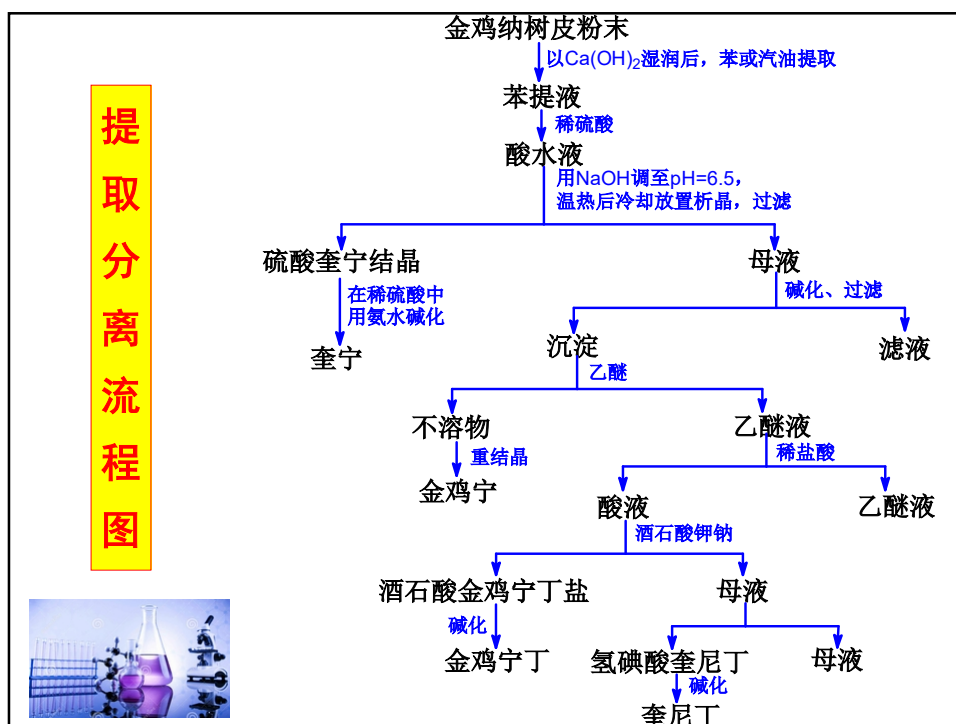
	奎宁 (quinine)	奎宁丁 (quinidine)	金鸡宁 (cinchonine)	金鸡宁丁 (cinchonidine)
硫酸盐	1:810	1:90	1:65	1:70
酒石酸盐	/	1:40	/	1:1265
氢碘酸盐	1:200	1:1250	/	/

★ 硫酸奎宁、酒石酸金鸡宁丁、氢碘酸奎尼丁在水中溶解度很小。

★ 金鸡宁在乙醚中不溶。

☞ 见下页流程图

56



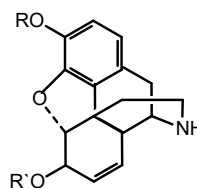
(四) 利用分子中特殊功能基的性质进行分离



(1) 含酚羟基、羧基的生物碱也可溶于稀碱液中

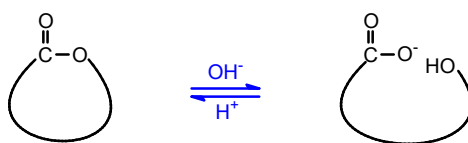
例：鸦片中的酚性生物碱吗啡与非酚性生物碱可待因、蒂巴因等的分离。

morphine 吗啡 $R=R'=H$
 codeine 可待因 $R=CH_3$ $R'=H$
 thebaine 蒂巴因 $R=R'=CH_3$

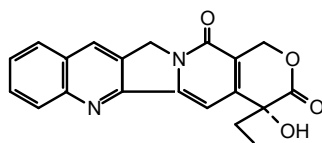


59

(2) 含内酯的生物碱可在稀碱液中开环溶解，加酸后再环合析出。



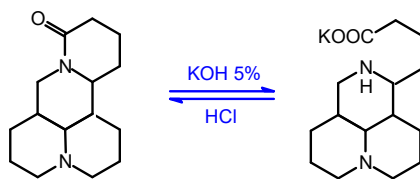
例：喜树碱 (camptothecin) 与其它非内酯生物碱的分离。



60

(3) 含内酰胺的生物碱可在稀碱液中开环溶解，加酸后再环合析出。

例：苦参碱含有酰胺键，在氢氧化钾/乙醇溶液中生成苦参碱酸钾。



👉 增大了水溶性，从而与其它生物碱分离。

61

(五) 色谱分离技术



62

色谱法分离广泛应用于生物碱的分离，能使一些含量很低、组份复杂的生物碱分离得到单体。



常用柱色谱分离如：

离子交换色谱

硅胶柱色谱

氧化铝柱色谱

.....



63

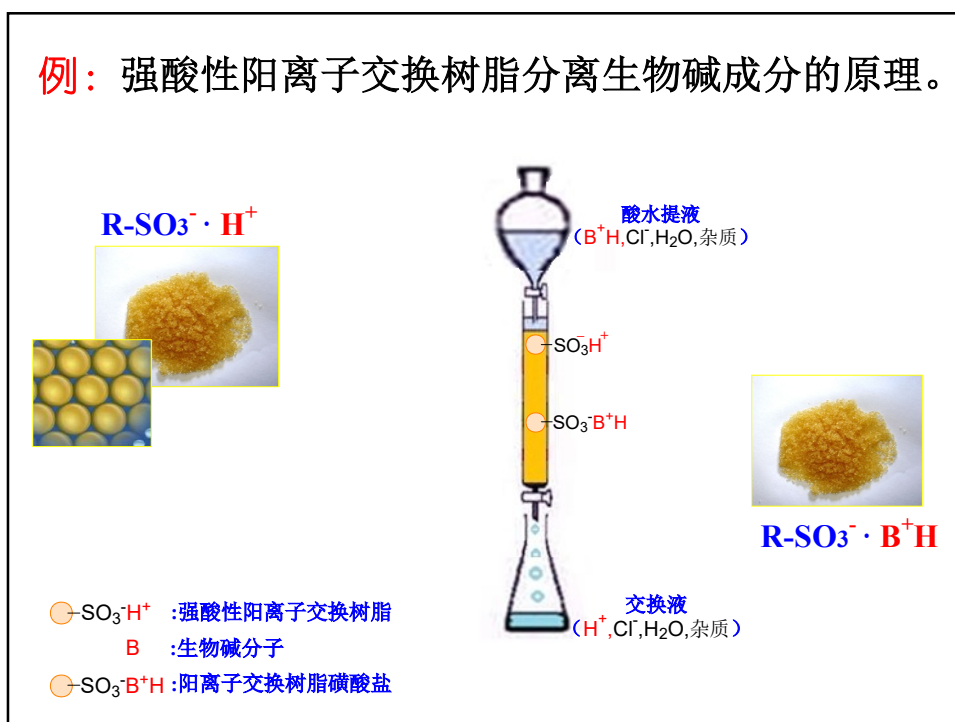


1、离子交换色谱法 Ion exchange chromatography

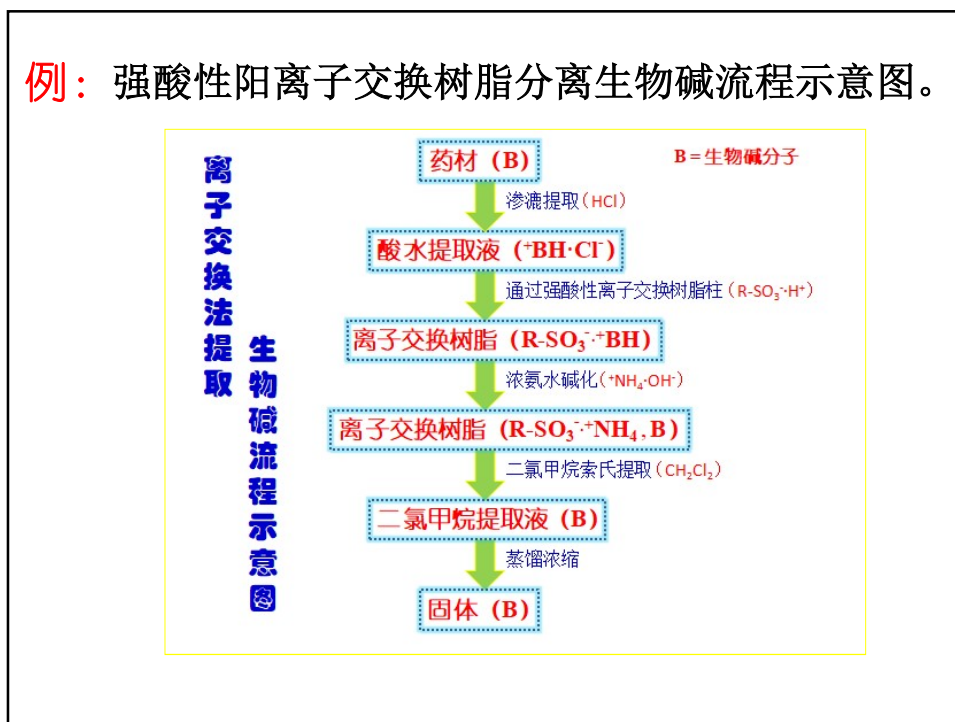


64

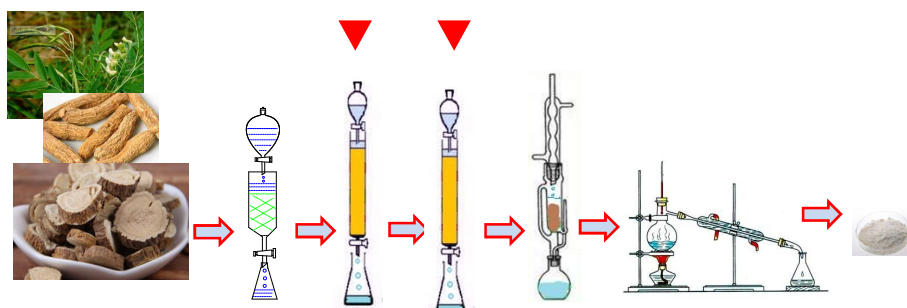
例：强酸性阳离子交换树脂分离生物碱成分的原理。



例：强酸性阳离子交换树脂分离生物碱流程示意图。



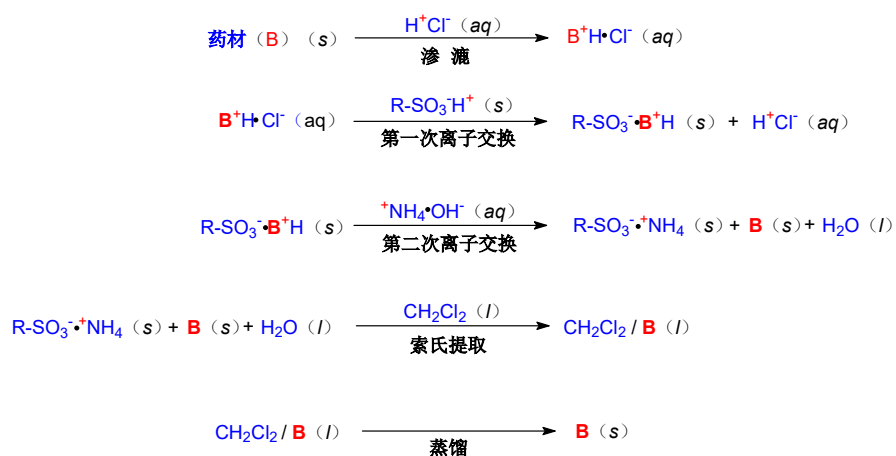
例：离子交换法提取分离苦参总碱的流程图。



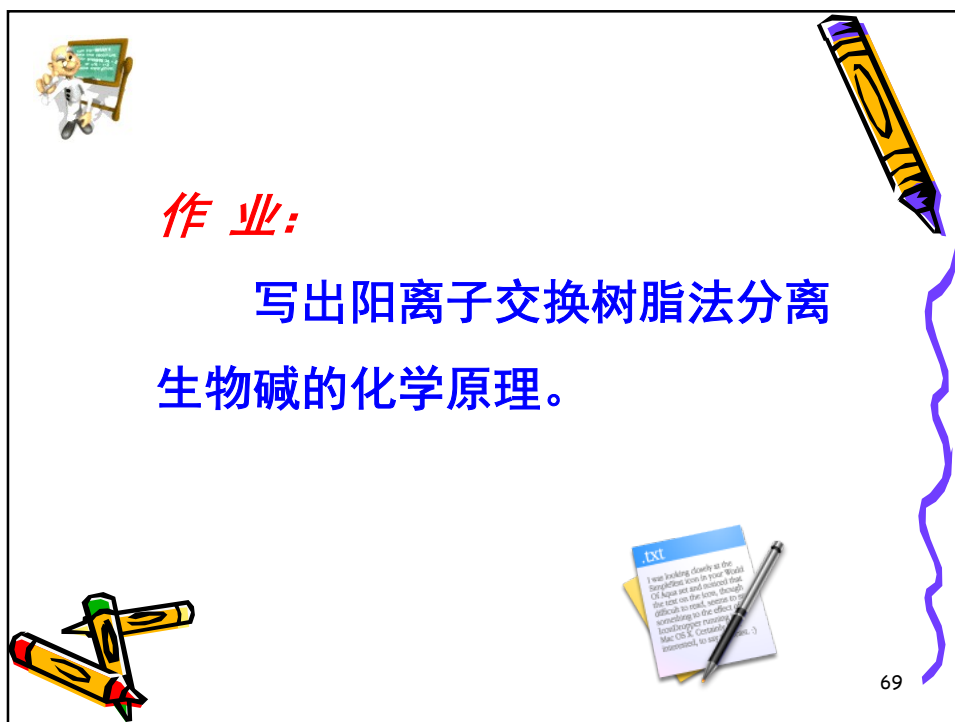
★ 教学实验



例：离子交换法提取分离苦参总碱的化学原理。



★ 教学实验



作业:

写出阳离子交换树脂法分离生物碱的化学原理。

69

自学例: 从洋金花中分离莨菪碱和东莨菪碱。

教材p314 图9-6

莨菪碱 $K_b=4.5 \times 10^{-5}$
东莨菪碱 $K_b=3.5 \times 10^{-7}$

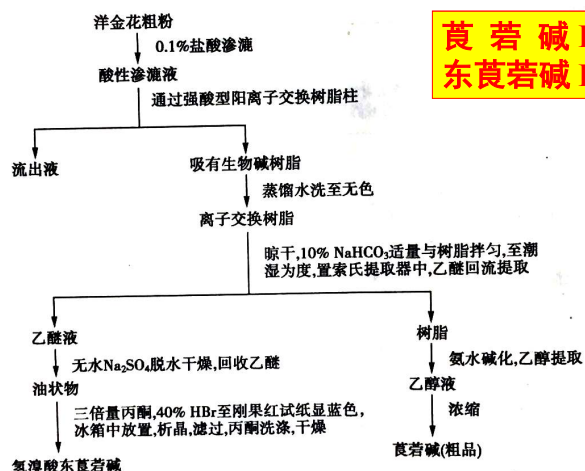

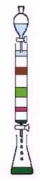



图 9-6 洋金花中莨菪碱和东莨菪碱的提取分离流程



2、吸附色谱法 chromatography




71



提示

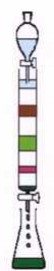
- (1) 吸附剂：柱色谱法常用中性或偏碱性氧化铝，有时也用硅胶。
- (2) 洗脱剂：常用氯仿、苯、乙醚等溶剂洗脱。
- (3) 化合物极性判断：（略）



72

例：从长春花中分到 60 多个生物碱。

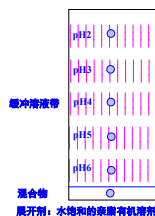
例：从萝芙木中分到 30 多个生物碱。



73



3、分配色谱法 chromatography



74

梯度色谱展开示意图

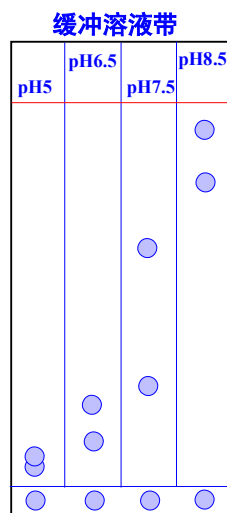
载体支持：色谱纸、硅胶

★ 不同pH缓冲溶液做为固定相

☞ 碱性弱的生物碱比移值大

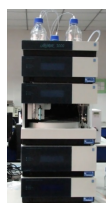
☞ 碱性强的生物碱比移值小

混合物中含：A+B
 (初始样品中生物碱呈分子状态) 展开剂：水饱和的亲脂有机溶剂



75

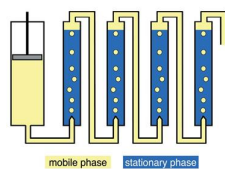
* (六) 其它方法/技术进行的生物碱的分离



76

如:

- ▶制备离子液相色谱
(Prepare ion HPLC)
- ▶制备液相色谱 / 制备薄层色谱
(Prepare HPLC / Prepare TLC)
- ▶液滴逆流色谱 (DCCC)
(Droplet Counter Current Chromatography)



77

总结

在实际工作中，往往是几种分离提纯方法交叉反复使用。



☞ 一般首先试用分步结晶或成盐的方法，将能够分出的生物碱先分出，然后它的母液再用柱色谱或利用不同酸碱度方法进一步分离。



★ 要根据具体情况灵活应用各种技术和方法。



78

*三、提取/分离生物碱的实例

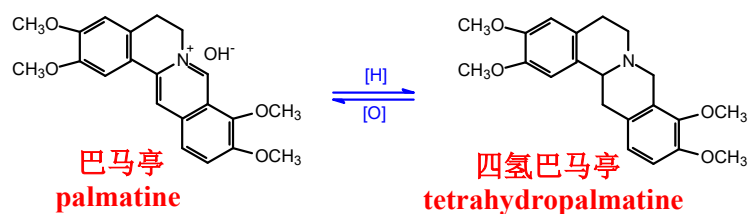
Examples



79

1. 延胡索乙素的提取分离

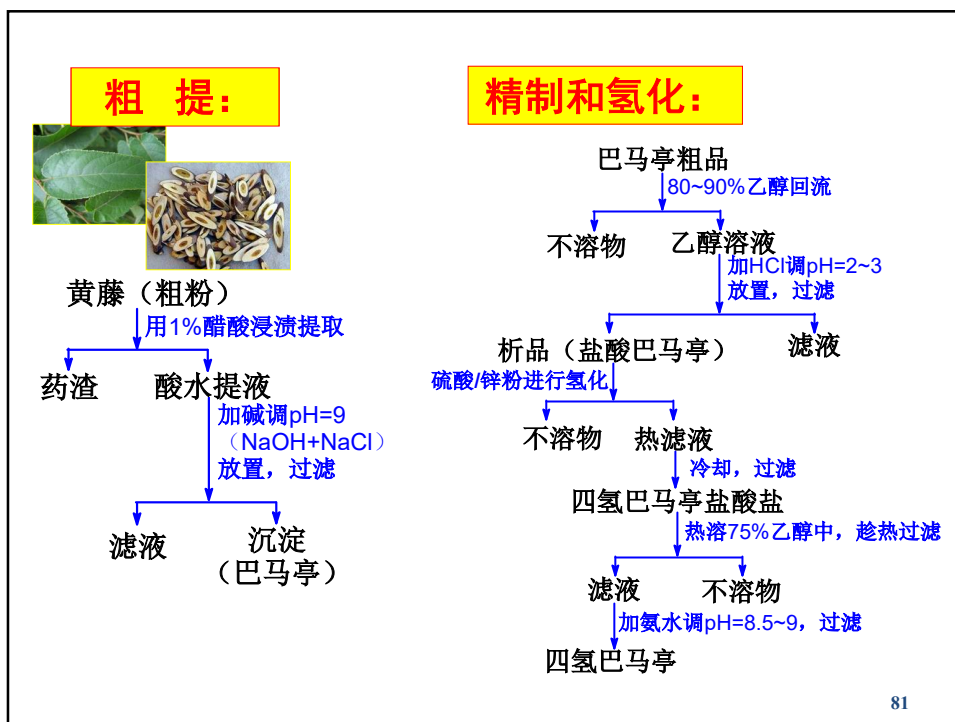
从延胡索中已分离出近 20 种生物碱，其中以延胡索乙素（dl-四氢巴马亭，*dl*-tetrahydropalmatine）的镇痛镇静作用较强、副作用小，已应用于临床。



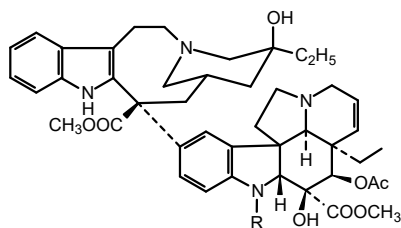
其中延胡索乙素含量很低，仅万分之几，目前多从防己科植物黄藤中先提取巴马亭（含量达3%左右）再经氢化得 dl-四氢巴马亭。

见下页。

80



2. 长春碱 (VLB) 和长春新碱 (VCR) 的提取分离



长春碱 $R = -CH_3$
(vinblastine, VLB)

长春新碱 $R = -CHO$
(vincristine, VCR)

☞ 长春碱、长春新碱具有良好的抗癌作用，临床应用其硫酸盐治疗何杰金氏病、急性淋巴细胞性白血病、淋巴肉瘤、绒毛膜上皮细胞癌等恶性肿瘤。

☞ 见下页。

长春碱、长春新碱在长春花中的含量很低，前者约十万分之一；后者仅约百万分之一。



👉 提取困难。

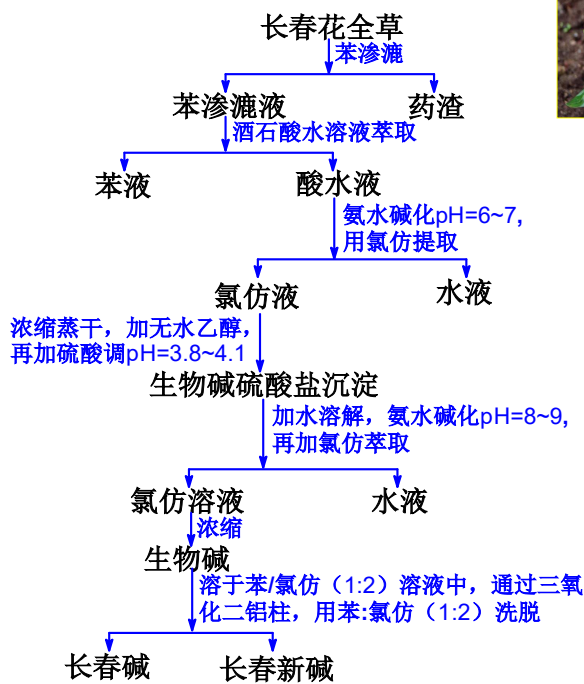
提取方法：

根据均为弱碱的特点，用苯作为溶剂渗漉药材；再用酒石酸萃取；再控制 pH 制备其硫酸盐粗结晶；然后转成游离碱；最后经氧化铝柱色谱用氯仿-苯混合溶剂洗脱而将二者分离。

👉 见下页。

83

提取分离流程图



本节完

本章目录

第1节 概 述

第2节 生物碱分类及生源关系

第3节 生物碱的理化性质

第4节 生物碱的提取与分离

 第5节 生物碱的结构测定



85