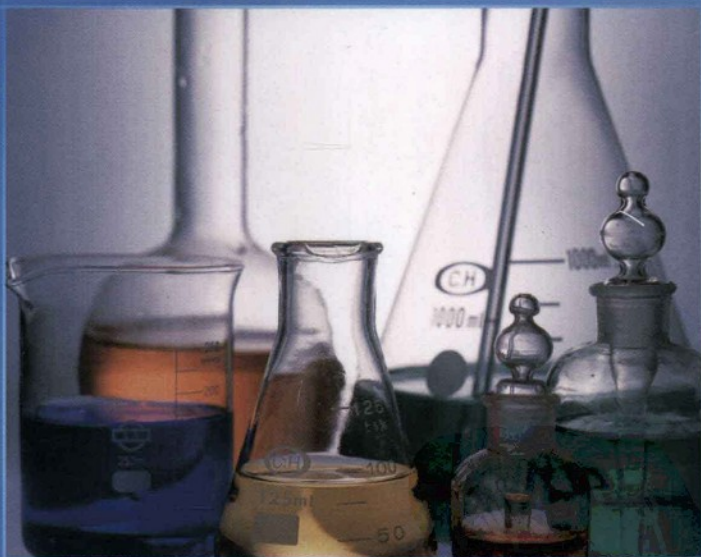




# 实验室有机化合物 制备与分离纯化技术

■ 编著 刘新泳 刘兆鹏



 人民卫生出版社

# 实验室有机化合物 制备与分离纯化技术

策划编辑 张春月  
责任编辑 欧阳丹 张春月  
封面设计  张亚楠  
版式设计 李秋斋

销售分类 **药学**

人民卫生出版社网站:

门户网: [www.pmph.com](http://www.pmph.com) 出版物查询、网上书店

卫人网: [www.ipmph.com](http://www.ipmph.com) 护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培

ISBN 978-7-117-13759-1



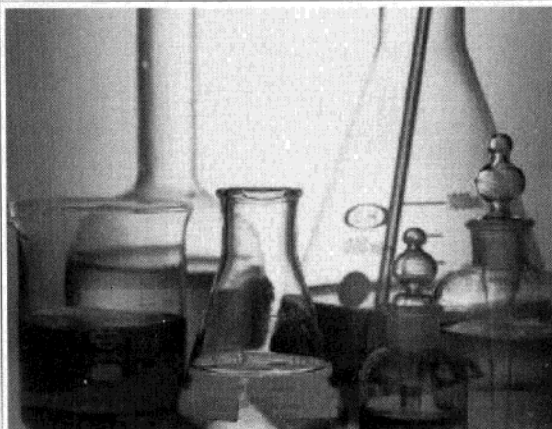
9 787117 137591 >

定价: 33.00 元



# 实验室有机化合物 制备与分离纯化技术

■编著 刘新泳 刘兆鹏



人民卫生出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

实验室有机化合物制备与分离纯化技术/刘新泳等  
编著. —北京: 人民卫生出版社, 2011. 1

ISBN 978 - 7 - 117 - 13759 - 1

I. ①实… II. ①刘… III. ①有机化合物 - 制备②有机化合物 - 分离③有机化合物 - 提纯 IV. ①0621

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 231178 号

门户网: <a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询、网上书店
卫人网: <a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

## 实验室有机化合物制备与分离纯化技术

编 著: 刘新泳 刘兆鹏

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010 - 59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

010 - 59787586 010 - 59787592

印 刷: 三河市富华印刷包装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 17

字 数: 413 千字

版 次: 2011 年 1 月第 1 版 2011 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 13759 - 1/R · 13760

定 价: 33.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)





# 前 言

有机合成是最富有创造力、最具有挑战性的研究领域,在有机化学、药物化学及相关学科中占有重要地位。近代合成化学在生命科学、材料科学领域的研究成果为人类创造了无数的奇迹。现代合成化学新思想、新策略、新方法和新技术的应用,极大地丰富了有机合成化学的理论;同时,有机化合物分离纯化技术的发展,也为获得有价值的目标化合物提供了支持。

目前有机合成实验方面的教科书大都偏重于合成反应的基本理论和原理、反应条件的选择以及构成有机化合物的合成路线的设计和推导技巧等,使人们对物质的构造及化学反应性的认识达到了相当高的水平;而对反应过程的实施和实验室具体操作技术的应用,国内教科书少见系统的论述。因此,为适应现代社会对综合型、素质型、研究型化学和药学人才的需求,我们在研究生教学中开设了实验技能训练课程——实验室有机化合物制备与分离纯化技术,旨在提高研究生从事合成研究的基本技能和基本操作能力,训练学生的动手实践能力,以满足进入实验室后对他们的科研要求。

本书是在我校药学院研究生十多年来所用课程讲义的基础上重新编写而成的,主要围绕化学反应在一定反应条件下的实施以及产物的分离与纯化过程,阐述化合物制备分离操作的技术原理与要点。本书在内容上分为上下两篇,上篇为“有机合成基本操作与经典分离纯化技术”,下篇为“有机化合物色谱制备技术”。上篇中简要介绍了有机合成实验基础知识,包括有关有机合成实验安全知识,有机溶剂、药品与试剂的使用与纯化方法,有机制备与分离常用仪器等;重点介绍了有机化合物合成技术与基本操作,包括一般的室温反应、加热回流反应、低温反应、惰性气体保护反应、气体反应(催化氢化与催化脱氢反应)以及现代有机反应(光化学合成、微波反应、电化学反应等)的方法与基本操作;另外,还重点介绍了有机化合物的经典分离与纯化技术,包括:结晶与重结晶、蒸馏与减压蒸馏、水蒸气蒸馏、分馏、萃取、升华等技术。下篇中介绍了现代有机化合物色谱制备技术,包括:薄层色谱分离技术(普通制备薄层色谱、制备型加压薄层色谱、制备型离心薄层色谱)、常压柱色谱分离制备技术[吸附柱色谱技术、分配柱色谱技术、离子交换柱色谱技术、凝胶柱色谱技术、亲和柱色谱技术和特殊(干柱)液相色谱技术等]、减压柱色谱分离制备技术(真空液相色谱、减压干柱快速柱色谱、减压半干柱快速柱色谱)、加压柱色谱分离制备技术(快速柱色谱、中低压液相色谱、制备型高压液相色谱);同时还介绍了一些特殊化合物的制备与分离技术,如手性化合物

拆分技术等。

本书内容参阅了国内外有机合成制备方法与分离纯化技术的参考书和相关有机合成实验教程等,所以本书仅仅是一本教学用书而非专著,书中参考和引用了一些著作和教材中的资料,在此对原作者表示衷心的感谢。另外本书的编写得到了山东大学研究生院和教务处的资助,作者谨此一并表示最真诚的感谢!

本书适合化学和药学相关专业本科生和研究生的学习以及从事化学合成和天然产物研究人员的阅读,也可供高等院校化学、药学等相关专业师生参考。希望本书的出版能为实验室有机合成及相关专业人员提供参考与帮助,这也是我们完成本书的初衷和动力。

由于作者水平有限,错误之处在所难免,恳请广大专家和读者给予批评指正。

刘新泳 刘兆鹏

2010年10月4日于山东大学药学院





# 目 录

## 上篇 有机合成基本操作与经典分离纯化技术

第一章 有机合成实验基础知识 .....	3
第一节 有机合成实验安全知识 .....	3
1 水、电、燃气的安全使用 .....	3
2 化学品的贮存 .....	3
3 防火 .....	4
4 防爆 .....	5
5 防中毒 .....	5
6 防灼伤 .....	6
7 防割伤 .....	6
附表 有机合成常用溶剂和试剂的名称、沸点*、溶解性、毒性及可燃性 .....	6
第二节 有机合成实验常用仪器 .....	17
1 玻璃仪器 .....	17
2 金属用具 .....	20
3 电学仪器及小型机电设备 .....	20
3.1 电吹风或电热枪 .....	20
3.2 电加热套(电热帽) .....	20
3.3 旋转蒸发仪 .....	20
3.4 调压变压器 .....	21
3.5 电动搅拌器 .....	21
3.6 磁力搅拌器 .....	21
3.7 气流干燥仪 .....	21
3.8 烘箱 .....	22
3.9 真空泵 .....	22
3.10 机械水泵 .....	22
3.11 冰箱 .....	22
4 其他仪器设备 .....	23
4.1 台秤 .....	23

4.2	电子天平	23
4.3	钢瓶	23
4.4	减压表	24
4.5	气压计	24
第三节 有机溶剂的纯化		25
1	有机溶剂中的不纯物	25
2	溶剂的精制级别	25
3	干燥剂	26
4	各类有机溶剂的纯化方法	27
4.1	饱和烷烃、芳香烃	27
4.2	卤代烃	27
4.3	醚类	27
4.4	酮类	27
4.5	醇类	27
4.6	酯类	28
4.7	胺类	28
4.8	DMSO、DMF 和 HMPA	28
5	无水无氧有机溶剂的一般调制法	28
6	无水无氧有机溶剂的低温冷冻脱气法	29
7	干燥醚类(乙醚、四氢呋喃、二氧六环等)有机溶剂的调制	29
8	乙腈、二氯甲烷的精制	30
9	无水无氧溶剂的保存	30
10	常用有机溶剂的特殊纯化处理	30
第四节 实验室废弃物的处理		32
1	收集、贮存时应注意的事项	33
2	处理时应注意的事项	33
3	无机类实验废液的处理方法	33
3.1	含六价铬的废液	33
3.2	含氰化物的废液	34
3.3	含镉及铅的废液	35
3.4	含汞的废液	35
3.5	含重金属的废液	36
3.6	含钡的废液	37
3.7	含氧化剂、还原剂的废液	37
3.8	含酸、碱、盐类物质的废液	37
4	有机类实验废液的处理方法	38
4.1	焚烧法	38
4.2	溶剂萃取法	38
4.3	吸附法	38



4.4 氧化分解法(参照含重金属有机类废液的处理方法)	38
4.5 水解法	38
附:各类有机实验废液及其处理注意事项	38
第五节 有机合成实验记录	39
1 记录本的组织	40
2 记录内容	40
参考文献	41
<b>第二章 有机化合物合成技术与基本操作</b>	<b>42</b>
第一节 搅拌	42
第二节 加热回流反应	43
1 水浴和蒸汽浴	44
2 油浴	44
3 砂浴	45
4 电加热	45
5 有机加热回流反应常用仪器	45
第三节 低温冷却	47
1 冰-盐浴	48
2 干冰-溶剂浴	48
3 液氮-溶剂浴	48
4 机械制冷	49
第四节 惰性气体保护下的反应与操作	49
1 有机合成实验中常见的易吸湿性试剂	50
2 对空气敏感液体试剂的处理与计量	50
3 对空气敏感固体试剂、样品的处理与计量	54
4 对空气敏感反应液的过滤	56
5 惰性气体保护反应	57
第五节 易燃性物质的使用与处理	60
1 一般注意事项	60
2 操作法	60
2.1 碱金属类(着火性:钾>钠>锂)	60
2.2 氢化还原反应后的催化剂类	60
2.3 烷基铝类	61
2.4 二烷基锌类试剂(二甲基锌,二乙基锌)	62
2.5 三价磷化合物	63
2.6 氧化剂与可燃性有机溶剂	63
第六节 金属化合物的操作与制备方法	63
1 烷基锂	64
1.1 一般性质	64

1.2 烷基锂的使用	64
2 格氏试剂	65
2.1 一般性质	65
2.2 金属镁的活化	66
2.3 格氏试剂的浓度测定	66
2.4 氯代烯丙基镁的合成	66
3 硼化合物	67
3.1 一般性质	67
3.2 B-H 结合的定量分析	67
4 有机硅、有机锡类化合物	68
4.1 一般性质	68
4.2 使用注意事项	68
5 无水金属卤化物	68
5.1 氯化镁、溴化镁	68
5.2 氯化锌、氯化铝、氯化铁	68
5.3 四氯化锡、四氯化钛、三氟化硼乙醚溶液	68
6 金属羰基化合物	69
6.1 羰基铁化合物	69
6.2 羰基钴化合物	69
6.3 羰基镍化合物	69
7 磷配合物	69
7.1 $\text{MX}_2(\text{PR}_3)_2$ 型配合物	69
7.2 $\text{M}(\text{PPh}_3)_4$ 型配合物	69
第七节 气体反应	69
1 小钢瓶的使用	69
2 气体注射器	70
3 气体量管	71
4 可凝性气阱	71
5 自动气体计量发生器	72
第八节 特殊反应装置与技术	73
1 催化氢化	73
1.1 常压催化氢化	74
1.2 加压催化氢化	76
2 加压反应	78
3 气相热分解反应	79
4 臭氧化反应	81
5 液氨技术	83
第九节 有机光化学合成技术	85
1 有机光化学反应的基本原理	85



2 光化学反应应用仪器及操作 .....	88
第十节 微波技术 .....	91
1 微波密闭合成技术 .....	92
2 微波常压合成技术 .....	94
3 微波连续合成技术 .....	94
4 微波干法合成技术 .....	96
第十一节 有机电化学合成技术 .....	96
1 有机电化学合成方法的分类 .....	97
2 反应装置 .....	98
3 反应条件的选择 .....	99
3.1 溶媒,电解质 .....	99
3.2 电极 .....	100
4 预备实验 .....	100
5 实验实例 .....	100
参考文献 .....	102
第三章 有机化合物的经典分离与纯化技术 .....	103
第一节 结晶与重结晶 .....	103
1 结晶的形成过程 .....	103
1.1 定义 .....	103
1.2 晶体的形成过程 .....	103
2 结晶法的基本原理 .....	103
3 固体溶解度与溶剂的选择 .....	104
3.1 溶解度 .....	104
3.2 溶剂选择 .....	104
4 结晶与重结晶的方法 .....	106
4.1 固体溶解 .....	106
4.2 趁热过滤 .....	106
4.3 结晶析出及滤集 .....	106
4.4 结晶的干燥 .....	107
5 脱色 .....	107
6 混合溶剂结晶法 .....	107
7 小量及微量物质结晶 .....	108
7.1 小量物质结晶 .....	108
7.2 微量物质结晶 .....	108
8 过滤基本操作 .....	108
8.1 折叠滤纸法常压过滤 .....	109
8.2 减压过滤 .....	110
8.3 保温热过滤 .....	110

8.4 砂芯漏斗的应用 .....	110
第二节 蒸馏与减压蒸馏 .....	112
1 简单蒸馏 .....	112
1.1 蒸馏的原理 .....	112
1.2 简单蒸馏的方法 .....	113
1.3 微量法测定沸点 .....	115
2 真空蒸馏(减压蒸馏) .....	115
2.1 减压蒸馏的原理 .....	115
2.2 压力沸点近似表的应用 .....	116
2.3 真空度的划分 .....	117
2.4 减压蒸馏的方法 .....	117
2.5 少量物质的减压蒸馏 .....	120
3 分子蒸馏 .....	121
第三节 水蒸气蒸馏 .....	121
1 水蒸气蒸馏的意义 .....	121
1.1 进行水蒸气蒸馏时,对要分离的有机化合物的要求 .....	121
1.2 意义 .....	122
2 基本原理 .....	122
2.1 相互混溶的挥发性混合物的蒸气压 .....	122
2.2 互不混溶的挥发性混合物的蒸气压 .....	122
2.3 水蒸气的蒸馏情况 .....	123
2.4 水蒸气蒸馏的计算 .....	123
3 水蒸气蒸馏操作 .....	124
3.1 活蒸气法 .....	124
3.2 直接法 .....	126
第四节 分馏 .....	127
1 蒸馏与分馏的区别 .....	127
2 分馏的原理 .....	127
3 分馏柱的分馏效率 .....	129
4 分馏柱种类 .....	129
5 分馏装置 .....	131
6 分馏操作 .....	131
第五节 萃取 .....	132
1 从溶液中萃取物质的方法 .....	132
1.1 基本原理 .....	132
1.2 萃取方法 .....	134
1.3 萃取溶剂的选择 .....	136
1.4 乳化现象与破乳 .....	137
1.5 液体的干燥 .....	138

1.6 分子筛应用的一般介绍 .....	139
2 从固体中萃取物质的方法 .....	140
2.1 浸出法 .....	140
2.2 热萃取法 .....	140
2.3 超临界流体萃取法 .....	140
第六节 升华 .....	143
1 基本原理 .....	143
2 升华操作的分类 .....	144
2.1 常压升华 .....	144
2.2 减压升华 .....	144
参考文献 .....	145

## 下篇 有机化合物色谱制备技术

第四章 色谱法概述 .....	149
第一节 色谱法分类 .....	149
1 按流动相与固定相的分子聚集状态分类 .....	149
2 按操作形式分类 .....	149
3 按色谱过程的分离机制分类 .....	150
第二节 色谱法的基本原理 .....	150
1 吸附色谱 .....	150
2 分配色谱 .....	151
3 空间排阻色谱 .....	151
4 离子交换色谱 .....	152
第五章 薄层色谱分离制备技术 .....	153
第一节 薄层色谱概论 .....	153
1 薄层色谱的分离原理 .....	153
2 薄层色谱的技术参数 .....	153
2.1 比移值 .....	153
2.2 相对比移值 .....	153
3 薄层色谱的应用特点 .....	154
第二节 薄层制备技术 .....	154
1 固定相及载体 .....	154
1.1 硅胶 .....	156
1.2 氧化铝 .....	157
1.3 纤维素 .....	157
1.4 聚酰胺 .....	158
1.5 葡聚糖凝胶 .....	158

1.6	离子交换剂	158
1.7	硅藻土	158
2	黏合剂与添加剂	158
2.1	煅石膏	159
2.2	羧甲基纤维素钠	159
2.3	淀粉	159
2.4	预制板黏合剂	159
2.5	添加剂	159
3	薄层板的制备	159
3.1	载板的制备	159
3.2	薄板涂铺方法	159
4	上样	161
4.1	预展开	161
4.2	样品的制备	161
4.3	方法	161
4.4	位置	161
4.5	上样量	162
5	展开剂的选择	162
5.1	溶剂强度	162
5.2	选择展开剂的方法	164
6	薄层展开	165
6.1	预饱和	165
6.2	展开	166
7	样品色斑的检测方法	166
7.1	光学检测	166
7.2	蒸气检出	166
7.3	显色法	166
7.4	加入参照物法	167
8	被分离物质的收集	167
9	制备型薄层色谱分离化合物的再纯化	168
第三节	离心薄层色谱	168
1	离心薄层色谱的技术原理	168
2	旋转薄层色谱仪	168
2.1	Chromatotron 色谱仪	169
2.2	日立 Hitachi CLC-5 型离心薄层色谱仪	171
3	应用实例	171
第四节	制备型加压薄层色谱	171
1	制备型非全程加压薄层	172
2	制备型全程加压薄层	172

2.1 加压层析板 .....	172
2.2 加样与层析 .....	172
2.3 常用仪器 .....	172
参考文献 .....	173
<b>第六章 常压柱色谱分离制备技术</b> .....	<b>174</b>
<b>第一节 吸附柱色谱</b> .....	<b>174</b>
1 色谱柱的制备 .....	174
1.1 玻璃色谱柱 .....	174
1.2 装柱 .....	175
2 样品的制备与上样 .....	175
2.1 被分离混合物样品为液体 .....	175
2.2 被分离混合物样品为极性较小的固体 .....	175
2.3 被分离混合物样品为难溶性固体 .....	176
3 洗脱与分离 .....	176
3.1 洗脱剂的选择 .....	176
3.2 洗脱剂应保持一定高度 .....	176
3.3 洗脱液收集 .....	177
3.4 控制洗脱液流出速度 .....	177
3.5 洗脱液薄层色谱检测与合并 .....	177
3.6 样品纯化 .....	177
4 注意问题 .....	177
5 硅胶吸附柱色谱制备实例 .....	179
<b>第二节 分配柱色谱</b> .....	<b>179</b>
1 色谱柱的制备 .....	180
1.1 支持剂的选择 .....	180
1.2 固定液相选择 .....	180
1.3 固定相的涂渍 .....	180
1.4 装柱 .....	180
2 上样 .....	180
2.1 样品的溶解处理 .....	180
2.2 上样 .....	181
3 洗脱 .....	181
3.1 洗脱剂的选择 .....	181
3.2 洗脱 .....	181
4 分配柱色谱应用实例 .....	182
<b>第三节 离子交换柱色谱</b> .....	<b>182</b>
1 离子交换树脂的分类 .....	182
1.1 阳离子交换树脂 .....	182



1.2 阴离子交换树脂 .....	183
1.3 离子交换树脂性能 .....	183
2 离子交换柱色谱的操作 .....	184
2.1 树脂的预处理与转型 .....	184
2.2 树脂的选择 .....	184
3 装柱 .....	185
4 加样与交换 .....	185
5 洗脱 .....	185
6 离子交换树脂的再生 .....	185
7 影响离子交换的主要因素 .....	186
7.1 流动相的酸碱度 .....	186
7.2 样品浓度 .....	186
7.3 温度 .....	186
7.4 溶剂 .....	186
8 离子交换色谱的应用实例 .....	186
8.1 基本原理 .....	186
8.2 样品处理 .....	186
8.3 离子交换树脂预处理 .....	186
8.4 离子交换柱的安装 .....	188
8.5 加样 .....	188
8.6 核苷酸混合物的洗脱 .....	188
8.7 由色谱柱所得的各部分洗脱液的分析 .....	188
8.8 结果分析 .....	188
第四节 凝胶柱色谱 .....	189
1 凝胶固定相与性能 .....	190
1.1 葡聚糖凝胶 .....	190
1.2 亲脂性葡聚糖凝胶 .....	190
1.3 聚丙烯酰胺凝胶 .....	191
1.4 琼脂糖凝胶 .....	192
2 凝胶柱色谱操作技术 .....	192
2.1 凝胶的选择 .....	192
2.2 凝胶溶胀预处理 .....	193
2.3 色谱柱的选择与装柱 .....	193
2.4 柱均匀性检查 .....	194
2.5 上样 .....	194
2.6 洗脱 .....	194
2.7 再生 .....	194
第五节 干柱色谱 .....	195
1 干柱色谱法操作技术 .....	195

1.1 吸附剂 .....	195
1.2 装柱 .....	195
1.3 上样与展开 .....	195
1.4 检查与分离 .....	196
2 其他干柱色谱方法 .....	196
2.1 高分辨制备型组件 .....	196
2.2 洗脱式干柱色谱分离 .....	196
参考文献 .....	197
<b>第七章 减压柱色谱分离制备技术</b> .....	<b>198</b>
<b>第一节 真空液相色谱</b> .....	<b>198</b>
1 真空液相色谱法的特点 .....	198
2 实验装置与操作 .....	199
2.1 固定相 .....	199
2.2 装柱 .....	199
2.3 吸附剂用量 .....	199
3 上样 .....	200
4 流动相选择 .....	200
5 洗脱与收集 .....	200
6 应用实例 .....	201
6.1 产物与反应物混合物的分离 .....	201
6.2 多种天然化合物的分离 .....	201
7 小结 .....	202
<b>第二节 半干柱液相色谱</b> .....	<b>203</b>
1 色谱柱的制备 .....	203
2 洗脱与分离 .....	203
参考文献 .....	204
<b>第八章 加压柱色谱分离制备技术</b> .....	<b>205</b>
<b>第一节 快速柱色谱</b> .....	<b>205</b>
1 色谱条件 .....	206
1.1 吸附剂硅胶 .....	206
1.2 流动相 .....	206
1.3 干法装柱 .....	206
1.4 上样、洗脱与收集 .....	206
1.5 压力泵 .....	207
2 小结 .....	207
3 应用实例 .....	208
4 快速干柱色谱 .....	208

第二节 低压液相色谱 .....	208
1 Flash 色谱系统 .....	208
2 制备型低压液相色谱柱 .....	210
3 Flash 低压色谱应用实例 .....	211
3.1 Combiflash Rf 75 主要部件名称及功能 .....	211
3.2 仪器使用操作 .....	212
3.3 操作实例 .....	212
第三节 中压液相色谱 .....	214
1 色谱柱(预制柱)的填装 .....	214
2 商品化仪器 .....	215
第四节 制备型高效液相色谱 .....	216
1 制备型 HPLC 与分析型 HPLC 的区别 .....	217
2 制备型 HPLC 的分类 .....	217
3 影响制备型 HPLC 分离纯化的因素 .....	217
3.1 柱尺寸 .....	217
3.2 高效制备填料 .....	217
3.3 装柱技术 .....	218
3.4 柱型 .....	218
3.5 上样量 .....	218
3.6 流动相与流速 .....	218
3.7 样品预处理 .....	219
4 基本装置 .....	219
4.1 输液泵 .....	219
4.2 进样系统 .....	219
4.3 色谱柱 .....	219
4.4 检测器 .....	220
4.5 流分收集器 .....	220
4.6 数据采集与处理系统 .....	221
5 循环制备 HPLC .....	221
参考文献 .....	221
<b>第九章 手性化合物的拆分技术 .....</b>	<b>223</b>
<b>第一节 概述 .....</b>	<b>223</b>
1 手性分子与旋光性 .....	223
2 研究手性化合物的重要意义 .....	224
2.1 生命现象中的手性分子识别 .....	224
2.2 手性药物与药效学 .....	224
2.3 手性精细化学品与生物活性 .....	227
2.4 手性材料与性能 .....	228

3 获得单一手性化合物的方法 .....	228
3.1 从天然产物中分离 .....	228
3.2 通过拆分方法获取 .....	229
3.3 通过不对称合成方法获取 .....	229
第二节 外消旋混合物的直接结晶拆分法 .....	230
1 外消旋体的一般性质 .....	230
1.1 外消旋混合物 .....	230
1.2 外消旋化合物 .....	231
1.3 外消旋固体溶液 .....	231
2 直接结晶拆分法 .....	232
2.1 接种结晶拆分法 .....	232
2.2 化学惰性手性溶剂结晶法 .....	234
第三节 外消旋体的化学拆分法 .....	234
1 化学拆分法的基本原理 .....	234
2 理想拆分剂应具备的条件 .....	234
3 一些常用的拆分剂 .....	235
3.1 碱拆分剂 .....	236
3.2 酸拆分剂 .....	236
3.3 其他拆分剂 .....	236
4 化学拆分应用实例 .....	236
4.1 外消旋酒石酸的拆分 .....	236
4.2 外消旋乳酸的拆分 .....	237
4.3 外消旋肾上腺素的拆分 .....	237
4.4 外消旋氯霉素的母体氨基醇的拆分 .....	238
4.5 外消旋 $\alpha$ -苯乙醇的拆分 .....	238
第四节 外消旋体的色谱拆分 .....	239
1 概述 .....	239
2 手性化合物的中高压液相色谱拆分法 .....	240
2.1 手性固定相拆分法 .....	240
2.2 手性流动相拆分法 .....	245
2.3 手性衍生化法——间接法拆分 .....	246
3 手性化合物的薄层色谱拆分法 .....	248
3.1 制备成非对映异构体——手性衍生化法 .....	248
3.2 TLC 手性固定相拆分法 .....	248
3.3 TLC 手性流动相拆分法 .....	251
4 手性化合物的快速柱色谱拆分法 .....	253
参考文献 .....	253



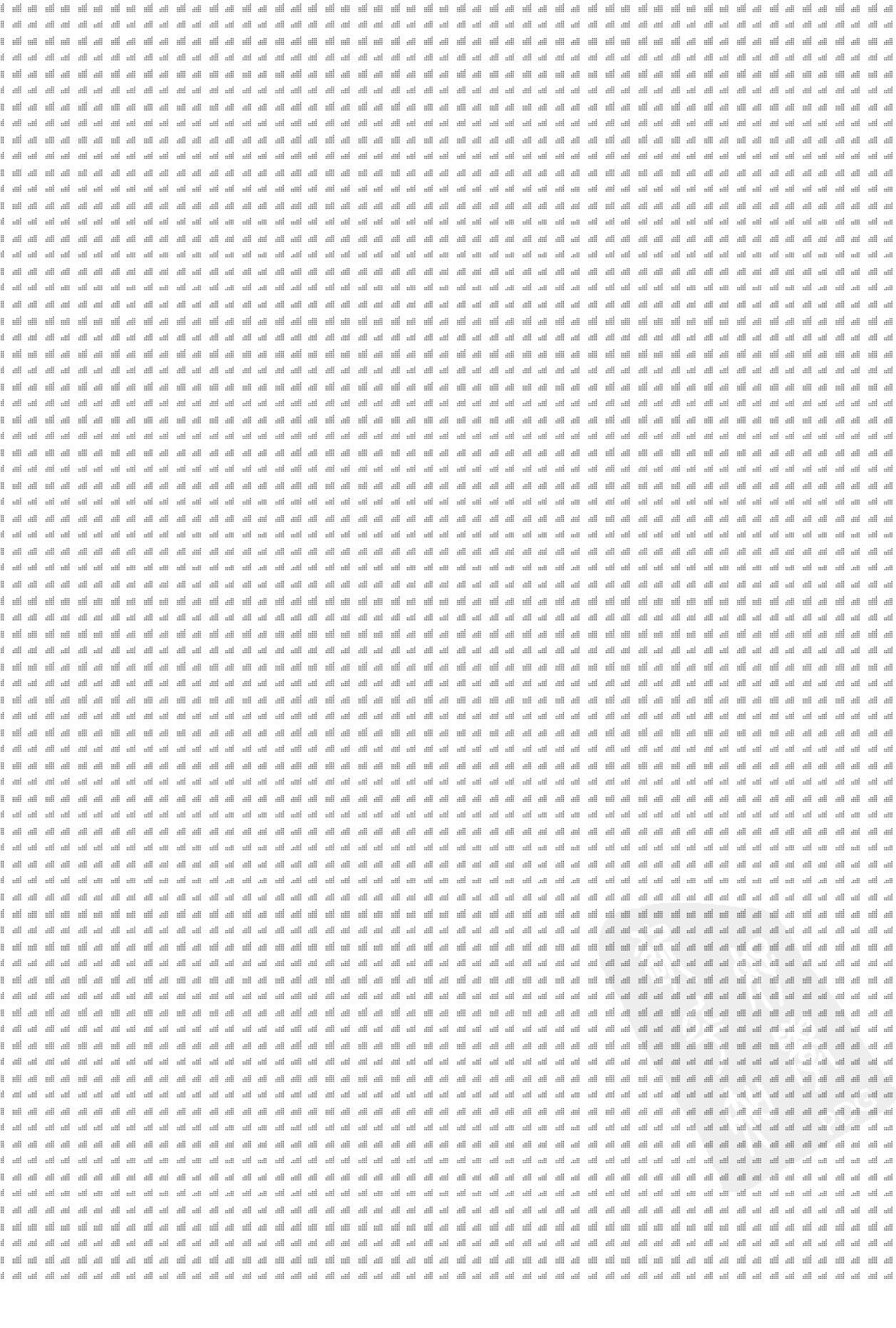
上篇

实验室有机化合物制备与分离纯化技术

# || 有机合成基本操作与 经典分离纯化技术







# 第一章

## 有机合成实验基础知识

### 第一节 有机合成实验安全知识

有机合成实验中所用的试剂、药品可能是有毒、可燃、有腐蚀性或有爆炸性的,所用的仪器设备大部分是玻璃制品,使用不当,就易发生着火、中毒、烧伤、爆炸等事故。因此,实验者必须认识到化学实验室是潜在危险场所,必须时刻重视安全问题,掌握有机化学实验基本的安全知识,严格遵守操作规程,加强安全措施,以避免事故的发生。

#### 1 水、电、燃气的安全使用

实验者必须了解、熟悉实验室中水、电、燃气开关及安全用具(灭火器等)的位置,掌握它们的使用方法。实验中,应先将电器设备上的插头与插座连接好,再打开电源开关。不要用湿手或手握湿物去插、拔电源插头。使用电器前,应检查线路连接是否正确,电器内外要保持干燥,不能有水或其他溶剂。实验完毕后,应关闭电源,拔掉插头。使用完燃气后,应立即关闭燃气开关。

离开实验室时,应注意检查水、电、燃气开关是否关闭。

#### 2 化学品的贮存

有机合成反应类型众多,使用的化学试剂也多种多样。有的化学试剂不稳定、易分解,有的易燃、易爆,有的有剧毒,因此对化学品的贮存应格外重视。

在大多数情况下,实验室所用的化学药品都储存于玻璃瓶中。对于能与玻璃发生反应的化合物如氢氟酸,则应使用塑料或金属的容器储存;碱金属应储存于煤油中;储存黄磷必须以水覆盖。

对光敏感的化合物,如醚类,在光照下更易形成过氧化物,应将这类化合物贮存在棕色玻璃瓶中,避光保存。

对空气、湿气敏感的物质,应特殊保管,如存放于干燥器中或干燥箱中。

可产生毒性或腐蚀性蒸气的物质,应放在通风、远离人员经常活动的位置,或放在通风橱中的专门部位。

所有储存化学品的容器必须清洁并贴上耐久的标签。如用普通标签,最好用黑墨水书写。为使标签更加耐久,应在其上覆盖一层透明胶纸或涂上一层石蜡。

剧毒物品如氰化物,应储存在加锁的橱柜或保险箱内。使用时做好记录,包括使用人、时间、称重前后的试剂瓶重等。对贵重试剂如重金属催化剂等,也应特殊保管、使用。

对化学危险品的贮存和保管,必须按照爆炸物品、自燃品、遇水燃烧物品、强氧化剂和易燃性液体等分类合理放置、保管。对于易燃的危险品,应根据其闪点(闪点是液体表面的蒸气和周围空气的混合物与火接触,初次出现蓝色火焰闪光时的温度。它是表征液体可燃性的一个重要指标。闪点越低,液体越易燃烧。我国规定,凡闪点在 $45^{\circ}\text{C}$ 以下的液体都属于易燃液体,其中闪点在 $28^{\circ}\text{C}$ 以下的称为一级易燃品,闪点在 $28.1\sim 45^{\circ}\text{C}$ 范围内的称为二级易燃品)的高低再详细分类,以利于安全防火管理。实验室使用易燃液体(乙醚、二硫化碳、丙酮、苯、环己烷、甲苯、乙醇、甲醇、石油醚等)时,应特别小心,其周围环境中必须避免明火。加热与处理低沸点溶剂时,应避免直接用火加热。

### 3 防火

实验室常用的易燃有机溶剂很多,如乙醇、乙醚、二硫化碳、石油醚、苯、甲苯、丙酮、乙酸乙酯等。引起着火的原因很多,如用敞口容器加热低沸点的溶剂、加热方法不正确等。为了防止着火,实验中应注意以下几点:

(1) 不能用敞口容器加热和放置易燃、易挥发的化学品。应根据实验要求和物质的特性,选择正确的加热方法。蒸馏易燃溶剂时,要防止易燃蒸气泄漏,接收支管应与橡皮管相连,使余气顺水槽或通风橱排出。切记:加热易燃、易挥发液体时,要远离明火或尽可能不用明火,这是防火最基本的原则。如必须用明火,应注意选择适合的加热浴,根据反应液沸点的高低选择油浴、水浴、石棉网等。蒸馏沸点低于 $80^{\circ}\text{C}$ 的液体时,可用水浴。

(2) 应了解所使用的化学试剂的性质,在添加时注意防火。如在催化氢化还原反应时,常用干燥的Pd/C作催化剂。Pd/C很容易与空气中的氧气作用而燃烧。因此,使用Pd/C时,最好不要直接添加,而应在氮气环境中将其加到反应液中,或者使用含水的Pd/C。

(3) 易燃、易挥发的废物不得倒入废液缸和垃圾桶中。实验室不得存放大量易燃、易挥发的物质。注意室内通风,及时将蒸气排出。

(4) 有燃气的实验室,应经常检查管道和阀门是否漏气。

一旦着火,应沉着镇静并及时采取正确的措施,防止事故的扩大。首先应立即关闭燃气,切断电源,移走着火现场及附近的易燃物。应根据易燃物的性质和火势采取适当的方法进行扑救。有机物着火通常不可用水扑灭,因为一般有机物不溶于水或遇水可发生更强烈的反应而引起更大的事故。

小火可用湿布或石棉布盖熄,火势较大时则应使用灭火器。常用灭火器有二氧化碳、四氯化碳、干粉及泡沫等灭火器。实验室中常用的是干粉灭火器。其原理是利用二氧化碳气体或氮气气体作动力,将筒内的干粉(主要含有碳酸氢钠或磷酸氢二铵)喷出灭火。干粉是一种干燥的、易于流动的微小固体粉末,由能灭火的基料和防潮剂、流动促进剂、结块防止剂等添加剂组成。主要用于扑救石油、有机溶剂等易燃液体、可燃气体和电气设备的初起火灾。使用时,拔出销钉,将出口对准着火点,将上手柄压下,干粉即可喷出。

二氧化碳灭火器也是有机实验室常用的灭火器。灭火器内存放着压缩的二氧化碳气体,使用时打开开关,气体即可喷出,适用于油脂、电器及较贵重仪器着火时的灭火工作。四

氯化碳也具有较好的灭火性能,但四氯化碳在高温下能生成剧毒的光气,不宜在狭小和通风不良的实验室中使用;另外,有金属钠存在时,由于四氯化碳与金属钠接触会引起爆炸,因此不宜使用。泡沫灭火器是通过筒内酸性溶液与碱性溶液混合发生化学反应,将生成的泡沫压出喷嘴喷射出去来进行灭火的。但喷出的大量泡沫易造成严重污染,给后期处理带来麻烦。因此,后两种灭火器在实验室使用较少。

不管采用哪一种灭火器,都是从火的周围开始向中心扑灭。地面或桌面着火时,还可用沙子扑救,但容器内着火时不宜使用沙子扑救。衣服着火时,应脱下衣服将火扑灭,或在地上打滚(速度不要太快)将火扑灭,也可就近打开水龙头灭火;千万不要在实验室内乱跑,以免引起更大的火灾。

## 4 防爆

(1) 在有机化学实验室中,爆炸事故的发生往往与下列情况有关:

1) 某些化合物容易引起爆炸,如过氧化物、芳香族多硝基化合物、叠氮化合物等在受热或受到碰撞时,均会引起爆炸。含过氧化物的乙醚、四氢呋喃等在蒸馏时,也有爆炸的危险。乙醇和浓硝酸混合,可引起非常强烈的爆炸。

2) 仪器安装不正确或操作不当时,也可引起爆炸。如蒸馏或反应时实验装置被堵塞,减压蒸馏时使用不耐压的仪器等。

3) 易燃物着火可引起爆炸。

(2) 为了防止爆炸事故的发生,应注意以下几点:

1) 使用易燃易爆物品时,应严格按操作规程操作,要特别小心。易燃有机溶剂,特别是低沸点易燃溶剂,在室温时即具有较大的蒸气压,当空气中混杂的易燃有机溶剂达到一定极限时,遇明火(甚至是因电器开关产生的火花,静电摩擦、敲击引起的火花等)即发生爆炸。有机溶剂较空气的密度大,会沿着桌面、地面沉积到低处,因此,切勿将易燃溶剂倒入废液缸或垃圾桶中。使用挥发性强的有机溶剂作柱层析时,应在通风橱中进行。

2) 反应过于剧烈时,应适当控制加料速度和反应温度,必要时采取冷却措施。

3) 在用玻璃仪器组装实验装置之前,要先检查玻璃仪器是否有破损。常压操作时,要避免在密闭体系内进行加热或反应。应检查反应装置是否被堵塞,如发现堵塞应立即停止加热或反应,将堵塞排除后再继续加热或反应。

4) 减压蒸馏时,不能用平底烧瓶、锥形瓶、薄壁试管等不耐压容器作为接收瓶或反应皿。无论常压蒸馏还是减压蒸馏,均不能将液体蒸干,以免局部过热或产生过氧化物而发生爆炸。

5) 实验室的冰箱内不得存放过量易燃有机溶剂,以防止冰箱电火花引爆有机溶剂而引起大面积着火、爆炸。使用干冰时,不要用铁器用力撞击,而要用木槌敲击。

## 5 防中毒

大多数化学药品都具有一定的毒性,中毒主要是通过呼吸道和皮肤接触有毒物品而对人体造成危害。因此预防中毒应做到:

(1) 称量药品时不得直接用手接触药品,尤其是有毒物质;做完实验后,应洗手后再吃东西;任何药品都不能用嘴尝;严禁在实验室内饮食。

(2) 使用和处理有毒或腐蚀性物质时,应在通风橱中进行。有有毒或刺激性气体产生时,应附加气体吸收装置,并戴好防护用品。尽可能避免蒸气外逸,以防造成污染。

如发生中毒现象,应让中毒者及时离开现场,到通风好的地方进行适当处理。严重中毒者应及时送往医院。

## 6 防灼伤

皮肤在接触高温、低温或腐蚀性物质后均可能被灼伤。为避免灼伤,实验员在接触这些物质时,最好戴橡胶手套和防护眼镜。发生灼伤时应按下列要求处理:

(1) 被碱灼伤时,立即用大量水冲洗,再用1%~2%的乙酸或硼酸溶液冲洗,然后再用水冲洗并涂上烫伤膏。

(2) 被酸灼伤时,先用大量水冲洗,然后用1%的碳酸氢钠溶液清洗,并涂上烫伤膏。

(3) 溴引起的灼伤特别严重,应立即用大量水冲洗,再用酒精或2%的硫代硫酸钠溶液洗至灼伤处呈白色,最后涂上甘油或鱼肝油软膏。

(4) 被热水烫伤后,一般先在灼伤处涂上红花油,然后涂烫伤膏。

(5) 以上这些物质一旦溅入眼睛中,应立即用大量水冲洗,必要时去医院治疗。

## 7 防割伤

有机实验中主要使用玻璃仪器,使用的基本原则是:不能对玻璃仪器的任何部位施加过度的压力。被仪器割伤时,首先检查伤口处有无玻璃屑,清除玻璃屑后用水洗涤伤口,涂上药水后再对伤口进行包扎,另外不要让伤口接触到化学药品而引起中毒。

实验室应备有急救药品,如生理盐水、医用酒精、红药水、烫伤膏、1%~2%的乙酸或硼酸溶液、1%的碳酸氢钠溶液、2%的硫代硫酸钠溶液、甘油、止血粉、甲紫(龙胆紫)、凡士林等,还应备有镊子、剪刀、纱布、药棉、绷带等急救用具。

附表 有机合成常用溶剂和试剂的名称、沸点\*、溶解性、毒性及可燃性

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
石油醚		不溶于水,与丙酮、乙醚、乙酸乙酯、苯、氯仿及甲醇以上的高级醇混溶	与低级烷相似,低毒	
戊烷	36.1℃	与乙醇、乙醚等多数有机溶剂混溶	低毒	
正己烷	68.7℃	与甲醇部分溶解,与比乙醇高级的醇、醚、丙酮、氯仿等混溶	低毒,有麻醉性、刺激性	
环己烷	80.7℃	与乙醇、高级醇、醚、丙酮、烃、氯代烃、高级脂肪酸、胺类混溶	低毒,有中枢神经抑制作用	
庚烷	98.4℃	与己烷类似	低毒,有刺激性、麻醉性	

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
辛烷	125.6℃	几乎不溶于水,微溶于乙醇,与醚、丙酮、石油醚、苯、氯仿、汽油混溶	低毒性,有麻醉性	
乙醚	34.6℃	微溶于水,易溶于盐酸;与醇、醚、石油醚、苯、氯仿等多数有机溶剂混溶	有麻醉性	
乙二醇二甲醚	85.2℃	溶于水,与醇、醚、酮、酯、炔、氯代烃等多种有机溶剂混溶,能溶解各种树脂,还是二氧化硫、氯甲烷、乙烯等气体的优良溶剂	吸入和经口低毒	
乙二醇单甲醚	124.6℃	与水、醛、醚、苯、乙二醇、丙酮、四氯化碳、二甲基甲酰胺(DMF)等混溶	低毒	
二氯甲烷	39.7℃	与醇、醚、氯仿、苯、二硫化碳等有机溶剂混溶	低毒,麻醉性强。短期暴露会危害心脏病患者,吸入后可引起头晕、四肢疼痛、无知觉、食欲降低、头痛、恶心、呕吐、血尿、肝功能损伤、皮疹、刺激眼睛,有疼痛、灼烧感;长期暴露可引起血液异常,出现幻觉,视、听觉下降	不易燃烧,其蒸气与空气混合后可形成爆炸性气体,爆炸极限为6.2%~15%
氯仿	61.1℃	与乙醇、乙醚、石油醚、卤代烃、四氯化碳、二硫化碳等混溶	中等毒性,强麻醉性	
四氯化碳	76.7℃	与醇、醚、石油醚、冰醋酸、二硫化碳、氯代烃混溶	在氯甲烷中毒性最强。具有轻度麻醉作用,可对肝、肾等实质器官造成严重损害。接触浓度的高低和频度,可影响作用部位及毒性。高浓度时,首先是中枢神经系统受累,随后累及肝、肾。乙醇、异丙醇类的摄取,可促进四氯化碳的吸收,增强其毒性	不易燃烧,高温下可分解成高毒性和腐蚀性气体及蒸气,如氯气、光气和氯化氢等



续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
1,2-二氯乙烷	83℃	与乙醇、乙醚、氯仿、四氯化碳等多种有机溶剂混溶	高毒性、致癌。短期暴露:吸入 10 ~ 30mg/L 本品后可引起头昏、恶心、呕吐,超过 50mg/L 则可引起颤抖、头痛、无力、痛性痉挛、肝和肾受损、肺水肿、昏迷甚至死亡;可刺激皮肤,还可引起眼睛红痛和视线模糊,其蒸气可损伤角膜;吸入过量可引起恶心、呕吐、晕厥、呼吸困难、皮肤苍白、内出血、肾脏受损,并使人死于呼吸衰竭	本品易燃易爆,并伴有毒气。其爆炸上限为 16.0%,下限为 6.2%
二硫化碳	46.2℃	微溶于水,与多种有机溶剂混溶	有麻醉性、强刺激性	
丙酮	56.1℃	与水、醇、醚、烃混溶	微毒。丙酮经各种途径被机体吸收后,由于其水剪性强,易吸收入血,迅速分布于全身。浓度为 300mg/L 时可产生黏膜刺激,浓度为 2000mg/L 时可产生明显的喉头刺激。成人误服 20ml 一般无影响,若误服量达 200ml 则可导致昏迷。急性中毒表现为对中枢神经系统的麻醉作用,表现为乏力、恶心、头痛、头晕、容易激动。长期高浓度接触本品可出现眩晕、灼烧感。皮肤长期反复接触可致皮炎	易燃、易爆,爆炸极限为 2.5% ~ 13.0%。其蒸气与空气混合后可形成爆炸性气体,遇明火、高热极易发生爆炸。其蒸气比空气重,能在较低处扩散到相当远的地方,遇火源易引着回燃
丁酮	79.6℃	与丙酮相似,与醇、醚、苯等大多数有机溶剂混溶	低毒,毒性强于丙酮	

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
环己酮	155.6℃	与甲醇、乙醇、苯、丙酮、己烷、乙醚、硝基苯、石脑油、二甲苯、乙二醇、乙酸异戊酯、二乙胺及其他多种有机溶剂混溶	低毒,有麻醉性	
甲醇	64.5℃	与水、乙醚、醇、酯、卤代烃、苯、酮混溶	中等毒性,有麻醉性	
乙醇	78.3℃	与水、乙醚、氯仿、酯、烃类衍生物等有机溶剂混溶	微毒,有麻醉性	
异丙醇	82.4℃	与乙醇、乙醚、氯仿、水混溶	微毒。异丙醇的毒性和麻醉作用比乙醇大一倍,在体内几乎无蓄积。其蒸气对眼、呼吸道黏膜有刺激作用,接触高浓度的蒸气时可出现头痛、嗜睡以及眼、鼻、喉刺激症状。长期皮肤接触可致皮肤干燥、皲裂	异丙醇蒸气与空气混合后可形成爆炸性气体,遇明火、高热极易发生爆炸。其蒸气比空气重,能在较低处扩散到相当远的地方,遇火源易引着回燃
丁醇	117.7℃	与醇、醚、苯混溶	低毒	
苯甲醇	205.4℃	与乙醇、乙醚、氯仿混溶,20℃时在水中溶解3.8% (wt)	低毒,有黏膜刺激性	
乙二醇	197.8℃	与水、乙醇、丙酮、乙酸、甘油、吡啶混溶,难溶于氯仿、乙醚、苯、二硫化碳等,不溶于烃类、卤代烃,可溶解食盐、氯化锌等无机物	低毒	
1,2-丙二醇	187.3℃	与水、乙醇、乙醚、氯仿、丙酮等多种有机溶剂混溶	低毒	
二甘醇	244.8℃	与水、乙醇、乙二醇、丙酮、氯仿、糠醛混溶,不溶于乙醚、四氯化碳等	微毒,经皮吸收,刺激性小	
甘油	290.0℃	与水、乙醇混溶,不溶于乙醚、氯仿、二硫化碳、苯、四氯化碳、石油醚		

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
四氢呋喃	66℃	优良溶剂,与水混溶,与乙醇、乙醚、脂肪烃、芳香烃、氯代烃等有机物的溶解性较好	吸入微毒,经口低毒。严重刺激眼睛,可能会导致眼睛损伤;严重刺激皮肤,如有衣服遮盖或接触时间过长,会出现水疱。其蒸气可刺激眼、鼻、咽喉、肺,致肺气肿	其蒸气与空气混合后可形成爆炸性混合物,遇明火、高温极易爆炸。其蒸气比空气重,能在较低处扩散到相当远的地方,遇火源易引着回燃。若遇高热,容器内压力增大,有开裂和爆炸的危险
1,4-二氧六环	101.3℃	能与水及多数有机溶剂混溶	微毒	
乙酸	118.1℃	与水、乙醇、乙醚、四氯化碳混溶,不溶于二硫化碳及 C12 以上的高级脂肪烃	低毒,浓溶液毒性强	
三氟乙酸	71.8℃	与水、乙醇、乙醚、丙酮、苯、四氯化碳、正己烷混溶,可溶解多种脂肪族、芳香族化合物	有刺激性	
乙酸乙酯	77.1℃	与醇、醚、氯仿、丙酮、苯等大多数有机溶剂混溶,能溶解某些金属盐	低毒,有麻醉性	
乙腈	81.6℃	与水、甲醇、乙酸甲酯、乙酸乙酯、丙酮、醚、氯仿、四氯化碳、氯乙烯及各种不饱和烃混溶,但不与饱和烃混溶	中等毒性,大量吸入乙腈蒸气可引起急性中毒	
硫酸二甲酯	188℃(分解)	与乙醚、丙酮、芳香烃混溶,微溶于二硫化碳、脂肪烃和水	剧毒,有腐蚀性	易燃
二甲亚砜	189.0℃	与水、甲醇、乙醇、乙二醇、甘油、乙醛、丙酮、乙酸乙酯、吡啶、芳香烃混溶	微毒,对眼有刺激性	
环丁砜(二氧噻吩烷)	287.3℃	几乎能与所有的有机溶剂混溶;除脂肪烃外,能溶解大多数有机物		

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
苯	80.1℃	难溶于水,与甘油、乙二醇、乙醇、氯仿、乙醚、四氯化碳、二硫化碳、丙酮、甲苯、二甲苯、冰醋酸、脂肪烃等大多数有机物混溶	强毒性。急性中毒作用主要为抑制中枢神经系统。高浓度蒸气对黏膜和皮肤有一定的刺激作用。液态苯直接吸入呼吸道,可引起肺气肿和出血	高度易燃性,有引起严重火灾的危险。可用干粉、泡沫、二氧化碳灭火剂灭火。蒸气能沿地面流动到火源处并回燃,属于甲类火灾危险品
甲苯	110.6℃	不溶于水,与甲醇、乙醇、氯仿、丙酮、乙醚、冰醋酸、苯等有机溶剂混溶	低毒,对皮肤、黏膜有刺激作用,对中枢神经系统有麻醉作用,长期作用可影响肝、肾功能。急性中毒:可引起咳嗽、流泪、结膜充血等症状;重症者可出现幻觉、意识不清等,有的有癔症样发作。慢性中毒:患者常有神经衰弱综合征的表现,可引起女性月经异常,常引起皮肤干燥、皲裂、皮炎	易燃,爆炸极限为1.2%~7.0%,其蒸气与空气混合后可形成爆炸性混合物,遇明火、高热可引起燃烧爆炸,可与氧化剂发生强烈反应。其蒸气比空气重,能在较低处扩散。若遇高热,容器内压力增大,有开裂和爆炸的危险
对二甲苯	138.3℃	不溶于水,与醇、醚和其他有机溶剂混溶		为一级易燃液体
二甲苯	138.5~141.5℃	不溶于水,与乙醇、乙醚、苯、烃等有机溶剂混溶,与乙二醇、甲醇、2-氯乙醇等极性溶剂部分混溶	低毒。对皮肤、黏膜有刺激作用,高浓度有麻痹作用。具有致突变性、生殖毒性和致癌性	为一级易燃液体,有爆炸危险。发生火灾时,用二氧化碳、干粉或泡沫灭火剂灭火,不宜用水。属于甲类火灾危险物质
间二甲苯	139.1℃	不溶于水,与醇、醚、氯仿混溶,室温下可溶解乙腈、DMF等		为一级易燃液体
邻二甲苯	144.4℃	不溶于水,与乙醇、乙醚、氯仿等混溶		为一级易燃液体
氯苯	131.6℃	能与醇、醚、脂肪烃、芳香烃和有机氯化物等多种有机溶剂混溶	毒性低于苯,可损害中枢神经系统	

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
硝基苯	210.9℃	几乎不溶于水,与醇、醚、苯等有机物混溶,对有机物溶解能力强	中等毒性。急性暴露可引起发绀、皮肤黏膜出现青点、呼吸困难、呼吸衰竭、头痛、嗜睡、无力、头昏、昏迷、恶心、呕吐,呕吐物和尿有杏仁味,可致脾、肝肿大	遇明火、高热或与氧化剂接触,有引起燃烧爆炸的危险
苯酚(石炭酸)	181.2℃	溶于乙醇、乙醚、乙酸、甘油、氯仿、二硫化碳和苯等,难溶于烃类溶剂;65.3℃以上温度时与水混溶,65.3℃以下时则分层	高毒性,对皮肤、黏膜有强烈腐蚀性,可经皮吸收引起中毒	
邻甲酚	190.9℃	微溶于水,能与乙醇、乙醚、苯、氯仿、乙二醇、甘油等混溶	毒性与甲酚类似	
甲酰胺	210.5℃	与水、醇、乙二醇、丙酮、乙酸、二氧六环、甘油、苯酚混溶,几乎不溶于脂肪烃、芳香烃、醚、卤代烃、氯苯、硝基苯等	对皮肤、黏膜有刺激性	
乙酰胺	221.1℃	溶于水、醇、吡啶、氯仿、甘油、热苯、丁酮、丁醇、苯甲醇,微溶于乙醚	毒性较低	
N-甲基甲酰胺	180~185℃	与苯混溶,溶于水和醇,不溶于醚		为一级易燃液体
N,N-二甲基甲酰胺	153.0℃	与水、醇、醚、酮、不饱和烃、芳香烃等混溶,溶解能力强	低毒	
N,N-二甲基乙酰胺	166.1℃	与水、醚、酯、酮、芳香族化合物混溶,能溶解不饱和脂肪烃	微毒	
N,N-二甲基苯胺	193℃	微溶于水,能随水蒸气挥发,与醇、醚、氯仿、苯等混溶,能溶解多种有机物	可抑制中枢神经系统和心血管系统,经皮吸收引起中毒	
六甲基磷酸三酰胺(HMPA)	233℃	与水混溶,溶于醇、醚、酯、苯、酮、烃、卤代烃等	毒性较大	

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
N-甲基吡咯烷酮	202℃	与水混溶。除低级脂肪烃外,可溶解大多数无机物、有机物、极性气体、高分子化合物	低毒	
硝基甲烷	101.2℃	与醇、醚、四氯化碳、DMF等混溶	有麻醉性、刺激性	
硝基乙烷	114.0℃	与醇、醚、氯仿混溶,能溶解多种树脂和纤维素衍生物	局部刺激性较强	
甲胺	-6.3℃	是多数有机物和无机物的优良溶剂。液态甲胺与水、醚、苯、丙酮、低级醇混溶;其盐酸盐易溶于水,不溶于醇、醚、酮、氯仿、乙酸乙酯	中等毒性	易燃
二甲胺	7.4℃	是有机物和无机物的优良溶剂,溶于水、低级醇、醚、低极性溶剂	有强烈刺激性	
乙二胺	117.2℃	溶于水、乙醇、苯和乙醚,微溶于庚烷	刺激皮肤、眼睛	
三乙胺	89.6℃	微溶于水,溶于乙醇、乙醚等多数有机溶剂	对皮肤、黏膜刺激性强	
吡啶	115.3℃	与水、醇、醚、石油醚、苯、油类混溶,能溶解多种有机物和无机物	低毒,有皮肤、黏膜刺激性。短期暴露后可刺激鼻、咽喉,引起头痛、头昏、烦躁、不易入睡、恶心、呕吐;皮肤接触可引起二度烧伤;与其蒸气或液体接触,可灼伤眼睛;长期暴露可损伤肝、肾、中枢神经	其蒸气与空气混合后可形成爆炸性气体,遇明火、高热可引起燃烧爆炸
吗啉	128.9℃	溶解能力强(超过二氧六环、苯和吡啶),与水混溶,能溶解丙酮、苯、乙醚、甲醇、乙醇、乙二胺、2-己酮、蓖麻油、松节油、松脂等	腐蚀皮肤,刺激眼和结膜,其蒸气能引起肝、肾病变	



续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
喹啉	237.1℃	溶于热水、稀酸、乙醇、乙醚、丙酮、苯、氯仿、二硫化碳等	中等毒性,有皮肤、眼刺激性	
糠醛	161.8℃	与醇、醚、氯仿、丙酮、苯等混溶;可部分溶解低沸点脂肪烃,一般不溶于无机物	有毒,有眼刺激性,能催泪	
液氨	-33.35℃	具特殊溶解能力,能溶解碱金属和碱土金属	剧毒,有腐蚀性	
液态二氧化硫	-10.08℃	能溶解胺、醚、醇、苯酚、有机酸、芳香烃、溴、二硫化碳等,不溶于多数饱和烃	剧毒	
氯化亚砷	76℃	与苯、氯仿、四氯化碳混溶,易水解	具有强烈的窒息性气味	
草酰氯(乙二酰氯)	63~64℃	无色或淡黄色发烟液体,遇潮湿空气产生白烟,遇水、醇剧烈反应	有辛辣刺激性气味,有毒,有腐蚀性	
盐酸			有刺激性气味,有强腐蚀性,能与多种金属反应产生氢气。遇氰化物产生剧毒物质——氰化氢。吸入人体的氯化氢大部分被上呼吸道黏膜所滞留,对局部黏膜有刺激性和灼烧作用,可引起炎性水肿、充血和坏死。盐酸属强酸,可使蛋白质凝固,造成凝固性坏死,其病理变化是局部组织充血、水肿、坏死和溃疡。严重时可引起受损器官穿孔、瘢痕形成、狭窄及畸形	非可燃性液体,可与空气形成爆炸性混合物,用喷水冷却容器有助于防止爆炸、爆裂和减少蒸气
硝酸			易挥发,有刺激性,对皮肤、黏膜有强腐蚀作用	火灾危险性极大,氧化力强,可使许多有机物氧化而焦化

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
硫酸		纯品为无色透明油状液体,无臭,可与水混溶。遇水大量放热,可发生沸溅	中等毒性,具有强腐蚀性。对皮肤、黏膜等组织有刺激和腐蚀作用。可引起结膜炎、眼部水肿、角膜混浊甚至失明;可引起呼吸道刺激症状,重者发生呼吸困难和肺水肿,高浓度可导致声门水肿而死亡。误服后引起消化道烧伤以至形成溃疡,严重者可有胃穿孔、结膜炎、喉痉挛、声门水肿、肾损害、休克等症状。慢性影响有牙齿酸蚀症、慢性支气管炎、肺水肿和肝硬化	可助燃。与易燃物和有机物接触会发生剧烈反应,甚至引起爆炸
磷酸		可与水、乙醇混溶	具有腐蚀性,受热分解可产生剧毒的氧化磷烟气。磷酸蒸气对眼、鼻、喉有刺激性;液体可导致皮肤或眼灼伤。慢性影响:鼻黏膜萎缩,鼻中隔穿孔。长期反复皮肤接触,可引起皮肤刺激	助燃
过氧化氢溶液(双氧水)		极不稳定的液体,略带气味,能与水、乙醇和乙醚以任何比例混合	短期过度吸入、食入或暴露,可严重灼伤眼睛、皮肤、呼吸道、口腔、食管、胃、肠等,出现胃胀甚至破裂、呕吐、内脏出现空洞、角膜溃疡等症状。长期暴露可致癌	
重铬酸钠(橘红色结晶,易潮解)	398℃(熔点)	溶于水,不溶于乙醇	具有较强的腐蚀性。急性中毒:吸入后引起急性呼吸道刺激,并可导致过敏性哮喘。误服可刺激和腐蚀消化道,引起恶心、呕吐、腹泻等,重者出现呼吸困难、发绀、休克、肝损害及急性肾衰竭。慢性影响有接触性皮炎、铬溃疡、鼻炎、鼻中隔穿孔及呼吸道炎症等	本品助燃,具有强氧化性,与还原剂、有机物、易燃物,如硫、磷、金属粉末等混合后可形成爆炸性混合物,摩擦、振动或撞击可引起燃烧或爆炸

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
重铬酸钾(橙红色结晶,有苦金属味)	398℃(熔点)	溶于水	铬对机体的毒性作用与其存在状态、侵入途径和剂量有关。铬盐经呼吸道、消化道皮肤进入体内,可引起鼻出血、声音嘶哑。对皮肤、黏膜有刺激和腐蚀作用,可引起过敏性哮喘和过敏性皮炎;接触高浓度铬盐后,可造成出血、坏死	水溶液呈酸性,为强氧化剂,与可燃物、有机物或其他容易氧化的物质(如纸、木材、硫、塑料、活泼金属粉末等)接触有着火的危险。其粉末可燃,粉末在空气中会爆炸
亚硝酸钠(白色或淡黄色细小结晶,无臭,略有咸味,易潮解)	271℃(熔点)	易潮解,易溶于水,微溶于乙醇、甲醇、乙醚	毒性为麻痹血管、运动中枢及周围血管。急性中毒表现为全身无力、头痛、头晕、恶心、呕吐、腹泻、呼吸困难。严重者血压下降、昏迷甚至死亡。接触时,手、足部皮肤可发生损害	可助燃。暴露在空气中会被氧化而变质。与有机物、还原剂、易燃物等混合后可形成爆炸性气体,急剧加热时可发生爆炸
氢氧化钠(白色固体)	318.4℃(熔点)	从空气中迅速吸收水分的同时,也迅速吸收二氧化碳。可溶于水、乙醇和甘油,溶解时产生大量的热,与酸混合时也能产生大量的热。对蛋白质有溶解作用	腐蚀性强。对皮肤和黏膜有强烈的刺激和腐蚀作用。吸入氢氧化钠的粉尘或烟雾后,可引起化学性上呼吸道感染。皮肤接触可造成灼伤。误食后,有口腔、食管、胃部烧灼痛,并可致腹绞痛、呕吐血性胃内容物、血性腹泻。有时可引起声音嘶哑、吞咽困难、休克、消化道穿孔。后期可发生胃肠道狭窄。氢氧化钠溅入眼内,可引起结膜炎、结膜水肿、结膜和角膜坏死,严重者可致失明	不燃烧,不引起爆炸

续表

溶剂的名称	沸点*	溶解性	毒性	可燃性
二氧化锰(黑白 色或黑棕色晶体 或无定形粉末)	535℃ (熔 点)	不溶于水	吸入大量新生的二氧化 锰烟雾,可发生“金属 烟热”,出现头晕、头 痛、恶心、寒战、高热、咽 痛、咳嗽、气喘等症状。 长期接触,可引起慢性 锰中毒,初期以神经衰 弱综合征和自主神经功 能障碍为主,继续发展 可出现明显的以锥体外 系损害为主的神经体征	可助燃,具有强氧化 性,与易燃物、有机 物接触易着火燃烧, 与过氧化氢发生爆 炸性反应,接触硫化 氢能着火燃烧

注:\* 在固体的时候指熔点

## 第二节 有机合成实验常用仪器

### 1 玻璃仪器

有机化学实验室常用玻璃仪器可分为普通玻璃仪器和磨口玻璃仪器,如图 1-1 所示。

标准接口玻璃仪器是具有标准化磨口或磨口塞的玻璃仪器。由于仪器口塞尺寸的标准  
化、系统化及磨砂密合,凡属于同类规格的接口,均可任意连接,各部件能组装成各种配套仪  
器。不同规格类型的部件无法直接组装时,可通过使用标准转换接头连接。使用标准接口  
玻璃仪器,可以免去配塞子的麻烦,也能防止反应物或产物被软木塞或橡皮塞污染。由于磨



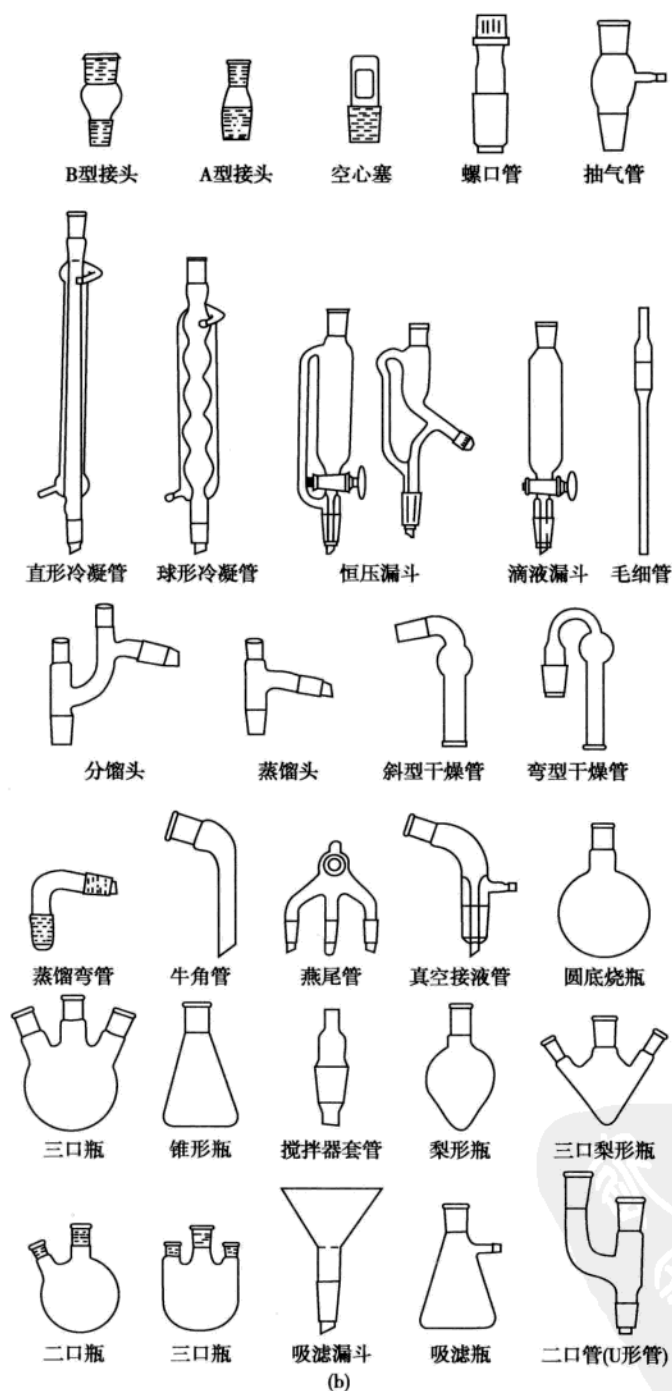


图 1-1 实验室常用玻璃仪器

(a) 常见的普通玻璃仪器; (b) 常见的磨口玻璃仪器

口塞磨砂性能良好,密合性可达到较高真空度,对蒸馏、减压蒸馏及无水条件下的反应有利,可为有毒物或挥发性液体的实验提供一定的安全保障。

标准接口玻璃仪器均按国际通用的技术标准制造,当某个部件损坏时,可以再选购。标准接口玻璃仪器的每个部件在其口塞上或下的显著部位均具有烤印的白色标志,以表明其规格。常用的有 10、12、14、16、19、24、29、34、40 等型号。有的标准接口玻璃仪器上标有两个数字,如 10/30,10 表示磨口大端的直径为 10mm,30 表示磨口的高度为 30mm。

使用标准接口玻璃仪器时,应注意以下几点:

- (1) 磨口塞要经常保持清洁,使用前可用软布揩拭干净,但不能附上棉絮。
- (2) 一般用途的磨口无需涂润滑剂,以免沾污反应物或产物。若反应中有强碱,则应涂润滑剂,以免磨口连接处因碱腐蚀粘牢而无法拆开。减压蒸馏时,磨口应涂真空脂,以免漏气。
- (3) 装配时,把磨口和磨塞轻轻地对旋连接,不要用力过猛。不要装得太紧,达到润滑密闭的要求即可。
- (4) 用后应立即拆卸洗净。否则对接处常会粘牢,造成拆卸困难。
- (5) 装拆时应注意相对的角度,不能在角度有偏差时硬性装拆,以免造成破损。

除试管、烧杯等少数玻璃仪器外,普通玻璃仪器一般都不能直接用火加热。锥形瓶不耐压,不能在减压操作时使用。厚壁玻璃器皿(如抽滤瓶)不耐热,故不能加热。广口容器(如烧杯)中不能贮放易挥发的有机溶剂。带活塞的玻璃器皿用过洗净后,在活塞与磨口间应垫上纸片,以防粘连;如已粘连,可在磨口四周涂上润滑剂或有机溶剂后用电风吹热,或用水煮后再用木块轻敲塞子,使之松开。

此外,不能把温度计当做搅拌棒使用,也不能用来测量超过其刻度范围的温度。温度计用后要缓慢冷却,不可立即用冷水冲洗,以免炸裂。

玻璃仪器上沾染的污物会干扰反应进程,影响反应速度,增加副产物的生成和分离纯化的困难,影响产品的收率和质量,甚至可能遏制反应而得不到产品,所以进行有机合成时必须使用清洁的玻璃仪器。应养成实验用过的玻璃器皿立即洗涤的习惯。洗涤的一般方法是用水、洗衣粉、去污粉刷洗。清洗仪器的刷子是特制的,如瓶刷、烧杯刷、冷凝管刷等,但用腐蚀性洗液时则不用刷子。若难以洗净,则可根据污垢的性质选用适当的洗液进行洗净。如果是酸性污垢,就用碱性洗液洗净,反之亦然;有机污垢也可用适当的有机溶剂洗涤。下面介绍几种常用洗液:①铬酸洗液:这种洗液氧化性很强,对有机污垢的破坏力很强。使用时,倾去器皿内的水,慢慢倒入洗液,转动器皿,使洗液充分浸润不干净的器壁,数分钟后把洗液倒回洗液瓶中,用自来水冲洗器皿。若器壁上粘有少量炭化残渣,可加入少量洗液,浸泡一段时间后在小火上加热,直至冒出气泡,炭化残渣可被除去。当洗液颜色变绿时,则表示已经失效,不能再将其倒回洗液瓶中而应倒入指定容器内。②盐酸:浓盐酸可洗去附着在器壁上的二氧化锰、碳酸盐等污垢。③碱性和合成洗涤剂:配成浓溶液即可,用以洗涤油脂等一些有机物。④有机溶剂洗涤剂:当胶状或焦油状的有机污垢用上述方法不能洗去时,可选用丙酮、乙醚、苯等有机溶剂浸泡,同时应加盖以避免溶剂挥发;用 NaOH 的乙醇溶液亦可。用有机溶剂作洗涤剂时,使用后可回收重复利用。若用于精制或有机分析的器皿,除用上述方法处理外,还必须用去离子水冲洗。

器皿清洁的标志是:加水倒置,水顺着器壁流下,内壁上均匀地附着着一层薄的水膜,且

不挂水珠。

进行有机合成时,经常需要使用干燥的玻璃仪器,故要养成在每次实验后马上把玻璃仪器洗净和倒置,使之晾干的习惯,以便下次实验时使用。干燥玻璃仪器的方法有下列几种:①自然风干:是指把已洗净的玻璃仪器在干燥架上自然风干,这是常用而简单的方法。但必须注意,若玻璃仪器洗得不够干净,水珠不易流下,干燥较为缓慢。②烘干:是指把已洗净的玻璃仪器由上层到下层放入烘箱中烘干。放入烘箱中干燥的玻璃仪器,一般要求不带水珠,器皿口侧放。带有磨砂口玻璃塞的仪器,必须取出活塞,以免因加热而爆裂;玻璃仪器上附带的橡胶制品在放入烘箱前也应取下。烘箱内的温度保持在 $105^{\circ}\text{C}$ 左右,约烘30min。待烘箱内的温度降至室温时才可取出仪器。切不可把温度很高的玻璃仪器取出,以免骤冷使之破裂。当烘箱已工作时,不能在已烘烤仪器的上层放入湿的器皿,以免水滴下落,使热的器皿骤冷而破裂。③吹干:仪器洗涤后需要立即使用时,可采用吹干的方法,即用气流干燥器或电吹风把仪器吹干。首先将水尽量晾干后,加入少量丙酮或乙醇摇洗并倾出,先吹入冷风1~2min,待大部分溶剂挥发后,再吹入热风至完全干燥为止,最后吹入冷风使仪器逐渐冷却。

## 2 金属用具

有机实验中常用的金属用具有:铁架台、铁夹、铁圈、三脚架、水浴锅、镊子、剪刀、三角锉刀、圆锉刀、压塞机、打孔器、煤气灯、不锈钢刮刀和升降台等。

## 3 电学仪器及小型机电设备

### 3.1 电吹风或电热枪

实验室中使用的电吹风应可吹冷风和热风,供干燥玻璃仪器之用。

### 3.2 电加热套(电热帽)

电加热套是玻璃纤维包裹着电热丝织成的帽状加热器,见图1-2。加热和蒸馏易燃有机物时,由于它使用的不是明火,因此具有不易起火的优点,热效率也高。加热温度用调压变压器控制,最高温度可达 $400^{\circ}\text{C}$ 左右,是有机实验中一种简便、安全的加热装置。电加热套的容积一般与烧瓶的容积相匹配,从50ml起,各种规格均有。电加热套主要用作回流加热的热源。用它进行蒸馏或减压蒸馏时,随着蒸馏的进行,瓶内物质逐渐减少,这时使用电加热套加热,会使瓶壁过热,造成蒸馏物被烤焦的现象。若选用大一号的电加热套,在蒸馏过程中,不断降低电加热套的升降台的高度,可减少烤焦现象。

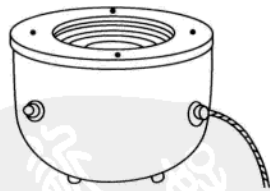


图1-2 电加热套

### 3.3 旋转蒸发器

旋转蒸发器是由马达带动的可旋转的蒸发器(圆底烧瓶)、冷凝器和接收器组成(图1-3)。蒸馏烧瓶是一个带有标准磨口接口的梨形或圆底烧瓶,通过一个高度回流蛇形冷凝管与减压泵相连,回流冷凝管另一开口与带有磨口的接收烧瓶相连,用于接收被蒸发的有机溶剂。旋转蒸发器主要用于在减压条件下连续蒸馏大量易挥发性溶剂,以及对萃取液的浓缩和色谱分离时接收液的蒸馏,可以分离和纯化反应产物。旋转蒸发器的基本原理就是减压蒸馏,即在减压情况下,当溶剂蒸馏时,蒸馏烧瓶连续转动。在冷凝管与减压泵之间有一个

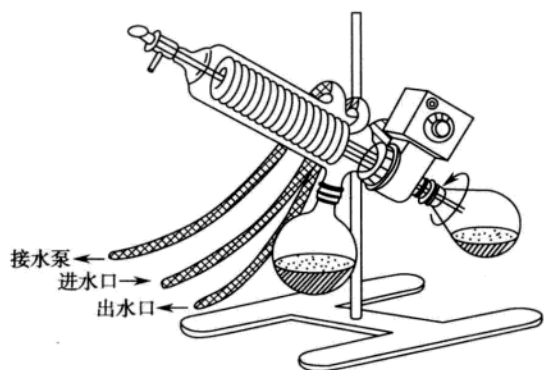


图 1-3 旋转蒸发仪

浓缩溶液、回收溶剂的理想装置。

### 3.4 调压变压器

调压变压器是调节电源电压的一种装置,常用来调节加热电炉的温度和电动搅拌器的转速等。使用时应注意:

(1) 电源应接到注明为输入端的接线柱上,输出端的接线柱与搅拌器或电炉等的导线连接,切勿接错。同时变压器应有良好的接地。

(2) 调节旋钮时应当均匀缓慢,防止因剧烈摩擦而引起火花或使炭刷接触点受损。如炭刷磨损较大时应予以更换。

(3) 不允许长期过载,以防烧毁或缩短仪器使用期限。

(4) 炭刷及绕线组接触表面应保持清洁,经常用软布抹去灰尘。

(5) 使用完毕后应将旋钮调回零位,并切断电源,放在干燥通风处,不得靠近有腐蚀性的物体。

### 3.5 电动搅拌器

电动搅拌器(或小马达连调压变压器)在有机实验中用于搅拌。一般适用于油水等溶液或固-液反应中,不适用于过黏的胶状溶液。若超负荷使用,很容易发热而烧毁。使用时必须接上地线。平时应注意经常保持仪器的清洁干燥,注意防潮、防腐蚀。轴承应经常加油保持润滑。

### 3.6 磁力搅拌器

由一根以玻璃或塑料密封的软铁(称磁棒或磁子)和一个可旋转的磁铁组成。将磁棒或磁子投入盛有欲搅拌的反应物容器中,将容器置于内有旋转磁场的搅拌器托盘上,接通电源,由于内部磁铁旋转,使磁场发生变化,容器内磁棒亦随之旋转,达到搅拌的目的。一般的磁力搅拌器都有控制磁铁转速的旋钮及控制温度的加热装置。

### 3.7 气流干燥仪

使用时,将洗净的玻璃仪器插入带孔的金属杆上。打开加热电源开关和吹风开关,即有热气流通过玻璃器皿中。干燥后,可关闭加热开关,用自然风冷却(图 1-4)。



图 1-4 气流干燥仪

三通活塞,当体系与大气相通时,可以将蒸馏烧瓶、接收烧瓶取下,转移溶剂;当体系与减压泵相通时,则体系处于减压状态。使用时,应先减压,再开动电动机转动蒸馏烧瓶;结束时,应先停机,再通大气,以防蒸馏烧瓶在转动中脱落。作为蒸馏的热源,常配有相应的恒温水槽。可在常压或减压下操作,可一次进料,也可分批蒸发溶液。由于蒸发器的不断旋转,可免加沸石而不会暴沸。蒸发器旋转时,会使料液的蒸发面大大增加,加快蒸发速度。因此,它是



### 3.8 烘箱

烘箱用以干燥玻璃仪器或烘干无腐蚀性、加热时不分解的物品。挥发性易燃物或刚用酒精、丙酮淋洗过的玻璃仪器切勿放入烘箱内,以免发生爆炸。

烘箱使用说明:接上电源后,即可开启加热开关,再将控温旋钮由“0”位顺时针旋至一定程度(视烘箱型号而定),此时烘箱内即开始升温,红色指示灯发亮。若有鼓风机,可开启鼓风机开关,使鼓风机工作。当温度升至工作温度时(由烘箱顶上温度计读数可知),指示灯刚好熄灭。指示灯明灭交替处即为恒温定点。干燥玻璃仪器时应先将仪器沥干,无水滴下时再放入烘箱,升温加热,将温度控制在 $100 \sim 120^{\circ}\text{C}$ 左右。取出烘干后的仪器时,应注意防止烫伤。仪器取出后不能碰水,以防炸裂。取出后的热玻璃器皿,若任其自行冷却,则器壁常会凝上水气。可用电吹风吹入冷风助其冷却,以减少壁上凝聚的水气。

### 3.9 真空泵

根据使用范围和抽气效能可将真空泵分为3类:

(1) 水泵:压强可达 $1.333 \sim 100\text{kPa}$ ( $10 \sim 760\text{mmHg}$ ),为“粗”真空。

(2) 油泵:压强可达 $0.133 \sim 133.3\text{Pa}$ ( $0.001 \sim 1\text{mmHg}$ ),为“次高”真空。

(3) 扩散泵:压强可达 $0.133\text{Pa}$ 以下( $0.001\text{mmHg}$ ),为“高”真空。

在有机化学实验室,常用的减压泵有水泵和油泵两种。若不要求很低的压力时,可用水泵。如果水泵的构造好且水压又高,则抽空效率可达 $1067 \sim 3333\text{Pa}$ ( $8 \sim 25\text{mmHg}$ )。水泵所能抽得的最低压力理论上相当于当时水温下的水蒸气压力。例如水温分别为 $25^{\circ}\text{C}$ 、 $20^{\circ}\text{C}$ 、 $10^{\circ}\text{C}$ 时,水蒸气的压力分别为 $3192\text{Pa}$ 、 $2394\text{Pa}$ 、 $1197\text{Pa}$ ( $8 \sim 25\text{mmHg}$ )。用水泵抽气时,应在水泵前装上安全瓶,以防水压下降,水流倒吸;停止抽气前,应先放气,然后才关水泵。

若需要较低的压力,可用油泵。好的油泵能抽至 $133.3\text{Pa}$ ( $1\text{mmHg}$ )以下。油泵的好坏取决于其机械结构和油的质量。使用油泵时必须加保护装置。如果蒸馏挥发性较大的有机溶剂,有机溶剂会被油吸收,结果会增加蒸气压,从而降低抽空效能。如果是酸性气体,则会腐蚀油泵。如果是水蒸气,则会使油呈乳浊液而抽坏真空泵。因此使用油泵时必须注意下列几点:在蒸馏系统和油泵之间,必须装有吸收装置;蒸馏前必须用水泵彻底抽去系统中的有机溶剂蒸气;如能用水泵抽气的,则尽量用水泵;如蒸馏物质中含有挥发性物质,可先用水泵减压抽气,然后改用油泵;减压系统必须保持密闭不漏气,所有橡皮塞的大小和孔道要合适,要用真空专用的橡皮管。磨口玻璃塞须涂上真空油脂。

### 3.10 机械水泵

一般外形为箱状,箱下半部储水,上半部有压缩机和水泵,将水压入水泵而获得真空,可用于抽“粗”真空,也可提供循环冷却水。长期不使用时,要将储水放干,以防机件锈蚀。

### 3.11 冰箱

用以储存热敏感试剂、药品、中间体、产物等,也可用于小量制冰。有的试剂、药品会散发出腐蚀性气体而损毁冰箱机件;有的会散发出易燃气体,被电火花引燃而造成事故,所以装盛容器必须严格密封后才可放入冰箱。用锥形瓶或平底烧瓶盛装的液体试剂、药品不可放入冰箱,以免在负压下瓶底破裂。瓶上的标签易受冰箱中水气侵蚀而模糊或脱落,在放入冰箱前应以石蜡涂盖等方法处理。

## 4 其他仪器设备

### 4.1 台秤

在有机合成实验室中,常用于称量物体质量的仪器是台秤。台秤的最大称量为 1000g (或 500g),能称准到 1g。若用药物台秤(又称小台秤),则最大称量为 100g,能称准到 0.1g。这些台秤的最大称量虽然不同,但其称量原理是相同的,它们都有一根中间有支点的杠杆,杠杆两边各装有一个秤盘(图 1-5)。左边的秤盘放被称量物体,右边的秤盘放砝码,杠杆支点处连有一根指针,指针后为标尺。指针倾斜则表示两盘质量不等。与杠杆平行,有一根游码尺,尺上有一个可以活动的游码。在称量前,先观察台秤两臂是否平衡,指针是否在标尺中央。如果不在中央,可以调节两端的平衡螺丝,使指针指向标尺的中央,两臂即平衡。

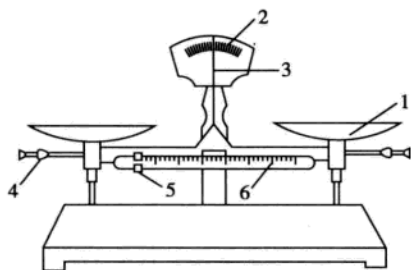


图 1-5 台秤

1. 秤盘;2. 标尺;3. 指针;4. 平衡螺丝;5. 游码;6. 游码尺

称量时,将物体放在左秤盘上,在右秤盘上加砝码,用镊子(不要直接用手)先加大砝码,然后加较小的砝码,加减到 10g(小台秤为 5g)以下的质量时,可以移动游码,直至指针在标尺中央,表示两边质量相等。右秤盘上砝码的克数加上游码在游码尺上所指的克数便是物体的质量。台秤用完后,应将砝码放回盒中,将游码复原至零刻度。台秤应经常保持清洁,所称物体不能直接放在秤盘上,而应放在清洁、干燥的表面皿、硫酸纸或烧杯中进行称量。

### 4.2 电子天平

在进行半微量制备时,因普通台秤的灵敏度不够,可使用电子天平。电子天平根据规格的不同可准确到 0.01 ~ 0.00001g。使用前先调节底脚螺丝使左右平衡。

### 4.3 钢瓶

又称高压气瓶,是一种在加压条件下贮存或运送气体的容器,材质通常为铸钢、低合金钢等。

氢气、氧气、氮气、空气等在钢瓶中呈压缩气体状态,二氧化碳、氨、氯、石油气等在钢瓶中呈液化状态。为了防止各种钢瓶混用,全国统一规定了不同气体所用钢瓶的瓶身、横条以及标字的颜色,以示区别。几种常用钢瓶的标色见表 1-1。

表 1-1 常用钢瓶的标色

气体类别	瓶身颜色	横条颜色	标字颜色
氮气	黑	棕	黄
空气	黑		白
二氧化碳	黑		黄
氧气	天蓝		黑
氢气	深绿	红	红
氯气	草绿	白	白
氨	黄		黑
其他一切可燃气体	红		
其他一切不可燃气体	黑		

使用钢瓶时应注意如下几点：

(1) 钢瓶应放置在阴凉、干燥、远离热源的地方，避免日光直晒。氢气钢瓶应放在与实验室隔开的气瓶房内。实验室中应尽量少放钢瓶。

(2) 搬运钢瓶时要旋上瓶帽，套上橡皮圈，轻拿轻放，防止摔碰或剧烈震动。

(3) 使用钢瓶时，如直立放置应有支架或用铁丝绑住，以免摔倒；如水平放置应垫稳，防止滚动，还应防止油和其他有机物污染钢瓶。

(4) 使用钢瓶时要用减压表，一般可燃性气体（氢、乙炔等）钢瓶气门螺纹是反向的，不燃或助燃性气体（氮、氧等）钢瓶气门螺纹是正向的。各种减压表不得混用。开启气门时应站在减压表的另一侧，以防减压表脱出而被击伤。

(5) 钢瓶中的气体不可用完，应留有 0.5% 表压以上的气体，以防止重新灌气时发生危险。

(6) 使用可燃性气体时一定要防止回火的装置（有的减压表带有此种装置）。在导管中塞细铜丝网或在管路中加液密封可以起保护作用。

(7) 钢瓶应定期进行试压检验（一般钢瓶 3 年检验 1 次）。逾期未经检验或锈蚀严重的钢瓶不得使用，漏气的钢瓶不得使用。

#### 4.4 减压表

减压表由指示钢瓶压力的总压力表、控制压力的减压阀和减压后的分压力表三部分组成。使用时应注意，把减压表与钢瓶连接好后（勿猛拧），将减压表的调压阀旋到最松位置（即关闭状态）。然后打开钢瓶总气阀门，总压力表即显示瓶内气体总压。检查各接头不漏气后，方可缓慢旋紧调压阀门，使气体缓缓送入系统。使用完毕时，应首先关紧钢瓶总阀门，排空系统中的气体，待总压力表与分压力表均指向 0 时，再旋松调压阀门。如钢瓶与减压表连接部分漏气，应加垫圈使之密封，切不能用麻丝等物堵漏，特别是氧气钢瓶及减压表绝对不能涂油。

#### 4.5 气压计

气压计的作用是指示系统内的压力，通常采用水银气压计（图 1-6）。在厚玻璃管内盛水银，管背后装有移动标尺，移动标尺将零刻度调整在接近活塞一侧的玻璃管 A 中的水银平面处，当减压泵工作时，B 管汞柱下降，A 管汞柱上升，两者之差即为系统的压力。使用时必须注意勿使水或赃物侵入气压计内，水银柱中也不得有气泡存在，否则将影响压力测定的准确性。封闭式水银气压计的优点是轻巧方便，但如有残留空气或引入了水或杂质时，则测量准确度将受到影响。这种气压计装入水银时要严格控制不让空气进入。方法是先将纯净汞放入小圆底烧瓶中，然后将与气压计相连的高效油泵抽气至 1.33kPa (10mmHg) 以下，并轻拍小烧瓶，使泵内的气泡逸出，用电吹风微加热玻璃管使气体抽出，然后把水银注入 U 形管，停止抽气，放入大气即可。开口式水银气压计的装汞比较

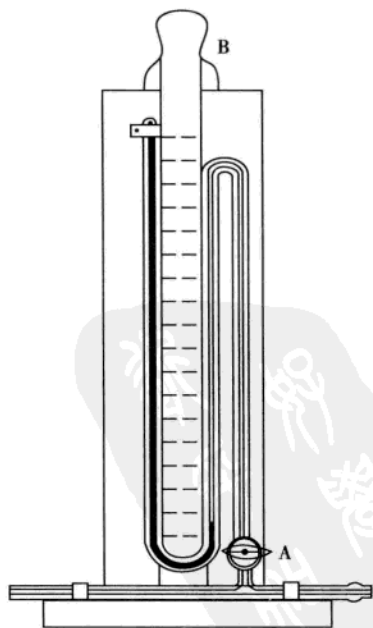


图 1-6 水银气压计

方便、准确,所用玻璃管的高度差要超过 760mm。U 形管两臂汞柱的高度之差即为环境压力与系统中压力之差。

### 第三节 有机溶剂的纯化

大多数有机反应是在由某种溶剂构成的溶液中进行的。通常,有机溶剂的量大约是反应底物的 10 倍以上。溶剂中的不纯物即使量很少,也会引起底物、反应试剂的分解,造成收率低或不反应。因此,有机溶剂的质量有时会对反应结果造成重大的影响,有机溶剂在使用前往往需要进行纯化处理。

#### 1 有机溶剂中的不纯物

溶剂中的不纯物主要有:①溶剂合成原料中的不纯物;②溶剂保存过程中氧化、分解产生的不纯物;③水;④氧气。

新买的分析纯试剂精制时,主要是除去水和氧气。放置过久的试剂中会有大量的过氧化物,必须除去后使用。因此,新试剂开封时,要注明开封的日期。另外,含有大量过氧化物的有机溶剂浓缩或蒸馏时,不要蒸干,以防止爆炸事故的发生。

过氧化物的检查方法:将新配制的 10% KI 溶液用稀硫酸调至酸性,加入 1~2ml 被测溶剂,密封后振摇。如有过氧化物,则能氧化 KI 而产生碘,使溶液呈黄色或褐色。

过氧化物检出后,可用下列方法将其除去:

- (1) 将溶剂用稀硫酸调至酸性后,加入硫酸亚铁水溶液,振摇后水洗。
- (2) 与亚硫酸氢钠溶液混合振摇,然后加入氢氧化钠水溶液,水洗。
- (3) 加入固体氯化亚铜,回流后减压蒸馏。
- (4) 通过活性氧化铝柱。

上述(1)、(2)法,适合于不溶于水的有机溶剂。而过氧化物量不多时,(4)法最适合,同时还可除去水和其他杂质,但不适合大量有机溶剂的处理。另外,氢化铝锂等也能分解过氧化物,但将大量氢化铝锂加入到过氧化物量多的有机溶剂中时,容易发生危险,应严加注意。

#### 2 溶剂的精制级别

根据反应对溶剂的要求不同,可将溶剂精制的程度大致分为 3 级:

(1) 精制度 1 级:是指经普通蒸馏的有机溶剂。可用于重结晶、柱层析、加水分解反应、含水试剂的反应、催化氢化还原反应等。

(2) 精制度 2 级:是指预先干燥后,在隔绝湿气蒸馏后保存在金属钠丝或分子筛中的有机溶剂。可用于缩醛生成反应,酯化、酰化等脱水缩合反应,氯化亚砷的反应,酰氯、酸酐的调制与反应,烯烃的卤代反应,酮、苯位的溴代,硼氢化钠、氰化硼氢化钠的还原反应,PCC、PDC 氧化反应等。

(3) 精制度 3 级:是指加入干燥剂,使用前在氮气或氩气保护下蒸馏的溶剂。可用于格氏试剂反应,亚胺的生成与反应,氢化铝锂及其衍生物的还原反应,由烷基锂、叔丁醇钾、氰化钠诱发的负碳离子反应,有机金属试剂的反应等。

### 3 干燥剂

溶剂或溶液中如有水分,往往需要干燥。常用的干燥剂多是一些无水的无机盐或无机氧化物,它们有的可与水结合成水合物而起干燥作用,如氯化钙、硫酸镁和硫酸钠等;有的与水起化学反应,形成另一种化合物而起干燥作用,如五氧化二磷、氧化钙等,常用干燥剂及性质见表 1-2。

表 1-2 常用干燥剂及性质

干燥剂	干燥原理	说 明
Na	$H_2 + NaOH$	用于醚、饱和烃、芳香烃的干燥。不适合卤代烃、醇、胺、酯、羧酸、醛、酮的干燥
$LiAlH_4$		用于醚类的干燥。可同时除去体系中共存的少量醇、羰基化合物、酸、过氧化物、水。注意反应过于剧烈时易爆炸
$CaH_2$	$H_2 + Ca(OH)_2$	用于醚、烃、卤代烷烃、叔胺、吡啶、DMSO、叔丁醇等的干燥。使用方便,适用范围广,脱水量大
$P_2O_5$	$(HPO_3)_n$	用于醚、烃、卤代烷烃、腈类、酸酐等的干燥。脱水快,脱水力强
3Å、4Å 分子筛	结晶孔封闭水分子等	用于醚、烃、卤代烷烃、丙酮、吡啶、DMSO、DMF 等几乎所有有机溶剂的干燥。适用范围广,脱水力强。需要液体经初步干燥后再用
活性氧化铝	吸附	适用于醚、烃类的干燥。有机溶剂通过活性氧化铝柱,既可脱水,又可除去过氧化物
KOH		适用于有机碱类的干燥
CaO	$Ca(OH)_2$	适用于醇、胺的干燥
$CaSO_4$ (Drierite)	$CaSO_4 \cdot 1/2H_2O$	中性,适用范围广,干燥速度快,干燥力强,但干燥容量小
$MgSO_4$	$MgSO_4 \cdot H_2O$ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	作用快、效率高,为一般良好的干燥剂。 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 在 48℃ 以上失水
$Na_2SO_4$	$Na_2SO_4 \cdot 7H_2O$ $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	价格便宜,脱水量大,作用慢,效率低。为良好的常用初步干燥剂。物理外观为粉状,需将干燥后溶液过滤分离
$CaCl_2$	$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	容量大,适用于醚、烷烃、卤代烃的预备干燥,不适合于醇、胺、酮等的干燥
$K_2CO_3$	$K_2CO_3 \cdot 2H_2O$	脱水量及效率一般。适用于酯、腈、酮、有机碱的预备干燥,但不适用于酸性有机化合物的干燥

干燥剂的选择注意事项:①干燥剂不能与要干燥的溶剂反应。金属钠能与氯仿等卤代烃反应,因此不能用金属钠干燥此类溶剂。②强干燥剂与水等反应剧烈,易产生大量的热及引起着火。含水多的溶剂应先用无水氯化钙等处理后,再用金属钠等强干燥剂进行干燥。③处理使用完毕的干燥剂时,一定要严加小心。使用金属钠、氢化铝锂蒸馏时,一定不能蒸干,使用完毕的金属钠应用甲醇或乙醇处理,一定不要直接加水处理;用五氧化二磷蒸馏时,残渣直接加水处理会放热而产生危险,可加醇分解或自然放置使其吸水分解。④选择干燥

剂时,还应考虑干燥速度和价格等。

溶液干燥度的判断:有几种观察法可判断溶液是否“干燥”。如果溶液是湿的,那么干燥剂通常总是结成团块,而且与瓶壁粘在一起。在一些极端的情况中,甚至可以看到干燥剂已溶解在瓶底形成的水相中。如果溶液是干的,那么干燥剂能在瓶底自由移动。湿的溶液通常呈现混浊;干的溶液则显得澄清透明。

干燥剂的干燥效力可用于干燥容量或干燥完全度衡量。干燥容量是用来表示每单位重量的干燥剂能吸收的水量的术语。干燥完全度指的是干燥剂的干燥效力,即已达到干燥平衡时,一个化合物从溶液中除去的所有水量。

一定量的不同干燥剂,并不全都吸收同样数量的水,它们也不会将溶液干燥到相同的程度。如硫酸钠和硫酸镁均能吸收大量水(高容量),但是硫酸镁能将溶液干燥得更完全。

较常用的干燥剂及其性质已列在表 1-2 中。氯化钙、硫酸钠和硫酸镁能满足一般有机化学实验的基本要求。应注意,以吸附方式与水作用的干燥剂,脱水后在蒸馏前务必将干燥剂过滤或倾注除尽,大多数水合物在 30~40℃ 以上时会失水。当所用干燥剂与水反应并有氢气放出,排放氢气时要采取适当措施以防极易燃的氢气积聚。

一般来说,干燥剂的用量以能将盛有液体的容器底部遮住就足够了。若需要,可再多加一些。

## 4 各类有机溶剂的纯化方法

### 4.1 饱和烷烃、芳香烃

化学性质稳定,几乎所有的干燥剂都能使用。

精制度 2 级:用无水氯化钙预备干燥后蒸馏,除去初馏分(含水共沸物)。蒸馏后加入金属钠保存。

精制度 3 级:按上述方法蒸馏后,加入金属钠,或氢化钙,或五氧化二磷,回流后再蒸馏,蒸馏液加金属钠丝密封保存。

### 4.2 卤代烃

精制度 2 级:用无水氯化钙预备干燥后蒸馏,蒸馏液加分子筛 4Å 保存。

精制度 3 级:加五氧化二磷回流后再蒸馏,蒸馏液加分子筛 4Å 或氢化钙密封保存。氢化钙还能中和氯仿保存过程中分解产生的酸,尤为适用。

注意:卤代烃不能用金属钠干燥。

### 4.3 醚类

精制度 2 级:将醚类试剂 1000ml 通过 100g 活性氧化铝柱后蒸馏即可。1,4-二氧六环在预备干燥后,加金属钠回流数小时后再蒸馏。

精制度 3 级:在二苯甲酮的存在下,加金属钠,使用前蒸馏。

### 4.4 酮类

精制度 2 级:酮类在酸性、碱性条件下都能发生缩合反应,不能使用强干燥剂。可用无水硫酸钙(Drierite)预备干燥后蒸馏,加分子筛 4Å 保存。

### 4.5 醇类

精制度 2 级:甲醇与水不能形成共沸物。小心蒸馏后即可满足酯化反应等的一般需要。

无水甲醇的调制:在装有无水氯化钙干燥管、回流冷凝器的 3L 圆底烧瓶内,加入镁条

15g、新蒸甲醇 180ml。必要时加热,剧烈反应开始、镁条变白后,加入甲醇 2.5L。回流 3h 后蒸馏,注意不要蒸干。

无水乙醇可用同样的方法纯化。但开始时反应较慢,可先用少量无水乙醇诱导反应。

异丙醇以上的醇可与新制氧化钙回流后蒸馏。也可用氢化钙处理蒸馏。保存时可加分子筛 3Å。叔丁醇用氢化钙蒸馏后相当于精制度 3 级。

#### 4.6 酯类

精制度 2 级:用无水碳酸钾干燥后蒸馏。

要除去混有的羧酸,可分别用浓碳酸钾溶液、水溶液洗涤后,用无水碳酸钾干燥。过滤后,加少量五氧化二磷(10g/L)后蒸馏(相当于精制度 3 级)。

#### 4.7 胺类

精制度 2 级:加粒状氢氧化钾干燥数日后蒸馏,最好在氮气流下蒸馏。

精制度 3 级:加粒状氢氧化钾干燥后,加氢化钙或氢化钠,在氮气流下蒸馏。

#### 4.8 DMSO、DMF 和 HMPA

这 3 种溶剂是常用的非质子性溶剂,沸点高,常压下加热蒸馏容易导致分解。可加入氧化钙,在氮气流下减压蒸馏。DMSO: 56 ~ 57°C/0.665kPa (5mmHg); DMF: 58°C/3.325kPa (25mmHg); HMPA: 69°C/0.133kPa (1mmHg)。

一般目的用的 DMF,可用无水碳酸钾干燥后蒸馏。为除去共存的羧酸和胺,可加无水硫酸铜后搅拌数日,倒出蓝绿色上清液,减压蒸馏。

### 5 无水无氧有机溶剂的一般调制法

不同的有机合成反应对有机溶剂无水无氧程度的要求有所不同,图 1-7 所示蒸馏装置常用于无水无氧有机溶剂的调制。

无水无氧有机溶剂一般调制操作法如下:

(1) 关闭三通活塞 A、B,打开三通活塞 C。

(2) 容器 G 内加入预先处理过的有机溶剂(占容器体积的 60% ~ 70%)。

(3) 打开支管 D。

(4) 关闭三通活塞 E 的鼓泡器一侧,让惰性气体自上而下经支管 D 流出,使装置内气体完全被惰性气体置换。

(5) 在(4)的状态和惰性气流下,经 D 加入相应的干燥剂。

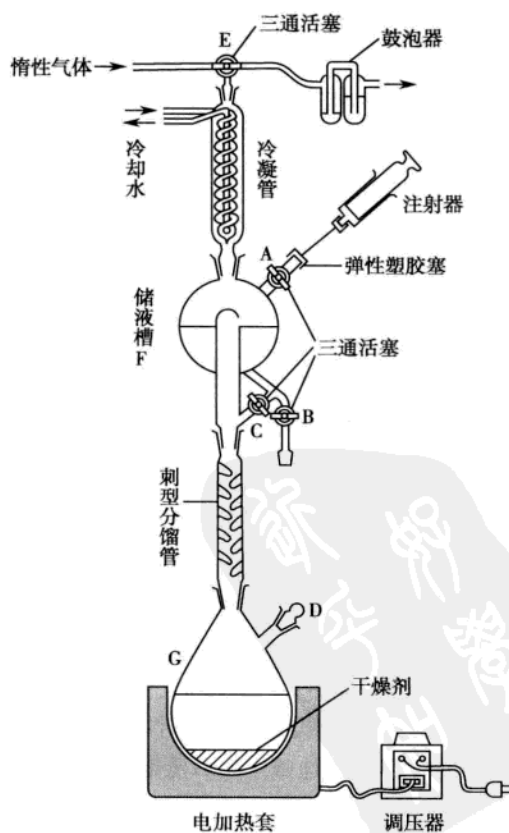


图 1-7 无水无氧有机溶剂调制常用装置

(6) 关闭支管 D, 打开三通活塞 E 使惰性气体向入口、装置、鼓泡器 3 个方向全部开放。

(7) 在惰性气流下回流 30min。

(8) 关闭三通活塞 C, 让馏出液在储液槽 F 中蓄积。

(9) 如果只需要少量溶剂: 打开三通活塞 A, 经弹性塑胶塞, 用注射器量取所需体积。如果需要大量溶剂: 打开三通活塞 B, 将溶剂直接放到容器内。如果需长期(数日或数月)保存: 打开三通活塞 B, 将溶剂放到储液管(图 1-8)内保存。

(10) 关闭加热电源停止回流后, 打开三通活塞 C, 让储液槽 F 内的过量馏出液放到容器 G 内。

从储液管内取出干燥溶剂的方法(图 1-8): ①支管 A 处装上弹性塑胶塞, B 处连接惰性气体源。②全开三通活塞, 打开惰性气体源。③经弹性塑胶塞, 用注射器量取所需体积。④关闭三通活塞和惰性气体源。

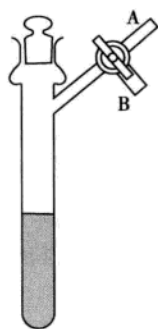


图 1-8 储液管

## 6 无水无氧有机溶剂的低温冷冻脱气法

有时根据合成反应的要求, 按照上述无水无氧有机溶剂的一般调制法调制的溶剂需要进一步除去其中的少量氧气, 这时要采用低温冷冻脱气法。步骤如下:

(1) 减压条件下, 用直火或电吹风、加热枪等将上述带支管的储液管(图 1-8)加热干燥。

(2) 储液管内加入按照上述无水无氧有机溶剂的一般调制法调制的溶剂(不超过容器体积的 50%)。

(3) 支管 A 连接真空泵, B 处连接惰性气体源。

(4) 将储液管浸入液氮浴中, 使溶剂冻结。

(5) 打开三通活塞 A, 关闭 B, 通过真空泵充分脱气。

(6) 关闭三通活塞。

(7) 将储液管从液氮浴中拿出, 用电吹风、加热枪从冻结溶剂的上部加热, 使其溶解。严禁从底部加热, 以防止溶剂因受热膨胀而使容器破裂。

(8) 重复(4)~(7)的操作 3~4 次。

(9) 打开三通活塞 B, 关闭 A, 让惰性气体充满容器。

注意: 用该法调制的高纯度脱气溶剂不能保存使用, 必须用时随时脱气。

## 7 干燥醚类(乙醚、四氢呋喃、二氧六环等)有机溶剂的调制

(1) 在醚类试剂中加入金属钠或氢化钙预备干燥(放置数日)。

(2) 向无水无氧有机溶剂调制常用装置(图 1-7)的 G 瓶内加入预处理的醚类试剂, 使系统内充满惰性气体。

(3) 在惰性气流下, 经 D 加入二苯甲酮(10g/L)和金属钠(5g/L)。

(4) 关闭支管 D, 三通活塞 A、B, 打开三通活塞 E、C, 在惰性气流下回流 30min, 溶液变为蓝紫色。

(5) 以下按“无水无氧有机溶剂一般调制操作法”中的(7)~(10)操作。



注意事项:①当 G 瓶内溶剂余量不多时,经 D 补充预处理过的醚类试剂;②溶液的颜色由蓝变黄前,追加二苯甲酮和金属钠;③上述②的操作可重复数次,在溶液中白黄色~褐色残渣变多前,按下法(含金属钠残液的处理与废弃)处理或废弃残液。

含金属钠残液的处理与废弃:往大容量金属容器内加入甲醇 1~2L,用干冰或液氮调节温度到  $-70^{\circ}\text{C}$  以下。在搅拌下加入含金属钠的残液,注意保持温度不要高于  $-50^{\circ}\text{C}$ ,可加干冰或液氮随时调节。加完后,让其自然恢复到室温,放置数小时后,残液中的金属钠就会完全分解。按常法处理废液。

## 8 乙腈、二氯甲烷的精制

(1) 用一般的蒸馏装置将溶剂简单蒸馏。

(2) 往馏出液中加入五氧化二磷(4g/L)后再蒸馏。馏出液在干燥的试剂瓶中加入干燥的分子筛  $4\text{\AA}$  保存。

(3) 用前将保存液用无水无氧有机溶剂的一般调制装置,以五氧化二磷或氢化钙细粉为干燥剂,进行蒸馏精制。

## 9 无水无氧溶剂的保存

无水无氧溶剂在保存时,不可避免地伴随吸水、氧化和分解,因此最好在使用前精制。需要保存时,应根据合成反应的要求,加入相应的干燥剂(分子筛、氢化钙等),在惰性气体环境下保存。储液瓶应为棕色,放置在阴凉干燥处。

## 10 常用有机溶剂的特殊纯化处理

有些有机溶剂在制备或长期贮存过程中会伴有或产生一些特殊的杂质,需要特别处理。

(1) 丙酮:普通丙酮中常含有少量的水及甲醇、乙醛等还原性杂质。其纯化方法有:

1) 于 250ml 丙酮中加入 2.5g 高锰酸钾回流,若高锰酸钾紫色很快消失,再加入少量高锰酸钾继续回流,至紫色不褪为止。然后将丙酮蒸出,用无水碳酸钾或无水硫酸钙干燥,过滤后蒸馏,收集  $55\sim 56.5^{\circ}\text{C}$  的馏分。用此法纯化丙酮时,须注意丙酮中含还原性物质不能太多,否则会过多消耗高锰酸钾和丙酮,使处理时间增长。

2) 将 700ml 丙酮装入分液漏斗中,先加入硝酸银溶液(4g 溶于 20ml 水中),再加入 20ml 1mol/L 氢氧化钠溶液,振摇 10min,分出丙酮层,再加入无水硫酸钾或无水硫酸钙进行干燥。最后蒸馏收集  $55\sim 56.5^{\circ}\text{C}$  馏分。

(2) 二氧六环:沸点  $101.5^{\circ}\text{C}$ 。二氧六环能与水任意混合,常含有少量二乙醇缩醛与水,久贮的二氧六环可能含有过氧化物。

在 1000ml 二氧六环中加入 14ml 浓盐酸和 100ml 水,回流 6~12h,在回流过程中,慢慢通入氮气以除去生成的乙醛。冷却后,加入固体氢氧化钾,直到不能再溶解为止,分去水层,再用固体氢氧化钾干燥 24h。然后过滤,在金属钠的存在下加热回流 8~12h,最后在金属钠的存在下蒸馏,氮气密封保存。

(3) 石油醚:为轻质石油产品,是低相对分子质量烷烃类的混合物。其沸程为  $30\sim 150^{\circ}\text{C}$ ,收集的温度区间一般为  $30^{\circ}\text{C}$  左右。有  $30\sim 60^{\circ}\text{C}$ 、 $60\sim 90^{\circ}\text{C}$ 、 $90\sim 120^{\circ}\text{C}$  等沸程规格的石油醚。其中含有少量不饱和烃,沸点与烷烃相近,用蒸馏法无法分离。

通常将石油醚用其 1/10 体积的浓硫酸洗涤 2~3 次,再用 10% 硫酸加入高锰酸钾配成的饱和溶液振摇洗涤,直至水层中的紫色不再消失为止。然后再用水洗,经无水氯化钙干燥后蒸馏。若需绝对干燥的石油醚,可加入金属钠丝(与无水乙醚的纯化相同)。

(4) 乙酸乙酯:沸点 77.06℃。乙酸乙酯的一般含量为 95%~98%,含有少量水、乙醇和乙酸。

于 1000ml 乙酸乙酯中加入 85ml 乙酸酐、10 滴浓硫酸,加热回流 4h,除去乙醇和水等杂质,然后进行蒸馏。馏液用 20~30g 无水碳酸钾振荡,再蒸馏。产物沸点为 77℃,纯度可达 99% 以上。

(5) 乙醚:沸点 34.51℃。普通乙醚常含有 2% 的乙醇和 0.5% 的水。久藏的乙醚常含有少量过氧化物。

过氧化物的检验和除去:在干净的试管中加入 2~3 滴浓硫酸,1ml 2% 碘化钾溶液(若碘化钾溶液已被空气氧化,可用稀亚硫酸钠溶液滴到黄色消失)和 1~2 滴淀粉溶液,混合均匀后加入乙醚,出现蓝色即表示有过氧化物存在。除去过氧化物可用新配制的硫酸亚铁稀溶液(60g  $\text{FeSO}_4$  溶于 6ml 浓硫酸和 110ml 水中)。将 100ml 乙醚和 10ml 新配制的硫酸亚铁溶液放在分液漏斗中洗涤数次,至无过氧化物为止。

醇和水的检验和除去:往乙醚中加入少许高锰酸钾粉末和一粒氢氧化钠。放置后,氢氧化钠表面附有棕色树脂,即证明有醇存在。水的存在可用无水硫酸铜检验。

将 100ml 乙醚放在干燥的锥形瓶中,加入 20~25g 无水氯化钙,瓶口用软木塞塞紧,放置一天以上,并间歇摇动,然后蒸馏。蒸馏液中加入钠丝,再进行蒸馏。或按干燥醚类有机溶剂的调制方法处理。

(6) 无水乙醇:沸点 78.5℃。制备无水乙醇的方法很多,根据对无水乙醇质量的要求不同而选择不同的方法。

1) 若要求 98%~99% 的乙醇,可采用下列方法:①利用苯、水和乙醇可形成低共沸混合物的性质,将苯加入乙醇中,进行分馏,在 64.9℃ 时蒸出苯、水、乙醇的三元恒沸混合物,多余的苯在 68.3℃ 时与乙醇形成二元恒沸混合物被蒸出,最后蒸出乙醇。工业多采用此法。②用生石灰脱水。于 100ml 95% 乙醇中加入新鲜的块状生石灰 20g,回流 3~5h,然后进行蒸馏。

2) 若要求 99% 以上的乙醇,可采用下列方法:①在 100ml 99% 乙醇中,加入 7g 金属钠,待反应完毕,再加入 27.5g 邻苯二甲酸二乙酯或 25g 草酸二乙酯,回流 2~3h,然后进行蒸馏。金属钠虽能与乙醇中的水作用,产生氢气和氢氧化钠,但所生成的氢氧化钠又与乙醇发生平衡反应,因此单独使用金属钠不能完全除去乙醇中的水,须加入过量的高沸点酯,如邻苯二甲酸二乙酯可与生成的氢氧化钠作用,抑制上述反应,从而达到进一步脱水的目的。②在 60ml 99% 乙醇中,加入 5g 镁和 0.5g 碘,待镁溶解生成醇镁后,再加入 900ml 99% 乙醇,回流 5h 后,蒸馏,可得到 99.9% 乙醇。

由于乙醇具有非常强的吸湿性,所以在操作时,动作要迅速,尽量减少转移次数以防止空气中的水分进入,同时所用仪器必须事前干燥。

(7) 二硫化碳:沸点 46.25℃。二硫化碳为有毒化合物,能使血液、神经组织中毒,且具有高度的挥发性和易燃性,因此,使用时应避免与其蒸气接触。对二硫化碳纯度要求不高的实验,可在二硫化碳中加入少量无水氯化钙干燥几小时,在水浴 55~65℃ 下加热蒸馏、收集。

如需制备较纯的二硫化碳,可在试剂级的二硫化碳中加入 0.5% 高锰酸钾水溶液洗涤 3 次,除去硫化氢。再用汞不断振荡以除去硫。最后用 2.5% 硫酸汞溶液洗涤,除去所有的硫化氢(洗至没有恶臭为止),再经氯化钙干燥,蒸馏收集。

(8) 氯仿:沸点 61.7℃,折光率 1.4459,相对密度 1.4832。氯仿在日光下易氧化成氯气、氯化氢和光气(剧毒),故氯仿应贮存于棕色瓶中。市场上供应的氯仿多用 1% 的酒精做稳定剂,以消除产生的光气。氯仿中乙醇的检验可用碘仿反应,游离氯化氢的检验可用硝酸银的醇溶液。

除去乙醇可将氯仿用其 1/2 体积的水振摇数次,分离下层的氯仿,用氯化钙干燥 24h,然后蒸馏。

另一种纯化方法是将氯仿与少量浓硫酸一起振动两三次。每 200ml 氯仿用 10ml 浓硫酸,分去酸层以后的氯仿用水洗涤,干燥,然后蒸馏。

除去乙醇后的无水氯仿应保存在棕色瓶中并避光存放,以免光化作用产生光气。

(9) 苯:沸点 80.1℃。普通苯常含有少量水和噻吩,噻吩的沸点为 84℃,与苯接近,不能用蒸馏的方法除去。

噻吩的检验:取 3ml 苯,加入 10ml 溶有 10mg 靛红的浓硫酸,振荡,放置片刻,若酸层呈蓝绿色,即表示有噻吩的存在。

噻吩和水的除去:将苯装入分液漏斗中,加入相当于苯 1/7 体积的浓硫酸,振摇使噻吩磺化,弃去酸液,再加入新的浓硫酸,重复操作几次,直到酸层呈无色或淡黄色,并检验无噻吩为止。将上述无噻吩的苯依次用 10% 碳酸钠溶液和水洗至中性,再用氯化钙干燥,进行蒸馏,收集 80℃ 的馏分,最后在金属钠的存在下蒸馏得无水苯。

(10) 四氢呋喃(THF):沸点 67℃,折光率 1.4050,相对密度 0.8892。四氢呋喃能与水混溶,并常含有少量水分及过氧化物。

如要制备无水四氢呋喃,可用氢化铝锂在隔绝潮气下回流(通常 1000ml 需 2~4g 氢化铝锂),除去其中的水和过氧化物,然后蒸馏,收集 66℃ 的馏分。蒸馏时不要蒸干,往精制后的液体中加入钠丝,并在氮气中保存。

处理四氢呋喃时,应先用小量进行试验,确定其中只有少量水和过氧化物,作用不至于过于激烈时,方可进行纯化。

四氢呋喃中的过氧化物可用酸化的碘化钾溶液来检验。如过氧化物较多,应另行处理。切记所有的醚类溶剂重蒸都不可蒸干。

## 第四节 实验室废弃物的处理

废弃物的排放受到政府颁布的各项法令的制约。特别是化学物质,由于考虑到它会以某种形式危及人们的健康,所以从防止污染环境的立场出发,即使数量甚微,也要避免将其排放到自然水域或大气中去,必须加以适当的处理。

通常,从实验室排出的废液,与工业废液相比在数量上是很少的,但是由于其种类多,加上组成经常变化,因而最好不要把它集中处理,而应由各个实验室根据废弃物的性质分别加以处理。因此,废液的回收及处理自然就需依赖实验室中的每一位工作人员。对此实验员应引起足够重视,必须加深对防止公害的认识,自觉采取措施,防止污染,以免危害自身或者

危及他人。

## 1 收集、贮存时应注意的事项

(1) 当废液中相关物质的浓度超过政府所规定的标准时,必须对其进行处理。

(2) 最好先将废液分别处理,也可将可以统一处理的各种化合物收集后进行处理。

(3) 处理含有络合离子、螯合物的废液时,如果有干扰成分存在,要把含有这些成分的废液另外收集。

(4) 下面所列的废液不能互相混合:①过氧化物与有机物;②氰化物、硫化物、次氯酸盐与酸;③盐酸、氢氟酸等挥发性酸与不挥发性酸;④浓硫酸、磺酸、羟基酸、聚磷酸等酸类与其他酸;⑤铵盐、挥发性胺与碱。

(5) 要选择没有破损及不会被废液腐蚀的容器进行收集。贴上明显的标签,将所收集的废液的成分及含量记录在标签上,并置于安全的地点保存。特别是毒性大的废液,要十分注意。

(6) 对硫醇、胺等有臭味的废液和会散发出氰、磷化氢等有毒气体的废液,以及易燃性大的二硫化碳、乙醚等废液,要应尽快加以适当处理,防止泄漏。

(7) 含有过氧化物、硝酸甘油之类爆炸性物质的废液,要谨慎操作,并应尽快处理。

(8) 含有放射性物质的废弃物,应用专门的方法收集,并严格按照有关的规定,严防泄漏,谨慎地进行处理。

## 2 处理时应注意的事项

(1) 由于废液的组成不同,在处理过程中,往往伴随着有毒气体的产生和发热、爆炸等危险。因此,处理前必须充分了解废液的性质,然后分别加入少量所需添加的药品。同时,必须边观察边操作。

(2) 含有络合离子、螯合物等物质的废液,只加入一种消除药品有时不能将其处理完全。因此,要采取适当的措施,防止一部分还未处理的有害物质直接排放出去。

(3) 对于为了分解氰基而加入次氯酸钠,以致产生游离氯,以及由于用硫化物沉淀法处理废液而生成水溶性硫化物等情况,其处理后的废水往往有害。因此,必须对它们进行再处理。

(4) 黏附有害物质的滤纸、包药纸、棉纸、废活性炭及塑料容器等废物,不要丢入垃圾箱内。要分类收集,加以焚烧或进行其他适当的处理,然后保管好残渣。

(5) 处理废液时,为了节约所用药品,可将废铬酸洗液用于分解有机物,以及将废酸、废碱互相中和。要积极考虑废液的利用。

(6) 尽量利用无害或易于处理的代用品代替铬酸混合液之类会排出有害废液的药品。

(7) 对甲醇、乙醇、丙酮及苯之类用量较大的溶剂,原则上要回收利用,而对其残渣加以处理。

## 3 无机类实验废液的处理方法

### 3.1 含六价铬的废液

Cr(VI)不管是在酸性还是在碱性条件下,总以稳定的铬酸根离子存在。因此,可将 Cr

(VI)还原成Cr(III)后进行中和,使之生成难溶性的Cr(OH)<sub>3</sub>沉淀而将其除去。使用的还原剂有:铁粉、硫酸亚铁、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠等。

操作步骤如下:

(1) 于废液中加入H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,充分搅拌,调整溶液pH至3以下(对铬酸混合液之类的废液已是酸性物质,所以可不必调整pH)。

(2) 边搅拌边分次少量加入NaHSO<sub>3</sub>结晶,至溶液由黄色变成绿色为止。

(3) 除Cr以外还含有其他金属时,在确证Cr(VI)转化后,作含重金属的废液处理。

(4) 废液只含Cr重金属时,加入浓度为5%的NaOH溶液,调节pH至7.5~8.5(注意,pH过高,沉淀会再溶解)。

(5) 放置一夜,将沉淀滤出并妥善保存(如果滤液为黄色,要再次进行还原)。

(6) 对滤液进行全铬检测,确证滤液不含铬后才可排放。

注意事项:①要戴防护眼镜、橡皮手套,在通风橱内进行操作;②把Cr(VI)还原成Cr(III)后,也可以将其与其他的重金属废液一起处理;③铬酸混合液为强酸性,要把它稀释到约1%的浓度后再进行还原,待全部溶液被还原变成绿色,并查明确实不含六价铬后,再按“操作步骤”从(4)开始进行处理。

### 3.2 含氰化物的废液

氰化物为剧毒物品,严禁将含氰化物的废液未经处理而排放。

氰化物包装物和污染物的处理,必须先用水冲洗,冲洗后的水溶液必须全部收集起来,集中处理。废水溶液处理的方法有碱性氯化法、电解氧化法、加压水解法、硫酸亚铁法等,其中以含氯氧化剂将氰基分解为N<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>的方法(碱性氯化法)应用最为普通。

操作步骤如下:

(1) 于废液中加入NaOH溶液,调整pH至10以上。然后加入约10%的NaOCl溶液,搅拌约20min,再加入NaOCl溶液,搅拌后,放置数小时。

(2) 加入5%~10%的H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(或盐酸),调节pH至7.5~8.5,然后放置一昼夜。

(3) 加入Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>溶液,还原剩余的氯(稍微过量时,可用空气氧化。每升含1g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>的溶液1ml,相当于0.55mg Cl)。

(4) 查明废液确实没有CN<sup>-</sup>离子后,才可排放。

(5) 废液含有重金属时,再将其作含重金属的废液加以处理。

注意事项:①因有放出毒性气体的危险,故处理时要慎重。操作时最好在通风橱内进行;②废液要制成碱性溶液,不要在酸性情况下直接放置;③对难分解的氰化物(如Zn、Cu、Cd、Ni、Co、Fe等的氰络合物)以及有机氰化物的废液,必须另行收集处理;④对含有重金属的废液,在分解氰基后,必须进行相应的重金属处理。

备注:除上述处理方法外,还有以下几种方法:电解氧化法(对含氰化物2g/L以上的高浓度废液较为有效,而处理含有Co、Ni、Fe的氰络合物废液则较困难)、普鲁士蓝法(是以生成铁氰化物的形式使之沉淀的方法,此法处理含有大量重金属的废液较为有利,但要彻底处理则较困难)和臭氧氧化法(用Cu、Mn离子加快反应,在pH为11~12的条件下进行反应,即可把废液转变为无害液体)。

对Fe、Ni、Co等含氰络合物,用上述方法难以分解,因而必须采用下列方法进行处理:

①于废液中加入NaOH溶液,调整pH至10以上,接着加入NaOCl溶液,加热2h左右,冷却

后过滤沉淀;②在废液中加入  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 调整 pH 至 3 以下, 加热约 2h, 冷却后过滤沉淀;③用阴离子交换树脂吸附;④对有机氰化物, 分别施行上述无机类废液的处理后, 作为有机类废液处理。对难溶于水的有机氰化物, 用氢氧化钾-酒精溶液使之转变成氰酸盐, 然后再进行处理。

### 3.3 含镉及铅的废液

(1) 含镉废液的处理常采用氢氧化物沉淀法, 使其生成氢氧化镉沉淀。操作步骤如下:

- 1) 在废液中加入  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , 调节 pH 至 10.6 ~ 11.2, 充分搅拌后即放置。
- 2) 先过滤上层澄清液, 然后才过滤沉淀, 保管好沉淀物。
- 3) 检查滤液中确实不存在  $\text{Cd}^{2+}$  离子时, 将滤液中和后即可排放。

(2) 含铅废液的处理也采用氢氧化物沉淀法, 使其生成氢氧化铅沉淀, 然后使其与凝聚剂共沉淀而分离。首先把废液的 pH 调整到 11 以上, 使之生成  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ 。然后加入凝聚剂, 继而将 pH 降到 7 ~ 8 范围内, 即产生  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  沉淀。但如果 pH 在 11 以上, 则生成  $\text{HPbO}_2^-$ , 而使沉淀再溶解。操作步骤如下:

- 1) 在废液中加入  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , 调整 pH 至 11。
- 2) 加入  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (凝聚剂), 用  $\text{H}_2\text{SO}_4$  慢慢调节 pH, 使其降至 7 ~ 8。
- 3) 将溶液放置, 待其充分澄清后即过滤。检查滤液不含  $\text{Pb}^{2+}$  后, 即可排放。

注意事项:①含两种以上重金属时, 由于处理的最适宜 pH 各不相同, 因而, 对处理后的废液必须加以注意;②含大量有机物或氰化物的废液, 以及含有络合离子时, 必须预先将其分解除去(参照含有重金属的有机类废液的处理方法)。

备注:①除上述处理方法外, 还有硫化物沉淀法(其生成的硫化物溶解度较小, 但因形成胶体微粒而难以分离)、碳酸盐沉淀法(生成的沉淀微粒细小, 分离困难)和吸附法(使用强酸性阳离子交换树脂, 几乎能把它们完全除去);②也可以用  $\text{NaOH}$ , 但是由于生成微粒状沉淀而难以过滤, 故用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  较好。

### 3.4 含汞的废液

• 硫化物共沉淀法: 用  $\text{Na}_2\text{S}$  或  $\text{NaHS}$  把  $\text{Hg}^{2+}$  转变为难溶于水的  $\text{HgS}$ , 然后使其与  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  共沉淀而分离除去。如果使其 pH 在 10 以上进行反应,  $\text{HgS}$  即变成胶体状态。此时, 即使用滤纸过滤, 也难将其彻底清除。如果添加的  $\text{Na}_2\text{S}$  过量, 则生成  $[\text{HgS}_2]^{2-}$  而易使沉淀溶解。

操作步骤如下:

- (1) 于废液中加入相当于  $\text{FeSO}_4$  (浓度为百万分之十) 及  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的 1:1 当量的  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , 充分搅拌, 并使废液的 pH 保持在 6 ~ 8 范围内。
- (2) 上述溶液经放置后, 过滤沉淀并妥善保管好滤渣(用此法处理, 可使  $\text{Hg}^{2+}$  浓度降到百万分之零点零五以下)。
- (3) 再用活性炭吸附法或离子交换树脂法等, 进一步处理滤液。
- (4) 在处理后的废液中, 确证检不出  $\text{Hg}^{2+}$  后方可排放。

活性炭吸附法: 先稀释废液, 使  $\text{Hg}^{2+}$  浓度在百万分之一以下。然后加入  $\text{NaCl}$ , 再调整 pH 至 6 附近, 加入过量的活性炭, 搅拌约 2h, 然后过滤, 保管好滤渣。此法也可以直接除去有机汞。

- 离子交换树脂法: 于含汞废液中加入  $\text{NaCl}$ , 使之生成  $[\text{HgCl}_4]^{2-}$  络合离子而被阴离子

交换树脂所吸附。由于汞的形态不同,有时此法效果不够理想。并且当有有机溶剂存在时,此法也不适用。

注意事项:①废液毒性大,经微生物等的作用后,会变成毒性更大的有机汞。因此,必须做到充分安全的处理;②含烷基汞之类的有机汞废液,要先将其分解转变为无机汞,然后再进行处理(参照有机汞的处理方法);③不能含有金属汞。

含有机汞的废液:含烷基汞之类的废液,毒性特别大,处理时必须十分注意。处理时常采用氧化分解法,先将有机汞转变成无机汞,然后再进行处理。操作步骤:在 500ml 废液(含汞 0.025mg 以下)中,加入浓硝酸 60ml 及 6% 的  $\text{KMnO}_4$  水溶液 20ml,加热回流 2h。待  $\text{KMnO}_4$  溶液的颜色消失时,把温度降到 60℃ 以下,然后加入 2ml  $\text{KMnO}_4$  溶液,再加热溶液。

除上述处理方法外,还有用  $\text{NaOCl}$  和  $\text{NaOH}$  或  $\text{KMnO}_4$  和  $\text{H}_2\text{SO}_4$  进行氧化,以及用活性炭吸附等方法。

### 3.5 含重金属的废液

#### (1) 氢氧化物共沉淀法

1) 操作步骤:①在废液中加入  $\text{FeCl}_3$  或  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,并加以充分搅拌;②将  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  制成石灰乳,然后加入上述废液中,调整 pH 至 9~11(如果 pH 过高,沉淀会再溶解);③溶液经放置后,过滤沉淀物。检查滤液确实不含重金属离子后,方可将其中和排放。

2) 备注:①如果含有螯合物,往往不产生沉淀。但是,本法可以除去少量的螯合物;②按照本法处理,可使  $\text{Ca}$ 、 $\text{Zn}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Ni}$ 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 、 $\text{As}$ 、 $\text{Sb}$ 、 $\text{Al}$ 、 $\text{Co}$ 、 $\text{Ag}$ 、 $\text{Sn}$ 、 $\text{Bi}$  及其他重金属生成氢氧化物沉淀而被除去;③共沉淀剂也可以用  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  或  $\text{ZnCl}_2$  等;④因在强碱性下,两性金属的沉淀会发生溶解,故要注意其最适宜的 pH(两性金属沉淀溶解的 pH 为:  $\text{Al}^{3+}$  为 8.5;  $\text{Cr}^{3+}$  为 9.2;  $\text{Sn}^{2+}$  为 10.6;  $\text{Zn}^{2+}$  > 11;  $\text{Pb}^{2+}$  > 11。但是,用共沉淀法处理时,由于产生沉淀的 pH 范围相当广,因而在 pH 为 9~11 的条件下,全都能完全沉淀);⑤中和剂与其用  $\text{NaOH}$ ,不如用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 。因  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  可防止两性金属的沉淀再溶解,且其沉降性能也较好;⑥如果以碳酸钠为中和剂,还可使  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$  等离子生成难溶性的碳酸盐而被除去(pH 为 10~11)。

#### (2) 硫化物共沉淀法

1) 操作步骤:①废液中重金属的浓度要用水稀释至 1% 以下;②加入  $\text{Na}_2\text{S}$  或  $\text{NaHS}$  溶液,并充分搅拌;③加入  $\text{NaOH}$  溶液,调整 pH 至 9.0~9.5;④加入  $\text{FeCl}_3$  溶液,调节 pH 至 8.0 以上,然后放置一夜;⑤用倾析法过滤沉淀,检查滤液确实不含重金属;⑥再检查滤液有无  $\text{S}^{2-}$  离子。如果含有  $\text{S}^{2-}$  离子,用  $\text{H}_2\text{O}_2$  将其氧化,中和后即可排放。

2) 备注:除上述处理方法外,还有碳酸盐法(可用含碳酸钠的碱灰浆)、离子交换树脂法及吸附法(用活性炭)等。

(3) 含重金属的有机类废液:先将妨碍处理重金属的有机物质,用氧化、吸附等适当的处理方法除去。然后再将废液作无机类废液处理。

1) 焚烧法:将含大量有机溶剂的废液及有机物的溶液,进行焚烧处理,保管好残渣。

2) 氧化分解法:参照含有机汞废液的处理方法。

3) 活性炭吸附法:调整 pH 至 5 左右,加入活性炭粉末,经常加以搅拌,2~3h 后进行过滤(此法适用于处理稀溶液)。

#### (4) 注意事项



1) 对含有机物、络合离子及螯合物量大的废液,要先把它们分解除去(参照含重金属的有机类废液的处理方法)。

2) 含 Cr(Ⅲ)、CN 等物质时,也要预先进行处理。

3) 废液中含有两种以上重金属时,因处理的最适宜 pH 各不相同,必须加以注意。

4) 把重金属离子转变成难溶于水的氢氧化物或硫化物等盐类,然后进行共沉淀而将其除去。

### 3.6 含钡的废液

在废液中加入  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  溶液,过滤生成沉淀后,即可排放。

### 3.7 含氧化剂、还原剂的废液

原则上应将含氧化剂、还原剂的废液分别收集。但当它们混合后没有危险性时,也可以将其收集在一起。含铬酸盐时可作为含 Cr(Ⅵ)的废液处理。含重金属物质时,可作为含重金属的废液处理。不含有害物质且其浓度在 1% 以下的废液,中和后即可排放。

操作步骤如下:

(1) 查明各氧化剂和还原剂,如果将其混合也没有危险时,即可一边搅拌,一边将其中一种废液分次少量加入另一种废液中,使之反应,生成反应液。

(2) 取出少量反应液,将其调成酸性,用碘化钾-淀粉试纸进行检验。

(3) 试纸变蓝时(氧化剂过量):调整 pH 至 3,加入  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ (用  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、 $\text{FeSO}_4$  也可以)溶液,至试纸不变颜色为止。充分搅拌,然后放置一夜。

(4) 试纸不变色时(还原剂过量):调整 pH 至 3,加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  使试纸刚刚变色为止。然后加入少量  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,放置一夜。

(5) 不管是上述哪一种情况,都要用碱将废液中和至 pH 为 7,并使其含盐浓度在 5% 以下,才可排放。

### 3.8 含酸、碱、盐类物质的废液

(1) 一般操作步骤

1) 当将酸、碱废液互相混合也没有危险时,可分次少量将其中一种废液加入另一种废液中,生成反应液。

2) 用 pH 试纸(或 pH 计)检验,直至反应液的 pH 约等于 7。

3) 用水稀释,使溶液浓度降到 5% 以下,即可排放。

(2) 注意事项

1) 原则上应将酸、碱、盐类废液分别收集。但如果没有妨碍,可将其互相中和,或用其处理其他的废液。

2) 对含重金属及含氟的废液,要另外收集处理。

3) 对含有黄磷、磷化氢、卤氧化磷、卤化磷、硫化磷等废液,在碱性情况下,用  $\text{H}_2\text{O}_2$  将其氧化后,可作为磷酸盐废液处理。对缩聚磷酸盐的废液,可用硫酸酸化,然后将其煮沸 2~3h 进行水解处理。

4) 对其稀溶液,用大量水将其稀释到 1% 以下的浓度后,即可排放。

(3) 含酸、碱、盐类物质的特殊废液处理

1) 将含  $\text{AlBr}_3$ 、 $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{ClSO}_3\text{H}$ 、 $\text{SnCl}_4$  及  $\text{TiCl}_4$  等无机类卤化物的废液,放入大号蒸发皿中,撒上高岭土-碳酸钠(1:1)干燥混合物。



2) 充分混合后,喷洒 1:1 的氨水,至没有  $\text{NH}_4\text{Cl}$  白烟放出为止。

3) 将其中和后放置,过滤沉淀物。检查滤液中是否有重金属离子。若无,则用大量水稀释后,即可排放。

## 4 有机类实验废液的处理方法

### 4.1 焚烧法

(1) 将可燃性物质的废液,置于燃烧炉中燃烧。如果数量很少,可把它装入铁制或瓷制容器中,选择室外安全的地方燃烧。点火时,取一长棒,在其一端扎上沾有油类的碎布或木片等,站在上风向进行点火燃烧。必须监视至烧完为止。

(2) 对难以燃烧的物质,可把它与可燃性物质混合后燃烧,或者把它喷入配备有助燃器的焚烧炉中燃烧。对多氯联苯之类难燃烧的物质,燃烧后往往会排出一部分还未焚烧的物质,要加以注意。对含水的高浓度有机类废液,亦能用此法进行焚烧。

(3) 对可因燃烧而产生  $\text{NO}_2$ 、 $\text{SO}_2$  或  $\text{HCl}$  之类有害气体的废液,必须用配备有洗涤器的焚烧炉燃烧。操作时,必须用碱液洗涤燃烧废气,除去其中的有害气体。

(4) 对固体物质,亦可将其溶解于可燃性溶剂中,然后进行燃烧。

### 4.2 溶剂萃取法

(1) 对含水的低浓度废液,用与水不相混合的正己烷等挥发性溶剂进行萃取,分离出溶剂层后,进行焚烧。再用吹入空气的方法,将水层中的溶剂吹出。

(2) 对可形成乳浊液的废液,不能用此法处理,而要用焚烧法处理。

### 4.3 吸附法

用活性炭、硅藻土、矾土、层片状织物、聚丙烯、聚酯片、氨基甲酸乙酯泡沫塑料、稻草屑及锯末等能良好吸附溶剂的物质,在充分吸附废液后,与吸附剂一起焚烧。

### 4.4 氧化分解法(参照含重金属有机类废液的处理方法)

在含水的低浓度有机类废液中,对易氧化分解的废液,可用  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{KMnO}_4$ 、 $\text{NaOCl}$ 、 $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$ 、 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ 、 $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$  及废铬酸混合液等,将其氧化分解。然后,按上述无机类实验废液的处理方法加以处理。

### 4.5 水解法

对有机酸或无机酸的酯类,以及一部分有机磷化合物等容易发生水解的物质,可加入  $\text{NaOH}$  或  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,在室温或加热的条件下进行水解。水解后,若废液无毒害,在对其进行中和、稀释操作后,即可排放;若废液含有有害物质,则应用吸附法等适当的方法加以处理。

## 附: 各类有机实验废液及其处理注意事项

(1) 含一般有机溶剂的废液:一般有机溶剂是指醇类、酯类、有机酸、酮及醚等由 C、H、O 元素构成的物质。对此类废液中的可燃性物质,用焚烧法处理。对难燃烧的物质及低浓度可燃性物质的废液,则用溶剂萃取法、吸附法及氧化分解法处理。当废液中含有重金属时,要保管好焚烧残渣。但是,对易通过微生物的作用而分解的物质,其稀溶液经水稀释后,即可排放。

注意事项:

1) 尽量回收溶剂,在对实验没有妨碍的情况下,反复利用。

2) 为了方便处理,其收集分类往往分为:①可燃性物质;②难燃性物质;③含水废液;④固体物质等。

3) 可溶于水的物质,容易转变为水溶液而流失。因此,回收时要加以注意。但是,甲醇、乙醇及醋酸类溶剂,能被细菌作用而易于分解。故对这类溶剂的稀溶液,经用大量水稀释后,即可排放。

4) 含重金属等的废液,将其中的有机物分解后,作为无机类废液进行处理。

(2) 含石油、动植物性油脂的废液:此类废液包括苯、己烷、二甲苯、甲苯、煤油、轻油、重油、润滑油、切削油、机油、动植物性油脂及液体和固体脂肪酸等物质。对其中的可燃性成分,用焚烧法处理。对其中难燃烧的成分及低浓度的废液,则用溶剂萃取法或吸附法处理。对含机油等物质的废液,在含有重金属时,要保管好焚烧残渣。

(3) 含 N、S 及卤素类的有机废液:此类废液常包含:吡啶、喹啉、甲基吡啶、氨基酸、酰胺、二甲基甲酰胺、二硫化碳、硫醇、烷基硫、硫脲、硫酰胺、噻吩、二甲亚砷、氯仿、四氯化碳、氯乙烯类、氯苯类、酰卤化物,以及含 N、S、卤素的染料、农药、颜料及其中间体等。

对其可燃性物质,用焚烧法处理,但必须采取措施除去由燃烧产生的有害气体(如  $\text{SO}_2$ 、 $\text{HCl}$ 、 $\text{NO}_2$  等)。对多氯联苯之类的物质,因难以燃烧而有一部分被直接排出,要加以注意。对难燃烧的物质及低浓度的废液,用溶剂萃取法、吸附法及水解法进行处理。对氨基酸等易被微生物分解的物质,经水稀释后,即可排放。

(4) 含酚类物质的废液:此类废液常含有苯酚、甲酚、萘酚等物质。对浓度大的可燃性物质,可用焚烧法处理。而浓度低的废液,则用吸附法、溶剂萃取法或氧化分解法处理。

(5) 含有酸、碱、氧化剂、还原剂及无机盐类的有机类废液:此类废液常含有硫酸、盐酸、硝酸等酸类和氢氧化钠、碳酸钠、氨等碱类,以及含有过氧化氢、过氧化物等氧化剂与硫化物、联氨等还原剂的有机类废液。

首先,按无机类废液的处理方法,分别加以中和。若有机类物质浓度大,则可用焚烧法处理(保管好残渣)。若能分离出有机层和水层,则可将有机层焚烧;对水层或其浓度低的废液可用吸附法、溶剂萃取法或氧化分解法进行处理。对易被微生物分解的物质,用水稀释后,即可排放。

(6) 含有机磷的废液:此类废液常含磷酸、亚磷酸、硫代磷酸、磷酸酯类、磷化氢类以及磷系农药等物质。

浓度高的废液可进行焚烧处理(因含难以燃烧的物质较多,故可与可燃性物质混合进行焚烧)。对浓度低的废液,经水解或溶剂萃取后,用吸附法进行处理。

(7) 含有天然及合成高分子化合物的废液:此类废液常含有聚乙烯、聚乙烯醇、聚苯乙烯、聚二醇等高分子合成化合物,以及蛋白质、木质素、纤维素、淀粉、橡胶等天然高分子化合物。

对含有可燃性物质的废液,用焚烧法处理。对难以焚烧的物质及含水的低浓度废液,经浓缩后,将其焚烧。对蛋白质、淀粉等易被微生物分解的物质,其稀溶液不经处理即可排放。

## 第五节 有机合成实验记录

实验记录是科学研究最重要的环节之一。对有机合成而言,完整收集和记录的数据、反应现象和结果对于科学研究的成功不但有很大的帮助,而且这些实验记录还是论文发表、专

利申请最可靠和原始的资料。实验记录的另一重要目的是为他人提供参考,使他人能在你的实验条件下重复实验,观察到同一现象,得到同样的结果。因此,实验员除应具备良好的实验技术、掌握合理的操作方法外,还必须具备完整、真实地做好实验记录的本领。

## 1 记录本的组织

(1) 实验室应使用统一的实验记录本。记录本的封面应记录研究方向或研究题目、实验者姓名、实验记录本序列号、开始实验日期和终止日期。

(2) 有目录或索引。

(3) 依次记录,不可撕掉任何一页。

(4) 每个实验新起一页,不可空页、跳行记录。

(5) 划去每页的空白部分。

(6) 页底签名,必要时加审核者签名及日期。

(7) 记录时直接在本上用不褪色的黑色墨水笔书写,不可涂改。如有笔误,用单线划去并附脚注。

## 2 记录内容

实验时,必须把反应实施的经过、反应细节等详细地记录在记录本上,具体记录内容如下:

(1) 实验标题与实验日期。

(2) 反应式,各试剂的用量(质量、体积、密度等),摩尔数,当量数,试剂来源厂家、批号、CAS号、纯度、物性参数(熔点、沸点、旋光度等)。

(3) 注意有效数字的取舍。

(4) 标出特殊条件(如玻璃仪器干燥细节,无水无氧或避光操作等)。

(5) 引用的文献或已进行的实验。

(6) 记录所有操作细节(时间、温度和加料方式等)。

(7) 记录所有的现象(颜色变化、有无沉淀生成和气体放出等)。

(8) 记录、复印 TLC、GC、HPLC 数据。

(9) 记录实验后处理工序(萃取用溶剂及用量、洗涤液及体积、干燥剂以及蒸馏的时间、压力、温度等)。

(10) 详细记录纯化步骤(重结晶:溶剂、体积、温度、是否用活性炭处理及收率;蒸馏:所用玻璃仪器、真空度、蒸馏头温度、内温、浴温、每种馏分质量;柱层析:洗脱液组成、硅胶量、各组分量和  $R_f$  值等)。

(11) 计算收率。纯化样品用所在记录本页数编号,其相应数据如谱图等也以此标号注明归档。

(12) 总结:实验结果及解释说明,提出可改进的建议等。

(13) 附图谱:NMR、IR、MASS,在图谱上注明结构式、化合物名称、编号等。GC、HPLC 等色谱图应注明柱子型号、长度、测定温度、压力和流速等。对手性化合物,还要测定其旋光度,附上外消旋样品的分离色谱对照图等。

(14) 签名。

总之,在实验过程中要做到操作认真、观察仔细、积极思考。应该强调的是,实验过程的记录要清楚,有重现性,而且必须在实验过程中记录,而不要根据记忆记录。在实验操作完成后,要对实验进行总结,讨论观察到的现象,分析出现的问题,整理归纳实验数据等。

### 参 考 文 献

1. 后藤俊夫,芝哲夫,松浦辉男. 有机化学实验のてびき. 化学同人,2000.
2. Brian S. Furnis, et al. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. 5<sup>th</sup> ed. Longman Group UK Limited. 1989.



## 第二章

# 有机化合物合成技术与基本操作

有机合成是一门艺术。合成工作者不但要掌握目标化合物的设计与相关合成反应的知识,还要根据不同的化学反应,选择与装配相应的实验装置,使反应最有效地进行。本章将介绍实验室内有机合成的基本技术。

### 第一节 搅 拌

化学反应时,为了使反应物分子之间充分接触,使反应系均一,通常要进行连续搅拌。如非均相反应或反应物之一需逐渐滴加时,搅拌可使反应系迅速均匀地混合,可以避免因局部过浓过热而导致其他副反应的发生或有机物的分解;当反应产物是固体时,如不搅拌将影响反应顺利进行。在许多合成实验中若使用搅拌装置不但可以较好地控制反应温度,同时也能缩短反应时间并提高产率。常用的搅拌仪器有电磁搅拌仪和电动搅拌仪。

电磁搅拌仪通常用于 500ml 以下的反应,非常适合密封式反应。搅拌磁子多种多样,应根据容器的形状和大小选择适当的磁子。平底反应器皿一般使用棒状磁子;圆底烧瓶用椭圆形或断面为八角形的磁子。调节搅拌速度时应由慢到快,以防止因搅拌速度过快导致磁子跳起而损坏玻璃器皿。

电动搅拌仪通常用于大体积反应、固-液反应和黏度较大的反应。机械搅拌系统由支架、电动机、调速变压器、搅拌棒组成。搅拌强度是通过调节调速变压器的电压来实现的。搅拌棒与电动机的转轴连在一起,要求搅拌棒必须与电动机的转轴同心,转动灵活,以减少搅拌棒转动时的摆动。在启动搅拌系统前,首先要将调速旋钮调至最小,然后才可打开电源开关。启动后,缓慢加快搅拌速度至合适的速度。在搅拌过程中要随时注意搅拌棒的转动情况,防止搅拌棒因转速过高而震断或从电动机上脱落。用毕,必须将调速旋钮调至最小。

电动搅拌仪所用的搅拌棒通常由玻璃、不锈钢棒或聚四氟乙烯等耐腐蚀材料制成的,式样很多,常用的见图 2-1。

图 2-1 中,(a)和(b)搅拌棒可由玻璃棒简单制成;(c)和(d)搅拌棒具有灵活的搅拌头,可插入到窄口反应瓶中使用;(e)为不锈钢浆式搅拌棒,适用于两相不混溶的体系,其优点是搅拌平稳,搅拌效果好;(f)为玻璃搅拌棒,棒下端为玻璃圆环,圆环上连接着由镍铬合金、钛合金等金属线编成的小圆环,特别适合搅拌固体易于黏附到瓶壁上的反应。

在进行密封反应时,应采用相关的防漏气措施,采用密封装置(图 2-2)。

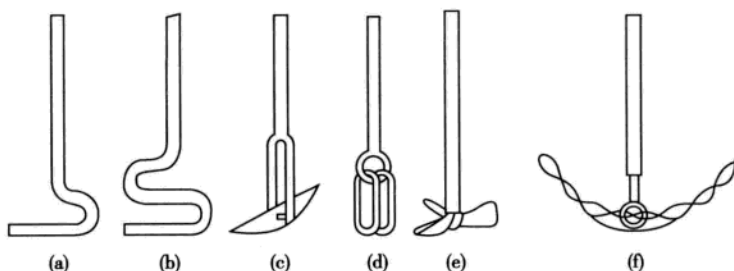


图 2-1 电动搅拌棒

图 2-2 中, (a) 为简易密封装置。外管是内径比搅拌棒略粗的玻璃管, 上接标准磨口, 取一段长约 2cm, 内径必须与搅拌棒粗细适合、弹性较好的橡皮管套于玻璃管上端, 然后自玻璃管下端插入搅拌棒, 使固定在玻璃管上端的橡皮管与搅拌棒紧密接触, 从而达到密封的效果。在搅拌棒和橡皮管之间滴加少量甘油, 可对搅拌棒起润滑和密封作用。这种简易密封装置在减压 (1.3 ~ 1.6kPa) 时也可使用。(b) 和 (c) 为液体密封装置, 常用的密封液体是水、液状石蜡、甘油或汞, 但由于汞蒸气有毒, 所以尽量不用汞。

搅拌仪的轴头和搅拌棒之间可通过两节真空橡皮管与短玻璃棒连接, 这样搅拌仪的导管不至于磨损或折断 (图 2-3)。

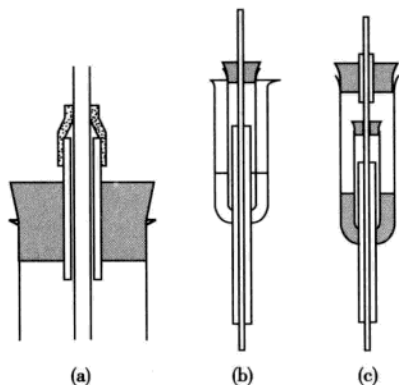


图 2-2 常见密封装置

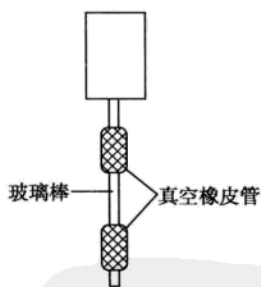


图 2-3 电动搅拌棒的连接

振荡是一种特殊的搅拌方式。固相肽合成时经常使用点接触式振荡器。多种样品在同一条件下反应时 (如恒温), 也经常使用振荡器。

超声波振荡也是一种特殊的搅拌方式。除了反应搅拌外, 超声波振荡器常用来清洗玻璃仪器。

## 第二节 加热回流反应

发生有机反应时, 一般情况下升高温度会使反应速度加快。大体上温度每升高  $10^{\circ}\text{C}$ , 反应速度就要增加一倍。因此, 为了增加反应速度, 往往需要在加热下进行反应。

此外,有机化学实验的许多基本操作都要加热。加热是实验室发生火灾和爆炸最危险的操作之一。应根据加热的目的,选择适当的加热方法。加热时,应注意容器不要密封,以防止爆炸。加热液体的体积也不要超过容器体积的 $2/3$ 。加热沸点在 $100^{\circ}\text{C}$ 以下的物质时不要使用直火,而应用水浴或电热板。加热易燃性物质时应安装回流冷凝器。如果要加热到物质的沸点,加热前要加入沸石,以防止暴沸。加热黏度大的物质时,应注意搅拌。

化学实验室中常用的热源有煤气灯、酒精灯和电加热仪器等。必须注意的是,玻璃仪器一般不能用火焰直接加热,因为剧烈的温度变化和加热不均匀会造成玻璃仪器的损坏;同时由于局部过热,还可能引起有机化合物的部分分解。为了避免直接加热可能带来的问题,实验室中常常根据具体情况应用不同的间接加热方式。

最简便的是通过石棉网进行加热。但这种加热仍很不均匀,故在减压蒸馏或回流低沸点易燃物等操作中就不能应用。在有机化学实验室中,为了保证加热均匀,一般使用热浴进行间接加热(热浴的液面高度皆应略高于容器中的液面)。传热的介质有空气、水、有机液体、熔融盐和金属等,应根据加热温度、升温的速度等需要,选择具体的加热方式。

## 1 水浴和蒸汽浴

当加热的温度不超过 $100^{\circ}\text{C}$ 时,使用水浴加热较为方便。但是必须指出(强调):在用金属钾、钠的反应中以及无水操作时,绝不能在水浴上进行加热,否则会引起火灾或使实验失败。使用水浴时勿使容器触及水浴器壁及其底部。由于水浴的不断蒸发,要适时添加热水,使水浴中的水面经常保持在稍高于容器内液面的高度。电热多孔恒温水浴使用起来较为方便。在水面上加几滴液状石蜡,可减少水的蒸发。

## 2 油浴

当加热温度在 $100\sim 200^{\circ}\text{C}$ 时,宜使用油浴,其优点是使反应物受热均匀,反应物的温度一般低于油浴温度 $20^{\circ}\text{C}$ 左右。常用的油浴有:

- (1) 甘油:可以加热到 $140\sim 150^{\circ}\text{C}$ ,温度过高时则会碳化。
- (2) 植物油:如菜油、花生油等,可以加热到 $220^{\circ}\text{C}$ ,常加入1%的对苯二酚等抗氧化剂,延长使用周期。温度过高时分解,达到闪点时可能燃烧,所以使用时要小心。
- (3) 液状石蜡:可以加热到 $200^{\circ}\text{C}$ 左右,温度稍高并不分解,但较易燃烧。
- (4) 硅油:硅油在 $250^{\circ}\text{C}$ 时仍较稳定,透明度好,安全,是目前实验室较为常用的油浴之一,但其价格较高。

使用油浴加热时要特别小心,防止着火。当油浴受热冒烟时,应立即停止加热,油浴中应挂一温度计,可以观察油浴的温度和有无过热现象,同时便于调节控制温度,温度不能过高,否则受热后有溢出的危险。使用油浴时要竭力防止可能引起油浴燃烧的因素。加热完毕取出反应容器时,应用铁夹夹住反应器离开油浴液面悬置片刻,待容器壁上附着的油滴完后,再用纸片或干布擦干器壁。

### 3 砂浴

加热温度达 200℃ 以上时,常用海砂浴。将清洁而干燥的细沙平铺在铁盘上,将盛有液体的容器埋入砂中,在铁盘下加热,液体可间接受热。由于砂对热的传导能力较差而散热却快,所以容器底部与砂浴接触处的砂层要薄些,使易受热;容器周围与砂接触的部分,可用较厚的砂层,使其不易散热。如能通过调压等控制浴温,砂浴作为一种环境友好型清洁热源,在实验室具有较大的应用推广价值。

### 4 电加热

也可使用电加热套加热,并用调压器控制温度。

### 5 有机加热回流反应常用仪器

有机加热反应常在回流的条件下进行。经常使用的冷凝管有直型、蛇型和球型。冷水从下进入而从上流出冷凝柱,导致内表面温度降低,反应中的挥发性物质在仪器内表面被冷凝而回到反应器中。常见回流和回流滴加装置、气体吸收装置如图 2-4 所示。

图中(a)是一般回流装置。(b)是回流、滴加液体的装置。(c)是回流、电动搅拌、滴加液体的装置。(d)是控温、带干燥管的回流、电动搅拌、滴加液体的装置。(e)是在惰性气体环境和电动搅拌及回流下,同时添加对湿气敏感的固体的反应装置,右侧梨形瓶中装有固体试剂,将滴管向上微提,固体试剂可流进反应瓶中;如将滴管压下,固体试剂就不能进入反应瓶,从而可以调节固体试剂的加入量和加入速度。(f)是在惰性气体环境和电磁搅拌及回流下,同时添加液体试剂的反应装置,中央为温度计。反应开始前,可在滴液漏斗的塑胶塞上插一针头,然后打开惰性气体侧的旋塞,让惰性气体充满反应体系。

在有机反应中如有刺激性气体或有毒气体产生,则有必要安装气体吸收装置。如果这种气体溶于水,且产生的量不大,则可采用(g)和(h)装置。在冷凝器上口装一个 U 形导气管的软木塞,导气管用橡皮管与一小漏斗相连,漏斗倒置在盛水(或酸碱溶液)的烧杯中,使之接触水面但不浸入水中,以免发生倒吸,如(g);也可经橡皮管直接通入水中,如(h)。如果有大量气体产生或气体剧烈产生,可采用吸收装置(i)、(j)。在装置(i)中,气体经一粗管随水流入一个大过滤瓶中,溢满的水以恒速从过滤瓶的出口处流出,因过滤瓶的出口略高于粗管末端,形成的水膜能防止气体直接进入空气中。对于装置(j),管长最好为 80 ~ 100cm,管径为 25mm。

许多有机化学反应是可逆反应。为了使平衡向产物方向移动,常常可以通过蒸馏除去反应中的某一产物,从而提高产率(图 2-5)。

如果产物中有水生成,而水又影响反应的完成,就要用分水器将水排出反应系统。装置如图 2-6 所示。

一般在反应前,在分水器的底部加入少量分子筛,然后从分水器上端加入与反应相同的无水溶剂至略低于支管口处。当加热反应混合物时,反应中产生的水与溶剂形成共沸物被蒸馏出来,经冷凝后流入到分水器中。上层中轻的有机溶剂积聚到支管口时,会不断地流回反应烧瓶中,而水则沉到下层被分离。也可根据生成水的体积,大体判断反应是否完全。



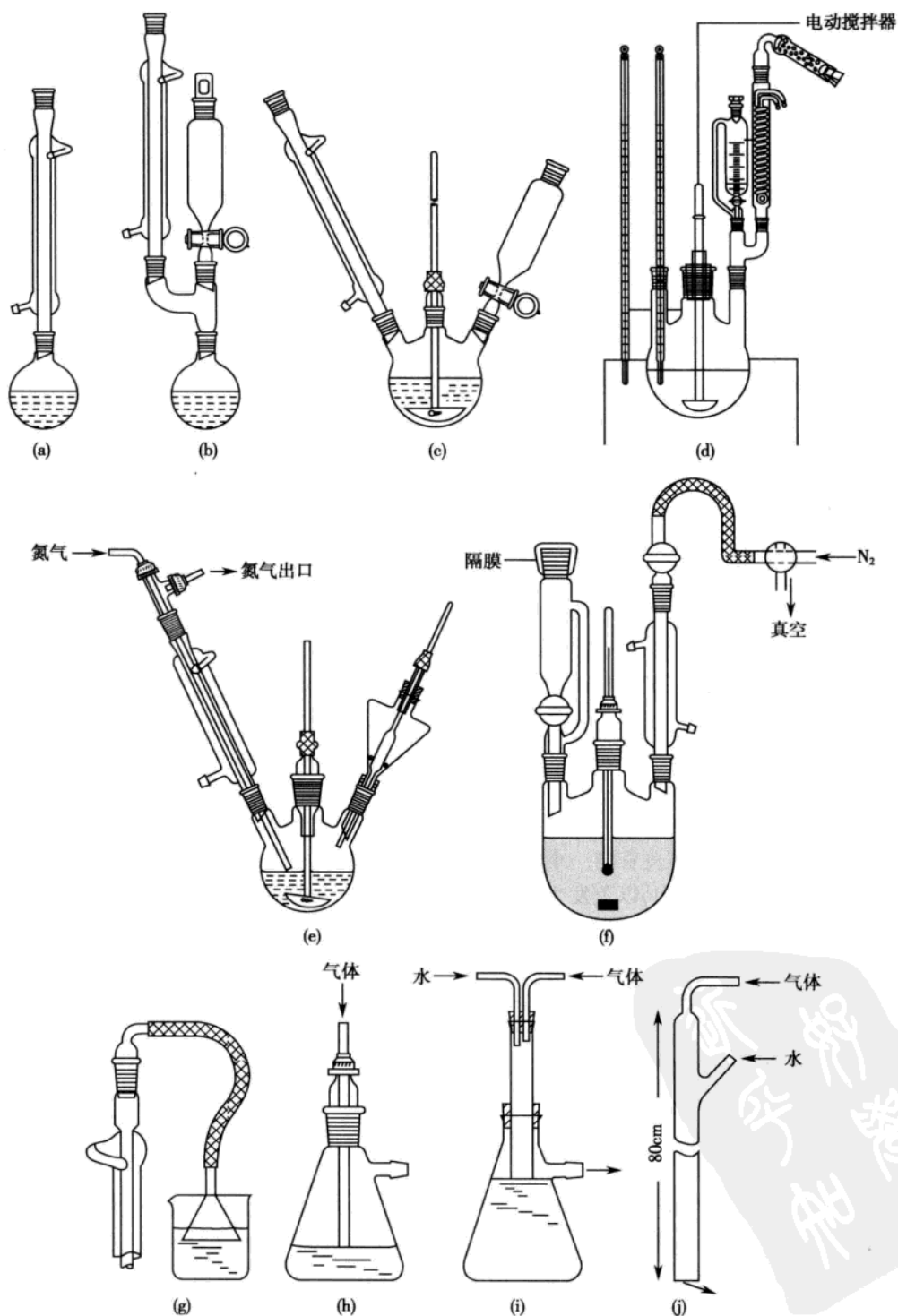


图 2-4 常见回流和回流滴加装置、气体吸收装置

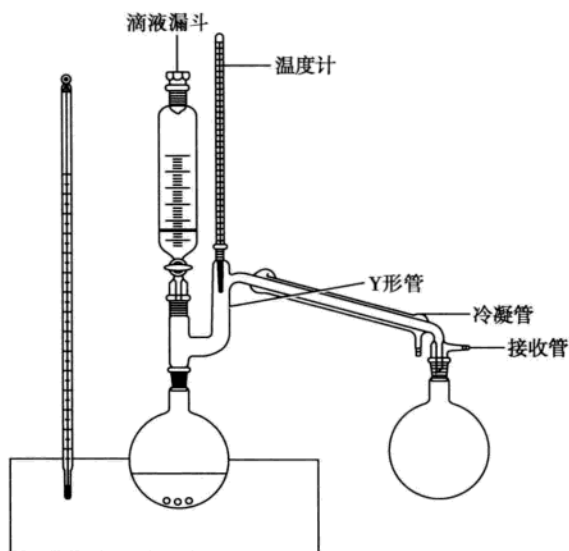


图 2-5 移除反应产物的装置

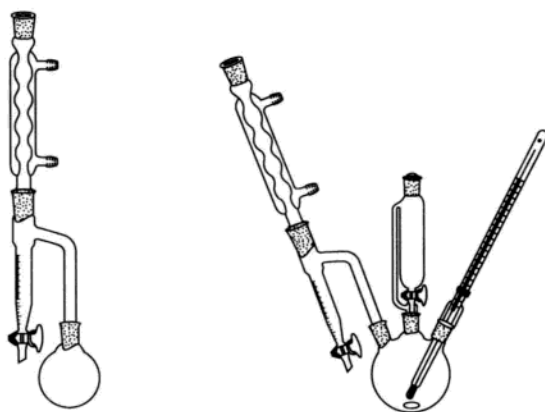


图 2-6 回流分水装置

### 第三节 低温冷却

在有机合成中,有些反应试剂、反应中间体在室温下是不稳定的,因此必须在低温下进行实验,如重氮化反应等;有的放热反应,常产生大量的热,使反应难以控制,并引起易挥发化合物损失,或导致有机物的分解或增加副反应。为了除去过剩的热量,便需要冷却。随着有机金属化学的飞跃发展,低温反应技术已经成为现代有机合成、药物合成和手性合成必不可少的手段。实验室常用的低温反应温度在 $-100 \sim 0^{\circ}\text{C}$ 之间,低温浴常用的容器为杜瓦瓶(Dewar flask,一种真空保温容器,图 2-7)。

根据反应温度的要求不同,可使用不同的制冷剂。

## 1 冰-盐浴

这是最简单也是最便宜的制冷方法,将盐研细后与碎冰按一定的重量比混合,可得到  $0 \sim -40^{\circ}\text{C}$  范围的制冷剂。如氯化铵/冰(1/4),  $-15^{\circ}\text{C}$ ; 硝酸钠/冰(1/2),  $-18^{\circ}\text{C}$ ; 氯化钠/冰(1/3),  $-20^{\circ}\text{C}$ 。如图 2-8 所示,向一定浓度的氯化钙溶液内添加干冰,直到有冰形成,就可调制  $-50 \sim 0^{\circ}\text{C}$  范围的制冷剂。

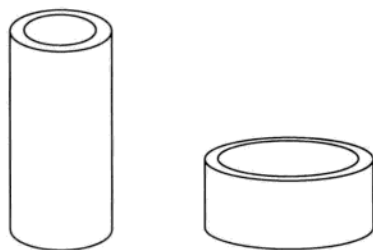


图 2-7 杜瓦瓶

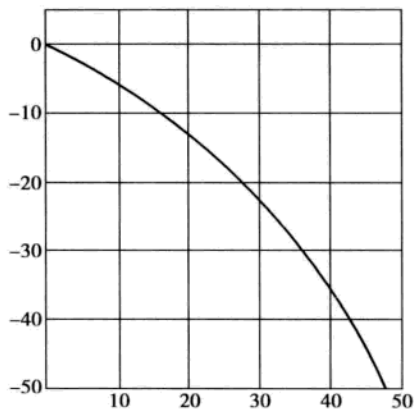


图 2-8 氯化钙-干冰浴  
横坐标为氯化钙浓度,纵坐标为温度

## 2 干冰-溶剂浴

将干冰(固体  $\text{CO}_2$ )用木槌敲碎后,添加到盛有有机溶剂的杜瓦瓶,直到溶剂固化或呈固-液两相(干冰不再溶解),就调成了相应的制冷剂。只要反应过程中保持干冰过量,就可维持一定的温度。用不同的溶剂可得到  $-100 \sim -15^{\circ}\text{C}$  的低温。如表 2-1 所示。

表 2-1 干冰-溶剂浴

溶剂	制冷温度( $^{\circ}\text{C}$ )	溶剂	制冷温度( $^{\circ}\text{C}$ )
乙二醇	-15	乙醇	-72
四氯化碳	-20	丙酮	-78
二氯甲烷	-40	乙醚	-100

## 3 液氮-溶剂浴

将液氮加到不同的有机溶剂中,可得到不同温度的制冷剂。如表 2-2 所示。

制作液氮-溶剂浴时,将液氮小心地加到盛有有机溶剂的杜瓦瓶中,不断搅拌至呈冰激凌状即可,通常可保温 10h 左右。在反应过程中,可根据情况添加液氮。调制液氮-溶剂浴

时,也可以向丙酮等有机溶剂添加液氮并搅拌,直到达到所需的温度。

表 2-2 液氮-溶剂浴

溶剂	制冷温度(℃)	溶剂	制冷温度(℃)
苯甲醇	-15	环己烯	-104
正辛烷	-56	乙醇	-116
氯仿	-63	正戊烷	-131
乙酸乙酯	-84	异戊烷	-160
异丙醇	-89	液氮	-196

#### 4 机械制冷

上述 3 种制冷剂适合短时间的合成反应。长时间反应时,必须注意添加盐、干冰或液氮等以调节温度,非常不方便。近年,国内外已研制出电动机械制冷低温恒温反应仪(-80~0℃),并带有电磁搅拌功能,非常适合实验室使用,只是价格稍高(图 2-9)。

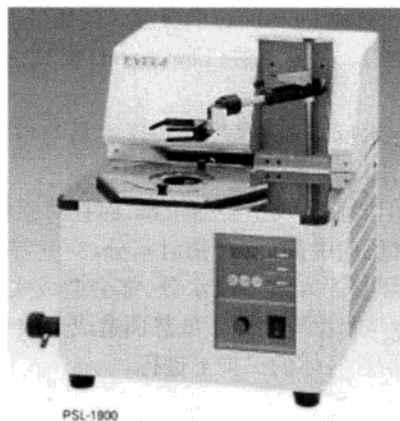


图 2-9 电磁搅拌低温恒温反应仪

### 第四节 惰性气体保护下的反应与操作

许多有机试剂对空气、水、氧气等十分敏感,极易与它们发生化学反应或分解。这些化学试剂(称为敏感物质)的处理与计量以及有关的合成反应,通常必须在惰性气体( $N_2$ , Ar)的保护下进行。惰性气体保护下的反应与操作技术,已成为现代有机合成和药物合成的重要组成部分。

## 1 有机合成实验中常见的易吸湿性试剂

表 2-3 列出了有机合成实验中常见的易吸湿性试剂。

表 2-3 常见的易吸湿性试剂

试剂类别	举 例
金属类	Li, Na, K
金属氢化物	LiAlH <sub>4</sub> 、NaBH <sub>4</sub> 、BH <sub>3</sub> 、Dibal、Bu <sub>3</sub> SnH、NaH、KH
有机金属类	RLi、RMgX、R <sub>3</sub> Al、Et <sub>2</sub> Zn
Lewis 酸类	BF <sub>3</sub> (OEt) <sub>2</sub> 、AlCl <sub>3</sub> 、TiCl <sub>4</sub> 、SnCl <sub>4</sub> 、Me <sub>3</sub> SiCl
强碱类	<i>t</i> -BuOK、NaOEt
有机化合物	RCOX、(RCO) <sub>2</sub> O、R—N=C=N—R、冠醚、ROCH <sub>2</sub> Cl
溶剂类	THF、Et <sub>2</sub> O、MeOH、MeCN、DMSO、DMF、HMPA
其他	OsO <sub>4</sub> 、SOCl <sub>2</sub> 、(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O、 <i>p</i> -TsCl

购买上述试剂时,不要一次性采购太多,最好根据一次所需量购买。固体样品尽量用非质子性溶剂重结晶或升华纯化后,在惰性气体保护下保存。液体试样或溶剂,应在惰性气体保护下蒸馏后保存。除了在室温下不稳定的试剂需低温保存外,其他应在室温保存。对于吸湿性很强的试剂,应放在干燥盒(dry box)中保存。使用低温保存的试剂时,应将试剂放在干燥器中恢复至室温后再使用。路易斯酸(Lewis acid)类试剂长期不使用时,应分装在安瓿中密封保存。

多数吸湿性物质容易与水反应而分解,有些还容易与空气中的氧气、二氧化碳发生反应,甚至可与氮气发生反应,因此使用时要慎重处理。

在进行合成反应时,不但要保证反应容器干燥,而且对原料、试剂的计量、使用都要在严格的干燥状态下进行。有时反应中间体、产物对水分、空气等不稳定,反应过程及后处理都应十分小心,无论在哪一个环节混入空气或水分,都会造成实验失败。在进行微量反应时,尤其应留心。有时这些物质与水反应会剧烈放热而造成产物分解,在后处理时应严加注意。必要时,所有的操作都要在惰性气体的保护下进行。

一般注意事项:

- (1) 18mg 水相当于 1mmol,必须充分认识到少量水分对反应的影响。
- (2) 实验开始前,应了解试剂的吸湿性、用量、反应温度与反应时间等。
- (3) 常用的惰性气体有氮气和氩气。氩气比空气重,更适合于干燥条件下的反应。
- (4) 尽可能采用电磁搅拌,应用电动搅拌时应注意密封性。
- (5) 反应器具应在 120℃ 干燥过夜,趁热安装,在惰性气体流中冷却。装置内始终保持一定的惰性气体压力,接头部分用夹子等固定。如果干燥不充分,也可在惰性气体流中用加热枪在搅拌的条件下加热容器的底部。
- (6) 选择内壁面积最小的反应器具,反应内容物的体积不要超过其容量的 1/3。
- (7) 除了大量反应使用滴液漏斗外,应使用注射器或微量注射器。

## 2 对空气敏感液体试剂的处理与计量

对空气敏感试剂的处理和计量应在惰性气体的保护下进行。常用的惰性气体为氮气和

氩气。由于氩气价廉易得,大多数有机试剂在其中均能保持稳定,因此最为常用。氩气具有密度与空气相近的优点,所以在氩气中称重时不必校正。但应注意的是,氩气在室温下即可与金属锂反应,在高温下更能与其他金属作用,有时氩气对金属配合物也有影响。在这些情况下就不得不使用较为昂贵的氙气或氦气了。因氙气的比重比空气大,惰性气体保护反应应用氙气更好。

使用惰性气体时应尽可能地节省。对于很大的反应器,如仅靠以惰性气体冲洗来置换空气,不但费时,而且浪费惰性气体。可采用首先抽真空,再充惰性气体的方式。如此重复几次,即可将氧气除尽。其间若用小火烘烤,效果会更好。

惰性气体保护下的反应对器具的要求非常严格。反应用玻璃容器等要在  $120^{\circ}\text{C}$  的干燥器内放置 24h 或在  $150^{\circ}\text{C}$  下干燥 4h,然后趁热安装反应装置,并在通惰性气体的状态下,冷却至室温。也可以在装配后,于氮气流下用小火烤干。

在惰性气体保护反应的装置中,为了方便地添加试剂,常使用带有隔膜进口的磨口玻璃连接器(图 2-10);添加试剂时,常使用注射器及针头。

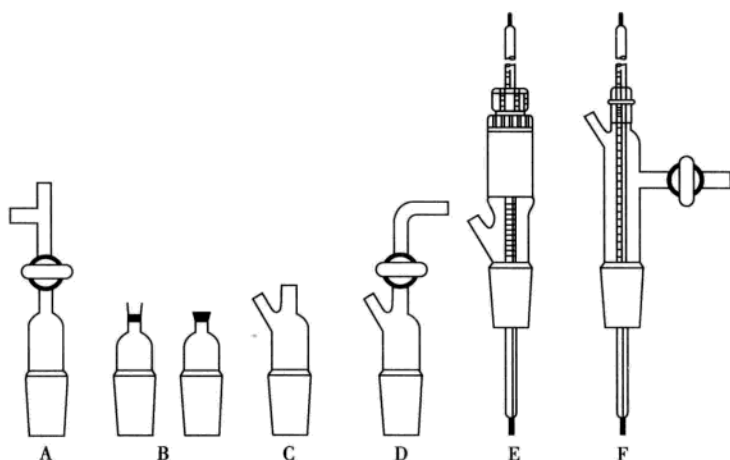


图 2-10 带有隔膜进口的磨口玻璃连接器

为保护反应装置中的惰性气体环境,并使反应器与大气之间形成气体密封,常使用各种鼓泡器(图 2-11)。但由于某种原因在反应器内产生负压时,鼓泡器内的液体(通常用液状

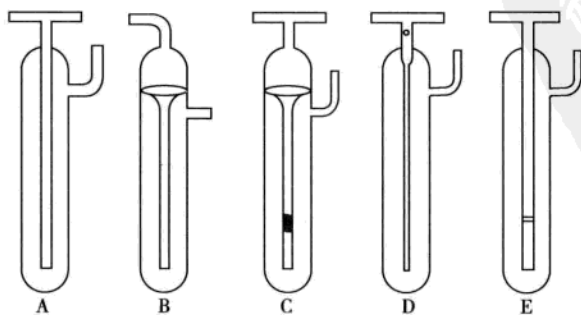


图 2-11 几种典型的鼓泡器

石蜡)有倒吸的危险。采用 T 型鼓泡器(A),可防止这种情况的发生,只要使惰性气体均匀连续地通过鼓泡器即可,但若反应时间很长,则消耗惰性气体的量将较大。B 所示鼓泡器的顶部有一个放大的空间(有缓冲区的鼓泡器),可减少倒吸的危险。鼓泡器 C~E 都带有止逆阀。C 和 D 中的止逆阀由磨砂玻璃制成;E 则是将中等孔径的砂芯滤板当做单向阀使用,适合于以汞为封闭液的鼓泡器,缺点是可能被堵塞。总之,使用这些鼓泡器,既消除了封闭液被倒吸的危险,也可避免空气渗入反应系统,还能消除反应系统内部过高的压力。从鼓泡器中逸出的气体应导入通风橱。如果用汞作为鼓泡器的封闭液,则在将逸出的气体导入通风橱之前,还要通过洗涤器将可能夹带的汞蒸气除去。

惰性气体保护下的有机合成反应一般在电磁搅拌的条件下进行。若需处理高黏度的反应、固液两相反应或进行大量制备,可以改用带有适当搅拌头的机械(电动)搅拌器。图 2-12 中所示的分别为精磨搅拌器(A)、汞封搅拌器(B)、带填料函或 O 形圈的搅拌器(C)。汞封搅拌器密封固然好,但体积较大,较为复杂。当反应器内外压力存在较大压力差时,A、B 搅拌器均不能胜任反应的要求。此时可使用带填料函(以特氟隆和石墨的混合物为填料)或 O 形圈的搅拌器 C。

在惰性气体保护反应中,利用注射器转移敏感液体是一种既有效又方便的方法。注射器的容量有多种规格。较大容量的,只要规格相同,各注射器的筒芯和筒套可以互换使用。对于精密度高的小容量注射器,筒芯和筒套上往往标有数字记号,不要交换使用,否则将造成泄漏、筒芯卡住或计量不准。针筒套的形式多种多样,除了常见的玻璃椎(针座,B)外,还有金属椎(A)和闭锁椎(C)等(图 2-13)。闭锁椎可以稳固地套住针头,防止针头在使用过程中松动。但应注意的是,金属椎的材料有可能受到某些化学品的腐蚀。

注射器的针头为不锈钢材料,粗细、长短、式样各不相同,应根据注射器的容量选择相应的针头。

注射器在使用前必须将各个部件彻底洗净、烘干。可根据注射器的构成材料,选择相应的干燥温度。一般的注射器及注射针头在 120℃ 的干燥器内放置 24h 即可,而微型注射器在高温下容易损坏,通常在 50℃ 的干燥器内放置 24h。烘干后趁热装配筒芯和筒套,并驱除其中的气体。对于金属针座的注射器,针管可趁热套入;但对于玻璃针座的注射器,则应在冷却后再进行装配。注射器装好后,通过吸入、挤出氮气将针管冲洗几次。在此过程中,可以检验密封的情况。方法是:吸满气体后将针尖插入橡皮塞,再将针筒芯向前推动至筒长的约

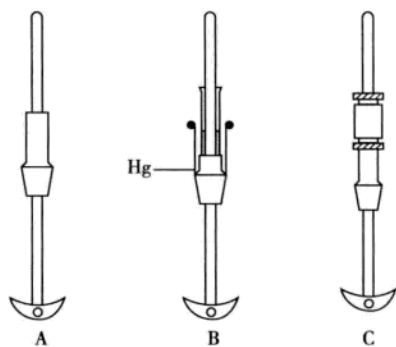


图 2-12 搅拌器

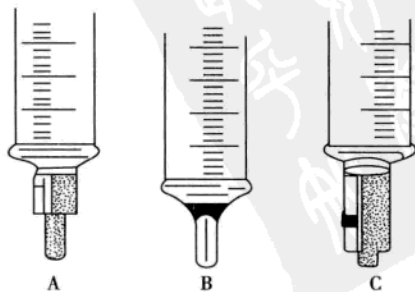


图 2-13 注射器的椎端式样

1/2 处,然后放松。若不漏气,针筒芯应自动返回到原来的位置。为防止针头与空气接触,要将针头插入装有惰性气体的样品瓶(管)内(图 2-14);也可插进实心橡胶塞内,但这样容易使针头堵塞。

用注射器定量量取液体通常可用两种计量方法。最简单的是以筒套上的刻度为准。此法比较粗糙,但可以对刻度加以校正。方法是:量取在一定温度下密度已知的液体,从注射器中推出一定体积的液体进行称量,反复数次后取平均值即可。另一种方法是对量取前后的注射器分别称重。称重时必须防止大气与注射器内容物的相互作用,并避免偶然的泄漏。对敏感化合物的称重量取,可采用图 2-14 所示的方法。

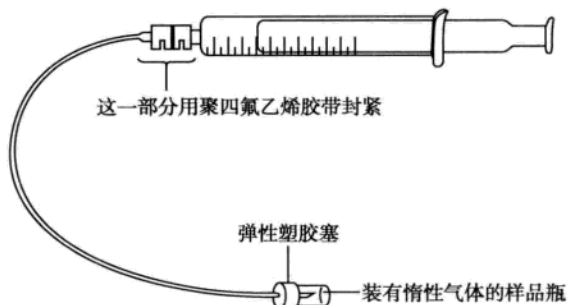


图 2-14 注射器密封度检查

利用注射器转移液体的具体操作:对于中等敏感的液体试剂,首先往试剂瓶中通入氮气加压保护,反应瓶(接收器)以氮气充分冲洗后接鼓泡器(如用充满氮气的气球作为惰性气体源,则不需接鼓泡器)。用氮气冲洗,装好注射器,并按前述方法检查是否漏气。用注射器从惰性气体冲洗装置中,吸取相当于总容量 3/4 的氮气,将针筒芯向前推压至总行程的一半,借此对针管进行最后一次清洗。然后通过隔膜插入试剂瓶,将注射器中的残余氮气立即完全推出。将针头插至液面以下,利用试剂瓶液面上的压力,让液体进入注射器内,直至超过所需量的 10% ~ 20%。将针尖抽出液面,稍倾斜,使针筒倒转,从而使注射器内的气泡升至顶部。推压针筒芯驱除气泡,一直推到所需刻度处。用手指弹击针管,敲下滞留于针尖处的液滴。再将针筒芯抽回一些,以吸入氮气保护层。仍保持注射器倒转,将整个针管从试剂瓶中拔出,立即刺入反应瓶(接收器)的隔膜,翻转注射器,将液体推出或滴加到反应体系中(图 2-15)。

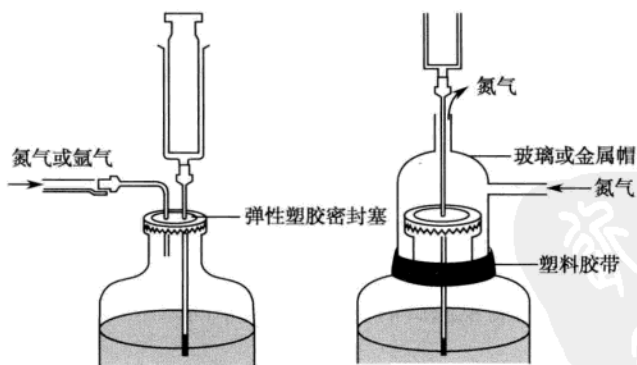


图 2-15 利用注射器转移液体的操作

对于高敏感的液体试剂,可在试剂瓶上套一惰性气体罩(图 2-15),其他操作类同。

注射器在使用完后,应立即用水和丙酮等洗净、烘干。

量取大量对空气敏感液体试剂时则采用插管法(cannulation technique),如图 2-16 所示。



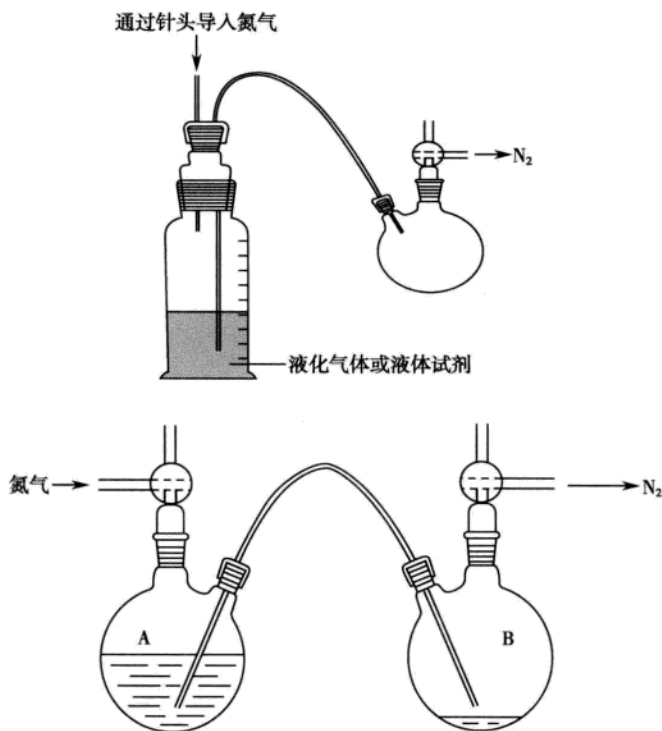


图 2-16 插管法示意图

插管法的一般操作如下:

(1) 确保要使用的试剂瓶空瓶(或定量量筒)是干燥的,瓶口用隔膜胶塞或特氟隆塞密封,并与惰性气体系统相连(常用惰性气体气球),但压力不能太大。

(2) 将与惰性气体系统(既可用大的惰性气体气球,也可用惰性气体钢瓶,但钢瓶与导管针之间应连接鼓泡器,以调节惰性气体流速)相连的导管针插入储液瓶内液面的上方。将不锈钢双头针(double-ended needle)的一端插入 B 瓶(或定量量筒),另一端插入要量取的储液瓶内至液面下,然后调节惰性气体阀门或通过挤压惰性气体气球,使液体顺利转移。如使用的试剂瓶空瓶为定量量筒,则可定量地转移试剂至所需刻度为止。

(3) 液体转移完成后,将双头针的一端先从储液瓶中拔出,然后迅速将其另一端拔出。

(4) 按上述操作,可定量地把反应试剂从定量量筒中转移或滴加到反应系统中,进行合成反应。

(5) 采用同样的方法,可将反应试剂或活性反应中间体从一个反应器转移到另一个反应器中,进行合成反应。

### 3 对空气敏感固体试剂、样品的处理与计量

对空气不稳定固体物质的处理与计量常是一件困难的工作。最稳妥的办法是利用附有手套的惰气柜(glove box)。高真空惰性气体置换式惰气柜的型号多种多样,图 2-17 为常见的一种,适合对空气十分敏感的固体试样的处理。高真空惰性气体置换式惰气柜由试样器

皿存放舱(右侧)、称量处理舱(左侧)、真空系统和惰性气体供应系统组成。存放舱与称量处理舱之间有一内部隔门,称量处理舱前方装有两个手套固定门。

使用时,先将固体试剂与称量用具放入右边的存放舱内,关紧舱门和手套固定门以及各个通路的开关。按仪器说明,打开真空泵,按顺序将存放舱、称量处理舱抽成真空。关闭真空泵后,按规定先后打开相应的气体通路,导入惰性气体。最后打开手套固定门,戴上手套,打开称量处理舱与存放舱的隔门,拿出试剂,进行称量等处理即可。称量完成后,把样品密封并将样品和器皿等移到存放舱内,关闭隔门。打开存放舱门,取出样品及器皿等,关闭所有的隔门和通路及惰性气体系统。

在实验室内,还经常使用廉价的简易式惰性气体置换惰气袋(图 2-18)。

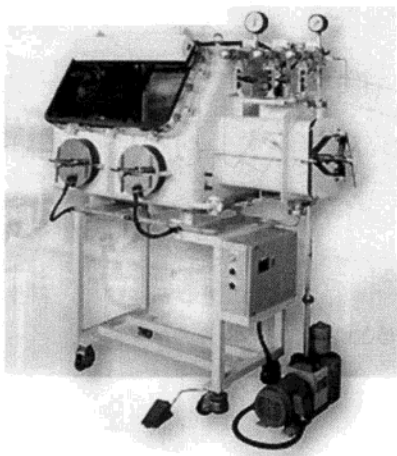


图 2-17 高真空惰性气体置换式惰气柜

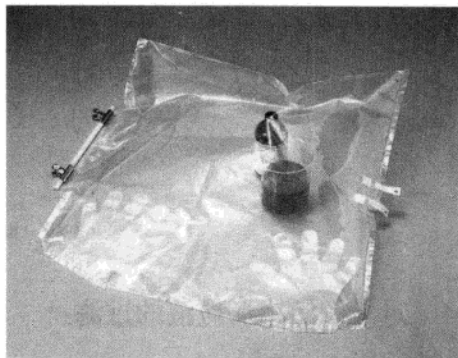


图 2-18 简易式惰性气体置换惰气袋

先将固体试剂、称量用具和电子天平 等从左边的开口处放入简易式惰性气体置换惰气袋内,再用玻璃棒等将开口处卷几圈,并用夹子夹紧。从右边的一个小开口处通过惰性气体导入管,使袋内充满惰性气体。打开右边的另一个小开口,并挤压惰气袋使气体排出。如此反复几次,就可将袋内原来的空气置换掉。最后,充满惰性气体,在袋内称量和密封即可。

称量好的固体试剂有时需要在惰性气体的保护下添加到回流无水反应液中。装置如图 2-19 所示。

把装有氯化钙干燥管的回流冷凝管安装在二口烧瓶的侧口上,然后通过橡胶塞在中央口装上漏斗。按图 2-19,把带有

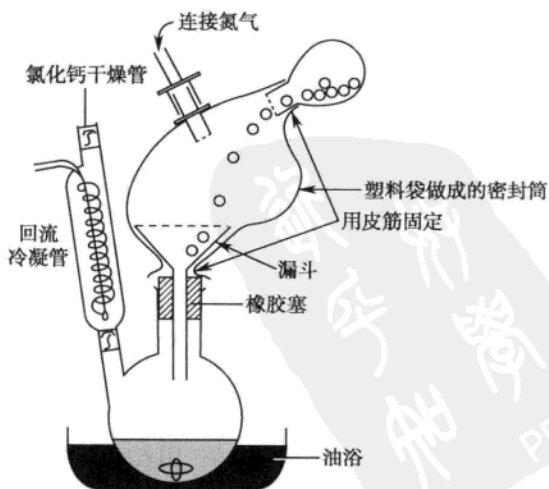


图 2-19 惰性气体保护下固体试剂的添加

惰性气体导入口的开口塑料袋安在漏斗上,并用皮筋拴紧。在塑料袋的另一开口,装上盛有已称重试剂的圆底烧瓶。用皮筋拴紧后,一边通惰性气体,一边将固体试剂添加到反应系中。应注意控制惰性气体的流速,避免溶剂的蒸气上升到塑料袋中。

固体试剂的转移也可采用图 2-20A 所示的装置。先在惰性气体环境下将固体试剂投入加料瓶,再用氮气冲洗装有固体试剂的瓶子。然后用一根大口径的长橡皮管(古氏管),将加料瓶与反应瓶连接起来。这一操作要迅速,并使大量的氮气流不断通过反应瓶。翻转加料瓶,固体便进入反应体系。图 2-20B 所示的装置效果更好。它是用 105° 的鹅颈连接器代替古氏管,通过标准磨口相连接,安装更快,固体试剂也不容易黏附在管壁上。只要将加料瓶向上翻转,固体试剂便进入反应瓶。

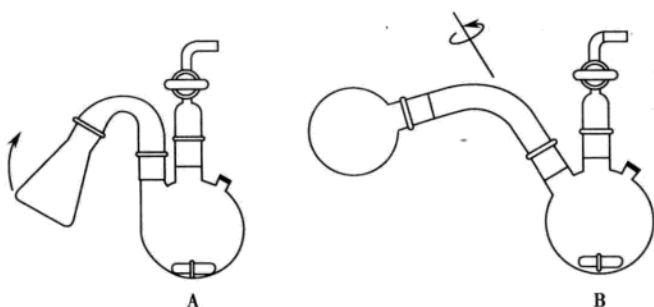


图 2-20 固体试样的添加

#### 4 对空气敏感反应液的过滤

当必须从敏感溶液中除去杂质或者从中析离敏感的固体产物时,需在氮气环境下用砂芯漏斗进行过滤。对氧气和水不稳定的小量试样溶液的过滤,可按图 2-21 的装置进行。

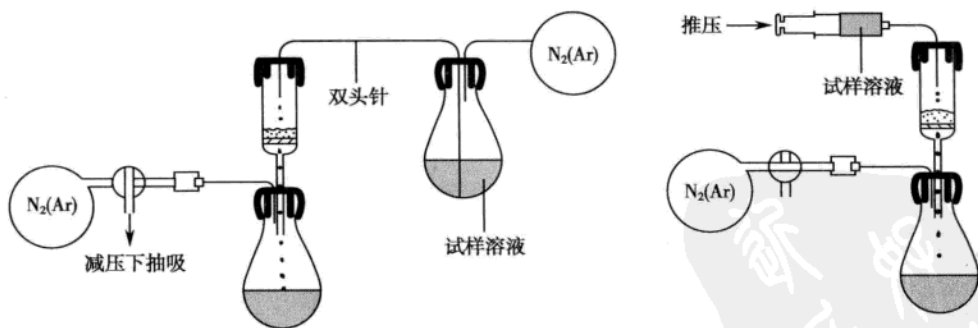


图 2-21 对氧气和水不稳定的小量试样溶液的过滤

将砂芯过滤器、橡皮塞和烧瓶按图 2-21 安装。三通管与注射针连接,并将针头插入瓶中。将系统内充满惰性气体后,用真空泵等仪器减压,在微负压的条件下过滤。也可用双头针或注射器转移,将试样溶液导入砂芯过滤器,减压滤过即可。也可在正压下,按图 2-22 中所示的装置过滤。

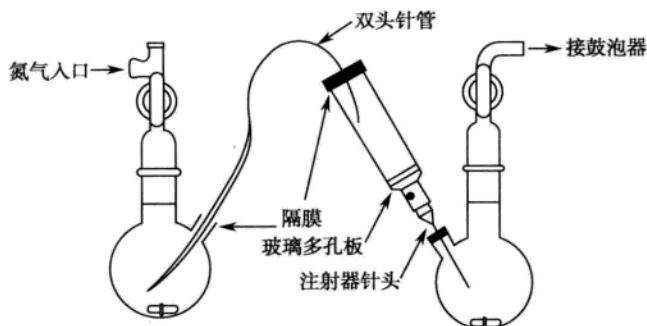


图 2-22 正压下对空气敏感物质的过滤

对于大量液体,当有待分离或收集的固体数量较大时,可采用大过滤器或大过滤室。

图 2-23 中的是另一种过滤装置。它由浸入液体内的干燥气体分布管组成,分布管又通过软管与接收瓶相连。借助于氮气的正压力将滤液压入接收瓶中。如果滤液正是所需要的试液,就应选择惰性材料。这一系统的优点是可在过滤期间加热盛放滤液的容器,特别适合滤液在受冷时可能析出固体的情况。

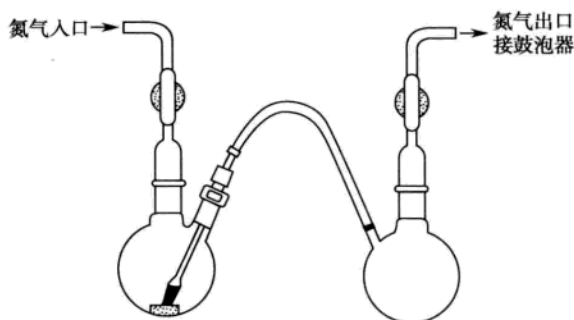


图 2-23 利用气体分布管进行过滤

为除去大量很细的沉淀物,可将溶液通过大孔双头针管转入干燥的、带有隔膜并经氮气冲洗的离心管内,将溶液离心分离后,再用双头针管移出上清液。如果要分离对空气敏感的细粒固体,可用针管加入溶剂洗涤,再次离心后,在惰气柜(袋)中将其取出。

## 5 惰性气体保护反应

许多有机合成反应的原料、反应过程中的中间体以及产物对空气和水十分敏感,反应必须在严格的惰性气体保护及无水条件下进行。

惰性气体保护系统由惰性气体源、双排管、真空源等组成(图 2-24)。惰性气体源可以由供气中心或惰性气体瓶提供。双排管是可以同时提供多个真空接口和惰性气体保护接口的特殊装置。真空或惰性气体保护由旋动双排管上的双通螺旋塞实现。双排管通常固定在通风橱内或实验台的固定铁架台上。

使用双排管的典型反应装置如图 2-25 所示。可根据反应需要,将图中反应器皿换成三颈烧瓶,或添加回流、滴加装置等。

惰性气体保护反应的一般操作如下:

(1) 安装仪器和系统干燥:将反应器(内放磁子)通过三通旋塞管连在双排管上,三通旋塞用于连接惰性气体和加入试剂。反应器具应按标准干燥,趁热安装。打开双通螺旋塞的真空侧,使容器内成真空,再打开双通螺旋塞的惰性气体侧,通入惰性气体。如果反应器

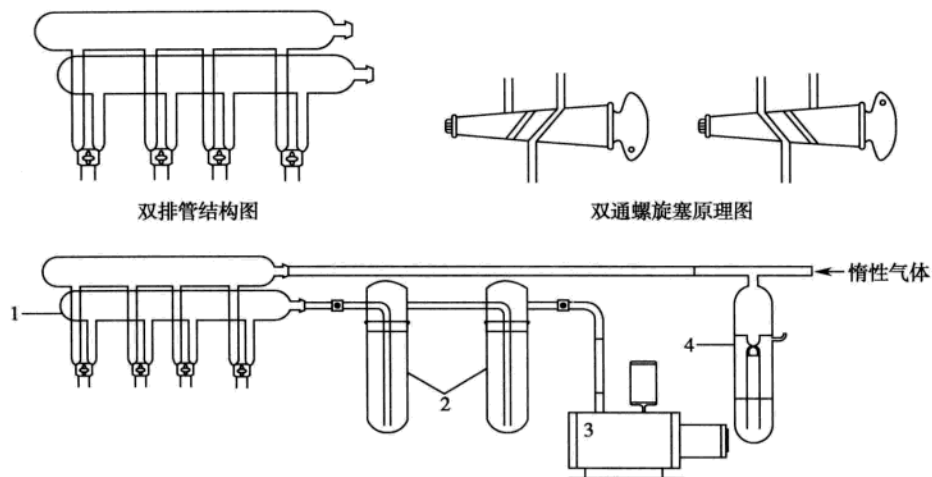


图 2-24 惰性气体系统结构示意图

1. 双排管;2. 冷却阱;3. 真空泵;4. 鼓泡器

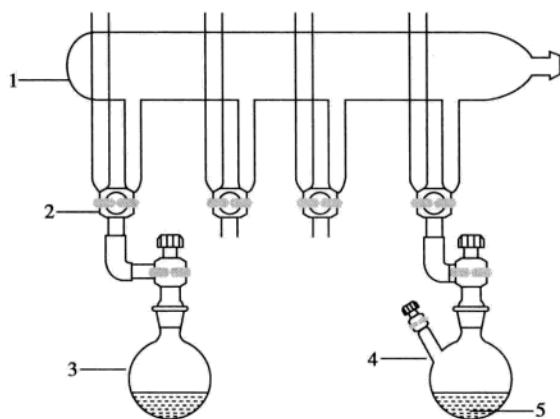


图 2-25 惰性气体保护和真空条件反应装置

1. 双排管;2. 双通螺旋塞;3. 反应器;4. 反应器;5. 搅拌磁子

具事前没干燥,也可在安装后用高温电吹风等仪器加热,同时抽真空后用惰性气体置换,并反复此操作数次,再冷却至室温。

(2) 加入反应物:迅速称取固体反应物,取下三通旋塞管,加到反应器皿中。略微抽真空后用惰性气体置换。对空气不稳定的固体物质的称量,应按图 2-17 或图 2-18 中的设备进行。如果反应物为液体,可通过注射器直接从三通旋塞管直接加入。

(3) 加溶剂或其他液体试剂:用注射器直接从惰性气体保护下的蒸馏器或试剂瓶中量取一定量的溶剂或其他液体试剂,通过三通旋塞管加入。对于高沸点的溶剂,可直接加入后通过反复抽、充惰性气体除去空气。

(4) 反应控制:根据反应要求,选择合适的反应温度。搅拌最好采用电磁搅拌。反应进程可通过不同时间采样,用 TLC、GC 等手段进行分析。TLC 采样方法如图 2-26 所示,将针头

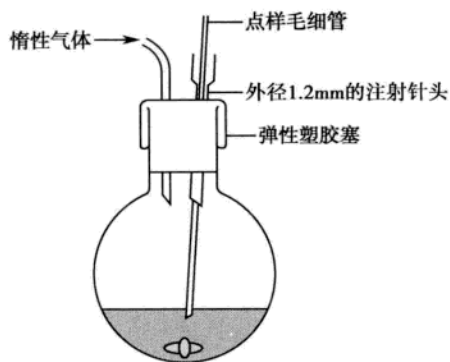


图 2-26 TLC 采样方法

穿透塑胶塞,再将毛细管穿过针头插入到反应液中,立即拔出即可。

当实验室没有双排管时,可按图 2-27 (a)的简易装置进行惰性气体保护反应(反应容器可大可小)。将充满惰性气体的气球经三通旋塞管装到反应体系中,三通旋塞管的另一侧连接真空系统。其他操作与连有双排管时相同。

随着分析手段的进步和合成分离技术的飞跃发展,微量物质的合成已成为全合成和合成反应条件探讨的必需。微量物质合成反应有时尽管不需要惰性气体保护,但为了避免湿气的

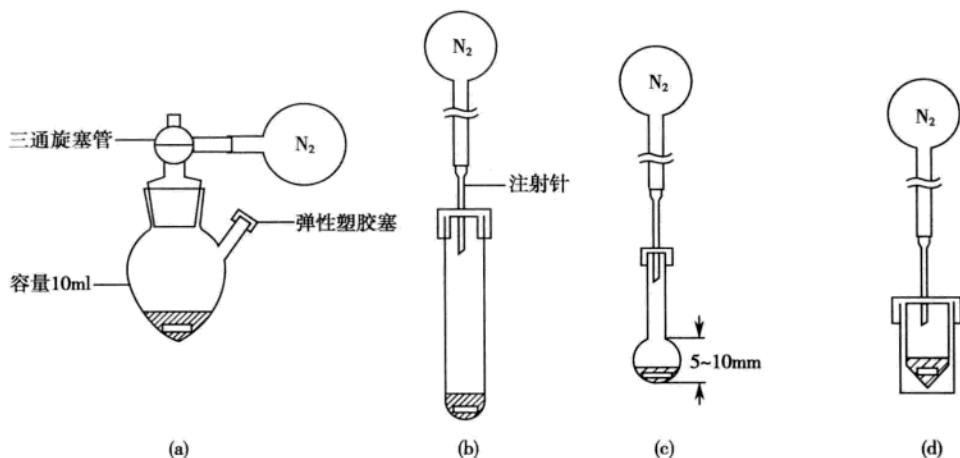


图 2-27 微量实验装置

混入,同时为防止使反应系成为非密闭系统,通常还是会在惰性气体气球的保护下进行。装置如图 2-27 所示。

图 2-27 装置 (a) 可以用于 1~5 ml 的反应。根据反应目的,也可去掉三通旋塞管而换成干燥管或回流冷凝管等。装置 (b) 由小试管配翻口橡胶塞组成,用于 0~0.5 ml 的反应。装置 (c) 和 (d) 用于更小规模的反应。对于装有翻口橡胶塞的反应体系,体系内的氮气置换通常采用下列方法:先插上氮气球,再插一个针头,让氮气通过数分钟即可。用样品瓶作反应容器[装置 (d)]时,反应后如需直接浓缩,可按图 2-28 操作。

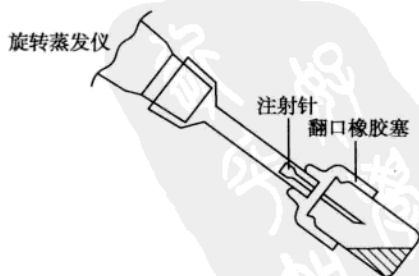


图 2-28 微量物质溶液的浓缩

## 第五节 易燃性物质的使用与处理

实验室内经常使用的易燃性物质有金属类、氢化反应的催化剂、三价磷化合物、氧化剂、可燃性溶剂以及金属有机化合物(见本章第六节相关内容)等。着火的直接原因是这些物质与(空气中的)氧气发生反应,因此在使用与处理时应尽量避免这些物质与氧气(空气)的接触。另外,碱金属与水剧烈反应产生氢气,也是着火的一个原因,在使用时应注意防止湿气。

### 1 一般注意事项

- (1) 确认周围没有易燃性物质(特别是有机溶剂),所有的操作均在通风橱内进行。
- (2) 使用金属钠、钾时,确认附近没有敞口的低级卤代烃(二氯甲烷、氯仿等),避免误将金属钠、钾放入其中而引起爆炸。
- (3) 准备好灭火器或防火沙。易燃性物质的稀溶液着火时可用灭火器灭火;易燃性物质本身或其浓溶液着火时则应用防火沙灭火。
- (4) 避免一个人独自在实验室做实验。
- (5) 使用橡胶手套,避免使用塑胶手套。
- (6) 不要使用塑料容器及塑料注射器。
- (7) 操作要快。使用注射器时,有时针尖处可着火(如叔丁基锂溶液、三烷基硼、三烷基铝、二烷基锌溶液等)。如果其他部位没有溶液漏出的话,千万不要拔掉针头,这样可防止火势蔓延。
- (8) 注射器用毕后,按相关规范立即清洗。

### 2 操作法

#### 2.1 碱金属类(着火性:钾>>钠>锂)

碱金属类通常在煤油中保存。因金属表面覆有不纯物,如氧化物、金属氢氧化物等,使用时必须除去。操作方法如下:

- (1) 准备滤纸、刀具、镊子、装有煤油的废金属储存用器皿、盛有石油醚或苯类有机溶剂的烧杯等。
- (2) 用镊子将金属块从储存容器中捞出,放到滤纸上。
- (3) 用刀切取所需量,剩余部分立即放回储存容器内。
- (4) 用刀将金属表面层全部切除,然后切成3~4cm的小块,必要时称重后放到烧杯内(盛有石油醚或苯类有机溶剂)。切除的覆膜放到废金属储存用器皿内。
- (5) 将金属从烧杯中捞出,放到滤纸上,并将金属表面的有机溶剂擦去,切成0.5~1.0cm的块状使用。
- (6) 将滤纸表面上的小金属片放回废金属储存用器皿内。
- (7) 将滤纸、使用过的器具用乙醇或甲醇浸润后用大量水清洗。

#### 2.2 氢化还原反应后的催化剂类

吸收氢气后的催化剂(触媒)非常容易着火。氢化还原反应后的催化剂处理不当是实验

室发生火灾的重要原因之一。催化剂含水或在溶剂中不太容易着火,但干燥后与空气接触非常危险。

(1) 氢化还原反应后将催化剂(触媒)过滤时尽量避免使用滤纸,可采用硅藻土柱过滤法(图 2-29)。

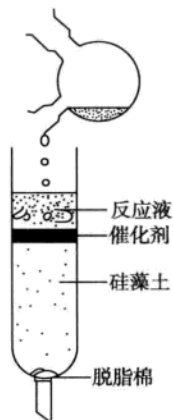


图 2-29 硅藻土柱过滤法

(2) 注意不要让催化剂(触媒)变干燥,特别是使用醚类、丙酮作溶剂时,很容易着火。

(3) 不能将使用后的催化剂(触媒)扔到垃圾箱内,而应放到盛有醇类的容器内回收保存。

(4) 氢化还原反应时,如果反应不完全,一定不能在氢气氛围下再添加催化剂,这样操作非常危险。即使加入更多的催化剂,反应也不会再继续进行。应将反应液用上述方法过滤后,再添加催化剂,使反应重新开始。

### 2.3 烷基铝类

烷基铝类化合物大多是可蒸馏得到的挥发性物质,与空气接触容易着火。通常以烷烃类的溶液或原液出售。

烷基铝类试剂的调制与操作:

(1) 将盛有烷基铝类试剂的压缩气瓶用夹子固定。使用三甲基铝(熔点  $15.3^{\circ}\text{C}$ )、三甲基三氯化二铝( $23^{\circ}\text{C}$ )、二氯乙基铝( $32^{\circ}\text{C}$ )、二氯甲基铝( $74^{\circ}\text{C}$ )时,应选择合适的冷浴。

(2) 在惰性气体保护下,另准备一个盛有一定量干燥溶剂的容器。常用的有机溶剂为饱和烷烃、芳烃、醚类、氯代烷类。

(3) 取下压缩气瓶的外层帽盖,迅速用特制的玻璃罩罩住,通入惰性气体,如图 2-30 (a)所示。

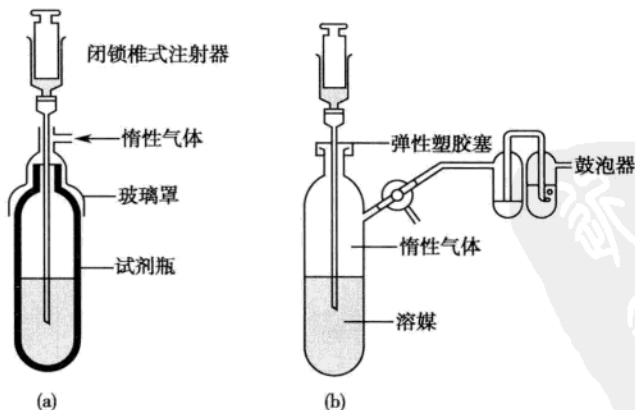


图 2-30 烷基铝类试剂的调制

(4) 用粗长的针头和密封式注射器量取所需要量的试剂。

(5) 将针头插到预备好的容器内(液面下),将烷基铝类试剂滴加到溶剂中,如图 2-30 (b)所示。



- (6) 滴加完后,用溶液反复冲洗数次。
- (7) 烷基铝类试剂的定量比较困难,可根据量取试剂的重量和溶液的总体积计算。
- (8) 将用毕的注射器分别用二氯甲烷、甲醇洗涤。
- (9) 将压缩气瓶的外层帽盖盖上并拧紧。

烷基铝类试剂的废弃:原液废弃前一定要用有机溶剂稀释。在惰性气体条件下,向稀释后的烷基铝类试剂中缓慢滴加足量的甲醇或含水四氢呋喃,放置过夜。

#### 2.4 二烷基锌类试剂(二甲基锌,二乙基锌)

二甲基锌的沸点为  $46^{\circ}\text{C}$ ,二乙基锌的沸点为  $118^{\circ}\text{C}$ 。

二乙基锌的调制(双头针法):

- (1) 在惰性气体保护下,将无水脱氧溶剂加到 Schlenk 管中,称重。
- (2) 将二乙基锌压缩瓶、玻璃制 T 形管、双头针和 Schlenk 管,按图 2-31(a)连接。

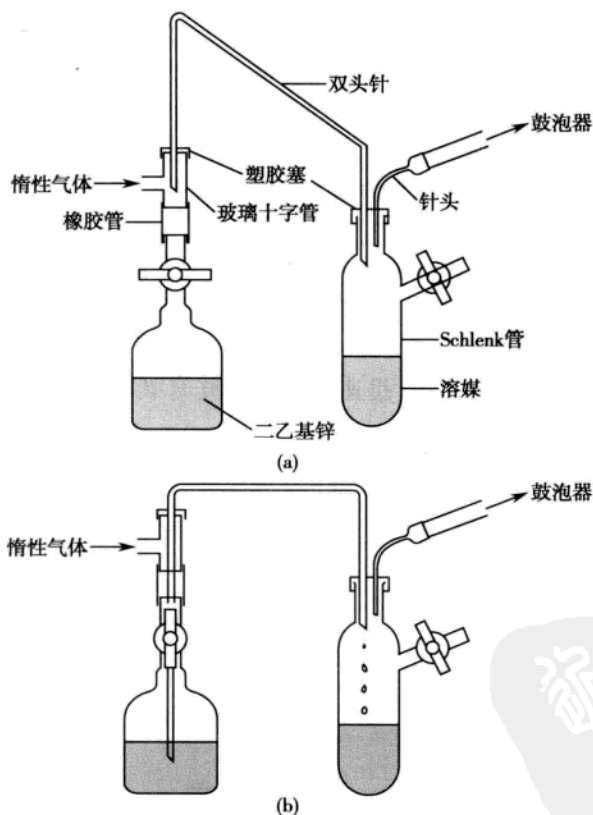


图 2-31 二乙基锌的调制(双头针法)

- (3) 通入惰性气体,将针头内的空气用惰性气体置换。
- (4) 参照图 2-31(b),将双头针的一端插入试剂中。利用惰性气体的压力,将二乙基锌滴加到 Schlenk 管中。
- (5) 滴加完毕,将 Schlenk 管称重,计算其浓度。
- (6) 使用后的双头针,立即用苯、甲醇洗涤。

烷基锌类试剂的废弃:在惰性气体的保护下,将烷基锌试剂用溶剂稀释后,按顺序加入叔丁醇、异丙醇和甲醇,最后用大量的水处理。

### 2.5 三价磷化合物

液态三价磷化合物可与空气中的氧气反应,容易着火。使用时有时需要蒸馏,通常在氮气下常压或减压蒸馏。在蒸馏时,由于分解而使溶液中有黄色粉末(黄磷)产生。如有大量的黄磷产生,应立即停止蒸馏。如果是减压蒸馏,应注意用惰性气体将反应体系恢复至常压,而不能用空气,否则容易着火。

三价磷化合物及含黄磷的蒸馏残渣的废弃:将碘的乙醇溶液慢慢滴加到待废弃的溶液中,直到碘的颜色不褪去为止。

### 2.6 氧化剂与可燃性有机溶剂

在有机溶剂中进行氧化反应时,特别是在吡啶中用三氧化铬进行 Sarett 氧化反应时,一般应将氧化剂分次、少量地加入到反应体系中。如向氧化剂中加入有机溶剂,容易着火。大剂量反应时尤其应注意。

Sarett 氧化反应的实验举例,装置如图 2-32 所示。

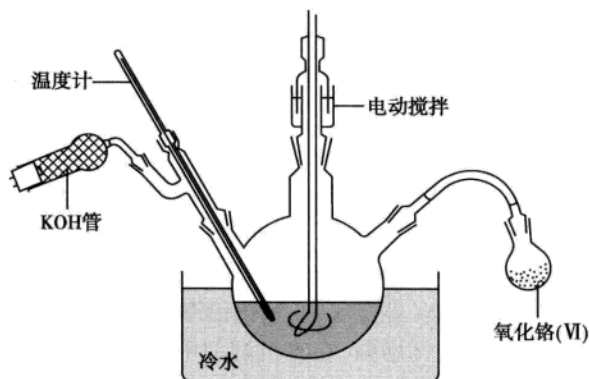


图 2-32 Sarett 氧化反应装置

在冷水冷却和机械搅拌下,于 1h 内向 100g 无水吡啶中分次添加三氧化铬(共 10g),注意应维持温度不超过 30℃。这时溶液变成橘黄色黏稠物。向该溶液中滴加 1/3 当量(相对氧化剂的量)的伯醇或仲醇。室温反应数小时到 20h。若反应较慢,可加热至 40℃。反应结束后,将混合物倒入冰水中,用适当的有机溶剂提取即可。

## 第六节 金属化合物的操作与制备方法

现代有机合成离不开金属化合物。一般来说,大多数金属化合物对空气、湿气比较敏感,必须在惰性气体的保护下使用。如果金属化合物在空气中容易分解,则常用惰气柜和惰性气体反应系统。

实验时,除了真空泵和连有压力表的高纯度惰性气体钢瓶外,还要使用下列装置及附属用具(图 2-33)。反应容器 D 可以是带磨口的 Schlenk 管,也可以是带磨口的三通圆底烧瓶。为防止挥发性成分进入真空泵,在真空泵与系统之间装有冷阱(干冰-乙醇)。为控制惰性气

体的流入量,使用鼓泡器 E、F。打开 A 和 C,使反应容器内成真空后,关闭 A,慢慢打开 B 使惰性气体进入反应系统。重复上述操作 2~3 次。取下容器 D 的瓶塞,在惰性气体的保护下将溶剂、试剂加到 D 中。

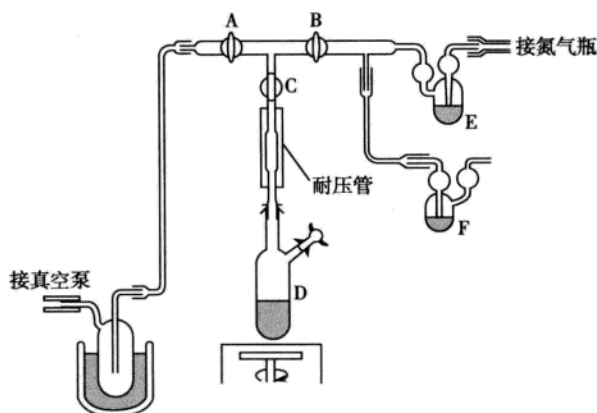


图 2-33 惰性气体保护下金属试剂的添加与反应

注意:如用液氮作冷阱,则不能用氩气作惰性气体源。因氩气在冷阱内液化,容易引起爆炸。

## 1 烷基锂

### 1.1 一般性质

元素周期表中第一主族的烷基金属化合物,对空气、湿气都非常敏感,需要在惰性气体环境中使用。有机溶剂要干燥脱氧(经金属钠、氯化铝锂、氯化钙等干燥后,在氮气下蒸馏)。随着原子半径的增大,金属的离子性增强,在有机溶剂中的溶解性、热稳定性逐渐降低。有机锂类化合物在非极性溶剂中的溶解性、热稳定性好,因而在有机合成中被广泛使用。

烷基锂能与乙醚、四氢呋喃等发生反应而分解,因此应十分注意溶剂的选择及反应条件。通常作为正己烷、苯、甲苯的溶液而使用。

烷基锂分解的半衰期为:MeLi(乙醚,室温,数月);*t*-BuLi(乙醚,室温,剧烈反应;THF, 0°C,剧烈反应);EtLi(乙醚,室温,54h);BuLi(乙醚,室温,153h;THF,室温,2h);PhLi(乙醚,回流,12h);乙烯基锂(乙醚或 THF,室温, <7h);*sec*-BuLi(THF, 0°C, 30min)。

烷基锂在非极性溶剂中以四至六聚体的形式存在。加入叔胺,如 N,N,N',N'-四甲基乙二胺等配位后,以二聚体或单体形式存在,亲核性增强。

### 1.2 烷基锂的使用

烷基锂试剂一般配成一定浓度的正己烷或正戊烷溶液。装在有塑胶塞、充满惰性气体的玻璃瓶子内。使用时采用图 2-15 中的操作用注射器量取。

长期保存时,应放在冷暗处。但是,如把刚刚用毕的试剂密封放在冷暗处时,由于内部压力降低,空气慢慢进入瓶内可使试剂部分分解。因此,应在氮气流下,用冰水将试剂瓶冷却后密封,放在冷暗处保存。再次使用时,应先恢复至室温后再量取使用。如有空气进入,会生成白色沉淀,但其上清液仍可使用,不过应进行浓度测定。

## (1) 烷基锂的浓度测定

## 1) Gilman 二重滴定法

总碱量的定量:往 100ml 的锥形瓶内加入 10ml 蒸馏水。用注射器量取 1.0ml 正丁基锂,加到上述水中使其分解。用 0.1mol 盐酸滴定至终点(用酚酞作指示剂)。记录所用盐酸的量  $M(\text{ml})$ 。

正丁基锂中含其他碱量(杂质氢氧化锂等)的定量:在干燥的 100ml 锥形瓶内加入新蒸苊氯的干燥乙醚溶液(1.0mol,3ml)。用注射器量取 1.0ml 正丁基锂,小心地加到上述苊氯的干燥乙醚溶液中。2min 内 Wurtz 反应结束。加入 10ml 蒸馏水。用 0.1mol 盐酸滴定至终点(用酚酞作指示剂)。记录所用盐酸的量  $m(\text{ml})$ 。

则正丁基锂溶液  $V(\text{ml})$  中正丁基锂的量  $X(\text{mol})$  :

$$X(\text{mol}) = \frac{1}{10} \times \frac{(M - m)V}{1000}$$

2)  $\pi$ -碱基指示剂法(精密测定法):在干燥的容器内加入磁子、精密称量薄荷醇  $A \text{ mg}$  (156.26mg,1mmol)和 1mg 2,2'-二吡啶。在氮气流下加入干燥的四氢呋喃 1ml。用 1ml 的注射器量取含 1.6mol 正丁基锂的己烷溶液,在搅拌下滴加至上述溶液中。滴下量超过 0.6ml 时,溶液颜色变红,但立即消失。当溶液的深红色不再消失时,记录所用正丁基锂的体积  $V(\text{ml})$ 。

则正丁基锂溶液的浓度为:

$$\text{BuLi}(\text{mol/L}) = \frac{A}{156.26V}$$

(2) 甲基锂的制备实验:合成反应装置如图 2-34 所示。三颈圆底烧瓶(1L)连有温度计、干冰冷却管和溴甲烷气体导入管。通过干冰冷却管连接真空和惰性气体系统。先将内部减压后用惰性气体置换,并在惰性气体环境下经 A 加入干燥乙醚 400ml 和金属锂薄片 8g,用冰浴冷却。装上温度计后,在搅拌下打开 C,导入溴甲烷气体。这时 B 的上方为开放系统,并通惰性气体。可以用冰冷却气体瓶,调节使经冷却管液化的溴甲烷以每秒 2 滴的速度进行反应。反应开始后,溶液变浑浊。金属锂全部反应后,有大量白色沉淀产生。放置数小时后,用注射器取出上清液,进行浓度测定即可。

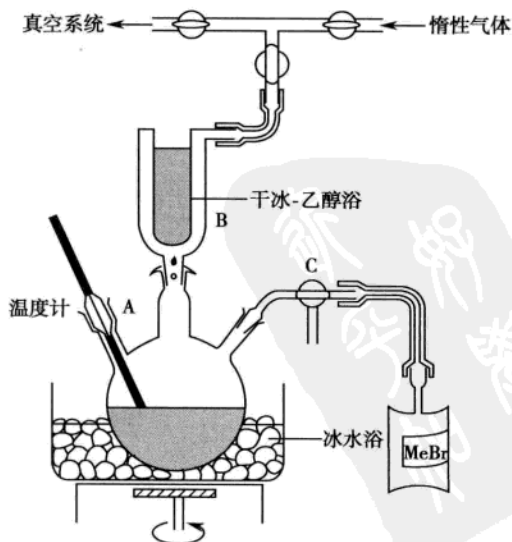


图 2-34 甲基锂制备的实验装置

## 2 格氏试剂

## 2.1 一般性质

金属镁与卤代烃反应可制备格氏试剂。格氏试剂与空气、湿气接触容易分

解,因此应在惰性气体环境中合成。在己烷、苯等非极性溶剂中不溶,故常用乙醚、THF 作溶剂。卤代烃与镁反应的活性顺序为:烯丙卤代烃 > 伯卤代烃 > 仲卤代烃 > 叔卤代烃;碘代烃 > 溴代烃 > 氯代烃。3-溴丙烯与金属镁在  $-20^{\circ}\text{C}$  就能反应,而氯代叔丁烷只有在回流的条件下才开始反应。

## 2.2 金属镁的活化

(1) 常用的金属镁为长条状、粉末状或屑状。如果变黑,可用  $1\text{mol}$  盐酸洗涤至表面呈银色,并立即用乙醇、乙醚洗涤,然后减压干燥即可。

(2) 反应前要先将金属镁活化。在惰性气体环境下,用少量溶剂(乙醚、THF)将金属镁浸泡,加入少量粉末碘,放置  $10\text{min}$  后开始搅拌直至碘的颜色褪去为止。如不褪色,可加少量二溴乙烷或碘苯,稍微加热,反应开始,颜色褪去。

(3) 如反应不开始(碘的颜色不褪),应从头再来。如在这时加入大量卤代烃,反应可能突然开始而失去控制,容易导致危险事故的发生。

## 2.3 格氏试剂的浓度测定

用注射器量取  $2\text{ml}$  格氏试剂,加到水( $5\text{ml}$ )和甲基橙溶液( $4$  滴)的混合液中,溶液变成橙黄色。在磁力搅拌下滴加  $1\text{mol}$  盐酸,滴加过程中溶液变为红色。继续加适量的盐酸,总体积为  $X(\text{ml})$ 。再用  $0.5\text{mol}$  氢氧化钠溶液滴定,使溶液由红色变为黄色,记录所用氢氧化钠的量  $Y(\text{ml})$ 。

则格氏试剂的浓度为:

$$\text{Grignard (M)} = \frac{X - 0.5Y}{2}$$

## 2.4 氯代烯丙基镁的合成

氯代烯丙基镁的制备比较复杂。应注意使用的金属镁要过量,搅拌要充分、快速,反应在  $-10^{\circ}\text{C}$  以下进行,还要缓慢滴加 3-氯丙烯。否则,不能得到氯代烯丙基镁,只能得到副产物 1,5-己二烯。

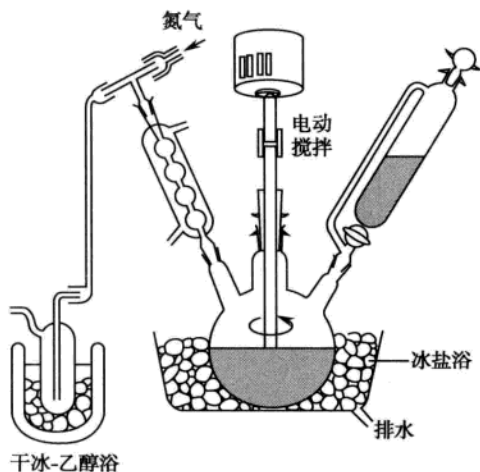


图 2-35 氯代烯丙基镁的合成装置

合成反应装置如图 2-35 所示。三颈圆底烧瓶( $1\text{L}$ )连有恒压滴液漏斗、球形冷凝管、电动搅拌器。通过球形冷凝管连接惰性气体系统。将  $10\text{g}$  镁条加到三颈圆底烧瓶中,通氮气  $5\text{min}$  以置换系统内的空气。在惰性气体环境下加入干燥乙醚  $300\text{ml}$  和少量碘及二溴乙烷使镁活化。用冰盐浴冷却至  $-15^{\circ}\text{C}$  后,在剧烈搅拌下将 3-氯丙烯( $10\text{ml}$ )的乙醚溶液  $50\text{ml}$ ,经  $5\text{h}$  缓慢滴加到反应系统内。滴加完毕,继续搅拌  $30\text{min}$  后,恢复至室温。副反应生成的氯化镁及过量的镁沉积在底部。用注射器取上清液,进

行浓度测定。

### 3 硼化合物

#### 3.1 一般性质

有机合成化学中常用的硼化合物有还原剂、硼氢化试剂和有机硼化合物。利用它们的特殊性质,可以进行多种多样的化学反应。

常见的硼类还原剂有如下几种,这些试剂遇水易分解,在空气中称量时要快速。

$\text{NaBH}_4$ :常用于醛、酮的还原,可以醇为溶剂。还原性比  $\text{LiAlH}_4$  差,不能用于羧酸和酯的还原。硼氢化钠不溶于醚。

$\text{NaBH}_4/\text{PdCl}_2$ :用于烯丙基卤代烃的还原。

$\text{NaBH}_4/\text{PhSH}$ :用于硝基化合物的还原。

$\text{NaBH}_3\text{CN}$ :用于醛、酮、亚胺的还原。

$\text{Li}[\text{Et}_3\text{BH}]$ :强还原剂。

$\text{Li}[\text{sec-Bu}_3\text{BH}]$ :强还原剂。

硼氢化试剂中最常见的是乙硼烷。它是一种有毒的气体,可与空气、水剧烈反应。通常不单独使用,而是以硼烷与四氢呋喃(THF)或硼烷与胺形成配合物的形式使用。一般在惰性气体的保护下进行操作。

$\text{R}_3\text{B}$  型硼化合物中,  $\text{Me}_3\text{B}$  和  $\text{Et}_3\text{B}$  在空气中可自燃,使用时应严加注意。但它们不与水反应。 $\text{Bu}_3\text{B}$  以上的烷基硼在空气中不会自燃,与 N、O、X 等杂原子结合的硼烷,如  $\text{R}_2\text{B}(\text{OR}')$ 、 $\text{R}_2\text{B}(\text{NR}')$ 、 $\text{R}_2\text{BCl}$  等,在空气中稳定性增强,可以用蒸馏法进行精制。

#### 3.2 B-H 结合的定量分析

$\text{BH}_3$ -THF 等硼氢化物中 B-H 结合的定量,可以利用其与水反应生成氢气的量进行分析。反应分析装置如图 2-36 所示。

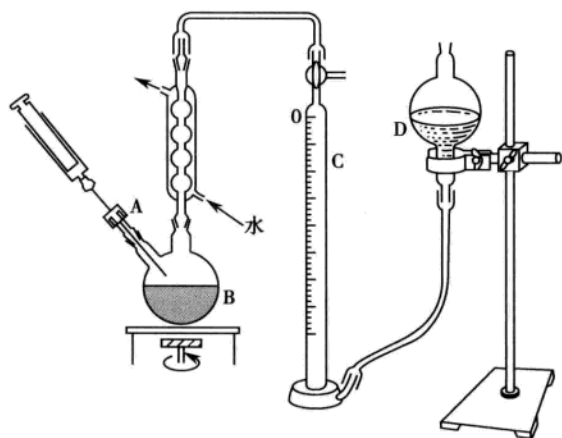


图 2-36 B-H 结合的定量分析装置

操作方法如下:

(1) 在连有试剂导入管(A)和冷凝管的二颈圆底烧瓶(100ml)内加入甘油 20ml,水 20ml,开动电动搅拌装置。

(2) 冷凝管的上端通过导管连接气体量管 C(100ml)。

(3) 气体量管 C 的下端通过导管连接水平调节容器 D(200ml)。

(4) 将 D 抬升至气体量管 C 的 0 刻度附近。

(5) 然后从 D 加水至气体量管的 0 刻度处。关闭三通旋塞,使 B、C 间形成密闭体系。

(6) 用注射器量取 1~2ml 试剂,通过密封胶塞滴加至反应器中。

(7) 加水分解产生的气体使 C 中水面下降。缓慢调节 D 的高度,使 C 与 D 的液面高度尽量一致。

(8) 滴加结束后,等到 C 与 D 的液面高度相同时,通过气量管的刻度读取产生气体的量。

(9) 通过下列公式,算出 B-H 结合的摩尔数。

$$\text{B-H (mol)} = \frac{(P_1 - P_2) \times 273 (V_1 - V_2)}{760T \times 22400V_2}$$

$V_1$ : 氢气产生的量;  $V_2$ : 试剂的体积(ml);  $P_1$ : 测定时的大气压(mmHg);  $P_2$ : 测定温度为  $T$  时的水蒸气压(mmHg)。

上述方法也可用于甲烷、乙烷、CO 气体的定量。

## 4 有机硅、有机锡类化合物

### 4.1 一般性质

大多数有机硅化合物对热稳定,在空气中不易分解,使用比较方便。但含氯的有机硅化合物,如  $\text{Me}_3\text{SiCl}$ 、 $\text{Me}_2\text{SiCl}_2$ 、 $\text{MeSiCl}_3$  等,与湿气接触后容易分解,生成含 Si—O—Si 骨架的硅醚类化合物。因此,应在惰性气体的保护下使用。另外,  $\text{R}_3\text{SiH}$  类化合物在空气中容易分解,也应在惰性气体的保护下使用。这些硅类化合物可用蒸馏法精制,溶于常用的有机溶剂,一般没有毒性。

在有机锡类化合物中, Sn—C 键比 Si—C 键更容易与酸、水反应,  $\text{Me}_3\text{SnCl}$ 、 $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  中的 Sn—X 键遇水容易分解,应在惰性气体环境中使用。

### 4.2 使用注意事项

(1)  $\text{Me}_4\text{Sn}$ 、 $\text{Et}_4\text{Sn}$  等低级有机锡类化合物,不仅毒性大,还有恶臭,应在通风橱中使用。使用后的废液应用 NaOCl 或 NaOH 处理后再投弃。

(2)  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  等含卤素的有机硅或有机锡化合物能腐蚀玻璃,不能长期保存在磨口玻璃瓶中。

## 5 无水金属卤化物

作为有机合成试剂或催化剂合成时的原料,无水金属卤化物经常被使用。下面介绍常用无水金属卤化物的精制方法。

### 5.1 氯化镁、溴化镁

试剂公司出售的氯化镁和溴化镁“无水盐”通常含 0.5 ~ 1.0 摩尔相当的水,即使在真空、200℃ 的条件下加热,也得不到无水物。因此,无水氯化镁和溴化镁应按格氏试剂制备的方法来制备。将金属镁与二氯乙烷或二溴乙烷(1.1 摩尔反应,放出乙烯气体,体系中生成  $\text{MgX}_2 \cdot (\text{Et}_2\text{O})_2$  ( $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$ ) 白色沉淀。过滤后减压干燥,在惰性气体中保存使用。

### 5.2 氯化锌、氯化铝、氯化铁

试剂公司出售的氯化锌、氯化铝和氯化铁的“无水盐”可以不必处理而直接使用。如果试剂接触湿气后形成水合物,即使加热也不能变成无水物。因此,称量时应快速,保存时应密封。无水氯化铝和氯化铁可通过升华法精制。

### 5.3 四氯化锡、四氯化钛,三氟化硼乙醚溶液

四氯化锡、四氯化钛和三氟化硼乙醚溶液均为无色液体,与湿气接触时会分解而冒白

烟。可通过减压蒸馏精制。不能用磨口玻璃瓶保存。

## 6 金属羰基化合物

作为有机合成试剂或催化剂合成时的原料而被经常使用。大多数在空气中稳定,但应注意有些有剧毒。

### 6.1 羰基铁化合物

$\text{Fe}(\text{CO})_5$ :黄色液体,恶臭,有毒,易溶于有机溶剂,应在通风橱内使用。

$\text{Fe}(\text{CO})_9$ :橙色结晶,在空气中稳定,使用方便。能与多种物质反应。不溶于有机溶剂,加热至 $60^\circ\text{C}$ 时分解为 $\text{Fe}(\text{CO})_5$ 和 $\text{Fe}(\text{CO})_{12}$ ,经常在分解条件下进行各种反应。大量使用时,可用高压汞灯照射 $\text{Fe}(\text{CO})_5$ 的冰醋酸溶液( $20\sim 30^\circ\text{C}$ )而简单合成。

$\text{Fe}(\text{CO})_{12}$ :深蓝色固体,不溶于有机溶剂,在空气中稳定。但保存时可能生成还原铁而引发燃烧。使用后的残渣能自燃,不能放在滤纸上,应及时用水处理。可加微量的乙醇,放在冷暗处保存。

### 6.2 羰基钴化合物

常用的 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ 为橙色结晶,可溶于有机溶剂。在空气中易分解,应在惰性气体环境中保存。剧毒,应在通风橱中使用。

### 6.3 羰基镍化合物

$\text{Ni}(\text{CO})_4$ 为无色液体,沸点为 $43^\circ\text{C}$ 。在空气中易分解,应在惰性气体条件下使用。比HCN气体毒性更大,使用时应严加注意。

## 7 磷配合物

第六至第八族的过渡金属大多能与有机磷配体结合形成配合物。它们溶于有机溶剂,能够发生独特的有机反应。

### 7.1 $\text{MX}_2(\text{PR}_3)_2$ 型配合物

$\text{NiX}_2(\text{PR}_3)_2$ 、 $\text{CoX}_2(\text{PR}_3)_2$ 、 $\text{PdX}_2(\text{PR}_3)_2$ 、 $\text{PtX}_2(\text{PR}_3)_2$  ( $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ ;  $\text{R} = \text{Me}, \text{Et}, \text{Ph}$ )等配合物,在无水醇中将金属盐与有机磷配体混合即可制备。这些配合物在空气中相当稳定。

### 7.2 $\text{M}(\text{PPh}_3)_4$ 型配合物

$\text{Ni}(\text{PPh}_3)_4$ 、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、 $\text{Pt}(\text{PPh}_3)_4$ 等低价态配合物,能与多种基质反应。它们在空气中易分解,应在惰性气体环境中使用,在冷暗处保存。

## 第七节 气体反应

有机合成实验中常有气体参与的反应。气体的发生、转移和计量往往需要特殊的器材与技术。

### 1 小钢瓶的使用

装有气体的小钢瓶在实验室内使用比较方便。小钢瓶的容量可小到0.5L。使用时,可将一根一端装有针头的软管通过鼓泡器和针形阀与小钢瓶相连(图2-37)。

鼓泡器作为安全装置,盛有足量的汞,以使气体正常通过针管。一旦针头堵塞,气



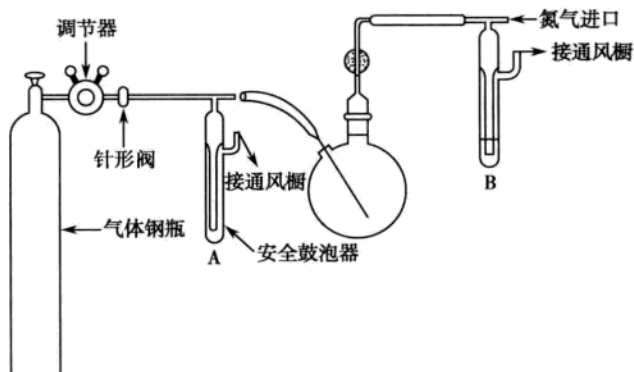


图 2-37 小钢瓶的使用示意图

体即由鼓泡器旁路进入通风橱。管路和鼓泡器均用惰性气体冲洗。使用前可将钢瓶称重。如钢瓶太重不便称量，可利用气体量管计量气体的流速，同时记录通入时间，直至通入所需量为止。将针头通过橡皮膜插入反应瓶，打开钢瓶阀门，维持均缓的气流。通常是将针尖插入到液面下，再将阀门适当开大，通过从针尖逸出的气泡控制气流速度。装有液状石蜡的鼓泡器 B 能显示是否有气体从溶液逸出。可以在加料期间，将钢瓶称重，以便了解其减重的情况。为补偿这种方法的误差，一般要多加 10% 左右的气体。

当加入所需量的气体后，可从鼓泡器 B 的 T 形管向系统内缓慢导入氮气，维持系统内一定的正压力，避免因系统产生瞬时的负压而将鼓泡器内的液体吸入反应瓶。将针头从溶液中拔出，闭紧阀门。从瓶内拔出针管后再次称重。反应完成后，可一边温和加热，一边通入氮气，以驱除系统中过量的气体。

## 2 气体注射器

在小规模气体反应中，由于气体用量很少，可使用气体注射器，如图 2-38 所示。

在使用气体注射器时，先向其油槽中滴入一小滴硅油或矿物油，再装上针管，将针头插入橡皮塞，压入筒芯检查气密性。整个系统组合情况如图 2-39 所示。打开钢瓶的阀门，用气体冲洗系统，气流的大小借鼓泡器加以掌握。用气体冲洗注射器数次后，根据计算所需气体的量，将略多于计算量的气体吸入针筒。在针尖仍处于隔膜内的情况下，关闭注射器上的旋塞。使用时，将该旋塞再次打开，并利用针筒中过量的气体对针管进行最后一次清洗。

将注射器内的气体加入反应瓶时，可先利用汞鼓泡器将反应瓶调至大气压力（鼓泡器内、外管中汞面相平），再将针头插入反应瓶内，慢慢注入气体。在此期

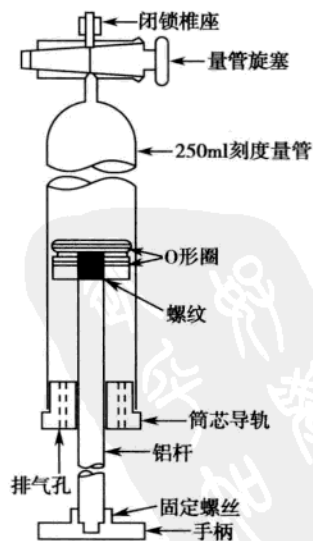


图 2-38 气体注射器

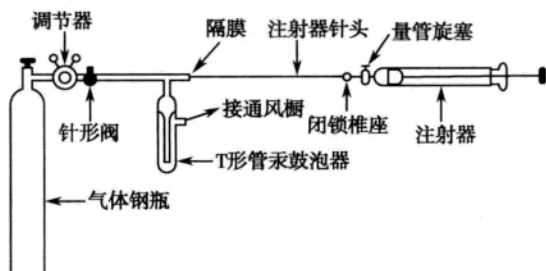


图 2-39 用气体注射器量取气体

间,不能让鼓泡器内产生气泡,以免气体逸出反应瓶。直到鼓泡器再次显示正常气压时,才能将针头拔出。根据需要,这种操作可重复几次。

### 3 气体量管

气体量管由实验室普通仪器装配而成,用于转移一定量的气体(图 2-40)。

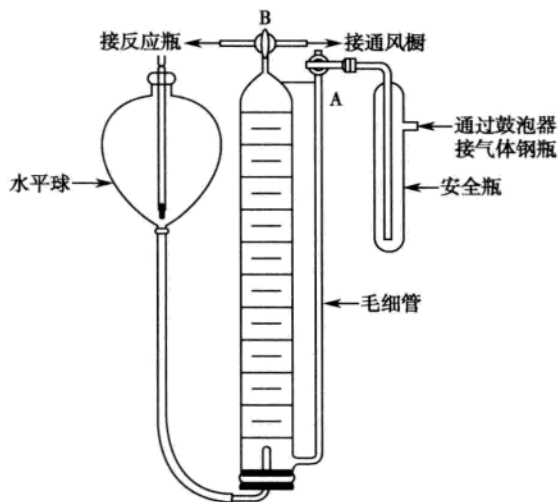


图 2-40 气体量管

首先用汞、矿物油或邻苯二甲酸二丁酯等不能吸收气体的物质充满量管(水能吸收气体,不宜使用)。将与惰性气体源相连的针头插入鼓泡器的隔膜。打开连通气体钢瓶和量管的旋塞 A,让气体将系统冲洗几次。关闭顶端旋塞 B。当气体进入量管时,降低水平球的位置,使量管易于充满。充满后,关闭钢瓶旋塞,打开通向通风橱的旋塞 B,升高水平球,液体便将量管内的气体排空。反复“充气—排空—充气”操作数次,最后将系统充满气体。为了测量气体的体积,量管与水平球中的液面必须相平。在所需体积的气体进入量

管后,从鼓泡器上拔出气源开关,打开通向反应瓶的旋塞 B,使气体进入反应系统,参与反应。

### 4 可凝性气阱

有些气体,如丁二烯、二氧化硫、三氯化硼等,沸点较高,可在冷浴中使其凝结,然后以液态计量。简单的气阱装置如图 2-41 所示。首先将惰性气体针头插入鼓泡器的 T 形管,用氮气冲洗装置。在匀缓的氮气流下,将刻度管冷却至足以使气体冷凝的温度。打开钢瓶阀门,使气体在刻度管内冷凝,收集所需要的体积或重量。之后从 T 形管中拔出针头,迅速通过隔膜插入到反应瓶的进口,冲洗反应瓶。撤去冷浴,让气体通过干燥安全阱蒸发,进入到反应

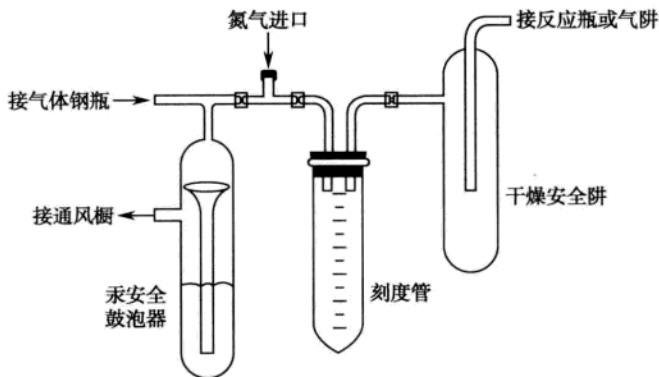


图 2-41 简单气阱装置

系统中参与反应。

处理具有腐蚀性的气体,最好采用全玻璃的定型装置(图 2-42)。将整个系统烘干后趁热装配。用氮气(B)冲洗后,将三通旋塞 C 开向气阱及通风橱(E)。用冷浴将接收器 F 冷却,开启气体钢瓶(A),直至收集到所需体积的气体为止。关闭气体钢瓶,将三通旋塞 C 转向反应系统 D,移去冷浴,让气体蒸发,进入反应系统。在整个过程中,气体都不会接触到空气。

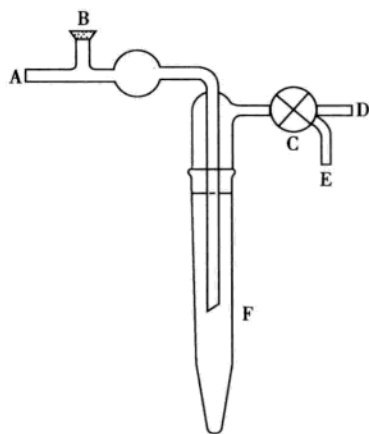


图 2-42 全玻璃定型装置

## 5 自动气体计量发生器

有机合成时,有时参与反应的气体需临时制备产生。表 2-4 列出了几种气体的发生方法。

表 2-4 几种气体的发生方法

气体	计量管中的液体	烧瓶中的反应试剂
氢气	硼氢化钠的乙醇溶液或水溶液	浓盐酸或醋酸
一氧化碳	甲酸	浓硫酸
氯化氢	浓盐酸	浓硫酸
溴化氢	浓氢溴酸	三溴化磷/乙酸乙酯
氧气	过氧化氢水溶液	二氧化锰/水,碱
乙烯	1,2-二溴乙烷	锌
二氧化硫	亚硫酸氢钠水溶液	50% 硫酸

表 2-4 中的气体可通过气体自动发生器(图 2-43)而产生。

在该装置中,计量管中装有一种反应试剂,烧瓶中装有另一种反应试剂,两者混合时发

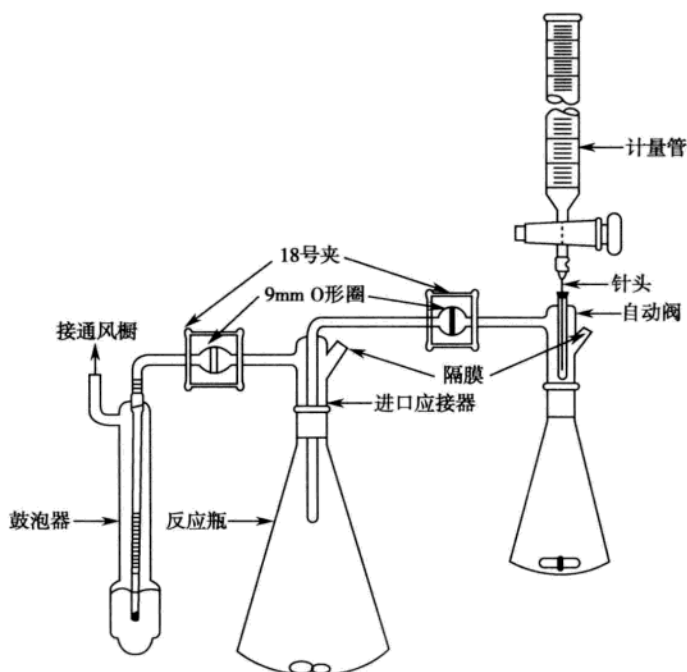


图 2-43 气体自动发生器

生反应,可定量地产生气体。反应时,将计量管上的针头通过隔膜穿入自动阀。阀门由很尖的管子制成,管内充满汞,管子顶部开有几个小孔。针头伸入汞中的深度可以调节,调至使汞面相对于针尖高度所代表的压力正好与计量管中液体的压力相平衡。气体发生瓶与反应瓶都装有隔膜进口,可用来添加液体试剂。当启动搅拌器时,反应瓶中的反应物吸收气体,使系统内的压力降低,自动阀中汞高的压力支持不住计量管的液体压力,液体就会通过针头滴加到气体发生器内。反应产生的气体又使系统压力恢复平衡。在有更多的气体被吸收前,液体不再滴出。

系统中的汞鼓泡器可使系统与大气隔离,又能作为系统释放压力的安全阀。一旦反应吸收气体太快,或计量管内的针尖被堵塞时,鼓泡器顶端的球心阀可防止汞被吸入系统。由于汞面随着反应的进行而上下波动,鼓泡器又作为反映反应进程的敏感装置。

## 第八节 特殊反应装置与技术

### 1 催化氢化

有机化合物在催化剂的作用下与分子氢所发生的还原反应称为催化氢化。被还原有机化合物分子中的官能团不同,所要求的催化氢化反应的实验条件也不相同。有的在室温下反应,有的需高温才反应;有的在常压下反应,有的则须在中压或高压下反应。对于同一底物,催化剂的选择也很重要。实验室内常用的催化氢化催化剂有:Pt/C、Pd/C、PtO<sub>2</sub>(Adams

催化剂)、Lindlar 催化剂、Raney 镍等。

### 1.1 常压催化氢化

(1) 常压下的催化装置,如图 2-44 所示。

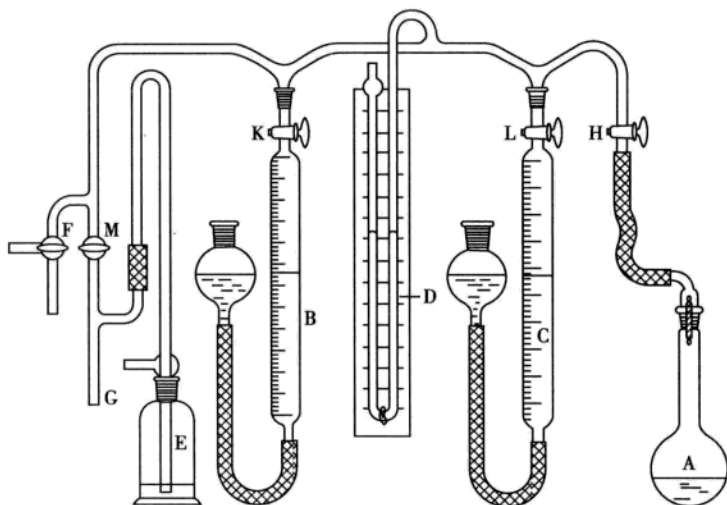


图 2-44 常压下的催化装置

将图 2-44 所示装置固定在牢固的金属框架上。A 为长颈的反应瓶,与一柔性管相连,便于振摇、晃动。根据需要,也可在电磁搅拌下反应。B 和 C 为体积准确的刻度管,与蓄水瓶相连;B、C 管的体积视反应的规模而定。D 为压力计,E 为水银安全瓶。柔性管为聚氯乙烯产品,反应瓶应用防爆玻璃板隔离。

实验操作步骤如下:

- 1) 卸下反应瓶 A,打开活塞 H、K 和 L。将装满水的蓄水瓶升高,使刻度管 B、C 充满水。关闭活塞 K 和 L,降低蓄水瓶的位置。
- 2) 向反应瓶 A 中加入所需量的催化剂,用反应液洗涤反应瓶内壁,使催化剂全部进入反应液中。将反应瓶 A 连接到上述装置中。将装置与水泵通过安全瓶(图中未显示)和三通旋塞 F 连接;将氢气瓶经减压阀与 G 连接。
- 3) 关闭旋塞 M,经旋塞 F 排出系统中的空气。
- 4) 关闭旋塞 F,慢慢打开旋塞 M,使系统中充满氢气,直到压力计 D 显示为一个大气压为止。关闭旋塞 M。
- 5) 经旋塞 F 再次使系统排空,关闭 F。再重复步骤 4) 和 5) 一次。
- 6) 经旋塞 M 使系统再次充满氢气,打开活塞 K 和 L,使刻度管 B、C 充满氢气。如有必要,再次调低蓄水瓶的位置。关闭旋塞 M。
- 7) 在活塞 H、K 和 L 全部打开的情况下,调节蓄水瓶的水平,使其略高于刻度管中水的位置,并立即打开三通旋塞阀,调节系统中的氢气压为一个大气压。记录刻度管中水的高度。关闭活塞 L。
- 8) 振摇或搅拌反应瓶 A,使反应开始,并经常调节刻度管 B 蓄水瓶的位置,使氢气压略

大于一个大气压。当 B 中的氢气全部反应后,关闭活塞 K,再打开活塞 L,使用 C 中的氢气。

9) 当刻度管 C 中水的位置不再发生变化时,反应停止。记录刻度管中水的位置。关闭活塞 L。

10) 停止振摇或搅拌反应液。旋动反应瓶 A,使反应瓶壁上的催化剂全部在液面下。经旋塞 F 使系统排空,并让空气进入系统(如反应瓶的瓶壁上有催化剂,可能与空气中的氧反应而发生爆炸)。卸下反应瓶 A。

11) 换算使用的氢气总体积为标准状态下的氢气摩尔数。

12) 将反应液过滤,并用少量溶剂洗涤。将滤纸上的催化剂转移到回收瓶。因氢化催化剂在空气中容易燃烧,严禁将使用过的氢化催化剂在滤纸上晾干。将滤液适当处理。

(2) Brown 氢气发生装置:如果没有氢气瓶,可采用 Brown 氢气发生装置进行常压下的催化氢化反应。Brown 氢气发生装置是利用醋酸与硼氢化钠产生纯净氢气的反应来作为供氢源的。Brown 氢气发生装置可用于下列两种情况:①外部催化氢化法:氢气在一个瓶中产生,而催化氢化反应在另一个瓶中进行。②内部催化氢化法:氢气的产生与催化氢化反应在同一瓶中进行。

1) Brown 外部催化氢化法:装置如图 2-45 所示。

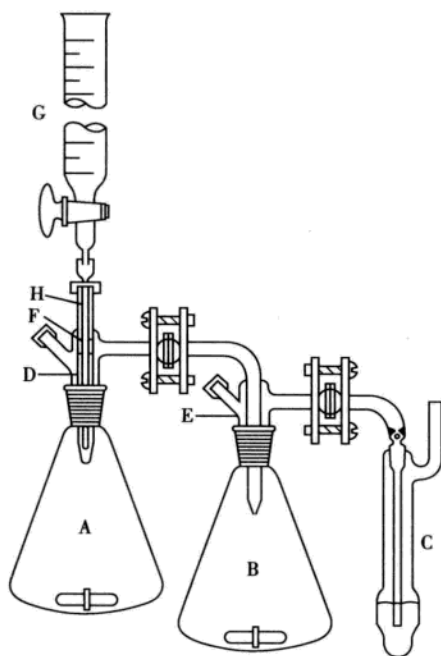


图 2-45 Brown 外部催化氢化反应装置

该系统基本上由 3 个玻璃容器组成:氢气发生源 A,催化氢化反应烧瓶 B 和压力控制水银鼓泡器 C,它们之间用密封接头相连接。水银鼓泡器 C 既可作为安全阀,又可控制系统中的压力。即使自动控制阀 D 阻塞,水银鼓泡器上方入口处的球阀仍可防止水银被倒吸到 B 瓶中。反应瓶 B 与入口转接器 E 相连,入口转接器 E 有一支口,支口用橡皮塞封住。可用注射器经橡皮塞加入反应液。与氢气发生器相连的入口转接器装有水银阀 D。水银阀 D 通过针头 H 和排放口 F 调节从刻度管 G 流进瓶 A 的硼氢化钠溶液的流速。可用电磁搅拌器搅拌瓶 A 和瓶 B 中的反应液。

稳定的硼氢化钠储备液的制备:①1.0mol/L 水溶液:在 150ml 水中溶解 0.8g 氢氧化钠,再加入 7.71g 硼氢化钠(纯度在 98% 以上),搅拌溶解。稀释至 200ml 后过滤。②2.5mol/L 水溶液:将硼氢化钠增至 19.25g,重复上述步骤。③1.0mol/L 乙醇溶液:将 0.8g 氢氧化钠溶解于 10ml 水,用无水乙醇稀释至 20ml 后加入 7.71g

硼氢化钠,充分搅拌后过滤。

0.2mol/L 氯铂酸乙醇溶液的制备:将 1.00g 氯铂酸(Pt,40%)溶于 10ml 无水乙醇中。

还原 0.5mol 物质时的实验操作步骤如下:

a. 取下反应瓶 B(500ml),加入 100ml 无水乙醇,5ml 0.2mol/L 氯铂酸乙醇溶液,5g 脱

色活性炭和一个直径为 38mm 的搅拌磁子。

b. 将上述反应瓶安放在电磁搅拌器上。边搅拌,边迅速加入 25ml 1.0mol/L 硼氢化钠乙醇溶液,以防起泡溢出。1min 后,加入 20ml 冰醋酸或浓盐酸,清除过量的硼氢化钠。

c. 加入 0.5mol/L 反应物或其乙醇溶液,并将反应容器 B 安装到系统上,但不要开始搅拌。

d. 向刻度管 G 中加入 1.0mol/L 硼氢化钠水溶液。

e. 加 20ml 冰醋酸至反应器 A 中。将反应器 A 与系统相连,并在搅拌下,通过注射器从转接器支口加入 30ml 硼氢化钠水溶液。控制加入速度,使系统内氢气奔流但又不使鼓泡器 C 中的水银溅起。

f. 打开刻度管 G 中的蓄液;D 阀中的水银高度要足以支撑硼氢化钠水溶液柱。开始剧烈搅拌反应瓶 B 中的溶液,氢化反应随之进行。当系统内的氢气压降低时,硼氢化钠水溶液就会通过排放口 F 和针头 H 流进反应瓶 A。氢化反应自动进行,直至反应完全。最后注意记录从刻度管流进反应器中硼氢化钠水溶液的体积。

g. 取下反应瓶 B,过滤除去催化剂。滤液经适当处理得到被还原产物。

h. 根据使用的硼氢化钠水溶液的体积,计算使用氢气的量。换算关系如下:



如果被还原物质不溶于乙醇,或对质子性溶剂敏感,则可用四氢呋喃、乙酸乙酯或二甘醇二甲醚作溶剂,但不能用 DMF 或乙腈作溶剂,因它们可使催化剂中毒。如不使用乙醇作溶剂,所需的催化剂仍在乙醇中按上述步骤 a、b 制备,其他步骤需作相应的调整:①将 B 瓶中的催化剂溶液倒入布氏漏斗中,抽滤至催化剂表面大约有 3mm 高的溶剂。②向布氏漏斗中加入 5ml 乙醇,再抽滤除去大部分溶剂。③同样,用新溶剂 50ml 分别洗涤催化剂 3 次。在抽滤过程中不要使催化剂抽干。④用新溶剂 100ml 将催化剂冲洗到反应瓶 B 中。继续按标准步骤从 c 进行氢化催化反应。

2) Brown 内部催化氢化法:在图 2-45 装置中省略氢化反应烧瓶 B 和入口转接器 E。催化剂的制备、氢气的产生和催化氢化反应在同一瓶中进行。还原 0.5mol 物质时的实验操作步骤如下:

a. 在反应烧瓶 A(1000ml)中加入 100ml 无水乙醇,5ml 0.2mol/L 氯铂酸乙醇溶液,5g 脱色活性炭和一个 38mm 的搅拌磁子。

b. 连接入口转接器,将上述反应烧瓶安放在电磁搅拌器上。

c. 向刻度管 G 中加入 1.0mol/L 硼氢化钠乙醇溶液。边搅拌,边迅速通过注射器从转接器支口加入 40ml 1.0mol/L 硼氢化钠乙醇溶液,迅速制备催化剂。1min 后,加入 25ml 冰醋酸,清除过量的硼氢化钠。注意有大量氢气产生。

d. 打开刻度管 G 中的蓄液,通过注射器从转接器支口加入 0.5mol 的被还原物质。催化氢化反应自动进行。

e. 催化氢化反应结束后,记录硼氢化钠溶液体积,过滤除去催化剂,通过适当的方法进行精制。

## 1.2 加压催化氢化

(1) 在中等压力下进行催化氢化反应常用 Parr 振摇式催化氢化反应仪(图 2-46、图 2-47)。

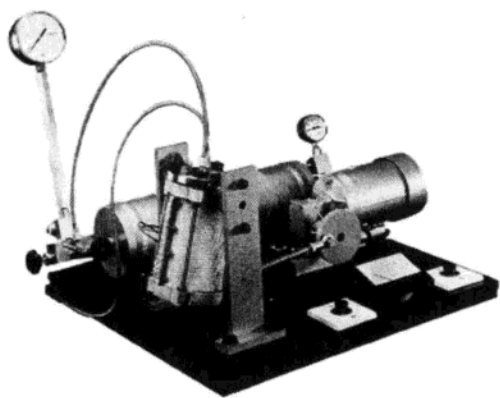


图 2-46 Parr 振摇式催化氢化反应仪

如果使用的反应器皿为特制的玻璃反应瓶(500、1000ml),可使用的加热温度为 $70^{\circ}\text{C}$ ,工作压力为 $413.4\text{kPa}$ (60p. s. i)。如使用不锈钢反应器皿,可使用的加热温度为 $200^{\circ}\text{C}$ ,工作压力为 $2067\text{kPa}$ (300p. s. i)。该仪器的特点是采用电加热,在反应时可同时进行振摇,使反应更容易进行。具体操作如下:

1) 先在反应瓶内加入催化剂,再加入溶剂和反应底物。溶剂的量不能超过反应容器体积的 $2/3$ 。

2) 将反应瓶通过特制瓶塞与氢气通

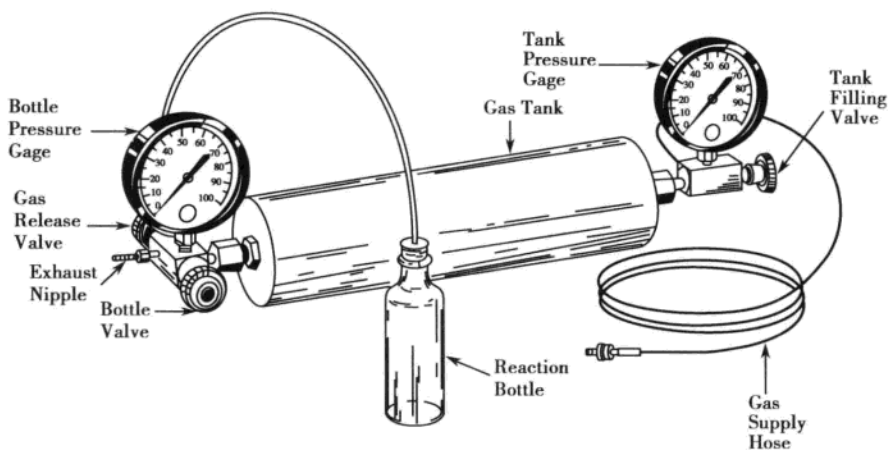


图 2-47 气体室与阀系统

气管连接,放进保护罩内,拧紧螺丝将其固定。

3) 某些型号的 Parr 振摇式催化氢化反应仪连有真空抽气装置,可通过真空泵排空反应体系内的空气。首先关闭反应瓶阀,打开气体排放阀,开始抽真空至反应瓶内溶剂沸腾。如反应溶剂的沸点很高,可抽真空至体系内达到足够的负压。如果反应仪不带有真空抽气装置,可用充氢气法将空气排空。先往体系内加氢气至 $206.7 \sim 275.6\text{kPa}$ (30 ~ 40p. s. i),然后排气。如此重复至少3次以上。最后关闭气体排放阀。

4) 将氢气箱充气至 $413.4\text{kPa}$ (60p. s. i),打开反应瓶阀直至反应瓶内压力达到平衡,记录压力表的读数。

5) 开始振摇。通过反应瓶压力表读数的变化,观测反应的进程。如果需要完全氢化,可振摇至压力表指针不再变化为止。如需部分氢化或定量氢化,可振摇至压力表指针达到计算值为止。

6) 最后,停止振摇,关闭反应瓶阀。反应瓶内的催化剂沉淀后,可打开气体排放阀,释放瓶内及管内的残余压力。



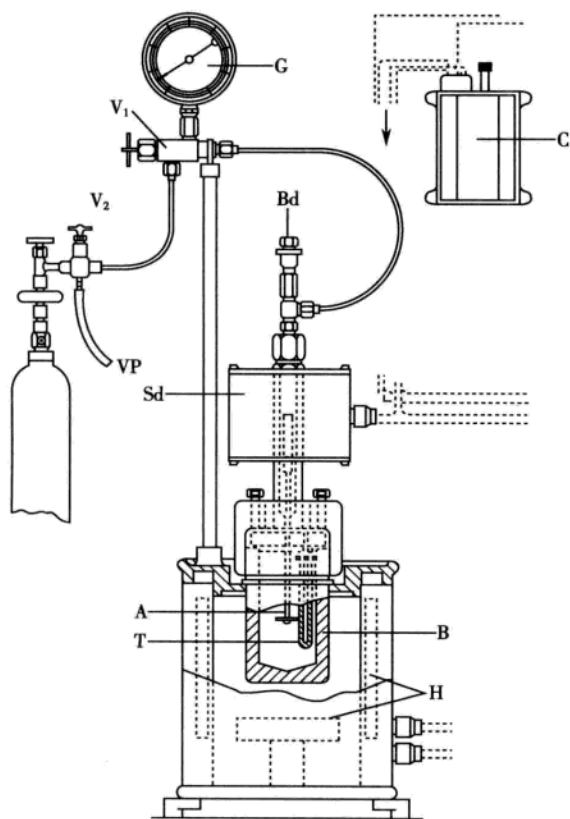


图 2-48 高压釜原理示意图

达 35 463. 75kPa (350atm)。

## 2 加压反应

有些有机反应需在压力条件下及特殊耐压设备、容器中进行。对加压反应设备及容器,应有专门的技术人员定期检查、核对,以保障实验人员、实验室的安全。前面提到的加压催化氢化设备,一般能满足实验室中等规模的反应。对小规模(5~20ml)反应,经常使用耐压封管,见图 2-49(a)。

耐压封管由不锈钢或其他材料(耐压有机玻璃等)制成。圆柱状反应器 A 的开口部一般有 3cm 高的螺纹。帽端 B 可插入到封管 A 口部,并经 O 形圈 C 密封。D 为螺丝夹,拧紧 D 与封管 A 口部的螺纹,可使 B 固定在封管 A 口部。E 为压力调节阀,可通过更换内部压力弹簧强度,设定相应的压力范围。F 为可调节阀。

使用时将封管 A 垂直固定,加入反应物、溶剂等。

7) 卸下固定螺丝,取下反应瓶。按常规处理反应液。

(2) 在高压下进行催化氢化反应可使用高压釜,其原理见示意图 2-48。

高压釜由不锈钢材料组成,密封性好,内部带有电磁搅拌装置、加热装置等,非常便于使用。反应容器 B 由特殊不锈钢材料制成,体积有 20ml 到 2L,并配有专用的盖子。盖子上连有一温度计或热电偶 T,盖子中心配有一直立式管(中央管),盖子外部连有螺母以便调节反应容器与盖子的密封程度。Sd 是通过接触器 C 操纵的螺线管,Bd 代表爆破片(安全阀),G 为压力计,V<sub>1</sub> 是控制阀,V<sub>2</sub> 是排放阀(通过 VP 与真空泵相连,以便使体系内气体完全排空)。A 为搅拌器,其上端穿过中央管。螺线管 Sd 通过接触器 C 操纵,可以每分钟 20~90 运转,带动搅拌器 A 上下垂直往复运动。H 为电加热空气浴,反应温度可高达 300℃,反应压力可

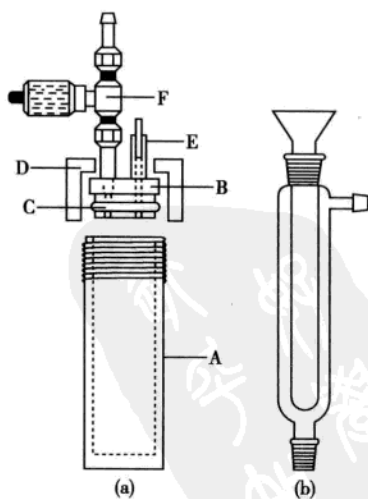


图 2-49 耐压封管示意图(a) 与干冰冷凝器(b)

打开调节阀 F, 将 B 插入 A 端口, 拧紧螺丝夹 D。用真空泵经调节阀 F 将封管 A 内的空气排空。关闭调节阀 F, 除去真空系统。将反应装置安放在防爆屏后, 用油浴或电加热。

反应完全后, 将反应体系恢复至室温, 并进一步将反应瓶冷却至 15℃。打开调节阀 F, 释放内部压力。拆卸反应装置, 倒出反应液进行相应的纯化处理。

当反应体系中的一种或几种反应物为高挥发性物质时, 在加入反应物之前, 封管 A 必须先冷却。可将封管垂直放置在冰盐浴或丙酮-干冰浴中冷却。在冷却过程中, 为防止封管内表面湿气冷凝, 可用连有干燥管的橡胶塞封住 A 口。冷却后, 除去橡胶塞, 加入经冷却的反应剂, 迅速安装及排空。

如果反应物在室温时为气体, 可在通风橱内液化后转移到预冷的封管 A 中。液化装置使用干冰冷凝器[图 2-49(b)]。干冰冷凝器的下口连接一个二颈瓶的中央口, 二颈瓶的支口连有螺栓帽, 通过它将玻璃管插到二颈瓶的瓶口处。玻璃插管的出口处通过聚乙烯管连接干燥管。

加少量颗粒状干燥剂于二颈瓶底部。将连口处涂上少许真空脂, 连接后用密封带密封, 以防止湿气进入。

往干冰冷凝器的内部加入用干冰饱和的丙酮液, 二颈瓶也用丙酮-干冰浴冷却。经气体钢瓶或气体制备装置通入气体, 使气体试剂经冷凝后在二颈瓶内聚集。当液化试剂达到一定量后, 停止通入气体, 并改连氮气瓶。稍微松动螺栓帽, 将玻璃管插到二颈瓶的底部, 再将螺栓帽拧紧。除去干燥管, 打开氮气瓶保持一点压力, 使液化试剂通过聚乙烯管转移到预先冷却好的封管 A 中。然后迅速安装及排空。

### 3 气相热分解反应

气相热分解反应可在催化下进行, 也可不需任何催化剂而顺利反应。常见的气相热分解反应有: 二聚环戊二烯转换为环戊二烯; 丙酮热分解为乙烯酮; 1,5-二乙酰氧基戊烷分解为 1,4-戊二烯等。

气相热分解反应的装置一般由三部分组成: 盛有反应物的容器及其加热装置、热反应室和产物的冷凝及收集装置。反应物蒸气进入热反应室, 在催化剂的存在下(或无催化剂存在下)进行分解反应。图 2-50 是最简单的不需催化剂的气相热分解反应装置。

在图 2-50 的气相热分解反应装置中要求产物的沸点要低于反应物。反应物装在容器 A 中, 经加热套或油浴加热使反应物温和回流。蒸气(含有反应物和产物)通过 B, 反应物经冷凝回流到反应瓶 A 中, 产物则通过冷凝管 D 进入收集瓶 E。支管 C 中液体的沸点要高于产物而低于反应物。在整个反应过程中, 支管 C 中的液体要经加热芯片加热保持沸腾。

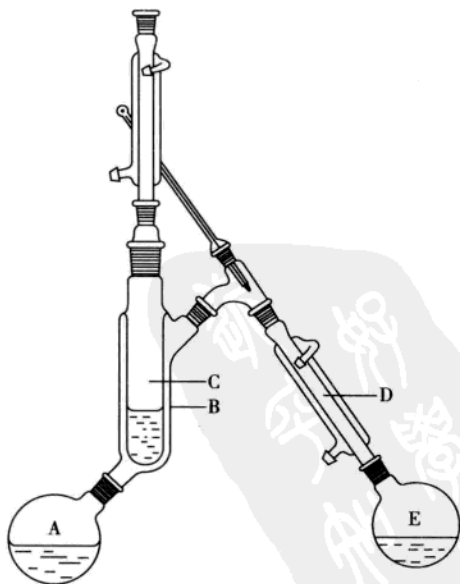


图 2-50 不需催化剂的气相热分解反应装置

如果气相热分解反应不需催化剂而要在高温下进行,如丙酮热分解为乙烯酮的反应,可采用图 2-51 所示的装置。H 为热反应室,内部配有镍铬合金纤丝圈,通电时温度可达  $700 \sim 750^{\circ}\text{C}$ 。丙酮热分解制备乙烯酮的操作如下:在圆底烧瓶内放置丙酮,用加热套加热至温和回流(经冷凝管 M)。数分钟后,连接管 K 的 U 形管充有丙酮,形成一个液体丙酮阱,从而使丙酮蒸气完全从热反应室 H 通过。继续加热 5min,赶出热反应室 H 中的空气。打开热反应室 H 的电加热开关,镍铬合金纤丝圈 C 发出暗淡红光( $700 \sim 750^{\circ}\text{C}$ )。丙酮立即分解为乙烯酮,并经三通管进入反应瓶。通过支管 O 放出冷的丙酮。反应结束后,应迅速进行下列操作:①关闭、撤离烧瓶的加热装置;②关闭热反应室加热电源;③打开支管 O 的旋塞。

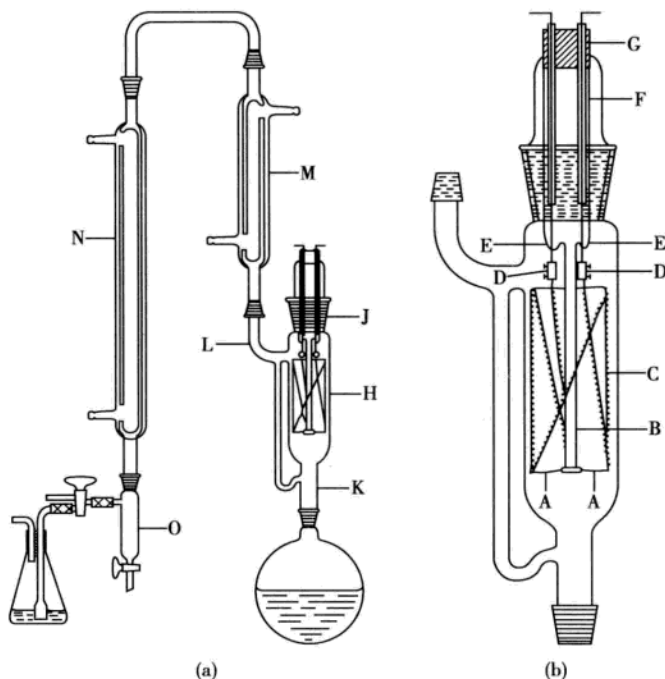


图 2-51 不需催化剂而要在高温下进行的气相热分解反应装置

注意:乙烯酮是具有醋酐刺激性的有毒气体。整个反应应在通风橱内进行。新制备的乙烯酮一般应立即通入反应瓶进行下一步反应。为避免过量的乙烯酮进入大气中,一般在反应瓶后再接一吸收瓶,吸收瓶内装有苯胺,可以与乙烯酮快速反应生成乙酰苯胺,也可由该法定量。

如果热分解反应要在加热管中进行,为增大受热面积,管中最好添加玻璃珠或碎瓷片;或者热分解反应需在热的催化剂表面进行时,应采用图 2-52(a)所示装置。控制恒压滴液漏斗 A,可使反应液匀速地滴加到热反应室 B 中。热反应室 B 由耐热玻璃管及加热装置组成,玻璃管内添加玻璃珠或催化剂。有时热分解反应需在隔绝空气的条件下进行,可通过 T 形管 C 导入氮气,这样既可排出体系内的空气,也可使热分解产物进入冷凝管,经冷凝后在 D 瓶中收集。也可以通过 C,引入气体反应物。根据反应性质的差异,E 瓶可以起不同的作用:①可以显示从 C 进入体系中的氮气的流速;②也可用 Fieser 溶液判断体系中空气排出的情

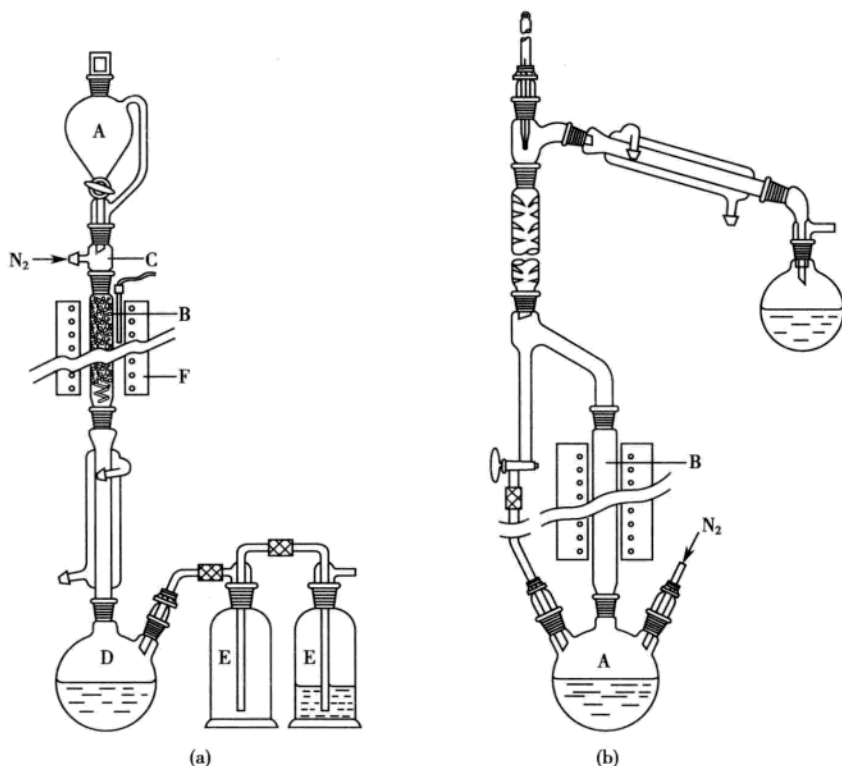


图 2-52 需在热的催化剂表面进行的热分解反应装置

况;③还可用于吸收反应中产生的有毒气体,防止空气污染。

**Fieser 溶液:**将 20g 氢氧化钾溶解于 100ml 水中,加入 2g 蒽醌 2-磺酸钠和 15g(约 85%)连二亚硫酸钠,加热搅拌使完全溶解。该红色溶液冷却至室温后即可使用。一般能吸收 750ml 氧气,最后颜色变浅或有沉淀生成。

**一般操作步骤:**往加热管 B 中添加玻璃珠或催化剂,用玻璃棉支撑,然后放到加热炉中央。将装置中的其他部分按图 2-52(a)安装后,用氮气置换体系中的空气。用电热炉加热到所需的温度,使热反应室温度恒定。如催化剂需热处理,应保持足够时间使其活化。然后开始滴加反应物,保持滴加速度为每秒 3~4 滴。如果滴加过程中观察到有气体产物生成,应停止氮气供应。一般 750ml 反应物需反应 48~72h,此过程中一般不必特殊照应。产物收集在 D 瓶中。应根据产物的性质进行分离、精制等后处理。

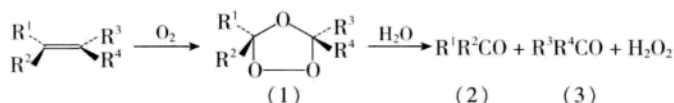
有时只经过一次热反应不能完全转化为产物,或者转化率很低,可采用循环的方法,使反应物多次经过热反应室反应,同时为避免产物分解,须不断地将产物与反应体系分离,则可采用图 2-51(b)中的改良装置。A 瓶中反应物经加热后进入热反应室 B,氮气带动反应物及产物进入分馏柱。未反应的反应物经冷凝后返回 A 瓶,而产物经冷凝管冷凝后进入收集瓶。

#### 4 臭氧化反应

烯烃的碳碳双键可经臭氧作用而断裂生成羰基化合物等。烯烃的这种臭氧化(分解)反

应(ozonolysis)在有机化学中非常重要,可用于不饱和有机化合物的结构鉴定,制备用其他方法难以得到的醛或酮等。烯烃的臭氧化反应不同于高锰酸钾、铬酸等氧化剂的氧化反应,一般不会氧化分子中同时存在的伯醇、仲醇等,具有一定的特异选择性。

在低温( $-20 \sim -78^{\circ}\text{C}$ )下将臭氧通入含烯键化合物的溶液(甲醇、乙酸乙酯、冰醋酸、氯仿、正己烷等惰性溶剂)中,臭氧分子可非常容易、定量地加到碳碳双键上产生臭氧化物,如以下反应式中的反应产物(1)。应避免使用过量的臭氧,以防进一步的氧化。可在反应器的排气口处连一洗瓶,瓶内装有碘化钾和醋酸的水溶液。当臭氧化反应完全时,过量的臭氧可氧化瓶内的碘化钾而突然产生碘沉淀。也可以停止通入臭氧,取一滴反应液到瓷点滴板上,并与一滴四硝基甲烷混合,如颜色变黄,则证明尚有未反应的烯烃,需继续通入臭氧。



反应方程中,臭氧化物(1)一般为黏稠的油状物或泡沫状物,往往具有易爆性,特别是在加热时易发生爆炸,所以臭氧化物一般不经分离,而直接进行还原( $\text{Zn}/\text{HOAc}$ )反应、催化氢解( $\text{Pd}/\text{C}$ ,  $\text{Pt}/\text{CaCO}_3$ )反应,或用硫甲醚、硫脲等处理,进行水解生成羰基化合物(2)和(3)。在这些条件下,可避免臭氧化过程中产生的过氧化氢对产物醛的进一步氧化而生成羧酸。如果羧酸是要合成的目标化合物,则臭氧化物(1)的分解反应可在过氧化氢或高锰酸钾等氧化剂的存在下进行。

图 2-53 是实验室内进行小规模( $2 \sim 4\text{g}$ )臭氧化反应的装置图。A 为洗瓶或鼓泡器,可通过鼓泡控制氧气的流入量;贝特洛(Berthelot)管 B 为臭氧发生器;C 为反应管,装有需经臭氧裂解的反应物溶液;D 瓶内装有 5% KI 的醋酸水溶液。因臭氧有毒并对肺有刺激性,用 PVC 管连接 D 管出口,通至通风橱内。Berthelot 管 B 内装有稀硫酸铜溶液,并通过铜线或不

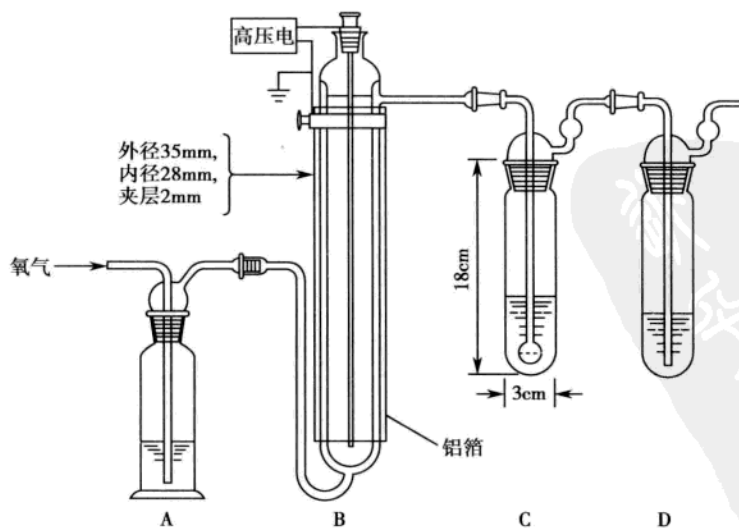
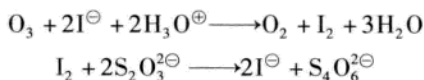


图 2-53 小规模臭氧化反应装置图

锈钢丝(直径为2~4mm)连到高压电(7500~10 000V)转换终端上。另一电极由铝箔缠绕在B管表面而成,铝箔用绝缘胶带覆盖并连接地线。为防万一,高压线接触处都用绝缘橡胶带完全覆盖,电极的顶端用PVC管等覆盖。相应管线的直径见图2-53。Berthelot管B由特殊玻璃制成,通过氧气的环形夹层应非常均匀。整个装置应放在通风橱内,其前加有防爆玻璃挡板。

也可从市场上购买臭氧发生器,这类臭氧发生器一般以空气或氧气为臭氧发生源,每小时产生0.005mol臭氧(用空气)或0.5mol臭氧(用氧气)。使用时,可用PVC管将臭氧发生器与反应管C相连。

如果有必要测定臭氧发生器产生的臭氧量,可在C管内装50ml 5% KI的醋酸水溶液(1:1, V/V),然后以恒定的流速(通过鼓泡器、流速计等)通入臭氧至一定的时间(如1h)。将C管内的溶液转移到锥形瓶中,用0.1mol/L的硫代硫酸钠溶液滴定形成碘的量,即可推算在该时间内产生臭氧的量。反应式如下:



当烯烃的臭氧化反应完成后,如何处理反应液取决于臭氧化反应的目的是为了制备羰基化合物,还是为了鉴定生成的羰基化合物的结构,进而推测烯烃的结构。

如果臭氧化反应是为了制备羰基化合物,则臭氧化反应应在干燥的甲醇中进行,并用催化氢化法进行氢解。可将C管内的反应液转移到圆底烧瓶中,加入Pd(OH)<sub>2</sub>/CaCO<sub>3</sub>催化剂,再连接催化氢化装置,在冰浴中冷却并在电磁搅拌下进行催化氢解反应。因氢解反应为放热反应,冰浴冷却可避免温度过高而使醛被氧化为羧酸。氢解反应也应在装有防爆玻璃挡板的通风橱内进行。氢解反应结束后,过滤除去催化剂,将滤液浓缩,通过结晶、蒸馏、柱层析等方法精制。

如果是为了鉴定生成的羰基化合物的结构,推荐使用下列方法:将C管内的反应液转移到圆底烧瓶中,加入锌粉和醋酸,再将该烧瓶连接到水蒸气蒸馏装置上。圆锥形接收瓶内盛有配好的2,4-二硝基苯肼的醋酸水溶液,保证接收管刚好插入到该溶液的液面下。水蒸气蒸馏反应液,直至蒸馏液与接收瓶内的2,4-二硝基苯肼不再反应,而无2,4-二硝基苯腙沉淀生成。用二氯甲烷提取蒸馏液,干燥后浓缩。用少量甲苯溶解浓缩液,以甲苯为展开剂,进行氧化铝柱层析。将流出液合并浓缩后,鉴别生成的2,4-二硝基苯腙的结构。将水蒸气蒸馏后的反应液残液用乙醚或二氯甲烷提取,洗涤、干燥、浓缩后转换成2,4-二硝基苯腙,鉴定其结构。

## 5 液氨技术

许多重要的有机合成反应需在液氨中进行。液氨(沸点33℃)是众多不同极性的有机化合物的良好溶剂,液氨也能溶解金属锂、钠、钾、钙等。这些金属的液氨溶液可以用于羰基、炔基、共轭双键、芳环等多种官能团的还原,也能脱去与氧原子和硫原子相连的苄基、烯丙基等保护基。在进行上述反应时,先将参与反应的有机化合物(反应底物)溶于液氨,再加入相应的金属,待金属完全溶解后,加入无水甲醇、乙醇、叔丁醇等。因醇的酸性大于氨,醇为供氢源。

液氮的另一重要用途是制备氨基碱金属化合物。在液氮中加入痕量三价铁离子(硝酸铁)作催化剂,再加入碱金属,碱金属与液氮反应生成氨基碱金属化合物。氨基碱金属化合物不溶于液氮,因而成悬浊液。金属钠与液氮的反应方程式如下:



氨基碱金属化合物为强碱,可用于卤代烃的分子内脱卤化氢反应,制备烯烃;也可与含活泼氢(末端炔氢;羰基、氰基等吸电子基团邻位的氢)的化合物作用,产生新的负离子。这些负离子可进行亲核取代等多种反应,在有机合成中用途广泛。

氨基碱金属化合物常混悬于液氮中使用。如果使用的有机化合物不易溶于液氮,可加入惰性有机溶剂如乙醚、THF等。也可在生成氨基碱金属化合物后蒸去液氮,加入乙醚等惰性有机溶剂,随后再将含有机底物的惰性有机溶剂溶液加入到氨基碱金属化合物溶液中进行反应。

液氮一般储存在不锈钢瓶中,在出口处装有简单的粗口螺旋阀。也可从供货商处购买液氮专用的减压阀。在大多数情况下,为使用方便,在出口处通过可拧动的螺旋直接装一粗口金属短管(转接器),连接防爆塑胶输送管,见图 2-54(a)。当液氮钢瓶垂直向上放置时,打开阀门时只能放出氨气。要得到液氮,需将液氮钢瓶放在专用支架上,与垂直方向成  $60^\circ$  角倒置放置,使出口高度高于接收容器,见图 2-54(b)。接收容器要放在通风橱内,且用夹子固定,以防最初放出的氨气迫使接收容器漂动。

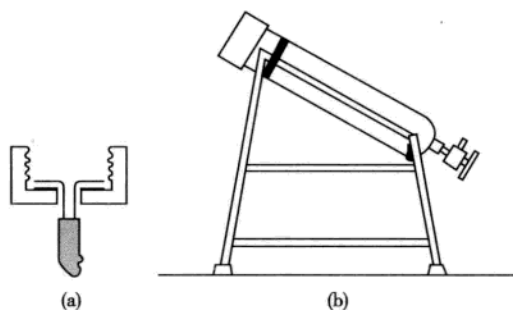


图 2-54 液氮的取用

在阀门、出口粗管及防爆塑胶输送管的温度达到  $-33^\circ\text{C}$  之前,释放出氨气。温度逐渐降低,最终流出液氮。可事先在接收器上做好标记,当接受液氮的量达到所需时,关闭阀门。注意不要使液氮的量超过接收容器体积的一半。在接收过程中,空气中部分水分受冷而进入液氮中( $0.1 \sim 0.5\text{g/L}$ ),一般情况下不会影响使用。如需干燥时,可在搅拌下加入少量金属钠,若最初形成的蓝色消失,则表明液氮中有水分;若蓝色持续无变化,则说明

体系中已无水分存在。

简单的使用液氮的反应装置如图 2-55(a) 所示。该装置由三颈圆底烧瓶、液氮导入管、恒压滴液漏斗、干燥管和搅拌器组成。在停止通入液氮后,可通过左侧的液氮导入颈口加入金属等固体试剂,也可通过该导管通入乙炔等气体试剂。右侧的恒压滴液漏斗连有干燥管,干燥管内装有碱石灰(soda-lime)等干燥剂(不能用氯化钙)。三颈圆底烧瓶应放在盛有木屑、蛭石等绝热材料的容器内。当导入液氮时,三颈圆底烧瓶的外侧会立即结冰,也能起到绝热作用。需观察瓶内反应情况时,可通过用少量丙酮或乙醇冲洗三颈圆底烧瓶外侧即可。如果反应需在低温下进行或产物挥发性强易被氨气带走时,可使用干冰-丙酮浴。

如果反应底物对氨气敏感,则应在氮气的保护下进行反应,而且该试剂应通过较长的导管插入到液氮液面下滴加,见图 2-55(b)。

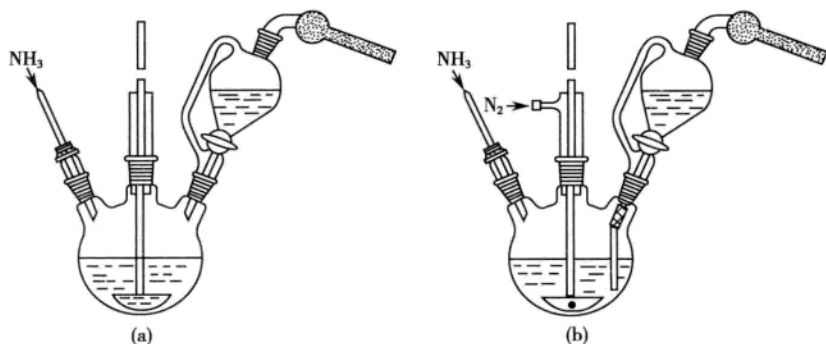


图 2-55 简单的使用液氨/液氮的反应装置

在使用液氨的反应中,氨气不断从体系中溢出。如果所需反应时间过长,在开始时应加入足够量的液氨。在有些反应中,滴加试剂过程中会产生泡沫,可通过加入少量乙醚或抬高搅拌棒的高度使其在液氨表面搅拌等手段,快速消除或减少泡沫。如果仍然无效的话,应停止滴加试剂,直到泡沫消失后再缓慢滴加。

在反应结束后,如果产物不易挥发或产物为碱金属盐,可加入惰性有机溶剂 THF 等,再让液氨溶液在通风橱内过夜自然挥发。如需快速处理反应液,可将反应瓶放入 45 ~ 50℃ 的水浴中,在搅拌下令氨气挥发。如果产物易于氧化,则应在通入氮气的条件下挥发液氨。液氨取出后,按常规方法对残留液进行纯化、精制等处理。

如果产物易于挥发,则可按照下列操作处理:将三颈圆底烧瓶的一个侧口装一旋塞,另一侧口用塞子密封,中央口通过橡胶塞插入粗口玻璃管(4 ~ 5mm),玻璃管下端插到液氨面下近瓶底处,玻璃管上端连接塑膠管,插到装有碎冰的锥形瓶底部。如果需要,也可在冰中加入要使用的提取溶剂。关闭旋塞,瓶内部压力迫使液氨通过玻璃管流入冰-有机溶剂混合液中。通过旋塞可调整液氨的流出速度。液氨转移完全后,用少量提取用有机溶剂冲洗反应瓶。如果反应中有大量盐(卤化钠等),在转移液氨时应不断摇动反应瓶,使盐混悬而不使玻璃管堵塞;一旦发生堵塞,应立即打开旋塞。也可以让盐完全沉淀至反应瓶底部,再不断降低玻璃管的高度,直至液氨全部转移,再用提取溶剂冲洗反应瓶。

## 第九节 有机光化学合成技术

自 20 世纪 60 年代后期开始,随着光源技术、有机物分析与分离手段的发展与进步,有机光化学得到迅猛发展,被广泛应用于聚合、环合、重排、氧化与还原、取代与消除等类型的有机反应中,在天然产物、医药品、香料等精细有机合成中具有重要的意义。

### 1 有机光化学反应的基本原理

光是一种电磁波,具有波粒二象性。波动性表现为光的运动特征,用波长  $\lambda$ 、频率  $\nu$ 、光速  $c$  等参数描述;粒子性表现为光具有一定的能量  $E$ 。各参数之间的关系为: $E = h\nu$ ,  $\nu = c/\lambda$ 。

电磁波谱是一个极广阔的区域,从波长只有千万分之一纳米的宇宙射线到以米、千米计的无线电波都包括在内。常见的光区见表 2-5:



表 2-5 常见光区

光区	波长( $\lambda$ )	波数( $\text{cm}^{-1}$ )	
紫外光区	近紫外	4 ~ 200nm	$5 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^6$
	远紫外	200 ~ 400nm	$2.5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$
可见光区	400 ~ 800nm	$1.25 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^4$	
红外光区	近红外	800 ~ 2500nm	$4000 \sim 1.25 \times 10^4$
	中红外	2.5 ~ 25 $\mu\text{m}$	400 ~ 4000
	远红外	25 ~ 200 $\mu\text{m}$	50 ~ 400

分子的总能量是其电子能、振动能、转动能和平移动能的总和。随着体系温度的升高,分子的平移动能连续不断地增加,而分子的前3项能量(电子能、振动能和转动能)则是量子化的,需要得到不连续的能量(量子化能),才能被激发到高的能级。电磁辐射可以为分子提供量子化能。电磁辐射能量的大小与其波长有关,波长越长,能量越低。吸收红外光区(低能区)光谱,能使分子激发到较高的转动和振动能级,与此相关的分子能量增加较少(0.5 ~ 42kJ/mol);吸收紫外光区和可见光区的光子,能使分子激发到较高的转动和振动能级,与此相关的分子能量增加较多(600 ~ 160kJ/mol),这就导致分子的价电子从低能态到高能态跃迁。紫外光区光子辐射的能量与有机分子中大多数化学键的键能(如 C—H 键能为 410kJ/mol)相当,因此吸收紫外光容易产生化学反应。

将分子从低能级激发到较高能级,涉及价电子从成键轨道( $\sigma$  或  $\pi$ )或非键轨道( $n$ )跃迁到反键轨道( $\sigma^*$  或  $\pi^*$ )。4种可能的跃迁如图 2-56(a)所示,其相关的能量大小顺序为: $\sigma \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \sigma^* > \pi \rightarrow \pi^* \approx n \rightarrow \pi^*$ 。

在有机光化学合成中, $\sigma \rightarrow \sigma^*$  和  $n \rightarrow \sigma^*$  跃迁意义不大,因为这种跃迁发生在远紫外区,而氧在这一区域有吸收使其实际应用不太可能。而  $\pi \rightarrow \pi^*$  和  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁发生在紫外光区,大多数实用的有机光化学反应与其有关。对于简单的酮分子, $n \rightarrow \pi^*$  跃迁约在 270nm,相关能量为 443.1kJ/mol;丁二烯分子的  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁在 217nm,相关能量为 551.5kJ/mol。尽管电子跃迁所需的总能量能够解释为来自接受光辐射时化学键的断裂,但还要考虑处于激发态的电子如何分散其获得的能量才能进行化学反应。这需要了解单重态(singlet)和三重态(triplet)的基本概念。

每个分子中都具有一系列严格分立相隔的能级,称为电子能级,而每个电子能级中又包含有一系列的振动能级和转动能级。分子中电子的运动状态除了电子所处的能级外,还包含电子的多重态,用  $M = 2S + 1$  表示, $S$  为各电子自旋量子数的代数和,其数值为 0 或 1。根据 Pauli 不相容原理,分子中同一轨道所占据的两个电子必须具有相反的自旋方向,即自旋配对。若分子中所有电子都是自旋配对的,则  $S = 0, M = 1$ ,该分子便处于单重态(或叫单重线),用符号 S 表示。大多数有机化合物分子的基态都处于单重态。基态分子吸收能量后,若电子在跃迁过程中,不发生自旋方向的变化,这时仍然是  $M = 1$ ,分子处于激发的单重态;如果电子在跃迁过程中伴随着自旋方向的变化,这时分子中便具有两个自旋不配对的电子,即  $S = 1, M = 3$ ,分子处于激发的三重态,用符号 T 表示。图 2-56(b)所示为电子重态示意图。

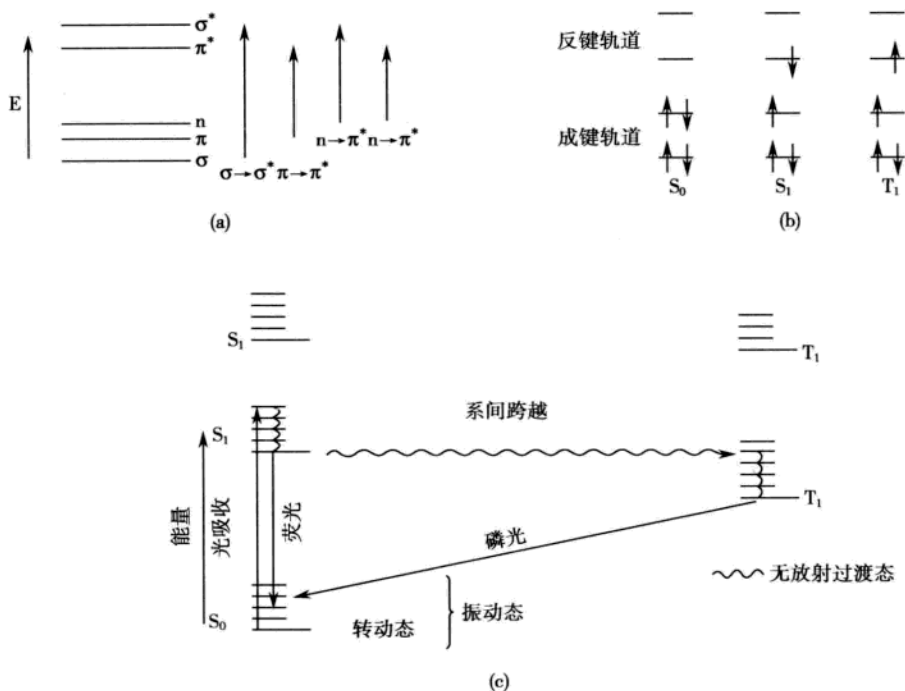


图 2-56 能级及能级跃迁

其中  $S_0$ 、 $S_1$  和  $S_2$  分别表示分子的基态、第一和第二电子激发的单重态； $T_1$  和  $T_2$  则分别表示分子的第一和第二电子激发的三重态。处于分立轨道上的非成对电子，自旋平行要比自旋配对更稳定些(洪特规则)，因此在同一激发态中，三重态能级总是比单重态能级略低，见图 2-56(c)。对应每个可能的单重激发态  $S_x$ ，就有相应的低能级的三重态  $T_x$ 。

当光照反应体系时，价电子( $\pi$  或  $n$ ) 获得能量被激发到单重态  $S_1$ ，这一过程非常快(约  $10^{-15}$  秒)。其激发能可通过 Jablonski 所表示的多种方式失去[图 2-56(c)]。

(1) 分子将最初过剩的振动能很快通过非辐射过程，如通过与溶剂分子的碰撞等失去，产生热力学平衡的单重激发态  $S_1$  分子。它的生命周期很短( $\sim 10^{-8}$  秒)，能通过下列方式失去能量回到基态。

1) 处于激发单重态的电子，以发光的形式放出能量，跃迁回基态，如荧光发射(fluorescence emission, FE)等。

2) 以热散射的方式将能量传给周围的分子，这是一个非辐射过程。当高电子能级中的低振动能级与低电子能级中的高振动能级发生重叠时，常发生电子从高电子能级以无辐射跃迁形式转移至低电子能级的情况。如  $S_2$  和  $T_2$  中的低振动能级与  $S_1$  和  $T_1$  中的高振动能级重叠，电子可以通过振动能级的重叠从  $S_2$  跃迁至  $S_1$ ，或从  $T_2$  跃迁至  $T_1$ 。这个过程称为内部转移(internal conversion, IC)。内部转移的时间为  $10^{-13} \sim 10^{-11}$  秒。

3) 发生化学反应。

4) 系间跨越(Intersystem crossing, ISC): 系间跨越是指不同多重态之间的无辐射跃迁过程，它涉及受激发电子自旋状态的改变。如由第一激发单重态  $S_1$  跃迁至第一激发三重态

$T_1$ ,使原来两个自旋配对的电子不再配对。这种跃迁是禁阻的(不符合光谱选律),但如果两个能态的能层有较大重叠时,如  $S_1$  的最低振动能级与  $T_1$  的较高振动能级重叠,就有可能通过自旋-轨道耦合等作用实现这一跃迁。系间跨越的速度较慢,经历的时间较长。

(2) 处于激发三重态的分子也可通过下列几种方式释放能量:

1) 磷光发射(phosphorescence emission, PE):激发态的电子经系间跨越后到达激发三重态,经过迅速的振动弛豫(分子可能将过剩的振动能量以热的形式传递给周围环境,而自身从激发态的高振动能级跃迁至该电子能级的最低振动能级上,这个过程称为振动弛豫。发生振动弛豫的时间为  $10^{-12}$ 秒)而跃迁至第一激发三重态的最低振动能级,然后以辐射形式跃迁回基态的各振动能级,这个过程称为磷光发射。磷光发射的跃迁仍然是自旋禁阻的,所以发光速度很慢。磷光的寿命为  $10^{-4} \sim 100$  秒。因此,外光源照射停止后,磷光仍可持续一段时间。由于经过系间跨越及  $T_1$  中振动弛豫丢失了一部分能量,所以磷光波长比荧光波长要长。

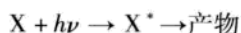
2) 通过内部转移能量而“猝灭”。

3) 发生化学反应。与激发单重态相比,激发三重态的生命周期更长,更有利于化学反应发生。这对有机光化学合成尤其重要。

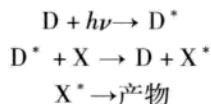
4) 将能量转移给周围(不同)的分子,使其激发到具有相同或更低能量的三重态,而其本身通过自旋转换回到基态  $S_0$ 。实现这一转换的前提是能量接受体分子必须具有更低能级的激发态。

(3) 有两类光化学过程可以导致光化学合成反应。

1) 直接光(分)解作用:底物分子接受光照射被激发到单重激发态  $X^*$ ,然后释放能量,分解为产物。



2) 间接或光敏作用:一种物质接受光照射被激发到单重激发态  $X^*$  或三重激发态  $D^*$ ,并将其能量迅速转移给底物分子使其跃迁至激发态,然后释放能量,分解为产物。这种能通过吸收光子使其他底物分子激活的分子,称为供体分子(D),该种物质称为敏化剂(sensitizer)。敏化剂提供能量后回到基态,再接受光子,继续使底物分子跃迁至激发态,使光化学合成反应不断进行。



由于三重激发态与单重激发态之间的能差大,许多有机化合物(如烯烃)分子不能经过系间跨越而由单重激发态转换到更有利于光化学合成反应的三重激发态。但是,只要敏化剂分子的三重激发态的能量比底物分子三重激发态能量高约  $20.9 \text{ kJ/mol}$ ,能量就能从敏化剂分子转移给底物分子而使其跃迁至三重激发态,从而进行光化学反应。如果一种底物分子形成单重激发态的光区不在紫外光区( $< 200 \text{ nm}$ ),也可以通过光敏作用使其形成三重激发态,进行光化学反应。光敏化作用原理如图 2-57 所示。

## 2 光化学反应应用仪器及操作

在研究一个物质的光化学反应前,应先测定其紫外或可见光谱,从而确定光源。在光敏

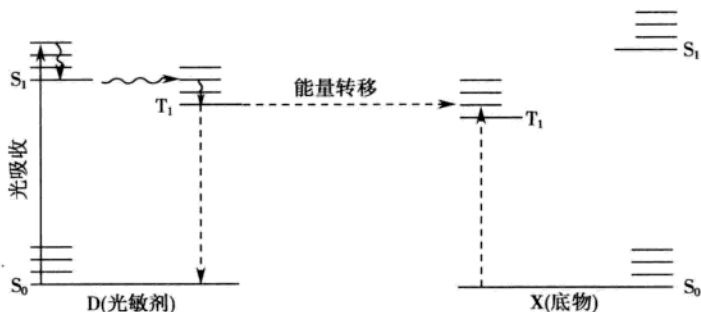


图 2-57 光敏化作用原理图

反应中,也要测定光敏化剂的吸收光谱。

(1) 光源:太阳光是最早使用、最便宜的光化学反应光源。普通的高瓦数钨灯也可作为可见光光源。但最常用的是汞(水银)灯,波长在 220 ~ 380nm 之间。常见的汞灯有 3 种:

1) 低压汞灯:汞蒸气压为 0.001mmHg (1mmHg = 0.133kPa),主要发射波长为 250nm 和 184nm 的光,其中 250nm 波长的光占 80% ~ 95%。如果汞灯内壁覆有磷膜,可在一定波长区域内发射波长更长的光,集中在 300nm 或 350nm。

2) 中压汞灯:内压为 1 ~ 10atm (1atm = 101.325kPa),发射波长为 200 ~ 1400nm 的光,集中在 313、366、435.8、546.1nm。

3) 高压汞灯:内压为一百至几百个大气压,发射波长为 200 ~ 1400nm 的连续光谱。在可见光区辐射能特别大。

(2) 照射波长:照射光的波长由光源、反应容器的透光性等因素决定。需要特定区域波长的光照时,可采用适当的滤光器。有些物质进行反应时,必须用其吸收光照射。这时应考虑该物质的吸收波长、溶剂和生成物的吸收光谱,及反应与光照波长的依赖关系等,选择适当的光源、容器和滤光片等。

(3) 溶剂:要求对化学反应及光化学反应稳定,并具有良好的光透过性。常用的光化学反应溶剂有:正己烷、苯、醇、乙腈、四氢呋喃等。含卤素的化合物对光不稳定,一般不作为光化学反应溶剂。应注意,有时溶剂本身并不反应,但有时具有光增敏作用;还要考虑溶剂的极性、黏度等对光化学反应的影响。

(4) 浓度:根据基质、溶剂和其他共存物质的分子吸收度,调节基质的浓度,使有选择性地、最大程度地吸收入射光。当基质为增敏剂时,还要使反应物的浓度足够大。一般基质或反应物的浓度为 0.001 ~ 1mol/L。

(5) 温度:光化学反应的活化能小,受温度的影响小,一般在室温和零下即可进行。使用低压汞灯时,一般在室温反应;使用中、高压汞灯时,因反应放出大量的热,应对灯管等进行冷却。

(6) 反应相:有机光化学合成一般在均相溶液中进行。固相光化学反应往往由反应物的结晶构造所支配,在选择性反应、手性合成等方面被广泛应用。

(7) 照射方法:外部照射(光源在反应器外面)和内部照射(光源插入反应液中)。后者最为常用。

(8) 反应装置:实验室常用的光反应装置如图 2-58(a)所示。1L 三颈烧瓶的中央口连

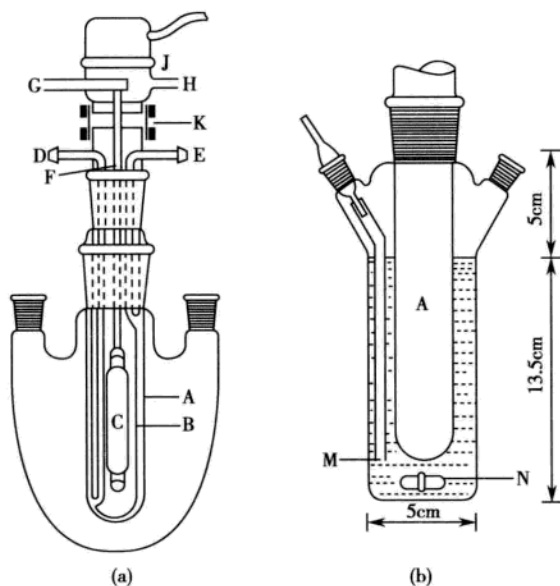


图 2-58 实验室常用光化学反应装置

接光源部分,可从一个侧口连接惰性气体源,另一个侧口连接回流装置或干燥管。反应溶液用电磁搅拌仪搅拌。光源由汞灯 C、外部石英夹套 A 和内部石英夹套 B 组成。冷却水或冷却用空气可从进口 D 进入,从出口 E 流出。汞灯 C 通过金属丝夹连在中空支撑管 F 上。通过入口 G 和出口 H,可用氮气冲洗汞灯 C。汞灯 C 通过 J 与电源相连,J 的表面为绝缘膜。K 为橡胶夹,使 J 与内部石英套连接。汞灯及内部石英夹套 B 可从外部石英夹套 A 中取出、分离。

使用高、中压汞灯时,应用循环水(经 D、E)冷却。用低压汞灯时,可用空气冷却,可在 H 接口连一水泵,将过滤空气吸入。水泵需设在通风橱内,以排除产生的臭氧。滤光液可代替循环水以除去不必要的光,当然滤光液可循环、冷却使用。

在空气中使用汞灯时易产生臭氧及氮氧化物。因此有必要缓慢通入氮气冲洗汞灯。低压汞灯在  $40^{\circ}\text{C}$  时输出效率最高,因此应避免在汞灯区温度过低,特别是从氮气瓶放出氮气冲洗汞灯时,氮气膨胀易变冷。另外,使用的氮气必须干燥。

进行小规模反应时,可用图 2-58(b) 中的装置。A 为石英外套,内装汞灯等。可通过 Teflon 管 M 通入氮气。

(9) 在进行光化学反应时,应牢记以下几点:

1) 安全:光化学反应对眼睛危害大,也可能造成皮肤损伤。因此,光化学反应应在通风橱内进行。采用内部照射法时,反应容器外侧应用铝箔包裹,在通风橱外侧用黑布帘等遮光。循环水接口处的橡胶管应用线等缠紧,以防脱落。

2) 脱气:溶解在溶剂中的氧气必须除去。反应前将氮气导入溶液中,维持 30min。光化学反应也要在氮气环境中进行。

3) 搅拌:在进行光化学反应时,通常使用较浓的溶液,照射光只能被离灯管最近、很薄的一层溶液吸收,因此反应必须在良好的搅拌下进行。采用内部照射法时,一定要将灯管尽

量插入到溶液底部。

4) 反应时间:进行光化学反应时,由于生成物、副产物的滤光、消光作用,反应不容易彻底进行。应根据 TLC、GC 等追踪反应,当生成物不再增加或副产物的量增加时,停止反应。应尽量避免产物再进行光化学反应。

5) 量子产率:发生反应的分子相对于激发分子的分率,称为量子产率,用  $\Phi$  表示。

$$\Phi = \text{形成产品的分子数} \div \text{吸收的光量子数}$$

当  $\Phi = 1$  时,每一个被激发的分子都转化为产物;当  $\Phi = 0.01$  时,每 100 个被激发的分子中只有一个转化为产物;当  $\Phi > 1$  时,表示该反应为链式反应。

## 第十节 微波技术

微波(microwave, MW)又称超高频电磁波,是波长从 1mm ~ 1m、频率从 300MHz ~ 300GHz 的电磁波。微波由调速管、磁控管和行波振荡器等组成的微波发生器中产生,输出功率可达几微瓦至数千千瓦。12 ~ 30GHz 的微波用于雷达和远程通讯。为使微波应用领域规范化,避免互相干扰,国际上对工业、民用及科学研究中加热、干燥等微波装置的频率有具体规定,一般为 2.45GHz,常见的商用微波炉无论是进口的还是国产的均使用这个频率。

微波辐射(microwave irradiation, MWI)最早用于有机合成反应是在 20 世纪 60 年代末,美国科学家利用家用微波炉进行丙烯酸酯、丙烯酸和异丁烯酸的乳液聚合,发现在微波作用下聚合反应速度明显增加,但这个发现当时并没有引起人们太大的关注。MWI 技术真正在有机合成中的应用,始于加拿大学者 R. Gedye 等人,他们于 1986 年在家用微波炉中进行了一系列有机小分子的合成研究,即所谓的“烹饪实验”,指出在微波炉密封管内进行的有机反应,可以大大加快反应速度(最高达一般条件下的 1240 倍),反应时间以分、秒计。这一发现对于几个世纪来惯用的传统加热方式提出了挑战,为有机化学反应提出了新的思路。此后,有关 MWI 促进有机反应速度的报道呈指数关系迅速增加, MWI 技术成为有机化学领域中迅速发展中的一个热点。微波促进有机反应的研究在短短十几年内已发展成一个引人注目的全新领域——微波有机化学(microwave-assisted organic chemistry, MAOC)。

为什么 MAOC 反应会迅速进行呢?一种观点认为,虽然微波是一种内加热,具有加热速度快、加热均匀、无温度梯度、无滞后效应等特点,但应用微波的化学反应与传统加热反应并无区别,仅仅是加热方式的不同。他们认为微波应用于化学反应的频率 2.45GHz 属于非电离辐射,在与分子的化学键共振时不可能引起化学键断裂,也不能使分子激发到更高的转动或振动能级。微波对化学反应的加速主要归结为对极性有机物的选择性加热,即微波的致热效应。另外一种观点则认为微波对化学反应的作用,一是使反应物分子剧烈运动,温度升高,因为具有永久偶极的分子在 2.45GHz 电磁场中产生的共振频率可高达  $4.9 \times 10^9$  次/秒,超高速旋转使分子平均动能迅速增加(温度升高);二是微波场对离子和极性分子的洛伦兹力作用使得这些粒子之间的相对运动具有特殊性,且与微波的频率、温度及调制方式密切相关,因而微波加速化学反应的机制非常复杂,存在致热和非致热两重效应。国内外也有许多报道证明,微波能降低某些反应的活化能,加快化学反应速度。

目前,随着计算机信息技术、制冷控温等技术与微波技术的紧密结合,新型微波有机合

成仪器不断出现,功能也多种多样,微波反应可在控温、控压等可控条件下进行,微波有机合成技术已在实验室、工业生产等诸多领域广泛应用。

微波有机合成反应是使反应物在微波的辐射作用下进行的反应,它需要特殊的反应技术,这与常规的有机合成反应是不一样的。微波反应技术大致可以分为微波密闭合成技术、微波常压合成技术、微波连续合成技术和微波干法合成技术等。

## 1 微波密闭合成技术

该技术以所谓的“烹饪实验”为主,是最早发展起来的微波密闭合成反应技术。将反应物和溶剂放入密封的聚四氟乙烯反应器内,启动微波,反应结束后,反应器冷却至室温再进行产物纯化等。它实际上是一种在相对高温高压下进行反应的技术。

密闭体系中进行微波有机反应的特点在于使反应体系在瞬时达到高温高压(最高温度可达 $250^{\circ}\text{C}$ ,最高压力可达 $8\text{MPa}$ ),使反应速度大大提高,但这种高温高压条件使得反应容器容易变形或发生爆裂。因此,密闭反应器材应采用特制的聚四氟乙烯或耐压玻璃器皿,外面再包一层抗变形的透射微波的特殊材料。为了解决微波密闭合成反应中压力、温度难以控制、监测困难等问题,人们开发了可以调节反应釜内压力的密封罐式反应器(图2-59)。

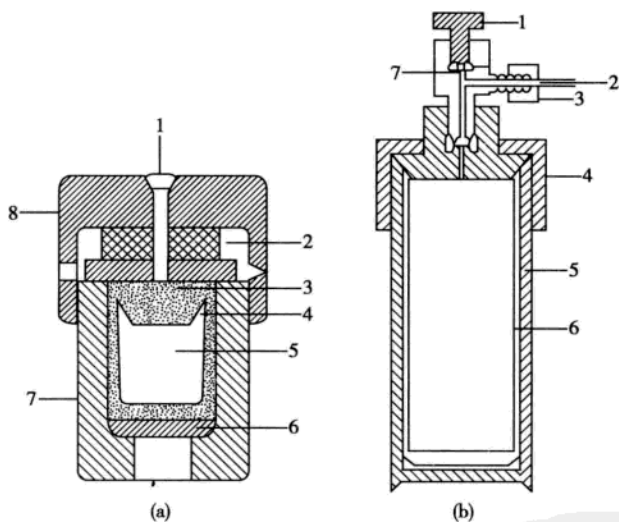


图 2-59 可调节反应釜内压力的密封罐式反应器

在图2-59(a)中,1为聚四氟乙烯螺帽,2为由橡胶材料做成的减压盘,3为聚四氟乙烯帽,4为聚四氟乙烯环形垫圈,5为聚四氟乙烯反应器,6为软质材料制成的底盘,7为反应器外套,8为环形螺帽。当反应体系内压增大时,通过减压盘2使压力减小,从而使内部温度得到一定程度的控制。3和4起密闭反应体系的作用,6起支撑和缓冲体系压力的作用,8为整个装置的上盖,起密闭作用。在图2-59(b)中,1为螺旋帽,2为压力转换器,3为硬套管,4为容器帽,5为抗压容器,6为反应器,7为断裂盘。在这一装置中,容器的上半部分内部有一探针与反应器相连,当反应体系内压增大时,迫使探针带动断裂盘上移,同时将这一信息传给外面的压力控制器,调节反应体系内部的压力。以上两种装置均能有效控制反应体系的

压力,从而达到控制温度的目的,但均只能粗略地控温。

随着电脑技术被应用于微波反应体系的温度控制,并将微波炉的功率输出部分改造成连续可调输出,再配以强力搅拌装置,开发了密闭体系下的微波间歇反应器(microwave batch reactor, MBR)。该装置容量为 25~200ml,操作温度可达 260℃,压力可达 10MPa(100atm),微波输出功率为 1.2kW,具有快速加热能力。该装置实现了对微波功率的无极调控,吸收和反射微波能的测量,负载匹配设计达到了最大的热效率,可直接测量反应体系的温度和压力。它装有搅拌装置,阀门和管件便于样品在加热期间的加入和取出。装置图见图 2-60。

微波间歇反应器具有下列优点:

(1) 快速加热和冷却。如电加热高压釜将 1,3-丙二醇尽快地从室温加热到 200℃,需 14min;采用 MBR 只需 2min。在 200℃ 维持 5min 后降温,MBR 中温度从 130℃ 降至 70℃ 只需 5min,而在高压釜中需 20min。

(2) 温度控制灵活,响应敏捷。在图 2-61 中,实线指将反应混合物(水溶液)快速从室温加热到 160℃,维持 2h,然后将反应温度以 60℃/min 的速度升至 250℃,维持 10min 后降温。虚线描绘的是在 100℃ 反应 2h 后,以 1.6℃/min 的速度升至 250℃,然后降温。当需要时,温度响应十分迅速。若用常规加热方法获得与图 2-61 相似的图像则非常困难。

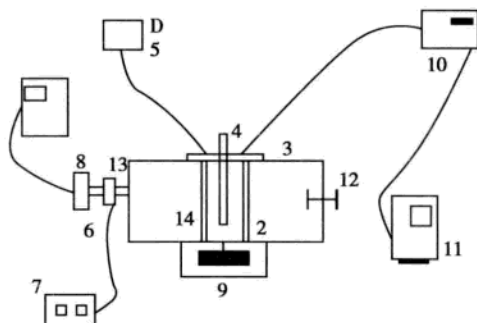


图 2-60 微波间歇反应器

1. 反应器;2. 立柱;3. 法兰盖;4. 冷却槽;
5. 压力表;6. 磁控管;7. 微波入射/反射功率表;
8. 可变功率源;9. 搅拌器;10. 光纤温度计;
11. 计算机;12. 负载匹配装置;13. 波导管;
14. 微波腔

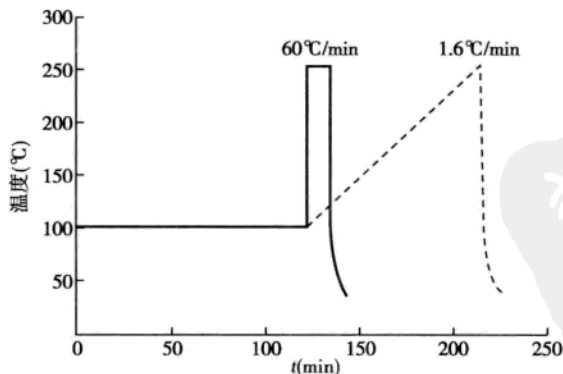


图 2-61 微波条件下的温度调节曲线

(3) 区分加热。由于微波加热与物料的介电性质有关,水-氯仿(体积比 1:1,100ml)二相系统在 MBR 中加热 1min,水相温度约 110℃,有机相温度约 50℃。

(4) 在低沸点溶剂中进行高温反应。MBR 可在加压条件下加热低沸点溶剂,即可促进反应又方便随后溶剂的除去。



(5) 并流加热和冷却。在 MBR 中,冷却可与加热同时应用,对放热反应能适当加以控制,对一些氧化放热反应能完全地进行。

(6) 水作为假性有机溶剂。水的介电常数在 25℃ 时为 78,到 300℃ 时降至 20,后者接近常温时丙酮等有机溶剂的介电常数数值。所以水在高温时可视为假性有机溶剂。用水代替有机溶剂不仅具有巨大的经济效益,也对环境友好。高温反应冷却后,有机产物一般很容易与水分离开,这就简化了后处理工作。此外,水的解离常数受温度影响非常大,25℃ 时为  $10^{-13.99}$ ,当温度升至 300℃ 时则变为  $10^{-11.30}$ ,增大了 3 个数量级(近 1000 倍)。因此,水在高温时是一种较室温时强得多的酸或碱。MBR 方便、简单的操作性能,使得水的这些特性能在微波有机合成中被广泛应用。

## 2 微波常压合成技术

为了使微波技术应用于常压有机合成反应,避免在密闭容器中进行的 MAOC 反应易发生爆炸、容器变形等事故,扩展微波有机合成反应的应用范围,开发了以高沸点极性溶剂为反应介质、利用敞口容器在微波炉中进行的常压合成技术。反应温度一般控制在溶剂沸点以下 20 ~ 30℃ 为宜。常用的溶剂有邻二氯苯,沸点为 180℃;二乙二醇二甲醚,沸点为 162℃;DMF,沸点为 153℃ 等。一般用较大的烧杯或锥形瓶(250ml),溶剂量仅几毫升,反应物用量在 1.0g 左右。由于玻璃不吸收微波辐射(MWI),且可以让 MWI 穿透,因此短时间(几分钟)内容器上部仍保持冷却状态,可以使产生的溶剂蒸气冷凝下来,反应不必在密闭容器中进行,也避免了高压的危险。

回流情况下的微波常压合成反应,可采用两种冷凝形式:

(1) 采用“冷指”(cold finger)的反应器:在微波炉中,用一个较大的玻璃烧杯作反应器,其上盖一个大沿小烧杯(内装干冰)作为“冷指”(内冷凝器)。反应在大烧杯底部进行,低沸点溶剂气化后,遇到“冷指”就被凝结下来,从而达到回流的目的。因为干冰为非极性物质,能让 MWI 自由穿透而不吸收其能量,因此短时间内不会升华,可以有效地将上升的溶剂蒸气冷凝下来,不至于逸出。

(2) 装有外冷凝器的微波反应器:这类反应多在改装的微波炉中进行。在普通微波炉壁上开一个小孔,通过小孔使微波炉内反应器与炉外的冷凝回流系统相接,微波快速加热时,溶液在这种反应装置中能够安全回流。这种装置可进行需要回流的大多数反应[图 2-62(a)]。

图 2-62(a)中 1 为冷凝器;2 为搅拌器;3 为滴液漏斗;4 为反应瓶;5 为微波炉膛;6 为微波炉壁。如果需要不断除去反应体系中产生的水分,可采用带分水装置的微波反应器,见图 2-62(b)。

与密闭反应体系相比,常压技术采用的装置简单、方便、安全,适用于大多数微波有机反应,操作方法与常规方法基本一致。

## 3 微波连续合成技术

既然微波辐射能大大提高反应速率,使有机反应时间从几个小时缩短到几分钟,人们设想,如果控制反应液体的流量以一定的流速通过微波炉接受辐射,完成反应后送到接收器,使反应不断地进行,就能大大提高合成反应效率。基于这一设想,开发出微波连续反应器

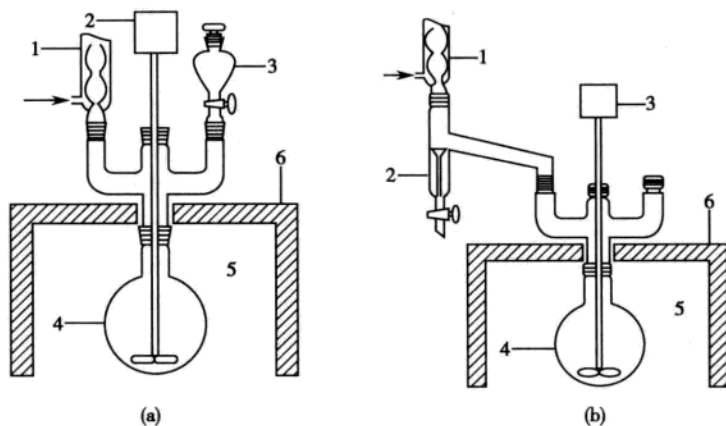


图 2-62 常见的常压回流微波反应装置

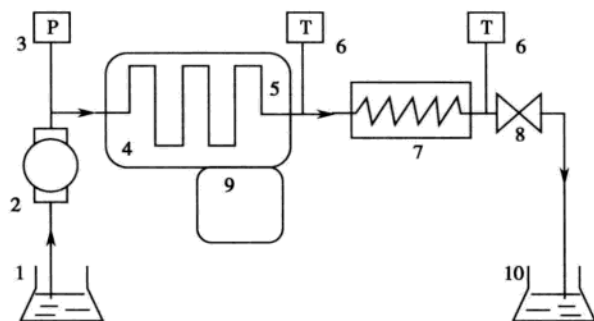


图 2-63 微波连续反应器

(continuous microwave reactor, CMR), 如图 2-63 所示。

在该装置中, 容器 1 盛有反应液, 经压力泵 2 将反应液压入微波炉内, 再经环形管 4 (接受辐射) 后进入环形管 7 而得到迅速冷却, 通过 8 减压使产物的压力减少到所要求的范围, 然后流到产物接收瓶 10 中。在该装置中, 环形管由能透过微波的惰性材料制成, 在管进出口处连接压力泵 (3 为压力传感器) 和温控装置 6。在系统的末端连有调热器和调节压力的阀门。当溶液流出辐射区后可以经迅速冷却并同时减压。调热器可以调节反应液进入炉前、出炉以及冷却后的温度。系统中的流速及微波功率可以灵活控制。辐射区管内的压力可经调压阀调节, 两端相互平行的安装方式则避免了金属体与微波辐射区的正面接触。

在该系统中, 9 为微波控制系统, 其自动控制程序中包括自动防止故障的参数。当体系温度超过最大允许温度或反应环形管堵塞、破裂时, 自动控制系统可迅速使反应系统停止。

该套反应系统中, 微波辐射区的体积可达 120ml, 冷却区体积可达 80ml, 流速可达 120ml/min, 辐射时间 (反应时间) 一般为 2 ~ 10min。作为一种连续反应技术, 它能加工相当数量的原料, 更适用于优化反应。但对于含固体或高黏度液体的反应、需要在低温条件下进行的反应及原料或反应物与微波能量不相容的反应 (含金属或反应物主要为非极性有机

物),此套微波连续反应装置就无法进行。

#### 4 微波干法合成技术

微波辐射下的干法有机反应是将反应物浸在氧化铝、硅胶、黏土、硅藻土或高岭土等多孔无机载体上,干燥后放入微波炉中进行反应,反应后将附在载体上的产物用适当的溶剂提取、分离和精制。由于无机载体不吸收 2.45GHz 的微波,而载体表面上所吸附的有机反应物能充分吸收微波能量,从而使这些分子充分激活,大大提高了反应速率。因此,干法有机反应是以无机物为载体的无溶剂反应。它克服了因溶剂迅速气化形成高压、极易爆炸等湿反应的缺点,具有安全、高效、操作方便、产物纯化容易、污染少、产率高和装置简单等优点。

图 2-64 是一种简单的干法合成反应装置。反应容器放在炉腔中心,聚四氟乙烯管从反应器的底部伸到微波炉外与氮气源相接。当进行反应时,氮气流吹进反应器的底部可以起到搅拌的作用。当反应结束时,又可以把该管与真空泵相接,将反应所生成的液体吸走。

由于干法反应需在载体上进行,从而使参加反应的反应物量受到了限制。同时,对固体载体的选择也存在一定的困难,这些都制约了微波干法有机合成的应用范围。

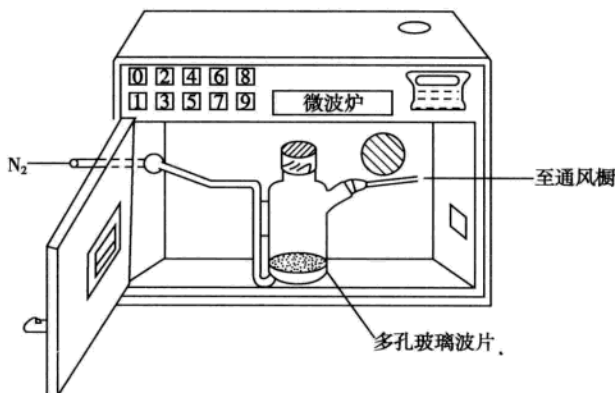


图 2-64 简单干法合成反应装置

### 第十一节 有机电化学合成技术

以电化学方法合成有机化合物称为有机电化学合成。它是一门涉及电化学、有机合成及化学工程的交叉学科。相对于传统的有机合成方法,有机电化学合成具有独特的优势:①电化学反应是通过反应物在电极上得失电子实现的,原则上不用加其他试剂,减少了物质消耗,也减少了环境污染;②选择性高,减少了副反应,使产品纯度和收率均较高,大大简化了产品分离和提纯工作;③反应在常温常压或低压下进行,这对节约能源、降低设备投资十分有利;④工艺流程简单,反应容易控制。

现代社会面临着环境、健康、能源、资源的可持续发展等问题,而有机电化学合成独特的优势使得其在仿生合成、医药、信息产品、食品添加剂等精细有机化工产品的合成方面得到广泛应用,在整个化学合成中所占的比重正在逐渐增加,越来越受到各方面的重视。但大多数有机化学工作者仍对其感到陌生,对有机电化学合成技术并不熟悉。由于有机电化学合

成涉及面很广,本部分将对实验室内有机电化学合成技术做简单介绍。

## 1 有机电化学合成方法的分类

(1) 按电极表面发生的有机反应的类别,可将有机电化学合成反应分为两大类:阳极氧化反应和阴极还原反应。

1) 阳极氧化反应包括:电化学环氧化反应;电化学卤化反应;苯环及苯环上侧链基团的阳极氧化反应;杂环化合物的阳极氧化反应;含氮、硫化合物的阳极氧化反应等。

2) 阴极还原反应包括:阴极二聚和交联反应,有机卤化物、羰基化合物、硝基化合物、腈类化合物的电化学还原反应等。

(2) 按电极反应在整个有机合成过程中的地位和作用,可将有机电化学合成分为两大类:直接有机电化学合成反应(直接法)和间接有机电化学合成反应(间接法)。

1) 直接法:有机合成反应直接在电极表面完成,如图 2-65(a)所示的基质 S 的氧化反应。该法适合于容易被氧化或容易被还原的物质。基质的氧化(还原)电位越高,反应体系中的溶媒、电解质也就越有可能被氧化(还原),与其竞争反应。因此,溶媒、电解质的选择非常重要。

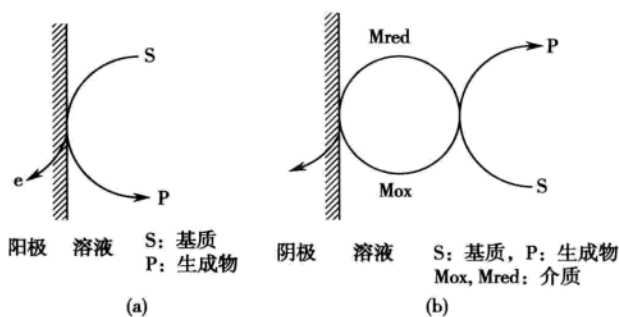


图 2-65 有机电化学合成反应的直接法和间接法  
(a)直接法;(b)间接法

2) 间接法:在反应体系中加入容易被氧化(还原)的物质(称为介质),介质被氧化(还原)产生的“活性种”与基质 S 再发生氧化(还原)反应,如图 2-65(b)所示。如果选择合适的介质,即使高氧化(还原)电位的物质也能被氧化(还原)。

(3) 在进行电化学合成时,常采用电流恒定法、电压恒定法和电位恒定法。

1) 电流恒定法:在恒定的电流下进行氧化还原反应。该法的优点是容易推测发生反应所需的电量。例如:一个有机化合物分子发生 2 个电子转移的氧化反应,1mol 物质氧化时需 2F(法拉第)的电量。1F 相当于 96 485 库仑,而 1 库仑等于 1A/s。在恒定电流 1A 下进行反应时,则需通电 53.6h( $2 \times 96485 \div 3600s = 53.6h$ )。当然,在实际反应时,体系中的溶媒、电解质也可能被氧化(还原),与其竞争反应,通入的电量要更多一些(时间更长)。

2) 电压恒定法:在电压恒定下进行化学反应时,电流值时时刻刻都在变化,可安装电表测定通入的电流。

3) 电位恒定法:是以参考电极为对照,在恒定的电位下进行反应。该法常用于反应机制的研究,但因通入的电流不大,不适合大量有机化合物的合成与制备。

## 2 反应装置

有机电化学合成的装置由电源(电极)和反应器组成。通常将发生反应的电极称为工作电极,相对于工作电极,另一电极则称为反电极。反应装置有带隔膜和不带隔膜两种。不带隔膜的反应装置见图 2-66。

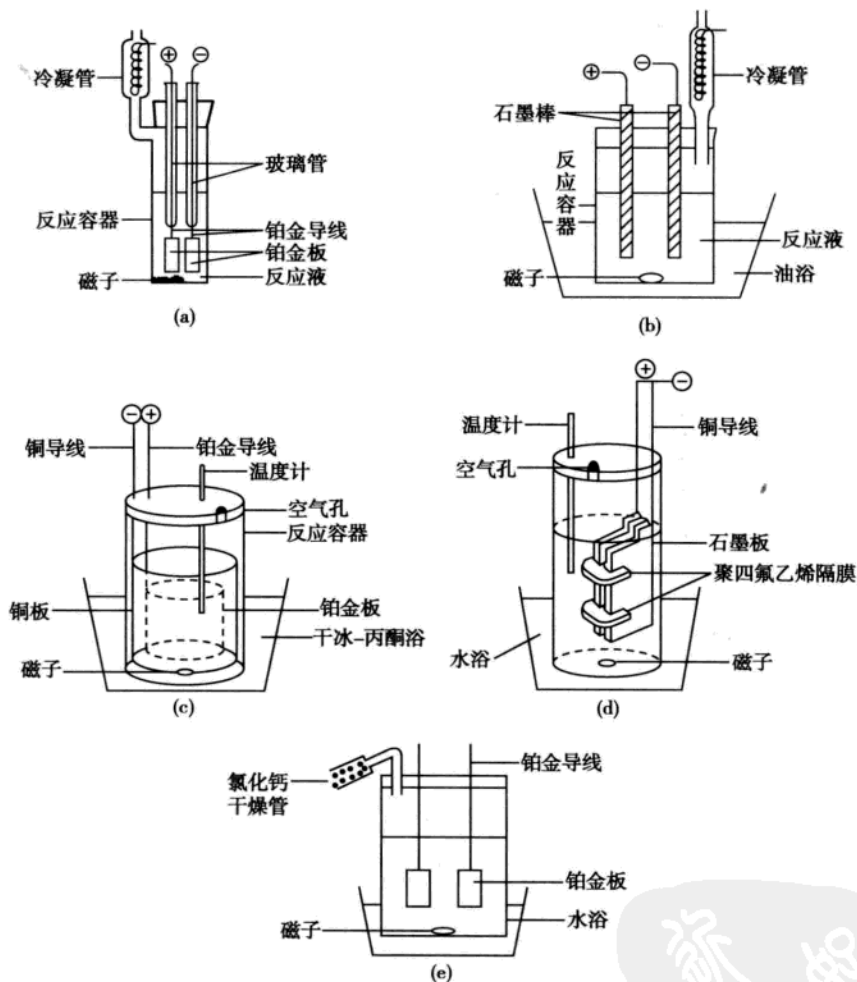


图 2-66 不带隔膜的反应装置

带隔膜的反应装置见图 2-67。

隔膜多为陶瓷制滤过圆筒和过滤用多孔玻璃圆筒等。是否采用隔膜,取决于氧化(还原)生成物在同一反应室的反电极能否被还原(氧化)。例如,亚胺盐被电极还原为胺,如果胺容易被反电极氧化,就有必要使用隔膜。

在电位恒定法中,参比电极常用甘汞电极和银-氯化银电极等。参比电极可直接插入作用电极的反应器中使用,也可通过琼脂盐桥与作用电极的反应体系相连,见图 2-67(b)。

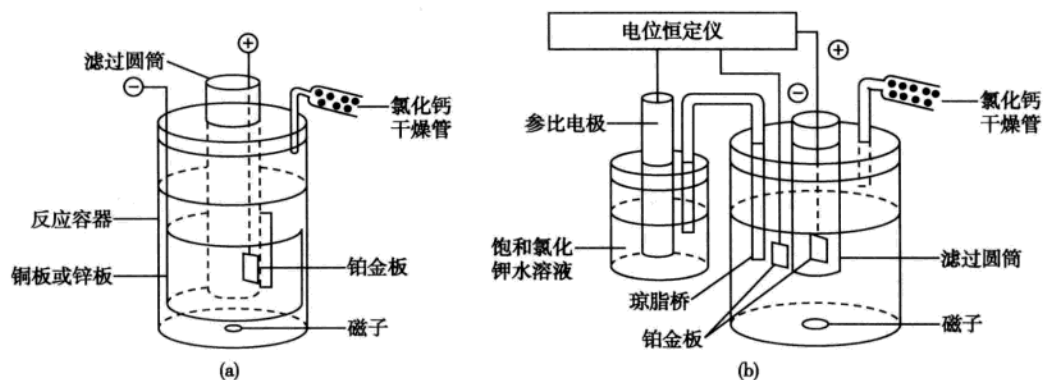


图 2-67 带隔膜的反应装置

### 3 反应条件的选择

#### 3.1 溶媒, 电解质

在直接法中, 选择溶媒和电解质时应考虑下列因素: ①基质的溶解性; ②电解质溶解后的导电性; ③电极反应产生活性物质的反应性; ④溶媒和电解质自身应不容易被氧化(还原)等。表 2-6 列出了部分非水溶剂及支持电解质适用的电位范围。

在间接法中, 电解质的阴离子(阳离子)被氧化(还原)产生“活性种”, 或通过其他途径加入作为反应介质的氧化还原剂。常用的介质有金属盐、卤素、有机氧化还原剂等。

用间接法进行氧化还原反应时, 必须事先了解由氧化(还原)产生的“活性种”对反应基质的反应性。

表 2-6 部分非水溶剂及支持电解质适用的电位范围

溶媒	支持电解质	还原侧电位(V)	氧化侧电位(V)
醋酸	醋酸钠	-1.0	+2.0
丙酮	$n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$	-1.0	+1.6
乙腈	$\text{LiClO}_4$	-3.0	+2.5
乙腈	$\text{Et}_4\text{NBF}_4$	-1.8	+3.2
DMF	$n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$	-2.8	+1.6
DMSO	$\text{LiClO}_4$	-3.4	+1.3
甲醇	$\text{LiClO}_4$	-1.0	+1.3
甲醇	KOH	-1.0	+0.6
二氯甲烷	$n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$	-1.7	+1.8
吡啶	$\text{Et}_4\text{NClO}_4$	-2.2	+3.3
THF	$\text{LiClO}_4$	-3.2	+1.6

注意:反应基质的氧化(还原)电位必须在相应溶媒或电解质氧化还原反应的工作电位范围内。否则,溶媒与电解质优先发生氧化(还原)。

### 3.2 电极

电极既是电化学过程的催化剂,又是电极反应进行的场所,电极材料的性质对整个电化学合成反应的途径和选择性都有很大的影响。可根据以下原则来选择电极材料:①导电性;②对过电位、耐腐蚀性、机械加工性能等方面的要求;③对电极的形状和结构的要求;④对电极表面的性质的要求。常用的阴极材料有:汞、铅、锌、钛、锡、铂和石墨等。由于阳极材料在阳极反应中的腐蚀问题,合适的阳极材料是非常少的,实验室中常用的有铂、石墨和氧化铅。

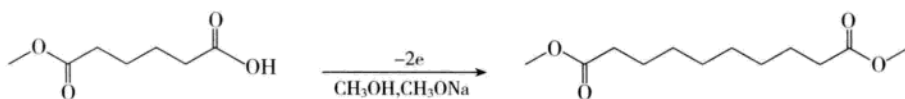
## 4 预备实验

循环伏安法是一种常用的电化学研究方法。该法控制电极电势以不同的速率、随时间以三角波形一次或多次反复扫描,电势范围使电极上能交替发生不同的还原和氧化反应,并记录电流-电势曲线。根据曲线形状可以判断电极反应的可逆程度,中间体以及耦联化学反应的性质等。常用来测量电极反应参数,判断其控制步骤和反应机制,并观察整个电势扫描范围内可发生哪些反应,及其性质如何。

可根据循环伏安法,事先测定基质的氧化(还原)电位,再采用电位恒定法,优先氧化选定的基质。

## 5 实验实例

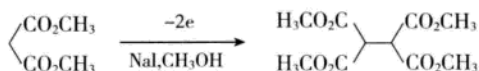
### 【实例1】Kolbe 反应



反应装置如图 2-66(1) 所示。在反应容器内加入 1,6-己二酸单甲酯 120g(0.75mol)、甲醇 250ml、甲醇钠 4.1g(0.075mol) 和吡啶 10ml(0.12mol)。将 2 枚铂金板(25 × 30mm)以约 5mm 的间距平行插入反应液中,以 1.1A 的恒定电流(0.13A/cm<sup>2</sup>)通电反应 23h,这期间两极间的电压在 20 ~ 30V 范围内。通电反应时放热,溶液处于回流状态。气相色谱检测原料点消失后继续通电 2.5h。将黄色反应液冷却,加入 20ml 醋酸调至酸性,在减压(120mmHg)加热(70 ~ 80℃)的条件下蒸去溶剂。固体残渣加入 50ml 乙醚,搅拌。过滤,滤饼用 100ml 乙醚洗两次。合并滤液和洗液,用碳酸氢钠溶液和水洗净,再用硫酸钙干燥。过滤后蒸去乙醚得黄色油状物,减压蒸馏的 1,10-癸二酸二甲酯 60 ~ 61g(70% ~ 71%,沸点 105 ~ 107℃/0.02mmHg)。

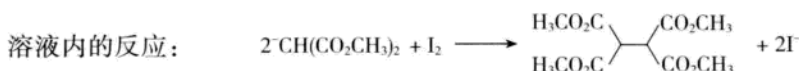
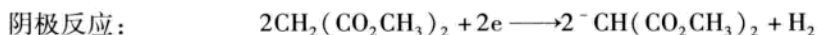
注意:如果不加入吡啶,容易在电极表面形成膜,造成电极电位升高。这种情况下必须不定期将电极的(+)和(-)极交换。如用石墨电极代替铂金电极,电解时产生的自由基会被转换成正碳离子而产生副反应。

### 【实例2】耦联反应

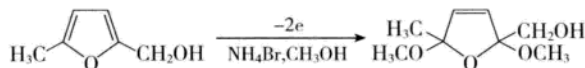


反应装置如图 2-66(2) 所示, 电极均为碳棒(直径 8mm)。在反应容器内加入丙二酸二甲酯 33g(0.25mol)、碘化钠 3.75g(0.025mol) 和甲醇 75ml。在搅拌下以 1.0A 的恒定电流通电反应 6.8h, 通电量为 1.02F。通电期间, 油浴加热使溶液处于回流状态。反应后有部分结晶生成。冷却后出现白色结晶。过滤, 滤饼用 30ml 甲醇洗 3 次。减压干燥得产物 22.1 ~ 22.8g(67% ~ 69%, 熔点为 134 ~ 135℃)。

注意: 这是以碘离子作为介质的间接电化学合成方法。反应机制为:



### 【实例 3】 呋喃的氧化反应

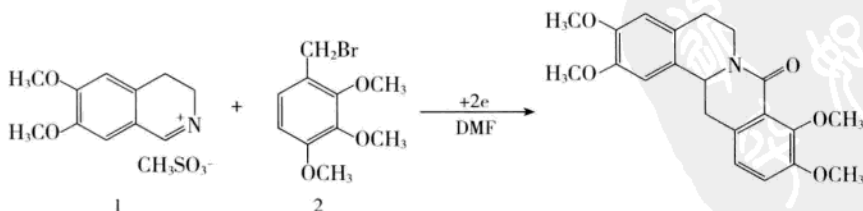


反应装置如图 2-66(3) 所示, 阳极为铂金(50 × 100mm), 阴极为铜板(50 × 150mm)。在反应容器内加入 5-甲基呋喃甲醇 26.65g(0.2375mol)、溴化铵 2.50g(0.0255mol) 和甲醇 200ml。在搅拌下以 4.0A 的恒定电流通电反应 3.83h, 通电量为 2.41F。通电期间反应放热, 用干冰-丙酮浴冷却使温度保持在 0℃ 以下。若温度超过室温, 氨从体系中溢出, 反应体系成酸性, 造成产物分解。

反应完全后, 加入含有 1.40g 甲醇钠的甲醇溶液 20ml, 减压下蒸去甲醇, 往残渣中加入乙醚, 将溴化钠沉淀过滤除去。将滤液减压蒸去乙醚, 减压蒸馏得产物 36.04g(87.5%, 沸点 88 ~ 90℃/1mmHg)。

注意: 这是以溴离子作为介质的间接电化学合成方法。

### 【实例 4】 电极还原烷基化反应



反应装置如图 2-67(b) 所示, 作用电极为铂板(20 × 20mm), 隔膜为瓷制圆筒, 参比电极为饱和甘汞电极(SCE), 通过琼脂盐桥与作用电极的反应体系相连。在阴极反应容器内加入亚胺盐 1(0.526g, 2.0mmol)、苄基溴化物 2(1.156g, 4.0mmol) 和含甲磺酸 0.264g(3.0mmol) 的 DMF 溶液 40ml。阳极侧加入含 Et<sub>4</sub>NOTs 3.0g(10mmol) 的 DMF 溶液 5ml。室温下以 -1.8V、SCE 2.5F/mol 通电后, 减压蒸去溶剂, 将残渣倒入 KOH 水溶液, 用氯仿提



取。提取液用无水硫酸镁干燥,过滤后蒸去氯仿,用硅胶柱层析(氯仿/甲醇)分离产物,收率100%。

注意:产物易氧化,故采用隔膜。如不使用电位恒定法,可不用参比电极而用图2-67(a)的装置。

### 参 考 文 献

1. 后藤俊夫、芝哲夫、松浦辉男. 有机化学实验のてびき. 化学同人,2000.
2. Brian S Furnis, et al. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5<sup>th</sup> Ed. Longman Group UK Limited,1989.
3. 徐家业. 高等有机合成. 北京:化学工业出版社,2004.
4. 范如霖. 有机合成特殊技术. 上海:上海交通大学出版社,1987.



## 第三章

# 有机化合物的经典分离与纯化技术

在进行有机制备时,产物往往与许多其他物质(包括反应原料、副产物、溶剂等)共存于反应体系中,需要从复杂混合物中分离出所要的产品。因此,掌握有机化合物的分离纯化技术至关重要。本章主要介绍一些有机化合物的经典分离与纯化技术。

### 第一节 结晶与重结晶

#### 1 结晶的形成过程

##### 1.1 定义

结晶(crystallization):是物质以晶态的形式从溶液中析出的过程。结晶是纯化固体有机化合物的重要方法之一,它是利用混合物中各成分在某种溶剂中或某种混合溶剂中的溶解度不同,使其相互分离形成结晶的过程。

重结晶(recrystallization):由于初次结晶或多或少总会有少量杂质(光谱分析或熔点测定证实),因此需反复结晶,这一过程叫做重结晶。通过蒸馏或减压蒸馏以及色谱分离所得的固体,一般都需要再次重结晶。

##### 1.2 晶体的形成过程

晶体的形成过程是一个可逆的过程,最初先形成一粒子晶种,这个晶种从溶液中选择恰当分子,按照一定的晶格排列而慢慢地一层层长大,形成具有一定几何形状的晶体。

如果这个过程进行得较快,没有什么选择性,就会得到沉淀;如果这个过程进行得相对较慢,有一定的选择性,则生成结晶。因此在进行固体重结晶纯化时,不应使过程进行得太快,但也不宜进行得太慢。

因此结晶过程应避免两种主要操作错误:①将溶液冷却过快;②突然向溶液中加入极性相反的溶剂。

#### 2 结晶法的基本原理

结晶是依据要纯化的固体物质与所含杂质在同一溶剂中溶解度的不同,使结晶析出而得到纯化。若所选择的溶剂只溶解被纯化的物质,不溶解杂质,那么通过过滤后进行结晶,可以很容易将样品纯化。但是,实际上并没有或很少有这样理想的溶剂,而溶剂往往对欲纯

化物质和杂质都能溶解的情况较多,但是只要杂质在总固体中占很小一部分,即可以用结晶法予以纯化。

如设物质 A 及其杂质 B,室温下两者在某溶剂的溶解度均为  $1\text{g}/100\text{ml}$ ,在  $100^\circ\text{C}$  时两者在该溶剂的溶解度均为  $10\text{g}/100\text{ml}$ 。若有一不纯的样品,其中含  $10\text{g}$  A 和  $2\text{g}$  B,当加入  $100\text{ml}$  溶剂时,室温下都不会溶解。当加热到  $100^\circ\text{C}$  时,两者全都溶解,冷却到室温时,有  $9\text{g}$  A 和  $1\text{g}$  B 析出, $1\text{g}$  A 和  $1\text{g}$  B 留在母液中。继续用  $100\text{ml}$  溶剂进行重结晶,冷至室温,则只有  $8\text{g}$  A 析出, $1\text{g}$  A 和  $1\text{g}$  B 留在母液中,最终得  $8\text{g}$  纯 A,但损失  $2\text{g}$ 。

这一结果说明利用结晶法可以分离纯化含少量杂质的样品,但结晶法会对样品造成一定的浪费,而且这种浪费是不可避免的。当然如果杂质在溶液中更易溶且含量较少的话,可减少损失。

值得注意的是:上述情况用结晶法可以取得成功分离的原因是 A 的含量大于 B 的含量。若 A 和 B 为  $50\%$  的混合物,即使选择较好的溶剂,损失量也是很大的,分离效果差,几乎无法分离。这就是为什么有时用多次重结晶法仍不能得到纯品的原因。在这种情况下,可以考虑用其他分离方法,如色谱分离法等。

### 3 固体溶解度与溶剂的选择

固体溶解度与溶剂的选择是影响结晶法分离纯化的一个主要因素。

#### 3.1 溶解度

理想的情况应该是,被纯化物质在室温时微溶于所选溶剂,而在较高温度时却相当易溶。低温和高温下溶解度都较低的溶剂或低温和高温下溶解度都较大的溶剂,均不适合于结晶用。只有溶解度斜率较大的溶剂,才适合于结晶用。固体溶解度曲线如图 3-1 所示。

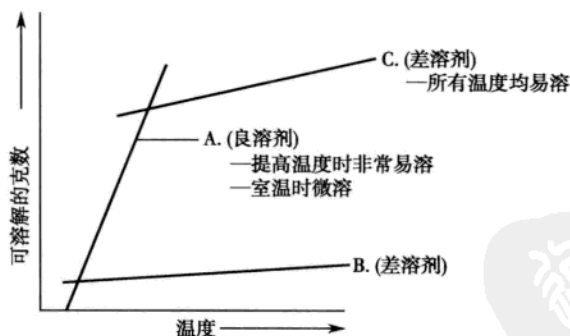


图 3-1 固体溶解度曲线

#### 3.2 溶剂选择

进行结晶操作时的首要问题是选择一种溶剂,使待纯化样品具有所希望的溶解度性质。

(1) 理想的溶剂应符合下列条件:

1) 化学性质稳定:该溶剂不与欲纯化的物质发生化学反应。如脂肪族卤代烃类,不宜作为碱性化合物重结晶的溶剂,否则易发生亲核取代反应;醇类不宜作为脂类重结晶的溶剂(酯交换反应),也不宜作为氨基酸盐酸盐重结晶的溶剂(亲核取代氨解反应)。

2) 溶解度曲线有较大斜率:高温时对样品的溶解度较大,低温或室温时溶解度较小。

3) 对杂质有更大的溶解度:能把杂质溶解而使其留在母液中。或对杂质有更小的溶解度,很少溶于热溶剂中。

4) 沸点不宜太高:以免该溶剂附着于晶体表面不易除尽,另外,沸点太高的溶剂,固体在溶剂中熔融而不是溶解,这种液体在冷却时不会析出结晶,而是形成一种过冷的液体或过冷的油。即使温度充分降低,这种油将会固化,而不成结晶,呈无定型的固体或硬化物,而得不到纯化。在实验中遇到油状物是极难处理的,必须尝试更换溶剂,把它们再溶解,得到结晶。

### (2) 溶剂选择方法

1) 通常人们将少许待纯化样品用多种溶剂进行实验,借以选出一个供结晶所用的合适的溶剂。一般进行试管规模的实验即可。进行样品纯化前,这种尝试是必要的,以免溶剂的浪费和操作的麻烦。

如将 0.1g 的粉末状试样置于小试管内,用滴管逐滴加入溶剂,同时不断振摇试管,加入的溶剂约 1ml,如试样已全部溶解,则该溶剂不能入选,因为试样在该溶剂中的溶解度太大。若加入 1ml 溶剂后试样仍不溶解,待加热后才溶解,冷却后又有大量结晶析出,则该溶液可用作重结晶的溶剂。若加入 1ml 溶剂加热后仍不溶解,再逐渐滴加溶剂,每次 0.5ml,直至 3ml 后,样品仍不溶解者,则不适用,因为溶解度太小。若在 3ml 内,加热溶解,冷却后有大量结晶析出,则可选用。

2) 对于已知的化合物:参考文献中都有注明,可借鉴前人的经验,选用合适的溶剂。

3) 对于未知的化合物:在选取溶剂时,要根据化合物的结构性质,按照“相似相溶”(like dissolve like)的原则,按上述实验方法进行尝试。

若溶质极性很大,必须用极性较大的溶剂溶解;若溶质为非极性的,则需用非极性的溶剂。如某物质为非极性,用异丙醇试剂溶解度很小,则不必再选用极性更大的溶剂。通常,带有能形成氢键的官能团,如羟基、羧基、氨基、酰氨基的化合物,它们在水、甲醇、乙醇等含羟基溶剂中比在烃类溶剂中易溶。但是,如果官能团并非分子的主要部分,那么溶解性能可能会颠倒。如十二醇几乎不溶于水,其碳链使其性质像烃而不像乙醇。

溶剂的极性在很大程度上取决于介电常数,可以通过查找与对比介电常数的大小来选择适当的溶剂。

表 3-1、表 3-2 列出了溶剂的极性次序和常用的结晶溶剂,对于溶剂的选择具有一定的指导意义。

表 3-1 溶剂极性的递降次序

极性递降 (近似的)	H <sub>2</sub> O	水
	RCOOH	有机酸(乙酸)
	RCONH <sub>2</sub>	酰胺(N,N-二甲基甲酰胺)
	ROH	醇类(甲醇,乙醇)
	RNH <sub>2</sub>	胺类(三乙胺,吡啶)
	RCOR	醛、酮(丙酮)
	RCOOR	酯(乙酸乙酯)
	RX	卤代烃(CHCl <sub>3</sub> > CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> > CCl <sub>4</sub> )
	ROR	醚(二乙醚)
	ArH	芳香烃(苯,甲苯)
	RH	烷烃(己烷,石油醚)

表 3-2 重结晶常用溶剂的性质

溶剂名称	沸点/℃	相对密度 $d$	介电常数 (15~20℃)	溶剂名称	沸点/℃	相对密度 $d$	介电常数 (15~20℃)
水	100	0.998	81	乙酸	118	1.049	7.1
甲酸	101	1.221	58	乙酸乙酯	77	0.901	6.1
乙腈	82	0.783	39	氯仿	61	1.486	5.2
甲醇	65	0.793	31	乙酸戊酯	148	0.877	4.8
乙醇	78	0.789	26	乙醚	35	0.713	4.3
异丙醇	82	0.789	26	丙酸	141	0.992	3.2
正丙醇	97	0.804	22	二硫化碳	46	1.263	2.63
丙酮	57	0.792	21	间二甲苯	139	0.864	2.38
乙醚	140	1.082	20	甲苯	111	0.866	2.37
正丁醇	118	0.810	19	苯	80	0.879	2.29
甲乙酮	80	0.805	18	四氯化碳	77	0.594	2.24
吡啶	115	0.982	12	己烷	69	0.660	1.87
氯苯	132	1.107	11	石油醚	40~60	0.60~0.63	1.80
二氯乙烷	84	1.252	10.4				

4) 若不能选出单一溶剂进行重结晶,则可应用混合溶剂。混合溶剂一般由两种以上能任意互溶的溶剂组成,根据极性配比组成所需的混合溶剂。

## 4 结晶与重结晶的方法

### 4.1 固体溶解

(1) 按照溶剂选择的原则,选用合适的溶剂。

(2) 热沸溶剂,将其尽可能少地分次加入到待纯化样品中,使样品大部分溶解(此时加入溶剂后不可加热,避免化合物分解。也不可在溶剂沸腾后加入样品,有暴沸的危险)。

(3) 溶解过程中需要注意下列情况的处理:

1) 当样品较多、溶剂较多时可安装回流管,以避免溶剂挥发。在搅拌下加热,使之溶解。必要时添加少量溶剂,每次的加入量一定要少。

2) 若待纯化物质含有不溶或难溶杂质,不要误认为是溶剂不够,而加入过多溶剂。

3) 若分不清是杂质还是样品,则宁愿将其滤掉。在此过程中若需要脱色,可以提前加入活性炭,且不可在溶液沸腾后加入,否则将强烈暴沸。

### 4.2 趁热过滤

制备好的热溶液必须趁热过滤,除去不溶杂质,以避免在过滤过程中温度下降,在滤器上析出结晶。若某物质非常易析出结晶,宁可溶液配得稀一些,过滤后再浓缩。

### 4.3 结晶析出及滤集

(1) 结晶:将滤液放置慢慢冷却,有较大结晶析出。大晶体内包含杂质也较多。骤冷或搅动将影响结晶的形成,使晶体变小。小晶体包含杂质较少,但其表面大,吸附于表面的杂质和母液较多。

为得到较纯物质,往往要进行2~3次重结晶,可得到均匀而较好的晶体。

若冷却后的溶液仍无结晶,可通过下列方法诱发结晶:

1) 用玻璃棒摩擦瓶壁。由于摩擦使液面变得粗糙,促使分子在液面定向排列形成结晶。

2) 加入少量晶种,使结晶析出。这一操作称为“种晶”。若实验室没有欲纯化物质的结晶,可以自己制备,其方法为:取数滴过饱和溶液于一小滴管中,旋转之,使该溶液在试管壁形成一薄膜,然后将此试管放入冷却剂中,形成的少量结晶可作为“晶种”。也可以取一滴过饱和溶液于表面皿上,使溶剂挥发得到晶种。

3) 冰箱中放置较长时间。

(2) 结晶的滤集与洗涤:用减压过滤装置过滤,收集结晶。瓶壁残留结晶,应先用母液转移结晶,抽干。停止负压后,用冷的新溶剂洗涤结晶,轻轻搅动,以清除表面吸附的杂质和母液,然后迅速抽干。

#### 4.4 结晶的干燥

(1) 最常用的结晶干燥法:将结晶置于表面皿或蒸发皿上风干。优点:不需加热,减少分解或熔化。缺点:暴露于空气中易吸湿潮解,易氧化。

(2) 烘箱中烘干:对热稳定的物质,烘干温度不可超过化合物的熔点。

(3) 真空干燥:如真空干燥器(不需加热,不暴露于空气中,抽真空)、真空干燥箱(需加热,不可很高温,抽真空)等,易升华物质不可用此法。

少量样品可用真空恒温干燥器进行干燥,见图 3-2。

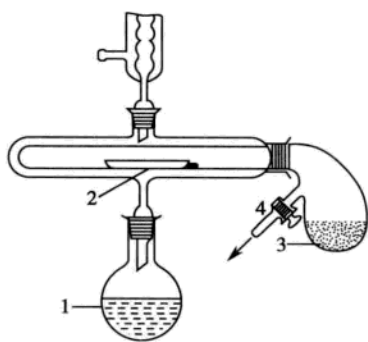


图 3-2 真空恒温干燥器

1. 盛溶剂烧瓶; 2. 样品管;  
3. 装干燥剂瓶; 4. 接泵活塞

## 5 脱色

粗制的有机化合物常包含有色杂质,在重结晶时杂质虽可溶于溶剂,但仍有部分被结晶吸收,因此当分出结晶时常会得到有色产物。另外,溶液中常存在少量树脂状物质或极细的不溶物。虽然经过过滤仍呈混浊状,就不能用简单过滤的方法除去。如果在溶液中加入少量脱色剂(活性炭)煮沸 5~10min,活性炭可吸附色素或树脂状物质,趁热滤去,即可得无色、较纯的产品溶液。

应用活性炭脱色应注意以下几点:

(1) 溶质溶解后,再加活性炭。活性炭不能与样品一起加热溶解。

(2) 待热溶液稍冷后,加入活性炭;否则易引起暴沸,使溶液溅出或造成危险。

(3) 所加活性炭的量视溶质量而定,一般为粗品溶质质量的 1%~5% 为宜;过多活性炭可降低收率(吸附溶质)。

(4) 在滤液中若有活性炭,通常应重新过滤。尽量不要使用砂芯漏斗,若使用之,砂芯型号应为 G4 号以上,否则易造成堵塞。若在非极性溶剂如苯、石油醚中,活性炭脱色效果不佳,可考虑换用其他吸附剂,如氧化铝吸附脱色等方法。

## 6 混合溶剂结晶法

常常遇到用单一溶剂无法找到某个化合物的合乎溶解度要求的溶剂。在这种情况下,可使用混合溶剂。

混合溶剂的选择:选一种能溶解某样品的溶剂,作为第一种溶剂;再选一种能和第一种溶剂互溶,对样品溶解度较小的溶剂作为第二种溶剂。

混合溶剂结晶方法:将化合物溶于能使其溶解得最少量的沸腾的第一种溶剂中,接着向此沸腾混合物中滴入第二种溶剂,直至混合物刚好变成混浊。达到这一点时,加热使其澄清或加入第一种溶剂使其刚刚变为澄清,过滤除去不溶杂质,冷却,即有结晶析出。此方法在实验室结晶操作中比较适用。

结晶时常用的配对溶剂见表 3-3。

除了表 3-3 列的混合溶剂外,还有一些针对难溶物质结晶的混合溶剂法,常采用 DMF/ $H_2O$  或 DMSO/ $H_2O$  混合溶剂。向难溶性物质中加入 DMF 或 DMSO,加热溶解之,冷却后,滴加适量  $H_2O$ ,即可析出结晶或沉淀。

表 3-3 结晶时常用的配对溶剂

甲醇-水	乙醚-丙酮
乙醇-水	乙醚-石油醚
醋酸-水	苯-石油醚
丙酮-水	二氯甲烷-甲醇
乙醚-甲醇	二噁烷-水

## 7 小量及微量物质结晶

### 7.1 小量物质结晶

基本要求同前述,但均需采用与该物质的量相适应的小型仪器。可在小试管中制得热溶液,使用小的玻璃或砂芯漏斗在小的滤瓶或小的侧支试管上过滤。滤集结晶也可利用同样的装置。小量吸滤装置如图 3-3 所示。

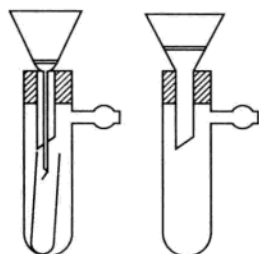


图 3-3 小量吸滤装置

### 7.2 微量物质结晶

(1) 可在小离心管中进行,热溶液制备后即离心,使不溶杂质沉于管底,用吸管将上清液移至另一个小离心管中,使其结晶。

(2) 也可用在自制的带有橡皮滴头的滴管细颈部位放入少许脱脂棉作为热溶液的过滤器。或将少许脱脂棉置于试管中,用细长滴管抵着棉花吸取,作为过滤器。

滤液在小离心管中结晶后,离心,用滴管吸去母液;再加入少量溶剂,离心,再吸去洗涤液。用滤纸吸除溶剂后,真空干燥之。滴管过滤装置如图 3-4 所示,离心分离法装置如图 3-5 所示。



图 3-4 滴管过滤装置

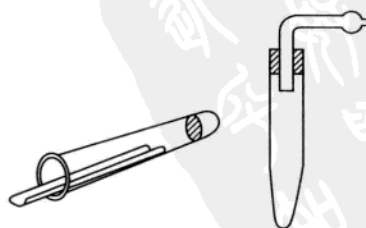


图 3-5 离心分离法装置

## 8 过滤基本操作

过滤通常用普通折叠滤纸进行常压过滤,也可用布氏漏斗和砂芯漏斗进行减压过滤。

过滤的介质可根据实验要求选用不同的介质：实验室常用滤纸、砂芯漏斗、玻璃棉、涤纶薄膜等。

### 8.1 折叠滤纸法常压过滤

一般先将漏斗与滤纸预热(倒入热溶剂)置于三角烧瓶上,然后迅速将溶液一份一份地倒入。此方法过滤较慢,因而在过滤过程中常结晶在滤纸上而妨碍过滤。若出现这种情况,必须小心地将其重新转移到制备的热溶液中。且应将滤纸一并放入,重新溶解后再过滤。对极易结晶析出的物质,或热溶液量较大时,可采用保温漏斗过滤。常压过滤示意图如图 3-6 所示;滤纸的折叠法见图 3-7。

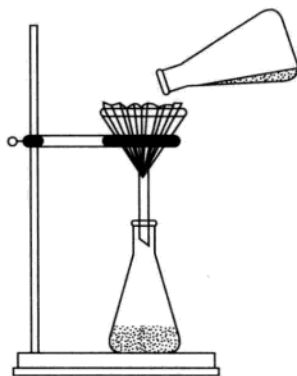


图 3-6 常压过滤

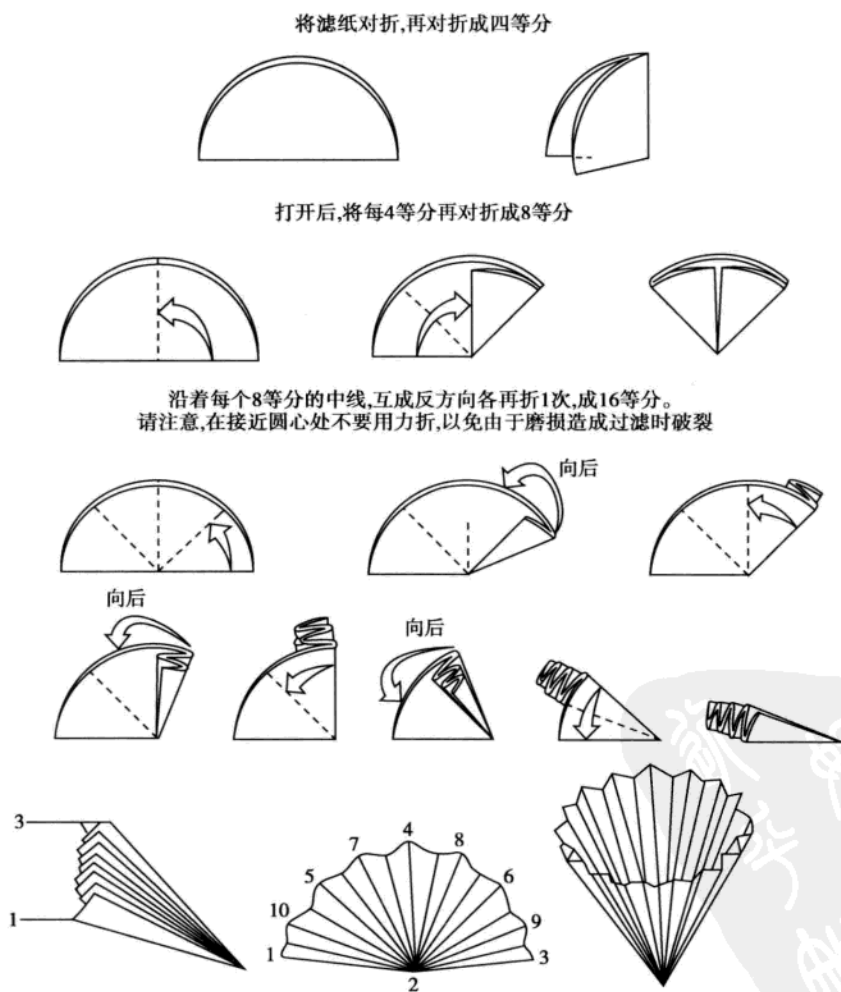


图 3-7 滤纸的折叠法



## 8.2 减压过滤

可采用布氏漏斗、砂芯漏斗、抽滤瓶减压过滤。

优点:可避免在过滤过程中析出结晶,迅速、简便。

缺点:混悬的杂质易通过滤纸。若溶剂为挥发性,热溶液过滤时,滤器孔内也易析出结晶,堵塞滤孔。另外,滤过热的溶液,在负压下易沸腾。

抽滤法过滤应注意以下几点:

- (1) 滤纸不应大于布氏漏斗的底面,也不能小于底面,应与布氏漏斗的底面相符。
- (2) 吸滤前需用同一溶剂将滤纸湿润后再过滤,使滤纸紧贴于布氏漏斗底面;用砂芯漏斗过滤时,若有必要,也要加上滤纸。
- (3) 为避免热过滤时在滤孔上析出结晶,堵塞孔眼,可将布氏漏斗或砂芯漏斗放在烘箱或远红外加热器内预热或用热溶剂预热。

减压过滤装置如图 3-8 所示。

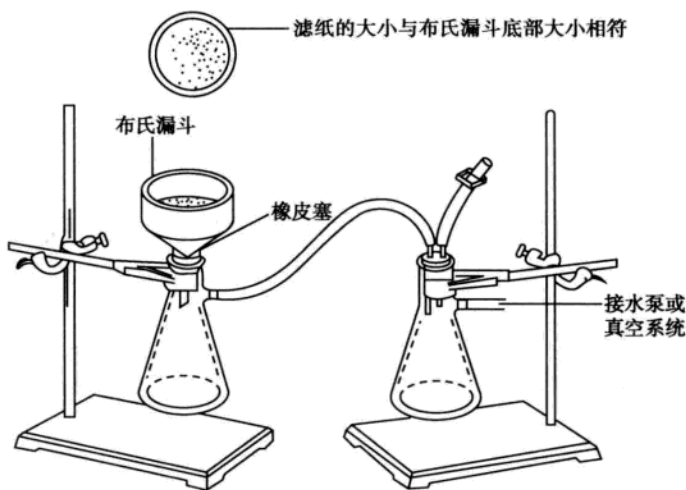


图 3-8 减压过滤装置

若在抽滤过程中有结晶析出,堵塞漏斗,应加入少量沸腾溶剂,溶解结晶,流经漏斗,过滤之后可将溶液浓缩至原来体积。过滤时,滤液中可能有结晶析出,最好不要结晶太快,可将滤液加热至全溶后,慢慢放冷结晶。

## 8.3 保温热过滤

为防止过滤的溶液在温度降低时析出结晶,可选用热滤漏斗进行过滤。过滤时,把玻璃漏斗放在铜质的热滤漏斗内,热滤漏斗内装有热水(注意水不要装得太满,以免加热至沸后溢出)以保持溶液的温度不降低。也可以事先把玻璃漏斗在水浴上加热后再使用。热过滤选用的玻璃漏斗颈越短越好。热过滤装置见图 3-9。

## 8.4 砂芯漏斗的应用

砂芯漏斗又称烧结玻璃漏斗,它是由玻璃粉末烧结



图 3-9 热过滤装置

制成的多孔性滤片,再焊接在具有相同或相似膨胀系数的玻璃上所形成的一种过滤容器。若滤液中有碱性或者酸性物质、酸酐或者氧化剂等存在,对普通滤纸有腐蚀性作用,在过滤(或吸滤)时容易发生滤纸破损,使待滤物穿透滤纸而发生泄漏,导致过滤的失败。选用砂芯漏斗可代替铺设滤纸的漏斗,进行有效地分离。表 3-4 列出了国产砂芯漏斗的型号、规格和用途,供实验者针对不同沉淀颗粒尺寸,选用不同号码的漏斗,以实现最佳的过滤效果。

表 3-4 国产砂芯漏斗的型号、规格和用途性质

型号	滤板平均孔径/ $\mu\text{m}$	一般用途
1	80 ~ 120	滤除大粒沉淀
2	40 ~ 80	滤除较大颗粒沉淀
3	15 ~ 40	滤除化学反应中的一般结晶和杂质,过滤水银
4	5 ~ 15	滤除细粒沉淀
5	2 ~ 15	滤除极细颗粒,滤除较大的细菌
6	<2	滤除细菌

在有机化学实验中,3 或 4 号砂芯漏斗使用得较多,其他型号用得很少。

砂芯漏斗若是新购置的,在使用前,应当用热盐酸或铬酸洗液进行抽滤,随即用蒸馏水洗净,除去其中的尘埃等外来杂质。

砂芯漏斗不能过滤浓氢氟酸、热浓磷酸、热或冷的浓碱液。这些试剂可溶解砂芯中的微粒,有损于玻璃器皿,使滤孔增大,并有使芯片脱落的可能。砂芯漏斗在减压(或受压)使用时其两面的压力差不允许超过 101.3kPa。在使用砂芯漏斗时,因其有熔接的边缘,在使用时温度要相对稳定些,防止温度急剧升降,使容器破损。

砂芯漏斗的洗涤工作是很重要的,洗涤不仅可保持仪器的清洁,而且对于保持砂芯漏斗的过滤效率,延长其使用寿命等都有重要作用。砂芯漏斗每次用毕或使用一段时间后,会因沉淀物堵塞滤孔而影响过滤效率,因此必须及时进行有效的洗涤。可将砂芯漏斗倒置,用水反复进行冲洗,以洗净沉淀物,烘干后即可再用。还可根据不同性质的沉淀物,有针对性地进行“化学洗涤”。例如,对于脂肪、脂膏、有机物等类型的沉淀,可用四氯化碳等有机溶剂进行洗涤。碳化物沉淀可使用重铬酸盐的温热浓硫酸浸泡过夜。经碱性沉淀物过滤后的砂芯漏斗,可用稀酸溶液洗涤;经酸性沉淀物过滤后的砂芯漏斗,可用稀碱溶液洗涤;然后再用清水冲洗干净,烘干后备用。

砂芯漏斗不能用来过滤含有活性炭颗粒的溶液,因为细小的炭粒容易堵塞滤板的过滤孔,使其过滤效率下降,甚至报废。

由于砂芯漏斗的价格较高,有时难以彻底洗净滤板,还要防范强碱、氢氟酸等的腐蚀作用,故其使用范围受到限制。砂芯漏斗过滤装置如图 3-10 所示。

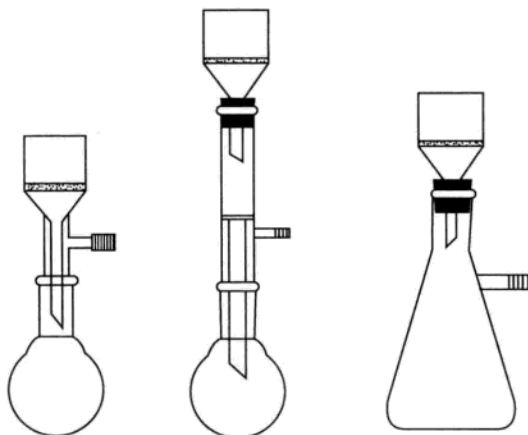


图 3-10 砂芯漏斗过滤装置

## 第二节 蒸馏与减压蒸馏

蒸馏(distillation)是提纯液体的重要方法。它是利用混合物各组分沸点的不同来进行分离纯化的技术,是分离液体混合物很有效的方法。

蒸馏的方法有几种:简单蒸馏、普通蒸馏、真空蒸馏、减压蒸馏、分子蒸馏、水蒸气蒸馏和分馏等。

### 1 简单蒸馏

#### 1.1 蒸馏的原理

蒸馏是指将液态物质加热至沸腾,使其成为蒸气状态,再将其冷凝为液体的过程。常压蒸馏可以把挥发性液体与不挥发的物质分离开,也可以分离两种或两种以上沸点相差较大(至少 $30^{\circ}\text{C}$ 以上)的液体。

纯液态物质在一定大气压下有一定的沸点,在蒸馏时,只要体系内蒸气和液体都同时存在,整个蒸馏过程中的温度将是恒定的。

若蒸馏的是液体混合物,温度往往不会恒定,将随着蒸馏过程的进行不断上升。发生这种现象的原因是由于蒸出的蒸气组成在蒸馏过程中一直在改变。

对于受热的液体混合物来说,在溶液的相平衡中,蒸气的组成不同于液体本身的组成。图 3-11 是表示二组分系统(A +

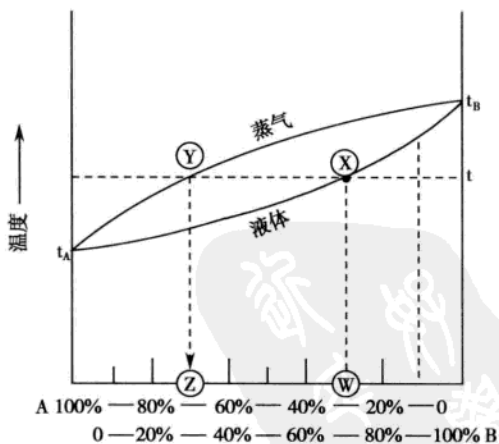


图 3-11 典型的二组分液体混合物的相图

图中,上面的曲线代表蒸气的组成;下面的曲线代表液体的组成;左为纯 A,沸点为 $t_A$ ;右为纯 B,沸点为 $t_B$ 。水平线代表一恒定温度。在同一温度下,液体与蒸气组成不同,如 $t$ 温度下,X代表组分为W的液体与组成为Z的蒸气达成平衡。A和B的组成用其在混合物中的摩尔百分数表示

B) 典型的蒸气-液体关系相图。

无论是纯 A 或纯 B, 蒸气曲线和液体曲线都相交于沸点处。因此无论纯 A、纯 B 都可在恒定温度下蒸出, 蒸气和液体都有相同的组成。

对于 A + B 混合物, 情况则不一样。组成为 W 点的 A + B 混合物, 受热时, 混合物温度上升, 达到混合物沸点。相当于沿 W → X, X 是混合物沸点 t。X 开始蒸发, 其蒸气相当于 Z 的组成。换言之, 在蒸馏 A + B 混合物时首次得到的蒸气 Z 并非由纯 A 组成。它所含的 A 量比原来大, 但含高沸点 B 的量仍较大。其结果是, 想通过一次简单蒸馏使一个混合物完全分离一般是不可能做到的。然而在两种情况下, 则有可能做到合适的分离:

(1) 若 A、B 沸点相差较大 ( $>100^{\circ}\text{C}$ ), 将会发现第一组分 A 蒸出时有一恒定的温度维持; 随温度升高, A + B 混合物蒸出后, 又有一恒定持续温度——第二组分 B 蒸出。

(2) 若 A 中含少量 B (10%), 随温度升高, A、B 同时蒸出, 随后有一恒定持续的温度——纯 A 蒸出。

例如: 一个反应混合物, 含所要 A 组分 (沸点  $140^{\circ}\text{C}$ ), 少量杂质 B (沸点  $250^{\circ}\text{C}$ ), 混有少量乙醚 (沸点  $36^{\circ}\text{C}$ )。乙醚可在低温下很容易地蒸出, 纯 A 可在较高的温度下蒸出, 组分 B 可最后蒸出或留在残留液中弃去。

共沸蒸馏及其应用: 根据一些混合物蒸馏曲线图 (图 3-12) 可知, A + B 混合组分在一定温度下可形成共沸混合物, 共沸混合物是不能利用常压蒸馏的方法将各组分分离的, 因为在共沸混合物中, 与液体平衡的蒸气组分与液体本身的组成相同。但是可利用 A + B 混合组分共沸蒸馏的原理, 除去难蒸馏掉的高沸点溶剂。如 DMF、DMSO 溶剂的去除, 可采用加入苯或甲苯组分, 蒸出高沸点的溶剂, 在溶液浓缩和蒸除方面的应用很有意义。

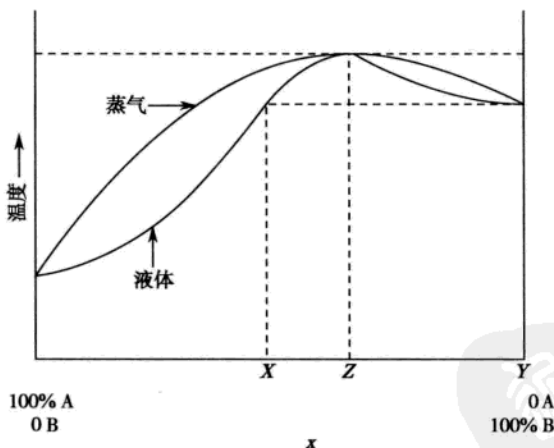


图 3-12 最高沸点共沸物

## 1.2 简单蒸馏的方法

蒸馏装置如图 3-13 所示。由温度计、蒸馏瓶、蒸馏头、冷凝管、接引管、接收瓶等组成。

(1) 温度计: 测量温度计要高于沸点  $10 \sim 20^{\circ}\text{C}$ , 但不宜高出太多。范围越大, 精确度越差。位置要放好, 温度计汞球应与蒸馏头侧支管在同一水平线上。

(2) 蒸馏瓶: 液体在蒸馏瓶中的量不应超过其体积的  $2/3$ , 以使沸腾的面积足够大。若

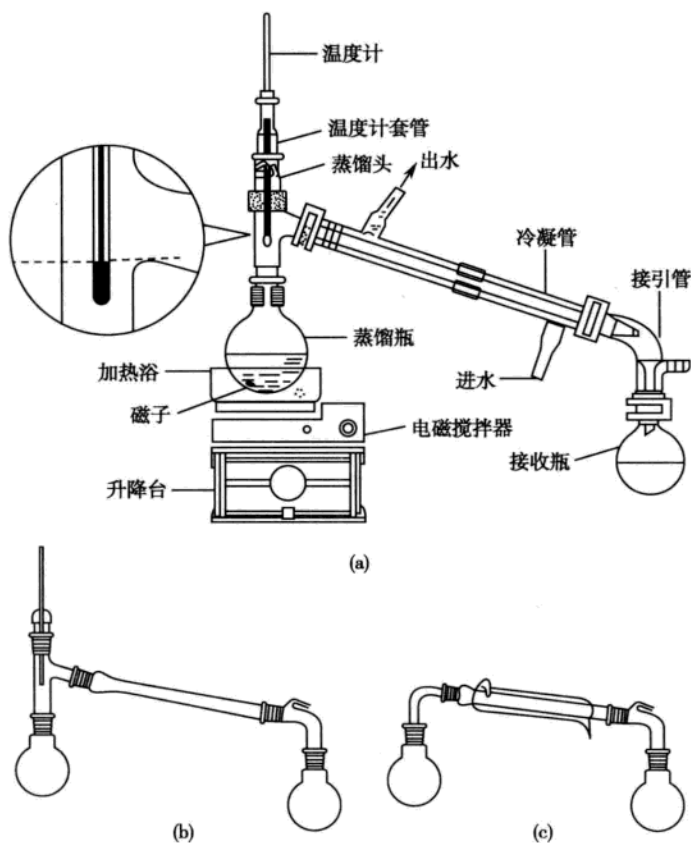


图 3-13 蒸馏装置

(a) 普通蒸馏装置; (b) 空气冷凝蒸馏装置; (c) 简单蒸馏装置

超出, 沸腾液体的雾滴易被蒸气带入接收系统; 而沸腾强烈时, 液体可冲出。蒸馏之前, 应在蒸馏瓶中加入少量沸石或其他类似物(毛细管), 以防暴沸。

(3) 冷凝管: 直形冷凝管与空气冷凝管的使用最为普遍。蒸馏沸点  $< 150^{\circ}\text{C}$  的物质时, 选用直形冷凝管。直形冷凝管的长短决定于蒸馏液体的沸点: 沸点越低, 蒸气不易冷凝, 故需长冷凝管; 沸点越高, 蒸气易冷凝, 则需短冷凝管。蒸馏沸点  $> 150^{\circ}\text{C}$  的物质时应考虑使用空气冷凝管, 因为若蒸气温度较高, 遇冷循环水有时会发生炸裂。

(4) 加热浴: 有机物蒸馏, 除非在特殊情况下, 一般不能直火加热, 而用加热浴: 低温时 ( $< 85^{\circ}\text{C}$ ), 可选用水浴、水蒸气浴;  $85 \sim 200^{\circ}\text{C}$  时, 可选用油浴(石蜡);  $> 200^{\circ}\text{C}$ , 有时会选择硅油浴、石墨浴(导热性好)、砂浴、电加热套等。

加热浴温度越高, 蒸出速度越快, 但加热浴温度一般最高不能比沸点高出  $30^{\circ}\text{C}$ , 即使沸点很高的情况下也不能超过沸点  $40^{\circ}\text{C}$ 。加热浴温度过高有如下缺点: ①蒸馏速度太快, 瓶内蒸气压  $>$  大气压, 易导致烧瓶炸裂, 造成事故; ②被蒸馏物过热分解。

(5) 蒸馏速度: 在多数蒸馏中, 一般认为每秒 1 滴的蒸出速度是合适的。蒸馏乙醚等低沸点的有机溶剂时, 应特别注意蒸馏速度不能太快, 否则冷凝管不能将乙醚全部冷凝下来。

应在冷凝管下端带支管的接引管的侧口处连接一橡皮管,将其导入流动的水中,以便将挥发的乙醚蒸气带走。

(6) 若已无馏出液蒸出,应停止蒸馏。即使蒸馏液中杂质很少,也不能蒸干,以防意外事故的发生。

(7) 蒸馏完毕,先停火,再停止通冷凝水,最后拆卸仪器。

(8) 其他注意事项:①蒸馏前,应尽可能多地了解被蒸馏物的性质,如沸点范围、有无爆炸因素(肼、过氧化氢、三聚乙醛(副醛)+浓硫酸、有过氧化物的乙醚等);②有毒物蒸馏,应在通风橱中进行;③蒸馏中有发泡现象,可以考虑加消泡剂(醇、酮)。

### 1.3 微量法测定沸点

微量法测定沸点可用图 3-14 所示装置进行。取一根直径为 3~4mm,长 7~8cm 的毛细管,用小火封闭其一端,作为沸点管的外管。向其中加入 1~2 滴待测定样品,使液柱高约 1cm。再向该外管中放入一根长 8~9cm、直径约 1mm、上端封闭的毛细管(内管),然后将沸点管用橡皮圈固定于温度计水银球旁,放入热浴中加热。由于气体膨胀,内管中会有断断续续的小气泡冒出,达到样品的沸点时,将出现一连串的小气泡,此时应停止加热,使溶液温度自行下降,气泡逸出的速度随即渐渐减慢。在最后一个气泡刚欲缩回至内管的瞬间,表示毛细管内的蒸气压与外界压力相等,此时的温度即为该液体的沸点。为校正起见,待温度下降几度后再缓慢地加热,记下刚出现气泡时的温度。两次温度计读数不应超过 1℃。



图 3-14 微量法测定沸点装置

## 2 真空蒸馏(减压蒸馏)

高沸点的化合物蒸馏时,常由于强烈的加热而发生分解或沸点太高难以蒸馏,可用减压蒸馏,以降低沸点,减少分解和增加蒸馏效果。

### 2.1 减压蒸馏的原理

由于液体表面分子逸出所需的能量随外界压力的降低而降低。因此,降低压力可降低液体的沸点。这种在降低压力的条件下进行的蒸馏操作称为减压蒸馏。

液体沸点与压力的关系可以用以下公式近似表示:

$$\log P = (A + B)/T$$

式中, $P$ ——蒸汽压;

$T$ ——绝对温度;

$A$ 、 $B$ ——常数。

若以  $\log P$  对  $1/T$  作图,可近似地得一条直线。因此,可以从两组已知的压力和温度推算出  $A$  和  $B$  的数值,再将所选择的压力代入式中算出液体的沸点。

实际上许多物质的沸点变化并不如此。这是由于物质的理化性质主要是由分子在液体中的缔合程度决定的。因此在减压蒸馏时,常常参考应用“压力-温度”近似图来估计一个化合物的沸点和压力的关系,从某一压力下的沸点推算另一压力下的近似沸点。液体在常压下的沸点和减压下的沸点的近似关系如图 3-15 所示。

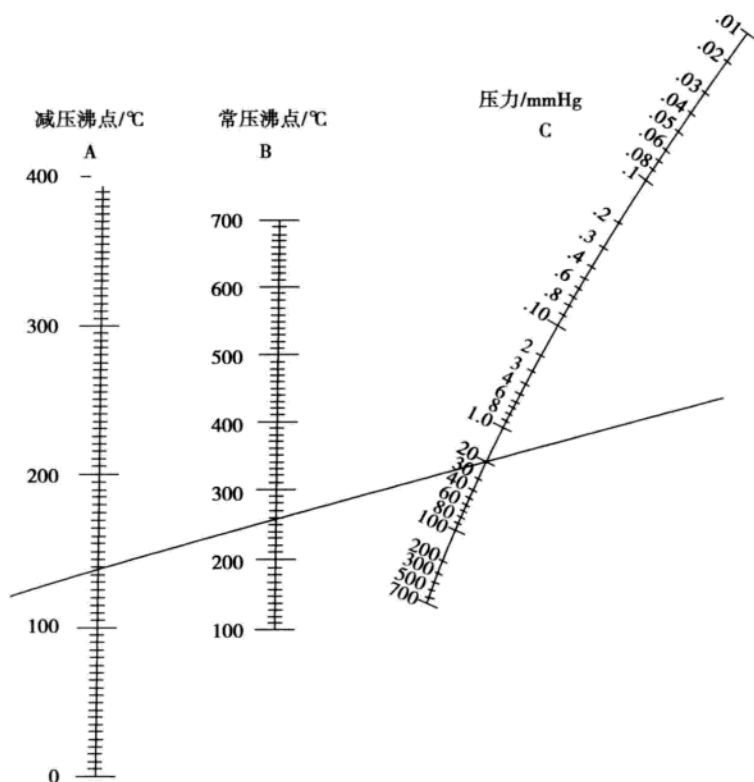


图 3-15 液体在常压下的沸点和减压下的沸点的近似关系图  
A 为减压下获得的沸点; B 为常压下的沸点; C 为系统压力

## 2.2 压力沸点近似表的应用

应用压力沸点近似表时,可用一条小尺子,通过表中 2 个数据,求第 3 个数据。

(1) 已知液体常压沸点,求某减压压力下的沸点

例如:一液体常压沸点为  $250^{\circ}\text{C}$ ,在水泵减压条件下[压力为  $20\text{mmHg}$  ( $1\text{mmHg} = 0.133\text{kPa}$ )]进行蒸馏,求其沸点。

首先在图 3-15 常压线 B 上找到沸点为  $250^{\circ}\text{C}$  的点,再在系统压力线 C 上找到  $20\text{mmHg}$  点,用尺子连接 C 与 B,延伸到直线 A 的交点约为  $137^{\circ}\text{C}$ ,即该液体在  $20\text{mmHg}$  压力下  $137^{\circ}\text{C}$  可蒸出(见图 3-15 所示直线)。

(2) 已知某一压力下的沸点,求另一压力下的沸点

例如:据文献报道,某化合物在真空  $2\text{mmHg}$  时沸点为  $120^{\circ}\text{C}$ ;但要在真空为  $20\text{mmHg}$  时蒸出,求其沸点。

先求常压沸点:连接 A 与 C 两点,交于 B 点为  $295^{\circ}\text{C}$ ,即为该化合物的常压沸点;然后求  $20\text{mmHg}$  时的沸点:连接常压沸点 B 点( $295^{\circ}\text{C}$ )与系统压力线 C 点( $20\text{mmHg}$ ),延长至 A 点,相交于  $165^{\circ}\text{C}$ 。则可得该物质在真空度为  $20\text{mmHg}$  时在  $165^{\circ}\text{C}$  可减压蒸出。

在实际减压蒸馏时,对已知化合物进行减压蒸馏时,可参阅文献,查得相应的压力与沸点,求得实验室条件下的压力与沸点;对未知化合物进行减压蒸馏时,可先固定真空度,通过

调节温度蒸出。表 3-5 列出了部分有机化合物在常压和不同压力下的沸点。

表 3-5 部分有机化合物在常压和不同压力下的沸点

化合物 $P/\text{mmHg}^*$	水	氯苯	苯甲醛	水杨酸乙酯	甘油	葱
760	100	132	179	234	290	354
50	38	54	95	139	204	225
30	30	43	84	127	192	207
25	26	39	79	124	188	201
20	22	34.5	75	119	182	194
15	17.5	29	69	113	175	186
10	11	22	62	105	167	175
5	1	10	50	95	156	159

\*  $1\text{mmHg}=0.133\text{kPa}$ 。

综上所述,可以总结出以下经验和规律:①当压力降低到  $2.67\text{kPa}(20\text{mmHg})$  时,大多数有机物的沸点比常压  $0.101\text{MPa}(760\text{mmHg})$  时的沸点低  $10\sim 100^\circ\text{C}$ ;②当减压蒸馏在  $1.33\sim 3.33\text{kPa}(10\sim 25\text{mmHg})$  之间进行时,大体上压力每相差  $0.133\text{kPa}(1\text{mmHg})$ ,沸点约相差  $1^\circ\text{C}$ 。对于具体某个化合物减压到一定压力后,其沸点是多少可以查阅有关资料,但更重要的是通过实验确定。

### 2.3 真空度的划分

所谓真空只是相对真空,即压力较常压低的气态空间。因此真空在一定程度上有很大的差别。为了应用方便,常常把不同程度的真空划分成几个等级:

(1) 低真空[气压  $1.33\sim 101\text{kPa}(10\sim 760\text{mmHg})$ ]:一般在实验室中可用水泵获得。水泵的抽空效力与水压、泵中水流速率及水温有关。好的水泵所达到的最大真空度受水的蒸气压力所限制,因此水源温度  $3\sim 4^\circ\text{C}$  时,水泵可达  $0.8\text{kPa}(6\text{mmHg})$  的真空度;而水源温度在  $20\sim 25^\circ\text{C}$  时,最高只能达到  $2.26\sim 3.33\text{kPa}(17\sim 25\text{mmHg})$ 。

(2) 中度真空[气压  $0.133\times 10^{-3}\sim 1.33\text{kPa}(10^{-3}\sim 10\text{mmHg})$ ]:一般可用油泵获得,最高可达到  $0.133\times 10^{-3}\text{kPa}(0.001\text{mmHg})$  左右。

(3) 高真空[气压  $0.133\times 10^{-8}\sim 0.133\times 10^{-3}\text{kPa}(10^{-8}\sim 10^{-3}\text{mmHg})$ ]:在实验室主要通过扩散泵获得高真空。

### 2.4 减压蒸馏的方法

#### 2.4.1 减压蒸馏装置

减压蒸馏装置包括:蒸馏烧瓶、Claisen 蒸馏头、起泡管、冷凝管、接收瓶等蒸馏装置,安全装置,真空减压装置和测压装置(四个部分)(图 3-16、图 3-17)。

##### (1) 蒸馏装置

1) 起泡管:蒸馏时,需要采用一种方法生成小气泡,以防止暴沸。惯用的沸石在真空中不起作用。虽然有时也用微孔沸石防止暴沸,但在多数真空条件下,常用起泡管。大多数成套有机制备仪上都配有起泡管。如果无,可自制。

与长滴管的穿法一样穿过一个塞子插入液下,上部通过螺旋夹控制进入的空气量。如



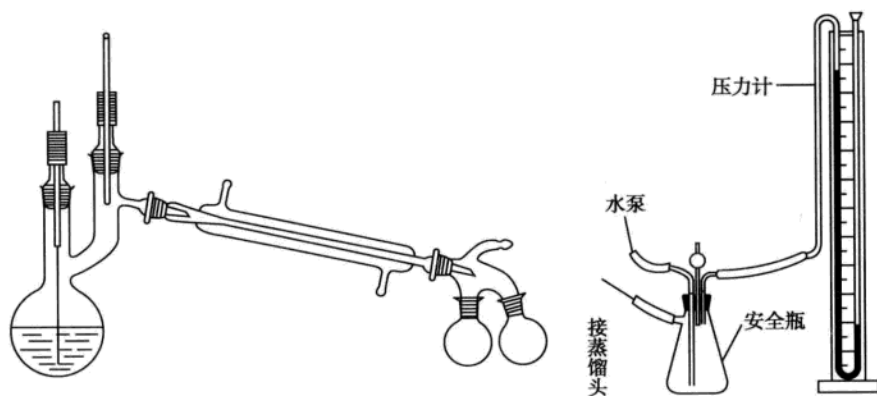


图 3-16 水泵减压蒸馏装置

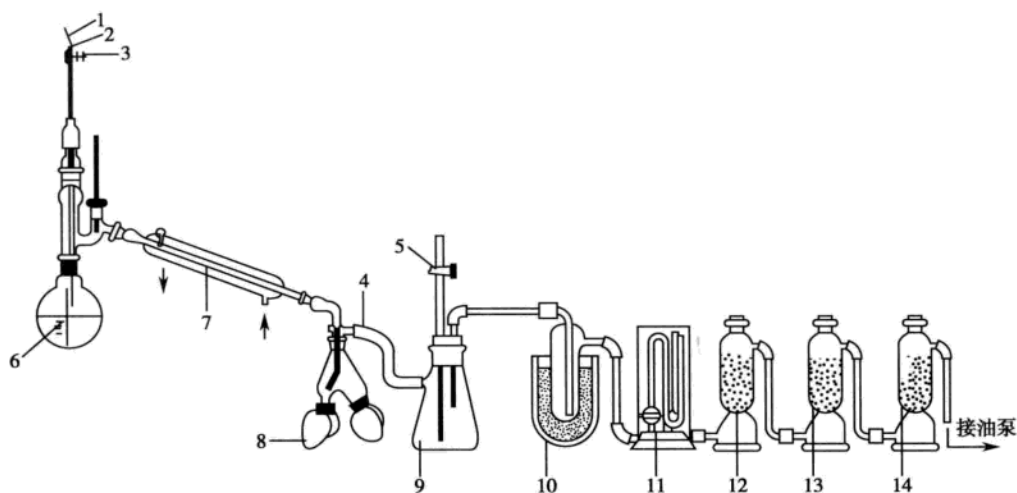


图 3-17 油泵减压蒸馏装置

1. 细铜丝; 2. 乳胶管; 3. 螺旋夹; 4. 真空胶管; 5. 双通活塞; 6. 毛细管; 7. 冷凝器; 8. 接收瓶;
9. 安全瓶; 10. 冷阱; 11. 压力计; 12. 无水氯化钙; 13. 氢氧化钠; 14. 石蜡片

果所分离物质易氧化,上端可通氮气保护。如蒸馏中有固体析出,可将毛细管倒插。小剂量蒸馏时,可不用小毛细管,而用单颈瓶,放少量玻璃棉。一部分浸在蒸馏液下,一部分在液面上,防止暴沸。

一些起泡管的安装方法见图 3-18。

2) 蒸馏瓶:液体量不超过瓶体积的  $1/3 \sim 1/2$ 。

3) 克氏蒸馏头:一个插起泡管,一个插温度计。克氏管可在暴沸时,防止液体被带出。

4) 蒸馏管:正常情况下选用直形冷凝管(水冷凝),高沸点的液体可选用空气冷凝管。

5) 多头接引管:若使用单头接引管时,每开始蒸出一种物质,就要调换接收瓶,就得停止抽真空,很麻烦。采用多头接引管,通过转动,可以随时接引不同组分,很方便。

(2) 真空装置:根据实验要求,即根据所分离液体的沸点,选择不同真空度大小的真空泵。真空度越高,操作越麻烦,能用水泵则不用油泵。

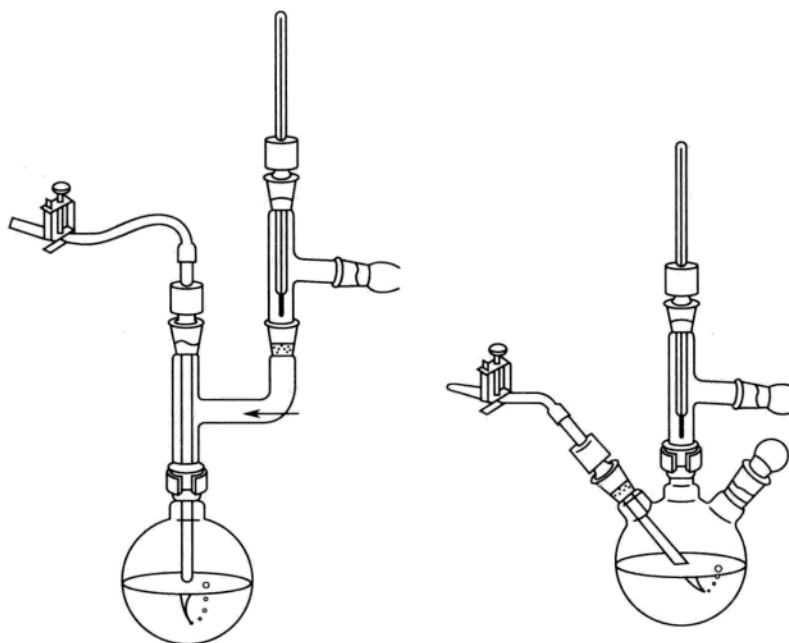


图 3-18 起泡管的安装示意图

- 1) 水泵: 一般不需要附加干燥装置, 只需一个缓冲瓶即可。
  - 2) 油泵: 一般要加一套干燥或吸收装置, 如固体氢氧化钠、固体氯化钙、活性炭、五氧化二磷等。同时需要连一个冷阱。
  - 3) 高真空泵: 经常换油。防止蒸气进入油泵, 油泵中的油需每月更换一次。
- (3) 保护装置: 使用油泵时常用特殊保护装置(图 3-17)。
- 1) 冷阱: 为避免低沸点有机溶剂和烃类物质进入油泵, 增加其蒸气压, 降低真空效能, 常装配冷阱和盛有石蜡片的吸收塔, 从而保护油泵。接好蒸馏装置后, 加冷却剂进行冷却。冷阱的制备可用冰水、冰盐和干冰系统。常用冷阱见图 3-19。

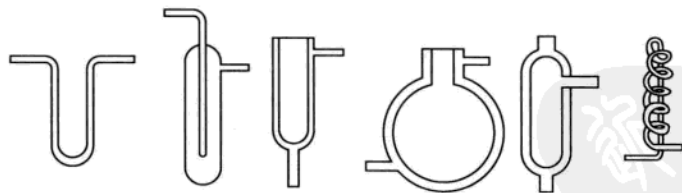


图 3-19 常用冷阱

2) 吸收塔: 为避免酸性蒸气对泵的腐蚀, 常装配盛有碱性物质(如氢氧化钠或氢氧化钙颗粒)的吸收塔; 另外, 为避免水气进入油泵, 常装配盛有无水氯化钙或硅胶干燥剂的吸收塔。吸收塔应及时更换填充物, 否则起不到保护真空泵的作用。

(4) 真空测量表: 常见的真空测量表有普通开口 U 型水银计(A、B)、直立单管真空表(C)、麦氏真空表(D, 转动式)等, 如图 3-20 所示。

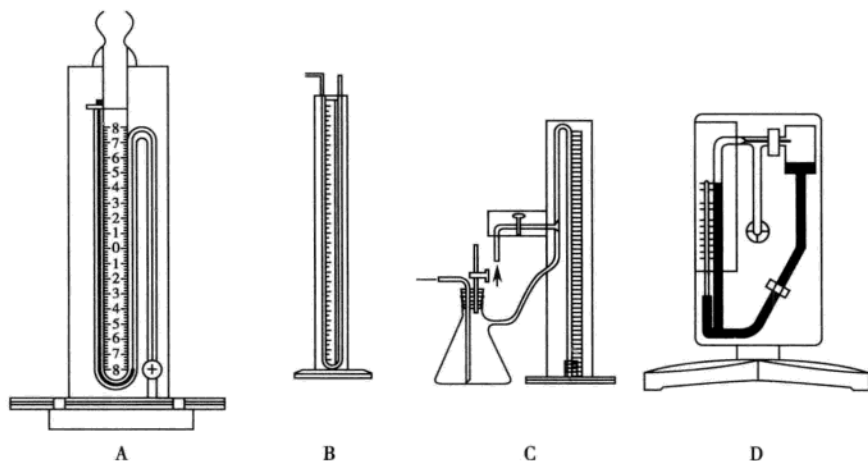


图 3-20 真空测量表

#### 2.4.2 其他需注意问题

- (1) 防止漏气,磨口容器涂真空油脂;
- (2) 橡皮管应用新的,不易抽瘪和漏气;
- (3) 加热浴应比被蒸馏物质的沸点高出  $10 \sim 30^{\circ}\text{C}$ ,不可直火加热;
- (4) 蒸馏完毕先移去热源,稍冷后,再移去真空装置,以免残留物分解爆炸;
- (5) 高真空操作时,需戴防护眼镜;
- (6) 未获得良好真空之前,切勿加热蒸馏。

#### 2.5 少量物质的减压蒸馏

少量物质的减压蒸馏装置见图 3-21,商品化的仪器装置可以购置,其操作同一般减压蒸馏步骤。

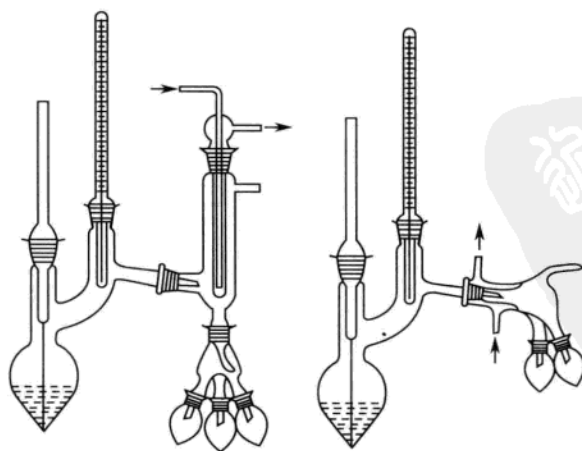


图 3-21 少量物质的减压蒸馏装置

### 3 分子蒸馏

在有机化学实验中往往会遇到这样一种化合物:沸点非常高,或者加热时不稳定,容易分解,甚至发生爆炸,如有机过氧化物等。这样就不能通过一般减压蒸馏进行纯化。如果在蒸馏时能够减少分子的重凝聚,使它只简单地蒸发,则在比较低的温度下,就能达到蒸馏的目的,这就是分子蒸馏(molecular distillation)。

分子的重凝聚需要分子间的碰撞,从而使它们转回液面,如果这种碰撞能够避免,分子就可照直线方向行进,直至它们离开液面。表3-6中表示的是空气分子的平均自由程(一分子与另一分子遭遇以前所行经的平均距离)与系统压力之间的关系。从此表可以看出,压力越小,平均自由程越大,也就是分子间碰撞的机会越少。所以,如果所用系统的真空度能达到 $10^{-3}$  mmHg以上,则分子的平均自由程就可达到5.6cm以上,同时使冷凝器非常接近于液面,并使液体热表面与冷凝面的温差在 $100^{\circ}\text{C}$ 以上,就可以不产生重凝聚而只是蒸发,从而达到分子蒸馏的目的。

表 3-6 空气自由程与压力的关系

压力(毫米汞柱)	平均自由程(厘米)
1.0	0.0056
$10^{-1}$	0.056
$10^{-2}$	0.56
$10^{-3}$	5.6

为了达到分子蒸馏的要求,所设计的分子蒸馏器形式很多,图3-22介绍的是一种设备简单、操作方便的分子蒸馏器。下端绕以电热丝用来加热或直接用油浴加热。接收器中放四根小管,可以转动接收4种馏分。真空度达到 $10^{-3}$  mmHg以上即可。按高真空蒸馏方法操作。

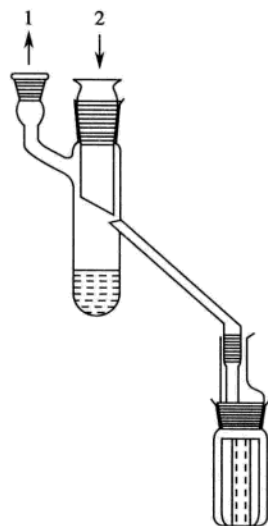


图 3-22 分子蒸馏器

1. 接高真空泵;2. 加入干冰

## 第三节 水蒸气蒸馏

### 1 水蒸气蒸馏的意义

水蒸气蒸馏是分离和纯化与水不相溶的挥发性有机物的常用方法之一,尤其是在反应产物中混有大量树脂状杂质的情况下,水蒸气蒸馏效果较普通蒸馏或重结晶好。

#### 1.1 进行水蒸气蒸馏时,对要分离的有机化合物的要求

- (1) 不溶或微溶于水,这是满足水蒸气蒸馏的先决条件。
- (2) 可长时间与水共沸,不与水反应。
- (3) 近 $100^{\circ}\text{C}$ 时有一定的蒸气压,一般不少 $1.33\text{kPa}$ ( $10\text{mmHg}$ )。

许多不溶于水或微溶于水的有机化合物,无论是固体还是液体,只要在 $100^{\circ}\text{C}$ 左右具有一定的蒸气压,即有一定的挥发性时,若与水在一起加热就能与水同时蒸馏出来,则称为水蒸气蒸馏。

## 1.2 意义

利用水蒸气蒸馏可把这些化合物同其他挥发性更低的物质分开,从而达到分离提纯的目的。可避免不稳定的或沸点较高的物质从混合物中蒸出分解。水蒸气蒸馏也是从动植物中提取芳香油(挥发油)等天然产物最常用的方法之一。

## 2 基本原理

### 2.1 相互混溶的挥发性混合物的蒸气压

相互混溶的挥发性混合物能形成理想的溶液,服从拉乌尔定律,混合物在一定温度时的蒸气压为:

$$P_{\text{总}} = P_a^0 N_a + P_b^0 N_b + \cdots + P_i^0 N_i$$

即混合物的蒸气压( $P_{\text{总}}$ )不是各个纯液体的蒸气压的直接相加( $P_a^0 + P_b^0 + \cdots + P_i^0$ ),而是被液体摩尔分数( $N_a, N_b, \cdots, N_i$ )缩小后再加合。在混溶和均相溶液面上的总压力是由各组分的  $P^0$  和  $N^0$  共同决定的。

### 2.2 互不混溶的挥发性混合物的蒸气压

其性质与互溶液体的混合溶液完全相反。其中每一组分在一定温度时的分压,等于在同一温度下的纯化合物的蒸气压,即  $P_i = P_i^0$ ,而不取决于混合物中各化合物的摩尔分数,这就是说混合物的每一组分是独立蒸发的。因此根据道尔顿(Dalton)分压定律,互不相溶的挥发性有机物在某一温度下的总蒸气压为:

$$P_{\text{总}} = P_a^0 + P_b^0 + \cdots + P_i^0$$

式中: $P_a^0, P_b^0, \cdots, P_i^0$  表示各组分的分压,等同于同一温度下纯化合物的蒸气压。任何温度下的总蒸气压( $P_{\text{总}}$ ),总是大于任一组分的蒸气压,等于各组分的分蒸气压之和, $P_{\text{总}}$  随着温度升高而增加,直到等于外部大气压力时,液体即开始沸腾。显然,互不混溶的混合物的沸点要比沸点最低的某个组分单独存在时的沸点还要低。图 3-23 是有关混溶和不混溶液体

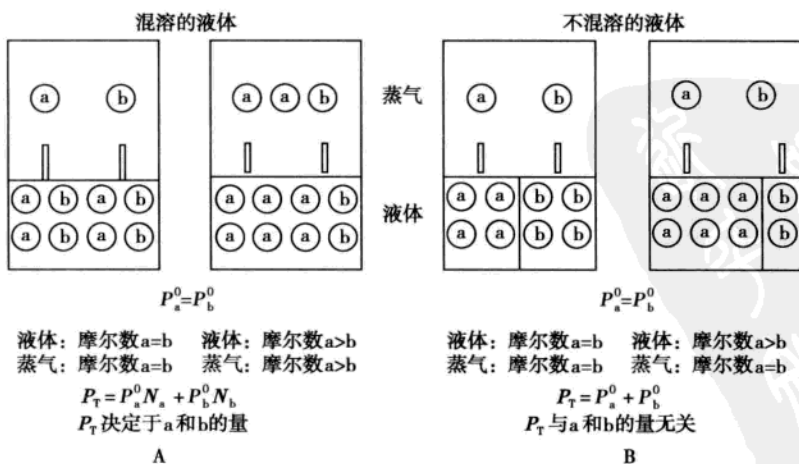


图 3-23 混溶和互不混溶液体的总蒸气压行为

A. 理想的混溶液体服从拉乌尔定律; B. 不混溶液体不服从拉乌尔定律

体的总蒸气压行为的比较。

### 2.3 水蒸气的蒸馏情况

$P_{\text{总}} = P_{\text{水}}^0 + P_{\text{s}}^0$ , 也就是说, 水蒸气蒸馏时, 混合物沸腾的温度要低于水的正常沸点 ( $P_{\text{s}}^0 > P_{\text{水}}^0$ )。如水的沸点为  $100^{\circ}\text{C}$ , 甲苯为  $111^{\circ}\text{C}$ , 当两者混合在一起进行水蒸气蒸馏时, 沸腾温度为  $84.6^{\circ}\text{C}$ , 在此温度下水的蒸气压为  $56.39\text{kPa}$  ( $424\text{mmHg}$ ), 甲苯为  $44.69\text{kPa}$  ( $336\text{mmHg}$ ), 两者之和等于  $0.1\text{MPa}$  (约  $760\text{mmHg}$ ), 即当时的大气压。

图 3-24 表示水 (沸点  $100^{\circ}\text{C}$ ) 和溴苯 (沸点  $156^{\circ}\text{C}$ ) 两个不互溶混合物以及两个化合物的混合蒸气压对温度关系的坐标。图中虚线表示混合物应在  $95^{\circ}\text{C}$  左右沸腾, 该温度的总蒸气压就等于大气压。根据上述原理, 该沸点温度要低于水的沸点, 而在这个混合物中, 水是最低沸点组分。因此要在  $100^{\circ}\text{C}$  或更低温度蒸馏化合物, 水蒸气蒸馏是有效的。

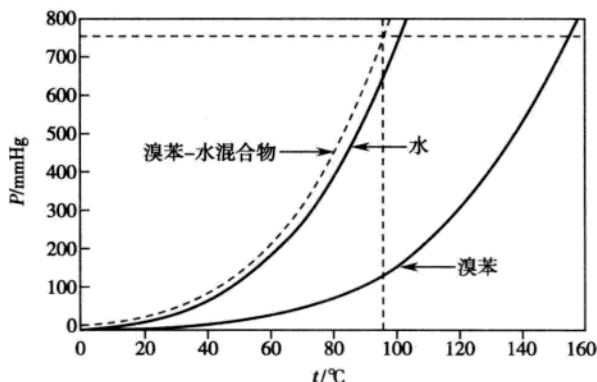


图 3-24 溴苯、水和溴苯-水混合物的蒸气压与温度关系

### 2.4 水蒸气蒸馏的计算

若将水蒸气蒸馏体系视为理想体系, 根据理想气体状态方程:  $pV = nRT$

$$P_{\text{水}}^0 V_{\text{水}} = \frac{g_{\text{水}}}{M_{r,\text{水}}} RT$$

$$P_{\text{s}}^0 V_{\text{s}} = \frac{g_{\text{s}}}{M_{r,\text{s}}} RT$$

式中:  $P^0$ ——纯液体的蒸气压;

$V$ ——气体体积;

$g$ ——气相下该组分的质量(g);

$s$ ——具有一定挥发性的有机物质;

$R$ ——摩尔气体常数;

$T$ ——热力学温度。

$$\frac{g_{\text{s}}}{g_{\text{水}}} = \frac{P_{\text{s}}^0 M_{\text{s}}}{P_{\text{水}}^0 M_{r,\text{水}}}$$

合并上两式得: 在水蒸气蒸馏条件下,  $V_{\text{水}} = V_{\text{s}}$ , 且蒸馏温度相等, 则有:



$$\frac{p_{\text{水}}^0 V_{\text{水}}}{p_{\text{s}}^0 V_{\text{s}}} = \frac{g_{\text{水}} M_{\text{r,s}} RT}{g_{\text{s}} M_{\text{r,水}} RT}$$

上式表明:水蒸气蒸馏冷凝液中,两种物质的相对质量(也是蒸气中的相对质量)与它们的蒸气压和相对分子量成正比。

若已知被提纯物与水的共沸温度以及水在此温度下的分压,就可以计算出馏出液中被提纯物与水的质量之比。

例如,苯胺的沸点为 184.4℃,苯胺和水的混合物用水蒸气蒸馏时,其共沸温度为 98.4℃,在此温度下水的蒸气压是 95.73kPa,苯胺的蒸气压是 5.60kPa,苯胺的摩尔质量为 93.0g/mol,所以馏出液中苯胺与水的质量之比为:

$$\begin{aligned} m_{\text{苯胺}}/m_{\text{水}} &= (P_{\text{苯胺}} \times M_{\text{苯胺}})/(P_{\text{水}} \times 18) \\ &= (5.60 \times 93.0)/(95.70 \times 18.0) = 0.3/1 \end{aligned}$$

由于苯胺微溶于水,导致水的蒸气压降低,实际得到的比例比计算值要低一些。

能用水蒸气蒸馏分离的有机化合物,有其自身的结构特点,例如,许多邻位二取代苯的衍生物比相应的间位与对位化合物随水蒸气挥发的能力要大(表 3-7);能形成分子内氢键的化合物如邻氨基苯甲酸、邻硝基苯甲醛、邻硝基苯酚等都随水蒸气蒸发。

表 3-7 若干二元取代苯随水蒸气的相对挥发度

苯环上的 取代基	位置			苯环上的 取代基	位置		
	邻-	间-	对-		邻-	间-	对-
COOH, Cl	4.08	4.38	1	NHCOCH <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	43.1	2.00	1
COOH, CH <sub>3</sub>	4.49	2.81	1	NH <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	47	9.49	1
NHCOCH <sub>3</sub> , Cl	6.61	0.60	1	OH, NO <sub>2</sub>	160.0	3.32	1
COOH, NO <sub>2</sub>	20.90	7.30	1	COOH, OH	1320	5.00	1

在表 3-8 中所列的化合物溶于水,且有水存在时,其蒸气压下降(如酸、酚、醇、胺等)。在表 3-8 中可见,同系列分子中,相对分子质量增加,因极性基团在分子中的影响被削弱,水蒸气的挥发度也增大。分子中的第二个极性基因的引入,会显著减小分子随水蒸气的挥发度。

### 3 水蒸气蒸馏操作

实验室中一般使用两种水蒸气蒸馏法:

- (1) 从蒸气管道中引入“活”的蒸气,通入盛有有机化合物的烧瓶——活蒸气法。
- (2) 将盛有化合物和水的烧瓶一起加热,直接进行水蒸气蒸馏——直接法。

#### 3.1 活蒸气法

此法应用广泛,尤其适用于高分子量(低蒸气压)的物质,此法甚至可用于挥发性固体的水蒸气蒸馏。

##### 3.1.1 蒸馏装置

水蒸气蒸馏的装置由蒸气发生器和蒸馏装置两部分组成,如图 3-25 所示。这两部分在

连接部分要尽可能紧凑,以防蒸气在通过较长的管道后部分冷凝,而影响水蒸气蒸馏的效率。从蒸气管道取得蒸气或从水蒸气发生器取得蒸气,在管道与蒸馏瓶之间接上气液分离器或装上一个T形管以除去其中的冷凝水,即在T形管下端连一个弹簧夹,以便及时除去冷凝下来的水滴。

表 3-8 在有水存在时蒸气压力减少的物质随水蒸气的相对挥发度( $K$ )

化 合 物	$K^{[1]}$	化 合 物	$K^{[1]}$
甲酸	0.370	乙胺	20.0
乙酸	0.657	正丙胺	30.0
丙酸	1.239	正丁胺	40.0
丙酮酸	0.074	二乙胺	43.0
氯乙酸	0.047	乙二胺	0.02
丁烯酸	0.760	苯胺	5.51
丁酸	1.96	苯甲胺	3.27
1-乙基丁酸	4.57	1-萘胺	1.05
苯甲酸	0.27	<i>N</i> -甲基苯胺	16.0
对甲基苯甲酸	0.378	苯酚	1.94
间甲基苯甲酸	0.420	对硝基苯酚	0.005
邻甲基苯甲酸	0.508	间硝基苯酚	0.01
苯乙酸	0.07	对氯苯酚	1.30
肉桂酸	0.102	百里酚	12.0
水杨酸	0.088	甲醛	2.6
邻氨基苯甲酸	0.019	乙醛	40.0
对甲氧基苯甲酸	0.050	苯甲醛	18.0
氨	13.0	对甲氧基苯甲醛	3.1
甲胺	11.00		

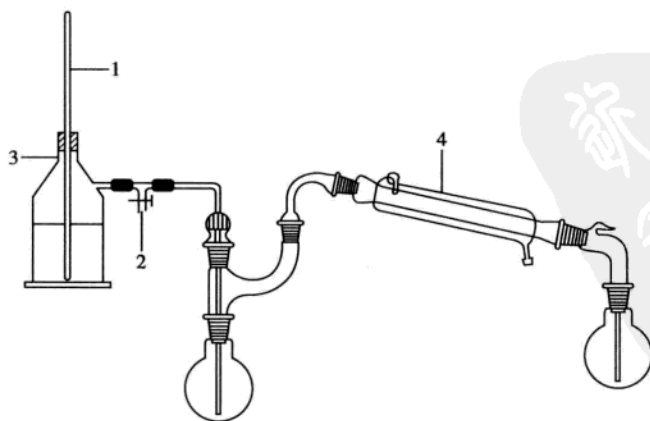


图 3-25 水蒸气蒸馏装置

1. 安全管;2. T形管;3. 铜制水蒸气发生器;4. 冷凝管



水蒸气发生器一般用金属制成(或用短颈圆底烧瓶代替)。使用时在发生器内加入 2/3 容积的水,在发生器的上口通过塞子插入一根内径约 0.5cm、长约 80cm 的玻璃管作为安全管,管子的下端接近发生器底部。发生器的蒸气导出口通过 T 形管与蒸馏部分的蒸气导入管相连。在 T 形管的支管上套一段短橡皮管,用螺旋夹夹住。蒸气导入管下端尽量接近烧瓶底部。

用克氏蒸馏头与冷凝管相接,以防止蒸馏时蒸馏瓶中的混合物溅入冷凝管。

### 3.1.2 操作方法

在水蒸气发生器中加入其 2/3 容积的水,将蒸馏物倒入圆底烧瓶,其量不得超过烧瓶容积的 1/3。检查装置是否漏气。

开始蒸馏前先将螺旋夹打开,加热水蒸气发生器至水沸腾,当 T 形管的支管有水蒸气冲出时,把夹子夹紧,让水蒸气均匀地通入圆底烧瓶中,这时烧瓶内的混合物翻滚不息,有机物和水的混合物蒸气经过冷凝管冷凝成乳浊液进入接收瓶,控制馏出速度为 2~3 滴/秒。当被蒸物质全部蒸出后,蒸出液由混浊变澄清,此时不要结束蒸馏,要再多蒸出 10~20ml 的透明馏出液方可停止蒸馏。

在蒸馏过程中若因水蒸气冷凝而使蒸馏瓶内液体量增加,以致超过烧瓶容积的 2/3,或者蒸馏速度较慢时,可将蒸馏烧瓶隔石棉网加热。但要注意瓶内蹦跳现象,蹦跳厉害时,要停止加热。

在蒸馏过程中,还需注意安全管水位是否正常、蒸馏瓶内混合物是否飞溅厉害或倒吸。若出现此现象应立即打开螺旋夹,然后移去热源,找出故障原因,排除故障后再继续加热。中断或结束蒸馏时,一定要先打开连接于水蒸气发生器与蒸馏装置之间的 T 形管上的螺旋夹,使体系连通大气,然后再停止加热,拆下接收瓶后,再按顺序拆除各部分装置。

如果随水蒸气挥发的物质具有较高的熔点,在冷凝后易析出固体,则应调小冷凝水的流速,使它冷凝后仍然保持液态。如已有固体析出,并且接近阻塞时,要暂时停止冷凝水的流通,甚至需要将冷凝水暂时放去,以使物质熔融后随水流入接收瓶中。

## 3.2 直接法

此法在实验中较为方便。对于挥发性液体和数量较少的物料,此法非常适用。它主要用于无固体存在的混合物的蒸馏,因为固体会引起过度暴沸。

### 3.2.1 实验装置

将盛有一定量水的分液漏斗置于克氏蒸馏头上,蒸馏瓶置于热源上,其他同活蒸气法蒸馏装置,如图 3-26 所示。

### 3.2.2 操作步骤

将烧瓶中的水与欲蒸馏物质的混合物加热至沸,以便产生蒸气。当水蒸气与化合

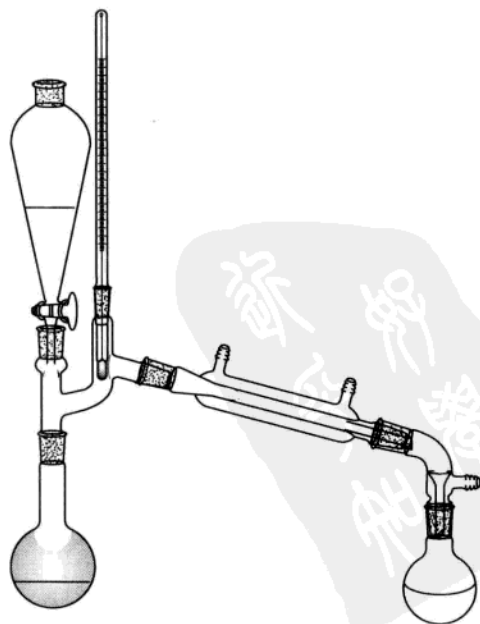


图 3-26 简易水蒸气蒸馏装置

物一起蒸出时,从分液漏斗逐渐加入水。蒸馏过程中,混浊液随热蒸气冷凝集聚在接收瓶中,当蒸馏近结束时,蒸出液由混浊变澄清。蒸馏结束后,先去掉热源,拆下接收瓶后,再按顺序拆卸其他部分。

本法除对固体物质蒸馏时易引起过度暴沸外,起泡现象也可能使本蒸馏法变得难以进行,而活蒸气法往往能解决这两个问题。

## 第四节 分 馏

### 1 蒸馏与分馏的区别

简单蒸馏可以分离两种或两种以上沸点相差较大的液体混合物。分馏(fractionation)可以分离两种或两种以上沸点相差较小或沸点接近的液体混合物。分馏在化学工业和实验室中应用广泛,包括产品的分离纯化、溶剂的回收等。目前最精密的分馏设备已能将沸点相差仅 $1\sim 2^{\circ}\text{C}$ 的混合物分离。

### 2 分馏的原理

如果将几种沸点不同而又完全互溶的液体混合物加热,当其总蒸气压等于外界压力时开始沸腾气化。蒸气中易挥发组分所占的比例比原液相中所占的比例要大。若将该气体凝结成液体,其中有较多的低沸点成分,根据这一现象可以把液体混合物中的各组分分离开。

为便于理解,仅讨论混合物为二组分理想溶液的情况。所谓理想溶液是指在这种溶液中,相同分子间的相互作用与不同分子间的相互作用一样。也就是各组分在混合时无热效应产生,体积没有改变,只有理想溶液才遵守拉乌尔(Raoult)定律。

由组分A和B组成的理想溶液,当 $P_A(\text{气}) + P_B(\text{气}) = P_{\text{外}}$ 时,即A和B的分压和等于外界压力( $P_{\text{外}}$ )时,溶液就开始沸腾。蒸气中易挥发液体的成分较原混合液中要多。因为此时溶液中每一组分的蒸气压等于此纯物质的蒸气压和它在溶液中的摩尔分数的乘积。

$$P_A = P_A^0 X_A$$

$$P_B = P_B^0 X_B$$

$P_A$ 、 $P_B$ 分别为溶液中A、B组分的分压; $P_A^0$ 、 $P_B^0$ 分别为纯物质的蒸气压; $X_A$ 、 $X_B$ 分别为A、B在溶液中的摩尔分数。

根据道尔顿分压定律,气相中每一组分的蒸气压和它的摩尔分数成正比。因此,在气相中各组分蒸气的成分为:

$$X_A(\text{气}) = P_A / (P_A + P_B)$$

$$X_B(\text{气}) = P_B / (P_A + P_B)$$

$$\text{则有: } X_A(\text{气}) / X_B(\text{气}) = P_A / P_B = P_A^0 X_A / P_B^0 X_B$$

即混合液的蒸气中,A、B的摩尔数与其本身的分压成正比。如果A比B更易挥发,即 $P_A^0 > P_B^0$ ,那么 $P_A^0 / P_B^0 > 1$ 。因此, $X_A(\text{气}) / X_B(\text{气}) > X_A / X_B$ ,即蒸气中易挥发组分的摩尔数比值大于与之平衡的液相中相应组分的摩尔数比值。

由此可知,在任何温度下蒸气相中总比与之平衡的沸腾液相中有更多的易挥发组分,利用这一原理,沸点相近的液体化合物借助分馏柱就可以被分离。

图 3-27 是大气压下的苯-甲苯体系的沸点组成曲线图,苯和甲苯的沸点分别为  $80.10^{\circ}\text{C}$  和  $110.63^{\circ}\text{C}$ 。从图中可以看出,苯 20% 和甲苯 80% 组成的液体 ( $L_1$ ) 在  $102^{\circ}\text{C}$  时沸腾,与此液相平衡的蒸气 ( $V_1$ ) 组成约为:苯 40% 和甲苯 60%。若将此组成的蒸气冷凝成同组成的液体 ( $L_2$ ),则与此液相平衡的蒸气 ( $V_2$ ) 组成约为:苯 70% 和甲苯 30%。显然,如此继续重复,即可获得接近纯苯的气相。

通过分别收集大量的最初蒸出液和残留液,并反复多次进行常压蒸馏,能够分离出一定量的纯物质。显然这样太烦琐,因此单靠反复的简单蒸馏来把两个或多个沸点不同的液体分开,尤其是把沸点相近的液体分开是不现实的。而分馏柱就可以把这种重复蒸馏的操作在柱内完成。所以分馏是多次重复的常压蒸馏。

分馏柱分馏的原理是将被蒸馏的混合液体在蒸馏烧瓶中沸腾后,蒸气进入分馏柱,在分馏过程中部分冷凝成液体。这些液体由于所含的低沸点成分较多,因此沸点也就较烧瓶中的液体低。当烧瓶中的另一部分蒸气上升至分馏柱中时,便和已冷凝的液体进行热交换,使它重新沸腾(而蒸气自身则部分冷却)。这样便又产生了一个新的液体和蒸气的平衡,蒸气内的低沸点部分又有所增加,这一新的蒸气在分馏柱内上升时,又可凝结成液体,然后再与另一部分上升的蒸气进行热交换而沸腾。这样在分馏时,由于上升蒸气不断地在分馏柱内凝结和蒸发,而每一次的凝结和蒸发,便将低沸点的成分提高一步(图 3-28)。因此蒸气在分

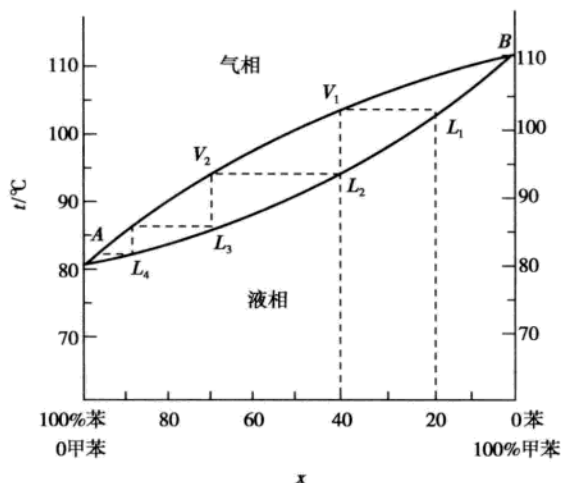


图 3-27 苯-甲苯体系的沸点组成曲线图

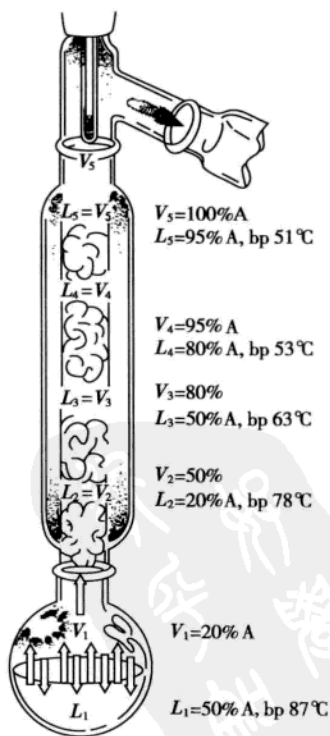


图 3-28 分馏过程示意图

馏柱内上升过程中,等于经过反复多次的简单蒸馏,不断提高了低沸点成分。如选择适当的分馏柱,最后在分馏柱头上出来的蒸气经冷凝后流出的可能是纯低沸点的馏出物或低沸点物质占主要成分。因此,如果选用适当的分馏柱,一些很难或不能用反复简单蒸馏来分开的混合液体,只要经过一次或少数几次分馏,便可完全分开。

综上所述,分馏的关键在于选择适当的分馏柱,这是提高分馏效果的必要条件之一。即要求流回的液体和上升的蒸气在柱内有充分的接触机会。为此,通常是在分馏柱内放入填充物,或将分馏柱设计成各种高效的塔板,使流回的液体于其上形成一层薄膜,从而保证其与上升的蒸气有最大的接触面积,进行热交换。同时,也有利于气液平衡。

### 3 分馏柱的分馏效率

分馏柱有多种类型,能适用于不同的分离要求。但对于任何分馏系统,要得到满意的分馏效果,必须具备以下条件:

- (1) 在分馏柱内,蒸气与液体之间可以相互充分接触;
- (2) 分馏柱内自下而上保持一定的温度梯度;
- (3) 分馏柱要有一定的高度;
- (4) 混合液内各组分的沸点有一定的差距。

为此,在分馏柱内装入具有较大表面积 of 填充物,填充物之间保留一定的空隙,可以增加回流液体和上升蒸气的接触面积。

对于分馏柱的要求,不是愈高愈好,而是要选得恰如其分。对某一个分馏的对象来说,如果分馏柱的分馏能力低了,便不能达到预期的分馏效果;但如果分馏能力太高了,不但对使用的分馏柱来说是一种浪费,而且由于回馏的液体太多,蒸馏的速度大为降低,浪费了很多热量和时间。通常所分馏组分的沸点差距越小,所需分馏柱的柱长就越长;反之,组分间沸点差距越大,所需分馏柱的柱长就可以短一些。分馏柱的分馏能力和效率,分别用“理论塔板数”(theoretical plate number)和“理论塔板等效高度”(height equivalent to theoretical plate, HETP)来表示,HETP 值等于分馏柱高度除以理论塔板数。

简单地说,一个理论塔板就相当于一次简单的蒸馏。如果说一个分馏柱的分馏能力为五个理论塔板数( $n=5$ ),那么通过这个分馏柱所取得的结果,便相当于通过5次简单蒸馏的结果(而且是每一次的简单蒸馏只取出极少的馏出物)。一个具有同样分馏能力的分馏柱,可以有不同的长度,例如:有两个分馏柱,分馏能力都相当于20个理论塔板数,但一个高度为60cm,另一个为20cm,则从分馏柱单位高度的效率来讲,前者小于后者。前者的 HETP = 3,后者的 HETP = 1, HETP 值越小,分馏效率越高。

### 4 分馏柱种类

实验室常用的分馏柱有两种:维氏分馏柱(Vigreux column)和填充式管状分馏柱。如图3-29所示。

(1) 维氏分馏柱:在分馏少量液体时,经常使用的一种柱内有许多“锯齿”的分馏柱,这些“锯齿”呈现向下倾斜 $45^\circ$ 角,有利于气液的分布。高度10~60cm不等。

维氏分馏柱的优点:结构简单、黏附的液体较填充柱少,且易装易洗。缺点:较同样长度的填充柱效率低,HETP为7~10cm。

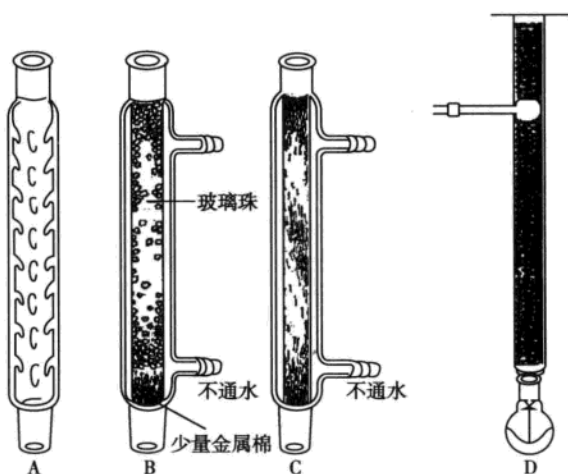


图 3-29 分馏柱的类型

A. 维氏分馏柱; B. 玻璃珠分馏柱; C. 金属棉分馏柱;  
D. 填充式管状分馏柱

(2) 填充式管状分馏柱:管直径大致为 2.5 ~ 3.5 cm,管长 30 ~ 60 cm,可根据需要而定。决定这类分馏柱效率的一个重要因素是填料的种类,一般填充“雷氏环”(Rasching ring)。“雷氏环”实质上是一段直径与长度相等的玻璃环,具体尺寸视分馏柱情况而定。在实验室可将直径为 6 mm 的玻璃管截成 6 mm 的小段(6 mm × 6 mm),然后随意填入管中。如果用金属线绕成的小螺旋圈(用 3 ~ 5 mm 直径的弹簧截成与其直径相同的长度使用)作为填料则效果更好。该类分馏管的效率高,可按需调节,HETP 可以达 1 ~ 2.5 cm。

分馏柱的选用也有几种情况:①如果液体混合物的沸点相差在 100℃ 以上,则可以不用分馏柱;②如果液体混合物的沸点不高,如甲醇和水,则可用一般分馏柱;③如温度较高,而两者的沸点相差值为中等,如苯和甲苯,则可用一般分馏柱,而在馏出口上装一冷凝器,使回流的程度加大;④如液体混合物的沸点很高,且沸点又很接近,分馏柱的外面应加保温套。

分馏柱外面的保温套有这样几种:①外缠石棉线或用绝热套;②外缠织有电热丝的石棉带,用调节变压器调节其温度;③外用玻璃套,抽真空( $10^{-3}$  mmHg),封闭抽气口,使成一封闭的真空保温套。

表 3-9 是得到良好分离时,被蒸馏液体之间的沸点差( $\Delta T$ )与分馏装置理论塔板数( $n$ )的关系参考值。

表 3-9 沸点差与分馏装置理论塔板数的关系

$n$	$\Delta T$	$n$	$\Delta T$
0	215	10	20
1	105	15	13
2	72	20	10
3	54	30	7
4	43	50	4
5	36	100	2

在实际分馏中,相应的理论塔板数还要增加一些,甚至增加一倍。

## 5 分馏装置

分馏装置由蒸馏部分、冷凝部分与接收部分组成。分馏装置的蒸馏部分由蒸馏烧瓶、分馏柱与分馏头组成,比蒸馏装置多一根分馏柱。分馏装置的冷凝与接收部分,与蒸馏装置的相应部位相比,并无差异。简单的分馏装置如图 3-30 所示。

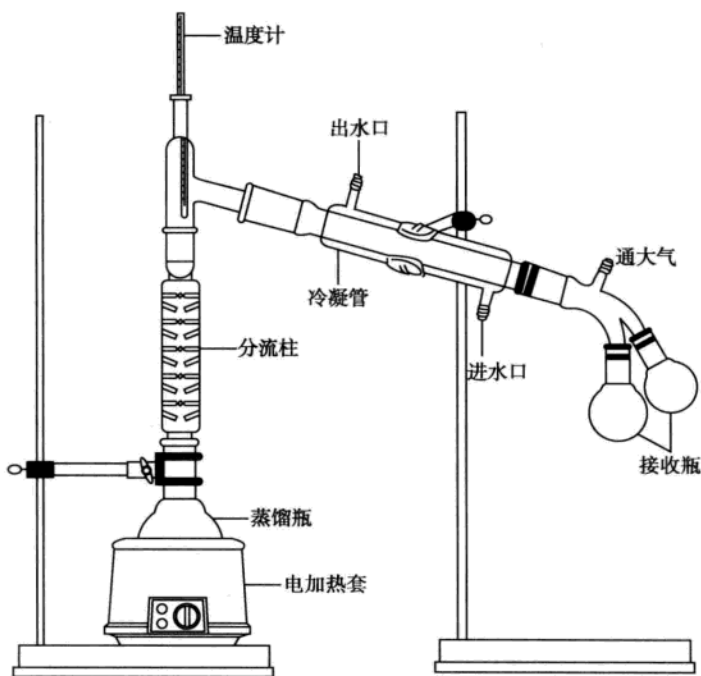


图 3-30 分馏装置

分馏装置的安装方法与安装顺序与蒸馏装置相同。在安装时,要注意保持烧瓶与分馏柱的中心轴线上、下对齐,使“上下一条线”,不要出现倾斜状态。同时,将分馏柱用石棉绳、玻璃布或其他保温材料包扎起来,外面可用铝箔覆盖以减少柱内热量的散发,以消除外界温度因素的影响,保持柱内适宜的温度梯度,提高分馏效率。要准备 3~4 个干燥、清洁、已知重量的接收瓶,以收集不同温度馏分的馏液。

## 6 分馏操作

将待分馏的混合物加入圆底烧瓶中,加入沸石数粒。采用适宜的热浴加热,烧瓶内的液体沸腾后要注意调节浴温,使蒸气慢慢上升,并升至柱顶。在开始有馏出液滴出后,记下时间与温度,调节浴温使蒸出液体的速率控制在每 2~3 秒流出 1 滴。待低沸点组分蒸完后,更换接收瓶,此时温度可能回落。逐渐升高温度,直至温度稳定。此时所得的馏分称为中间馏分。再换第 3 个接收瓶,在第 2 个组分蒸出时有大量馏液蒸馏出来,温度已恒定,直至大部分被蒸出后,柱温又会下降。注意不要蒸干,以免发生危险。这样的分馏体系,可以将混

合物的组分进行严格的分馏。

如果分馏柱的效率不高,则会使中间馏分大大增加,馏出的温度是连续的,没有明显的阶段性。对于出现这种问题的实验,要重新选用分馏效率高的分馏柱,重新进行分馏。

进行分馏操作,一定要维持恒定的馏速,尽量减少分馏柱的热量散发及柱温波动。分馏所用热源,要求要比一般蒸馏精细一些,能够严格控制和保持稳定。通常,油浴是一个很好的热源。

另外,一定要控制分馏的速度,要使有相当数量的液体自分馏柱流回烧瓶,即选择好合适的回流比。回流比是指在一定的时间内冷凝的蒸气以及重新流回柱内的冷凝液的数量与从柱顶移去的蒸馏液数量之间的比值。如果蒸馏瓶加热太猛而柱顶移去蒸气太慢,柱体将被流下来的冷凝液所液阻,即发生液泛。如果要避免上述情况的出现,可以通过控制加热和回流比来实现。回流比越大分馏效率越好。

在分馏柱上安装全回流可调蒸馏头(图 3-31)可以测量和控制回流比。在一定的时间内从冷凝管尖端 P 滴下的液滴数量是全回流的数值,而通过活塞 S 流入接收瓶 R 的液滴数是出料量的数值。若全回流中每 10 滴中有 1 滴流入接收瓶,则回流比为 9:1。我们知道,回流比越大,分馏效率越好,对于某些精馏,可采用 100:1 回流比的高效分馏柱。

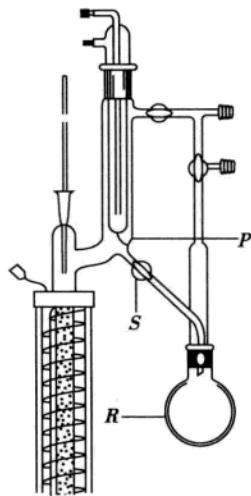


图 3-31 全回流可调蒸馏头

## 第五节 萃 取

萃取(extraction)是指从固体或液体混合物中分离所需的有机化合物。萃取是实验室最常见的操作。萃取广泛用于有机产品的纯化,如天然产物中各种生物碱、脂肪、蛋白质、芳香油和中草药的有效成分的分离,都可用萃取的方法从动植物中获得;萃取也可以用于除去产物中的少量杂质。通常前者称为“萃取”或“提取”、“抽取”,后者称为“洗涤”。洗涤也是一种萃取形式。

根据被萃取物质形态的不同,萃取又可分两种:①液-液萃取:用溶剂从液体混合物中分离物质的萃取方法。②固-液萃取:用溶剂从固体混合物中分离物质的萃取方法。

### 1 从溶液中萃取物质的方法

该方法是指利用物质在互不相容的两相溶剂中溶解度或分配系数的不同,而使物质从一种溶液转移至另一种溶液中,经反复多次萃取,将物质提纯分离出来的一种技术。

#### 1.1 基本原理

(1) 分配定律是萃取方法最主要的理论:物质对不同的溶剂有着不同的溶解度。当在两种互不相容的溶剂中,加入了某种可溶性物质时,它就分别溶解于此两种溶剂中。实验证明,在一定温度下,该物质的分子在此两种溶液中不发生分解、电离、缔合和溶剂化等作用时,则此物质在两液层内的浓度比是一个定值,不论所加物质的量是多少都是如此,用公式

表示即：

$$C_A/C_B = K \text{ (常数, 即分配系数)}$$

$C_A$ 、 $C_B$  表示一种物质在两种互不相溶的液体中的浓度。例如 25℃ 时琥珀酸(丁二酸)在水和乙醚间的分配情况, 即能说明这种关系的存在, 分配系数很接近于一个定值(表 3-10)。

表 3-10 25℃ 时琥珀酸在水和乙醚中的分配

琥珀酸的浓度(克分子/升)		$\frac{C_A}{C_B} = K$
在水中的浓度 $C_A$	在乙醚中的浓度 $C_B$	
0.370	0.0488	7.58
0.547	0.0736	7.43
0.749	0.101	7.41

这种原理可用与水不互溶的有机溶剂从水溶液中萃取有机化合物来说明。在一定温度下, 有机物在两种互不相溶的溶剂间的分配, 有一个平衡存在。因而当某层液体中该物质的浓度达到饱和时, 另一层液体中的浓度也会相应地达到饱和。所以物质在两液层中的溶解度之比为一常数, 即相当于分配系数。因此, 利用分配定律的关系, 可以计算经过萃取后物质在溶剂中的剩余量。

假设:  $V$  = 原溶液体积,  $W_0$  = 萃取前物质的总量,  $S$  = 萃取溶剂的体积,  $W_1$  = 萃取一次后物质的剩余量,  $W_2$  = 萃取两次后物质的剩余量,  $W_n$  = 萃取  $n$  次后物质的剩余量。

若经一次萃取, 原溶液含该物质的浓度为:  $W_1/V$ , 则萃取溶剂中含该物质的浓度为  $(W_0 - W_1)/S$ , 按公式得:

$$\begin{aligned} (W_1/V) / [(W_0 - W_1)/S] &= K \\ W_1 &= W_0 [KV / (KV + S)] \end{aligned}$$

同理, 经两次萃取后:

$$W_2 = W_1 [KV / (KV + S)] = W_0 [KV / (KV + S)]^2$$

因此, 经过  $n$  次萃取后, 溶液中的残留量为:

$$W_n = W_0 [KV / (KV + S)]^n$$

因式中  $[KV / (KV + S)] < 1$ , 且当  $n$  值愈大时,  $W_n$  则愈小, 说明当用同样多的溶剂分多次萃取比一次萃取的效果要好。这一点十分重要。它是提高分离效率的有效途径。

根据分配定律, 既可求出每次萃取出物质的数量, 也可算出经萃取后的剩余量。

例如, 含某溶质 4g 的 100ml 水溶液, 用苯 100ml 萃取, 该物质在水与苯中的分配系数为 1/3, 分别计算进行 1 次萃取或 3 次萃取后, 溶液中残留的该溶质的量和萃取出溶质的量。

100ml 苯 1 次萃取:

$$\begin{aligned} W_1 &= W_0 [KV / (KV + S)] \\ &= 4(1/3 \times 100) / (1/3 \times 100 + 100) \\ &= 1(\text{g}) \end{aligned}$$



萃取出的物质:  $4 - 1 = 3(\text{g})$

100ml 苯分 3 次萃取(每次 33.3ml 苯):

$$\begin{aligned} W_1 &= W_0 [KV / (KV + S)]^3 \\ &= 4 [(1/3 \times 100) / (1/3 \times 100 + 33.3)]^3 \\ &= 0.5(\text{g}) \end{aligned}$$

萃取出的物质:  $4 - 0.5 = 3.5(\text{g})$

从此例能明显地看出,虽然同样用 100ml 苯萃取,但分次萃取的萃取效率比一次萃取的高。因此,萃取操作中一般都要求进行多次萃取。但是连续萃取的次数并不是无限的,当溶剂总量保持不变时,萃取次数( $n$ )增加, $W$  就要减小。 $n > 5$  时, $n$  和  $S$  这两个因素的影响就几乎相互抵消了,再增加次数, $W_n$  与  $W_{n+1}$  的变化不大。因此,一般以萃取 3 次为宜。

(2) 另一类萃取剂的萃取原理是利用它能与被萃取物质起化学反应来进行的。这种萃取常用于从化合物中移去少量杂质或分离混合物,这类萃取剂一般用 5% 的氢氧化钠,5% 或 10% 的碳酸钠、碳酸氢钠、稀盐酸、稀硫酸等。碱性萃取剂可以从有机相中移出有机酸,或从有机溶剂(其中溶有有机物)中除去酸性杂质(形成钠盐溶于水);反之,酸性萃取剂可从混合物中萃取碱性物质(杂质),这被称为洗涤。

## 1.2 萃取方法

### 1.2.1 多次萃取方法

萃取一般在分液漏斗中进行,是实验室中经常遇到的操作。使用分液漏斗前须在其下部活塞上涂凡士林,然后把分液漏斗放入水摇荡,检查两个塞子处是否漏水。确认不漏时,再使用。

进行萃取时,先将漏斗固定在铁架台上的铁圈中,关好活塞。取下塞子,从漏斗的上口通过一个漏斗将欲萃取的溶液倒入分液漏斗中,然后加入萃取剂(一般为溶液的 1/3),见图 3-32。塞紧塞子,取下漏斗,右手握住漏斗口颈,并用右手的手掌顶住塞子;左手握在漏斗活塞处,拇指压紧活塞,然后把漏斗放平或向下倾斜,小心振荡(图 3-33)。

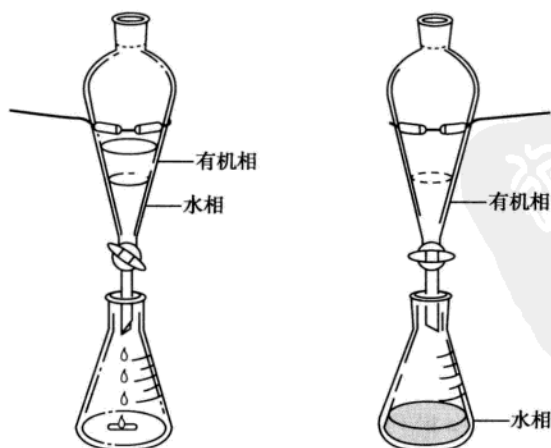


图 3-32 使用分液漏斗萃取



图 3-33 分液漏斗萃取示意图

开始振荡时要慢,振荡几次后把漏斗下口向上倾斜,开启活塞放气(图 3-34)。几次振荡、放气后,把漏斗架在铁圈上,并把上口塞子上的小槽对准漏斗口颈上的通气孔。

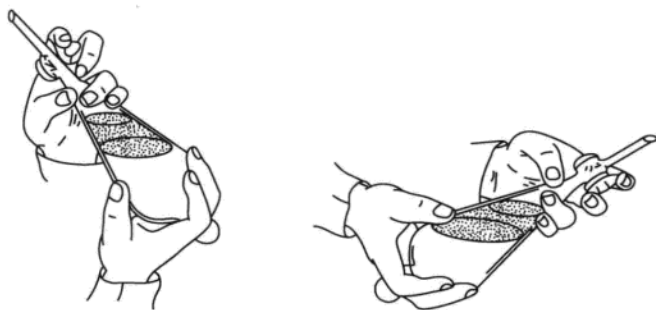


图 3-34 分液漏斗放气的正确方法

待液体分层后,将两层液体分开。下层液体由下部支管放出,上层液体应由上口倒出。合并所有萃取液,加入微过量的干燥剂,干燥之。去除溶剂后,根据所得化合物的性质,可通过蒸馏、重结晶的方法进一步进行纯化。

萃取操作注意事项:

(1) 萃取时,应选择一个比被萃取溶液体积大 1~2 倍的分液漏斗。分液漏斗中的溶液和溶剂不可太满,否则振摇时不能使溶液和溶剂充分接触,会影响物质在两相中的分配,降低萃取率。

(2) 将漏斗活塞关严后,再装溶液。以免溶液流失,影响产率。另外,溶液倒入前或在静置过程中,应在漏斗下方,置一三角烧瓶作为接收瓶,以备操作有误时进行补救。

(3) 振摇时,应及时放气。以免分液漏斗内压过高,溶液从玻璃接缝中渗出;或者欲静置时,塞子跳落打碎,造成损失。

用乙醚萃取时,应特别注意周围不能有明火。振荡时,用力要小,时间要短,多摇多放气。否则,蒸气过大,会使液体冲出而造成损失。

特别注意:用碳酸钠溶液洗涤酸性液体时,因有二氧化碳产生,更应及时放气,以免导致液体冲出或造成事故。

(4) 振摇后,静置要充分,待分层完全后再分离。若有乳化现象出现,应破乳后再分离。

(5) 溶液分离时,要按照下层液体由下部支管放出、上层液体由上口倒出的原则进行。如果上层液体也经过活塞放出,则漏斗颈部所附着的残液就会污染上层液体。

(6) 萃取或洗涤过程中,上下两层液体都应保留至实验完毕,否则,如果中间的操作失误,便无法补救。

### 1.2.2 连续萃取方法

连续萃取方法在实验室中亦常用,主要用于某些物质在溶液中的溶解度极大,用分次萃取效率很差的情况。它是利用一套仪器,使溶剂在进行萃取后,自动流入加热器中。溶剂蒸发成为气体,遇冷凝器恢复成液体,再进行萃取,如此循环,即能萃出大部分的物质。此法的萃取效率甚高,溶剂用量很少,唯一的缺点是操作时间较长。该法不适用于易受热分解或变色的物质。

选择连续萃取方法时,需视所用溶剂的比重大于或小于被萃取溶液比重的情况,而采用不同式样的仪器,但都是基于同一原理,现仅以两种类型的装置为例(可结合工作的实际需要,自行设计或改装)。图 3-35 (a) 为用轻溶剂连续萃取的装置,图 3-35 (b) 为用重溶剂连续萃取的装置。

连续萃取效率的优劣主要取决于萃取溶剂对被萃取物质溶解度的选择、溶剂在溶液中分散的程度以及溶剂在溶液中的萃取时间。在进行连续萃取时,必须安装溶剂分散器(多孔球或板),并应用长柱形的器皿来盛装溶液。这样才能实现萃取效率高、操作时间短的连续萃取。在连续萃取时,有时会出现萃取溶剂浮升至液面或沉入瓶底较缓慢,甚至没有液滴从分散器小孔逸出的情况,只需改变溶液的比重或提高蓄积溶剂的小漏斗位置,即能顺利地进行萃取。一般不宜用高沸点溶剂连续萃取。

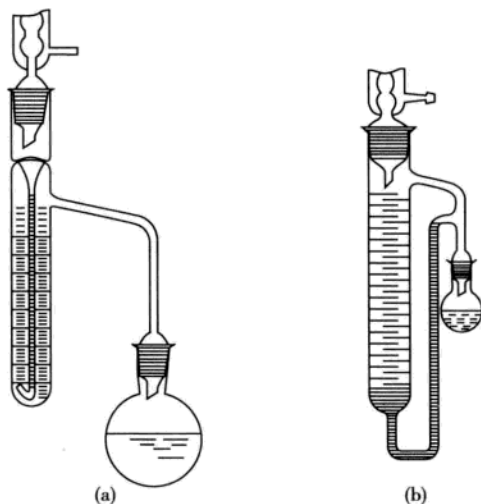


图 3-35 连续萃取装置

## 1.3 萃取溶剂的选择

### 1.3.1 选择萃取溶剂的原则

一般从水中萃取有机物要求溶剂在水中的溶解度很小或几乎不溶;被萃取物在溶剂中的溶解度要比在水中大;对杂质的溶解度要小;溶剂的化学稳定性要好,与水 and 被萃取物都不反应;溶剂的沸点不宜过高,萃取后溶剂应易于用常压蒸馏回收。此外,价格便宜、操作方便、毒性小、密度适当也是应考虑的条件。

一般而言,难溶于水的物质可用石油醚萃取;较易溶于水的物质可用乙醚或苯萃取;易溶于水的物质则用乙酸乙酯萃取效果较好。

### 1.3.2 经常使用的溶剂

经常使用的萃取溶剂有乙醚、苯、四氯化碳、氯仿、石油醚、二氯甲烷、氯乙烷、正丁醇、醋酸酯等。其中乙醚的萃取效果较好,但使用乙醚的最大缺点是容易着火,在实验室中可以少量使用,但在工业生产中不宜使用。

萃取操作常常是在水溶液中萃取所要物质,表 3-11 是一些常用有机溶剂在水中的溶解度。

表 3-11 常用有机溶剂在水中的溶解度

溶剂	温度(°C)	在水中的溶解度(%)	溶剂	温度(°C)	在水中的溶解度(%)
正庚烷	15.5	0.005	硝基苯	15	0.18
二甲苯	20	0.011	氯仿	20	0.81
正己烷	15.5	0.014	二氯乙烷	15	0.86
甲苯	16	0.048	正戊醇	20	2.60
氯苯	30	0.049	异戊醇	18	2.75
四氯化碳	15	0.077	正丁醇	20	7.81
二硫化碳	15	0.12	乙醚	15	7.83
醋酸正戊酯	20	0.17	醋酸乙酯	15	8.30
醋酸异戊酯	20	0.17	异丁醇	20	8.50
苯	20	0.175			

#### 1.4 乳化现象与破乳

在萃取某些碱性或表面活性较强的物质时(如蛋白质、长链脂肪酸、皂苷等),或溶液经强烈振摇后,易出现乳化(emulsification)现象,使溶液不能分层或不能很快分层(图 3-36)。这种现象可能是由于两相分界之间存在少量轻质的不溶物,或两液相交界面处的表面张力小,或两液相密度相差太小造成的。碱性溶液(如氢氧化钠等)能稳定乳状液的絮状物而使分层更困难。遇到乳化情况,可采取如下措施进行处理:

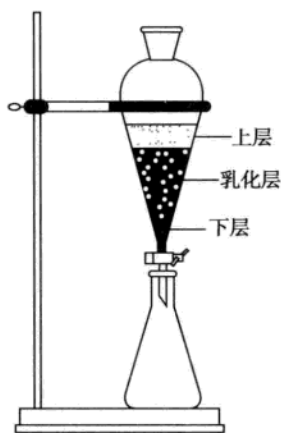


图 3-36 乳化处理

(1) 长时间静置。

(2) 利用盐析效应。在水溶液中先加入一定量的电解质(如氯化钠)或饱和食盐水溶液,以提高水相的密度,同时又可以减少有机物在水相中的溶解度。

(3) 滴加数滴醇类化合物,改变表面张力。

(4) 加热破坏乳状液(注意防止易燃溶剂着火)。

(5) 过滤,除去少量轻质固体物(必要时可加入少量吸附剂,滤除絮状固体)。

(6) 如在萃取含有表面活性剂的溶液时形成乳状溶液,在实验条件允许时,可小心地改变溶液 pH,使之分层。

(7) 当遇到某些有机碱或弱酸的盐类,因在水溶液中能发生一定程度的解离,很易被有机溶剂萃取出水相,为此,在溶液中要加入过量的酸或碱,既能破乳又能达到顺利萃取的目的。

(8) 遇到轻度乳化,可将溶液在分液漏斗中轻轻旋摇,或缓缓地搅拌,这对破乳有时会有一定帮助。

如果通过先前的实验已知某溶液有形成乳浊液的倾向,那么混合时应该缓缓地旋摇进行萃取而不要振摇,或者缓缓地将分液漏斗翻转数次。在这些情况中都切忌剧烈振摇分液漏斗。应强调一点,萃取过程中乳浊液的处理非常棘手,势必要花较长的时间。

### 1.5 液体的干燥

一种有机溶剂在与水溶液一起振摇后,虽然它与水的混溶性并不大,但也会变“湿”,也就是说这种溶剂中已混入了一些水分。溶解在溶剂中的水量随溶剂的不同而异,例如:乙酸中能混入相当多的水,乙醚中则可混入其重量 1.5% 的水。

在有机实验中,在蒸掉溶剂和进一步提纯所提物质之前,常常需要从有机层除去水分,即需要加干燥剂。表 3-12 列出了常用干燥剂的一般应用范围。

表 3-12 常用干燥剂的一般应用范围

有机化合物	干燥剂	有机化合物	干燥剂
烃	氯化钙、金属钠	酮	碳酸钾、氯化钙(高级酮干燥用)
卤烃	氯化钙、硫酸镁、硫酸钠	酯	硫酸镁、硫酸钠、氯化钙、碳酸钾
醇	碳酸钾、硫酸镁、硫酸钠、氧化钙	硝基化合物	氯化钙、硫酸镁、硫酸钠
醚	氯化钙、金属钠	有机酸、酚	硫酸镁、硫酸钠
醛	硫酸镁、硫酸钠	胺	氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸钾

干燥方法:把干燥剂放入溶液或液体中一起振荡,放置一定时间,或置于电磁搅拌仪上搅拌,然后将溶液和干燥剂分离。其操作过程见图 3-37。

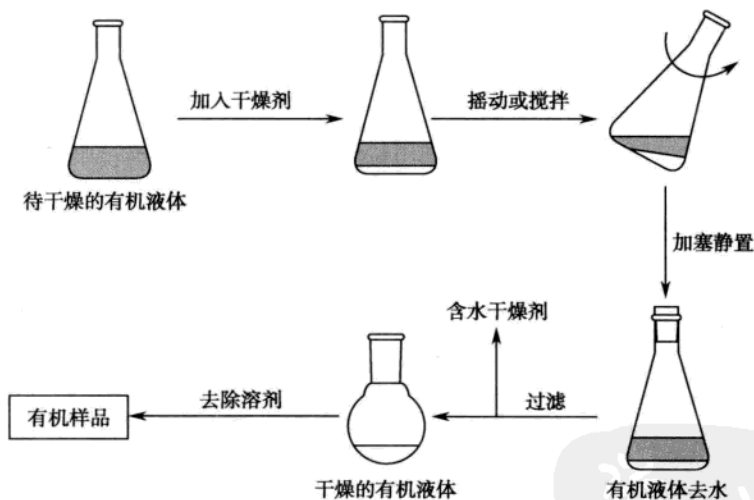


图 3-37 溶液干燥操作过程

在实际操作中,干燥剂的用量为 10ml 液体需加 0.5 ~ 1g 干燥剂。但由于不同液体产品中的含水量、温度、干燥剂的用量不同,故不能一概而论。

干燥剂的用量不能过多,否则由于固体干燥剂具有表面吸附作用,被干燥物质会有较多的损失;如果干燥剂用量太少,则加入的干燥剂会溶解在其所吸附的水中,在此情况下,可用吸管除去水层,再加入新的干燥剂。所用的干燥剂颗粒不要太大,但也不要呈粉状。颗粒太大,表面积减小,吸水作用降低;粉状干燥剂在干燥过程中容易成泥状,造成分离困难。

温度越低,干燥剂的干燥效果越大。所以干燥应在室温下进行。有时为了增加干燥剂的吸水速度,常把干燥剂和被干燥物质一起温热,但这不适用于那些在较高温度又能把所吸附的水分释放出来的干燥剂(如氯化钙、硫酸钠等)。在蒸馏前,必须将干燥剂与溶液分离。

一般用下面观察法可判断溶液是否“干燥”。如果溶液是湿的,那么干燥剂通常总是结成团块,而且与瓶壁粘在一起。在一些极端的情况中,甚至可以看到干燥剂已溶解于在瓶底形成的水相中。如果溶液是干的,那么干燥剂能在瓶底自由移动。湿的溶液通常呈现混浊;干的溶液则显得澄清透明。

### 1.6 分子筛应用的一般介绍

应用最广的分子筛是沸石分子筛,它是一种含铝硅酸盐的结晶。它具有高效选择性吸附能力,按其结构和组成来分,已有 30 多种类型可作为分子筛使用,常用的是 A 型和 X 型两种。

常用的 A 型分子筛有 3A 型、4A 型和 5A 型 3 种。它们的化学组成是:3A 型,  $K_9Na_3[(AlO_2)_{12}(SiO_2)_{12}] \cdot 27H_2O$ ; 4A 型,  $Na_{12}[(AlO_2)_{12}(SiO_2)_{12}] \cdot 27H_2O$ ; 5A 型,  $Ca_{4.5}Na_3[(AlO_2)_{12}] \cdot 30H_2O$ 。

常用的 X 型分子筛是 13X 型,其化学组成为:  $Na_{86}[(AlO_2)_{86}(SiO_2)_{106}] \cdot xH_2O$ 。

分子筛具有高度选择性吸附性能,是由于其结构形成许多与外部相通的均一微孔,凡是比此孔径小的分子可通入孔道中,而较大者则留在孔外;借此以筛分各种分子大小不同的混合物。分子筛的吸附性能见表 3-13,结合实际加以选用。

表 3-13 分子筛的吸附性能

类型	孔径(埃)	吸附情况	
		能吸附	不能吸附
3A	3.2—3.3	$N_2, O_2, H_3, H_2O$	$CH_2=CH_2, CO_2,$ $CH \equiv CH, NH_3,$ 更大的分子
4A	4.2—4.7	$CH_3OH, C_2H_5OH, CH_3CN,$ $CH_3NH_2, CH_3Cl, CH_3Br, CO_2,$ $C_2H_2, CS_2, He, Ne, Ar, Kr, CO,$ $Xe, NH_3, CH_4, C_2H_6,$ 以及能被 3A 吸附的物质	
5A	4.9—5.5	$(C_3-C_{14})$ 正构烷烃、 $CH_3F,$ $C_2H_5Cl, C_2H_5Br, (CH_3)_2NH,$ $C_2H_6N_2, C_2H_6, CH_2Cl_2, CH_3Cl,$ 以及能被 3A、4A 吸附的物质	$(nC_4H_9)_2NH$ 及更大的分子
13X	9—10	小于 10 埃的各种分子	$(C_4H_9)_3N$

有机化学实验室常应用分子筛吸附乙醚、乙醇、异丙醇和氯仿等有机溶剂中的少量水分,此外,还用于吸附有机反应中生成的水分,效果较好。

在使用分子筛进行干燥时应注意的事项:

(1) 新购入的分子筛使用前应先活化、脱水,活化温度为  $500^\circ C \pm 10^\circ C$ ,在常压下烘 2h。

温度过高或过低均会影响吸附量。超过 600℃ 以上时,分子筛的晶体结构会被破坏,从而降低或丧失其吸附能力。活化后的分子筛待冷至 200℃ 左右,应立即取出存于干燥器中备用。

(2) 分子筛在使用后活性降低,须再经活化后方可使用;活化前须用水蒸气或惰性气体把分子筛中的其他物质替代出来,然后再按注意事项(1)进行处理。

(3) 使用分子筛时,介质的 pH 应控制在 5~12 之间。

(4) 分子筛适用于除去微量的水分,倘若水分过多,应先用其他干燥剂去水,然后再用分子筛干燥。

## 2 从固体中萃取物质的方法

液-固萃取是从固体混合物中萃取所需要的物质的重要方法,是利用固体物质在溶剂中的溶解度不同来达到分离、提纯的目的。

液-固萃取通常采用浸出法或加热萃取法。超临界流体萃取法是近几年来蓬勃发展的一种工业液-固分离技术。

### 2.1 浸出法

浸出法是借溶剂对固体混合物长时间的浸渍,使溶解的物质与难溶的物质加以分离的方法。药厂中制备酞剂的方法是大家所熟悉的,这种方法虽不需要特殊器皿,但耗时、费溶剂,而且效率不高。

### 2.2 热萃取法

实验室常用加热回流法和索氏萃取器来萃取和分离有机化合物。索氏萃取器在实验室中较为适用,它通过溶剂回流及虹吸现象,使固体物质连续多次被纯净的溶剂所萃取,效率极高,又节省溶剂[图 3-38(a)]。

对于受热易分解或变色的物质不宜采用索氏萃取器进行萃取,用高沸点溶剂进行萃取时,采用此仪器亦是不合适的。

在进行萃取前,先将滤纸卷成柱状,直径略小于萃取筒的直径,并用线扎紧(已商品化可购买)。于此纸筒中,装入研细的欲萃取的固体,轻轻压实,上盖以滤纸,放入萃取筒中。然后开始加热,使溶剂沸腾,蒸气沿玻璃管上升,被冷凝管冷凝为液体,再滴入萃取器中,待萃取筒中的溶剂面超过虹吸管上端后,萃取液自动流入加热瓶中。再蒸发溶剂,循环,使萃取物富集于烧瓶中。一般费时数小时才能完成。

少量固体需要用溶剂萃取,可用半微量仪器中的索氏萃取器。如仍感体积太大,可用简易半微量固体萃取仪,见图 3-38(b)。将欲萃取的固体物质置于折叠的滤纸上,操作简单、效果好。萃取后的溶剂经过浓缩或减压浓缩,即得所要化合物的粗品,再经进一步纯化得纯品。

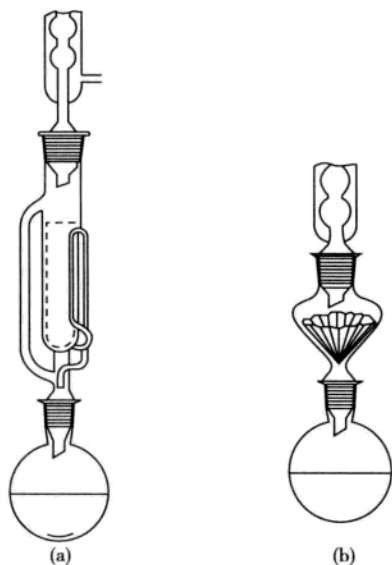


图 3-38 索氏萃取器(a)和简易半微量固体萃取仪(b)

### 2.3 超临界流体萃取法

利用超临界流体为萃取剂的萃取操作称为超临

界流体萃取 (supercritical fluid extraction, SCFE)。超临界流体 (SCF) 对脂肪酸、生物碱、醚类、酮类、甘油酯等具有特殊的溶解作用, 因此可用于这类物质的萃取分离。超临界流体萃取已成功应用于食品、医药和化妆品 (香料) 等生物产物的分离过程, 成为一种新兴的工业分离技术。

SCFE 具有以下特点:

(1) 该方法尤其适用于对热及化学不稳定的化合物的萃取, 并主要用于从混合物中萃取低极性的组分。例如, 原本用水蒸气蒸馏或索氏萃取器进行的萃取可用 SCFE 法有效替代。

(2) 该方法萃取速度快, 并可通过压力调节来提高溶剂的溶出能力。选择适当的温度与压力能提高萃取的选择性能, 并获得更纯的萃取物, 收率也高于常规的液-液及液-固萃取。

(3) SCFE 不必使用大量的有机溶剂, 因而具有显著的安全性。

(4) 对环境的污染很小, 特别是减少了含卤素溶剂的使用。许多超临界流体具有较好的质量传递性能 (与液-液及液-固萃取相比, 具有低黏度和高扩散率, 适合于植物组织的萃取)。

(5) SCF 在室温时呈气态, 相对惰性、无毒且价格低廉, 如二氧化碳、氧化氮和氨气等。

### 2.3.1 超临界流体的性质

物质均具有其固有的临界温度和临界压力, 在压力-温度相图上称为临界点。在临界点以上, 物质处于既非液体也非气体的超临界状态, 称为超临界流体。图 3-39 为临界点附近的 P-T 相图, 在图中斜线所示范围内物质处于超临界状态。不同的物质具有不同的临界点, 表 3-14 为部分可作为超临界流体萃取剂的临界参数。

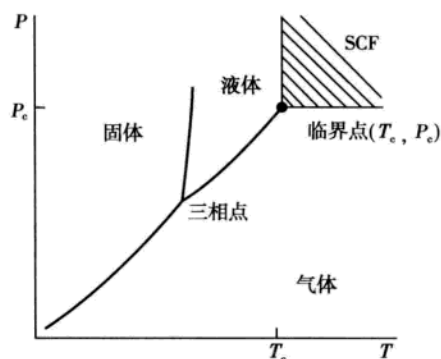


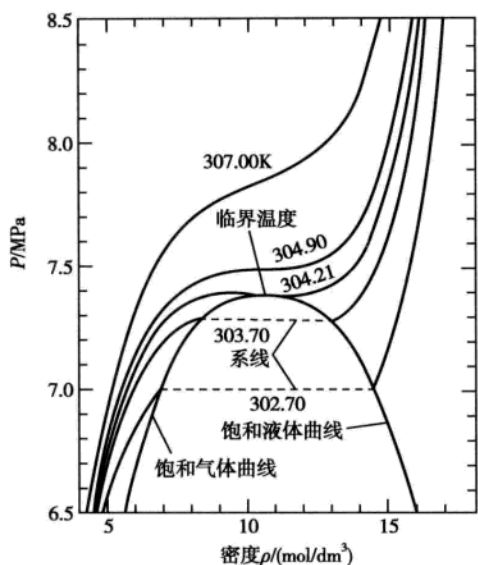
图 3-39 临界点附近的 P-T 相图

表 3-14 部分超临界流体萃取剂的临界参数

物 质	临界温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	临界压力 ( $10^5 \text{ Pa}$ )	临界密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	物 质	临界温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	临界压力 ( $10^5 \text{ Pa}$ )	临界密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
$\text{CO}_2$	31.3	73.8	0.448	$\text{C}_2\text{H}_4$	9.7	51.2	0.217
$\text{NH}_3$	132.3	114.3	0.236	$\text{C}_6\text{H}_6$	289.0	49.0	0.306
$\text{N}_2\text{O}$	36.6	72.6	0.457	$\text{C}_7\text{H}_8$ (甲苯)	320.0	41.3	0.292
$\text{C}_2\text{H}_6$	32.4	48.3	0.203	$\text{CH}_3\text{OH}$	240.5	81.0	0.272
$\text{C}_3\text{H}_8$	96.8	42.0	0.220	$\text{CClF}_3$	28.8	39.0	0.580
$\text{C}_4\text{H}_{10}$ (正丁烷)	152.0	38.0	0.228	$\text{SO}_2$	157.5	78.8	0.525
$\text{C}_5\text{H}_{12}$ (戊烷)	196.6	33.7	0.232	$\text{H}_2\text{O}$	374.2	226.8	0.344

二氧化碳的临界点较低, 特别是临界温度接近常温, 并且无毒、化学稳定性高、价格低廉。所以, 二氧化碳是最常用的超临界流体萃取剂。图 3-40 为二氧化碳的 P-V( $\rho$ )-T 相图, 图中饱和气体曲线和饱和液体曲线包围的区域为气液共存区。从图中可以看出, 在临界点附近的超临界状态下等温线的斜度平缓, 即温度或压力的微小变化就会引起其密度发生很



图 3-40  $\text{CO}_2$  的  $P$ - $V(\rho)$ - $T$  相图

大变化。另外,随压力升高,超临界流体密度增大,接近液体的密度。

由于超临界流体黏度小、自扩散系数大,所以可以迅速渗透到物体的内部,溶解目标物质,快速达到萃取平衡。这是超临界流体作为萃取剂优于液体的主要特点,这一特点在萃取固体内的有用成分时尤为重要。

### 2.3.2 物质在超临界流体中的溶解度

影响物质在超临界流体中溶解度的主要因素为温度和压力,可通过调节萃取操作的温度和压力,优化萃取操作,提高萃取速率和选择性。

### 2.3.3 超临界流体萃取操作

超临界流体萃取设备通常由溶质萃取槽和萃取溶质的分离回收槽构成,分别相当于萃取和反萃取单元。根据萃取过程中超临界流体的状态变化和溶质的分离回收方式的不同,超临界流体萃取操作主要分等温法、等压法和吸附(吸收)法,如图 3-41 所示。

式不同,超临界流体萃取操作主要分等温法、等压法和吸附(吸收)法,如图 3-41 所示。

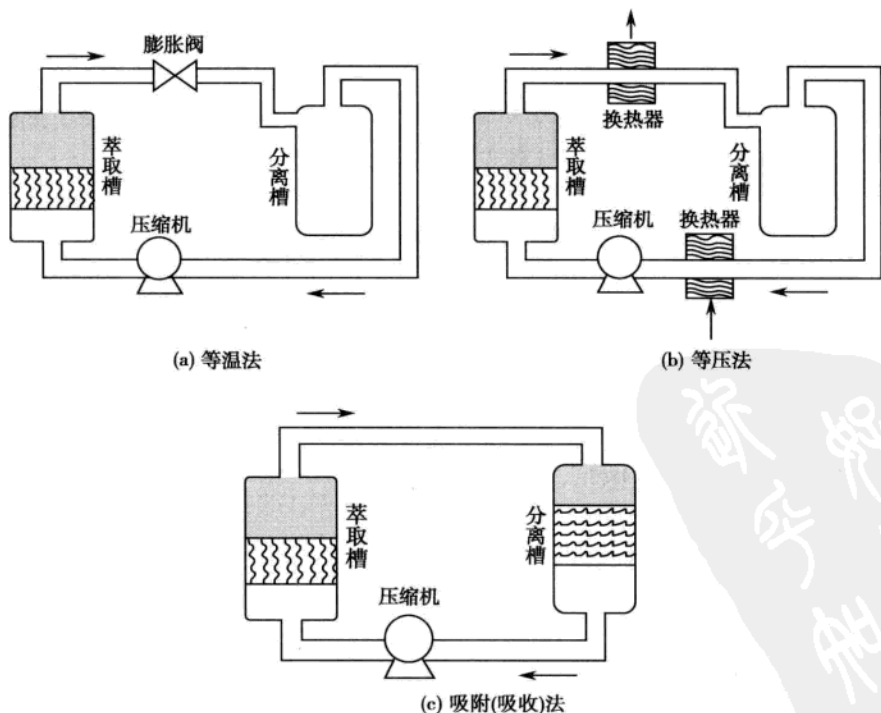


图 3-41 超临界流体萃取操作方式

图 3-41 (a) 中所示的等温法通过改变操作压力实现溶质的萃取和回收, 操作温度保持不变。溶质在萃取槽中被高压(高密度)流体萃取后, 流体经过膨胀阀使压力下降, 溶质的溶解度降低, 在分离槽中析出, 萃取剂则经压缩机压缩后返回萃取槽循环使用。在超临界流体的膨胀和压缩过程中会产生温度变化, 所以在循环流路上需设置换热器。

图 3-41 (b) 中所示的等压法通过改变操作温度实现溶质的萃取和回收。如果在操作压力下溶质的溶解度随温度升高而下降, 则萃取流体经加热器加热后进入分离槽, 析出目标溶质。萃取剂则经冷却器冷却后返回萃取槽循环使用。

图 3-41 (c) 中所示的吸附(吸收)法利用选择性吸附(吸收)目标产物的吸附(吸收)剂回收目标产物, 有利于提高萃取的选择性。

超临界流体萃取仪已经商品化(公司: Isco、Supelco、Dionex 和 Suprex), 可分工业生产型与一般分析型。

## 第六节 升 华

升华是利用固体物质具有较高蒸气压时, 不经熔融状态直接变成蒸气, 蒸气遇冷, 再直接变成固体, 而与固体混合物分离的方法。

升华是提纯某些固体化合物的方法之一。易升华的物质含有不挥发性杂质时, 可以用升华的方法进行精制。

### 1 基本原理

升华的基本原理是利用固体的不同蒸气压, 将不纯的物质在其熔点温度以下加热, 不经过液态而直接把蒸气变成固态。也就是说只有在其熔点温度以下具有相当高(高于 267kPa)蒸气压的固态物质, 才可用升华来提纯。

图 3-42 为物质的固态、液态、气态三相图: O 点为固、液、气三相同同时并存的三相点, 在三相点以下不存在液态; OA 曲线表示固相和气相之间平衡时的温度和压力。因此, 进行升华都是在三相点温度以下进行操作的。表 3-15 是部分易升华固体物质在其熔点时的蒸气压。

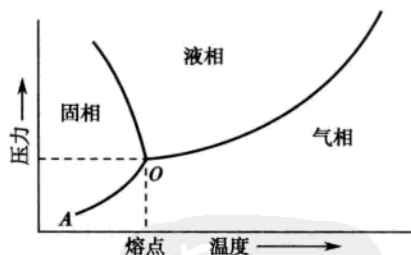


图 3-42 固态、液态、气态的三相图

表 3-15 部分易升华固体物质的蒸气压

名 称	mp/°C	固体在熔点时的蒸气压/kPa	名 称	mp/°C	固体在熔点时的蒸气压/kPa
干冰(固体 CO <sub>2</sub> )	-57	516.78	(固体)苯	5	4.80
六氯乙烷	189	104	邻苯二甲酸酐	131	1.20
樟脑	179	49.33	萘	80	0.93
碘	114	12	苯甲酸	122	0.80
萘	218	5.47			

一种物质的正常熔点是其固、液两相在大气压下平衡时的温度。在三相点时的压力是其固、液、气三相的平衡蒸气压,所以三相点时的温度和正常的熔点有些差别,通常差别只有几分之一度。

在三相点以下,物质只有固、气两相。若降低温度,气态就不经过液态而直接变成固态;若升高温度,固态也不经过液态而直接变成气态。若某物质在三相点温度以下的蒸气压很高,气化速率很大,就可以比较容易地从固态直接变为气态;物质蒸气压随温度降低而下降非常显著,稍降低温度即能由气态直接转变成固态,则此物质可容易地在常压下用升华法提纯。例如六氯乙烷(三相点的温度为 $186^{\circ}\text{C}$ ,压力 $104\text{kPa}$ )在 $185^{\circ}\text{C}$ 时蒸气压已达 $0.1\text{MPa}$ ,在低于 $186^{\circ}\text{C}$ 时就可完全由固态直接挥发成蒸气,中间不经过液态阶段。樟脑的三相点温度为 $179^{\circ}\text{C}$ 、压力 $49.3\text{kPa}$ ,在 $160^{\circ}\text{C}$ 时蒸气压为 $29.1\text{kPa}$ ,即未达熔点前已有相当高的蒸气压,只要缓缓加热,使温度维持在 $179^{\circ}\text{C}$ 以下,它就可不经熔化而直接蒸发,蒸气遇到冷的表面就凝结成固体,这样蒸气压可始终维持在 $49.3\text{kPa}$ 以下,直至挥发完毕。

有些物质在三相点时的平衡蒸气压比较低,如萘的熔点为 $80^{\circ}\text{C}$ ,蒸气压为 $0.93\text{kPa}$ 。因为萘加热到 $80^{\circ}\text{C}$ 时就会熔化,其相应的蒸气压很低,当蒸气压达到 $0.1\text{MPa}$ 时( $218^{\circ}\text{C}$ )开始沸腾。若要使大量萘全部转变为气态,就必须保持温度在 $218^{\circ}\text{C}$ 左右,但这时萘的蒸气冷却后会转变为液态。除非达到三相点(此时的蒸气压为 $0.93\text{kPa}$ ),才转变为固态。在三相点温度时,萘的蒸气压很低(萘的分压:空气分压 $=7:753$ ),因此升华的收率很低。

严格说来,升华是指物质自固态不经过液态直接转变成蒸气的现象。对有机化合物的提纯来说,若使物质蒸气不经过液态而直接转变成固态,则能得到高纯度的物质。一般而言,对称性较高的固态物质具有较高的熔点,且在熔点温度以下具有较高的蒸气压,易于用升华的方法来提纯。

## 2 升华操作的分类

### 2.1 常压升华

最简单的常压升华装置[图 3-43(a)]是在一蒸发皿中放入要升华的物质,蒸发皿上盖一张穿有密集小孔的滤纸,滤纸上再倒扣一个与蒸发皿口径合适的玻璃漏斗,漏斗的颈部塞有棉花或玻璃棉以防蒸气逸出。在砂浴上缓缓加热,将温度控制在被提纯物的熔点以下,使其慢慢升华,此时被升华的物质就会黏附在滤纸上,或是黏附在小孔四周甚至凝结在漏斗壁上,然后将产品用刮刀从滤纸上轻轻刮下,放在干净的表面皿上,即纯净产品。

在常压下升华除用上述装置外,也可以使用图 3-43(b)所示装置,两者均可以得到满意的结果。升华完成后,把中央的管子从装置中取出,收集聚在冷表面上的物质。为避免集聚的结晶掉落,取出管子时必须留心。用一刮匙刮下集聚的晶体即可。

### 2.2 减压升华

减压升华特别适合于常压下蒸气压不大或受热易分解的物质的精制,装置如图 3-43(c)所示。将欲升华的物质放入吸滤管底部,然后在吸滤管中装一“指形”冷凝管并用橡皮塞塞紧,接通水源,然后把吸滤管放入油浴或水浴中加热,利用水泵或油泵进行抽气,使其升华。升华物质蒸气因受冷凝水冷却,就会凝结在“指形”冷凝管的底部。

减压升华完成后,在释放压力时应非常小心,以防结晶被一阵空气流吹走。

升华往往可以得到很纯的化合物,适宜于制备无水物或分析用试剂。用升华法提纯化

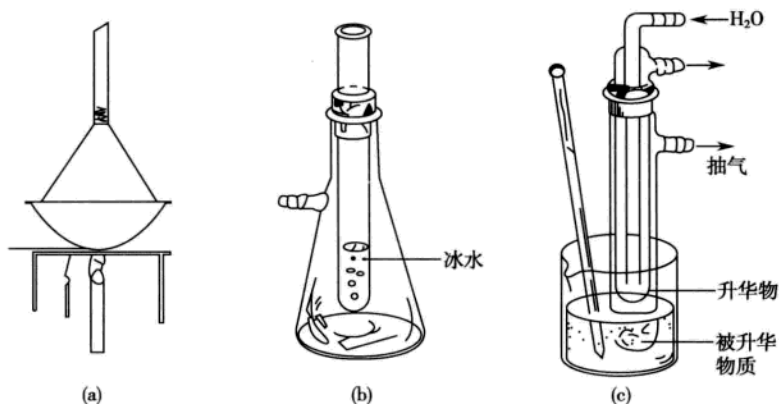


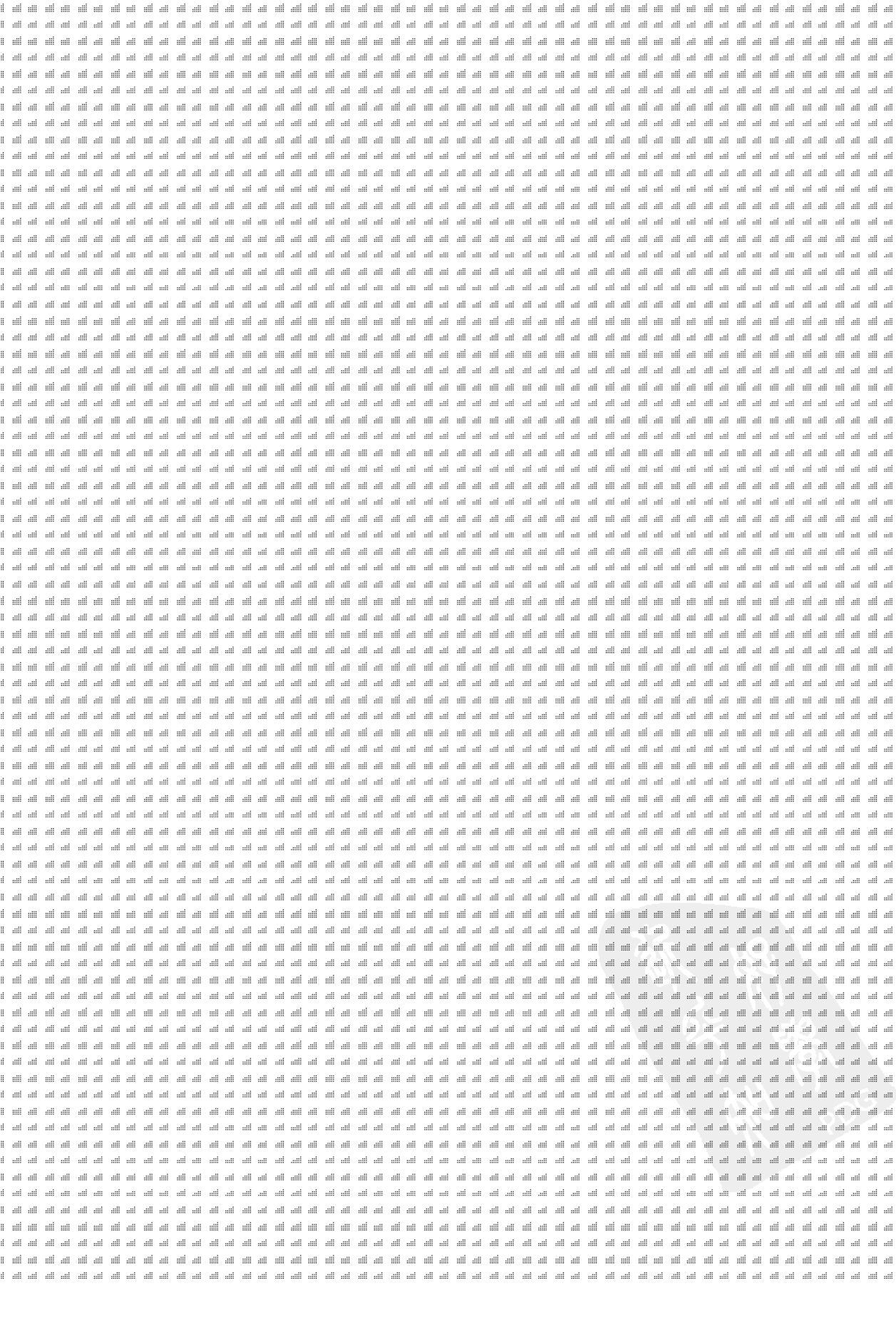
图 3-43 几种常见的升华装置

合物时,温度较低,在操作上有利。但可用升华法萃取的有机化合物的种类有限,仅限于易升华的有机化合物,且操作时间较长,只适于少量操作。

### 参 考 文 献

1. Pavia D, Lampman G. M, Kriz G. S. 现代有机化学实验技术导论. 丁新腾, 译. 北京: 科学出版社, 1985.
2. Furniss B. S, Hannaford N, Smith P. W. G, et al. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry (vol. 1). Fifth Edition. Pearson Prentice Hall, 1989.
3. 李兆陇, 阴金香, 林天舒. 有机化学实验. 北京: 清华大学出版社, 2001.
4. 姚其正, 王亚楼. 药物合成基本技能与实验. 北京: 化学工业出版社, 2008.
5. 徐家业. 高等有机合成. 北京: 化学工业出版社, 2005.
6. 王利民, 田禾. 精细有机合成新方法. 北京: 化学工业出版社, 2004.
7. 周宁怀, 王德林. 微型有机实验. 北京: 科学出版社, 2000.





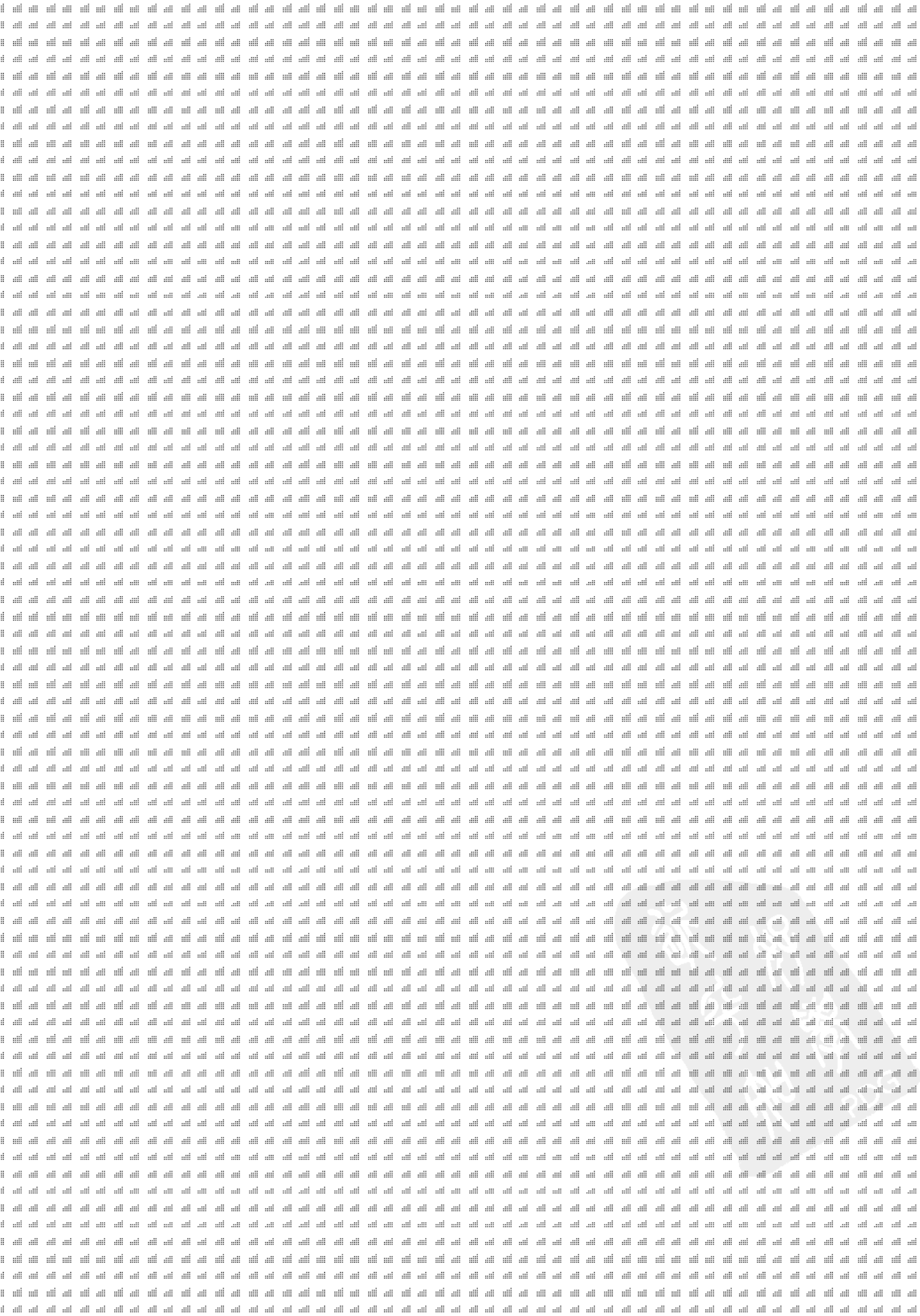


下篇

实验室有机化合物制备与分离纯化技术

# || 有机化合物色谱制备 技术





## 第四章

# 色谱法概述

自从1906年俄国 M. C. Tswett 创立了色谱分离技术后,到20世纪30年代通过对植物代谢产物——色素的分离(如叶绿素和胡萝卜素等),真正实现了液相色谱技术有机制备的应用。

自20世纪40年代后,色谱技术逐渐得到发展。从技术到理论,各种分离模式以及在各个学科中的应用,均得到了突飞猛进的发展,色谱学已发展成为一门崭新的学科。色谱技术作为生命科学、材料科学、环境科学等必不可少的研究手段和工具,为许多重要学科的发展作出了积极的贡献。

目前色谱技术已成为化学工作者的有力工具,色谱除了提供数目繁多的有机化合物的分离提纯方法外,还提供了定性鉴定和定量分析的数据。

色谱法的基本原理是利用混合物中的各组分在不相混溶的两相中行为的不同,如分配系数(溶解性能)的不同,吸附、解吸附能力的不同,渗透能力的不同(空间排阻色谱),离子交换性质或亲和作用性能的差异,使含混合物的气体或溶液流经该物质时,进行反复的吸附或分配等作用,从而将各组分分开。其中一相为流动相,即流动的含混合物的气体或溶液;另一相为固定相,即固定的物质(可以是固体或固定液)。

### 第一节 色谱法分类

色谱技术从不同的角度,有不同的分类方法。

#### 1 按流动相与固定相的分子聚集状态分类

在色谱法中流动相可以是气体、液体和超临界流体,其相应的色谱法则分别称为气相色谱法(gas chromatography, GC)、液相色谱法(liquid chromatography, LC)和超临界流体色谱法(supercritical fluid chromatography, SFC)等。

按固定相为固体(如吸附剂)或液体,气相色谱法又可分为气-固色谱法(GSC)与气-液色谱法(GLC);液相色谱法可分为液-固色谱法(LSC)及液-液色谱法(LLC)。

#### 2 按操作形式分类

可分为平面色谱法(plane chromatography)、柱色谱法(column chromatography)及逆流分配色谱法(countercurrent distribution chromatography)等类别。



(1) 平面色谱法:固定相被涂布于平面载体上的色谱法。又分为:①纸色谱法(paper chromatography):用滤纸作固定液的载体;②薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC):将固定相涂布在玻璃板或铝箔板上;③薄膜色谱法(thin film column chromatography):将高分子固定相制成薄膜;④薄层电泳法:用纸、纤维素、凝胶为支持物制作成薄膜或薄层的电泳法等。上述方法都属于液相色谱法范围。

(2) 柱色谱法:将固定相装于柱子内形成色谱柱,色谱过程是在色谱柱内进行的。按色谱柱的粗细等差别,又可分为填充柱(packed column)色谱法、毛细管色谱法及微填充柱色谱法等类别。气相色谱法与高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)及超临界流体色谱法等均属于柱色谱法范围。

(3) 逆流分配色谱法:将两种互不相溶的液态流动相与固定相放入多个分液漏斗中,样品中的各组分在相对逆向流动的流动相与固定相中分配,按分配系数的差别进行分离。逆流分配色谱属于液相色谱,是一种老方法,虽有自动化仪器,但是已较少应用。

### 3 按色谱过程的分离机制分类

按色谱过程的分离机制可将色谱法分为吸附色谱法(absorption chromatography)、分配色谱法(partition chromatography)、空间排阻色谱法(steric exclusion chromatography, SEC)、离子交换色谱法(ion exchange chromatography, IEC)及亲和色谱法(affinity chromatography)等主要类别。

综上所述,色谱法简化分类如图 4-1 所示。

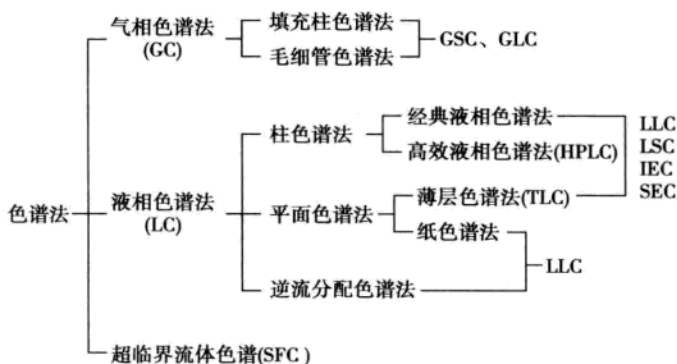


图 4-1 色谱法简化分类示意图

## 第二节 色谱法的基本原理

### 1 吸附色谱

吸附色谱是使用最为广泛的色谱法之一。其原理是在层析过程中,主要发生物理吸附。由于物理吸附的普遍性和无选择性,当固体吸附剂与多元溶液接触时,可吸附溶剂分子,也可吸附任何溶质分子,且吸附量不同;由于吸附过程是可逆的,被吸附的物质在一定条件下可以被解吸,而解吸与吸附的无选择性和相互关联性使吸附过程复杂化。

在层析过程中,流动相或展开剂是不断供给的,所以处于原点上的溶质不断地被解吸。解吸出来的溶质随着流动相或展开剂向前移动,遇到新的吸附剂,溶质和流动相或展开剂又会部分被吸附而建立暂时的平衡,而这一暂时平衡立即又被不断移动的流动相或展开剂所破坏,使部分溶质解吸并随流动相向前移动,从而形成了吸附-解吸附的交替过程。所以层析的过程就是不断产生平衡,又不断破坏平衡的过程。溶质在经历了无数次这样的过程后移动到一定的高度。

吸附剂对不同溶质的吸附能力差别较大,不同溶质对吸附剂有不同的亲和力,因而造成其随展开剂上升移动快慢不一。这一差异的根源主要是由化学结构的差异所引起的。

在含氧吸附剂中,例如硅胶和氧化铝,吸附物与吸附剂之间的作用力包括静电力、诱导力、色散力和氢键作用力,前三者为范德华力。被分离物质的极性越大,与极性吸附剂的作用就越强;非极性的分离物与极性吸附剂相互作用时,非极性分离物分子产生诱导偶极矩而吸附于吸附剂表面,称为诱导力。氢键作用力是特殊的范德华力,具有方向性和饱和性。这些类型作用力的大小按下列顺序排列:

离子作用力 > 配位作用力 > 氢键作用力 > 偶极-偶极作用力 > 诱导力

概括起来,吸附色谱的原理是:由于混合物中的各个组分对吸附剂(固定相)的吸附能力不同,当流动相或展开剂流经吸附剂时,发生无数次吸附和解吸过程,吸附力弱的组分随流动相迅速向前移动,吸附力强的组分滞留在后,由于各组分具有不同的移动速率,最终得以在固定相薄层上分离。

## 2 分配色谱

分配色谱是根据化合物在两种不互溶(或微溶)的溶剂中的溶解度或分配性能不同这一性质进行分离的。在一定温度下,可以近似地把有机物在两溶剂中的溶解度之比称为分配系数。

分配色谱的原理是使混合物中的组分在移动着的溶剂与固定着的溶剂之间进行分配。前者称为移动相,后者称为固定相。为使固定相溶剂固定下来,需要吸附固体,这种固体称为载体或支持剂,常用硅藻土和纤维素。

当在有机溶剂中进行层析时,原点上的溶质就在纤维素的水相和有机相间进行分配。有一部分溶质离开原点进入有机相中,并随着有机相向前移动,当进入无溶质的固定相区时,在两相间又重新进行分配。一部分溶质不断向前移动,同时不断重新分配。有机溶质在固定相上移动的快慢取决于其在两相间的分配系数。极性化合物在水中溶解度大些,较多地分配在固定相中,移动较慢;非极性化合物容易溶解于有机相中,移动较快,因此得以分离。

## 3 空间排阻色谱

空间排阻色谱法所用的固定相是多孔性填料,称为凝胶,故又称为凝胶色谱法(gel chromatography)或分子排阻色谱法。该色谱法按流动相的不同分为两类:以有机溶剂为流动相者称为凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC);以水溶液为流动相者称为凝胶过滤色谱法(gel filtration chromatography, GFC)。

凝胶色谱法的分离机制与前两种色谱法完全不同,它只取决于凝胶的孔径大小和被分

离组分的粒子大小,类似于分子筛的作用。在一定分子粒子尺寸范围内,分子越大,保留时间越短。对于高分子化合物粒子尺寸与分子量成正比。

#### 4 离子交换色谱

固定相为离子交换树脂的液相色谱,称为离子交换色谱法(IEC)。按树脂可交换离子的电荷符号,分为阳离子及阴离子交换树脂两类。所用流动相是以水为溶剂的缓冲溶液。被分离的物质是离子型的有机或无机物。

离子交换色谱法主要用于有机酸、碱、盐及氨基酸的分析与分离。

与经典的分离提纯手段(重结晶、升华、萃取和蒸馏等)相比,色谱法具有微量、快速、简便和高效率等优点,并能对复杂化合物甚至立体异构体进行分离。其中液相色谱(含柱色谱、薄层色谱)适合于固体物质和具有高蒸气压油状物的分离,不适合于低沸点液体的分离;气相色谱适合于易挥发性物质的分离。

色谱法已广泛用于反应过程的监控和跟踪、混合物的分离、有机化合物和原料的制备、产物的鉴定、纯度的检验和含量测定等。



## 第五章

# 薄层色谱分离制备技术

### 第一节 薄层色谱概论

薄层色谱(thin-layer chromatography, TLC)是快速分离、定性和定量分析的一种非常重要的色谱技术。将固定相涂布于玻璃、铝箔、塑料片等载板上形成均一的薄层,将欲分离的物质点加在薄层的一端,置展开室中,选用适当的展开剂,借毛细作用从薄层点样的一端展开到另一端,使性质不同的物质得以分离。

#### 1 薄层色谱的分离原理

分离原理随所用固定相不同而不同,可分为:

- (1) 吸附薄层色谱:由硅胶、氧化银等吸附剂铺成薄层,利用吸附剂表面对不同组分吸附能力的差别达到分离的目的。
- (2) 分配薄层色谱:由硅胶、纤维素铺成薄层,不同组分在指定的两相中有不同的分配系数。
- (3) 离子交换薄层色谱:由含有交换活性基团的纤维素铺成薄层。
- (4) 分子排阻薄层色谱:也称凝胶薄层。利用样品中分子大小不同、受阻情况不同加以分离。
- (5) 其他:利用形成氢键能力的强弱而分离的聚酰胺薄层色谱等。

#### 2 薄层色谱的技术参数

##### 2.1 比移值

一个化合物在薄层板上上升的高度与展开剂上升的高度的比值[图 5-1(a)],称为该化合物的比移值( $R_f$  值)。比移值是薄层色谱的基本定性参数。 $R_f$  值的计算公式如下:

$$R_f = \frac{b}{a} = \frac{\text{原点中心至斑点中心的距离}}{\text{原点中心至溶剂前沿的距离}}$$

##### 2.2 相对比移值

相对比移值( $R_{f,s}$ )是指由于影响被分离物质在薄层上移动距离的因素较多,因此  $R_f$  值的重现性较差,如果将被分离物质与一参比物点在同一薄层上,用相同的色谱条件进行分离,所得的相对比移值就是被分离物质(s)和参比物(i)的  $R_f$  值之比,或是被分离物质(s)和参比物 i 在薄层上移动距离之比,见图 5-1(b)。

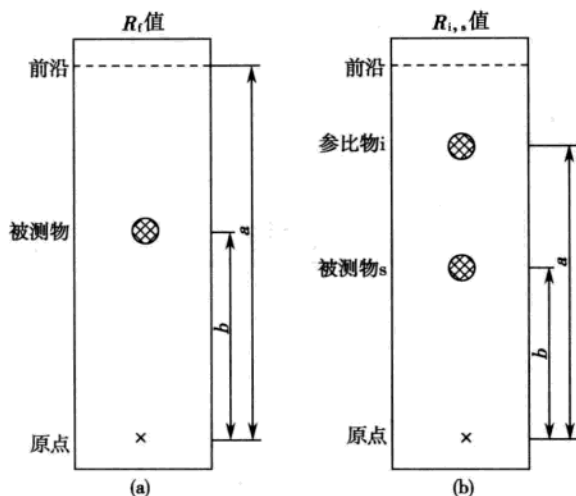


图 5-1 薄层色谱示意图

由于参比物的  $R_f$  值或移动距离可大于或小于被分离物质的  $R_f$  值或移动距离,因此相对比移值可大于或小于 1,但其重复性及可比性均优于  $R_f$  值。相对比移值以下式表示:

$$R_{i,s} = R_{f(i)} / R_{f(s)}$$

### 3 薄层色谱的应用特点

薄层色谱(TLC)不仅适合于少量样品的制备,也可用于较大量样品的纯化。如果将薄层加宽加厚,把样品点成一条线,能分离出几百毫克的样品。尤其可用于  $R_f$  值相近的物质的分离。

TLC 除了可用于分离外,更主要的是通过与已知结构化合物相比较,来鉴定少量有机混合物的组成。此外,人们还经常利用 TLC 寻找柱色谱的最佳分离条件。

常用的两种制备型薄层色谱包括:

(1) 传统的制备型薄层色谱(preparative thin-layer chromatography, PTLC),即流动相借毛细作用流经固定相。

(2) 借外力强制性地使流动相流经固定相,如离心薄层和加压薄层。

## 第二节 薄层制备技术

经典的制备型薄层色谱(PTLC),设备简单、操作方便。薄层色谱与常压柱分离配合使用,在实验室中仍然有较多的应用,尤其是在一些没有现代分离手段的实验室中仍然广为使用。

### 1 固定相及载体

薄层色谱必须将被分离物质于固定相上进行分离,固定相要根据被分离化合物的性质来选择。分离亲脂性化合物常常选用硅胶、氧化铝、乙酰纤维素及聚酰胺。分离亲水性化合物常常选用纤维素、硅藻土及聚酰胺。但也有例外,脂溶性叶绿素在氧化铝及纤维素上均

能得到较好的分离。

所用的载体:玻璃板、铝箔、塑料片等(吸附);纤维素、硅藻土(分配)。

常用的固定相、分离机制及应用范围见表 5-1。

表 5-1 薄层色谱固定相、分离机制及应用范围

薄层固定相	分离机制	主要应用范围
氧化铝板	吸附色谱法	生物碱、甾类、萜类、脂肪及芳香族化合物
硅胶板		
未改性硅胶	正相色谱法	广泛应用于各类化合物
硅胶 60		黄曲霉毒素
高纯硅胶 60		
改性硅胶		
C <sub>6</sub> 、C <sub>8</sub> 、C <sub>18</sub> RP 板	正相及反相色谱法	非极性物质(类脂、芳香族化合物) 极性物质(碱性及酸性物质)
CHIR(手性)板	配体交换色谱法	对映体
NH <sub>2</sub> 板	阴离子交换、正相及反相 相色谱法	核苷酸、农药、酚类、嘌呤衍生物、甾类、维生素 类、磺酸类、羧酸类、黄嘌呤类
CN 板	正相及反相色谱法	农药、酚类、防腐剂、甾类
DIOL 板	弱阴离子交换色谱法	甾类、激素
纤维素		
未改性纤维素	分配色谱法	氨基酸、羧酸及碳氢化合物
乙酰化纤维素	根据乙酰基含量决定正 相或反相色谱法	萜醌类、抗氧化剂、多环芳香族化合物、硝基酚类
离子交换纤维素	阴离子交换	氨基酸、肽、酶、核苷酸、核苷
DEAE 纤维素及高纯纤 维素的混合薄层	离子交换	核酸水解产物、单核苷酸及多核苷酸
离子交换剂	阴离子及阳离子交换	氨基酸、核酸水解产物、氨基酸、抗生素、肽合成 中外消旋体的分离
硅藻土	处理后作反相色谱法	黄曲霉毒素、除草剂、四环素等
聚酰胺	分配色谱法	黄酮类、酚类
葡聚糖凝胶	凝胶过滤	蛋白质、核苷酸等
磷酸氢钙	吸附色谱法	类胡萝卜素、维生素 E 类
三聚硅酸镁	吸附色谱法	类胡萝卜素、维生素 E 类
氢氧化钙	吸附色谱法	类胡萝卜素、维生素 E 类
硫酸钙	吸附色谱法	脂肪酸、甘油酯
硅胶:氧化铝(1:1)	分配色谱法	染料、巴比妥酸盐
氢氧化铁	吸附色谱法	极性物质
活性炭	吸附色谱法	非极性物质
淀粉	分配色谱法	有机酸、氨基酸、维生素、糖类、色素
滑石粉	分配色谱法	有机酸、氨基酸类等

## 1.1 硅胶

硅胶是最常用的薄层固定相,在实验室 90% 以上的分离工作中都有应用。

### 1.1.1 普通型硅胶

无定型多孔粉末,表面带有硅醇基,呈弱酸性。因为有一羟基(silanol, Si—OH),呈弱酸性(pH=4.5),通过硅原子上的羟基与极性化合物或不饱和化合物形成氢键,所以表现出吸附性能。硅胶吸附水分形成水合硅醇基,降低吸附能力。通常在 150℃ 活化后失水提高活度,此时每平方纳米约有 4~6 个硅醇基。温度大于 500℃ 时,硅胶脱水形成硅醚(Si—O—Si),而失去吸附能力。活性硅胶适合分离酸性或中性化合物,如酚类、醛类、生物碱类、甾体及氨基酸类,是基于吸附作用;非活性硅胶含有一定量的水分,在分离色素时是基于分配作用。

### 1.1.2 改性硅胶

借化学反应,将有机分子键合在其羟基上,故称化学键合固定相。可分为极性键合硅胶和非极性键合硅胶。

(1) 极性键合硅胶:含极性基团(如氰基、氨基、二醇基),与普通硅胶相比活性低。一般用作正相色谱,以非极性或极性溶剂为展开剂。

(2) 非极性键合硅胶:键合相表面为极性极小的烃基,如十八烷基、乙基、辛基等,最常用的是十八烷基键合硅胶。以极性较大的有机溶剂或无机溶剂为展开剂。因为  $R_f$  值与正相色谱相反,故称反相薄层色谱法。

### 1.1.3 硅胶的粒度与孔径

硅胶的分离效率与其粒度、孔径及表面积等几何结构有关。原则上,粒度越小,分离效果越好。孔径( $\text{\AA}$ )或孔体积表示硅胶粒子孔的大小尺度,与传递阻滞有关;表面积越大,表明其吸附力越大,有较强的保留能力。

薄层色谱所用硅胶的技术参数见表 5-2。

表 5-2 薄层色谱所用硅胶的技术参数

参 数	范围	典型值
密度( $\text{g}/\text{cm}^2$ )	0.3~0.5	≈0.4
比表面积( $\text{m}^2/\text{g}$ )	400~600	≈500
孔径( $\text{\AA}$ )	20~150	60
孔体积( $\text{ml}/\text{g}$ )		0.8
pH	5~7	7.0
粒度( $\mu\text{m}$ )	10~50	40

### 1.1.4 硅胶薄层板的厚度

制备薄层板厚度一般在 0.5~2mm 之间,特殊时还可以加厚(普通分析薄层板厚度为 250 $\mu\text{m}$ ,高效薄层板为 200 $\mu\text{m}$ ),因此薄层的厚度限制了 P TLC 分离的样品量。如果铺制 1mm 厚的 20cm×20cm 的薄层板,大约需要 20~25g 硅胶。

### 1.1.5 市售硅胶及预制板规格

硅胶 G:含有 13% 煅石膏黏合剂的硅胶。

硅胶 H: 不含黏合剂的硅胶。

硅胶 HF254: 不含黏合剂, 含有一种无机荧光剂(如锰激活的硅酸锌), 在波长 254nm 的紫外光下呈强烈黄绿色荧光。

硅胶 GF254: 含有煅石膏黏合剂, 含荧光剂, 在波长 254nm 的紫外光下呈强烈黄绿色荧光。

硅胶 HF254 + 366: 不含黏合剂, 在波长 254、366nm 的紫外光下有荧光。

硅胶 PF254: 制备型, 在波长 254nm 的紫外光下有荧光(用荧光剂, 适用于不发光、不易显色物质的制备与分离)。

## 1.2 氧化铝

氧化铝在薄层色谱中的应用仅次于硅胶。由氢氧化铝 400 ~ 500℃ 煅烧而成。广泛用于萜类、生物碱、脂肪族和芳香族化合物的分离。因制法和处理方法不同可分为碱性、酸性、中性 3 类:

- (1) 碱性氧化铝: pH 9 ~ 10, 适合于中性、碱性化合物的分离;
- (2) 酸性氧化铝: pH 4 ~ 5, 适合于酸性化合物的分离;
- (3) 中性氧化铝: pH 7 ~ 7.5, 适合于酸性或对碱不稳定的化合物的分离。

氧化铝因其含水量的不同, 其活性可分为 5 级。制备型薄层用氧化铝选用 2 ~ 3 级。

市售氧化铝: 含 10% 煅石膏黏合剂, pH 7.5 ~ 8; 不带黏合剂的氧化铝 pH = 9, 也可加入波长 254nm 的荧光指示剂。薄层色谱所用氧化铝的技术参数见表 5-3。

表 5-3 薄层色谱所用氧化铝的技术参数

特性	范围	典型值	特性	范围	典型值
比表面积 ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	100 ~ 250	160	pH 中性	7 ~ 7.5	7
孔径 ( $\text{\AA}$ )	40 ~ 90	60	pH 碱性	9 ~ 10	9
粒度 ( $\mu\text{m}$ )	20 ~ 90	60	pH 酸性	4 ~ 5	4.5

吸附能力取决于吸附剂与分离样品之间的相互作用。

## 1.3 纤维素

纤维素遵循分配原理。纤维素分子(图 5-2)是由大量纤维二糖通过糖苷键连接的, 由于有许多的羟基(—OH), 所以具有亲水性。一分子水与纤维素的两个羟基结合, 形成“纤维素- $\text{H}_2\text{O}$ ”络合物。这种固定相可以视为一种多糖浓溶液, 即使使用与水相混溶的溶剂时, 仍然可形成“类似不相混溶”的两相。

纤维素分为普通纤维素、乙酰化纤维素、离子交换纤维素等。

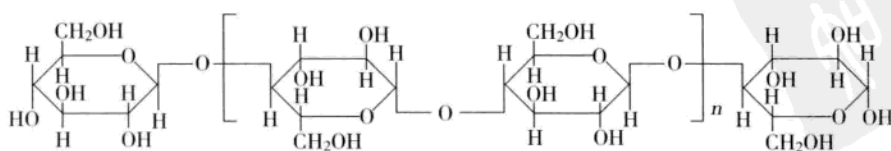


图 5-2 纤维素分子结构图



### 1.4 聚酰胺

聚酰胺遵循吸附或分配原理。聚酰胺是由酰胺聚合而成的高分子聚合物,薄层色谱中常用的是聚己内酰胺。聚酰胺分子内有许多酰胺基,酰胺基中的羰基与酚类、黄酮类、酸类中的羟基或羧基形成氢键;酰胺基中的氨基与酮类或硝基化合物形成氢键,同时由于所分离混合物结构的不同,含羟基等活性基团的数目和位置也不同,因而形成氢键的能力不同,所以对这些化合物的吸附能力不同而得到分离。

### 1.5 葡聚糖凝胶

葡聚糖凝胶遵循分子筛(分子排阻)的原理。葡聚糖凝胶是由一定分子量的葡聚糖(右旋糖酐, dextran)悬浮于有机相中,加入交联剂使葡聚糖交联聚合而成的。其商品名为 Sephadex,加入不同量的交联剂可制成不同交联度的凝胶,因此其应用范围也有所不同。因为凝胶具有立体多糖链的网状结构和许多孔隙,分离时具有分子筛的功能。其交联度越大,网状结构越紧密,吸水时膨胀的体积越小;相反,交联度越小,网状结构越疏松,孔隙越大,吸水时膨胀的体积就越大。应用时被分离的物质在溶胀后的凝胶上,小分子可以进入凝胶内部,大分子就先于小分子被推至前沿,这样分子量不同的物质就可以被分离。不同交联度的凝胶吸水量和应用范围见表 5-4。用于薄层色谱的凝胶粒度要细(小于  $40\mu\text{m}$ ),交联度要低(G-50 以下)。

表 5-4 葡聚糖凝胶吸水量及应用范围

型号	分离范围(分子量)		吸水量 (ml/g)	膨胀体积 (ml/g)	浸泡时间(h)	
	蛋白质	多糖			室温	沸水浴
G-10	≈700	≈700	$1.0 \pm 0.1$	2~3	3	1
G-15	≈1500	≈1500	$1.5 \pm 0.1$	2.5~3.5	3	1
G-25	1000~5000	100~5000	$2.5 \pm 0.2$	4~6	3	1
G-50	1500~30 000	500~10 000	$5.0 \pm 0.3$	9~11	3	1
G-75	3000~70 000	1000~50 000	$7.5 \pm 0.5$	12~15	24	3
G-100	4000~150 000	1000~100 000	$10.0 \pm 1.0$	15~20	72	5
G-150	5000~400 000	1000~150 000	$15 \pm 1.5$	20~30	72	5
G-200	5000~800 000	1000~20 000	$20 \pm 2.0$	30~40	72	5

### 1.6 离子交换剂

用离子交换纤维素、离子交换树脂或离子交换葡聚糖凝胶为固定相。在展开过程中,展开剂使交换剂中能交换的阳离子或阴离子与样品组分带相反电荷的离子连续进行可逆的交换吸附与解吸附从而达到分离的目的。

### 1.7 硅藻土

硅藻土商品名 Celite,是高度多孔的、比表面积大的固体,本身具极弱的吸附力,常作为分配色谱的载体使用,或以一定比例加入硅胶等吸附剂中可以降低硅胶的吸附力,从而有利于某些化合物的分离。

## 2 黏合剂与添加剂

为使薄层牢固地附着于支持体上,需加合适的黏合剂。为了特殊物质的分离、检出,有

时要在固定相中加入某些添加剂。理想的黏合剂要求亲水性好、黏合力强,且具有化学惰性。

### 2.1 煨石膏

将石膏( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )在 $120 \sim 140^\circ\text{C}$ 烤 $2 \sim 4\text{h}$ ,过200目筛,备用。用煨石膏作黏合剂的优点是能使用具有腐蚀性的显色剂,但其缺点为薄层的硬度不够,且不利于无机物的分离。

### 2.2 羧甲基纤维素钠

先将羧甲基纤维素钠(CMC-Na)调成糊状,再加足量水搅拌均匀,并加热煮沸使尽可能溶解,放置澄清后,取上清液代替水与吸附剂搅匀涂布薄层。

常用的浓度为 $0.2\% \sim 1.0\%$ ,浓度越高,薄层硬度越大。CMC-Na是常用的黏合剂,但其缺点为不能耐受有腐蚀性的显色剂等。

### 2.3 淀粉

将淀粉配成 $5\%$ 的溶液,在 $85^\circ\text{C}$ 加热至有黏性,加入适量吸附剂制成薄层。缺点为不能耐受有腐蚀性的显色剂。

### 2.4 预制板黏合剂

上述3种黏合剂均于实验室自制TLC时使用,而商品市售预制板黏合剂有聚乙烯醇、聚丙烯醇、聚丙烯酰胺。

### 2.5 添加剂

包括荧光剂、酸、碱或pH缓冲液等。

## 3 薄层板的制备

当前国外商品化的各种预制板均有市售品,可满足各种需要(除个别特殊需要人工制板外)。预制板使用方便,涂布均匀,薄层光滑,而且牢固程度好。预制板有玻璃板、塑料板或铝箔板,后两种还有剪裁方便的优点。国外市售预制板较多,包括普通薄层预制板(硅胶、氧化铝、纤维素、硅藻土、聚酰胺、离子交换纤维素、键合硅胶反相板)、高效薄层预制板(键合硅胶预制板、手性预制板)等,规格众多,尺寸不同,分离效果及重现性均较手工制板好。国内预制板规格类型较少,进口又贵,所以主要靠实验人员自己手工制作。

### 3.1 载板的制备

常用载板主要为玻璃板和塑料板,金属铝箔等较少应用。

为了使吸附剂能均匀地涂布于载板表面上,要求所用载板必须表面光滑、平整清洁。因此,使用前应先用适当方法对载板进行必要的处理,如洗涤剂充分浸泡洗涤、水冲洗干净、烘干备用。若载板上有油污,则薄层不易涂布,即使铺成也很容易有薄层裂缝或发生脱落。

玻璃板大小视实验所需而定。一般分析用 $3\text{cm} \times 5\text{cm}$ 、 $4\text{cm} \times 20\text{cm}$ 、 $10\text{cm} \times 10\text{cm}$ 的玻璃板;制备用 $10\text{cm} \times 20\text{cm}$ 、 $20\text{cm} \times 20\text{cm}$ 、 $20\text{cm} \times 40\text{cm}$ 的玻璃板。

### 3.2 薄板涂铺方法

薄层板的制备方法分为干法铺板和湿法铺板两种,后者的应用更为广泛。

#### 3.2.1 干法铺板

将吸附剂直接倒在板的一端,取一适当玻璃棒两端包裹上适当厚度的橡皮管或塑料管(视薄层厚度要求而定),用力移动玻璃棒,用力不可过猛或太快,也不能中途停止,以免薄层

厚薄不均,如此制成的薄板称为软板。由于该板易被吹散,现已较少用,多用硬板。干法铺板方法见图 5-3 所示。

### 3.2.2 湿法铺板

一般都要加黏合剂,故称黏合薄层板(硬板)。常用的两种硬板为:硅胶 G 与硅胶 CMC-Na。硅胶 G 板铺制:制板时每份硅胶 G 加入水 2~3 份,研成糊状,倒在板上涂铺。硅胶 CMC-Na 板铺制:硅胶 H 或硅胶 G 加入 0.5% CMC-Na 水溶液(1:3),研成糊状,倒入板上涂铺。0.5% CMC-Na 的配制:取适量 CMC-Na,加入蒸馏水加热煮沸,至完全溶解,放冷却静置。铺板时取其上清液使用。

铺板时为防止搅拌而带入气泡,常常加入少量乙醇或丙酮,或将吸附剂糊首先置于真空干燥器中减压脱气,以免薄层表面出现气泡,影响分离效果。其他一些加黏合剂铺板的处理方法可参见有关参考书。

湿法铺板的方法分为倾注法、平铺法和机械涂布法:

(1) 倾注法:取适量调好的吸附剂糊,倒在干净的薄板上用玻璃棒涂成一均匀薄层,再稍加振动,使薄层平整均匀。置水平台上晾干,严防灰尘玷污。再置烘箱中 110℃ 活化 1h,置干燥器中备用。本法均匀度较差,一致性差,此法适用于小板的制备。

(2) 平铺法:在水平的较大玻璃上放上要铺的薄板。薄板两边加上做好的框边,倒上吸附剂糊,用一玻璃板或玻璃棒向一个方向均匀地将吸附剂刮平,然后轻轻振动均匀,置于水平台上晾干,活化备用。此法适用于大板的制备。

(3) 机械涂布法:常使用手动涂布器和全自动涂布器,分别见图 5-4 和图 5-5。手动涂布器由于手动推进速度不同,常使薄层厚度不均匀。铺板机国产和进口皆有,可调节制成厚度不同的薄层,供分析与制备用。一般用于分析的薄层厚度为 0.2~0.5mm,用于制备的薄层厚度为 0.5~2mm。

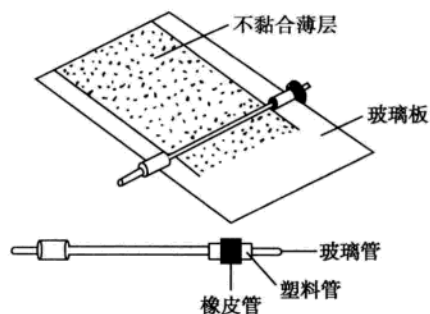


图 5-3 软板制作示意图

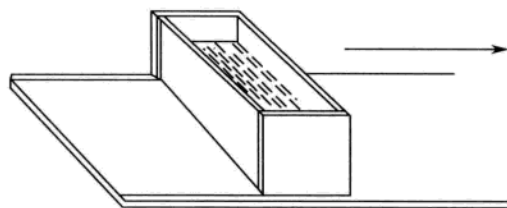


图 5-4 手工简易涂布器

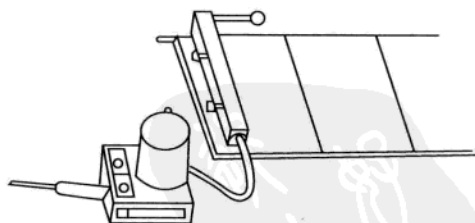


图 5-5 全自动涂布器

注意:①吸附剂在手工调制时,研磨的方向应顺同一个方向,否则凝固不均匀。②涂布速度要快,避免固定相过度凝固,使涂布困难。③涂布时速度保持一致。④涂布后的薄层应水平放置,室温晾干备用,避免因通风导致产生裂纹,避免灰尘玷污。⑤活化时一般硅胶板的活化温度为 105~110℃,活化时间为 0.5~1h。有些薄层板不必活化,晾干即可用,如聚酰胺板。一些加黏合剂的铺层处理方法参考表 5-5。

表 5-5 加黏合剂的铺层处理方法

薄层类型	固定相(g):水用量(ml)	活 化
硅胶 G	1:2 或 1:3	80℃ 或 150℃, 0.5 ~ 1h 或阴干
硅胶 CMC-Na	1:3(0.5% ~ 1.0% CMC-Na 水溶液)	80℃, 20 ~ 30min 或阴干
硅胶 G CMC-Na	1:3(0.2% CMC-Na 水溶液)	80℃, 20 ~ 30min 或阴干
氧化铝 G	1:2 或 1:2.5	110℃, 30min
氧化铝-硅胶 G(1:2)	1:2.5 或 1:3	80℃, 30min
硅胶-淀粉	1:2	105℃, 30min
硅藻土 G	1:2	110℃, 30min
纤维素	1:5	

## 4 上样

上样是制备薄层分离技术最关键的步骤之一。

### 4.1 预展开

上样前薄层板最好先用溶剂展开一次,以减少吸附剂所吸附的杂质对样品分离的影响。一般方法:用氯仿-甲醇(1:1)或用色谱分离时所用的展开剂空白展开一次。真空干燥去溶剂后,在 105 ~ 120℃ 干燥 0.5 ~ 1h,放置在干燥器中备用。

### 4.2 样品的制备

上样前,先将样品溶于少量溶剂中,低挥发性的溶剂可引起点样带扩散变宽。因此最好选择挥发性溶剂(二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、醇),避免用水、DMF、DMSO 等不易挥发而易扩散的溶剂。制备薄层样品浓度应在 5% ~ 10% 范围内(分析薄层样品浓度为 0.01% ~ 1%)。浓度过高易造成超载,出现拖尾或重叠,影响分辨率和分离度。

### 4.3 方法

(1) 手工点样:常用毛细管、长滴管、注射器、商品化的上样器点样。

1) 分析薄层点样:一般以点状点样,要求点样圆而小。点样时,点样斑点直径最大不得超过 5mm,一般以 2 ~ 3mm 较为合适;高效板斑点直径约为 1 ~ 2mm。若需重复点样,应待上次点样的溶剂挥发后,再重复点样,以防点样点过大造成拖尾、扩散等现象而影响分离效果。

2) 制备薄层上样:一般以带状(条状)上样,要求上样带细、窄,以获得较好的分离效果。以滴管、注射器或粗毛细管上样后,必须将溶剂吹干再进行展开,但要避免高温加热,使成分分解。

(2) 自动点样仪:用点样仪点样,不触及薄层,且用氮气自动吹干。

### 4.4 位置

对于普通分析薄层点样,点样位置在薄层板起始线距底边 1 ~ 1.5cm;高效板约 1cm 处。展距:经典薄层板为 10 ~ 15cm,高效板为 5 ~ 7cm;点间距:经典薄层板为 1 ~ 2cm,高效板为 0.5cm(图 5-6)。

对于制备薄层上样,一般距离薄层一端大约 2.5cm 处,样品带宽 2 ~ 3cm;样品带长度距薄板边沿 1 ~ 2cm(图 5-7),以免边缘效应影响展开剂移动速度。

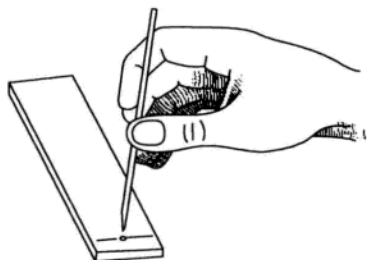


图 5-6 分析薄层点样

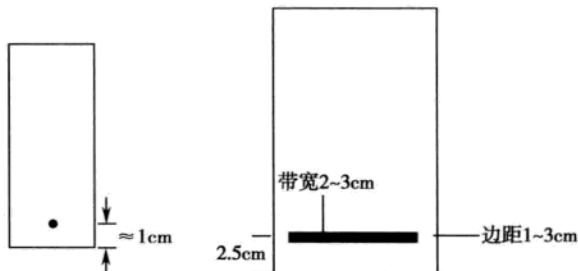


图 5-7 制备薄层条状上样

对于制备薄层,可以重复上样,每一次上样后,应尽可能吹干,以避免样品条带过宽。若上样带较宽,可先用较大极性溶剂,将薄层板展开到点样带上端 2cm 处,以起到浓集和压缩样品带的作用。然后将薄板干燥后,再用展开剂展开。

有报道先在薄层板的上样位置挖一个“V”形的条形小槽供上样用,小槽的上部 1~2mm 宽,深度是吸附剂厚度的一半。该技术操作必须非常小心,除去吸附剂的厚度不能太深而露出玻璃板,否则分离效果差。也有用一个一个的点紧挨着点样的方法上样,但该法操作麻烦并且效果也不太好。

对于溶解度不好的样品,有报道可以采用固体上样的方法。将样品溶于极性较大的溶剂后,加入硅胶适量,旋转蒸发除去溶剂,得均匀样品混合物。然后在薄板上样处将吸附剂吸去一条,使之成为沟槽,将样品固体混合物小心地填充在沟槽内,再用展开剂展开。

#### 4.5 上样量

1.0mm 厚的硅胶板或氧化铝板最多可上样  $5\text{mg}/\text{cm}^2$ 。对  $20\text{cm} \times 20\text{cm}$  的板可最高分离 10~100mg 样品(有报道可以上样 5~25mg,得到较好分离)。如果吸附剂的厚度加倍,可多上样,但切勿超载,避免出现拖尾或重叠,影响分辨率和分离度。

### 5 展开剂的选择

PTLC 所用展开剂的条件是由分析型 TLC 预试来确定的。由于两者所用吸附剂的颗粒大小相同,所以分析型 TLC 展开剂可直接用于 PTLC。

薄层色谱条件是由被分离组分的性质(溶解度、酸碱性、极性)、吸附剂活性以及展开剂极性 3 个因素决定的。在上述 3 个因素中,被分离物质是固定的,吸附剂常用的种类也不多,而展开剂种类则是千变万化。不仅可以应用单一溶剂作为展开剂,还可应用不同极性的混合溶剂。所以对于特定物质的分离,展开剂对分离起决定作用。

#### 5.1 溶剂强度

溶剂强度是指单一溶剂或混合溶剂洗脱某种溶质的能力。在正相色谱中,洗脱强度随极性的增大而增大。极性小的溶剂,对极性小的组分溶解强,在 TLC 中能较快地向前迁移,与极性大的组分分离,从而极性小的组分的  $R_f$  值比极性大的组分大。极性大的溶剂,对极性大的组分溶解强,可较快向前迁移,而与极性小的组分分离,极性大的组分的  $R_f$  值比极性小的组分大。在反相色谱中,溶剂的极性与其洗脱能力相反。

常见溶剂的极性顺序如下:石油醚 < 环己烷(cyclohexane) < 正己烷(hexane) < 二硫化碳( $\text{CS}_2$ ) < 四氯化碳( $\text{CCl}_4$ ) < 三氯乙烷( $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ) < 苯(Ph) < 甲苯(toluene) < 二氯甲烷

( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) < 氯仿 ( $\text{CHCl}_3$ ) < 乙醚 ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) < 乙酸乙酯 ( $\text{EtOAc}$ ) < 丙酮 (Acetone) < 正丙醇 < 乙醇 ( $\text{EtOH}$ ) < 甲醇 ( $\text{MeOH}$ ) < 吡啶 (Py) < 羧酸 ( $\text{R-COOH}$ ) < 水。

有关薄层色谱中溶剂的作用,也已建立了洗脱顺序的概念。表 5-6 是 Snyder 将主要溶剂在硅胶薄层上排列的洗脱顺序,与极性大小有一些差别。

表 5-6 溶剂洗脱顺序(由弱至强)

洗脱顺序	分子式	极性参数	介电常数 (20℃或 25℃)	摩尔质量 (g/mol)	沸点 (℃)	蒸气压 (kPa, 20℃)	MAK 值 (最大 允许 浓度, ml/m <sup>3</sup> )
正庚烷	$\text{C}_7\text{H}_{16}$	—	1.9	100.21	98.4	4.8	500
正己烷	$\text{C}_6\text{H}_{14}$	0.0	1.9	86.18	68.9	16.0	100
环己烷	$\text{C}_6\text{H}_{12}$	0.0	2.0	84.16	80.7	10.4	300
异辛烷	$\text{C}_8\text{H}_{18}$	0.4	1.9	114.23	99.2	5.1	500
1,1,2-三氯三氟乙烷	$\text{Cl}_2\text{FCCClF}_2$	—	2.4	187.38	47.7	36.8	1000
四氯化碳	$\text{CCl}_4$	1.7	2.2	153.82	76.5	12.0	200
甲苯	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	2.3	2.4	92.14	110.6	2.9	10
氯仿	$\text{CHCl}_3$	4.4	4.8	119.38	61.7	21.0	20
二氯乙烷	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	3.7	10.6	98.97	83.4	8.7	100
二氯甲烷	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	3.4	9.1	84.93	40.0	45.3	100
正丁醇	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$	3.9	17.8	74.12	117.2	0.67	40
乙腈	$\text{CH}_3\text{CN}$	6.2	37.5	41.05	81.6	9.7	400
异丙醇	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	4.3	18.3	60.10	82.4	4.3	400
乙酸乙酯	$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$	4.3	6.0	88.10	77.1	9.7	400
丙酮	$\text{CH}_3\text{COCH}_3$	5.4	20.7	58.08	56.2	23.3	1000
乙醇	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	5.2	24.3	46.07	78.5	5.9	1000
二氧六环	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	4.8	2.2	88.11	101.0	4.1	50
四氢呋喃	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	4.2	7.4	72.11	66.0	20.0	200
甲醇	$\text{CH}_3\text{OH}$	6.6	32.6	32.04	65.0	12.8	200
水	$\text{H}_2\text{O}$	9.0	80.2	18.01	100.0	2.3	—

在实际操作中,对于吸附薄层的展开,一般按极性顺序选择单一溶剂,看其  $R_f$  值及分离效果,可再加入第 2 种、第 3 种溶剂进行调节。 $R_f$  值最佳范围为 0.2~0.5,可使用范围为 0.2~0.8。对极性化合物,如果  $R_f$  值太小,可加极性较大的溶剂;如果太大,则可加非极性溶剂。

对出现的拖尾现象,可采用下列方法进行改善:当样品中含有羰基时,在非极性溶剂中加入少量丙酮;当样品中含有羟基时,于非极性溶剂中加入少量甲醇、乙醇等;当含有羧基等酸性样品时,可加入少量的甲酸、乙酸;当含有氨基等碱性样品时,可加入少量六氢吡啶、二乙胺、氨水等,可改善拖尾现象,提高碱性或酸性化合物的分离效果。总之,加入的溶剂应与

被测物的官能团相似。

几种常用的两相溶剂系统(不同比例)包括:正己烷-乙酸乙酯、环己烷-乙酸乙酯、正己烷-丙酮、石油醚-乙酸乙酯、氯仿-甲醇、丙酮-甲醇、石油醚-苯(甲苯)、正己烷-苯(甲苯)。表 5-7 按化合物的酸碱性列出了几种常用的展开剂体系,可供实际参考。

表 5-7 化合物的酸碱性与选用的展开剂体系

化合物酸碱性	展开剂体系
中性体系	(1) 氯仿-甲醇(100:1), (10:1) 或 (2:1) (2) 乙醚-正己烷(1:1) (3) 乙醚-丙酮(1:1) (4) 乙酸乙酯-正己烷(1:1) (5) 乙酸乙酯-异丙醇(3:1)
酸性体系	氯仿-甲醇-乙酸(100:10:1)
碱性体系	氯仿-甲醇-浓氨水(100:10:1)

对于聚酰胺吸附薄层,其分离主要依靠氢键的形成能力,这决定于化合物本身及展开剂的极性。由于其在水中形成氢键的能力最强,在有机溶剂中形成氢键的能力较弱,在碱性溶液中形成氢键的能力最弱,因此在聚酰胺薄层上单一溶剂洗脱能力(溶剂强度)的顺序是:

水 < 乙醇 < 甲醇 < 丙酮 < 稀氢氧化铵(钠)溶液 < 甲酸胺 < 二甲基甲酸胺。

常用的多元展开剂有:水-乙醇(50:50)、水-甲醇(50:50)、水-丁酮-甲醇(40:30:20)、水-乙醇-丁酮-乙酰丙酮(15:15:15:5)、水-乙醇-乙酸-二甲基甲酸胺(30:20:10:5)、苯-甲醇-丁酮(60:20:20)等。

## 5.2 选择展开剂的方法

在实验室操作中,经常借助个人经验或文献参考来找到合适的展开剂。除此之外,有下列几种简便寻找展开剂的方法:

(1) 三角法:按照展开剂的极性、固定相(吸附剂)的活度及被分离物质的性质三者间的相互影响,设计了三因素组合,帮助选择展开剂的极性和固定相的活度。图 5-8(a)适合于吸附薄层;图 5-8(b)适合于分配薄层,可粗略地为初步展开剂的选择提供参考。例如用吸

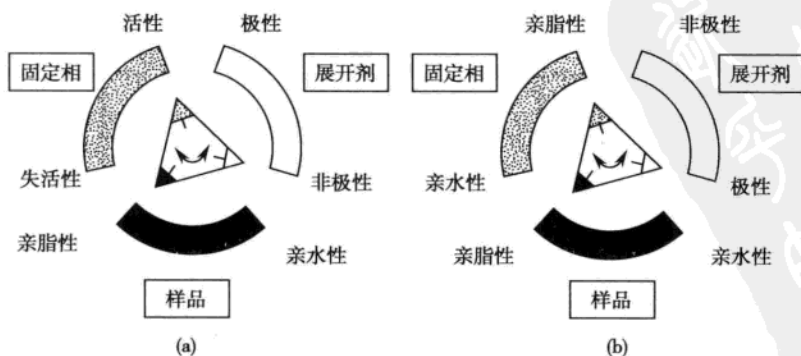


图 5-8 色谱分离条件的选择

附薄层色谱分离极性化合物时,要选用吸附活度小的薄层板及极性大的强洗脱剂展开,否则化合物不易被展开, $R_f$ 值太小;而非极性化合物在吸附薄层色谱分离时,其条件正好相反。

对于正相分配色谱,溶剂的极性 & 溶剂强度与吸附色谱相同,两者是平行的,溶剂的极性大,对亲脂性化合物的洗脱能力就强;溶剂极性小,洗脱能力就小。

(2) 点滴实验法:本法简单,在实际工作中很实用。将要分离的化合物溶液间隔地点于薄层板上,待溶剂挥发干后,用不同的展开剂通过毛细管点到各样品点上,通过毛细作用,展开剂从圆心向外扩展,这样就出现了不同圆心的色谱,经过比较可以发现最合适的展开剂及吸附剂。图 5-9 证明苯是该化合物最合适的展开剂。

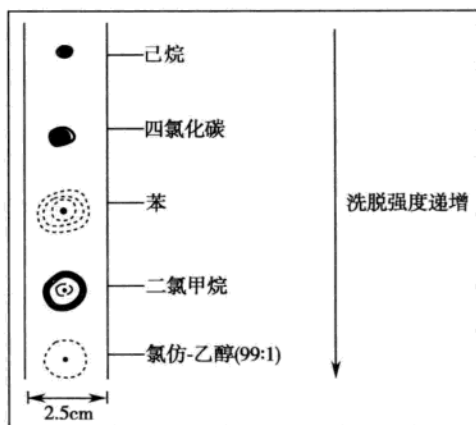


图 5-9 点滴实验法

(3) Camag Vario-Ks 展开室法: Camag Vario-Ks 展开室至少有 5 个溶剂室,可以在同一薄层板上同时筛选至少 5 种展开剂,用此装置可以很快找到最合适的展开剂及最佳展开条件。国内实验室较少应用,故不详细解释。

## 6 薄层展开

薄层展开要在密闭的器皿中进行,如以专门的玻璃层析缸作为展开器。加入展开剂的高度为 0.5 ~ 1.0cm。

### 6.1 预饱和

可在展开器中放一张滤纸,以使器皿内的蒸气很快地达到气-液平衡,待滤纸被展开剂饱和以后,把点有样品的板(样点一端向下)放入展开器内。也可使用薄层双槽展开室,加入展开剂于其中一槽,把点有样品的板放入无展开剂的另一槽内(图 5-10)。若使用平底展开室,可将展开室一端垫高,将薄板置于展开室垫高的一端,盖好盖子,使薄板饱和(图 5-11)。时间自行掌握,一般要求半小时左右。

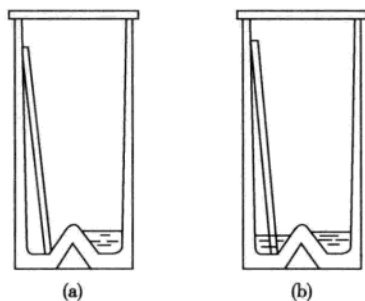


图 5-10 双槽展开室  
(a) 饱和;(b) 展开

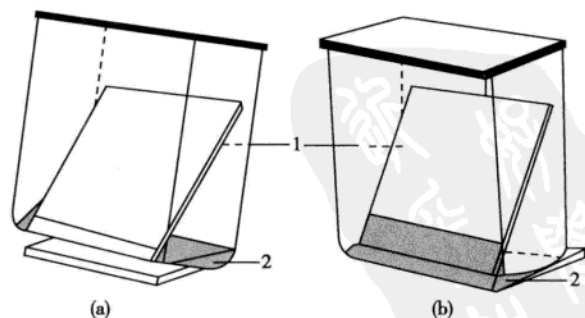


图 5-11 用平底展开室进行薄层板的预饱和  
(a) 饱和;(b) 展开  
1. 薄层板;2. 展开剂



## 6.2 展开

展开的形式视薄层形状而定,硬板常用上行展开、环形展开、双向展开、下行展开、多次展开;软板常用近水平展开。

采用多次展开的方法可以提高 TLC 的分离效果,在一次展开结束后,先将薄板干燥,再放入容器中展开。多次展开可分为单向多次展开(同一种展开剂,以增加展开距离)与梯度展开(不同种展开剂,以增加分离度)。

上行展开在实验室中应用较多,展开时薄层板与器皿成一定的角度,同时使展开剂的水平线在样点以下,盖上盖子。当展开剂上升到离板的顶部约 1cm 处时取出,并立即用铅笔标出展开剂的前沿位置,待展开剂干燥后观察斑点的位置。

## 7 样品色斑的检测方法

### 7.1 光学检测

可见光:一些化合物如染料、蒽醌等对可见光有吸收,因此在自然光下可呈现出不同颜色的斑点。

紫外光法:多数化合物在可见光下不能显色,但可吸收紫外光,在紫外灯下显示出不同颜色的斑点。

荧光法:一些化合物吸收紫外光后,可激发出荧光,在色谱上呈现出不同颜色的荧光斑点。

荧光猝灭法:无紫外-可见吸收和不显荧光者,可将其点于含无机荧光剂的薄层板上,展开后挥发除去溶剂,置紫外灯下观察,被分离的化合物在有色的荧光背景下,呈现暗的斑点。如 GF254 与 HF254 板在黄绿荧光背景下出现黑斑。这是由于这些化合物减弱了吸附剂中荧光物质的紫外吸收,引起了荧光猝灭。也可以将荧光素喷于无荧光剂的薄层板上,获得与荧光板相同的效果。薄层板中的荧光添加剂一般不溶于展开剂,不会造成待分离样品的污染。

### 7.2 蒸气检出

此法的原理是:一些物质的蒸气可与样品作用,产生不同的颜色或荧光。但这些蒸气与样品的作用必须是基于物理的可逆性吸附,而不能引入新的杂质。

碘熏色是实验室常用方法,展开后的薄层板挥发除去溶剂,放在盛有碘结晶的密闭容器中,大多数化合物吸附碘蒸气后,呈现不同程度的黄褐色色斑。标出斑点位置,借此检出所分离的化合物位置。当薄层离开碘蒸气后,黄褐色色斑逐渐消退。这是可逆反应,不影响产物性质。若不褪色,则为不可逆反应,只可用于定性,对化合物制备不可取。

### 7.3 显色法

若化合物对紫外-可见、荧光和碘熏等方法均不能显示斑点,则可加入显色剂显色。常用喷洒法、浸渍法、薄层显色法等。显色法主要用于物质的定性分析、定位,除非万不得已,制备较少应用。

显色剂分两大类:一类为检查一般有机化合物的通用试剂;另一类为根据化合物或特殊官能团设计的专属显色剂。显色剂种类繁多,可参见相关薄层色谱专业书籍。

制备薄层显色检测方法:一般先用一块适当大小的玻璃板或者能抗显色剂腐蚀的塑料板遮住薄层板的中间部分,让其左右两边各露出一小条,然后按照通常的显色方法进行喷雾

显色(图 5-12)。根据显色情况,用铅笔勾画出谱带的位置。

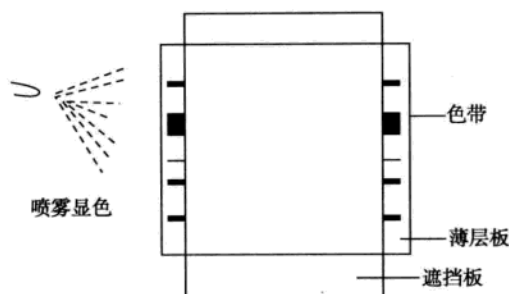


图 5-12 制备薄层化学显色示意图

实验室经常备用的两种显色剂为:高锰酸钾溶液(9g 高锰酸钾 + 0.75g 氢氧化钠 + 60g 碳酸氢钠 + 900ml 水,氧化性试剂);茴香醛溶液(674ml 乙醇 + 18.5ml 茴香醛 + 25ml 浓硫酸,还原性试剂)。

#### 7.4 加入参照物法

若遇到对紫外-可见和荧光均不能显示斑点,而且不能碘熏色、不能加显色剂的情况,可利用已知参照物呈现斑点的  $R_f$  值,确定被分离化合物的大体位置。

### 8 被分离物质的收集

在确定色带位置后,可用刮刀或与真空收集器相连的管状刮离器,将色带吸附剂从板上刮下。后一种方法适合于松散的薄层板样品的收集,但对易氧化的物质由于持续与空气接触,应慎用。样品斑点定位法及斑点的捕集方法见图 5-13。

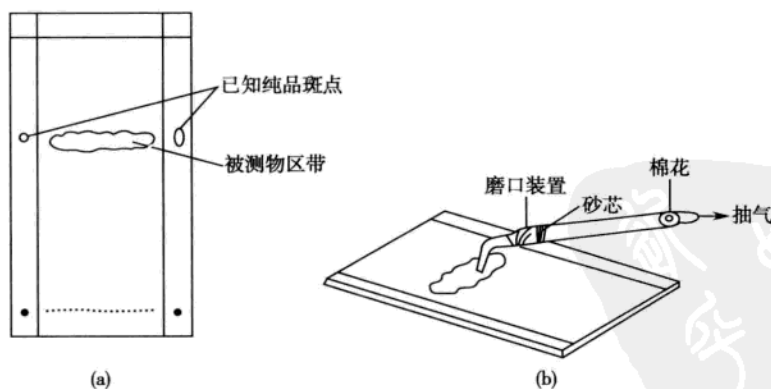


图 5-13 样品斑点定位法及斑点的捕集方法  
(a) 样品斑点定位法;(b) 斑点的捕集方法

尽可能以极性较低的溶剂将化合物从收集的吸附剂中提取出来(1g 吸附剂约用 5ml 溶剂);或将收集的吸附剂置于砂芯漏斗中,用溶剂洗脱的方式,分离待分离组分。极性大的溶剂往往洗脱能力太大,易溶解较多的杂质。甲醇可溶解硅胶及其中的一些物质,所以不适合

于作为展开剂及从硅胶上洗脱被分离的化合物。常用的溶剂有:丙酮、乙醇、氯仿等。

在分离提取过程中应注意:化合物与吸附剂接触时间越长,被破坏的可能性就越大。可先用洗脱液于4型砂芯漏斗中过滤,然后用滤纸过滤。

## 9 制备型薄层色谱分离化合物的再纯化

制备型薄层色谱(PTLC)使用过程中,因吸附剂中含有黏合剂及荧光指示剂,在溶剂提取过程中,吸附剂中的杂质易被提取,洗脱液极性越大,提取的杂质就越多。这些杂质往往无紫外吸收,TLC检测难以发现其存在。因此溶液蒸去后,往往要经重结晶处理或相应的手段进行再纯化,方可达到含量测定及光谱分析要求。

## 第三节 离心薄层色谱

离心液相色谱(centrifugal liquid chromatography, CLC)是制备薄层的一种改进形式。因为经典的PTLC存在着许多缺陷,如展开过程太长;需要将被分开的化合物从薄层上刮下,提取出来;提取过程易引入吸附剂杂质及残留物等。为克服这些缺点,20世纪60年代人们发明了离心薄层色谱。

### 1 离心薄层色谱的技术原理

主要是在经典的PTLC的基础上,即样品在固定相和流动相间的吸附、分配作用不同,再加上离心力的作用,使流动相加速流动,使样品各组分之间原有的 $R_f$ 值差异加大,从而提高分离效果,加快分离速度,是一种强制性流动相移动方法。图5-14为CLC的原理示意图。由于CLC具有仪器简单、操作简便、分离效果好等优点,而广泛用于合成和天然产物的制备与分离。

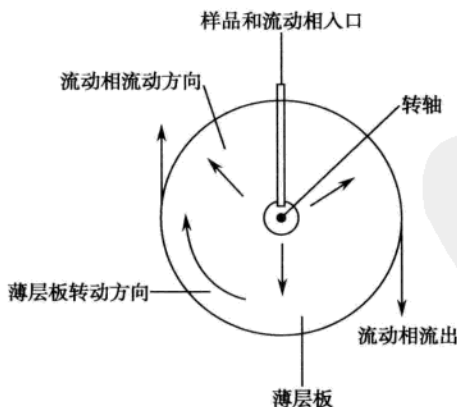


图 5-14 离心薄层色谱的技术原理

### 2 旋转薄层色谱仪

目前使用的旋转薄层色谱仪有2种类型:一种是美国Harrison Research公司的7924型

色谱仪(Chromatotron 色谱仪)及我国北京青云仪器厂生产的 LBC-1 型离心薄层色谱仪(仪器示意图分别见图 5-15 和图 5-16);另一种是日本日立公司生产的 Hitachi CLC-5 型离心薄层色谱仪。

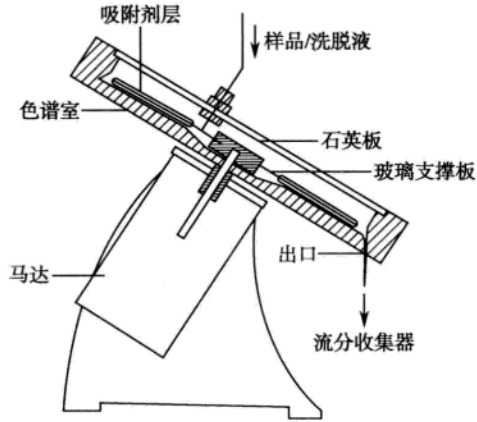


图 5-15 Chromatotron(7924 型) 色谱仪

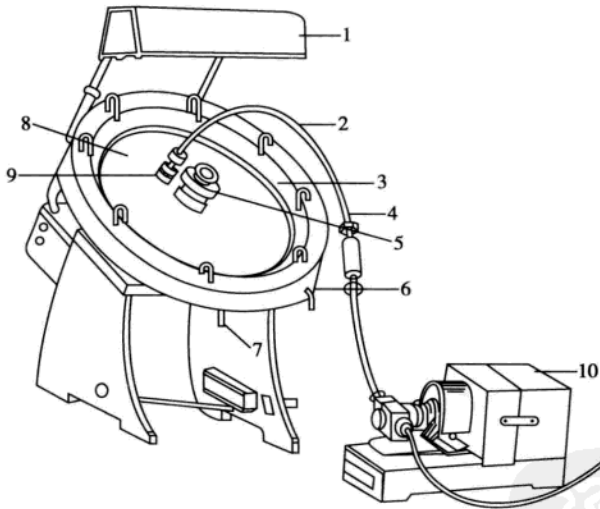


图 5-16 LBC-1 型离心薄层色谱仪

1. 紫外灯;2. 注射系统;3. 石英玻璃罩;4. 导管;5. 转动轴;
6. 氮气入口;7. 出口管;8. 转子;9. 入口;10. 输液泵

## 2.1 Chromatotron 色谱仪

旋转圆盘为倾斜的,核心部分是一直径为 24cm、铺有吸附剂的玻璃圆盘,圆盘及其组件如图 5-17 所示。

### 2.1.1 旋转薄层的制备

常用硅胶为吸附剂,为防止薄层开裂常加石膏 G 或羧甲基纤维素钠为黏合剂。

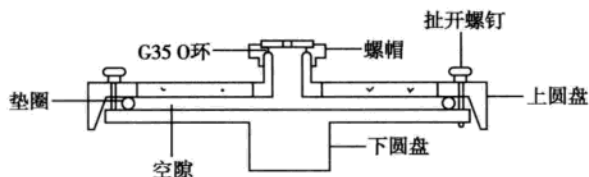


图 5-17 分离圆盘组件

在多数情况下,旋转薄层应用硅胶制备 2mm 厚的薄层。将薄层色谱硅胶 60F<sub>254</sub> (60g), 加石膏 ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 8g, 加水 110ml, 剧烈振摇 30s。将混合物倾倒在载体玻璃板上, 使之旋转向四周扩散, 最后形成一层均匀的薄层。在板四周可加一防护带, 防止吸附剂流出板边缘。

室温干燥过夜后, 置烘箱 60 ~ 70℃ 烘 1h (有报道 110℃ 烘 0.5h)。冷却后, 用固定于中心的刮离器, 将吸附剂表面刮平, 在中央留一空白处, 用以倒入洗脱剂。

### 2.1.2 层析过程

将圆形制备板(厚度不同: 1、2、4mm)用螺丝固定在电动机轴心上, 以 800r/min 的速度转动。输液泵输出量为 1 ~ 10ml/min。将洗脱液加至吸附剂中央空白处。通过离心力作用, 使洗脱液流经薄层板。先用洗脱液冲洗薄层板, 其目的是除去吸附剂中的杂质, 随后按下列两种操作方式进行洗脱: ①直接加入样品洗脱; ②干燥后加入样品, 然后开始洗脱, 流速 3 ~ 6ml/min。

圆形色谱板上展开的圆形色谱带可借紫外灯检出, 覆盖的石英玻璃不妨碍紫外光穿过。有时可持续将氮气通入色谱室中, 以防洗脱液聚结和样品被氧化。

加入样品后, 随洗脱液的洗脱, 可得到各组分浓缩的同心圆状色谱, 通过肉眼可直接观测到, 见图 5-18。

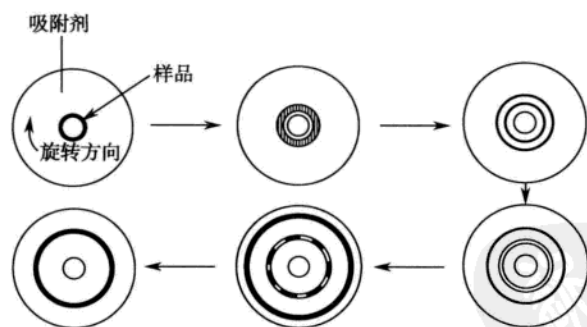


图 5-18 离心液相层析分离程序

在色谱板边缘, 色带快速脱离色谱板, 流出管外, 从而能选择性地收集。

### 2.1.3 色谱条件的选择

用硅胶作吸附剂时, 洗脱剂的选择: 一般要求将分析薄层色谱条件的  $R_f$  值调至 0.5 以下, 否则将相同洗脱溶剂用于离心薄层时, 洗脱速度太快。实验证明一个 2mm 厚的薄层, 可分离 50 ~ 500mg 的混合物。可应用梯度洗脱法, 提高产品洗脱分离速率。

## 2.2 日立 Hitachi CLC-5 型离心薄层色谱仪

使用之前,先将吸附剂与洗脱剂混合物加到两块直径为 30cm 的水平薄板之间。离心使过量溶剂排出,然后将样品混合物加到仍潮湿的吸附剂薄层上,采用常规法进行色带洗脱。与 Chromatotron 色谱仪相比,当所用吸附剂厚度相同时,两者具有相同的载样量。但 Chromatotron 色谱仪所用吸附剂厚度不能超过 4mm,而 Hitachi CLC-5 型离心薄层色谱仪可允许装入更厚的吸附薄层(4~6mm)。

离心薄层除吸附层析可使用普通薄层色谱用硅胶、氧化铝外,还可用离子交换、分子筛(葡聚糖凝胶)层析,制板方式与普通薄层板相似。该方法对  $\Delta R_f$  值较大的两成分分离效果较好,对  $\Delta R_f$  值较小者,分离效果差。

该方法仅适用于少量样品的分离( $<1\text{g}$ ),不适合于大量样品的分离。对于天然产物成分的分离,效果不佳。

圆形旋转薄层板处理后,可反复使用。

## 3 应用实例

已有很多关于离心薄层色谱用于分离、制备、合成反应中间体和反应产物以及用于天然产物分离的报道。早在 1979 年,Derguini 等用厚度为 1cm 的硅胶板成功分离了两个差向异构体 1 和 2(图 5-19)。利用 Chromatotron 色谱仪进行分离的回收率为 90%,而利用一般制备薄层分离的回收率为 80%。我国学者陈淑凤等在 1982 年曾利用 Chromatotron 色谱仪对载体激素类化合物及其异构体进行了成功的分离。

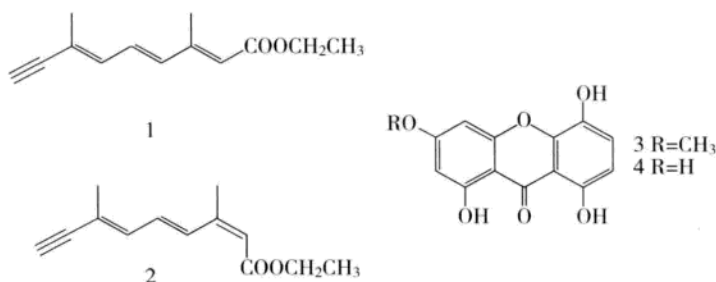


图 5-19 化合物 1、2、3、4 结构示意图

1980 年,Hostettmann 等报道将龙胆科植物 *Gentiana strictiflora* 的甲醇提取物用酸水解得到 3 和 4 两个化合物(图 5-19),采用离心薄层色谱分离,以氯仿-甲醇为洗脱剂进行梯度层析,在不到半小时内,可将 3 和 4 两个化合物分离,而应用相应常压聚酰胺柱层析分离则至少需要 12h。更多的分离实例请参阅 Hostettmann 编写的《制备色谱技术》(北京:科学出版社,2000 年)。

## 第四节 制备型加压薄层色谱

传统的制备型薄层色谱是靠毛细作用推动展开剂将样品展开的。离心薄层则是靠离心力的作用,使流动相加速流动。制备型加压薄层色谱(preparative overpressure layer chroma-

tography, OPLC), 则是靠外压作用使展开剂强制性流动的一种技术。

由于 OPLC 采用更细的吸附剂、更长的色谱板, 因而分离效果更好。所用时间短, 扩散效应相对减少。OPLC 可分为两种情况: 非全程的加压薄层(off-line OPLC) 和全程的加压薄层(on-line OPLC)。

## 1 制备型非全程加压薄层

该方法是 Tyihak 等 1979 年设计的一种加压板层析技术。该法吸附剂由一层塑料膜完全覆盖, 在外压下使蒸气相消失。即分离是在安全、封闭的体系中进行的。其分离展开可以透过仪器展开室玻璃窗观察到。流动相到达薄板前沿后, 撤去压力, 打开展开室, 取出薄层, 供分析或分离制备用。该过程为非全程 OPLC, 其操作与 PTLC 完全一样。

## 2 制备型全程加压薄层

该技术是在非全程加压薄层技术的基础上发展起来的。即将薄层板完全封闭起来, 洗脱液流经监测器, 并自动收集各流分。

### 2.1 加压层析板

OPLC 需要特殊的预制板(硅胶 60F<sub>254s</sub>, 板厚 2mm), 刮去四周边缘的吸附剂 3mm, 使成斜边缘。将暴露的玻璃板边缘和吸附剂的边缘浸入聚合物混悬液中, 室温干燥数小时。聚合物形成一层膜附着于板上。当洗脱剂在压力下展开时, 聚合物与板上的一层塑料薄膜紧密结合, 防止溶剂向四周渗漏, 形成封闭的体系, 产生一平面薄层柱。在板的两端各挖一条 0.5mm 宽的通道, 让洗脱液流进和流出。层析板的制备如图 5-20 所示。

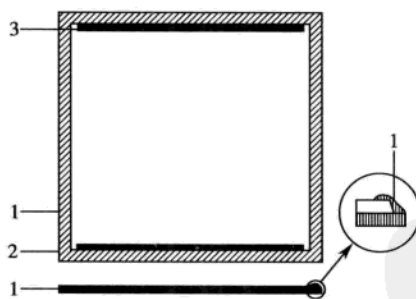


图 5-20 层析板的制备

1. 聚合物混悬液; 2. 流入通道;
3. 流出通道

### 2.2 加样与层析

加样后将层析板放入层析缸, 溶剂出入口应接在出入通道上, 否则流动相不能均匀分布, 然后在板上铺一层聚四氟乙烯膜。加压前, 关闭溶剂阀, 使溶剂的压力达到一定值, 打开阀门, 让溶剂在通道上分布, 流动相均匀流过薄层全程, 从输出通道流出, 经过检测器完成收集, 见图 5-21。

### 2.3 常用仪器

包括匈牙利 Labor-MIM 公司生产的 Chrompress 10 型和 25 型, 波兰华沙 Cobrabid 公司生

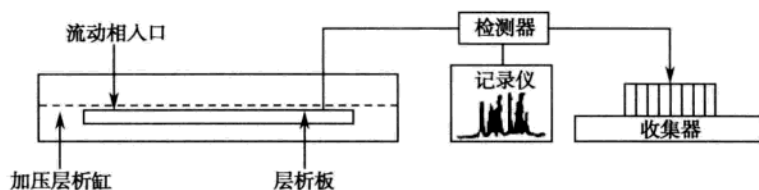


图 5-21 制备型全程加压板层析流程图

产的 KB 5121、5125 和 5129 型。

本法可分离 50mg ~ 0.5g 样品。两种化合物的分离仅需 1h, 较复杂成分的分离也仅需几个小时。

### 参 考 文 献

1. K. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术——在天然化合物分离中的应用. 北京: 科学出版社, 2000.
2. 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1997.
3. 袁黎明. 色谱技术丛书, 制备色谱技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2005.
4. 孙毓庆. 分析化学. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
5. 宋航. 药学色谱技术. 北京: 化学工业出版社, 2007.
6. 何丽一. 平面色谱方法与应用. 北京: 化学工业出版社, 2000.
7. 周同辉. 纸色谱与薄层色谱. 北京: 化学工业出版社, 1989.
8. 章育中. 薄层色谱法与薄层扫描法. 北京: 中国医药科技出版社, 1990.
9. Bidlingmeyer BA. Preparative Liquid Chromatograph. Amsterdam; Elsevier, 1987.
10. Stahl E. Thin Layer Chromatograph. 2<sup>nd</sup> Ed. Springer Verlag/Academic Press, 1969.





## 第六章

# 常压柱色谱分离制备技术

柱色谱分离与薄层色谱类似,是靠洗脱剂把分离的各组分逐个洗脱下来的过程,故也称洗脱色谱。由于色谱柱填充料的量远远大于薄层板,因而柱色谱可用于分离比较大量(克数量级)的物质,而薄层色谱分离量比较小,一般在毫克数量级。所以作为较大量制备分离,柱色谱优于薄层色谱。在柱色谱分离过程中,一般利用薄层色谱摸索柱色谱的分离条件,利用薄层色谱鉴定、分析和分段收集洗脱出的洗脱液中的成分。

与薄层色谱相同,柱色谱分离技术按色谱原理可分为:吸附柱色谱、分配柱色谱、离子交换柱色谱、分子排阻柱色谱、亲和柱色谱等。利用欲分离的混合物中各组分在吸附剂和洗脱剂之间被吸附、分配、体积大小、离子交换等性质的不同,而得以相互分离。化合物被吸附、分配、交换的这种作用越强,该化合物溶解在洗脱剂中的量就越少,沿洗脱剂移动的距离则越小;反之,就越多。

实验室常用的柱色谱有:以硅胶和氧化铝为吸附剂的吸附柱色谱;以硅胶、纤维素和聚酰胺为载体(支持剂),并靠载体吸收较大量的液体作为固定相的分配色谱;以葡聚糖凝胶为固定相的分子排阻柱色谱;以离子交换树脂为固定相的离子交换柱色谱以及以分子间相互亲和力和为分离依据的亲和柱色谱等。

### 第一节 吸附柱色谱

本节主要介绍以硅胶为吸附剂的吸附柱色谱的操作技术,因为硅胶吸附柱色谱在有机化合物分离和制备中的实际应用相对广泛。氧化铝吸附柱色谱技术也较广泛,其他如活性炭、聚酰胺吸附柱色谱技术的应用则相对较少。有关硅胶和氧化铝等吸附柱色谱的原理已在制备薄层分离技术中详述,这里着重介绍其操作过程。

#### 1 色谱柱的制备

色谱柱的大小,取决于被分离样品的量和吸附剂的性质,要根据实际应用而定。色谱柱的一般规格是:柱的长度为其直径的20~30倍。

##### 1.1 玻璃色谱柱

用前洗净,干燥。柱底铺一层玻璃丝或者脱脂棉(有砂芯者一般不需要加),然后放一层(2cm左右)海砂(sea sand,也称石英砂)。

在色谱柱底部的玻璃丝、脱脂棉或砂芯上添加海沙的目的:主要是防止后来添加的粒度较小的硅胶或氧化铝吸附剂堵塞玻璃丝、脱脂棉或砂芯,从而影响后面的洗脱过程,即影响洗脱剂的流动速率。

## 1.2 装柱

常压柱色谱装柱方法有两种:干法装柱和湿法装柱。所用吸附固定相一般为硅胶和氧化铝,粒度要求 100~160 目或 160 目以上(如 200~300 目硅胶)。吸附剂粒度越小,分离度越大,但洗脱速度越慢。 $R_f$  值相差较大时,应用 100~160 目硅胶,每克硅胶可上样 30mg 样品(即分离 1g 样品需要约 33g 硅胶),更多的情况下每克硅胶可上样 10mg 样品(即分离 1g 样品需要 100g 硅胶)。应用氧化铝时,粒度要求 100~150 目,分离 1g 样品需要 20~50g 氧化铝。

(1) 干法装柱:于上述准备好的玻璃柱子上端放一漏斗,直接加入硅胶,轻轻敲打色谱柱,或上下振动色谱柱,使填充均匀,再加一层海沙,然后加入洗脱剂,使硅胶润湿(溶剂化),必要时加压或减压以除去气泡,加速溶剂化速度。溶剂化后的硅胶柱应均匀、透明。

(2) 湿法装柱:将吸附剂硅胶与一定量的洗脱剂调成悬浆状,快速倒入柱管中,打开活塞,使溶剂慢慢流出,吸附剂慢慢下降而均匀沉入色谱柱底。

吸附剂填料完毕,一般再在上面覆盖 1~2cm 厚的海沙。无论干法或湿法装柱都要均匀,不能有裂缝,不能使柱子流干,应使洗脱剂与海沙平面相齐,否则将会出现气泡或裂缝。色谱柱的填充示意如图 6-1 所示。

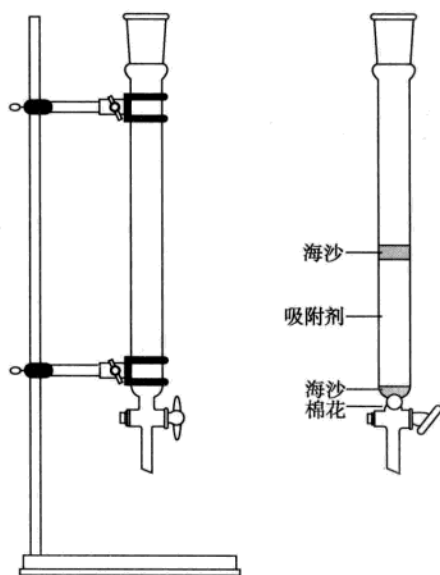


图 6-1 色谱柱的填充

## 2 样品的制备与上样

### 2.1 被分离混合物样品为液体

将其中的极性溶剂用旋转蒸发仪尽可能地去除后,加入少许流动相稀释。

将海沙上面的多余洗脱剂放出,直到柱内液体表面降至吸附剂表面时,停止放出洗脱剂。将样品溶液用滴管或漏斗沿柱子内壁直接加入柱中。样品稀释要尽可能地小,然后用最少量的流动相洗涤器皿与色谱柱内壁,洗涤完毕,打开活塞,使液体渐渐放出,液面降至海沙上端时,开始加入洗脱剂洗脱。

### 2.2 被分离混合物样品为极性较小的固体

(1) 尽可能使样品溶于流动相溶剂中。但应注意,样品在流动相中的溶解度一般较小。如果样品体积太大,分辨能力就会降低。另一方面,如果样品浓度过高,就可能在柱顶部形成沉淀。

(2) 可选择极性较小的溶剂将样品溶解后上柱。可选用的溶剂包括  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 、 $\text{CCl}_4$ 、甲

苯、环己烷、石油醚等。

总之溶剂极性不能比洗脱剂极性大,否则将影响层析行为和分离效果或导致分不开。极性小的溶剂一般是指在溶剂极性顺序中,极性小于二氯甲烷的溶剂;另外,溶剂量不能太多,以近饱和为宜。

### 2.3 被分离混合物样品为难溶性固体

可选择极性大的溶剂溶解样品。如氯仿、丙酮、乙醇、甲醇、四氢呋喃、吡啶,避免使用DMSO、DMF等沸点较高的溶剂。然后加入适量的硅胶于溶剂中(1份样品+约5份柱填料),用旋转蒸发器减压蒸去溶剂,将样品均匀地涂布在固定相表面上,然后通过漏斗装于柱子上端。

旋转蒸发时,一定要加防爆球,以防样品硅胶暴沸。

## 3 洗脱与分离

### 3.1 洗脱剂的选择

洗脱剂的选择应以薄层色谱检测为依据,被分离物质的最佳 $R_f$ 值应在0.2~0.5范围内。被分离的2个点之间的 $\Delta R_f$ 值应尽可能地大,越大越好,最小应不小于0.1,否则分离效果差或难以分离。

### 3.2 洗脱剂应保持一定高度

洗脱剂应不断加入,保持一定高度,可加一储液烧瓶,以免流干。洗脱过程如图6-2所示,色谱柱上的溶剂贮存器如图6-3所示。

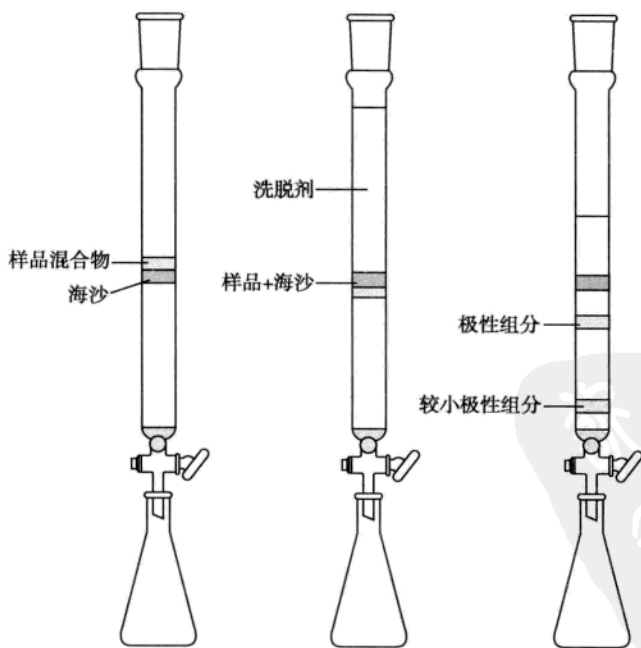


图 6-2 洗脱过程示意图

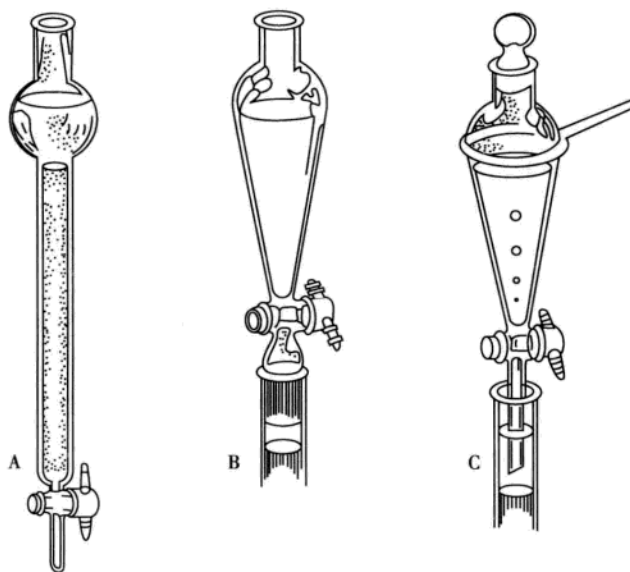


图 6-3 色谱柱上的各式溶剂贮存器

- A. 直接带有贮存器的层析柱; B. 柱上端接磨口漏斗;  
C. 柱上端置放普通漏斗

### 3.3 洗脱液收集

洗脱液采用等份法收集,例如 5、10、20、30 或 50ml 为 1 份,根据分离样品多寡而定。可用小试管或小三角烧瓶收集。

### 3.4 控制洗脱液流出速度

洗脱液流出速度不能太快,否则柱中交换来不及平衡,影响分离效果。一般以 1~2 滴/秒为宜。

### 3.5 洗脱液薄层色谱检测与合并

将每一个小烧瓶(或试管)按编号点样于薄层板上,用相同的洗脱剂展开,将  $R_f$  值相同者合并,经旋转蒸发仪浓缩、蒸干。洗脱液中样品的薄层色谱(TLC)检测如图 6-4 所示。

### 3.6 样品纯化

经洗脱分离、蒸发浓缩所得到的样品往往还掺杂着许多杂质,此时的样品难以达到波谱分析的要求,更不可能对其进行元素分析,所以需要进一步蒸馏或重结晶等处理,方可得到纯净的样品组分。

## 4 注意问题

(1) 吸附剂表面加入海沙的目的是使加料时不至于把吸附剂冲起,影响分离效果。若无

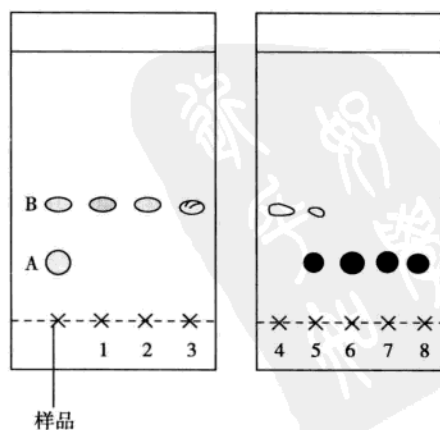


图 6-4 洗脱液的 TLC 检测

海沙,也可用玻璃纤维。

(2) 层析法中最关键性的操作之一就是装柱(向柱内填充吸附剂)操作。固体吸附剂如硅胶、氧化铝等填充料,在充填时必须装得非常均匀,绝不可装得不整齐、出现空气泡、存在隙缝等。因为一个化合物沿着柱子下行时,这些情况可能会导致前沿谱带的异常。

1) 化合物谱带最前面的边缘或称前沿应是水平的,或者说应是垂直于柱的长轴的。如果填充料填充得不平,或柱子未被夹持在两个平面中(即前-后,左-右两个平面)完全垂直的位置,第二条谱带最前面的边缘在第一条谱带洗脱完毕之前就将被洗脱,那么想分离每一组分是不可能的。这点可在图 6-5 中看出。

2) 若吸附剂表面有任何不平整性,或在填充料中有任何不平整性或空气泡时,那么谱带前沿的一部分就会从谱带的主体部分向前伸出,此时发生的现象称为流动或称沟流。于是正在往前推进的前沿的一部分就利用这种沟流越过其他部分而超前,从而使分离变得困难。两种沟流现象见图 6-6。

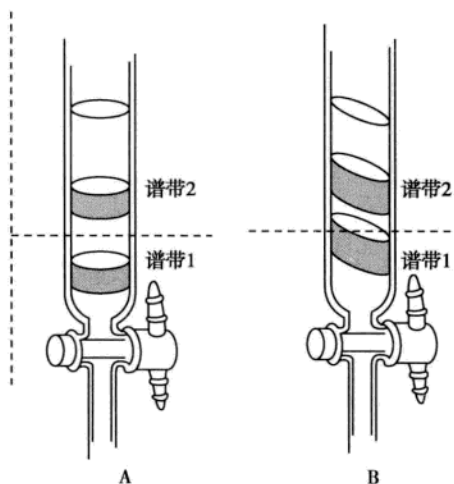


图 6-5 水平的(A)和非水平的(B)谱带前沿的对比

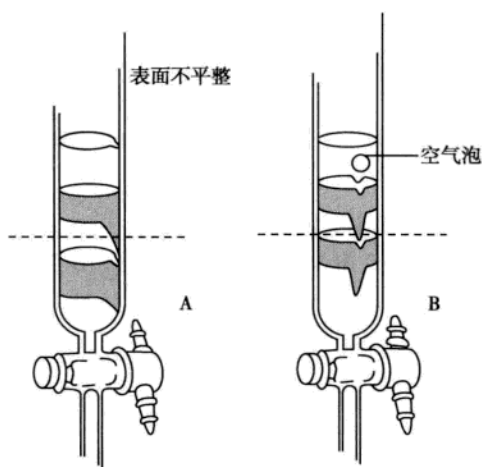


图 6-6 表面不平整(A)或空气泡(B)造成的沟流

(3) 无论用哪种方法上样,上样的体积必须保持最小,否则会使色谱柱中的样品柱塞得太长,造成本来可以分开的成分部分重叠,甚至根本分不开。

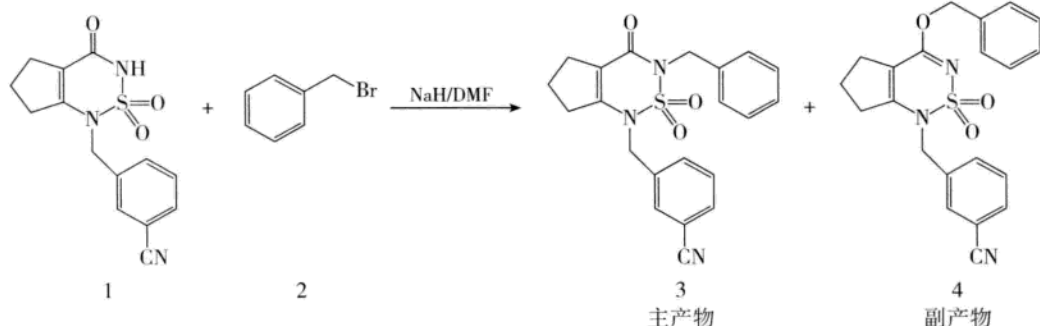
与硅胶吸附色谱技术相比,氧化铝吸附色谱因氧化铝吸附能力通常高于硅胶,因此非常适合于一些亲脂性成分的分离,而且其载样量较硅胶柱大。

活性炭吸附色谱中活性炭的吸附能力和吸附量都特别大。活性炭在水溶液中的吸附能力最强,在有机溶剂中的吸附力较弱。在一定条件下,对不同物质的吸附力也不一样,通常其对极性基团多的化合物的吸附力大于极性基团少的化合物,对芳香族化合物的吸附力大于脂肪族化合物,对分子量大的化合物的吸附力大于分子量小的化合物。活性炭吸附柱色谱特别适合于分离水溶性物质,如氨基酸、糖类以及苷类化合物。

聚酰胺吸附柱色谱主要靠氢键的吸附作用实现对样品的分类,有较高的样品载量,是分离黄酮、酚类、酸类、醌类等物质的有效方法。

## 5 硅胶吸附柱色谱制备实例

环戊烷并噻二嗪类衍生物异构体的分离与制备:取代噻二嗪类衍生物具有抗病毒活性,其衍生物合成如下述反应方程式所示:单取代环戊烷并噻二嗪(化合物1)与苄基溴反应,生成两个同分异构体(化合物3和4)。薄层板中存在  $R_f$  值分别为 0.3 和 0.2 (乙酸乙酯:石油醚 = 4:1) 的两个点,可用硅胶吸附柱色谱法进行分离和制备。



色谱柱的制备:实验选用玻璃色谱柱,以硅胶(200~300目)为填充剂。

流动相:乙酸乙酯:石油醚(4:1)作为洗脱剂。

样品处理:将混合物溶于乙酸乙酯中,加入5倍量的硅胶,于旋转蒸发仪上减压蒸干,加入柱子上端,进行常压柱层析。

洗脱与收集:每流出20ml用试管收集一次,取各试管中的溶液点板,将  $R_f$  值相同的各管溶液分别合并,减压蒸除溶剂,分别得到两个化合物粗品。经进一步重结晶纯化,结构经光谱分析确证。

## 第二节 分配柱色谱

前已述及,分配柱色谱的基本原理是利用混合物中各成分在两种不相混溶的液体之间的分配系数不同,而得到分离的方法。组分在流动相(洗脱液)与液体溶剂(固定液相)间的分配服从液-液萃取的平衡关系,也称液-液分配柱色谱,相当于一种萃取分离。

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}} = \frac{C_s}{C_m}$$

固定液相是被一种多孔惰性固体(称为“支持剂”、“载体”或“担体”)吸附而固定着的溶剂相。

分配柱色谱的类型有正相分配色谱和反相分配色谱之分。正相分配色谱以水或亲水相为固定相,以与水不相混溶的有机相为流动相。正相分配色谱通常用于分离水溶性或极性较大的成分,如生物碱、苷类、有机酸等化合物;固定相多采用强极性溶剂(如水、乙醇和缓冲溶液等),流动相则用弱极性有机溶剂(如氯仿、乙酸乙酯、丁醇等)。反相分配色谱以亲脂性有机溶剂为固定相,以水或亲水性溶剂作流动相。反相分配色谱通常用于分离脂溶性或极性较小的成分,如高级脂肪酸、油脂、甾体类等物质。

分配柱色谱的操作与一般吸附柱色谱的操作基本相同。

## 1 色谱柱的制备

### 1.1 支持剂的选择

分配色谱中使用得最多的多孔支持剂仍是硅胶,除此之外,还可以使用硅藻土、纤维粉等。

**含水硅胶:**硅胶既可作吸附剂又可作载体,当硅胶含水量在 17% 以上时其吸附能力下降或失去吸附作用,即可作为支持剂用。硅胶能吸收本身质量 50% 的水而仍呈不显潮湿的粉末状。

**反相硅胶:**分配色谱的填料,是由普通硅胶经硅烷化修饰,键合上长度不同的烃基,使硅胶由亲水性表面转变为亲脂性表面而成的。

**硅藻土:**硅藻土可吸收与其质量相当的水而仍呈粉末状,且几乎无吸附能力,是优良的支持剂。

**纤维素粉:**能吸收本身质量的水,仍呈粉末状。

### 1.2 固定液相选择

若被分离物质为亲水性成分,应选择正相分配色谱法,固定液相常选用水或水溶液(酸、碱、缓冲溶液等)、甲醇、甲酰胺、二甲基甲酰胺等。若被分离物质为亲脂性成分,应选择反相分配色谱法,固定液相常选用液状石蜡、硅油、石油醚等。

### 1.3 固定相的涂渍

将选好的支持剂与预先据被分离物质性质选定的固定相溶剂放在烧杯内,均匀搅拌。然后在布氏漏斗上抽滤,除去多余的固定相。

在固定相制备过程中,载体与固定相溶剂的比例常为 1: (0.5 ~ 1),即色谱分离时载体上有相当于本身重量 50% ~ 100% 的固定相溶剂,因为固定相溶剂在载体表面附着的量越多,其样品容量就越大,也就越有利于制备性分离;但如果固定相溶剂的量太高,又会使固定相溶剂在载体上的附着稳定性产生问题。

固定相涂渍的整个过程中要防止载体的破裂、固定相颗粒的团聚以及涂渍的不均匀等问题。

### 1.4 装柱

在分配色谱中,固定相多采用湿装柱法装入,溶剂一般用流动相。将上述抽滤后的固定相再倒入选好的流动相溶剂中,剧烈搅拌,使两相互饱和和平衡。先向色谱柱中加入已用固定相饱和过的流动相,再将载有固定相的支持剂按湿法装入柱中。这样可以避免装柱过程中流动相冲掉或损坏固定相表面的固定液薄层。

## 2 上样

### 2.1 样品的溶解处理

样品的上样根据具体的情况也采用不同的形式:

(1) 如果样品能溶于流动相溶剂中,可直接利用流动相溶解样品,加入柱顶进行洗脱。

(2) 如果样品难溶于流动相而易溶于固定相溶剂,则可用少量固定相溶解样品,利用载体吸附,然后装于柱顶,再冲洗。

(3) 如果样品在两相中的溶解度均不大,则将其溶于适当溶剂,附着于干燥的载体上,减压蒸发掉溶剂,再加入 50% ~ 100% 的固定相混合均匀再上柱。

## 2.2 上样

样品溶解处理后,按上述方法上样。分配柱色谱上样量比吸附柱色谱少,样品量:支持剂量为 1:100 ~ 1:1000。

## 3 洗脱

### 3.1 洗脱剂的选择

洗脱剂的选择通常是利用分配薄层色谱进行优化而选定。经验表明,当分配比为 0.1 ~ 0.2 时分配色谱的分离效果较好。如果分配比太大,则样品很快从柱中洗脱,分离效果较差;如分配比太小,则样品在柱中的移动速度太慢,使分离时间加长、溶剂使用量增多,流出的组分浓度很低,甚至不经过浓缩就难以检测。

在正相分配色谱中,洗脱剂常选用石油醚、正己烷、苯-氯仿、氯仿、氯仿-乙醇、乙酸乙酯、正丁醇、异戊醇等。洗脱时,先选择亲脂性强的溶剂进行洗脱,再逐渐降低洗脱剂的亲脂性进行梯度洗脱。

在反相分配色谱中,洗脱剂常选用水、甲醇、乙醇等。洗脱时先选择亲水性强的溶剂进行洗脱,再逐渐降低洗脱剂的极性进行梯度洗脱。

在实际操作中,洗脱剂的选择可根据参考书提供的溶剂体系进行调整和完善。一些常用的分配色谱溶剂系统见表 6-1。

表 6-1 一些常用的分配色谱溶剂系统

待分离物	固定液	洗脱剂
水溶性生物碱	水或磷酸缓冲液 磷酸缓冲液	丁醇 乙酸乙酯
苷类	水 水	氯仿或乙酸乙酯 乙酸乙酯
酚类化合物	水	环己烷
有机酸	0.025mol/L 硫酸 磷酸缓冲液	环己烷-氯仿 氯仿-乙醚
甾体化合物	水 正丁醇 乙二醇 甲酰胺	石油醚 环己烷 甲苯 异丙醚

### 3.2 洗脱

洗脱方法与吸附柱色谱相同,但必须注意:用作流动相的溶剂一定要事先以固定相溶剂饱和,否则在色谱分离过程中,当大量流动相通过支持剂时,会把支持剂上的固定相逐渐带走,破坏两相平衡,影响分离效果。

由于分配柱色谱中,待分离样品在两相溶剂中的分配系数受温度的影响较大,所以操作



时要保持恒定的操作温度,以保证得到良好的分离结果。

#### 4 分配柱色谱应用实例

地高辛(即异羟基洋地黄毒苷, Digoxin)的分离。地高辛为中效强心苷,临床用于充血性心力衰竭、室上性心动过速、心房颤动和扑动的治疗。毛地黄次生苷总苷中含有多种异构体,包括洋地黄毒苷(Digitoxin)、羟基洋地黄毒苷(Gitoxin)、异羟基洋地黄毒苷(Digoxin)等多种单体。因强心苷类极性较大,故可用分配柱色谱法对地高辛进行纯化和制备。

色谱条件:支持剂选用国产层析硅胶,80~100目,用量为分离样品的100倍,加2/3量的水(预先以乙酸乙酯饱和)调匀,再以乙酸乙酯(水饱和)浸泡,调成稀糊状,湿法装柱。洗脱剂选用水饱和的乙酸乙酯(含0.5%甲醇)。

样品上样与洗脱:取毛地黄次生苷总苷与1~2倍量硅胶磨匀,加入柱顶,用配制的洗脱剂洗脱,按等体积分次收集,各流分均作纸色谱及薄层色谱(硅胶G硬板)检查,把比移值相同的流分合并,减压蒸干,以甲醇结晶,可得以上3种单体。

### 第三节 离子交换柱色谱

离子交换柱色谱法利用固定在色谱柱中的离子交换树脂上的功能基团所带的可交换离子,与其性质相近的外围离子进行可逆的反复交换,由于不同的离子在树脂上的交换能力不一样,因而使得被分离离子在色谱柱中随着流动相移动的速度也不同,由此可使一个复杂的离子混合物得到分离。交换能力弱的离子,移动速度快,保留时间短,先流出色谱柱;交换能力强的离子则相反。离子交换柱色谱法适合于分离离子型化合物或可在一定条件下产生离子的化合物。

#### 1 离子交换树脂的分类

离子交换树脂是具有网状结构的高分子聚合物,性质稳定,与酸、碱、有机溶剂、弱氧化剂不反应,对热较稳定。最常见的离子交换树脂为聚乙烯型离子交换树脂,它是在以苯乙烯为单体的球形网状结构中引入可被交换的活性基团而制成的。如在骨架中的苯环上,可以通过磺化反应制备强酸性阳离子树脂,通过磷酸化反应制备磷酸阳离子树脂;通过氯甲基化作用,再与各种胺反应,从而得到各种阴离子树脂。

少数离子交换树脂是聚丙烯酸类树脂,丙烯酸或甲基丙烯酸及其甲酯类可以与二乙烯苯或甲基丙烯酸乙二醇酯等交联剂进行悬浮共聚反应,得到性能良好的骨架结构。该骨架通过水解、胺解等功能基团反应后,可以制得弱酸性阳离子树脂及各种阴离子树脂。

##### 1.1 阳离子交换树脂

阳离子交换树脂根据引入酸性基团的不同,可分为强酸型、中强酸型以及弱酸型3种类型:强酸型阳离子交换树脂中的交换基团是磺酸( $-\text{SO}_3\text{H}$ )、中强酸型阳离子交换树脂的交换基团是磷酸( $-\text{PO}_3\text{H}_2$ )、弱酸型阳离子交换树脂的交换基团是羧酸( $-\text{COOH}$ )或酚性羟基( $-\text{OH}$ )等酸性基团,其基本结构见图6-7。

这些基团上的氢离子可被样品溶液中的阳离子交换,如NaCl与强酸型阳离子交换树脂

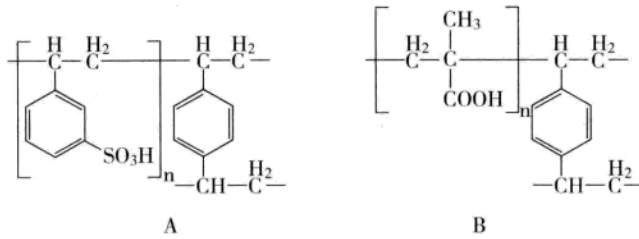
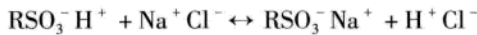


图 6-7 阳离子交换树脂结构

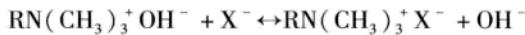
A. 聚苯乙烯类强酸型阳离子交换树脂结构; B. 聚丙烯酸类弱酸型阳离子交换树脂结构

的交换反应为:



### 1.2 阴离子交换树脂

阴离子交换树脂根据引入碱性基团的不同,可分为强碱型和弱碱型阴离子交换树脂。强碱型及弱碱型阴离子交换树脂中的交换基团可分别是季铵、伯胺、仲胺、叔胺等碱性基团。强碱型阴离子交换树脂一般为聚苯乙烯树脂在骨架的苯环上连接有季铵作为离子交换的活性基团 $[\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-]$ ,交换反应为:



交换反应是在 $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$ 中的 $\text{OH}^-$ 与被分离的阴离子之间进行的。由于 $\text{OH}^-$ 型比 $\text{Cl}^-$ 型耐热性差,超过 $40^\circ\text{C}$ 就不稳定,所以一般商品都以 $\text{Cl}^-$ 型销售。基本结构见图 6-8。

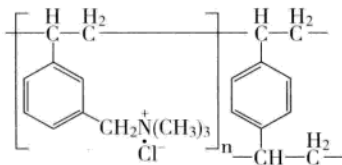


图 6-8 强碱型阴离子交换树脂结构

弱碱型阴离子交换树脂通常也为聚苯乙烯型树脂,母核上连有许多 $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{NH}$ 、 $\equiv\text{N}$ 等伯、仲、叔胺基,交换反应是在氨基上进行的。

### 1.3 离子交换树脂性能

离子交换树脂的性能常用交联度、交换容量和树脂粒度 3 个指标来衡量。

(1) 交联度(degree of cross linking):表示离子交换树脂中交联剂的含量,通常以质量分数表示。二乙烯苯常用作合成聚苯乙烯型树脂的交联剂。交联度就是合成树脂时,二乙烯苯在原料总质量中所占的百分比。例如上海树脂厂生产的聚苯乙烯强酸型阳离子交换树脂,产品型号为 732(强酸 $1 \times 7$ ),其中 $1 \times 7$ 即表示交联度为 7%。

交联度与树脂的孔隙大小有关,交联度越大,网孔越小,形成的网状结构质地紧密,在水中不易膨胀;交联度越小,网孔越大,形成的网状结构质地就疏松,在水中易膨胀。离子交换树脂的交联度要适中,交联度太大,树脂网孔太小,将影响溶液离子扩散,降低离子交换速度,也会影响交换容量。

(2) 交换容量(exchange capacity):表示每克干树脂所含活性交换基团的物质的量。用 $\text{mmol/g}$ 表示。它反映了树脂与某离子交换能力的大小。以强酸型阳离子交换树脂 $1 \times 7$ (732型)为例,其交换容量为 $4.5 \text{mmol/g}$ ,故对相对分子质量为 89.09 的丙氨酸来说,1g 上

述阳离子交换树脂,理论上应能交换 $(89.09 \times 4.5)$ mg 丙氨酸。树脂的交换容量一般为 $1 \sim 10\text{mmol/g}$ ,实际的交换容量受交联度和溶液 pH 的影响,一般低于理论值。

(3) 粒度:表示离子交换树脂颗粒的大小。商品合成树脂大部分被制成珠状,一般是以溶胀状态所能通过的筛孔来表示。用于不同分离和制备目的的树脂,粒度要求不同。

一些国产离子交换树脂的规格和性能可参见相关参考书和手册。

## 2 离子交换柱色谱的操作

### 2.1 树脂的预处理与转型

商品化的树脂为干树脂,使用前要进行预处理,一般先用水浸泡使之充分溶胀,再用酸或碱除杂质。通常阳离子交换树脂用稀盐酸浸泡,转为 H 型;阴离子交换树脂用稀氢氧化钠溶液浸泡,转为 OH 型。

具体操作:首先把新树脂在蒸馏水中浸泡 $1 \sim 2$ 天,使它溶胀后分别按以下方法处理:

(1) 强酸型和弱酸型阳离子交换树脂的商品树脂一般是 Na 型。处理时,用树脂体积 4 倍量的 5% 盐酸搅拌 $4 \sim 5\text{h}$ 进行交换,使之变为 H 型后除去酸液,用水洗至中性。然后用树脂体积 4 倍量的 5% 氢氧化钠(或氯化钠)溶液进行交换,使它变为 Na 型,除去氢氧化钠(或氯化钠)溶液后,再用水洗到流出液不含  $\text{Na}^+$  为止。必要时可重复 $1 \sim 2$ 次上述处理操作。最后用树脂体积 6 倍量的 5% 盐酸进行交换,使它变为 H 型,倒出酸液后用蒸馏水洗到中性为止。

(2) 强碱型和弱碱型阴离子交换树脂的商品树脂一般是 Cl 型。先用树脂体积 4 倍量的 5% 氢氧化钠溶液使它变为 OH 型,除去碱液,用水洗至中性。然后用树脂体积 4 倍量的 5% 盐酸使它变为 Cl 型,倾去酸液后再用水洗到近中性为止。必要时可重复上述处理操作 $1 \sim 2$ 次。最后用树脂体积 6 倍量的 5% 氢氧化钠溶液进行交换,使它变为 OH 型。OH 型树脂最好现用现制备,因为它容易吸收空气中的二氧化碳。

### 2.2 树脂的选择

树脂的选择主要考虑被分离物质带何种电荷、解离基团的类型及电性强弱( $\text{p}K_{\text{a}}$ )。一般规律如下:

(1) 阴或阳离子交换树脂种类的选定:如果被交换的是阳离子,则用阳离子交换树脂;如果被交换的是阴离子,就用阴离子交换树脂。例如:被分离的物质是生物碱或无机阳离子时,选用阳离子树脂;如果是有机酸或无机阴离子时,则选用阴离子交换树脂。

(2) 被分离的离子吸附性强(交换能力强),应选用弱酸或弱碱型离子交换树脂,如用强酸或强碱型树脂,则由于吸附力过强而使洗脱再生困难;吸附性弱的离子,选用强酸或强碱型离子交换树脂,如用弱酸或弱碱型离子交换树脂则不能很好地交换或导致交换不完全。

(3) 被分离物质分子量大,选用低交联度树脂。分离生物碱、大分子有机酸及肽类,以采用 $1\% \sim 4\%$ 交联度的树脂为宜;分离氨基酸可用 $8\%$ 交联度的树脂;如制备去离子水或分离无机成分,可用 $16\%$ 交联度的树脂。

(4) 作柱色谱用的离子交换树脂,要求颗粒细,一般用 $200 \sim 400$ 目,也可用 $80 \sim 100$ 目;作提取离子性成分用的树脂,粒度可粗,可用 $100$ 目左右;制备去离子水的交换树脂可用 $16 \sim 60$ 目。树脂的选择还应考虑交换容量的大小。

总之,在树脂的选用过程中,既要重视离子的交换类型、交换强度、树脂的性能,还要重视离子的洗脱等多方面的综合作用。

### 3 装柱

离子交换用的柱子要耐酸碱,一般选用玻璃柱。树脂的填充是把树脂放在烧杯中,加水充分搅拌使气泡全部被除去。在色谱柱中先倒入一些水并在柱中保持一定高度,打开活塞,将准备好的树脂随着少量水在搅拌下慢慢填于色谱柱中,方法类似于湿法装柱,但所用溶剂是去离子水而不是有机溶剂。另外,与一般柱色谱类似,装柱时要防止起泡和分层现象的出现,装填要均匀。

### 4 加样与交换

离子交换色谱的上样量要根据每一种树脂的交换量进行确定。阳离子交换树脂,其交换量较大,样品量可加到整个柱交换量的 $1/2$ ;而阴离子树脂的交换量较小,一般只加到全交换量的 $1/4 \sim 1/3$ 。

将样品溶于水或酸、碱溶液,加入柱中,让溶液中的离子与树脂上的离子发生交换而附着在树脂上。为了使交换反应进行完全,一般将流速控制在 $1 \sim 2\text{ml}/\text{min}$ ,让样品溶液流完。用蒸馏水冲洗树脂柱,洗去残液后,再进行洗脱。

### 5 洗脱

在离子交换柱色谱中,常用的洗脱剂是酸、碱、盐的水溶液及各种不同离子浓度的缓冲溶液。如在阳离子交换树脂中经常用乙酸、枸橼酸、磷酸盐缓冲液,在阴离子交换树脂中常用氨水、吡啶等缓冲液。采用由挥发性有机酸(甲酸、乙酸)、碱(吡啶、2-甲基吡啶、三甲基吡啶、N-乙基吗啉)配成的缓冲液,有利于以后采用减压浓缩或冷冻干燥法将其除去。

洗脱液的选用要根据具体的待分离物质的性质进行确定,一般是用一种比吸附物更活泼的离子把吸附物替换出来。由于不同物质在离子交换柱中被吸附和被替换的能力不一样,因此在柱中移动的速度就有差异,容易交换的先流出来,这样就可以利用分步收集的方法来获得所需的单一物质成分。对于难替换的组分还可以采用梯度洗脱的方法加快它们的流出。

### 6 离子交换树脂的再生

离子交换树脂用过后可以再生重复使用。对于干燥状态的树脂,可先用饱和氯化钠溶液润湿,然后再生,这样可以防止其破裂。对阳离子交换树脂,按酸 $\rightarrow$ 碱 $\rightarrow$ 酸的步骤处理;对阴离子交换树脂,则按碱 $\rightarrow$ 酸 $\rightarrow$ 碱的步骤处理。如仍然要交换同一种样品,只要经转型处理即可。如阳离子交换树脂需转型,则用 $4 \sim 5$ 倍 $1 \sim 1.5\text{mol}/\text{L}$ 的氢氧化钠流经树脂,再用蒸馏水洗至中性即为Na型树脂;如需H型树脂,则用盐酸处理。阴离子交换树脂需用Cl型,用盐酸处理;需用OH型,则用氢氧化钠处理。不用时加水保存。一般保存时,阳离子交换树脂均要转为Na型,阴离子交换树脂均要转为Cl型。

## 7 影响离子交换的主要因素

### 7.1 流动相的酸碱度

离子交换剂可以简单地理解为一种高分子固体酸或碱。对于强型离子交换树脂, pH 对其交换能力影响不大, 而对弱型离子交换树脂的影响则非常显著, 因此溶液的酸碱度对离子的交换有很大的影响。通常强酸型阳离子交换树脂的流动相 pH 应大于 2, 弱酸型应大于 6; 而在阴离子交换树脂中, 强碱型交换树脂的流动相 pH 应小于 12, 弱碱型应小于 7。

### 7.2 样品浓度

离子交换操作大多数是在水溶液或含有水的极性溶剂中进行的。当样品浓度比较高时, 树脂的解离度会趋向减小, 有时会影响吸附顺序及选择性; 当样品浓度很高时, 会引起树脂表面、网孔的变化甚至改变, 阻止一些离子进出网孔, 使选择性发生较大变化。因此在可能的情况下, 一般倾向于使用稍稀的样品溶液, 此时分离的选择性较大, 有利于提取分离。

### 7.3 温度

温度对稀溶液的交换性能影响不大, 但当溶液浓度比较高时, 温度升高对水合倾向大的离子容易交换吸附。对于弱酸或者弱碱, 温度增高, 离子交换速度增大, 在洗脱时亦可提高交换能力。但有时温度太高, 又易引起树脂的破坏。

### 7.4 溶剂

离子交换色谱一般在水中交换, 并可加入一定量的极性溶剂改变其选择性。但如果极性溶剂加入过多, 又会使一些离子的交换难以进行或不进行交换, 致使选择性减小甚至消失。

## 8 离子交换色谱的应用实例

生物信息网(<http://www.biowww.com.cn/>)报道了用离子交换柱色谱法分离酵母 RNA 中核苷酸的实验。

### 8.1 基本原理

酵母 RNA 可被碱水解成 2'-或 3'-核苷酸。在一定条件下, 离子交换树脂对不同单核苷酸的吸附能力是不同的, 因此选择适当类型的离子交换树脂, 控制吸附及洗脱的条件便可分离各种单核苷酸。本实验利用强碱型阴离子交换树脂(强碱型 201 × 8)将各类核苷酸分开, 测定核苷酸的紫外吸收比值:  $OD_{250}/OD_{260}$ 、 $OD_{280}/OD_{260}$ 、 $OD_{290}/OD_{260}$ , 对照标准比值(表 6-2), 可以确定其为哪种核苷酸, 同时也能算出 RNA 中核苷酸的相对摩尔比。

### 8.2 样品处理

取 20mg 酵母 RNA, 溶于 2ml 0.3mol/L 氢氧化钾溶液中, 于 37℃ 水解 20h, RNA 在碱作用下水解成单核苷酸, 水解完成后, 用 2mol/L 过氯酸溶液调至 pH 2 以下, 以 4000r/min 离心 10min, 取上清液, 用 2mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH 8, 并用紫外分光光度计准确测得含量后待用。

### 8.3 离子交换树脂预处理

强碱型阴离子交换树脂 201 × 8(聚苯乙烯-二乙烯苯、三甲胺季铵碱型, 全交换量大于 3mmol/g 干树脂, 100 ~ 200 目): 用水浸泡并利用浮选法除去细小颗粒, 使用时先用 0.5mol/L 氢氧化钠溶液浸泡 1h, 以除去碱溶性杂质, 然后用去离子水洗至中性; 再用 1mol/L 盐酸浸泡半小时, 除去酸溶性杂质, 再用去离子水洗至中性; 然后用 1mol/L 甲酸钠溶液浸泡, 使树脂转变成甲酸型。将树脂装入柱内, 继续用 1mol/L 甲酸钠溶液洗, 直到流出液中不含氯离

子(用1%硝酸银溶液检查)。最后用1mol/L甲酸洗,直到260nm处光密度值低于0.020,并用蒸馏水洗至接近中性,即可使用。装置见图6-9。

表 6-2 部分核苷酸的物理常数

核苷酸	分子量	异构体	pH							
			摩尔消光系数				光密度比值			
			$E_{260} \times 10^{-3}$		250/260		280/260		290/260	
2	7	2	7	2	7	2	7			
腺嘌呤核苷- 2'-、3'-或 5'- 磷酸	347.2	2'	14.5	15.3	0.85	0.8	0.23	0.15	0.038	0.009
		3'	14.5	15.3	0.85	0.8	0.23	0.15	0.038	0.009
		5'	14.5	15.3	0.85	0.8	0.22	0.15	0.03	0.009
鸟嘌呤核苷- 2'-、3'-或 5'- 磷酸	363.2	2'	12.3	12.0	0.90	1.15	0.68	0.68	0.48	0.285
		3'	12.3	12.0	0.90	1.15	0.68	0.68	0.48	0.285
		5'	11.6	11.7	1.22	1.15	0.68	0.68	0.40	0.28
胞嘧啶核苷- 2'-、3'-或 5'- 磷酸	323.2	2'	6.9	7.75	0.48	0.86	1.83	0.86	1.22	0.26
		3'	6.6	7.6	0.46	0.84	2.00	0.93	1.45	0.30
		5'	6.3	7.4	0.46	0.84	2.10	0.99	1.55	0.30
尿嘧啶核苷- 2'-、3'-或 5'- 磷酸	324.2	2'	9.9	9.9	0.79	0.85	0.30	0.25	0.03	0.02
		3'	9.9	9.9	0.74	0.83	0.33	0.25	0.03	0.02
		5'	9.9	9.9	0.74	0.73	0.38	0.40	0.03	0.03

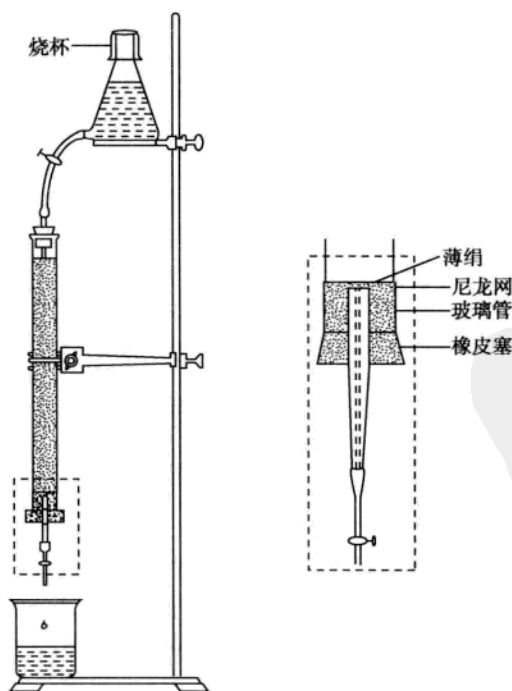


图 6-9 离子交换柱色谱装置示意图

#### 8.4 离子交换柱的安装

取内径为 1.1~1.2cm、高 20cm 的玻璃管柱。下端橡皮塞中央插入一玻璃滴管供收集流出液,橡皮塞上盖以尼龙网和薄绢以防止离子交换树脂流出(图 6-9)。

将处理好的强碱型阴离子交换树脂悬浮液一次倒入玻璃柱内,使树脂自由沉降至柱下部,用一小片圆滤纸盖在树脂面上。缓慢放出液体,使液面降至滤纸片下、树脂面上(注意在整个操作过程中要防止液面低于树脂,当液面低于树脂表面时空气将进入,在树脂柱内形成气泡,妨碍色谱结果)。经沉积后离子交换树脂柱高 7~8cm。

#### 8.5 加样

将 RNA 水解液小心地用滴管加到离子交换树脂柱上,待样品液面降低到滤纸片内时,用 50ml 蒸馏水淋洗树脂柱。碱基、核苷及其他不被阴离子交换树脂吸附的杂质均被洗出。

#### 8.6 核苷酸混合物的洗脱

收集蒸馏水洗脱液,在紫外分光光度计上测 260nm 处的光密度,待洗脱液不含紫外吸收物质(光密度值低于 0.020)时,可用甲酸及甲酸钠溶液进行洗脱。依次用下列洗脱液分段洗脱:500ml 0.02mol/L 甲酸;500ml 0.15mol/L 甲酸;500ml 0.01mol/L 甲酸-0.05mol/L 甲酸钠溶液(pH 4.44);最后用 500ml 0.1mol/L 甲酸-0.1mol/L 甲酸钠溶液(pH 3.74)。用部分收集器收集流出液,控制流速为 8ml/10min,8ml/管。

#### 8.7 由色谱柱所得的各部分洗脱液的分析

以相应浓度的甲酸或甲酸钠溶液作为空白对照,用紫外分光光度计测定各管溶液在 260nm 波长处的光密度值,以洗脱液体积(或管数)为横坐标,光密度值为纵坐标作图,分析各部分的波峰位置(图 6-10)。

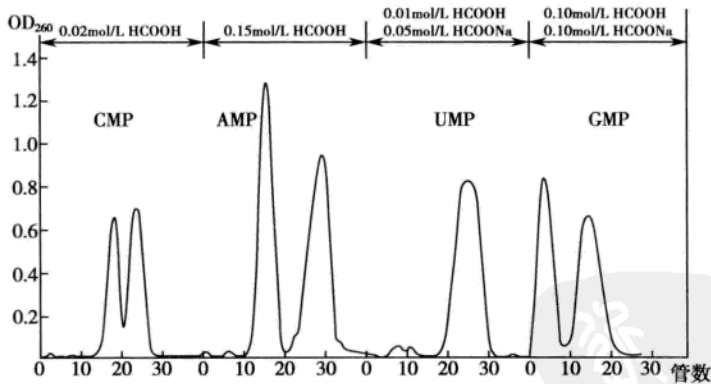


图 6-10 强碱型阴离子交换树脂 201×8 分离酵母 RNA 中核苷酸

#### 8.8 结果分析

根据各部分核苷酸在不同波长时光密度的比值 ( $OD_{250}/OD_{260}$ 、 $OD_{280}/OD_{260}$ 、 $OD_{290}/OD_{260}$ ),对照标准比值(表 6-2)以及洗脱时的相对位置,确定其为何种核苷酸(图 6-10)。由洗脱液的体积和它们在紫外部分的光密度值,计算各种核苷酸的含量(各种核苷酸的摩尔消光系数见表 6-2)。

## 第四节 凝胶柱色谱

凝胶柱色谱法(gel chromatograph)是利用凝胶微孔的分子筛作用对分子大小不同的物质进行分离的一种柱色谱。凝胶是一类具有三维空间的多孔网状结构的物质,其中以有机凝胶应用得较多。适用于有机溶剂的主要有聚苯乙烯凝胶、聚乙烯酯凝胶、聚甲基丙烯酸酯凝胶等;适用于水相的凝胶有葡聚糖凝胶、琼脂糖凝胶和聚丙烯酰胺凝胶等。前者主要用于凝胶色谱仪测定高分子的分子量大小和分子量的分布范围。在经典柱色谱中最常见的是葡聚糖凝胶、琼脂糖凝胶和聚丙烯酰胺凝胶。根据所用的流动相是有机溶剂或是水溶液,凝胶色谱法又进一步分为凝胶渗透色谱(gel permeation chromatograph)和凝胶过滤色谱(gel filtration chromatograph)两大类。

凝胶柱色谱法的原理与前述柱色谱完全不同,它只取决于凝胶颗粒的孔径大小与被分离物质的分子大小。洗脱时各组分的保留时间取决于分子大小,如图 6-11 所示,小分子完全渗透进入凝胶内部孔穴而被滞留,大分子则完全不能进入孔穴,直接通过凝胶颗粒空隙随流动相向下移动。依次按大分子、中等分子、小分子顺序从色谱柱中流出,从而达到分离的目的。凝胶柱色谱法的实质是筛分效应,故也称空间排阻色谱。

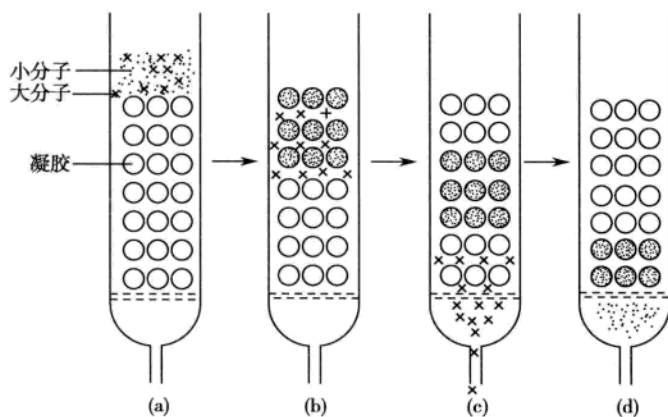


图 6-11 凝胶柱色谱(空间排阻色谱)分离示意图

(a) 将样品溶液加在色谱柱顶端(其中含有大小不同的分子);(b) 样品溶液流经色谱柱,小分子通过扩散作用进入凝胶颗粒的微孔中,而大分子则被排阻于颗粒之外,大小分子因向下移动的速度发生差异而被分离开来;(c) 向色谱柱顶加入洗脱剂,大小分子分开的距离增大,大分子已经流出色谱柱;(d) 小分子最后被洗脱

凝胶柱色谱法除了原理与其他色谱法不同外,其展开剂的作用也不同,它对组分的分离度不起作用。

凝胶柱色谱目前已广泛应用于生物大分子的制备性分离纯化、分子量测定及平衡常数的测定,在有机合成和植物化学方面也常被应用。



## 1 凝胶固定相与性能

不同类型的凝胶,微孔的大小尺寸不同、性能不同、用途不同。凝胶呈球形颗粒状,在水中不溶,但可膨胀。商品凝胶是干燥的颗粒,使用前需吸水溶胀,将凝胶在适当的溶剂(一般用水)中浸泡,使其吸收大量液体充分溶胀而变得柔软而有弹性,然后装入色谱柱中。

### 1.1 葡聚糖凝胶

葡聚糖凝胶(Sephadex)又称交联葡聚糖凝胶,具有良好的化学稳定性,是目前生化产品生产中最常用的凝胶。交联葡聚糖凝胶是由一定平均分子量的葡聚糖,在其碱性水溶液中与环氧氯丙烷(1-氯代-2,3-环氧丙烷)交联剂通过醚桥交联聚合而成的具有多孔立体网状结构的高分子化合物。其部分结构如图 6-12 所示。

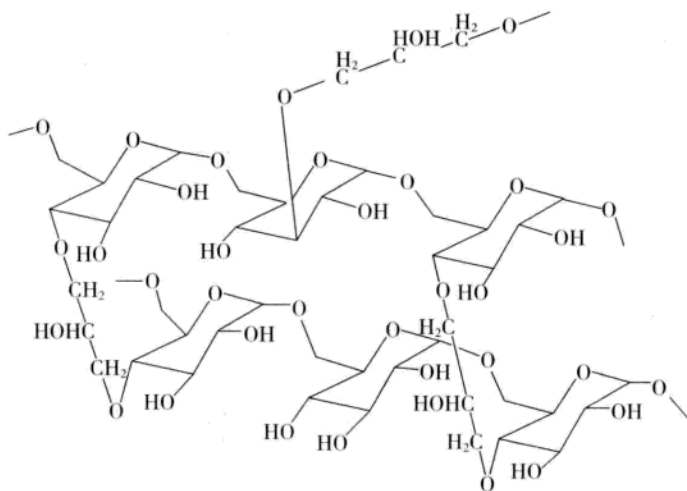


图 6-12 交联葡聚糖凝胶的结构

交联葡聚糖凝胶有各种规格,其主要商品名为 Sephadex 系列。葡聚糖凝胶为白色球状颗粒,由于其分子内含大量羟基而具有极性,能吸水膨胀成胶粒,但不溶于水及盐溶液,在碱性或弱酸性溶液中也比较稳定,而在强酸性介质中特别是高温下糖苷键易水解。长时间受氧化剂作用会破坏凝胶骨架,产生游离的羧基基团。将凝胶加热到 120℃ 则开始变成焦糖,但在湿态及中性条件下,把 Sephadex G-25 加热到 110℃ 也不会改变其特性,据此可采用热压器对凝胶进行杀菌。

G 类葡聚糖凝胶常用 Sephadex G-X 代表。X 首先代表交联度: X 越小,交联度越大,网孔越小,适合于分离相对分子量低的化合物; X 越大,交联度越小,网孔越大,适合于分离高分子化合物。X 也代表持水量,如 G-25 表示 1g 干胶持水 2.5ml。凝胶交联度是在生产时通过调节交联剂和葡聚糖的配比及反应条件来控制的,交联度是表征凝胶性能的重要指标。

Sephadex G 型只适于在水中应用,且不同规格适合分离不同分子量的物质。不同交联度凝胶商品的吸水程度和应用范围等参见第五章表 5-4。

### 1.2 亲脂性葡聚糖凝胶

葡聚糖凝胶只能用于水溶性物质,但在葡聚糖分子上引入有机基团,则可使之成为亲脂

性葡聚糖凝胶,如在 Sephadex G-25 凝胶上引入羟丙基,与糖分子以醚键相连,使之成为具有亲脂性的 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶。与 Sephadex G 相比, Sephadex LH-20 分子中的羟基总数虽无改变,但碳原子所占比例却相对增加了,从而使葡聚糖的亲脂性增大。所以, Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶既有亲水性又有亲脂性。

Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶在多种有机溶剂中膨胀,在  $\text{pH} > 2$  的不含氧化剂的溶液中稳定。以低级醇为溶剂时,对芳香族、杂环化合物仍有吸附作用。但用氯仿时则可去除对上述化合物的吸附作用,而对含羟基及羧基化合物有吸附作用。Sephadex LH-20 可用于分子筛色谱、吸附色谱和分配色谱,很适用于脂肪酸、甘油酯、类固醇、维生素、激素类生化产品的分离,也适用于有机物如黄酮、蒽醌、色素等成分的分离。洗脱剂可用单一的有机溶剂如甲醇、氯仿等,也可以用混合溶剂如氯仿与甲醇的混合液。

Sephadex LH-20 价格较贵,用过的 Sephadex LH-20 可以反复再生使用。短期不用时可以通过水洗 $\rightarrow$ 含水醇洗(醇的浓度逐步递增) $\rightarrow$ 醇洗,最后泡在醇中贮存于磨口瓶中备用。如长期不用时,可在以上处理的基础上,减压抽干,再用少量乙醚洗净抽干,室温下充分挥发至无醚味后,于  $60 \sim 80^\circ\text{C}$  干燥后保存。表 6-3 列举了 Sephadex LH-20 在不同溶剂中浸泡后吸收溶剂而溶胀的体积。

表 6-3 Sephadex LH-20 在各种溶剂中的溶胀体积

溶剂	溶胀后的体积(ml/g)	溶剂	溶胀后的体积(ml/g)
二甲基亚砷	4.4~4.6	甲酰胺	3.6~3.9
吡啶	4.2~4.4	丁醇	3.5~3.8
水	4.0~4.4	四氢呋喃	3.3~3.6
二甲基二甲酰胺	4.0~4.4	二氧六环	3.2~3.5
甲醇	3.9~4.3	丙酮	2.4~2.6
二氯甲烷	3.6~3.9	四氯化碳	1.8~2.2
氯仿	3.8~4.1	苯	1.6~2.0
丙醇	3.7~4.0	乙酸乙酯	1.6~1.8
乙醇	3.6~3.9	甲苯	1.5~1.6
异丁醇	3.6~3.9		

### 1.3 聚丙烯酰胺凝胶

聚丙烯酰胺凝胶也是一种人工合成凝胶,是由丙烯酰胺与亚甲基双丙烯酰胺聚合而成的网状聚合物,亚甲基双丙烯酰胺为交联剂。图 6-13 为聚丙烯酰胺凝胶的结构,其商品名为生物胶 P (Bio-Gel P)。聚丙烯酰胺凝胶全是由碳-碳骨架构成,稳定性较好。只有在极端  $\text{pH}$  条件下酰胺键才被水解为羧基,使凝胶带有一定的离子交换基团,故一般在  $\text{pH} 2 \sim 11$  的范围内使用。聚丙烯酰胺凝胶根据其溶胀性和分离的范围,可分成 10 种类型。各种类型均以英文字母 P 和阿拉伯数字表示,从 Bio-Gel P2 到 P300。

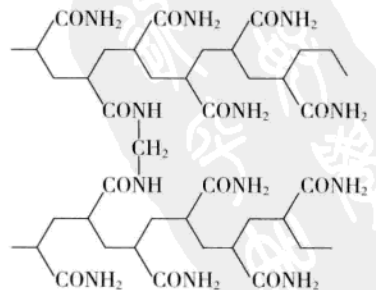


图 6-13 聚丙烯酰胺凝胶的化学结构

### 1.4 琼脂糖凝胶

琼脂糖是从琼脂中分离得到的。琼脂是从红藻类植物石花菜或类似红藻类植物中浸出的一种黏胶,主要成分是琼脂糖和琼脂胶两种多糖衍生物,各占大约 64% 和 36%。琼脂糖是从琼脂中分离出来的天然凝胶,不含带电基团,其结构是由 L-半乳糖(3,6 位脱水)和 D-半乳糖相间聚合而成的链状多糖(图 6-14)。其主要商品名为 Sepharose。

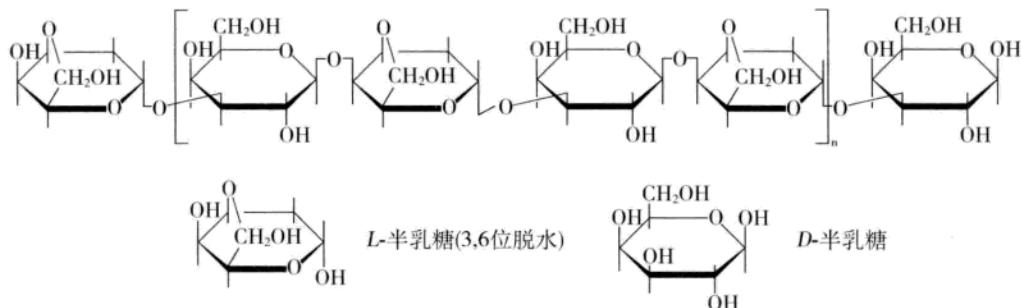


图 6-14 琼脂糖凝胶的化学结构

琼脂糖凝胶网孔大小可由琼脂糖的含量来控制,含量有 2%、4%、6% 不同类型,分别称为 Sepharose 2B、4B、6B。含量越低,其结构越松散,即多孔性越高。琼脂糖凝胶稳定性较差,强酸强碱均可引起结构的破坏。琼脂糖凝胶做成珠状后不能再脱水干燥,否则不能再溶胀恢复原有形状,因此商品大都以含水状态供应。一般悬浮于 1mmol/L EDTA 和 0.02%  $\text{NaN}_3$  溶液中。百分数表示干胶量。

## 2 凝胶柱色谱操作技术

### 2.1 凝胶的选择

凝胶的选择是取得良好分离的前提。使用凝胶色谱法分离物质时,一般可分为两种分离类型:组分离和分级分离。组分离是把物质分为两组,即不能被凝胶保留而被洗脱掉的高分子物质与能扩散到凝胶中的低分子物质。组分离常常使用“脱盐”这一术语,就是把低分子物质从高分子物质中分离出来。而分级分离是对一些分子量相差较小的由大分子物质组成的比较复杂的混合物的分离。这种混合物以不同密度扩散到凝胶中,并按照分配常数的不同而从凝胶中被洗脱出来。

对组分离,凝胶类型的选择原则为:高分子物质组中,相对分子质量应大于凝胶的排阻限,而小分子物质组的分子量应小于凝胶的渗入限。对于蛋白质、核酸等高分子物质的分离,可选择 Sephadex G-25、Sephadex G-50 及 Bio-Gel P-6、Bio-Gel P-10 凝胶。从低分子物质中分离肽和其他低分子聚合物(相对分子质量 1000 ~ 5000),最好使用 Sephadex G-10、Sephadex G-15 及 Bio-Gel P-2、Bio-Gel P-4 凝胶。

对于分级分离,一般不选用排阻限略大于样品中最高分子量物质的凝胶,在层析过程中使这些物质不同程度地渗入到凝胶固定相,最后由于不同物质的分配常数不同得以分开。

除了对凝胶类型的选择外,凝胶粒度的选择对分离效果也有很大影响。凝胶的粒度越细,分离效果越好,洗脱峰越窄,分辨率越高,多用于精制分离。但是,凝胶的粒度越细,流速

就越慢,分离所用时间也越长;相反,凝胶的粒度越粗,流速越快,易于发生区域扩散,使洗脱峰变宽,分辨率变低,多用于粗制分离。实验证实,在一般凝胶柱色谱中,使用干颗粒直径在  $70\mu\text{m}$  左右的凝胶较合适(小于 200 目)。图 6-15 为在同一流速下不同粒度 Sephadex 的洗脱峰。对于水中保存的凝胶,如琼脂糖凝胶,颗粒直径在  $150\mu\text{m}$  左右较合适。

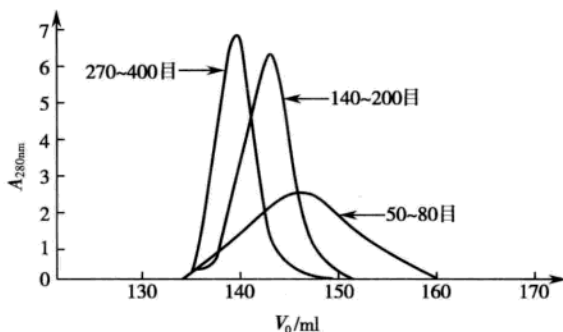


图 6-15 在同一流速下不同粒度的 Sephadex 的洗脱峰

此外,凝胶粒度是否均匀也会影响分离效果。凝胶过筛是使凝胶颗粒均匀化的常用手段。也可用水浮选法除去葡聚糖凝胶中的单体、粉末和碎片等。

## 2.2 凝胶溶胀预处理

商品凝胶使用前需要在洗脱液中充分溶胀一至数天,如在沸水浴中将湿凝胶悬浮液逐渐升温到接近沸点,则溶胀时间可以缩短到 1~2h。凝胶的溶胀一定要完全,否则会导致色谱柱的不均匀。热法溶胀还可杀死凝胶中的细菌、脱掉凝胶中的气泡。溶胀后可将凝胶中的细小颗粒倾斜除去。

对于悬浮凝胶颗粒商品则不需要溶胀。采用布氏漏斗先除去原悬浮介质,再将凝胶颗粒悬浮于分离介质中,充分平衡后备用。

## 2.3 色谱柱的选择与装柱

(1) 柱长与柱径:柱子的长度是决定分离效果的重要因素。空间排阻色谱的分离度与柱长的平方根成正比,因此应根据分离的要求确定柱长,一般选用细长的柱子进行凝胶过滤。进行脱盐时,柱子长 50cm 比较合适。组分离时,大多采用 20~30cm 长的色谱柱;分级分离时,一般需要长 100cm 左右的色谱柱,其直径在 1~5cm 范围内。柱直径小于 1cm 产生管壁效应明显,大于 5cm 则稀释现象严重。长度  $L$  与直径  $D$  的比值 ( $L/D$ ) 一般宜在 7~10 之间,但对移动慢的物质宜在 30~40 之间。对于蛋白质的分离,一般柱长 60~120cm 比较理想,而长 30cm 的柱子多用于快速分离。最好购买商品化的玻璃或有机玻璃凝胶空柱,在柱的两端皆有平整的筛网或筛板。

(2) 装柱:将色谱柱固定在与地面垂直的架子上,下端流出口用夹子夹紧,加入约 2cm 厚的玻璃珠(球径约 0.5cm)。柱顶可连接一个漏斗,颈直径约为柱颈的一半。先在柱内装入 1/3 高的流动相,将溶胀好的凝胶调成较稳的浆液盛于容器中,然后在搅拌下通过漏斗缓缓、均匀、连续地加入已经脱气的凝胶悬浮液,同时打开色谱柱的出口管,维持适当的流速,凝胶粒将逐层水平式上升,在柱中均匀地沉积,直到所需高度为止。最后拆除漏斗,用较小的滤纸片轻轻盖住凝胶床的表面,再用大量洗脱剂将凝胶柱洗涤一段时间。图 6-16 是凝胶

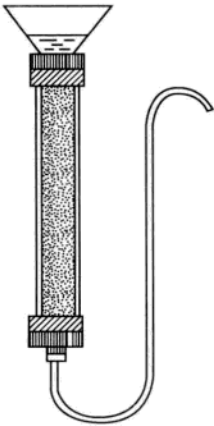


图 6-16 凝胶柱装柱示意图

柱装柱的示意图。

色谱柱底端加玻璃球的目的是:凝胶过滤柱带有一个多孔支撑滤片,滤片下的死体积大时,被分离组分之间重新混合的可能性就大,其结果会影响洗脱峰形,出现拖尾,降低分辨率。故可用玻璃珠填满支撑片下的空间。

新装的柱子,稍放置一段时间后,要用洗脱液进行流动平衡,一般用 3~5 倍体积的流动相在恒压下流过柱床。

#### 2.4 柱均匀性检查

凝胶柱色谱的分离效果主要决定于色谱柱装填得是否均匀。柱子装得不好,往往造成洗脱区带加宽,甚至使一些本来可以分开的区带重叠。

在对样品进行分离之前,必须对色谱柱进行均匀性检查。由于凝胶在色谱柱中是半透明的,可在柱旁放一支与柱平行的日光灯,用肉眼观察柱内是否有“纹路”或气泡。也可向色谱柱内加入有色大分子等,加入物质的分子量应在凝胶柱的分离范围内。如用蓝色的葡聚糖-2000 配成 2mg/L 的溶液过柱,如果观察到柱内谱带窄、均匀、平整,即说明色谱柱性能良好;如果色带不规则、杂乱、很宽时,则必须重新装填凝胶柱。

#### 2.5 上样

(1) 样品处理与上样量:进样体积和样品浓度将明显影响分离度,要想得到最好的分离度,注入样品的浓度范围一般为 0.01%~0.5%,如果样品浓度高于 1% 或者进样量大于柱体积的 10%,将会降低分离度,对分离和纯化不利。样品量如低于 10 $\mu$ g,往往导致峰的不对称性和低回收率。实际上最好是高浓度、小体积,在一定范围内可以得到好的分离效果。一般样品体积不大于凝胶总体积的 5%~10%。蛋白质的样品浓度不大于 4%,分析用量一般为柱体积的 1%~3%,制备用量一般为柱体积的 20%~30%,是比较合适的。为了防止样品中的一些沉淀物污染色谱柱,一般在上柱前应将样品过滤或离心。

(2) 样品上柱:凝胶柱用流动相进行平衡处理后,才能上样。样品上柱是凝胶色谱中最为关键一步。当一切都准备好后,这时可打开色谱柱的活塞,让流动相与凝胶床刚好平行,关闭出口。用滴管吸取样品溶液,沿柱壁轻轻地加入到色谱柱中,打开流出口,使样品液渗入凝胶床内。当样品液面恰与凝胶床表面相平时,再次加入少量洗脱剂冲洗管壁。重复上述操作几次,每一次的关键是既要使样品恰好全部渗入凝胶床,又不致使凝胶床面干燥而发生裂缝。随后可慢慢地逐步加大洗脱剂的量进行洗脱。整个过程一定要仔细,避免破坏凝胶柱的床层。

#### 2.6 洗脱

凝胶色谱的流动相一般多采用水或者缓冲溶液的混合液,少数采用水与一些极性有机溶剂的混合溶液,除此之外,还有个别比较特殊的流动相系统,这要根据溶质分子的性质来决定。加完样品后,可将色谱床与洗脱液贮存瓶及收集器相连,设置好一个适宜的流速,就可定量地分步收集洗脱液。然后根据溶质分子的性质选择光学、化学或生物学的方法进行定性和收集。

#### 2.7 再生

由于在凝胶色谱中凝胶与溶质分子之间原则上不会发生任何作用,因此在一次分离后

用流动相稍加平衡就可进行下一轮的色谱操作。但在实际应用中常有一定的污染物污染凝胶。对已沉积于凝胶床表面的不溶物的去除,可直接把表层凝胶去掉,再适当增补一些新的溶胀胶,并重新进行平衡处理;如果整个柱都有微量污染,可用0.5mol/L NaCl溶液洗脱。在通常情况下,一根凝胶柱可连续使用半年之久。

凝胶柱若经多次使用后,其色泽改变、流速减低、表面有污渍等就要对凝胶进行再生处理。凝胶的再生是指用适当的方法除去凝胶中的污染物,使其恢复原来的性质。交联葡聚糖凝胶常用温热的0.5mol/L氢氧化钠和0.5mol/L氯化钠的混合液浸泡,用水冲至中性。而聚丙烯酰胺和琼脂糖凝胶由于遇酸碱不稳定,则常用盐溶液浸泡,然后用水冲至中性。

## 第五节 干柱色谱

干柱色谱法(dry column chromatography)始于20世纪60年代中期,是指用填充剂干装成柱,然后进行色谱分离的一种方法。分离条件可用薄层色谱探索,并直接用于干柱色谱。实际上它是制备薄层的一种改进,即将薄层板改为柱状,一般采用塑料薄膜柱。将吸附剂填充到塑料薄膜柱中,把欲分离的混合物置于柱子顶端,加展开剂展开,当展开剂到达柱底部时即完成分离。用小刀沿着分离部位将柱子切开,从分段的吸附剂中用溶剂提取所需的化合物。也可以用玻璃柱,层析结束后,推出固定相,分段提取。该方法没有洗脱液从色谱柱流出,色带容易检出和分离。

干柱色谱法尤其适合于待分离成分 $\Delta R_f$ 值较小的混合物的分离和制备。一般认为在薄层板上两种待分离成分的 $\Delta R_f > 0.4$ 时,在经典色谱柱上容易分离;而当两种待分离成分的 $\Delta R_f < 0.2$ 时,在经典色谱柱上就难以分离。原则上在薄层色谱上能分开的样品,在干柱色谱上就可得以分离。另外,干柱制备色谱法比薄层制备色谱法载样量大,且避免了常压柱色谱分离速度慢、样品被不可逆吸附损失大、消耗溶剂多的缺点。

### 1 干柱色谱法操作技术

#### 1.1 吸附剂

常以氧化铝或硅胶为吸附剂。吸附剂粒度大小会影响分离度。粒度太小,流速减慢,则传质缓慢,移动相线速度缓慢,引起纵向扩散,增加洗脱时间;粒度太大,流动相来不及与吸附剂交换平衡,影响分离效果、柱效。

一般干柱色谱吸附剂粒度以200~300目较好(硅胶),干柱色谱样品与吸附剂比例为1:300~1:500(一般薄层色谱为1:500)。

#### 1.2 装柱

于塑料管底部放一些玻璃棉,扎上几个小孔。吸附剂通过漏斗装入柱内。装柱过程中不断叩击,使之紧密、均匀,装好的柱子应结实,能用夹子夹住。

均匀装柱是干柱色谱法分离的关键。如果装柱不均匀,其分离效果比湿法效果更差。

#### 1.3 上样与展开

与一般柱层析一样。将混合物溶于展开剂或低极性溶剂中,或将样品溶于溶剂中,加入5倍量的吸附剂,在旋转蒸发仪上蒸干后均匀地加载于柱的上端,上面再覆盖少量石英砂。

加入展开剂,使柱的顶端保持有3~5cm厚的液面。展开时展到柱子底端即可,然后除去色谱柱支撑物——塑料柱(尼龙)。展开剂的选择与薄层色谱完全一致(图6-17)。

#### 1.4 检查与分离

(1) 有色混合物的分离:可按色带用小刀将柱子切开,将各段吸附剂分别放在索氏萃取器中用溶剂萃取。

(2) 对无色化合物:

1) 由于尼龙柱的最大特点是无紫外吸收,可观测到化合物在紫外光下的色带。

2) 经紫外光照射,发出荧光,分别定位。

3) 采用硅胶 GF<sub>254</sub> 作吸附剂,于紫外光下观察化合物的暗斑,分割后提取。

4) 按  $R_f$  值(TLC 检测) 逐段切开,洗脱后再用 TLC 显色剂法鉴别。

干柱色谱法除了用于吸附柱色谱,也可用于分配柱色谱或其他色谱分离。

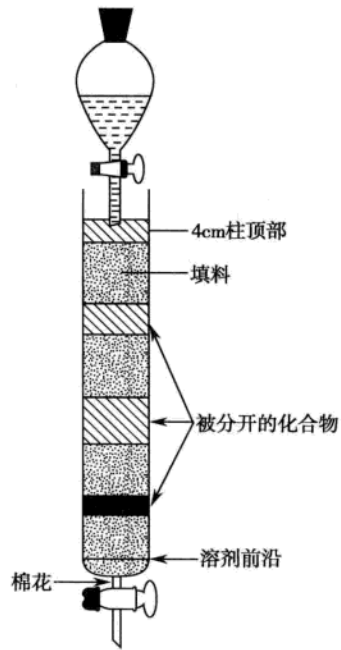


图 6-17 干柱色谱中样品的洗脱

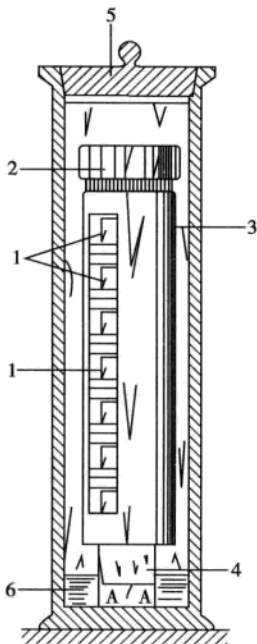


图 6-18 PHS 干柱色谱装置

1. 玻璃或石英组件;2. 顶部螺丝;3. 不锈钢罩;4. 带烧结玻璃的样品室;5. 色谱缸;6. 展开剂

## 2 其他干柱色谱方法

### 2.1 高分辨制备型组件

尼龙柱的优点是可在紫外光下观察到无色化合物的色带,以此指导切割。然而,欲将吸附剂紧密、平整地装入尼龙管并不容易,因此,人们更倾向于使用玻璃柱色谱。在层析分离后将吸附剂推出或用刮刀顺序地将色带刮出。

为了方便取出被分离化合物的色带,人们使用了一套高分辨制备型组件装置(preparative high resolution segment, PHS)。它由一定数量的玻璃或石英组件组成,在不锈钢罩内,各组件通过玻璃接口彼此相连。用上行法展开色谱柱。当层析结束时,可容易地将各组件打开,从而方便取出内容物。高分辨制备型组件装置可根据需要,采用不同长度和不同直径的色谱柱。图6-18是PHS干柱色谱装置示意图。

### 2.2 洗脱式干柱色谱分离

该方法中,样品被加到装有干填料的色谱柱上面,然后用流动相进行全程洗脱。有报道称用该法在2m的氧化铝干柱上分离50g的样品。其他实例较少见。

## 参 考 文 献

1. Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS. 现代有机化学实验技术导论. 丁新腾, 译. 北京: 科学出版社, 1985.
2. 袁黎明. 色谱技术丛书·制备色谱技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2005.
3. 刘国诠, 余兆楼. 色谱技术丛书·色谱柱技术. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2006.
4. 汪茂田, 谢培山, 王忠东. 天然有机化合物提取分离与结构鉴定. 北京: 化学工业出版社, 北京, 2004.
5. K. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术——在天然化合物分离中的应用. 赵维民, 张天佑, 译. 北京: 科学出版社, 2000.
6. 宋航. 实用制药技术丛书(6)——药学色谱技术. 北京: 化学工业出版社, 2007.
7. 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1997.
8. 师治贤, 王俊德. 生物大分子的液相色谱分离和制备. 2 版. 北京: 科学出版社, 1999.
9. 孙毓庆. 分析化学. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
10. Bidlingmeyer BA. Preparative Liquid Chromatograph. Amsterdam: Elsevier, 1987.
11. 盖明争. 肉桂油中桂皮酸的含量测定. 中成药, 1996, 18(9): 14-15.
12. 刘虎威. 实用色谱技术问答. 北京: 化学工业出版社, 2009.
13. 生物信息网. 离子交换柱层析法分离酵母 RNA 中的核苷酸. <http://www.biowww.com.cn/>.





## 第七章

# 减压柱色谱分离制备技术

为加快柱分离的速度或增加分离度,通常采用在柱前加压和柱后减压的方法进行柱层析。柱前加压法通常称为加压柱色谱,而柱后减压法通常称为减压柱色谱。本章主要介绍减压柱色谱分离制备技术。减压柱色谱所用的固定相种类、颗粒大小、柱填充方法、上样方法基本与经典柱色谱类似,操作方法有所区别。

### 第一节 真空液相色谱

真空液相色谱法(vacuum liquid chromatography, VLC),也称减压液相色谱法,是20世纪70年代实验室发展起来的一种新技术,它是利用柱后减压使洗脱剂迅速通过固定相快速分离样品的色谱技术。VLC具有快速、简易、高效、价廉等优点,目前已成功地应用于有机化合物制备以及天然产物如萜类、类脂、双萜及多种生物样品的分离。

由于经典的柱色谱费时费力,需要大量的固定相和洗脱液,工作效率低,为此人们相继建立了加压和减压VLC法、加压快速柱色谱法(FCC,见第八章加压柱色谱分离制备技术)、离心薄层等快速层析分离方法。其中VLC在天然产物分离中应用最多。该法于1969年由澳大利亚Coll JC提出,1977年首次应用于分离澳洲软珊瑚中两个新的二萜化合物(图7-1)。

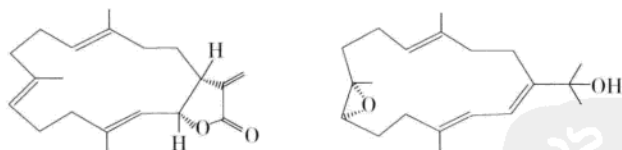


图7-1 软珊瑚中两个新的二萜化合物

1979年美国Targett NM将该法命名为vacuum liquid chromatography(VLC),并且详细报道了其操作方法。从此以后,VLC便逐渐为广大化学家所接受,并且在实验装置上作了进一步改进。

#### 1 真空液相色谱法的特点

VLC实质上是柱色谱,它综合了制备薄层(PTLC)和真空抽滤技术。VLC不同于常压柱色谱和快速柱色谱(FCC),因为后两者的洗脱剂是连续的,在操作中不会间断;而VLC进行

溶剂洗脱时,在加洗脱剂后,在柱后减压的条件下全部抽出,每洗脱一次则收集一次,抽干后,再更换溶剂,并再进行下一个流分的收集,所以在这一点上 VLC 与 PTLC 多次展开极为相似(展开一次后吹干,再展)。

VLC 法载样量较大,可分离样品量达几十克,而 FCC 法只能分离几克。另外,VLC 法的吸附剂经处理后可反复使用。

## 2 实验装置与操作

实验室常用的减压液相色谱装置如图 7-2、图 7-3 所示。该装置中,垂熔漏斗相当于一个短的色谱柱,砂芯孔径:10 ~ 15 $\mu\text{m}$ ,10 ~ 20 $\mu\text{m}$ 。

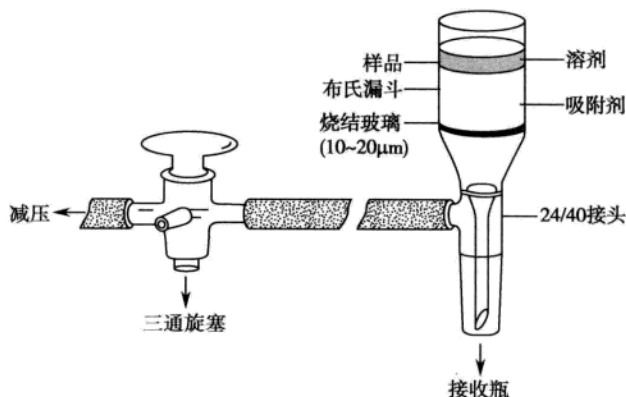


图 7-2 实验室用的减压液相色谱装置

### 2.1 固定相

常采用 TLC 用硅胶、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、聚酰胺等。

### 2.2 装柱

VLC 法采用干法装柱。将吸附剂装入漏斗或短柱中,轻轻拍紧或减压拍打或从顶端挤压,直至吸附剂紧密,最后变得坚硬。吸附剂的高度一般不超过 5cm。

### 2.3 吸附剂用量

一般先根据被分离样品量的多少,选择色谱柱(砂芯漏斗)的大小,并决定吸附剂的用量。根据分离样品的重量范围,有下列几种选择:

(1) 对于微量分离,样品 < 100mg,可采用直径为 0.5 ~ 1cm 色谱柱或漏斗,吸附剂高度为 5cm,一般固定相用量

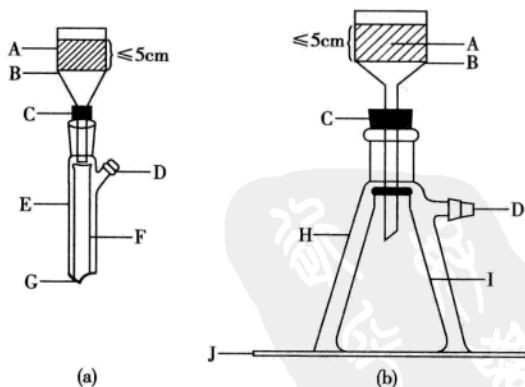


图 7-3 真空液相色谱装置

A. 吸附剂(TLC 规格);B. 玻璃垂熔漏斗;C. 橡皮垫圈;D. 与真空泵或水泵相连;E. 支管试管;F. 试管(20 ~ 25ml);G. 棉花;H. 无底吸滤瓶;I. 锥形烧瓶;J. 玻璃板

为(10~15):1,可在小容积器皿中收集流分,见图7-3(a)。

(2) 对于0.5~1.0g样品的分离,在柱中装入2.5cm×4cm的吸附剂较合适。

(3) 对于1~10g样品的分离,在柱中装入5cm×5cm的吸附剂较合适。

(4) 对于较大样品的分离,最好在250ml砂芯漏斗中进行。吸附剂的高度为5cm,可用三角烧瓶收集之,见图7-3(b)。

加大吸附剂与样品比例,可提高分离度,常用比例为30:1~300:1。

### 3 上样

上样前要先检查色谱柱是否装得均匀。放掉真空后,常压下加入低极性溶剂于吸附剂表面上,减压使溶剂均匀流过吸附剂。如有空隙,则需要重装。每次均使柱子抽干,重复操作1~2次,即可准备上样。

(1) 用低极性溶剂或洗脱剂(如石油醚、正己烷)溶解样品,常压下小心加入柱顶端,再加入洗脱剂或溶剂覆盖吸附剂表面,慢慢减压,使样品在柱顶端形成样品层。

(2) 也可采用固体上样法。即先将样品溶于极性溶剂,加入5~10份吸附剂,旋转蒸发至干后,加到吸附剂表面上,然后进行洗脱。

上述两种上样法均与常压吸附柱色谱上样操作相同。

### 4 流动相选择

与柱层析相同,先用TLC来选择条件。VLC更适用于梯度洗脱,可用二元、三元混合溶剂系统。一般先用极性较小的溶剂,如石油醚、正己烷、环己烷,然后逐渐加大极性( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 、 $\text{Et}_2\text{O}$ 、 $\text{AcOEt}$ 、 $\text{CH}_3\text{OH}$ )。

极性溶剂的增加开始要缓慢(1%→2%→3%等),然后增加的幅度可逐渐增大(5%→10%→20%等),通常收集20~25个流分即可将所有成分洗脱。

### 5 洗脱与收集

用适当溶剂系统洗脱或用梯度洗脱(gradient elution)。在常压下加入溶剂后,将柱抽干,收集为一个流分。真空度要求20~70mmHg;抽干后再更换溶剂和容器,重复以上操作,并用TLC跟踪每一个流分的分离情况(先摸一摸再行动)。为避免每收集一种流分就要拆卸漏斗,可采用图7-3(b)中所示方法,图中抽滤瓶底部为磨口,减去负压后,可更换接收瓶。

为避免每个减压流分收集的操作麻烦,Targett NM给出了一种改进的装置,采用了较长的色谱柱,增加了分离效率,如图7-4所示。该装置增加了一个可转动的接收头,可在连续

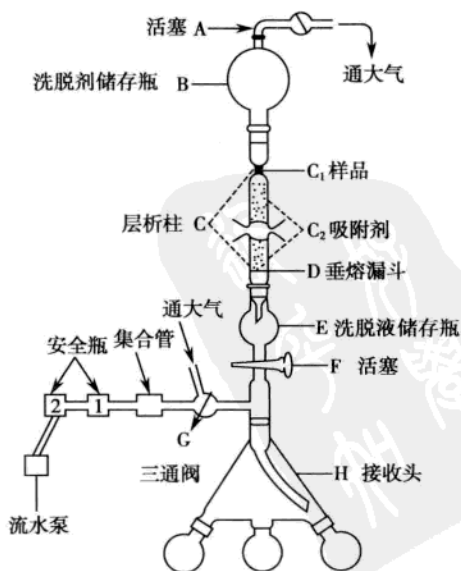


图7-4 VLC装置图

减压状态下完成洗脱操作,然而这种改进已失去了原有操作的简易性。

## 6 应用实例

### 6.1 产物与反应物混合物的分离

真空液相色谱法可用于合成反应中产物与反应物混合物的分离。Delphinine(翠雀花碱)在 $220^{\circ}\text{C}$ , $0.1\text{mmHg}$ 下发生裂解反应,生成 Pyrodelphinine(焦翠雀灵),见图 7-5。两者的混合物用甲苯:丙酮 = 24:1 洗脱,得到 896mg 焦翠雀灵;甲苯:丙酮 = 19:1 洗脱,得到 108mg 翠雀花碱;分离全程仅仅耗时 2h。

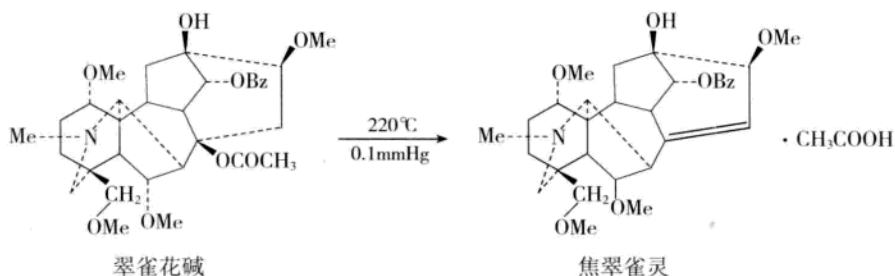


图 7-5 翠雀花碱的裂解反应

### 6.2 多种天然化合物的分离

真空液相色谱法用于多种天然化合物的分离,具体实例如下:

(1) 曾有人用 VLC 法对姜中的辛辣成分进行分离:先将冷冻干燥的姜粉用丙酮提取,经过一系列溶剂分配后,得所需部位。选用一内径为 3.5cm 的 100ml 的布氏漏斗,内装硅胶 60( $40 \sim 63\mu\text{m}$ , Merck 公司)9.5g、高度 3cm。300mg 姜提取物的溶液与硅胶 60 混合,蒸发除去溶剂后,均匀分布于硅胶柱床表面,并在样品表面覆盖一张与漏斗内径相同的滤纸,缓缓加入 25ml 的己烷。待溶剂透过柱床后,开始减压抽干柱床,得第一流分。逐渐增大溶剂极性(己烷 $\rightarrow$ 乙醚 $\rightarrow$ 甲醇)洗脱,每份 25ml,共得 20 份洗脱液,利用该法可将姜醇与姜烯酚(图 7-6)完全分开。

将该法与 FCC 法比较,FCC 法未将姜醇与姜烯酚完全分开。

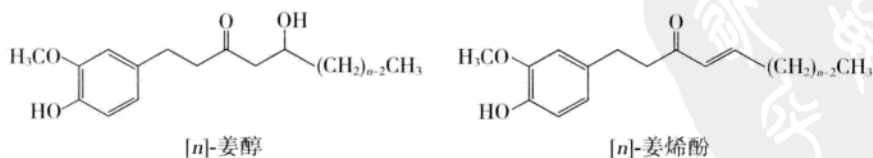


图 7-6 姜醇与姜烯酚

这一实验结果证明了真空液相色谱法的分离效能,在使用少量吸附剂的情况下即能达到较高的分辨能力。

(2) Pelletier 等 1985 年在分离生物碱成分时,也提出真空液相色谱法优于快速柱分离法和干柱色谱法。1.0g pH 9 ~ 12 的 *Aconitum columbianum* 粗提生物碱混合物,使用 65g TLC 用  $\text{Al}_2\text{O}_3$  60(Merck, H basic, Type E, EM1085),甲苯:氯仿 = 1:4(V/V)洗脱,于 28 ~ 30 号流

分中得到 Talatizamine 265mg, 氯仿: 甲醇 = 19:1 洗脱, 于 35~36 号流分中得到 Cammaconine 247mg(图 7-7)。从两个化合物的结构来看, 只是在 C18 位上有细微差别。若采用 PTLC 法分离, 操作极其烦琐、费时, 且要消耗大量吸附剂与展开剂。两法相比, VLC 明显优于 PTLC。

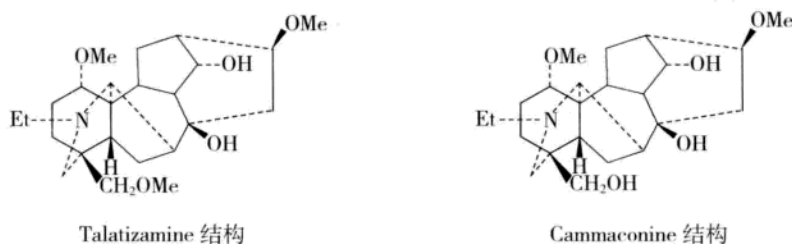


图 7-7 Talatizamine 和 Cammaconine 的化学结构

(3) 利用 VLC 成功分离海洋腔肠动物的正己烷提取物: 在日本冲绳近海采集到一种软珊瑚腔肠动物 *Anemonia sulcatus*, 切碎后用丙酮浸出, 浸液浓缩后用正己烷提取, 得提取物 12.5g, 将提取物溶解于 7ml 正己烷: 乙酸乙酯 = 8:2 的混合溶剂中, 用滴管将此溶液均匀地添加到硅胶表面。抽真空, 洗脱溶剂从正己烷开始, 直至最后用乙酸乙酯, 梯度洗脱, 每次收集 200ml, 共收集 2L, 耗时 2h。结合 TLC 和核磁共振谱, 非常满意地分离和确定了 10 余种萜类、脂肪酸及其酯、甾体化合物(图 7-8)。若用常压柱色谱, 则需要 370g 硅胶, 费时 30h, 耗用 10L 溶剂, 才能得到同样的效果。

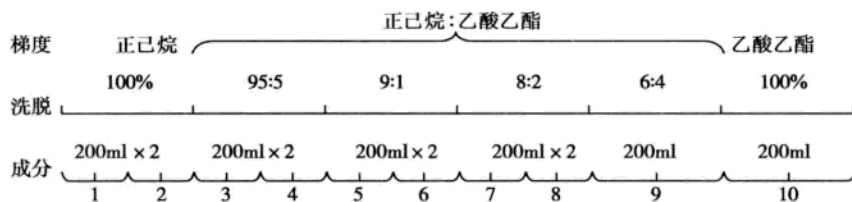


图 7-8 *Anemonia sulcatus* 提取物的 VLC 分离结果

## 7 小结

综上所述, 与常压柱色谱和快速柱色谱相比, 真空柱色谱具有以下特点:

- (1) 分离操作时间短, 一般仅需数小时。
- (2) 装置简单、易得, 装柱方便, 且要求不高。
- (3) 分离效果好, 这主要是由于固定相的颗粒细小(平均  $10\mu\text{m}$ )、具有较大的表面积 ( $500\text{m}^2/\text{g}$ ) 和装柱方法。

(4) 处理量大。分离几十克样品, 仍能以较快的速度完成。在 FCC 法中, 由于玻璃分离柱的限制, 处理 6g 以上的样品时就比较困难。常压柱色谱虽然没有样品量的限制, 但是极其耗时, 所用固定相的量亦很大。

(5) VLC 法特别适用于频繁的梯度洗脱, 并可使固定相抽干, 这又是 FCC 法和常压柱色谱法无法做到的。

(6) VLC 可以作为进行 HPLC 分离前较理想的预处理方法。

VLC 法也有不足之处,如在使用低沸点溶剂(如石油醚)时,要严格控制好真空度,防止大剂量溶剂挥发。

## 第二节 半干柱液相色谱

半干柱液相色谱(semi-dry column chromatography, SDC),即在柱后减压时将固定相抽至半干的液相色谱。Peter Vinezev 等 1991 年报道了利用半干柱液相色谱法对 Wittig 反应中差向异构体的分离。

### 1 色谱柱的制备

应用砂芯漏斗或短色谱柱,装入 1:1 硅胶 60(70~230 目)与硅胶 HF(薄层色谱用规格)的混合物。硅胶床的高度为 5~8cm,再增加高度对分离结果无明显提高。

对于较大量样品的分离可用较大的砂芯漏斗,同样可以得到较好的分离效果。有关 SDC 的实际操作数据见表 7-1。

表 7-1 半干柱液相色谱相关参数

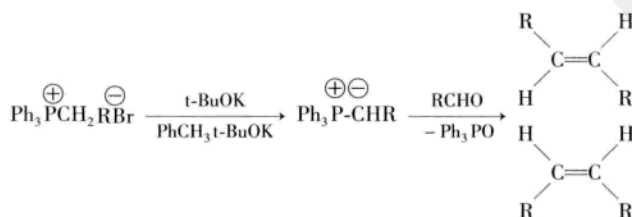
项目	I	II	III	IV	V
漏斗直径(mm)	200	120	90	65	40
硅胶 60(70~230 目)(g)	500	200	100	30	10
硅胶 HF(g)	500	200	100	30	10
每一流分体积(ml)	160	80	60	30	8
样品量(g)	30~50	10~30	1~10	1~5	0.1~1

### 2 洗脱与分离

首先让洗脱剂流经吸附剂,抽滤至近干,每 1~2 秒约有 1 滴洗脱液流下;或用湿润的硅胶装柱,吸滤至干,再加 40% 体积的滤液到漏斗中,抽至吸附剂水平面下。

用洗脱液溶解或稀释样品,加到湿的吸附剂表面上抽至与吸附剂表面相平,溶液的厚度不可高于 5mm。如果溶液的体积较大,可分次抽真空加入,操作同上。当所有的样品溶液均已加入,开始洗脱,按照同样方法进行操作。每一份洗脱液加入后通过吸附剂抽至半干,1~2 秒流出 1 滴。

经过 SDC 分离,下列 Wittig 反应所得的顺式、反式产物可以得到较好的分离。



## 参 考 文 献

1. K. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术——在天然化合物分离中的应用. 赵维民, 张天佑, 译. 北京: 科学出版社, 2000.
2. Pavia DL, Lampman G. M, Kriz GS. 现代有机化学实验技术导论. 丁新腾, 译. 北京: 科学出版社, 1985.
3. 袁黎明. 色谱技术丛书·制备色谱技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2005.
4. 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1997.
5. Coll JC, Bowden BF. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpene Mixtures. *J. Nat. Prod.*, 1986, 49(5): 934-936.
6. Pelletier SW, Chokshi HP, Desai HK. Separation of Diterpenoid Alkaloid Mixtures Using Vacuum Liquid Chromatography. *J. Nat. Prod.*, 1986, 49(5): 892-900.
7. Targett NM, Kilcoyne JP, Green B. Vacuum liquid chromatography: an alternative to common chromatographic methods. *J. Org. Chem.*, 1979, 44(26): 4962-4964.
8. Vinczer P, Novak L, Szantay C. Application of potassium *t*-butoxide in toluene as a base in the wittig reaction in large-scale pheromone syntheses. *Organic Preparations and Procedures International*, 1991, 23(4): 443-447.



## 第八章

# 加压柱色谱分离制备技术

应用经典常压柱分离法解决了一些化合物不能用重结晶、分馏、蒸馏等方法分离纯化的问题。一个混合物,只要选择好色谱条件,被分离成分间具有较大的  $\Delta R_f$  值,应用柱色谱就可以得到较好的分离。然而常压柱色谱分离技术所采用的固定相颗粒较大,分离效率较低;同时由于在常压柱色谱中,流动相的流动主要靠重力作用,所以分离速度也较慢,往往非常耗时,当样品量较大时,经常得耗费几天时间。另外,由于分离时间的增长,易造成样品的扩散,导致拖尾现象而降低收率。对于一些敏感的化合物,由于暴露时间太长,易造成氧化分解等问题。为了解决这些问题,发展了加压液相色谱技术。

根据制备型加压液相色谱中所用压力的大小,可将其分为下列几种色谱:

- (1) 快速柱色谱:约 200kPa(2 bar 或 30psi, psi:pounds per square inch);
- (2) 低压液相色谱: <500kPa( <5 bar 或 75psi);
- (3) 中压液相色谱:500 ~ 2000kPa(5 ~ 20bar 或 75 ~ 300psi);
- (4) 高压液相色谱: >2000kPa( >20bar-或 300psi);

注:1 bar  $\approx$  14.5 psi, 1 bar = 105Pa = 100kPa = 760mmHg

低、中、高压液相色谱的压力范围之间通常有交叉,只是为了区分方便,才如此划分。各种压力下制备液相色谱样品的大致范围见图 8-1,但这种划分也不是绝对的。

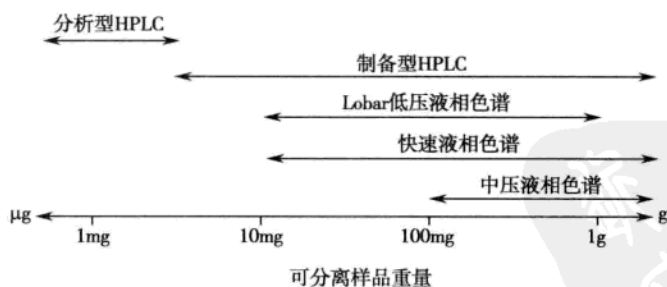


图 8-1 根据制备规模对加压液相色谱方法的大致分类

### 第一节 快速柱色谱

快速柱色谱 (flash column chromatography, FCC) 法是指用压缩气体产生压力,



加速流动相洗脱速度的低压柱制备液相色谱系统。FCC 克服了普通柱分离的缺陷,具有快速省时、分离效率高、简单易行的优点,所以国内外合成实验室基本都倾向于用此法。对于 0.01 ~ 10g 的样品,只要  $\Delta R_f$  值 > 0.15,在 10 ~ 15min 内就可快速得到分离。

该法首先由 Still WC 于 1978 年详细介绍,1981 年获专利保护。

## 1 色谱条件

### 1.1 吸附剂硅胶

选用 60Å,粒度为 40 ~ 63 $\mu\text{m}$ (230 ~ 400 目),粒度过大、过小都会使分离度降低。分离度通常用保留时间  $r$  对半峰宽( $w/2$ )的比值表示。如图 8-2 所示。

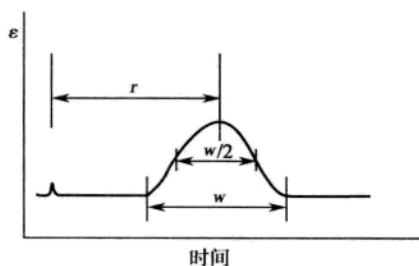


图 8-2 经典色谱图:保留时间  $r$  与峰宽( $w$ )和半峰宽( $w/2$ )的关系

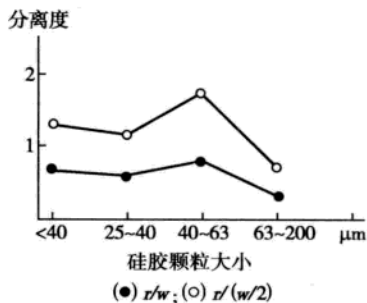


图 8-3 硅胶颗粒大小( $\mu\text{m}$ )与分离度 [ $r/w, r/(w/2)$ ] 关系

由实验获得的硅胶颗粒大小与分离度 [ $r/w, r/(w/2)$ ] 的关系见图 8-3。由图可知,在给定的标准条件下,常用硅胶 60(70 ~ 230 目,63 ~ 200 $\mu\text{m}$ ) 表现出最差的分辨率,而硅胶 60(40 ~ 63 $\mu\text{m}$ ) 的固定相可得到最好的分辨率。

### 1.2 流动相

(1) 通常以 TLC 展开条件为依据,对被分离成分,要求  $R_f$  值在 0.35 左右。

(2) 在 TLC 板上对混合成分有良好的分离,要求  $\Delta R_f > 0.15$ ;  $\Delta R_f \geq 0.1$  时,即使在上样量小的情况下也能得到较好的分离。

(3) 流速:实验证实,使用硅胶 60(40 ~ 63 $\mu\text{m}$ ) 作为固定相,流速为 5.2cm/min(2in/min) 时,可得到最好的分辨率(图 8-4)。

### 1.3 干法装柱

硅胶高度要求 13 ~ 15cm(5 ~ 6in),装柱法与普通干法装柱相同。溶剂加入后,加压,排除空气,并使硅胶溶剂化。

### 1.4 上样、洗脱与收集

采用粒度为 40 ~ 63 $\mu\text{m}$  的硅胶为吸附剂时,色谱柱直径、洗脱剂体积、上样量、一般流分体积见表 8-1。

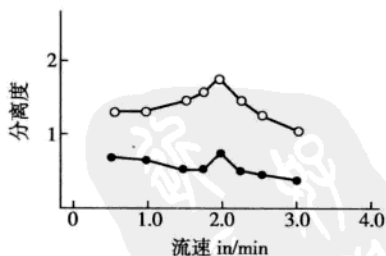


图 8-4 分离度与流速(in/min)关系

表 8-1 采用 40 ~ 63 $\mu\text{m}$  硅胶为吸附剂时的相关参数

色谱柱直径 (mm)	洗脱剂体积 (ml)	上样量(mg)		一般流分体积 (ml)
		$\Delta R_f \geq 0.2$	$\Delta R_f \geq 0.1$	
10	100	100	40	5
20	200	400	160	10
30	400	900	360	20
40	600	1600	600	30
50	1000	2500	1000	50

### 1.5 压力泵

多数情况下实验室采用空气压力泵,一般要求  $0.3 \sim 0.4 \text{ kg/cm}^2$  即可(约 200kPa),可通过控制流速在  $5.2 \text{ cm/min}$  ( $2 \text{ in/min}$ ) 来实现。色谱柱上端相接的塞子是压力控制阀,可通过调节压力来控制流速,如图 8-5 所示。除了用空气压力泵外,还可以选用氮气钢瓶加压方式,尤其适合于对接触空气易氧化的样品分离。

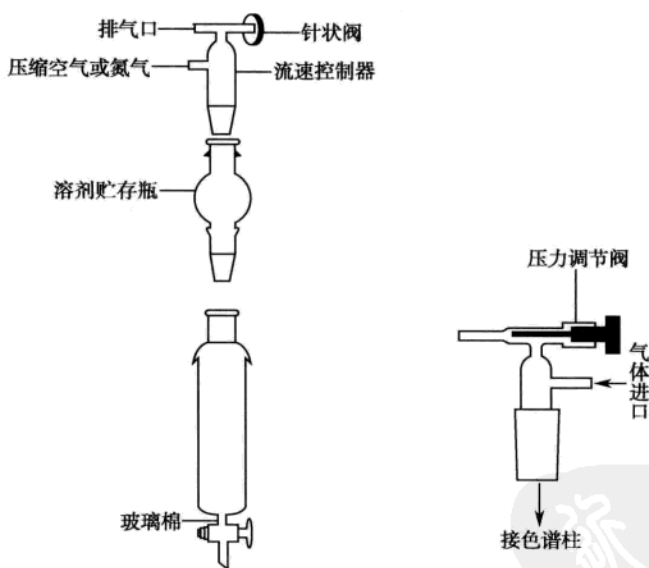


图 8-5 快速柱色谱装置(左)与压力控制阀(右)

## 2 小结

快速柱色谱的条件与步骤:

- (1) 选用对欲分离成分在 TLC 板上有较好的分离效能的洗脱剂,要求  $R_f$  值 = 0.35,且  $\Delta R_f > 0.15$ 。
- (2) 选择合适的色谱柱,内装粒度  $40 \sim 63 \mu\text{m}$  (230 ~ 400 目)的硅胶,高度  $13 \sim 15 \text{ cm}$  (约  $5 \sim 6 \text{ in}$ )。

(3) 加入洗脱剂,在压力下快速将硅胶中的空气排除。

(4) 上样后,加洗脱剂洗脱,流速控制(压力)流速为  $5\text{cm}/\text{min}$  (约  $2.0\text{in}/\text{min}$ ),以上是快速柱色谱的必要条件。

(5) 一般的样品在  $15\text{min}$  内即可完成分离。

### 3 应用实例

对光学异构体 1 和 2 的分离[图 8-6(a)],选择 5% 的乙酸乙酯/石油醚为洗脱剂, $R_f$  值分别为 0.35 和 0.24,  $\Delta R_f = 0.09$ ,  $1\text{g}$  的 1 与 2 的混合物,用直径  $40\text{mm}$  的色谱柱,  $65\text{ml}$  为 1 个流分,在  $7\text{min}$  内,可迅速分离。洗脱剂总体积为  $500\text{ml}$ 。图 8-6(b) 为各流分的收集与展开结果。

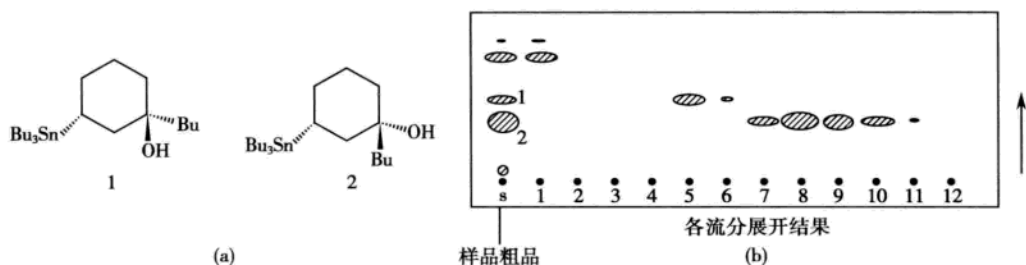


图 8-6 化合物结构(a)与各流分的收集与展开结果(b)

## 4 快速干柱色谱

快速干柱色谱是一种干柱色谱与快速色谱结合的色谱技术。与干柱色谱不同的是其利用柱前加压的方法,使洗脱剂全程流经色谱柱,与全程加压薄层色谱原理相同。在柱内装入干的填料后,加入样品,通常是吸附在少量的填料上。洗脱方式可以采用常规方法,也可以采用梯度洗脱的方法。具体操作与快速柱分离色谱相同。

## 第二节 低压液相柱色谱

### 1 Flash 色谱系统

自从 1978 年 Still 发明了快速色谱后,经过 30 余年的发展,快速色谱系统已经被广泛使用。狭义的快速色谱系统是指用压缩气体产生压力,加速流动相洗脱速度的低压短柱制备液相色谱系统;广义的快速色谱系统是指包括一切输液方式的中低压液相色谱系统。现在还有人将快速色谱译为“闪式色谱”,也称之为“Flash 色谱”。Flash 色谱主要用于有机化合物的分离、纯化,在有机药物合成、天然药物化学等领域应用较多。

经过对 FCC 装置的改进形成的经典快速色谱系统实际上就是低压色谱系统,一般使用粗短的塑料柱,适合于分离简单的样品。Flash 色谱系统由输液压力罐、流量调节阀、Flash 预装柱、上样装置组成,设备紧凑、使用方便、重现性高。经典的 Flash 色谱仍使用气压加压,

压力范围在 0 ~ 700kPa, 使用压力大都在 500kPa 以下。Flash 柱长约 15cm, 填料粒度为 40 ~ 60 $\mu\text{m}$ , 有商品化 Flash 柱, 也可以人工填充。应用 Flash 色谱柱可进行固体与液体上样, 手工收集流分。

最近 Flash 色谱已发展了自动化程度与分离速度更高的产品, 产生了自动化 Flash 色谱, 其装置带有柱、色谱泵、检测器、自动流分收集器、工作站, 有的仪器还有梯度洗脱系统与柱切换系统、自动进样系统, 可自选优化条件, 实现无人操作, 极大地降低了人力成本, 加快了开发速度。全球已有多家仪器厂商提供全套的快速色谱装置。

低压 Flash 色谱用于制备, 拥有以下优点:

(1) 分离速度快, 一般为开口柱色谱分离时间的 1/8, 节省时间。

(2) 制备量大, 可达几百克。使用短粗柱(直径: 长度  $\leq 1:7$ ), 与同样直径的 HPLC 制备柱相比, 至少可多上一倍的样品量。

(3) 成本低, 首先仪器设备价格低廉, 其次使用溶剂比玻璃柱节省。硅胶柱可多次使用, 节省硅胶用量。

(4) 使用简单, 不需要特殊溶剂处理, 液体样品可直接用注射器进样, 难溶样品可以干法上样, 操作人员不需要经过特殊培训。

Flash 色谱法的效果主要取决于洗脱溶剂的优化与柱子装填的效果。Flash 色谱柱, 可以根据待分离样品的性质、量的多少加以选择或填装。在多数实验室情况下, 可以自行填充柱子, 根据被分离物的不同, 制备不同规格的色谱柱, 包括反相色谱柱的填料。图 8-7 和图 8-8 是 Buchi 公司 Sepacore Flash 色谱系统和 Sepacore Flash 预装柱的实物图。

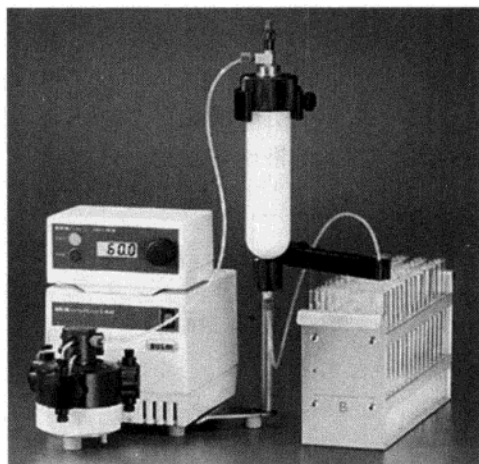


图 8-7 Buchi 公司 Sepacore Flash 色谱系统

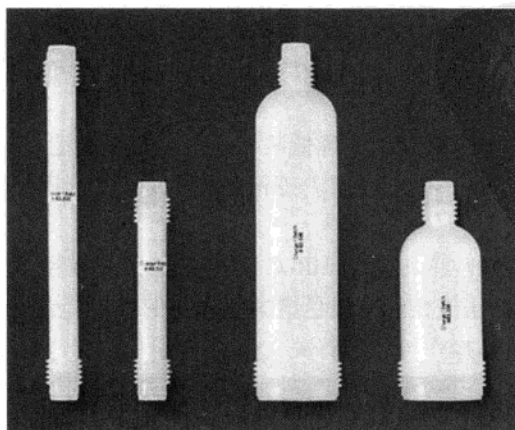


图 8-8 Sepacore Flash 预装柱

## 2 制备型低压液相色谱柱

除了低压 Flash 色谱系统外,使用最广泛的制备型低压液相色谱系统是德国默克(Merk)公司为用户提供的玻璃材质的低压预装柱——Lobar 系列产品,其中包括多种规格的预制柱。商品化的 Lobar 柱可以分离克数量级的样品,其分辨效果有时可接近 HPLC 分辨率。Lobar 色谱柱由玻璃制成,装填具有 FDA 支持文件的粒径为  $40 \sim 63 \mu\text{m}$  的 LiChroprep 填料作为固定相,色谱柱两端被烧结的玻璃所封闭,柱两端连有聚四氟乙烯环的金属管与输液泵,配备一定机械附件,使操作半自动化或自动化(图 8-9)。分离条件可由相应的 TLC 结果直接选用,一般采用组成恒定的洗脱剂,也有采用梯度洗脱的报道。目前市场上已有很多国产化的预填充柱,价格比较便宜。

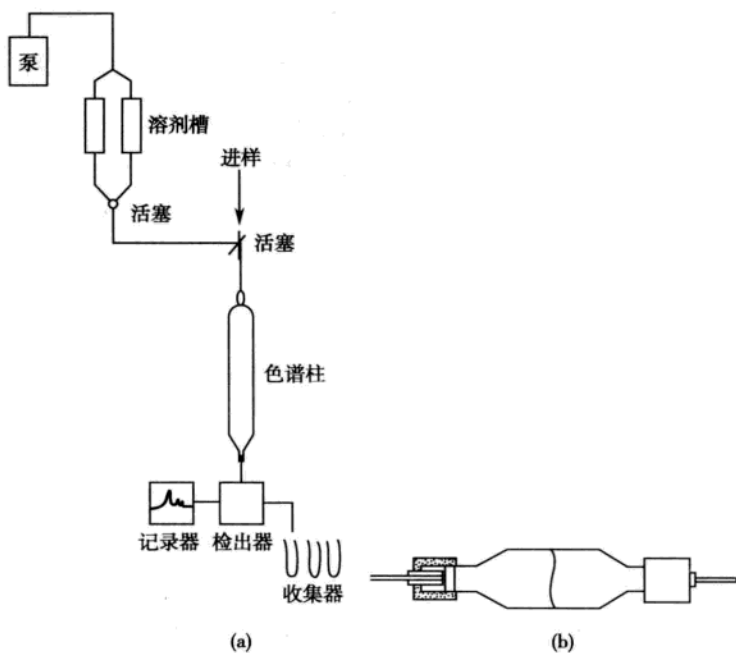


图 8-9 液相预制柱色谱法(a)与预制柱(b)

预制柱的使用可以减少装柱时间,降低装柱过程对实验室造成的污染,最大限度地减少人为因素造成的分离过程的不确定因素。各种规格的 Lobar 色谱柱的尺寸及分离规模见表 8-2。

Lobar 色谱柱固定相的粒度相对于 HPLC 所用固定相的颗粒要大,因此在低压下,流动相可保持较高的流速。低压液相预制柱色谱的应用实例很多,已广泛应用于合成化合物、天然产物的纯化和分离,具体操作可参考有关文献和参考书。

表 8-2 Lobar 色谱柱的规格和分离规模

填充剂	长度(mm) × 内径(mm) × 外径(mm)	上样品量
LiChrorep Si 60	240 × 10 × 13	~0.2g/0.3 ~ 1.0ml
LiChrorep RP-8	240 × 10 × 13	~0.2g
LiChrorep Si 60	310 × 25 × 28	~1.0g/1.0 ~ 5.0ml
LiChrorep DIOL	310 × 25 × 28	~1.0g/1.0 ~ 5.0ml
LiChrorep RP-8	310 × 25 × 28	~1.0g
LiChrorep Si 60	440 × 37 × 42	~3.0g/2.0 ~ 10.0ml
LiChrorep RP-8	440 × 37 × 42	~3.0g/2.0 ~ 10.0ml

### 3 Flash 低压色谱应用实例

应用美国 ISCO 公司生产的 Combiflash Rf 75 快速制备色谱仪纯化制备化学反应产物。

#### 3.1 Combiflash Rf 75 主要部件名称及功能

(1) 主要部件名称(图 8-10):

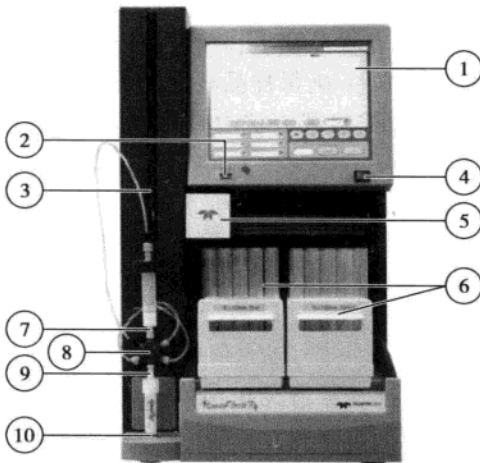


图 8-10 Combiflash Rf 75 分离纯化制备色谱仪

①触摸面板液晶显示器——系统检测和控制；  
 ②USB 接口——支持 USB 设备，可进行文件传输，输入输出方法以及系统软件升级；  
 ③可调式色谱柱支架——进样阀及色谱柱支架可滑动调节以适应不同大小的色谱柱；  
 ④开机/待机按钮；  
 ⑤流分收集臂及滴头——流分收集臂及滴头自动移动将液体转移到收集管中；  
 ⑥收集管及其支架——支架带有 RFID 标志，系统可自动识别支架类型及收集管大小；  
 ⑦进样端口——可以连接固体进样管(图示)和液体注射器或相似装置进样；  
 ⑧进样阀——根据不同的操作模式，六通路阀门自动定位，模式分为：柱平衡、注射进样、洗脱、冲柱、阀门清洁、系统排气；  
 ⑨色谱柱上卡盘——固定色谱柱入口端；  
 ⑩色谱柱下卡盘——固定色谱柱出口端

(2) 仪器性能

- 1) 上样量:4mg ~ 3g;
- 2) 进样器:针式进样器、阀式进样器、自动液体进样器,固相预装柱;
- 3) 色谱柱:4 ~ 330g,可高达 1kg,RFID 自动识别色谱柱类型和尺寸;
- 4) 流速:5 ~ 100ml/min;
- 5) 最大压力:500kPa(5bar/75psi);
- 6) 检测器:254nm 固定(可选双波长,200 ~ 360nm 可调);
- 7) 梯度泵:单元泵,可升级为 4 溶剂系统;

- 8) 显示屏:10.5 英寸触摸屏控制;
- 9) 软件:内置 Peak Trak 软件,单屏即可设置所有参数,运行过程中可随时修改调整参数;
- 10) 流分收集器:内置,多种类型支架可选,RFID 自动识别支架类型,无需用户调整定位。

### 3.2 仪器使用操作

(1) 系统准备:包括系统启动、系统配置设定等。

(2) 样品准备

1) 易溶样品:如果样品可以溶解到起始的流动相中,则可以将它制成溶液,在系统提示时,注入色谱柱。

2) 难溶样品:许多化合物不溶于色谱中所用的溶剂,或者是溶解度十分有限,在这种情况下,有两种进样方式。一些样品可以简单地用其他易溶溶剂溶解,然后转移到样品柱中,直接或真空干燥后将样品柱装到系统中使用。另一些样品需要溶解后与色谱柱的填充介质相混合,在不影响化合物的条件下将溶剂除去,化合物吸附在介质上,再将此混合物倾入空的样品柱中。如果填充介质是硅胶,建议使用粒度为  $40 \sim 60 \mu\text{m}$  ( $240 \sim 400$  目)的规格,用量为样品质量的  $4 \sim 5$  倍。将溶液搅动一段时间,使样品很好地吸附到介质上。使用适当的方法将溶剂除去,例如旋转蒸发。将混合物装入样品管中,使样品沉降、压实。在样品上面加一个砂芯并压紧。将装好的样品柱安装到支架上,将可调节的样品柱封盖安装到仪器上,并按压扣在样品柱上,将样品柱旋转  $1/4$  圈,使之密封。将封盖上的活塞推入样品柱,顶住上砂芯,并确保样品柱上端固定。将样品柱下端与进样阀门连接。在一些情况下可采用色谱柱负载方法上样,即将样品或与吸附介质的混合物直接填到色谱柱中。

(3) 色谱柱安装:利用产品信息,选择合适的固定相介质和柱型。抬起进样阀,将色谱柱插入到底座上,慢慢放下进样阀,与色谱柱顶端的接口连接好。将色谱柱旋转  $1/4$  圈,使之密封。安装好色谱柱后,系统会应用射频识别技术自动检测介质种类和柱型,当不能识别时,可手动输入以上信息。

(4) 运行方法

1) 启动程序:①输入样品名称,检查设置;②根据实际情况在菜单中选择进样方式;③检查或更换收集支架及收集管;④根据系统反馈的信息,如所需溶剂量、产生废液量、所需收集管的量等,及时检查并保障运行所需条件;⑤开始运行系统。

2) 运行中的操作:仪器运行阶段,可以利用显示器检测其运行状况,如洗脱剂的紫外吸收情况、梯度比例都可以实时显示。如果需要,也可以在此过程中随时改变梯度参数或进行各种控制操作。当运行到达设定的时长时,此分离或纯化过程即停止。

分离结束后,用极性溶液将色谱柱、内部管路和流动池中的残余化合物洗脱,并用高速空气泵自动吹扫系统管路内残留的有机溶剂至废液瓶。关闭系统。

### 3.3 操作实例

邻氰基苯胺的水解反应见图 8-11(a)。根据反应得到的混合物经 TLC 检测,含有 A、B、C、D 4 种物质,其中 A 为未反应完全的原料,B 为要分离的目标产物,C 和 D 均为其他副产

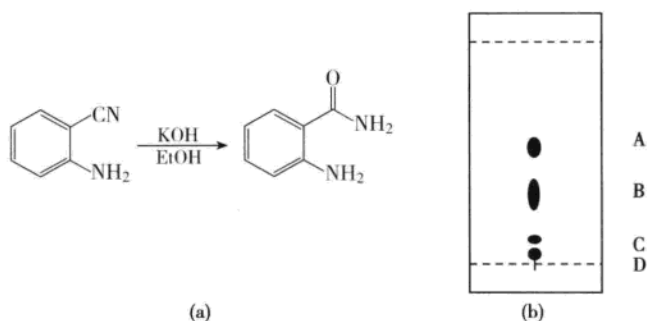


图 8-11 邻氰基苯胺的水解反应(a)及 TLC 示意图(b)

物[图 8-11(b)]。展开剂为乙酸乙酯:石油醚=1:1。样品混合物为固体,因需用较多乙酸乙酯溶解,故选择干法上样。制备好样品柱与色谱柱,安装到位,做好其他准备工作后,启动系统,进入如图 8-12 所示界面。

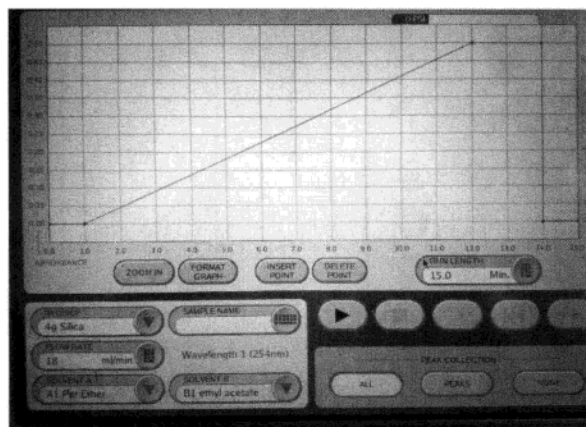


图 8-12 操作界面

在界面中添加样品名称,选择色谱柱类型为 4g Silica,溶剂种类 A1 为石油醚、B1 为乙酸乙酯,流速为 18ml/min,收集方式为 PEAKS,并设置工作曲线为线性洗脱(因为线性洗脱只需做较少的 TLC 实验即可确定正确的洗脱系统),运行时间为 15min。点击运行按键,在弹出的对话框中选择收集起始的样品管为 1,上样方式为固体上样,系统开始运行。其间,可以根据情况改变工作曲线,也就是两种溶剂的比例以及运行时间。运行完毕后,系统会自动清洗并吹干管路。在“FILE”下拉菜单中可以选择保存此次的工作方法和结果报告。如图 8-13 所示,在线性洗脱约 12min 后,目标化合物已经分离出来,因为 TLC 检测 C、D 两点距离较近,如极性继续增大则不容易分开,故改变工作曲线为等度洗脱并延长了工作时间。结果显示 C、D 两峰仍有部分重叠,如确需分别收集,下次分离时降低洗脱剂中乙酸乙酯的比例即可。不同组分分别用试管收集,以不同颜色标记(图 8-14)。



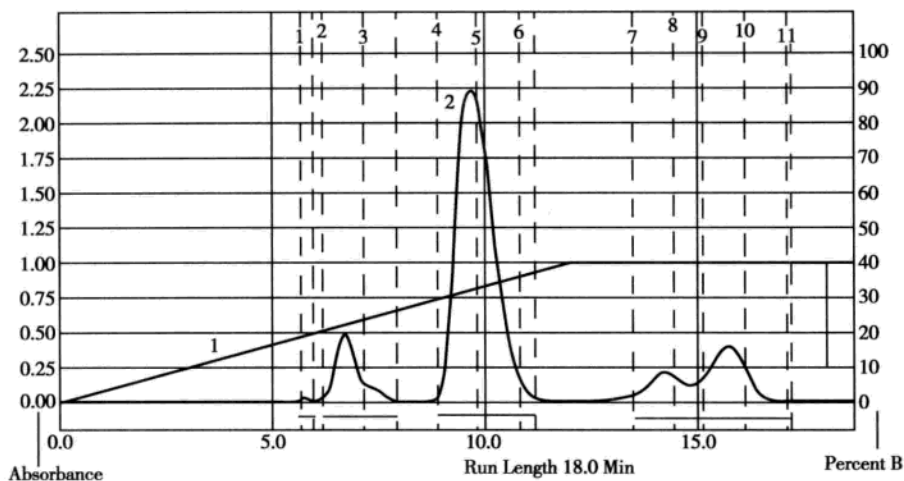


图 8-13 结果报告中的运行情况图示

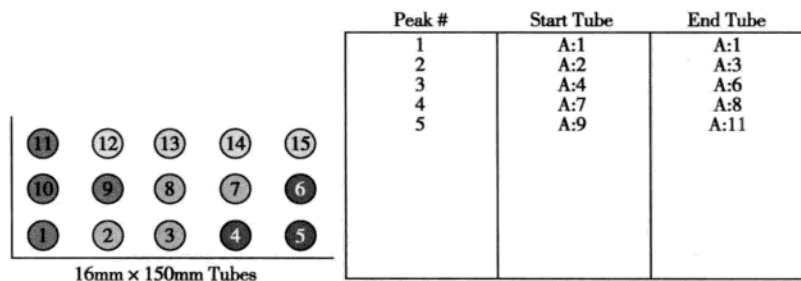


图 8-14 紫外吸收峰、所收集化合物与试管编号的对应情况

### 第三节 中压液相色谱

常压和低压柱色谱分辨率一般较低,为了增加分离度,提高色谱柱的分离效率,通常采用更长的色谱柱,填充更细的固定相填料,使用比低压更高的压力来维持适当流速。另外,应用市售 Lobar 预制柱通常难以分离 5g 以上的样品,为了能承载更多的样品,也应求助于增加压力的液相色谱。中压液相色谱(MPLC)所用压力常常在 500 ~ 2000kPa (5 ~ 20bar/75 ~ 300psi) 范围,比低压液相柱色谱(LPLC)具有更高的分辨率及更短的分时间。

中压液相色谱比常压和低压柱色谱系统有所改进,需要投资更多的组件,包括一套加压装置,所需压力由恒流输液泵提供;填料粒度较小而容量较大的色谱柱;另外,需要梯度洗脱形成仪、进样装置、检测系统、记录系统和收集装置等。一些中压 Flash 快速色谱在国内外均有产品销售。色谱柱可以购买,实验室更多的情况下是靠手工填装制备。

#### 1 色谱柱(预制柱)的填装

(1) 固定相选择:中压液相色谱柱固定相粒度一般较低压色谱要小,最常用的有 15 ~

25 $\mu\text{m}$ 、25~40 $\mu\text{m}$ 、40~63 $\mu\text{m}$  的填料。很多实验已经证明,选用粒度小的填充剂(如 25~40 $\mu\text{m}$ ),在中压条件下,样品的分离度和分离速度将显著提高。

(2) 装柱的方法:装柱的好坏是影响分离效果的关键因素。中压液相色谱柱可以用湿法或干法装柱。有实验证明用氮气加压干法装柱效果更理想。操作时应小心,避免玻璃柱的胀裂。同时实验还证明,使用等量固定相的前提下,应用细长的色谱柱比短粗的色谱柱有更好的分辨率。

除了上述提及的氮气加压干法装柱外,还可以使用轴向压缩技术填充色谱柱。该法需要特制的色谱柱,柱的一端或两端有气动活塞,可以挤压色谱柱的填料,能防止色谱柱死空间的出现。

(3) 上样:上样方法可以采用液体上样,也可以对难溶性物质采用固相分散法上样。中压液相色谱柱有较大的载样量,待分离样品与填料的比值可达 1:25。

(4) 流动相的选择:已有学者介绍了优化硅胶中压液相色谱系统的流动相选择方法。可以将薄层色谱溶剂条件直接用于中压液相色谱或中间经过一步分析型加压薄层色谱转换,经后者转换可协助寻找到更准确的放大实验的溶剂条件。

## 2 商品化仪器

除了商品化的中低压 Flash 快速制备分离系统,中压液相制备色谱主要有 Pharmacia、Bio-Rad、Buchi 等。例如 Buchi B-680 中压液相制备色谱 B-680 系统(图 8-15 和 8-16):

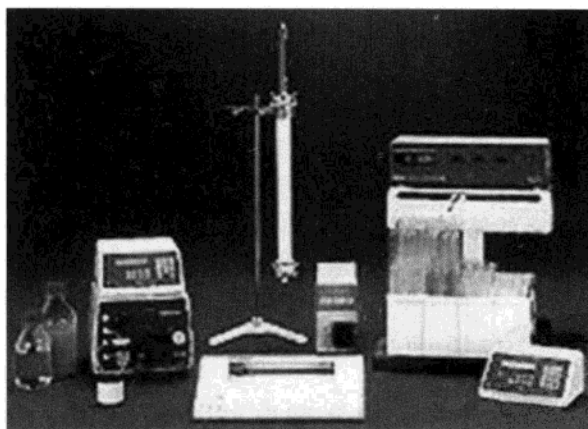


图 8-15 Buchi B-680 中压液相制备色谱系统

主要配置有 B-688 蠕动泵(220V/100Hz),紫外连续波长检测器(190~740nm),B-684 自动流分收集器,预柱,正相、反相标准柱  $L = 460\text{mm}$   $\Phi = 26\text{mm}$ 、 $L = 460\text{mm}$   $\Phi = 36\text{mm}$ 、 $L = 460\text{mm}$   $\Phi = 49\text{mm}$ 。适用于各类化合物的制备、分离,可根据所分离、制备化合物的极性大小,选择适宜的柱填料。

技术参数如下:

- (1) 样品的处理量为 1mg~50g。
- (2) 制备能力 3~29ml/min 或 16~160ml/min。

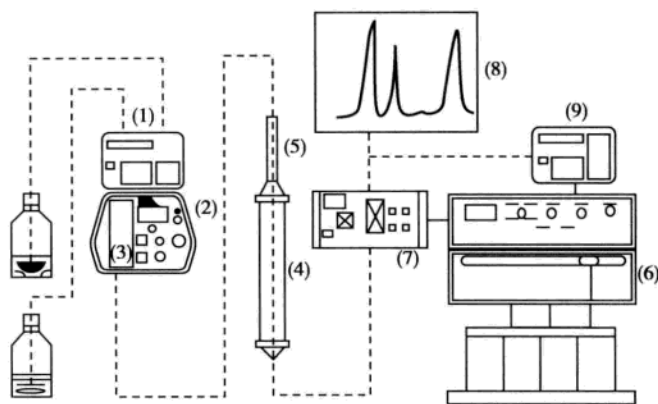


图 8-16 Buchi B-680 系统示意图

(1) B-688 蠕动泵; (2) 梯度形成器; (3) 进样器; (4) 色谱柱; (5) 前置柱; (6) 流分收集器; (7) 检测器; (8) 记录仪; (9) 峰位检测仪

(3) 玻璃分离柱的最大承受压力为 4000kPa (40bar); 在最大压力时, 流速可在 3 ~ 160ml/min 范围内调节。

(4) 紫外检测器为 200、220、254、280nm 或 190 ~ 740nm 连续波段。

(5) 收集器的最大流分收集管为 250ml, 可分离 100mg ~ 100g 样品。

手工干法装柱: 有实验证明干法装柱可使固定相填充密度提高 20%。装填时先将固定相加入连于柱顶的容器内, 当固定相装完后, 应使容器内多出的固定相体积足以装填 10% 体积的色谱柱, 然后将该装置与氮气钢瓶相连。打开色谱柱出口, 施加 1000kPa (10bar) 的氮气压力, 直至填料的高度维持恒定。关闭氮气阀门, 先使柱内的压力降至与柱外相同, 再对色谱柱进行调节 (图 8-17)。虽然该类色谱柱的最大承受压力只有 4000kPa, 但使用颗粒度为 15  $\mu\text{m}$  的固定相则可以获得同 HPLC 柱类似的分离效果。

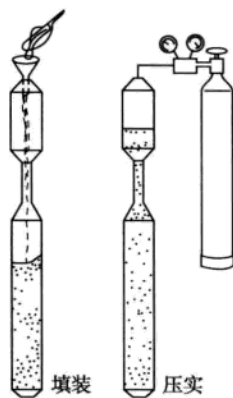


图 8-17 Buchi MPLC 玻璃柱的干法装填

#### 第四节 制备型高效液相色谱

近年来, 从自然资源中寻找具有生物活性的化合物的探索工作日益受到人们的关注。人们在运用高效的筛选方法, 从植物、海洋生物及微生物中发现新的先导化合物的同时需要一个快速、有效的分离方法以分离目标化合物, 而色谱技术是迄今人类掌握的对复杂混合物分离效率最高的一种方法, 能够分离物化性能差别很小的化合物。分析型高效液相色谱 (HPLC) 技术一经出现就引起广大研究者, 特别是分析化学工作者的高度重视, 使这项技术在分析应用方面取得了巨大的成功。现在随着人们大规模分离的需要, 制备型高效液相色谱技术 (preparative high performance liquid chromatography, PHPLC) 也相应产生了, 并受到人们越来越广泛的重视, 已成为当代高效分离与纯化技术的研究前沿, 用于制备高纯度生物活

性物质。

## 1 制备型 HPLC 与分析型 HPLC 的区别

制备型 HPLC 是在传统分析型 HPLC 的基础上发展起来的一种高效分离纯化技术,但制备色谱不是分析色谱的简单放大,它与分析色谱有许多不同之处。分析色谱需要全面反映样品组成的信息,不需要收集特定的流分,洗脱液通常废弃;而在制备色谱中,目标产物的纯度、产量、生产周期、运行成本等成为主要的考虑因素,因此制备色谱与分析色谱在操作参数的优化上有很大不同。

## 2 制备型 HPLC 的分类

制备型高效液相色谱根据待分离样品的负载量可分为两类,一类为研究开发型,另一类为工业生产型。研究开发型高效液相制备色谱属于实验室规模的制备分离,样品量为微克级至克级,分离的样品一般供生物活性测试、结构鉴定以及作为标准品等。这类色谱中,经济效益并不是首要考虑的因素,对仪器装置的要求不高,任何达到预期分离目标的仪器均可使用。对于工业生产型制备高效液相色谱,经济效益是其整个纯化过程考虑的核心因素,纯化样品量为千克级至吨级。这两类制备色谱在柱设计上也有很大不同,实验规模制备分离所用色谱柱的设计、填充及操作与常用分析柱基本相同,其内径一般为 10 ~ 50mm,但大规模生产所用制备柱的内径通常大于 50mm,为了得到高的柱效,其柱型及结构与前者也不同,对填料及其填充技术的要求也更高。

## 3 影响制备型 HPLC 分离纯化的因素

在对制备型 HPLC 分离纯化过程进行优化时,影响因素有很多,包括色谱柱的内径、柱长、填料尺寸、上样量以及流动相的组成、流速等各种因素。

### 3.1 柱尺寸

现代高效制备液相色谱柱具有柱短、内径大、呈圆饼状等特征。目前高效制备柱的柱长与常规分析柱相仿,一般为 20 ~ 50cm,远短于传统柱长(为 1m,甚至 1m 以上的制备柱),而内径为 10 ~ 1000mm,因此可以在较大的流速下不至于产生很高的柱压降。在制备型 HPLC 分离过程中,为了提高分离效率,可以采用增加柱长的办法。但在满足分离度的前提下,应尽量使用较短的制备柱。为了提高制备量,可以使用内径较大的制备柱,但随着色谱柱内径的增加,会产生柱放大效应,使得柱效降低,导致总分离效果下降。

### 3.2 高效制备填料

一般来说,分析型 HPLC 中的填料可考虑用于制备型 HPLC 中,但制备型色谱由于填料使用量大,故对填料尤其是用于大规模工业化色谱中的填料有特殊的要求。高效制备填料一般具有机械强度高、负载量高、粒度分布范围窄、填料各批量之间重现性好等特点。通常制备型 HPLC 每米的塔板数在 20 000 以上,有的甚至可达到与分析柱相仿的柱效。一般认为,采用小粒径的色谱填料可以明显提高柱效和分离度,但填料粒径越小,柱压降越大,受到泵能力的制约。因此,在制备分离过程中,对于难分离物质,可以采用较小粒径的色谱填料,以提高分离效率。但在满足分离要求的前提下,使用较大粒径的色谱填料可以获得较大的

生产能力,而且填料价格相对便宜,因而更为有利。

除了硅胶外,最常用的“万能柱”填料为“C18”,简称 ODS 柱,即十八烷基硅烷键合硅胶填料(Octadecylsilyl, ODS)。这种填料在反相色谱中发挥着极为重要的作用。由于 ODS 是长链烷基键合相,有较高的碳含量和更好的疏水性,对各种类型的生物大分子有更强的适应能力。近年来,为适应氨基酸、小肽等生物分子的分离需要,又发展了 CH、C3、C4 等短链烷基键合相和大孔硅胶(20~40 $\mu\text{m}$ )。

### 3.3 装柱技术

主要采用轴向压缩法、径向压缩法和环向压缩法。其中动态轴向压缩法(dynamic axial compression, DAC)填装的色谱柱柱床均匀、性能稳定、柱效高。目前, DAC 柱已基本上主宰了整个制备型色谱柱市场,柱径已从 25mm 发展到 1.6mm。

### 3.4 柱型

制备型高效色谱柱按柱型可分为锥型柱与圆柱型柱两大类。马继平等研究了不同色谱柱的柱型对柱效的影响。将锥型柱同有相同长度、相同容积的圆柱型柱的柱效、样品容量及峰高进行比较,结果表明锥型柱优于圆柱型柱,锥型柱的样品容量约为圆柱型柱的 2 倍,柱效比圆柱型柱高 36%,色谱流出曲线峰值比圆柱型柱高 12%。

### 3.5 上样量

为了提高柱产量,一般需采用柱超载方式进行操作。根据样品处理量和样品的溶解度等,可以采用两种操作方式:一种是使用小的注入体积,但增加样品浓度,即所谓的“质量超载”;另一种是保持较小的样品浓度,但增加样品体积,即所谓的“体积超载”。一般在满足分离要求的前提下,可以采用柱超载方式操作,以提高制备量。当一次操作所要处理的样品量较小时,采用质量超载方式更为有利;当一次操作所要处理的样品量较大时,采用体积超载方式更为有利。

### 3.6 流动相与流速

在进行制备型液相色谱分离时,所用溶剂的纯度很重要。虽然含纯化合物的流动相溶剂中仅含有微量的不挥发性杂质,但当大量溶剂蒸发后,其杂质浓度就会增高。制备型液相色谱往往需消耗大量溶剂,因此应在溶剂纯度与所用数量之间进行权衡。流动相中的非挥发性添加剂会在产物回收时造成麻烦,这时可采用挥发性缓冲液来改进分离效果,又易于将其除去。现代高效制备液相色谱法具有流动相流速高的特点。洗脱方式主要有两种:一种是维持流动相的热力学参数不变的等度洗脱法;另一种是改变流动相的一种或几种热力学参数的梯度洗脱法。流动相的流速一般在 5~10ml/min 或更高。

正相色谱常用的流动相及其冲洗强度的顺序是:

正己烷 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 异丙醇

最常用的是正己烷,虽然其价格较贵,但 80% 的顺、反和邻位、对位异构体仍然要用正相色谱来进行分离。

反相色谱最常用的流动相及其冲洗强度的顺序是:

H<sub>2</sub>O < 甲醇 < 乙腈 < 乙醇 < 丙醇 < 异丙醇 < 四氢呋喃

最常用的是甲醇-H<sub>2</sub>O 和乙腈-H<sub>2</sub>O, 由于乙腈有毒性, 通常优先考虑甲醇-H<sub>2</sub>O 作为流动相。

反相色谱中, 溶质按其疏水性大小进行分离, 极性越大疏水性越小的溶质, 越不易与非极性的固定相结合, 所以先被洗脱下来。流动相的 pH 对样品溶质的电离状态影响很大, 进而影响其疏水性, 所以在分离肽类和蛋白质等生物大分子的过程中, 经常要加入修饰性的离子对, 最常用的离子对试剂是三氟乙酸(TFA), 使用浓度为 0.1%, 使流动相的 pH 为 2~3, 这样可以有效地抑制氨基酸上  $\alpha$ -羧基的离解, 增加其疏水性, 延长洗脱时间, 提高分辨率和分离效果。

### 3.7 样品预处理

在进样之前, 需对样品进行过滤。使用能套在注射器上的滤片可以除去样品中混有的颗粒状杂质, 既方便又廉价。颗粒状杂质可能损坏高压液相色谱仪的阀门, 阻塞管道或柱子入口端的滤板。滤片可以是不锈钢或塑料的, 但通常用一次性的聚丙烯外壳的滤片。这种滤片一般有凹陷的入口及细凹的出口, 可与注射器相连。过滤膜的材料可以是聚四氟乙烯、乙酸纤维、尼龙、纸或无机膜。在选用过滤膜时应注意使其适合于所用的溶剂, 这一点在使用含四氢呋喃的溶剂时尤其重要。在色谱柱与进样器之间安装前置柱可除去颗粒状杂质和吸附性强的样品组分。前置柱通常装有少量与色谱柱相同的填料, 如填充得当, 对系统分离效果不会造成很大影响。硅胶预处理柱可防止含有缓冲盐或碱的流动相引起麻烦, 上述物质可破坏键合相填充料的硅胶骨架, 常会在柱的上部形成空隙。预处理柱安装在泵与进样器之间, 这样尽管流动相被硅胶所饱和, 但在进样途中不会有空隙或气泡。

## 4 基本装置

制备型 HPLC 是一种基于组分在固定相(柱填料)和流动相(洗脱液)中分配系数的微小差异, 当两相做相对运动时, 样品中的各组分将形成不同迁移速度的谱带而实现分离的新型高效分离技术。制备型 HPLC 的装置主要由输液泵、进样系统、色谱柱、检测器、流分收集器、数据采集与处理系统等部分组成。

### 4.1 输液泵

制备型 HPLC 不需要很高的输送压力, 一般为 19.6MPa。输液泵采用的是恒流的机械往复泵或恒压的气动放大泵, 因为它们具有较高的输送速率和连续输出溶剂的能力。然而当采用装入小颗粒固定相的粗柱进行制备型 HPLC 时, 需用能提供较大压力的泵。在某些场合, 所需压力高达 15 000kPa(150bar), 此时采用薄膜泵较合适。

### 4.2 进样系统

在制备型 HPLC 的分离中, 可以采用一个进样阀(如六通进样阀)将较大的样品方便地注入柱子而不影响流动相的流动。通过更换样品环可以方便地改变进样量。如果使用注射器, 一般采用停留进样技术, 即样品在常压下注入, 然后再启动泵。也可采用隔膜进样法, 用注射器将样品定量地注入柱中。

### 4.3 色谱柱

相对于分析型 HPLC, 制备型色谱的核心就是色谱柱。为提供既稳定又高效的色谱柱, 用小尺寸颗粒进行填充, 最常用也是最易实现的效果较为理想的是动态轴向压缩柱

(DACTM)技术。在制备型 HPLC 中,色谱柱的内径在 100 ~ 500mm 之间。一般增大色谱柱的直径意味着可以承载更多的样品。增加色谱柱的长度则意味着可加入的样品量和分辨率的增大,但同时也增加了柱压。研究表明,对于难分离物质,可以采用直径较小的色谱填料,以提高分离效率,但在分离度可以满足分离要求的前提下,使用较大直径的色谱填料将更为有利。

#### 4.4 检测器

常用的检测器有紫外吸收检测器(UVD)、光电二极管阵列检测器(DAD)、荧光检测器(FLD)、示差折光检测器(RID)和蒸发激光散射检测器(ELSD)等。

紫外吸收检测器(UVD):是目前 HPLC 中应用最广泛的检测器。它的主要特点是灵敏度高、线性范围宽、对流速和温度变化不敏感,可用于梯度洗脱。它要求被检测样品组分有紫外吸收,属于选择性检测器。

光电二极管阵列检测器(DAD):DAD 的发展是 HPLC 技术最重要的进步,属光学多通道检测器,它可以看作是 UVD 的一个分支。在对每个洗脱组分进行光谱扫描,经计算机处理后,得到光谱和色谱结合的三维图谱。因 DAD 在全部紫外波长上检测色谱信号,不仅可以进行定量检测,而且可以提供组分的光谱定性信息。DAD 在 1s 内,可快速扫描 100 000 个检测数据,绘制出时间-吸光度-波长三维关系的立体色谱图。噪声低至  $3 \times 10^{-6}$  AU。

荧光检测器(FLD):同样属于选择性检测器,其灵敏度在目前常用的 HPLC 检测器中是最高的,应用也较多,仅次于 UVD。它适用于能激发荧光的化合物。很多与生命科学有关的物质,如氨基酸、胺类、维生素、甾族化合物及某些代谢药物都可以用 FLD 检测。

示差折光检测器(RID):是一种通用型检测器,只要被测组分与洗脱液的折光指数有差别就可使用。生命科学中常遇到各类糖类化合物,没有紫外吸收,一般常用 RID 进行检测。它的通用性比 UVD 广,但灵敏度要低,对温度变化敏感,并与梯度洗脱不相容,因而限制了它的使用。通常适用于制备分离,不过在某些系统中为了准确地检测样品中的所有峰,往往需要将 RID 与 UVD 配合使用。

蒸发光散射检测器(ELSD):蒸发光散射检测器消除了常见于其他 HPLC 检测器的问题,如示差检测受溶剂前沿峰的干扰使得分析复杂化,并且由于对温度极其敏感使得基线很不稳定,与梯度洗脱不相容。另外,示差检测器的响应不如 ELSD 灵敏。而低波长紫外检测器在急变梯度条件下受基线漂移的困扰,并要求被分析化合物带有发色团。ELSD 则不受这些限制。不同于这些检测器,ELSD 能在多溶剂梯度的情况下获得稳定的基线,使得分辨率更好、分离速度更快。另外,因为 ELSD 的响应不依赖于样品的光学特性,所以 ELSD 检测时样品不要求带有发色团或荧光基团。因此,蒸发光散射检测器可应用于分析任何挥发性低于流动相的化合物,包括碳水化合物、药物、脂类、甘油三脂、未衍生的脂肪酸和氨基酸、聚合物、表面活性剂、营养滋补品及组合分子库等。

#### 4.5 流分收集器

在制备型分离中,需使用大量的洗脱剂,因此要采用适当的收集器。若收集一个或几个已分离的组分,用手动流分收集器即可。然而当大量样品组分必须一次分离或为了提高一个或多个组分的收集量而要进行多次重复性分离时,使用自动流分收集器更为方便。如有

可能,应对溶剂回收再用,因而也应尽量不使用混合溶剂。在使用反相或聚合物吸附剂进行分离时,有时从水溶液中回收样品较困难,一种解决办法是蒸去其中的有机溶剂,然后用甲苯或氯仿提取残留水分。

#### 4.6 数据采集与处理系统

常采用具有某些人工智能特点的制备型 HPLC 整套设备,用一台计算机控制整个仪器的运转,并进行数据的收集、贮存和处理等工作,从而使制备型 HPLC 的分离速度以及自动化程度等大为提高。

### 5 循环制备 HPLC

循环制备 HPLC (recycle preparative HPLC) 配备了自动循环系统,可将没有完全分离的部分进行多次循环,直至分离。这相当于将分离柱无限延长,从而提高分离效果。如 LC-9102/LC-9103 型循环制备 HPLC 的流程图(图 8-18)。

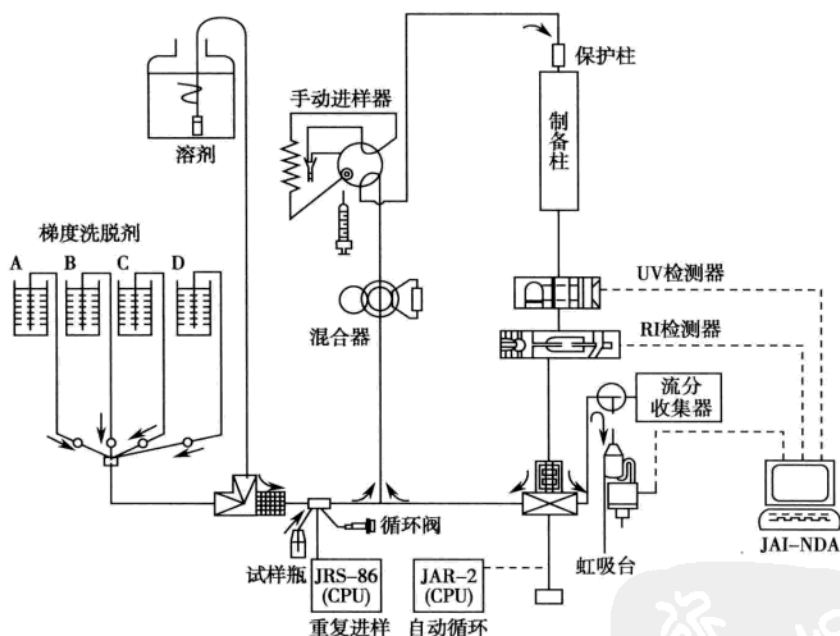


图 8-18 LC-9102/LC-9103 型循环制备 HPLC 的流程图

循环制备 HPLC 所使用的色谱柱具有很高的理论塔板数,所配备的检测器灵敏度相当高,在不更换色谱柱的条件下,从 mg 级到 g 级的样品均能完全分离。

#### 参 考 文 献

1. Still W Clark, Kahn Michael, Mitra Abhijit. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *J. Org. Chem.*, 1978, 43 (14) : 2923-2925.
2. Onocha PA, Okorie DA, Connolly JD, et al. Monoterpene diol, iridoid glucoside and dibenzo-a-pyrone from *Anthocleista djalonsensis*. *Phytochemistry.*, 1995, 40(4) : 1183-1189.



3. 张建明. FLASH 色谱技术, <http://www.chem17.com/>, 2007.
4. 美国 ISCO 公司. 快速制备色谱高效纯化分离化合物. 5 版. 香港: 环球(香港)科技有限公司, 2009.
5. K. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术——在天然化合物分离中的应用. 赵维民, 张天佑, 译. 北京: 科学出版社, 2000.
6. 袁黎明. 色谱技术丛书·制备色谱技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2005.
7. 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1997.



## 第九章

# 手性化合物的拆分技术

### 第一节 概 述

#### 1 手性分子与旋光性

如果两种异构体分子中所有原子的连接顺序都相同,而分子中的原子(或基团)在空间上的排列方式不同,这样的异构体称为立体异构体(stereoisomer)。立体异构体又分为对映异构体(enantiomer)和非对映异构体(diastereomer)。对映异构体之间互为实物和镜像的关系,但由于分子中具有不对称因素,不能相互重合,就像人的左右手的关系一样,因此,这类互为实物和镜像关系,而又不能重合的分子又称手性分子。手性(chirality)这一术语形象而又科学地表达出化合物分子间的对应关系。

手性分子中若有一个手性中心,一般就有一对对映体;有  $n$  个手性中心将产生  $2^n$  个立体异构体,其中有  $2^{n-1}$  对对映体。手性分子由于结构中具有不对称因素而具有一种特殊的物理性质——旋光性,即能将入射偏振光的偏振平面旋转一定角度,因此对映异构体又称光学异构体。手性化合物常用的表示方法有如下几种:

(1) 右旋体与左旋体:是利用对映体间光学活性的差异来表示手性化合物。其中能使偏振光的偏振面按顺时针方向旋转的对映体称为右旋体(dextroisomer),化合物名前加(+ )或  $d$  表示;反之,称为左旋体(levoisomer),化合物名前加(- )或  $l$  表示。外消旋体(racemate)由等量的左旋体和右旋体构成,因此无旋光性,化合物名前加( $\pm$ )或  $dl$  表示。而内消旋体(mesoform)由于其两个手性中心相互抵消,因此也无旋光性。值得注意的是,化合物的旋光性往往因实验条件(温度、浓度和溶剂等)的不同而有所改变。如氯霉素(chloramphenicol)在乙醇中是右旋体,而在乙酸乙酯中却是左旋体;又如萘普生(naproxen)有活性的右旋体是其游离酸,而左旋体是其钠盐。

(2) D 和 L 系统:D 和 L 系统的表达方式以标准参照物的化学相关性来确定化合物的立体化学构型。此系统所使用的标准参照物有糖类如 D-甘油醛,氨基酸类如 L-丝氨酸等。在  $RR'XC^*H$  型光学异构体中,按国际命名原则,取其主链竖向排列,以氧化态较高或 1 号碳原子置于上方,照 Fisher 投影法投影,在所得投影式中,X 在右边者称为 D 型,X 在左边者称为 L 型。例如乳酸分为 D-(-)-乳酸和 L-(+)-乳酸两种光学异构体。由于 D/L 构型表示方法与表示旋光方向的小写字母  $d$  和  $l$  容易混淆,且表达意义又不够明确,因此,该系统目

前主要用于糖和氨基酸类手性化合物的化学命名。

(3) *R* 和 *S* 系统: *R* 和 *S* 系统中, 将与手性中心连接的 4 个取代基按原子序数依次排列, 如  $A > B > C > D$ 。把 *D* 作为手性碳原子四面体的顶端, *A*、*B*、*C* 为四面体底部的 3 个角, 从四面体底部向顶端方向看, 从大到小基团按顺时针方向排列者称为 *R* 型, 而逆时针方向排列者则称为 *S* 型(图 9-1)。*R* 和 *S* 系统命名法也称为绝对构型表示法。

非对映异构体中有一部分是由于分子中含有不能自由旋转的双键而使连接在双键两端的原子上的基团(或原子)所处的空间位置不同而引起的异构现象。这类异构现象习惯上称为顺反异构(也叫几何异构)。这类异构体由于分子中含有对称面(由双键确定的分子平面), 不是手性分子, 也没有光活性。另一些非对映异构体则是由于分子中含有两个(或两个以上)不对称中心而引起的异构现象。这类异构体之间虽然不是实物和镜像的关系, 但分子中含有不对称因素, 其中大部分有光活性。

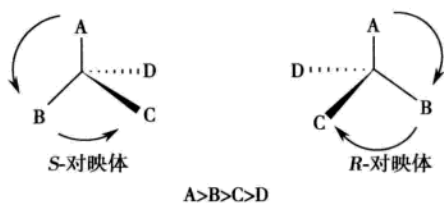


图 9-1 *R* 和 *S* 绝对构型表示法

## 2 研究手性化合物的重要意义

从三维空间上研究有机化合物分子的结构与性能之间的关系, 已经在生命科学和材料科学等许多重要领域中实际应用, 并对生物化学、药物化学、药理学、高分子化学等相关学科的发展产生了深刻的影响, 如生命过程的立体选择性与分子的立体构型之间的关系; 药物分子的立体构型与受体之间的相互作用、与药理作用和药效之间的关系; 各类天然有机产物的立体构型与生物活性之间的关系; 还有高分子材料的立体构型与性能之间的关系。因此, 研究单一光学纯度的异构体变得日益重要。

### 2.1 生命现象中的手性分子识别

在自然界, 特别是在生物体系中, 手性化合物的两个对映体的存在量是不同的, 有的仅以单一的对映体存在。例如, 构成蛋白质的氨基酸都是 *L*-氨基酸, 而组成多糖和核酸的单糖则是 *D*-单糖。许多天然存在的手性小分子也主要以对映体中的一种存在。这种现象, 称为手性优择(chiral preference)。手性优择是自然界的一种属性, 但产生这种属性的确切机制、起源和过程仍是一个未解之谜, 是当今科学研究的重要课题之一。手性优择使得作为生命活动重要基础的生物大分子(如核酸、蛋白质、受体、酶、多糖等)具有不对称的性质, 也使得酶只催化特定手性底物的反应, 受体仅与特定手性的小分子化合物结合等。手性的两个对映体分子与生物大分子之间作用的选择性现象可称为手性识别。手性识别是当今生命科学研究的热点之一, 对于在分子水平上揭开生命的奥秘有重大的意义。

### 2.2 手性药物与药效学

1960 年沙利度胺(反应停, thalidomide) 外消旋体被作为镇静剂和止吐剂用于孕妇的早期妊娠反应, 使用后出现了药物致畸的悲剧。直到 1965 年, 研究才发现 *S* 构型的沙利度胺有镇静作用, 而另一对映体 *R* 构型的沙利度胺则有致畸作用。随着近年来分离和分析技术的发展, 对映体的测定已逐渐成为医药界的常规分析项目。因此, 许多国家的药政部门对手

性药物的开发、专利申请及注册都作出相应的规定,对于手性药物倾向于发展单一对映体产品,鼓励把已在销售的外消旋药物转化为手性药物。对于申请新的外消旋药物,则要求对两个对映体都必须提供详细的生理活性和毒理数据,不得作为相同物质对待。因此开发单一对映体药物即手性药物,已成为全球制药工业中的一个新兴领域。

根据文献报道,当今世界常用的化学药物约为 1850 种,其中 523 种是天然的或半合成的药物,除 6 种非手性药物和 8 种外消旋体药物外,均为单一对映体;另外 1327 种为化学合成药物,其中 60% 为非消旋药物,40% (528 种) 为手性药物,除 61 种作为单一对映体供药外,大多数(467 种)以外消旋体的形式给药。因此这是不合理的,因为在外消旋体手性药物中,对映体的药理活性通常具有显著的差异。根据现有资料,药物手性对药效学的影响大体可归纳如下:

(1) 手性药物分子中只有一种对映体有活性,而另一种无显著的药理作用。例如  $\alpha$ -甲基多巴(图 9-2, 化合物 1) 是一种中枢降压药物。它实际上是一种前药 (prodrug), 口服吸收后可通过血脑屏障, 在脑内经脱羧酶脱羧代谢为甲基多巴胺, 再经酪氨酸羟化酶转化为甲基-N-去甲肾上腺素, 后者为有效的中枢  $\alpha$ -肾上腺素受体激动剂, 可产生降压作用。体内酶的作用是专一性的, 只对左旋体有脱羧作用, 而对右旋体是无作用的。又如沙丁胺醇和特布他林(图 9-2, 化合物 2, 3) 是两种支气管扩张药物, 它们的 *R*-构型药效比 *S*-构型药效强 80 ~ 200 倍。

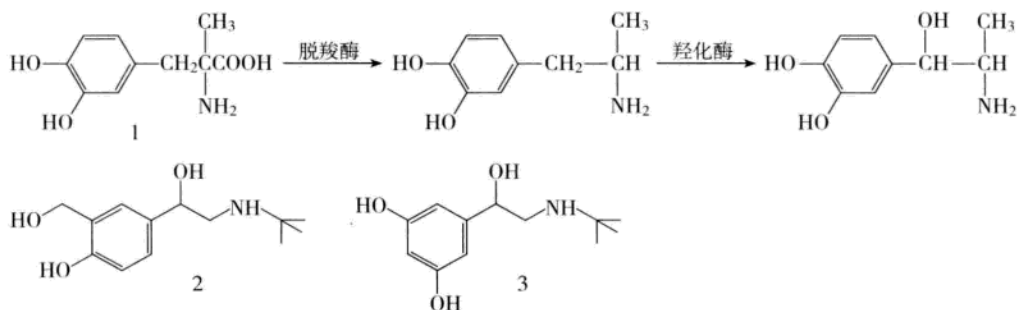


图 9-2 化合物 1、2、3 的结构及 1 的体内代谢反应

除了上述例子外,还有许多药物都是两个对映异构体中只有一个有药理活性而另一个无药理活性或活性很小的情况。活性的大小,往往是由对映体与受体间的亲和力决定的。具有高亲和力的对映体称为优映体 (eutomer), 亲和力低的对映体称为劣映体 (distomer)。多年以来劣映体被当作无活性的废品,并推测外消旋体的活性是优映体活性的一半。实际情况并非如此,研究已证明,一个劣映体有可能产生副作用,也可能拮抗优映体的作用,与受体结合后甚至产生与优映体相反的作用。

(2) 两个对映体具有等同或相近的同一药理活性。例如加替沙星、异丙嗪(图 9-3, 化合物 4、5) 的对映体药理作用差别不大,在这种情况下,如果毒副作用也相差不大就没有必要使用单一的对映体纯化合物。

(3) 两个对映体具有完全不同的生理活性。例如索他洛尔(图 9-4, 化合物 6) 其 *R* 对映体为  $\beta$ -阻滞剂, *S* 对映体具有抗心率紊乱作用;右旋丙氧吩(图 9-4, 化合物 7) 是一种镇痛

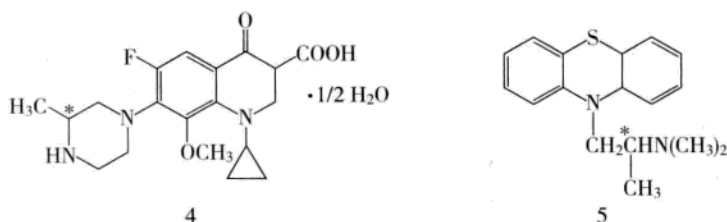


图 9-3 化合物 4、5 的结构

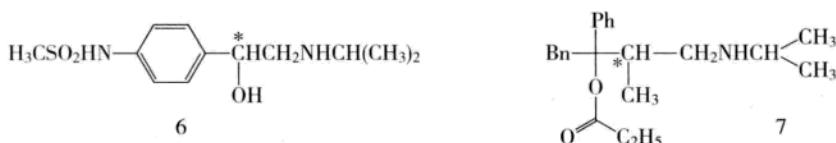


图 9-4 化合物 6、7 的结构

剂,而其左旋体则是一种止咳剂,两者表现出完全不同的生理活性。

(4) 两个对映体中一个有活性,另一个有毒副作用。典型的例子当属沙利度胺(图 9-5,化合物 8),两个对映体中只有 *R*-对映体具有镇静作用,而 *S*-对映体是一种强力致畸剂。如乙胺丁醇(ethambutol,图 9-5,化合物 9)的一种构型用于治疗结核病,而另一种构型却可致盲。

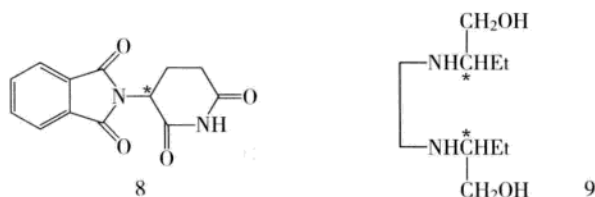


图 9-5 化合物 8、9 的结构

(5) 对映体中,一个有活性而另一个有拮抗作用。在黄皮酰胺的研究中发现其左旋异构体有明显的促智作用,能增加基础突触传递并增强由高频电刺激诱发的 LTP 幅值;而右旋体无促智作用,反而可抑制 LTP 作用。左旋体的促智作用是消旋体的 10 倍。

(6) 两种对映体作用互补。Indacrynic acid 类似物(图 9-6,化合物 10)是一种利尿剂。目前使用的利尿剂,常引起血中尿酸水平提高,这可能是水分被排出而尿酸被保留在血液中所致。这种高尿酸血症有引起心血管循环系统疾病和肾病的危险。而 Indacrynic acid 则不同,其(+)异构体有利尿作用,其(-)异构体有促尿酸排泄作用。使用外消旋体正好可克服大多数利尿剂的副作用。

多巴酚丁胺(Dobutamine,图 9-6,化合物 11)是一种兴奋剂,它的(-)异构体具有弱  $\beta$ -兴奋作用和强  $\alpha$ -兴奋作用;而(+)异构体则具有强  $\beta$ -兴奋作用和弱  $\alpha$ -拮抗作用;外消旋体具有强  $\beta$ -兴奋作用和弱  $\alpha$ -兴奋作用。其外消旋体与大多数肾上腺功能用药不同,能增强心脏的收缩力,却不会引起心率的增加。

从上述研究实例可以看出,含有手性中心的药物分子,其外消旋体与两个对映体在药

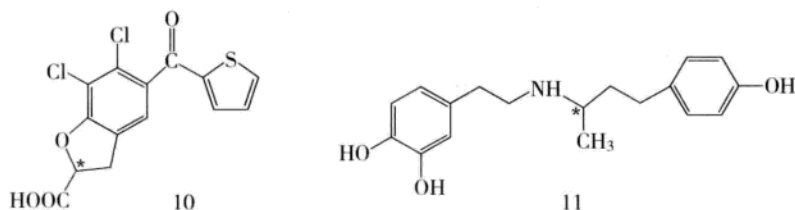


图 9-6 化合物 10、11 的结构

效、药理作用、代谢物的性质等方面都表现出很大的差别。目前世界上研制出的新药含手性中心的越来越多,为了科学、合理地使用这些药物,避免受劣映体或其代谢产物的毒性和副作用的危害,有些药物必须使用优映体代替外消旋体;有些药物,其两种对映体的药理作用完全不同,则应当分开使用。

### 2.3 手性精细化学品与生物活性

各类精细化学品例如杀虫剂、杀菌剂、昆虫性信息素、植物生长调节剂、动植物毒素、食品添加剂、香料等,其分子的光学异构体也常表现出很不相同的生物活性。例如,河豚毒素(tetrodotoxin)(图 9-7,化合物 12)是一种从河豚肝中分离出来的极毒化合物,其毒性与 C9 的立体构型有关,C9 为 *S* 构型,是天然得到的化合物且具有毒性;而 C9 是 *R* 构型则毒性很小。图 9-7 中,化合物 13 是一种日本金龟子性信息素,分子中含有一个手性中心和一个双键,只有碳碳双键为 *Z* 构型,同时手性中心为 *R* 构型的异构体才有生理活性。当样品中混有 3% *Z-S* 构型的异构体时就完全失去生理活性。化合物 14(Sulcatol)是一种树皮甲虫的聚集信息素。其中 100% 的 *S* 构型异构体完全没有生理活性,但渗入 1% *R* 构型的异构体时便开始具有生理活性。当两种异构体混合物含 65% 的 *S* 构型异构体和 35% 的 *R* 构型异构体时,其生理活性最强。

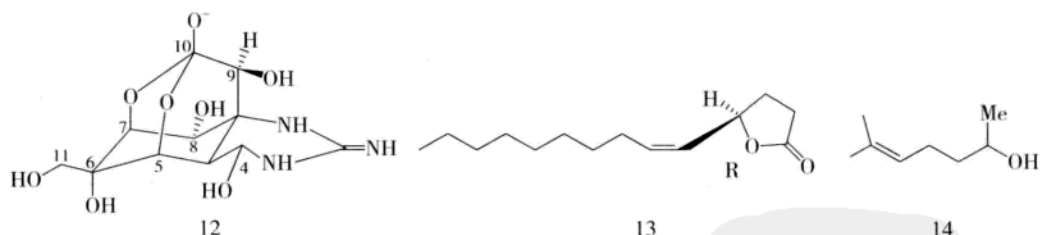


图 9-7 化合物 12、13、14 的结构

图 9-8 中化合物 15(Paclobutrazol)的分子中含有两个手性中心 C2 和 C3,其中(2*R*,3*R*)-异构体用作杀菌剂,具有高的杀菌作用和低的植物生长调节作用;而(2*S*,3*S*)-异构体则具有高的植物生长调节作用和低的杀菌活性,因而用作植物生长调节剂。化合物 16(Polygodial),其左旋对映体是一种昆虫拒食剂,能使 5 种昆虫拒食,而其对映体则完全没有生理活性。化合物 17(拟除虫菊酯,Permethrin)是一种家用杀虫剂。它的分子中含有一个三元环和两个手性中心,故可以有多种不同的立体异构体。下面列出主要几种有杀虫效果的立体异构体对家蝇和蟑螂的杀灭效果:

构型分别为:1*R*,3*cis*;1*S*,3*cis* 和 1*R*,3*trans*。

对家蝇和蟑螂杀灭率分别为 100%、100% ; 1%、0.1% ; 46%、15%。

化合物 18a 是一种甜味剂,而它的非对映异构体 18b 却是苦的。与此相反,天冬酰胺(19a)是甜的,而它的对映体(19b)却是苦的。

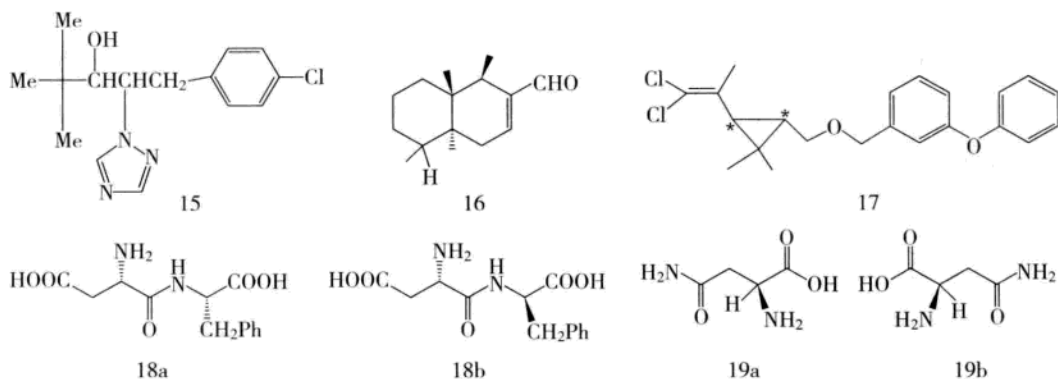


图 9-8 化合物 15、16、17、18a、18b、19a、19b 的结构

## 2.4 手性材料与性能

近十几年来新兴的旋光高分子材料的性能与其立体构型的关系备受人们的重视。由旋光活性单体聚合而形成的旋光高聚物与相应的外消旋单体聚合物相比,具有许多特殊的令人感兴趣的性质。例如, $\alpha$  取代或  $\beta$  取代的旋光性丙内酯聚合物的熔点比相应外消旋体聚合物的熔点高得多。

目前除旋光性聚内酯、聚内酰胺外,还有许多不同类型的旋光性高聚物不断被合成。除对它们的高熔点进行研究外,还对它们的力学性能、光学性能和电学性能进行研究。随着研究工作的深入进行,有望从旋光性高聚物中得到具有各种特殊优异性能的新材料。

液晶(liquid crystal)材料,在光信号的记录、储存和显示方面有重大用途。已有的研究表明,液晶的立体手性结构与其性能密切相关,手性材料的应用可以大大促进新型液晶材料的发现和利用。

以上手性分子在生命科学、化工和材料科学等有关领域的实际应用,充分说明了手性化合物制备和研究的重要意义。

## 3 获得单一手性化合物的方法

获得手性化合物的方法通常可分为三大类:即从天然产物中分离手性化合物、对映体拆分和不对称合成。

### 3.1 从天然产物中分离

天然存在的手性化合物种类很多,这些天然来源、含量较大的手性化合物就是所谓的“手性池”(Chiral pool)化合物。主要有五大类:

(1) 糖及糖的衍生物:糖类包括 D-葡萄糖、D-果糖、L-山梨糖、D-木糖、D-半乳糖;糖的衍生物包括 D-葡萄糖酸、D-山梨糖醇、D-木糖醇、D-葡萄糖胺盐酸盐、D-甘露醇。

(2) 有机酸类:(+)-酒石酸、(+)-抗坏血酸、(+)-乳酸、(-)-苹果酸。

(3) 氨基酸类:L-谷氨酸、L-亮氨酸、L-天冬氨酸、L-蛋氨酸、L-赖氨酸、L-苯丙氨酸、L-酪氨酸、L-缬氨酸、L-精氨酸、L-半胱氨酸、L-谷氨酰胺、L-组氨酸。

(4) 萜类化合物:(+)-柠檬烯、(+)- $\alpha$ -松油萜、(+)-樟脑、(+)-薄荷酮、(+)-香芹酮、(+)-樟脑酸、(-)-薄荷醇、(+)-樟脑磺酸。

(5) 生物碱类:(-)-番木鳖碱、(-)-辛可宁碱、(+)-辛可宁碱、(-)-马钱子碱、(-)-咖啡因。

由天然来源获得的手性化合物,原料丰富,价廉易得,提取过程简单,产品旋光纯度高(除个别例外,基本上都是旋光纯的)。因此许多产品都是用此法制备的。而且用化学拆分法和不对称合成法都要使用手性试剂,这些试剂归根结底也是从天然来源取得的。可以说大自然的创造依然是手性试剂取之不尽、用之不竭的源泉。

### 3.2 通过拆分方法获取

将一个外消旋体进行拆分,可分别得到两个不同的异构体。外消旋体拆分可分为直接结晶法、化学拆分法、色谱拆分法和生物拆分法。

(1) 直接结晶法:通过在一个外消旋体饱和溶液中加入一个纯对映体作为晶种或使用化学惰性的手性化合物为溶剂,进行结晶的方法。

(2) 化学拆分法:即用一种化学试剂把外消旋体中的两个对映体转化为非对映异构体,然后利用两种非对映异构体的物理性质如溶解度的差异,将两者分开的方法。例如非甾体抗炎药萘普生的拆分,以光学活性单一异构的有机碱和消旋萘普生的两个异构体分别生成两种非对映异构的盐,然后用结晶法将两种盐分开,然后再进行酸化即可得到两种光学纯单一异构的萘普生。

(3) 色谱拆分法:可用手性色谱柱直接分离对映体或由非手性色谱柱间接分离非对映异构体。

(4) 生物拆分法:用微生物或酶选择性地两个对映异构体之一转变成其他化合物,从而达到分离的目的。如对外消旋的萘普生酯进行酶法水解,则可得光学纯单一异构的酸和单一异构的酯。

近年来在拆分方法上又有新的进展,如利用主客体化学的包结拆分法和提高筛选拆分剂效率的组合拆分法等。

### 3.3 通过不对称合成方法获取

用这种方法制备单一对映体的手性化合物或药物,显然是合理的,然而由于两个对映异构体的化学性质完全相同,用一般的合成方法只生成一种对映体是十分困难的。这就要求反应具备高度对映面选择性的特点。不对称合成方法有以下几种:

(1) 手性源(chiron)的不对称反应:这个方法需要以光学活性的起始物为原料(如天然存在的手性化合物),制备其他手性化合物。虽然耗用手性源较多,但若选用的手性源价廉,且能在反应中被有效利用,也不失为一种好的方法。

(2) 手性助剂(chiral auxiliary)的不对称反应:借助手性助剂与底物的作用,生成手性中间体,再经不对称反应得到新的反应中间体,最后除去手性助剂部分,得到新的手性化合物。

(3) 手性试剂的不对称反应:即手性产物的获得是由光学活性的手性试剂来实现的。例如,不对称硼氢化就是由光学活性的硼氢化试剂进行反应的。HC Brown 发展了几种光学



活性的硼氢化试剂,都能使产物得到很高的对映体过量(ee值)。

(4) 手性催化剂的不对称催化反应:进行不对称反应时,加入少量的手性催化剂,使之与反应物或试剂形成高反应性的中间体,催化剂作为手性模板控制反应物的对映面,经不对称反应得到新的手性化合物。

前3种不对称反应是化学计量反应,而不对称催化反应则是催化量的反应,对于生产大量手性化合物是最经济和最实用的技术。

不对称催化反应是获取单一对映体手性药物最有前景的方法。2001年诺贝尔化学奖授予了在不对称催化反应中作出杰出贡献的3位科学家。Knowles和Noyori由于他们在不对称催化氢化中的工作而获奖。他们的方法在治疗帕金森病药物左旋多巴(L-dopa)和抗炎药左旋左氧氟沙星(levofloxacin)及半合成抗生素碳青霉烯(carbapenem)类药物的生产中得到应用。Sharpless则因不对称催化氧化方法而得奖,该方法在 $\beta$ -阻断剂的生产中也得到应用。

不对称催化合成中还应包括生物催化的工作。在某些情况下,生物催化可以比化学催化方法更为有利。

本章拟着重介绍各种光学对映体的拆分制备方法,包括外消旋体的直接结晶拆分法、化学拆分法和色谱拆分法。手性化合物的不对称合成制备方法不是本章介绍的内容,可参见有关专著。

## 第二节 外消旋混合物的直接结晶拆分法

### 1 外消旋体的一般性质

外消旋体由相等数目的对映体所组成。在气态、液态以及溶液中,外消旋体通常是理想的或近似理想的混合物。因此,在这些状态下,对映体间除对偏振光所呈现的性质不同之外,外消旋体和纯对映体应当具有相同的性质。例如,它们具有相同的沸点、折射率、液态密度和红外吸收光谱等。因此在一般情况下,是无法直接将对映体分开的。

然而,在晶态的情况下,分子的空间取向和排列是有序并且相对固定的。这时同种对映体分子之间的晶间力,与相反的对映体之间的晶间力是有明显差别的。分子间力的不同,产生了以下的3种情况。

#### 1.1 外消旋混合物

当对映体的分子在晶体时,相同构型对映体分子之间的亲和力大于相反构型对映体分子间的亲和力时,那么只要有一个(+)-分子进行结晶,则将只有(+)-分子在其上聚集,并使结晶增长。(-)-分子的情况与此类同。于是,将分别结晶成为(+)-或(-)-对映体的晶体。宏观上就是两种晶体:(+)型晶体和(-)型晶体的混合物,即所谓的“外消旋混合物”。

外消旋混合物的性质在许多方面都与其纯态的对映体相似,例如粉末X-衍射图和红外吸收光谱。然而,外消旋混合物的熔点,像所有典型的混合物一样,低于其纯的组分,而溶解度却较大。外消旋混合物及其两个纯对映体的熔点和溶解度曲线如图9-9所示。

在这种情况下,低共熔混合物总处于50%对50%的组分处,即熔点曲线的最低点,即外消旋混合物的熔点。1848年,L.Pasteur首次分离酒石酸对映体,他利用外消旋体酒石酸铵钠

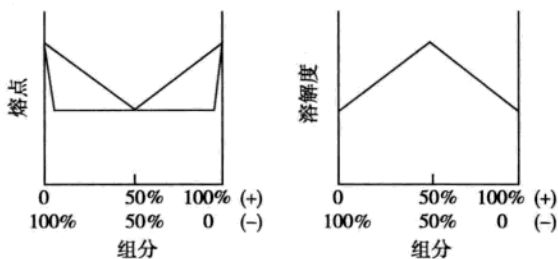


图 9-9 外消旋混合物的熔点和溶解度曲线图

盐在低于 27℃ 的水中结晶时,所形成的晶体是外消旋混合物,两个对映体的半面晶外观不一样(呈实物与镜像关系),故可借助放大镜,用镊子将两种晶体分开。

### 1.2 外消旋化合物

当对映体的分子结晶时,其同型对映体分子之间的晶间力小于两个不同型对映体间的晶间力时,两个不同型的对映体将在晶胞中配成对晶体,形成在计量意义上的真正的化合物。这一类型称为“外消旋化合物”。外消旋化合物其大部分物理性质都不同于其纯对映体。例如它们在固态呈现不同的红外吸收光谱和不同的粉末 X-衍射图,具有不同的熔点和溶解度。外消旋化合物的熔点处于熔点曲线的最高点,可以高于也可以低于纯对映体的熔点。外消旋化合物和其纯对映体的熔点和溶解度见图 9-10。

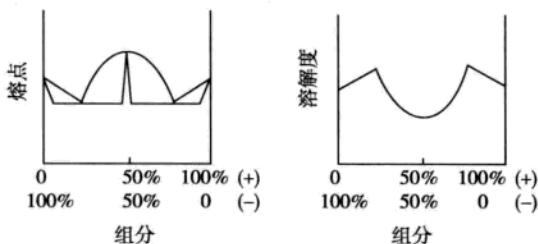


图 9-10 外消旋化合物的熔点和溶解度曲线图

有这样一些例子,同一个外消旋体,当低于某一温度时,结晶成外消旋混合物,而高于此温度时则结晶成外消旋化合物,或者反过来。例如,外消旋酒石酸铵钠盐在低于 27℃ 时结晶为外消旋混合物,高于 27℃ 时则结晶为外消旋化合物。可是,外消旋酒石酸如在高于 40℃ 时则生成外消旋混合物,而在低于 40℃ 时则生成外消旋化合物。

### 1.3 外消旋固体溶液

在某些情况下,当一个外消旋体相同构型的分子之间和相反构型的分子之间的亲和力相差甚小时,则此外消旋体所形成的固体,其分子的排列是混乱的,得到的是外消旋固体溶液。外消旋固体溶液与其两个对映体在许多方面的性质都是相同的,甚至熔点和溶解度也是相同的或相差甚微。外消旋固体溶液的熔点如图 9-11 所示。

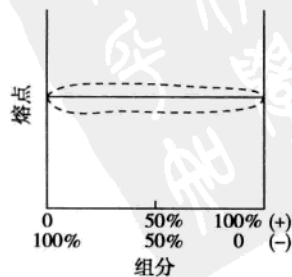


图 9-11 外消旋固体溶液的熔点曲线图

图中的水平实线表示的是一个理想的情况,而实际上,此曲线或是略凸起或是略凹下(虚线)。dl-樟脑如果在高于 $103^{\circ}\text{C}$ 结晶出来,可以获得外消旋固体溶液,而低于此温度时,则生成外消旋化合物。

区别这3种外消旋体的一个比较简便的方法,是利用它们的熔点图或溶解度图。在外消旋混合物中,加一些纯的对映体,通常将导致混合熔点升高。在外消旋化合物中,加一些纯的对映体,则将导致混合熔点下降。在外消旋固体溶液中,加一些纯的对映体,不引起明显的变化。

另一方面,外消旋混合物或外消旋固体溶液的饱和溶液,对于其对映体也是饱和的;但是外消旋化合物的饱和溶液,对于其对映体却不是饱和的。于是,如果向一个外消旋体的饱和溶液中加入少许其纯对映体之一的晶体,若这些晶体能够被溶解,同时溶液变为具有旋光性,则此外消旋体只能是一个外消旋化合物。

## 2 直接结晶拆分法

从外消旋体的性质可以看出,只有在一个外消旋混合物的情况下,(+)和(-)对映体可自发地以宏观的晶体分别析出,如果这些晶体可以被区别,那么就有可能像L Pasteur那样在放大镜的帮助下,用镊子之类的工具将外消旋体酒石酸铵钠盐的两个对映体拣出分开,而达到拆分的目的。类似的例子还有颠茄碱硫酸盐的结晶拆分。

晶体机械分离法的拆分存在的困难是它过于烦琐,而且不能应用于外消旋化合物和外消旋固体溶液。它只能应用于两种对映的晶体可以被区别的那些外消旋混合物。虽然现在已认识到右旋光性和左旋光性的晶体总显示出半面晶的形态,并互为实物-镜像的关系,但是具有特征的晶面,并不都呈现出较明显的差别,因此能直接拣出的例子较少。另外即使晶面有区别,操作也很烦琐,以致毫无实用价值。

### 2.1 接种结晶拆分法

接种结晶拆分法是一种比较有用的改良机械分离法。这个方法在拆分某些外消旋混合物时,是很有效的。

具体的操作方法:在一个外消旋混合物的饱和溶液中,加入两个对映体之一的晶种,适当冷却,那么这些晶体便要增长,而使相当量的这一旋光性的对映体自外消旋混合物中析出。滤去晶体后,重新加热母液,并补加外消旋体使之达到饱和,然后加入另一种对映体的晶种,冷却,另一对映体析出。这样交替进行,可获得大量纯对映体结晶。该法工艺简单、成本低、产率高,是理想的大规模拆分的方法。

接种结晶拆分法的一个典型例子是DL-氯霉素的母体氨基醇的拆分。

操作方法:将10g DL-氨基醇和1g D-氨基醇溶解在100ml  $80^{\circ}\text{C}$ 的水中,冷却至 $20^{\circ}\text{C}$ ,D-氨基醇已达到结晶析出的浓度,析出D-氨基醇,约1.9g。然后,将母液(滤液)再加热到 $80^{\circ}\text{C}$ ,并加适量的水以保持溶液的体积仍为100ml,溶解2g的DL-氨基醇于其中,冷却至 $20^{\circ}\text{C}$ ,这次是L-氨基醇达到结晶析出的浓度,于是析出L-氨基醇,约2.1g。

用这种分段操作法,分批连续地溶解DL-氨基醇,可以交替地分离出D-氨基醇和L-氨基醇,达到拆分的目的,产物的光学纯度可达94.8%(图9-12)。

如果没有纯的对映体的晶体可以用来接种,有时结构相似的旋光性化合物的晶体也可以用来作为晶种。例如,为使(+)-酒石酸铵钠盐自其外消旋体的溶液中结晶析出,不

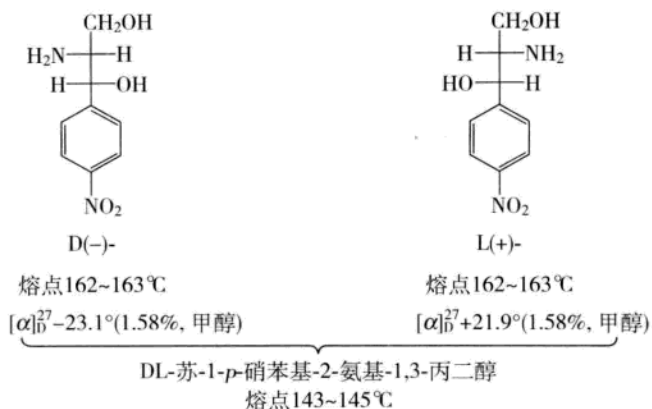


图 9-12 DL-氯霉素的母体氨基醇的拆分

仅可以用此(+)盐的晶种,而且也可以用(-)-天冬酰胺[ $\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ ]的晶体接种。有时甚至可以用一个没有旋光性的化合物的晶体进行接种而奏效。例如,用甘氨酸( $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$ )的晶体接种,曾使旋光性的天冬酰胺自其外消旋体的溶液中结晶析出。

现在已知可用于接种法拆分外消旋体的实例很多,并且有若干产品用这类方法大量制备,见表9-1。

表 9-1 用接种结晶拆分法拆分的外消旋体实例

外消旋体	溶剂	产物的光学纯度(%)
氯霉素的母体氨基醇	水,盐酸	94.8
N-苯甲酰二氯苯基异丙胺	异丙醇,水	>97.5
天冬氨酸	水,甲酸铵	93
亮氨酸苯磺酸盐	水	95.3
缬氨酸盐酸盐	异丙醇,水	97.9
$\alpha$ -氨基己内酰胺	乙醇, $\text{NiCl}_2$	97
$\alpha$ -氨基己内酰胺盐酸盐	甲醇,水	99
$\alpha$ -氨基苄基青霉素	水	$\approx 100$

在接种结晶拆分法的应用中,必须注意选用合适的溶剂和溶剂配比,操作时的投料量和温度等也应严格控制,才能获得较好的效果。

逆向结晶解析法是近年来发现的另一种原理的接种结晶拆分法。例如外消旋的谷氨酸、苏氨酸和天冬酰胺,可相应地通过加入少量的S-赖氨酸、S-谷氨酸和S-天冬氨酸,使R-谷氨酸、R-苏氨酸和R-天冬酰胺结晶析出。即析出来的和加进去的为不同类构型的晶体。这被认为是由于所投入的某种构型“相同”而组成不同的添加物,干扰了母液中具有“相同”构型对映体的结晶过程,从而导致相反构型对映体的析出。其添加剂称为“结晶抑制剂”。

## 2.2 化学惰性手性溶剂结晶法

有些外消旋混合物可以用合适的手性溶剂通过结晶的方法拆分。该方法的理论依据是:外消旋体的两个对映体与手性溶剂的溶剂化作用力应当是不一样的。例如 Luttringhaus 和 Berrer 用 (+)-酒石酸异丙酯作溶剂成功地拆分了化合物 20 和 21 的外消旋体(图 9-13)。Wynberg 曾用 (-)- $\alpha$ -萘烯作溶剂,通过直接结晶法,将化合物 22(七环杂螺烯)的外消旋体拆分(图 9-13)。

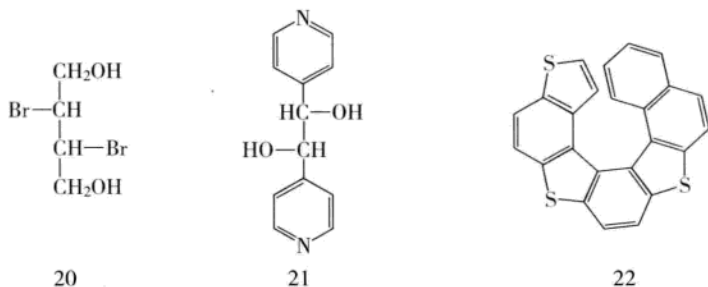


图 9-13 化合物 20、21、22 的结构

## 第三节 外消旋体的化学拆分法

### 1 化学拆分法的基本原理

L. Pasteur 在分离出了旋光性的酒石酸之后,开始着手研究两种对映体的性质。他发现各种金属和氨、苯胺等的两种酒石酸盐,除旋光性外,其他的物理性质包括熔点和溶解度等都相同,但是那些非对称的具有旋光性的天然碱类,如奎宁碱和番木鳖碱等的两种酒石酸盐却常具有很不相同的物理性质,包括溶解度和旋光性。这显然是因为一对旋光性的对映体分别与相同旋光性的试剂反应,所得到的是两个非对映立体异构衍生物的缘故。例如,对映体 (+)-A 酸和 (-)-A 酸分别与 (-)-B 碱反应,所生成的盐 (+)-A · (-)-B 和 (-)-A · (-)-B 的分子实际上彼此已不再互为对映体了,而是非对映立体异构体的关系。利用所形成的非对映立体异构体在性质上的差别,如使外消旋体(±)-酸与旋光性的(-)-碱反应,就有可能将 (+)-A · (-)-B 和 (-)-A · (-)-B 从由它们组成的混合物中彼此分开。Pasteur 以此为基础,创立了外消旋体的化学拆分法。

由于对映体立体结构的改变,使得所形成的非对映立体异构体在一些溶剂中的溶解度具有很大的差别,故分离非对映立体异构体通常采用的方法是进行结晶和重结晶。被拆分物为酸性化合物,则手性碱是最常用的拆分剂;被拆分物为碱性化合物,则手性酸是最常用的拆分剂。其一般操作步骤见图 9-14。

### 2 理想拆分剂应具备的条件

无论被拆分的外消旋体是外消旋混合物,还是外消旋化合物,或是外消旋固体溶液,拆分实验成功的关键是选择合适的拆分剂和溶剂。合适的拆分剂都能分别与其中的 (+) 和

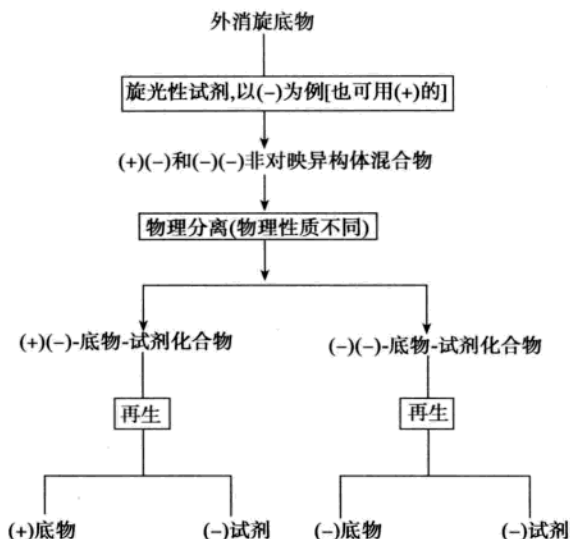


图 9-14 化学拆分法的基本步骤

(-)-对映体反应,而形成非对映立体异构体。理想的拆分剂应具备下列条件:

(1) 拆分剂和被拆分的外消旋体的两个对映体易结合形成非对映体,而且又容易被分解成原来的组分。具备这个条件的一般为有机酸和有机碱,通常将有机酸和有机碱在一个溶剂中混合,就立即生成盐,而多数的盐都具有较好的结晶性,结晶、提纯、分离之后,可以用无机酸或无机碱处理分解,即可相应地得到原来的有机酸和有机碱。

(2) 所形成的非对映立体异构体中至少有一种能形成好的晶体,并且两个非对映立体异构体在溶解度上有较大的差别。这一条件是否能得到满足,取决于被拆分物和拆分剂的性质以及所选用的溶剂。溶剂和拆分剂的选择是试验性的工作,有时很难找到参考。

(3) 拆分剂应当尽可能地达到旋光纯态。从原则上讲,通过非对映立体异构体的结晶分离外消旋体,被拆分化合物所能达到的纯度,不超过所用拆分剂的旋光纯度。假设:用一种旋光纯度为 90% 的碱(-)B[即还含有 10% 的(+ )B],拆分外消旋体(±)A 酸,那么在所形成的盐中,将含有:(+)A·(-)B、(-)A·(-)B 和(-)A·(+ )B、(+ )A·(+ )B。而这是两对外消旋体的关系,每一对的两个对映体应当具有相同的溶解度,因此在分离出的(+ )A·(-)B 或(-)A·(-)B 中,都将含有 10% 的外消旋体。最后分离所得(+ )A 或(-)A 的旋光纯度也只能最高达到 90%。但是,这个困难是可以克服的,因为经过初步拆分之后,所得到的各对映体,可以用结晶的方法进一步提纯。另外大多数天然的拆分剂,如植物碱等,都容易被制成旋光纯态;但合成的拆分剂,必须经进一步纯化之后,才能被制成旋光纯态。总之,高纯度的拆分剂是成功拆分的重要前提。

(4) 拆分剂必须是廉价或者是容易制备的,且在完成拆分之后,能够容易地和接近于原量地回收。否则,在大量的拆分中就过于耗费了。

### 3 一些常用的拆分剂

手性拆分剂按其分子所表现的酸碱性分为碱拆分剂和酸拆分剂。另外还有醇拆分剂、

醛拆分剂和酮拆分剂等。

### 3.1 碱拆分剂

用于酸类化合物的拆分。以往主要是一些天然存在的生物碱,如(-)-马钱子碱、(-)-番木鳖碱、D-(-)-麻黄碱等价格都比较低廉,并且可以在拆分之后迅速回收。其他常用的生物碱还有(+)-辛可宁碱、(-)-辛可尼丁碱、(-)-奎宁碱、(+)-奎尼丁碱、(-)-吗啡碱。合成的D-和L- $\alpha$ -苯乙胺、D-和L-苯基异丙胺、(-)-薄荷胺是很有用的碱拆分剂,现在已有比较方便的制备方法了。

### 3.2 酸拆分剂

用于碱类化合物的拆分。主要有(+)-10-樟脑磺酸和L-(+)-谷氨酸的一些衍生物,价格均比较低廉,R-(+)-酒石酸也是很便宜的常用拆分剂。

### 3.3 其他拆分剂

酸碱以外的其他外消旋体,也可以转变成相应的非对映异构体衍生物进行分离。

(1) 醇拆分剂:醇类化合物可以用异腈酸酯转变成非对映异构的氨基甲酸酯,也可以用手性酰氯(酸酐或羧酸)转变成非对映异构体羧酸酯。如手性酒石酰苯胺酸与外消旋醇形成酯后拆分;手性异腈酸薄荷酯与外消旋醇形成薄荷氨基甲酸酯后拆分。

(2) 醛、酮拆分剂:醛、酮常用氨或胺的衍生物转变成脎、缩氨基脲、胍亚胺等非对映异构体。

(3) 由于盐以外的各类有机物并不是经常可以结晶的,故也常将这些化合物先转变成酸,或在这些化合物中引入碱性或酸性基团,再通过生成非对映异构体盐这种途径来拆分。

## 4 化学拆分应用实例

### 4.1 外消旋酒石酸的拆分

拆分( $\pm$ )-酒石酸的较有效的方法是以辛可宁碱作为拆分剂使其在水中成盐。其操作过程见图9-15。

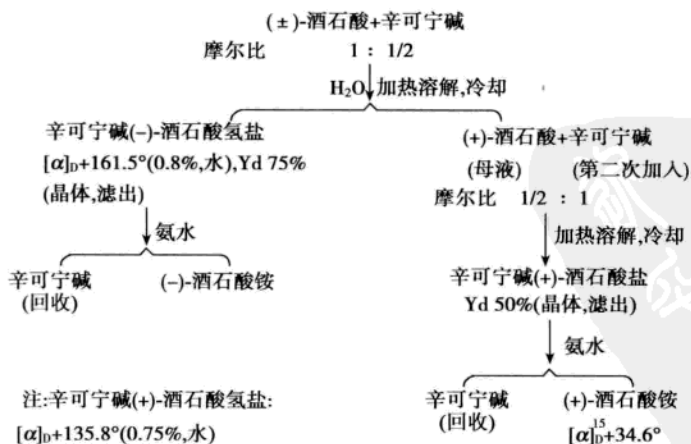


图 9-15 外消旋酒石酸的拆分操作过程

## 4.2 外消旋乳酸的拆分

DL-乳酸可以与番木鳖碱、奎宁碱或吗啡碱等拆分剂形成盐,然后通过结晶、分离等步骤而得到拆分。但以吗啡碱作为拆分剂的效果较好。其操作过程见图 9-16。

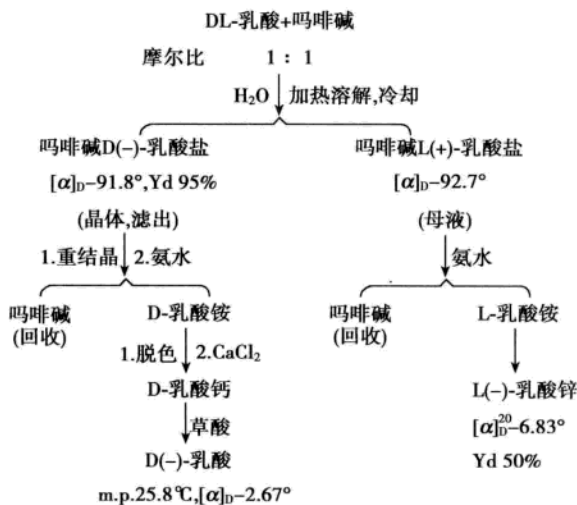
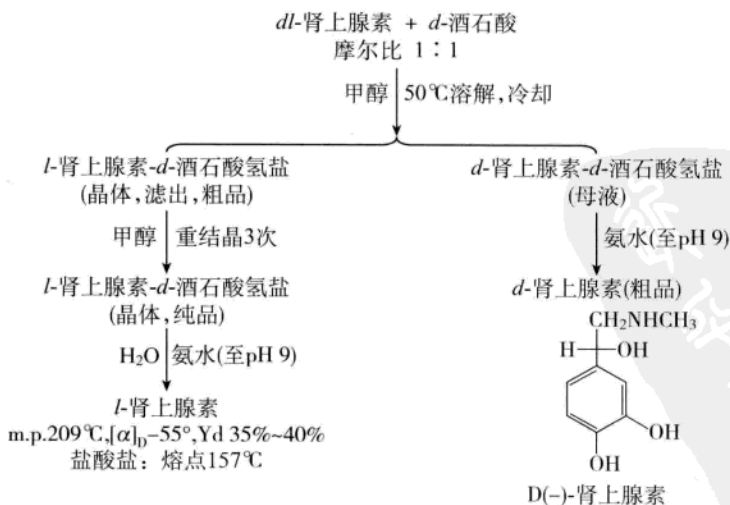


图 9-16 外消旋乳酸的拆分操作过程

## 4.3 外消旋肾上腺素的拆分

天然的肾上腺素为左旋手性异构体,含有一个不对称碳原子。合成的 *dl*-肾上腺素必须经过拆分,才能获得和天然肾上腺素相同的产物。*dl*-肾上腺素的拆分可以用 *d*-酒石酸作为拆分剂在甲醇中进行,操作步骤如图 9-17 所示。

图 9-17 *dl*-肾上腺素的拆分操作过程



#### 4.4 外消旋氯霉素的母体氨基醇的拆分

在合成 DL-氯霉素的母体氨基醇的过程中,所采用的一步 Meerwein-Ponndorf 还原反应,因为具有立体选择性,所以在得到的产物中,90% 以上属于 DL-苏系结构,于是可以用(水)重结晶的方法将低于 10% 的 DL-赤系结构的异氨基醇除去。而 DL-苏-氨基醇除可以用接种法拆分之外,还可以在异丙醇中用 D-樟脑-10-磺酸作为拆分剂,或在水或甲醇中用 *d*-酒石酸作为拆分剂进行拆分,但后者的效果更好些。其操作步骤如图 9-18 所示。

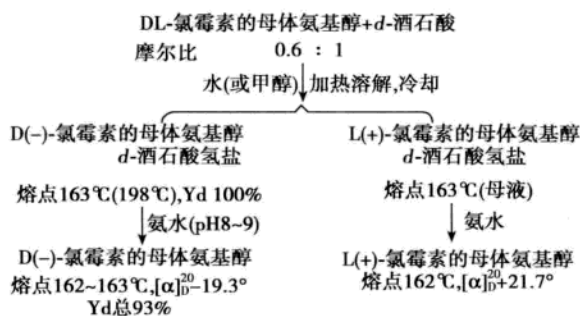


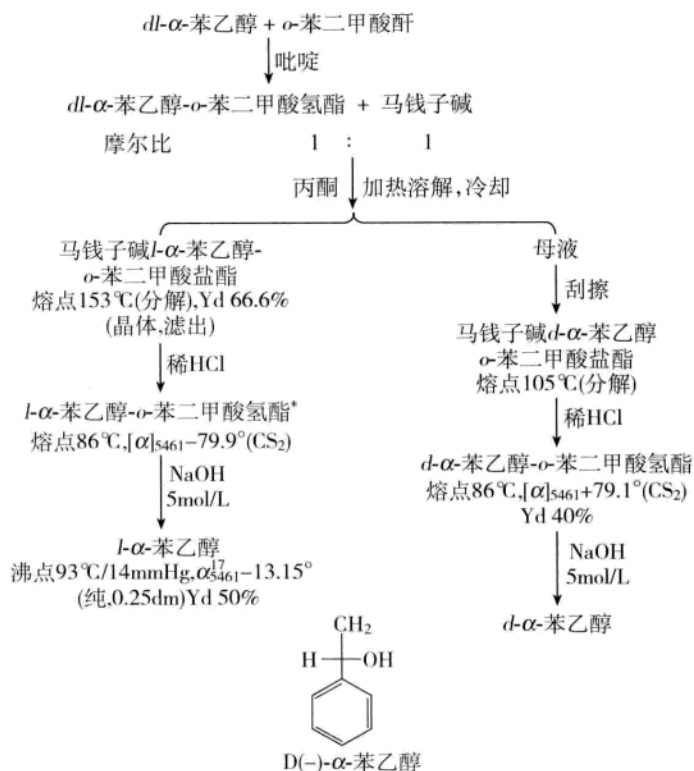
图 9-18 DL-氯霉素的拆分操作过程

#### 4.5 外消旋 $\alpha$ -苯乙醇的拆分

外消旋醇类化合物可以通过制备生成非对映立体异构的中性酯而得到拆分。但是,中性酯不如盐类化合物易结晶,所以醇类大部分要预先用 *o*-苯二甲酸酐或琥珀酸酐和吡啶处理,使之转变成 *o*-苯二甲酸氢酯或琥珀酸氢酯,再进行拆分。这些外消旋体的半酯,由于含有自由的羧基,可以按典型的酸类化合物用植物碱如马钱子碱或辛可宁碱等拆分。分离出来的非对映立体异构的盐,可以用稀盐酸等分解,而得到旋光性的对映体 *o*-苯二甲酸氢酯或琥珀酸氢酯。然后,这些旋光性的半酯用氢氧化钠水解处理,如果产物旋光性的醇有发生外消旋化作用的可能性存在,那么可以用氢化铝锂等复合氢化物还原这些半酯,也能够得到终产物旋光性的醇。还原反应的副产物 *o*-苯二甲醇是沸点非常高的化合物,而 1,4-丁二醇是极易溶于水的化合物。因此经过拆分的醇可以通过真空蒸馏和用水洗涤提取液的方法提纯。以外消旋  $\alpha$ -苯乙醇的拆分为例,操作过程如图 9-19 所示。

化学拆分法的操作方法是大家都比较熟悉的、常用的方法,在许多情况下也是行之有效的,故这种老方法至今仍然被普遍采用,但也应当指出,这种方法有严重的局限性:①由于拆分剂和溶剂的选择是经验性的,这就使拆分过程非常冗长。②产率通常也不高(尽管有些成功的例子,产率也可以相当高,但大多数情况产率都不高)。③拆分得到的对映体,旋光纯度常不够高,尽管旋光纯度达到 97% 以上的成功例子已很多,但就多数情况而言,虽经多次重结晶,旋光纯度也难超过 97%。④适用的化合物类型不够多,能够形成良好结晶的有机物本来就不多,何况还有许多手性化合物不是固体,对于这些不能形成良好结晶的手性化合物,化学拆分法就难以奏效了。

总之,靠化学拆分法提供的手性化合物,无论种类、性能或旋光纯度都越来越难以满足生物化学、药物化学、材料科学领域有关手性分子现代研究的需要。而新近蓬勃发展的色谱分离技术和生物拆分技术,则弥补了化学拆分法的不足,显现了广阔的应用前景。

图 9-19 外消旋体  $\alpha\text{-苯乙醇}$  的拆分过程

## 第四节 外消旋体的色谱拆分

### 1 概述

自 20 世纪 80 年代初,随着大量手性固定相的商品化,色谱技术逐渐发展成为对映体分离中的最重要的一种手段,并迅速地应用于手性化合物对映体的制备和含量测定,已成为现代药物合成、生物医药等领域中不可缺少有效工具。

液相色谱法拆分外消旋体,因其快速、操作简便、成本低等优点,已得到广泛应用。目前分析用高压液相色谱已能精确测定数千种手性化合物的对映体纯度。在很多例子里,还可以同时确定被分开组分的绝对构型。采用制备型手性薄层色谱法(TLC)或制备型高压液相色谱法可以分离毫克级到克级的手性化合物;要分离数克级对映体纯手性化合物,则需在高压液相色谱装置上进行,中高压液相色谱操作已实现自动化,相对于经典的非对映异构体重结晶分离法有着明显的优越性。如用液相色谱法可以实现一次分离,对映体纯度高,且常可以预言拆分结果和被拆分组分的绝对构型。使用手性固定相色谱柱的直接拆分法,发展迅速。若选用拆分能力很强的手性固定相填充剂,用大柱子一次可拆分几十克级的外消旋体,达到 99% 的旋光纯度。

手性化合物的色谱拆分除了常用的高压和中压液相色谱、薄层色谱外,还可以用快速柱色谱分离法、气相色谱法、超临界流体色谱法、逆流色谱法等拆分法。

手性化合物色谱拆分法可分为直接法和间接法两类。凡是使用手性固定相(CSP)、手性流动相(CMP)或在流动相中加入手性添加剂进行拆分的方法,称为直接法。凡是以手性试剂作柱前衍生,形成非对映异构体对,然后以常规固定相分离拆分的方法则为间接法,也称为手性衍生化试剂(chiral derivatization reagent, CDR)法。简言之,直接法是将不对称中心引入固定相和流动相中,而间接法是将不对称中心引入被拆分的分子内。手性化合物的色谱直接和间接拆分法均以现代色谱技术为理论基础。

本节将着重介绍制备型中高压液相色谱拆分法、薄层色谱拆分法和快速柱色谱拆分法。

## 2 手性化合物的中高压液相色谱拆分法

### 2.1 手性固定相拆分法

中高压液相色谱手性固定相拆分法即手性化合物对映体的直接拆分法。在加压力相色谱中主要使用两大类手性固定相:一类为纯的手性有机聚合物或以其覆盖的多孔担体。这类固定相包括寡糖和多糖、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸酯和由蛋白质衍生的固定相。另一类是通过担体(主要是硅胶)表面进行手性化学修饰所获得的物质。修饰剂包括氨基酸衍生物、冠醚、金鸡纳生物碱、碳水化合物、胺类化合物、酒石酸衍生物、环糊精和双萜类化合物。

对于纯的手性有机聚合物固定相,由于其活性位点的密度很高,因此载样量较大,可分离较大量的消旋体。例如,用纯的聚合三乙酰基纤维素为固定相,在 $20\text{cm} \times 100\text{cm}$ 的色谱柱上一次可拆分 $40 \sim 150\text{g}$ 的消旋体。而将手性化合物固定于硅胶上所获得的手性吸附剂,只有少数能用于分离对映体,且其最大的不足是载样量有限。

根据样品-固定相之间相互作用的方式可将手性固定相分为几类:吸附型手性固定相,配体交换型手性固定相、电荷转移型手性固定相、模拟酶手性固定相、蛋白质手性固定相、手性空穴固定相、受体-底物型手性固定相等。

以下是几种最常用的手性固定相及其应用简介。

#### 2.1.1 吸附型手性固定相

吸附型手性固定相是加压力学拆分对映异构体中最常用的一类,其种类多、发展快、应用广。此类固定相是利用不同构型的对映体与固定相分子间的氢键力、静电力、疏水力、偶极和 $\pi$ - $\pi$ 作用力的强弱不同,造成对映体在固定相上的吸附与解吸附的能力不一,使其在色谱柱中的保留时间各异,从而达到色谱分离的目的。目前常见的吸附型手性固定相有手性聚合物固定相与氨基型( $\pi$ -酸和 $\pi$ -碱)手性固定相。

(1) 手性聚合物固定相:此类固定相是目前常用的商品手性固定相之一,主要包括来源于天然光学活性高分子和合成光学活性高分子两大类。蛋白质、纤维素及其衍生物、环糊精及冠醚等为天然光学活性高分子固定相;聚酰胺、聚氨酯、聚丙烯酰胺及聚甲基丙烯酸酯等为合成光学活性高分子。

1) 纤维素衍生物手性固定相:这类衍生物以纯聚合物的形式或以覆盖在惰性非手性担体上的形式被应用。以纯聚合物形式被广泛应用的固定相是三乙酰基纤维素,其价廉、适应面广,且载样量大。自1973年Hesse和Hagel首次使用微晶三乙酰基纤维素手性固定相色

谱柱成功分离 Troger 碱以来,使用纤维素衍生物作手性固定相的色谱分离已经取得重大进展。现在已有十几种用纤维素衍生物涂布的手性色谱柱商品出售,其手性拆分能力可与任何人造的手性固定相媲美。继 Hesse 等人的发现之后,很多人相继用三乙酰基纤维素色谱柱成功地拆分了一系列手性化合物。

三乙酰基纤维素可广泛用于不同的外消旋体的制备性拆分,具有实用价值。不足之处是效率低、重现性差及需要采用低的洗脱速率。从而限制了其更广泛的应用,迫使人们研究其他纤维素衍生物。在寻找新的纤维素衍生物的过程中,人们制备了各种各样的纤维素衍生物,并检验了它们的手性识别能力,其中研究得最多的是纤维素的三苯甲酸酯、三苯胺基甲酸酯和三肉桂酸酯,相对而言,三苯甲酸酯显示出了很强的手性识别能力,但有时对具体化合物三乙酸酯的手性识别,三苯胺基甲酸酯和三肉桂酸酯纤维素要比三苯甲酸酯纤维素好,另外流动相的选择和应用也影响各自的分离效果。

1993 年 Gunther 等报道用苯甲酰基纤维素分离消旋的  $\alpha$ -红没药醇( $\alpha$ -bisabolol,图 9-20,化合物 23),为此他们将 500mg 的样品加在 200mm  $\times$  10mm 的色谱柱上进行分离。

纤维素氨基酸 2,5-二甲基苯酯(填料商品名为 Chiralcel OD),曾被用作色谱柱,洗脱液为正己烷-异丙醇-三氟乙酸(90:10:0.5),用于分离从豆科植物 *Swartzia polyphylla* 中分离 C3 位消旋体化合物 ferreirin(图 9-20,化合物 24);正己烷-异丙醇-三氟乙酸(80:20:0.5)用于分离 dihydrocajanin(图 9-20,化合物 25)。通过对这两个立体异构体生物活性的研究发现,其抗菌活性没有明显的差别。另

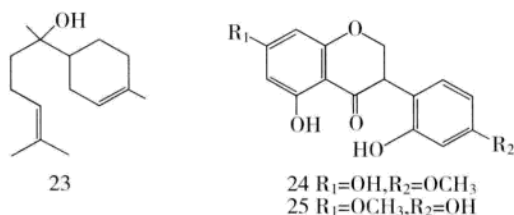


图 9-20 化合物 23,24,25 的结构

外采用 Chiralcel OD 色谱柱对噻吗洛尔、喷布洛尔、塞利洛尔及卡拉洛尔几种肾上腺素能受体拮抗剂消旋体进行了拆分,并对其对映体的纯度进行了检查。可用作手性固定相的纤维素商品见表 9-2。

表 9-2 可用作手性固定相的纤维素商品

纤维素衍生物相	手性单元	生产公司
Chiralcel OA	纤维素三乙酸酯	Daicel
Chiralcel OB	纤维素三苯甲酸酯	Daicel
Chiralcel OC	纤维素氨基甲酸苯酯	Daicel
Chiralcel OD	纤维素氨基甲酸 3,5-二甲基苯酯	Daicel
Chiralcel OF	纤维素氨基甲酸 4-氯苯酯	Daicel
Chiralcel OG	纤维素氨基甲酸 4-甲基苯酯	Daicel
Chiralcel OJ	纤维素 4-甲基苯甲酸酯	Daicel
Chiralcel OK	纤维素肉桂酸酯	Daicel
Chiralcel OA-1	纤维素三乙酸酯	Daicel
纤维素三乙酸酯	纤维素三乙酸酯	Merck
CONBRIO-TAC	纤维素三乙酸酯	Perstorp Biolytica

2) 环糊精手性固定相: 环糊精(cyclodextrin, CD)是由淀粉经酶发酵生成的, 含6~13个D-(+)-吡喃葡萄糖单位, 通过1,4- $\alpha$ -苷键首尾相接形成一个大环分子, 常用希腊字母表示组成环的葡萄糖数目,  $\alpha$ -CD表示六糖环,  $\beta$ -CD表示七糖环,  $\gamma$ -CD表示八糖环……以此类推。每个葡萄糖为椅式构象, 图9-21所示为 $\beta$ -CD化学结构和立体构型。

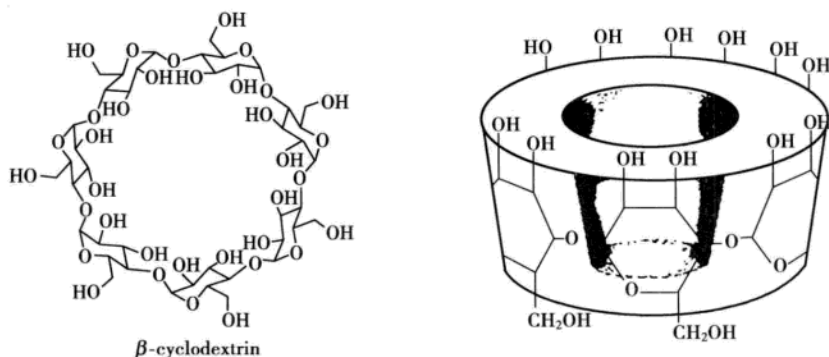


图9-21  $\beta$ -CD的结构及示意图

环糊精分子呈上宽下窄、两端开口、中空圆筒物。开口较大的一面向外, 每个单糖C-2、C-3上含两个仲羟基, 保持一定的刚性, 处于开口较大的这面圆周上, 故开口较大的一面亲水性较强。C-6上含有一个伯羟基— $\text{CH}_2\text{OH}$ 通过C5-C6键连接于小圆周上, 故开口较小的一面有较大的亲水性。由于圆筒腔内由两圈C—H键中间夹一圈缩醛氧原子(醚环)组成, 故相对比较疏水。

环糊精分子结构中所含环状空腔具有立体选择性, 即手性识别能力, 能以包络的方式与对映体分子形成非对映体主客体复合物, 从而在色谱过程中造成吸附或分配性质的差异, 以达到分离的目的。由于环糊精筒腔的结构特点, 使其本身的机械性能和各种物理性质都不适合直接作固定相。因此, 人们将环糊精固着在载体上, 作为固定相。最理想的载体是硅胶, 选择合适的固着剂, 一端与硅胶连接, 而另一端与环糊精相连。一般链长度以7~8个碳原子为宜。当以制备型分离为目的时, 可用双(环氧丙烷基)乙二醇将环糊精交联或用不水解的硅-碳键相连。

早先有很多有关以 $\beta$ -环糊精为固定相, 填装HPLC柱, 成功拆分氨基酸衍生物及药物对映体和生物碱的报道。有关数据见表9-3和表9-4。

表9-3 氨基酸衍生物在 $\beta$ -CD手性柱上的拆分数据

化合物	$K'$	$\alpha$	$R_s$	流动相*
L-丙氨酸- $\beta$ -萘基酰胺	5.1	1.20	2.0	50/50
D-丙氨酸- $\beta$ -萘基酰胺	6.1			50/50
L-蛋氨酸- $\beta$ -萘基酰胺	2.7	1.33	2.4	50/50
D-蛋氨酸- $\beta$ -萘基酰胺	3.7			50/50
L-丙氨酸- $\beta$ -萘基酯	1.0	1.80	2.6	50/50
D-丙氨酸- $\beta$ -萘基酯	1.8			50/50

续表

化合物	K'	$\alpha$	R <sub>s</sub>	流动相 <sup>a</sup>
丹磺酰基-L-苯丙氨酸	3.1	1.23	1.1	50/50
丹磺酰基-D-苯丙氨酸	3.8			55/45
丹磺酰基-L-亮氨酸	3.0	1.40	2.4	55/45
丹磺酰基-D-亮氨酸	4.2			50/50

<sup>a</sup>:数字表示甲醇/水体积比,流速一般为2ml/min表 9-4 对映体药物在 $\beta$ -CD 手性柱上的拆分数据

药物的类型/名称	K'	$\alpha$	R <sub>s</sub>	流动相 <sup>a</sup>	柱
<b><math>\beta</math>-肾上腺素能阻滞剂</b>					
心得安	2.78	1.04	1.40	25/75	b
<b>抗组胺药物</b>					
氯苯吡胺/扑尔敏	5.86	1.07	1.51	15/85	c
<b>利尿剂</b>					
氯噻酮	0.50	1.44	1.95	30/70	c
<b>镇静剂-抗焦虑药物</b>					
环己烯巴比妥	9.39	1.14	1.51	15/85	d
甲基苯巴比妥	11.80	1.14	1.60	20/80	d
美芬妥因	0.48	1.33	1.83	40/60	c
<b>非甾体抗炎药</b>					
酮洛芬	7.60	1.06	1.24	27/73	b

<sup>a</sup>: 甲醇/(Et)<sub>3</sub>NHAc% 水溶液体积比; b: 两根 25cm  $\beta$ -CD 柱串起来用; c: 用一根 25cm  $\beta$ -CD 柱; d: 用一根 10cm  $\beta$ -CD 柱; e: 加 CH<sub>3</sub>CN 改进

总之,环糊精手性固定相目前主要用作 HPLC 手性填料,分析对映体纯度。用于制备型拆分的还较少,由于它拆分许多对映体的分离度相当大,故用于制备型拆分潜力很大。

3) 聚(甲基)丙烯酸胺类手性固定相:化学交联的、具有光学活性的聚丙烯酰胺和聚甲基丙烯酸胺的凝胶结构使其无法在高压条件下使用。然而,通过将丙烯酸单体在凝胶表面聚合得到嫁接聚合体的方法可改进其机械性能。有人曾利用这种担体对 S-苯丙氨酸乙酯、S-1-环己乙胺和薄荷胺衍生物进行了制备型分离。也有报道利用(+)-聚三苯甲基异丁酸酯手性固定相(此处手性只是螺旋性)进行液相色谱分离,对 2,2'-螺联苯[e]茛菪酮(图 9-22, 化合物 26)的消旋体进行了拆分。这种聚合物尤其适用于拆分具有轴向、平面或螺旋手性的化合物。

(2) 氨基型( $\pi$ -酸和 $\pi$ -碱)手性固定相:这类手性固定相是由微粒硅胶通过一定间隔与具有光学活性的氨基酸分子键合而成的。最常用的 $\pi$ -酸( $\pi$ -受体)担体是由苯基甘氨酸和亮氨酸通过共价或离子键合连接到 3-氨基丙基硅胶上衍生而得到的(图 9-22, 化合物 27)。可用所示的固定相来分离克数量级的消旋体,其中包括醇类、内酰胺类、内酯类、亚砷类,

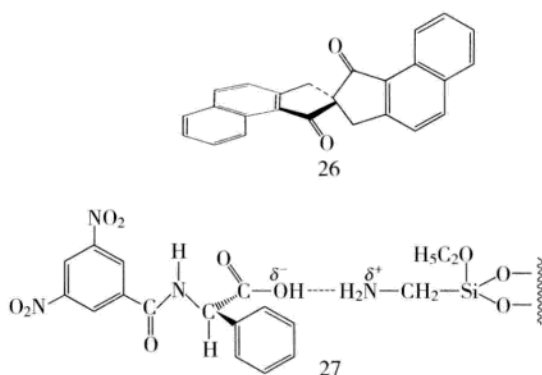


图 9-22 化合物 26、27 的结构

双- $\beta$ -萘酚类和乙内酰脲类成分。对于  $\pi$ -碱( $\pi$ -给体)担体,可用其分离萘基丙氨酸和萘乙胺衍生物。

可用于拆分制备用的  $\pi$ -酸和  $\pi$ -碱手性固定相商品见表 9-5。

表 9-5 制备用  $\pi$ -酸和  $\pi$ -碱手性固定相商品

$\pi$ -酸和 $\pi$ -碱固定相	手性单元	生产公司
Bakerbond DNBPG (covalent)	二硝基苯甲酰苯基甘氨酸	Baker
Bakerbond DNBLeu (covalent)	二硝基苯甲酰亮氨酸	Baker
Pirkle Prep-DPG	二硝基苯甲酰苯基甘氨酸	Regis
Pirkle Prep-LPG	二硝基苯甲酰亮氨酸	Regis
Si100-DNB-Leu	二硝基苯甲酰亮氨酸	Serva
Si100-DNB-PhGly	二硝基苯甲酰苯基甘氨酸	Serva
SUMICHIRAL OA-1000	S-萘乙胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-2000	R-苯基甘氨酸二硝基苯甲酰胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-2100	苯基甘氨酸	SCAS
	S-氯苯基异戊酸	SCAS
SUMICHIRAL OA-2200	R-苯基甘氨酸	SCAS
	1R,3R-菊酸	SCAS
SUMICHIRAL OA-2500	R 或 S-苯基甘氨酸二硝基苯甲酰胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-3000	S-缬氨酸叔丁基脲	SCAS
SUMICHIRAL OA-3100	S-缬氨酸二硝基苯基脲	SCAS
SUMICHIRAL OA-3200	S-t-亮氨酸二硝基苯基脲	SCAS
SUMICHIRAL OA-3300	R-苯基甘氨酸二硝基苯基脲	SCAS
SUMICHIRAL OA-4000/4100	S-缬氨酸,S 或 R-萘乙胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-4400/4500	S-脯氨酸,S 或 R-萘乙胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-4600/4700	S-t-亮氨酸,S 或 R-萘乙胺	SCAS
SUMICHIRAL OA-4800/4900	S-二氢吡啶-2-羧酸,S 或 R-苯乙胺	SCAS
Spherisorb Chiral-1	R-萘乙胺基脲	Phase Sep

### 2.1.2 配体交换型手性固定相

配体交换型手性固定相是以某种聚合物为载体,在上面接上一个手性氨基酸如 L-脯氨酸或 L-缬氨酸制成的。通常,在配体交换型手性固定相 HPLC 法的流动相中需加入某种过渡金属离子,如 Cu(II)、Ni(II)或 Zn(II)等,当被分离的手性物质如氨基酸随流动相进入色谱柱后,在固定相上的手性基团、金属离子和被分离的物质之间形成一个络合物。由于不同构型对映体所形成的络合物的稳定性各异,最终达到色谱分离的目的。目前常用的配体交换型手性固定相有聚苯乙烯型手性配体固定相、聚丙烯型手性配体固定相和聚乙烯胺型手性配体固定相。

### 2.1.3 电荷转移型手性固定相

电荷转移型手性固定相是指分子结构中具有吸电子基团或斥电子基团,且能与对映体发生电荷转移作用而达到拆分目的的一类手性固定相。四硝基-9-亚苄基氧化丙酸是一种常见的光学活性电荷转移剂,为手性  $\pi$ -电荷转移接受体,将其吸附或化学键合于氨基硅烷化硅胶上,即制得电荷转移型手性固定相。

### 2.1.4 模拟酶手性固定相

酶对底物具有较高的立体选择性,利用酶的网状化合物制造一个手性腔,以显示手性识别能力。设计合成所谓模板聚合物,将其与大分子单体络合。经交联剂作用形成网状结构,再用化学方法除去聚合物中的手性体,形成手性洞穴,以产生手性识别能力。这种手性固定相的设计思想巧妙,在理论上很有价值,但由于合成过程繁杂、高度立体识别能力导致其使用范围相当窄。

随着手性固定相的大量合成和广泛应用,对手性固定相的研究已经总结出不少规律和结论。但是,迄今为止还缺乏一种具有类似 ODS 色谱柱那样的真正普遍使用的手性柱上市。大多数市售的手性固定相色谱柱价格昂贵,因此限制了手性固定相拆分法迅速发展与广泛应用。

## 2.2 手性流动相拆分法

手性流动相(chiral mobile phase, CMP)拆分法是将手性试剂加到流动相中,利用手性试剂与消旋体中各对映体结合的稳定常数不同,及化合物与固定相上分配性质的差异,从而实现对手性体的分离。此法可采用普通的非手性固定相,不需对样品进行衍生化,手性添加剂在流动相中,本身流出,也可以更换,使添加剂的可变范围较宽。因此手性流动相法已广泛应用于对手性体的拆分。目前常用的手性流动相添加剂有:配体交换型手性添加剂、环糊精添加剂和手性离子对添加剂。

### 2.2.1 配体交换型手性添加剂

在配体交换型手性添加剂中,手性配体多为光学活性氨基酸及其衍生物。它们与二价金属离子整合,并以适当的浓度分布于流动相中,当遇到消旋体时,则形成配位络合物,然后在普通色谱柱上拆分。手性流动相拆分常用的配体多为 L-氨基酸及其衍生物,手性络合物的离子多为铜(II)、镍(II)和锌(II),其拆分机制较手性固定相复杂得多。一般认为,手性络合物修饰剂在色谱过程中能吸附在固定相上,形成一种动态涂布固定相而发挥作用。目前常用的配体交换型手性添加剂及其色谱条件见表 9-6。



表 9-6 常用的配体交换型手性添加剂及其色谱条件

固定相	流动相	手性配体	金属离子
碘化聚苯乙烯	水(pH5.5)	L-脯氨酸	Cu(II)
硅胶	85%乙腈-水	(R)-N,N,N',N'-四甲基-1,2-丙二胺	Cu(II)
反相硅胶	5%~20%甲醇-水	L-苯丙氨酸	Cu(II)
反相硅胶	0~15%乙腈-水	(对甲苯磺酰)-L-苯丙氨酸	Cu(II)
反相硅胶	水-有机溶剂	N,N-二甲基-L-苯丙氨酸	Cu(II)
反相硅胶	水(pH 5~5.5)	N,N-二丙基-L-缬氨酸	Cu(II)
反相硅胶	水(pH 5~5.5)	N,N-二甲基-L-丙氨酸	Cu(II)
反相硅胶	0~15%乙腈-水	N-烷基-L-天冬氨酸	Cu(II)
反相硅胶	0~15%乙腈-水	L-天冬酰-L-苯丙氨酸甲酯	Cu(II)

例如流动相添加 L-脯氨酸-Cu(II) 分离 D-和 L-型丹酰氨基酸。色谱条件 LiChrosorb RP-8 色谱柱, 流动相为 15% 的乙腈溶液(含 5mol/L L-脯氨酸, 2.5mol/L CuSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 和 0.05% 乙酸铵, pH = 7)。在此条件下, D-和 L-丹酰氨基酸对映体可得到较好的分离。

### 2.2.2 环糊精添加剂

环糊精的最大特点是能提供手性空腔, 当被分析的药物分子的大小与空腔相符合时, 则可形成环糊精包合物。而包合物的形成过程主要受化合物疏水性及其形状的影响, 同时也受其分子大小和环糊精空腔适应性的影响。因此, 环糊精包合物的形成可用于分离化合物对映体。目前最常用的为 β-环糊精, 将其添加到流动相中可用于各种化合物对映体的分离。例如环糊精添加剂也可用于丹酰氨基酸对映体的分离。选用色谱条件: Micro Feeder 泵, UVIDEC-100 II 紫外检测器, ML-422 进样阀, ODS-Hypersil-3 色谱柱; 流动相: 乙腈-磷酸盐缓冲液(20:80, 含有 12.5mmol/L β-环糊精), D-和 L-丹酰氨基酸对映体可得到较好的分离。

### 2.2.3 手性离子对添加剂

化合物对映体与手性离子对试剂在流动相中反应生成低极性不解离的“离子对”, 但反相离子对色谱很少直接用于手性化合物的分离(两性离子对除外), 而正相离子对色谱已广泛用于药物对映体的分离。其分离原理基于在低极性的有机流动相中, 对映体分子与手性离子对试剂之间产生静电、氢键或疏水性反应生成非对映体离子对。这种非对映体离子对具有不同的稳定性, 而且在有机相与吸附固定相间的分配行为也有差异, 因而得到分离。

目前常用的手性反离子有奎宁、奎尼丁、10-樟脑磺酸、N-苯甲酰氧基羰基-甘氨酸-L-脯氨酸等。

## 2.3 手性衍生化法——间接法拆分

### 2.3.1 手性衍生化拆分的原理

手性衍生化(CDR)拆分的原理, 是基于待拆分的手性化合物的对映异构体与手性试剂反应, 生成相应的非对映异构体对, 然后采用价格便宜、柱效较高的非手性色谱柱进行拆分。目前柱前衍生化的方法仍然是手性化合物拆分, 特别是生物样品中对映异构体分离和测定

的常用方法。

### 2.3.2 手性衍生化试剂及其反应条件

为有效地拆分两个对映异构体,手性衍生化试剂及其衍生化反应需满足以下条件:

(1) 手性衍生化试剂应是光学纯的,在贮存条件下保持稳定,在衍生反应中,试剂、手性化合物和反应产物不发生消旋化反应。

(2) 手性试剂与对映异构体进行衍生化反应需要定量,以确保分析结果的准确性。衍生化反应条件尽可能温和、简便,以防止消旋化反应的发生。

(3) 待分离的手性化合物对映异构体的化学结构中应具有易进行衍生化反应的基团,常见的有氨基、羟基和羧基。

### 2.3.3 手性衍生化试剂的种类

手性衍生化试剂的种类繁多,目前常用的有以下几类:

(1) 胺类:手性胺类试剂主要用于羧酸类、醇类化合物的衍生化。常用的手性试剂常用(取代芳香基)乙胺类,如取代苯乙胺、萘乙胺、蒽乙胺、二甲氨基萘乙胺等。

(2) 羧酸衍生物类:此类手性衍生化试剂主要包括酰氯与磺酰氯类、酸酐类和氯甲酸酯类。这些试剂可与胺类、氨基酸类和醇类药物反应生成非对映异构化衍生物。常用的试剂有氯甲酸薄荷醇酯和1-(9-苄基)乙基氯甲酸酯。

(3) 异氰酸酯类:本类手性衍生化试剂主要用于氨基酸及其衍生物类、儿茶酚胺类、苯丙胺类、麻黄碱类、醇类和肾上腺素类等药物的拆分。常用的试剂有:苯乙基异氰酸酯和萘乙基异氰酸酯等。

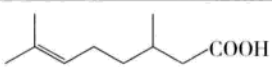
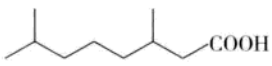
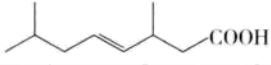
(4) 萘衍生物类:本类手性衍生化试剂基于萘的结构特征有利于提高立体选择性,因此萘衍生物用作手性衍生化试剂的情况十分普遍。常用的试剂有:萘甲基胺、萘乙基胺、萘甲醛、萘酰氯、萘丙酰氯、 $\beta$ -萘氯甲酸酯、 $\beta$ -甲氧基萘乙酸等。

(5) 手性氨基酸类:光学纯氨基酸及其衍生物是最早采用的手性衍生化试剂,主要用于胺类、羧酸类和醇类化合物的分离与分析。常用的试剂有:L-脯氨酸、L-亮氨酸、L-酪氨酸和L-半胱氨酸及其衍生物。

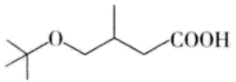
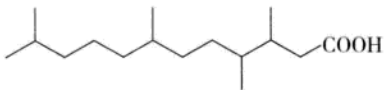
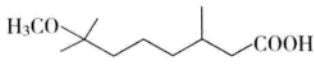
### 2.3.4 应用实例

用(*R*)-1-(2-萘基)乙胺或1-( $\alpha$ -萘基)乙胺作手性衍生化试剂已成功分离了一系列异戊族类手性酸和萜烯族类手性酸(表9-7)。可在温和而不外消旋化的条件下水解,再生成手性酸,拆分总产率为80%~90%,故已在制备规模上被用于获得光学性酸或胺。

表 9-7 异戊酸类手性酸的拆分

酸类	胺类 <sup>a</sup>	$\alpha$
	A	1.22
	B	1.21
	A	1.21
	B	1.24
	A	1.47

续表

酸类	胺类 <sup>a</sup>	$\alpha$
	A	1.02
	A	1.05
	B	1.00

<sup>a</sup>: A 为 1-(*p*-硝基苯基)乙胺; B 为 1-( $\alpha$ -苯基)乙胺

### 3 手性化合物的薄层色谱拆分法

随着现代色谱技术的发展,使薄层色谱分离技术有了较大的提高,已出现了高效薄层色谱、离心薄层色谱、高压薄层色谱及各种梯度展开薄层色谱等多种分离新技术。高效薄层板的应用在对映体拆分技术中得到了有效运用,使对映体拆分成为可能。

TLC 法在手性化合物分离原理上与中高压液相色谱原理类似,主要有 3 种方法,即制备成非对映异构体衍生物进行薄层分离,在手性固定相上分离对映异构体,用手性流动相进行异构体分离。

#### 3.1 制备成非对映异构体——手性衍生化法

薄层层析前用手性选择性试剂与对映体进行衍生化,被拆分的对映体化合物多数为苯丙胺类、氨基酸类、氨基醇类  $\beta$ -阻断剂及芳丙酸类抗炎药物等,衍生后的非对映体化合物可在正相或反相硅胶薄层上进行分离。通过在温和而不外消旋化的条件下水解,再生成手性化合物。薄层手性衍生化法原理与中高压液相色谱手性衍生化法基本类似。

例如 2-羟基棕榈酸外消旋体的拆分,可选用 (-)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯作为手性衍生化试剂。固定相用苯甲基乙烯基氯代硅烷涂布的硅胶,两个非对映体可得到较好的分离。2-芳丙酸抗炎药的外消旋体的拆分,选用 *R*-(+)-苯基乙基胺盐酸盐作为手性衍生化试剂,所形成的两个非对映体在高效制备型硅胶 F<sub>254</sub> (硅胶 F<sub>254</sub> HPTLC) 上,能得到较好的分离。

#### 3.2 TLC 手性固定相拆分法

TLC 手性固定相进行对映体的拆分没有高效液相色谱法应用广泛,主要因为用于薄层的手性固定相有很高的紫外背景,只能用于具荧光或有色的样品,此外多数手性固定相的价格比较昂贵。

TLC 手性固定相有手性固定相(chiral stationary phases, CSP)及手性涂布相(chiral coated phases, CCP)两类。手性固定相包括纤维素及其衍生物、 $\beta$ -环糊精键合相,手性配体交换色谱固定相、酸、碱或手性试剂浸渍性手性固定相。

##### 3.2.1 纤维素及其衍生物

纤维素是 D-(+)-葡萄糖单元由 1,4-糖苷键形成的高度有序、呈螺旋形空穴结构的光

学活性天然高分子,可以制成凝胶颗粒,直接作为 CSP 分离某些对映体。早先对于某些氨基酸的拆分报道较多。

为了降低纤维素的极性,提高对映体的选择性,使纤维素的羟基衍生化,制备了微晶纤维素三乙酸酯(MCTA)以及一系列纤维素衍生物手性固定相。曾报道采用 MCTA 直接制备手性薄层或与硅胶以一定比例制成混合薄层,以含乙醇或 2-丙醇的水溶液为流动相,分离了衍生化的氨基酸、丙酸衍生物、醇和内酯等对映体。另外还在自制的 MCTA 薄层上,用含甲醇、乙醇或 2-丙醇的水溶液为流动相,分离了 24 对的对映体,大部分都较理想地得到了分离。同样在 MCTA 薄层板上可以成功拆分手性药物氟比洛芬、非诺洛芬(苯氧布洛芬)及卡洛芬。

氟比洛芬对映体(图 9-23,化合物 28)的 TLC 拆分法操作如下:

(1) 薄层板的制备:采用三乙酰纤维素硅胶 60 GF<sub>254</sub> 薄层板。取硅胶 60 GF<sub>254</sub> 3g 与水 15ml,用涡旋混合器搅拌 5min,再加入乙酰纤维素 9g 和乙醇 35ml,并振摇 5min,得匀浆后立即铺板制薄层板。薄层厚度 250 $\mu$ m。将铺制好的薄层板置于室温干燥,并在 2~5h 内使用。为了获得可靠的结果,薄层板切勿久置于空气中。

(2) 展开剂与展开时间:展开剂为乙醇-水(40:60),展开时间为 15min。

(3) 检出:紫外 254nm。

(4) 结果:氟比洛芬对映体在 MCTA-硅胶 60 F<sub>254</sub> 色谱条件下所得对映体的  $R_f$  值分别为 0.18 和 0.24。

研究表明,在上述 TLC 条件下,氟比洛芬对映体(图 9-23,化合物 28)能被拆分,而非诺洛芬(图 9-23,化合物 29)则不能被拆分,这可能是两者所含对称中心在芳环中的位置不同所致。

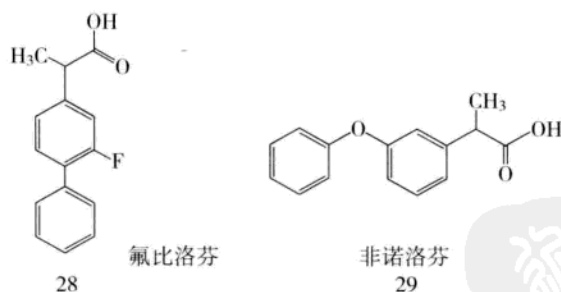


图 9-23 化合物 28、29 的结构

### 3.2.2 $\beta$ -环糊精键合相

Alka 等人通过  $\beta$ -环糊精 7 个原子共价键合于硅胶表面作为固定相,制备薄层板,成功地分离了丹酰、萘基取代氨基酸和二茂铁类手性化合物。

薄层板制备:取  $\beta$ -环糊精键合硅胶 1.5g,加入 50% 甲醇水溶液 15ml(含黏合剂 0.002g),搅拌成匀浆后铺成 3mm 厚的薄层板(5cm $\times$ 20cm),置于空气中晾干。使用前置 75 $^{\circ}$ C 活化 15min。

展开剂:甲醇-1% 三乙基乙酸铵(pH 4.1)。化合物的分离结果见表 9-8。表中 8 个手性化合物均得到了较好分离。

表 9-8 分离检出条件与  $R_f$  值

化合物名称	$R_f$ 值	展开剂比例	检出方法
丹酰-D-亮氨酸	0.49	40:60	荧光
丹酰-L-亮氨酸	0.66		
丹酰-D-蛋氨酸	0.28	25:75	荧光
丹酰-L-蛋氨酸	0.43		
丹酰-D-丙氨酸	0.25	25:75	荧光
丹酰-L-丙氨酸	0.33		
丹酰-D-缬氨酸	0.31	25:75	荧光
丹酰-L-缬氨酸	0.42		
D-丙氨酸- $\beta$ -萘酰胺	0.16	30:70	茚三酮
L-丙氨酸- $\beta$ -萘酰胺	0.25		
D-蛋氨酸- $\beta$ -萘酰胺	0.16	30:70	茚三酮
L-蛋氨酸- $\beta$ -萘酰胺	0.24		荧光
奎宁	0.38	25:75	
奎尼丁	0.46		0.1mol/L $\text{KMnO}_4$
反式-茈	0.38	80:20	
顺式-茈	0.48		UV(254nm)

### 3.2.3 手性配体交换色谱固定相

手性配体交换色谱固定相(ligand-exchange chromatography, LEC),是利用手性配体与对映异构体之间形成具有不同稳定性的铜络合物而进行色谱分离的。手性配体一般由氨基酸衍生物制成。当待拆分对映体为氨基酸时,复合物以离子键吸附于硅胶的疏水表面上。如将  $\text{RPC}_{18}$  薄层板以 N,N-二正丙基-L-丙氨酸铜络合物的缓冲溶液涂渍,制成的手性薄层板;用 N-( $\alpha$ -羟基十二烷基)-4-羟基脯氨酸  $\text{Cu}(\text{II})$  络合物涂渍的疏水性硅胶制成的手性板或高效手性板。

手性配体交换色谱法可以分离氨基酸、 $\alpha$ -羟基酸、杂环化合物、N-烷基氨基酸等手性有机化合物。例如用  $\text{RPC}_{18}$  薄层板以 N,N-二正丙基-L-丙氨酸铜络合物的缓冲溶液涂渍,制成的手性薄层板对丹酰氨基酸对映异构体的分离。

(1) 薄层板的制备:取  $\text{RPC}_{18} \text{F}_{254}$  TLC 板(5cm $\times$ 20cm)和  $\text{RPC}_{18} \text{F}_{254}$  HPTLC 板(10cm $\times$ 10cm)置于 0.3mol/L 乙酸钠-乙腈(70:20)混合溶液中,此溶液用乙酸调节至 pH 为 7。展开后,吹去溶剂,再将薄层板浸渍于含乙酸铜(3mmol/L)和聚合 L-苯丙氨酸酰胺(6mmol/L)的水-乙腈(1:9)溶液中至少 1h。然后取出板,晾干备用。

(2) 点样:1mmol/L 丹酰氨基酸甲醇溶液,用玻璃毛细管点样。

(3) 展开剂:乙酸-水混合液,有机改性剂浓度随待分离氨基酸的极性而改变。

(4) 检出:待测组分在 UV 360nm 波长光照下呈黄色荧光斑点。

(5) 分离结果:有关 D-和 L-丹酰氨基酸的  $R_f$  值和分离因子  $\alpha$ ,见表 9-9。

表 9-9 D-和 L-丹酰氨基酸分离检出条件与  $R_f$  值

丹酰氨基酸	$R_f(L)$	$R_f(D)$	分离因子 $\alpha$	丹酰氨基酸	$R_f(L)$	$R_f(D)$	分离因子 $\alpha$
天冬氨酸(Asp <sup>a</sup> )	0.35	0.40	1.24	甲硫氨酸(Mer)	0.18	0.35	1.52
谷氨酸(Glu <sup>a</sup> )	0.55	0.63	1.39	苏氨酸(Thr)	0.43	0.46	1.13
缬氨酸(Val)	0.33	0.37	1.19	丝氨酸(Ser)	0.40	0.40	1.00
戊氨酸(Norval)	0.36	0.41	1.24	苯丙氨酸(Phen)	0.17	0.20	1.22
亮氨酸(Leu)	0.19	0.24	1.35				

<sup>a</sup>:展开剂为水-乙腈(70:30);其他为水-乙腈(55:45)

### 3.2.4 酸、碱或手性试剂浸渍性手性固定相

此类型手性固定相的制备,是将薄层板简单地以光学活性的酸、碱或其他手性试剂浸渍,制备成手性固定相。其拆分原理是基于对映异构体分子在薄层色谱过程中,与薄层板上手性分子形成非对映异构体而得以分离。

L-精氨酸浸渍硅胶薄层板拆分布洛芬:

(1) 薄层板制备:取硅胶 G 50g,加入 0.5% L-精氨酸水溶液 100ml,匀浆,铺于玻璃板(20cm × 20cm × 0.5mm)上。L-精氨酸的 pH 为 10.8,加入几滴乙酸维持 pH 低于等电点,并使氨基酸保持阴离子型。薄层板于 60℃ 干燥过夜,备用。

(2) 样品液制备:以 70% 乙醇为溶剂,配制 1mmol/L 外消旋的(±)布洛芬和(+)布洛芬溶液,点样量为 10 $\mu$ l。

(3) 点样和展开方式:在一维展开方式中,(±)布洛芬和(+)布洛芬依次在同一块薄层板上点样;在二维展开方式中,首先将(±)布洛芬点在 L-精氨酸浸渍板上,第一次展开后,在以前斑点处点样(+)布洛芬;(±)布洛芬和(+)布洛芬也分别点在 2 块不同板上,再分别以二维方式于同一条件下展开。

(4) 展开剂:乙腈-甲醇-水(5:1:1),玻璃展开缸温度(32 ± 2)℃;展开时间 30min,展开前溶剂预平衡 10 ~ 15min。

(5) 定位:展开结束,薄层板于 60℃ 干燥 15min。定性时,在置于碘蒸气室中,取出,挥去碘,再用稀 HCl 喷洒,加热 15min,放冷,用 0.2% 茚三酮丙酮溶液显色。制备时,UV 下检测。

(6) 结果:当一维展开时间为 15min、二维展开时间为 20min 时,(+)和(-)布洛芬异构体的  $hR_f$  值(100 ×  $R_f$  值)分别为 80 和 77;在同样条件下,(+)布洛芬异构体的  $hR_f$  值是 80。

(7) 讨论:精氨酸与(±)布洛芬相互作用得到 2 个立体异构体盐,导致对映体分离。

### 3.3 TLC 手性流动相拆分法

在正相或反相薄层色谱中,在流动相中添加手性选择剂进行对映体分离。TLC 手性流动相拆分法包括添加手性离子对试剂、添加  $\beta$ -环糊精及其衍生物、牛血清蛋白以及大环抗生素万古霉素作为手性选择剂。

#### 3.3.1 $\beta$ -环糊精

$\beta$ -环糊精作为展开系统的手性添加剂,用于化合物对映体拆分的原理与手性固定相法

相同,是因为其分子结构中所含环状空腔具有手性识别能力,能以包络的方式与对映体分子形成非对映体复合物,在色谱过程中因吸附或分配性质的差异从而达到分离。

由于 $\beta$ -环糊精在水和有机相中的溶解度低,影响其在对映体拆分中的应用,因此,在使用中采用加入尿素的方法提高 $\beta$ -环糊精的溶解度,或通过制备亲水性 $\beta$ -环糊精衍生物的方法提高溶解度。目前常用的 $\beta$ -环糊精衍生物有甲基、羟乙基和羟丙基环糊精。

曾报道用甲醇或乙腈与不同浓度、不同比例的 $\beta$ -环糊精作为展开剂,展开剂中还要含尿素及氯化钠,在硅胶 $C_{18}F_{254}$ (Whatman)薄层上分离各种氨基酸丹酰氯衍生物对映体及美芬妥英(Mephentoin)、苄基去甲烟碱、N-(2-萘基甲基)去甲烟碱、丙氨酸-2-萘胺等。另外,用化学键合的十八烷基RP-TLC(KC18F)板和化学键合的乙基RP-TLC(KC2F)板,化学键合的二苯基RP-TLC板,以乙腈-水溶液(30:70),含有0.4% mol/L maltosyl- $\beta$ -环糊精和0.6mol/L NaCl为展开剂,使奎宁/奎尼丁以及辛可尼丁/辛可宁非对映异构体在RP-TLC上分离。分离 $R_f$ 值及 $\alpha$ 值见表9-10。

表9-10 奎宁和奎尼丁以及辛可尼丁和辛可宁非对映异构体的分离

分离化合物	$R_f$	$E_{12}$	$\alpha$	RP板类型
奎尼丁/奎宁	0.09	0.03	3.00	乙基
辛可尼丁/辛可宁	0.23	0.12	1.92	乙基

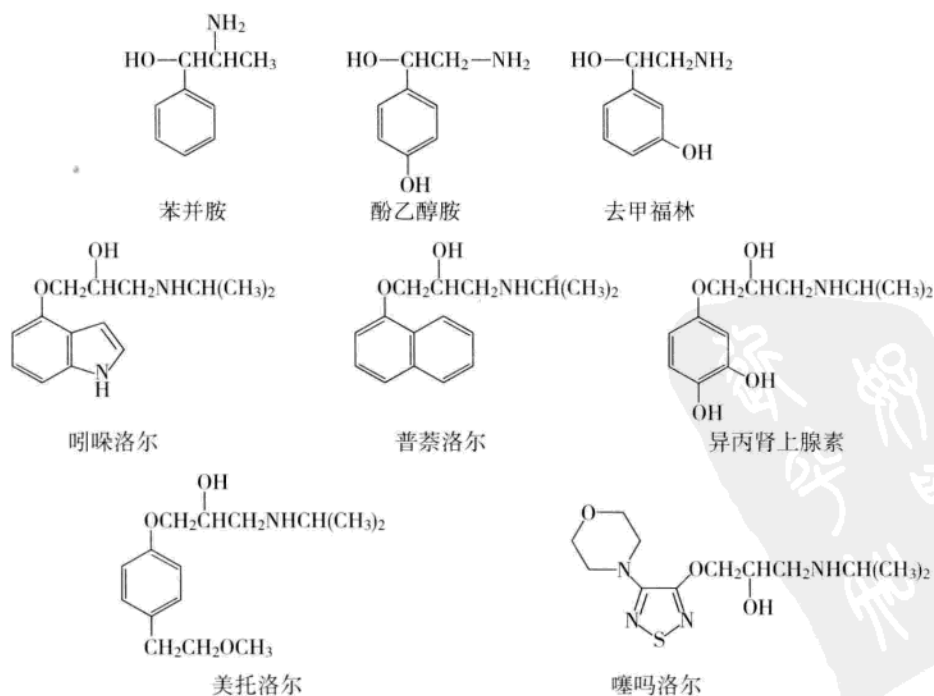


图9-24 含苯基- $\alpha$ -氨基醇类8种药物对映体



### 3.3.2 手性离子对试剂

展开剂中加入手性离子对试剂与对映体分子形成非对映异构体离子对,即可在非手性 TLC 板上或高效 TLC 板上进行分离。

如在二醇板及高效硅胶板上,以 N-苄氧基羧基-甘氨酸基-脯氨酸(ZGP)及 D-10-樟脑磺酸铵(CSA)为手性离子对试剂,添加到展开剂  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}(75:25)$  中,分离含苯基- $\alpha$ -氨基醇的 8 种药物对映体(图 9-24)。

## 4 手性化合物的快速柱色谱拆分法

选用可制备型手性固定相进行快速柱色谱分离的效果很好。如用纤维素三(氨基甲酸 3,5-二甲基苯酯)涂渍的  $40\sim 63\mu\text{m}$  快速色谱硅胶(孔径  $150\text{\AA}$ )也被用于分离合成外消旋化合物如氧烯洛尔(烯丙氧心安)、2-苯氧基丙酸和黄烷酮的分离。

快速色谱柱与同类涂铺的硅胶高压液相色谱具有相近性。因此,分析型高压液相色谱柱有时也用于选择最佳的分离条件。用  $25\text{cm}\times 2\text{cm}$  的色谱柱,最多可上样  $100\text{mg}$ 。这种色谱柱可反复使用多次,且分离效率没有明显降低。

## 参 考 文 献

1. 尤启冬,林国强. 手性药物-研究与应用. 北京:化学工业出版社,2004.
2. 尤田耙. 手性化合物的现代研究方法. 合肥:中国科学技术大学出版社,1993.
3. 黄亮,戴立信,杜灿屏,等. 手性药物的化学与生物学. 北京:化学工业出版社,2002.
4. 曾苏. 手性药物与手性药理学. 杭州:浙江大学出版社,2002.
5. 华维一. 药物手性及其生物活性//药物化学进展. 北京:化学工业出版社,2001.
6. 叶秀林. 立体化学. 北京:北京大学出版社,1999.
7. 胡世文. 手性药物制备技术, <http://www.docin.com/p-75364654.html> (豆丁网).
8. 李根容,李志良. 手性药物拆分技术研究进展. 中国新药杂志,2005,14:969-974.
9. K. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术——在天然化合物分离中的应用,赵维民,张天佑,译. 北京:科学出版社,2000.
10. 宋航. 实用制药技术丛书(6)——药色谱技术. 北京:化学工业出版社,2007.





[General Information]

书名=实验室有机化合物制备与分离纯化技术

作者=刘新泳编著

页数=253

出版社=北京市：人民卫生出版社

出版日期=2011.01

SS号=12816472

DX号=000008047241

URL=<http://book.szdnnet.org.cn/bookDetail.jsp?dxNumber=000008047241&d=509F13460CF9BFD304CED91587D727EF>