

化合物结晶与重结晶方法

研究天然产物化学成分时，一旦获得结晶，就能有效地进一步精制成为单体纯品。纯化化合物的结晶有一定的熔点和结晶学的特征，有利于鉴定。

一、杂质的去除

天然产物经过提取分离所得到的成分，大多仍然含有杂质，或者是混合成分。有时即使有少量或微量杂质存在，也能阻碍或延缓结晶的形成。所以在制备结晶时，必须注意杂质的干扰，应力求尽可能除去。有时可选用溶剂溶出杂质，或只溶出所需要的成分。有时可用少量活性炭等进行脱色处理，以除去有色杂质。有时可通过氧化铝，硅胶或硅藻土短柱处理后，再进行制备结晶。但应用吸附剂除去杂质时，要注意所需要的成分也可能被吸附而损失。

如果一再处理仍未能使近于纯品的成分结晶化，则可先制备其晶态的衍生物，再回收原物，可望得到结晶。例如游离生物碱可制备各种生物碱盐类，羧基化合物可转变成乙酰化物，羰基化合物可制备成苯腙衍生物结晶。

溶剂的选择：制备结晶，要注意选择合宜的溶剂和应用适量的溶剂。合宜的溶剂，最好是在冷时对所需要的成分溶解度较小，而热时溶解度较大。溶剂的沸点亦不宜太高。一般常用甲醇、丙酮、氯仿、乙醇、乙酸乙酯等。但有些化合物在一般溶剂中不易形成结晶，而在某些溶剂中则易于形成结晶。例如葛根素、逆没食子酸 (ellagic acid) 在冰醋酸中易形成结晶，大黄素 (emodin) 在吡啶中易于结晶，萱草毒素 (hemerocallin) 在 N, N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中易得到结晶，而穿心莲亚硫酸氢钠加成物在丙酮-水中较易得到结晶。又如蝙蝠葛碱通常为无定形粉末，但能和氯仿或乙醚形成为加成物结晶。

二、结晶溶液的制备

制备结晶的溶液，需要成为过饱和的溶液。一般是应用适量的溶剂在加温的情况下，将化合物溶解再放置冷处。如果在室温中可以析出结晶，就不一定放置于冰箱中，以免伴随结晶析出更多的杂质。“新生态”的物质即新游离的物质或无定形的粉末状物质，远较晶体物质的溶解度大，易于形成过饱和溶液。一般经过精制的化合物，在蒸去溶剂抽松为无定形粉末时就是如此，有时只要加入少量溶剂，往往立即可以溶解，稍稍放置即能析出结晶。例如长春花总弱碱部分抽松后加入 1.5 倍量的甲醇溶解，放置后很快析出长春碱结晶。又如蝙蝠葛碱在乙醚中很难溶解，但当其盐的水溶液用氨液碱化，并立即用乙醚萃取，所得的乙醚溶液，放置后即可析出蝙蝠葛碱的乙醚加成物结晶。

制备结晶溶液，除选用单一溶剂外，也常采用混合溶剂。一般是先将化合物溶于易溶的溶剂中，再在室温下滴加适量的难溶的溶剂，直至溶液微呈浑浊，

并将此溶液微微加温，使溶液完全澄清后放置。例如自虎杖中提取水溶性的虎杖苷时，在已精制饱和的水溶液上添加一层乙醚放置，既有利于溶出其共存的脂溶性杂质，又可降低水的极性，促使虎杖苷的结晶化。自秦皮中提取七叶苷（秦皮甲素），也可运用这样的办法。

结晶过程中，一般是溶液浓度高，降温快，析出结晶的速度也快些。但是其结晶的颗粒较小，杂质也可能多些。有时自溶液中析出的速度太快，超过化合物晶核的形成和分子定向排列的速度，往往只能得到无定形粉末。有时溶液太浓，粘度大反而不易结晶化。如果溶液浓度适当，温度慢慢降低，有可能析出结晶较大而纯度较高的结晶。有的化合物其结晶的形成需要较长的时间，例如铃兰毒苷等，有时需放置数天或更长的时间。

三、制备结晶操作

制备结晶除应注意以上各点外，在放置过程中，最好先塞紧瓶塞，避免液面先出现结晶，而致结晶纯度较低。如果放置一段时间后没有结晶析出，可以加入极微量的种晶，即同种化合物结晶的微小颗粒。加种晶是诱导晶核形成常用而有效的手段。一般地说，结晶化过程是有高度选择性的，当加入同种分子或离子，结晶多会立即长大。而且溶液中如果是光学异构体的混合物，还可依种晶性质优先析出其同种光学异构体。没有种晶时，可用玻璃棒蘸过饱和溶液一滴，在空气中任溶剂挥发，再用以磨擦容器内壁溶液边缘处，以诱导结晶的形成。如仍无结晶析出，可打开瓶塞任溶液逐步挥发，慢慢析晶。或另选适当溶剂处理，或再精制一次，尽可能除尽杂质后进行结晶操作。

四、重结晶及分步结晶

在制备结晶时，最好在形成一批结晶后，立即倾出上层溶液，然后再放置以得到第二批结晶。晶态物质可以用溶剂溶解再次结晶精制。这种方法称为重结晶法。结晶经重结晶后所得各部分母液，再经处理又可分别得到第二批、第三批结晶。这种方法则称为分步结晶法或分级结晶法。晶态物质在一再结晶过程中，结晶的析出总是越来越快，纯度也越来越高。分步结晶法各部分所得结晶，其纯度往往有较大的差异，但常可获得一种以上的结晶成分，在未加检查前不要贸然混在一起。

五、结晶纯度的判定

化合物的结晶都有一定的结晶形状、色泽、熔点和熔距，一可以作为鉴定的初步依据。这是非结晶物质所没有的物理性质。化合物结晶的形状和熔点往往因所用溶剂不同而有差异。阿托品碱在氯仿中形成棱柱状结晶，熔点 207℃；在丙酮中则形成半球状结晶，熔点 203℃；在氯仿和丙酮混合溶剂中则形成以上两种晶形的结晶。又如 N-氧化苦参碱，在无水丙酮中得到的结晶熔点 208℃，

在稀丙酮（含水）析出的结晶为 77~80℃。所以文献中常在化合物的晶形、熔点之后注明所用溶剂。一般单体纯化合物结晶的熔距较窄，有时要求在 0.5℃左右，如果熔距较长则表示化合物不纯。但有些例外情况，特别是有些化合物的分解点不易看得清楚。也有的化合物熔点一致，熔距较窄，但不是单体。一些立体异构体和结构非常类似的混合物，常有这样的现象。还有些化合物具有双熔点的特性，即在某一温度已经全部融熔，当温度继续上升时又固化，再升温至一定温度又融化或分解。如防己诺林碱在 176℃时融化，至 200℃时又固化，再在 242℃时分解。天然产物成分经过同一溶剂进行三次重结晶，其晶型及熔点一致，同时在薄层层析或纸层层析法经数种不同展开剂系统检定，也为一个斑点者，一般可以认为是一个单体化合物。但应注意，有的化合物在一般层析条件下，虽然只呈现一个斑点，但并不一定是单体成分。例如水菖蒲根茎挥发油中的 α -细辛醚和 β -细辛醚，在一般薄层上均为一个斑点，前者为结晶，熔点 63℃，后者为液体沸点 296℃，用硝酸银薄层或气相层析很容易区分。有时个别化合物（如氨基酸）可能部分地与层析纸或薄层上的微量金属离子（如 Cu）、酸或碱形成络合物、盐或分解而产生复斑。因此，判定结晶纯度时，要依据具体情况加以分析。此外，可借助与高效液相色谱、紫外光谱等检识结晶样品的纯度。

修改于二零一零年三月