

# 麦角菌发酵物中生物碱的化学研究\*

黎莲娘 方起程

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

**提要** 利用麦角菌生物合成制取麦角新碱的方法已推广应用于生产。该菌种在小麦种子培养基上培养以后,除麦角新碱外,根据薄层层离鉴定结果证明还产生三种麦角生物碱。为了利用麦角新碱生产过程中母液里的其他麦角生物碱,并为进一步研究生物合成机制提供资料,必须先对母液中所含麦角生物碱进行分离和鉴定。

曾采用无粘合剂的氧化铝薄层层离法,从母液中分离出了四种生物碱。除麦角新碱外,其余三种生物碱通过薄层层离鉴定;熔点、比旋度测定;紫外吸收光谱、红外吸收光谱和元素分析等分别鉴定,证明为麦角异新碱、麦角生碱和麦角异生碱。

利用麦角菌 *Claviceps microcephala* (Wallr.) Tul. 生物合成制取麦角新碱的方法<sup>[1,2]</sup>已推广应用于生产。该菌种在小麦培养基上培养以后,除麦角新碱外,根据薄层层离鉴定<sup>[3]</sup>结果证明还产生三种麦角生物碱。为了利用麦角新碱生产过程中母液里的其他麦角生物碱,并为研究生物合成机制提供资料,必须先对母液中所含麦角生物碱进行分离和鉴定。

用无粘合剂氧化铝薄层层离法,从母液中分离出四种麦角生物碱,按其薄层层离板上  $R_f$  值自小到大的顺序分别用甲、乙、丙、丁作代号。

生物碱甲经鉴定为麦角新碱<sup>[1]</sup>。

生物碱乙为无色柱状结晶,其熔点、比旋度(表1)和元素分析结果与麦角异新碱相符。红外吸收光谱在指纹区与麦角新碱有明显的差别(图1、图2)。在1*N*的氢氧化钾

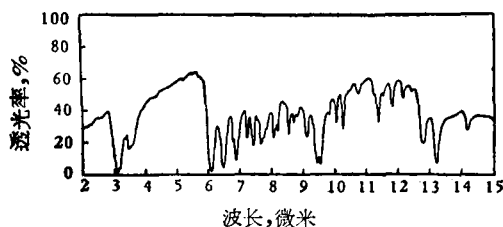


图1 麦角异新碱红外吸收光谱(KBr 压片)

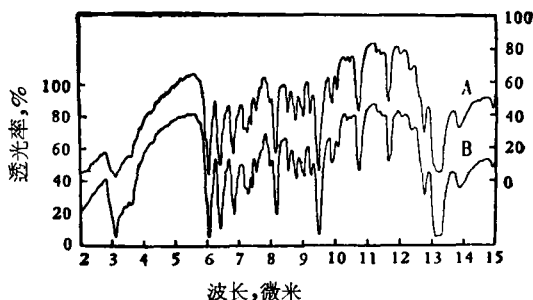


图2 红外吸收光谱(KBr 压片)

A. 麦角新碱标准品(含一分子氯仿,本所制备);  
B. 生物碱乙的转化产物。

本文于1965年10月5日收到。

\* 本文曾由作者之一在德意志民主共和国哈雷(Halle)市举行的第三届国际生物碱生物化学和生物物理讨论会(3 Internationales Symposium "Biochemie und Physiologie der Alkaloide", 24 bis 27 Juni, 1965)上宣读过。

乙醇溶液中回流加热 30 分钟,可转化为麦角新碱(图 2),说明其与麦角新碱互为异构体。因此,证明生物碱乙为麦角异新碱。

表 1 麦角菌 *Claviceps microcephala* (Wallr.) Tul. 发酵物中生物碱

生物碱	分子式	熔点, °C (分解)		[α] <sub>D</sub>	
		实验值	文献报导	实验值	文献报导
麦角新碱	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	158—159	160—162.5 <sup>[5]</sup>	+98.2°(水)	+90°(水)
麦角异新碱	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	194—195.5	195—197 <sup>[6]</sup>	+410.8°(氯仿) +335.6°(甲醇)	+414.5°(氯仿) +328°(甲醇)
麦角生碱	C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> O <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	209—211	228 <sup>[4]</sup> 208—212 <sup>[7]</sup> 224—225 <sup>[8]</sup>	-167.9°(氯仿)	-170°(氯仿)
麦角异生碱	C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> O <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	191.5—192.5	228 <sup>[4]</sup> 190—191 <sup>[8]</sup>	+432°(氯仿) +397.2°(丙酮)	+420°(氯仿) +380°(丙酮)

[注] 熔点是采用 Kofler 显微熔点测定器测定,比旋度用旋光光谱仪测定。

生物碱丙为无色多面体结晶,其熔点、比旋度(表 1)和元素分析结果与麦角生碱相符。紫外吸收光谱的吸收峰位置和特征(图 3)与文献<sup>[4]</sup>上报导的麦角生碱数值符合。薄层层离板上 R<sub>f</sub> 值和红外吸收光谱(图 4)与麦角生碱标准品完全一致。因此,证明生物碱丙为麦角生碱。

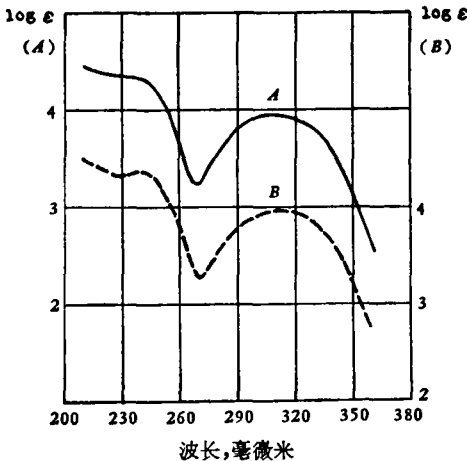


图 3 紫外吸收光谱(乙醇)  
A. 麦角生碱(生物碱丙);  
B. 麦角异生碱(生物碱丁)。

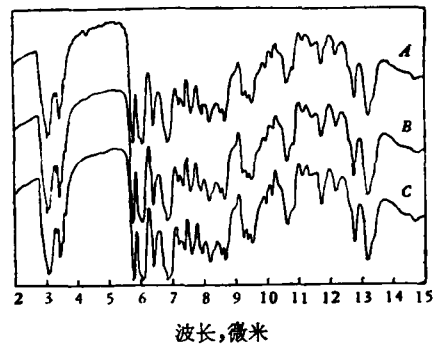


图 4 红外吸收光谱(KBr 压片)  
A. 麦角生碱标准品(Sandoz 厂);  
B. 生物碱丙;  
C. 生物碱丁的转化产物。

生物碱丁为无色针状结晶,熔点、比旋度(表 1)和元素分析结果与麦角异生碱相符。紫外吸收光谱的吸收峰位置和特征(图 3)与文献<sup>[4]</sup>上报导的麦角异生碱数值符合。红外吸收光谱与麦角生碱比较有许多相同的吸收峰,但在指纹区的波长 10—11.5 微米处有一些差别(图 5, 6)。将生物碱丁溶于 1N 的氢氧化钾乙醇溶液中,并加等量的蒸馏水,放置 45 分钟,可转化为麦角生碱,说明其与麦角生碱互为异构体。因此,证明生物碱丁为麦角异生碱。

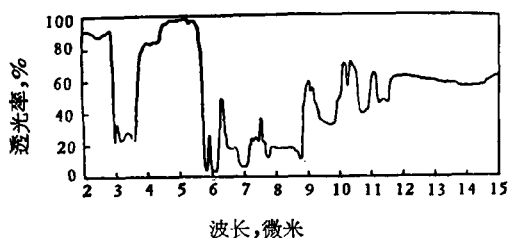


图5 麦角生碱(生物碱丙)红外吸收光谱  
(5% 氯仿溶液, 吸收池厚 0.5 毫米)

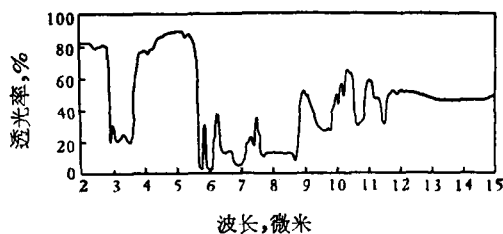


图6 麦角异生碱(生物碱丁)红外吸收光谱  
(5% 氯仿溶液, 吸收池厚 0.5 毫米)

## 实 验 部 分

### (一) 母液中麦角生物碱的分离

将药厂中生产麦角新碱的母液减压浓缩, 浓缩液用苯提取, 苯提取液滴加于四倍量的石油醚(沸点 30—60℃)中, 即析出棕黄色沉淀。过滤, 得棕黄色粉末, 该粉末含麦角生物碱约为 30—40%。

取上述棕黄色粉末 0.4 克溶于 3 毫升氯仿, 将氯仿溶液用移液管滴加在 245 × 195 × 2 毫米的无粘合剂氧化铝(活度 II—III 级、细度小于 180 筛孔, 武汉大学化工厂出品)层离板的起始线上, 成一条均匀的直线。将层离板倾斜置于高为 95 毫米, 直径 300 毫米的圆形玻璃层离槽中, 层离板的倾斜度为 15—20° 角。加入推进剂(苯-氯仿-无水乙醇 7:3:0.5) 75 毫升, 先密闭放置半小时, 使溶剂蒸气达到饱和, 再进行层离。约半小时推进剂即可上升到溶剂前缘线。取出层离板, 在萤光灯下可观察到四条蓝色萤光带, 按  $R_f$  值自小到大的顺序分别用生物碱甲、乙、丙、丁作代号。制备了 19 块层离板, 共分离了棕黄色粉末 7.6 克。将 19 块层离板上显蓝色萤光而  $R_f$  值相同的氧化铝层用抽气收集法分别收集在层离管中。 $R_f$  值较小的二部分(即含生物碱甲及乙部分)分别用甲醇洗脱,  $R_f$  值较大的二部分(即含生物碱丙及丁部分)分别用氯仿洗脱。四部分的洗脱液分别减压浓缩, 得四种粗结晶, 其中生物碱甲为 0.265 克用氯仿重结晶, 生物碱乙 0.203 克用丙酮重结晶, 生物碱丙 0.269 克用乙酸乙酯或苯重结晶, 生物碱丁 1.117 克用甲醇重结晶。

### (二) 麦角新碱的鉴定

生物碱甲在氯仿中结晶出来为无色细针状结晶, 含 1 分子氯仿。用薄层层离鉴定, 只有一个萤光点, 其  $R_f$  值和红外吸收光谱与麦角新碱标准品相同, 在丙酮中结晶为无色针状结晶, 熔点 158—159℃ (分解),  $[\alpha]_D^{25} + 98.2^\circ$  (水,  $c = 0.38$ )。

### (三) 麦角异新碱的鉴定

生物碱乙自丙酮结晶出为无色柱状结晶, 熔点 194—195.5℃ (分解),  $[\alpha]_D^{25} + 410.8$  (氯仿,  $c = 0.24$ );  $[\alpha]_D^{25} + 335.6^\circ$  (甲醇,  $c = 0.5$ ), 红外吸收光谱(图 1) 在 3.08、3.45、6.10、6.50、9.45、9.55、12.82 及 13.25 微米有较强的吸收峰, 而指纹区与麦角新碱(图 2) 比较有明显的区别。

分析  $C_{19}H_{23}O_2N_3$

计算值, %	C, 70.13;	H, 7.12;	N, 12.91
实验值, %	C, 70.14, 70.12;	H, 7.30, 7.45;	N, 12.92, 13.08

根据以上数据生物碱乙可能为麦角异新碱, 为了进一步证明又进行了以下试验。

转化试验<sup>[6]</sup>: 取生物碱乙 100 毫克加 1N 氢氧化钾乙醇溶液 5 毫升, 加热回流 30 分钟, 加蒸馏水 15 毫升, 用盐酸酸化, 再加碳酸钠中和至 pH 7, 用氯仿提取, 氯仿提取液用无水碳酸钾脱水后减压浓缩, 即析出无色细针状结晶。该结晶的红外吸收光谱与麦角新碱氯仿复合物完全一致(图 2),  $[\alpha]_D^{25} + 98.7$  (水,  $c = 0.38$ )。证明生物碱乙与麦角新碱互为异构体。根据以上数据证明生物碱乙为麦角异新碱。

#### (四) 麦角生碱的鉴定

生物碱丙自乙酸乙酯中结晶出为无色多面体结晶, 熔点 209—211°C (分解), 用薄层吸附层离法鉴定<sup>[3]</sup>时  $R_f$  值与麦角胺相同, 用薄层分配层离法<sup>[10]</sup>鉴定时  $R_f$  值与麦角生碱相同。  $[\alpha]_D^{25} - 167.9^\circ$  (氯仿,  $c = 0.5$ )。在波长 210—360 毫微米之间测定其紫外吸收光谱, 最大吸收峰在 312 毫微米 ( $\log \epsilon 3.96$ ), 最小吸收峰在 269 毫微米 ( $\log \epsilon 3.23$ ), 在 240 毫微米有弯曲 (inflection) (如图 3), 与文献<sup>[4]</sup>上报导的麦角生碱紫外吸收光谱数值 ( $\lambda_{\max}$  318 毫微米,  $\lambda_{\min}$  270 毫微米,  $\lambda_{\text{inflec}}$  240 毫微米) 相符。红外吸收光谱与麦角生碱标准品完全一致(图 4)。

分析  $C_{30}H_{37}O_5N_5$

计算值, % C, 65.79; H, 6.81; N, 12.79

实验值, % C, 65.29, 65.30; H, 7.14, 6.77; N, 12.45, 12.40

由以上数据证明生物碱丙为麦角生碱。

#### (五) 麦角异生碱的鉴定

生物碱丁自甲醇中结晶出为无色针状结晶, 并含半个分子结晶甲醇, 熔点 191.5—192.5°C (分解), 用薄层吸附层离法鉴定只有一个蓝色萤光点, 其  $R_f$  值与麦角毒碱相同, 但用 1% 硫酸铈铵的 70% 磷酸溶液显色时为蓝紫色, 而麦角毒碱为红紫色。用薄层分配层离法鉴定时其  $R_f$  值与麦角毒碱组三种生物碱(麦角克碱、麦角卡里碱、麦角柯宁碱)均不相同。  $[\alpha]_D^{25} + 432^\circ$  (氯仿,  $c = 0.55$ );  $[\alpha]_D^{25} + 397.2$  (丙酮,  $c = 0.47$ )。在波长 210—360 毫微米之间测定紫外吸收光谱时, 最大吸收峰在 312 毫微米 ( $\log \epsilon 3.97$ ), 最小吸收峰在 270 毫微米 ( $\log \epsilon 3.28$ ), 在 238 毫微米有明显弯曲(图 3)。与文献<sup>[4]</sup>上报导的麦角异生碱紫外吸收光谱数值 ( $\lambda_{\max}$  318 毫微米,  $\lambda_{\min}$  270 毫微米,  $\lambda_{\text{inflec}}$  240 毫微米) 相符。生物碱丁的红外吸收光谱与麦角生碱比较有许多相同的吸收峰 (波长 2.95、3.55、5.80、6.05、8.73 微米), 但在指纹区的波长 10—11.5 微米处有一些差别(图 5、图 6)。

分析  $C_{30}H_{37}O_5H_5 \cdot 1/2 CH_3OH$

计算值, % C, 64.99; H, 6.97; N, 12.49

实验值, % C, 64.58, 64.34; H, 7.19, 6.92; N, 12.67, 12.45

根据以上数据生物碱丁可能为麦角异生碱, 为了进一步证明曾进行了以下试验。

转化试验<sup>[4]</sup>: 取生物碱丁结晶 1 克, 置于 250 毫升三角瓶中, 加 1N 氢氧化钾乙醇溶液 50 毫升及蒸馏水 50 毫升, 放置 45 分钟; 然后加蒸馏水 100 毫升, 边冷却边滴入浓盐酸至 pH 4—5, 用碳酸氢钠碱化则产生白色沉淀, 用氯仿提取, 氯仿提取液用无水碳酸钾脱水, 减压蒸干, 加苯析出结晶, 用薄层层离法(方法同上)分离, 得到转化产物 100 毫克, 用乙酸乙酯反复重结晶, 得到多面体结晶, 熔点 209—211°C (分解),  $[\alpha]_D^{25} - 175.2^\circ$  (氯仿,  $c = 0.47$ ), 薄层层离鉴定结果  $R_f$  值与麦角生碱相同, 红外吸收光谱与麦角生碱标准品完

全一致(图 4)。

分析  $C_{30}H_{37}O_5N_5$

计算值, % C, 65.79; H, 6.81; N, 12.79

实验值, % C, 65.82, 65.76; H, 6.72, 6.78; N, 12.87, 12.65

根据以上数据说明生物碱丁与麦角生碱互为异构体, 因此证明生物碱丁为麦角异生碱。

**致谢** 母液是由北京制药厂提供, 元素分析由本所分析室同志代作, 谨致谢意。

### 参 考 文 献

- [1] 岳德超、杨云鹏、刘金茹、陆师义、何丽一、梁 彬、周同惠、黎莲娘、方起程：利用麦角菌生物合成法制取麦角新碱的研究, 药学报, 1962, **9**, 77—83; *Scientia Sinica*, 1962, **11**, 917—924.
- [2] 方起程：分离麦角新碱的新方法, 药学报, 1963, **10**, 712—719.
- [3] 黎莲娘、方起程：薄层层析法在研究天然化合物中的应用 I. 麦角新碱、麦角胺、麦角毒碱的鉴定, 药学报, 1963, **10**, 643—649.
- [4] Smith, S., Timmis, G. M.: The Alkaloids of Ergot, Part VIII. New Alkaloids of Ergot: Ergosine and Ergosinine, *J. Chem. Soc.*, 1937, 396—401.
- [5] Thompson, M. R.: Some Properties of Ergostetrine, *J. Am. Pharm. Ass.*, 1935, **24**, 748—753.
- [6] Smith, S., Timmis, G. M.: The Alkaloids of Ergot, Part VI. Ergometrinine, *J. Chem. Soc.*, 1936, 1166—1169.
- [7] Kofler, A.: Microscopic Investigation of Ergot Alkaloids III. Ergosine and Ergosinine (Ergoclavine), *Arch. Pharm.*, 1938, **276**, 40—45; *C. A.*, 1938, **32**, 42757.
- [8] Stadler, P. A., Frey, A. J., Ott, H. und Hofmann, A.: Die Synthese des Ergosins und des Valin-Analogen der Ergotamin-Gruppe. 61. Mitteilung über Mctoerkornalkaloide *Helv. Chim. Acta*, 1964, **47**, 1911—1921.
- [9] *Selected Constants Optical Rotatory Power, IV Alkaloids*, London-Paris-New York-Los Angeles-Frankfurt, 1959, p. 68; p. 70.
- [10] 黎莲娘、方起程：薄层层析法在研究天然化合物中的应用 VIII. 肽类麦角生物碱的鉴定, 待发表。

## Studies on Alkaloids from the Fermentation Product of Ergot Fungus *Claviceps microcephala* (Wallr.) Tul.

LI LIAN-NIANG AND FANG QI-CHENG

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking*)

### ABSTRACT

The biosynthesis of ergometrine through the use of the ergot fungus *Claviceps microcephala* has been applied to the manufacturing of this alkaloid. By thin layer chromatography, it has been shown that this strain, cultured on wheat seed medium, was able to produce three other ergot alkaloids besides ergometrine. In order to fully utilise the alkaloids in the mother liquor, obtained during the production of ergometrine, and to gain information on the mechanism of biosynthesis, it was necessary to isolate and identify these ergot alkaloids. With the application of preparative-scale thin layer chromatography without binder, four alkaloids were isolated from the mother liquor. In addition to ergometrine, the three others were identified as ergometrinine, ergosine and ergosinine respectively, by their thin layer chromatographic behavior, melting points, optical rotations, U.V. and I.R. spectra and elementary analyses.