

# 薄层层离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

黎 蓮 娘 方 起 程

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

**提要** 本文研究了影响麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱的氧化铝薄层层离的各种因素。实验结果表明,酸性、中性和弱碱性氧化铝均能使三种麦角生物碱分离。氧化铝细度以小于200号筛的层离效果最好,荧光点圆而集中。苯-无水乙醇(10:0.5)是较为理想的推进剂,不仅分离效果好,而且其组成简单,容易处理和回收。层离板的斜度对层离效果影响不大,但以 $8-16^\circ$ 角较合适。层离槽放入溶剂后,必须先密闭放置10分钟,才能进行层离,否则容易产生边缘效应。根据以上研究结果,制订了鉴定麦角中三种主要生物碱的方法。

薄层层离法是一种微量、快速的层离方法。可以用来鉴别和定量分析许多无机和有机化合物,亦可用作小量混合物的分离提纯。早在1938年 Измайлов 和 Шрайбер<sup>[1]</sup>曾利用这种方法鉴定了颠茄酊、鸦片酊、毛地黄酊等16种植物制剂。但以后在很长时间内,对这种方法的应用并未引起重视。1949年 Meinhard 和 Halle<sup>[2]</sup>曾将氧化铝与淀粉制成糊状物涂在玻璃板上,然后利用它来分离锌盐和铁盐的混合物。Kirchner 等<sup>[3-7]</sup>和 Reitsema<sup>[8]</sup>曾采用这一方法来分离各种挥发油和萜烯类化合物。对各种吸附剂、涂铺工具、以及影响薄层层离效果的因素等, Stahl<sup>[9-11]</sup>研究的较多。最近几年来,对薄层层离方法的研究和应用颇为广泛,发展很快<sup>[12]</sup>,已成为化学实验室常用的重要方法之一。特别是对各种天然有机化合物如生物碱<sup>[13-15]</sup>、强心甙<sup>[16-18]</sup>、甾体皂甙<sup>[19-21]</sup>、黄酮体<sup>[22-24]</sup>、香豆素<sup>[25]</sup>、挥发油<sup>[3-8, 25-28]</sup>等的分析和分离。

鉴于以上所述,并考虑到采用纸层离法<sup>[29-31]</sup>来鉴定麦角中麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱具有以下缺点:如需要用较高质量的层离纸和有机溶剂象分析纯的甲酰胺等;此外,作一次分析需要比较长的时间(6小时以上)。因此,我们对利用薄层层离法来鉴定三种主要麦角生物碱进行了研究。Rochelmeyer 等<sup>[32, 33]</sup>和 Stahl<sup>[11]</sup>曾报导了应用硅胶G层离板鉴定麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱。Hermanek 等<sup>[14]</sup>用无粘合剂的氧化铝层离板,鉴定了麦角新碱、麦角生碱、麦角胺等;但对影响麦角生物碱薄层层离的各种因素未曾进行系统的研究。为了制订出一个用来鉴定麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱的氧化铝薄层层离法,曾对有可能影响该三种生物碱分离的因素,进行了系统的研究。

## 仪 器、药 品

### (一) 仪器

层离槽: 带有磨砂玻璃板盖的长方形玻璃槽,长20厘米,宽6.5厘米,高6厘米。

层离用玻璃板：长 19 厘米、寬 4.7 厘米。

螢光灯：公私合营沪江仪器厂出品。

## (二) 藥品

麦角生物碱：麦角新碱順丁烯二酸盐 (Ergometrinum maleinicum, E. Merck, Darmstadt); 麦角胺酒石酸盐 (Ergotaminum tartaricum, E. Merck, Darmstadt); 麦角毒碱乙磺酸盐 (Ergotoxine ethanesulphonate, B. D. H., London)。

溶剂：苯；乙醇；无水乙醇(均为二級)；石油醚(沸点 60—90°C)；氯仿；甲醇(均为三級)。

活性氧化鋁：武汉大学化工厂出品，活度 II—III 級(按 Brockmann 和 Schroder 方法測定)。

## 实 驗 部 分

### (一) 影响麦角生物碱薄层层离的各种因素的研究

根据麦角生物碱的物理化学性質以及薄层层离的一般特性，曾对有可能影响麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱的  $R_f$  值以及其螢光点形状的因素：如氧化鋁規格、推进剂、层离板的斜度和层离槽内溶剂蒸汽飽和度等进行了一系列的研究。

**1. 氧化鋁的酸碱性对  $R_f$  值的影响** 吸附剂的酸碱性<sup>[1]</sup> 对不同性質化合物的层离效果有很大的影响。因此，我們比較了酸性、中性和弱碱性氧化鋁对三种麦角生物碱层离效果的影响。

方法：在 19×4.7 厘米的玻璃板的一端，鋪上細度为通过 160 号篩的氧化鋁，用带有二个紙圈的玻璃棒(二个紙圈之間的距离为 4.3 厘米，紙圈厚度 0.5 毫米)从鋪有氧化鋁的一端慢慢地推向另一端，使成均匀的薄层。在距二端边缘 2 厘米处，分別用硬紙片輕輕地刻划一条直綫，作为起始綫和溶剂前緣綫。用毛細管吸取少量三种生物碱的混合溶液，滴加在起始綫上。将层离板移置于层离槽内，划有溶剂前緣綫的一端，用玻璃管垫起，使层离板与槽底成 8° 角。然后加入 6 毫升苯-石油醚-无水乙醇 (8:2:0.5) 混合溶剂进行层离。待推进剂上升到溶剂前緣綫，即可取出，在螢光灯下观察螢光点的位置，并計算各螢光点的  $R_f$  值。結果如表 1。

表 1 氧化鋁酸碱性对层离效果的影响

氧化鋁細度：小于 160 号篩

推进剂：苯-石油醚-无水乙醇(8:2:0.5)

氧化鋁酸碱性	$R_f$ 值		
	麦 角 新 碱	麦 角 胺	麦 角 毒 碱
4.4	0.08	0.27	0.36
6.6	0.10	0.33	0.41
8.6	0.10	0.36	0.46

表 1 結果表明酸性、中性及弱碱性氧化鋁都能使三种生物碱分离。

**2. 氧化鋁的細度对层离效果的影响** 吸附剂的細度<sup>[9]</sup> 对层离时间和效率均有显著影响。我們比較了三种不同細度的弱碱性氧化鋁对三种麦角生物碱层离效果的影响。方法

同上,結果如图 1.

由图 1 可以看到,氧化鋁細度在 120—160 号篩之間层离所需時間短,但层离效果差,麦角胺和麦角毒碱不能分离,且螢光点呈长圓形. 細度小于 200 号篩的层离時間稍长,但結果良好,不但能使麦角胺和麦角毒碱分离,同时各个螢光点圓而集中.

**3. 推进剂的选择** 根据三种麦角生物碱的极性不同,乃采用了各种不同比例的石油醚-苯-无水乙醇以及苯-氯仿-无水乙醇作推进剂进行了比較. 方法同上,結果如表 2.

由表 2 結果可以看到,所采用的各种不同比例的混合溶剂都能使三种麦角生物碱分离,而且  $R_f$  值随着溶剂极性的增加而增加. 其中以苯-无水乙醇(10:0.5)较为理想,因溶剂組成較簡單,容易处理和回收. 从表 2 結果中还可以看到一个有趣的現象,即在上述溶剂系統中,各种麦角生物碱的盐与其相应的游离碱的  $R_f$  值完全相同.

**4. 层离板的斜度对层离效果的影响** 采用层离板的傾斜度分别为  $5^\circ, 8^\circ, 12^\circ, 16^\circ$

进行了三种麦角生物碱层离效果的比較. 結果表明,上述四种斜度对层离效果的影响不

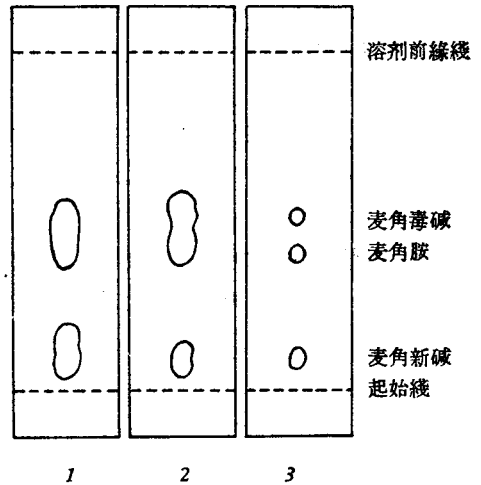


图 1 氧化鋁細度对层离效果的影响  
1—細度为 120—160 号篩,层离時間 4 分 30 秒;  
2—細度为 160—200 号篩,层离時間 6 分;  
3—細度小于 200 号篩,层离時間 12 分.  
推进剂: 苯-石油醚-无水乙醇(8:2:0.5).

表 2 推进剂对层离效果的影响

氧化鋁細度: 小于 200 号篩

推 进 剂	$R_f$ 值						
	麦 角 新 碱		麦 角 胺		麦 角 毒 碱		
	游 离 碱	順丁烯二酸盐	游 离 碱	酒石酸盐	游 离 碱	乙磺酸盐	
石油醚-苯-无水乙醇	1 : 9 : 0.5	0.09	0.09	0.32	0.32	0.49	0.49
	2 : 8 : 0.5	0.09	0.09	0.31	0.31	0.49	0.49
	3 : 7 : 0.5	0.07	0.07	0.27	0.27	0.47	0.47
	4 : 6 : 0.5	0.07	0.07	0.25	0.25	0.42	0.42
	5 : 5 : 0.5	0.06	0.06	0.19	0.19	0.36	0.36
	6 : 4 : 0.5	0.05	0.05	0.16	0.16	0.30	0.30
	7 : 3 : 0.5	0.05	0.05	0.13	0.13	0.24	0.24
	8 : 2 : 0.5	0.04	0.04	0.09	0.09	0.19	0.19
苯-氯仿-无水乙醇	10 : 0 : 0.5	0.10	0.10	0.33	0.33	0.50	0.50
	9 : 1 : 0.5	0.14	0.14	0.41	0.41	0.59	0.59
	8 : 2 : 0.5	0.15	0.15	0.43	0.43	0.59	0.59
	7 : 3 : 0.5	0.16	0.16	0.46	0.46	0.60	0.60
	1 : 9 : 0.5	0.33	0.33	0.65	0.65	0.73	0.73
	0 : 10 : 0.5	0.39	0.39	0.69	0.69	0.78	0.78

大,但以层离板与槽底成  $8-16^\circ$  角較合适。

**5. 层离槽被溶剂蒸汽飽和所需要的時間** 应用混合溶剂为推进剂时,由于各种溶剂揮发性不同,因此溶剂部分蒸汽压的比例在层离板中間和两边往往不同,容易产生边缘效应(edge effect)<sup>[11]</sup>。尤其是采用較大层离槽时这种現象更为显著。当层离槽被該混合溶剂的蒸汽飽和时,則可以避免这种現象的产生。試驗証明,如将麦角生物碱样品沿起始綫滴加成一条直綫,然后将层离板放入层离槽內,立即进行层离。結果得到弧形螢光帶,其凸面朝向起始綫。如放入层离槽后,先密閉放置<sup>[31]</sup> 5 分钟再进行层离,則弧度减小,而密閉放置 10 分钟,得到了直的螢光帶。因此,采用容积为  $20 \times 6.5 \times 6$  厘米的层离槽时,以密閉放置 10 分钟較为合适,時間再延长結果相同。

## (二) 各种麦角样品中麦角生物碱的鉴定

根据以上研究結果,我們制訂了下列鉴定三种麦角生物碱的薄层层离法。取 0.2 克麦角粉末,加 5 毫升氨性甲醇氯仿(1:9:90),浸泡过夜。浸出液濃縮后,用毛細管吸取小量,点在距层离板前緣 2 厘米的起始綫上,氧化鋁层厚度約为 0.5 毫米(氧化鋁規格 II—III 級,弱碱性,細度小于 200 号篩)。并点上对照的标准样品。样品之間的距离不小于 1.5 厘米。然后放入层离槽內,使其与槽底成  $8-16^\circ$  角,并在点有样品一端的槽底外部垫一玻璃棒,使加入的溶剂先不与点有样品一端的氧化鋁层接触。加入 6 毫升苯-无水乙醇(10:0.5)混合溶剂,密閉放置 10 分钟后,进行层离,約 10 分钟左右即可完成。取出层离板,在螢光灯下观察层离結果(麦角生物碱在螢光灯下显蓝色螢光)。

为了驗証这一方法能否代替紙层离法,曾分析了 8 种麦角样品,所得結果与紙层离法完全一致(如表 3)。

表 3 麦角样品中所含麦角生物碱的鉴定結果

麦 角 样 品		薄 层 层 离 法			紙 层 离 法		
菌 种	寄主植物	麦角新碱	麦 角 胺	麦角毒碱	麦角新碱	麦 角 胺	麦角毒碱
<i>Claviceps microcephala</i>	拂子茅	-	+	+	-	+	+
<i>Claviceps microcephala</i>	冬黑麦	+	+	+	+	+	+
<i>Claviceps microcephala</i>	多倍体黑麦	+	+	+	+	+	+
<i>Claviceps microcephala</i>	张北黑麦	+	+	+	+	+	+
<i>Claviceps purpurea</i>	老芒麦	-	+	+	-	+	+
<i>Claviceps purpurea</i>	披碱草	-	+	+	-	+	+
<i>Claviceps purpurea</i>	高滨麦	-	+	+	-	+	+
<i>Claviceps purpurea</i>	大麦草	-	+	+	-	+	+

因此,无粘合剂的氧化鋁薄层层离法完全可以代替紙层离法用于鉴定麦角中三种主要生物碱。同时該方法与紙层离方法相比較,具有下列优点:如鉴定样品所需要的时间比紙层离法縮短約 10 倍,不需要用特殊有机溶剂,操作簡便,用过的氧化鋁經過处理、活化,可以反复应用等。

## 討 論

在研究过程中，我們发现，在氧化铝层离板上各种麦角生物碱的极性与其  $R_f$  值的关系与紙层离法基本相同。即生物碱的极性越小， $R_f$  值越大；极性越大， $R_f$  值越小。試驗还証明，在上述各种层离条件下，各种麦角生物碱盐的  $R_f$  值与其游离碱的  $R_f$  值是一样的。产生这种现象的原因值得进一步探討。

在鉴定张北黑麦麦角样品时，曾发现在麦角胺与麦角新碱的螢光点之間以及在起始綫上各有一蓝色螢光点。根据上述  $R_f$  值与极性关系推断，前者可能为麦角异新碱，后者可能为麦角酸。經与麦角异新碱和麦角酸样品作对照比較，由紙层离和薄层层离結果，証明上述推断是正确的。

鉴于异麦角酸衍生物的极性一般比麦角酸衍生物要小，如麦角异新碱的  $R_f$  值大于麦角新碱。因此，麦角异胺的  $R_f$  值在上述溶剂系統中有可能介于麦角毒碱和麦角胺的  $R_f$  值之間；也有可能其  $R_f$  值接近麦角毒碱。由于我們沒有麦角异胺的标准品，未能进行比較，但值得在以后研究中加以注意。

## 参 考 文 献

- [1] Измайлов, Н. А. и Шрайбер, М. С.: Капельно-хроматографический метод анализа и его применение в фармация, Сообщение 1. *Фармация*, 1938, 1 (3), 1—7.
- [2] Meinhard, J. E., Halle, N. F.: Surface Chromatography. *Anal. Chem.*, 1949, 21, 185—188.
- [3] Kirchner, J. G., Miller, J. M., Keller, G. J.: Separation and Identification of Some Terpenes by a new Chromatographic Technique. *Anal. Chem.*, 1951, 23, 420—425.
- [4] Kirchner, J. G., Miller, J. M.: Preparation of Terpeneless Essential Oils. A Chromatographic Process. *Ind. Eng. Chem.*, 1952, 44, 318—321.
- [5] Miller, J. M., Kirchner, J. G.: Some Improvements in Chromatographic Techniques for Terpenes. *Anal. Chem.*, 1952, 24, 1480—1482.
- [6] Kirchner, J. G., Miller, J. M.: Citrus Flavoring. Volatile Oil Constituents of Grapefruit Juice. *J. Agr. Food Chem.*, 1953, 1, 512—518.
- [7] Miller, J. M., Kirchner, J. G.: Chromatostrips for Identifying Constituents of Essential Oils. *Anal. Chem.*, 1953, 25, 1107—1109.
- [8] Reitsem, R. H.: Characterization of Essential Oils by Chromatography. *Anal. Chem.*, 1954, 26, 960—963.
- [9] Stahl, E.: Dünnschicht-Chromatographie (Methode, Einflussfaktoren und einige Anwendungsbeispiele). *Pharmazie*, 1956, 11, 633—637.
- [10] Stahl, E.: Dünnschicht-Chromatographie. II. Standardisierung, Sichtbarmachung, Dokumentation und Anwendung. *Chem. Ztg.*, 1958, 82, 323—329.
- [11] Stahl, E.: Dünnschicht-Chromatographie. IV. Mitt. Einsatzschema, Randeffect, "saure und basische" Schichten, Stufentechnik. *Arch. Pharm.*, 1959, 292, 411—416.
- [12] 黎蓮娘：薄层层离方法在藥物分析中的应用。藥学通报，1963 (6)，248—258。
- [13] Waldi, D., Schnackerz, K., Munter, F.: Eine systematische Analyse von Alkaloiden auf Dünnschichtplatten. *J. Chromatog.*, 1961, 6, 61—73.
- [14] Hermanek, S., Schwarz, V., Cekan, Z.: Methoden zur Trennung von Naturstoffen. IV. Über die Chromatographie einiger organischen Verbindungen auf dünner Aluminiumoxydschicht. *Pharmazie*, 1961, 16, 566—569.
- [15] Döpke, W.: Dünnschichtchromatographie einiger Alkaloidgruppen. *Arch. Pharm.*, 1962, 295, 605—606.
- [16] Stahl, E., Kaltenbach, U.: Dünnschicht-Chromatographie IX. Mitteilung. Schnelltrennung von Digitalis und Podophyllum Glycosidgemischen. *J. Chromatog.*, 1961, 5, 458—460.
- [17] Steinegger, E., Walt, J. H.: Dünnschichtchromatographie von Herzglykosiden. *Pharm. Acta Helv.*,

- 1961, **36**, 599—601.
- [18] Reichelt, J., Pitra, J.: Methoden zur Trennung von Naturstoffen VI. Dünnschicht-chromatographie der Cardenolide. *Collection Czech. Chem. Commun*, 1962, **27**, 1709—1711.
- [19] Cerny, V., Joska, J., Labler, L.: On steroids LIX. Application of thin layer chromatography without binder for rapid analytical and preparative separation of steroid. *Collection Czech. Chem. Commun*, 1961, **26**, 1658—1668.
- [20] Bennett, R. D., Heftmann, E.: Thin-layer Chromatography of Steroidal Sapogenins. *J. Chromatog.*, 1962, **9**, 353—358.
- [21] Schwarz, V.: Methoden zur Trennung von Naturstoffen IX. Chromatographie von Steroide verbindungen an einer Magnesium-silicatschicht ohne Bindemittel. *Pharmazie*, 1963, **18**, 122—123.
- [22] Egger, K.: Unterscheidung von Glykosidtypen der Flavonole durch Polyamid-Dünnschicht Chromatographie. *Z. Anal. Chem.*, 1961, **182**, 161—166.
- [23] Stahl, E., Schorn, P. J.: Thin-layer Chromatography of Hydrophilic Medicinal Plant Extracts. VIII. Coumarin, Flavonederivatives, Hydroxy Acids, Tannin, Anthracene Derivatives, and Lichen Constituents. *Z. Physiol. Chem.*, 1961, **325**, 263—274.
- [24] Davidek, J., Prochazka, Z.: Thin-layer Chromatography on Polyamidpowder. *Collection Czech. Chem. Commun*, 1961, **26**, 2947—2949.
- [25] Grüner, S., Spaich, W.: Prüfungsmöglichkeiten von Tinkturen aus Arnica montana L. *Arch. Pharm.*, 1954, **287**, 243—249.
- [26] Winkler, W., Lunau, E.: Zur Unterscheidung der ätherischen Öle von Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Corouma longa L. dutch Dünnschichtchromatographie. *Pharm. Ztg.*, 1959, **107**, 1407—1408.
- [27] Brieskorn, H., Wenger, E.: Analyse des Ätherischen Salbeiöles mittels Gas-und Dünnschicht-Chromatographie. II. Mitteilung über die Inhaltstoffe von Salvia officinalis L. *Arch. Pharm.*, 1960, **293**, 21—26.
- [28] Jaspersen-Schib, R.: Beitrag zur Prüfung und Normung von Oleum menthae mittels Dünnschicht-Chromatographie. *Pharm. Acta Helv.*, 1961, **36**, 141—152.
- [29] 梁 彬、曹初宁、周同惠: 麦角生物碱的层离研究 I. 我国野生麦角的成分鉴定及麦角新碱的定量, 药学报, 1958, **6**, 90—96.
- [30] Macek, K., Vanecek, S.: Mutterkornalkaloide IV. *Pharmazie*, 1955, **10**, 422—429.
- [31] Voigt, R., Weiss, F.: Beitrag zur Papierchromatographie der Mutterkornalkaloide. *Pharmazie*, 1958, **13**, 212—217.
- [32] Rochelmeyer, H.: Probleme der biologischen Synthese der Mutterkornalkaloide. *Pharm. Ztg.*, 1958, **103**, 1269—1275.
- [33] Teichert, K., Mutschler, E., Rochelmeyer, H.: Die plattenschichtchromatographische Untersuchung von Naturstoffgemischen. *Z. Anal. Chem.*, 1961, **181**, 325—331.
- [34] Prochazka, Z.: Chromatografie na vrstevach bez pojidla. *Chem. Listy*, 1961, **55**, 974—982.

## APPLICATION OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY IN THE STUDY OF NATURAL PRODUCTS

### I. IDENTIFICATION OF ERGOMETRINE ERGOTAMINE AND ERGOTOXINE

LI LIAN-NIANG AND FANG QI-CHENG

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

#### ABSTRACT

The present paper reports investigations of thin layer chromatography for the identification of ergot alkaloids, using alumina without binder.

As dictated by the physico-chemical properties of ergot alkaloids and the usual characteristics of thin layer chromatography, studies on factors influencing  $R_f$  values and shape of spots of ergometrine, ergotamine, and ergotamine have been carried out. Good separation was obtained with acidic, neutral as well as weakly basic alumina. Alumina with particle sizes of 120–160, 160–200 and below 200 mesh were compared, the best result being obtained with the last size, producing round and sharp spots. Mixtures with various ratios of petroleum ether-benzene-absolute alcohol and of benzene-chloroform-absolute alcohol were used and mixture of benzene-absolute alcohol (10:0.5) was found to be the best, with  $R_f$  values 0.10, 0.33 and 0.50 for ergometrine, ergotamine, and ergotamine respectively. The composition of this solvent mixture is rather simple and amenable to ready recovery. The angle of inclination made by the plate had no great influence, although the most suitable was found to be between 8–16°. "Edge effect" may be avoided by tightly covering the container for 10 minutes to assure saturation with the solvent vapours before immersing the lower end of the plate.

According to these results, a thin layer chromatographic method for the identification of ergot alkaloids has been proposed, which gave identical results as paper chromatography when tested with eight ergot samples.