

麦角生物硷的层离研究*

II. 麦角生藥的柱层离定量

梁 彬 周同惠

(中国医学科学院药物研究所分析室)

麦角中生物硷的含量测定,一般均按中国药典^[1]及 N.F. ^[2]方法,但这两个方法只能测出总生物硷和水溶性生物硷的含量,对最有效成份——水溶性生物硷中的麦角新硷无法单独测定。Grove^[3]曾用提取方法分离麦角新硷和麦角异硷,进行个别定量,但手續麻煩,而且提取液体积较大,含量少时测定困难。Carless^[4]用紙纖維柱层离法分别测定麦角中各种生物硷含量,样品用量很少,全部过程需两天。根据作者之一^[5]用硅藻土柱层离法自麦角生藥中提取麦角新硷的結果,我們认为有可能达到定量目的,因此进行了以下試驗。

仪 器 藥 品

层离柱: 柱长约 44 厘米,内径 1.1 厘米。

紫外灯: 氙气灯泡。

光电比色計: “Lumetron”, 橘黄色滤光板,波长 580 毫微米。

硅藻土: 商品 Celite, 白色粉末。

氯仿: 北京化学试剂研究所(三級)。

乙酸乙酯,乙醚,硫酸: 北京化学试剂研究所(二級)。

緩冲液: MacIlvaine 氏緩冲液^[6], 0.1M 檸檬酸及 0.2M K_2HPO_4 溶液,用时按所需的 pH 值配合。

麦角生物硷: 麦角新硷酒石酸盐(Ergometrine tartrate, Sandoz, N. Y.), 麦角毒硷乙磺酸盐(Ergotoxine ethanesulfonate, B. D. H., London)。

實 驗 部 分

一、层离柱的制备: 按以前所用的方法^[5]。填装的混合物为含 pH 3.4 緩冲液 2 毫升的硅藻土 2 克。首先以氯仿和緩冲液振搖,分层后取下层氯仿約 40 毫升于烧杯内,加入 2 克硅藻土,用电攪拌器不停攪拌,慢慢滴加上层緩冲液 2.0 毫升,并繼續攪拌数分钟,至获得均匀的硅藻土悬浮液为止。傾入层离柱内,每注入少許即用具平头的玻璃棒压平。全部装毕后,硅藻土約高 7 厘米左右,然后加入样品,进行层离。

二、純生物硷回收率試驗:

(1) 麦角新硷回收率: 在层离柱頂上注加 0.1 毫升含 110 微克的純麦角新硷标准液, 再通过 60 毫升飽和了 pH 3.4 緩冲液的氯仿。样品中含有水不溶性生物硷时, 即在此时流出柱外, 但在本实验中仅有麦角新硷, 故不收集。然后用含氨氯仿洗脫柱上的麦角新硷, 此时在紫外光下可見柱上部形成一个荧光环, 并逐渐下移, 当荧光环接近柱底部时, 开始收集洗脫液, 至全部荧光环流出。将洗脫液在 50°C 以下水浴上用吹风机吹干, 殘渣溶于一定量的 0.2N 硫酸中, 取一定体积, 加一倍量对二甲氨基苯甲醌試剂^[1], 进行比色。回收率結果見表 1。

表 1 麦角新硷洗脫的回收率

测 定 次 数	麦角新硷回收率(%)
1	99.1
2	90.2
3	95.5
4	97.3
5	100.8
平 均	96.6±3.0%

(2) 麦角新硷与麦角毒硷混合时的回收率: 在柱上注加 0.1 毫升含 110 微克的麦角新硷标准液及 5 毫升含 1,300 微克的純麦角毒硷、并經 2N 硫酸乙酸乙酯溶液調整 pH 为 3.4 的氯仿溶液, 按上述方法层离, 但收集流出的全部溶液, 稀釋至定量, 再取一定体积在 50°C 以下水浴上吹干氯仿。殘渣溶于 0.2N 硫酸中, 取出一部分, 加一倍量对二甲氨基苯甲醌試剂, 比色, 是为麦角毒硷部分。繼續用含氨氯仿洗脫留在柱上的麦角新硷, 如上所述, 是为麦角新硷部分, 两者的回收率, 結果如表 2。

表 2 麦角新硷和麦角毒硷的回收率

测 定 次 数	麦角新硷回收率(%)	麦角毒硷回收率(%)
1	97.3	100
2	99.1	97.9
3	98.2	90.9
4	93.3	92.2
5	95.0	97.6
6	97.2	90.9
7	90.2	94.9
8	98.6	97.6
9	98.6	—
10	93.0	—
平 均	96.1 ± 2.5%	95.3 ± 3.0%

三、麦角生药分析: 所用麦角样品系本所药用植物室供給的野生麦角, 寄主名称为:

(1) 披硷草 *Elymus dahuricus* Turcz.

(2) 拂子茅 *Calamagrostis epigios* Roth.

将麦角磨成細粉, 經 60 号篩篩过, 并用石油醚冷浸脫脂, 放棕色瓶內, 置冰箱中备用。

(一) 提取:大致按照 N. F.^[2] 渗漉法。

精密称取 1 克麦角粉,置于 50 毫升具玻塞三角瓶内,放入 15 毫升氯仿、甲醇、氨水 (90:7:1) 的混合液,剧烈振摇,静置约 2 小时,偶尔振荡,然后将浸泡液过滤,以 25 毫升氯仿洗涤残渣,洗液与滤液合并,用 2N 硫酸乙酸乙酯溶液酸化至 pH 3.4 左右备用。

(二) 层离定量:

1. 水不溶性生物硷:把上述酸化后的提取液倾入层离柱,俟全部通过,然后用 10 毫升氯仿冲洗层离柱至冲洗液无色,合并提取液与冲洗液于 50 毫升容量瓶内,用氯仿稀释至刻度,取 25 毫升至烧杯内,在 50°C 以下水浴上吹干,残渣用 50 毫升乙醚溶解,移入分液漏斗,以 0.2N 硫酸提取 4 次,每次约用 10 毫升,稀释至 50 毫升,取 2 毫升加入 4 毫升试剂,比色。

2. 麦角新硷:麦角新硷停留在柱上端,用含氨氯仿冲洗层离柱,此时即逐渐形成荧光环,缓缓下移,至将到达柱的底端时,开始收集洗脱液,至全部荧光环洗尽为止,将洗脱液吹干,溶于 10 毫升 0.2N 硫酸,取 2 毫升定量。

(三) 结果:列于表 3,并以 N.F.^[2] 法分析结果为对照,将在下节中加以讨论。

表 3 麦角样品中生物硷的含量

样 品	柱层离定量方法, %		N. F. 定量方法, %	
	水不溶性生物硷	麦角新硷	水不溶性生物硷	水溶性生物硷
寄 主 植 物	0.380	0.020	0.415	0.025
	0.390	0.021	0.415	0.025
拂 子 茅	0.220	0.028	0.258	0.032
	0.230	0.028	0.287	0.033

(表中百分数均以脱脂麦角重量计算,结果均按麦角新硷计)

讨 论

本试验宜在暗室内进行,以避免麦角生物硷受日光作用而遭损失。

在进行样品分析过程中,发现最好采用脱脂麦角,否则所得结果不够稳定,同时在测定水不溶性生物硷,在最后用酸提取振摇时,容易发生乳化现象,但脱脂后就可避免这些困难。

硅藻土内加入的缓冲液量,在最初的文献内^[5]报导以每 2 克硅藻土加入 2.5 毫升缓冲液为宜。在本实验里由于样品用量减少,同时为了增加流速缩短分析时间,所以减为每 2 克内加入 2 毫升,并不影响结果。此外硅藻土在层离柱内填压的程度对流速和结果都有影响,太紧会减低流速,太松会使结果偏低,我们试验结果认为 2 克硅藻土装在内径 1.1 厘米的柱内约高 7 厘米左右,最为适宜。

在测定水不溶性生物硷时,最初曾将氯仿冲洗液吹干,直接加酸溶解残渣,进行比色,但结果不好,溶解不完全,以后改为加乙醚溶解后再用酸提取,结果尚称满意。

由表 3 结果看来,用本法测得的麦角新硷和水不溶性生物硷的含量结果均较 N.F. 法稍低,我们认为这是由于麦角样品中含有少量麦角异新硷与麦角酸所致。根据最初的文献^[5]

报导,麦角新硷中如有少量麦角异新硷,则在层离过程中异新硷位于层离柱的中下部。我們在分析麦角中麦角新硷含量时,曾收集荧光环尚未到达柱底端以前的含氮氯仿冲洗液,将其吹干,由此测定麦角异新硷的含量,初步测出拂子茅含 0.0038%,披硷草含 0.0042%。此結果与前文报导^[6]用 Grove 法测得之披硷草之数值极为接近。而用本法测得的披硷草中麦角新硷含量也与紙层离法結果相符^[6],二者之和則又与 N. F. 法测得的水溶性生物硷結果相同,說明此方法本身应该是合用的。而且能单独测定麦角新硷,時間也較一般方法有所縮短。关于应用本法同时进行测定麦角异新硷的可能性,則由于缺乏麦角异新硷純品,未能进行系統試驗,尙待日后进一步研究肯定。

我們也曾將用毕的层离柱,以 50% 酒精冲洗,冲洗液經适当濃縮后,加入对二甲氨基苯甲醛試剂,呈現蓝色反应,說明柱上存留有一些物质具有吲哚反应,根据层离性質推測^[5],可能是麦角酸。

在前一报告中^[6]曾提到拂子茅寄生麦角水溶性生物硷部分用紙层离法很难分开,无法定量,认为是因杂质所致,但采用本法测定,則能避免这种困难,达到定量目的。

結 論

1. 本文介紹了一种麦角生藥的柱层离分析法,可以单独测定麦角新硷与麦角水不溶性生物硷的含量。
2. 麦角新硷和麦角毒硷的回收率均在 95% 以上。
3. 应用本法分析了两种中国野生麦角,并与 N. F. 法作了比較。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国藥典, 1953 年版, 196 頁。
- [2] The National Formulary, American Pharmaceutical Association, 10th Ed, 1955, p. 217.
- [3] Grove, D. C., . *Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 1941, **30**, 260.
- [4] Carless, J. E., *J. Pharm. Pharmacol.*, 1953, **5**, 883.
- [5] 周同惠, 藥学学报 1957, **5**, 143.
- [6] 梁彬、曹初宇、周同惠, 藥学学报, 1958, **6**, 90.
- [7] Lange, N. A., *Handbook of Chemistry*, Handbook Publishers Inc., Sandusky, Ohio, 1949, 7th Ed. p. 1124.

CHROMATOGRAPHY OF ERGOT ALKALOIDS

II. ANALYSIS OF ERGOT BY MEANS OF COLUMN CHROMATOGRAPHY

LIANG PIN ZHOU TONG-HUI (D. T. -W. CHOW)

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

A chromatographic method has been developed for the separate determination of ergonovine and water-insoluble ergot alkaloids.

Defatted ergot was extracted with a mixture of chloroform, methanol and ammonia (90:7:1), the extract was then acidified to pH 3.4 with a solution of sulfuric acid in ethyl acetate and passed through a column of celite and pH 3.4 buffer (1:1). Water-insoluble alkaloids moved along and could be determined in the eluent by the usual colorimetric procedure after extracting with dilute sulfuric acid.

The column was then eluted with ammonia-saturated chloroform, ergonovine began to move downwards, forming a sharp fluorescent ring. This portion was collected and ergonovine was determined colorimetrically. Ergometrinine moved ahead of ergonovine, thus there was the possibility that this alkaloid could also be estimated. This, however, was not explored further, since no pure ergometrinine was available. The recovery was higher than 95% with pure ergonovine and ergotoxine salts.

Using the proposed procedure, two samples of Chinese ergot were analysed, the results were compared with those obtained by other methods.