

# 几种制剂中生物碱的离子交换分离测定法

黄乔书 汪龙麟 范积芬

(天津市药品检验所)

制剂中生物碱的含量测定,各国药典经典方法均采用有机溶剂提取,分离杂质后再测定含量。近几年来,采用离子交换法分离制剂中生物碱的方法已有不少报导。由于离子交换剂能够比较简单的定量交换生物碱,并可以用一定溶剂洗脱,这样可以避免一般较复杂费时的提取手续,因而采用离子交换法分离生物碱具有一定的优点。Kamp<sup>[1]</sup>等报告了用 IMAC-22 强酸树脂,从颠茄、番木鳖等数种生药及其制剂中分离生物碱,对于用交换柱操作方法、洗脱条件等都进行一定工作。Brochmann-Hanssen<sup>[2-4]</sup>连续报导了快速分离测定各种生药的方法,主要是在水溶液中将生药与离子交换剂一起振摇而进行交换作用,洗脱后所带下的有色杂质则通过阴离子交换剂吸附,而测定流出液中生物碱含量。Elvidge<sup>[5]</sup>采用氧化纤维, Berggren 等<sup>[6]</sup>用硅铝酸盐 Decalso 分离生物碱,认为均能获得较好的结果。对离子交换剂由于交联度规格不同,以及各种洗脱剂性能不一致,而对生物碱的交换及洗脱有一定的影响,在这方面 Cecil<sup>[7]</sup>用咖啡进行了比较系统的试验。另外在用阴离子交换剂分离测定生物碱方面也有不少报导,已有文献<sup>[8]</sup>综述。

本文的工作主要是采用国产苯乙烯磺酸钠型树脂来分离测定番木鳖、颠茄、麦角等制剂中的生物碱。试验这些生物碱在各种树脂上的交换及洗脱性能,探寻最适宜的操作条件,以及除去杂质,测定生物碱的方法等,以求能够用离子交换分离生物碱的方法代替提取法。关于番木鳖碱的分离测定, Scott 等<sup>[9]</sup>曾用弱酸性阳离子树脂,分离后用分光光度法测定。最近 Kamp 等<sup>[10]</sup>则用低铁氰化物型的 Dowex 1×2 分离测定生物碱。关于颠茄制剂也曾有不少报导,但对于采用离子交换剂分离测定麦角制剂中总生物碱则尚未见到报导。

## 实 验 部 分

### (一) 试剂与仪器

1. 硝酸士的年: 符合日本药局方规定,日本盐野义商店出品。
2. 马钱子碱: 化学纯,用非水法测得含量为 100.2%。
3. 硫酸阿托品: 符合英国药典 1958 版规格。
4. 乙磺酸麦角毒碱: 卫生部药品检验所暂行对照品。
5. 离子交换剂: 苯乙烯磺酸钠型,交联度规格为 1—2, 1—4, 1×8, 1×12 50—60 筛孔,上海信谊药厂出品。1×16 为上海树脂厂产品。

树脂预处理及交换柱装置: 取树脂适量于烧杯中,以 2N 盐酸浸泡后用倾泻法洗净,

再用 0.5N 氫氧化鈉浸泡洗淨, 反复数次, 最后使呈  $H^+$  型, 用蒸餾水洗至洗液不呈酸性, 备用。將此树脂裝于交換柱中, 柱的底部衬以玻棉, 交換柱內树脂高約 5 厘米, 內徑为 0.7 厘米。

6. 活性氧化鋁(酸性): 中国科学院有机化学研究所实验工厂出品。

7. Jobin & Yvon 分光光度計, 1 厘米吸收池。

8. Hilger 双光光电比色計及 Unicam 单光比色計。

其余試剂均为分析純或化学純規格。

## (二) 条件試驗及討論

**1. 各种不同交联度的强酸树脂对生物碱的交換及洗脫性能試驗:** 生物碱溶液当通过各种交联度規格树脂时, 均能很順利的进行交換。我們曾用士的年、馬錢子、阿託品等純品通过树脂后, 流出液均呈阴性, 証明能得到定量交換。但当生物碱从树脂上洗脫时, 則交联度大小对洗脫有很大影响。为了观察不同交联度树脂对士的年、馬錢子、阿託品等生物碱从树脂上洗脫的影响, 进行以下試驗。

取 1—2, 1—4, 1×8, 1×12, 1×16 交联度規格的强酸树脂, 分別裝于交換柱中。另取士的年、馬錢子混合液, 阿託品溶液, 乙磺酸麦角毒碱溶液(麦角中生物碱較复杂, 我們仅采用此生物碱代表試驗), 通过交換柱。洗脫液分別用 0.5N HCl 50% 乙醇液, 1N HCl 溶液, 0.5N  $NH_4OH$  的 50% 乙醇溶液, 洗脫所得的生物碱用下述分光光度法及比色法測定; 均采用未通过树脂的相同量生物碱溶液作对照比較, 求其从各种树脂上洗脫的百分回收率。所得結果(表 1)表明: 在从低交联度 1—2 的树脂上洗脫的生物碱基本上得到定量

表 1 各种生物碱从不同交联度树脂上洗脫的百分回收率

生 物 碱	洗 脫 剂	交 联 度	回 收 率, %			
士的年与馬錢子混合生物碱	0.5N HCl 的 50% 醇液	1—2	100.0	102	98.5	101.5
		1—4	60	54	69	
		1×8	55	68	50	
		1×12	66	64	59	
阿 託 品	1N HCl	1—2	100.0	99.0	99.6	100.2
		1—4	83	84	71	71
		1×8	78	80	64	85
		1×12	68	64	79	67
		1×16	38	38	56	49
乙磺酸麦角毒碱	0.5N $NH_4OH$ 的 50% 醇液	1—2	99.2	100.8	101.0	100.3

回收。交联度增大时回收偏低, 且不規則, 这可能是由于在交換生物碱时是在水溶液或較低浓度醇液中, 此时树脂的溶胀度較高, 即在表面及內部毛細孔較大, 生物碱易于进入树脂內部, 但在洗脫时是在一定浓度的酸碱性中进行, 此时树脂的溶胀度較低, 体积縮小很显著, 因而如交联度大时生物碱就不易洗脫。故一般市售 8—12% 交联度树脂不适合用于生物碱的分离。

## 2. 洗脫条件的选择:

(1) 洗脫剂的选择: 洗脫剂对于从树脂上洗脫生物碱有很大影响。我們的試驗是将一定量的各种生物碱交换于 1—2 交联度的树脂上,用各种不同浓度的酸碱的水或醇溶液液进行洗脫,用未通过交换的相同量生物碱溶液作对照,測定各种不同洗脫剂从树脂上洗脫的回收率,結果见图 1。

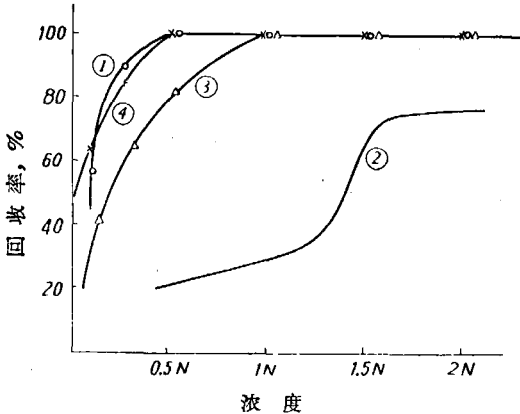


图 1 各种洗脫剂从树脂上回收生物碱的結果

- ① 不同浓度 HCl 的 50% 乙醇液对士的年及馬錢子碱混合液的回收。
- ② 不同浓度 HCl 对士的年及馬錢子碱混合液的回收。
- ③ 不同浓度 HCl 对阿託品的回收。
- ④ 不同浓度  $\text{NH}_4\text{OH}$  的 50% 乙醇液对乙磺酸麦角毒碱的回收。

从試驗結果看,士的年及馬錢子混合液的洗脫可以采用盐酸溶液,但溶剂的影响很大,在水溶液中即使 3N HCl 也只能达到約 80% 回收;但在 50% 乙醇溶剂中 0.5 N HCl 即能达到定量回收。曾将通过树脂以 0.5N HCl 50% 乙醇液洗脫与未通过树脂的相同量生物碱混合液,在 240—300 毫微米測定吸收曲線,結果一致,証明定量回收。也曾試用过 1N  $\text{NH}_4\text{OH}$  70% 乙醇液,也能得到定量回收,但应用不如 HCl 方便。阿託品則在 1N HCl 酸性中即很容易定量洗下,如果用  $\text{NH}_4\text{OH}$  醇液則回收結果不好,而乙磺酸麦角毒碱則相反。曾試用枸橼酸、盐酸、乙酸等均不易完全洗下。如图所示用 0.5N  $\text{NH}_4\text{OH}$  50% 乙醇溶液則結果理想。

(2) 交換柱的大小及洗脫剂的用量: 由于分离后生物碱是用分光或比色方法,仅須很少浓度即能測定,因而我們采用小型交換柱 (0.7 × 5 厘米),此少量树脂已足够进行交换。如果树脂量大时,吸附杂质也增加,洗脫剂用量也要增大,顏色也要变深。但此种小型交換柱在交换或洗脫时必须要注意流速,如太快时易于遺漏;在交换时一般控制在 0.4—0.5 毫升/分,在洗脫时流速为 2.5 毫升/分,比較恰当。在上述交換柱操作条件下,洗脫液有 50 毫升基本上已能完全洗脫,但在測定制剂时我們均采用 100 毫升洗脫液。至于麦角生物碱由于其生物碱含量低,不能用較大体积的洗脫液,經我們試驗用 25 毫升洗脫液也同样能获得良好結果。

**3. 生物碱制剂在树脂上的交换:** 生物碱制剂由于其中生物碱含量及杂质的多少,会影响交换是否完全。如番木鱉甙中杂质比較少,通过交換柱易于交换;颠茄制剂在加入适量酸过滤后也容易交换;至于麦角流浸膏,由于其中杂质較多,我們曾試驗将流浸膏經酒石酸稀釋过滤溶液通过交換柱,即使以极慢的流速,生物碱总是不能定量的得到交换,流出液經乙醚提取后生物碱呈阳性反应。后来改用振搖法,即在流浸膏中加入 5 毫升体积的湿润树脂(相当于 1.5—2 克干燥树脂),一起振搖 15—20 分钟,則生物碱与之充分接触,交换完全。溶液層經提取后生物碱呈阴性反应。所以当交換柱不能定量交换时可用振搖法代替。

## 4. 生物碱制剂中杂质的处理:

(1) 制剂的预处理: 如颠茄制剂可以先加入少量酸溶液, 再稀释过滤, 取滤液测定。这样可以先分离部分酸中不溶性杂质。

(2) 有色杂质的洗脱: 生物碱经交换后, 制剂中部分有色杂质同时被吸附, 在洗脱时杂质也带下使溶液呈不同深浅的颜色, 而影响测定, 这是分离生物碱中存在的一个很重要的问题。有的洗脱液颜色很浅, 少量杂质对测定无干涉, 如颠茄制剂用 Nir-Grosfeld<sup>[11]</sup> 法比色影响不大, 则树脂只要冲洗干净后即能洗脱。但大多数情况下杂质能影响测定, 所以我们选择适当溶剂, 尽可能先洗除杂质。曾试验在番木鳖酊交换后, 用水、醇、50% 醇液以及含氢氧化铵、盐酸的脱色剂试验, 结果以 50% 乙醇液为佳; 杂质大部分除去后, 再经洗脱的溶液呈色极微, 用 10 倍稀释后, 杂质的影响就基本消除。

(3) 麦角流浸膏交换后也能用 50% 乙醇洗脱部分杂质, 但经洗脱后所带少量颜色仍影响测定。为了消除此少量杂质, 我们采用活性氧化铝处理。由于生物碱量少, 不能用大量溶剂通过氧化铝洗净的办法, 故采用精密取一定量洗脱液及溶剂, 加适量氧化铝振荡过滤, 取一定量滤液比色, 杂质的干涉可以除去。也曾考虑此法结果的准确性是否可靠, 曾试用标准品做对照, 求回收均能达到 98—100%, 故此法可以采用。

### 5. 分离后生物碱的测定:

(1) 番木鳖酊经分离后所得的生物碱, 我们用分光光度法测定, 在士的年与马钱子碱共存时可用二点法, 如 Scott<sup>[9]</sup> 用 255 毫微米及 265 毫微米时测定士的年量, Elvidge<sup>[5]</sup> 等则用 262 毫微米及 300 毫微米测定。从我们试验情况来看, 最后测定浓度是 0.05N HCl 5% 乙醇的溶剂条件下, 纯品士的年、马钱子及二者混合液在 240—330 毫微米的吸收曲线如图 2, 因而我们采用 262 毫微米及 300 毫微米二点测定。在上述条件下, 我们测得士的年与马钱子碱在 260 毫微米及 300 毫微米时的  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  值如下:

	士 的 年	马 钱 子
262 毫微米	331.9	315.9
300 毫微米	10.17	221.3

此值与文献<sup>[5]</sup> 记载有所出入, 可能由于不同的溶剂条件, 根据此值可按以下公式计算士的年的年量:

$$A_{262 \text{ 毫微米}} = 331.9 \times S + 315.9 \times B$$

$$A_{300 \text{ 毫微米}} = 10.17 \times S + 221.3 \times B$$

$A$  为该波长时的光密度值,  $S$  及  $B$  代表士

的年及马钱子碱的百分浓度,  $S$  可以按以下简化公式计算:

$$S(\text{克}/100 \text{ 毫升}) = 0.315 A_{262 \text{ 毫微米}} - 0.450 A_{300 \text{ 毫微米}}$$

按此公式取不同量的二生物碱混合溶液(每毫升含 0.119 毫克士的年及 0.134 毫克马钱子碱), 测定士的年回收, 与理论量基本一致, 结果见表 2。

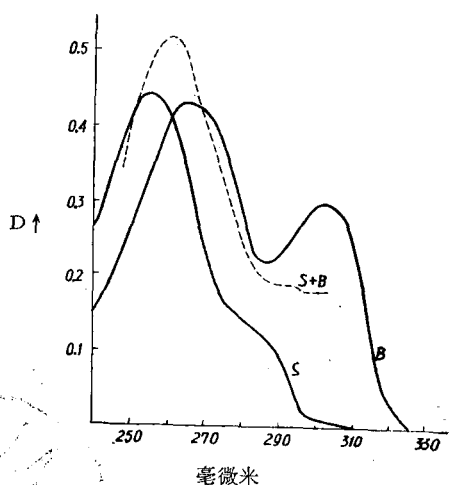


图 2 士的年马钱子及二者等量混合液的吸收曲线  
 $S$ ——士的年吸收曲线;  
 $B$ ——马钱子吸收曲线;  
 $S+B$ ——二者等量混合液的吸收曲线。

表 2 不同量生物碱混合液中士的年回收值

混 合 溶 液 毫 升	士 的 年 量	
	理 論 量, 毫 克	測 得 量, 毫 克
4	0.476	0.480
5	0.595	0.600
6	0.714	0.717

(2) 颠茄制剂分离后用 Nir-Grosfeld 比色法是考虑到: ①在洗脱时所带下的少量杂质, 经过硝化还原后即行消失, 不影响比色。②灵敏度高, 比色时生物碱量 20—100 微克即够。③颜色稳定, 标准曲线重演良好。但此法操作麻烦, 不够熟练时易引入误差。

麦角流浸膏分离后的总生物碱, 可按药典方法用对二甲氨基苯甲醛比色测定。

### (三)测定方法及结果

根据上述试验情况, 拟订番木鳖酊、颠茄流浸膏及酊剂、麦角流浸膏的含量测定方法如下:

**1. 番木鳖酊含量测定方法:** 精密吸取番木鳖酊 5 毫升, 置于已经洗净的  $H^+$  型阳离子交换柱中(交联度 1—2,  $0.7 \times 5$  厘米)。以每分钟约 0.4 毫升的流速通过交换柱后, 弃去流出液。交换柱先以 10 毫升水洗二次, 再用 50% 乙醇每次 5 毫升共洗四次。弃去洗液, 然后用 0.5N HCl 50% 乙醇约 100 毫升进行洗脱, 以每分钟约 2.5 毫升的流速通过交换柱。流出液接受于 100 毫升容量瓶中, 并稀释至刻度; 取此液 10 毫升用水稀释至 100 毫升, 在 262 毫微米及 300 毫微米用分光光度计测定其吸光度。以 5 毫升水代替检品同样条件操作做空白。

#### 2. 颠茄制剂的含量测定方法:

**标准曲线:** 精密取硫酸阿托品约 0.1 克溶于 100 毫升水中。取 10 毫升稀释至 50 毫升, 再取 5 毫升在蒸发皿中蒸干。加 0.5—1 毫升发烟硝酸, 在水浴上蒸干, 并在 105°C 干燥 10 分钟, 加 5 毫升 50% 乙醇溶解, 加锌粉 0.5 克, 稀盐酸 10 毫升, 在水浴上加热 10 分钟, 冷却至室温, 过滤至 50 毫升容量瓶中。残渣用每次 5 毫升水洗四次。合并滤液及洗液并稀释至刻度。取此液 2, 4, 6, 8, 10 毫升各于 25 毫升容量瓶中, 加 2 毫升 1% 亚硝酸钠溶液, 振摇 10 分钟, 加 2 毫升 2.5% 氨基磺酰胺溶液振摇至无气泡发生, 再加入 2 毫升 1% N-萘基乙烯二胺盐酸盐溶液, 加水至刻度, 放 30 分钟后用 550 毫微米滤光板测定光密度。

**颠茄流浸膏含量测定:** 精密取检品 10 毫升, 加 N/50 硫酸 20 毫升于 100 毫升容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 过滤。取中间滤液 10 毫升, 以每分钟约 0.5 毫升的流速通过阳离子交换柱, 并用水淋洗数次, 至流出液无色。然后用 1N 盐酸 100 毫升洗脱, 收集于 100 毫升容量瓶中, 并稀释至刻度。摇匀后取出 10 毫升稀至 50 毫升, 再吸取 5 毫升蒸干, 同上述标准曲线方法操作, 但在还原后过滤至 25 毫升容量瓶中。残渣用每次 2 毫升水洗四次, 合并洗液滤液, 加显色剂呈色, 与标准曲线比较以计算含量。

**颠茄酊含量测定:** 精密取检品 100 毫升, 在水浴上浓缩至约 10 毫升, 过滤至 50 毫升容量瓶中。残渣用 N/50 硫酸 20 毫升及水分数次洗净, 合并滤液及洗液并稀释至刻度。

精密取 15 毫升通过阳离子交换柱,同上述颠茄流浸膏方法操作。

**3. 麦角流浸膏含量测定:** 精密取检品 10 毫升,加 5 毫升体积的湿润树脂,加 10 毫升 1% 酒石酸液于 100 毫升三角瓶中,振摇约 20 分钟,用倾泻法倾去液层并用水洗净,移至交换柱先用水洗至无色,再用甲醇冲洗至无色,用 50% 5 毫升乙醇洗三次,然后以 0.5N  $\text{NH}_4\text{OH}$  50% 乙醇洗脱于 25 毫升容量瓶中,摇匀。精密取 5 毫升于三角瓶中,加 5—8 克  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,精密加 10 毫升 0.5N 氢氧化铵 50% 乙醇液,振摇约 10 分钟过滤,取滤液 2 毫升,加 4 毫升对二甲氨基苯甲醛显色剂进行比色。

**标准曲线绘制:** 精密取乙磺酸麦角毒碱约 5 毫升于 50 毫升容量瓶中,加 0.5N 氢氧化铵 50% 乙醇液,使溶解并加至刻度。取 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 毫升于 5 个干燥试管中,并用 0.5N 氢氧化铵 50% 乙醇液均成 2 毫升体积,各加显色剂 4 毫升,放置 20 分钟,用 0.5N 氢氧化铵 50% 乙醇液 2 毫升及显色剂 4 毫升为空白,所测之光密度绘制标准曲线。

按以上方法所测得的结果与中国药典方法比较结果见表 3。

表 3 制剂中生物碱含量测得结果的比较

品 名	编 号	离 子 交 换 法, %				中国药典法(平均值) %
番 木 鳖 酊	1	0.122	0.122	0.123	0.124	0.122
		0.123	0.123	0.122	0.123	
颠 茄 流 浸 膏	2	0.781	0.797	0.773	0.781	0.773
	3	0.712	0.716	0.712	0.709	0.723
颠 茄 酊	4	0.0298	0.0302	0.0302	0.0312	0.0290
麦 角 流 浸 膏	5	0.0473	0.0469	0.0454	0.0454	0.0441
	6	0.0232	0.0235	0.0231	0.0228	0.0216
	7	0.0836	0.0855	0.0836	0.0860	0.080

## 小 结

本文应用了国产苯乙烯磺酸钠型树脂对分离测定制剂中生物碱方面的工作进行了一些探索,根据实验所得的结果来看,番木鳖酊中生物碱最为理想;颠茄制剂就其生物碱分离来看也是比较好的,但其测定方法比较复杂;麦角流浸膏的误差较大,平均偏高约 5%,我们考虑主要是生物碱含量太低而杂质多,处理步骤较多,因而引入误差也较大。故我们认为离子交换剂就其分离情况来看,离子交换还是好的,但分离后所用比色方法操作复杂还须进一步改进。

以离子交换剂分离制剂中的生物碱,来代替有机溶剂提取法是值得进一步研究的。根据我们体会,离子交换法有以下一些优点:(1)交联度小的离子交换剂,对生物碱基本上是能够定量的交换及洗脱。(2)可采用小型交换柱或少量离子交换剂分离,这样吸附杂质也少,并有利于洗脱,并可减少洗脱用量。(3)操作方法简单、迅速、易于掌握。(4)除离子交换剂外,不须特殊设备。因而认为上述经试验后结果比较理想的生物碱制剂测定方法,可以考虑应用。

## 参 考 文 献

- [1] Kamp, W., Determination and Separation of Alkaloids in Crude Drugs and Galenicals with the Aid of Ion Exchange Resins. *Pharm. Weekbled*, 1957, **92**, 1—24.
- [2] Brochmann-Hanssen, E., A New Approach to the Assay of Alkaloidal Crude Drugs. 1. Cinchona and Nux Vomica. *J. Amer. Pharm. Assco. Sci. Ed.*, 1956, **45**, 74.
- [3] Brochmann-Hanssen, E., A New Approach to the Assay of Alkaloidal Crude Drugs. 2. Ipecac. *J. Amer. Pharm. Assco., Sci. Ed.*, 1956, **45**, 344.
- [4] Brochmann-Hanssen, E., Determination of Morphine by Exchange Resins. *Medd. Norsk farm. Selsk.*, 1955, **17**, 76.
- [5] Elvidge, D. A., Proctor, K. A., The Use of Oxidised Cellulose for the Determination of Strychnine in Pharmaceutical Preparations. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1957, **9**, 974.
- [6] Berggren, A., Bjorling, C. O., The Adsorption Analysis of Trope Alkaloids. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1953, **5**, 169.
- [7] Cecil, H., Quantitative Elution of Morphine from Ion Exchange Resins. *Anal. Chem.*, 1955, **27**, 954.
- [8] 周同惠, 生物碱的测定——离子交换法. 中国医学科学院药物研究所资料.
- [9] Scott, M., Taub, A., Piantadosi, C., A Simplified Assay of Nux Vomica Tincture. *J. Amer. Pharm. Assco., Sci. Ed.*, 1956, **45**, 232.
- [10] Kamp, W., Post, C. P. C., Ion Exchange Method for the Determination of Strychnin in Seeds of Strychnos Nux Vomica, Strychnine Extracts and in the Tincture of strychnine. *Pharm. Weekbled*, 1961, **96**, 79.
- [11] Nir-Grosfeld, I., Colorimetric Estimation of Atropine and Related Alkaloids in Pharmaceutical Preparations. *Drug Standards*, 1957, **25**, 180.

## THE ISOLATION AND DETERMINATION OF ALKALOIDS IN SEVERAL PREPARATIONS BY ION EXCHANGE METHOD

HUANG CHIAO-SU, WANG LON-LING AND FAN CHI-FEN

(Municipal Drug Control Laboratory of Tientsin)

### ABSTRACT

Cation exchange resin of the polystyrene sulphonic type, manufactured by Sine Laboratories (Shanghai), was used in the isolation of alkaloids in several galenical preparations.

The alkaloids of nux vomica, belladonna and ergot were adsorbed from acid or neutral media by passing through a  $0.7 \times 5$  cm column of the resin (degree of cross linkage 2%), at a flow rate of about 0.4—0.5 ml per minute, or by shaking in a flask with the resin. Coloured impurities adsorbed on the resin were removed by washing with 50% alcohol, and then the alkaloids eluted with 0.5 N HCl 50% alcohol (for strychnine and brucine), 1 N HCl (for hyoscyamine), or 0.5 N  $\text{NH}_4\text{OH}$  50% alcohol (for ergot alkaloids) respectively. Alkaloidal contents of the eluate were then determined spectrophotometrically and colorimetrically.

The method is rapid and simple, and gives results close to the pharmacopoeical methods.