

研究資料彙編

(第五輯)

四川省中藥研究所編

(內部資料)

1966年

目 录

1. 洋地黄毒甙提取方法和中型试制的研究…張全樑 顧月翠 王桂英 梁其碩等 (1)
2. 紙上分配层析分光光度法測定洋地黄毒甙含量……………顧月翠 梁其碩 (11)
3. 治疗骨折藥物
 I. “跳骨丹”的藥理研究……………馬宛珠 陈梓樟 陈泉生 臧其中 (17)
4. 治疗骨折藥物
 II. “跳骨丹”对大鼠实验性骨折治疗及愈合过程中磷鈣代謝的影响
 ……………馬宛珠 臧其中 (27)
5. “跳骨丹”治疗四肢长管状骨骨折252例临床疗效初步分析……陈 煦 吳祖堯 (33)
6. 云木香引种成功初报…… 刘式乔 田謹为 刘玉亭 刘文平 赵幼祥 王桂英 (39)
7. 野麝家养試驗初报…………… 第二研究室南川藥物場 (47)
8. 山药栽培技术研究……………刘式乔 田謹为 刘玉亭 (55)
9. 四川省牛膝原植物的研究……………何 铸 (63)
10. 复方黄柏片的剂型改进……………第三研究室 (85)
11. 川芎栽培技术研究 I. 生长特性观察初报……………灌县基点工作組 (87)
12. 川芎栽培技术研究 II. 利用坝区苓稈栽培川芎研究初报……灌县基点工作組 (93)
13. 川芎莖节蛾的研究……………孙 英 (95)
14. 川芎的藥理研究……………臧其中 馬宛珠 陈琼如 (109)
15. 江油附子栽培技术研究……………雷 正 徐知常 罗登庸 (115)
16. 附子白絹病的研究……………李代永 孙 英 (123)
17. 川芎、附子栽培中化肥代替菜油枯試驗初报……………灌县基点工作組 (139)
18. 金錢草的原植物与藥材鉴定……………何 铸 陈俊华 姜榮瀾 徐利国 (143)
19. 山香生物硷成份的研究 (第一报) ……刁長發 魯灵恩 朱傳先 王成什 (163)
20. 山香的藥理研究
 I. 山香生物硷乙的鎮痛作用……………陈琼如 邓文龙 楊士珏 張紹容 (169)
21. 川产四种黄連的組織形态比較研究……………陈俊华 (175)
22. 黄連栽培技术研究初步报告……刘式乔 田謹为 刘玉亭 刘文平 譚士賢 (191)
23. 黄連的研究 I. 黄連植株中小藥硷含量的比色測定……………周繼銘 邓治文 (195)
24. 黄連的研究
 II. 黄連植株种部位的干物重和小藥硷含量的季节变化……………周繼銘 邓治文 (201)
25. 九連小藥中生物硷的研究
 ……………朱 果 刘茂春 車錫昌 曾明远 肖紹蓉 赵芊芊 鍾熾昌 (207)
26. 川黄柏的化学成份研究 (一) 秃叶黄皮树的化学成份
 ……………朱 果 車錫昌 刘茂春 肖紹蓉 赵芊芊 曾明远 熾昌 (213)

27. 中藥淮通的化學成份研究.....朱 果 車錫昌 趙芊芊 曾明遠 鍾熾昌(219)

28. 藥用植物資源調查

✓I. 生物鹼、甙类等植物成份的化學預試法

.....沈振东 冉崇行 顏堯明 宋心荷 周瑞匡 朱傳先 王民什(223)

29. ✓中藥材化學鑑別法的初步研究報告.....第三研究室(231)

30. ✓中藥材紙上色譜鑑別法的研究(簡報).....第三研究室(243)

31. 四川產黨參、黃芪及丹皮原植物的初步研究.....代天倫 何 鑄(245)

32. 益母草家種技術研究.....劉式喬 劉玉亭 田謹為(263)

33. 白朮栽培技術研究初步報告.....劉玉亭(269)

34. 鹽酸小蘗鹼的簡易含量測定法.....鄧伯林 車錫昌 鍾熾昌(273)

35. 京牛黃有效成份的研究.....梁其碩 涂君俐 廖瑞華 魯靈恩(277)

36. 荊芥揮發油的研究(簡報).....李國林 鍾朝杰 余朝菁(285)

37. 南氨酸的離子交換柱層析——酸性茚三酮法測定.....楊模坤 文賢舉(287)

38. 南氨酸的紙電泳分離測定法.....尹才淵 鄒昭明 羅亨明 楊模坤(297)

39. 穿心蓮生物鹼化學成份的研究.....陳芳羣 薛立鏗 郭履清 盧永蒿 付猷清(307)

40. 豬膽酸鹽和牛膽酸鹽的抗驚作用及毒性.....崔之貴 張茂延(311)

41. 幾種中藥方劑抗燙傷休克及其對金色葡萄球菌、綠膿桿菌的抑制作用...萬淑瑩(315)

42. “潰瘍散”與“烏蜜膏”對大鼠實驗性胃潰瘍的作用

.....張茂延 周清云 古詩英 范維衡 馬朝俊(319)

43. 四川西北發現梅花鹿.....郭卓甫 陳思渝(323)

44. 虎骨與狗骨的藥理 I. 虎骨粉與狗骨粉的消炎作用

.....周清云 張茂延 范維衡 張紹蓉(327)

45. 虎骨與狗骨的藥理 II. 虎骨膠與狗骨膠的消炎、鎮痛作用

.....周清云 崔之貴 范維衡 張紹蓉(333)

46. 三顆針中小蘗鹼的簡易提取法和精制法的研究

.....張頌恩 李國林 車錫昌 鄧伯林 薛立鏗 鍾熾昌(341)

洋地黄毒甙提取方法和中型試制的研究

四川省中藥研究所

張全標 顧月翠 王桂英 梁其碩等

洋地黄毒甙 (Digitoxin) 是一种較好的强心藥物，是治疗心力衰竭所必不可少的藥物之一。口服和注射均可吸收，治疗寬度較大。解放前全靠国外进口。解放后在党的领导下，开展了研究和生产，取得不少成績。据报导：中国科学院藥物研究所赵承嘏、朱任宏等^{<1>}首先从重庆产紫花洋地黄叶中分离得到洋地黄毒甙，熔点 257° 。1955年浙江制藥厂^{<2>}試制成功洋地黄毒甙精制品，熔点在 245° 以上，得量約0.025%。1957年該厂俞景霞^{<3>}用丙酮热熔分离法，得到較純的洋地黄毒甙，熔点达 240° 以上，氯仿不溶物符合我国藥典标准。1958年四川医学院王宪楷等^{<4>}用氧化铝柱层法，分离得到純度較高的洋地黄毒甙，熔点可达 250° 。1958年杭州民生制藥厂陆宝庆^{<5>}改进了洋地黄毒甙精制法，粗品用丙酮直接結晶，得到熔点在 252° 以上的成品，符合英国副藥典 (B.P.C) 1954年版規定。1959年又报导了^{<6>}紫花洋地黄叶的綜合利用，洋地黄毒甙收得量为0.02—0.025%。1960年該厂吴育万^{<7>}也用氧化铝柱层法提純洋地黄毒甙得到結果。以上仅是我們已知道的一些国内有关洋地黄毒甙的研究和生产情况。

洋地黄毒甙在国内虽已进行了研究和生产，成品質量达到了我国藥典 (1933年版) 或英国副藥典 (1954年版) 的規定。但成品收得量和質量尚不够滿意。

目前世界各国在临床上趋向于应用較純的洋地黄毒甙，以便于控制症状和提高治疗作用。如英国副藥典1963年版及美国藥典16版即規定成品含洋地黄毒甙不得低于90%。

我們按照毛主席教导的精益求精。别人有的我們要有指示精神，坚持藥学研究面向农村，为生产为临床服务的方向，解决广大人民用藥的需要，保护劳动力，支援社会主义建設，提出了洋地黄毒甙提取方法和中型試制的研究課題。通过試驗研究，要求成品达到成本較低，收得量較高、質量較好、洋地黄毒甙含量在90%以上，符合我国及国外藥典的現行标准。

我們是采用以分析为指导进行洋地黄毒甙提取方法和中型試制研究的。研究过程中参考了国内外有关文献并学习了有关单位的經驗。1962年底，开始进行含量測定法的研究。在完成“紙上分配层析分光光度法測定洋地黄毒甙含量”工作的基础上，以分析为指导，进行提取法的研究。对发酵、滲漉、淨化、萃取、結晶、柱层等提取分离洋地黄毒甙的条件作了一系列的探索。1964年6月完成了洋地黄毒甙提取方法的研究，結果，以本所南川藥物試驗种植場生产的紫花洋地黄 (*Digitalis purpurea* L.) 叶做原料 (发酵后原料中洋地黄毒甙含量为0.2011—0.2160%)，成品收得量为0.072—0.087%，收得率为35.90—40.14%，洋地黄毒甙含量为93.15—93.50%，达到我国及国外藥典的現行标准。經卫生部藥品生物制品檢定所檢

定，符合中国药典（1963年版）的规定。洋地黄毒甙含量为96.2%。同年，四川省科学技术委员会同意进行中型试制，自11月开始至1955年4月结束。共进行十一批中型试制，分析了原料，半成品和成品样品共227个。通过八批条件的探索，反复实践，六次修改操作方法，然后总结拟订了一个提制技术操作规程。最后三批100公斤原料（发酵后），洋地黄毒甙含量为0.1570—0.1835%）试制结果，成品收得量为0.075—0.085%，收得率为43.19—50.77%。洋地黄毒甙含量为93.78—97.40%。达到了试验室提取方法研究结果的指标。成品经重庆市药品检验所检定，符合中国药典（1963年版）的规定。经本所检验，符合国外药典的现行标准。成品的成本较低，每克直接成本约17—20元。证明这个操作规程是可行的。

表1 已收到的国内紫花洋地黄叶样品（发酵后）的洋地黄毒甙含量比较

来 源	洋 地 黄 毒 甙 含 量 (%)
沈阳药学院	0.0349
辽宁特产研究所	0.0399
中国医学科学院药物研究所	0.1755
浙江杭州药物种植场	0.2501
南川药物试验种植场	0.2041

表2 洋地黄毒甙试制成品与已收到的国内外产品比较

品 名	来 源	含量 (%)	生物效价	收得量 (%)	收得率 (%)	备 考
洋地黄毒甙 标 准 品	卫生部药品生物制品检定所 1962, 17(3)	81.6				含量为本所 测 定
洋地黄毒甙	浙江杭州民生 制药厂		符合中国 药典规定	0.02— 0.025		(6)
洋地黄毒甙	四川医学院药 学系生药学教 研组		符合中国 药典规定			(4)
Digitoxin U.S.P. XII	E. Merk(西南 制药厂库存)	73.9		0.03		含量为本 所 测 定
Digitoxin U.S.P. XVI	E. Merk (T 63322)	91.3				
洋地黄毒甙	本所提取方法 研究所得成品	93.15— 93.50 96.2	符合中国 药典规定	0.072— 0.087	35.90— 40.14	卫生部药品 生物制品检 定所检定
洋地黄毒甙	本所中型试制 成品	93.78— 97.40	符合中国 药典规定	0.075— 0.085	43.19— 50.77	重庆市药品 检定所检定

試制原料紫花洋地黄叶于本所南川葯物試驗种植場已大量生产，与已收到的国内其他地区样品比較，南川产原料（发酵后）洋地黄毒甙含量仅次于浙江杭州所产的（見表1）。

洋地黄毒甙試制成品与已收集到的国内外产品比較，試制成品含量較高，其收得量为国内外的2—3倍（見表2）。

实 驗 部 分

研究采用的原料是本所南川葯物試驗种植場栽培的紫花洋地黄(*Digitalis purpurea* L.)叶。按照分析方法，測得提取研究所用原料（发酵后）中洋地黄毒甙（Digitoxin）含量为0.2011—0.2160%，中型試制研究所用原料（发酵后）中洋地黄毒甙含量为0.1570—0.1835%。提取方法研究所得的成品，用氯仿—乙醚混合溶剂重結晶三次，制得洋地黄毒甙純品，其理化物质与文獻^[8]記載基本一致。为白色具光澤长方形片状結晶。熔点239—241°（毛細管）。 $[\alpha]_D^{26} = +18.3$ （C 1.53，氯仿—甲醇3:1）。 $R_f = 0.68$ （二甲苯—丁酮—甲酰胺，1:1:飽和）， $R_f = 0.78$ （甲苯—正丁醇—甲酰胺6:1:飽和）。

分析 $C_{41}H_{64}O_{13} \cdot \frac{1}{2}H_2O$

計算值，% C 63.62；H 8.46

实验值，% C 63.54，63.55；H 8.44，8.55

以上純品作为含量測定时洋地黄毒甙标准品。

一、洋地黄毒 含量測定法

見“紙上分配层分析分光光度法測定洋地黄毒甙含量”。

二、洋地黄毒甙提取方法的条件选择

（一）发酵条件的选择

紫花洋地黄叶中紫花洋地黄毒甙A（*purpurea glycoside A*）經紫花洋地黄酶（*Digi-purpidase*）水解成洋地黄毒甙，选择較好的发酵条件甚为重要。用同批原料粗粉（20号篩目）加等量蒸餾水潤湿均匀后，于室溫20°，30°，40°，50°发酵24小时，測得以50°发酵較好。在室溫50°发酵8，12，16，20，24，28小时，測得以发酵12小时較好。其結果見表3、4。（附注：发酵溫度对洋地黄毒甙含量的影响試驗与发酵時間对洋地黄毒甙含量的影响試驗不是同一批原料。）

表3 發酵溫度对洋地黄毒甙含量的影响

发 酵 溫 度 (室溫°C)	发 酵 时 間 (小时)	发酵后原料洋地黄 毒 甙 含 量 (%)
20	24	0.1372
30	24	0.1763
40	24	0.1884
50	24	0.2040

表4 發酵時間對洋地黃毒甙含量的影響

發 酵 時 間 (小時)	發 酵 溫 度 (室溫℃)	發酵後原料洋地黃 毒甙含量(%)
8	50	0.2033
12	50	0.2077
16	50	0.2007
20	50	0.1801
24	50	0.1831
28	50	0.1804

(二) 乙醇濃度與洋地黃毒甙抽出率關係

用同批發酵後原料，分別用5倍量的50%，60%，70%，80%，95%乙醇滲漉，測定結果見表5。以80%乙醇滲漉，洋地黃毒甙抽出率較高。

表5 不同濃度乙醇滲漉對洋地黃毒甙的出率的關係

乙 醇 濃 度 (%)	發酵後原料中洋地黃 毒甙含量(克)	滲 漉 液 中 洋 地 黃 毒 甙	
		含 量 (克)	洋地黃毒甙抽出率(%)
50	0.1720	0.1463	85.07
60	0.1720	0.1518	88.26
70	0.1720	0.1544	89.76
80	0.1720	0.1643	95.52
95	0.1720	0.1619	94.12

(三) 石灰乳淨化對洋地黃毒甙的影響

用石灰乳沉淀乙醇滲漉液中雜質，效果較好，過濾容易。注意及時過濾，加酸中和，以免洋地黃毒甙在鹼性溶液中破壞。取乙醇滲漉液，加石灰乳（石灰用量為原料的5%），攪拌10分鐘，過濾。濾液即用醋酸中和。測定結果見表6。用石灰乳淨化，洋地黃毒甙的損失率較小。

表6 石灰乳淨化對洋地黃毒甙的影響

溶液中洋地黃毒甙含量的變化		洋地黃毒甙損失率
淨 化 前 (克)	淨 化 後 (克)	
0.2036	0.1934	5.01
0.1972	0.1904	3.45
0.2182	0.2115	3.07

(四) 氯仿用量与洋地黄毒甙抽出率的关系

石灰乳淨化后乙醇液，減压濃縮至每毫升相当 1 克原料。分別用0.2倍及0.3倍量(V/V) 氯仿分 6 次提取。測定結果見表 7。用0.3倍量氯仿，洋地黄毒甙抽出率在98%以上。

表 7 氯仿用量与洋地黄毒甙抽出率的关系

乙醇液中洋地黄毒甙含量 (克)	0.2 倍 量 氯 仿		0.3 倍 量 氯 仿	
	洋地黄毒甙抽出量(克)	洋地黄毒甙抽出率(%)	洋地黄毒甙抽出量(克)	洋地黄毒甙抽出率(%)
0.1780	0.1730	97.18		
0.1659	0.1555	93.71		
0.1930	0.1830	94.82		
0.1770			0.1750	98.86
0.1770			0.1740	98.28
0.1934			0.1900	98.24

(五) 硷液洗滌氯仿提取液对洋地黄毒甙的影响

氯仿提取液用 2 % 氫氧化鈉及蒸餾水各洗滌三次，每次用量为氯仿液的 1/6。測定結果見表 8。洋地黄毒甙損失率为6.50—7.30%。

表 8 硷液洗滌氯仿提取液对洋地黄毒甙的影响

氯仿液中洋地黄毒甙含量变化		洋地黄毒甙損失率 (%)
洗 滌 前 (克)	洗 滌 后 (克)	
0.1555	0.1454	6.50
0.1780	0.1650	7.30

(六) 石灰乳、醋酸鉛再次淨化对洋地黄毒甙的影响

硷液洗滌后的氯仿液中杂质仍較多，影响毒甙結晶，需要再次淨化。回收氯仿后，固形物溶于20倍量95%乙醇中，加石灰乳(石灰用量为氯仿抽出物的10%)及醋酸鉛稀醇液(醋酸鉛用量为氯仿抽出物的20%)，攪拌10分鐘，過濾。濾液即用醋酸中和。測定結果見表 9。洋地黄毒甙損失率較小，为2.31—3.06%。

表 9 石灰乳、醋酸鉛淨化对洋地黄毒甙的影响

乙醇液中洋地黄毒甙含量变化		洋地黄毒甙損失率 (%)
淨 化 前 (克)	淨 化 后 (克)	
0.1800	0.1755	2.50
0.1735	0.1695	2.31
0.1800	0.1745	3.06

(七) 苯—乙醇—水中析晶条件与洋地黄毒甙收得率的关系

结晶分离洋地黄毒甙，曾选用丙酮，稀乙醇，氯仿—乙醚，苯—乙醇—水等进行比较，以苯—乙醇—水较好。再次净化液回收乙醇后的固形物用不同量 (W/V) 的苯—乙醇 (1:1) 溶解，各加等量蒸馏水析晶。测定结果见表10。以用 5—6 倍量苯—乙醇溶解再加等量水析晶，洋地黄毒甙收得率较高。母液中尚含洋地黄毒甙量较多，分离方法尚待研究。

表10 苯—乙醇用量与洋地黄毒甙收得率的关系

固形物与苯—乙醇用量的比例 (W/V)	固形物			苯—乙醇—水析晶所得粗结晶			洋地黄毒甙收得率 (%)
	重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	收得重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	
1:3	1.750	8.56	0.1500	0.2125	35.14	0.0747	49.77
1:4	1.250	12.72	0.1590	0.1833	52.49	0.0962	60.50
1:5	1.100	15.95	0.1500	0.1530	62.37	0.0972	62.73
1:6	1.314	13.01	0.1710	0.1597	68.07	0.1086	63.56
1:7	1.100	15.38	0.1695	0.1366	62.90	0.0859	50.70

(八) 氯仿—乙醚重结晶与洋地黄毒甙收得率的关系

用氯仿—乙醚重结晶可除去氯仿不溶物及色素等杂质。苯—乙醇水析出的结晶用20倍量氯仿溶解，加10%活性炭脱色。减压蒸去约2/3氯仿后加等量乙醚，放置结晶。测定结果见表11。洋地黄毒甙含量提高，收得率达86%左右。

表11 氯仿—乙醚重结晶对洋地黄毒甙收得率的关系

苯—乙醇—水析晶所得粗结晶			氯仿—乙醚重结晶			洋地黄毒甙收得率 (%)
重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	收得重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	
1.600	52.49	0.8407	1.1200	64.23	0.7193	85.69
2.050	51.20	1.0500	1.4400	63.80	0.9187	87.52
5.550	54.38	3.0180	3.9800	65.70	2.6150	86.66

(九) 氧化铝柱层分离与洋地黄毒甙收得率的关系

用氧化铝柱层分离洋地黄毒甙，曾用不同量吸附剂和不同比例的氯仿—甲醇洗脱剂进行比较，以20倍量氧化铝吸附，99:1氯仿—甲醇洗脱较好。测定结果见表12。洋地黄毒甙含量在90以上，收得率为92.60—94.69%。

表12 氯仿—乙醇重结晶对洋地黄毒甙收得率的关系

粗品 (氯仿—乙醚结晶后的)			成品			洋地黄毒甙收得率 (%)
重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	收得重量 (克)	洋地黄毒甙含量 (%)	含洋地黄毒甙量 (克)	
1.1200	64.23	0.7194	0.6860	97.10	0.6661	92.60
1.1750	58.82	0.6912	0.6770	96.65	0.6543	94.69

三、洋地黄毒甙提取方法

根据以上条件选择試驗結果，拟訂洋地黄毒甙提取方法如下：

紫花洋地黄叶粗粉（20号篩）加等量蒸餾水潤湿，室溫50°发酵16小时。用5倍量95%乙醇滲漉。滲漉液加石灰乳（石灰用量为原料的5%），攪拌15分钟。过滤。滤液即用醋酸中和。減压回收乙醇至濃縮液約与原料等重。用0.2倍量（V/V）氯仿分六次提取。氯仿提取液用2%氢氧化鈉和蒸餾水洗滌三次，洗滌液用少量氯仿提取。在55°下減压回收氯仿至干。固形物溶于20倍量95%乙醇中，加石灰乳（石灰用量为固形物的10%）及醋酸鉛（用量为20%）稀醇液，攪拌。过滤。滤液即用醋酸中和。減压回收乙醇至干。固形物用5倍量苯—乙醇（1:1）溶解，加等量蒸餾水混合，放置二日，收集粗結晶，溶于20倍量氯仿中，加10%活性炭脫色，过滤。在55°下減压蒸去氯仿約2/3后，加等量乙醚混合，放置一日，收集結晶。溶于氯仿，以20倍量氧化铝柱层分离，用氯仿—甲醇（99:1）洗脫。洗脫液于55°下減压蒸去溶剂約2/3后，加适量乙醚晶結。收集結晶并經90°真空干燥即得洋地黄毒甙成品。按照以上方法，进行了二次提取試驗，每次用3公斤原料，結果見表13。洋地黄毒甙收得量为0.072—0.087%，含量为93.15—93.50%，收得率为35.90—40.14%。

表13 第二次提取試驗結果

原料重量 (公斤)	发酵后原料中洋地黄毒甙含量(%)	成品重量 (克)	成品收得量 (%)	成品中洋地黄毒甙含量(%)	洋地黄毒甙收得率(%)
3	0.2011	21.66	0.072	93.15	35.90
3	0.2160	26.01	0.087	93.50	40.14

四、中型試制

我們以上述的洋地黄毒甙提取方法为基础，制訂了試制操作方法，共进行了十一批試制。通过八批条件探索，六次修改操作方法，然后总结拟訂了洋地黄毒甙提制技术操作规程。概分为八个工序：

- （一）原料制粉和发酵，
- （二）滲漉，
- （三）淨化，
- （四）萃取，
- （五）氯仿萃取液淨化，
- （六）活性炭脫色和苯—乙醇—水析晶，
- （七）65%乙醇結晶，
- （八）氧化铝柱层分离。

其流程如下：

为了檢驗上述操作规程的准确性，我們做了三批中型試制，每批用100公斤原料。結果見表14。成品收得量为0.075—0.085%，洋地黄毒甙含量为93.78—97.40%，收得率为43.19—50.77%。达到了洋地黄毒甙提取方法研究結果的指标，証明这个操作规程是可行的。

表14 三批中型試制結果

試 制 批 号	1	2	3
原料重量 (公斤)	100	100	100
发酵后原料中洋地黄毒甙含量 (克)	169.2	157.0	183.5
乙醇渗漉液中洋地黄毒甙含量 (克)	164.5	157.8*	181.9
醋酸鉛, 石灰乳淨化后稀醇液中洋地黄毒甙含量 (克)	——**	——**	——**
氯仿萃取液中洋地黄毒甙含量 (克)	143.5	148.2	141.6
淨化后氯仿液中洋地黄毒甙含量 (克)	133.6	138.4	137.9
活性炭脫色后乙醇液中洋地黄毒甙含量 (克)	127.1	124.1	127.3
苯—乙醇—水析晶粗結晶中洋地黄毒甙含量 (克)	92.1	108.9	113.5
65%乙醇結晶洋地黄毒甙粗品中洋地黄毒甙含量 (克)	82.79	96.91	99.04
洋地黄毒甙成品 (經氧化鋁柱层分离)	重 量 (克)	75	85
	收 得 量 (%)	0.075	0.085
	洋地黄毒甙含量 (%)	97.40	93.78
	收 得 率 (%)	43.19	50.77

* 数据偏高, 但在分析誤差允許范围内。

** 两次淨化后的稀醇液均在 30° 过滤, 当时室温較低 (9° 左右), 滤液有混浊現象, 故取样不均匀, 分析数据偏差甚大, 因此沒有将此項分析結果列入。

取得成績的原因和存在的問題

(一) 洋地黄毒甙提取和中型試制的研究取得一定成績, 主要原因是:

(1) 在党的领导下, 突出政治, 以主席思想挂帅是本項研究工作取得成績的 根本 原因。所领导指出洋地黄毒甙研究, 在政治經濟上学术上的意义后, 明确了工作的目的与意义, 发挥了政治热情与工作积极性, 在工作过程中干劲大, 工作主动。在工作中貫徹了领导、群众、研究人員三結合的群众路綫方針, 如在中型試制中, 苯—乙醇—水析晶所得粗結晶質量差, 使氯仿—乙醚重結晶困难的問題, 就是由领导召集研究人員和工人同志开会討論, 采用了稀醇結晶法的意見而解决的。我們結合工作学习了《实践論》和《矛盾論》, 以两論思想为指导, 解决了不少工作中的問題。如在用石灰乳淨化的問題上, 分析了石灰乳除去了杂質的有利方面及对洋地黄毒甙的不利方面。通过反复实践, 选择了适当的乙醇濃度和及时中和

等条件，防止了因破坏洋地黄毒甙的不利因素，发挥了它的除去杂质的效果。这样既解决了醋酸铅净化过滤困难的问题，又节约了醋酸铅用量。同时，我们遵循了自力更生的方针，自己动手，克服困难，制成了洋地黄毒甙标准品，顺利地完成了分析研究工作。通过这次工作，使我们深刻的认识到，听党的话，坚决贯彻党的方针政策，认真学习主席著作，按照主席思想办事，就能做好一切工作。

(2) 洋地黄毒甙提取和中型试制能获得一些成绩，是和有关单位的大力支持和协作帮助分不开的。中国科学院药物研究所朱任宏教授亲临指导并惠赠样品。医学科学院药物研究所代测洋地黄毒甙红外光谱并提供宝贵意见。通过上级科委，我们得到并学习了浙江制药厂洋地黄毒甙的技术总结资料。卫生部药品生物制品检定所和重庆市药品检验所为我们检定了提取和中型试制研究所得的成品等。这一切的帮助和支持对我们的工作都起了很大的促进作用。

(3) 在试验工作方面，由于在技术上我们主要改进了以下几点，所以成品收得量和质量都比较高：

I. 以分析指导提取和中型试制的研究。如乙醇净化液回收乙醇后，浓缩液中的沉淀物经分析尚有较多的洋地黄毒甙，引起了我们注意，进行了处理。

II. 对发酵条件进行了探索。紫花洋地黄甙A经紫花洋地黄酶水解成洋地黄毒甙和葡萄糖。发酵温度与时间甚关重要。这是关系着洋地黄毒甙收得量的首要环节。我们对此进行了探索。

III. 石灰乳、醋酸铅净化，除杂质效果好，过滤比较容易，洋地黄毒甙损失率较小，节省了醋酸铅用量，降低了成本。

IV. 用苯—乙醇—水结晶法容易结晶，除杂质的效果好。收得率虽还不很高，但较用丙酮、稀乙醇、氯仿—乙醚等结晶法效果好。

V. 65%乙醇重结晶，能除去挥发性物质，收得率与用氯仿—乙醚结晶法相近。

(二) 存在的问题

根据认识的总规律，我们的工作虽然有所前进，取得了一定成绩，但收得率还不够高，操作步骤尚可简化。综合利用没有进行，数据还有些不够全面的地方，这一切都有待进一步在今后实践过程中不断完善。

参 考 文 献

(1) 朱任宏：1962年9月在本所所作的学术报告的记录。

(2) 浙江制药厂：毛地黄毒甙技术总结（内部资料）。

(3) 俞景霞：关于洋地黄毒甙结晶纯度问题的初步研究，中国药学会论文摘要，1957年，第一集，49页。

(4) 王宪楷、李美容、涂茂莉、唐继煜：毛地黄毒甙色层分离，四川医学院，1958年，技术革新项目，第66页。

(5) 陆宝庆：洋地黄毒甙精制法的改进，药学报，1958，12，569。

(6) 陆宝庆: 紫花洋地黄叶的综合利用, 药学通报, 1959, 4, 179.

(7) 吴育方: 洋地黄毒甙提纯研究, 化学世界, 1960, 7, 334.

(8) Mechesney, F. W., et al.: Chemistry and Pharmacology of the D, purpurea Glycosides, J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 1948, 37, 364.

Haack. E., et. al.: Gitaloxin. ein neues Haup-glykosid [der Digitalis purpurea
Naturwissenschaften, 1955, 42, 441.

紙上分配層析分光 光度法測定洋地黃毒甙含量

四川省中藥研究所

顧月翠 梁其碩

本法系在Fuchs等氏^(1,2)方法的基础上改進的：(1)將原法下行層析改為上行層析，操作較簡；(2)原法規定在 $20 \pm 0.5^\circ$ 比色測定，需要恆溫實驗室。為了適應一般的設備條件改在室溫進行；(3)原法未報導加樣回收率，我們按該法測得加樣回收率僅達 $83(\pm 2.7)\%$ 。將原法淨化液乙醇濃度由約14%提高至35%，結果加樣回收率達 $98(\pm 2.2)\%$ ，符合比色分析要求。

應用本法測定紫花洋地黃葉及洋地黃毒甙成品的含量，結果數據比較穩定，其相對偏差前者為2.3%，後者在1%左右。

為了控制檢液的容量，我們設計了一個簡易計量管，使用效果尚佳。

實驗部分

(一) 主要試劑與儀器

苦味酸鈉溶液 1%苦味酸水溶液—10%氫氧化鈉水溶液
(19:1)，臨用時配制。

洋地黃毒甙標準品 自制洋地黃毒甙純品*

計量管 見圖1

層析缸 標本缸 $9 \times 5 \times 35$ 厘米

72型光电分光光度計 1厘米比色杯，上海創造儀器廠

* 洋地黃毒甙純品系用本所試制成品，進一步純制而得，為白色具光澤長方形片狀結晶。熔點 $239-240$ 。(毛細管)。 $[\alpha]_D^{26} = +18.3^\circ$ (C1.53, 氯仿—甲醇3:1)。Rf=0.68 (二甲苯—丁酮1:1/甲醯胺)。

分析 $C_{41}H_{64}O_{13} \cdot \frac{1}{2}H_2O$

計算值，% C63.62 H8.46

實驗值，% C63.54, 63.55; H8.44; 8.55

(二) 比色條件的選擇

(1) 波長的選擇 洋地黃毒甙甲醇溶液，加入苦味酸鈉溶

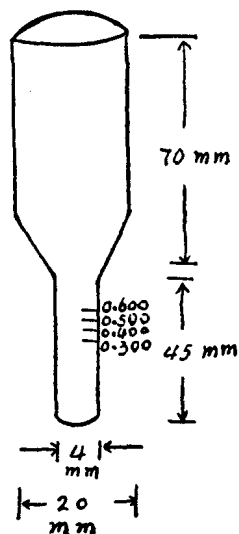


圖1 簡易計量管

液后，在20—30分鐘時間內，以不同波长測定光密度，以495毫微米时光密度最大。

(2) 反应速度及其稳定性 在不同室溫下，不同濃度的洋地黄毒甙甲醇溶液加入苦味酸鈉溶液后，以波长495毫微米，在不同時間內进行比色測定，观察其光密度的变化。从表1結果說明在室溫11—31°时，加入試剂后15—30分鐘內讀取其最大光密度是适宜的。

表1 不同室溫下洋地黄毒甙的呈色反应時間与光密度的关系

光 密 度 溫 度(°C)	時 間 (分)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
11		0.220	0.252	0.266	0.270	0.270	0.270	0.270	0.270	0.270	0.270
21			0.280	0.282	0.284	0.280	0.275				
22				0.480	0.485	0.490	0.480				
31		0.237	0.260	0.260	0.263	0.260	0.260				
31		0.530	0.562	0.568	0.565	0.565	0.563	0.560			

(3) 試剂用量的选择 用等容量的二种濃度的洋地黄毒甙甲醇溶液各五管，分別以甲醇稀釋至4.00毫升(第五管稀釋至3.00毫升)，依次加入苦味酸鈉溶液1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00毫升，并加蒸餾水至8.00毫升，搖勻，用相同試剂濃度作空白对照，15—30分鐘內讀取最大光密度，結果见图2，試剂用量以4毫升为最适宜。

(4) 溫度的影响 在不同室溫下，洋地黄毒甙与苦味酸鈉溶液反应，以波长495毫微米，在稳定時間內讀取最大光密度結果见表2。在21—30°时其光密度相近似，在14—16°时則偏低。因此在測定檢品时需应用相近溫度範圍內的标准曲綫。

表2 不同濃度的洋地黄毒的溶液在不同室溫时測得的光密度

光 密 度 濃 度 (微克/8毫升)	溫 度(°C)	14—16	21—22	28—30
40		0.114	0.124	0.121
80		0.222	0.231	0.230
100		0.276	0.284	0.283
120		0.328	0.338	0.336
160		0.435	0.444	0.442

(三) 标准曲綫的繪制

精确称取洋地黄毒甙純品0.0100克，用甲醇溶解并稀釋至50毫升。吸取标准液于帶塞試管中，用甲醇补充至4.0毫升，以4.0毫升甲醇作空白对照，各加入苦味酸鈉溶液4.0毫升，搖勻，以波长495毫微米在加入試剂后15—30分鐘內讀取最大光密度，繪成下列标准曲綫

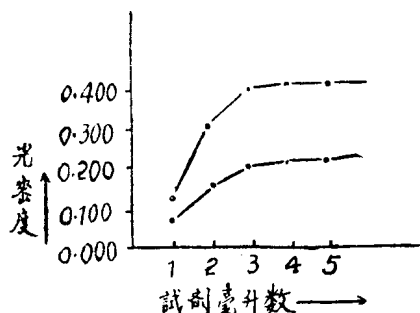


图2 試剂浓度对光密度的影响

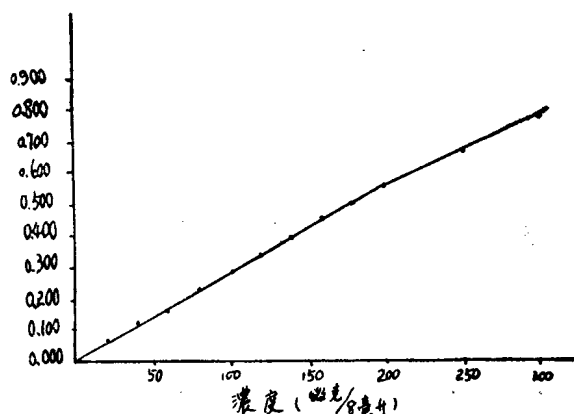


图3 洋地黄毒甙比色测定的标准曲线 (22°C)

(图3)，結果在20—200微克範圍內，符合Beer定律。

(四) 紙层分离、洗脫及比色測定

层析紙 新华定注濾紙，寬7厘米，長30厘米，在一端3厘米处用鉛筆划一基綫，通过基綫中点划一中綫，將濾紙划为等分。

固定相 甲醯胺—丙酮 (1:4)

移动相 二甲苯—丁酮 (1:1) / 甲醯胺

显色剂 25%三氯醋酸乙醇溶液—3%氯胺T水溶液 (15:1)，临用时配制。

方法 將濾紙条用固定相浸湿后夹在濾紙內压干，取出。揮去丙酮，即在中綫兩側基綫上，精确点加10—15微升檢液，使成約1.5厘米的条形，以上行法层离 (22°，2—3小时，展程約25厘米)，在120°烘1小时，沿中綫剪开，取一条噴显色剂后于120°烘5—10分钟。于螢光灯下观察，划出洋地黄毒甙位置 (銹黃色螢光， R_f 0.57—0.68)，剪下另一条紙上相当于洋地黄毒甙部分，剪成約36平方毫米碎片，装入帶塞試管中，加4.0毫升甲醇，40°浸泡6小时，并以相同处理的空白濾紙作对照，分別加入苦味酸鈉溶液4.0毫升，搖勻，比色測定方法同 (三)，由标准曲线查得其相当濃度。

为了試驗溫度对洗脫的影响，曾以等量洋地黄毒甙純品，經紙层分离后，选用不同溫度和時間，进行洗脫后比色測定，結果見表3。說明洗脫条件宜在40°浸泡4小时以上。

表3 在不同溫度和不同時間洗脫后測得的光密度

光密度 時間 (小时)	溫度 (°C)	20	25	30	40
2		0.215	0.262	0.262	0.267
4		0.241	0.264	0.270	0.280
6		—	0.270	0.278	0.280

(五) 回收試驗

(1) 洋地黄毒甙純品紙层回收試驗

精确称取洋地黄毒甙純品0.0200克于2毫升容量瓶中，以氯仿—甲醇—甲酰胺(2:2:1)混合溶液溶解并稀釋至刻度，搖匀。紙层分离、洗脫及比色測定按(四)进行，其回收率結果見表4，符合比色分析要求。

表4 洋地黄毒甙紙层回收率*

点样量 (微克)	回收量 (微克)	回收率 (%)	点样量 (微克)	回收量 (微克)	回收率 (%)	点样量 (微克)	回收量 (微克)	回收率 (%)	点样量 (微克)	回收量 (微克)	回收率 (%)
47.5	49.5	104.2	96.5	97.0	101.1	145.0	137.0	94.5	193.0	187.5	97.1
	49.5	104.2		97.5	101.6		137.0	94.5		188.0	97.4
	48.5	102.1		98.0	102.1		139.5	96.2		183.0	94.8
	47.5	100.0		99.5	103.6		136.5	94.1		183.0	94.8
				102.5	103.9		139.5	96.2		181.8	94.2
							135.5	93.4		180.0	93.3
							147.5	101.1		193.5	100.2
							141.0	97.2		193.5	100.2
							148.5	102.4			
							150.0	103.5			
平均		103 (±2)			102 (±15)			97 (±3.9)			96 (±2.6)

* 1. 微吸管經校正

2. 括号內数字为标准差，以后同

(2) 紫花洋地黄叶加样回收試驗

称取生药粉末3.00克两份于已知重量的燒瓶中，一份加入一定量洋地黄毒甙純品，一份作对照，各加70%乙醇30.0克，沸水浴回流15分钟，放置15分钟，流水冷却至室温，核对重量，必要时用70%乙醇补充使达原重，过滤。取滤液20.0克加水25.0克及70%乙醇30.0克稀釋，搖匀，再加15%醋酸鉛25.0克，搖匀，过滤。取滤液80.0克用氯仿抽提，每次40毫升共二次。30毫升共三次，抽提液用无水硫酸鈉脫水，过滤，用少量氯仿洗滌容器及滤紙。在50°以下减压回收溶剂，殘液用滴管定量地轉移至計量管中，在50°以下鼓风揮去溶剂，殘液于50°真空干燥，用混合溶液溶解，加样管稀釋到0.600毫升，对照管稀釋到0.300毫升。按(四)进行紙层分离(点样量为15微升)，洗脫及比色測定。由标准曲綫查得其相当濃度，計算洋地黄毒甙含量及加样回收率。并按Fuchs法淨化处理紫花洋地黄叶，作了加样回收試驗。結果均見表5。

(六) 方法应用与結果

根据以上实验，确定紫花洋地黄叶及洋地黄毒甙成品中洋地黄毒甙含量測定法如下：

(1) 紫花洋地黄叶的測定

称取干燥生药粉末3.00克，加等量蒸餾水潤湿后，保温50°发酵16小时^{<3>}。按其含水量