U.D.C. 545.844:547.94:615.784.6

嶋野 武, 水野瑞夫, 大和新一郎: 麻黄中のアルカロイドの簡易定量法について*

Takeshi Shimano, Mizuo Mizuno, and Shi-chiro Yamato: On the Simple Estimation of Alkaloid in Ephedra by Circular Chromatography.

(Gifu College of Pharmacy**)

Circular paper chromatography was applied to the determination of ephedrine in Ephedra. A definite amount (2.3×10^{-3} cc.) of methanolic solution of pure ephedrine in various concentrations was spotted on the center of a circular filter paper, developed with butanol saturated with water, and colored with iodine gas. The relative graph of the area of ringed bands on the circular chromatogram and a logarithm of the amount (in γ) of the sample ephedrine was prepared and a quantitative relationship was found to exist between the two values (Fig. 1). The same chromatography of the methanolic extract of Ephedra was carried out and the percentage content of ephedrine was calculated from the colored ring bands, using the foregoing graph. The values thereby obtained was found to compare well with the percentage content obtained by the assay method given in the Japanese Pharmacopoeia (Table II).

(Received May 9, 1956)

麻黄中のアルカロイド定量は、薬局方定量法、木村¹⁾による微量定量法等が見られる。また一方円型濾紙クロマトグラフにより展開して得られる面積を計算してストリキニン²⁾、ベルベリン³⁾、ルチン⁴⁾等の含有量を求められる事が報告されている。著者等は麻黄中のエフェドリン・アルカロイドの定量に本法が応用できるのではないかと推定のもとに実験を進め、小数例ではあるが良結果を得た。

先ずエフェドリンの結晶をメタノール溶液としたものを、円型濾紙の中心にマイクロピペット⁵⁾を用いて一定量 (2.3×10^{-3} cc) を滴下し、大島、中林⁴⁾の方法によりデンシタ中で展開させ、乳燥後、ヨウ素蒸気⁶⁾を満したガラス円筒中に懸垂せしめるとアルカロイド帯は淡褐色の環状帯として現われるからその面積を測定する。この

Table I. Ephedrine Content and Area of Brown Colored Ring.

Ephedrine Content (%)	in 1 Drop (γ)	Area of Ring S (cm ²)
5.00	11.50	13.0
4.00	9.20	11.0
3.30	8.10	10.4
3.00	6.90	9.2
2.50	5.60	8
2.00	4.60	9.0
1.75	4.20	8.8
1.50	3.50	8.7
1.25	2.99	7.8
1.12	2.53	7.5
1.00	2.30	6.9
0.87	2.07	6.7
0.75	1.84	5.0
0.62	1.38	4.3
0.50	1.15	3.9
0.43	0.82	3.6
0.37	0.69	3.4
0.31	0.65	3.0

Fig. 1.

Linear Relation between Area of Ring and Logarithm of Ephedrine Content

* 東海支部2月例会で報告 (1956).

** Kokonoe-cho, Gifu.

1) 木村康一: 日本生薬学会富山大会 (1955年7月).

2) Apotheker Dieter Strauss: Deu. Apoth. Ztg. **27**, 642 (1955).

3) 嶋野, 水野: 未発表.

4) 大島, 中林: 農化 **25**, 212 (1951-1952).

5) 桑田: “クロマトグラフィ” p. 125.

6) 木島, 杉山, 安藤: “植物成分の濾紙クロマトグラフィによる検索” 第1集 66 (1955).

面積と滴下液中の試料との相関関係は直線関係が得られる (Fig. 1). これを基準にして, 検体として選んだパキスタン麻黄及教材用麻黄 A, B をメタノールにて抽出した抽出液について円型濾紙で同様に展開したものを実算すると, パキスタン麻黄は 0.48%, 教材用麻黄 A, B 共に 0.28% のアルカロイド (エフェドリン) を含むことを知る. この含有量は局方試験法による定量値 0.47%, 0.27% の各々とほぼ一致した. 従つて円型濾紙クロマトグラフ法は, 麻黄中のアルカロイドの, 簡易定量法として利用し得ると認められる (Table 2).

Table II. Content of Alkaloid in some Ephedra

	by circular chromatography			by P. J. VI†
	Colored area (cm ²)	in 1 drop (γ)	Ephed. content (%)	Ephed. content (%)
in Pakistan	7.5	25.3	1.12	1.148
	7.0	23.0	1.08	1.145
	7.3	24.0	1.11	1.147
B Teaching material	4.5	13.8	0.62	0.645
	4.4	"	"	0.643
	"	"	"	0.641
C Teaching material	4.2	12.8	0.61	0.614
	"	"	"	0.632
	"	"	"	0.617

† The Japanese Pharmacopoeia Ed. VI

本研究に際し種々便宜を与えられた岐阜薬科大学学長宮道悦男博士に深謝する. また試料を提供された水野製薬所にここに謝意を表する.

実験の部

装置 濾紙: 東洋濾紙定量用 NO. 4 直径 11 cm の円型濾紙を使用し, あらかじめ半径 4 cm の円を描いておく.

定量用マイクロピペット: 温度計を利用し検定したもので一皿盛は 2.3×10^{-3} cc に相当する.

展開装置 デシケーターの底部に水を入れ, 展開溶媒を入れた, ベトリ皿を台の上にのせ, 更に濾紙の移動を抑えるために同大のベトリ皿で上部から蓋をする. ベトリ皿は半径 4 cm の濾紙上の円の大きさよりもやや大なるものを用いる. ベトリ皿中の展開溶媒を毛管現象により濾紙に導くには, ガラス製円錐状の中に綿を蕊としたものを作成し使用した.

アルカロイドの検出 密閉し得る容器の底に少量のヨウ素を入れ, 常にヨウ素蒸気が満ちている様にし, その中に乾燥した円型濾紙を懸垂すれば, アルカロイド帯は褐色の帯となつて現出してくる.

操作 各濃度のエフェドリン・メタノール溶液及び試料に選んだ麻黄メタノール抽出溶液を, 定量用マイクロピペットを用いて一定量 (2.3×10^{-3} cc) を, 円型濾紙の中央に滴下する. この際スポットの直径は約 5 mm になる. 乾燥後, 濾紙をデシケーターの台の上に放置して濾紙に充分水分を飽和せしめ (約 40~50 分), 次に展開溶媒 (水飽和ブタノール) を入れたベトリ皿の綿蕊の上部に濾紙のスポット中心が来るようにし, その上に別のベトリ皿で蓋をする. デシケーターは気密に保ち, 溶媒の前端が半径 4 cm の円に到達する迄展開する (約 50~90 分, 温度により異なる). 展開後乾燥せしめヨウ素蒸気中に放置する (2~3 時間) とアルカロイドを含む部分は着色した環帯として現われる. この際濾紙が水平に保たれていれば着色帯は正しい環型を示す. アルカロイドの R_r^* は 0.622 である. 着色環帯より, 着色環帯の外径 r_1 , 内径 r_2 を測定し, 着色環帯の面積 S を算出する. 外径, 内径ともに数箇所を測定し, その平均値から誤差を僅少にする様つとめた.

$$S = \frac{1}{N} \sum (\pi r_1^2 - \pi r_2^2) \quad N: \text{任意の度数}$$

標準グラフの作成 純エフェドリン結晶をメタノールに溶解せしめ 10% メタノール溶液を作り, 次に 0.28~10% の各種濃度溶液を調製する. これらを前述の方法で展開し, 乾燥, 現像してその面積 S を求める. これと滴下液中の r 数の対数との相関関係は Fig. 1 に示す如く, エフェドリンの含量 3.50%, すなわち滴下液中のエフェドリン 8.10 γ 迄は直線となることを知り得た.

円型クロマトグラフィによる麻黄アルカロイドの定量 パキスタン麻黄及び教材用麻黄はおのおの 2 g を秤取り粉末となしメタノール 20 cc を加えて還流冷却管を付し, 水浴中 30 分間温浸出をする. 濾過した濾液は減圧濃縮して 2 cc とし, この液を検液として, 前記の方法で展開, 定量する. 定量の結果は Table II.

局方定量による麻黄アルカロイドの定量 円型クロマトグラフィによる定量値と対比するため局方 (第六改正) にしたがひ定量する. 定量の結果は Table II. 岐阜薬科大学

* R_r の値は分離されたアルカロイドの最も濃度の高い所までの半径と溶媒前端迄の半径の比で, 通常クロマトの場合の R_f -値に相当する.