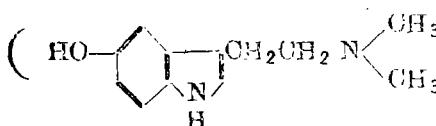


蟾酥的快速检验法

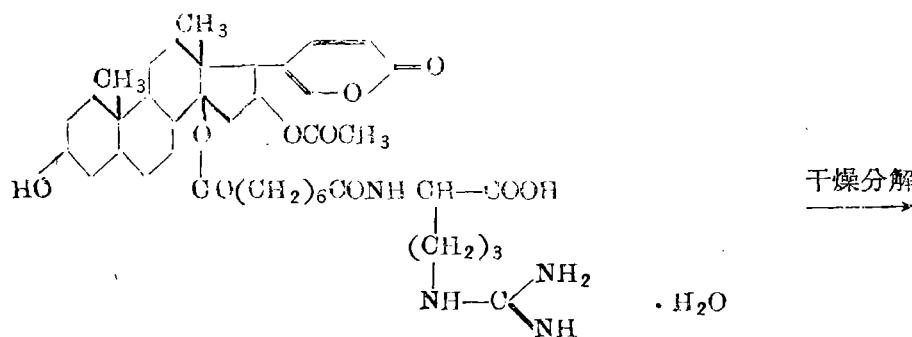
法化学教研组* 陈贞惠 李炳鲁

蟾酥产于蟾蜍(民间叫癞蛤蟆)之两眉，在活蟾蜍头部耳下腺及皮肤腺有一种乳状分泌物—癞蛤蟆浆，经人工刮取得纯粹分泌物，干燥后叫蟾酥。百斤蟾蜍约可刮得潮蟾酥4两，经日光曝晒干后，约净得干酥2两。蟾酥是强烈的心脏毒物，我国自古用蟾酥作为强心剂，苏醒剂。有的中医用干蟾皮或活蟾蜍作药用，亦系利用在干蟾皮及活蟾蜍里含有少量蟾酥，处方时剂量当然不同。在医疗方面，曾因把蟾蜍与蟾酥混淆而误用大剂量的蟾酥，致造或医疗中毒。民间也有因捕食癞蛤蟆，由于未去皮及头部，煮食一斤左右而致中毒死亡者。当发生可疑蟾酥中毒情况时，为了迅速查明毒物，进行必要的急救，需要有简便适宜的检验方法。但在文献上尚未见有合宜的快速分离与检验方法。

人们最早详细研究的是欧洲蟾蜍(*Bufo vulgaris*)的成分。其主要成分含有强心物质蟾蜍毒(*Bufotoxin* $C_{40}H_{60}O_{10}N_4 \cdot H_2O$, mp. 205°C)及 *Bufotenine* $C_{12}H_{16}ON_2$

(及肾上腺素等。有的文献上介绍的 toad poison 或

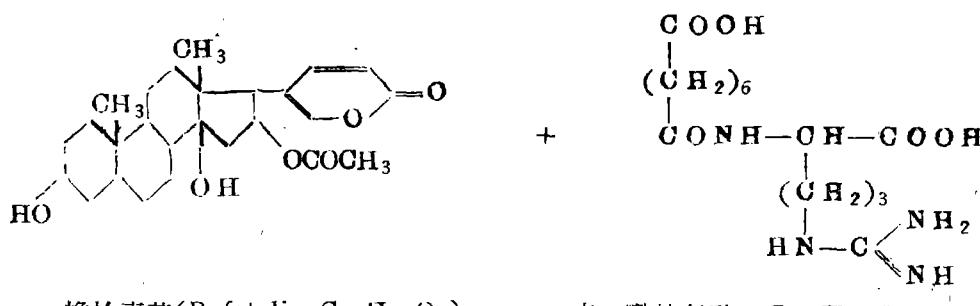
toad's venom 系指蟾酥的有毒成份混合物。蟾蜍毒是由蟾蜍毒基(*Bufoxin*, 系具有与洋地黄毒碱配糖基相似的结构—在 C_{17} 上连有六元环内酯的环戊烷全氢菲母核)分子上的羟基与辛二酰精氨酸(*suberylarginine*)结合成的酯。新鲜的分泌液中含有的蟾蜍毒在干燥时分解成蟾蜍毒基及辛二酰精氨酸。



蟾蜍毒素，*Bufotoxin*($C_{40}H_{60}O_{10}N_4 \cdot H_2O$)

* 教研组主任—李炳鲁教授为本研究题目的指导人。

本组李世壮先生协助参加了部分实验工作，在此致谢。



蟾蜍毒基(Bufotalin, $C_{26}H_{36}O_6$) 辛二酰精氨酸($C_{14}H_{26}O_5N_4$)

从中国产蟾蜍分泌物制出的蟾酥也含有蟾蜍毒，其分解物蟾蜍毒基是欧洲产蟾酥中所含蟾蜍毒基的异性体^[1]。

日本人研究了中国产蟾酥成份，他們用甲醇及醋酸乙酯等溶媒从蟾酥中反复提取分离出中华蟾蜍毒 (Cinobufotoxin, $C_{40}H_{62}O_{11}N_4$ ，測得熔点为 205—207°C) 的結晶^[2]。也有人用层折法分离蟾蜍毒基^[3]。

文献介紹的蟾酥的檢驗方法，有如下几种：（一）黃料母醇法⁽⁴⁾—蟾蜍毒得紅色，蟾蜍毒基得橙黃色，Bufotenine 得藍色，本法可檢出 0.1mg Venom。

(二)浓硫酸法 (5) toad's venom 得黃至紅色。

(三)对氨基苯乙酮法^[5] toad's venom 得紅紫色。

我們考慮，文献的分離方法手續都比較麻煩，提取時間需經數日，操作或儀器設備要求較高，為適應快速檢驗的要求，我們試用了甲醇、氯仿及冰醋酸等溶媒分別浸取中藥蟾酥中有毒成份混合物。將獲得的幾種浸取液，分別用上述文獻介紹的三種方法進行檢驗，得到了與文獻記載基本上一致的結果（見表1）。我們又考慮到蟾蜍毒基有內酯環及羥基結構，試用了亞硝酰鐵氯化鈉試劑^[6]、醇性氫氧化鉀試劑^[7]進行檢驗，並考慮到 Bufo-tenine 具有酚羥基及吲哚環，試用了對二甲氨基苯甲酮—濃鹽酸、香莢蘭醛—濃鹽酸、甲醛—濃硫酸試劑及三氯化鐵—濃鹽酸試劑進行檢驗；此外考慮到蟾酥各成分具有還原性，也採用了鉑酸銨—濃硫酸試劑進行檢驗，皆得到顏色反應的陰性結果。

实验部分

一、实验样品·

1. 中药块酥，系由中药铺采购来的块酥（棕色）搗碎研成细粉，备用。

2. 自制蟾酥，系由我院药理教研组同志从活蟾蜍头部刮取分泌物，干燥得带杂质的蟾酥碎粉。

二、快速提取方法:

取粗蟾酥細粉几分（每分約 0.1 克），分別用甲醇、冰醋酸、氯仿各 10ml 在試管內浸取，至浸取液顯淡黃色或淡棕黃色（約需數十分鐘至一小時）即得各種浸取液，分別進行下列定性試驗。

三、檢驗方法：

1. 文獻方法的試驗，取蟾酥的甲醇浸取液，冰醋酸浸取液及氯仿浸取液 2—3 滴，分別

用浓硫酸法、黃料母醇法及对氨基苯乙酮法試劑进行检验，所得結果见表 1：

表 1 样品浸取液用三种文献方法进行試驗結果表

样品浸取液 方法	甲醇浸取液	冰醋酸浸取液	氯仿浸取液	註(文献記載結果)
(1) 样品加浓硫酸一滴	橙紅色	桔紅色	紅色	toad's venom—黃至紅色
(2) 样品加 5% 黃料母醇 冰醋酸液及浓盐酸各 一滴	黃綠—墨綠色	暗綠色	橙色	蟾蜍毒—紅色 蟾蜍毒基—橙黃色 Bufotenine—藍色
(3) 样品加对氨基苯乙酮 (固体)少許，加浓 硫酸醋酸各一滴	黃色	黃色	桔色至 淡紫紅色	蟾蜍毒—紅紫色

2. 我們設計的几种定性方法：取蟾酥的甲醇浸取液、冰醋酸浸取液及氯仿浸取液各 2 滴，分別用吡啶—亚硝酰鐵氰化鈉、醇性氢氧化鉀、对二甲氨基苯甲醛—浓盐酸、香莢兰醛—盐酸、甲醛—浓硫酸、三氯化鐵—浓盐酸及鉛酸銨—浓硫酸法进行检验，得到顏色反应結果见表 2：

表 2 样品浸取液用新选的七种試劑进行試驗結果表

样品浸取液 方法	甲醇浸取液	冰醋酸浸取液	氯仿浸取液	空白
(1) 样品置磁皿中，加吡啶及 10% NaOH 各 2 滴，加 5% $Na_2[Fe(CN)_5NO]$ 溶液一滴，历 20 分鐘后观察	淡棕橙色	淡棕橙色	* 显玫瑰色 轉成鮮紅色 圆珠状氯仿层	为淡棕橙色
(2) 样品加 6% KOH 乙醇 (95%) 液一滴	淡黃色	淡黃色	* 淡玫瑰色 很快消失	无色
(3) 样品加对二甲氨基苯甲醛 固体少許，再加浓盐酸一滴	* 显淡紫色 漸轉藍紫色	显淡紫色很快变淡綠	淡肉黃色	淡微黃色
(4) 以香莢兰醛为試劑， 其余操作同上	* 显淡玫瑰 紫色至蓝色	显桔色变暗 紅紫	显微痕跡玫瑰 紫色	无色
(5) 样品加浓硫酸及甲醛各一滴	显淡玫瑰紅色	淡黃色	* 显紫色至 紫蓝色	无色
(6) 样品加 1% $FeCl_3$ 溶液及浓硫酸各一滴	显淡紫至紫色	黃綠色	* 显紅紫— 紫色圈	淡黃
(7) 样品加鉛酸銨盐酸試 劑**及浓硫酸各一滴	—	—	* 显蓝紫色 变深	淡黃

表 2 中

* 号表示該反應現象比另二種溶劑浸取液所得的結果較為明顯。

** 鉑酸銨——鹽酸試劑配制：將溶液 A (以 1g 鉑酸銨溶于 8.5ml 水中配得) 加到等量的溶液 B (以 17ml 濃鹽酸加 16ml 水而得) 中即得。

討 論

1. 快速浸取液用文獻介紹的三種方法的試驗中：用濃硫酸法反應結果得橙色或紅色；用對氨基苯乙酮法，氯仿浸取液得紫紅色，結果皆與文獻一致；用黃料母醇法反應結果一甲醇或冰醋酸浸取液得綠色、氯仿浸取液得橙色，分別附合文獻記載的蟾蜍毒基（深橙黃色）與 Bufotenine（深藍色）反應生成的混合色，或蟾蜍毒基與蟾蜍毒（深紅色）反應生成的混合色。

2. 我們設計的七種定性方法中，樣品浸取液的選擇：據我們試驗結果，認為方法(3)一對二甲氨基苯甲醛法及方法(4)一香莢蘭醛法，所採用樣品以甲醇浸取液試驗結果較明顯，其餘五種方法的檢驗，則以氯仿浸取液作樣品較為明顯。

3. 蟾酥定性方法的選擇：據我們試驗比較並考慮到試劑的來源，我們認為以濃硫酸法、黃料母醇法、亞硝酸鐵氰化鈉法、對二甲氨基苯甲醛或香莢蘭醛法、甲醛一濃硫酸法及三氯化鐵一濃硫酸法等七種方法，試劑簡單易得操作也較簡便，反應結果皆明顯。

4. 由於從蟾酥有毒成分混合物中分離單一成分的手續較麻煩，所需提取分離的儀器設備要求較高，所需時間也較長，為此，我們試驗了快速提取混合成分的檢驗方法，獲得了陽性反應結果。由試驗的快速檢驗法結果說明可從被提取的樣品中檢出蟾酥，而且所用的有機溶劑（甲醇，冰醋酸及氯仿）皆為價廉易得的。這樣足以滿足快速毒物分析的實際需要。

5. 因時間較短促，僅作蟾酥快速檢驗的初步研究，未經分離純品，故未作各定性方法的靈敏度試驗。

6. 對國產的各種蟾酥樣品及檢體（如中藥配方及中毒後檢體）的提取分離，檢驗法以及可能有干擾物質的研究等問題，尚待進一步研究探討。

結 論

1. 本文提出了，可以不經系統分離蟾蜍毒純品，僅用甲醇，冰醋酸或氯仿分別浸取粗蟾酥（約一小時），得粗浸取液，作定性反應的快速毒物分析法。

2. 經試驗提出了，用呪啶——亞硝酰鐵氰化鈉法，香莢蘭醛（或對二甲氨基苯甲醛）——鹽酸法、濃硫酸——甲醛法及三氯化鐵——濃硫酸法，檢驗蟾酥的顏色反應，顯色結果明顯。

參 考 文 獻

[1] 杨季秋譯：植物成分の化学 上海科技出版社 1959年第一版 第233頁。

- (2) 大野节郎, 小松曼耆: 药学杂质 1953年(73卷) 第796頁。
- (3) Φ. M. 舍勉金等著: 色层分析法 化工出版社 1957年 第一版 中譯本第179頁。
- (4) Raymond-Hamet 及 P. Lelogeais: Bull. Soc. Chim. Biol., (1954)36, 933-4
- (5) Merck. Index 5th edition (1940) 第662頁。
- (6) 黃鳴駒: 毒物分析化学 1957年版 第492頁。
- (7) 同〔5〕第875頁。