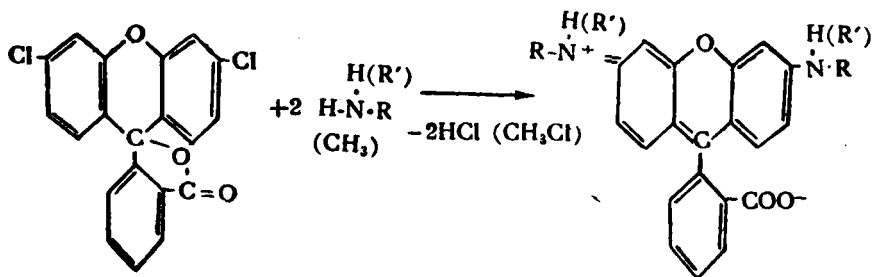


氯化螢光素 (Fluorescein chloride) 对含 氨基和杂环氮藥物的点滴試驗* **

屠世忠

(第二軍医大学藥学系)

远在 1876 年 E. Fischer 氏^[1]与 A. V. Baeyer 氏^[2]相繼合成了氯化螢光素, 而作为試剂用来檢別有机含氨基化合物, 則首見于 F. Feigl 等氏的报告^{[3][4][5]}, 报告中指出有机含氨基化合物如脂肪族, 芳香族的伯、仲、叔胺 (主要为甲基叔胺) 均能与氯化螢光素在無水氯化鋅的作用下, 縮合成 Rhodamine 型的染料, 其反应式如下:



其他如醯胺类、腈类、杂环族的吡咯类亦均能与氯化螢光素产生类似的有色产物。

經 F. Feigl 等氏的系統研究后, 到目前为止, 有关該方面的研究报告实未多見, 本試驗的目的为:

1. F. Feigl 氏的工作是否可以应用于具体藥物的試驗中。
2. F. Feigl 氏的試管方法是否可改良在点滴板上进行, 以期簡化手續, 提高灵敏度。

实验部分

試剂的制备

1. 氯化螢光素的制备^[6]: 取螢光素^[7]8.5 克, 加 12 克五氯化磷在油浴上 (100—105°C) 加热二小时, 得棕色糖浆状液体, 放冷, 加水 25 毫升, 吸滤, 洗滌, 干燥得粗品約

* 1956 年 12 月 2 日收到。

** 本文承黃鳴駒、胡乃釗教授指教, 螢光檢查部分承苏中武講師指导, 特此致謝。

10 克。

取粗品 10 克，加甲苯 70 毫升，加热溶解，过滤。滤液加乙醇至混浊（約 20 毫升），加热澄清，放冷结晶。再用上法结晶一次，得白色鳞片状结晶，熔点 251.5—252°C（未校），得量 8 克。

2. 氯化鋅盐酸溶液：無水氯化鋅（A.R.）15 克，加水 14 毫升，加濃盐酸（A.R.）1 毫升。

3. 10% 盐酸乙醇溶液：濃盐酸（A.R.）25 毫升，加無水乙醇至 100 毫升。

4. 試品溶液：配制 0.01% 和 0.1% 濃度試品溶液（加濃盐酸 2—3 滴）。

方法

于点滴板上加氯化螢光素約 1 毫克，用微滴管滴加試品溶液 1 滴（約 0.02 毫升），在电热板上蒸干，稍冷，滴加氯化鋅盐酸溶液 1 滴（約 0.04 毫升），加热至干繼至熔融（溫度約在 190°—220°C）。放冷后，滴加盐酸乙醇溶液 2 滴（約 0.1 毫升）溶解之。所得染料溶液滴于滤紙上，俟干后，在紫外光下檢查螢光。

灵敏度的測定

在点滴板的每孔中加氯化螢光素約 1 毫克。用微滴管（每滴 1 毫升/50）滴加 0.005% 試液（每滴含 1 γ ）或 0.01% 試液（每滴 2 γ ），0.05% 試液（每滴 10 γ ），0.1% 試液（每滴 20 γ ）或 0.25% 試液（每滴 50 γ ），使孔中分別含有 1 γ ，2 γ ，4 γ ，5 γ ，8 γ ，10 γ ，15 γ ，20 γ ，25 γ ，30 γ ，40 γ ，50 γ 的試料（孔中試液体积应尽量少），然后在电热板上蒸干，稍冷，滴加氯化鋅盐酸溶液 1 滴（約 1 毫升/25），蒸干，加热至熔融（溫度約在 190°—220°C）。放冷后，滴加盐酸乙醇溶液 2 滴（約 0.1 毫升）溶解之，观察所得顏色和深度，初步决定其灵敏度。

然后再用相同方法，取其初步决定的灵敏度及其附近的量（如灵敏度为 10 γ ，則取 4 γ ，5 γ ，6 γ ，8 γ ，10 γ ，12 γ ，14 γ ，15 γ ），在相同条件下，連續試驗两次或多次，所得結果的顏色和深度基本上一致时，然后决定其灵敏度。

結果和討論

作者选择了 34 种常用的并具各种类型的含氨基和杂环氮藥物（其純度按中国藥典或 B. P., U.S.P.）作試驗，并用 4 种非藥用的有机含氨基化合物和 2 种非藥用的杂环氮化合物以与前法比較，其結果見表 1 及表 2。

分析試驗所得結果及試驗中發現的問題，經更进一步的研究后，有下列几点提出討論：

1. 由于氯化螢光素中之醚鍵極易与酸、盐等产生詳盐^{[3][9]}，故当与無水氯化鋅混合

表 1 与 F. Feigl 氏的結果比較

化 合 物	F. Feigl 氏 方法			改 良 后 的 方 法		
	顏 色 (常光下)	試 驗 限 度	螢 光 (紫外光下)	顏 色 (常光下)	試 驗 限 度	螢 光 (紫外光下)
氯 化 鎳	桃紅	30 γ	黃綠	黃橙	8 γ	煇黃
盐 酸 羥 胺	桃紅	20 γ	黃	褚紅	4 γ	棕黃
苯 二 甲 苯 胺	紫紅	5 γ		紫紅	2 γ	淡藍
乙 醚	紅	40 γ		桃紅	2 γ	淡藍
吡 啶	黃	20 γ	黃	朱黃	8 γ	橙黃
噻 啉	橙	40 γ	黃	杏黃	8 γ	土黃綠
噻 啉	桔黃	45 γ	綠	黃	10 γ	亮綠

时,即使在室温,也極易成銻盐而显黃色,且具亮綠色之螢光。为避免此种現象之干扰,作者曾数次試用其他縮合剂(濃 H_2SO_4 , H_3PO_4 , $AlCl_3$ 等)代替氯化鋅,未获滿意結果。此銻盐在水、乙醇中分解,在盐酸乙醇溶液中仍能存在。

2. 由于氯化螢光素中之氯較一般芳香核上的氯活潑,故与無水氯化鋅熔融时,考虑亦能产生类似于进行費加反应(Friedel and Crafts Reaction)时所生成的复盐^[10],后经实验証实*,此复盐在冷时为棕色固体,热时(110°C)为粘稠状液体,加水分解后可分离得二种物質,一为螢光素,一为树脂状物質,符合于費加反应中的一般复盐性質^[11]。由于上述二点,故在試驗中能以空白試驗相輔助,則易得准确結果。

3. Feigl 氏^[12]曾指出芳香族胺类与氯化螢光素作用所得之 Rhodamine 型染料無螢光現象,借此可与脂肪族胺类区别;作者根据試驗結果認为并非如此,且發現螢光与分子結構間具一定之关系,如磺胺类,对氨基苯甲酸类藥物多具藍色之螢光,苯胺之衍生物多具黃色之螢光,噻啉类藥物多具藍綠色之螢光,吡啶类多具土黃色之螢光等。

4. 根据实验条件分析的結果,作者認为芳香族伯胺極易产生 Rhodamine 型染料,芳香族仲、叔胺与脂肪族各胺类次之,醯胺及杂环氮类是否能产生如上所述完整或类似的 Rhodamine 型染料^[12]尙有待研究。虽然如此,作者認为仍不失为有檢驗价值,惟对某些生物鹼如嗎啡、可待因、毒扁豆鹼等,在試驗时温度可适当的降低,以减少藥品的分解。

- * 取氯化螢光素 1.1 克(約 0.03 克分子)無水氯化鋅 0.8 克(約 0.06 克分子)勻和后,置于試管中,上插溫度計,在电热板上緩緩加热,見混合物逐漸由黃轉棕而液化,在 110°C 左右完全液化,再繼續熱至 190—220°C 时保持 2—3 分鐘,放冷,則得棕色固体,研細后用温水 10 毫升浸漬两次(除去氯化鋅),再用 0.5N 氢氧化鈉溶液 15 毫升浸漬(提取螢光素),所得鹼液用 3N 盐酸酸化,得黃色螢光素沉淀,用水洗滌,干燥,得 0.3 克,測熔点和混合熔点,証示为螢光素。用鹼液提取后之固体,用水洗淨,干燥,得 0.6 克,無一定熔点,150°C 以上呈粘狀,250°C 以上部分开始碳化,似系树脂質。

表 2 33种常用有机含氮基和杂环氮族藥物的試驗結果

藥 物 名 称	最低限度(灵敏度)		适 宜 限 度		發 光 (紫外光下)	
	限 度	顏 色 (常光下)	限 度	顏 色 (常光下)		
	烏洛托平	2γ	橙	4γ	橙紅	橙紅
酰胺类	乙酰苯胺	2γ	檸檬黃	4γ	橙黃	黃綠
	非那西汀	4γ	紫	8γ	藍紫	黃
吡嗪類	安替比林	10γ	淡黃	25γ	黃	橙黃
	匹拉米董	8γ	淡紅	20γ	紅	橙
对 氮 基 苯 甲 酸 类	普魯卡因(HCl)	2γ	桃紅	8γ	紫紅	淡藍
	地卡因(HCl)	4γ	朱黃	15γ	橙紅	土黃
	对氨基水楊酸	4γ	淡紅	10γ	紫紅	淺藍
	对氨基水楊酸鈉	6γ	紅	10γ	紫紅	淺藍
磺 胺 类	磺胺	2γ	淡紅	10γ	櫻紅	藍紫
	磺胺吡啶	4γ	淡紅	12γ	桃紅	藍
	磺胺噻唑	2γ	淡紅	10γ	粉紅	紫藍
	磺胺吡啶	2γ	橙	10γ	橙紅	淺藍
	磺胺脒	4γ	紅	14γ	櫻紅	紫藍
酰 胺 类	巴比妥	10γ	草黃	30γ	草黃	淡黃
	苯基巴比妥	10γ	草黃	30γ	褐黃	黃
	苯妥英	20γ	土黃	40γ	橙黃	黃
酰 肼 类	异烟肼	6γ	橙黃	10γ	褐橙	污黃
吡 啶 类	阿的平	2γ	枯草黃	8γ	暗綠	黃綠
	立凡諾	4γ	黃	10γ	黃棕	亮綠
双 胍 类	氣胍 (HCl)	4γ	橙 色	10γ	棕黃	橙黃
苯 基 脲 胺 类	麻黃素(HCl)	4γ	土黃	8γ	紅黃	黃
	腎上腺素(HCl)	4γ	污黃	10γ	褐	棕黃
氫 化 吡 啶 类	嗎啡(HCl)	4γ	污綠	10γ	灰褐	淡黃
	可待因(H ₂ PO ₄)	6γ	枯草黃	18γ	灰褐	淡黃
噻 咪 类	奎宁(H ₂ SO ₄)	4γ	橙黃	15γ	褐黃	亮綠
托 品 类	阿托品(H ₂ SO ₄)	25γ	土黃	40γ	草黃	土黃
	可卡因(HCl)	20γ	橙黃	40γ	橙黃	淡黃
引 噪 类	士的年(HNO ₃)	4γ	黃	12γ	棕紅	紅黃
	馬錢子	8γ	灰黃	20γ	紫灰	橙
	毒扁豆鹼(水楊酸)	4γ	紫黃	12γ	紫	桔黃
嘧 吩 类	咖啡因	10γ	土黃	25γ	紅橙	橙黃
	柯柯豆鹼	10γ	草黃	20γ	棕黃	黃綠

注：苯妥英，嗎啡因，柯柯豆鹼采用稀酒精(50%)溶液試驗。
 腎上腺素，采用 0.1%針劑，經稀釋后試驗。
 阿的平，氣胍采用片劑，配制成水溶液試驗。

总 結

1. 报告了 34 种常用含氨基和杂环氮藥物对氯化螢光素点滴試驗的結果。
2. 实验証示 Feigl 氏的試管方法可以改良在点滴板上进行，其手續可以簡化，灵敏度一般可提高 2—5 倍。
3. 芳香族伯胺类藥物对氯化螢光素有較高的灵敏度 (2γ — 4γ)，并具显明之顏色，可考虑作为藥物檢定的預試驗。

参 考 文 献

- [1] E. Fischer: *Ber.* 1874, 7, 1212.
 - [2] A. V. Baeyer: *Ann.* 1876, 183, 18.
 - [3] F. Feigl, V. Anger & R. Zappert: *Mikrochemie*, 1934, 16, 67.
 - [4] F. Feigl, V. Anger & R. Zappert: *Mikrochemie*, 1934, 16, 70.
 - [5] F. Feigl, V. Anger & R. Zappert: *Mikrochemie*, 1934, 16, 71.
 - [6] Beilstein: *Organische chemie*, 1934, 19, 147.
 - [7] Vogel: *A Textbook of Practical Organic Chemistry*, 1951, 854.
 - [8] W. Hill: *Chem. Rev.*, 1936, 19, 27.
 - [9] H. Gilman: *Organic Chemistry*, 1938 ed. Vol. II. 1115.
 - [10] N. O. Colloway: *Chem. Rev.*, 1935, 17, 327.
 - [11] Н. Н. Ворожцов: *Основы синтеза промежуточных продуктов и красителей*, 1955, 707.
 - [12] F. Feigl: *Spot Tests*, 1954, 4th ed. Vol. 2. 194.
-

SPOT TEST OF AMINO-CONTAINING AND HETEROCYCLIC NITROGEN CONTAINING DRUGS WITH FLUORESCEIN CHLORIDE

(Abstract)

TU SH.-ZHUNG

(Department of Pharmacy, Army Medical University)

1. The condensation of 34 amino-containing and heterocyclic nitrogen containing drugs with fluorescein chloride to form Rhodamine dyes by means of spot test method was investigated.

2. The method was found to be 2—5 times more sensitive than that of Feigl's test tube method.

3. A series of observations on spot test shows that the condensation between the primary aromatic amines with fluorescein chloride is apt to take place (sensitivity 2—4 μ). It may be applied as a preliminary test for the detection of amino-containing or heterocyclic nitrogen containing drugs.