

反相离子对 HPLC 法测定洋金花类生药 中的东莨菪碱和阿托品

金 斌 金蓉鸾 何宏贤

(生药学教研室)

关键词 洋金花;曼陀罗属;东莨菪碱;阿托品;反相离子对 HPLC

洋金花为茄科曼陀罗属植物白曼陀罗 *Datura metel* 等多种植物的花,具平喘止咳、镇痛、解痉功效,其主要成分为东莨菪碱和阿托品。洋金花商品药材中混有多种曼陀罗属植物的花,通过药材的成分分析对药材鉴定是有参考价值的。有关这类成分的分离及含量测定方法较多^[1-5],1990年版药典采用的中和法只能测总生物碱,对不同种的洋金花的东莨菪碱和阿托品含量比较尚未见报道。我们用反相离子对 HPLC 法比较了7种(变种)洋金花中的东莨菪碱和阿托品的含量。测定方法准确、灵敏度高、简便快速、重现性好,可用于药材定量分析。

1 仪器与试剂

岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪,SPD-6AV 检测器,C-R 3A 记录仪;Zorbax ODS(250 mm×4.6 mm)柱,Rheodyne 705-SNR 进样器;氢溴酸东莨菪碱和硫酸阿托品均为 E. Merck 公司产品。药材除白曼陀罗由苏州药材公司提供,其它为各地采集的,并经金蓉鸾教授鉴定学名。

2 方法与结果

2.1 实验条件

2.1.1 流动相 含0.01 mol/L 辛烷磺酸的醋酸盐缓冲液(0.2 mol/L 醋酸,0.2 mol/L 醋酸钠,pH 3.8±0.05)-乙腈(65:35),流速1 ml/min。

2.1.2 仪器参数 UV λ 254 nm,灵敏度0.04 AUFS,衰减2,柱温为室温,纸速3 mm/min。

2.2 标准品液及样品液制备

2.2.1 标准品液制备 分别取经105℃烘干至恒重的氢溴酸东莨菪碱 W_s 和硫酸阿托品 W_A 适量,精密称定,并将它们换算成游离碱 B_s 和 B_A , $B_s = W_s \times 0.6921$, $B_A = W_A \times 0.8329$,分别用甲醇定容至5 ml。

2.2.2 样品液制备 分别取7种(变种)洋金花约1 g,精密称定,置50 ml 碘量瓶中,加甲醇20 ml 湿润后,分别超声振荡40 min,过滤,回收甲醇;残渣用0.5 mol/L 醋酸2 ml 溶解,置50 ml 分液漏斗中,分别用氯仿10,5 ml 二次萃取。弃去氯仿层,母液用0.5 mol/L 氢氧化钠碱化至 pH 9-10,再分别用氯仿10,5,5 ml,萃取三次,合并萃取液,回收氯仿,残渣用5 ml 甲醇定容后,过0.45 μ m 滤膜。

2.3 结果

2.3.1 分离度 根据上述所选的层析条件,东莨菪碱(S)和阿托品(A)的分离情况见图1,保留时间分别为7.1±0.05 min,9.4±0.05 min,分离度1.85。

2.3.2 重现性试验 A 与 S 两标准混合液,按上述条件,重复进样10次,结果 A 与 S 的变异系数分别为0.55%,0.88%。

2.3.3 线性范围与回归方程 S: 0.04021—0.4021 μ g/ μ l, $y = 44.02 + 523.3x$, $r = 0.9998$;

A: $0.0217-0.217 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $y=32.95+385.6x$, $r=0.999$, y 为峰高, x 为浓度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)。

2.3.4 提取方法精密度试验 分别称取白曼陀罗三份各约1 g,精密称定,按样品液制备项下,进行平行试验,结果测得东莨菪碱的平均值0.149%,标准差0.00328,变异系数2.2%;阿托品的含量为0.034%,标准差0.00115,变异系数3.3%。

2.3.5 回收率试验 按样品液制备项下,除另加东莨菪碱1.608 μg 和阿托品0.868 μg 外,余同法操作,结果加样回收率,东莨菪碱为98.28% ($n=6$),变异系数2.40%;阿托品为103.13% ($n=6$),变异系数2.47%。

1.3.6 样品分析 采用峰高一浓度(即绝对标准曲线法),对上述7种(变种)进行分离定量,色谱图见图1,样品含量见表1。

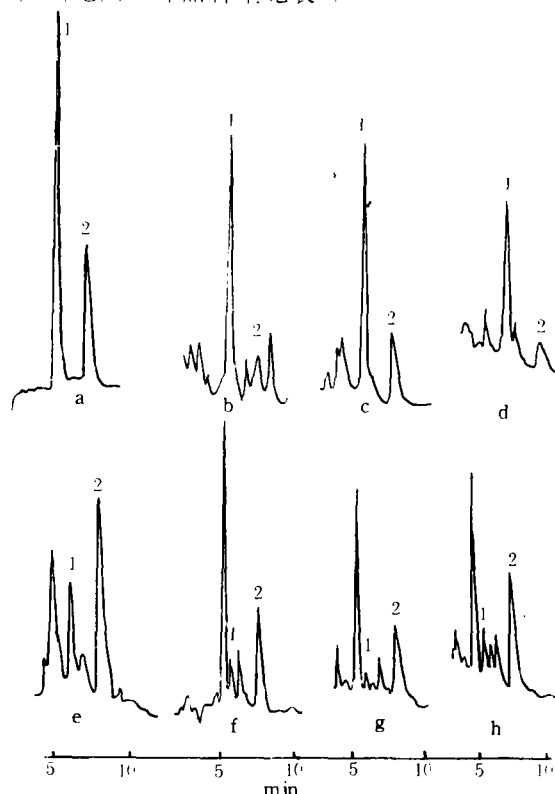


Fig 1. Chromatogram of standard and samples

a. scopolamine and atropine; b. *Datura metel*; c. *D. metel* cv. *ovata*; d. *D. arborea*; e. *D. unguis*; f. *D. stramonium* var. *stramonium*; g. *D. stramonium* var. *luteola*; h. *D. stramonium* var. *inermis*; 1. scopolamine; 2. atropine

Tab 1. The contents (%) of scopolamine (S) and atropine (A) in Yangjinhua, $n=3$

Name	Market	S	CV, %	A	CV, %
<i>Datura metel</i>	Jiangsu Shuzhou	0.146	4.40	0.034	3.98
<i>D. metel</i> cv. <i>ovata</i>	Shandong Binghai	0.075	3.75	0.034	4.56
<i>D. arborea</i>	Yunnan Jinghong	0.025	5.22	trace	
<i>Dunocua</i>	Shandong Jinan	0.035	1.75	0.091	1.87
<i>D. stramonium</i> var. <i>stramonium</i>	Anhui Haoxian	0.008	2.60	0.059	4.06
<i>D. stramonium</i> var. <i>luteola</i>	Shandong Qingdao	trace		0.067	3.76
<i>D. stramonium</i> var. <i>inermis</i>	Jiangsu Zhiwuyuan	0.031	4.84	0.099	4.13

3 讨论

样品前处理,先后采用了 Sep-pak C_{18} ,硅胶、氧化铝系列预柱,结果均不理想。本文所采用超声振荡一次提取,方法简便,回收率较好。

不同种植物东莨菪碱和阿托品的含量差异很大。以白曼陀罗的东莨菪碱含量最高,天刺曼陀罗的托品含量最高,木本曼陀罗中的阿托品和紫花曼陀罗中的东莨菪碱含量均很低。以东莨菪碱含量为主的植物有白曼陀罗、重瓣白曼陀罗、木本曼陀罗,以阿托品含量为主的植物有无曼陀罗、曼陀罗、紫花曼陀罗、无刺曼陀罗。重瓣白曼陀罗为一栽培变种,产量高,花期长,是洋金花的一个很好资源。

致谢 丛晓东同志在实验中给予帮助。

参考文献

- 徐礼桑,刘爱茹. 洋金花中生物碱的超微量滴定法, 药物分析杂志, 1985; 5(4):240
- 叶崇义,张时行. 洋金花药材中东莨菪碱、莨菪碱的气相色谱测定法, 中草药, 1981; 12(11):493-8
- 何丽一. 托品类生物碱的薄层分离及光密度法测定, 中草药, 1982; 13(2):61
- Paphassarang S, Raynaud J. Analyses qualitatives et quantitatives de la hyoscyamine-atropine et de la scopolamine dans les teintures meres de Solanacees par chromatographie liquide haute performance. *J Chromatogr*, 1985; 319:412
- Duez P, Chamart S. Comparison between thin-layer chromatography densitometry and high-performance liquid chromatography for the determination of hyoscyamine and hyoscyne in leaves, fruit and seeds of *Datura* (*Datura* spp.). *J Chromatogr*, 1985; 329:415

Determination of Scopolamine and Atropine in Yangjinhua by Reversed-Phase Ion-Pair HPLC

Jin Bin, Jin Rongluan, He Hongxian

Department of Pharmacognosy

RP Ion-Pair HPLC was applied to isolate and determine the content of scopolamine and atropine from flowers of *Datura metel*, *D. metel* cv. *ovata*, *D. arborea*, *D. innoxia*, *D. stramonium* var. *stramonium*, *D. stramonium* var. *tatula*, *D. stramonium* var. *inermis*. The results indicate that the content of scopolamine in *D. metel* and the content of atropine in *D. arborea* and the content of scopolamine in *D. stramonium* var. *tatula* are the lowest. Scopolamine is the main content in *D. metel*, *D. metel* cv. *ovata*, *D. arborea*, while atropine is the dominant in *D. innoxia*, *D. stramonium* var. *stramonium*, *D. stramonium* var. *tatula*, *D. stramonium* var. *inermis*.

Key words Yangjinhua; *Datura*; Scopolamine; Atropine; Reversed-phase ion-pair HPLC

【文摘036】甘草及其炮制品中甘草酸含量测定方法

刘成基, 刘利根, 张清华等. 中药材, 1991; 14(1): 31

采用薄层层析-光密度法及紫外分光光度法对甘草及其炮制品(蜜炙, 清炒)中的甘草酸含量进行了测定。薄层光密度法测定波长 λ_s 260 nm, λ_R 400 nm; 平均回收率为 98.9%, CV 为 2.1% (n=5)。紫外分光光度法测定波长为 252 nm, 平均回收率为 100.6%, CV 为 1.5% (n=5)。本法快速、稳定、分析效果好。

【文摘037】短葶山麦冬的药理活性研究 余伯阳, 殷霞, 徐国钧等. 中药材, 1991; 14(4): 37

为对短葶山麦冬 *Liriope muscari* 进行开发利用, 本文报道了其免疫作用的实验观察。与药典品种麦冬 *Ophiopogon japonicus* 对照, 两者的免疫促进作用和抗缺氧活性近似, 均能显著延长小鼠存活时间、增加小鼠的脾脏重量及增强小鼠的碳粒廓清作用, 而对小鼠血清中溶血素产生的影响无显著作用。

【文摘038】六味地黄汤及其配伍对 L-T₁ 模型血浆中核苷酸含量的影响 蒋莹, 赵陆华, 严永清等. 中药药理与临床, 1990; 6(3): 1

给小鼠皮下注射 L-甲状腺素(L-T₁) 0.6 mg/d, 能显著增加血浆中 cAMP、cGMP 含量, 但对 cA/cG 比值无显著影响。在 L-T₁ 模型基础上, “全方”及“三泻”不能对抗被 L-T₁ 增加的 cAMP, 而对被上升的 cGMP 含量能使其显著下降, “三补”则能对抗被 L-T₁ 增加的 cAMP 使其含量降至与空白对照组相近水平。“全方”提高模型小鼠的 cA/cG 比值, 但与空白对照组没有显著变化, “三

补”、“三泻”对模型动物的 cA/cG 比值无显著影响。

【文摘039】当归补血汤对红细胞免疫功能的影响 马世平, 瞿融, 杭秉茜等. 中药药理与临床, 1990; 6(4): 4

本文以红细胞 C_{3b} 受体酵母菌花环和红细胞免疫复合物花环试验, 比较了当归补血汤及其组成药物对红细胞免疫功能的影响。复方能显著提高小鼠红细胞免疫功能以及清除免疫复合物, 并能对抗免疫抑制剂的作用, 而单味当归、黄芪的作用不如全方。

【文摘040】绞股蓝及其复方对家蝇的延寿抗衰作用研究 季晖, 龚国清, 徐献本. 中药药理与临床, 1990; 6(4): 17

绞股蓝及其与黄精、首乌等组成的复方, 分别在 0.5% 和 1% 的浓度对雌雄家蝇的半数存活时间、平均寿命和最高寿命均有延长作用。1% 绞股蓝及其复方能使家蝇脑内超氧化物歧化酶活性显著升高, 丙二醛含量显著降低。比较复方与单方作用, 复方均优于单方。

【文摘041】生脉散的药动学研究 李耐三, 曹于平, 沈子龙. 中药药理与临床, 1990; 6(5): 6

本文采用 ⁸⁶Rb 示踪法测定生脉散口服液对小鼠冠脉血流量的影响, 小鼠口服生脉散后, 心肌对 ⁸⁶Rb 摄取显著增加, 根据生脉散对 ⁸⁶Rb 摄取的时效关系和量效关系, 求得药动学参数。消除速率常数 K=0.018 min⁻¹, 体内半衰期 t_{1/2}=38 min, 吸收峰时间约在 50—60 min。