

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 金蓉莺 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 仪器与试药

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, 并经金蓉莺教授鉴定学名。

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°C 烘干至恒重的氢溴酸东莨菪碱 Ws 和硫酸阿托品 WA 适量, 精密称定, 并将它们换算成游离碱 Bs 和 BA, $Bs = Ws \times 0.6921$, $BA = WA \times 0.8329$, 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 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 μm 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 μg/μl, $y = 44.02 + 523.3x$, $r = 0.9998$;

收稿日期 1990-11-28

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—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。

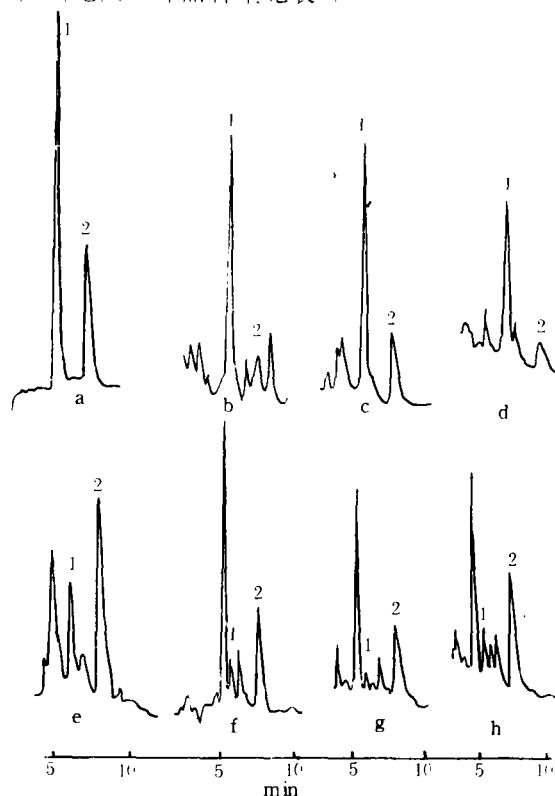


Fig 1. Chromatogram of standard and samples
 a. scopolamine and atropine; b. *Datura metel*; c. *D. metel* cv. *orata*; d. *D. arborea*; e. *D. unoxia*; f. *D. stramonium* var. *stramonium*; g. *D. stramonium* var. *tatula*; h. *D. stramonium* var. *inermis*; 1. scopolamine; 2. atropine

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

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>orata</i>	Shandong Binghai	0.075	3.75	0.034	4.56
<i>D. arborea</i>	Yunnan Jinghong	0.025	5.22	trace	
<i>D. unoxia</i>	Shandong Jinan	0.035	1.75	0.091	1.87
<i>D. stramonium</i>	Anhui Haoxian	0.008	2.60	0.059	4.06
var. <i>stramonium</i>					
<i>D. stramonium</i>	Shandong Qingdao	trace		0.067	3.76
var. <i>tatula</i>					
<i>D. stramonium</i>	Jiangsu Zhiwuyuan	0.031	4.84	0.099	4.13
var. <i>inermis</i>					

3 讨 论

样品前处理, 先后采用了 Sep-pak C₁₈, 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

- 徐礼燊, 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. 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 mères 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 hyoscyine 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. *orata*, *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. *orata*, *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

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 *Uphragogon 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-T₄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-T₄) 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-T₄模型基础上, “全方”及“三泻”不能对抗被 L-T₄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-T₄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, 罗融, 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、黄芪的作用不如复方。

【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(1): 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】生脉散的药动力学研究 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 摄入的时效关系和量效关系, 求得药动学参数。消除速率常数 $K = 0.018 \text{ min}^{-1}$, 体内半衰期 $t_{1/2} = 38 \text{ min}$, 吸收峰时间约在 50—60 min。