

HPLC 测定蒙药曼陀罗子中东莨菪碱的含量

薛培凤, 陈玉荣, 青梅^{*}, 杨慧(内蒙古医学院药学院, 呼和浩特 010059)

摘要: 目的 建立曼陀罗子中东莨菪碱的含量测定方法。方法 色谱柱为 Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。乙腈-水(含 0.07 mol·L⁻¹ 磷酸钠和 0.017 5 mol·L⁻¹ 十二烷基硫酸钠, 0.5%磷酸, 0.1%三乙胺)(37:63)为流动相, 检测波长为 216 nm。结果 东莨菪碱在 0.038 1~0.190 5 mg·mL⁻¹ 内呈良好的线性, $r=0.999\ 9$; 平均回收率为 97.0%, RSD 为 0.93%。结论 该方法简便、灵敏、准确、重复性好, 可作为曼陀罗子的质量控制标准。

关键词: 曼陀罗子; 东莨菪碱; 含量测定; 高效液相色谱法

基金项目: 内蒙古政府蒙药现代化重大研究专项蒙药材质量标准化资助项目(MX2005ZB015)

作者简介: 薛培凤, 女, 博士, 教授 Tel: (0471)6653136 E-mail: xpfdc@vip.sina.com *通信作者: 青梅, 女, 副教授 Tel: (0471)6653152 E-mail: qingmei409@yahoo.com.cn

Determination of Scopolamine in *Datura stramonium* by HPLC

XUE Peifeng, CHEN Yurong, QING Mei*, YANG Hui(School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method of determination of scopolamine in *Datura stramonium*. **METHODS** Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was employed. Mobile phase was the mixture of acetonitrile and Na₃PO₄ buffer (contains 0.07 mol·L⁻¹ Na₃PO₄, 0.017 5 mol·L⁻¹ SDS, 0.5% H₃PO₄, 0.1% trithylamine)(37 : 63). **RESULTS** A good linearity of scopolamine was achieved in the range of 0.038 1–0.190 5 mg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$). The average recovery of scopolamine was 96.97% and RSD was 0.93%. **CONCLUSION** This method is simple, sensitive, accurate with good reproducibility, and can be used for the quality control of *Datura stramonium*.

KEY WORDS: *Datura stramonium*; scopolamine; determination; HPLC

曼陀罗子为茄科曼陀罗属植物曼陀罗(*Datura stramonium* L.)^[1]的干燥成熟种子, 别名山大麻籽, 一年生大型草本, 广泛分布于全国各地。中药用该植物花、全草、种子, 据 1985 年版中国药典^[2]和本草纲目^[3]记载, 曼陀罗具有平喘、止咳、解痉、镇痛、麻醉等作用, 可用于治疗关节痛、哮喘、咳嗽、胃肠痉挛、神经性偏头痛、跌打损伤等症^[4]。蒙药用种子, 有解痉、消“奇哈”、止痛、杀虫等功效, 主治痒虫病、神经性偏头痛、牙痛、胃痉挛、“虫痧”症、癫狂、癫痫等症^[5]。目前尚无蒙药曼陀罗子的质量控制标准, 严重限制了该蒙药的生产 and 临床应用。因此, 本试验对蒙药曼陀罗子的含量测定方法进行研究, 旨为其质量控制提供科学依据。

根据曼陀罗属现有化学研究结果, 曼陀罗子中含有东莨菪碱等生物碱类化合物, 现代药理学证明东莨菪碱具有多种药理活性, 如有显著的中枢抑制作用和抗胆碱作用^[5]。东莨菪碱为曼陀罗子中的生物活性成分, 其含量高低与该蒙药的药效具有直接的关系, 因此选择东莨菪碱作为含量测定的指标, 采用高效液相法(HPLC)对其进行了含量测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

依利特高效液相色谱仪(P230 高压恒流泵, 紫外-可见检测器, EC2000 色谱数据处理系统); AB135-S 电子天平(METTLER-TOLEDO)。

1.2 试剂与试药

氢溴酸东莨菪碱对照品(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 100049-200308); 乙

腈(Fisher 公司), 色谱纯, 水为市售娃哈哈纯净水, 其他试剂试药均为分析纯。

1.3 样品来源

曼陀罗子药材于 2006 年 9 月—10 月分别采于呼和浩特市保全庄、内蒙古农业大学东区、呼和浩特市学府花园、内蒙古农业大学西区、呼和浩特市西古楼, 由本院药用植物学教研室青梅教授鉴定为茄科植物曼陀罗(*Datura stramonium* L.)的干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(含 0.07 mol·L⁻¹ 磷酸钠和 0.017 5 mol·L⁻¹ 十二烷基硫酸钠, 0.5%磷酸, 0.1%三乙胺)(37 : 63); 柱温: 室温; 检测波长: 216 nm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷干燥过夜的氢溴酸东莨菪碱对照品 7.62 mg, 加流动相定容至 10 mL, 作为对照品储备液。取 1 mL 储备液, 加流动相稀释至 10 mL, 得到 0.076 2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

称取干燥的曼陀罗子粉末约 1 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加 2 mL 浓氨水浸润 1 h, 再加入三氯甲烷 30 mL, 加热回流 3 h, 放冷, 滤过, 回收溶剂至干, 残渣用流动相溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 专属性试验

取上述对照品溶液、供试品溶液、流动相各 20 μL, 分别进样, 按“2.1”项下色谱条件, 记录色谱图, 见图 1。结果流动相色谱图在东莨菪碱保

留时间处未显示色谱峰,表明流动相无干扰,本方法专属性良好。

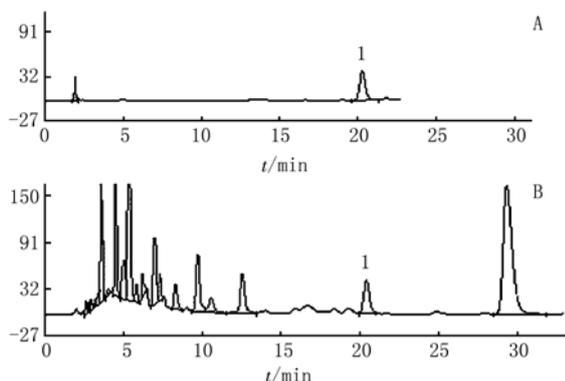


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-样品; 1-氢溴酸东莨菪碱

Fig 1 HPLC chromatogram

A-reference substance; B-samples; 1-scopolamine hydrobromide

2.5 线性关系

分别精密吸取上述对照品储备液 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成不同浓度的对照品溶液。

分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 20 μ L, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以峰面积对浓度进行回归, 求得回归方程为 $Y=13\ 018X-21.604$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明, 东莨菪碱在 0.038 1~0.190 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积呈良好线性关系。

2.6 仪器精密度试验

取同一供试品溶液, 每次进样 20 μ L, 连续进样 5 次, 由峰面积求得 RSD 为 1.2%, 表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液分别于 0, 1, 1.5, 4, 5, 9, 24 h 进样 20 μ L 测定, 由峰面积求得 RSD 为 1.7%, 表明样品 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

取 5 份同一批干燥的曼陀罗子粉末各约 1 g, 精密称定, 分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 取 20 μ L 进样测定, 由标准曲线计算实际含量, 并求得 RSD 为 2.0%, 表明该方法重复性良好。

2.9 加样回收试验

精密称取 5 份已知东莨菪碱含量(0.039%)的曼陀罗子粉末各约 0.5 g, 分别加入氢溴酸东莨菪碱标准品约 0.201 mg, 分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 取 20 μ L 进样, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果平均加样回收率为 97.0%, RSD 为 0.93%。

2.10 样品含量测定

按上述方法对 5 批不同产地的曼陀罗子样品, 通过外标法测定东莨菪碱的含量, 结果见表 1。

表 1 5 批曼陀罗子药材中东莨菪碱的含量测定结果($n=3$)

Tab 1 Content of scopolamine in *Datura stramonium* from five different origins($n=3$)

样品编号	产地	采集时间	东莨菪碱的含量/%
1	呼和浩特市南郊保全庄	2006.09.25	0.039
2	内蒙古农业大学东区	2006.09.23	0.049
3	呼和浩特市学府花园	2006.09.24	0.065
4	内蒙古农业大学西区	2006.09.23	0.084
5	呼和浩特市西古楼	2006.10.08	0.060

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

参照中国药典 2010 年版一部^[6]洋金花含量测定项下方法以不同比例乙腈-0.07 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钠溶液(含 0.017 5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠), 用磷酸调 pH 值至 6.0 为流动相测定, 结果峰形不够理想。为了改善峰形, 通过固定水相中磷酸的含量(0.5%)并改变流动相中乙腈和水相的比例, 峰形有所改善, 但还不够理想, 拖尾比较严重, 故在水相中加入 0.1%三乙胺进行测定, 结果表明峰形良好。因此, 确定流动相为乙腈-水(含 0.07 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钠和 0.017 5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠, 0.5%磷酸, 0.1%三乙胺)(37:63), 柱温为室温。

3.2 检测波长的选择

参照中国药典 2010 年版一部^[6]洋金花含量测定项下东莨菪碱 HPLC 测定的检测波长, 选择 216 nm 作为检测波长。

3.3 供试品溶液制备方法的确定

3.3.1 提取溶媒的选择 东莨菪碱为生物碱类成分, 按经典的生物碱提取方法, 考察了酸水、乙醇、三氯甲烷 3 种溶媒, 结果, 酸水提取效率最高, 色谱图简单, 色谱分离度较好, 峰形良好, 但酸提取后过滤特别困难, 不便于操作且重现性差, 三氯甲烷和乙醇提取后过滤容易, 且三氯甲烷提取效率高于乙醇, 故选择三氯甲烷作为提取溶媒。

3.3.2 提取方法的选择 比较了超声提取 30 min 和回流提取 2 h 两种方法, 结果回流提取效率高。

3.3.3 提取溶媒用量的选择 比较了 20, 30, 40 mL 三氯甲烷回流提取 2 h, 结果 30 mL 和 40 mL 的提取效率相差不大, 故选择 30 mL。

3.3.4 提取时间的选择 比较了 30 mL 三氯甲烷回流提取 2, 3, 4 h, 结果 3 h 即可提净样品中东莨菪碱。

本试验建立了 HPLC 测定曼陀罗子中东莨菪碱含量, 本法操作简便, 重复性好, 为曼陀罗子的质量控制提供了实验依据。

REFERENCES

[1] Editorial Committee of Flora of Inner Mongolia. Flora of Inner Mongolia(内蒙古植物志) [M]. Vol 4. 2nd ed. Hohhot: Inner

Mongolia People's Publishing House, 1992: 265-267.

[2] Ch.P(1985)Vol I (中国药典 1985 年版. 一部) [S]. 1985: 228.

[3] LI Shizhen[Ming]. Compendium of Mater Medica(本草纲目) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1979: 1211.

[4] Revolutionary Committee of Inner Mongolia Autonomous Region Health Bureau. Inner Mongolia, Chinese Herbal Medicine(内蒙古中草药) [M]. Hohhot: Inner Mongolia Autonomous Region People's Publishing House, 1972: 288.

[5] ZHU Yamin. Inner Mongolia Herbal Chi(内蒙古植物药志) [M]. Vol 3. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1993: 4-7.

[6] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 250.

收稿日期: 2010-04-21