

# 戒毒康酊剂中氢溴酸东莨菪碱及总生物碱的含量测定

徐强, 章曙丹, 冯瑛(浙江省中药研究所, 杭州 310023)

**摘要:** 目的 测定中药戒毒康酊剂中氢溴酸东莨菪碱及总生物碱的含量。方法 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 分离测定氢溴酸东莨菪碱, 流动相: 以甲醇-0.02 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸钠溶液(含 0.02% 三乙胺和 0.3% 四氢呋喃, 用冰醋酸调 pH 到 6.2) 梯度洗脱; 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 206 nm。采用酸性染料比色法测定戒毒康中的总生物碱, 0.2% 溴百里香酚兰溶液显色, 420 nm 处测得吸光度。结果 氢溴酸东莨菪碱在 1.0~5.0 μg 内呈良好的线性关系( $r=0.999\ 6$ ); 平均回收率为 98.8%, RSD 为 2.29%( $n=6$ )。总生物碱在 0.04~0.2 mg 内呈良好的线性关系( $r=0.999\ 8$ ); 平均回收率为 97.6%, RSD 为 2.06%( $n=6$ )。结论 本方法简便、快速、准确、专属性强, 可作为戒毒康酊剂的检验方法。

**关键词:** 氢溴酸东莨菪碱; 高效液相色谱法; 总生物碱

中图分类号: R943.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)07-0673-04

## Determination of Scopolamine Hydrobromide and Total Alkaloid in Jiedukang Tincture

XU Qiang, ZHANG Shudan, FENG Ying(*Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for determination of contents of scopolamine hydrobromide and total alkaloid in Jiedukang tincture. **METHODS** A Diamonsil C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used to isolate and determine scopolamine hydrobromide. The mobile phase was methanol-0.02 mol·L<sup>-1</sup> NaAc solution (with 0.02% triethylamine and 0.3% tetrahydrofuran, adjusted to pH 6.2 by HAc). The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 206 nm. Total alkaloids in Jiedukang tincture were determined with acid dye colorimetry. 0.2% Bromothymol blue was used as the dye reagent and the wavelength was set at 420 nm. **RESULTS** The linear range of scopolamine hydrobromide was 1.0~5.0 μg with a good correlation ( $r=0.999\ 6$ ). The average recoveries was 98.8% with RSD of 2.29%( $n=6$ ). The total alkaloids showed good linearity within the range of 0.04~0.2 mg( $r=0.999\ 8$ ), the average recoveries was 97.6% with RSD of 2.06%( $n=6$ ). **CONCLUSION** The method established is sensitive, accurate and can be used for determination of scopolamine hydrobromide

作者简介: 徐强, 男, 高级工程师

Tel: (0571)85229644

E-mail: xuqer@163.com

中药新药戒毒康酊剂系由洋金花、延胡索等中药经提取加工制成的酊剂，是一种兼具非阿片受体激动药对症处理和中枢抑制药剥夺意识两种功能的高效戒毒中药<sup>[1]</sup>。洋金花、延胡索两味中药的主要有效成分都是生物碱。洋金花中的氢溴酸东莨菪碱通常采用高效液相色谱法进行测定<sup>[2]</sup>。本试验针对成分复杂、分离困难的中成药，采用梯度洗脱的流动相测定戒毒康酊剂中的氢溴酸东莨菪碱含量，并以离子对比色法测定总生物碱含量。

## 1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); KQ-100DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); PE Lambda 20 型紫外可见分光光度计(美国珀金埃尔默公司); 甲醇(色谱纯, 上海振兴化工一厂), 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)。

## 2 氢溴酸东莨菪碱的测定

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 以甲醇-0.02 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸钠溶液(含 0.02% 三乙胺和 0.3 % 四氢呋喃, 用冰醋酸调 pH 到 6.2)为流动相进行梯度洗脱, 0~30 min 为(24 : 76), 30~45 min 为(50 : 50), 45~50 min 为(24 : 76); 检测波长: 206 nm; 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。在此条件下, 氢溴酸东莨菪碱与其他组分达到基线分离, 阴性无干扰。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取真空干燥至恒重的氢溴酸东莨菪碱对照品适量, 加乙醇溶解, 制成浓度为 0.20 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 作为对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

取本品 50 mL, 挥去乙醇, 加入 20 mL 水溶解, 加氨水调 pH 至 9, 转移至分液漏斗中, 用三氯甲烷萃取 5 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣用乙醇 5 mL 溶解, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

### 2.4 阴性样品的制备

取缺洋金花阴性样品 20 mL, 按“2.3”项下方法处理, 按上述色谱条件分析。结果表明阴性样品对氢溴酸东莨菪碱的测定无干扰, 见图 1。

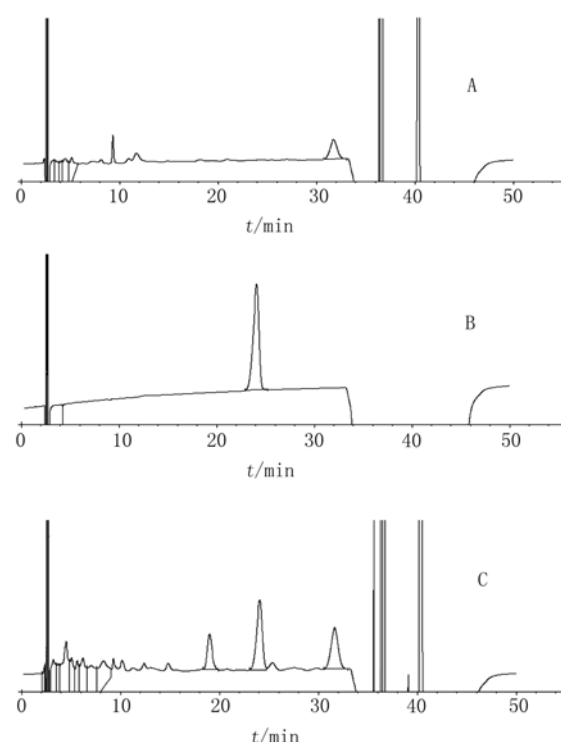


图 1 高效液相色谱图

A-阴性样品; B-对照品; C-供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A-negative sample; B-control; C-sample

### 2.5 线性范围考察

精密称取氢溴酸东莨菪碱对照品 5 份, 分别加乙醇适量溶解并定容, 得浓度分别为 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 进样测定。以峰面积为纵坐标, 氢溴酸东莨菪碱对照品的质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为  $A=525.35C+38.14$ ,  $r=0.9996$ 。结果表明氢溴酸东莨菪碱在 1.0~5.00 μg 内呈良好的线性关系。

### 2.6 仪器精密度试验

取同一对照品溶液(0.20 mg·mL<sup>-1</sup>)重复进样测定 5 次, 氢溴酸东莨菪碱的峰面积 RSD 为 1.04 %, 结果表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进行测定, 结果氢溴酸东莨菪碱的峰面积 RSD 为 1.22%, 表明供试品在 24 h 内稳定。

### 2.8 重复性试验

取同一批样品, 平行 6 份, 按“2.3”项下方法处理, 进样测定。结果氢溴酸东莨菪碱平均含

量为 0.038 7 mg·mL<sup>-1</sup>, RSD 为 2.80%, 结果表明重复性良好。

### 2.9 回收率试验

精密量取一已知含量的供试品(090620)6 份, 分别精密添加氢溴酸东莨菪碱对照品溶液(0.2 mg·mL<sup>-1</sup>)2.0 mL, 挥去乙醇, 按“2.3”项下方法处理, 进样测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

| 已知量/<br>mg | 加入量/<br>mg | 测得量/<br>mg | 回收率/<br>% | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% |
|------------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 0.387      | 0.400      | 0.797      | 102.5     |             |           |
| 0.387      | 0.400      | 0.783      | 99.0      |             |           |
| 0.387      | 0.400      | 0.773      | 96.4      |             |           |
| 0.387      | 0.400      | 0.773      | 96.4      | 98.8        | 2.29      |
| 0.387      | 0.400      | 0.783      | 99.0      |             |           |
| 0.387      | 0.400      | 0.785      | 99.5      |             |           |

### 2.10 样品测定

取样品(批号: 091015, 091017, 091019), 按“2.3”项下方法处理, 进样测定, 3 批样品中氢溴酸东莨菪碱的含量分别为: 35.26, 38.44, 37.31 μg·mL<sup>-1</sup>(n=2)。本品每 1 mL 含氢溴酸东莨菪碱(C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>), 不得少于 0.035 mg, 且不多于 0.040 mg。

## 3 总生物碱的测定

本品中的洋金花和延胡索均含有大量的生物碱, 测定总生物碱对控制本品的工艺及质量均很有必要。本试验采用酸性染料比色法测定戒毒康中的总生物碱<sup>[3-4]</sup>。

### 3.1 对照品溶液的制备

取干燥至恒重的氢溴酸东莨菪碱约 10 mg, 精密称定, 移入 50 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀。即得浓度为 0.2 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。

### 3.2 供试品溶液的制备

取供试品溶液 1 mL, 加入乙醇定容至 5 mL, 备用。

### 3.3 标准曲线的制备

取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 挥去乙醇, 各加入醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 6.0) 10.0 mL 溶解, 分别置分液漏斗中, 加入 0.2%溴百里香酚兰溶液 1.0 mL, 再分别加入三氯甲烷 10.0 mL, 振摇提取 3 min, 静置分层, 分取三氯甲烷溶液, 以三氯甲烷为空白对照, 于 420 nm 处测定吸光度, 计算标准曲线得:  $A=0.9855X-0.0197$ ,

$r=0.9998$ 。结果表明线性关系良好。

### 3.4 空白试验

直接取醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 6.0)10.0 mL, 置分液漏斗中, 加入 0.2%溴百里香酚兰溶液 1.0 mL, 再加入三氯甲烷 10.0 mL, 振摇提取 3 min, 静置分层, 分取三氯甲烷溶液, 以三氯甲烷为空白对照, 于 420 nm 处测得吸光度为 0.06(n=3), 对测定基本无干扰。

### 3.5 仪器精密度试验

取同一对照品溶液, 在紫外分光光度仪上测定 6 次, 结果吸光度 RSD 为 0.52%, 表明仪器精密度良好。

### 3.6 重复性试验

取同一批次供试品, 平行 6 份, 按上述方法测定, 结果总生物碱的平均含量为 0.51 mg·mL<sup>-1</sup>, RSD 为 2.89%。

### 3.7 回收率试验

精密量取已知含量的供试品(090620)6 份, 分别精密加入氢溴酸东莨菪碱对照品(浓度为 0.2 mg·mL<sup>-1</sup>)1.0 mL, 挥去乙醇, 按“3.2”项下方法制成供试品溶液, 依法进行测定, 计算回收率; 结果平均回收率为 97.6%, RSD 为 2.06%(n=6)。

### 3.8 样品测定

分别精密量取供试品溶液 0.5 mL, 氢溴酸东莨菪碱对照品溶液 0.5 mL, 挥去乙醇, 各加入醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 6.0)10.0 mL 溶解, 分别置于分液漏斗中, 加入 0.2%溴百里香酚兰溶液 1.0 mL, 再分别加入三氯甲烷 10.0 mL, 振摇提取 3 min, 静置分层, 分取三氯甲烷溶液, 以三氯甲烷为空白对照, 置紫外可见分光光度计中, 于 420 nm 处测定吸光度, 以氢溴酸东莨菪碱计算, 即得。3 批样品中总生物碱的含量分别为: 0.51, 0.49, 0.52 mg·mL<sup>-1</sup>(n=2)。

## 4 讨论

本试验考察了流动相乙腈-0.07 mol·L<sup>-1</sup>磷酸钠溶液(含 0.0175 mol·L<sup>-1</sup>十二烷基硫酸钠, 用磷酸调节 pH 至 6.0)、甲醇-0.02 mol·L<sup>-1</sup>醋酸钠溶液(含 0.02%三乙胺和 0.3%四氢呋喃, 用冰醋酸调 pH 到 6.2)以不同比例等度洗脱<sup>[2,5]</sup>, 结果分离度和保留时间都不理想。最后采用以甲醇-0.02 mol·L<sup>-1</sup>醋酸钠溶液(含 0.02%三乙胺和 0.3%四氢呋喃, 用冰醋酸调 pH 到 6.2)为流动相进行梯度洗脱。结果峰形、分离度及保留时间都较好。

由于戒毒康酊剂是液体制剂, 提取时采用挥去乙醇后加入水溶解, 加氨水调 pH 至 9, 三氯甲烷萃取的方法。该方法提取的杂质较少, 色谱峰形较好。

## REFERENCES

- [1] MAO P J, JIN Z H, JIN J, et al. Effect of Jiedukang on morphine dependence withdrawal contraction in isolated guinea pig ileum [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27 (11): 964-967.
- [2] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 188.
- [3] LIU P, XIN X, MA H L. Content determination of total alkaloids in tab. Yuanhu zhitong by ion-pair colorimetry [J]. Acta Acad Med Hubei(湖北医科大学学报), 2000, 21(3): 196-198.
- [4] HOU S G, GU X X, WANG S Y. Determination of scopolamine and atropine in Flos Daturae by RP-HPLC [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 31(13): 1065-1066.
- [5] JIN B, JIN R L, HE H X. Content determination of total alkaloids in Hindu Datura flower by acid dye colorimetry [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 1995, 20(11): 651-652.

收稿日期: 2010-08-18