

· 化学与分析 ·

复方制剂中洋金花药材的筛选和质量控制

霍务贞, 吴燕红, 李苑新, 朱盛山*

(广东药学院中药开发研究所, 国家中管局三级实验室, 广州 510006)

[摘要] 目的: 对不同产地洋金花中东莨菪碱及其他特征成分的含量进行比较分析, 为药材选择和制剂质量控制提供参考。方法: 采用高效液相色谱法, 对色谱图进行分析, 并以氢溴酸东莨菪碱为对照品, 对各峰含量及百分率进行分析。结果: 不同产地间洋金花中东莨菪碱的含量差异较大, 海南的洋金花中东莨菪碱含量是广西的 1.953 倍; 其他特征成分的含量也有较大差异, 以 5 个特征成分的总和计算的百分比含量中, 海南的洋金花是广西的 1.687 倍。结论: 应用高效液相含量测定及指纹图谱的方法对有毒中药洋金花的质量进行控制是可行的。

[关键词] 洋金花; 东莨菪碱; 指纹图谱; 质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0066-04

Component Analysis and Content Comparison in Daturae Flos for the Control of Quality in Compound Preparation

HUO Wu-zhen, WU Yan-hong, LI Yuan-xin, ZHU Sheng-shan*

(Research and Development Institute of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University/Class III Laboratory of Modern Chinese Medicine Preparation, SATCM, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To make a comparative study of daturae flos from different habitats. **Method:** HPLC was used to determine the content of scopolamine and other characteristic compositions. **Result:** The content of scopolamine and other composition in daturae flos from different habitats were more different, the content of scopolamine in daturae flos from Hainan province was 1.953 times that from Guangxi province. There is also a big difference in other compositions, the total quantity of five characteristic compositions of Hainan province was 1.687 times that from Guangxi province. **Conclusion:** The method can be used for the quality control of daturae flos, and the analysis of fingerprint is workable for quality evaluation.

[Key words] daturae flos; scopolamine; fingerprint; quality evaluation

洋金花为茄科植物白曼陀罗 *Datura metel* L. 的干燥花。历版药典均有收载, 性温、味辛, 有毒; 功能止咳平喘、解痉定痛, 用于哮喘咳嗽、脘腹冷痛、风

湿痹痛、小儿慢惊; 外科麻醉等^[1]。洋金花含生物碱 0.47% ~ 0.75%, 其中东莨菪碱 (scopolamine) 为主^[2,3], 东莨菪碱作用基本上与阿托品相似, 中枢镇静及抑制腺体分泌及散瞳作用均较阿托品强, 能竞争性阻断 M 胆碱受体, 对腺体、眼、平滑肌、心脏、中枢等有兴奋作用^[4], 东莨菪碱有显著的中枢抑制、麻醉作用, 一般剂量就能消除情绪激动, 使人产生倦意, 进入无梦的睡眠状态, 产生“健忘”等症, 严重者嗜睡、昏迷, 最后死于呼吸中枢抑制或麻痹, 呼吸和循环衰竭^[5-6]。作为一种有毒中药材, 其质量控制不仅应确保最低含量以保证药效, 也应注意其高含量时带来的副作用的风险。因此, 本课题比较了广

[收稿日期] 20121018(001)

[基金项目] “十二五”国家重大新药创制专项(2011ZX09102-011-01); 广东省科技厅项目(2011A030100009)

[第一作者] 霍务贞, 硕士, 助研, 从事新药开发与质量标准研究, Tel: 020-39352540, E-mail: huowz@163.com

[通讯作者] *朱盛山, 学士, 教授, 从事新药开发与药物新剂型研究, Tel: 020-39352540, E-mail: zhush3@163.com

东、广西、海南、云南 4 个省份 12 个批次洋金花中东莨菪碱的含量,并对其 HPLC 色谱指纹进行分析比较,为更好地控制洋金花饮片及其制剂的内在质量提供了科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪系列(G1312A 二元泵、G1329A 自动进样器、G1315B-DAD 检测器,美国安捷伦),BP211D 型电子分析天平(Sartorius, 瑞士),EPED-10TJ 型实验室纯水器(南京易普易达科技发展有限公司),KQ-500M 型超声清洗器(东莞科桥超声波设备有限公司)。

1.2 试药 乙腈为色谱纯试剂,水为 EPED-10TJ 实验室纯水器制备的超纯水,其他试剂均为分析纯。氢溴酸东莨菪碱对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 100049-200308)。

1.3 洋金花药材 广东、广西、云南、海南产共 12 批次均有由广州采芝林药业有限公司采购部友情提供,以上 12 批次经广东药学院朱盛山教授鉴定为茄科植物白曼陀罗的干燥花。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 取氢溴酸东莨菪碱对照品适量,精密称定,加乙腈配制成每 1 mL 分别含 0.263 mg 的对照品溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取洋金花药材,烘干,粉碎,取药材粉末约 1 g,精密称定,置锥形瓶中,加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,滤过,滤渣和滤器用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL 分数次洗涤,合并滤液和洗液,用浓氨水调 pH 9,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷,回收溶剂至干,残渣用流动相溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得^[7]。

2.2 色谱条件及系统适用性试验 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.07 mol·L⁻¹ 磷酸钠(含 0.017 5 mol·L⁻¹ 十二烷基硫酸钠,用磷酸调 pH 6.0)(50:100),检测波长 216 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按氢溴酸东莨菪碱峰计算 >3 000。在上述色谱条件下,分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,供试品与氢溴酸东莨菪碱对照品相同的保留时间有一对应色谱峰,以氢溴酸东莨菪碱计算,理论塔板数 >3 000^[7]。

2.3 标准曲线 精密吸取上述对照品溶液 0.5, 1,

4, 8, 12, 16, 20 μL 进样,测定其峰面积积分值,以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,氢溴酸东莨菪碱回归方程为: $A = 795.15C - 0.1625$ ($r = 0.9999$)。结果表明氢溴酸东莨菪碱在 0.131 5 ~ 5.26 μg 具有良好的线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液,按上述色谱条件重复进样 6 次,按上述色谱条件,测定其峰面积积分值 RSD 0.30%,表明精密度良好。

2.5 重复性试验 按拟定的含量测定方法,对同一批次样品制备供试液,平行做 6 份,每份进样 3 次,测得峰面积并计算每份平均含量,6 份样品平均含量 RSD 2.05%,表明本法重复性较好。

2.6 稳定性试验 取刚制备的同一供试品溶液,按上述色谱条件测定 6 次,于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样,测定其峰面积积分值 RSD 1.36%,表明本品在 12 h 内稳定性较好。

2.7 回收率实验 取同一批次洋金花药材(测含量为 0.339 5%) 6 份,每份 0.5 g,分别置锥形瓶中,加入 $2.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢溴酸东莨菪碱对照品溶液 0.8 mL,再加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,滤过,滤渣和滤器用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL 分数次洗涤,合并滤液和洗液,用浓氨水调 pH 9,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷,回收溶剂至干,残渣用流动相溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。依法测定含量,计算回收率。

表 1 东莨菪碱加样回收率结果($n = 3$)

No.	样品中的量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 %	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.781	1.760	3.515	98.52		
2	1.740	1.760	3.450	97.15		
3	1.700	1.760	3.374	95.10	97.57	1.935
4	1.839	1.760	3.531	96.12		
5	1.707	1.760	3.422	97.48		
6	1.803	1.760	3.582	101.0		

2.8 含量测定 取广东、广西、海南、云南 4 个省份^[8-9] 12 批次洋金花进行东莨菪碱的含量,按 2.1.2 项下方法制备供试液,每批次样品取样 3 份,按 2.2 项下色谱条件测定,结果按《中国药典》2010 年版一部洋金花项规定:东莨菪碱质量 = 氢溴酸东莨菪碱 / 1.445, 求算各样品东莨菪碱含量,结果见表 2。

表 2 12 个批次洋金花东莨菪碱含量 (n=3)

省份批次	东莨菪碱/%	平均含量/%
广西洋金花 1	0.115 9	0.122 8
广西洋金花 2	0.132 5	
广西洋金花 3	0.120 1	
广东洋金花 1	0.234 9	0.230 7
广东洋金花 2	0.239 2	
广东洋金花 3	0.217 9	
云南洋金花 1	0.204 5	0.204 5
云南洋金花 2	0.206 0	
云南洋金花 3	0.203 1	
海南洋金花 1	0.241 7	0.241 0
海南洋金花 2	0.236 7	
海南洋金花 3	0.244 7	

由表中数据可以看出,不同产地间洋金花中东莨菪碱的含量差异较大,而同一产地不同批次间含量差异较小,产地为海南的洋金花中东莨菪碱含量是广西的 1.953 倍,提示在选择药材时应注意产地的差异,以保证制剂中东莨菪碱的含量相对恒定。

表 3 12 批次洋金花 5 个特征成分以东莨菪碱计的含量比较 (n=3)

省份批次	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	总含量	平均含量
广西洋金花 1	0.011 1	0.002 2	0.009 4	0.167 5	0.062 2	0.252 4	0.271 3
广西洋金花 2	0.010 3	0.003 9	0.013 6	0.191 4	0.067 1	0.286 3	
广西洋金花 3	0.009 7	0.003 9	0.013 4	0.173 6	0.074 8	0.275 4	
广东洋金花 1	0.012 9	0.004 2	0.013 7	0.339 5	0.065 6	0.436 0	0.437 8
广东洋金花 2	0.011 9	0.004 3	0.014 8	0.345 7	0.075 2	0.452 0	
广东洋金花 3	0.011 1	0.004 3	0.014 6	0.314 9	0.080 6	0.425 5	
云南洋金花 1	0.006 8	0.004 8	0.019 2	0.295 5	0.036 3	0.362 6	0.377 7
云南洋金花 2	0.006 8	0.005 2	0.019 9	0.297 6	0.061 4	0.390 8	
云南洋金花 3	0.006 5	0.003 7	0.015 7	0.293 5	0.060 3	0.379 7	
海南洋金花 1	0.008 8	0.005 0	0.010 3	0.349 2	0.083 4	0.456 7	0.457 6
海南洋金花 2	0.008 9	0.005 7	0.013 7	0.342 1	0.081 6	0.452 1	
海南洋金花 3	0.007 7	0.006 7	0.013 9	0.353 6	0.085 2	0.467 1	

表 4 洋金花 5 个特征成分相对东莨菪碱的含量比较 (n=3)

样品名	峰 1	峰 2	峰 3	东莨菪碱峰	峰 5	总含量
广西	5.852	1.866	6.823	100.0	38.45	152.98
广东	3.600	1.287	4.321	100.0	22.23	131.4
云南	2.274	1.536	6.171	100.0	17.81	127.8
海南	2.433	1.672	3.625	100.0	23.95	131.68

从表 4 可以看到,东莨菪碱含量是 5 个特征成分含量最高,除广西产的外,都超过总碱的 50%,其他 4 个特征峰的含量多寡 4 个产地都一致,依次为峰 5 > 峰 3 > 峰 1 > 峰 2。每个特征峰相对东莨菪碱的百分含量不一样:峰 5 含量相当于东莨菪碱的

数据表明,以 5 个特征成分的总和计算的百分比含量中,海南的洋金花是广西的 1.687 倍,产地间的含量差异比较大。由于药材中的其他生物碱也具有药效和毒理作用,因此,质量控制中对其他特征成分的含量也应加以监控^[10]。

3 讨论

HPLC 色谱条件参考《中国药典》2010 年版一部洋金花含量测定方法进行,经本课题组实际操作及不同产地药材含量有不同,本课题采用对照品浓度是药典的一半浓度,即可获得较好基线及实验效果。

从图 1 可见,同一产地洋金花药材的 HPLC 图谱基本一致,4 个产地洋金花药材的 HPLC 图谱都有 5 个共有特征峰。从表 3 含量测定结果看,12 批次的洋金花中东莨菪碱含量以及以东莨菪碱计的其他特征峰的含量批次之间波动小于产地之间的波动,可以看出产地对洋金花药材中东莨菪碱含量影响较大,选择药材时应以产地为主。

17.81% ~ 38.45%, 峰 3 含量相当于东莨菪碱的 3.625% ~ 6.823%, 峰 1 含量相当于东莨菪碱的 2.274% ~ 5.852%, 峰 2 含量相当于东莨菪碱的 1.287% ~ 1.866%。

从表 2 可以看到,洋金花药材中 4 个特征成分含量并不是随着东莨菪碱的含量高而相应高,但东莨菪碱占总碱的百分含量高,所以东莨菪碱的含量直接影响总生物碱的含量,4 个产地的 5 个特征峰的总量与东莨菪碱含量一致,依次为海南 > 广东 > 云南 > 广西。

目前尚无法做到对洋金花中每个特征成分都进行含量测定,但从实验结果来看,这些特征成分对洋

ICP-OES法与EDTA直接滴定法测定 含石膏方剂中钙离子含量研究

李晓晶¹, 马强², 盛振华³, 葛尔宁³, 苏燕^{1*}

(1. 内蒙古科技大学包头医学院基础学院, 内蒙古包头 014060;

2. 中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院生物医学工程学系, 北京 100005;

3. 浙江中医药大学分析测试中心, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 通过对比EDTA直接滴定法和ICP-OES法测定钙标准液、单煎石膏药液、白虎汤、麻杏石甘汤和竹叶石膏汤同一样品中Ca²⁺溶出量差异, 探讨复方汤剂中有机基底等因素对EDTA直接滴定法测定复方药液中Ca²⁺溶出量的影响程度并建立一种可信的测定方剂中Ca²⁺溶出量的方法。方法: 通过对比EDTA直接滴定法和微波消解-ICP-OES法测定钙标准液、单煎石膏药液、白虎汤、麻杏石甘汤和竹叶石膏汤同一样品中Ca²⁺溶出量。结果: EDTA直接滴定法与ICP-OES法测定钙标准液结果间无显著差异, 两方法测定结果相同。两方法测定单煎石膏、白虎汤、麻杏石甘汤和竹叶石膏汤样品中Ca²⁺溶出量结果间差异显著(P < 0.01), EDTA直接滴定法测定结果较ICP-OES法偏大。结论: EDTA直接滴定法测定样品中Ca²⁺溶出量受样品基底复杂程度影响, 影响因素对EDTA直接滴定法测定影响均匀且呈线性关系。EDTA直接滴定法测定复方中Ca²⁺溶出量偏大, 较不适合用于测定中药复方中Ca²⁺溶出量。

[关键词] EDTA直接滴定法; ICP-OES法; 石膏; 含石膏方剂; 方法学比较

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0069-06

[收稿日期] 20120720(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160214); 教育部科学技术研究重点项目(210039); 内蒙古自然科学基金项目(2011MS1132; 200711020913)

[第一作者] 李晓晶, 硕士, 讲师, 从事中药复方有效成分及其变化规律研究, Tel: 0472-7167841, E-mail: jj151a@163.com

[通讯作者] *苏燕, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药复方有效成分及其变化规律研究, Tel: 0472-7167841, Fax: 0472-7167836, E-mail: synmg@126.com

金花的质量也有着较大影响, 因此, 为保证制剂质量的恒定, 在其质量控制中, 应对这些成分进行指纹图谱的鉴别。

按2010年版药典规定, 洋金花中生物碱以东莨菪碱计应不少于0.15%, 从本实验结果来看, 各个产地的药材均符合规定, 但产地间差距较大。由于东莨菪碱过量会产生毒副作用, 因此在洋金花的质量控制中应对其最高限量做出规定, 以防止由于药材的产地、种植方法、采收年份、贮存处理、提取方法^[11]等的不同而出现的药效和毒副作用的差异。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 250.
[2] 姚士岩, 王海泉. 曼陀罗有效成分的分析[J]. 辽宁大学学报, 1995, 21(1): 99.
[3] 杨炳友, 唐玲, 太成梅. 洋金花化学成分的研究(I)[J]. 2006, 37(8): 1147.

[4] 王乃平, 胡锦涛, 陈长勋. 药理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 65.
[5] 李娆娆, 张志杰, 王祝举. 近60年中药毒副作用及不良反应文献分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 213.
[6] 文乐兮, 魏飞跃. 方剂中药物量-效-毒关系的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(5): 84.
[7] 李晓燕, 霍务贞, 吴燕红, 等. 高效液相色谱法测定喘平滴丸中东莨菪碱的含量[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1402.
[8] 于立军. HPLC法测定不同产地洋金花中东莨菪碱的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(24): 1878.
[9] 马秉智, 朱立平, 鞠海. 不同产地单芽狗脊藤HPLC指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 151.
[10] 李炜, 王海亮, 张静赧. 复方骆驼蓬子软膏质量标准研究[J]. 中成药, 2011, 33(1): 69.
[11] 彭拓华, 钟世顺, 张少俊, 等. 三种提取方法提取洋金花生物碱的比较研究[J]. 中成药, 2012, 34(5): 832.

[责任编辑 顾雪竹]