

高效毛细管电泳法测定罂粟壳中生物碱的含量

王实强 首弟武*

(湖南省中医药研究院中药研究所 长沙 410013)

提 要 采用高效毛细管电泳法测定罂粟壳中可待因、吗啡和罂粟碱的含量,结果表明可待因的加样回收率为96.61%,吗啡为95.90%,罂粟碱为95.37%。方法简便、准确、重现性好,可作为生物碱的质量控制方法。

关键词 高效毛细管电泳法, 罂粟壳, 可待因, 吗啡, 罂粟碱

分类号 O658/R91

1 前言

罂粟壳是药典收载的常用中药之一,所含有效化学成分主要是生物碱,药典标准中只有以磷酸待因、盐酸吗啡和盐酸罂粟碱为化学对照品的薄层鉴别方法。罂粟中阿片类成分的分析报道有高效液相色谱法^[1-3]和薄层扫描法^[4,5]等。本文采用高效毛细管电泳法(HPCE),用外标峰面积法测定罂粟壳中可待因、吗啡和罂粟碱的含量,取得较满意的结果。

2 仪器与试剂

HP-3D 高效毛细管电泳仪购自惠普公司;磷酸可待因、盐酸吗啡和盐酸罂粟碱化学对照品购自中国药品生物制品检定所;罂粟壳药材购自长沙市药材公司;所用化学试剂均为分析纯。

3 方法与结果

3.1 电泳条件

毛细管:直径 $50\mu\text{m}$,长度 54.5cm ,有效长度 56cm ;磷酸缓冲液:pH 7.0,浓度 50mol/L ;电压 25kV ;温度 25°C ;检测波长 $\lambda=212\text{nm}$;进样量为 $15\text{kPa}\cdot\text{s}$ 。在上述条件下,罂粟壳中生物碱的分离较好,见图1。可待因、吗啡和罂粟碱的迁移时间分别为 6.8 、 6.9 和 8.5min 。

3.2 对照品溶液的制备

精确称取磷酸可待因、盐酸吗啡和盐酸罂粟碱对照品适量,用磷酸缓冲液制成 50mg/L (磷酸可待因和盐酸吗啡)、 250mg/L (盐酸罂粟碱)溶液备用。

3.3 样品溶液的制备

取粉碎成粗粉的罂粟壳 5g ,精确称定,置于索氏提取器中。加甲醇适量,在水浴上加热提取至无色(4h)。回收甲醇,残渣用氯仿加热提取2次,每次 20min ,用量 25mL 。合并氯仿液置于蒸发皿中蒸干,

残渣加磷酸缓冲液适量,在水浴上加热 5min ,放冷后过滤至 25mL 量瓶中,加磷酸缓冲液至刻度,摇匀,用 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤即得。

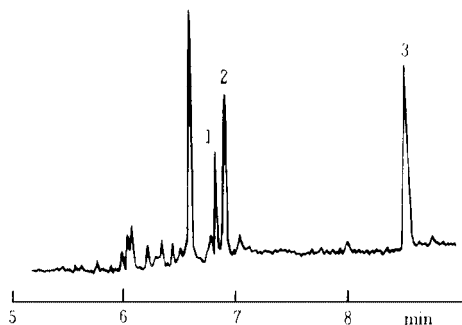


图1 可待因(1)、吗啡(2)和罂粟碱(3)的HPCE图

Fig. 1 HPCE of codeine(1), morphine(2), papaverine(3)

3.4 标准曲线与线性关系

吸取对照品溶液 0.2 、 0.4 、 0.6 、 0.8 和 1.0mL 分别置于 1mL 容量瓶中,加磷酸缓冲液至刻度,摇匀。以对照品浓度 $C(\mu\text{mol/L})$ 为横坐标,对照品峰面积 A 为纵坐标,绘制标准曲线。可待因和吗啡的浓度在 $10\sim 50\text{mg/L}$ 、罂粟碱的浓度在 $50\sim 250\text{mg/L}$ 之间与峰面积成正比关系,见表1。

3.5 加样回收率试验

精确称取上述3种对照品适量,加入已知含量的样品中,依法操作,结果见表2。

3.6 样品测定

取罂粟壳药材5份,每份 5g ,精确称定,按上述方法提取并测定,用外标峰面积法计算罂粟壳中可待因、吗啡和罂粟碱的含量,结果见表3。

4 讨论

(1)生物碱类药物的碱性强,极性大,采用

* 本文收稿日期:1996-04-16,修回日期:1996-08-29

表1 对照品的回归方程和相关系数

Table 1 The regression equation and correlation coefficient of standards

对照品 Standards	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient
磷酸可待因(Codeine phosphate)	$A = 1.1814 + 0.6683C$	0.9999
盐酸吗啡(Morphine hydrochloride)	$A = 1.7799 + 0.8526C$	0.9998
盐酸罂粟碱(Papaverine hydrochloride)	$A = 3.0621 + 0.2832C$	0.9985

表2 可待因、吗啡和罂粟碱的加样回收率

Table 2 The recovery of codeine, morphine and papaverine

对照品(μg) Standard	可待因 Codeine				吗啡 Morphine				罂粟碱 Papaverine			
	353	353	353	353	461	461	461	461	1512	1512	1512	1512
样品(μg) Sample	361.8	359.0	370.1	360.9	454.8	451.1	465.1	453.7	1641	1627	1678	1637
测得值(μg) Detected values	708.7	693.2	712.9	701.2	905.3	902.1	895.4	890.3	3057	3109	3112	3073
回收率(%) Recovery	98.24	94.67	97.11	96.40	97.72	97.83	93.34	94.71	93.65	98.02	94.84	94.97
平均回收率(%) Average recovery	96.61				95.90				95.37			
RSD(%)	1.55				2.33				1.95			

表3 罂粟壳中可待因、吗啡和罂粟碱的含量

Table 3 The contents of codeine, morphine and papaverine in Pericarpium Papaveris

样品(g) Sample	可待因(%) Codeine	吗啡(%) Morphine	罂粟碱(%) Papaverine
5.0812	0.00732	0.00903	0.0331
5.1327	0.00756	0.00931	0.0338
4.9816	0.00709	0.00915	0.0321
5.0014	0.00686	0.00877	0.0319
5.0179	0.00726	0.00910	0.0328
X(%)	0.00721	0.00907	0.0327
RSD(%)	3.62	2.18	2.35

HPLC 分析时, 往往被色谱柱吸附太强, 造成峰形不好, 甚至严重拖尾。一般要通过加入离子对试剂等来改善峰形和分离。罂粟壳中的吗啡和可待因的结构很相似, 极性相差不大, 分离时尤为困难。采用 HPCE 对罂粟壳中的生物碱进行分离, 效果较好(见图1), 吗啡和可待因的峰完全分离, 峰形窄而对称。

(2) 采用 HPCE 法测定生物碱时, 影响分离的主要因素是缓冲液的 pH 值, 本文采用磷酸缓冲液

pH 7, 分离效果较好。当 pH 值大于7时, 不成盐的生物碱被游离出来, 在水溶液中不溶解, 无法进行测定; 而 pH 值小于7时, 虽然生物碱成盐且溶解较好, 但由于 pH 值的降低, 使电渗流(EOF)降低, 迁移时间延长, 使峰形变宽, 分离不理想。

(3) 本方法测定罂粟壳中生物碱的含量具有灵敏度高、快速、简便、专属等特点, 可待因和吗啡是罂粟壳中的主要止咳成分, 但都具有成瘾性, 控制其含量对保证临床用药安全有效、防止成瘾具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- 1 周恒智. 中国药物依赖性通报, 1993; 2(2): 94
- 2 朱霁虹等. 中国药物依赖性通报, 1994; 3(2): 85
- 3 方典谟等. 药物分析杂志, 1986; 6(2): 73
- 4 顾以振等. 药物分析杂志, 1993; 13(4): 236
- 5 张宗仁等. 中国医药工业杂志, 1989; 20(1): 28

Determination of Alkaloids in Pericarpium Papaveris(Yingsuqiao) by High Performance Capillary Electrophoresis

Wang Shiqiang and Shou Diwu

(Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changsha, 410013)

Abstract Codeine, morphine and papaverine in pericarpium papaveris(Yingsuqiao) were determined by HPCE. These three compounds in pericarpium papaveris were entirely separated. The HPCE conditions were as follows: buffer: 50mmol/L phosphate, pH 7.0; $V = 25\text{kV}$; $l_{\text{eff}} = 50\text{cm}$; $L = 64.5\text{cm}$; $i.d. = 50\mu\text{m}$; $\lambda = 212\text{nm}$; $T = 25^\circ\text{C}$; sample size = 15kPa·s. The recoveries of codeine, morphine and papaverine were 96.61%, 95.90% and 95.37% respectively, which shows that this method is simple, accurate and reproducible and can be used for the quality control of the Chinese herbal medicine.

Key words high performance capillary electrophoresis, pericarpium papaveris(Yingsuqiao), codeine, morphine, papaverine