

文章编号: 1000-4025(2002)03-0630-05

山莨菪植物体内 4 种莨菪烷类生物碱含量的变化

张晓峰, 王 环

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘 要: 为了对山莨菪植物资源进行可持续利用, 采用高效液相色谱(HPLC)技术对山莨菪植物体内 4 种莨菪烷类生物碱同时进行了定量测定, 将 4 种生物碱很好地分离开来, 大大缩短了出峰时间; 并对这 4 种生物碱含量随着物候的变化进行了分析研究。研究结果表明: 4 种生物碱含量与物候的关系呈抛物线变化, 樟柳碱在山莨菪植物体内含量最高, 地上部分 4 种生物碱均在花盛期含量最高, 地下部分不同的生物碱含量最高点则对应不同的物候期。

关键词: 山莨菪; 莨菪烷类生物碱; 高效液相色谱

中图分类号: Q 946 88 文献标识码: A

The variation of the contents of four tropane alkaloids in *Anisodus tanguticus*

ZHANG Xiao-feng, WANG Huan

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810001, China)

Abstract: To make full use of *Anisodus tanguticus*, The contents of four tropane alkaloids (anisodine, scopolamine, anisodamine and atropine) in *Anisodus tanguticus* was analyzed by HPLC during the different collecting seasons. The relationship between the four alkaloids and phenology was investigated. The relationship is a parabola. In the aerial part, the four alkaloids all have the highest contents in bloom, however, in the roots, their top points of contents correspond to different phenology's periods.

Key words: *Anisodus tanguticus*; tropane alkaloids; HPLC

山莨菪^[1] (*Anisodus tanguticus* (Maxim.) Pascher) 系茄科植物, 俗称樟柳参, 藏医音译唐冲那保, 分布于西藏东部、青海、四川、云南西北部、甘肃等地。山莨菪作为传统的藏药, 具有麻醉、解痉、镇痛、镇静、解磷中毒等多种功效。其有效成分主要是莨菪烷类生物

收稿日期: 2001-04-10; 修改稿收到日期: 2001-08-27

作者简介: 张晓峰(1954-), 男(汉族), 研究员, 硕士生导师, E-mail: xzfzhang@mail.nwipb.ac.cn

碱^[2], 如东莨菪碱(scopolamine)、山莨菪碱(anisodamine 又称 654)、阿托品(atropine)、樟柳碱(anisodine 又称 703)等。近年来, 采用高效液相色谱分析药材中莨菪烷类生物碱虽有报道^[3-6], 但仅限于其中 1~2 个生物碱。王质彬等^[7]研究了地上部分山莨菪碱和莨菪碱(阿托品)含量与物候的关系, 对樟柳碱和东莨菪碱以及地下部分则没有提及。为了更好地控制药用植物的质量以及保护生物资源, 利用高效液相色谱法将上述 4 种生物碱同时定量测定, 而且对它们在植物体内的含量随着 4 个生长阶段(营养期、花期、果期、种子成熟期)的变化进行了研究。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪: G1322A 拖气机, G1311A 四元泵, G1315A 二极管阵列检测器, 化学工作站。氢溴酸东莨菪碱、氢溴酸山莨菪碱、硫酸阿托品、氢溴酸樟柳碱对照品均出自中国药品生物制品检定所。甲醇色谱纯, 三乙胺、四氢呋喃、冰醋酸、醋酸钠均为分析纯, 水为重蒸水。流动相使用前用 0.45 μm 滤膜过滤。山莨菪于 1998 年采自青海省海北洲。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ ODS 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 以甲醇-水(25:75, 水中含 20 mmol/L 醋酸钠, 0.02% 三乙胺, 0.3% 四氢呋喃, 用冰醋酸调 pH 6.0 左右)为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 215 nm, 参考波长为 245 nm。

2.2 标准品溶液的制备

分别配制樟柳碱、东莨菪碱、山莨菪碱、阿托品的甲醇溶液 1.040 mg/mL、0.300 mg/mL、0.320 mg/mL、0.400 mg/mL, 各吸取 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成混合对照液, 备用。

2.3 样品溶液的制备

分别称取一定量的山莨菪细粉, 加 1.5 mL 氨水使湿润, 加 25 mL 氯仿, 密封, 放置一晚上, 用脱脂棉过滤, 量取续滤液 10 mL, 水浴蒸干氯仿, 残渣加 0.25 mol/L H₂SO₄ 定容至 10 mL, 临用前过滤, 取续滤液备用。

2.4 工作曲线绘制

精密吸取此混合对照液 0.5、1、4、7、10、13 μL 分别进样, 以进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标作工作曲线, 得回归方程分别为: 樟柳碱在 0.052 μg ~1.352 μg 范围内, $Y = 605.25135X - 16.14605$, $r = 0.98681$; 东莨菪碱在 0.015 μg ~0.390 μg 范围内, $Y = 515.37657 + 2.18206$, $r = 0.97360$; 山莨菪碱在 0.016 μg ~0.416 μg 范围内, $Y = 519.22704 + 2.13848$, $r = 0.99556$; 阿托品在 0.020 μg ~0.520 μg 范围内, $Y = 617.18180 - 1.27628$, $r = 0.99346$ 。

2.5 精密度实验

精密吸取混合标准品溶液 2 μL , 反复进样 5 次, 测定峰面积, 樟柳碱、东莨菪碱、山莨菪碱、阿托品的 RSD 分别为 0.785%、0.912%、0.986%、0.824%, 表明精密度良好。

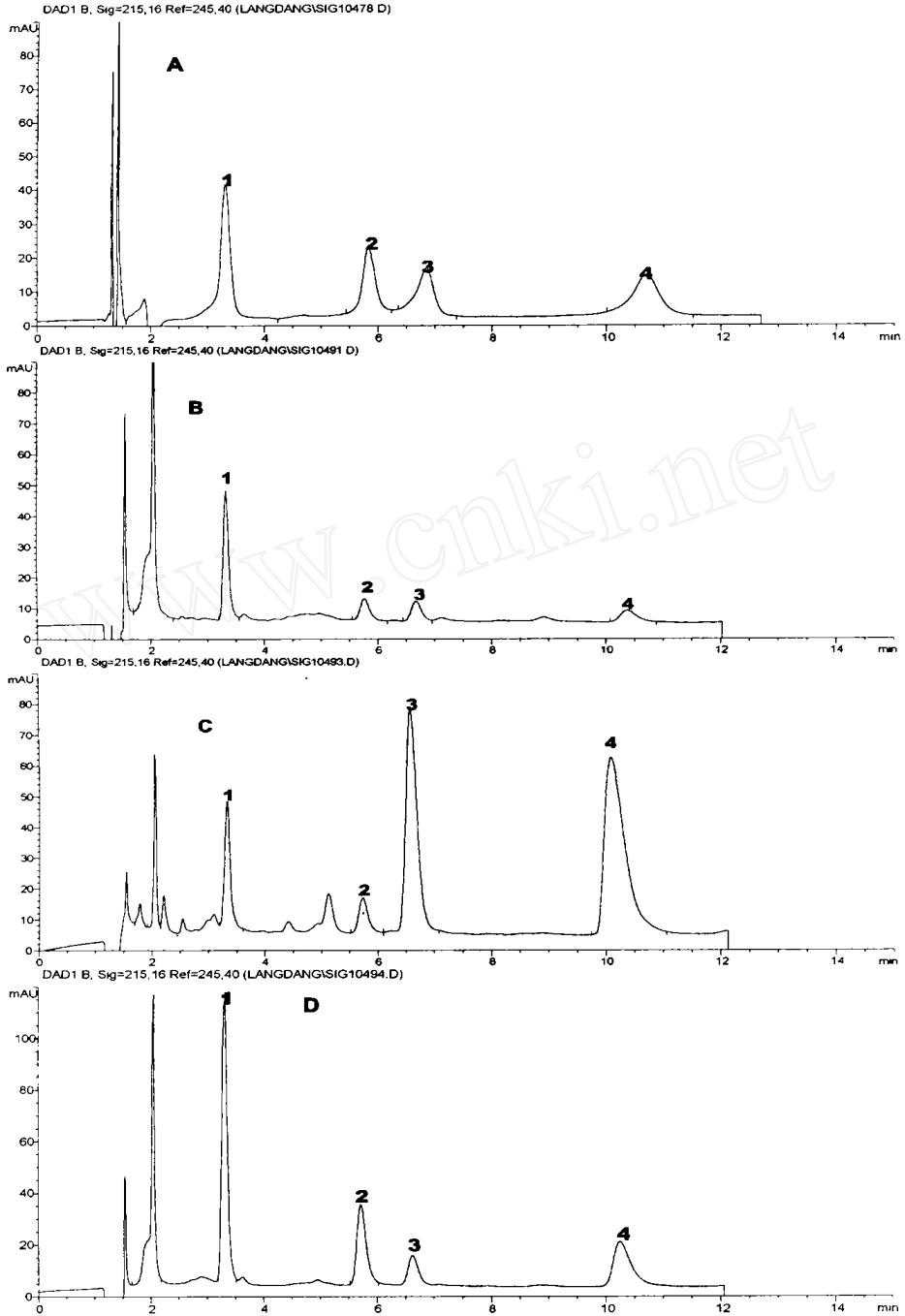


图1 对照品及样品HPLC图

A. 标准品; B. 9月地上部分; C. 9月地下部分; D. 9月种子 1. 樟柳碱; 2. 东莨菪碱; 3. 山莨菪碱; 4. 阿托品

Fig 1 The chromatograms of standard and samples

A. Standard; B. The aerial part in Sep.; C. The roots in Sep.; D. Seeds in Sep.; 1. A nisodine ($t_R = 3.319$ min); 2. Scopolamine ($t_R = 5.801$ min); 3. Anisodamine ($t_R = 6.748$ min);

4. A tropine ($t_R = 10.554$ min)

2.6 回收率实验

精密称取已知含量的山莨菪细粉, 分别加入一定量的对照品, 依 2.3 所用方法提取, 吸取 5 μL 进样, 利用外标法测定含量, 计算加样回收率。结果樟柳碱平均回收率为 96.0%, RSD 为 1.45% ($n=4$); 东莨菪碱平均回收率为 98.1%, RSD 为 1.39% ($n=4$); 山莨菪碱平均回收率为 99.4%, RSD 为 1.26% ($n=4$); 阿托品平均回收率为 101.1%, RSD 为 1.38% ($n=4$)。

2.7 样品的测定

分别精密吸取样品溶液 2 μL 进样, 在上述色谱条件下利用外标法测定, 对照品、样品 HPLC 图谱见图 1A、图 1B、图 1C 和图 1D。测定结果见表 1。

表 1 4 种莨菪烷类生物碱在植物体地上、地下部分含量 (%)

Table 1 Contents of four tropane alkaloids in *Anisodus tanguticus*

生物碱 Alkaloids	部位 Part	5 月 May	6 月 June	8 月 Aug	9 月 Sep.
樟柳碱 Anisodine	地上 Aerial	0.400	1.148	0.350	0.264
	地下 Roots	0.616	0.468	0.900	0.158
	种子 Seeds				0.215
东莨菪碱 Scopolamine	地上 Aerial	0.063	0.304	0.068	0.027
	地下 Roots	0.240	0.018	0.122	0.042
	种子 Seeds				0.112
山莨菪碱 Anisodamine	地上 Aerial	0.139	0.180	0.069	0.027
	地下 Roots	0.263	0.181	0.095	0.326
	种子 Seeds				0.043
阿托品 Atropine	地上 Aerial	0.050	0.069	0.037	0.022
	地下 Roots	0.198	0.212	0.311	0.388
	种子 Seeds				0.095

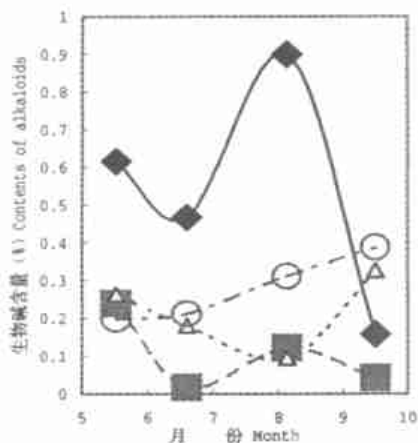


图 2 山莨菪地下部分 4 种生物碱与物候的关系

Fig. 2 The relationship between the four alkaloids and phenology in the roots

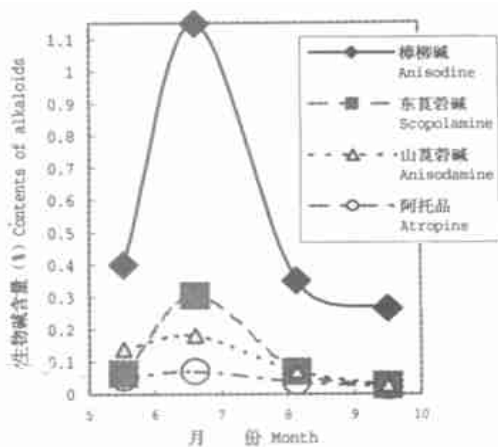


图 3 山莨菪地上部分 4 种生物碱含量与物候的关系

Fig. 3 The relationship between the four alkaloids and phenology in the aerial part

3 讨论

(1) 4种莨菪烷类生物碱含量变化的比较: 对山莨菪植物地上和地下部分中4种莨菪烷类生物碱随着物候的变化进行分析(图2、图3)。结果表明, 地下部分中: 樟柳碱和东莨菪碱在8月初孕籽期含量最高, 二者含量变化峰形一致, 山莨菪碱和阿托品则在9月中旬种子成熟期含量最高, 而且从图2可大体看出, 樟柳碱含量最高, 其次是阿托品, 东莨菪碱则最低。地上部分中: 图形较有规律, 4种生物碱含量与物候期关系呈抛物线, 均在6月中旬该植物花盛期含量最高, 这与王质彬等^[7]的研究结果相似; 地上部分中樟柳碱含量一直高于另外3种生物碱, 阿托品含量则是4种生物碱中含量最低的。地上部分跟地下部分比较, 山莨菪植物地上部分在生长发育的花盛期, 其体内4种莨菪烷类生物碱含量总和明显高于其它物候期, 同时也高于地下部位不同物候期的总生物碱含量。因此, 可利用4种莨菪烷类生物碱含量随物候期的变化趋势, 根据所需要的生物碱来选择采样的时间和采样部位, 避免对山莨菪植物的掠夺性采掘, 对该植物的生物可持续利用具有重要意义。

(2) 在所确定的色谱条件下, 4种莨菪烷类生物碱峰均能与相邻峰很好地分离开来, 比文献^[3-6]至少同时多测了2个生物碱, 且峰形尖锐, 出峰时间大大缩短。此方法快速简便、灵敏、稳定、重现性好, 对山莨菪生药药材的充分利用和质量控制提供了依据。

参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 1991: 142
- [2] 北京医学院, 北京中医学院. 中草药成分化学[M]. 1983: 117-124
- [3] 晁若冰, 伍朝霞. 胶束色谱法分析莨菪生药中托烷生物碱的研究[J]. 药学报, 1991, 26(7): 519-526
- [4] 谢蓝, 池华, 周同惠. 山莨菪碱(654-2)异构体的高效液相色谱法分离[J]. 药学报, 1991, 26(7): 527-530
- [5] 何执静, 何执宁, 王金凤. 高效液相色谱法测定洋金花药材中东莨菪碱的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(3): 174-176
- [6] 王彦. 高效液相色谱法测定氢溴酸樟柳碱含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 254-256
- [7] 王质彬, 吴先琪. 山莨菪植物体内2种生物碱含量的变化[J]. 植物学报, 1979, 21(1): 85-87.