

# 罂粟壳的HPLC指纹图谱建立及其5个成分的含量测定<sup>△</sup>

张晓萍<sup>1\*</sup>, 石晓峰<sup>1,2#</sup>, 张虹艳<sup>1</sup>, 朱仁愿<sup>1</sup>, 张彩霞<sup>1</sup>(1.兰州市食品药品检验检测研究院, 兰州 730050; 2.甘肃省医学科学研究院, 兰州 730050)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)22-2755-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.22.12



**摘要** 目的:建立罂粟壳的指纹图谱,并测定其中吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁等5个成分的含量。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法。以Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>为色谱柱,以甲醇-庚烷磺酸钠溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为238 nm(罂粟碱)、216 nm(吗啡、可待因、那可丁、蒂巴因),柱温为20 ℃,进样量为10 μL。使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立15批罂粟壳药材样品的HPLC指纹图谱并进行相似度评价,结合混合对照品图谱确定共有峰;同法测定罂粟壳中吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁等5个成分的含量。采用SPSS 19.0软件进行聚类分析。结果:15批罂粟壳药材样品中共有13个共有峰,相似度均大于0.99;共指认了5个色谱峰,分别为吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁。聚类分析结果显示,15批罂粟壳药材样品可聚为两类,S1~S7为聚为一类,S8~S15聚为一类,分属2个地市。吗啡等5个成分检测质量浓度的线性范围分别为10.21~102.10、10.43~104.30、1.54~30.70、2.36~47.28、2.32~57.90 μg/mL(*r*均大于0.998);精密度、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于2%;平均加样回收率分别为99.46%(RSD=1.08%,*n*=6)、97.84%(RSD=1.55%,*n*=6)、91.10%(RSD=1.74%,*n*=6)、96.43%(RSD=1.25%,*n*=6)、94.82%(RSD=1.20%,*n*=6);含量分别为2.342 9~4.082 2、0.430 4~0.889 7、0.055 2~0.090 4、0.299 3~0.558 8、0.343 2~0.656 2 mg/g。结论:所建HPLC指纹图谱及含量测定方法简便可行、灵敏准确,结合聚类分析能较好地反映罂粟壳药材中化学成分的特征及内在质量;虽然不同地市产罂粟壳有区划特征,但质量基本稳定。

**关键词** 罂粟壳;指纹图谱;聚类分析;含量测定;高效液相色谱法

## Establishment of HPLC Fingerprint and Content Determination of 5 Components in Papaveris Pericarpium

ZHANG Xiaoping<sup>1</sup>, SHI Xiaofeng<sup>1,2</sup>, ZHANG Hongyan<sup>1</sup>, ZHU Renyuan<sup>1</sup>, ZHANG Caixia<sup>1</sup>(1. Lanzhou Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China; 2. Gansu Academy of Medical Sciences, Lanzhou 730050, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the fingerprint of Papaveris Pericarpium, and to determine the contents of 5 components, such as morphine, codeine, thebaine, papaverine and narcotine. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on a Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted methanol-sodium heptanesulfonate with gradient elution at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength were set at 238 nm (papaverine) and 216 nm (morphine, codeine, narcotine, thebaine). The column temperature was 20 ℃, and sample size was 10 μL. HPLC fingerprints of 15 batches of Papaveris Pericarpium were established by using the *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprints* (2012 edition), and the common peaks were determined in combination with the spectra of mixed control. The contents of morphine, codeine, thebaine, papaverine and narcotine were determined simultaneously by the same method. The cluster analysis was conducted by using SPSS 19.0 software. RESULTS: There were 13 common peaks in 15 batches of Papaveris Pericarpium, and the similarity was greater than 0.99. Five chromatographic peaks were identified, which were morphine, codeine, thebaine, papaverine and narcotin. The results of cluster analysis showed that 15 batches of Papaveris Pericarpium could be clustered into two categories, S1-S7 and S8-S15, belonging to two cities. The linear ranges of five components were 10.21-102.10, 10.43-104.30, 1.54-30.70, 2.36-47.28, 2.32-57.90 μg/mL, respectively (all *r*>0.998). RSDs of precision, stability (24 h) and repeatability tests were all less than 2%. The average recoveries were 99.46% (RSD=1.08%, *n*=6), 97.84% (RSD=1.55%, *n*=6), 91.10% (RSD=1.74%, *n*=6), 96.43% (RSD=1.25%, *n*=6), 94.82% (RSD=1.20%, *n*=6), respectively. The contents of 5 components were 2.342 9-4.082 2, 0.430 4-0.889 7, 0.055 2-0.090 4, 0.299 3-0.558 8, 0.343 2-0.656 2 mg/g. CONCLUSIONS: The established HPLC fingerprint and content determination method is simple, feasible, sensitive and accurate. It combined with the cluster analysis could reflect characteristics and internal quality of chemical components in

Papaveris Pericarpium. Papaveris Pericarpium in different cities possess regionalization characteristics, but its quality is basically stable.

**KEYWORDS** Papaveris Pericarpium; Fingerprint; Clustering analysis; Content determination; HPLC

△ 基金项目:兰州市科技计划项目(No.2019-1-63)

\* 主管中药师,硕士。研究方向:中药质量标准与中药检测技术。电话:0931-2312648。E-mail:187253373@qq.com

# 通信作者:主任药师,博士生导师。研究方向:天然药物化学与中药质量标准。电话:0931-2302664。E-mail:shixiaofeng2005@sina.com

罂粟壳,别名米壳、御米壳、粟壳、烟斗斗、烟果果、罂子粟壳等,为罂粟科植物罂粟 *Papaver somniferum* L. 的干燥果壳,即于秋季将成熟果实或已割取浆汁后的成熟果实摘下、破开、除去种子和枝梗后所得的干燥果壳,具有敛肺、涩肠、止痛的功效,可用于治疗久咳、久泄、脱肛、脱腹疼痛等症<sup>[1]</sup>,是国家麻醉药品目录中收录的唯一的中药饮片<sup>[2-3]</sup>,主要含有生物碱类、糖类及其衍生物等活性成分<sup>[4-5]</sup>。生物碱类成分是罂粟壳中的主要成分,包括吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因等30多种成分,占总含量的0.279%~1.133%<sup>[6]</sup>,其中吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁和蒂巴因是重要的植物源生物碱,也是镇痛药、镇咳药和解痉药的重要成分<sup>[7]</sup>。

目前,关于罂粟壳的非法添加和含罂粟壳中成药中生物碱类成分测定方法的研究较多<sup>[8-12]</sup>,也有罂粟植株不同部位吗啡含量和不同等级罂粟壳有效成分含量测定的报道<sup>[13-14]</sup>。有研究表明,不同的灌水模式及农药的使用等均会造成罂粟壳中化学成分种类及含量的变化<sup>[15-16]</sup>,而2020年版《中国药典》(一部)“罂粟壳”项下仅测定了吗啡的含量,因此有必要对其指纹图谱和主要生物碱的含量进行研究。指纹图谱技术是目前国际公认的中药制剂质量控制技术,具有整体性、模糊性、特征性等特点,可以充分反映出中药复杂体系中各个成分的整体情况<sup>[17-18]</sup>,与化学计量学相结合可以从多个方面综合评价中药的质量,已成为科学评价和合理控制中药质量的有效技术手段<sup>[19]</sup>。基于此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法建立了罂粟壳的指纹图谱,同时测定其所含吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁等5个生物碱类成分的含量,旨在为罂粟壳的质量控制及其科学监管提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有LC-20A型HPLC仪及配套的二极管阵列检测器、LabSolution Version 6.83工作站(日本Shimadzu公司),MS105DU型十万分之一电子天平、ME102/24型万分之一电子天平(瑞士Mettler Toledo公司),IQ7000型超纯水机(德国Merck公司),CQ-500B型数控超声波清洗机(上海跃进医疗器械有限公司),QE-100型粉碎机(浙江屹立工贸有限公司)等。

### 1.2 药品与试剂

吗啡对照品(批号171201-201324,纯度99.1%)、磷酸可待因对照品(批号171203-201306,纯度97.5%,以下简称“可待因”)、蒂巴因对照品(批号171216-201304,纯度100%)、盐酸罂粟碱对照品(批号171214-201205,纯度99.9%,以下简称“罂粟碱”)、那可丁对照品(批号

171224-201304,纯度99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、庚烷磺酸钠、磷酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

15批罂粟壳药材样品(编号S1~S15)为科研用特殊药品,经甘肃省药品监督管理局批准购自甘肃普安康药业有限公司,来源于甘肃农垦集团有限责任公司所辖5个不同农场(FA~FE)。药材采集时间为2020年6~10月,经兰州市食品药品检验研究院张彩霞副主任中药师鉴定为罂粟科植物罂粟 *P. somniferum* L. 的干燥成熟果壳(未割浆)。15批罂粟壳药材样品来源信息见表1。

表1 15批罂粟壳药材样品来源信息

Tab 1 Sample information of 15 batches of *Papaveris Pericarpium*

编号	批号	来源	编号	批号	来源
S1	C12006028	FA农场(武威市)	S9	C12010036	FD农场(金昌市)
S2	C12006029	FA农场(武威市)	S10	C12010037	FD农场(金昌市)
S3	C12006030	FA农场(武威市)	S11	C12010038	FE农场(金昌市)
S4	C12006031	FB农场(武威市)	S12	C12010039	FE农场(金昌市)
S5	C12006032	FB农场(武威市)	S13	C12010040	FE农场(金昌市)
S6	C12007033	FC农场(武威市)	S14	C12010041	FE农场(金昌市)
S7	C12007034	FC农场(武威市)	S15	C12010042	FD农场(金昌市)
S8	C12010035	FD农场(金昌市)			

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 以Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以甲醇(A)-庚烷磺酸钠溶液(B,取庚烷磺酸钠1.01 g,加水溶解,混匀并稀释至1 000 mL,用磷酸调节pH至2.6)为流动相进行梯度洗脱(0~2 min, 15% A; 2~35 min, 15% A→40% A; 35~80 min, 40% A);流速为1.0 mL/min;检测波长为238 nm(罂粟碱)、216 nm(吗啡、可待因、那可丁、蒂巴因);柱温为20 ℃;进样量为10 μL。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取吗啡对照品10.21 mg、可待因对照品10.43 mg、蒂巴因对照品15.35 mg、罂粟碱对照品11.82 mg、那可丁对照品11.58 mg,分别置于10 mL量瓶中,加20%甲醇(含5%乙酸)溶解并定容,得各单一对照品贮备液。分别精密吸取上述各单一对照品贮备液适量,加20%甲醇(含5%乙酸)稀释,制成吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁质量浓度分别为40.47、20.34、7.66、11.81、23.14 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取罂粟壳药材样品粉末(过50~60目筛,下同),约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加20%甲醇(含5%乙酸)25 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz)提取30 min,放冷至室温,滤过,药渣加20%甲醇(含5%乙酸)25 mL同法再提取1次,滤过,合

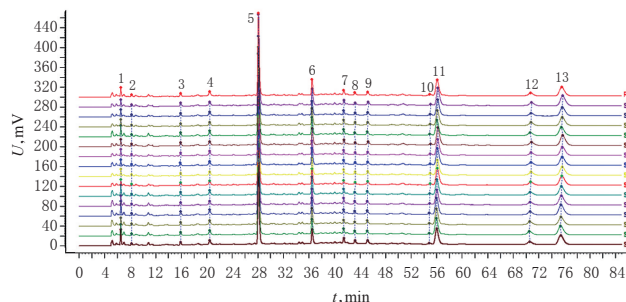
并两次滤液,蒸干,残渣用20%甲醇(含5%乙酸)复溶并定容于25 mL量瓶中,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.4 精密性试验** 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号S1),按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录色谱图。以吗啡的色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,13个共有峰相对保留时间的RSD均小于1.0%( $n=6$ ),相对峰面积的RSD均小于2.0%( $n=6$ ),表明方法精密性良好。

**2.1.5 重复性试验** 精密称取罂粟壳药材样品粉末(编号S1)0.5 g,共6份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以吗啡的色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,13个共有峰相对保留时间的RSD均小于1.0%( $n=6$ ),相对峰面积的RSD均小于2.0%( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

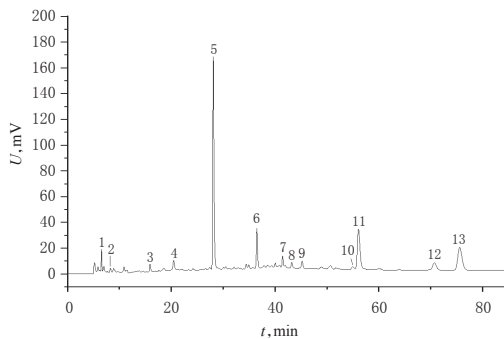
**2.1.6 稳定性试验** 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号S1),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以吗啡的色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,13个共有峰相对保留时间的RSD均小于1.0%( $n=6$ ),相对峰面积的RSD均小于2.0%( $n=6$ ),表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定性良好。

**2.1.7 HPLC 指纹图谱的建立** 精密称取15批罂粟壳药材样品粉末各0.5 g,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图并导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行分析,以S1样品的色谱图为参照图谱,以中位数法生成对照图谱(R),设定时间窗宽度为0.2 s,经多点校正、自动匹配后生成对照指纹图谱和15批罂粟壳药材样品的叠加指纹图谱。结果显示,15批罂粟壳药材样品中共有13个共有峰。15批罂粟壳药材样品的叠加指纹图谱和对照指纹图谱见图1、图2。



**图1 15批罂粟壳药材样品的HPLC叠加指纹图谱**  
**Fig 1 HPLC superimposed fingerprint of 15 batches of Papaveris Pericarpium**

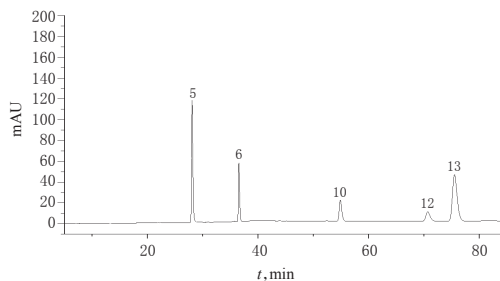
**2.1.8 共有峰的指认** 经与混合对照品(取“2.1.2”项下混合对照品溶液同法测定所得,图3A)进行比对,指认5



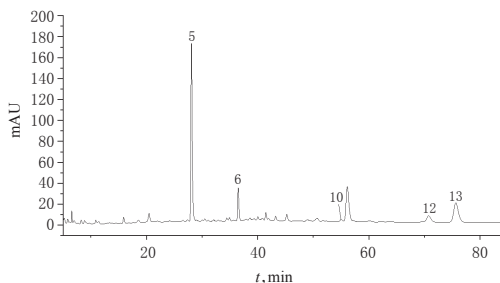
**图2 罂粟壳的对照指纹图谱**

**Fig 2 Reference fingerprint of Papaveris Pericarpium**

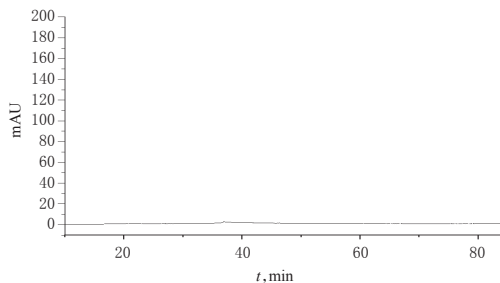
号峰为吗啡、6号峰为可待因、10号峰为蒂巴因、12号峰为罂粟碱、13号峰为那可丁,保留时间分别为28.086、36.491、55.001、70.744、75.629 min。由于吗啡为罂粟壳的主要成分,且其色谱峰出峰稳定,故选择其为参照峰,计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,15批罂粟壳药材共有峰相对保留时间的RSD为0~0.47%,相对峰面积的RSD为0~2.11%。



**A. 混合对照品溶液**



**B. 供试品溶液(编号S1)**



**C. 空白溶液**

注:5.吗啡;6.可待因;10.蒂巴因;12.罂粟碱;13.那可丁

Note: 5. morphine; 6. codeine; 10. thebaine; 12. papaverine; 13. narcotine

**图3 系统适用性试验的HPLC图**

**Fig 3 HPLC chromatograms of system suitability test**

2.1.9 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行分析,计算15批罂粟壳药材样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度。结果显示,相似度分别为0.997、0.996、0.995、0.993、0.998、0.997、0.999、0.998、0.993、0.996、0.995、0.997、0.996、0.996、0.995,提示15批罂粟壳药材样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度较高,表明不同地区产罂粟壳药材的色谱特征相似,其化学成分组成大致相同、质量稳定、差异较小。

## 2.2 聚类分析

以15批罂粟壳药材中13个共有峰的峰面积为变量,采用SPSS 19.0软件,使用组间联结法以欧氏平方距离为测度进行聚类分析。结果显示,15批罂粟壳药材样品可聚为两类,S1~S7为聚为一类,来源于FA、FB、FC农场;S8~S15聚为一类,来源于FD、FE农场。15批罂粟壳药材样品的聚类分析树状图见图4。

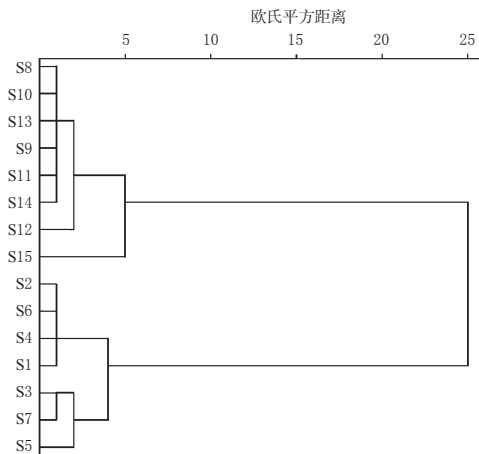


图4 15批罂粟壳药材样品的聚类分析树状图

Fig 4 Dendrogram of cluster analysis of 15 batches of Papaveris Pericarpium

## 2.2 吗啡等5个成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 同“2.1.1”项。

2.2.2 溶液的制备 混合对照品溶液的制备同“2.1.2”项,供试品溶液的制备同“2.1.3”项。以20%甲醇(含5%乙酸)为空白溶液。

2.2.3 系统适用性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液(编号S1)、空白溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,在供试品溶液中,吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因的色谱峰保留时间与混合对照品溶液一致,将保留时间一致的色谱峰进行紫外光谱比对,峰纯度均大于0.99;各色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于1.5,理论板数以吗啡计均不低于10 000,空白溶液对测定无干扰。系统适用性试验的HPLC图见图3。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.1.2”项下吗啡对照品贮备液50、100、200、250、500  $\mu\text{L}$ ,可待因对照品

贮备液50、100、200、250、500  $\mu\text{L}$ ,蒂巴因对照品贮备液5、10、25、50、100  $\mu\text{L}$ ,罂粟碱对照品贮备液10、20、50、100、200  $\mu\text{L}$ ,那可丁对照品贮备液10、20、50、100、250  $\mu\text{L}$ ,置于5 mL量瓶中,用20%甲醇(含5%乙酸)稀释至刻度,制成系列质量浓度的线性工作溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分的质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、其峰面积的积分值( $Y$ )为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

表2 吗啡等5个成分的回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range of 5 components such as morphine

待测成分	回归方程	$r$	线性范围, $\mu\text{g}/\text{mL}$
吗啡	$Y=38\ 540X+73\ 984$	0.999 5	10.21~102.10
可待因	$Y=30\ 290X+126\ 486$	0.998 8	10.43~104.30
蒂巴因	$Y=29\ 203X-25\ 276$	0.999 9	1.54~30.70
罂粟碱	$Y=44\ 650X+37\ 750$	0.999 9	2.36~47.28
那可丁	$Y=74\ 580X+95\ 498$	0.999 0	2.32~57.90

2.2.5 精密度试验 取“2.2.2”项下混合对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁峰面积的RSD分别为0.09%、0.10%、1.80%、0.14%、0.11% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S1),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁峰面积的RSD分别为0.10%、0.15%、1.58%、0.98%、0.87% ( $n=6$ ),表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密称取罂粟壳药材样品粉末(编号S1)0.5 g,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品中各成分的含量。结果显示,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁的平均含量分别为3.582 5、0.874 8、0.099 5、0.553 8、0.559 5 mg/g,RSD分别为0.68%、0.92%、1.25%、0.98%、1.02% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取罂粟壳药材样品粉末(编号S1),共6份,每份约0.4 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,分别精密加入“2.1.2”项下吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁对照品贮备液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁的平均加样回收率为91.10%~99.46%,RSD为1.08%~1.74% ( $n=6$ ),表明该方法准确度良好。结果见表3。

2.2.9 样品含量测定 精密称取15批罂粟壳药材样品

表3 吗啡等5个成分的加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests of 5 components such as morphine(n=6)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
吗啡	1.454 0	1.467 4	2.921 7	100.02	99.46	1.08
	1.448 0	1.467 4	2.889 0	98.20		
	1.452 0	1.467 4	2.906 7	99.13		
	1.455 0	1.467 4	2.940 6	101.24		
	1.439 0	1.467 4	2.887 3	98.70		
	1.464 0	1.467 4	2.923 2	99.44		
可待因	0.355 3	0.355 9	0.706 0	98.54	97.84	1.55
	0.354 0	0.355 9	0.709 0	99.75		
	0.355 0	0.355 9	0.7073	98.99		
	0.355 8	0.355 9	0.702 9	97.53		
	0.351 8	0.355 9	0.694 0	96.15		
	0.358 0	0.355 9	0.699 9	96.07		
蒂巴因	0.040 0	0.039 9	0.076 0	90.23	91.10	1.74
	0.039 8	0.039 9	0.075 7	89.97		
	0.039 9	0.039 9	0.076 7	92.23		
	0.040 0	0.039 9	0.075 5	88.97		
	0.039 6	0.039 9	0.076 4	92.23		
	0.040 3	0.039 9	0.077 4	92.98		
罂粟碱	0.222 1	0.224 4	0.436 3	95.45	96.43	1.25
	0.221 3	0.224 4	0.437 9	96.52		
	0.221 9	0.224 4	0.442 0	98.08		
	0.222 4	0.224 4	0.441 3	97.55		
	0.219 9	0.224 4	0.435 3	95.99		
	0.223 7	0.224 4	0.436 9	95.01		
那可丁	0.222 1	0.225 6	0.436 5	95.04	94.82	1.20
	0.221 3	0.225 6	0.439 1	96.54		
	0.221 9	0.225 6	0.433 3	93.71		
	0.222 4	0.225 6	0.437 9	95.52		
	0.219 9	0.225 6	0.431 0	93.57		
	0.223 7	0.225 6	0.437 0	94.55		

粉末,每份约0.5 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品含量。每个样品平行测定3次,结果见表4。

表4 15批罂粟壳药材的含量测定结果(mg/g,n=3)

Tab 4 Results of content determination of 15 batches of Papaveris Pericarpium (mg/g,n=3)

编号	吗啡	可待因	蒂巴因	罂粟碱	那可丁
S1	3.580 1	0.889 7	0.089 8	0.558 8	0.562 1
S2	3.579 4	0.740 5	0.059 3	0.487 2	0.629 4
S3	3.862 1	0.751 1	0.062 1	0.537 0	0.590 0
S4	3.498 0	0.770 1	0.087 6	0.487 2	0.476 9
S5	4.082 2	0.825 4	0.090 4	0.494 9	0.656 2
S6	3.500 9	0.741 8	0.066 9	0.444 6	0.580 6
S7	3.775 4	0.879 6	0.084 7	0.495 4	0.560 7
S8	2.786 8	0.535 2	0.066 5	0.362 7	0.456 5
S9	2.590 4	0.568 1	0.090 0	0.340 5	0.403 0
S10	2.762 9	0.576 2	0.070 8	0.382 8	0.429 8
S11	2.617 1	0.485 9	0.085 7	0.322 1	0.409 5
S12	2.973 6	0.537 4	0.061 4	0.382 0	0.487 6
S13	2.716 4	0.530 1	0.067 3	0.393 7	0.431 6
S14	2.680 2	0.526 9	0.073 4	0.299 3	0.482 7
S15	2.342 9	0.430 4	0.055 2	0.529 6	0.343 2
平均值	3.156 6	0.652 6	0.074 1	0.434 5	0.500 0

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的选择

3.1.1 检测波长的选择 有文献报道,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁含量测定的检测波长为250、216 nm<sup>[20]</sup>。本研究参考上述文献,采用紫外全波长扫描结合波长切换,分别在250、238、216 nm波长条件下以二极管阵列检测器进行检测。结果显示,吗啡、可待因、蒂巴因、那可丁的最大吸收波长为216 nm,罂粟碱的最大吸收波长为238 nm,故本研究选择216 nm为吗啡、可待因、蒂巴因、那可丁的检测波长,238 nm为罂粟碱的检测波长。

3.1.2 流动相的选择 本课题组前期曾采用Agilent ZORBAX Eclipse C<sub>18</sub>色谱柱分别考察了以甲醇-0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液<sup>[12]</sup>、甲醇-0.1%磷酸溶液<sup>[21]</sup>、甲醇-0.5%乙酸铵溶液和乙腈-0.5%乙酸铵溶液<sup>[22-23]</sup>为流动相体系的分离效果,后又采用正向分离系统,使用Venusil HILIC色谱柱考察了以0.1%甲酸溶液-乙腈和10 mmol/L甲酸铵溶液-乙腈<sup>[24-26]</sup>为流动相体系的分离效果。结果显示,上述流动相体系均未取得良好的分离效果。采用甲醇-水为流动相体系,并添加离子对试剂(庚烷磺酸钠),再用磷酸调节pH以改善峰形。结果显示,在“2.1.1”项色谱条件下,吗啡、可待因、蒂巴因、罂粟碱、那可丁的色谱图基线平稳,色谱峰峰形对称、分离良好,相邻色谱峰分离度均大于1.5。

3.1.3 柱温的选择 本课题组前期考察了不同柱温(20、25、30 ℃)对吗啡等5个待测成分分离效果的影响。结果显示,当柱温为30 ℃时,蒂巴因的色谱峰未能与相邻色谱峰有效分离;当柱温为25 ℃时,蒂巴因的色谱峰亦未实现基线分离;而当柱温为20 ℃时,吗啡等5个待测成分均能完全分离。

#### 3.2 指纹图谱和聚类分析结果的探讨

本研究建立了罂粟壳药材的HPLC指纹图谱,结果显示,15批罂粟壳药材样品中共有13个共有峰;通过与混合对照品比对,指认了其中5个色谱峰,分别为吗啡、可待因、那可丁、罂粟碱和蒂巴因;样品的指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均大于0.99,表明15批样品成分相似。聚类分析结果显示,15批罂粟壳药材样品可聚为两类,S1~S7聚为一类,S8~S15聚为一类,分属2个地市。本课题组前期调研发现,FA、FB、FC等3个农场分布于同一地市,FD、FE农场分布于同一地市,聚类分析结果与产地调研结果一致。

#### 3.3 含量测定结果的分析

本研究对甘肃境内5个不同农场的15批罂粟壳药材样品中吗啡等5个成分的含量进行测定,结果显示,不同批次罂粟壳中5个成分的含量大小依次为吗啡、可待

因、那可丁、罂粟碱、蒂巴因,平均含量分别为3.156 6、0.652 6、0.500 0、0.434 5、0.074 1 mg/g,且不同农场不同批次罂粟壳药材中吗啡等5个成分的含量变化趋势基本一致,即吗啡含量高的药材中,其余4个成分的含量也较高。罂粟壳是中药配方使用和部分中成药生产的原料,受国家相关部门的严格管理,2020年版《中国药典》(一部)规定罂粟壳的剂量为每天3~6 g,吗啡的含量限度为0.06%~0.4%<sup>[1]</sup>,若患者使用了吗啡含量较高的罂粟壳则该药叠加的高含量可待因、罂粟碱等是否会导致成瘾性值得研究;此外,虽有部分中成药设置了吗啡的含量限度,但若按制剂处方投料吗啡含量较高的罂粟壳药材,所得中成药中吗啡的含量则极易超标。

综上所述,所建HPLC指纹图谱及含量测定方法简便可行、灵敏准确,结合聚类分析能较好地反映罂粟壳药材中化学成分的特征及内在质量,虽然不同地市产罂粟壳有区划特征,但质量基本稳定。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:386.

[2] 魏其才.对罂粟壳应加强监督管理[J].中国药房,1992,3(3):31.

[3] 国家食品药品监督管理总局,公安部,国家卫生计生委食品药品监管总局 公安部 国家卫生计生委关于公布麻醉药品和精神药品品种目录的通知:药监药化监[2013]230[EB/OL].(2013-11-11).[2021-06-24]. [http://jindu.jschina.com.cn/zcffg/201412/t20141216\\_1918127.shtml](http://jindu.jschina.com.cn/zcffg/201412/t20141216_1918127.shtml).

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:临床用药须知:中药饮片卷[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1182.

[5] 郭晓庄.有毒中草药大辞典[M].天津:天津科技翻译出版社,1992:604-606.

[6] 张忠会,王惠达,杨威.罂粟壳生物碱的可见分光光度法测定[J].中成药,2002,24(7):537-538.

[7] 仇文升,李安良.药物化学[M].北京:高等教育出版社,1999:181-193.

[8] 高媛惠,花锦,傅英文,等.超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定麻辣烫中的罂粟壳成分[J].农产品加工,2015,48(12):39-41.

[9] 花露,叶平,陆杰,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣条中的5种罂粟碱[J].中国调味品,2018,13(8):144-146.

[10] 尹华,陆卫民. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定火锅调料中罂粟壳[J].食品安全质量检测学报,2020,

11(18):6633-6638.

[11] 卢森华,黎强,梁爽,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定强力枇杷露中5种罂粟壳生物碱含量[J].中国中医药信息杂志,2019,26(12):62-66.

[12] 刘敏敏,刘利颜,刘丛丛.液质联用法测定止咳类中成药中5种罂粟壳生物碱[J].中国卫生检验杂志,2016,26(23):3353-3356.

[13] 李雕,李进瞳,曾燕,等.不同等级罂粟壳有效成分含量的研究[J].中国中药杂志,2010,35(17):2246-2249.

[14] 雒淑珍,于红霞,赵继荣,等.罂粟植株不同部位吗啡含量测试[J].热带农业工程,2012,36(6):4-7.

[15] 王军强,何庆祥,雷耀湖,等.不同灌水模式下罂粟吗啡含量的变化[J].中国农业通报,2010,26(9):156-161.

[16] 赵锐,郭平毅,原向阳,等.乙烯利处理下罂粟有机渗透调节物质的变化[J].基因组学与应用生物学,2011,30(1):47-50.

[17] 赵娟,谢世静,赵兴华,等.中药指纹图谱质控方法研究进展[J].云南中医中药杂志,2020,41(1):82-85.

[18] 徐妍,杨华蕊,杨永寿,等.中药指纹图谱研究现状及展望[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(76):91-94.

[19] 庞会娜,范琳,肖凤琴,等.指纹图谱结合化学计量法对葛根抗氧化活性部位的药效物质筛选[J].中国药房,2021,32(7):839-844.

[20] 徐丽红,王建清,陶秋,等.高效液相色谱同时测定3类食品中的5种罂粟壳生物碱[J].分析测试学报,2011,30(12):1387-1391.

[21] 王芬. HPLC测定罂粟壳于罂粟籽中吗啡的含量[J].海峡药学,2016,28(4):82-83.

[22] 林黛琴,王婷婷,万承波,等.高效液相色谱-串联质谱法快速测定食品中5种罂粟壳生物碱[J].质谱学报,2017,38(2):239-247.

[23] 陈珉珉,符春花.高效液相色谱-串联质谱法测定药酒中5种罂粟壳成分[J].食品安全质量检测学报,2020,11(16):5776-5781.

[24] 顾万江,周春燕,唐晓琴,等.固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中5种生物碱[J].食品与药品检验,2014,24(17):2481-2484.

[25] 张虹艳,石晓峰,邱国玉,等.热解吸-电喷雾离子源-三重四级杆质谱法快速筛查火锅底料和肉汤中非法添加罂粟壳[J].色谱,2020,38(7):861-867.

[26] 杨洁,王智,张辉珍,等.液相色谱-质谱法测定火锅汤料中的罂粟碱[J].食品科学,2014,35(22):243-246.

(收稿日期:2021-06-24 修回日期:2021-09-02)

(编辑:陈宏)