

## ★交流★

## RP-HPLC测定苦豆子总碱中莱曼碱的含量\*

赵文昌<sup>1</sup>, 宋丽军<sup>1</sup>, 邓虹珠<sup>2\*\*</sup>

(1. 广东医学院药学院, 东莞 523808; 2 南方医科大学中药学院, 广州 510515)

**摘要** 目的: 建立反相高效液相色谱法测定苦豆子总碱中莱曼碱的含量。方法: 采用 Kromasil 100-5C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.03 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢铵溶液 (内含 1.0 mL 磷酸, 以三乙胺调至 pH 5) (70:30), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 205 nm。结果: 莱曼碱在本文色谱条件下, 分离良好; 线性范围为 0.47~1.40 μg (r=0.9999); 加样回收率 (n=6) 为 99.4%, RSD 为 1.7%; 测得 3 批苦豆子总碱中莱曼碱的含量分别为 1.8%, 2.1%, 1.6%。结论: 所建立的莱曼碱含量测定方法灵敏度高, 专属性强, 可用于苦豆子总碱中莱曼碱的质量控制, 为苦豆子总碱的质量控制提供了一种新的、有效的方法。

**关键词:** 反相高效液相色谱法; 苦豆子总碱; 莱曼碱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)09-1540-03

RP-HPLC determination of lehm annine in total alkaloids of *Sophora alopecuroides*\*ZHAO Wen-chang<sup>1</sup>, SONG Li-jun<sup>1</sup>, DENG Hong-zhu<sup>2\*\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Guangdong Medical Science College, Dongguan 523808, China)

(2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract Objective** To develop an RP-HPLC method for the determination of lehm annine in total alkaloids of *Sophora alopecuroides*. **Methods** The samples were analyzed on a Kromasil 100-5C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-mixture of 0.03 mol·L<sup>-1</sup> ammonium dihydrogen phosphate containing 1.0 mL phosphoric acid and adjusting pH 5 with triethylamine (70:30) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and UV detection wavelength was 205 nm. **Results** The linear range of lehm annine was in the range of 0.47-1.40 μg (r=0.9999). The recovery (n=6) was 99.4% with RSD of 1.7%, and the precision of lehm annine was RSD=1.1% (n=5). The relative contents of lehm annine in three batches of total alkaloids of *Sophora alopecuroides* were 1.8%, 2.1%, and 1.6% respectively. **Conclusion** The new method is fast, accurate, sensitive, selective and suitable for the quality control of total alkaloids of *Sophora alopecuroides*.

**Key words** RP-HPLC; total alkaloids of *Sophora alopecuroides*; lehm annine

苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 系豆科槐属多年生草本植物, 有清热解毒、祛风燥湿、止痛杀虫等作用, 其有效成分主要为喹诺里西啶类生物碱, 地上部分含总生物碱约 6.1%~8.03%, 种子含约 8.11%<sup>[1]</sup>, 有槐定碱 (sophoridine)、槐果碱 (sophocarpine)、苦参碱 (matrine)、氧化苦参碱 (oxymatrine)、莱曼碱 (lehm annine)、槐胺碱 (so-

phoramine)、苦豆碱 (aloperine) 等。其中莱曼碱具有明显镇静作用<sup>[2,3]</sup>, 能增强戊巴比妥钠和水合氯醛的催眠作用, 可对抗皮下注射苯丙胺引起的兴奋作用, 具有一定的抗菌活性<sup>[4]</sup>, 并作为医药原料生产供应。同时苦豆子总碱经国家药品监督管理局批准 [标准: WS-10001-(HD-1391)-2] 作为提取物在市场上广泛流通, 主要产品有克泻灵片、苦豆子

\* 广州市科技局科技攻关项目, 编号: 2006Z3-E5051-2

\*\* 通讯作者 Tel: (020) 62789106 E-mail: denghongzhu@126.com

总碱注射液以及作为苦参碱、苦参素、槐果碱、槐定碱、苦豆碱和莱曼碱等单体的进一步加工原料。莱曼碱是从豆科槐属植物苦豆子中提取分离出的含三价氮原子四环型吡啶生物碱，有较好镇静、抗菌等作用，目前尚无合适的检测方法用于苦豆总碱中莱曼碱的含量测定。

目前已建立了苦豆子总碱中槐定碱、苦参碱、槐果碱同时测定和槐定碱、苦参碱、氧化苦参碱同时测定以及反相高效液相色谱同时测定苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱和槐胺碱等多成分的测定方法<sup>[5-7]</sup>，谢永新建立了气相色谱法测定莱曼碱的含量<sup>[8]</sup>，但至今未见反相高效液相色谱法测定苦豆子总碱中莱曼碱含量的报道。莱曼碱能明显抑制小鼠的自主活动，增加或加强闾下催眠量的戊巴比妥钠和水合氯醛作用，可对抗皮下注射苯丙胺引起的兴奋作用<sup>[9]</sup>。随着对苦豆子总碱物质基础、药理作用的深入研究，有必要建立苦豆子总碱中莱曼碱含量测定，为苦豆子总碱的质量全面控制与深入开发打下基础。本文报道苦豆子总碱中莱曼碱的高效液相色谱含量测定方法，所建方法准确、简便，重现性好，可用于苦豆子总碱中莱曼碱的定性、定量考察。

1 仪器与试剂

美国惠普 HP-1100 高效液相色谱仪，G1315A 紫外-可见光二极管阵列检测器；超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。苦豆子总碱、莱曼碱对照品（HPLC 面积归一法计算纯度 > 98.0%）均由宁夏盐池都顺生物化工有限公司提供；乙腈（美国 Sigma 公司）为色谱级，其余试剂均为分析纯，水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱：Kromasil 100-5C<sub>18</sub> 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.03 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢铵溶液（内含 1.0 mol/L 磷酸，以三乙胺调至 pH 5）（70:30），流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>；检测波长为 205 nm；进样量 10 μL。理论塔板数按莱曼碱峰计不得低于 2000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取莱曼碱对照品 12 mg 置 25 mL 量瓶中，以流动相定容至刻度，摇匀，即得对照品储备液；精密量取对照品储备液 1.5 mL，以流动相定容至 10 mL，即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取苦豆子总碱 0.1 g 加流动相超声（功率 250 W，频率 30 kHz）10 min 溶解并定容至 25 mL，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 以流动相为阴性样品溶液。  
2.3 专属性试验 对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液色谱图见图 1。图 1 表明：莱曼碱出峰时间无干扰峰。

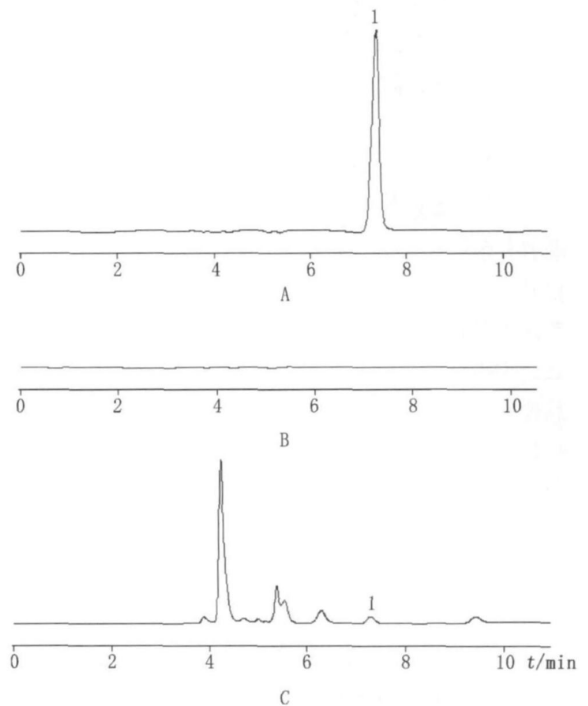


图 1 对照品 (A)、阴性样品 (B) 及样品 (C) 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), negative sample without total alkaloids of *Sophora alopecuroides* (B), and total alkaloids of *Sophora alopecuroides* (C)

1. 莱曼碱 (lehm ann ine)

2.4 线性关系考察 分别精密量取“2.2”项下对照品储备液 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL，以流动相定容至 10 mL，即得 5 个浓度的对照品溶液。分别精密吸取 10 μL，按“2.1”项下条件测定，以进样量 X 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标进行回归。回归方程为：

$$Y = 2.174 \times 10^3 C - 31.60 \quad r = 0.9999$$

结果表明，莱曼碱在 0.47~1.40 μg 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL，连续进样 5 次，测定峰面积，计算 RSD 为 1.1%。

2.6 重复性试验 按“2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份，精密吸取 10 μL，按“2.1”项下条件测定，求得莱曼碱含量平均值为 1.8%，RSD 为 1.2%。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL，分别于 0, 2, 6, 10, 24 h 进样测定，求得峰面积的 RSD 为 1.1%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验 精密量取含莱曼碱 1.8% 的苦

豆子总碱 0.05 g 共 6 份, 分别加入一定量对照品储备液(含莱曼碱 0.9336 mg), 照“2.2”项方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件测定, 平均回收率 ( $n=6$ ) 为 99.4%, RSD=1.7%。

**2.9 含量测定** 取 3 批苦豆子总碱, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 外标法计算含量。测得苦豆子总碱中莱曼碱的含量分别为 1.8%, 2.1%, 1.6%。

### 3 讨论

**3.1 莱曼碱是苦参碱 D 环上 12 13 位脱氢的生物碱**, 1986 年我国学者从苦豆子花期地上部分中分离得到<sup>[10]</sup>, 至今未见苦豆子总碱中有关莱曼碱的含量测定方法的报道。本实验建立的苦豆子总碱中莱曼碱的 HPLC 含量测定方法, 简单、可行, 可为苦豆子总碱质量控制提供新方法。

**3.2 本实验曾考察了 C<sub>18</sub> 柱、S<sub>D</sub><sub>2</sub> 柱、氨基柱及流动相乙腈-水、乙醇-0.01% 二乙胺的甲醇溶液-正己烷、乙腈-磷酸水溶液 (pH 2)-无水乙醇, 结果莱曼碱不易与其他峰分离。而采用本文选定的色谱条件, 莱曼碱色谱峰分离效果较好。**

**3.3 以 DAD 检测器测得莱曼碱对照品的最大检测波长为 205 nm, 故选择 205 nm 为检测波长。**

**3.4 本实验曾考察过①氯仿直接提取; ②样品加氨试液后用氯仿提取, 再过氧化铝柱, 收集过柱氯仿液与氯仿-甲醇 (7:3) 洗脱液; ③以流动相直接超声溶解提取。结果第 3 种方法简便, 提取率高, 利于质量控制。**

### 参考文献

- ZHANG Qing-yun(张清云), ZHANG Guo-rong(张国荣), YIN Chang-an(尹长安), et al. Protection and utilization of *Sophora alopecuroides* L. as medicinal plants resource(宁夏苦豆子药用植物资源保护与开发利用). *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med*(世界科学技术-中医药现代化), 2006, 8(1): 105
- ZHOU Fu-sheng(周福生), MU Qing(穆青). Chemical constituents and pharmacological activities of *Sophora alopecuroides* L. (野
- 生植物苦豆子的化学成分和主要药理作用). *Chin Wild Plant Resour*(中国野生植物资源), 2006 25(4): 15
- MOU Xin-li(牟新利), WANG Wu-bao(王武宝), BA Hang(巴杭), et al. A review on the progress in the chemical compounds and pharmacology of *Sophora alopecuroides* L. (中药苦豆子化学成分及生理活性的研究进展). *J Xinjiang Norm Univ (Nat Sci Ed)*(新疆师范大学学报 自然科学版), 2005 24(1): 45
- WANG Shu-jun(王淑君), CHEN Feng(陈丰), YAO Chong-shun(姚崇舜). Pharmacokinetics of alkaloid of foxtail-like *Sophora* (*Sophora alopecuroides*) (苦豆子中生物碱的药物动力学研究). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2000, 31(5): 附 1
- LIU Xing-ping(罗兴平), NIE Ling-yun(聂凌云), ZHAI Zong-de(翟宗德), et al. Simultaneous determination of three alkaloids in compound Kudouzhijie injection by capillary electrophoresis (高效毛细管电泳法同时测定苦豆子总碱注射液中 3 种生物碱的含量). *Pharm J Chin PLA*(解放军药学杂志), 2005, 21(6): 458
- LI Kai(李凯), WANG Yin-lan(王银兰), ZHU Hui-qin(朱会琴). Simultaneous determination of three alkaloids in total alkaloids of *Sophora alopecuroides* (HPLC 法测定苦豆子总碱中 3 种生物碱的含量). *Northwest Pharm J*(西北药学杂志), 2004, 19(02): 29
- LI Pei-fan(李培凡), WANG Zhi(王智), SHEN Bin(沈彬), et al. Simultaneous determination of matrine, oxymatrine, sophocarpine, sophoranine by RP-HPLC (反相高效液相色谱同时测定苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱和槐胺碱的含量). *Lishi Zhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2003 15(2): 76
- XIE Yong-xin(谢永新), LIU Xiao-dong(刘晓东), HUANG Sheng-kai(黄圣凯). Gas chromatographic determination of lehmanningine in biological specimens and its pharmacokinetics of the drug (生物样品中莱曼宁的气相色谱测定及其在动物体内的药代动力学). *Chin J Pharmacol Toxicol*(中国药理学毒理学杂志), 1988 (3): 23
- ZHANG Yi(张熠), GU Zhen-lun(顾振纶). Research on the effect of some Chinese herb on sedative and hypnosis (具有镇静催眠作用中草药的研究进展). *Chin Wild Plant Resour*(中国野生植物资源), 2005 24(6): 4
- LIU Bin(刘斌), LI Jin-liang(李金亮), YUAN Ying-jin(元英进). Isolation of alkaloids and structure elucidation of lehmanningine from seed of *Sophora alopecuroides* (苦豆子种子中生物碱的分离及 lehmanningine 的结构确定). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2001, 32(4): 293

(本文于 2008 年 9 月 11 日收到)