

# 排钱草总生物碱提取物的制备与质量分析

冯 军<sup>1,2</sup>, 柴 玲<sup>1,2</sup>, 刘布鸣<sup>1,2\*</sup>, 陈小刚<sup>1,2,3</sup>

(1.广西壮族自治区中医药研究院, 广西 南宁 530022;

2.广西中药质量标准研究重点实验室, 广西 南宁 530022;

3.广西壮族自治区民族医药研究院, 广西 南宁 530001)

**摘要 目的:**制备排钱草总生物碱提取物并建立质量检测方法。**方法:**采用乙醇提取、大孔树脂富集的方法制备排钱草总生物碱提取物,利用氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)、碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)等波谱分析技术,结合高分辨质谱确定主要成分,采用薄层色谱法对其进行定性鉴别,并通过紫外-可见分光光度法测定总生物碱含量。**结果:**排钱草总生物碱提取物含5-甲氧基-N,N-二甲基色胺,总生物碱含量以色胺计不少于50%。**结论:**排钱草总生物碱提取物的制备方法简便可行,质量检测方法准确可靠,可为排钱草的进一步开发利用提供实验依据。

**关键词** 排钱草;总生物碱;提取;质量分析

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1003-0719(2022)04-0063-03

排钱草别名龙鳞草、尖叶阿婆钱,为豆科植物排钱草 *Phyllodium pulchellum*(L.)Desv 的干燥根,主要分布于广西、广东、江西等省份。其具有活血化瘀、清热利水的作用,临床常用于治疗肋骨疼痛、月经不调、闭经等。目前,对排钱草药材的研究主要集中在化学成分<sup>[1-3]</sup>、质量评价<sup>[4]</sup>以及药理活性<sup>[5-6]</sup>等方面,尚无对排钱草总生物碱提取物的制备及其质量分析方法的研究报道。本文制备排钱草总生物碱提取物并建立

质量分析方法,为排钱草的进一步开发利用提供实验依据。

## 1 实验材料

**1.1 仪器** Thermo UltiMate 3000 超高效液相色谱仪,配置在线脱气机、四元梯度泵、柱温箱、自动进样器;布鲁克 AVANCE NEO 600 MHz 核磁共振仪;Thermo Q-Exactive Focus 高分辨质谱仪;Waters 2545-

**基金项目:**广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(编号:GZKZ 10-006);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(编号:S201621)

\*通信作者:刘布鸣(1956—),研究员,研究方向:中药,天然产物化学成分分析与质量标准研究;E-mail:liubuming@aliyun.com

## 4 小 结

黄师治疗胃脘痛,必审候虚实,查寒热痰瘀之标,辨气血阴阳亏虚之本,根据病因病机的演变规律,灵活运用“开发道路”“顾护中州”“交通先后天之本”三法分阶段论治,如正气充足者可按三法顺序先攻后补,体质羸弱不耐攻伐者可攻补交替使用。“桂枝法”“藿香法”宜空腹服用,药力直达病所,通瘀去滞之力强,但须中病即止;“四君法”“大菟丝子法”等宜饭后服,缓和进补。同时需注意结合应用胃肠镜等现代科学技术,防止失治误治,中西医互参,优势互补。

## 参考文献

- [1] 张声声,周强.胃脘痛中医诊疗专家共识意见(2017)[J].中医杂志,2017,58(13):1166-1170.
- [2] 牟丽环,黄贵华,陆秋静,等.壮药消痞导滞片治疗功能性消化不良 180 例的临床疗效研究[J].时珍国医国药,2017,28(7):1681-1682.
- [3] 王加锋,滕佳林.芳香类中药的药性及临床应用[J].中药与临床,2016,7(6):41-43.
- [4] 王彤,艾新法,苏鑫.炙甘草汤用于治疗心病、肺疾病的研究进展[J].光明中医,2017,32(23):3389-3390.

(2022-04-18 收稿/编辑 刘 强)

2767-2489 制备型高效制备液相色谱仪; Kromasil Ecosil C<sub>18</sub> Extend 半制备色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm); 十万分之一天平; 岛津2700紫外-可见分光光度计。

**1.2 试剂与材料** 色胺(上海源叶生物技术有限公司, 纯度≥98%); 5-甲氧基-N,N-二甲基色胺(由广西中药质量标准研究重点实验室自制, 经峰面积归一化法测定, 纯度≥98%); 排钱草总生物碱提取物(由广西中药质量标准研究重点实验室自制)。

**1.3 药材** 排钱草采自广西贺州市钟山县红花村委麦岭自然村, 经广西壮族自治区中医药研究院黄云峰副研究员鉴定为豆科植物排钱草 *Phyllodium pulchellum*(L.)Desv 的干燥根。

## 2 方法与结果

**2.1 排钱草总生物碱提取物的制备** 取排钱草药材粗粉1 kg, 加15倍量70%乙醇回流提取3次, 每次1.5 h, 滤过, 合并滤液, 滤液回收乙醇并减压浓缩至无醇味, 浓缩至料液比为1:10, 即得排钱草提取液; 将提取液置于已处理好的大孔树脂(D101)柱中吸附, 速度2 BV/h; 先用1 BV水洗脱, 弃去洗脱液, 再用4 BV量60%乙醇以4 BV/h速度洗脱, 收集乙醇洗脱液, 洗脱液减压浓缩至浸膏, 50℃真空干燥, 即得排钱草总生物碱提取物。

**2.2 排钱草总生物碱提取物主要化学成分分离鉴定**

**2.2.1 分离纯化** 取排钱草总生物碱提取物50 g, 用水分散吸附于D101大孔树脂, 分别用水、30%乙醇和70%乙醇洗脱。30%乙醇洗脱物再以中压柱层析得到流份(Fr.1-Fr.5), 甲醇:水(10:90→50:50)。Fr.5经过高效制备液相色谱分离得到化合物1(2 g)。

**2.2.2 波谱分析** 化合物1:<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz)δ:7.25(1H, d, J=8.8 Hz, H-7), 7.14(1H, s, H-2), 7.07(1H, d, J=2.2 Hz, H-4), 6.79(1H, dd, J=2.2 Hz, 8.8 Hz, H-6), 3.83(3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.32(2H, overlap, H-9), 3.14(2H, t, J=8.2 Hz, H-8), 2.85(6H, s, N

(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, 150 MHz)δ:153.9(C-5), 132.0(C-7a), 127.0(C-4a), 123.4(C-2), 111.8(C-6), 111.5(C-3), 108.3(C-7), 99.6(C-4), 60.2(C-9), 57.8(5-OCH<sub>3</sub>), 54.9(N-CH<sub>3</sub>), 42.1(C-11), 20.6(C-10)。以上数据与文献[7]报道基本一致, 故鉴定化合物1为5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine(5-甲氧基-N,N-二甲基色胺)。

### 2.2.3 UHPLC-HR-MS 分析

**2.2.3.1 色谱条件** Thermo Accucore C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为甲醇(A)-水(B); 梯度洗脱(0~10 min, 10%~90%A); 流速为0.3 ml/min, 柱温为20℃; 进样量:1 μl。

**2.2.3.2 质谱条件** 离子源:电喷雾(HESI); 检测模式:正离子模式; 质量扫描范围:m/z 100~1200; 毛细管温度为320℃; 鞘气体积流量为40 psi, 辅助气体积流量为10 psi; 喷雾电压为3.3 kV; 探头加热器温度为350℃; 质量分辨率≥70 000; 碰撞能量(CE):40 eV。

**2.2.3.3 供试品溶液的制备** 取排钱草总生物碱提取物适量, 加甲醇溶解, 制成每1 ml含排钱草总生物碱提取物约1 mg的溶液, 0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得。

**2.2.3.4 样品测定** 吸取供试品溶液, 按色谱、质谱条件进行分析, 分别得到总离子流图(TIC)及质谱图, 采用Xcalibur软件进行峰提取、峰匹配等数据处理, 用Compound Discover 2.3软件进行预处理, 以精确质量数提取主成分5-甲氧基-N,N-二甲基色胺的质谱图。

**2.2.4 鉴定结果与分析** MS(ESI)m/z 219.15、174.09、159.07、143.07, HRMS[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰m/z 219.14906与5-甲氧基-N,N-二甲基色胺质量数(C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>ON<sub>2</sub>, 理论值:219.14190)相符, 测得分子量为218, 二级质谱符合5-甲氧基-N,N-二甲基色胺的裂解规律。MS裂解过程如下:[M+H]<sup>+</sup>产生准分子离子峰m/z 219.15, 支链二甲胺基裂解后产生m/z 174.09碎片, 5号位甲氧基进一步裂解, 分别裂去甲基和甲氧基产生m/z 159.07和143.07的碎片, 裂解过程见图1。

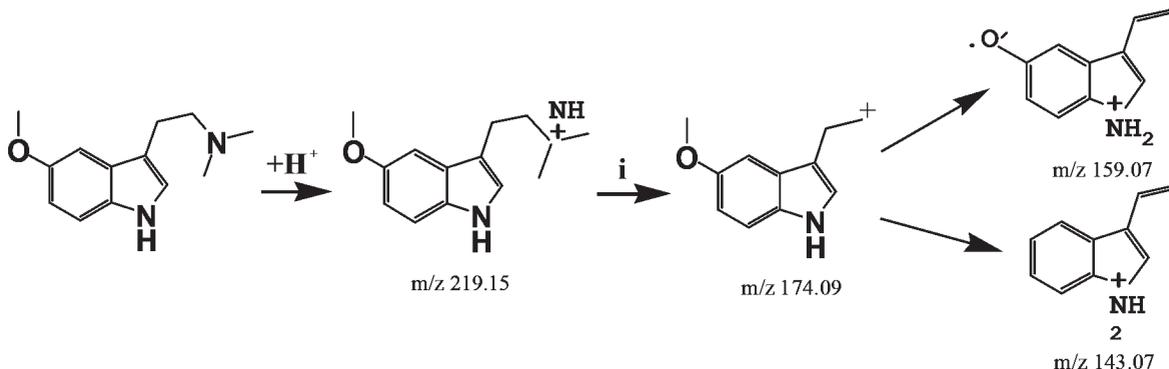


图1 5-甲氧基-N,N-二甲基色胺裂解过程

### 2.3 排钱草总生物碱含量测定

**2.3.1 对照品的选择与检测波长的确定** 现有研究表明,排钱草中含有色胺以及5-甲氧基-N,N-二甲基色胺、N,N-二甲基色胺、5-羟基-N,N-二甲基色胺等以色胺为结构母核的生物碱成分。实验显示,色胺对照品及样品溶液均在275 nm波长处有最大吸收,见图2。故以色胺作为总生物碱含量测定的对照品,在275 nm波长处测定。

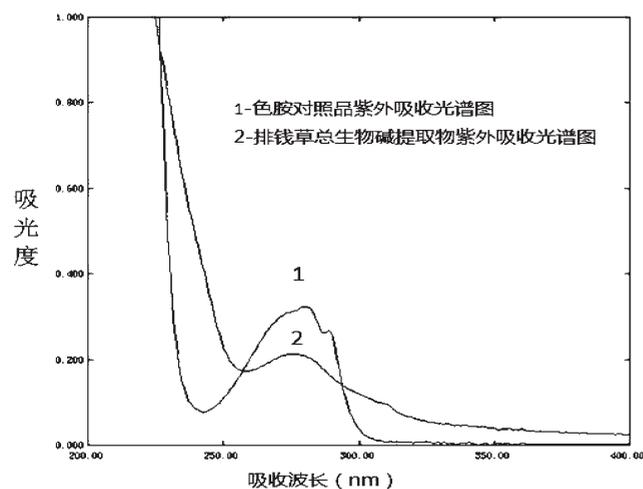


图2 紫外吸收光谱图

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取色胺对照品适量,加甲醇制成每1 ml含503  $\mu\text{g}$ 的溶液,即得。

**2.3.3 标准曲线的绘制** 精密吸取色胺对照品溶液0.1 ml、0.2 ml、0.3 ml、0.4 ml、0.5 ml、0.6 ml,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以甲醇作为空白,在275 nm测定吸光度,以浓度( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,回归方程为 $Y=0.02750X+0.01593$ , $r=0.9998$ 。

**2.3.4 供试品溶液的制备** 取3个批次的排钱草总生物碱提取物,每批2份,每份约10 mg,精密称定,分别置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取1 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

**2.3.5 精密度试验** 取同一供试品溶液,连续测定6次,结果RSD为0.09%( $n=6$ )。

**2.3.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别在0 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min测定,结果RSD为1.1%( $n=6$ ),表明供试品溶液在120 min内稳定。

**2.3.7 重复性试验** 取同一批样品制备供试品溶液6份,按拟定方法测定,结果平均含量为50.41%,RSD为1.01%( $n=6$ )。

**2.3.8 回收率试验** 取已知含量的排钱草总生物碱提取物,分别精密加入色胺对照品适量,按拟定方法

测定含量,并计算回收率,回收率平均值为95.16%,RSD为2.3%( $n=6$ )。

**2.3.9 样品测定** 以甲醇作为空白,在275 nm波长处分别测定吸光度,计算生物碱含量,排钱草总生物碱含量以色胺 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2$ 计算分别为50.90%、50.11%、50.21%,结果见表1。

表1 排钱草总生物碱提取物含量测定结果

| 批号 | 含量(%) |       | 平均值(%) |
|----|-------|-------|--------|
|    | 1     | 2     |        |
| 1  | 50.73 | 51.06 | 50.90  |
| 2  | 50.33 | 49.89 | 50.11  |
| 3  | 49.95 | 50.46 | 50.21  |

### 3 讨论

随着科技发展,精制的天然植物提取物以低毒高效的特性受到人们越来越多的青睐。研究表明,排钱草主要药效成分为生物碱类成分。由于排钱草药用部位为根,应用中具有重量大、储存难、运输不便等缺点,制备排钱草总生物碱提取物既能保证与药材主要功效的一致性,又能弥补上述不足。本文建立的排钱草总生物碱提取物的质量分析方法准确可靠,可为排钱草总生物碱提取物的质量控制提供方法参考。

### 参考文献

- [1] ZONG Y, ZHONG M, LI D M, et al. Phenolic constituents from the roots of *Phyllodium pulchellum* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2014(7): 741-746.
- [2] FAN Y C, YUE S J, GUO Z L, et al. Phytochemical composition, hepatoprotective and antioxidant activities of *Phyllodium pulchellum* (L.) Desv [J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1361-1375.
- [3] 范亚楚, 郭中龙, 信兰婷, 等. 排钱草化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2017, 39(6): 1195-1198.
- [4] 钟鸣, 张宝璟, 王超, 等. 排钱草药材质量评价方法的研究 [J]. *中成药*, 2016, 38(1): 130-133.
- [5] 陈少锋, 赵湘培, 余胜民, 等. 排钱草总生物碱对HSC-T6细胞胶原蛋白及细胞因子mRNA表达的影响 [J]. *现代医药卫生*, 2017, 33(24): 3709-3711.
- [6] 钟鸣, 张宝璟, 王超, 等. 排钱草生物碱对乙醛刺激的人源肝星状细胞增殖及细胞外基质的影响 [J]. *中国现代应用药学*, 2017, 34(1): 4-7.
- [7] 干宁, 李天华, 杨欣, 等. 毛排钱草的化学成分分析及其抗肿瘤活性研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(6): 852-856.

(2022-06-15 收稿/编辑 陈明伟)