

大孔吸附树脂分离苦参中氧化苦参碱的研究

杨明利, 周 乐, 冉晓娅, 张武岗, 吴 联

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 为了考察大孔吸附树脂对苦参水提液中氧化苦参碱的分离效果, 选择5种大孔吸附树脂, 并采用HPLC定量分析法, 研究了不同大孔吸附树脂对氧化苦参碱的吸附性能。结果表明, 大孔吸附树脂L SA-21和L SA-30的分离效果明显优于L SA-40, HP-10和AB-8; L SA-21在pH 10.0和0时吸附效果最好, 其动态饱和吸附率为14.52 mg/mL, 静态饱和吸附率为6.88 mg/mL, 最适洗脱剂为体积分数30%乙醇, 解吸率可达90%以上, 由此得到的氧化苦参碱含量约为37%。静态饱和吸附率随温度的升高而降低, 其中在较低温度范围(0~10℃)内影响显著; 静态吸附速率随时间的延长而变小, 其中在吸附的前2 h内, 吸附速率很大且基本恒定, 2 h之后吸附速率变得非常小。

[关键词] 苦参; 氧化苦参碱; 大孔吸附树脂; 吸附; 分离

[中图分类号] R284.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)11-0129-04

中药苦参(*Sophora flavescens* Ait.)的主要活性成分是生物碱和黄酮类化合物^[1], 氧化苦参碱则是其重要的活性生物碱之一, 具有抗炎、免疫调节、保肝、抗心律失常和抗癌等活性^[2]。氧化苦参碱是一种类似于季铵盐的生物碱, 易溶于水, 极性较大, 规模化分离纯化较困难。有文献报道采用离子交换树脂法分离氧化苦参碱^[3], 该方法需用酸水渗漉, 氨水碱化处理, 工艺繁琐。大孔吸附树脂是近年来新发展起来的精制技术, 在医药领域中广为应用, 是提取精制中草药中水溶性有效成分的一种有效方法。为了考察大孔吸附树脂对氧化苦参碱的分离效果, 本试验选择5种大孔吸附树脂进行了研究, 以期工业化分离氧化苦参碱筛选合适的大孔吸附树脂类型及建立最佳的分离工艺提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料 苦参根药材购自河南洛阳关林市场, 经鉴定为豆科槐属植物苦参的干燥根。

1.1.2 仪器 日本Jasco高效液相色谱仪, HF-500B超声循环提取机, 层析柱直径为1.8 cm, 高39.0 cm。

1.1.3 试剂 大孔吸附树脂AB-8(南开大学化工厂); 大孔吸附树脂L SA-40, L SA-30, L SA-21和

HP-10(西安深蓝交换吸附材料有限公司); HPLC用甲醇为色谱纯(J. T. Baker公司); 纯净水(杭州娃哈哈股份有限公司), 工业乙醇; 氧化苦参碱对照品(93%, HPLC)。

1.2 方法

1.2.1 树脂的预处理 新树脂用一定体积乙醇浸泡24 h, 充分溶胀, 用适当体积的乙醇洗至流出液与等体积蒸馏水混合无浑浊为止, 再用蒸馏水洗至无醇味备用。

1.2.2 氧化苦参碱提取液的制备 取100 g苦参粗粉, 用700 mL自来水在30℃下超声提取2次, 每次25 min, 先后各用纱布和滤纸抽滤1次, 得到约1 000 mL苦参水提液(以下简称上样液), 上样液中含粗提物17.19 g, 粗提物中氧化苦参碱的含量经HPLC分析为7.80%。

1.2.3 不同型号大孔吸附树脂的筛选 分别量取预处理好的5种大孔吸附树脂L SA-40, L SA-30, L SA-21, HP-10和AB-8各60 mL, 分别装柱, 用蒸馏水分别洗至无醇味后平行进行以下试验。向柱中不断加入上样液进行动态吸附, 同时分步收集各流份, 采用TLC法对各流份进行检测, 当有流份中明显出现氧化苦参碱时即认为吸附饱和^[4]。然后用蒸馏水洗柱, 直至柱流出液中无氧化苦参碱。合并全部流份并定容, 用HPLC法测定其中的氧化苦参碱浓

· [收稿日期] 2005-11-14

[作者简介] 杨明利(1979-), 女, 陕西蒲城人, 在读硕士, 主要从事天然产物化学研究。

[通讯作者] 周 乐(1965-), 男, 陕西蒲城人, 教授, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: betterzl@163.com; zhoule863@sina.com

度,计算各吸附剂的动态吸附量。再改用体积分数50%乙醇洗脱,直至流出液中无氧化苦参碱明显存在为止,测定体积分数50%乙醇洗脱流份中氧化苦参碱的含量,计算吸附量、吸附率、洗脱量和解吸率。

$$\text{吸附量/g} = C_0 \times V_0 \times n_0 - C_1 \times V_1 \times n_1$$

吸附率/(mg·mL⁻¹) = 饱和吸附量/树脂体积式中, C_0 和 V_0 分别为上样液中氧化苦参碱的质量浓度和上样液的体积, C_1 和 V_1 分别为定容后总流份中氧化苦参碱的质量浓度和定容体积, n_0 和 n_1 分别为各自HPLC测定时的待测样稀释倍数。

$$\text{洗脱量/g} = C \times V \times n$$

$$\text{解吸率/\%} = \text{洗脱量/吸附量}$$

式中, C 和 V 分别为总流份中氧化苦参碱的质量浓度及总流份的体积, n 为HPLC测定前的稀释倍数。

1.2.4 洗脱剂浓度的选择 与1.2.3的方法相同,选择L SA-21(由1.2.3中筛选出的吸附量最大的大孔吸附树脂)进行装柱,动态上样至大孔吸附树脂吸附饱和,蒸馏水洗柱。然后依次用体积分数10%,20%,30%,40%和50%乙醇洗脱,每个梯度的洗脱剂用量均为4倍量的柱体积(柱体积为20 mL),分别收集各梯度洗脱液流份约75 mL,用HPLC法测定各流份中氧化苦参碱的浓度,计算各梯度洗脱剂的洗脱量和解吸率。根据各自洗脱量和解吸率大小确定L SA-21合适的洗脱剂浓度。

1.2.5 pH值对大孔吸附树脂吸附氧化苦参碱的影响 取原始上样液12份,分别用稀盐酸或稀氢氧化钠调pH值至2.0,3.0,4.0,...,13.0,分别作为上样液,以大孔吸附树脂L SA-21作为吸附剂,以体积分数30%乙醇为洗脱剂(由1.2.4确定出的洗脱剂浓度)。按照1.2.3的方法测定不同pH值时的饱和吸附量,确定出最佳吸附pH值。并计算在此最佳吸附洗脱条件下氧化苦参碱的含量。

$$\text{氧化苦参碱含量/\%} = w_t/w_0 \times 100\%$$

式中, w_t 为HPLC法测出的总流份中氧化苦参碱的绝对质量, w_0 为总流份浓缩干的质量。

1.2.6 温度对静态饱和和吸附率的影响 设置4个温度水平,采用静态吸附法测定温度对静态饱和和吸

附率的影响。分别量取L SA-21大孔吸附树脂4份,每份60 mL,分别抽滤至干,并倒入4个500 mL带塞三角瓶中。向每瓶中各加入pH 10.0的上样液350 mL,然后将4个三角瓶分别置于0,10,20和30℃水浴中进行静态吸附。其间每隔10 min搅拌1次,同时吸取2 mL上清液做氧化苦参碱定量分析。当相邻2次的测定结果基本不变时,即认为吸附饱和。依据不同时间的吸附量,计算各温度下的最大吸附量,并绘制各温度下的吸附速率曲线。

$$\text{静态饱和和吸附量/g} = m - m' = C \times V \times n - C' \times V' \times n'$$

式中, m 和 m' 分别为吸附前和吸附平衡后上样液中氧化苦参碱的绝对质量, C 和 C' 分别为吸附前和吸附平衡后上样液中氧化苦参碱的质量浓度(g/L), n 和 n' 分别为HPLC测定前各自待测液的稀释倍数。

1.2.7 检测方法 TLC定性分析采用GF₂₅₄薄层硅胶板(用质量分数0.7%聚乙烯醇为粘合剂,105~110℃活化30 min),展开剂^[5]为氯仿-甲醇-浓氨水(体积比为9:1:0.4)。检识方法:喷洒碘化铋钾溶液后,出现桔红色斑点。氧化苦参碱HPLC定量分析:色谱条件^[6]为Jasco PU-2080色谱泵,UV-2070紫外检测器,N 2000色谱工作站,Inertsil ODS-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm);流动相为甲醇-水(体积比为55:45);流速0.800 mL/min,检测波长215 nm,柱温30℃,进样量20 μL;进样前将上样液适度稀释,并经微孔滤膜过滤。

2 结果与分析

2.1 不同型号大孔吸附树脂对氧化苦参碱的动态吸附结果

由表1可见,5种大孔吸附树脂对苦参水提液中氧化苦参碱的饱和和吸附量差别较大,其中L SA-21的吸附量(0.737 4 g)最大,L SA-30(0.697 2 g)次之,L SA-40(0.388 8 g)最小。虽然如此,体积分数50%乙醇对5种树脂上氧化苦参碱的解吸率差异却不大。由此可知,L SA-21或L SA-30是比较理想的分离氧化苦参碱的吸附材料。

表1 不同型号大孔吸附树脂对氧化苦参碱的动态吸附结果

Table 1 Results of dynamic adsorption performance with 5 macroporous absorption resins

吸附树脂 Absorption resin	吸附量/g Absorbed amount	吸附率/(mg·mL ⁻¹) Absorption rate	洗脱量/g Eluted amount	解吸率/% Disorption ratio
L SA-40	0.388 8	6.48	0.287 4	73.92
L SA-30	0.697 2	11.62	0.515 2	73.89
L SA-21	0.737 4	12.29	0.546 9	74.17
HP-10	0.522 9	8.72	0.340 0	65.02
AB-8	0.509 5	8.49	0.376 2	73.84

以上分析表明, 5 种树脂对氧化苦参碱的吸附力比较接近, 但 5 种树脂的颗粒大小、比表面积等有可能不同, 从而导致不同树脂对氧化苦参碱的吸附量也不同。

2.2 不同体积分数乙醇对氧化苦参碱的洗脱效果

表 2 表明, 对大孔吸附树脂 LSA-21 而言, 不同体积分数乙醇对氧化苦参碱的洗脱能力不同, 乙醇体积分数太低不利于氧化苦参碱的解吸, 其中体积分数 30% 乙醇已能将大部分氧化苦参碱洗脱下来,

洗脱率为 52.12%。如果直接采用体积分数 30% 乙醇进行洗脱, 则其洗脱率可达 91.79%。表 2 显示, 体积分数 40% 和 50% 乙醇洗脱率均较低, 其原因主要是前面 3 个不同体积分数的乙醇已将大部分氧化苦参碱洗脱下来, 假如直接用体积分数 40% 或 50% 乙醇洗脱, 其洗脱率可能会略高于 30% 乙醇, 但提高幅度不会太大, 考虑到经济因素, 建议在实际应用中采用体积分数 30% 乙醇洗脱为宜。

表 2 不同体积分数乙醇对氧化苦参碱的洗脱效果

Table 2 Elution ratio of different ethanol concentrations on oxymatrine

乙醇体积分数/% Ethanol concentration	氧化苦参碱洗脱量/g Eluted amount of oxymatrine	洗脱率/% Elution ratio	乙醇体积分数/% Ethanol concentration	氧化苦参碱洗脱量/g Eluted amount of oxymatrine	洗脱率/% Elution ratio
10	0.110 7	19.77	40	0.032 7	5.84
20	0.111 4	19.90	50	0.013 3	2.38
30	0.291 8	52.12			

2.3 不同 pH 值对大孔吸附树脂 LSA-21 吸附氧化苦参碱动态吸附量的影响

表 3 表明, 大孔吸附树脂 LSA-21 对氧化苦参碱的吸附量与吸附体系的 pH 值有密切关系, 较强的酸性 (pH 2.0~4.0) 或较强的碱性 (pH 11.0~13.0) 均可导致吸附量下降。弱酸性 (pH 5.0~7.0) 或弱

碱性 (pH 7.0~10.0) 环境有利于吸附, 其中弱碱性条件较弱酸性条件更能增加吸附量。在 pH 10.0 的环境中, LSA-21 对氧化苦参碱的吸附量最大 (0.871 5 g), 吸附率最高, 为 14.52 mg/mL, 同时得到的饱和载样树脂解吸率 (86.50%) 也最大, 表明 pH 10.0 是 LSA-21 吸附氧化苦参碱的最佳 pH 值。

表 3 不同 pH 值对 LSA-21 吸附氧化苦参碱动态吸附量的影响

Table 3 Effects of pH value on dynamic absorption amount of oxymatrine

pH 值 pH value	吸附量/g Absorbed amount	吸附率/ (mg·mL ⁻¹) Absorption rate	洗脱量/g Eluted amount	解吸率/% Disorption- tion ratio	pH 值 pH value	吸附量/g Absorbed amount	吸附率/ (mg·mL ⁻¹) Absorption rate	洗脱量/g Eluted amount	解吸率/% Disorption- tion ratio
2.0	0.469 3	7.82	0.280 4	59.74	8.0	0.750 8	12.51	0.523 8	69.77
3.0	0.469 3	7.82	0.304 4	64.86	9.0	0.804 5	13.41	0.522 1	64.90
4.0	0.536 3	8.94	0.379 3	70.72	10.0	0.871 5	14.52	0.753 9	86.50
5.0	0.697 2	11.62	0.458 9	67.25	11.0	0.737 4	12.29	0.438 5	59.47
6.0	0.724 0	12.07	0.431 2	59.56	12.0	0.670 4	11.17	0.482 3	71.94
7.0	0.697 2	11.62	0.424 5	60.88	13.0	0.650 3	10.84	0.378 1	58.14

由此可计算出用大孔吸附树脂 LSA-21 在 pH 10.0 条件下对氧化苦参碱动态吸附, 再以体积分数 30% 乙醇洗脱后, 氧化苦参碱的含量为 36.95%。

2.4 不同温度对大孔吸附树脂 LSA-21 吸附氧化苦参碱静态吸附率的影响

吸附一般是放热过程, 因此较低的温度有利于

提高吸附量和增加吸附速率, 表 4 的结果也证实了这一规律。由表 4 可知, LSA-21 对氧化苦参碱的饱和吸附量随温度的升高而降低, 其中在 0℃ 时饱和吸附量最大, 10~30℃ 对饱和吸附量的影响不明显。这说明温度对饱和吸附量的影响主要发生在较低温度范围 (0~10℃) 内。

表 4 不同温度对大孔吸附树脂 LSA-21 吸附氧化苦参碱静态吸附率的影响

Table 4 Effects of temperature on static adsorption amount of oxymatrine

温度/ Temperature	饱和吸附量/g Maximum adsorption amount	吸附率/ (mg·mL ⁻¹) Absorption rate	温度/ Temperature	饱和吸附量/g Maximum adsorption amount	吸附率/ (mg·mL ⁻¹) Absorption rate
0	0.412 9	6.88	20	0.343 0	5.72
10	0.353 9	5.90	30	0.335 7	5.60

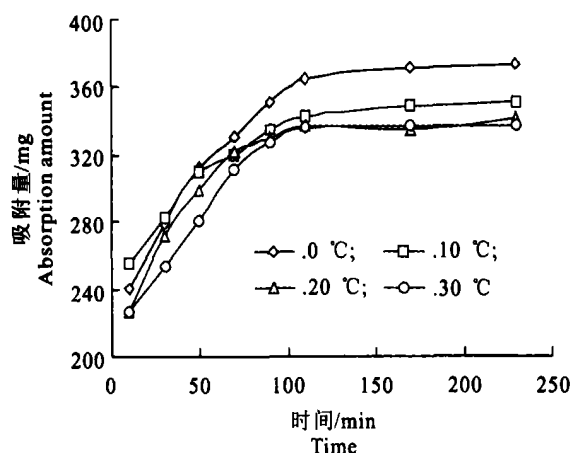


图1 不同温度下大孔吸附树脂LSA-21
对氧化苦参碱的静态吸附速率曲线

Fig. 1 Static absorption velocity
curve at different temperature

图1显示,LSA-21在不同温度时的恒温静态吸附速率曲线基本相似,4条曲线均表现出共同的特征,即在吸附前期(0~120 min)的吸附速率明显大于后期(120~250 min),且前期的吸附速率基本恒定,后期的速率则非常小。也就是说,当采用静态吸附时,选择吸附时间为2 h比较合适。

3 结论

采用大孔吸附树脂法分离苦参水提液中氧化苦参碱时,树脂LSA-21和LSA-30的动态饱和吸附量明显较LSA-40,LSA-21,HP-10和AB-8高。当采用LSA-21为吸附剂时,宜采用pH 10.0的样品溶液且在较低温度(0~10 °C)下进行吸附,解吸时应选择体积分数30%乙醇为宜。该条件既能保证有较高的吸附速率和较大的饱和吸附量,同时还能提供较大的洗脱率。

[参考文献]

- [1] 苗抗立,张建中,董颖,等. 苦参的化学成分及药理的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 13(2): 69-73
- [2] 张宏利,张跃进,韩崇选,等. 苦参生物活性研究进展[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(5): 31-37.
- [3] 崔九成,佟姝丽. 氧化苦参碱的提取分离工艺研究[J]. 陕西中医学院学报, 2000, 23(5): 51-52
- [4] 刘景艳,张朝珍,李巧玲. 大孔吸附树脂在天然药物分离中的应用[J]. 中国医药情报, 2004, 10(5): 31-35
- [5] 刘文,何德贵. 苦参中苦参碱浸出过程的研究[J]. 贵阳医学院学报, 1995, 17(12): 62-63
- [6] 李培凡,王智,沈彬,等. 反相HPLC法同时测定苦参碱,氧化苦参碱,槐果碱和槐胺碱的含量[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(2): 76-77.

Separation of oxymatrine from *Sophora flavescens* by macroporous absorption resin

YANG Ming-li, ZHOU Le, RAN Xiao-ya, ZHANG Wu-gang, WU Lian

(College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The separation effects of oxymatrine from *Sophora flavescens* with five types of macroporous absorption resins were studied. The results showed that macroporous absorption resin LSA-21 and LSA-30 were much better than LSA-40, HP-10 and AB-8 in absorption ratio; The optimum absorption conditions of LSA-21 were pH 10.0 and 0 °C, and its maximum dynamic absorption ratio and maximum static absorption ratio were 14.52 mg/mL and 6.88 mg/mL respectively, ideal eluent was 30% ethanol, which led to ≥90% de-absorption ratio and about 37% oxymatrine in dry eluate; The static absorption ratio would drop as the temperature rose and was more obvious in lower temperature range (0-10 °C), and meanwhile the static absorption speed slowed with the prolonging of time, the absorption ratio being fast and constant in the first 2 hours, then much slower.

Key words: *Sophora flavescens*; oxymatrine; macroporous absorption resin; absorption; separation