

大孔树脂分离纯化延胡索总生物碱的工艺研究

胡季强¹, 王如伟¹, 吕燊², 邱红英² (1. 浙江康恩贝制药股份有限公司, 杭州 310052; 2. 浙江中药与天然药物研究院, 杭州 310052)

摘要:目的 研究大孔树脂分离纯化延胡索总生物碱的工艺条件及参数。方法 以延胡索总生物碱提取率为评价指标筛选大孔树脂。结果 经试验表明分离纯化的最佳工艺为 D-101 大孔树脂, 上样量为延胡索药材与树脂体积比为 1:1 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 洗脱速度 $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$; 去离子水洗脱杂质, 洗脱体积为 6 BV, 80% 乙醇洗脱总生物碱, 洗脱体积为 6 BV。结论 该工艺简单可行, 分离效果好, 能满足于大生产的要求。

关键词:大孔树脂; 分离; 纯化; 延胡索; 总生物碱

中图分类号: R284.2

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2009)04-0271-03

Study on the Technology of Isolation and Purification of Gross Alkaloid in *Rhizoma Corydalis* with Macroporous Adsorbing Resin

HU Jiqiang¹, WANG Ruwei¹, LV Shen², QIU Hongying² (1. Zhejiang Conba Pharmaceutical Co., Ltd, Hangzhou 310052, China; 2. Zhejiang Traditional Chinese Medicine and Natural Drug Research Academy, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the purification method of gross alkaloid in *Rhizoma Corydalis* with macroporous adsorbing resin. **METHODS** The extracting yield of the gross alkaloid were taken as index to select the macroporous resin. **RESULTS** Optimum conditions for isolation and purification were indentified, i. e. D-101 type macroporous adsorbing resin, adsorbing rate was $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, water volume for removing impurities was 6 BV, concentration of the ethanol was 80%, and volume of ethanol was 6 BV. **CONCLUSION** The method is simple and feasible, with good separating effect which can meet industrial requirements.

KEY WORDS: macroporous adsorbing resin; isolation; purification; *Rhizoma Corydalis*; gross alkaloid

延胡索(元胡)为罂粟科植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)的干燥块茎,主产地浙江,为著名的浙八味之一。中国药典 2005 年版收载品种^[1],具有活血、利气、止痛的作用,临床上用于胸胁、脘腹疼痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌扑肿痛。本实验旨在优选出一种适合分离延胡索总生物碱的大孔树脂,并对优选出的大孔树脂分离延胡索总生物碱时的工艺条件及参数进行研究,研究表明,筛选出的工艺简单易行,为延胡索总生物碱的工业化生产提

表 1 大孔树脂的物理结构参数

Tab 1 The physical structure parameters of the different macroporous absorbing resin

树脂型号	极性	粒径范围/mm	比表面积/ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	孔径/ A°	孔容/ $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$
D101	非极性	0.3 ~ 1.25	≥ 400	90 ~ 100	1.20 ~ 1.35
DA201	极性	0.3 ~ 1.25	≥ 150	90 ~ 100	1.10 ~ 1.20
X-5	非极性	0.3 ~ 1.25	500 ~ 600	290 ~ 300	1.20 ~ 1.24
AB-8	弱极性	0.3 ~ 1.25	480 ~ 520	130 ~ 140	0.73 ~ 0.77

2 方法与结果

2.1 延胡索总生物碱含量测定方法

酸性染料比色法:酸水溶解样品,以溴甲酚绿为

供切实的理论依据和条件。

1 仪器与试剂

紫外分光光度计:日本岛津 UV-2201;延胡索乙素对照品:中国药品生物制品检定所,批号:110726-200409;延胡索药材:兰溪市三江中药饮片有限公司;大孔树脂 D101:浙江美迪康贸易公司;大孔树脂 DA201:杭州德佳科学仪器有限公司;大孔树脂 X-5、AB-8:南开大学化工厂;氯仿、溴甲酚绿、盐酸均为分析纯。树脂的物理结构参数参见表 1。

离子对,邻苯二甲酸缓冲液为水相,氯仿为有机相提取延胡索总生物碱,与溴甲酚绿形成的呈色离子对,以延胡索乙素为对照品,比色法测定延胡索总生物

作者简介:胡季强,男,博士,高级工程师 Tel:(0571)87774707

E-mail:hujq@conbagroup.com

碱的含量。

2.2 延胡索提取液的制备

称取延胡索药材粗粉 1 000 g,加入 80% 乙醇溶液 5 000 mL,回流提取 3 h,过滤,得滤液;滤渣再重复操作 2 次,合并 3 份滤液,减压浓缩至 1 000 mL,即得(总生物碱浓度约 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.3 大孔树脂预处理

将大孔树脂用 95% 的乙醇浸泡 24 h,使其充分膨胀,湿法装柱,然后用 95% 的乙醇液洗至流出液加适量纯水无白色浑浊现象,再用去离子水洗净乙醇,直至流出液无浑浊为止。

2.4 树脂型号的筛选

将延胡索提取液平均分成 4 份,分别加入 4 种型号的大孔树脂(D101、DA201、X-5、AB-8)中,依次用纯水和 80% 乙醇进行洗脱,计算延胡索总生物碱的提取率(解析后所得的总生物碱量与上柱前提取液中总生物碱量的比值),实验结果见表 2。

表 2 不同型号大孔树脂的筛选结果($n=2$)

Tab 2 Selected results of the different macroporous absorbing resin($n=2$)

树脂类型	延胡索总生物碱提取率/%
D101	84.2
DA201	79.4
X-5	73.2
AB-8	76.7

由上述试验结果可知,D101 大孔树脂分离纯化延胡索总生物碱提取率较高,故确定选用 D101 型大孔树脂。

2.5 D101 大孔树脂对延胡索总生物碱的动态吸附性能及上样量的确定

为了考察 D101 大孔树脂对延胡索总生物碱的动态吸附性能,确定 D101 大孔树脂的样品处理量,进行泄漏曲线的测定。取延胡索提取液(总生物碱浓度以延胡索乙素计为 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),加入 D101 大孔树脂中,大孔树脂体积为 10 mL,流速控制 $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$,分段收集,每收集 10 mL 立即测定吸光度,共收集 300 mL,以药液吸附流出体积为横坐标(X 轴),以流出液总生物碱测定量为纵坐标(Y 轴)绘制泄漏曲线,从而确定 D101 大孔树脂的样品处理量,见图 1。

上述试验结果表明,D101 大孔树脂对延胡索总生物碱的吸附容量,当流速为 $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$,最大可以处理 3 倍柱床体积总生物碱浓度为 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (以延胡索乙素计)的延胡索提取液不发

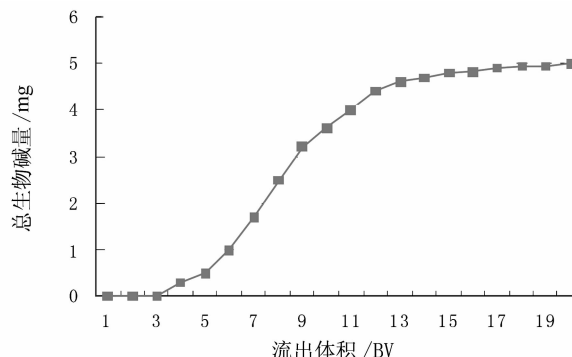


图 1 D101 树脂吸附总生物碱的泄漏曲线

Fig 1 The leakage curve of Macroporous resin D101 absorbing the gross alkaloid

生泄漏。综合考虑选用延胡索药材与树脂用量(柱体积)比约为 1:1($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)上样,以保证绝对不发生泄漏。

2.6 杂质洗脱剂的选择及用量的确定

取 3 根相同型号的玻璃层析柱,按“2.5”项确定的的方法上样,分别以 10% 乙醇溶液、稀盐酸(pH5)、去离子水进行洗脱,每 1 BV 接收 1 份,紫外检测总生物碱的含量,同时观察洗脱液的颜色,确定洗脱剂的用量,结果见表 3。

表 3 3 种杂质洗脱剂总生物碱含量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tab 3 The content of gross alkaloid using three impurities eluent/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

序号	10% 乙醇	稀盐酸	去离子水
1	0.06	0.11	0
2	0.07	0.21	0
3	0.09	0.09	0
4	0.11	0.22	0
5	0.09	0.11	0
6	0.11	0.15	0

上述试验结果表明,10% 乙醇及稀盐酸洗脱杂质时,总生物碱都有部分损失,而去离子水洗脱却能保证生物碱不被洗脱下来,所以选定去离子水为杂质洗脱剂。通过观察去离子水洗脱到 5 个柱体积后,洗脱液颜色已很浅,水溶性杂质基本上已经洗掉,确定杂质洗脱剂用量为 5 个柱体积。

2.7 总生物碱洗脱剂种类与用量的筛选

取 3 根相同型号的玻璃层析柱,按“2.5”项及“2.6”项确定的方法上样并洗脱杂质,分别以 50% 乙醇、80% 乙醇和 95% 乙醇洗脱吸附在层析柱上的延胡索总生物碱,每 1 BV 接收 1 份,紫外检测总生物碱的含量,以洗脱液中总生物碱含量为指标,确定洗脱剂及用量。

表4 不同乙醇浓度对总生物碱含量的影响/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tab 4 Influence of ethanol concentration on the gross alkaloid content/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

序号	50% 乙醇	80% 乙醇	95% 乙醇
1	0.21	0.91	0.57
2	0.52	1.21	0.75
3	0.55	1.23	0.87
4	0.72	0.56	0.88
5	0.41	0.02	0.29
6	0.44	0.01	0.03

上述试验结果表明,洗脱5个柱体积时,80%乙醇总生物碱含量已经很低,50%乙醇和95%乙醇仍含有一定量总生物碱,考虑到成本,确定总生物碱洗脱剂为80%乙醇,洗脱体积为5个柱体积。

2.8 总生物碱样品的制备及检验

延胡索药材1 kg,制备得样品6.53 g,含总生物碱72.8%,该工艺能保证中药新药口服制剂对有效部位含量的要求(大于50%)。为保证工艺可控,延胡索药材投料前应进行检验,本试验中采用的延胡索药材总生物碱含量为1.2%。

3 讨论

本试验针对延胡索总生物碱分离纯化工艺进行研究,4种大孔树脂中,D101树脂最适合分离延胡索总生物碱,上样量为延胡索药材与树脂体积比为1:1($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),洗脱速度 $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$,去离子水

洗脱杂质效果理想,洗脱体积为6个柱体积,采用80%乙醇洗脱总生物碱,洗脱体积为5个柱体积。

大孔树脂广泛应用于中药的分离纯化^[2-5],在使用时,应根据药物的有效成分的理化性质进行树脂型号、吸附容量、洗脱分离等具体工艺条件进行考察。采用本试验确定的工艺,可以保证总生物碱含量在50%以上,符合中药新药口服制剂对有效部位含量的要求。该工艺分离纯化延胡索总生物碱具有工艺成熟、操作简便、成本低、产率高的特点,有良好的实际应用前景。

REFERENCES

- [1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典2005年版.一部)[S]. 2005: 94.
- [2] HUANG J M, GUO J X, CHEN W S, et al. Adsorption properties and application of macroporous resin for purification alkaloids in *Aconitum Kusnezoffii*[J]. J Fudan Univ Med Sci(复旦大学学报医学版), 2003,30(3):267-269.
- [3] HU J, ZHOU Y H. Application of macroporous resin in the purification of Chinese herbs[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2002,24(2):127-130.
- [4] ZHANG H, LIU Z Q. Application of macroporous adsorbing resins in pharmaceutical science[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2001,32(1):41-44.
- [5] ZHAO D Z, DAI S J. The study of macropopous adsorbing resin isolation *Decumbent Corydalis Rhizome* gross alkaloid[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006,28(2):182-184.

收稿日期:2008-09-11