

## 大孔吸附树脂分离提取大叶钩藤总生物碱

# Separation of Total Alkaloidal from Extracting Linquid of *Uncaria macrophylla* by Macroporous Adsorption Resin

黄永林, 阮俊, 沈晓琳, 杨雄辉

HUANG Yong-lin, RUAN Jun, SHEN Xiao-lin, YANG Xiong-hui

(广西植物研究所, 广西桂林 541006)

(Guangxi Institute of Botany, Guilin, Guangxi, 541006, China)

**摘要:** 选择6种大孔吸附树脂(AB-8, NKA-9, NKA-Ⅱ, DA-201, D-101, D001)分离提取大叶钩藤(*Uncaria macrophylla* Wall.)中的总生物碱, 考察大孔吸附树脂对大叶钩藤总生物碱的吸附能力。结果筛选出D-101的吸附效果最好, 静态吸附容量为112.5mg/ml, 动态吸附容量为82.7mg/ml, 选用D-101大孔吸附树脂能很好地提取分离大叶钩藤总生物碱。提取大叶钩藤总生物碱时, 用8倍树脂体积的0.08mol/L盐酸作洗脱剂, 成本低、总生物碱洗脱完全, 工艺稳定性试验产品含量达36.7%。

**关键词:** 总生物碱 提取 分离 大孔吸附树脂 大叶钩藤

**中图分类号:** O69:Q946.88 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2006)02-0127-03

**Abstract:** Choose 6 kinds of macroporous adsorption resins (AB-8, NKA-9, NKA-Ⅱ, DA-201, D-101, D001) extraction and separation the total alkaloid from *Uncaria macrophylla* Wall., inspection macroporous adsorption resins adsorptive capacity to total alkaloid of the *Uncaria macrophylla* Wall. The result showed that D-101 gave good separation performance, the static adsorption capacities were 112.5mg/ml, the stir adsorption capacities were 82.7mg/ml. Selects D-101 to be able to extract and separate the total alkaloid well. When extracts the total alkaloid and uses the 8 time of volumes 0.08mol/L hydrochloric acid to wash, the cost is low, the total alkaloid elutes completely, the content in experimental stability is 36.7%.

**Key words:** total alkaloidal, extraction, separation, macroporous adsorption resin, *Uncaria macrophylla*

大孔树脂是一类有机高聚物吸附剂, 具有大孔网孔结构和较大的比表面积, 可以通过物理吸附从水溶液(或其他溶液)中选择性地吸附有机物。近年来, 大孔树脂在生物碱提取精制领域中的应用研究越来越广泛, 如刘俊红等<sup>[1]</sup>利用D-101, DA-201, WID-Ⅱ三种不同的大孔树脂分离提取延胡索生物碱; Miller<sup>[2]</sup>应用Amberlite XAD-4大孔树脂自吗啡溶液中提取吗啡; Payne<sup>[3]</sup>考察了Amberlite XAD-4, XAD-7大孔树脂对吡啶生物碱的吸附作用; 李建成等<sup>[4]</sup>对大孔吸附树脂富集纯化博落回总生物碱工艺进行了研究。这些研究表明, 大孔吸附树脂对于生物碱具有良好的吸附效能。

钩藤属(*Uncaria* Schreb.)植物为常用中药。现代药理学研究证明钩藤具有扩张外周血管降低阻力<sup>[5]</sup>、抗心律失常<sup>[6]</sup>等作用。具有清热平肝, 息风定惊的作用, 用于头痛眩晕、感冒夹惊、惊痫抽搐、妊娠子痫、高血压等症<sup>[7]</sup>。钩藤中降压、扩张外周血管的主要活性成分为异钩藤碱、钩藤碱<sup>[8]</sup>。目前, 工业上采用传统的醇、苯等溶剂提取分离钩藤总生物碱, 存在能耗大、溶剂有毒、成本高等不利因素<sup>[9]</sup>。以大孔树脂提取分离钩藤总生物碱未见有报道, 为此, 我们选择6种大孔吸附树脂分离大叶钩藤(*Uncaria macrophylla* Wall.)的总生物碱, 筛选出最佳的树脂、洗脱溶剂及用量。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 材料

大叶钩藤为当年生嫩枝、叶部分, 由广西南宁九山红营销有限公司提供。大孔吸附树脂 AB-8, NKA-

收稿日期: 2005-08-02

修回日期: 2005-09-07

作者简介: 黄永林(1974-), 男, 广西桂林人, 助理研究员, 从事天然产物开发利用研究。

9, NKA-Ⅱ 购于南开大学化工厂, DA-201, D-101 为天津农药厂产品, D001 为上海亚东核极树脂有限公司产品。

## 1.2 仪器

梅特勒 AT200 电子天平, 旋转蒸发仪及常规器皿。

## 1.3 试剂

所用试剂有: 乙醚、无水乙醇、硫酸、氢氧化钠、氨水、硅钨酸等, 均为国产分析纯。

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 总生物碱含量测定

精密量取适量大叶钩藤碱液, 转入分液漏斗中, 用 N/2 硫酸液振摇提取, 每次 25ml, 至生物碱提尽。合并酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 10 左右, 用乙醚振摇提取, 每次 30ml, 至生物碱提尽为止。每次乙醚液均用 10ml 同一的水洗涤, 水液再用 10ml 乙醚洗涤。合并乙醚液, 蒸干, 残渣用无水乙醇溶解, 再蒸干, 残渣加 4ml 乙醚溶解, 精密加 N/50 硫酸液 25ml, 置水浴上除去乙醚, 放冷至室温, 加 2 滴甲基红-亚甲蓝指示剂, 用 N/50 氢氧化钠液溶滴定至溶液由橙红色转变为黄绿色即得 (每 1ml 的 N/50 硫酸液相当于 7.68mg 的  $C_{22}H_{28}O_4N_2$ )<sup>[10]</sup>。

### 1.4.2 大叶钩藤提取液制备

取一定量的大叶钩藤枝、叶经粉碎后分别加入 10 倍、8 倍生药量的水加热煮沸提取 2 次, 时间分别为 2.0h、1.5h, 合并提取液, 放冷, 过滤, 即得。

### 1.4.3 树脂的预处理与再生

按常规树脂预处理、再生方法进行。预处理和再生后的树脂备用。

### 1.4.4 吸附容量测定

用静态法作为树脂的初步筛选方法, 洗脱剂的选择及溶剂的用量采用动态法, 最后用动态法进行生产工艺稳定性验证。

静态吸附容量的测定是取预处理好的大孔吸附树脂 5ml 加入 100 ml 的大叶钩藤碱溶液中, 常温振荡, 4h 后定量吸取溶液, 检测溶液中总生物碱, 计算各种树脂的动态吸附容量。

动态吸附容量的测定是将预处理好的大孔吸附树脂 5ml 装入层析柱中 (1.5cm × 20cm), 大叶钩藤碱溶液 100ml 缓慢上柱吸附, 静置 0.5h, 用 50 ml 水洗柱, 合并流出液, 测定总生物碱含量, 计算各种树脂的动态吸附容量。

### 1.4.5 吸附洗脱溶剂选择

先分别用盐酸溶液、甲醇、乙醇、丙酮溶剂对吸附相同容量 (动态吸附容量法检测吸附容量) 大叶钩藤

总生物碱的树脂进行洗脱, 计算洗脱率; 然后, 将盐酸与甲醇按不同比例混合对吸附容量最大的树脂进行洗脱, 计算洗脱率。洗脱率按下式计算:

$$\text{洗脱率} = \frac{\text{洗脱总生物碱量}}{\text{吸附总生物碱量}} \times 100\%$$

### 1.4.6 吸附洗脱溶剂用量选择

对吸附已知大叶钩藤总生物碱量的树脂进行洗脱, 定量收集洗脱液并检测大叶钩藤总生物碱的含量, 洗脱至洗脱液用硅钨酸试液检不出生物碱为止。

### 1.4.7 工艺稳定性试验

取同样重量的树脂于层析柱, 大叶钩藤提取液过柱至树脂吸附饱和, 用 8 倍树脂体积的 0.08mol/L 盐酸溶液洗脱, 检测树脂吸附及洗脱生物碱的量, 计算收得率。收得率的计算公式如下。

$$\text{收得率} = \frac{\text{洗脱生物碱量}}{\text{吸附生物碱容量}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 树脂的筛选

表 1 结果显示, D-101 吸附量最大, 为 112.5 mg/ml, 其次为 DA-201, 87.3 mg/ml, NKA-Ⅱ 吸附量最小。因此, 由静态吸附容量初步筛选出 AB-8、D-101、DA-201 作为下一步研究的树脂。

表 1 6 种树脂静吸附容量的比较

Table 1 Six kinds of resin static state adsorbs the comparison of the capacity

| 树脂<br>Resin model | 吸附量<br>Adsorptive capacity(mg/ml) |
|-------------------|-----------------------------------|
| AB-8              | 89.3                              |
| DA-201            | 87.3                              |
| NKA-9             | 55.7                              |
| D-101             | 112.5                             |
| NKA-Ⅱ             | 35.2                              |
| D001              | 50.4                              |

从表 2 可以看出, 由静态吸附容量筛选出的 AB-8、D-101、DA-201 树脂的动态吸附容量与静态吸附相比, 吸附容量普遍偏小, 分别为静态吸附容量的 79.73%, 62.42%, 73.51%。三种树脂对大叶钩藤总生物碱的吸附能力大小依次为: D-101 > AB-8 > DA-201。

### 2.2 吸附洗脱溶剂的选择

从表 3 结果可以看出, 对于树脂 AB-8、D-101、DA-201, 用盐酸洗脱率明显好于有机溶剂, 因此, 选用 0.08mol/l 盐酸作洗脱剂。另外表 3 还表明, DA-201 树脂用有机溶剂、盐酸洗脱率均较低, 其原因有待进一步研究。

表2 3种树脂动态吸附容量的比较

Table 2 Three kinds of resin dynamic states adsorb the comparison of the capacity

| 树脂<br>Resin | 吸附量<br>Adsorptive capacity (mg/ml) |
|-------------|------------------------------------|
| AB-8        | 71.2                               |
| DA-201      | 54.5                               |
| D-101       | 82.7                               |

表3 各种洗脱剂的洗脱率

Table 3 Various wash to take off to wash to take off a rate

| 洗脱溶剂<br>Elutes the solvent            | 洗脱率 Eluting rate(%) |           |       |
|---------------------------------------|---------------------|-----------|-------|
|                                       | AB-8                | DA-201(%) | D-101 |
| 60% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH  | 83.61               | 62.63     | 74.23 |
| 60% CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> | 89.22               | 68.42     | 75.94 |
| 60% MeOH                              | 86.23               | 65.89     | 78.65 |
| 0.02mol/L HCl                         | 88.34               | 78.34     | 90.12 |
| 0.04 mol/L HCl                        | 91.01               | 75.65     | 92.53 |
| 0.06mol/L HCl                         | 92.22               | 74.24     | 92.36 |
| 0.08mol/L HCl                         | 93.25               | 70.08     | 94.01 |
| 0.1mol/L HCl                          | 86.39               | 65.57     | 90.76 |

从表4结果可以看出,混合溶剂的洗脱率明显提高,其中1:1的盐酸0.08mol/L 甲醇溶液的洗脱效果最佳,达99.10%。

表4 洗脱溶剂对 D-101的洗脱效果

Table 4 Elutes the solvent to elute the effect to the D-101

| 洗脱溶剂配比<br>(甲醇:0.08mol/L 盐酸)<br>Elutes the solvent allocated<br>proportion Methanol:0.08mol/L HCl | 洗脱率<br>Eluting rate (%) |
|--|-------------------------|
| 3:1  | 88.36                   |
| 1:1  | 99.10                   |
| 1:3  | 87.97                   |
| 2:1  | 90.45                   |
| 1:2  | 93.25                   |

### 2.3 吸附洗脱溶剂用量的选择

吸附相同容量(动态吸附容量法检测吸附容量)大叶钩藤总生物碱的3种树脂分别用树脂体积的2倍、4倍、6倍、8倍、10倍、12倍、14倍0.08mol/L 盐酸溶液洗脱的结果(表5)表明,洗脱溶剂的用量为树脂体积的8倍时,生物碱的洗脱率分别达94.62%、72.58%、95.6%,再增加洗脱溶剂倍数,洗脱的生物碱提高不明显,因此,选择8倍树脂体积的溶剂洗脱比较合适。

### 2.4 工艺稳定性试验

表6结果与动态吸附容量比较的差别不大,且RSD分别为3.2%、1.5%、2.3%,偏差小,工艺较稳定。产品总生物碱含量分别为32.5%、40.5%、36.7%,比传统生产工艺的含量高。

表5 溶剂倍数对洗脱率的影响

Table 5 Solvent multiple to the influence of eluting rate

| 0.08mol/L 盐酸溶液用量<br>(树脂体积倍数)<br>Solution amount<br>used of 0.08mol/L HCL<br>(Volume multiple of resin) | 洗脱率<br>Eluting rate(%) |        |       |
|--|------------------------|--------|-------|
|  | AB-8                   | DA-201 | D-101 |
| 2  | 15.51                  | 9.75   | 14.87 |
| 4  | 45.63                  | 31.01  | 46.35 |
| 6  | 86.26                  | 62.47  | 84.60 |
| 8  | 94.62                  | 72.58  | 95.67 |
| 10   | 95.78                  | 74.60  | 96.14 |
| 12   | 95.92                  | 78.55  | 96.56 |

表6 工艺稳定性试验(n=3)

Table 6 The craft stability experiment

| 树脂<br>Resin | 吸附生物碱容量<br>Adsorb alkaloid<br>capacity (mg) | RSD (%) | 洗脱生物碱量<br>Elutes the alkaloid<br>quantity (mg) | 收得率<br>Rate (%) | 产品生物碱含量<br>Product alkaloid<br>content (%) |
|-------------|---|---------|--|-----------------|--|
| AB-8        | 70.9  | 3.2     | 63.9   | 90.1            | 32.5                                       |
| DA-201      | 53.3  | 1.5     | 41.0   | 76.9            | 40.5                                       |
| D-101       | 82.0  | 2.3     | 76.5   | 93.3            | 36.7                                       |

## 3 结论

选用D101大孔吸附树脂能很好地提取分离大叶钩藤中的总生物碱,静态吸附容量达112.5mg/ml,动态吸附容量达82.7mg/ml。用8倍树脂体积的0.08mol/L 盐酸作洗脱剂成本低、总生物碱洗脱完全。工艺稳定性试验产品含量达36.7%。用大孔吸附树脂提取分离大叶钩藤总生物碱具有潜在的工业应用价值。

### 参考文献:

- [1] 刘俊红,魏峻峰,王洪志,等.大孔吸附树脂在延胡索生物碱提取分离中的应用[J].中草药,2002,33(1):37-38.
- [2] MILLER W L, KULLTERG M P. Extraction of morphine from morphine aqua[J]. Biochem Med, 1973, 7(1): 145.
- [3] PANYE G F, SHULER M L. Application of adsorbent amberlite XAD-4 and XAD-7 in extraction and separation of indole alkaloid [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1988, 31(6): 922.
- [4] 李建成,贺莲,刘平安,等.大孔吸附树脂富集纯化博落回总生物碱工艺研究[J].湖南中医杂志,2004,20(2): 60-61.
- [5] 刘雪玲.钩藤的有效成分及降压作用的特点[J].菏泽医学专学报,1996,8(4):20.
- [6] 苗维纳.抗心律失常中药的电生理学研究近况[J].学术进展动态,2001,3(5):43.
- [7] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:人民卫生出版社,2005:180.
- [8] 宋纯清,樊懿,黄伟晖,等.钩藤中不同成分降压作用的差异[J].中草药,2000,31(10):762-764.
- [9] 王瑞俭,孙广仁,孙宝民,等.钩藤碱提取工艺研究[J].吉林林学院学报,1998,14(2):109-111.
- [10] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:人民卫生出版社,1977:413-414.

(责任编辑:邓大玉)