

图 4 未污染陶瓷膜的表面(A)和截面(B)的 SEM 图

Fig. 4 SEM pattern of surface (A) and cross section (B) of ceramic membrane unfouled

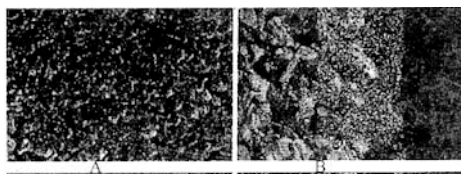


图 5 通过杞菊地黄丸水提液后污染的陶瓷膜的表面(A)和截面(B)的 SEM 图

Fig. 5 SEM pattern of surface (A) and cross section (B) of ceramic membrane fouled by Qiju Dihuang Pill aqueous extract

最小,只占总阻力的 9.9%。

通过红外光谱对微滤杞菊地黄丸水提液的膜污染物进行定性分析可知膜污染物中分子主要具有肽键、羰基和羟基。如果采用一定方法测定水提液中物质组成,就可知某一类非有效成分造成膜通量下降及膜污染的主要因素。

污染膜表面沉积层的组成物质的粒径分布情况为:占有较大体积百分数的粒子的半径集中在 $18.627\ \mu\text{m}$ 左右,而占有较高数量的粒子的半径集中在 $0.424\ \mu\text{m}$ 左右。此结果提示在进行微滤前可对药液进行预处理。如将药液经过高速离心,沉降药液中粒径在 $18.627\ \mu\text{m}$ 左右,以及粒径在 $0.424\ \mu\text{m}$

左右的粒子。将会有效地减轻 $0.2\ \mu\text{m}\ \text{Al}_2\text{O}_3$ 陶瓷膜的污染程度,提高膜的药液通量,提高生产效率,降低生产成本。亦可能使得药效成分的转移率得到一定程度地改善。但上述结论有待进一步验证。

SEM 图中,未受污染的无机陶瓷膜表面光滑,均匀,组成皮层和支撑层的颗粒清晰可见。污染膜的表面,可见膜皮面为有一层污染物,将皮层覆盖住。SEM 图中可以清楚地看见膜皮层表面堆杂着大量污染物,膜孔内未见明显的污染物堆积。由此可知,在这一杞菊地黄丸水提液微滤系统中膜污染主要是由于膜吸附截留污染物粒子从而在膜表面形成一层污染物造成的,即形成表面沉积层,并且,这一阻力是控制膜的微滤性能和污染情况的主要阻力之一。膜表面形成表面沉积层的同时污染物粒子也会进入膜孔,但膜孔中污染量与表面污染物相比要少得多。这与本实验中计算出的阻力分布的结果大致相吻合。但仅根据 SEM 图像无法判断污染物的状态。

References:

- [1] Guo L W, Shang W B, Liu T S, *et al.* Effects of membrane separation purificatory technology on solid compositions and hypoglycemic action of Tangkeqing [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (7): 494.
- [2] Guell C, Davis R H. Membrane fouling during microfiltration of protein mixtures [J]. *J Membr Sci*, 1996, 119: 269-284.
- [3] Qusman M, Benneer M. Determination of various hydraulic resistances during cross-flow filtration of starch grain suspension throw inorganic membranes [J]. *J Membr Sci*, 1995, 105: 1-21.
- [4] Dal-Cin M, Mclellan F. Membrane performance with a pulp mill effluent: relative contributions of fouling mechanisms [J]. *J Membr Sci*, 1996, 120: 272-285.
- [5] Dong Y, Yuan Y, Guo L W. Optimism of refined production of Qingluotongbi granule with inorganic pottery membrane [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2004, 20 (2): 99.

大孔吸附树脂分离纯化荷叶中阿朴啡类生物碱

王 晋, 罗旭彪, 陈 波*, 姚守拙

(化学生物学及中药分析省部共建教育部重点实验室 湖南师范大学, 湖南 长沙 410081)

摘要:目的 优化大孔吸附树脂分离纯化荷叶中阿朴啡类生物碱的洗脱条件。方法 采用大孔吸附树脂柱色谱法,以不同体积分数甲醇水溶液进行洗脱,分离富集阿朴啡类生物碱,并配以 HPLC 进行同步监控。结果 基于不同体积分数甲醇水洗脱液对各种阿朴啡类生物碱洗脱能力不同,采用 70%、80%、95% 甲醇水溶液进行梯度洗脱,荷叶中 3 种主要的阿朴啡类生物碱得到了分离富集。70% 甲醇水溶液洗去目标物以外的杂质后,75.58% 的 *N*-降

收稿日期: 2005-05-08

基金项目: 国家“十五”重大专项“创新药物及中药现代化”、“食品安全关键技术”及湖南省杰出青年基金资助(03JJY1002, 2001BA746C, 2001BA804A21, 2003AA2Z3515)。

* 通讯作者 陈 波 Tel: (0731) 8865515 E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com

荷叶碱和 65.03% 的 *O*-降荷叶碱富集于 80% 甲醇水洗脱液中, 69.46% 荷叶碱富集于 95% 甲醇水洗脱液中。各洗脱液分别蒸干后得固体, *N*-降荷叶碱和 *O*-降荷叶碱在相应的固体中质量分数分别为 44.01%、7.61%。荷叶碱在相应的固体中质量分数为 68.52%。结论 此方法操作简单、重复性好, 能有效分离富集荷叶中阿朴啡类各种生物碱。

关键词: 荷叶; *O*-降荷叶碱; *N*-降荷叶碱; 荷叶碱; 大孔吸附树脂; 富集

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)03-0355-04

Isolation and purification of aporphine alkaloids with macroporous adsorption resin

WANG Pu, LUO Xu-biao, CHEN Bo, YAO Shou-zhuo

(Key Laboratory of Chemical Biology and Traditional Chinese Medicine Analysis by Both Hunan Province and Ministry of Education, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: Objective To study the optimal elution conditions of macroporous adsorption resin for different aporphine-alkaloids in the leaves of *Nelumbo nucifera*. **Methods** Macroporous adsorption resin was used for adsorption, separation, and elution of aporphine concentration alkaloids. The process was monitored by HPLC. **Results** According to different abilities of methanol aqueous elutions in different concentration (70%, 80%, and 95%) to elute different aporphine alkaloids, that were used for gradient elution in turn, and the three kinds of aporphine alkaloids were enriched and one of them was separated. After the impurities were abandoned in 70% methanol aqueous solution, 75.58% *N*-nornuciferine and 65.03% *O*-nornuciferine were mainly collected in 80% methanol aqueous solution, and 69.46% nuciferine was enriched in 95% methanol aqueous solution. With these elution solutions dried, their contents of *N*-nor-nuciferine, *O*-nornuciferine, and nuciferine were 44.01%, 7.61%, and 68.52% in the relative solid, respectively. **Conclusion** The developed method is simple with good reproducibility. It is effective to enrich different aporphine alkaloids in the leaves of *N. nucifera* surely.

Key words: the leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn; *O*-nornuciferine; *N*-nornuciferine; nuciferine; macroporous adsorption resin; enrich

荷叶为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的叶, 具有清热解暑、升发清阳、凉血止血之功^[1]。《本草纲目》载“荷叶服之, 令人瘦劣”。现代临床表明荷叶的总碱具有调血脂和降低胆固醇作用, 广泛用于肥胖症及高脂血症^[2~4]。荷叶中生物碱主要为阿朴啡类生物碱。本实验研究了荷叶中生物碱的分析方法, 以便为荷叶中的阿朴啡类生物碱的大孔吸附树脂的分离纯化提供检测方法, 并且优化了大孔吸附树脂对不同生物碱的洗脱条件。

1 仪器与材料

岛津 LC-10Avp 高效液相色谱仪 (配有 SPD-10Avp 紫外检测器, SIL-10Avp 自动进样器), JCX-250W 超声波清洗器 (山东济宁电子仪器厂), LD4-2A 高速离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

HPD-100 大孔吸附树脂 (河北沧州宝恩化工有限公司); 荷叶碱、*O*-降荷叶碱、*N*-降荷叶碱对照品 (HPLC 测定纯度均在 98% 以上), 荷叶碱提取物均由本实验室制备, 1 g 提取物含荷叶生药材 10 g, 产地湖南长沙。二次蒸馏水, 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取荷叶碱对照品 50 mg、*N*-降荷叶碱对照品 25 mg、*O*-降荷叶碱对照

品 35 mg 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解并稀释至刻度。精密量取 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中加甲醇稀释至刻度, 配成对照品溶液。再将这些对照品溶液稀释成一系列不同质量浓度标准溶液, 其中荷叶碱、*N*-降荷叶碱、*O*-降荷叶碱溶液的质量浓度范围分别为 0.50~500 $\mu\text{g/mL}$, 0.25~250 $\mu\text{g/mL}$, 0.35~350 $\mu\text{g/mL}$ 。色谱图见图 1。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取不同比例甲醇洗脱物 10 mg 左右, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解, 并稀释至刻度。过 0.45 μm 滤膜, 备用。

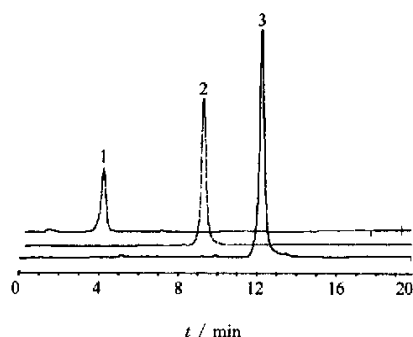
2.3 高效液相色谱法测定荷叶中阿朴啡类生物碱

2.3.1 色谱条件: 色谱柱: 岛津 VP-ODS 柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm); 流动相: A (0.1% 三乙胺水溶液)-B (乙腈) 线性梯度洗脱: 0 min、60%A, 0~15 min、60%~20%A, 15~20 min、20%~0%A; 检测波长: 280 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 室温。

2.3.2 线性关系考察: 以上述的一系列不同质量浓度对照品溶液, 分别进样 10 μL , 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 并用线性回归方程拟合。结果见表 1。

2.4 大孔吸附树脂纯化条件的考察

2.4.1 树脂的预处理及再生: 取 HPD-100 大孔吸



1-*O*-降荷叶碱 2-*N*-降荷叶碱 3-荷叶碱
1-*O*-nornuciferine 2-*N*-nornuciferine 3-nuciferine

图 1 *O*-降荷叶碱、*N*-降荷叶碱和荷叶碱对照品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of *O*-nornuciferine, *N*-nornuciferine, and nuciferine reference substances

表 1 线性方程及线性范围

Table 1 Linear equation and linear ranges

化合物	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相关系数 r	线性方程
荷叶碱	0.50~500	0.999 5	$Y=1\,849\,X+20.3$
<i>N</i> -降荷叶碱	0.25~250	0.999 8	$Y=1\,120\,X+101.2$
<i>O</i> -降荷叶碱	0.35~350	0.999 8	$Y=1\,007\,X+18.7$

附树脂用甲醇浸泡 24 h 后,装入树脂柱,用甲醇冲洗,直至流出液不产生乳白色浑浊时,再用蒸馏水冲洗至无醇味即可。

2.4.2 上柱样品的制备:精密称量 0.65 g 荷叶提取物,以 400 mL 1% 盐酸水溶液超声提取 2 h,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液。沉淀中再加入 400 mL 1% 盐酸水溶液,超声,离心,取上清液。余下的沉淀继续加 1% 盐酸水溶液 200 mL,重复上述步骤,最后将 3 次上清液合并,定容至 1 000 mL 供上柱用。

2.4.3 静态吸附试验:准确平行称取 3 份处理好的干树脂,每份 1 g,置于 500 mL 磨口烧瓶中,加入已知量的吸附原液,盖紧瓶塞,室温下放置 24 h,(每 8 h 振荡 1 次),充分吸附后滤过,对滤液进行 HPLC 测定,计算吸附容量。每 1 g 干树脂对 *N*-降荷叶碱、荷叶碱、*O*-降荷叶碱的平均吸附容量分别为 5.919、7.596 和 0.676 mg。

2.4.4 洗脱条件的研究:采用小径柱探讨阿朴啡类生物碱的分离富集条件。准确称取 0.66 g 荷叶提取物,上清液定容至 1 000 mL,得上柱液,上柱(21 cm $\times$ 2.5 cm)。依次用水,20%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95% 甲醇水溶液各 5 倍柱体积进行洗脱,流量为 7.5 mL/min,其中水洗得到的溶液中不含阿朴啡类生物碱。分段收集从 20% 甲醇开始的洗脱液(每份 1 倍柱体积,共 50

份),分析各洗脱液中阿朴啡类生物碱,绘制洗脱曲线。图 2 为 *O*-降荷叶碱、*N*-降荷叶碱、荷叶碱的洗脱曲线。结果表明不同体积分数甲醇水洗脱液对不同阿朴啡类生物碱洗脱能力不同,80% 甲醇水洗脱液能洗脱出 75.58% *N*-降荷叶碱和 65.03% *O*-降荷叶碱,95% 甲醇水洗脱液可洗脱出 69.46% 荷叶碱。图 3 为 95%、80% 甲醇水洗脱液色谱图。从洗脱曲线和色谱图中可以看出在 95% 甲醇洗脱液中荷叶碱可以单独洗出,而在其他体积分数的甲醇洗脱液中,在富集了 *N*-降荷叶碱或 *O*-降荷叶碱同时也洗出了其他生物碱。

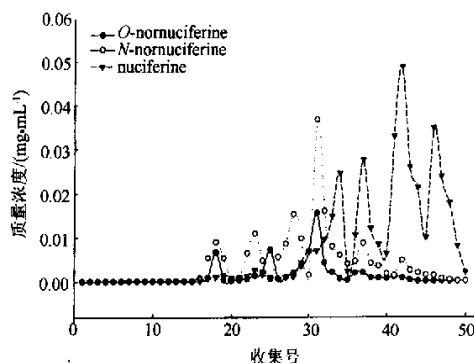
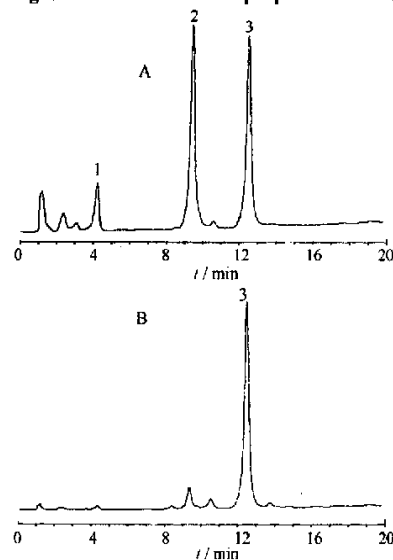


图 2 阿朴啡类生物碱洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of aporphine alkaloids



1-*O*-降荷叶碱 2-*N*-降荷叶碱 3-荷叶碱
1-*O*-nornuciferine 2-*N*-nornuciferine 3-nuciferine

图 3 80% 甲醇(A)和 95% 甲醇(B)洗脱液的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC Chromatograms of 80% methanol elution (A) and 95% methanol elution (B)

2.5 工艺验证:10 g 样品上大孔吸附树脂柱,分别

用5 BV 70%甲醇水溶液洗脱,再依次用10 BV 80%甲醇水溶液,10 BV 95%甲醇水溶液洗脱,80%、95%甲醇水洗脱液浓缩,干燥,称重。HPLC法测定阿朴啡类生物碱,结果见表2。

表2 阿朴啡类各种生物碱的洗脱结果

Table 2 Optimal elution results of various alkaloids belonging to aporphine

提取物	质量/g	O-降荷叶碱/%	N-降荷叶碱/%	荷叶碱/%
荷叶提取物	10.01	0.83	4.13	7.49
80%甲醇洗脱物浓缩后固体	0.71	7.61	44.01	23.67
95%甲醇洗脱物浓缩后固体	0.76	1.09	6.12	68.52

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Duggan A W, Lodge D, Bixcoe T J, et al. Effect of nuciferine on the chemical excitation of Renshaw cells in the rat [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1973, 204 (1): 147-149.
- [3] Miski M, Shen X, Cooper R, et al. Aporphine alkoids, CD45 protine tyrosine phosphatase inhibitors from *Rollinia ulai* [J]. *Bioorganic Med Chem Lett*, 1995, 5 (14): 1519-1522.
- [4] Tu C C, Li X Y, Yang J P, et al. Experiment research of the total alkaloids from *Nelumbo nuciferine* leaves effect on lowering hyperlipemia in fatty mice [J]. *J Jiangxi Coll Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 2001, 13 (3): 120-121.

喷雾干燥技术制备麦冬皂苷肠溶微球的处方设计研究

沈 岚, 冯 怡, 徐德生, 林 晓

(上海中医药大学 药剂教研室, 上海 201203)

摘要:目的 探索喷雾干燥技术制备麦冬皂苷肠溶微球的处方因素对微球成型性的影响。方法 单因素考察肠溶囊材型号、用量、增塑剂种类、抗黏剂类型与用量,采用正交设计对肠溶微球处方进行优选。结果 国产丙烯酸树脂 I 和微粉硅胶均能满足制剂需要;最佳处方为药物与囊材比例 1:4,蓖麻油用量 1%,微粉硅胶用量 1.5%。结论 麦冬皂苷肠溶微球质量符合预期要求;国产此类药用辅料有望成为肠溶微球生产的主要原料;处方设计研究为采用喷雾干燥技术实现中药微囊化提供可靠的依据。

关键词:麦冬皂苷肠溶微球;处方设计;喷雾干燥技术

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)03-0358-04

Prescription design of *Ophiopogon japonicus* saponin enteric microsphere by spray drying technique

SHEN Lan, FENG Yi, XU De-sheng, LIN Xiao

(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Objective** To explore the prescription factor on *Ophiopogon japonicus* saponin enteric microsphere by spray drying technique. **Methods** Observing the type and content of enteric coating material, the type of plasticizer, the type and dosage of antistickiness material by single factor. Optimizing the prescription by orthogonal test design. **Results** Both Eudragit II and micronization silica gel made in China could meet the need of the preparation. The best prescription included the proportion between drug and enteric coating material (1:4), the dosage of castor oil (1%), and the dosage of micronization silica gel (1.5%). **Conclusion** *O. japonicus* saponin enteric microsphere accorded with the expecting demand. The kind of medical subsidiary material made in China will be the main raw material in producing the enteric microsphere. The study of prescription design will provide the basis for realizing microencapsulation in Chinese materia medica.

Key words: *Ophiopogon japonicus* saponin enteric microsphere; prescription design; spray drying technique

喷雾干燥技术是较易实现工业化生产的微囊化手段之一,其影响制剂成型及药物吸收的主要因素包括处方组成、药物粒径、药物与囊材比、加料速度、

囊材种类等,其中尤以处方组成最为关键。

前期药效研究结果证实,麦冬总皂苷能显著对抗异丙肾上腺素引起的心肌缺血,成为麦冬抗心肌