

大孔吸附树脂对莲子心中有效成分的分离纯化研究

张吉祥¹, 冯冬然¹, 欧来良^{2*}

(1. 廊坊师范学院 化学系, 河北 廊坊 065000; 2. 生物活性材料教育部重点实验室, 南开大学, 天津 300071)

摘要:目的 研究大孔吸附树脂吸附分离莲子心中莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的工艺条件及参数。方法 考察了 AKS-W、AB-8 和 H214 树脂对莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的静态及动态吸附性能, 并采用 HPLC 定量分析莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱。结果 AKS-W 树脂对莲子心中有效成分有较好的吸附分离效果, 提取物中莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的质量分数分别提高到 10.2%、6.7% 和 11.9%。结论 大孔型非极性吸附树脂 AKS-W 对莲子心中有效成分是一种较为理想的分离介质。

关键词: 莲子心; 莲心碱; 异莲心碱; 甲基莲心碱; 大孔吸附树脂

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)12-1812-03

Isolation and purification of effective components in *Plumula Nelumbinis* by macroporous adsorption resins

ZHANG Ji-xiang¹, FENG Dong-ran¹, OU Lai-liang²

(1. Department of Chemistry, Langfang Normal College, Langfang 065000, China; 2. Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: **Objective** To investigate the adsorption function of macroporous adsorption resins for the separation and purification of the effective components in *Plumula Nelumbinis*. **Methods** AKS-W, AB-8, and H214 resins were systematically studied for their adsorption capability, and the contents of the liensinine, isoliensinine, and neferine were determined by HPLC. **Results** AKS-W Resin had a preferable adsorptive and separateive effect for the effective components in *Plumula Nelumbinis*. The products containing 10.2% liensinine, 6.7% isoliensinine, and 11.9% neferine could be obtained. **Conclusion** Macroporous-type and non-polar adsorption resin AKS-W is an ideal adsorbent for the extraction of the effective components in *Plumula Nelumbinis*.

Key words: *Plumula Nelumbinis*; liensinine; isoliensinine; neferine; macroporous adsorption resin

莲子心在我国有悠久的药用历史, 含多种有效成分, 其中最主要的有莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱。它们结构相似, 且均具有降血压和抗心律失常等作用^[1~3]。目前提取莲子心中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱化合物的方法主要是溶剂萃取和重结晶等方法^[4,5]。本实验根据 AKS-W、AB-8、H214 大孔吸附树脂在中药有效部位的分离上具有的独特优势, 有选择性地吸附分离莲子心中结构相似的 3 种有效成分, 提取工艺简化, 收率提高。

1 仪器与材料

Spectra-physics 高效液相色谱仪 (sp8810 泵, sp8456UV/Vis 检测器, sp4290 积分仪), HL-2 恒流泵 (上海沪西仪器厂), BSZ-2 自动部分收集器 (上海沪西仪器厂), THZ88-1 台式多用恒温振荡器 (江苏太仓鹿河生化仪器厂), 真空干燥箱 (天津实验

仪器厂), DT-100A 型分析天平 (北京光光仪器厂)。

AKS-W、AB-8 大孔吸附树脂均为南开大学化工厂产品; H214 大孔吸附树脂, 自制; 莲子心购自河北安国药材公司, 产地江西, 经笔者鉴定为莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 种子的幼叶及胚根; 莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱对照品 (自制, HPLC 紫外检测为单一组分, 经高分辨正离子二次离子质谱、核磁共振谱鉴定, 莲心碱、异莲心碱质量分数 99.5% 以上, 甲基莲心碱质量分数 98.5%); 甲醇、乙腈 (色谱纯); 三乙醇胺 (分析纯)。

2 方法与结果

2.1 树脂的预处理: AKS-W、AB-8、H214 湿法装柱, 用工业乙醇洗至加水不浑浊, 然后用蒸馏水洗至无醇, 备用。

2.2 莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的 HPLC 法测定

收稿日期: 2007-02-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29974015); 廊坊师范学院科学研究项目 (LS200513); 南开大学创新基金项目

* 通讯作者 欧来良 Tel: (022)23502155 E-mail: ouyil@nankai.edu.cn

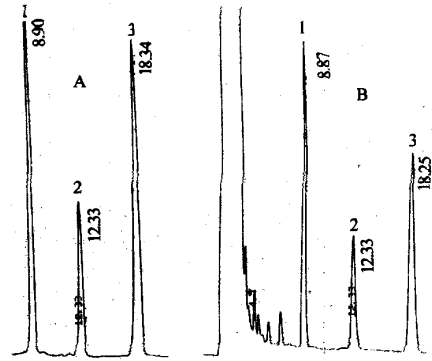
2.2.1 色谱条件: ODS C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-乙腈-三乙醇胺 (50 : 30 : 20 : 0.3); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 252 nm; 温度: 室温。

2.2.2 标准曲线的绘制: 精确称取 3 种对照品各约 100 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相至刻度。精密吸取 0.5、1.2、4.6、8、10 mL 于 25 mL 量瓶中, 流动相稀释至刻度, 混匀, 取 5 μL 进行测定。结果 3 种成分在质量浓度 0.05~1.0 mg/mL 与峰面积线性关系良好, 以峰面积对质量浓度做图得标准曲线方程, 莲心碱: $Y = 7 \times 10^{-6} X + 40\ 410, r = 0.999\ 7$; 异莲心碱: $Y = 7 \times 10^{-6} X + 94\ 296, r = 0.999\ 3$; 甲基莲心碱: $Y = 7 \times 10^{-6} X + 26\ 163, r = 0.999\ 5$ 。

2.2.3 莲子心上样溶液的制备: 称取 1 000 g 莲子心, 以 80% 乙醇 12 L 分 3 次冷浸, 每次 24 h。合并浸取液, 回收乙醇, 同时分次加入少量水。待乙醇回收较完全时, 所得水溶液约为 600 mL, 滤过即得透明上样液, 以生药汁质量浓度为 1.70 g/mL。

2.2.4 样品测定: 取上样液适量经大孔吸附树脂处理, 洗脱液过 0.45 μm 微孔滤膜, 进样测定峰面积值, 代入标准曲线方程计算质量浓度, 进行相关计算。对照品和上样液的 HPLC 图谱见图 1。

2.3 莲子心中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的测定: 精密称量莲子心 2.0 g, 用 80% 乙醇在 100 mL 微型索氏提取器中加热回流提取 3 h, 共提取 3 次, 合并提取液测定峰面积, 代入标准曲线方程, 计算质量分数。结果莲子心中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量分数分别为 0.58%、0.15%、0.53%。



1-莲心碱 2-异莲心碱 3-甲基莲心碱
1-liensinine 2-isoliensinine 3-neferine

图 1 对照品(A)和上样液(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of three reference substances (A) and extracting solution (B)

2.4 静态吸附和解吸试验: 将 1.0 g 湿树脂直接加入 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入 10 mL 上样溶液, 将具塞锥形瓶放在 20 °C 恒温振荡器上振荡 12 h, 转速 120 r/min, 吸附平衡后, 取上清液 5 μL 测定莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量浓度。将吸附液滤去, 向达到吸附平衡的树脂中加入 10 mL 60% 乙醇, 20 °C 连续振荡 12 h, 待充分解吸后测定所得浸提溶液中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量浓度, 计算吸附率和解吸率, 结果见表 1。

吸附率 = (上样液中成分的质量浓度 - 吸附平衡后上清液质量浓度) / 上样液中成分的质量浓度 × 100%

解吸率 = 浸提液中成分的质量浓度 / (上样液中成分的质量浓度 × 成分的吸附率) × 100%

可以看出, 静态情况下, 树脂 AKS-W 和 H214

表 1 静态吸附和解吸结果

Table 1 Results of static adsorption and desorption

型 号	表面性质	比表面积 / (m ² · g ⁻¹)	平均孔径 / nm	吸附率 / %			解吸率 / %		
				莲心碱	异莲心碱	甲基莲心碱	莲心碱	异莲心碱	甲基莲心碱
AKS-W	非极性	480~520	29	87.3	91.2	89.5	96.3	94.2	95.5
AB-8	弱极性	480~520	14	45.6	34.8	38.9	97.5	94.6	95.8
H214	非极性	900~1 000	16	92.6	84.7	87.1	87.2	89.4	85.6

对莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱具有较高的吸附量, 而 H214 的解吸效果则较差, 这可能因 H214 在后交联过程中部分基团被氧化成羰基, 羰基则能和莲心碱分子上的氨基产生较强的化学吸附作用, 从而影响了被吸附莲心碱的解吸效果。而对 AB-8 树脂来说, 随着树脂极性的增加, 吸附的极性杂质相应增多, 从而导致对莲心碱等非极性有效成分的吸附量减少。综上所述, AKS-W 较其他两种树脂对莲心碱的分离更具优势。

2.5 动态吸附和洗脱试验: 考察树脂 AKS-W 对 3

种有效成分的动态吸附性能。将 10 mL 树脂以湿法装入内径 1.2 cm 的交换柱, 洗净。吸附液以 1 BV/h 的流速过柱, 同时分段收集流出液, 测其中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量浓度, 并绘制树脂对各组分的吸附曲线, 见图 2。任一组分开始泄露时即停止吸附, 先用蒸馏水淋洗至中性, 再用 60% 乙醇洗脱, 分部收集, 同时对流份进行 HPLC 检测, 结果见图 3。可以看出, AKS-W 对 3 种莲心碱均具有良好的吸附和解吸性能。在以 60% 乙醇为洗脱剂的情况下, 3BV 已经基本完全洗脱 3 种莲心碱样品, 且

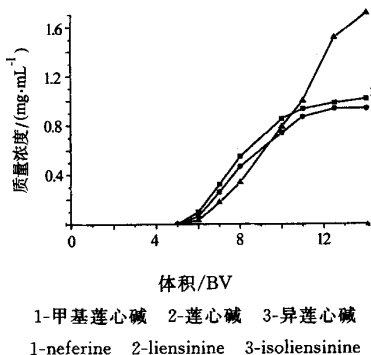


图 2 莲子心提取物在 AKS-W 树脂上的动态吸附曲线

Fig. 2 Dynamic adsorption curve of *Plumula Nelumbinis* extract on AKS-W resin

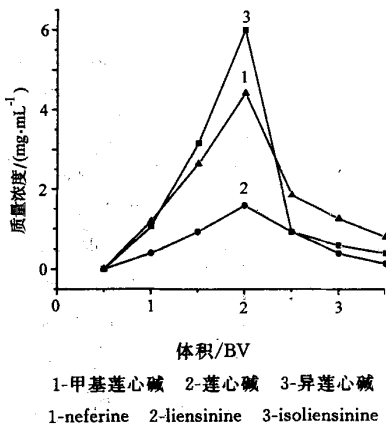


图 3 莲子心提取物在 AKS-W 树脂上的洗脱曲线

Fig. 3 Dynamic desorption curve of *Plumula Nelumbinis* extract on AKS-W resin

洗脱峰均较集中。

2.6 洗脱剂体积分数的选择:取上述经预处理的树脂各 20 mL 分别装入 3 支交换柱,分别取上样溶液各 100 mL 通入,控制流速 1 BV/h,吸附完毕后,用蒸馏水洗至中性,然后分别用 30%、60%、90%乙醇脱附,得洗脱液,浓缩、真空干燥得淡黄色粉末,结果见表 2。结果表明,随着乙醇体积分数的提高,产品

中目标成分的质量分数相应降低,30%乙醇作为洗脱剂虽然得到了质量分数较高的产品,但却牺牲了产率。90%乙醇虽然在产率上有相应提高,但从经济方面考虑,60%乙醇是较为理想的洗脱剂。

表 2 不同体积分数洗脱剂对产品的质量分数和产率的影响

Table 2 Effect of eluent concentrations on contents and yields of products

洗脱剂	质量分数			产率/%		
	莲心碱	异莲心碱	甲基莲心碱	莲心碱	异莲心碱	甲基莲心碱
30%乙醇	13.3	7.5	12.8	0.088	0.056	0.089
60%乙醇	10.2	6.7	11.9	0.110	0.080	0.140
90%乙醇	9.1	4.8	8.8	0.130	0.096	0.170

2.7 AKS-W 树脂的分离纯化试验结果:对 AKS-

W 树脂纯化、动态吸附洗脱产物干燥称量,分析其中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量分数。通过 AKS-W 树脂的吸附分离,得产品 1.2 g,收率 1.2%,其中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的质量分数分别为 10.2%、6.7%和 11.9%,质量分数分别提高到原药材中相应成分的 17.6、44.7、22.5 倍。

3 讨论

吸附容量、吸附选择性、洗脱性能是衡量一种树脂吸附性能的主要指标,本实验对具有不同极性和比表面积的 AKS-W、AB-8 和 H214 树脂吸附性能进行了考察,发现大孔型非极性树脂对于莲子心中的莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱有较好的吸附分离效果。H214 作为非极性后交联树脂,比表面积比 AKS-W 大得多,应该有较高的吸附容量,但事实恰好相反,其原因可能与 H214 的孔径较小有关,后交联树脂的特点就是比表面积增大,而树脂的孔径较小。另外,非极性树脂对莲子心的非极性有效成分的吸附分离最为有利,这是由于极性树脂会吸附较多

的极性杂质。本实验通过几种树脂吸附性能的比较研究,发展大孔型非极性吸附树脂 AKS-W 对莲子心的有效成分的分离是一种较为理想的分离介质。

References:

[1] Zhang F, Wang J L, Qian J Q. Effects of isoliensinine on experimental arrhythmia and myocardium action potential of guinea pig [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (10): 753-755.

[2] Ye Z G, Wang J H, Liang A H, et al. Poteintaton of vincristine-induced apoptosis by tetrandrine, neferine, and dauricine in the human mammary MCF-7 multidrug-resistant cells [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(2): 96-99.

[3] Luo S D, Yang J, Wang H, et al. Studies on synthesis and antiarrhythmic quantitative structure-activity relationships of liensinine's derivatives [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37(9): 702-705.

[4] Yuan X H, Zhao R Z, Qiu X H. Technical condition for semi-bionic extraction of *Plumula Nelumbinis* by homogenous design [J]. *Chin Pharm* (中国药房), 2005, 16(21): 1618-1619.

[5] Ji A M, Che O, Xu F, et al. Carbon dioxide extraction of primary compositions in seed of *Nelumbo nucifer* aby SFE [J]. *Chin Pharm* (中国药业), 2006, 15(2): 31-32.

大孔吸附树脂对莲子心中有效成分的分离纯化研究

作者: [张吉祥](#), [冯冬然](#), [欧来良](#), [ZHANG Ji-xiang](#), [FENG Dong-ran](#), [OU Lai-liang](#)
作者单位: [张吉祥, 冯冬然, ZHANG Ji-xiang, FENG Dong-ran \(廊坊师范学院, 化学系, 河北, 廊坊, 065000\)](#), [欧来良, OU Lai-liang \(生物活性材料教育部重点实验室, 南开大学, 天津, 300071\)](#)
刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38(12)
被引用次数: 2次

参考文献(5条)

- [Zhang F;Wang J L;Qian J Q Effects of isoliensinine on experimental arrhythmia and myocardium action potential of guinea pig](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2000(10)
- [Ye Z G;Wang J H;Liang A H Poteintaton of vincristine-induced apoptosis by tetrandrine, neferine, and dauricine in the human mammary MCF-7 multidrug-resistant cells](#)[期刊论文]-[药学报](#) 2001(02)
- [Luo S D;Yang J;Wang H Studies on synthesis and antiarrhythmic quantitative structure-activity relationships of liensinine's derivatives](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2002(09)
- [Yuan X H;Zhao R Z;Qiu X H Technical condition for semi-bionic extraction of Plumula Nelumbinis by homogenous design](#)[期刊论文]-[中国药房](#) 2005(21)
- [Ji A M;Che O;Xu F Carbon dioxide extraction of primary compositions in seed of Nelumbo nucifer ably SFE](#)[期刊论文]-[中国药业](#) 2006(02)

本文读者也读过(8条)

- [张吉祥. 白晓杰. 周秋香. 欧来良. 孔德领. ZHANG Ji-xiang. BAI Xiao-jie. ZHOU Qiu-xiang. OU Lai-liang. KONG De-ling 大孔吸附树脂分离纯化红花黄色素的研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2009, 20(8)
- [张吉祥. 郭金生. 杨佳玲. 欧来良. ZHANG Jixiang. GUO Jinsheng. YANG Jialing. OU Lailiang 双柱吸附法对莲子心总碱的分离纯化研究](#)[期刊论文]-[离子交换与吸附](#)2008, 24(6)
- [潘扬. 杨光明. 张弦. 蔡宝昌. PAN Yang. YANG Guang-ming. ZHANG Xian. CAI Bao-chang 不同产地莲子心脂溶性成分的GC-MS分析](#)[期刊论文]-[南京中医药大学学报 \(自然科学版\)](#) 2007, 23(6)
- [陶冉. 潘扬. 蒋亚萍. 刘亮镜. 莲子心非酚性生物碱和非生物碱类成分的研究](#)[期刊论文]-[南京中医药大学学报 \(自然科学版\)](#) 2008, 24(3)
- [曾绍校. 林鸳鸯. 郑宝东. 陈荔红. Zeng Shaoxiao. Lin Yuanyuan. Zheng Baodong. Chen Lihong 莲子淀粉糊的特性研究](#)[期刊论文]-[中国农学通报](#)2009, 25(18)
- [曾绍校. 郑宝东. 林鸳鸯. 卓晓红. Zeng Shaoxiao. Zheng Baodong. Lin Yuanyuan. Zhuo Xiaohong 莲子淀粉颗粒特性的研究](#)[期刊论文]-[中国粮油学报](#)2009, 24(8)
- [张怡. 曾绍校. 郑宝东. ZHANG Yi. ZENG Shao-Xiao. ZHENG Bao-Dong 乳化剂对莲子淀粉稳定性的影响](#)[期刊论文]-[河南科技大学学报 \(自然科学版\)](#) 2008, 29(6)
- [张敏. 郑铁松. 陶锦鸿. 陈静. ZHANG Min. ZHENG Tie-song. TAO Jin-hong. CHEN Jing 莲子心水提液体外抗氧化活性的研究](#)[期刊论文]-[食品科学](#)2008, 29(8)

引证文献(2条)

- [张吉祥. 郭金生. 杨佳玲. 欧来良 双柱吸附法对莲子心总碱的分离纯化研究](#)[期刊论文]-[离子交换与吸附](#) 2008(6)
- [吴梅青 莲子心生物碱提取分离、鉴定及制剂研究概述](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2012(9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200712016.aspx