

大孔树脂分离富集生物碱类成分研究进展

刘 岩*, 陈伟豪, 亢 迪, 李文龙, 李 正

天津中医药大学中药制药工程学院, 天津 301617

摘 要: 生物碱类成分是自然界存在最广泛的天然产物之一, 大多具有驳杂的环状结构, 具有降血糖、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种药理活性, 是中药中最重要的有效成分。大孔树脂是一种不能溶于酸、碱和多种有机溶剂的高分子聚合物, 具有吸附快、解吸条件平缓、再生方便、利用周期长等特点。近年来, 大孔树脂在生物碱、黄酮等化合物的分离纯化领域得到了广泛应用。但因大孔树脂种类繁多, 市场销售的大孔树脂质量参差不齐, 影响纯化效果的因素繁杂, 给实验研究带来很大影响。对近年来大孔树脂用于分离富集生物碱类成分的研究现状进行介绍, 归纳大孔树脂分离纯化效果的主要影响因素, 总结用于富集生物碱类成分的大孔树脂特点, 进而分析目前大孔树脂工业应用存在的问题, 研究大孔树脂预处理和再生工艺, 通过优化过程参数, 加强吸附-解吸性能, 从而提高目标生物碱的产量和回收率, 进一步促进大孔树脂在生物碱类成分分离纯化中的应用。

关键词: 大孔树脂; 吸附; 生物碱; 影响因素; 自动控制

中图分类号: R284.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)06-1650-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.06.034

Research progress on macroporous resin application in enriching and separating alkaloids

LIU Yan, CHEN Wei-hao, KANG Di, LI Wen-long, LI Zheng

College of Pharmaceutical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Alkaloids is one of the most extensive natural products and one of the most important effective constituents of Chinese materia medica (CMM), most of which have complex ring structure and the effect of antidiabetics, antitumor, antibacterial, antiviral and so on. Macroporous resin is a kind of high-molecular polymer, which cannot be dissolved in acid, alkali and a variety of organic solvents, with the feature of fast adsorption and mild desorption condition, easy regeneration, and long service cycle, etc. In recent years, macroporous resin has been widely applied to the separation and purification of alkaloids and flavonoids. However, there are so many different kinds and variable quality of macroporous resin in the market, as well as multifarious factors influencing the purification effect, the experimental research has been severely affected. In this paper, the application of macroporous resin on separating and enriching alkaloids in recent years had been studied to summarize the main factors affecting the purification effect. The characteristics as well as the problems of macroporous resin were also analyzed. By studying the pretreatment and regeneration process of macroporous resin and optimizing process parameters, the adsorption and desorption performance can be strengthened and the yield or recovery rate of target alkaloids could be enhanced, promoting the further use of macroporous resin in separating and enriching alkaloids from CMM.

Key words: macroporous resin; adsorption; alkaloids; influencing factors; automatic control

生物碱类成分普遍存在于毛茛科 (Ranunculaceae)、罂粟科 (Papaveraceae)、茄科 (Solanaceae)、夹竹桃科 (Apocynaceae)、小檗科 (Berberidaceae) 等高等植物中, 是自然界存在最广泛

存在的天然产物之一, 生物碱大多具有驳杂的环状结构, 具有降血糖、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种药理活性, 是中药最重要的有效成分之一^[1-3]。

大孔树脂是一种不能溶于酸、碱和多种有机溶

收稿日期: 2019-09-17

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2018ZX09201011)

*通信作者 刘 岩 (1987—), 女, 讲师, 研究方向为中药现代化生产与临床评价。E-mail: liuy2013@tjutcm.edu.cn

剂的高分子聚合物,具有吸附快、解吸条件平缓、再生方便、利用周期长等特点^[3]。其分离原理是吸附性与筛分性的结合,进而达到分离、精制的目的。近年来,大孔树脂在生物碱、黄酮等化合物的分离纯化领域得到了广泛应用^[4-8]。但因大孔树脂种类繁多,市场销售的大孔树脂质量参差不齐,影响纯化效

果的因素繁杂,给实验研究带来很大影响,所以研究不同大孔树脂及其在生物碱纯化过程中的影响因素,能有效提高目标生物碱的产量和回收率,促进生物碱类成分在医药领域的进一步发展应用。常用于吸附分离生物碱类成分的大孔树脂性质见表 1。

表 1 常用大孔吸附树脂的极性、平均孔径和比表面积

Table 1 Polarity, average pore size, and specific surface area of commonly used macroporous adsorption resins

树脂型号	极性	平均孔径/nm	比表面积/(m ² ·g ⁻¹)	参考文献
AB-8	弱极性	13~14	480~520	9
D-101	非极性	9~10	500~550	9
X-5	非极性	2.9~3.0	500~600	9
HPD-100	非极性	8.5~9.0	650~700	10
NKA-9	极性	15.5~16.5	250~290	10
D4020	非极性	10.0~10.5	540~580	11

1 大孔树脂的型号筛选

选择大孔树脂时应满足其对目标成分吸附速度快、解吸容易、再生处理方便、使用周期长等特点。一般以吸附率、解吸率为评价指标研究树脂是否适合该生物碱的分离纯化,吸附率及解吸率可通过静态吸附-解吸实验确定。近 10 年国内外研究者在精制单味药材和复方中生物碱类成分时筛选出的最优吸附树脂类型(包括 D 型、HPD 型、X 型、AB 型、LSA 型、BS 型、NKA 型、SP 型、LX 型等)、工艺条件和产物质量分数分别见表 2、3。

2 大孔树脂吸附分离过程的影响因素

大孔树脂分离纯化生物碱类成分时,通常采用湿法装柱的方式,一般包括预处理、吸附、洗涤、解吸和再生 5 个环节。结合前期对大孔树脂分离纯化中药中生物碱类有效成分的影响因素的研究报道,对以上 5 个影响因素进行综述。

2.1 树脂的预处理

新制备的大孔树脂往往有致孔剂、交联剂和分散剂等有机残留物,必须经过预处理^[105]。一般的预处理方法是先加入盐酸、氢氧化钠或乙醇,浸泡处理一定时间后再进行装柱^[106-107]。

2.2 吸附

吸附过程中的主要影响因素有树脂结构、上样量、温度、样品液的性质、体积流量、吸附时间等。
2.2.1 树脂结构 大孔树脂吸附能力的大小一般与树脂的比表面积、孔容、孔径等因素息息相关。从表 1 可知,D-101、AB-8、HPD100 这 3 种型号的大孔树脂均具有较大的比表面积和适中的孔径,并

且均属于弱极性树脂,可以有效地减少对极性杂质的吸附。李音^[108]发现极性越大的树脂对生物碱的吸附能力越差,氧键型树脂的吸附效果最差;比表面积越大,吸附效果越好;孔容在一定程度上也直接影响吸附量的大小。李鹤等^[109]通过实验比较,得出 AB-8 型大孔树脂径高比为 1:10 时,左金丸提取液中总生物碱、盐酸小檗碱、吴茱萸碱的吸附-洗脱率分别为 90%、81%、82%,达到理想分离效果。吕子明等^[110]对 D141 树脂的不同径高比的洗脱能力进行比较,筛选出在径高比为 1:8 的情况下黄连总生物碱的洗脱率最高,达 94.53%。

2.2.2 上样量 上样量影响树脂对有效成分的吸附能力。一般情况下,上样量过多,生物碱成分部分损失,费时且浪费原料;上样量过少,生物碱成分部分未完全吸附,吸附量下降。杨欣欣等^[48]研究结果显示,流出药液量为 6 BV 时,以粉防己碱、防己诺林碱为代表的生物碱类成分出现明显泄漏。

2.2.3 吸附温度 大孔树脂含有孔状结构,温度过高或过低都可以改变树脂的结构,影响分离效果。同时吸附过程是一个放热过程,实验过程中需对温度实时控制,确保大孔树脂在最佳温度条件下吸附。

王元清等^[81]对不同温度下 NKA-9 大孔树脂吸附蟾皮中总生物碱的吸附性能进行比较,发现当吸附温度为 25 ℃时,吸附性能最佳。赵婷等^[80]通过静态-动态实验确定废液中骆驼蓬碱和去氢骆驼蓬碱的最佳纯化工艺,发现吸附温度为 30 ℃时,吸附效率最佳;温度高于 40 ℃时,吸附效率会下降。

表 2 大孔树脂精制单味药材中生物碱类成分的研究

Table 2 Research of macroporous resin in separating alkaloids from single herbs

药材	目标成分	最优树脂	解吸乙醇体积 分数/%	产物质量 分数/%	参考 文献
小檗 <i>Berberis kansuensis</i> Schneid. 皮	总生物碱	HPD100	30	>65	12
西伯利亚白刺 <i>Nitraria sibirica</i> Pall.	总生物碱	HPD-450	30	1.69	13
	总生物碱	HPD-450	99.45	18.08	14
延胡索 <i>Corydalis yanhusuo</i> W. T. Wang ex Z. Y.	总生物碱	D-141	95	>65	15
Su et C. Y.	生物碱	AB-8	95	—	16
	生物碱、四氢巴马汀	AB-8	30、80	58.25、6.58	17
	总生物碱	D141	60、90	82.0	18
金钗石斛 <i>Dendrobium nobile</i> Lindl.	总生物碱	732	80 (2%氨水)	>3.89	19
制草乌 <i>Radic aconiti kusnezoffii</i> Preparata.	双酯型生物碱、单酯型 生物碱	SCX-SPE	—	0 ~ 0.066 、 0.028~0.600	20
土圞儿 <i>Apios fortunei</i> Maxim.	总生物碱	HPD-450	40	80	21
非洲马铃薯 <i>Voacanga africana</i> Stapf.	柳叶水甘草碱	D-101	60	65.21±0.73	22
川芎 <i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort.	总生物碱	AB-8	85	13.73	23
粉防己 <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore	总生物碱	D001	90	52.95	24
附子 <i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	水溶性生物总碱	HPD300	80	15	25
白屈菜 <i>Lepidium apetalum</i> Willd.	总生物碱	HPD600	70~80	39.8	26
川贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i> D. Don	总生物碱	001×7	60	74.31	27
	总生物碱	HPD-100	80	51.92	28
砂生槐 <i>Sophora mocroftiana</i> (Benth.) Benth. ex Baker	氧化苦参碱、槐果碱、槐 定碱、苦参碱	H103	70	0.015、0.008、 0.009、0.015	29
塞北紫堇 <i>Corydalis impatiens</i> (Pall.) Fisch	总生物碱	AB-8	70	16.6	30
茄子 <i>Solanum melongena</i> L.	生物碱	D101	80	69.8	31
东风桔 <i>Radix et Caulis Severiniae Buxifoliae</i>	总生物碱	001×7	95	66.11	32
五脉绿绒蒿 <i>Meconopsis quintuplinervia</i> Regel.	总生物碱	AB-8	80	0.041	33
倒提壶 <i>Cynoglossum amabile</i> Stapf et Drumm	天芥菜碱、毛果天芥 菜碱	BS-65	50	5.06、9.27	34
伊贝母 <i>F. pallidiflora</i> Schrenk	总生物碱	HPD-100	70	70.50	35
安徽贝母 <i>F. anhuiensis</i> S. C. Chen et S. F. Yin	总生物碱	D-101	95	—	36
贝母 <i>F. thunbergii</i> Linn. 花	生物碱	HPD-100	80	>60	37
飞龙掌血 <i>Toddalia asiatica</i> Lam.	总生物碱	Ab-8	70	39.09	38
云连 <i>Coptis teeta</i> Wall.	总生物碱	HPD722	50	>55	39
东北南星 <i>Arisaema amurense</i> Maxim.	葫芦巴碱	HPD-300	70	—	40
龙葵 <i>Solanum nigrum</i> L. 果	生物碱	AB-8	70	84.33	41
山豆根 <i>Euchresta japonica</i> Hook. f. ex Regel	总生物碱	D101	70	66.83	42
苦豆草 <i>Sophora alopecuroides</i> Linn.	总生物碱	D-101	70	>66	43
天仙子 <i>Hyoscyamus niger</i> L.	东莨菪碱、莨菪碱	LSA-5B	50	1.85、4.03	44
麻黄 <i>Ephedra sinica</i> Stapf	总生物碱	HPD100	95	30.01	45
	麻黄碱+伪麻黄碱+甲 基麻黄碱			28.63	
两面针 <i>Zanthoxylum nitidum</i> (Roxb.) DC.	总生物碱	HPD100	80	40	46
玛咖 <i>Lepidium meyenii</i> Walp	生物碱	AB-8	40	0.0823	47
防己 <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore	粉防己碱+防己诺林碱	AB-8	90	50	48
黄连 <i>Coptis chinensis</i> Franch.	表小檗碱、黄连碱、巴 马汀、小檗碱	X-5	60	1.45、2.62、 7.03、17.95	49
	表小檗碱、黄连碱、巴 马汀、小檗碱	D151	40 (10%醋酸)	—	50
	总生物碱	D151	0 (盐酸 mol·L ⁻¹)	0.12 >80	51
	总生物碱	ADS-3	95	—	52
	小檗碱	D101	60	30.02	53
杜仲 <i>Eucommia folium</i> Oliver 叶	生物碱	NKA-9	55	—	54

续表 2

药材	目标成分	最优树脂	解吸乙醇体积分 数/%	产物质量分 数/%	参考 文献
魔芋 <i>Amorphophallus rivieri</i> Durieu	生物碱	D-101	90	70	55
落花生 <i>Arachis hypogaea</i> Linn.	总生物碱	AB-8	70	—	56
乌头 <i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	总乌头碱	NKA-II	95	60.3	57
苦参 <i>Sophora flavescens</i> Alt.	氧化苦参碱、苦参碱	H103	30、80	85.3、90.1	58
	苦参总碱	X-5	60	39.34	59
松潘乌头 <i>Aconitum sungpanense</i> Hand. -Mazz.	总生物碱	D101	75	22	60
秋水仙 <i>Colchicum autumnale</i> L.	秋水仙碱	LSA-5B	70	11.55	61
莲 <i>Nelumbo nucifera</i> Gaern.	荷叶碱	D101	70	2.26	62
	莲叶生物碱	001×1	60(1 mol·L ⁻¹ 氨水)	63.28	63
	莲心碱	D101	80	10.2	64
莱菔子 <i>Raphanus sativus</i> L.	水溶性生物碱	AB-8	30	42.74	65
鱼腥草 <i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	总生物碱	HPD-100	80	—	66
北豆根 <i>Menispermum dauricum</i> DC.	总生物碱	AB-8	—	74.45	67
元胡 <i>Corydalis schanginii</i> (Pall.) B. Fedtsch	总生物碱	D101	65	57	68
秃疮花 <i>Dicranostigma leptopodum</i> (Maxim.) Fedde	异紫堇碱	LX28	60、70	85.34	69
铁棒锤 <i>Aconitum pendulum</i> Busch	总生物碱	HPD-722	80	0.1664 4	70
马勃 <i>Lasiosphaera seu</i> Calvatia	总生物碱	HPD-100	90	60.58	71
白刺 <i>N. tangutorum</i> Bobr.	生物碱	D101	80	—	72
角蒿 <i>Incarvillea sinensis</i> Lamarck	总生物碱	D101	70	85.89	73
巴豆 <i>Croton tiglium</i> L.	生物碱	D101	30	>32	74
钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq. ex Havil.	总生物碱	AB-8	70	24	75
益母草 <i>Leonurus artemisia</i> (Laur.) S. Y. Hu F	总生物碱	SP825	60	25.65	76
苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i> L.	苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱	AB-8	80	22.22、21.44、28.02	77
黄藤 <i>Daemonorops margaritae</i> (Hance) Becc.	盐酸巴马汀	D101	40	24	78
骆驼蓬 <i>Peganum harmala</i> L.	鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱	D101	30、50	—	79
	骆驼蓬碱、去氢骆驼蓬碱	LSA-5B	70	—	80
蟾蜍 <i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor 皮	总生物碱	NKA-9	70	—	81
百部 <i>Stemona japonica</i> (Blume) Miq.	生物碱	D004	乙醇：氨水=2：1	70	82
山核桃 <i>Carya cathayensis</i> Sarg.	生物碱	NKA-9	50	34.78	83
黄柏 <i>Platycladus orientalis</i> (Linn.) Franco.	总生物碱	AB-8	50	59.04	84
博落回 <i>Macleaya cordata</i> (Willd.) R. Br.	原阿片碱、别隐品碱	AB-8	80	52.08、20.24	85
翅果油树 <i>Elaeagnus mollis</i> Diels.	总生物碱	D4020	70	—	86
黄连+黄柏	总生物碱	HPD100	30	75.38	87
红豆杉 <i>Taxus chinensis</i> (Pilger) Rehd.	紫杉醇	D4020	80	87.46	88
雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	雷公藤吉碱	HPD100	90	—	89
夏天无 <i>Corydalis decumbens</i> (Thunb.) Pers.	总生物碱	732	80	62.4	90
蜈蚣 <i>Scolopendra subspinipes mutilans</i> L. Koch	喹啉	XDA-8	70	—	91
板蓝根 <i>Isatis indigotica</i> Fortune	靛蓝素、靛玉红	D3520	—	—	92
烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	喹唑啉酮生物碱	XAD-16	90	—	93
蛇足石杉 <i>Huperzia serrata</i> (Thunb.) Murray Trev.	石蒜碱	SP850	—	—	94
可可 <i>Theobroma cacao</i> L.	可可碱	XAD-7HP	80	45	95
蟾蜍	极性吲哚生物碱	D101	—	—	96
花椒 <i>Zanthoxylum bungeanum</i> Maxim.	总生物碱	NKA-9	80	92.8	97

“—”表示未报道

“—” indicate not reported

表 3 大孔树脂精制中药复方中生物碱类成分的研究

Table 3 Research of macroporous resin in separating alkaloids from CMM compounds

中药复方	目标成分	最优树脂	解吸乙醇体积分数/%	参考文献
左金丸	总生物碱、盐酸小檗碱、吴茱萸碱	AB-8	70	98
龙钻通痹方	总生物碱	HPD-100	80	99
益髓通经方	马钱子生物碱	X-5	50	100
二仙汤	总生物碱	D101	80	101
复方脑脉通	总蒽醌、总皂苷、总生物碱	AB-8	50	102
黄连解毒汤	总黄酮、总生物碱	D101	30	103
黄连解毒汤	总生物碱	YWD-09D	90	104

2.2.4 样品液的性质

(1) 样品液 pH 值: 生物碱大多具有一定酸性, 在不同 pH 值溶液中的溶解性能不同, 从而影响吸附亲和力, 因此样品液 pH 值对大孔树脂的分离效果至关重要, 一般来说, 碱性物质易在碱性溶液中被吸附, 酸性物质易在酸性溶液中被吸附。李晓静等^[61]考察了 LSA-5B 大孔树脂吸附秋水仙碱时提取液 pH 值对吸附量的影响, 结果显示当 pH 值为 2.5 时, 秋水仙碱的吸附量最大, 为 9.81 mg/g。Liu 等^[57]用极性 NKA-II 树脂吸附传统的 6 种乌头碱时, 得出 pH 值为 6 时吸附容量达到最大。

(2) 样品液浓度: 样品液的浓度也是影响吸附量的因素之一。浓度过高或过低, 都无法得到最大的吸附量。马宏达等^[90]发现体积流量一定时, 上样液浓度越大, 越有利于生物碱类物质充分进入孔隙中, 并与树脂进行离子交换。陈奇等^[51]选用 0.2、0.15、0.1、0.05 g/mL 4 种上样液质量浓度做工艺纯化的对比研究, 结果显示 D151 树脂对不同生药质量浓度的上样液吸附能力大小为 0.15>0.1>0.2>0.05 g/mL。蒲忠慧等^[23]考察了样品质量浓度对川芎总生物碱的吸附效果的影响, 结果表明当上样液质量浓度低于 3.584 0 mg/mL 时, 吸附率随上样质量浓度的增大而上升; 但当上样液质量浓度超过 4.479 9 mg/mL 时, 质量浓度再上升对吸附率没有明显的影响。

除此之外, 天然药物的提取液一般都需要经过预处理后才能用于后续实验, 所以预处理工艺是否恰当就成为影响大孔树脂纯化效果的重要因素。若所测生物碱含量过低, 为保证吸附能力的准确考察, 就需要根据实际检测生物碱的性质对提取液做预处理工艺的分析研究。

2.2.5 吸附体积流量 提取液流经树脂的速度也是影响生物碱分离效果的一个重要因素。黄敬^[85]研究发现上样液体积流量越低越有利于博落回中原阿片碱和别隐品碱的吸附分离。陈晓斌等^[42]考察了山豆

根样品体积流量对分离纯化生物碱效果的影响, 结果表明当吸附体积流量小于 2 BV/h 时, 随着体积流量减小吸附率的增长速度会减缓, 而且上样体积流量越小, 吸附过程耗费的时间就越长。

2.2.6 吸附时间 吸附时间对大孔树脂的分离有一定的影响, 吸附时间加长, 吸附量增加, 但增加到一定程度时, 吸附量会趋于平衡, 为达到理想的吸附量且不浪费时间, 应对吸附时间做优化研究。董臣林等^[32]研究东风桔中总生物碱的纯化工艺时发现吸附 6 h 后树脂吸附饱和。

吸附时间的长短对吸附性能也有一定的影响。孙政华等^[33]研究证明了在静态吸附过程中, 吸附时间超过 8 h 后, AB-8 型大孔树脂的比吸附量趋于平衡。金文淑等^[100]研究吸附时间对马钱子碱和土的宁洗脱率的影响, 发现吸附时间为 2 h 时, 马钱子碱洗脱率为 90.20%, 土的宁洗脱率为 94.09%, 洗脱效果最佳。

2.3 洗涤

大孔树脂吸附结束后, 由于树脂中残留盐类、糖类等杂质, 需要进行洗涤除杂操作。在这个阶段, 洗涤剂的组成、浓度和用量是主要影响因素。

不同的洗涤剂, 冲洗的杂质不同; 洗涤剂的浓度不同, 洗涤效果也不同。胡轶娟等^[21]对水和 40% 乙醇的洗涤效果进行比较, 发现水洗后生物碱损失率低于 40% 乙醇, 并且能有效去除极性较大的杂质, 提高总生物碱纯度。梁引库等^[55]分别用 10% 乙醇、pH 为 5 的盐酸溶液和无离子水洗脱色谱柱, 发现盐酸溶液和乙醇溶液在进行杂质洗脱时, 总生物碱的损失大, 无离子水洗脱时总生物碱的损失相对较少。

2.4 解吸

选择适宜的解吸工艺条件, 可以有效提高生物碱的含量和纯度。由表 2 和 3 可知, 大孔树脂解吸后, 生物碱的纯度明显提高。影响解吸性能的主要因素有温度、解吸剂浓度、解吸剂 pH、解吸剂体积、

解吸时间等。

2.4.1 解吸温度 温度是影响解吸性能的 1 个重要工艺参数。温度可对树脂结构和部分生物碱洗脱率产生影响, 为了达到最佳解吸效果, 需要对温度进行控制。魏金津等^[50]研究洗脱温度对黄连中 4 种生物碱的含量及洗脱率的影响, 结果显示各温度下表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的洗脱率均达到 95% 以上, 而温度在 35 ℃ 时, 洗脱剂的用量是最理想的。

2.4.2 解吸剂 解吸剂的组成及用量是影响大孔树脂吸附分离效果的主要因素之一。根据分离生物碱的性质选择适量的解吸剂尤为重要。目前研究中常用的解吸剂是乙醇与水的混合物, 由表 2 可知, 常用于生物碱类成分分离纯化的解吸剂为 50%~90% 乙醇。谢逸欣等^[47]研究发现 6 BV 40% 乙醇为 AB-8 型大孔树脂纯化玛咖中生物碱时的最佳洗脱溶剂。Liu 等^[57]在研究草乌中乌头碱分离时得出当乙醇体积分数低于 35% 时几乎不解吸, 当乙醇体积分数为 95% 时解吸率达到最大。

解吸剂的 pH 值在一定程度上也影响大孔树脂的解吸效果。王秀芬等^[43]对不同 pH 值乙醇-水(70:30)的解吸效果进行比较, 发现 pH 为 9.0 时洗脱效果最好。

2.4.3 解吸体积流量 解吸剂的体积流量大小也是影响大孔树脂解吸能力的主要因素之一, 而且解吸体积流量的选择应综合解吸剂的用量和消耗时长 2 方面的因素, 必要时需要设计实验对解吸时间做进一步考察。任慧梅等^[35]研究发现洗脱液体积流量越大, 贝母总生物碱的比解吸量越低。蒋林等^[99]分别用 8 倍柱体积的 95% 乙醇以 0.5、1.0、1.5 mL/min 的体积流量进行洗脱, 以比解吸量为评估指标, 判断体积流量不同时解吸效果的变化情况, 结果表明, 当解析剂体积流量大于 1 mL/min 时, 随着流量增大, 总生物碱的比解吸量增加很小。

2.5 再生

随着树脂使用次数的增加, 树脂的吸附能力会下降, 当其吸附能力下降超过 30% 时, 需要对树脂进行再生处理, 一般的处理方法是 95% 乙醇反复淋洗, 必要时加入盐酸或氢氧化钠处理。魏达凤等^[111]报道了 HPD300 的再生工艺, 将树脂用蒸馏水反复洗涤后沥干, 用 100 mL 90% 乙醇浸泡树脂, 在 22 ℃ 下震荡 1 h, 最后用水冲洗, 直至 pH 为 7.0 左右为止, 经过连续 5 轮后, 树脂再生效率可达

85.09%, 多糖回收率为 87.47%。

3 存在的问题与展望

大孔树脂在生物碱类成分分离精制中有诸多优势, 但在实际应用过程中仍存在问题。如市场销售的大孔树脂缺乏统一的质量标准, 树脂使用时存在安全性问题; 大孔树脂的预处理及再生等工艺条件没有统一的操作规程, 树脂性能的稳定性无法保证; 天然药材中生物碱类成分复杂, 预处理条件的研究相对欠缺, 利用大孔树脂分离纯化生物碱成分时的吸附和解吸的终点判断困难, 大孔树脂的预处理与再生方法单一等, 所以有必要进一步研究树脂预处理工艺, 探索树脂预处理和再生工艺, 加强吸附和解吸过程性能的研究, 并进一步开发工艺参数优化方法。

由于大孔吸附树脂在中药有效成分纯化分离中的应用时间尚短, 许多应用规律尚未完全清楚, 目前该分离技术在工业化进程中还存在一些实际问题。

3.1 树脂问题

一方面, 国产树脂型号众多, 质量差别较大, 无统一的行业或国家质量标准, 而且传统树脂刚性较差, 柱压大时树脂容易破碎或结块, 使用寿命短, 混入药液易造成二次污染; 制备树脂所用的致孔剂等有机原料或溶剂不易去除, 导致树脂的预处理过程繁琐, 对于树脂预处理方法、再生条件、树脂吸附和解吸性能判断、残留物检查等, 还缺乏工艺条件研究的规范性方法和技术要求, 使用时的安全性有待评价。

另一方面, 传统大孔树脂吸附过程为人工装柱, 多柱并联操作时, 各柱之间填充树脂的比表面积和功能基团含量差异大、粒径分布广、分离效果及重现性差。由于大孔吸附树脂结构的特殊性, 即大孔吸附树脂中广泛存在纵横交错的大孔、中孔和微孔, 其吸附行为必然受大孔吸附树脂孔道结构的影响而表现出普通吸附剂所不具有的独特特征。而大孔吸附树脂之所以具有一定的选择性, 除与大孔吸附树脂中的功能基团有关外, 树脂的孔结构(包括孔径、孔形和孔容等)都对大孔吸附树脂的吸附选择性有不同程度的影响。因此, 树脂装柱的品质与多柱并联操作的一致性应该引起相关研究者的重视, 但是截至目前这方面却很少有研究报道, 使大孔吸附树脂的工程应用品质受到了限制。

3.2 设备问题

首先, 传统大孔树脂吸附过程为人工装柱, 然

后对树脂进行预处理,接下来进中药液进行关键组分的吸附,吸附饱和后再加入解吸液进行洗脱,最后对树脂进行再生处理,整个过程只能间歇操作,无法实现自动装柱和连续生产。因此,设计能够自动装填树脂并能做到连续进行吸附→解析→再生的工业化设备,能在很大程度上降低工人劳动负荷和生产成本,提高企业的生产效率。

3.3 控制问题

目前,大孔吸附树脂的研究文献大都是基于实验室规模的,所获得的实验数据大都是在小试条件下进行优化的。这些优化的工艺参数与工业化生产有相当大的差距,甚至不适合工业化生产。为了更好地将大孔树脂应用到中药产业,必须以工业化的视角,考虑工业化应用时主要的影响因素和存在的问题,建立适合工业化生产的质量控制参数,设计针对大孔树脂吸附过程的自动控制系统,对于大孔吸附树脂提取分离中药有效成分的工业化应用以及过程质量控制方法与标准的建立都有长远的意义。

4 结语

相比于传统的分离纯化方法,在中药及其制剂的化学成分的分离和提取方面,大孔吸附树脂确有其独特的作用和优势。在目前的研究中,大孔吸附树脂也越来越与现代化的分析方法联合使用,比如大孔树脂与高速逆流色谱(HSCCC)^[112]、柱色谱^[113]、中压液相色谱(MPLC)、pre-HPLC等联用^[114],既拓宽了大孔树脂的应用领域,又取得了更好的分离纯化效果。总之,大孔树脂不仅为中药现代化研究提供了更有效、更可靠的纯化手段,而且对中药生产技术的革新也起到了积极的推动作用。但是由于其研究和应用的时间还尚短,在树脂的性能、设备的连续化与自动化及控制的智能化上还存在一些需进一步探讨和解决的问题,但是随着日后对大孔树脂分离过程的深入研究,这项技术的应用必定会推进中药事业的进一步发展。

参考文献

[1] Schardl C L, Panaccione D G, Tudzynski P. Ergot alkaloids-biology and molecular biology [J]. *Alkaloid Chem Biol*, 2016, doi: 10.1016/S1099-4831(06)63002-2.

[2] Resende D I S P, Boonpothong P, Sousa E, et al. Chemistry of the fumiquinazolines and structurally related alkaloids [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36(1): 7-34.

[3] 张育浩, 张得钧, 张本印. 具有降血糖活性的生物碱及其作用机制 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3692-3702.

[4] 刘 丹, 吴叶红, 李玮桓, 等. 大孔吸附树脂在天然产物分离纯化中的应用 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2764-2770.

[5] Li H J, Shi J L, Li Y Y, et al. Purification of spinosin from *Ziziphi Spinosae Semen* using macroporous resins followed by preparative high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(19): 3134-3140.

[6] Du H B, Wang H, Yu J, et al. Enrichment and purification of total flavonoid C-glycosides from *Abrus mollis* extracts with Macroporous Resins [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2012, doi: 10.1021/ie3004094.

[7] Sun Y, Yuan H Y, Hao L L, et al. Enrichment and antioxidant properties of flavone C-glycosides from trollflowers using macroporous resin [J]. *Food Chem*, 2013, 141(1): 533-541.

[8] Şahin S, Bilgin M. Selective Adsorption of oleuropein from olive (*Olea europaea*) leaf extract by using macroporous resin [J]. *Chem Engineer Commun*, 2017, 204(12): 1391-1400.

[9] Jia G, Lu X. Enrichment and purification of madecassoside and asiaticoside from *Centella asiatica* extracts with macroporous resins [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1193(1/2): 136-141.

[10] 高 伟, 庞煜霞, 楼宏铭, 等. 大孔吸附树脂对木质素磺酸钠的吸附行为 [J]. 精细化工, 2013, 30(12): 1366-1369.

[11] 项 敏. 生姜中姜辣素的提取与分离工艺研究 [D]. 武汉: 武汉工程大学, 2015.

[12] 冯 慧, 赵 娅, 王小艳, 等. 小檗皮总生物碱提取物的大孔树脂纯化工艺与质量标准考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(16): 97-103.

[13] 其曼古丽·吐尔洪, 玉苏普·买买提, 马依努尔·拜克力. 西伯利亚白刺叶中总生物碱的大孔树脂纯化工艺及抗氧化活性研究 [J]. 中国药房, 2018, 29(20): 2763-2768.

[14] Bakri M, Turghun C. UHPLC-MSn-assisted characterization of bioactive alkaloids extracted from *Nitraria sibirica* leaves and enriched using response surface method and adsorption on macroporous resin [J]. *Ind Crop Prod*, 2018, doi: 10.1016/j.indcrop.2018.09.038.

[15] 胡锦涛, 吴瑾瑾, 王群星, 等. 大孔吸附树脂纯化延胡索总生物碱工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4302-4310.

[16] 王红红. 大孔吸附树脂在延胡索生物碱提取分离中的应用 [J]. 橡塑技术与装备, 2016, 42(6): 56-57.

[17] Guo H, Luo Y, Qian J. Optimization of tertiary alkaloids separation from *Corydalis yanhusuo* by macroporous resins [J]. *Chem Biochem Eng Q*, 2011, 25(1): 115-124.

[18] 吕子明, 刘文娟, 于向红, 等. 大孔吸附树脂纯化延胡

- 索总生物碱工艺研究 [J]. 中国医药导报, 2012, 9(20): 109-112.
- [19] 许莉, 郭力, 张廷模. 阳离子交换树脂纯化金钗石斛总生物碱工艺优选 [J]. 亚太传统医药, 2018, 14(12): 52-54.
- [20] 张玉荣, 王瑞忠, 鲁静, 等. 强阳离子吸附树脂固相萃取纯化在制草乌生物碱含量测定中的应用 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1399-1403.
- [21] 胡轶娟, 梁卫青, 张宏建, 等. 土圉儿总生物碱的提取和纯化工艺研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(1): 57-61.
- [22] 雷燕妮, 李多伟, 王荣, 等. 大孔吸附树脂分离纯化柳叶甘草碱的研究 [J]. 陕西农业科学, 2017, 63(2): 10-13.
- [23] 蒲忠慧, 王力, 高宇, 等. 大孔吸附树脂纯化富集川芎总生物碱的工艺 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(11): 85-91.
- [24] 冀德富, 冯凯, 张勇, 等. 粉防己总生物碱的提取与纯化研究 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(12): 5656-5658.
- [25] 罗春梅, 黄志芳, 汤依娜, 等. 附子水溶性生物碱提取纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2415-2424.
- [26] 咎立峰, 李丹花, 葛水莲, 等. 大孔吸附树脂分离纯化白屈菜总生物碱的研究 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(8): 2082-2085.
- [27] 刘元涛, 戴兵, 邵珠德, 等. 阳离子树脂纯化川贝母总生物碱的工艺研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(3): 583-586.
- [28] 张剑光, 张志锋, 吕露阳, 等. 大孔吸附树脂富集纯化川贝母总生物碱的工艺研究 [J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2013, 10(1): 89-92.
- [29] 胡春晖, 杨涛, 李永平, 等. 砂生槐子总生物碱纯化工艺的优化 [J]. 中成药, 2016, 38(10): 2157-2162.
- [30] 潘国庆, 张喜兵, 沈国栋, 等. 大孔树脂法分离纯化塞北紫堇总生物碱的工艺研究 [J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 2016, 32(3): 84-88.
- [31] 李妍, 李锋, 曹珂珂, 等. 茄子中生物碱提取及分离纯化研究 [J]. 枣庄学院学报, 2016, 33(2): 97-102.
- [32] 董臣林, 黄永昌, 尹永芹, 等. 不同类型树脂分离纯化东风桔总生物碱的筛选 [J]. 安徽医药, 2016, 20(4): 635-638.
- [33] 孙政华, 郭玫, 邵晶, 等. 大孔吸附树脂纯化富集五脉绿绒蒿总生物碱 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 77-83.
- [34] 樊轻亚, 张宏辉, 王万好. 树脂法分离纯化倒提壶生物碱的研究 [J]. 分析测试学报, 2016, 35(10): 1338-1342.
- [35] 任慧梅, 盛萍. 大孔吸附树脂纯化富集伊贝母总生物碱的工艺研究 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(6): 695-699.
- [36] 李勇. 皖贝母总生物碱及皖贝止咳滴丸的制备工艺、质量控制研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2016.
- [37] 牛犇. 贝母花中生物碱提取分离纯化及其功效评价 [D]. 杭州: 浙江万里学院, 2015.
- [38] 刘思艺. 大孔树脂纯化飞龙掌血总生物碱的工艺研究 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(15): 13-14.
- [39] 王影. 云连总生物碱提取工艺优化研究 [J]. 中医学报, 2015, 30(4): 557-560.
- [40] 王帅, 包永睿, 杨欣欣, 等. 中药东北天南星生物碱类成分提取纯化工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(10): 2343-2345.
- [41] 高小棠, 王萍. 龙葵果生物碱提取纯化工艺研究 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2015, 41(5): 521-526.
- [42] 陈晓斌, 周琴妹, 刘顺, 等. D101型大孔树脂纯化山豆根总生物碱的工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 21-23.
- [43] 王秀芬, 冷晓红, 郭鸿雁. 大孔吸附树脂分离纯化苦草总生物碱的工艺研究 [J]. 西北药学杂志, 2015, 30(6): 674-679.
- [44] 李岩, 赵欣, 李晓静, 等. 大孔树脂分离纯化天仙子总生物碱的研究 [J]. 中成药, 2015, 37(1): 89-94.
- [45] 郑孟凯, 何昱, 万海同, 等. 响应面法优化大孔树脂纯化麻黄总生物碱的工艺研究 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(6): 2079-2084.
- [46] 慕杨娜, 赵森, 贺玲, 等. 两面针总生物碱的纯化研究 [J]. 中南药学, 2015, 13(1): 51-54.
- [47] 谢逸欣, 赖富饶, 曾婷, 等. 大孔吸附树脂分离纯化玛咖生物碱的研究 [J]. 食品科技, 2014, 39(10): 241-245.
- [48] 杨欣欣, 包永睿, 王帅, 等. 防己生物碱类成分提取纯化工艺研究 [J]. 中成药, 2014, 36(6): 1306-1309.
- [49] 田原, 于艳, 陈雪, 等. 大孔吸附树脂纯化黄连中4种生物碱的含量测定 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(5): 1060-1062.
- [50] 魏金津, 姚曦, 何伟. 离子交换树脂纯化黄连生物碱的工艺研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(6): 625-628.
- [51] 陈奇, 邓雁如, 于静, 等. 弱酸性离子交换树脂纯化黄连总生物碱 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 9-12.
- [52] 张英, 李卫民, 高英. 大孔树脂分离纯化黄连总生物碱型号的筛选 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(1): 49-52.
- [53] 席国萍, 宋国斌. 大孔吸附树脂分离纯化黄连小檗碱研究 [J]. 中国医药导报, 2011, 8(5): 44-46.
- [54] 杨梅. 杜仲叶生物碱提取分离与活性研究 [D]. 洛阳: 河南科技大学, 2014.
- [55] 梁引库, 张志健. 魔芋生物碱提取纯化工艺研究 [J].

- 食品工业, 2013, 34(2): 95-97.
- [56] 钮晓艳. 落花生茎叶总生物碱的提取分离纯化研究 [A] // 中国核科学技术进展报告 (第三卷) ——中国核学会 2013 年学术年会论文集第 8 册 (辐射研究与应用分卷、同位素分卷、核农学分卷、辐射物理分卷) [C]. 北京: 中国核学会, 2013.
- [57] Liu J J, Li Q, Liu R, *et al.* Enrichment and purification of six Aconitum alkaloids from *Aconitikusnezoffii Radix* by macroporous resin sand quantification by HPLC-MS [J]. *J Chromatogr B*, 2014, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.04.034.
- [58] 李成帅, 杜爱玲, 李霞, 等. H103 大孔吸附树脂分离纯化苦参碱与氧化苦参碱 [J]. 精细化工, 2013, 30(3): 293-298.
- [59] 秦学功, 陈景超. 以 X-5 型大孔树脂吸附分离苦参生物碱的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 29-31.
- [60] 王小芳, 张喜民, 邓月婷, 等. 大孔树脂分离纯化松潘乌头总生物碱研究 [J]. 中成药, 2014, 36(4): 860-864.
- [61] 李晓静, 李岩, 程雪梅, 等. 大孔树脂分离纯化秋水仙总生物碱的研究 [J]. 中成药, 2013, 35(8): 1667-1671.
- [62] 崔炳群. 应用大孔吸附树脂纯化荷叶生物碱的研究 [J]. 现代食品科技, 2013, 29(7): 1664-1669.
- [63] 罗朵生, 杨晓琦, 周修腾, 等. 离子交换树脂纯化荷叶生物碱的研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(1): 68-71, 77.
- [64] 吴梅青, 陈丹. 莲子心生物碱树脂法分离纯化工艺研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 199-202.
- [65] 李民, 周洪雷, 丁臻, 等. 大孔吸附树脂分离纯化莱菔子水溶性生物碱的工艺研究 [J]. 中医杂志, 2013, 40(5): 974-976.
- [66] 孟江, 梁慧超, 陈磊, 等. 鱼腥草总生物碱的大孔吸附树脂纯化工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 13-17.
- [67] 杨静伟, 杨晶凡, 李二林. 北豆根总生物碱纯化工艺研究 [J]. 中国药物评价, 2013, 30(3): 138-141.
- [68] 徐丽琳, 熊雪丰, 何三民, 等. 元胡总生物碱的大孔树脂纯化工艺研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(6): 1358-1361.
- [69] 冯艳. 应用大孔吸附树脂技术分离制备秃疮花中异紫堇碱 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2013.
- [70] 林丽, 魏学明, 王延惠, 等. 基于大孔吸附树脂纯化技术比较不同产地铁棒锤中总生物碱与乌头碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 995-999.
- [71] 童心. 脱皮马勃液体发酵及总生物碱提取优化的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- [72] 王玉玲, 曾会明, 张建秋, 等. 超声提取白刺中总生物碱及大孔树脂纯化的工艺研究 [J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(1): 109-113.
- [73] 赵静. 角蒿总生物碱的分离提纯及药理作用的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [74] 肖祖平, 曾宝, 李生梅, 等. 巴豆总生物碱的纯化工艺研究 [J]. 中南药学, 2012, 10(10): 737-739.
- [75] 周洪雷, 李运伦, 窦月, 等. 大孔树脂分离纯化钩藤总生物碱的工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 695-696.
- [76] 李雪丽, 李静雅, 刘晓芳, 等. SP825 树脂分离纯化益母草总黄酮和总生物碱的研究 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2012, 21(1): 28-31.
- [77] Yang J, Zhang L Y, Zhu G H. Separation and enrichment of major quinolizidine type alkaloids from *Sophora alopecuroides* using macroporous resins [J]. *J Chromatogr B*, 2014, doi: 10.1016/j.jchromb.2013.11.023.
- [78] 陈鸿平, 程贝, 刘友平, 等. 大孔吸附树脂法富集黄藤生物碱提取物的工艺研究 [J]. 中药与临床, 2011, 2(6): 12-15.
- [79] 杜宏涛. 骆驼蓬茎叶中两种生物碱提取分离工艺及相关生物碱纯化研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [80] 赵婷, 程雪梅, 刘力, 等. 大孔吸附树脂法富集提取废液中骆驼蓬碱和去氢骆驼蓬碱 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(7): 500-505.
- [81] 王元清, 严建业, 罗堃, 等. NKA-9 型大孔树脂纯化蟾皮总生物碱工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 6-8.
- [82] 袁建龙, 浦益琼, 张彤, 等. 百部总生物碱提取纯化工艺研究 [J]. 中药材, 2011, 34(1): 126-129.
- [83] 张永钰. 山核桃蒲壳总生物碱的提取纯化及细胞毒性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [84] 刘丽梅, 陈琳, 王瑞海, 等. 黄柏生物碱大孔树脂纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 1990-1993.
- [85] 黄敬. 博落回中普托品类生物碱提取分离纯化研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2010.
- [86] 张家铭. 翅果油树生物碱的提取分离及抑菌活性研究 [D]. 临汾: 山西师范大学, 2010.
- [87] 况晓, 冯年平, 张永太, 等. 大孔吸附树脂分离纯化黄连黄柏总生物碱的工艺研究 [J]. 中成药, 2010, 32(3): 396-399.
- [88] 李勇超, 杨靖, 职明星, 等. D4020 大孔树脂提纯发酵液中紫杉醇的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(5): 710-714.
- [89] 吴德智, 蔡佳, 管咏梅, 等. 不同型号大孔树脂对雷公藤提取物主要成分富集作用考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 14-16.
- [90] 马宏达, 郭涛, 颜鸣, 等. 夏天无总碱的精制工艺

- 研究 [J]. 解放军药学报, 2010, 26(6): 485-488.
- [91] Li Y F, Liu W Z, Fan J W. Quinoline alkaloids isolated from *Scolopendra subspinipes mutilans* [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(3): 344-346.
- [92] Huang Y Y, Liu X F, Liu J Z, *et al.* Separation and purification of indigotin and indirubin from *Folium isatidis* extracts using a fast and efficient macroporous resin column followed reversed phase flash chromatography [J]. *J Taiwan Inst Chem E*, 2016, doi: 10.1016/j.jtice.2016.07.030.
- [93] Liu C Q, Jiao R H. Adsorption characteristics and preparative separation of chaetominine from *Aspergillus fumigatus* mycelia by macroporous resin [J]. *J Chromatogr B*, 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2016.02.027.
- [94] Zhang H C, Liang H. Simultaneously preparative purification of huperzine A and huperzine B from *Huperzia serrata* by macroporous resin and preparative high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2012, doi: 10.1016/j.jchromb.2012.07.019.
- [95] Li K K, Zhou X L. Preparative separation of galocatechin gallate from *Camellia ptilophylla* using macroporous resins followed by sephadex LH-20 column chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2015.12.039.
- [96] Zou D L, Du Y R. PH-zone-refining counter-current chromatography with a hydrophilic organic/salt-containing two-phase solvent system for preparative separation of polar alkaloids from natural products [J]. *J Chromatogr A*, 2018, doi: 10.1016/j.chroma.2018.04.007.
- [97] 关荣琴. 花椒生物碱成分分离、感官评定及药理作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2011.
- [98] 龚来颢, 李 鹤, 杨 芳. 大孔吸附树脂纯化左金丸总生物碱工艺研究 [J]. 中医药学报, 2019, 47(1): 89-92.
- [99] 蒋 林, 米阿娜, 罗宇东, 等. 星点设计-响应面法优选龙钻通痹方总生物碱大孔树脂纯化工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 337-345.
- [100] 金文淑, 张炜煜. 益髓通经方中马钱子生物碱纯化工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 10-13.
- [101] 赵法兴, 张亚梅, 郝岗平. 二仙汤有效部位群大孔树脂纯化工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 23-26.
- [102] 王淑美, 李淑芳, 梁生旺. AB-8 大孔吸附树脂纯化复方脑脉通有效部位的工艺研究 [J]. 中成药, 2009, 31(1): 47-50.
- [103] Lu J, Wang J S. Anti-inflammatory effects of Huang-Lian-Jie-Du decoction, its two fractions and four typical compounds [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 911-918.
- [104] 林慧彬, 路 宁, 杨金平, 等. 大孔吸附树脂对黄连解毒汤的精制作用研究 [J]. 中药材, 2007, 30(10): 1296-1301.
- [105] Kong Y, Yan M M, Liu W, *et al.* Michael wink preparative enrichment and separation of astragalosides from *Radix Astragali* extracts using macroporous resins [J]. *J Separ Sci*, 2010, 33(15): 2278-2286.
- [106] 许天辉, 费月秋, 占寿祥, 等. 正交实验法优化 D001 树脂预处理工艺 [J]. 广东化工, 2013, 40(6): 15-16.
- [107] 贾存勤, 李阳春, 屠鹏飞, 等. D-101 型大孔吸附树脂预处理方法的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 193-196.
- [108] 李 音. 生物碱吸附分离规律研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [109] 李 鹤, 龚来颢, 曾作财. AB-8 型大孔吸附树脂纯化左金丸有效部位的工艺优选 [J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(2): 391-394.
- [110] 吕子明, 刘文娟, 王 永, 等. 大孔吸附树脂纯化黄连总生物碱工艺研究 [J]. 中国医药导报, 2012, 9(12): 41-43.
- [111] 魏达凤, 朱瑜瑜, 王 杨, 等. 大孔树脂分离纯化枸杞多糖的研究 [J]. 山东化工, 2019, 48(2): 25-27.
- [112] Shaheen N, Yin L, Gu Y X, *et al.* Separation of isorhamnetin 3-sulphate and astragalin from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze using macroporous resin and followed by high-speed countercurrent chromatography [J]. *Separ Sci*, 2015, 38(11): 1933-1941.
- [113] Liang J R, He J, Zhu S, *et al.* Preparation of main iridoid glycosides in fructus corni by macroporous resin column chromatography and countercurrent chromatography [J]. *J Liquid Chromatogr Related Technol*, 2013, 36(8): 983-999.
- [114] Liang Z J, Li B, Liang Y. Separation and purification of two minor compounds from *Radix isatidis* by integrative MPLC and HSCCC with preparative HPLC [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2015, 38(5): 647-653.