

Study on Separation and Purification of Scopolamine from Hindu Datura by D151 Macroporous Resin Adsorption

Xusheng Huang¹, Chuanxiang Fu¹, Pengpeng Chen¹, Kun Xu², Ailing Hui¹, Zeyu Wu¹, Wencheng Zhang^{1*}

¹Engineering Research Center of Bio-Process from Ministry of Education, School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui

²Anhui Dexinjia Biological Medicine Co. Ltd., Fuyang Anhui

Email: *zwc1012@163.com

Received: Mar. 8th, 2019; accepted: Mar. 22nd, 2019; published: Mar. 29th, 2019

Abstract

In order to study the technological conditions of separation and purification of scopolamine by D151 macroporous resin, the adsorption rate and elution rate of scopolamine by D151 macroporous resin were used as evaluation indexes. On the basis of the original experiment, the effects of the pH of the adsorbent, the pH of the eluent were further investigated. The results show that when the absorption liquid pH was 7.6 and eluent pH was 1.2, the purity of scopolamine obtained after isolation and purification was up to 84.2%.

Keywords

Hindu Datura, Scopolamine, D151 Macroporous Resin, Separation and Purification

D151大孔吸附树脂分离纯化洋金花中东莨菪碱的研究

黄徐胜¹, 付传香¹, 陈朋朋¹, 许坤², 惠爱玲¹, 吴泽宇¹, 张文成^{1*}

¹合肥工业大学食品与生物工程学院, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥

²安徽德信佳生物医药有限公司, 安徽 阜阳

Email: *zwc1012@163.com

收稿日期: 2019年3月8日; 录用日期: 2019年3月22日; 发布日期: 2019年3月29日

*通讯作者。

文章引用: 黄徐胜, 付传香, 陈朋朋, 许坤, 惠爱玲, 吴泽宇, 张文成. D151 大孔吸附树脂分离纯化洋金花中东莨菪碱的研究[J]. 化学工程与技术, 2019, 9(2): 147-152. DOI: 10.12677/hjct.2019.92021

摘要

为了进一步确定D151大孔吸附树脂分离纯化洋金花中东莨菪碱的工艺条件,以吸附率和洗脱率为评价指标,在原有工艺的基础上,研究了吸附液的pH、洗脱液的pH对纯化工艺的影响。结果表明:当吸附液的pH为7.6,洗脱液的pH为1.2,获得的东莨菪碱的纯度高达84.2%。

关键词

洋金花, 东莨菪碱, D151大孔吸附树脂, 分离纯化

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

洋金花为茄科植物白花曼陀罗(*Datura metel* L)的干燥花,又名曼陀罗花、闹洋金等[1]。现代医学研究表明洋金花具有平喘止咳、解痉止痛等药用价值和功效[2],在中医药学中被广泛使用。东莨菪碱(图1)是一种广泛存在于洋金花中的莨菪烷类生物碱,在抑制腺体分泌和镇静等方面有着良好的药用价值[3]。在临床上,其主要用于解痉、散瞳、抗晕动、抗震颤麻痹、防治帕金森症等疾病的治疗[4][5]。

大孔吸附树脂是一类不含交换基团且有大孔结构的高分子吸附树脂,具有良好的大孔网状结构和较大的比表面积。因其吸附性好、吸附迅速、解吸容易等优良特性,在分离纯化天然药物活性成分中受到广泛青睐[6]。在我们课题组前期工作中,付传香等[7]研究表明D151大孔吸附树脂对东莨菪碱具有较大的吸附率和洗脱率,对东莨菪碱的分离纯化效果较好。为了进一步提高东莨菪碱的纯度,以吸附率和洗脱率为评价指标,以安徽皖北地区种植的道地洋金花为原料,对工艺参数中的吸附液的pH、洗脱液的pH进行了进一步优化。

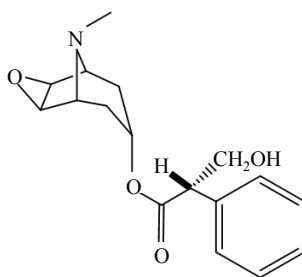


Figure 1. The chemical structures of scopolamine

图1. 东莨菪碱的化学结构式

2. 原料、材料及设备

主要原料: 洋金花(来自安徽德信佳生物医药有限公司洋金花种植基地)。洗净后于60℃下在真空干燥箱中干燥6h,用中药粉碎机粉碎并过60目筛备用。

主要试剂与材料: 氨水、二氯甲烷等均为分析纯,乙腈、磷酸等均为色谱纯,购买于国药集团化学

试剂有限公司。东莨菪碱标准品(纯度 > 98%), 由安徽德信佳生物医药有限公司提供。超纯水实验室自制。D151 大孔吸附树脂购于安徽三星树脂科技有限公司。

主要仪器: 中药粉碎机(ML-800, 苏州摩菱机械设备有限公司); 高相液相色谱仪(Agilent1260, 美国安捷伦公司); 超声波提取仪(SCQ-250B5, 福州迈康自动化设备有限公司); 真空干燥箱(DZF-6050, 上海一恒科学仪器有限公司); 空气恒温摇床(HQ45Z, 武汉中科科仪技术发展有限公司)。

3. 试验方法

3.1. 色谱条件

液相条件: 流动相为乙腈-70 mmol/L 磷酸钠溶液(含有 17.5 mmol/L 十二烷基硫酸钠, 用磷酸调节 pH 至 6) (V/V, 1/2), 柱温 25℃; 检测波长 216 nm; 流速 1.0 mL/min; 进样量 20 μ L; 色谱柱: SGE protecol C18 色谱柱(5 μ m, 4.6 \times 250 mm) [8]。

3.2. 东莨菪碱标准曲线的绘制

精密称取 20 mg 东莨菪碱标准品, 添加色谱级乙腈, 在超声环境下将东莨菪碱标准品完全溶解后转移至 5 mL 容量瓶中, 继续添加色谱级乙腈定容至刻度线, 配制 4 mg/mL 标准贮备溶液, 待用。然后用色谱级乙腈将标准贮备溶液依次等倍稀释成浓度为 4, 2, 1, 0.5, 0.25 mg/mL。经 0.45 μ m 的微孔滤膜处理后, 依照上述色谱条件依次注入高效液相色谱仪, 以峰面积值 Y 为纵坐标, 以浓度值 X 为横坐标, 绘制标准曲线。

3.3. 东莨菪碱粗提物的制备

100 g 洋金花干粉 \rightarrow 200 mL 氨水进行润湿 \rightarrow 超声波辅助二氯甲烷提取(1.0 L 二氯甲烷, 25℃, 超声波功率为 180 W, 超声时间为 30 min, 重复提取两次[9]) \rightarrow 提取液过滤, 减压回收二氯甲烷, 酸性水溶液复溶后用于树脂吸附实验。

3.4. D151 树脂预处理

用 95%乙醇浸泡树脂 24 h, 用超纯水洗至无醇, 分别依次用 5%的盐酸溶液和 5%的氢氧化钠溶液处理树脂 12 h, 最后用超纯水冲洗至中性[10]。

3.5. D151 树脂装柱层析

将层析柱垂直固定在铁架台上, 关闭活塞, 向柱子中添加适量的超纯水。将大孔树脂水浆溶液一次性均匀倒入层析柱中, 并不断添加超纯水。将过量水通过柱底放出, 始终保持水面高于树脂层面 3 cm 左右, 直到所有树脂全部转移至柱中。待树脂全部转移后, 继续向柱子中添加去超纯水, 持续时间为 30 min [11]。装柱完成后, 取 500 mL 初始质量浓度为 0.20 mg/mL 的东莨菪碱提取液(pH 为 7.6)在 25℃下上柱, 流速为 2 BV/h (100 mL/h), 用试管收集流出液, 检测每管流出液中东莨菪碱的浓度, 吸附平衡后, 用超纯水冲洗柱子, 然后在流速为 2 BV/h 时, 用 800 mL 酸性水溶液(pH 为 1.2)进行洗脱, 收集流出液进行高相液相色谱检测。

3.6. 分离纯化工艺的优化

3.6.1. 吸附液 pH 的优化

准确称取 7 份 350 mg D151 大孔树脂至 100 mL 带塞锥形瓶中, 分别加入 20 mL pH 值为 7、7.2、7.4、7.6、7.8、8.0、8.2 的质量浓度为 0.20 mg/mL 的东莨菪碱提取液, 25℃下在空气恒温摇床中振荡 24 h。

3.6.2. 洗脱液 pH 的优化

准确称取 5 份 350 mg D151 大孔树脂至 100 mL 带塞锥形瓶中, 按照 3.6.1 节最优条件进行静态吸附实验。待吸附平衡结束后, 先用超纯水冲洗树脂, 然后分别用 20 mL pH 值为 0.8、1、1.2、1.4、1.6 的酸性水溶液于 25°C 下在空气恒温摇床中振荡洗脱 24 h。

4. 实验结果

4.1. 东莨菪碱标准曲线

按照 3.1 节中的色谱条件, 分别测定各个浓度下的标准品溶液, 将所得数据分析处理, 绘制出如图 2 所示的东莨菪碱标准曲线, 其线性回归方程: $Y = 12893X + 648.33$, $R^2 = 0.9995$ 。

由图 2 可知, 东莨菪碱在 0.25~4 mg/mL 范围内具有良好的线性关系。

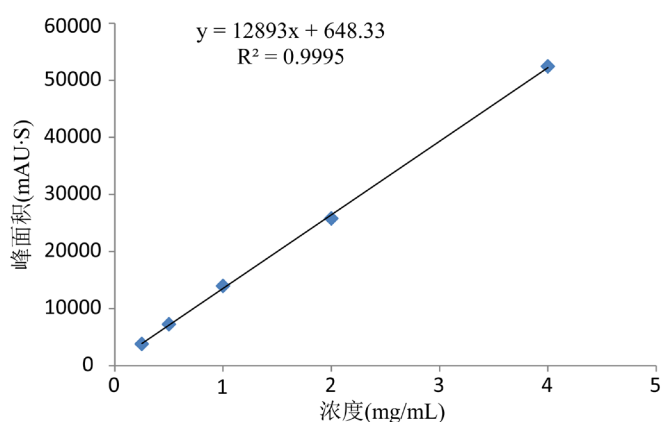


Figure 2. Standard curve of scopolamine
图 2. 东莨菪碱标准曲线图

4.2. 吸附液 pH 的选择

东莨菪碱是一类具有羟基的化合物, 故样液的 pH 对树脂吸附效果有一定的影响。前期课题组研究表明, 吸附液的 pH 值在 8 左右时, D151 树脂对东莨菪碱的吸附率较高, 为了进一步优化吸附液的 pH, 保持其他条件不变, 调节样液的 pH 进行动态吸附实验。由图 3 可知, 在一定范围内, PH 值低于 7.6 时, D151 树脂对东莨菪碱的吸附率随着 PH 的降低而减少, 当 pH 值大于 7.6 时, D151 树脂对东莨菪碱的吸附率趋于稳定, 这可能是东莨菪碱盐被还原为游离态达到平衡造成的。因此, 吸附液 pH 为 7.6 最佳。

4.3. 洗脱液 pH 的选择

洗脱液的 pH 值是影响东莨菪碱洗脱率的一个重要因素。图 4 为洗脱液 pH 值对洗脱率的影响。从图中可以看出: 当 pH 值大于 1.2 时, 东莨菪碱的洗脱率呈显著下降趋势, pH 值为 0.8~1.2 时, 东莨菪碱的洗脱率趋于平稳。因此, 洗脱液的 pH 值为 1.2 最佳。

4.4. 样品纯度分析

按照上述色谱条件, 将 D151 树脂分离纯化后的东莨菪碱样品进行高相液相色谱分析。结果如图 5 所示, 东莨菪碱的色谱峰保留时间为 16.599 min, 与标准品进行对比, 为东莨菪碱的色谱峰。并且从图中可以看出, 经过纯化后的东莨菪碱样品杂质较少。将峰面积代入标准曲线的公式, 计算出样品中东莨菪碱的纯度为 84.2%。

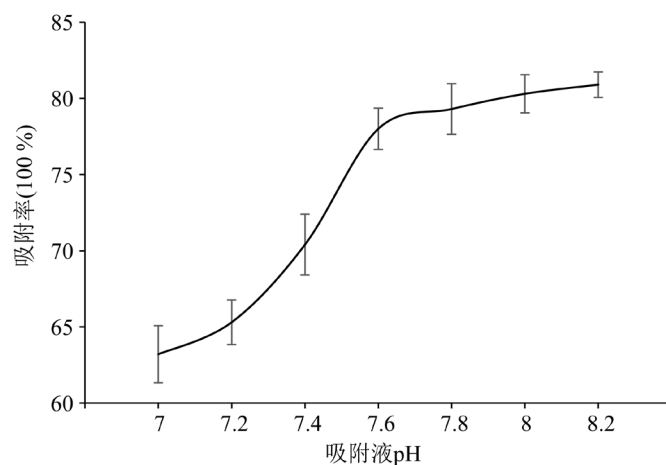


Figure 3. Effect of sample solution pH on adsorption efficiency
图 3. 吸附液 pH 值对吸附率的影响

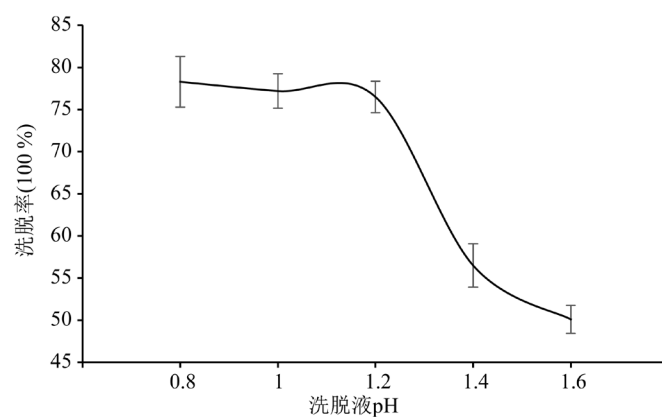


Figure 4. Effect of eluent pH on desorption efficiency
图 4. 洗脱液 pH 值对洗脱率的影响

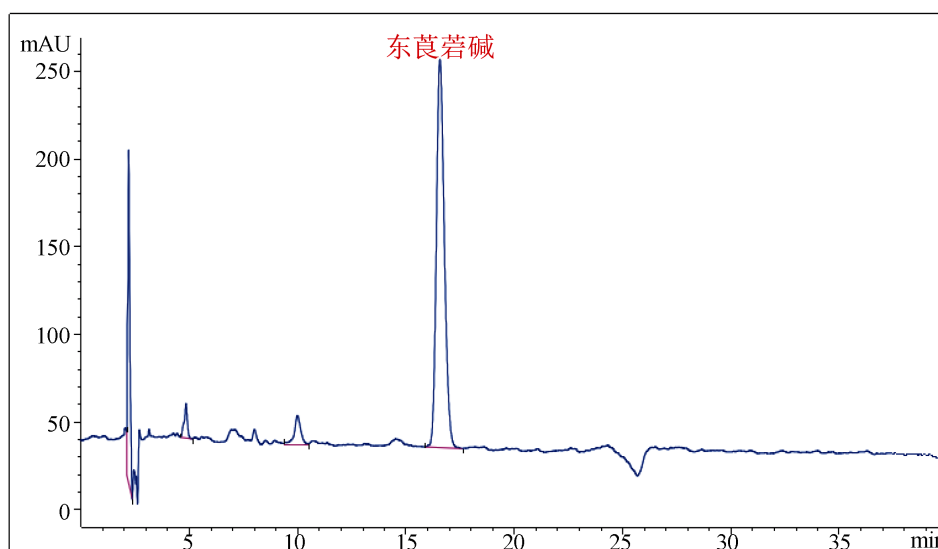


Figure 5. HPLC chromatogram of extract purified by D151 resin
图 5. D151 树脂分离纯化东莨菪碱后的高相液相色谱图

5. 结论

本文以 D151 树脂作为填料对东莨菪碱进行纯化, 在原有工艺的基础上, 进一步优化上样液(吸附液)的 pH 和洗脱液的 pH 对分离纯化工艺的影响, 确定了较佳的工艺条件: 上样溶液的 pH 为 7.6, 洗脱液的 pH 为 1.2。在此分离纯化条件下, 获得了纯度为 84.2% 的东莨菪碱样品。

基金项目

2016 年安徽省科技重大专项项目(16030801111)。

参考文献

- [1] 井佳楠, 吕邵娃, 王秋红, 等. 洋金花化学成分和药理作用及临床应用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(19): 3513-3521.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 138.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [4] 谷福根, 吴春芝, 岳文. 东莨菪碱的临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2008(11): 870-873.
- [5] 陈朋朋, 吴泽宇, 许坤, 等. 氢溴酸东莨菪碱结晶工艺优化及结构表征[J]. 化学工程与技术, 2018, 8(5): 291-296.
- [6] 艾志录, 王育红, 王海, 等. 大孔树脂对苹果渣中多酚物质的吸附研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(8): 225-248.
- [7] 付传香. 洋金花中东莨菪碱的提取分离及其旋光稳定性的研究[D] [硕士学位论文]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- [8] 付传香, 郑悦, 王婷婷, 等. RP-HPLC 法测定洋金花中东莨菪碱的含量[J]. 包装与食品机械, 2017(5): 65-68.
- [9] 付传香, 许韬, 郑悦, 等. 洋金花中东莨菪碱的提取工艺研究[J]. 安徽化工, 2017, 43(6): 29-32, 35.
- [10] 于智峰, 王敏, 张家峰. 大孔树脂精制苦荞总黄酮工艺条件的优化研究[J]. 农业工程学报, 2007(4): 253-257.
- [11] 陈晓慧. 树莓叶中黄酮类化合物的提取、分离及结构鉴定的研究[D] [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8844, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjcet@hanspub.org