

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^Δ

其曼古丽·吐尔洪^{1,2,3*}, 玉苏普·买买提⁴, 马依努尔·拜克力^{1,2#}(1.中国科学院新疆理化技术研究所, 乌鲁木齐 830011; 2. 省部共建新疆特有药用资源利用国家重点实验室培育基地, 乌鲁木齐 830011; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 新疆师范大学地理科学与旅游学院, 乌鲁木齐 830054)

中图分类号 R284.2; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2763-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.06

摘要 目的:对西伯利亚白刺叶中总生物碱的大孔树脂纯化工艺进行优化,并评价其抗氧化活性。方法:以样品中总生物碱(以硫酸阿托品计)含量为考察指标,采用静态吸附和解析法对大孔树脂型号进行考察,采用动态吸附和解析法考察上样液质量浓度、上样液pH、上样液流速、柱子径高比、上样量、除杂用水量、洗脱溶剂体积分数,从而对大孔树脂纯化工艺进行优化。以维生素C为阳性对照,考察样品中总生物碱对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的清除能力,以评价其抗氧化活性。结果:HPD-450型大孔树脂对样品中总生物碱的吸附及解析能力较强;最优纯化工艺为上样液质量浓度0.88 mg/mL,上样液pH 6,上样液流速2 BV(柱体积)/h,柱子径高比1:8,上样量5 BV,除杂用水量5 BV,洗脱溶剂30%乙醇。按最优纯化工艺优化后的总生物碱含量为16.94 mg/g,半数抑制浓度为(58.78 ± 3.00) μg/mL。结论:优化的纯化工艺稳定、可行,可较好地分离和纯化西伯利亚白刺叶中的总生物碱,且纯化得到的总生物碱具有一定的抗氧化活性,其中30%乙醇洗脱得到的总生物碱清除DPPH自由基的能力最强。
关键词 西伯利亚白刺叶;总生物碱;大孔树脂;纯化工艺;抗氧化活性

Study on the Purification Technology of Total Alkaloids from the Leaves of *Nitraria sibirica* with Macroporous Resin and Its Antioxidant Activity

Chimengul · TURGHUN^{1,2,3}, Yusup · MAMAT⁴, Mahinur · BAKRI^{1,2}(1. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. State Key Lab Breeding Base of Xinjiang Indigenous Medicinal Plants Resource Utilization, Urumqi 830011, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. School of Geographic Science and Tourism, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the purification technology of total alkaloids from the leaves of *Nitraria sibirica* with macroporous resin, and to evaluate its antioxidant activity. METHODS: Using the content of total alkaloids (by atropine sulfate) as index, static adsorption and analytical method were used to investigate the type of macroporous resin. Dynamic adsorption and analytical method were used to investigate the concentration of the sample solution, the pH of the sample solution, the flow rate of the sample solution, diameter-height ratio of column, sample capacity, the volume of elution water and volume fraction of elution solvent so as to optimize macroporous resin purification technology. Using vitamin C as positive control, scavenging capacity of total alkaloids to 1, 1-diphenyl-2-diphenyl picryl hydrazinyl (DPPH) radicals was investigated to evaluate its antioxidant activity. RESULTS: The adsorption and desorption effects of HPD-450 macroporous resin on total alkaloids were the best. The optimal purification technology included the sample solution concentration 0.88 mg/mL, sample solution pH 6, sample solution flow rate 2 BV/h, diameter-height ratio of column 1:8, sample capacity 5 BV, the volume of elution water 5 BV, elution solvent 30% ethanol. The content of total alkaloid was 16.94 mg/g, and IC₅₀ was (58.78 ± 3.00) μg/mL by optimal purification technology. CONCLUSIONS: Optimized purification technology is stable and feasible, and can separate and purify total alkaloids from the leaves of *N. sibirica*. Purified total alkaloids display good antioxidant activities. The total alkaloids eluted with 30% ethanol show the strongest scavenging activity to DPPH radicals.

KEYWORDS Leaves of *Nitraria sibirica*; Total alkaloids; Macroporous resin; Purification technology; Antioxidant activity

Δ 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (No.2016D01A071)

* 博士研究生。研究方向:药用植物化学成分分析。E-mail: chimen722@sina.com

通信作者:助理研究员,博士。研究方向:民族药研究与开发。电话:0991-3838635。E-mail:mahinur@ms.xjb.ac.cn

西伯利亚白刺(*Nitraria sibirica* Pall.)别称为白刺(*Nitrariaceae*),是蒺藜科的一种植物,分布于亚洲、欧洲、非洲和澳大利亚的荒漠,在我国新疆各地区都有零星分布。该属植物是我国内蒙古、甘肃和新疆一带荒漠植被的重要建群之一^[1],其叶和果实均可入药^[2]。

西伯利亚白刺为传统的维吾尔药,其叶可被用于治疗高血压、月经紊乱、肠胃炎等症^[3-4]。虽然在白刺属的其他物种中发现含有总生物碱和黄酮类化合物^[5-6],但目前关于西伯利亚白刺叶化学成分的研究^[7]甚少。有研究对西伯利亚白刺叶、成熟果实及未成熟果实中总生物碱含量进行比较,发现西伯利亚白刺叶中总生物碱含量较高,成熟果实次之,而未成熟果实中总生物碱含量较低,说明总生物碱的积累和贮存主要在其叶中^[8]。因此,西伯利亚白刺叶可作为提取和富集白刺总生物碱的原料^[9-11],但如何科学地从其中提取和纯化总生物碱是一个关键问题。为了阐明该药用植物的物质基础,更有效地开发、利用其资源,本研究以总生物碱(以硫酸阿托品为对照品,该药属托烷生物碱类药物)含量为考察指标,对该植物叶中总生物碱的大孔树脂纯化工艺进行优化,并探讨了其抗氧化活性,旨在为该植物的开发利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

2550型紫外-可见光谱仪(日本岛津公司);EYELA-N-1100D-WD型旋转蒸发器(上海爱郎仪器有限公司);ESJ-180A型电子天平(沈阳神宇龙腾天平有限公司);G2X-DH·300-BS-II型电热恒温干燥箱(上海市跃进医疗器械一厂);H14221型pH计(上海精密仪器仪表有限公司);Spectra Max M5型酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

硫酸阿托品对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100040-201210,纯度:98%);HPD-100、HPD-101、HPD-300、HPD-450、HPD-500、HPD-600、HPD-750、AB-8型大孔树脂均由沧州宝恩吸附材料科技有限公司提供;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司];其他试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 药材

西伯利亚白刺叶采集于新疆和田,经新疆大学资源与环境科学学院努尔巴依·阿布都沙力克教授鉴定为蒺藜科白刺属西伯利亚白刺(*N. sibirica* Pall.)的叶。西伯利亚白刺叶经自然晾干,粉碎后过20目筛,备用。

2 方法与结果

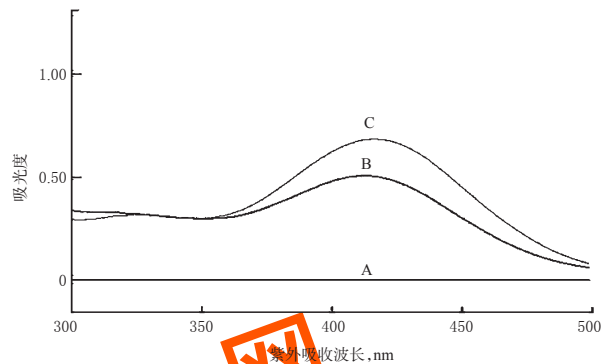
2.1 总生物碱含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取于120℃干燥至恒质量的硫酸阿托品对照品25 mg,置于250 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置于100 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为50 μg/mL的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取样品粗粉50 g,置于1 L圆底烧瓶中,加90%乙醇500 mL,于80℃水浴回流提取2.5 h,提取2次;滤过,合并滤液,蒸干,残渣加2%硫酸溶液10 mL溶解,滤过,滤液加5%碳酸钠溶液调pH至

10~12,用氯仿萃取3次;合并萃取液,蒸干,残渣加2%硫酸溶液10 mL溶解,用5%碳酸钠溶液调pH至7,加水定容于500 mL量瓶中,摇匀,即得供试品溶液。

2.1.3 检测波长的选择 精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液各3 mL,分别置于25 mL分液漏斗中,加水至7 mL,加溴钾酚氯溶液(pH 4.42)4 mL,摇匀;加氯仿15 mL,密塞瓶口振荡3 min,静置1 h后取澄清的氯仿层,置于25 mL量瓶中,加氯仿定容,摇匀;移置于1 cm比色池中,以氯仿为空白溶液,在300~500 nm波长范围内扫描。结果显示,对照品、供试品在415 nm波长处均有最大吸收,故选择415 nm为本研究的检测波长,详见图1。



注:A.空白溶液;B.供试品溶液;C.对照品溶液

Note: A. blank solution; B. test solution; C. control solution

图1 紫外吸收光谱图

Fig 1 UV absorption wavelength spectrum

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度。以硫酸阿托品质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=0.102x+0.1015$ ($r=0.9998$)。结果表明,硫酸阿托品检测质量浓度线性范围为2~10 μg/mL。

2.1.5 样品总生物碱含量 取“2.1.2”项下供试品溶液1 mL,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度,根据“2.1.4”项下回归方程计算总生物碱(以硫酸阿托品计)含量^[12]。

2.2 大孔树脂纯化工艺优选

2.2.1 树脂预处理 分别称取HPD-100、HPD-101、HPD-300、HPD-450、HPD-500、HPD-600、HPD-750、AB-8型大孔树脂各10 g,加95%乙醇30 mL以流速2 BV(柱体积)/h通过树脂并浸泡24 h,使其充分溶胀;加5%氯化钠溶液30 mL以流速2 BV/h通过树脂并浸泡3 h,用水洗至pH为中性,再加2%氢氧化钠30 mL以流速2 BV/h通过树脂并浸泡3 h,用水洗至pH为中性;于25℃晾干,计算含水量[含水量=(湿树脂的质量-干树脂的质量)/湿树脂的质量×100%],结果见表1。

2.2.2 静态吸附率和静态解析率的测定 ①准确称取“2.2.1”项下经预处理的HPD-100、HPD-101、HPD-300、HPD-450、HPD-500、HPD-600、HPD-750、AB-8型大孔树脂各3 g,分别置于锥形瓶中,加“2.1.2”项下供试品溶液

表1 8种型号大孔树脂含水量测定结果

Tab 1 Determination result of moisture content of 8 types of macroporous resins

树脂型号	极性	含水量, %	树脂型号	极性	含水量, %
HPD-100	非极性	58.88	HPD-500	极性	68.40
HPD-101	非极性	59.40	HPD-600	极性	73.20
HPD-300	弱极性	69.23	HPD-750	中极性	54.70
HPD-450	弱极性	73.77	AB-8	弱极性	73.22

30 mL,以100 r/min转速振摇10 h,使树脂充分吸附后滤过;滤液按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度,计算滤液中总生物碱含量并计算8种型号大孔树脂的静态吸附量和静态吸附率。②将吸附饱和的各型号大孔树脂用水洗至无浑浊,加入不同体积分数的乙醇50 mL,以130 r/min转速振摇3 h使其充分解析,解析液滤过,蒸至无乙醇味;残留液用水定容,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度,计算大孔树脂解析的总生物碱含量并计算8种型号大孔树脂的静态解析率。

静态吸附量=(样品溶液中总生物碱的质量浓度×样品溶液体积-吸附后溶液中总生物碱的质量浓度×吸附后溶液体积)/吸附后溶液质量。静态吸附率=静态吸附量/(样品溶液中总生物碱的质量浓度×样品溶液体积)×100%。静态解析率=解析液中总生物碱含量/大孔树脂吸附的总生物碱含量×100%。8种型号大孔树脂静态吸附和解析试验结果见表2(注:综合评分=静态吸附率×50%+静态解析率×50%)。

表2 8种型号大孔树脂静态吸附和解析试验结果

Tab 2 Static adsorption and desorption tests of 8 types of macroporous resins

树脂型号	极性	静态吸附量, mg/g	静态吸附率, %	静态解析率, %	综合评分, 分
HPD-100	非极性	17.75	90.58	86.58	88.58
HPD-101	非极性	15.21	83.33	89.55	86.44
HPD-300	弱极性	18.05	90.60	69.75	80.18
HPD-450	弱极性	16.87	88.10	94.84	92.47
HPD-500	极性	16.92	88.95	92.32	90.64
HPD-600	极性	15.93	85.36	80.91	83.14
HPD-750	中极性	14.24	82.26	81.21	81.74
AB-8	弱极性	12.23	78.54	62.32	70.43

由表2可知,HPD-450型大孔树脂对总生物碱的静态解析率、综合评分均明显高于其他型号大孔树脂。全面考虑对总生物碱的静态吸附率和静态解析率以及综合评分,选取HPD-100、HPD-450、HPD-500型大孔树脂进行进一步考察。

2.2.3 静态吸附动力学特征考察 准确称取“2.2.1”项下经预处理的HPD-100、HPD-450、HPD-500型大孔树脂各3 g,分别置于锥形瓶中,加“2.1.2”项下供试品溶液30 mL,以100 r/min转速振摇,分别于0.5、1、1.5、2、3、4、6、8 h时滤过;取7 mL滤液,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度,计算静态吸附率并绘制静态

吸附动力学曲线,结果见图2。

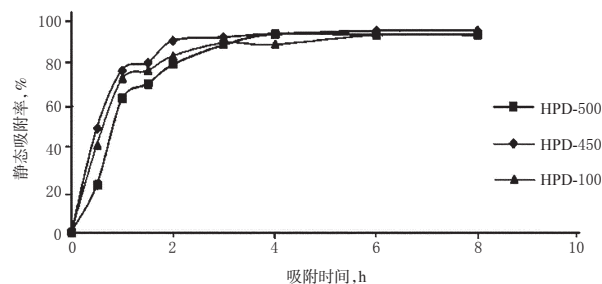


图2 3种型号大孔树脂的静态吸附动力学曲线

Fig 2 Static adsorption kinetic curves of 3 kinds of macroporous resins

由图2可知,随着吸附时间的延长,静态吸附率均逐渐增加,3种型号大孔树脂在0~1 h内静态吸附率增加均较快,随后增加逐渐缓慢,当吸附时间为2~3 h时静态吸附率增加已极为缓慢。因此,确定上样静态吸附时间为2 h。同时,HPD-450型大孔树脂的静态吸附率明显高于HPD-100、HPD-500型大孔树脂,因此选择HPD-450型大孔树脂用于样品总生物碱的纯化工艺研究。

2.2.4 动态吸附性能考察 ①上样液质量浓度考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取按“2.1.2”项下方法制备质量浓度(以总生物碱计)分别为1.33、0.88、0.66、0.44 mg/mL的供试品溶液3 BV,各4份,以流速2 BV/h进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水洗脱,流速为5 BV/h;收集流出液,用水定容至50 mL,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表3。

表3 上样液不同质量浓度比较

Tab 3 Comparison of the concentrations of the sample solutions

上样液质量浓度, mg/mL	动态吸附量, mg/g	动态吸附率, %
1.33	1.96	87.60
0.88	2.02	92.05
0.66	1.72	80.00
0.44	1.47	77.75

由表3可知,当上样液质量浓度为0.88 mg/mL时,动态吸附率和动态吸附量均较高,因此选择上样液质量浓度为0.88 mg/mL。

②上样液pH考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV(质量浓度为0.88 mg/mL,以总生物碱计),各4份,用2%硫酸溶液和无水碳酸钠调上样液pH分别为2、4、6、8,以流速2 BV/h进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水进行洗脱,流速为5 BV/h;收集流出液,用水定容至50 mL,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表4。

由表4可知,当上样液pH为6时,动态吸附量和动态吸附率均较高,因此选择上样液pH为6。

表4 上样液不同pH比较

Tab 4 Comparison of pH of the sample solutions

上样液pH	动态吸附量,mg/g	动态吸附率,%
2	1.75	82.64
4	2.04	92.69
6	2.08	94.52
8	1.39	80.79

③上样液流速考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV(质量浓度为0.88 mg/mL,以总生物碱计),各4份,分别以1、2、3、4 BV/h流速进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水进行洗脱,流速为5 BV/h;收集流出液,用水定容至50 mL,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表5。

表5 上样液不同流速比较

Tab 5 Comparison of the flow rate of the sample solutions

上样液流速,BV/h	动态吸附量,mg/g	动态吸附率,%
1	2.12	94.88
2	2.09	92.25
3	2.71	95.90
4	1.72	82.95

由表5可知,随着上样液流速的加快(1~3 BV/h),动态吸附率无明显变化,考虑到大孔树脂预处理过程中既要保证装好的大孔树脂中间无气泡、均匀,又要使上样液流速对动态吸附率无较大影响,因此选择上样液流速为2 BV/h。

④柱子径高比考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV,分别以径高比1:4、1:6、1:8、1:10装柱,另取“2.1.2”项下(质量浓度为0.88 mg/mL)供试品溶液3 BV,各4份,以流速2 BV/h进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水进行洗脱,流速为5 BV/h;收集流出液,用水定容至50 mL,参照“2.2.2”项下公式计算动态吸附量和动态吸附率,结果见表6。

表6 不同柱子径高比比较

Tab 6 Comparison of diameter-height ratio of column

径高比	动态吸附量,mg/g	动态吸附率,%
1:4	1.24	73.17
1:6	1.84	84.26
1:8	2.32	93.29
1:10	2.25	92.98

由表6可知,当柱子径高比为1:8时,动态吸附量和动态吸附率均较高,因此选择柱子径高比为1:8。

⑤上样量考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV,各4份,以上样液质量浓度0.88 mg/mL、上样液pH 6、上样液流速2 BV/h、柱子径高比1:8进行吸附试验;每上样1 BV收集1份,共收集20份,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度并计算总生物碱的含量,以上样量(x,BV)为横坐标、总生物碱含量(y,mg/mL)为纵坐标绘制吸附泄漏曲线,结果见图3。

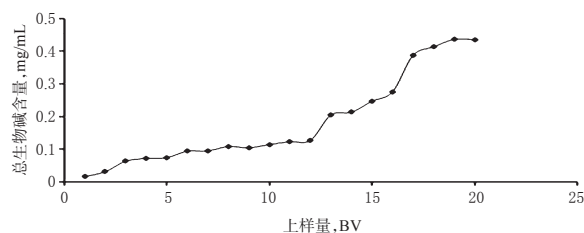


图3 吸附泄漏曲线

Fig 3 Adsorption leakage curve

由图3可知,当上样量为5 BV时,总生物碱含量为0.1 mg/mL,此时达到泄漏点质量浓度;当继续增加上样量时,总生物碱大量泄漏,因此选择上样量为5 BV。

⑥除杂用水量考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV,各4份,以上样液质量浓度0.88 mg/mL、上样液pH 6、上样量5 BV、上样液流速2 BV/h、柱子径高比1:8进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水洗脱杂质(即树脂间未被吸附的上样液),流速为5 BV/h;收集流出液,用水定容至50 mL,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度并计算总生物碱的含量,以除杂用水量(x,BV)为横坐标、总生物碱含量(y,mg/mL)为纵坐标绘制总生物碱含量-除杂用水量曲线,结果见图4。

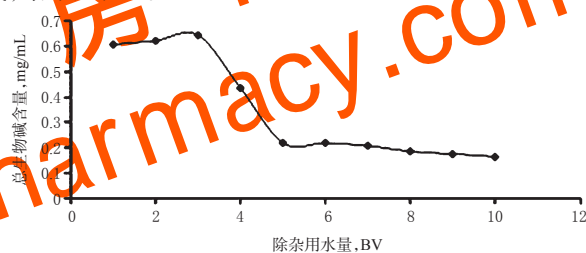


图4 总生物碱含量-除杂用水量曲线

Fig 4 Curve of total alkaloids content-volume of elution water

由图4可知,随着除杂用水量的增加,总生物碱含量明显减少;当除杂用水量大于5 BV时,总生物碱含量变化已较少,且流出液接近无色,因此选择除杂用水量为5 BV。

⑦洗脱溶剂体积分数考察:取“2.2.1”项下经预处理的HPD-450型大孔树脂3 BV装柱,另取“2.1.2”项下供试品溶液3 BV(质量浓度为0.88 mg/mL,以总生物碱计),各4份,以流速2 BV/h进行吸附试验;收集流出液,静置2 h后,用4 BV水进行洗脱,流速为5 BV/h,后分别用30%、50%、70%乙醇进行洗脱;收集流出液,用水定容至50 mL,按“2.1.3”项下方法显色后于415 nm波长处测定吸光度并计算总生物碱的含量及解析量,以洗脱液用量(x,BV)为横坐标、解析量(y,mg/mL)为纵坐标绘制洗脱-解析曲线,结果见图5。

由图5可知,随着洗脱液用量的增加,总生物碱的含量不断减少;当洗脱液用量小于5 BV时解析量较多,但再增加洗脱液用量时,总生物碱流出量同时减少;其中

以30%乙醇洗脱时解析量较高,因此选择洗脱溶剂为30%乙醇。

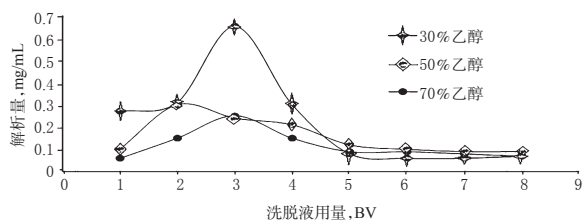


图5 30%、50%、70%乙醇洗脱-解析曲线

Fig 5 Elution-analytical curves of 30%, 50% and 70% ethanol

综合上述试验结果,选择最优纯化工艺为上样液质量浓度0.88 mg/mL、上样液pH 6、上样液流速2 BV/h、柱子径高比1:8、上样量5 BV、除杂用水量5 BV、洗脱溶剂30%乙醇。经验证,此时总生物碱含量为16.94 mg/g;而当以50%乙醇洗脱时总生物碱含量为13.13 mg/g,以70%乙醇洗脱时总生物碱含量为12.44 mg/g。

2.3 总生物碱抗氧化活性研究

总生物碱抗氧化活性采用DPPH自由基清除法^[13]进行评价。精密称取DPPH自由基7.886 4 mg,加无水乙醇溶解,定容至10 mL,作为DPPH贮备液。将上述DPPH贮备液稀释至 2×10^{-4} mol/L后,加质量浓度分别为25、50、75、100、125、150、175、200、300、400 $\mu\text{g/mL}$ 的3种总生物碱溶液(分别以30%、50%、70%乙醇洗脱后得到的固体,加水制得)100 μL ,摇匀,于避光25 $^{\circ}\text{C}$ 下放置30 min后,用酶标仪于515 nm波长处测定吸光度。以维生素C为阳性对照,平行测定3次,计算半数抑制浓度(IC_{50})。 IC_{50} 越低表示对DPPH自由基的清除能力越强,结果见表7。

表7 不同溶剂洗脱后总生物碱对DPPH自由基的 IC_{50}

Tab 7 IC_{50} of total alkaloid to DPPH free radical after elution of different solvents

不同溶剂洗脱部位	IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$
30%乙醇洗脱部位	58.78 ± 3.00
50%乙醇洗脱部位	114.82 ± 9.17
70%乙醇洗脱部位	128.65 ± 14.05
维生素C	5.34 ± 0.42

由表7可知,DPPH自由基清除能力由高到低依次为维生素C>30%乙醇>50%乙醇>70%乙醇。这提示30%乙醇洗脱后得到的总生物碱含量较高,抗氧化活性较强。

3 讨论

大孔树脂吸附作用是依靠其与被吸附的分子之间的范德华引力,通过其巨大的比表面进行物理吸附,使有机化合物根据被吸附力及其分子量大小可以经一定溶剂洗脱而分开,以达到分离、纯化、除杂、浓缩等目的^[14]。

大孔树脂是一类基于化合物分子量和极性来分离小分子的材料,其具有高负载能力,且可多次重复使用^[15-16]。近年来,其已被广泛用于中药材中生物活性

成分的分离和纯化^[17]。相比传统分离和纯化方法,大孔树脂分离和纯化具有操作简单、效率高、成本低等优点。

本研究结果显示,西伯利亚白刺叶中总生物碱在弱极性大孔树脂中的吸附和解析能力相对较好,尤其是HPD-450型弱极性大孔树脂最适于西伯利亚白刺叶中总生物碱的纯化,纯化后总生物碱的静态解析率为94.84%。对不同体积分数乙醇作为洗脱溶剂的考察发现,30%乙醇洗脱得到的总生物碱含量最高,其次为50%乙醇,最后为70%乙醇。DPPH自由基已被广泛应用于检测多种化合物的抗自由基活性中^[18]。本研究中,30%乙醇洗脱得到的总生物碱对DPPH自由基的 IC_{50} 为 $(58.78 \pm 3.00) \mu\text{g/mL}$ 。

综上所述,本研究优化的纯化工艺稳定、可行,可较好地分离和纯化西伯利亚白刺叶中的总生物碱,且纯化得到的总生物碱具有一定的抗氧化活性,其中30%乙醇洗脱得到的总生物碱清除DPPH自由基的能力最强。

参考文献

- [1] 汤彦承,路安民. A.塔赫他间著《有花植物多样性与分类》读后记述[J]. 植物分类学报,1998,36(2):178-192.
- [2] SENEJOUX F, GIRARD C, AISA HA, et al. Vasorelaxant and hypotensive effects of a hydroalcoholic extract from the fruits of *Nitraria sibirica*, Pall. (Nitrariaceae)[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 629-634.
- [3] 李永强,杨士花,朱仁俊,等. 西伯利亚白刺果实花色苷的初步鉴定[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 77-79.
- [4] OSMANOV Z, IBRAGIMOV AA, YUNUSOV SY. Isonitramine: a new alkaloid from *Nitraria sibirica*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 1977, 13(5): 607-608.
- [5] EL-ALALIA, ZOUBI AA, GHARAIBEH M, et al. Phytochemical and biological investigation of *Nitraria retusa* Asch[J]. *J Pharm Sci*, 2012, 5(2): 2012-2155.
- [6] 逯海龙,欧阳发,苏亚伦,等. 白刺果实化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(3): 221-223.
- [7] 吴增宝,李梦良,常敏,等. 唐古特白刺水溶性化学成分研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2012, 30(6): 728-730.
- [8] BOUBAKER J, BHOURI W, BEN SGHAIER M, et al. Ethyl acetate extract and its major constituent, isorhamnetin 3-O-rutinoside, from *Nitraria retusa* leaves, promote apoptosis of human myelogenous erythroleukaemia cells [J]. *Cell Prolif*, 2011, 44(5): 453-461.
- [9] 李方群,刘金荣,樊根遥,等. 维药白刺总生物碱提取工艺的研究[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(4): 48-50.
- [10] 梅新娣,沈应柏. 西伯利亚白刺化学成分研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(12): 2045-2049.
- [11] 张桂霞. 西伯利亚白刺果实化学成分及提取物抗菌、抗氧化活性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学, 2012.
- [12] 刘文英. 药物分析[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社, 2001:179-181.
- [13] 刘志东,郭本恒,王荫榆. 抗氧化活性检测方法的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(3): 563-567.

联苯乙酸合成工艺的优化研究^Δ

邓玉晓^{1*}, 孙晋瑞^{1#}, 段崇刚², 林治秘², 李丹¹, 任业明¹, 冯光玲¹(1.山东省药学科学院/山东省化学药物重点实验室, 济南 250101; 2.山东海佑福瑞达制药有限公司, 山东 临沭 276700)

中图分类号 R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2768-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.07

摘要 目的:优化联苯乙酸合成工艺,为满足联苯乙酸原料药的市场需求提供技术支持。方法:对传统的联苯经傅克反应、缩酮反应、重排反应、水解等步骤制备联苯乙酸的合成路线进行优化改进,考察不同傅克反应溶剂(石油醚、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷)、缩酮反应醇(乙二醇、1,3-丙二醇、新戊二醇、季戊四醇)、重排反应催化剂(联苯乙酸锌、氧化锌、辛酸锌、醋酸锌)和精制溶剂(95%异丙醇、异丙醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯)等条件对合成工艺的影响,以制得的中间体或联苯乙酸的纯度和收率筛选最优工艺。结果:以石油醚为傅克反应溶剂、以乙二醇为缩酮反应醇、以联苯乙酸锌为重排反应催化剂、以95%异丙醇为精制溶剂时,制备效果较好。关键中间体2'-氯代联苯乙酮收率达到95%以上;精制后的联苯乙酸纯度可达到99.9%,单一杂质含量小于0.1%,总收率在70%以上。结论:优化后的联苯乙酸合成工艺操作简单,反应条件温和易控,成本低,所用试剂更环保、安全性高,适于工业化大生产;产品纯度和收率均较高,符合欧洲药典、日本药典标准。

关键词 联苯乙酸;合成工艺;优化;联苯乙酸锌

Study on the Optimization of Synthesis Technology of 4-biphenylacetic Acid

DENG Yuxiao¹, SUN Jinrui¹, DUAN Chonggang², LIN Zhimi², LI Dan¹, REN Yeming¹, FENG Guangling¹(1. Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences/Shandong Provincial Key Lab of Chemical Drug, Jinan 250101, China; 2. Shandong Haiyou Freda Pharmaceutical Co., Ltd., Shandong Linshu 276700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the synthesis technology of 4-biphenylacetic acid, and to provide technology support to meet the market demand of 4-biphenylacetic acid raw material. METHODS: The synthesis route of 4-biphenylacetic acid from biphenyl by Friedel-Crafts reaction, ketal reaction, rearrangement reaction and hydrolysis was optimized and improved. The effects of different Friedel-Crafts reaction solvents (petroleum ether, dichloromethane, 1, 2-dichloroethane), ketal reaction ethanol (ethanediol, 1, 3-propanediol, dimethyltrimethylene glycol, pentaerythritol), rearrangement reaction catalyzer (zinc biphenyl acetate, zinc oxide, zinc caprylate, zinc acetate) and refined solvent (isopropanol, 95% isopropanol, ethanol, acetone, ethyl acetate) on synthesis technology were investigated. The optimal synthesis technology was screened with the purity and yield of intermediate or 4-biphenylacetic acid. RESULTS: The petroleum ether as Friedel-Crafts reaction solvent, ethylene glycol as ketal reaction ethanol, zinc diphenylacetate as rearrangement catalyst and 95% isopropanol as refining solvent were used for the preparation to obtain better effects. The yield of key intermediate 2'-chloroacetophenone reached above 95%. The purity of refined 4-biphenylacetic acid reached 99.9%; the content of single impurity was less than 0.1%; the total yield reached over 70%. CONCLUSIONS: The optimal synthesis technology of 4-biphenylacetic acid has the advantages of simple operation, mild and controllable reaction conditions, low cost, greener reagents and higher safety, and is suitable for industrial production. The purity and yield of the products are in high level and in line with the standards of European Pharmacopoeia and the Japanese Pharmacopoeia.

KEYWORDS 4-biphenylacetic acid; Synthesis technology; Optimization; Zinc biphenylacetate

[14] LIU J, LI Q, LIU R, et al. Enrichment and purification of six Aconitum alkaloids from Aconitum kusnezoffii radix by macroporous resins and quantification by HPLC-MS[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014. DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.

[15] YANG J, ZHANG L, ZHU G, et al. Separation and enrichment of major quinolizidine type alkaloids from *Sophora alopecuroides* using macroporous resins[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 945(2): 17-22.

Δ 基金项目:山东省自然科学基金项目(No.鲁科基金字[2017]5号-ZR201702200103)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 新药研发。电话: 0531-81213286。E-mail: dengyuxiao1124@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 新药研发。电话: 0531-81213291。E-mail: sjrcxl@126.com

[16] 娄嵩, 刘永峰, 白清清, 等. 大孔吸附树脂的吸附机理[J]. *化学进展*, 2012, 24(8): 1427-1436.

[17] 杨莹莹, 张广晶, 张舒媛, 等. 大孔树脂在中药研究中的应用[J]. *辽宁中医杂志*, 2014, 41(10): 2193-2195.

[18] BAI MS, WANG C, ZONG SC, et al. Antioxidant polyketide phenolic metabolites from the edible mushroom *Cortinarius purpurascens*[J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3424-3427.

(收稿日期: 2018-03-06 修回日期: 2018-09-03)

(编辑: 陈宏)