

中药组分选择性分离材料研究*

□徐青 王金成 郭志谋 章飞芳 薛兴亚 梁鑫森**

(中国科学院大连化学物理研究所 大连 116023)

摘要:针对中药组分的特点和分离的难点,以及目前分离材料的研究和发展现状,提出了中药组分选择性分离材料的总体研究方案。以高效、高选择性为目标,研究硅胶、聚合物、膜基质表面化学修饰方法,引入功能基团,开发新的选择性分离材料,逐步实现分离材料的自主创新、高品质和国产化,并应用于中药组分、成分或有害物质的高效、高选择性分离。

关键词:中药组分 分离材料 色谱固定相

一、中药组分分离的难点与分离材料的现状

中药化学成分极其复杂,其特点是所含化合物的分子量范围广(从小分子到生物大分子)、极性差异大(从水溶性到脂溶性)、种类多(如皂苷类、黄酮类等)、结构相似(同系组分及同分异构体)、含量差异大(从常量到痕量)。如何从中药复杂体系中进行系统地分离,获取以化学结构特点为导向的中药各种组分,以及纯化合物,是当前中药化学物质基础研究的重要课题。

中药化学的研究已有 50 多年的历程,各种中药材和复方的化学成分越来越多地被分离和鉴定。然而,糖类等大分子、水溶性物质、新骨架分子、手性化合物、微量成分等,依然是分离的难点,其核心问题是提高分离效率。主要思路是结合有机化学、材料化学的最新进展,重点开展在细粒径基质表面获得更

多的作用位点的研究,设计和发展新分离介质。

目前商品化的分离材料以硅胶基质、聚合物基质和膜分离基质等材料为主,其中硅胶基质分离材料包括反相(C₁₈、C₈、Ph 等)、正相(NH₂、CN 等)和离子交换色谱(SAX、SCX 等)等固定相;聚合物基质包括大孔吸附树脂、葡聚糖凝胶、聚酰胺等;膜分离基质包括超滤膜、纳滤膜、反渗透膜等。上述性能优良的分离材料基本上被国外大公司所垄断,且价格昂贵,完全依赖于进口分离材料无疑增加了中药研究和新药开发的成本。并且,在已有商品化的分离材料中,适合于强极性组分、同系组分、手性化合物的分离材料品种不多,远远不能满足中药复杂组分分离应用的需求,也在一定程度上制约了中药的现代化进程。基于这样的现状,研发具有自主知识产权、性能优良且价格便宜的分离材料,对分析化学学科的发展、振兴传统中药产业、加速中药的现代化进程具

组稿日期:2006-04-20

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KGCX2-SW-213):基于现代理论和技术的复方中药系统研究,负责人:梁鑫森;国家自然科学基金重点项目(20235020):中药药效组分的指纹图谱分析的方法研究,负责人:梁逸曾。

** 联系人:梁鑫森,本刊编委,博士,研究员,主要从事组分中药的研究,Tel:0411-84379519,Email:liangxm@dicp.ac.cn。

74 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

有十分重要而突出的科学意义和应用价值。

二、分离材料研制方案

针对中药组分的特点和分离的难点,以强极性组分、生物大分子、同系组分、手性化合物和微量组分为重点,以高效、高选择性为目标,在不同基质的表面键合功能基团,设计和研制细粒径的新型功能分离材料。包括常用硅胶基质键合材料在内,形成规模化国产化的商品,既能满足高效分析,也能满足高选择性的大规模分离制备组分和单一化合物。

新型功能分离材料主要包括以下三个方面:

1. 新型硅胶基质表面键合固定相

利用最新的有机合成技术在硅胶表面分别键合上醇羟基、酰胺键基团、糖基、手性分子等,得到的固定相可用于对强极性组分、同系组分、大分子组分、手性化合物的分离。

2. 聚合物基质材料

分子印迹聚合物微球:采用分子印迹技术结合悬浮聚合或分散聚合方法制备出对类组分有较好富集能力的类分离材料;采用半共价分子印迹技术结合悬浮聚合或分散聚合方法制备出对模板分子高选择性的分子印迹微球;采用表面分子印迹等技术结合表面自由基引发技术,制备的表面分子印迹微球不仅对目标化合物具有高的亲和性和选择性,而且表现出快速的吸附解析动力学,用于色谱固定相呈现出较高的柱效。

聚合物微球表面修饰:在商品化的聚合物微球表面通过催化氧化和卤化方法进行活化及化学修饰,引入不同功能基团,从而可改进聚合物的分离性能,扩展其使用范围。

微孔配位聚合物材料:一类新型的多孔化合物,其骨架结构由有机桥联配体和金属离子或金属团簇通过配位键连接形成,其微孔特性与传统的分子筛和微孔沸石类似,但是由于有机配体的可选择性很多,微孔配位聚合物的孔径和孔结构可以通过桥联配体

的设计而调节。

3. 膜分离基质表面修饰

在纤维素膜等膜表面进行化学修饰,制备表面键合功能基团的高选择性膜分离材料。

选择性分离材料的总体研制流程如图1所示。

三、硅胶基质表面修饰

硅胶的机械强度大,孔径和形状容易控制,柱效高,是高压液相色谱的理想填料,但硅胶只能在 pH 2-7.5 的范围内稳定。酸度过高,表面键合相易脱落;碱性过大,硅胶本身不稳定。可以通过化学键合在硅胶表面引入不同的功能团进行表面修饰。

1. 常用分离材料

针对目前高品质硅胶基质常用分离材料基本上被国外所垄断的现状,自主研制硅胶基质常用分离材料具有现实意义,实现国产化,进一步应用于中药组分分离制备和新药开发,可大大降低生产成本。

采用国产硅胶(5 m, 100A⁰)表面键合了 C₁₈、-

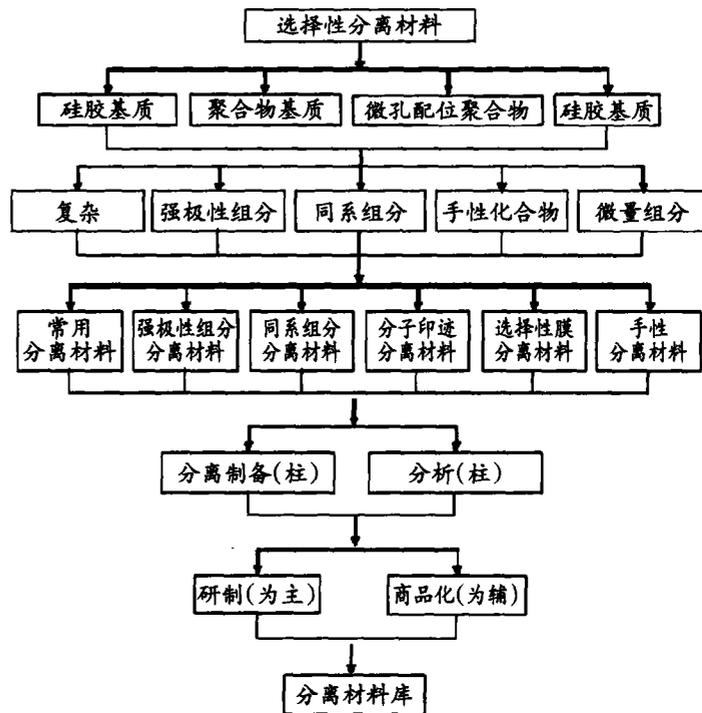


图1 分离材料研制流程

CN、-NH₂、二醇基等,装填后的反相色谱分析柱理论塔板数达到 80000/米,并可装填 250'500 mm 的制备柱,用于标准品的分离纯化。

2. 新型分离材料

强极性组分很可能是中药活性组分的重要组成部分,或者对中药发挥药效起着重要作用。由于现有的分离材料对强极性组分的分离分析不理想^[1-2],因此发展适合于强极性化合物分离的新型分离材料,以便更有效地对中药强极性组分进行分离分析和分离制备,是一个值得深入探索的课题。

从以下 3 个层次来设计并制备亲水作用色谱固定相。在评价的基础上,通过系统的比较研究,探索其保留规律和保留机制,优化出适合中药极性组分分离的最佳固定相。

(1) 醇羟基固定相。

将简单的醇羟基键合到硅胶上,发展出键合醇羟基固定相。醇羟基的极性和亲水性都较强,可以作为亲水作用色谱固定相。另外,醇羟基没有硅羟基的酸性,也没有氨基的碱性,因此醇羟基固定相可以避免因为流动相 pH 变化而带来的重现性差和固定相寿命短的问题。醇羟基固定相如图 2(图中 n 表示功能基团 R 上所含醇羟基数目)。由于含醇羟基的分子种类繁多,可以选择含不同数目和形态(伯醇、仲醇、叔醇)醇羟基的分子键合到硅胶表面,这样可以获得对醇羟基固定相进行系统的比较研究,获得保留规律,进而研究保留机制,优化得到最合适的醇羟基固定相。

(2) 糖固定相。

将寡糖和多糖键合到硅胶上,发展出寡糖固定相和多糖固定相。寡糖固定相和多糖固定相仍然以醇羟基为极性基团,可以作为理想的亲水作用色谱固定相。更重要的是寡糖和多糖除了有多个羟基以外,还具有简单醇羟基固定相所不具备的特异性空间结构。寡糖和多糖特异的空间结构可能会对各种被分离物质有不同的亲和作用。因此,寡糖固定相和多糖固定相除了利用糖羟基的极性和亲水性来作为亲水作用色谱固定相以外,还可以利用糖的空间结构所产生的亲和作用来实现对强极性分子的高效分

离。糖固定相见图 3。

(3) 蛋白质固定相。

将蛋白质固定到硅胶上,发展出用于中药中水溶性强极性组分分离的蛋白质固定相。蛋白质固定相已经被广泛的应用于亲和色谱,但目前没有用于亲水作用色谱的报道。我们将利用蛋白质表面的极性基团发展出基于蛋白质的亲水作用色谱固定相。另外,蛋白质的空间结构比糖更加精巧,对各种被分离物质的亲和作用可能更加精确。因此蛋白质固定相对中药中水溶性强极性组分可能可以起到很好的分离作用。蛋白质固定相见图 4。

四、高效聚合物分离材料研制

1. 聚合物微球表面修饰

聚合物微球的合成技术目前已经很成熟,将聚合物表面进行化学处理使其功能化,即通过活化而引入不同的功能基团。这种聚合物微球的表面类似于硅胶表面,可进一步键合 C₁₈、醇羟基、糖、蛋白质和手性分子等,而且比硅胶基质材料更具优点的是,更适合于有机酸、生物碱等易于 Si-OH 发生作用的组分的分离。因此,聚合物微球的表面修饰将大大改变聚合物微球的性能,使其具有不同的亲和性和选择性,呈现出更加广阔的应用前景。

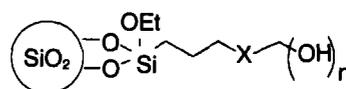


图 2 醇羟基固定相结构示意图



图 3 糖固定相结构示意图

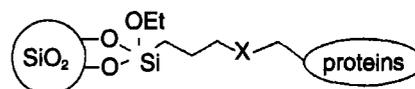


图 4 蛋白质固定相结构示意图

2. 分子印迹聚合物

分子印迹是近年来发展起来的对特定的目标分子(模板分子或其结构类似物)具有高选择性的聚合物制备技术[3]。它的基本原理是:首先模板分子与功能单体在适当溶剂中(通常是弱极性有机溶剂)通过共价、半共价或非共价的相互作用形成稳定的复合物;然后加入交联剂,在引发剂引发下发生聚合,使模板-单体复合物被固定在聚合物中;最后通过水解或萃取的方法将模板除去,这样在聚合物中就留下了与模板分子的大小、形状及功能基团相匹配的识别空穴。当此分子印迹聚合物在适当的介质中遇到模板分子或模板分子的结构类似物时,就会对它们发生特异性的识别作用。

(1) 采用半共价分子印迹技术制备高选择性的分子印迹聚合物微球。

在合成时采用的是共价法而识别时利用的是非共价作用力。模板与功能单体间首先通过可逆的化学键形成一模板单体,然后交联聚合,因此功能单体均处于识别空穴的识别位点上,从而大大减少了非特异性识别作用^[4];结合分散聚合或悬浮聚合法制备出具有高选择性的分子印迹聚合物微球,并将其作为制备色谱填料或固相萃取填料,用于组分分离及含量测定。

(2) 新型高选择性表面分子印迹微球。

由于分子印迹聚合物用于色谱固定相低的传质动力学以及不均匀的识别位点,色谱峰展宽和拖尾现象非常严重^[5]。如果分子印迹的识别位点限定在聚合物的表面,将显著改进识别过程中的传质动力学,提高分子印迹色谱固定相的柱效。

可有以下几种方法制备表面分子印迹聚合物微球:以聚二乙烯基苯微球为形状模板;将引发剂键合

到硅胶表面或用吸附技术将引发剂吸附到硅胶表面,通过表面自由基引发聚合反应,在硅胶表面制备分子印迹聚合物微球;在硅胶孔洞表面引入活性基团,此活性基团与模板分子通过共价作用将模板分子引入到硅胶空隙表面,在硅胶孔隙中形成分子印迹聚合物,最后通过牺牲硅胶骨架得到表面分子印迹微球。

五、膜分离材料的研究

膜分离材料在药物分离中发挥着越来越重要的作用。当前使用的膜材料虽然种类很多,但是大多直接以膜基质直接作为分离材料,存在选择性、重现性和使用寿命等问题。因此,将针对性地对膜分离材料的表面进行修饰,制备表面键合功能基团的高选择性膜分离材料(图中的R基团是修饰到膜分离材料表面的功能基团)。可以针对不同的分离对象,设计特异性的R基团,键合到膜表面制备成高选择性的膜分离材料。

六、结束语

在分离材料的合成方面,除了在传统的硅胶和聚合物基质上通过化学修饰,对颗粒表面进行改性,以适应目前强极性化合物和大分子等的分离需要。同时,分离材料随着新材料地不断发现而发展,通过不同学科的交叉,寻找新的分离基质,提高分离的效率,从而促进分离科学的发展。建立中药各种组分高效液相色谱分离方法,为全面完整地揭示中药化学物质基础提供新的手段和材料。

参考文献

- 1 Stregge MA. Hydrophilic interaction chromatography-electrospray mass spectrometry analysis of polar compounds for natural product drug discovery. *Anal Chem.* 1998, 70: 2439-2445.
- 2 Stregge MA, Stevenson S, Lawrence SM. Mixed-mode anion-cation exchange/hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray mass spectrometry as an alternative to reversed phase for small molecule drug discovery. *Anal Chem.* 2000, 72: 4629-4633.
- 3 Norrlov O, Glad M, Mosbach K. Acrylic polymer preparations containing recognition sites obtained by imprinting with substrates. *J Chromatogr.* 1984, 299: 29-41.

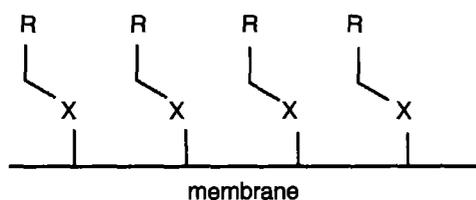


图5 表面修饰膜分离材料

- 4 Hwang CC, Lee WC. Chromatographic characteristics of cholesterol-imprinted polymers prepared by covalent and non-covalent imprinting methods. *J Chromatogr A*. 2002, 962: 69~78.
- 5 Yoshida M, Uezu K, Goto M, Furusaki S. Surface imprinted polymers recognizing amino Acid chirality. *J Applied Polymer Science*. 2000, 78: 695~703.

Study on Selective Separation Material and the Application on Multi-component of Traditional Chinese Medicine

Qing Xu, Jincheng Wang, Zhimou Guo, Feifang Zhang, Xingya Xue, Xinmiao Liang
(*Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of the Sciences, Dalian 116023*)

In allusion to the properties of multi-component of Traditional Chinese Medicine (TCM) and the difficulties of its separation, the overall research scheme for the selective separation material and its application on multi-component of TCM was proposed based on its research and development status. The methods of chemical modification on the surface of silica gel, polymers and membrane substrates were studied. By means of bonding of functional groups, new selective separation material with high efficiency and high selectivity can be developed. These materials can be further applied on the efficient and selective separation of multi-component of TCM and some deleterious substances. The devoted research effort can result in the stepwise realization of self-innovation, standout quality and nationalization of the selective separation material.

Keywords: multi-component of TCM separation material chromatographic stationary phase

(责任编辑:郭屹, 责任编审:柳莎, 张志华, 责任译审:熊艳艳)

(Continued from page 20)

Experimental Studys on different matching herbs antagonizing the kidney toxicity of Radix Aristolochiae Fangchi

Chen Wei Jia Bo Huang Xiushen and Zhang Fenghua
(*Fundamental institute of Chengdu College of TCM Chengdu 610075*)

objective To observe amelioration of kidney toxicity of Radix Aristolochiae fangchi after matching respectively with Radix et Rhizoma Rhei, Rhizoma Ligustici Chuanxiong, Ramulus Cinnamomi, Poria and Radix Astragali. Methods: Radix Aristolochiae fangchi matched respectively with the above herbs and taken orally by rats in different groups for 60 days, Concentration of serum creatinine(Scr), urine β_2 -microglobulin(β_2 -MG), alkaline phosphatase(AKP), lysozyme (Lys) were measured and pathologic changes of kidney were observed after 60 days. Results compared with the only Radix Aristolochiae fangchi group, the concentrations of AKP were significantly lower ($p < 0.05$) in the groups matching respectively with Ramulus Cinnamomi and Radix Astragali. Edema of renal tubular epithelial cell took place in the only Radix Aristolochiae fangchi group by pathologic examination of kidney, other groups are normal. Conclusion: after matching with the above herbs, the kidney toxicity decreased, especially Ramulus Cinnamomi and Radix Astragali.

Keywords: Radix Aristolochiau Fangchi kidney toxicity compatibility

(责任编辑:付建华, 责任编审:果德安, 责任译审:凌仰之)