

## 紫杉醇和三尖杉磷碱在多孔硅胶上的吸附及扩散研究<sup>△</sup>

天津大学天然产物工程研究中心 (300072) 杨 军\* 郝雅琳 元英进\*\*

**摘 要** 吸附和扩散特性是进行色谱过程的基础,本文测定了紫杉醇及其类似物三尖杉磷碱在多孔硅胶上的吸附及扩散特性,结果表明:紫杉醇和三尖杉磷碱在硅胶上的吸附不符合 Langmuir 单分子层吸附理论,但在低浓度下可用溶剂调整型 Langmuir 模型描述。扩散研究表明:紫杉醇和三尖杉磷碱在硅胶上吸附较弱,表面扩散可以忽略。相同条件下,紫杉醇的吸附量受强溶剂影响较大,强溶剂组成的增加会造成紫杉醇吸附量很快下降,这和 in 正相色谱中紫杉醇先于三尖杉磷碱流出色谱柱的事实是相符的。

**关键词** 紫杉醇 三尖杉磷碱 吸附 扩散

### Studies on the Adsorption and Diffusivity of Paclitaxel and Cephalomanine on Porous Gel

Yang Jun, Hao Yalin and Yuan Yingjin (The Natural Product Research Center of Tianjin University, Tianjin 300072)

**Abstract** Adsorption and diffusivity behavior of paclitaxel and cephalomanine on porous gel during chromatographic separation were studied. Results showed that their adsorption did not follow Langmuir model, but at low concentrations of the solute, the solvent modulated Langmuir model could be followed and gave satisfactory results. As to their diffusivity, the rate on the surface of the absorbent could be neglected due to the fact that both paclitaxel and cephalomanine were very little adsorbed. Under the same condition, the increase of strong solvent resulted in a greater influence on the adsorption of paclitaxel by decreasing its adsorption rapidly as compared with cephalomanine.

**Key words** paclitaxel cephalomanine adsorption diffusivity

紫杉醇是目前世界范围内广泛开展研究的一种新型抗癌药物<sup>[1]</sup>,在自然界分布稀少,分离纯化非常困难,色谱过程是这一问题的关键步骤。Wu<sup>[2]</sup>等人研究了反相系统中紫杉醇和三尖杉磷碱在树脂上的吸附特性,指出低浓度时可用溶剂调整型 Langmuir 模型描述,但没有报道正相系统的研究结果。吸附特性和多孔介质内的扩散行为是溶质进行色谱过程的基础,由于硅胶柱正相色谱的广泛应用(本实验室采用正相色谱提纯了紫杉醇及其一系列类似物),我们对紫杉醇及其类似物三尖杉磷碱于有机溶剂中在硅胶上的吸附和

扩散行为进行了研究。紫杉醇和三尖杉磷碱是紫杉烷类中分子结构最为接近的两个物质,这两种物质的分离也是紫杉醇分离纯化的主要问题。因此,本文的研究对于紫杉醇的正相色谱行为具有指导意义。

#### 1 参数估计理论

为进行固定相粒子的表面和孔内扩散参数的预测,可做以下假设:①假定粒子中孔扩散和表面扩散同时存在;②孔扩散系数和表面扩散系数在吸附过程中保持恒定;③粒子的孔径和孔隙率在吸附过程中保持不变;④孔内溶质的浓度和孔壁上溶质浓度保持平

\* Address: Yang Jun, The Natural Product Research Center of Tianjin University, Tianjin

\*\* 通讯联系人

<sup>△</sup>国家教委“跨世纪优秀人才培养计划”和教委优秀青年教师基金资助项目

衡;⑤吸附过程中液相主体浓度保持恒定。

根据上述假设,可得下面的物料衡算方程:

$$\epsilon \frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial q}{\partial t} = D_s \epsilon \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial C}{\partial r} \right) + D_s \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial q}{\partial r} \right) \quad (1)$$

令  $X = C/C_0$ ,  $\tau_p = D_p t / r_0^2$ ,  $\rho = r/r_0$ ,  $\alpha = q_0 / \epsilon C_0$ ,  $\beta = \alpha D_s / D_p$ ,  $Y = q/q_0$ , 将(1)式无因次化〔其中  $C$  为硅胶孔中溶质的浓度(mg/L),  $r_0$  为硅胶颗粒半径(m),  $D_p$  为孔扩散系数(m<sup>2</sup>/s),  $q$  为吸附量(mg/g),  $D_s$  为表面扩散系数(m<sup>2</sup>/s),  $\tau_p$  为  $D_p t / r_0^2$ ,  $\rho$  为  $r/r_0$ ,  $\epsilon$  为硅胶孔隙率,  $\beta$  为  $\alpha D_s / D_p$ ,  $\alpha$  为  $q_0 / \epsilon C_0$ ,  $q_0$  是和溶质主体浓度(mg/L)  $C_0$  成平衡的固相浓度(mg/g)〕, 可得:

$$\frac{\partial X}{\partial \tau_p} + \alpha \frac{\partial Y}{\partial \tau_p} = \frac{1}{\rho^2} \left( \rho^2 \frac{\partial X}{\partial \rho} \right) + \frac{\beta}{\rho^2} \left( \rho^2 \frac{\partial Y}{\partial \rho} \right) \quad (2)$$

吸附等温线用 Langmuir 表示, 则可得:

$$\left[ \alpha + \frac{R}{\{1 - (1-R)Y\}^2} \right] \frac{\partial Y}{\partial \tau_p} = \frac{1}{\rho^2} \frac{\partial}{\partial \rho} \left[ \rho^2 \frac{R}{\{1 - (1-R)Y\}^2} \frac{\partial Y}{\partial \rho} \right] + \frac{\beta}{\rho^2} \frac{\partial}{\partial \rho} \left( \rho^2 \frac{\partial Y}{\partial \rho} \right) \quad (3)$$

初始条件:  $\tau_p = 0, Y = 0$

边界条件:  $\rho = 0$  时,  $\frac{\partial Y}{\partial \rho} = 0$   $\rho = 1$  时,  $Y = 1$

由于能检测的一般是溶质在粒子内总的浓度  $Q$ , 因此, 可以通过下式定义一个平衡分数  $F$ :

$$Q = q + \epsilon C \quad (4)$$

(式  $Q$  为按式 5 定义的吸附量)

$$F = \frac{\int_0^{r_0} Q_0 dV}{Q_0 V_0} = \frac{3 \int_0^{r_0} Q r^2 dr}{Q_0 r_0^3} = \frac{3 \left[ \alpha \int_0^1 Y \rho^2 d\rho + \int_0^1 X \rho^2 d\rho \right]}{\alpha + 1} \quad (5)$$

(式中  $Q_0$  按式 6 定义的吸附量)

其中  $Q_0 = q_0 + \epsilon C_0$

如果假定具有孔扩散和表面扩散的过程可以用一个具有有效扩散系数的费克扩散来代替, 则可获得在时间较短时平衡分数的解为:

$$F = 6 \left( \frac{D_{eff} t}{r_0^2} \right)^{1/2} \times \left\{ \pi^{1/2} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} t n r f c \frac{n r_0}{\sqrt{D_{eff} t}} \right\} - 3 \left( \frac{D_{eff} t}{r_0^2} \right) \quad (6)$$

(式中  $F$  为平衡分数)

式(6)显示在短时间内  $F$  和  $t^{1/2}$  成正比,

$D_{eff}$  可以通过对  $t^{1/2}$  作图的斜率获得。

根据平行扩散(孔扩散和表面扩散同时

存在的扩散)和费克扩散可以近似获得下式:

$$D_{eff} = D_s + \epsilon D_p \frac{dC}{dq} \quad (7)$$

( $D_{eff}$  为孔内有效扩散系数, m<sup>2</sup>/s)

如果近似以  $C_0/q_0$  代替  $dc/dq$ , 并将  $\alpha = q_0 / \epsilon C_0$  代入, 则可得:

$$D_{eff} = \left( 1 + \frac{1}{\alpha} \right) D_s + D_{pa} \frac{1}{\alpha} \quad (8)$$

( $D_{pa}$  为按斜率计算的近似孔扩散系数)

因为  $C_0/q_0$  并不等于  $dc/dq$ , 所以上式中用  $D_{pa}$  代替  $D_p$ 。如果等温线线性, 则有  $D_{pa} = D_p$ 。

如果式(8)描绘的直线截距是 0, 则为孔扩散控制, 如果斜率是 0, 则为表面扩散控制。

## 2 材料与方法

2.1 材料: 实验用的多孔硅胶购自青岛海洋化工厂, 平均粒径为 250 目。紫杉醇和三尖杉磷碱由本实验室提供, 纯度超过 99%。有机溶剂二氯甲烷和乙酸乙酯工业级, 用时自行蒸馏除去不挥发物并用氯化钙脱水。

## 2.2 实验方法

2.2.1 吸附等温线测定方法: 在电子天平上精确称取定量溶质置于锥形瓶中, 在其中加入定量溶剂, 配成 2, 1, 0.5, 0.3, 0.1 和 0.05 g/L 浓度的溶液, HPLC 上测定其吸收峰, 做一条标准曲线, 用于计算吸附后溶液中溶质的含量。将锥形瓶置于恒温摇床内, 间隔取样直至溶液中溶质浓度不变为止。实验过程中发现, 紫杉醇和三尖杉磷碱在硅胶上吸附很快, 约 5 min 就可达到平衡。将初始浓度减去平衡后浓度, 乘以溶液体积可得吸附量, 进而可得单位量硅胶上的平衡吸附量。

2.2.2 扩散系数计算方法: 同样将不同量溶质溶于一定量溶剂配成不同浓度的溶液, 内加适量硅胶, 间隔 1 min 取样测定, 计算不同时间的吸附量, 按照上述理论计算平衡分数  $F$ , 得出有效扩散系数  $D_{eff}$ , 从而可以作图计算孔扩散系数和表面扩散系数。

## 3 结果与讨论

3.1 硅胶的空隙率: 硅胶空隙率用液氮法测

定,利用氮气低温下在毛细管内凝结的特性可以测定定量硅胶的总孔体积,再根据硅胶的真密度可以算出硅胶的空隙率。实验用的硅胶经测定空隙率为 0.39%。

3.2 紫杉醇和三尖杉磷碱的吸附等温线:见图 1,2。

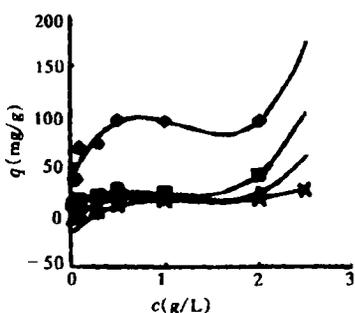


图 1 紫杉醇的吸附等温曲线

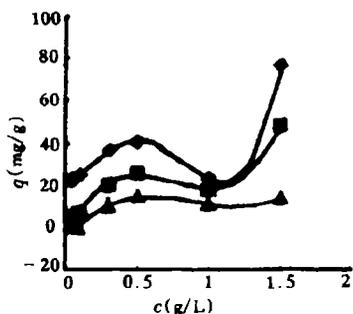


图 2 三尖杉磷碱的吸附等温曲线

上两图是紫杉醇和三尖杉磷碱在硅胶上的吸附等温线,测定温度为 16℃,4 条线从上至下溶剂的配比二氯甲烷-乙酸乙酯为 10:0,9:1,8:2 和 7:3。其中三尖杉磷碱的吸附等温线没有在 7:3 配比的溶剂中测定,但规律已经能够显示出来。

由图上看,在整个浓度范围内,紫杉醇和三尖杉磷碱的吸附均不符合 Langmuir 单分子层吸附理论,呈现出比较复杂的吸附特性。在溶质浓度较低时,由于吸附较弱,吸附量较小,吸附过程可以看作单分子层吸附。按 Snyder<sup>[3]</sup>等人的研究,吸附过程受溶剂相中强溶剂浓度的影响(所谓强溶剂,是指溶剂相组成中在固定相上吸附性较强的溶剂。例如,对于硅胶柱洗脱紫杉醇用的乙腈-水中的乙腈,丙酮-环己烷中的丙酮等,本实验溶剂配

比中乙酸乙酯为强溶剂),通常采用溶剂调整型 Langmuir 模型进行数据关联,在溶质浓度很低时,模型方程为:

$$q(\varphi) = a_0 \exp(-S_a \varphi) C \quad (9)$$

较低浓度时的吸附关系以  $1/q$  对  $1/c$  作图如图 3 和 4 所示,可以看出在不同溶剂配比时均能获得直线关系,可见在低浓度时用(9)式描述是合适的。根据直线的斜率,做回归分析可以得到(9)式中常数  $a_0$  和  $S_a$  的值,结果如下:

$$\text{taxol: } q(\varphi) = 1.24 \exp(-16.59\varphi) c \quad (10)$$

$$\text{ceph: } q(\varphi) = 0.37 \exp(-14.15\varphi) c \quad (11)$$

上两式显示,紫杉醇受强溶剂组成的影响较大,强溶剂组成增加会造成紫杉醇吸附量的快速下降,这和前面吸附等温线表现出来的趋势是一致的。

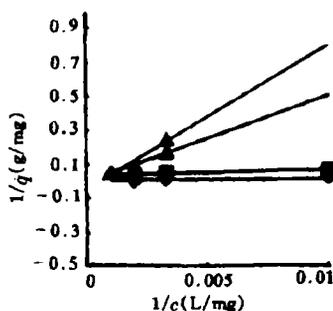


图 3 低浓度时紫杉醇的吸附等温线

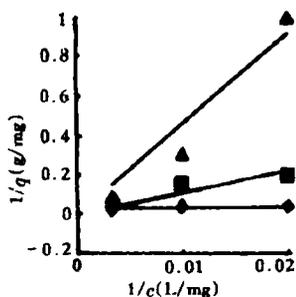


图 4 低浓度时三尖杉磷碱的吸附等温线

3.3 有效扩散系数:按照前面理论中的方法计算平衡分数  $F$ ,将  $F$  对  $t^{1/2}$  作图如图 5 和 6 所示。

按照直线的斜率  $(D_{eff}/r_0^2\pi)^{1/2}$  计算  $D_{eff}$ ,计算结果列于表 1 中。

表 1 298K 时紫杉醇和三尖杉磷碱在多孔硅胶孔内的有效扩散系数

taxol		cephalmonnine	
$c_0$ (g/L)	$D_{eff} \times 10^{13}$ (m <sup>2</sup> /L)	$c_0$ (g/L)	$D_{eff} \times 10^{13}$ (m <sup>2</sup> /L)
2.0	4.09	0.5	28.6
1.5	3.26	0.4	28.5
1.0	0.98	0.3	26.5
0.5	0.46	0.1	155

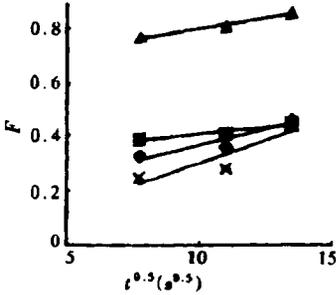


图 5 按方程(6)计算的  $F$  和  $t^{0.5}$  关系曲线

表 1 显示,三尖杉磷碱在硅胶内的有效扩散系数要大于紫杉醇,而且两者的有效扩散系数都是随浓度的增加而增加。

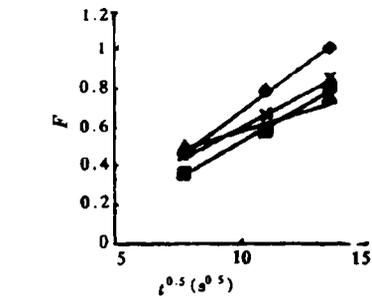
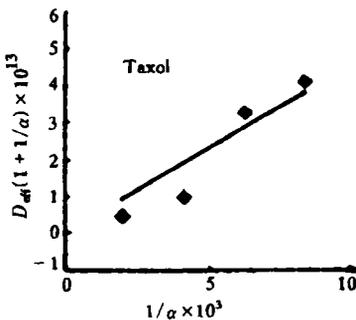


图 6 按方向(6)计算的三尖杉磷碱  $F$  和  $t^{0.5}$  关系曲线

3.4 表面扩散和孔扩散系数:根据本文前面所述,用  $D_{eff} \left(1 + \frac{1}{\alpha}\right)$  对  $\frac{1}{\alpha}$  作图,可得一直线关系,如图 7 所示:从图显示了较好的直线关系,其中紫杉醇的精度较差,可能是因为选择的溶质浓度较大,吸附等温线的线性关系较差的原因。由直线的斜率和截距可以求得孔和表面扩散系数,结果为:

$$\text{taxol}; D_p = 4.61 \times 10^{-11} \text{m}^2/\text{s}, D_s = 0 \text{m}^2/\text{s}$$

$$\text{ceph}; D_p = 1.36 \times 10^{-9}, D_s = 0.47 \times 10^{-12}$$

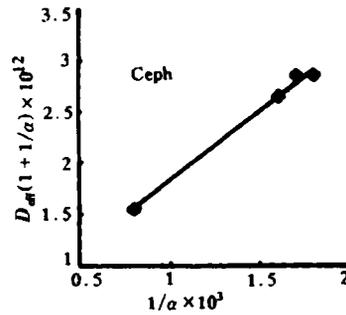


图 7 按方程(8)计算的  $D_{eff}$  和  $1/\alpha$  关系曲线

前面已经述及,紫杉醇在硅胶内的扩散较弱,表面扩散可以忽略,而三尖杉磷碱的有效扩散系数较大,因此有表面扩散现象存在,但仍然很小,比孔扩散低三个数量级,这一点和 Wang<sup>[4]</sup> 的结论是相符的。可以推测,在增加强溶剂的组成时,由于吸附量大大下降,紫杉醇和三尖杉磷碱的扩散系数也会相应减小。在二氯甲烷-乙酸乙酯为 9:1 的溶剂配比中紫杉醇的扩散结果为  $D_p = 1.03 \times 10^{-11}$ ,  $D_s = 0$  证实了这一点。

#### 4 结论

在整个浓度范围内紫杉醇和三尖杉磷碱

的吸附等温线不遵从 Langmuir 单分子层吸附理论描述,但在溶质浓度较低时,溶剂调整型 Langmuir 模型可以很好地进行拟合。紫杉醇在硅胶中的扩散要弱于三尖杉磷碱,两者在硅胶中表现扩散系数均可以忽略。紫杉醇相比于三尖杉磷碱在硅胶上的吸附受强溶剂的影响较大,强溶剂组成的增加会造成紫杉醇吸附量的显著下降,这和正相系统中采用二氯甲烷和乙酸乙酯作洗脱剂进行洗脱时紫杉醇先于三尖杉磷碱流出色谱柱的事实是相符合的。

#### 参考文献

## 胃脘舒冲剂三维高效液相色谱鉴定及指标性成分的定量

上海长海医院临床药理室(200433) 宋洪杰\* 胡晋红 全山丛

**摘要** 采用 3D-HPLC 对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别并建立其指标性成分的定量分析方法。色谱柱:CLC-ODS(6.0 mm×150 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%醋酸水溶液系统;洗脱方式:二元高压梯度洗脱;检测方式:二级管阵列检测器多通道检测;测定波长:芍药苷 230 nm,甘草酸 254 nm,橙皮苷 283 nm;各指标性成分的线性范围分别为:芍药苷 4.23~67.68 μg/mL( $r=0.9999$ , $n=5$ ),橙皮苷 7.50~119.20 μg/mL( $r=0.9998$ , $n=5$ ),甘草酸 10.50~168.00 μg/mL( $r=0.9994$ , $n=5$ );加样回收率及 RSD 分别为:芍药苷 89.46%,2.87%,橙皮苷 93.76%,2.48%,甘草酸 90.22%,1.79%。同时用三维 HPLC 图谱对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别。

**关键词** 指标性成分 胃脘舒冲剂 三维高效液相色谱法 甘草酸 橙皮苷 芍药苷

### Identification and Determination of Marker Substances in Weiwanshu Chongji by Three Dimensional HPLC

Song Hongjie, Hu Jinhong and Quan Shancong (Department of Clinical Pharmacology, Changhai Hospital, Shanghai 200433)

**Abstract** The Weiwanshu Chongji was analyzed by three dimensional HPLC. Some of the Chinese herbal drugs could be identified and the contents of the marker substances could be determined. Column: Shim-pack CLC-ODS (6.0 mm×150 mm, 5 μm). Mobile phase: acetonitrile-0.1% acetic acid solution; Elution mode: binary high pressure gradient system; Detector: UV/Vis photodiode array detector, the detection was performed by multi-channel chromatograms with different wavelengths, the detection wavelengths were 230 nm for paeoniflorin, 254 nm for glycyrrhizic acid and 283 nm for hesperidin. The marker substances were identified by three dimensional chromatogram. The linear ranges were: 4.23~67.68 μg/mL ( $r=0.9999$ ,  $n=5$ ) for paeoniflorin, 7.50~119.20 μg/mL ( $r=0.9998$ ,  $n=5$ ) for hesperidin, and 10.50~168.00 μg/mL ( $r=0.9994$ ,  $n=5$ ) for glycyrrhizic acid. The recoveries and RSD were: 89.46%, 2.87% for paeoniflorin, 93.76%, 2.48% for hesperidin and 90.22%, 1.79% for glycyrrhizic acid. The Weiwanshu Chongji was identified by three dimensional chromatograms.

**Key words** marker substance Weiwanshu Chongji three dimensional HPLC paeoniflorin hesperidin glycyrrhizic acid

胃脘舒冲剂主要由党参、甘草、白芍、山楂、陈皮和延胡索等中药组成,临床主要用于治疗萎缩性胃炎。单味中药中某种特定成分并不能反映其内在质量,因此作者试图尝试测定胃脘舒冲剂中芍药苷、橙皮苷和甘草酸

的含量,从而探索指标性成分分析的可行性,并利用三维高效液相色谱法对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别,以达到控制其质量的目的。

#### 1 材料和方法

1.1 仪器及试剂:岛津液相色谱仪(泵:LC-

\* Address: Song Hongjie, Department of Clinical Pharmacology, Changhai Hospital, Shanghai  
宋洪杰 1995年毕业于第二军医大学药物分析专业,获硕士学位,主管药师,主要从事药物分析和药代动力学研究,共发表论文章10余篇。