

• 专论 •

耦合技术及其在中药精制分离领域的应用

柳 扬¹, 郭立玮^{2*}

(1. 南京苏翔科技有限责任公司, 江苏 南京 210002; 2. 南京中医药大学植物药研究与新药开发中心, 江苏 南京 210029)

摘 要:耦合技术是现代化学工程中一个崭新的研究领域, 是利用已有的和新开发的分离技术进行有效组合, 或者把两种以上的分离技术合成一种更有效的分离技术, 以达到提高产品选择性和收率, 实现过程优化的目的。耦合技术对于解决中药药效物质复杂体系的分离问题具有重要意义, 重点介绍了膜及超临界流体、结晶等分离技术在中药及相关生物制药工程中的耦合应用并对其在中药精制分离领域的应用前景进行述评。

关键词:耦合; 分离; 中药; 精制

中图分类号:R283.3

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)09-1289-04

Application of coupling technology in refinement and separation of Chinese materia medica

LIU Yang¹, GUO Li-wei²

(1. Nanjing Suxiang Science and Technology Co., Ltd., Nanjing 210002, China; 2. Botanical Refinement Engineering Research Center, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Key words: coupling; separation; Chinese materia medica; refine

中药现代化的进程, 使传统的分离方法面临着挑战和机遇。以中药药效物质精制为目标的分离体系, 原料液浓度低, 组分复杂, 回收率要求较高, 但现有的化工分离技术如蒸馏、萃取、结晶、吸附和离子交换等, 是以浓度差为传质推动力实现待分离组分由高浓度向低浓度扩散的, 往往难以满足上述分离体系的要求。

从现代分离技术的研究发展趋势来看, 针对上述问题, 主要从两个方面着手: 一是研究新的适用于中药药效物质分离的新技术; 二是利用已有的和新开发的分离技术进行有效组合, 或者把两种以上的分离技术合成一种更有效的分离技术, 以达到提高产品选择性和收率, 实现过程优化的目的, 这种多种技术的组合或合成称为耦合或集成。本文对近年较受关注的与膜分离、超临界流体、结晶等耦合技术及其在中药精制分离领域的应用前景进行作述评。

1 膜耦合技术

膜耦合技术就是将膜分离技术与其他分离方法或反应过程有机的结合在一起, 充分发挥各个操作单元的特点。目前研究及应用的膜耦合过程形式主要有膜反应器、膜蒸馏技术、渗透蒸发技术及亲和膜

技术等。

膜耦合技术可以分为两类: 一类是膜分离与反应的耦合, 其目的是部分或全部地移出反应产物, 提高反应选择性和平衡转化率, 或移去对反应有毒性作用的组分, 保持较高的反应速度; 另一类是膜分离过程与其他分离方法的耦合, 提高目的产物的分离选择性系数并简化工艺流程^[1]。

1.1 膜分离与反应的耦合: 膜分离与反应的耦合可以分为两种情况: 一是膜只具有分离功能, 包括分离膜反应器和膜作为独立的分离单元与反应耦联两种形式; 二是膜作为反应器壁同时具有催化与分离的功能, 称为催化膜反应器。

膜分离与反应耦合的优点: 反应产物不断在线移出, 消除平衡对转化率的限制, 从而最大限度地提高反应转化率; 提高反应选择性, 可省去全部或部分产物分离和未反应物的循环过程, 从而简化工艺流程。如杨富国等^[2]在超滤膜反应器中以木聚糖酶解法制备低聚木糖, 低聚木糖得率为 35.9%, 而木糖得率仅为 0.2%, 远远优于常规方法。笔者目前正在研究的江苏省天然药物研究与创制实验室开放课题“膜反应器精制地龙活性组分群及其药理性质的研

收稿日期: 2006-03-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30171161); 江苏省高校高新技术产业化资助项目(JH02104)

作者简介: 柳 扬(1977-), 女, 江苏南京人, 药师, 学士学位, 目前从事中药研究开发工作。

Tel: (025)84504829 E-mail: Yolanda-ly@163.com

* 通讯作者 郭立玮 Tel: (025)86798188 E-mail: guoliwei815@yahoo.com.cn

究”,将地龙生物活性部位的酶解与具有不同相对分子质量区段的多个组分群的分离两个过程集中在膜反应器一步进行,研究表明该膜反应器技术应用于动物类中药材活性成分的精制分离前景光明。

1.2 膜分离与其他分离方法的耦合

1.2.1 膜萃取技术:膜萃取是膜过程和液液萃取过程相结合的一种新型分离技术。膜萃取传质过程是在分隔料液相和溶剂相的微孔膜表面进行的,与通常萃取中液相以细小液滴的形式分散在另一液相中进行两相接触的情况不同。

膜萃取具有以下优点:可避免因液滴分散在另一液相中而引起萃取剂的夹带损失和二次污染;料液相和溶剂相各自在膜两侧流动,料液的流动不受溶剂流动的影响,可使萃取剂的选择范围大大放宽;不形成直接接触的两相流动,使过程免受“返混”的影响和“液泛”条件的限制,提高传质效率和过程的可操作性^[3]。

研究表明膜萃取在物质的富集与分离方面显示了其他方法无可比拟的优越性。例如鲁传华等^[4]根据溶解扩散机制及中医药成分的特点,研制了一种致密膜,通过选择合适萃取剂,从麻黄水提液中萃取分离麻黄碱;莫凤奎等^[5]用乳状液膜法从北豆根中分离北豆根总碱,在外相 pH 10.1,内相盐酸浓度 0.3 mol/L,膜相 Span-80 浓度 5.0%,制乳时间 5 min 的优化条件下,平均萃取率达到 86.0%。

1.2.2 膜蒸馏技术:膜蒸馏是一种采用疏水性微孔膜以膜两侧蒸气压力差为传质驱动力的膜分离过程,它是将膜与蒸馏过程相结合的分离方法。如果溶质是易结晶物质,可把溶液浓缩到过饱和状态而出现膜蒸结晶现象,从而直接分离出结晶产物^[6]。膜蒸馏技术理论上能 100%分离离子、大分子、胶体、细胞和其他非挥发性物质;比传统的蒸馏操作温度低;比传统膜分离过程的操作压力更低;减少了膜与处理液体之间的化学反应;对膜的机械性能要求较低;比传统蒸馏过程的蒸气空间小。

吴庸烈等^[7]采用膜蒸馏技术对洗参水和人参露进行了浓缩。实验中人参皂苷的截留率达到 90%以上;膜蒸馏前后人参露和洗参水中主要微量元素和氨基酸的量也提高了近 10 倍。冯文来等^[8]用膜蒸馏技术制备腹蛇抗栓酶等。

1.2.3 亲和膜技术:在传统的研究中,膜分离与亲和分离是两个平行发展的研究方向,在分离和纯化方面各有特色。亲和色谱能提供高纯化比,但其处理量小,过程速率低;膜分离则处理量大,产物损失率

低,亲和膜分离技术兼有两者的优势^[9]。亲和膜是亲和配体结合在分离膜上,利用膜作基质,膜表面活化后耦合配基,再按吸附、清洗、洗脱、再生的步骤对生物产品进行分离。目标蛋白质留在膜上,而杂质通过膜除去;用解离洗脱剂洗下留在膜上的目标蛋白质,再从膜上除去解离剂使配基再生。目前亲和膜分离技术已用于单抗、多抗、胰蛋白酶抑制剂的分离以及抗原、抗体、重组蛋白、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、干扰素等的纯化^[10]。

基于上述亲和膜技术原理,贺浪冲等提出一种新的生物亲和色谱法——细胞膜色谱法(cell membrane chromatography,CMC)。在这种能模仿药物与靶体相互作用的色谱系统中,药物与细胞膜的作用及膜受体间疏水性、电荷、氢键等,可以用色谱的各种表征参数定量表征。被分离成分如果与特定的细胞膜受体有特异性结合,则可在 CMC 模型中反映出来,从而直接在该模型上完成筛选过程。目前该方法已用于淫羊藿、当归、川芎等中药中活性成分的筛选^[11~13]。

2 超临界流体耦合技术

超临界流体技术的发展,有力地促进了分离纯化、材料制备、化学反应等领域的技术进步。值得特别关注的是,单独应用超临界流体技术,会出现一些难以克服的缺点,而将超临界流体技术与某些化工过程相耦合,可形成一些先进、高效、节能的复合过程。

2.1 超临界流体技术与膜分离技术耦合:采用国产超临界 CO₂ 萃取装置与平板超滤器联合处理质量分数为 10%~14%的银杏黄酮粗品,结果得到黄酮质量分数大于 30%,内酯为 6%~8%的产品,经高效液相色谱仪、原子吸收仪及微生物检验等测试,产品中的烷基酚、重金属、农药残留、细菌等指标均能达到国际质量标准^[14]。

纳滤是一种压力驱动的膜分离过程,它可以在压力变化不大、恒温和不改变分离物的热力学相态的情况下达到理想的分离效果。将超临界萃取与纳滤结合,可以首先选择合适条件增大萃取能力,然后选择合适的纳滤膜,选择性地透过需要的萃取组分,从而使分离效率得到提高。如用超临界 CO₂ 萃取鱼油^[15],萃取物中主要成分为三酸甘油酯,而三酸甘油酯中最有价值的是长链 ω -3 多不饱和脂肪酸,特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)。采用纳滤,可将三酸甘油酯中的长链不饱和脂肪酸和短链脂肪酸相分离。采用此种耦合技术也可将萝卜籽、胡萝卜油中的 β -胡萝卜素进行提纯,

都能得到纯化的产物^[16]。

用纳滤代替目前常用的超临界 CO₂ 萃取时的降压分离过程,在较小的跨膜压降(一般小于 1 MPa)的情况下,CO₂ 无需经历压力、温度和相态的循环变化(从而避免使用大型压缩和制冷系统),就能实现与萃取物的分离。Chiu 等^[17]在近临界条件下使用平均孔径为 3 nm 的 ZrO₂-TiO₂ 膜回收 CO₂,咖啡因的截留率可高达 100%,CO₂ 的渗透通量达到了 0.024 mol/(m²·s)。

2.2 超临界流体萃取结晶耦合技术^[18]:该技术改变超临界流体萃取多元混合系中物质成分在有机溶剂与超临界流体中的溶解特性,使溶质结晶析出;同时还利用结晶器表面对不同物质的吸附、阻滞、积聚性能差异,使析出的溶质成分形成类似于层析效果的有序梯度结晶分布。从而实现一次性多种物质的有效分离,获得高纯度产品。当系统工作时,结晶釜和分离釜均处于各自的温度和压力条件下,控制结晶时间,超临界流体和多元液相混合物料在结晶釜内完成萃取、吸附、结晶、蒸馏(干燥),在结晶器作用下,使多元体系中单一或复合成分实现一步结晶分离或梯度结晶分离。待系统降温、卸压后,自结晶器上收集产品。张文成等^[19]采用系统观察法考察了超临界 CO₂ 萃取结晶分离对穿心莲内酯晶体形态、纯度、结晶量的影响,发现随压力的升高其晶体形态变细、变短,纯度提高,结晶量增加。从而认为该耦合技术为开发高纯度中药活性成分提供了一条捷径。

2.3 超临界流体技术与其他技术耦合:为适应食品和药品中有机溶剂的残留限制标准不断提高的新形势,超临界流体技术与其他技术耦合的研究,如络合萃取、微乳萃取、反胶团萃取、分馏萃取、亚临界萃取、超高压萃取、引进外场(超声波、电场)萃取等方兴未艾。

由于中草药成分复杂,同一味药中的各化学成分的极性、沸点、相对分子质量、溶解度等特性各有不同,不同目标产品决定了需要采取多种提取分离的手段。超临界流体技术与多种分离手段的耦合应运而生,如超临界流体技术耦合分子蒸馏可使姜辣素收率明显提高;超临界流体技术耦合硅胶柱可提高姜二酮产品纯度;超临界流体技术耦合反胶团技术可明显缩短水溶性维生素提取时间;超临界流体技术耦合离子对试剂可使麻黄碱提取率显著提高;超临界流体技术耦合重结晶可大大降低青蒿素成本等^[20]。

3 结晶耦合技术

以固液平衡为原理的结晶分离技术,近年因与相关分离技术耦合,成为中药成分精制分离的一支新军。

3.1 减压精馏-熔融结晶耦合技术:精馏是分离有机混合物最常用的方法之一,但当相对挥发度很小时,精馏过程需要的理论塔板数会急剧增加。熔融结晶作为近年广受国际关注的高新技术,具有较高的分离因子,但其收率、传质速度及相的可分性受到限制。上述两种方法有机的结合在一起,取长补短,可用来分离易结晶、熔点差大、沸点接近的物质^[21]。

人造麝香 DDHI(1,1-二甲基-5,7-二异丙基茛基茛满)是一种高熔点、高沸点且易氧化的有机物,提纯此类物质时,一般经过减压精馏及重结晶两道工序。首先,在减压精馏提纯时,产品因容易结晶而造成管路堵塞;其次还需溶剂回收装置,存在重结晶效率低,溶剂消耗大,成本高,易氧化等问题。叶青^[22]等采用一体化结构的减压精馏-熔融结晶耦合装置,总收率可达 60%以上,比原工艺提高 13%,且可防止产品氧化,节省大量能源,由于无需溶剂,还减少了对环境的污染。

3.2 螯形包结-结晶耦合技术:螯形包结-结晶耦合技术是建立在一种被称为螯形主体分子的物质具有良好的包结性能,并可对某类成分(客体)进行选择性的识别的原理基础上的。如 1,1,6,6-四苯基-2,4-己二炔-1,6-二醇(diyne-diol,简称 DD)的主体分子,可与许多有机小分子如醇、醚、环氧化合物、醛、酮、酯、内酯等形成包结物晶体。郭文生等^[23]以 DD 为主体分子,选择性地将小茴香挥发油中的茴香醚作为客体,与之形成超分子包结物晶体,从而实现与小茴香挥发油中其他成分的分离,再利用 Kugelrohr 真空蒸馏技术将茴香醚从包结物晶体中分离出来。由于中药挥发油中各化学组分的分子形状、大小、官能团的数量和位置(键力性质)的不同,通过不同主体分子对目标客体分子的选择识别,可形成包结物以结晶方式析出,达到从挥发油中选择性的分离目标成分的目的。郭放等^[24]采用此项技术还以反式-1,2-二苯基-1,2-萘二醇为螯形主体分子,选择性地识别藜本挥发油中的肉豆蔻醚,并以包结物晶体形式析出,其化学纯度接近 100%,产率为 4.5%。结果表明此法分离挥发油化学组分具有选择性高、速度快、方法简便等优点。

4 耦合技术的研究前景

中药药效物质基础成多元化,而又具有多靶点作用机制,是一个具有大量的非线性、多变量、变量

相关等数据特征的复杂体系。在中药制药研究领域引进既可体现分离产物的多元性,又便于产业化操作的现代分离技术,并构筑多种高新分离技术的集成与耦合,是“中药药效物质分离系统工程”面临的三大问题之一^[25]。因而中药制药工程中一个崭新的研究领域——耦合技术日益受到人们的关注,但目前大多数关于耦合技术的研究只停留在试验室阶段。将开发中遇到的共性问题综合、归纳,采用复杂过程的分解实验和数学模拟结合的研究方法,从流体力学、传递学、反应动力学、反应热力学及化学计量学等学科结合的角度,对耦合技术开展系统的基础研究,可以形成一个新的研究领域。相信随着科学技术的发展,耦合技术必将在中药及其他生物制药工业中发挥重大作用。

References:

- [1] Zhou R J, Ning Z X, Chen S. Membrane echnology and processes coupling [J]. *Mod Chem Ind* (现代化工), 2001, 21 (8): 20-24.
- [2] Yang F G, Fang Z, Chen M, et al. Study on enzymatic hydrolysis of xylan and its membrane separation technology [J]. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 2002, 22 (3): 19-22.
- [3] Dai Y Y. Masstransfer characteristics and process intensification of membrane extraction in hollow fiber modules [J]. *Memb Sci Technol* (膜科学与技术), 2003, 23(4): 129-133.
- [4] Lu C H, Jia Y, Zhang J S, et al. Extraction of ephedrine by membrane method [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll* (安徽中医学院学报), 2002, 21(1): 49-50.
- [5] Mo F K, Wang J, Wang H Q, et al. Separation of total alkaloid of Beidougen by emulsion liquid membrane [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1996, 13(4): 278-281.
- [6] Wu Y L. Advance of membrane distillation technology and the application [J]. *Memb Sci Technol* (膜科学与技术), 2003, 23(4): 67-79.
- [7] Wu Y L. An experimental study on membrane distillation for treatment of ginseng dew and ginseng washing water [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1988 (10): 753.
- [8] Feng W L, Wu Y, Wang S C. Peparation of PVDF tubular composite membrane by phase separation and is application for membrane distillation [J]. *Memb Sci Technol* (膜科学与技术), 1988, 18(6): 28-31.
- [9] Chai H, Qian H, Chen H L. Affinity membrane separation and its development [J]. *Memb Sci Technol* (膜科学与技术), 2003, 23(4): 91-96.
- [10] Mei L H, Yao S J, Lin D Q, et al. New research tendency of bio-separation process-high-efficiency and integrated [J]. *Chem Eng* (化学工程), 1999, 27(5): 38-41.
- [11] Gao K, He L C, Yang G D. Screening the effective component of *Leontice robustum* by cell membrane chromatography [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2003, 38(1): 14-16.
- [12] Zhao H R, Yang G D, He L C, et al. Screening the effective component of *Angelica sinensis* by cell membrane chromatography [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2000, 35(1): 13-15.
- [13] Yue X F, Zhang Y N, Zhang Z Q, et al. Study on the interactions between *Ligusticum chuanxiong* extract and cardiac muscle membrane receptors by CMSP chromatography [J]. *China J Chin Mate Med* (中国中药杂志), 2005, 30(2): 129-132.
- [14] Zhang J C. *Supercrit Fluid Extract* (超临界流体萃取) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001.
- [15] Zheng M Y, Li G W. Advances on the supercritical carbon dioxide extraction of EPA and DHA from fish oil [J]. *J Jiangsu Univ Sci Technol* (江苏大学学报:自然版), 2002, 23(3): 37-41.
- [16] Zhang B Q, Liu L L, Lin Y S. Advances in membrane processes coupled with supercritical fluid technology [J]. *Modern Chem Ind* (现代化工), 2003, 23(5): 9-12.
- [17] Chiu Y W, Tan C S. Regeneration of supercritical carbon dioxide by membrane at near critical conditions [J]. *Suprcrit Fluids*, 2001, 21(1): 81-89.
- [18] Pan J, Zhu J Z. Separation method for material composition by supercritical fluid crystallization [P]. CN: 1220906A, 1999-06-30.
- [19] Zhang W C, Pan J, Chen K X, et al. Effect of pressure in supercritical state on extraction and crystallization of andrographolide [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (3): 262-264.
- [20] Huang M L. Integration of supercritical extraction with CO₂ and other separation technology [J]. *China Petrol Chem Ind* (中国石油与化工), 2003, 31(9): 29-31.
- [21] David A, Berry D A, Kg K M. Synthesis of crystallization-distillation hybrid separation process [J]. *AIChE J*, 1997, 43(7): 1751-1762.
- [22] Ye Q, Wang C L, Qiu Z R. Purification of artificial musk DDHI by combined vacuum distillation melt crystallization technology [J]. *Mod Chem Ind* (现代化工), 2001, 21(1): 32-35.
- [23] Xia Z H, Guo W S, Tang X D, et al. Selective isolation of anethole from volatile oil of foeniculum vulgare millby inclusion crystalline with chela-shape host [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(9): 672-675.
- [24] Guo F, Xu H N, Wang X M, et al. Selective isolation of myristicine from volatile of ligustium sinenseoliv by inclusion crystallization method with chela shape hoset [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15(3): 192-195.
- [25] Guo L W. Modern separation science and separation of traditional Chinese medicine-consideration in carrying out systematic study of separation principles and technology of TCM [J]. *World Sci Technol: Modern Tradit Chin Med* (世界科学技术:中医药现代化), 2005, 7(4): 61-67.