

文章编号: 1006 - 446X (2009) 02 - 0014- 05

工业制备色谱在中药分离制备中的应用

闫海全 李崇瑛

(成都理工大学材料与化学化工学院, 四川 成都 610059)

摘 要: 概述了工业制备色谱柱型结构、填料、色谱技术特性的研究进展, 对目前普遍使用的工业制备色谱的工作原理作了较为全面的评述, 总结了动态轴向压缩色谱和模拟移动床色谱技术在中药分离制备中的应用和发展。

关键词: 工业制备色谱; 中药; 分离制备; 动态轴向压缩; 模拟移动床

中图分类号: R 284.2 **文献标识码:** A

随着现代制药行业的快速发展, 中药的天然活性成分越来越受到人们的关注和重视, 而大规模的分离制备中药的天然活性成分是目前研究的重点和难点。工业制备色谱(industrial preparative chromatography, 简称 IPC)是大规模分离和制备中药活性成分的重要方法, 按操作方式的不同分为连续色谱和间隙色谱。连续色谱系统是以层析为单位, 引入化工中的逆流、回流等机制, 目前如 SMB(模拟移动床色谱)、Pre-SFC(制备型超临界流体色谱)以及 HSCCC(高速逆流色谱)作为制药工业提纯工具的新领域。间隙色谱技术通过选择固定相介质和冲洗剂可以得到广泛应用, 目前广泛使用的是 DAC(动态轴向压缩柱)。

1 工业制备色谱的研究

1.1 柱结构

色谱柱为工业化制备色谱的核心, 目前主要有空管和压缩型两大类。空管柱用匀浆填充技术填充多孔固定相, 随空管柱直径的增大, 用匀浆法填充高效色谱柱的难度也越来越大。压缩柱可分为径向、轴向及环形膨胀三大类, 轴向压缩柱又分为静态和动态。20世纪 90年代初 COLN 等开发了动态轴向压缩柱(dynamic axial compression, 简称 DAC), 采用活塞装柱(匀浆填充), 并在操作过程中保持柱床压缩状态以确保其稳定性^[1]。动态轴向压缩柱在使用过程中, 活塞始终产生一定的压力压缩填料, 随时消除产生的死空间。活塞与顶端法兰均配有多孔不锈钢滤板及能使样品及洗脱液在柱截面上均匀分布的分散器。液流分散器保证了大量样品尽可能地瞬时分散在柱截面上, 进而快速均匀进入柱床, 克服了柱中心样品局部过浓的现象, 保证了色谱柱的高效。2002年 4月法国 NovaSep 公司成功地安装了目前工业生产中最大的制备色谱柱, 内径已达到 1 600 mm, 柱长 4 m, 其中填料用量 4 000 kg, 流动相用量 6 000 L, 整个柱的体质量为 36 000 kg。DAC法填充的色谱柱柱床均匀、性能稳定、密度高、柱效高。目前采用 DAC工艺装填的色谱柱已经开始商品化。

1.2 填 料

收稿日期: 2008 - 11 - 24

作者简介: 闫海全(1982—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 分离科学与技术。

填料是工业制备色谱的血脉, 填料的选择和利用是非常关键的, 目前已有越来越多的产品应用到 IPC 中。填料的化学性质和物理性质决定了色谱的分离性能和动力学性能。应用于大规模工业化制备色谱中的填料具有如下特殊的要求^[3]。

(1) 机械强度高: 填料需要承受很大的机械压力, 因为填料在 IPC 使用中, 需要经常装卸, 机械性能差的填料经受不住反复填充, 它们易破碎, 产生细颗粒, 降低柱渗透性, 甚至堵塞滤片, 造成流速分布不均匀, 影响分离产物的纯度, 最终在系统中产生极高的柱压而无法继续使用^[4]。

(2) 负载量大: 在 IPC 中, 填料的负载量越大, 则单位体质量填料可处理的原料量就可增加, 因而提高了产率。选择合适孔径及孔径分布的填料是获得高负载量的一个关键因素。

(3) 可大量供应, 批间的重现性好: 制备色谱工艺过程要扩大, 必须有可靠的供货源提供大量填料, 否则无法实现工业化。填料各批量之间的化学和机械稳定性、孔结构及可重复的比表面积等必须具有高度的重现性, 否则难以保证长期、持续、稳定的分离与纯化生产工艺^[5]。

(4) 合适的颗粒大小和窄的粒度分布范围: 细颗粒可增加塔板数及分辨率, 但同时引起装柱困难, 需要更高的操作压力。目前工业规模制备分离多采用 10 ~ 20 μm 颗粒, 它在大直径柱内既有较高的柱效, 又有较低的柱压降。粒径分布窄的填料不但容易装填结实, 而且柱压比粒径分布宽的要低, 因此易得到高效的制备柱^[2]。

目前硅胶及其键合固定相 (如 C_{18})、离子交换树脂、聚酰胺、氧化铝、凝胶等都可以作为工业柱的填料。对填料进行一些处理, 可以提高分离效果, 如对硅胶进行的硝酸银 (或缓冲液) 处理。 C_{18} 键合硅胶固定相目前使用得最多而且应用最广, 但硅胶基质本身的缺陷却难彻底改变, 特别是碱性条件下的不稳定性限制了它在中药提取分离领域中的应用。

1.3 特 性

IPC 是具有低返混性能、大规模生产、连续生产等特性的特殊色谱技术^[3]。

(1) 低返混特性: 返混指不同时刻进入反应器的物料之间的混合, 是逆向的混合, 或者说不同年龄质点之间的混合。返混带来的最大影响是反应器进口处反应物高含量区的消失或减低。大口径工业规模柱内部的流体返混是严重影响柱分离能力的主要因素。有许多方法用于减轻流化床中吸附颗粒的混合现象, 以降低柱床中的返混、增加吸附处理效率, 其中包括加入挡板, 将床分成数段的流化板柱^[4], 使用在液体和吸附相中都只有少量混合的活塞流动形式, 非柱色谱的高效膜吸附工艺技术及吸收膨胀床或磁稳定技术于色谱工艺中。

(2) 大规模生产: 连续色谱方面连续循环移动床 (TMB) 具有连续操作的能力, 但存在设备放大的困难, 因此, 很难真正实现大规模生产应用。最近发展起来的模拟移动床 (SMB) 工艺技术, 解决了 (TMB) 存在的问题, 可应用于大规模生产。

(3) 连续性: 色谱技术主要是环型色谱、错流梯度色谱 (CGC) 和移动床 (MB) 色谱技术。被称为错流梯度色谱 (CGC) 的色谱聚焦技术是一种能从多种成分的进料液中分离和浓缩溶质的高效连续操作装置。使用错流接触根据溶质成分的特定性质 (带电荷数、密度大小、疏水性等) 来大规模分离和浓缩两性溶质并很容易放大^[5]。

2 工业制备色谱的应用

2.1 动态轴向压缩柱色谱及其应用

动态轴向压缩柱的原理是通过活塞的上下运动来装柱、维持柱压和卸柱, 活塞周边配备了特

殊设计的密封圈能容许活塞上下自由滑动, 同时又能保持高的密封压。活塞运动和压力维持靠的是液压或是气压, 压动力比轴向压缩柱的弹簧动力更稳定, 更均匀, 如图 1。其应用范围广, 如用于天然植物提取、合成药物、蛋白质和多肽的分离制备, 更是中药活性成分分离制备的必备手段。SAKUMA 等利用大规模的反向动态轴向压缩柱对三形科植物红柴胡中的 3 种皂甙成分进行分离, 收率大于 90%, 各种单体皂甙中的杂质含量小于 1%^[6-7]。MED NA^[8] 在 250 mm × 22 mm i. d. 的 DAC 柱上对一种多苯环药物进行制备规模的纯化, 纯度高于 99.5%, 回收率为 92%。

2.2 模拟移动床色谱及其应用

2.2.1 模拟移动床色谱 模拟移动床色谱 (simulated moving bed chromatography, 简称 SMB) 作为连续色谱技术中的最适于工业化大规模连续生产的一类。SMB 的操作单元是色谱层析, 色谱对不同组分进行分离, 主要是利用各种组分在色谱柱中的迁移速率不同来完成的。SMB 具有分离效率高、连续操作、填料和洗脱剂消耗少、以及可实现调节和控制自动化等诸多优点, 在工业制备色谱中被人们广泛关注。SMB 是提纯化合物的一个强大且极具吸引力的分离手段。由于 SMB 技术减少了为达到特定分离所需的固定相及流动相的体积, 成本的节约使色谱分离更加经济可行, 但应用于制药及精细化学品的制备分离却一直发展缓慢, 这主要是由于缺少工艺模拟的模型、有效数值方法和计算机。直到 20 世纪 80 年代在有关 SMB 理论框架的形成和模拟程序的出现加上 PHPLC 在硬件方面的最新进展, 才使 SMB 重新焕发出勃勃生机。SMB 根据其结构特点常可分为 3 带、4 带和 5 带系统。最常见的是 4 带 SMB, 其原理如图 2 所示, 它实现了溶剂的循环和组分的回流, 分离效率高。

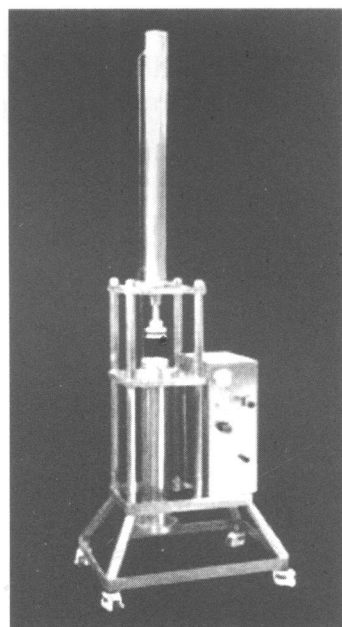


图 1 动态轴向压缩柱色谱

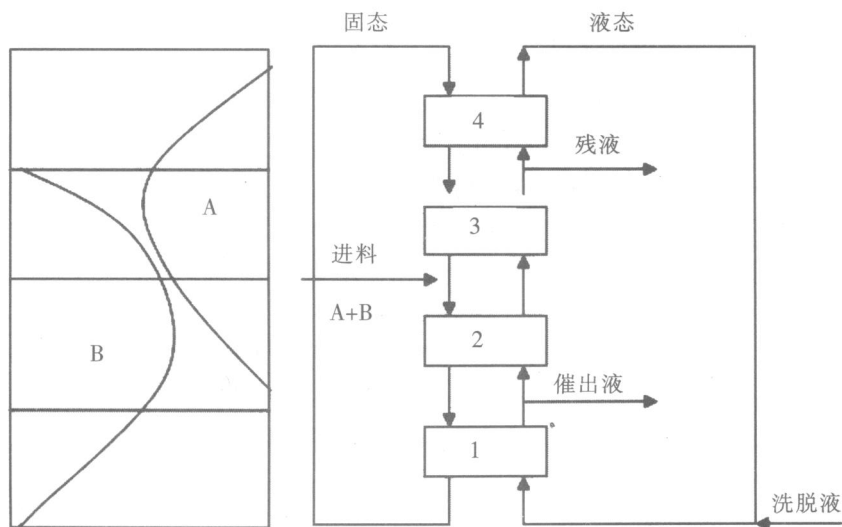


图 2 四带 SMB 工作原理

2.2.2 在中药分离制备中的应用 SMB 在中药分离纯化中的应用很广泛, 日本的 NAGAMATSU、

等从 1989 年开始研究 SM-BC 技术在手性药物中的应用, 于 1991 年成功地分离了 R 和 S 苯乙醇。1996 年新加坡的 CHING 等利用模拟移动床色谱技术对外消旋手性驱虫药物吡酮进行了分离。1997 年比利时的 CAVOY 等用自行设计的一套 12 柱模拟移动床色谱四带系统, 对镇痛药曲马朵进行了分离, 得到了纯度很高的两种异构体。1998 年, RICHEA 等用 UOP 公司生产的制备型模拟移动床色谱四带系统对镇咳药创甘油醚进行了分离, 已经研制成具有自主知识产权的 g 级、kg 级和 100 kg 级模拟移动床设备各一套, 应用这些设备已开发出十几种中药有效部位及单体成分的分离纯化与制备工艺技术, 成分包括: 抗菌素类、黄酮类、生物碱类、皂苷类、内酯类等。前列腺素甲酯 (S) (97%)、替考拉宁 (97%)、紫杉醇 (95%)、银杏黄酮 (94%)、银杏内酯 (95%)、槲皮素 (99%)、异鼠李素 (70%)、银杏内酯 B (90%) 等中药的有效成分都已找到了合适的制备工艺路线^[9-11], 比利时药品公司 UCB Pharma 已经利用 10 t 级的 SMB 来分离旋光异构体。李勃等则在高分子树脂柱和 SMB 系统上分离得到了高纯度的紫杉醇。PAIS^[12]报道了以交联在硅胶上的 3, 5-二硝基邻苯甲酰苯基甘氨酸为固定相以庚烷异丙醇混合溶剂为流动相在模拟移动床中分离联萘酚对映体。

2.2.3 超临界流体色谱 超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography, 简称 SFC) 是指以超临界流体为流动相, 以固体吸附剂或键合到载体上的高聚物为固定相的色谱。20 世纪 80 年代早期开发成功了空心毛细管柱式 SFC, 应用于分析领域。后来出现了填充柱式 SFC, 应用于分析某些热敏性、低挥发性、极性化合物。后来发展成了制备型 SFC。SFC 的流动相有氨、二氧化硫、二氧化碳、氧化氮及氯氟烃类等物质, 但应用最广泛的流动相还是超临界 CO₂。这是因为 CO₂ 临界温度 (31.08 °C) 接近室温, 临界压力 (7.38 MPa) 不太高, 可使色谱系统在接近室温和不太高的压力条件下进行操作。另外, CO₂ 无毒, 不燃, 无化学腐蚀性, 因此, 以它作为 SFC 的首选流动相, 在中药分析分离方面得到了广泛的应用。为增加其溶剂化能力, 往往需要在其中加入少量的极性改性剂。常用的改性剂有甲醇、乙醇、异丙醇和乙腈等, 使用最多的是甲醇。在填充柱式 SFC 中使用最广的固定相是硅胶基质的键合填料。由于氢键、离子、偶极作用, 不经过改性失活的硅胶适应于非极性化合物的分析, 对于极性物质不太适用。而将一些极性稍弱的基团键合到硅胶上, 形成硅胶基质的键合填料则大大增加了填料的适用范围。在硅胶的表面键合上基团, 像 —OH、—CN、—NH₂—C₆H₅、烷基及聚合物等, 形成了一类固定相。制备型 SFC 现已广泛应用于中药的提取分离领域。赵锁奇等^[13]建立了国内第一套制备型超临界流体色谱, 并用于天然产物的分离制备, 实验表明, 超临界色谱可以分离弱极性化合物, 也可以分离制备强极性化合物及生物碱等难洗脱的溶质。MA 等^[14]介绍了制备型 SFC 的原理、构造及应用。通过对流体动力学和吸附、脱附的分析, 认为制备型 SFC 在中药大规模分离方面有很好的前途。VERA^[15]分离制备了热敏性药物, 克服了在制备型 HPLC 中出现的药物热降解问题。近来, 模拟移动床式制备型 SFC 的出现拓宽了 SFC 的适用范围和生产规模。

3 结 语

综上所述, 中药分离纯化的研究正朝着综合先进的方向发展, 工业制备色谱以其高效的分离优势在中药分离纯化研究中发挥着越来越重要的作用, 在中药活性成分的分离纯化工业中引起人们的广泛关注。工业制备色谱已经成为中药化学成分分离纯化的重要手段, 为临床用药、中药饮片的剂型改革、中药的现代化生产及质量控制、进一步提高中药药用价值以及对我国的天然药物进入国际市场起到极大的促进作用。

参考文献:

- [1] DINGENEN J. A practical approach to chiral separations by liquid [J]. Journal of Chromatography, 1998, 26: 18 - 32
- [2] 李瑞萍, 黄骏雄. 高效制备液相色谱柱技术的研究进展 [J]. 化学进展, 2004, 16 (2): 273 - 283
- [3] 彭奇均, 徐玲, 孙培冬, 等. 制备色谱分离技术的现状和发展 [J]. 离子交换与吸附, 2001 (70): 88 - 96
- [4] BARTH J. Chemie ingenieur technique [J]. Chromatographie, 1998, 70: 142 - 143
- [5] 杨春, 丁功捷. 工业化高效制备色谱的最新进展 [J]. 色谱, 2005, 1: 18 - 20
- [6] 韩金玉, 魏文英, 常贺英, 等. 制备型液相色谱动态轴向压缩柱技术和应用 [J]. 色谱, 2004, 7 (22): 403 - 407
- [7] DUKNER G. Modelling and simulation of nonlinear chromatographic separation processes [J]. Chem Eng Sci, 2001, 1: 55
- [8] MEDINA IJ. Liq chromatogr relat technol [J]. Journal of Liquid Chromatography, 1998, 21 (17): 2689
- [9] 刘迎新, 林炳昌. 模拟移动床色谱分离药物 PG05 的实验研究 [J]. 化学世界, 2002, 8: 412 - 415
- [10] 林炳昌, 宋峰, 蓝绍鹏, 等. 抗菌素替考拉宁模拟移动床色谱分离的中试研究 [J]. 中医药现代化, 2003, 44 (10): 524 - 528
- [11] 林炳昌. 模拟移动床色谱在药物领域里的应用 [J]. 辽宁医药, 2000, 1 (15): 30 - 31
- [12] PAISL. Chiral separation by SMB chromatography [J]. Separation Purification Technology, 2000, 20: 67 - 77
- [13] 赵锁奇, 石铁馨, 王仁安, 等. 硅胶柱超临界流体制备色谱分离提取纯化极性化合物 [C]. 第三届超临界流体技术学术及应用研讨会论文集, 西安, 2000: 359 - 362
- [14] MA Y, HO Y. Separation of peptide derivatives by PH - zone - refining counter - current chromatography [J]. Chromatogr A, 1995, 702 (1/2): 197
- [15] VERA G. Separation of ternary mixtures by pseudo - simulated moving bed chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 939 (1/2): 23 - 40

Application of Industrial Preparative Chromatograph in Separation of Traditional Chinese Medicine

YAN Haiquan, LI Chongying

(College of Materials and Chemistry & Chemical Engineering,
Chengdu University of Technology, Sichuan Chengdu 610059, China)

Abstract: The column structure, packing materials and chromatograph characteristic of industrial preparative chromatography are reviewed. The working principle of industrial preparative chromatography is summarized. The applications, current state of development, and perspectives of dynamic axial compression and simulated moving bed chromatography in the traditional Chinese medicine are detailedly discussed

Key words: industrial preparative chromatography; traditional Chinese medicine; separation and preparation; dynamic axial compression; simulated moving bed