

分子印迹复合膜在拆分延胡索乙素对映体中的应用

朱俊访¹, 李 博^{1*}, 聂 阳²

(1. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520; 2. 广东省中药研究所, 广东 广州 510520)

摘要: **目的** 研究分子印迹复合膜在拆分延胡索乙素对映体中的应用。**方法** 以偏聚乙烯微孔滤膜为载体, 左旋延胡索乙素为模板分子, 甲基丙烯酸为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 制备分子印迹复合膜, 并进行渗透试验。再应用自制左旋延胡索乙素分子印迹整体柱考察其拆分性能。**结果** 左旋延胡索乙素、致孔剂(氯仿)、甲基丙烯酸、乙二醇二甲基丙烯酸酯的最佳比例为 1 : 10 : 5 : 20, 所得分子印迹复合膜中左旋延胡索乙素的渗透率高于右旋延胡索乙素。**结论** 分子印迹复合膜对延胡索乙素具有一定拆分能力。

关键词: 延胡索乙素; 对映体; 分子印迹复合膜; 拆分

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)09-1838-03

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.015

Application of molecularly imprinted composite membranes in splitting tetrahydropalmatine enantiomers

ZHU Jun-fang¹, LI Bo^{1*}, NIE Yang²

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 2. Guangdong Provincial Institute for Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510520, China)

KEY WORDS: tetrahydropalmatine; enantiomers; molecularly imprinted composite membranes; splitting

分子印迹技术是设计、合成对目标分子具有特异选择性和亲和力的人工聚合物技术^[1], 所得聚合物对模板分子具有特异的识别选择性与优良的结合亲和性^[2]。膜分离技术具有便于连续操作、易于放大、能耗低、能量利用率高等优点, 但缺乏预定选择性, 难以实现单个物质的选择性分离, 而将分子印迹技术引入膜分离而产生的分子印迹复合膜兼具两者的优点, 能实现对特定目标分子简单、快速、有效的分离, 因此近年来已经成为药物分离领域研究的热点之一, 具有良好的科学和应用发展前景^[3-5]。

延胡索乙素是从延胡索中提取的异喹啉类生物碱, 具有镇痛、镇静、催眠、钙拮抗、抗心律失常、抗辐射损伤等药理作用, 并且不具有精神依赖性和成瘾性^[6], 其结构中有一手性中心, 为光学消旋体, 具有一对光学异构体。该成分的有效部分

是左旋体, 即左旋延胡索乙素(又称颅痛定), 其与阻滞中枢多巴胺受体有关。研究表明, 延胡索乙素对映体在大鼠体内的药代动力学过程具有显著的立体选择性, 而且对抑制人肝微粒体细胞色素 P450 酶的作用机理不同^[7-11]。因此, 对其进行简单有效的拆分具有重要意义。

本实验以左旋延胡索乙素为研究对象, 以聚偏氟乙烯膜为载体膜, 利用分子印迹技术制备分子印迹复合膜, 将该膜用于延胡索乙素拆分, 通过自制左旋延胡索乙素分子印迹整体柱考察其拆分性能。

1 试剂与仪器

LC-2010A 色谱仪、AUY120 电子天平(日本岛津公司); UV2600 紫外分光光度计(尤尼科仪器有限公司); HH-4 恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司); 左旋延胡索乙素(含量 98%, 批号 14020702)、延胡索乙素(含量 98%, 批号

收稿日期: 2016-10-20

基金项目: 广东食品药品职业学院自然科学研究项目(2014YZ010); 广东省医学科学技术研究基金项目(A2015470)

作者简介: 朱俊访(1981—), 男, 硕士, 研究方向为天然产物有效成分分离与分析。Tel: (020) 28854894, E-mail: junfang-zhu@163.com

* 通信作者: 李 博, 女, 硕士。E-mail: libo8207@163.com

20141226)(西安沃森生物科技有限公司;聚偏氟乙烯膜(0.45 μm,天津市津腾实验设备有限公司);甲基丙烯酸、偶氮二异丁氰(科密欧化学试剂有限公司);乙二醇二甲基丙烯酸酯(乔科化学有限公司)。乙腈为色谱纯;其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 印迹膜制备 精密称取左旋延胡索乙素355.4 mg (1 mmol),置于广口瓶中,加入一定量氯仿超声振荡5 min 溶解,加入一定量甲基丙烯酸,静置过夜,再加入一定量乙二醇二甲基丙烯酸酯和40 mg 偶氮二异丁氰,超声振荡15 min,得预聚液。将聚偏氟乙烯膜放入预聚液中浸泡20 min 后取出,置于2片玻璃片之间,除去气泡,紫外灯下照射6 h,将玻璃片分开,取出薄膜,先以甲醇-冰醋酸(9:1)溶液洗脱薄膜上的模板分子,直至洗脱液在280 nm 波长下无模板分子吸收,再用

甲醇洗去残留冰醋酸,即得到以聚偏氟乙烯膜为载体的分子印迹复合膜。非印迹复合膜的制备除不加左旋延胡索乙素外,其他同分子印迹复合膜。

通过改变甲基丙烯酸与乙二醇二甲基丙烯酸酯的比例制备分子印迹复合膜1~5,根据其性状和平衡吸附量(Q)筛选制备工艺,计算公式为 $Q = (C_0 - C_e) / 1\ 000\ W$,其中Q为平衡吸附量(μmol/g),C₀为溶液中左旋延胡索乙素的起始浓度(μmol/L),C_e为平衡时溶液中左旋延胡索乙素的浓度(μmol/L),V为溶液体积(mL),W为印迹聚合物的质量(g),结果见表1,可知两者比例为1:4时Q值较大。固定该比例后加大投料量,继续制备6~9,根据表1可确定最佳工艺为8号,即左旋延胡索乙素、致孔剂(氯仿)、功能单体(甲基丙烯酸)、交联剂(乙二醇二甲基丙烯酸酯)的最佳比例为1:10:5:20。

表1 制备条件筛选结果
Tab.1 Results of preparation condition screening

序号	左旋延胡索乙素/mmole	氯仿/mL	甲基丙烯酸/mmole	乙二醇二甲基丙烯酸酯/mmole	性状	Q/(μmol·g ⁻¹)
1	1	10	2	2	无明显变化	无
2	1	10	2	4	无明显变化	无
3	1	10	2	6	半透明块状斑点	无
4	1	10	2	8	半透明膜	0.91
5	1	10	2	10	半透明膜	0.85
6	1	10	3	12	半透明膜	1.29
7	1	10	4	16	半透明膜	1.25
8	1	10	5	20	半透明膜	1.40
9	1	10	6	24	半透明膜	1.37

2.2 透过试验^[12-13] 精密称取左旋延胡索乙素对照品,甲醇定容至100 mL,得0.5 mmol/L对照品溶液,甲醇稀释至0.01~0.1 μmol/L系列溶液,以阴性对照为空白,于280 nm 波长处测定吸光度,得到回归方程 $A = 5.033\ 3X + 0.004\ 7$, $r = 0.999\ 6$ (A为吸光度,X为溶液浓度)。

自制2个一侧带圆孔的玻璃池,将印迹膜固定于两玻璃池圆孔之间,组成渗透装置。采用自制渗透装置,分光光度法考察非印迹复合膜和分子印迹复合膜对左旋延胡索乙素甲醇溶液(0.05 mmol/L)的透过性能,重复3次,计算平均值,结果见图1。由图可知,左旋延胡索乙素渗透率随时间延长而逐渐增大,经过7 h后,其在非印迹复合膜的渗透率要高于分子印迹复合膜,这可能是由于该成分与印迹膜功能基团发生氢键的相互作用,而且其结构与印迹膜空穴结构相匹配,但非印迹复合膜不存在这种影响,故该成分更容易透过。

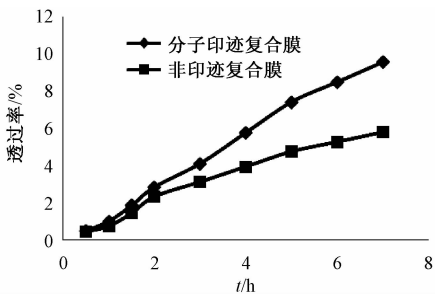


图1 非印迹复合膜和分子印迹复合膜渗透曲线
Fig.1 Permeability curves of non-imprinted composite membranes and molecularly imprinted composite membranes

2.3 印迹整体柱制备 为了检验分子印迹复合膜对左旋延胡索乙素的拆分能力,按文献[14]条件制备了印迹整体柱。精密称取左旋延胡索乙素0.3 mmol、甲基丙烯酸0.60 mmol、乙二醇二甲基丙烯酸酯4.0 mmol、混合致孔剂甲苯1.5 mmol、

十二醇 6 mmol, 混合均匀, 加入引发剂偶氮二异丁氰 20 mg, 溶解均匀后超声脱气 20 min, 通氮气 15 min, 立即将聚合液缓慢转移至不锈钢柱管中 (50 mm×4.6 mm), 将两端迅速密封, 50 ℃ 下水浴反应 16 h, 更换柱头后将其接到 HPLC 泵上, 甲醇-乙酸 (4:1) 冲洗至基线水平, 即得。

2.4 印迹整体柱色谱行为 条件为乙腈-乙酸梯度洗脱 (0~4 min, 99.5:0.5; 4~6 min, 98:2); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 280 nm。配制 0.05 mmol/L 左旋延胡索乙素与延胡索乙素甲醇溶液进样。由图 2 可知, 印迹整体柱作为预柱, 能很好地对延胡索乙素进行拆分, 分离度为 1.48。

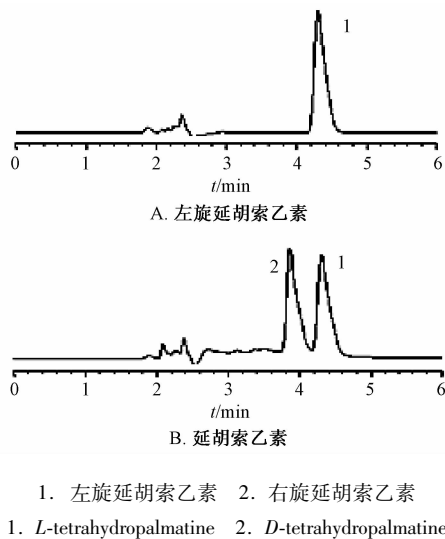


图 2 印迹整体柱色谱图

Fig. 2 Chromatograms of imprinted monolithic column

2.5 拆分延胡索乙素实验 取延胡索乙素甲醇溶液 (0.05 mmol/L) 加入玻璃池中, 另一玻璃池加入纯甲醇, 在磁力搅拌下渗透 8 h, 取样, 应用印迹整体柱, 在“2.4”项色谱条件下分析, 结果见图 3。与图 2 比较, 其经分子印迹复合膜渗透后, 透过液中右旋延胡索乙素色谱峰减小, 表明分子印迹复合膜对延胡索乙素有一定拆分能力。

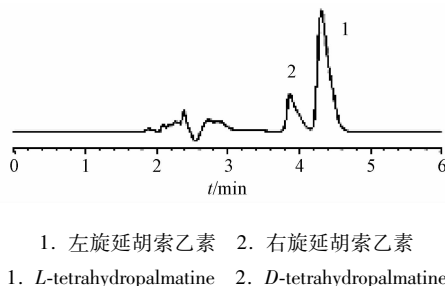


图 3 渗透液色谱图

Fig. 3 Chromatogram of osmotic solution

3 讨论

分子印迹复合膜上存在特异性的识别位点, 模板分子与识别位点功能基团的作用是模板分子优先靠近印迹复合膜的重要动力, 孔穴内互补的三维空间立体结构可保证模板分子快速顺利地透过。

参考文献:

- [1] 谭天伟. 分子印迹技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [2] 朱俊访, 李 博. 左旋延胡索乙素印迹聚合物的制备及固相萃取应用[J]. 中草药, 2016, 47(1): 72-75.
- [3] Zhang Y, Shan X, Gao X. Development of a molecularly imprinted membrane for selective separation of flavonoids[J]. *Sep Purif Technol*, 2011, 76(3): 337-344.
- [4] Ma X, Chen R, Zheng X, et al. Preparation of molecularly imprinted CS membrane for recognizing naringin in aqueous media[J]. *Polym Bull*, 2011, 66(6): 853-863.
- [5] Kryvshenko G A, Apel P, Abramchuk S S, et al. A highly permeable membrane for separation of quercetin obtained by Nickel (II) ion-mediated molecular imprinting[J]. *Sep Sci Technol*, 2012, 47(12): 1715-1724.
- [6] Yue K, Ma B, Ru Q, et al. The dopamine receptor antagonist levo-tetrahydropalmatine attenuates heroin self-administration and heroin-induced reinstatement in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2012, 102(1): 1-5.
- [7] 洪战英, 范国荣, 柴逸峰, 等. 延胡索乙素在大鼠体内的立体选择性药代动力学[J]. 药学报, 2005, 40(8): 746-749.
- [8] 洪战英, 范国荣, 柴逸峰, 等. 延胡索乙素的大鼠在体肠道吸收与立体选择性特征研究[J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(14): 1104-1107.
- [9] 吴佩盛, 黄善定, 叶亚菊, 等. 大鼠肠道对左旋延胡索乙素及其消旋体的吸收差异研究[J]. 药学报, 2007, 42(5): 534-537.
- [10] 赵 鸣, 李丽萍, 沈 剑, 等. 延胡索乙素对映体对小鼠 CYP450 酶诱导和抑制作用研究[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2011, 40(1): 33-39.
- [11] 颜晶晶, 俸 珊, 何丽娜, 等. 延胡索乙素对映体对人体肝微粒体细胞 P450 酶抑制作用机制研究[J]. 中草药, 2015, 46(4): 534-540.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 139.
- [13] 王 捷, 刘宗河, 焦爱军, 等. 紫外分光光度法测定复方金蒲片中延胡索乙素含量[J]. 广西医学, 2004, 26(12): 1770-1772.
- [14] Ou J, Kong L, Pan C, et al. Determination of DL-tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo* by L-tetrahydropalmatine imprinted monolithic column coupling with reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1117(2): 163-169.