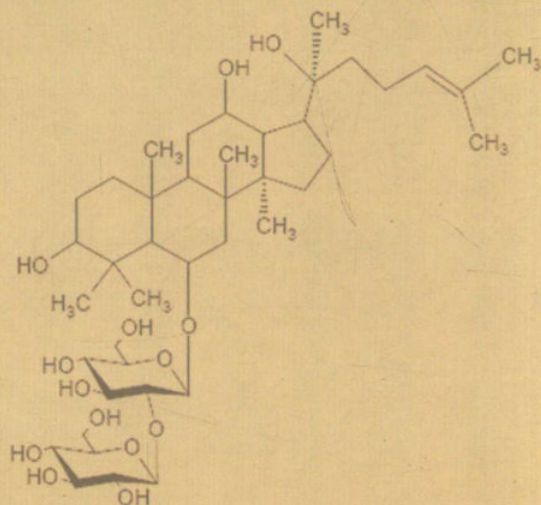
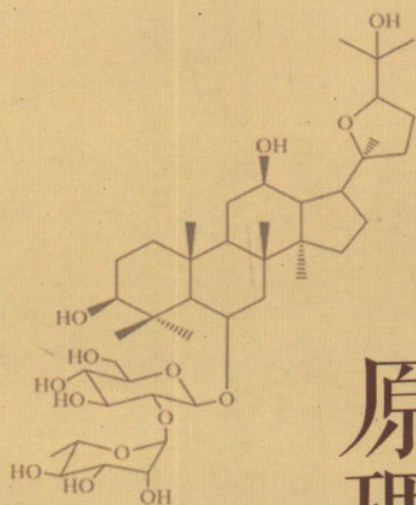


中草藥

苏瑾 / 主编

提取分离技术 原理与应用





中 草 藥

提取分离技术原理与应用

R284.2

ZS2

ISBN 978-7-5605-7683-1



9 787560 576831 >

定价：98.00元

中草药提取 分离技术原理与应用

苏瑾 主编

编委

车成冲 (西安交通大学)

王宇亮 (佳木斯大学)

王朝兴 (佳木斯大学)

(0451) 8258830

吉林出版集团有限责任公司

160mm X 230mm

2013年12月

1284 978

29.00元

吉林出版集团有限责任公司

(0431) 8258830

www.jlppress.com

 **西安交通大学出版社**
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

中草药提取分离技术原理与应用/苏瑾主编. —西安: 西安交通大学出版社, 2015. 8

ISBN 978-7-5605-7683-1

I. ①中… II. ①苏… III. ①中药化学成分—提取②中药化学成分—分离 IV. ①R284.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第168153号

书 名 中草药提取分离技术原理与应用

主 编 苏 瑾

责任编辑 张沛焯

出版发行 西安交通大学出版社

(西安市兴庆南路10号 邮政编码710049)

网 址 <http://www.xjtupress.com>

电 话 (029) 82668805 82668502 (医学分社)

(029) 82668315 (总编办)

传 真 (029) 82668280

印 刷 山东明达印务有限公司

开 本 880mm×1230mm 1/16 印张 19 字数 468千字

版次印次 2015年8月第1版 2015年8月第1次印刷

书 号 ISBN 978-7-5605-7683-1/R·949

定 价 98.00元

读者购书、书店填货、如发现印装质量问题, 请通过以下方式联系、调换。

订购热线: (029) 82668805

读者信箱: medpress@126.com

版权所有 侵权必究

西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

编委会

主 编

苏 瑾 (佳木斯大学)

副主编

董婉茹 (黑龙江中医药大学)

孙延平 (黑龙江中医药大学)

王 宇 (黑龙江中医药大学)

编 委

李成冲 (齐齐哈尔医学院)

王宇亮 (佳木斯大学)

王朝兴 (佳木斯大学)

编 者

2015年3月

前 言

中医药是中华民族的瑰宝,在我国古代劳动人民长期的生产实践和与疾病作斗争中逐步形成并不断丰富发展,为中华民族的繁衍昌盛作出了重要贡献。中药临床疗效确切,预防保健作用突出,中药复方配伍应用具有减毒增效的功效。并且随着医学模式和人们健康观念的转变,中医药越来越凸显其在慢性疾病和恶性肿瘤治疗、调节亚健康状态、日常保健养生等方面的独特优势。传统的中药生产、制剂及给药方式,在某种程度上限制了中药参与医药市场竞争,因此,中药现代化是中药创新发展的必由之路和有效手段。近年来,天然药物化学、药物化学和药物分析学等相关学科迅速发展,中草药的提取分离技术也有了长足进步,这些新技术在中药有效成分和有效部位的分离和纯化方面体现出更高的选择性和更快的工作效率。

本书结合作者从事科研工作的实践,以现代提取分离理论为指导,收集有关中药提取分离的国内外文献、资料,介绍了传统的提取分离技术和近年来兴起的新技术,如微波提取、超声波提取、超临界流体萃取、仿生提取及酶工程技术等提取技术;大孔吸附树脂、膜技术、分子蒸馏、双水相萃取等分离技术。可为中药成分提取分离工艺筛选、中药制剂、中药材质量标准制订、中药药代动力学研究等奠定基础。

本书由佳木斯大学、黑龙江中医药大学、齐齐哈尔医学院相关专业教师参加编写,可为从事中药研究、开发与生产的专业技术人员,高校教师、高年级本科生、研究生提供学习参考。本书的出版得到了“佳木斯大学重点学科经费”部分资助。

由于编者水平有限,错误和疏漏之处在所难免,敬请广大学者、专家及读者提出宝贵意见。

编 者

2015年3月

目 录

第一章 绪 论	(1)
第二章 生物酶解技术	(28)
第三章 超声波协助提取技术	(44)
第四章 微波协助提取技术	(62)
第五章 超临界流体萃取技术	(76)
第六章 超高压提取技术	(111)
第七章 半仿生提取法在中药与复方制剂中的应用	(133)
第八章 吸附澄清技术	(149)
第九章 离心分离技术	(167)
第十章 膜分离技术	(186)
第十一章 大孔吸附树脂分离技术	(227)
第十二章 分子蒸馏技术	(244)
第十三章 双水相萃取技术	(254)
第十四章 不同类型化学成分的提取分离系统	(280)
参考文献	(295)

第一章 绪 论

一、中药有效成分研究概况

早在古代文明发展的初期,人类就开始使用植物和动物腺体作为药物对人体各种疾病和不适进行调理和治疗。历史上最早的植物药使用记载在 6 000 多年前居住于底格里斯河与幼发拉底河畔(现中东的伊拉克)的苏美尔人刻记的黏土板上。黏土板上铭刻着各种药用植物包括鸦片、甘草、百里香及芥末等的使用。而在东方不仅具有使用植物药的悠久历史,还具有完整的理论基础和体系。特别是我国的中医中药,在现今仍是世界医药体系的一大分支,也是中华民族几千年来强身健体、祛除病痛的物质基础,同时亦是源远流长的中华民族传统文化的一个重要组成部分,直至当今,在我国国民医疗卫生保健体系中仍占有不可替代的地位。

中医博大精深的阴阳学说、五行学说、整体观与辨证施治理论、药性理论及几千年积累的丰富的临床经验,为我们的新药创制提供了得天独厚的思路和启迪。我国具有极其丰富的天然药物资源,药用植物达 1 万多种且科属品种繁多,分布在全国各种不同的地理环境中,包含生物多样性和化学成分的复杂性。此外,还有丰富的动物、昆虫、微生物以及海洋生物资源,亦为我们提供了不竭的研究课题和物质基础。

从药物发展历史来看,天然产物一直是新药的重要来源,即使在当代,依然有 50% 以上的化学药物来源于天然产物或者是以其为导向化合物研发的化学物质。根据我国的现状,从有临床基础的中药和民族药中研发新药,具有相对成功率高、投资少、周期短等特点,将是我国研制创新药物的主要有效途径之一。

我国的药学科工作者在过去的半个多世纪中,经过不懈的努力,对中药、民间药用植物中的化学成分及其生物活性进行了大量、深入、细致的研究,取得了一系列令人瞩目的成就,阐明了许多化学成分的生物活性作用。对常用中药的化学成分进行的研究,使人们对其中所含化学成分有了一定的认识。例如,从川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 中得到的用于治疗儿童驱蛔用药的川楝素;从唐古特莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim 中分离得到的用于治疗微循环障碍性疾病的山莨菪碱,同样从该植物中分离得到的用于治疗偏头痛、视网膜血管痉挛、眩晕的樟柳碱;从中药延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 中分离得到具有镇痛镇静作用的延胡索乙素;从中药常山 *Dichroa febrifuga*, Lour. 中分离得到的具有抗疟活性的常山碱;从冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 中分得的具有抗肿瘤活性的冬凌草甲素;从中药丁公藤 *Erycibe obtusifolia* Benth. 中分离得到的治疗青光眼的包公藤甲素(丁公藤碱 II);从斑蝥 *Mylabris phalerata* Pallas. 中分离得到的具有抗肿瘤作用的斑蝥素;从中药葛根 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; P. thomsonii Benth. 中分离得到的用于治疗心血管疾病的葛根素;从芫花 *Dapne genkwa* Sieb et Zucc 中分离得到的用于妇女中期妊娠引产的芫花酯甲;从天花粉 *Trichosanthes kivilowii* Maxim 中分离得到的用于引产的天花粉蛋白;从中药丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 中分离得到的用于治疗心血管疾病的以丹参乙酸为主要成分的多酚酸;从人参 *Panax ginseng* C.

A. Mey. 中分离得到的有抗肿瘤作用的人参皂苷 Rg_3 ; 从中药关白附子 *Aconitum coreanum* (Levl.) Rapaics 中分离得到的具有抗心律失常作用的关附甲素; 从中药红花 *Carthamus tinctorius* L. 中分离得到的用于治疗心脑血管疾病的红花黄色素; 从芹菜子 *Apium graveolens* L. 中分离得到的用于治疗急性缺血性脑卒中的丁苯酞等。其中, 更有具有世界范围影响的抗疟药青蒿素、抗早老性痴呆药石杉碱甲和治疗白血病的三氧化二砷等。

目前, 以活性天然产物的分离鉴定、体内代谢转化过程及构效关系研究和结构修饰为研究手段, 通过与药理学家共同合作, 在生物活性导向下进行植物提取部位乃至单体成分的分离, 进行结构确定, 而后对分离得到的各种化合物进行进一步的生物活性筛选, 并紧紧抓住具有活性的化合物进行构效关系研究和结构优化, 以提高生物活性作用, 降低不良反应是现今中药或天然药物化学成分研究的有效途径。正是这样一种思路的引导, 使人们构建了从提取分离到结构鉴定, 进而进行结构的修饰或全合成, 并以活性天然产物的结构作为基础, 衍生合成类似结构的化合物进行新药研发的具有我国特色的药物化学学科体系。

(一) 中药和植物中获得及其衍生的药物

1. 单体活性成分的研究

(1) 抗疟药: 青蒿素是我国科学工作者从传统抗疟中药黄花蒿 *Artemisia annua* L. 中分离得到的含过氧桥的新型倍半萜内酯, 对抗氯喹原虫有明显的效果, 作用快、毒性低, 对抢救严重的恶性疟患者有独特的效果。青蒿素不仅对全世界治疗疟疾发挥了巨大作用, 而且因为其具有全新的结构更引起了人们的关注。由于青蒿素在水、油中的溶解性差, 导致其口服生物利用度差, 临床复发率高。人们在进行构效关系的研究后对其进行了结构修饰, 得到青蒿素的衍生物蒿甲醚, 它克服了溶解性差的缺点, 由此其抗疟活性比青蒿素提高了 6 倍, 临床复发率亦由口服青蒿素的 48% 降低至 7%。经世界卫生组织在亚非拉多个国家进行了为期 3 年的临床验证后, 证明蒿甲醚是一个优良的抗疟药, 并将其列为治疗凶险型疟疾和脑型疟的首选药物。

(2) 抗早老性痴呆药: 石杉碱甲是我国学者从民间草药千层塔 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 和马尾杉 *Phlegmariurus phlegmaria* (L.) Holub. 中分离得到的新生物碱, 药理实验证明它对乙酰胆碱酯酶有高选择性抑制作用, 通过抑制乙酰胆碱酯酶来提高脑内乙酰胆碱水平。进一步的口服动物药效试验显示: 石杉碱甲能改善成年小鼠、大鼠、猴及老年小鼠、大鼠、猴的实验性记忆障碍, 具有明显促进记忆功能的作用。在 1996 年, 石杉碱甲作为治疗早老性痴呆 (Alzheimer's disease) 的药物用于临床。此后由于该结构未有专利保护, 而其独特的化学结构和高生物活性引起了国内外科学家很大的兴趣, 竞相开展了对石杉碱甲的结构改造和构效关系的研究。我国科学家在研究其构效关系和结构优化的过程中, 半合成及合成了百余个类似物及衍生物, 经体内外药效筛选, 发现了一个新的衍生物 ZT-1 (schiperine, 商品名为希普林), 它对脑内乙酰胆碱酯酶的选择性抑制作用强于石杉碱甲, 而毒性仅为石杉碱甲的 1/10, 该药已获中国及国际专利, 并已在欧洲 35 家医院同时完成了 II 期临床试验, 结果表明, 其疗效、持续时间和毒性等综合指标均明显优于国际上近年来开发的治疗早老性痴呆的药物。

(3) 抗肿瘤药。

1) 喜树生物碱及衍生物: 喜树碱是 Wall 等于 1966 年从我国特有植物喜树 *Camptotheca acuminata* Dence. 的树干中分离得到的新型喹啉类生物碱内酯, 经动物试验表明其有明显的抗肿瘤作用。我国学者在进一步的研究中发现喜树果中含有的喜树碱比树皮中含量要高 3 倍, 并从喜树果中还分得另一抗癌活性更强的 10-羟基喜树碱。经过药理、毒理等实验, 在国际上首先

将喜树碱用于临床治疗胃癌、膀胱癌,10-羟基喜树碱用于临床治疗肝癌与头颈部癌。后因喜树碱引起膀胱出血等严重不良反应而停止使用,究其原因是喜树碱的水溶性极微,在膀胱中容易析出结晶,刺激膀胱壁而引起出血。为此,人们进行了不少类似物的研究,优化结构以改善溶解度,提高生物利用度。托泊替康(topotecan)和依立替康(irinotecan)是在10-羟基喜树碱结构上加以修饰,增加其水溶性,提高了生物利用度并克服了膀胱出血等不良反应。近来,人们还在喜树碱的结构基础上开发了一种称为氧代磷酸甲醚前药,不仅水溶性好,而且体内转换率高、稳定性强,目前在临床试验中。

2) 长春生物碱及衍生物:长春碱(vinblastine)和长春新碱(vincristine)是在20世纪50年代从长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 植物中提取分离得到的萜类吲哚生物碱。由于它们具有微管抑制作用,通过与微管蛋白结合,抑制原丝和微管的形成而具有抗肿瘤的作用,于1960年开发成为抗癌药。长春碱不仅用于治疗霍奇金病,还用于治疗对其他疗法耐受的绒毛膜上皮癌;长春新碱用于治疗白血病、淋巴瘤和小细胞肺癌。但因两者均有一定的神经毒性,其在临床上的应用受到限制。于是人们对长春碱等进行了一系列的结构修饰,如由去水长春碱得到的长春瑞滨(vinorelbine),对非小细胞肺癌的药效是长春碱的2倍,是长春新碱的20多倍。长春瑞滨可做成口服制剂,与注射剂相比,生物利用度相同,但患者服用方便。

3) 鬼臼毒素及衍生物:鬼臼毒素(podophyllotoxin)是从美洲鬼臼 *Podophyllum peltatum* L. 和喜马鬼臼 *P. emodi* Wall. 中分离得到的木脂素类成分,具有很强的细胞毒作用。由于其水溶性差且有比较严重的不良反应,无法用于临床。后经对表鬼臼毒素的结构进行修饰,引入糖基并经衍生化得到依托泊苷(etoposide, VP-16, 鬼臼乙叉苷)和替尼泊苷(teniposide, VM-26, 鬼臼甲叉苷),降低了毒性且增加了疗效。这两个衍生物均可干扰DNA拓扑异构酶II的DNA断裂重新连接反应,使染色体畸变,细胞死亡,现临床用于治疗淋巴瘤、肺癌、脑瘤和乳腺癌。

4) 紫杉醇及衍生物:紫杉醇(taxol)又称红豆杉醇,是从红豆杉科(Taxaceae)红豆杉属(*Taxus* L.)多种植物中分离得到的具有独特抗癌作用的二萜生物碱类化合物。研究表明,紫杉醇具有明显的抗肿瘤作用,对乳腺癌MX-1、结肠癌CX-1、肺癌LX-1异种移植有明显抑制作用,是目前发现的唯一能促进微管蛋白聚合并抑制其解聚,从而影响纺锤体的功能,抑制癌细胞有丝分裂的植物化学成分,对卵巢癌、乳腺癌、食管癌及头颈部癌及肺癌疗效较好。1983年开始进入临床研究试验,1992年美国FDA批准紫杉醇作为治疗转移性卵巢癌的新药上市。1994年又批准该药用于治疗转移性乳腺癌。随后加拿大、法国、德国、中国、瑞典、日本等数十个国家允许紫杉醇上市销售。紫杉醇被誉为20世纪90年代国际上抗肿瘤药三大成就之一。1984年,法国的科学家在进行以10-去乙酰浆果赤霉素III(浆果赤霉素亦称巴卡丁)为原料合成紫杉醇的过程中,发现一个称作多西紫杉醇(docetaxel,商品名Taxotere,也称紫杉特尔)的化合物,具有与紫杉醇相同的促进微管蛋白聚合并抑制其解聚的作用,能阻断癌细胞的有丝分裂。与紫杉醇不同的是,多西紫杉醇并不改变微管束中原丝的数目。其活性与紫杉醇相当,但水溶性大,不良作用小。该品以注射剂为主,辅以粉针剂和胶囊剂,用于乳腺癌、非小细胞肺癌的治疗。1995年在墨西哥首次上市,1996年获FDA批准,随后进入欧美等多国市场。

(4) 免疫抑制药:雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 是近年备受关注的—味中药,其所含的 α 、 β -不饱和、 γ -内酯和环氧的二萜成分具有很强的抗炎和免疫抑制的生理活性。用其提取物制成的雷公藤多苷胶囊、雷公藤多苷片与雷公藤片用于治疗风湿性关节炎、红斑狼疮、慢性肾炎等自身免疫性疾病,有较好的疗效。但其不良反应较大,会引起肾衰竭、白细胞减少、皮肤过

敏、恶心、呕吐、头晕、心悸等症状。在对其化学成分的研究中,我国学者发现雷公藤内酯(雷公藤内酯醇)及其同类三环二萜内酯醇类具有相当的免疫抑制作用,但雷公藤内酯水溶性差,为改善其在水中的溶解度及提高生物利用度,将其制成琥珀酸酯钠盐前药,其具有稳定性高、血浆内生物转换率高的特点,能强烈抑制 TNF- α 诱导的核因子 NF- κ B。

(5)抗肝炎药:五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 是临床上常用的一味中药,它对于治疗肝炎有较好的疗效,能较明显地降低谷丙转氨酶(GPT)。在对其化学成分的研究过程中发现,其所含的木脂体类成分是生物活性物质,从中得到的五味子素 C(五味子丙素)对小鼠由四氯化碳引起的肝损伤有明显的保护作用。由于五味子素 C 在五味子果仁中的含量极低,于是对五味子素 C 进行了类似物的合成。在进行构效关系的研究中,发现中间体联苯双酯(bifendate)不仅能由四氯化碳肝损伤小鼠及泼尼松处理的小鼠肝组织中的谷丙转氨酶降低,对肝脏病理损害也有明显的保护作用,本身毒性又很小,而且合成工艺适合工业生产,临床上对病毒性肝炎患者有明显的降低血清谷丙转氨酶作用,并能改善主要症状。在 1980 年底普及用于临床,使数以万计的肝炎患者获得了有效的治疗。

2. 中药方剂活性物质的研究

在探讨中药及其他民族药治疗疾病的物质基础的过程中,在进行化学成分所具有的生物活性研究的过程中,人们的研究思路及方法越来越趋向多元化。我国学者在进行单味中药成分的研究时,也将目光投向中药方剂的研究。众所周知,中药方剂是中医辨证论治的重要手段之一,是中医理法方药中的重要环节,其独特的配伍规律及效用已被长年累月的临床实践所证实。方剂是一个复杂体系,就其化学成分来说,更是纷繁复杂,充满了未知数。方剂也是研发新药的一个切入点,人们尝试着用各种方法对其进行研究。如有学者在分析多种用于治疗肝纤维化的中药复方中,发现丹参在处方中出现的频率最高,于是从丹参着手寻找抗肝纤维化的成分。经系统研究,发现其水溶性部位存在抗肝纤维化的活性成分,经对从水溶性部位中分离得到的化合物进行药效筛选,发现丹酚酸 B 镁盐(MTB)是其中的有效成分,并以其为主研制了中药抗肝纤维化的新药,申请了发明专利。该新药具有有效价高、剂量低(15 mg/片,2 片,每日 3 次)、成本低(提取率达 4%)、无明显不良反应等显著特点。在 II 期临床研究中,除炎症改善和生化指标显示良好效果外,在分期肝纤维化逆转率达到 50%。目前将进行 III 期临床研究。

我国学者在对治疗气阴两虚型冠心病、心绞痛的中药复方生脉散(人参、麦冬、五味子)的研究中,提出了复方化学成分动态变化与药效关系的研究思路。研究表明:处方合煎液中的成分与分煎液中不同,发生了有利于提高药效的变化,在合煎过程中检出了原本三味药中没有的具有抗氧化作用、有利于抗心肌缺血的 5-羟甲基-2-糖醛。另有学者以中医在临床上用于疏肝解郁的基本方四逆散(柴胡、芍药、枳实、甘草)为研究对象,从处方抗炎到免疫药效的多指标评价、全方及药对的作用、单体成分的配伍等多个角度探讨了四逆散的作用,并采用以特定成分的剔除的研究方法,探讨某个成分被特异性剔除后的效应变化,反过来推测该成分在处方中的作用。在针对芍药苷对一些指标的检测研究中发现,芍药苷的剔除并不影响四逆散的作用,而芍药苷本身单独使用则有这些作用,提示芍药苷并非这些作用的主要担当者,经过多次探索,发现芍药苷的剔除在其他一些指标方面使四逆散的作用大大减弱,这样提示芍药苷的其他作用对于四逆散作用的贡献更大。

(二)海洋资源中的药物研究

上述的研究实例对象均为陆生植物,当然除了这一来源,还有丰富的海洋植物、动物以及微

生物资源同样是研制新药的发源地。

我们知道在天然药物资源中,海洋生物资源是保留最完整、来源最丰富、最具新药开发潜力的领域。由于海洋生态环境的特殊性(高盐度、高压、缺氧、避光),使得海洋生物产生的次生代谢产物的生物合成途径和各种酶反应系统与陆地生物有着极大的差异,导致海洋生物能够产生一些结构骨架新颖、成分类型复杂、生物活性多样的海洋药物先导化合物,为新药研究与开发提供了大量的模式结构和药物前体。近 30 年来,科学家已从海洋植物、无脊椎动物等不同海洋生物中发现近万种海洋天然产物,其中结构新颖、具有显著生物活性和重要应用前景的化合物有数百种。目前,国际上已投入应用的经典海洋药物有头孢菌素、阿糖腺苷、阿糖胞苷等,这些也是最早开发成功的现代海洋药物,现正广泛用于临床。目前国际上有约 20 种海洋天然产物或其结构类似物正在临床研究阶段,多为抗癌药物。我国研制开发的抗肿瘤海洋药物已进入临床研究或批准生产应用于临床的有 6-硫酸软骨素、脱溴海兔毒素、海鞘素 A、海鞘素 B、海鞘素 C 以及膜海鞘素 B、刺参多糖钾注射液、长刺海星苷、三半环萜 C-II、海兔毒素 10、羊栖菜多糖制剂等。从多棘海盘车中分离得到的海星皂苷能治疗胃溃疡,已应用于临床。褐藻多糖硫酸酯(FPS)在国内首先用于治疗慢性肾衰竭、尿毒症患者,现已获准进入临床,商品名为“肾海康”。我国近期研发的海洋生物多糖“PV-911”、珍珠贝壳酸性提取物等具有抗病毒感染功效。

对具有抗心血管疾病活性化合物的研究是海洋天然产物研究的另一重点。目前已对数千种海洋生物的代谢产物进行了活性筛选,发现一批具有显著活性的化合物,其化学类型包括萜类、多糖类、高不饱和脂肪酸类、喹啉酮类、生物碱类、肽类和核苷类等。我国拥有自主知识产权的药物有藻酸双酯钠(PSS)、甘糖酯等。从中国南海棘皮动物多棘海盘车中分离获得海星甾醇(3β 羟基雄甾-5-烯-17-酮)具有增强记忆及抗氧化作用,海星甾醇经结构修饰得到的化合物,具有抗心律失常作用;从中国南海短指多型软珊瑚分离出的一种喹啉酮具有明显的心血管活性;从中国南海小棒短指软珊瑚中分离得到的柳珊瑚甾醇(gorgosterol)具有明显的抗心律失常核抗心肌缺血作用,能舒张血管、降低血压、减慢心率及减少心肌耗氧量。

海洋生物毒素是海洋天然产物的重要组成部分,许多高毒性海洋毒素对生物神经系统或心血管系统具有特异性作用,可发展成神经系统或心血管系统药物的重要先导化合物。

我国对海洋中药的研发已渐形成产业,如应用于临床的双海止咳膏、复方褐藻酸胶囊、海力特、海珍玉液、珍珠精母口服液等,在临床上发挥了重要作用。

(三) 动物等来源中的药物研究

人类早期从自然界寻找防治疾病的药物,除植物药外,有些也从动物体内获得,如熊胆、牛黄、阿胶、紫河车等,可称是最原始的生物药。随着自然科学的发展,人们对自然的认识逐渐深入,20 世纪出现了被称作“生化药物”的生物药。作为天然药物重要组成部分的生化药物,其范畴主要应为天然生化药物,它是来源于自然界各种生物体内的生化活性成分,可分为两类:一类是天然物质中提取或通过发酵提取的有效单体及其制剂;另一类是由人、动物组织或体液中提取或通过发酵制备的具有生物活性的多组分制品。天然生化药物不仅是生物新药研究开发的基础,而且是新药研究获得成功的有效途径。

我国生化药物的研究和开发起始于 20 世纪 70 年代,到 90 年代已有许多产品步入产业化,应用于临床。我国在发掘中医中药、创制具有我国特色的生物药物方面取得了可喜的成绩,如人工麝香、天花粉蛋白、骨肽注射液、香菇多糖、复方干扰素、药用菌和食用菌及植物多糖等。除了从哺乳动物中继续发现新的生化药物,如从红细胞中分离获得的新型降压因子、从猪胸腺中分离

得到的淋巴细胞抑裂素(LC)、从猪脑中分离得到的镇痛肽(AOP)等外,随着科学技术的进步,越来越多的其他来源被人们研发生化药物所关注,包括从鸟类、昆虫类、爬行类、两栖类动物中寻找具有特殊功能的天然药物。例如,蚯蚓中的蚓激酶、水蛭中的水蛭素、蜂素、蝎素、蛇毒等。此外,人们还探索应用生物分离工程技术将抗体和毒素(如天花粉蛋白、蓖麻毒蛋白、相思豆蛋白等)相偶联进行抗癌药物的开发;同样应用生物分离工程技术从斑蝥、全蝎、地龙、蜈蚣等昆虫类中药中分离得到活性生化物质,再进一步应用重组 DNA 技术进行克隆表达生产。

(四) 前景与展望

我国的中药及民族药物是经数千年实践筛选过的药源,在此基础上进行的新药研发,是在前人的临床应用经验及研究成果中,进一步发现、发掘、寻找新的药物研究的过程。利用新近发展的各种提取分离(超临界萃取、离心分配色谱,高速液滴逆流色谱、高效液相制备、亲和色谱和分子烙印技术等)以及用于结构鉴定的各种仪器分析(高分辨质谱、二维核磁共振谱、液质联用、液相色谱-质谱-数据库联用技术、单晶 X 射线衍射等)的新方法,结合现代生物活性多种途径、多种方法(高通量药物筛选,分子、细胞、器官和整体多层次、多水平系统的评价)的筛选,并与其他学科,如药理学、制剂学、临床医学、资源学以及生物信息学等多方面学科的通力合作,一定能事半功倍地研发出令人瞩目的新药。中药新药的研发结果是多方面的,它可以是多成分的混合体(单方、复方或有效部位),也可以是单一的化学成分。关键在于技术上的可行性,以及哪种形式的植物药对疾病有最佳疗效、最低毒性以及最方便的给药途径等。

中药及民族药物的研究是一个复杂而又艰辛的过程,新药的研制也不是一朝一夕就可以完成的,这需要在传统中医药理论体系的指导下,结合现代医学的用药方式,在现有研究的基础上,除对经典方剂进行二次开发外,还要开发具有自主知识产权的一类新药。近年来,在回归大自然的热潮下人们环保意识不断增强,应用中药及民族药物作为药物研究的对象已引起广泛的关注。日本、新加坡、韩国、德国、法国、美国等国家纷纷对我国传统中药及民族药进行研究,并将开发出的产品销售到世界各地,有些甚至销售到我国。我们在看到传统医药的知名度在全球不断提升的同时,也要意识到传统医药在研发和保护方面存在的不足,这种危机感,对于我们每一位药物研究人员来说既是压力也是动力。我们有理由相信,随着国家对传统中药及民族药物研发的重视以及每一位药学研究者的努力,我国的传统药物研究、创新药物的研制必将有一个美好的未来。

二、中药有效成分的传统提取方法

提取中药成分根据原理可以分为溶剂法、水蒸气蒸馏法、升华法。其中后两种方法的应用有一定的局限性,目前在中药成分的提取中,大多采用溶剂提取法。本节主要介绍溶剂法提取中药成分的理论、操作及其应用。

当以液态溶剂处理固体原料时,则称为液固萃取,又称浸取、浸出或提取(extraction),是用某种溶剂把目标物质从固体原料中提取到溶液中的过程。以溶剂从中药中提取化学成分的过程称为溶剂提取法。

目前,在中药研究与中药制剂的生产中大多还是以浸取法从中药中获得有效成分或有效部位。浸取的目的在于选择适宜的溶剂和方法,从药材中充分浸出有效成分及辅助成分,尽量减少或除去无效和有害物质。“有效”和“无效”成分的概念是相对的,应当根据医疗和实际药效酌定。例如,在常规的中药制剂中视多糖为杂质,而现代药理实验研究表明,多糖最引人注目的作用是作为非特异性免疫调节剂治疗免疫疾病,其近代的免疫疗法给肿瘤、艾滋病治疗以及其他免疫缺

损疾病的治疗开辟了新方向,已经有诸如黄芪多糖、人参多糖注射液用于临床。因此,中药的浸取还是要根据临床需要采取灵活的取舍,最大限度地提取有效部位或有效成分的含量,减少杂质的存在。

(一)溶剂提取法

中药材有植物、动物、矿物性药材三类。矿物性药材无细胞结构,其有效成分可直接溶解或分散悬浮于溶剂之中;植物性药材的有效成分的分子质量一般都比无效成分的分子质量小得多,浸出时要求有效成分透过细胞膜渗出,无效成分仍留在细胞组织中以便除去;动物性药材的有效成分绝大部分是蛋白质或多肽类,分子质量较大,难以透过细胞膜。因此,植物性与动物性药材的浸取过程有所不同。

1. 溶剂提取法的过程与原理

(1)动物药材的提取:动物药材的有效成分大多以大分子形式存在于细胞中,因此,在提取前一般原料使用电动绞肉机绞得越细越好。若将原料先冻结成冰块再绞轧,不仅易于粉碎,而且可使细胞膜破裂。

动物性药材中绝大部分是蛋白质、酶、激素等,对热、光、酸、碱等因素较为敏感,若对原料处理不当,则提取后有效成分的理化性质和生理活性发生改变,甚至产生毒副作用。动物药材除了上述成分外,还存在大量的多糖、脂肪等营养性物质,很易被微生物、水解、酶解、氧化等作用引起腐败或分解破坏,所以常用下列方法进行适当的处理。

1)冷冻法:将原料呈薄层铺于冷藏盘中,在 $-80\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰冻条件下保存,因储存温度较低,能更大限度地保存有效成分的性质,是一种较理想的药材处理方法。

2)干燥法:经过干燥后的药材不但除去水分,还起到杀灭微生物的作用,但该方法适用于耐热低脂肪类药材,经过炒制法炮制也能达到该目的。

3)有机溶剂法:将原料浸入丙酮、乙醇、乙醚中,既可起防腐作用,又能使原料脱水,其中以丙酮最常用。

4)碱水浸泡法:如驴皮、龟板、鳖甲等可通过浸在石灰水中保存,该方法应该是较经济的一种方法,但是要注意有些动物成分在碱液中易被破坏。

动物药材的大量脂肪,妨碍有效成分的分离和提纯,因此需采用适宜的方法进行脱脂。常用的脱脂方法有两种。①冷凝法:由于脂肪和类脂质在低温时易凝固,从浸出液中析出。将浸出液置冰箱冷藏一定时间,可使脂肪凝集于液面而除去,若将浸提液加热处理,使脂肪微粒乳化后再经冷藏,更易凝集于液面而除去。②有机溶剂脱脂法:该法同植物药材的脱脂,以有机溶剂(丙酮或石油醚等)采用连续回流提取法脱脂。

提取动物药材中的有效成分时,应了解有效成分的理化性质与稳定性,以便选择适当的溶剂等相关条件,常用的溶剂有稀酸、盐类溶液、乙醇、丙酮、乙醚、甘油等。

(2)植物药材的提取:对于存在于植物细胞中不同位置和细胞器中的目标产物,若将其从细胞内浸出到溶液中,目标分子将经历细胞内的扩散、细胞膜和细胞壁的透过等复杂的传质过程。若细胞壁没有破裂,浸取作用是靠细胞壁的渗透来进行的,浸取速率很慢。细胞壁被破坏后,传质阻力减小,目标产物比较容易进入到溶剂中,并依据相似相容原理而溶解,达到提取之目的。植物药材经过下列相互联系三个阶段完成浸取过程。

1)浸润阶段:药材与溶剂混合时,溶剂首先附着于药材表面使之润湿,然后通过毛细管和细胞间隙进入组织内部。润湿的这种初始作用对浸出效果影响较大。浸出溶剂能否附着于药材表

面使之润湿并进入细胞组织中,取决于浸出溶剂性质与药材的质地及两者间的界面情况。其中界面张力起着主导作用。溶剂与药材间表面张力越小,药材易被润湿,有时通过在溶剂中加入表面活性剂以提高药材的润湿性,从而达到提高浸出效果的目的。

一般非极性溶剂不易浸润含有糖、蛋白质极性物质的药材和含水量多的药材,因此需要先将药材干燥后再以非极性溶剂浸取;极性溶剂不易从富含油脂的药材中浸取有效成分,因此需预先脱脂、脱蜡处理后再用水、乙醇浸出。

2)解吸、溶解阶段:药材中的有效成分和组织具有一定的亲和力。浸出时溶剂必须对有效成分具有更大的亲和力才能使之脱吸附而转入溶剂中,这种作用称为解吸作用。浸出有效成分时,应选用具有解吸作用的溶剂,如乙醇就有很好的解吸作用。有时也在溶剂中加入适量的碱、甘油或表面活性剂以助解吸。如提取酚酸类成分加入碱使其成盐有助于解吸附而溶解;提取生物碱类则加入酸。溶剂进入细胞后,可溶性成分逐渐溶解,溶质转入到溶剂中。水能溶解晶体及胶质,故其提取液多含胶体物质而呈胶体液,乙醇提取液含胶质少,亲脂性提取液中则不含胶质。一般疏松的药材进行得比较快,药材质地致密溶剂进行得较慢。

3)扩散阶段:溶剂进入细胞组织内逐渐形成浓溶液,具有较高的渗透压,溶质向细胞外不断地扩散,以平衡其渗透压,新的溶剂又不断地进入细胞组织,即在药材组织和细胞中与外部产生了浓度差,构成了质量传递的推动力。而药材的细胞壁是透性膜(植物细胞的原生质膜是半透膜,但死亡的细胞原生质结构已破坏,半透膜便不存在,而成了透性膜),由于浓度差的关系,细胞内高浓度的溶液可不断向低浓度方向扩散。而溶剂为稀溶液,由于渗透压的作用溶剂又不断地进入细胞内以平衡渗透压。必须指出,浸出过程的扩散阶段并不向固体化学药品在溶液中的扩散那样简单,因为被浸出的高浓度有效成分在细胞壁内,要到达周围低浓度的溶剂中去时,首先必须通过药材组织这个障碍,即借助毛细管引力使细胞内部的高浓度浸出药液经过药材组织的毛细管后流到药材表面形成一层薄膜,亦称为扩散“边界层”。浸出成分最终通过此边界层向四周的溶液中扩散。溶质在边界层内以分子扩散方式进行,因此其扩散速度可以用 Fick 方程来描述:

$$\frac{dM}{dt} = -DF \frac{dc}{dx} \quad (1-1)$$

式中 $\frac{dM}{dt}$ 为扩散速度, F 为扩散面积, 即浸出药材的表面积, 与粒度、表面状态有关, $\frac{dc}{dx}$ 为物质在 x 扩散方向上的浓度梯度, D 为扩散系数, 负号表示扩散是沿浓度的下降方向进行。

如果扩散过程发生于涡流流动的流体中时可用下式表示:

$$\frac{dM}{dt} = -D_e F \frac{dc}{dx} \quad (1-2)$$

式中 D_e 为涡流扩散系数。浸出过程中流体内物质的传递既有分子扩散又有涡流扩散, 而两者合成对流扩散。对流扩散的扩散速度可以写成如下:

$$\frac{dM}{dt} = -(D + D_e) F \frac{dc}{dx} \quad (1-3)$$

$$\frac{dM}{dt} = -KF \frac{dc}{dx} \quad (1-4)$$

式(1-4)中, $K = D + D_e$ 。扩散系数 D 值随药材的质地而变化, 且与浸出溶剂的性质有关。可由实验按下式求得:

$$D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi \cdot r \cdot \eta} \quad (1-5)$$

式(1-5)中, R 为摩尔气体常数, T 为绝对温度, N 为阿伏伽德罗常数, r 为扩散分子半径, η 为流体黏度。式(1-5)表明黏度小, 物质的分子小, 提高系统温度, 则扩散系数 D 增大, 扩散速度就快。

4) 置换浸出阶段: 根据 Fick 方程, 提高扩散速率的有效方法是提高溶质的浓度梯度, 在浸出过程中, 用新鲜溶剂或低浓度浸出液随时置换药材周围的相对高浓度浸出液, 以降低浸出溶剂的浓度是保持溶质的最大浓度梯度, 提高浸出效果与浸出速度的有效措施。

2. 提取溶剂的选择

提取中药中的化学成分选择溶剂时, 一般根据“相似相溶”的原则, 被提取物质的极性大、亲水性越强, 选择极性较大的溶剂; 被提取物质的极性小, 则选择极性较小的溶剂。溶剂的极性与介电常数 ϵ 有关, 介电常数越大, 极性越大(见表 1-1)。

表 1-1 常用溶剂的介电常数

溶剂名称	介电常数(ϵ)	沸点($^{\circ}\text{C}$)	溶剂名称	介电常数(ϵ)	沸点($^{\circ}\text{C}$)
石油醚	1.80	40~60	吡啶	12.0	115
四氯化碳	2.24	77	正丁醇	17.5	118
苯	2.29	80	丙酮	21.5	57
无水乙醚	4.30	35	乙醇	26.0	78
氯仿	5.20	61	甲醇	31.2	65
乙酸乙酯	6.10	77	乙腈	39.0	82
乙酸	7.10	118	甲酸	58.0	101
二氯乙烷	10.4	84	水	81.0	100

常用溶剂的极性大小顺序排列如下:

石油醚 < 苯 < 无水乙醚 < 氯仿 < 乙酸乙酯 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇 < 水

按极性大小顺序, 可将溶剂分为水、亲水性有机溶剂、亲脂性有机溶剂三类:

(1) 水: 水的极性很强, 穿透力大, 中药中如糖、蛋白质、氨基酸、鞣质、有机酸盐、生物碱盐、大多数苷类、无机盐等亲水性成分可溶于水, 使用水作为提取溶剂有安全、经济、易得等优点, 缺点是水提取液(尤其是含糖及蛋白质者)易霉变, 难以保存, 而且不易浓缩和滤过。

(2) 亲水性有机溶剂: 常用的亲水性溶剂指甲醇、乙醇、丙酮, 极性较大且能与水相互混溶, 其中乙醇最为常用, 能与水以任意比例混溶, 同时具有较强穿透能力, 除了大分子蛋白质、黏液质、果胶、淀粉和部分多糖等大分子外, 对多数有机化合物均有较好的溶解性能, 因此提取范围较广, 效率较高, 且提取液易于保存、滤过和回收。

(3) 亲脂性有机溶剂: 常用的亲脂性有机溶剂如石油醚、苯、乙醚、氯仿、乙酸乙酯等, 其特点是与水不能混溶, 具有较强的亲脂性。中药中亲脂性成分如挥发油、油脂、叶绿素、树脂、内酯、某些游离生物碱及一些苷元等均可被提出, 提取液易浓缩回收, 但此类溶剂穿透力较弱, 常需长时间反复提取, 使用有一定局限性, 且毒性大、易燃、价格较贵、设备要求高, 使用时应注意安全。

依据相似相溶的原理, 中药中的亲水性成分易溶于极性溶剂, 亲脂性成分则易溶于非极性溶剂。因此, 在实际工作中可针对某药材中已知成分或某类成分的性质, 选择相应的溶剂进行提取。传统的中药制剂制备大多以水、乙醇作为提取溶剂, 有时根据中药成分的酸碱性, 也选择酸

水提取生物碱,选取碱水提取酚酸类成分如黄酮、蒽醌类化合物。

(二)影响溶剂法提取的因素

药材中化学成分在所选溶剂中溶解度大小以及向溶剂扩散的难易程度直接影响着提取的效果。其溶解度大小决定于待提取化学成分的结构;而化学成分在溶剂中的扩散速度与温度、溶剂黏度、扩散面积以及两相界面之间的浓度差等有密切关系。增加温度、降低溶液黏度、增加扩散面积以及保持两相界面的最大浓度差等都有利于提高扩散速度和增加提取效率。原料的粒度、提取温度、时间、压力、溶剂以及提取次数等因素,不同程度影响提取效果。

1. 药材的粉碎粒度

中药有效成分通常存在于动、植物细胞内,而细胞膜产生的扩散阻力使得其浸提速率比较小。为了提高提取效率,需要对细胞进行预处理如干燥、粉碎等,这样有助于细胞膜的破裂,溶剂容易进入细胞内部,而不同的预处理方式会影响提取物的得率和含量。

在原料预处理时,常将原料粉碎,使粒度变小,表面能增加,浸出速度加快,粒度越小,比表面积越大,浸提速度越快。但是药材粉碎度过细,也有一定的弊端。粉碎过细,药材组织中大量细胞破裂,致使细胞内大量不溶物及较多的多糖、蛋白质、鞣质等浸出,使浸出液黏度增大,杂质也增多,导致扩散作用缓慢,造成提取液过滤困难和产品浑浊等现象;过细的粉末在浸出时虽能提高其浸出效果,但吸附作用亦增加,因而使扩散速率受到影响,给操作带来困难,如用渗漉法浸提时,溶剂流动阻力就增大,容易造成堵塞,使渗漉不完全或浸提速度过慢。

粉碎方法与提取效率有关。用锤击式粉碎者,表面粗糙,与溶剂的接触面积大,提取效率高,可以选用粗粉;用切片机切成片状的材料,表面积较小,效率较差,块粒宜选中等。

药材的粒度还要视所采用的溶剂和药材的性质而有所区别。如以水为溶剂时,药材易膨胀,浸出时药材可粉碎得粗一些,或切成薄片和小段;若用乙醇为溶剂时,因乙醇对药材的膨胀作用小,可粉碎成粗粉(5~40目)。药材质地不同,粉碎度也不同,一般坚硬的根、茎、皮类等药材宜粉碎成较细的粉末。而叶、花、革等疏松药材,可以不粉碎或粉碎成较粗的粉末即可。

就动物药材而论,一般要求以绞碎得细一些为宜,细胞结构破坏愈完全,有效成分就愈易提取出来。

此外,浸提时若能增加固液相对运动速率,溶液运动越强烈,导致边界层变薄,从而提高浸出速度。

2. 提取温度

在选定适宜溶剂后,温度的升高能使植物组织软化,促进膨胀,是增大目标成分的溶解度,加快溶出速率的有效途径;可使细胞内蛋白质凝固,酶被破坏,有利于浸出和制剂的稳定性。

大多数植物药是采用加热煮沸或回流提取,其温度一般在80~100℃,药材中的一部分有效成分,甚至是主要有效成分或微量成分,往往易被忽略而煎煮破坏掉,导致活性成分的湿热降解或异构化,使提取物有效成分含量降低以及活性减弱,甚至改变临床疗效或出现毒副作用等。例如,丹参酮为菲醌类化合物,对湿热稳定性较差,随温度的升高和时间的延长其损失程度而增加,80℃和100℃烘干5h,丹参酮Ⅱ_A损失均达50%以上;100℃烘干50h,其损失率达86.6%;而实际制剂中烘干温度为100℃时,时间一般超过50h,因此制剂中也就根本检测不到活性成分丹参酮Ⅱ_A,说明其提制工艺条件不甚合理。也有的药材在高温提取后,放冷时由于胶体凝聚等原因出现沉淀;另外温度过高,一些无效成分被浸提出来,杂质含量高,给后续工作带来麻烦;提取液的浓缩对有效成分也有影响,浓缩时间越长、温度越高,有效成分的损失越大;故提取时需选择