

低交换量大孔弱碱树脂的合成、表征 及其对绞股蓝皂甙的吸附性能*

马建标 王利民 李建敏 赵存祥 史作清 何炳林

(南开大学高分子化学研究所, 天津, 邮政编码: 300071)

摘 要

为筛选适用于天然皂甙分离纯化的吸附树脂, 以高交联聚苯乙烯型大孔树脂 S-008(I) 为原料, 经氯甲基化和胺化反应, 合成了低交换量弱碱树脂(I—V)。然后, 对其结构进行了表征, 测定了它们对绞股蓝皂甙的吸附性能。结果说明, 胺化试剂与反应条件影响产物树脂的结构, 并进而影响产物树脂对绞股蓝皂甙的吸附性能。

关键词 弱碱树脂、吸附树脂、绞股蓝皂甙

用吸附树脂从植物药的水提取液中吸附富集天然产物, 是一项天然产物分离纯化新技术, 因具有效率高、消耗少的优点而日益受到重视^[1]。由于中草药中的许多天然皂甙如人参皂甙、绞股蓝皂甙等达玛烷型皂甙(结构如图1所示)具有重要的药理活性和应用价值, 我们开展了适用于皂甙分离的吸附树脂研究^[2,3]。交联聚苯乙烯型树脂如 XAD-2 和 D101 等均可与皂甙的甙元部分产生疏水性吸附, 能从水提取液中吸附分离绞股蓝皂甙^[4,5]。但这些树脂是非极性的, 树脂相与水相之间的介面能较大, 皂甙从水相向树脂相转移困难, 吸附速度慢, 吸附量小。我们认为, 在其结构中引入少量极性基团, 适当增大树脂的亲水性, 有望改善这类树脂的吸附性能。因此, 以大孔高交联聚苯乙烯型树脂 S-008(I) 为原料, 经氯甲基化与胺化两步反应, 合成了四种低交换量弱碱树脂(I—V), 并研究了树脂结构、树脂对绞股蓝皂甙的吸附性能、以及结构对吸附性能的影响。

实 验 部 分

1. 试剂与仪器

氯甲醚: 工业品, 使用前重蒸, 沸点 55—57℃。30—33% 二甲胺水溶液: 化学纯, 天津市化学试剂六厂。33% 三甲胺水溶液、二乙醇胺和 N,N-二甲基甲酰胺: 化学纯, 北京化工厂。S-008 树脂: 20—40 目, 由本单位树脂合成一室提供。绞股蓝总皂甙: 由本实验室从山东产的绞股蓝中提取纯化, 淡黄色粉末。

红外光谱用 Nicolet 5DX 红外光谱仪测定,溴化钾压片. 比表面用 N_2 吸附法在 ST-03 型表面孔径测定仪上测量,按 BET 公式计算. 用 721 型分光光度计进行绞股蓝皂甙的比色分析.

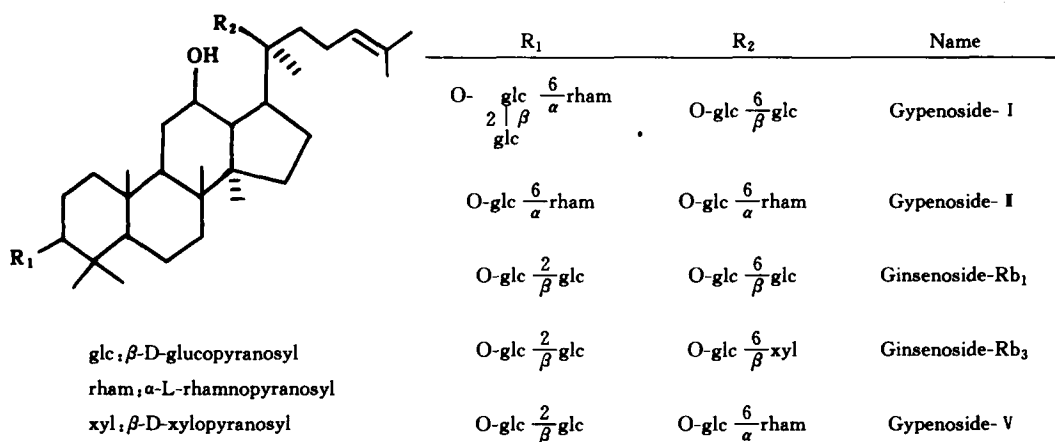


Fig. 1 The chemical structure of some components of total saponins from *Gynostemma pentaphyllum Makino*

2. 树脂的合成

S-008树脂用氯甲醚进行氯甲基化^[6],生成氯甲基树脂,氯含量6.75—8.88%。氯甲基树脂用 N,N-二甲基甲酰胺或95%乙醇溶胀2小时,加入二甲胺水溶液或二乙醇胺等胺化试剂,于50℃搅拌反应12小时,室温搅拌12小时. 滤出树脂,用水洗涤,加5%氢氧化钠溶液交换氯离子,最后用蒸馏水洗涤至中性. 晾干后,于50℃真空干燥24小时,得到弱碱树脂. 随所用胺化试剂及溶剂不同,分别合成出树脂 I—V.

3. 树脂 I—V 对绞股蓝皂甙的吸附实验

取干树脂约0.22g,精确称重后置于50ml 具塞三角瓶中,加30ml 浓度为2.7617mg/ml 的绞股蓝皂甙水溶液,放入25℃超级恒温槽. 每隔1小时摇荡5分钟,并取50 μ l 溶液样品用于绞股蓝皂甙的比色分析. 根据吸附前后绞股蓝皂甙的浓度差计算吸附量,以24小时的吸附量为平衡吸附量.

4. 绞股蓝皂甙的比色分析

吸附实验中所取溶液样品加入5ml 具塞试管中,加热挥发除去溶剂. 加0.2ml 5%香草醛-乙酸溶液及0.8ml 高氯酸^[7],于60℃超级恒温槽中显色90分钟. 取出试管,自然冷却至室温,用4ml 冰醋酸稀释,摇匀,用分光光度计在565nm 处测吸光度. 然后,根据预先测定的工作曲线回归方程由吸光度计算绞股蓝皂甙在溶液中的浓度.

结 果 与 讨 论

1. 树脂的合成反应

S-008树脂为高交联聚苯乙烯型大孔球形树脂(I),可顺利地进行氯甲基化反应,氯

甲基树脂的氯含量随反应时间延长而增加,但最高含量不超过10%,与均聚二乙烯苯的氯甲基化反应结果类似^[8]。氯甲基树脂在不同的溶剂中与不同的胺反应,合成出弱碱树脂Ⅰ—Ⅴ,结果列于表1中。

Tab. 1 The results of the amination of chloromethylated highly-crosslinked polystyrene

Produced resin number	Reactant		System		Produced		resin	Conversion percentage (%) ^f
	Cl content ^a of chloromethyl resin	Amine ^b	molar ratio CH ₂ Cl/amine	Solvent	Nitrogen content ^a	Exchange capacity ^a	Residual Cl content ^a	
I	1.90	DEA-TMA	1/2 ^c	DMF ^d	1.03	0.90 ^e	—	—
II	2.50	DEA	1/2	DMF	1.00	1.26	1.09	52.5
IV	2.50	DMA	1/2	95%EtOH	1.53	1.64	0.60	75.6
V	2.50	DMA	1/2	DMF	1.70	1.81	0.55	77.6

a. The unit of all these items is mmol/g; b. DEA, TMA, and DMA are the abbreviations of diethanolamine, trimethylamine, and dimethylamine respectively; c. The mixed amines are composed of 20% TMA and 80% DEA; d. DMF is dimethylformamide; e. 0.90 is the total basic exchange capacity in which weakly-basic exchange capacity is 0.462 and strong one 0.434; f. Conversion percentage is calculated as in literature^[2]

在树脂Ⅰ—Ⅴ的红外光谱中,C—N键的伸缩振动吸收峰分别出现在1059.4、1037.9、1025.5和1025.6cm⁻¹,同时在Ⅰ和Ⅱ的红外光谱中还可见到羟基的振动吸收峰,说明相应的氨基已引入到树脂中。比较表1中的反应结果,可发现胺化试剂的影响。合成树脂Ⅰ时,二乙醇胺与三甲胺的摩尔投料比为80:20,而产物树脂Ⅰ中的弱碱交换量与强碱交换量的比例却只有0.462:0.434=1.07:1,远小于相应胺的投料比,说明二乙醇胺的反应活性小于三甲胺。同样,在类似的反应条件下,树脂Ⅱ的氮含量、交换量和转化率均小于树脂Ⅳ和Ⅴ的相应值,反映出二乙醇胺的反应活性也小于二甲胺。二乙醇胺反应活性较弱的原因一是它的亲核性较三甲胺和二甲胺弱;二是它的体积较大,不仅不易扩散到树脂的内部发生反应,而且反应时会有一定的位阻作用。比较树脂Ⅳ和Ⅴ的交换量及转化率,可观察到溶剂对反应结果的影响。N,N-二甲基甲酰胺对树脂的溶胀性能优于95%乙醇,有助于反应试剂进入树脂内部发生取代反应,结果树脂Ⅴ的弱碱交换量与反应转化率大于树脂Ⅳ。

2. 树脂Ⅰ—Ⅴ的物理结构表征

用常规方法测定树脂Ⅰ—Ⅴ的堆积密度、表观密度、骨架密度和比表面,并由此计算孔体积和平均孔半径,结果列于表2中。与原料树脂Ⅰ相比,树脂Ⅰ—Ⅴ的堆积密度和表观密度(Ⅱ例外)降低,骨架密度、孔体积和比表面均显著增大,说明树脂的孔结构在反应过程中发生了变化。可推测,引起孔结构改变的原因有两种。第一,与反应时所用的溶剂有关。树脂Ⅰ在聚合生成时,致孔剂汽油对树脂的溶胀作用较小,结果骨架间聚集较紧密,形成的孔数目少、孔径大。氯甲基化时的氯甲醚及胺化反应溶剂N,N-二甲基甲酰胺是树脂的良溶胀剂,会使树脂内部骨架间变得疏松,有可能使原来的骨架间微小空隙扩大为新孔或微小孔扩大为较大孔。这样,产物树脂的堆积密度和表观密度会因孔体积的增加而变小,而骨架密度则因测定时正庚烷能更充分地渗入产物树脂的小孔中而变大,这是在树脂研究中曾遇到过的现象^[3]。由于树脂为高交联结构,树脂球的外表面网状结构的扩张受到

限制,总的孔体积只能增大到一定程度,这样新孔的形成和微孔的扩张则导致树脂中不稳定大孔的体积缩小,使平均孔半径下降.结果,比表面的增加幅度会大于孔体积的增加幅度.比较树脂Ⅳ和Ⅴ,可发现树脂Ⅴ的平均孔半径较小而比表面较大,说明N,N-二甲基甲酰胺对孔结构的影响大于95%乙醇.第二,树脂中新引入的功能基影响树脂内部的作用力,进而影响孔结构.含二乙醇胺基的树脂Ⅲ和Ⅰ,基团之间能形成氢键,从而加强了树脂内部作用力,使树脂结构趋于紧密.因此,与含二甲胺基的树脂Ⅳ和Ⅴ相比,Ⅲ和Ⅰ的堆积密度和表观密度较大,而孔体积和比表面较小.此外,在胺化反应时,一分子仲胺有可能与两个氯甲基反应,形成交联键,产生新孔.

Tab. 2 The chracterization of the physical struotures of the resins I—V

Resin number	Densities(g/ml)			Pore volume (ml/g)	Specific surface area(m ² /g)	Average pore radius(nm)
	Stacked	Apparent	skeleton			
I	0.48	0.81	1.04	0.27	96.1	5.62
Ⅰ	0.41	0.73	1.12	0.48	187.1	5.15
Ⅲ	0.47	0.83	1.17	0.35	146.1	4.79
Ⅳ	0.36	0.70	1.13	0.54	306.3	3.53
Ⅴ	0.39	0.72	1.12	0.50	333.5	3.00

3. 树脂 I—V 对绞股蓝皂甙的吸附量

在树脂对绞股蓝皂甙的吸附实验中,用比色法定测定绞股蓝皂甙的浓度.文献报道,于60℃显色15min,即可稀释、测吸光度^[7].但我们发现显色反应在15min不能进行完全,吸光度随比色液放置时间延长而增大.经研究,显色反应需90min才能完全.在此条件下,用绞股蓝皂甙标准溶液测定得到如图1所示的工作曲线,并计算出回归方程.

吸附树脂对有机分子的吸附一般需要3.46s才达到平衡,考虑到绞股蓝皂甙的分子

量较大,我们以24小时的吸附量为平衡吸附量.在树脂吸附24小时,取溶液样品按上述条件进行比色分析,确定吸附终点时溶液中的绞股蓝皂甙浓度.由吸附前后绞股蓝皂甙的浓度差和所用树脂的重量,计算树脂的平衡吸附量,结果列于表3中.从表中结果可以看出,树脂Ⅰ引入胺基得到的树脂Ⅰ—Ⅳ对绞股蓝皂甙的吸附量增大,而且增大幅度与树脂的比表面增加成正比,说明比表面对吸附量有重要影响.但比表面并不是影响吸附量的唯一因素,树脂Ⅴ的比表面最大,吸附量却最小,也许是树脂的孔径分布和树脂中的功能基分布也起重要作用,有待于进行深入研究.

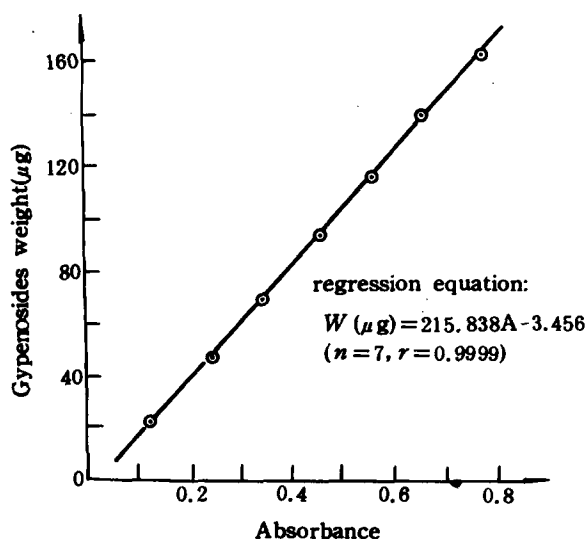


Fig. 2 The working curve and regression equation for the colorimetric analysis of gypenosides

Tab. 3 The adsorption capacity of the resins I — V for gypenosides

Resin number	Resin weight (g)	Gypenosides concentration in test beginning (mg/ml)	Colorimetric analysis in test termination			Adsorption capacity ^b (mg/g)
			Sample volume (μl)	Absorbance	Concentration ^a (mg/ml)	
I	0.2200	2.7617	50	0.440	1.8301	127.0
II	0.2204	2.7617	50	0.409	1.6963	143.0
III	0.2201	2.7617	50	0.437	1.8171	128.8
IV	0.2207	2.7617	50	0.314	1.2862	200.6
V	0.2210	2.7617	50	0.456	1.8991	117.1

a. The concentration of gypenosides was calculated from absorbance according to the regression equation as shown in figure 1; b. The adsorption capacity was calculated with the following formula: Capacity(mg/g)=[(C₀-C)·V]/W, where C₀ and C are considered as concentrations of gypenosides respectively in test beginning and termination, V is the used volume of gypenosides solution, and W is resin weight

吸附量 = $\frac{(\text{吸附前皂甙浓度} - \text{吸附后皂甙浓度}) \times \text{溶液体积}}{\text{树脂重量}}$

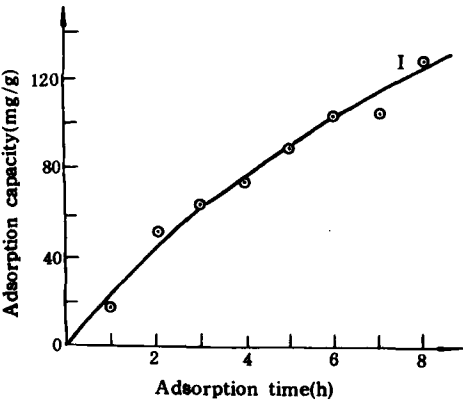


Fig. 3 The kinetic curve of the resin I in adsorbing gypenosides

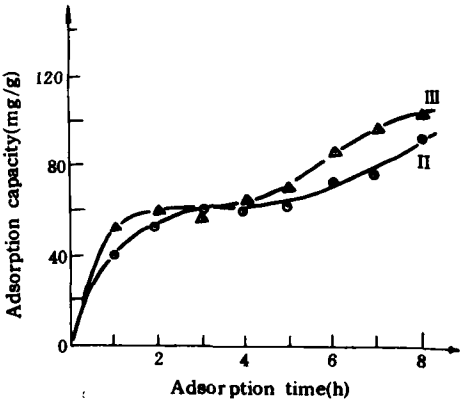


Fig. 4 The kinetic curve of the resin II and III in adsorbing gypenosides

4. 树脂 I — V 对绞股蓝皂甙的吸附动力学

分别测定树脂 I — V 在不同吸附时间对绞股蓝皂甙的吸附量,结果示于图3至图5中.从图中可以发现,树脂 I 的吸附量随吸附时间增加呈平缓上升趋势,说明该树脂的吸附是通过单一机理即通过树脂与甙元部分的疏水作用发生的;而树脂 II — V 的吸附动力学曲线中有一平台区,揭示这些树脂对绞股蓝皂甙的吸附经历了两种不同的机理.首先,绞股蓝皂甙通过其糖基的羟基与树脂中的胺基形成氢键而吸附在树脂上,并迅速达到第一个平衡;然后,绞股蓝皂甙的皂元部分通过疏水作用与树脂中的非极性表面产生吸附,直至达到最终平衡.由于吸附是在水溶液中进行,氢键吸附时皂甙的传质阻力小,故吸附速度较快;而树脂对皂甙的疏水吸附需要克服水相与树脂疏水区之间的介面能,因而是一个较慢的吸附过程.

观察图3至图5中的动力学曲线,可见树脂 I 对绞股蓝皂甙的吸附在8小时的吸附量已达到126.5mg/g,几乎与平衡吸附量相等,说明此时已接近吸附平衡;树脂 IV 的吸附平衡

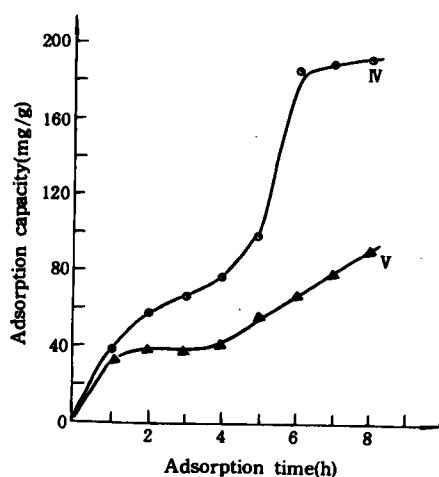


Fig. 5 The kinetic curve of the resin IV and V in adsorbing gypenosides

时间只需6小时;而树脂Ⅰ、Ⅲ和V在8小时的吸附量与平衡吸附量相差甚大,说明吸附平衡时间远在8小时以上.这种吸附速度的差异是由树脂中基团的性质不同及其在树脂中的分布不同所致.树脂Ⅰ、Ⅲ和V在合成时,溶剂N,N-二甲基甲酰胺能使树脂充分溶胀,生成的胺基均匀地分布在树脂的内外层.由于绞股蓝皂甙具有“U”型构象,其上端为3 β 和20S位的糖基,下端为甾元部分,因而树脂中的某一点或微区吸附皂甙只能采用一种机理,要么氢键吸附,要么疏水吸附.这样,当相邻两点或微区分别以不同机理吸皂甙时,两种机理会互相干扰,导致吸附速度下降.如果树脂中基团的极性越强(如树脂Ⅰ和Ⅲ)、基团的含量越高和分布越均匀(如树脂V),则这种干扰越甚,尤其在两

种机理的交替期更是如此,以致于在动力学曲线中出现较宽的平台.树脂IV合成时,溶剂95%乙醇对树脂的溶胀能力差,引入的胺基主要密集分布于树脂的外层.这样,绞股蓝皂甙吸附时只在内外层交界处有干扰,干扰程度小,吸附速度快;而且树脂IV的外层极性表面减少了水相与树脂相的介面能,使绞股蓝皂甙更容易从水相向树脂相传质.因此,树脂IV表现出最佳的动力学特征.

有关这些树脂的应用研究正在进行中.

参 考 文 献

- [1] Verpoorte, R., *J. Ethnopharmacol.*, **1989**, 25(1), 43
- [2] 马建标、范云鸽、赵芬芝、于占如、史作清、何炳林, *中国科学(B辑)*, **1991**, (8), 785
- [3] Jianbiao Ma, Jianmin Li, Limin Wang, Lanling He, Zuoqing Shi, Binglin He, The synthesis, structural characterizations, and adsorption properties of some multifunctional resins which adsorb gypenosides from an aqueous medium. Guilin International Symposium on Biopolymers and Fine Polymers, Guilin, P. R. China, October of **1991**, 128
- [4] 竹本常松,在原重信,中岛正,奥平惠, *药学杂志(日)*, **1983**, 103(2), 173
- [5] 徐世民,发明专利申请公开说明书, *CN86 104409A*
- [6] 钱庭宝, *离子交换剂应用技术*, 天津科学技术出版社, 天津, **1984**, 28
- [7] 何心亮, *中草药*, **1987**, 18(10), 447
- [8] 范云鸽、史作清、施荣富、张晴、何炳林, *中国化学会第六次反应性高分子(离子交换与吸附)学术讨论会预印集*, 离子交换与吸附编辑部编辑出版, **1990**, 81

THE SYNTHESIS OF POROUS WEAKLY-BASIC RESINS WITH LOW EXCHANGE CAPACITIES AND THEIR PROPERTIES IN THE ADSORPTION OF GYPENOSIDES

MA Jianbiao, WANG Limin, LI Jianmin,
ZHAO Cunxiang, SHI Zuoqing, HE Binglin

(*Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin, Post code: 300071*)

ABSTRACT

Four porous weakly-basic resins (I — V) were synthesized from a highly-crosslinked polystyrene resin s-008(I) through its chloromethylation and a successive aminoation. The structures of the resins were characterized and their properties in the adsorption of gypenosides were then determined. The results showed that the adsorption capacities and kinetics of these resins were influenced by both their physical and chemical structures.

Key words Weakly-basic resin, Polymeric adsorbent, Gypenosides