

离子液体在高速逆流色谱分离制备天然产物中的研究进展

张霞^{1,2}, 黄新异^{1,2}, 郝泉³, 邸多隆^{1,2*}

¹中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室/甘肃省天然药物重点实验室, 兰州 730000;

²中国科学院大学, 北京 100049; ³兰州佛慈制药股份有限公司, 兰州 730000

摘要:近年来, 离子液体在天然产物的分离分析中得到了广泛的应用。本文主要介绍了离子液体在高速逆流色谱技术中分离制备天然产物的应用研究进展, 特别是对其作为高速逆流色谱两相溶剂改性剂在天然产物分离制备领域的应用发展作了详细介绍, 并对其未来发展方向进行了展望。

关键词:离子液体; 高速逆流色谱; 天然产物; 改性剂

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)9-1621-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.9.022

Advance in the separation and preparation of natural products for ionic liquids by high-speed counter-current chromatography

ZHANG Xia^{1,2}, HUANG Xin-yi^{1,2}, HAO Quan³, DI Duo-long^{1,2*}

¹CAS Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for

Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou 730000, China

Abstract: Ionic liquids are widely used in separation and analysis of natural products in recent years. This review mainly focuses on the research progress of ionic liquids in separation and analysis of natural products by high-speed counter-current chromatography. Especially, as a two-phase solvent modifier for high-speed counter-current chromatography, there are detailed introductions of application and development for ionic liquids used in separation and preparation of natural products. Meanwhile, the future development direction of ionic liquids is also prospected in this review.

Key words: ionic liquids; high-speed counter-current chromatography; natural products; solvent modifiers

离子液体(ionic liquids, ILs), 又名室温离子液体, 通常指在室温或接近室温温度下由阴阳离子构成的熔融盐。Walden等^[1]于1914年合成了第一个ILs硝酸乙胺([Et₃N(NO₃)]), 但[Et₃N(NO₃)]极不稳定; 直到1992年, Wikes等^[2]才合成了稳定性强、熔点低的1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐([EMIM]BF₄), 自此ILs开始迅速发展起来。常见的ILs根据阳离子不同可分为4类^[3], 如图1所示, 分别为: 烷基季磷离子[PR_xH_{4-x}]⁺、烷基季铵离子[NR_xH_{4-x}]⁺、N-烷基取代的吡啶离子[RPy]⁺和N,N'

-二烷基取代的咪唑离子[R₁R₃IM]⁺。根据阴离子的不同可分为两大类, 分别为: 卤素离子和含F、P、S的多种离子, 如BF₄⁻、PF₆⁻、NO₃⁻、PO₄⁻、CF₃COO⁻、CF₃SO₃⁻等。由于ILs阴阳离子的可设计性及其稳定性好、溶解性好、蒸汽压低、熔点低、制备简单等优点^[4,5], ILs在高速逆流色谱(high-speed counter-current chromatography, HSCCC)、高效液相色谱^[6-8]、气相色谱^[9-11]、毛细管电泳^[12-14]等技术中得到广泛的应用。其中, 近年来在HSCCC分离制备天然产物领域得到快速发展。合适的HSCCC溶剂系统是实现在目标物质高效分离的关键, 溶剂系统的筛选是HSCCC分离目标物质的重要步骤, 而选择合适的溶剂系统是一个相对耗时的过程^[15]。以ILs作为HSCCC溶剂系统改性剂时, 通过改变K值、固定相保留率

收稿日期: 2020-02-07 接受日期: 2020-07-16

基金项目: 国家自然科学基金(21175142, 21505144); 国家重大新药创制重大科技专项(2018ZX09711001-001-002)

* 通信作者 Tel: 86-931-4968248; E-mail: didl@licp.cas.cn

和分离度 α , 可以缩短分离时间, 提高洗脱效果, 从而达到理想的分离效果, 为天然产物的分离制备提供了一种实用、快速的新方法^[16,17]。本文主要综述了 ILs 作为 HSCCC 两相溶剂系统的改性剂, 应用于天然产物分离制备领域的研究进展。

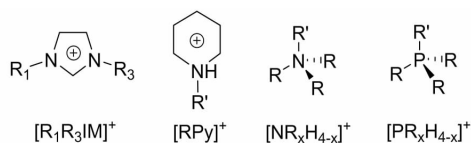


图 1 离子液体中常见的 4 种阳离子类型

Fig. 1 The common four cations of ionic liquids

1 ILs 作为 HSCCC 溶剂系统流动相改性剂的研究

1.1 [C₄MIM][PF₆] 作为 HSCCC 溶剂系统流动相改性剂

[C₄MIM][PF₆] 作为 HSCCC 溶剂系统流动相改性剂, 已广泛地应用于天然产物的分离制备。Xu 等^[18]以新芒果苷、芒果苷为目标化合物, 考察了不

同 ILs 作为 HSCCC 改性剂对 K 值的影响, 结果显示: 在有机溶剂系统中加入 ILs 可使其 K 值得到明显的改善, 见表 1。由于新芒果苷和芒果苷中存在羟基和葡萄糖基团等强极性基团, 导致其在有机溶剂中的溶解度低, 而 ILs 的加入可以增加有机溶剂的极性, 同时增加目标物在有机溶剂中的溶解度。因此, ILs 对目标物 K 值的改善作用主要受其极性的影响, 极性越大的 ILs 对 K 值的改善作用越大。ILs 的碳链长度影响其极性大小, 通常碳链越长极性越弱, 根据碳链的长度, 当阴离子相同时, ILs 阳离子的极性顺序如下: [C₄MIM]⁺ > [C₆MIM]⁺ > [C₈MIM]⁺。最终选择乙酸乙酯-水-[C₄MIM][PF₆](5:5:0.2, V/V) 作为两相溶剂系统, 从 150 mg 知母粗提取中分离出 70.6 mg 的芒果苷和 22.5 mg 的新芒果苷, 纯度分别为 98.1% 和 97.2%。实验表明: ILs 成功地用作 HSCCC 两相溶剂系统的改性剂, 能有效地改善某些极性化合物的配分, 可以用于分离某些强极性化合物。

表 1 几种溶剂系统中目标组分的 K 值

Table 1 The K-values of target components measured in several solvent systems

溶剂系统 Solvent system (V/V)	K 值(新芒果苷) K-value(neomangiferin)	K 值(芒果苷) K-value(mangiferin)
乙酸乙酯-水(5:5) Ethyl acetate-water(5:5)	0.07	0.08
乙酸乙酯-水-甲醇(5:5:1) Ethyl acetate-water-methanol(5:5:1)	-	0.15
乙酸乙酯-水-甲醇(5:5:1.5) Ethyl acetate-water-methanol(5:5:1.5)	-	0.26
乙酸乙酯-水-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.1) Ethyl acetate-water-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.1)	0.23	0.46
乙酸乙酯-水-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.2) Ethyl acetate-water-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.2)	0.25	0.49
乙酸乙酯-水-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.4) Ethyl acetate-water-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.4)	0.28	0.53
乙酸乙酯-水-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.6) Ethyl acetate-water-[C ₄ MIM][PF ₆](5:5:0.6)	0.30	0.56
乙酸乙酯-水-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.1) Ethyl acetate-water-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.1)	0.21	0.42
乙酸乙酯-水-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.2) Ethyl acetate-water-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.2)	0.23	0.45
乙酸乙酯-水-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.4) Ethyl acetate-water-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.4)	0.26	0.49
乙酸乙酯-水-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.6) Ethyl acetate-water-[C ₆ MIM][PF ₆](5:5:0.6)	0.28	0.51
乙酸乙酯-水-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.1) Ethyl acetate-water-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.1)	0.19	0.38
乙酸乙酯-水-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.2) Ethyl acetate-water-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.2)	0.21	0.40
乙酸乙酯-水-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.4) Ethyl acetate-water-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.4)	0.24	0.43
乙酸乙酯-水-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.6) Ethyl acetate-water-[C ₈ MIM][PF ₆](5:5:0.6)	0.26	0.45

Zhu 等^[19]以正己烷-乙酸乙酯-乙醇-水-冰醋酸(1:1:1:1:0.05, V/V) 为溶剂系统, 从 50 mg 槐花粗提物分离制备得到的槲皮素 9.6 mg 和芦丁 18.2 mg, 且纯度均大于 97%。加入 [C₄MIM][PF₆] 时,

两化合物的分离度从 0.9 提高至 1.8, 实现完全分离, 并且出峰时间由 85 min 提前至 55 min, 分离效果大大提高。其分离机理可能是: 目标化合物和咪唑类阳离子之间的氢键起着关键作用, PF₆⁻ 的电负

性可能缩短了化合物的出峰时间。此研究为其它黄酮类化合物在 HSCCC 中的分离提供了有效依据,为 ILs 在 HSCCC 中的进一步应用提供了参考。

Wang 等^[20]考察了 3 种 ILs 及其浓度对乙酸乙酯-水系统中黄芩苷(I)和汉黄芩苷(II)K 值的影响。结果表明: I 在乙酸乙酯-水中的 K 值仅为 0.14,而 ILs 的加入可以明显提高其 K 值,且随 ILs 浓度的增加,K 值明显增大,见表 2;ILs 浓度相同时,碳链越短 K 值越大,见图 2。可能是由于: I 和 II 都有一个羧基和羟基,使其在有机溶剂中的溶解度较低,ILs 的加入可明显提高溶剂系统的极性,且

表 2 在几种溶剂体系中测定的目标组分的 K 值

Table 2 K-values of target components measured in several solvent systems

乙酸乙酯-水-[C ₄ MIM][PF ₆] Ethyl acetate-water-[C ₄ MIM][PF ₆]	K 值(I) K-value(I)	K 值(II) K-value(II)
5:5:0	0.14	1.76
5:5:0.1	0.40	2.71
5:5:0.2	0.57	3.56
5:5:0.4	0.84	5.62
5:5:0.6	1.13	7.43

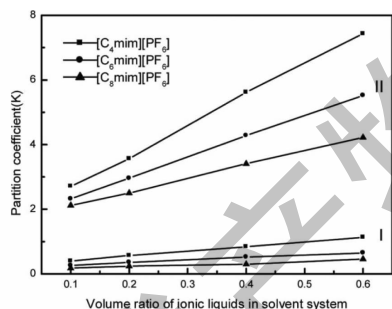


图 2 离子液体种类和浓度对乙酸乙酯-水体系中黄芩苷(I)和汉黄芩苷(II)K 值的影响

Fig. 2 The effect of the kind and concentration of ionic liquids on K-values of baicalin (I) and wogonoside (II) in ethyl acetate-water

Li^[21]使用了 ILs 溶剂系统甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-1% 三氟乙酸水-[C₄MIM][PF₆](2:4:1:5:0.2, V/V)分离茄皮色素粗提物,并与传统的 HSCCC 溶剂系统甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-1% 三氟乙酸水(2:4:1:5, V/V)作对比。结果表明:[C₄MIM][PF₆]的加入使飞燕草素-3-芸香糖苷的纯度由 55.85% 提升到 95.79%。作者还进一步研究了 HSCCC 目标化合物中 ILs 的去除方法,分别尝试了大孔树脂吸附、无机吸附及有机溶剂萃取,发现大孔树脂吸

ILs 浓度越大对极性的提高越明显,进而使 I 和 II 的 K 值均增大。此外,碳链的长度影响 ILs 的极性,碳链越短极性越强,对 K 值的影响越大。最终以乙酸乙酯-水-[C₄MIM][PF₆](5:5:0.2, V/V)为溶剂系统,此时, I 和 II 的 K 值分别为 0.57 和 3.56,从 120 mg 的黄芩粗提物中分离制备得到 50.1 mg 黄芩苷和 45.6 mg 汉黄芩苷,纯度分别为 99.3% 和 99.1%。ILs 的加入可以改善极性化合物在溶剂系统中的分配,可为 HSCCC 分离极性化合物提供依据。

附的去除效果较好^[22]。本实验表明,阳离子结构主要影响范德华力,而阴离子则主要影响氢键相互作用。含有不同阴离子的 ILs 影响大小依次为:[C₄MIM][Cl] > [C₄MIM][Br] > [C₄MIM][I] > [C₄MIM][BF₄] > [C₄MIM][PF₆],而含不同阳离子的 ILs 在本实验中的影响并不明显。此方法为天然产物中强极性同系物的分离制备提供了参考。

1.2 其它[C₄MIM]⁺型 ILs 作为 HSCCC 溶剂系统流动相改性剂

Wu 等^[23]以石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水-[C₄MIM][BF₄](1:5:1:5:0.15, V/V)为两相溶剂系统,从 100 mg 荷叶粗提物分离制备得到了 4 种生物碱:N-去甲基荷叶碱 4.3 mg、原荷叶碱 1.7 mg、莲碱 2.1 mg 和荷叶碱 3.1 mg,纯度分别为 92.25%、90.53%、98.63% 和 99.86%。结果表明:在溶剂系统中添加[C₄MIM][BF₄]可以明显降低 4 种生物碱的 K 值,且[C₄MIM][BF₄]浓度越大 K 值越小,当溶剂系统为石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水-[C₄MIM][BF₄](1:5:1:5:0.15, V/V)时,4 种生物碱的 K 值分别由 1.93、2.12、4.48 和 7.43 降低至 0.52、0.92、1.38 和 2.16。其机理是:[C₄MIM][BF₄]为亲水性 IL 在两相中起盐化作用,与 4 种生物碱的疏水部分

以离子形式结合,增加其在下相中的分配系数,并使K值降低。在溶剂系统中添加ILs可提高HSCCC分离荷叶生物碱的效率,为HSCCC分离制备生物碱提供新的思路。

Ruiz-Angel等^[24]提出了新型双水相液体系统(ATPS)[BMIM][Cl]-K₂HPO₄-水,将其与传统聚乙二醇(PEG 1000、PEG 10000)-K₂HPO₄ATPS进行比较,使用Sanki流体静力学柱和J型流体动力学的HSCCC柱来测定固定相保留率。与PEG 1000 ATPS相比,[C₄MIM][Cl] ATPS更容易保留在两个HSCCC柱中,当利用蛋白质和醇溶物作为目标物时,卵清蛋白完全分配于[C₄MIM][Cl] ATPS的上相(K=180),而在PEG 1000 ATPS的两相之间平均分布(K=1.4)。结果表明:[C₄MIM][Cl] ATPS与PEG 1000 ATPS的区别主要有2个:其一是密度差异,在相似的组成下,上相离子液相的密度明显低于上相聚乙二醇相,导致ILs ATPSs的相密度差较大,这种密度差使得ILs ATPS比PEG ATPS更容易保留在HSCCC柱中;其二为极性差异,ILs上相的极性明显低于相应的聚乙二醇上相。据估计,绝大多数化合物的辛醇/水分配系数大于0.02(log Po/w > -1.7),能较好地在ILs上相进行分配。当使用蛋白质作为样品时,[C₄MIM][Cl] ATPS的相饱和速度非常快,为进一步寻找合适的ILs ATPS分离蛋白质提供了参考。

1.3 其它[RMIM]⁺型ILs作为HSCCC溶剂系统流动相改性剂

Wang等^[25]发现在溶剂系统正辛醇-水、正己醇-水、正戊醇-水、正丁醇-水和乙酸乙酯-水中,[AMIM][Cl]、[MAMIM][Cl]、[C₄MIM][Cl]等均能增加目标化合物在下相中的溶解度,使目标化合物在两相溶剂系统中的K值呈剂量依赖性下降。因此,只要在系统中加入一定的ILs,就有可能得到K=1的合适溶剂系统。作者以传统中药牛蒡子提取物为目标物,在HSCCC中成功分离了牛蒡子苷,同时验证了ILs的两种性质,即盐析效应和盐溶效应。在两相中加入ILs后,缩短了固定相的沉淀时间,有利于HSCCC柱保持更多的固定相;降低了K值,缩短了目标化合物的洗脱时间。因此,加入适当的ILs有利于HSCCC目标化合物的分离。ILs盐析

法分离天然产物时,ILs的浓度是一个重要的参数,在某些情况下(高浓度的ILs,如>50%时),溶剂系统的两相可以部分或完全消除。

Wang等^[26]利用以ILs为基础的盐溶HSCCC法分离疏水性丹参酮,实验发现随着ILs[AMIM][Cl]、[MAMIM][Cl]、[C₄MIM][Cl]浓度的增加,3种丹参酮(丹参酮I、丹参酮II A和1,2-二氢丹参酮)的K值逐渐降低,其中当ILs为[AMIM][Cl]时,3种丹参酮的K值最低。当两相溶剂系统为正己烷-乙酸乙酯-甲醇-10% [AMIM][Cl] (5:5:6:4, V/V)时,HSCCC分离效果最佳;然后使用乙酸乙酯反萃法除去离子液体,从40 mg丹参酮样品中得到了5 mg丹参酮I、15 mg丹参酮II A和8 mg 1,2-二氢丹参酮,纯度均大于95%。其机制可能是ILs的盐溶效应,在两相溶液中加入ILs时,目标化合物在有机相中的溶解度降低,而在水相中的溶解度增加。此外,不同侧链烷基结构的ILs具有不同的盐溶能力,[AMIM]Cl的盐溶效应最强,导致其两相溶剂系统中3种丹参酮的K值最低。

Chen等^[27]以山柰酚-3-O-β-D-(2-O-β-D-葡萄糖基)-吡喃葡萄糖苷(KMP)和山柰酚-3,4'-di-O-β-D-葡萄糖苷(KMG)为目标化合物,以正丁醇-水-[EMIM][Cl] (5:5:0.2, V/V/m)为溶剂系统,从1 g甘蓝型油菜花粉粗提液中分离得到14.6 mg KMG和11.8 mg KMP,纯度均在95%以上。实验表明,随着ILs浓度的增加,KMG和KMP的K值逐渐降低,可能是ILs作为添加剂时与目标化合物之间产生了氢键相互作用。研究还发现,短烷基链咪唑阳离子对K值的改善作用更大,[EMIM]⁺可以在相对较低的浓度下获得合适的K值。此外,随着正丁醇-水系统中ILs含量的增加,两相溶剂开始互溶。因此,ILs不仅与KMG和KMP相互作用,而且在两物质上下相分配中起桥梁作用。Chen等^[28]还选择了一系列咪唑阴离子ILs([MMIM][BF₄]⁻、[EMIM][BF₄]⁻、[PrMIM][BF₄]⁻和[BMIM][BF₄]⁻)和4种结构相似的茶多酚[(-)-没食子儿茶素-没食子酸盐(GCG)、(-)-表儿茶素-3-没食子酸盐(ECG)、(-)-表儿茶素盐(EC)和(-)-表没食子儿茶素-3-没食子酸盐(EGCG)]分别做为改性剂和目标化合物。结果显示,在乙酸乙酯-水溶剂系统中加入0.6 mol/L

[MMIM][BF₄]时,(-)-表儿茶素-3-没食子酸盐的K值可由30.46降至3.47。研究表明,改变ILs的浓度可以使溶剂系统的筛选更加简单。通过红外光谱和核磁共振光谱研究茶多酚与ILs的相互作用,发现ILs与目标化合物之间的主要作用力可能是静电引力。同时,发现EGCG、EC、GCG、ECG 4种化合物与含有阴离子[Br]⁻、[Cl]⁻的ILs发生了反应,其机理有待进一步研究。

Müller等^[29]评估了ILs在HSCCC中分离非极性脂质软脂酸甘油酯(PPP)和硬脂酸胆固醇酯(CS)的适用性。首先选择了4种ILs([C₁₀MIM][OTf]、[C₂MIM][NTf₂]、[P66614][NTf₂]和[P66614][Cl]),将一种与IL混溶的有机溶剂和一种与IL不混溶的有机溶剂进行组合,加入IL后,发现有24个组合从单相混合物变成了两相。此外,在两种都不与IL混溶的有机溶剂组合中加入IL,有9个组合从单相混合物变成了两相。最后对这33种溶剂系统的相比、沉淀时间和上相中IL的比例进行了研究,发现正庚烷-氯仿-[C₁₀MIM][OTf](3:3:1,V/V)为最佳溶剂系统,首次实现了PPP和CS的部分分离,PPP和CS的K值分别为8.1和7.7。这个研究表明在非极性溶剂系统中,ILs可以用于HSCCC分离PPP和CS,而且长烷基链阳离子ILs是最有效的。PPP和CS作为极性最低的脂类化合物,其部分分离支持了HSCCC的应用可能没有边界的观点。然而,作者只能检测了少量的ILs,因此有必要对不同种类的ILs进行深入的研究。

2 ILs作为HSCCC溶剂系统固定相改性剂的研究

Du等^[30]尝试以[C₄MIM][PF₆]为固定相,改变乙腈和水的比例作为流动相,用来测试[C₄MIM][PF₆]的保留值与流动相流速的关系。当蛋白质标品溶液浓度为4 g/L,溶剂系统乙腈-水-[C₄MIM][PF₆]的体积比为1.3:2:1时,固定相的保留率大于33.3%,结果表明:木瓜蛋白和胃蛋白酶可通过乙腈-水-[C₄MIM][PF₆]溶剂系统实现HSCCC分离;[C₄MIM][PF₆]的保留值与流动相的流速有关,流速越大,固定相保留值越小。ILs用于HSCCC溶剂系统固定相的研究较少,因为ILs的粘度相对较大^[31,32],固定相保留值相对较小,限制了其作为HSCCC溶剂系统固定相的应用。

3 ILs作为HSCCC溶剂系统手性选择剂的研究

[C₄MIM]⁺型ILs也可以络合氨基酸和金属离子,并作为手性配体和传统的手性选择剂在HSCCC中发挥协同作用分离对映体。Wang等^[33]以Cu(II)络合的氨基酸ILs(Cu(II)-[C₄MIM][L-Pro])为手性配体,并与羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)结合,当两相溶剂系统为正庚烷-乙酸乙酯-乙腈-0.2 mol/L醋酸钠缓冲液(7:3:3:7,V/V)时,在HSCCC中成功分离了柚皮素(NRG)外消旋体。在最佳条件下,从纯度为98%的10 mg NRG外消旋体中成功分离出4.5 mg(+)-NRG和4.1 mg(-)-NRG。紫外-可见光谱和核磁共振光谱阐明了双手性选择物的手性识别机理,表明对映体的拆分是由Cu(II)、[C₄MIM][L-Pro]、HP-β-CD和NRG的四元络合物的热力学稳定性差异决定的。结果表明,基于Cu(II)-[C₄MIM][L-Pro]与HP-β-CD协同作用机制的HSCCC系统对手性化合物的拆分性能较好,在天然产物的手性分离制备方面具有较大的应用潜力。

4 类ILs在HSCCC中的应用研究

此外,低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DESs)也被认为是ILs的一种特殊形式。2003年,Abbott等^[34]首次发现季铵盐和酰胺类化合物可以形成低温共熔体系,并称之为DESs。DESs通常由羧酸、醇等(氢键供体)和季铵盐等有机盐(氢键受体)组成的低温共熔体系,溶解性、密度、熔点、挥发性和电导率等物化性质都与ILs非常类似^[35]。

DESs已经成功应用于HSCCC,Roehrer等^[36]首次将DESs作为水的替代品引入HSCCC两相系统中,对DES的种类和溶剂系统的比例进行考察。最佳溶剂系统为庚烷-乙醇-DES(30:40:30,m/m),其中DES为氯化胆碱-乙酰丙酸(1:2),此时,四种疏水性化合物柚皮素、视黄醇、α-生育酚和β-紫罗酮的K值分别由2.45、3.77、5.68和12.0降低至0.05、0.79、1.25和3.24,在最佳条件下被成功分离。结果证明:DESs适用于HSCCC两相系统,与常规的两相溶剂系统相比,加入DES可以将这些疏水性化合物的K值调整到优选范围,在HSCCC分离天然产物方面显示出了巨大的潜力。

5 结论与展望

ILs作为HSCCC两相溶剂系统改性剂用于天然

产物分离制备时,展现出良好的应用前景。首先,ILs 结构可设计性的特点在天然产物分离制备时为 HSCCC 提供了更加丰富的溶剂系统。ILs 作为 HSCCC 溶剂系统的改性剂,在提高分离效率、拓展分离目标范围、改善分离参数、增加对目标化合物选择性分离等方面显示出许多优势。其次,ILs 不仅可以作为固定相流动相的改性剂,而且可以作为手性配体与传统手性选择剂协同进行手性分离。因 ILs 的阴阳离子有不同的组合方式,阳离子主要影响范德华力,阴离子主要影响氢键相互作用,所以将 ILs 应用于 HSCCC 分离制备天然产物活性成分时,不仅可以分离非极性化合物,还可以分离极性化合物。但 ILs 用于 HSCCC 改性剂时也存在一定的缺陷,如在制备高纯度天然产物时不易除去而影响其纯度,或者除去 ILs 耗时费力等。另一方面,筛选理想的 HSCCC 溶剂系统没有理论性指导,目前 HSCCC 溶剂系统大多是三元或四元溶剂体系,如果再在其中加入 ILs 后,筛选适宜的 HSCCC 溶剂系统的工作将更加繁琐、耗时。尽管存在以上缺陷,但 ILs 作为 HSCCC 溶剂系统改性剂在分离制备天然产物领域,仍然是未来 HSCCC 发展与研究的重要内容之一。

预期未来发展的重点,一方面是通过 HSCCC 溶剂系统、ILs 和目标物质之间物化性质、构效关系、分离机理等方面的系统性研究,构建可快速、精准指导筛选 HSCCC 溶剂系统的理论体系、数学模型等;另一方面,根据分离天然产物的化学结构、物化性质,利用 ILs 的可设计性定向设计合成系列用于 HSCCC 溶剂系统的新型 ILs 改性剂,以期进一步提高 HSCCC 在分离制备天然产物中的分离效率。相信随着人们对 ILs 和 HSCCC 的进一步研究,ILs 在 HSCCC 分离中的应用前景会更加广阔。

参考文献

- 1 Sugden S, et al. The parachor and chemical constitution. Part XII. Fused metals and salts [J]. *J Chem Soc*, 1929, 1: 1291-1298.
- 2 Wilkes JS, et al. Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids [J]. *J Chem Soc Chem Comm*, 1992, 13: 965-967.
- 3 Welton T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis [J]. *Chem Rev*, 1999, 99: 2071-2083.

- 4 Bonhote P, et al. Hydrophobic, highly conductive ambient-temperature molten salts [J]. *Inorg Chem*, 1996, 35: 1168-1178.
- 5 Seddon KR. Ionic liquids for clean technology [J]. *J Chem Tech Biotechnol*, 1997, 68, 351-356.
- 6 Sutton AT, et al. Natural deep eutectic solvents as the major mobile phase components in high-performance liquid chromatography-searching for alternatives to organic solvents [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410: 3705-3713.
- 7 Bian M, et al. An improved method of simultaneous determination of four bioactive compounds in *Evodiae Fructus* using ionic liquids as mobile phase additives in high performance liquid chromatography [J]. *Chem Res Chin U*, 2017, 33: 552-558.
- 8 Zhang DD, et al. Fabrication of an ionic-liquid-based polymer monolithic column and its application in the fractionation of proteins from complex biosamples [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41: 1923-1929.
- 9 Rodriguez-Sanchez S, et al. Evaluation of different ionic liquid stationary phases for the analysis of carbohydrates by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411: 7461-7472.
- 10 Odugbesi GA, et al. Ultra-high thermal stability perarylated ionic liquids as gas chromatographic stationary phases for the selective separation of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1604: 460-466.
- 11 Mazzucotellia M, et al. Ionic liquids as stationary phases for gas chromatography-unusual selectivity of ionic liquids with a phosphonium cation and different anions in the flavor, fragrance and essential oil analyses [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1583: 124-135.
- 12 Ma XF, et al. Synthesis and application of amino alcohol-derived chiral ionic liquids, as additives for enantioseparation in capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1601: 340-349.
- 13 Ma XF, et al. Evaluation of an ionic liquid chiral selector based on clindamycin phosphate in capillary electrophoresis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411: 5855-5866.
- 14 Souza ID, et al. Polymeric ionic liquid open tubular capillary column for on-line intube SPME coupled with UHPLC-MS/MS to determine endocannabinoids in plasma samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1045: 108-116.
- 15 Ito Y. Golden rules and pitfalls in selecting optimum condi-

- tions for high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1065 (2): 145-168.
- 16 Quan KJ, et al. Separation study of strong polar polypeptide from sea cucumber by high speed countercurrent chromatography [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 311-317.
- 17 Wang Y, et al. The influence of the solvent system polarity for the isolation of polyphenols of olive leaves by high-speed counter-current chromatography [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 496-501.
- 18 Xu LL, et al. Preparative isolation of neomangiferin and mangiferin from *Rhizoma anemarrhenae* by high-speed counter-current chromatography using ionic liquids as a two-phase solvent system modifier [J]. J Sep Sci, 2010, 33: 31-36.
- 19 Zhu XN, et al. Preparative separation of flavones from *Sophora japonica* by high-speed counter-current chromatography [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2012, 24: 1833-1836.
- 20 Wang R, et al. Preparative isolation of baicalin and wogonoside from *Scutellariae Radix* by high-speed counter-current chromatography by using ionic liquids as the modifier of two-phase solvent system [J]. J Liq Chromatogr R T, 2014, 37: 2275-2286.
- 21 Li Nai. Ionic liquids modified counter-current chromatography systems and the application in bio-separation [D]. Beijing: Beijing Technology and Business University (北京工商大学), 2015.
- 22 Pei D, et al. Different ionic liquid modified hypercrosslinked polystyrene resin for purification of catechins from aqueous solution [J]. Colloid Surface A, 2016, 509: 158-165.
- 23 Wu N, et al. Isolation and purification of alkaloids from lotus leaves by ionic-liquid-modified high-speed counter-current chromatography [J]. J Sep Sci, 2018, 41: 571-577.
- 24 Ruiz-Angel MJ, et al. Solvent systems for counter-current chromatography: an aqueous two phase liquid system based on a room temperature ionic liquid [J]. J Chromatogr A, 2007, 1151: 65-73.
- 25 Wang YY, et al. Room temperature ionic liquids-based salting-in strategy for counter-current chromatography in the separation of arctiin [J]. J Chromatogr A, 2016, 1478: 26-34.
- 26 Wang YY, et al. Salting-in counter-current chromatography separation of tanshinones based on room temperature ionic liquids [J]. J Chromatogr A, 2018, 1559: 149-155.
- 27 Chen XF, et al. Effect of ionic liquids on preparative separation of flavonoid compounds in the extract from *Brassica napus* L. pollen using high-performance counter-current chromatography [J]. Sep Sci Technol, 2013, 48: 2890-2899.
- 28 Chen XF, et al. Effect of ionic liquid on separation and purification of tea polyphenols using counter-current chromatography [J]. Asian J Chem, 2014, 26: 2271-2276.
- 29 Müller M, et al. Development of solvent systems with room temperature ionic liquids for the counter-current chromatographic (CCC) separation of very nonpolar lipid compounds [J]. J Chromatogr A, 2017, 1488: 68-76.
- 30 Du JL, et al. Separation of proteins by ionic liquid high-speed counter-current chromatography [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2009, 37 (A02): 155-155.
- 31 Carda-Broch S, et al. Solvent properties of the 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ionic liquid [J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 375: 191-199.
- 32 Berthod A, et al. A new class of solvents for CCC: the room temperature ionic liquids [J]. J Liq Chrom Rel Technol, 2003, 26: 1493-1508.
- 33 Wang SS, et al. Development of a high-speed counter-current chromatography system with Cu(II)-chiral ionic liquid complexes and hydroxypropyl- β -cyclodextrin as dual chiral selectors for enantioseparation of naringenin [J]. J Chromatogr A, 2016, 1471: 155-163.
- 34 Abbott AP, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chem Commun, 2003, 1: 70-71.
- 35 Abbott AP, et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126: 9142-9147.
- 36 Roehrer S, et al. Deep eutectic solvents in countercurrent and centrifugal partition chromatography [J]. J Chromatogr A, 2016, 1434: 102-110.