



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106831937 A

(43)申请公布日 2017.06.13

(21)申请号 201710115897.6

(22)申请日 2017.03.01

(71)申请人 桂林三棱生物科技有限公司

地址 541200 广西壮族自治区桂林市永福县苏桥经济开发区长江东路5-1号

(72)发明人 毛武德 唐荣军 张学梅 聂元壮

(74)专利代理机构 桂林市华杰专利商标事务所
有限责任公司 45112

代理人 陆梦云

(51) Int. Cl.

C07J 73/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法

(57)摘要

本发明公开了一种采用膜分离技术分离雷公藤甲素的方法,以乙醇溶液为溶剂提取的雷公藤为原料,经粗过滤,再用适当的膜进行分离除杂,去除大分子杂质后得雷公藤甲素粗品,进一步浓缩,过一次硅胶柱,即可得纯度为99%以上的雷公藤甲素无色针状结晶产品。本发明取代了传统工艺中先用大量有机溶剂进行萃取后再多次过柱层析的方法,简化了工艺,可常温分离,对热敏性物质不会产生破坏,并大量节约有毒的有机溶剂,保护环境,降低生产成本,且收率高,安全可靠,具有很强的经济竞争力,符合国家倡导的绿色发展中药理念。

1. 一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 醇提:将雷公藤药材粉碎成30~50目,按质量比加入5~10倍的,浓度为70%~85%乙醇溶液,回流提取2~4次,每次3~5小时,合并提取液,得到雷公藤提取液;

2) 浓缩:将步骤1)中的雷公藤提取液浓缩至原有体积的1/3~1/5,获得相对密度为1.05~1.08的雷公藤浓缩液;

3) 离心:将步骤2)中获得的雷公藤浓缩液放置在转速为3000~4000转/分的离心机上离心,收集上清液;

4) 精滤:将步骤3)中获得的上清液,使用滤芯为200nm陶瓷膜进行过滤,获得精滤液;

5) 超滤:将步骤4)中获得的精滤液,用压力为0.50~1.0MPa的泵打循环,再经1000分子量的超滤膜过滤并截留,得雷公藤透析液;

6) 柱层析:将步骤5)中获得的雷公藤透析液浓缩至干,获得雷公藤透析液浸膏,在浸膏中加入有机溶剂溶解,干法拌样后,在常压的情况下,使用目数为200~300目的硅胶柱进行柱层析,采用湿法装柱的方式,用体积比为1~5:1乙酸乙酯/石油醚混合溶剂洗脱,收集洗脱液;

7) 结晶:将步骤6)中的洗脱液浓缩至干,得到雷公藤甲素粗品,在雷公藤甲素粗品中,加入有机溶剂溶解,(充分搅拌后),在温度2~8℃的环境中静置析晶,静置析晶的时间为8~14小时,所得无色针状结晶的雷公藤甲素,以此方法获得的雷公藤甲素的纯度为99%。

2. 根据权利要求1所述的采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤1)中的雷公藤药材粉为40目,乙醇溶液的浓度为80%,质量比加入8倍的,回流提取为3次,每次提取时间为4小时。

3. 根据权利要求1所述的采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤2)中的所述的雷公藤浓缩液的体积为原有体积1/4,相对密度为1.07。

4. 根据权利要求1所述的采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤6)中的,乙酸乙酯/石油醚混合溶剂的最佳体积比为1:1。

5. 根据权利要求1所述的一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤6)中的有机溶剂为二氯甲烷或者乙酸乙酯。

6. 根据权利要求1所述的采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤7)的最佳环境温度为5℃,最佳静置析晶的时间为12小时。

7. 根据权利要求1所述的采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,其特征在于,所述的步骤7)中的有机溶剂优选以下体系:甲醇、石油醚/乙酸乙酯、二氯甲烷/石油醚、环己烷/乙酸乙酯。

一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法。

背景技术

[0002] 雷公藤(拉丁学名Tripterygium wilfordii Hook. f.),又叫黄藤、黄腊藤、菜虫药等,是一个有着悠久、广泛应用历史的中药。为卫矛科雷公藤属植物雷公藤的根。本品味苦、辛,性凉,大毒。归肝、肾经。功效祛风除湿、通络止痛、消肿止痛、解毒杀虫。用于湿热结节、癌瘤积毒,临床上用其治疗麻风反应、类风湿性关节炎等,有抗肿瘤、抗炎等作用。雷公藤的主要成分为二萜类、三萜类及生物碱类。

[0003] 雷公藤甲素又称雷公藤内酯、雷公藤内酯醇,是从卫矛科植物雷公藤中提取的一种环氧二萜内酯化合物,为雷公藤提取物的主要活性成分,研究表明它具有抗氧化,抗类风湿,抗老年性痴呆症、抗癌等功效。雷公藤甲素作为单一成分可以很好控制剂量,也可作为结构改造的嵌体,其需求量越来越大。

[0004] 但是雷公藤甲素在雷公藤中的含量极低,目前主要采用药材经多次萃取,常压反复过硅胶柱层析进行分离,得率也很低,据文献报道,植物分离得率仅为0.001%,而且提取分离过程中有毒溶剂消耗大,对操作人员毒性也很大。目前的工艺普遍存在工艺复杂、耗时长、成本高、对环境污染大等缺陷。

发明内容

[0005] 针对现有技术的缺点,本发明提供一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,该方法能快速分离且可提高雷公藤甲素收率,而且工艺简单,便于实施,降低了生产成本,对环境的污染非常少,能保护操作人员的人身安全,提高了提取效率和收率,具有很强的经济竞争力。

[0006] 实现本发明目的的技术方案是:

一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,包括如下步骤:

1) 醇提:将雷公藤药材粉碎成30~50目,按质量比加入5~10倍的浓度为70%~85%乙醇溶液,回流提取2~3次,每次3~5小时,过滤,合并提取液,得到雷公藤提取液;

2) 浓缩:将步骤2)中的雷公藤提取液浓缩至原有体积的1/3~1/5得到相对密度为1.05~1.08的雷公藤浓缩液;

3) 离心:将步骤3)中获得的雷公藤浓缩液放置在转速为3000~4000转/分的离心机上离心,收集上清液;

4) 精滤:将步骤3)中获得的上清液,使用滤芯为200nm陶瓷膜进行过滤,获得精滤液,

超滤:将步骤4)中获得的精滤液,用压力为0.50~1.0MPa的泵打循环,再经1000分子量的超滤膜过滤并截留,得雷公藤透析液。

[0007] 5) 柱层析:将步骤5)中获得的雷公藤透析液浓缩至干,获得雷公藤透析液浸膏,在

浸膏中加入有机溶剂溶解,干法拌样后,在常压的情况下,使用目数为200~300目的硅胶柱进行柱层析,采用湿法装柱的方式,用乙酸乙酯/石油醚混合溶剂洗脱,收集洗脱液;

所述的步骤6)中的有机溶剂为二氯甲烷或者乙酸乙酯,

所述的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂的体积比为1~5:1;

6) 结晶:将步骤6)中的洗脱液浓缩至干,得到雷公藤甲素粗品,在雷公藤甲素粗品中,加入有机溶剂溶解,(充分搅拌后),在温度2~8℃的环境中静置析晶,静置析晶的时间为8~14小时,所得无色针状结晶的雷公藤甲素,以此方法获得的雷公藤甲素的纯度为99%;

所述的步骤7)中的有机溶剂优选以下体系:甲醇、石油醚/乙酸乙酯、二氯甲烷/石油醚、环己烷/乙酸乙酯,

有益效果

本发明提供了一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,该方法从雷公藤中分离出高纯雷公藤甲素,工艺简单,易于操作;直接用膜进行预处理,避免使用大量有机溶剂多次萃取,不仅降低了生产成本,而且对环境的污染非常少,保护了操作人员的人身安全;提高了提取效率和收率,具有很强的经济竞争力。

具体实施方式

[0008] 下面结合实施例对本发明内容做进一步的阐述,但不是对本发明内容的限定,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,根据本发明的技术方案及其发明构思加以等同替换或改变,都应涵盖在本发明的保护范围内。

实施例

[0009] 一种采用膜分离技术制备高纯度雷公藤甲素的方法,包括如下步骤:

1) 醇提:将雷公藤药材粉碎成30~50目,最佳为40目,按质量比加入5~10倍的,最佳为8倍的,浓度为70%~85%乙醇溶液,最佳的乙醇溶液的浓度为80%,回流提取2~4次,最佳为3次,每次3~5小时,最佳时间为4小时过滤,合并提取液,得到雷公藤提取液;

2) 浓缩:将步骤2)中的雷公藤提取液浓缩至原有体积的1/3~1/5得到相对密度为1.05~1.08的雷公藤浓缩液,最佳相对密度为1.07;

3) 离心:将步骤3)中获得的雷公藤浓缩液放置在转速为3000~4000转/分的离心机上离心,最佳转速为3500转/分,收集上清液;

4) 精滤:将步骤3)中获得的上清液,使用滤芯为200nm陶瓷膜进行过滤,获得精滤液;

超滤:将步骤4)中获得的精滤液,用压力为0.50~1.0MPa的泵打循环,泵的最佳压力为0.75MPa,再经1000分子量的超滤膜过滤并截留,得雷公藤透析液。

[0010] 5) 柱层析:将步骤5)中获得的雷公藤透析液浓缩至干,获得雷公藤透析液浸膏,在浸膏中加入有机溶剂溶解,干法拌样后,在常压的情况下,使用目数为200~300目的硅胶柱进行柱层析,采用湿法装柱的方式,用体积比为1~5:1乙酸乙酯/石油醚混合溶剂洗脱,收集洗脱液,乙酸乙酯/石油醚混合溶剂的最佳体积比为1:1;

所述的步骤6)中的有机溶剂为二氯甲烷或者乙酸乙酯;

6) 结晶:将步骤6)中的洗脱液浓缩至干,得到雷公藤甲素粗品,在雷公藤甲素粗品中,加入有机溶剂溶解,(充分搅拌后),在温度2~8℃的环境中静置析晶,最佳环境温度为5℃,

静置析晶的时间为8-14小时,最佳静置析晶的时间为12小时,所得无色针状结晶的雷公藤甲素,以此方法获得的雷公藤甲素的纯度为99%;

所述的步骤7)中的有机溶剂优选以下体系:甲醇、石油醚/乙酸乙酯、二氯甲烷/石油醚、环己烷/乙酸乙酯。

[0011] 实施例1

将雷公藤药材250Kg(雷公藤甲素的含量为0.0036%),粉碎成30~50目,装入提取容器中,按质量比加入2000Kg 80%乙醇溶液,回流提取3次,每次4小时,过滤,合并提取液;

将雷公藤提取液打入浓缩罐,浓缩至相对密度为1.07;

将浓缩后的溶液离心,收集上清液;

用200nm陶瓷膜滤芯过滤;

经精滤后的雷公藤提取液用泵打入膜过滤系统,在0.50~1.0MPa的条件下,经分子量为1000的超滤膜过滤,得雷公藤透析液;

将雷公藤透析液浓缩至干,得浸膏0.51Kg,用二氯甲烷溶解,干法拌样后进行常压过硅胶柱(硅胶为200~300目,13 Kg,湿法装直径为300mm的柱),用乙酸乙酯/石油醚混合溶剂(1:1)洗脱,收集洗脱液;

将洗脱液浓缩至干,得雷公藤甲素粗品9.5g,将粗品用甲醇溶解后于4℃下静置析晶12小时,将结晶过滤,干燥,得雷公藤甲素纯品8.5g,经高效液相色谱仪检测,含量为99.5%。

[0012] 实施例2

将雷公藤药材400Kg(雷公藤甲素的含量为0.0041%),粉碎成30~50目,装入提取容器中,按质量比加入2500Kg 75%乙醇溶液,回流提取3次,每次5小时,过滤,合并提取液;

将雷公藤提取液打入浓缩罐,浓缩至相对密度为1.06;

将浓缩后的溶液离心,收集上清液;

用200nm陶瓷膜滤芯过滤;

经精滤后的雷公藤提取液用泵打入膜过滤系统,在0.50~1.0MPa的条件下,经分子量为1000的超滤膜过滤,得雷公藤透析液;

将雷公藤透析液浓缩至干,得浸膏0.86Kg,用乙酸乙酯溶解,干法拌样后进行常压过硅胶柱(硅胶为200~300目,15 Kg,湿法装直径为350mm的柱),用乙酸乙酯/石油醚混合溶剂(1.5:1)洗脱,收集洗脱液;

将洗脱液浓缩至干,得雷公藤甲素粗品17.0g,将粗品用二氯甲烷-石油醚(1:1)溶解后于4℃下静置析晶12小时,将结晶过滤,干燥,得雷公藤甲素纯品15.6g,经高效液相色谱仪检测,含量为99.8%。

[0013] 实施例3

将雷公藤药材350Kg(雷公藤甲素的含量为0.0032%),粉碎成30~50目,装入提取容器中,按质量比加入2100Kg 80%乙醇溶液,回流提取3次,每次4.5小时,过滤,合并提取液;

将雷公藤提取液打入浓缩罐,浓缩至相对密度为1.08;

将浓缩后的溶液离心,收集上清液;

用200nm陶瓷膜滤芯过滤;

经精滤后的雷公藤提取液用泵打入膜过滤系统,在0.50~1.0MPa的条件下,经分子量为1000的超滤膜过滤,得雷公藤透析液;

将雷公藤透析液浓缩至干,得浸膏0.62Kg,用二氯甲烷溶解,干法拌样后进行常压过硅胶柱(硅胶为200~300目,16Kg,湿法装直径为400mm的柱),用乙酸乙酯/石油醚混合溶剂(2:1)洗脱,收集洗脱液;

将洗脱液浓缩至干,得雷公藤甲素粗品12.3g,将粗品用乙酸乙酯-石油醚(1:2)溶解后于4℃下静置析晶12小时,将结晶过滤,干燥,得雷公藤甲素纯品10.4g,经高效液相色谱仪检测,含量为99.4%。

[0014] 测定雷公藤甲素的含量方法:

称取雷公藤甲素样品10mg,置100ml量瓶中,加甲醇溶解,并定容,作为供试品溶液;称取雷公藤甲素对照品适量,加甲醇溶解并制成每1ml含0.1mg的溶液作为对照品溶液。

[0015] 色谱条件:色谱柱:Diamonsil C18(4.6*250mm,5 μ m),流动相:甲醇-水(45:55),流速:0.8ml/min。

[0016] 检测波长:220nm,柱温:35℃,进样量:10 μ l。

[0017] 经检测以上方法制备的雷公藤雷甲素的含量均在99%以上。