



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102050737 A

(43) 申请公布日 2011. 05. 11

(21) 申请号 201010582400. X

(22) 申请日 2010. 12. 10

(71) 申请人 山东胜利股份有限公司

地址 250101 山东省济南市高新区天辰大街
2238 号

(72) 发明人 胡江林 王斌 王永恒 赵硕珍

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所
37218

代理人 李桂存

(51) Int. Cl.

C07C 69/675 (2006. 01)

C07C 67/58 (2006. 01)

C07C 67/52 (2006. 01)

C07C 67/48 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种截短侧耳素的提取纯化方法

(57) 摘要

本发明公开了一种截短侧耳素的提取纯化方法,步骤为:将截短侧耳素干菌丝用甲基异丁基甲酮浸取,处理得粗品;粗品用甲醇溶解,先后用石油醚和乙酸丁酯萃取,经浓缩、结晶、乙醚洗涤、活性炭脱色得截短侧耳素成品。本发明在浸提截短侧耳素粗品时采用甲基异丁基甲酮代替乙酸丁酯,提取率增高,高于 90%,在纯化过程中,通过选择合适的工艺步骤及萃取、洗涤剂,除去截短侧耳素中所含的杂质,纯化度高,所含截短侧耳素纯度在 98% 以上。

1. 一种截短侧耳素的提取纯化方法,其特征是包括以下步骤:

(1) 截短侧耳素粗品提取

将截短侧耳素干菌丝用甲基异丁基甲酮浸取多次,浸取后压滤得浸取液,浸取液浓缩、结晶、过滤、干燥得截短侧耳素粗品;

(2) 纯化

2.1 将截短侧耳素粗品加入甲醇水溶液中,搅拌至全溶;

2.2 将上述溶液减压浓缩,浓缩至溶液沸点明显升高,馏出物基本无甲醇为止;

2.3 向浓缩液中加入石油醚进行搅拌萃取,静置分层后进行分离,取水相,水相再次加入石油醚进行搅拌萃取,静置分层后分离得水相;

2.4 将水相加入乙酸丁酯进行搅拌萃取,静置分层进行分离,取水相再次用乙酸丁酯萃取,两次萃取的乙酸乙酯相合并进入下一步;

2.5 将上述乙酸乙酯相在浓缩结晶罐中进行真空蒸发,浓缩至溶液粘稠、基本无溶剂蒸出为止,然后向浓缩液中加入乙醚,逐渐降温至 0-4℃,在此温度下结晶;

2.6 晶体完全析出后,将结晶分离,用冷乙醚洗涤,洗涤后过滤、干燥;

2.7 将干燥后的晶体用乙酸乙酯溶解,用活性炭脱色,然后溶液滤去活性炭,采用步骤 2.5、2.6 的方法进行浓缩、结晶、过滤、干燥得截短侧耳素。

2. 根据权利要求 1 所述的提取纯化方法,其特征是截短侧耳素粗品提取的具体步骤为:

1.1 向截短侧耳素干菌丝中加入甲基异丁基甲酮浸取三次,浸取后压滤,将三次所得的浸取液合并,第一次浸取所用截短侧耳素(g)与 甲基异丁基甲酮 (ml) 的比值为 1 :3-5,后两次浸取所用截短侧耳素(g)与甲基异丁基甲酮 (ml) 的比值为 1 :2-4,每次浸取时间均为 1h;

1.2 浸取液用降膜浓缩器浓缩至晶体含量为 15 ~ 20wt%,然后转入结晶罐,在缓慢搅拌条件下,以 5 ~ 10℃ /h 的降温速度降至 0-4℃,保温至晶体完全析出;

1.3 将晶体分离,用预冷的甲基异丁基甲酮洗涤,然后过滤,用真空干燥器干燥至晶体含湿量 ≤ 2% 得截短侧耳素粗品;

1.4 将结晶母液和甲基异丁基甲酮洗涤液合并,浓缩至截短侧耳素含量 ≥ 20%,然后降温结晶、甲基异丁基甲酮洗涤得截短侧耳素粗品,与步骤 1.3 中粗品混合,浓缩所得的甲基异丁基甲酮循环利用。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法,其特征是:步骤 2.1 中,截短侧耳素粗品(g)与甲醇水溶液 (ml) 的比值为 1:8-15,甲醇水溶液的浓度为 50-70 体积 %。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法,其特征是:步骤 2.3 中,第一次萃取时,石油醚的加入量为浓缩液的 30-50 体积 %,第二次萃取时,石油醚的加入量为水相的 30-50 体积 %,萃取时间均为 15min。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法,其特征是:步骤 2.4 中,两次萃取乙酸乙酯的加入量(ml)为截短侧耳素粗品(g)的 8-15 倍,萃取时间为 30min。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法,其特征是:步骤 2.5 中,乙醚的加入量(ml)为浓缩液(g)的 8-15 倍,降温速度为 5 ~ 10℃ /h。

7. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法,其特征是:步骤 2.6 中,晶体干燥至干燥

失重低于 1%，干燥所用设备为真空烘箱或双锥干燥机。

8. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法，其特征是：步骤 2.5 的结晶母液和步骤 2.6 的乙醚洗涤液合并，蒸馏回收乙醚。

9. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法，其特征是：步骤 2.7 中，乙酸乙酯的加入量(m1)为晶体(g)的 8-15 倍，脱色时活性炭的用量为溶液的 3-5wt%，脱色温度为 50-60℃，脱色时间为 30min。

10. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取纯化方法，其特征是：步骤 2.1 中，截短侧耳素粗品(g)与甲醇水溶液(m1)的比值为 1:10，甲醇水溶液的浓度为 60 体积%；步骤 2.4 中，两次萃取乙酸乙酯的加入量(m1)为截短侧耳素粗品(g)的 10 倍；步骤 2.5 中，乙醚的加入量(m1)为浓缩液(g)的 10 倍；步骤 2.7 中，乙酸乙酯的加入量(m1)为晶体(g)的 10 倍。

一种截短侧耳素的提取纯化方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种兽药的提取纯化方法,具体涉及一种截短侧耳素的提取纯化方法,属于药物制备技术领域。

背景技术

[0002] 截短侧耳素(Pleuromutilin)是由侧耳菌(Pleurotus mutilus)产生的一类广谱的二萜烯类抗生素,它通过作用于细菌核糖体 50S 亚基,抑制蛋白质合成,导致菌体死亡。截短侧耳素类是一大类具有较好抗菌活性的抗生素家族,主要用作家禽和家畜的饲料添加剂,在饲料中添加该类物质,可有效预防许多传染病,例如能够有效抑制革兰氏阳性菌,尤其以葡萄球菌、链球菌最为明显,同时对于支原体感染也有治疗作用。截短侧耳素还用作截短侧耳素类半合成衍生物的前体,目前已有衍生物泰妙菌素和沃尼妙林,它的许多衍生物的抑菌活性和范围比截短侧耳素强,同时抗菌谱更广泛。

[0003] 专利 200510122954.0 公开了一种泰妙菌素合成过程中用的截短侧耳素原料的制备方法,专利 201010180181.2 公开了一种截短侧耳素的溶剂提取工艺,专利 200910073722.9 公开了一种截短侧耳素提取工艺,专利 200810046089.X 公开了一种高纯度截短侧耳素原料的发酵提取制备方法。在这些工艺中一般采用乙酸丁酯或甲醇、乙醇浸提截短侧耳素,也有采用甲基异丁基甲酮作为浸提剂,这些方法虽然提取率高,但是所得产品带有杂质,其纯度不高,且不易纯化。

发明内容

[0004] 本发明针对上述不足,提供了一种截短侧耳素的提取纯化方法,该方法能够提高截短侧耳素的提取率,且所得产品纯度高,在 98% 以上。

[0005] 本发明是通过以下措施实现的:

一种截短侧耳素的提取纯化方法,其特征是包括以下步骤:

(1) 截短侧耳素粗品提取

将截短侧耳素干菌丝用甲基异丁基甲酮浸取多次,浸取后压滤得浸取液,浸取液浓缩、结晶、过滤、干燥得截短侧耳素粗品;

(2) 纯化

2.1 将截短侧耳素粗品加入甲醇水溶液中,搅拌至全溶;

2.2 将上述溶液减压浓缩,浓缩至溶液沸点明显升高,馏出物基本无甲醇为止;

2.3 向浓缩液中加入石油醚进行搅拌萃取,静置分层后进行分离,取水相,水相再次加入石油醚进行搅拌萃取,静置分层后分离得水相;

2.4 将水相加入乙酸丁酯进行搅拌萃取,静置分层进行分离,取水相再次用乙酸丁酯萃取,两次萃取的乙酸乙酯相合并进入下一步;

2.5 将上述乙酸乙酯相在浓缩结晶罐中进行真空蒸发,浓缩至溶液粘稠、基本无溶剂蒸出为止,然后向浓缩液中加入乙醚,逐渐降温至 0-4℃,在此温度下结晶;

2.6 晶体完全析出后,将结晶分离,用冷乙醚洗涤,洗涤后过滤、干燥;

2.7 将干燥后的晶体用乙酸乙酯溶解,用活性炭脱色,然后溶液滤去活性炭,采用步骤 2.5、2.6 的方法进行浓缩、结晶、过滤、干燥得截短侧耳素。

[0006] 上述提取纯化方法中,截短侧耳素粗品提取的具体步骤为:

1.1 向截短侧耳素干菌丝中加入甲基异丁基甲酮浸取三次,浸取后压滤,将三次所得的浸取液合并,第一次浸取所用截短侧耳素(g)与甲基异丁基甲酮(ml)的比值为 1:3-5,后两次浸取所用截短侧耳素(g)与甲基异丁基甲酮(ml)的比值为 1:2-4,每次浸取时间均为 1h;

1.2 浸取液用降膜浓缩器浓缩至晶体含量为 15~20wt%,然后转入结晶罐,在缓慢搅拌条件下,以 5~10℃/h 的降温速度降至 0-4℃,保温至晶体完全析出;

1.3 将晶体分离,用预冷的甲基异丁基甲酮洗涤,然后过滤,用真空干燥器干燥至晶体含湿量≤2%得截短侧耳素粗品;

1.4 将结晶母液和甲基异丁基甲酮洗涤液合并,浓缩至截短侧耳素含量≥20%,然后降温结晶、甲基异丁基甲酮洗涤得截短侧耳素粗品,与步骤 1.3 中粗品混合,浓缩所得的甲基异丁基甲酮循环利用。

[0007] 上述提取纯化方法中,步骤 2.1 中,截短侧耳素粗品(g)与甲醇水溶液(ml)的比值为 1:8-15,甲醇水溶液的浓度为 50-70 体积%。

[0008] 上述提取纯化方法中,步骤 2.3 中,第一次萃取时,石油醚的加入量为浓缩液的 30-50 体积%,第二次萃取时,石油醚的加入量为水相的 30-50 体积%,萃取时间均为 15min。

[0009] 上述提取纯化方法中,步骤 2.4 中,两次萃取乙酸乙酯的加入量(ml)为截短侧耳素粗品(g)的 8-15 倍,萃取时间为 30min。

[0010] 上述提取纯化方法中,步骤 2.5 中,乙醚的加入量(ml)为浓缩液(g)的 8-15 倍,降温速度为 5~10℃/h。

[0011] 上述提取纯化方法中,步骤 2.6 中,晶体干燥至干燥失重低于 1%,干燥所用设备为真空烘箱或双锥干燥机。

[0012] 上述提取纯化方法中,步骤 2.5 的结晶母液和步骤 2.6 的乙醚洗涤液合并,蒸馏回收乙醚。

[0013] 上述提取纯化方法中,步骤 2.7 中,乙酸乙酯的加入量(ml)为晶体(g)的 8-15 倍,脱色时活性炭的用量为溶液的 3-5wt%,脱色温度为 50-60℃,脱色时间为 30min。

[0014] 上述提取纯化方法中,步骤 2.1 中,截短侧耳素粗品(g)与甲醇水溶液(ml)的比值为 1:10,甲醇水溶液的浓度为 60 体积%;步骤 2.4 中,两次萃取乙酸乙酯的加入量(ml)为截短侧耳素粗品(g)的 10 倍;步骤 2.5 中,乙醚的加入量(ml)为浓缩液(g)的 10 倍;步骤 2.7 中,乙酸乙酯的加入量(ml)为晶体(g)的 10 倍。

[0015] 本发明的提取纯化方法是以发酵所得的截短侧耳素干菌丝为原料的,截短侧耳素干菌丝的制备为现有技术,并不是本发明的创新点,本领域技术人员可以根据现有技术的记载制备截短侧耳素干菌丝。

[0016] 有益效果:本发明在浸提截短侧耳素粗品时采用甲基异丁基甲酮代替乙酸丁酯,提取率增高,高于 90%,在纯化过程中,通过选择合适的工艺步骤及萃取、洗涤剂,除去截短侧耳素中所含的杂质,纯化度高,所含截短侧耳素纯度在 98% 以上。

具体实施方式

[0017] 下面通过具体实施例对本发明进行进一步的阐述,应该明白的是,下述说明仅是为了解释本发明,并不对其内容进行限定。

[0018] 实施例 1

一、截短侧耳素粗品提取

1、向截短侧耳素干菌丝中加入 3 倍(g :ml) 的甲基异丁基甲酮(MIBK),搅拌浸取 1 小时,浸取结束后过滤,浸取液经精过滤后进入浓缩器,菌丝再用 4 倍 MIBK 浸取两次,每次 1 小时,浸取结束后压滤,所得浸取液合并进入浓缩器。压滤所用设备为板框压滤机。

[0019] 2、浸取液用降膜浓缩器浓缩至接近析出晶体(晶体含量约为 15 ~ 20wt%),浓缩液迅速转入结晶罐,在缓慢搅拌条件下,浓缩液以 5-10℃ /h 的降温速度缓慢降温,降至 0-4℃,在此温度保温,晶体逐渐析出,直至结晶完全。

[0020] 3、将结晶分离,用温度在 0-4℃之间的甲基异丁基甲酮洗涤晶体,然后再次过滤,洗涤液并入结晶母液,晶体用真空干燥器干燥至含湿量 $\leq 2\%$,得截短侧耳素粗品。

[0021] 4、将结晶母液和甲基异丁基甲酮洗涤液混合,再次用浓缩器浓缩至截短侧耳素含量 $\geq 20\%$,然后用结晶罐进行降温结晶,晶体经洗涤,干燥得截短侧耳素粗品,与上面得到的粗品混合,浓缩蒸馏所得的溶剂 MIBK 可循环使用。

[0022] 二、截短侧耳素粗品纯化

1、将截短侧耳素粗品用 60 体积 % 的甲醇水溶液溶解,甲醇水溶液的量粗品的 12 倍(质量 :体积), 将溶液用浓缩器减压浓缩,蒸发至溶液沸点明显升高,馏出物基本没有甲醇为止(密度计检测)。此时开始有固体析出,需注意避免堵塞管路,将浓缩液转移入萃取罐。

[0023] 2、向萃取罐加入浓缩液 40 体积 % 量的石油醚,搅拌 15 分钟,静置分层,分离将上层醚相转入暂存罐,下层水相转入另一萃取罐,向水相再次加入水相 40 体积 % 量的石油醚,搅拌 15 分钟,静置分层,分离将两次醚相合并,蒸馏回收石油醚,剩余的残渣为杂质。

[0024] 3、将石油醚两次萃取后所得的水相用乙酸丁酯萃取,搅拌萃取 30min,静置分层,分离将水相再用乙酸丁酯萃取一次,搅拌萃取 30min,静置分层,分离将两次萃取所得的乙酸丁酯相混合,进入浓缩结晶罐,两次所加乙酸丁酯的体积用量(ml) 为截短侧耳素粗品的质量(g) 的 10 倍。

[0025] 4、乙酸丁酯相在浓缩结晶罐中真空加热蒸发,浓缩至粘稠、基本无溶剂蒸出为止,然后在搅拌下向浓缩液中加入乙醚,在 5-10℃ /h 的降温速度缓慢降温至 0-4℃,保温至晶体析出完全,乙醚的用量(ml) 为浓缩液(g) 的 10 倍。使用过滤器或离心机进行晶体分离,用温度 0-4℃的冷乙醚洗涤晶体,晶体用真空烘箱或双锥干燥机干燥至干燥失重低于 1%。将结晶母液和乙醚洗涤液混合,蒸馏回收乙醚,所得残渣为杂质。

[0026] 5、将上述干燥的晶体加入乙酸乙酯,在脱色罐中搅拌升温至完全溶解,乙酸乙酯加入量(ml) 为晶体质量的 10 倍。在溶液中加入 3 ~ 5wt% 的活性炭,在 50-60℃搅拌脱色 30 分钟,溶液在保温条件下经活性炭过滤器过滤后,进入浓缩结晶罐。经降温浓缩结晶、过滤干燥得截短侧耳素,纯度为 99.5%,收率高于 90%。

[0027] 实施例 2

方法步骤同实施例 1,不同的是:

一、截短侧耳素粗品提取

1、开始,向截短侧耳素干菌丝(g)中加入 5 倍的甲基异丁基甲酮(ml)进行浸取,然后菌丝再用 2 倍的 MIBK 浸取两次。

[0028] 二、截短侧耳素粗品纯化

1、将截短侧耳素粗品用 65 体积 % 的甲醇水溶液溶解,甲醇水溶液的量 of 粗品的 10 倍(质量:体积)。

[0029] 2、第一次萃取石油醚的加入量为浓缩液的 50 体积 %,第二次萃取石油醚的加入量为水相的 30 体积 %。

[0030] 3、乙酸丁酯萃取时,两次所加乙酸丁酯的体积用量(ml)为截短侧耳素粗品的质量(g)的 8 倍。

[0031] 4、乙醚的用量(ml)为浓缩液(g)的 8 倍。

[0032] 5、乙酸乙酯加入量(ml)为晶体质量的 8 倍。最终所得截短侧耳素纯度为 98.9%,收率高于 90%。

[0033] 实施例 3

方法步骤同实施例 1,不同的是:

一、截短侧耳素粗品提取

1、开始,向截短侧耳素干菌丝(g)中加入 5 倍的甲基异丁基甲酮(ml)进行浸取,然后菌丝再用 2 倍的 MIBK 浸取两次。

[0034] 二、截短侧耳素粗品纯化

1、将截短侧耳素粗品用 70 体积 % 的甲醇水溶液溶解,甲醇水溶液的量 of 粗品的 8 倍(质量:体积)。

[0035] 2、第一次萃取石油醚的加入量为浓缩液的 30 体积 %,第二次萃取石油醚的加入量为水相的 50 体积 %。

[0036] 3、乙酸丁酯萃取时,两次所加乙酸丁酯的体积用量(ml)为截短侧耳素粗品的质量(g)的 15 倍。

[0037] 4、乙醚的用量(ml)为浓缩液(g)的 9 倍。

[0038] 5、乙酸乙酯加入量(ml)为晶体质量的 9 倍。最终所得截短侧耳素纯度为 98.3%,收率高于 90%。

[0039] 实施例 4

方法步骤同实施例 1,不同的是:

一、截短侧耳素粗品提取

1、开始,向截短侧耳素干菌丝(g)中加入 4 倍的甲基异丁基甲酮(ml)进行浸取,然后菌丝再用 3 倍的 MIBK 浸取两次。

[0040] 二、截短侧耳素粗品纯化

1、将截短侧耳素粗品用 60 体积 % 的甲醇水溶液溶解,甲醇水溶液的量 of 粗品的 12 倍(质量:体积)。

[0041] 2、第一次萃取石油醚的加入量为浓缩液的 40 体积 %,第二次萃取石油醚的加入量为水相的 50 体积 %。

[0042] 3、乙酸丁酯萃取时,两次所加乙酸丁酯的体积用量(ml)为截短侧耳素粗品的质量(g)的 9 倍。

[0043] 4、乙醚的用量(ml)为浓缩液(g)的 15 倍。

[0044] 5、乙酸乙酯加入量(ml)为晶体质量的 15 倍。最终所得截短侧耳素纯度为 98.5%,收率高于 90%。