



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103804326 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 21

(21) 申请号 201210460414. 3

(22) 申请日 2012. 11. 15

(71) 申请人 刘胜远

地址 116000 辽宁省大连市沙河口区桃山二
巷 4 号 5-6-3

(72) 发明人 刘胜远

(51) Int. Cl.

C07D 305/14 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭Ⅲ的浸膏分离
和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭Ⅲ的方法

(57) 摘要

一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭Ⅲ的浸膏分离
和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭Ⅲ的方法, 涉及分离
纯化 10- 去乙酰基巴卡亭Ⅲ的技术领域, 该方法
包括如下步骤: 萃取、正相层析、结晶、反相层析
和结晶, 本发明有益效果是既保证了高纯度又保
证了高收率, 萃取用有机溶剂、层析用填料和层析
用有机溶剂都可以重复使用。

1. 一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法, 所述方法包括如下步骤:

- (1)用乙醇水溶液溶解含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏;
- (2)用有机溶剂萃取步骤(1)溶解 10- 去乙酰基巴卡亭III的溶液;
- (3)干燥萃取相,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末 I;
- (4)用正相色谱纯化固体粉末 I,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分;
- (5)干燥步骤(4)得到的含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末 II;
- (6)结晶固体粉末 II;
- (7)干燥步骤(6)得到的晶体,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末III;
- (8)用反相色谱纯化固体粉末III,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分;
- (9)干燥步骤(8)得到的含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末IV;
- (10)结晶固体粉末IV;
- (11)干燥步骤(10)得到的晶体,得到高纯度 10- 去乙酰基巴卡亭III。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述方法步骤(1)中浸膏含有紫杉醇、7- 木糖-10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱和 13- 乙酰基-9- 羟基巴卡亭III。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述方法步骤(1)中乙醇水溶液的酒精度是 40 ~ 60。

4. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述方法步骤(2)中有机溶剂是二氯甲烷或乙酸乙酯。

5. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述方法步骤(4)中正相色谱条件:固定相是硅胶,流动相是二氯甲烷和无水乙醇,体积比是二氯甲烷/无水乙醇=100/5 ~ 10,上样量是每 100g 的硅胶单次纯化 1 ~ 20g 的固体粉末 I。

6. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述方法步骤(8)中反相色谱条件:固定相是 C_{18} ,流动相是乙腈和超纯水,体积比是乙腈/超纯水=100/80 ~ 120,上样量是每 100g 的 C_{18} 单次纯化 1 ~ 10g 的固体粉末III。

一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及分离纯化 10- 去乙酰基巴卡亭III的技术领域,具体涉及一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法。

背景技术

[0002] 紫杉醇是红豆杉属植物中的一种复杂的次生代谢产物,也是目前所了解的惟一种可以促进微管聚合和稳定已聚合微管的药物。同位素示踪表明,紫杉醇只结合到聚合的微管上,不与未聚合的微管蛋白二聚体反应。细胞接触紫杉醇后会在细胞内积累大量的微管,这些微管的积累干扰了细胞的各种功能,特别是使细胞分裂停止于有丝分裂期,阻断了细胞的正常分裂。通过 II - III临床研究,紫杉醇主要适用于卵巢癌和乳腺癌,对肺癌、大肠癌、黑色素瘤、头颈部癌、淋巴瘤、脑瘤也都有一定疗效。

[0003] 10- 去乙酰基巴卡亭III可以通过化学方法转化为紫杉醇,所以制备 10- 去乙酰基巴卡亭III是有重大的意义。

发明内容

[0004] 现有技术中如果想得到高纯度 10- 去乙酰基巴卡亭III,必然 10- 去乙酰基巴卡亭III收率会降低。实际生产中纯度和收率是一对矛盾。本发明提供了一种既能保证高纯度又能保证高收率的分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法。

[0005] 本发明提供了一种从含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法,所述方法包括如下步骤:

[0006] (1)用乙醇水溶液溶解含 10- 去乙酰基巴卡亭III的浸膏;

[0007] (2)用有机溶剂萃取步骤(1)溶解 10- 去乙酰基巴卡亭III的溶液;

[0008] (3)干燥萃取相,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末 I;

[0009] (4)用正相色谱纯化固体粉末 I,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分;

[0010] (5)干燥步骤(4)得到的含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末 II;

[0011] (6)结晶固体粉末 II;

[0012] (7)干燥步骤(6)得到的晶体,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末III;

[0013] (8)用反相色谱纯化固体粉末III,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分;

[0014] (9)干燥步骤(8)得到的含 10- 去乙酰基巴卡亭III的馏分,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭III的固体粉末IV;

[0015] (10)结晶固体粉末IV;

[0016] (11)干燥步骤(10)得到的晶体,得到高纯度 10- 去乙酰基巴卡亭III。

[0017] 所述方法步骤(1)中浸膏优选为含有紫杉醇、7- 木糖 -10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱和 13- 乙酰基 -9- 羟基巴卡亭

III。

[0018] 所述方法步骤(1)中乙醇水溶液的酒精度优选为 40 ~ 60, 用该酒精度乙醇水溶液溶解浸膏, 优点是在步骤(2)中萃取时易分层。

[0019] 所述方法步骤(2)中有机溶剂优选为二氯甲烷或乙酸乙酯, 萃取温度 20 ~ 25℃, 等体积萃取三次, 合并萃取相, 萃余相 HPLC 检测不含紫杉烷类化合物时废弃。

[0020] 所述方法步骤(3)优选为将萃取相先用减压蒸馏方法, 后用真空干燥方法得到固体粉末 I, 回收的有机溶剂可以做下次萃取时重复利用。

[0021] 所述方法步骤(4)中正相色谱条件优选为: 固定相是硅胶, 流动相是二氯甲烷和无水乙醇, 体积比是二氯甲烷 / 无水乙醇 = 100/5 ~ 10, 上样量是每 100g 的硅胶单次纯化 1 ~ 20g 的固体粉末 I。

[0022] 所述方法步骤(4)中正相色谱条件最优选为: 固定相是 200 ~ 300 目的非球型硅胶, 流动相是二氯甲烷和无水乙醇, 体积比是二氯甲烷 / 无水乙醇 = 100/6, 上样量是每 100g 的硅胶单次纯化 10g 的固体粉末 I, 收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分, 硅胶使用后用体积比是二氯甲烷 / 无水乙醇 = 100/20 再生, 洗脱至紫外检测没有杂质。

[0023] 所述方法步骤(5)优选为将含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分先用减压蒸馏方法, 后用真空干燥方法得到固体粉末 II, 回收的流动相用 GC 检测后, 配成体积比是二氯甲烷 / 无水乙醇 = 100/2 的流动相可以做下次层析时重复利用。

[0024] 所述方法步骤(6)优选为用甲醇 - 水结晶。

[0025] 所述方法步骤(7)优选为用真空干燥方法得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 III。

[0026] 所述方法步骤(8)中反相色谱条件优选为: 固定相是 C₁₈, 流动相是乙腈和超纯水, 体积比是乙腈 / 超纯水 = 100/80 ~ 120, 上样量是每 100g 的 C₁₈ 单次纯化 1 ~ 10g 的固体粉末 III。

[0027] 所述方法步骤(8)中反相色谱条件最优选为: 固定相是 5 μm 的 C₁₈, 流动相是乙腈和超纯水, 体积比是乙腈 / 超纯水 = 100/100, 上样量是每 100g 的 C₁₈ 单次纯化 2g 的固体粉末 III, 收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分, C₁₈ 使用后用体积比是乙腈 / 超纯水 = 100/10 再生, 洗脱至紫外检测没有杂质。

[0028] 所述方法步骤(9)优选为将含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分先用减压蒸馏方法, 当蒸发到一定程度时自然结晶析出, 最后用真空干燥方法得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 IV, 回收的流动相用 GC 检测后, 配成体积比是乙腈 / 超纯水 = 100/100 的流动相可以做下次层析时重复利用。

[0029] 所述方法步骤(10)优选为用丙酮 - 石油醚结晶。

[0030] 所述方法步骤(11)优选为用真空干燥方法得到高纯度 10- 去乙酰基巴卡亭 III。

[0031] 本发明有益效果为:

[0032] 1、本发明最大的有益效果是最后得到的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 产品纯度高到 98.5% 以上, 杂质总含量小于 1%, 单一杂质含量小于 0.5%。最后得到的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 收率 95% 以上。既保证了高纯度又保证了高收率。

[0033] 2、工艺中萃取用的有机溶剂、正相层析用的二氯甲烷 / 无水乙醇、反相层析用的乙腈 / 超纯水都可以回收利用, 降低了工艺成本。

[0034] 3、工艺中正相硅胶、反相 C_{18} 都可以再生利用,降低了工艺成本。

附图说明

[0035] 图 1 是从含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的浸膏分离和提纯 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的工艺流程图。

具体实施方式

[0036] 下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。

[0037] 实施例 1

[0038] (1)用酒精度 50 的乙醇水溶液溶解含紫杉醇、7- 木糖 -10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基紫杉醇、10- 去乙酰基巴卡亭 III、巴卡亭 III、三尖杉宁碱和 13- 乙酰基 -9- 羟基巴卡亭 III 的浸膏,浸膏中 10- 去乙酰基巴卡亭 III 含量 2% ;

[0039] (2)用二氯甲烷萃取步骤(1)溶解 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的溶液,萃取温度 25℃,等体积萃取三次,合并三次二氯甲烷相,HPLC 检测萃取相,当萃取相不含紫杉烷化合物时废弃处理 ;

[0040] (3)蒸干二氯甲烷相,减压蒸馏的条件是真空度 0.4MPa、水浴温度 35℃,蒸干至不再减重,真空干燥的条件是真空度 0.8MPa、干燥温度 60℃,干燥产品至不再减重,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 I,固体粉末 I 中 10- 去乙酰基巴卡亭 III 含量 20% ;

[0041] (4)正相色谱纯化,色谱条件是制备柱规格是 $\Phi 200 \times 300$,固定相是 4kg 的 200 ~ 300 目非球型硅胶,流动相是 60L 的二氯甲烷和无水乙醇,体积比是二氯甲烷 / 无水乙醇 =100/6,上样量是 400g 的固体粉末 I,洗脱流速是 1L/min,紫外检测波长是 227nm,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分 ;

[0042] (5)蒸干含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分,减压蒸馏的条件是真空度 0.4MPa、水浴温度 35℃,蒸干至不再减重,真空干燥的条件是真空度 0.8MPa、干燥温度 60℃,干燥产品至不再减重,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 II,固体粉末 II 中 10- 去乙酰基巴卡亭 III 含量 50% ;

[0043] (6)用甲醇 - 水结晶固体粉末 II ;

[0044] (7)干燥步骤(6)得到的晶体,真空干燥的条件是真空度 0.8MPa、干燥温度 60℃,干燥产品至不再减重,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 III,固体粉末 III 中 10- 去乙酰基巴卡亭 III 含量 70% ;

[0045] (8)反相色谱分离,色谱条件是制备柱规格是 $\Phi 200 \times 300$,固定相是 4kg 的 5 μm 的 C_{18} ,流动相是 80L 乙腈和超纯水,体积比是乙腈 / 超纯水 =100/100,上样量是 80g 的固体粉末 III,洗脱流速是 1L/min,紫外检测波长是 227nm,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分 ;

[0046] (9)蒸发含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的馏分,减压蒸馏的条件是真空度 0.8MPa、水浴温度 55℃,蒸发至有晶体析出,真空干燥析出晶体,真空干燥的条件是真空度 0.8MPa、干燥温度 60℃,干燥产品至不再减重,得到含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的固体粉末 IV,固体粉末 IV 中 10- 去乙酰基巴卡亭 III 含量 95% ;

[0047] (10)用丙酮 - 石油醚结晶固体粉末 IV ;

[0048] (11)干燥步骤(10)得到的晶体,真空干燥的条件是真空度 0.8MPa、干燥温度 60℃,干燥产品至不再减重,得到高纯度 10- 去乙酰基巴卡亭III含量 99%、收率 90%。

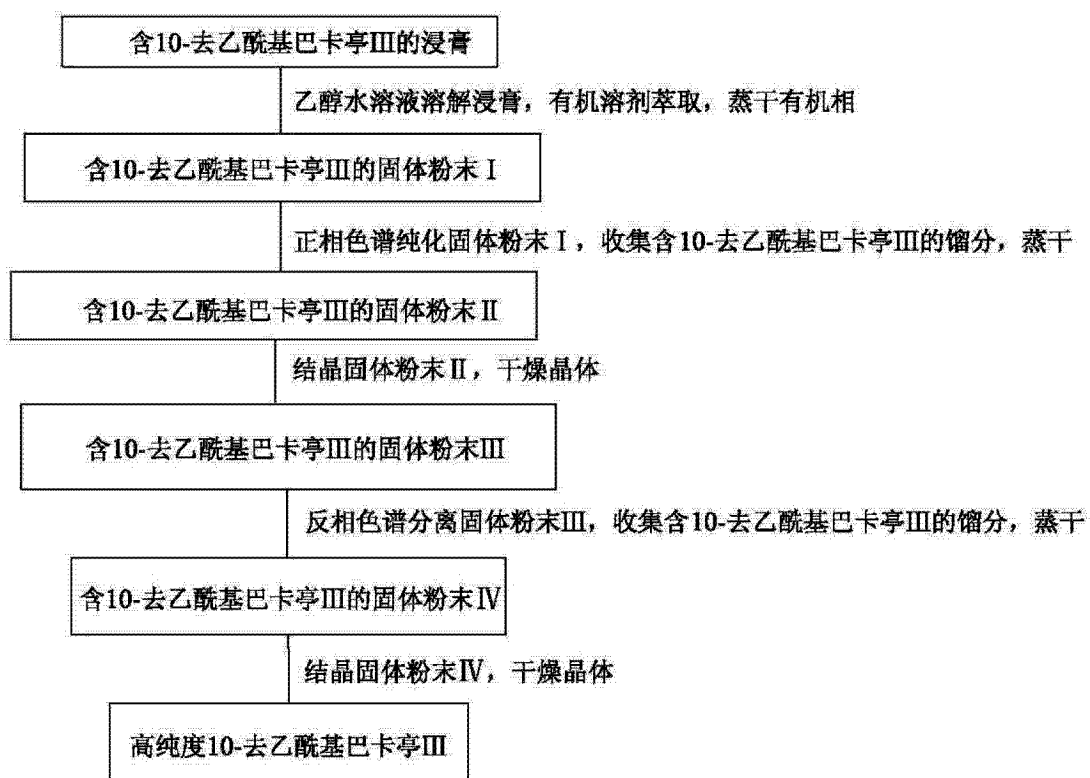


图 1