



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106554379 B

(45)授权公告日 2018.12.18

(21)申请号 201610837126.3

(22)申请日 2016.09.21

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106554379 A

(43)申请公布日 2017.04.05

(73)专利权人 甘肃中医药大学

地址 730000 甘肃省兰州市城关区定西路35号

(72)发明人 赵磊 李冲 彭雪晶 夏鹏飞

(74)专利代理机构 甘肃省知识产权事务中心

62100

代理人 张克勤

(51)Int.Cl.

C07H 17/04(2006.01)

C07H 1/08(2006.01)

(56)对比文件

CN 102372752 A,2012.03.14,

CN 103848875 A,2014.06.11,

余晓晖等.甘肃产黄管秦艽中龙胆苦苷的鉴别与含量测定.《中国现代应用药学》.2010,第27卷(第6期),504-507.

审查员 万玥

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法

(57)摘要

本发明的目的在于提供一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,以解决龙胆苦苷原料范围局限、工艺技术繁复、过程不易控制、成本较高的问题。制备方法步骤包括:提取、干燥、脱色和重结晶。本发明提供的龙胆苦苷的制备方法,利用黄管秦艽为原料,拓展了原料范围;对设备要求低;过程容易控制,工艺技术简化,生产成本低,得到龙胆苦苷达到90%以上,进一步用有机溶剂重结晶3-5次可得到纯度98%以上的龙胆苦苷,高效液相色谱测定(HPLC外标法)纯度99%以上。

1. 一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,其特征在于:包括提取、干燥、脱色、重结晶四个步骤,具体步骤如下:

a. 提取:取黄管秦艽粗粉,加入药材重量8-15倍量的亲水性有机溶剂,在30-60℃下提取3-5小时,过滤,滤液浓缩,回收有机溶剂,得到提取物;

b. 干燥:将上述提取物在80-100℃下干燥至含水量不大于20%,得到干提取物;

c. 脱色:将上述干提取物重量10-30倍量的亲水性有机溶剂加入干提取物中,再加入干提取物重量20-40%的活性炭,回流脱色后,过滤得到滤液,减压回收有机溶剂,析出晶体,冷藏放置3-5天,过滤得到龙胆苦苷粗晶体;

d. 重结晶:将粗晶体加入亲水性有机溶剂制成热饱和,趁热抽滤,冷藏放置1-2天,滤过,重结晶3-5次,得龙胆苦苷结晶。

2. 根据权利要求1所述的黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,其特征在于:具体步骤如下:

a. 提取:取黄管秦艽粗粉,加入药材重量12.5倍量的亲水性有机溶剂,在50℃下提取4小时,过滤,滤液浓缩,回收有机溶剂,得到提取物;

b. 干燥:将上述提取物在80℃下干燥至含水量不大于20%,得到干提取物;

c. 脱色:将上述干提取物重量20倍量的亲水性有机溶剂加入干提取物中,再加入干提取物重量30%的活性炭,回流脱色后,过滤得到滤液,减压回收有机溶剂,析出晶体,冷藏放置5天,过滤得到龙胆苦苷粗晶体;

d. 重结晶:将粗晶体加入亲水性有机溶剂制成热饱和,趁热抽滤,冷藏放置1天,滤过,重结晶5次,得龙胆苦苷结晶。

3. 根据权利要求2所述的黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,其特征在于:步骤a、c、d中所述亲水性有机溶剂为甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇或丙酮。

4. 根据权利要求3所述的黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,其特征在于:步骤c、d中所述冷藏放置的温度条件为4℃。

一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于天然药物技术领域,具体涉及一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法。

背景技术

[0002] 目前制备龙胆苦苷多采用溶剂提取和色谱分离相结合的方法,从原植物中提取龙胆苦苷粗提物,粗提物经硅胶柱色谱分离,氯仿、甲醇等一定体积比的混合溶剂洗脱,反复分离收集得龙胆苦苷。

[0003] 另一方法是把原植物粉碎,加入一定量的水溶液加热提取2-3次,提取液通过大孔树脂吸附,洗脱液采用纳滤膜浓缩,浓缩液再经聚酰胺柱纯化,乙酸乙酯萃取浓缩结晶,重结晶,真空低温干燥得龙胆苦苷。

[0004] 也有采用CO₂超临界萃取技术,甲醇作为夹带剂,提取龙胆苦苷的粗提物,再通过大孔吸附树脂吸附,一定浓度的乙醇洗脱,浓缩,有机溶剂结晶,制备龙胆苦苷。还有采用分析型高速逆流色谱仪的小量制备及半制备型高速逆流色谱仪,使用氯仿、甲醇、正丁醇、水等混合溶剂制备龙胆苦苷。

[0005] 以上方法,需要使用设备要求较高的超临界萃取,高速逆流色谱仪和技术要求较高色谱分离,分离过程中应用氯仿、甲醇等有机溶剂,制得纯龙胆苦苷,这些方法原料成本高,使用有害溶剂,造成环境污染和生态的破坏,制备条件和工艺技术复杂,不易实现工业化生产。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,以解决龙胆苦苷原料范围局限、工艺技术繁复、过程不易控制、成本较高的问题。

[0007] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案为:

[0008] 一种黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法,包括提取、干燥、脱色、重结晶四个步骤,具体步骤如下:

[0009] a. 提取:取黄管秦艽粗粉,加入药材重量8-15倍量的亲水性有机溶剂,在30-60℃下提取3-5小时,过滤,滤液浓缩,回收有机溶剂,得到提取物;

[0010] b. 干燥:将上述提取物在80-100℃下干燥至含水量不大于20%,得到干提取物;

[0011] c. 脱色:将上述干提取物重量10-30倍量的亲水性有机溶剂加入干提取物中,再加入干提取物重量20-40%的活性炭,回流脱色后,过滤得到滤液,减压回收有机溶剂,析出晶体,冷藏放置3-5天,过滤得到龙胆苦苷粗晶体;

[0012] d. 重结晶:将粗晶体加入亲水性有机溶剂制成热饱和,趁热抽滤,冷藏放置1-2天,滤过,重结晶3-5次,得龙胆苦苷结晶。通过3-5次重结晶过程纯化结晶,使龙胆苦苷结晶的纯度达到98%以上。

[0013] 龙胆苦苷具有较强的亲水性,可溶于亲水性有机溶剂,根据药材重量加入溶剂,保证龙胆苦苷成分的溶出,防止由于溶液量不足造成过饱和使溶出不完全,30-60℃下提取可

增加龙胆苦苷的溶出率,提取3-5小时保证龙胆苦苷的完全溶出,防止由于时间过短造成溶出不完全,通过过滤和浓缩,将龙胆苦苷与溶剂分离;由于龙胆苦苷在80-100℃时的热稳定性好,因此采用在常压条件下,用干热空气进行干燥,干燥温度低,干燥速度快,由于脱色步骤时还需要加入溶剂溶解,因此将干燥的终点为含水量不大于20%即可;龙胆苦苷干提取物含水量较粗粉低,因此加入10-30倍量的溶剂,保证龙胆苦苷干提取物的充分浸润,并且避免混合物中出现干粉、膏状等情况,造成活性炭无法对干燥物脱色,冷藏放置可以使溶液在静置状态下结晶,防止由于温度过高造成无法结晶或温度变化造成结晶解体,放置3-5天可以使结晶尽可能完全。

[0014] 为了更好地实现本发明,具体步骤如下:

[0015] a. 提取:取黄管秦艽粗粉,加入药材重量12.5倍量的亲水性有机溶剂,在50℃下提取4小时,过滤,滤液浓缩,回收有机溶剂,得到提取物;

[0016] b. 干燥:将上述提取物在80℃下干燥至含水量不大于20%,得到干提取物;

[0017] c. 脱色:将上述干提取物重量20倍量的亲水性有机溶剂加入干提取物中,再加入干提取物重量30%的活性炭,回流脱色后,过滤得到滤液,减压回收有机溶剂,析出晶体,冷藏放置5天,过滤得到龙胆苦苷粗晶体;

[0018] d. 重结晶:将粗晶体加入亲水性有机溶剂制成热饱和,趁热抽滤,冷藏放置1天,滤过,重结晶5次,得龙胆苦苷结晶。

[0019] 为了更好地实现本发明,亲水性有机溶剂为甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇或丙酮。亲水性有机溶剂对植物细胞的穿透能力较强,尤其对易溶于水的龙胆苦苷,可以完全溶解。

[0020] 为了更好地实现本发明,冷藏放置的温度条件为4℃。4℃条件下冷藏放置可以使溶液在静置状态下稳定结晶,防止由于温度过高造成无法结晶或温度变化造成结晶解体。

[0021] 本发明提供的黄管秦艽中龙胆苦苷的制备方法具有以下优点:

[0022] 1、现有技术中提取龙胆苦苷的原料药为秦艽 (*Gentiana macrophylla*),由于用药需求量猛增,导致过度采挖,致使秦艽野生资源临近濒危,现已被国家列为三级重点保护的野生植物,本发明利用黄管秦艽 (*G. officinalis*) 作为原料提取龙胆苦苷,黄管秦艽与秦艽同科同属,ITS序列水平上的分析发现基因同源性达到99.50%,所含龙胆苦苷含量明显高于其它种,植物资源量巨大,且甘肃已经人工引种栽培成功,易栽易活,且发育成熟快,用黄管秦艽替代秦艽不但保护了濒危植物资源,而且拓展了原料范围,从而保证龙胆苦苷的原料来源,具有重要社会意义和经济意义;

[0023] 2、现有提取龙胆苦苷的技术对设备要求高,多使用超临界萃取设备、高速逆流色谱仪等设备和要求较高的色谱柱/仪,提取费用高、制备工艺复杂繁琐,本发明采用亲水性溶剂提取后有机溶剂重结晶的方法,节省了购买设备的经费,采用的试剂均为常用试剂,生产成本低,制备工艺过程简化;

[0024] 3、本发明制备得到的龙胆苦苷纯度高于现有技术,亲水性溶剂提取后得到的龙胆苦苷纯度达到90%以上,进一步用有机溶剂多次重结晶后可得到纯度98%以上的龙胆苦苷,高效液相色谱测定(HPLC外标法)纯度99%以上。

具体实施方式

[0025] 以下结合实施例对本发明做进一步详细说明。

[0026] 本发明所述的粗粉是按《中国药典》对最粗粉的规定,即指能全部通过一号筛,但混有能通过三号筛不超过20%的粉末。

[0027] 本发明中使用的试剂均由市场商购。

[0028] 本发明中所述HPLC外标法为使用高效液相色谱仪以待测成分的对照品作为对照物质,通过对照品浓度、峰高/面积和待测物的峰高/面积,计算待测物浓度。

[0029] 实施例1

[0030] 取黄管秦艽粗粉200g,加2000ml95%乙醇,60℃提取3小时,过滤除去不溶性杂质,滤液蒸馏回收乙醇得到提取物,提取物80℃干燥,得到含水率不大于20%的42g干提取物;再将龙胆苦苷粗提取物用400ml体积百分比浓度为95%乙醇溶解,按龙胆苦苷粗品重量的35%(14.7g)加入活性炭,进行回流脱色后,过滤,减压回收乙醇,刚好析出晶体,冰箱4℃条件下冷藏放置3天,过滤得到龙胆苦苷7.2g,纯度90.3%(HPLC外标法),粗晶体加入95%乙醇制成热饱和溶液,趁热抽滤,冰箱4℃条件下冷藏放置1天,滤过,同上方法,用95%乙醇重结晶3次,得到纯度为99%以上(HPLC外标法)的龙胆苦苷产品。

[0031] 实施例2

[0032] 取黄管秦艽粗粉200g,加3000ml丙酮,57℃回流提取3小时,过滤除去不溶性杂质,滤液蒸馏回收丙酮得到提取物,提取物置90℃干燥,得到含水率不大于20%的39g干提取物;再将龙胆苦苷粗提取物用1000ml丙醇溶解,按龙胆苦苷粗品重量的25%(9.75g)加入活性炭,进行回流脱色后,过滤,减压回收丙酮,刚好析出晶体,冰箱4℃条件下冷藏放置4天,过滤得到龙胆苦苷8.2g,纯度91.1%,粗晶体加入丙酮制成热饱和溶液,趁热抽滤,冰箱4℃条件下冷藏放置2天,滤过,同上方法,用丙酮重结晶4次,得到纯度为99%以上(HPLC外标法)的龙胆苦苷产品。

[0033] 实施例3

[0034] 取黄管秦艽粗粉200g,加2500ml丙醇,50℃提取4小时,过滤除去不溶性杂质,滤液蒸馏回收丙醇得到提取物,提取物置80℃干燥,得到含水率不大于20%的45g干提取物;再将龙胆苦苷粗提取物用900ml丙醇溶解,按龙胆苦苷粗品重量的30%(13.5g)加入活性炭,进行回流脱色后,过滤,减压回收丙醇,刚好析出晶体,冰箱4℃条件下冷藏放置5天,过滤得到龙胆苦苷7.5g,纯度90.9%。粗晶体加入丙醇制成热饱和溶液,趁热抽滤,冰箱4℃条件下冷藏放置1天,滤过,同上方法,用丙醇重结晶5次,得到纯度为99%以上(HPLC外标法)的龙胆苦苷产品。本实施例为最佳实施例。

[0035] 实施例4

[0036] 取黄管秦艽粗粉200g,加1600ml甲醇,30℃提取5小时,过滤除去不溶性杂质,滤液蒸馏回收甲醇得到提取物,提取物置100℃干燥,得到含水率不大于20%的32g干提取物;再将龙胆苦苷粗提取物用500ml甲醇溶解,按龙胆苦苷粗品重量的40%(12.8g)加入活性炭进行回流脱色后,过滤,减压回收甲醇,刚好析出晶体,冰箱4℃条件下冷藏放置4天,过滤得到龙胆苦苷6.5g,纯度90.9%。粗晶体加入甲醇制成热饱和溶液,趁热抽滤,冰箱4℃条件下冷藏放置2天,滤过,同上方法,用甲醇重结晶4次,得到纯度为99%以上(HPLC外标法)的龙胆苦苷产品。

[0037] 实施例5

[0038] 取黄管秦艽粗粉200g,加2000ml95%异丙醇,60℃提取3小时,过滤除去不溶性杂

质,滤液蒸馏回收异丙醇得到提取物,提取物85℃干燥,得到含水率不大于20%的42g干提取物;再将龙胆苦苷粗提取物用1200ml体积百分比浓度为95%异丙醇溶解,按龙胆苦苷粗品重量的35%(14.7g)加入活性炭进行回流脱色后,过滤,减压回收异丙醇,刚好析出晶体,冰箱4℃条件下冷藏放置5天,过滤得到龙胆苦苷7.2g,纯度90.3%(HPLC外标法)。粗晶体加入95%异丙醇制成热饱和溶液,趁热抽滤,冰箱4℃条件下冷藏放置2天,滤过,同上方法,用95%异丙醇重结晶3次,得到纯度为99%以上(HPLC外标法)的龙胆苦苷产品。