



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105669877 B

(45)授权公告日 2018.08.07

(21)申请号 201610069028.X

(22)申请日 2016.01.29

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105669877 A

(43)申请公布日 2016.06.15

(73)专利权人 苏州求是本草健康科技有限公司

地址 215513 江苏省常熟市经济技术开发区研究院路1-2号浙江大学常熟合作研究院2楼

(72)发明人 刘江云 蔡培烈 杨世林

(51)Int.Cl.

C08B 37/02(2006.01)

A61K 31/736(2006.01)

A61K 47/36(2006.01)

审查员 洪倩

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种高纯度葡甘露聚糖制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其主要步骤如下:从天然来源的魔芋多糖或白及多糖或其水解产物中,选取分子量范围10~1000kD的均一多糖原料,配制为0.5%~10.0%溶液,加入助滤剂处理,过滤,依次采用100~1000nm微滤膜过滤、截留分子量2~100kD的超滤膜浓缩处理,再经浓缩,干燥,得到纯度大于90%的高纯度葡甘露聚糖或其液体制剂。本发明所述制备工艺简洁、可控,容易实现放大生产。所获得的葡甘露聚糖纯度高、有关物质含量低,可满足药用原料药的质量标准,因而可应用于制备药物以及药用辅料、医疗器械等相关医用产品。

1. 一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于采用以下步骤:

(1) 选取葡甘露聚糖原料,制备成0.5%~10.0%的葡甘露聚糖溶液GM-A;

(2) 由(1)所得葡甘露聚糖溶液GM-A,加入助滤剂处理,过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-B;

(3) 由(2)所得葡甘露聚糖溶液GM-B,采用100~1000nm微滤膜过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-C;

(4) 由(3)所得葡甘露聚糖溶液GM-C,采用截留分子量2~100kD的超滤膜浓缩处理,得葡甘露聚糖浓缩液GM-D,其中,所述超滤膜截留分子量在葡甘露聚糖原料分子量的1/5以下;

(5) 由(4)所得葡甘露聚糖浓缩液GM-D,经进一步浓缩,干燥,得高纯度葡甘露聚糖;或经进一步配制,分装,灭菌,得高纯度葡甘露聚糖液体制剂;其中,所述葡甘露聚糖为分子量范围10~1000kD的均一多糖,其纯度大于90%,并且分子量2kD以下的有机物含量小于5%。

2. 根据权利要求1所述高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于步骤(1)中所述葡甘露聚糖原料为天然来源的魔芋多糖或白及多糖,或其水解产物。

3. 根据权利要求1所述高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于步骤(2)中所述助滤剂选自滑石粉、活性炭、硅藻土中的一种或几种的混合物。

4. 根据权利要求3所述高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于步骤(2)中所述助滤剂为活性炭。

5. 根据权利要求1所述高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于步骤(5)中所述高纯度葡甘露聚糖干燥方法选自冷冻干燥、喷雾干燥、真空干燥中的一种。

6. 一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于采用以下步骤:

(1) 选取分子量范围10~200kD的葡甘露聚糖原料,制备成1.0%~10.0%的葡甘露聚糖溶液GM-A;

(2) 由(1)所得葡甘露聚糖溶液GM-A,加入活性炭助滤剂处理,过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-B;

(3) 由(2)所得葡甘露聚糖溶液GM-B,采用200~500nm微滤膜过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-C;

(4) 由(3)所得葡甘露聚糖溶液GM-C,采用截留分子量2~40kD的超滤膜浓缩处理,得葡甘露聚糖浓缩液GM-D,其中,所述超滤膜截留分子量在葡甘露聚糖原料分子量的1/5以下;

(5) 由(4)所得葡甘露聚糖浓缩液GM-D,经进一步浓缩,干燥,得高纯度葡甘露聚糖;或经进一步配制,分装,灭菌,得高纯度葡甘露聚糖液体制剂;其中,所述葡甘露聚糖为分子量范围10~200kD的均一多糖,其纯度大于90%,并且分子量2kD以下的有机物含量小于5%。

7. 根据权利要求1至6任一项所述方法制备的高纯度葡甘露聚糖在制备药物中的应用。

8. 根据权利要求1至6任一项所述方法制备的高纯度葡甘露聚糖在制备医用产品中的应用。

一种高纯度葡甘露聚糖制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种由天然植物中提取的葡甘露聚糖提取物,本发明同时涉及所述葡甘露聚糖提取物在制备药品和医用产品中的应用,属生物医药领域。

技术背景

[0002] 葡甘露聚糖是一种常见的天然黏性多糖,其主链为D-甘露糖和D-葡萄糖组成,一般通过 β 1-4位糖苷键连接,并带有部分支链结构和乙酰基修饰。该类多糖主要在植物中发现,例如魔芋、芦荟、白及(又名白芨,Bletilla striata)等,在天然食品、化妆品、医药用品等领域应用广泛,具有显著经济价值。

[0003] 白及多糖是传统中药白及中的主要有效成份,具有收敛、止血、补肺等功能并用于相关药品中。现有白及多糖(又名白及胶)一般采用水提醇沉的生产工艺。周敏等公开了“一种白及多糖及其制备方法和新用途”(CN200810233680.6),该白及多糖经水提取、树脂去蛋白后用乙醇沉淀出白及多糖,含量达到70~74%。宋力飞公开了“一种白芨多糖制备的工艺组合”(CN200910302937.3),在常温下用80~120倍制备白芨匀浆,经沉降离心、介质过滤(助滤剂滑石粉、活性炭、硅藻土)处理,再用2000~100nm的陶瓷膜进行微滤,所得截留液经醇沉、干燥,获得白芨多糖。本发明在前期研究中,公开了“一种葡甘露聚糖酸水解产物的制备方法”(CN201010166718.X),所述方法采用分子量不小于100kD(1kD为1000道尔顿分子量)的魔芋或白及葡甘露聚糖原料,通过在pH1.0-3.0酸度范围和45-100℃温度范围内进行控制酸水解,经醇沉、干燥获得特定分子量(10~150kD)的葡甘露聚糖酸水解产物。

[0004] 发明人在白及多糖制备工艺进一步研制过程中,发现水提醇沉工艺虽然可以有效获得白及多糖,但由于白及多糖提取液黏度较高,醇沉过程中提取液里共存的多酚类色素、不溶性微粒等杂质会一起沉降析出,从而影响白及多糖纯度和色泽;酸水解过程中寡糖等部分有机物也会在醇沉过程中同时析出。在药物及其它医学用品等领域,对功能性原料的纯度、有关物质等质量有很高要求。为此,本发明经深入研究,最终发现采用膜处理技术,并结合助滤剂辅助过滤、微滤等前处理技术,可以成功获得纯度大于90%的高纯度葡甘露聚糖产品,从而完成了本发明。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明采用了如下的技术方案。

[0007] 一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法,其特征在于采用以下步骤:

[0008] (1) 选取葡甘露聚糖原料,制备成0.5%-10.0%的葡甘露聚糖溶液GM-A;

[0009] (2) 由(1)所得葡甘露聚糖溶液GM-A,加入助滤剂处理,过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-B;

[0010] (3) 由(2)所得葡甘露聚糖溶液GM-B,采用100~1000nm微滤膜过滤,得葡甘露聚糖溶液GM-C;

[0011] (4) 由 (3) 所得葡甘露聚糖溶液GM-C, 采用截留分子量2~100kD的超滤膜浓缩处理, 得葡甘露聚糖浓缩液GM-D;

[0012] (5) 由 (4) 所得葡甘露聚糖浓缩液GM-D, 经进一步浓缩, 干燥, 得高纯度葡甘露聚糖; 或经进一步配制, 分装, 灭菌, 得高纯度葡甘露聚糖液体制剂。

[0013] 本发明所述高纯度葡甘露聚糖为分子量范围10~1000kD的均一多糖, 其纯度大于90%, 并且分子量2kD以下的有机物含量小于5%。步骤(1)中葡甘露聚糖原料为相应分子量范围10~1000kD的均一多糖, 选自天然来源的魔芋多糖或白及多糖, 或其水解产物; 其制备方法可参考已知文献采用水提醇沉、酸水解等方法进行制备, 也可从商业途径获得。步骤(2)中所述助滤剂选自滑石粉、活性炭、硅藻土中的一种或几种的混合物, 其中优选活性炭, 其过滤方式可采用常见的板框过滤、钛棒过滤等方式, 并可根据需要在过滤前采用离心方法除去活性炭。步骤(3)中所述微滤膜孔径选自100~1000nm范围, 更优选200~500nm范围。步骤(4)中所述超滤膜截留分子量在2~100kD, 并且在葡甘露聚糖原料分子量的1/5以下。步骤(5)中所述高纯度葡甘露聚糖干燥方法选自冷冻干燥、喷雾干燥、真空干燥中的一种; 所述高纯度葡甘露聚糖液体制剂为口服液或注射液。

[0014] 本发明进一步提供一种高纯度葡甘露聚糖的制备方法, 其特征在于采用以下步骤:

[0015] (1) 选取分子量范围10~200kD的葡甘露聚糖原料, 制备成1.0%-10.0%的葡甘露聚糖溶液GM-A;

[0016] (2) 由 (1) 所得葡甘露聚糖溶液GM-A, 加入活性炭助滤剂处理, 过滤, 得葡甘露聚糖溶液GM-B;

[0017] (3) 由 (2) 所得葡甘露聚糖溶液GM-B, 采用200~500nm微滤膜过滤, 得葡甘露聚糖溶液GM-C;

[0018] (4) 由 (3) 所得葡甘露聚糖溶液GM-C, 采用截留分子量2~40kD的超滤膜浓缩处理, 得葡甘露聚糖浓缩液GM-D;

[0019] (5) 由 (4) 所得葡甘露聚糖浓缩液GM-D, 经进一步浓缩, 干燥, 得高纯度葡甘露聚糖; 或经进一步配制, 分装, 灭菌, 得高纯度葡甘露聚糖液体制剂。

[0020] 本发明针对传统水提醇沉工艺制备的白及多糖产品纯度低、相关杂质含量高等缺陷, 通过反复实验和大量研究, 采用助滤剂辅助过滤-微滤-超滤-干燥等组合技术工艺, 成功研制出高纯度葡甘露聚糖的生产工艺, 所述制备工艺简洁、可控, 容易实现放大生产。所获得的葡甘露聚糖产品纯度高、有关物质含量低、稳定性好, 质量可控, 可满足药用原料药的质量标准, 因而所述高纯度葡甘露聚糖可根据已公开的葡甘露聚糖应用文献, 应用于制备药物以及药用辅料、医疗器械等相关医用产品。

[0021] 本发明内容是通过系统研究和大量创造性实验完成的, 以下述具体实施例进行说明。

具体实施方式

[0022] 本发明所述的高纯度葡甘露聚糖, 以白及多糖和魔芋多糖制备方法为例, 是按如下实施例所表示的方法制造或发现的, 所涉及到的方法是本领域的技术人员能够掌握和运用的技术手段。但以下实施例不得理解为任何意义上的对本发明权利要求的限制。

[0023] 本发明所述实施例中,葡甘露聚糖原料的制备及相关样品分析方法参考发明人已公开专利(CN201010166718.X)、论著[张燕,白及多糖的酸水解动力学研究,苏州大学硕士学位论文,2010]等文献进行。本发明所述葡甘露聚糖分子量均为平均重均分子量(Mw),所述均一多糖的多分散系数($PI=Mw/Mn$)一般在1.5~3.5范围。

[0024] 实施例1:白及多糖BT180的制备

[0025] 白及药材为市售品,其中所含白及多糖经HPGPC分析为Mw186kD的均一多糖。

[0026] (1)称取白及药材饮片4.0kg,分别加入80kg、70kg水提取2次,每次1.5hr,提取液浓缩至40L,加入1.5倍95%乙醇使沉淀,用200目滤布过滤,得白及多糖粗品GM-A(按固含物计得率15%);取GM-A60g(按固含物计,下同),用3L水在60℃溶解,配制成2.0%的GM-A溶液;

[0027] (2)在2.0%GM-A中加入20g颗粒活性炭助滤剂,煮沸30min,室温静置过夜,脱脂棉和滤纸过滤,得浅黄色溶液GM-B 2.7L;

[0028] (3)采用450nm水系微孔滤膜过滤GM-B,得透明浅黄色溶液GM-C 2.6L;

[0029] (4)采用截留分子量40kD的聚砜超滤膜组件对GM-C进行浓缩处理,同时超滤循环液中补加纯净水总计6L,最终得透明无色截留液GM-D2.2L;

[0030] (5)由(4)所得GM-D,经80℃进一步减压浓缩至0.6L,60℃以下烘箱减压干燥,得高纯度葡甘露聚糖BT180(42g)。

[0031] 采用HPGPC法分析葡甘露聚糖的分子量及其纯度。色谱条件:色谱柱TSK PW4000柱(7.8mm×300mm);流动相水,流速 $0.6\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;ELSD检测;柱温40℃;供试品溶液浓度10mg/mL,进样量20 μL ;分析时间20min。白及多糖(10~200kD)系列对照品为自制,其分子量采用HPGPC-RI/MALS(wyatt公司)测定。测得BT180为Mw186kD的均一多糖,纯度92%,未检出10kD以下的相关物质。

[0032] 实施例2:白及多糖BT10的制备

[0033] 白及多糖10采用酸水解法制备获得,经HPGPC分析为Mw16kD的均一多糖。

[0034] (1)称取白及多糖10粗品GM-A 20g,用200mL注射用水在60℃溶解,配制成10.0%的GM-A溶液;

[0035] (2)在GM-A中加入0.2g注射用活性炭助滤剂,煮沸30min,室温静置4h,脱脂棉和滤纸过滤,得近无色溶液GM-B 180mL;

[0036] (3)依次采用450nm、200nm水系微孔滤膜过滤GM-B,得透明近无色溶液GM-C 170mL;

[0037] (4)采用截留分子量2kD的聚砜超滤膜组件对GM-C进行浓缩处理,同时超滤循环液中补加注射用水总计500mL,最终得透明无色截留液GM-D 210mL;

[0038] (5)由(4)所得GM-D,经冷冻干燥,得注射用高纯度葡甘露聚糖BT10(16g)。

[0039] 采用HPGPC法分析,测得BT10为Mw16kD的均一多糖,纯度98%,未检出2kD以下的相关物质。

[0040] 实施例3:白及多糖BT180口服液的制备

[0041] (1)称取实施例1白及多糖粗品GM-A 60g,用3L水在60℃溶解,配制成2.0%的GM-A溶液;

[0042] (2)在2.0%GM-A中加入30g颗粒活性炭助滤剂,煮沸30min,室温静置6h,离心,经

脱脂棉和滤纸过滤,得浅黄色溶液GM-B 2.8L;

[0043] (3) 依次采用450nm、220nm水系微孔滤膜过滤GM-B,得透明浅黄色溶液GM-C 2.7L;

[0044] (4) 采用截留分子量40kD的聚砜超滤膜组件对GM-C进行浓缩处理,同时超滤循环液中补加纯净水总计6L,最终得透明无色截留液GM-D 2.7L;

[0045] (5) 由(4)所得GM-D,加纯净水配制至终体积5.4L,分装为100ml/瓶口服液,120℃灭菌30min,得1.0%BT180口服液。

[0046] 采用HPGPC法分析,测得BT180为Mw186 kD的均一多糖,纯度94%,未检出10kD以下的相关物质

[0047] 实施例4:魔芋多糖KGM的制备

[0048] 魔芋多糖粗品为市售品,其中所含魔芋多糖经HPGPC分析为Mw926kD的均一多糖。

[0049] (1) 称取魔芋多糖粗品GM-A 15g(按固含物计,下同),用3L水在60℃溶解,配制成0.5%的GM-A溶液;

[0050] (2) 在GM-A中加入15g颗粒活性炭助滤剂,煮沸30min,室温静置过夜,脱脂棉和滤纸过滤,得浅黄色溶液GM-B 2.6L;

[0051] (3) 采用1000nm微孔滤膜过滤GM-B,得透明浅黄色溶液GM-C 2.5L;

[0052] (4) 采用截留分子量100kD的聚砜超滤膜组件对GM-C进行浓缩处理,同时超滤循环液中补加纯净水总计4L,最终得透明无色截留液GM-D 2.8L;

[0053] (5) 由(4)所得GM-D,经喷雾干燥,得高纯度葡甘露聚糖KGM(11g)。

[0054] 采用HPGPC-RI/MALS(wyatt公司)分析,测得KGM为Mw186 kD的均一多糖,纯度91%,未检出50kD以下的相关物质。