



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101829164 B

(45) 授权公告日 2011.08.24

(21) 申请号 201010165482.8

A61P 25/00(2006.01)

(22) 申请日 2010.05.07

审查员 雷锋林

(73) 专利权人 河南中医学院

地址 450008 河南省郑州市金水区金水路 1 号

(72) 发明人 杨云 刘富岗

(74) 专利代理机构 郑州天阳专利事务所(普通合伙) 41113

代理人 聂孟民 宋金鼎

(51) Int. Cl.

A61K 36/185(2006.01)

A61P 25/24(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种贯叶连翘提取物的生物制备方法

(57) 摘要

本发明涉及贯叶连翘提取物的生物制备方法,提供一种能充分利用药材资源、工艺简单、适合大规模生产,且能制备出符合或高于国际通行标准的贯叶连翘提取物的制备方法,先将贯叶连翘干燥、粉碎成贯叶连翘粉末,再称取酶,在酶中加入温水溶解,水浴活化成活化的酶溶液,贯叶连翘粉末与水混合,水浴,浸泡,冷却,用盐酸调 pH,摇匀,水浴加热,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,加入乙醇回流提取,过滤,合并滤液,减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物,本发明提高了提取物中金丝桃素含量,而且酶解后弃去的滤液带走了大量的水溶性杂质,使得提取物不再吸湿,所用生物方法安全无污染,操作简单,易于进行工业化应用。

1. 一种贯叶连翘提取物的生物制备方法,其特征在于,先将贯叶连翘干燥、粉碎成贯叶连翘粉末,再称取贯叶连翘粉末重量的 0.5%~2.5%的酶,在酶中加入酶重量的 10-20 倍量的 30~60℃温水,溶解,30~60℃水浴活化 5~30 分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末与水以 1:10~20 的重量比混合,40~90℃水浴,浸泡 20~90 分钟,冷却至 18~25℃,用盐酸调 pH 至 4.0~5.5,摇匀,水浴加热至 40~55℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解 2~12 小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的 6~20 倍量的乙醇回流提取 2~5 次,每次 1~5 小时,过滤,合并滤液,50~60℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物;所说的酶为纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、复合酶 SPE-007A 中的一种或两种以上的混合。

2. 根据权利要求 1 所述的贯叶连翘提取物的生物制备方法,其特征在于,先将贯叶连翘干燥,粉碎过 20 目筛,成贯叶连翘粉末,称取贯叶连翘粉末 1kg,再称取 5g 的纤维素酶,在纤维素酶中加入 50g 32℃温水,溶解,32℃水浴活化 28 分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末加水 10000g 混合,40℃水浴,浸泡 90 分钟,冷却至 18℃,用盐酸调 pH 至 5.3,摇匀,水浴加热至 55℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解 2 小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的 6 倍量的乙醇回流提取 3 次,每次 3 小时,过滤,合并滤液,50℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物。

3. 根据权利要求 1 所述的贯叶连翘提取物的生物制备方法,其特征在于,先将贯叶连翘干燥,粉碎过 20 目筛,成贯叶连翘粉末,称取贯叶连翘粉末 2kg,再称取果胶酶 30g,在果胶酶中加入 450g 45℃温水,溶解,45℃水浴活化 20 分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末加水 30000g 混合,70℃水浴,浸泡 50 分钟,冷却至 20℃,用盐酸调 pH 至 4,摇匀,水浴加热至 47℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解 5 小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的 13 倍量的乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 小时,过滤,合并滤液,60℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物。

一种贯叶连翘提取物的生物制备方法

一、技术领域

[0001] 本发明涉及医药领域,特别是一种贯叶连翘提取物的生物制备方法。

二、背景技术

[0002] 贯叶连翘 (*Hypericum Perforatum* L.) 中含有的金丝桃素 (hypericin, 化学名为: 4,4,5,5,7,7-六羟基-2,2-二甲基-中位-萘并二萘酮) 具有优良的生物活性,如抗抑郁、抗病毒、抗癌和光动活性,尤其对抑郁症及紧张造成的亚健康症状等一系列神经障碍性疾病有良好的消除作用,深受国际医药界重视。国际市场对贯叶连翘提取物需要日益增加,也刺激了我国近几年来对贯叶连翘提取物的生产。

[0003] 但是贯叶连翘全草中金丝桃素的含量只有万分之几,因此,如何从贯叶连翘全草中制备出合格的(美国药典 24 版和提取物进出口标准均规定含量 0.3% 为合格)甚至金丝桃素含量更高的提取物是相关科研和生产单位研究的焦点。

[0004] 目前国内常用的提取方法主要有:1、甲醇或乙醇提取法:将贯叶连翘全草干燥、粉碎后,用乙醇或甲醇作溶剂,多次回流提取,合并提取液并浓缩,得到金丝桃素浸膏。用这种方法得到的产品存在易吸湿、发粘的缺点(时珍国医国药. 2009, 20(2), 404 ~ 405)。

[0005] 2、碱液提取法:中国专利 98114299.0 公开了一种金丝桃素的提取方法:贯叶连翘药材加浓度为 0.01-1% 的 NaOH 溶液,加热煮沸 8-15 分钟,经过滤得待用滤液;渣加入上述同样浓度的 NaOH 溶液的 1/2-1/3 的用量,经加热煮沸 8-12 分钟,过滤得滤液,合并滤液,盐酸调 pH 至 1-5,然后用乙醇洗脱至基本无色,回收乙醇后干燥得成品,金丝桃素含量 0.48-0.66%。众所周知,碱液提取的缺点是所得提取物色泽较差,且产品中有大量 NaCl 夹带其中,为提纯带来许多不便。

[0006] 3、有机溶媒提取-吸附材料富集纯化法:中国专利 200610078988.9 公开了一种金丝桃素的提取方法:贯叶连翘用乙醇提取,滤液减压浓缩,浓缩液用树脂进行吸附,洗脱,收集洗脱液,减压浓缩得到金丝桃素浸膏,该方法得到的产品含有较高的金丝桃素,但工艺相对复杂,成本较高,而吸附用的树脂属于化学合成的高分子化合物,其中含有未合成的化学单体,如苯、二乙烯苯、甲苯、二甲苯等有机残留物,不易用于食品和服用,因为国家食品药品监督管理局对用大孔吸附树脂分离纯化生产的保健食品及用苯乙烯骨架型树脂制备的原料中的有机残留物有着严格的规定,因此,大孔吸附树脂纯化贯叶连翘提取物的方法在很大程度上受到限制,很难达到工业化大生产的要求,目前主要还是停留在实验室阶段。

[0007] 由于植物中的有效成分通常存在于植物细胞内,采用生物酶酶解破坏细胞壁可以促使有效成分溶出增多,从而提高提取物中有效成分含量,提高药材的利用率,但迄今为止尚未见到公开报导酶解在贯叶连翘提取物制备中的应用。

三、发明内容

[0008] 针对上述情况,为克服现有技术缺陷,本发明之目的就是要提供一种能充分利用药材资源、工艺简单、适合大规模生产,且能制备出符合或高于国际通行标准的贯叶连翘提

取物的制备方法。

[0009] 本发明解决的技术方案是,先将贯叶连翘干燥、粉碎成贯叶连翘粉末,再称取贯叶连翘粉末重量的0.5%~2.5%的酶,在酶中加入酶重量的10-20倍量的30~60℃温水,溶解,30~60℃水浴活化5~30分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末与水以1:10~20的重量比混合,40~90℃水浴,浸泡20~90分钟,冷却至18~25℃,用盐酸调pH至4.0~5.5,摇匀,水浴加热至40~55℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解2~12小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的6~20倍量的乙醇回流提取2~5次,每次1~5小时,过滤,合并滤液,50~60℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物;所说的酶为纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、复合酶SPE-007A等中的一种或两种以上的混合。

[0010] 本发明是利用生物制剂酶将贯叶连翘药材酶解后进行提取,该过程不仅大大提高了贯叶连翘药材的利用率,提高了提取物中金丝桃素含量,所得成品中金丝桃素含量采用反相高效液相色谱方法进行检测可达0.68%-0.81%,而且酶解后弃去的滤液带走了大量的水溶性杂质,使得提取物不再吸湿,所用生物方法安全无污染,操作简单可行,易于进行工业化应用。

四、具体实施方式

[0011] 以下结合实际情况对本发明的具体实施方式作详细说明。

[0012] 实施例1:

[0013] 先将贯叶连翘干燥,粉碎过20目筛,成贯叶连翘粉末,称取贯叶连翘粉末1kg,再称取5g的纤维素酶,在纤维素酶中加入50g 32℃温水,溶解,32℃水浴活化28分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末加水10000g混合,40℃水浴,浸泡90分钟,冷却至18℃,用盐酸调pH至5.3,摇匀,水浴加热至55℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解2小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的6倍量的乙醇回流提取3次,每次3小时,过滤,合并滤液,50℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物,得率为8.51%,用公知的反相高效液相色谱方法进行检测,测得贯叶连翘提取物中金丝桃素的含量为0.73%。

[0014] 实施例2:

[0015] 先将贯叶连翘干燥,粉碎过20目筛,成贯叶连翘粉末,称取贯叶连翘粉末2kg,再称取果胶酶30g,在果胶酶中加入450g 45℃温水,溶解,45℃水浴活化20分钟,成活化的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末加水30000g混合,70℃水浴,浸泡50分钟,冷却至20℃,用盐酸调pH至4,摇匀,水浴加热至47℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解5小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的13倍量的乙醇回流提取2次,每次1.5小时,过滤,合并滤液,60℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物,得率为8.16%,用公知的反相高效液相色谱方法进行检测,测得贯叶连翘提取物中金丝桃素的含量为0.68%。

[0016] 实施例3:

[0017] 先将贯叶连翘干燥,粉碎过20目筛,成贯叶连翘粉末,称取贯叶连翘粉末3kg,再称取木聚糖酶75g,在木聚糖酶中加入1500g 58℃温水,溶解,58℃水浴活化8分钟,成活化

的酶溶液,备用;贯叶连翘粉末加水 60000g 混合,90℃水浴,浸泡 20 分钟,冷却至 25℃,用盐酸调 pH 至 4.5,水浴加热至 40℃,加入上述活化的酶溶液,混匀,酶解 11 小时,抽滤,弃去滤液,得酶解后药材粉末,在酶解后的药材粉末内加入酶解后的药材粉末重量的 20 倍量的乙醇回流提取 5 次,每次 5 小时,过滤,合并滤液,55℃减压浓缩,回收乙醇,干燥,得贯叶连翘提取物,得率为 8.33%,用公知的反相高效液相色谱方法进行检测,测得贯叶连翘提取物中金丝桃素的含量为 0.81%。

[0018] 综上所述,本发明工艺简单,可用于食品和服用,金丝桃素含量高,本发明利用生物制剂酶解将贯叶连翘药材酶解后进行提取,大大提高了贯叶连翘药材的利用率,提高了提取物中金丝桃素含量,由上述实施例中所获得的检测结果可知,用本发明方法使得提取物中金丝桃素含量提高了 10 倍以上,提取物色泽好,安全无污染,提取物得率高,操作简单可行,易于进行工业化应用。