

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102225958 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 26

(21) 申请号 201110143319. 6

(22) 申请日 2011. 05. 27

(71) 申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路
38 号

(72) 发明人 王龙虎 梅彦红 孙笛 陈勇
刘雪松

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务所有限公
司 33200

代理人 张法高 赵杭丽

(51) Int. Cl.

C07H 17/07(2006. 01)

C07H 1/06(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种野黄芩苷的纯化方法

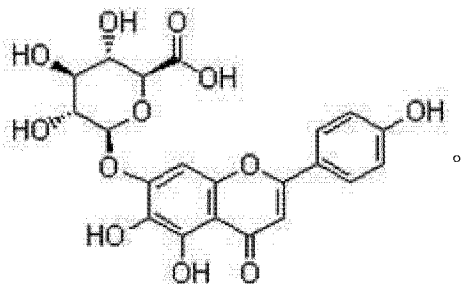
(57) 摘要

本发明提供一种野黄芩苷的纯化方法, 先将野黄芩苷的粗品溶解于碱性溶液中变成盐, 然后直接在水溶液中降温结晶分离杂质, 再酸化回到原始分子状态, 得到含量 99% 以上的精致产品。本发明充分利用野黄芩苷的钠盐或钾盐的溶解度性质, 将野黄芩苷精制过程转化为其盐的分离与纯化过程, 可获得高纯度的野黄芩苷产品。本发明方法操作步骤少, 简单易行, 成本低廉, 产品收率高而且质量稳定, 而且使用水作为结晶的溶剂, 避免了大量有机溶剂的使用, 增加了生产的安全性, 便于工业化生产。

1. 一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,通过以下步骤实现:

(1)在 40~60℃下,将野黄芩苷粗品按重量体积比 1:5~1:20g/mL 加入溶剂溶液中,用质量浓度为 5~20% 的碱溶液调 pH 至 8.0~9.0,使野黄芩苷全部溶解,然后在 4~10℃下放置结晶,经 36~48 小时后,过滤,用水洗涤,干燥,得中间体野黄芩苷钠盐或钾盐的结晶;

(2)在 10~35℃下,将野黄芩苷钠盐或钾盐的结晶,按重量体积比 1:10~1:20g/mL 加入到溶剂溶液中溶解,用质量浓度为 5~20% 的碱溶液调 pH 至 8.0~9.0 使盐全部溶解,再用质量浓度为 5~10% 的 HCl 或 H₂SO₄ 溶液调 pH 至 1.5~2.5,放置 4~6 小时,过滤,用水洗涤沉淀,干燥,得到纯化的野黄芩苷结晶;所述野黄芩苷的分子结构为:



2. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,步骤(1)所用的溶剂选用水、乙醇、乙酸乙酯或其混合物。

3. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,步骤(1)所用碱溶液选用 NaOH、NaHCO₃、Na₂CO₃、KOH、KHCO₃、K₂CO₃、磷酸盐、氨水或碱性氨基酸溶液。

4. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,步骤(1)结晶的方法选用降温结晶、溶剂蒸发结晶或抗溶剂结晶方法。

5. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,步骤(2)中所用的溶剂选用水、甲醇、乙醇、乙酸、乙酸乙酯或者其混合物,其中溶质与溶剂的重量体积比为 1:10~1:20g/mL。

6. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,步骤(2)中所用的酸溶液为无机酸或有机酸,选用硫酸、盐酸、硝酸或乙酸的水溶液。

7. 根据权利要求 1 所述的一种野黄芩苷的纯化方法,其特征在于,高效液相色谱测定的色谱条件为,流动相:甲醇-0.4% 磷酸体积比 35:65;流动相流速:1 mL/min;检测波长:335nm;柱温箱温度:45℃。

一种野黄芩苷的纯化方法

技术领域

[0001] 本发明属中药制备方法,涉及一种基于盐纯化工艺的野黄芩苷的纯化方法。

背景技术

[0002] 野黄芩苷(Scutellarin)别名黄芩素苷、灯盏乙素、灯盏花乙素,其化学名称为 4'-羟基黄芩素-7-O-葡萄糖醛酸甙,其植物来源有唇形科植物高黄芩(Scutellaria altissima L.)的叶,黄芩[S. baicalensis Georgi]的茎、叶以及半枝莲(S. Barbara D. Don)全草等。临床研究结果表明,野黄芩苷具有降低脑血管阻力,改善脑血循环、增加脑血流量及抗血小板凝集的作用,临床用于脑血管病后瘫痪的治疗。

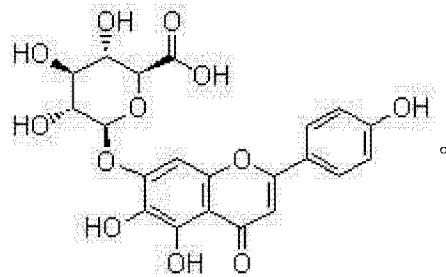
[0003] 虽然野黄芩苷(灯盏花乙素)对缺血性脑血管病及冠心病的治疗有非常明确的疗效,但是由于提取工艺的限制,目前灯盏花乙素制剂普遍存在纯度不高,疗效不稳定的情况。因此,近年来国内业界十分重视野黄芩苷(灯盏花乙素)的分离纯化新技术的研究。专利 CN 101376669A 提出用大孔树脂柱分离野黄芩苷的工艺方法,该工艺将野黄芩苷溶解在碱水中,离心后滤液加入到 D101 大孔树脂柱上,通过大孔树脂洗脱,再用 10 倍量的丙酮抗溶剂结晶,得到灯盏花素盐。再将其盐用 50% 丙酮-水溶解,用酸调 pH 至酸性,得野黄芩苷。该方法虽然能够达到较理想的精制效果,但是工艺过程复杂,致使生产成本居高不下,同时也存在着安全隐患。专利 CN 101830951 A 则提出另一种用甲醇-DMF-水作为流动相制备液相色谱柱分离野黄芩苷的方法,所得产品虽然纯度比较高,但设备投资量大且生产成本,难以工业化应用。专利 CN 101497637 公开了一种以灯盏花为原料制备高纯度野黄芩苷的方法。该方法将灯盏花经溶剂提取、絮凝剂澄清、大孔树脂分离和膜浓缩等步骤,最后采用有机溶剂沉淀方法得到野黄芩苷产品。该方法的不足之处在于,工艺繁长、操作难度大且产品质量不稳定。

[0004] 由于野黄芩苷在常规的溶剂中的溶解度较小,采用溶剂重结晶的精制工艺难以提高工业设备的效率。这是现有的制备高纯度野黄芩苷技术的通病。专利 CN 1715288A、CN1727355A 和 CN 1718584A 分别提出了有机溶剂抗溶剂结晶纯化野黄芩苷的工艺方法。三种工艺虽然各有自己的特点,但技术路线相同,即用碱金属弱酸盐调 pH,使目标产物的粗提取物溶解,再用大量的甲醇、乙醇、丙酮等为抗溶剂,析出其盐结晶,然后通过碱溶酸沉工艺获得纯度较高的目标产物。上述抗溶剂工艺的缺陷在于:需要加入数倍体积的抗溶剂,有机溶剂用量大;而且碱性条件下,大量的甲醇或乙醇易于与鞣质发生缔合,致使结晶难以析出或结晶纯度不高。

发明内容

[0005] 本发明针对现有野黄芩苷纯化技术过程复杂、有机溶剂用量大的不足之处,提出了一种新颖的纯化野黄芩苷的纯化方法,通过以下步骤实现:首先在一定温度下,将野黄芩苷粗品放入到一定量的溶剂中,用碱溶液调 pH,直至野黄芩苷全部溶解于溶液中;然后通过蒸发或降温的方法析出结晶,过滤,洗涤,干燥,得到精制的野黄芩苷盐的中间体;重新选

择溶剂,将结晶状中间体产品溶于其中,加入适当的酸性溶液,调节溶液的 pH,使野黄芩苷盐转变为野黄芩苷形式并从溶液中析出;再经过滤、洗涤、干燥,得到野黄芩苷结晶。本发明所述野黄芩苷的分子结构为:



[0006] 本发明方法的具体步骤以下:

(1)在 40~60℃下,将野黄芩苷粗品按重量体积比 1:5~1:20g/mL 加入溶剂溶液中,用质量浓度为 5~20%的碱溶液调 pH 至 8.0~9.0,使野黄芩苷全部溶解,然后在 4~10℃下放置结晶,经 36~48 小时后,过滤,用水洗涤,干燥,得中间体野黄芩苷钠盐或钾盐的结晶;

(2)在 10~35℃下,将野黄芩苷钠盐或钾盐的结晶,按重量体积比 1:10~1:20g/mL 加入到溶剂溶液中溶解,用质量浓度为 5~20%的碱溶液调 pH 至 8.0~9.0 使盐全部溶解,再用质量浓度为 5~10%的酸溶液调 pH 至 1.5~2.5,放置 4~6 小时,过滤,用水洗涤沉淀,干燥,得到纯化的野黄芩苷结晶。

[0007] 步骤(1)所用的溶剂选用水、乙醇、乙酸乙酯或其混合物。所用碱溶液选用 NaOH、NaHCO₃、Na₂CO₃、KOH、KHCO₃、K₂CO₃、磷酸盐、氨水或碱性氨基酸溶液。析出结晶态中间体的结晶方法包括降温结晶或溶剂蒸发结晶或抗溶剂结晶方法。

[0008] 步骤(2)中溶解中间体的溶剂选用水、甲醇、乙醇、乙酸、乙酸乙酯或者它们的混合物,其中溶质与溶剂的重量体积比为 1:10~1:20g/mL。所用的无机酸或有机酸溶液选用硫酸、盐酸、硝酸或乙酸的水溶液。

[0009] 本发明中采用稳定可靠的高效液相色谱法测定中间体和最终产品的含量。色谱条件如下,流动相:甲醇-0.4%磷酸体积比 35:65;流动相流速:1 mL/min;检测波长:335nm;柱温箱温度:45℃。野黄芩苷是通过用其对照品配置标准溶液,绘制标准曲线,确定线性范围。然后通过外标一点法,测定样品中主成分野黄芩苷的含量。

[0010] 本发明的特点在于,通过选择合适的溶剂和工艺条件,充分利用野黄芩苷的钠盐或钾盐的溶解度性质,且其盐溶液与杂质的不同溶解特性将野黄芩苷和杂质分开。所选择的结晶溶剂可以使大部分的杂质留在溶剂中,而达到饱和的野黄芩苷溶液则随着温度的降低结晶析出。与现行的野黄芩苷的分离纯化技术相比,本发明提出的方法,操作步骤少,简单易行,成本低廉,而且使用水作为结晶的溶剂,避免了大量有机溶剂的使用,增加了生产的安全性;经 HPLC 分析,产品主成分的含量达到 99% 以上,其杂质含量也显著降低,收率高,产品质量稳定,便于工业化生产。因此,本发明所提出的制备高纯度的野黄芩苷新工艺具有显著的技术优势。

[0011] 与现有的工艺技术不同,本发明的技术思路是将野黄芩苷精制过程转化为其盐的分离与纯化。与抗溶剂工艺不同,本发明将目标产物的粗提物在适当条件下变成野黄芩苷盐,然后直接在水溶液中降温结晶,达到除去各种杂质的目的。纯化后钠盐或钾盐再通过酸化恢复到原始分子状态,从而获得高纯度野黄芩苷产品。因此,本发明提供的技术路线更加

简洁,设备投资较少,操作成本降低。

[0012] 附图说明

图 1 是野黄芩苷原料药的高效液相色谱图。

[0013] 图 2 是精制野黄芩苷的高效液相色谱图。

具体实施方式

[0014] 实施例 1 :

称取 5.13g 含量为 90% 的野黄芩苷粗品(其高效液相色谱图参见图 1),加入到 60mL 水中,在 50-60℃下,用 5% 的 NaOH 调 pH 至 8.0~9.0,使样品完全溶解,将溶液置于 4℃下降温结晶 36h,过滤,沉淀用水洗涤至 pH 为 7.5,干燥,得到中间体沉淀 4.40g,所得中间体全部加入到 44mL10% 乙醇水溶液中,用 10%KOH 溶液调 pH 至 8.0~9.0,使全部溶解,再用 10% 的 HCl 或醋酸溶液调 pH 至 2.5,过滤,用水洗涤沉淀至 pH 为 6.8-7.5,干燥,得到精制的野黄芩苷 4.10g,其高效液相色谱图参见图 2。经计算,野黄芩苷的含量为 99.8%,精制过程产品收率为 88.6%。

[0015] 实施例 2 :

称取 5.10g 含量为 90% 的野黄芩苷粗品(其高效液相色谱图参见图 1),加入到 100mL 水中,然后按照实施例 1 的操作步骤进行处理,得到含 99.0% 野黄芩苷的精制产品 3.98g,产品收率 85.8%。

[0016] 实施例 3 :

称取 5.28g 含量为 90% 的野黄芩苷粗品,加入到 75mL10% 的乙醇水溶液中,在 50-60℃下,用 10% 的 Na_2CO_3 调 pH 至 8.0~9.0,使样品完全溶解,在真空条件下蒸发使溶液体积缩小一半,浓缩液再置于 8℃下降温结晶 24h,过滤,沉淀用水洗涤至 pH 为 7.5,干燥,得到野黄芩苷钠盐沉淀 4.38g。将野黄芩苷钠盐加入到 60mL 水中,用 Na_2CO_3 溶液调 pH 至 8.0~9.0,使全部溶解,再用稀 H_2SO_4 调 pH 至 1.5-2.0,过滤,用纯净水洗涤沉淀至 pH 为 6.8-7.5,干燥,得到纯度为 99.0% 的野黄芩苷 4.13g,产品收率 86.0%。

[0017] 实施例 4 :

称取 5.30g 含量为 90% 的野黄芩苷粗品,加入到 50mL 含 2mL 乙酸乙酯的水溶液中,在 50-60℃下,用 30% 的精氨酸溶液调 pH 至 8.0~9.0,使样品完全溶解,将溶液置于 4℃下降温结晶 32h,过滤,沉淀用水洗涤至 pH 为 7.5,干燥,得到中间体沉淀 4.59g。所得中间体全部加入到 45mL10% 乙醇水溶液中,用 10%KOH 溶液调 pH 至 8.0~9.0,使全部溶解,再用 10% 的醋酸溶液调 pH 至 2.8,过滤,用水洗涤沉淀至 pH 为 6.5-7.5,干燥,得到纯度为 99.5% 的野黄芩苷 4.14g,产品收率 86.3%。

[0018] 实施例 5 :

称取 5.33g 含量为 90% 的野黄芩苷粗品,加入到 60mL10% 的甲醇水溶液中,在 50-60℃下,用 5% 的 KOH 调 pH 至 8.0~9.0,使样品完全溶解,将溶液置于旋转蒸发器中除去近一半的溶剂,析出野黄芩苷钾盐,然后缓缓地冷却至 4℃,进一步降温结晶,过滤,沉淀用水洗涤至 pH 为 7.5,干燥,得到中间体沉淀 4.85g。所得中间体全部加入到 45mL10% 乙醇水溶液中,用 10%KOH 溶液调 pH 至 8.0~9.0,使全部溶解,再用 10% 的盐酸溶液调 pH 至 2.8,过滤,用水洗涤沉淀至 pH 为 6.5-7.5,干燥,得到纯度为 99.1% 的野黄芩苷 4.20g,产品收率 86.7%。

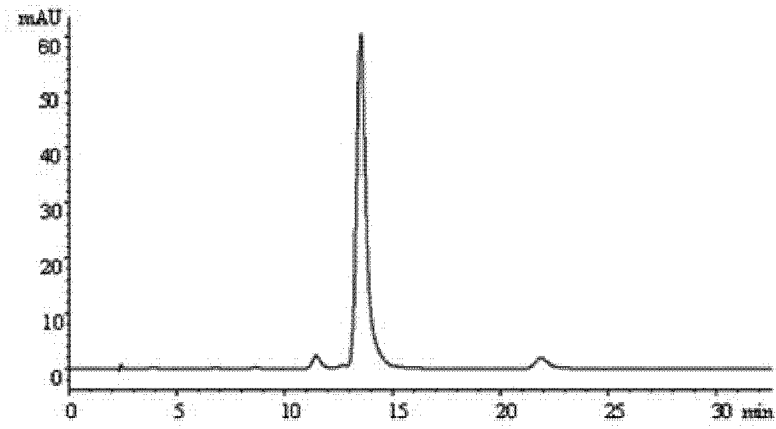


图 1

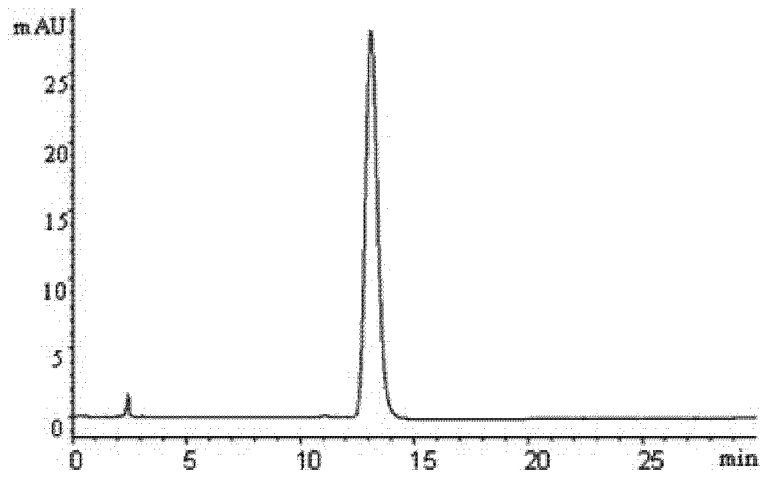


图 2