

纯化银杏总内酯的新工艺

高丽娟, 刘望才, 全艳玲, 张伟, 郭威, 蓝绍鹏, 林炳昌*

(鞍山科技大学分离技术中心, 辽宁鞍山 114044)

摘要: 将模拟移动床色谱精细分离技术用于纯化银杏总内酯, 取代现行的单柱柱层析, 使银杏总内酯产品的纯度提高、收率增加、成本降低, 工艺简化、生产清洁度进一步提高。

关键词: 银杏总内酯; 萃取; 模拟移动床; 结晶

中图分类号: TQ 028.7 文献标识码: A

文章编号: 0367-6358(2005)12-711-F04

New Purification Technology of Ginkgolides

GAO Li Juan, LIU Wang cai, QUAN Yan ling, ZHANG wei,

GUO Wei, LAN Shao peng, LIN Bing chang*

(Anshan University of Science and Technology, Center of Separation Technology, Liaoning Anshan 114044, China)

Abstract: Using simulated moving bed chromatography (SMBC) to replace batch chromatography separation of ginkgolides is introduced. For this new process, the purity and yield of product increase and the cost decreases. Furthermore, this process is clean and the pollution is few.

Key words: ginkgo ginkgolides; extraction; simulated moving bed; crystallization

目前, 从银杏叶中提取萜类内酯化合物的方法大致可以分为四步^[1-6]: 第一是用有机溶剂进行浸取, 第二是用乙酸乙酯萃取, 第三是树脂柱层析吸附分离, 第四是重结晶。本文报道了生产银杏内酯的新工艺——模拟移动床色谱(simulated moving bed chromatography, SMBC)提纯生产工艺。

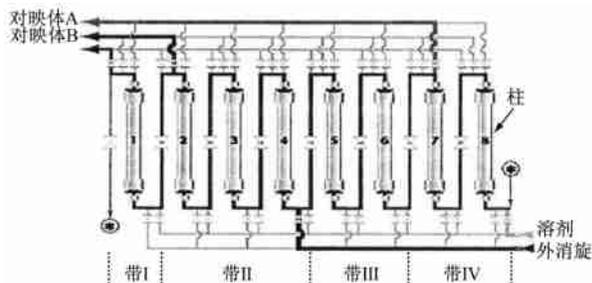


图 1 8 柱模拟移动床设备装置图

图 1 是本实验室自己设计的模拟移动床系统示意图, 该系统是三带 A 型模拟移动床系统^[7-11]。包括如下几部分: 洗脱泵(100 mL/min)、进样泵(10 mL/

min)、制备柱(10×10 cm)、转子流量计(150 mL)、流量调节阀、PLC 控制系统和电磁阀。其运行方式如图 2^[11]。

模拟移动床系统的操作单元是制备柱, 在分离多组样品时, 就一根制备柱来说, 各组分往往不能彻底分离。由单柱实验, 并且按单柱色谱的有关理论及其与模拟移动床色谱的运行参数之间的近似关系可估算^[7-11]: 模拟移动床色谱分离区域为 12~20 min。然后再通过 SMB 系统实验, 不断地校正具体的 v^{III} (III 带的洗脱流速), v^{II} (II 带的洗脱流速) 和 t_s (切换时间) 的数值, 以取得最好的分离参数。

实验部分

1 仪器设备及试剂

仪器: 高压液相色谱检测系统: 检测器(岛津 SPD-10 AVP 紫外), 洗脱泵(北京星达技术开发公司), 分析柱(Diamondsil ODS 4.6×250 mm, 迪马公司); 设备: 模拟移动床(本中心研制, 规格: 两泵

(1000 mL/min, 80 mL/min)、八柱(柱 10 × 10 cm), 薄膜旋转蒸发器、真空干燥箱; 原料: 银杏膏(总黄酮 24%、总内酯 6%, 西安); 试剂: 甲醇(分析纯, 北京

化工厂)、乙醇(工业纯, 北京化工厂)、乙酸乙酯(工业纯, 沈阳同联试剂厂) 水(去离子一次蒸馏); 固定相: YWG-C18(30~ 34 μm, 8 nm)。

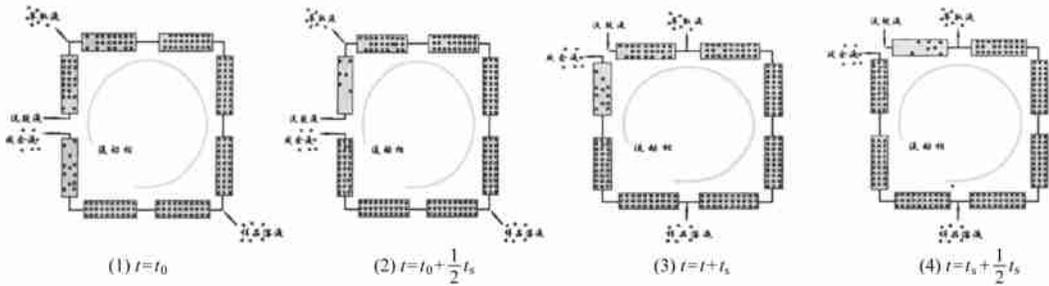


图 2 模拟移动床三带 A 型切换示意图

2 HPLC 检测条件

2.1 流动相: 甲醇: 水 = 5: 5, 检测波长 220 nm, 流速: 1 mL/min, 检测灵敏度: 0.0800 AUFS, 进样量: 20 μL, 检测温度: 室温。

2.2 流动相: 甲醇: 水 = 35: 65, 检测波长 220 nm, 流速: 1 mL/min, 检测灵敏度: 0.0800 AUFS, 进样量: 20 μL, 检测温度: 室温

2.3 银杏内酯纯化工艺:

2.3.1 工艺路线

银杏浸膏粉原料(总内酯 6%) $\xrightarrow{\text{乙酸乙酯固液萃取}}$ 银杏内酯粗提物(A) (总内酯 ≤ 20%) $\xrightarrow{\text{SMBC}}$ SMBC 产品 R(总内酯 ≈ 60%) $\xrightarrow{\text{重结晶}}$ 银杏内酯产品(总内酯 ≥ 95%)

2.3.2 萃取

每克银杏浸膏粉原料加入 1 L 乙酸乙酯, 在 35 °C 下进行固液萃取 10 h, 过滤, 滤液减压蒸干得银杏内酯粗提物(A)。

2.3.3 模拟移动床纯化

1) 样液的配制: 以 2.3.2 所得粗提物(A) 为原料, 用乙醇溶解配制(0.8~ 1.0 g/mL) 样液, 用 0.45 μm 滤膜过滤。

2) 流动相的配制: 乙醇: 水(v/v) = 5: 5

3) SMBC 参数: 运行方式 2-2, $U_1 = 10 \text{ mL/min}$, $U_2 = 360 \text{ mL/min}$, $U_3 = 240 \text{ mL/min}$, $U_4 = 120 \text{ mL/min}$, $t_s = 16 \text{ min}$, R 为 SMBC 产品。

4) 浓缩: 产品液和残余液分别用薄膜旋转蒸发器浓缩至无水, 用乙醇洗出后在真空干燥箱烘干至恒重。

2.3.4 重结晶: 2.3.3 所得产品 R 用乙醇溶解(1 g/mL)。冰箱冷冻放置。现象: 过 5 min 后有白色沉淀析出, 白色沉淀析出后再加 5 倍乙醇体积的水, 静置

2 h 过滤, 沉淀用水淋洗, 白色沉淀真空烘干至恒重, 得银杏内酯产品。

2.3.5 产品纯度检测: 2.3.2 步产品采用 2.1 条件检测, 结果见图 3a; 2.3.3 步产品采用 2.1 条件检测, 结果见图 3b; 2.3.3 步杂质采用 2.1 条件检测, 结果见图 3c; 2.3.4 步产品采用 2.2 条件检测, 结果见图 3d(纯度: GC9%, GB60%, GA28%)。

2.4 工艺条件确定

2.4.1 萃取条件

1) 萃取剂: 根据文献报道, 乙酸乙酯萃取液银杏黄酮类和杂质的含量较低, 能将内酯的含量由百分之几提高到百分之十几。本文选用乙酸乙酯进行萃取。

2) 萃取方式: 液固与液液萃取法相比, 目标物收率相近, 而得率液固法小于液液法。静浸、旋转搅拌、超声三种不同的方式比较, 静浸时间最长的目标物收率最低; 旋转搅拌时间次之, 超声时间最短, 目标物收率旋转搅拌和超声相近。为了适应工业生产, 本工艺选择液固旋转搅拌方式。

3) 萃取温度: 在 15、20、25、30、35、45、50 °C 进行萃取比较, 实验结果显示, 在低于 25 °C 时萃取的收率太低, 高于 45 °C 时银杏黄酮的溶解度太大, 经检测, 萃取的杂质多, 纯度差, 在 35 °C 时银杏内酯的溶解度大, 萃取效果好, 因此, 本文选用在 35 °C 时萃取。

4) 萃取时间: 萃取时间在 6、7、8、9、10、11、12、13 h 比较, 从得率和纯度两个主要因素来看, 萃取时间 9、10 h 类同, 但 10 h 稍微高些, 本实验取 10 h。

5) 液固比: 每克银杏浸膏粉原料, 分别加入乙酸乙酯 500、600、700、800、900、1200、1300 mL 进行比较。原料(质量/g): 萃取液(体积/L) = 1: 1 时萃取效果最好, 本实验选择固液化为 1 g 原料: 1 L 萃取液。

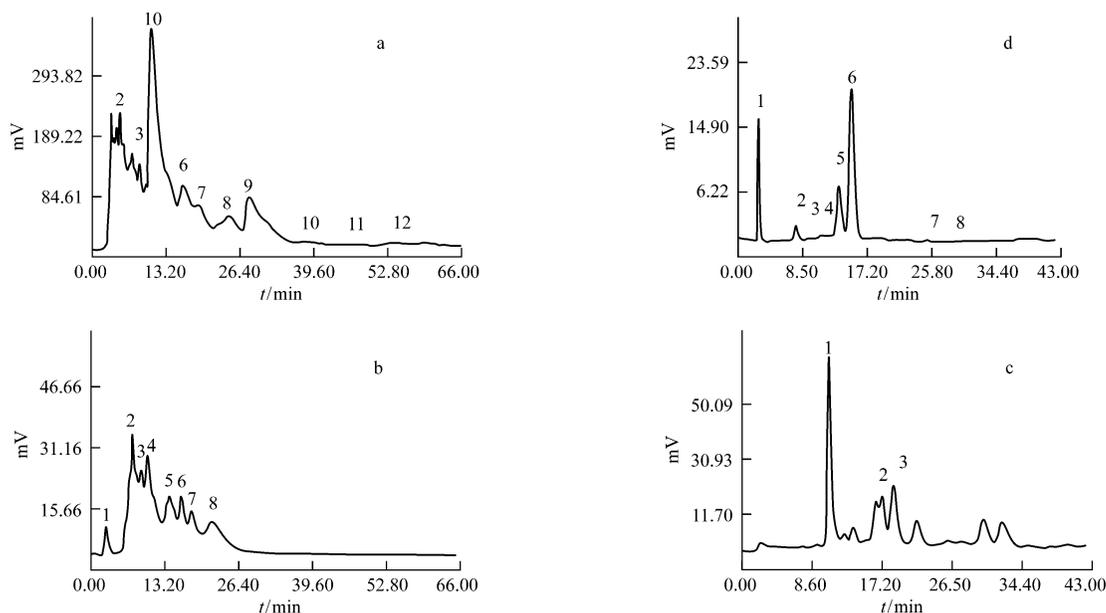


图 3 各步产品 HPLC 谱图

a. 萃取物的谱图 b. SMBC 产品谱图; c. SMBC 杂质谱图; d. 结晶产品谱图

由上面的实验结果可以得到萃取银杏内酯的最佳条件: 萃取温度为 35 °C, 萃取时间为 10 h, 样品与萃取液之比为每克原料加入乙酸乙酯 1000 mL。

2.4.2 SMBC 参数

1) 固定相: 种类(三氧化二铝, 聚酰胺树脂, YWG-C18)。效果: 聚酰胺和树脂去杂能力较弱; 三氧化二铝尽管去杂能力较强, 但不可逆吸附较严重; YWG-C18 去杂能力优于三氧化二铝, 不可逆吸附低于三氧化二铝, 且可用纯乙醇再生。故本工艺的固定相选择 YWG-C18。

2) 流动相: 因为乙醇比甲醇毒性小, 分离效果和甲醇接近, 所以采用乙醇。对 SMBC 的流动相极性范围选择, 见表 1

表 1 流动相配比的选择

乙醇: 水(<i>v/v</i>)	纯度 %	收率 %
4:6	60	60
4.5:5.5	60	75
5:5	60	90
5.5:4.5	60	85
6:4	60	60

表 1 的结果表明, 乙醇含量低, 洗脱能力差, 有更多的目标物保留时间过长, 难如期洗脱, 所以收率低, 乙醇含量高, 分离能力差, 为了达到要求的纯度, 有更多的目标物被切到杂质出口, 所以收率也较低。综合纯度和收率两个因素, 本工艺的流动相选择乙醇: 水(*v/v*) = 5:5。

3) SMBC 参数: u_1 为洗脱泵流速, u_2 为萃取液流

速, u_3 为进样泵流速, u_4 为残余液流速, u_5 = 洗脱泵流速 + 进样泵流速 - 萃取液流速, t_s 切换时间。理论计算和经验都证明: 进样流速与残余液流速之比在 1:5 和 1:10 之间。根据现有设备和理论计算, SMBC 参数选择见表 2。

表 2 模拟移动床分离参数的选择

实验号	$U_1/\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	$U_2/\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	$U_3/\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	t_s/min	柱连接方式	检测结果	
						纯度/%	收率/%
1	5	360	120	16	2:3	≈ 60	≤ 30
2	5	360	120	16	2:3	≈ 60	≤ 50
3	5	360	120	16	2:2	≈ 60	≤ 90
4	5	300	120	17	2:2	≈ 60	≤ 85
5	5	240	120	18	2:2	≈ 60	≤ 60
6	5	360	120	14	2:2	≈ 60	≤ 60
7	5	360	120	15	2:2	≈ 60	≤ 70
8	5	360	120	17	2:2	≈ 60	≤ 90
9	5	360	120	18	2:2	≈ 60	≤ 85
10	10	360	120	16	2:2	≈ 60	≤ 90
11	12	360	120	16	2:2	≈ 60	≤ 90
12	15	360	120	16	2:2	≈ 60	≤ 80

由表 2 实验 1[#], 2[#], 3[#] 结果可知, 在产品纯度相同的情况下, 柱数分配方式以 2:2 的收率最高; 从实验 3[#], 4[#], 5[#] 可见, 洗脱流速大于 300 mL/min 为益; 从实验 3[#], 6[#], 7[#], 8[#], 9[#] 可见, 切换时间 16 min 和 17 min 都符合要求。从实验 3[#], 10[#], 11[#], 12[#] 可见, 进样液流速小于 12 mL/min 都得到合格产品。所以 SMBC 参数定为 2.3.3 所示。

2.4.3 结晶条件的选择

1) 结晶溶剂: 对甲醇, 乙醇, 乙酸乙酯, 水结晶溶剂对结晶效果进行了比较, 从得率和纯度两个因

素来考虑,乙醇和乙酸乙酯结晶均较好,但用乙酸乙酯结晶的速度慢。本实验选择用乙醇结晶。

2) 结晶温度: 分别对 20 °C, 0 °C, - 18 °C 结晶温度对结晶效果进行了比较, 从晶体得率和纯度两个因素来考察, 结晶温度选择 - 18 °C 最好。

3) 结晶时间: 在 1, 3, 8, 12 h 中比较了结晶时间对结晶效果的影响, 从晶体得率和纯度两个因素来考察, 结晶时间 8 h 最好。

4) 固液比: 在固体(g)与乙醇(mL) 比为 1: 0. 5, 1: 1, 1: 2, 1: 3, 1: 4 选择了最大固液化, 从得率、纯度和操作难度因素来考虑, 本工艺选择 1: 1 或 1: 2。

3 结论

3.1 用模拟移动床色谱纯化银杏内酯从理论到实践都是完全可行的, 而且在产品品质、产量及收率、成本等方面均优于现行工艺。

3.2 找到了一条切实可行的以 SMBC 为核心, 包括原料前处理和产物后处理的分离银杏内酯的新工艺。找到了一套确定 SMBC 分离银杏内酯的参数方法。

3.3 用乙醇替代甲醇, 能实现清洁生产。

参考文献:

[1] 韩金玉, 李海静. 天然药物银杏内酯研究进展[J]. 化工进展. 2000, 19(2) : 23-25.

[2] 卢锦花, 胡小玲, 岳 红. 吸附树脂提取分离银杏叶提

取物的研究进展[J]. 化工进展, 2001, 20(3) , 1-4.

[3] 游 海, 陶秉莹, 张立麟. 超临界萃取法从银杏叶提取物中提取黄酮类化合物、萜内酯的工艺研究[J]. 南昌大学学报(工科版), 2000, 22(4) , 34-38

[4] 郁 青. 高含量银杏萜内酯富集方法研究[J]. 林产化学与工业, 2000, 20(2) , 1-4.

[5] 张 鉴, 潘 见, 谢惠明, 等. 反相高效液相色谱法测定银杏叶提取物中 5 种内酯的含量[J]. 分析化学, 2000, 1, 53-56.

[6] Hasler A, Sticher O. Identification and determination of the flavonoid from ginkgo biloba by high performance liquid chromatography[J]. J Chromatography, 1992, 605, 41-48.

[7] Hotier G. Physically meaningful modeling of the 3 zone and 4 zone simulated moving bed processes[J]. J AIChE 1996, 42(1) , 154-159.

[8] Shuji Adachi. Simulated moving bed chromatography for continuous separation of two components and its application to bioreactors[J]. J Chromatography A. 1994, 658, 271-282.

[9] Strube J, Altenhoner U, Meurer M, et al. Dynamic simulated moving bed chromatographic processes for optimization of chiral separations[J]. J Chromatography A. 1997, 769, 81-92.

[10] 林炳昌. 模拟移动床色谱分离技术在药物领域的应用[J]. 辽宁医药, 2000, 15(1) : 30.

[11] 张家元, 林炳昌. 三带模拟移动床色谱的实验研究[J]. 鞍山钢铁学院学报, 1999, 22(3) : 85-87.

2006 年《江苏化工》杂志征订启事

《江苏化工》是由江苏省化工信息中心主办的综合性化工科技期刊, 国内外公开发行人。本刊立足开放富庶的江苏大地, 汇集知识精英的智慧成果, 系江苏期刊方阵优秀期刊、《中国核心期刊(遴选) 数据库》《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊, 《中国期刊网》全文收录期刊, 美国《化学文摘》(CA)、《中国化学化工文摘》摘用期刊。

《江苏化工》紧密结合江苏化工产业发展的需要, 着重报道石油化工和精细化工领域国内外最新科技和市场动态, 反映重点行业现状和发展趋势, 介绍化工新领域国内外技术进展, 宣传推广新产品开发和环保技术成果, 评述热点产品产需状况和市场行情。本刊选题新颖导向性强, 内容丰富信息量大, 广告精美时代感强, 是化工从业人员了解新技术新产品开发动态、应用前景、市场动向的窗口, 是信息时代企业决胜市场的战略资源。主要栏目: 专题论述、调研报告、科技进展、应用与开发、技术与装备、环保与资源利用、生产实践、技术经济与市场等。

《江苏化工》为双月刊, 逢双月 20 日出版, 大 16 开 64 页, 全年 6 期订价 48 元, 邮发代号 28-126, 全国各地邮局均可订阅, 也可随时向编辑部订阅。

编辑部地址: 南京市北京西路 17 号 户名: 江苏省化工信息中心

邮政编码: 210024 开户行: 南京市工行大方巷分理处

联系电话: (025) 83306742 帐号: 4301011109100198997

传 真: (025) 83308293 E-mail: jshg@ms. sti. js. cn