

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2016 年 1 月 21 日 (21.01.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/008443 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/21 (2006.01) A61K 9/127 (2006.01)
A61K 36/8994 (2006.01) A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/084298

(22) 国际申请日: 2015 年 7 月 17 日 (17.07.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201410342420.8 2014 年 7 月 18 日 (18.07.2014) CN

(71) 申请人: 浙江康莱特集团有限公司 (ZHEJIANG KANGLAITE GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市下沙经济技术开发区 16 号路, Zhejiang 310018 (CN)。

(72) 发明人: 李大鹏 (LI, Dapeng); 中国浙江省杭州市下沙经济技术开发区 16 号路, Zhejiang 310018 (CN)。

(74) 代理人: 上海三和万国知识产权代理事务所 (普通合伙) (SANHE INTERNATIONAL IP ATTORNEYS(GP)); 中国上海市莘闵高新技术暨归国留学生科技创业园金都路 4299 号 D 栋 578 号, Shanghai 201108 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

- 关于申请人有权要求在先申请的优先权 (细则 4.17(iii))
- 发明人资格 (细则 4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: COIX SEED OIL COMPRISING 16 GLYCERIDES, FORMULATION AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 含有 16 种甘油酯的薏苡仁油、制剂及其应用

(57) Abstract: A coix seed oil comprising 16 glycerides extracted from coix seeds, formulation and application thereof. The coix seed oil comprises the following 5 diglyceride components and 11 triglyceride components (calculated by mass percentage): 1,3-dioleate diglyceride (0.40-0.58%), 1-linoleate-3-oleate diglyceride (0.91-1.31%), 1,2-dioleate diglyceride (0.24-0.35%), 1-oleate-2-linoleate diglyceride (0.66-0.95%), 1,2-linoleate diglyceride (0.33-0.47%), glyceryl trilinoleate (4.87-6.99%), glyceryl 1-oleate-2,3-dilinoleate (13.00-18.69%), glyceryl 1-palmitate-2,3-dilinoleate (5.25-7.54%), glyceryl 1,3-dioleate-2-linoleate (13.23-19.02%), glyceryl 1-palmitate-2-linoleate-3-oleate (10.26-14.75%), glyceryl 1,3-dipalmitate-2-linoleate (2.28-3.28%), glyceryl trioleate (14.44-20.76%), glyceryl 1-palmitate-2,3-dioleate (8.06-11.58%), glyceryl 1-oleate-2-linoleate-3-stearate (1.37-1.97%), glyceryl 1,3-dipalmitate-2-oleate (1.52-2.19%), and 1,2-dioleate-3-stearate (1.29-1.86%). The coix seed oil can be used in the preparation of anti-tumour medicine.

(57) 摘要: 一种从薏苡仁中提取的含有 16 种甘油酯的薏苡仁油、制剂及其应用。该薏苡仁油中含有下述 5 种甘油酯类成分和 11 种甘油三酯类成分 (按质量百分比计): 1,3-二油酸甘油二酯 (0.40-0.58%), 1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 (0.91-1.31%), 1,2-二油酸甘油二酯 (0.24-0.35%), 1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 (0.66-0.95%), 1,2-二亚油酸甘油二酯 (0.33-0.47%), 三亚油酸甘油酯 (4.87-6.99%), 1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯 (13.00-18.69%), 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 (5.25-7.54%), 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 (13.23-19.02%), 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 (10.26-14.75%), 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 (2.28-3.28%), 三油酸甘油酯 (14.44-20.76%), 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 (8.06-11.58%), 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 (1.37~1.97%), 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 (1.52~2.19%) 和 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 (1.29~1.86%)。所述薏苡仁油能在制备抗肿瘤的藥物中应用。

WO 2016/008443 A1

含有 16 种甘油酯的薏苡仁油、制剂及其应用

技术领域

本发明涉及药学领域，具体而言，本发明涉及一种薏苡仁油、制剂、制备方法及其在制备抗肿瘤药物中的应用。

背景技术

薏苡仁是禾本科薏苡属植物薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var *ma-yuen* (Roman.) Stapf 的成熟干燥种仁，为利水渗湿药，很久以来为药食两用品种。现代研究发现薏苡仁具有镇痛抗炎、免疫调节、抗溃疡、降血脂和减肥等药理作用。近年来，国内外学者通过 TLC、HPLC、GC 等方法对薏苡仁的化学成分进行了研究，发现其含有多种活性成分，主要包括薏苡仁酯、甘油三酯类、脂肪酸类、内酰胺类、薏苡仁内酯、糖类、甾醇类、三萜类等化合物。其中，酯类是首先被发现的具有抗肿瘤活性的成分，也是报道最多最受关注的化学成分。虽然目前在中国临床上以薏苡仁油为有效成分的康莱特注射剂已得到普遍应用，但其使用的薏苡仁油成分较复杂，除含有甘油三酯成分外，还含有甘油一酯、甘油二酯以及脂肪酸酯等，这必然会使实际生产过程中的质量控制和临床用药安全面临很大的挑战。

本发明以薏苡仁粉为原料，采用超临界二氧化碳萃取、碱化、中性氧化铝和高岭土纯化等步骤，得到了一种薏苡仁油有效部位；通过对其活性成分的分离与鉴定，确定了其组成主要为十一种甘油三酯成分和五种甘油二酯成分；并进一步对其进行理化常数的检测，确定了其最优酸值、碘值、皂化值、折光率和相对密度等。采用本发明所述薏苡仁油用药，成分及组成确定，保证了工业生产中各批次间的质量稳定性，也避免了因直接采用薏苡仁油入药而成分复杂不清导致的毒副反应。

发明内容

本发明的目的在于提供一种从薏苡仁中提取的薏苡仁油，其特征在于：该薏苡仁油中含有如下质量百分含量的 5 种甘油二酯类成分和 11 种甘油三酯类成分：1, 3-二油酸甘油酯 0.40~0.58%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 0.91~1.31%、1, 2-二油酸甘油酯 0.24~0.35%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.66~0.95%、1, 2-二亚油酸甘油酯 0.33~0.47%、三亚油酸甘油酯 4.87~6.99%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯 13.00~18.69%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 5.25~7.54%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 13.23~19.02%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 10.26~14.75%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.28~3.28%、三油酸甘油酯 14.44~20.76%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 8.06~11.58%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.37~1.97%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.52~2.19% 和 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.29~1.86%。

优选的，上述 5 种甘油二酯成分和 11 种甘油三酯成分的质量百分含量为：1, 3-二油酸甘油酯 0.45~0.55%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.03~1.25%、1, 2-二油酸甘油酯 0.27~0.33%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.75~0.91%、1, 2-二亚油酸甘油酯 0.37~0.45%、三亚油酸甘油酯 5.47~6.69%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯 14.63~17.88%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 5.9~7.21%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 14.88~18.19%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 11.55~14.11%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.57~3.14%、三油酸甘油酯 16.25~19.86%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.07~11.08%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.54~1.88%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.71~2.09% 和 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.45~1.78%；

更优选的，上述 5 种甘油二酯成分和 11 种甘油三酯成分的质量百分含量为：1, 3-二油酸甘油酯 0.49~0.51%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.12~1.16%、1, 2-二油酸甘油酯 0.29~0.31%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.81~0.85%、1, 2-二亚油酸甘油酯 0.40~0.42%、三亚油酸甘油酯

5.96~6.20%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯 15.93~16.58%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.43~6.69%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.20~16.87%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.57~13.09%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.79~2.91%、三油酸甘油酯 17.69~18.42%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.87~10.27%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.68~1.74%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.86~1.94%和 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.58~1.65%。

上述含量均指甘油二酯或甘油三酯化合物在薏苡仁油中的质量百分含量，以本发明所述方法制备得到的薏苡仁油为原料，经过制备色谱分离得到 5 个甘油二酯单体化合物和 11 个甘油三酯单体化合物，称重、计算而得。也可根据本领域常规分析方法得出。

其中，所述薏苡仁油按脂肪油检测理化常数为：20℃时相对密度 0.916~0.920，20℃时折光率 1.471~1.474，酸值<0.2，碘值 100~106，皂化值 186~195；

本发明所述的薏苡仁油是通过如下方法获得的：

超临界二氧化碳萃取：取薏苡仁粉碎成 20 目~100 目，采用 600 L×2 超临界 CO₂ 萃取器萃取，将薏苡仁粉装入萃取釜，用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱，使萃取温度和分离温度分别达到 33~45℃和 30~45℃，保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 20~50℃和 15~35℃；液态 CO₂ 以 1~3 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器，成为超临界状态下的流体，进入萃取釜，保持压力 19~23 Mpa，萃取薏苡仁油；溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱，控制分离柱压力 7~10 Mpa，分离得到薏苡仁油；从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜，分别保持压力为 5~7 Mpa 和 4~6 Mpa，弃去解析得到的水分等杂质，CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂，循环使用，连续萃取 2~3 h，得到薏苡仁油；

精制：取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油，加入油重量 65% 的 60℃~90℃石油醚，再根据酸值，加入油重 36%~56% 的 2% NaOH 溶液，搅拌 10 min 后，静置 18~24 h 后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置 18~24 h 后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置 40~50 h 后，除去下层废水；取上层加油重 70%~90% 丙酮破乳，静置 2~4 h 后，除去下层废丙酮；取上层油溶液，加入 3%~8% 的经活化的中性氧化铝，搅拌 30 min 后，过滤；滤液加热后，加入 2%~6% 经活化的混合吸附剂，搅拌，在 40~50℃下保温 30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置 1~2 h 后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经 160~170℃减压干热灭菌 1~2 h，冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤，分装于 500 ml 玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得；

优选地，所述精制步骤如下：

取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油，加入油重量 65% 的 60℃~90℃石油醚，再根据酸值，加入油重 36%~56% 的 2% NaOH 溶液，搅拌 10 min 后，静置 20 h 后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置 22 h 后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置 46 h 后，除去下层废水；取上层加油重 70%~90% 丙酮破乳，静置 3 h 后，除去下层废丙酮；取上层油溶液，加入 5% 的经活化的中性氧化铝，搅拌 30 min 后，过滤；滤液加热后，加入 4% 经活化的高岭土:活性炭=1:1 的混合吸附剂，搅拌，在 40~50℃下保温 30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置 1 h 后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经 160~170℃减压干热灭菌 2 h，冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤，分装于 500 ml 玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得。

本发明所述薏苡仁油为淡黄色的澄明液体，气微、味淡；其在石油醚或三氯甲烷中极易溶解，在丙酮中易溶、在乙醇中微溶，在水中不溶。

按照本发明所述方法制备得到的薏苡仁油，依照中国药典 2010 年版一部附录方法进行检测，其理化常数均为：20℃时相对密度 0.916~0.920，20℃时折光率 1.471~1.474，酸值<0.2，碘值 100~106，皂化值 186~195。其中，药典所述酸值系指中和脂肪、脂肪油或其他类似物质 1 克中含有的游离脂肪酸所需氢氧化钾的重量（毫克数）。在油脂类产品的质量研究中，

酸值是一个重要评价指标,就本申请所述薏苡仁油而言,其酸值均小于 0.2,即通过对制备工艺中超临界萃取参数和碱化等纯化工艺的优化,制备得到的薏苡仁油具有如下优点:一方面作为杂质的游离脂肪酸含量极低,成品质量较好;另一方面富集了大量甘油二酯、甘油三酯类活性成分,纯度较高,并且其中甘油二酯和甘油三酯类成分种类明确、含量稳定。除此之外,其它理化常数,如皂化值、碘值等,多批次样品测得该值变化范围均较小,进一步说明本发明所述薏苡仁油的质量稳定、临床用药更安全。本发明所述制备方法收率高、成本低、产品稳定,适于工业化生产,安全可控。

本发明的又一目的在于提供一种含有薏苡仁油的药物制剂,具体包括本发明所述薏苡仁油及一种或几种药学上可接受的载体。

其中,所述药学上可接受的载体包括药学领域常规的稀释剂、赋形剂、填充剂、乳化剂、粘合剂、润滑剂、吸收促进剂、表面活性剂、崩解剂、润滑剂或抗氧化剂,必要时还可以加入香味剂、甜味剂、防腐剂或着色剂。

所述药学上可接受的载体可以选自:甘露醇、山梨醇、焦亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、盐酸半胱氨酸、巯基乙酸、蛋氨酸、大豆磷脂、维生素 C、维生素 E、EDTA 二钠、EDTA 钙钠,一价碱金属的碳酸盐、醋酸盐、磷酸盐或其水溶液、盐酸、醋酸、硫酸、磷酸、氨基酸、氯化钠、氯化钾、乳酸钠、羟苯乙酯溶液、苯甲酸、山梨酸钾、醋酸氯己定、木糖醇、麦芽糖、葡萄糖、果糖、右旋糖苷、甘氨酸、淀粉、蔗糖、乳糖、甘露糖醇、硅衍生物、纤维素及其衍生物、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、甘油、土温 80、琼脂、碳酸钙、碳酸氢钙、表面活性剂、聚乙二醇、环糊精、 β -环糊精、磷脂类材料、高岭土、滑石粉、硬脂酸钙或硬脂酸镁。

所述药物制剂可以是口服固体制剂、口服液体制剂或注射剂。

优选的,

所述口服固体制剂选自胶囊剂、片剂、滴丸、颗粒剂、浓缩丸中的一种;所述口服液体制剂选自水性或油性悬浮液、溶液、乳剂、糖浆剂或酏剂,或是一种在使用前可用水或其它适宜的载体复配的干燥产品;所述注射剂选自纳米混悬剂、脂质体、乳剂、冻干粉针剂和水针剂中的一种。

更优选的,

所述注射剂包括如下成分:本发明所述薏苡仁油 50~350 g,注射用大豆磷脂或可供注射用大豆磷脂 10~40 g,注射用甘油或可供注射用甘油 15~50 g,注射用水加至 1000 ml。

其可通过如下方法制备:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂或可供注射用大豆磷脂,加适量的注射用水后,用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体,加入按配方量称取的注射用甘油或可供注射用甘油,并加注射用水至规定量,搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油,将称取的油酯与水相分别加热至 60~70℃后,置高压均质机进行高压乳化,乳化时均质机低压为 5~12 MPa,高压为 25~50 MPa,再循环均质 3~6 遍,至 2 μ m 以下颗粒应不少于 95%,5 μ m 以上颗粒不得检出,必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 4.8~8.5,优选 6.8~7,最优选为 6.8;

将制得均匀乳剂氮气加压通过小于等于 3 μ m 的微孔滤芯过滤器过滤,充氮灌装灭菌,冷却即得。

所述胶囊剂包括如下成分:薏苡仁油 200~800 g,抗氧化剂和/或乳化剂 0.20~0.60 g,制成 1000 粒。

其可通过如下方法制备:

胶液配制:按重量比为 1:0.6~1.2:0.3~0.8:0.0001~0.01 称取适量明胶、纯化水、甘油和防腐剂;依次将甘油、纯化水、防腐剂(选自 10%羟苯乙酯溶液、苯甲酸、山梨酸钾和醋酸氯己定中的一种)加入化胶罐内,加热至 70℃~90℃后,再加入明胶不断搅拌、抽真

空，直至明胶完全溶解，将胶液过滤，在 56~62℃下存放，备用；

药液配制：将配方量的薏苡仁油、抗氧化剂和/或乳化剂（抗氧化剂为维生素 E，乳化剂为吐温 80）加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在 15~30℃、相对湿度小于 35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用 95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于 12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得。

本发明通过药效实验表明，所述药物组合物及其制剂对多种人肿瘤细胞株均有不同程度的抑制作用，可作为治疗肿瘤疾病药物。

因此，本发明的目的还在于提供一种上述药物组合物、药物制剂在制备抗肿瘤药物中的应用。

其中，所述肿瘤是指早期、中期或晚期的肺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌或乳腺癌。

以下通过实验数据说明本发明所述组合物及其制剂在抗肿瘤方面的有益效果。

一、体外 *MTT* 法测定薏苡仁油及其制剂对 8 种人肿瘤细胞株的抑制作用

1、实验材料及配制

（1）细胞株：PANC-1(人胰腺癌细胞)、SKOV3(人卵巢癌细胞)、MCF-7（人乳腺癌细胞）、Bcap-37（人乳腺癌细胞）、SMMC-7721(人肝癌细胞)、HepG-2(人肝癌细胞)、A549（人肺癌细胞）、H460（人肺癌细胞），上述细胞株由上海医药工业研究药理评价研究中心保存，传代维持。

（2）DMEM 完全培养基：添加 10%新生牛血清（GIBCO BRL）、双抗。

（3）0.25%胰蛋白酶溶液（Trypsin）：购自 Invitrogen 公司，-20℃保存。

（4）磷酸缓冲液（PBS）：NaCl 8 g，KCl 0.2 g，Na₂HPO₄ 1.15 g，KH₂PO₄ 0.2 g，溶于 1 L 双蒸水，121℃高压消毒 20 min，4℃保存。

（5）MTT（AMRESCO）溶液：用 PBS 配成 5 mg/ml 溶液。

（6）溶解液：每 100 ml 去离子双蒸水含 SDS 10 g，异丁醇 5 ml，浓盐酸 0.1 ml。

2、实验方法

样品对上述细胞株的抑制作用通过 *MTT* 法测得。

具体步骤如下：

（1）细胞培养：①将细胞从液氮中取出，在 37℃水浴中迅速解冻，细胞在无菌操作台中移入 10 ml 无菌离心管中加 6 ml 细胞培养基，1000 转/分钟离心 5 分钟。弃去上清液，沉淀中加入 5~6 ml 细胞培养基，滴管吹打使其悬浮后移入细胞培养瓶中，置 37℃细胞培养箱内。②次日，自培养箱中取出细胞，弃去细胞瓶中细胞培养基，加入 5~6 ml 细胞培养基，置 37℃细胞培养箱内。③隔日，自培养箱中取出细胞，弃去细胞瓶中细胞培养基，加入 PBS（pH 7.4）2~3 ml 晃动清洗，倒掉 PBS 溶液后再重复一次清洗。在培养瓶中加入 3~5 滴 0.25%胰蛋白酶溶液晃动均匀，加盖置于 37℃细胞培养箱内 3 分钟左右，于显微镜下观察发现细胞自培养瓶壁上脱离，加细胞培养基 2 ml，滴管吹打使细胞完全脱离瓶壁后，分别移入 2 个干净培养瓶中，加入细胞培养基 5~6 ml 吹打均匀，置于 37℃细胞培养箱内。④隔日，重复③步骤。在整个培养过程中，贴壁细胞不允许生长过密，悬浮细胞始终保持对数生长期。

（2）样品及对照品制备：称取适量薏苡仁油样品溶解于 DMSO 中，得到浓度为 10 mg/ml 的溶液。再用 PBS 作梯度稀释，得到浓度 10 mg/ml、5000 μg/ml、2500 μg/ml、1250 μg/ml、625 μg/ml、312.5 μg/ml 的稀释样品。

（3）将稀释好的样品加入平底 96 孔板中，每孔 10 μl，每点作两个平行测试。将 DMSO 相应作梯度稀释后加入板中，作为对照。

（4）取处于对数生长期的细胞，细胞经胰酶消化并洗涤后悬浮于含 10%小牛血清的培养基中，经苔盼蓝染色排除法计活细胞数，并调节细胞悬浮液密度至 2×10^5 个细胞/ml。

- (5) 将加入细胞的平底 96 孔板在 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 48 小时。
- (6) 每孔中加入 20 μl 的 5 mg/ml MTT 溶液, 继续在培养箱中保温 3~4 小时。
- (7) 每孔加入 100 μl 溶解液, 继续在培养箱中保温过夜, 使生成的甲臍晶体充分溶解。测定 570 nm 光吸收值。
- (8) 根据光吸收值计算各样品浓度组的细胞生长抑制率。计算公式如下:

$$(1 - \text{实验孔平均光吸收值} / \text{对照孔平均光吸收值}) \times 100\%$$

3、实验结果

表 1 不同浓度样品对 8 种细胞株的生长抑制率 (%)

细胞株	浓度 样品	1000 μg/ml	500 μg/ml	250 μg/ml	125 μg/ml	62.5 μg/ml	31.25 μg/ml
PANC-1	薏苡仁油	75.94	51.21	27.59	2.98	0.24	0.01
SKOV3	薏苡仁油	98.20	91.35	54.57	28.55	1.66	/
MCF-7	薏苡仁油	86.78	50.14	49.79	40.44	31.22	23.98
Bcap-37	薏苡仁油	65.42	38.78	26.17	1.11	0.87	0.34
SMMC-7721	薏苡仁油	98.52	96.88	84.11	35.51	27.88	13.63
HepG-2	薏苡仁油	66.85	43.90	31.42	4.06	2.27	0.85
A549	薏苡仁油	97.22	67.81	43.67	24.63	17.65	10.37
H460	薏苡仁油	74.38	42.48	25.19	15.52	7.69	0.88

表 2 样品在体外对 8 种细胞株的 IC₅₀ (μg/ml)

细胞株 \ 样品	薏苡仁油	阳性对照 (泰素)
PANC-1	495.4	0.44
SKOV3	253.04	0.22
MCF-7	195.73	0.34
Bcap-37	669.1	0.28
SMMC-7721	104.76	0.12
HepG-2	590.9	0.45
A549	192.63	0.49
H460	497.1	0.49

4、结论

不同浓度的本发明薏苡仁油在体外对上述 8 种人肿瘤细胞株有不同程度的抑制作用。通过试验证实, 本发明所述的薏苡仁油及其制剂均能够达到上述试验例所述的效果。本发明通过以下具体的实施例进一步说明本发明, 但不作为本发明的限制。

具体实施方式

实施例 1 薏苡仁油的制备

超临界二氧化碳萃取: 取薏苡仁粉碎成 70 目, 采用 600 L×2 超临界 CO₂ 萃取器萃取, 将薏苡仁粉装入萃取釜, 用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱, 使萃取温度和分离温度分别达到 40℃ 和 45℃, 保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 50℃ 和 35℃; 液态 CO₂ 以 2 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器, 成为超临界状态下的流体,

进入萃取釜，保持压力 20 Mpa，萃取薏苡仁油；溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱，控制分离柱压力 7 Mpa，分离得到薏苡仁油；从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜，分别保持压力为 7 Mpa 和 6 Mpa，弃去解析得到的水分等杂质，CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂，循环使用，连续萃取 2.5 h，得到薏苡仁油；

精制：取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油，加入油重量 65% 的 60℃ 石油醚，再根据酸值，加入油重 45% 的 2% NaOH 溶液，搅拌 10 min 后，静置 20 h 后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置 22 h 后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置 46 h 后，除去下层废水；取上层加油重 80% 丙酮破乳，静置 3 h 后，除去下层废丙酮；取上层油溶液，加入 5% 的经活化的中性氧化铝，搅拌 30 min 后，过滤；滤液加热后，加入 4% 经活化的混合吸附剂，搅拌，在 45℃ 下保温 30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置 1 h 后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经 165℃ 减压干热灭菌 1.5 h，冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤，分装于 500 ml 玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得薏苡仁油，收率 4.5%；测定其理化常数为：20℃ 时相对密度 0.915，20℃ 时折光率 1.471，酸值 0.18，碘值 102，皂化值 190。

实施例 2 薏苡仁油的制备

超临界二氧化碳萃取：取薏苡仁粉碎成 60 目，采用 600 L×2 超临界 CO₂ 萃取器萃取，将薏苡仁粉装入萃取釜，用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱，使萃取温度和分离温度分别达到 40℃ 和 40℃，保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 20℃ 和 15℃；液态 CO₂ 以 1 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器，成为超临界状态下的流体，进入萃取釜，保持压力 22 Mpa，萃取薏苡仁油；溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱，控制分离柱压力 8 Mpa，分离得到薏苡仁油；从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜，分别保持压力为 6 Mpa 和 5 Mpa，弃去解析得到的水分等杂质，CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂，循环使用，连续萃取 2 h，得到薏苡仁油；

精制：取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油，加入油重量 65% 的 90℃ 石油醚，再根据酸值，加入油重 56% 的 2% NaOH 溶液，搅拌 10 min 后，静置 22 h 后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置 20 h 后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置 48 h 后，除去下层废水；取上层加油重 90% 丙酮破乳，静置 2 h 后，除去下层废丙酮；取上层油溶液，加入 8% 的经活化的中性氧化铝，搅拌 30 min 后，过滤；滤液加热后，加入 6% 经活化的混合吸附剂，搅拌，在 42℃ 下保温 30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置 2 h 后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经 170℃ 减压干热灭菌 1.5 h，冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤，分装于 500 ml 玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得薏苡仁油，收率 4.9%；测定其理化常数为：20℃ 时相对密度 0.920，20℃ 时折光率 1.473，酸值 0.19，碘值 104，皂化值 186。

实施例 3 薏苡仁油的制备

超临界二氧化碳萃取：取薏苡仁粉碎成 100 目，采用 600 L×2 超临界 CO₂ 萃取器萃取，将薏苡仁粉装入萃取釜，用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱，使萃取温度和分离温度分别达到 33℃ 和 39℃，保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 30℃ 和 20℃；液态 CO₂ 以 3 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器，成为超临界状态下的流体，进入萃取釜，保持压力 19 Mpa，萃取薏苡仁油；溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱，控制分离柱压力 9 Mpa，分离得到薏苡仁油；从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜，分别保持压力为 5 Mpa 和 4 Mpa，弃去解析得到的水分等杂质，CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂，循环使用，连续萃取 3 h，得到薏苡仁油；

精制：取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油，加入油重量 65% 的 80℃ 石油醚，再根据酸

值, 加入油重 36% 的 2% NaOH 溶液, 搅拌 10 min 后, 静置 18 h 后, 除去下层皂脚, 取上层用纯化水进行水洗, 静置 18 h 后, 除去下层废水; 取上层进行第二次水洗, 静置 42 h 后, 除去下层废水; 取上层加油重 75% 丙酮破乳, 静置 2 h 后, 除去下层废丙酮; 取上层油溶液, 加入 3% 的经活化的中性氧化铝, 搅拌 30 min 后, 过滤; 滤液加热后, 加入 2% 经活化的混合吸附剂, 搅拌, 在 47℃ 下保温 30 min, 过滤; 滤液减压回收溶剂后, 再加纯化水进行水洗, 静置 1 h 后, 除去下层废水; 上层油在充氮条件下, 加热减压浓缩, 再经 160℃ 减压干热灭菌 2 h, 冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤, 分装于 500 ml 玻璃输液瓶中, 充氮, 密封, 即得薏苡仁油, 收率 4.7%; 测定其理化常数为: 20℃ 时相对密度 0.918, 20℃ 时折光率 1.474, 酸值 0.15, 碘值 100, 皂化值 194。

实施例 4 薏苡仁油的制备

超临界二氧化碳萃取: 取薏苡仁粉碎成 30 目, 采用 600 L $\times$ 2 超临界 CO₂ 萃取器萃取, 将薏苡仁粉装入萃取釜, 用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱, 使萃取温度和分离温度分别达到 35℃ 和 42℃, 保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 40℃ 和 30℃; 液态 CO₂ 以 1.5 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器, 成为超临界状态下的流体, 进入萃取釜, 保持压力 21 Mpa, 萃取薏苡仁油; 溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱, 控制分离柱压力 10 Mpa, 分离得到薏苡仁油; 从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜, 分别保持压力为 7 Mpa 和 5 Mpa, 弃去解析得到的水分等杂质, CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂, 循环使用, 连续萃取 2 h, 得到薏苡仁油;

精制: 取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油, 加入油重量 65% 的 70℃ 石油醚, 再根据酸值, 加入油重 50% 的 2% NaOH 溶液, 搅拌 10 min 后, 静置 19 h 后, 除去下层皂脚, 取上层用纯化水进行水洗, 静置 21 h 后, 除去下层废水; 取上层进行第二次水洗, 静置 50 h 后, 除去下层废水; 取上层加油重 85% 丙酮破乳, 静置 4 h 后, 除去下层废丙酮; 取上层油溶液, 加入 6% 的经活化的中性氧化铝, 搅拌 30 min 后, 过滤; 滤液加热后, 加入 5% 经活化的混合吸附剂, 搅拌, 在 50℃ 下保温 30 min, 过滤; 滤液减压回收溶剂后, 再加纯化水进行水洗, 静置 1 h 后, 除去下层废水; 上层油在充氮条件下, 加热减压浓缩, 再经 162℃ 减压干热灭菌 2 h, 冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤, 分装于 500 ml 玻璃输液瓶中, 充氮, 密封, 即得薏苡仁油, 收率 4.0%; 测定其理化常数为: 20℃ 时相对密度 0.920, 20℃ 时折光率 1.471, 酸值 0.16, 碘值 105, 皂化值 192。

实施例 5 薏苡仁油的制备

超临界二氧化碳萃取: 取薏苡仁粉碎成 40 目, 采用 600 L $\times$ 2 超临界 CO₂ 萃取器萃取, 将薏苡仁粉装入萃取釜, 用夹套循环热水加热 CO₂ 预热器、萃取釜和分离柱, 使萃取温度和分离温度分别达到 42℃ 和 45℃, 保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为 35℃ 和 25℃; 液态 CO₂ 以 2.5 t/h 的流量经高压泵加压进入 CO₂ 预热器, 成为超临界状态下的流体, 进入萃取釜, 保持压力 23 Mpa, 萃取薏苡仁油; 溶有薏苡仁油的 CO₂ 流体进入分离柱, 控制分离柱压力 8 Mpa, 分离得到薏苡仁油; 从分离柱出来的 CO₂ 气体先后进入一级、二级解析釜, 分别保持压力为 6 Mpa 和 4 Mpa, 弃去解析得到的水分等杂质, CO₂ 气体经冷凝器变成液态 CO₂, 循环使用, 连续萃取 2.5 h, 得到薏苡仁油;

精制: 取超临界 CO₂ 萃取得到的薏苡仁油, 加入油重量 65% 的 80℃ 石油醚, 再根据酸值, 加入油重 40% 的 2% NaOH 溶液, 搅拌 10 min 后, 静置 24 h 后, 除去下层皂脚, 取上层用纯化水进行水洗, 静置 24 h 后, 除去下层废水; 取上层进行第二次水洗, 静置 44 h 后, 除去下层废水; 取上层加油重 70% 丙酮破乳, 静置 3 h 后, 除去下层废丙酮; 取上层油溶液, 加入 4% 的经活化的中性氧化铝, 搅拌 30 min 后, 过滤; 滤液加热后, 加入 3% 经活化的混合吸附剂, 搅拌, 在 40℃ 下保温 30 min, 过滤; 滤液减压回收溶剂后, 再加纯化水进行水

洗，静置 1.5 h 后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经 165℃减压干热灭菌 1.5 h，冷却后经 0.2 μm 微孔滤膜过滤，分装于 500 ml 玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得；薏苡仁油，收率 4.3%；测定其理化常数为：20℃时相对密度 0.916，20℃时折光率 1.473，酸值 0.14，碘值 101，皂化值 192。

实施例 6

薏苡仁油 8000 mg 加入 10 ml 正己烷超声溶解，再用流动相丙酮配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液。利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行分离；流动相：正己烷:丙酮=94:6 (v/v)；每次分离进样量：15 ml；色谱柱：Venusil XBP silica (20*250mm, 10μm)；流速：18 mL/min；ELSD 检测器：漂移管温度 45℃，载气流速 2.0 L/min。收集保留时间为 15.8 min 的色谱峰流分，接收液于 30℃下减压浓缩后转移到 10 ml 样品瓶中氮气室温下氮气吹干，即得 1, 3-二油酸甘油酯。

室温下，无色油状物；

Q-TOF/MS: 准分子离子峰 $[M+Na]^+$ m/z 643.5277，计算值 643.5272， $C_{39}H_{72}O_5Na$ ， $\Omega = 4$ ， 1H NMR 谱和 ^{13}C NMR 谱见表 3。

表 3 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据 ($CDCl_3$)

Position	1H NMR	^{13}C NMR
C-1', 1"		174.0
C-2', 2"	2.33 (4H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.3
C-3', 3"		25.0
C-4', 4"		29.3
C-5', 5"		29.3
C-6', 6"		29.3
C-7', 7"		29.8
C-8', 8"		27.3
C-9', 9"	5.34 (2H, m)	129.9
C-10', 10"	5.34 (2H, m)	130.2
C-11', 11"		27.3
C-12', 12"		29.9
C-13', 13"		29.5
C-14', 14"		29.7
C-15', 15"		29.5
C-16', 16"		32.1
C-17', 17"		22.8
C-18', 18"	0.87 (6H, t, $J = 5$ Hz)	14.3
C-1	4.19 (2H, dd, $J = 11.6, 4.8$ Hz) 4.13 (2H, dd, $J = 11.6, 5.7$ Hz)	65.2
C-2	4.08 (1H, m)	68.6
C-3	4.19 (2H, dd, $J = 11.6, 4.8$ Hz) 4.13 (2H, dd, $J = 11.6, 5.7$ Hz)	65.2

实施例 7

薏苡仁油 8000 mg 加入 10 ml 正己烷超声溶解，再用流动相丙酮配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液。利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行分离；流动相：正己烷:丙酮

=94:6 (v/v); 每次分离进样量: 15 ml; 色谱柱: Venusil XBP silica (20*250mm, 10 μ m); 流速: 18 mL/min。ELSD 检测器: 漂移管温度 45℃, 载气流速 2.0 L/min。收集保留时间为 17min 的色谱峰流分, 接收液于 30℃下减压浓缩后转移到 10 ml 样品瓶中氮气室温下氮气吹干, 即得 1-亚油酸-3-油酸甘油二酯。

室温下, 无色油状物;

Q-TOF/MS: 准分子离子峰[M+Na]⁺=m/z 641.5121, 计算值 641.5115, C₃₉H₇₀O₅Na, Ω = 5; ¹H NMR 谱和 ¹³C NMR 谱见表 4。

表 4 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱数据 (CDCl₃)

Position	¹ H NMR	¹³ C NMR	Position	¹ H NMR	¹³ C NMR
C-1'		174.8	C-1''		174.8
C-2'	2.35 (4H, t, J = 7.6 Hz)	35.1	C-2''	2.35 (4H, t, J = 7.6 Hz)	35.1
C-3'		25.9	C-3''		25.9
C-4'		30.1	C-4''		30.1
C-5'		30.1	C-5''		30.1
C-6'		30.1	C-6''		30.1
C-7'		30.7	C-7''		30.7
C-8'		28.2	C-8''		28.2
C-9'	5.39 (1H, m)	131.0	C-9''	5.39 (1H, m)	130.7
C-10'	5.39 (1H, m)	129.1	C-10''	5.39 (1H, m)	131.0
C-11'	2.80 (2H, t, J = 6.6 Hz)	26.6	C-11''		28.2
C-12'	5.39 (1H, m)	128.9	C-12''		30.8
C-13'	5.39 (1H, m)	131.2	C-13''		30.3
C-14'		28.2	C-14''		30.6
C-15'		30.5	C-15''		30.3
C-16'		32.5	C-16''		32.9
C-17'		23.6	C-17''		23.7
C-18'	0.91 (3H, t, J = 5.0 Hz)	15.0	C-18''	0.92 (3H, t, J = 5.0 Hz)	15.1
C-1	4.21 (2H, dd, J = 11.5, 4.3 Hz) 4.16 (2H, dd, J = 11.5, 5.7 Hz)	66.0			
C-2	4.11 (1H, m)	69.4			
C-3	4.21 (2H, dd, J = 11.5, 4.3 Hz) 4.16 (2H, dd, J = 11.5, 5.7 Hz)	66.0			

实施例 8

薏苡仁油 8000 mg 加入 10 ml 正己烷超声溶解, 再用流动相丙酮配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液。利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行分离; 流动相: 正己烷: 丙酮 =94:6 (v/v); 每次分离进样量: 15 ml; 色谱柱: Venusil XBP silica (20*250 mm, 10 μ m); 流速: 18 mL/min。ELSD 检测器: 漂移管温度 45℃, 载气流速 2.0 L/min。收集保留时间为 23min 的色谱峰流分, 接收液于 30℃下减压浓缩后转移到 10 ml 样品瓶中氮气室温下氮气吹干, 即得 1, 2-二油酸甘油酯。

室温下, 无色油状物;

Q-TOF/MS: 准分子离子峰[M+Na]⁺=m/z 643.5277, 计算值 643.5272, C₃₉H₇₂O₅Na, Ω = 4; ¹H NMR 谱和 ¹³C NMR 谱见表 5。

表 5 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据 (CDCl_3)

1, 2-油酸甘油二酯		
Position	^1H NMR	^{13}C NMR
C-1'		173.9
C-1''		173.5
C-2'	2.33 (4H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.2
C-2''		34.4
C-3'		25.0
C-3''		25.1
C-4', 4''		29.3
C-5', 5''		29.3
C-6', 6''		29.3
C-7', 7''		29.8
C-8', 8''		27.3
C-9', 9''	5.35 (2H, m)	129.8
C-10', 10''	5.35 (2H, m)	130.2
C-11', 11''		27.3
C-12', 12''		29.9
C-13', 13''		29.5
C-14', 14''		29.7
C-15', 15''		29.5
C-16', 16''		32.1
C-17', 17''		22.7
C-18', 18''	0.88 (6H, t, $J = 5$ Hz)	14.3
C-1	4.32 (2H, dd, $J = 12.0$, 4.6 Hz) 4.24 (2H, dd, $J = 12.0$, 5.6 Hz)	62.1
C-2	5.08 (1H, m)	72.3
C-3	3.73 (2H, d, $J = 3.2$ Hz)	61.8

实施例 9

薏苡仁油 8000 mg 加入 10 ml 正己烷超声溶解，再用流动相丙酮配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液。利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行分离；流动相：正己烷：丙酮=94:6 (v/v)；每次分离进样量：15 ml；色谱柱：Venusil XBP silica (20*250mm, 10 μm)；流速：18 mL/min。ELSD 检测器：漂移管温度 45 $^{\circ}\text{C}$ ，载气流速 2.0 L/min。收集保留时间为 24.5 min 的色谱峰流分，接收液于 30 $^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩后转移到 10 ml 样品瓶中氮气室温下氮气吹干，即得 1-油酸-2-亚油酸甘油二酯。

室温下，无色油状物；

Q-TOF/MS：准分子离子峰 $[\text{M}+\text{Na}]^+ = m/z$ 641.5121，计算值 641.5115， $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{O}_5\text{Na}$ ， $\Omega = 5$ ； ^1H NMR 谱和 ^{13}C NMR 谱见表 6。

表 6 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据 (CDCl_3)

Position	^1H NMR	^{13}C NMR	Position	^1H NMR	^{13}C NMR
C-1'		173.9	C-1''		173.5
C-2'	2.33 (2H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.2	C-2''	2.33 (2H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.4
C-3'		25.0	C-3''		25.1
C-4'		29.3	C-4''		29.3
C-5'		29.3	C-5''		29.5
C-6'		29.3	C-6''		29.3
C-7'		29.8	C-7''		29.9
C-8'		27.3	C-8''		27.4
C-9'	5.37 (1H, m)	129.8	C-9''	5.37 (1H, m)	130.2
C-10'	5.37 (1H, m)	130.2	C-10''	5.37 (1H, m)	128.2
C-11'		25.8	C-11''	2.77 (2H, t, $J = 6.5$ Hz)	25.8
C-12'		29.9	C-12''	5.37 (1H, m)	128.0
C-13'		29.5	C-13''	5.37 (1H, m)	130.4
C-14'		27.4	C-14''		27.4
C-15'		29.5	C-15''		29.8
C-16'		32.1	C-16''		31.7
C-17'		22.8	C-17''		22.7
C-18'	0.89 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)	14.3	C-18''	0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)	14.2
C-1	4.32 (1H, dd, $J = 11.9, 4.5$ Hz) 4.23 (1H, dd, $J = 11.9, 5.6$ Hz)	62.1			
C-2	5.08 (1H, m)	72.3			
C-3	3.73 (2H, d, $J = 3.2$ Hz)	61.8			

实施例 10

薏苡仁油 8000 mg 加入 10 ml 正己烷超声溶解, 再用流动相丙酮配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液。利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行分离; 流动相: 正己烷: 丙酮 = 94:6 (v/v); 每次分离进样量: 15 ml; 色谱柱: Venusil XBP silica (20*250mm, 10 μm); 流速: 18 mL/min。ELSD 检测器: 漂移管温度 45 $^{\circ}\text{C}$, 载气流速 2.0 L/min。收集保留时间为 27 min 的色谱峰流分, 接收液于 30 $^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩后转移到 10 ml 样品瓶中氮气室温下氮气吹干, 即得 1, 2-二亚油酸甘油酯。

室温下, 无色油状物;

Q-TOF/MS: 准分子离子峰 $[\text{M}+\text{Na}]^+ = m/z$ 639.4964, 计算值 639.4959, $\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{O}_5\text{Na}$, $\Omega = 6$;
 ^1H NMR 谱和 ^{13}C NMR 谱见表 7。

表 7 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据 (CDCl_3)

Position	^1H NMR	^{13}C NMR	Position	^1H NMR	^{13}C NMR
C-1'		173.9	C-1''		173.5
C-2'	2.32 (4H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.2	C-2''	2.35 (2H, t, $J = 5.0$ Hz)	34.4
C-3'		25.0	C-3''		25.1
C-4'		29.3	C-4''		29.3
C-5'		29.5	C-5''		29.5
C-6'		29.3	C-6''		29.3
C-7'		29.9	C-7''		29.9
C-8'		27.4	C-8''		27.4
C-9'	5.37 (1H, m)	130.2	C-9''	5.37 (1H, m)	130.2
C-10'	5.37 (1H, m)	128.2	C-10''	5.37 (1H, m)	128.2
C-11'	2.77 (4H, t, $J = 6.5$ Hz)	25.8	C-11''	2.77 (2H, t, $J = 6.5$ Hz)	25.8
C-12'	5.37 (1H, m)	128.0	C-12''	5.37 (1H, m)	128.0
C-13'	5.37 (1H, m)	130.4	C-13''	5.37 (1H, m)	130.4
C-14'		27.4	C-14''	'	27.4
C-15'		29.8	C-15''		29.8
C-16'		31.7	C-16''		31.7
C-17'		22.7	C-17''		22.7
C-18'	0.89 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)	14.2	C-18''	0.89 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)	14.2
C-1	4.32 (1H, dd, $J = 11.9, 4.6$ Hz) 4.24 (1H, dd, $J = 12.0, 5.6$ Hz)	62.1			
C-2	5.08 (1H, m)	72.3			
C-3	3.73 (2H, d, $J = 3.2$ Hz)	61.8			

实施例 11 三亚油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 12.6~14.2 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发器减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得三亚油酸甘油酯。

HR-EI-MS: $m/z = 878.7344$ ($\text{Calcd.} = 878.7363$, C₅₇H₉₈O₆), 不饱和度=9。

IR (KBr film): 1746、1170、1098; 2928、2856、724; 3008、1655 (弱) cm^{-1} 。

^1H -NMR 数据见表 8。

^{13}C -NMR 数据见表 9。

表 8 实施例 6-13 所述化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱数据 (CDCl_3)

No.	C-H	H	2-H	3-H	4-H	5-H	6-H	7-H	8-H	9-H	10-H	11-H	12-H	13-H	14-H	15-H	16-H	17-H	18-H
A LLL	α	4.30																	
	β	5.27	2.52	1.63		1.32			2.05	5.36	2.77		5.36	1.05			1.32		0.89
	α'	4.15																	
B OLL	α	4.29																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.33			2.04	5.37	2.77		5.37	1.04			1.33		0.89
	α'	4.14									2.04			1.33					
C FLL	α	4.30																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.31			2.05	5.36	2.77		5.36	1.05			1.31		0.88
	α'	4.15							1.31					1.31			0.88		
D OLO	α	4.30																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.32			2.05	5.36		1.05			1.32			1.32	0.89
	α'	4.15									2.77		5.36	1.05					
E FLO	α	4.15												1.25					
	β	5.27	2.32	1.63		1.28			2.04	5.35	2.77		5.35	2.04		1.28	1.25		0.88
	α'	4.30							1.28							0.88			
F FLP	α	4.15																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.28			2.05	5.36	2.77		5.36	2.05		0.89	1.29		0.89
	α'	4.30									1.28					0.88			
G OOO	α	4.15																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.28			2.06	5.34	2.77		5.34						0.89
	α'	4.30																	
H POO	α	4.15																	
	β	5.27	2.32	1.63		1.28			2.04	5.34	2.77		5.34						0.88
	α'	4.30								1.27						0.88			

其中, A: 三亚油酸甘油酯, B: 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯, C: 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯, D: 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯, E: 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯, F: 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯, G: 三油酸甘油酯, H: 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯。

表 9 实施例 6-13 所述化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱数据 (CDCl_3)

No.	Abb.	GL-C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18
A LLL	α	62.32	173.29	34.85	24.96						139.01	125.88		127.91						
	β	65.91	172.87	34.21	24.89		29.05~29.62		27.21		129.85	128.69	25.64	127.96	139.22	27.21	29.05~29.62	31.53	22.58	14.67
	α'																			
B OLL	α	62.32	173.28	34.84	24.96						139.03	125.88		127.91						
	β	65.89	172.87	34.21	24.90		29.07~29.79		27.19		139.00	128.18	25.65	127.96	139.24	27.24	29.07~29.79	31.55	22.60	14.19
	α'		173.29								129.73	136.83	27.22		29.07~29.79			31.93	22.71	14.14
C FLL	α	62.32	173.38	34.84	24.99						139.02	125.88		127.989	139.236					
	β	65.94	172.88	34.20	24.85		29.06~29.72		27.21		129.89	128.69	25.64	127.993	139.236		29.06~29.72	31.54	22.59	14.69
	α'		173.34	34.87	24.88					29.06~29.72						31.95	22.71		14.14	
D OLO	α	62.32	173.29	34.85	24.96						139.03	125.88		127.91		29.07~29.79		31.93	22.71	14.14
	β	65.89	172.87	34.21	24.90		29.07~29.79		27.22		139.00	128.19	25.65	127.98	139.24	27.24	29.07~29.79	31.55	22.60	14.19
	α'																			
E FLO	α	62.32	173.29	34.84	24.96						139.01	125.88		127.91						
	β	65.91	172.86	34.20	24.87		29.06~29.78		27.21		129.88	128.69	25.64	127.96	139.22	27.23	29.06~29.78	31.54	22.58	14.67
	α'		173.32	34.86	24.88						29.06~29.78					31.94	22.71		14.11	
F FLP	α	62.09	173.32	34.85	24.96						139.05	125.88		127.91						
	β	65.89	172.86	34.19	24.83		29.05~29.78		27.20		129.97	128.68	25.63	127.89	139.23	27.20	29.05~29.79	31.53	22.58	14.67
	α'																			
G OOO	α	62.32	173.29	34.84	24.96						139.02	125.88		127.91						
	β	65.90	172.87	34.21	24.90		29.07~29.78		27.19		129.89	128.69	25.64	127.96	139.22	27.23	29.06~29.78	31.54	22.58	14.67
	α'																			
H POO	α	62.32	173.31	34.84	24.88						139.02	125.88		127.91						
	β	65.89	172.88	34.21	24.96		29.06~29.78		27.19		129.89	128.69	25.64	127.96	139.22	27.23	29.06~29.78	31.54	22.58	14.67
	α'		173.35	34.86	24.90											31.94	22.70		14.11	

其中, A: 三亚油酸甘油酯, B: 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯, C: 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯, D: 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯, E: 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯, F: 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯, G: 三油酸甘油酯, H: 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯。

实施例 12 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢

呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 15.4~17.3 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯。

HR-EI-MS: $m/z=880.7518$ ($Calcd.=880.7520$, C₅₅H₉₈O₆), 不饱和度=7。

IR (KBr film): 1747, 1164, 1098; 2925, 2854, 723; 3008, 1655 (弱) cm⁻¹。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 13 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行初步分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min, 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 17.4~18.1 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 得粗品。

二次纯化时流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 将上述粗品用流动相 B 配制成 20 mg/mL 的溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(10 mm×250 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~23 min: 50%~60%, 32~43 min: 60%~90%, 43~60 min: 100%; 流速: 3 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm, 收集保留时间为 31.2~34.7 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯单体。

HR-EI-MS: $m/z=854.7370$ ($Calcd.=854.7363$, C₅₅H₉₈O₆), 不饱和度=7。

IR (KBr Flim): =1746, 1165, 1095; 2926, 2854, 722; 3009, 1648 (弱) cm⁻¹。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 14 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 18.4~20.2 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯。

HR-EI-MS: $m/z=882.7678$, ($Calcd.=882.7663$, C₅₇H₁₀₂O₆), 不饱和度=7。

IR (KBr film): 1747、1163、1097; 2925、2855、72; 3007、1655 cm⁻¹ (弱)。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 15 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行初步分离。流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-

四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 20.3~21.4 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯。

HR-EI-MS: m/z =856.7519, (*Calcd.*=856.7512, C₅₅H₁₀₀O₆), 不饱和度=6。

IR (KBr film): 1747、1164、1098; 2925、2854、723; 3008、1655 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 16 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行初步分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 25.7~26.2 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯。

HR-EI-MS: m/z =830.7371 (*Calcd.*=830.7363, C₅₃H₉₈O₆), 不饱和度=5。

IR (KBr film): 1747、1164、1098; 2925、2854、723; 3008、1655 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 17 三油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行初步分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 26.6~27.7 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 用氯仿转移至 10 mL 小瓶, 在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后, 充入氮气, 干燥好的样品于冰箱中冷冻保存, 即得三油酸甘油酯。

HR-EI-MS: m/z =884.7851 (*Calcd.*=884.7833, C₅₇H₁₀₄O₆), 不饱和度=6。

IR (KBr film): 1749, 1165, 1095; 2925, 2854, 723; 3004, 1654 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 18 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯的分离与鉴定

利用 P3000A 高效液相制备色谱仪进行初步分离, 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 用流动相 B 配制成 50 mg/mL 的薏苡仁油溶液, 每次分离进样体积 1.5 mL; 色谱柱: Superstar BenetnachTM C₁₈(20 mm×150 mm, 5 μm); 梯度条件: 流动相 B: 0~27 min: 50%~60%, 27~35 min: 90%, 35~45 min: 100%; 流速: 18 mL/min; 紫外检测波长: 208 nm; 收集保留时间为 28.2~29.3 min 的色谱峰流分, 在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩, 得粗品。

二次纯化时流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 乙腈-四氢呋喃(1:1), 将上述粗品用流动相 B

配制成 20 mg/mL 的溶液，每次分离进样体积 1.5 mL；色谱柱：Superstar BenetnachTM C₁₈ (10 mm×250 mm, 5 μm)；梯度条件：流动相 B：0~23 min：50%~60%，32~43 min：60%~90%，43~60 min：100%；流速：3 mL/min；紫外检测波长：208 nm，收集保留时间为 32.9~35.1 min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，用氯仿转移至 10 mL 小瓶，在真空干燥箱中 35℃干燥 6 h 后，充入氮气，干燥好的样品于冰箱中冷冻保存，即得 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯。

HR-EI-MS: $m/z=858.7672$ ($Calcd.=858.7676$, C₅₅H₁₀₂O₆), 不饱和度=5。

IR (KBr film): 1747, 1166, 1095; 2926, 2854, 722; 3003, 1654 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR 数据见表 8。

¹³C-NMR 数据见表 9。

实施例 19 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯的制备

利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行初步分离，流动相为乙腈：四氢呋喃=78:22，用四氢呋喃配制成 750 mg/mL 的薏苡仁油溶液，每次分离进样体积 2 mL；色谱柱：Venusil XBP C18 (2) (50*250 mm, 5 μm 100 Å)；流速：80 mL/min；紫外检测波长：205 nm/280 nm；收集保留时间为 29-38min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，得粗品。

二次纯化时流动相为乙腈：二氯甲烷=65:35，将上述粗品用二氯甲烷配制成约 10 mg/mL 的溶液，每次分离进样体积 2 mL；色谱柱：Venusil XBP C18(L) (30*150 mm, 5 μm 150 Å)；流速：32 mL/min；紫外检测波长：205 nm/280 nm，收集保留时间为 15min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，用氯仿转移至 10mL 小瓶，在真空干燥箱中 35℃干燥 6h 后，充入氮气，干燥好的样品于冰箱中冷冻保存，即得 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯。

HR-EI-MS: $m/z=832.7542$ ($Calcd.=832.7566$, C₅₃H₁₀₀O₆), 不饱和度=4。

IR (KBr film): 1747, 1166, 1095; 2925, 2854, 722; 3003, 1654 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR (CDCl₃) 数据见表 10。

表 10 实施例 19 所述化合物的 ¹H-NMR 图谱数据

位置	化学位移	H数目、峰形及耦合常数
H-C=C	5.34	2H, m
CH-OCO	5.26	1H, m
-CH ₂ -OCO	4.29	2H, dd, 12.0, 4.4
-CH ₂ -OCO	4.14	2H, d, 12.0, 6.0
-CH ₂ COO	2.31	2H, t, 7.6
-CH ₂ COO	2.31	4H, t, 7.6
-CH ₂ -CH=	2.00	4H, m
-CH ₂ CH ₂ COO	1.60	6H, m
-CH ₂	1.27	68H, m
-CH ₃	0.87	9H, t, 6.8

¹³C-NMR (CDCl₃) 数据见表 11。

表 11 实施例 19 所述化合物的 $^{13}\text{H-NMR}$ 图谱数据

位置	化学位移	位置	化学位移
C1 1	173.282	C10 1	29.750~29.040
2	172.839	2	129.999
3	173.282	3	29.750~29.040
C2 1	34.026	C11 1	29.750~29.040
2	34.179	2	27.205
3	34.026	3	29.750~29.040
C3 1	24.848	C12 1	29.750~29.040
2	24.848	2	29.750~29.040
3	24.848	3	29.750~29.040
C4 1	29.750~29.040	C13 1	29.750~29.040
2	29.750~29.040	2	29.750~29.040
3	29.750~29.040	3	29.750~29.040
C5 1	29.750~29.040	C14 1	31.895
2	29.750~29.040	2	29.750~29.040
3	29.750~29.040	3	31.895
C6 1	29.750~29.040	C15 1	22.672
2	29.750~29.040	2	29.750~29.040
3	29.750~29.040	3	22.672
C7 1	29.750~29.040	C16 1	14.099
2	29.750~29.040	2	31.895
3	29.750~29.040	3	14.099
C8 1	29.750~29.040	C17 2	22.672
2	27.159	C18 2	14.099
3	29.750~29.040	CHO	68.852
C9 1	29.750~29.040	CH ₂ O	62.076
2	129.687		
3	29.750~29.040		

实施例 20 1, 2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯的制备

利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行初步分离，流动相为乙腈:四氢呋喃=78:22，用四氢呋喃配制成 750mg/mL 的薏苡仁油溶液，每次分离进样体积 2 mL (1.5g)；色谱柱：Venusil XBP C18 (2) (50*250 mm, 5 μm 100Å)；流速：80 mL/min；紫外检测波长：205 nm /280 nm；收集保留时间为 29-38 min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，得粗品。

二次纯化时流动相为乙腈:二氯甲烷=65:35，将上述粗品用二氯甲烷配制成约 10 mg/mL 的溶液，每次分离进样体积 2 mL；色谱柱：Venusil XBP C18(L) (30*150 mm, 5 μm 150Å)；流速：32 mL/min；紫外检测波长：205 nm/280 nm，收集保留时间为 17min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，用氯仿转移至 10 mL 小瓶，在真空干燥箱中 35 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 6h 后，充入氮气，干燥好的样品于冰箱中冷冻保存，即得 1, 2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯。

HR-EI-MS: m/z =886.8011 (Calcd. = 886.7991, $\text{C}_{57}\text{H}_{106}\text{O}_6$)，不饱和度=5。

IR (KBr film): 1747, 1166, 1095; 2926, 2856, 722; 3003, 1654 cm^{-1} (弱)。

^1H -NMR (CDCl_3) 数据见表 12。

表 12 实施例 20 所述化合物的 ^1H -NMR 图谱数据

位置	化学位移	H数目、峰形及耦合常数
H-C=C	5.35	4H, m
β -CH-OCO	5.26	1H, m
α -CH ₂ -OCO	4.29	2H, dd, 11.6, 4.0
α -CH ₂ -OCO	4.14	2H, d, 12.0, 6.0
-CH ₂ COO	2.31	2H, t, 7.6
-CH ₂ COO	2.31	4H, t, 7.6
-CH ₂ -CH=	2.01	8H, m
-CH ₂ CH ₂ COO	1.60	6H, m
-CH ₂	1.27	74H, m
-CH ₃	0.87	9H, t, 6.8

^{13}C -NMR (CDCl_3) 数据见表 13。

表 13 实施例 20 所述化合物的 ^{13}C -NMR 图谱数据

位置	化学位移	位置	化学位移
C1 1	173.258	C10 1	129.999
2	172.839	2	129.999
3	173.282	3	29.00~30.00
C2 1	34.028	C11 1	27.206
2	34.179	2	27.206
3	34.028	3	29.00~30.00
C3 1	24.848	C12 1	29.00~30.00
2	24.848	2	29.00~30.00
3	24.848	3	29.00~30.00
C4 1	30.00~29.00	C13 1	29.00~30.00
2	30.00~29.00	2	29.00~30.00
3	30.00~29.00	3	29.00~30.00
C5 1	30.00~29.00	C14 1	29.00~30.00
2	30.00~29.00	2	29.00~30.00
3	30.00~29.00	3	31.895
C6 1	30.00~29.00	C15 1	29.00~30.00
2	30.00~29.00	2	29.00~30.00
3	30.00~29.00	3	22.672
C7 1	30.00~29.00	C16 1	31.895
2	30.00~29.00	2	31.895
3	30.00~29.00	3	31.895
C8 1	27.159	C17 1	22.672
2	27.159	2	22.672

	3	29.00~30.00		3	22.672
C9	1	129.687	C18	1	14.099
	2	129.669		2	14.099
	3	29.00~30.00		3	14.099
			β - CHO-		68.852
			α - CH ₂ O-		62.076

实施例 21 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯的制备

利用 CHEETAH-HP100 高效液相制备色谱仪进行初步分离，流动相为乙腈:四氢呋喃=78:22，用四氢呋喃配制成 750 mg/mL 的薏苡仁油溶液，每次分离进样体积 2 mL (1.5g)；色谱柱: Venusil XBP C18 (2) (50*250 mm, 5 μ m 100Å)；流速: 80 mL/min；紫外检测波长: 205 nm/280 nm；收集保留时间为 29-38 min 的色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，得粗品。

二次纯化时流动相为乙腈:二氯甲烷=65:35，将上述粗品用二氯甲烷配制成约 10 mg/mL 的溶液，每次分离进样体积 2 mL；色谱柱: Venusil XBP C18(L) (30*150 mm, 5 μ m 150Å)；流速: 32 mL/min；紫外检测波长: 205nm/280nm，收集保留时间 19 min 色谱峰流分，在氮气的保护下采用旋转蒸发仪减压浓缩，用氯仿转移至 10 mL 小瓶，在真空干燥箱中 35℃干燥 6h 后，充入氮气，干燥好的样品于冰箱中冷冻保存，即得 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯。

HR-EI-MS: m/z =884.7832 ($Calcd.$ = 884.7848, C₅₇H₁₀₄O₆)，不饱和度=6。

IR (KBr film): 1747、1164、1098；2925、2855、723；3008、1655 cm⁻¹(弱)。

¹H-NMR (CDCl₃) 数据见表 14。

表 14 实施例 21 所述化合物的 ¹H-NMR 图谱数据

位置	化学位移	H数目、峰形及耦合常数
H-C=C	5.35	6H, m
CH-OCO	5.26	1H, m
-CH ₂ -OCO	4.29	2H, dd, 11.4, 4.2
-CH ₂ -OCO	4.14	2H, d, 12.0, 6.0
-CH ₂ COO	2.32	2H, m
-CH ₂ COO	2.30	4H, m
-CH ₂ -CH=	2.03	8H, m
-CH=CH-CH ₂ -CH=CH-	2.77	2H, t, 6.6
-CH ₂ CH ₂ COO	1.61	6H, m
-CH ₂	1.38~1.26	64H, m
-CH ₃	0.88	9H, t, 6.6

¹³C-NMR (CDCl₃) 数据见表 15。

表 15 实施例 21 所述化合物的 $^{13}\text{H-NMR}$ 图谱数据

位置	化学位移	位置	化学位移
C1 1	173.25	C10 1	129.97
2	172.83	2	128.08
3	173.25	3	29.04~29.76
C2 1	34.03	C11 1	27.19
2	34.18	2	25.62
3	34.04	3	29.04~29.76
C3 1	24.86	C12 1	29.04~29.76
2 ^b	24.86	2	127.88
3	24.86	3	29.04~29.76
C4 1	29.04~29.76	C13 1	29.04~29.76
2 ^b	29.04~29.76	2	130.22
3	29.04~29.76	3	29.04~29.76
C5 1	29.04~29.76	C14 1	31.89
2 ^b	29.04~29.76	2	29.04~29.76
3	29.04~29.76	3	31.89
C6 1	29.04~29.76	C15 1	22.67
2 ^b	29.04~29.76	2 ^b	22.56
3	29.04~29.76	3	22.67
C7 1	29.04~29.76	C16 1	31.91
2 ^b	29.04~29.76	2	31.52
3	29.04~29.76	3	31.89
C8 1	29.04~29.76	C17 1	22.67
2	27.19	2	22.56
3	29.04~29.76	3	22.67
C9 1	129.70	C18 1	14.09
2	130.01	2	14.05
3	29.04~29.76	3	14.09
		CH-O	68.89
		2CH ₂ -O	62.08

实施例 22 本发明薏苡仁油注射液的制备
处方：

薏苡仁油 100 g

注射用大豆磷脂 10 g

注射用甘油 15 g

注射用水加至 1000 ml

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.50%

1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.31%
1, 2-二油酸甘油酯 0.30%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.95%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.41%
三亚油酸甘油酯 6.10%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 16.18%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.56%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.69%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.96%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.88%
三油酸甘油酯 18.30%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 10.18%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.72%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.88%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.60%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂，加适量的注射用水后，用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体，加入按配方量称取的注射用甘油，并加注射用水至规定量，搅拌均匀备用；

另称取薏苡仁油，将称取的油脂与水相分别加热至 60℃后，置高压均质机进行高压乳化，乳化时均质机低压为 6 MPa，高压为 30 MPa，再循环均质 4 遍，至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%，5 μm 以上颗粒不得检出，必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 8.5；

将制得均匀乳剂氮气加压通过 ≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤，充氮灌装灭菌，冷却即得。

实施例 23 本发明薏苡仁油注射液的制备

处方:

薏苡仁油 300 g
可供注射用大豆磷脂 40 g
可供注射用甘油 50 g
注射用水加至 1000 ml

其中，薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.40%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.05%
1, 2-二油酸甘油酯 0.24%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.76%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.33%
三亚油酸甘油酯 4.87%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 17.88%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 5.25%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 15.13%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 10.26%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.05%
三油酸甘油酯 20.46%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 11.50%

- 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.95%
- 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 2.16%
- 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.84%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂, 加适量的注射用水后, 用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体, 加入按配方量称取的注射用甘油, 并加注射用水至规定量, 搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油, 将称取的油酯与水相分别加热至 70℃后, 置高压均质机进行高压乳化, 乳化时均质机低压为 12 MPa, 高压为 45 MPa, 再循环均质 3 遍, 至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%, 5 μm 以上颗粒不得检出, 必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 7.1;

将制得均匀乳剂氮气加压通过 ≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤, 充氮灌装灭菌, 冷却即得。

实施例 24 本发明薏苡仁油注射液的制备

处方:

- 薏苡仁油 200 g
- 注射用大豆磷脂 25 g
- 可供注射用甘油 30 g
- 注射用水加至 1000 ml

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

- 1, 3-二油酸甘油酯 0.45%
- 1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.18%
- 1, 2-二油酸甘油酯 0.27%
- 1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.86%
- 1, 2-二亚油酸甘油酯 0.37%
- 三亚油酸甘油酯 5.47%
- 1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 18.69%
- 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.01%
- 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 18.19%
- 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 14.11%
- 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.60%
- 三油酸甘油酯 16.25%
- 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.11%
- 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.88%
- 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 2.09%
- 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.76%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂, 加适量的注射用水后, 用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体, 加入按配方量称取的注射用甘油, 并加注射用水至规定量, 搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油, 将称取的油酯与水相分别加热至 65℃后, 置高压均质机进行高压乳化, 乳化时均质机低压为 10 MPa, 高压为 30 MPa, 再循环均质 5 遍, 至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%, 5 μm 以上颗粒不得检出, 必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 4.8;

将制得均匀乳剂氮气加压通过 ≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤, 充氮灌装灭菌, 冷却即得。

实施例 25 本发明薏苡仁油注射液的制备
处方:

薏苡仁油 150 g
可供注射用大豆磷脂 35 g
注射用甘油或 30 g
注射用水加至 1000 ml

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.49%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.28%
1, 2-二油酸甘油酯 0.29%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.93%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.40%
三亚油酸甘油酯 5.96%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 16.58%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.43%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.20%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.57%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.79%
三油酸甘油酯 17.69%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.87%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.75%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.92%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.66%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂, 加适量的注射用水后, 用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体, 加入按配方量称取的注射用甘油, 并加注射用水至规定量, 搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油, 将称取的油酯与水相分别加热至 68℃后, 置高压均质机进行高压乳化, 乳化时均质机低压为 7 MPa, 高压为 35 MPa, 再循环均质 3 遍, 至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%, 5 μm 以上颗粒不得检出, 必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 6.8;

将制得均匀乳剂氮气加压通过≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤, 充氮灌装灭菌, 冷却即得。

实施例 26 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备
处方:

薏苡仁油 200 g
维生素 E 0.20 g
制成 1000 粒

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.51%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.34%
1, 2-二油酸甘油酯 0.31%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.97%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.42%

三亚油酸甘油酯 6.20%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 15.93%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.69%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.87%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 13.09%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.91%
三油酸甘油酯 18.42%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 10.27%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.67%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.86%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.56%

工艺:

胶液配制: 按重量比为 1: 1.2: 0.8: 0.01 称取适量明胶、纯化水、甘油和 10%羟苯乙酯溶液; 依次将甘油、纯化水、10%羟苯乙酯溶液加入化胶罐内, 加热至 70℃后, 再加入明胶不断搅拌、抽真空, 直至明胶完全溶解, 将胶液过滤, 在 60℃下存放, 备用;

药液配制: 将配方量的薏苡仁油、维生素 E 加入配料罐内, 不断搅拌, 直至混合均匀;

压胶囊: 根据胶囊大小选择合适的压丸模具, 在 18℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥, 剔除大小丸, 再用 95%药用乙醇洗丸后, 继续干燥至含水量小于 12%, 目检剔除不合格胶囊, 包装即得。

实施例 27 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备

处方:

薏苡仁油 800 g
吐温 80 0.60 g
制成 1000 粒

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.55%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.44%
1, 2-二油酸甘油酯 0.33%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 1.05%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.45%
三亚油酸甘油酯 6.69%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 14.75%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 7.21%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 14.92%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 11.55%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.14%
三油酸甘油酯 19.86%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 11.08%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.50%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.70%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.43%

工艺:

胶液配制: 按重量比为 1: 1.2: 0.8: 0.01 称取适量明胶、纯化水、甘油和苯甲酸; 依次将甘油、纯化水、苯甲酸加入化胶罐内, 加热至 90℃后, 再加入明胶不断搅拌、抽真空,

直至明胶完全溶解，将胶液过滤，在 56℃下存放，备用；

药液配制：将配方量的薏苡仁油、吐温 80 加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在 26℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用 95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于 12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得。

实施例 28 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备
处方：

薏苡仁油 500 g

维生素 E 0.40 g

制成 1000 粒

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.58%

1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.14%

1, 2-二油酸甘油酯 0.35%

1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.83%

1, 2-二亚油酸甘油酯 0.47%

三亚油酸甘油酯 6.99%

1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 13.00%

1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 7.54%

1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 19.02%

1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 14.75%

1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.28%

三油酸甘油酯 15.96%

1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.70%

1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.38%

1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.52%

1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.29%

工艺：

胶液配制：按重量比为 1：0.9：0.6：0.005 称取适量明胶、纯化水、甘油和山梨酸钾；依次将甘油、纯化水、山梨酸钾加入化胶罐内，加热至 80℃后，再加入明胶不断搅拌、抽真空，直至明胶完全溶解，将胶液过滤，在 62℃下存放，备用；

药液配制：将配方量的薏苡仁油、维生素 E 加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在 28℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用 95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于 12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得。

实施例 29 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备
处方：

薏苡仁油 600 g

吐温 80 0.3 g

制成 1000 粒

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.45%

1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.26%

1, 2-二油酸甘油酯 0.27%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.88%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.36%
三亚油酸甘油酯 6.15%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 18.01%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.66%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.77%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.89%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.88%
三油酸甘油酯 18.30%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 8.69%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.81%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 2.08%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.81%

工艺:

胶液配制: 按重量比为 1 : 1.0 : 0.5 : 0.008 称取适量明胶、纯化水、甘油和醋酸氯己定; 依次将甘油、纯化水、醋酸氯己定加入化胶罐内, 加热至 85℃后, 再加入明胶不断搅拌、抽真空, 直至明胶完全溶解, 将胶液过滤, 在 56℃下存放, 备用;

药液配制: 将配方量的薏苡仁油、吐温 80 加入配料罐内, 不断搅拌, 直至混合均匀;

压胶囊: 根据胶囊大小选择合适的压丸模具, 在 30℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥, 剔除大小丸, 再用 95%药用乙醇洗丸后, 继续干燥至含水量小于 12%, 目检剔除不合格胶囊, 包装即得。

实施例 30 本发明薏苡仁油注射液的制备

处方:

薏苡仁油 100 g
注射用大豆磷脂 10 g
注射用甘油 15 g
注射用水加至 1000 ml

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.42%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.25%
1, 2-二油酸甘油酯 0.25%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.81%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.35%
三亚油酸甘油酯 6.85%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 18.24%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 5.74%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 15.01%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 10.95%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.88%
三油酸甘油酯 20.75%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 10.18%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.92%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 2.11%

1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.84%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂, 加适量的注射用水后, 用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体, 加入按配方量称取的注射用甘油, 并加注射用水至规定量, 搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油, 将称取的油与水相分别加热至 60℃后, 置高压均质机进行高压乳化, 乳化时均质机低压为 7 MPa, 高压为 26 MPa, 再循环均质 5 遍, 至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%, 5 μm 以上颗粒不得检出, 必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 6.8;

将制得均匀乳剂氮气加压通过≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤, 充氮灌装灭菌, 冷却即得。

实施例 31 本发明薏苡仁油注射液的制备

处方:

薏苡仁油 300 g

可供注射用大豆磷脂 40 g

可供注射用甘油 50 g

注射用水加至 1000 ml

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.46%

1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.20%

1, 2-二油酸甘油酯 0.28%

1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.90%

1, 2-二亚油酸甘油酯 0.38%

三亚油酸甘油酯 5.71%

1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 15.11%

1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.02%

1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 16.30%

1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 14.20%

1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.20%

三油酸甘油酯 19.91%

1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.22%

1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.78%

1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 2.01%

1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.70%

工艺:

称取处方配制量的注射用大豆磷脂, 加适量的注射用水后, 用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体, 加入按配方量称取的注射用甘油, 并加注射用水至规定量, 搅拌均匀备用;

另称取薏苡仁油, 将称取的油与水相分别加热至 70℃后, 置高压均质机进行高压乳化, 乳化时均质机低压为 11 MPa, 高压为 48 MPa, 再循环均质 6 遍, 至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%, 5 μm 以上颗粒不得检出, 必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 7.5;

将制得均匀乳剂氮气加压通过≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤, 充氮灌装灭菌, 冷却即得。

实施例 32 本发明薏苡仁油注射液的制备
处方：

薏苡仁油 200 g
注射用大豆磷脂 25 g
可供注射用甘油 30 g
注射用水加至 1000 ml

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.50%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.31%
1, 2-二油酸甘油酯 0.30%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.95%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.41%
三亚油酸甘油酯 6.18%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 17.26%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.51%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 15.45%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.83%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.81%
三油酸甘油酯 19.33%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 9.95%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.71%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.97%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.69%

工艺：

称取处方配制量的注射用大豆磷脂，加适量的注射用水后，用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体，加入按配方量称取的注射用甘油，并加注射用水至规定量，搅拌均匀备用；

另称取薏苡仁油，将称取的油与水相分别加热至 65℃后，置高压均质机进行高压乳化，乳化时均质机低压为 8 MPa，高压为 40 MPa，再循环均质 4 遍，至 2 μm 以下颗粒应不少于 95%，5 μm 以上颗粒不得检出，必要时用 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 6.5；

将制得均匀乳剂氮气加压通过≤3 μm 的微孔滤芯过滤器过滤，充氮灌装灭菌，冷却即得。

实施例 33 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备
处方：

薏苡仁油 200 g
维生素 E 0.20 g
制成 1000 粒

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.52%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.40%
1, 2-二油酸甘油酯 0.32%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 1.01%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.43%
三亚油酸甘油酯 6.51%

1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 14.09%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 6.84%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 17.65%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 13.56%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.07%
三油酸甘油酯 18.10%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 10.80%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.59%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.73%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.49%

工艺:

胶液配制: 按重量比为 1: 1.2: 0.8: 0.01 称取适量明胶、纯化水、甘油和 10%羟苯乙酯溶液; 依次将甘油、纯化水、10%羟苯乙酯溶液加入化胶罐内, 加热至 70℃后, 再加入明胶不断搅拌、抽真空, 直至明胶完全溶解, 将胶液过滤, 在 59℃下存放, 备用;

药液配制: 将配方量的薏苡仁油、维生素 E 加入配料罐内, 不断搅拌, 直至混合均匀;

压胶囊: 根据胶囊大小选择合适的压丸模具, 在 16℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥, 剔除大小丸, 再用 95%药用乙醇洗丸后, 继续干燥至含水量小于 12%, 目检剔除不合格胶囊, 包装即得。

实施例 34 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备

处方:

薏苡仁油 800 g
吐温 80 0.60 g
制成 1000 粒

其中, 薏苡仁油含有以下成分:

1, 3-二油酸甘油酯 0.56%
1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.11%
1, 2-二油酸甘油酯 0.34%
1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.91%
1, 2-二亚油酸甘油酯 0.46%
三亚油酸甘油酯 6.71%
1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 16.31%
1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 7.25%
1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 18.50%
1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 11.90%
1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 2.63%
三油酸甘油酯 17.14%
1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 11.21%
1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.42%
1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.60%
1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.31%

工艺:

胶液配制: 按重量比为 1: 1.2: 0.8: 0.01 称取适量明胶、纯化水、甘油和苯甲酸; 依次将甘油、纯化水、苯甲酸加入化胶罐内, 加热至 90℃后, 再加入明胶不断搅拌、抽真空, 直至明胶完全溶解, 将胶液过滤, 在 60℃下存放, 备用;

药液配制：将配方量的薏苡仁油、吐温 80 加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在 26℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用 95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于 12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得。

实施例 35 本发明薏苡仁油胶囊剂的制备

处方：

薏苡仁油 500 g

维生素 E 0.40 g

制成 1000 粒

其中，薏苡仁油含有以下成分：

1, 3-二油酸甘油酯 0.57%

1-亚油酸-3-油酸甘油二酯 1.21%

1, 2-二油酸甘油酯 0.34%

1-油酸-2-亚油酸甘油二酯 0.86%

1, 2-二亚油酸甘油酯 0.46%

三亚油酸甘油酯 5.13%

1-油酸-2,3 -二亚油酸甘油酯 16.03%

1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯 7.25%

1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯 18.61%

1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯 12.03%

1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯 3.01%

三油酸甘油酯 18.60%

1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯 11.21%

1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.39%

1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯 1.53%

1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯 1.30%

工艺：

胶液配制：按重量比为 1：0.9：0.6：0.005 称取适量明胶、纯化水、甘油和山梨酸钾；依次将甘油、纯化水、山梨酸钾加入化胶罐内，加热至 80℃后，再加入明胶不断搅拌、抽真空，直至明胶完全溶解，将胶液过滤，在 62℃下存放，备用；

药液配制：将配方量的薏苡仁油、维生素 E 加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在 20℃、相对湿度<35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用 95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于 12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得。

权 利 要 求

1、一种薏苡仁油，其特征在于：该薏苡仁油中含有如下质量百分含量的5种甘油二酯类成分和11种甘油三酯类成分：1, 3-二油酸甘油酯0.40~0.58%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯0.91~1.31%、1, 2-二油酸甘油酯0.24~0.35%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯0.66~0.95%、1, 2-二亚油酸甘油酯0.33~0.47%、三亚油酸甘油酯4.87~6.99%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯13.00~18.69%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯5.25~7.54%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯13.23~19.02%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯10.26~14.75%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯2.28~3.28%、三油酸甘油酯14.44~20.76%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯8.06~11.58%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯1.37~1.97%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯1.52~2.19%和1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯1.29~1.86%。

2、根据权利要求1所述的薏苡仁油，其特征在于：所述薏苡仁油按脂肪油检测理化常数为：20℃时相对密度0.916~0.920，20℃时折光率1.471~1.474，酸值<0.2，碘值100~106，皂化值186~195；所述甘油二酯成分和甘油三酯成分的质量百分含量为：1, 3-二油酸甘油酯0.45~0.55%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯1.03~1.25%、1, 2-二油酸甘油酯0.27~0.33%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯0.75~0.91%、1, 2-二亚油酸甘油酯0.37~0.45%、三亚油酸甘油酯5.47~6.69%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯14.63~17.88%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯5.9~7.21%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯14.88~18.19%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯11.55~14.11%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯2.57~3.14%、三油酸甘油酯16.25~19.86%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯9.07~11.08%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯1.54~1.88%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯1.71~2.09%和1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯1.45~1.78%；

优选地，所述甘油二酯成分和甘油三酯成分的质量百分含量为：1, 3-二油酸甘油酯0.49~0.51%、1-亚油酸-3-油酸甘油二酯1.12~1.16%、1, 2-二油酸甘油酯0.29~0.31%、1-油酸-2-亚油酸甘油二酯0.81~0.85%、1, 2-二亚油酸甘油酯0.40~0.42%、三亚油酸甘油酯5.96~6.20%、1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯15.93~16.58%、1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯6.43~6.69%、1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯16.20~16.87%、1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯12.57~13.09%、1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油三酯2.79~2.91%、三油酸甘油酯17.69~18.42%、1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯9.87~10.27%、1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯1.68~1.74%、1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯1.86~1.94%和1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯1.58~1.65%。

3、一种权利要求1所述薏苡仁油的制备方法，具体包括如下步骤：

超临界二氧化碳萃取：取薏苡仁粉碎成20目~100目，采用600 L×2超临界CO₂萃取器萃取，将薏苡仁粉装入萃取釜，用夹套循环热水加热CO₂预热器、萃取釜和分离柱，使萃取温度和分离温度分别达到33~45℃和30~45℃，保持一级解析釜和二级解析釜出口温度分别为20~50℃和15~35℃；液态CO₂以1~3 t/h的流量经高压泵加压进入CO₂预热器，成为超临界状态下的流体，进入萃取釜，保持压力19~23 Mpa，萃取薏苡仁油；溶有薏苡仁油的CO₂流体进入分离柱，控制分离柱压力7~10 Mpa，分离得到薏苡仁油；从分离柱出来的CO₂气体先后进入一级、二级解析釜，分别保持压力为5~7 Mpa和4~6 Mpa，弃去解析得到的水分等杂质，CO₂气体经冷凝器变成液态CO₂，循环使用，连续萃取2~3 h，得到薏苡仁油；

精制：取超临界CO₂萃取得到的薏苡仁油，加入油重量65%的60℃~90℃石油醚，再根据酸值，加入油重36%~56%的2% NaOH溶液，搅拌10 min后，静置18~24 h后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置18~24 h后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置40~50 h后，除去下层废水；取上层加油重70%~90%丙酮破乳，静置2~4 h后，除去下层废丙酮；

取上层油溶液，加入3%~8%的经活化的中性氧化铝，搅拌30 min后，过滤；滤液加热后，加入2%~6%经活化的混合吸附剂，搅拌，在40~50℃下保温30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置1~2 h后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经160~170℃减压干热灭菌1~2h，冷却后经0.2 μm微孔滤膜过滤，分装于500 ml玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得；

优选地，所述精制步骤如下：

取超临界CO₂萃取得到的薏苡仁油，加入油重量65%的60℃~90℃石油醚，再根据酸值，加入油重36%~56%的2%NaOH溶液，搅拌10 min后，静置20 h后，除去下层皂脚，取上层用纯化水进行水洗，静置22 h后，除去下层废水；取上层进行第二次水洗，静置46 h后，除去下层废水；取上层加油重70%~90%丙酮破乳，静置3 h后，除去下层废丙酮；取上层油溶液，加入5%的经活化的中性氧化铝，搅拌30 min后，过滤；滤液加热后，加入4%经活化的高岭土：活性炭=1:1的混合吸附剂，搅拌，在40~50℃下保温30 min，过滤；滤液减压回收溶剂后，再加纯化水进行水洗，静置1 h后，除去下层废水；上层油在充氮条件下，加热减压浓缩，再经160~170℃减压干热灭菌2 h，冷却后经0.2 μm微孔滤膜过滤，分装于500 ml玻璃输液瓶中，充氮，密封，即得。

4、一种药物制剂，其特征在于含有治疗有效量的权利要求1~3任一所述的薏苡仁油及一种或几种药学上可接受的载体，其中所述药学上可接受的载体包括药学领域常规的稀释剂、赋形剂、填充剂、乳化剂、粘合剂、润滑剂、吸收促进剂、表面活性剂、崩解剂、润滑剂或抗氧化剂，必要时还可以加入香味剂、甜味剂、防腐剂或着色剂；

其中，所述药学上可接受的载体可以选自：甘露醇、山梨醇、焦亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、盐酸半胱氨酸、巯基乙酸、蛋氨酸、大豆磷脂、维生素C、维生素E、EDTA二钠、EDTA钙钠，一价碱金属的碳酸盐、醋酸盐、磷酸盐或其水溶液、盐酸、醋酸、硫酸、磷酸、氨基酸、氯化钠、氯化钾、乳酸钠、羟苯乙酯溶液、苯甲酸、山梨酸钾、醋酸氯己定、木糖醇、麦芽糖、葡萄糖、果糖、右旋糖苷、甘氨酸、淀粉、蔗糖、乳糖、甘露糖醇、硅衍生物、纤维素及其衍生物、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、甘油、土温80、琼脂、碳酸钙、碳酸氢钙、表面活性剂、聚乙二醇、环糊精、β-环糊精、磷脂类材料、高岭土、滑石粉、硬脂酸钙或硬脂酸镁。

5、根据权利要求4所述药物制剂，其可以是口服固体制剂、口服液体制剂或注射剂；

其中，

所述口服固体制剂选自胶囊剂、片剂、滴丸、颗粒剂、浓缩丸中的任何一种；

所述口服液体制剂选自水性或油性悬浮液、溶液、乳剂、糖浆剂或酞剂，或是一种在使用前可用水或其它适宜的载体复配的干燥产品；

所述注射剂选自纳米混悬剂、脂质体、乳剂、冻干粉针剂和水针剂中的任何一种。

6、根据权利要求5所述药物制剂，其特征在于所述注射剂包含如下成分：

薏苡仁油 50~350 g

注射用大豆磷脂或可供注射用大豆磷脂 10~40 g

注射用甘油或可供注射用甘油 15~50 g

注射用水加至 1000 ml。

7、根据权利要求6所述药物制剂的制备方法，其特征在于包括如下步骤：

称取处方配制量的注射用大豆磷脂或可供注射用大豆磷脂，加适量的注射用水后，用高剪切分散乳化机分散至无块状及颗粒状固体，加入按配方量称取的注射用甘油或可供注射用

甘油，并加注射用水至规定量，搅拌均匀备用；

另称取薏苡仁油，将称取的油酯与水相分别加热至60~70℃后，置高压均质机进行高压乳化，乳化时均质机低压为5~12 MPa，高压为25~50 MPa，再循环均质3~6遍，至2 μm以下颗粒应不少于95%，5 μm以上颗粒不得检出，必要时用NaOH或HCl调节pH至4.8~8.5，优选6.8~7，最优选为6.8；

将制得均匀乳剂氮气加压通过小于等于3 μm的微孔滤芯过滤器过滤，充氮灌装灭菌，冷却即得。

8、根据权利要求5所述药物制剂，其特征在于所述胶囊剂包含如下成分：

薏苡仁油 200~800 g

抗氧化剂和/或乳化剂 0.20~0.60 g

制成 1000 粒。

9、根据权利要求8所述药物制剂的制备方法，其特征在于包括如下步骤：

胶液配制：按重量比为1：0.6~1.2：0.3~0.8：0.0001~0.01称取适量明胶、纯化水、甘油和防腐剂；依次将甘油、纯化水、防腐剂加入化胶罐内，加热至70℃~90℃后，再加入明胶不断搅拌、抽真空，直至明胶完全溶解，将胶液过滤，在56~62℃下存放，备用；

药液配制：将配方量的薏苡仁油、抗氧化剂和/或乳化剂加入配料罐内，不断搅拌，直至混合均匀；

压胶囊：根据胶囊大小选择合适的压丸模具，在15~30℃、相对湿度小于35%条件下进行压丸定型后干燥，剔除大小丸，再用95%药用乙醇洗丸后，继续干燥至含水量小于12%，目检剔除不合格胶囊，包装即得；

其中，

所述防腐剂选自10%羟苯乙酯溶液、苯甲酸、山梨酸钾和醋酸氯己定中的一种；

所述抗氧化剂为维生素E，乳化剂为吐温80。

10、根据权利要求1所述薏苡仁油在制备抗肿瘤药物中的应用：

其中，所述肿瘤是指早期、中期或晚期的肺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌或乳腺癌。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/084298

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/21(2006.01) i; A61K 36/8994 (2006.01) i; A61K 9/48 (2006.01) i; A61K 9/20 (2006.01) i; A61K 9/14 (2006.01) i; A61K 9/127 (2006.01) i; A61K 9/10 (2006.01) i; A61K 9/08 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CPRSABS, CNABS, CNMED, TWABS, MOABS, HKABS, TWMED, CNTXT, TWTXT, CJFD, MEDNPL, CSCD, SIPONPL, DWPI, SIPOABS, CPEA, USTXT, WOTXT, EPTXT, CATXT, JPTXT, CNPAT, CHINESE PHARMACEUTICAL PATENT DATABASE AND RETRIEVAL SYSTEM, WPI, EPODOC, CNKI: Semen coicis, oil, coix seed oil, Coixenolide, diglyceride, diacylglycerol, triglyceride, glycerin trilaurate, 1,3-diolein, 1,3-dioleoyl-glycerol, 1-linoleoyl-3-oleoyl-glycerol, 1,2-dioleoyl-rac-glycerol, 1-oleoyl-2-linoleoyl-glycerol, 1,2-dilinoeoyl-rac-glycerol, glyceryl trilinoleate, 1-oleoyl-2,3-dilinoeoyl-sn-glycerol, 1-palmitoyl-2,3-dilinoeoyl-rac-glycerol, 1,3-dioleoyl-2-linoleoyl-glycerol, 1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-oleoyl-glycerol, 1,3-dipalmitoyl-2-linoleoyl-glycerol, glyceryl trioleate, 1-palmitoyl-2,3-diolo-gl-sn-glycerol, 1-oleoyl-2-linoleoyl-3-stearoyl-glycerol, 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol, 1,2-dilinoeoyl-3-stearoyl-glycerol, relative density, refractive index, acid value, iodine value, saponification value, saponification, supercritical CO₂, supercritical carbon dioxide, petroleum ether, ligroin?, ligarin?, NaOH, sodium hydroxide solution, acetone, neutral alumina, kaolin, clay, microporous filter membrane, high pressure homogenizer, soybean phospholipids, soybean lecithin, glycerol, glycerin, capsule?, tablet?, dripping pill?, granule?, concentrated pill?, aqueous suspension, mixed oily suspension, oily suspension, solution, emulsion, syrup, elixir, nanosuspension, liposome, freeze-dried powder, aqueous injection, diluent, excipient, filler, emulsifier, binder, lubricant, sorbafacient, surfactant, disintegrant, antioxidant, flavoring agent, sweetener, preservative, colorant, anticancer, cancer, tumor, carcinoma, sarcoma, carcinosarcoma

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
25 September 2015 (25.09.2015)

Date of mailing of the international search report
09 October 2015 (09.10.2015)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

ZHANG, Zhonghui

Telephone No.: (86-10) **62089324**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/084298**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 1080176 A (ZHEJIANG PROVINCIAL HOSPITAL OF TCM), 05 January 1994 (05.01.1994), claims 1 and 2, and description, pages 3-6	1-10
Y	XIANG, Zhimin et al., "Identification of Triacylglycerols In Coix Oil by High Performance Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemicalization-Mass Spectrometry", CHINA JOURNAL OF CHINESE MATERIA MEDICA, vol. 33, no. 18, 30 September 2005 (30.09.2005), pages 1436-1438	1-10
Y	CN 1485418 A (LI, Dapeng), 31 March 2004 (31.03.2004), claims 1-4, and description, page 5	3-9
Y	CN 1485072 A (LI, Dapeng), 31 March 2004 (31.03.2004), claims 1-5, and description, page 1, paragraph 8 to page 2, paragraph 2 and page 4, paragraphs 1-2	8-10
PX	CN 104173824 A (ZHEJIANG KANGLAITE GROUP CO., LTD. et al.), 03 December 2014 (03.12.2014), claims 1-10	1-10
PY	US 2014370129 A1 (ZHEJIANG KANGLAITE GROUP CO., LTD.), 18 December 2014 (18.12.2014), description, paragraphs [0039]-[0042], [0065]-[0077] and [0094]-[0111]	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/084298

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1080176 A	05 January 1994	CN 1029293 C	12 July 1995
		CA 2106176 A1 C	17 March 1994
		EP 0588621 A2 A3 B1	23 March 1994
		JPH 06207194 A	26 July 1994
		JP 3005407 B2	31 January 2000
		US 5444089 A	22 August 1995
		PH 30249 A	05 February 1997
		DE 69327284 T2	25 May 2000
		DK 0588621 T3	29 May 2000
		HK 1008305 A1	07 July 2000
CN 1485418 A	31 March 2004	CN 1200995 C	11 May 2005
CN 1485072 A	31 March 2004	HK 1082426 A1	18 May 2007
		US 8299121 B2	30 October 2012
		RU 2296581 C2	10 April 2007
		AU 2003272841 A1	19 April 2004
		DK 1576959 T3	28 March 2011
		WO 2004028549 A1	08 April 2004
		CN 1684697 A	19 October 2005
		EP 1576959 A1	21 September 2005
		RU 2005112775 A	10 November 2006
		AT 493140 T	15 January 2011
		EP 1576959 A4	23 April 2008
		US 2005222249 A1	06 October 2005
		JP 2006502193 A	19 January 2006
		US 2010137427 A9	03 June 2010
		ES 2358420 T3	10 May 2011
		CN 1301128 C	21 February 2007
		DE 60335575 D1	10 February 2011
		EP 1576959 B1	29 December 2010
		JP 2011016852 A	27 January 2011
		JP 4718836 B2	06 July 2011
CN 104173824 A	03 December 2014	None	
US 2014370129 A1	18 December 2014	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/084298

A. 主题的分类

A61K 31/21(2006.01)i; A61K 36/8994(2006.01)i; A61K 9/48(2006.01)i; A61K 9/20(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 9/127(2006.01)i; A61K 9/10(2006.01)i; A61K 9/08(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CPRSABS, CNABS, CNMED, TWABS, MOABS, HKABS, TWMED, CNTXT, TWTXT, CJFD, MEDNPL, CSCD, SIPONPL, DWPI, SIPOABS, CPEA, USTXT, WOTXT, EPTXT, CATXT, JPTXT, CNPAT, 中国药物专利数据库及其检索系统, WPI, EPODOC, CNKI; 薏苡仁, Semen coicis, 油, oil, 薏仁油, coix seed oil, Coixenolide甘油二酯, diglyceride, diacylglycerol, 甘油三酯, triglyceride, glycerin trilaurate, 1,3-二油酸甘油二酯, 1,3-diolein, 1,3-dioleoyl-glycerol, 1-亚油酸-3-油酸甘油二酯, 1-linoleoyl-3-oleoyl-glycerol, 1,2-二油酸甘油二酯, 1,2-dioleoyl-rac-glycerol, 1-油酸-2-亚油酸甘油二酯, 1-oleoyl-2-linoleoyl-glycerol, 1,2-亚油酸甘油二酯, 1,2-dilinoleoyl-rac-glycerol, 三亚油酸甘油酯, glyceryl trilinoleate, 1-油酸-2,3-二亚油酸甘油酯, 1-oleoyl-2,3-dilinoleoyl-sn-glycerol, 1-棕榈酸-2,3-二亚油酸甘油酯, 1-palmitoyl-2,3-dilinoleoyl-rac-glycerol, 1,3-二油酸-2-亚油酸甘油酯, 1,3-dioleoyl-2-linoleoyl-glycerol, 1-棕榈酸-2-亚油酸-3-油酸甘油酯1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-oleoyl-glycerol, 1,3-二棕榈酸-2-亚油酸甘油酯1,3-dipalmitoyl-2-linoleoyl-glycerol, 三油酸甘油酯, glyceryl trioleate, 1-棕榈酸-2,3-二油酸甘油酯, 1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-sn-glycerol, 1-油酸-2-亚油酸-3-硬脂酸甘油酯, 1-oleoyl-2-linoleoyl-3-stearoyl-glycerol, 1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油酯, 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol, 1,2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯, 相对密度, relative density, 折光率, refractive index, 酸值, acid value, 碘值, iodine value, 皂化值, saponification, 超临界CO₂, supercritical carbon dioxide, 石油醚, petroleum ether, ligroin?, ligarin?, NaOH, sodium hydroxide solution, 丙酮, acetone, 中性氧化铝, neutral alumina, 高岭土, kaolin, clay, 微孔滤膜, microporous filter membrane, 高压均质机, high pressure homogenizer, 大豆磷脂, soybean phospholipids, soybean lecithin, 甘油, glycerol, glycerin, 胶囊, capsule?, 片剂, tablet?, 滴丸, dripping pill?, 颗粒剂, granule?, 浓缩丸, concentrated pill?, 水混悬液, aqueous suspension or 油混悬液, oily suspension, 溶液, solution, 乳剂, emulsion, 糖浆剂, syrup, 酏剂, elixir, 纳米混悬液, nanosuspension, 脂质体, liposome, 冻干粉, freeze-dried powder, 水针剂, aqueous injection, 稀释剂, diluent, 赋形剂, excipient, 填充剂, filler, 乳化剂, emulsifier, 粘合剂, binder, 润滑剂, lubricant, 吸收促进剂, sorbefacient, 表面活性剂, surfactant, 崩解剂, disintegrant, 抗氧化剂antioxidant, 香味剂, flavoring agent, 甜味剂, sweetener, 防腐剂, preservative, 着色剂, colorant, 抗肿瘤, anticancer, 肿瘤, 癌, cancer, tumor, carcinoma, 肉瘤, sarcoma, 癌肉瘤, carcinosarcoma

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 9月 25日

国际检索报告邮寄日期

2015年 10月 9日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

受权官员

张忠会

电话号码 (86-10)62089324

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 1080176 A (浙江省中医院) 1994年 1月 5日 (1994 - 01 - 05) 权利要求1和2, 说明书第3-6页	1-10
Y	向智敏, 等. "HPLC-MS分析薏苡仁油中的甘油三酯成分" 中国中药杂志, 第33卷, 第18期, 2005年 9月 30日 (2005 - 09 - 30), 第1436-1438页	1-10
Y	CN 1485418 A (李大鹏) 2004年 3月 31日 (2004 - 03 - 31) 权利要求1-4, 说明书第5页	3-9
Y	CN 1485072 A (李大鹏) 2004年 3月 31日 (2004 - 03 - 31) 权利要求1-5, 说明书第1页第8段-第2页第2段, 第4页第1-2段	8-10
PX	CN 104173824 A (浙江康莱特集团有限公司, 等) 2014年 12月 3日 (2014 - 12 - 03) 权利要求1-10	1-10
PY	US 2014370129 A1 (浙江康莱特集团有限公司) 2014年 12月 18日 (2014 - 12 - 18) 说明书第[0039]-[0042], [0065]-[0077], [0094]-[0111]段	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/084298

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	1080176	A	1994年 1月 5日	CN	1029293	C	1995年 7月 12日
				CA	2106176 A1	C	1994年 3月 17日
				EP	0588621 A2 A3	B1	1994年 3月 23日
				JPH	06207194	A	1994年 7月 26日
				JP	3005407	B2	2000年 1月 31日
				US	5444089	A	1995年 8月 22日
				PH	30249	A	1997年 2月 5日
				DE	69327284	T2	2000年 5月 25日
				DK	0588621	T3	2000年 5月 29日
				HK	1008305	A1	2000年 7月 7日
CN	1485418	A	2004年 3月 31日	CN	1200995	C	2005年 5月 11日
CN	1485072	A	2004年 3月 31日	HK	1082426	A1	2007年 5月 18日
				US	8299121	B2	2012年 10月 30日
				RU	2296581	C2	2007年 4月 10日
				AU	2003272841	A1	2004年 4月 19日
				DK	1576959	T3	2011年 3月 28日
				WO	2004028549	A1	2004年 4月 8日
				CN	1684697	A	2005年 10月 19日
				EP	1576959	A1	2005年 9月 21日
				RU	2005112775	A	2006年 11月 10日
				AT	493140	T	2011年 1月 15日
				EP	1576959	A4	2008年 4月 23日
				US	2005222249	A1	2005年 10月 6日
				JP	2006502193	A	2006年 1月 19日
				US	2010137427	A9	2010年 6月 3日
				ES	2358420	T3	2011年 5月 10日
				CN	1301128	C	2007年 2月 21日
				DE	60335575	D1	2011年 2月 10日
				EP	1576959	B1	2010年 12月 29日
				JP	2011016852	A	2011年 1月 27日
				JP	4718836	B2	2011年 7月 6日
CN	104173824	A	2014年 12月 3日	无			
US	2014370129	A1	2014年 12月 18日	无			

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)