



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102276591 A

(43) 申请公布日 2011. 12. 14

(21) 申请号 201110260174. 8

(22) 申请日 2011. 09. 05

(71) 申请人 广西大学

地址 530004 广西壮族自治区南宁市大学东
路 100 号

(72) 发明人 王立升 庞赛 史新 段曼
蒋敏捷

(51) Int. Cl.

C07D 407/04 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 4 页

(54) 发明名称

一种从蒺藜中制备高纯度异牡荆苷的方法

(57) 摘要

本发明涉及的是一种应用半制备高效液相色谱法从蒺藜药材中制备高纯度异牡荆苷的方法,其特点是先将蒺藜药材粉碎,用甲醇或乙醇超声提取,再经过乙酸乙酯、正丁醇分别萃取至无色,蒸干后用 50% 甲醇溶解,在一定色谱条件下用反相半制备高效液相进行分离,收集并合并保留时间相同的馏分,减压浓缩,即可得到纯度在 98% 以上的异牡荆苷单体。本发明仅用一种色谱体系,进行等度洗脱的方法,能快速的分离高纯度异牡荆苷,发明方法中产生的废料少,占地面积小,柱效高,且方法简单易行。

1. 一种从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,包括下列步骤:

(1) 将蒜薹粉碎,用 20%~70% 甲醇或乙醇超声提取,过滤,将提取液减压浓缩至浸膏,得 A;

(2) 将 A 以蒸馏水溶解,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇按体积比 1 : 1 萃取,将乙酸乙酯萃取层减压浓缩至浸膏,得 B ;将正丁醇萃取层减压浓缩至浸膏,得 C ;

(3) 将 B 和 C 分别用 50% 甲醇溶解,利用反相半制备高效液相色谱进行分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩至干,得到异牡荆苷单体。

2. 按照权利要求 1 所述从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,其特征在于用 35% 的甲醇或乙醇超声提取。

3. 按照权利要求 1 或 2 所述从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,其特征在于超声提取两次,第一次提取时间为 1~3h,第二次提取时间为 0.5~2h。

4. 按照权利要求 1 所述从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,其特征在于超声提取时每次加入溶剂的体积为蒜薹粉末质量的 8~10 倍。

5. 按照权利要求 1 所述从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,其特征在于流动相为甲醇-0.4% 冰醋酸,其比例为 15 : 85~25 : 75,色谱柱为反相 C-18 柱 (250mm×10mm, 10 μ m)。

6. 按照权利要求 1 或 5 所述从蒜薹中制备异牡荆苷的方法,其特征在于检测波长为 273nm,流速 3-6ml/min,进样量 2ml。

一种从蔊莫中制备高纯度异牡荆苷的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种异牡荆苷的制备方法,具体是从蔊莫药材中制备纯度大于 98% 的异牡荆苷的方法。

背景技术

[0002] 蔊莫(*Thlaspi arvense*. L) 为十字花科植物蔊莫的干燥地上部分,又叫遏蓝菜、苦芥子、败酱草、瓜子草、蔊目,分布在我国大部分地区,但主产于江苏、甘肃、安徽等地,具有清肝明目,和中益气,主治目赤,肿痛,泪出,也常用于治疗肾炎,子宫内膜炎。

[0003] 异牡荆苷为蔊莫药材中含量最高的黄酮类成分,属于碳苷黄酮,结构稳定,不易降解,并具有抗氧化、抗菌等活性。

[0004] 检索国内外文献,仅见有一篇关于蔊莫籽挥发油的分析报道(涂杰,张新申,罗霞等. 蔊莫籽挥发油的 GC/MS 分析. 化学研究与应用. 2006, 18(11): 1340-1342),而对于蔊莫全草的化学成分,包括异牡荆苷的分离研究未见报道。已有的分离纯化异牡荆苷的方法主要是传统的醇提、柱层析纯化,提取方法耗费时间长,硅胶柱层析操作复杂步骤繁多,且最终提取率不高。中国专利“木豆枝叶中提取纯化牡荆苷和异牡荆苷的方法”(公开号 CN101172991) 中采用的匀浆萃取技术、大孔吸附树脂富集技术及 C18 反相中压硅胶柱层析方法,从木豆中分离纯化异牡荆苷操作复杂且耗时长、产率低。

[0005] 综上所述,在利用植物资源制备异牡荆苷的过程中,目前主要制约异牡荆苷提取分离的因素是由于提取工艺落后、耗时长和操作复杂,因此有必要寻找一种简便、安全、高效、经济的提取纯化异牡荆苷的方法。本发明填补了从蔊莫中提取分离异牡荆苷的研究空白,旨在建立一种通过现代分离纯化技术的方法,实现简单、快速高效的制备高纯度异牡荆苷。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种以蔊莫全草为原料,通过超声提取技术、液-液萃取技术、以及半制备高效液相色谱分离技术,从而快速高效的获得高纯度异牡荆苷的工艺方法。

[0007] 本发明通过如下方法实现:

[0008] (1) 将蔊莫药材粉碎,加入体积为药材质量的 8 ~ 10 倍的 20% -70% 的甲醇或乙醇超声提取 1-3h,过滤,将滤液减压浓缩至浸膏,得蔊莫粗提物 A。

[0009] (2) 将 A 用蒸馏水溶解,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇按体积比 1 : 1 萃取到无色,将乙酸乙酯萃取层减压浓缩至浸膏,得 B;正丁醇萃取层减压浓缩得 C。

[0010] (3) 将 B 和 C 分别用 50% 甲醇完全溶解,利用反相半制备高效液相色谱进行分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩至干,得到异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度大于 98%。

[0011] 本发明可快速高效的获得高纯度异牡荆苷,具有操作简便、安全、经济的特点。

附图说明

- [0012] 实验条件：
- [0013] 仪器：北京优联 3282 型高效液相色谱仪
- [0014] 色谱柱：苏州环球 C18 分析色谱柱 (250mm×4.6mm, 5 μm)
- [0015] 流动相：甲醇-0.4%冰乙酸
- [0016] 流速：1mL·min⁻¹
- [0017] 检测波长：273nm
- [0018] 进样量：20 μL
- [0019] 本试验中所用到的异牡荆苷对照品购于 Sigma 公司
- [0020] 附图 1. 异牡荆苷对照品 HPLC 图
- [0021] 附图 2. 实施例一下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0022] 附图 3. 实施例二下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0023] 附图 4. 实施例三下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0024] 附图 5. 实施例四下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0025] 附图 6. 实施例五下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0026] 附图 7. 实施例六下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0027] 附图 8. 实施例七下制得的异牡荆苷 HPLC 图
- [0028] 附图 9. 实施例八下制得的异牡荆苷 HPLC 图

具体实施方式

- [0029] 实施例一：
- [0030] (1) 将 1000 克薜萸药材粉碎，加入体积为药材质量 10 倍的 20% 甲醇超声提取 3h，过滤，再加入体积为药材质量 10 倍的 20% 甲醇超声提取 2h，过滤后合并两次提取液，减压浓缩至浸膏，得 A。
- [0031] (2) 将 A 用蒸馏水完全溶解，分别用乙酸乙酯、正丁醇按体积比 1：1 萃取至无色，将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏，得 B；将正丁醇萃取层减压浓缩得 C。
- [0032] (3) 将 B 和 C 分别用 50% 甲醇完全溶解，过 0.45 μm 微孔滤膜，在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸 (15：85) 为流动相，色谱柱为反相 C-18 柱，检测波长 273nm，流速 6ml/min，进样量 2ml，分批进样进行色谱分离，收集保留时间相同的目标成分，减压浓缩，得异牡荆苷单体，经面积归一法测定其纯度为 98.44%。
- [0033] 实施例二：
- [0034] (1)、将 1000 克薜萸药材粉碎，加入体积为药材质量 10 倍的 70% 甲醇超声提取 1h，过滤，再加入体积为药材质量 8 倍的 70% 甲醇超声提取 0.5h，过滤后合并两次提取液，减压浓缩至浸膏，得 A。
- [0035] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解，分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1：1 萃取至无色，将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏，得 B，正丁醇萃取液减压浓缩得 C。
- [0036] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解，过 0.45 μm 微孔滤膜，在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸 (20：80) 为流动相，色谱柱为反相 C-18 柱，检测波长

273nm,流速 4ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.02%。

[0037] 实施例三:

[0038] (1)、将 1000 克蒜蓼药材粉碎,加入体积为药材质量 8 倍的 35% 甲醇超声提取 1h,过滤,再加入体积为药材质量 8 倍的 35% 甲醇超声提取 2h,过滤后合并两次提取液,减压浓缩至浸膏,得 A。

[0039] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0040] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(25 : 75)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 3ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.27%。

[0041] 实施例四:

[0042] (1)、将 1000 克蒜蓼药材粉碎,加入体积为药材质量 10 倍的 20% 乙醇超声提取 3h,过滤,再加入体积为药材质量 10 倍的 20% 乙醇超声提取 2h,过滤后合并两次提取液,减压浓缩至浸膏,得 A。

[0043] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,将正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0044] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(15 : 85)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 5ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.64%。

[0045] 实施例五:

[0046] (1)、将 1000 克蒜蓼药材粉碎,加入体积为药材质量 10 倍的 70% 乙醇超声提取 1h,过滤,再加入体积为药材质量 8 倍的 70% 乙醇超声提取 0.5h,过滤后合并两次提取液,减压浓缩至浸膏,得 A。

[0047] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0048] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(20 : 80)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 4ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.51%。

[0049] 实施例六:

[0050] (1)、将 1000 克蒜蓼药材粉碎,加入体积为药材质量 8 倍的 35% 乙醇超声提取 1h,过滤,再加入体积为药材质量 8 倍的 35% 乙醇超声提取 2h,过滤后合并两次提取液,减压浓缩至浸膏,得 A。

[0051] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0052] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液

相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(25 : 75)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 3ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.28%。

[0053] 实施例七:

[0054] (1)、将 1000 克荜茇药材粉碎,加入体积为药材质量 10 倍的 70% 甲醇超声提取 3h,过滤后将提取液减压浓缩至浸膏,得 A。

[0055] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0056] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(15 : 85)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 6ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.59%。

[0057] 实施例八:

[0058] (1)、将 1000 克荜茇药材粉碎,加入体积为药材质量 8 倍的 20% 乙醇超声提取 3h,过滤后将提取液减压浓缩至浸膏,得 A。

[0059] (2)、将 A 用蒸馏水完全溶解,分别用乙酸乙酯、正丁醇按 1 : 1 萃取至无色,将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至浸膏,得 B,正丁醇萃取液减压浓缩得 C。

[0060] (3)、将 B 和 C 用 50% 甲醇完全溶解,过 0.45 μ m 微孔滤膜,在反相半制备高效液相色谱中利用甲醇-0.4%冰醋酸(25 : 75)为流动相,色谱柱为反相 C-18 柱,检测波长 273nm,流速 3ml/min,进样量 2ml,分批进样进行色谱分离,收集保留时间相同的目标成分,减压浓缩,得异牡荆苷单体,经面积归一法测定其纯度为 98.53%。

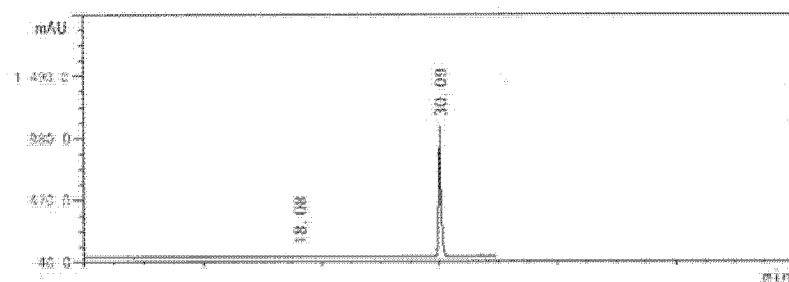
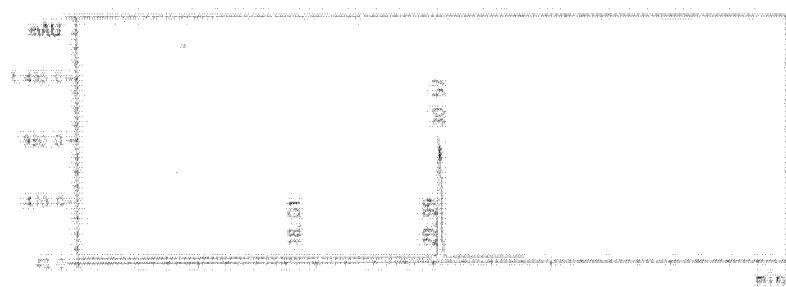
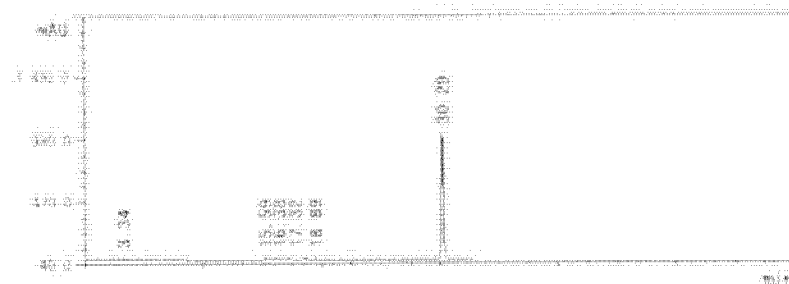


图 1



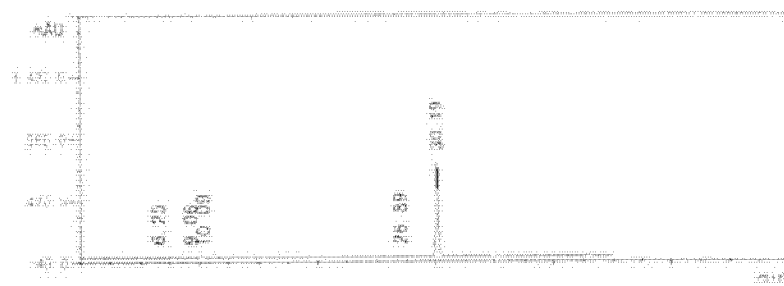
序号	组分名	保留时间	峰高	峰面积	归一化
1		18.01	2687	166355	0.59
2		29.99	8498	271579	0.97
3		30.57	1009291	28069864	98.44

图 2



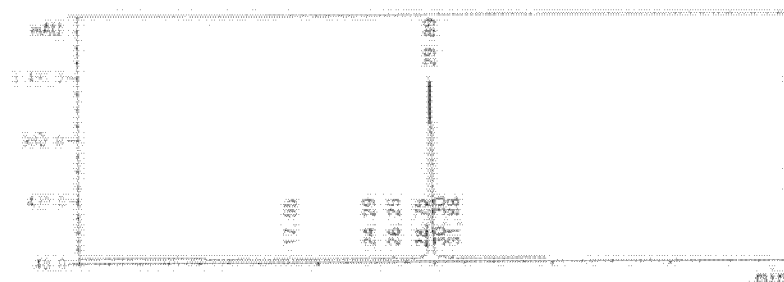
序号	组分名	保留时间	峰高	峰面积	归一化
1		9.34	2484	269918	0.83
2		15.59	1928	90651	0.28
3		16.38	1912	100693	0.31
4		17.32	1868	108979	0.34
5		18.09	2910	71888	0.22
6		30.29	1202153	31832681	98.02

图 3



序号	组分名	保留时间	峰高	峰面积	结果 (%)
1		6.25	1315	65817	0.33
2		9.06	2297	57285	0.29
3		10.09	15557	172917	0.86
4		26.89	9356	44352	0.23
5		30.19	893309	19322780	98.27

图 4



序号	组分名	保留时间	峰高	峰面积	结果 (%)
1		17.55	2830	57434	0.14
2		24.29	3983	78289	0.19
3		26.25	1639	22697	0.06
4		28.75	16761	50112	0.12
5		29.89	1616913	40239013	98.64
6		30.00	11335	264966	0.70
7		31.88	2297	61841	0.15

图 5

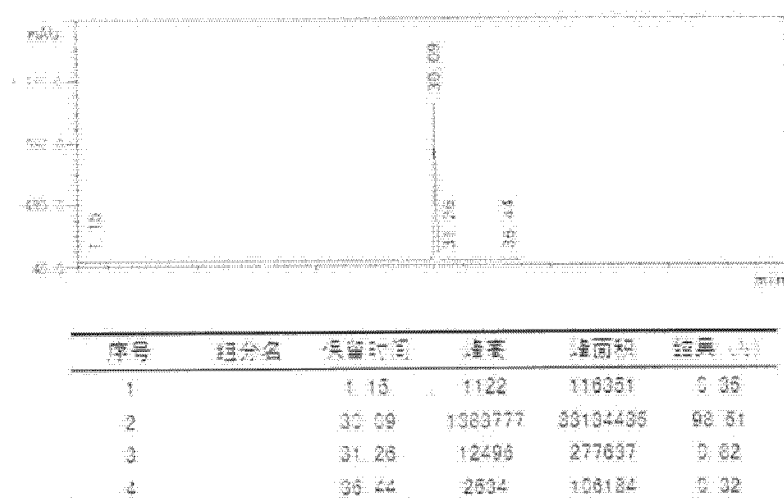


图 6

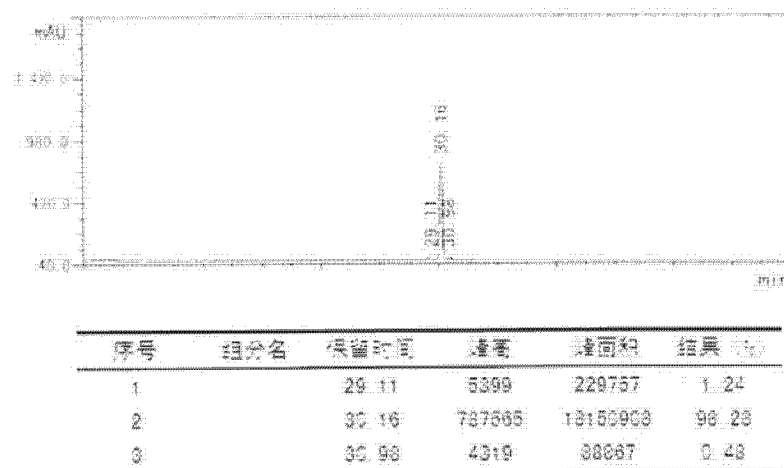


图 7

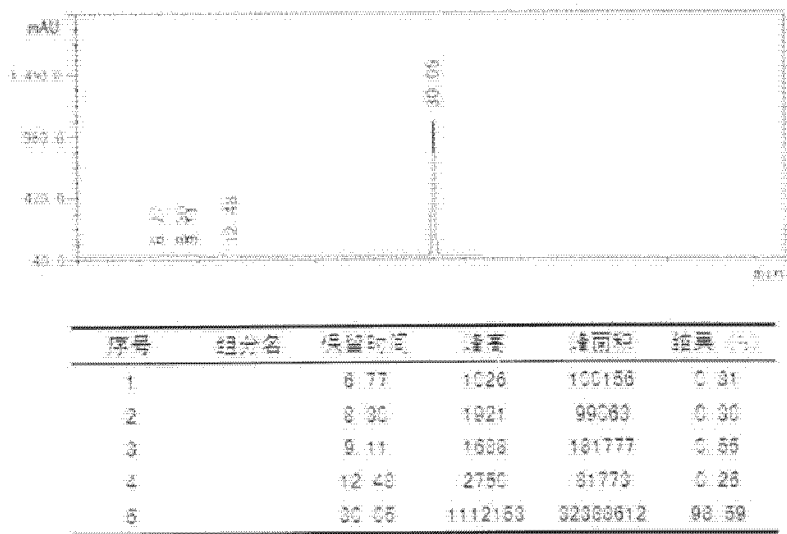


图 8

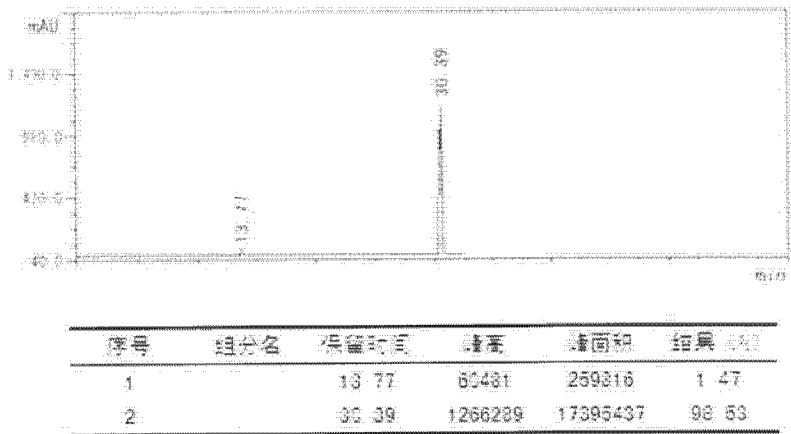


图 9