



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104119410 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 29

(21) 申请号 201410376884. 0

(22) 申请日 2014. 08. 01

(71) 申请人 欧阳冬生

地址 410078 湖南省长沙市开福区湘雅路  
110 号中南大学临床药理研究所

(72) 发明人 冯晗 郭成贤 严谨 黄卫华

(74) 专利代理机构 长沙正奇专利事务所有限责  
任公司 43113

代理人 卢宏

(51) Int. Cl.

*C07H 17/04* (2006. 01)

*C07H 1/08* (2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页 附图6页

(54) 发明名称

一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法

(57) 摘要

本发明涉及医药技术领域,具体提供了一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,本发明以杜仲果为原料,经脱壳,果仁粉碎,石油醚脱脂,乙醇提取,加丙酮冷却结晶,再经硅胶柱纯化,浓缩即得高纯度桃叶珊瑚苷单体。本发明所采用的生产工艺安全、低毒,能耗低,易于工业化生产,纯度高,收率高,质量稳定,可满足以杜仲果为主要原料的药物开发需要,提高了杜仲资源的综合利用,增强了杜仲在医疗和保健领域的开发利用价值。

1. 一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,包括以下步骤:

①脱脂:将干燥的杜仲果脱壳得果仁,果仁粉碎,石油醚脱脂,得到脱脂粗料;

②提取:将所述脱脂粗料加入醇进行提取,过滤,合并提取液,40℃-60℃浓缩至提取液体积的1/5-1/12,得到浓缩提取液;

③结晶:将所述浓缩提取液加入丙酮饱和和溶解,冷却结晶,得到桃叶珊瑚苷粗晶体;

④硅胶柱层析:将所述桃叶珊瑚苷粗晶体加乙酸乙酯饱和和溶解,再加入硅胶层析柱,其中层析用硅胶与桃叶珊瑚苷粗晶体的质量比为6:1-11:1,然后用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱,具体依次按质量比例乙酸乙酯比甲醇为1:0、9-11:1、5-7:1、3-5:1的次序洗脱,用量分别为3-5BV、3-6BV、4-6BV、3-5BV,收集洗脱液;

⑤浓缩干燥:将所述洗脱液在40℃-60℃浓缩,冷冻干燥,得桃叶珊瑚苷单体产品。

2. 根据权利要求1所述从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤①中所述粉碎后为40-50目。

3. 根据权利要求1或2所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤①中石油醚用量为杜仲果果仁质量的6-10倍量,脱脂次数为2-4次,脱脂时间为1.5-4小时。

4. 根据权利要求1或2所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于所述步骤②所述醇为乙醇。

5. 根据权利要求4所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤②中所述乙醇用量为杜仲果质量的6-12倍量,提取次数为3-5次,每次提取时间为2-5小时。

6. 根据权利要求1或2所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤③中乙酸乙酯饱和溶解后,将溶解液置于4-10℃冷却,结晶12-72小时。

7. 根据权利要求1或2所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤④中层析用硅胶与桃叶珊瑚苷粗晶体的质量比为8:1-10:1。

8. 根据权利要求1或2所述杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,其特征在于,步骤④中用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱的顺序为:依次按质量比例乙酸乙酯比甲醇为1:0、10:1、6:1、4:1的次序洗脱,用量分别为3-5BV、3-6BV、4-6BV、3-5BV。

## 一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法

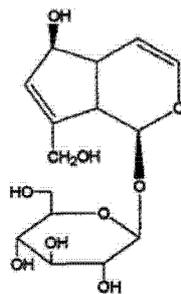
### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,可满足以杜仲果为主要原料的药物开发需要,提高了杜仲资源的综合利用,增强了杜仲在医疗和保健领域的开发利用价值。

### 背景技术

[0002] 桃叶珊瑚苷 (aucubin, AU) 属环烯醚萜苷类,分子式为  $C_{15}H_{22}O_9$ ,分子量 346.33,熔点  $181^{\circ}C$ ,易溶于水、甲醇和乙醇等极性溶剂,几乎不溶于氯仿、乙醚和石油醚等弱极性溶剂。该化合物主要存在于杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliver、山茱萸科植物桃叶珊瑚属 (*Aucubachinensis*)、车前科植物车前属 (*Plantago*) 等植物中,是杜仲、车前草、地黄等中草药的有效成分之一,具有保肝解毒、抗炎、抗氧化、促进胶原合成、抗骨质疏松及营养神经元细胞等众多药理活性。桃叶珊瑚苷结构式如下:

[0003]



[0004] 杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv) 性温,味甘,具有补肝肾、壮腰膝、强筋骨、安胎的功效,是我国特有名贵滋补药材和经济树种。杜仲为杜仲科杜仲属多年生落叶乔木,在我国湖南、贵州、陕西、河南、湖北等地分布广泛,全国种植面积达 30 万公顷。杜仲全身是宝,其皮入药已有二千多年历史,含有环烯醚萜类、苯丙素类、木脂素类等药用成分;杜仲叶中活性成分与杜仲皮基本相同、药用功能基本一致。而杜仲翅果则主要用于提取杜仲胶。近些年来研究表明,杜仲翅果中桃叶珊瑚苷含量可高达  $7\% \sim 11\%$ ,现仅作为工业原料加以利用,其药用价值远未得到重视。

[0005] 目前,从杜仲翅果中提取桃叶珊瑚苷的工艺方法研究较少。中国专利 201010297478.7、公开了“一种从杜仲果中提取桃叶珊瑚苷的工艺方法”,主要包括闪式或超声提取、大孔树脂吸附纯化,但该工艺得到桃叶珊瑚苷纯度仅在  $50\%$ ,而且试剂消耗量大、操作繁琐、工业化生产周期长、成本高,不利于桃叶珊瑚苷单体的工业化生产及开发利用。中国专利 201310028642.8 公开了“一种从杜仲中快速高效制备桃叶珊瑚苷单体的方法”,该方法经有机溶剂、浓缩、再用甲醇或乙醇将浓缩物溶解、然后加入乙酸乙酯或氯仿溶液冷凝回流,最后过滤,滤液常温静置结晶后,洗涤,得产品。该方法采取提取-结晶两步即可制得桃叶珊瑚苷,但收率较低,资源浪费严重。中国专利 CN 101863938 A 公开了“一种制备高纯度桃叶珊瑚苷的方法”,具体制备方法是:正己烷脱脂,水或稀乙醇超声提取,提取液加入高分子填料固定相的色谱柱,用少量水和低浓度乙醇水溶液进行洗脱,洗脱液浓缩至

无醇味,加入中压硅胶柱,用水及 10%乙醇洗脱,收集洗脱液;浓缩结晶得产品。该方法以高分子填料固定相色谱柱、硅胶柱层析、重结晶来分离得到桃叶珊瑚苷,步骤繁多、产品收率较低(实施例中的收率分别是 0.955%和 2.5%)、生产周期较长。

### 发明内容

[0006] 为了克服上述现有技术的缺陷及不足,本发明的目的是提供一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,该方法可得到纯度较高的桃叶珊瑚苷单体,生产收率高,该工艺方法以重结晶-硅胶柱层析来分离纯化,操作简单,生产周期短,易于工业化生产。

[0007] 本发明所采用的技术方案是:

[0008] 一种从杜仲果中制备桃叶珊瑚苷单体的工艺方法,包括以下步骤:

[0009] ①脱脂:将干燥的杜仲果脱壳得果仁,果仁粉碎,石油醚脱脂,得到脱脂粗料;

[0010] ②提取:将所述脱脂粗料加入醇进行提取,过滤,合并提取液,40℃-60℃浓缩至提取液体积的 1/5-1/12,得到浓缩提取液;

[0011] ③结晶:将所述浓缩提取液加入丙酮饱和溶解,冷却结晶,得到桃叶珊瑚苷粗晶体;

[0012] ④硅胶柱层析:将所述桃叶珊瑚苷粗晶体加乙酸乙酯饱和溶解,再加入硅胶层析柱,其中层析用硅胶与桃叶珊瑚苷粗晶体的质量比为 6:1-11:1,然后用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱,具体依次按质量比例乙酸乙酯比甲醇为 1:0、9-11:1、5-7:1、3-5:1 的次序洗脱,用量分别为 3-5BV、3-6BV、4-6BV、3-5BV,收集洗脱液;

[0013] ⑤浓缩干燥:将所述洗脱液在 40℃-60℃浓缩,冷冻干燥,得桃叶珊瑚苷单体产品。

[0014] 优选方案:步骤①中石油醚用量为杜仲果果仁质量的 6-10 倍量,脱脂次数为 2-4 次,脱脂时间为 1.5-4 小时,更优选石油醚用量为杜仲果果仁的 8-9 倍量,脱脂次数为 3-4 次,脱脂时间为 2-3 小时。

[0015] 优选方案:所述步骤②所述醇为乙醇。

[0016] 进一步优选方案:步骤②中所述乙醇用量为杜仲果质量的 6-12 倍量,提取次数为 3-5 次,每次提取时间为 2-5 小时;更优选:乙醇用量为原料的 8-10 倍量,提取次数为 3-4 次,每次提取时间为 3-4 小时。

[0017] 优选方案:步骤③中乙酸乙酯饱和溶解后,将溶解液置于 4-10℃冷却,结晶 12-72 小时。

[0018] 优选方案:步骤④中层析用硅胶与桃叶珊瑚苷粗晶体的质量比为 8:1-10:1。

[0019] 优选方案:步骤④中用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱的顺序为:依次按质量比例乙酸乙酯比甲醇为 1:0、10:1、6:1、4:1 的次序洗脱,用量分别为 3-5BV、3-6BV、4-6BV、3-5BV,薄层检测。

[0020] 该工艺方法所得桃叶珊瑚苷单体纯度达 98%以上。

[0021] 所述工艺方法可满足以杜仲果为主要原料的药物开发需要,提高了杜仲资源的综合利用。

[0022] 下面对本发明做进一步解释和说明:

[0023] 本申请的特点主要在于:得到提取液后先结晶,再将结晶产品加乙酸乙酯饱和溶

解、然后用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱,收集洗脱液,最后浓缩干燥得产品。该工艺方法首先经重结晶得到桃叶珊瑚苷粗品,操作简便,生产成本低;然后经硅胶柱层析,用乙酸乙酯和甲醇组成的溶液依次洗脱,最大限度地收集桃叶珊瑚苷,提高产品收率。

[0024] 与背景中中国专利 CN 101863938 A 公开了“一种制备高纯度桃叶珊瑚苷的方法”相比,本专利步骤简单,只需经硅胶柱层析,不必经高分子填料固定相色谱柱纯化,生产周期较短;且本专利产品收率较高,生产成本低,有利于工业化生产。

[0025] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

[0026] 以杜仲果为原料,来源丰富,成本低廉,提高了杜仲的综合利用率;采用重结晶-硅胶柱层析纯化,操作简便、安全,易于实现工业化生产;产品收率高(大于4%)、纯度高(大于98.5%),可满足各种以杜仲果为主要原料的药物开发的需要,实现杜仲资源的有效利用,创造了巨大经济和社会价值。

### 附图说明

[0027] 图1为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的 HPLC 图谱;

[0028] 图2为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的 <sup>1</sup>H-NMR 图谱;

[0029] 图3为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的 <sup>13</sup>C-NMR 图谱;

[0030] 图4为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的红外图谱;

[0031] 图5为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的质谱图谱;

[0032] 图6为使用本发明方法所制备的桃叶珊瑚苷单体的扫描电镜图谱。

### 具体实施方式

[0033] 下面通过实施例对本发明做进一步的解释和说明,实施例中所述百分含量均为质量百分含量。

#### [0034] 实施例 1

[0035] 将杜仲果脱壳,果仁粉碎至 40 目,取 10kg 投入提取罐,加 60L 石油醚脱脂,脱脂 2 次,每次 3 小时,滤出药渣为脱脂粗料。加 80L 乙醇至脱脂粗料超声提取 2 小时,提取 3 次,合并提取液。提取液 40℃减压浓缩至原体积的 1/8 并回收乙醇。浓缩液加丙酮饱和溶解,7℃结晶 48 小时,粗晶体加乙酸乙酯饱和溶解。取 10L 硅胶装柱,将饱和液加入硅胶柱,依次用 3BV 乙酸乙酯(质量比乙酸乙酯:甲醇=1:0)、4BV10:1 乙酸乙酯/甲醇(质量比乙酸乙酯:甲醇=10:1)、5BV6:1 乙酸乙酯/甲醇(质量比乙酸乙酯:甲醇=6:1)、4BV4:1 乙酸乙酯/甲醇溶液洗脱(质量比乙酸乙酯:甲醇=4:1),同时用薄层色谱法检测,收集桃叶珊瑚苷流分,合并洗脱液,40℃减压浓缩,冷冻干燥,得到桃叶珊瑚苷单体 410g,经 HPLC 法测定,其含量达 98.7%,收率为 4.1%。

#### [0036] 实施例 2

[0037] 将杜仲果脱壳,果仁粉碎至 50 目,取 10kg 投入提取罐,加 80L 石油醚脱脂,脱脂 3 次,每次 4 小时,滤出药渣为脱脂粗料。加 100L 乙醇至脱脂粗料超声提取 4 小时,提取 5 次,合并提取液。提取液 40℃减压浓缩至原体积的 1/10 并回收乙醇。浓缩液加丙酮饱和溶解,4℃结晶 72 小时,粗晶体加乙酸乙酯饱和溶解。取 10L 硅胶装柱,将饱和液加入硅胶柱,依次用 3BV 乙酸乙酯(质量比乙酸乙酯:甲醇=1:0)、4BV10:1 乙酸乙酯/甲醇(质量比乙酸

乙酯：甲醇 = 10:1)、5BV6:1 乙酸乙酯 / 甲醇 (质量比乙酸乙酯：甲醇 = 6:1)、4BV4:1 乙酸乙酯 / 甲醇溶液洗脱 (质量比乙酸乙酯：甲醇 = 4:1)，同时用薄层色谱法检测，收集桃叶珊瑚苷流分，合并洗脱液，40℃减压浓缩，冷冻干燥，得到桃叶珊瑚苷单体 480g，经 HPLC 法测定，其含量达 99.2%，收率为 4.8%。

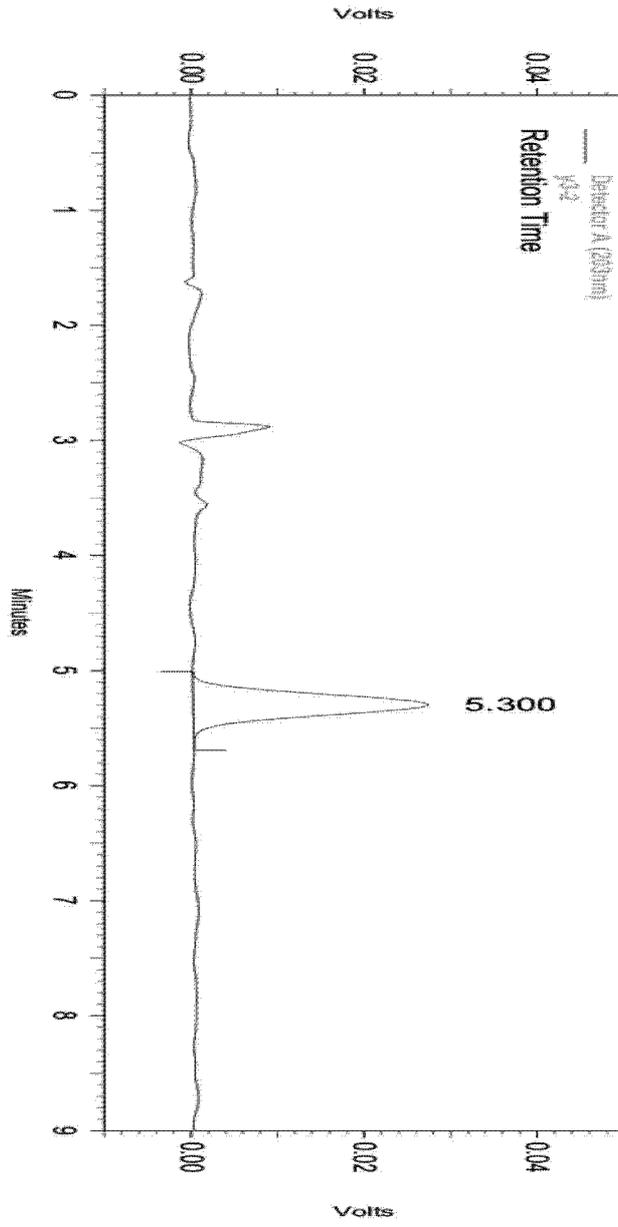


图 1

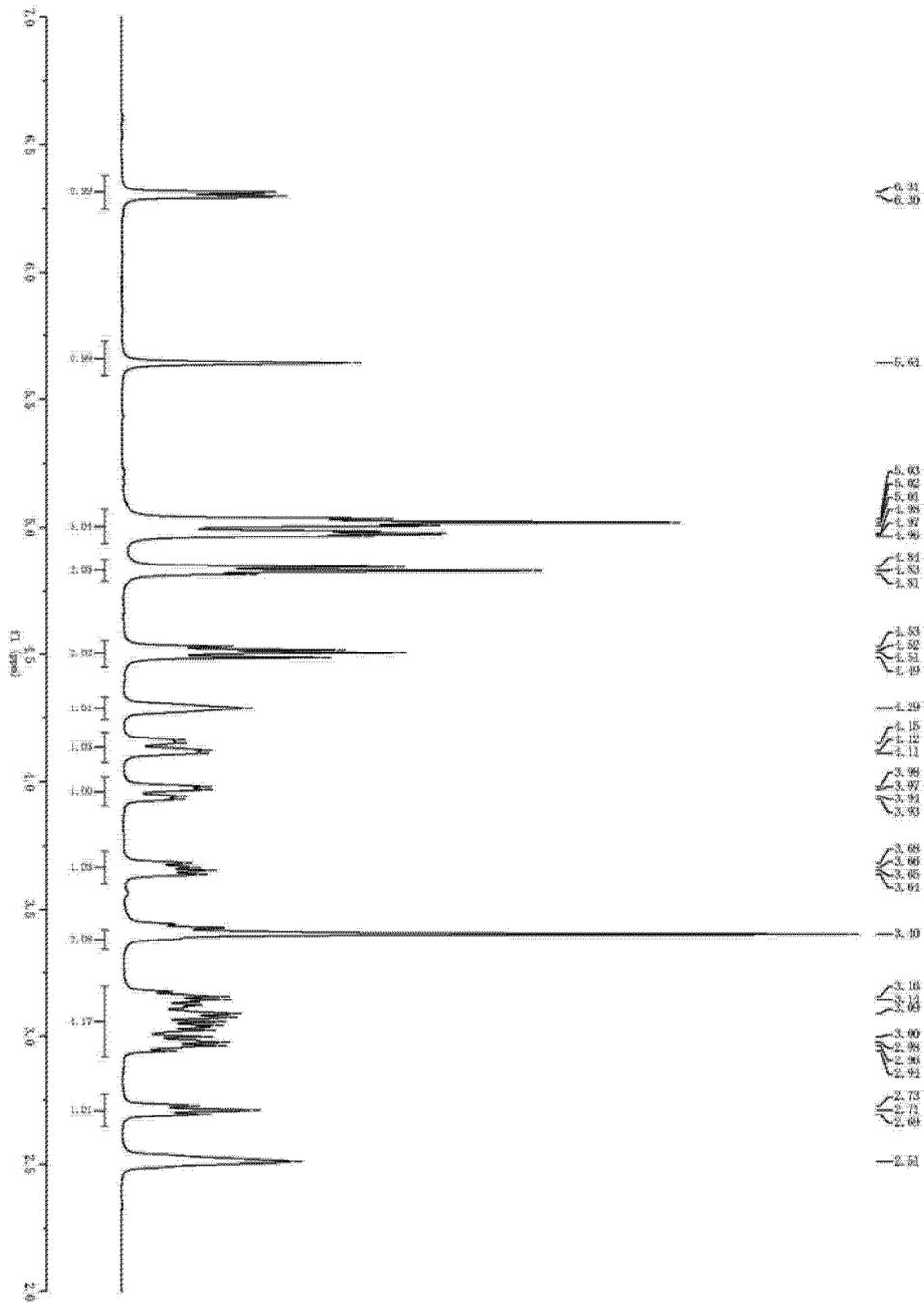


图 2

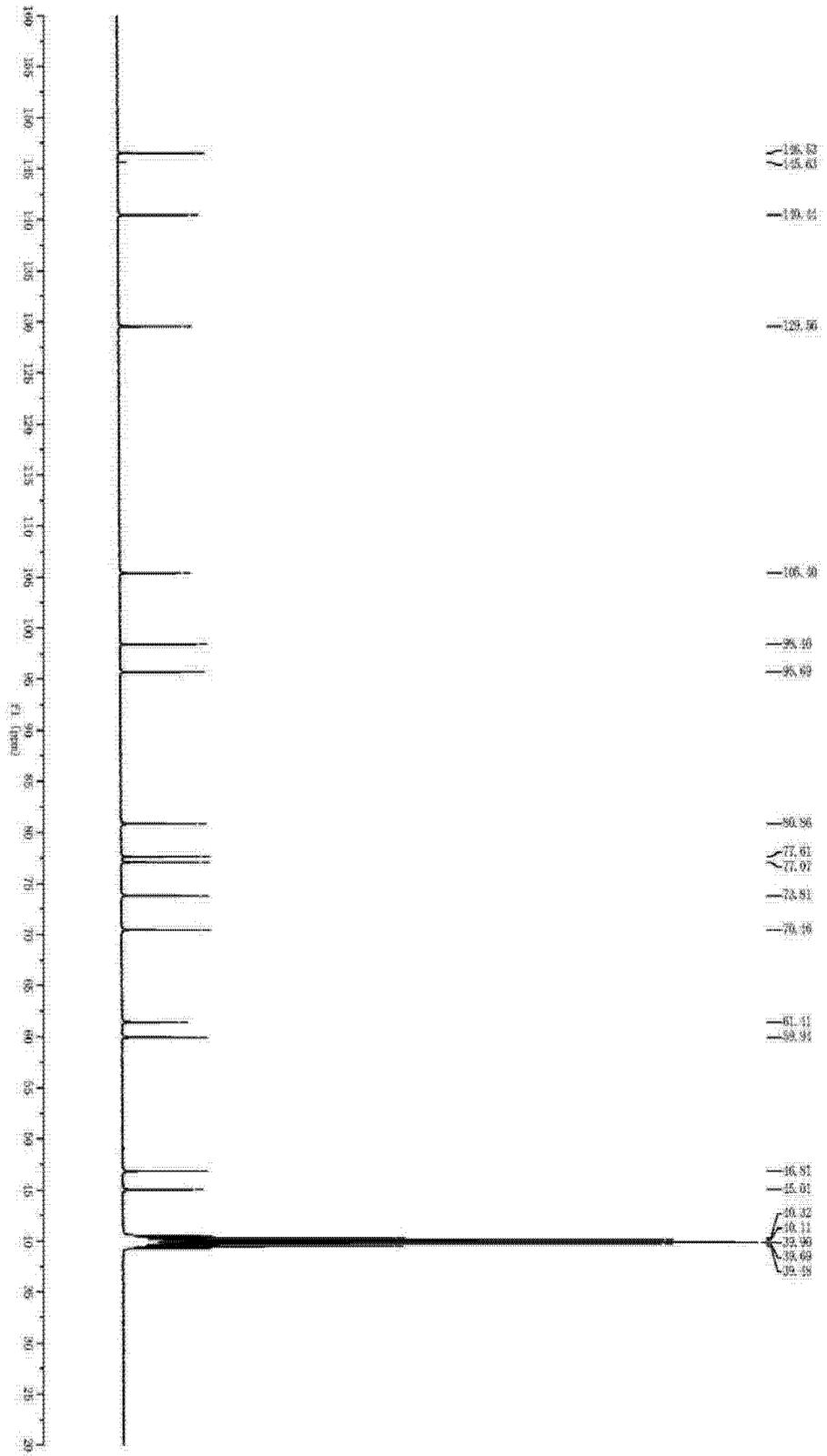


图 3

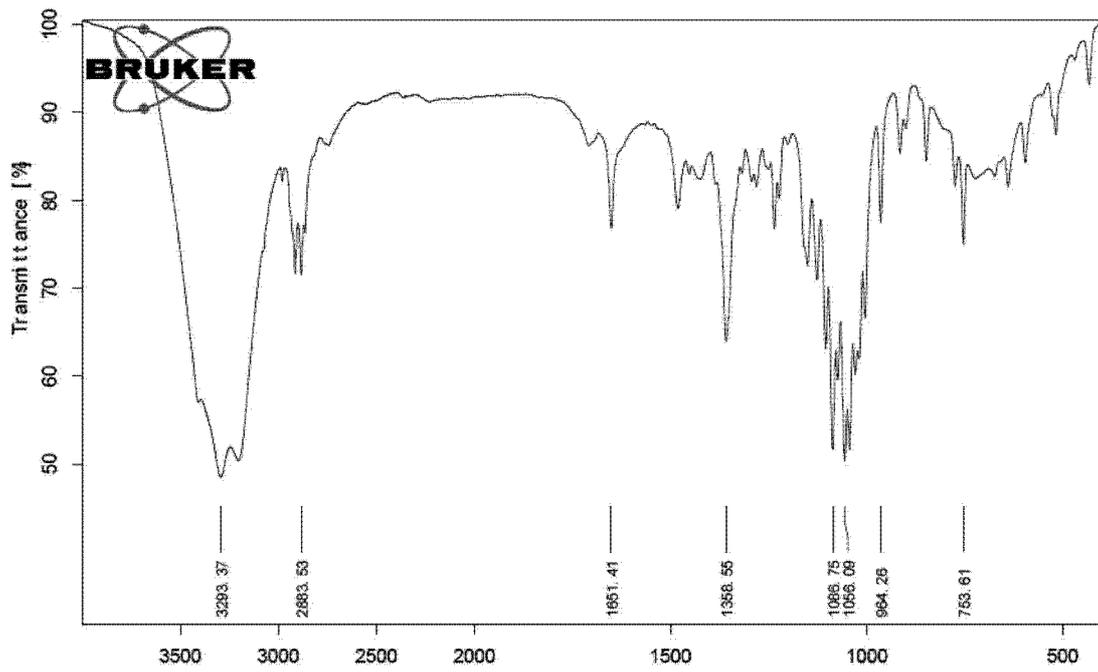


图 4

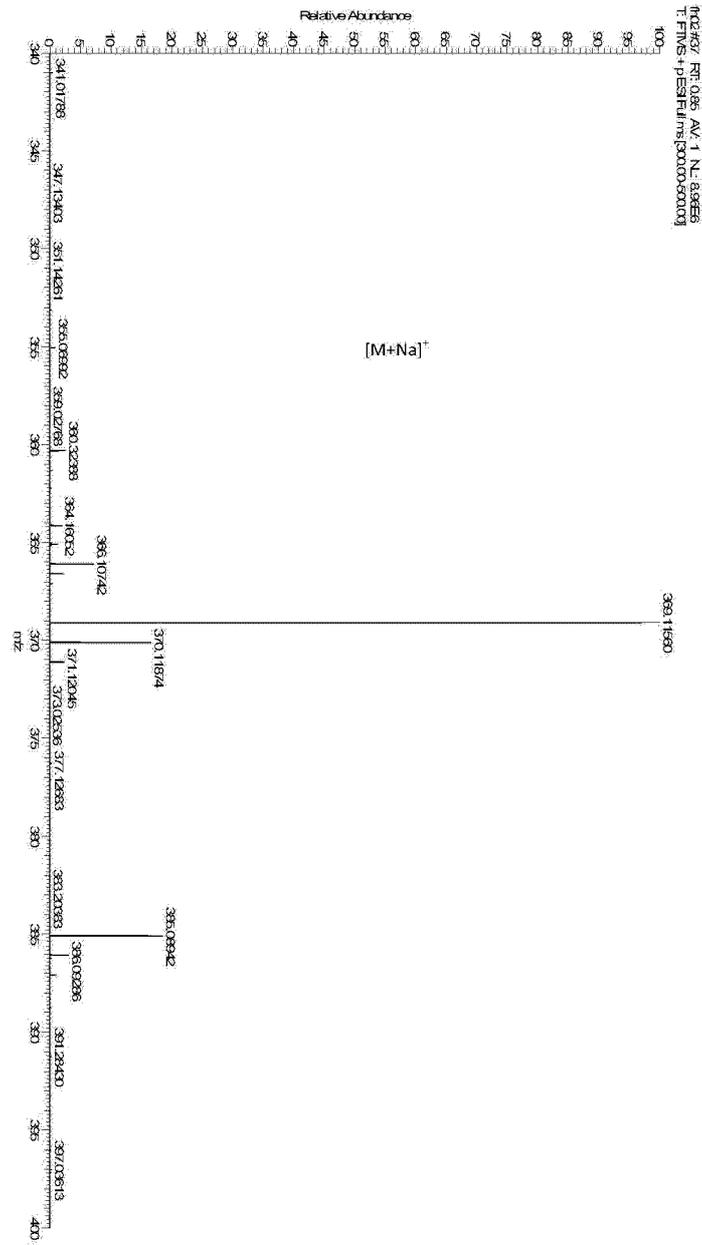


图 5

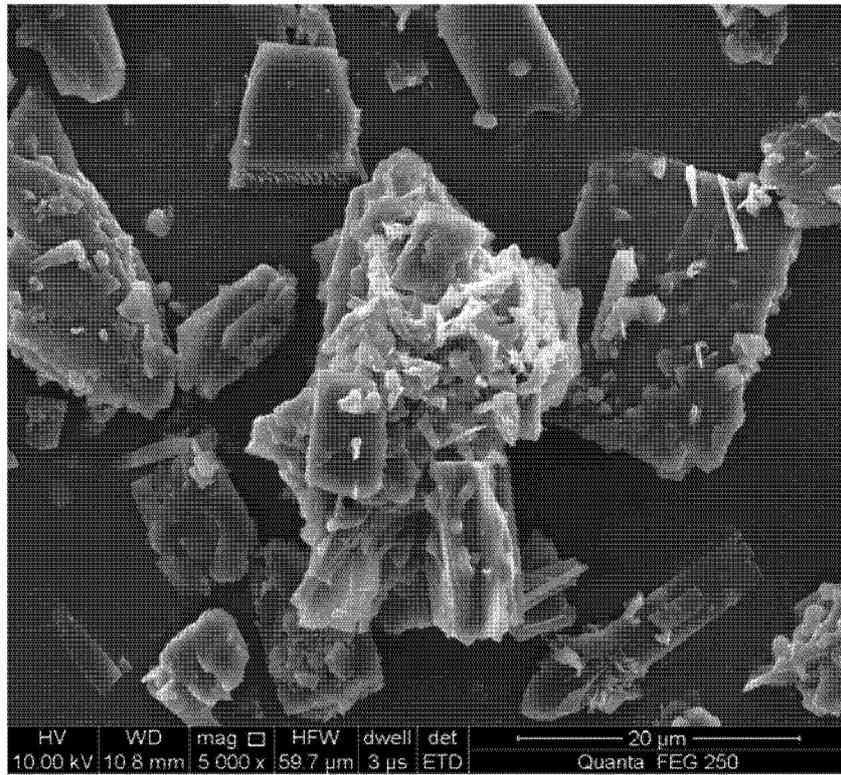


图 6