

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101289385 B

(45) 授权公告日 2011.06.01

(21) 申请号 200810038853.9

(22) 申请日 2008.06.12

(73) 专利权人 中国人民解放军第二军医大学  
地址 200433 上海市翔殷路 800 号

(72) 发明人 张川 邹豪 张宁

(74) 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司  
31200

代理人 陆飞 盛志范

(51) Int. Cl.

*C07C 59/52* (2006.01)

*C07C 51/42* (2006.01)

*A61K 36/53* (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101012163 A, 2007.08.08, 全文.

审查员 罗玲

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

从丹参中提取高纯度丹参素的方法

(57) 摘要

本发明属于植物药技术领域,具体为一种从丹参中提取高纯度丹参素的方法。该方法包括用热浸法从丹参药材中提取含有丹参素的提取液;用酸调节提取液的 pH 值,去除杂质,减压浓缩;然后用大孔吸附树脂进行洗脱,富集丹参素;再低温浓缩,冷冻干燥成固体;最后用乙醇加热溶解,过滤沉淀后对滤液低温浓缩,析出结晶,即得纯度为 90% 以上的丹参素。本发明方法工艺简单、可控,提取效率高,而且污染少,成本低,适合于大规模生产。

1. 从丹参中提取高纯度丹参素的方法,其特征在于具体步骤如下:
  - a、将丹参药材切片,采用 pH 为 8 ~ 10 的碱水溶液热浸法提取,温度 60 ~ 80℃,得到含丹参素的提取液;
  - b、对提取液用酸调节 pH 至 1 ~ 2,过滤除去沉淀;将上清液于 60 ~ 70℃下浓缩;浓缩液加乙醇进行沉淀,使醇浓度达到 70 ~ 85%,静置,除去沉淀,60-70℃温度下浓缩滤液至无醇味;
  - c、将上述浓缩液上大孔吸附树脂柱,先以 2 ~ 3 倍树脂体积的水洗脱,弃去,继续以 3 ~ 5 倍树脂体积的水洗脱,收集洗脱液;
  - d、将上述洗脱液 60-70℃温度下浓缩,以碱水调节 pH 至 6 ~ 7,冷冻干燥成固体;
  - e、将上述固体用乙醇加热溶解,过滤放冷后析出的沉淀,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,含量大于 90%。
2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤 a 提取所用的碱水为氢氧化钠、氢氧化钾或氨水,步骤 d 所用碱水与步骤 a 中相同。
3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤 a 中热浸法提取次数为 2 ~ 3 次,碱水的用量为丹参药材重量的 8 ~ 15 倍,每次提取时间为 0.5 ~ 1 小时。
4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤 b 所用酸为盐酸、乙酸或硫酸。
5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤 c 所用大孔吸附树脂为 AB-8、D101 或 HP-20。
6. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤 e 所用乙醇为无水乙醇或 95%乙醇。

## 从丹参中提取高纯度丹参素的方法

### 技术领域

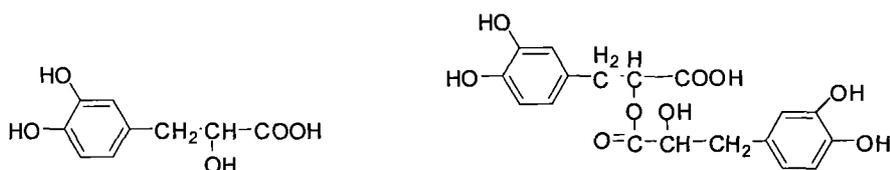
[0001] 本发明属于植物药技术领域,具体涉及从丹参药材中提取高纯度丹参素的方法。

### 背景技术

[0002] 丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 为唇形科鼠尾草属多年生草本植物,是我国传统的中药,具有活血化瘀、通经活络、清心除烦之功效,《神农本草经》列为上品。丹参的活性成分主要有两类:一类是以丹参酮为代表的脂溶性成分;另一类是以丹酚酸为代表的水溶性成分。研究表明,丹参的水溶性成分具有抗氧化、抗凝、抗血栓、抗心脑血管缺血及调节血脂作用,对多种动物实验性心、肝、肺等组织损伤均有明显的保护作用,具有抗炎、增强免疫功能等多方面药理活性。目前对丹参水溶性成分研究关注比较多的是丹酚酸B,而忽视了另一个有效成分——丹参素。

[0003] 丹参素,又名丹参素甲,命名为D(+) $\beta$ -(3,4-二羟基苯基)乳酸,属于苯丙酸类成分。同时丹参中还含有丹参素乙和丹参素丙等成分,丹参素乙是丹参素(丹参素甲)的三聚体,丹参素丙是丹参素的二具体。三者的结构如下:

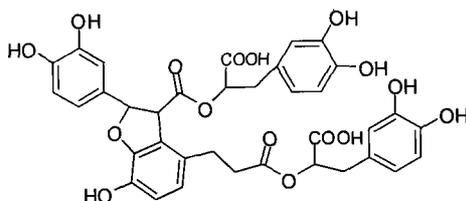
[0004]



[0005] 丹参素(丹参素甲)

丹参素丙

[0006]



[0007] 丹参素乙

[0008] 药理研究表明,丹参素具有缩小心肌梗死范围和减轻病程的作用,同时对心肌缺血/再灌注损伤具有保护作用;对细胞因子活化内皮细胞有抑制作用,从而有利于保护血管内皮,起到抗血栓形成的作用。近年来的研究结果还表明丹参素对脑损伤也有良好的保护作用,总之丹参素在治疗冠心病、抗血栓、降血脂和防止动脉粥样硬化方面具有独特的疗效。然而由于丹参素分子中含有活泼的羟基,见光或受热易发生氧化反应,给分离制备带来极大的难度,目前为止丹参素仅限于作为含有丹参的中成药的指标性成分的使用,还不能真正走向临床。

[0009] 随着对丹参研究的进一步深入,丹参素的分离制备技术已逐渐引起重视,其中纯度较高的丹参素的制备方法有以下几种:方法一:CN1161317C中公开了一种丹参素的提取分离方法,将丹参以常规水提取,提取液依次通过吸附树脂柱和离子交换树脂柱,分别以氢

氧化钠和氯化钠将含丹参素的部分洗脱下来,洗脱液的 pH 调节到 3,以乙醚进行萃取,可得到含量为 91% 的丹参素,得率为 0.24% (实施例 3);方法二:CN1303052C 中公开的方法是先用水或醇提取丹参药材,再用稀碱将丹参水提液中丹参素前体转化为丹参素,转化过程中需用抗氧保护剂并通入惰性气体保护,通过超滤得到粗品丹参素,然后用正相色谱柱分离出丹参素,纯度在 90% 以上。方法三:CN1751706A 中公开了丹参药材的提取方法,丹参药材以碱水提取,用酸调节 pH 后进行醇沉,再经过 2 次色谱柱分离,洗脱液加碱调节 pH 后浓缩得粗品,重结晶后得到丹参素。以上几种方法过程复杂,多次使用色谱柱分离,增加了有机溶剂残留的机会和含量,且使用萃取、超滤等方法,不利于工业化且生产成本较高。

## 发明内容

[0010] 本发明的目的在于提供一种收率高、过程稳定可控、适合于大规模生产的从丹参药材中提取高纯度丹参素的方法,该方法所得丹参素含量大于 90%,具有工业应用前景。

[0011] 本发明提供的从丹参药材中提取丹参素的方法,具体步骤如下:

[0012] a. 将丹参药材切片,采用 pH 为 8 ~ 10 的碱水溶液热浸法提取,温度 60 ~ 80°C,得到含丹参素的提取液。

[0013] b. 对提取液用酸调节 pH 至 1 ~ 2,过滤除去沉淀,将上清液于 60 ~ 70°C 下浓缩。浓缩液加乙醇进行沉淀,使醇浓度达到 70 ~ 85%,静置,除去沉淀,在 60-70°C 温度下浓缩滤液至无醇味。

[0014] c. 将上述浓缩液上大孔吸附树脂柱,先以 2 ~ 3 倍树脂体积的水洗脱,弃去,继续以 3 ~ 5 倍树脂体积的水洗脱,收集洗脱液。

[0015] d. 将上述洗脱液在 60-70°C 温度下浓缩,以碱水调节 pH 至 6 ~ 7,冷冻干燥成固体。

[0016] e. 将上述固体用乙醇加热溶解,过滤放冷后析出的沉淀,滤液低温(在 60-70°C 温度下)浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素。

[0017] 步骤 a 的主要目的在于初步提取出丹参药材中的丹参素,所用碱水为氢氧化钠、氢氧化钾或氨水。热浸法提取次数可以是 2 ~ 3 次,碱水的用量可以是丹参药材重量的 8-15 倍,每次提取时间为 0.5 ~ 1 小时。正如背景技术所述,丹参药材中除了含有丹参素外,还含有丹参素的二聚体和三聚体,其中的内酯结构在碱水作用下发生水解,生成丹参素,但由于丹参素结构中含有多酚结构,不能用太浓的碱在高温下提取,因此采用的提取方法为以 pH 8 ~ 10 的碱水 60 ~ 80°C 下热浸法提取。

[0018] 步骤 b 中,调节 pH 所用的酸为盐酸、乙酸或硫酸。此时有大量沉淀析出,为杂质成分,过滤除去杂质后浓缩上清液,由于丹参素结构的不稳定,采用减压的方法在 60 ~ 70°C 下浓缩。浓缩后的醇沉过程加入乙醇使乙醇浓度达 70 ~ 85%,充分搅拌后,在室温到 4°C 下静置 12 ~ 24 小时。醇沉的目的是为了除去糖、淀粉、鞣质等成分,若醇的浓度低于 70%,醇沉效果差;但如果醇的浓度高于 85%,丹参素的溶解度降低,使得收率下降,因此醇的最佳浓度在 70 ~ 85% 之间。

[0019] 步骤 c 中大孔吸附树脂为 AB-8、D101 或 HP-20,优选 HP-20。先以 2 ~ 3 倍树脂体积的水洗去糖等杂质,柱洗脱过程中薄层色谱(TLC)点板跟踪,发现 3 倍以上柱体积时丹参素开始出现,杂质洗脱结束后以 3 ~ 5 倍体积的水洗脱富集丹参素。目前可以选用的大孔

吸附树脂类型较多,经过筛选得出 AB-8、D101 和 HP-20 的效果较好,其中优选的是 HP-20。HP-20 不像其它树脂那样需要复杂的酸碱前处理和后处理过程,使用比较方便,且可以多次使用而不需要像其它树脂那样再生处理。HP-20 的另外一个优点是,树脂残留量低,尤其是二乙烯基苯这个关键指标比其它树脂处理的要低很多,不会超过国家标准的规定。

[0020] 步骤 d 先将洗脱液在低温下浓缩至小体积,约 1Kg 药材 200ml,再用碱液调节 pH 至 6 ~ 7,所用碱液为氢氧化钠、氢氧化钾或氨水,与步骤 a 中提取所用碱液相同。该液体采用冷冻干燥的方法冻干,冷冻干燥是一种成熟的工艺,能有效的去处水分,得到固体。用碱液调过 pH 的液体,由于其中还含有一些低极性的成分和糖类,很难通过减压浓缩的方法完全去除其中的水分。因此我们采用冷冻干燥法将其制成固体,利于下一步杂质的除去。

[0021] 步骤 e 将步骤 d 所得固体用乙醇溶解,此时会析出一些小极性成分和糖类,所用乙醇为无水乙醇或 95%乙醇。滤液经过低温减压浓缩后即析出结晶,为高纯度的丹参素。

[0022] 本发明所述的高纯度丹参素的提取制备工艺具有以下特点:

[0023] 本发明工艺过程简单、可控。用稀碱溶液提取丹参药材,采用热浸提取的方法,既使得一些丹参素的前体成分向丹参素转变,又防止了丹参素发生氧化变质,保证了提取的效率。得率在 0.4%以上。

[0024] 本发明工艺过程污染小、成本低。在整个过程中仅采用了水、稀酸、稀碱以及工业常用的乙醇,避免了萃取和正相色谱会大量使用的有机溶剂,减少了污染,适合于大规模生产。

[0025] 本发明所得的高纯度丹参素以高效液相色谱法测定,结果表明,丹参素含量大于 90%。

### 具体实施方式

[0026] 下面结合具体实施例,进一步阐明本发明。丹参素的提取从丹参药材 2kg 到 50kg 的生产规模,过程可操作性强,产品质量和得率稳定,说明该工艺已经克服了一些工艺无法在工业生产中重现和控制的问题,确实是可行的。

#### [0027] 实施例 1

[0028] 取丹参切片 5kg,粉碎后加入 pH 8 的氢氧化钠溶液 75L,60℃下热浸提取 3 次,每次提取 0.5h,合并 3 次提取液。以稀盐酸调节 pH 至 1,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液 60℃减压浓缩成 2000ml,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达 70%,室温下静置 24 小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上 5kg 的 AB-8 大孔树脂柱,先以 2 倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以 3 倍体积的水冲洗,收集该部分。在 60℃将水液减压浓缩成约 500ml,加 pH 8 的氢氧化钠调节 pH 为 6.5,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用 95%乙醇 100ml 加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重 31.4g,经测定纯度为 92.8%。

#### [0029] 实施例 2

[0030] 取丹参切片 10kg,粉碎后加入 pH 10 的氢氧化钾溶液 120L,80℃下热浸提取 2 次,每次提取 1h,合并 2 次提取液。以乙酸调节 pH 至 2,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液 70℃减压浓缩成 3000ml,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达 85%,4℃静置 18 小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上 10kg 的 HP-20 大孔树脂柱,先以 2 倍体积的

水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以5倍体积的水冲洗,收集该部分。在70℃将水液减压浓缩成约500ml,加pH 10的氢氧化钾调节pH为7,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用乙醇200ml加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重59.5g,经测定纯度为96.2%。

#### [0031] 实施例3

[0032] 取丹参切片2kg,粉碎后加入pH 9的氨水溶液20L,75℃下热浸提取3次,每次提取1h,合并3次提取液。以稀硫酸调节pH至1.5,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液65℃减压浓缩成1000ml,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达75%,4℃静置12小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上2kg的D101大孔树脂柱,先以3倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以4倍体积的水冲洗,收集该部分。在60℃将水液减压浓缩成约500ml,加pH 9的氨水溶液调节pH为6,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用95%的乙醇50ml加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重13.8g,经测定纯度为92.4%。

#### [0033] 实施例4

[0034] 取丹参切片20kg,粉碎后加入pH 10的氢氧化钠溶液160L,80℃下热浸提取2次,每次提取1h,合并2次提取液。以稀盐酸调节pH至2,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液60℃减压浓缩成8L,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达80%,4℃静置24小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上20kg的HP-20大孔树脂柱,先以3倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以5倍体积的水冲洗,收集该部分。在70℃将水液减压浓缩成约2L,加pH 10的氢氧化钠溶液调节pH为7,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用无水乙醇500ml加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重130g,经测定纯度为95.3%。

#### [0035] 实施例5

[0036] 取丹参切片50kg,粉碎后加入pH 8.5的氢氧化钾溶液600L,70℃下热浸提取3次,每次提取0.5h,合并3次提取液。以稀盐酸调节pH至1.5,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液60℃减压浓缩成15L,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达70%,室温静置24小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上25kg的HP-20大孔树脂柱,先以2倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以4倍体积的水冲洗,收集该部分。在62℃将水液减压浓缩成约5L,加pH 9的氢氧化钾溶液调节pH为6.2,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用无水乙醇1200ml加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重295g,经测定纯度为94.9%。

#### [0037] 实施例6

[0038] 取丹参切片200kg,粉碎后加入pH 10的氢氧化钠溶液2000L,80℃下热浸提取3次,每次1h,合并3次提取液,以乙酸调节pH至2,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液60℃减压浓缩成60L,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达70%,4℃静置18小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上100kg的D101大孔树脂柱,先以3倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以5倍体积的水冲洗,收集该部分。在65℃将水液减压浓缩成约15L,加pH 10的氢氧化钠溶液调节pH为6.0,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用95%乙醇4L加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,

析出结晶,即为高纯度丹参素,称重 1075g,经测定纯度为 93.8%。

[0039] 实施例 7

[0040] 取丹参切片 500kg,粉碎后加入 pH 8 的氨水溶液 4000L,70℃下热浸提取 2 次,每次 1h,合并 2 次提取液,以稀盐酸调节 pH 至 1,此时析出大量沉淀,过滤除去沉淀。上清液 60℃减压浓缩成 120L,加入乙醇充分搅拌,并使醇浓度达 85%,4℃静置 24 小时后,滤除沉淀,滤液减压浓缩至无醇味。浓缩液上 300kg 的 HP-20 大孔树脂柱,先以 2 倍体积的水冲洗,此部分为杂质成分,另处理;再以 4 倍体积的水冲洗,收集该部分。在 70℃将水液减压浓缩成约 36L,加 pH 8 的氨水溶液调节 pH 为 7.0,经过冷冻干燥机冻干成固体。冷冻干燥后的固体用无水乙醇 10L 加热溶解,放冷后析出的沉淀过滤除去,滤液低温浓缩至小体积,析出结晶,即为高纯度丹参素,称重 2487g,经测定纯度为 92.9%。