



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102702139 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 20

(21) 申请号 201210096487. 9

(22) 申请日 2007. 04. 02

(30) 优先权数据

60/788, 045 2006. 04. 03 US

(62) 分案原申请数据

200780020439. 9 2007. 04. 02

(73) 专利权人 药物热化学品公司

地址 加拿大安大略省

(72) 发明人 戴维·布拉尔

罗伯特·G·格雷厄姆

贝里·A·弗里尔

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 高瑜 杨淑媛

(51) Int. Cl.

C07D 305/14(2006. 01)

(56) 对比文件

US 6002025 A, 1999. 12. 14,

CA 2521829 A1, 2006. 03. 30,

CA 2521829 A1, 2006. 03. 30,

WO 0109243 A1, 2001. 02. 08,

CN 1362959 A, 2002. 08. 07,

Carmen W. Huie. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. 《Anal Bioanal Chem》. 2002, 第 373 卷 (第 1-2 期),

Roger M. Smith. Extractions with superheated water. 《Journal of Chromatography A》. 2002, 第 975 卷 (第 1 期),

审查员 原静

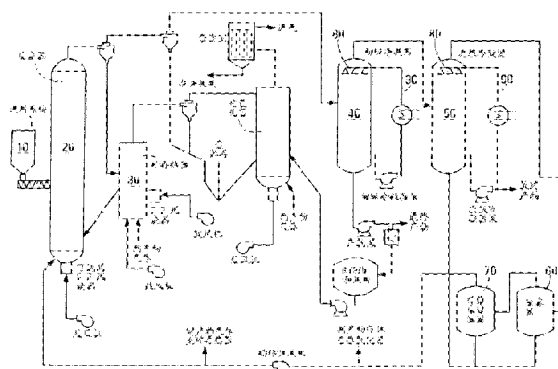
权利要求书2页 说明书14页 附图3页

(54) 发明名称

热提取方法和产物

(57) 摘要

本发明涉及植物材料的热提取物及其提取方法。通过原材料的热提取从植物原材料生产热提取物的方法,其中改进之处在于提取和分配步骤所需要的昂贵的和/或有机的有机溶剂的量更少。



1. 一种通过含有二萜类化合物的生物质原材料的热提取生产富含紫杉烷的热提取物的方法,包括:

将所述含有二萜类化合物的生物质原材料加热至 250℃至 650℃的温度停留少于 30 秒的时间,其中该加热工艺足够从原材料中提取出一定量的紫杉烷化合物且紫杉烷化合物没有转化为一种或多种其它的化合物,其中所述富含紫杉烷的热提取物包含少于 10 重量%的一种或多种其它的化合物,

其中

a) 相对于生物质原材料体积,紫杉属或澳洲红豆杉属的种中收集的富含紫杉烷的热提取物的体积浓缩了 10 倍或更大倍数;且

b) 所述热提取方法排除了溶剂提取,且提取的紫杉烷化合物的产率比溶剂回收提取更高。

2. 根据权利要求 1 的方法,其中,所述原材料得自紫杉树。

3. 根据权利要求 1 的方法,其中,所述热提取物包含少于 0.5 重量%的一种或多种其它的化合物。

4. 根据权利要求 1 的方法,其中,与原材料相比,所述热提取导致热提取物的体积减少 10 倍、20 倍或 50 倍。

5. 一种通过含有二萜类化合物的生物质原材料的热提取从该生物质原材料中生产富含紫杉烷的热提取物的方法,包括:

将所述生物质原材料加热至 300℃至 550℃的温度停留少于 5 秒的时间,其中该加热工艺足够从原材料中提取出一定量的紫杉烷化合物且紫杉烷化合物没有转化为一种或多种其它的化合物,其中所述富含紫杉烷的热提取物包含少于 5 重量%的一种或多种其它的化合物。

6. 根据权利要求 5 的方法,其中,所述生物质原材料包括紫杉属或澳洲红豆杉属的种类。

7. 一种生产富含紫杉烷的热提取物的方法,包括:

制备含有二萜类化合物的生物质原材料,其中所述生物质原材料包括紫杉属或澳洲红豆杉属的种类,其中生物质的尺寸减少至在其最小维度上的平均直径小于 2cm;

将所述尺寸减少的含有二萜类化合物的生物质原材料加入包含封闭容器、热源和至少一个回收装置的热提取体系中;

在该热提取体系中将所述尺寸减少的含有二萜类化合物的生物质原材料加热至 250℃至 650℃的温度停留少于 30 秒的时间,其中该加热工艺足够产生包含一定量的紫杉烷化合物的产物流且紫杉烷化合物没有转化为一种或多种其它的化合物,其中所述富含紫杉烷的热提取物包含少于 10 重量%的一种或多种其它的化合物;和

在至少一个回收装置的至少一个装置中从富含紫杉烷化合物的产物流收集至少一个馏分以获得富含紫杉烷的热提取物,

其中

a) 相对于生物质原材料体积,紫杉属或澳洲红豆杉属的种中收集的富含紫杉烷的热提取物的体积浓缩了 10 倍或更大倍数;且

b) 所述热提取方法排除了溶剂提取,且提取的紫杉烷化合物的产率比溶剂回收提取更

高。

8. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 与原材料相比, 所述热提取导致热提取物的体积减少 10 倍、20 倍或 50 倍。

9. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 所述原材料为包括紫杉属或澳洲红豆杉属的种类的含有二萜类化合物的生物质原材料。

10. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 所述热源在热提取体系中产生 320℃ 至 400℃ 的温度。

11. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 所述原材料在热提取体系中的停留时间少于 2 秒。

12. 根据权利要求 7 的所述方法, 其中, 所述热提取物包含少于 0.5 重量%的一种或多种其它的化合物。

13. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 所述从产物流收集的至少一种馏分选自含有紫杉烷的固体焦馏分、含有紫杉烷的液体馏分、含有紫杉烷的蒸汽馏分及它们的混合物, 其中当收集不止一种馏分时, 合并所收集的馏分以得到富含紫杉烷的热提取物。

14. 根据权利要求 13 的方法, 其中, 在两个或者更多个回收装置中收集含有紫杉烷的蒸汽馏分, 并且任选地, 其中所述两个或者更多个回收装置中的至少一个含有从蒸汽馏分收集液体馏分的装置, 并且其中所述收集液体馏分的装置为冷凝器、除雾器、纤维床过滤器或其组合。

15. 根据权利要求 14 的方法, 其中, 所收集的各个馏分都为富含紫杉烷的热提取物。

16. 根据权利要求 13 的方法, 其中, 所收集的液体馏分为富含紫杉烷的热提取物。

17. 根据权利要求 13 的方法, 其包括将所述富含紫杉烷的热提取物进行进一步处理以选择性去除一种或多种紫杉烷, 其中该进一步处理任选包括分配溶剂, 该分配溶剂可以包含水, 以选择性去除一种或多种紫杉烷。

18. 根据权利要求 7 的方法, 其中, 在收集过程中分馏所述至少一个含有紫杉烷的馏分以得到进一步的馏分, 所述进一步的馏分被分别收集, 并且其中从至少一个所述进一步的馏分得到富含紫杉烷的热提取物。

19. 根据权利要求 18 的方法, 其中,

(a) 每一个收集的进一步的馏分都是富含紫杉烷的热提取物; 和 / 或

(b) 用分配溶剂, 该分配溶剂可以包含水, 处理一个或多个所收集的进一步的馏分。

热提取方法和产物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请是于 2007 年 4 月 2 日向中国国家知识产权局提交的题为“热提取方法和产物”的第 200780020439.9 号发明专利申请（国际申请号 PCT/CA2007/000535）的分案申请。

技术领域

[0003] 本发明涉及通过热提取生产提取物的方法和热提取产物。

背景技术

[0004] 从原材料中提取所期望的化合物通常是通过溶剂提取方法进行的。

[0005] 当今在包括生物质的许多原材料上使用溶剂提取来提取所期望的组分。其一个典型实例是从生物质中提取紫杉烷。

[0006] 紫杉烷是一组二萜类化合物，其中有一些已经被证明对于癌症及比如多发性硬化和肾病的其他重病的治疗是有用的。特别地，已经证实紫杉烷化合物紫杉醇、多西紫杉醇、浆果赤霉素 III、10-O-脱乙酰基巴卡丁 III (10-DAB 或 DAB)、13-乙酰基-9-羟基巴卡丁 III (DHB)、三尖杉宁碱和 prostratin (12-脱氧佛波醇 13-乙酸酯 (12-deoxyphorbol 13-acetate)) 在药物应用中有用。例如，目前紫杉醇被用于癌症治疗（由百时美施贵宝以 TAXOL[®] 上市）。某些紫杉烷，比如紫杉醇和多西紫杉醇，能够在没有额外化学改性的情况下被直接用在药物应用中，而其它紫杉烷（例如 DAB 和 DHB）被认为是生产其它的紫杉烷比如紫杉醇和多西紫杉醇的母体。

[0007] 紫杉烷的主要来源是属于紫杉属的紫杉（铁杉）树的树皮、针叶和剪取物 (clipping)。令人遗憾的是，即使紫杉烷在紫杉中的浓度高于在其它树种中的浓度，其绝对浓度也是非常低的。例如，已经有报道在一般样品中，从紫杉树的树皮中仅获得 0.01% 的紫杉醇产量，而从剪取物和针叶中获得的紫杉醇产量在 0.003 ~ 0.015%（折干计算）的范围内 (Huang 等人, J. Nat. Prod., 49 :665, 1986)，其中第一提取是溶剂提取。此外，紫杉树相对稀少并且生长相当慢，引起对重新造林和资源管理不能跟上需求的合理忧虑。虽然已经设计了生产紫杉醇的合成和半合成渠道，但是它们对于商业生产而言过于复杂并且通常太不经济。生产多西紫杉醇的半合成方法也已经设计出来。

[0008] 目前商业的紫杉醇及其它紫杉烷的生产方法是复杂和昂贵的。其单元操作主要是物理方法，包括：收割 / 采集、研磨、覆盖、初级溶剂提取和分离以得到粗紫杉烷产物。当生产出粗紫杉烷产物后，在另外的溶剂提取和其它精制步骤中可以回收和纯化紫杉醇。在许多情况下，通过化学方法将其它天然紫杉烷转变为额外产量的紫杉醇或者多西紫杉醇。

[0009] 目前从原材料中分离其它的化合物的方法也常常包括溶剂提取的初始步骤，其在去除大量杂质的同时也去除了所期望的化合物。因此，经常进行一个或多个液体分配步骤以浓缩在提取液中所期望的化合物的浓度，在一些情况中随后是几个色谱步骤。

[0010] 这些方法的一个缺点是为了提取和分配步骤它们需要大量昂贵并且有时有毒的有机溶剂。在商业上，这意味着要为材料、合格的专门技术、合格的技术人员和基础设施付

出非常高的资金和生产成本。

[0011] 因此,需要一种分离化合物的方法,该方法可以减少或者消除对大量有毒和昂贵有机溶剂的需求。

发明内容

[0012] 根据本发明的一个广的方面,提供了一种通过原材料的热提取生产热提取物的方法,包括:将原材料加热至一定温度和一段时间,其足够从原材料中提取出一定量的所需化合物且相当大量的所需化合物没有转化为一种或多种其它的化合物。

[0013] 根据本发明的另一方面,提供了一种通过热提取获得富含紫杉烷的提取物的方法。

[0014] 在本发明的一个示例性实施方式中,提供了一种通过生物质原材料的热提取从含有二萜类化合物的生物质原材料中生产富含紫杉烷的热提取物的方法,包括:将生物质原材料加热至一定温度和一段时间,其足够提取出一定量的紫杉烷且相当大量的紫杉烷没有转化为一种或多种其它的化合物。

[0015] 在本发明的一个示例性实施方式中,提供了一种生产包含所需化合物的热提取物的方法,包括:将原材料加入包括封闭容器、热源和至少一个回收装置的热提取体系中;在该热提取体系中将原材料加热至一定温度和一段时间,其足够生产含有一定量的所需化合物的产物流且相当大量的所需化合物没有转化为一种或多种其它的化合物;在至少一个回收装置的至少一个装置中从富含所需化合物的产物流中收集至少一个馏分以获得热提取物。

[0016] 在本发明的一个进一步的示例性实施方式中,提供了一种从含有二萜类化合物的生物质原材料中生产富含紫杉烷的热提取物的方法,包括:将生物质原材料加入包括封闭容器、热源和至少一个回收装置的热提取体系中;在该热提取体系中将生物质原材料加热至一定温度和一段时间,其足够生产含有一定量的紫杉烷的产物流且相当大量的紫杉烷没有转化为一种或多种其它的化合物;在至少一个回收装置的至少一个装置中从产物流中收集至少一个含有紫杉烷的馏分以获得富含紫杉烷的热提取物。

[0017] 根据本发明的另一个示例性实施方式,提供了一种富含紫杉烷的提取物。

[0018] 根据本发明的另一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含萜烯或者萜类化合物的热提取物。

[0019] 根据本发明的又一个进一步的示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含紫杉烷的热提取物。

[0020] 根据本发明的一个进一步的示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含类黄酮化合物的热提取物。

[0021] 根据本发明的另一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含表儿茶素的热提取物。

[0022] 根据本发明的另一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含儿茶素的热提取物。

[0023] 根据本发明的另一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含咖啡因的热提取物。

[0024] 根据本发明的还一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含香草醛的热提取物。

[0025] 根据本发明的又一个示例性实施方式,提供了一种通过本发明方法获得的富含 β -谷甾醇的热提取物。

[0026] 根据本发明的再一个进一步的示例性实施方式,提供了一种含有紫杉醇和10-O-脱乙酰基巴卡丁 III 的提取物,其中基于重量比,在该提取物中存在的10-O-脱乙酰基巴卡丁 III 的量比紫杉醇的量多大约10倍。

[0027] 根据本发明的又一个进一步的示例性实施方式,提供了一种含有紫杉醇和13-乙酰基-9-羟基巴卡丁 III 的提取物,其中基于重量比,在该提取物中存在的13-乙酰基-9-羟基巴卡丁 III 的量比紫杉醇的量多大约10倍。

[0028] 根据本发明的再一个进一步的示例性实施方式,提供了一种含有紫杉醇和7-表-紫杉醇的提取物,其中基于重量比,在该提取物中存在的7-表-紫杉醇的量比紫杉醇的量多大约10倍。

附图说明

[0029] 图1是根据本发明的一个实施方式的适合的热提取体系的一个实例的示意图。

[0030] 图2是图示根据实施例1C的本发明方法的流程图。

具体实施方式

[0031] 人们已经注意到热提取能够被用作溶剂提取的替代的提取方法。

[0032] 热提取意味着不需要目前与溶剂提取方法相关的原料溶剂提取的初始步骤。

[0033] 在本文中使用的术语“热提取”(其也可以被称为“热蒸馏”或者“快速热蒸馏”)指的是一种提取方法,其中使用热来从适合的原材料中分离出一种或多种所需化合物。通过在封闭环境中以控制方式向适当的原材料施加热,可以将一种或多种所需化合物释出、保持、回收并基本上保持未被破坏的状态。因此热提取可以用于从原材料中提取天然存在的所需化合物而没有化学转化,所述天然存在的化合物是在原材料中发现的。虽然热提取可能将原材料中的某些化合物破坏或者化学转化,但是相当大量的所需化合物没有被降解或者以其它的方式被化学改变。通过热提取获得的“天然存在的所需化合物”或“所需化合物”指的是存存于原材料中的化合物,并且其中相当大量的该化合物没有被本发明的热提取方法降解或者以其它的方式被化学转变为另一种化合物。

[0034] 可以用在本发明中的原料没有特别限制,只要它提供一种或者多种所需化合物的来源并且可以经受热提取。例如,生物质是用于溶剂提取方法的普通原材料,而它也可以是用于本发明方法的适合原材料。例如,生物质可以源自植物。植物的任何馏分都可能适用于热提取,包括树皮、针叶、茎、根、叶子、种子、在培养中的植物细胞等;或其混合物。用在本发明中的源于植物的生物质材料可以是,例如,刚采集状态、干状态的或者含水状态。

[0035] 如果一种或多种紫杉烷是所需化合物,那么比如那些源自紫杉树的含有二萜类化合物的生物质材料通常被认为是极好的紫杉烷的来源。例如,紫杉属或澳洲红豆杉(*Austrotaxus*) 属的种的所有或多种组分都可以用作紫杉烷来源。

[0036] 在另一个发明实施方式中,热提取可以用来从适合的原材料中提取类黄酮化合

物。从多种植物中已经表征了超过五千种天然存在的类黄酮化合物（包括异类黄酮化合物和新类黄酮化合物）。本发明的热提取方法可用于从生物质材料中提取这些化合物中的一个馏分。这些化合物中的一个馏分非限制性地包括五羟黄酮、表儿茶素、原花色素、柑橘属生物类黄酮、儿茶素、白藜芦醇、苡非醇、香草醛和 β -谷甾醇。例如，在本发明的一个实施方式中，从可可或含有可可的原材料中提取出表儿茶素。例如，类黄酮化合物可以用作抗氧化剂以及其它的用途，比如用在治疗或防治癌症、心脏病等。例如并且非限制性的，类黄酮化合物的另一个来源为亚麻或者含有亚麻的原材料。可以使用亚麻来获得包含包括儿茶素和表儿茶素的一种或多种类黄酮化合物的根据本发明的热提取物。其它从生物质提取出的天然产物也可以通过利用热提取获得，并且可以用作药物、天然添加剂等。作为另一个非限制性实例，含有咖啡的原材料可用于获得包含咖啡因的热提取物。

[0037] 显而易见，对本领域中的技术人员来说，许多其它材料都可能为用于获得包含一种或多种所需化合物的热提取物的适合的原材料。

[0038] 用在本发明中的原材料也可以减小尺寸。例如，在热提取之前，可以用在本领域中已知的方法将其切碎或者磨碎。

[0039] 在本发明的一个示例性实施方式中，首先将要进行热提取的材料的尺寸减小至在其最小尺寸上的平均直径小于约 2cm。在本发明的另一个示例性实施方式中，首先将原材料的尺寸减少至在其最小尺寸上的平均直径小于约 1cm。

[0040] 根据本发明的热提取可以在热提取体系中进行，对该体系没有特别限制。在本发明的热提取中，可以在控制的和封闭环境中将原材料的全部或者一个馏分受热。例如，如果原材料是生物质材料，则可以使用木质素的、纤维素的或者半纤维素的馏分或者其组合物。控制的环境指的是这样一种环境，其中以促使原材料发生相变或化学转化的方式施加热，而不是以引起相当大量的存在于原材料中的所需化合物被有害地改变、降解、破坏等的方式施加热。例如，在一个实施方式中，所述热提取物包含从所需化合物以化学或者其它方式转化为另一种化合物得到的约 0 ~ 10% w/w（或其任何子范围）的杂质。

[0041] 在本发明的一个示例性实施方式中，所述热提取是在包括封闭容器、热源和一个或多个回收装置的热提取体系中进行的。然后通过传热至原材料和任何所得到的中间产物来完成热提取。这样可以将原材料和任何所得到的中间产物加热至足够的温度和足够的时间以生产产物流，然后其馏分可以在一个或多个回收装置中回收并收集以得到提取物。

[0042] 例如，所述热提取体系可以包括标准干馏体系（stand retort system）（即，在真空或在压力下的固定床或移动床）、鼓泡流化床、上流式热提取装置、循环流化床、传送床、烧蚀性热提取装置、气流床热提取装置、回转炉或机械传送热提取装置（例如，加热螺旋体系）。

[0043] 收集在热提取过程中生产的产物蒸汽和液体的任何装置都可以用作回收装置。回收装置可以包括冷凝器。该冷凝器可以是蒸汽冷却并收集液体产物的接触或表面冷凝器，或者也可以从蒸汽冷却并收集液体产物的液体骤冷。回收装置也可以包括除雾器、纤维过滤床或其它用在本领域中来从蒸汽流收集液体产物的装置。回收装置可以包含一个或多个组件，例如，一个或多个可以以串联连接的冷凝器。

[0044] 在本发明的一个示例性实施方式中，在热提取体系中供应足够的热以产生约

250℃～650℃范围内的温度,或其任何子范围的温度,包括,例如,约300℃～550℃,或者约320℃～400℃。材料在热提取体系中的总停留时间可以为,例如,少于约30秒,例如,在约0.1～约30秒的范围内,或者其任何子范围。例如,在一个示例性实施方式中,总停留时间为约0.2～约5秒。在另一个示例性实施方式中,总停留时间为约2秒或更少。在热提取体系中的材料的停留时间是以从在热提取体系中的原材料的加热到淬灭(例如冷却)之间的时间间隔来测量的。

[0045] 热提取可以产生包括固体、液体和/或蒸汽的产物流。该产物流可以被分馏以得到馏分,所述馏分可以被收集得到一种或多种提取物。馏分可以是例如焦的固体、液体和/或蒸汽,或其组合。可以获得含有所需化合物的浓缩提取物的馏分或其组合。液体和/或蒸汽馏分通常会比固体馏分包含更高浓度的所需化合物。但是,也可以获得固体馏分。例如,在紫杉生物质的热提取过程中,紫杉烷可能集中并浓缩在任何固体副产物,比如碳副产物的表面、基体或者孔隙上,这可能导致富含紫杉烷的固体馏分,其可以被收集以获得本发明富含紫杉烷的提取物。

[0046] 在本发明的一个实施方式中,通过冷凝根据本发明的热提取方法获得的蒸汽得到液体馏分。在从液体中除去例如焦的固体之后并收集液体也可以获得液体馏分以得到根据本发明的提取物。在基于植物的生物质材料的提取之后获得的液体馏分可能是,例如,焦油、沥青、焦木酸混合物等。

[0047] 在本发明的热提取方法中,液体和/或蒸汽馏分可以被进一步分馏。这样产生的各个进一步的馏分可以被分别收集以得到多个提取物,或者被收集并合并成一个或多个提取物。分馏也可以用于选择性生产富含选定的化合物,例如选定的紫杉烷的提取物。

[0048] 本发明的提取物(本文也称为“热提取物”)可以是例如所收集的固体、液体和/或蒸汽馏分,或其任何组合。其也可以所收集的固体、液体和/或蒸汽馏分的馏分,或所选定的收集的馏分的组合。通过收集单个馏分或者收集并合并多个馏分可以获得单个提取物。通过收集多个馏分或者通过收集多个合并的馏分也可以获得多个提取物。而且,该提取物可能包含或不包含从原材料的相变(例如,从固体到液体等)。

[0049] 人们已经注意到热提取可以提供比在文献中报道的用其它方法,包括传统的溶剂回收提取和提纯方法及其他非溶剂方法的产率更高的所提取的化合物的产率。

[0050] 例如,人们已经注意到可以通过热提取方法得到更高产率的总紫杉烷和包括紫杉醇的特定的紫杉烷。人们还进一步注意到,通过热提取方法获得的富含紫杉烷的提取物在给定体积中比等体积的紫杉属或者澳洲红豆杉属固体生物质原材料中或者等体积的紫杉属或者澳洲红豆杉属生物质材料的初始(第一步)溶剂提取物中具有更高浓度的紫杉烷。

[0051] 更浓缩的提取物的一个含义为,为了达到可比量的成品,在随后的提纯、分离和回收步骤中需要处理的材料的体积比使用固体原料材料或者从常规溶剂回收工艺中获得的提取物的情况要更小。为了得到可比产率,已经观察到在后续提纯步骤中要被处理的本发明富集后的提取物的初始体积可以比在常规溶剂提取方法中需被处理的初始材料的体积更小,例如小一个数量级。例如,对于紫杉烷提取,当与为获得可比产率的纯化紫杉烷在常规溶剂提取方法中需被处理的初始生物质材料的体积相比,热提取可以生产出减少了例如10倍、15倍、25倍或50倍、或更大倍数、或在其中间倍数体积的富含紫杉烷的提取物。

[0052] 在本发明的富含紫杉烷的提取物中可能存在的紫杉烷包括一种或多种下面的紫

杉烷化合物：紫杉醇、三尖杉宁碱、浆果赤霉素 III、10- 脱乙酰基紫杉醇、10- 脱乙酰基三尖杉宁碱、10- 脱乙酰基巴卡丁 III (又名 10-DAB 或者 DAB)、13- 乙酰基 -9- 羟基巴卡丁 III (又名 DHB)、7- 木糖基紫杉醇、7- 木糖基三尖杉宁碱、7- 木糖基巴卡丁 III、及其衍生物和类似物。该列举并非穷举。其它的紫杉烷也可能存在于本发明的富含紫杉烷的提取物中。

[0053] 除了不止一种紫杉烷化合物外，通过热提取生产的馏分和富含紫杉烷的提取物也可能包含许多其它组分，包括解聚木质素、成碎片的纤维素 - 衍生产物和半纤维素 - 衍生产物，和包括酚类化合物的其它反应组分，以及许多其它组分。

[0054] 已经观察到热提取比已知的紫杉烷回收或者生产方法提供了更高的紫杉烷总产率，以及更高的具有目前商业价值的紫杉烷产率。在通过热提取获得的提取物中观察到的主要紫杉烷组分的“指纹”或相对分布，和在所述提取物中的紫杉烷的浓度也不同于通过目前方法获得的提取物。例如，与在文献中报道的从紫杉针叶和剪取物的溶剂提取中获得的平均产率相比，已经观察到紫杉醇产率可以增加约 3 至约 5 倍（即约 300 至约 500%），DHB 产率可以增加约 2 至约 3 倍（即约 200 至约 300%），DAB 增加约 8 倍（即约 800%），并且总的紫杉烷产率可以增加约 20 倍（即约 2000%）。

[0055] 根据本发明的一个理论，其不被认为限制本发明的范围，认为热提取释放了可能被化学结合或者物理隔离（例如，在细胞结构中）因而不能通过溶剂方法回收的化合物。在这些情况下，在提取自由和可得到的所需化合物的同时，本发明的热提取可以同时通过使弱化学键断裂和 / 或使任何可能隔离或者阻止用常规方法提取的物理结构破裂来释放和提取结合的或者隔离的化合物。例如，当原材料是生物质时，所需化合物可能包含在液泡中，该液泡可以被热提取破裂以释放全部内容物，通过使用常规提取方法通常不会发生这种破裂和释放。

[0056] 包括但并不限于液体、液体馏分、固体和固体馏分的本发明的提取物可以用本领域技术人员已知的各种方法进行进一步处理来为商业用途纯化、离析和回收所需化合物。

[0057] 例如，当回收紫杉烷时，本发明方法可以进一步包含将所获得的富含紫杉烷的提取物与水或者一些其它适当的分配溶剂相接触的步骤以进一步分离、离析和浓缩紫杉烷组分，所述富含紫杉烷的提取物包括，例如通过合并收集的所有馏分、合并收集的选定液体馏分和合并收集的固体碳馏分获得的整个提取物。水或一些其它适当的分配溶剂的加入可以直接在热提取体系中发生（即，原位），特别是在生物质的处理过程中的产物回收装置中，或者作为在将产物从热提取工艺回收后的单独的步骤或几个步骤。

[0058] 而且，为了从其它较少需要的组分中离析和浓缩某些所需化合物馏分，本发明的热提取方法还可以包含分馏步骤。（例如，当提取紫杉烷时，某些所需紫杉烷可以从较少需要的紫杉烷、酚类化合物、木质纤维素、抑制剂和其它污染物中分离出来。）可以进行非需要组分的去除以简化后续提纯步骤或者增加中间物的经济价值。

[0059] 使用目前有机溶剂提取技术从紫杉树皮中获得的紫杉醇的离析产率一般约为 0.01%，而从剪取物和针叶中为约 0.003 至约 0.015%。但是，用本发明方法已经获得约 0.031 至 0.049% 的离析产率。如通过目前有机溶剂提取技术从剪取物和针叶中得到 DHB 的离析产率一般为约 0.04%。但是，用本发明方法已经获得在约 0.08 至 0.12% 之间的离析 DHB 产率。如通过目前有机溶剂提取技术从剪取物和针叶中得到 DAB 的离析产率一般为约 0.06%。但是，用本发明方法已经获得在约 0.46 至 0.53% 之间的离析 DAB 产率。如通

过目前有机溶剂提取技术从剪取物和针叶中回收得到的总紫杉烷的产率一般为约 0.25%。但是,用本发明方法已经测量到了在 5 至 7% 的总紫杉烷产率。

[0060] 热提取也可以用在可能已经被包括通过溶剂提取的初步处理过的原材料上。例如,已经观察到可以从新的来源中或者在溶剂提取之后热提取出咖啡因。

[0061] 适于制备根据本发明的一个或多个提取物的热提取体系的一个实例描述在美国专利第 6,844,420 号 (Freel 和 Graham) 中,其公开内容在此引入作为参考,并且图示在图 1 中。简要而言,该体系包括进料系统 (10)、封闭容器 (20)、颗粒状无机加热载体再加热系统 (30),和为了在本文中描述的本发明目的,至少一个回收装置,其如在图 1 中所示,并且其不被认为以任何方式限制本发明,可以包含初级 (40) 和次级 (50) 冷凝器,经过这些冷凝器将在热提取过程中生产的产物蒸汽流例如利用液体骤冷 (80) 冷却并收集。回收装置也可以包括除雾器 (60) 和纤维过滤床 (70) 或其它装置以收集液体产物。本发明的热提取产物成分可以源自至少一个回收装置,例如初级或次级回收装置或者其组合中获得的选定的产物馏分,或者其可以是包括去雾器和纤维过滤床的一级和二级回收装置或者其组合中获得的所有的油 (即,所有的热液体产物)。但是,应当理解,类似的包含不同数目或尺寸的回收装置、或者不同冷凝装置的热提取体系可以用作为本发明目的的提取物的选择性制备。

[0062] 在图 1 中简略画出的在热提取反应器体系中使用的回收装置体系,其不被认为以任何方式限制本发明,可以包括使用直接液体接触冷凝器 (80) 来冷却热提取产物。但是,应当理解,包括表面冷凝器的任何适合的回收装置都可以使用。在一个实施方式中,在这些冷凝器 (80) 中使用的用于冷却热提取产物的液体是从相应地冷却后的初级或者次级冷凝器产物 (90) 获得的。但是,如同对本领域中的技术人员是显而易见的那样,任何在初级和次级回收装置或者其组合中用于冷却产物的其它相容液体也可以用于这个目的。并且,其它洗涤器或者包括包含固体表面的热交换器等的冷却装置也可用于冷却产物蒸汽,这也被认为在本发明的范围内。

[0063] 实施例 1 和 2

[0064] A. 原材料 - 加拿大紫杉的描述

[0065] 加拿大紫杉 (*Taxus canadensis* Marsh, Canada yew, ground hemlock) 灌木是在 2004 年 7 ~ 9 月间从加拿大安大略省苏圣玛丽周围地区 (北纬 46.34 度,西经 84.17 度) 收集的。压制的凭证标本以红豆杉 - 紫杉科的加拿大紫杉 (*Taxus canadensis* Marsh) (2004-4001-10CFS-SSM#s) 存放在加拿大林业局 - 苏圣玛丽植物标本室中。新鲜的加拿大紫杉 (*T. Canadensis*) 针叶和小枝 (twig) 在室温 22-24 °C 下风干。干燥后的样品在 Thomas-Wiley 实验室磨机, Model 4 (Thomas Scientific, 美国) 中研磨成 ~ 0.5mm 颗粒大小。

[0066] B. 分析方法和程序

[0067] 紫杉烷产物的分析

[0068] 使用配备有电脑和 Empower 软件、Waters®996 自动扫描光电二极管阵列分光光度检测仪和分析柱的 Waters Delta Prep 4000 液相色谱仪来进行高效液相色谱。在如下所述的实验中使用的分析柱为 Curosil-PFPPhenomenex (内径 250x4.60mm)。使用乙腈 / 水溶剂体系在室温下采用改进的梯度色谱技术 (Phenomenex)。但是,也使用了其它的溶剂

体系。使用乙腈 / 水的适当梯度,例如 25/75 至 65/35 梯度在超过 40 分钟的一段时间以 1.0ml/min 的流速将样品洗脱。在波长 228nm 处检测化合物并且通过光电二极管阵列检测器从 200 至 400nm 扫描可分辨峰。

[0069] 将提取物的稀释溶液 (10mg/mL) 通过 13mm GHP 0.45 μ m Minispike (Waters, EDGE) 过滤,并在加入和没有加入标准品的情况下将 10 μ l 注入到 HPLC 柱中。根据保留时间和 UV 光谱确认峰。使用由市售紫杉烷标准品获得的换算系数将以在 228nm 处的吸光度测量的峰高转换为 mg/ml。这样的 HPLC 分析重复进行三次。

[0070] 在紫外 - 可见 Beckman DU 系列 640 分光光度计上记录 UV 光谱。利用 TLC 和 HPLC 通过与标准样品 (ChromaDex, 圣塔安那, 加利福尼亚, 美国) 的共 - 色谱分析法来鉴定紫杉烷。

[0071] 实施例 1 : 利用热提取生产热提取物

[0072] 基本上如在美国专利第 6,844,420 号 (其公开内容在此引入作为参考) 中所描述的那样将根据上述方法制备的铁杉原料在热提取体系中进行处理。如下所述,在热提取体系中,焦产物与产物蒸汽 / 气流快速分离,并在初级回收装置内利用直接液体接触冷凝器或者液体骤冷将产物蒸汽和释放出的液体快速骤冷。保留在产物蒸汽中的化合物被转送至以串联方式与初级回收装置连接的次级回收装置。然后在该次级回收装置中利用直接液体接触冷凝器或者液体骤冷将产物蒸汽骤冷,并收集冷凝的产物。在产物蒸汽中的任何剩余产物在除雾器和过滤床中收集 (见图 1)。收集初级回收装置产物以及次级回收装置产物。从回收装置得到的液体产物的产率在约 40 至约 60% (w/w) 的范围内,并且一般为约 49% (见图 1)。

[0073] 实施例 1A : 热提取试验 1

[0074] 在采用表面冷凝器的 490°C 的上流式反应器 (见图 1) 中将含有 2.52wt% 灰分和 8.73wt% 水分的铁杉原料 (4,715g) 进行热提取来生产生物油样品。基于“无灰 (ash free)”进料的液体产率为 55.49wt%。进行紫杉烷分析的热提取物样品包括水馏分 (1024.5g)、焦油馏分 (440.5g) 和从在除雾器中的玻璃纤维过滤材料挤出的纯液体馏分 (170g)。

[0075] 实施例 1B : 热提取试验 2

[0076] 在以表面冷凝模式运行的 398°C 的上流式反应器 (见图 1) 中将含有 1.80wt% 灰分和 5.20wt% 水分的铁杉原料 (7,996g) 进行热提取来生产液体热提取物。基于“无灰”进料的液体产率为 45.12wt%,焦为 28.54wt% 而气体为 17.41wt%。

[0077] 取含有紫杉烷的热提取物的样品并进行紫杉烷分析。

[0078] 在这个实施例中,与生产提取物的生物质的初始体积相比,热提取物的体积减少了约 25 倍 (不需要任何固体生物质的初始溶剂提取)。

[0079] 实施例 1C : 热提取试验 3 (见图 2)

[0080] 在 397°C 下并以液体骤冷模式运行的上流式反应器 (见图 1) 中将含有 1.80wt% 灰分和 5.20wt% 水分的铁杉原料 (5,641g) 进行热提取来生产液体热提取样品。所述骤冷液体为从实施例 1A 的试验中得到的水产物和软化水的约 50/50 混合物。基于“无灰”进料的液体产率为 46.77wt%,焦为 25.87wt% 而气体为 19.0wt%。这个试验的目的是比较利用液体骤冷得到的产物产率和表面冷凝得到的产物产率。

[0081] 取含有紫杉烷的热提取产物的样品并进行紫杉烷分析。

[0082] 在这个实施例中,与生产提取物的生物质的初始体积相比,热提取物的体积减少了约 50 倍(不需要任何固体生物质的初始溶剂提取)。

[0083] 实施例 1D:在回收系统中的紫杉烷的选择性分馏

[0084] 在回收系统中的紫杉烷的选择性分馏和浓缩的实例示范在 1B 中描述的热提取实施例中。在这个实例中,在从纤维床过滤回收装置中回收的热提取物馏分中检出约 50%的可识别紫杉烷含量,虽然该馏分仅占在热提取试验 2 过程中生产的总热提取物的 22%。

[0085] 实施例 1E:在回收系统中的紫杉烷的进一步选择性分馏

[0086] 通过加入水或其它分配溶剂的进一步选择性分馏和浓缩的实施例示范在 1C 中描述的热提取实施例中。在这个实例中,地在回收系统中原位加入水,而结果,从纤维床过滤回收装置中回收的热提取物馏分中检出约 50%的可识别紫杉烷含量,虽然该馏分仅占在热提取试验 3 过程中生产的总热提取物的 24%。除了加入水和直接冷凝热提取物产物外,试验 3 的热提取条件在温度和处理时间方面与试验 2 相同。因此,当与如在试验 2 的情况下没有水分配的紫杉烷的选择性分馏相比时,在试验 3 中利用水分配的紫杉烷的选择性分馏显示为更有效。

[0087] 实施例 1A、1B 和 1C 的分析:在得到紫杉烷的定性分析中使用利用硅胶和用 95 : 5 的二氯甲烷:甲醇作为溶剂的热提取物的薄层色谱法(TLC)并证明是有益的(即,证实存在样品中存在紫杉烷)。TLC 分析的结果列在表 1 的最后一列中(也即,将紫杉烷报道为“测出”或“未测出”)。

[0088] 实施例 2:通过凝胶色谱法和 HPLC 的紫杉烷的离析和定量分析

[0089] 离析方法 1:将如在实施例 1A、1B 和 1C 中概述的那样获得的热提取物样品(1g)混合并吸附在 1g 的聚乙烯吡咯烷酮, PVPP(西格玛化学公司, P-6755[25249-54-1])上,并应用于 strata-X 33 μ m Polymeric Sorbent 1g/20ml GigaTubes(Phenomenex, 8B-S 100-JEG)中。在装载上述样品之前用 20mL 甲醇适应 strata-X 并用 20mL 去离子水平衡。利用下列溶剂体系以慢速进行洗脱。

[0090] A) 甲醇-去离子水(7 : 3)[5x 12mL]

[0091] B) 甲醇:乙腈:去离子水(6 : 3 : 1)、(6 : 2 : 2)或者(5 : 2 : 3)[5x 12ml], 和

[0092] C) 甲醇:乙腈(1 : 1)[5x 12mL]。

[0093] 使用 TLC 和 HPLC 对富含紫杉烷的馏分进行色谱分析。TLC 用于定性分析(表 1)而 HPLC 用于定量分析以测定总紫杉烷和单独紫杉烷的产率(表 1、2 和 3)。溶剂体系“b”(6 : 3 : 1)被选为定量测定紫杉烷产率的有效溶剂,并且使用该溶剂体系测定在表中报道的产率。

[0094] 表 1:TLC 和 HPLC 分析

[0095]

样品 号	名称	溶剂 体系	馏分的 重量(g)	%紫杉烷产率 (HPLC)	TLC 结果
实施例 1A					
1	1R104 水馏分	A			N.D.
		B	0.0568	5.68	紫杉烷馏分
		C	0.0194	1.94	N.D.
2	2R104 非水馏分	A			N.D.
		B	0.4150	41.5	紫杉烷馏分
		C	0.0325	3.25	N.D.
3	3R104 过滤液体	A			N.D.
		B	0.4213	42.13	紫杉烷馏分
		C	0.0439	4.39	N.D.
实施例 1B					
4	R129a – 容器 1 焦油 (Tar)	A			N.D.
		B	0.3738	37.38	紫杉烷馏分
		C	0.0322	3.22	N.D.
5	R129a – 回收容器 1	A			N.D.
		B	0.0234	2.34	N.D.
		C	0.0013	0.13	N.D.
6	R129a – 回收容器 2 (除雾器)	A			N.D.
		B	0.3720	37.2	紫杉烷馏分
		C	0.0310	3.1	N.D.
7	R129a – 回收容器 3 (过滤器)	A			N.D.
		B	0.4109	41.09	紫杉烷馏分

[0096]

样品 号	名称	溶剂 体系	馏分的 重量(g)	%紫杉烷产率 (HPLC)	TLC 结果
8	R129a – 回收容器 4 (浴锅)	C	0.0337	3.37	N.D.
		A			N.D.
		B	0.0046	0.46	N.D.
		C	0.0010	0.1	N.D.
9	R129a – 旋转蒸发器 (Rotovap) 残余废液	A			N.D.
		B	0.3158	31.58	紫杉烷馏分
		C	0.0306	3.06	N.D.
实施例 1C					
10	R130a – 回收容器 1	A			N.D.
		B	0.0267	2.67	痕量
		C	0.0018	0.18	N.D.
11	R130a – 来自容器 1 的固体	A			N.D.
		B	0.2079	20.79	紫杉烷馏分
		C	0.0311	3.11	N.D.
12	R130a – 回收容器 2 (除雾器)	A			N.D.
		B	0.0201	2.01	痕量
		C	0.0014	0.14	N.D.
13	R130a – 容器 3 (过滤器)	A			N.D.
		B	0.3682	36.82	紫杉烷馏分
		C	0.0410	4.1	N.D.
14	R130a – 容器 4 (浴锅)	A			N.D.
		B	0.0050	0.5	N.D.
		C	0.0012	0.12	N.D.
15	R130a – 旋转蒸发的残 余废液	A			N.D.
		B	0.0782	7.82	痕量
		C	0.0021	0.21	N.D.
16	R130a – 旋转蒸发器冷 凝物	A			N.D.
		B	0.0041	0.41	N.D.
		C	0.0014	0.14	N.D.

[0097] 溶剂体系 A. 甲醇：去离子水 (7 : 3)

[0098] 溶剂体系 B. 甲醇：乙腈：去离子水 (6 : 3 : 1)

[0099] 溶剂体系 C. 甲醇：乙腈 (1 : 1)

[0100] N. D. = 未测出

[0101] 痕量 = 痕量的紫杉烷

[0102] 如经由热提取生产和利用离析方法 1 回收的总紫杉烷和单独紫杉烷组分的产率分别报道在表 2 和 3 中。在表 2 中也给出了总“离析方法 1”紫杉烷产率与常规溶剂回收方法的文献（例如 Daoust, G 和 Sirois, G., 2003 和“Canada Yew (*Taxus canadensis* Marsh.) and Taxanes : A Perfect Species for Field Production and improvement Through Genetic Selection” Natural Resources Canada, Canadian Forest Service, Sainte-Foy, Quebec）中报道的产率的比较。在表 3 中也给出了各个代表性紫杉烷的“离析方法 1”产率与溶剂控制试验产率的比较。

[0103] 从表 2 和 3 中的数据可以看出, 使用本发明方法的总紫杉烷和各个代表性紫杉烷的产率高于使用常规溶剂提取法获得的产率。

[0104] 表 2 : 经由热提取得到的总紫杉烷的“离析方法 1”产率与常规溶剂产率（如在文献 * 中报道的那样）的比较

[0105]

试验号	提取温度 (°C)	总紫杉烷 (wt%)
R-104A	490	5.0
R-129A	398	6.7
R-130A	397	5.2
溶剂提取-		0.2

[0106] *Daoust, G and Sirois, G., 2003, " Canada Yew (*Taxus canadensis* Marsh.) and Taxanes : A Perfect Species for Field Production and improvement Through Genetic Selection" Natural Resources Canada, Canadian Forest Service, Sainte-Foy, Quebec

[0107] 表 3 : 经由热提取得到的紫杉醇及其他其它紫杉烷化合物的“离析方法 1”产率与溶剂提取（溶剂对照 *）产率的比较

[0108]

试验号	紫杉醇	10 DAB III	浆果赤霉素	三尖杉宁碱	10-脱乙酰基紫杉醇	7-表-紫杉醇	DHB
	(wt%)	(wt%)	(wt%)	(wt%)	(wt%)	(wt%)	(wt%)
R-104A	0.031	0.49	0.29	0.61	0.39	0.37	0.092
R-129A	0.049	0.53	0.37	0.71	0.42	0.44	0.12
R-130A	0.034	0.46	0.33	0.59	0.4	0.4	0.084
溶剂对照	0.011	0.061	0.042	0.052	0.012	0.021	0.039

[0109] * 见实施例 3

[0110] 离析方法 2 : 将如在实施例 1A、1B 和 1C 中概述的那样获得的热提取物样品 (1g) 混合并吸附在 1g 的聚乙烯吡咯烷酮, PVPP (西格玛化学公司, P-6755 [25249-54-1]) 上并应用于 strata-X 33 μ m Polymeric Sorbent 1g/20ml GigaTubes (Phenomenex, 8B-S100-JEG) 中。在装载上述样品之前用 20mL 甲醇适应 strata-X 并用 20mL 去离子水平衡。用 20mL 水

随后用甲醇浓度逐渐增加 (20, 50, 70, 100%) 的等分部分以慢速进行洗脱。以在用 50-70% 甲醇洗脱的馏分中发现的最高浓度对所有的馏分进行色谱分析。

[0111] 实施例 3

[0112] 紫杉烷的溶剂提取 (非热解对照试验)

[0113] 将新鲜的加拿大紫杉针叶 (4417.13g 鲜重 (fr. wt)) 在室温下以两步骤进行提取: 第一步, 在 100% 甲醇 (1g 鲜重 / 10ml 溶剂) 中浸泡 24h, 随后在市售韦林氏换合器中切碎并倾析出溶剂; 第二步, 将切碎后的残渣在 60% 含水甲醇中再浸泡 24h。将合并后的甲醇提取物减压蒸发直至去除大多数或所有的甲醇。冷冻干燥残余物得到 713.88g 的粗提物。这样从每 g 鲜重的针叶中得到了 162mg 的加拿大紫杉粗提物。这个试验结果以“溶剂对照”在表 3 中给出。

[0114] 实施例 4

[0115] 在 464°C 的温度下和以液体骤冷模式运转的上流式反应器 (见图 1) 中将溶剂提取后的咖啡原料进行热提取以生产热提取物样品。基于“无灰”进料的液体产率为 55.15wt%, 焦产率为 16.87wt% 而气体产率为 24.37wt%。该试验的目的是测定是否可以热提取出剩余在溶剂提取后的咖啡原料中的任何残余咖啡因。

[0116] 取含有咖啡因的热提取物样品, 并使用装有电脑和 Chem. Station 软件 (Chem. 32)、Binary 泵 SL (G1312B)、高效自动取样器 SL (G1367C) 和自动扫描光电二极管阵列分光光度检测仪安捷伦 (Agilent Technologies) (G1315C) 的安捷伦 1200 液相色谱仪进行咖啡因分析。

[0117] 结果:

[0118] R158A 除雾器乙二醇: 在 1g 的油中含有 91.2ppm 咖啡因

[0119] R158A 初级冷凝器在 1g 的油中含有 129ppm 咖啡因

[0120] 实施例 5

[0121] 在 500°C 的温度下和以液体骤冷模式运转的上流式反应器 (见图 1) 中将亚麻硬外皮 (flax shive) 原料进行热提取以生产热提取物样品。基于“无灰”进料的液体产率为 55.57wt%, 焦产率为 14.48wt%, 而气体产率为 23.61wt%。这个试验的目的是测定是否可以热提取出在亚麻硬外皮中的任何表儿茶素和儿茶素。

[0122] 取收集的液体热提取物产物的样品并使用安捷伦 Eclipse Plus C-185 μm (4.6x150mm 内径) 反相分析柱进行表儿茶素和儿茶素分析。在室温下使用梯度色谱技术: 溶剂 A = 甲醇 / 乙腈 (95 : 5); 溶剂 B = 0.05% HCOOH 水溶液; 流速为 0.9ml/min。使用三个确定的检测波长: 270nm、280nm 和 350nm, 而可分辨峰用光电二极管阵列检测器从 250 至 400nm 进行扫描。

[0123] 结果:

[0124] ■ 以相当大的量检测出表儿茶素和儿茶素

[0125] 虽然为了理解清楚的目的, 已经通过举例说明和实施例并参照一个或多个实施方式相当详细地描述了上述发明, 但是在不偏离如在所附权利要求中描述的本发明的实质和范围的情况下, 对于本领域中的普通技术人员来说, 根据本发明的教导, 显而易见地可以对本发明进行某些变化、改变和改进。

[0126] 必须指出, 除非上下文中另外清楚指明, 在本 PCT 说明书及其所附权利要求的英

文版中使用的单数形式“a”、“an”和“the”包括复数含义。

[0127] 除非另有定义,这里使用的所有的技术和科学术语与本发明所属领域内的普通技术人员的通常理解具有相同的意义。

[0128] 在本申请文件中引用的所有出版物、专利和专利申请都在此引入作为参考,如同每一个单独的出版物、专利或专利申请都特别和分别指明被引入作为参考一样。在本申请文件中任何出版物、专利或专利申请的引用并非承认该出版物、专利或专利申请为现有技术。

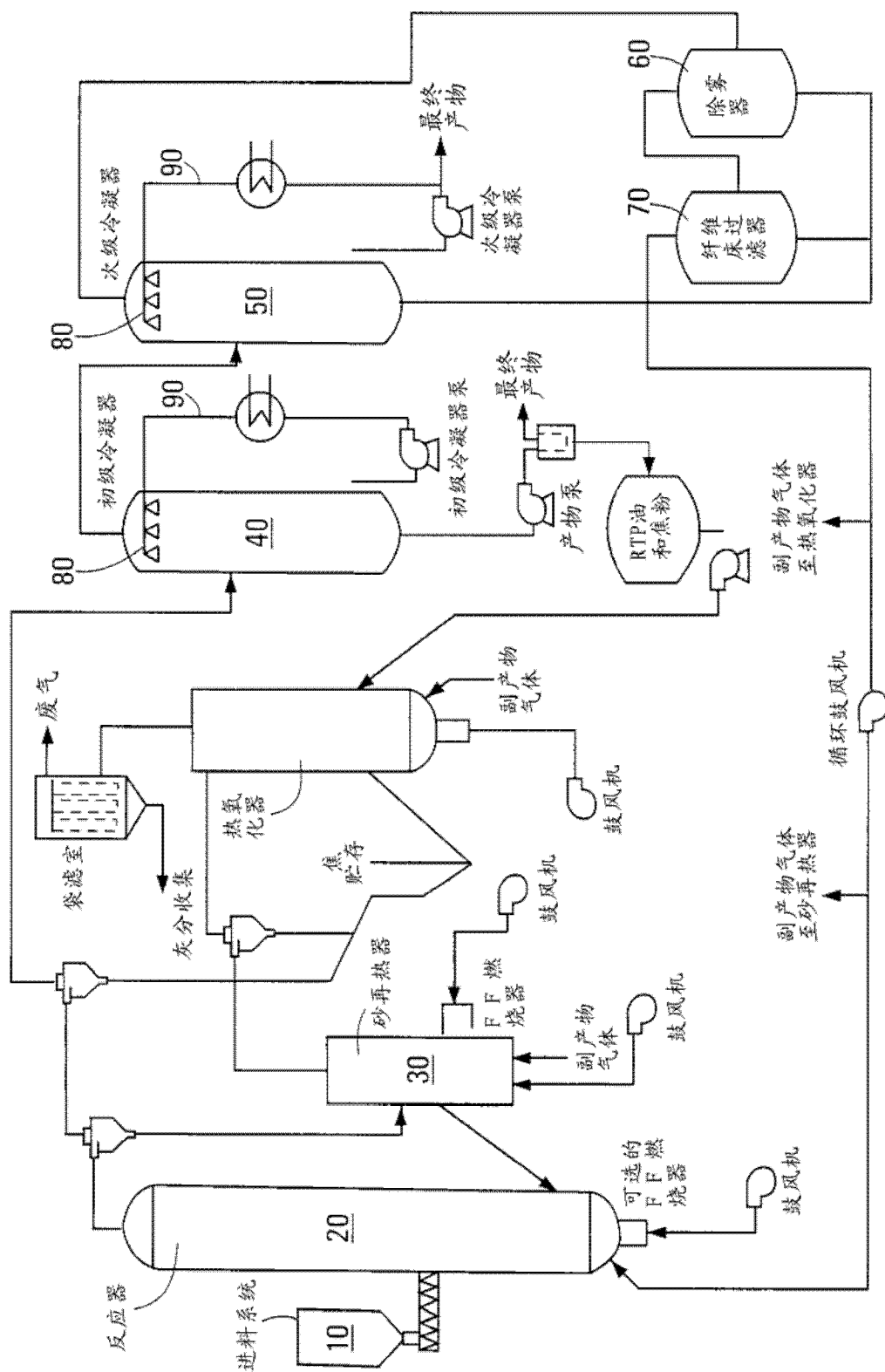


图 1

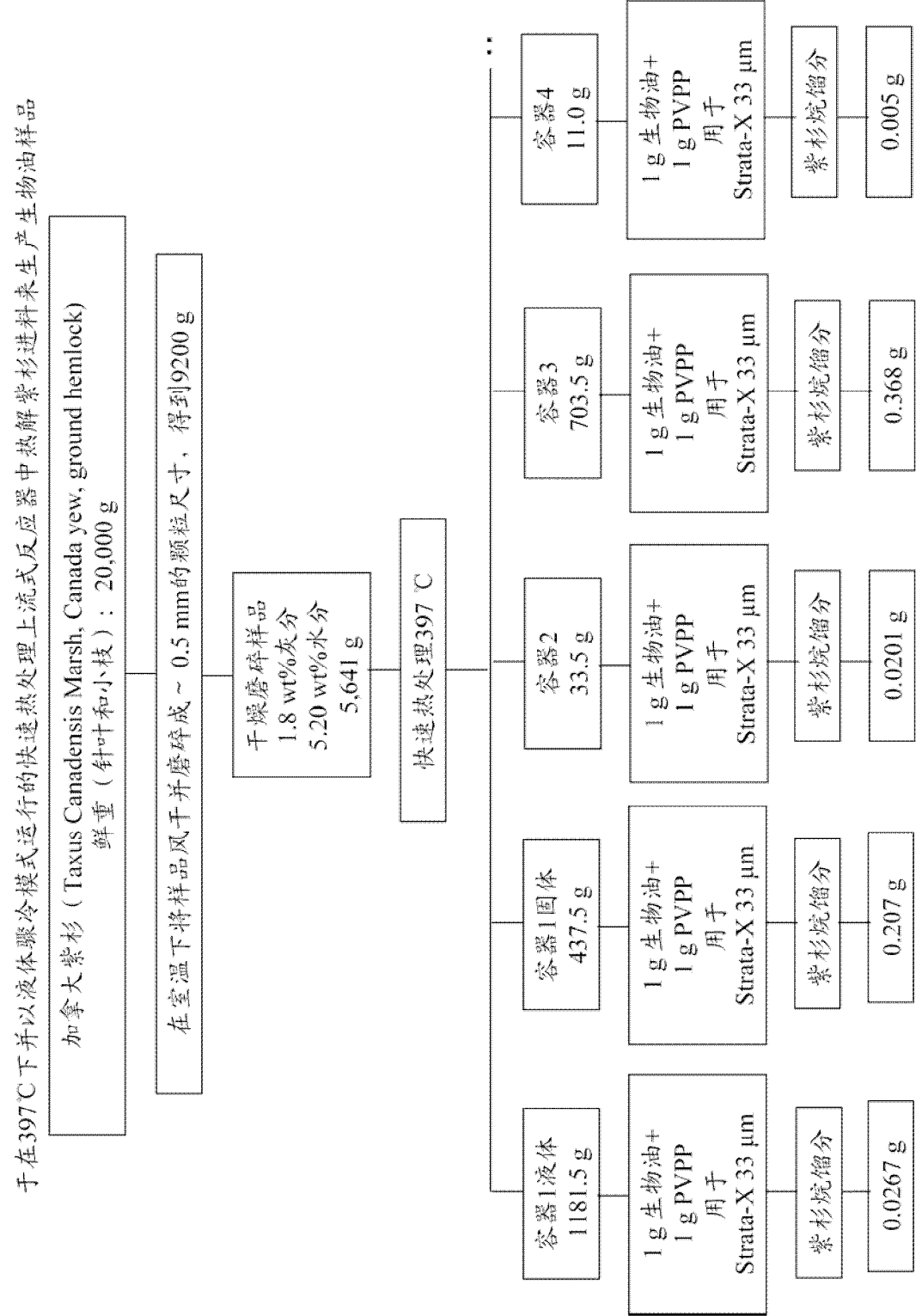


图 2

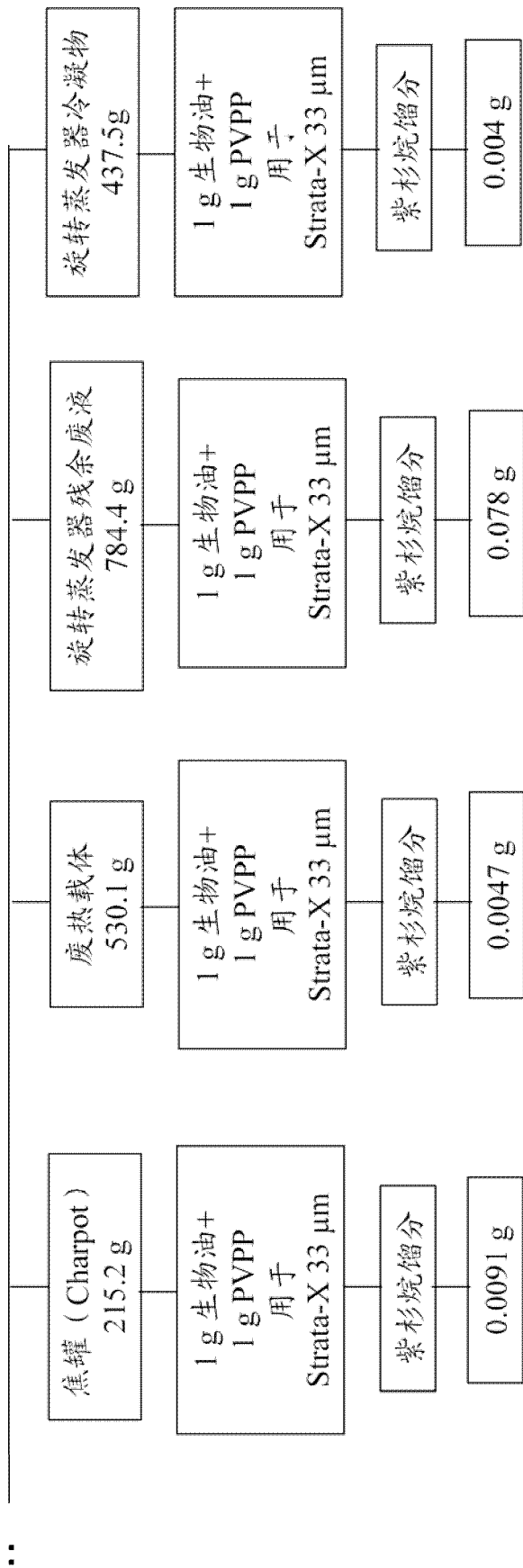


图 2(续)