

# (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  
2015 年 7 月 16 日 (16.07.2015)



(10) 国际公布号  
WO 2015/103808 A1

- (51) 国际专利分类号:  
C07C 69/24 (2006.01) C07C 45/61 (2006.01)  
C07C 49/717 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01)  
C07C 67/14 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/072137
- (22) 国际申请日: 2014 年 2 月 17 日 (17.02.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201410013453.8 2014 年 1 月 10 日 (10.01.2014) CN
- (71) 申请人: 广州英赛特生物技术有限公司 (GUANG-ZHOU INSIGHTER BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。

- (72) 发明人: 及
- (71) 申请人: 彭险峰 (PENG, Xianfeng) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。 覃宗华 (QIN, Zonghua) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。 李方 (LI, Fang) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。 黄计军 (HUANG, Jijun) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。 叶晓岚 (YE, Xiaolan) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。 李早龙 (LI, Zaolong) [CN/CN]; 中国广东省广州市萝岗区广州高新技术产业开发区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 415 号, Guangdong 510663 (CN)。

[见续页]

(54) Title: B-HINOKITIOL ESTER OR SALT AND APPLICATION THEREOF IN PREPARING ANIMAL FEED ADDITIVE

(54) 发明名称:  $\beta$ -扁柏酚酯或盐及其在制备动物饲料添加剂中的应用

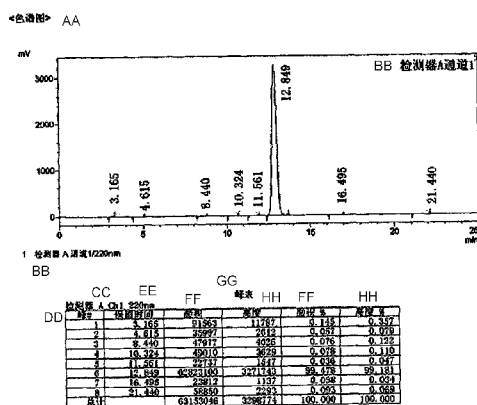
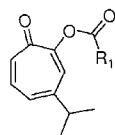
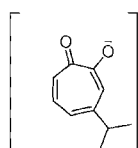


图 1/ Fig. 1



式 1



式 2

AA Chromatogram  
BB Detector A Channel 1  
CC Detector A  
DD Peak  
EE Retention time  
FF Area  
GG Peak table  
HH Height  
II Total

(57) Abstract: Disclosed are a  $\beta$ -hinokitiol ester or salt and an application thereof in preparing an animal feed additive. The structural formula of the  $\beta$ -hinokitiol ester or salt compound is shown in formula 1 or formula 2.  $R_1$  in formula 1 is n-nonyl or n-heptadecyl, and L in formula 2 is sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, copper or manganese. The  $\beta$ -hinokitiol ester and salt compounds shown in formula 1 and formula 2 are less toxic or non-toxic to livestock, have higher safety, higher stability and better growth promotion performance than those of relevant compounds covered in the current patents, and thus are more suitable for use as a growth promoter for feed and have a great application prospect in the farming industry.

(57) 摘要: 公开了  $\beta$ -扁柏酚酯或盐及其在制备动物饲料添加剂中的应用。 $\beta$ -扁柏酚酯或盐化合物结构式如式 1 或式 2 所示: 式 1 中  $R_1$  为正壬基或正十七烷基, 式 2 中 L 为钠、钾、钙、镁、锌、铜或锰。如式 1 及式 2 所示的  $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物对畜禽低毒或者无毒, 其比目前专利覆盖相关化合物有更高的安全性、更稳定及更强的生长促进性能, 因此更适合作为饲料用生长促进剂, 在养殖行业具有非常好的应用前景。



区科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区  
415 号, Guangdong 510663 (CN)。

(74) **代理人:** 广州科粤专利商标代理有限公司  
(GUANGZHOU KEYUE IP. LAW OFFICE); 中国广  
东省广州市越秀区先烈中路 100 号大院 23-1 栋  
616 室, Guangdong 510070 (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,  
LT, 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, 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)。

**本国际公布:**

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

## $\beta$ -扁柏酚酯或盐及其在制备动物饲料添加剂中的应用

### 技术领域：

本发明属于动物饲用生长促进剂领域，具体涉及 $\beta$ -扁柏酚酯或盐及其在制备  
5 动物饲料添加剂中的应用。

### 背景技术：

$\beta$ -扁柏酚 ( $\beta$ -hinokitiol)，又名扁柏醇、桧木醇、日柏醇（酚）等名，化学名：  
2-羟基-4-异丙基-1-环庚三烯酮，是天然食用精油组分，在日本已用作食品添加  
10 剂多年。

US6387417B1 有公开 $\beta$ -扁柏酚及其配合物 (2:1 或 3:1) 抗万古霉素耐药肠球  
菌的活性及其在治疗中的应用。

中国专利 CN101396021A (公开号) 描述了 hinokitiol 及其金属盐对于植物  
病原微生物的活性，但是未具体公开盐的结构，是否包括配合物未说明。另外  
15 hinokitiol 包括 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -3 个同分异构体，他们的盐的结构也是不同的。

另有论文报道 $\beta$ -扁柏酚做饲料添加剂应用的体外实验结果。

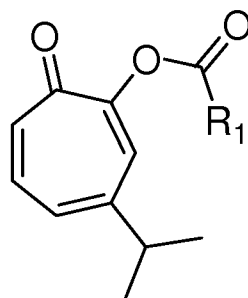
但是， $\beta$ -扁柏酚具有热不稳定性及光不稳定性。因此如何获得高稳定性（热、  
光稳定性）、更高安全性，以及具有非常好的生长促进作用 $\beta$ -扁柏酚的化合物是  
急待研究的。

20

### 发明内容：

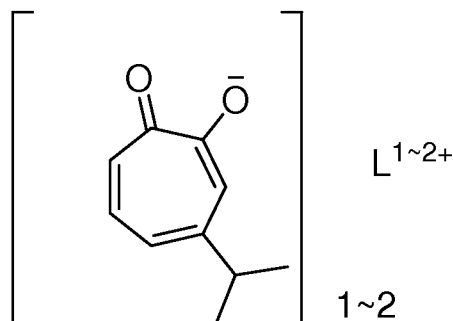
本发明的目的是提供具有更高稳定性、安全性的能够促进畜禽生长的，更适  
合作为饲料添加剂应用的稳定化的 $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物。

本发明的稳定化的 $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物，其结构式如式 1 或式 2 所示：



25

式 1，其中  $R_1$  为正壬基或正十七烷基；



式 2，其中 L 为钠、钾、钙、镁、锌、铜或锰。

所述的 L 优选为锰、铜、锌或镁。

本发明的第二个目的是提供上述 $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物在制备动物饲料添加剂中的应用。

所述的动物饲料添加剂是指动物生长促进剂。

所述的动物为各个生长阶段的猪、鸡、鸭、鹅、肉牛、奶牛、羊、鱼、虾、狐、貂或貉等养殖动物。

所述的 $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物，其在动物饲料中的添加剂量为 0.1~200ppm。

所述的动物饲料可以为全价配合饲料。

本发明的如式 1 及式 2 所示的 $\beta$ -扁柏酚酯及盐化合物对畜禽低毒或者无毒，其比目前专利覆盖相关化合物有更高的安全性、更稳定及更强的生长促进性能，因此更适合作为饲料用生长促进剂，在养殖行业具有非常好的应用前景。

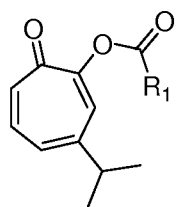
## 附图说明：

图 1 是实施例 2 的 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正癸酯的 HPLC 图；

图 2 是实施例 8 的 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮锌的 HPLC 图。

## 具体实施方式：

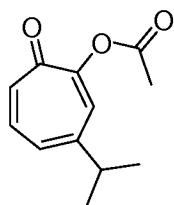
以下实施例是对本发明的进一步说明，而不是对本发明的限制。



式 1，其中： $R_1$  甲基、正壬基、正十七烷基

### 实施例 1:

结构式:



### 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-乙酯的制备

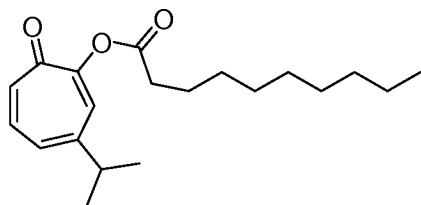
#### 5 制备过程:

2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (1.64g, 10mmol, 1eq) 与三乙胺 (1~10eq) 溶于 100ml 二氯甲烷中,  $-10^{\circ}\text{C}$ ~ $25^{\circ}\text{C}$ , 取乙酰氯 (0.8~5eq) 溶于约 10ml 二氯甲烷中, 慢慢滴加到该混合溶液中, 然后保温搅拌 3~8 小时, TLC (展开剂 石油醚 : 乙酸乙酯=5: 1) 显示原料基本反应完全, 有新点产生。加入约 100ml 水萃取分层, 有机相再用水洗涤一次。有机相旋蒸出去溶剂, 得到棕红色油状物, HNMR 证实为目标产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-乙酯), 收率约 86%。不稳定, 放置过程中发生酯水解。

3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-乙酯:  $\delta\text{H}$  (DMSO, 500 MHz) 7.126~7.251 (4H, m), 2.812~2.866 (1H, m), 2.257 (3H, s), 1.162~1.176 (6H, d)。

#### 15 实施例 2:

结构式:



### 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正癸酯的制备

制备过程:

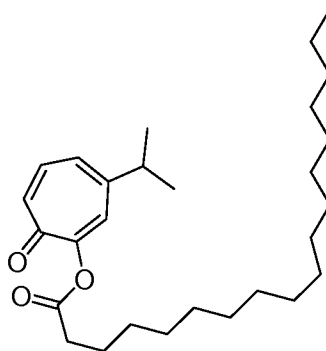
20 2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (3.28g, 20mmol, 1eq) 与三乙胺 (1~10eq) 溶于 100ml 二氯甲烷中,  $-10^{\circ}\text{C}$ ~ $25^{\circ}\text{C}$ , 取正癸酰氯 (0.8~5eq) 溶于约 10ml 二氯甲烷中, 慢慢滴加到该混合溶液中, 然后保温搅拌 3~8 小时, TLC (展开剂 石油醚 : 乙酸乙酯=5: 1) 显示有少量原料没有反应完全, 有新点产生。加

入 100 毫升水洗涤，然后用饱和食盐水洗涤，TLC 显示原点处仍然有荧光。用稀的氢氧化钾水溶液洗涤，原料点仍然洗不尽。加入约 8 克硅胶，干法上样，硅胶柱分离，淋洗剂为石油醚：乙酸乙酯：三乙胺=5：1：0.02。得到纯净的产物（3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正癸酯），纯度为 99.4%。见图 1 所示的 HPLC 图。

3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正癸酯:  $\delta$ H (DMSO, 500 MHz) 7.131~7.251 (4H, m), 2.824~2.878(1H, m), 2.534~2.563(1H, m), 1.590~1.649(2H, m), 1.174~1.371(18H, m), 0.843~0.857(3H, m)。

### 实施例 3:

结构式:



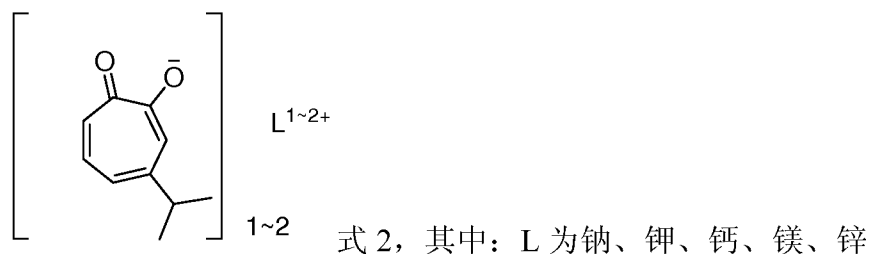
3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正十八酯的制备

制备过程:

2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (3.28g, 20mmol, 1eq) 与三乙胺 (1~10eq) 溶于 100ml 二氯甲烷中,  $-10^{\circ}\text{C}$ ~ $25^{\circ}\text{C}$ , 取正十八碳酰氯 (0.8~5eq) 溶于约 30ml 二氯甲烷中, 慢慢滴加到该混合溶液中, 然后保温搅拌 3~8 小时, TLC (展开剂 石油醚 : 乙酸乙酯=5:1) 显示有少量原料没有反应完全, 有新点产生。加入 100 毫升水洗涤, 然后用饱和食盐水洗涤, TLC 显示原点处仍然有荧光。用稀的氢氧化钾水溶液洗涤, 原料点仍然洗不尽。加入约 8 克硅胶, 干法上样, 硅胶柱分离, 淋洗剂为石油醚：乙酸乙酯：三乙胺=5：1：0.02。得到纯净的产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正十八酯), 纯度为 99%。

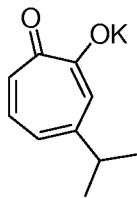
3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮-正十八酯:  $\delta$ H ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) 7.132 (1H, s), 7.017~7.096 (2H, m), 6.922~6.942(1H, d), 2.759~2.813(1H, m), 2.596~2.626(2H, m), 1.728~1.789(2H, m), 1.400 ~ 1.428(2H, m), 1.221 ~ 1.249(32H, m),

0.856~0.883(3H,m)。



#### 实施例 4:

结构式:

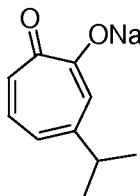


#### 3-异丙基-1,3,5-环庚三烯-7-酮钾的制备

氢氧化钾 (8.4g, 150mmol, 1.5eq) 常温溶于 150ml 乙醇中, 2-羟基-4-异丙基-2,4,6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 常温反应 1 小时, 反应液澄清, 逐渐冷却至室温, 没有固体析出, 低温冷却至 -20°C, 仍没有固体析出, 继续降温至 -30°C 析出黄色固体, 过滤, 固体迅速软化为液体。补加 8.2 克 2-羟基-4-异丙基-2,4,6-环庚三烯-1-酮, 室温搅拌 1 小时后旋蒸旋去媒溶, 然后放入烘箱中烘干得到产物 (3-异丙基-1,3,5-环庚三烯-7-酮钾)。HPLC 显示纯度为 99%。

#### 实施例 5:

结构式:

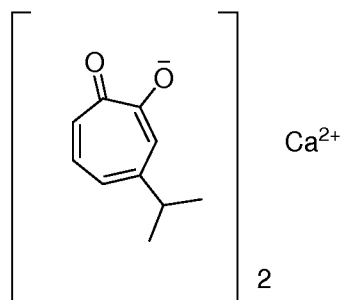


#### 3-异丙基-1,3,5-环庚三烯-7-酮钠的制备

氢氧化钠 (1~5eq) 常温溶于 100ml 乙醇中, 2-羟基-4-异丙基-2,4,6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 加热回流 1~5 小时, 逐渐有固体析出, 冷却至室温搅拌两小时, 过滤, 滤饼用冷乙醇洗涤, 40°C 水浴旋干溶剂得产物 (3-异丙基-1,3,5-环庚三烯-7-酮钠)。HPLC 显示纯度为 99%。

## 实施例 6:

结构式:

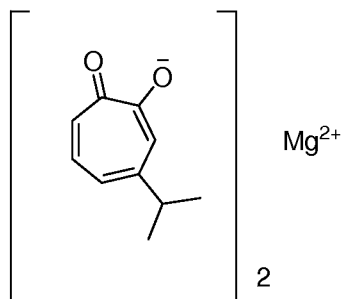


## 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮钙的制备

- 5 氢氧化钾 (1~5eq) 常温溶于 300ml 水中, 自然冷却至室温, 2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 常温搅拌至完全溶解。逐渐滴加 80ml 氯化钙 (0.4~2eq) 的水溶液, 逐渐有固体析出, 并且变得粘稠, 常温搅拌 2~3 小时, 吸滤, 滤饼用水 200ml\*2 洗涤, 水泵真空吸干水份, 然后 35°C 烘箱中烘干得产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮钙)。HPLC 显示
- 10 纯度为 99%。

## 实施例 7:

结构式:

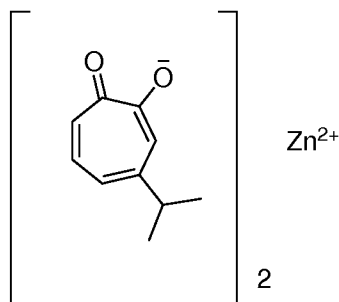


## 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮镁的制备

- 15 氢氧化钾 (1~5eq) 常温溶于 300ml 水中, 自然冷却至室温, 2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 常温搅拌至完全溶解。逐渐滴加 80ml 6 水.氯化镁 (0.4~2eq) 的水溶液, 逐渐有固体析出, 并且变得粘稠, 常温搅拌 2~3 小时, 吸滤, 滤饼用水 200ml\*2 洗涤, 水泵真空吸干水份, 然后 35°C 烘箱中烘干得产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮镁)。HPLC
- 20 显示纯度为 99%。

## 实施例 8:

结构式:

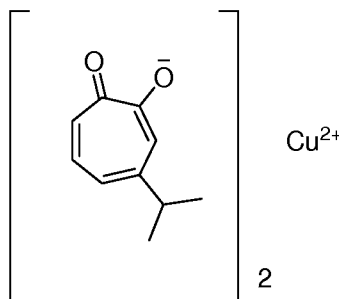


### 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮锌的制备

氢氧化钾 (1~5eq) 常温溶于 300ml 水中, 自然冷却至室温, 2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 常温搅拌至完全溶解。逐渐滴加 100ml 硫酸锌 (0.4~2eq) 的水溶液, 逐渐有固体析出, 并且变得粘稠, 常温搅拌 2~3 小时, 吸滤, 滤饼用水 200ml\*2 洗涤, 水泵真空吸干水份, 然后 35°C 烘箱中烘干得产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮锌)。HPLC 显示纯度为 99%, HPLC 图如图 2 所示。

### 10 实施例 9:

结构式:

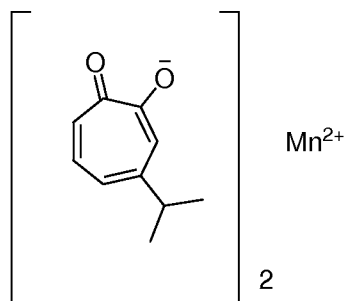


### 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮铜的制备

氢氧化钾 (1~5eq) 常温溶于 300ml 水中, 自然冷却至室温, 2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮 (16.4g, 100mmol, 1eq) 溶于其中, 常温搅拌至完全溶解。逐渐滴加 100ml 氯化铜 (0.4~2eq) 的水溶液, 逐渐有固体析出, 并且变得粘稠, 常温搅拌 2~3 小时, 吸滤, 滤饼用水 200ml\*2 洗涤, 水泵真空吸干水份, 然后 35°C 烘箱中烘干得产物 (3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮铜)。HPLC 显示纯度为 99%。

### 20 实施例 10:

结构式:



### 3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮锰的制备

氢氧化钾（1~5eq）常温溶于 300ml 水中，自然冷却至室温，2-羟基-4-异丙基-2, 4, 6-环庚三烯-1-酮（16.4g, 100mmol, 1eq）溶于其中，常温搅拌至完全溶解。逐渐滴加 100ml 氯化锰（0.4~2eq）的水溶液，逐渐有固体析出，并且变得粘稠，常温搅拌 2~3 小时，吸滤，滤饼用水 200ml\*2 洗涤，水泵真空吸干水份，然后 35°C 烘箱中烘干得产物（3-异丙基-1, 3, 5-环庚三烯-7-酮锰）。HPLC 显示纯度为 99%。

### 实施例 11：扁柏酚酯的热稳定性试验

将前述实施例制备的扁柏酚的不同酯用玉米芯粉配制为终浓度质量分数 2% 的预混剂。分别称取待测试样品（预混剂）于坩埚中，于 100°C 烘箱中处理 20 小时后，称取 1.0g 样品（每个样平行制备 3 份）于具塞锥形瓶中加乙醇 50ml，超声提取 10min，用滤纸过滤，滤液转移至 50ml 容量瓶中，乙醇定容至刻度，摇匀，取滤液经 0.45μm 微孔滤膜过滤，进行 HPLC 分析。

#### 15 色谱条件

色谱柱：Wondasil C<sub>18</sub>（250mm\*4.6mm，5μm）柱；

流动相：100%乙腈或甲醇-40mM 乙酸铵（乙酸调 pH 至 4）（65:35，v/v）；

检测波长：220nm；柱温 25°C；进样量：20μL；流速 1.0 或 0.8 ml/min。

稳定性结果见表 1，结果显扁柏酚十碳脂肪酸酯和扁柏酚十八碳脂肪酸酯的热稳定性提高。

表 1：不同扁柏酚酯的热稳定性比较结果

| 化合物        | 起始含量（%） | 100°C 加热 20h 后含量（%） |
|------------|---------|---------------------|
| 扁柏酚        | 2.0     | 0.1                 |
| 扁柏酚乙酯      | 2.0     | 0                   |
| 扁柏酚十碳脂肪酸酯  | 2.0     | 0.65                |
| 扁柏酚十八碳脂肪酸酯 | 2.0     | 1.21                |

### 实施例 12：扁柏酚盐的热稳定性试验

将前述实施例制备的扁柏酚的不同金属盐用玉米芯粉配制为终浓度质量分数 2%的预混剂。分别称取待测试样品（预混剂）于坩埚中，于 100℃烘箱中处理不同时间后，称取 1.0g 样品（每个样平行制备 3 份）于具塞锥形瓶中加乙醇 50ml，超声提取 10min，用滤纸过滤，滤液转移至 50ml 容量瓶中，乙醇定容至 5 刻度，摇匀，取滤液经 0.45μm 微孔滤膜过滤，进行 HPLC 分析。

色谱条件

色谱柱：Wondasil C<sub>18</sub>（250mm\*4.6mm，5μm）柱；

流动相：甲醇-水（65:35，v/v）或甲醇-0.2%乙酸水溶液（65:35，v/v）或甲醇-2%磷酸水溶液（65:35，v/v）；

10 检测波长：220nm；柱温 25℃；进样量：20μL；流速 0.8 ml/min。

稳定性结果见表 2，结果显扁柏酚的各种金属盐均提高了热稳定性，其中镁、铜和锰盐改善最显著。

表 2：扁柏酚不同金属盐的热稳定性试验结果

| 化合物  | 起始含量（%） | 100℃加热 20h 后<br>含量% | 100℃加热 44h<br>后含量% | 100℃加热 68h<br>后含量% |
|------|---------|---------------------|--------------------|--------------------|
| 扁柏酚  | 2.0     | 0.1                 | 0                  | 0                  |
| 扁柏酚钠 | 2.0     | 1.42                | 1.29               | 1.21               |
| 扁柏酚钾 | 2.0     | 1.76                | 1.59               | 1.14               |
| 扁柏酚钙 | 2.0     | 1.84                | 1.77               | 1.72               |
| 扁柏酚镁 | 2.0     | 2                   | 2                  | 2                  |
| 扁柏酚铜 | 2.0     | 1.99                | 1.98               | 1.98               |
| 扁柏酚锌 | 2.0     | 1.9                 | 1.88               | 1.78               |
| 扁柏酚锰 | 2.0     | 1.98                | 1.97               | 1.93               |

实施例 13：扁柏酚盐及酯的光稳定性试验

15 将前述实施例制备的扁柏酚酯或盐用玉米芯粉配制为终浓度质量分数 2%的预混剂。取待测试样品（预混剂）平铺药物稳定性试验箱内，置光照强度 4500-5000 勒克斯之下处理 5 天之后，称取 1.0g 样品（每个样平行制备 3 份）于具塞锥形瓶中加乙醇 50ml，超声提取 10min，用滤纸过滤，滤液转移至 50ml 容量瓶中，乙醇定容至刻度，摇匀，取滤液经 0.45μm 微孔滤膜过滤，进行 HPLC 分析。

20 色谱条件

色谱柱：Wondasil C<sub>18</sub>（250mm\*4.6mm，5μm）柱；

流动相：甲醇-水（65:35，v/v）或甲醇-0.2%乙酸水溶液（65:35，v/v）或甲醇-2%磷酸水溶液（65:35，v/v）；

检测波长：220nm；柱温 25℃；进样量：20μL；流速 0.8 ml/min。

稳定性结果见表 3，结果显示扁柏酚盐的光稳定性均提高，其中以锰、铜、锌和镁盐的光稳定性提高最明显。

表 3：扁柏酚酯或盐的光稳定性试验结果

| 化合物        | 起始含量(%) | 强光照 5 天后剩余含量(%) |
|------------|---------|-----------------|
| 扁柏酚        | 2.0     | 0               |
| 扁柏酚钠       | 2.0     | 0.19            |
| 扁柏酚钾       | 2.0     | 0.08            |
| 扁柏酚钙       | 2.0     | 1.2             |
| 扁柏酚镁       | 2.0     | 1.57            |
| 扁柏酚铜       | 2.0     | 1.87            |
| 扁柏酚锰       | 2.0     | 1.87            |
| 扁柏酚锌       | 2.0     | 1.62            |
| 扁柏酚乙酯      | 2.0     | 0               |
| 扁柏酚十碳脂肪酸酯  | 2.0     | 0               |
| 扁柏酚十八碳脂肪酸酯 | 2.0     | 0               |

5       **实施例 14：扁柏酚镁盐在肉鸡饲料中的应用**

600 羽 1 日龄快大黄羽肉鸡（母苗）按表 4 随机分成 6 个处理组，每组 100 羽，并分别在每组饲料中添加不同剂量的扁柏酚盐或酯。试验期笼养，自由采食和饮水。试验期共 30 天，结果显示试验期β-扁柏酚盐试验组的试验鸡的增重和料肉比方面均有显著改善（表 5）。

10                                   表 4 扁柏酚盐或酯在肉鸡料中应用的试验分组设计

| 组别 | 试验数量（只） | 药物种类         | 剂量(ppm)* | 用药方法 |
|----|---------|--------------|----------|------|
| 1  | 100     | -            | -        | -    |
| 2  | 100     | β-扁柏酚        | 10       | 混料   |
| 3  | 100     | β-扁柏酚十八碳脂肪酸酯 | 10       | 混料   |
| 4  | 100     | β-扁柏酚镁盐      | 2        | 混料   |
| 5  | 100     | β-扁柏酚镁盐      | 10       | 混料   |
| 6  | 100     | β-扁柏酚锌盐      | 10       | 混料   |

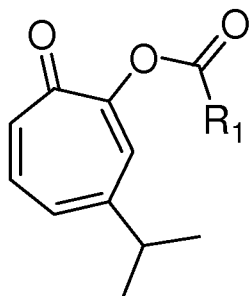
\*：所添加剂量是以β-扁柏酚的含量计。

表 5 扁柏酚盐或酯在肉鸡料中应用的试验结果

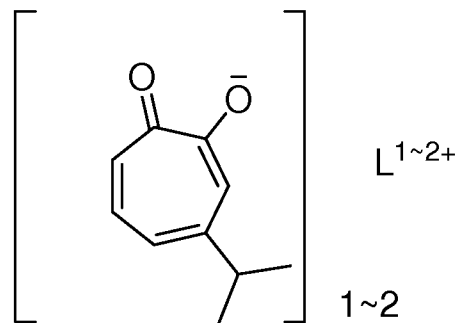
| 组别 | 初重 (g) | 平均增重 (g) | 耗料 (kg) | 平均日增重 (g) | 料肉比   |
|----|--------|----------|---------|-----------|-------|
| 1  | 40.6   | 756      | 150.22  | 25.2      | 1.987 |
| 2  | 40.6   | 819      | 155.20  | 27.3      | 1.895 |
| 3  | 40.6   | 822      | 155.52  | 27.4      | 1.892 |
| 4  | 40.6   | 798      | 152.10  | 26.6      | 1.906 |
| 5  | 40.6   | 828      | 155.99  | 27.6      | 1.884 |
| 6  | 40.6   | 825      | 155.60  | 27.5      | 1.886 |

## 权利要求书

1、 $\beta$ -扁柏酚酯或盐化合物，其结构式如式 1 或式 2 所示：



式 1，其中  $R_1$  为正壬基或正十七烷基；



5

式 2，其中 L 为钠、钾、钙、镁、锌、铜

或锰。

2、根据权利要求 1 所述的 $\beta$ -扁柏酚酯或盐化合物，其特征在于，所述的 L 为锰、铜、锌或镁。

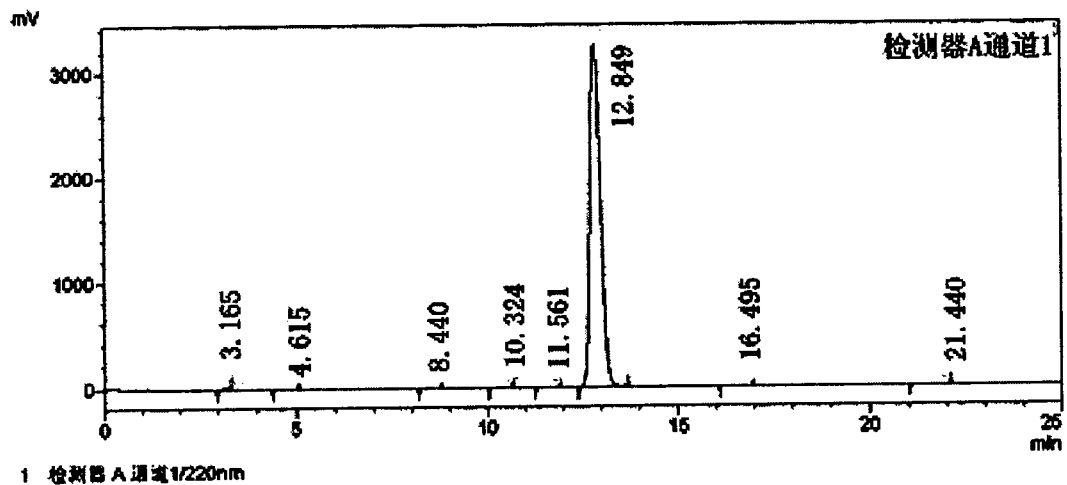
3、权利要求 1 所述的 $\beta$ -扁柏酚酯或盐化合物在制备动物饲料添加剂中的应用。

10

4、根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述的动物为各个生长阶段的猪、鸡、鸭、鹅、肉牛、奶牛、羊、鱼、虾、狐、貂或貉。

5、根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述的 $\beta$ -扁柏酚酯或盐化合物，其在动物饲料中的添加剂量为 0.1~200ppm。

## &lt;色谱图&gt;

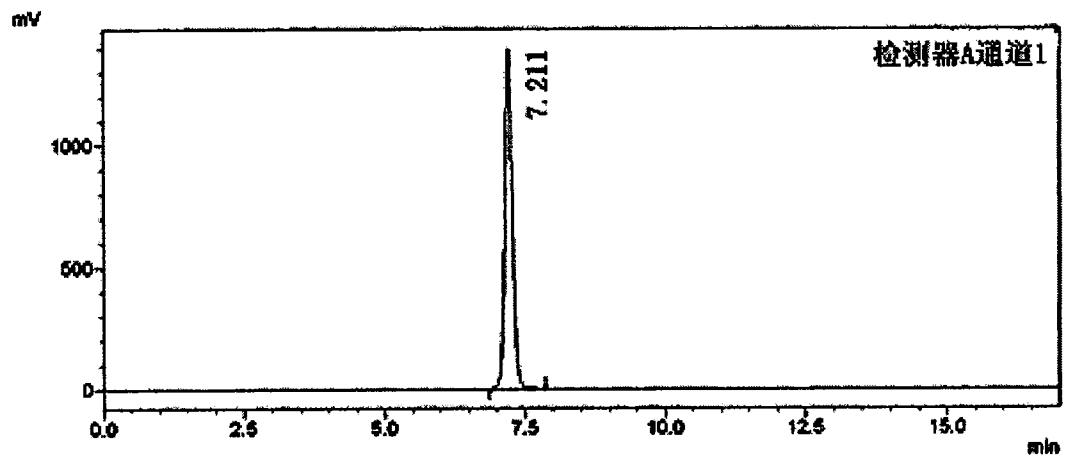


峰表

| 峰# | 保留时间   | 面积       | 高度      | 面积%     | 高度%     |
|----|--------|----------|---------|---------|---------|
| 1  | 3.165  | 91563    | 11767   | 0.145   | 0.357   |
| 2  | 4.615  | 35997    | 2813    | 0.057   | 0.079   |
| 3  | 8.440  | 47977    | 4026    | 0.076   | 0.122   |
| 4  | 10.324 | 49010    | 3629    | 0.078   | 0.110   |
| 5  | 11.561 | 22737    | 1517    | 0.036   | 0.047   |
| 6  | 12.849 | 62823100 | 3271743 | 99.478  | 99.181  |
| 7  | 16.495 | 23812    | 1137    | 0.038   | 0.034   |
| 8  | 21.440 | 58850    | 2293    | 0.093   | 0.068   |
| 总计 |        | 63153046 | 3298774 | 100.000 | 100.000 |

图 1

&lt;总谱图&gt;



1 检测器 A 通道1/220nm

峰表

| 检测器 A Ch1 220nm |       |          |         |         |         |
|-----------------|-------|----------|---------|---------|---------|
| 峰#              | 保留时间  | 面积       | 高度      | 面积%     | 高度%     |
| 1               | 7.211 | 13234624 | 1400135 | 100.000 | 100.000 |
| 总计              |       | 13234624 | 1400135 | 100.000 | 100.000 |

图 2

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/072137

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 69/24 (2006.01) i; C07C 49/717 (2006.01) i; C07C 67/14 (2006.01) i; C07C 45/61 (2006.01) i; A23K 1/16 (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)

IPC: C07C 69/-, C07C 49/-, C07C 67/-, C07C 45/-, A23K 1/-

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)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CA: thujaplicine, tropone,  $\beta$ , hinokitiol, tropolone, ester, salt, feed, additive

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                    | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | US 4361581 A (FUKUDA, Y. et al.), 30 November 1982 (30.11.1982), description, column 1, lines 50-61, and column 4, lines 15-28                                                        | 1-2                   |
| X         | US 5582817 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.), 10 December 1996 (10.12.1996), description, column 14, lines 9-29                                                              | 1-2                   |
| X         | CN 100999451 A (INSTITUTE OF ENVIRONMENT AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN AGRICULTURE, CAAS), 18 July 2007 (18.07.2007), description, page 1, the last paragraph to page 2, paragraph 2 | 1-2                   |
| Y         | JP 2008035760 A (NIPPON FORMULA FEED MFG CO., LTD. et al.), 21 February 2008 (21.02.2008), description, page 3, paragraph [0010], and page 4, paragraph [0015]                        | 1-5                   |
| Y         | US 4361581 A (FUKUDA Y. et al.), 30 November 1982 (30.11.1982), description, column 1, lines 50-61, and column 4, lines 15-28                                                         | 1-5                   |
| Y         | US 5582817 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.), 10 December 1996 (10.12.1996), description, column 14, lines 9-29                                                              | 3-5                   |

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

☒ See patent family annex.

|                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| * Special categories of cited documents:                                                                                                                                | "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                                              |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                | "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                                                                     |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date                                                                               | "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 |
| "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) | "&" document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| "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                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Date of the actual completion of the international search<br>15 September 2014 (15.09.2014)                                                                                                                        | Date of mailing of the international search report<br>10 October 2014 (10.10.2014) |
| Name and mailing address of the ISA/CN:<br>State Intellectual Property Office of the P. R. China<br>No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao<br>Haidian District, Beijing 100088, China<br>Facsimile No.: (86-10) 62019451 | Authorized officer<br>LIU, Guangyu<br>Telephone No.: (86-10) 82246686              |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2014/072137**

### 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 100999451 A (INSTITUTE OF ENVIRONMENT AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN AGRICULTURE, CAAS), 18 July 2007 (18.07.2007), description, page 1, the last paragraph to page 2, paragraph 2 | 3-5                   |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
**PCT/CN2014/072137**

| Patent Documents referred<br>in the Report | Publication Date | Patent Family  | Publication Date  |
|--------------------------------------------|------------------|----------------|-------------------|
| US 4361581 A                               | 30 November 1982 | None           |                   |
| US 5582817 A                               | 10 December 1996 | AU 667704 B2   | 04 April 1996     |
|                                            |                  | CA 2107461 A1  | 04 August 1993    |
|                                            |                  | TW 233264 B    | 01 November 1994  |
|                                            |                  | EP 0583479 A4  | 16 October 1996   |
|                                            |                  | EP 0583479 A1  | 23 February 1994  |
|                                            |                  | WO 9314748 A1  | 05 August 1993    |
|                                            |                  | AU 3462993 A   | 01 September 1993 |
| CN 100999451 A                             | 18 July 2007     | CN 100999451 B | 04 May 2011       |
| JP 2008035760 A                            | 21 February 2008 | JP 4638846 B2  | 23 February 2011  |

| A. 主题的分类                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                   |                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| C07C 69/24(2006.01)i; C07C 49/717(2006.01)i; C07C 67/14(2006.01)i; C07C 45/61(2006.01)i; A23K 1/16(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)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                   |                      |
| C07C 69/-, C07C 49/-, C07C 67/-, C07C 45/-, A23K 1/-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                   |                      |
| 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))                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                   |                      |
| WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CA: 扁柏酚, 扁柏醇, 日扁柏醇, 桧木醇, 日柏醇, 日柏酚, 丝柏油醇, 侧柏素, 环庚三烯酮, 酯, 盐, 饲料, 添加剂, $\beta$ , hinokitiol, tropolone, ester, salt, feed, additive                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                   |                      |
| 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              |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | US 4361581 A (FUKUDA YASUAKI 等) 1982年 11月 30日 (1982 - 11 - 30)<br>说明书第1栏第50-61行, 第4栏第15-28行                       | 1-2                  |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | US 5582817 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO. LTD. 等) 1996年 12月 10日 (1996 - 12 - 10)<br>说明书第14栏第9-29行                   | 1-2                  |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | CN 100999451 A (中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所) 2007年 7月 18日 (2007 - 07 - 18)<br>说明书第1页最后1段到第2页第2段                          | 1-2                  |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | JP 2008035760 A (NIPPON FORMULA FEED MFG CO. LTD. 等) 2008年 2月 21日 (2008 - 02 - 21)<br>说明书第3页第[0010]段, 第4页第[0015]段 | 1-5                  |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | US 4361581 A (FUKUDA YASUAKI 等) 1982年 11月 30日 (1982 - 11 - 30)<br>说明书第1栏第50-61行, 第4栏第15-28行                       | 1-5                  |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | US 5582817 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO. LTD. 等) 1996年 12月 10日 (1996 - 12 - 10)<br>说明书第14栏第9-29行                   | 3-5                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                   |                      |
| * 引用文件的具体类型:<br>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件<br>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利<br>“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)<br>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件<br>“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<br>“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<br>“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<br>“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<br>“&” 同族专利的文件 |                                                                                                                   |                      |
| 国际检索实际完成的日期                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                   | 国际检索报告邮寄日期           |
| 2014年 9月 15日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                   | 2014年 10月 10日        |
| ISA/CN的名称和邮寄地址                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                   | 受权官员                 |
| 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)<br>北京市海淀区蓟门桥西土城路6号<br>100088 中国                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                   | 刘广宇                  |
| 传真号 (86-10)62019451                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                   | 电话号码 (86-10)82246686 |

| 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 100999451 A (中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所) 2007年 7月 18日<br>(2007 - 07 - 18)<br>说明书第1页最后1段到第2页第2段 | 3-5     |

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/072137

| 检索报告引用的专利文件 |            |   | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 |           |    | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|------------|---|----------------|------|-----------|----|----------------|
| US          | 4361581    | A | 1982年 11月 30日  | 无    |           |    |                |
| US          | 5582817    | A | 1996年 12月 10日  | AU   | 667704    | B2 | 1996年 4月 04日   |
|             |            |   |                | CA   | 2107461   | A1 | 1993年 8月 04日   |
|             |            |   |                | TW   | 233264    | B  | 1994年 11月 01日  |
|             |            |   |                | EP   | 0583479   | A4 | 1996年 10月 16日  |
|             |            |   |                | EP   | 0583479   | A1 | 1994年 2月 23日   |
|             |            |   |                | WO   | 9314748   | A1 | 1993年 8月 05日   |
|             |            |   |                | AU   | 3462993   | A  | 1993年 9月 01日   |
| CN          | 100999451  | A | 2007年 7月 18日   | CN   | 100999451 | B  | 2011年 5月 04日   |
| JP          | 2008035760 | A | 2008年 2月 21日   | JP   | 4638846   | B2 | 2011年 2月 23日   |