



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102443036 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 09

(21) 申请号 201010500152. X

(22) 申请日 2010. 10. 09

(71) 申请人 苏州宝泽堂医药科技有限公司

地址 215125 江苏省苏州市工业园区星湖街
218 号纳米科技园 A2 栋 101 室

(72) 发明人 李法庆 杨成东 刘东锋

(51) Int. Cl.

C07J 63/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法

(57) 摘要

本发明提供了一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法,方法是以积雪草药材为原料,加生物酶自然解,酶解物用 70-99% 醇溶液提取 1-3 次,提取液减压回收乙醇,浓缩液加石油醚脱脂,粗提物溶解加大孔树脂拌样,干法上大孔树脂柱,不同浓度乙醇溶液洗脱,浓缩结晶,结晶物再用甲醇、丙酮回流溶解重结晶,干燥即得产品。本工艺操作简单,树脂可反复使用,所得产品含量高、收率高、成本低,适合工业生产。

1. 一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于包含以下步骤:

1) 酶解:把积雪草粉碎 10~60 目,加入酸水(pH 为 4~6)使完全润湿,再加生物酶,自然酶解 3~5 天;

2) 提取:上述酶解物用 7-15 倍量 70-99%醇溶液回流提取 1-2 小时,提取 1-3 次,提取液滤过减压回收乙醇,浓缩液再加 1-3 倍量石油醚脱脂,离心得到粗提物;

3) 大孔树脂分离纯化:上述粗提物用无水乙醇回流溶解,过滤,滤液加入树脂,回收试剂,干样上大孔树脂柱,用不同浓度乙醇溶液洗脱,洗脱液减压醇浓度至 20-40%,放置结晶;

4) 重结晶:上述结晶物滤出,依次用无水甲醇、丙酮回流溶解,放置结晶,滤出干燥即得积雪草酸。

2. 如权利要求 1 所述从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于所述步骤 1) 中使用的酶可选纤维素酶、 β -葡聚酶和淀粉中的一种或多种,酶用量为 0.4%~1%。

3. 如权利要求 1 所述从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于所述步骤 2) 中醇为甲醇或乙醇溶液。

4. 如权利要求 1 所述从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于所述步骤 3) 中大孔树脂可选 NKA-9、NKA-2、X-5、D4006 中的一种。

5. 如权利要求 1 所述从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于所述步骤 3) 中梯度洗脱溶液为 3-8BV20-40%醇溶液 \rightarrow 4-7BV60-90%乙醇溶液。

一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法

技术领域：

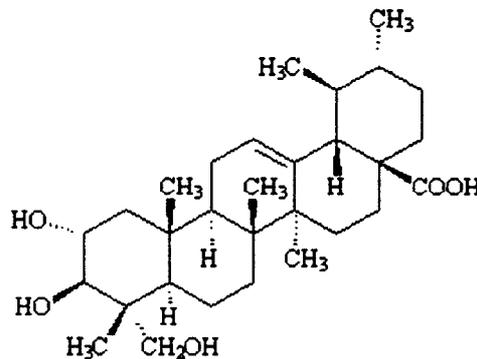
[0001] 本发明涉及一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法，特别是涉及一种采用酶法提取和大孔树脂纯化积雪草酸的方法。

背景技术：

[0002] 积雪草酸，乌苏烷型五环三萜酸类物质。

[0003] 分子式： $C_{48}H_{78}O_5$ 。

[0004]



[0005] 积雪草酸不溶于石油醚和水，溶于甲醇、乙醇、丁醇、丁酮，略溶于丙酮，微溶于苯、氯仿、乙醚等有机溶剂。

[0006] 积雪草为伞形科植物积雪草的干燥全草，又称落得打、崩大碗、半边钱，在我国作为药用植物使用已经有二千余年历史，为《中国药典》收载的常用中药。国内积雪草资源十分丰富，几乎遍布长江流域以南地区。积雪草具有清热利湿、解毒消肿之功效，适用于湿热黄疸、中暑腹泻、痈肿疮毒、跌打损伤。积雪草的药理作用与它的化学成分是密不可分的。积雪草的化学成分十分复杂，其主要成分有三萜类、多炔烯烴类黄酮类和挥发油类。积雪草的化学成分中，三萜皂苷及其皂苷元是生物活性研究较深入的一大类组分，积雪草原草中含有大量三萜酸和三萜皂苷（主要为积雪草酸和积雪草苷）。积雪草酸是积雪草中含量较高的乌苏烷型五环三萜酸。研究表明积雪草酸具有治疗皮肤创伤、抗抑郁、抗阿尔茨海默病以及保肝、保护心脑血管和诱导肿瘤细胞凋亡等多种作用。资料表明，积雪草酸是积雪草苷在胃肠道内代谢的活性形式，给药时用积雪草酸来代替积雪草苷，则使作用更直接，另外积雪草酸还可以制备一系列的衍生物，均具有活性作用。如专利（申请号：200310108854.3）“积雪草酸及其衍生物在制备抗抑郁药物中的应用”，所以从积雪草中提取积雪草酸具有重要意义。

[0007] 目前，现有提取积雪草酸方法较少，多为从积雪草直接提取积雪草酸或从积雪草苷水解制备积雪草酸。如专利（申请号 200810163172.5）“一种积雪草苷碱水解制备积雪草酸的方法”，该专利公开的方法是积雪草苷碱水解制备积雪草酸，该方法虽工艺过程简单，但提取率低，含量不高。而传统的从积雪草中直接提取积雪草酸的方法往往萃取时间长，需要使用大量溶剂，而且提取率较低，含量不是很高。

发明内容：

[0008] 本发明要解决技术问题是提供一种从积雪草中提取积雪草酸的方法,本工艺简单易操作,产品收率高、含量高、成本低。

[0009] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的：

[0010] 一种从积雪草中提纯积雪草酸的方法,其特征在于包含以下步骤：

[0011] 1) 酶解:把积雪草粉碎 10 ~ 60 目,加入酸水 (pH 为 4 ~ 6) 使完全润湿,再加生物酶,自然酶解 2 ~ 5 天；

[0012] 2) 提取:上述酶解物用 7-15 倍量 70-99%乙醇溶液回流提取 1-2 小时,提取 1-3 次,过提取液滤过减压回收乙醇,浓缩液再加 1-3 倍量石油醚脱脂,离心得到粗提物；

[0013] 3) 大孔树脂分离纯化:上述粗提物用无水乙醇回流溶解,过滤,滤液加入树脂,回收试剂,干样上大孔树脂柱,用不同浓度乙醇溶液洗脱,洗脱液减压醇浓度至 20-40%,放置结晶；

[0014] 4) 重结晶:上述结晶物滤出,依次用无水甲醇、丙酮回流溶解,放置结晶,滤出干燥即得积雪草酸。

[0015] 所述步骤 1) 中使用的酶可选纤维素酶、 β -葡聚酶和淀粉酶中的一种或多种,酶用量为 0.4% ~ 1%。

[0016] 所述步骤 2) 中醇为甲醇或乙醇溶液。

[0017] 所述步骤 3) 中大孔树脂可选 NKA-9、NKA-2、X-5、D-4006 中的一种。

[0018] 所述步骤 3) 中梯度洗脱溶液为 3-8BV20-40%乙醇溶液 \rightarrow 4-7BV60-90%乙醇溶液。

[0019] 本发明采用酶解提取,条件温和,不会破坏苷元的结构,酶解原料也有提取;采用大孔树脂分离,不同浓度乙醇洗脱,除去多种杂质,而且树脂可再生重复利用,减少了污染,降低了成本,本工艺具有工业化意义。

[0020] 下面将结合具体实施方式进一步说明本发明,但本发明要求保护的范围并不局限于下列实施方式：

具体实施方式：

[0021] 实施例 1：

[0022] 取积雪草药材粉碎至 60 目,称取 1kg,加适量盐酸水溶液 (pH5) 润湿,加入纤维素酶 10g 拌匀,自然酶解 3 天,酶解原料用 7L90%乙醇溶液回流提取 1 小时,提取 3 次,提取液滤过减压回收乙醇,加入 2L 石油醚震荡,转入分液漏斗,除去石油醚层,放出离心得粗提物 53g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 50gNKA-2 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 50g NKA-2 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 1.5L40%乙醇溶液洗脱杂质,再取 2L90%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 40%,放置结晶,滤过得结晶物 15g,结晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 5g,含量 98.1%。

[0023] 实施例 2：

[0024] 取积雪草药材粉碎至 10 目,称取 1kg,加适量硫酸水溶液 (pH6) 润湿,加入 β -葡聚酶 4g 拌匀,自然酶解 5 天,酶解原料用 10L70%甲醇溶液回流提取 2 小时,提取 2 次,提取

液滤过减压回收乙醇,加入 3L 石油醚震荡,转入分液漏斗,除去石油醚层,放出离心得粗提物 65g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 70gNKA-9 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 50gNKA-9 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 4L20%乙醇溶液洗脱杂质,再取 3L70%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 30%,放置结晶,滤过得结晶物 18g,结晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 4.2g,含量 97%。

[0025] 实施例 3:

[0026] 取积雪草药材粉碎至 40 目,称取 1kg,加适量柠檬酸水溶液 (pH4) 润湿,加入淀粉酶 8g 拌匀,自然酶解 4 天,酶解原料用 15L99%甲醇溶液回流提取 2 小时,提取液滤过减压回收乙醇,加入 1L 石油醚震荡,转入分液漏斗,除去石油醚层,放出离心得粗提物 45g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 50g X-5 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 50g X-5 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 3L30%乙醇溶液洗脱杂质,再取 2.5L80%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 40%,放置结晶,滤过得结晶物 12g,结晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 4g,含量 98.8%。

[0027] 实施例 4:

[0028] 取积雪草药材粉碎至 40 目,称取 1kg,加适量磷酸水溶液 (pH5) 润湿,加入纤维素酶和淀粉酶 7g 拌匀,自然酶解 4 天,酶解原料用 8L95%乙醇溶液回流提取 1 小时,提取 2 次,提取液滤过减压回收乙醇,加入 3L 石油醚震荡,转入分液漏斗,除去石油醚层,放出离心得粗提物 47g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 50g D-4006 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 500LD-4006 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 2L40%乙醇溶液洗脱杂质,再取 2L80%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 40%,放置结晶,滤过得结晶物 14g,结晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 4.3g,含量 98.5%。

[0029] 实施例 5:

[0030] 取积雪草药材粉碎至 40 目,称取 5kg,加适量硫酸水溶液 (pH5) 润湿,加入淀粉酶 50g 拌匀,自然酶解 3 天,酶解原料用 35L90%甲醇溶液回流提取 1 小时,提取三次,提取液滤过减压回收乙醇,转入萃取罐中加入 10L 石油醚脱脂,除去石油醚,放出离心得粗提物 320g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 300gNKA-2 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 3LNKA-2 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 9L40%乙醇溶液洗脱杂质,再取 12L90%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 40%,放置结晶,滤过得结晶物 67g,结晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 23g,含量 98.2%。

[0031] 实施例 6:

[0032] 取积雪草药材粉碎至 60 目,称取 10kg,加适量盐酸水溶液 (pH5) 润湿,加入纤维素酶和 β -葡聚酶 80g 拌匀,自然酶解 4 天,酶解原料用 90L90%乙醇溶液回流提取 1 小时,提取 2 次,提取液滤过减压回收乙醇,转入萃取罐中加入 15L 石油醚脱脂,除去石油醚,放出离心得粗提物 650g,用无水乙醇溶解,过滤,滤液加入 700gNKA-9 大孔树脂树脂,回收乙醇。取 6L NKA-2 大孔树脂装柱,干样加入树脂柱上部,取 25L40%乙醇溶液洗脱杂质,再取 24L90%乙醇溶液洗脱有效成分,减压回收至乙醇 40%,放置结晶,滤过得结晶物 115g,结

晶物用无水甲醇回流溶解,放置结晶,滤出结晶物,再用丙酮重结晶(操作同甲醇),干燥得积雪草酸 52g,含量 98%。