



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102526134 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 04

(21) 申请号 201010603875. 2

(22) 申请日 2010. 12. 24

(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 刘东锋

(51) Int. Cl.

A61K 36/185 (2006. 01)

C07H 15/256 (2006. 01)

A61P 19/08 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法

(57) 摘要

本发明涉及续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法,它以中药续断为原料,粉碎成粗粉,用石油醚脱脂,干燥后用热水或 40-99% 醇提取 2-4 次,回收乙醇,所得浸膏加入氧化镁柱层析,含水乙醇洗脱,洗脱液浓缩至无醇味,加碱调节 pH,离心,取上清液浓缩至干得续断总皂苷提取物;将续断总皂苷提取物采用高速逆流色谱法分离,以庚烷-氯仿-乙醇-水为溶剂系统,收集川续断皂苷 VI 流分,浓缩冻干结晶即获得高纯度川续断皂苷 VI。本发明方法可同时获得续断总皂苷和高纯度的川续断皂苷 VI,高效、简便。

1. 续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法,其特征在于按以下步骤进行:

1) 提取:将中药续断粉碎成粗粉,用石油醚脱脂,干燥后用热水或 40-99% 乙醇提取 2-4 次,减压浓缩得浸膏;

2) 氧化镁柱层析:所得浸膏加入氧化镁层析柱,含水乙醇洗脱,收集洗脱液浓缩至无醇味;

3) 除杂:加入碱调节 pH8-11,离心,将上清液浓缩至干得续断总皂苷提取物;

4) 高速逆流色谱分离纯化:将续断总皂苷提取物用高速逆流色谱仪分离,以庚烷-氯仿-乙醇-水为溶剂系统,收集川续断皂苷 VI 流分,减压浓缩冻干结晶,即获得川续断皂苷 VI。

2. 根据权利要求 1 所述的续断总皂苷及川续断总皂苷 VI 的制备方法,其特征在于:1) 步骤所述的石油醚加入量为 2-3 倍药材量,超声脱脂 15-30 分钟后挥干石油醚。

3. 根据权利要求 1 所述的续断总皂苷及川续断总皂苷 VI 的制备方法,其特征在于:1) 步骤所述的提取方法为超声提取或微波辅助提取,每次提取 40min-180min,减压浓缩至原体积的 1/5-1/15。

4. 根据权利要求 1 所述的续断总皂苷及川续断总皂苷 VI 的制备方法,其特征在于:2) 步骤所述氧化镁为 100-150 目氧化镁,柱径高比为 1: 5-20,洗脱剂为 4-6BV 冷水 → 3-5BV50-80%乙醇。

5. 根据权利要求 1 所述的续断总皂苷及川续断总皂苷 VI 的制备方法,其特征在于:4) 步骤采用高速逆流色谱法,溶剂系统庚烷-氯仿-乙醇-水体积比为: 2-5 : 3-4 : 6-7 : 2-5,主机转速为 600-1500r/min,流动相泵入柱内的流速为 0.5-5ml/min。

续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法

技术领域：

[0001] 本发明属于续断皂苷的制备领域，特别是涉及一种分离纯化续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的方法。

背景技术：

[0002] 续断为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 的干燥根。始载于《神农本草经》，列为上品。苦、辛，微温。归肝、肾经。补肝肾，强筋骨，续折伤，止崩漏。用于肝肾不足，腰膝酸软，风湿痹痛，跌扑损伤，筋伤骨折，崩漏，胎漏。酒续断多用于风湿痹痛，跌扑损伤，筋伤骨折。盐续断多用于腰膝酸软。续断主要含有三萜及其皂苷类化合物，环烯醚萜苷类化合物，生物碱类化合物，酚酸类化合物，黄酮类化合物等多种成分，已知皂苷类成分为其主要有效成分。刘永等通过对不同产地续断中总皂苷的含量测定，发现湖北鹤峰野生续断的总皂苷类有效成分均高于其他地区，高达 19.91%，同时发现不同采收期的以秋季霜降时续断倒苗后采收其总皂苷含量为高。谭洪根等通过实验发现湖北长阳和四川灌县川续断皂苷 VI 含量最高，文献记载也认为湖北和四川续断的质量较好，药效学实验也表明：川续断皂苷 VI 具有增加骨密度的作用，与中医临床应用续断“补肝肾，强筋骨，续折断”的主治和功能相吻合。吴丰喆等利用大鼠在体肠吸收实验模型，采用 HPLC 法测定肠循环液中川续断皂苷 VI 和酚红的浓度，对川续断皂苷 VI 大鼠在体肠吸收特性进行研究，发现川续断皂苷 VI 提取物中的共存成分可降低其吸收；其吸收方式可能为被动扩散。

[0003] 目前国内川续断皂苷 VI 的提取纯化方法有：(1) 低级醇或含水的低级醇提取，滤过，减压回收醇，浓缩，碱调 pH，上清液上大孔树脂柱，碱液洗脱、水洗脱，再用醇洗脱，氧化铝或脱色树脂柱或采用活性炭脱色，得粗品，进一步采用柱层析分离或采用不同极性溶剂分级萃取纯化精制制得。(2) 醇提取，碱调 pH，水饱和正丁醇萃取，正丁醇层再用正丁醇饱和的水反复萃取，得总皂苷，加水溶解，通过降温或降低溶剂极性至续断皂苷 VI 充分沉淀，对沉淀过滤或离心除去其中包含的母液，再次将沉淀用水溶解重复上述操作 1-3 次得到续断皂苷 VI 单体。这类方法操作复杂、提取周期长、需使用大量有机溶剂。

发明内容：

[0004] 本发明的技术方案是提供一种续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法。

[0005] 本发明提供的续断总皂苷及川续断皂苷 VI 的制备方法，按以下步骤进行：

[0006] 1) 提取：将中药续断粉碎成粗粉，用石油醚脱脂，干燥后用热水或 40-99% 乙醇提取 2-4 次，减压浓缩得浸膏；

[0007] 2) 氧化镁柱层析：所得浸膏加入氧化镁层析柱，含水乙醇洗脱，收集洗脱液浓缩至无醇味；

[0008] 3) 除杂：加入碱调节 pH8-11，离心，将上清液浓缩至干得续断总皂苷提取物；

[0009] 4) 高速逆流色谱分离纯化：将续断总皂苷提取物用高速逆流色谱仪分离，以庚烷-氯仿-乙醇-水为溶剂系统，收集川续断皂苷 VI 流分，减压浓缩冻干结晶，即获得川续

断皂苷 VI。

[0010] 1) 步骤所述的石油醚加入量为 2-3 倍药材量, 超声脱脂 15-30 分钟后挥干石油醚。

[0011] 1) 步骤所述的提取方法为超声提取或微波辅助提取, 每次提取 40min-180min, 减压浓缩至原体积的 1/5-1/15。

[0012] 2) 步骤所述氧化镁为 100-150 目氧化镁, 柱径高比为 1 : 5-20, 洗脱剂为 4-6BV 冷水→ 3-5BV50-80% 乙醇。

[0013] 4) 步骤采用高速逆流色谱法, 溶剂系统庚烷-氯仿-乙醇-水体积比为: 2-5 : 3-4 : 6-7 : 2-5, 主机转速为 600-1500r/min, 流动相泵入柱内的流速为 0.5-5ml/min。

[0014] 本发明的积极效果是: 采用微波或超声提取, 用时短、提取效率高; 采用氧化镁柱层析分离纯化, 减少了后续工序的分离难度; 采用高速逆流色谱法分离, 效率高、无污染、快速、大制备量分离川续断皂苷 VI, 获得的川续断皂苷 VI 纯度可达 98% 以上。

具体实施方式:

[0015] 下面结合具体实施例, 对本发明进一步阐述。应理解, 这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。

[0016] 实施例 1:

[0017] 取续断饮片 1kg 粉碎成粗粉, 用石油醚 2L 超声脱脂 20min, 挥干除去石油醚后, 用体积百分比浓度为 50% 的乙醇水溶液 4L 微波提取 3 次, 每次 60min, 提取液合并、减压浓缩至 1000ml, 加入氧化镁柱层析 (100-150 目, 柱径高比 1 : 10), 依次以 5BV 冷水→ 5BV70% 乙醇洗脱, 收集 70% 乙醇流出液, 减压回收乙醇至无醇味, 边搅拌边加入氨水溶液调节 pH 至 8.5, 静置, 离心得上清液, 浓缩至干, 粉碎得续断总皂苷粉末 98.6g, 含量为 86%。

[0018] 采用高速逆流色谱分离续断总皂苷, 室温下将庚烷-氯仿-乙醇-水按体积比 5 : 3 : 7 : 5 置于分液漏斗中, 振摇后静置分层, 待平衡 30min 后, 分别取上、下相, 将上相作为固定相, 下相作为流动相, 称取 100mg 续断总皂苷粉末溶于两相溶液中待用。进样前, 将固定相泵入色谱柱中, 使充满整个柱子, 调整主机转速为 800r/min, 以 3.0ml/min 的流速将流动相泵入柱内, 待流动相从出液端流出且两相建立动态平衡后, 由进样阀将样品溶液注入色谱系统中, 同时在出液端接紫外检测器, 在 212nm 波长处对流出液连续检测, 与川续断皂苷 VI 标准图谱进行对比, 收集目标成分, 得到川续断皂苷 VI 流分, 浓缩冻干后进行结晶, 得川续断皂苷 VI, 经 HPLC 测定其纯度达到 98% 以上。

[0019] 实施例 2:

[0020] 取续断饮片 1kg 粉碎成粗粉, 用石油醚 3L 超声脱脂 25min, 挥干除去石油醚后, 用热水 8L 微波提取 4 次, 每次 90min, 提取液合并、减压浓缩至 5000ml, 加入氧化镁柱层析 (100-150 目, 柱径高比 1 : 5), 依次以 4BV 冷水→ 3BV50% 乙醇洗脱, 收集 50% 乙醇流出液, 减压回收乙醇至无醇味, 边搅拌边加入氨水溶液调节 pH 至 8.0, 静置, 离心得上清液, 浓缩至干, 粉碎得续断总皂苷粉末 100.6g, 含量为 88%。

[0021] 采用高速逆流色谱分离续断总皂苷, 室温下将庚烷-氯仿-乙醇-水按体积比 3 : 4 : 6 : 4 置于分液漏斗中, 振摇后静置分层, 待平衡 30min 后, 分别取上、下相, 将上相作为固定相, 下相作为流动相, 称取 100mg 续断总皂苷粉末溶于两相溶液中待用。进样前,

将固定相泵入色谱柱中,使充满整个柱子,调整主机转速为 950r/min,以 2.0ml/min 的流速将流动相泵入柱内,待流动相从出液端流出且两相建立动态平衡后,由进样阀将样品溶液注入色谱系统中,同时在出液端接紫外检测器,在 212nm 波长处对流出液连续检测,与川续断皂苷 VI 标准图谱进行对比,收集目标成分,得到川续断皂苷 VI 流分,浓缩冻干后进行结晶,得川续断皂苷 VI,经 HPLC 测定其纯度达到 98%以上。

[0022] 实施例 3:

[0023] 取续断饮片 1kg 粉碎成粗粉,用石油醚 3L 超声脱脂 30min,挥干除去石油醚后,用体积百分比浓度为 70%的乙醇水溶液 5L 微波提取 2 次,每次 180min,提取液合并、减压浓缩至 2000ml,加入氧化镁柱层析(100-150 目,柱径高比 1 : 15),依次以 6BV 冷水→5BV80%乙醇洗脱,收集 80%乙醇流出液,减压回收乙醇至无醇味,边搅拌边加入氨水溶液调节 pH 至 9.0,静置,离心得上清液,浓缩至干,粉碎得续断总皂苷粉末 109.4g,含量为 87%。

[0024] 采用高速逆流色谱分离续断总皂苷,室温下将庚烷-氯仿-乙醇-水按体积比 4 : 3 : 7 : 2 置于分液漏斗中,振摇后静置分层,待平衡 30min 后,分别取上、下相,将上相作为固定相,下相作为流动相,称取 100mg 续断总皂苷粉末溶于两相溶液中待用。进样前,将固定相泵入色谱柱中,使充满整个柱子,调整主机转速为 1000r/min,以 3.5ml/min 的流速将流动相泵入柱内,待流动相从出液端流出且两相建立动态平衡后,由进样阀将样品溶液注入色谱系统中,同时在出液端接紫外检测器,在 212nm 波长处对流出液连续检测,与川续断皂苷 VI 标准图谱进行对比,收集目标成分,得到川续断皂苷 VI 流分,浓缩冻干后进行结晶,得川续断皂苷 VI,经 HPLC 测定其纯度达到 98%以上。

[0025] 实施例 4:

[0026] 取续断饮片 1kg 粉碎成粗粉,用石油醚 2L 超声脱脂 15min,挥干除去石油醚后,用体积百分比浓度为 90%的乙醇水溶液 4L 微波提取 3 次,每次 120min,提取液合并、减压浓缩至 800ml,加入氧化镁柱层析(100-150 目,柱径高比 1 : 20),依次以 5BV 冷水→4BV80%乙醇洗脱,收集 80%乙醇流出液,减压回收乙醇至无醇味,边搅拌边加入氨水溶液调节 pH 至 9.5,静置,离心得上清液,浓缩至干,粉碎得续断总皂苷粉末 97.1g,含量为 90%。

[0027] 采用高速逆流色谱分离续断总皂苷,室温下将庚烷-氯仿-乙醇-水按体积比 2 : 4 : 6 : 3 置于分液漏斗中,振摇后静置分层,待平衡 30min 后,分别取上、下相,将上相作为固定相,下相作为流动相,称取 100mg 续断总皂苷粉末溶于两相溶液中待用。进样前,将固定相泵入色谱柱中,使充满整个柱子,调整主机转速为 1200r/min,以 5.0ml/min 的流速将流动相泵入柱内,待流动相从出液端流出且两相建立动态平衡后,由进样阀将样品溶液注入色谱系统中,同时在出液端接紫外检测器,在 212nm 波长处对流出液连续检测,与川续断皂苷 VI 标准图谱进行对比,收集目标成分,得到川续断皂苷 VI 流分,浓缩冻干后进行结晶,得川续断皂苷 VI,经 HPLC 测定其纯度达到 98%以上。