



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103319441 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 25

(21) 申请号 201310240806. 3

(22) 申请日 2013. 06. 17

(71) 申请人 江苏红豆杉药业有限公司

地址 214199 江苏省无锡市锡山区东港镇红  
豆工业园区江苏红豆杉药业有限公司

(72) 发明人 任莉 丁正飞 胡立 杨顺成  
喻琼林 葛月兰

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司  
11332

代理人 巩克栋

(51) Int. Cl.

C07D 305/14 (2006. 01)

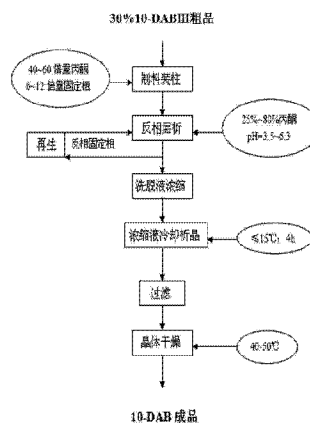
权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

一种从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基  
巴卡亭III的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种从红豆杉枝叶中初步分离  
10- 去乙酰基巴卡亭III的方法, 渗滤提取粉碎后  
的红豆杉枝叶, 然后通过大孔吸附树脂柱进行吸  
附, 再用有机溶剂洗脱, 除杂后得到 10- 去乙酰基  
巴卡亭III粗品。用有机溶剂将 10- 去乙酰基巴  
卡亭III粗品溶解后, 加入反相填料吸附, 装入制备柱  
后进行洗脱, 对主分段浓缩、除杂后得到 10- 去乙  
酰基巴卡亭III纯品。本发明在枝叶提取部分省去  
了大量有机溶剂的使用, 大孔吸附树脂以及反相  
固定相可重复利用, 所用溶剂种类的简化, 操作  
方便, 降低了成本, 10-DAB III回收率较高。同时  
在连续生产过程中低含量的渗滤液可全部套用循  
环, 减少了废水的排放及处理, 在大生产中能够  
很好地应用。



1. 从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法,包括以下步骤:

(1) 用提取剂渗滤提取粉碎后的红豆杉枝叶;

(2) 将步骤(1)得到的渗滤液通过大孔吸附树脂柱进行吸附,吸附完成后用有机溶剂洗脱,将所得的有机溶剂洗脱液除杂得到 10- 去乙酰基巴卡亭III粗品;

(3) 将步骤(2)得到的 10- 去乙酰基巴卡亭III粗品用有机溶剂溶解后,加入反相固定相,去除溶剂,得到反相吸附料;

(4) 将步骤(3)得到的反相吸附料装入制备柱后用流动相进行梯度洗脱,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的洗脱液,进行浓缩,将剩余溶液除杂,得到 10- 去乙酰基巴卡亭III纯品。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤(1)所述红豆杉枝叶为欧洲红豆杉枝叶;

优选地,步骤(1)所述提取剂为水性提取剂,进一步优选为含有机酸的水性提取剂,特别优选为含乙酸的水性提取剂;

优选地,所述有机酸占水性提取剂总体积的 0.2 ~ 5%,进一步优选为 0.4 ~ 3%,特别优选为 0.5 ~ 2%。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其特征在于,步骤(1)所述渗滤提取温度为 30 ~ 65°C,进一步优选为 35 ~ 60°C,特别优选为 40 ~ 50°C;

优选地,步骤(1)所述粉碎后的红豆杉枝叶的粒径为 5 目以下,进一步优选为 8 目以下,特别优选为 10 目以下。

4. 如权利要求 1-3 任一项所述的方法,其特征在于,步骤(2)所述大孔吸附树脂为非极性大孔吸附树脂,特别优选为 D101 大孔吸附树脂;

优选地,步骤(2)所使用的有机溶剂为乙酸乙酯;

优选地,将步骤(2)使用后的大孔吸附树脂采用有机溶剂清洗后,用于下一次吸附使用;优选地,所述用于清洗大孔吸附树脂的有机溶剂为甲醇、乙醇、乙酸乙酯或液碱的 1 种或至少 2 种的组合。

5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤(2)所述除杂包括:将所述有机溶剂洗脱液依次浓缩,干燥得干膏,然后将所述干膏溶解在有机溶剂中,然后依次进行结晶、过滤,并将滤饼干燥;

优选地,所述用于溶解干膏的有机溶剂为乙腈;

优选地,所述用于溶解干膏的有机溶剂的体积为干膏重量的 2 ~ 6 倍,特别优选为 3 ~ 5 倍;

优选地,所述干膏的溶解温度为 50 ~ 80°C,进一步优选为 55 ~ 75°C,特别优选为 60 ~ 70°C;

优选地,所述干膏的结晶温度为 5 ~ 20°C,进一步优选为 10 ~ 17°C,特别优选为 15°C;

优选地,所述干膏的结晶时间为至少 3 小时,进一步优选为 3.5 ~ 7 小时,特别优选为 4 小时。

6. 如权利要求 1-5 任一项所述的方法,其特征在于,步骤(3)所述有机溶剂为丙酮;

优选地,步骤(3)所述有机溶剂的体积为粗品 10-DAB III有效量的 30 ~ 70 倍,进一步优选为粗品 10-DAB III有效量的 35 ~ 65 倍,特别优选为粗品 10-DAB III有效量的 40 ~ 60 倍。

7. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法,其特征在于,步骤(3)所述反相固定相为 PRP 填

料；

优选地,步骤(3)所述反相固定相的体积为粗品 10-DAB III有效量的 4 ~ 16 倍,进一步优选为粗品 10-DAB III有效量的 5 ~ 14 倍,特别优选为粗品 10-DAB III有效量的 6 ~ 12 倍；  
优选地,步骤(3)所述溶剂通过蒸干去除。

8. 如权利要求 1-7 任一项所述的方法,其特征在于,步骤(4)所述流动相为丙酮和水的混合溶液;优选地,所述混合溶液中丙酮的体积百分含量为 15% ~ 90%,使用量为 14 ~ 16 柱体积,进一步优选为 25% ~ 90%,使用量为 12 ~ 14 柱体积,特别优选为 25% ~ 80%,使用量为 9 ~ 11 柱体积；

优选地,步骤(4)所述流动相的 pH 为 3.0 ~ 6.6,进一步优选为 3.2 ~ 6.5,特别优选为 3.5 ~ 6.3；

优选地,步骤(4)所述流动相的流速为 0.5% ~ 2% 柱体积 /min,进一步优选为 0.6% ~ 1.5% 柱体积 /min,特别优选为 0.8% ~ 1% 柱体积 /min；

优选地,将步骤(4)使用后的反相固定相采用有机溶剂清洗后,用于下一次洗脱使用；  
优选地,用于清洗反相固定相的溶剂为甲醇、乙醇、乙腈或丙酮中的 1 种或至少 2 种的组合；

优选地,步骤(4)所述浓缩为减压浓缩。

9. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,步骤(4)所述除杂包括依次结晶和干燥；

优选地,所述结晶温度为 5 ~ 20℃,进一步优选为 10 ~ 17℃,特别优选为 15℃；

优选地,所述结晶时间为至少 3 小时,进一步优选为 3.5 ~ 7 小时,特别优选为 4 小时；

优选地,所述干燥温度为 30 ~ 70℃,进一步优选为 35 ~ 60℃,特别优选为 40 ~ 50℃。

10. 如权利要求 1-9 任一项所述的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤：

(1) 用含有机酸的水性提取剂于 30 ~ 65℃渗滤提取粉碎后的红豆杉枝叶；

(2) 将步骤(1)所得的渗滤液通过大孔吸附树脂柱进行吸附,吸附完成后用乙酸乙酯洗脱,所得的乙酸乙酯洗脱液经浓缩、干燥得干膏,将所得的干膏加入乙腈进行溶解,依次结晶、抽滤,并将滤饼干燥后得到 10- 去乙酰基巴卡亭III粗品；

(3) 将步骤所得的 10- 去乙酰基巴卡亭III粗品用丙酮溶解后,加入反相固定相 PRP 填料,蒸干丙酮,得到反相吸附料；

(4) 将步骤所得的反相吸附料装入制备柱后用丙酮和水的混合溶液进行梯度洗脱,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭III的洗脱液,进行减压浓缩,剩余溶液经结晶、干燥后得到 10- 去乙酰基巴卡亭III纯品。

## 一种从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法

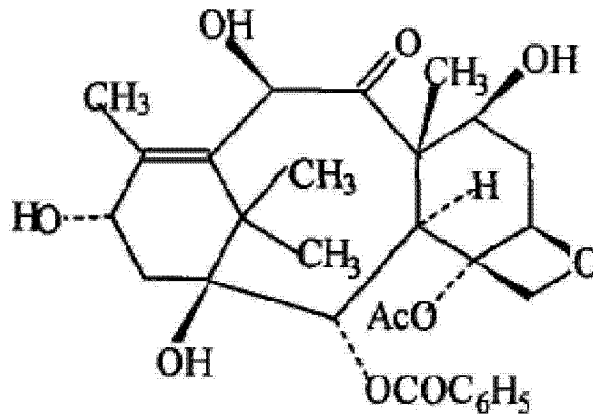
### 技术领域

[0001] 本发明涉及红豆杉植物成分的提取,具体地,本发明涉及一种从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭III的方法。

### 背景技术

[0002] 10- 去乙酰基巴卡亭III(10-DAB III)的分子结构式如下:

[0003]



[0004] 10- 去乙酰基巴卡亭III是抗癌药物紫杉醇(Taxol)的同系物,是合成多烯紫杉醇和半合成紫杉醇的主要原料,主要存在于红豆杉的枝、叶、根和皮内。紫杉醇或多烯紫杉醇在临床上已应用于乳腺癌、卵巢癌、肺癌等治疗,疗效好且毒副作用小,独特的疗效使该类药物的市场需求与日俱增。但由于红豆杉树资源的局限以及高成本的生产投入,阻碍了天然紫杉醇行业的发展,半合成紫杉醇和多烯紫杉醇逐渐取代了天然紫杉醇,而作为前体物的 10-DAB III广泛分布于可再生的枝叶中,因此如何更高效快速低成本从枝叶中获得 10-DAB III具有重要意义,提纯 10-DAB III更成为市场主流方向。

[0005] 目前,针对 10-DAB III提取分离纯化的文献和专利很多,基本上分提取、分离、结晶三个步骤,通常提取收率稳定在 90% ~ 95%,而成品的收率主要取决于分离和结晶,如何更高效快速低成本从枝叶中获得高纯度的 10-DAB III,就需要进一步简化分离提纯工艺,降低有机溶剂使用种类和数量,控制生产成本,才能具有更强的竞争力。

[0006] 中国专利申请 CN1660827A 中公开了采用 70 ~ 80% 乙醇提取红豆杉枝叶,浓缩浸提液,去除沉淀物,用大孔吸附树脂吸附滤液中的 10-DAB III,乙醇洗脱,得到 10-DAB III粗品。此类方法在提取过程中使用了大量有机溶剂,增加了成本。

[0007] 中国专利申请 CN1473821A 中公开了采用乙醇快速提取红豆杉超细粉(粒径  $\leq 10 \mu\text{m}$ ),提取液浓缩后用有机溶剂萃取,两次硅胶柱层析,水解转化,精制得到纯品 10-DAB III。此方法使用了大量有机溶剂进行萃取,成本高,操作繁琐。

[0008] 中国专利申请 CN101045719A 中公开了一种分离纯化 10-DAB III的方法,主要是利用四氢呋喃溶解半成品 10-DAB III后,再放入动态轴向压缩液相制备色谱柱中,采用四氢呋

喃、正己烷和甲醇的混合溶剂作为洗脱流动相,通过一至两次的分离制备得到纯度达到 99% 的 10-DAB III 纯品。此方法采用三相溶剂作为洗脱流动相,在大生产中存在回收利用困难的不足,大大增加了溶剂成本。

[0009] 中国专利申请 CN1398859A 中公开了从乙醇提取过的红豆杉枝叶残渣中提取 10-DAB III 的方法,并采用了正相制备色谱进行分离得到 10-DAB III 纯品。此方法所用的制备液相色谱分离过程在规模化生产中显得工艺复杂,分离效率无法在生产实际中真正提高,由于高纯度的 10-DAB III 在该专利中所提到的乙酸乙酯中的溶解度不大,会使得溶剂的消耗很大。

[0010] 中国专利申请 CN101045718A 公开了一种分离提纯 10-DAB III 的方法,该方法采用正反相色谱技术相结合,将正相色谱作为第一级处理,去除了大部分杂质,而反相色谱可以处理较大的上样量,并且对正相色谱不易分离掉的一部分杂质更好的去除,此外,该发明还采用了两级色谱串联分离技术,通过预处理柱分离一部分杂质,再串接分离柱进行细分离。但该方法在提取过程使用了大量的有机溶剂,而且正相色谱使用硅胶作为固定相,重复利用率小,成本较大。

[0011] 因此在规模化生产中利用制备液相色谱进行分离,使用单一溶剂、更少的有机溶剂以及合适的流动相体系是十分必要的。

## 发明内容

[0012] 针对现有技术的不足,本发明的目的之一在于提供一种从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的方法,其利用可再生大孔吸附树脂初步分离红豆杉枝叶渗滤液中的 10-DAB III,再利用可再生反相固定相提纯 10-DAB III。

[0013] 所述从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的方法包括以下步骤:

[0014] (1) 用提取剂渗滤提取粉碎后的红豆杉枝叶;

[0015] (2) 将步骤(1)得到的渗滤液通过大孔吸附树脂柱进行吸附,吸附完成后用有机溶剂洗脱,将所得的有机溶剂洗脱液除杂得到 10- 去乙酰基巴卡亭 III 粗品;

[0016] (3) 将步骤(2)得到的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 粗品用有机溶剂溶解后,加入反相固定相,去除溶剂,得到反相吸附料;

[0017] (4) 将步骤(3)得到的反相吸附料装入制备柱后用流动相进行梯度洗脱,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的洗脱液,进行浓缩,将剩余溶液除杂,得到 98.5% 以上的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 纯品。

[0018] 优选地,步骤(1)所述红豆杉枝叶为欧洲红豆杉枝叶。

[0019] 优选地,步骤(1)所述提取剂为水性提取剂,进一步优选为含有机酸的水性提取剂,所述有机酸例如甲酸、乙酸、苯甲酸、乙二酸、丁二酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸、酒石酸、水杨酸、丙酮酸或抗坏血酸等中的 1 种或至少 2 种的组合,所述组合典型但非限制性的例子包括甲酸和乳酸的组合,苯甲酸和水杨酸的组合,乙酸、丁二酸和柠檬酸的组合,苹果酸、酒石酸和丙酮酸的组合,乙二酸、柠檬酸、酒石酸和抗坏血酸的组合,甲酸、乙酸、苯甲酸、乙二酸和丁二酸的组合,乳酸、苹果酸、柠檬酸、酒石酸、水杨酸和丙酮酸的组合,苯甲酸、乙二酸、丁二酸、乳酸、水杨酸、丙酮酸和抗坏血酸的组合等;特别优选为含乙酸的水性提取剂;优选地,所述有机酸占水性提取剂总体积的 0.2 ~ 5%,进一步优选为 0.4 ~ 3%,特别优选为

0.5 ~ 2%。

[0020] 优选地,步骤(1)所述渗滤提取温度为 30 ~ 65℃,进一步优选为 35 ~ 60℃,特别优选为 40 ~ 50℃。

[0021] 优选地,步骤(1)所述粉碎后的红豆杉枝叶的粒径为 5 目以下,进一步优选为 8 目以下,特别优选为 10 目以下;所述粒径为 5 目以下指粒径小于 5 目,例如 6 目、7 目、9 目、11 目、15 目、20 目、25 目、30 目、40 目、50 目、80 目、100 目、200 目、300 目或 500 目等。

[0022] 优选地,步骤(2)所述大孔吸附树脂为非极性大孔吸附树脂,特别优选为 D101 大孔吸附树脂。

[0023] 优选地,步骤(2)所使用的有机溶剂为乙酸乙酯。

[0024] 优选地,将步骤(2)使用后的大孔吸附树脂采用有机溶剂清洗后,用于下一次吸附使用;优选地,所述用于清洗大孔吸附树脂的有机溶剂为甲醇、乙醇、乙酸乙酯或液碱的 1 种或至少 2 种的组合;所述液碱即液态状的氢氧化钠,为不同含量的氢氧化钠水溶液。

[0025] 优选地,步骤(2)所述除杂包括:将所述有机溶剂洗脱液依次浓缩,干燥得干膏,然后将所述干膏溶解在有机溶剂中,然后依次进行结晶、过滤,并将滤饼干燥;优选地,所述用于溶解干膏的有机溶剂为乙腈;优选地,所述用于溶解干膏的有机溶剂的体积为干膏重量的 2 ~ 6 倍(体积与质量比 L/kg),特别优选为 3 ~ 5 倍;优选地,所述溶解温度为 50 ~ 80℃,进一步优选为 55 ~ 75℃,特别优选为 60 ~ 70℃;优选地,所述结晶温度为 5 ~ 20℃,进一步优选为 10 ~ 17℃,特别优选为 15℃;优选地,所述结晶时间为至少 3 小时,进一步优选为 3.5 ~ 7 小时,特别优选为 4 小时;所述用于溶解干膏的有机溶剂的体积与干膏重量倍数关系指所述用于溶解干膏的有机溶剂的体积(单位:L)与干膏重量(单位:kg)之比。

[0026] 优选地,步骤(3)所述有机溶剂为丙酮。

[0027] 优选地,步骤(3)所述有机溶剂的体积为粗品 10-DAB III有效量的 30 ~ 70 倍(体积与质量比 L/kg),进一步优选为粗品 10-DAB III有效量的 35 ~ 65 倍,特别优选为粗品 10-DAB III有效量的 40 ~ 60 倍;所述有机溶剂的体积与粗品 10-DAB III有效量的倍数关系指所述有机溶剂的体积(单位:L)与粗品 10-DAB III有效量(单位:kg)之比。

[0028] 优选地,步骤(3)所述反相固定相为 PRP 填料;所述 PRP 即苯乙烯-二乙烯基苯共聚物,可通过市售得到,也可由所属领域技术人员根据现有技术/新技术制备得到。

[0029] 优选地,步骤(3)所述反相固定相的体积为粗品 10-DAB III有效量(体积与质量比 L/kg)的 4 ~ 16 倍,进一步优选为粗品 10-DAB III有效量的 5 ~ 14 倍,特别优选为粗品 10-DAB III有效量的 6 ~ 12 倍;所述反相固定相的体积与粗品 10-DAB III有效量的倍数关系指反相固定相的体积(单位:L)与粗品 10-DAB III有效量(单位:kg)之比。

[0030] 本发明所述粗品 10-DAB III有效量指粗品中纯 10-DAB III的质量,即粗品的质量乘以 10-DAB III的百分含量。

[0031] 优选地,步骤(3)所述溶剂通过蒸干去除。

[0032] 优选地,步骤(4)所述流动相为丙酮和水的混合溶液;优选地,步骤(4)所述流动相为丙酮和水的混合溶液;优选地,所述混合溶液中丙酮的体积百分含量为 15% ~ 90%,使用量为 14 ~ 16 柱体积,进一步优选为 25% ~ 90%,使用量为 12 ~ 14 柱体积,特别优选为 25% ~ 80%,使用量为 9 ~ 11 柱体积;所述纯化水指水中电解质几乎已经完全去除,水中不溶解的胶体物质与微生物颗粒、溶解气体、有机物等已被去除至极低水平的水,具体参数规

定见 2010 版中国药典。

[0033] 优选地,步骤(4)所述流动相的 pH 为 3.0 ~ 6.6,进一步优选为 3.2 ~ 6.5,特别优选为 3.5 ~ 6.3。

[0034] 优选地,步骤(4)所述流动相的流速为 0.5% ~ 2% 柱体积 /min,进一步优选为 0.6% ~ 1.5% 柱体积 /min,特别优选为 0.8% ~ 1% 柱体积 /min。

[0035] 优选地,将步骤(4)使用后的反相固定相采用有机溶剂清洗后,用于下一次洗脱使用;优选地,用于清洗反相固定相的溶剂为甲醇、乙醇、乙腈或丙酮中的 1 种或至少 2 种的组合。

[0036] 优选地,步骤(4)所述浓缩为减压浓缩。

[0037] 优选地,步骤(4)所述除杂包括依次结晶和干燥;优选地,所述结晶温度为 5 ~ 20℃,进一步优选为 10 ~ 17℃,特别优选为 15℃;优选地,所述结晶时间为至少 3 小时,进一步优选为 3.5 ~ 7 小时,特别优选为 4 小时;优选地,所述干燥温度为 30 ~ 70℃,进一步优选为 35 ~ 60℃,特别优选为 40 ~ 50℃。

[0038] 优选地,所述从红豆杉枝叶中分离提纯 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的方法包括以下步骤:

[0039] (1) 用含有机酸的水性提取剂于 30 ~ 65℃ 渗滤提取粉碎后的红豆杉枝叶;

[0040] (2) 将步骤(1)所得的渗滤液通过大孔吸附树脂柱进行吸附,吸附完成后用乙酸乙酯洗脱,所得的乙酸乙酯洗脱液经浓缩、干燥得干膏,将所得的干膏加入乙腈进行溶解,依次结晶、抽滤,并将滤饼干燥后得到 10- 去乙酰基巴卡亭 III 粗品;

[0041] (3) 将步骤所得的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 粗品用丙酮溶解后,加入反相固定相 PRP 填料,蒸干丙酮,得到反相吸附料;

[0042] (4) 将步骤所得的反相吸附料装入制备柱后用丙酮和水的混合溶液进行梯度洗脱,收集含 10- 去乙酰基巴卡亭 III 的洗脱液,进行减压浓缩,剩余溶液经结晶、干燥后得到 98.5% 以上的 10- 去乙酰基巴卡亭 III 纯品。

[0043] 与现有技术相比,本发明的优势在于:

[0044] (1) 首先,本发明在枝叶提取部分省去了大量有机溶剂的使用,其次,大孔吸附树脂以及反相固定相可重复利用,并且所用溶剂种类得到简化,便于回收利用,因此降低了成本。

[0045] (2) 本发明所述方法的 10-DAB III 回收率较高,一次主收率(从原料红豆杉投入至 10-DAB III 成品产出的得率,不包括过程中母液及交叉段的处理所增加的得率)为 73% 以上,得到的 10-DAB III 的纯度也在 98.5% 以上;

[0046] (3) 在连续生产过程中低含量的渗滤液可全部套用循环,减少了废水的排放及处理,在大生产中能够很好地应用。

#### 附图说明

[0047] 图 1 是本发明的一个实施方案的初步分离工艺流程图;

[0048] 图 2 是本发明的一个实施方案的提纯工艺流程图;

[0049] 图 3 是实施例 2 制备的 10-DAB III 含量为 33.8% 的半成品 10-DAB III 的液相色谱图;

[0050] 图 4 是实施例 3 制备的 10-DAB III 含量为 99.3% 的成品 10-DAB III 的液相色谱图。

### 具体实施方式

[0051] 为便于理解本发明,本发明列举实施例如下。本领域技术人员应该明了,所述实施例仅仅是帮助理解本发明,不应视为对本发明的具体限制。

#### [0052] 实施例 1

[0053] (1) 取 1kg 粉碎后的欧洲红豆杉枝叶(枝叶含量为 1230ppm),装入 100mm×1000mm 的玻璃柱内,加入体积百分比为 0.5% 的乙酸水溶液(温度为 50℃)进行渗滤,渗滤液合并搅匀,共 15L, HPLC 检测 10-DAB III 有效量约 1.2g。

[0054] (2) 用已经过处理并装入 100mm×500mm 的玻璃柱内的 D101 大孔吸附树脂吸附渗滤液(树脂处理方法为先用甲醇浸泡 12h,再用饮用水将甲醇冲洗完全后待用)。全部吸附后用乙酸乙酯进行洗脱,将洗脱液(约 4.5L)进行浓缩干燥得干膏约 35g,在干膏中加入 105ml 乙腈在 70℃ 下溶解结晶,15℃ 静置 4h 后抽滤,将滤饼干燥得粗品 3.4g,检测 10-DAB III 含量为 31.4%。

[0055] (3) 在 30mm×600mm 的高压分离柱内加入处理后的空白反相固定相 340ml(反相固定相处理方法为用纯丙酮浸泡 12h 后,再用纯化水冲洗完全后待用)。将 3.4g 粗品用 43ml 丙酮溶解,加入 6.4ml 反相固定相吸附,蒸干溶剂后装入高压分离柱内。用不同含量的丙酮水溶液(体积百分含量分别为 25%、35%、55%、80%)作为流动相(pH 为 3.5)进行洗脱,流速为 3mL/min,收集含 10-DAB III 的洗脱液,减压浓缩,剩余溶液约 200ml,15℃ 下静置析晶 4h,晶体进行抽滤,滤饼在 50℃ 下干燥 48h,得固体 0.92g,检测 10-DAB III 含量为 98.9%,一次主收率为 74.0%。

#### [0056] 实施例 2

[0057] (1) 取 300kg 粉碎后的欧洲红豆杉枝叶,装入 6m<sup>3</sup> 渗滤罐内,加入体积百分比为 2% 的乙酸水溶液(温度为 40℃)进行渗滤,渗滤液分批混匀,共约 5000m<sup>3</sup>, HPLC 检测 10-DAB III 有效量约 356g。

[0058] (2) 将 D101 树脂按实施例 1 方法处理后装入 600L 不锈钢柱内,吸附渗滤液。全部吸附后用乙酸乙酯进行洗脱,将洗脱液(约 500L)进行浓缩干燥得干膏约 12kg,在干膏中加入 60L 乙腈在 60℃ 下溶解结晶,15℃ 静置 4h 后抽滤,将滤饼干燥得粗品 960g,检测 10-DAB III 含量为 33.8%。

[0059] (3) 在 300×600 的高压分离柱内加入处理后的空白反相固定相 30L(反相固定相处理方法同实施例 1)。将 960g 粗品用 13L 丙酮溶解,加入 2L 反相固定相吸附,蒸干溶剂后装入高压分离柱内。用实施例 1 中相同含量的流动相(pH 为 3.5)进行洗脱,流速为 320mL/min,收集含 10-DAB III 的洗脱液,减压浓缩,剩余溶液约 30L,15℃ 下静置析晶 4h,晶体进行抽滤,滤饼在 50℃ 下干燥 50h,得固体 282.3g,检测 10-DAB III 含量为 99.1%,一次主收率为 75.8%。

#### [0060] 实施例 3

[0061] (1) 取 500kg 粉碎后的欧洲红豆杉枝叶,装入 6m<sup>3</sup> 渗滤罐内,加入体积百分比为 0.5% 的乙酸水溶液(温度为 40℃)进行渗滤,渗滤液分批混匀,共约 9100m<sup>3</sup>, HPLC 检测 10-DAB III 有效量约 601g。



[0062] (2) 将实施例 2 使用的树脂再生处理后吸附渗滤液(树脂再生处理方法为先用质量百分浓度 8% 的液碱冲洗 2 柱体积后再用饮用水冲洗至流出液中性后待用)。全部吸附后用乙酸乙酯进行洗脱,将洗脱液(约 500L)进行浓缩干燥得干膏约 18kg,在干膏中加入 54L 乙腈在 70℃ 下溶解结晶,15℃ 静置 4h 后抽滤,将滤饼干燥得粗品 1552g,检测 10-DAB III 含量为 34.1%。

[0063] (3) 将实施例 2 使用的空白反相固定相进行再生处理(反相固定相再生处理方法为先用纯丙酮冲洗 2 柱体积,再用纯化水冲洗完全后待用)。将 1552g 粗品用 31.7L 丙酮溶解,加入 6.4L 反相固定相吸附,蒸干溶剂后装入高压分离柱内。用实施例 2 中相同含量的流动相(pH 为 6.3)进行洗脱,流速为 350mL/min,收集含 10-DAB III 的洗脱液,减压浓缩,剩余溶液约 35L,15℃ 下静置析晶 4h,晶体进行抽滤,滤饼在 45℃ 下干燥 56h,得固体 460.4g,检测 10-DAB III 含量为 99.3%,一次主收率为 74.3%。

[0064] 由图 4 可知,实施例 3 得到了纯度较高的成品 10-DAB III。

[0065] 实施例 4

[0066] (1) 取 500kg 粉碎后的欧洲红豆杉枝叶,装入 6m<sup>3</sup> 渗滤罐内,加入体积百分比为 0.2% 的乙二酸水溶液(温度为 65℃)进行渗滤,渗滤液分批混匀,共约 9200m<sup>3</sup>,HPLC 检测 10-DAB III 有效量约 610g。

[0067] (2) 将实施例 3 使用的树脂再生处理后吸附渗滤液(树脂再生处理方法为先用甲醇冲洗 2 柱体积后再用饮用水冲洗至流出液密度 0.97g/cm<sup>3</sup> 以上后待用)。全部吸附后用乙酸乙酯进行洗脱,将洗脱液(约 480L)进行浓缩干燥得干膏约 17kg,在干膏中加入 102L 乙腈在 50℃ 下溶解结晶,5℃ 静置 3h 后抽滤,将滤饼干燥得粗品 1487g,检测 10-DAB III 含量为 36.6%。

[0068] (3) 将实施例 3 使用的空白反相固定相进行再生处理(反相固定相再生处理方法为先用乙醇冲洗 2 柱体积,再用纯化水冲洗完全后待用)。将 1487g 粗品用 16.4L 丙酮溶解,加入 8.7L 反相固定相吸附,蒸干溶剂后装入高压分离柱内。用不同含量的丙酮水溶液(体积百分含量分别为 15%、35%、55%、85%)作为流动相(pH 为 6.6)进行洗脱,流速为 194mL/min,收集含 10-DAB III 的洗脱液,减压浓缩,剩余溶液约 28L,20℃ 下静置析晶 10h,晶体进行抽滤,滤饼在 30℃ 下干燥 80h,得固体 459.4g,检测 10-DAB III 含量为 99.2%,一次主收率为 74.1%。

[0069] 实施例 5

[0070] (1) 取 500kg 粉碎后的欧洲红豆杉枝叶,装入 6m<sup>3</sup> 渗滤罐内,加入体积百分比为 5% 的柠檬酸水溶液(温度为 30℃)进行渗滤,渗滤液分批混匀,共约 8900m<sup>3</sup>,HPLC 检测 10-DAB III 有效量约 599g。

[0071] (2) 将实施例 4 使用的树脂再生处理后吸附渗滤液(树脂再生处理方法为先用乙酸乙酯冲洗 2 柱体积再用饮用水冲洗完全后,用甲醇冲洗 2 柱体积再用饮用水冲洗至流出液密度 0.97g/cm<sup>3</sup> 以上后待用)。全部吸附后用乙酸乙酯进行洗脱,将洗脱液(约 520L)进行浓缩干燥得干膏约 16kg,在干膏中加入 32L 乙腈在 80℃ 下溶解结晶,20℃ 静置 10h 后抽滤,将滤饼干燥得粗品 1470g,检测 10-DAB III 含量为 36.1%。

[0072] (3) 将实施例 4 使用的空白反相固定相进行再生处理(反相固定相再生处理方法为先用乙醇冲洗 2 柱体积,再用纯化水冲洗完全后待用)。将 1470g 粗品用 37.1L 丙酮溶解,

加入 2.2L 反相固定相吸附, 蒸干溶剂后装入高压分离柱内。用不同含量的丙酮水溶液(体积百分含量分别为 25%、45%、65%、90%)作为流动相(pH 为 3.0)进行洗脱, 流速为 644mL/min, 收集含 10-DAB III 的洗脱液, 减压浓缩, 剩余溶液约 28L, 5℃下静置析晶 3h, 晶体进行抽滤, 滤饼在 70℃下干燥 30h, 得固体 457.8g, 检测 10-DAB III 含量为 99.0%, 一次主收率为 73.7%。

[0073] 申请人声明, 本发明通过上述实施例来说明本发明的详细工艺设备和工艺流程, 但本发明并不局限于上述详细工艺设备和工艺流程, 即不意味着本发明必须依赖上述详细工艺设备和工艺流程才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了, 对本发明的任何改进, 对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等, 均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

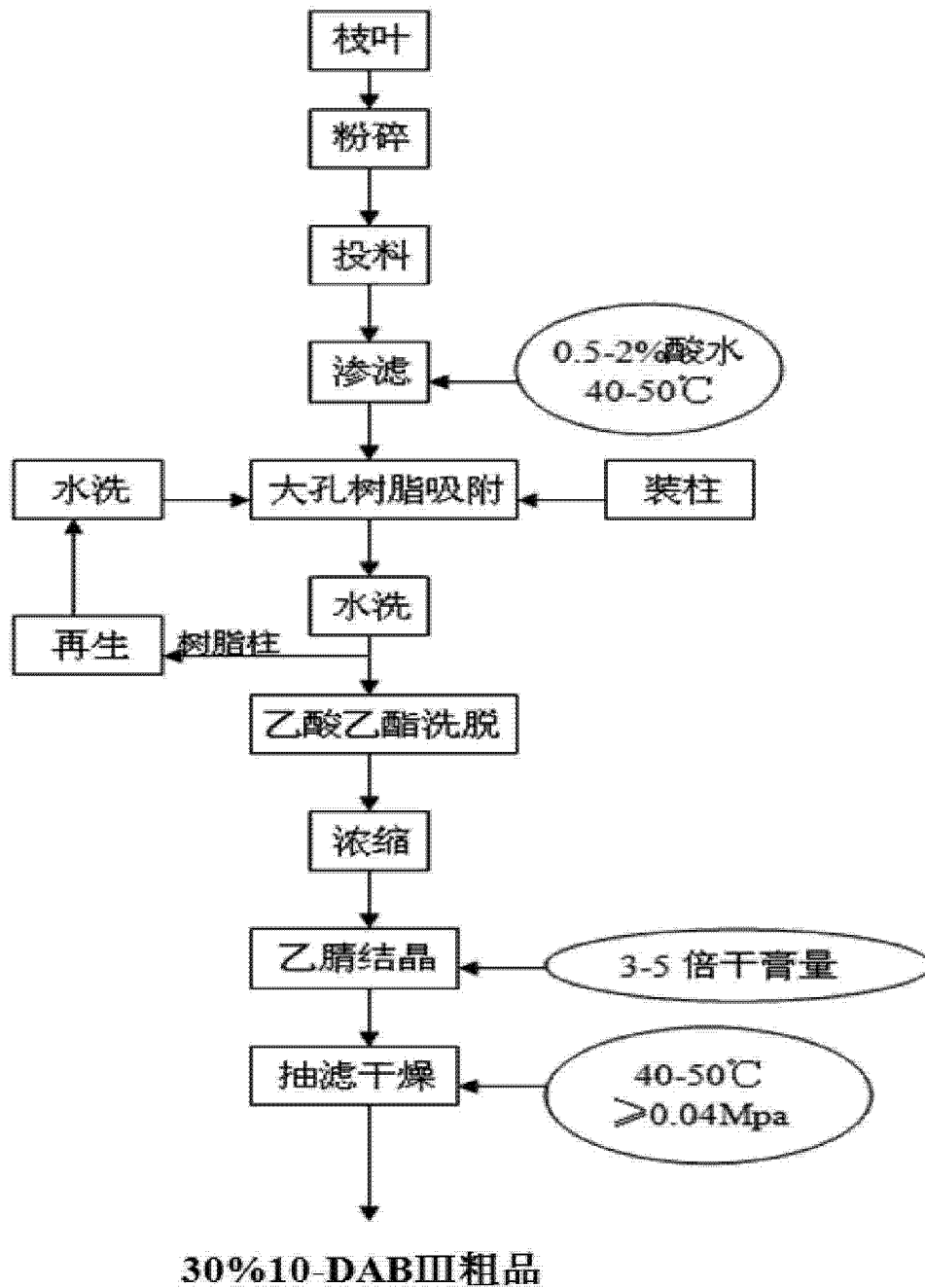


图 1

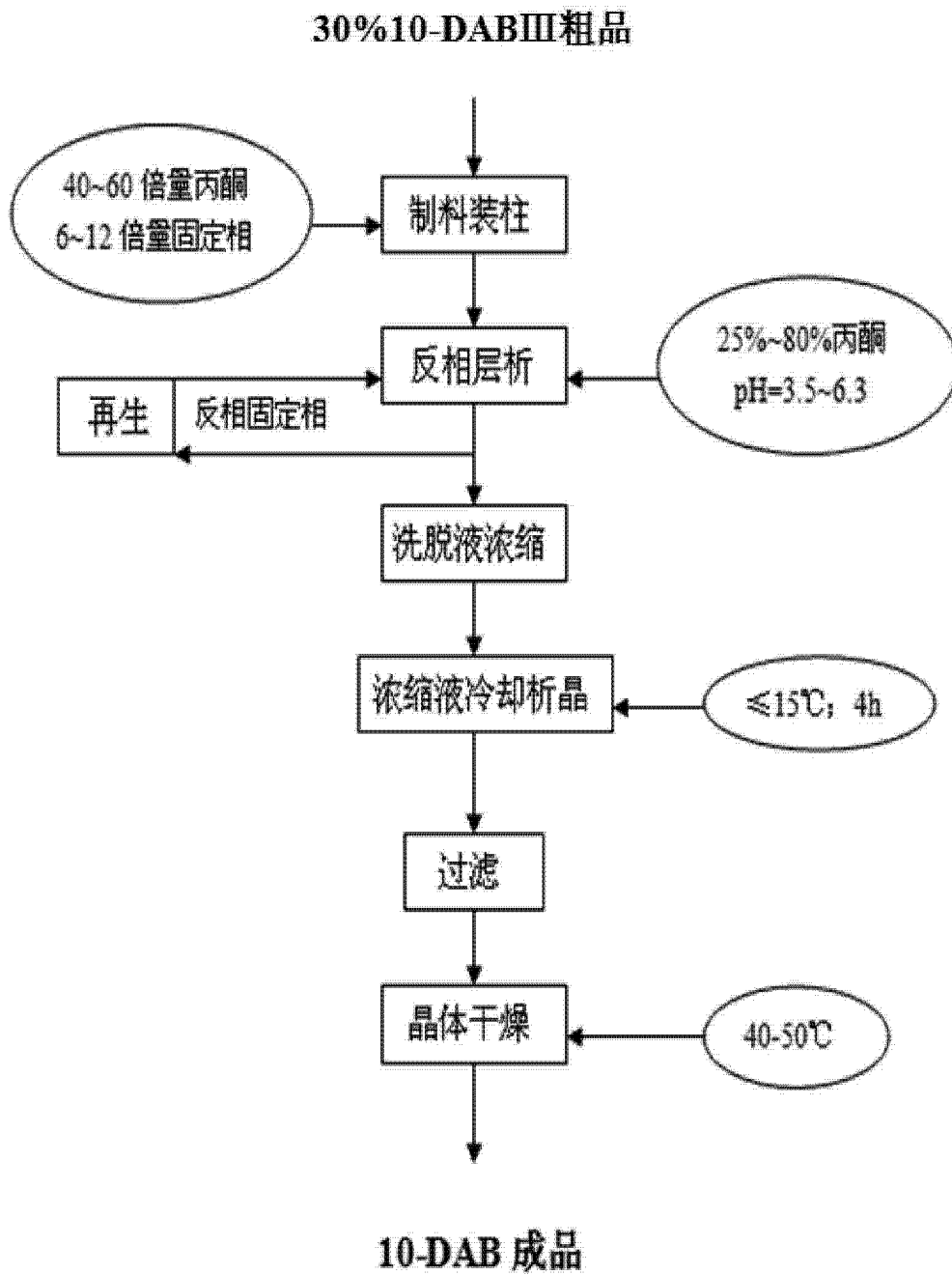


图 2

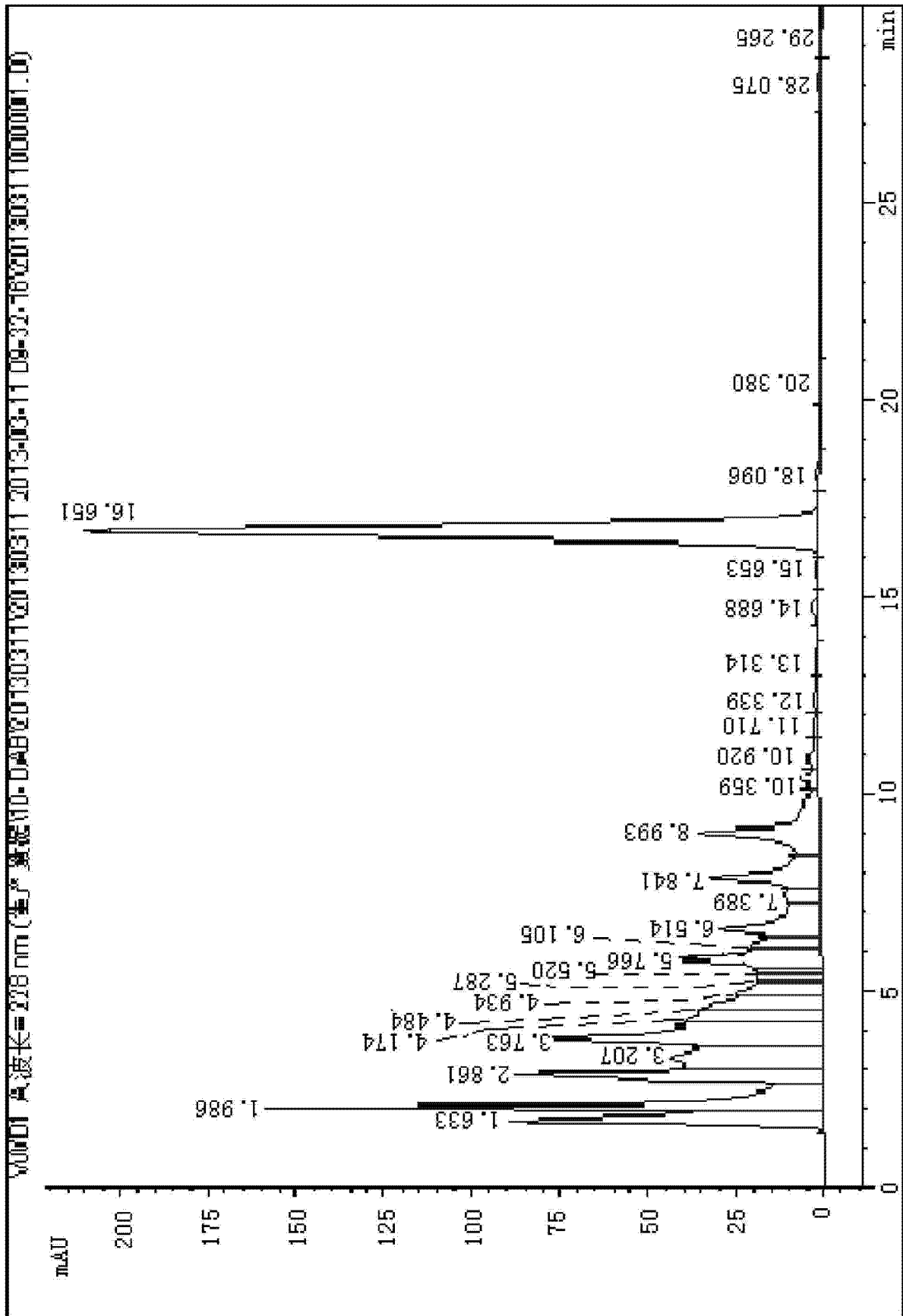


图 3

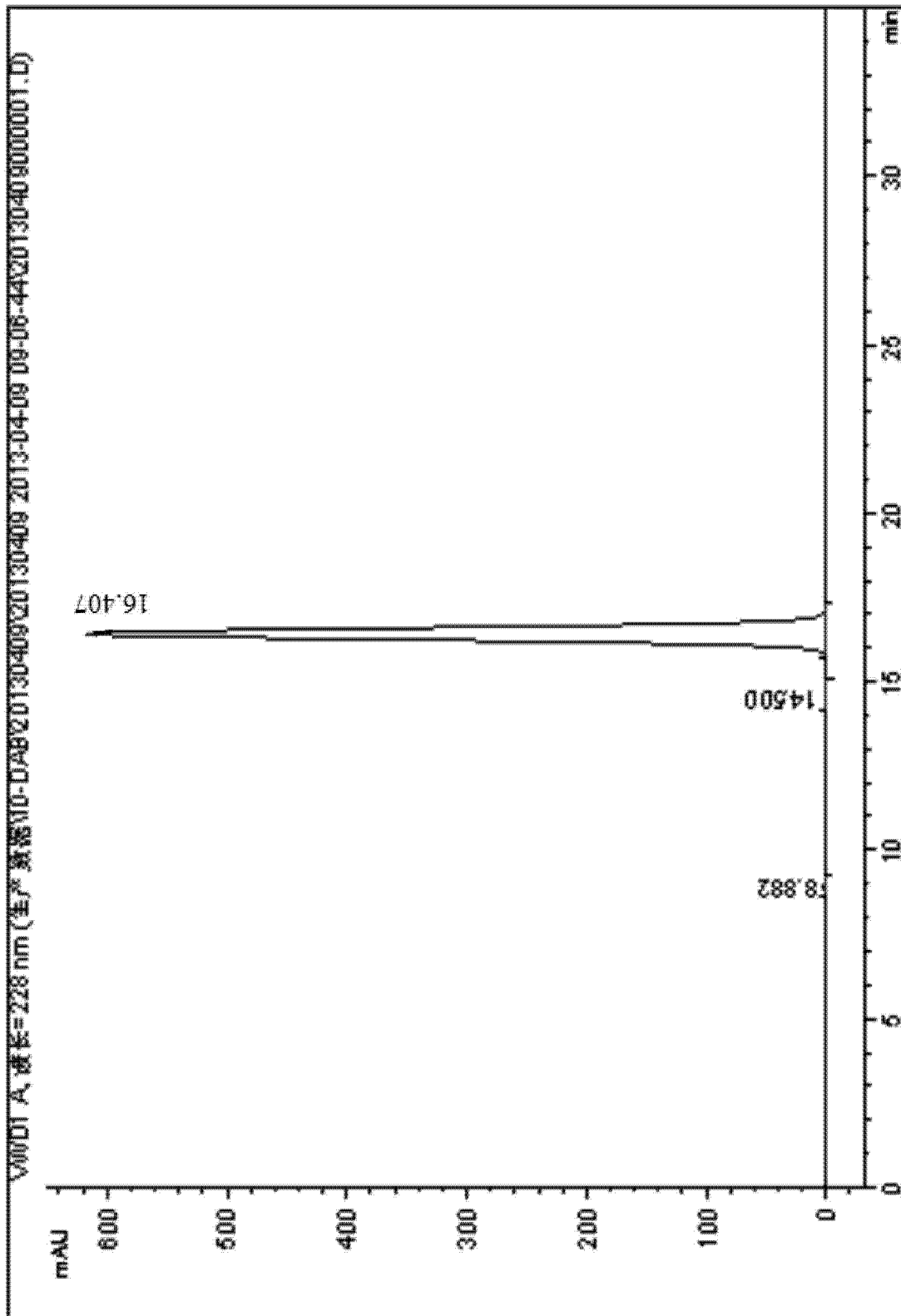


图 4