



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103848740 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201210499594. 6

(22) 申请日 2012. 11. 30

(73) 专利权人 沈阳药科大学

地址 110136 辽宁省沈阳市沈北新区道义大街 168 号

(72) 发明人 赵余庆 唐伟卓

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.

C07C 69/732(2006. 01)

C07C 67/48(2006. 01)

C07C 67/56(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101020637 A, 2007. 08. 22, 全文.

CN 1796362 A, 2006. 07. 05, 全文.

CN 1995007 A, 2007. 07. 11, 说明书实施例

1、实施例 2、实施例 12 以及权利要求 1-5.

唐伟卓 等. 紫苏、亚麻籽油粕中迷迭香酸的闪式提取 (STE) 与 HPLC 测定. 《2010 年中国药学会暨第十届中国药师周大会论文集》. 2011,

周平 等. 大孔吸附树脂分离纯化迷迭香酸的研究. 《离子交换与吸附》. 2011, 第 27 卷 (第 4 期), 304-314.

审查员 张鑫松

权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54) 发明名称

一种从植物油粕中制备迷迭香酸的方法

(57) 摘要

本发明提供了从食用油加工副产物植物油粕中制备迷迭香酸的方法。该方法为将榨完油后的植物油粕以适量乙醇浸渍、回流或超声提取,提取液调 pH 至酸性后离心过滤,滤液经两步上大孔树脂或离子交换树脂或聚酰胺树脂进行色谱纯化,最终获得高纯度的迷迭香酸。该方法以廉价的油粕资源作为原料制备天然抗氧化剂迷迭香酸,工艺简便,操作易行,适合工业化生产,具有以下优点:(1) 制备原料来源广泛、价格低廉、实现了对废弃资源的再次利用、增加了其附加值;(2) 迷迭香酸制备过程采用无毒的乙醇溶液,利于回收、循环使用、成本低、安全、环保。

1. 一种从植物油粕中制备迷迭香酸的方法,其特征是将含迷迭香酸的植物油粕加入提取试剂中进行提取,提取液用 pH 调节剂调至酸性后,离心,上清液上大孔树脂富集迷迭香成分,用水或低浓度的乙醇溶液洗脱后再用中等浓度的乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩得富集物,然后将富集物用水溶解,进一步上聚酰胺柱进行纯化,用水或低浓度的乙醇溶液洗脱后再用中等浓度的乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩,放置,结晶,重结晶,干燥得迷迭香酸;所述的植物油粕选自紫苏、亚麻的油粕;

提取所用溶剂为水、酸性水、甲醇或其水溶液、乙醇或其水溶液或者为丙酮或其水溶液,所述的大孔树脂为非极性大孔树脂或极性大孔树脂,所述的非极性大孔树脂选自 AB-8、ADS-17、HPD100、HPD-400A、HPD450、HPD700、HPD826、SP825,所述的极性大孔树脂选自 ADS-7、HPD400A;

大孔树脂富集迷迭香成分的步骤如下:

(1) 大孔树脂用 95% 乙醇溶胀后,去除乙醇,用水装柱;(2) 将植物油粕提取物配成 5-8mg/mL 浓度,用盐酸调 pH 为 4-5 之间湿法上树脂柱,用水和 10-30% 乙醇水溶液去除杂质;(3) 以浓度 30%-80% 的乙醇水溶液进行洗脱,得到迷迭香酸富集物;

聚酰胺柱层析纯化迷迭香成分的步骤如下:

(1) 聚酰胺树脂用 95% 乙醇溶胀后,去除乙醇,用水装柱;(2) 将大孔树脂富集物用水溶解,上柱,用水和 10%-50% 乙醇水溶液去除杂质;(3) 以 30%-80% 乙醇溶液进行洗脱,得到高纯度的迷迭香酸。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,提取所用溶剂为 10-100% 乙醇水溶液、盐酸水溶液或硫酸水溶液。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,提取所用溶剂为 70% 乙醇水溶液。

4. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述提取方法采用闪式提取,提取过程中,溶剂剂量为药材的 1-10 倍;所述的 pH 调节剂选自硫酸、盐酸、磷酸或醋酸。

5. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述提取方法采用闪式提取,提取过程中,溶剂剂量为药材的 5 倍。

6. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,大孔树脂富集迷迭香成分的步骤(2)中的乙醇水溶液浓度为 20%,步骤(3)中乙醇水溶液浓度为 60%。

7. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,聚酰胺柱层析纯化迷迭香成分的步骤(2)中乙醇水溶液浓度为 50%,步骤(3)中乙醇水溶液浓度为 70%。

8. 根据权利要求 1、6 或 7 所述的方法,其特征在于:所述各步骤中,洗脱体积为 3-8 个柱体积。

9. 根据权利要求 1、6 或 7 所述的方法,其特征在于:所述各步骤中,洗脱体积为 5 个柱体积。

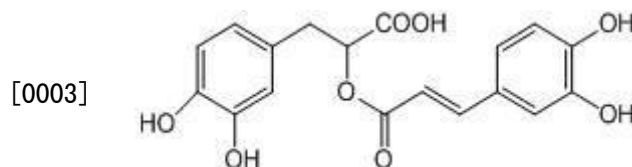
一种从植物油粕中制备迷迭香酸的方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一种从植物油粕中制备迷迭香酸的方法。

背景技术

[0002] 迷迭香酸(Rosmarinic acid, 结构如下)是一种多元酚酸类物质,在自然界中主要存在于紫草科、唇形科、五加科、葫芦科、梧桐科等多种植物及其亚属中。最早由两位意大利化学家 Scarpati 和 Oriente 从迷迭香属 (*Rosmarinus officinalis* L) 植物中分离得到纯化合物单体,故由此得名。它的化学结构属于咖啡酸的二聚体衍生物,分子式为 $C_{18}H_{16}O_8$, 化学命名为 $[R(E)]-\alpha-\{[3-(3,4\text{-二羟基苯基})-1\text{-氧代-2-丙烯基}]氧基\}-3,4\text{-二羟基苯烯酸}$ 。结构式如下:



[0004] 迷迭香酸 (Rosmarinic acid) 结构式

[0005] 研究表明,酚酸、有机酸类化合物具有很强的抗氧化能力,这与该类化合物结构中含有一定数量的酚羟基有关。迷迭香酸有很强的抗氧化性,其抗氧化活力强于维生素 E。迷迭香酸有助于防止自由基造成的细胞受损,因此降低了癌症和动脉硬化的风险。它也被用于食品防腐。在日本,富含迷迭香酸的紫苏提取物被当作装饰物来改善新鲜海产品的保质期。因此,迷迭香酸已经被开发为食品抗氧化剂,用于油脂、富油食品中防腐抗菌,并广泛应用于医药、食品、化工行业。

[0006] 此外,研究还证明,迷迭香酸对中枢神经系统、心血管系统、内分泌系统、物质代谢等均有影响。具有抗菌、抗炎、抗过敏反应、护肝、抗血小板和血栓、抗抑郁以及防护紫外线等活性。

[0007] 基于迷迭香酸广泛的生物活性,可以针对此特性对其进行适当结构修饰,或将其与具备较好临床活性的药物进行组合、开发新型组合药物服务于医疗事业。

[0008] 如专利 (CN200480009147.1) 公开了将迷迭香酸与冰片以及至少一种人参皂苷进行组合,开发出新的组合药物用于治疗心脏病和其他心血管疾病。连晓媛等 (CN200710067381.5) 公开了将提取的迷迭香酸制备成酯化衍生物与其他植物提取物混合成制剂,用于抗消化道肿瘤和其它肿瘤,以及与化疗药或放疗手段合用进行抗肿瘤治疗的增效、减毒应用。

[0009] 专利 (CN200510045429.3) 公开了将迷迭香酸与乳糖、羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁等制成片剂,首次考察了其在治疗或预防急慢性肾功能衰竭疾病中的应用。谢俊霞等 (CN201010125018.6) 发明了将迷迭香酸与杨梅黄酮按一定摩尔浓度进行配比,开发成复合制剂用于神经保护,发现该药物能够保护 MES23.5 多巴胺,使细胞免受神经毒素 6-OHDA 的损伤,副作用小,为开发成为一种新型抗帕金森病的天然新药提供了重要的参考。

[0010] 蒋王林等 (CN201010173649.5) 等公开了将迷迭香酸制成冻干粉针、片剂或滴丸形式,采用口服或注射方式给药,发现其可以在治疗或预防肾纤维化疾病中发挥应用。此外,专利 (CN200310117349.5) 还介绍了一个迷迭香酸苷新化合物具有抗艾滋病、肝炎和治疗心脑血管疾病的作用。

[0011] 由上可见,迷迭香酸是一种具有极大应用前景的化合物。自然界中,迷迭香酸来源广泛,其在各种天然植物中含量也存在差异,其中丹参、山香、紫苏和夏枯草含量较高。故如何能够最大程度的从植物中富集并制备迷迭香酸成为了开发、应用迷迭香酸的首要问题。

[0012] 迷迭香酸属于多酚类物质,含有多个酚羟基,具有一定的酸性。制备该类化合物最大的难点在于它们很容易降解、氧化,尤其在高温、光照和高 pH 条件下更加不稳定。

[0013] 传统制备方法主要是硅胶柱层析法:热水提取植物药材,浸膏上硅胶柱,用氯仿甲醇系统多次洗脱。另外,应用近十年新发展的分离纯化新技术:高速逆流色谱法 [黄亮辉,赵英永,王李丽等.高速逆流色谱分离纯化紫苏叶中迷迭香酸 [J].药物分析杂志.2011,31(11):2087

[0014] -2090]、超临界萃取法 [陈四利,张冲,李嘉诚等.超临界二氧化碳萃取迷迭香中迷迭香酸的工艺研究 [J].时珍国医国药.2008,19(12):2934-2935.] 对迷迭香酸进行制备也有报道。但是,上述方法不同程度存在着使用成本高、制备周期长、使用有机试剂的缺点。因此,限制了它们的大规模应用但该法耗时长、成本高,没有得到普遍应用。

[0015] 大孔树脂又称全多孔树脂,聚合物吸附剂,它是一类以吸附为特点,对有机物具有浓缩、分离作用的高分子聚合物,是上世纪六十年代末离子交换技术领域的重要发展之一。它不仅适合离子型化合物如生物碱、有机酸类的分离和纯化,而且也适合非离子型化合物如黄酮类、萜类的分离纯化。近年来,大孔树脂被广泛的用于天然药物有效部位及化学成分的分离纯化,并已成功应用到工业化生产中。

[0016] 聚酰胺系有酰胺聚合而成的一类大分子化合物。广泛应用于黄酮类、酚酸类、木脂素类等各种极性、非极性化合物的分离。特别是在黄酮类、酚酸类等多元酚类化合物、含有羧基的化合物以及含有羰基的化合物的分离中具有独特的优势。

[0017] 大孔树脂和聚酰胺树脂除了在分离纯化方面具有独特的优势外,由于它们的洗脱过程多采用乙醇水系统,且能够循环使用。因此在整个色谱过程中安全、环保、成本低,非常适合于工业化应用。而同时迷迭香酸作为酚酸类化合物,结构中含有酚羟基和羧基,极性较大,在水溶液中多以离子型存在,所以非常适合大孔树脂和聚酰胺树脂进行分离、富集和制备。

[0018] 近年来,有关运用大孔树脂和聚酰胺树脂进行迷迭香酸初步纯化和制备的报道有很多,如:许定舟等 (CN201110330595.3) 等公开了一种从迷迭香酸含量较高的藏丹参中获得迷迭香酸产品的方法。其操作步骤为:将药材粉碎后用 70% 乙醇水提取,提取液调 pH 至 2.5-3.5,上大孔树脂柱,依次用水、60% 乙醇水洗脱,收集洗脱液浓缩,喷雾干燥得纯度为 30% 左右的迷迭香酸。

[0019] 展鹏远等 (CN20071017142.9) 公开了采用大孔树脂从紫苏叶中初步制备迷迭香酸的方法。将紫苏叶用 pH 为 3 的柠檬酸水浸泡,过滤后提取液上大孔树脂,依次用醇水溶液洗脱,将收集液浓缩,获得纯度为 10% 的粗品。

[0020] 专利 (CN200710067381.5) 公开了从植物肿节风中提取高纯度的迷迭香酸的方

法,采用大孔树脂和反相柱层析联合技术,经过3次反复洗脱最终获得纯度大于90%的迷迭香酸。

[0021] 专利(CN200410075747.X)公开了以紫苏叶为原料,酸水浸提,提取液上大孔树脂,10%馏分用石油醚萃取获得50%纯度的迷迭香酸,然后再次用大孔树脂进行纯化,最终获得纯度>95%的迷迭香酸产品。

[0022] 曲桂武等(CN200510131129.7)发明了将含迷迭香酸的药材以醇水浸渍、渗漉或超声提取后,提取液加入抗氧化剂后上聚酰胺柱层析,先用低浓度30%乙醇洗脱杂质,然后用60%浓度乙醇洗脱迷迭香酸成分,经结晶、干燥得到高纯度的迷迭香酸。

[0023] 由上可知,现有技术利用大孔树脂和聚酰胺树脂可以对迷迭香酸进行初步富集,一般经过一次的柱层析过程,能够显著提高迷迭香酸的含量。但是,要制备高浓度的迷迭香酸产品,则需要至少两次或以上的树脂和层析反复操作,而且此过程中还需要采用石油醚或二氯甲烷等有机试剂进行萃取或纯化。因此,整个过程并没有完全实现安全、绿色和经济的要求。

[0024] 紫苏和亚麻为常见的两种油料作物,它们含有丰富的不饱和脂肪酸。紫苏油中 α -亚麻酸含量高达55%-65%,是优良的保健食用油。亚麻籽中也含有近52%的 α -亚麻酸,是迄今为止生物圈中生产成本最低,富含 α -亚麻酸植物。我国作为重要的粮油出口大国,有数据统计,07年我国的产油量达到900多万吨,由此伴随油脂加工产生了大量的植物油粕。这些榨取油后剩余的残渣富含蛋白质及纤维,因此,目前对这些油粕的利用主要集中于提取里面的粗蛋白开发成饲料喂养家畜,此外也有利用油粕提取植酸和单宁的报道。但总体来说,对油粕中非蛋白类成分的研究和综合利用度不高。近年来,我们在对植物油粕中的非油脂性成分进行了研究,发现油粕含有一系列酚酸和有机酸类成分如迷迭香酸、熊果酸、齐墩果酸、儿茶素、表儿茶素等。因此,这为我们进一步开发油粕资源提供了新的思路。

[0025] 此外,闪式提取技术作为一种快速提取植物中有效化学成分的技术,其原理主要运用高速机械剪切力和超动分子渗透技术,在室温条件下数秒钟内把植物的根、茎、叶、花、果实等物料破碎至细微颗粒,使有效成分迅速达到组织内外平衡并溶解至提取溶剂中。它能够最大限度的保护植物有效成分不受热破坏,溶剂用量小、提取时间短,效率高。因此,为了进一步提高从油粕中制备迷迭香酸成分的效率,我们运用闪式提取技术实现快速提取的目的。

发明内容

[0026] 本发明提供了一种从植物油粕资源中制备迷迭香酸的方法,该方法为:将含有迷迭香酸的植物油粕以提取试剂进行闪式提取,提取液浓缩后,加入pH调节剂调整酸性后放置,离心,取上清液上大孔树脂、离子交换树脂或聚酰胺柱进行迷迭香酸的富集,用水或中等浓度的乙醇溶液洗脱后,收集富集液,再次浓缩,得富集物。将此富集物继续用适当水溶解,离心,上清液上大孔树脂和聚酰胺柱进行进一步纯化,用水或中等浓度的乙醇依次进行洗脱,收集洗脱液,回收乙醇后,调pH至酸性,放置,结晶,甲醇重结晶,干燥,即得。该发明提取阶段采用闪式提取,与传统的回流、超声提取等比较,具有提取时间短、提取效率高的特点。且常温操作,最大程度的保留了对热不稳定的迷迭香酸成分。采用树脂联用技术,使用绿色无毒的乙醇溶剂进行制备,克服了现有专利中报道仅仅采用树脂或聚酰胺一种技术

难以实现高纯度目标物制备的缺陷。并对该组合技术进行了具体参数的优选,实现安全、无毒、低成本制备迷迭香酸的目的。

[0027] 所述的植物油粕可为紫苏籽、亚麻籽、南瓜籽、核桃、油茶籽油粕等油脂加工过程中产生的废料。经 HPLC 初步测定其中迷迭香酸含量,优选将紫苏籽油粕作为制备原料。

[0028] 所用提取试剂可为水、酸性水、甲醇、乙醇、丙酮或其水溶液,其中酸性水可以为盐酸水溶液、硫酸水溶液等,优选为乙醇水溶液,乙醇浓度为 10-100%,优选为 70% 乙醇水溶液。

[0029] 1、提取方法采用闪式提取:称取适量植物油粕加入 1-10 倍量的 70% 乙醇水,于室温下闪式提取 10 min,重复 3 次,合并提取液。

[0030] 2. 加入 pH 调节剂,沉降杂质。

[0031] 迷迭香酸上的酚羟基易氧化。在中性或碱性条件下尤为严重。为保证它在溶剂中的稳定性,将上述粗提液用盐酸调 pH 至 4-5,静置过夜,溶液出现浑浊,离心去除沉淀。

[0032] 3. 大孔树脂富集油粕中迷迭香酸成分。

[0033] 表 1 9种树脂的物理性质及参数

树脂型号	表面积 (m ² /g)	平均孔径 (nm)	粒径 (mm)	极性
AB-8	480-520	130-140	0.3-1.25	弱极性
ADS-7	>100	25-30	0.3-1.25	强极性
ADS-17	90-150	25-30	0.3-1.25	弱极性
HPD-100	650-700	8-9	0.3-1.2	非极性
HPD-400A	500-550	8-9	0.3-1.2	中等极性
HPD-450	500-550	9-11	0.3-1.2	弱极性
HPD-700	650-700	8-9	0.3-1.2	非极性
HPD-826	500-600	9-10	0.3-1.25	弱极性
SP825	1000	5-6	<1.25	弱极性

[0034] 大孔树脂可以分为极性和非极性类,为了优选出适合本发明的最佳型号树脂,本发明选择了极性树脂 ADS-7 和 HPD400A 以及非极性树脂 AB-8、ADS-17、HPD100、HPD450、HPD700、HPD-826 和 SP825 树脂进行了静态和动态吸附、解吸附实验,并考察了吸附液初始浓度以及吸附液 pH 对树脂吸附能力的影响(表 1)。

[0035] 不同树脂吸附、解吸附实验考察

[0036] 分别取 2 g 上述树脂于 100mL 三角瓶中,用无水乙醇预处理后加入紫苏油粕提取液 40mL,置于恒温振荡器中,25℃下以 110 rpm/min 振荡 6 h,每隔 0.5 h 取出 1 mL 进行 HPLC 测定迷迭香酸含量,直至吸附平衡。待吸附平衡到达后,转移出吸附液,加入 20 mL 70% 乙醇溶液进行解吸实验,25℃下以 110 rpm/min 振荡 4 h,待解吸完成后,取出 1mL 进行 HPLC 测定迷迭香酸含量。结果见图 1 和图 2。

[0037] 由上述工艺考察实验,得出结论:本发明使用的大孔树脂选自 AB-8、ADS-7、ADS-17、HPD-100、HPD-400A、HPD-450、HPD-700、HPD-826、SP825。非极性大孔树脂对迷迭香酸的吸附、解吸附能力要强于极性大孔树脂,其中 SP825、ADS-17 和 HPD700 树脂对迷迭香酸的吸附/解吸附效果较好。结合吸附总量及达到吸附平衡所需时间考虑,最终优选 SP825 树脂作为本发明中使用的大孔树脂。

[0038] 不同吸附母液初始浓度以及 pH 对树脂的影响考察

[0039] 将紫苏油粕提取液分别配成 5、8、10、16、20 mg/mL 的浓度,依次在 25℃、30℃和 35℃下按上述方法进行吸附/解吸附实验,结果见表 2。

[0040] 表 2 不同初始浓度及不同温度下 SP825树脂对迷迭香酸吸附水平表

[0041]

初始浓度 (mg/mL)	25℃		30℃		35℃	
	吸附量 (mg/g)	吸附率 (%)	吸附量 (mg/g)	吸附率 (%)	吸附量 (mg/g)	吸附率 (%)
5	4.16	99.5	4.32	99.9	4.32	99.9
8	8.11	98.4	8.23	99.8	8.13	98.6
10	11.73	96.2	11.75	98.7	11.48	96.4
16	12.82	91.5	12.82	91.1	12.31	92.9
20	17.32	86.2	16.07	89.2	15.41	85.6

[0042] 由图 2 中可知,随着初始浓度的增加,迷迭香酸在树脂上的吸附量也随之增加,但是当浓度大于 8 mg/mL 时,吸附率开始显著下降。树脂对迷迭香酸的吸附量随着温度的升高呈下降趋势。因此,吸附母液初始浓度为 5-8 mg/mL,优选最佳条件为:吸附母液初始浓度为 8 mg/mL 于室温下进行吸附。

[0043] 另外,还考察了不同酸性条件下,以 SP825 树脂为例,对迷迭香酸的吸附水平,结果见表 3。

[0044] 表 3 不同酸性条件下 SP825树脂对迷迭香酸的吸附水平

[0045]

pH 值	吸附量(mg/g)
3	2.58
4	3.01
5	3.04
6	2.98
7	2.84

[0046] 可知,迷迭香酸在 pH 4-5 时可以在优选树脂上实现最大吸附量,这一结果与迷迭香酸在酸性条件下稳定存在的结论一致。因此,最佳吸附溶液 pH 条件优选为 4-5。

[0047] 按上述发明,使用大孔树脂进行富集迷迭香酸的步骤为:(1) 大孔树脂用 95% 乙醇溶胀后,去除乙醇用水装柱(2) 将植物油粕提取物配成 5-8mg/mL 浓度,用盐酸调 pH 为 4-5 之间湿法上树脂柱,用水和低浓度的乙醇水溶液去除杂质(3) 以适当浓度的乙醇水溶液进

行洗脱,得到迷迭香酸富集物。

[0048] 上述步骤(2)中的乙醇水溶液,浓度为10-30%,优选为20%,洗脱体积为3-8个柱体积,优选为5个柱体积。

[0049] 上述步骤(3)中乙醇水溶液,浓度为30%-80%,优选为60%,洗脱体积为3-8个柱体积,优选为5个柱体积。

[0050] 4. 采用聚酰胺树脂从富集物中制备迷迭香酸

[0051] 采用聚酰胺树脂进行色谱分离的步骤为:(1)聚酰胺树脂用95%乙醇溶胀后,去除乙醇用水装柱(2)将大孔树脂富集物用水溶解,上柱,用水和中等浓度的醇水溶液去除杂质(3)以适当浓度的乙醇溶液进行洗脱,得到高纯度的迷迭香酸。

[0052] 上述步骤(2)中乙醇水溶液浓度为10%-50%,优选为50%,洗脱体积为3-8个柱体积,优选为5个柱体积。

[0053] 上述步骤(3)中乙醇水溶液,浓度为30%-80%,优选为70%,洗脱体积为3-8个柱体积,优选为5个柱体积。

[0054] 所述聚酰胺为尼龙-6型(孔径75-150 μm ;表面积5-10 m^2/g)。

[0055] 5. 结晶、重结晶与干燥

[0056] 结晶与重结晶的步骤为:(1)收集聚酰胺70%乙醇水洗脱液,浓缩;(2)调节浓缩液至酸性,避光保存;(3)干燥结晶,结晶为棕色粉末,用适当溶剂洗去色素,进行重结晶,得高纯度的白色粉末。

[0057] 上述步骤(1)中,浓缩可以采用加热常压或加热减压。优选为加热减压,加热温度为0-100℃,优选为55℃,减压时真空度为-0.1MPa。

[0058] 上述步骤(2)中,pH调节剂可以为盐酸、硫酸或其他无机酸,优选为盐酸,溶液pH可以调节为1-6,优选为4-5。

[0059] 上述步骤(3)中,重结晶溶剂可以选择甲醇、丙酮、乙醇或其水溶液,优选为甲醇。

[0060] 在本发明所涉及的迷迭香酸制备方法中,溶剂提取药材采用常温,避免了迷迭香酸的降解,提取液加入适当酸性试剂以及最后步骤采用酸性调节,可以有利于保持迷迭香酸的稳定性。

[0061] 本发明首次进行了各种极性、非极性的大孔树脂对紫苏油粕中迷迭香酸的吸附、解吸附能力的工艺考察,优选出最佳树脂型号为SP825树脂。此外,还考察了不同吸附液初始浓度和pH对树脂吸附能力的影响,优选出最佳初始液浓度为8mg/mL,最佳pH为4-5。

[0062] 本发明首次采用闪式提取和树脂联用技术,采用闪式提取技术,快速实现从紫苏油粕中提取有效成分,然后上大孔树脂富集迷迭香酸馏分,再上聚酰胺柱进一步纯化、制备迷迭香酸。该发明过程中使用的均为无毒的乙醇水溶剂,易于回收,安全、环保、无毒。此外,经使用后的大孔树脂和聚酰胺树脂也可实现再生,循环使用,这可以从经济上节约成本、利于普及应用。

[0063] 本发明首次采用油脂工业中产生的副产品紫苏油粕作为原料,提取、制备具有广泛活性的迷迭香酸物质,开发了这种废弃资源的新用途,增加了其利用度。此外,紫苏油粕经该发明提取出迷迭香酸后不存在有机试剂残留,仍然可以继续实现其提取植物蛋白,单宁等现有的工业用途。这为紫苏油粕资源的再次利用提供了新的思路,可以创造出新附加值,适合工业化应用。

附图说明

- [0064] 图 1 为不同型号树脂对迷迭香酸吸附 / 解吸附能力与解吸率比较。
[0065] 图 2 为不同型号树脂对迷迭香酸的吸附曲线图。
[0066] 图 3 为迷迭香酸测定的 HPLC 图。
[0067] 其中, A 为按本发明实施的紫苏油粕提取物中迷迭香酸测定的 HPLC 图,
[0068] B 为按本发明实施经 SP825 树脂富集后馏分中迷迭香酸测定的 HPLC 图,
[0069] C 为按本发明实施经聚酰胺树脂纯化后迷迭香酸测定的 HPLC 图。

具体实施方式

[0070] 实施例 1:

[0071] 称取 1 kg 紫苏籽油粕, 加入 5 倍量的 70% 乙醇水, 于室温下闪式提取 10 min, 重复 3 次, 合并提取液, 得浸膏。称取 1.0 g 提取浸膏, 用 125 mL 去离子水超声溶解, 加入盐酸调 pH 值为 4, 离心后上清液作为树脂柱上样液。另称取 4 g SP825 型号树脂, 用无水乙醇溶胀, 8 h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5 × 30 cm), 柱高约 6 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换, 直至最后用水冲至明显无乙醇味, 且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。上样液流出速度控制为 1 mL/min 时, 将 125 mL 浸膏溶解液缓缓加入柱中, 待加完后, 树脂柱静置 8 h。待吸附完全后, 依次用水、20%、60% 乙醇进行洗脱, 洗脱流速为 1 mL/min, 各浓度洗脱量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 60% 乙醇洗脱液, 回收溶剂得迷迭香酸富集物约 207 mg。

[0072] 取 4 g 聚酰胺(尼龙-6 型(孔径 75-150 μm; 表面积 5-10 m²/g)), 用无水乙醇溶胀, 8

[0073] h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5 × 30 cm), 柱高约 5 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换, 直至最后用水冲至明显无乙醇味, 且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。将迷迭香酸富集物 207 mg 用 5 mL 去离子水溶解, 以 1 mL/min 速度上样, 加完后, 静置 8 h。待吸附完全后, 依次用水、50%、70% 乙醇进行洗脱, 洗脱速度为 1 mL/min, 每个浓度接收量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 70% 乙醇洗脱液(每 1 BV 一接), 回收溶剂, 得 70% 纯化物约 10 mg。经 HPLC 测定, 迷迭香酸纯度为 91.16 %。

[0074] 实施例 2:

[0075] 称取 1 kg 紫苏籽油粕, 加入 5 倍量的 70% 乙醇水, 于室温下闪式提取 10 min, 重复 3 次, 合并提取液, 得浸膏。称取 1.0 g 提取浸膏, 用 200 mL 去离子水超声溶解, 加入盐酸调 pH 值为 5, 离心后上清液作为树脂柱上样液。另称取 4 g SP825 型号树脂, 用无水乙醇溶胀, 8 h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5 × 30 cm), 柱高约 6 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换, 直至最后用水冲至明显无乙醇味, 且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。上样液流出速度控制为 1 mL/min 时, 将 125 mL 浸膏溶解液缓缓加入柱中, 待加完后, 树脂柱静置 8 h。待吸附完全后, 依次用水、20%、50% 乙醇进行洗脱, 洗脱流速为 1 mL/min, 各浓度洗脱量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 50% 乙醇洗脱液, 回收溶剂得迷迭香酸富集物约 130 mg。

[0076] 取 4 g 聚酰胺(尼龙-6 型(孔径 75-150 μm; 表面积 5-10 m²/g)), 用无水乙醇溶

胀,8 h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5×30 cm), 柱高约 5 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换,直至最后用水冲至明显无乙醇味,且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。将迷迭香酸富集物 130 mg 用 5 mL 去离子水溶解,以 1 mL/min 速度上样,加完后,静置 8 h。待吸附完全后,依次用水、50% 乙醇进行洗脱,洗脱速度为 1 mL/min,每个浓度接收量依次为 5、5 个保留体积。收集 50% 乙醇洗脱液(每 1 BV 一接),回收溶剂,得 50% 纯化物约 7 mg。经 HPLC 测定,迷迭香酸纯度为 90.42 %。

[0077] 实施例 3:

[0078] 称取 1 kg 紫苏籽油粕,加入 5 倍量的 70% 乙醇水,于室温下闪式提取 10 min,重复 3 次,合并提取液,得浸膏。称取 1.0 g 提取浸膏,用 125 mL 去离子水超声溶解,加入盐酸调 pH 值为 4 左右,离心后上清液作为树脂柱上样液。另称取 4 g HPD700 型号树脂,用无水乙醇溶胀,8 h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5×30 cm), 柱高约 6 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换,直至最后用水冲至明显无乙醇味,且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。上样液流出速度控制为 1 mL/min 时,将 125 mL 浸膏溶解液缓缓加入柱中,待加完后,树脂柱静置 8 h。待吸附完全后,依次用水、20%、80% 乙醇进行洗脱,洗脱流速为 1 mL/min,各浓度洗脱量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂得迷迭香酸富集物约 190 mg。

[0079] 取 4 g 聚酰胺(尼龙-6 型(孔径 75-150 μ m; 表面积 5-10 m^2/g)),用无水乙醇溶胀,8 h 后湿法装入玻璃柱中 (1.5×30 cm), 柱高约 5 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换,直至最后用水冲至明显无乙醇味,且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。将迷迭香酸富集物 130 mg 用 5 mL 去离子水溶解,以 1 mL/min 速度上样,加完后,静置 8 h。待吸附完全后,依次用水、50%、70% 乙醇进行洗脱,洗脱速度为 1 mL/min,每个浓度接收量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 70% 乙醇洗脱液(每 1 BV 一接),回收溶剂,得 70% 纯化物约 8 mg。经 HPLC 测定,迷迭香酸纯度为 90.14 %。

[0080] 实施例 4:

[0081] 称取 1 kg 紫苏籽油粕,加入 5 倍量的 70% 乙醇水,于室温下闪式提取 10 min,重复 3 次,合并提取液,得浸膏约 110 g。将浸膏用 1.25 L 去离子水超声溶解,加入盐酸调 pH 值为 4 左右,离心后上清液作为树脂柱上样液。另称取 500 g HPD100 型号树脂,用无水乙醇溶胀,8 h 后湿法装入玻璃柱中 (3.5×60 cm), 柱高约 50 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换,直至最后用水冲至明显无乙醇味,且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。上样液流出速度控制为 1 mL/min 时,将浸膏溶解液缓缓加入柱中,待加完后,树脂柱静置 8 h。待吸附完全后,依次用水、20%、60% 乙醇进行洗脱,洗脱流速为 1 mL/min,各浓度洗脱量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 60% 乙醇洗脱液,回收溶剂得迷迭香酸富集物约 9 g。

[0082] 取 40 g 聚酰胺(尼龙-6 型(孔径 75-150 μ m; 表面积 5-10 m^2/g)),用无水乙醇溶胀,8 h 后湿法装入玻璃柱中 (3×50 cm), 柱高约 40 cm。然后依次用低浓度的乙醇将柱中无水乙醇进行替换,直至最后用水冲至明显无乙醇味,且流出液回收溶剂后回收瓶底无残留物时即准备上样。将迷迭香酸富集物 9 g 用约 100 mL 去离子水溶解,以 1 mL/min 速度上样,加完后,静置 8 h。待吸附完全后,依次用水、50%、70% 乙醇进行洗脱,洗脱速度为 1 mL/min,每个浓度接收量依次为 5、5、5 个保留体积。收集 70% 乙醇洗脱液(每 1 BV

一接),回收溶剂,得 70% 纯化物约 486 mg。经 HPLC 测定,迷迭香酸纯度为 90.02 %。

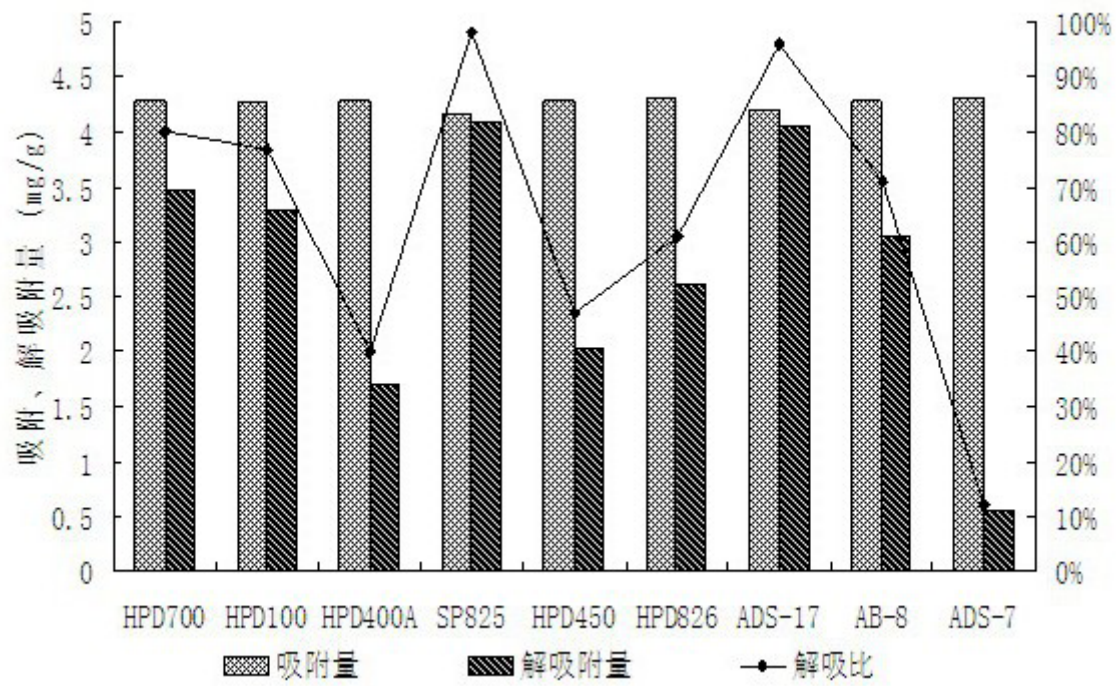


图 1

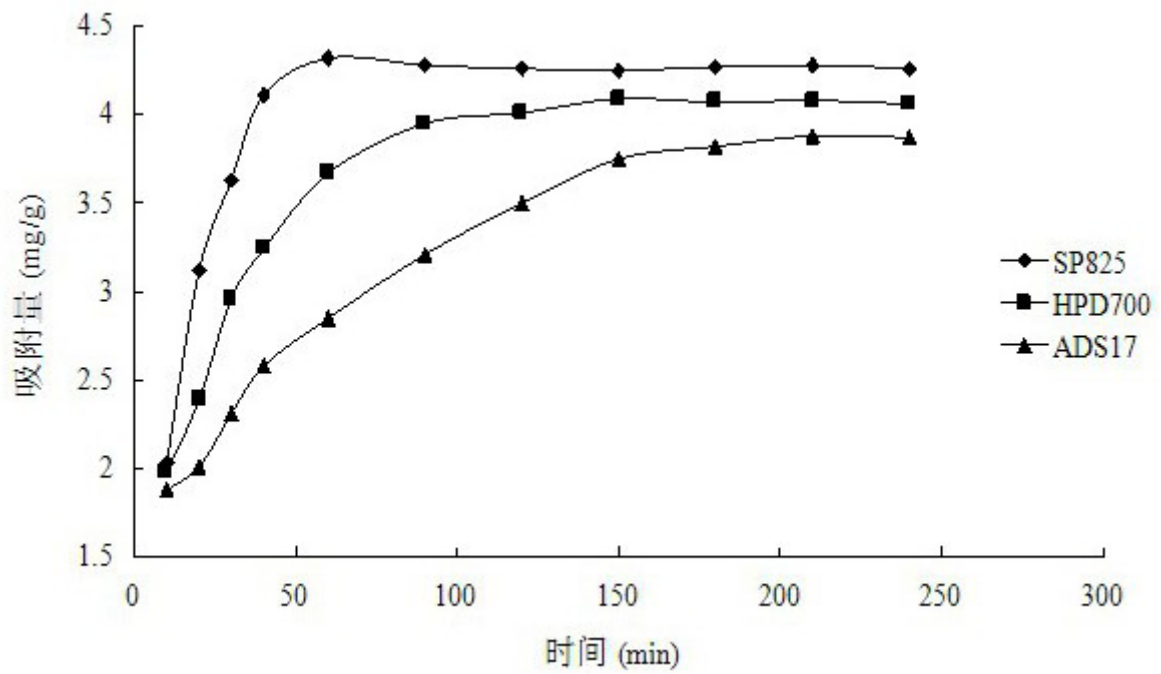


图 2

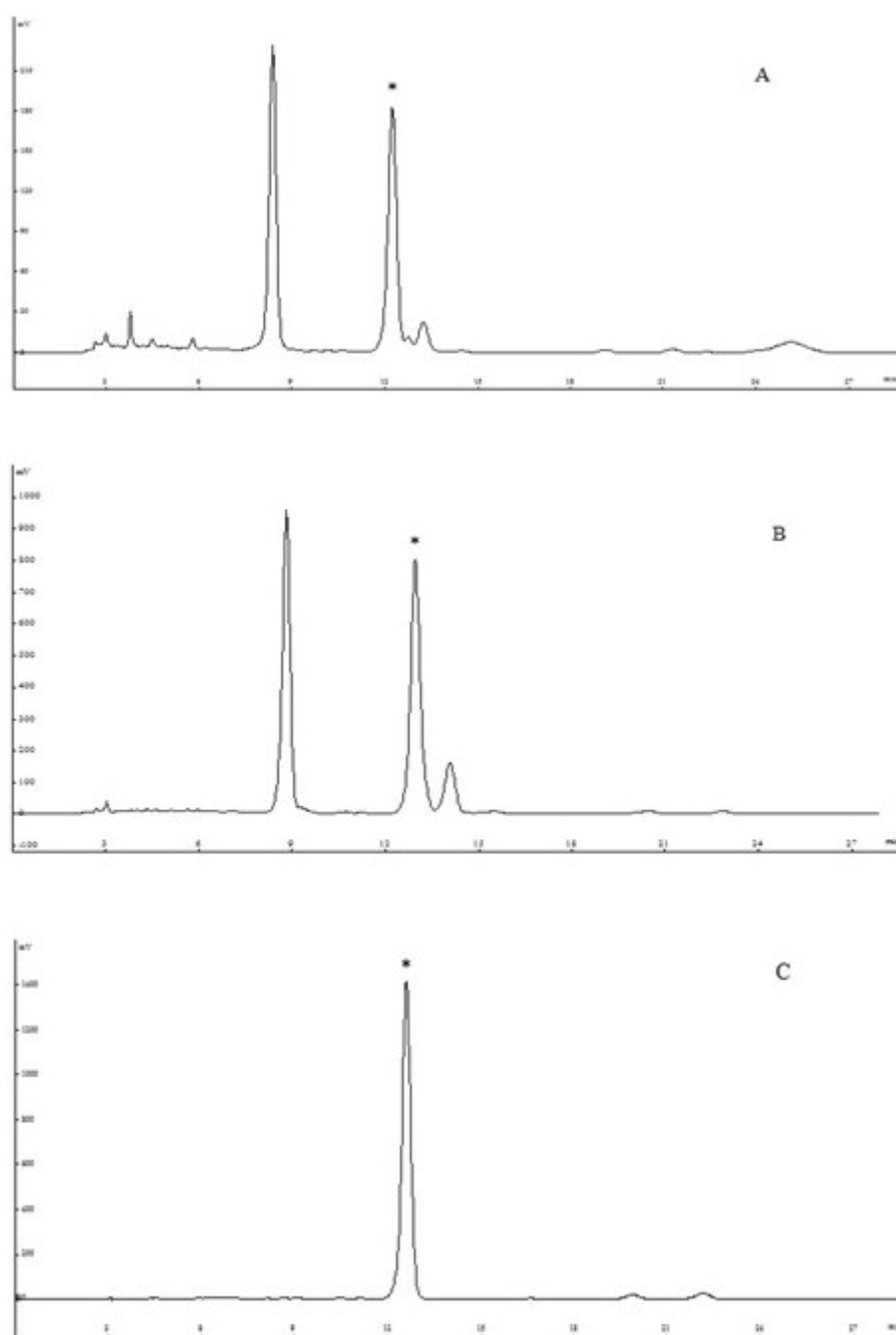


图 3