



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111808060 A

(43) 申请公布日 2020.10.23

(21) 申请号 202010596409.X

(22) 申请日 2020.06.28

(71) 申请人 湖南杰萃生物技术有限公司

地址 412007 湖南省湘潭市湘潭县易俗河镇玉龙路以南(天易示范区)

(72) 发明人 罗华 张有发 黄六仔 卢小刚

(74) 专利代理机构 长沙正奇专利事务所有限责任公司 43113

代理人 马强

(51) Int. Cl.

C07D 311/16 (2006.01)

C07D 311/10 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种从红景天中提取总香豆素的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种从玫瑰红景天中提取总香豆素的方法,该方法包括以下步骤:(1)将玫瑰红景天破碎,用乙醇在70~75℃提取,得提取液,将提取液固液分离,得澄清的提取液;(2)将澄清的提取液浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至9.0~9.5,然后固液分离,得澄清液;(3)将澄清液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加酸调PH到中性,适当浓缩,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;(4)所得沉淀加pH值9.0~9.5水溶解,溶液加入到大孔吸附树脂柱中,水洗涤大孔吸附树脂减压浓缩、干燥得总香豆素提取物。该方法工艺合理、有效成分含量高、提取效率高,操作简单,适合工业化生产。

1. 一种从玫瑰红景天中提取总香豆素的方法,其特征在于,包括以下步骤:
 - S1、将玫瑰红景天破碎,用乙醇提取,然后将提取液固液分离,得澄清的提取液;
 - S2、将步骤S1中得到的澄清的提取液浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至9.0~9.5,然后经固液分离,得澄清的处理液;
 - S3、将步骤S2得到的澄清的处理液萃取除杂,水层加酸调PH到中性,浓缩至Brix8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;
 - S4、将步骤S3所得结晶沉淀调整为pH值9.0~9.5的水溶液,溶液加入到大孔吸附树脂柱中,先用水洗涤大孔吸附树脂除去未被吸附的杂质;再用解吸液洗涤大孔吸附树脂,收集洗涤后的解吸液,经减压浓缩、干燥得总香豆素提取物。
2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤S1中是将玫瑰红景天破碎至直径0.5cm以下;所述提取为渗漏提取;所述提取温度为70~75℃。
3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤S1中乙醇浓度为70~95%。
4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,所述步骤S1中乙醇浓度为80~85%。
5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤S3中萃取溶剂为乙醚、乙酸乙酯、丙酮、四氢呋喃、正丁醇中的一种或多种。
6. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,所述步骤S3中萃取溶剂为乙酸乙酯。
7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述大孔吸附树脂为LX-60大孔树脂、D101大孔树脂、AB-8大孔树脂、DM130大孔树脂、D101C大孔树脂。
8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述大孔吸附树脂为聚苯乙烯型弱极性吸附树脂。
9. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,所述大孔吸附树脂为LX-60大孔树脂、DM130大孔吸附树脂,优选的,所述大孔吸附树脂为DM130大孔吸附树脂。
10. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述解吸液为体积百分比浓度为60~70%的乙醇;所述干燥为真空干燥或喷雾干燥,干燥至总香豆素提取物的水分不超过5%。

一种从红景天中提取总香豆素的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种从玫瑰红景天中提取总香豆素的方法,属于生物医药技术领域。

背景技术

[0002] 玫瑰红景天,又称“金根”或也叫“北极玫瑰”为景天科红景天属植物,属植物为多年草本或亚灌木植物,常以全草入药。全世界的红景天属植物约有90多种,主要分布在北半球欧洲、亚洲、北美海拔3500~5000m的山地或靠近极地的高纬度等高寒地带。我国玫瑰红景天(也称蔷薇红景天)主要分布于陕西、甘肃、新疆、河北。具有抗癌、抗过敏、抗炎、抗抑郁、抗衰老、耐缺氧、抗疲劳、抗辐射功能、双向调节、治疗冠心病和高血压等功效。

[0003] 国内对玫瑰红景天的植物化学成分鉴定多集中在黄酮和红景天苷,对其它化学成分的研究较少,而总香豆素类物质是红景天中的有效成分之一。红景天总香豆素类化合物主要含有:香豆素、7-羟基香豆素、茛亭等,具有抗菌抗炎、抗氧化、抗突变、抗肿瘤、降压、抗辐射等多种生物活性,因而红景天总香豆素在临床上有着广泛的应用前景。

[0004] 红景天香豆素的提取方法有:溶剂提取法、碱溶酸沉法、水蒸气蒸馏法、超临界萃取法、膜分离和双水相萃取法等。分离方法多采用柱层析、不同比例有机溶剂洗脱、收集洗脱液、回收溶剂等步骤。这些方法不同程度地存在有机溶剂用量大,处理时间长,环境污染严重的等缺点,而超临界萃取和膜分离等方法需要特殊或较为昂贵的设备才能进行,成本较高,工业放大生产受到一定限制。因此研究绿色环保、简单方便的中药成分提取分离方法已成为当今生物医药的热门课题。

[0005] 目前总香豆素提取的发展已经日渐成熟,已经从大量的植物中提取到了总香豆素,但没有见过从玫瑰红景天中提取总香豆素相关报道。

发明内容

[0006] 本发明目的是提供一种高效、经济的从玫瑰红景天中提取总香豆素的方法,同时提高提取物中总香豆素的含量。

[0007] 为了解决上述技术问题,本发明的技术方案如下:

一种从玫瑰红景天中提取总香豆素的方法,包括以下步骤:

S1、将玫瑰红景天破碎,用乙醇提取,然后将提取液固液分离,得澄清的提取液;

S2、将步骤S1中得到的澄清的提取液浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至9.0~9.5,然后经固液分离,得澄清的处理液;

S3、将步骤S2得到的澄清的处理液萃取除杂,水层加酸调PH到中性,适当浓缩,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;

S4、将步骤S3所得沉淀调整pH值为9.0~9.5水溶解,溶液加入到大孔吸附树脂柱中,先用水洗涤大孔吸附树脂除去未被吸附的杂质;再用解吸液洗涤大孔吸附树脂,收集洗涤后的解吸液,经减压浓缩、干燥得总香豆素提取物。

[0008] 优选地,所述步骤S1中是将玫瑰红景天破碎至直径0.5cm以下。

- [0009] 优选地,所述步骤S1提取为渗漏提取。
- [0010] 优选地,所述步骤S1提取温度为70~75℃。
- [0011] 优选地,所述步骤S1中乙醇浓度为80~85%。
- [0012] 优选地,所述碱为氢氧化钠,所述酸为盐酸。
- [0013] 所述步骤2中加碱调节浓缩后的提取液pH值至9.0~9.5。原因是,提取液中在酸性条件可溶的杂质会在pH值至9.0~9.5下迅速沉淀,不需低温长时间静置,然后即可常温稀释、立即分离,极大缩短了生产周期。若Ph低于9.0,碱性过弱,不能充分沉淀除杂。若碱性过强,容易破坏有效成分。
- [0014] 优选地,所述固液分离为过滤或离心。
- [0015] 优选地,所述步骤S3中萃取溶剂为乙醚、乙酸乙酯、丙酮、四氢呋喃、正丁醇的一种或多种。
- [0016] 进一步优选的,所述步骤S3中萃取溶剂为乙酸乙酯。
- [0017] 优选为乙酸乙酯是因为乙酸乙酯对香豆素的选择性更好一些,且毒性较低,更环保。
- [0018] 优选地,所述大孔吸附树脂为LX-60大孔树脂、D101大孔树脂、AB-8大孔树脂、DM130大孔树脂、D101C大孔树脂。
- [0019] 优选地,所述大孔吸附树脂为聚苯乙烯型弱极性吸附树脂。
- [0020] 更优选地,所述大孔吸附树脂为LX-60大孔树脂、DM130大孔吸附树脂。
- [0021] 更优选地,所述大孔吸附树脂为DM130大孔吸附树脂。
- [0022] 所述DM130大孔吸附树脂是DM130大孔吸附树脂是PMD型弱极性共聚体,比表面积为500-550m²/g,明显大于其他树脂,相比其他树脂更适宜具有弱极性物质的提取、分离、纯化,例如:黄酮、香豆素、生物碱等。
- [0023] 优选地,所述解吸液为体积百分比浓度为60~70%的乙醇。
- [0024] 优选地,所述干燥为真空干燥或喷雾干燥,干燥至总香豆素提取物的水分不超过5%。
- [0025] 目前总香豆素的提取通常采用的是碱水提取或醇提,浓缩后用低温长时间沉淀除去杂质,主要缺陷是温度控制要求高(4℃以下)、时间长(静置12~48h)、杂质去除不完全,从而导致生产周期产、成本高,而且有效成分含量低、难于产业化,而超临界萃取和膜分离等方法需要特殊或较为昂贵的设备才能进行,成本较高,工业放大生产受到一定限制。而本发明提取浓缩液经固液分离后加碱调节pH值至9.0~9.5,溶液中在酸性条件可溶的杂质会在弱碱性下迅速沉淀,不需低温长时间静置,然后即可常温稀释、立即分离,极大缩短了生产周期。再用乙酸乙酯萃取除去醇类、醛类、酸类及其小分子杂质,便于后期提纯。再把碱水层加酸调PH到中性,适当浓缩,然后调节pH值至3.0~4.0,得到纯度相对较高的粗品。再上本发明特选的DM130大孔吸附树脂柱分离,得到的产品有效成分大大提高。目前常用的提取方法,提取物中目标产物的含量一般在30%,而用本发明的方法,提取物中总香豆素的含量能达到85~90%。本发明制备出的产品主要用于制备抗菌消炎、抗病毒、抗辐射等功效的化妆品、功能性食品及药物原料。
- [0026] 与现有技术相比,本发明的有益效果如下:

1、本方法中总香豆素的提取连贯性好,工艺简单,工艺要求低,适合工业推广。

[0027] 2、本方法中碱调节pH值至9.0~9.5,溶液中酸性条件可溶的杂质会在弱碱性下迅速沉淀,不需低温长时间静置,不仅节约了提取时间,提高了提取效率,且产物中总香豆素的含量大幅度提高。

[0028] 3、本发明所制备的提取物纯度稳定,重复率高,总香豆素含量在85~90%之间。

[0029] 4、本发明的制备方法所用的溶剂可以回收再利用,经济环保。

附图说明

[0030] 图1为本发明的实施例1中不同乙醇浓度提取物条件下的总香豆素的含量;

图2为本发明的实施例1中不同pH影响条件下的总香豆素的含量;

其中A1-1:7.5;A1-2:8.0;B1-1: 9.0;B1-2:9.5;C1-1: 11.0;C1-2:11.5;

图3为本发明的实施例2中不同大孔吸附树脂条件下的总香豆素的含量;

其中A:LX-60大孔树脂、B:D101大孔树脂、C: AB-8大孔树脂、D: DM130大孔树脂、E: D101C大孔树脂

图1-图3的纵坐标均为产物中总香豆素的含量。

[0031] 图4为本发明的实施例3中总香豆素高效液相色谱检测图。

具体实施方式

[0032] 以下将结合实施例来详细说明本发明。需要说明的是,在不冲突的情况下,本发明中的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

[0033] 实施例1

本发明中乙醇的浓度均采用体积百分数表示。

[0034] 称取三份干燥的玫瑰红景天碎各500g,加入乙醇溶液(A70%、B75%、C80%、D85%、E90%、F95%)10L回流提取2小时,过滤,滤液减压浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值9.0~9.5,放置,冷却,再进行固液分离。离心液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加盐酸溶液调PH到中性,浓缩至Brix8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;所得沉淀加pH值至9.0~9.5碱水2.5L溶解,得澄清的水溶液,DM130大孔树脂上柱吸附;上柱完毕后,用7.5L纯水以洗脱去树脂不吸附的杂质,再用60~70%的乙醇溶液1.5L以解吸,收集醇解吸液,减压浓缩,真空干燥,得干燥块,检测含量总香豆素含量。

[0035] 如图1所示结果,乙醇浓度为70%时,总香豆素含量仅有65.4%。乙醇浓度为75%时,总香豆素含量达70.3%,乙醇浓度为80%时,总香豆素含量仅有87.6%。之后达到高点,乙醇浓度为90%时,总香豆素含量略有下降,到95%时总香豆素含量为82.5%,考虑到成本问题和方便工业化生产,因此优选乙醇浓度值为80%~85%进行提取物。

[0036] 实施例2

称取三份干燥的玫瑰红景天碎各500g,加入80~85%的乙醇10L回流提取2小时,过滤,滤液减压浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值(A1-1:7.5;A1-2:8.0;B1-1: 9.0;B1-2:9.5;C1-1: 11.0;C1-2:11.5),放置,冷却,再进行固液分离。离心液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加盐酸溶液调PH到中性,浓缩至Brix8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;所得沉淀加pH值至A1、B1、C1三种碱水2.5L溶解,得澄清的水溶液,DM130大孔树脂上柱吸附;上柱完毕后,用7.5L纯水以洗脱去树脂不吸附的杂质,再用60~70%的乙醇

溶液1.5L以解吸,收集醇解吸液,减压浓缩,真空干燥,得干燥块,检测含量总香豆素含量。

[0037] 如图2所示结果,调节pH值为7.5时,总香豆素含量仅有47.4%。调节pH值为9.0时,总香豆素含量达86.8%,之后达到高点,pH值超过9.5(87.4%)后,总香豆素含量逐渐下降,到11.5时总香豆素含量仅为59.4%。因此优选pH值为9.0~9.5进行除杂质。

[0038] 实施例3

称取三份干燥的玫瑰红景天碎各500g,加入80~85%的乙醇10L回流提取2小时,过滤,滤液减压浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至 9.0~9.5,放置,冷却,再进行固液分离。离心液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加盐酸溶液调PH到中性,浓缩至Brix8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;所得沉淀加pH值至9.0~9.5的水2.5L溶解,得澄清的水溶液,用大孔树脂上柱吸附(A:LX-60大孔树脂、B:D101大孔树脂、C: AB-8大孔树脂、D: DM130大孔树脂、E:D101C大孔树脂);上柱完毕后,用7.5L纯水以洗脱去树脂不吸附的杂质,再用60~70%的乙醇溶液1.5L以解吸,收集醇解吸液,减压浓缩,真空干燥,得干燥块,检测含量总香豆素含量。

[0039] 如图3所示结果,不同的树脂对总香豆素的含量影响非常明显。吸附用树脂为LX-60,总香豆素含量仅有17.4%。而吸附用树脂为DM130和D101,总香豆素含量能达到88.2%和61.7%。

[0040] 因此,优选大孔吸附树脂为DM130大孔吸附树脂。

[0041] 实施例4

称取干燥的玫瑰红景天碎10kg,投入200L提取罐中,并加80~85%的乙醇120L,开搅拌;打开夹套蒸汽加热至70~75℃时,打循环2小时然后开始正常渗漉,收集渗漉液至Brix值小于1%,停止收集,过滤,料液过400目滤袋,滤液减压浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至9.0~9.5,放置,冷却,再进行固液分离。离心液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加盐酸溶液调PH到中性,浓缩至Brix 8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;所得沉淀加pH值9.0~9.5水50L溶解,得澄清的水溶液,以25L/h的流速通过25L的DM130大孔树脂;上柱完毕后,用150L纯水以50L/h的流速洗脱去树脂不吸附的杂质,再用60~70%的乙醇溶液25L以10L/h的流速解吸,收集醇解吸液,减压回收乙醇解吸液浓缩到固形物含量达50%以上,真空干燥,得干燥块248g,总香豆素含量为86.8%。总香豆素的液相色谱数据如图4A所示。

[0042] 实施例5

称取干燥的玫瑰红景天碎300kg,投入5000L提取罐中,并加80~85%的乙醇3000L,开搅拌;打开夹套蒸汽加热至70~75℃时,打循环2小时然后开始正常渗漉,收集渗漉液至Brix值小于1%,停止收集,过滤,料液过400目滤袋,滤液减压浓缩至Brix 8~10%,加碱调节pH值至9.0~9.5,放置,冷却,再进行固液分离。离心液用乙酸乙酯萃取除杂,碱水层加盐酸溶液调PH到中性,浓缩至Brix 8~10%,然后调节pH值至3.0~4.0,取出冷却析晶,得结晶沉淀;所得沉淀加pH值9.0~9.5水1500L溶解,得澄清的水溶液,以800L/h的流速通过1000L的DM130大孔树脂;上柱完毕后,用3000L纯水以2000L/h的流速洗脱去树脂不吸附的杂质,再用60~70%的乙醇溶液1500L以500L/h的流速解吸,收集醇解吸液,减压回收乙醇解吸液浓缩到固形物含量达50%以上,真空干燥,得干燥块7.58g,总香豆素含量为87.9%。总香豆素的液相色谱数据如图4B所示。经过放大提取,总香豆素的提取率也是87.9%,与小试水平保持

一致,同时色谱图显示高度一致,极大的提高了工业生产中的总香豆素的含量,工业应用前景优异。

[0043] 上述实施例阐明的内容应当理解为这些实施例仅用于更清楚地说明本发明,而并不用于限制本发明的范围,在阅读了本发明之后,本领域技术人员对本发明的各种等价形式的修改均落入本申请所附权利要求所限定的范围。

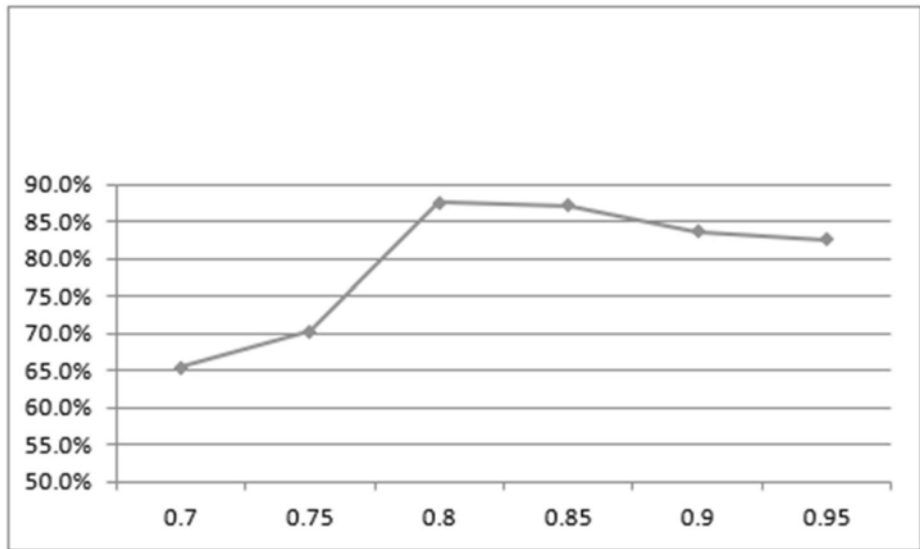


图1

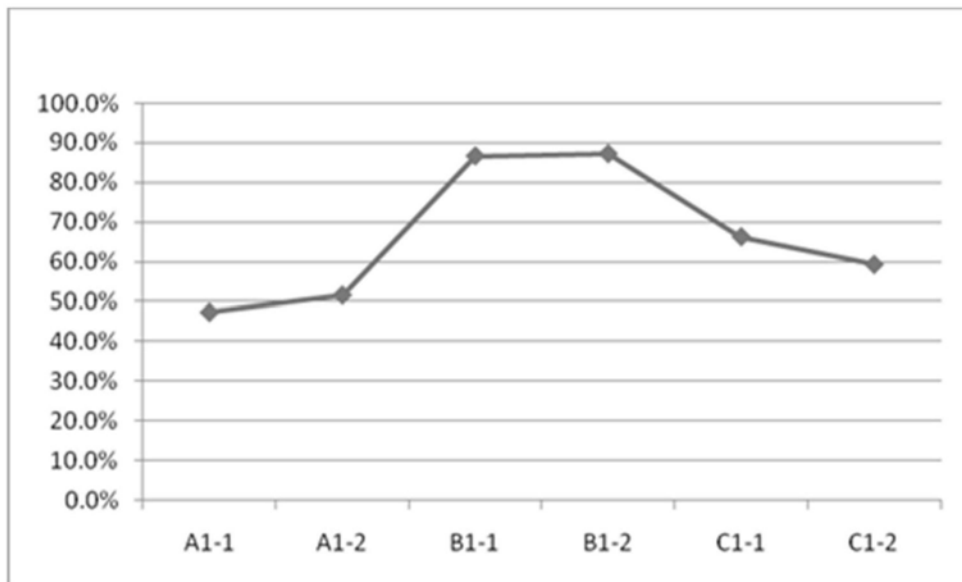


图2

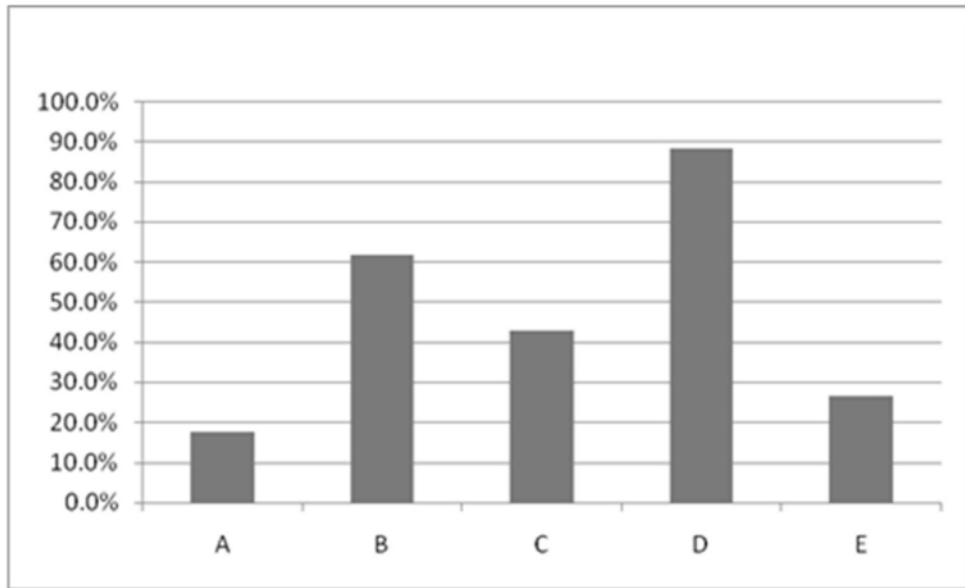
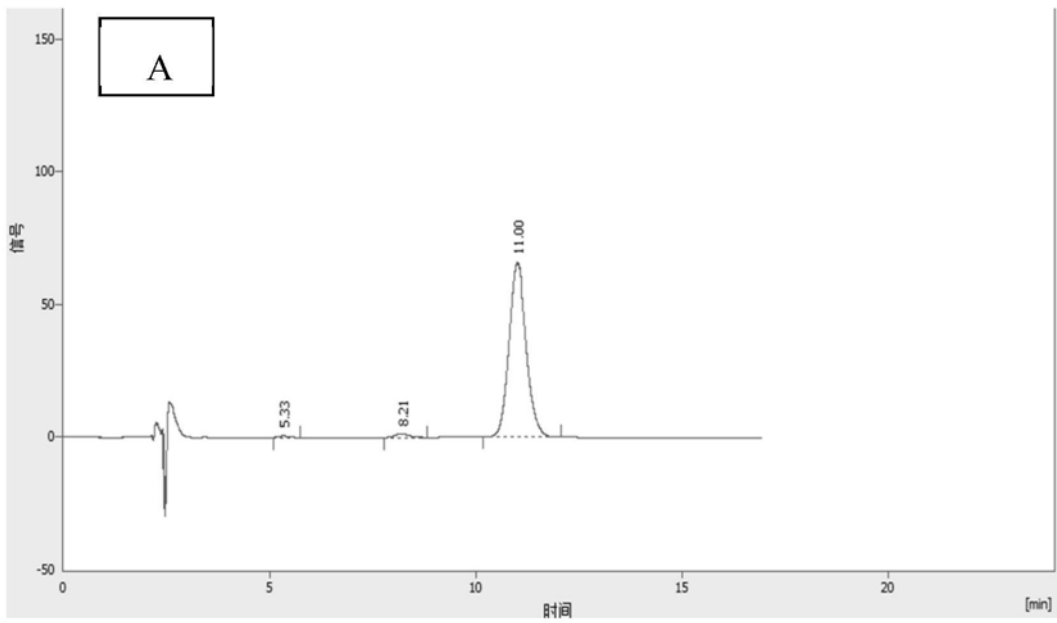


图3



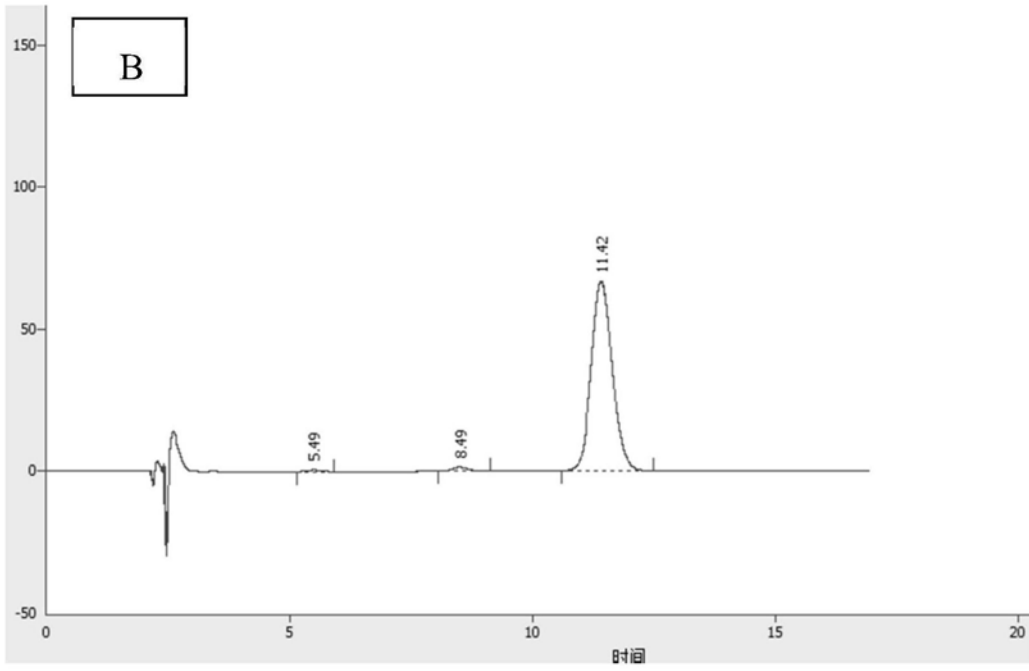


图4