

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410022616.5

C07B 35/06 (2006.01)
C07B 61/00 (2006.01)
C07C 65/03 (2006.01)
C07C 51/377 (2006.01)
C07H 13/08 (2006.01)
C07H 15/18 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006年4月5日

[11] 授权公告号 CN 1248992C

[51] Int. Cl. (续)

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 8/365 (2006.01)

C09J 11/06 (2006.01)

[22] 申请日 2004.5.25

[21] 申请号 200410022616.5

[71] 专利权人 四川大学

地址 610065 四川省成都市磨子桥

[72] 发明人 石碧 杜晓

审查员 韩平

[74] 专利代理机构 成都科海专利事务有限责任公司
代理人 邓继轩

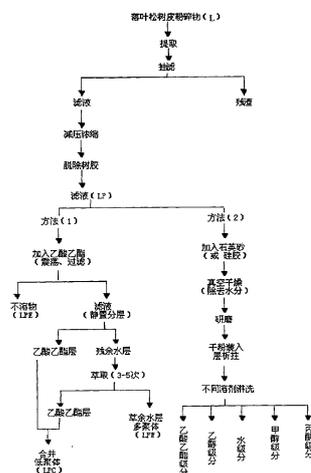
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 3 页

[54] 发明名称

植物单宁降解为低聚体、单体化合物的催化氢解制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种植物单宁降解为低聚体、单体产物的催化氢解制备方法。其特点是选取富含单宁的植物原料，不经粉碎或粉碎为粒径为 1~15mm 的颗粒，用水或与水以任意比例混合的醇或酮作溶剂，将其浸泡，采用常压提取 1~8 小时，或减压强制循环提取 1~4 小时，或逆流循环提取 4~6 次。所得的提取液经过减压回收溶剂，过滤，除去树胶和类脂物质的净化处理，然后，采用不同溶剂萃取分级，得到不同级份。选取其中一种级份作为反应物，进行催化氢解反应，获得植物多酚单体和低聚体的粗产品。再用萃取，柱层析或制备色谱对粗产品进行纯化处理，可得到低聚原花色苷，鞣花酸，鞣酸或葡萄糖鞣酰酯的精细化工纯品。



1. 植物单宁降解为低聚体、单体产物的催化氢解制备方法，其特征在于：

(1) 反应物的制备

选用富含单宁的植物原料，不经粉碎或粉碎粒径为1~15mm的颗粒，用水或与以任意比例混合的醇或酮作溶剂，浸泡，采用常压提取1~8小时、或减压强制循环提取1~4小时、或4~6次逆流循环提取，所得的提取液经过减压回收溶剂，过滤，加入石油醚或轻油，搅拌或震荡，静置分层，除去树胶和类脂物质，然后，采取如下两种方法之一获得各种级分：

a、在上述提取物水溶液中，按提取溶液：萃取溶剂=1：1~2的体积比，于萃取容器中加入乙酸乙酯萃取剂，震荡或搅拌，静置后，水相中产生沉淀，过滤所得沉淀，干燥，即为单宁高聚体级份；滤液静置分层，分别得到萃取层和萃余相水层，后者再经萃取剂萃取3~5次，合并萃取相，减压浓缩回收溶剂，干燥，获得单宁低聚体级份；萃余相水层，经干燥，得单宁多聚体级份，

b、在上述提取物水溶液中，加入大量石英砂或硅胶吸附剂，在60℃以下真空干燥，并除尽水分，将所得到的干燥物稍加研磨，解散团块，装入层析柱中。依次用无水的乙酸乙酯，乙醇，水，含水甲醇，含水丙酸依次淋洗，分别收集各种洗脱液，减压浓缩回收溶剂，干燥，由此得到不同级份，选用上述单宁提取物粗品或任意级份其中一种作为反应物备用，

(2) 催化氢解反应

将上述反应物10~200重量份，钨-碳催化剂0.2~20重量份，5~80%体积比的乙醇水溶液80~3500重量份，加入带有搅拌器、温度控制器的反应釜中，将高压氢气通入反应釜中，排空三次以除去反应系统中的空气，逐渐增大压力至0.2~20MPa，断开氢气回路，然后，开启电源加热，在搅拌下，于温度40~100℃，反应0.6~6小时，停止加热，冷却到室温，排出残余氢气，获得液态反应产物，

(3) 反应产物的纯化

将上述催化氢解产物过滤，减压回收其中的乙醇，干燥得到含植物多酚单体和低聚体的粗产品；或者将滤液分别经乙酸乙酯、丁酸乙酯，丙酮、乙醇、丁醇萃取分级，得到不同的级份的精品；或者进一步用柱层析分离，先经纤维素柱分离，再用葡聚糖

凝胶 LH-20 分离；或用制备 HPLC 色谱分离后可得化合物纯品。

2. 如权利要求 1 所述植物单宁降解为低聚体、单体产物的催化氢解制备方法，其特征在于提取剂为热水或与水任意比例混合的醇或酮。

3. 如权利要求 1 所述植物单宁降解为低聚体、单体产物的催化氢解制备方法，其特征在于萃取溶剂为石油醚、轻油、乙酸乙酯或丁酸乙酯中的任一种。

4. 如权利要求 1 所述植物单宁降解为低聚体、单体产物的催化氢解制备方法，其特征在于洗脱溶剂为水、甲醇、乙醇、丙酮或乙酸乙酯中的任一种。

植物单宁降解为低聚体、单体化合物的催化氢解制备方法

一、技术领域

本发明涉及一种植物单宁降解为低聚体、单体化合物的催化氢解制备方法。此法可用于由缩合单宁（多聚原花色苷）制备低聚原花色苷（OPC's），以及由水解类单宁制备鞣花酸、鞣酸、鞣酐酯葡萄糖生物活性成分，也可用于栲胶或粘合剂的降解改性，属于精细化工领域。

二、背景技术

植物单宁是植物二级代谢产生的植物多酚类次生物质，它广泛存在于植物的叶、木、皮和果内，是可再生的绿色资源。例如：针叶植物树皮中单宁含量高达20%-40%，仅此一项全球每年有数以亿吨计的产量，故单宁是植物资源综合利用的重要对象。近30年来国内外大量研究表明：单宁与植物抗性生理和适应机械损伤等防御关系紧密；同时，它参与构成许多食品如茶叶、咖啡、可可、葡萄酒等的风味和嗜好性；此外，人们食用粮食、蔬菜、水果时，也随之摄入了单宁，它与人类生活和健康息息相关。有观点认为植物多酚是继糖、脂肪、蛋白质、矿质元素和维生素之后的“第五营养素”。特别是上个世纪50年代以来，随着多酚与蛋白质、多糖、生物碱、微生物、酶、金属离子等的反应机理被揭示，其抗氧化、清除自由基、抑菌抗病毒、降血脂等生物活性得到大量实验证实，对这类天然产物在中药制剂、功能食品、日化产品等领域的研究工作日益深入，应用更加广泛。石碧 狄莹.《植物多酚》.科学出版社,2000,P1-4。

在植物体内原花色苷类单宁（即缩合单宁）是构成植物细胞与组织的结构性物质，其相当比例是以多聚体，及其衍生物的形式与木质素、纤维素、半纤维素等伴生存在。工业上通常采用提取、分离手段制取原花色苷类单宁，如分子量为500~3000的聚原花色苷被称为单宁，由栲胶厂生产，制成植物鞣料用于制革；而从茶叶中制备的儿茶素（单体原花色苷）和葡萄籽或松树皮中制备的低聚原花色苷（OPC）作为天然抗氧化剂和制药中间体；此外，许多中药材所含的单体或低聚体原花色苷是其主要疗效成分。已有的研究表明，分子量低的单体或低聚体具有更强的生物、化学活性与药理功效。国植 徐莉.原花青素，具有广泛发展前景的植物药[J]，《国外医药（植物药分册）》

1996, 11 (1): P196。

然而, 仅用上述传统的方法获得的常常是原花色素中的多聚体部分, 能得到的低聚体和单体数量十分有限。此外, 为了使提取的单宁作为鞣料和粘胶剂使用性能更好, 单宁的改性是常用的方法, 即应用生物、化学或物理等手段, 采用降解、合成或衍生化等方法, 定向改造、加工, 以便完善产品的性能, 提高资源的利用价值。

目前, 单宁的降解或改性一般有几种方法: 1) 氧化降解法: 采用双氧水、氯酸钾降解黑荆树皮栲胶、橡椀栲胶, 石碧 狄莹. 《植物多酚》. 科学出版社, 2000, P262; 2) 酸降解法: 通过鞣花单宁酸解制备鞣花酸, Leonard J. The polyphenolic constituents of the pellicle of the walnut [J]. 《J. Am Chem Soc》1956, 78: 3445-3448 ; 3) 碱性降解法: 如火炬松单宁在强碱条件与苜蓿醇反应生成硫醚, 用于制备单宁粘胶剂, 孙达旺. 《单宁化学》. 中国林业出版社, 1988, P223; 4) 亚硫酸化改性: 用亚硫酸钠处理落叶松和火炬松单宁磺化与降解同时发生, 在工业上用于栲胶改性; 5) 生物降解法: 利用微生物分泌的单宁酶等降解水解类单宁, 石碧 狄莹. 《植物多酚》. 科学出版社, 2000, P.361。

上述方法中 1)、3)、4) 主要用于栲胶改性或粘胶剂生产; 2) 仅见于试验研究, 且水解温度很高, 生产危险性大; 5) 对缩合类单宁不太适合。加之上述方法使用的酸、碱、氧化剂等化学试剂易造成设备腐蚀, 环境污染; 更重要的是上述方法难以避免原花色素类单宁的活性酚羟基的氧化, 由此使产物失去生物和化学活性。为此, 现有单宁的降解改性方法并不适宜制备原花色素低聚体和单体产物, 以及其它生物活性产物。

三、发明内容

本发明的目的是针对现有技术方法的不足而提供一种从植物单宁降解为低聚体、单体化合物的催化氢解制备方法。

本发明的目的由以下技术措施实现, 其中所述原料份数除特殊说明外, 均为重量份数。

植物单宁降解为低聚体、单体化合物的催化氢解制备方法:

1. 反应原料的制备

选取富含单宁的植物原料, 不经粉碎或粉碎粒径为 1~15mm 的颗粒, 经过筛分除去杂质。用水或以水与任意比例混合的甲醇, 或乙醇, 或丙酮等的溶液中的任意一种作提取剂。原料在室温经浸泡或不经浸泡处理, 按物料: 提取剂=1: 6~40 的重量比, 加入提取罐中, 在温度 30~75℃, 常压回流提取 1~8 小时或采用减压强制循环提取 1~

4 小时或 4~6 次逆流循环提取。所得的提取滤液，先经减压浓缩回收溶剂，过滤，然后加入石油醚或轻油，震荡或搅拌，静置后脱除树脂和类酯物质，得到单宁提取物粗品的浓缩水溶液，然后，采取如下两种方法之一获得各种级分：

(1) 在上述提取物水溶液中，按提取溶液：萃取溶剂=1：1~2 的体积比，于萃取容器中加入乙酸乙酯萃取剂，震荡或搅拌，静置后，水相中产生沉淀，过滤所得沉淀，干燥，即为单宁高聚体级份；滤液静置分层，分别得到萃取层和萃余相水层，后者再经萃取剂萃取 3~5 次，合并萃取相，减压浓缩回收溶剂，干燥，获得单宁低聚体级份；萃余相水层，经干燥，得单宁多聚体级份。

(2) 在上述提取物水溶液中，加入大量石英砂或硅胶吸附剂，在 60℃ 以下真空干燥，并除尽水分，将所得到的干燥物稍加研磨，解散团块，装入层析柱中，依次用无水的乙酸乙酯，乙醇，水，含水甲醇，含水丙酸依次淋洗，分别收集各种洗脱液，减压浓缩回收溶剂，干燥，由此得到不同级份，选用上述单宁提取物粗品或任意级份其中一种作为反应物备用。

2. 催化氢解反应

将上述反应物 10~200 份与加入钯-碳 (Pd-C) 催化剂 0.2~20 份，加入 5~80% 体积比的乙醇水溶液 80~3500 份，混合均匀后加入带有搅拌器、温度控制器的高压反应釜中，通入氢气，逐渐增大氢气压力，使之达 0.2~20MPa，断开氢气回路，再开启电源加热、在搅拌下，于温度 40~100℃，反应 0.6~6 小时，停止加热，开启冷却水，待温度接近室温时，排出残余氢气，获得液态反应产物。

3. 反应产物的纯化

将上述催化氢解产物过滤，减压回收滤液中的乙醇，所得的浓缩液经干燥得到含植物多酚单体和低聚体粗产品，如原料为缩合单宁，则得到原花色素单体和低聚体的粗产品，其纯度 78% 以上；或者将滤液分别经乙酸乙酯、丁酸乙酯、乙醇、丙酮、丁醇等萃取分级后得到不同的级份的精品，其纯度在 93% 以上；或者进一步用柱层析分离，先用纤维素柱分离，再用葡聚糖凝胶 LH-20 分离，或用制备 HPLC 色谱纯化后可得到化合物纯品。

提取剂为热水或与水任意比例混合的醇或酮。

萃取溶剂为石油醚、轻油、乙酸乙酯和/或丁酸乙酯中的任一种。

洗脱溶剂为水、甲醇、乙醇、丙酮或乙酸乙酯中的任一种。

本发明的优点:

1. 反应原料采用富含单宁的植物原料或提取物如栲胶、单宁粗品、以及不同级分包括:丙酮级份、甲醇级份、乙醇级份、水级份等。
2. 反应依据催化氢化(即包括催化加氢和催化氢解)的原理,使用加氢催化剂,在较低温度,氢的参与下,使活性酚羟基得以保存和恢复,制备的产物生物活性强。
3. 该反应有一定的专一性,可使植物单宁如缩合单宁的黄烷醇单体间的 C₄-C₈、C₄-C₆ 单键;水解单宁中葡萄糖与栲酰基或缩酚酰基的酯键等断裂,而形成单体和低聚体,提供了对天然产物进行人工定向改造、加工的新方法。
4. 反应不使用对环境危害性强的酸、碱、氧化剂等试剂,废物排放极少,属于绿色化学和清洁生产范畴。
5. 通过对植物单宁的分级与降解,使所得的产物成为精细化工品,用途更广,产品价值高,从而提高了资源的利用率和附加价值。

四、附图说明

图 1 落叶松原花色素分级与精细化流程图

图 2 落叶松原花色素催化氢解反应前的 HPLC 图

图 3 落叶松原花色素催化氢解反应后产物的 HPLC 图

图 4 单宁酸催化氢解反应前产物的 HPLC 图

图 5 单宁酸催化氢解反应后产物的 HPLC 图

五、具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行具体的描述,有必要在此指出的是本实施例只用于对本发明进行进一步说明,不能理解为对本发明保护范围的限制,该领域的技术熟练人员可以根据上述本发明的内容作出一些非本质的改进和调整。

实施例 1: 落叶松原花色素萃取分级与催化氢解制备低聚原花色素

第一步: 落叶松原花色素萃取分级

用风干的落叶松树皮为原料,粉碎为粒径 1~15mm 的颗粒,筛分除去杂质。然后,称取 10kg 上述物料,加入 70% 体积比的乙醇水溶液 100L,在提取罐中,于温度 70±5℃,用泵强制回流提取 4 小时,出料。经过粗滤除去料渣,把所得滤液泵入真空浓缩罐中,回收乙醇,出料,再过滤,沉淀部分经干燥获得 736g 红褐色粉末,为原花色素高聚体(LPE);在滤液中加入石油醚或轻油,震荡或搅拌,静置分层,以脱除类酯和

树胶，得到 20L 提取液，在其中加入等量的乙酸乙酯作萃取剂，依次萃取 3-5 次，合并萃取液，减压回收萃取剂、再干燥，获得 462g 红色粉末，为低聚原花色素 (LPC)；将萃余相 (水层) 干燥后得到 471g 褐色粉末，为多聚原花色素 (LPW)。

第二步：多聚原花色素的催化氢解反应

取上述萃取分级产物 LPW 200g，加入钯-碳 (Pd-C) 催化剂 10g，再加入 75% 体积比的乙醇 3000ml，混合均匀，装入高压釜中，通入氢气使气压为 3.0MPa，于温度 80℃，在搅拌下，反应 2 小时。停止加热，待温度降至室温，先排气至常压，取出反应产物。过滤、减压浓缩、干燥得产物 (LPH) 134g。用水溶解所得产物，再经乙酸乙酯 4 次萃取，得到萃取层，干燥后得到红褐色低聚原花色素 (LPHC) 97g，收率约为 72.18%；而萃余相水层 (LPHW) 约 16g，约占 12.24%。

实施例 2：从落叶松栲胶催化氢解制备低聚原花色素

取落叶松栲胶 (未经亚硫酸处理) 200g，再加入 Pd-C 催化剂 5g，加入 55% 体积比的乙醇 1000ml，混合均匀，装入高压釜中，通入氢气使气压为 0.2MPa，于温度 60℃，在搅拌下，反应 4 小时。停止加热，待温度降至室温时，先排气至常压，取出反应产物。过滤、减压浓缩、干燥得产物 (LPH) 135g。用水溶解所得产物，再经乙酸乙酯 4 次萃取，得到萃取层，干燥后得红褐色低聚原花色素 (LPHC) 70.7g 约占 52.37%；而萃余相水层，为褐色多聚原花色素 (LPHW)，重 26.6g，约占 19.70%。红褐色聚合物约 37.2g，占 27.56%。

实施例 3：由橡栲胶催化氢解制备鞣花酸

取橡栲胶 100g，加入钯碳催化剂 2g，加入 45% 体积比的乙醇 800ml，混合均匀，装入高压釜中，通入氢气使气压为 10MPa，于温度 80℃，在搅拌下，反应 4 小时。停止加热，待温度降至室温时，先排气至常压，取出反应产物，加热至 70℃ 以上，趁热过滤除去残渣，滤液经减压浓缩、冷却、抽滤、并用蒸馏水洗涤滤饼 2 至 3 次，弃去滤液。然后以吡啶洗涤滤饼，溶解鞣花酸，经数次重结晶，得淡黄色鞣花酸晶体 13.2g。

实施例 4：由五倍子单宁催化氢解制备倍酸

取五倍子 50g，粉碎至 1~3mm 颗粒，加入钯碳催化剂 1g，再加入 35% 体积比的乙醇 500ml，混合均匀，装入高压釜中，通入氢气使气压为 20MPa，于温度 80℃，在搅拌下，反应 6 小时。停止加热，待温度降至室温时，先排气至常压，取出反应产物，过滤、用少许四氢呋喃冲洗滤渣，合并滤液，活性炭脱色，减压浓缩至近干，得白色

粉末 6.1g。

实施例 5：由单宁酸催化氢解制备倍酰酯葡萄糖

取单宁酸 10g，加入钨碳催化剂 0.5g，再加入 80%体积比的乙醇 200ml，混合均匀，装入高压釜中，通入氢气使气压为 15MPa，于温度 80℃，在搅拌下，反应 3.5 小时。停止加热，待温度降至室温时，先排气至常压，取出反应产物。过滤、用少许四氢呋喃冲洗滤渣，合并滤液，减压浓缩至近干，得蓝灰色粉末 3.3g。然后，用葡聚糖凝胶（Sephadex LH-20）柱层析，乙醇-水体系，梯度洗脱，分别收集得白色固体 M-GG 0.96g、Di-GG 1.00 g、Tri-GG 0.51 g。

Pd-C 为化学纯，成都精细化工试制厂生产。

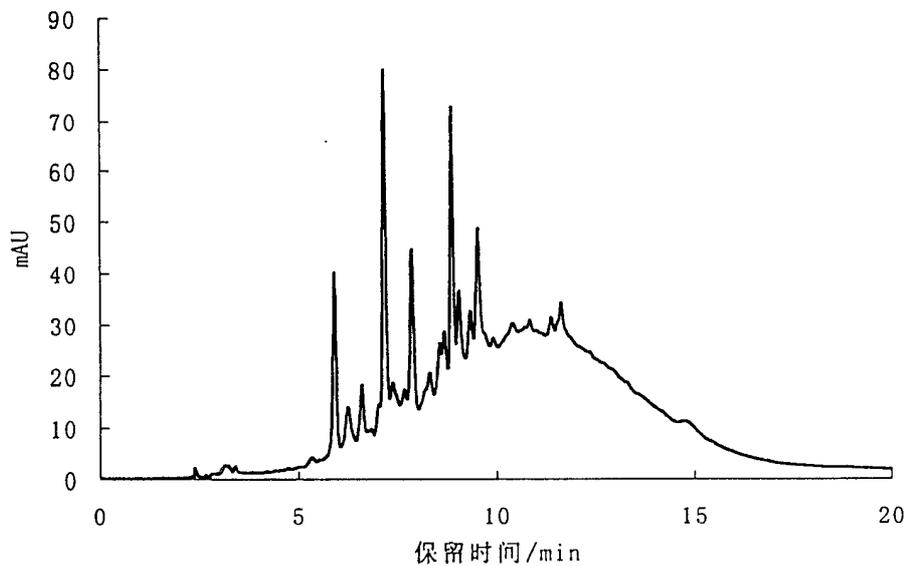


图 2

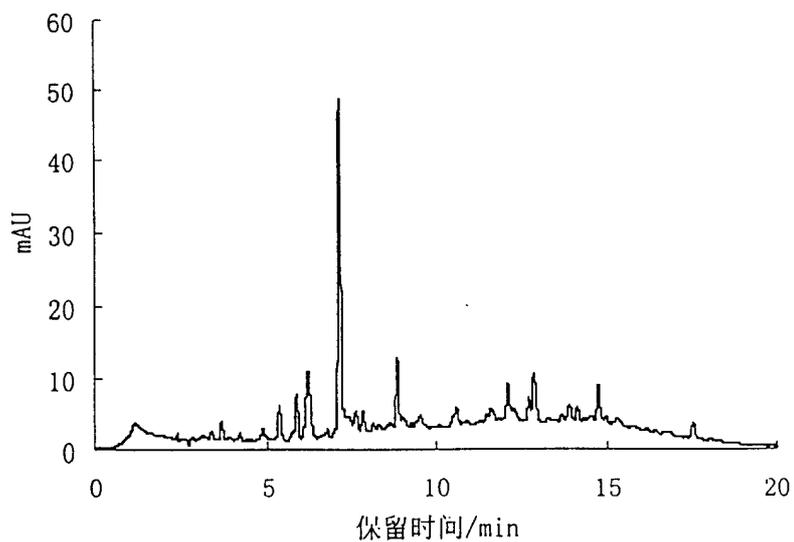


图 3

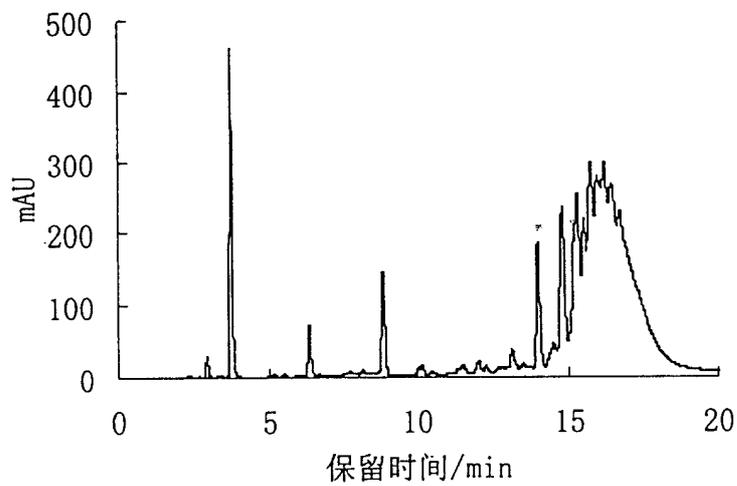


图 4

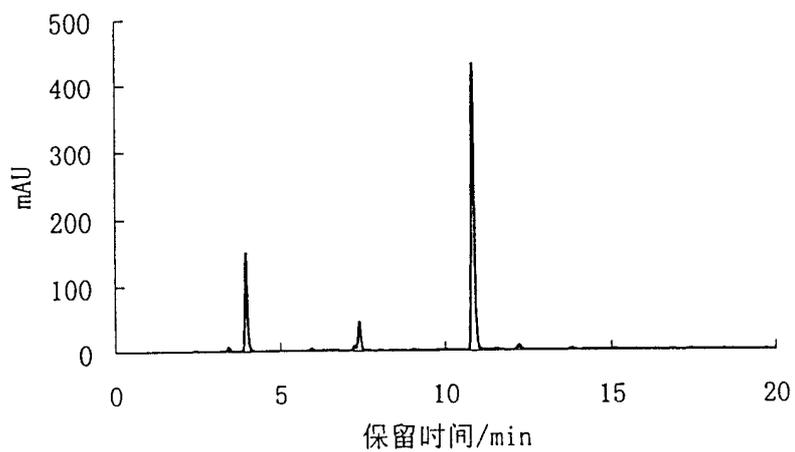


图 5