



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105732741 B

(45)授权公告日 2018.03.20

(21)申请号 201610196610.2

(22)申请日 2016.03.31

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105732741 A

(43)申请公布日 2016.07.06

(73)专利权人 长沙湘资生物科技有限公司

地址 410128 湖南省长沙市芙蓉区隆平高科技园湖南省科研成果转化中心厂房2栋101

(72)发明人 向华 唐忠海

(51)Int.Cl.

C07H 17/065(2006.01)

C07H 1/08(2006.01)

C07J 63/00(2006.01)

审查员 吴慧

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

紫苏叶提取花色苷和熊果酸的方法

(57)摘要

本发明提供紫苏叶提取熊果酸和花色苷的方法,采用杀青、石油醚脱脂、酸水浸提、树脂与结晶相结合的方法获得熊果酸和花色苷结晶。通过酸水提取工艺获得了大量高纯度的水溶性花色苷,有效提高了花色苷提取率,降低了因花色苷没有充分利用造成环境污染风险。过杀青和石油醚脱脂能有效防止酶对花色苷和熊果酸的破坏,同时破坏了紫苏叶片细胞又能促进叶中有效成份的快速释放。

1. 一种从紫苏叶提取花色苷和熊果酸的方法,其步骤包括如下:

(1) 将新鲜紫苏叶采用茶叶滚筒杀青机进行杀青2~3分钟,立即进行绞碎;

(2) 将绞碎后紫苏叶加入2~5倍重量的乙酸乙酯或石油醚进行室温萃取一次,残渣加入酸水进行室温浸提2~6h,过滤除渣得滤液I;

(3) 滤液I在40℃~55℃下进行真空或减压浓缩至原有体积的1/10~1/25,陶瓷膜过滤一次得滤液II和滤渣I;

(4) 滤液II上NKA-9大孔树脂柱进行吸附,用乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱液I;

(5) 将洗脱液I在40℃~55℃下进行真空或减压浓缩至干燥物,得花色苷纯品;

(6) 将滤渣I加入无水甲醇溶解,上硅胶柱进行吸附,用三倍至五倍柱体积的甲醇水溶液进行柱洗脱,得到洗脱液II,最后三倍至五倍柱体积氯仿-甲醇溶液进行柱洗脱,得到洗脱液III,洗脱液II和洗脱液III在50℃~65℃下进行真空或减压浓缩至干,分别获得干燥物B、干燥物C;

(7) 加入乙醇溶液溶解干燥物B在40~45℃下保温15~30min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶得到熊果酸粗品,再重结晶一次得熊果酸纯品;

(8) 干燥物C加入丙酮在35~40℃下保温15~30min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶,重结晶一次,得芹菜素-7-葡萄糖苷。

2. 根据权利要求1的方法,步骤(2)中所述酸水的使用量,按体积/新鲜紫苏叶重量比为2~6L:1kg,其中酸水为含有85~90%甲醇的0.001~0.01mol/L盐酸水溶液。

3. 根据权利要求1的方法,步骤(4)中所述乙醇水溶液是指pH值为2.5~3.5盐酸水溶液,其中含有15~30%乙醇,乙醇水溶液的使用体积为柱体积的3~5倍。

4. 根据权利要求1的方法,步骤(6)中所述无水甲醇的使用量,按体积/滤渣I重量比为0.5~2L:1kg。

5. 根据权利要求1的方法,步骤(6)所述甲醇水溶液是指含有70~90%甲醇的pH5.5~6.5的盐酸水溶液。

6. 根据权利要求1的方法,步骤(6)中所述氯仿-甲醇溶液是指氯仿与甲醇的体积比为25:10。

7. 根据权利要求1的方法,步骤(7)中所述乙醇溶液是指85%乙醇水溶液,所用体积与所得干燥物B的重量比为1L~2L:1kg。

8. 根据权利要求1的方法,步骤(8)中所述丙酮的体积与干燥物C重量比为1~3L:1kg。

紫苏叶提取花色苷和熊果酸的方法

技术领域

[0001] 本发明属于天然产物提取技术领域,涉及一种采用新鲜紫苏叶提取熊果酸和花色苷的方法。

背景技术

[0002] 植物中含的熊果酸是一种三萜类化合物,在医学中有广泛用途。可用作:保肝、抗肝炎作用,抗氧化作用,抗菌、抗炎及抗病毒作用,降血脂、抗动脉粥样硬化作用,降血糖和抗溃疡作用,对艾滋病毒有抑制作用,有镇定和安定作用,有增强免疫功能功效。由于熊果酸是植物中的活性成分,在医学医疗学有广泛用途,证明熊果酸是一种广谱抗菌素,因此被国家列入2002年“863”计划。

[0003] 目前,熊果酸虽较难化学合成,但广泛存在于山茱萸、山楂、车前草、夏枯草、女贞子、冬凌草、白花蛇舌草等植物中,而在枇杷叶中拥有更高的含量,干燥枇杷叶中熊果酸含量约0.8-1.2%。现已有较多文献资料公开了熊果酸提取纯化工艺研究。

[0004] 公开号为CN101318985的中国专利公开了一种熊果酸的制备方法及其产品和应用,将枇杷叶粉碎,加入95%的乙醇超声提取0.5~2小时,提取液用微膜进行过滤,滤液再用超滤膜和纳滤膜分离,得乙醇与熊果酸的混合液,回收乙醇,即得熊果酸;所得熊果酸与罗汉果甜甙、蜂蜜混合可制成具有保健作用的罗汉果蜜膏。本发明采用超声提取和膜分离净化相结合的方法从枇杷叶中提取熊果酸,其工艺流程相对简单,有效成分损失少,熊果酸的得率为75%以上,且乙醇用量少,能耗低,从而降低了提取成本;所制成的罗汉果蜜膏不仅具有罗汉果甜甙的清香、甜厚感及蜂蜜的淡雅香气,口感清甜,醇厚香浓,而且具有镇静、清热润肺、润肠、通便、改善睡眠的作用,是集营养和保健于一体的优质保健品。

[0005] 公开号为CN101759758A的中国专利公开了一种熊果酸的制备方法,工艺步骤为:取新鲜女贞叶,加入其重量10-30倍量体积的水浸泡36-96小时,分离药液,滤过,浓缩,冷藏8-24小时,滤过,收集滤渣,通过大孔吸附树脂柱吸附,用10-50%乙醇洗脱,收集3-8倍柱体积量洗脱液,浓氨水调节pH10-11,滤过,取滤液,减压回收乙醇并浓缩,放置过夜,滤过,取滤渣,加入无水乙醇溶解,活性炭脱色,滤过,滤液浓缩,放置结晶。采用本发明制备熊果酸,产品纯度高,易于实现产业化放大。

[0006] 公开号为CN101891793A的中国专利公开了一种从鼠尾草中制备高纯度熊果酸的方法,将鼠尾草叶片干燥后粉碎,叶粉用石油醚浸渍除去油脂和色素,滤去石油醚后将叶粉吹干,将吹干叶粉用丙酮回流热提数小时,提取2-3次,过滤,合并提取液,将提取液浓缩,冷却静置,析出沉淀物,为熊果酸粗品,将熊果酸粗品活性炭脱色,洗涤除杂,亲水性溶剂重结晶,即得高纯度的熊果酸。本发明“三废”处理量小且容易,丙酮可回收再用,所获得的熊果酸成本较低。主要是利用熊果酸在水和石油醚中不溶解,在丙酮中溶解性能的特性设计的。得率高,产品纯。产物经波谱分析,其结果与熊果酸的标准一致。另外,本发明的方法简便、快捷。

[0007] 公开号为CN102318745A的中国专利公开了一种从枇杷叶中提取熊果酸制备饲料

添加剂的方法,其特征是:(1)枇杷叶的干燥处理:将枇杷叶洗净,去除灰尘等杂质,沥干水分,于40-60℃真空干燥,干燥至恒重;(2)粉碎与过筛:将真空干燥后的枇杷叶用中药粉碎机粉碎,并过20-60目筛;(3)水煮:枇杷叶粉末中加入5-10倍体积水,煮沸0.5-3h后过滤;(4)醇提:将粉碎后过筛的枇杷叶粉用90%乙醇水提取,温度为65-75℃,提取时间为1-2h,重复提取2-4次;(5)减压蒸馏:将醇提溶液于20-80℃减压蒸馏,制的浸膏,干燥至恒重后研碎并过筛(40目)制得熊果酸粗品;(6)集成膜处理:往枇杷叶粉末中加入10-20倍体积水,进行超滤和纳滤进行脱色、除杂、脱盐和浓缩,超滤所用的膜是分子质量截留为1 000-5 0000道尔顿,操作压力设为5-30bar,温度为20-60℃,膜通量为10-30L/hm²,纳滤所用的膜是分子质量截留为150-1000;变体积和恒定体积操作模式,操作压力设为8-25bar,温度为25-50℃,膜通量为8-25L/hm²;(7)重结晶:将(5)所得粉末进行重结晶处理,结晶溶剂为浓度为60-100%乙醇,结晶温度为2-20℃,该过程重复3-10次;(8)干燥:对上述结晶晶体真空干燥后即得到熊果酸纯品;(9)熊果酸(质量分数5%-60%)与白炭黑混合制备针对不同的家禽、家畜、水产养殖制备成含熊果酸的新型饲料添加剂。

[0008] 公开号为CN103054972A的中国专利公开了一种从木瓜中提取齐墩果酸和熊果酸的方法,其特征在于,包括以下步骤:(1)将新鲜木瓜晒干并粉碎得干木瓜粉;(2)取干木瓜粉加入水煮沸提取,过滤分离出提取液,重复所述提取过程2~3次,合并提取液;(3)将步骤(2)所得提取液调整至其体积:干木瓜粉质量=1:0.5~1,过滤取上清液;(4)将步骤(3)所得的上清液吸附于大孔吸附树脂柱,先用5~10倍柱体积的水进行洗脱,然后再用2~6倍柱体积浓度为20~80%的乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱后的乙醇水溶液,浓缩并干燥。

[0009] 公开号为CN103102384A的中国专利公开了一种从迷迭香中提取高纯度熊果酸的方法,其特征在于包括以下步骤:A、将迷迭香叶粉碎提取鼠尾草酸后的下脚料,加入乙醇进行提取,过滤,得滤液,在滤液中加入活性炭脱色,过滤,浓缩,搅拌中加入2~5倍体积的水析出沉淀,过滤,得熊果酸粗提物;B、向步骤A中的熊果酸粗提物中加入有机溶剂溶解,加二乙胺或三乙胺回流反应成盐,冷却室温,过滤,得胺盐;C、将步骤B中的胺盐加入水中使之溶解,加入异丙醚,用稀酸调节pH值至2~5,维持20~40℃一小时,过滤,滤饼干燥;D、步骤C中干燥完成后的滤饼加入甲醇溶解,加中性氧化铝脱色,过滤,滤液浓缩,降温至-10~20℃结晶,离心,洗涤,干燥即得熊果酸成品。

[0010] 公开号为CN103450322A的中国专利公开了一种梔子中熊果酸的微波提取工艺,其特征是,以提取完梔子苷后的梔子残渣为原料,加入一定浓度的乙醇,调节合适的固液比,微波提取熊果酸,过滤,将滤液浓缩至稀浸膏,再真空干燥得梔子果实粗提物;10~20倍粗提物重量的石油醚(30~60℃)萃取2~4次,过滤,浓缩;然后将所得的粗提物加适量水混悬后,以2~4BV/h上预处理过的大孔吸附树脂,先用2~4倍树脂量的蒸馏水洗至无色,再用70%~90%的乙醇溶液洗脱,收集洗脱液,减压浓缩干燥,加入甲醇结晶,得熊果酸。

[0011] 公开号为CN103694304A的中国专利公开了一种制取高纯度熊果酸的生产工艺,其工艺步骤为:于熊果酸粗提物中加入乙酸乙酯与石油醚的混合溶剂脱脂;脱脂后的粉末加入乙醇除杂;除杂后的固体物加入乙醇溶解后用活性炭脱色,过滤析晶;析晶产品用乙醇重结晶一至两次即可得高纯度的熊果酸。

[0012] 公开号为CN103709226A的中国专利公开了一种从山绿茶中提取熊果酸的方法,包括以下步骤:山绿茶粗粉进行粗提取、精提取、水洗以及脱色结晶得到晶体,即本发明提取

物熊果酸。从山绿茶中提取熊果酸,本发明提供提取熊果酸的工艺,提取工艺简单,成本低,提取熊果酸的收率能达到80%以上,熊果酸纯度达到90%以上,进而山绿茶药材进入工业化生产,提取熊果酸,满足熊果酸在市场上的大量需求,具有广泛的应用前景。

[0013] 公开号为CN103923159A的中国专利公开了一种从枇杷叶中提取精制熊果酸的方法,将枇杷叶粉碎过筛后与乙醇、司盘-65或司盘-85中的任意一种混合均匀超声波提取,提取液通过微滤和超滤,浓缩干燥得粗品熊果酸;粗品熊果酸粉碎,洗脱,脱色,过滤,浓缩沉淀,抽滤得类白色沉淀;再加入乙醇加热至沸腾,放冷至结晶完全;母液继续浓缩,同法操作得二次结晶,合并两次结晶真空干燥,得精制熊果酸。可以达到最大限度的分离、纯化作用,有效除杂,熊果酸的纯度提高,提取率提高25%以上;其生产工序简化,生产成本降低,技术合理、操作安全、环境友好,利于产业化应用。

[0014] 公开号为CN104072568A的中国专利公开了一种山茱萸核中熊果酸的提取工艺,其特征在于:它是按以下步骤进行:原料预处理:选无发霉的优质山茱萸核,作为原料,用清洁水进行漂洗,除去山茱萸核外面的泥土和沙粒,漂洗干净后控去水分;烤制:将控去外面水分的山茱萸核在50~60℃下烤制1.0h;一次粉碎:将烤制好的山茱萸核进行第一次粉碎,粉碎成直径80~100目的微粒;冷冻:将粉碎后的微粒山茱萸核粉,在-5~0℃下冷冻1h;二次粉碎:将冷冻后的山茱萸核粉,进行细脆破碎,破碎至直径为180~200目的粉状;浸泡:经破碎后的山茱萸核粉,置入蒸馏水浸泡2h,水温控制在22~28℃;超声波处理:将浸泡2h的浸泡液,进行超声波处理,分离处理后的混合液体,去除其中的山茱萸核粉渣,留超声后的液体;蒸馏:将超声后的液体进行蒸馏,所得蒸馏液的糊状体为熊果酸原浆;低温蒸发:使熊果酸原浆在25~30℃低温下蒸发,慢慢蒸发出熊果酸原浆中水分,使熊果酸为固体;三次粉碎:将固体熊果酸粉碎直径300目的粉状;经质量监测,得到合格的熊果酸成品。

[0015] 公开号为CN104370992A的中国专利公开了一种从女贞子中提取熊果酸和齐墩果酸混合物的方法。该方法先采用酸水解技术将女贞子中以糖配体方式存在的熊果酸与齐墩果酸水解成游离态,优先分离出原料中富含熊果酸与齐墩果酸的提取物料,然后用石油醚去除物料中脂溶性有机化合物;再采用碱性乙醇混合溶剂,辅以超声提取,经洗涤、乙醇溶解等处理,获得目标产物。本发明降低了原料总体处理量;减少了混合溶剂提取熊果酸与齐墩果酸时的杂质;所使用的混合提取溶剂,可使游离态的熊果酸与齐墩果酸转化为更易进入提取溶剂中的钠盐;辅以超声提取可以破碎细胞,提高两种酸从植物细胞中的脱出进入提取溶剂的能力。

[0016] 公开号为CN102432469A的中国专利公开了一种从迷迭香中提取分离迷迭香酸和熊果酸的方法,该方法以迷迭香为原料,经粉碎提取、浓缩、柱层析分离、萃取、浓缩、结晶、重结晶得迷迭香酸和熊果酸。整个分离过程中对环境条件和设备要求不高,迷迭香酸和熊果酸产率高,分离时间最短,操作方法简单,纯度最高,对原材料的综合利用率最高;另外,分离材料易得便宜,分离操作过程简单,易控制,采用结晶和重结晶,纯化效率高,成本低。

[0017] 公开号为CN104447939A的中国专利公开了一种毛泡桐树叶片为原料制备熊果酸的方法,包括下述步骤:1、取粒度为20-60目的干燥泡桐叶粉,第1次加3-5倍量浓度在90%以上的乙醇回流提取,每次1-2小时,共3次,合并乙醇提取液,过滤除去杂质,回收乙醇后放置12小时以上,过滤收集沉淀物,经干燥后得到综灰色或黑棕色的熊果酸粗品。2、用50-70%的乙醇溶解上述熊果酸粗品,使用大孔吸附树脂,动态吸附,吸附接近饱和后用2-3倍

树脂量的去离子水冲洗3-5次,再用85-99%的乙醇溶媒洗脱,将沉淀物用活性炭脱色后用无水乙醇的复合溶媒结晶2-3次即得。

[0018] 公开号为CN104610417A的中国专利公开了一种从山楂中提取熊果酸和齐墩果酸的方法,包括以下步骤:将山楂粉碎提取浓缩得浸膏A;加入石油醚淋洗,乙醇溶解过滤,经模拟移动床色谱进行分离,得到富含熊果酸的组分B和富含齐墩果酸的组分C;干燥分别得到纯度95%以上的熊果酸和纯度93%以上的齐墩果酸。本发明所述方法,采用微波辅助提取和模拟移动床色谱法分离提纯结合的工艺,确定了相关工艺参数,步骤简单,产品纯度较高,可以同时得到两种产物,将原料中的有效成分充分提取分离,节约了原料资源的同时也提高了生产效率。

[0019] 公开号为CN104610418A的中国专利公开了一种从锁阳中提取熊果酸的方法,包括以下步骤:将锁阳粉碎过筛,加入乙醇提取过滤出提取液,减压浓缩回收溶剂后得到浸膏A;加入石油醚淋洗,之后用乙醇溶液进行溶解,过滤,滤液进入模拟移动床色谱进行分离,得到富含熊果酸的组分B;将组分B减压回收溶剂,干燥后得到纯度96%以上的熊果酸,产率达80%以上;本发明所述的熊果酸提取方法,采用模拟移动床色谱法分离工艺,确定了相关工艺参数,步骤简单,产品纯度和收率均较高。

[0020] 公开号为CN1795724的中国专利公开了一种以迷迭香酸为主要成分的具有杀松材线虫活性的紫苏提取物的制备方法,它以紫苏鲜叶为原料,采用蒸馏水浸泡提取、减压浓缩、有机溶剂萃取的方法获得,该提取物含以下成分:迷迭香酸、紫苏醛、紫苏醇、黄示灵、熊果酸、d-扁桃腈葡萄糖苷、苯戊酸苷、黄芩素、柠檬烯,其中迷迭香酸含量为19%~20%。

[0021] 公开号为CN104208145A的中国专利公开了一种从紫苏叶中提取高纯度总三萜酸类化合物的方法及应用,包括如下步骤:(1)取紫苏叶药材,加入乙醇进行提取,滤过并合并提取液,减压回收乙醇,浓缩至稠浸膏,并将所述稠浸膏加沸水洗涤;(2)取水洗后的稠浸膏加入碱性乙醇溶液混匀,并过滤;(3)取滤液加入活性炭进行吸附处理,滤过后取滤液减压回收乙醇至干;(4)取回收物加入乙醇溶解,并以盐酸调节溶液pH值至强酸性,滤过取沉淀物;(5)取沉淀物以强酸性乙醇洗涤,除去残留在沉淀物表面的母液,然后加沸水洗涤,烘干,即得。

[0022] 从现有技术中公开的几种常用的从植物中提取、制备较高纯度熊果酸或同类三萜酸类化合物的方法,主要有溶剂萃取法、大孔吸附树脂法、或通过水解将三萜酸苷类除去糖后再制备的方式。但是,采用紫苏叶进行提取熊果酸,造成生产成本过高。紫苏叶中含有大量的花色苷,上述方法都采用回流提取,造成紫苏叶中花色苷大量破坏,没有得到充分利用,还容易造成环境污染风险。

发明内容

[0023] 本发明针对紫苏叶提取熊果酸过程中花色苷易破坏等问题,提供一种从紫苏叶中提取熊果酸和花色苷的方法,彻底解决提取过程中花色苷破坏等问题。

[0024] 本发明具体的技术方案,包括如下步骤:

[0025] (1)将新鲜紫苏叶采用茶叶滚筒杀青机进行杀青2~3分钟,立即进行绞碎。

[0026] (2)将绞碎后紫苏叶加入2~5倍重量的乙酸乙酯或石油醚进行室温萃取一次,残渣加入酸水进行室温浸提2~6h,过滤除渣得滤液I。

[0027] (3) 滤液I在40℃~55℃下进行真空或减压浓缩至原有体积的1/10~1/25,陶瓷膜过滤一次得滤液II和滤渣I。

[0028] (4) 滤液II上NKA-9大孔树脂柱进行吸附,用乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱液I。

[0029] (5) 将洗脱液I进行40℃~55℃下进行真空或减压浓缩至干燥物,得花色苷纯品。

[0030] (6) 将滤渣I加入无水甲醇溶解,上硅胶柱进行吸附,用三倍至五倍柱体积的甲醇水溶液进行柱洗脱,得到洗脱液II,最后三倍至五倍柱体积氯仿-甲醇溶液进行柱洗脱,得到洗脱液III,洗脱液II和洗脱液III在50℃~65℃下进行真空或减压浓缩至干,分别获得干燥物B、干燥物C。

[0031] (7) 加入乙醇溶液溶解干燥物B在40~45℃下保温15~30min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶得到熊果酸粗品,再重结晶一次得熊果酸纯品。

[0032] (8) 干燥物C加入丙酮在35~40℃下保温15~30min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶,重结晶一次,得芹菜素-7-葡萄糖苷。

[0033] 在一个具体实施方案中,步骤(2)中所述酸水的使用量,按体积/新鲜紫苏叶重量比为2~6L:1kg,其中酸水为含有85~90%甲醇的0.001~0.01mol/L盐酸水溶液。

[0034] 在一个实施方案中,所述过滤过程是纱布过滤、陶瓷膜过滤,其中,优选是三层纱布过滤2次、陶瓷膜过滤1次。

[0035] 在一个具体实施方案中,步骤(4)中所述乙醇水溶液是指pH值为2.5~3.5盐酸水溶液,其中含有15~30%乙醇,乙醇水溶液的使用体积为柱体积的3~5倍。

[0036] 在一个具体实施方案中,步骤(6)中所述无水甲醇的使用量,按体积/滤渣I重量比为0.5~2L:1kg。

[0037] 在一个具体实施方案中,步骤(6)所述甲醇水溶液是指含有70~90%甲醇的pH5.5~6.5的盐酸水溶液。

[0038] 在一个具体实施方案中,步骤(7)中所述石油醚的体积与干燥物B重量比为2~4L:1kg,甲醇的体积与干燥物B重量比为1~2.5L:1kg。

[0039] 在一个具体实施方案中,步骤(6)中所述氯仿-甲醇溶液是指氯仿与甲醇的体积比为25:10。

[0040] 在一个实施方案中,步骤(7)中所述乙醇溶液是指85%乙醇水溶液,所用体积与所得干燥物B的重量比为1L~2L:1kg。

[0041] 在一个具体实施方案中,步骤(8)中所述丙酮的体积与干燥物C重量比为1~3L:1kg。

[0042] 技术效果

[0043] 1、本发明获得两种紫苏提取产品,有效降低其生产成本,充分利用了紫苏叶两种主要成份。

[0044] 2、通过酸水提取工艺获得了大量高纯度的水溶性花色苷,有效提高了花色苷提取率,降低了因花色苷没有充分利用造成环境污染风险。

[0045] 3、通过树脂与结晶相结合,减少化学试剂的过度使用,保证了产品的纯天然性,可以安全的提供给香烟、食品、化妆品和制药等行业。

[0046] 4、通过杀青和石油醚脱脂能有效防止酶对花色苷和熊果酸的破坏,同时破坏了紫苏叶片细胞又能促进叶中有效成份的快速释放。

具体实施方式

[0047] 下面,本发明将用实施例进行进一步的说明,但是它并不限于这些实施例的任何一个或类似实例。

[0048] 实施例1

[0049] 取新鲜紫苏叶300kg采用茶叶滚筒杀青机进行杀青2~3分钟(紫苏叶含水量为75%),立即进行绞碎;加入700kg的乙酸乙酯或石油醚进行室温萃取一次,残渣加入含有85%乙醇的0.005mol/L盐酸水溶液800L,进行室温浸提4h。浸提液经三层纱布过滤2次、陶瓷膜过滤1次,得滤液I,再在45℃下进行真空或减压浓缩至40L,陶瓷膜过滤一次得滤液II和滤渣I3.68kg。滤液II上NKA-9大孔树脂柱进行吸附,用三倍柱体积的25%乙醇、pH3的水溶液进行洗脱,收集洗脱液I。将洗脱液I进行45℃下进行真空或减压浓缩至干燥物,得花色苷纯品1.45kg。将滤渣I加入7L无水甲醇,上200目硅胶柱进行吸附,用五倍柱体积的85%甲醇、pH6的水溶液进行柱洗脱,得到洗脱液II,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得1.56kg干燥物B。用五倍柱体积氯仿-甲醇溶液(25:10)继续对硅胶柱进行柱洗脱,得到洗脱液III,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得0.84kg干燥物C。用85%乙醇水溶液2L溶解干燥物B在45℃下加热20min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶得到熊果酸粗品,再重结晶一次得熊果酸纯品225g。向干燥物C中加入1.2L丙酮在40℃下加热回流2h,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶,重结晶一次,得芹菜素-7-葡萄糖苷118g。检测设备为Agilent1100高效液相色谱仪,色谱柱为Hypersil ODS(150mm×4.6mm,5μ),检测条件:流动相为甲醇-1%醋酸水溶液(88:12,V/V)、检测波长为210nm、流速0.5mL/min、柱温30℃、进样量为20μL,检测其熊果酸样品的含量为99.05%。实施例2

[0050] 取新鲜紫苏叶500kg采用茶叶滚筒杀青机进行杀青2~3分钟(紫苏叶含水量为80%),立即进行绞碎;加入1200kg的乙酸乙酯或石油醚进行室温萃取一次,残渣加入含有85%乙醇的0.005mol/L盐酸水溶液1200L,进行室温浸提4h。浸提液经三层纱布过滤2次、陶瓷膜过滤1次,得滤液I,再在45℃下进行真空或减压浓缩至80L,陶瓷膜过滤一次得滤液II和滤渣I5.75kg。滤液II上NKA-9大孔树脂柱进行吸附,用三倍柱体积的20%乙醇、pH3的水溶液进行洗脱,收集洗脱液I。将洗脱液I进行45℃下进行真空或减压浓缩至干燥物,得花色苷纯品2.64kg。将滤渣I加入9L无水甲醇,上200目硅胶柱进行吸附,用五倍柱体积的85%甲醇、pH6的水溶液进行柱洗脱,得到洗脱液II,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得2.28kg干燥物B。用五倍柱体积氯仿-甲醇溶液(25:10)继续对硅胶柱进行柱洗脱,得到洗脱液III,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得1.25kg干燥物C。加入85%乙醇水溶液3.5L溶解干燥物B在45℃下保温20min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶得到熊果酸粗品,再重结晶一次得熊果酸纯品305g。向干燥物C中加入1.5L丙酮在40℃下保温20min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶,重结晶一次,得芹菜素-7-葡萄糖苷162g。按实验例1的方法进行检测,其熊果酸样品的含量为99.21%。

[0051] 实施例3

[0052] 取含水量为80%的新鲜紫苏叶800kg采用茶叶滚筒杀青机进行杀青2~3分钟,立即进行绞碎;加入1800kg的乙酸乙酯或石油醚进行室温萃取一次,残渣加入含有85%乙醇的0.008mol/L盐酸水溶液2800L,进行室温浸提4h。浸提液经三层纱布过滤2次、陶瓷膜过滤

1次,得滤液I,再在45℃下进行真空或减压浓缩至150L,陶瓷膜过滤一次得滤液II和滤渣I 9.86kg。滤液II上NKA-9大孔树脂柱进行吸附,用三倍柱体积的20%乙醇、pH3.5的水溶液进行洗脱,收集洗脱液I。将洗脱液I进行45℃下进行真空或减压浓缩至干燥物,得花色苷纯品4.56kg。将滤渣I加入20L无水甲醇,上200目硅胶柱进行吸附,用五倍柱体积的90%甲醇、pH5.8的水溶液进行柱洗脱,得到洗脱液II,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得3.25kg干燥物B。用五倍柱体积氯仿-甲醇溶液(25:10)继续对硅胶柱进行柱洗脱,得到洗脱液III,在55℃下进行真空或减压浓缩至干,获得1.96kg干燥物C。加入85%乙醇水溶液4L溶解干燥物B在45℃下保温20min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶得到熊果酸粗品,再重结晶一次得熊果酸纯品486g。向干燥物C中加入1.5L丙酮在40℃下保温20min,趁热陶瓷膜过滤1次,滤液放置冰箱中过夜,结晶,重结晶一次,得芹菜素-7-葡萄糖苷198g。按实验例1的方法进行检测,其熊果酸样品的含量为99.13%。

[0053] 对照实施例1

[0054] 按照公开号为CN104208145A提供的方法,从紫苏叶中进行提取熊果酸,包括如下步骤:取含水量为80%的新鲜紫苏叶500kg,烘干紫苏叶进行粉碎,称取100kg,加入75%乙醇500L,加热提取3次,每次2小时,滤过,合并提取液,减压回收乙醇,浓缩至稠膏,加沸水洗涤3次,每次15重量倍量,水洗后浸膏加入10重量倍量浓度为1.0%的KOH乙醇溶液,搅拌30分钟,滤过,滤液加入3% (W/V) 的活性炭,加热回流30分钟,放冷,滤过,滤液减压回收乙醇至干,加入1倍量80%的乙醇,使溶解,加盐酸调节溶液pH值至0.8,静置并滤过,取沉淀先用pH值为、浓度为80%的乙醇洗涤,除去残留在沉淀表面的母液,然后用6重量倍量沸水洗涤,烘干,即得总三萜类提取物780g。按照实施例1的检测方法进行检测,熊果酸含量为37.60%,其中含有熊果酸为293g。