



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102212024 B

(45) 授权公告日 2013.12.25

(21) 申请号 201110089681.X

EP 0733619 B1, 1998.10.28,

(22) 申请日 2011.04.11

张莉华等.《天然叶黄素溶解度的测定》.《中国食品添加剂》.2010,(第5期),第231-234页.

(73) 专利权人 长沙富能生物技术有限公司

地址 410013 湖南省长沙市高新开发区火炬城 M0 栋组团七楼

朱海霞等.《叶黄素(Lutein)的结构、分布、物化性质及生理功能》.《中国食品添加剂》.2005,(第5期),第48-55页.

(72) 发明人 刘毛东 朱贞钰

审查员 靳贝贝

(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 卢宏

(51) Int. Cl.

C07C 403/24(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1660803 A, 2005.08.31,

CN 1830959 A, 2006.09.13,

CN 101386879 A, 2009.03.18,

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

一种以天然叶黄素合成虾青素的方法

(57) 摘要

一种以天然叶黄素合成虾青素的新方法,具体步骤为:将叶黄素粉末加入到乙醇或者甲醇溶液中,得到叶黄素浓度为 50g/L-120g/L 的溶液,然后加入 N-羟基丁二酰亚胺或 N-溴丁二酰亚胺反应,其中叶黄素粉末与 N-羟基丁二酰亚胺或 N-溴丁二酰亚胺的质量比为 30-50 : 1;然后将反应液温度降到 45℃-58℃,压力降到 100psi-140psi,继续保持反应 50min-70min,当反应液颜色呈现红棕色,停止反应,减压回收有机溶剂;再用乙醚溶解减压回收后的物质,调 pH 到 0.5-1.5,密闭反应釜,升高温度到 95℃-120℃反应,直到反应液呈现红褐色,停止反应,减压回收有机溶剂,水洗,得到虾青素单体。其中左旋结构的虾青素含量达到 80%,与藻源虾青素的性质非常接近,具有很强的生物学活性。

1. 一种以天然叶黄素合成虾青素的方法,其特征是,具体合成步骤为:

(1) 将叶黄素粉末加入到乙醇或者甲醇溶液中,得到叶黄素浓度为 50g/L-120g/L 的溶液,然后加入 N-羟基丁二酰亚胺或 N-溴丁二酰亚胺反应,其中叶黄素粉末与 N-羟基丁二酰亚胺或 N-溴丁二酰亚胺的质量比为 30-50 : 1;反应条件是:反应温度为 75℃-90℃,反应时间为 30min-40min,并通入 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的混合气体,使压力保持在 720psi-770psi;

(2) 然后将反应液温度降到 45℃-58℃,压力降到 100psi-140psi,继续保持反应 50min-70min,当反应液颜色呈现红棕色,停止反应,减压回收有机溶剂;

(3) 用乙醚溶解减压回收后的物质,使叶黄素在反应液中的浓度为 60g/L-80g/L,再加 PCl<sub>5</sub> 固体和质量浓度为 20%-35% 的硫酸调 pH 到 0.5-1.5,密闭反应釜,升高温度到 95℃-120℃ 反应,直到反应液呈现红褐色,停止反应,减压回收有机溶剂,水洗,得到虾青素单体。

2. 根据权利要求 1 所述一种以天然叶黄素合成虾青素的方法,其特征是,所述 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的混合气体中 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的体积比为 0.6-0.9 : 1。

3. 根据权利要求 1 所述一种以天然叶黄素合成虾青素的方法,其特征是,所述减压回收是用旋转蒸发仪来回收。

## 一种以天然叶黄素合成虾青素的方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于有机物合成领域,涉及一种以天然叶黄素合成虾青素的新方法。

### 背景技术

[0002] 虾青素,又名虾黄素,是一种脂溶性类胡萝卜素,英文名 astaxanthin,化学名 3,3'-二羟基-4,4'-二酮基- $\beta$ , $\beta'$ -胡萝卜素,CAS 登录号为 472-61-7,分子式  $C_{40}H_{52}O_4$ ,分子量 596.86。红褐色至褐色粉末,耐热性强,耐光性差。

[0003] 抗氧化性:虾青素有极强的抗氧化性能,为维生素 E 的 500 倍(Fisheries Science,1996,62:134-137)。实验表明,虾青素不但可以直接清除体内自由基,还能阻断脂肪酸的链式反应(中国专利申请号:200810195924.6)。此外,虾青素还能有效地防止磷脂和其它脂类的过氧化(J Agric Food Chem,2000,48:1150),因此,虾青素可应用于医药产品,作为抗衰老的药品和食品保健品。

[0004] 虾青素与炎症:Mara 公司将天然虾青素并与其它 26 种著名的抗炎药物效果进行比较,结果显示虾青素和调查中的 92% 的抗炎药物有同等的效果或更高;和 62 种包括阿司匹林在内的非处方抗炎药相比,虾青素与其中 76% 的药物具有同等的效力或更好(Technical Repot TR,3005.001.1999),这些结果均说明虾青素的抗炎作用可用于治疗和预防由炎症引起的疾病。

[0005] 作为光保护剂:自然界中类胡萝卜素在保护组织免受紫外线引起光氧化方面担任一个重要角色,在防止脂质紫外线光氧化方面,虾青素比  $\beta$ -胡萝卜素和叶黄素具有更显著效果(J. Dermatol. Sci.,1998,16:226-230),眼睛和皮肤因紫外线造成氧化损伤已有大量报道,因此虾青素独特紫外线保护特性对眼睛和皮肤健康非常重要。

[0006] 抗癌制剂:研究发现,虾青素能显著降低诱导结肠癌发病率(Anticancer Res.1999,19:1849-1854)。饮食中虾青素治疗乳腺癌也有效,效果比  $\beta$ -胡萝卜素和角黄素高 50% (US Patent:6,277,417.2001)。虾青素可抑制引起前列腺生长 5- $\alpha$ -还原酶活性,因此增补虾青素被提议作为治疗良性前列腺增生和前列腺癌的一种方法(Carcinogenesis,1998,19:403-411)。近来关于虾青素在影响与癌症有关途径机理中包括这种胡萝卜素能增强膜稳定性和促进细胞间隙结合蛋白基因合成能力,这种蛋白变化将有效影响细胞间通讯,而这可能与减速癌细胞生长有关(Arch. Toxicol.,2002,75:665-675)或与调节免疫反应攻击癌细胞有关(Carcinogenesis,1995,16:2957-2963)。

[0007] 虾青素与心脑血管疾病:研究表明,虾青素通过改变血液中 LDL 和 HDL 胆固醇水平而对心脏健康有利(Exp. Gerontol,1999,34:613-619),可减少心脏病的发病率;心脑血管疾病中脑卒中的发病率一直居高不下,严重危害人类的健康,影响着人类的生活质量,但多数药物只是改变脑缺血复杂的病理生理过程的某一环节,其疗效并不满意,研究表明,虾青素可用于制备防治脑卒中的药物(中国专利申请号:200810195924.6)。以上研究都表明,虾青素是治疗和预防心脑血管疾病的良药。

[0008] 同时,虾青素又是一种良好的着色剂,能改善水产、畜禽皮肤和禽蛋色素沉积,提

高产品品质,促进抗体产生,提高动物免疫力,是鲑鱼等鱼类的主要色素,在水产及家禽养殖方面也具有重要价值,应用前景非常广泛。

[0009] 虾青素制备现状:目前,虾青素的获得主要有化学合成和天然提取两种方式(中国专利申请号:200610075691.7)。天然虾青素是由藻类、细菌和浮游植物产生的,一些水生生物种,包括虾、蟹在内的甲壳类动物都食用这些藻类和浮游生物,然后把这种色素储存在壳中,这些贝壳类动物又被鱼(三文鱼、鳟鱼、加利鱼)和鸟(火烈鸟,朱鹭)鸡、鸭捕食,然后把色素储存在皮肤和脂肪组织中,人就从动物及其副产品中提取,但是动物体内色素含量较低,废弃物本身易迅速腐败变质,体积大,运输成本相对提高,且提取费用高,所以这种方法不适用于商品化生产,发展潜力不大;通过藻类培养或通过细菌发酵制备(美国专利:6015684、5935808),所得的虾青素生物活性低,抗氧化性弱,主要用于着色剂,不能满足人们对虾青素其它方面的需求。目前最好生产天然虾青素的是通过培养雨生红球藻来制备(国内主要是荆州市天然虾青素有限公司),但由于投资大,培养周期长,不能满足人们对虾青素越来越大的生活需求,因此需要化学合成来填补,但目前化学合成虾青素同天然虾青素在结构、功能、应用及安全性等方面差别显著。

[0010] A、结构方面

[0011] 由于两端的羟基(-OH)旋光性原因,虾青素具有 3S-3`S、3R-3`、3R-3`R (也称为左旋、消旋、右旋)这 3 种异构形态,其中化学合成虾青素为 3 种结构虾青素的混合物,左旋占 25%、右旋占 25%、消旋 50%左右(食品工程,2007. 3, 1:16-18),极少抗氧化活性,与鲑鱼等养殖生物体内的虾青素(以反式结构——3S-3`S 型为主)截然不同,酵母菌源的虾青素是 100% 右旋(3R-3`R),有部分抗氧化活性;上述两种来源虾青素主要用在非食用动物和物资的着色上。只有藻源的虾青素是 100% 左旋(3S-3`S)结构,具有最强的生物学活性。

[0012] B、生理功能方面

[0013] 人工合成虾青素抗氧化活性亦比天然虾青素低,由于合成虾青素只有 1/4 左右的左旋结构,因此其抗氧化性也只有天然的 1/4 左右。

[0014] C、应用效果上

[0015] 人工虾青素的生物吸收效果也较天然虾青素差,喂食浓度较低时,人工虾青素在红鳟鱼血液中浓度明显低于天然虾青素,且在体内无法转化为天然构型,其着色能力和生物效价更比同浓度的天然虾青素低的多。

[0016] D、生物安全方面

[0017] 利用化学手段合成虾青素时将不可避免的引入杂质化学物质,如合成过程中产生的非天然副产物等,将降低其生物利用安全性。

## 发明内容

[0018] 本发明的目的在于克服现有化学合成虾青素中存在的不足,利用叶黄素和虾青素在分子结构上的相似性,设计出一种以天然叶黄素合成虾青素的方法。具体合成路线如图 1 所示,合成产品中左旋结构的虾青素含量达到 80%,和藻源虾青素的性质非常接近,具有很强的生物学活性。

[0019] 本发明的一种以天然叶黄素合成虾青素的方法,具体合成步骤为:

[0020] (1) 将叶黄素粉末加入到乙醇或者甲醇溶液中,得到叶黄素浓度为 50 g /L

-120g /L 的溶液, 然后加入 N- 羟基丁二酰亚胺或 N- 溴丁二酰亚胺反应, 其中叶黄素粉末与 N- 羟基丁二酰亚胺或 N- 溴丁二酰亚胺的质量比为 30-50:1 ; 反应条件是 : 反应温度为 75℃ -90℃, 反应时间为 30 min -40min, 并通入 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的混合气体, 使压力保持在 720psi -770psi ;

[0021] (2) 然后将反应液温度降到 45℃ -58℃, 压力降到 100psi -140psi, 继续保持反应 50 min -70min, 当反应液颜色呈现红棕色, 停止反应, 减压回收有机溶剂 ;

[0022] (3) 用乙醚溶解减压回收后的物质, 使叶黄素在反应液中的浓度为 60 g /L -80g /L, 再加 PCl<sub>5</sub> 固体和质量浓度为 20%-35% 的稀硫酸调 pH 到 0.5-1.5, 密闭反应釜, 升高温度到 95℃ -120℃ 反应, 直到反应液呈现红褐色, 停止反应, 减压回收有机溶剂, 水洗, 得到虾青素单体。

[0023] 上述 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的混合气体中 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的体积比为 0.6-0.9:1。上述减压回收是用旋转蒸发仪来回收。而且合成过程中尽量避光, 防止虾青素的降解。

[0024] 本发明一种以天然叶黄素合成虾青素的方法, 是先在高温高压下反应一段时间后降低温度和压力反应, 这样处理是因为 : 在高温高压下反应产生的杂质较多, 但压力和温度低的反应条件又不适合工业化生产, 能耗太高, 因此先快速的在高温高压下把大部分叶黄素反应, 而后再降低温度和压力继续把剩下的物质反应完全, 这样反应得到的产品杂质含量较低, 可以提高产品虾青素的含量。

[0025] 对本发明合成的虾青素进行结构鉴定 :

[0026] 用专利《虾青素的晶型》(中国专利申请号 :200680029718.7) 中介绍的方法进行分析, 证明合成的虾青素为 3 种结构虾青素的混合物(见图 4), 左旋结构占 75%、右旋占 10%, 其余的为消旋结构, 与虾青素样品结构(100% 左旋)非常接近, 具有很强的生物学活性, 能满足人类对于虾青素的各种需求, 解决了化学合成虾青素基本没有氧化性的难题。

[0027] 本发明合成的虾青素是用高效液相色谱外标法定量测定虾青素含量在 80% 以上。本发明合成的虾青素按照《虾青素的毒理学安全性评价》(毒理学杂志, 2008.6, 22.3:244-246) 中介绍的方法进行了安全性实验, 是以 20000mg/kg 虾青素经灌胃途径进行动物毒性实验, 小鼠皮毛生长、粪便、饮食、活动和神经反射等情况正常, 更无死亡情况发生, 表明虾青素对小鼠行为和精神情况没有明显影响, 可被社会广泛应用。

## 附图说明

[0028] 图 1 是虾青素的合成路线图。

[0029] 图 2 是虾青素液相对照图谱, 其中 A 为标样藻源虾青素(100% 左旋) 谱图, B 为虾青素样品的谱图, 图中标示的 1 为虾青素的色谱峰。虾青素样品出峰时间与标样的一致, 可以确定该物质为目标产物虾青素。

[0030] 图 3 为虾青素拉曼光谱图 ; 其中 A 为标样藻源虾青素(100% 左旋) 拉曼光谱图, B 为虾青素样品拉曼光谱图, 得到样品中三种晶型的比例为 : 左旋晶型 : 右旋晶型 : 消旋晶型 =0.75:0.15:0.10。

## 具体实施方式

[0031] 下面根据具体实施例对本发明作进一步的说明, 但不意味着限制本发明的保护范

围。

[0032] 称取叶黄素粉末(叶黄素粉末由西安华瑞生物科技有限公司提供,液相含量 60—80%) 400g 于 8L 的不锈钢反应釜中,加入乙醇 5L,搅拌溶解完全,加入 N-羟基丁二酰亚胺 10g,随后密闭反应釜,升高反应液温度到 81℃,通入 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> (v/v=0.75),压力保持在 745psi,保持反应 32min;将反应液温度降到 52℃,压力保持在 120psi,继续反应 60min,反应液呈现红棕色。过滤,减压回收有机溶剂,用 5.5L 乙醚溶解,加入 PCl<sub>5</sub>1.2g,用 25% 稀硫酸调节 PH 为 1.2,密闭反应釜,升高反应液温度到 110℃,反应 46min,反应液呈现红褐色,减压回收有机溶剂,水洗,干燥,得到虾青素单体,左旋结构达到 75% 以上,反应中尽量避光。

[0033] 对上述合成的虾青素单体进行结构鉴定,由液相色谱对比图,如图 3 所示,出峰时间与标样的一致,可以确定该物质为目标产物虾青素;用液相色谱外标法定量分析得出虾青素含量在 80% 以上。由虾青素拉曼光谱图,图 4 可知,产品虾青素为 3 种结构虾青素的混合物,左旋结构占 75%、右旋占 10%,其余的为消旋结构,与藻源虾青素结构(100% 左旋)非常接近,具有很强的生物学活性。

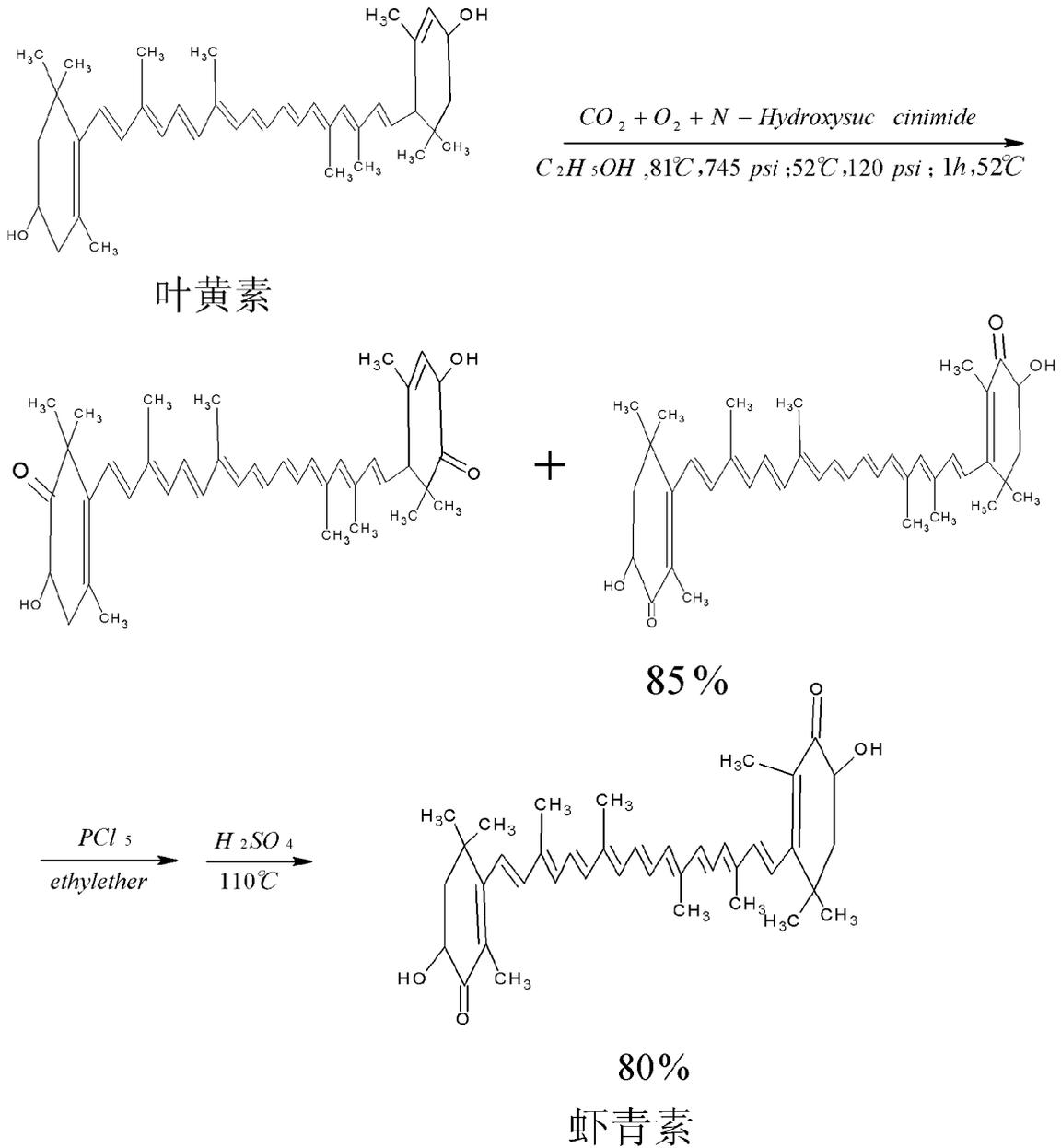


图 1

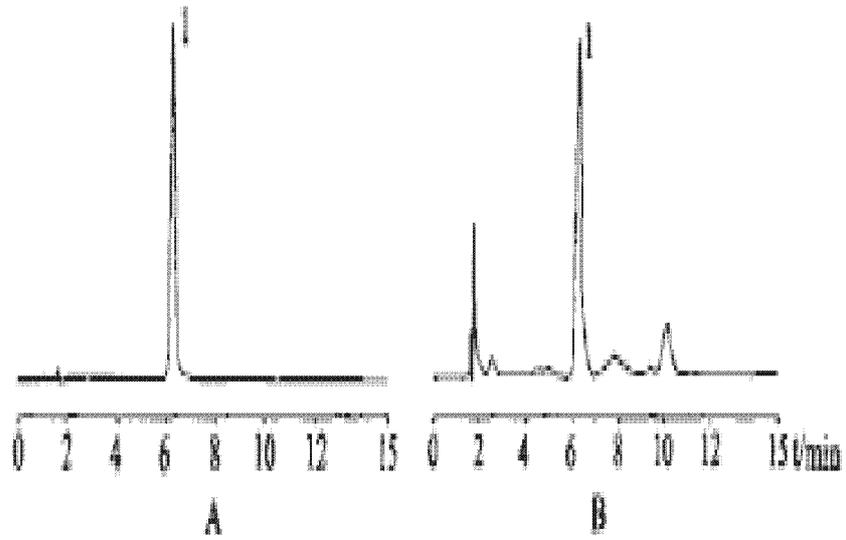


图 2

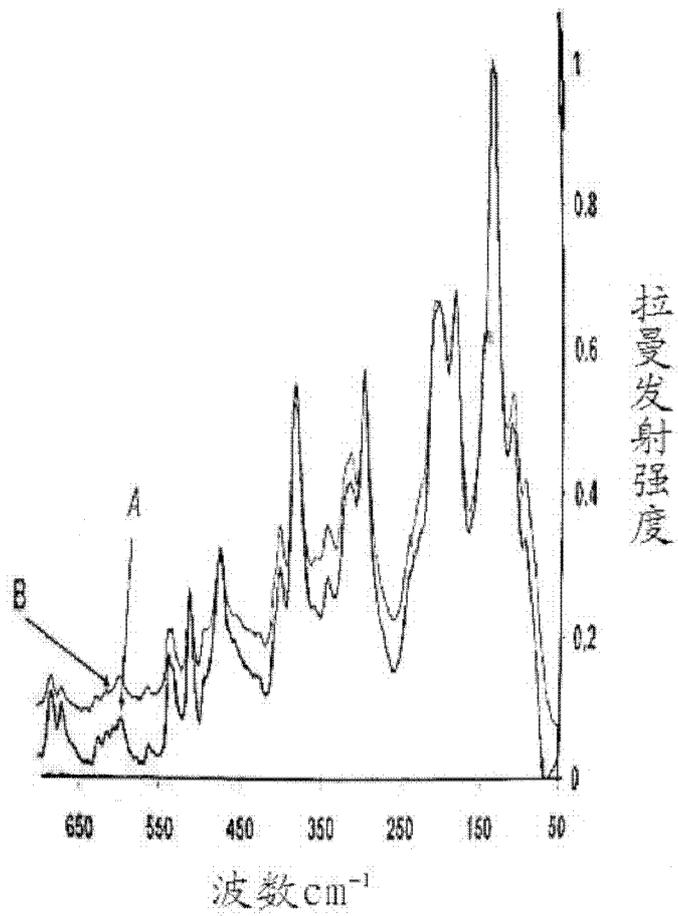


图 3