



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103204895 A

(43) 申请公布日 2013.07.17

(21) 申请号 201310119064.9

(22) 申请日 2013.04.08

(71) 申请人 南昌大学

地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府
大道 999 号

(72) 发明人 范杰平 卢婵 邝荣初 金琴
刘芬 匡小军

(74) 专利代理机构 南昌新天下专利商标代理有
限公司 36115

代理人 施秀瑾

(51) Int. Cl.

C07J 63/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种从苹果皮中分离熊果酸的方法

(57) 摘要

本发明属于天然药物领域,涉及一种从苹果皮中分离熊果酸的方法,包括粉碎过的苹果皮脱胶,过滤;滤渣用中等极性溶剂、低碳链醇或低碳链醇的水溶液进行提取,提取液经回收溶剂得浸膏;浸膏用低极性溶剂脱脂后,溶于低碳链醇中并用活性炭脱色;过滤并回收溶剂得到白色熊果酸粗品;熊果酸粗品经低碳链醇、低碳醇水溶液、乙酸乙酯或它们混合物进行重结晶后得熊果酸晶体。本发明原料易得、工艺简单易行,所获得的熊果酸纯度高、成本低,非常适合规模化生产。

1. 一种从苹果皮中分离熊果酸的方法,其特征在于包括如下步骤:

(1)取新鲜苹果皮、或干苹果皮、或榨汁后的苹果渣,粉碎,按液固比 mL/g 20/1 ~ 100/1 加入水、或盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、亚硫酸、柠檬酸、酒石酸、乙酸、乳酸和苹果酸的水溶液任一种或几种混合物、或纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶的水溶液任一种或几种混合物,在 20-100℃ 下加热回流或功率 100 ~ 1000w 的超声波或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助提取 1 ~ 3 次,每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,过滤或离心后得苹果渣,备用;或直接取脱除苹果胶后的果皮备用;

(3)取滤渣,按液固比 mL/g 4/1 ~ 40/1 加入中等极性溶剂、体积比浓度 50% ~ 100% 的低碳链醇水溶液,在 20-90℃ 下,加热回流或功率 100 ~ 1000w 的超声波或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助提取 1 ~ 3 次,每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,合并提取液,常压或减压回收溶剂得浸膏;

(4)取浸膏,按液固比 mL/g 10/1 ~ 100/1 加入低极性溶剂,在 20-90℃ 下,加热回流脱脂或功率 100 ~ 1000w 的超声或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助脱脂 1 ~ 4 次,每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,过滤或离心,取不溶物,得到脱脂后的浸膏;

(5)取脱脂后的浸膏,按液固比 mL/g 10/1 ~ 500/1 加入体积比浓度 50% ~ 100% 低碳链醇或它们的水溶液,使脱脂后浸膏溶解,在 20-90℃ 下,按脱脂后浸膏质量 g/g 的 1/50 ~ 5/1 加入活性炭,加热回流或功率 100 ~ 1000w 的超声或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助脱色 1 ~ 5 次每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,过滤或离心,常压或减压回收溶剂得到熊果酸粗品;

(6)取熊果酸粗品,按液固比 mL/g 20/1 ~ 500/1 加入体积比浓度 50% ~ 100% 低碳链醇水溶液、或乙酸乙酯或乙酸乙酯与低碳链醇体积比 1/9 ~ 9/1 的混合物,进行结晶或重结晶,过滤或离心得到熊果酸晶体。

2. 根据权利要求 1 所述的一种从苹果皮中分离熊果酸的方法,其特征在于:所述低碳链醇是甲醇、乙醇或它们的任意比混合物中的一种。

3. 根据权利要求 1 所述的一种从苹果皮中分离熊果酸的方法,其特征在于:所述中等极性溶剂是二氯甲烷、三氯甲烷、二氯乙烷、乙酸乙酯或它们的任意比混合物中的一种。

4. 根据权利要求 1 所述的一种从苹果皮中分离熊果酸的方法,其特征在于:所述低极性溶剂是石油醚、正己烷、环己烷、正庚烷或它们的任意比混合物中的一种。

一种从苹果皮中分离熊果酸的方法

技术领域

[0001] 本发明属天然药物领域,具体涉及一种从苹果皮中分离活性成分熊果酸的方法。

技术背景

[0002] 我国苹果产地主要集中在河南、山东、陕西等地,并且在苹果产地建有较大数量和规模的果脯或果汁等生产企业,这些企业在生产过程中每天有大量的苹果皮渣产生并成为废物被处理掉。因此,产生大量浪费的同时还造成了环境的污染。苹果皮中熊果酸含量较高,为提取和分离熊果酸提供了优良的原料。本发明分离工艺简单,成本低,收率高,非常适合工业化生产,具有很高的经济与社会效益。

[0003] 熊果酸(Ursolic acid)又名乌苏酸或乌索酸,属三萜类化合物,分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$,化学名称为 3β -羟基-熊果烷-12-烯-28-羧酸。熊果酸具有镇静、抗炎、抗菌、抗糖尿病、抗溃疡、降低血糖等多种生物学效应;同时熊果酸还具有明显的抗氧化性,因而被广泛地应用于医药和化妆品原料。在一些重大疾病上,熊果酸具有保肝、抗肝炎、抗肿瘤的作用,甚至对于艾滋病亦有很好的抑制作用。

[0004] 韩宁娟申请的“一种苹果中总三萜类化合物的提取分离方法有其应用”的发明专利(申请号200910021258.9)以及何祥久等人申请的“一种苹果总三萜的制备方法及其用该法制备的苹果总三萜”的发明专利(申请号201010163527.8)都是申请制备苹果总三萜的发明专利,并没有具体涉及制备熊果酸晶体的内容。本发明人曾申请的发明专利“一种从车前草中分离熊果酸的方法”(申请号201210120392.6)公开了从车前草中分离熊果酸的方法,但是车前草与苹果皮在性质上存在较大的差异,直接采用申请号201210120392.6的方法所得熊果酸提取效率低、纯度较低。

发明内容

[0005] 本发明目的在于提供一种从苹果皮中分离熊果酸的方法。

[0006] 经过本发明人的大量实验、摸索,发现苹果皮中存在较多的水溶性成分如苹果胶等,严重影响对熊果酸的分离提取。所以本申请在提取之前采取了水提等方式去除水溶性成分苹果胶等成分。本工艺具体步骤如下:

(1)取新鲜苹果皮、或干苹果皮、或榨汁后的苹果渣,粉碎,按液固比 ml/g 20/1~100/1加入水、或盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、亚硫酸、柠檬酸、酒石酸、乙酸、乳酸和苹果酸的水溶液任一种或几种混合物、或纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶的水溶液任一种或几种混合物,在20-100℃下加热回流或功率100~1000w的超声波或100~1000w功率的微波辅助提取1~3次,每次0.1~3小时,搅拌速度0~2000r/min,过滤或离心后得苹果渣,备用;或直接取脱除苹果胶后的果皮备用;

(3)取滤渣,按液固比 mL/g 4/1~40/1加入中等极性溶剂、体积比浓度50%~100%的低碳链醇水溶液,在20-90℃下,加热回流或功率100~1000w的超声波或100~1000w功率的微波辅助提取1~3次,每次0.1~3小时,搅拌速度0~2000r/min,合并提取液,常

压或减压回收溶剂得浸膏；

(4)取浸膏,按液固比 mL/g 10/1 ~ 100/1 加入低极性溶剂,在 20-90℃下,加热回流脱脂或功率 100 ~ 1000w 的超声或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助脱脂 1 ~ 4 次,每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,过滤或离心,取不溶物,得到脱脂后的浸膏；

(5)取脱脂后的浸膏,按液固比 mL/g 10/1 ~ 500/1 加入体积比浓度 50% ~ 100% 低碳链醇或它们的水溶液,使脱脂后浸膏溶解,在 20-90℃下,按脱脂后浸膏质量 g/g 的 1/50 ~ 5/1 加入活性炭,加热回流或功率 100 ~ 1000w 的超声或 100 ~ 1000w 功率的微波辅助脱色 1 ~ 5 次每次 0.1 ~ 3 小时,搅拌速度 0 ~ 2000r/min,过滤或离心,常压或减压回收溶剂得到熊果酸粗品；如果前一步骤所得脱脂后的浸膏颜色较浅,则本步骤可以省略；

(6)取熊果酸粗品,按液固比 mL/g 20/1 ~ 500/1 加入体积比浓度 50% ~ 100% 低碳链醇水溶液、或乙酸乙酯或乙酸乙酯与低碳链醇体积比 1/9 ~ 9/1 的混合物,进行结晶或重结晶,过滤或离心得到熊果酸晶体。

[0007] 所述低碳链醇是甲醇、乙醇或它们的任意比混合物中的一种。

[0008] 所述中等极性溶剂是二氯甲烷、三氯甲烷、二氯乙烷、乙酸乙酯或它们的任意比混合物中的一种。

[0009] 所述低极性溶剂是石油醚、正己烷、环己烷、正庚烷或它们的任意比混合物中的一种。

[0010] 本发明的优点是：1 与其它植物原料相比,本发明所用苹果皮在我国果汁或果脯等产业上基本上属副产物,且产量较大,常作为废物处理且污染环境,这为本发明提供了丰富且价廉的原料,且属于废物回收利用；2、本发明所需化工原料易得,并且可以回收再用,因此“三废”处理量小,对环境基本不产生污染；3、本发明不采用色谱技术,而是直接采用提取、脱脂、脱色、结晶等工艺,故本工艺简便、所需装置简单,非常适合规模化生产。4、在提取熊果酸之前先通过水提或酸法、酶法等方法去除水溶性成分如苹果胶等,有效排除干扰,提高了熊果酸提取的效率和纯度。5、针对苹果皮的性质,在提取时采用一步法加入中等极性溶剂、体积比浓度 50% ~ 100% 的低碳链醇水溶液提取,简化了步骤,在基本保持提取纯度的前提下节约了材料、大大降低了成本。6、本发明方案提取分离熊果酸晶体浓度大于等于 80%。综上所述,本发明所需原料价廉易得,环境污染小,工艺简便易行,生产装置简单,所以本发明制备熊果酸的成本较低并且非常适合规模化生产。

具体实施方式

[0011] 实施例 1：

取新鲜苹果皮粉碎,用 20 倍量水提取 2 次(每次 1 小时,80℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣；滤渣用 20 倍量 95% 乙醇回流提取 2 次(每次 2 小时,70℃,搅拌,转速 800r/min),减压回收乙醇得到黄白色浸膏；浸膏用 15 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min)；脱脂后浸膏溶于 95% 乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品按液固比 mL/g20:1 用 95% 乙醇重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 98%。

[0012] 实施例 2：

将干燥苹果皮粉碎,用 20 倍量盐酸水溶液提取 2 次(每次 1 小时,90℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 15 倍量无水乙醇回流提取 3 次(每次 2 小时,60℃,搅拌,转速 600r/min),减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 20 倍量的正己烷脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,60℃,搅拌,转速 400r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品按液固比 mL/g25:1 用无水乙醇重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 95%。

[0013] 实施例 3:

将新鲜榨汁后苹果渣经粉碎,用 20 倍量硝酸水溶液,提取 2 次(每次 1 小时,30℃,搅拌,转速 600r/min),过滤取滤渣;滤渣用 12 倍量甲醇超声辅助提取 3 次(每次 2 小时,40℃,搅拌,转速 600r/min),减压回收甲醇得到黄白色浸膏;浸膏用 20 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品按液固比 mL/g30:1 用无水乙醇重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 80%。

[0014] 实施例 4:

将新鲜苹果皮粉碎,用 20 倍量亚硫酸水溶液,提取 2 次(每次 1 小时,30℃,搅拌,转速 600r/min),过滤取滤渣;滤渣用 12 倍量甲醇超声辅助提取 3 次(每次 2 小时,40℃,搅拌,转速 600r/min),减压回收甲醇得到黄白色浸膏;浸膏用 20 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品按液固比 mL/g30:1 用无水乙醇重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 90%。

[0015] 实施例 5:

将新鲜苹果皮粉碎,用 20 倍量磷酸水溶液,提取 2 次(每次 1 小时,60℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 20 倍量甲醇超声辅助提取 3 次(每次 2 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min),减压回收溶剂得到近乎白色浸膏;浸膏用 20 倍量的正己烷脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏溶于甲醇中,加入活性炭脱色 2 次(每次 0.5 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min),过滤,合并滤液,回收甲醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用甲醇按液固比 mL/g40:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 85%。

[0016] 实施例 6:

将新鲜苹果皮粉碎,用 30 倍量硫酸水溶液,超声提取 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 30 倍量甲醇超声辅助提取 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min),减压回收溶剂得到近乎白色浸膏;浸膏用 20 倍量的正己烷脱去脂溶性成分 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏溶于甲醇中,回收甲醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用甲醇按液固比 mL/g150:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 97%。

[0017] 实施例 7:

以提取完苹果果胶后的苹果皮为原料,取苹果皮细粉,加入 30 倍量无水乙醇超声辅

助提取 3 次(每次 1 小时,30℃),减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 1.5 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后浸膏颜色很浅,直接按液固比 mL/g 40:1 加入乙醇和乙酸乙酯的混合物(体积比 1:1)重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 92%。

[0018] 实施例 8:

将新鲜苹果皮粉碎,用 30 倍量醋酸溶液提取(2 小时,60℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 20 倍量 95% 乙醇微波辅助提取 3 次(每次 0.5 小时),减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 2 次(每次 0.5 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 600r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用乙醇按液固比 mL/g30:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 89%。

[0019] 实施例 9:

以提取完苹果果胶后的苹果皮为原料,取苹果皮细粉,用 25 倍量果胶酶溶液提取(2 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣采用渗漉法(增加量),用 95% 乙醇提取,减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 25 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 2 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 400r/min);脱脂后溶于甲醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,30℃,搅拌,转速 600r/min),过滤,合并清液,回收甲醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用甲醇和乙醇混合溶液按液固比 mL/g300:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 99%。

[0020] 实施例 10:

将苹果皮自然凉干粉碎,取苹果皮细粉,用 25 倍量纤维素酶水溶液提取(2 小时,30℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 30 倍量乙酸乙酯超声辅助提取 3 次(每次 1 小时),减压回收乙酸乙酯得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 0.5 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于甲醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 0.5 小时,60℃,搅拌,转速 400r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用甲醇和乙酸乙酯按体积比 1:1 按液固比 mL/g25:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 96%。

[0021] 实施例 11:

以提取完苹果果胶后的苹果皮为原料,取苹果皮细粉,用 25 倍量半纤维素酶水溶液提取(2 小时,30℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 30 倍量三氯甲烷超声辅助提取 3 次(每次 1 小时),减压回收三氯甲烷得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的石油醚(沸点 60-90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 0.3 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 0.5 小时,60℃,搅拌,转速 400r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用无水乙醇按液固比 mL/g200:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 94%。

[0022] 实施例 12:

以提取完苹果果胶后的苹果皮为原料,取苹果皮细粉,用 30 倍量含纤维素酶和半纤维素酶的混合溶液提取(2 小时,30℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 30 倍量甲醇超声辅助提取 3 次(每次 1 小时),减压回收甲醇得到近乎白色浸膏;浸膏用 30 倍量的

石油醚(沸点 60–90℃)脱去脂溶性成分 3 次(每次 0.5 小时,40℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于无水乙醇中,按液固比 mL/g30:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 98%。

[0023] 实施例 13:

将新鲜苹果皮粉碎,用 40 倍量磷酸和硝酸混合溶液提取(2 小时,60℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 20 倍量无水乙醇微波辅助提取 3 次(每次 0.5 小时),减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的石油醚(沸点 60–90℃)脱去脂溶性成分 2 次(每次 0.5 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于无水乙醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,50℃,搅拌,转速 600r/min),过滤,合并滤液,回收乙醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用乙醇按液固比 mL/g100:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 99.5%。

[0024] 实施例 14:

将干苹果皮粉碎,用 50 倍量柠檬酸水溶液超声辅助提取(2 小时,30℃,搅拌,转速 500r/min),过滤取滤渣;滤渣用 20 倍量二氯乙烷超声辅助提取 3 次(每次 1 小时),减压回收乙醇得到黄白色浸膏;浸膏用 30 倍量的环己烷脱去脂溶性成分 2 次(每次 0.5 小时,50℃,搅拌,转速 500r/min);脱脂后溶于甲醇中,加入活性炭脱色 3 次(每次 1 小时,40℃,搅拌,转速 600r/min),过滤,合并滤液,回收甲醇得到白色熊果酸粗品。熊果酸粗品用甲醇按液固比 mL/g50:1 重结晶得到熊果酸晶体,熊果酸纯度为 93%。

[0025] 实施例 15

将干苹果皮粉碎,用 50 倍量盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、亚硫酸、柠檬酸、酒石酸、乙酸、乳酸和苹果酸混合酸水溶液超声辅助提取。其余同实施例 14。