



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113200849 B

(45) 授权公告日 2025.07.18

(21) 申请号 202110458940.5

C07C 67/54 (2006.01)

(22) 申请日 2021.04.27

C07C 67/60 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

C07C 69/67 (2006.01)

申请公布号 CN 113200849 A

A01N 37/36 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2021.08.03

(73) 专利权人 香港理工大学

地址 中国香港九龙红磡理工大学陈鲍雪莹楼10楼1009室

(56) 对比文件

CN 110452115 A, 2019.11.15

CN 101347523 A, 2009.01.21

CN 112359071 A, 2021.02.12

CN 110452121 A, 2019.11.15

(72) 发明人 陶肖明 鲍祺

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

专利代理师 于磊 张福根

注意:

申请人在申请日后补交了实验数据, 但该数据并未包含在本授权公告文档中。

审查员 孙颖幅

(51) Int. Cl.

C07C 67/02 (2006.01)

C07C 67/48 (2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图3页

(54) 发明名称

合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的分离纯化方法及其在抗菌抗病毒制品中的应用

(57) 摘要

本发明公开了合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的分离纯化方法及其在抗菌抗病毒制品方面的应用。本发明利用有机金属配合物催化内酯开环聚合反应人工合成3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物, 使用柠檬酸将有机金属配合物催化剂从反应混合物中沉淀出来, 再利用过滤法除去沉淀以将有机金属配合物催化剂从反应混合物中分离出, 然后利用减压蒸馏, 从滤液中去除低沸点有机组分, 再升高蒸馏温度, 收集在特定温度范围下蒸出的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物馏分, 从而获得纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物, 将其作为抗菌抗病毒活性组分用于医疗卫生和清洁制品中。

1. 一种分离和纯化合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的方法,其特征在于,该方法包括如下步骤:

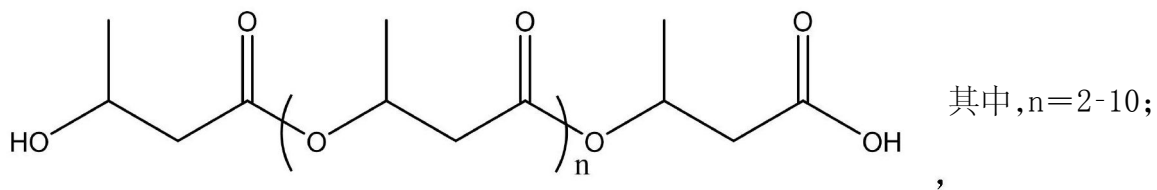
A. 使用金属有机化合物作为催化剂,通过内酯开环聚合反应合成3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,得到含有金属有机化合物催化剂和3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的混合溶液;

B. 向步骤A所得的混合溶液中加入足量的有机酸,生成固体沉淀,经过过滤处理除去该固体沉淀,收集滤液;

C. 将步骤B得到的滤液在25°C ~ 120°C温度下进行减压蒸馏,直至不再有有机液体蒸出;

D. 更换液相收集器,逐渐升高蒸馏温度,收集121°C ~ 190°C温度下的馏分,直至不再有液相蒸出,从而获得纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,

其中,所述纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物具有以下结构式:



其中所述金属有机化合物为含有铝、镁、钛、锌和锡中的一种或多种或者含有稀土元素的有机金属配合物,并且所述有机金属配合物能够与所述有机酸反应生成不溶性沉淀;并且

其中所述有机酸是柠檬酸、柠檬酸水合物,或其任意混合物。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤A中的合成为人工合成。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤B中的过滤处理为减压过滤,采用硅藻土作为过滤剂,乙醇或异丙醇作为硅藻土的洗涤剂。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:在步骤C中,减压蒸馏的温度控制在25°C ~ 120°C,真空度控制在真空表示数等于或小于-0.1MPa。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:在步骤D中,通过减压蒸馏收集馏分,温度范围控制在121°C ~ 180°C,真空度控制在真空表示数等于或小于-0.1MPa。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其特征在于:所述纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的重均分子量范围为300 ~ 1,000,常温常压下为无色透明油状液体。

7. 一种抗病毒制品,其特征在于,所述抗病毒制品包含根据权利要求1至6中任一项所述的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物作为抗病毒活性组分。

8. 一种抗菌且抗病毒制品,其特征在于,所述抗菌且抗病毒制品包含根据权利要求1至6中任一项所述的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物作为抗菌且抗病毒活性组分。

9. 根据权利要求7至8中任一项所述的制品,其特征在于,所述制品存在的形式为粉末、溶液、溶胶、凝胶、纤维、纱线或薄膜。

10. 根据权利要求9所述的制品,其特征在于,所述制品作为唯一的有效组分或有效组分之一用于外涂层材料、纺织品、卫生用品、织物整理剂、柔顺剂、洗涤清洁用品或者医疗制品中。

## 合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的分离纯化方法及其在 抗菌抗病毒制品中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及人工合成高分子产物的分离纯化方法,还涉及将分离纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物作为抗菌抗病毒活性材料,赋予相关产品抗微生物性能,更具体地说,将人工合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物从合成后段混合粗产物中分离纯化出来并用作抗菌抗病毒的生物医药材料。

### 背景技术

[0002] 预防致病微生物传播和感染一直是全世界关注的主要公共卫生和安全问题。微生物感染不仅会导致个人感染和引发病患,甚至会导致全球性严重的社会危机和人口锐减,加之病毒和细菌等致病微生物不断变异进化,对传统杀菌剂的耐受性不断增强,因此,人类亟待开发各类新型杀菌剂,使之可以广泛应用于农业、环境、医药、纺织服装、食品包装和医疗卫生领域等行业的个体防护,来应对由于各类型致病微生物快速传播和不断增强的抗药性引发的困难和挑战。

[0003] 聚3-羟基丁酸酯(PHB)是一类可天然可降解的生物聚酯基高分子材料,无毒无污染,可以广泛应用于纺织、食品包装、手术缝合线和组织工程支架等领域,并且具有良好的细胞相容性,不易引起炎症等优点。目前,聚3-羟基丁酸酯的来源主要有两种,一种是微生物发酵法合成,从微生物体内合成的营养和储能物质中提取分离纯化得到,这种来源生产周期长,反应过程工艺较难控制,多数用于制备对于纯度等要求不高的高分子量的聚3-羟基丁酸酯产品;另一种方法是人工开环聚合反应法合成,以 $\beta$ -丁内酯为单体,有机金属配合物作为催化剂,通过开环聚合的方式合成,合成出来的聚3-羟基丁酸酯的性能参数,包括反应速率、转化率和分子量及其分布等,可以通过控制催化剂和反应理化条件等来人为合理调整。中国专利CN110452121A公开了一种聚3-羟基丁酸酯以及聚3-羟基丁酸酯和聚乙二醇形成的混合物具有抗菌活性,并用作抗菌生物基产品和材料。近年来,关于生产制备PHB的方法而言,多集中于微生物发酵或者开环聚合方法。中国专利CN101297030A公开了一种从利用基因工程微生物生产的多羟基链烷酸酯(包括PHB),并从微生物培养基中提取和分离中等聚合度或者高分子量的PHB的方法。中国专利CN100448911C公开了一种提取微生物胞内聚羟基脂肪酸酯(包括PHB)的方法。国外有文献报道,采用 $\beta$ -丁内酯作为PHB的单体,在锡基和铷基等有机金属催化剂存在条件下,利用开环聚合反应合成PHB的合成方法。中国专利CN110452115A公开一种以异丙醇铝作为催化剂,采用 $\beta$ -丁内酯作为单体,利用开环聚合反应合成PHB的合成方法。

[0004] 不论是微生物发酵法还是人工合成法,目前现有的已知的生产PHB的方法均不可避免的使用大量的有毒有害(例如,丙酮或氯仿或二氯甲烷等)有机试剂,这无疑大大增加了生产成本和分离回收难度,而且纯度较低,含有较多有机杂质,限制了这类材料在生物医学和组织工程领域中的应用。因此需要创新且绿色的分离纯化PHB的方法。

## 发明内容

[0005] 本发明的一个目的在于提供一种安全无毒、成本可控并且过程简单的分离和纯化合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的方法。

[0006] 本发明的一个目的在于提供一种纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0007] 本发明的一个目的在于提供一种纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物在制备用于抗菌和/或抗病毒制品中的用途。该3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物可以作为单独的抗菌和/或抗病毒活性组分使用,也可以与其他抗菌或抗病毒活性组分联合使用,还可以与其他聚合物材料复合或共聚使用,且同时保持着很好的细胞相容性和生物可降解性。

[0008] 本发明的一个目的在于提供一种抗菌制品,其包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0009] 本发明的一个目的在于提供一种抗病毒制品,其包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0010] 为实现上述目的,本发明所采用的技术方案为:

[0011] 在一个方面,本发明提供了一种分离和纯化合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的方法,该方法包括如下步骤:

[0012] A.采用金属有机化合物作为催化剂,通过内酯开环聚合反应合成3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,得到含有金属有机化合物催化剂和3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的混合溶液;

[0013] B.向步骤A所得的混合溶液中加入足量的有机酸,生成固体沉淀,经过过滤处理除去该固体沉淀,收集滤液;

[0014] C.将步骤B得到的滤液在25°C ~ 120°C温度下减压蒸馏,直至不再有有机液体蒸出;

[0015] D.更换液相收集器,逐渐升高蒸馏温度,收集121°C ~ 190°C温度下的馏分,直至不再有液相蒸出,从而获得纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0016] 在一个实施方案中,步骤A中的合成为人工合成。

[0017] 在一个实施方案中,步骤A中所用的金属有机化合物为含有铝、镁、钛、锌和锡中的一种或多种或者含有稀土元素的有机金属配合物,并且所述有机金属配合物能够与步骤B中所用的有机酸反应生成不溶性沉淀。

[0018] 在一个实施方案中,步骤B中所用的有机酸是柠檬酸、柠檬酸水合物,或其任意混合物。

[0019] 在一个实施方案中,步骤B中的过滤处理为减压过滤,采用硅藻土作为过滤剂,乙醇或异丙醇作为硅藻土的洗涤剂。

[0020] 在一个实施方案中,在步骤C中,减压蒸馏的温度控制在25°C ~ 120°C,真空度控制在真空表示数等于或小于-0.1MPa。

[0021] 在一个实施方案中,在步骤D中,通过减压蒸馏收集馏分,温度范围控制在121°C ~ 180°C,真空度控制在真空表示数等于或小于-0.1MPa。

[0022] 在一个实施方案中,所述纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的重均分子量范围为300 ~ 1,000,常温常压下为无色透明油状液体。

[0023] 在另一个方面,本发明提供了一种抗菌和/或抗病毒制品,所述抗菌和/或抗病毒

制品包含根据本发明所述的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0024] 在一个实施方案中,所述抗菌和/或抗病毒制品存在的形式为粉末、溶液、溶胶、凝胶、纤维、纱线或薄膜。

[0025] 在一个实施方案中,所述抗菌和/或抗病毒制品作为唯一的有效组分或有效组分之一用于外涂层材料、纺织品、卫生用品、药物载体、织物整理剂、柔顺剂、洗涤清洁用品或者医疗制品中。

[0026] 本发明具有如下有益效果:

[0027] 1) 方法操作简单,成本低廉,不需要特殊设备;

[0028] 2) 原料来源广泛,所需试剂均可以方便获得;

[0029] 3) 不涉及有毒有害化学物质的使用,绿色安全无毒;

[0030] 4) 可以大规模重复生产;

[0031] 5) 所得产物具有良好的抗菌和抗病毒活性,且具有良好的细胞相容性,可单独或联合用于生物医药行业;

[0032] 6) 环保可自然水解降解,对水体无污染。

#### 附图说明

[0033] 图1为根据本发明实施例1得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,采用乙腈作为流动相的高效液相色谱-质谱联用谱图,其中, $\beta$ -butyrolactone: $\beta$ -丁内酯;Aluminum Citrate:柠檬酸铝;Aluminum Isopropoxide:异丙醇铝;Citrate:柠檬酸。

[0034] 图2为根据本发明实施例2得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,采用溴化钾压片法获得的样品的傅里叶变换红外光谱图。

[0035] 图3为根据本发明实施例2得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的核磁共振(氢-1)谱图。

[0036] 图4为根据本发明实施例2得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的核磁共振(碳-13)谱图。

[0037] 图5为根据本发明实施例1得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的抗菌实验结果数码照片,测试菌种为金黄色葡萄球菌。

#### 具体实施方式

[0038] 本发明的一个方面涉及一种分离和纯化合成的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的方法,该方法包括如下步骤:

[0039] A. 采用金属有机化合物作为催化剂,通过内酯开环聚合反应合成3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物,得到含有金属有机化合物催化剂和3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的混合溶液;

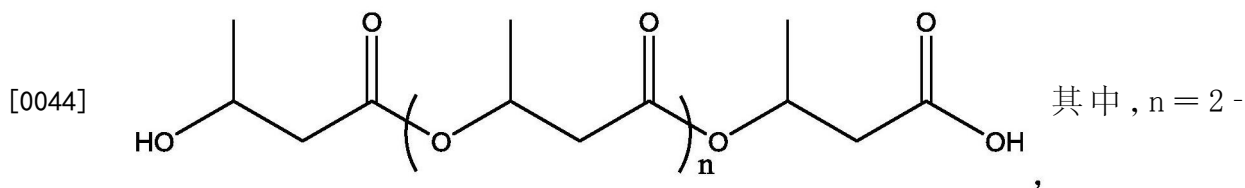
[0040] B. 向步骤A所得的混合溶液中加入足量的有机酸,生成固体沉淀,经过过滤处理除去该固体沉淀,收集滤液;

[0041] C. 将步骤B得到的滤液在25°C ~ 120°C温度下减压蒸馏,直至不再有有机液体蒸出;

[0042] D. 更换液相收集器,逐渐升高蒸馏温度,收集121°C ~ 190°C温度下的馏分,直至不

再有液相蒸出,从而获得纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0043] 在一个实施方案中,所述纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物具有以下结构式:



10, 优选  $n = 4 \sim 8$ 。

[0045] 在一个实施方案中,所述纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的重均分子量范围为300~1,000,其在常温常压下为无色透明油状液体。

[0046] 在一个实施方案中,步骤A中的合成为人工合成。在一个实施方案中,采用 $\beta$ -丁内酯作为内酯开环聚合反应单体。

[0047] 在一个实施方案中,金属有机化合物催化剂为含有铝、镁、钛、锌或锡中的一种或多种或者含有稀土元素的有机金属配合物,并且该有机金属配合物能够与有机酸反应生成不溶性沉淀。在一个实施方案中,金属有机化合物催化剂为烷氧基铝,优选为 $C_{1-6}$ 烷氧基铝,更优选为异丙醇铝。

[0048] 在一个实施方案中,采用 $\beta$ -丁内酯作为内酯开环聚合反应单体,以异丙醇铝作为催化剂,在吡啶的存在下反应得到3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0049] 在一个实施方案中,步骤B是通过加入过量有机酸将金属有机化合物催化剂转化成固体沉淀,然后通过过滤处理从溶液中除去该固体沉淀。

[0050] 在一个实施方案中,有机酸是任何能够与金属有机化合物反应以形成不溶性的金属有机酸固体沉淀的有机酸。在一个实施方案中,有机酸是柠檬酸。在一个实施方案中,有机酸是柠檬酸和柠檬酸水合物中的一种或其任何混合物。在一个实施方案中,将有机酸溶解于低沸点有机溶剂中制成沉淀剂溶液。在一个实施方案中,沉淀剂溶液为柠檬酸室温饱和溶液。在一个实施方案中,所述低沸点有机溶剂为乙醇、异丙醇、正丙醇或其组合。

[0051] 在一个实施方案中,步骤B中的过滤处理采用减压过滤的方式。在一个实施方案中,在过滤处理过程中,采用硅藻土作为过滤剂。在一个实施方案中,在减压过滤处理过程中,采用硅藻土作为过滤剂,并采用低沸点有机溶剂优选与溶解有机酸的有机溶剂相同的溶剂如乙醇或异丙醇等作为洗涤剂洗脱硅藻土。

[0052] 在一个实施方案中,步骤C是通过减压蒸馏除去聚合反应混合物中的低沸点有机组分,例如,乙醇、异丙醇、未反应的组分以及副产物等。在步骤C中,减压蒸馏的温度控制在 $25^{\circ}\text{C} \sim 120^{\circ}\text{C}$ ,优选 $60 \sim 120^{\circ}\text{C}$ ,更优选 $80 \sim 120^{\circ}\text{C}$ ,甚至更优选 $100 \sim 120^{\circ}\text{C}$ ,真空度控制在真空表示数等于或小于 $-0.1\text{MPa}$ 。

[0053] 在一个实施方案中,步骤D是通过减压蒸馏从溶液中获得纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。在进一步的实施方案中,在步骤D中,减压蒸馏的温度范围控制在 $121^{\circ}\text{C} \sim 190^{\circ}\text{C}$ ,优选 $130^{\circ}\text{C} \sim 180^{\circ}\text{C}$ ,更优选 $140^{\circ}\text{C} \sim 160^{\circ}\text{C}$ ;真空度控制在真空表示数等于或小于 $-0.1\text{MPa}$ 。

[0054] 本发明的方法通过将沉淀、过滤和蒸馏组合起来从合成反应混合溶液中分离和纯化3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。本发明的方法操作简单,所用原料和试剂均来源广泛,价格便宜,并且不涉及使用任何有毒、有害的化学物质,因此是绿色、安全、无毒、成本可控且

可大规模生产的方法。

[0055] 通过本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物能够保持很好的细胞相容性和生物可降解性。

[0056] 通过本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物具有良好的抗菌和抗病毒活性,能够作为抗菌剂和/或抗病毒剂应用于生物医药、纺织服装、食品包装和医疗卫生等领域。

[0057] 本发明的另一个方面涉及一种抗菌制品,其包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0058] 在本发明的一个实施方案中,抗菌制品包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物作为单独的抗菌活性组分。在本发明的一个实施方案中,抗菌制品包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物以及另外的抗菌活性组分。在一个实施方案中,另外的抗菌活性组分包括但不限于乙醇、乳酸、醋酸、柠檬酸、没食子酸、三氯生或氯二甲酚。

[0059] 在一个实施方案中,抗菌制品包含根据本发明的方法得到的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物与其他聚合物组分复合或共聚得到的产物。在一个实施方案中,其他聚合物组分包括但不限于聚乳酸或PET基聚酯。

[0060] 在一个实施方案中,抗菌制品为粉末、溶液、溶胶、凝胶、纤维、纱线或薄膜的形式。

[0061] 在一个实施方案中,抗菌制品可作为唯一的有效组分或有效组分之一用于纺织品、外涂层材料、卫生用品、药物载体、织物整理剂、洗涤清洁用品或者医疗制品等。

[0062] 本发明的另一个方面涉及一种抗病毒制品,其包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0063] 在本发明的一个实施方案中,抗病毒制品包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物作为单独的抗病毒活性组分。在本发明的一个实施方案中,抗病毒制品包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物以及另外的抗病毒活性组分。在一个实施方案中,另外的抗病毒活性组分包括但不限于没食子酸、三氯生或氯二甲酚。

[0064] 在一个实施方案中,抗病毒制品包含根据本发明的方法得到的纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物与其他聚合物组分复合或共聚得到的产物。在一个实施方案中,其他聚合物组分包括但不限于聚乳酸或PET基聚酯。

[0065] 在一个实施方案中,抗病毒制品为粉末、溶液、溶胶、凝胶、纤维、纱线或薄膜的形式。

[0066] 在一个实施方案中,抗病毒制品可作为唯一的有效组分或有效组分之一用于纺织品、外涂层材料、卫生用品、药物载体、织物整理剂、洗涤清洁用品或者医疗制品等。

[0067] 实施例

[0068] 下列实施例仅用于举例说明本发明的某些方面和实施方案的目的,并不用于以任何方式限制本发明。

[0069] 实施例1

[0070] 1) 合成3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物

[0071] 于无水无氧的手套箱内,分别称取0.86g的 $\beta$ -丁内酯作为开环聚合反应单体,0.2g

的异丙醇铝作为催化剂和2mL的吡啶,加入单口圆底玻璃烧瓶中,加入聚四氟乙烯搅拌磁子,封口并通氮气排除里面的空气,并在反应过程中维持一定氮气压力,提供惰性气氛保护。将盛有反应物的单口玻璃烧瓶放入65°C温度的油浴条件下,恒温搅拌条件下反应48小时,至反应物颜色变成棕褐色,获得反应粗产物。

[0072] 2) 有机酸沉淀法分离去除催化剂固体

[0073] 于无水无氧的手套箱内,称取0.3g的一水合柠檬酸固体,加入到10mL的乙醇中,强力搅拌至完全溶解,配成沉淀剂溶液,将该沉淀剂溶液逐滴加入到步骤1)所制得的粗产物中,充分磁力搅拌反应2小时,至黄白色沉淀反应完全。然后,采用硅藻土过滤法,将该反应混合物快速通过布氏漏斗过滤掉固体催化剂等杂质,并用乙醇反复润洗2-3次,收集滤液于玻璃单口烧瓶中。

[0074] 3) 去除低沸点有机液相组分

[0075] 采用直型玻璃冷凝管的真空减压蒸馏装置,抽真空,真空表示数为-0.1MPa,利用高温油浴磁力搅拌将步骤2)得到的反应混合物滤液加热至120°C,收集该温度下的馏分,至不再有馏分蒸出。

[0076] 4) 温度梯度真空分馏液相3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物

[0077] 更换接引瓶,采用步骤3)的真空减压蒸馏装置,真空表示数为-0.1MPa,逐步升温油浴至140°C,收集140°C温度下的馏分,至不再有馏分蒸出,所收集到的样品呈近无色透明液体。

[0078] 5) 高效液相色谱-质谱法联用测试

[0079] 将步骤4)所收集的馏分,采用Agilent 6460Ultra High Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Triple-Quadrupole Mass Spectrometer高效液相质谱联用仪测试相关馏分的组成成分,流动相采用的是色谱纯的乙腈。

[0080] 得到的谱图见图1。分离后的主产物分子量分布在300~1000范围,此外还有少量的未反应的反应物单体、柠檬酸和催化剂等。

[0081] 实施例2

[0082] 采用与实施例1步骤1)至步骤4)相同的方法进行分离纯化,但不同之处在于:

[0083] 1) 沉淀剂

[0084] 采用的是无水柠檬酸。

[0085] 2) 柠檬酸溶剂和硅藻土洗脱剂

[0086] 使用异丙醇替代乙醇来溶解柠檬酸和洗脱硅藻土。

[0087] 3) 收集馏分的温度

[0088] 收集160°C温度下的馏分。

[0089] 将步骤4)收集到的馏分采用溴化钾压片法,采用PerkinElmer Spectrum100FT-IR Spectrometer测试所收集样品的傅里叶变换红外吸收光谱。谱图见图2。在波数 $\sim 3400\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰为所述3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的羟基和羧酸的羟基分子振动吸收峰,波数 $\sim 3000\text{cm}^{-1}$ 处的三个中等强度特征吸收峰分别对应为所述3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的甲基碳氢、二级碳碳氢和三级碳碳氢伸缩振动吸收峰,波数 $\sim 1700\text{cm}^{-1}$ 处的尖峰为所述3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的所含酯键的羰基伸缩振动吸收峰。

[0090] 将步骤4)收集到的馏分取适量溶解于氘代氯仿( $\text{CDCl}_3$ )溶剂中,通过核磁共振得

到核磁共振氢谱 ( $^1\text{H-NMR}$ ) (如图3所示) 和核磁共振碳谱 ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) (如图4所示), 证实获得了3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物。

[0091] 活性测试部分

[0092] 实施例3

[0093] 1) 配制含有通过实施例1步骤1) 至步骤4) 得到的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的高温灭菌过的Lubria-Bertani (L-B) 液体细菌培养液, 其中3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的浓度为20mg/mL, 作为实验组; 空白对照组采用不含3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物而其他组分相同的高温灭菌过的L-B细菌培养液。

[0094] 2) 采用金黄色葡萄球菌 (*S.aureus* ATCC No.6538) 作为革兰氏阳性菌实验细菌, 将该细菌分别接种到实验步骤1) 中的实验组和对照组L-B液体细菌培养液中, 根据ASTM标准控制接种细菌的浓度在 $10^5\text{CFU/mL}$ 。

[0095] 3) 将上述步骤2) 接种好的两组实验样品, 于 $24^\circ\text{C}$ 恒温细菌摇床中, 培养18个小时后, 取样, 用无菌的PBS缓冲溶液, 稀释后涂平板, 在 $37^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养18~48小时后, 取出观察待测菌落生长情况。

[0096] 结果见图5, 其中左图为未添加3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物空白对照组, 右图为含有3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物实验组, 空白实验组中的金黄色葡萄球菌正常生长, 而含有3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物的实验组未见明显的金黄色葡萄球菌菌落, 从而说明通过本发明方法分离纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物具有明显的抑菌活性。

[0097] 实施例4

[0098] 将通过实施例1步骤1) 至步骤4) 得到的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物实验样品交予广东省微生物分析检测中心, 针对H1N1和H3N2两种流感病毒进行抗病毒实验相关测试。该实验采用MDCK细胞作为宿主细胞。实验方法参照中华人民共和国卫生部印发的《消毒技术规范》(2002年版) 2.1.1.10.7。

[0099] 抗病毒测试实验结果如下表所示:

病毒	作用浓度 和时间	组别	平均病毒毒力滴度的对数值 $\lg\text{TCID}_{50}/\text{ml}$	平均病毒毒力滴度 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$	平均对数减少值 (KL)	病毒灭活率(%)
[0100] H1N1	20 mg/mL	对照组	5.74	$5.54 \times 10^5$	>4.24	>99.99
		实验组	<1.50	<31.6		
H3N2	2h	对照组	5.90	$8.08 \times 10^5$	>4.40	>99.99
		实验组	<1.50	<31.6		

[0101] \*阴性对照组中的细胞均生长良好。

[0102] 抗病毒测试实验结果报告显示, 在3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物浓度为20mg/mL时, 针对H1N1和H3N2流感病毒, 3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物实验样品的 $\lg\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 值均小于1.50, 而相同条件下的实验对照组的 $\lg\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 平均值分别为5.74和5.90。由此可知, 通过本发明方法分离纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物对于H1N1和H3N2两种流感病毒

的抗病毒活性率均为>99.99%。上述实验结果说明通过本发明方法分离纯化的3-羟基丁酸酯低聚物或寡聚物具有明显的抗病毒活性。

[0103] 虽然参考本发明的具体实施方案描述了本发明,但本领域的技术人员应当理解在不脱离本发明的真实精神和范围的情况下可以进行各种变化和修改。此外,可以进行许多修改以使特定情况、材料、物质组成、方法、方法步骤适应本发明的精神和范围。所有这些改变将在附随的权利要求书的范围内。

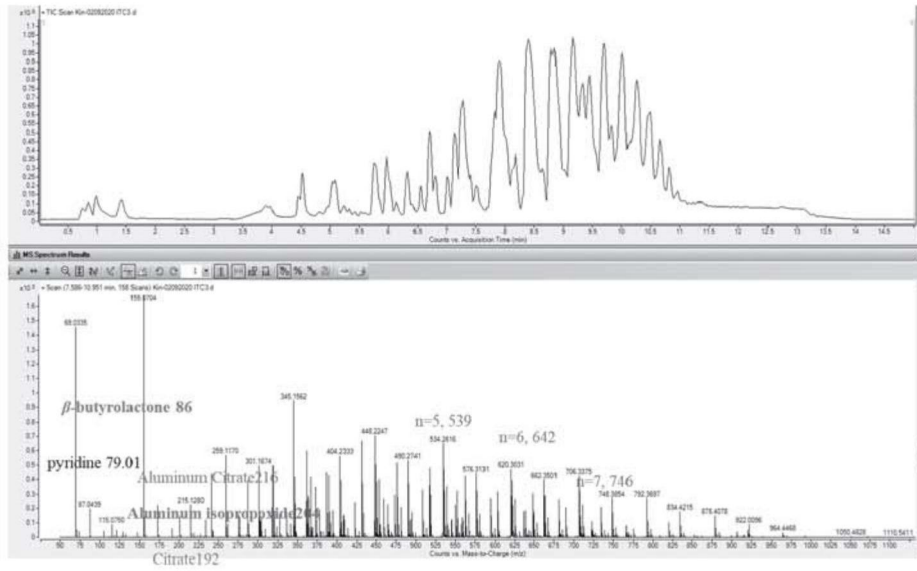


图1

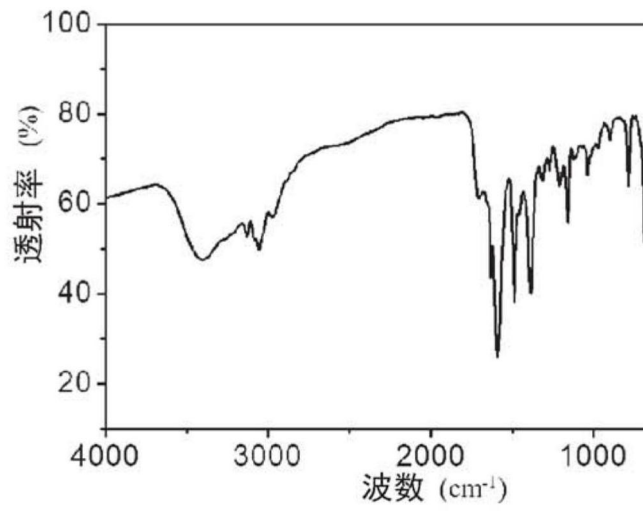


图2

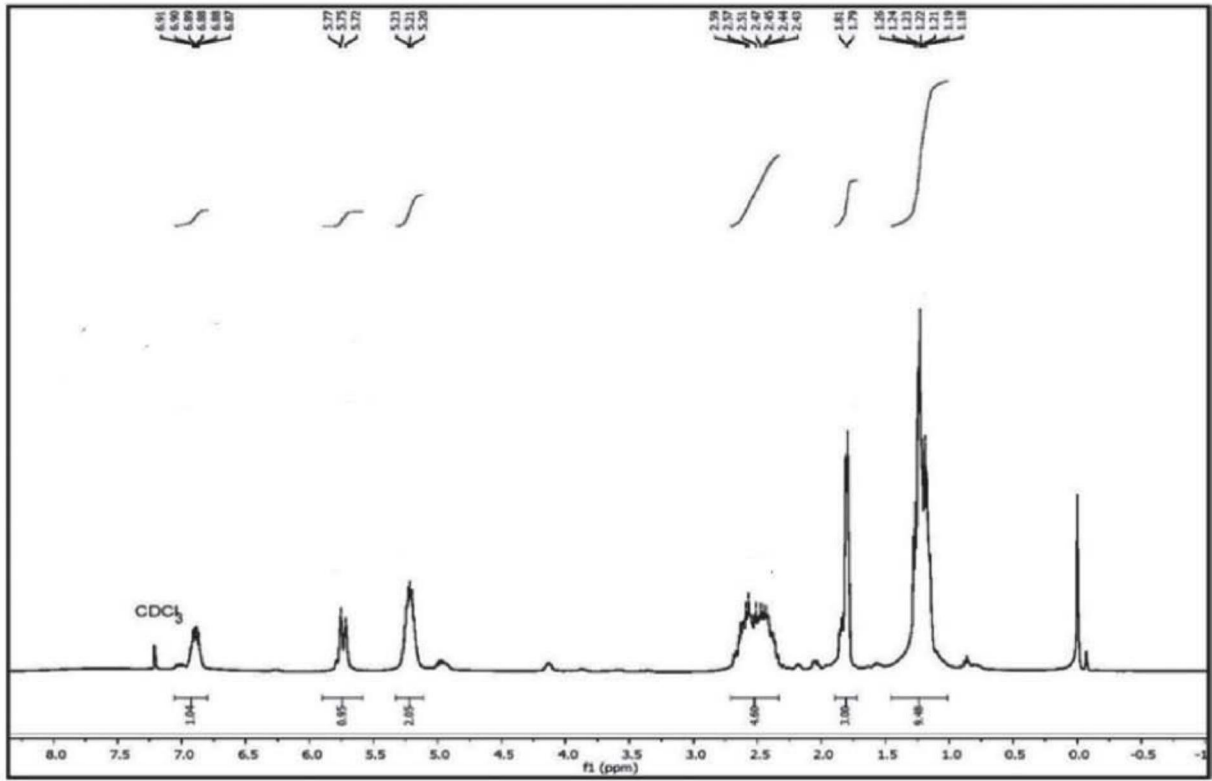


图3

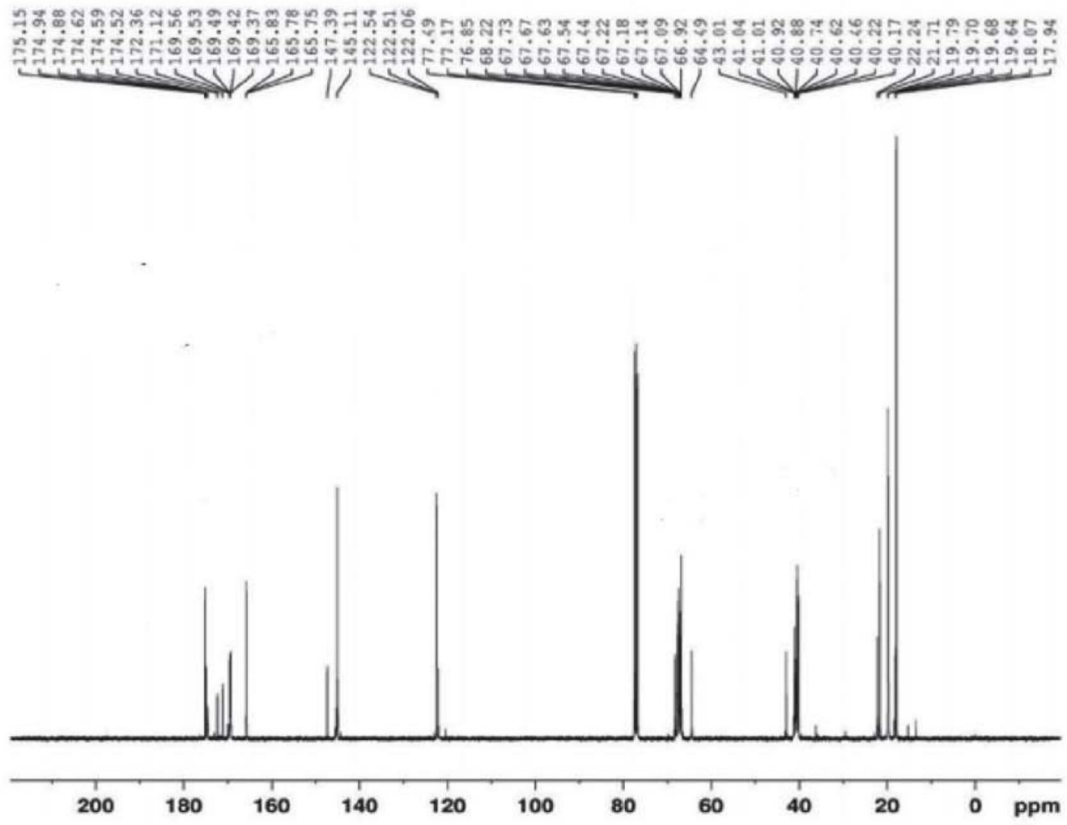


图4

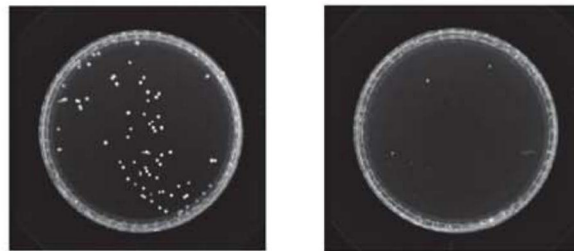


图5