



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410010820.5

[43] 公开日 2005年1月26日

[11] 公开号 CN 1569865A

[22] 申请日 2004.4.23

[21] 申请号 200410010820.5

[71] 申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130022 吉林省长春市人民大街 5625 号

[72] 发明人 刘淑莹 许庆轩 刘志强 宋凤瑞
王 勇

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

[54] 发明名称 附子及乌头属植物中脂类生物碱的
分离提取方法

[57] 摘要

本发明属于一种从附子及乌头属植物中分离提取脂类生物碱的方法。利用脂类生物碱具有长酯链，极性小，难溶于水的特点进行提取，将附子及乌头属植物经乙醇冷浸后，用酸水处理，然后利用硅胶柱将沉淀进行层析，即得纯净的脂类生物碱。此方法快捷、方便、高效、易于操作。

1. 一种从附子及乌头属植物中脂类生物碱的分离提取方法, 其特征在于, 将川乌、草乌、附子或雪上一支蒿加工成粉末, 加入体积百分比浓度为 90-95%乙醇, 加入量至没过药材为宜, 超声提取 1-3 小时, 冷浸 2-14 天, 蒸出乙醇至干, 得浸膏, 加入体积比浓度为 0.04-0.5%盐酸或者硫酸水溶液, 加入量以没过浸膏的体积为宜, 搅拌、静止、过滤得沉淀, 加入氯仿或石油醚, 搅拌, 使用体积比浓度为 0.04-0.5%盐酸或者硫酸水溶液连续萃取 2-6 次, 每次用量与氯仿或石油醚溶液的体积相同, 蒸出氯仿, 即得到粗脂类生物总碱; 使用硅胶柱, 环己烷-乙醇体系按梯度比 8-9: 1-2 柱层析, 即得到纯净的脂类生物总碱。

附子及乌头属植物中脂类生物碱的分离提取方法

技术领域

本发明属于从附子及乌头属植物中提取分离脂类生物碱的方法。

背景技术

附子及乌头属植物是传统中医临床用药的常用中药材。具有强心、利尿、镇痛、麻醉、消炎、提高免疫力等作用。附子及乌头属植物中主要含有三类生物碱：单酯型生物碱，双酯型生物碱和脂类生物碱。现代药理研究证明，脂类生物碱具有镇痛、消炎等显著的生物活性，与双酯型生物碱比较，其毒性较小，是一种具有广泛药理活性的药物，具有重要的研究价值和广阔的应用前景。

早期常采用苯提取乌头和附子中的生物碱（王永高等，药学学报：Vol. 15 (9), 1968, 527-531;王洁之等，药学学报：Vol. 20 (1), 1973, 71-73;陈燕等，药学学报：Vol. 12 (7), 1965, 435-439），虽然使用苯提取生物碱杂质较少，但是乌头和附子中的生物碱在苯中的溶解度并不好，所以产率不高。目前，国内常采用酸水渗漉（李正邦等，天然产物研究与开发：Vol. 9 (1), 1997, 9-14）或乙醇（丁立生等，天然产物研究与开发：Vol. 6 (3), 1994, 50-54）提取乌头和附子中生物碱，国外也有报道用甲醇提取附子中生物碱（Katagawa, Chem. Pharm. Bull. 30 (2) 758-761 (1982)）。但是由于脂类生物碱难溶

于酸水，用酸水渗漉法提取的生物碱不全面，脂类生物碱收率较低；并且乌头和附子中的生物碱在甲醇中易分解，很难大量提取；使用乙醇提取生物碱效率较高，但是乙醇提取的成分比较广泛，杂质含量高，如何进一步分离提纯非常重要。所以对脂类生物碱研究尽管十分迫切，但是由于分离提取困难，实际研究进展十分缓慢。

发明内容

本发明的目的是提供一种从附子及乌头属植物中脂类生物碱的分离提取方法。

由于乙醇提取乌头和附子中的生物碱效率较高，因此本发明采用乙醇冷浸，蒸出乙醇，得浸膏。再根据脂类生物碱不易溶于酸水，而其它类型的生物碱易溶于酸水的性质，把浸膏用盐酸或硫酸水溶液处理，过滤得沉淀，把沉淀溶于氯仿或石油醚，用盐酸或硫酸水溶液反复萃取几次，蒸出氯仿或石油醚，即得到粗脂类生物总碱。用硅胶柱，环己烷-乙醇体系进行柱层析，即得到纯净的脂类生物总碱。

本发明将川乌、草乌、附子或雪上一支蒿加工成粉末，加入体积百分比浓度为 90-95%乙醇，加入量至没过药材为宜，超声提取 1-3 小时，冷浸 2-14 天，蒸出乙醇至干，得浸膏，加入体积比浓度为 0.04-0.5%盐酸或者硫酸水溶液，加入量以完全没过于浸膏的体积为宜，搅拌、静止、过滤得沉淀，加入氯仿或石油醚，搅拌使沉淀完全溶解，使用体积比浓度为 0.04-0.5%盐酸或者硫酸水溶液连续萃取 2-6 次，盐酸或者硫酸水溶液每次用量与氯仿或石油醚溶液的体积相同，蒸出氯仿或石油醚，即得到粗脂类生物总碱；使用硅胶柱，环己

烷-乙醇以 8-9: 1-2 比例梯度柱层析, 即得到纯净的脂类生物总碱, 通过电喷雾质谱检测, 只含有脂类生物碱, 不含任何单酯型和双酯型生物碱。

本方法首次从附子及乌头属植物中大量提取分离出了脂类生物总碱, 并且对脂类生物碱进行纯化, 产率在 0.21% 以上。

附图说明

附图 1 为包含所有生物碱的乙醇溶液电喷雾质谱, 由图可以看出乙醇提取的生物碱成分较多, 包括药材中所有类型的生物碱, 说明乙醇提取能力较强;

附图 2 为经过分离后, 单酯型和双酯型生物碱的质谱图, 其中不包含脂类生物碱, 避免了样品的浪费;

附图 3 为分离后脂类生物碱的质谱图, 其中不包含单酯型和双酯型生物碱, 说明分离比较完全, 效率较高。

具体实施方式

实施例 1:

将 2000 克生附子浸于体积比浓度为 95%乙醇中超声提取 1 小时, 冷浸 48 小时, 滤出乙醇提取液, 60℃减压蒸出乙醇至干, 得到乙醇浸膏, 加入体积比浓度为 0.04%盐酸水溶液, 加入量为 10 倍于浸膏体积, 搅拌, 静止, 过滤得沉淀, 把沉淀溶于氯仿, 用的体积比浓度为 0.04%盐酸水溶液萃取 2 次, 每次用量与氯仿溶液的体积量相同。40℃减压蒸出氯仿, 即得到粗脂类生物总碱 9.5 克。用硅胶柱, 环己烷-乙醇 8: 2 体系柱层析, 得到纯净的脂类生物总碱 4.3 克 (得率为

0.21%)，使用电喷雾质谱检测，如附图3所示不含单酯型和双酯型生物碱。

实施例2:

将5000克制附子浸于体积比浓度为95%乙醇中超声提取2小时，冷浸48小时，滤出乙醇提取液，60℃减压蒸出乙醇至干，得到乙醇浸膏，加入体积比浓度为0.04%盐酸水溶液，加入量8倍于浸膏体积，搅拌，静止，过滤得沉淀，把沉淀溶于氯仿，用的0.04%盐酸水溶液萃取4次，每次用量与氯仿溶液的体积量相同，40℃减压蒸出氯仿，即得到粗脂类生物总碱23克。用硅胶柱，环己烷-乙醇8:2体系柱层析，得到纯净的脂类生物总碱13.5克(0.27%)，使用电喷雾质谱检测，如附图3所示不含单酯型和双酯型生物碱。

实施例3:

将川乌2000克浸于体积比浓度为90%的乙醇，超声提取3小时，冷浸3天，滤出乙醇提取液；将浸过的川乌使用体积比浓度为90%乙醇相同条件下重复提取两次，得到乙醇提取液，60℃减压蒸出乙醇至干，得到浸膏，加入体积比浓度为0.3%的硫酸水溶液，加入量6倍于浸膏体积，搅拌，静止，过滤得沉淀，把沉淀溶于石油醚，使用的体积比浓度为0.3%的硫酸水溶液萃取4次，每次用量与石油醚的体积相同，40℃减压蒸出石油醚，即得到粗脂类生物总碱19克。用硅胶柱，环己烷-乙醇8:1体系柱层析即得到纯净的脂类生物总碱6.09克(得率为0.30%)，使用电喷雾质谱检测，如附图3所示不含单酯型和双酯型生物碱。

实施例 4:

将 3000 克草乌用体积比浓度为 95%的乙醇冷浸一周，滤出乙醇提取液，60℃减压蒸出乙醇至干，得到浸膏。加入体积比浓度为 0.5% 盐酸水溶液，加入量 5 倍于浸膏体积，搅拌，静止，过滤得沉淀。把沉淀用氯仿溶解，使用体积比浓度为 0.5%的盐酸水溶液反复萃取 6 次，每次用量与氯仿溶液体积量相同，40℃减压蒸出氯仿，即得到粗脂类生物总碱 19.9 克。用硅胶柱，环己烷-乙醇体系 8: 1 柱层析，即得到纯净的脂类生物总碱 9.6 克 (0.32%)，使用电喷雾质谱检测，如附图 3 所示不含单酯型和双酯型生物碱。

实施例 5:

将雪上一支蒿 2000 克用 95%的乙醇浸泡两周，滤出乙醇提取液，60℃减压蒸出乙醇至干，得到浸膏。加入体积比浓度为 0.5%盐酸水溶液，加入量 10 倍于浸膏体积，搅拌，静止，过滤得沉淀。把沉淀用氯仿溶解，使用体积比浓度为 0.5%的盐酸水溶液反复萃取 4 次，每次用量与氯仿溶液体积相同，40℃减压蒸出氯仿，即得到粗脂类生物总碱 16.7 克。用硅胶柱，环己烷-乙醇 (9: 1) 体系柱层析，得到纯净的脂类生物总碱 5.7 克 (0.28%)，使用电喷雾质谱检测，如附图 3 所示不含单酯型和双酯型生物碱。

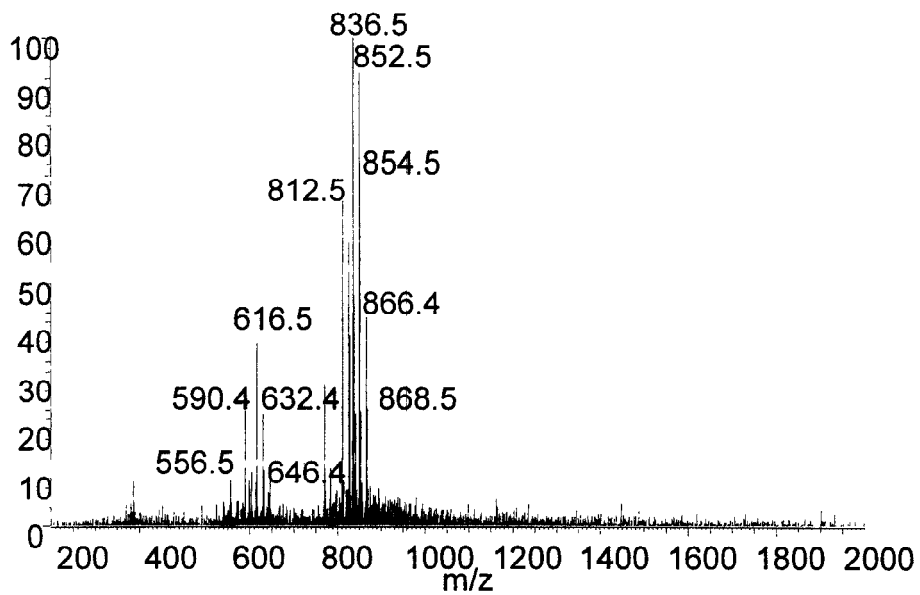


图 1

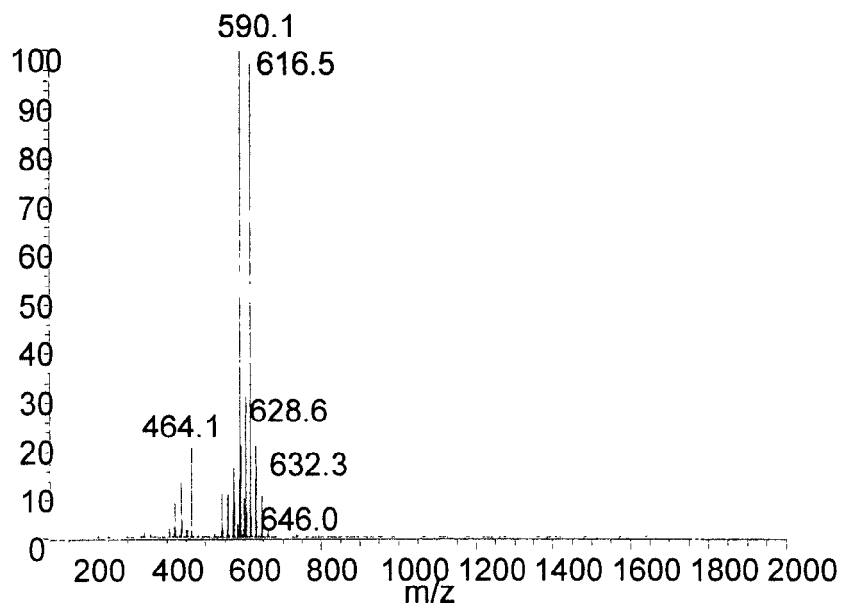


图 2

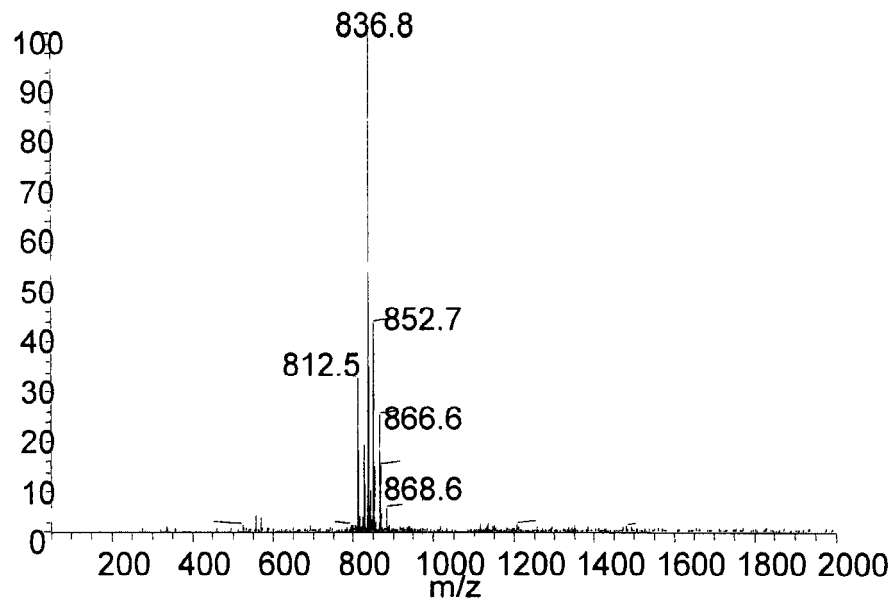


图 3