

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 36/714 (2006.01)
C07G 5/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710055977.3

[43] 公开日 2008年2月27日

[11] 公开号 CN 101129500A

[22] 申请日 2007.8.21

[21] 申请号 200710055977.3

[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 刘志强 包懿 皮子风 越皓
宋凤瑞 刘淑莹

[74] 专利代理机构 长春科宇专利代理有限责任公司
代理人 马守忠

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

[54] 发明名称

从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱
与脂型生物碱的方法

[57] 摘要

本发明提供从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱与脂型生物碱的方法。把乌头属中药材经过乙醇冷浸后，用无水乙醇醇沉，然后用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，在上层溶液中即得纯净的脂型生物碱，在下层溶液中即得单酯型和双酯型生物碱。通过电喷雾质谱检测，提取分离效果较好。经计算脂型生物碱的产率在0.34%以上，单酯型和双酯型生物碱的总产率在1.02%以上。

1、从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱与脂型生物碱的方法，其特征是：将乌头属中药材的干燥粉末浸于体积百分比浓度为95%的乙醇中超声提取2~3小时，在室温（20~25℃）冷浸48~72小时，乙醇与药材粉末的重量比为5:1，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，在50℃下减压蒸出溶剂，得粗浸膏；将粗浸膏用10~12倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，静置，醇沉，离心后得滤液，50℃下减压蒸出乙醇得浸膏；用环己烷：乙醇：水的体积比为2:1:1的己烷-乙醇-水的体系进行萃取，取上层液于50℃下减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱；取下层液于50℃下减压蒸干溶剂，得到纯净的单酯型和双酯型生物碱；如果下层液中还含有脂型生物碱，则于50℃减压蒸干溶剂得浸膏后，继续用上述的环己烷-乙醇-水体系重复萃取，直至下层液中不含脂型生物碱；所述的乌头属植物为：附子、川乌、川乌的炮制品黑顺片、草乌或雪上一支蒿。

从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱与脂型生物碱的方法

技术领域

本发明属于天然药物化学领域，具体涉及从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱与脂型生物碱的方法。

背景技术

中药附子、川乌等乌头属中药材是中医临床常用中草药。其主要的药理作用有：抗炎、镇痛、强心、抗心肌缺血缺氧、影响血压、防止休克等。另外，还对中枢神经系统、外周神经系统和免疫系统均有较强作用。经现代临床药理学证明附子中具有药理活性的物质主要是生物碱类化合物。其生物碱的类型主要有三类：单酯型二萜类生物碱、双酯型二萜类生物碱、脂型生物碱。现代药理学研究证明，单酯型和双酯型二萜生物碱虽生物活性较强，但毒性也较大。脂型生物碱具有镇痛、消炎等显著的生物活性，与单酯型和双酯型生物碱比较，其毒性较小，是一类具有广泛药理活性的化学成分，具有重要的研究价值和广阔的应用前景。近几十年来，人们对附子及乌头属植物中化学成分的分离提取主要集中在单酯型生物碱和双酯型生物碱上，而对脂型生物碱的分离提取研究甚少。

目前，国内常采用酸水渗漉（李正帮等，天然产物研究与开发：Vol. 9(1), 1997, 9-14）提取附子及乌头属植物中的生物碱，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)）。但是由于脂型生物碱难溶于酸水，用酸水渗漉法提取的生物碱不全面，脂型生物碱的收率较低。而附子中生物碱在甲醇中容易分解，很难大量提取。用乙醇提

取（丁立生等，天然产物研究与开发：Vol. 6(3), 1994, 50-54）附子中生物碱的效率虽然较高，但是其中含有淀粉、糖等杂质，需要进一步的分离提纯。也有用柱色谱法分离纯化生物碱，但柱色谱法存在由不可逆吸附导致产率低的缺点，况且分离过程十分耗时、耗力，不利于生物碱的大量分离提取。综上所述，虽然对附子及乌头属植物中各型生物碱的研究十分迫切，但是由于分离提取困难，研究进展十分缓慢。

发明内容

本发明的目的是提供一种从乌头属中药材中分离提取单双酯型生物碱与脂型生物碱的方法。

将乌头属中药材的干燥粉末浸于体积百分比浓度为 95% 的乙醇中超声提取 2~3 小时，在室温（20~25℃）冷浸 48~72 小时，乙醇与药材粉末的重量比为 5:1，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，在 50℃ 下减压蒸出溶剂，得粗浸膏；将粗浸膏用 10~12 倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，静置，醇沉，离心后得滤液，50℃ 下减压蒸出乙醇得浸膏；用环己烷：乙醇：水的体积比为 2：1：1 的己烷-乙醇-水的体系进行萃取，取上层液于 50℃ 下减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱；取下层液于 50℃ 下减压蒸干溶剂，得到纯净的单酯型和双酯型生物碱；如果下层液中还含有脂型生物碱，则于 50℃ 减压蒸干溶剂得浸膏后，继续用上述的环己烷-乙醇-水体系重复萃取，直至下层液中不含脂型生物碱；所述的乌头属植物为：附子、川乌、川乌的炮制品黑顺片、草乌或雪上一支蒿。

本发明的有益效果：通过电喷雾质谱检测，上层液中只含脂型生物碱，不含单酯型和双酯型生物碱，脂型生物碱的产率在 0.34% 以上；下层液中只含单

酯型和双酯型生物碱,不含脂型生物碱,单酯型和双酯型生物碱的总产率在 1.02%以上。本发明的方法能从头属中药材中分离提取各型生物碱,并能对其进行纯化,方法简便快速。

附图说明

附图 1 为本发明的包含所有生物碱的乙醇提取液电喷雾质谱图。由图可以看出乙醇提取的生物碱成分较多,包含所有类型的生物碱,说明乙醇提取能力较强;

附图 2 为本发明的萃取后的下层液中单酯型和双酯型生物碱的质谱图,其中不含有脂型生物碱;

附图 3 为本发明的萃取后的上层液中脂型生物碱的质谱图,其中不含有单酯型和双酯型生物碱。

附图 2 和附图 3 说明分离比较完全,效率高。

具体实施方式

实施例 1:

将生附子 200 克浸于体积百分比浓度为 95%乙醇中超声提取 2 小时,在室温冷浸 48 小时,乙醇与药材粉末的重量比为 5:1,滤出乙醇提取液,把浸过的生附子药渣按上述方法再处理三次,合并四次滤出的乙醇提取液,50℃减压蒸干溶剂,得到乙醇粗浸膏,粗浸膏用 10 倍体积的无水乙醇溶解,过滤除去不溶物,醇沉,静置 12 小时后离心,取溶液于 50℃下减压蒸出乙醇,得浸膏。浸膏用环己烷:乙醇:水的体积比为 2:1:1 的环己烷-乙醇-水体系萃取,静置后即得上下两层溶液。下层液于 50℃下减压蒸干溶剂后再用上述环己烷-乙醇-水体系重复萃取过程一次,静置后再取其下层液,50℃减压蒸干溶剂,得到纯净的单

酯型和双酯型生物碱共 2.15 克，产率 1.08%；合并两次萃取后的上层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱 1.08 克，产率 0.54%。

实施例 2:

将生川乌 190 克浸于体积百分比浓度为 95%乙醇中超声提取 3 小时后，在室温冷浸 48 小时，乙醇与药材粉末的重量比为 5: 1，滤出乙醇提取液，把浸过的生川乌药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，50℃减压蒸干溶剂，得到乙醇粗浸膏，粗浸膏用 10 倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，醇沉，静置 12 小时后离心，取溶液于 50℃下减压蒸出乙醇，得浸膏。浸膏用环己烷: 乙醇: 水的体积比为 2: 1: 1 的环己烷-乙醇-水体系萃取，静置后即得上下两层溶液。下层液于 50℃下减压蒸干溶剂后再用上述环己烷-乙醇-水体系重复萃取过程一次，静置后再取其下层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的单酯型和双酯型生物碱共 3.59 克，产率 1.89%；合并两次萃取后的上层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱 1.38 克，产率 0.73%。

实施例 3:

将黑顺片 550 克浸于体积百分比浓度为 95%乙醇中超声提取 3 小时，在室温冷浸 72 小时，乙醇与药材粉末的重量比为 5: 1，滤出乙醇提取液，把浸过的黑顺片药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，50℃减压蒸干溶剂，得到乙醇粗浸膏，粗浸膏用 12 倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，醇沉，静置 12 小时后离心，取溶液于 50℃下减压蒸出乙醇，得浸膏。浸膏用环己烷: 乙醇: 水的体积比为 2: 1: 1 的环己烷-乙醇-水体系萃取，静置后即得上下两层溶液。下层液于 50℃下减压蒸干溶剂后再用上述环己烷-乙醇-水体系重复萃取过程一次，静置后再取其下层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的单

酯型和双酯型生物碱共 5.61 克，产率 1.02%；合并两次萃取后的上层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱 1.87 克，产率 0.34%。

实施例 4:

将草乌 500 克浸于体积百分比浓度为 95%乙醇中超声提取 3 小时，在室温冷浸 48 小时，乙醇与药材粉末的重量比为 5: 1，滤出乙醇提取液，把浸过的草乌药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，50℃减压蒸干溶剂，得到乙醇粗浸膏，粗浸膏用 12 倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，醇沉，静置 12 小时后离心，取溶液于 50℃下减压蒸出乙醇，得浸膏。浸膏用环己烷:乙醇:水的体积比为 2: 1: 1 的环己烷-乙醇-水体系萃取，静置后即得上下两层溶液。下层液于 50℃下减压蒸干溶剂后再用上述环己烷-乙醇-水体系重复萃取过程一次，静置后再取其下层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的单酯型和双酯型生物碱共 8.13 克，产率 1.63%；合并两次萃取后的上层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱 3.19 克，产率 0.64%。

实施例 5:

将雪上一支蒿 500 克浸于体积百分比浓度为 95%乙醇中超声提取 3 小时后室温冷浸 72 小时，乙醇与药材粉末的重量比为 5: 1，滤出乙醇提取液，把浸过的雪上一支蒿药渣按上述方法再处理三次，合并四次滤出的乙醇提取液，50℃减压蒸干溶剂，得到乙醇粗浸膏，粗浸膏用 12 倍体积的无水乙醇溶解，过滤除去不溶物，醇沉，静置 12 小时后离心，取溶液于 50℃下减压蒸出乙醇，得浸膏。浸膏用环己烷:乙醇:水的体积比为 2: 1: 1 的环己烷-乙醇-水体系萃取，静置后即得上下两层溶液。下层液于 50℃下减压蒸干溶剂后再用上述环己烷-乙醇-水体系重复萃取过程一次，静置后再取其下层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的单酯型和双酯型生物碱共 8.53 克，产率 1.71%；合并两次萃取后的上层液，50℃减压蒸干溶剂，得到纯净的脂型生物碱 4.88 克，产率 0.98%。

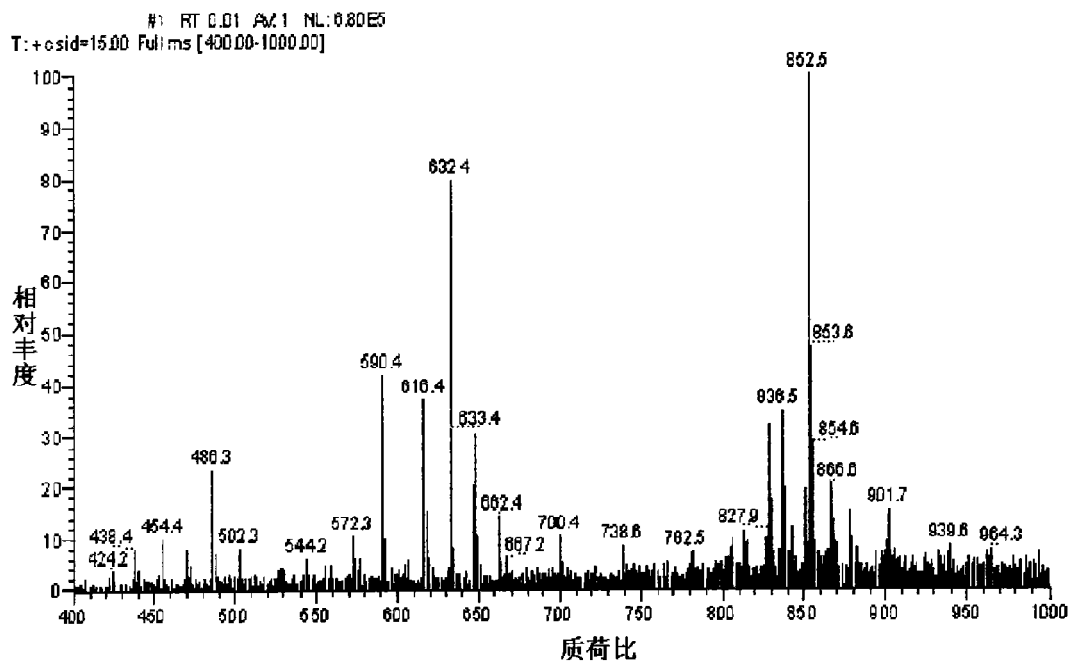


图 1

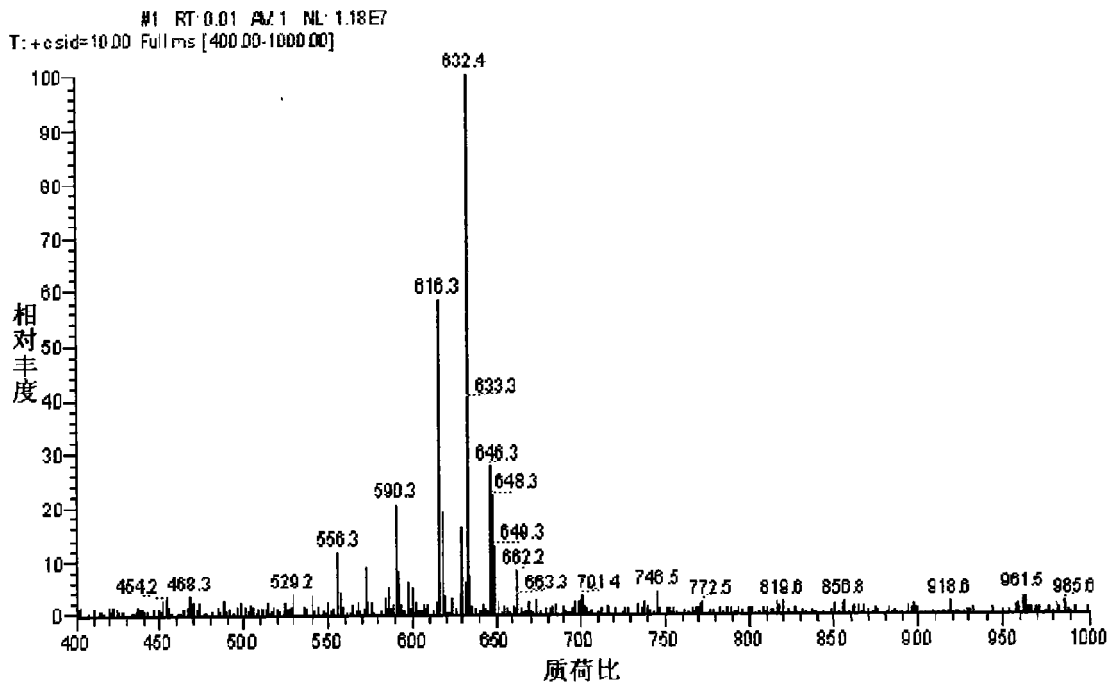


图 2

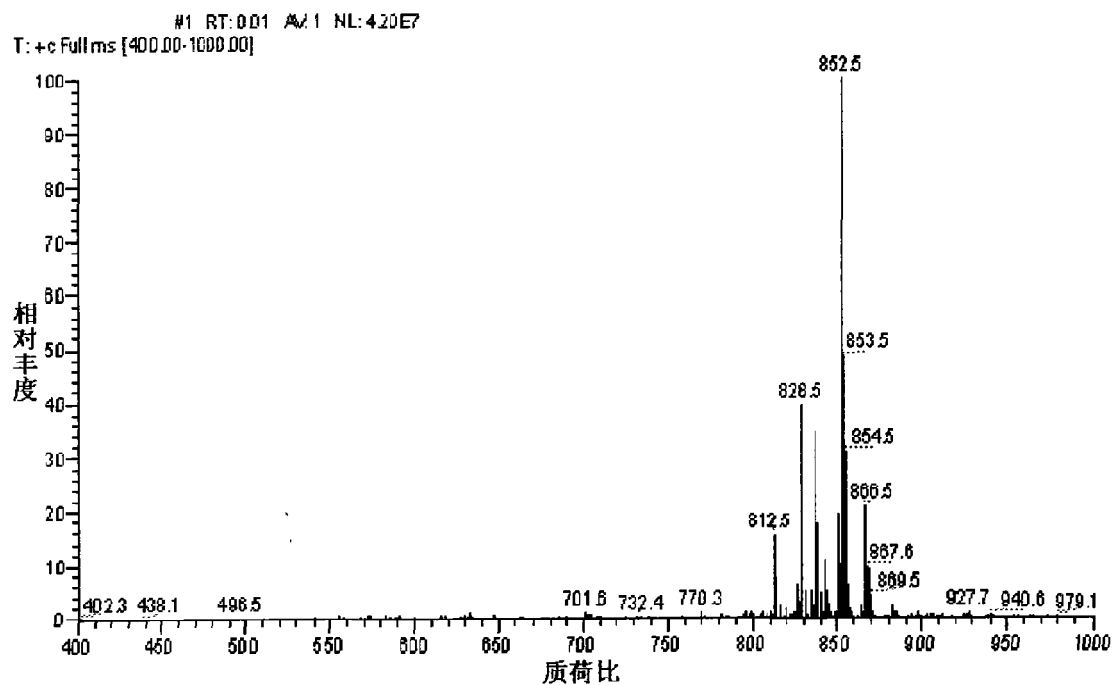


图 3