



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103588773 B

(45) 授权公告日 2016.01.06

(21) 申请号 201310549873.3

(22) 申请日 2013.11.07

(73) 专利权人 东南大学

地址 211189 江苏省南京市玄武区四牌楼2号

(72) 发明人 廖志新 叶润 纪兰菊 孙洪发
胥廉谦 施天一

(74) 专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 沈振涛

CN 102219786 A, 2011.10.19, 全文.

CN 101891740 A, 2010.11.24, 全文.

CN 102349940 A, 2012.02.15, 全文.

CN 102850351 A, 2013.01.02, 全文.

吴勇等. 高纯度金雀花碱的提取方法研究. 《内蒙古师范大学学报自然科学(汉文)版》. 2004, 第33卷(第2期), 第186-187页.
黎萍等. 披针叶黄华中金雀花碱类生物碱的提取工艺. 《华西药理学杂志》. 2007, 第22卷(第1期), 第7-8页.

审查员 蒋薇薇

(51) Int. Cl.

C07D 471/18(2006.01)

(56) 对比文件

EP 2292629 A1, 2011.03.09, 全文.

CN 101921272 A, 2010.12.22, 全文, 尤其是说明书第3-4页实施例1.

CN 101830902 A, 2010.09.15, 全文, 尤其是说明书第1页第0013段.

RO 63234 A, 1978.02.20, 全文.

CN 101624393 A, 2010.01.13, 全文.

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种金雀花碱的提取分离方法

(57) 摘要

本发明提供了一种金雀花碱的提取分离方法, 包括以下步骤: 提取: 将牧马豆种子粉碎, 加4-10倍质量的有机溶剂水溶液, 回流提取1-4h, 提取液浓缩至质量浓度为0.5~1.5g/ml, 得到浓缩液; 大孔树脂联用分离: 采用孔径在130-300Å、比表面积在480-600m²/g的聚苯乙烯型非极性树脂一次分离; 采用孔径在50-80Å、比表面积在800-1100m²/g的聚苯乙烯型非极性树脂二次分离; 重结晶即得。该方法工艺简单、操作简便、原料来源方法、成本低廉, 分离使用的材料再生简单、无毒无污染, 适合工业化大生产。

1. 一种金雀花碱的提取分离方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 提取:将牧马豆种子粉碎,加 4-10 倍质量的有机溶剂水溶液,回流提取 1-4h,提取液浓缩至质量浓度为 0.5 ~ 1.5g/ml,得到浓缩液;其中,所述有机溶剂水溶液为甲醇水溶液或乙醇水溶液;

(2) 大孔树脂联用分离:

采用孔径在 130-300Å、比表面积在 480-600 m²/g 的聚苯乙烯型非极性树脂一次分离:将浓缩液调 pH 至 8-9,加至大孔树脂柱上静置吸附;依次用 5-10 倍柱体积的纯化水、5-10 倍柱体积的 10%-40% 的乙醇水溶液洗脱,乙醇洗脱液浓缩至质量浓度为 0.5-1.5 g/ml,得一次分离浓缩液;其中,一次分离所使用的聚苯乙烯型非极性树脂为 X-5 型大孔树脂或 AB-8 型大孔树脂;

采用孔径在 50-80Å、比表面积在 800-1100 m²/g 的聚苯乙烯型非极性树脂二次分离:将一次分离浓缩液调 pH 至 8-9,加至大孔树脂柱上静置吸附;依次用 4-6 倍量柱体积的纯化水、4-6 倍量柱体积的 10% 乙醇、5-10 倍量柱体积的 15-25% 乙醇洗脱,收集 15-25% 乙醇洗脱液,浓缩、干燥,得固体;其中,二次分离所使用的聚苯乙烯型非极性树脂为 DM18 型大孔树脂或 DM2 型大孔树脂;

(3) 重结晶:将步骤(2)得到的固体在溶剂中重结晶,所述溶剂为甲醇、乙醇、乙醚或丙酮,即得。

2. 根据权利要求 1 所述的一种金雀花碱的提取分离方法,其特征在于:步骤(1)中,牧马豆种子粉碎至 10-60 目;所述有机溶剂为乙醇或甲醇,有机溶剂水溶液的质量百分比浓度为 35%-95%。

3. 根据权利要求 1 所述的一种金雀花碱的提取分离方法,其特征在于:步骤(2)中,一次分离条件:上样量为 0.01-0.2 倍柱体积,静置吸附时间为 10-50 分钟,洗脱速度为 1-5mL/min。

4. 根据权利要求 1 所述的一种金雀花碱的提取分离方法,其特征在于:步骤(2)中,二次分离条件:上样量为 0.01-0.2 倍柱体积,静置吸附时间为 20-40 分钟,洗脱速度为 1-3mL/min。

5. 根据权利要求 1 所述的一种金雀花碱的提取分离方法,其特征在于:步骤(3)中,固体与溶剂的用量比为 1g:(1-10)ml。

一种金雀花碱的提取分离方法

技术领域

[0001] 本发明属于中药化学领域,特别涉及一种生物碱的提取分离方法,具体涉及一种金雀花碱的提取分离方法。

背景技术

[0002] 金雀花碱,其分子式为 $C_{11}H_{14}ON_2$, 分子量为 190.24。金雀花碱具有显著的生物活性,临床用金雀花碱 0.15% 的水溶液静脉注射,抢救因手术和各种创伤引起的反射性呼吸暂停、休克和新生儿窒息。近期研究表明,金雀花碱还具有抗心律失常、抗微生物感染、抗溃疡以及较强的抗癌活性。

[0003] 现有对金雀花碱提取纯化工序多是传统工艺。中国专利 201010182690.9 公开了一种金雀花碱的提取方法,包括 CO_2 超临界提取后通过大孔树脂层析分离、丙酮重结晶、有机溶剂提取、酸化萃取、氧化铝柱或硅胶柱层析、丙酮结晶等工序,工艺复杂,操作繁琐。中国专利 201110225551.4 公开了披针叶黄华总生物碱和几种高纯度药用物质的分离方法,该发明以披针叶黄华为原料,通过酸水提取、离子树脂吸附、大孔树脂富集得到总生物碱,用高速逆流色谱法和制备液相色谱对总生物碱进行分离纯化,得到高纯度的金雀花碱、黄华碱、鹰爪豆碱和 N-甲基金雀花碱,仅能进行实验室小试,难以扩大应用。中国专利 201210315804.1 公开了一种牧马豆中提取金雀花碱的方法,该发明以牧马豆为提取原料,用有机溶剂脱脂后提取,再用硅胶层析分离,最后重结晶得金雀花碱;然而硅胶层析可能带来二次污染,且纯度并不高。中国专利 200910023485.5 公开了一种从披针叶黄华种籽中提取金雀花碱和黄华碱的方法,该发明以披针叶黄华种籽为提取原料,将披针叶黄华种籽粉碎、提取、浓缩得浸膏,再用有机溶剂萃取浸膏,酸水溶液反萃取、净化萃取溶剂,同时得到含黄华碱的酸水溶液,此酸水溶液加入碱性试剂碱化,析晶,重结晶,可得到黄华碱产品;萃取过的浸膏碱化后用有机溶液萃取,浓缩,结晶,重结晶,可得到纯度 98% 以上的金雀花碱产品;该方法工艺复杂,收率不高。

发明内容

[0004] 发明目的:为了解决现有技术提取分离金雀花碱纯度低、成本高、污染重、周期长的问题,本发明的目的在于提供一种成本低、纯度高、适于工业应用的金雀花碱的提取分离方法。

[0005] 技术方案:本发明提供的一种金雀花碱的提取分离方法,包括以下步骤:

[0006] (1) 提取:将牧马豆种子粉碎,加 4-10 倍质量的有机溶剂水溶液,回流提取 1-4h,提取液浓缩至质量浓度为 0.5 ~ 1.5g/ml,得到浓缩液;

[0007] (2) 大孔树脂联用分离:

[0008] 采用孔径在 130-300Å、比表面积在 480-600m²/g 的聚苯乙烯型非极性树脂一次分离:将浓缩液调 pH 至 8-9,加至大孔树脂柱上静置吸附;依次用 5-10 倍柱体积的纯化水、5-10 倍柱体积的 10%-40% 的乙醇水溶液洗脱,乙醇洗脱液浓缩至质量浓度为 0.5-1.5g/ml,

得一次分离浓缩液；

[0009] 采用孔径在 50-80Å、比表面积在 800-1100m²/g 的聚苯乙烯型非极性树脂二次分离；将一次分离浓缩液调 pH 至 8-9，加大孔树脂柱上静置吸附；依次用 4-6 倍量柱体积的纯化水、4-6 倍量柱体积的 10% 乙醇、5-10 倍量柱体积的 15-25% 乙醇洗脱，收集 15-25% 乙醇洗脱液，浓缩、干燥，得固体；

[0010] (3) 重结晶：将步骤(2)得到的固体在溶剂中重结晶，即得。

[0011] 其中，步骤(1)中，牧马豆种子粉碎至 10-60 目；所述有机溶剂为乙醇或甲醇，有机溶剂水溶液的质量百分比浓度为 35%-95%。

[0012] 其中，步骤(2)中，一次分离所使用的聚苯乙烯型非极性树脂为 X-5 型大孔树脂或 AB-8 型大孔树脂。

[0013] 其中，步骤(2)中，大孔树脂在使用前还需要进行预处理，方法为：用高于树脂层 10-20 厘米的乙醇浸泡 3-4 小时后放净乙醇洗涤液，用相同方法反复洗涤至乙醇洗涤液在试管中加 3 倍量水不显浑浊，再用清水洗涤至无乙醇味。

[0014] 其中，步骤(2)中，一次分离条件：上样量为 0.01-0.2 倍柱体积，静置吸附时间为 10-50 分钟，洗脱速度为 1-5mL/min。

[0015] 其中，步骤(2)中，二次分离所使用的聚苯乙烯型非极性树脂为 DM18 型大孔树脂或 DM2 型大孔树脂。

[0016] 其中，步骤(2)中，二次分离条件：上样量为 0.01-0.2 倍柱体积，静置吸附时间为 20-40 分钟，洗脱速度为 1-3mL/min。

[0017] 其中，步骤(3)中，溶剂为甲醇、乙醇、乙醚或丙酮；固体与溶剂的用量比为 1g：(1-10)ml。

[0018] 有益效果：本发明提供的金雀花碱的提取分离方法工艺简单、操作简便、原料来源方法、成本低廉，分离使用的材料再生简单、无毒无污染，适合工业化大生产。

[0019] 具体而言，本发明相对于现有技术具有以下突出的优势：

[0020] 1. 本发明利用不同孔径大孔树脂对物质的吸附能力不同，结合大孔树脂的比表面积，经过大量试验筛选，最终选择了两种孔径和比表面积不同的大孔树脂联用；应用特定的洗脱溶剂体系和特定的洗脱方法，通过柱分离实现高纯度金雀花碱的富集和提取。

[0021] 2. 本方法操作简单，成本低廉，转化率高，大孔树脂可以反复利用，适合于工业化大生产。

[0022] 3. 本方法无毒无污染，完全做到了当今社会所提倡的绿色化学的概念，最终可得到含量在 98% 以上的金雀花碱。

附图说明

[0023] 图 1 为本发明实施例 1 产物液相图谱。

[0024] 图 2 为本发明实施例 2 产物液相图谱。

[0025] 图 3 为本发明实施例 3 产物液相图谱。

具体实施方式

[0026] 根据下述实施例，可以更好地理解本发明。然而，本领域的技术人员容易理解，实

施例所描述的具体的物料配比、工艺条件及其结果仅用于说明本发明,而不应当也不会限制权利要求书中所详细描述的本发明。实施例 1

[0027] 取牧马豆原料 100kg 进行粉碎,将上述处理所得的原料过 10 目筛,用 8 倍质量的浓度为 95% 的乙醇回流提取 1 小时,得提取液。浓缩提取液至质量浓度为 1.0g/mL,调 pH 至 8.0,上预处理过的 X-5 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.1 倍柱体积,静置 30min,依次用 8 倍柱体积的纯水、8 倍柱体积的 10% 的乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 1.0mL/min,收集 10% 乙醇洗脱液,再浓缩至质量浓度为 1.0g/mL,调 pH 至 9.0,上预处理好的 DM18 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.1 倍柱体积,静置 30min,依次用 5 倍柱体积的纯水、5 倍柱体积的 10% 乙醇水溶液、8 倍柱体积的 20% 乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 1.0mL/min,收集 20% 乙醇洗脱液浓缩干燥得固体,用无水乙醇溶解,固体与无水乙醇的用量比为 1g :5ml,也可以用其他醇代替乙醇,例如甲醇,浓缩至金雀花碱结晶完全,得金雀花碱 1.02kg,含量为 99.658%,转移率为 60.0%。

[0028] 该实施例使用的 X-5 型大孔树脂性能参数如下:

[0029] 材料:交联聚苯乙烯;

[0030] 极性:非极性;

[0031] 平均孔径 A :290-300Å ;

[0032] 孔容 :1.20-1.24mL/g ;

[0033] 粒径范围 :0.315-1.25mm ;

[0034] 含水量 :45-60% ;

[0035] 表观密度 :0.44-0.487g/mL ;

[0036] 骨架密度 1.03-1.078g/mL ;

[0037] 比表面积 :500-600m²/g。

[0038] 该实施例使用的 DM18 型大孔树脂性能参数如下:

[0039] 材料:苯乙烯共聚体;

[0040] 极性:非极性;

[0041] 平均孔径 A :50-60Å ;

[0042] 粒径范围 :0.25-0.84mm ;

[0043] 含水量 :55-75% ;

[0044] 比表面积 :1000-1100m²/g。

[0045] 产品采用 HPLC 检测纯度,结果见图 1 和表 1。

[0046] 表 1 实施例 1 的产品纯度

[0047]

名称	保留时间 (min)	峰面积	峰高	含量 (%)
金雀花碱	4.078	8574199	602647	99.658

[0048] 实施例 2

[0049] 取牧马豆原料 100kg 进行粉碎,将上述处理所得的原料过 20 目筛,用 10 倍量浓度为 35% 的甲醇回流提取 3 小时,得提取液。浓缩提取液至质量浓度为 0.5g/mL,调 pH 至 9.0,上预处理过的 AB-8 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.2 倍柱体积,静置 50min,依

次用 10 倍柱体积的纯水、10 倍柱体积的 30% 的乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 3mL/min,收集 30% 乙醇洗脱液,再浓缩至质量浓度为 0.5g/mL,调 pH 至 8.0,上预处理好的 DM18 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.2 倍柱体积,静置 20min,依次用 6 倍柱体积的纯水、6 倍柱体积的 10% 乙醇水溶液、10 倍柱体积的 25% 乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 2mL/min,收集 25% 乙醇洗脱液浓缩干燥得固体,用乙醚溶解,固体与乙醚的用量比为 1g:10ml,浓缩至金雀花碱结晶完全,得金雀花碱 1.03kg,含量为 99.695%,转移率为 60.4%。

[0050] 该实施例使用的 AB-8 型大孔树脂性能参数如下:

[0051] 材料:交联聚苯乙烯;

[0052] 极性:非极性;

[0053] 平均孔径 A:130-140Å;

[0054] 孔容:0.73-0.77mL/g;

[0055] 粒径范围:0.315-1.25mm;

[0056] 含水量:60-70%;

[0057] 表观密度:1.05-1.09g/mL;

[0058] 骨架密度 1.13-1.17g/mL;

[0059] 比表面积:480-520m²/g。

[0060] 该实施例使用的 DM18 型大孔树脂性能参数如下:

[0061] 材料:苯乙烯共聚体;

[0062] 极性:非极性;

[0063] 平均孔径 A:50-60Å;

[0064] 粒径范围:0.25-0.84mm;

[0065] 含水量:55-75%;

[0066] 比表面积:1000-1100m²/g。

[0067] 产品采用 HPLC 检测纯度,结果见图 2 和表 2。

[0068] 表 2 实施例 2 的产品纯度

[0069]

名称	保留时间 (min)	峰面积	峰高	含量 (%)
金雀花碱	4.110	8438435	603510	99.695

[0070] 实施例 3

[0071] 取牧马豆原料 100kg 进行粉碎,将上述处理所得的原料过 60 目筛,用 4 倍量浓度为 65% 的乙醇回流提取 4 小时,得提取液。浓缩提取液至质量浓度为 1.5g/mL,调 pH 至 8.5,上预处理过的 X-5 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.01 倍柱体积,静置 10min,依次用 5 倍柱体积的纯水、5 倍柱体积的 40% 的乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 5mL/min,收集 40% 乙醇洗脱液,再浓缩至质量浓度为 1.5g/mL,调 pH 至 8.5,上预处理好的 DM2 型大孔树脂柱 (315×1500mm),上样量为 0.01 倍柱体积,静置 40min,依次用 4 倍柱体积的纯水、4 倍柱体积的 10% 乙醇水溶液、5 倍柱体积的 15% 乙醇水溶液洗脱,洗脱速度为 3mL/min,收集 15% 乙醇洗脱液浓缩干燥得固体,用丙酮溶解,固体与丙酮的用量比为 1g:1ml,浓缩至金雀花碱结晶完全,得金雀花碱 0.92kg,含量为 98.330%,转移率为 53.2%。

[0072] 该实施例使用的 X-5 型大孔树脂性能参数如下：

[0073] 材料：交联聚苯乙烯；

[0074] 极性：非极性；

[0075] 平均孔径 A：290-300Å；

[0076] 孔容：1.20-1.24mL/g；

[0077] 粒径范围：0.315-1.25mm；

[0078] 含水量：45-60%；

[0079] 表观密度：0.44-0.487g/mL；

[0080] 骨架密度 1.03-1.078g/mL；

[0081] 比表面积：500-600m²/g。

[0082] 该实施例使用的 DM2 型大孔树脂性能参数如下：

[0083] 材料：苯乙烯共聚体；

[0084] 极性：非极性；

[0085] 平均孔径 A：70-80Å；

[0086] 粒径范围：0.25-0.84mm；

[0087] 含水量：55-75%；

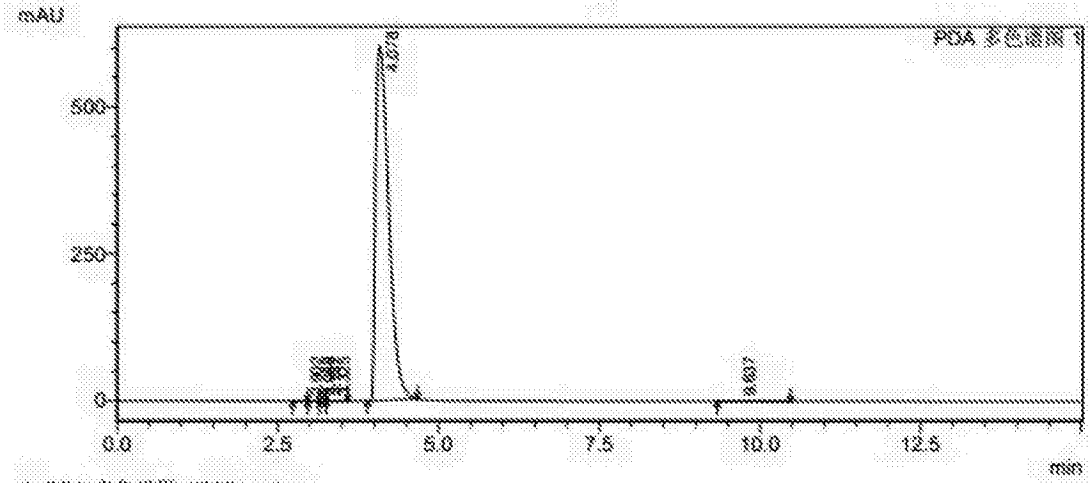
[0088] 比表面积：800-900m²/g。

[0089] 产品 HPLC 检测纯度，结果见图 3 和表 3。

[0090] 表 3 实施例 3 的产品纯度

[0091]

名称	保留时间 (min)	峰面积	峰高	含量 (%)
金雀花碱	4.108	7344331	534129	98.330

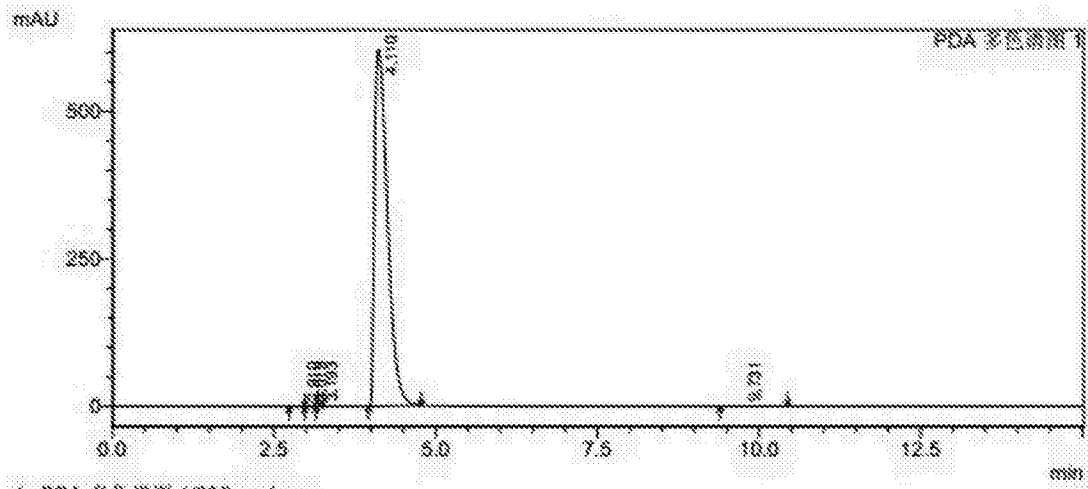


1 PDA 多色谱图 1/305nm 4nm

峰表

峰#	保留时间	面积	高度	面积%	高度%
1	2.992	4341	847	0.050	0.088
2	3.066	3108	329	0.036	0.036
3	3.187	1293	315	0.015	0.032
4	3.225	1297	477	0.015	0.100
5	4.078	8574199	602647	99.898	99.744
6	9.837	16406	479	0.191	0.100
总计		8693654	604875	100.000	100.000

图 1

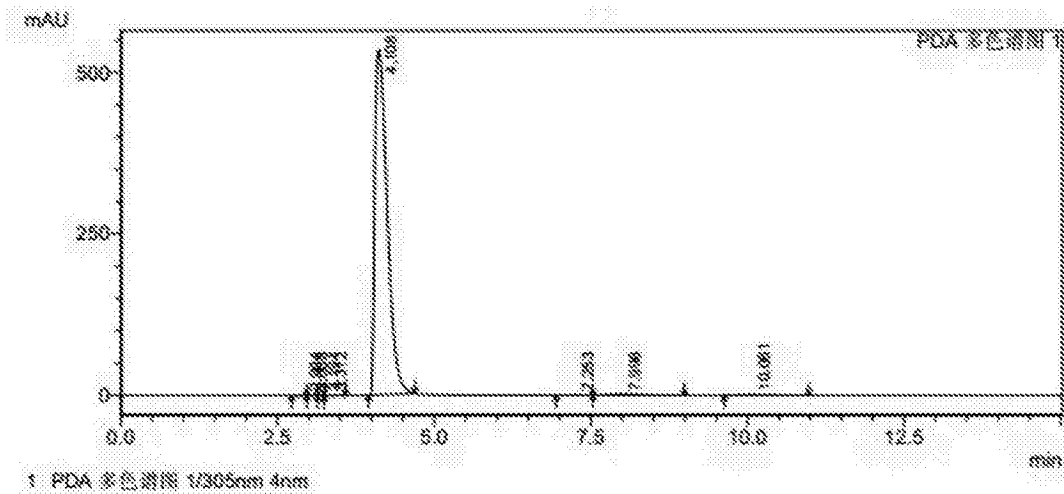


1 PDA 多色谱图 1/305nm 4nm

峰表

峰#	保留时间	面积	高度	面积%	高度%
1	2.910	5017	718	0.059	0.119
2	3.019	3633	382	0.043	0.063
3	3.193	2038	454	0.024	0.075
4	4.110	8438435	603510	99.895	99.668
5	9.731	13146	486	0.159	0.077
总计		8481268	605531	100.000	100.000

图 2



1 PDA 多色谱图 17305nm 4nm

峰表

峰号	保留时间	面积	峰高	面积%	分辨率
1	2.304	3349	753	0.074	0.000
2	3.008	4208	433	0.056	0.000
3	3.194	2782	532	0.037	2.733
4	3.312	6938	688	0.093	1.808
5	4.108	7314331	834129	98.330	2.951
6	7.253	3692	459	0.129	3.813
7	7.996	62895	1746	0.842	1.171
8	10.091	32733	586	0.439	1.395
总计		7462061	538728	100.000	

图 3