

## 高速逆流色谱法分离附子中的 15- $\alpha$ -羟基新乌碱<sup>\*</sup>

洪波<sup>1</sup>, 司云珊<sup>2</sup>, 赵宏峰<sup>2</sup>, 徐雅娟<sup>2</sup>

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

**摘要:** 采用高速逆流色谱法对附子中的化学成分进行研究, 分离得到了15- $\alpha$ -羟基新乌碱单体。溶剂系统为氯仿-甲醇-盐酸(0.3 mol/L)=4:3:2, 上层为固定相, 下层为流动相。流速1.8 mL/min, 转速850 r/min。并对其结构进行了鉴定。

**关键词:** 高速逆流色谱法; 分离; 附子; 15- $\alpha$ -羟基新乌碱

**中图分类号:** R284.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-5684(2004)01-0057-02

### Separation of 15- $\alpha$ -OH Neoline from *Aconitum Carmichaeli* By High-Speed Countercurrent Chromatography

HONG Bo<sup>1</sup>, SI Yun-shan<sup>2</sup>, ZHAO Hong-feng<sup>2</sup>, XU Ya-juan<sup>2</sup>

(1. College of Resources and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China; 2. Jilin Academy of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130021, China)

**Abstract:** Using High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC), the author obtained 15- $\alpha$ -OH Neoline from *Aconitum Carmichaeli*. with two-phase solvent system composed of chloroform-methanol-hydrochloric acid(4:3:2 in volume ratio). The mobile phase is the lower phase and operated at a flow-rate of 1.8 mL/min, while the apparatus rotated at 850 r/min. Its structure was identified.

**Key words:** high speed countercurrent chromatography (HSCCC); separation; *Aconitum Carmichaeli*; 15- $\alpha$ -OH Neoline

附子自古以来为中医常用药之一, 为毛茛科植物乌头(*Aconitum Carmichaeli* Debx.)的侧根经加工炮制而成。《神农本草经》中列为下品, 用于亡阳虚脱、肢冷脉微、阳痿、宫冷、心腹冷痛、虚寒吐泻、阴寒水肿、阳虚外感、寒湿痹痛等症<sup>[1-2]</sup>。其化学成分主要是生物碱类物质, 此外还有脂类物质以及多糖等<sup>[3-6]</sup>。

高速逆流色谱法<sup>[7]</sup>(HSCCC)是20世纪80年代初期发展起来的一种液液分配色谱分离技术, 样品中的各组分是根据其在两相中的分配系数不

同被分离的。由于不使用固态支持介质, 避免了因不可逆吸附引起的样品损失、失活变性等现象, 具有样品无损失、无污染、高效、快速和大制备量分离等优点, 高速逆流色谱法已广泛应用于天然产物化学成分的分离。本研究采用HSCCC法对附子中的生物碱成分进行了分离, 得到了15- $\alpha$ -羟基新乌碱的单体, 为今后应用该方法分离15- $\alpha$ -羟基新乌碱以及其他生物碱类成分提供了技术依据。

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30271583)

作者简介: 洪波(1970-), 女, 在读博士, 讲师, 主要从事中药有效成分及新药研究。

收稿日期: 2003-08-20

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

TB-300 高速逆流色谱仪(深圳同田科技有限公司);RE52-A 型旋转蒸发器(天津亚荣生化仪器厂);AV-400 型核磁共振谱仪(瑞士 Bruker 公司);LCQ-1700 型电喷雾质谱仪。(美国 Finnigan MAT LCQ 公司);RS-232C 型分步收集器(美国 Waters 公司)。

### 1.2 材料与试剂

附子(*Aconitum carmichaeli* Debx.)购自四川省江油药材加工厂;硅胶购自青岛海洋化工厂;Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>购自天津市化学试剂三厂;乙酸乙酯、氯仿、甲醇、乙醇均为分析纯,购自长春市化学试剂厂;碘化钾、次硝酸铋、碳酸氢钠购自北京市化学试剂厂。

### 1.3 附子粗品的分离

取生附子 20 kg,用 90% 乙醇热浸,浸膏 A 用盐酸处理。酸水液 B 用氯仿提取,得提取物 C 和酸水液 D。D 部分加浓氨水调 pH 值至 9~10,再用乙酸乙酯萃取,得提取物 E。将提取物 E 部分过 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 柱,以甲醇-氯仿为洗脱剂进行梯度洗脱,分得 G, H, J 部分。

### 1.4 HSCCC 法分离

采用氯仿-甲醇-盐酸(0.3 mol/L) = 4:3:2 溶剂系统,置分液漏斗中,混匀,静置过夜。24 h 后,分成固定相(上层)和流动相(下层)<sup>[8]</sup>。

上高速逆流色谱仪,首先泵入固定相,接着泵入流动相,达到平衡时,固定相保留量为 265 mL。取 H 部分 4.75 g,用固定相溶解,进样,流速 1.8 mL/min,转速 850 r/min,每 10 mL 收集 1 份,其中第 52~55 份为白色晶体。

## 2 结构鉴定

采用薄层色谱分析,展开系统为苯-氯仿-乙酸乙酯-甲醇 = 3:1:1:0.8(另一槽加氨水),用碘化铋钾显色,呈单一的橘红色斑点。电喷雾质谱鉴别,得到的分子离子峰和碎片离子峰分别为:MS m/e 453(M<sup>+</sup>), 436(M<sup>+</sup> - OH), 404(-OCH<sub>3</sub>), 386(-OH)。经<sup>13</sup>C-NMR 核磁共振波谱鉴定(图 1),CDCl<sub>3</sub> 为溶剂,其解析数据(表 1),与文献中 15- $\alpha$ -羟基新乌碱的有关数据基本一致<sup>[9]</sup>。综合以上分析,确定该化合物为 15- $\alpha$ -羟基新乌碱,

分子式为 C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>7</sub>, 结构式见图 2。

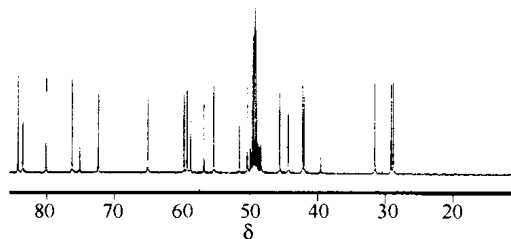


图 1 15- $\alpha$ -羟基新乌碱的<sup>13</sup>C-NMR 图谱

Fig. 1. <sup>13</sup>C-NMR of 15- $\alpha$ -OH Neoline

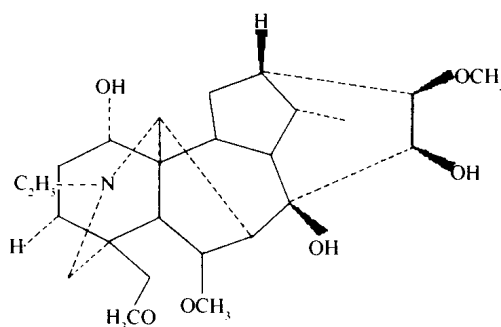


图 2 15- $\alpha$ -羟基新乌碱的结构式

Fig. 2. Structure of 15- $\alpha$ -OH neoline

表 1 15- $\alpha$ -羟基新乌碱的<sup>13</sup>C-NMR 解析数据

Table 1. <sup>13</sup>C-NMR data of 15- $\alpha$ -OH Neoline

碳原子序号 Serial number of carbon	化学位移 $\delta$	碳原子序号 Serial number of carbon	化学位移 $\delta$
1	72.4	12	31.5
2	28.8	13	42.3
3	29.1	14	75.1
4	39.5	15	80.1
5	44.3	18	80.1
6	84.2	19	55.4
7	45.6	N-CH <sub>2</sub>	48.7
8	80.1	CH <sub>3</sub>	11.0
9	48.8	6'	56.9
10	42.0	16'	58.9
11	49.5	18'	59.3

## 3 讨论

高速逆流色谱法的关键是溶剂系统的选择,应考察分层快慢、两相体积比、样品的溶解性、样品在两相中的分配比、固定相的保留率等多方面因素。本试验选用薄层色谱法对附子中生物碱成分分离的溶剂系统进行了研究。结果表明,盐酸的浓度对分离的效果影响较大,以氯仿-甲醇-盐酸(0.3 mol/L) = 4:3:2 为溶剂系统,效果较好。

(下转第 65 页)

(上接第 58 页)

本研究在附子的生物碱的分离中,首次应用了高速逆流色谱仪,成功地分得了 15- $\alpha$ -羟基新乌碱的单体化合物。随着分离技术的不断完善,高速逆流色谱仪在中药材的分离提取中将具有更加广泛的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 周远鹏,范礼理,张丽英,等. 附子药理作用的研究[J]. 中华医学杂志, 1978, 58(11): 664-669.
- [2] 周远鹏. 附子及其主要成分的药理作用和毒性[J]. 药学报, 1983, 18(5): 394-400.
- [3] 陈 嫵,朱元龙,朱任生. 中国乌头的研究 IV 川乌、附子中的生物碱[J]. 药学报, 1965, 12(7): 435-439.
- [4] 张迪华,李慧颖,宋维良. 中国附子成分研究 II 白附片的化学成分[J]. 中草药, 1982, 13(11): 481.
- [5] Konno C, Shiruasaka M, Hikion H. Structure of senbusine A, B, C, Ditepenic alkaloids of *Aconitum camichaeli* roots from China [J]. J Nat Prod, 1982, 45(2): 128.
- [6] 张卫东,韩公羽,梁华清,等. 四川江油附子生物碱成分的研究[J]. 药学报, 1992, 27(9): 670.
- [7] 张天佑. 逆流色谱技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 1991: 3.
- [8] 黄宝康,秦路平,郑汉臣,等. 高速逆流色谱技术在天然产物分离及中药质控中的应用[J]. 中药材, 2001, 24(10): 757-761.
- [9] Pelletier S W, Mody N V, Varughese K I, *et al.* Fuziline - a new alkaloid from Chinese drug "Fu Zi" (*Aconitum camichaeli* Debx.) [J]. Heterocycles, 1982, 18: 47.