

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 35/60



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 00128158.5

[45] 授权公告日 2004 年 2 月 4 日

[11] 授权公告号 CN 1136858C

[22] 申请日 2000. 12. 27 [21] 申请号 00128158.5

[71] 专利权人 中国科学院水生生物研究所
地址 430071 湖北省武汉市武昌珞珈山

[72] 发明人 金传荫 刘永定 宋立荣
审查员 翟 羽

[74] 专利代理机构 武汉科宏专利事务所
代理人 王敏锋

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称 一种澄清河鲀毒素粗提液的方法

[57] 摘要

一种澄清河鲀毒素粗提液的方法。该法是先将其粗提液减压浓缩，然后加入浓的易挥发有机溶剂，使所述溶剂的浓度达到 25 - 45%，分离出去沉淀物，所得清的粗提液再减压浓缩，并同时回收有机溶剂，然后加入与前一步同质的浓的易挥发有机溶剂，使其溶剂的浓度达到 70 - 85%，分离出去沉淀物，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即得到澄清的河鲀毒素的抽提液，该液可顺利地进行后续纯化处理。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1 一种澄清河鲀毒素的方法，其特征步骤是：

(1) 将粗提液减压浓缩到其体积的三分之二以下，加入浓度 80% 从上的易挥发有机溶剂，使所述溶剂的最终浓度达到 25—45%，静置 1 分钟以上，分离出沉淀物，收集到澄清的粗提液；

(2) 将上述所得的粗提液减压浓缩，同时回收有机溶剂，浓缩至其体积的二分之一以下，加入浓度 90% 以上与前一步同质的易挥发有机溶剂，使所述的溶剂的浓度达到 70—85%，静置 1 分钟以上后，分离出去沉淀物，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即得到河鲀毒素的澄清的抽提液。

2. 如权利要求 1 所述的澄清河鲀毒素粗提液的方法，其特征是所述的易挥发有机溶剂是：甲醇，乙醇，异丙醇，丙酮。

一种澄清河鲀毒素粗提液的方法

本发明涉及用酸液提取河鲀毒素而得的粗提液的澄清方法。

大量制备河鲀毒素时，用盐酸或乙酸等酸液提取河鲀毒素而得到河鲀毒素的粗提液，为了进行后续纯化处理，必须将粗提液澄清。传统的方法是将粗提液加热到 100° C 保温 5 分钟，然后趁热过滤。这一方法在处理河鲀的肌肉和内脏时是很有效的，然而，在处理河鲀的卵巢和鱼皮的粗提液时，常常会得到一种胶状物，根本无法进行过滤，这种未澄清的粗提液，无法进行后续纯化处理。由于河鲀的卵巢是重要的提取河鲀毒素的原料，所以找到一种澄清其粗提液的方法是很重要的。

本发明的目的在于解决处理从河鲀卵巢和鱼皮等器官组织提取的河鲀毒素粗提液的澄清的难题，提供一种崭新的澄清河鲀毒素粗提液的方法，该方法适用于河鲀各部位的粗提液的澄清处理，得到的澄清液便于进行后续纯化处理。

实现本发明目的的澄清河鲀毒素粗提液的方法步骤是：

- (1) 将粗提液减压浓缩到其体积的三分之二以下，加入浓度 80% 以上的易挥发有机溶剂，使所述的溶剂的最终浓度达到 25—45%，静置 1 分钟以上，分离出去沉淀物，收集得到一种澄清的粗提液；

(2) 将上述所得的粗提液减压浓缩至其体积的二分之一以下（此时可同时回收有机溶剂），加入浓度 90% 以上的与第一步同质的易挥发有机溶剂，使所述的溶剂的最终浓度达到 70—85%，静置 1 分钟以上后，分离出去沉淀物，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即可得到河鲀毒素的澄清抽提液，它适于进行后续纯化处理。

上述的易挥发有机溶剂为甲醇，乙醇，异丙醇，丙酮及与乙醇性质类似的易挥发有机溶剂。

本发明的方法适用于从河鲀各部位提取的河鲀毒素粗提液的澄清处理，澄清后的河鲀毒素抽提液可以方便地按常规方法进行后续纯化处理。且本方法过程中所使用的易挥发有机溶剂可回收利用。

实施例 1

取酸液提取河鲀卵巢而得的河鲀毒素粗提液 200ml，利用减压浓缩装置，浓缩到 60ml，加入 95% 乙醇 45ml，立即可观察到有絮状物形成，静置 2 分钟，离心，除去沉淀物，所得的粗提液明显变清，其粘度明显降低。将此上清液再减压浓缩，同时回收乙醇，浓缩至 10ml，加入 95% 乙醇 70ml 静置 5 分钟以上，离心，分离出去沉淀物，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即得到一种澄清的抽提液，它适于进行后续纯化处理。

实施例 2

取酸液提取河鲀卵巢而得的河鲀毒素粗提液 200ml，利用减压浓缩装置，浓缩到 100ml，加入 95% 乙醇 60ml，立即可观察到有絮状

物形成，静置 2 分钟，过滤，得到澄清的滤液，其粘度明显降低。将此滤液再减压浓缩，同时回收乙醇，浓缩至 10ml，加入 95%乙醇 70ml 静置 5 分钟以上，过滤，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即得到一种澄清的抽提液，它适于进行后续纯化处理。

实施例 3

取酸液提取河鲀卵巢而得的河鲀毒素粗提液 200ml，利用减压浓缩装置，浓缩到 100ml，加入 95%甲醇 60ml，立即可观察到有絮状物形成，静置 3 分钟，过滤，得到澄清的滤液，其粘度明显降低。将此滤液再减压浓缩，同时回收甲醇，浓缩至 10ml，加入 95%甲醇 70ml 静置 5 分钟以上，过滤，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂，并分离出去沉淀物，即得到一种澄清的抽提液，它适于进行后续纯化处理。

实施例 4

取酸液提取河鲀卵巢而得的河鲀毒素粗提液 200ml，利用减压浓缩装置，浓缩到 100ml，加入 95%异丙醇 60ml，立即可观察到有絮状物形成，静置 3 分钟，过滤，得到澄清的滤液，其粘度明显降低。将此滤液再减压浓缩，同时回收异丙醇（注意防爆），浓缩至 10ml，加入 95%异丙醇 70ml 静置 5 分钟以上，过滤，再次减压浓缩并同时回收有机溶剂（注意防爆），并分离出去沉淀物，即得到一种澄清的抽提液，它适于进行后续纯化处理。

实施例 5

取酸液提取河鲀卵巢而得的河鲀毒素粗提液 200ml, 利用减压浓缩装置, 浓缩到 100ml, 加入 95%丙酮 60ml, 立即可观察到有絮状物形成, 静置 5 分钟, 过滤, 得到澄清的滤液, 其粘度明显降低。将此滤液再减压浓缩, 同时回收丙酮, 浓缩至 10ml, 加入 95%丙酮 70ml 静置 5 分钟以上, 过滤, 再次减压浓缩并同时回收有机溶剂, 并分离出去沉淀物, 即得到一种澄清的抽提液, 它适于进行后续纯化处理。