

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.⁷
C07D221/22



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410010863.3

[43] 公开日 2005年2月16日

[11] 公开号 CN 1580047A

[22] 申请日 2004.5.20

[21] 申请号 200410010863.3

[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 刘淑莹 刘志强 王勇 宋凤瑞
许庆轩 刘宁

权利要求书1页 说明书8页 附图1页

[54] 发明名称 脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法

[57] 摘要

本发明属于脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法。该方法采用将乌头碱、次乌头碱和中乌头碱、10-OH-乌头碱或/和10-OH-中乌头碱其中的一种或两种以上分别与12碳-24碳的长链脂肪酸在60℃-100℃pH5-7的水中加热合成脂碱，通过控制反应条件提高产率，减少副产物—双酯型生物碱的水解产物的生成量。利用常规的化学分离即可得到脂碱。本发明是基于电喷雾多级串联质谱技术对各生物碱进行分析和表征的结果。该方法利用水相下的脂交换反应合成脂碱，该方法快捷、方便，并且避免了有机合成方法副产物较多的缺点。

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

1、一种脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法，其特征在于将乌头碱、次乌头碱、中乌头碱、10-OH-乌头碱或/和 10-OH-中乌头碱其中的一种或两种以上分别与 12 碳-24 碳的长链脂肪酸以摩尔比 1: 10—1: 14 在 pH5-7, 60°C -100°C 水中加热 20-90 分钟的办法合成脂肪酸酯类乌头生物碱，按照体积比 1: 1 萃取 2-4 次，将生物碱全部转移到有机相氯仿、乙醚或苯中；氯仿/乙醚/苯通过蒸馏的方式回收，得到生物碱混合物。

2、如权利要求书 1 所述脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法，其特征在于所述 12 碳-24 碳的长链脂肪酸为月桂酸、豆蔻酸、棕榈酸、亚麻酸、亚油酸、油酸、花生酸、花生四烯酸、二十二碳酸或二十四碳酸。

3、如权利要求书 1 所述脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法，其特征在于所得到生物碱混合物利用电喷雾多级串联质谱技术进行分析和表征。

脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法

技术领域

本发明属于脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法。

背景技术

乌头碱、次乌头碱、中乌头碱、10-OH-乌头碱或和 10-OH-中乌头碱这些双酯型生物碱具有止痛、消炎、抗癌等多种药理作用，但由于它们可以和细胞膜上通道蛋白结合而持续激活 Na 离子通道进而引起细胞膜去极化和一系列电生理学的变化，导致心律失常，因而毒性非常大。对双酯型乌头生物碱进行衍生化是寻找药物或先导化合物的重要途径。该类化合物的去甲基二萜骨架及二萜骨架上的 C₁₄ 苯甲酰基对保持其活性是必须的，二萜骨架上的 C₈ 乙酰基与毒性密切相关，对该取代基进行水解或用长链的脂肪酰基进行取代是主要的衍生化方法，而 ω 不饱和脂肪酸还具有治疗心脏病和软化血管等功能，因此通过化学合成将二萜骨架与脂肪酸的侧链结合有可能得到一类新的具有药理活性的先导化合物。

Pelletier 小组在 J. Nat. Prod. 1994, 57(7), 963-970 中报道在有机体系 110°C, 0.1-0.5mmHg 下双酯型生物碱的 C₈-acetyl 可被长链脂肪酰基取代。要求在真空条件下，110°C 和有机溶剂中反应 3 小

时，反应体系中还必须加入少量吡啶。不仅操作复杂，而且污染大，副反应产物与主反应产物难分离。

发明内容

本发明的目的是提供一种脂肪酸酯类乌头生物碱的合成方法。

实现发明采用的手段是将乌头碱及其类似物与脂肪酸在水中加热，由于是在常压下水相中反应并不需要使用吡啶，所以操作简单。在水溶液中，C₈位乙酰基仅发生水解反应或酯交换反应生成单酯型生物碱或脂碱，这两种生物碱都易溶解于氯仿/乙醚/苯这些有机溶剂，所以通过萃取的方法可将它们从水相中提纯出来。这两类化合物极性相差很大，通过常规的柱色谱方法既可较容易地分离。蒸馏后的有机溶剂可重复使用，因此污染小。本发明先将脂肪酸加入水中加热，待脂肪酸溶解后加入生物碱，以减少副产物，提高产率。

本发明将乌头碱、次乌头碱、中乌头碱、10-OH-乌头碱或/和10-OH-中乌头碱其中的一种或两种以上分别与12碳-24碳的长链脂肪酸以摩尔比1:10—1:14在pH5-7, 60°C -100°C水中加热20-90分钟的办法合成脂肪酸酯类乌头生物碱，长链脂肪酸为月桂酸、豆蔻酸、棕榈酸、亚麻酸、亚油酸、油酸、花生酸、花生四烯酸、二十二碳酸或二十四碳酸；采用萃取的方法，按照体积比1:1萃取2-4次，将生物碱全部转移到有机相氯仿、乙醚或苯中；氯仿/乙醚/苯通过蒸馏的方式回收，得到生物碱混合物，包括单酯型生物碱和脂肪酸酯类乌头生物碱，这两者极性相差很大，经过常规的色谱技术即可分离。所有生物碱利用电喷雾多级串联质谱技术进行分析和表征。

在电喷雾串联质谱中，C₈位羧酸取代基以羧酸的形式发生中性丢失。对于反应物乌头碱和主反应产物—脂肪酸酯类乌头生物碱，尽管C₈位取代基不同，但检测到的子离子相同。这样，可通过丢失的碎片分子量确定C₈位的长链脂肪酰基。

附图说明

附图 1 为乌头碱的电喷雾质谱图，仅观察到质子化的乌头碱准分子离子峰。

附图 2 为乌头碱和棕榈酸在摩尔比 1: 11, pH6, 100°C 水中加热 30 分钟的电喷雾质谱图。

从附图 1、2 可以看出大部分乌头碱发生了酯交换反应生成了脂肪酸酯生物碱。m/z 842 离子对应 8-棕榈酰-14-苯甲酰乌头原碱，m/z 482, 500, 586, 604 分别对应脱水乌头原碱，乌头原碱，脱乙酰乌头碱，苯甲酰乌头原碱。还能检测到较低丰度的 m/z 646 离子说明有少量乌头碱未反应完全。为进一步确认反应产物，选择 m/z 842 离子进行串联质谱分析，并与乌头碱对应的 m/z646 离子对比。

附图 3 为乌头碱的二级串联质谱图，子离子 m/z586 为基峰，说明丢失一分子乙酸。

附图 4 为 m/z 842 离子的二级串联质谱图，子离子 m/z586 同样为基峰，说明丢失一分子棕榈酸。

从附图 3、4 可以看出，反应物乌头碱和反应产物 8-棕榈酰-14-苯甲酰乌头原碱在结构上唯一的差别 C₈位取代基，可在串联质谱上反映出来。对于生物碱和不同脂肪酸的反应，尽管 C₈位取代基不同，但

检测到的子离子相同。这样，可通过丢失的碎片分子量确定 C₈ 位的长链脂肪酰基。

具体实施方

实施例 1:

在常温下，按摩尔比 1: 10 称取乌头碱: 月桂酸，先将月桂酸加入 300ml pH5 的蒸馏水中，在 60°C 水浴上加热溶解后加入乌头碱，继续加热 20 分钟，剩余体积 290ml，氨水调 pH10 后，用氯仿萃取 3 次，每次 290ml。合并氯仿层，减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离，然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析，化合物质荷比为 m/z 786，二级串联质谱中 m/z 586 离子为基峰，丢失中性碎片 200，与月桂酸分子量相符，说明该化合物为 8-月桂酰-14-苯甲酰乌头原碱。产率为 41%。

实施例 2:

在常温下，按摩尔比 1: 12 称取中乌头碱: 豆蔻酸，先将豆蔻酸加入 400ml pH6 的蒸馏水中，在 90°C 水浴上加热溶解后加入中乌头碱，继续加热 35 分钟，剩余体积 370ml，氨水调 pH10 后，用乙醚萃取 3 次，每次 370ml。合并乙醚层，减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离，然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析，化合物质荷比为 m/z 800，二级串联质谱中 m/z 572 离子为基峰，丢失中性碎片 228，与豆蔻酸分子量相符，说明该化合物为 8-豆蔻酰-14-苯甲酰中乌头原碱。产率为 43%。

实施例 3:

在常温下，按摩尔比 1: 1: 11 称取乌头碱: 中乌头碱: 棕榈酸，

先将棕榈酸加入 400ml pH6 的蒸馏水中, 在 100°C 水浴或煤气灯上加热溶解后加入乌头碱和中乌头碱, 继续加热 40 分钟, 剩余体积 350ml, 氨水调 pH10 后, 用氯仿萃取 4 次, 每次 350ml。合并氯仿层, 减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离, 然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析, 化合物质荷比为 m/z 842 和 828, 二级串联质谱中 m/z 586 和 572 离子分别为基峰, 丢失中性碎片 256, 与棕榈酸分子量相符, 说明该化合物分别为 8-棕榈酰-14-苯甲酰乌头原碱和 8-棕榈酰-14-苯甲酰中乌头原碱。产率分别为 45% 和 40%。

实施例 4:

在常温下, 按摩尔比 1: 14 称取次乌头碱: 亚麻酸, 先将亚麻酸加入 300ml pH5 的蒸馏水中, 在 95°C 水浴上加热溶解后加入次乌头碱, 继续加热 50 分钟, 剩余体积 220ml, 氨水调 pH10 后, 用苯萃取 4 次, 每次 220ml。合并苯层, 减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离, 然后电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析, 化合物质荷比为 m/z 834, 二级串联质谱中 m/z 556 离子为基峰, 丢失中性碎片 278, 与亚麻酸分子量相符, 说明该化合物为 8-亚麻酰-14-苯甲酰次乌头原碱。产率为 48%。

实施例 5:

在常温下, 按摩尔比 1: 13 称取中乌头碱: 亚油酸, 先将亚油酸加入 200ml pH7 的蒸馏水中, 在 70°C 水浴上加热溶解后加入中乌头碱, 继续加热 40 分钟, 剩余体积 170ml, 氨水调 pH10 后, 用苯萃取 2 次, 每次 170ml。合并苯层, 减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离, 然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析, 化合物质荷比为 m/z 852, 二级串

联质谱中 m/z 572 离子为基峰, 丢失中性碎片 280, 与亚油酸分子量相符, 说明该化合物为 8-亚油酰-14-苯甲酰中乌头原碱。产率为 41%。

实施例 6:

在常温下, 按摩尔比 1: 10 称取 10-OH-乌头碱: 油酸, 先将油酸加入 500ml pH5 的蒸馏水中, 在 95°C 水浴上加热溶解后加入 10-OH-乌头碱, 继续加热 90 分钟, 剩余体积 380ml, 氨水调 pH10 后, 用乙醚萃取 3 次, 每次 380ml。合并乙醚层, 减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离, 然后电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析, 化合物质荷比为 m/z 884, 二级串联质谱中 m/z 602 离子为基峰, 丢失中性碎片 282, 与油酸分子量相符, 说明该化合物为 8-油酰-10-OH-14-苯甲酰乌头原碱。产率 46%。

实施例 7:

在常温下, 按摩尔比 1: 12 称取 10-OH-中乌头碱: 花生酸, 先将花生酸加入 400ml pH6 的蒸馏水中, 在 89°C 水浴上加热溶解后加入 10-OH-中乌头碱, 继续加热 70 分钟, 剩余体积 280ml, 氨水调 pH10 后, 用氯仿萃取 3 次, 每次 280ml。合并氯仿层, 减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离, 然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析, 化合物质荷比为 m/z 900, 二级串联质谱中 m/z 588 离子为基峰, 丢失中性碎片 312, 与花生酸分子量相符, 说明该化合物为 8-花生酰-10-OH-14-苯甲酰中乌头原碱。产率 43%。

实施例 8:

在常温下，按摩尔比 1: 11 称取乌头碱：花生四烯酸，先将花生四烯酸加入 400ml pH5 的蒸馏水中，在 90°C 水浴上加热溶解后加入乌头碱，继续加热 60 分钟，剩余体积 300ml，氨水调 pH10 后，用苯萃取 2 次，每次 300ml。合并苯层，减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离，然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析，化合物质荷比为 m/z 890，二级串联质谱中 m/z 586 离子为基峰，丢失中性碎片 304，与花生四烯酸分子量相符，说明该化合物为 8-花生四烯酰-14-苯甲酰乌头原碱。产率 42%。

实施例 9:

在常温下，按摩尔比 1: 11 称取次乌头碱：二十二碳酸，先将二十二碳酸加入 250ml pH7 的蒸馏水中，在 92°C 水浴上加热溶解后加入次乌头碱，继续加热 60 分钟，剩余体积 170ml，氨水调 pH10 后，用氯仿萃取 3 次，每次 170ml。合并氯仿层，减压蒸干。将剩余物用硅胶色谱柱分离，然后用电喷雾质谱 (ESI-MS) 分析，化合物质荷比为 m/z 896，二级串联质谱中 m/z 556 离子为基峰，丢失中性碎片 340，与二十二碳酸分子量相符，说明该化合物为 8-二十二碳酰-14-苯甲酰次乌头原碱。产率 45%。

实施例 10:

在常温下，按摩尔比 1: 12 称取乌头碱：二十四碳酸，先将二十四碳酸加入 300ml pH6 蒸馏水中，在 94°C 水浴上加热溶解后加入乌头碱，继续加热 30 分钟，剩余体积 260ml，氨水调 pH10 后，用乙醚萃取 3 次，每次 260ml。合并乙醚层，减压蒸干。将剩余物用硅胶色

谱柱分离，然后用电喷雾质谱(ESI-MS)分析，化合物质荷比为 m/z 954，二级串联质谱中 m/z 586 离子为基峰，丢失中性碎片 368，与二十四碳酸分子量相符，说明该化合物为 8-二十四碳酰-14-苯甲酰中乌头原碱。产率 42%。

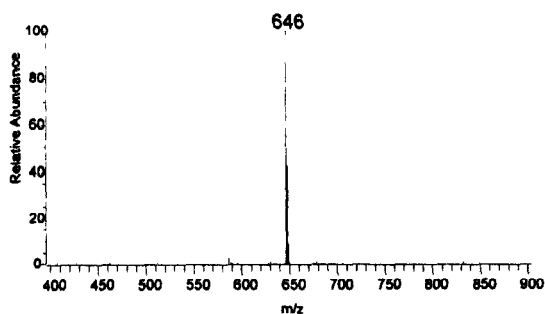


图 1

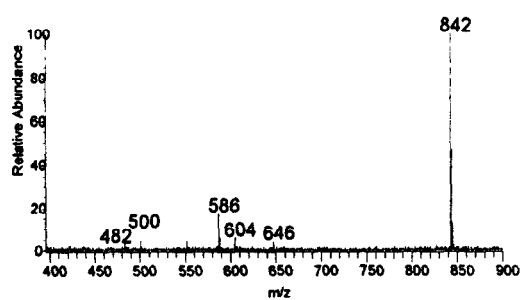


图 2

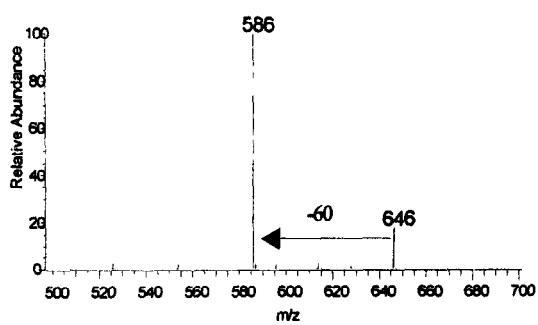


图 3

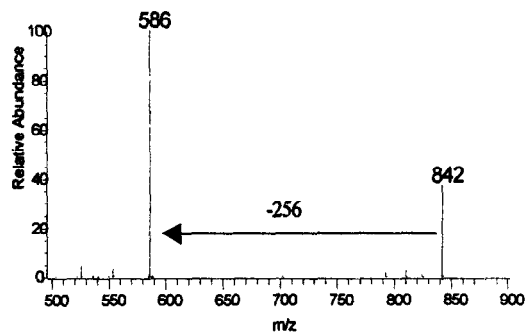


图 4