

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810050883.1

[51] Int. Cl.

A61K 36/714 (2006.01)

C07D 221/22 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[43] 公开日 2008年11月12日

[11] 公开号 CN 101301370A

[22] 申请日 2008.6.26

[21] 申请号 200810050883.1

[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 宋凤瑞 包 懿 刘志强 皮子凤
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 3 页

[54] 发明名称

一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法

[57] 摘要

本发明提供一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法。把乌头属中药材的制草乌、黑顺片或制川乌经过乙醇冷浸后，用无水乙醇醇沉，然后经过萃取，取下层溶液制成浸膏，再将浸膏调配成 pH7.5~9.5 的碱性水溶液，将其置于 100℃ 水浴加热 3 小时，冷却后用氯仿萃取，蒸发萃取所得到的氯仿溶液，制成浸膏即得单酯型生物碱。通过电喷雾质谱检测，提取分离效果较好。经计算单酯型生物碱的总产率在 0.21% 以上。

1、一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法，其特征是步骤和条件如下：将乌头属中药材的制草乌、黑顺片或制川乌干燥粉末浸于体积浓度为95%的乙醇中超声提取2~3小时，在20~25℃室温冷浸24小时，乙醇的用量(ml)是所述的药材粉末重量(g)的5倍，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法处理两次，合并三次滤出的乙醇提取液，50~65℃下减压蒸出溶剂，得粗浸膏；在粗浸膏中倒入是粗浸膏重量的10~12倍的无水乙醇进行醇沉，离心，得滤液，50~65℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏；将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，所述的环己烷：乙醇：水的体积比为2：1：1，取萃取分层后所得到的下层溶液于50~65℃下减压蒸出溶剂，制成单酯型生物碱粗浸膏，将该单酯型生物碱粗浸膏调配成pH8.5~9.5的碱性水溶液，置于100℃水浴加热2~3小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于50~65℃下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱。

一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法

技术领域

本发明属于天然药物化学领域，具体涉及以黑顺片、制川乌、制草乌等乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法。

背景技术

制草乌、黑顺片和制川乌等中药材是中药附子、川乌和草乌的炮制品，均为中医临床常用的中草药。中药川乌和草乌中生物碱的类型主要为双酯型，代表化合物主要有：乌头碱（aconitine,AC）、中乌头碱（mesaconitine,MA）、次乌头碱（hypoaconitine,HA）具有广泛的药理活性，如：抗炎、镇痛、强心、抗心肌缺血缺氧等，但也有毒性大、中毒剂量低的缺点，所以中医临床用药时一般用其炮制品，如：制草乌、黑顺片和制川乌等。制草乌、黑顺片和制川乌等乌头属中药材中生物碱的类型主要为单酯型，代表化合物主要有：苯甲酰次乌头原碱（benzoylhypoaconine,BH）、苯甲酰中乌头原碱（benzoylmesaconine,BM）、苯甲酰乌头原碱（benzoylaconine,BA）等，大部分是由炮制过程中双酯型生物碱水解转化而来。在炮制过程中双酯型生物碱虽没有完全转化为单酯型，但经过炮制后其毒性已大大降低。

单酯型生物碱具有强心、消炎、镇痛等显著的生物活性，与双酯型生物碱比较，其毒性较小，仅为双酯型的 $1/1000 \sim 1/100$ ，是临床上发挥主要药效的一类化学成分，具有重要的研究价值和广阔的应用前景。

目前，单酯型生物碱的制备方法，采用酸水渗漉法（李正帮等，天然产物研究与开发：Vol.9(1),1997,9-14），也有甲醇提取法的报道（Katagawa,Chem.Pharm.Bull.30(2)758-761(1982)）。但根据实验证明乌头类生物碱在甲醇中容易分解，不宜大量提取。也有文献提出用乙醇提取法提取乌头类生物碱（丁立生等，天然产物研究与开发：Vol.6(3),1994,50-54），但乙醇提取法也有其不足之处，如：容易提取出淀粉、多糖等杂质，给后续分离工作带来不便。单酯型乌头类生物碱的分离方法现在主要采用柱色谱法，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，虽然对单酯型乌头类生物碱的研究十分迫切，但是由于分

离提取比较困难，研究进展缓慢。

发明内容

本发明的目的是提供一种制备单酯型生物碱的制备方法的方法。

一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱的方法，其特征是步骤和条件如下：将乌头属中药材的制草乌、黑顺片或制川乌干燥粉末浸于体积浓度为 95% 的乙醇中超声提取 2~3 小时，在 20~25℃ 室温冷浸 24 小时，乙醇的用量 (ml) 是所述的药材粉末重量 (g) 的 5 倍，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法处理两次，合并三次滤出的乙醇提取液，50~65℃ 下减压蒸出溶剂，得粗浸膏；在粗浸膏中倒入是粗浸膏重量的 10~12 倍的无水乙醇进行醇沉，离心，得滤液，50~65℃ 下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏；将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，所述的环己烷：乙醇：水的体积比为 2：1：1，取萃取分层后所得到的下层溶液于 50~65℃ 下减压蒸出溶剂，制成单酯型生物碱粗浸膏，将该单酯型生物碱粗浸膏调配成 pH8.5~9.5 的碱性水溶液，置于 100℃ 水浴加热 2~3 小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于 50~65℃ 下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱。

图 1 为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，单酯型生物碱主要有：苯甲酰次乌头原碱 (BH, 质荷比 m/z 574)、苯甲酰中乌头原碱 (BM, 质荷比 m/z 590)、苯甲酰乌头原碱 (BA, 质荷比 m/z 604)；

双酯型生物碱主要有：乌头碱 (AC, 质荷比 m/z 646)、中乌头碱 (MA, 质荷比 m/z 632)、次乌头碱 (HA, 质荷比 m/z 616)，质荷比 m/z 在 800~900 区域主要是脂型生物碱，其中包含所有类型的生物碱，说明乙醇提取能力较强；

图 2 为通过萃取分层后所得的下层溶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，脂型生物碱的质荷比 m/z 在 800~900 区域内。

图 3 为碱性水解后的氯仿萃取液的质谱图。图中不含有双酯型生物碱。乌头碱 (AC, 质荷比 m/z 646)、中乌头碱 (MA, 质荷比 m/z 632)、次乌头碱 (HA, 质荷比 m/z 616) 双酯型生物碱被水解转化，说明碱性条件下双酯型生物碱能完全水解成单酯型生物碱。

有益效果：通过电喷雾质谱检测，通过本发明提供的一种制备单酯型生物碱

的方法得到单酯型生物碱,只含单酯型生物碱,不含双酯型生物碱和脂型生物碱。经计算产率在0.21%以上。本方法能从制草乌、黑顺片和制川乌等乌头属中药材中制备单酯型生物碱,方法简便、快速,优于以往方法。

附图说明

图1为包含所有生物碱的乙醇提取液电喷雾质谱图。

图2为通过萃取分层后所得的下层溶液中单酯型和双酯型生物碱的质谱图。

图3为碱性水解后的氯仿萃取液的质谱图。图中不含有双酯型生物碱。

具体实施方式

实施例 1:

制草乌干燥粉末500克浸于体积浓度为95%的乙醇中超声提取2.5小时,在20~25℃室温冷浸24小时,乙醇的用量(ml)是药材粉末重量(g)的5倍,滤出乙醇提取液,把浸过的药渣按上述方法处理两次,合并三次滤出的乙醇提取液,50℃下减压蒸出溶剂,得粗浸膏。在粗浸膏中倒入10倍粗浸膏重量的无水乙醇进行醇沉,离心,得滤液,50℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏;将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取,所述的环己烷-乙醇-水的体积比为2:1:1,取萃取分层后所得到的下层溶液于50℃下减压蒸出溶剂,制成单酯型生物碱粗浸膏,将单酯型生物碱粗浸膏用5%的NaOH溶液调配成pH8.5的水溶液,将其置于100℃水浴加热2小时,冷却后用氯仿萃取,取萃取分层后得到的氯仿溶液于50℃下减压蒸出溶剂,制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱1.65克,产率0.33%。

实施例 2:

制川乌干燥粉末500克浸于体积浓度为95%的乙醇中超声提取3小时,在20~25℃室温冷浸24小时,乙醇的用量(ml)是药材粉末重量(g)的5倍,滤出乙醇提取液,把浸过的药渣按上述方法处理两次,合并三次滤出的乙醇提取液,55℃下减压蒸出溶剂,得粗浸膏。在粗浸膏中倒入11倍粗浸膏重量的无水乙醇进行醇沉,离心,得滤液,55℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏;将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取,所述的环己烷-乙醇-水的体积比为2:1:1,取萃取分层后所得到的下层溶液于55℃下减压蒸出溶剂,制成单酯型生物碱粗浸膏,将该单酯型生物碱粗浸膏用5%的NaOH溶液调配成pH9.0的水溶液,将

其置于 100℃水浴加热 3 小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于 55℃下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱 1.75 克，产率 0.35%。

实施例 3:

将黑顺片干燥粉末 500 克浸于体积浓度为 95%的乙醇中超声提取 2 小时，在 20~25℃室温冷浸 24 小时，乙醇的用量 (ml) 是药材粉末重量 (g) 的 5 倍，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法处理两次，合并三次滤出的乙醇提取液，65℃下减压蒸出溶剂，得粗浸膏。在粗浸膏中倒入 12 倍粗浸膏重量的无水乙醇进行醇沉，离心，得滤液，65℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏；将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，所述的环己烷-乙醇-水的体积比为 2: 1: 1，取萃取分层后所得到的下层溶液于 65℃下减压蒸出溶剂，制成单酯型生物碱粗浸膏，将该单酯型生物碱粗浸膏用 5%的 NaOH 溶液调配成 pH9.5 的水溶液，将其置于 100℃水浴加热 2.5 小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于 65℃下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱 1.05 克，产率 0.21%。

实施例 4:

制草乌干燥粉末 500 克浸于体积浓度为 95%的乙醇中超声提取 3 小时，在 20~25℃室温冷浸 24 小时，乙醇的用量 (ml) 是药材粉末重量 (g) 的 5 倍，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法处理两次，合并三次滤出的乙醇提取液，60℃下减压蒸出溶剂，得粗浸膏。在粗浸膏中倒入 11 倍粗浸膏重量的无水乙醇进行醇沉，离心，得滤液，60℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏；将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，所述的环己烷-乙醇-水的体积比为 2: 1: 1，取萃取分层后所得到的下层溶液于 60℃下减压蒸出溶剂，制成单酯型生物碱粗浸膏，将该单酯型生物碱粗浸膏用 5%的 K₂CO₃ 溶液调配成 pH7.5 的水溶液，将其置于 100℃水浴加热 2.5 小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于 60℃下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱 1.60 克，产率 0.32%。

实施例 5:

制川乌干燥粉末 500 克浸于体积浓度为 95%的乙醇中超声提取 3 小时，在

20~25℃室温冷浸 24 小时，乙醇的用量（ml）是药材粉末重量（g）的 5 倍，滤出乙醇提取液，把浸过的药渣按上述方法处理两次，合并三次滤出的乙醇提取液，65℃下减压蒸出溶剂，得粗浸膏。在粗浸膏中倒入 10 倍粗浸膏重量的无水乙醇进行醇沉，离心，得滤液，50℃下减压蒸出溶剂制成总生物碱浸膏；将总生物碱浸膏用环己烷-乙醇-水体系进行萃取，所述的环己烷-乙醇-水的体积比为 2: 1: 1，取萃取分层后所得到的下层溶液于 50℃下减压蒸出溶剂，制成单酯型生物碱粗浸膏，将该单酯型生物碱粗浸膏用 5%的 Na_2CO_3 溶液调配成 pH7.5 的水溶液，将其置于 100℃水浴加热 3 小时，冷却后用氯仿萃取，取萃取分层后得到的氯仿溶液于 50℃下减压蒸出溶剂，制成一种以乌头属中药材为原料制备单酯型生物碱 1.90 克，产率 0.38%。

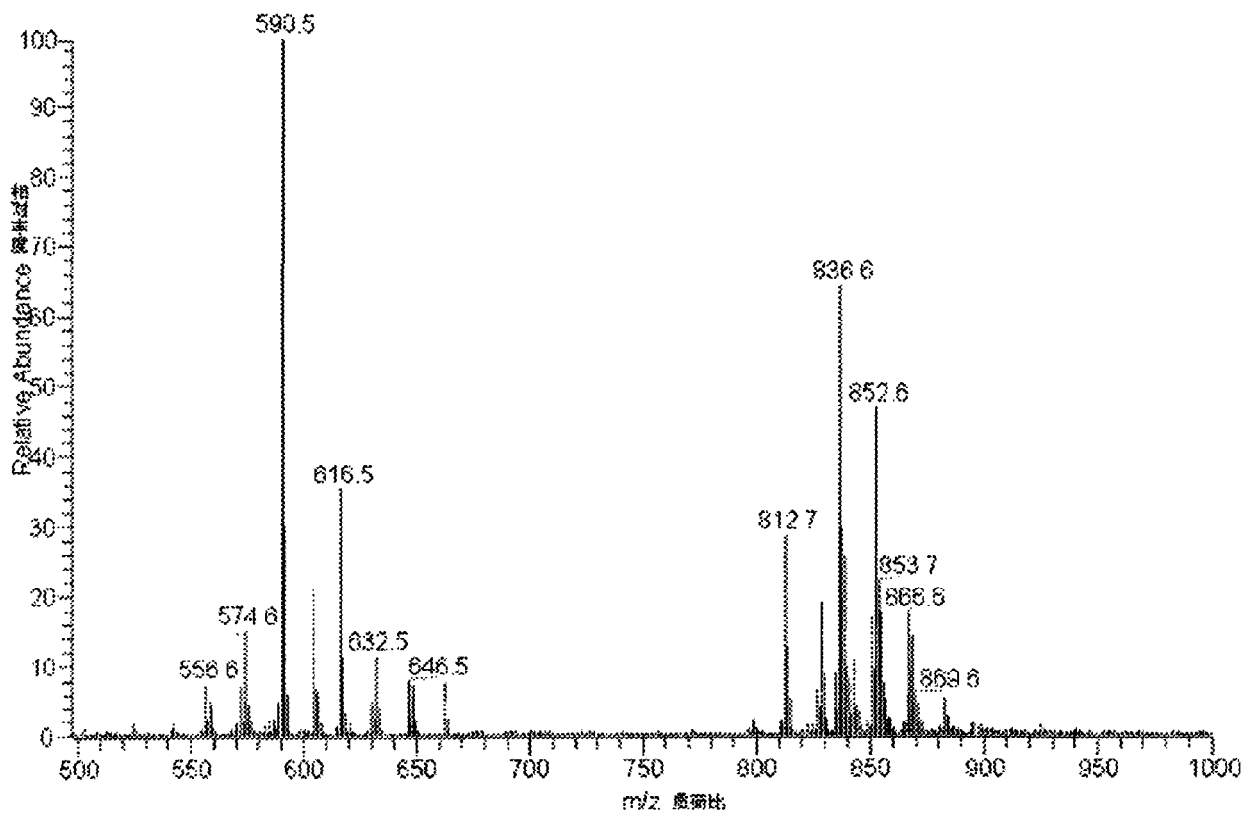


图 1

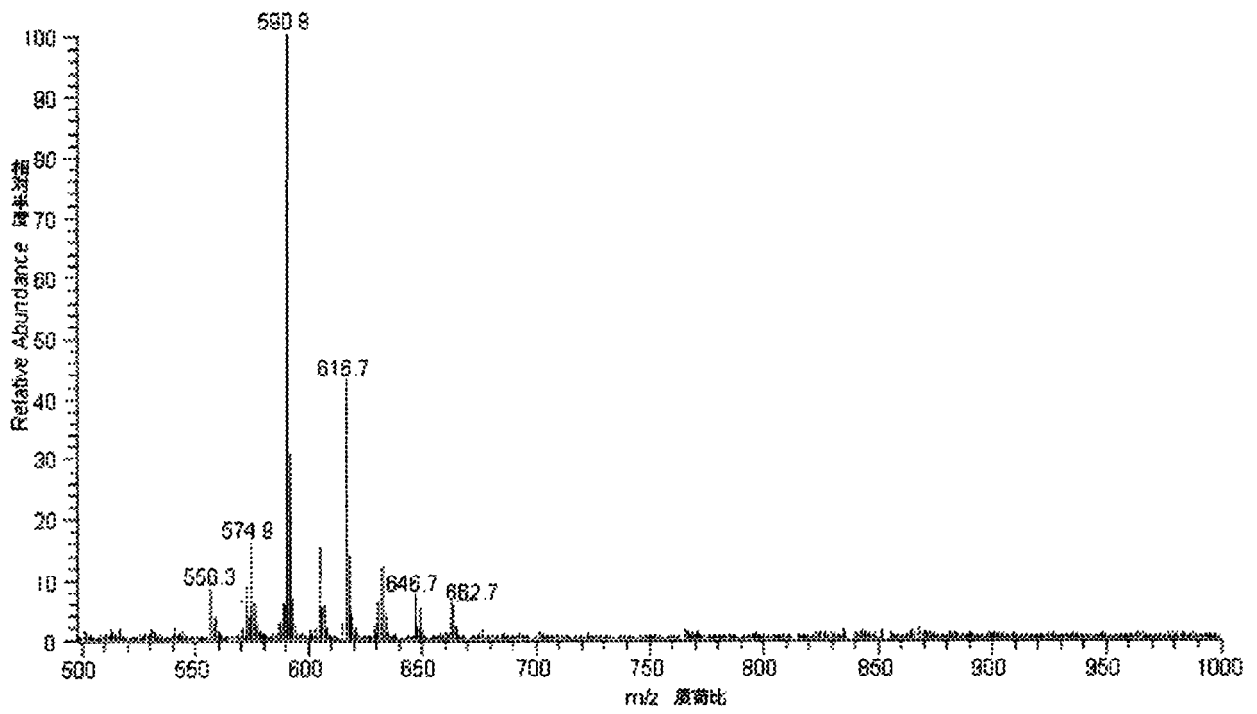


图 2

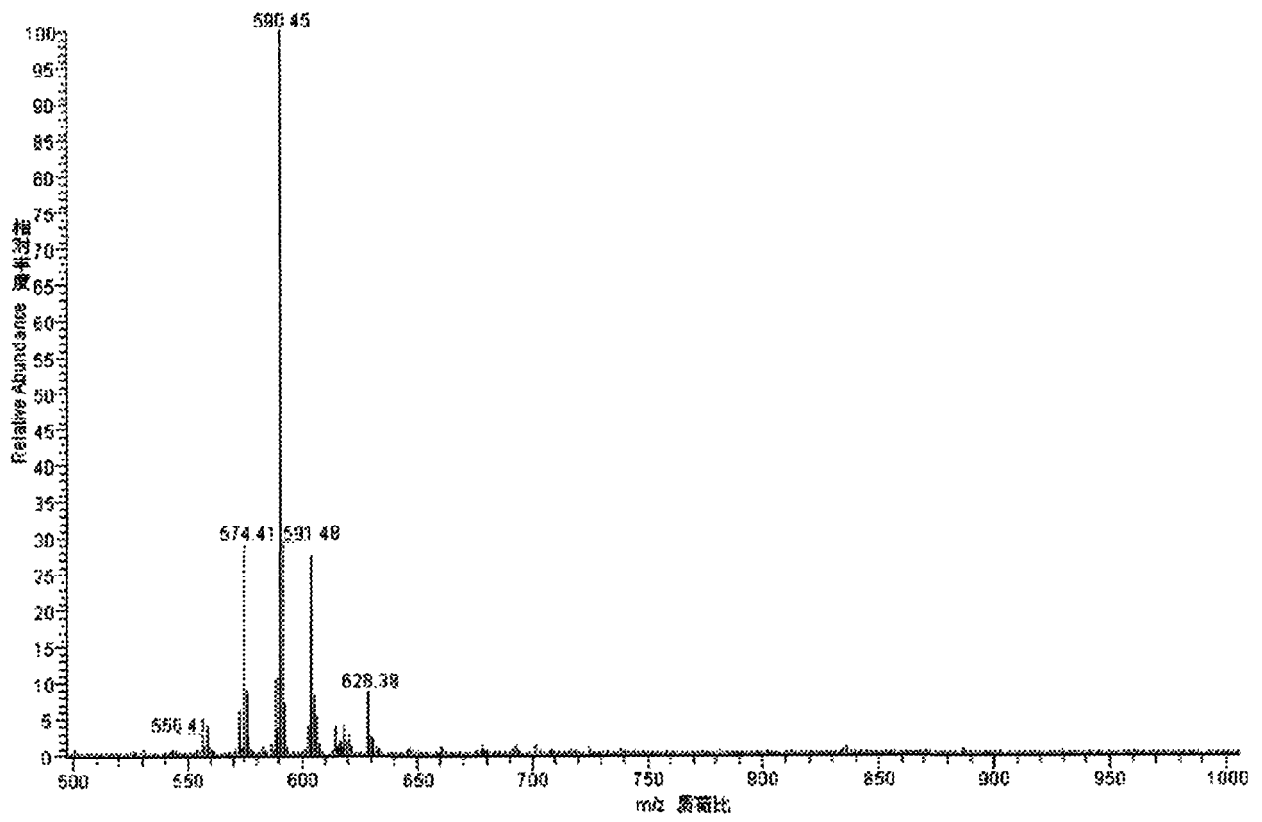


图 3