

四氢小檗碱对映体的核磁共振法研究

沈文斌 张 灿¹ 王庆峰² 黄文龙¹(中国药科大学分析计算中心,¹ 药物化学研究室, 南京 210009;² 江苏省理化测试中心, 南京 210002)

摘 要 报道了位移试剂 $\text{Eu}(\text{FOD})_3$ 及 $\text{Eu}(\text{HFC})_3$ 存在下四氢小檗碱质子信号的诱导位移(LIS)值, 四氢小檗碱的 11-H 和 12-H 信号得到确认; 在手性位移试剂 $\text{Eu}(\text{HFC})_3$ 存在下, 观察到 9-OCH₃ 明显的对映体位移差值 $[\Delta(\Delta\delta)]$, 据此可对四氢小檗碱直接进行对映体的定量分析。当 $\text{Eu}(\text{HFC})_3 : \text{THB} \geq 0.722$ (摩尔比) 时, 9-OCH₃ 两对映体信号几乎达到完全分离, 可直接对四氢小檗碱的对映体含量进行精确测定。

关键词 四氢小檗碱; $\text{Eu}(\text{HFC})_3$; $\text{Eu}(\text{FOD})_3$; 核磁共振; 对映体含量

7-(4-氯苄基)-7,8,13,13a-四氢小檗碱氯化物(简称 86017)经药效学研究表明, 具有 I_a、I_b 及 IV 类抗心律失常作用特征^[1], 目前正作为一类新药深入研究, 有望成为有临床应用价值的新型抗心律失常药。

目前以单一异构体上市的新药增长迅速, 把外消旋体开发为单一异构体已成为研制新药的趋向之一。86017 为手性药物, 因此制备 86017 的单一对映体显得非常重要。四氢小檗碱是 86017 的前体, 它与 86017 有相同的手性碳, 我们对其对映体含量测定进行了研究。

核磁共振法是测定药物对映体含量的重要方法之一, 其中在 NMR 中使用手性位移试剂(CLSR)是一种很有效的测定方法^[2]。本文对 86017 的前体四氢小檗碱(THB)与非手性位移试剂三(6,6,7,7,8,8,8-七氟-2,2-二甲基-3,5-辛二酯根合)铕(+3)(I), 简称为 $\text{Eu}(\text{FOD})_3$ 和手性位移试剂三[3-七氟丙基羟基亚甲基-(d)-樟脑酯根合]铕(+3)(II), 简称为 $\text{Eu}(\text{HFC})_3$, 用核磁共振法对其对映体含量测定进行了研究。

1 仪器及条件

¹H-NMR 用 JNM-FX90Q 型核磁仪测定,

CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标, 测试温度(30±1)℃, 化学位移精确到±0.01 ppm, 偶合常数精确到±0.1 Hz。在加入位移试剂后, TMS 峰被位移试剂所干扰, 此时用 CDCl_3 中残留的 CHCl_3 峰为第二内标(δ 7.26 ppm)。

2 样品及试剂

四氢小檗碱按文献^[1]制备; CDCl_3 (99.8%氘化, 北京化工厂), 使用前先蒸馏, 置于过量的 0.4 nm 分子筛中; $\text{Eu}(\text{FOD})_3$ 、 $\text{Eu}(\text{HFC})_3$ (购于 SIGMA 公司), 使用前先干燥, 然后置于放有过量 P_2O_5 的真空干燥器中。

3 实验方法

准确称取 THB 样品 1 mmol, 置于一干燥的核磁管中, 加 CDCl_3 0.3 ml, 使其浓度约为 0.3 mol/L, 溶解, 测一个氢谱; 另称取位移试剂(LSR)一定量, 直接加入样品管中, 振荡溶解, 立即测一个图谱, 再逐渐增加 LSR 的量, 重复上述操作, 直至找到满意的结果。

4 结果和讨论

THB 的氢谱中, 各质子的化学位移值为(δ ppm): 6.84(1H, d, $J=8.4$ Hz, 12-H), 6.79(1H, d, $J=8.4$ Hz, 11-H), 6.73(1H,

s, 1-H), 6.58 (1H, s, 4-H), 5.90 (2H, s, —OCH₂O—), 4.24 (1H, d, J = 15.8 Hz, 8-Heq), 3.85, 3.84, (6H, s, s, 9-, 10-OCH₃), 3.52 (1H, d, J = 15.8 Hz, 8-Hax), 3.50 ~ 2.45 (7H, m, 其余脂肪氢)。5-, 6-, 13-, 13a-位的 7 个脂肪氢由于相互间多重耦合, 峰形复杂, 位移接近, 在 90 MHz 氢谱上表现为复杂多重峰, 难以区分, 但这不影响对该化合物的定量分析研究。

根据位移试剂配位理论^[3], THB 是一个弱的 Lewis 碱 (仅含醚和叔胺), 为得到满意

的诱导化学位移值 ($\Delta\delta$) 和对映体位移差值 [$\Delta(\Delta\delta)$], 须使用较强的 Lewis 酸型的 LSR。本文研究了在非手性位移试剂 Eu(FOD)₃ 及手性位移试剂 Eu(HFC)₃ 存在下 THB 的化学位移结果。

4.1 在 Eu(FOD)₃ 存在下 THB 的化学位移结果

样品浓度为 0.313 mol/L, 在不同的 1 : THB (摩尔比, 下同) 情况下 THB 各质子的诱导化学位移值见表 1。

Tab 1. Variation of chemical shift (in ppm) for (±)-THB with added 1

| 1 : THB | 0.044 | 0.132 | 0.198 | 0.301 | 0.486 | 0.630 | 0.774 | 1.04 |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| 8-Hax | 0.18 | 0.49 | 0.72 | 1.05 | 1.58 | 1.90 | 2.24 | 2.73 |
| 9-OCH ₃ | 0.46 | 1.17 | 1.68 | 2.39 | 3.53 | 4.22 | 4.96 | 6.17 |
| 10-OCH ₃ | 0.06 | 0.18 | 0.25 | 0.37 | 0.54 | 0.64 | 0.75 | 0.90 |
| 8-Heq | 0.22 | 0.61 | 0.90 | 1.33 | 2.02 | 2.47 | 2.92 | 3.59 |
| —OCH ₂ O— | 0.01 | 0.04 | 0.06 | 0.10 | 0.17 | 0.21 | 0.27 | 0.34 |
| 4-H | 0.01 | 0.04 | 0.06 | 0.10 | 0.16 | 0.20 | 0.24 | 0.31 |
| 1-H | 0.04 | 0.13 | 0.19 | 0.30 | 0.46 | 0.56 | 0.67 | 0.83 |
| 11-H | 0.21 | 0.64 | 0.90 | 1.27 | 1.88 | 2.23 | 2.73 | 3.26 |
| 12-H | 0.16 | 0.33 | 0.48 | 0.69 | 1.03 | 1.24 | 1.46 | 1.78 |

在 THB 的结构中, 能与铕离子配合的原子有醚的氧原子及叔胺的氮原子, 文献^[4]报道, LSR 优先与邻二甲氧基取代的芳甲醚中的氧配合, 而不与亚二甲氧基中的氧及叔胺中的氮配合, 这和我们所得到的结果是一致的。实验结果表明, 加入 Eu(FOD)₃ 后, A 环和 B 环质子化学位移变化值非常小, 而 C 环和 D 环质子的 $\Delta\delta$ 值很大, 特别是其中的一个甲氧基, 当加入很少量的 Eu(FOD)₃ 后就产生明显的 $\Delta\delta$ 值。在 D 环上有二个甲氧基, 但 Eu(FOD)₃ 仅和其中一个产生有效配合。由于诱导化学位移值 $\Delta\delta$ 的大小可由 McConnell 方程式计算: $\Delta\delta = K(1 - 3\cos^2\theta)r^{-3}$ ^[5], 其中, K 为比例常数, θ 为被观察核偏离分子对称轴的夹角, r 为被观察核与中心离子的距离。8-H 和 9-OCH₃ 接近, 而 11-H 和 10-OCH₃ 接近, 如果铕离子与 10-OCH₃ 中的氧配合, 则 1-H 的 $\Delta\delta$ 值将非常大, 远大于 8-H, 但实验结

果表明 Eu(FOD)₃ 对 8-H 和 11-H 的 $\Delta\delta$ 值非常接近, 且 8-H 的 $\Delta\delta$ 值稍大于 11-H, 由此可说明 Eu(FOD)₃ 是和 9-OCH₃ 中的氧配合, 这和文献^[6]报道的结果是一致的。

D 环上 11-H 和 12-H 是典型的 AB 二旋体系, 其 δ 值非常接近, $\Delta\nu/J < 1$, 两边峰非常小, 两者的归属很难确定。由于 11-H 更接近 9-OCH₃, 当加入 LSR 后, 11-H 将产生更大的 $\Delta\delta$ 值, 据此可确定其归属。当 1 : THB = 0.044 时, 出现了两者 δ 值相同的情况, AB 体系变成了 A₂ 体系, 图谱上四重峰变成了单峰, 由此可断定, 原来位于高场的信号是 11-H, 当加入少量 LSR 后, 11-H 的 $\Delta\delta$ 值大于 12-H, 使两者的 δ 值偶然相同。当 1 : THB 继续增大时, 两者表现为典型的 AX 体系, J = 8.4 Hz。

在 THB 中加入较大量的 1 后, 在得到较大的 $\Delta\delta$ 值时, 由铕离子引起的峰展宽不明

显。

4.2 在 $\text{Eu}(\text{HFC})_3$ 存在下 THB 的化学位移结果

样品浓度为 0.290 mol/L , 在 THB 中加入 II 的结果见表 2。由表 2 可知, II 对 THB 的诱导趋势相似于 I, 诱导效果优于 I。在大的

II : THB 情况下, 铕离子对 THB 的峰展宽也很小。

II 对 THB 产生诱导化学位移 $\Delta\delta$ 的同时也产生了非常重要的对映体位移差值 $\Delta(\Delta\delta)$, 见表 3。由此我们可找到直接对 THB 进行对映体定量分析的条件。

Tab 2. Variation of chemical shift (in ppm) for (±)-THB with added I

| I : THB | 0.042 | 0.101 | 0.173 | 0.205 | 0.261 | 0.416 | 0.589 | 0.669 | 0.722 |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 8-Hax | 0.08 | 0.55 | 0.98 | 1.14 | 1.49 | 2.00 | 2.74 | 2.98 | 3.33 |
| 9-OCH ₃ | 0.49 | 1.16 | 1.9 | 2.26 | 2.72 | 4.05 | 5.47 | 6.10 | 6.81 |
| 10-OCH ₃ | -0.02 | -0.03 | -0.05 | -0.06 | -0.07 | -0.10 | -0.15 | -0.16 | -0.18 |
| 8-Heq | 0.26 | 0.68 | 1.133 | 1.32 | 1.65 | 2.39 | 3.25 | 3.65 | 4.05 |
| -OCH ₂ O- | 0.02 | 0.06 | 0.10 | 0.11 | 0.15 | 0.25 | 0.36 | 0.41 | 0.49 |
| 4-H | 0.02 | 0.05 | 0.08 | 0.10 | 0.13 | 0.19 | 0.27 | 0.31 | 0.34 |
| 1-H | 0.05 | 0.13 | 0.23 | 0.27 | 0.33 | 0.50 | 0.68 | 0.76 | 0.85 |
| 1-H | 0.20 | 0.53 | 0.84 | 0.96 | 1.20 | 1.78 | 2.39 | 2.66 | 2.96 |
| 12-H | 0.15 | 0.30 | 0.51 | 0.58 | 0.72 | 1.08 | 1.44 | 1.61 | 1.78 |

Average values are taken where antipodal differences occur

Tab 3. Variation of enantiomeric shift difference (in Hz) for (±)-THB with added I

| I : THB | 0.042 | 0.101 | 0.173 | 0.205 | 0.261 | 0.416 | 0.589 | 0.669 | 0.722 |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 9-OCH ₃ | 4.6 | 10.5 | 17.1 | 19.3 | 23.9 | 33.2 | 41.9 | 45.1 | 48.6 |
| 10-OCH ₃ | — | 2.7 | 3.9 | 4.9 | 6.3 | 9.5 | 13.2 | 15.0 | 16.5 |
| 8-Hax | — | 2.2 | 8.8 | 10.8 | 14.0 | 15.9 | — | 23.4 | 25.1 |
| 8-Heq | 1.5 | 3.3 | 10.3 | 12.0 | 15.9 | 19.3 | 23.0 | 30.8 | 33.0 |
| -OCH ₂ O- | — | — | 0.7 | 0.7 | 1.2 | 2.0 | 3.0 | 3.5 | 4.1 |
| 4-H | — | — | — | — | — | 1.2 | 2.0 | 2.3 | 2.8 |

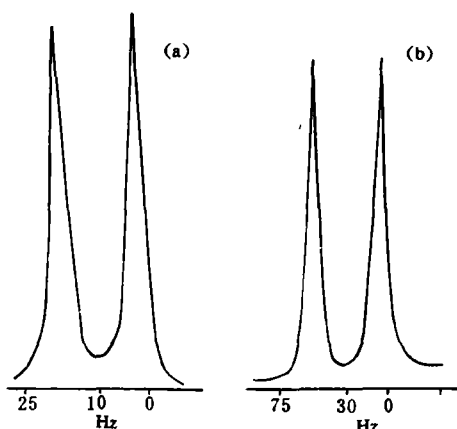


Fig 1. ^1H NMR spectrum of 9-OCH₃ with added I (a) I : THB = 0.173, (b) I : THB = 0.722

在 THB 结构中, 能得到对映体位移差的

质子有 9-OCH₃、10-OCH₃、8-H 及 -OCH₂O-, 多数质子的对映体信号均能有效分离, 但由于 THB 结构复杂, 峰形密集, 各峰相互干扰, 不能作为定量分析之用, 唯一有用的信号是 9-OCH₃ 的甲基信号。当 II : THB = 0.173 时, 甲氧基的 R 和 S 对映体能很好地分离, 在信号峰的附近基本上无其它峰干扰, 两峰间峰谷的高度仅为两对映体峰高平均值的 5.9% 时, 见图 1, 即当两对映体其中 2-的含量不低于 5.9% 时, 上述条件可作为定量分析之用。当 II : THB \geq 0.722 时, 9-OCH₃ 的甲基两对映体的信号几乎达到完全分离, 且其信号已完全脱离其它信号, 不受其它峰的干扰, 见图 1。由此可找到直接对四氢小檗碱(THB)进行定量分析的条件: 样品浓度 0.290 mol/L , Eu

(HFC)₃ : THB ≥ 0.722 , 9-OCH₃ 的甲基信号之 $\Delta(\Delta\delta) \geq 48.6$ Hz, 几近完全分离。

参考文献

- 1 彭司勋, 戴德哉, 黄文龙. 抗心律失常新药四氢小檗碱季胺化物的制备方法. 中华人民共和国专利. 专利号 ZL 91107511.9
- 2 Parker D. NMR determination of enantiomeric purity. *Chem Rev.* 1991, 91(7): 1441
- 3 Cockerill AF, Davies CLO, Harden RC, et al. Lanthanide shift reagents for nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Rev.* 1973, 73(6): 553
- 4 Theuns HG, Janssen RHAM, Biessels HNA, et al. Constituents of *papaver bracteatum*; O-methyl- α -thebaol and 10-n-nonacosanol. Lanthanide Induced chemical shifts in ¹H NMR and ¹³C NMR. *Phytochemistry*, 1985, 24(1): 163
- 5 沈文斌, 王庆峰, 廖海平. 药物对映体测定的核磁共振法研究 I. 非洛地平. 药物分析杂志, 1996, 16(4): 230
- 6 Janssen RHAM, Wijkens P, Kruk C, et al. Assignments of ¹H and ¹³C NMR resonance of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, 1990, 29(10): 3331

NMR Studies of Tetrahydroberberine Enantiomers

Shen Wenbin, Zhang Can¹, Wang Qingfeng², Huang Wenlong¹

Analysis and computer Center, ¹Division of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²Physical and Chemical Test Center of Jiangsu Province, Nanjing 210002

Abstract The 90MHz ¹H NMR spectra of racemic tetrahydroberberine have been studied with the chiral shift reagent, Eu(FOD)₃, **I**, and the chiral shift reagent, Eu(HFC)₃, **II**. Substantial lanthanide Induced shift (LIS) was seen for proton signals of THB with **I** and **II**, and the proton signals of 11-H and 12-H were identified. Appreciable enantiomeric shift difference [$\Delta(\Delta\delta)$] was seen for 9-OCH₃ using **II** that permitted direct determination of enantiomeric excess for samples of THB, and resulted in near-base line resolution of the 9-OCH₃ resonances of the enantiomers when **II** : THB ≥ 0.772 (molar ration).

Key words Tetrahydroberberine; Eu(FOD)₃; Eu(HFC)₃; NMR; Enantiomeric excess