

# 四氢小檗碱对映体的核磁共振法研究

沈文斌 张 灿<sup>1</sup> 王庆峰<sup>2</sup> 黄文龙<sup>1</sup>

(中国药科大学分析计算中心,<sup>1</sup> 药物化学研究室, 南京 210009;<sup>2</sup> 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  $\text{Eu}(\text{HFC})_3$  存在于四氢小檗碱质子信号的镧诱导位移 (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-OCH<sub>3</sub> 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-OCH<sub>3</sub> 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<sub>a</sub>、I<sub>b</sub> 及 IV 类抗心律失常作用特征<sup>[1]</sup>, 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<sup>[2]</sup>。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), 简写为  $\text{Eu}(\text{FOD})_3$  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), 简写为  $\text{Eu}(\text{HFC})_3$ , 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

<sup>1</sup>H-NMR 用 JNM-FX90Q 型核磁仪测定,

$\text{CDCl}_3$  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  $\text{CDCl}_3$  中残留的  $\text{CHCl}_3$  峰为第二内标( $\delta$  7.26 ppm)。

## 2 样品及试剂

四氢小檗碱按文献<sup>[1]</sup>制备;  $\text{CDCl}_3$  (99.8% 氦化, 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  $\text{P}_2\text{O}_5$  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  $\text{CDCl}_3$  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 ( $\delta$  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, —OCH<sub>2</sub>O—), 4.24(1H, d, J=15.8 Hz, 8-Heq), 3.85, 3.84, (6H, s, s, 9-, 10-OCH<sub>3</sub>), 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偶合, 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<sup>[3]</sup>, THB是一个弱的Lewis碱(仅含醚和叔胺), 为得到满意

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

I : 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 <sub>3</sub>	0.46	1.17	1.68	2.39	3.53	4.22	4.96	6.17
10-OCH <sub>3</sub>	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 <sub>2</sub> 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<sup>[4]</sup>报道, LSR优先与邻二甲氧基取代的芳甲醚中的氧配合, 而不与亚甲二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)<sub>3</sub>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)<sub>3</sub>后就产生明显的 $\Delta\delta$ 值。在D环上有两个甲氧基, 但Eu(FOD)<sub>3</sub>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McConnel方程式计算:  $\Delta\delta = K(1 - 3\cos^2\theta)r^{-3}$ <sup>[5]</sup>, 其中, K为比例常数,  $\theta$ 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-OCH<sub>3</sub>接近, 而11-H和10-OCH<sub>3</sub>接近, 如果铕离子与10-OCH<sub>3</sub>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)<sub>3</sub>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)<sub>3</sub>是和9-OCH<sub>3</sub>中的氧配合, 这和文献<sup>[6]</sup>报道的结果是一致的。

#### 4.1 在Eu(FOD)<sub>3</sub>存在下THB的化学位移结果

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

果表明Eu(FOD)<sub>3</sub>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)<sub>3</sub>是和9-OCH<sub>3</sub>中的氧配合, 这和文献<sup>[6]</sup>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 $\delta$ 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-OCH<sub>3</sub>, 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I: THB=0.044时, 出现了两者 $\delta'$ 值相同的情况, AB体系变成了A<sub>2</sub>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 $\delta'$ 值偶然相同。当I: 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I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 I 的结果见表 2。由表 2 可知，I 对 THB 的诱导趋势相似于 I，诱导效果优于 I。在大的

I : THB 情况下，铕离子对 THB 的峰展宽也很小。

I 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 ( $\pm$ )-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 <sub>3</sub>	0.49	1.16	1.9	2.26	2.72	4.05	5.47	6.10	6.81
10-OCH <sub>3</sub>	-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 <sub>2</sub> 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 enantionmeric shift difference (in Hz) for ( $\pm$ )-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 <sub>3</sub>	4.6	10.5	17.1	19.3	23.9	33.2	41.9	45.1	48.6
10-OCH <sub>3</sub>	-	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 <sub>2</sub> 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

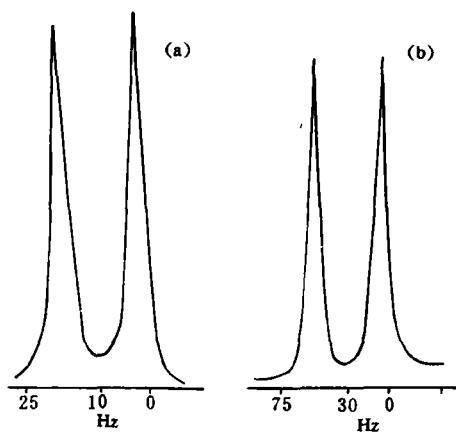


Fig 1.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 9-OCH<sub>3</sub> with added I (a) I : THB = 0.173, (b) I : THB = 0.722

质子有 9-OCH<sub>3</sub>、10-OCH<sub>3</sub>、8-H 及 -OCH<sub>2</sub>O-，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-OCH<sub>3</sub> 的甲基信号。当 I : 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 I : THB  $\geq 0.722$  时，9-OCH<sub>3</sub> 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

在 THB 结构中，能得到对映体位移差的

(HFC)<sub>3</sub>: THB $\geqslant$ 0.722, 9-OCH<sub>3</sub> 的甲基信号之 $\Delta(\Delta\delta)\geqslant$ 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合物的制备方法. 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- $\alpha$ -thebaol and 10-n-nonacosanol. Lanthanide Induced chemical shifts in <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C 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 <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR resonance of some isoquinoline alkaloids. *Phytochemistry*, 1990, 29(10): 3331

## NMR Studies of Tetrahydroberberine Enantiomers

Shen Wenbin, Zhang Can<sup>1</sup>, Wang Qingfeng<sup>2</sup>, Huang Wenlong<sup>1</sup>

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

**Abstract** The 90MHz <sup>1</sup>H NMR spectra of racemic tetrahydroberberine have been studied with the chiral shift reagent, Eu(FOD)<sub>3</sub>, I, and the chiral shift reagent, Eu(HFC)<sub>3</sub>, II. Substantial lanthanide induced shift (LIS) was seen for porton 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-OCH<sub>3</sub> using II that permitted direct determination of enantiomeric excess for samples of THB, and resulted in near-base line resolution of the 9-OCH<sub>3</sub> resonances of the enantiomers when II : THB $\geqslant$ 0.772(molar ratio).

**Key words** Tetrahydroberberine; Eu(FOD)<sub>3</sub>; Eu(HFC)<sub>3</sub>; NMR; Enantiomeric excess