

原托品类生物碱离子对化合物结构探讨

张 雪^{1,2}, 曾建国^{2,3*}, 杜方麓¹, 李文亮^{1,2}, 刘发宝^{1,2}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

2. 湖南省中药提取工程研究中心, 湖南 长沙 410331

3. 湖南农业大学, 湖南 长沙 410007

摘要: 目的 将原托品类生物碱(原阿片碱和别隐品碱)分别与盐酸、有机酸(苯甲酸、水杨酸等)制成盐, 对获得的盐进行波谱分析。方法 通过酸碱反应制备生物碱盐, 获得的结晶进行 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ 、 HSQC 、 HMBC 测定。结果 所获得 5 个化合物的波谱特征不是简单的酸碱两部分的叠加。结论 波谱数据说明原托品类生物碱有机酸盐与原托品类生物碱无机酸盐相比产生了变化。

关键词: 原托品类生物碱; 原阿片碱; 别隐品碱; 有机酸; 离子对化合物

中图分类号: R284.11 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)10-1939-06

Investigation on structure of protopine alkaloid ion-pair compounds

ZHANG Xue^{1,2}, ZENG Jian-guo^{2,3}, DU Fang-lu¹, LI Wen-liang^{1,2}, LIU Fa-bao^{1,2}

1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Herb Extract Engineering Research Center, Hunan Province, Changsha 410331, China

3. Hunan Agricultural University, Changsha 410007, China

Key words: protopine alkaloides; protopine; allocryptopine; organic acid; ion-pair compounds

由于抗生素的滥用, 细菌对各类抗生素的耐药性呈现快速上升趋势。面对日益严重的细菌耐药性问题, 减少耐药菌株的生成和研制新的抗菌消炎药物成为21世纪医药学界的重要课题。罂粟科博落回 *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. 中的总生物碱有很好的抗菌杀菌作用, 在欧美一些国家已替代抗生素应用于畜牧业, 其主要有效成分为血根碱(sanguinarine)、白屈菜红碱(chelerythine)、原托品类生物碱(protopine)等^[1-2]。这些生物碱可以与一些酸性成分(如皂苷、黄酮等)形成复合物^[3], 其中与有机酸结合形成的化合物称为离子对化合物。已有研究表明博落回总碱具有抗菌^[4]、抗肿瘤^[5-6]、提高免疫功能^[7]等功效。本实验将其中的原托品类生物碱与有抗菌作用的苯甲酸、水杨酸等有机酸制成离子对化合物, 以期达到改善药物吸收、提高生物利用度、扩大抗菌谱的效果。近年来, 一些生物碱生成的复盐在临床已有应用, 如毛果芸香碱与海藻酸生成的复盐在眼用膜剂中的疗效比毛果芸香碱盐酸盐显著, 与眼

睛接触时间可持续20 h以上^[8]; 甘草酸与苦参碱类生物碱成盐后, 保护肝细胞的作用增强^[9]; 小檗碱甘草酸盐是无刺激性气味的胃肠道反应的治疗药^[10]。

原托品类生物碱分子的十元环内氮原子和C-14原子之间有一种类酰胺的相互作用, 具有成环的趋向^[11]。本实验对这类生物碱中的原阿片碱(protopine)或别隐品碱(allocryptopine)及其与酸成盐后形成的原托品类生物碱盐酸盐、原托品类生物碱有机酸离子对化合物的结构进行了研究, 并通过UV、IR、MS、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-NMR}$ 等证明原阿片碱成盐后跨环相互作用已使氮原子和C-14原子之间形成稳定的单键, 致使十元环变成2个六元环, 整个分子由原托品型生物碱骨架转变成成为氢化原小檗碱型生物碱基本骨架, 且所获得的生物碱盐波谱数据说明原托品类生物碱有机酸盐与原托品类生物碱无机酸盐相比产生了变化。

1 仪器与材料

DF—1 集热式恒温磁力搅拌器, RE52—99 旋

收稿日期: 2011-03-26

基金项目: 科技部国际合作项目(2009DFA31270)

作者简介: 张 雪, 女, 湖南中医药大学药学院 2008 级硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。

*通讯作者 曾建国 Tel: (0731)83281556 Fax: (0731)83283277 E-mail: ginkgo@world-way.net

转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), 岛津 IRAffinity—1 傅里叶变换红外光谱仪, Waters 484 紫外检测器, Trace DSQ 质谱仪(Thermo Finnigan 公司), Bruker Avance III 核磁共振仪(400 MHz, 德国布鲁克公司)。纯净水, 所用试剂均为分析纯(天津市博迪化工有限公司)。原阿片碱、别隐品碱为罂粟科博落回属植物博落回 *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. 中提取(湖南美可达生物资源有限公司, 质量分数 98%); 苯甲酸、水杨酸(天津市博迪化工有限公司, 质量分数 99%)。

2 方法

2.1 原阿片碱盐酸盐的制备

将原阿片碱 1.000 g 用氯仿加热回流至完全溶

解, 缓慢滴加过量浓盐酸至 pH 1~2, 继续反应 1 h, 冷却, 沉淀滤过, 氯仿洗涤, 干燥即得原阿片碱盐酸盐 1.225 g, 收率 90%。

2.2 原阿片碱(或别隐品碱)有机酸盐的制备

将原阿片碱(或别隐品碱)盐酸盐 1.000 g 在 70 °C 下制成质量分数 0.2%~2% 的水溶液; 将有机酸的钠盐按原阿片碱(或别隐品碱)盐酸盐等摩尔量在 70 °C 下制成质量分数 1%~10% 的水溶液; 将上述溶液在 70 °C 下混合, 不断搅拌, 反应 1.5 h, 冷却, 沉淀滤过、干燥即得原阿片碱(或别隐品碱)有机酸离子对化合物(图 1), 收率 89%~93%。

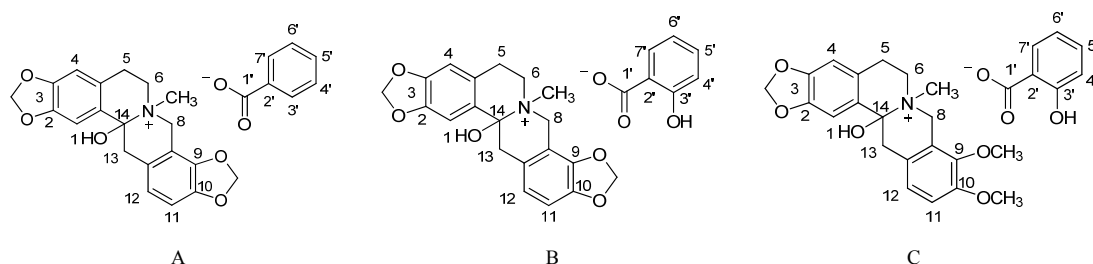


图 1 原阿片碱苯甲酸(A)、原阿片碱水杨酸(B)离子对化合物及别隐品碱水杨酸离子对化合物(C)

Fig. 1 Protopine benzoic acid (A), protopine salicylic acid (B), and allocryptopine salicylic acid ion-pair compounds (C)

2.3 原托品类生物碱盐酸盐和有机酸离子对化合物的 NMR 谱归属

用 Bruker Avance III 核磁共振仪测定 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR, 400 MHz, 溶剂 DMSO- d_6 。原托品类生物碱盐 ^{13}C -NMR 谱和 ^1H -NMR 谱信号归属见表 1~3。

2.4 溶解度试验

按照《中国药典》2010 年版溶解度测定方法测定原阿片碱(Pro)、别隐品碱(AlI)、苯甲酸(P)、水杨酸(Sa)、原阿片碱苯甲酸离子对化合物(PB)、原阿片碱水杨酸离子对化合物(PSa)、别隐品碱水杨酸离子对化合物(ASa)在水、甲醇、乙醇中的溶解度。

3 结果与讨论

3.1 原托品类生物碱盐酸盐成盐后的结构转变

原阿片碱的 IR 图谱显示 $1\,674\text{ cm}^{-1}$ 的羰基吸收峰。研究原片碱盐酸盐的结构时发现其与原阿片碱有明显不同, 原阿片碱盐酸盐的 IR 无羰基吸收峰, 而出现 $2\,960\text{ cm}^{-1}$ 的羟基吸收峰。

由于原阿片碱与盐酸成盐后含有手性原子, 所以用 NMR 谱仪研究其结构时, 立体异构的影响会

使碳谱复杂化, 因此综合考察其立体规整性, 将原阿片碱与原阿片碱盐酸盐 ^1H -NMR 谱对照, δ_{H} 3.05, 2.93 的信号应归属于 N-CH₃ 的质子。结合 HSQC 谱, 与以上 3 个氢发生直接相关的 δ_{C} 42.63, 44.56 可被指定为 N-CH₃ 碳信号。从氢谱中可以观察到原阿片碱盐酸盐的 N-CH₃ 质子信号相比原阿片碱 δ 值明显增大, 这是由于氮原子和 C-14 原子形成稳定单键后变为 N⁺, 电负性增大, 使 N-CH₃ 质子信号的 δ 值移向低场。将原阿片碱与原阿片碱盐酸盐 ^{13}C -NMR 谱对照可以看到: δ_{C} 194.9 所示的 C-14 信号消失, 出现了 δ_{C} 92.1 和 92.9 两处碳信号, 这正是由羰基变成联接羟基和季铵基的 C-14 季碳原子; C-14 原子的还原, 使 C-13、C-4a 和 C-14a 的化学位移明显移向高场, C-8、C-8a 及 N-CH₃ 也受到一定影响(图 2)。

3.2 原托品类生物碱成盐后的构型变化

以原阿片碱为例, 其与盐酸成盐后, 生成两个手性原子即 C-14 和 N-7, 两个手性中心形成 4 个光学异构体。当这两个手性原子为 S 构型时, 为反式, 氮甲基和羟基分别位于环平面的上下方。其对映体两个手性原子均为 R 构型, 这一对对映体为稳定构

表1 原阿片碱和原阿片碱盐酸盐 ^{13}C -NMR 和 ^1H -NMR 数据
Table 1 ^{13}C -NMR and ^1H -NMR data of protopine (Pro) and protopine hydrochloride (PCI)

碳位	Pro ^[12]		PCI	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	108.2	6.94 (1H, s)	106.1, 106.7	7.11, 7.33
2	146.3		148.6	
3	148.0		147.5	
4	110.5	6.68 (1H, s)	108.6	6.89
4a	135.8		125.0	
5	31.8	2.58 (2H, s)	23.4, 23.9	3.24, 3.28
6	57.8	2.62 (2H, s)	53.8, 53.1	3.71, 3.93
7-N-CH ₃	41.5	1.96 (3H, s)	42.6, 44.6	3.05, 2.93
8	50.8	3.61 (2H, s)	55.3	4.54 (2H, AB 系统, $J = 6 \text{ Hz}$)
8a	117.9		148.8	
9	146.0		146.1	
10	145.9		144.0	
11	106.7	6.71	108.9	6.83, 6.74 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$)
			108.9	
12	125.1	6.71	122.7	6.99, 6.95 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$)
			121.9	
12a	128.9		109.6	
13	46.5		35.1	3.29 (1H, d, $J = 18 \text{ Hz}$)
				4.05 (1H, d, $J = 18 \text{ Hz}$)
14	194.9		92.1, 92.9	8.71, 8.81 (OH)
14a	136.2		125.0	
2-O-CH ₂ -O-3	101.2	5.98	102.1, 102.3	6.09~6.10
9-O-CH ₂ -O-10	100.9	5.95	102.1, 102.3	6.09~6.10

型,波谱数据相同(图3-A)。当两个手性原子一个为 *R*, 另一个为 *S* 时,为顺式,氮甲基和羟基位于环平面的同一方,同在上或同在下方,互为对映体(即第7位 *R*, 第14位 *S*, 反之第7位 *S*, 第14位 *R*, 图3-B)。由于空间障碍,这一构型不稳定。原阿片碱盐酸盐的碳谱和氢谱数据可以看到相应位置有两组数据,正可以说明这一点。

然而,原阿片碱(或别隐品碱)与有机酸(如苯甲酸、水杨酸、黄芩苷等)生成的离子对化合物的碳谱和氢谱在相应位置上就只有一个数据(表4、5)。这是因为这些有机酸的相对分子质量较大,与原阿片碱成盐时由于空间位阻作用,使得C-C单键不能自由旋转,引起结合在N-7和C-14上的原子或基团选择能量最低的空间排布方式。因此,原阿片碱有机酸离子对化合物仅以反式构象存在。

3.3 原托品类生物碱有机酸离子对化合物成盐后对比研究

本实验通过测定原托品类生物碱有机酸离子对化合物的 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR、 ^1H - ^1H COSY、HSQC、HMBC,发现生成的离子对化合物中两个离子同时

存在,且两个离子结合后两者之间存在一定影响,成盐前后7(N-CH₃)、14、6、8、11、12位的信号均有明显变化。

原阿片碱 ^1H -NMR 中 δ_{H} 1.96 (3H, s) 的信号是 N-CH₃ 的质子峰,而原阿片碱有机酸离子对化合物 ^1H -NMR 谱的7位 N-CH₃ 信号较原阿片碱,化学位移值明显移向低场。另外,原阿片碱(或别隐品碱)无机酸盐与原阿片碱(或别隐品碱)有机酸盐 N-CH₃ 质子信号存在显著差异,如原阿片碱盐酸盐 $\delta_{7-\text{H}}$ 3.05, 2.93, 而原阿片碱苯甲酸离子对化合物 $\delta_{7-\text{H}}$ 2.03, 相差约1,推测是由于与生物碱成盐的酸的酸性差异和屏蔽效应共同作用引起的。这种现象在6位和8位也同样存在。盐酸(PKa: -2.2)酸性远大于有机酸,而水杨酸(PKa: 2.98)因含有吸电子基团羟基且能形成分子内氢键,其酸性比苯甲酸(PKa: 4.20)略强,与原阿片碱成盐时离子化趋势更强。因此随着酸性的减弱,原阿片碱(或别隐品碱)盐酸盐、水杨酸盐、苯甲酸盐的7位 N-CH₃ δ_{H} 与成盐前的碱相比变化依次减小;原阿片碱与苯甲酸成盐时, N-CH₃ 上

表 2 别隐品碱、别隐品碱盐酸盐、别隐品碱水杨酸离子对化合物 ¹³C-NMR、¹H-NMR 数据
Table 2 ¹³C-NMR and ¹H-NMR data of allocryptopine (All), allocryptopine hydrochloride (ACI), allocryptopine salicylic acid ion-pair compound (ASa)

碳位	All		ACI		ASa	
	$\delta_{\text{C}}^{[12]}$	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	108.6	6.91	108.7	6.87	106.6	7.25
2	145.5		147.3		148.5	
3	147.5		148.5		145.3	
4	109.8	6.77	113.8	7.11	108.8	6.85
4a	135.4		126.3		121.5	
5	31.8	2.48	23.9	3.06~3.35	24.1	3.09~3.34
6	57.1	2.49	56.1	4.67 (2H, AB 系统, $J = 12.3$ Hz)	55.8	4.52, 4.59
			53.8			
7 _{N-CH3}	40.6	1.75	40.6, 42.4	2.91~3.60	42.8	2.90 (3H, s)
8	49.8		49.0	3.16, 4.18 ($J = 4.4$ Hz)	53.7	3.69
8a	128.2		126.3		148.5	
9	151.1		151.0		151.1	
10	147.1		145.2		147.2	
11	110.3	6.90	106.7	7.31	113.7	7.13 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)
12	127.2	6.83	125.1	7.04	125.2	7.00 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)
12a	129.2		121.1		120.7	
13	45.9		35.0	3.30, 4.01	31.1	2.09
14	192.8		92.0	8.71, 8.87 (OH)		
14a	132.3		122.8		122.9	
2-O-CH ₂ -O-3	100.6	5.97	102.0	6.06	102.0	6.06
CH ₃ -O-9	60.1	3.76	60.7	3.82	60.6	3.80
CH ₃ -O-10	55.1	3.63	56.4	3.80	56.4	3.82
1'					171.8	
2'					163.4	
3'					163.4	
4'					116.3	6.60 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)
5'					131.9	7.11
6'					116.3	6.60
7'					130.4	7.61 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)

的氢核位于苯环大 π 键与-OCO-基团共轭形成的诱导磁场的正屏蔽区, 故 δ 值移向高场, 因此原阿片碱苯甲酸离子对化合物 $\delta_{7\text{-H}}$ 2.03 与成盐前的原阿片碱相比差别不大。此外, 原阿片碱 (或别隐品碱) 盐酸盐成盐后 C-14 均从 δ_{C} 190 附近移向 92 附近, 这正是原本的羰基碳信号变成连接羟基

和季铵基的 C-14 原子的表现; 而原阿片碱 (或别隐品碱) 苯甲酸、原阿片碱 (或别隐品碱) 水杨酸离子对化合物在 δ_{C} 190 附近的碳信号消失, 而 δ_{C} 92 附近也未出现 C-14, 推测是由于与其他信号重叠 (表 4、5)。

综上所述, 原托品类生物碱离子对化合物的

表 3 原阿片碱苯甲酸离子对化合物和原阿片碱水杨酸离子对化合物 ^{13}C -NMR 和 ^1H -NMR 数据
Table 3 ^{13}C -NMR and ^1H -NMR data of protopine benzoic (PB) acid ion-pair compound and protopine salicylic acid (PSa) ion-pair compound

碳位	PB		PSa	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	107.6	7.01	106.7	7.22
2	145.7		146.1	
3	147.9		148.4	
4	110.4	6.79	109.0	6.85
4a	116.7		126.1	
5	29.4	2.87	24.7	3.12 (2H, t)
6	56.9	2.68	54.2	3.2~3.8 (2H, t)
7 _{N-CH₃}	41.8	2.03 (3H, s)	43.0	2.83 (3H, s)
8	51.9	3.71	54.5	4.45 (2H, s)
8a	145.8		146.1	
9	145.8		147.0	
10	146.0		144.3	
11	107.1	6.71 (1H, d, $J = 8$ Hz)	108.6	6.78 (1H, d, $J = 8$ Hz)
12	124.8	6.74 (1H, d, $J = 8$ Hz)	122.8	6.92 (1H, d, $J = 8$ Hz)
12a	131.4		124.5	
13	44.4	3.71	54.2	3.62 (2H, s)
14a	116.7		119.9	
2-O-CH ₂ -O-3	101.3	5.97	102.1	6.08 (2H, s)
9-O-CH ₂ -O-10	101.6	5.99	101.9	6.05 (2H, s)
1'	168.2		171.9	
2'	132.6		110.7	
3'	129.7	7.93 (2H, d, $J = 7.2$ Hz)	163.2	
4'	128.8	7.43~7.47 (2H, m)	116.4	6.64 (1H, d, $J = 8$ Hz)
5'	134.5	7.53~7.57 (1H, m)	132.3	7.16 (1H, t, $J = 8$ Hz)
6'	与 4'-位为磁等同核		116.7	6.60 (1H, t, $J = 8$ Hz)
7'	与 3'-位为磁等同核		130.4	7.64 (1H, d, $J = 8$ Hz)

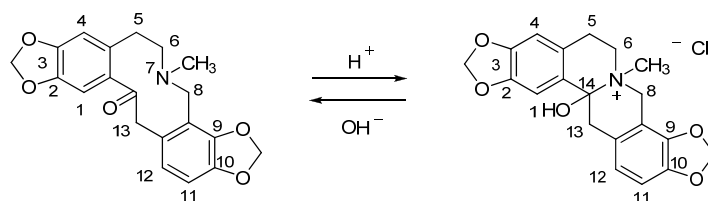


图 2 原阿片碱盐酸盐成盐后的结构转变

Fig. 2 Structural transformation of protopine hydrochloride

波谱数据与原托品类生物碱无机酸盐相比, 发生了变化, 且并不是简单的酸碱两部分的叠加。

3.4 溶解度试验结果

试验结果表明: 在室温 (20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 原托品

类生物碱与有机酸成盐形成离子对化合物后, 在水中 and 有机溶剂 (甲醇、95%乙醇) 中的溶解度相对于生物碱原型化合物均有不同程度的提高, 结果见表 6。

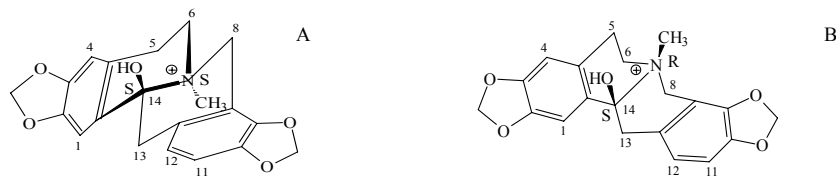


图 3 原阿片碱盐酸盐成盐后反式 (A) 和顺式 (B) 构型

Fig. 3 *Trans*- (A) and *cis*- (B) configurations of protopine hydrochloride

表 4 原阿片碱有机酸离子对化合物 NMR 数据比较

Table 4 NMR data comparison of protopine organic acid ion-pair compounds

位置	Pro ^[10]		PCl		PB		PSa	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
6	57.8	2.62	53.8, 53.1	3.71, 3.93	56.9	2.68	54.2	3.2~3.8
7 _{N-CH₃}	41.5	1.96	42.6, 44.6	3.05, 2.93	41.8	2.03	43.0	2.83
8	50.8	3.61	55.3	4.54	51.9	3.71	54.5	4.45
11	106.7	6.71	108.9,	6.83, 6.74	107.1	6.71 (d)	108.6	6.78 (d)
12	125.1	6.71	122.7,	6.99, 6.95	124.8	6.74 (d)	122.8	6.92 (d)
14	194.9	—	92.1, 92.9	8.71, 8.81	—	—	—	—

表 5 别隐品碱有机酸离子对化合物 NMR 数据比较

Table 5 NMR data comparison of allocryptopine organic acid ion-pair compounds

位置	All		ACl		ASa	
	$\delta_C^{[13]}$	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
6	57.1	2.49	56.1, 53.8	4.67, 3.80~4.00	55.8	4.52, 4.59
7 _{N-CH₃}	40.6	1.75	40.6, 42.4	2.91~3.60	42.8	2.90
8	49.8	—	49.0	3.16, 4.18	53.7	3.69
11	110.3	6.90	106.7	7.31	113.7	7.13 (d)
12	127.2	6.83	125.1	7.04	125.2	7.00 (d)
14	192.8	—	92.0	8.71, 8.87	—	—

表 6 溶解度实验结果

Table 6 Results of dissolubility

样品	水	甲醇	95%乙醇
Pro	不溶	极微溶解	极微溶解
All	不溶	极微溶解	极微溶解
P	微溶	易溶	易溶
Sa	微溶	易溶	易溶
PB	极微溶解	微溶	微溶
PSa	极微溶解	微溶	微溶
Asa	极微溶解	微溶	微溶

参考文献

- [1] 蔡建国, 张 涛, 陈 岚. 超临界 CO₂ 流体萃取博落回总生物碱的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 852-854.
- [2] 罗忠勇, 曾建国, 黄 敬, 等. RP-HPLC 法测定小果博

落回中 7 种异喹啉类生物碱 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1188-1190.

- [3] 邱蓉丽, 李 祥. 生物碱类分子复合物研究进展 [J]. 中药材, 2000, 23(12): 782-784.
- [4] 郁建平, 赵东亮, 孟祥斌, 等. 博落回生物碱对 8 种真菌的抑菌作用 [J]. 山地农业生物学报, 2006, 25(1): 89-91.
- [5] 庞建新, 马仁强, 刘兰梅, 等. 博落回总碱对肝癌细胞的毒性作用和体内抗肿瘤作用 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(3): 325-328.
- [6] 杨 舒, 刘 岩, 杨千帆, 等. 博落回抗肿瘤作用及有道人端粒 DNA 形成 G 四链体分子机制研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 738-742.
- [7] 杨 军, 王 静, 刘信顺. 博落回的药效研究 [J]. 中药材, 1999, 22(2): 82-84.
- [8] 韩 晓, 王东凯, 王 玉. 新型眼部给药系统的研究进展 [J]. 中国药剂学杂志, 2009, 7(2): 59-64.
- [9] 朱 敬. 甘草酸二苦参碱盐和甘草酸二氧化苦参碱盐的制备、保肝活性及在体肠吸收 [D]. 济南: 山东大学, 2006.
- [10] 曲中堂, 项昭保. 甘草甜素药理作用研究动态 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2568-2570.
- [11] 罗士德, 龚运淮, 陈维新. 原阿片碱盐酸盐的结构研究 [J]. 化学学报, 1985, 43: 310-320.
- [12] Hall S R, Ahmed F R. The crystal structure of protopine, C₂₀H₁₉O₅N [J]. *Acta Crystallogr B*, 1968, B24: 337.
- [13] 杨秀伟. 中药成分的吸收、分布、代谢、排泄、毒性与药效 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2006.