

文章编号: 1000-4556(2009)02-0216-07

NMR 研究 β -环糊精对布洛芬的手性识别

王恩举*, 陈光英, 彭明生

(海南省热带药用植物化学重点实验室, 海南师范大学 化学系, 海南 海口 571158)

摘 要: 用 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 研究了 β -环糊精对外消旋布洛芬的手性识别. 外消旋布洛芬与 β -环糊精形成包合物后, 其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 图谱的化学位移和峰形都有所变化, 手性碳附近的某些原子所对应的吸收峰裂分为两组信号, 这两组信号分别对应布洛芬的两种对映异构体. 结果显示, 对于布洛芬, β -环糊精是一个方便而有效的手性溶解剂.

关键词: 核磁共振(NMR); β -环糊精; 布洛芬; 手性识别; 手性溶解剂

中图分类号: O657.2 **文献标识码:** A

引言

手性是生命的基本特征, 是新药开发中的重要课题. 据统计, 已知药物中有 30~40% 是手性的, 单一对映体制剂的市场份额逐年增加, 手性分析和分离已成为药理学研究和制药工业日益迫切的课题^[1]. 目前, 色谱法是最为广泛采用的手性分析法, 但色谱过程烦琐费时, 成本较高. 核磁共振(NMR)法也是一种较为成熟的方法, 与色谱法相比具有快速、方便的特点, 是色谱法的有效补充. 利用核磁共振研究手性化合物的方法主要有两种: 一种是通过衍生化反应, 使对映异构体转化为非对映异构的衍生物. 另一种是直接法, 即给对映体提供一个手性的环境, 在手性环境中对映体的核磁共振谱可能不完全相同. 产生手性环境的方法有: ①手性位移试剂; ②手性溶解剂(Chiral Solvating Agent, CSA). 在溶液中手性溶解剂与底物形成瞬态缔合物, 使对映体的某些 NMR 性质有所区别. 该方法操作简单, 适用范围广, 已成功地测定了不少手性化合物^[2, 3].

β -环糊精(β -CD)是由 7 个吡喃葡萄糖单元(图 1)通过 α -1, 4 糖苷键相联的环状低聚

收稿日期: 2008-11-17; 收修改稿日期: 2008-12-16

基金项目: 海南师范大学博士科研启动资助项目(103303).

作者简介: 王恩举(1970-), 男, 河北人, 博士, 副教授, 从事天然药物及有机分析研究. * 通讯联系人: 王恩举, 电话: 0898-65890171, E-mail: enjuwang@163.com.

糖, 具有“内疏水, 外亲水”的独特结构, 在水溶液中, 它的疏水空腔可以选择包含大小和形状合适的分子形成超分子复合物^[4, 5]. β -CD 总体上呈对称的桶状结构(图 1(b)), 但其结构基元吡喃葡萄糖含有 5 个手性碳原子, 因此, β -CD 具有手性微环境, 可以为被包含的客体分子提供一个手性环境^[6]. 当客体为手性分子时, β -CD 与两种对映体形成的复合物可能不完全相同, 所以 β -CD 是一种非常方便的手性溶解剂^[7, 8]. 关于 β -CD 对布洛芬(ibuprofen, Ibu)的手性识别已有一些文献报道, Reijenga 等以 β -CD 为手性选择剂用毛细管电泳法对布洛芬实现了手性分离^[9]. Krzek 等以 β -CD 为流动相手性添加剂, 用反相薄层色谱拆分了布洛芬^[10]. Busch 等在 β -CD 存在下用普通的光谱法就可以确定布洛芬的对映比^[11]. 本文研究了 β -CD 作为手性溶解剂时布洛芬的 NMR 性质. 结果表明, β -CD 对布洛芬有手性识别能力, 并探讨了包含结构和手性识别机理.

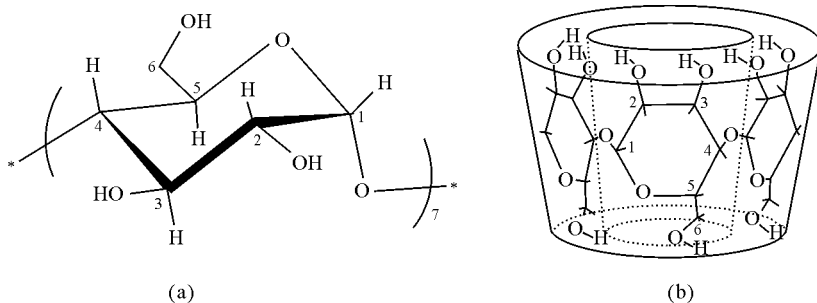


图 1 β -CD 的结构. (a) β -CD 的葡萄糖单元; (b) β -CD 的桶状结构示意图
Fig. 1 The structure of β -CD. (a) glucose unit of β -CD, (b) the schematic diagram of cone-shaped structure of β -CD

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

β -环糊精(β -CD), 国药集团化学试剂有限公司产品, 使用前用蒸馏水重结晶 2 次, 110 °C 真空干燥(五氧化二磷为干燥剂) 12 h; 布洛芬为柳州弘宏德医药有限公司产品, 使用前用 95% 的乙醇重结晶一次, 80 °C 真空干燥 12 h.

采用美国 Varian Mercury-Plus 300 核磁共振波谱仪完成所有的 NMR 测试.

1.2 实验方法

先测定纯布洛芬的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱, 归属所有吸收峰. 然后分别称取物质的量比为 1 : 0.5, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 的布洛芬和 β -CD, 混合, 加适量 D_2O , 加热, 超声, 适当补加溶质或溶剂, 使成饱和溶液. 再超声 2 h, 测 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱. 与纯布洛芬的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱比较.

2 结果与讨论

2.1 包含前后 β -CD 的 ^1H NMR 及包含结构

^1H 和 ^{13}C 的化学位移主要取决于分子本身的结构特征, 同时, 分子所处的外部环境也对化学位移有一定的影响, 如, 溶剂的磁各向异性、介电常数等. 客体分子从极性较

高的水溶液中进入环糊精的疏水空腔后, ^1H 和 ^{13}C 的化学位移会有所变化, 通常移向高场. 同时, 如果客体分子的磁各向异性基团(如苯环)被 $\beta\text{-CD}$ 包合, 会使 $\beta\text{-CD}$ 中邻近苯环的 ^1H 的化学位移显著变化. $\beta\text{-CD}$ 中连在 C-3 和 C-5 上的氢原子(H-3, H-5)指向疏水空腔内部, 受客体分子的影响最大. 当 H-3 或 H-5 正对苯环平面时, 则处于苯环的屏蔽区, 化学位移会明显移向高场. 因此, β -环糊精 H-3, H-5 化学位移的变化可以作为形成了包合物的证据, 甚至可以用来推断主客体的相对位置^[7]. 表 1 列出了形成 Ibu- $\beta\text{-CD}$ 包合物后, $\beta\text{-CD}$ 葡萄糖单元(图 1)各 ^1H 的化学位移变化, H-5 的高场位移最为显著, 远远大于其他氢原子的位移值, 说明布洛芬的苯基插入了 $\beta\text{-CD}$ 的疏水空腔中, 且处于小口端正对 H-5(图 2). H-3 和 H-6 也有较小的高场位移, 且 H-3 的位移值大于 H-6. 其他氢原子处于环糊精的外壁, 化学位移变化很小.

表 1 形成包合物后 $\beta\text{-CD}$ 中 ^1H 化学位移的变化 ($\Delta\delta = \delta_{\text{compl}} - \delta_{\text{free}}$)

Table 1 Variation in ^1H chemical shift ($\Delta\delta = \delta_{\text{compl}} - \delta_{\text{free}}$) of $\beta\text{-CD}$ protons during complexation

| $\beta\text{-CD}$ | H-1 | H-2 | H-3 | H-4 | H-5 | H-6 |
|-------------------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|
| $\Delta\delta$ | 0.002 | -0.005 | -0.081 | 0.024 | -0.215 | -0.055 |

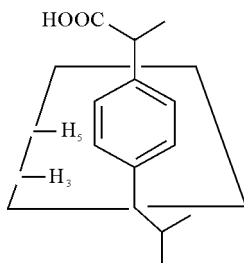


图 2 Ibu- $\beta\text{-CD}$ 复合物的包合结构示意图

Fig. 2 The schematic diagram of the Ibu- $\beta\text{-CD}$ inclusion structure

2.2 包合前后布洛芬的 ^1H NMR 及 $\beta\text{-CD}$ 对布洛芬的手性识别

图 3 为形成包合物前后布洛芬的 NMR 谱图, 由于在包合物中 H-2(δ 3.41) 的信号淹没于 $\beta\text{-CD}$ (δ 3~5) 的吸收峰中, 所以在图中没有显示. 形成 Ibu- $\beta\text{-CD}$ 包合物后, 布洛芬分子中质子的化学位移及峰形发生了不同程度的变化(图 3, 4). 包合前苯环上 4 个质子(H-5, 5', 6, 6')的化学位移差别不大(δ 6.96~7.10, dd), 包合后 H-6, 6' 的化学位移显著移向高场(δ 6.825, d), 说明 H-6, 6' 处于介电常数最低的环糊精疏水空腔中心区域(图 2). H-5, 5' 由二重峰裂分成了四重峰, 裂距为 2.7 Hz, H-3(δ 1.194, d, $J=7.2$ Hz) 也由二重峰裂分成了四重峰, 但裂距较小为 1.8 Hz. 显然, 这是由于布洛芬的两个对映异构体与 $\beta\text{-CD}$ 形成的复合物不完全一样, 即 $\beta\text{-CD}$ 对布洛芬有手性识别能力, 裂分形成的两组信号分别对应布洛芬的两个对映异构体. 由图 4 可以看出, 随着 $\beta\text{-CD}$ 的增加, 布洛芬 H-5, 5' 的裂分逐渐变大, H-6, 6' 的高场位移也逐渐增大.

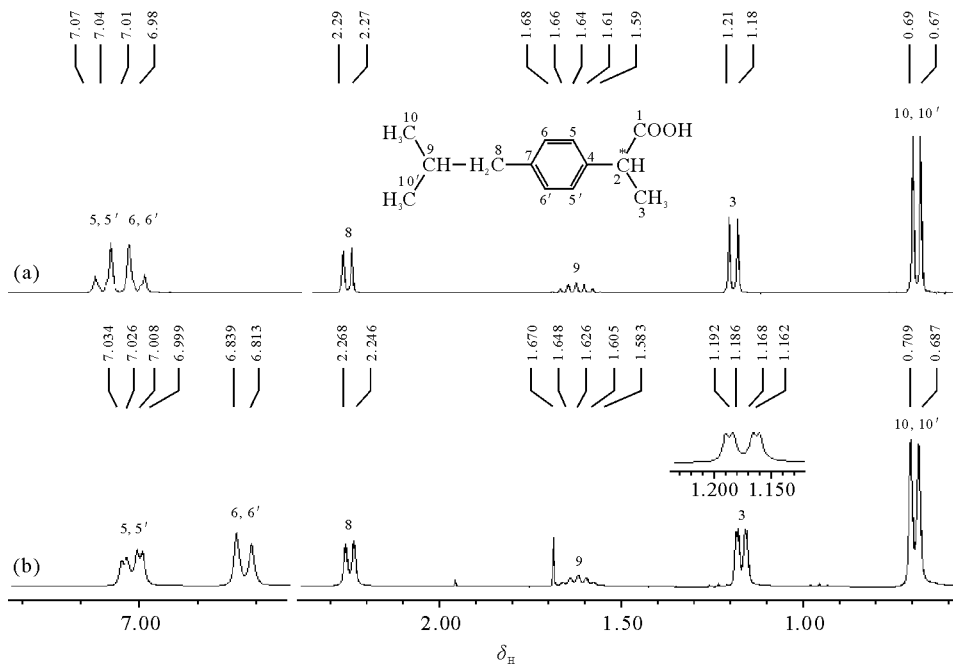


图 3 包含前后布洛芬的 ^1H NMR 谱[图中没有显示 H-2(δ 3.41)和 β -CD(δ 3~5)的吸收峰]

(a) 布洛芬的吸收峰; (b) Ibu- β -CD 包合物(1:1)中布洛芬的吸收峰

Fig. 3 ^1H NMR spectra of ibuprofen in free state and in complex (the signals of β -CD and H-2 were not shown.)

(a) in free, (b) in 1:1 complex

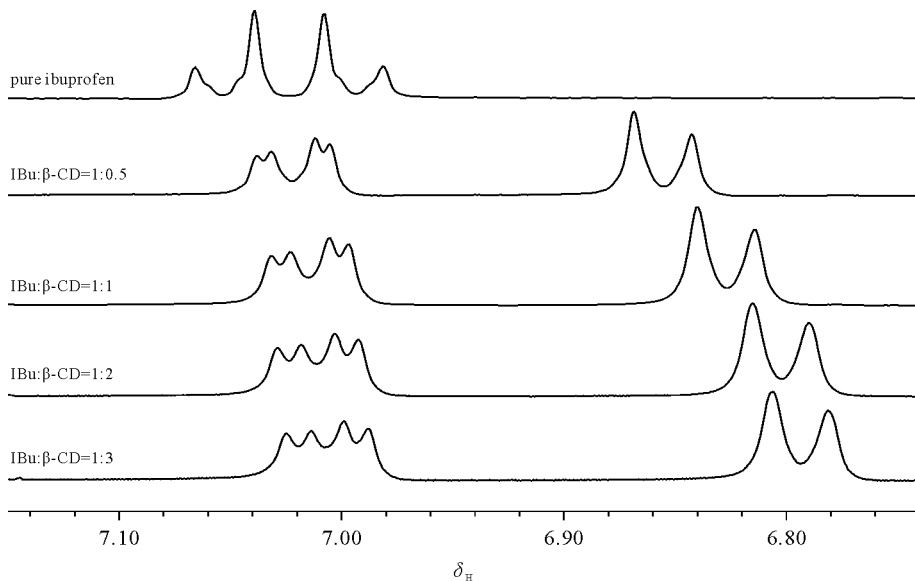


图 4 β -CD 的用量对布洛芬芳香区 ^1H NMR 的影响

Fig. 4 The effect of the amount of β -CD on ^1H NMR spectrum of ibuprofen in aromatic zone

2.3 Ibu- β -CD 包合物的 ^{13}C NMR 及 β -CD 对布洛芬的手性识别

图 5 是 Ibu- β -CD 包合物的 ^{13}C NMR 谱图, 标出化学位移值的为客体分子布洛芬的吸收信号. 由于 β -CD 的手性识别, 布洛芬有 3 个吸收峰发生了较大的裂分, C-1 (δ 183.05, 182.97) 的裂距为 24 Hz, C-4 (δ 141.45, 141.34) 的裂距为 33 Hz, C-3 (δ 19.44, 19.25) 的裂距为 57 Hz. 与 ^1H NMR 相比, 质子噪音去偶 ^{13}C NMR 谱图中每种化学等价的碳原子只对应一个吸收信号, 谱线极少重叠, 手性识别引起的谱线裂分比氢谱更大, 因此更方便观察. 尽管裂分形成的 2 个共振信号所对应的碳原子分别处于布洛芬的 2 个对映异构体中, 但这 2 个碳原子具有相同的 NOE 增强. 所以, 裂分信号的强度与其所对应的光学异构体的含量一致, 两条吸收信号的积分比就等于 2 种对映异构体的含量比, 比用 ^1H NMR 定量更准确、应用范围更广. 因为在 ^1H NMR 中, 如果某共振信号已经存在耦合裂分, 再由于手性溶剂发生裂分时, 一般都会发生谱线间的重叠(如布洛芬的 H-5, 5'), 很难定量.

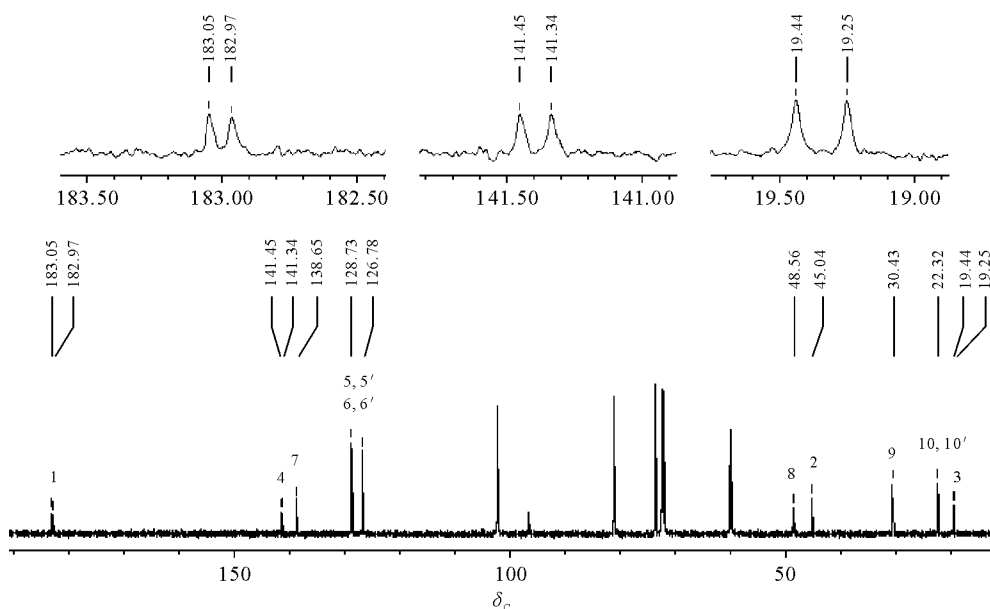


图 5 布洛芬包合物的质子全去偶 ^{13}C NMR 谱(没标出化学位移值的为 β -CD 的吸收峰, 小图为裂分信号的放大图)

Fig. 5 The proton noise decoupling ^{13}C NMR spectra of Ibu- β -CD inclusion complex (the signals of ibuprofen are performed peak picking, while the signals of β -CD are not performed peak picking. The upper figures are the magnified signals that have split)

2.4 手性识别机理

天然环糊精的疏水空腔是一个总体上对称的桶状结构, 其手性识别能力是基于其手性微环境, 因此, 通常情况下它的手性识别能力都比较小. 在各种分子间力中, 由于氢键具有方向性, 是手性识别中最重要的分子间作用. β -CD 中相邻的葡萄糖单元间通过 2, 3-位羟基形成了闭合的分子内氢键, 因此, 2, 3-位羟基的指向相对固定, 更具刚性, 如果手性客体分子与 2, 3-位羟基有氢键作用, 可能会导致较大的手性选择性. 6-位伯羟

基可以自由旋转,更易与客体分子成氢键,但对手性选择的贡献相对要小一些^[12]。布洛芬的羧基处于环糊精的小口端(图 2),可能与 6-位羟基形成氢键,因此, β -CD 对布洛芬的手性识别不太大,只有手性碳附近的碳原子及氢原子的 NMR 吸收信号发生较明显的裂分。H-3, H-5, H-5' 与手性碳(C-2)最邻近,在¹H NMR 谱中发生了裂分。C-1, C-3, C-4 与手性碳最邻近,在¹³C NMR 谱中它们都发生了裂分。

由于实验条件的限制,只研究了 β -CD 对外消旋布洛芬的手性识别,没有纯对映体的实验数据,因此无法指认裂分谱线与两种对映体的对应关系,以后将做进一步的研究。

参考文献:

- [1] You Qi-dong(尤启冬), Lin Guo-qiang(林国强). Chiral Drug-Research and Application(手性药物:研究与应用) [M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2004.
- [2] Su Ke-man(苏克曼), Jing Xiang-dong(江向东), Cai Shui-hong(蔡水洪). Determination of enantiomeric excess of chiral compounds by ¹H NMR(¹H NMR 测定手性化合物的对映体过量)[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 1999, 16(6): 604-610.
- [3] Zhu Quan-hong(朱全红), Shao Wei-yan(邵伟艳), He Jian-feng(何建峰), *et al.* The ¹H NMR study on the β -Cyclodextrin host-guest complexes (β -环糊精包合物的¹H NMR 研究) [J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 2001, 18(4): 377-382.
- [4] Yin Kai-liang(殷开梁), Xu Rui-jun(徐瑞钧), Xu Yuan-zhi(徐元植). ¹H NMR studies of 2,3,6-tri-O-methylated β -cyclodextrin inclusion complexes with substituted phenols (2,3,6-三甲氧基 β -环糊精与取代苯酚包合作用的¹H NMR 研究) [J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 1999, 16(6): 559-562.
- [5] Chen Liang(陈亮), Wang Bao-jun(王宝俊), Huang Shu-ping(黄淑萍). Studies of norfloxacin with β -cyclodextrin inclusion complex (氟哌酸- β -环糊精包结配合物的研究) [J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 1998, 15(3): 243-248.
- [6] Harata K. Structural aspects of stereodifferentiation in the solid state[J]. Chem Rev, 1998, 98(5): 1 803-1 827.
- [7] Schneider H J, Hacker F, Rüdiger V, *et al.* NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes [J]. Chem Rev, 1998, 98(5): 1 755-1 785.
- [8] Dodziuk H, Kozmiński W, Ejchart A. NMR studies of chiral recognition by cyclodextrins[J]. Chirality, 2004, 16(2): 90-105.
- [9] Reijenga J C, Ingelse B A, Everaerts F M, *et al.* Thermodynamics of chiral selectivity in capillary electrophoresis; separation of ibuprofen enantiomers with β -cyclodextrin[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 792(1/2): 371-378.
- [10] Krzek J, Starek M, Jelonkiewicz D. RP-TLC determination of S(+) and R(-) ibuprofen in drugs with the application of chiral mobile phase and UV densitometric detection[J]. Chromatographia. 2005, 62(11/12): 653-657.
- [11] Busch K W, Swamidoss I M, Fakayode S O, *et al.* Determination of the enantiomeric composition of some molecules of pharmaceutical interest by chemometric analysis of the UV spectra of cyclodextrin guest-host complexes[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 525(1): 53-62.
- [12] Armstrong D W, Ward T J, Armstrong R D, *et al.* Separation of drug stereoisomers by formation of β -Cyclodextrin inclusion complexes[J]. Science, 1986, 232: 1 132-1 135.

NMR Studies of Chiral Discrimination of Ibuprofen Enantiomers in β -Cyclodextrin Inclusion Complexes

WANG En-ju^{*}, CHEN Guang-ying, PENG Ming-sheng

(Key Laboratory of Tropical Pharmaceutical Herb Chemistry of Hainan Province,
Department of Chemistry, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

Abstract: The chiral recognition of racemic ibuprofen by β -cyclodextrin was studied by ^1H - and ^{13}C NMR spectroscopy. The ^1H and ^{13}C spectra of ibuprofen complexing with β -cyclodextrin were shown to be different from those of free ibuprofen. Some peaks of the atoms adjacent to the chiral carbon atom showed splitting into two parts, corresponding to the two enantiomers of ibuprofen respectively. The result demonstrated that β -cyclodextrin can be used as a convenient and effectual chiral solvating agent.

Key words: NMR, β -cyclodextrin, ibuprofen, chiral discrimination, chiral solvating agent

^{*} Corresponding author: Wang En-ju, Tel: 0898-65890171, E-mail: enjuwang@163.com.