

与药效有关的小蘗碱物理化学性质的研究

I. 小蘗碱的酸解常数问题

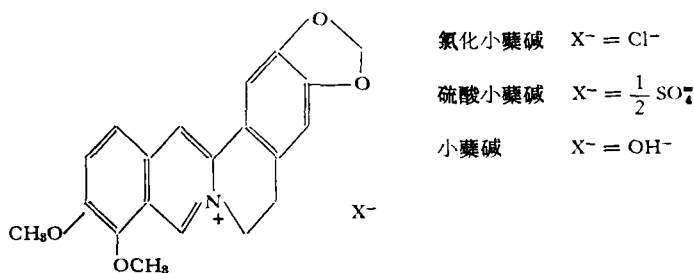
仇士杰* 查良鈞

提要 用光谱法测定了氯化小蘗碱的酸解常数(K_a),在pH 14—15水中 pK_a 为15.23,在pH 12—13乙醇中 pK_a 为13.05,和文献所载相差很大。此外并以中性硫酸小蘗碱在氫氧化钡水溶液中,用光谱法测定其季胺离子浓度,未见变化,故可以说明小蘗碱为一强电解质。

小蘗碱是一种具有抗菌作用的生物碱,其临床疗效目前尚无一致评价。抗菌作用机制以及体内过程等问题,也未见系统的研究。一个药物的作用机制,体内过程以及代谢方式等,均由其理化性质所决定。小蘗碱的一般物理化学性质,文献虽有记载,但其中尚互有出入。与药物作用有重大关系的物理化学性质,亦缺乏资料。

为此本文对小蘗碱的酸解常数问题,进行了测定和探讨。下文则测定了小蘗碱对核酸及蛋白质的结合率,并对小蘗碱的脂水分配系数问题也作了探讨。

小蘗碱及其盐类均为季铵化合物,其通式如下:

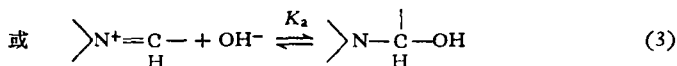
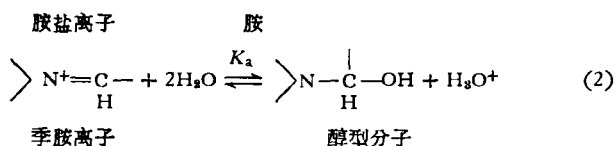
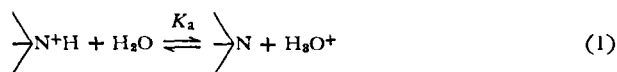


在一般条件下均以季铵盐状态存在,如氯化小蘗碱、硫酸小蘗碱等。其氢氧化物(小蘗碱)在一般条件下不能存在,因为在较强碱液中易转变成醇型物(ψ -base)。

有机碱类药物的离解常数(K_b)与其体内过程如吸收、排泄、分布以及作用强度等性质均有密切的关系。故小蘗碱的酸解常数问题,是应该明确肯定起来的。自从Kolthoff^[1]测定小蘗碱的 pK_b 为2.47以后,一般文献均采用这个数据^[2]。从理论上来说,季铵类化合物均为强电解质,不可能有分子型的氢氧化物小蘗碱存在。因为氮原子最多只能有四个共价键(季铵离子),这在氨和胺类化合物中早已明确,所以小蘗碱似也不应例外。据Skinner^[3]等用电导和电位滴定等方法研究氯化小蘗碱,证明它是一个强电解质。其反应性质和一般胺盐类离子的酸解有相似之处。但一般氮上具双键的季胺离子,在碱性溶液中可以转变成醇型分子,故也不尽相同,可对比如下[式(1)—(3)]:

本文于1964年9月3日收到。

* 现在通讯处:上海江湾政衷路36号。



所以小蘗碱的酸解常数或碱解常数，可按反应式(2)或(3)进行测定。因为文献对这个问题的概念是不明确的，所以这里有必要加以说明。我们用光谱法进行测定，所得结果和理论相符，证明小蘗碱是一个强电解质，但在较强碱性液中则生成不分解的醇型分子。其酸解常数非常小，即碱解常数很高，和 Koltzoff 的数据相差很远。

测定方法和结果

(一) 吸收光谱曲线的测定 (210—500 毫微米):

以氯化小蘗碱用水重结晶二次。熔点 203—205°C (分解)。以此精制品配成水溶液，浓度 $3.10 \times 10^{-5}M$ 。用 Beckman DU 型分光光度计测定，其吸收光谱曲线 (210—500 毫微米) 如图 1。

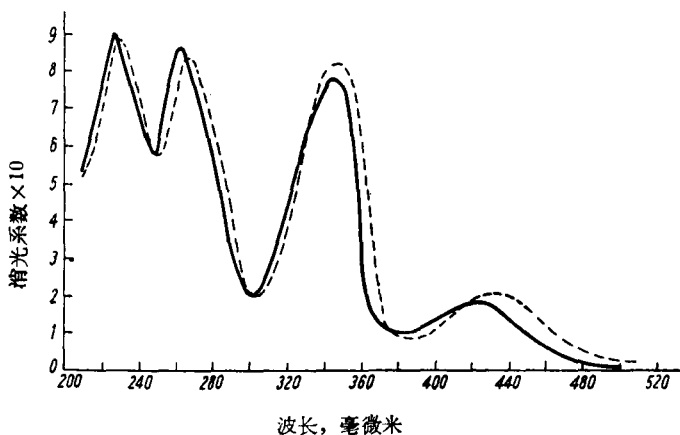


图 1

—氯化小蘗碱水溶液的吸收光谱曲线(浓度 $3.10 \times 10^{-5}M$, 温度 20°C, pH 6.10);
 ---氯化小蘗碱乙醇溶液的吸收光谱曲线(浓度 $3.20 \times 10^{-5}M$, 温度 26°C)。

(二) 浓度和消光系数的关系

以吸收峰在波长 422 毫微米处进行测定，浓度 10^{-5} — $2 \times 10^{-4}M$ (6—80 微克/毫升) 范围内，其结果很符合 Beer 定律 (见表 1 及图 2)，故可用光谱法测定其浓度。

(三) 在各种不同碱浓度水溶液中氯化小蘗碱各吸收光谱曲线的测定

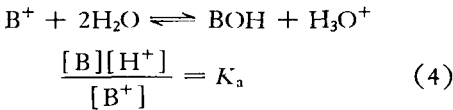
以 $1.203 \times 10^{-4}M$ 浓度的氯化小蘗碱，在各种浓度不同的氢氧化钠水溶液中测定其各吸收光谱曲线 (390—500 毫微米) 如图 3。

表 1 氯化小蘖碱水溶液浓度和消光系数的数值

溶液浓度 微克/毫升	消光系数 (422 毫微米)	溶液浓度 微克/毫升	消光系数 (422 毫微米)
6.53	0.095	52.24	0.746
13.06	0.193	65.30	0.924
26.12	0.372	78.36	1.100
39.18	0.552		

(四) pK_a 的推算

根据上述小蘖碱的酸解反应[式(2)或(3)],由消光系数及碱浓度就可推算其 pK_a , 即:



$$pK_a = pH - \log \frac{[B]}{[B^+]} \quad (5)$$

B 代表 BOH

B^+ 代表季胺离子

表 2 由 pH 和高解率计算 pK_a 值

曲线	消光系数(422毫微米)	NaOH 浓度(N)	$\log B/[B^+]$	pH*	pK_a
I	0.670	0			
II	0.624	0.9648	$\bar{2}.8675$	14.36	15.49
III	0.562	1.6080	$\bar{1}.2838$	14.58	15.30
IV	0.532	2.0100	$\bar{1}.4140$	14.71	15.29
V	0.476	2.4120	$\bar{1}.6102$	14.78	15.17
VI	0.438	2.6530	$\bar{1}.7240$	14.83	15.11
				平均	15.23

* 温度 9°C 时 pK_w 为 14.534.

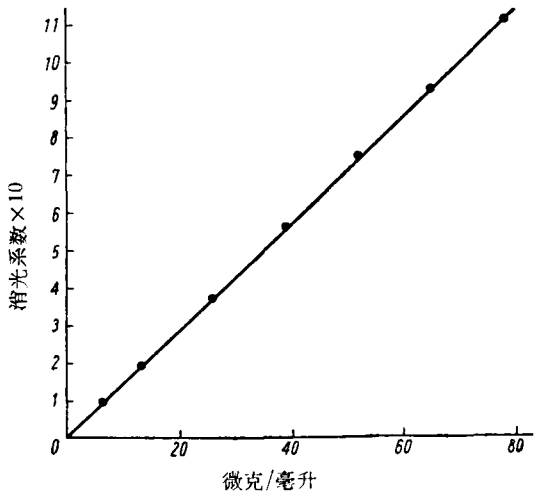


图 2 氯化小蘖碱水溶液浓度与消光系数的关系
波长: 422 毫微米; 室温: 35°C.

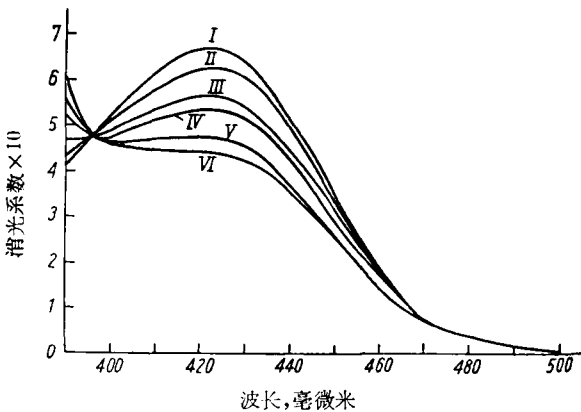


图 3 在各种碱浓度水液中,氯化小蘖碱的各吸收光谱曲线
浓度: $1.203 \times 10^{-4} M$; 室温: 9°C.

(5)式中的 pH 是根据氢氧化钠浓度及其活度系数来计算的^[4]. $[B^+]$ 及 $[B]$ 的浓度可由消光系数来计算. 总括起来见表 2.

(五) 氯化小蘖碱在乙醇(无水酒精)中 pK_a 值的测定

我们发现氯化小蘖碱的乙醇溶液, 加碱后较在水溶液中容易消去黄色. 因此推测它在乙醇中的 pK_a 值可能比在水中的为低(即易于转变成醇型分子). 因此按照上述一

套方法,进行了测定,结果如下:氯化小蘗碱在乙醇中的吸收光谱曲线(210—500 毫微米)见图 1。其在各种 pH 条件下的吸收光谱曲线

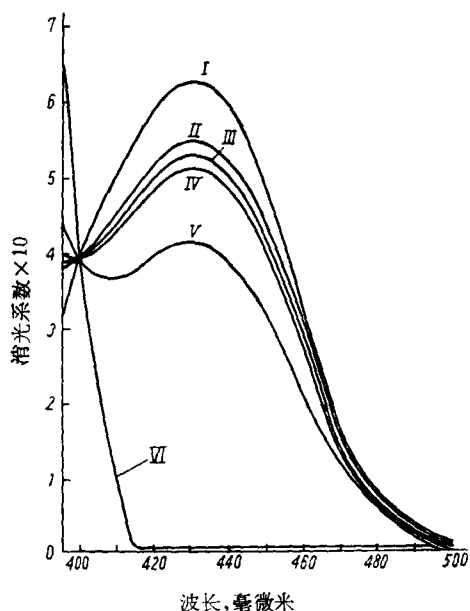


图 4 在各种碱浓度乙醇液中,氯化小蘗碱的各吸收光谱曲线
浓度: $1.08 \times 10^{-6}M$; 温度: $6^{\circ}C$ 。

如图 4。溶液的 pH 是用 KOH 和苯酚所组成的缓冲液来控制的。缓冲液中苯酚浓度为 $0.1248M$ 氢氧化钾浓度为 $0.1068M$ 。

pH 和消光系数(在 432 毫微米)的关系见表 3。 pK_a 值的计算见表 4。

表 3 pH 和消光系数的关系

曲线	黄连素溶液 毫升	缓冲液 毫升	苯酚液* 毫升	稀释至总量 毫升	消光系数 (432毫微米)
I	10	0	0	25	0.618
II	10	10	2.5	25	0.545
III	10	10	2.0	25	0.529
IV	10	10	1.5	25	0.510
V	10	10	0.5	25	0.404
VI	10	加氢氧化钾液至 $0.4273M$		25	0.000

* 苯酚乙醇液浓度为 $0.9980M$ 。

表 4 由 pH 和解率计算 pK_a 值

曲 线	消光系数(432毫微米)	log 苯酚/苯酚离子	log B/[B ⁺]	pH*	pK_a
I	0.618				
II	0.545	$\bar{1}.6012$	$\bar{1}.1271$	12.17	13.05
III	0.529	$\bar{1}.6910$	$\bar{1}.2253$	12.26	13.04
IV	0.510	$\bar{1}.8066$	$\bar{1}.3263$	12.38	13.05
V	0.404	0.1965	$\bar{1}.7243$	12.77	13.05
VI	0.000				
				平 均	13.05

* 酚的 pK_a 为 $12.572^{[5]}$

(六) 存在于水液中的小蘗碱(B^+OH^-)

游离固体的氢氧化小蘗碱是难以获得的,但其水溶液则可以从中性小蘗碱加氢氧化钡沉淀硫酸钡后制得。经光谱测定,可断定其全为离子状态存在,见表 5。

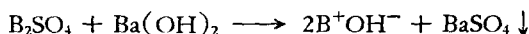


表 5 在氢氧化钡溶液中氯化小蘗碱的消光系数

溶 液 浓 度	消光系数(422 毫微米)
中性硫酸黄连素 $5.40 \times 10^{-6}M$	0.570
中性硫酸黄连素 $5.40 \times 10^{-6}M$ 在 0.1% $Ba(OH)_2$ 液中	0.570
中性硫酸黄连素 $5.40 \times 10^{-6}M$ 在 0.5% $Ba(OH)_2$ 液中	0.572

說 明 和 討 論

从图 1 可知,氯化小蘗碱在水溶液中具有四个吸收峰,三个在紫外区 (227,264,345 毫微米),一个在可见光区 (422 毫微米)。从图 3 各吸收光谱曲线来看,可以推测在 422 毫微米处的吸收峰是由小蘗碱季胺离子所发生的。故测定此处的消光系数,即可推算其离子浓度和醇型分子浓度,因为它的消光系数和浓度的关系是合乎 Beer 定律的 (图 2)。

小蘗碱在碱浓度较高的 (0.5N 以上) 水溶液中,其季胺离子浓度有显著的下降。但这并非意味着不离解的小蘗碱的形成,而是转变成无色的醇型分子 (ψ -base) 所致,这一根本性问题必须明确。离子浓度的改变是有规律地随着 pH 的改变而变化,故可计算而求得其 pK_a 值为 15.23。

由于小蘗碱的 pK_a 值很高 (pK_b 值为负),必须在碱浓度较高的溶液中进行测定,故溶液的 pH 值不得不用氢氧离子活度来推算^[4]。所有 pH 值必然地均为近似数值,因此所求得的 pK_a 当然也是一个近似数值。不过在碱性较高的溶液中, pH 的变化也相应地变得很迟钝,影响 pK_a 值不大。所以由此求得的 pK_a 虽然是一个近似值,但其数量级却是可靠的。

按照 Kolthoff 所测定的小蘗碱的 pK_b 数据 (2.47; 即 pK_a 11.53), 则在 pH 为 11.53 水溶液中即有二分之一的小蘗碱转变成不离解的小蘗碱分子,这显然和事实不相符合。按我们测得的 pK_a 为 15.23 来推算,在 pH 为 11.53 水溶液中,小蘗碱离子几毫无变化。由此联想到 Kolthoff 所测定的其他二个季胺碱,可塔宁 (cortarnine) 和北美黄连碱 (hydrastinine) 的 pK_b 的数值,也是值得加以从新考虑的了。

氯化小蘗碱在乙醇中的吸收光谱的波形和在水溶液中完全相同 (见图 1), 仅各吸收峰均约略向长波方向移动 (230, 266, 249, 432 毫微米)。从图 4 中各吸收光谱曲线来看,可知其离子浓度的变化和在水液中相似,不过变化较大而已。而且在一定的碱浓度下,离子可以完全消失。按上述方法计算,其 pK_a 为 13.05, 比在水溶液中低得多。试验是在空气中进行的,可能因吸收二氧化碳而影响 pH。酚的酸解常数 (K_a) 也是很近似的。故这个 pK_a 值仅表示在这些条件下所测得的近似值而已。但可以说明小蘗碱在乙醇中较易转变成醇型分子。

中性硫酸小蘗碱 (B_2SO_4) 水溶液用氢氧化钡溶液处理后,成为氢氧化小蘗碱 B^+OH^- 水溶液,但仍然完全为离子状态存在 (见表 5)。可以设想,如把氢氧化小蘗碱水液加以浓缩, pH 必然升高,醇型分子也可以沉淀出来 (醇型分子在水中溶解度极小)。

由上述各种理由和实验可以充分证明小蘗碱本身是一个强电解质。但因为它是一个氮上具有双键的季胺型化合物,在一定条件下可转变成醇型分子。这种醇型化反应可拟似一般胺盐的酸解反应 (acid dissociation), 其平衡常数也就可以用 K_a 来表示了,所以这和小蘗碱为强电解质的结论并不矛盾。

可以得出结论,小蘗碱在体液条件下,不可能有醇型分子存在。所以 Burger^[6] 认为小蘗碱的抗菌作用可能是由其醇型分子所产生的设想,显然和事实完全不相符合。

小蘗碱既然是一个强电解质,其盐类的 pK_a 值也高。而且离子又相当大,看来是很难由扩散而透过各种生物膜的,故在胃肠道中是不易吸收的,其排泄必然也较快 (除非在胃

肠道中和某些有机阴离子结合成为复合物而具有脂溶性)。这些问题对其抗菌机制的研究以及在治疗和应用上均有参考价值。

致谢 实验所用的氯化小檗碱,系江贞仪同志所精制,谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Kolthoff, J. M.: *Biochem. Zeit.*, 1925, **162**, 346.
- [2] Merck, *Index*, 7th Ed, p. 143.
- [3] Skinner, B.: *J. Chem. Soc.*, 1950, 824.
- [4] Robison, R. A.: *Electrolyte Sol.*, 1959, p. 493.
- [5] Jaffé, H. H.: *Chemical Review*, 1953, **53**, 191.
- [6] Burger, A.: *J. Chem. Education*, 1956, **33**, 362.

STUDY ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF BERBERINE AS RELATED TO THE BIOLOGICAL EFFECTS

I. ACID DISSOCIATION CONSTANT

JOW SHIH-JEE AND CHA LIANG-CHUN

ABSTRACT

Although berberine had been used as an antibacterial, yet its physical and chemical properties responsible for the biological effects were not fully investigated. In this report, the Pka values of berberium chloride were determined spectrometrically both in water and in ethanol and were found to be 15.23 and 13.05 respectively. The Pka value in water is very different to that obtained by Kolthoff. Discussion is made from the view point of molecular structural theory and experimental data. Some suggestions concerning the relation between its basicity and biological effects, such as absorption, excretion etc, were presented.