

乌头碱水解的动力学研究

黄 坚 王新宏 吴艇艇

(上海中医学院中药系)

提要 本文报道在一定 pH 值条件下, 乌头碱水解为二个一级反应的连串反应。反应被氢氧根离子催化。两步水解反应速度常数均随介质 pH 值的降低而增大, 速度常数与 pH 呈抛物线关系。在碱性溶液中, 两步反应速度常数均随离子强度增大而逐渐减小, 反应呈较强的动力学盐效应。在中性和酸性溶液中, 盐效应很弱。在 pH 为 5.21, 6.95 和 8.01 时, 第一步和第二步反应的活化能分别为 104.0 ± 2.2 , 94.1 ± 0.8 , 73.9 ± 0.6 $\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 104.9 ± 1.3 , 83.8 ± 0.6 , 57.3 ± 0.4 $\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

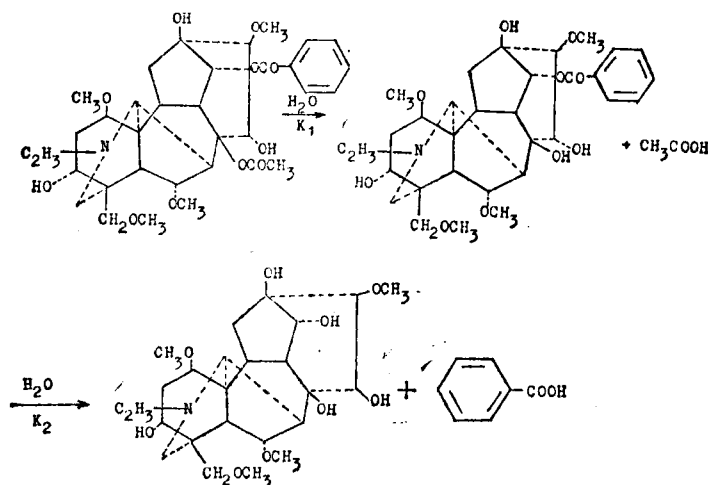
关键词 乌头碱, 水解动力学

乌头碱为存在于毛茛科乌头属植物的一种常见的含有二个酯基的生物碱, 具有抗炎、镇痛、局部麻醉和短暂的降压作用。但由于毒性大, 传统上需经蒸煮炮制以降低其毒性而供药用。乌头碱在水解过程中先失去乙酰基生成乙酸和苯甲酰乌头胺, 再继续水解失去苯甲酰基生成苯甲酸和乌头胺, 水解产物苯甲酰乌头胺和乌头胺的毒性显著下降⁽¹⁾。本文采用分光光度法测定纯品乌头碱水解过程中乌头碱和苯甲酸吸收度的变化, 应用计算机进行非线性最小二乘拟合, 以求得纯品乌头碱的水解动力学方程式。并就 pH、离子强度和温度对水解速度常数的影响进行了探讨。

实 验 部 分

(一) 实验方法的选择

乌头碱水解反应的方程式⁽¹⁾如下:



在 pH、离子强度和温度一定的条件下, 可假定它是由两个一级反应组成的连串反应, 其水解动力学方程式为:

本文于 1984 年 11 月 30 日收到

更正: 乌头碱水解反应方程式中 $\text{C}_2\text{H}_5-\text{N}$ 均应改为 $\text{C}_2\text{H}_6-\text{N}$

$$A = a \cdot \exp(k_1 t) \quad (1)$$

$$B = \frac{k_1 a [\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)]}{k_2 - k_1} \quad (2)$$

$$C = a \left[1 + \frac{k_1 \exp(-k_2 t) - k_2 \exp(-k_1 t)}{k_2 - k_1} \right] \quad (3)$$

式中

A: 乌头碱的瞬时浓度

B: 苯甲酰乌头胺的瞬时浓度

C: 苯甲酸的瞬时浓度

a: 乌头碱的初始浓度

由上述公式可看出, 测得一组 t 和 A 值可求得 k_1 , 测得一组 t 和 B 值或 t 和 C 值可求得 k_2 。本实验将水解混和物中苯甲酸和生物碱分离后, 选择性比色定量乌头碱^(2,3), 紫外分光光度法定量苯甲酸, 从而求解 k_1 和 k_2 。

(二) 仪器与试剂

岛津 UV-365 分光光度计, 751 G 分光光度计, 电热恒温水浴 ($\pm 0.1^\circ\text{C}$), WMZK-01 型温控器, 1/10 度温度计, PHS-3 型 pH 计, DJS-131 型电子计算机。

乌头碱标准品 (E Merck), 苯甲酸 (优级纯), 高氯酸、盐酸、盐酸羟胺、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钾和氯化钠均为分析纯。

试剂的配制

(1) 乌头碱标准溶液: 精确称取 250.0 mg 乌头碱, 溶于无水乙醇配制成 10.0 mg/ml 标准溶液。

(2) 缓冲溶液的配制: 按所需的 pH 值及离子强度, 取 0.1 M 磷酸二氢钾和 0.1 M 磷酸氢二钠按一定比例混合, 由计算机求出磷酸各体型的分配浓度、离子强度及需补充的氯化钠的量, 加入计算量的氯化钠即得。用上述方法可制备 pH 值 4~8 的各种缓冲溶液。pH 值小于 2.2 的缓冲溶液由 0.1 M 盐酸、0.1 M 氯化钾和氯化钠配制而成。

(三) 标准曲线

1. 乌头碱标准曲线: 按文献(2)操作。由计算机拟合得标准曲线方程如下:

$$C = 640.1 A + 0.4633$$

$$r = 0.9997$$

式中 A: 吸收度

C: 浓度 (μM)

2. 苯甲酸标准曲线 配制系列浓度苯甲酸水溶液 (0.1 M 盐酸溶液), 以 0.1 M 盐酸作参比, 在 $\lambda_{\text{max}} 230 \text{ nm}$ 处测定吸收度, 由计算机回归分析求标准曲线方程, 并将该方程存入机内备用。

标准曲线方程如下:

$$C = 82.93 A + 0.2377$$

$$r = 0.9998$$

(四) 乌头碱水解过程中乌头碱和苯甲酸浓度的测定

精密吸取 18.0 ml 缓冲液于 50 ml 圆底烧瓶中, 置于恒温水浴中恒温至要求的温度, 加入 2.00 ml 乌头碱标准溶液, 在一定温度下水解, 每隔一定时间吸取 2.00 ml 置 25 ml 分

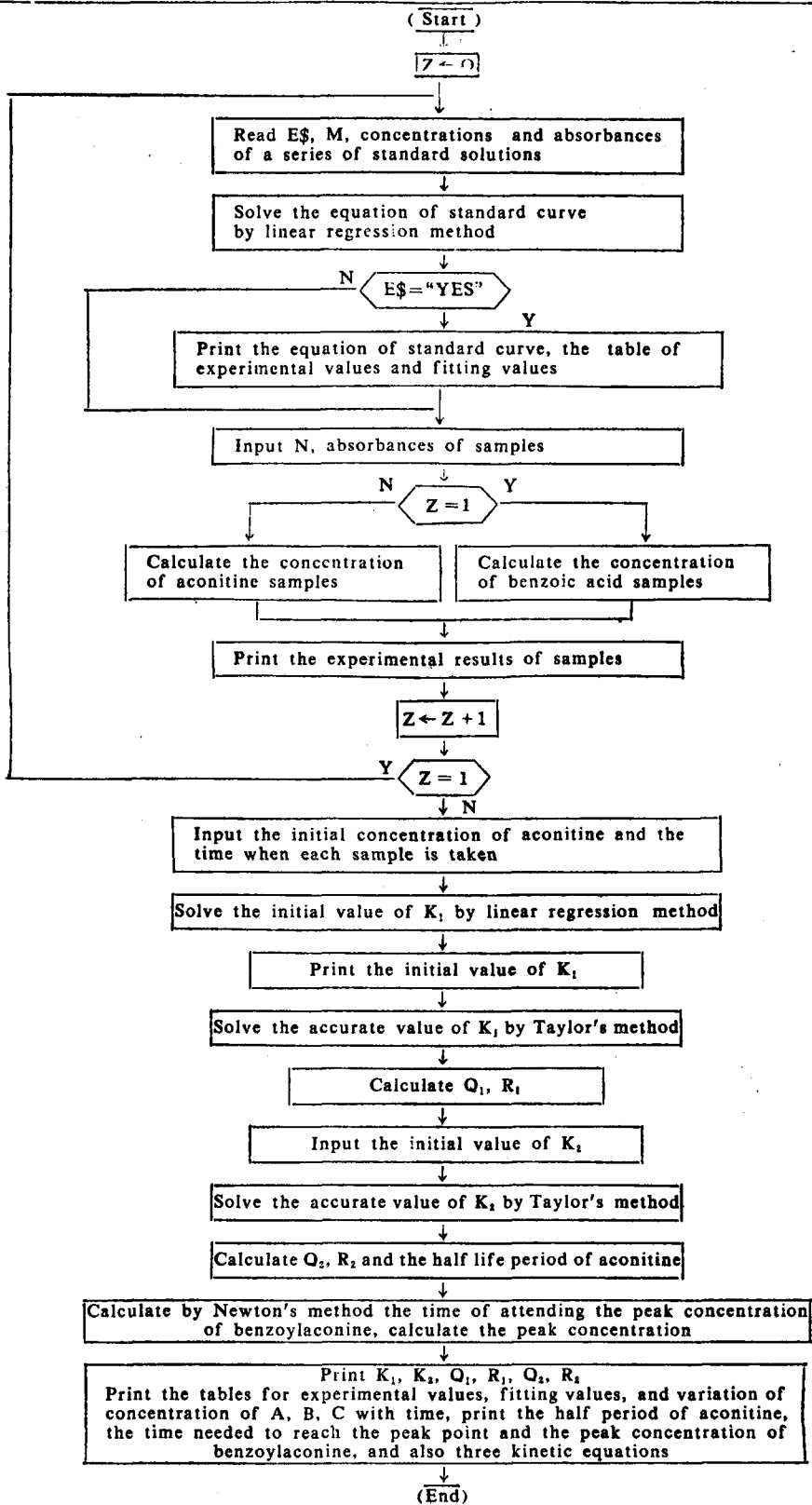


Fig 1. Flow chart for computer program

M—Number of standard samples; N—Number of samples; Q_1, Q_2 —Variance; R_1, R_2 —Goodness of fitting; A, B, C—Represent respectively the instantaneous concentrations for aconitine, benzoilaconine, and benzoic acid; K_1, K_2 —Rate constant

液漏斗中, 迅速冷却, 加入适量浓氨液至 pH 11, 用氯仿分六次萃取, 合并萃取液于 50 ml 三角烧瓶中, 在 40°C 真空干燥箱中减压蒸去氯仿, 加入 1 ml 无水乙醇溶解残渣, 然后按文献⁽²⁾操作。另取 2.00 ml 缓冲液置分液漏斗按上述步骤操作, 作为参比, 比色测定乌头碱。

上述萃取残留液定量转移到 25 ml 容量瓶中, 用浓盐酸调成酸性, 加入计算量盐酸 (1M), 用蒸馏水稀释至刻度, 溶液中盐酸浓度为 0.1 M 在 230 nm 处测定吸收度, 计算溶液中的苯甲酸量。

(五) 动力学方程式的求解

本文采用非线性最小二乘法求解上述一级连串反应的动力学方程式。数学方法从略, 程序框图见图 1。

运用上述方法求解 k_1 和 k_2 时, 只需分别将水解过程中每次取样所测得乌头碱和苯甲酸的吸收度和相应的时间以及乌头碱的初始浓度输入计算机中, 即可打印出全部动力学参数。

结 果 与 讨 论

1. 反应级数

在温度为 368 K、离子强度 $\mu=0.15$ 及不同 pH 条件下乌头碱水解, 测得乌头碱和苯甲酸的浓度变化如表 1。以乌头碱浓度的自然对数对时间作图如图 2。

Tab 1. Kinetic relation between time and concentration of aconitine and benzoic acid in pH 5.21, 8.03

pH	5.21						8.03					
Time (h)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	0.2	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5
Concentration of aconitine (μM)	272	245	207	180	168	144	192	88.3	49.2	29.2	16.6	7.24
Concentration of benzoic acid (μM)	1.24	4.58	10.1	16.2	24.1	32.9	23.1	99.8	156	207	239	266
Rate constant (s^{-1})	$k_1=7.06 \times 10^{-5}$			$k_2=3.76 \times 10^{-5}$			$k_1=6.64 \times 10^{-5}$			$k_2=6.06 \times 10^{-5}$		
Goodness of fit	$R_1=0.9953$			$R_2=0.9987$			$R_1=0.9993$			$R_2=0.9951$		

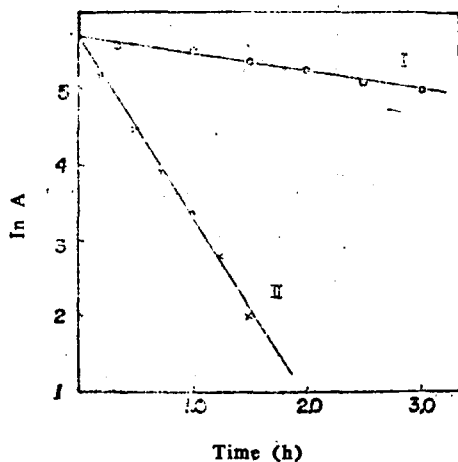


Fig 2. Correlation between logarithm concentration of aconitine and time I. pH 5.21; II. pH 8.03

由图 2 和表 1 可知, 乌头碱的水解符合一级反应。按一级连串反应动力学的数学模型所得到的 k_2 的拟合度很高, 说明苯甲酰乌头胺水解也是一级反应。由此可确定在 pH 一定的条件下, 乌头碱水解为一级连串反应, 原先假设成立。

2. 磷酸盐对速度常数的影响

在温度为 368 K, $\mu=0.5$, pH 4.72 及 8.05 条件下, 乌头碱在四种不同浓度的磷酸盐中的水解速度常数见表 2。

Tab 2. Correlation between concentration of phosphate and rate constant

Concentration of phosphate (M)	pH 4.72		pH 8.05	
	$k_1 \times 10^5 s^{-1}$	$k_2 \times 10^5 s^{-1}$	$k_1 \times 10^4 s^{-1}$	$k_2 \times 10^4 s^{-1}$
0.05	2.24	1.27	6.61	6.12
0.10	2.28	1.30	6.63	6.15
0.15	2.23	1.25	6.59	6.08
0.20	2.27	1.28	6.65	6.16

实验结果表明, 在 pH 相同的条件下, 磷酸盐浓度在 0.05~0.2 M 范围内, 两步反应的速度常数与磷酸盐的浓度无关。可认为, 乌头碱的水解不受磷酸盐的催化。

3. pH 值对速度常数的影响

在温度为 368 K, 离子强度 $\mu=0.15$ 条件下, 改变介质的 pH 得到一系列速度常数 k_1 和 k_2 如表 3。k 对 pH 作图得图 3。

Tab 3. The correlation between rate constant and acidity

pH	1.09	2.15	3.52	4.59	5.21	5.52	5.88	6.31	6.69	7.52	8.03
$k_1 10^5 (s^{-1})$	0.51	0.68	1.07	2.11	7.06	7.50	10.6	14.7	25.3	45.0	66.4
$k_2 10^5 (s^{-1})$	—	—	—	0.44	3.76	4.72	6.67	9.51	14.9	35.6	60.6

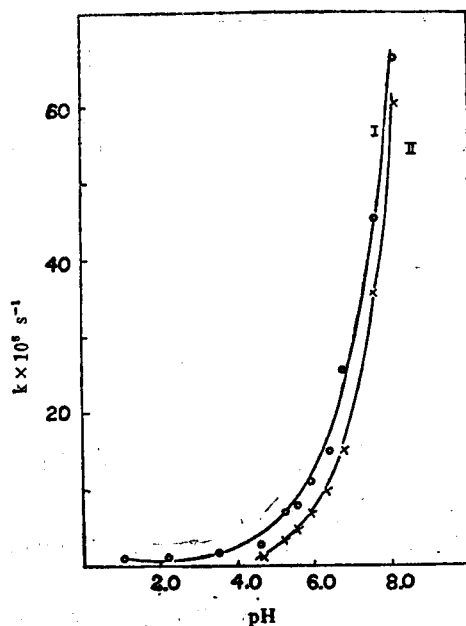


Fig 3. Correlation between rate constant and pH of solution
I. k_1 ; II. k_2

从图 3 可知, 介质 pH 对 k_1 和 k_2 均有显著影响。速度常数与 pH 之间呈抛物线关系。实验还表明, 在 $\text{pH} < 4$ 的溶液中, 第二步水解过程极其缓慢, 经长时间水解后, 溶液中苯甲酸的量亦甚微。

4. 离子强度对速度常数的影响

在温度为 368 K, pH 1.53, 6.84, 8.32 条件下, 选择五种不同离子强度对速度常数影响进行实验, 结果见表 4。绘制 $k - \sqrt{\mu}$ 曲线如图 4。从图 4 可知, 在碱性条件下, 随着离子强度增大, k_1 和 k_2 均逐渐减小, 氯化钠对乌头碱水解反应存在动力学盐效应。在近中性和酸性溶液中盐效应很弱。

Tab 4. Correlation between ionic strength and rate constant

μ	$\sqrt{\mu}$	pH 1.53	pH 6.84		pH 8.32	
		$k_1 \times 10^6 \text{s}^{-1}$	$k_1 \times 10^4 \text{s}^{-1}$	$k_2 \times 10^4 \text{s}^{-1}$	$k_1 \times 10^4 \text{s}^{-1}$	$k_2 \times 10^4 \text{s}^{-1}$
0.15	0.387	5.96	2.67	1.73	8.08	8.14
0.30	0.548	5.93	2.62	1.70	7.82	7.91
0.60	0.775	5.90	2.58	1.65	7.60	7.72
1.00	1.00	5.83	2.54	1.61	7.45	7.57
1.50	1.22	5.85	2.56	1.57	7.26	7.30

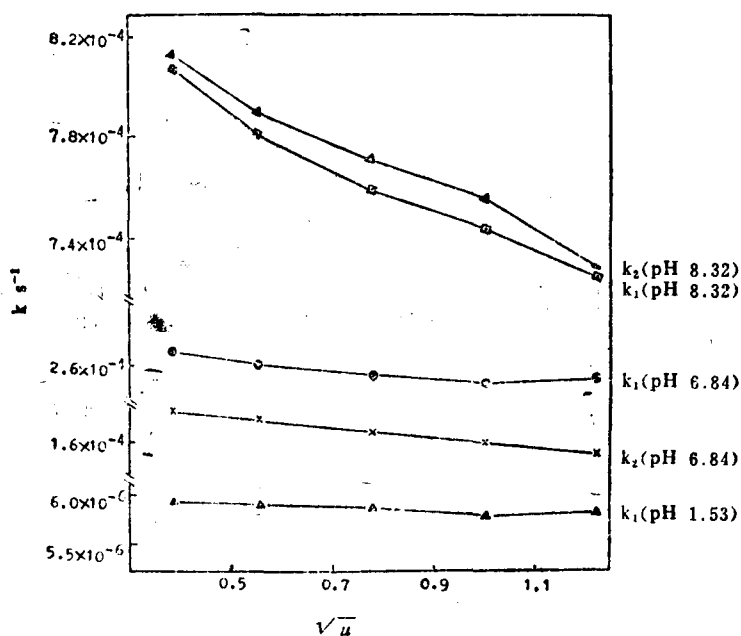


Fig 4. Correlation between rate constant and ionic strength

5. 反应活化能

将不同温度的乌头碱水解速度常数, 按 Arrhenius 关系式求一元线性回归, 然后求得反应活化能。表 5 列出三种不同 pH 的测定结果。

由表 5 可知, 随着介质 pH 的降低, 反应所需的活化能相应降低。

6. 反应机理

根据酯类水解机理和本实验结果可认为, 乌头碱的水解被氢氧根离子催化。其水解过程为: 给电子的氢氧根离子进攻羰基碳原子, 生成一个中间活化分子, 后者接着为水分子

Tab 5. Correlation between rate constant and temperature

pH	5.21		6.95		8.01	
	$k_1 \cdot 10^6 (s^{-1})$	$k_2 \cdot 10^6 (s^{-1})$	$k_1 \cdot 10^6 (s^{-1})$	$k_2 \cdot 10^6 (s^{-1})$	$k_1 \cdot 10^6 (s^{-1})$	$k_2 \cdot 10^6 (s^{-1})$
Temperature (K)						
353	1.76±0.08	0.85±0.09	7.51±0.49	5.00±0.28	24.1±1.9	24.6±1.8
358	2.83±0.17	1.45±0.10	12.3±0.70	7.69±0.41	36.9±1.7	29.7±2.3
363	4.67±0.31	2.27±0.13	17.9±1.1	10.8±0.70	48.9±2.9	42.2±2.1
368	7.32±0.49	3.75±0.27	28.1±1.9	16.7±0.92	71.5±3.7	51.2±3.3
371	9.81±0.56	4.81±0.39	36.1±2.8	19.7±1.1	81.8±5.1	60.0±4.5
Activation energy (kJ/mol)	104.0±2.2	104.9±1.3	94.1±0.8	83.8±0.6	73.9±0.6	57.3±0.4

Note: $\mu=0.1$

所分解。

7. 分析方法的讨论

乌头碱水解产物为混合物。其中乌头碱和苯甲酰乌头胺 λ_{max}^{EtOH} 均为 230 nm, 乌头碱无共轭双键, $\lambda > 220$ nm 无吸收, 而乙酸 $\lambda_{max}^{H_2O} = 203$ nm, $\log \epsilon = 1.58$, 苯甲酸 $\lambda_{max}^{H_2O} = 230$ nm, $\log \epsilon = 4.0^{(4)}$ 。从上述光谱数据可知, 不加分离就无法直接用分光光度法测定各物质的含量。本文先将生物碱与苯甲酸彼此分离, 生物碱混合物中用改良的异羟肟酸反应—高氯酸铁显色, 以选择性测定溶液中的乌头碱, 而苯甲酸则用紫外分光光度法定量。本法乌头碱和苯甲酸的回收率分别为 98.5% 和 98.7%, 故本实验所选用的分析方法是可靠的。

参 考 文 献

1. 北京医学院、北京中医学院主编. 中草药成分化学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1980: 158~163.
2. 钱忠直. 乌头及其炮制品, 制剂中剧毒成分 aconitine 等含量测定的研究. 中草药 1982; 13: 495.
3. Mohamed S, et al. Selective estimation of aconine and benzoilaconine. *J Pharm Sci* 1977; 66: 1331.
4. Robert CW. *Handbook of Chemistry and Physics*. 58 th ed. Cleveland: Chemical Rubber Company Press, 1978: C 102.

STUDY ON THE HYDROLYTIC KINETIC OF ACONITINE

HUANG Jian, WANG Xin-Hong and WU Ting-Ting

(Shanghai College of Traditional Chinese Medicine, Shanghai)

ABSTRACT Under the condition of constant acidity, it has been shown that the hydrolysis of aconitine is a consecutive first-order reaction containing two successive steps. The rate constants of both steps increase with decrease of acidity. The pH dependence of rate constant is plotted as a parabolic curve. The reaction is catalyzed by the OH^- ion. In basic solution, the rate constants of both steps gradually decrease with increase of ionic strength, and under this condition the reaction appears greater kinetic salt effect. However, in neutral and acidic solution, the kinetic salt effect becomes very weak. The energy of activation of these two reaction steps at pH 5.21, 6.95, and 8.01 is 104.0 ± 2.2 , 94.1 ± 0.8 and 73.9 ± 0.6 kJ/mol, respectively, for the first step, and 104.9 ± 1.3 , 83.8 ± 0.6 and 57.3 ± 0.4 kJ/mol, respectively, for the second step.

Key word Aconitine; Hydrolytic kinetic