

## 水飞蓟宾构象的理论研究

徐为人<sup>1,2</sup>, 刘成卜<sup>1\*</sup>, 王建武<sup>1</sup>

(1. 山东大学化学与化工学院, 山东 济南 250100; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

**摘要:** 目的 水飞蓟宾 *RRRR* 对映体分子中存在多个可变的二面角, 可以产生许多立体构象, 旨在从理论上寻找其合理构象。方法 采用二面角系统搜索后, 结合 AM1 方法确定主要构象, 以 B3LYP/6-31G\* 方法优化构型后, 在 B3LYP/3-21G 水平计算了振动频率和热力学参数。结果 得到了各二面角的分布情况, 找出了主要的局部构象, 明确了 C9-C11 和 C18-C22 旋转主要引起分子构象变化, 4 种主要构象能量差异较小, 都有存在的可能性, 二面角 C19-C18-C22-C32 和 C8-C9-C11-C16 变化的能量曲线表明, C9-C11 旋转的能垒很小, 受 C19 的羟甲基影响, C18-C22 旋转能垒较大。结论 水飞蓟宾 *RRRR* 对映体主要以 4 种构象的形式存在。

**关键词:** 水飞蓟宾; 构象搜索; 密度泛函方法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)04-0375-04

### Theoretical study on conformation of silybinin

XU Wei-ren<sup>1,2</sup>, LU Cheng-bu<sup>1</sup>, WANG Jian-wu<sup>1</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China;

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

**Key words:** silybinin; conformation search; density function theory (DFT)

水飞蓟宾 (silybinin, silybin) 是菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* Gaertn. 果实中的一种黄酮成分, 具有保肝、降血脂、抗氧化等诸多药理活性, 是世界公认疗效确切的保肝药物。但由于难溶于水, 口服生物利用度很低, 实验上采用了多种方法增加其体内的吸收程度, 如成盐、 $\beta$ 环糊精包合、脂质体、卵磷脂复合等, 目前的研究还层出不穷<sup>[1-4]</sup>。随着分子模拟方法发展和计算机能力的提高, 水飞蓟宾与各种辅料相互作用的理论模拟已有一定的可行性, 可帮助寻找更合理的药物处理方法, 以增加人体的吸收。但在开展理论模拟之前, 无法回避水飞蓟宾真实构象的问题, 不同的构象可能具有完全不同的生物性质。因此, 首先开展了其构象的研究。文献报道, 水飞蓟宾由一对光学对映体 *RRRR*-enantiomer 和 *RRSS*-enantiomer 组成<sup>[5,6]</sup>, 结构式见图 1, 由于光学对映体在对应的位置是对称的, 故以其中一个对映体 *RRRR* 对映体进行研究。

#### 1 计算方法

1.1 构象搜索: 以 Hyperchem 软件的 Conformational search 模块, 采用 MM 力场, 对二面角 C8-C9-C11-C16, C19-C18-C22-C32, C29-C30-O35-

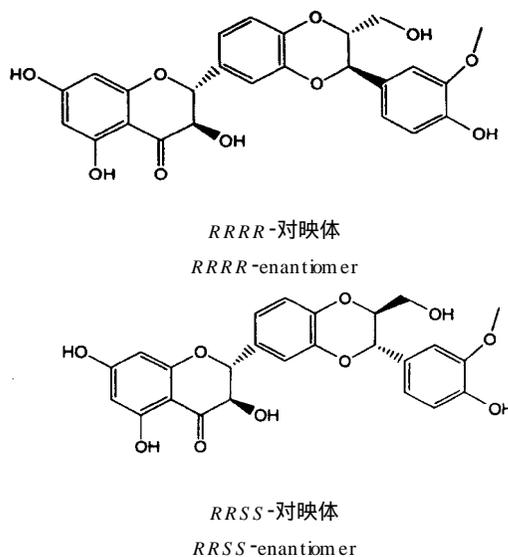


图 1 水飞蓟宾的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of silybinin

H57, C2-C1-O24-H48, C2-C3-O25-H49, C32-C31-C33-C34, C7-C8-O23-H47 和 O20-C19-C21-O27 进行系统搜索, 接受在最低能量 6 kcal/mol 以内的构象, 并统计了所有接受构象的二面角分布。

1.2 分子构象的优化: 取 40 个低能构象, 分子以半经验法 AM1 初步优化, 发现主要存在两类构象, 一

收稿日期: 2003-08-12

作者简介: 徐为人 (1965-), 男, 江苏吴江人, 天津药物研究院研究员, 山东大学化学与化工学院博士研究生, 主要从事抗菌药物的结构设计和活性评价工作。 Tel: (022)23003529 Fax: (022)23006861 E-mail: xwr@tj.cnuninet.net

\* 通讯作者 Tel: (0531)8361398 Fax: (0531)8367764 E-mail: cblu@sdu.edu.cn

类是由 C9-C11 和 C18-C22 旋转引起的环的翻转,变化很大,另一类是环上的羟基、甲氧基或羟甲基在局部的变化,由于氢键的存在,这些局部构象只存在一种明显的低能构象,因此主要有 4 种构象存在。以 Gaussian98 软件分别在 B3LYP/3-21G 和 B3LYP/6-31G 两个水平对 4 种构象进行了优化,采用软件默认的收敛标准(Medium)。

1.3 分子转动的计算:为了考察分子中三部分环之间 C9-C11 和 C18-C22 两个单键的旋转情况,以上步优化的结构为起点,分别考察了单键旋转 360° 的能量变化,间隔为 30°。计算是以 Gaussian98 软件在 B3LYP/6-31G 水平上进行。

1.4 分子振动分析:以 Gaussian98 软件在 B3LYP/6-31G 水平优化结构的基础上,采用 B3LYP/3-21G 水平计算了各分子构象的振动和热力学参数,并经零点振动能校正能量  $E_0$  和经温度校正的内能(U)、焓(H)、自由能(G)。在平衡状态下,4 种主要的构象之间是两两平衡的,可以通过热力学方程:  $\Delta G^0 = -RT \ln K_p$  ( $K_p$  为平衡常数)计算各种构象之间的相对比例,如果忽略其他构象的概率,则根据它们之间的相对比例可以计算各自的概率。

## 2 结果

2.1 低能构象的搜索结果:采用系统搜索法,共搜索到了 416 个构象,其能量与最低能量构象相差 6 kcal/mol 以内。对二面角的分布情况统计的结果见表 1。相联在 C1, C3, C30 羟基对应的二面角 C2-C1-O24-H48, C2-C3-O25-H49 和 C29-C30-O35-H57 分别出现与苯环共平面的 2 个分布, C8 位的羟基对应的二面角 C7-C8-O23-H47 受所在环活动的影响,可以出现在 3 个位置, C19 的羟甲基和 C31 甲氧基对应的二面角 O17-C18-C19-O20 和 C7-C8-C9-O10 都有三个分布存在,三部分环状结构之间存在两个转动的单键 C9-C11 和 C18-C22, 它们的转动各形成 2 个分布,考虑上面所有分布的排列组合,应该存在 864 种构象。但仔细分析可以发现,除了三部分环状结构之间的转动,其他的二面角变化都只能引起局部的构象变化,影响范围较少,在低能构象的基础上,分别改变局部结构,以半经验法 AM1 优化,发现只有一种局部构象组合能量最低,这样得到了三部分环状结构之间转动形成的 4 种主导构象。

2.2 各种构象的优化:为了更准确地计算构象,进一步以密度泛函方法 B3LYP 在 3-21G 和 6-31G 水平上优化了该 4 种构象的构型(见图 2),每种构象对应的键长和键角没有变化, H47-H49 的距离

表 1 水飞蓟宾 RRRR 异构体构象搜索的结果

Table 1 Conformational searching results of silybin RRRR isomer

二面角	分布 1		分布 2		分布 3	
	角度/ (°)	概率/ (%)	角度/ (°)	概率/ (%)	角度/ (°)	概率/ (%)
C8-C9-C11-C16	76.2	46.9	-103.6	53.1	-	-
C19-C18-C22-C32	73.6	52.6	-105.9	47.4	-	-
C2-C1-O24-H48	179.9	50.5	-0.2	49.5	-	-
C2-C3-O25-H49	171.7	53.4	-0.7	46.6	-	-
C7-C8-O23-H47	170.1	29.1	67.5	36.1	-62.8	34.9
C29-C30-O35-H57	176.0	58.2	0.0	41.8	-	-
C32-C31-O33-C34	156.1	33.7	0.5	56.0	-128.2	10.3
O20-C19-C21-O27	173.0	32.7	60.8	33.9	-56.2	33.4

及二面角 C8-C9-C11-C16, C19-C18-C22-C32, O20-C19-C21-O27 和 C32-C31-O33-C34 的数据见表 2。4 种构象中, H47-H49 两个羟基质子之间的距离比较稳定,在 0.38~0.382 nm 范围。O26 在它们二者之间,与它们分别形成分子内氢键。另外, O23 与 H50, O33 与 H57 之间也形成了分子内氢键,由于分子内氢键的存在使得体系的能量明显下降,相应的羟基得以固定,处在比较合理的位置。二面角 C32-C31-O33-C34 接近 0°;表明 C31 位的甲氧基与相邻的苯环共平面,处在合理的空间。O20-C19-C21-O27 为约 56°,说明羟乙基与相邻的环不在一个平面,由于其羟基上的质子 H50 能与 O23 形成氢键,该羟乙基所处的位置也是能量比较低的。DFT 的计算结果支持了上面 AM1 方法局部优化的结果。

表 2 水飞蓟宾异构体的不同构象的主要二面角和氢键相关的原子间距离

Table 2 Dihedral angles and atom distances for relevant hydrogen bond of different conformations of silybin RRRR isomer

	RRRR-1	RRRR-2	RRRR-3	RRRR-4
H47-H49/nm	0.381	0.381	0.381	0.381
O23-H50/nm	0.224	0.225	0.225	0.224
O33-H57/nm	0.208	0.207	0.207	0.208
C8-C9-C22-C32/(°)	85.9	90.2	-85.0	-86.2
C19-C18-C22-C32/(°)	-105.5	74.7	74.1	-104.6
O20-C19-C21-O27/(°)	56.0	56.4	56.6	56.1
C32-C31-O33-C34/(°)	-0.3	0.6	0.3	0.4

二面角 C8-C9-C11-C16 和 C19-C18-C22-C32 的旋转分别可以形成 2 种比较稳定的存在状态, 2 种状态之间二面角几乎差 180°; 它们的组合使 RRRR 对映体分别存在 4 种构象具体的几何构型。从其能量(表 3)来看,由于差异较小,这 4 种构象都有可能存在。

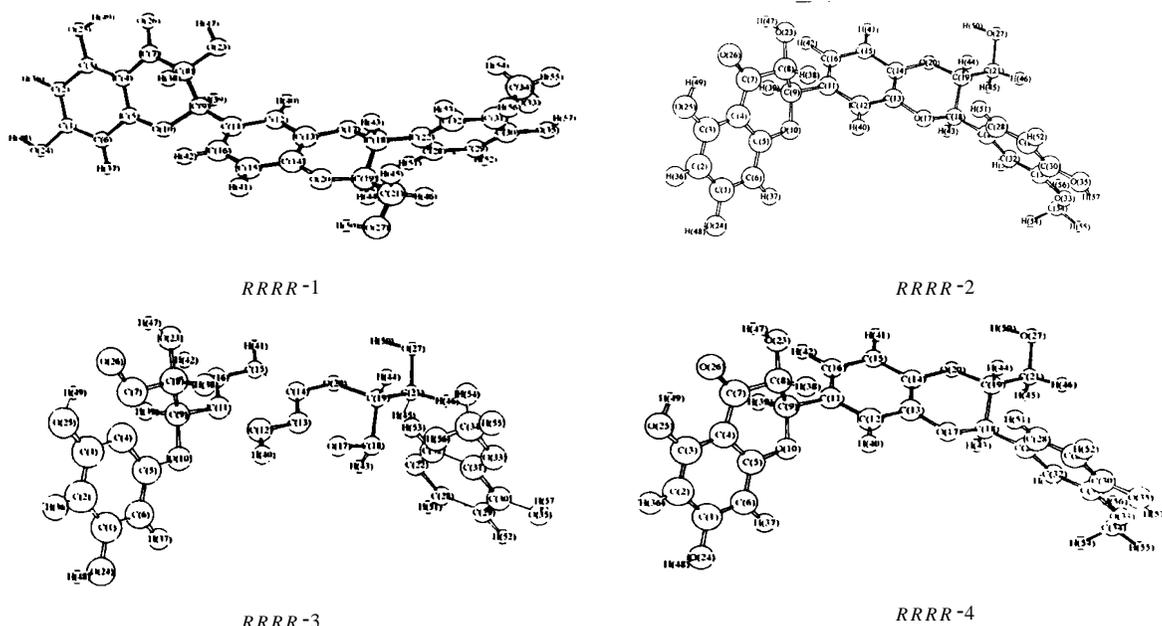


图 2 水飞蓟宾 RRRR 异构体的原子标号

Fig. 2 Atomic labels of silybin RRRR isomer

表 3 水飞蓟宾异构体的不同构象的能量和热力学参数 (B3LYP/3-21G)

Table 3 Energies and thermodynamics parameters of different conformation of silybin RRRR isomer (B3LYP/3-21G)

构象	E	U	H	G	相对概率/%
RRRR-1	- 1 708. 209 76	- 1 708. 184 95	- 1 708. 184 00	- 1 708. 263 83	5. 4
RRRR-2	- 1 708. 211 53	- 1 708. 186 74	- 1 708. 185 80	- 1 708. 265 63	36. 5
RRRR-3	- 1 708. 211 91	- 1 708. 187 17	- 1 708. 186 23	- 1 708. 265 85	46. 0
RRRR-4	- 1 708. 210 53	- 1 708. 185 76	- 1 708. 184 81	- 1 708. 264 59	12. 1

2.3 构象间转换的能量分析: 图 3 中的 4 条曲线分别代表了以不同构象为起点, 旋转某个二面角的能量变化曲线。为了简化计算, 旋转二面角 C8-C9-C11-C16 时, 固定二面角 C19-C18-C22-C32 在 75° 或 -105° 2 种状态; 同样, 旋转二面角 C19-C18-C22-C32 时, 固定二面角 C8-C9-C11-C16 在 86° 或 -86° 2 种状态。结果表明, 旋转二面角 C8-C9-C11-C16 所需的能量很低, 不管二面角 C19-C18-C22-C32 在 75 还是 -105°; 能垒在 5 kcal/mol 以内。而旋转二面角 C19-C18-C22-C32 时, 由于 C19 上的羟乙基的影响, 旋转一周, 分别在 60 和 240 附近存在大于 20 kcal/mol 的能垒, C8-C9-C11-C16 所处的位置没有影响。推测在正常溶液或气态下二面角 C8-C9-C11-C16 可以旋转。

2.4 各种构象的热力学分析: 为了进一步考察各种构象存在的可能性, 在 DFT (B3LYP/6-31G\*) 方法优化结构的基础上, 以 B3LYP/3-21G\* 水平计算了各构型的振动频率, 得到了热力学参数 (表 2), RRRR 对映体以第 3 种构象为主存在, 二面角 C19-C18-C22-C32 和 C8-C9-C11-C16 分别为 74.1 和 -85°; 存在的概率约 46%。

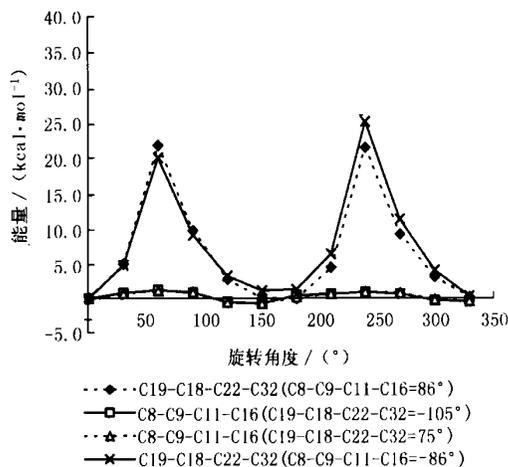


图 3 二面角旋转对能量的影响

Fig. 3 Influence of dihedral angles rotation on energies

### 3 结论

采用二面角搜索的方法得到了各二面角的分布情况, 以 AM1 比较了局部的构象变化的能量情况, 固定了局部构象, 得到了水飞蓟宾 RRRR 对映体中由环之间单键旋转引起的 4 种主要构象, 进一步以密度泛函方法在 B3LYP/6-31G\* 水平上优化了构型, 它们的差异较小, 都有可能存在, 最主要构象的

二面角 C19-C18-C22-C32 和 C8-C9-C1-C16 分别为 74.1 和 -85°。

#### References

- [1] Schriewer H, Rauen H M. The effect of silymarin-N-methylglucamine salt and silybin-dihemisuccinate on (1-<sup>14</sup>C)-acetate incorporation in rat liver lipids [J]. *Arzneimittelforsch*, 1976, 26(2): 235-238.
- [2] Barzaghi N, Crema F, Gatti G, et al. Pharmacokinetic studies on IdB 1016, a silybin-phosphatidylcholine complex, in healthy human subjects [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacol*, 1990, 15(4): 333-338.
- [3] Arcari M, Brambilla A, Brandt A, et al. A new inclusion complex of silybin and beta-cyclodextrins: *in vitro* dissolution kinetics and *in vivo* absorption in comparison with traditional formulations [J]. *Boll Chim Farm*, 1992, 131(5): 205-209.
- [4] Maheshwari H, Agarwal R, Patil C, et al. Preparation and pharmacological evaluation of silybin liposomes [J]. *Arzneimittelforsch*, 2003, 53(6): 420-427.
- [5] Arnone A, Merlini L, Zanarotti A. Constituents of *Silybum marianum*. Structure of isosilybin and stereochemistry of silybin [J]. *J Chem Soc Chem Commun*, 1979, 16: 696-697.
- [6] Lotter H, Wagner H. Stereochemistry of silybin [J]. *Z Naturforsch C*, 1983, 38C(5-6): 339-341.

## 刺异叶花椒根中木脂素类成分

陶朝阳<sup>1</sup>, 陈万生<sup>1\*</sup>, 张卫东<sup>2</sup>, 孙连娜<sup>1</sup>, 郑水庆<sup>1</sup>, 乔传卓<sup>1</sup>

(1. 第二军医大学药学院 生药学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院 天然药物化学教研室, 上海 200433)

芸香科植物刺异叶花椒 *Zanthoxylum dimorphophyllum* Hemsl. var. *spiniifolium* Rehd. et Wils 的根或根皮, 称为见血飞、散血飞、黄椒、刺三加等。具有祛风散寒、活血舒筋、镇痛的功效<sup>[1]</sup>。为了更好地阐明其化学成分, 笔者对刺异叶花椒进行了系统的化学成分研究, 现报道其根中 5 个木脂素类化合物的分离和鉴定结果。

### 1 仪器与材料

ZMD83-1 型电热熔点测定仪, Hitachi 275-50P 红外分析仪, Varian MAT-212 型质谱仪, Bruker-spekospin AC-300P 型核磁共振仪 (300 MHz), 低压硅胶柱色谱硅胶和 HPTLC 板为青岛海洋化工厂生产。刺异叶花椒于 1998 年 11 月采自贵州省关岭县, 经第二军医大学药学院生药学教研室乔传卓教授鉴定为芸香科植物刺异叶花椒 *Z. dimorphophyllum* Hemsl. var. *spiniifolium* Rehd. et Wils。

### 2 提取与分离

取刺异叶花椒干燥根 18 kg 粉碎, 85% 乙醇冷浸, 得浸膏 1 900 g, 以硅藻土拌样, 依次用石油醚, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc 及 *n*-BuOH 洗脱, 取 CHCl<sub>3</sub> 部分浸膏 102 g, 进行反复低压柱色谱分离, 用石油醚-丙酮 (30/1~1/1) 梯度洗脱, 得化合物 I (130 mg), II

(63 mg), III (18 mg), IV (20 mg), V (300 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 I: 无色针晶 (CHCl<sub>3</sub>), mp 120 ~ 121。分子式: C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>。光谱数据对照文献<sup>[2]</sup>, 化合物 I 鉴定为细辛素。

化合物 II: 无色针晶 (CHCl<sub>3</sub>), mp 122 ~ 123。分子式: C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>。光谱数据对照文献<sup>[2]</sup>, 化合物 II 鉴定为芝麻素。

化合物 III: 无色针晶 (CHCl<sub>3</sub>), mp 163 ~ 164。分子式: C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>。EIMS *m/z*: 356 (M<sup>+</sup>), 203, 178, 161, 149, 135, 131, 122。IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3 450, 2 860, 1 600, 1 510, 1 450, 1 040。<sup>1</sup>H-NMR (DM SO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  4.91 (1H, d, *J* = 6 Hz, H-7), 4.62 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7), 2.87~3.36 (2H, m, 8, H-8), 3.59~3.83 (2H, m, He-9, 9), 3.98~4.19 (3H, m, Ha-9, 9), 6.90~7.26 (6H, m, H-Ar), 5.98 (2H, s, -OCH<sub>2</sub>O), 3.90 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (DM SO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  148.5 (C-3), 148.4 (C-3), 147.6 (C-4), 147.5 (C-4), 136.5 (C-1), 130.4 (C-1), 120.0 (C-6), 119.8 (C-6), 116.5 (C-2), 110.8 (C-2), 108.5 (C-5), 107.0 (C-5), 101.5 (-OCH<sub>2</sub>O-), 88.0 (C-7), 82.4 (C-7), 71.5 (C-9), 70.0 (C-9), 55.5 (C-8), 50.6 (C-8), 56.0 (-OCH<sub>3</sub>)。对照文献<sup>[2]</sup>化合物 III 鉴

收稿日期: 2003-06-16

作者简介: 陶朝阳 (1973-), 男, 2002 年毕业于第二军医大学药学院, 生药学博士, 研究方向为中药活性成分研究。

\* 通讯作者