

文章编号: 1674-2869(2016)02-0103-06

振动圆二色谱法测定槐果碱的绝对构型和构象分布

蔡晓丽¹, 张越非¹, 余军霞¹, XU Yunjie², 池汝安¹

1. 武汉工程大学绿色化工过程省部共建教育部重点实验室, 湖北 武汉 430074;

2. Department of Chemistry, University of Alberta, Alberta, T6G 2G2, Canada

摘要: 采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR)和振动圆二色谱仪(VCD), 在氘代溶剂(CDCl₃和DMSO-d₆)中检测槐果碱的IR和VCD光谱. 运用密度泛函算法(DFT), 分别在极化连续介质模型(PCM)以及显示溶剂模型和隐式溶剂模型的结合模型(Explicit + PCM)中模拟优化, 得到槐果碱的两种构象异构体: C/D-cis和C/D-trans. 在B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算这两种构象异构体的理论IR和VCD光谱, 并与相应的实验光谱进行对比. 玻尔兹曼分布显示, 在不同溶液状态下, C/D-cis和C/D-trans均以一定比例共存. 其中, 在Explicit + PCM-CDCl₃模型中模拟优化后的计算结果与相应的实验结果(CDCl₃溶剂中检测的IR和VCD光谱)吻合度最高, 从而确定了槐果碱分子的绝对构型和构象分布.

关键词: 槐果碱; 傅里叶红外光谱; 振动圆二色谱; 密度泛函算法; 氘代氯仿; 氘代二甲亚砜; 绝对构型; 构象

中图分类号: O69

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2016.02.001

Absolute Configuration and Conformation of Sophocarpine by Vibrational Circular Dichroism

CAI Xiaoli¹, ZHANG Yuefei¹, YU Junxia¹, XU Yunjie², CHI Ru'an¹

1. Key Laboratory of Green Chemical Process (Wuhan Institute of Technology), Ministry of Education, Wuhan 430074, China;

2. Department of Chemistry, University of Alberta, Alberta T6G 2G2, Canada

Abstract: Fourier Transform Infrared Spectrometer(FTIR) and Vibrational Circular Dichroism (VCD) spectra of sophocarpine were measured in both deuterated chloroform and dimethyl sulfoxide-d₆ (CDCl₃ and DMSO-d₆) using FTIR equipped with a VCD module. Two conformers of sophocarpine: C/D-cis isomer and C/D-trans isomer (C/D-cis and C/D-trans) were obtained by simulating the spectra using the Density Functional Theory under the polarizable continuum model and the combination of explicit and implicit solvation model. In addition, theoretical FTIR and VCD spectra of the two conformers were calculated at B3LYP/6-311+G(d, p) level and compared with the experimental spectra. Boltzmann distribution shows that C/D-cis and C/D-trans coexist with a certain percentage at different solution conditions. Calculated results by using the combination of explicit and implicit solvation model show a good agreement with the corresponding experimental results best. Such an agreement allows the determination of absolute configuration and conformation of sophocarpine.

Keywords: sophocarpine; FTIR; VCD; DFT; CDCl₃; DMSO-d₆; absolute configuration; conformation

1 引言

槐果碱属于喹诺里西啉生物碱, 可从大量分

布于亚洲的苦豆子、苦参等天然产物提取而来. 槐果碱具有显著的药理作用, 临床上常用于治疗病毒性心肌炎和心律失常等, 具有广阔的应用前

收稿日期: 2016-02-21

基金项目: 国家自然科学基金(21006075)

作者简介: 蔡晓丽, 硕士研究生. E-mail: xiaolicai617@126.com

*通讯作者: 池汝安, 博士, 教授, 博士研究生导师. E-mail: rac@mail.wit.edu.cn

景. 近年来,关于槐果碱的研究主要集中于提取、分离和纯化^[1],以及药理学^[2]和药物代谢动力学^[3]等研究领域. 研究表明,槐果碱具有抗病毒、保肝、消炎、抗癌和抗肿瘤等药用价值. 立体结构的研究和确定能为其分子改造和新药开发提供依据. 2006年, Galasso^[4]等人曾预测,槐果碱无论是在固态还是溶液中都具有两种构象异构体共存,即:C/D-cis和C/D-trans,见图1,2,但当时它们并没有给出槐果碱的具体结构信息. 值得注意的是,符号“cis”(“trans”)表示C/D环的桥头N和H同侧(异侧). 到目前为止,X-射线衍射法已经应用于少数几种苦参型生物碱的立体结构研究,例如12 β -羟基槐果碱^[5]为C/D-trans,(5 α ,6 α ,7 α ,11 β)- Δ 13,14-水合槐果碱^[6]为C/D-cis. 本研究将联合应用振动圆二色谱和量子化学计算方法讨论槐果碱的绝对构型和构象分布.

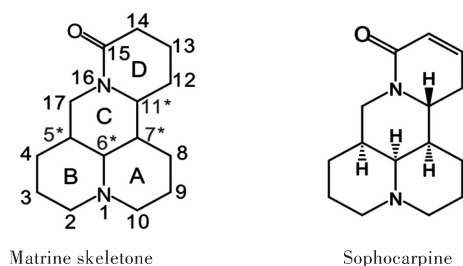


图1 苦参型生物碱骨架和槐果碱的化学结构, 手性中心用*标明

Fig. 1 Matrine-type alkaloids skeleton and the four stereogenic center labels of sophocarpine, the chiral center signed by *

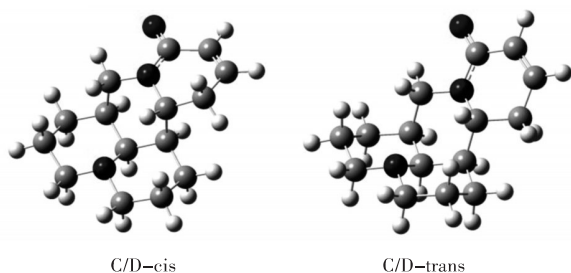


图2 两种构象异构体的几何结构:C/D-cis和C/D-trans

Fig. 2 Two conformers of sophocarpine:
C/D-cis and C/D-trans

随着傅里叶红外光谱的发展,振动光谱的测量范围逐步扩展为750~4 000 cm^{-1} ^[7]. 振动圆二色谱^[8](vibrational circular dichroism, VCD)是在红外光区测定手性分子的左、右圆偏振光. 然而,单纯地采用振动圆二色谱并不能直接获得分子的结构

信息,必须通过量子化学^[9]手段模拟分子的理论光谱,并对比理论与实验光谱,才能确定分子的结构. 本文主要采用振动圆二色谱(vibrational circular dichroism, VCD)以及密度泛函理论(density functional theory, DFT)确定槐果碱的绝对构型,并探讨分子间氢键的作用^[10].

实验中,分别在氘代氯仿(CDCl_3)和氘代二甲亚砜(DMSO-d_6)两种溶剂中测得槐果碱的红外光谱和振动圆二色谱. 相应的密度泛函计算也分别在极化连续介质模型(polarizable continuum model, PCM)以及显示溶剂模型和隐式溶剂模型的结合模型(combination of explicit and implicit solvation model, Explicit + PCM)中进行.

2 实验部分

2.1 实验方法

槐果碱(HPLC>98%)购买于成都必应生物技术有限公司(Chengdu Must Bio-Technology Co., Ltd). 氘代二甲亚砜(DMSO-d_6)和氘代氯仿(CDCl_3)购买于Sigma Aldrich. Bruker Vertex 70型分光仪和PMA 50组件用于红外光谱和振动圆二色谱的测量. 在整个测量过程中光弹调制器均被设定于1 400 cm^{-1} . 信号分辨率为4 cm^{-1} . VCD光谱在单次扫描1 h、重复扫描3次(3 \times 1 h)的条件下,由液氮冷却MCT检测器获得. 本文中光谱频率范围为1 800~1 100 cm^{-1} .

液体样品制样时,溶液将被注入装有聚四氟乙烯垫片的 CaF_2 窗口,其中在氘代氯仿溶剂(CDCl_3)中质量浓度为10 mg/0.25 mL,采用0.1 mm的垫片,在氘代二甲亚砜溶剂(DMSO-d_6)中浓度为10 mg/0.5 mL,采用0.2 mm垫片. 溶液的浓度以及垫片的厚度均被反复试验优化,以保证红外光谱的吸光率在0.2~0.9之间. 本研究报道的红外光谱和振动圆二色谱均在同等条件下测量溶剂光谱并扣除溶剂背景.

2.2 计算方法

高斯09软件包^[11]被用于分子的几何优化、谐频计算以及在密度泛函算法(DFT)的B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算分子振动吸收光谱和振动圆二色谱的强度. 在劳伦兹线型半高宽4 cm^{-1} 的条件下优化分子振动吸收光谱和振动圆二色谱. 为考虑溶剂分子的潜在影响,全局立场半径积分方程被用于极化连续介质模型. 本研究中,比例常数0.97被用于优化理论光谱的频率.

3 结果与讨论

3.1 槐果碱的红外光谱和振动圆二色谱分别在两种溶剂中的实验

图1为苦参型生物碱的分子骨架和槐果碱的分子结构式. 槐果碱具有苦参碱型生物碱骨架,是由喹诺里西啶 A/B 环与喹诺里西啶酮 C/D 环结合形成,并具有四个手性中心 5S 6S 7S 11R. 图3显示了槐果碱分别在氘代氯仿、氘代二甲亚砜两种溶剂中测得的 IR 和 VCD 光谱. 很明显,在两种溶剂

中,红外光谱特征很相似. 除了 1650~1580 cm^{-1} 区域之间,也就是羰基振动区,溶剂 CDCl_3 中检测的分子振动峰更宽,并且相对于溶剂 DMSO-d_6 中检测的谱带有~4 cm^{-1} 的红移. 说明溶质与溶剂 CDCl_3 之间分子间氢键的存在. 为了更好的解释溶剂影响,采用极化连续介质模型(polarized continuum model, PCM),显示溶剂模型与隐式溶剂模型的结合模型(combination of explicit and implicit solvation model, Explicit + PCM)对分子进行模拟.

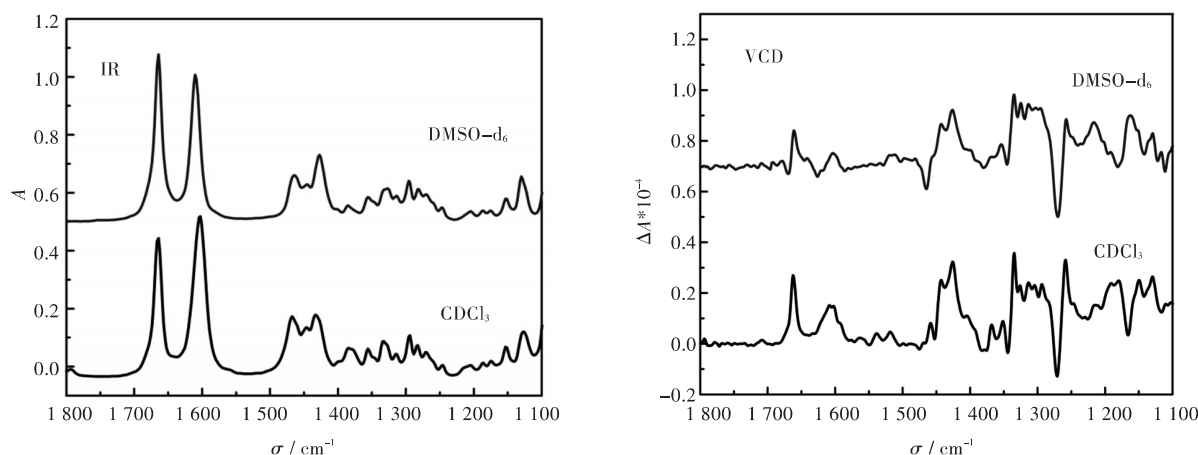


图3 槐果碱在 CDCl_3 和 DMSO-d_6 中的 IR 和 VCD 光谱对比图

Fig. 3 IR and VCD spectra measured in CDCl_3 and DMSO-d_6

3.2 槐果碱的两种构象异构体: C/D-cis 和 C/D-trans 的理论光谱

图2分别为在 PCM-DMSO、PCM- CDCl_3 和 Explicit + PCM- CDCl_3 这三种溶剂模型中模拟优化后得到的槐果碱的两种构象异构体: C/D-cis 和 C/D-trans. 这两种构象异构体的 A/B/C 环的构象一致,均为 A/B-trans、B/C-cis、A/C-cis,且 A-椅式、B-椅式、C-椅式、D-船式. 本文中,所有槐果碱的

理论计算均以这两种构象异构体为基础. 在 DFT/B3LYP/6-311+G(d, p) 水平上,在不同的溶剂模型中优化计算后,可分别得到两种构象异构体相应的理论光谱和能量. 在不同溶剂模型中,分别根据两种构象异构体的零点能和自由能进行玻尔兹曼分布,其结果列于表1. 由此,可以推测 C/D-cis 和 C/D-trans 在不同溶液中均以一定比例共存.

表1 两种构象异构体的相对零点能(ΔE)^a和相对自由能(ΔG)^a以及玻尔兹曼分布

Tab. 1 Relative energy of two conformers and the Boltzmann factors

conformer	PCM DMSO- d_6				PCM CDCl_3				explicit + PCM CDCl_3			
	ΔE	$P/\%$ ^b	ΔG	$P/\%$ ^c	ΔE	$P/\%$ ^b	ΔG	$P/\%$ ^c	ΔE	$P/\%$ ^b	ΔG	$P/\%$ ^c
C/D-cis	3.4	20	5.1	11	1.1	39	4.5	14	0.5	45	3.4	20
C/D-trans	0.0	80	0.0	89	0.0	61	0.0	86	0.0	55	0.0	80

注:^a 单位 kJ/mol .^b 基于零点能 ΔE 的玻尔兹曼分布; ($T=298.15\text{ K}$).^c 基于自由能 ΔG 的玻尔兹曼分布; ($T=298.15\text{ K}$)

图4为: 槐果碱在 DMSO-d_6 中测得的 IR 和 VCD 光谱与在 PCM-DMSO 模型中模拟的理论光谱对比图. VCD 光谱中,在 $\text{C}=\text{C}$ 双键伸缩振动和 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动区,顺式构象为+/+,而反式构象为-/-,在 1450~1350 cm^{-1} 之间的 $\text{C}-\text{H}$ 振动区,两

种构象异构体的理论光谱均与实验光谱差别较大. 在 DMSO-d_6 溶剂环境中, C/D-cis 和 C/D-trans 的理论 VCD 光谱均不能与实验光谱相符,说明槐果碱分子并不是以单一的构象存在于溶剂 DMSO-d_6 中.

图5为槐果碱在 CDCl_3 中测得的IR和VCD光谱与在PCM- CDCl_3 模型中模拟的理论光谱. VCD光谱中,在 $\text{C}=\text{C}$ 双键伸缩振动和 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动区,顺式构象为 $+/+$,而反式构象只显示一个负峰,另一个相应的峰极其微弱.在 $1450\sim 1350\text{ cm}^{-1}$ 之间的 $\text{C}-\text{H}$ 振动区,两种构象异构体的理论光谱均与实验光谱差别较大.

图6为槐果碱在 CDCl_3 中测得的IR和VCD光

谱与在Explicit + PCM- CDCl_3 模型中模拟的理论光谱. VCD光谱中,单一构象的VCD计算光谱与实验光谱不相符.图5-6表明,在 CDCl_3 溶剂环境中, C/D-cis 和 C/D-trans 的理论VCD光谱均不能与实验光谱相符,说明槐果碱分子并不是以单一的构象存在于溶剂 CDCl_3 中.

图4-6分别显示并对比了在 CDCl_3 和 DMSO-d_6 中检测的槐果碱的IR和VCD实验光谱

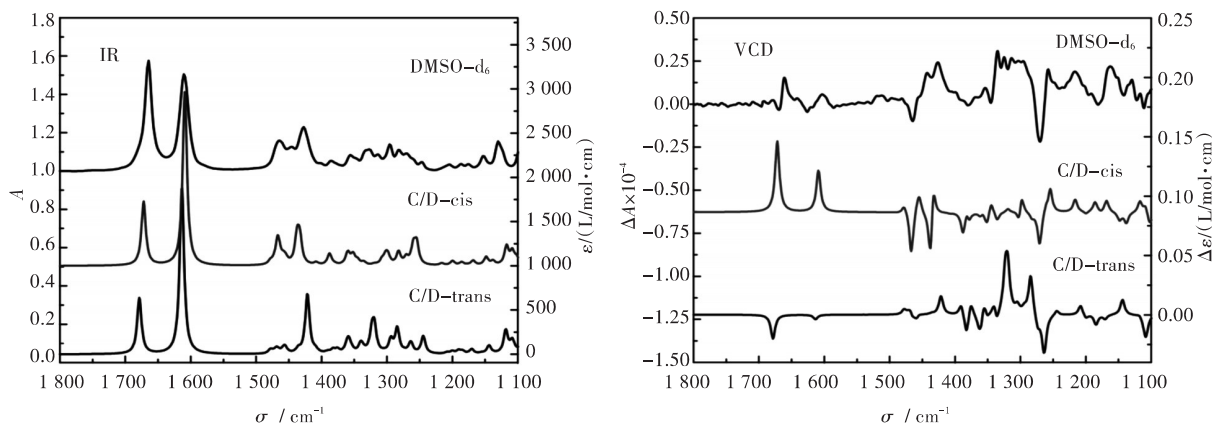


图4 槐果碱在 DMSO-d_6 中测得的IR和VCD光谱与在PCM- DMSO 模型中模拟的理论光谱对比图

Fig. 4 Comparison of IR and VCD spectra simulated in PCM- DMSO model and measured in DMSO-d_6

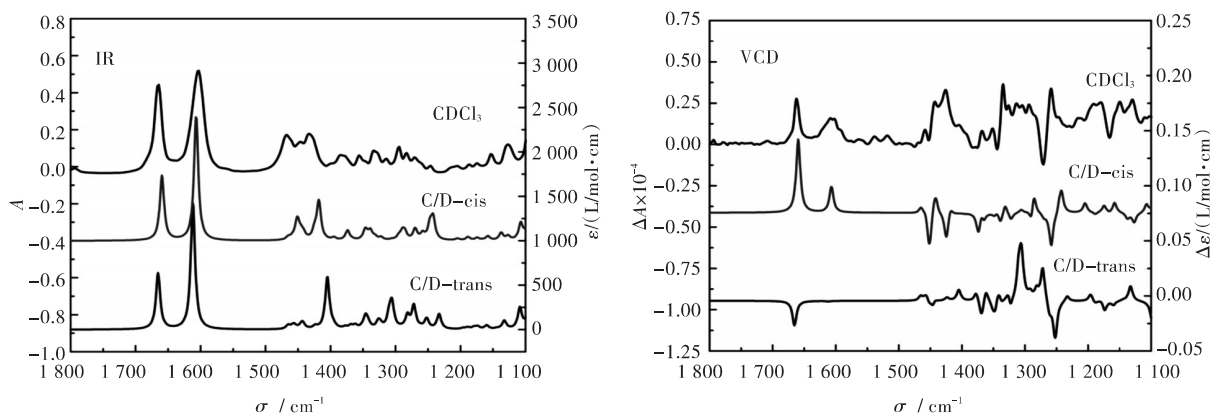


图5 槐果碱在 CDCl_3 中测得的IR和VCD光谱与在PCM- CDCl_3 模型中模拟的理论光谱对比图

Fig. 5 Comparison of IR and VCD spectra simulated in PCM- CDCl_3 model and measured in CDCl_3

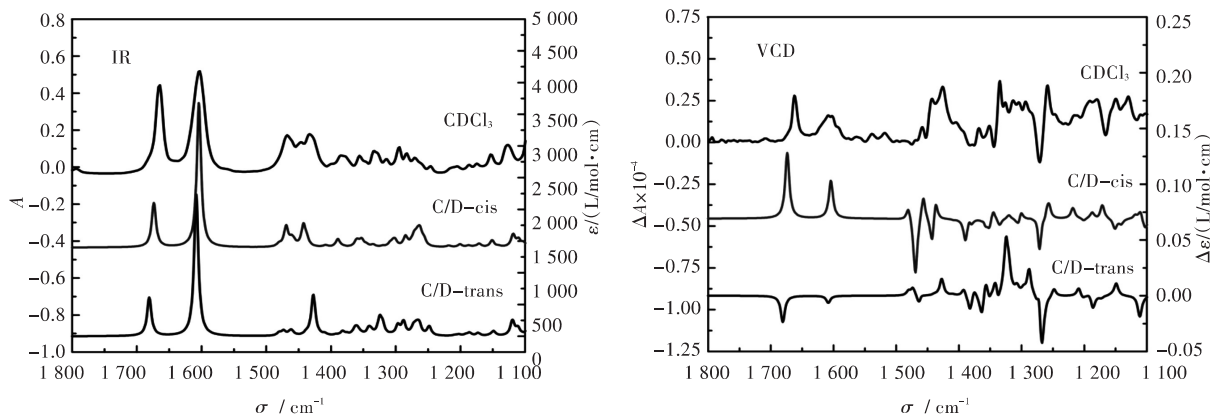


图6 槐果碱在 CDCl_3 中测得的IR和VCD光谱与在Explicit + PCM- CDCl_3 模型中模拟的理论光谱对比图

Fig. 6 Comparison of IR and VCD spectra simulated in Explicit + PCM- CDCl_3 model and measured in CDCl_3

中与在 PCM-DMSO、PCM-CDCl₃ 以及 Explicit + PCM-CDCl₃模型中模拟、B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算的槐果碱的两种构象异构体的理论光谱. 两种构象异构体的 IR 光谱在不同条件下的模拟计算结果均很相似,尤其是 1 700~1 600 cm⁻¹ 之间的 C=C 双键伸缩振动和 C=O 伸缩振动区,与实验光谱相符. 然而,两种构象异构体的 VCD 光谱差别较大. C/D-cis 和 C/D-trans 是槐果碱的两个构象异构体,由表 1 基于零点能和自由能的玻尔兹曼分布可以推测,两种构象异构体以一定比例共存. 对比两种构象异构体的玻尔兹曼权重图谱与相应的实验光谱,吻合度大大提高.

3.3 对比槐果碱的玻尔兹曼权重图谱与相应实验光谱

图 7 为在 DMSO-d₆ 中检测的槐果碱的 IR 和

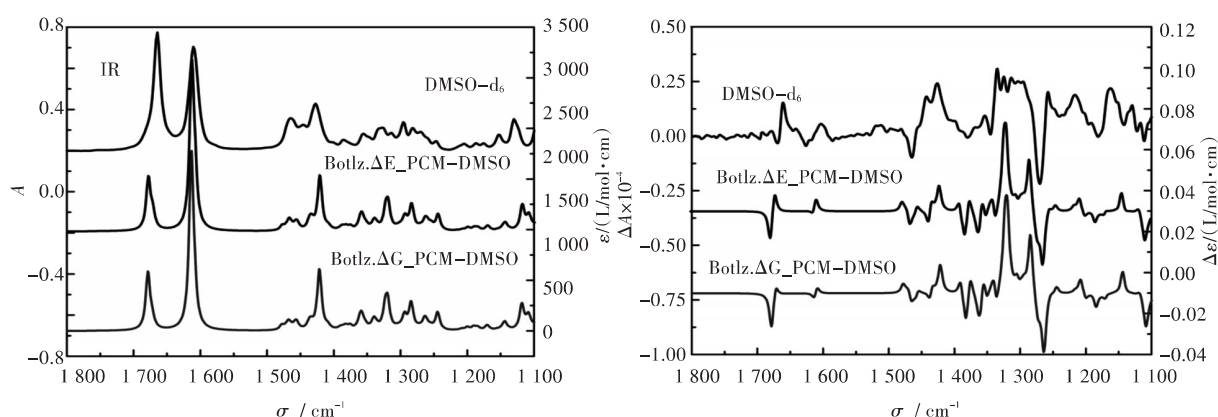


图 7 槐果碱在 DMSO-d₆ 中测得的 IR 和 VCD 光谱与在 PCM-DMSO 模型中的玻尔兹曼权重图谱对比图

Fig. 7 Comparison of the Boltzmann-weighted IR and VCD spectra simulated in PCM-DMSO model and measured in DMSO-d₆.

图 8 为在 CDCl₃ 中检测的槐果碱的 IR 和 VCD 实验光谱与在 PCM-CDCl₃ 和 Explicit + PCM-CDCl₃ 模型中模拟、B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算的槐果碱的两种构象异构体的玻尔兹曼权重图谱对比图. 两种模型中的理论红外光谱以及实验光谱基本相符,在 PCM-CDCl₃ 模型中,红外光谱在 ~1625 cm⁻¹ 处的 C=O 伸缩振动峰相对于实验峰有 ~20 cm⁻¹ 蓝移. 而在真实模拟氢键的 Explicit + PCM-CDCl₃ 模型中,其 C=O 伸缩振动峰则与实验峰吻合的较好. 说明在氘代氯仿溶剂中,溶剂与溶质形成分子间氢键. 相应的 VCD 光谱,在 1 700~1 600 cm⁻¹ 内,实验光谱为 +/+, 两种模型中的理论光谱亦为 +/+, 只是 PCM-CDCl₃ 模型中的理论 VCD 光谱相应于实验光谱,同样有 ~20 cm⁻¹ 蓝移. 在 1 500~1 375 cm⁻¹ 内,实验光谱为 +/+, PCM-CDCl₃ 模型中相应区域的两个正峰不明显,而 Explicit + PCM-CDCl₃ 模型中在相应区域内出现两个较弱的

VCD 实验光谱与在 PCM-DMSO 模型中模拟、B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算的槐果碱的两种构象异构体的玻尔兹曼权重图谱对比图. 两者的红外光谱非常相似. 在 VCD 光谱中,在 1 700~1 600 cm⁻¹ 内,实验光谱为 -/+/, 且在 -1 650 cm⁻¹ 的正峰旁有一处微弱的肩峰,相应区域内的理论光谱为 -/+/, 且没有蓝移. 在 1 500~1 375 cm⁻¹ 内,实验光谱为 -/+/-, 理论光谱为 -/+/-, 在 ~1460 cm⁻¹ 处多了一个较强的负峰. 在 1375~1 100 cm⁻¹ 内,理论与实验光谱基本相符. 相对于两种单一构象的理论光谱,玻尔兹曼权重图谱有效提高了理论与实验的相似度. 为了考察不同溶剂对槐果碱立体结构的影响,下面对比在另一种溶剂 CDCl₃ 中的实验光谱与相应的理论光谱.

正峰,与实验基本吻合.

对比基于零点能的玻尔兹曼权重图谱和基于自由能的玻尔兹曼权重图谱,前者与实验光谱更接近. 可见,在极化连续介质模型中真实模拟氢键,运用密度泛函理论在 B3LYP/6-311+G(d, p)水平上优化计算槐果碱的两种构象异构体 C/D-cis 和 C/D-trans,并基于零点能计算玻尔兹曼分布,其结果能较好的反应槐果碱的构型与构象分布.

4 结 语

槐果碱的两种构象异构体: C/D-cis 和 C/D-trans 在溶剂 DMSO-d₆ 和 CDCl₃ 中均以一定比例共存. 这两种构象异构体的 A/B/C 环结构相同,为 A/B-trans、B/C-cis、A/C-cis, A-椅式、B-椅式、C-椅式、D-船式. 四个手性中心为 5S 6S 7S 11R. 在两种溶剂中均能测得理想的 IR 和 VCD 光谱. 对比在溶剂模型:极化连续介质模型(polarized continuum

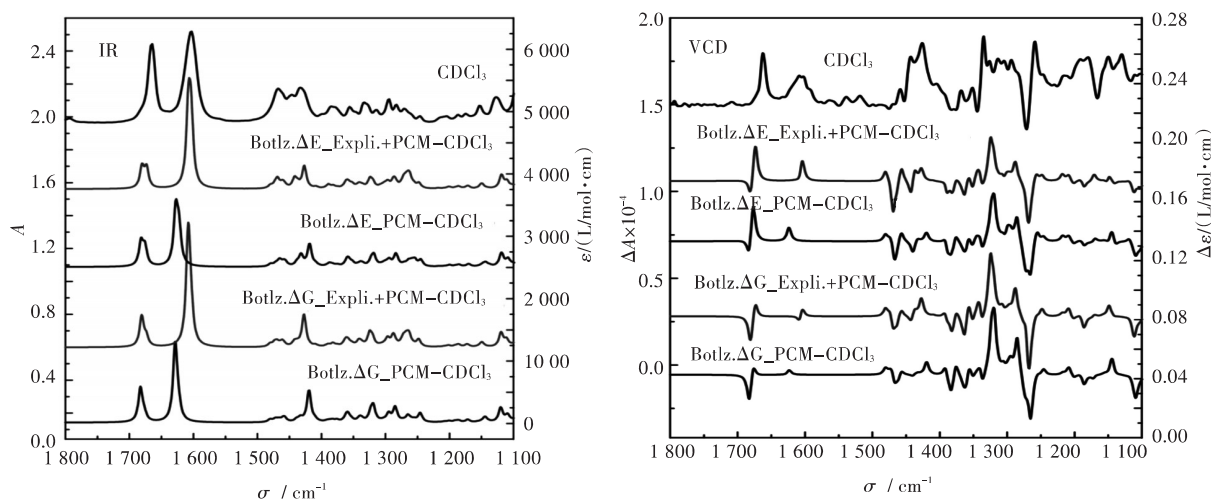


图8 槐果碱在 CDCl_3 中测得的IR和VCD光谱与在PCM- CDCl_3 和Explicit + PCM- CDCl_3 模型中的玻尔兹曼权重图谱对比图
Fig. 8 Comparison of the Boltzmann-weighted IR and VCD spectra simulated in PCM- CDCl_3 and Explicit + PCM- CDCl_3 model and measured in CDCl_3

model, PCM)以及显示溶剂模型和隐式溶剂模型的结合模型(combination of explicit and implicit solvation model, Explicit + PCM)中模拟优化,在B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算得到的理论光谱与相应的实验光谱,其中在Explicit + PCM- CDCl_3 模型中模拟优化后的两种构象异构体,在B3LYP/6-311+G(d, p)水平上计算,基于自由能进行玻尔兹曼权重的IR和VCD光谱,能更好的对应在 CDCl_3 环境下测得的IR和VCD光谱,其结果显示槐果碱的两种构象异构体C/D-cis和C/D-trans以45%:55%的比例共存。

致 谢

本研究得到了加拿大阿尔伯塔大学和加拿大自然科学与工程委员会的经费资助,同时得到了加拿大共享层次学术研究计算网络(Sharcnet)和加拿大西部研究网络(Westgrid)的技术支持,在此表示诚挚的感谢。

参考文献:

- [1] LI Y C. Study on extraction, separation and purification of alkaloids from sophra alopecuroides L [D]. Xinjiang: Xingjiang Agricultural University, 2009.
- [2] LI J, LI L, CHU H, et al. Oral sophocarpine protects rat heart against pressure overload-induced cardiac fibrosis [J]. *Pharmaceutical biology*, 2014, 52 (8): 1045-1051.
- [3] SONG C Y, SHI J, ZENG X, et al. Sophocarpine alleviates hepatocyte steatosis through activating AMPK signaling pathway [J]. *Toxicology in vitro*, 2013, 27(3): 1065-1071.
- [4] GALASSO V, ASARO F, BERTI F, et al. On the molecular and electronic structure of matrine-type alkaloids [J]. *Chemical physics*, 2006, 330(3): 457-468.
- [5] Atta-ur-Rahman, Choudhary M I, Parvez K, et al. Quinolizidine alkaloids from sophora alopecuroides [J]. *Journal of natural products*, 2000, 63(2): 190-192.
- [6] Khan M A, Burrows G E, Holt E M. (5 α , 6 α , 7 α , 11 β)- Δ 13, 14-sophocarpine monohydrate [J]. *Acta crystallographica section C: crystal structure communications*, 1992, 48(11): 2051-2053.
- [7] 甘礼社, 周长新. 振动圆二色谱: 一种确定手性分子绝对构型的新方法 [J]. *有机化学*, 2009, 29(6): 848-857.
- [8] GAN L S, ZHOU C X. Vibrational circular dichroism: a new tool for the determination of absolute configuration of chiral molecules [J]. *Organic chemistry*, 2009, 29(6): 848-857.
- [9] YANG G C, XU Y J. Vibrational circular dichroism spectroscopy of chiral molecules. electronic and magnetic properties of chiral molecules and supramolecular architectures [M]. Heidelberg: Springer Berlin, 2011: 189-236.
- [10] JENSEN F. Introduction to computational chemistry [M]. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013.
- [11] ŽABKA M, ŠEBESTA R. Experimental and theoretical studies in hydrogen-bonding organocatalysis [J]. *Molecules*, 2015, 20(9): 15500-15524.
- [12] FRISCH M, TRUCKS G W, SCHLEGEL H B, et al. Gaussian 09, revision A. 02, gaussian [CP]. Wallingford: Incorporated Wallingford CT, 2009: 200.

本文编辑: 张 瑞