

## 胆红素与胆汁酸盐作用时的构象变化

卓济苍\* 胡加平 王 夔

(北京医科大学药学院天然药物及仿生药物实验室, 北京 100083)

**摘要** 利用 PPP-SCF-CI-DV 量子化学程序拟合胆红素以及胆汁酸盐-胆红素水溶液的 UV 和 CD 谱, 借以研究胆红素及其与胆汁酸盐复合物的构象性质。发现胆红素与胆汁酸盐作用时, 两个双吡咯生色团的扭角由  $104^\circ$  变成  $112^\circ$ , 仍保持形成分子内氢键的状态; 其 UV 及 CD 谱两个吸收峰间隔的增宽, 主要是胆红素的一侧双吡咯生色团与胆汁酸盐呈疏水性结合的原故; 二羟基和三羟基胆汁酸盐所形成的二元复合物园二色谱的差别, 是胆红素的对映选择性结合造成的。

**关键词:** 胆红素 胆汁酸盐 量子化学计算

实验指出<sup>[1]</sup>, 胆红素与不同的胆汁酸盐作用时均显示园二色性。其园二色谱具有两个 Cotton 效应吸收峰, 表明胆红素分子与胆汁酸盐形成复合物时有一个手性中心。胆红素与血清清蛋白作用时亦显示园二色性, 且其园二色谱随酸碱度不同而变化<sup>[2]</sup>。1975年, Blauer 等人曾利用  $\pi$  轨道近似的 MO-SCF-CI 法拟合 UV 和 CD 谱, 研究胆红素分子在不同酸碱度条件下与血清清蛋白形成复合物时的构象变化<sup>[3]</sup>。他们在计算中假定, 胆红素的两个双吡咯部分可分别绕与其连接的次甲基单键任意转动, 并认为次甲基的碳原子参与胆红素分子的共轭体系。算得的谱峰位置以及谱峰强度均与实验结果不符, 只是根据它们的扭角  $\delta_1$  和  $\delta_2$  的变化趋势推测, 在中性或碱性情况下胆红素复合物中的双吡咯部分相互扭成右旋构象 ( $\delta_1 + \delta_2 \approx 30^\circ$ ); 在酸性情况下则扭成左旋构象 ( $\delta_1 + \delta_2 \approx -50^\circ$ )。1978年, Bonett 等人<sup>[4]</sup>利用 X-射线结构分析法证实, 胆红素分子中在极性的羧基与内酰胺基之间存在分子内氢键, 这类氢键决定着分子的形状和极性。1987年, Lightner 等人<sup>[5]</sup>利用胆红素中形成氢键的分子模型, 研究了胆红素与奎宁在水溶液中的对映选择性结合作用。他们根据激子偶合理论<sup>[6]</sup>, 分析胆红素-奎宁复合物的 UV 和 CD 谱, 确定出非对映体式构象究竟为 S·A 还是 S·B。本文利用自编的“PPP-SCF-CI-DV”量子化学程序拟合 UV 及 CD 谱, 研究胆红素及其与胆汁酸盐复合物的构象性质。

### 1 计算方法

“PPP-SCF-CI-DV”量子化学程序是参照 Harada 等人的 SCF-CI-DV MO 法编制的<sup>[7]</sup>。Harada 方法的特点是, 利用 PPP-SCF-MO 理论研究三个生色团不共平面的手性 Triptycenes

分子的 UV 及 CD 谱。为此，他们做了两个假设：(1) 属于不同生色团的双中心排斥积分  $\gamma_{uv}$  仍由 Nishimoto-Mataga 经验公式加以估算<sup>[8]</sup>，就是说只考虑距离因素忽略角度因素的影响；(2) 生色团之间存在着超共轭效应，从而略去连接生色团的两个  $sp^3$  杂化碳原子的作用，至于生色团之间的超共轭共振积分  $U_{h.c.}$  作为可调参数，调到算得的 UV 及 CD 谱与实验曲线相符为止。由于手性 Triptycenes 分子的三个生色团相互取向是固定的，因此 Harada 等人的考虑是合理的。但是本文研究的胆红素分子则不同，它的两个双吡咯生色团可分别绕与其连接的次甲基单键转动，为了更确切地反映双吡咯生色团的扭角  $\theta_1 - \theta_2$  (见图 1) 对胆红素及其与胆汁酸盐复合物 UV 及 CD 谱的影响，在计算属于不同生色团的  $\gamma_{uv}$  时应把角度因素也考虑进去。可以设想  $\theta_1 - \theta_2 \approx 90^\circ$  时两个生色团几乎不存在超共轭效应。于是属于不同生色团的  $\gamma_{uv}$  要比 N-M 经验公式的计算值  $\gamma_{uv}(N-M)$  小得多，因此我们利用下式估算属于不同生色团的  $\gamma_{uv}$ ：

$$\gamma_{uv} = K \cdot \gamma_{uv}(N-M) \quad (1)$$

其中  $K$  是可调参数称为角度校正因子。对于胆红素及其与胆汁酸盐复合物来说， $K$  随  $|\cos(\theta_1 - \theta_2)|$  成正变，即扭角  $\theta_1 - \theta_2$  越接近  $90^\circ$ ， $K$  取值越小。

PPP-SCF-CI-DV 量子化学程序的计算过程，限于篇幅，此处予以省略。

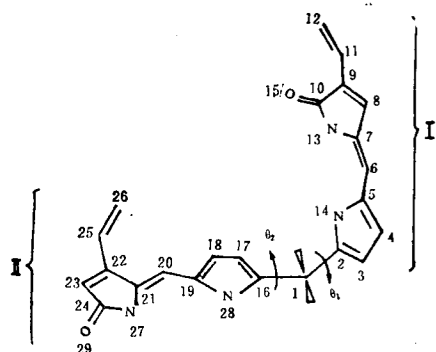


图 1 胆红素及其与胆汁酸盐作用时的模型化合物  
Fig.1 The model compound of bilirubin and it combining with bile salts

表 1 组份原子的结构参数  
Table 1 Structure parameters of constituent atoms

Type	$U_u/eV$	$\gamma_{uu}/eV$	$\zeta_u$	$Z_u$
1	-11.16	11.13	3.25	1
2	-11.86	11.13	3.25	1
3	-10.12	11.12	3.25	1
4	-10.12	11.12	3.25	1
5	-21.05	15.44	4.25	2
6	-16.04	14.68	4.55	1
7	-11.16	11.13	3.25	0

为了简化计算，采用图 1 所示的模型化合物，即略去丙酸基团对 UV 及 CD 谱的影响。另外借鉴 HMO 法可以设想，与共轭体系连接的甲基、次甲基影响邻近碳原子的结构参数。为了尽可能准确地反映双吡咯生色团中碳原子结构参数的差别，考虑  $C_2, C_3, C_{16}, C_{17}$  连接次甲基， $C_4, C_8, C_{18}, C_{23}$  连接甲基。模型化合物中组份原子的键长和键角是按照胆红素的 X-线结晶学数据确定的<sup>[4]</sup>。

## 2 参数选择与计算结果

2.1 在计算中，首先选好组份原子的结构参数  $U_u, \gamma_{uu}, \zeta_u, Z_u$ 。其中  $U_u$  是带正电的核骨架对定域在原子  $u$  上的  $\pi$  电子吸引能， $\gamma_{uu}$  为原子  $u$  的单中心排斥积分， $\zeta_u$  为原子  $u$  的 Slater 轨道参数， $Z_u$  为原子  $u$  参与共轭的  $p$  电子数。 $U_u$  和  $\gamma_{uu}$  是根据实验数据确定的经验参数，通常，

$$U_u = -I_u \quad (2)$$

$$\gamma_{uu} = I_u - A_u \quad (3)$$

这里,  $I_u$  是原子  $u$  的价态电离势,  $A_u$  为原子  $u$  的电子亲合势。但不同作者对  $U_u$  及  $\gamma_{uu}$  的取值差别很大<sup>[11,12]</sup>, 相差约 10—30%。说明  $U_u$  及  $\gamma_{uu}$  的数值可以根据化合物的结构特点, 在一定限度内加以调整。本文设想胆红素两个双吡咯生色团之间的扭转角为  $90^\circ$  时, 超共轭效应降低到最低程度即  $U_{h.c.} = 0$ ; 属于不同生色团的  $\gamma_{uv}$  亦接近于零即  $K = 0$ ; 两个双吡咯生色团之间不存在相互作用, 算得的紫外吸收峰波长应接近于单个双吡咯生色团的情况, 即  $\lambda_0 \approx 425 \text{ nm}$ 。根据上述设想, 按照表 1 选择组份原子结构参数时, 算得的紫外吸收峰波长  $\lambda_0 = 423 \text{ nm}$ , 符合要求。

结合图 1 可知, 表 1 中第 1 类参数赋予形成共轭体系骨架的碳原子, 取值与 Bailey 相同<sup>[11]</sup>; 第 2 类参数是参照 Blauer 等人的处理<sup>[3]</sup>, 赋予形成  $C=O$  键的碳原子; 第 3 类和第 4 类参数分别赋予连接次甲基和甲基的碳原子, 参照 HMO 法中甲基的诱导效应模型<sup>[13]</sup>, 取  $U_u > -11.16 \text{ eV}$ ; 第 5 类和第 6 类分别是氮原子和氧原子的结构参数, 与 Bailey 的取值相差较大<sup>[11]</sup>, 这表明它们可能与丙酸羧基形成分子内氢键; 第 7 类参数赋予连接两个双吡咯生色团的次甲基碳原子, 它未包括在共轭系统中对这里的计算不起作用。

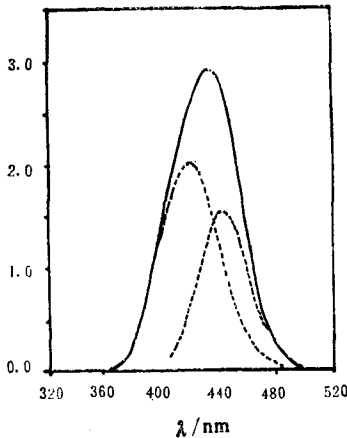


图 2 胆红素水溶液吸收光谱的计算结果  
Fig.2 The calculated UV spectrum of bilirubin in aqueous solution

2.2 根据二阶导数光谱得知, 胆红素水溶液的吸收光谱由两个波长为 448 nm 和 418 nm、强度接近相等的吸收峰重叠而成<sup>[1]</sup>。为了探讨胆红素在水溶液中是否仍保持“形成分子内氢键”的状态, 参照 Harada 等人的研究成果, 令  $U_{h.c.} = -0.705 \text{ eV}$  即  $U_{h.c.} \approx 0.3U_{芳香}$ , 计算双吡咯生色团的扭转角  $\theta_1 - \theta_2$  为不同数值时的 UV 及 CD 谱(见表 2)。发现在胆红素的分子构象为  $(52^\circ, -52^\circ)$  的情况下, 即双吡咯生色团的扭转角  $\theta_1 - \theta_2 \approx 104^\circ$  状态时, 不仅算得的两个吸收峰波长而且它们  $D$  和  $R$  的数值, 均与实验结果相符合。因此可以推测, 胆红素在水溶液中双吡咯生色团并非绕次甲基单键任意转动, 而是与呈结晶时相似, 保持形成分子内氢键的状态。胆红素水溶液的吸收光谱计算结果示于图 2。至于胆红素水溶液不呈现园二色性, 可用胆红素分子形成两种双吡咯生色团之间扭转角方向相反的对映异构体 A  $(52^\circ, -52^\circ)$  和 B  $(-52^\circ, 52^\circ)$  加以解释。如图 3 所示, 右旋异构体

A  $(52^\circ, -52^\circ)$  和左旋异构体 B  $(-52^\circ, 52^\circ)$  的 Cotton 效应吸收峰, 强度相等、方向相反, 从而它们的 CD 谱互相抵消。

2.3 实验结果<sup>[1]</sup>显示, 胆红素与不同胆汁酸盐作用时其 UV 谱中两个吸收峰间隔增宽 20—30 nm, 并且呈现园二色谱。三羟基胆汁酸盐引起的园二色谱中, 长波长 Cotton 效应吸收峰均为正, 短波长峰为负, 系正激子手性。二羟基胆汁酸盐的结果则相反, 系负激子手性。鉴于胆红素在有机溶剂中的 UV 谱比其水溶液来, 两个吸收峰均发生红移而不是增大两者间的裂分, 因此可以推测胆红素与胆汁酸盐结合时, 胆红素对映异构体 A (或 B) 的一个双吡咯生色团(这里假设是图 1 所示的双吡咯生色团 II)与胆汁酸盐呈疏水性结合。考虑到疏水环境与

表2 在不同的胆红素构象算得的光谱学参数

Table 2 The calculated spectroscopic parameters of bilirubin molecules with different conformations

Conformation ( $\theta_1, \theta_2$ )	K	Absorption peaks'	Diple strength	Rotational strength
		$\lambda/\text{nm}$	$10^{37} \cdot D/(\text{cgs unit})$	$10^{40} \cdot R/(\text{cgs unit})$
(0°, 0°)	1.0	456.4	1.82	0
		413.6	42.3	0
(25°, -25°)	0.68	449.3	2.67	-3.01
		414.8	33.6	42.6
(35°, -35°)	0.24	447.2	3.89	-7.15
		415.0	30.9	62.9
(40°, -40°)	0.038	444.7	5.52	-16.1
		415.2	28.3	87.2
(47°, -47°)	0.035	443.4	9.36	-40.8
		415.5	25.6	102
(52°, -52°)	0.063	440.0	14.0	-177
		416.0	22.3	191
(55°, -55°)	0.12	442.6	9.62	-38.6
		415.0	26.8	108
(60°, -60°)	0.57	445.9	6.14	-18.1
		415.3	29.3	94.3
(65°, -65°)	0.76	448.5	3.26	-4.32
		415.2	34.8	51.6
(90°, -90°)	1.0	454.7	1.92	0
		414.2	22.1	0

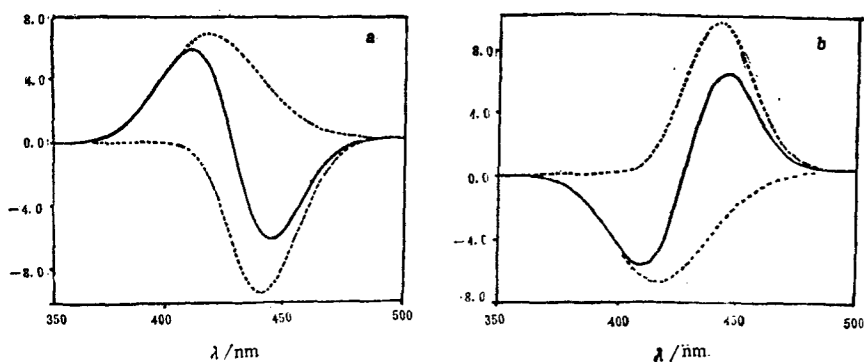


图3 胆红素的两种立体异构体的圆二色谱计算结果

Fig.3 The calculated CD spectra for two stereo-isomers of bilirubin  
(a) right handed isomer A(52°, -52°) (b) left handed isomer B(-52°, 52°)

亲水环境的差别，参考 Blauer 等人的取值<sup>[31]</sup>，对双吡咯生色团 II 组份原子的  $U_u$  及  $V_{uu}$  做适当调整。即将表 3 中第 8—13 类参数按照第 1—6 类参数的顺序赋予双吡咯生色团 II 的组份原子，两个双吡咯生色团赋值方法的差别，反应它们的亲水性和亲脂性。

表3 组份原子的结构参数

Table 3 Structure parameters of constituent atoms

Type	$U_u/eV$	$\gamma_{uu}/eV$	$\zeta_u$	$Z_u$
1	-11.16	11.13	3.25	1
2	-11.86	11.13	3.25	1
3	-10.12	11.12	3.25	1
4	-10.12	11.12	3.25	1
5	-21.05	15.44	4.25	2
6	-16.40	14.68	4.55	1
7	-11.16	11.13	3.25	0
8	-11.02	11.05	3.25	1
9	-11.72	11.05	3.25	1
10	-10.02	10.85	3.25	1
11	-10.02	10.85	3.25	1
12	-20.05	15.02	4.25	2
13	-16.00	14.30	4.55	1

仍令  $U_{h.c.} \approx 0.3U_{芳香}$ ，并取胆红素右旋异构体 A 的双吡咯生色团之间扭转角  $\theta_1 - \theta_2$  等于不同数值，计算 UV 及 CD 谱，研究它与胆汁酸盐结合时的构象变化。表 4 例举  $U_{h.c.} = -0.717eV$  时的一些计算结果。发现与实验吻合的右旋胆红素-胆汁酸盐复合物的最佳构象为  $S \cdot A(55^\circ, -57^\circ)$ ，它的两个吸收峰间隔比单纯胆红素情况增宽 27 nm，而且两个吸收峰的偶极强度  $D$  和旋光强度  $R$ ，与实验值数量级相同。图 4 和图 5 分别给出胆红素-胆汁酸盐复合物在最佳构象情况下的 UV 及 CD 谱计算结果。由于胆红素和胆汁酸盐结合时两个双吡咯生色团之间的扭转角变化不大 ( $\theta_1 - \theta_2 \approx 112^\circ$ )，使其仍保持形成分子内氢键的状态，因此吸收峰间隔的增宽，主要是胆红素与胆汁酸盐作用的结果。

至于二羟基和三羟基胆汁酸盐引起的 CD 谱中 Cotton 效应吸收峰符号相反的现象，可用它们分别选择性地结合胆红素左旋异构体和右旋异构体加以解释，

表4 不同构象的胆红素-胆汁酸盐复合物算得的光谱学参数

Table 4 The calculated spectroscopic parameters of bilirubin-bilesalt complexes with different conformations

$S \cdot A(\theta_1, \theta_2)$	$K$	Absorption peaks'	Dipole strength	Rotational strength
		$\lambda/nm$	$10^{18} \cdot D / (\text{cgs unit})$	$10^{18} \cdot R / (\text{cgs unit})$
$(25^\circ, -25^\circ)$	0.68	473.6	0.16	-3.90
		414.8	4.82	41.3
$(35^\circ, -35^\circ)$	0.23	471.7	0.19	-7.56
		415.0	4.02	63.5
$(40^\circ, -40^\circ)$	0.098	468.8	0.24	-24.2
		415.2	3.95	145
$(52^\circ, -54^\circ)$	0.060	467.9	0.40	-67.8
		415.8	3.60	271
$(55^\circ, -57^\circ)$	0.063	467.2	0.63	-215
		416.2	3.19	191
$(58^\circ, -58^\circ)$	0.071	468.0	0.44	-53.8
		415.4	3.50	162
$(60^\circ, -60^\circ)$	0.12	473.1	0.21	-15.8
		414.6	3.95	94.8
$(65^\circ, -65^\circ)$	0.76	475.7	0.13	-3.20
		413.6	4.20	35.2

### 3 讨论

综上所述, 本文所得的结论, 进一步支持了 Lightner 的假说。在计算中, 为拟合 UV 及 CD 谱, 设想胆红素的一个双吡咯生色团与胆汁酸盐呈疏水性结合。反之, 如果设想两个双吡咯生色团均与胆汁酸盐呈疏水性结合, 应将表 3 中第 1—6 类参数亦换成第 8—13 类参数, 这样算得的最佳构象  $S \cdot A(51^\circ, -53^\circ)$  的两个吸收峰波长为 439.7nm 和 466.7nm, 比起水溶液中胆红素  $A(52^\circ, -52^\circ)$  的两个吸收峰波长 416.2nm 和 440nm 来, 同时发生红移而不是吸收峰间隔增宽, 与胆红素在疏水性溶剂中的结果相似, 说明我们的设想是合理的, 并且按表 3 赋值可以粗略地反映两个双吡咯生色团的亲水性及亲脂性。至于究竟哪个双吡咯生色团与胆汁酸盐结合并不重要。因为若令双吡咯生色团 I 与胆汁酸盐结合, 即将表 3 中第 1—6 类参数与第 8—13 类参数互换, 算得的最佳构象  $(56^\circ, -54^\circ)$  亦具有与实验相符合的结果。三种不同结合情况下算得的胆红素-胆汁酸盐复合物  $S \cdot A$  的光谱学参数限于篇幅没有列出。

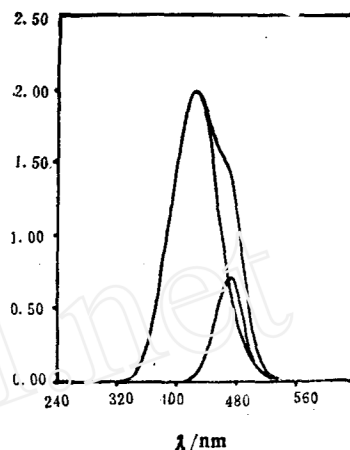


图 4 胆红素-胆汁酸盐复合物吸收光谱计算结果

Fig. 4 The calculated UV spectrum of bilirubin-bile salt complex

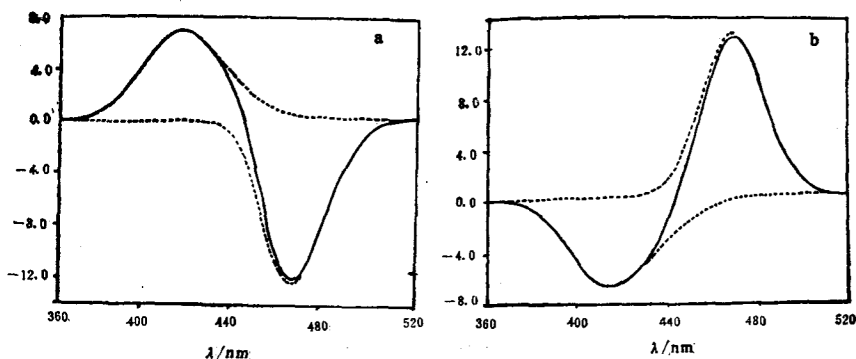


图 5 胆红素-胆汁酸盐复合物两种立体异构体圆二色谱计算结果

Fig. 5 The calculated CD spectra for two stereo-isomers of bilirubin-bile salt complex

(a) right handed isomer  $S \cdot A(55^\circ, -57^\circ)$  (b) left handed isomer  $S \cdot B(-55^\circ, 57^\circ)$

### 参 考 文 献

- 1 Hu Jiaping, Wang Kui, et al. *Biochim. Biophys. Acta*, in press
- 2 Beaven G H, D'Albis A, Gratzner W B. *Eur. J. Biochem.*, 1973, 33; 550
- 3 Blauer G, Wagniere G. *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, 97; 1949
- 4 Bonnett R, Davies J E, Hursthouse M B, Sheldrick G M. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 1978, 202; 249
- 5 Lightner D A, Gawronski J K, Wijekon W M D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, 109; 6354

- 6 Harada N, Nakamishi K. Circular Dichroic Spectroscopy-Exciton Coupling in Organic Stereochemistry, University Science Book, Mill Valley CA., 1983
- 7 Harada N, Takuma Y, Uda H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102: 506
- 8 Nishimoto K, Mataga N. *Z. Physik Chem. (Frankfurt)*, 1957, 12: 335
- 9 Kral M. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1970, 35: 1939
- 10 Harada N, Takuma Y, Uda H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100: 4029
- 11 Bailey M L. *Theoret. Chim. Acta (Berl.)*, 1969: 1356
- 12 Labhant H, Wagnière G. *Theor. Chim. Acta*, 1970, 18: 57
- 13 飛田満彦. 有機量子化学入門(基礎篇), 学会版ヤンター, 1981

## CONFORMATION CHANGE OF BILIRUBIN AS THE ACTION OF IT ON BILE SALTS

Zhuo Jicang\*      Hu Jiaping      Wang Kui

(School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083)

### ABSTRACT

In this paper, UV and CD spectra of bilirubin and bile salts-bilirubin in aqueous solution have been simulated by means of "PPP-SCF-CI-DV" quantum chemical programme, in order to clarify the conformations of bilirubin and its complexes with bile salts. The torsional angles between two dipyrrole chromophores of bilirubin were postulated changing from  $104^\circ$  to  $112^\circ$ , after binding with bile salts and the intramolecularly hydrogen bonded states of bilirubin still are kept; the separation between two absorption peaks in both UV and CD spectrum increases in presence of bile salts, it is interpreted by that one dipyrrole chromophores of bilirubin are combined with bile salts mainly; the difference of CD spectrum which are produced by dihydroxy and trihydroxy bile salts may be explained by enantio-selective binding.

**Keywords:** Bilirubin, Bile salts, Quantum chemistry calculation