

## 青蒿素及其类似物抗疟构效关系的 DFT 研究

刘靖丽<sup>1\*</sup>, 靳如意<sup>1</sup>, 张光辉<sup>1</sup>, 梁艳妮<sup>2</sup><sup>1</sup>陕西中医药大学药学院; <sup>2</sup>陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 咸阳 712046

**摘要:**为了从原子水平上揭示青蒿素及其类似物的结构与抗疟活性之间的关系,运用密度泛函理论 DFT 方法,在 B3LYP/6-31G\* 水平上对青蒿素及其类似物二氢青蒿素、蒿甲醚和青蒿琥酯的结构和性质进行了理论计算。从分子的平衡构型、Wiberg 键级、溶剂化能、偶极矩和静电势等方面分析了青蒿素及其类似物的抗疟构效关系。结果表明,青蒿素及其类似物结构中七元环上的过氧桥键、醚氧键以及六元环上的内酯结构是其抗疟作用的关键活性位,过氧桥键处负的静电势越多,青蒿素与血红素的相互作用越强,分子的抗疟活性越强。理论预测四个药物分子的抗疟活性顺序为:青蒿素 < 二氢青蒿素 < 蒿甲醚 < 青蒿琥酯,与实验活性结果一致。

**关键词:**青蒿素;抗疟活性;密度泛函理论;静电势

中图分类号:R284;O641

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)1-0044-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.1.007

## Density functional theory studies on structure-antimalarial activity relationship of artemisinin and its analogues

LIU Jing-li<sup>1\*</sup>, JIN Ru-yi<sup>1</sup>, ZHANG Guang-hui<sup>1</sup>, LIANG Yan-ni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine;

<sup>2</sup>Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, 712046, China

**Abstract:** In order to study the relationship between the structure and antimalarial activity of artemisinin and its analogues, the density functional theory (DFT) B3LYP method with 6-31G\* basis set was used to calculate the geometries and properties of artemisinin and its analogues. The properties of the artemisinin and its analogues have been discussed in detail based on their molecular structures, Wiberg bond indexes, solvation energies, dipole moments and electrostatic potentials (ESPs). The results showed that the endoperoxy bridge on the seven-membered ring, the ether oxygen bond and six-member ring lactone structure were the most active sites for antimalarial activity of artemisinin and its analogues. The more negative electrostatic potential of the endoperoxy bridge, the stronger interaction between artemisinin and heme, and the stronger anti-malarial activity of the molecules would be. As a result, the order of antimalarial activity of the four drug molecules was predicted as: artemisinin < artemisinin < artesunate < artesunate, which was consistent with the experimental results.

**Key words:** artemisinin; antimalarial activity; density functional theory (DFT); electrostatic potentials (ESPs)

青蒿素 (artemisinin) 是上世纪七十年代从菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annual*) 中提取的一种含有过氧桥基团的倍半萜内酯类药物,是我国科学工作者屠呦呦团队最先发现的新构型的抗疟特效药,特别是对于脑型疟疾和抗氯喹疟疾,具有快速、高效和低毒的特点,被世界卫生组织称为“治疗疟疾的最大

希望”<sup>[1]</sup>。2015年10月8日,屠呦呦因在青蒿素抗疟领域的突出贡献而获得诺贝尔生理或医学奖<sup>[2-4]</sup>。为了提高青蒿素的抗疟活性,学者们以青蒿素作为母体,合成了大量的青蒿素类药物。目前临床上应用的青蒿素类药物主要包括脂溶性的二氢青蒿素,蒿甲醚和水溶性的青蒿琥酯<sup>[5-7]</sup>,结构如图1所示。中国科学院上海药物研究所李英等<sup>[5]</sup>将青蒿素催化氢化,然后再用硼氢化钠还原制备得到二氢青蒿素,抗疟活性比青蒿素提高了1倍。二氢青蒿素在三氟化硼的催化下,与甲醇或乙醇反应制备得到蒿

收稿日期:2018-05-14 接受日期:2018-11-19

基金项目:陕西省教育厅项目(17JK0199);陕西中医药大学重点培育项目(2015PY11)

\*通信作者 Tel:86-015591019337; E-mail:sculijl@126.com.

甲醚、蒿乙醚,其中蒿甲醚比蒿乙醚抗疟活性更高<sup>[6]</sup>。刘旭等<sup>[7]</sup>以青蒿素为原料将其还原,然后和丁二酸酐(琥珀酸酐)反应制备得到青蒿琥酯,其不但具有良好的水溶性,而且抗疟活性是青蒿素的5倍,是第一个水溶性的青蒿素类药物。除具有传统的抗疟疾作用外,近来的相关研究表明,青蒿素类药物分子还具有一定的抗肿瘤活性<sup>[8-12]</sup>,而有关其结构和药理活性关系的理论研究甚少。本文采用密度泛函(DFT)方法对上述四个药物分子进行理论计算,试图从原子水平上揭示药物分子的结构与药理活性之间的关系,为设计和合成抗疟活性更强的青蒿素类药物分子提供理论上的指导。

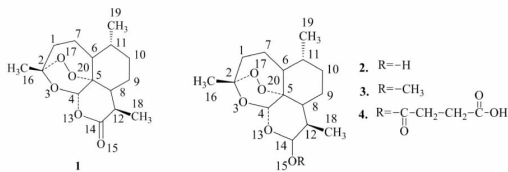


图1 青蒿素(1)、二氢青蒿素(2)、蒿甲醚(3)和青蒿琥酯(4)的分子结构

Fig. 1 The molecular geometries of artemisinin (1), dihydroartemisinin (2), artemether (3) and artesunate (4)

## 1 计算方法

本文采用密度泛函理论 DFT 方法,在 B3LYP/6-31G\* 水平上对四个药物分子青蒿素(1)、二氢青

蒿素(2)、蒿甲醚(3)和青蒿琥酯(4)在气相中的结构进行全优化。在同一水平上,以水作为溶剂(水的介电常数为 78.39),采用 PCM 模型<sup>[13]</sup>,得到四个药物分子在液相中的最优几何结构。分别对气相和液相中的最优几何结构进行频率计算,对四个药物分子在气相和溶液中的结构、溶剂化能、偶极矩和静电势进行分析,初步研究了四个青蒿素类药物分子的结构与抗疟活性之间的关系。所有的计算均由 Gaussian 16 程序完成<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 分子的几何平衡构型

采用密度泛函理论 DFT (B3LYP) 方法,以 6-31G\* 为基组对青蒿素及其类似物在气相和水溶液中的分子结构进行全优化,由此结构计算所得到的频率中没有虚频,说明相应的理论计算几何结构为稳定结构。青蒿素及其类似物在气相和水溶液中的部分几何结构参数列于表 1,并与青蒿素的 X-射线衍射晶体结构<sup>[4]</sup>进行了比较。

由表 1 可见,计算所得的青蒿素及其类似物在气相和液相中的结构参数与其母体青蒿素的 X-射线衍射晶体结构参数<sup>[4]</sup>基本一致,说明溶剂对药物分子构象的影响较小。青蒿素分子中含有三个环,分别为两个六元环和一个七元环,七元环(由 1、2、3、4、5、6 和 7 号原子构成)发生严重扭曲而不在一个平面上。一个六元环(由 5、6、11、10、9 和 8 号原

表 1 青蒿素及其类似物在气相和水溶液中的主要几何结构参数(键长:纳米,键角:度)

Table 1 Calculated and experimental geometric parameters of artemisinin and its analogues in gas phase and aqueous media (bond lengths in nm and angles in degree)

Species	X-Ray <sup>[4]</sup>	1	2	3	4
C2-O17	0.140	0.141 (0.142)	0.142 (0.142)	0.142 (0.142)	0.142 (0.142)
O17-O20	0.148	0.146 (0.147)	0.146 (0.146)	0.146 (0.146)	0.146 (0.146)
C5-O20	0.146	0.146 (0.146)	0.146 (0.147)	0.146 (0.147)	0.146 (0.147)
C2-O17-O20	107.5	108.8 (109.2)	108.8 (109.1)	108.9 (109.2)	108.9 (109.1)
O17-O20-C5	111.1	111.9 (112.1)	113.2 (113.4)	113.1 (113.3)	112.9 (113.2)
O20-C5-C4	111.0	110.1 (109.5)	112.2 (111.9)	112.0 (111.7)	112.2 (111.6)
O20-C5-C8	104.4	104.7 (104.4)	103.3 (103.2)	103.4 (103.2)	103.4 (103.1)
C(5-8-10-11)	-	-0.05 (0.28)	1.1 (1.3)	1.1 (1.5)	1.2 (1.6)
C(6-5-8-9)	-	52.79 (52.7)	51.3 (51.3)	51.3 (51.1)	51.4 (51.2)
O13-C14-C8-C5	-	-31.3 (-30.5)	-52.0 (-51.6)	-51.8 (-51.4)	-53.1 (-53.2)
C4-O13-C14-C12	-	14.4 (13.4)	65.0 (13.4)	64.9 (64.3)	66.7 (64.9)

注:溶液中的结构参数在括号里给出,1 代表青蒿素,2 代表二氢青蒿素,3 代表蒿甲醚,4 代表青蒿琥酯。

Note: Geometrical parameters obtained in aqueous media are given in parentheses. 1 represents for artemisinin, 2 presents for dihydroartemisinin, 3 represents for artemether, 4 represents for artesunate.

子构成)类似于环己烷的结构,是一个稳定的椅式构象,其中二面角 C(5-8-10-11)为 $-0.05^\circ$ ,表明5、8、10和11四个碳原子在同一个平面上。另一个六元环内酯(由4、5、8、12、14和13号原子构成)则发生了一定的扭曲,是一个扭曲的椅式构象。由此推测,青蒿素的药理活性位应该在七元环和六元环内酯的

部分,整个分子是一个非平面的构型,其类似物的结构与青蒿素的结构基本一致。

计算表明四个药物分子的分子点群均为 $C_1$ ,为了更好地解释药物分子的结构与药理活性之间的关系,在相同的水平上计算了分子在气相中 Wiberg 键级,列于表2。

表2 青蒿素及其类似物在气相中部分键的 Wiberg 键级  
Table 2 Calculated Wiberg bond index of artemisinin and its analogues in gas phase

Bond	1	2	3	4	Bond	1	2	3	4
C1-C2	0.9767	0.9741	0.9741	0.9751	C4-C5	0.9641	0.9609	0.9607	0.9607
C1-C7	1.0128	1.0131	1.0131	1.0130	C5-C6	0.9659	0.9692	0.9693	0.9692
C6-C7	0.9968	0.9967	0.9968	0.9964	C5-C8	0.9683	0.9700	0.9698	0.9702
C2-O3	0.8566	0.8839	0.8838	0.8774	O17-O20	0.9585	0.9581	0.9579	0.9580
C4-O3	0.9496	0.8998	0.8996	0.9138	C5-O20	0.8862	0.8793	0.8792	0.8810
C2-O17	0.9286	0.9129	0.9130	0.9138	O13-C14	0.9981	0.8583	0.8564	0.8905
C4-O13	0.8643	0.9393	0.9405	0.9241	C14-O15	1.7789	0.9604	0.9449	0.8673

注:1代表青蒿素,2代表二氢青蒿素,3代表蒿甲醚,4代表青蒿琥酯。

Note:1 represents for artemisinin,2 presents for dihydroartemisinin,3 represents for artemether,4 represents for artesunate.

由表2可见,四个药物分子中 C-C 键的键级数值范围在0.9609~1.0131范围,呈单键状态,由于分子的扭曲和变形,使得部分键级数值略低于1.0,三个环共用的 C-C 键的键级数值(如 C4-C5, C5-C6, C5-C8)接近于1.0,这表明三个环稳定地连接在一起。四个药物分子中 C14-O15 键的键级数值差别比较大,对于青蒿素分子来说, C14-O15 的键级1.7789,说明 C14 与 O15 之间形成了双键。对于其类似物二氢青蒿素(2)、蒿甲醚(3)和青蒿琥酯(4)来说, C14-O15 的键级数值低于1.0,并且随着取代基-OH、-OCH<sub>3</sub>和-OC=O吸电子能力的增加,键级逐步降低,而对应的抗疟活性依次增强,提示在这个位置连上强吸电子基团,可以增加分子的抗疟活性。C2-O3、C4-O3和C5-O20的键级较小,表明这些位置的 C-O 键不牢固,容易断裂,是可能的活性位。其余 C-O 键的键级表明分子中 C-O 键基本呈单键状态。过氧键-O-O-的键级范围在0.95左右,表明两个 O 原子之间不是双键结合,而是以较弱的单键结合在一起。由此可知,四个药物分子中的过氧键容易断裂,过氧键是青蒿素及其类似物分子的药理活性位置。

## 2.2 溶剂化能和偶极矩

为了与四个药物分子在气相中的稳定性和溶解度进行比较,对四个药物分子在溶液中的结构进行了全优化和频率计算,得到了四个分子在溶液中的

热力学参数。表3给出了四个分子的溶剂化能和偶极矩。由表3可见,四个药物分子在水溶液中的溶剂化能在-6~-19 kcal/mol之间,其中青蒿琥酯的溶剂化能最大,说明它的水溶性较好;蒿甲醚的溶剂化能最小,说明它的水溶性较差。因此,通过溶剂化能的计算,可以解释四个药物分子的水溶性大小。四个药物分子的水溶性顺序为:青蒿琥酯>青蒿素>二氢青蒿素>蒿甲醚,与此相反,四个药物分子的脂溶性顺序为:青蒿琥酯<青蒿素<二氢青蒿素<蒿甲醚,与其实验结果十分吻合<sup>[5-7]</sup>。四个药物分子中青蒿素的抗疟活性最弱,青蒿琥酯的抗疟活性最强。可见,为保持和增加抗疟活性,一定的亲水性是非常重要的。

偶极矩的大小可以反映分子极性的大小,偶极矩大则分子的极性也大,反之亦然。由表3偶极矩的数据可知,无论在气相还是溶剂中,青蒿素的极性最强,青蒿琥酯次之,蒿甲醚的极性最弱。青蒿琥酯相对于青蒿素分子来说,在其分子中引入非极性基团使其极性减小,会在一定程度上导致抗疟活性增加。

## 2.3 静电势

分子表面的静电势是一个药物分子活性的重要参数之一,它对于研究药物分子与靶点蛋白的相互作用模式具有重要的参考价值<sup>[15-17]</sup>。图2给出了四个药物分子的静电势图,由图2可以看出,在等势

表 3 四个药物分子的溶剂化能和偶极矩

Table 3 Solvation energies ( $\Delta E$ ) (kcal/mol) and dipole moments (Debye) of artemisinin and its analogues

No.	$\Delta E$	$\Delta E^0$	$\Delta G$	$\mu$	
				Gas phase	Water
1	-10.92	-11.63	-12.13	5.83	7.77
2	-11.12	-12.57	-12.47	2.50	3.22
3	-6.86	-7.47	-7.51	2.26	3.15
4	-16.81	-18.64	-14.77	2.73	3.48

注: $\Delta E^0$  为  $\Delta E$  与零点校正能之和; $\Delta G$  是在温度为 298K 时的溶剂化自由能;1 代表青蒿素,2 代表二氢青蒿素,3 代表蒿甲醚,4 代表青蒿琥酯。  
Note: $\Delta E^0$  is the zero-point-energy corrected  $\Delta E$ ; $\Delta G$  is the free energy difference at 298 K. 1 represents for artemisinin,2 presents for dihydroartemisinin, 3 represents for artemether,4 represents for artesunate.

面上,静电势的负值区域主要集中在氧原子上,包括六元环内酯的 O13 和 O15 以及七元环过氧键 O17、O20 原子上,另外 O3 原子也有贡献。可知,内酯和过氧键与受体蛋白的正电性区域相作用。静电势的正值区域则集中在 C 和 H 原子上,与受体蛋白的负电性区域相作用。

对于青蒿素分子来说,六元环内酯 O13 和 O15 部分的静电势强度大于过氧键部分的静电势强度;对于二氢青蒿素分子来说,由于羟基的吸电子作用,静电势强度降低,羟基氢原子处静电势的正值增加;对于蒿甲醚来说,甲氧基的吸电子作用,使得静电势强度降低;而青蒿琥酯的静电势的负值区域向侧链

酯的部分延伸。四个分子中过氧键处负的静电势变化不大,所以四个药物分子均具有抗疟活性,过氧键的结构是其抗疟活性的重要部位,在进行结构修饰时要保留其结构。这一结论与蒋华良等采用半经验的量子化学方法研究青蒿素及其衍生物的抗疟构效关系的计算结果一致,推测过氧键与分子的抗疟活性有关<sup>[18]</sup>。随后,Cheng 等<sup>[19]</sup>在蒋华良的指导下对青蒿素进行了分子对接研究,发现青蒿素的内过氧桥指向铁卟啉分子的 Fe 原子。铁卟啉分子中心原子 Fe 具有空轨道,可以结合富电子的原子和基团<sup>[20]</sup>。因此,青蒿素在发挥抗疟活性时,主要以供电子为主,过氧桥键处负静电势的大小直接影响药

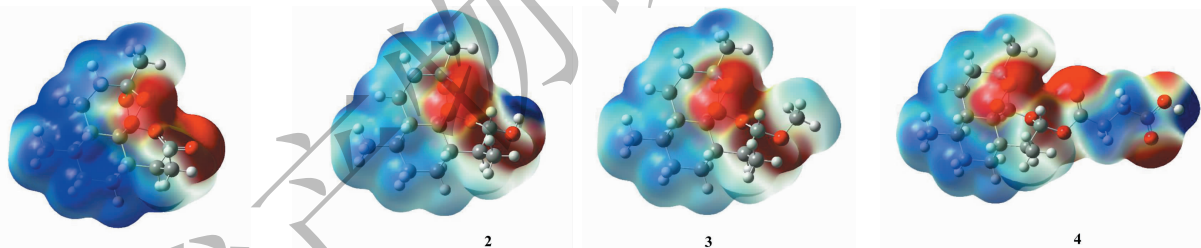


图 2 青蒿素及其类似物的静电势图

Fig. 2 The electrostatic potential (ESP) maps of artemisinin and its analogues

注:ESP 映射在电子密度的等势面上,等值为 0.001。ESP 颜色范围从 -0.03 (红色)到 0.03 (蓝色)。

Note:The ESP is mapped on the iso-surface of electron density with iso-value of 0.001. The ESP color ranges from -0.03 (red) to 0.03 (blue).

物分子的抗疟活性。由此可知,过氧桥键处负的静电势越多,青蒿素与血红素的相互作用越强,分子的抗疟活性越强。

四个药物分子氧原子处的静电势值列于表 4,从表 4 中可以看出,氧原子处的静电势均为负值,提示该部分与血红素蛋白的正电性区域相互作用,进一步说明青蒿素在发挥抗疟活性时,以供电子为主。对于四个药物分子来说,静电势的负值呈现出减小的趋势,药物分子与血红素蛋白的相互作用越强,分子的抗疟活性越强。根据表 4 中的静电势大小可以

推测四个药物分子的抗疟活性顺序为:青蒿素 < 二氢青蒿素 < 蒿甲醚 < 青蒿琥酯,与实验活性结果一致<sup>[5-7]</sup>。

### 3 结论

采用密度泛函理论 DFT 方法对青蒿素及其类似物(二氢青蒿素、蒿甲醚和青蒿琥酯)分子在气相和溶液中的结构进行了优化计算,得到了四个药物分子在气相和溶液中的理论平衡几何结构,与其母体青蒿素的晶体结构吻合的较好。青蒿素及其类似物分子的抗疟活性与其结构中的过氧键密切相关,

表4 青蒿素及其类似物分子中氧原子的静电势值 (kcal/mol)

Table 4 The electrostatic potentials (ESP) (kcal/mol) at oxygen atoms of artemisinin and its analogues(kcal/mol)

Molecule	O15	O13	O3	O17	O20
1	-35.61	-25.69	-18.89	-22.15	-17.18
2	-37.39	-25.87	-22.91	-22.75	-21.51
3	-37.82	-26.25	-23.19	-23.23	-22.37
4	-38.14	-26.78	-23.86	-23.98	-24.15

注:1 代表青蒿素,2 代表二氢青蒿素,3 代表蒿甲醚,4 代表青蒿琥酯。

Note:1 represents for artemisinin,2 presents for dihydroartemisinin,3 represents for artemether,4 represents for artesunate.

从分子的几何结构、Wiberg 键级和静电势等方面分析了四个药物分子的抗疟活性与结构的关系,结果表明,过氧桥键是其发挥抗疟活性的重要部位。从电子水平的角度对青蒿素及类似物抗疟构效关系进行了研究,为青蒿素及其类似物分子的结构修饰和改造提供了理论指导。

#### 参考文献

- Zheng MY, Liu G, Tang W, et al. Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinin and the research progress on the artemisinin analogues with novel pharmacological actions [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 2017, 18: 1948-1963.
- Chang ZY. The discovery of Qinghaosu (artemisinin) as an effective anti-malaria drug: a unique China story [J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 81-88.
- White NJ. Qinghaosu (artemisinin): The price of success [J]. *Science*, 2008, 320: 330-334.
- Institute of biophysics, Chinese academy of sciences, artemisinin group (中国科学院生物物理研究所青蒿素协作组). The crystal structure of artemisinin and its absolute configuration [J]. *Sci Chin (中国科学)*, 1979, 11: 1114-1128.
- Li Y, Yu PL, Cheng YX, et al. Synthesis of some derivatives of artemisinin [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 1979, 24: 667-669.
- Liang J, Li Y. Synthesis of the arylether derivatives of artemisinin [J]. *Chin J Med Chem (中国药物化学杂志)*, 1996, 19: 22-25.
- Liu X. Research of artemisinin derivatives [J]. *Chin Pharma Bull (药学通报)*, 1980, 15: 183.
- Guo Y, Wang J, Chen ZT. Recent advancement in pharmacological effects of artemisinin and its derivatives [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学)*, 2006, 11: 615-620.
- Li CC, Yin K, Yan G. Advances in research on the pharmacological action of the antimalarial artemisinin and its derivatives [J]. *J Patho Biol (中国病原生物杂志)*, 2016, 11: 185-187.
- Zhang N. Research progress of the artemisinin drugs [J]. *Chin J Drug Eval (中国药物评价)*, 2013, 30: 13-16.
- Li YX, Li XW, Nong XL. Review on anti-tumor mechanism and clinical application of artesunate [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2016, 28: 986-989.
- Zhou JY, Zhu Y. Progress in anti-tumor effects of artemisinin and its derivatives [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2014, 26: 975-981.
- Tomasi J, Persico M. Molecular interactions in solution: an overview of methods based on continuous distributions of the solvent [J]. *Chem Rev*, 1994, 94: 2027-2094.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. Gaussian 16 [CP]. Revision A. 01, Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2016.
- Lei JY, Chen Y, Feng XJ, et al. Electrostatic potentials of camptothecin and its analogues [J]. *Theor Chem Acc*, 2014, 133: 1-6.
- Takeshi I. Ab initio quantum chemical calculation of electron density, electrostatic potential, and electric field of biomolecule based on fragment molecular orbital method [J]. *Int J Quantum Chem*, 2018, 118: 1-12.
- Arpita V, Pradeep RV, Koichi Y. Do surfaces of positive electrostatic potential on different halogen derivatives in molecules attract? like attracting like [J]. *J Com Chem*, 2018, 39: 343-350.
- Jiang HL, Chen KX, Wang HW, et al. Quantum chemical studies on antimalarial of artemisinin (qinghaosu) derivatives [J]. *Chin J Chem*, 1995, 13: 131-140.
- Cheng F, Shen J, Luo X, et al. Molecular docking and 3D-QSAR studies on the possible antimalarial mechanism of artemisinin analogues [J]. *Bioorg Med Chem*, 2002, 10: 2883-2891.
- Golenser J, Wakhine JH, Krugliak M, et al. Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins [J]. *Inter J Paras*, 2006, 36: 1427-1441.