

Zur Stereochemie von Silybin

The Stereochemistry of Silybin

Hermann Lotter und Hildebert Wagner

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München, Karlsstr. 29, D-8000 München 2, Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. **38c**, 339–341 (1983); received February 22, 1983

Silybin, *Silybum marianum*, X-Ray Structure, Absolute Configuration

The X-ray Structure of Silybin from *Silybum marianum* Gaertn. was determined. The compound was found to be a diastereomeric mixture (1:1) in the benzodioxane part of the molecule explaining several tentative aspects about the structure known from NMR-measurements and HPLC-separations.

Einführung

Das Flavonolignan Silybin aus dem Samen von *Silybum marianum*, das von Wagner und Mitarbeitern [1], Pelter und Hänsel [2] sowie Merlini und Zanarotti [3] aufgeklärt wurde, ist der bisher einzige niedermolekulare Naturstoff mit einer spezifisch antihepatotoxischen Wirkung. Diese hohe Spezifität hat Silybin mit dem Dekapeptid Antamanid [4], dem Antagonisten des lebertoxischen α -Amanitins und Phalloidins, gemeinsam. Die bisher immer noch fehlende Kenntnis der absoluten Konfiguration von Silybin ist für die Aufklärung des pharmakologischen Wirkungsmechanismus auf Rezeptor-Ebene Voraussetzung.

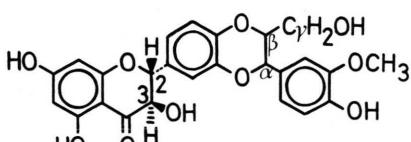


Abb. 1. Silybin.

Bisher war durch Synthese [3], oxidativen Abbau [2] sowie Vergleiche der CD-Kurven des isomeren Silydianins [5] und des Taxifolins nur die Konfiguration 2R, 3R am C2 und C3 im Flavanonol-Ring gesichert. Unbekannt war die absolute Konfiguration im Benzodioxanteil geblieben.

Arnone und Mitarbeiter [6] vermuteten für das Silybin auf Grund ihrer ^1H -NMR-Untersuchungen, ebenso wie für das Isosilybin, das Vorliegen eines 1:1-Diastereomeren-Gemisches. Ähnliche Hinweise

ergaben sich aus dem Verhalten von reinem Silybin bei der HPLC (2 Peaks) [7] und aus der Tatsache, daß 2,3-Dehydro-Silybin ebenso wie das Flavonoxanthon Kielcorin [8] als razemisch vorliegend beschrieben wurde.

Experimentelles

Zur endgültigen Klärung der Stereochemie unternahmen wir eine Röntgenstrukturanalyse, die uns erstmals erst nach langen Kristallisierungsversuchen aus einer Lösung von 500 μg Silybin in 1 ml Methanol/0,05 ml Wasser (langsame Verdunstung bei 6° – 8°C) gelang. Wir erhielten leicht gelbliche durchsichtige Kristallplättchen der Größe $0,5 \times 0,2 \times 0,02$ mm. Weißenberg- und Precessionsaufnahmen (sowie die exakte Bestimmung auf dem Diffraktometer) ergaben eine trikline Raumgruppe mit Zellabmessungen

$$a = 6,931(2) \text{ \AA}, b = 8,043(2) \text{ \AA}, c = 21,876(6) \text{ \AA}, \alpha = 94,38(2)^\circ, \beta = 93,99(2)^\circ, \gamma = 104,99(2)^\circ.$$

Die mit der Schwebemethode gefundene Dichte von $\delta = 1,395 \text{ g/cm}^3$ ergab 2 Formeleinheiten pro Zelle.

Damit kommen die 2 Raumgruppen $\text{P}1$ und $\text{P}1\bar{1}$ in Frage. Bei $\text{P}1\bar{1}$ müßte Silybin als Racemat vorliegen. Eine Entscheidung darüber konnte a priori nicht getroffen werden. Sie war erst durch Wilson-Statistik möglich. Auch der geringe Drehwinkel von $[\alpha]_D = +10^\circ$ erschien uns für die Festlegung zu $\text{P}1$ (also azentrisch) noch zu unsicher.

Die überraschend perfekten Kristalle erlaubten auf einem R3m-Nicolet Diffraktometer eine Vermessung bis $\theta_{\max} = 56^\circ$ mit CuK_α -Strahlung (Graphit-Monochromator). Im Ω -Scan (Scan range

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Wagner.
0341-0382/83/0500-0339 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

1°, Scan speed 1°/min) wurden 3149 unabhängige Reflexe gemessen, von denen 113 nicht beobachtet waren ($I \leq 2.5 \sigma (I)$). Die Wilson-Statistik brachte noch keine klare Entscheidung zugunsten einer zentrischen oder azentrischen Raumgruppe, die X-ray Analyse wurde also in $P\bar{1}$ versucht. Die Struktur wurde gelöst durch direkte Methoden mit dem Programmsystem SHELXTL [9]. Eine E-map mit den besten der durch Permutationen erhaltenen Phasen-sätze zeigte Fragmente von 2 Molekülen. Die komplette Struktur erhielten wir durch Recycling mit „Sim-weighted“ Fouriersynthesen und anschließenden Differenzfouriersynthesen. Es zeigte sich dabei, daß pro Einheitszelle 2 Methanolmoleküle mitkristallisiert waren. Anschließende Verfeinerungszyklen konvergierten anisotrop bei 7.0%.

Nun wurde versucht, auch die Struktur in der zentrischen Raumgruppe $P\bar{1}$ zu lösen. Dies hätte bedeutet, daß Silybin als reines Racemat vorliegt. Dem widersprach, wie gemessen, ein optischer Drehwinkel von $\neq 0^\circ$. Verfeinerungen in $P\bar{1}$, mit nur einem Molekül in der asymmetrischen Einheit und das zweite Molekül durch die Symmetrieroberation der Raumgruppe erzeugt, endeten bei einem wesentlich schlechteren R-Wert. Es blieben auch einige „spurious peaks“ in der Nähe des Flavanonolteils vorhanden, die dem Molekül nicht sinnvoll zugeordnet werden konnten. Dies war ein Hinweis, daß in diesem Teil die zentrosymmetrische Spiegelung der Raumgruppe $P\bar{1}$ nicht angebracht war.

Ergebnis und Diskussion

Silybin kristallisierte somit in $P\bar{1}$ mit 2 Molekülen in der Zelle (= asymmetrische Einheit), entsprechend Abb. 2. Zunächst schienen beide Moleküle spiegelbildlich zueinander mit entsprechender Translation zu sein. Bei genauerer Analyse war jedoch erkennbar, daß der Flavanonolteil des einen Moleküls durch Drehung in das andere überführbar ist, während dies beim Benzodioxanteil nur durch Spiegelung gelingt. Das bedeutet (werden beide Teile getrennt betrachtet), daß das Flavanonolgerüst in derselben Konfiguration vorliegt und der Benzodioxanteil zwei Enantiomere bildet. Demnach besitzt Silybin die Stereochemie: 2R 3R, $\alpha R \beta R$ und 2R 3R, $\alpha S \beta S$. Natürlich vorkommendes reines Silybin liegt demnach als Diastereomerenpaar nur bezüglich des Benzodioxanteils vor. Diese Untersuchung bestätigt und erklärt die in der Einleitung aufgeführten Befunde und die schwierige Kristallisierbarkeit.

Die Röntgenstruktur bestätigt die aus den NMR-Untersuchungen gewonnenen Kenntnisse:

Die Wasserstoffe am C2 und C3 stehen axial zum Flavanonolgerüst und trans zueinander. Der Benzodioxanteil ist somit äquatorial mit dem Flavanonol verbunden, wobei die beiden Ringteile etwa senkrecht zueinanderstehen. Die Stellung des Hydroxymethylens an $C\beta$ und des Hydroxy-*o*-methoxyphenyl an $C\alpha$ ist exo, die H-Atome an dieser Stelle stehen demnach axial-trans.

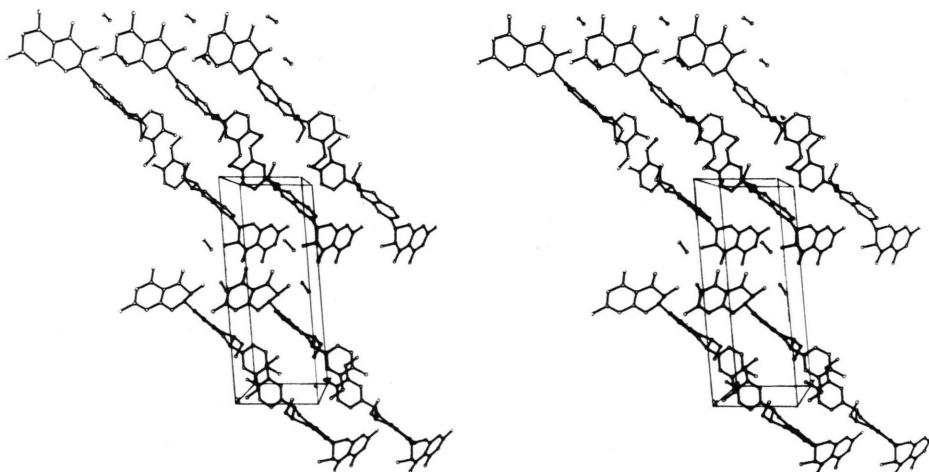


Abb. 2. Kristallstruktur des Silybins.

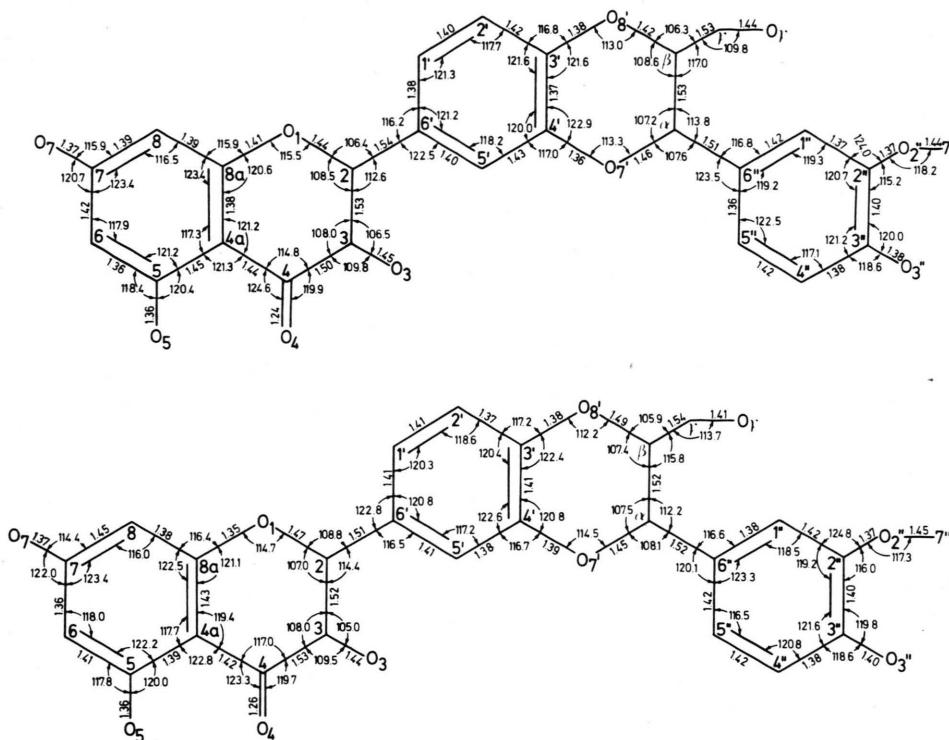


Abb. 3. Abstände und Winkel der beiden Diastereomeren. Das obere Molekül besitzt die 2R 3R, α R β R-Konfiguration.

Die Abb. 3 gibt die Abstände und Winkel der beiden Diastereomeren des Silybins wieder. Die Standardabweichungen der Abstände sind kleiner $0,015 \text{ \AA}$, die der Winkel $\leq 1.0^\circ$. Die beiden Moleküle unterscheiden sich im wesentlichen also um nicht mehr als 2σ mit Ausnahme von Schwankungen der Ringatome im Hydroxy-*o*-methoxyphenyl, die für diese Strukturuntersuchungen keine wichtige Rolle spielen und von der gegenseitigen Beeinflussung der beiden Benzolringe im Kristall (s. Abb. 2) herrühren können.*

* Die Atomkoordinaten sind am Crystallographic Data Centre der Universität Cambridge deponiert.

Zu klären ist nunmehr noch, wie die beiden Moleküle des Diastereomerengemisches den beiden Peaks im HPLC zuzuordnen sind und ob sich genuines Silybin bei der Isolierung in das Diastereomerengemisch umwandelt.

Danksagung

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Bonn) für die Unterstützung dieser Arbeit durch Gewährung von Sachmitteln.

- [1] H. Wagner, L. Hörhammer und R. Münster, *Arzneimforsch* **18**, 698 (1968).
- [2] A. Pelter und R. Hänsel, *Chem. Ber.* **108**, 790–802 (1975).
- [3] L. Merlini, A. Zanarotti, A. Pelter, M. P. Rochefort und R. Hänsel, *J. C. S. Chem. Comm.* **1979**, 695.
- [4] Th. Wieland et al., *Angew. Chemie* **80**, 209 (1968).
- [5] D. J. Abraham, S. Takagi, R. D. Rosenstein, R. Shiono, H. Wagner, L. Hörhammer, O. Seligmann und N. R. Farnsworth, *Tetrahedron Lett.* **31**, 2675 (1970).
- [6] A. Arnone, L. Merlini und A. Zanarotti, *J. C. S. Chem. Comm.* **1979**, 696.
- [7] G. Tittel und H. Wagner, *J. Chromatogr.* **135**, 499 (1977).
- [8] H. Nielsen und P. Arends, *Phytochemistry* **17**, 2040 (1978).
- [9] G. M. Sheldrick, *A Program for Crystal Structure Determination. SHELXTL (Release 2.5)*. Cambridge-Göttingen 1980.