

• 研究简报 •

N-磷酸化氨基酸生成五配位磷中间体过程中氨基酸侧链立体化学效应的理论研究

赵丽娇^a 钟儒刚^{*,a,b} 甄岩^a 赵玉芬^b

(^a北京工业大学生命科学与生物工程学院 北京 100022)

(^b生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室 清华大学化学系 北京 100084)

摘要 用密度泛函(DFT)方法在B3LYP/6-311G(d,p)水平上对*N*-磷酸化氨基酸生成五配位磷酸羧酸混酐(IMCPA)反应中手性氨基酸残基侧链的立体化学效应进行了研究. 模拟了氨基酸残基上羧基氧原子从磷酸基的不同侧面进攻磷原子从而形成不同构型五配位磷中间体的反应途径, 探讨了IMCPA生成过程中的立体选择性.

关键词 *N*-磷酸化氨基酸; 生命起源; 立体化学效应; DFT

Stereochemical Effect of the Amino Acid Side Chain on the Formation of Penta-coordinate Phosphorus Intermediates from *N*-Phosphorylamino acids: A Theoretical Study

ZHAO, Li-Jiao^a ZHONG, Ru-Gang^{*,a,b} ZHEN, Yan^a ZHAO, Yu-Fen^b

(^a College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022)

(^b Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry & Chemical Biology, Ministry of Education, Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract The stereochemical effect of the chiral amino acid residues on the formation of penta-coordinate phosphorus intermolecular mixed carboxylic-phosphoric anhydride (IMCPA) from *N*-phosphorylamino acids was studied with density functional theory (DFT) calculations at B3LYP/6-311G(d,p) level. The reaction pathways for the formation of penta-coordinate phosphorus intermediates with different configurations through the carboxyl oxygen on amino acid group attacking the phosphoryl group from different directions were simulated and the stereoselectivity in the formation of IMCPA was discussed.

Keywords *N*-phosphorylamino acid; origin of life; stereochemical effect; DFT

生命起源是当代自然科学研究的重大问题之一^[1~3]. 在对以*N*-磷酸化氨基酸为中心的各种反应体系进行大量研究^[4~7]的基础上,*N*-磷酸化氨基酸作为生命起源的最小化学进化单元导致核酸和蛋白质共同产生的新观点^[8,9], 对前生命时期聚核苷酸和多肽的生成机理作出了合理的解释. 从这样一个观点出发, 可以为生物大分子的起源和进化中的诸多问题开辟出新的研究

途径, 例如遗传密码的起源、多种生物分子单一手性优势的现象等^[10~12].

研究^[13~16]表明, 带有非极性侧链的磷酸化氨基酸在进行成肽反应或聚核苷酸反应的过程中, 均经过一个含有五元环状结构的五配位磷酸羧酸混酐(IMCPA)中间体, 这一中间体进而与反应体系中的游离氨基酸或核苷反应, 生成肽或聚核苷酸(图1). 由于组成蛋白质的天

* E-mail: lifesci@bjut.edu.cn; Tel.: +86-10-67396139; Fax: +86-10-67392001.

Received November 8, 2005; revised January 5, 2006; accepted March 29, 2006.

国家自然科学基金(No. 20175026)、北京市人才强教计划资助项目.

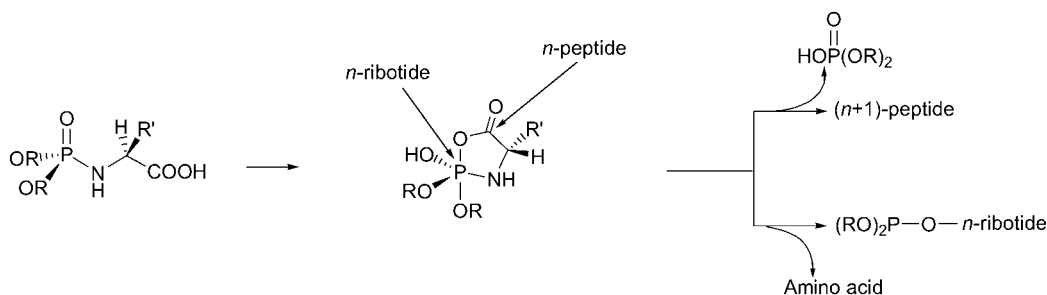


图1 *N*-磷酸化氨基酸经过五配位磷酸羧酸混酐中间体生成肽或聚核苷酸的反应过程

Figure 1 The reaction of *N*-phosphorylamino acid to form peptide and ribotide with the proposed penta-coordinate phosphorus intermediate

然氨基酸为手性分子(甘氨酸除外), 其与磷酸基结合成 *N*-磷酸化氨基酸后形成 IMCPA 的过程中可能存在两种不同的立体化学反应途径(图 2), 即氨基酸残基上羧基氧原子从磷酸基的不同侧面进攻磷原子从而形成立体异构的五配位磷中间体. 这一立体化学效应可能将氨基酸的手性放大并向下一级反应传递, 这对于最终整个生物分子手性体系的形成具有重要意义. 本文使用密度泛函(DFT)方法对该反应的立体化学机制进行了探讨.

1 模型及计算方法

选取带有非极性烃基侧链的五种 *N*-磷酸化氨基酸为反应物模型, 分别是 *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化丙氨酸(DMP-Ala), *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化缬氨酸(DMP-Val), *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化亮氨酸(DMP-Leu), *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化异亮氨酸(DMP-Ile)和 *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化苯丙氨酸(DMP-Phe), 对该五种模型化合物生成立体异构的五配位磷中间体的反应机理进行了计算. 根据文献[15], 该中间体的形成机理为非同步的协同反应, 反应过程中质子在羧基上羟基氧原子和磷上双键氧原子之间通过氢桥键转移, 最终形成具有三角双锥结构的五配位磷中间体. 如图2所示, 在反应途径1中, 羟基氧原子通过磷酸基上 O(2), N, O(3)所在平面的一侧进攻磷原

子, 反应过程中 O(2), N, O(3)三个原子逐渐趋于与磷原子共平面, 最终形成磷酸羧酸混酐的 3 个 e 键, 而 O(1)—P, O(4)—P 形成 2 个 a 键; 其中氨基酸侧链烃基与三角双锥(TBP)结构中赤向上的甲氧基处于五元环平面的同一侧, 成为顺式中间体 *cis*-IMCPA. 在反应途径 2 中, 羟基氧原子则通过磷酸基上 O(2), N, O(4)所在平面的一侧进攻磷原子, 最终形成 3 个 e 键 O(2)—P, O(4)—P, N—P 和 2 个 a 键 O(1)—P, O(3)—P; 其中氨基酸侧链烃基与 TBP 赤向上的甲氧基处于五元环平面的异侧, 成为反式中间体 *trans*-IMCPA.

使用密度泛函 B3LYP 方法^[17,18]在 6-311G(d,p)水平上对反应中涉及的所有反应物和中间体进行了全几何构型优化, 用 STQN 法^[19]搜索反应过渡态. 在相同水平上使用 Onsager 自洽反应场(SCRF)^[20]理论模型计算了水的溶剂效应对反应体系的影响. 计算所有结构的振动频率以确认结构的合理性, 并用内禀反应坐标法(IRC)确认各相关结构之间的关系. 全部计算采用 Gaussian 03 C.02 程序包^[21]在 Intel SR870BH2 服务器上完成.

2 结果与讨论

优化后得到的五种 *N*-磷酸化氨基酸分子在结构上有一个共同特征, 电负性较大的磷酸基双键氧原子

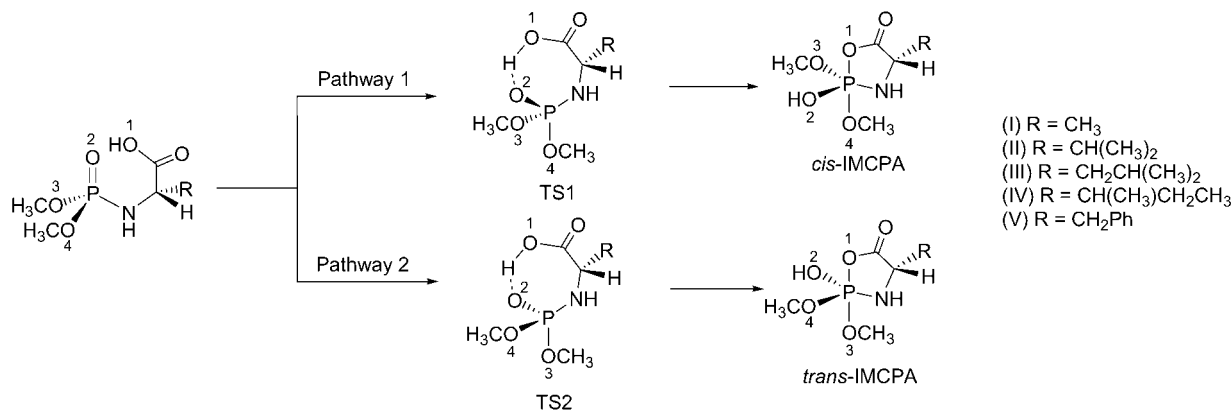


图2 *N*-磷酸化氨基酸生成五配位磷酸羧酸混酐中间体过程中两种不同的立体化学反应途径

Figure 2 The supposed mechanism of stereoisomeric IMCPAs formation from *N*-phosphorylamino acid through two pathways

与氨基酸的羧羟基之间形成分子内氢键($\angle \text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ 平均为 172.7° , $\text{O}(2)-\text{H}$ 距离均介于 $0.27\sim 0.28$ nm 之间). 这种分子内氢键有利于质子从羟基到双键氧的迁移, 进而发生羟基氧原子对磷原子的亲核进攻. 从其立体构型可以看出, 羟基氧原子与磷酸基上双键氧原子、磷原子和氮原子几乎处于平分四配位磷三角锥体的同一平面上, 这就使得羟基氧原子对磷原子的进攻有可能从如图 2 所示的磷酸基两个侧面进行, 生成两种 IMCPA 异构体.

以 *N*-(*O,O*-二甲基)磷酸化丙氨酸(DMP-Ala)为例, 将优化得到的反应过渡态及 IMCPA 的分子几何结构示于图 3, 其主要几何结构参数列于表 1. 数据表明, 作为立体异构体的两种 IMCPA 均为三角双锥几何结构, 新生成的磷-氧键均占据一个轴向位置; 氨基酸 α -碳上的甲基和五配位磷赤向上的甲氧基在同侧的为顺式异构体(*cis*-IMCPA), 而 α -碳上的甲基和五配位磷赤向上的甲氧基在异侧的为反式异构体(*trans*-IMCPA). 可以看到, 在过渡态 TS1 和 TS2 的结构中, 质子和磷原子上双键氧的距离约为 0.108 nm, 羟基氧原子与磷原子的核间距在 $0.25\sim 0.26$ nm 之间. 说明达到反应过渡态时, 质子迁移已经基本完成, 氧原子向磷原子的进攻刚刚开始. 而且, 虽然质子是向同一个氧原子上迁移的, 但是羟基氧向不同的侧面转移导致了两种不同异构体的生成. 在 TS1 结构中的 $\angle \text{O}(1)-\text{P}-\text{O}(4)$ 和 TS2 结构中的 $\angle \text{O}(1)-\text{P}-\text{O}(3)$ 分别为 170.6° 和 168.5° , 表明在过渡态结构中羟基氧原子已经基本上处于即将形成的两种不同构型的 IMCPA 异构体的三角双锥结构的轴线上.

以 B3LYP/6-311G(d,p)方法优化得到的每种反应物的基态分子势能为参照, 将计算得到的气相和水相中所有过渡态的相对能量和 IMCPA 的相对能量列于表 2. 可以看出, 经历反应途径 1 生成顺式异构体(*cis*-IMCPA)所需的反应活化能均高于反应途径 2, 在气相中平均高 2.89 kJ/mol, 当介质由真空变为水溶液时, 途径 1 的活

表 1 B3LYP/6-311G(d,p)水平上计算得到的 DMP-Ala 生成五配位磷酸羧酸混酐反应过渡态及中间体的主要分子几何结构参数

Table 1 Main structural parameters of the transition states and the intermediates in the formation of IMCPAs from DMP-Ala obtained at B3LYP/6-311G(d,p) level

	TS1	<i>cis</i> -IMCPA	TS2	<i>trans</i> -IMCPA
Bond/nm				
O(1) \cdots H(1)	0.140	0.204	0.140	0.205
O(2) \cdots H(1)	0.108	0.097	0.108	0.097
O(1) \cdots O(2)	0.237	0.237	0.238	0.239
P \cdots O(1)	0.255	0.180	0.257	0.183
Angle/ $^\circ$				
O(1)-P-O(3)	87.8	87.0	168.5	175.5
O(1)-P-O(4)	170.6	178.3	89.8	91.0
O(2)-P-O(4)	107.2	92.4	112.3	115.2
N-P-O(4)	102.6	92.4	114.7	120.8
O(1) \cdots H(1) \cdots O(2)	145.9	97.0	147.2	98.1
Dihedral angle/ $^\circ$				
O(1)-P-N-C(1)	-9.7	-8.7	-20.5	-2.9
O(2)-P-O(3)-N	136.2	169.5	123.5	123.6
O(2)-P-O(4)-N	116.5	94.5	135.0	172.2
O(1) \cdots H(1) \cdots O(2)-P	10.8	-1.8	-1.6	0.1

化能比途径 2 平均高 4.79 kJ/mol. 生成的顺式异构体(*cis*-IMCPA)比反式异构体(*trans*-IMCPA)更为稳定, 气相中顺式异构体分子势能比反式异构体平均低 5.75 kJ/mol, 在水相中则平均低 9.96 kJ/mol. 即不论在气相中还是水相中反应途径 2 具有比较低的活化能, 是动力学上有利的反应途径, 反应中反式异构体优先生成; 而由于反应途径 1 所得到的产物更为稳定, 对于可逆反应来说, 在温度较高和较长反应时间的条件下顺式异构体将转变为优势产物.

这一结果表明, *N*-磷酸化氨基酸在气相或水溶液中无论经历那一种途径进行反应, 其产物都将是有立体选择性的, 而且水的溶液效应使得该反应的立体选择性更

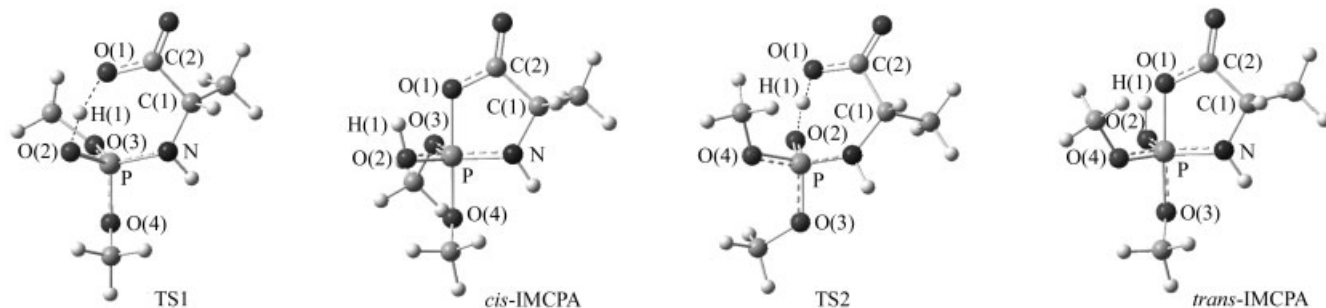


图 3 B3LYP/6-311G(d,p)水平上优化得到的 DMP-Ala 反应过渡态及其生成的五配位磷中间体的分子几何结构

Figure 3 The optimized molecular structures of the transition states and the intermediates in the formation of IMCPAs from DMP-Ala obtained at B3LYP/6-311G(d,p) level

表2 B3LYP/6-311G(d,p)水平上计算得到的气相和水相中所有过渡态和中间体的相对能量(kJ/mol)

Table 2 The relative energies of the transition states and the IMCPAs in gas phase and in water computed at B3LYP/6-311G(d,p) level (kJ/mol)

			DMP-Ala	DMP-Val	DMP-Leu	DMP-Ile	DMP-Phe
In gas phase	Pathway 1	TS1	75.78	71.65	70.20	81.71	62.33
		<i>cis</i> -IMCPA	17.69	13.91	12.85	21.81	8.09
	Pathway 2	TS2	74.45	67.09	67.68	75.69	62.29
		<i>trans</i> -IMCPA	23.73	19.43	18.41	27.40	14.13
In water	Pathway 1	TS1	82.74	77.11	79.56	86.37	63.48
		<i>cis</i> -IMCPA	24.38	28.71	25.45	23.38	11.89
	Pathway 2	TS2	79.07	71.12	73.50	79.95	61.68
		<i>trans</i> -IMCPA	34.36	38.98	34.20	33.40	22.67

加明显;也就是说,氨基酸的手性将对下一步成肽或成聚核苷酸反应的立体选择性产生影响. 通常认为,生命起源的化学进化过程是在原始地球的较高温度环境下长时期进行的,所以更有利于热力学优势产物的形成.

3 结论

通过对 *N*-磷酸化氨基酸经历不同的反应途径生成立体异构的五配位磷酸羧酸混酐中间体的活化能和反应产物的稳定性与其中氨基酸分子手性之间关系的研究,发现这一反应具有立体选择性. 这一结果表明, *N*-磷酸化氨基酸作为前生命化学进化中的关键分子,其立体化学效应可能经历某种持续起作用的放大机制,而影响整个生物分子手性体系的最终形成.

References

- Rode, B. M. *Peptides* **1999**, 20, 773.
- Orgel, L. E. *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23, 491.
- Pace, N. R. *Cell* **1991**, 65, 531.
- Ueno, Y.; Saito, R.; Hata, T. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1347.
- Chen, S. B.; Li, Y. M.; Luo, S. Z.; Zhao, G.; Tan, B.; Zhao, Y. F. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2000**, 164, 277.
- Zhong, R.-G.; Zhao, L.-J.; Zhao, Y.-F. *Acta Chim. Sinica* **2004**, 62, 2444 (in Chinese).
(钟儒刚, 赵丽娇, 赵玉芬, 化学学报, **2004**, 62, 2444.)
- Zhao, Y.-F.; Zhang, J.-C.; Cao, S.-X.; Xu, J.; Rong, C.-L.; Qu, L.-B. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, 24, 609 (in Chinese).
(赵玉芬, 张建臣, 曹书霞, 徐军, 荣垂林, 屈凌波, 有机化学, **2004**, 24, 609.)
- Li, Y. M.; Yin, Y. W.; Zhao, Y. F. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, 39, 375.
- Zhao, Y. F.; Cao, P. S. *J. Biol. Phys.* **1994**, 20, 283.
- Kin, E. E.; Wyckoff, H. W. *J. Mol. Biol.* **1991**, 218, 449.
- Said, M. A.; Pulm, M.; HerbstIrmer, R.; Swamy, K. C. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9841.
- Fu, H.; Li, Z. L.; Zhao, Y. F.; Tu, G. Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 291.
- Lin, C. X.; Li, Y. M.; Cheng, C. M.; Han, B.; Wan, R.; Feng, Y. B.; Zhao, Y. F. *Sci. China, Ser. B: Chem.* **2002**, 45, 337.
- Chandrasekaran, A.; Day, R. O.; Holmes, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11434.
- Zhong, R. G.; Zhao, Y. F.; Dai, Q. H. *Chin. Sci. Bull.* **1998**, 43, 917.
- Tan, B.; Lee, M. C.; Cui, M.; Liu, T.; Chen, Z. Z.; Li, Y. M.; Ju, Y.; Zhao, Y. F.; Chen, K. X.; Jiang, H. L. *THEOCHEM* **2004**, 672, 51.
- (a) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1992**, 96, 2155.
(b) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1992**, 97, 9173.
(c) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.
- Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, 37, 785.
- Peng, C. Y.; Ayala, P. Y.; Schlegel, H. B.; Frisch, M. J. *J. Comput. Chem.* **1996**, 17, 49.
- Tapia, O.; Goscinski, O. *Mol. Phys.* **1975**, 29, 1653.
- Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Zakrzewski, V. G.; Montgomery, J. A. Jr.; Stratmann, R. E.; Burant, J. C.; Dapprich, S.; Millam, J. M.; Daniels, A. D.; Kudin, K. N.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G. A.; Ayala, P. Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Gonzalez, C.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Andres, J. L.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*, Revision C.02, Gaussian Inc., Wallingford, **2004**.