

N,N-二甲基-*N'*-(2', 3'-二脱氧-3'-硫代胞苷)甲脒水解机理的理论研究

张嫦^{①②}, 薛英^{②*}

① 西南民族大学化学与环境保护工程学院, 成都 610041;

② 四川大学化学学院, 成都 610064

* 联系人, Email: yxue@scu.edu.cn

收稿日期: 2007-09-08; 接受日期: 2007-12-10

国家自然科学基金(批准号: 20473055 和 20773089)资助项目

摘要 采用密度泛函理论 B3LYP/6-31+G(d, p)方法研究了 *N,N*-二甲基-*N'*-(2',3'-二脱氧-3'-硫代胞苷)甲脒(甲脒-3TC)分子在气相和水溶液中的水解反应机理. 考虑了两条可能的反应途径: 水分子首先进攻 C=N 双键的途径(Path A)和先进攻 C—N 单键的过程(Path B). 计算结果表明气相中两条途径的第一步均是速率控制步骤, Path A 比 Path B 更有利. 采用自洽反应场极化连续模型(CPCM 模型)在 B3LYP/6-31+G(d, p)水平上研究了反应体系在水溶液中的溶剂化效应. 溶液中第一条途径 Path A 仍是最优途径.

关键词

N,N-二甲基-*N'*-(2', 3'-二脱氧-3'-硫代胞苷)甲脒

水解

溶剂效应

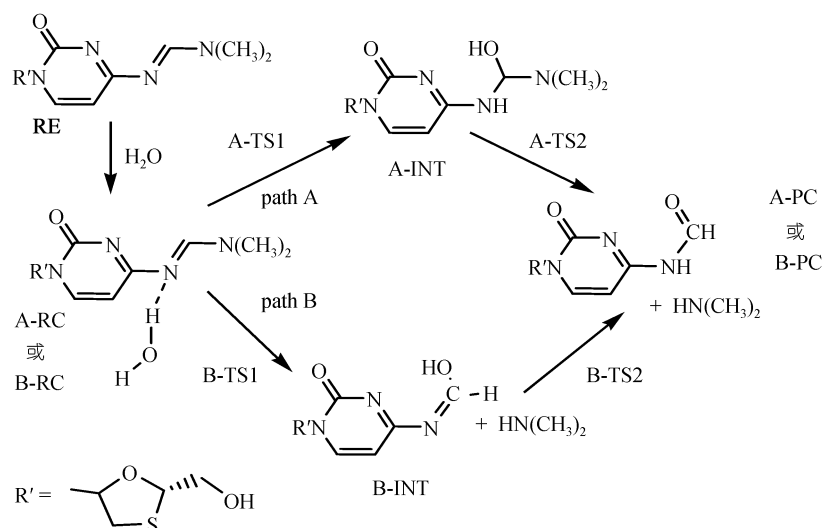
B3LYP

极化连续模型

2',3'-二脱氧-3'-硫代胞苷(2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine, 3TC)是一种修饰核苷, 具有很好的抗病毒活性. Anastasi 等^[1]报道了一种有效的、基于二芳基甲脒结构的非经典核苷类抗病毒药物: 3TC 的甲脒衍生物(甲脒-3TC 或 FA-3TC). 这些引入的二甲基甲脒或二芳基甲脒结构取代了 3TC 中胞嘧啶碱基环上的氨基, 既可以作为保护基团对核苷进行保护, 又能影响该药物的疏水性和水溶性. 实验观察到在生物体内甲脒-3TC 的甲脒基团部分经过一系列的酶促水解过程产生具有药物活性的 3TC 而发挥药效作用, 且标题化合物的水解半衰期在不同的生物媒介中为 2~4.5 h^[1]. 但这个较复杂的水解过程的机理目前尚不清楚. Anastasi 等^[1]推测不同取代基团的甲脒-3TC 通过水解均先产生一个相同的中间体: 甲酰-3TC, 后者再进一步水解脱掉酰基生成 3TC. 对于后一步甲酰-3TC 的水解反应, 我们已采用 B3LYP/6-31G(d,p) 和 MP2/6-

31G(d,p) 以及 Monte Carlo 统计模拟方法对其机理和溶剂效应进行了理论研究^[2]. 在本文中, 我们将采用量子化学理论方法研究甲脒-3TC 在非酶条件下水解为甲酰-3TC 过程的机理.

脒类是一种具有 $R_2N-C=NR'$ 结构的化合物. 近年来, 人们对脒类化合物的性质进行了大量研究, 比如质子亲和势^[3]、质子转移^[4]、异构化过程^[5-7]和单分子热分解^[8]等. 单纯的甲脒水解机理的理论研究文献中已有报道^[9]. Flinn 等^[9]采用从头算 HF, MP2, 和 QCISD 方法以及密度泛函理论 B3LYP 甚至 G1 和 G2 方法研究了甲脒在碱性, 中性和酸性条件下的去氨基化反应. 参照甲脒的水解机理^[9]和甲脒-3TC 的结构特征, 我们对甲脒-3TC 的水解反应设计了两条可能的反应途径, 如式 1 所示. 在本研究中, 我们对整个反应在气相中分别采用了 HF/3-21G 和 B3LYP/6-31+G(d,p) 方法来进行理论计算研究. 而对于水溶



式 1

液中的反应, 采用自洽反应场 CPCM 模型研究其溶剂化效应。

1 计算细节

在本工作中, 我们首先对气相中甲脒-3TC与一分子 H_2O 作用下进行水解反应的两条途径(Path A和Path B)的所有可能的反应物复合物、过渡态、中间体和产物复合物都使用HF/3-21G方法来优化和确定。对所有的优化构型都在相同的计算水平下进行了振动频率分析来确定是极小点或过渡态。对极小点, 所有的振动频率都是正值; 而对过渡态有且只有一个虚频。IRC计算^[10]被用于验证各过渡态关联了正确的反应物和产物。然后对反应势能面上所有的稳定点, 我们采用密度泛函理论B3LYP/6-31+G(d,p)方法重新优化结构和计算能量, 并通过计算频率得到相关的热力学数据, 比如零点振动能(ZPVE), 298.15 K和0.1013 MPa下的焓, 熵和Gibbs自由能。式2给出了涉及水解反应中心的原子的编号。对于水溶液中的

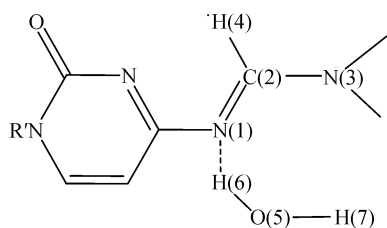
反应, 我们利用B3LYP/6-31+G(d,p)方法优化的几何结构采用导体极化连续介质模型(CPCM模型)^[11]在B3LYP/6-31+G(d,p)水平下进行了单点能计算。所有的计算工作都是采用Gaussian 03程序^[12]完成的。

2 结果和讨论

对甲脒-3TC的水解反应, 本工作考虑了两条可能的反应途径(见式1和2)。Path A是水分子中的氧原子进攻甲脒-3TC的C(2)原子, 同时水分子中的一个氢原子转移到双键N(1)原子上, 形成一个四面体中间体构型。接着羟基上的氢原子转移到氨基N(3)原子上, 同时断裂C(2)—N(3)键。Path B是水分子中的氧原子进攻甲脒-3TC的C(2)原子, 水分子中的一个氢原子先转移到氨基N(3)原子上, 同时断裂C(2)—N(3)键。然后羟基氢迁移到N(1)原子上形成最终产物甲脒-3TC。故途径Path A和Path B都是分步进行的反应过程。

2.1 气相中反应途径各稳定点的结构和能量

我们在B3LYP/6-31+G(d,p)水平下优化得到了途径Path A中的反应物复合物A-RC、第一过渡态A-TS1、中间体A-INT、第二过渡态A-TS2和产物复合物A-PC的几何构型(见图1)。图1也给出了选择的部分优化结构参数。从图1中可以看到, 对于反应物复合物A-RC, 水分子中的H(6)原子与FA-3TC中的N(1)原子形成氢键, 其H(6)—N(1)间的距离为1.914 Å。



式 2

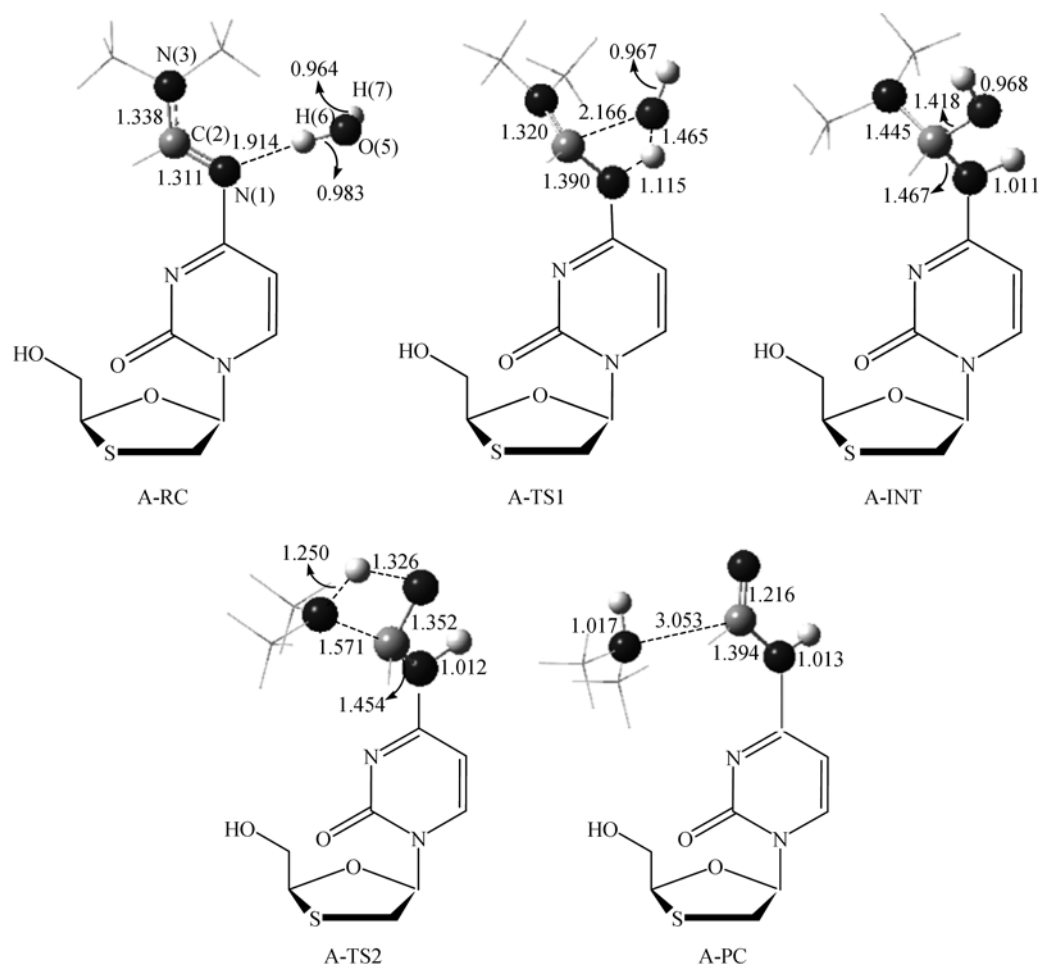


图1 B3LYP/6-31+G(d,p)方法优化的 Path A 中各稳定点的结构

构型 A-TS1 是一个四元环状过渡态, 其 C(2)=N(1) 的距离比反应复合物中的增加了约 0.079 Å. 经过过渡态 A-TS1 后, 反应得到了一个四面体构型的中间体 A-INT. 从构型上来看, C(2)—N(1) 的距离为 1.467 Å, 比反应复合物 A-RC 和过渡态 A-TS1 中的分别长 0.156 和 0.077 Å, 表明中间体中的 C(2)—N(1) 键比复合物 A-RC 和过渡态 A-TS1 中的弱, 已由双键变为单键. 在下一步过程中, C(2) 上羟基中的 H(7) 原子向 N(3) 原子迁移, 形成新的四元环过渡态 A-TS2. 其 C(2)—N(3) 的键长比中间体 A-INT 中的增长 0.126 Å, 而 C(2)—O(5) 键的键长却缩短 0.066 Å. 反应通过过渡态 A-TS2 后, 就得到了甲酰-3TC 和二甲胺的一个 $n-\pi^*$ 产物复合物 A-PC.

同样采用 B3LYP/6-31+G(d,p) 方法全优化了 FA-3TC 水解反应的第二条途径 Path B 的反应复合物

B-RC、第一过渡态 B-TS1、中间体 B-INT、第二过渡态 B-TS2 和产物复合物 B-PC. 其几何结构和一些优化结构参数如图 2 所示. 在反应复合物 B-RC 中, 与 A-RC 不同, 水分子处在 C(2)—H(4) 键这一边, 水中的 O(5) 与 H(4) 原子和 H(6) 与嘧啶环上的 N 原子间形成氢键, 其原子间距离分别为 2.250 和 1.994 Å. 在 Path B 的第一步, H₂O 分子中的 O(5) 原子进攻碳原子 C(2), 同时水中的 H(7) 原子向氨基 N(3) 原子上迁移. 第一过渡态 B-TS1 是由 O(5), C(2), N(3) 及 H(7) 构成的四元环结构. 从 B-RC 到 B-TS1, C(2)—N(3) 单键拉长了 0.164 Å, H(7)—N(3) 单键部分形成. 由 B-TS1 生成稳定的中间体 B-INT, 这时二甲胺已基本形成但并未完全脱离 3TC 的主体部分, N(3) 和 H(4) 间以氢键相连, 其距离为 2.221 Å. 在第二过渡态 B-TS2 中, 随着羟基上 H(6) 原子向 N(1) 原子迁移, N(1)—C(2) 键长增长,

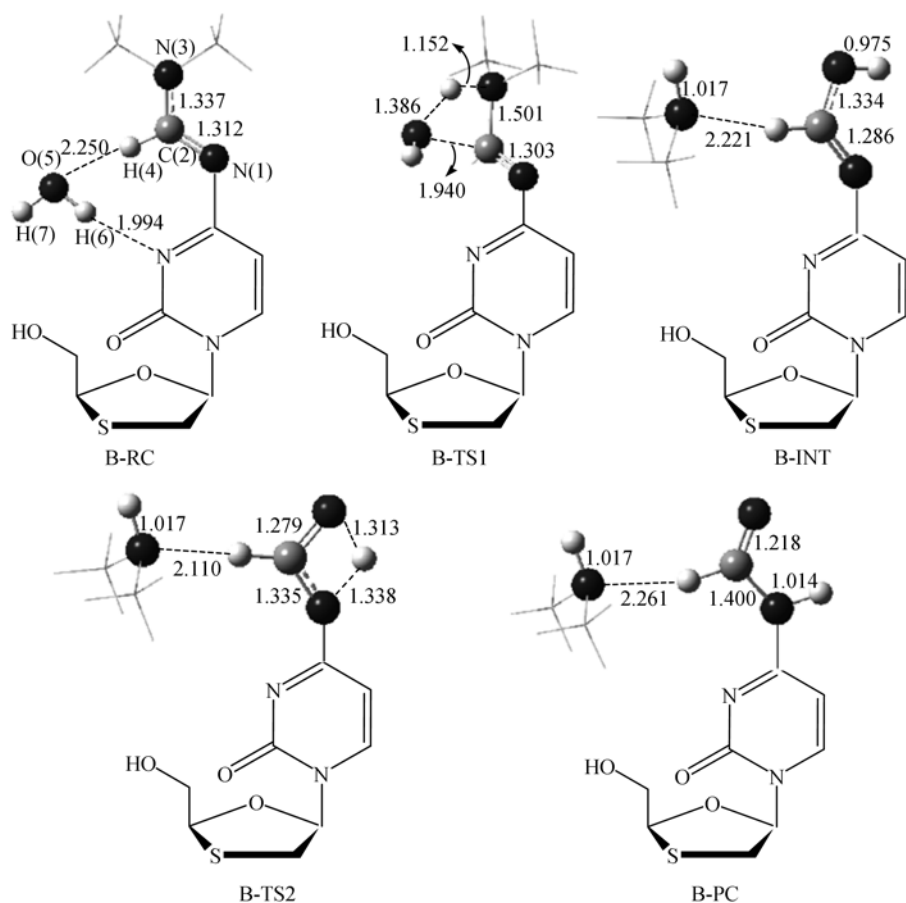


图 2 B3LYP/6-31+G(d,p)方法优化的 Path B 中各稳定点的结构

O(5)—C(2)键长缩短. 产物复合物 B-PC 是反应经过过渡态 B-TS2 得到的. H(4)和 N(3)原子间氢键保持, 其距离为 2.261 Å.

在 B3LYP/6-31+G(d,p)方法下计算了甲脒-3TC 水解反应两条途径 Path A 和 Path B 上各稳定点的电子能量, 反应的相对能量变化见图 3. 总的说来, 对于 Path A 和 Path B, 气相中第一个过渡态 A-TS1 和 B-TS1 的相对能量(分别为 36.6 和 46.4 kcal/mol, 1 cal = 4.184 J)都比相应的第二个过渡态 A-TS2 和 B-TS2 的相对能量(分别为 29.9 和 39.0 kcal/mol)高, 因此两种机理的速率控制步骤均是第一步反应. 表 1 给出了两条反应途径中各基元步骤的活化过程和反应过程的热力学量改变值. 比较 Path A 和 Path B 的速控步骤的活化能垒, 前者(42.3 kcal/mol)比后者(56.0 kcal/mol)的低 13.7 kcal/mol, 所以在气相中, FA-3TC 的水解反应 Path A 过程是优势途径.

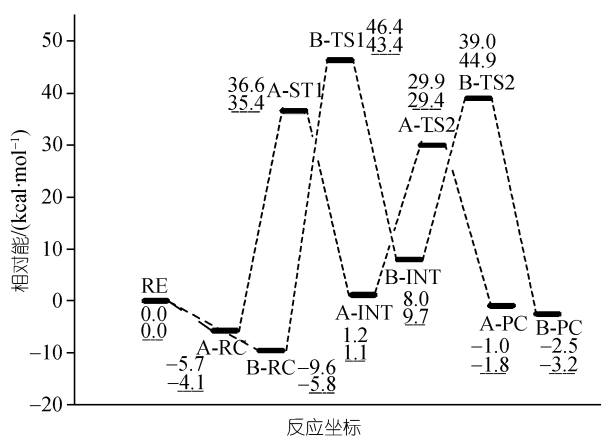


图 3 甲脒-3TC 水解反应中两条途径 Path A 和 Path B 的反应势能曲线(相对能量的单位为 kcal/mol)

正常字体: 在气相; 带下划线: 在溶液中

2.2 键级分析

为了进一步研究各反应过渡态沿着反应路径的

表 1 甲脒-3TC 水解反应各基元步骤中电子能量和自由能(298.15 K 和 0.1013 MPa)的改变值(kcal/mol)

途径			第一步		第二步		RC → PC
			RC → TS1	RC → INT	INT → TS2	INT → PC	
Path A	气相	ΔE	42.3	6.9	28.8	-2.1	4.8
		ΔG	42.4	11.5	26.6	-7.9	3.7
	水溶液	ΔE	39.6	5.3	28.2	-3.0	2.3
		ΔG	38.9	3.6	28.5	0.3	3.9
Path B	气相	ΔE	56.0	17.6	31.0	-10.5	7.1
		ΔG	56.2	16.3	28.8	-10.0	6.3
	水溶液	ΔE	49.2	15.5	35.2	-12.9	2.6
		ΔG	47.7	15.9	35.5	-12.6	3.3

性质, 我们在B3LYP/6-31+G(d,p)方法优化得到的几何结构基础上采用相同的计算水平进行了自然键轨道NBO计算^[13]和获得了Wiberg键级数值. 在一个反应机理中, 键的断裂和生成过程的综合特征可以由物理量—同步性(synchronicity, S_y)来描述^[14,15]. 这个物理量是由Moyano等^[16]提出的, 其定义由下式给出:

$$S_y = 1 - \left[\sum_{i=1}^n |(E_v)_i - (E_v)_{ave}| / (E_v)_{ave} \right] / (2n - 2), \quad (1)$$

式中的 n 是直接涉及反应的键的数目, 键级的进化百分比 $(E_v)_i$ 可通过式(2)计算:

$$(E_v)_i = 100 \times \left[B_i^{TS} - B_i^R \right] / \left[B_i^P - B_i^R \right]. \quad (2)$$

这里的上标 R, TS, P 分别表示该基元反应的反应物, 过渡态和产物. 键级进化百分比的平均值 $(E_v)_{ave}$ 可表示为:

$$(E_v)_{ave} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (E_v)_i. \quad (3)$$

由 NBO 分析获得的 Wiberg 键级 B_i 和根据公式(1)~(3)计算的键级进化百分比 $(E_v)_i$ 和同步性 S_y 数据被列于表 2 中. 从表 2 可看出, 对于 Path A 的第一步, 过渡态 A-TS1 的 E_v 值反映出 O(5)—H(6)键的断裂(E_v

= 71.14%)和 N(1)—H(6)的生成(E_v = 64.42%)是所有断键/成键过程中非常提前的, 这对应着 H(6)原子从水分子的 O(5)到 C(2)=N(1)双键的 N(1)原子的迁移过程. C(2)=N(1)键由双键变为单键的过程也是提前的(E_v = 71.55%). 而 C(2)—O(5)键的形成却非常迟, 因为该键的键级进化率 E_v 只有 29.92%. 对于第二步反应, C(2)—N(3)键的断裂和 C(2)—O(5)双键的形成也是非常迟的(E_v 分别为 18.80%和 21.19%). 而 H(7)原子从 O(5)上到 N(3)原子的迁移过程进展比 C(2)—N(3)键断裂和 C(2)=O(5)双键形成过程提前. 同步性 S_y 的值 0.835 和 0.694 表明途径 Path A 的第一步反应是同步的而第二步是异步的过程.

对于 Path B 的第一步反应过渡态, H(7)原子从水分子的 O(5)到 C(2)—N(3)键的 N(3)原子的迁移过程(O(5)—H(7)和 N(3)—H(7)的 E_v 分别为 67.04%和 54.98%)比 C(2)—O(5)键(E_v 为 36.46%)形成过程提前. 而 C(2)—N(3)键(E_v 为 18.72%)的断裂几乎没有进行. 对于第二步反应, C(2)=N(1)双键向 C(2)—N(1)单键转变(E_v 为 51.37%), C(2)—O(5)键从单键转化为 C=O 双键的过程(E_v 为 45.11%)以及 H(6)原子从 O(5)到 N(1)上的迁移过程几乎进展相同, 高达 0.966 的同步性 S_y 值也说明这一步反应是非常同步的过程. 而

表 2 Wiberg 键级(B_i), 键级进化百分比(E_v)和同步性(S_y)

途径	第一步					第二步				
	B_i^{RC}	B_i^{TS1}	B_i^{INT}	E_v	S_y	B_i^{INT}	B_i^{TS2}	B_i^{PC}	E_v	S_y
Path A	C(2)—N(1)	1.4751	1.0778	0.9198	71.55	C(2)—N(3)	1.0034	0.8188	0.0217	18.80
	C(2)—O(5)	0.0016	0.2804	0.9317	29.92	C(2)—O(5)	0.9317	1.1064	1.7560	21.19
	O(5)—H(6)	0.6765	0.1987	0.0049	71.14	O(5)—H(7)	0.7116	0.2971	0.0040	58.58
	N(1)—H(6)	0.0636	0.5211	0.7738	64.42	N(3)—H(7)	0.0089	0.4045	0.8150	49.08
	C(2)—N(3)	1.0655	0.8696	0.0190	18.72	C(2)—N(1)	1.6330	1.3368	1.0564	51.37
Path B	C(2)—O(5)	0.0067	0.4146	1.1256	36.46	C(2)—O(5)	1.1256	1.4160	1.7694	45.11
	O(5)—H(7)	0.7419	0.2445	0.0000	67.04	O(5)—H(6)	0.0000	0.3331	0.0067	52.69
	N(3)—H(7)	0.0001	0.4502	0.8187	54.98	N(1)—H(6)	0.0160	0.3820	0.7670	48.74

第一步反应是稍微异步的过程($S_y = 0.749$).

2.3 溶剂效应

由于真实的水解反应是发生在人体中的溶液环境, 所以考虑溶剂效应对水解反应的影响是非常有意义的. 我们在 B3LYP/CPCM/6-31+G(d, p)理论水平下, 计算得到了反应体系的两条途径的各稳定点在水溶液中的能量. 甲脒-3TC 水解反应各基元步骤在水溶液中的活化能垒和活化自由能垒也列于表 1 中. 从表 1 可以看出, 甲脒-3TC 在溶液中的水解反应, 相对于气相反应, 各步骤的活化自由能垒由于溶剂效应的影响变化是不同的. 在途径 Path A 中, 对于第一步反应, 过渡态 A-TS1 的偶极矩(6.954 deb, 1 deb = 3.3356×10^{-30} C·m)大于反应物复合物的(6.711 deb), 因此水对过渡态 A-TS1 的溶剂化作用比对反应复合物 A-RC 强, 溶剂的作用是稳定化了过渡态, 这使得溶液中的活化自由能垒与气相比较降低了 3.5 kcal/mol. 对于第二步反应, 情况刚好相反(过渡态 A-TS2 和中间体 A-INT 的偶极矩分别为 5.224 和 7.209 deb), 水对 A-TS2 的溶剂化作用则比对中间体 A-INT 的弱, 溶剂的作用是去稳定化了过渡态, 所以溶液中的活化自由能垒升高了 1.8 kcal/mol. 在途径 Path B 中, 水对第一步反应的影响较大, 水的作用也是稳定化了过渡态(反应复合物 B-RC 比过渡态 B-TS1 的偶极矩小 2.770 deb), 溶液中的活化自由能

垒大大降低, 降低了 8.6 kcal/mol. 对于第二步反应, 由于水升高了过渡态 B-TS2 的能量, 溶液中的活化自由能垒与气相比较增加了 6.8 kcal/mol. 从表 1 还可看到, 在 Path A 和 Path B 两条途径中, 溶液中第一步反应的活化能垒和活化自由能垒都比第二步的高, 说明第一步反应仍然是速率控制步骤. 比较两条途径的速控步骤在溶液中的自由能垒, 前者比后者低 8.8 kcal/mol. 所以在溶液中甲脒-3TC 的水解反应 Path A 仍是最优途径, 与在气相中的结论一致.

3 结论

我们采用 B3LYP/6-31+G(d, p)方法研究了 *N,N*-二甲基-*N'*-(2',3'-二脱氧-3'-硫代胞苷)甲脒分子的非酶水解反应机理. 水的溶剂效应通过 B3LYP/6-31+G(d, p)理论水平和自洽反应场 CPCM 模型利用 B3LYP/6-31+G(d, p)方法优化的气相结构进行单点能计算而获得. 结果表明: 两条可能的反应途径 Path A 和 Path B 都是两步过程. 不论是在气相还是在水溶液中, 这两条反应途径的速率控制步骤都是第一步. 综合气相和水相的计算结果, 甲脒-3TC 的最优水解反应途径是水分子首先进攻甲脒-3TC 中 C=N 双键(Path A)的过程, 其决速步骤的活化能垒和活化自由能垒分别为 39.6 和 38.9 kcal/mol. 这些结果将为以后研究水助的或酶催化的水解过程提供有用的信息.

参考文献

- 1 Anastasi C, Hantz O, Clercq F D, Pannecouque C. Potent nonclassical nucleoside antiviral drugs based on the *N,N*-diarylformamidine concept. *J Med Chem*, 2004, 47: 1183—1192[DOI]
- 2 Wu Y, Xue Y, Xie D Q, Kim C C, Yan G S. Theoretical studies on the hydrolysis mechanism of *N*-(2-oxo-1,2-dihydro-pyrimidinyl)formamide. *J Phys Chem B*, 2007, 111: 2357—2364[DOI]
- 3 Peeters D, Leroy G, Wilante C. Proton affinities and proton transfer in imine, amidine and guanidine series. *J Mol Struct*, 1997, 416: 21—32[DOI]
- 4 Simperler A, Mikenda W, Schwarz K. Proton motion and proton transfer in the formamidine-formic acid complex: an *ab initio* projector augmented wave molecular dynamics study. *Chem Eur J*, 2001, 7: 1606—1613[DOI]
- 5 Zhang Q, Bell R, Truong T N. *Ab initio* and density functional theory studies of proton transfer reactions in multiple hydrogen bond systems. *J Phys Chem*, 1995, 99: 592—599[DOI]
- 6 Nguyen K A, Gordon M S, Truhlar D G. Effect of hydration and dimerization of the formamidine rearrangement. *J Am Chem Soc*, 1991, 113: 1596—1600[DOI]
- 7 Lim J H, Lee E K, Kim Y. Theoretical study for solvent effect on the potential energy surface for the double proton transfer in formic acid dimer and formamidine dimer. *J Phys Chem*, 1997, 101: 2233—2239

- 8 Andrés J, Beltran A, Carda M, Krechl J, Monterde J, Silla E. Amidine decomposition mechanism. A theoretical study. *J Mol Struct (Theochem.)*, 1992, 254: 465—472[DOI]
- 9 Flinn C, Poirier R A, Sokalski W A. *Ab initio* study of the deamination of formamidine. *J Phys Chem A*, 2003, 107: 11174—11181 [DOI]
- 10 Fukui K. A formulation of the reaction coordinate. *J Phys Chem*, 1970, 74: 4161—4163[DOI]
- 11 Barone V, Cossi M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model. *J Phys Chem A*, 1998, 102: 1995—2001[DOI]
- 12 Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, Scuseria G E, Robb M A, Cheeseman J R, Montgomery Jr. J A, Vreven T, Kudin K N, Burant J C, Millam J M, Iyengar S S, Tomasi J, Barone V, Mennucci B, Cossi M, Scalmani G, Rega N, Petersson G A, Nakatsuji H, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Klene M, Li X, Knox J E, Hratchian H P, Cross J B, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann R E, Yazyev O, Austin A J, Cammi R, Pomelli C, Ochterski J W, Ayala P Y, Morokuma K, Voth G A, Salvador P, Dannenberg J J, Zakrzewski V G, Dapprich S, Daniels A D, Strain M C, Farkas O, Malick D K, Rabuck A D, Raghavachari K, Foresman J B, Ortiz J V, Cui Q, Baboul A G, Clifford S, Cioslowski J, Stefanov B B, Liu G, Liashenko A, Piskorz P, Komaromi I, Martin R L, Fox D J, Keith T, Al-Laham M A, Peng C Y, Nanayakkara A, Challacombe M, Gill P M W, Johnson B, Chen W, Wong M W, Gonzalez C, Pople J A. Gaussian 03. Version D01. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2005
- 13 Reed A E, Curtiss L A, Weinhold F. Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint. *Chem Rev*, 1988, 88: 899—926[DOI]
- 14 Xue Y, Kang C H, Kim C K, Lee I. Theoretical studies on the gas-phase pyrolysis of 2-phenoxy-carboxylic acids: an ONIOM approach. *J Comput Chem*, 2003, 24: 963—972[DOI]
- 15 Xue Y, Kim C K, Guo Y, Xie D Q, Yan G S. DFT study and Monte Carlo simulation on proton transfers of 2-amino-2-oxazoline, 2-amino-2-thiazoline, and 2-amino-2-imidazoline in the gas phase and in water. *J Comput Chem*, 2005, 26: 994—1005[DOI]
- 16 Moyano A, Pericàs M A, Valent A. A theoretical study on the mechanism of the thermal and the acid-catalyzed decarboxylation of 2-oxetanones (β -lactones). *J Org Chem*, 1989, 54: 573—582[DOI]