第 72 卷 第 5 期
2026 年 10 月

武汉大学学报(理学版)
J. Wuhan Univ. (Nat. Sci. Ed.)

Vol. 72 No. 5
Oct. 2026, 758~768

DOI: 10.14188/j.1671-8836.2026.0050

生命体内自由和束缚水环境下苯丙氨酸钙与羟基自由基的反应机理

王佐成[1],闫红彦[2†],赵红迪[1†],赵　宇[2],杨　静[3],王恩辉[1],赵媛媛[4]

1. 海南科技职业大学 医药学院,海南 海口 571126;
2. 白城师范学院 理论计算中心,吉林 白城 137000;
3. 海南科技职业大学 海南自贸港生物医药产业链供应链数字化研究基地,海南 海口 571126;
4. 东北师范大学 化学学院,吉林 长春 130024

收稿日期: 2026-03-29
† 通信联系人 E-mail: yanhongyan@bcnu.edu.cn(闫红彦);zhaohongdi@hvust.edu.cn(赵红迪)
基金项目:海南省教育厅科学研究项目(Hnky2026ZD-15);海南科技职业大学校级科研重点项目(HKKY2025-ZD-01,HKKY2024-TD-19)
第一作者:王佐成,男,教授,现从事计算化学研究。E-mail: wangzc188@163.com

摘　要: 采用密度泛函理论(DFT)研究了生命体内(310.15 K、1.013×10^5 Pa)自由水和束缚水环境下苯丙氨酸钙(Phe→Ca^{2+})与羟基自由基(·OH)反应的机理。该反应有·OH提氢、·OH加成和单电子转移3个通道。自由水环境下,提氢的优势反应是能垒为35.2~49.6 kJ/mol的显著放热过程;加成的优势反应是能垒为27.7~45.4 kJ/mol的放热过程。束缚水环境下,提氢的优势反应是能垒为40.0~45.8 kJ/mol的放热过程;加成的优势反应是能垒为38.8~45.5 kJ/mol的放热过程。自由水和束缚水环境下,电子转移过程热力学和动力学均不允许。研究表明,生命体内自由水和束缚水环境下Phe→Ca^{2+}可通过提氢和加成两个途径清除·OH。

关　键　词: 苯丙氨酸钙;羟基自由基;密度泛函理论;自由水;束缚水;自由能垒;氨基酸

中图分类号: O641.12　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1671-8836(2026)05-0758-11

Reaction Mechanism of Phenylalanine Calcium with Hydroxyl Radical in Free and Bound Water Environments in Living Organisms

WANG Zuocheng[1], YAN Hongyan[2†], ZHAO Hongdi[1†], ZHAO Yu[2], YANG Jing[3], WANG Enhui[1], ZHAO Yuanyuan[4]

1. School of Medicine, Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou 571126, Hainan, China;
2. Theoretical Computing Center, Baicheng Normal University, Baicheng 137000, Jilin, China;
3. Hainan Free Trade Port Biopharmaceutical Industry Chain and Supply Chain Digitalization Research Base, Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou 571126, Hainan, China;
4. School of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130024, Jilin, China

Abstract: In this paper, the reaction mechanism between phenylalanine calcium (Phe→Ca^{2+}) and hydroxyl radical (·OH) in free water and bound water environments at 310.15 K and 1.013×10^5 Pa *in vivo* was investigated using density functional theory (DFT). The reaction proceeds via three channels: H-abstraction by ·OH, ·OH addition, and single-electron transfer. Calculations indicate that in the free water environment, the favorable H-abstraction reactions are significantly exothermic processes with energy barriers ranging from 35.2 to 49.6 kJ/mol; the favorable addition reactions are exothermic processes with energy barriers ranging from 27.7 to 45.4 kJ/mol. In the bound water environment, the favorable H-abstraction reactions are exothermic processes with energy barriers ranging from 40.0

引用格式:王佐成,闫红彦,赵红迪,等. 生命体内自由和束缚水环境下苯丙氨酸钙与羟基自由基的反应机理[J]. 武汉大学学报(理学版),2026,72(5):758-768. DOI:10.14188/j.1671-8836.2026.0050.

WANG Zuocheng, YAN Hongyan, ZHAO Hongdi, *et al*. Reaction Mechanism of Phenylalanine Calcium with Hydroxyl Radical in Free and Bound Water Environments in Living Organisms [J]. *J Wuhan Univ (Nat Sci Ed)*, 2026, 72(5): 758-768. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2026.0050(Ch).

to 45.8 kJ/mol; the favorable addition reactions are exothermic processes with energy barriers ranging from 38.8 to 45.5 kJ/mol. In both free water and bound water environments, the electron transfer process is thermodynamically and kinetically unfavorable. The results indicate that Phe→Ca^{2+} can scavenge ·OH radicals via both H-abstraction and addition pathways in free water and bound water environments *in vivo*.

Key words: phenylalanine calcium; hydroxyl radical; density functional theory; free water; bound water; free energy barrier; amino acids

0　引　言

羟基自由基(hydroxyl radical,·OH)是由氢氧根失去电子形成的活性氧物种,具有极强的氧化活性,能够通过氧化DNA和蛋白质,诱发心脑血管损伤、癌症等多种严重疾病[1]。紫外线辐射及不良生活习惯等因素均可导致人体内或皮肤表面产生·OH[2]。因此,寻找高效的·OH清除剂,有效清除体内过量生成的·OH,对于维护人体健康具有重要意义。研究发现,没食子酸(gallic acid,GA)[3]、没食子酸甲酯(methyl gallate,MG)[4]和没食子酸乙酯(ethyl gallate,EG)[5]均具有优异的·OH清除能力,反应机理研究表明,·OH与GA、MG和EG主要通过提氢和加成两条路径发生反应。其中,·OH与GA的反应为无势垒的放热过程,与MG、EG的优势反应能垒仅为0.1～0.3 kJ/mol,均远低于急速反应能垒阈值(10.8 kJ/mol[6]),表明这3种物质均为高效的·OH清除剂,且MG和EG的活性优于GA。苹果酸(malic acid,MA)[7]、α-丙氨酸(α-alanine,α-Ala)[8]和缬氨酸(valine,Val)[9]与·OH反应的优势提氢反应能垒分别为15.3、24.7和12.5 kJ/mol,均低于快速反应能垒阈值(50.6 kJ/mol[6]),说明三者均为较理想的·OH清除剂,其中MA和Val的抗氧化能力优于α-Ala。

近年来,氨基酸金属配合物的抗氧化性能逐渐受到关注。密度泛函理论(density functional theory,DFT)研究显示,苯丙氨酸镁(Phe→Mg^{2+})[10]与·OH反应的优势能垒为14.1～25.1 kJ/mol,表明其可有效清除·OH。目前,关于苯丙氨酸钙(Phe→Ca^{2+})与·OH的反应机理尚未见报道。生命体内的·OH并非仅存在于自由水相中,还分布于蛋白质等生物大分子表面的束缚水层中,不同水合微环境可能显著影响反应的动力学和热力学行为。为全面评估Phe→Ca^{2+}的抗氧化活性,本研究采用DFT方法,系统探究了自由水和束缚水两种环境下Phe→Ca^{2+}与·OH的反应机理,旨在为苯丙氨酸钙用作潜在·OH清除剂提供理论依据。

1　计算方法及模型

采用M06-2X泛函方法[11],在6-311+G(d,p)基组水平,优化Phe→Ca^{2+}与·OH在生命体内自由水(FW,类似纯水,介电常数ε=78.39)和束缚水(BW,蛋白周围的水,ε=2.0～4.0,本文取4.0)环境下(温度310.15 K、压强1.013×10^5 Pa)反应的驻点,自由水和束缚水的溶剂效应分别采用SMD模型[12]和CPCM[13-14]模型处理。提氢及加成过程通常存在鞍点过渡态(TS)[15],通过对TS进行内禀反应坐标(IRC)计算[16],确认TS与预期的INT(稳定点)关联。为获得驻点的高水平能量,采用高精度MN15[17]泛函方法,在6-311++G(3df,2pd)基组下计算驻点的电子能(单点能),其中自由水和束缚水的溶剂效应分别采用SMD[12]和IEFPCM[18-19]模型处理。体系吉布斯自由能为M06-2X/6-311+G(d,p)水平的自由能热校正(G_{tc})与MN15/6-311++G(3df,2pd)水平的电子能加和。

自由水和束缚水环境下的单电子转移均无过渡态,吉布斯自由能垒$\Delta G_{SET}^{\neq}$用马库斯理论[20-21]计算:

$$\Delta G_{SET}^{\neq}=\frac{\lambda}{4}(1+\Delta G_{SET}/\lambda)^2 \tag{1}$$

λ为反应过程的重组能,计算如下:

$$\lambda=\Delta E_{SET}-\Delta G_{SET} \tag{2}$$

式中:ΔE_{SET}和ΔG_{SET}分别为反应过程的非绝热能变(产物与反应物电子能之差。产物仅指反应物失去1个电子的产物,构型不变)和吉布斯自由能变。

根据以往研究[22-23],1个H_2O与Phe→Ca^{2+}中的Ca^{2+}配位生成的配合物主要为Phe→Ca^{2+}←H_2O,因此本文主要讨论Phe→Ca^{2+}←H_2O与·OH的反应。H_2O用W表示,Phe→Ca^{2+}←H_2O缩写为P→Ca^{2+}←W。水环境下·OH可单独存在,也可与H_2O及水簇$(H_2O)_n$(n为大于1的整数)形成自由基水簇。本文仅讨论P→Ca^{2+}←W与·OH以及OH·H_2O(OH·W)的反应。

自由水(FW)环境下,·OH攻击P→Ca^{2+}←W的9H的反应物体系用P→Ca^{2+}←W@FW+OH_9H@FW表示,·OH提9H的复合反应物用

RC_OH_9H@FW表示,·OH提9H的复合产物用PC_OH_9H@FW表示,过渡态用TS_OH_9H@FW表示;PC_OH_9H@FW解离出水分子(W)的产物体系记作P_OH_9H@FW+W@FW,其中P_OH_9H@FW为解离产物。束缚水(BW)环境下,·OH攻击14C的反应物体系用P→Ca^{2+}←W@BW+OH_14C@BW表示,·OH与14C加成的复合反应物用RC_OH_14C@BW表示;加合产物用P_OH—14C@BW表示;过渡态用TS_OH_14C@BW表示;其他体系表示法与此相似。

计算工作由Gaussian 16和AIM2000程序完成,数据处理由课题组的YJZ 2025程序完成。

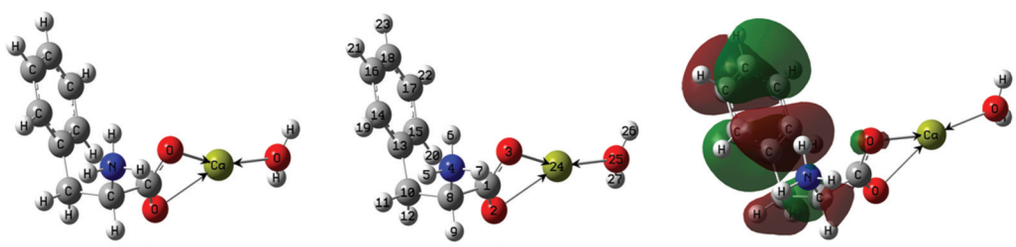
2 结果与讨论

对自由水(FW)和束缚水(BW)环境下P→Ca^{2+}←W@FW、P→Ca^{2+}←W@BW与OH@FW、OH·W@FW的反应机理分别进行讨论。

2.1 自由水环境下P→Ca^{2+}←W与·OH反应

自由水环境下P→Ca^{2+}←W@FW的稳定构象及最高占据分子轨道(highest occupied molecular orbital,HOMO,是分子最容易给出电子的轨道)见图1。

分别讨论P→Ca^{2+}←W@FW与OH@FW和OH·W@FW的提氢、加成以及单电子转移反应。



(a) 元素符号 (b) 原子序号 (c) HOMO轨道

图1 自由水环境下P→Ca^{2+}←W@FW稳定的几何构型及其HOMO轨道

Fig. 1 Stable geometric configuration and HOMO orbital of P→Ca^{2+}←W@FW under free-water environment

2.1.1 提氢反应

从图1中P→Ca^{2+}←W@FW的HOMO轨道可知,氨基氢和苯环氢活性较差,β-氢和α-氢活性较好,故本文仅对提α-9H和β-12H过程进行讨论,反应历程见图2,所有提氢反应的势能面见图3。其中,提α-9H给出完整过程,其他情况给出OH@FW和OH·W@FW在无穷远处攻击H(没有RC的反应)或RC经TS形成PC的过程;提其他H(H11除外)的反应历程见图S1(支持信息);体系的自由能校正、单点能及总自由能见表S1(支持信息)。

2.1.1.1 OH@FW提9H

首先,OH@FW攻击P→Ca^{2+}←W@FW的9H,当OH@FW与9H的距离为0.271 94 nm时,OH@FW与P→Ca^{2+}←W@FW通过电荷转移和范德华等作用形成RC_OH_9H@FW。该过程8C—9H从0.108 95 nm增至0.108 99 nm,其键临界电荷密度(ρ_{BCP})从0.284 65 a.u.(原子单位)略降至0.284 46 a.u.,拉普拉斯值($\nabla^2\rho$)始终为负值,8C—9H共价作用下降,自由能为21.7 kJ/mol。从P→Ca^{2+}←W@FW+OH_9H@FW到RC_OH_9H@FW自由能增加,RC_OH_9H@FW是不稳定的瞬时前复合物。然后,8C—9H拉伸至0.117 91 nm,其ρ_{BCP}降至0.218 04 a.u.,$\nabla^2\rho$仍为负,8C—9H共价强度继续降低;28O与9H的距离拉近至0.137 34 nm,形成TS_OH_9H@FW,自由能为41.3 kJ/mol。接着,越过TS,9H向28O迁移,与·OH结合成水分子W@FW(9H—28O—29H),形成PC_OH_9H@FW(其29H和2O距离为0.185 87 nm,W与2O氢键作用),自由能为−85.8 kJ/mol。NBO计算表明,PC_OH_9H@FW中9H、28O和29H的电子自旋密度均为0.0,·OH失去氧化性,至此·OH提9H反应过程完成。最后,PC_OH_9H@FW解离为P_OH_9H@FW和W@FW,体系自由能降至−118.4 kJ/mol。PC解离过程自由能降低,此过程可通过分子间的碰撞实现。

RC_OH_9H@FW的自由能较P→Ca^{2+}←W@FW+OH_9H@FW大,寿命为ps~ns级,长于TS的寿命(飞秒级),该反应可视为准直接提氢过程。反应能垒是从P→Ca^{2+}←W@FW+OH_9H@FW到TS_OH_9H@FW的自由能变41.3 kJ/mol。此反应自由能变为负,为热力学允许过程;反应能垒小于快速反应能垒42.9 kJ/mol[6],为动力学允许的快速反应。NBO计算表明,此反应PC中W(9H—28O—29H)的自然布居分析(natural population analysis,NPA)电荷为−0.017e($1e$=1.602×10^{-19} C),趋近于零,说明OH@FW提9H是H原子转移。

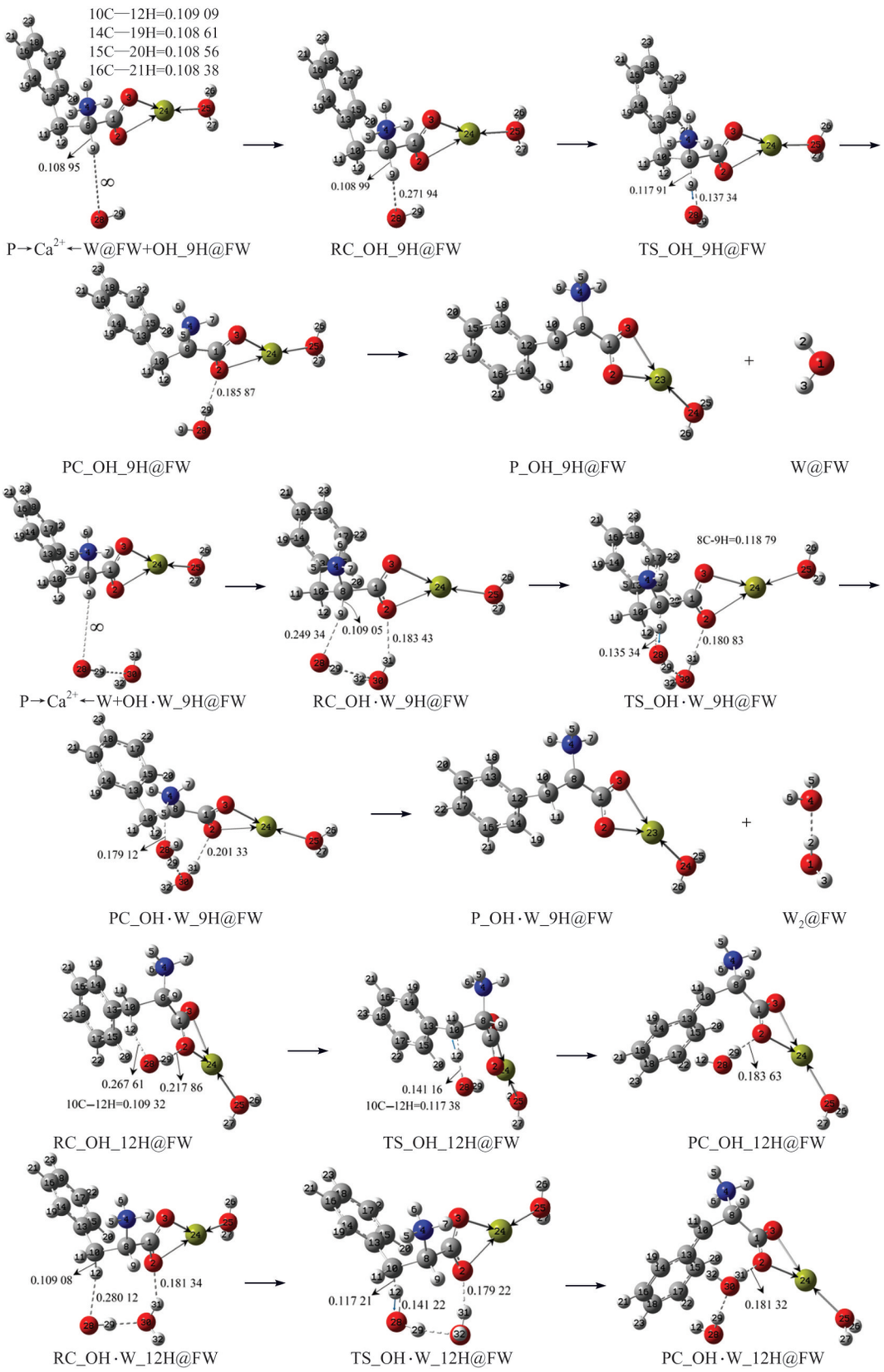


图2　自由水环境下羟基自由基提氢反应过程(键长单位:nm)

Fig. 2　H-abstraction reaction process of hydroxyl radical in free water environment (Bond length unit: nm)

2.1.1.2　OH·W@FW提α-氢9H

首先,OH·W@FW攻击9H,当28O与9H和31H与2O的距离分别为0.249 34 nm和0.183 43 nm时,OH·W@FW与P→Ca^{2+}←W@FW作用形成RC_OH·W_9H@FW。该过程8C—9H从0.108 95 nm增至0.109 05 nm,8C—9H共价作用减弱,自由

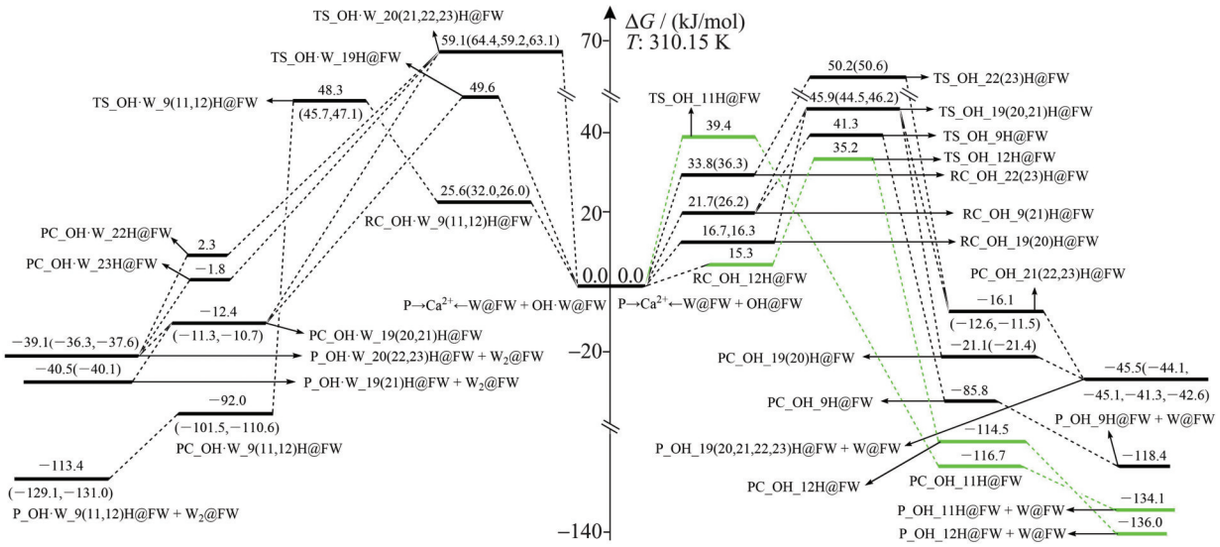


图 3 自由水环境下羟基自由基提氢反应过程的势能面

Fig. 3 Potential energy surface for the H-abstraction reaction of hydroxyl radical in free water environment

能为 25.6 kJ/mol。然后,8C—9H 拉伸至 0.118 79 nm,共价作用减弱;31H 与 2O 的距离降至 0.180 83 nm,28O 与 9H 的距离降至 0.135 34 nm,形成 TS_OH·W_9H@FW,其产生的能垒是 48.3 kJ/mol。接着,越过 TS,9H 与 OH·W@FW 结合成 W_2,形成 PC_OH·W_9H@FW,W_2 与 5H 和 2O 的距离分别为 0.179 12 nm 和 0.201 33 nm,自由能为 −92.0 kJ/mol。最后,PC_OH·W_9H@FW 解离为 P_OH·W_9H@FW 和 W_2@FW,体系自由能降至 −113.4 kJ/mol。

OH·W@FW 提 9H 较 OH@FW 提 9H 的反应能垒高 17.0%,原因有二:一是 TS_OH·W_9H@FW 较 TS_OH_9H@FW 的 8C—9H 键多拉伸 0.000 88 nm;二是 TS_OH·W_9H@FW 的七元环较 TS_OH_9H@FW 的五元环共面性差,前者的环电荷密度(0.006 16 a. u.)小于后者(0.025 96 a. u.),TS_OH·W_9H@FW 中电子的离域性较 TS_OH_9H@FW 差。

2.1.1.3 OH@FW 提 12H

首先,OH@FW 攻击 P→Ca^{2+}←W@FW 的 12H,当 10C—12H 从 0.109 09 nm 拉伸至 0.109 32 nm,28O 与 12H 的距离为 0.267 61 nm,29H 与 2O 的距离 0.217 86 nm 时,形成 RC_OH_12H@FW,自由能为 15.3 kJ/mol。接着,OH@FW 继续攻击 12H,当 10C 与 12H 拉伸至 0.117 38 nm,28O 与 12H 的距离拉近至 0.141 16 nm,形成 TS_OH_12H@FW,能垒为 35.2 kJ/mol。接着,越过 TS,形成 PC_OH_12H@FW(其 2O 与 29H 氢键作用,距离为 0.183 63 nm),自由能为 −114.5 kJ/mol。最后,PC_OH_12H@FW 解离为 P_OH_12H@FW 和 W@FW,体系自由能降至 −136.0 kJ/mol。此反应是强烈放热的快速反应。

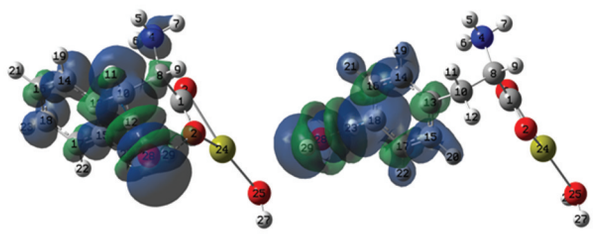
2.1.1.4 OH·W@FW 提 12H

首先,OH·W@FW 攻击 12H,当 28O 与 12H 和 31H 与 2O 的距离分别为 0.280 12 nm 和 0.181 34 nm 时,10C—12H 从 0.109 08 nm 增至 0.117 21 nm,形成 RC_OH·W_12H@FW,自由能为 26.0 kJ/mol。然后,10C—12H 拉伸至 0.117 21 nm;28O 与 12H 的距离降至 0.141 22 nm,31H 与 2O 的距离降至 0.179 22 nm,形成 TS_OH·W_12H@FW,能垒为 47.1 kJ/mol。接着,越过 TS,12H 与 OH·W 结合成二聚水,形成 PC_OH·W_12H@FW,31H 与 2O 的距离为 0.181 32 nm,自由能为 −110.6 kJ/mol。最后,PC_OH·W_12H@FW 解离为 P_OH·W_12H@FW 和 W_2@FW,体系自由能降至 −131.0 kJ/mol。

OH·W@FW 较 OH@FW 提 12H 的能垒高 33.8%,原因是 TS_OH·W_12H@FW 七元环较 TS_OH_12H@FW 六元环共面性差,前者的环电荷密度(0.006 74 a. u.)低于后者(0.023 50 a. u.),TS_OH·W_12H@FW 较 TS_OH_12H@FW 的电子离域性差。

上述结果表明,OH@FW 和 OH·W@FW 提氢均为热力学和动力学允许。其中 β-氢、α-氢和苯环氢 19H 分别为最佳和亚优势活性位点,提氢过程是能垒为 35.2~49.6 kJ/mol 的放热快速反应。β-氢和 α-氢的活性优于苯环氢的活性,基于分子结构和光谱理论分析其原因为,β-C—H 和 α-C—H 键较苯

环-C—H键长,β-C—H和α-C—H键较苯环-C—H键的红外振动基频低。绘制OH@FW提12H和23H过渡态的电子自旋密度分布图(图4),从本质上分析β-氢和α-氢的活性优于苯环氢的活性的原因。可以看出,TS_OH_12H@FW的不成对电子离域效应更强,因此比TS_OH_23H@FW更加稳定。



TS_OH_12H@FW　　TS_OH_23H@FW

图4　TS_OH_12H@FW和TS_OH_23H@FW的电子自旋密度分布

Fig. 4　Electron spin density distributions of TS_OH_12H@FW and TS_OH_23H@FW

2.1.2　加成反应

OH@FW和OH·W@FW可加成生成P→Ca^{2+}←W@FW不饱和的羧基碳和苯环碳。图5为OH@FW和OH·W@FW与1C和15C的反应历程,其中OH@FW与1C的加成反应中只给出OH@FW在无穷远处攻击1C的过程;与13C、14C、16C、17C、18C的加成反应历程见图S2(支持信息);所有反应历程的势能面见图6。

2.1.2.1　OH@FW与1C加成

首先,·OH在无穷远处攻击1C,当2O距1C为0.280 80 nm时,·OH与P→Ca^{2+}←W@FW通过范德华力、π-氢键及电荷转移等弱作用形成自由能为17.2 kJ/mol的瞬态前复合物RC_OH_1C@FW。接着,OH@FW继续攻击1C,当2O与1C的距离为0.178 94 nm时,形成TS_OH_1C@FW。从P→Ca^{2+}←W+OH@FW到TS_OH_1C@FW的过程,羧基-Ca^{2+}-H_2O基团的环临界电荷密度(ρ_{RCP})从0.018 40 a.u.降至0.016 66 a.u.,苯环的ρ_{RCP}从0.022 64 a.u.升至0.022 66 a.u.,$\nabla^2\rho$始终为负,羧基-Ca^{2+}-H_2O基团以及苯环的π键作用均减弱,自由能降至87.3 kJ/mol。反应能垒为从P→Ca^{2+}←W+OH@FW到TS_OH_1C@FW的自由能变87.3 kJ/mol。接着,OH@FW继续攻击1C,当2O距1C为0.142 92 nm时,·OH与1C共价,得到P_OH—1C@FW,自由能降至60.4 kJ/mol。该反应为热力学、动力学均不允许过程。

2.1.2.2　OH·W@FW与1C加成

首先,OH·W@FW在无穷远处攻击1C,2O距1C为0.178 56 nm时,直接形成TS_OH·W_1C@FW,能垒为100.8 kJ/mol。接着,OH·W@FW继续攻击1C,当2O距1C为0.142 07 nm时,OH·W@FW与1C共价,得到P_OH·W—1C@FW,自由能为75.4 kJ/mol。

2.1.2.3　OH@FW与15C加成

首先,OH@FW攻击15C,当2O距15C为0.306 52 nm时,形成RC_OH_15C@FW,自由能为18.6 kJ/mol。然后,OH@FW继续攻击15C,当2O与15C的距离为0.207 75 nm时,形成TS_OH_15C@FW。从P→Ca^{2+}←W+OH@FW到TS_OH_15C@FW的过程,苯环的ρ_{RCP}从0.022 64 a.u.降至0.022 38 a.u.,$\nabla^2\rho$始终为负,大π键作用减弱,TS_OH_15C@FW的能垒为27.7 kJ/mol。接着,OH@FW继续攻击15C,当2O距15C为0.144 42 nm时,OH@FW与15C共价,得到P_OH—15C@FW,自由能为-38.2 kJ/mol。该过程为热力学、动力学均允许的快速反应。

TS_OH_15C@FW较TS_OH_1C@FW能垒低68.0%(59.6 kJ/mol),主要有两个原因。一是苯环电子离域且π电子易被富电子的OH@FW极化,形成离域稳定的过渡态;而羰基碳带正电,且羰基氧吸电子效应也降低羰基碳的电子密度,使亲电子的OH@FW进攻羰基碳变难。二是从P→Ca^{2+}←W+OH@FW到TS_OH_15C@FW,羧基-Ca^{2+}-H_2O基团和苯环的ρ_{RCP}分别从0.018 40和0.022 64 a.u.降至0.018 20和0.022 38 a.u.。而从P→Ca^{2+}←W+OH@FW到TS_OH_1C@FW,羧基-Ca^{2+}-H_2O基团和苯环的ρ_{RCP}分别从0.018 40和0.022 64 a.u.降至0.016 66和0.022 29 a.u.,导致TS_OH_1C@FW相对于TS_OH_15C@FW更不稳定。

2.1.2.4　OH·W@FW与15C加成

首先,OH·W@FW攻击15C,2O距15C为0.278 11 nm时,形成RC_OH·W_15C@FW,自由能为26.2 kJ/mol。当2O距15C为0.205 24 nm时,形成TS_OH·W_15C@FW,其能垒为38.3 kJ/mol。接着,OH·W@FW继续攻击15C,当2O距15C为0.144 23 nm时,OH·W@FW与15C共价,得到P_OH·W—15C@FW,自由能为-32.7 kJ/mol。OH·W@FW与15C的加成为热力学、动力学均允许过程。

从上述分析可知,自由水环境羟基自由基加成的优势反应能垒为27.7~45.4 kJ/mol。与OH@FW相比,OH·W@FW与各个C的加成能垒

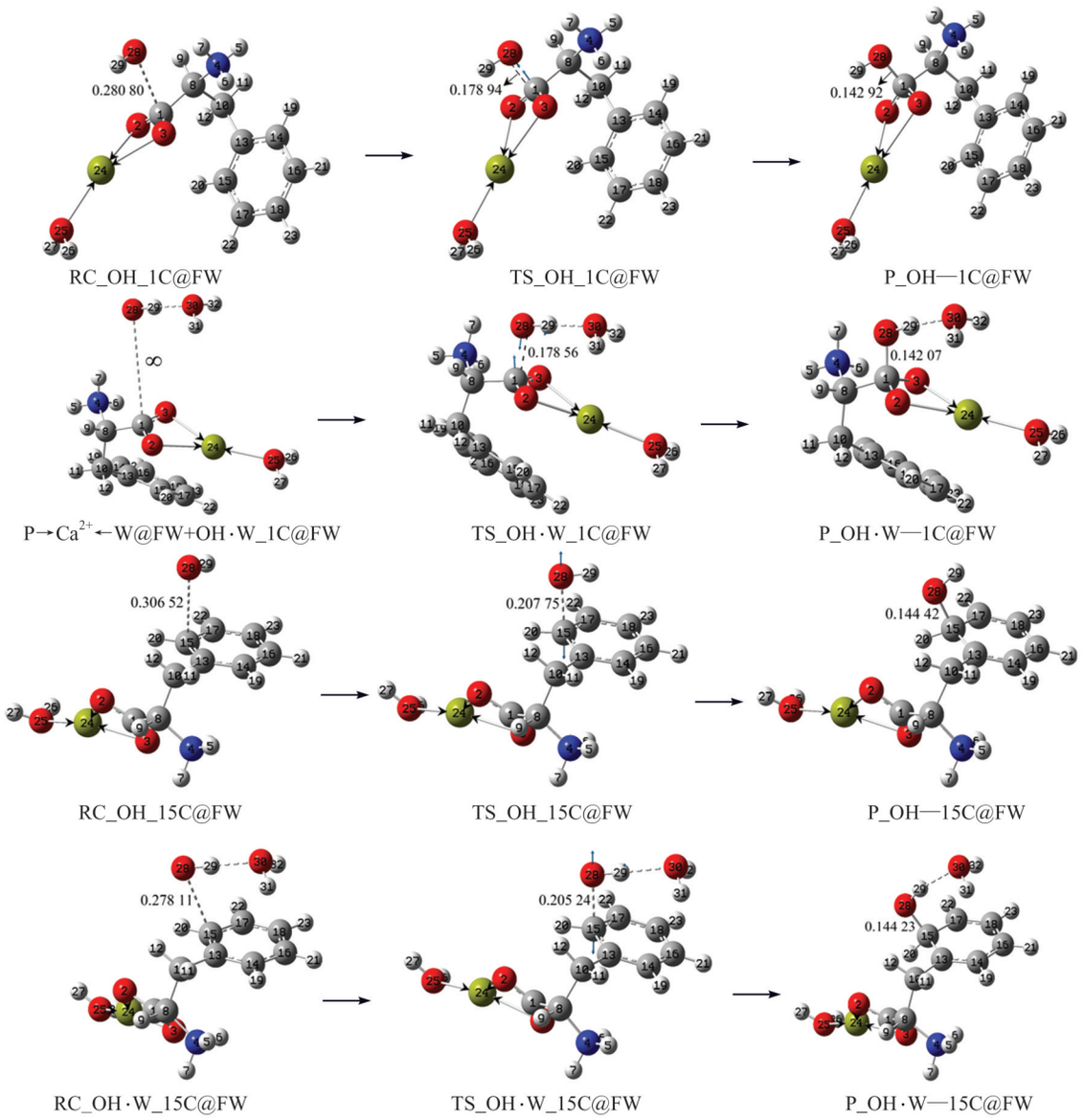


图 5 自由水环境下羟基自由基加成反应过程(键长单位:nm)

Fig. 5 Addition reaction process of hydroxyl radical in free water environment (Bond length unit: nm)

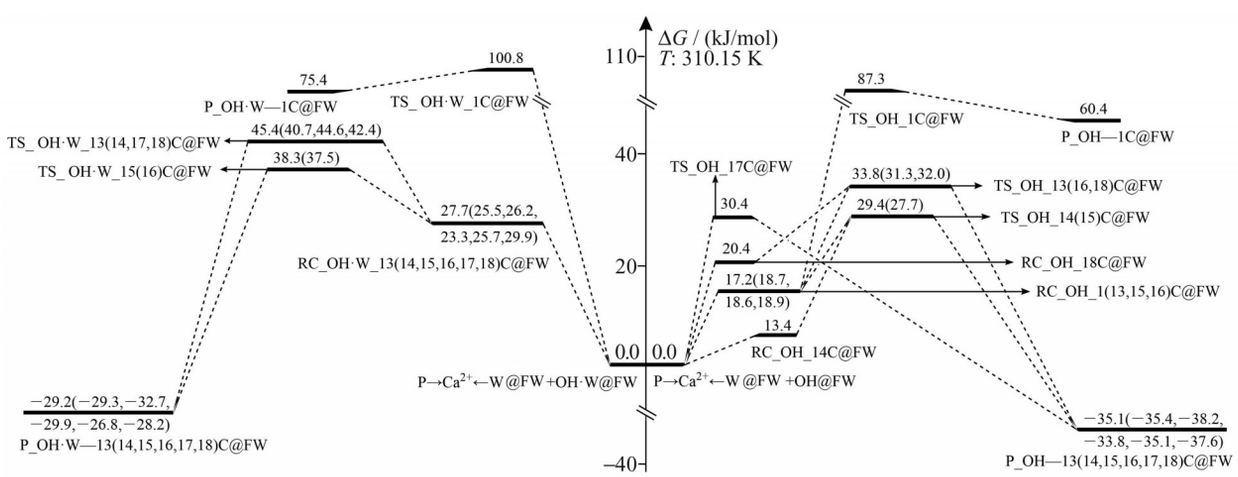


图 6 自由水环境下羟基自由基加成反应的势能面

Fig. 6 Potential energy surface for the addition reaction of hydroxyl radical in free water environment

均有升高,但反应的热力学和动力学允许情况未改变;优势和劣势反应路径基本无变化,与苯环碳加成较与羧基碳加成更具优势;加成反应的最佳活性位点也基本无变化,OH@FW 加成 15C 和 16C 最具活性。

计算了 TS_OH_1C@FW、TS_OH_15C@FW、P_OH—1C@FW 和 P_OH—15C@FW 的电子自旋密度分布,见图 7。可以看出,TS_OH_15C@FW 较 TS_OH_1C@FW 不成对电子的离域效应更显著,P_OH—15C@FW 较 P_OH—1C@FW 不成对电子的离域效应更显著,因此 P_OH—15C@FW 更为稳定。

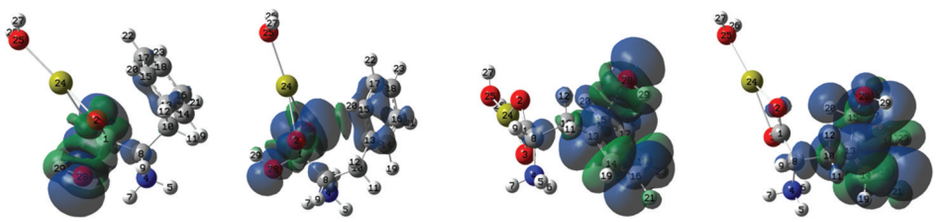


图 7　OH@FW 与 1C 和 15C 加成过渡态及产物的电子自旋密度分布

Fig. 7　Electron spin density distributions of the addition transition states and products of OH@FW with 1C and 15C

2.1.3　电子转移反应过程

单电子从 P→Ca^{2+}←W@FW 向 OH·W 转移的自由能变和自由能垒分别为 114.0 和 238.2 kJ/mol,该反应热力学、动力学均不允许。相关数据见表 S2(支持信息)。

2.2　束缚水环境下 P→Ca^{2+}←W 与·OH 反应

束缚水环境下 P→Ca^{2+}←W 的稳定构象及 HOMO 轨道见图 8。P→Ca^{2+}←W@BW 与 OH@BW、OH·W@BW 均有提氢、加成及单电子转移反应,分别进行讨论。

2.2.1　OH@BW 和 OH·W@BW 提氢反应

比较图 8 和图 1 的 HOMO 轨道可知,氨基氢活性较差,亚甲基和甲基氢活性较好。OH@BW 和 OH·W@BW 与前文的 OH@FW 和 OH·W@FW 提氢反应历程相似。OH@BW 和 OH·W@BW 提氢反应历程见图 S3(支持信息),提氢反应势能面见图 9,势能面相关数据见表 S3(支持信息);OH@BW 提 11H 以及 OH·W@BW 提 9H 和 12H 的讨论见支持信息。

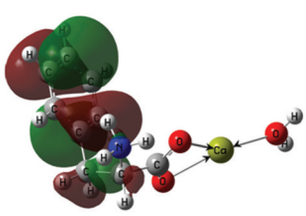


图 8　束缚水环境下 P→Ca^{2+}←W@BW 几何构型及其 HOMO 轨道

Fig. 8　Configuration and HOMO orbital of P→Ca^{2+}←W@BW under bound water environment

2.2.1.1　OH@BW 提 9H

首先,OH@BW 攻击 9H,当 OH@BW 与 9H 的距离为 0.264 69 nm 时,形成 RC_OH_9H@BW。该过程 8C—9H 从 0.109 15 nm 增至 0.109 16 nm,自由能为 24.2 kJ/mol。然后,8C—9H 拉伸至 0.122 00

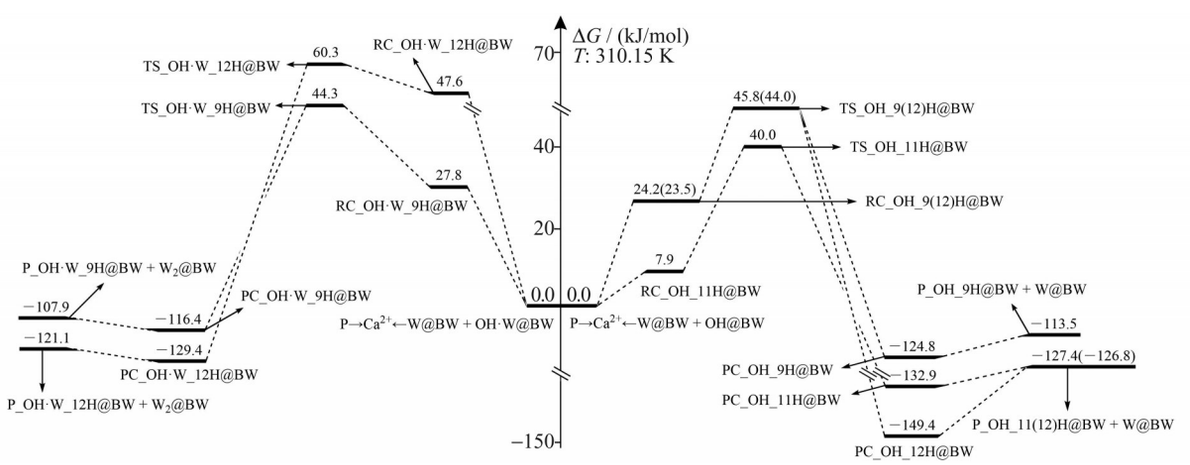


图 9　束缚水环境下羟基自由基提氢反应的势能面

Fig. 9　Potential energy surface for the H-abstraction reaction of hydroxyl radical in bound water environment

nm,28O与9H的距离拉近至0.135 00 nm,形成TS_OH_9H@BW,自由能为45.8 kJ/mol。接着,越过TS,9H向28O迁移与·OH结合成W@BW(9H—28O—29H),形成PC_OH_9H@BW(其29H和2O距离为0.166 82 nm),自由能为−124.8 kJ/mol。最后,PC_OH_9H@BW解离为P_OH_9H@BW和W@BW,自由能升至−113.5 kJ/mol。由于PC_OH_9H@BW的解离自由能较高,产物中多为PC_OH_9H@BW。TS_OH_9H@BW与TS_OH_9H@FW相比,能垒升高4.5 kJ/mol(增加约10.9%),原因是它们的偶极矩方向是H迁移方向,且TS_OH_9H@BW的偶极矩(18.3 D)相对于TS_OH_9H@FW的偶极矩(31.5 D)较低。

2.2.1.2 OH@BW提12H

首先,OH@BW攻击12H,当OH@BW与12H和2O的距离分别为0.252 71 nm和0.185 70 nm时,10C—12H从0.109 06 nm增至0.109 08 nm,形成RC_OH_12H@BW,自由能为23.5 kJ/mol。然后,10C—12H拉伸至0.119 12 nm,28O与12H的距离拉近至0.134 94 nm,29H与2O拉伸至0.195 82 nm,形成TS_OH_12H@BW,能垒为44.0 kJ/mol。接着,越过TS,形成PC_OH_12H@BW,自由能为−149.4 kJ/mol。最后,PC_OH_12H@BW解离为P_OH_12H@BW和W@BW,自由能升至−126.8 kJ/mol。

TS_OH_12H@BW与TS_OH_12H@FW相比,能垒升高8.8 kJ/mol(增加25%),主要原因有二:一是TS_OH_12H@BW的H迁移方向与偶极矩方向相反,而TS_OH_12H@FW的H迁移方向与偶极矩方向相同;二是由于BW环境中的氧原子的自旋密度较低,BW的·OH活性较FW的·OH活性低。OH·W@BW与OH@BW提12H的能垒在误差允许范围内,可认为无变化。TS_OH·W_12H@FW(47.1 kJ/mol)与TS_OH·W_12H@BW(60.3 kJ/mol)相比,能垒升高13.2 kJ/mol。

由上述结果可知,束缚水环境羟基自由基提氢优势反应能垒为40.0~45.8 kJ/mol。

2.2.2 OH@BW与OH·W@BW加成反应过程

比较图8和图1中的HOMO轨道可知,羧基碳活性较差,苯环碳活性较好。本文讨论了OH@FW和OH·W@BW与苯环优势活性位点15C的反应,所有反应历程见图S4(支持信息),反应势能面见图10,势能面相关信息见表S4(支持信息)。

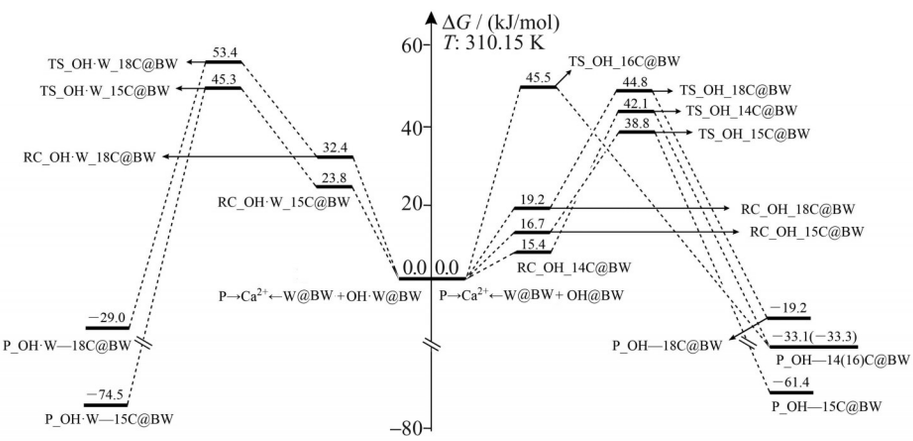


图10 束缚水环境下羟基自由基加成反应的势能面

Fig. 10 Potential energy surface for the addition reaction of hydroxyl radical in bound water environment

2.2.2.1 OH@BW与15C加成

首先,OH@BW攻击15C,当28O距15C为0.341 05 nm时,形成RC_OH_15C@BW,自由能为16.7 kJ/mol。然后,OH@BW继续攻击15C,当28O与15C的距离为0.200 21 nm时,形成TS_OH_15C@BW,能垒为38.8 kJ/mol。接着,OH@BW继续攻击15C,当28O距15C为0.146 05 nm时,OH@BW与15C共价,与24Ca配位,得到P_OH—15C@BW,自由能为−61.4 kJ/mol。

TS_OH_15C@BW比TS_OH_15C@FW能垒高40.1%,原因是低介电常数的束缚水环境使·OH的氧化性能降低。

2.2.2.2 OH·W@BW与15C加成

首先,OH·W@BW在无穷远处攻击15C,28O距15C为0.278 26 nm时,形成RC_OH·W_15C@BW,自由能为23.8 kJ/mol。当28O距15C为0.198 12 nm时,形成TS_OH·W_15C@BW,其能垒为45.3 kJ/mol。接着,OH·W@BW继续攻击15C,当28O距15C为0.145 10 nm时,OH·W@BW与15C共价,得到P_OH·W—15C@BW,自由能为

－74.5 kJ/mol。TS_OH·W_15C@BW比TS_OH_15C@BW能垒高6.5 kJ/mol(16.7%)，原因是水分子与·OH形成OH·W@BW后，·OH的氧化性能降低。

由上述结果可知，束缚水环境羟基自由基加成优势反应能垒为38.8～45.5 kJ/mol。

2.2.3　P→Ca^{2+}←W@BW与OH@BW的电子转移

单电子从P→Ca^{2+}←W@BW向OH·BW转移的自由能变和能垒分别为435.0和1 817.7 kJ/mol，束缚水环境下反应为热力学和动力学均不允许过程，相关数据见表S4。

3　结　论

在MN15/SMD/6-311＋＋G(3df,2pd)//M06-2X/SMD/6-311＋G(d,p)和MN15/IEFPCM/6-311＋＋G(3df,2pd)//M06-2X/CPCM/6-311＋G(d,p)理论水平对Phe→Ca^{2+}与·OH反应机理的研究得到如下结论：自由水和束缚水环境下，提氢的优势反应是能垒分别为35.2～49.6 kJ/mol和40.0～45.8 kJ/mol的放热过程；加成的优势反应是能垒分别为27.7～45.4 kJ/mol和38.8～45.5 kJ/mol的放热过程；电子转移为热力学和动力学均不允许过程。本文研究结果表明，生命体内的自由水和束缚水环境下Phe→Ca^{2+}可通过提氢和加成两个途径较快地清除·OH，Phe→Ca^{2+}是一种理想的·OH清除剂。

参考文献：

[1] PÉREZ-GONZÁLEZ A, REBOLLAR-ZEPEDA A M, LEÓN-CARMONA J R, *et al*. Reactivity indexes and O—H bond dissociation energies of a large series of polyphenols: Implications for their free radical scavenging activity [J]. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 2017, **56**(3): 241-249. DOI:10.29356/jmcs.v56i3.285

[2] 阿吉姑·阿布都热西提，买尔旦·马合木提，马合木提·乌斯满，等. 维生素C清除自由基能力3种检测方法的比较[J]. 新疆医科大学学报，2008，**31**(5)：578-579. DOI：10.3969/j.issn.1009-5551.2008.05.027.
ABUDUREXITI A, MAHMUT M, WUSIMAN M, *et al*. A study to compare three detection methods of scavenging free radical effects of vitamin C [J]. *Journal of Xinjiang Medical University*, 2008, **31**(5): 578-579. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2008.05.027(Ch).

[3] 吴琳，赵宇，赵宏林，等. 基于密度泛函理论的生命体水环境下GA分子消除OH的反应机制[J]. 中山大学学报(自然科学版中英文)，2026，**65**(3)：70-81. DOI:10.11714/acta.snus.ZR20250225.
WU L, ZHAO Y, ZHAO H L, *et al*. Mechanism of hydroxyl radical elimination by Gallic acid in physiological aqueous environments based on density functional theory[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2026, **65**(3): 70-81. DOI:10.11714/acta.snus.ZR20250225(Ch).

[4] 王佐成，赵宇，闫红彦，等. 生理环境下没食子酸甲酯消除羟基自由基的理论研究[J]. 武汉大学学报(理学版)，2025，**71**(6)：881-891. DOI：10.14188/j.1671-8836.2025.0154.
WANG Z C, ZHAO Y, YAN H Y, *et al*. Theoretical study on the scavenging of hydroxyl radical by methyl gallate under physiological conditions[J]. *Journal of Wuhan University* (*Natural Science Edition*), 2025, **71**(6): 881-891. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2025.0154(Ch).

[5] 杨静，刘军，闫红彦，等. 生理环境下没食子酸乙酯与羟基自由基的反应机理[J]. 浙江大学学报(理学版)，2026，**53**(4)：490-499. DOI:10.3785/1008-9497.25138.
YANG J, LIU J, YAN H Y, *et al*. Reaction mechanism of ethyl gallate and hydroxyl radicals under physiological conditions[J]. *Journal of Zhejiang University* (*Science Edition*), 2026, **53**(4): 490-499. DOI: 10.3785/1008-9497.25138(Ch).

[6] GORB L, LESZCZYNSKI J. Intramolecular proton transfer in mono- and dihydrated tautomers of guanine: An ab initio post Hartree-Fock study[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1998, **120**(20): 5024-5032. DOI: 10.1021/ja972017w.

[7] 王月囡，闫红彦，吴琳，等. 生理环境下苹果酸消除羟自由基反应的密度泛函理论研究[J]. 南开大学学报(自然科学版)，2025，**58**(5)：68-79.
WANG Y N, YAN H Y, WU L, *et al*. Density functional theory study on the reaction mechanism of MA eliminating OH in physiological environment [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis* (*Natural Science Edition*), 2025, **58**(5): 68-79(Ch).

[8] 王佐成，张雪娇，孙鸣，等. 生理环境下α-丙氨酸消除羟自由基反应的理论研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版)，2026，**50**(1)：92-101. DOI:10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2026.01.11.
WANG Z C, ZHANG X J, SUN M, *et al*. The theoretical study of hydroxyl-radical scavenging by α-alanine under physiological conditions [J]. *Journal of Jiangxi Normal University* (*Natural Science Edition*), 2026, **50**(1): 92-101. DOI:10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2026.01.11(Ch).

[9] 王佐成，闫红彦，赵红迪，等. 生理环境下缬氨酸消除羟自由基反应的密度泛函理论研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版)，2026，**50**(2)：147-156.
WANG Z C, YAN H Y, ZHAO H D, *et al*. The density

functional theory study on the elimination of hydroxyl radical catalyzed by Val under physiological conditions[J]. *Journal of Jiangxi Normal University* (*Natural Science Edition*), 2026, **50**(2): 147-156(Ch).

[10] 赵红迪, 闫红彦, 赵宇, 等. 水液相下苯丙氨酸镁清除羟基自由基的密度泛函理论研究[J/OL]. 武汉大学学报(理学版), 2026-07-08. https://xblx.whu.edu.cn/zh/article/doi/10.14188/j.1671-8836.2025.0204.
ZHAO H D, YAN H Y, ZHAO Y, *et al*. Density functional theory study on hydroxyl radical scavenging by magnesium-phenylalanine complex in the aqueous phase[J/OL]. *Journal of Wuhan University* (*Natural Science Edition*), 2026-07-08. https://xblx.whu.edu.cn/zh/article/doi/10.14188/j.1671-8836.2025.0204(Ch).

[11] WANG Y, VERMA P, ZHANG L J, *et al*. M06-SX screened-exchange density functional for chemistry and solid-state physics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, **117**(5): 2294-2301. DOI:10.1073/pnas.1913699117.

[12] MARENICH A V, CRAMER C J, TRUHLAR D G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2009, **113**(18): 6378-6396. DOI:10.1021/jp810292n.

[13] BARONE V, COSSI M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 1998, **102**(11): 1995-2001. DOI:10.1021/jp9716997.

[14] COSSI M, REGA N, SCALMANI G, *et al*. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2003, **24**(6): 669-681. DOI:10.1002/jcc.10189.

[15] GARRETT B C, TRUHLAR D G. Criterion of minimum state density in the transition state theory of bimolecular reactions[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1979, **70**(4): 1593-1598. DOI:10.1063/1.437698.

[16] HRATCHIAN H P, SCHLEGEL H B. Using hessian updating to increase the efficiency of a hessian based predictor-corrector reaction path following method[J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2005, **1**(1): 61-69. DOI:10.1021/ct0499783.

[17] YU H S, HE X, LI S L, *et al*. MN15: A Kohn-Sham global-hybrid exchange-correlation density functional with broad accuracy for multi-reference and single-reference systems and noncovalent interactions[J]. *Chemical Science*, 2016, **7**(8): 5032-5051. DOI:10.1039/c6sc00705h.

[18] CANCÈS E, MENNUCCI B, TOMASI J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1997, **107**(8): 3032-3041. DOI:10.1063/1.474659.

[19] MENNUCCI B, TOMASI J. Continuum solvation models: A new approach to the problem of solute's charge distribution and cavity boundaries[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1997, **106**(12): 5151-5158. DOI:10.1063/1.473558.

[20] MARCUS R A. Transfer reactions in chemistry. Theory and experiment[J]. *Pure and Applied Chemistry*, 1997, **69**(1): 13-30. DOI:10.1351/pac199769010013.

[21] MARCUS R A. Electron transfer reactions in chemistry theory and experiment[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1997, **438**(1/2): 251-259. DOI: 10.1016/S0022-0728(97)00091-0.

[22] 刘芳, 姜春旭, 杨晓翠, 等. α-丙氨酸及其金属配合物的旋光异构理论研究进展[J]. 武汉大学学报(理学版), 2022, **68**(6): 665-679. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2021.0107.
LIU F, JIANG C X, YANG X C, *et al*. Progress in theoretical study on optical isomerism of α-alanine and its metal complexes[J]. *Journal of Wuhan University* (*Natural Science Edition*), 2022, **68**(6): 665-679. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2021.0107(Ch).

[23] 赵宇, 杨应, 刘芳, 等. 水液相下缬氨酸钠配合物对映异构的密度泛函理论研究[J]. 复旦学报(自然科学版), 2024, **63**(6): 784-794. DOI: 10.15943/j.cnki.fdxb-jns.20240819.001.
ZHAO Y, YANG Y, LIU F, *et al*. Density functional theory study on enantiomerism of sodium valine complexes in aqueous liquid phase[J]. *Journal of Fudan University* (*Natural Science*), 2024, **63**(6): 784-794. DOI: 10.15943/j.cnki.fdxb-jns.20240819.001(Ch).

□