

腺嘧啶 3',5'-环核苷酸 (c-UMP) 的 晶体结构研究

郑启泰 奚士琪 古元新

(中国科学院生物物理研究所) (中国科学院物理研究所)

1980年12月24日收到

提 要

腺嘧啶 3',5'-环核苷酸 (c-UMP) 结晶为无色透明晶体, 分子式为 $C_9H_{11}O_8N_2P$, 属单斜晶系, 空间群 C_2^1-P2 . 晶胞参数 $a = 10.767(6) \text{ \AA}$, $b = 7.152(4) \text{ \AA}$, $c = 10.414(5) \text{ \AA}$, $\beta = 112.77(31)^\circ$, 晶胞内分子数 $z = 2$. 用 PW-1100 四圆衍射仪收集衍射强度数据, 独立衍射点为 1658 个. 应用 Patterson 法、直接法和 Fourier 综合法测定 c-UMP 分子结构. 晶胞中呈现部分无序分布的溶剂分子. 以对角矩阵最小二乘法修正结构参数, $R = 0.084$.

腺嘧啶 3',5'-环核苷酸 (c-UMP) 为具有生物活性的有机小分子^[1]. 结晶为无色透明片状晶体, X 射线衍射分析所用的单晶样品由北京医学院药理学系提供. 已知分子式为 $C_9H_{11}O_8N_2P$, 化学结构式如图 1. 分子量为 306. 测定 c-UMP 晶体结构以了解其立体化学结构特征.

一、实 验

用迴摆及 Weissenberg 照相法测定 c-UMP 单晶的衍射对称型为 $2/m$, 衍射谱中未见系统消光规律, 故可能空间群为 $P2$, Pm , $P2/m$. 晶胞参数 $a = 10.767(6) \text{ \AA}$, $b = 7.152(4) \text{ \AA}$, $c = 10.414(5) \text{ \AA}$, $\beta = 112.77(31)^\circ$, 当晶胞内分子数 $z = 2$ 时, 计算晶体密度 $D_x = 1.375 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 由此确定其空间群为 $P2$, Pm . 应用梯度法测得晶体密度 $D_0 = 1.530 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, D_0 与 D_x 的明显偏离表明在结晶状态下的 c-UMP 分子间含有溶剂分子. 为了最后确定空间群计算了三维 Patterson 图, 分析 Harker 峰位置, 确定 c-UMP 晶体的空间群应为 $P2$.

用 PW-1100 四圆衍射仪收集衍射强度数据, 为了降低由于晶体外形引起的吸收效应, 采用 MoK_α 辐射. 收集条件为: 石墨单色器 ($\theta_M = 6.08^\circ$). 掠射角 θ 范围为 $2.5-26^\circ$. 选择 (112) , (-204) 为参考反射. 取 $I \geq 2\sigma(I)$ 为可观察点标准, 独立衍射点 1658 个, 可观察点为 1383 个.

用 Wilson 统计法计算平均温度系数 (B) 与比例因子 (K). 将 $(\sin \theta / \lambda)_{\max}^2 (= 0.3931)$

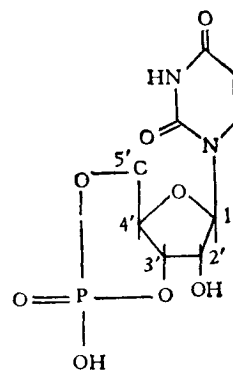


图 1

值划分为十四个区间,经计算求得 $B = 1.433 \text{ \AA}^2$, $K = 1.130$.

在按衍射指标分量 (h, k, l) 分布的八个奇偶组中, $\langle E^2 \rangle$ 的值为

	全部衍射点	eee	0ee	e0e	00e	ee0	0e0	e00	000
$\langle E^2 \rangle$	1.007	1.096	0.895	1.128	0.903	0.977	1.020	0.996	1.054

其中 $(0ee)$, $(e0e)$, $(00e)$ 三组的 $\langle E^2 \rangle$ 值偏离理论值. $|E|$ 值的各种统计分布值符合非中心对称群规律.

	实 验	理 论 1	理 论 $\bar{I}$
$\langle E \rangle$	0.903	0.886	0.798
$\langle E^2 - 1 \rangle$	0.695	0.736	0.968

二、结 构 测 定

c-UMP 晶体对称群为 C_2^1-P2 . 一般说来,当晶胞的一个不对称单位中含有壹个次重原子(磷)时,若采用 Patterson 法测定结构,除磷原子外,轻原子(碳、氮、氧)将以双解形式 $(x\ y\ z, x\ \bar{y}\ z)$ 出现^[2]. 若以直接法测定 c-UMP 晶体结构,由于次重原子的影响(磷原子只对结构因子中的实分量 $A(H)$ 有贡献),有时会使 $\langle E^2 \rangle$ 的分布偏离了通常的统计值,这时,若使用直接法测定这类具有多解性质的非等同原子晶体结构,也常常会引出一幅赝结构图象^[3]. 在 c-UMP 的结构测定中,我们比较了 Patterson 法和直接法 (MULTAN-78) 的使用效果.

1. Patterson 法的应用

应用 XTL 程序计算了锐化三维 Patterson 图. 在 Harker 截面 $(u\ 0\ w)$ 上分析了 Harker 峰,由此得到磷原子位置. 分析轻-重峰得到了九个轻原子(双解形式)位置(表 1). 应用晶体化学知识,在磷原子周围获得一个六元环和磷-氧四面体结构碎片.

表 1

序 号*	$x'^{**} \times 10^4$	$\pm y' \times 10^4$	$z' \times 10^4$	序 号*	$x'^{**} \times 10^4$	$\pm y' \times 10^4$	$z' \times 10^4$
P	3050	0	1350	N1	8750	0	2750
O2	4050	0900	1050	C3	1150	0900	2050
O3	1950	1400	1350	C4	1950	0700	3650
O4	3850	0	3150	C5	3050	-0900	3650
O5	1050	0400	4150	C6	7550	0	2450

* 序号与图 3 所列相同.

** 表 1 与表 2 的坐标关系为 $x' + 1/2 = x$, $y' + 0.4192 = y$, $z' = z$.

2. 直接法的应用

选取 $|E| \geq 1.399$ 的 180 个最大 $|E|$ 值衍射点,由程序隐含值确定 $\kappa \geq 1.00$,由此

得到 1470 个 Σ_2 关系式, 起始套反射由收敛图给出:

h	k	l	$ E $	$\phi(^{\circ})$	ϕ_0 (正确解)
2	0	4	2.84	360	Σ_1 360
10	1	-4	2.82	360	原映 点体 与反 射
12	3	-5	2.80	45	45
11	0	1	2.65	360	360
1	0	-3	2.61	可变相角反射	180
3	4	0	2.11		45
6	1	4	1.90		270

经幻数运算得到廿四套可能解, 计算其中联合品质因素最高的第十七套相角相应的 E 图, E 图中仍呈现部分脲结构图象的特征, 由此同样也只得到一个椅式六元环和磷-氧四面体结构碎片 (图 2)。由品质因素次高的第一套相角值计算 E 图, 未能得到有用的结构信息。

3. 相角退化原理的应用

对于 $P2$ 空间群, 如果对映体自由度不确定, 则非中心对称空间群 $P2$ 将退化为中心对称空间群 $P2/m$, 以 $P2/m$ 的退化空间群求解晶体结构, 通常能获得以双解形式出现的脲结构图象^[4]。

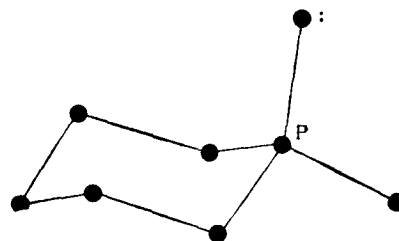


图 2

选取 $|E| \geq 1.459$ 的 146 个最大 $|E|$ 值衍射点, 由收敛图获得起始套反射

h	k	l	$ E $	$\phi(^{\circ})$	ϕ_0 (正确解)
12	3	-5	2.77	360	360
2	4	-1	2.21	360	360
5	1	-3	1.93	360	360
4	4	3	2.77	可变相角反射	360
11	3	-6	1.99		360
1	0	-3	1.97		180

经幻数运算得到八套可能解, 其中品质因素最高的第一套解, 全部相角值均为 360° , 因此所得 E 图实际上是一幅 “Patterson 图”。以品质因素次高的第五套相角值计算 E 图, 结果仍得到了磷-氧四面体结构碎片。

以上的方法试验表明, 按照已知的化学结构信息测定 c-UMP 的晶体结构时, 使用 Patterson 法和直接法都只得到一个结构碎片, 而结构图象中均包含了脲结构信息。

为了获得 c-UMP 的分子结构, 我们以磷-氧四面体结构碎片为基础, 根据已知化学结构信息, 运用 Fourier 综合法, 经四轮逼近得到了全部非氢原子位置, $R = 0.304$ 。

在显示 c-UMP 分子结构的 Fourier 图上, 在晶胞的特殊位置 $(1, a)$, $(1, c)$ 等处尚出现有峰重不同的电子密度峰, 按照测量晶体密度与理论晶体密度值的明显差异, 以及获得 c-UMP 晶体时的结晶条件, 我们判定处于这两个特殊位置上的峰应为溶剂分子 (HCl), 并按照相对峰重确定其占有率初值。

三、结构参数修正

应用 XTL 程序库中的准对角矩阵最小二乘法修正 c-UMP 分子的结构参数. 选取 1383 个可观察衍射点, 并取 $R = 0.304$ 时的结构参数(原子坐标参数, 平均温度系数, 比例因子和占有率)作为修正的初值.

为确证在 c-UMP 晶体结构中存在的溶剂分子, 我们首先对 Fourier 图中位于 (0, 0.769, 0); (0.5, 0.040, 0); (0.202, 0.937, 0.951); (0.005, 0.885, 0.436) 四个位置的电子密度峰(相应占有率为 0.50; 0.25; 0.25; 0.20)逐一计入 c-UMP 分子式中进行 R 因子计算, 结果表明这四个位置上均存在着具有部分无序性质的溶剂分子, 因此, 晶胞的一个不对称单位中的原子基团应为 $C_9H_{11}O_8N_2P \cdot c/1.2$, 相应 $R = 0.160$.

在确定了无序成份的占有率后, 我们开始修正结构参数. 修正工作分三个阶段进行, 首先修正全部原子的坐标参数、占有率和比例因子, 相应 $R = 0.132$; 其次对按原子分配的各向同性温度系数, 坐标参数, 比例因子进行修正, $R = 0.127$; 取 $(\sin \theta / \lambda) \leq 0.45$, 修正各向异性温度系数、坐标参数与比例因子, $R = 0.086$, 并计算了相应的差值 Fourier 图, 最后, 对全部可观察点修正了各向异性温度系数、坐标参数与比例因子, $R = 0.086$.

表 2

原子类别	n	$x \times 10^5$	$y \times 10^5$	$z \times 10^5$	$B(\text{\AA}^2)$
P	1.00	80628(39)	41920(0)	13763(49)	1.652(48)
O1	1.00	73624(117)	25360(185)	06163(130)	2.379(233)
O2	1.00	90638(111)	51190(154)	09305(118)	1.942(212)
O3	1.00	69437(96)	57829(170)	12777(116)	1.459(198)
O4	1.00	88082(106)	38270(174)	30168(121)	2.085(224)
O5	1.00	60583(100)	48554(169)	42214(113)	1.881(218)
O6	1.00	55336(94)	83919(152)	24330(119)	2.116(225)
O7	1.00	21525(102)	64012(148)	21031(127)	2.098(218)
O8	1.00	08091(102)	03424(166)	15852(126)	2.403(245)
N1	1.00	38096(114)	41783(210)	28725(130)	1.842(232)
N2	1.00	15435(120)	33335(194)	19821(131)	1.775(263)
C1	1.00	48180(110)	56706(213)	33119(137)	1.799(287)
C2	1.00	50462(142)	65459(252)	20488(157)	2.072(308)
C3	1.00	61500(120)	52164(210)	20630(134)	1.620(272)
C4	1.00	70184(143)	50592(233)	35570(156)	1.838(284)
C5	1.00	79947(150)	33672(262)	38495(168)	2.842(345)
C6	1.00	24725(132)	47213(202)	23257(137)	1.634(282)
C7	1.00	17667(153)	14413(265)	20663(173)	2.193(343)
C8	1.00	31962(139)	08932(262)	26872(164)	2.499(341)
C9	1.00	40941(143)	22368(231)	30460(166)	2.078(313)
C11	0.50	0	77038(61)	0	1.668
C12	0.20	50000	04975(198)	0	1.820
C13	0.34	18997(89)	89211(127)	95724(112)	1.820
C14	0.16	00888(278)	87951(373)	43214(249)	1.820

表 3

成键原子	键长(Å)	成键原子	键长(Å)	成键原子	键长(Å)	成键原子	键长(Å)
P—O1	1.461(13)	O5—C4	1.457(20)	C1—N1	1.464(20)	N2—C7	1.371(23)
P—O2	1.485(13)	O5—C1	1.428(18)	C2—C3	1.518(22)	C7—C8	1.473(24)
P—O3	1.632(12)	O6—C2	1.420(21)	C3—C4	1.476(20)	C8—C9	1.311(24)
P—O4	1.603(13)	O7—C6	1.247(18)	C4—C5	1.554(25)	N1—C9	1.418(22)
O3—C3	1.451(18)	O8—C7	1.237(22)	N1—C6	1.383(20)		
O4—C5	1.489(21)	C1—C2	1.560(21)	C6—N2	1.355(20)		

表 4

成键原子	键角(°)	成键原子	键角(°)	成键原子	键角(°)
O1—P—O2	118.51(73)	O1—P—O3	108.52(70)	O1—P—O4	112.68(72)
O2—P—O3	106.07(65)	O2—P—O4	106.36(67)	P—O3—C3	110.59(91)
P—O4—C5	119.50(104)	O5—C1—C2	108.10(115)	O5—C1—N1	107.42(113)
C2—C1—N1	111.66(119)	O6—C2—C1	107.30(123)	O6—C2—C3	112.17(128)
O3—C3—C2	116.72(120)	O3—C3—C4	110.15(119)	C2—C3—C4	103.40(122)
O5—C4—C5	112.31(129)	O5—C4—C3	103.41(121)	C3—C4—C5	111.72(132)
O5—C5—C4	102.70(128)	O7—C6—N1	121.06(134)	O7—C6—N2	122.30(136)
N1—C6—N2	116.56(130)	O8—C7—C8	125.02(160)	O8—C7—N2	120.22(158)
C8—C7—N2	114.71(149)	C7—C8—C9	117.38(156)	C8—C9—N1	125.62(154)
C1—N1—C9	125.21(129)	C6—N1—C1	116.86(123)	C6—N1—C9	117.80(131)
C6—N2—C7	127.79(140)				

表 2 所列为修正后的 c-UMP 分子的结构参数; 表 3, 4 给出相应的键长、键角值。

四、c-UMP 分子的绝对构型

为测定 c-UMP 分子的绝对构型, 应用磷、氯原子对 MoK α 辐射的反常散射效应。测

表 5

Bijvoet 点对	$F_c(H)$	$F_c(-H)$	$S(\Delta F_c)$	$I(H)$	$I(-H)$	$S(\Delta I)$
0 2 0	49.33	48.83	+	8885	9158	-
1 1 3	39.73	40.04	-	4687	4639	+
1 1 5	38.02	37.58	+	4393	4492	-
1 2 -3	39.85	39.55	+	4964	5097	-
1 3 1	35.44	35.08	+	4100	4142	-
2 3 2	41.85	41.58	+	6092	5879	⊕
2 4 -1	45.97	45.77	+	6600	6705	-
3 1 2	31.86	32.03	-	4088	3960	+
3 2 -3	36.53	36.73	-	4593	4646	⊖
3 3 4	36.78	37.03	-	3829	3459	+
3 4 0	39.70	39.91	-	5170	4969	+
4 1 -5	35.13	35.62	-	4462	4621	⊖
4 3 -2	37.83	37.97	-	4666	4604	+
5 1 -3	48.73	48.49	+	7992	8236	-
10 1 -4	38.45	38.10	+	4223	4332	-

量衍射指标为 $(h\ k\ l)$ 与 $(h\ -k\ l)$ 的强度值 $I(H)$, $I(-H)$. 选择其中 $\Delta I (=I(H) - I(-H))$ 变化量较大的十五对 Bijvoet 点对, 并以表 2 所列的结构参数分别计算了点对

的衍射结构因子 $F_c(H)$, $F_c(-H)$ 和 $\Delta F_c (=|F_c(H)| - |F_c(-H)|)$. 逐一比较 ΔI 与 ΔF_c 的符号(表 5), 最后确定的 c-UMP 分子绝对构型如图 3 所示.

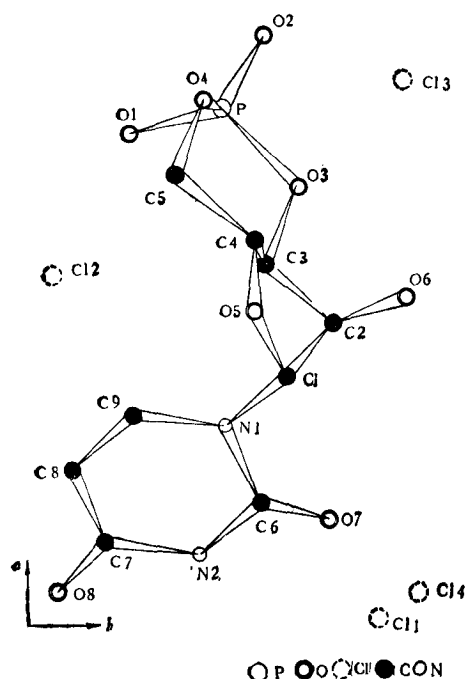


图 3

五、结 语

c-UMP 的晶体结构表明, 在分子间的空隙部位包含着溶剂分子, 它们的存在(部分无序状态)影响着衍射强度数据的准确度和结构参数的精确修正, 因此, 在差值图中, 终因大部分氢原子的电子密度峰湮没于背景之中, 而未能获得准确的氢原子位置.

在计算三维 Patterson 图时, 为减少图中的伪峰(“噪声”)未做扣除原点峰值的处理. 由于溶剂分子 ($c/1$) 处于 $(1, a)$ 特殊位置, 其相应的 Harker 峰落于

原点峰上, 因此在早期的 Patterson 分析中未能得到 $c/1$ 的位置. 处于其它三个位置的溶剂分子, 则因其占有率低, 已失去其作为“次重原子”的可能.

在直接法的使用中, 部分无序成份的存在, 虽然影响到 $|E|$ 值的计算, 但最终在 E 图上仍能显示出 c-UMP 分子的结构碎片.

c-UMP 的分子结构还表明, 磷原子与四个氧原子组成一个磷-氧四面体, 磷原子居于四面体的中心, 其中有两个氧原子连结在六元环上, P—O 的平均键长为 1.618 Å; 侧链上的两个氧原子, 其平均键长则为 1.473 Å, 与磷原子形成 $\text{P} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix}$ 分布. 包含酯基的五元环与六元环之间构成反式连结, 六元环则呈椅式. 碱基平面与酯基平面相互垂直.

参 考 文 献

- [1] 王序、张礼和, 药学学报, **15** (1980), 396.
- [2] 郑启泰, 物理学报, **29** (1980), 533.
- [3] S. E. Hull, M. J. Irwin, *Acta Cryst* **A34** (1978), 863.
- [4] 范海福、郑朝德、郑启泰, 物理学报, **30** (1981), 602.

THE STUDY OF THE STRUCTURE OF URIDINE 3', 5'-CYCLIC PHOSPHATE (c-UMP) CRYSTAL

ZHENG QI-TAI DOU SHI-QI

GU YUAN-XIN

(*Institute of Biophysics, Academia Sinica*)

(*Institute of Physics, Academia Sinica*)

ABSTRACT

Uridine 3', 5'-cyclic phosphate (c-UMP) crystal is colourless and transparent. The molecular formula is $C_9H_{11}O_8N_2P$. The crystal belongs to monoclinic system and its space group is C_2^1-P2 . The parameters of unit cell are as follows: $a = 10.767(6)\text{\AA}$, $b = 7.152(4)\text{\AA}$, $c = 10.414(5)\text{\AA}$ and $\beta = 112.77(31)^\circ$. There are two molecules in an unit cell ($Z = 2$). The diffraction data were collected using PW-1100 four circle diffractometer. The number of independent diffraction data amounts to 1658. The structure was determined by applying Patterson analysis, direct method and Fourier synthesis. There are some solvate molecules whose distribution exhibit partial disorder in an unit cell. The structure parameters have been refined by means of block-matrix least-square method, $R = 0.084$.