

张焱, 王炳锋, 田兴国, 等. 分子模拟法研究聚多巴胺与色氨酸的分子印迹手性识别机理 [J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(6): 118-123.  
ZHANG Yi, WANG Bingfeng, TIAN Xingguo, et al. The chiral recognition mechanism of polydopamine and tryptophan in molecular imprinting via molecular simulation[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(6): 118-123.

# 分子模拟法研究聚多巴胺与色氨酸的 分子印迹手性识别机理

张 焱<sup>1</sup>, 王炳锋<sup>2</sup>, 田兴国<sup>1</sup>, 徐小艳<sup>1</sup>

(1 广东省食品安全重点实验室/华南农业大学 食品学院, 广东 广州 510642;

2 华南农业大学 材料与能源学院, 广东 广州 510642)

**摘要:**【目的】考察聚多巴胺 (PDA) 与 *L*-色氨酸 (*L*-Trp)、*D*-色氨酸 (*D*-Trp) 分子间的相互作用差异, 以揭示分子印迹手性识别的机理。【方法】采用计算机分子模拟法研究以手性色氨酸为模板, 聚多巴胺为功能单体的分子印迹预组装体系。首先通过构象搜索, 获得聚多巴胺四聚体可能的稳定结构; 然后采用分子对接研究手性色氨酸分子与多巴胺的作用形式; 最后通过量子化学方法, 从电子结构层面上分析 *L*-Trp、*D*-Trp 分子与聚多巴胺结合力差异产生的原因。【结果】Trp 与 PDA 的结合力以氢键作用为主, *L*-Trp 与 PDA 的氢键作用强于 *D*-Trp; *L*-Trp 与 PDA 的复合物 (*L*-Trp-PDA) 的前线轨道能级差比 *D*-Trp-PDA 的大, 且前者的结合更紧密, 弱相互作用更强。【结论】分子模拟方法使用相对简便, 计算速度快, 适用于研究分子印迹手性识别机理。

**关键词:** 分子模拟; 手性识别; 色氨酸; 聚多巴胺; 分子印迹

中图分类号: O621

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2019)06-0118-06

## The chiral recognition mechanism of polydopamine and tryptophan in molecular imprinting via molecular simulation

ZHANG Yi<sup>1</sup>, WANG Bingfeng<sup>2</sup>, TIAN Xingguo<sup>1</sup>, XU Xiaoyan<sup>1</sup>

(1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety/College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 College of Materials and Energy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** 【Objective】 To investigate interactions differences between *L*-tryptophan (*L*-Trp), *D*-tryptophan (*D*-Trp) enantiomers and polydopamine (PDA), and elucidate the chiral recognition mechanism in molecular imprinting. 【Method】 Computational molecular simulation was used for studying the molecularly imprinted pre-polymerization system with tryptophan as template and PDA as functional monomer. Firstly, conformational searching was used to obtain the potential stable structure of PDA tetramer. Then, molecular docking was employed to identify the interaction between Trp enantiomers and PDA. Finally, Quantum-chemical calculation was used to reveal the reason for the binding difference between the enantiomers and PDA from the perspective of electronic structure. 【Result】 Hydrogen bonding played a predominate role in the binding between Trp and PDA. The hydrogen bonding force between *L*-Trp and PDA was stronger than that between *D*-Trp and PDA. On the other hand, the frontier orbital Energy gap of *L*-Trp-PDA complex was bigger than that of *D*-Trp-PDA

收稿日期: 2018-09-15 网络首发时间: 2019-06-19 15:48:58

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20190619.1135.002.html>

作者简介: 张 焱 (1992—), 女, 硕士研究生, E-mail: [498991452@qq.com](mailto:498991452@qq.com); 通信作者: 徐小艳 (1977—), 女, 副教授, 博士, E-mail: [yanzixu\\_2001@scau.edu.cn](mailto:yanzixu_2001@scau.edu.cn)

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (31501554); 广东省自然科学基金 (2016A030310446)

complex, and the former complex had tighter binding as well as stronger weak interaction. 【Conclusion】 Molecular simulation method is easy and rapid to operate, and it's suitable for studying the chiral recognition mechanism in molecular imprinting.

**Key words:** molecular simulation; chiral recognition; tryptophan; polydopamine; molecular imprinting

手性识别是一种特殊的分子识别,在生命活动中起着极其重要的作用。研究发现,由于构型的不同,氨基酸在生命体内进行信号转导、调节代谢通路及蛋白质合成等许多生理过程中的作用具有很大差异<sup>[1-4]</sup>。食品中 *D*-色氨酸 (*D*-tryptophan, *D*-Trp) 难水解,转化成 *L*-色氨酸 (*L*-tryptophan, *L*-Trp) 才可以被人体吸收,其含量增加会使蛋白质的消化性和蛋白质的营养价值显著降低,摄入过量 *D*-Trp 会引起中毒甚至危及生命<sup>[5]</sup>。*D*-Trp 的存在通常被认为是食品掺假或受到微生物污染的重要标志<sup>[6-7]</sup>。因而,食品中 *D*-Trp 的含量成为反映食品组成、生物功能及安全性的指标<sup>[8]</sup>。食品中氨基酸的手性识别和分离对于食品营养分析和质量控制具有十分重要的意义。

分子印迹作为一种制备分子印迹聚合物的新型人工分子识别技术,近年来在氨基酸手性识别方面展现出越来越大的吸引力<sup>[9-10]</sup>。在分子印迹技术中,功能单体的选择至关重要。但是目前可供选择的功能单体大多局限于甲基丙烯酸、丙烯酰胺和乙烯基吡啶等<sup>[11-13]</sup>,寻找新型功能单体对于开发高效的分子印迹手性识别材料具有重要意义。多巴胺 (Dopamine, DA) 最近被认为能很好地模拟贻贝黏附蛋白,因其具有羟基和氨基官能团,在碱性条件下氧化自聚合生成聚多巴胺 (Polydopamine, PDA)<sup>[14-15]</sup>。PDA 含有儿茶酚和氨基等官能团,所以具有化学多功能性和高亲和力<sup>[16-17]</sup>。受此启发,近年来 DA 成为了制备分子印迹聚合物新型功能单体的研究热点<sup>[18-20]</sup>。

研究分子印迹的预组装体系,尤其是预组装体系中模板-功能单体复合物之间的作用,对于提高分子印迹聚合物手性识别的亲和力具有重要的意义。目前研究模板与功能单体之间作用采用的分析方法一般为静态吸附法,而对机理的研究较少<sup>[21-22]</sup>。以 Trp 为模板, PDA 为功能单体,关于两者间相互作用的研究鲜见报道。本文运用分子模拟法从不同角度考察 PDA 与 *L*-Trp、*D*-Trp 分子 (结构如图 1 所示) 之间的相互作用差异,以阐明 PDA 对色氨酸对映体手性选择的机理,对于更全面地了解手性识别的化学本质具有非常重要的作用。

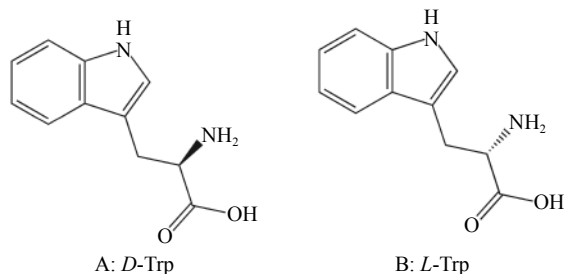


图 1 色氨酸对映体的结构图

Fig. 1 Chemical structure of tryptophan enantiomers

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

*L*-Trp、*D*-Trp、盐酸多巴胺 (AR), 均购自上海麦克林生化试剂公司; 18.2 MΩ·cm 超纯水由 Milli-Q 超纯水仪制取。

### 1.2 方法

1.2.1 构象搜索 在 HyperChem 软件中进行构象搜索,通过 Conformation search 模块,采用分子力学的方法和 Random walk 算法,搜索 PDA 四聚体可能的稳定构型。

1.2.2 分子对接 以具有最低能量结构的 PDA 四聚体为受体,色氨酸的 2 个对映体为配体,将 *L*-Trp 和 *D*-Trp 分别与 PDA 对接,得到 *L*-Trp 和 *D*-Trp 与 PDA 结合的可能构型,初步比较二者结合力的差异。对接研究在 Autodock 软件中进行,采用 AutoDock tool 删除非极性氢,加电荷,保存为 pdbqt 格式;*L*-Trp 和 *D*-Trp 分子结构来源于 ZINC 数据库,同样删除结构中的非极性氢,加电荷,作为配体保存为 pdbqt 格式。分子对接的中心位于四聚体的中心,对接盒子大小 60×60×60,其他设置均采用 Autodock 软件的默认值。分子对接结果保留 25 个能量最低的结合形式,并进行均方根偏差 (Root mean square deviation, RMSD) 为 5 Å 的聚类 (Cluster) 分析。

1.2.3 量子化学计算 在 *L*-Trp-PDA 和 *D*-Trp-PDA 复合物最稳定构象的基础上,运用量子化学计算软件 Gaussian 09,在密度泛函 B3LYP 方法 6-31G\* 基组上,加上隐式的溶剂模型考虑水溶剂对复合物的影响,研究 *L*-Trp、*D*-Trp 与 PDA 之间的相互作用,优化各复合物的稳定构型,并计算结合能 ( $\Delta E$ )。

$\Delta E$  按下式计算:

$$\Delta E = E_{\text{复合物}} - E_{\text{Trp}} - E_{\text{PDA}}, \quad (1)$$

式中:  $E_{\text{复合物}}$  为复合物能量,  $E_{\text{Trp}}$  为色氨酸的能量,  $E_{\text{PDA}}$  为 PDA 的能量。

采用 Gaussian View 软件绘图, 在软件默认条件下获取轨道图像。

## 2 结果与分析

### 2.1 构象搜索

目前, PDA 的组成和分子结构还存在很多争议。Chen 等<sup>[23]</sup> 根据 Kaxiras 等<sup>[24]</sup> 提出的黑色素模型, 结合计算机模拟和 PDA 的形貌观测等试验结果, 推断 PDA 为四聚体形式, 结构式如图 2 所示。根据我们的初步试验, PDA 对色氨酸的手性异构体有不同的吸附效果, 从而推断直链状的多聚体结构不能产生手性异构体的差异识别; 并且合成分子印迹聚合物过程中, PDA 和色氨酸的摩尔浓度比接近 1:1, 因此推断 PDA 的聚合度不会太高。本文以四聚体结构为基础, 构建 PDA 四聚体的三维结构。四聚化的低聚物吡咯和苯环并联形成刚性的平面, 聚合后的体系柔性较差, 只存在苯环与相邻单体的吡咯环的顺反异构, 因此定义两两相邻的苯环与吡咯之间的 3 个二面角为变量。PDA 四聚体最稳定的结构如图 3 所示, 分子力学能量为 348.71 kJ/mol。用于构象搜索的 3 个二面角分别为 152、169 和 171°。可见由于位阻效应, 相邻单体的吡咯平面发生扭转, 形成不对称的立体结构。

### 2.2 分子对接

由分子对接结果可知, *D*-Trp 与四聚体的最大结合能为 5.3 kcal/mol, *L*-Trp 与四聚体的最大结合能为 5.7 kcal/mol, 两者差异较小。聚类分析发现, 结合位置差异大于 5 Å 为条件, *D* 型的可以划分为

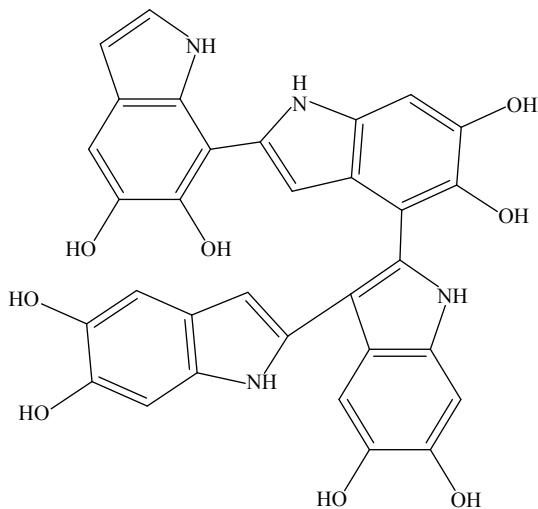


图 2 PDA 四聚体的结构式

Fig. 2 Chemical structure of PDA tetramer

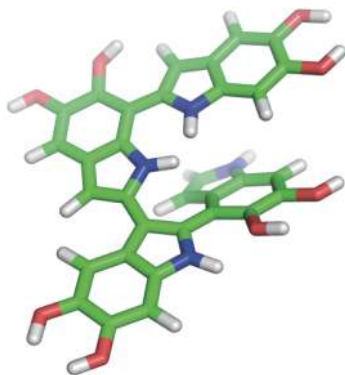


图 3 PDA 四聚体的三维结构

Fig. 3 3D structure of PDA tetramer

2 类, 其中最稳定的位置有 16 个, 另一类 9 个; *L* 型的 25 种结合位置的差异都不超过 5 Å, 所以结合形式归为同一类。

从图 4 可以看出, 2 种色氨酸对映体的羧基均可与吡咯上的氨基氢形成较强的氢键, *D* 型复合物 (*D*-Trp-PDA) 中存在色氨酸的羧基与四聚体的 2 个

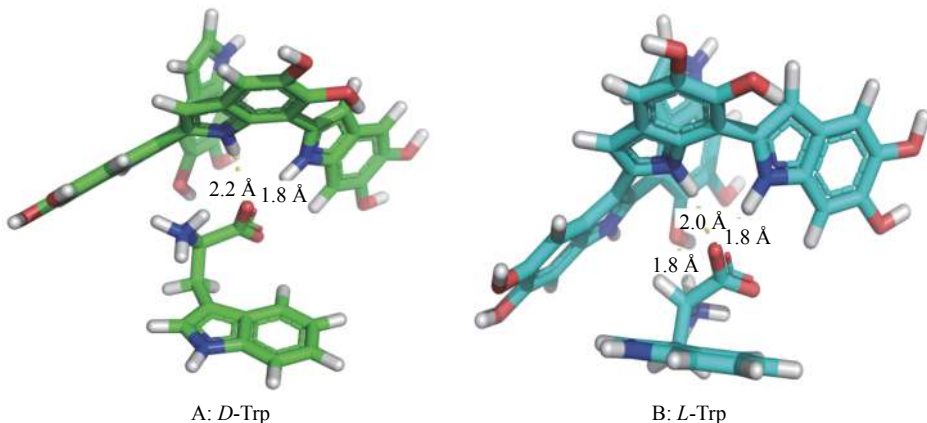


图 4 色氨酸对映体与 PDA 四聚体结合示意图

Fig. 4 Schematic diagram of tryptophan enantiomers binding to PDA

氢键作用,键长分别是 1.8 和 2.2 Å; *L*-型复合物 (*L*-Trp-PDA) 则存在 3 个氢键作用,键长分别为 1.8、2.0 和 1.8 Å,这是因为 *L*-Trp 还可以通过氨基氢与 PDA 上的酚羟基氧形成氢键。因此可以推断, *L*-Trp 与 PDA 的氢键作用强于 *D*-Trp。

由分子对接的结果可以发现,色氨酸与 PDA 的结合力以氢键作用为主。分子对接只是粗糙地把原子看成刚性的质点研究分子间的相互作用,没有考虑在水溶液条件下的影响,因此需要运用更加精确的量子化学手段从电子结构层面考察分子间的弱相互作用形式。

### 2.3 量子化学计算

通过量子化学计算发现,手性色氨酸分子与 PDA 结合形成的复合物在隐性水溶剂模型中可以稳定存在,与试验条件相吻合。表 1 列出了 *L*-Trp、*D*-Trp、PDA 和复合物的能量 ( $E$ ),并由式 (1) 计算 2 种复合物的结合能 ( $\Delta E$ )。结合能越低,表明形成的复合物越稳定<sup>[25]</sup>。从表 1 可知,色氨酸与 PDA 四聚体结合后,体系总能量大大降低,2 种复合物是稳定的。*L*-Trp-PDA 复合物能量降低得比 *D*-Trp-PDA

表 1 模板分子、功能单体和复合物的能量和结合能<sup>1)</sup>  
Table 1 Energies and binding energies of templates, monomers and complexes

项目 Item	$E/a.u$	$\Delta E/a.u$	$\Delta E/(kJ \cdot mol^{-1})$
<i>D</i> -Trp	-686.169 1	...	...
<i>L</i> -Trp	-686.168 1	...	...
PDA	-2 052.865 5	...	...
<i>D</i> -Trp-PDA	-2 739.859 9	-0.825 3	-2 166.756 4
<i>L</i> -Trp-PDA	-2 739.860 5	-0.826 8	-2 170.870 5

1) “...”表示不存在

1) “...” represents nonexistent

复合物多,但是差异不大,仅为约 4.184 kJ/mol。

*L*-Trp 分子除了羧基作为给体(提供孤电子对)形成 2 个氢键,色氨酸上的氨基氢作为受体(接受孤电子对)与酚羟基的氧原子还形成氢键。*D*型复合物中羧基氧的 Mulliken 电荷分别为 -0.631 和 -0.575, *L*-Trp-PDA 中羧基氧的 Mulliken 电荷分别为 -0.604 和 -0.600。从静电分布(图 5)可以看出, *L*-Trp-PDA 的结合程度更高,因此氨基酸的羧基和氨基的静电荷分布趋向平均。

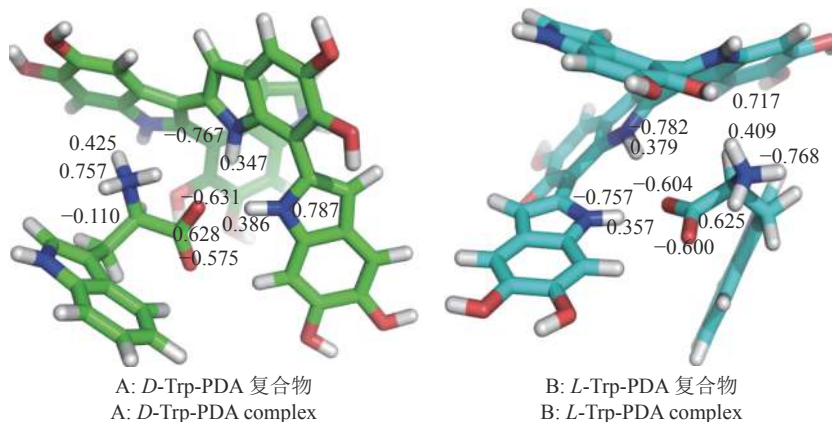


图 5 复合物弱相互作用区域的静电荷分布示意图

Fig. 5 Schematic diagram of electrostatic charge distribution in weak interaction zone of complex

进一步运用前线轨道理论从微观电子结构层次上对手性色氨酸分子与 PDA 的预聚合反应机理进行分析。 $E_{HOMO}$  为最高占据轨道能,其表征分子推电子的能力,  $E_{HOMO}$  值越大,其推电子的能力越强;  $E_{LUMO}$  为最低空轨道能,其表征分子吸电子的能力,  $E_{LUMO}$  越小,其吸电子能力越强<sup>[26]</sup>。能级差  $\Delta E'$  ( $\Delta E' = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ ) 可以综合考虑电子得失的难易程度,估计复合物的稳定性和研究分子内的电子转移情况。 $\Delta E'$  越小,则表征分子中电子越容易发生跃迁,复合物越不稳定;反之亦然。从表 2 可知, *L*-Trp-PDA 复合物的能级差  $\Delta E'$  比 *D*-Trp-PDA 复合物的大,说明 *L*-Trp-PDA 的电子不容易转移,比 *D*-

表 2 复合物的前线轨道能级及能级差

Table 2 Frontier orbital energy and energy gap of complex

复合物 Complex	$E_{HOMO}$	$E_{LUMO}$	$\Delta E'$
<i>D</i> -Trp-PDA	-4.708	-1.072	3.636
<i>L</i> -Trp-PDA	-4.742	-1.028	3.714

Trp-PDA 更加稳定。

此外,从分子轨道的形状示意图(图 6)可以发现, *L*-Trp 的羧基和 PDA 四聚体的氨基氢有明显的轨道重叠, *D*-Trp-PDA 复合物不存在轨道重叠。所以从轨道的相互作用角度也说明了 *L*-Trp 在电子结构层面上与 PDA 四聚体的弱相互作用比 *D* 型的大。



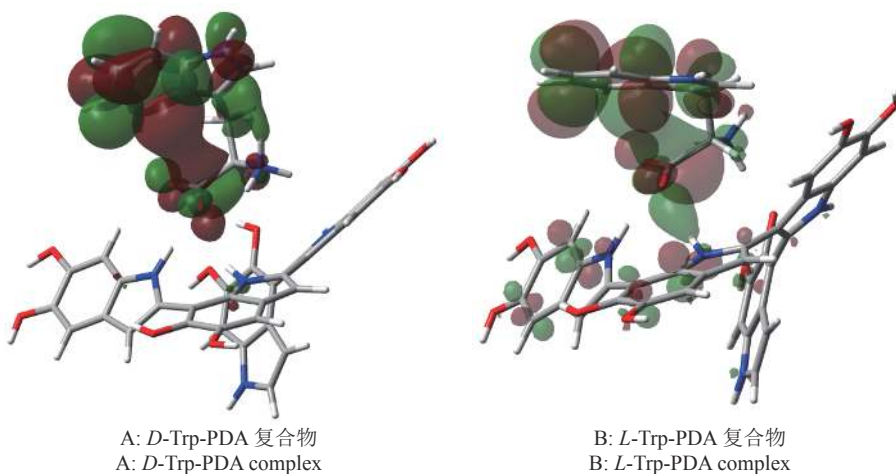


图 6 复合物分子轨道形状示意图

Fig. 6 Schematic diagram of molecular orbital shape of complex

### 3 讨论与结论

手性分子的识别一直是化学分离的一个难题,同时也是近年来研究的热点,机理的阐释对手性识别具有非常重要的指导作用。本文通过分子对接和量子化学方法,模拟了 *L*-Trp、*D*-Trp 分子与聚多巴胺四聚体之间的相互作用,从不同角度揭示了聚多巴胺四聚体对色氨酸对映体手性选择的机理。*L*-Trp、*D*-Trp 分子与 PDA 主要通过氢键结合,这与 Li 等<sup>[27]</sup>的研究观点一致,PDA 链上的氨基可以与色氨酸的羧基形成氢键。并且,*L*-Trp、*D*-Trp 分子与 PDA 的氢键作用差异和前线轨道能级差的差异决定了 PDA 对色氨酸的手性选择性,这有待于进一步通过试验手段(如圆二色光谱法或表面等离子共振传感法等)研究分子间相互作用来佐证。

总之,上述结果可为下一阶段分子印迹聚合物的合成提供理论支持,并为进一步将其应用到食品中色氨酸的手性识别奠定基础。分子模拟方法使用相对简便,计算速度快,在研究分子印迹手性识别机理以及分子印迹聚合物的设计和合成中具有有良好的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] FISHER A L, OHSAKO S, CAUDY M. The WRPW motif of the hairy-related basic helix-loop-helix repressor proteins acts as a 4-amino-acid transcription repression and protein-protein interaction domain[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(6): 2670-2677.
- [2] GUO D M, HUANG Y H CHEN C, et al. A sensing interface for recognition of tryptophan enantiomers based on porous cluster-like nanocomposite films[J]. *New J Chem*, 2014, 38: 5880-5885.
- [3] GUO L D, SONG Y Y, YU H R, et al. Novel smart chir-

al magnetic microspheres for enantioselective adsorption of tryptophan enantiomers[J]. *Appl Surf Sci*, 2017, 407(6): 82-92.

- [4] XU J J, WANG Q H, XUAN C Z, et al. Chiral recognition of tryptophan enantiomers based on  $\beta$ -cyclodextrin-platinum nanoparticles/graphene nanohybrids modified electrode[J]. *Electroanalysis*, 2016, 28(4): 868-873.
- [5] GIUFFRIDA A, MACCARRONE G, CUCINOTTA V, et al. Recent advances in chiral separation of amino acids using capillary electromigration techniques[J]. *J Chromatog A*, 2014, 1363(10): 41-50.
- [6] 张志昆, 袁龙飞, 刘庆菊, 等. 基于手性 *D*-氨基酸的毒性对转基因食品安全性的研究[J]. *中国科学: 化学*, 2015, 45(1): 98-108.
- [7] SACCHI S, ROSINI E, CALDINELLI L, et al. Biosensors for *D*-amino acid detection[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 794: 313-324.
- [8] MARCHELLI R, DOSSENA A, PALLA G. The potential of enantioselective analysis as a quality control tool[J]. *Trends Food Sci Tech*, 1996, 7(4): 113-119.
- [9] MALGORZATA R, JUSTYNA P W, CALUM M, et al. Application of molecularly imprinted polymers in an analytical chiral separation and analysis[J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2018, 102(5): 91-102.
- [10] SHIM Y H, YILMAZ E, LAVIELLE S, et al. Chiral recognition and separation of beta2-amino acids using non-covalently molecularly imprinted polymers[J]. *Analyst*, 2004, 129(12): 1211-1215.
- [11] ZHANG Y X, ZHAO P Y, YU L P. Highly-sensitive and selective colorimetric sensor for amino acids chiral recognition based on molecularly imprinted photonic polymers[J]. *Sensor Actuat B Chem*, 2013, 181(5): 850-857.
- [12] KULSING C, KNOB R, MACKA M, et al. Molecular imprinted polymeric porous layers in open tubular capillaries for chiral separations[J]. *J Chromatog A*, 2014, 1354(8): 85-91.
- [13] WU Y, YAN M, LU J, et al. Facile bio-functionalized design of thermally responsive molecularly imprinted

- composite membrane for temperature-dependent recognition and separation applications[J]. *Chem Eng J*, 2017, 309(2): 98-107.
- [14] LEE H, DELLATORE S M, MILLER W M, et al. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings[J]. *Science*, 2007, 318(5849): 426-430.
- [15] RYOU M H, LEE Y M, PARK J K, et al. Mussel-inspired polydopamine-treated polyethylene separators for high-power Li-ion batteries[J]. *Adv Mater*, 2011, 23(27): 3066-3070.
- [16] WANG X N, LIANG R P, MENG X Y, et al. One-step synthesis of mussel-inspired molecularly imprinted magnetic polymer as stationary phase for chip-based open tubular capillary electrochromatography enantioseparation[J]. *J Chromatog A*, 2014, 1362(10): 301-308.
- [17] 李珍妮, 邓字巍. 仿贻贝黏附性多巴胺的研究与应用进展[J]. *高分子材料科学与工程*, 2015, 31(1): 185-190.
- [18] CHEN J, LING R P, WANG X N, et al. A norepinephrine coated magnetic molecularly imprinted polymer for simultaneous multiple chiral recognition[J]. *J Chromatog A*, 2015, 1409(8): 268-276.
- [19] ZHOU W H, LU C H, GUO X C, et al. Mussel-inspired molecularly imprinted polymer coating superparamagnetic nanoparticles for protein recognition[J]. *J Mater Chem*, 2010, 20(5): 880-883.
- [20] YAO G H, LIANG R P, HUANG C F, et al. Surface plasmon resonance sensor based on magnetic molecularly imprinted polymers amplification for pesticide recognition[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(24): 11944-11951.
- [21] LU Y, LI C, ZHANG H, et al. Study on the mechanism of chiral recognition with molecularly imprinted polymers[J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 489(1): 33-43.
- [22] 高文惠, 刘博, 李兴峰, 等. 制备腈菌唑分子印迹聚合物前功能单体选择研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(3): 791-794.
- [23] CHEN C T, BALL V, GRACIO J J D A, et al. Self-assembly of tetramers of 5,6-dihydroxyindole explains the primary physical properties of eumelanin: Experiment, simulation, and design[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(2): 1524-1532.
- [24] KAXIRAS E, TSOLAKIDIS A, ZONIOS G, et al. Structural model of eumelanin[J]. *Phys Rev Lett*, 2006, 97(21): 218102.
- [25] 施介华, 叶燕. 羧酸仲丁酯对映体在 $\beta$ -环糊精衍生物上的拆分及手性识别机理研究[J]. *分析化学*, 2010, 38(10): 1450-1456.
- [26] ALAŞALVAR C, SOYLU M S, GÜDER A, et al. Molecular structure, quantum mechanical calculation and radical scavenging activities of (*E*)-4,6-dibromo-2-[(3,5-dimethylphenylimino)methyl]-3-methoxyphenol and (*E*)-4,6-dibromo-2-[(2,6-dimethylphenylimino)methyl]-3-methoxyphenol compounds[J]. *Spectrochim Acta Part A: Mol Biomol Spectro*, 2014, 130(17): 357-366.
- [27] LI L, FAN L M, DAI Y L, et al. Recognition and determination of bovine hemoglobin using a gold electrode modified with gold nanoparticles and molecularly imprinted self-polymerized dopamine[J]. *Microchim Acta*, 2015, 182(15/16): 2477-2483.

【责任编辑 李晓卉】