

## 五配位磷化合物与生物化学\*

林长学<sup>①</sup> 李艳梅<sup>①</sup> 成昌梅<sup>①</sup> 韩波<sup>①</sup> 万荣<sup>①</sup>  
冯亚兵<sup>②</sup> 赵玉芬<sup>①②\*\*</sup>

(<sup>①</sup>生命有机磷化学教育部重点实验室, 清华大学生命科学与工程学院, 化学系, 北京 100084;

<sup>②</sup>厦门大学化学系, 厦门 361005)

**摘要** 综述了五配位磷化合物与生物化学的关系, 发现当 $\alpha$ -氨基酸的氨基接上磷酰基团以后, 化学性质发生了许多奇特的现象, 在室温下可发生自身活化现象而成肽、成酯、磷上酯交换及N→O磷酰基转位; 丝氨酸和苏氨酸与核苷缀合以后, 在弱碱性条件下能够对不同的碱基进行识别; 磷酰化组氨酸和丝组二肽可以在中性条件下切割核酸、蛋白、酯. 发现上述现象的发生都经历了一个五配位磷中间体, 认为五配位磷中间体是决定它们活性的结构因素.

**关键词** 五配位磷化合物 生物化学 核苷酸 氨基酸 生命起源

地球上的生命起源是当代最难解的科学难题之一<sup>[1-3]</sup>. 生命是从哪里来的? 第一个生命体是怎样诞生的? 至今仍然是人们努力探索的问题. 越来越多的实验事实证明了磷在前生物条件下对生命分子, 如氨基酸、碱基、核苷、核苷酸、肽、寡聚核苷酸和核酸等的生成起着十分重要的作用. 磷在生命化学中独特的地位引起了许多科学家的注意, 哈佛大学的 Westheimer 教授从有机化学的角度阐述了大自然为什么为生命选择了磷酸酯<sup>[4]</sup>, 诺贝尔奖获得者 Todd 教授提出了“哪里有生命, 哪里就有磷”的著名学术论断<sup>[5]</sup>, 甚至于考查太空中生命的迹象也用磷来作为判断的标准<sup>[6]</sup>. 所有这些无疑都大大激发了人们去探索在生命从简单分子到复杂体系这一漫长的过程中, 组成生命的基本物质是怎样与磷相互作用而逐步进化到像现在这样精巧复杂的高等生命的.

在这个过程中, 合成含磷的有机小分子化合物, 研究其简单生物模型的性质和功能, 对于研究生命的基本规律, 探索生命的起源有着重要的作用. 特别是近 20 年来, 有机磷化学正在向纵深迅速发展, 不少新的反应被发现, 新的结构类型的有机磷化合物被合成, 而其中关于五配位磷化合物的分子结构的研究尤其引人瞩目. 因为生物体内所发生的许多生命过程, 如 ATP 的磷酰基转移过程、RNA 的自剪切、信息传导过程中蛋白的磷酰化与去磷酰化、酶活性调节过程中酶蛋白的磷酰化与去磷酰化等等都是通过一个五配位磷的中间体来完成的. 因此, 五配位磷化合物在生物化学和有机化学中扮演着重要的角色, 而这与五配位磷化合物的独特分子构型, 配位基的取向和配位基的重组等特性密不可分.

2001-10-15 收稿, 2002-03-07 收修改稿

\* 国家自然科学基金资助项目(批准号: 20132020, 20175026)

\*\* 联系人, E-mail: tp-dch@tsinghua.edu.cn

## 1 五配位磷化学的生物学意义

### 1.1 cAMP 生化过程中的五配位磷中间体

cAMP(环磷酸腺苷)和 cGMP 在细胞新陈代谢的调节过程中起着非常重要的作用。根据 Sutherland 的第二信使假说<sup>[7]</sup>: 首先, 激素与其靶细胞质膜上相应的受体相结合后, 引起细胞内 cAMP 的生成, cAMP 再引起细胞内某些化学物质浓度的改变, 或引起某些酶发生变构作用, 从而调节代谢, 表现出生物活性。在这种调节中, 激素称为第一信使, cAMP 称为第二信使。cAMP 既能和蛋白激酶作用又能和磷酸二酯酶结合, 而人们发现这些反应都经过了一个 TBP 双角锥构型的五配位磷烷中间体<sup>[8,9]</sup>。

### 1.2 生物体内的磷酸基转移过程中的五配位磷中间体

磷酸基转移是生物体内最重要的生化过程之一, 是细胞内部各种新陈代谢途径的中心调控步骤, 许多生化过程如葡萄糖的氧化分解、DNA 及 RNA 合成过程中核苷的激活、氨基酸的生物合成及体内信号传输过程中酶的开关调控等都是通过磷酸基转移来实现的<sup>[5]</sup>。经过实验证实<sup>[10,11]</sup>, 这些磷酸基转移过程中也都经历了五配位磷过渡态。

### 1.3 RNA 水解反应过程中的五配位磷中间体

DNA 是遗传信息的载体, RNA 则在蛋白质的生物合成中担当了重要的角色, 两者都是生命的遗传物质。但与 DNA 相比, RNA 不稳定, 很容易被降解。室温下, RNA 在 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液中很快就被水解, 而 DNA 则能够在 100℃、1 mol/L NaOH 溶液中保持 1 h 而不被降解。这是由于 RNA 多了一个 2' 位的羟基, 2'-羟基的邻位参与导致了 RNA 的水解速率的提高。Breslow 等人详细地研究了 UpU 在咪唑组成的缓冲溶液中的水解反应动力学, 以模拟 RNA 在酶催化下的水解过程<sup>[12]</sup>。研究发现许多 RNA 水解酶(如牛胰核酸酶)的主要活性基团都是两个组氨酸残基, 其水解过程经历了五配位磷机理。

### 1.4 某些抗病毒药物发生作用时经历五配位过渡态

大多数核苷类似物具有抗病毒活性, 特别是核苷和氨基酸酯缀合以后, 不但比核苷母体有更好的生理活性, 而且毒性也大大降低<sup>[13-15]</sup>, 人们对此现象进行研究, 提出了缀合物在体内可能的分解机理<sup>[16]</sup>, 首先氨基酸酯在酶的催化下脱酯, 然后氨基酸羧基上的氧原子进攻磷形成五配位过渡态, 在磷酸二酯酶的作用下脱去氨基酸, 生成核苷的磷酸酯。

## 2 氨基酸和核苷五配位磷化合物方面的研究

核酸及蛋白质作为生命的两大物质, 在生物体内相互调控、相辅相成以完成生命化学的任务。我们实验室认为这个机制的关键是磷酸基的主动参与作用, 通过系统研究提出了“磷是生命过程的调控中心”的崭新学术观点。

### 2.1 五配位磷化合物的化学合成

五配位磷化合物中的磷是以  $dsp^3$  杂化方式参与成键的。和四配位磷化合物相比, 五配位磷化合物具有更长的键长和更低的键能, 其化学键容易断裂, 很容易被转化成四配位状态, 具有较高的反应潜能。由于其化学性质比较活泼, 在反应过程中只能是作为一种中间体出现, 所以合成一些五配位磷的化合物, 作为生化反应过程的基本模型, 研究和模拟反应的一些基本性质是十分必要的。为此, 我们分别合成了氨基酸、核苷及糖的五配位磷化合物, 并进行了系

统的总结<sup>[17]</sup>.

## 2.2 五配位磷化合物仿生化反应机理研究

**2.2.1 磷酰化氨基酸的成肽机理** 我们的研究小组发现, 性能稳定的氨基酸及小肽与磷酰基结合后, 化学性质发生了奇特的现象, 在室温下可发生自身活化现象而成肽<sup>[18,19]</sup>、成酯<sup>[20]</sup>、磷上酯交换<sup>[21,22]</sup>, N→O, N→S 磷酰基转位<sup>[23-25]</sup>及成寡核苷酸<sup>[26]</sup>(见图 1), 这种以磷酰基为中心, 羧基及侧链基团同时参与的有机协同反应的仿生现象类似于酶的作用, 因此可以称 N-磷酰化氨基酸及小肽为“微型活化酶”.

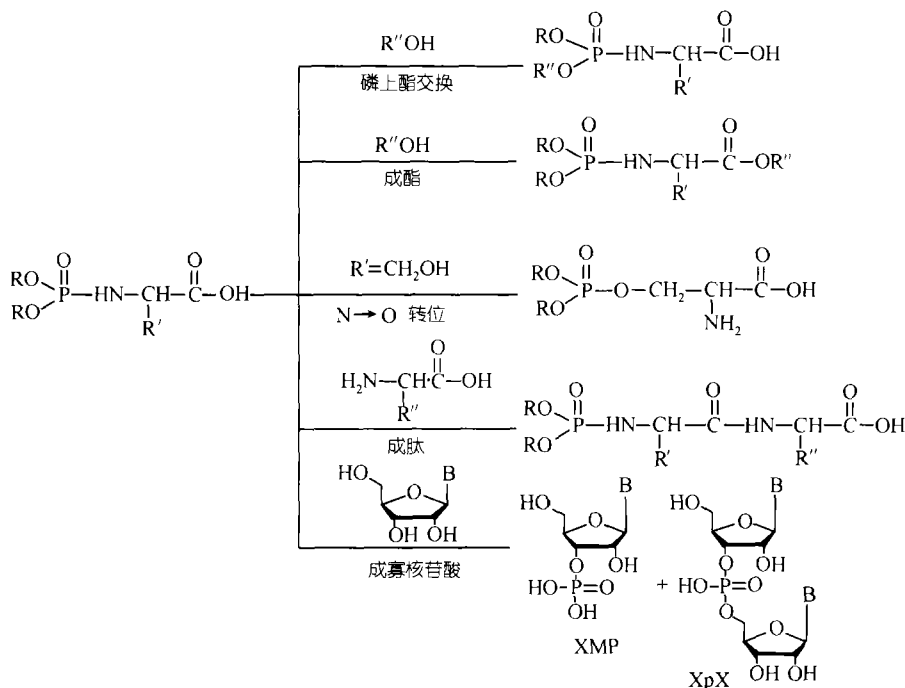
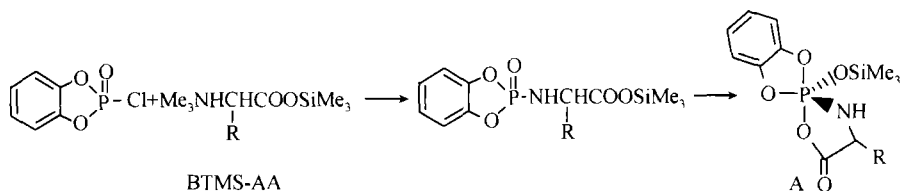


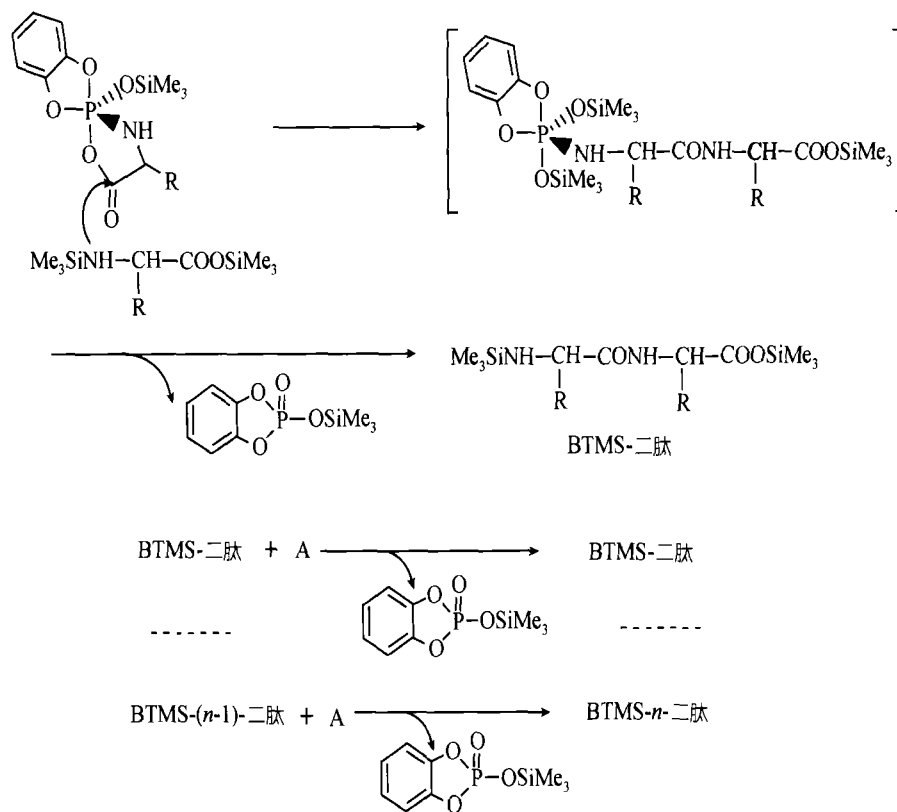
图 1 N-磷酰化氨基酸的化学反应

我们推测在这些反应过程中, 可能经历了氨基酸五配位磷中间体, 但是这种中间体在水和醇的体系中很不稳定, 只能以一种瞬时中间体形式存在, 因此难以检测到. 为了进一步验证该反应机理, 我们将氨基酸衍生化为三甲基硅基保护的氨基酸, 选择与 O, O-亚苯基磷酰氯反应为模型在有机相中来研究 N-磷酰化氨基酸的成肽机理. 在反应中成功的观察到了氨基酸的五配位磷化合物和一系列多肽, 并且发现 N-磷酰化氨基酸三甲基硅酯转化为氨基酸五配位磷化合物的速率常数与氨基酸的侧链有关<sup>[27]</sup>, 其组装成肽的机理如图 2 所示:

步骤 1: 氨基酸的活化



步骤 2: 肽链的延长



步骤 3: 肽链终止

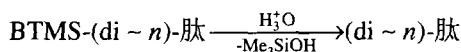
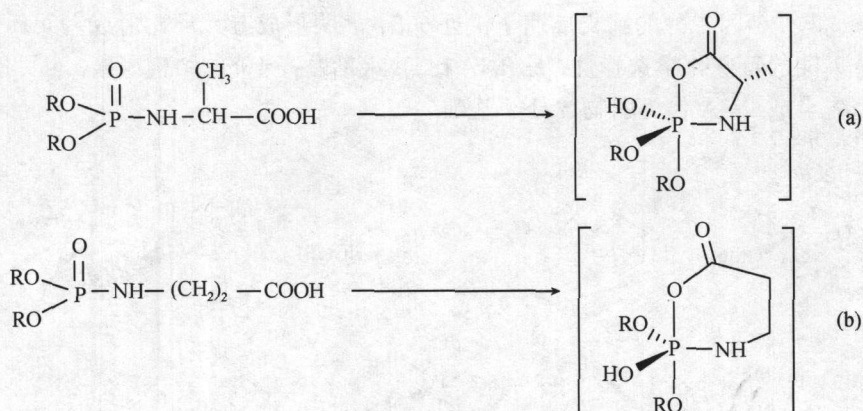
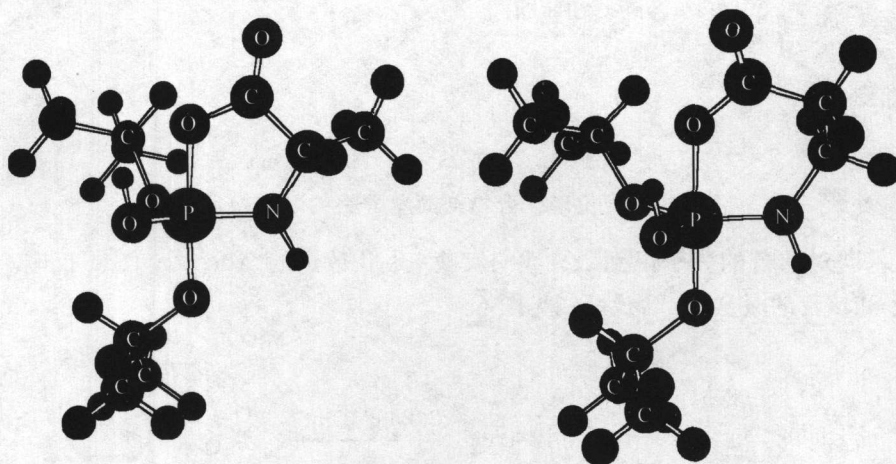


图 2 三甲基硅基保护氨基酸的自组装成肽反应机理

**2.2.2 N-磷酰化对 $\alpha$ -、 $\beta$ -和 $\gamma$ -氨基酸的识别作用** 原始地球的条件下,各种类型的氨基酸都可能生成,不只是 $\alpha$ -氨基酸,同时也能生成 $\beta$ -氨基酸、 $\gamma$ -氨基酸等多种结构的氨基酸分子.在生命起源的过程中,大自然为什么选择了 $\alpha$ -氨基酸到目前仍然是一个很有争议的问题.我们对 $\alpha$ -氨基酸、 $\beta$ -氨基酸和 $\gamma$ -氨基丁酸磷酰化后的性质进行了研究,发现只有 $\alpha$ -氨基酸在 N 端磷酰化后能发生自身活化并成肽,而磷酰化的 $\beta$ -氨基酸和 $\gamma$ -氨基丁酸在相同的条件下都相当稳定,不生成肽反应.同样将三甲基硅基保护的氨基酸与 O,O-亚苯基磷酰氯反应,仅发现 N-磷酰- $\beta$ -丙氨酸的三甲基硅基酯的  $^{31}\text{P}$  NMR 峰,而没有观察到五配位磷化合物的磷谱峰<sup>[17]</sup>,反应体系中没有发现任何肽.我们认为这是因为 $\alpha$ -氨基酸形成的五配位磷中间体为一个五元环,而如果 $\beta$ -氨基酸形成五配位磷中间体则是六元环.如图 3 所示.

在上述化合物五配位磷分子结构中,五元环比六元环和七元环更容易形成和稳定.量子力学计算结果同样支持了这一结论,以 $\alpha$ -丙氨酸和 $\beta$ -丙氨酸为例,用 Gaussian98, B3LYP/6-31G\*\* 进行计算,得到的 N-二异丙基磷酰基- $\alpha$ -丙氨酸的五配位中间体能量(29.28 kJ/mol)比 DIPP- $\beta$ -丙氨酸的五配位中间体能量(74.89 kJ/mol)低很多,如图 4.

图3  $\alpha$ -氨基酸和 $\beta$ -氨基酸的中间体图4  $\alpha$ -氨基酸和 $\beta$ -氨基酸分子模型

$$\angle \text{P-N-C} = 121.9^\circ$$

$$\angle \text{P-N-C} = 127.7^\circ$$

$$\angle \text{P-O-C} = 116.8^\circ$$

$$\angle \text{P-O-C} = 131.9^\circ$$

这个结果意味着磷酸化反应对氨基酸的结构具有高度的选择性,可能会揭示在多肽的前生物合成和蛋白质的生物合成中,是磷选择了 $\alpha$ -氨基酸.因为只有 $\alpha$ -氨基酸可以形成五配位磷化合物,才会发生一系列定向有序的生化反应.

**2.2.3 五配位磷化合物的酯交换反应** 五配位磷烷能和醇发生可逆的酯交换反应,如果将反应过程中所生成的醇脱离反应体系,则可以促使反应平衡趋于完成;如果与1,2-二醇或1,3-二醇反应,则生成含五元环或六元环的五配位磷化合物,并使反应进行完成.这是因为环的形成,导致五配位磷原子周围5个配位基的拥挤程度下降,使环状的五配位磷化合物比相应的非环化合物更稳定.

我们实验室系统地研究了单环五配位磷化合物2,2,2-三甲氧基-4,5-二苯基-1,3,2-二氧磷杂环戊烯与一系列简单醇在吡啶中的酯交换反应<sup>[28]</sup>(如图5),结果发现:与乙二醇的酯交换反应速率远远大于其他的醇,可见成磷氧杂五元环对五配位磷的稳定性具有主要作用;与乙二醇

的酯交换速率比与 1,3-丙二醇的酯交换速率快近 6 倍, 表明形成五元环比形成六元环更为有利. 五元环五配位磷酯的特殊化学选择性, 是 RNA 比 DNA 活性高  $10^6$  的结构因素, 也可能是 DNA 生物合成中需先合成 RNA 作为引物的分子基础.

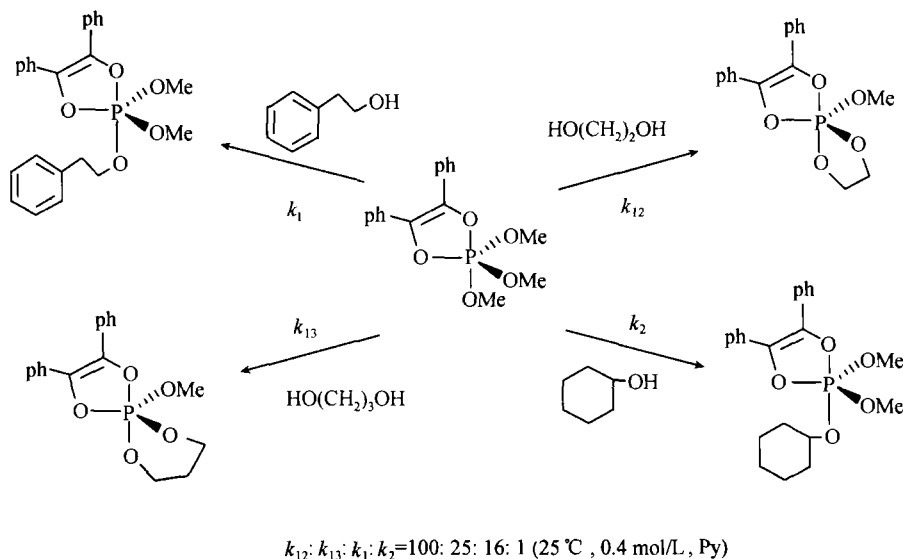


图 5 五配位磷化合物与简单醇类的酯交换反应

**2.2.4 氨基酸对核苷的分子识别** 我们实验室利用改进的 Atherton-Todd 反应, 合成了氨基酸(甲酯)和核苷的缀合物, 合成路线见图 6.

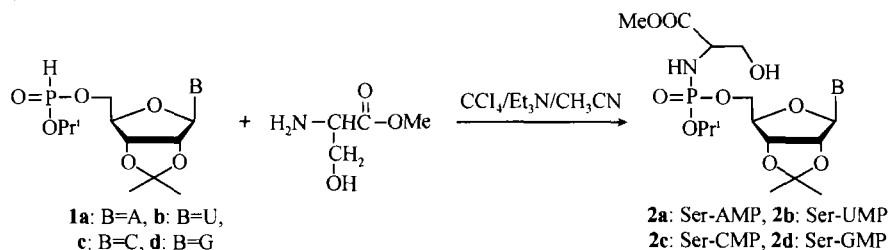


图 6 氨基酸甲酯和核苷的缀合物的合成

经过进一步的研究, 我们发现丝氨酸甲酯和苏氨酸甲酯能够对不同的核苷进行分子识别, 当碱基是 G, C, U, T 的时候, 在碱性条件下是不稳定的而发生去磷酸化反应; 而当碱基是 A 的时候, 对碱是稳定的, 用反应式表示见图 7.

通过对磷酸基转移反应的实验结果及反应物的结构分析, 我们推测尿苷-5'-N-磷酸丝氨酸甲酯、苏氨酸甲酯侧链上的-OH 与碱基发生分子内氢键作用, 催化了-OH 上的氧和磷之间的距离接近, 经历了一个五配位磷的中间体而发生去磷酸化反应, 其可能的反应机理如图 8 所示. 胞苷、胸苷和鸟苷也具有相似的反应机理.

与尿苷、胞苷、鸟苷的 5'-N-磷酸丝氨酸、苏氨酸甲酯的磷酸基转移反应相对比, 腺苷-5-N-磷酸丝氨酸甲酯的化学稳定性说明了腺苷碱基与其他碱基的显著区别, 即与丝氨酸残基不存在或存在较弱的分子内相互作用. 这种丝(苏)氨酸可以识别 GMP, UMP, TMP, CMP 的机理, 可为生化中 DNA 和 RNA 的拼接和剪切提供化学基础.

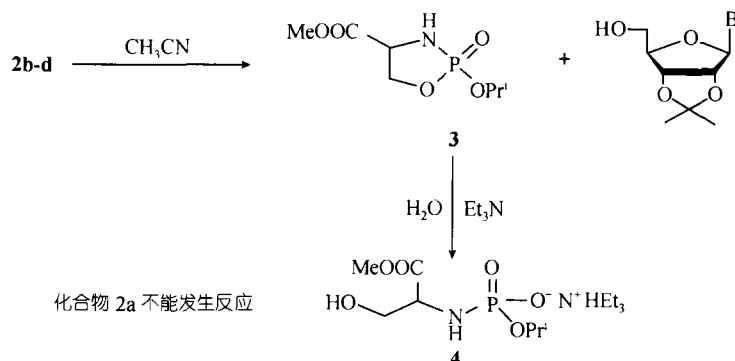


图7 丝氨酸对不同碱基的识别

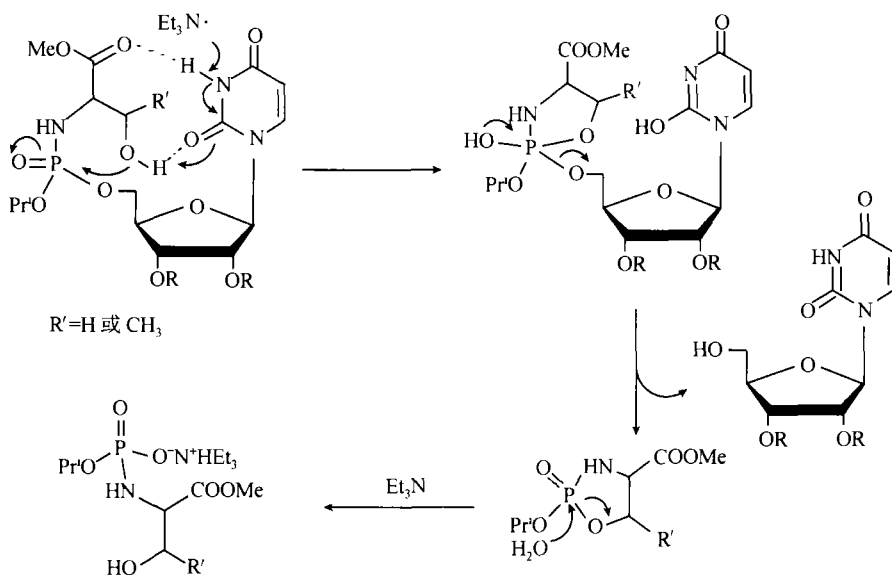


图8 尿苷-5'-N-磷酰丝(苏)氨酸甲酯磷酰基转移反应的可能的反应机理

众所周知,腺苷在生命活动中发挥着与其他核苷所不同的作用.例如许多维生素及辅酶中含有腺苷结构单位;腺苷三磷酸(ATP)、3'-磷酸腺苷-5'-磷酰硫酸等是生命活动的能量来源;氨基酸进入蛋白质生物合成首先必须以氨酰腺苷酸的形式得以活化;DNA, RNA 连接反应中间体是腺苷酰化酶(E-AMP);3', 5'-环磷酸腺苷(cAMP)是生命活动的“第二信使”;DNA, RNA 甲基化反应物为 S-腺苷甲硫氨酸等等.大自然选择腺苷而不选择其他核苷在如此诸多的功能分子中作为结构单位,是一种偶然性还是在此背后存在着必然性?这也是值得我们研究的方向.

### 3 丝组二肽作为人工核酸切割试剂

近20年来,人工核酸切割试剂的研究一直是化学、生物化学和分子生物学中最为活跃的前沿领域之一.通过对核酸切割试剂的研究,可以获得生物体内的一些重要信息,提供生物体内核酸酶的作用机制,促进基因工程技术的发展.因此设计和合成能选择性地识别和断裂核

酸的有机小分子及小分子金属配合物作为核酸酶的模型物, 研究它们与核酸分子的相互作用具有特别重要的理论意义和应用潜力.

我们实验室经过多年的研究发现, 磷酰化组氨酸和丝组二肽可以在中性条件下切割核酸、蛋白、酯<sup>[29,30]</sup>. 特别是丝组二肽, 它是迄今为至发现的对多种天然底物具有切割活性的最小的肽, 也是世界上首例不含金属离子的 DNA 水解型切割试剂.

我们初步推测 Ser-His 二肽切割 DNA 的机理如下: 丝组二肽中质子化的氨基、咪唑基和酰胺键可以通过氢键和 DNA 的磷酸二酯键发生结合, 使得丝组二肽分子结合到 DNA 上, 然后丝组二肽的羟基进攻磷原子, 通过形成五配位磷中间体而使磷酸二酯键发生水解, 从而使得 DNA 被切断. 经过途径(1)生成了含 3'-羟基的核苷酸片断, 途径(2)生成了含 3'-磷酸酯的核苷酸片断. 丝组二肽对 DNA 进行切割的可能机理如图 9 所示.

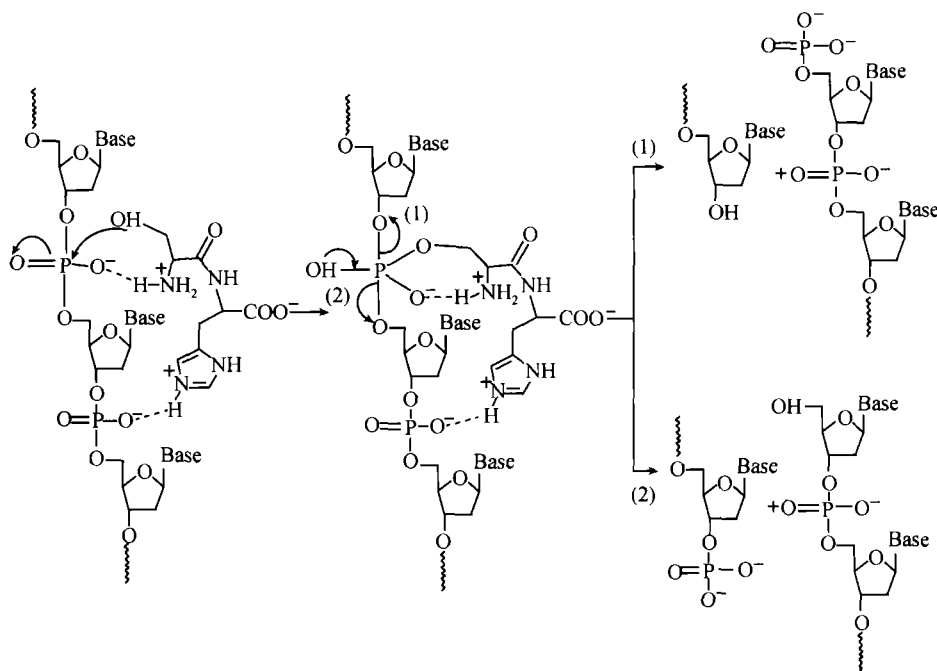


图 9 丝组二肽对 DNA 进行切割的可能机理

#### 4 “蛋白-核酸共同起源”模型

经过对磷化学长期和系统的研究, 特别是五配位磷中间体作为过渡态在生命化学中的作用, 赵玉芬教授提出了以磷酰氨基酸为基础的“蛋白-核酸共同起源”的学说<sup>[31-33]</sup>, 见图 10. 认为肽和核酸共同起源于磷酰氨基酸——原始地球上的高能磷化合物与氨基酸反应的产物. 由于原始地球火山活动频繁, 焦磷酸盐、焦磷酸酯类化合物很可能在地表积累, 这些化合物中的 P-O-P 键含有的能量, 通过与氨基酸形成 P-N 键这一中间过程, 最终转移到肽键和核苷酸的磷酸二酯键中. 因此, N-磷酰氨基酸可以作为一种反应模型, 以此来研究生命起源过程中的很多未解之谜, 例如手性起源, 遗传密码起源等等. 这一观点在国际上引起了广泛的注意<sup>[34]</sup>.



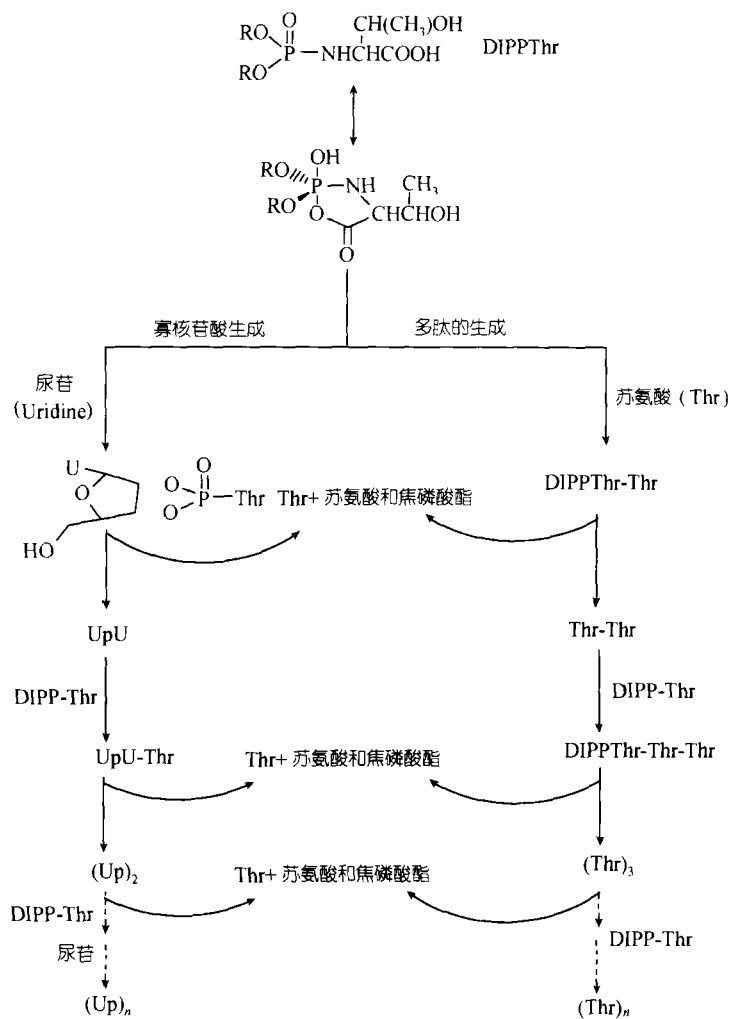


图 10 核酸和蛋白共起源模型

## 5 结束语

综上所述,磷在生命的起源和生命活动过程中有着不可或缺的地位,对其化学问题的深入研究必然有助于揭示以上两方面的化学机制,从一个特定的角度阐明生命现象的本质.而五配位磷化学崭露头角,以其丰富的化学内涵必将开拓生物有机磷化学新的研究趋向,并随之带动包括六配位在内的高配位有机磷化学的发展.大量的文献已经揭示了随着各个领域在研究手段上面的进步,诸多学科交叉结合,已经大力推动了五配位生物有机磷化学的发展.其中包括有机合成化学,物理有机化学,计算化学,晶体学,现代谱学以及新兴的分子生物学等等.尤其是在酶学机理探讨方面,以磷酰基转移酶为例<sup>[35]</sup>,对于在生物酶的催化条件下,磷酰基转移过程中 P-O 化学键的断裂和形成,其反应过渡态之所以经常涉及到五配位磷,以上各个学科研究结果一致的认为反应中心的四配位磷原子接受了来自活性残基的配位之后,配位数提高,加强了底物的反应过渡态与生物酶之间的结合.在相关的酶学体系中,由于以五配位

磷作为反应过渡态的反应机理得以清晰阐述,相应基于机理的酶抑制剂的设计(mechanic-based inhibitor design)工作也从而得以开展并显示了在药物设计领域的潜力.例如模拟核酸酶 A(Rnase A)反应过渡态的五配位有机钒酸酯<sup>[36]</sup>以及激酶反应过渡态的四配位磷酸酯<sup>[37]</sup>化合物的设计都预示了五配位磷化学在生命领域中的重大意义.

延续以上的思路,我们课题小组将集中于以五配位磷为代表高配位生物有机磷化学的研究,在上述已有的工作基础上,进一步探求高配位磷化学的生物学意义.利用这一新兴的磷化学概念解释以核酸和磷酸化蛋白为主的生命物质相互作用的机理.

### 参 考 文 献

- 1 Joyce G F. RNA evolution and origins of life. *Nature*, 1989, 338: 217~224
- 2 Dickerson R E. Chemical evolution and the origin of life. *Sci Amer*, 1978, 239(3): 70~86
- 3 Orgel L E. The origin of life on the earth. *Sci Amer*, 1994, 271(4): 76~83
- 4 Westheimer F H. Why nature chose phosphates. *Science*, 1987, 235(4793): 1173~1178
- 5 Todd L. Where There's Life, There's Phosphorus. In: Makoto K, Keiko N, Tairo O, eds. *Science and Scientists*. Tokyo: Japan Sci Soc Press, 1981. 275~279
- 6 Weckwerth G, Schidlowski M. Phosphorus as a potential guide in the search for extinct life on mars. *Adv Space Res*, 1995, 15(3): 185~191
- 7 Nelson L D, Cox M M. *Lehninger Principles of Biochemistry* (Edition III). Worth Publishers Inc, 1993. 652~658
- 8 van Ool Peter J J M, Buck H M. A quantum-chemical model description for the function of cyclic AMP. Its degradation and activation of protein kinase. *Recl Trav Chim Pays-Bas*, 1981, 100: 79 ~ 80
- 9 van Ool Peter J J M, Buck H M. The mechanisms of action of cAMP: A quantum chemical study. *Eur J Biochem*, 1981, 121(2): 329 ~ 334
- 10 Blatter W A, Knowles J R. Stereochemical course of glycerol kinase, pyruvate kinase, and hexokinase: Phosphoryl transfer from chiral[ $\gamma$ (s)-<sup>16</sup>O, <sup>17</sup>O, <sup>18</sup>O]ATP. *J Am Chem Soc*, 1979, 101: 510 ~ 511
- 11 Kin E E, Wyckoff H W. Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures. *J Mol Biol*, 1991, 218: 449 ~ 464
- 12 Anslyn E, Breslow R. On the mechanism of catalysis by ribonuclease: Cleavage and isomerization of the dinucleotide UpU catalyzed by imidazole buffers. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 4473~4482
- 13 McGuigan G, Cahard D, Sheeka H M, et al. Aryl phosphoramidate derivatives of d4T have improved anti-HIV efficiency in tissue culture and may act by the generation of a novel intercellular metabolite. *J Med Chem*, 1996, 39(8): 1748~1753
- 14 Wagner C R, McIntee, E J, Schinazi R F, et al. Aromatic amino-acid phosphoramidate diesters and trimesters of 3'-azido-3'-deoxythymidine(AZT) are nontoxic inhibitors of HIV-1 replication. *Bioorg Med Chem Lett*, 1995, 5(16): 1819~1824
- 15 Balzarini J, Egberink H, Hartmann K, et al. Antiretrovirus specificity and intracellular metabolism of 2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxythymidine (stavudine) and its 5'-monophosphate triester prodrug So324. *Mol Pharmacol*, 1996, 50(5): 1207~1213
- 16 Valette G, Pompon A, Girardet J L, et al. Decomposition pathways and *in vitro* HIV inhibitory effects of isoddaA pronucleotides: Toward a rational approach for intracellular delivery of nucleoside 5'-monophosphates. *J Med Chem*, 1996, 39(10):1981~1990
- 17 付 华, 赵玉芬. 氨基酸和核苷的五配位磷化合物. *化学学报*, 2000, 58(1): 6 ~ 12
- 18 张保忠, 章广韬, 赵玉芬. N-(O,O-二烷基)磷酸化丙氨酸与醇的反应性研究. *中国科学技术大学学报*, 1994, 24: 496 ~ 499
- 19 Li Y M, Yin Y W, Zhao Y F. Phosphoryl group participation leads to peptide formation from N-phosphorylamino acids. *Int J Peptide Protein Res*, 1992, 39: 375~381
- 20 Ma X B, Zhao Y F. Phosphoryl group participation in the reactions of N-phosphoryldipeptide acids phosphorus. *Sulfur and*

- Silicon, 1992, 66: 107~114
- 21 Li Y C, Tan B, Zhao Y F. Phosphoryl transfer reaction of phosphohistidine. *Heteroatom Chemistry*, 1993, 4(4): 415~419
  - 22 Ma X B, Zhao Y F. Synthesis and novel properties of N-phosphoryl peptides. *J Org Chem*, 1989, 54(16): 4005~4008
  - 23 Yang H J, Liu L, Liu C Y, et al. N-S phosphoryl migration in phosphoryl glutation. *Int J Peptide Protein Res*, 1993, 42: 39~43
  - 24 Zhao Y F, Yan, Q J, Wang Q, et al. Phosphoryl transfer reaction regulation by amino acid side chains: A model for phosphoproteins. *Int J Peptide Protein Res*, 1996, 46: 276~281
  - 25 Xue C B, Yin Y W, Zhao Y F. Studies on phosphoserine and phosphothreonine derivatives. *Tetrahedron Lett*, 1988, 29: 1145~1148
  - 26 Zhou W H, Ju Y, Zhao Y F, et al. Simultaneous formation of peptides and nucleotides from N-phosphothreonine. *Origins Life Evol B*, 1996, 26(6): 547~560
  - 27 Fu H, Li Z L, Zhao F F, et al. Oligomerization of N, O-bis(trimethylsilyl)-alpha-amino acids into peptides mediated by o-phenylene phosphorochloridate. *J Am Chem Soc*, 1999, 121(2): 291~295
  - 28 Chen X, Zhao Y F. Ester exchange reaction of oxyphosphorane with thymidine. *Synthetic Commun*, 1995, 25(22): 3691 ~ 3694
  - 29 Li Y S, Zhao Y F, Hatfield S, et al. Dipeptide seryl-histidine and related oligopeptides cleave DNA, protein, and a carboxyl ester. *Bioorg Med Chem*, 2000, 8(12): 2675~2680
  - 30 Li Y F, Sha Y W, Ma Y, et al. Cleavage of DNA by N-phosphoryl histidine. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 213(3): 875~880
  - 31 Zhao Y F; Cao, P S. Phosphoryl amino-acids common origin for nucleic-acids and protein. *J Biol Phys*, 1994, 20: 283~287
  - 32 Zhou W H, Ju Y, Zhao Y F, et al. Simultaneous formation of peptides from N-phosphothreonine. *Origins of Life and Evolution of Biosphere*, 1996, 26, 547~556
  - 33 Zhao Y F, Cao P S. Why nature chose alpha-amino acids. *Pure Appl Chem*, 1999, 71(6): 1163~1166
  - 34 Landweber L F. Testing ancient RNA-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(20): 11067~11068
  - 35 Holmes R R. Hexacoordinate phosphorus via donor interaction. Implications regarding enzymatic reaction intermediates. *Acc Chem Res*, 1998, 31(9): 535~542
  - 36 Messmore J M, Raines R T. Pentavalent organo-vanadates as transition state analogues for phosphoryl transfer reactions. *J Am Chem Soc*, 2000, 122(41): 9911~9916
  - 37 Parang K, Till J H, Ablooglu A J, et al. Mechanism-based design of a protein kinase inhibitor. *Nat Struct Biol*, 2001, 8(1): 37~41