

研究生物化学功能性高分子的作用

甘景镐

(福建师范大学高分子研究所)

功能性高分子的研究,最先是仿生为基础的,所以功能高分子的产生与发展,和生物化学始终是结不解之缘。例如由生物高分子形成的细胞膜,具有各式各样的功能与高度的选择性,能将离子从浓度小的一面向浓度大的一面转移。为着使人工制造的膜具有这种功能,我们就必须模拟构成细胞膜的生物高分子,以便用于生产,例如用于海水淡化的人工反渗透过程。

不过,使用现有单体制成的高聚物,性能往往比不上被模拟的天然物,要超过天然物就更为困难。因此无论在合成材料或模拟的合成材料领域中,对现有高分子进行改造,是事在必行,而且有很大的发展前途。

占很大比例的商品合成聚合物,从总的方面来说,其组成是均匀的,即是由相同的比较线型的链所构成,像常见的聚氯乙烯,聚丙烯等。但是大多数天然聚合物的组成都是不均匀的,也就是说是由两种或两种以上的单体构成的共聚物。最简单的方式就是由A和B两种单体按无规共聚方式构成的共聚物。另一个类型是一种具有两个或更多均聚合类型的连续链区所构成的共聚物,通称为线型嵌段共聚物,或是具有一种聚合类型的“骨架”的支链型大分子,在它上面附着上去的是一个或是更多的另一种聚合类型的侧链,这就叫做接枝型嵌段共聚物。这种“链区共聚物”简称为“嵌段”和“接枝”共聚物。

通过简单的共聚,或是嵌段与接枝的方法可以改进高分子的物理与化学性能,使其能够更好地模拟天然高分子或是出现较天然高分子更加优越的性能,或是干脆创造出性能上符合客观需要的新型高分子。

在生物化学中造成具有生物活性的高分子

的目的主要是:

1. 使酶、抗体或激素等改性或固相化。
2. 使配有高分子组成的生物活性物质(如药物、激素或农药等)能得到定位或有控制的释放。
3. 在合成的高分子基架上增益某种单体以合成像多肽类这样的高分子(如使用 Merrifield 法制备多肽)。
4. 合成可以模拟天然生物体系的人工细胞或人工膜。
5. 通过使有毒物质、或是生物体中的毒害部分,与特定的单体或其他组分成为螯合或络合高分子以达到去毒的目的。

我们现在就这些方面稍加讨论。

一、固相化的蛋白质(肽类)与多肽类

人们已经进行研究的肽类有:酶类、抗体类、酶的抑制剂类,蛋白质型抗原类与多肽类激素类。这些物质都已证明具有生物活力。以酶类为例,已经有人将近50种的酶类接到高分子成为有各种用途的制品。主要是由于能具有较大的不溶性并使其和反应混合物分离,而且它们的稳定性较溶解性大的原始酶要高。例如固相化的抗体就能在诊断术上有很大用途。也可以用于抗原的提纯。所以固相化的抗体在分析技术与制备技术都有用途。通过这样能使一种蛋白质或多肽类附在固相上,因而可以达到两种目的:一是可以获得具有同类型生物学性质的且易于处理的蛋白质;其次,是使各该种生物高分子的行为按某种要求产生变化,或使其行为局部定位化。

近来,特别是最近几年,固相化酶的研究甚

为活跃;每年发表的有关论文在 500 篇左右,其中多数属于商业文献,这说明产品的范围也愈益扩大了。Zoborsky^[1-4] 等曾对这一方面作出较详细的评述。

这些固相化酶不但在医药上有很多用途,在食品工业,酿造工业,纯药品或试剂合成,与生物化学的分析技术上,都有一定用途。例如,固相化酶可以制成异相催化剂。

使蛋白质附着在固相上可以通过下列各种方法: 1. 共价键合, 2. 物理性的吸附, 3. 在固相表面上交联, 4. 通过双官能试剂交联, 5. 包结作用, 6. 微胶囊化。

但因为常常需要制成不可逆的接枝物,所以多数是通过共价键合。通过这种办法,虽然可用的高分子种类很多,但由于需要保留蛋白质(如酶)的活性点,所以很有必要使附上去的蛋白质和固相基架表面距离远一些;也就是通过“系绳式”的链(tether linkage)使一端系在分子结构上,另一端则附着在蛋白质上。这种系绳式高分子结构的长度对蛋白质的生物活力常常会产生影响。

目前已广泛使用的固相物有: 衍生的多孔性玻球,各种衍生的纤维素,葡聚糖和丙烯酰胺凝胶等。催活剂种类也很多,其中最常用的是溴化氰,因为它可以较大幅度地保持酶的活力。

在工业上目前已采用这种固相化酶的过程的有: 氨基酸类的合成与分离,啤酒除杂,果汁澄清,转化糖与其他多糖类的制备等。例如在空间技术上,航天器密封舱中合成多糖类就可以采用这种过程。

二、定位或控制释放

二次大战以后,合成农药的使用的数量和品种都有很大的发展。大量使用农药带来了许多技术上的缺陷,有些是严重的。首先,我们常常使用超剂量的农药,或是使用不易分解的农药,致使在土壤或收获物中保持一定分量的残留物,造成环境污染或直接对人畜产生危害。某些剧毒性的农药,虽然药效显著,但施用时常常引起中毒,或是药效迅速消失等等。所以人

们很希望能采取一种有效的办法减低毒性,产生长效或是缓慢或是有控制释放。

初期的做法是把农药吸附或吸收在惰性的无机物或有机物上,但是这种方式仅仅是起稳定药剂,便于使用和运输等目的,对于有控制释放或延长药效作用不大。其后,就设法使这些农药附着在合成的水溶性或水不溶性高分子上,作为有可置换的氢的侧基取代物。

本世纪六十年代中即已有好几十种的专利制品出现,例如把三或四苯羧酸的氯酚酯类配入醇酸树脂中用做灭真菌剂。还有人把除草剂直接键合到像木质素这样的天然木材加工废物上^[5-7]。

如果一种有效成分(如农药)不能够直接系连在高分子上,或是不能造成一定的键连稳定,也还可以采用“桥接法”。例如使用磷酸盐或双尿烷“桥”使醇型的农药连到多糖的基架上^[8],或是先把农药转化为一种可聚合的产物,如乙烯基-2,4-二氯苯氧基乙酯,而后再进行均聚或共聚^[9]。通过这种方式,制成的高分子型农药在生物学环境中就会产生侧链降解而产生药效,以达到延效或长效与缓释放的目的。使用这种方法不但能达到可选择药效,而且可以使农药的使用寿命大大延长,甚至于达到几年之久。

文献中曾有不少报道,通过结合到高分子使具有生物活力的材料在挥发性、溶解度、毒性、施用有效期等方面得到改善^[10]。例如上述的森林农药,与医疗上使用的避孕药制剂^[11],也见于商品的甲基对硫磷制剂^[12]。

三、固相多肽类的合成

多肽化学的发展,对人们了解酶类和激素类的功能有很大帮助。所以合成多肽类无论在化学、生物学与物理学上研究生物体的构成与其各个器官的功能上都有很重要的意义。可是按照传统办法从纯的标准型化合物来合成很大分子的多肽类确是一种费时间的工作。1963 年 Merrifield 介绍了^[13]新的固相多肽合成法,把这一领域推向了跃进的新阶段。采用这种办

法可制出需要的多肽链段的氨基酸,成为有羧基端基的残基,可以通过一个共价酯键将它附着在不溶性的“基架”上。它不但可以作为多肽的携带体,而且可以作为具有羧基功能性的嵌入基团。经过这样附着作用后,使具有 C-端基的氨基酸中的氨基基团有选择地移除嵌入的基团,而且全部的氨基酸侧基均被保护基团所嵌入阻断,在整个合成过程中稳定下来,最后才加以移除而不致损及多肽链。按照这种方式就可以通过固相方法,使用一种适当试剂去移除胺型的嵌入阻断基团,和偶合一种新的 N-保护氨基酸。最后再用适当的溶剂,使过剩量的试剂和副产物与高分子支撑的多肽类分开。这样就可以合成具有指定氨基酸链段的均匀高分子,避免了当采用常法时要反复提纯中间物的复杂手续,并可以自动化进行。采用这种方法,人们已成功地对多种多肽类,如核糖核酸酶 A、溶菌酶、人体促肾上腺皮质激素 (ACTH) 等进行合成与提纯。

当然高分子技术在多肽类合成中的作用,目前正是方兴未艾,其中也存在有许多技术性的问题,均有待于进一步解决。

四、螯合作用

螯合型离子交换树脂,是一种新型的离子交换剂,它的用途有很大发展的可能性。例如在医疗上可用于解毒,提取或提纯某种元素,特别是富集一些稀散元素。

所谓螯合型高聚物是由一种骨架高分子与另一种接枝的螯合基团结合而成的。螯合型离子交换树脂与其它类型的离子交换剂不同点有三;即:有较大的选择性,较高的金属与高分子相互作用能,与较慢的动力学过程。它首先应用在净水过程,以除去水中的重金属杂质。在分析化学中可用以测定金属离子,对离子进行层析,再从溶液中回收这种金属。可以起这种螯合的常用螯合剂,如 α -氨基酸、EDTA、亚氨基二醋酸、亚胺二丙酸、氮川三醋酸、氧肟酸和 8-羟基喹啉等。

如何合成这一类聚合物螯合物呢?一般可

以通过两种途径。其一是把活性螯合基团接在聚合物的骨架上,这就是使用聚合物得到反应性的功能团。第二是把活性基团转化成为单体,再进行聚合。

螯合作用在生物化学领域中用途很多,例如在医疗方面:

1. 使其与血液中的有毒金属螯合,而后由排泄系统除去,达到解毒的目的。
2. 使体组织中某些痕量金属释放。
3. 在体内使细菌或病毒所需要的某种代谢金属失活,或是在体内释放某些对它们有毒害的金属。

五、生物活性物质的微胶囊化

生物活性物质(如以酶为例)在转为制剂后,往往会降低其活力。这是由于酶等在制成制剂的过程中一部分失活,或是产生构型的某种变化,也可能由于扩散或分离,或是由于受到有些不溶性支持物的化学性质或其环境因素的影响。

如将自由溶液的酶包裹在极薄的半渗透膜(膜厚约 200 埃)中,就可以在一定程度上避免降低活力。这是因为具有大孔的薄膜可以大幅度地降低扩散,或受其他微环境的作用。

微胶囊化的对象是广泛的,从生物化学角度来看,许多起生理作用的材料都可以微胶囊化。因为囊壁很薄,而且具有可渗透性,除非膜壁过薄或是放在某些晶态物的高渗溶液中,它是不会因渗透压变动而破裂的(在高渗溶液中有时会出现收缩的现象,但如有一种可透入的被溶质透入后又能回复原状)。

被包裹的酶,一般是能够保持活力,但是有些在较短时间就失活了^[16],如碳酸脱氢酶的活力可以保持一星期,脲酶制剂只有一天。

制造微胶囊可以采用多种方法,例如凝聚法(包括单凝聚与复凝聚),界面缩聚、气溶胶、离心法等。这一方面已有另文叙述。

通过选用膜材,还能使内容物在所要求的适当器官内定位释放。例如选用一种碱溶性的膜材就可以使某些药物不在胃中释放(或是很

少一部分在胃中释放)而只在肠中释放。

参 考 文 献

- [1] Zaborsky, O.: *Immobilized Enzymes*. Chemical Rubber Co. Cleveland, U.S.A. 1973.
- [2] Melrose, G. J. H.: *Rev. Pure Appl. Chem.*, **21**, 83, 1971.
- [3] Wiseman, A.: *Process Biochem.*, **8**(8), 14, 1973.
- [4] Vieth, W. R. et al.: *Chem. Technol.*, **4**(1), 47, 1974.
- [5] Allan, G. G.: 比利时专利, 706,509, 1967.
- [6] ————: 加拿大专利, 855,181, 863,310, 1970.
- [7] Broadhead, R. L.: 美国专利, 3179608, 1965.
- [8] Wilkins, R. M.: *The Design of Polymers for the Sustained Release of Selected Herbicides*, Univ. of Washington, U.S.A. 1969.

- [9] Allan, G. G. et al.: *Int. Pest Control*, **15**(3), 24, 1973.
- [10] Marson, F.: *J. Appl. Chem.*, **19**, 93, 1969.
- [11] Mischell, D. R. et al.: *Fertil. Steril.*, **21**, 99, 1970.
- [12] Pencap, M.: *Technical Bull.*, Pennwalt Corp., California, U.S.A. 1973.
- [13] Merrifield, R. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149, 1963.
- [14] Merrifield, R. M. et al.: *Anal. Chem.*, **38**, 1905, 1966.
- [15] D'Alelio, G. F.: 美国专利, 3395134, 3395197, 1968.
- [16] Chang, T. M. S.: *Science*, **146**, 524—5, 1964.
- [17] Boguslaski, R. C. et al.: *Biochimica et Biophysica Acta*, **250**, 266, 1971.

[本文于1980年1月14日收到]

Watson-Crick 模 型 的 修 饰

张 今 张德安 焦佐卿

(吉林大学化学系) (湖南制药厂)

一、引 言

26年前, Watson-Crick 提出了 DNA 的双螺旋结构模型。他们指出, DNA 通常是双股的,并以糖-磷酸酯骨架反平行走向。碱基是按着腺嘌呤与胸腺嘧啶、鸟嘌呤与胞嘧啶的方式配对。这是由大量实验支持的。鸟嘌呤与胞嘧啶以三个氢键牢固地配对,腺嘌呤与胸腺嘧啶配对则有所变动。现在似乎这种配对时的构象与 Watson-Crick 提出的有所不同。另外,关于 Watson-Crick 模型的其它特征,虽然是很可能的,但尚缺乏实验支持。例如结构的精确配位,包括碱基的倾斜,糖的精确折迭,各种碱基顺序的结构规律性问题等。

近年来,有些学者^[1-7]为了解释 DNA 复制和转录,以及 DNA 与蛋白质相互作用问题上存在的困难,分别提出了顺梯式构象, SBS 结构和 CPK 结构等不同于 Watson-Crick 的模型。下面,我们首先讨论这些模型,然后提出我们对 Watson-Crick 模型的修饰意见。

二、顺梯式构象

如引言中所述, Watson-Crick 的 DNA 结构模型是一个同向(左手)双螺旋,其中 A + T 和 G + C 是由氢键配对。碱基三连体作为遗传密码。双螺旋展开成单股需要能量。复制和转录必须是单股^[8]。由此, B. Cyriax 和 R. Gath 提出,单股不是直接源于双螺旋的展开,而是源于双股 DNA 的构象。即,在没有展开的情况下就能够形成单股。在这个构象中,糖-磷酸酯链处于顺式位置,碱基堆积成梯级式(图1)。故这个构象称为顺梯式构象(Cis-Ladder Conformation)。但这不应视为是 DNA 的一种新构象,而应看作位于双螺旋和单链间的一种构象,这意味着在没有任何拉力产生的情况下,双螺旋能够转化为顺梯式构象,反之亦然。

然而,当 B-DNA 双螺旋变为顺梯式时,平面碱基对水平距离由 3.4 埃变为 5.5 埃。同样, A-DNA 双螺旋变为顺梯式,碱基对在水平外倾斜 20°。在这个构象中,在没有展开的情况