

腺苷酸化合物与固氮酶组分结合的化学模拟*

吴也凡 曾定 林国栋 洪亮 蔡启瑞

(厦门大学生物系, 厦门 361005) (厦门大学化学系, 厦门 361005)

关键词 腺苷酸化合物, 原子簇, 络合

固氮酶是由钼铁蛋白和铁蛋白组成的复合物, 它们的活性中心分别由钼铁硫原子簇和 $Fe_4S_4^*$ 原子簇所组成。MgATP 除了与铁蛋白结合外, 是否还能与钼铁蛋白结合, 长期以来由于存在着相互矛盾的实验结果, 而未能定论^[1]。在双立方烷 $[Mo_2Fe_6S_8(SPh)_9]^{-3}$ 原子簇中, 钼已配位饱和, 而其中的铁是配位未饱和的, 有可能与 ATP 等腺苷酸化合物中的磷酸根部分络合。MoFe₃S₄* 簇酪具有和铁蛋白活性中心 $Fe_4S_4^*$ 原子簇相似的几何结构。Mo 置换了 $Fe_4S_4^*$ 中的一个铁后, 其 MoFe₃S₄* 簇酪中的铁的表现氧化态有所上升, 即由 $Fe_4S_4^*$ (指 $[Fe_4S_4(SPh)_4]^{-2}$) 中的 +2.5 价上升到 +2.67 价。MoFe₃S₄* 簇酪中的铁与 $Fe_4S_4^*$ 原子簇中的铁具有相似的配位环境。在化学模拟体系中研究腺苷酸化合物与 MoFe₃S₄* 的络合, 有助

有桥键双配位络合物种才发生 ATP 的水解, 而端基络合物种则不发生水解。³¹P-NMR 测试表明, 在没有发生水解的 DMF-D₂O (v/v 为 4:1) 介质中, 络合物中 ATP 的 α -和 β -³¹P 谱峰分别往低磁场方向移动了 3.2 和 7.9ppm, 而 γ -³¹P 谱峰趋于消失。这可能是由于 ATP 的 γ -PO₄ 端基络合和解络都非常迅速, 半衰期过短, 从而导致其谱峰加宽并被基底噪声所掩盖。在此介质中, ATP 可能主要以其 γ -PO₄ 与原子簇形成端基配位络合, 因而随着电子从络合物中的输出, 没有促进 ATP 的水解。DMF 具有比 H₂O 稍强的配位能力, 由于溶剂的竞争络合, ATP 与 $Fe_4S_4^*$ 的络合方式以及络合程度都与介质中的水含量有关。在 DMF-D₂O (v/v

于对固氮酶反应中 ATP 的作用机制的了解。

³¹P-NMR 在 VARIAN FT-80A 型波谱仪上测试。IR 测试在 NICOLET 5DX-FTIR 红外光谱仪上进行。

DMF 具有和蛋白质中的酰胺键相近的结构。在 DMF-D₂O (v/v 为 3:2) 介质中, $[Mo_2Fe_6S_8(SPh)_9]^{-3}$ 与 ATP 的络合, 使得 ATP 的 α -和 β -³¹P 谱峰分别往低磁场方向移动了 10ppm (半峰宽 600Hz) 和 8ppm (半峰宽 560Hz), 而 γ -³¹P 谱峰趋于消失。由于 ATP 的 γ -PO₄ 端基络合和解络都非常迅速, 半衰期过短, 从而导致 γ -³¹P 谱峰被基底噪声所掩盖, ADP 与 $[Mo_2Fe_6S_8(SPh)_9]^{-3}$ 的络合, 其 α -³¹P 谱峰往低磁场方向移动 16ppm (半峰宽 320

* 国家自然科学基金资助项目。

为 3:2) 介质中, 络合物中 ATP 的可分辨的 α -、 β -和 γ -³¹P 谱峰分别往低磁场方向移动了 13.2, 8.3 和 28.3ppm, 此外还包络了一些不易辨认的 ³¹P 谱峰。这表明在此介质中, 存在着多种络合方式。除了端基络合外, 还含有桥键双配位络合方式。随着介质中水含量的增加, 桥键双配位络合物种的数目也随之增多, 因而在电子传递的过程中, ATP 的水解量也随之增大。

参 考 文 献

- 1 Wu Yehuan et al. *Pure & Appl Chem*, 1988; 60: 1291
- 2 Baginski G S et al. *Clin Chim Acta*, 1967; 51:155

[本文于1991年5月17日收到, 7月13日修回]

Hz), 而 β - ^{31}P 谱峰趋于消失, 表明 ADP 的 β - PO_4 的端基络合和解络也是快速可逆的. AMP 的络合, 其 α - ^{31}P 谱峰基本上没有位移, 但谱峰大大加宽(半峰宽 400Hz). 分子体积较小的 Pi (磷酸根) 与 $[\text{Mo}_2\text{Fe}_6\text{S}_8(\text{SPh})_9]^{-3}$ 的络合, 使得其 ^{31}P 谱峰往低磁场方向仅移动 0.42 ppm (窄峰).

亚甲蓝是较为温和的人工染料 ($E_{\text{pH}}^0 \approx 0.01\text{V}$), 在生化实验中常用作离体实验时的电子载体. 在 DMF- H_2O 介质中, ATP, ADP, AMP 和 Pi 分别与 $[\text{Mo}_2\text{Fe}_6\text{S}_8(\text{SPh})_9]^{-z}$ ($z = 3, 2, 1$) 的络合, 都能加快其络合物与等当量的亚甲蓝之间的氧化还原反应速率, 加快的程度为 $\text{ATP} > \text{Pi}$, $\text{ADP} > \text{AMP}$. 表明腺苷酸化合物都能活化原子簇中的电子, 驱动电子从原子簇向电子受体的输出.

在 DMF- H_2O 介质中, ATP, ADP 和 Pi 分别与 $[\text{Mo}_2\text{Fe}_6\text{S}_8(\text{SPh})_9]^{-z}$ ($z = 3, 2, 1$) 的络合, 使其与亚铁螯合剂邻菲罗林的反应变得较为迟缓, 对原子簇中的铁起了屏蔽作用. 其屏蔽大小为 $\text{Pi} > \text{ATP} > \text{ADP}$. AMP 基本上没有表现出屏蔽作用. 由于 AMP 中的 α - PO_4 紧靠着核糖, 具有更大的空间位阻, 所以 AMP 与原子簇的络合是松散的. 由于络合物中的铁受到了 ATP 等配体的屏蔽, 而在络合物与亚甲蓝的氧化还原反应中, ATP 等配体又分别都能加快原子簇与亚甲蓝之间的反应速率, 这

表明其相应的络合物有可能是通过有机硫配体或共轭的磷酸根基团而传递电子的.

ATP 和 $[\text{Mo}_2\text{Fe}_6\text{S}_8(\text{SPh})_9]^{-3}$ 的络合, 使得其磷酰键的伸缩振动频率由 900cm^{-1} 红移至 884cm^{-1} , ADP 与该原子簇的络合, 使得其磷酰键的伸缩振动频率由 915cm^{-1} 红移至 901cm^{-1} . 表明原子簇与腺苷酸化合物的络合, 对其磷酰键有一定程度的活化作用. 在不同水含量的 DMF- H_2O (pH7.0) 介质中, 在 48h 内, $[\text{Mo}_2\text{Fe}_6\text{S}_8(\text{SPh})_9]^{-z}$ ($z = 3, 2, 1$) 与 ATP 的络合, 在无电子传递时, 没有促进 ATP 的水解. 用 H_2O_2 为氧化剂, 氧化上述络合物时, 也没有促进 ATP 的水解. 从分子结构模型可看出, 由于双立方烷原子簇中的苯硫酚配体的空间障碍, ATP 只可能以其 γ - PO_4 端基络合在原子簇中的铁上, 可能由于端基络合对 ATP 的磷酰键活化不够, 从而在有没有电子传递时都没有促进 ATP 的水解.

化学模拟研究表明, ATP 等腺苷酸化合物通过其端基磷酸根与双立方烷原子簇中的铁络合, 增加其配位场和配位数, 具有活化原子簇中的电子之功能.

参 考 文 献

- 1 曾定. 固氮生物学. 厦门: 厦门大学出版社, 1987: 266—268

[本文于1991年5月17日收到, 7月13日修回]

(continue from page 373)

ite), the activity of glutathion peroxidase (GSHPx), the rate of lipid peroxide (LPO) formation and the incorporation of ^3H -TdR in the subcellular fractions of mouse liver and blood were studied. The results showed that the blood and liver mitochondrial GSHPx rose in the 1—4th days, dropped to subnormal level in the 5—12th days and then recovered in the 13—18th days. Se treatment had a markedly protecting effect to mouse on this change. It was also found that the LPO contents of blood and liver subcellular fractions were elevated significantly by ^{60}Co irradiation and small doses of Se had an inhibiting action on such an elevation. These results were supported by the experiment of incorporation rate of ^3H -TdR in liver cell. However attention should be paid to a dose-effect relationship between the protecting effect and the toxicity of Se. It was found that when the dose of Se was over 0.5mg/Kg, the more Se was given the more LPO was formed.

Key words Selenium, Radiation injury, Glutathion peroxidase, Lipid peroxide