

# 环糊精在模拟酶研究中的应用

顾娟, 黄绍苗, 杨永存, 赵焱

(云南师范大学化学化工学院, 云南 昆明 650092)

**摘要:** 环糊精特殊的结构和性质使其成为理想的模拟酶模型。本文概述了修饰环糊精、环糊精聚合物以及环糊精金属配合物在模拟酶研究中的应用。

**关键词:** 修饰环糊精; 环糊精聚合物; 金属配合物; 模拟酶

中图分类号: TS236.9; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)10-0098-04

## Application of Cyclodextrins in Enzyme Mimics

GU Juan, YANG Yong-cun, YANG Zi-ming, ZHAO Yan

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

**Abstract:** Cyclodextrins were ideal enzyme mimics models because of their special structures and characteristics. In this article, the applications of modified cyclodextrins, cyclodextrin polymers and cyclodextrin metal complexes in enzyme mimics were reviewed.

**Key words:** modified cyclodextrin; cyclodextrin polymer; metal complex; enzyme mimics

环糊精(CD)是一种由D型吡喃葡萄糖通过 $\alpha$ -1,4糖苷键首尾相连而成的环状糖,其具有亲水的外壁和疏水的空腔。近年来,环糊精被广泛地用于构筑酶模型,主要是由于环糊精具有以下特性:(1)良好的水溶性;(2)结构上拥有众多的羟基,便于通过化学方法引入催化功能基,从而与底物形成静电和氢键;(3)刚性的疏水空腔有利于其通过非共价键作用对底物进行选择性能合,具有分子识别的功能。

Breslow最早用天然 $\beta$ -环糊精进行人工酶和仿生化学的研究<sup>[1]</sup>,同时设计了核糖核酸酶模型<sup>[2]</sup>。此后环糊精被更多的学者用来构造酶模型,Bender等发现环糊精可以催化乙酸硝基酚脂的水解<sup>[3]</sup>,Kirby等用环糊精催化二茂铁羧酸对硝基酚脂的水解反应,取得了很好的效果<sup>[4]</sup>。尽管天然环糊精具有一定的催化能力,然而可催化的反应数量非常有限。如果在环糊精上引入合适的官能团,则可大大提高环糊精的催化范围和效率,特别是环糊精二聚体能够有效地键合模型底物分子,给出更高的催化活性。大量研究表明,这些具有各种催化基修饰的环糊精能模拟生物体内几乎全部的酶促反应,具体阐述如下。

### 1 修饰环糊精模拟酶

#### 1.1 催化基的协同效应

如果将两个功能基团引入环糊精的同一面,则两个基团可产生协同作用,形成一个新的体系,可改善

环糊精的催化活性,从而实现天然酶的作用机理。同时,由于两个基团协同参与催化反应,能使环糊精键合面的静电环境保持在所需要的范围内。

如咪唑基可以同时作为酸和碱,形成一个电荷交替体系来键合水分子和底物。Breslow等将两个咪唑基团同时引入环糊精的第一面,设计出核糖核酸酶模型A1<sup>[5]</sup>。研究表明,A1对叔丁基苯磷二酚环磷脂的水解有催化作用,Ks值高达 $120 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ,而无A1作催化剂时反应的Ks值仅为 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 。反应机理如图1所示,得到的产物为A3:A4=99:1的混合物,如果用NaOH作溶剂,则两种产物的比为1:1。同位素效应研究表明两个咪唑基在反应中具有协同作用<sup>[6]</sup>。pH速率曲线表明,其中一个咪唑基被质子化,而另一个咪唑基未被质子化<sup>[7]</sup>。

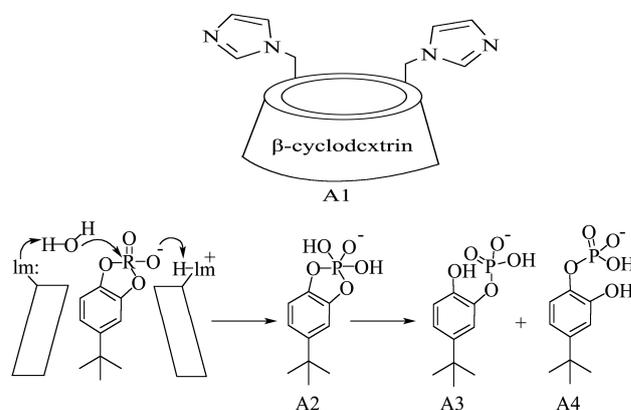


图1 二咪唑环糊精催化反应机理

Fig.1 catalyse reaction mechanism of di-imidazole cyclodextrin

收稿日期: 2007-06-26

## 1.2 立体选择性

将具有特定构型的基团引入到环糊精中, 可得到具有立体选择性的模拟酶模型。如将吡哆胺键合到 $\beta$ -环糊精的伯羟基处, 得到的修饰环糊精可以催化 $\alpha$ -酮酸的氨基转化反应, 反应速率仅是使用吡哆胺作催化剂时的100倍, 催化过程中表现出立体选择性<sup>[8]</sup>。

为了使吡哆胺相对于环糊精的构象固定化, Breslow等将吡哆胺基团通过双链连接到 $\beta$ -环糊精的第一面, 得到转氨酶模型。研究表明, 当吡哆胺功能基处于环糊精的一侧时, 优先选择键合间位取代苯基丙酮酸底物。而当其处于环糊精空腔上方时, 则优先选择键合对位取代苯基丙酮酸底物<sup>[9]</sup>。

Tabush<sup>[10]</sup>用二碘代 $\beta$ -环糊精分步与吡哆胺和乙二胺反应得到新化合物, 它能使 $\alpha$ -酮酸的转氨反应具有很高的手性选择性, 生成的L-氨基酸高达95%。

## 1.3 结合方式的选择

将修饰基团引入环糊精的第一面或第二面可得到不同的催化效果。Yoon等<sup>[11]</sup>将1,4-二氢烟酰胺 (NAH) 引入环糊精的第一面, 还原水合茚三酮的速率是NADH的50倍。而Kojima等<sup>[12]</sup>将NAH引入环糊精的第二面时, 还原水合茚三酮的速率高达NADH的60倍。进一步的研究表明, 如果将两个NAH同时引入环糊精的第一面, 得到的模拟酶催化效率更高, 它对水合茚三酮的还原速率可增大100倍<sup>[13]</sup>。

## 2 环糊精聚合物模拟酶

环糊精单元通过一些功能基桥联之后, 两个相邻的环糊精空腔能协同参与对形状和尺寸适合的客体分子的包结配位作用, 并形成稳定性更好的超分子配合物, 能更好地模拟生物酶<sup>[14]</sup>。基于此, 人们合成了一系列环糊精聚合物。Tastan等<sup>[15]</sup>设计出了模拟酶模型B1, 由于其具有两个环糊精空腔可以协同键合底物, 故加入B1后, 乙酸硝基苯酚脂的水解速率增大了150倍。

谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 能消除体内自由基, 防止脂质过氧化, 能有效地治疗和预防克山病、心血管病、炎症及癌症等病症<sup>[16]</sup>。然而天然GPX不稳定, 因此人们对这类酶的人工模拟研究有很大的兴趣, 曾合成了一些既有GPX活性的, 又比较稳定的小分子模拟物如PZ51等<sup>[17]</sup>。沈家骢等<sup>[18]</sup>合成了一种新的GPX模拟物—2-位硒桥联环糊精, 测定结果表明此模拟物的GPX活性是PZ51的7.5倍。该研究开辟了一种以环糊精为酶模型, 制备具有GPX活性的人工酶的新方法。

Breslow等<sup>[19]</sup>合成了几种卟啉基修饰的桥联环糊

精B2-B4, 将它们的Mn(II)配合物用于催化1,2-二苯乙烯衍生物环氧化反应。结果表明, B4键合底物的能力最差, 几乎不表现出选择性。而B2和B3具有较好的催化效果, 其中拥有4个环糊精单元的B2表现出了最好的选择性。

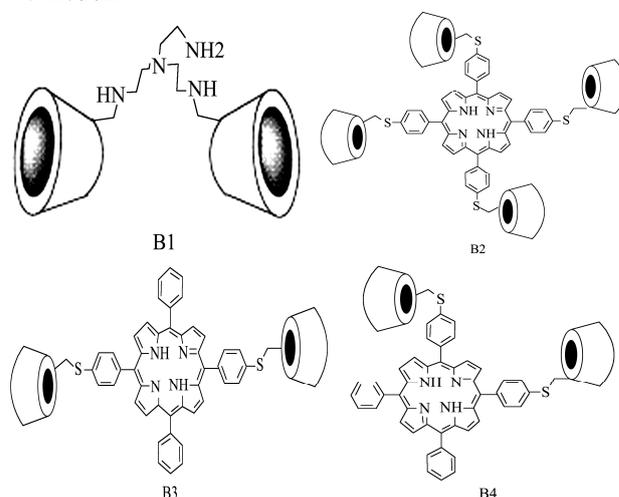


图2 聚合物模拟酶

## 3 环糊精金属配合物模拟酶

金属离子在很多电子转移系统中可发挥重要的作用, 它们经常作为“超酸”催化剂使用, 具有定向功能。因此把金属离子引入酶模型中可以提高其催化效率。修饰环糊精和金属离子形成的配合物也是当今研究的热点。最早的环糊精金属配合物是Breslow<sup>[20]</sup>合成的酸酐酶模型, 用一个或两个脒修饰环糊精与Cu(II), Ni(II)离子络合, 该配合物可利用金属离子来催化包结于环糊精空腔中的底物的水解反应。

在水解酶中, 金属酶占有重要地位。离去基团活性小的脂的水解反应通常难于进行, 1999年Breslow等<sup>[21]</sup>用人工合成的金属酶C1解决了这一难题, 实验数据表明, 加入C1后, p-硝基苯酸甲酯和p-叔丁基苯酸甲酯的水解效率明显提高。宋发军等<sup>[22]</sup>合成了双(6-氨基组胺酸)- $\beta$ -CD (简称E), E可与Mg(II)、Zn(II)、Fe(II)和Fe(III)形成配合物。他们研究了这4种金属离子配合物对RNA的水解, 发现E的三价离子配合物的催化效率明显高于它的二价离子配合物。

1996年Biliang Zhang和Breslow<sup>[23]</sup>合成了联吡啶桥联环糊精与Cu(II)的配合物, 联吡啶桥联基可以有效地络合Cu(II)离子形成催化活性中心。催化基团恰好在底物的反应中心处, 具有很强的催化效率。在pH为7, 温度为37 °C时, 联吡啶桥联环糊精对底物的水解速率仅增加80倍。而在联吡啶桥联环糊精中引入Cu(II)后, 金属配合物对底物分子C2的水解速率能提

高 $10^4$ 倍。此金属配合物对底物分子C3的水解速率在pH为8和pH为7时分别提高了 $2.2 \times 10^5$ 和 $7 \times 10^4$ 倍。该金属配合物催化脂水解的可能机理如图3所示。

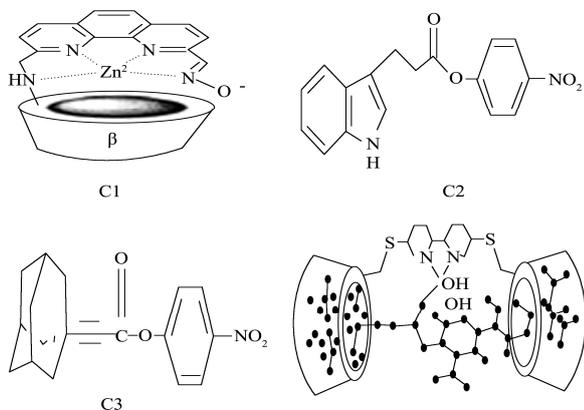


图3 金属配合物催化反应机理

Fig.3 catalyse reaction mechanism of metal complex

#### 4 环糊精模拟酶的应用前景

酶是一种天然的催化剂，具有高效性和专一性。但由于其只能在一定的生理环境下才有活性，因此具有很大的局限性。而人工酶是一种非生物催化剂，可以通过有机合成来制备。这种催化剂的研制虽然还处在初始阶段，但随着人们对酶的结构及其作用机理的深入研究，必将得到与天然酶相匹敌的人工酶体系。超分子化学的不断发展也将进一步推动人工酶的发展，相信今后将会有更多更新的环糊精模拟酶出现。

#### 参考文献

- [1] R. Breslow. Nature of aromatic[J]. Chem. Soc. Rev, 1972, 1, 553
- [2] R. Breslow. Chemical reactions of steroids which imitate the selective of enzymic[J]. Acc. Chem. Res, 1980, 13, 170
- [3] M.L. Bender, M. Komiyama. Cyclodextrin Chemistry, Springer Verlag, Berlin, 1978
- [4] A.J. Kirby, Angew. Enzyme mechanisms models and mimics-[J]. Chem. Int. Ed. Engl. 1996, 35, 707
- [5] Breslow R., Doherty J., Guillot G. Lipsey C. Remote functionalization reactions as conformational probes for flexible alky chains[J]. Am. Chem. Soc. 1978, 100, 3227
- [6] Anslyn E., Breslow R. Proton inventory of a bifunctional ribonuclease model[J]. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 8931
- [7] Breslow R., Schmuck C. Synthesis of artificial enzymes[J]. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 6601-6605
- [8] Breslow R., Dong, S. D. Sequence selective binding of peptides by artificial receptors in aqueous solution[J]. Chem. Rev 1998, 98, 1997-2011
- [9] Breslow R., Canary J.W., Varney M., Wadell S.T., Yang D. Bifunctional zinc-imidazole and zinc-thiophenol catalysts[J]. Am. Chem. Soc., 1990, 112, 5212-5219
- [10] Tabushi, Y. Kuroda, M. Yamada, M. Higshimura. et al. A-(modified B<sub>6</sub>)-B-[w-amino (ethylamino)]-β-cyclodextrin as an artificial B<sub>6</sub> enzyme for chiral aminotransfer reaction[J]. Am. Chem. Soc, 1985, 107, 5545
- [11] Yoon C.J., Ikeda H., Kojin R., et al. Potential of amorphous materials as catalysts[J]. Chem. Soc. 1986, 1080
- [12] Kojima M., Toda F., Hattori K. Synthesis and function of modified cyclodextrin[J]. Chem. Soc. 1981, 1, 1647
- [13] Tabushi I. Kodera M. A reversible and specific multiple binding or adsorption of dithionite anion on cationic micellar surface[J]. Chem. Soc. 1987, 109, 4734
- [14] 操锋, 任勇, 华维一, 等. 利用人工模拟酶环糊精催化羧酸酯水解反应的研究进展[J]. 有机化学. 2002, 22(11): 827-834
- [15] P. Tastan, E.U. Akkaya, A novel cyclodextrin homodimer with dual-mode substrate binding and esterase activity[J]. Chem. Molecular Catalysis A: 2000, 157, 261-263
- [16] Chiu D.Y., Stulfs F. H., Tappel A. L. Purification and properties of rat lung soluble glutathione peroxidase[J]. Biochim Biophys Acta. 1976, 455: 556-558
- [17] Wilson S R, Zueker P A, Huang R C. Development of synthetic compounds with glutathione peroxidase activity[J]. Am. Chem Soc. 1989, 111: 5936-5939
- [18] 刘俊秋, 高姝娟, 沈家骢, 等. 2-位硒桥联3-环糊精的合成及催化性质[J]. 中国生物化学与分子生物学报. 1999, 15(1): 102-104
- [19] R. Breslow, Xiaojun Zhang, Ruo Xu, et al. Biomimetic chemistry bifunctional binding and catalysis[J]. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 11678-11679
- [20] Breslow R. Directed steroid chlorination catalyzed by an ion paired template[J]. Orlando, FL. 1984, 3, 473-508
- [21] Jiaming Yan, R. Breslow. An enzyme mimic that hydrolyzes an unactivated ester with catalytic turnover[J]. Tetrahedron Letters, 2000, 41(13): 2059-2062
- [22] 宋发军, 丁志刚, 黄文胜, 等. β-环糊精衍生物的金属配合物催化RNA的水解[J]. 分子催化. 2001, 15(2): 139-141
- [23] Biliang Zhang, R. Breslow. Binding and catalysis with flexible locks and flexible keys[J]. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 1676-1681