

环糊精在金属酶模拟中的应用

周映华, 毛宗万*

中山大学化学与化学工程学院, 生物无机与合成化学教育部重点实验室, 广州 510275

* 通讯作者, E-mail: cesmzw@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2008-12-02; 接受日期: 2008-12-27

摘要 非共价作用(如氢键、静电和疏水作用)普遍存在于天然金属酶中, 对酶活化或底物催化过程有重要的协同作用. 近年来基于超分子化学理论的金属酶模拟研究不断向酶的活性中心亚稳态和次层结构的生物功能模拟方向发展. 本文将根据报道的文献并结合本课题组的研究工作, 对环糊精(一种重要的超分子主体)构建金属酶模型的研究进行综述.

关键词

金属酶模拟

环糊精

包合物

超分子化学

天然酶(enzyme)是生物体内细胞产生的一种生物催化剂, 能在机体中十分温和的条件下, 高效率地催化各种生物化学反应, 促进生物体的新陈代谢. 大多数酶分子中含有多肽链组成的蛋白质(酶蛋白, apoenzyme), 还有非蛋白成分(辅助因子, cofactor, 如金属离子或铁卟啉等), 两者一起组成全酶(holoenzyme)^[1,2]. 大约有三分之一的酶在它们本身结构中含有金属离子或者本身虽不含金属但必须有金属离子存在才具有活力, 前者称为金属酶, 后者称为金属激活酶. 在金属酶中, 金属和酶蛋白牢固地结合在一起, 金属离子通常为活性中心^[3,4]. 酶的蛋白质工程及模拟研究表明金属酶的活性不仅由其活性中心的金属离子决定, 金属离子附近的氨基酸残基通过识别底物参与催化过程而对金属酶的催化活性也有重要影响^[5,6].

早期金属酶模拟研究是以天然酶中的金属中心及其配位基团为对象, 设计和合成对应的金属配合物, 试图通过对金属酶活性中心结构的简单模拟来揭示金属酶的结构与功能的关系^[7]. 近年来, 超分子研究方法与技术引入, 使得金属酶的模拟从酶催化中心的金属离子及其配位基团的模拟, 发展到对

金属酶的催化中心及其亚稳态、次层结构的疏水环境及底物识别基团的模拟^[8], 在超分子层次上实现金属酶结构和功能的模拟, 如图 1 所示. 超分子金属酶模型一般是通过具有催化功能的金属配合物与主体分子(如蛋白质、DNA、抗体、环糊精和杯芳烃等)进行有机/无机杂化得到的催化剂, 可以提供特定的第二配位环境(the second coordination sphere)构建反应的预组织结构而诱导反应的区域/立体选择性^[9].

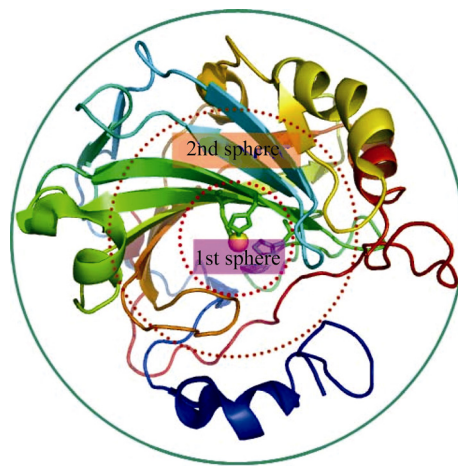


图 1 金属酶的第一和第二配位环境示意图

环糊精(cyclodextrin, CD)是环糊精糖基转移酶(CGase)作用于淀粉或直链糊精所产生的一类环状低聚糖的总称,由多个D-吡喃型葡萄糖通过 α -1,4糖苷键连接而成,其葡萄糖残基个数一般为6、7、8,分别称为 α 、 β 、 γ -环糊精^[10],如图2所示.环糊精具有亲水的外壁和相对刚性的疏水内腔,能与尺寸和大小匹配的客体分子形成超分子包合物(inclusion complex).与 α 、 γ -环糊精相比较, β -环糊精有适度的水溶性和适宜的空腔尺寸,在主客体化学中研究较多^[11].由于疏水域的拓展和功能基团的引入,选择性修饰的环糊精及其衍生物作为主体分子广泛应用于模拟酶的研究^[12].关于环糊精的酶模拟,国内外有一些综述文献报道^[13],本文主要从环糊精金属包合物的角度介绍环糊精在金属酶模拟方面的最新进展.

修饰环糊精的金属酶模型物的构建常见有以下四种方式,如图3所示.第一种方式是在环糊精第一面或第二面上修饰有机配体,然后与金属离子配位得到的单环糊精金属配合物,在这一模式中,能对疏水底物进行包合的环糊精空腔用于模拟金属酶催化活性中心次层结构的疏水环境,从而使得模拟酶具有底物结合中心和催化中心^[17].第二种方式,含疏水基的金属配合物与环糊精及其衍生物进行组装的超分子环糊精金属包合物,环糊精空腔用于包合具有催化功能的金属配合物,而环糊精上的功能基团则用于对金属催化中心亚稳态的维持或对底物的识别,在催化过程中起着协同作用^[14].第三种方式,金属配合物桥联两个或多个环糊精得到的双(多)环糊精金属配合物,其中两个或多个环糊精疏水空腔在催化过程中能协同地识别、包合多疏水基底物,模拟天然酶对底物的多重识别和催化过程中的预组织所需几何构型,使得催化中心接近底物而提高催化速率^[15].第

四种方式,功能基桥联环糊精的一个疏水空腔与具有催化功能的金属配合物超分子组装,另一个疏水腔在催化过程中识别底物分子,使分子间的催化反应变为准分子内反应,桥联环糊精起着单分子反应器的功能^[16].以下将分别对环糊精模拟金属酶的四种方式进行详细的阐述.

1 单环糊精金属配合物模拟体系

天然金属水解酶的催化中心附近通常有一个疏水区域,作为催化底物的预催化结合位点^[17],这就要求酶模型中有一个能与底物发生相互作用的疏水键合区,所以单环糊精金属配合物在金属酶模拟中有着广泛的应用.

1.1 金属水解酶的模拟

Breslow在酶模拟领域做出了开创性的工作,在1970年报道了第一个金属酶模型^[18],如图4所示,模型物1中 β -CD仲羟基修饰的功能基团与Ni(II)的吡啶甲醛肟盐配位形成催化中心,环糊精的疏水空腔包合对硝基苯醋酸酯(*p*-nitrophenyl acetate, *p*-NA)底物,催化水解速率比未催化速率增加约1000倍;催化水解能被环己醇有效抑制,表明环糊精疏水空腔作为酶模型的结合中心.Tabushi利用二组氨酸取代的环糊精的Zn(II)配合物2作为碳酸酐酶的模型^[19],催化中心是锌离子和3个咪唑基构成的配合物(其中2个咪唑基来自环糊精修饰基团,另一个咪唑基由咪唑缓冲液提供).研究发现其在咪唑的缓冲液中催化CO₂水合的二级速率常数为 $10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$,但在没有锌离子或咪唑缓冲溶液时,发现催化效率并无明显提高,而若只用锌离子与N-甲基组胺形成配合物,也显示较低的催化性能.这表明环糊精的疏水空腔是

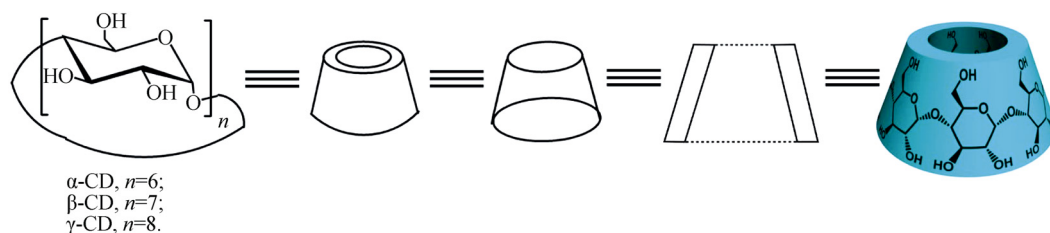


图2 环糊精结构的几种表达方式

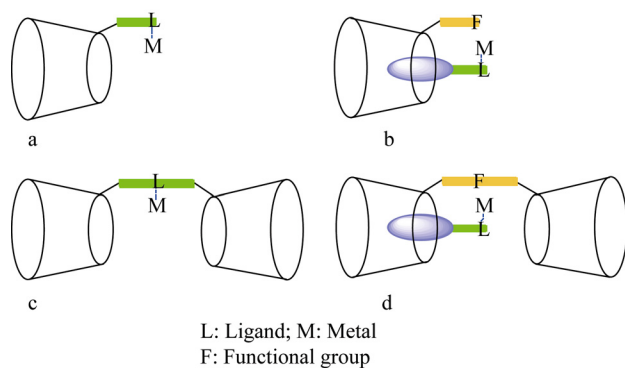


图3 环糊精构建金属酶模型的四种方式

提高 CO_2 水合作用的一个重要因素,即环糊精同时提供了催化中心和结合中心.环糊精6位羟基单取代二乙烯三胺的 $\text{Zn}(\text{II})$ 配合物 **3** 作为双位点识别的金属核酸酶酶模型^[20],金属离子的正电荷与带负电荷的底物存在静电作用,而环糊精空腔能与底物的疏水部分结合,模拟生命体系中的多位点识别.它可有效催化核苷(ribonucleoside)、环磷酸酯(cyclic phosphate)

和核苷酸(ribonucleotide)二聚体等中的磷酸酯键的水解断裂. Akkaya等合成了环糊精的6位羟基单取代四氮杂环十二烷钴配合物 **4**,其对底物 p -NA催化水解速率增加了900倍,而四氮杂环十二烷钴配合物本身不能起催化作用,表明环糊精钴配合物的环糊精疏水腔在催化反应中起重要作用^[21].环糊精3位羟基单修饰邻菲洛林衍生的锌配合物 **5** 催化 p -NA的水解速率比不加模型物的增加了22600倍^[22],归因于环糊精空腔疏水结合底物,同时锌配合物与底物能静电作用而稳定过渡态,羟基的氧负离子能协同亲核进攻羰基的碳原子,从而显著加速底物的水解.

1.2 金属氧化还原酶的模拟

Dismukes等直接利用环糊精作配体与 Mn 离子配位得到羟基桥联的双核 $\text{Mn}(\text{III})$ 的环糊精配合物 **6** 作为绿色植物的光致水氧化酶模型^[23],电化学研究表明 **6** 具有可逆的氧化还原峰.6位羟基单取代乙二胺的环糊精与铜离子形成1:2型的配合物 **7**,能催

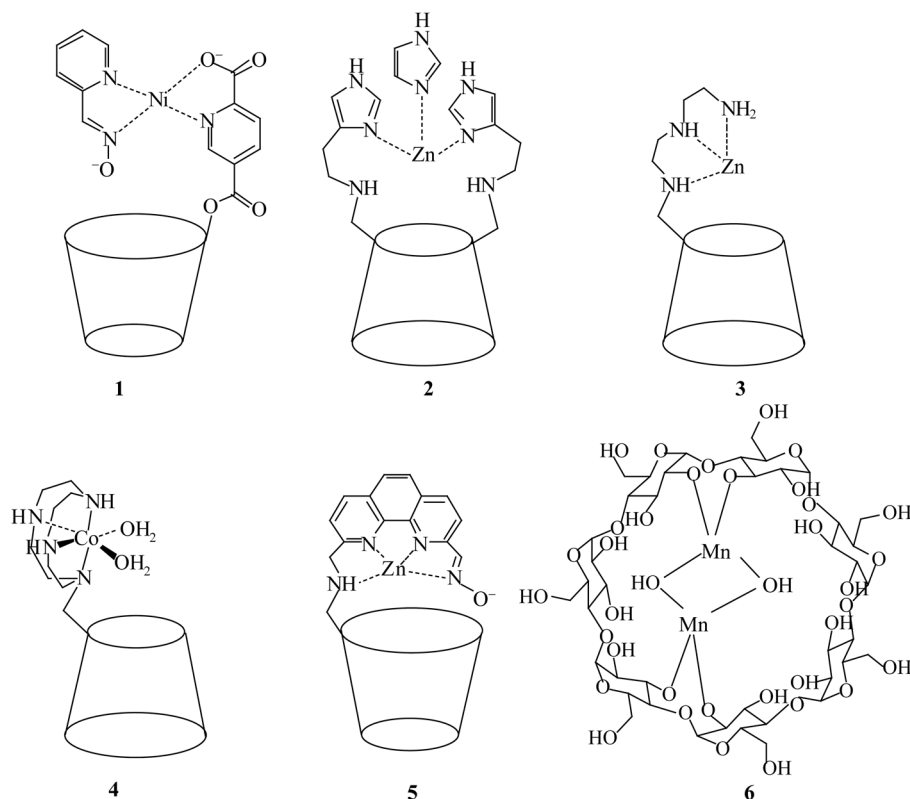


图4 环糊精金属配合物模拟金属酶

化联糠醛氧化成糠偶酰^[24]。动力学研究表明, 该反应符合米氏方程, 测得其催化常数 $k_c = 1.1 \text{ min}^{-1}$, 催化速率是无催化剂的 20 倍。其催化作用机理, 如图 5 所示, 在催化过程中, 两个环糊精疏水空腔分别包合联糠醛的两个呋喃环, 同时联糠醛烯醇化的氧负离子与铜铵配位离子静电或配位作用而稳定过渡态, 烯醇化反应是糠偶姻氧化反应的决速步骤。Breslow 将 B_{12} 辅酶修饰到环糊精的第一面伯羟基以构建 B_{12} 辅酶模型物 **8**^[25], 如图 6 所示, 在催化过程中产生的环糊精自由基可以诱导包含在空腔的底物产生自由基, 从而发生氧化还原或分子内重排反应。Bonomo 等用环糊精伯羟基二取代组胺的铜配合物模拟超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)^[26], 研究发现邻位二取代的环糊精衍生物能有效清除超氧负离子自由基, 其 IC_{50} 值为 $0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 分别比间位取代和对位取代的衍生物的催化活性高 33% 和 60%, 这是因为邻位二取代的两个组胺相距较近, 易与铜离子配位形成中间体所需较稳定的四面体配位结构。刘育课题组合成了一系列的苯并异噻唑酮基修饰 β -环糊精来构建 SOD 模型^[27], 表现出较高的 SOD 活力 ($121\sim 330 \text{ U/mg}$), 表明模型的催化中心和环糊精空腔的协同作用加速了催化过程。Mikkelsen 等用第一面或第二面羟基修饰二茂铁环糊精模拟半胱氨酸氧化酶^[28], 研究发现环糊精第二面修饰的衍生物催化半胱氨酸氧化的速率为 $1470 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, 明显高于相应的环糊精第一面修饰物。沈静茹等利用 β -环糊精二间羧基苯磺酸酯与三价铁离子在 H_2O_2 存在下形成的三元配合物模拟氨基酸氧化酶^[29]和葡萄糖氧化酶^[30], 用于痕量检测苯丙氨酸和葡萄糖等分子, 具有灵敏度高、重现性好的优点, 检出限分别是 $8.354 \mu\text{mol/L}$ 和 4.10 mg/mL 。

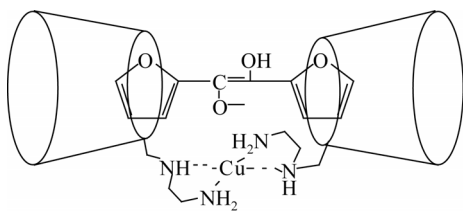


图 5 模型物 7 催化联糠醛氧化的示意图

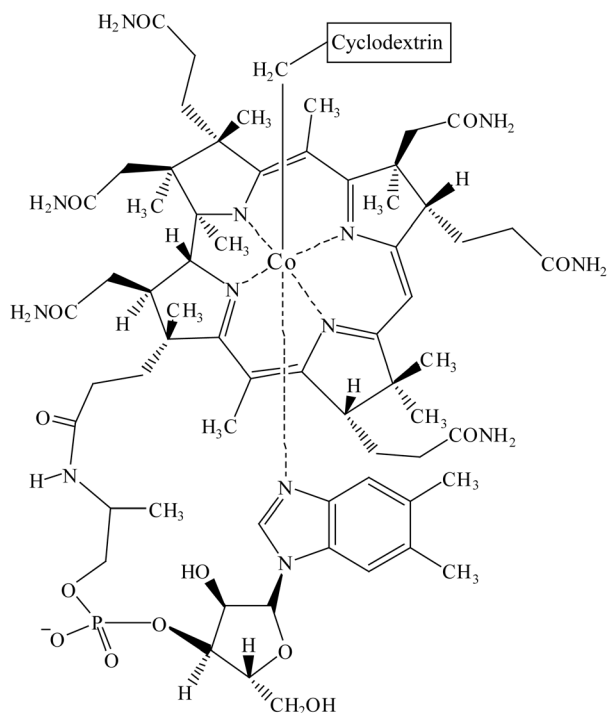


图 6 环糊精配合物 **8** 模拟 B_{12} 辅酶

2 超分子环糊精金属包合物模拟体系

国内外研究较多地集中在环糊精对疏水大环配体(卟啉和酞菁)的识别包合方面^[31,32], 对于环糊精包合物模拟金属酶及其活性的研究还比较少, 已有的报道也主要是生物配体卟啉的金属配合物与环糊精的包合物, 其主客体包合的方式有 1:1, 2:1, 2:2 型。环糊精包合物能改善金属配合物的某些性质, 如水溶性、阻止金属配合物二聚和在催化过程中保护某些基团等^[33]。Dick 等^[34]认为环糊精与卟啉的包合后, 环糊精类似于蛋白质骨架, 为卟啉提供一个疏水性环境, 阻碍卟啉形成聚集体, 而且像“分子货车”一样, 将卟啉运送到适当的细胞环境中。因此, 金属配合物与环糊精的包合物可作为一种新的金属酶模型构筑方式。

2.1 金属水解酶的模拟

如图 7 所示, 本课题组利用叔丁基苯偶联二乙烯三胺的锌配合物与环糊精组装得到的包合物 **9** 模拟金属水解酶^[35], 催化水解羧酸酯 p -NA。热力学研究

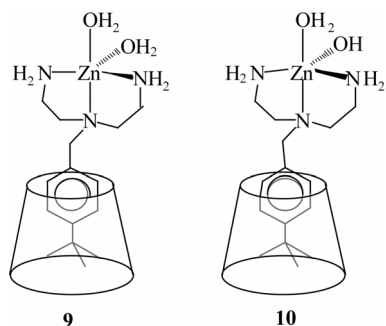


图 7 环糊精包合物模拟金属水解酶

研究表明包合物能明显地降低锌配合物的配位水质子离解常数($pK_a=8.20\pm0.08$), 有效地阻止锌配合物的羟基桥联二聚体的生成, 极大地稳定溶液中锌的羟基活性物种. 动力学研究表明该模型的二级速率常数, 在相同条件下比二乙烯三胺锌配合物的高约 300 倍. 该超分子模型中的锌单羟基活性物种的环糊精包合物 **10** 被成功培养出单晶并结构表征, 进一步证实了环糊精的包合作用使锌羟基配合物趋于稳定.

2.2 金属氧化还原酶的模拟

本课题组通过单(双)核铜配合物与环糊精及其衍生物组装得到的包合物 **11~14** 模拟 Cu, Zn-SOD, 如图 8 所示. 从包合物 **11** 的晶体结构解析可以发现客体疏水端即对叔丁基苯由环糊精第一面方向插入到

疏水空腔, 该锌配合物有效地与环糊精进行超分子组装. 包合物 **12** 研究表明咪唑桥联双核铜配合物与环糊精包合后水溶性得到明显提高, 并且咪唑桥断裂的 pH 值降为 7.5, 非常接近生理条件. 与二乙烯三胺单核铜配合物比较, 6 位胍基修饰环糊精的包合物 **13** 清除超氧负离子自由基的能力提高了约 40%^[36]. 与双核铜配合物客体分子比较, 胍基环糊精包合物 **14** 的催化超氧负离子自由基歧化的活性提高了近 30%^[37]. 这些超分子金属酶模型说明了胍基环糊精的金属包合物不仅模拟了 SOD 的金属活性中心, 而且模拟了位于金属铜离子附近未配位的、但在酶中对超氧化物歧化有重要作用的精氨酸残基.

陈慧兰课题组将不同烷基链的钴(III)丁二酮肟配合物(B₁₂辅酶模型)与β-环糊精进行组装得到的包合物模拟与核苷酸还原或分子内重排有关的B₁₂辅酶的催化作用, 通过核磁和晶体结构表征手段确定了溶液和固相中主客体分子的包合状态^[38~41], 采用自旋捕集EPR技术研究了各种包合物在光诱导下的自由基重排反应^[42], 环糊精疏水腔的引入改变了客体分子的电化学性质, 加速了钴碳键的断裂, 稳定了钴碳键断裂后产生的自由基中间体及其重排产物.

2.3 固氮酶的模拟

Martin 等将铁硫簇合物($(NH_4)[Fe_4S_3(NO)_7]$)分别与β, γ-环糊精包合构建固氮酶的模型 **15**^[43], 如图 9 所示. 电化学实验研究表明铁硫簇合物与β, γ-环糊精

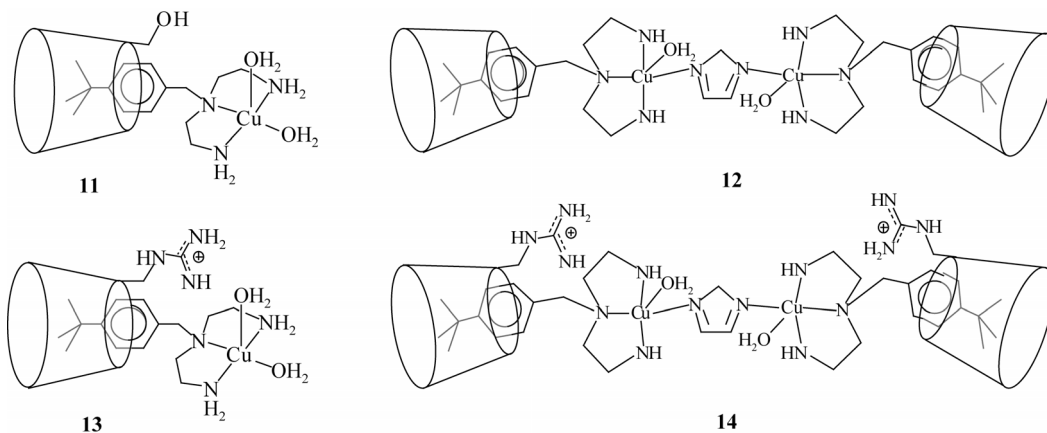


图 8 环糊精包合物模拟超氧化物歧化酶

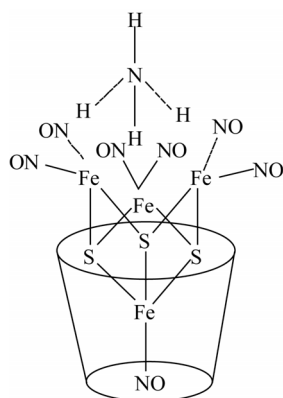


图9 铁硫簇合物的环糊精包合物 15 模拟固氮酶

包合后电势发生了明显的移动, 分别改变了 -60 和 -90 mV, 电喷雾质谱实验证实了溶液中包合物能稳定存在. 这是通过超分子手段获得的在不需蛋白质共价键合保护下也能稳定存在的金属簇合物第一

个例子, 对于在蛋白质外易失活分解的酶活性中心的金属簇合物的设计与合成具有很高的理论指导意义, 特别是在铁钼簇合物模拟固氮酶领域是一种全新的探索.

3 桥联双(多)环糊精金属配合物模拟体系

单环糊精与模型底物分子的作用一般相对较弱, 而侧臂上引入功能基的简单修饰在模拟酶的应用上也受到一定限制, 两个或多个环糊精单元通过功能基桥联, 使得两个或多个相邻的环糊精空腔有可能协助参与对形状、尺寸匹配的客体分子的识别, 所以桥联双(多)环糊精金属配合物广泛运用于模拟金属酶^[15,44].

3.1 金属水解酶的模拟

如图 10 所示, Breslow 等设计合成的 6-巯基联吡

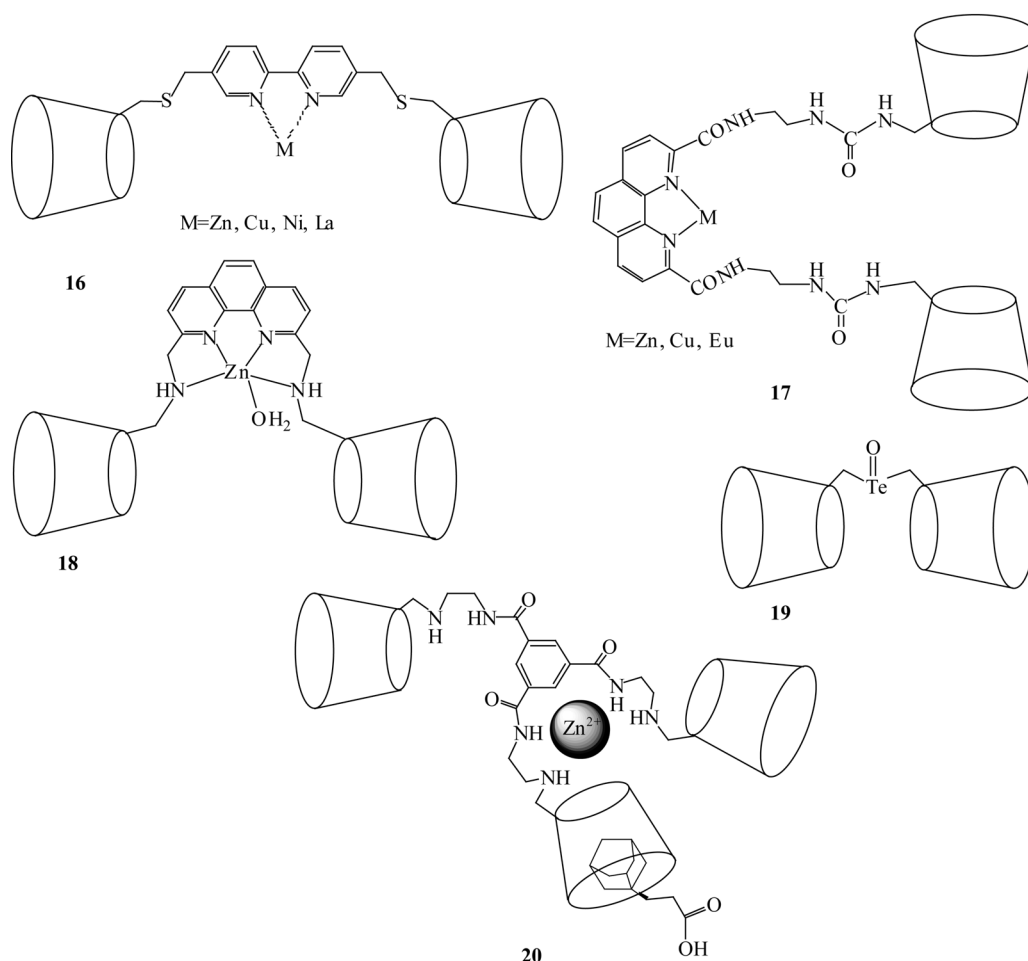


图 10 桥联环糊精配合物模拟金属水解酶

啶桥联双环糊精^[45], 并详细研究了它与不同金属离子的配合物 **16** 对各种羧酸酯的催化水解^[46]. 研究发现, 两端基疏水的底物能被协同包含于桥联环糊精的两个空腔中, 但当底物只是一端有疏水基团, 催化剂与底物间的包含能力会大大减弱. M-OH 是亲核进攻酯键的活性物种, 研究发现不同金属离子的活性顺序为: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$. 其 Cu 配合物催化对-硝基苯酚-3-吡啶丙酸酯水解时表现出很高的活性, 在 pH 7.0 和 25℃ 时水解速率是无催化剂时的 1.45×10^7 倍, 这缘于环糊精两个腔的协同作用、Cu(II) 离子与羧酸根负离子的静电作用、底物被环糊精包含而形成的空间构型; 其 La(III) 配合物在 H_2O_2 存在时还可以水解 BNPP^[47], 在 pH 7.0 时和 25℃ 时催化 BNPP 水解速度比无催化剂时加速了 3.0×10^6 倍.

Sallas 和 Marsura 等合成了一个长链的桥联双环糊精 **17**, 但催化磷酸酯水解的速率不理想^[48], 可能是桥基链过长使得不能较好地诱导契合底物到环糊精空腔. 而短链的邻菲咯啉锌配合物桥联双环糊精 **18** 模拟水解酶^[49], 能有效地催化双(对硝基苯)碳酸酯 (bis(4-nitrophenyl) carbonate, BNPC) 的水解, 在 pH 7.01 和 25℃ 时水解速率是无催化剂时的 3.89×10^4 倍, 催化水解双(对硝基苯)磷酸酯 (bis(4-nitrophenyl) phosphate, BNPP) 的二级速率常数高达 $9.9 \times 10^{-4} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 数值明显高于相似结构的其他锌配合物, 表明该桥联双环糊精的两个疏水空腔的协同识别包含底物在催化过程中起着重要的作用. 刘俊秋等合成了氧化碲桥联β-环糊精 **19** 作为水解酶模型^[50], 在 pH 7.0 和 25℃ 时催化 BNPC 水解速率是无催化剂时的 106000 倍, 机理研究表明桥联环糊精的两个空腔能有效包含 BNPC 使得催化基团接近底物酯键, 碲氧桥基通过碲醇的形式催化底物的水解.

最近, 刘育课题组用均苯三酰胺桥联三环糊精/ Zn^{II} /金刚烷衍生物三元超分子体系 **20** 模拟羧肽酶 A 催化牛血清白蛋白的水解^[51]. 研究表明环糊精空腔和金刚烷的羧基均参与了酶促反应, 该模型的酶活力高达 $10.43 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$, 其机理为环糊精的空腔包含蛋白质芳基侧基, 金刚烷的羧基使底物的肽键羰基极化活化后与锌离子配位, 使羰基极化进而使得羧

基碳原子容易受到亲核进攻发生水解.

3.2 金属氧化还原酶的模拟

French 等^[52]合成了四芳基卟啉 Ru 配合物桥联β-环糊精 **21**, 如图 11 所示, 模拟β,β'-胡萝卜素 15,15'-单加氧酶, 选择性控制断裂反应底物β,β'-胡萝卜素中六个可能断裂的双键中的一个. 催化过程中β,β'-胡萝卜素以两端基包含到桥联β-CD 的两个空腔而形成 1:1 的包合物, 使催化活性中心基恰好位于底物中心的双键附近, 有利于立体专一性地断裂双键生成醛类化合物, 所得反应产物与β,β'-胡萝卜素 15,15'-单加氧酶催化氧化得到的反应产物相似. Breslow 等利用 2 个或 4 个环糊精分子偶联于卟啉锰配合物 **22~24**, 以模拟细胞色素 P-450^[53,54], 催化 1,2-二苯乙烯衍生物环氧化反应. 催化过程中的环氧化反应选择性与环糊精在卟啉环上的位置有很大关系, 双环糊精连接在卟啉环对位比间位连接更有利于底物被环糊精的空腔识别包含, 带 4 个环糊精分子的配合物对底物的选择性更优越, 使得催化的区域及立体选择性明显提高. Tabushi 等用 Fe_4S_4 簇合物桥联双环糊精 **25** 模拟铁氧化还原蛋白酶^[55], 循环伏安实验表明该模型与铁硫簇合物有相似的电化学性质, 环糊精可以保护铁硫簇合物不被水解, 提高其在水溶液中的稳定性, 环糊精疏水空腔可以为底物提供结合部位.

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. 沈家骢等合成了第一面或第二面由双硒基或双碲基桥联的β-环糊精 **26~29** 作为 GPX 模型^[56], 研究表明第二面双硒基桥联环糊精的 GPX 活力 **28** 比第一面双硒基桥联环糊精 **27** 的值高出 74%, 是模拟物 Ebselen 的 7.5 倍. 这可能是底物 GSH 更倾向于优先与β-环糊精的相对开放的第二面结合. 在以 GSH 为底物, 催化氢过氧化物还原的反应中, 第二面修饰双碲基的β-环糊精 **29** 的 GPX 活力高于其他报道的环糊精的 GPX 模拟物, 是模拟物 Ebselen 的 46 倍^[57], 在催化过程中环糊精空腔对底物的疏水包含, 催化中心双碲基通过碲醇、亚碲酸、碲硫化物的形式发挥酶活力.

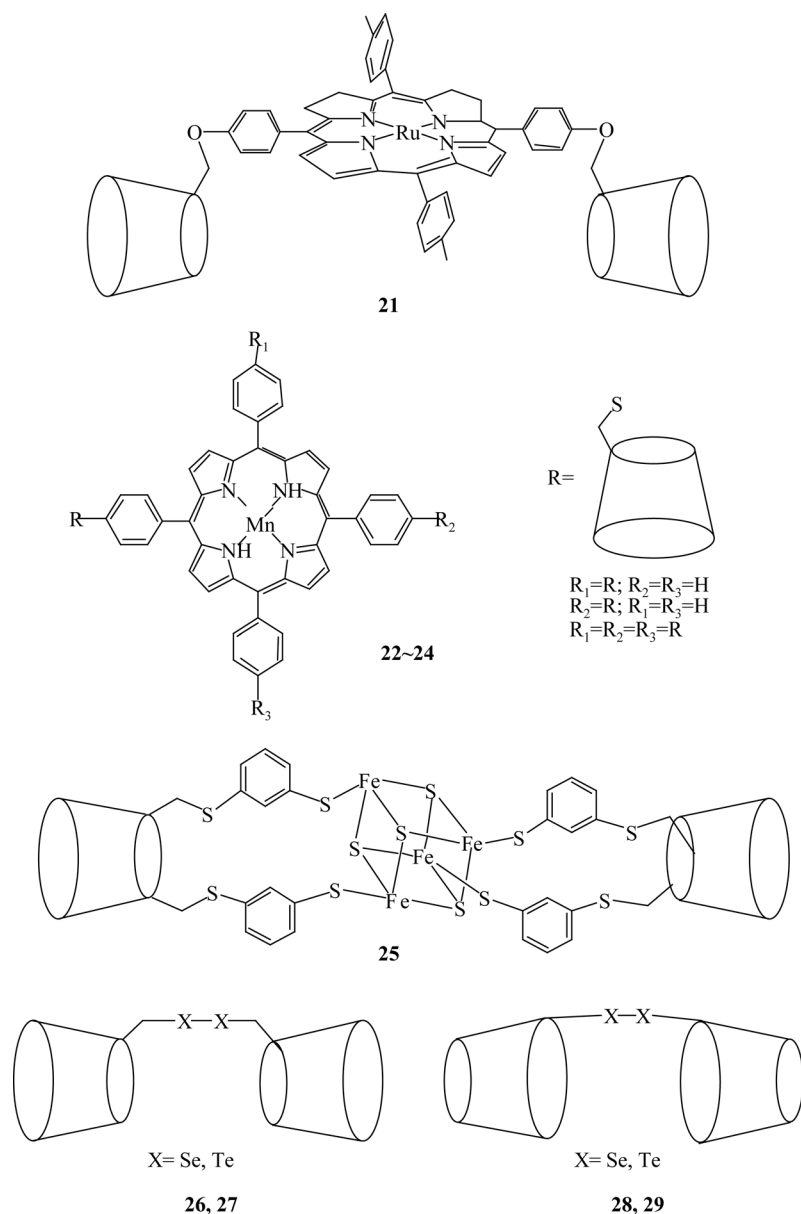


图 11 桥联环糊精配合物模拟金属氧化还原酶

4 桥联环糊精金属包合物模拟体系

这方面的探索研究鲜见报道。在单环糊精金属包合物模拟酶体系中, 金属配合物与环糊精包合后, 客体分子的物理或化学性质得到一定程度的改善, 但未给底物提供结合中心。为了使催化剂和底物在空间上相互接近而有利于活化/亲核进攻底物, 如图 12 所示, 本课题组将疏水基锌配合物与 4,4'-二甲基-2,2'-联吡啶桥联双环糊精组装得到包合物 **30**, 在模

拟金属水解酶方面进行了探索^[16]。通过 pH 电位滴定实验研究发现包合物 **30** 的 pK_{a1} 和 pK_{a2} 分别为 8.38 ± 0.01 和 10.42 ± 0.02 , 这说明了环糊精的包合能减少/阻止锌羟基配合物的二聚发生, 稳定催化活性物种。催化 *p*-NA 水解的动力学研究表明, 在相同条件下, 该模型的二级速率常数比结构相似的客体催化剂高约 33 倍。在催化底物水解的过程中, 桥联双环糊精的两个疏水腔分别捕获催化剂及底物分子, 使

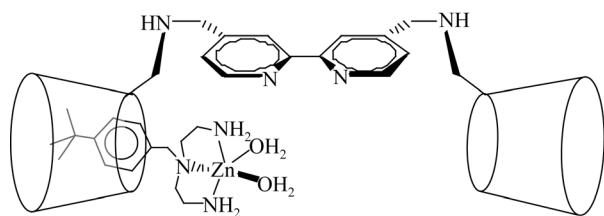


图 12 桥联环糊精包合物 30 模拟金属水解酶

分子间的催化反应变为准分子内反应, 增加活性物种亲核进攻底物的几率从而加速反应. 然而, 该模型还需进一步修正和完善, 例如: 桥联环糊精金属包合物模拟体系在催化过程中, 如何使金属配合物催化剂固定在桥联环糊精一端而不游离而减少其同时占据环糊精两个疏水腔的几率; 另一端疏水空腔如何高效地定点识别底物; 桥基的链长如何使得催化剂和底物在空间上最优化; 功能桥基如何进一步协同活化或催化底物等.

5 其他环糊精金属酶模拟体系

环糊精聚合物模拟金属酶的一般方法是将环糊精及其衍生物负载于纳米粒子表面或高分子链上, 然后非共价键合带疏水基的金属配合物.

Li和Liu等先将巯基修饰环糊精与金纳米粒子偶联, 再将金刚烷基三乙烯四胺的铜配合物疏水键合于环糊精空腔, 构建水解酶模型 **31**^[58], 如图 13 所示. 在 pH 9.0 时和 25℃ 时该模型催化 BNPC 水解速度比无催化剂时加速了 6046 倍.

Mao等^[59]将 β -CD交联聚合物包结铁卟啉形成固相超分子作为过氧化酞酶的模拟物, 实现了 H_2O_2 对 4-氨基安替比林-对氯苯酚的催化反应, 并应用于 H_2O_2 的酶法分析.

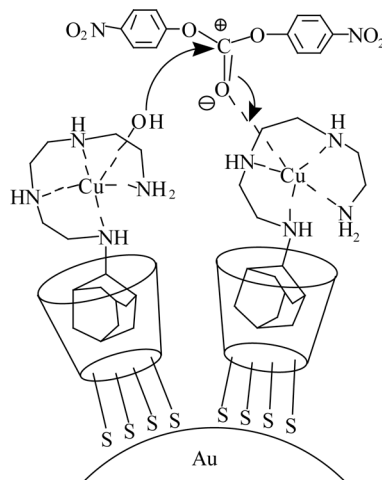


图 13 纳米基环糊精金属包合物 31 模拟金属水解酶

6 展望

设计和合成高效的金属酶模型是一件复杂而艰巨的系统工程, 也是超分子化学研究的重要课题之一. 如何利用不同催化基团和疏水、静电、氢键和范德华力等弱相互作用去实现对底物的多重识别和催化, 实现金属酶的生物功能模拟是一项具有挑战性的任务. 随着结构生物学和化学生物学的发展, 对金属酶的结构及催化机理的深入研究, 环糊精的金属酶模拟将利用超分子组装手段和纳米技术向更高层次的酶模拟方向发展, 即模拟金属酶活性中心的催化部位、对底物的结合部位又模拟催化中心附近对酶有重要影响的次层结构, 以提高模拟酶的催化活性. 金属酶模拟化学将运用有机无机杂化和基因组学等现代手段, 在分子和细胞水平上模拟生物体内的金属酶催化过程, 揭示生命活动的本质, 开发出具有生物兼容性的、较稳定的、高效的和复合的绿色催化剂, 将应用于疾病诊断和治疗、工业催化和环境保护等方面.

参考文献

- 1 Penning T M, Jez J M. Enzyme redesign. *Chem Rev*, 2001, 101(10): 3027—3046 [\[DOI\]](#)
- 2 Bertini I, Gray H B, Stiefel E I, Valentine J S. *Biological Inorganic Chemistry: Structure and reactivity*. California: University Science Books, 2007. 43—56
- 3 Brown D H, Smith W E. Metal ions in biological systems. *Enzyme Chem*, 1984, 162—195
- 4 Suh J. Model studies of metalloenzymes involving metal ions as Lewis acid catalysts. *Acc Chem Res*, 1992, 25(7): 273—279 [\[DOI\]](#)
- 5 Banci L, Bertini I, Luchinat C, Hallewell R A. An investigation of superoxide dismutase Lys-143, Ile-143, and Glu-143 mutants: $\text{Cu}_2\text{Co}_2\text{SOD}$ derivatives. *J Am Chem Soc*, 1988, 110(11): 3629—3633 [\[DOI\]](#)

- 6 Bertini I, Banci L, Piccioli M, Luchinat C. Spectroscopic studies on $\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$: A continuous advancement of investigation tools. *Coord Chem Rev*, 1990, 100: 67—103[DOI]
- 7 Breslow R. Biomimetic chemistry and artificial enzymes: catalysis by design. *Acc Chem Res*, 1995, 28(3): 146—153[DOI]
- 8 Thomas C M, Ward T R. Artificial metalloenzymes: Proteins as hosts for enantioselective catalysis. *Chem Soc Rev*, 2005, 34(4): 337—346[DOI]
- 9 Steinreiber J, Ward T R. Artificial metalloenzymes as selective catalysts in aqueous media. *Coord Chem Rev*, 2008, 252(5-7): 751—766[DOI]
- 10 Szejtli J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev*, 1998, 98(5): 1743—1754[DOI]
- 11 Liu Y, Chen Y. Cooperative binding and multiple recognition by bridged bis(β -cyclodextrin)s with functional linkers. *Acc Chem Res*, 2006, 39(10): 681—691[DOI]
- 12 Villalonga R, Cao R, Frago A. Supramolecular chemistry of cyclodextrins in enzyme technology. *Chem Rev*, 2007, 107(7): 3088—3116[DOI]
- 13 Rizzarelli E, Vecchio G. Metal complexes of functionalized cyclodextrins as enzyme models and chiral receptors. *Coord Chem Rev*, 1999, 188: 343—364[DOI]
- 14 Kano K, Kitagishi H, Tamura S, Yamada A. Anion binding to a ferric porphyrin complexed with per-o-methylated β -cyclodextrin in aqueous solution. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(46): 15202—15210[DOI]
- 15 Breslow R, Dong S D. Biomimetic reactions catalyzed by cyclodextrins and their derivatives. *Chem Rev*, 1998, 98(5): 1997—2012[DOI]
- 16 Zhou Y H, Zhao M, Li J H, Mao Z W, Ji L N. Carboxylic ester hydrolysis catalyzed by a host-guest system constructed by cyclodextrin dimer and zinc complex. *J Mol Catal A: Chem*, 2008, 293: 59—64[DOI]
- 17 Pocker Y, Guilbert L J. Carbonic anhydrase catalyzed hydrolysis and decarboxylation. Kinetic studies of enzyme-catalyzed decomposition of mono- and disubstituted derivatives of carbonic acid. *Biochemistry*, 1974, 13(1): 70—78[DOI]
- 18 Breslow R, Overman L E. "Artificial enzyme" combining a metal catalytic group and a hydrophobic binding cavity. *J Am Chem Soc*, 1970, 92(4): 1075—1077[DOI]
- 19 Tabushi I, Kuroda Y. Bis(histamino)cyclodextrin-zinc-imidazole complex as an artificial carbonic anhydrase. *J Am Chem Soc*, 1984, 106(16): 4580—4584[DOI]
- 20 Komiyama M, Matsumoto Y. Efficient cleavages of ribonucleoside 2,3-cyclic phosphates and ribonucleotide dimers catalyzed by β -cyclodextrin attached with diethylenetriamine-zinc(II) complex. *Chem Lett*, 1989, 18(5): 719—722[DOI]
- 21 Akkaya E U, Czarnik A W. Synthesis and reactivity of cobalt(III) complexes bearing primary- and secondary-side cyclodextrin binding sites. *J Am Chem Soc*, 1988, 110(25): 8553—8554[DOI]
- 22 Breslow R, Nesnas N. Burst kinetics and turnover in an esterase mimic. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40(17): 3335—3338[DOI]
- 23 Boelrijk A E M, Dismukes G C. Mechanism of hydrogen peroxide dismutation by a dimanganese catalase mimic: Dominant role of an intramolecular base on substrate binding affinity and rate acceleration. *Inorg Chem*, 2000, 39(14): 3020—3028[DOI]
- 24 Matsui Y, Yokoi T, Mochida K. Synthesis and catalytic activity of a reactive Cu(II) -cyclodextrins complex. *Chem Lett*, 1976, 5(10): 1037—1041[DOI]
- 25 Breslow R, Duggan P J, Light J P. Cyclodextrin- B_{12} , a potential enzyme-coenzyme mimic. *J Am Chem Soc*, 1992, 114(10): 3982—3983[DOI]
- 26 Bonomo R P, Conte E. Characterization and superoxide dismutase activity of copper(II) complexes of 6A,6X-difunctionalized β -cyclodextrins. *Dalton Trans*, 1996: 4351—4356
- 27 Liu Y, Li B, Li L, Zhang H Y. Synthesis of organoselenium-modified β -cyclodextrins possessing a 1,2-benzisoselenazol-3(2H)-one moiety and their enzyme-mimic study. *Helv Chim Acta*, 2002, 85(1): 9—18[DOI]
- 28 Schreyer S K, Mikkelsen S R. A synthetic cysteine oxidase based on a ferrocene-cyclodextrin conjugate. *Bioconjugate Chem*, 1999, 10(3): 464—469[DOI]
- 29 Shen J R, Sun X M, Lei Z L, Yang K H, Ding Z G. Studies of amino acid oxidase constructed by β -cyclodextrin derivant. *Acta Chim Sinica*, 1998, 56(4): 391-397
- 30 Shen J R, Lei Z L, Ding Z G. Catalyzed determination of glucose with a mimic enzyme constructed of bis-[6-o-(β -ethyloic-butanoedioic acid-1,4-ester-4-)] β -cyclodextrin center $\cdot \text{Fe}^{3+}$. *Anal Lett*, 2007, 40(8): 1622—1631[DOI]
- 31 Venema F, Rowan A E, Nolte R J M. Binding of porphyrins in cyclodextrin dimers. *J Am Chem Soc*, 1996, 118(1): 257—258[DOI]

- 32 Sasaki K, Nakagawa H, Zhang X Y, Sakurai S, Kano K, Kuroda Y. Construction of porphyrin-cyclodextrin self-assembly with molecular wedge. *Chem Commun*, 2004, (4): 408—409
- 33 Ribo J M, Farrera J A, Valero M L, Virgili A. Self-assembly of cyclodextrins with meso-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin in aqueous solution. *Tetrahedron*, 1995, 51(12): 3705—3712 [\[DOI\]](#)
- 34 Dick D L, Venkata S, Rao T, Sukumaran D, Lawrence D S. Molecular encapsulation: Cyclodextrin-based analogs of heme-containing proteins. *J Am Chem Soc*, 1992, 114: 2664—2669 [\[DOI\]](#)
- 35 Zhou Y H, Fu H, Zhao W X, Tong M L, Su C Y, Sun H, Ji L N, Mao Z W. An effective metallohydrolase model with a supramolecular environment: Structures, properties, and activities. *Chem Eur J*, 2007, 13(8): 2402—2409 [\[DOI\]](#)
- 36 Zhou Y H, Fu H, Zhao W X, Chen W L, Su C Y, Sun H, Ji L N, Mao Z W. Synthesis, structure, and activity of supramolecular mimics for the active site and arg141 residue of copper, zinc-superoxide dismutase. *Inorg Chem*, 2007, 46(3): 734—739 [\[DOI\]](#)
- 37 Fu H, Zhou Y H, Chen W L, Deqing Z G, Tong M L, Ji L N, Mao Z W. Complexation, structure, and superoxide dismutase activity of the imidazolate-bridged dinuclear copper moiety with β -cyclodextrin and its guanidinium-containing derivative. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(15): 4924—4925 [\[DOI\]](#)
- 38 Luo L B, Chen H L, Liu J, Tang W X, Hagen K S. Syntheses and characterization of coenzyme B-12 analogues/ β -CD supramolecules. *Chem J Chinese U*, 1995, 16(7): 1012—1013
- 39 Luo L B, Chen Y, Chen H L, Zhang Z Y, Zhou Z Y, Mak T C W. Comparative crystal structure studies on distortion of iso-butyl (aqua)cobaloxime induced by alpha-cyclodextrin and beta-cyclodextrin hosts. *Inorg Chem*, 1998, 37(24): 6147—6152 [\[DOI\]](#)
- 40 Chen Y, Chen H L, Yang Q C, Song X Y, Duan C Y, Mak T C W. Crystal structure and photolysis spin-trapping epr investigation of aqua(2-methoxycarbonyl)ethyl cobaloxime and its β -cyclodextrin inclusion complex. *Dalton Trans*, 1999, 629—634
- 41 Chen Y, Xiang P, Li G, Chen H L, Chinnakali K, Fun H K. Crystal structure investigations of inclusion complexes between β -cyclodextrin and alkyl(aqua)cobaloximes(alkyl=butyl, hexyl and cyclohexyl). *Supramol Chem*, 2002, 14(4): 339—346 [\[DOI\]](#)
- 42 Song X Y, Chen Y, Chen H L. Spin trapping EPR investigation of the photolysis of aqua(alkyl)cobaloximes: 1,2-rearrangement reactions of photo-induced primary radicals and β -cyclodextrin's stabilizing effects. *New J Chem*, 2001, 25: 985—988 [\[DOI\]](#)
- 43 Martin L L, West L C, Wu B. An extrusion strategy for the FeMo cofactor from nitrogenase towards synthetic iron-sulfur proteins. *Eur J Biochem*, 2001, 268: 5676—5686 [\[DOI\]](#)
- 44 Feiters M C, Rowan A E, Nolte R J M. From simple to supramolecular cytochrome P450 mimics. *Chem Soc Rev*, 2000, 29(6): 375—384 [\[DOI\]](#)
- 45 Breslow R, Zhang B. Very fast ester hydrolysis by a cyclodextrin dimer with a catalytic linking group. *J Am Chem Soc*, 1992, 114(14): 5882—5883 [\[DOI\]](#)
- 46 Zhang B, Breslow R. Ester hydrolysis by a catalytic cyclodextrin dimer enzyme mimic with a metallobipyridyl linking group. *J Am Chem Soc*, 1997, 119(7): 1676—1681 [\[DOI\]](#)
- 47 Breslow R, Zhang B. Cleavage of phosphate esters by a cyclodextrin dimer catalyst that binds the substrates together with La^{3+} and hydrogen peroxide. *J Am Chem Soc*, 1994, 116(17): 7893—7894 [\[DOI\]](#)
- 48 Sallas F, Marsura A, Petot V, Pinter I, Kovacs J, Jicsinszky L. Synthesis and study of new β -cyclodextrin dimers having a metal coordination center and carboxamide or urea linkers. *Helv Chim Acta*, 1998, 81(3-4): 632—645 [\[DOI\]](#)
- 49 Zhou Y H, Zhao M, Mao Z W, Ji L N. Ester hydrolysis by a cyclodextrin dimer catalyst with a metallophenanthroline linking group. *Chem Eur J*, 2008, 14(24): 7193—7201 [\[DOI\]](#)
- 50 Dong Z Y, Li X Q, Liang K, Mao S Z, Huang X, Yang B, Xu J Y, Liu J Q, Luo G M, Shen J C. Telluroxides exhibit hydrolysis capacity. *J Org Chem*, 2007, 72(2): 606—609 [\[DOI\]](#)
- 51 Chen Y, Chi H, Liu Y. Synthesis and carboxypeptidase a mimic of supramolecular triads formed by benzene-1,3,5-tricarboxylamido-bridged tri(β -cyclodextrin), Zn^{2+} and adamantane derivatives. *Acta Chim Sinica*, 2008, 66(1): 91—96
- 52 French R R, Holzer P, Leuenberger M G, Woggon W D. A supramolecular enzyme mimic that catalyzes the 15,15' double bond scission of β,β -carotene. *Angew Chem Int Ed*, 2000, 39(7): 1267—1269 [\[DOI\]](#)
- 53 Yang J, Gabriele B, Belvedere S, Huang Y, Breslow R. Catalytic oxidations of steroid substrates by artificial cytochrome P-450 enzymes. *J Org Chem*, 2002, 67(15): 5057—5067 [\[DOI\]](#)
- 54 Breslow R, Zhang X, Xu R, Maletic M, Merger R. Selective catalytic oxidation of substrates that bind to metalloporphyrin enzyme

- mimics carrying two or four cyclodextrin groups and related metallosalens. *J Am Chem Soc*, 1996, 118(46): 11678—11679 [\[DOI\]](#)
- 55 Kuroda Y, Sasaki Y, Shiroiwa Y, Tabushi I. Cyclodextrin sandwiched Fe_4S_4 cluster. *J Am Chem Soc*, 1988, 110(12): 4049—4050 [\[DOI\]](#)
- 56 Liu J Q, Luo G M, Ren X J, Mu Y, Bai Y, Shen J C. A bis-cyclodextrin diselenide with glutathione peroxidase-like activity. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1481(2): 222—228
- 57 Dong Z Y, Liu J Q, Mao S Z, Huang X, Yang B, Luo G M, Shen J C. Aryl thiol substrate 3-carboxy-4-nitrobenzenethiol strongly stimulating thiol peroxidase activity of glutathione peroxidase mimic 2,2'-ditellurobis(2-deoxy- β -cyclodextrin). *J Am Chem Soc*, 2004, 126(50): 16395—16404 [\[DOI\]](#)
- 58 Li X Q, Qi Z H, Liang K, Bai X L, Xu J Y, Liu J Q, Shen J C. An artificial supramolecular nanozyme based on β -cyclodextrin-modified gold nanoparticles. *Catal Lett*, 2008, 124(3-4): 413—417 [\[DOI\]](#)
- 59 Mao L Y, Zhu M, Huang X M, Shen H X, Li R. Study on immobilized supramolecular inclusion complex of iron-porphyrin as an analogue for peroxide proteinase. *Chem J Chinese U*, 1997, 18(10): 1611—1615

Metalloenzyme mimics based on cyclodextrin complexes

ZHOU YingHua, MAO ZongWan^{*}

MOE Key Laboratory of Bioinorganic and Synthetic Chemistry, School of Chemistry and Chemical Engineering Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: Non-covalent interactions, such as hydrogen bonding, electrostatic and hydrophobic interactions, universally exist in metalloenzymes, and play an important cooperative role on the enzyme activation or substrate catalytic processes. Recently, the metalloenzyme mimicking based on the supramolecular chemistry is progressing towards the biological functional simulation involving the metastable intermediate and the microenvironment of the active site. In this paper, the research of the metalloenzyme models constructed by the cyclodextrin, an important host in supramolecular chemistry, will be reviewed based on the literatures and our work.

Keywords: metalloenzyme mimic, cyclodextrin, inclusion complex, supramolecular chemistry