

·成果简介·

内源性自由基与生命科学相关的若干物理有机化学问题

杜灿屏 朱仕正 陈拥军

(国家自然科学基金委员会化学科学部, 北京 100085)

[关键词] 内源性自由基, DNA, 蛋白质, 烟酰胺辅酶, 反应机理

随着后基因组时代的到来, 化学界和生物学界对生物功能的主要体现者或执行者——蛋白质给予了空前的关注。众所周知, 蛋白质特定功能的实现离不开蛋白质特定结构的构筑^[1]。由于蛋白质的修饰加工、转运定位、代谢、蛋白质与蛋白质及其他生物大分子的相互作用等均无法从基因组水平上的研究获得, 因此, 对蛋白质功能中心结构的研究以及蛋白质功能中心被内源性小分子自由基(如一氧化氮)修饰后的改变对其功能影响的研究成为人们认识生命奥秘的一种迫切的需求。在控制和改造基因功能方面的一个重要课题是内源性的自由基和自然界中的紫外线对 DNA 损伤和突变的关系。癌症及其他许多疾病与 DNA 损伤和突变直接相关。但直到近十年来, 科学家才逐渐认识到内源性的自由基^[2]和自然界中的紫外线^[3]是造成 DNA 损伤与癌症等疾病的关键因素, 因此深入细致地研究 DNA 光损伤以及 DNA 光敏化修复等是当前生物物理有机化学和化学生物学研究领域中最热门的前沿课题之一。

一氧化氮(NO)是生命体内的一种内源性的生物信使自由基分子, 具有许多神奇的生理功能^[4], 如在免疫系统中, NO 与超氧负离子 O_2^- 结合生成 $OONO^-$, 然后进入病变细胞分解释放出高活性的自由基 $OH^·$ 、 NO_2 , 从而杀死病变细胞。在神经传导系统中, NO 是神经传导甚至人脑记忆的递质^[5]。大量研究表明 NO 众多神奇生物功能的实现均离不开 NO 或其供体与生物活性分子和生物功能分子(如蛋白质)的相互作用。此外, 大量的研究表明了 NO 与某些生物功能分子(如蛋白质)以及生物活性分子相互作用造成了 NO 对生命体的毒害作用。如: NO 与硫蛋白质、金属蛋白发生硝(酰)化作用而使硫蛋

白质和金属蛋白失活; NO 能使蛋白质氨基硝化诱导肿瘤生成; NO 使 DNA 脱氨基而发生突变致癌; NO 使 DNA 分子链断裂诱导凋亡; NO 修饰 DNA 组合蛋白抑制 DNA 转录; NO 与呼吸链中氧化-还原酶作用而阻断电子传递等等。总之, NO 在生命体内的神奇功能以及 NO 对生命体的毒害均离不开 NO 对蛋白质分子结构的影响, 离不开 NO 与生物活性分子和生物功能分子相互作用。因此, 深入探明生物信使分子 NO 与生物功能分子和生物活性分子的相互作用中若干物理有机化学问题是当今 NO 化学生物学和蛋白质化学中一项迫切任务, 具有十分重要的理论意义。同时用物理有机化学的理论和方法研究与生命过程有关的基本化学生物学问题, 是 21 世纪物理有机化学深入发展的一个重要标志, 也是有机化学向生命科学渗透和交叉的一个重要领域。

国家自然科学基金委员会化学部在 2003 年立项并资助了“内源性自由基与生命科学相关的若干物理有机化学问题”重点项目(20332020), 该项目利用物理有机化学理论和方法重点研究一氧化氮与 DNA、硫蛋白、金属蛋白及其模型物反应机理, 揭示 NO 众多神奇生理功能的奥秘, 为科学地利用 NO 药物控制或消除生命体内 NO 不足或过量导致的疾病提供依据; 同时研究 DNA 在紫外光照射下结构的变化(光损伤)以及 DNA 光损伤和光修复中的电子转移规律, 从分子水平上理解 DNA 光损伤和光修复机理; 以及研究白藜芦醇、姜黄素等与 DNA 反应机理以及化学氧化应激与癌症的关系, 揭示生物抗氧化剂在诱导癌细胞程序性死亡、抑制细胞增殖中的作用机制, 为发展有效抗氧化和抗癌化合物提供理论基础。研究烟酰胺辅酶负氢转移机理和手性诱导反

本文于 2008 年 2 月 20 日收到。

应规律,揭示烟酰胺辅酶负氢转移和立体专一的本 质。以上各项研究涉及的均是当今学科交叉共同关注的热点课题,适应 21 世纪化学科学与生命科学交叉融合共同发展的方向和需求,具有重大的理论意义和现实意义。

该重点项目实施 4 年来,在以南开大学程津培院士,朱晓晴教授,中国科技大学刘有成院士,郭庆祥教授和兰州大学刘中立教授课题组的共同努力下取得了以下几个方面的研究成果:

(1) 内源性的生物信使分子 NO 及其供体与硫蛋白、金属蛋白以及它们的小分子类似物反应机理的研究

项目组利用化学热力学和动力学有关理论成功测定出了一氧化氮与众多常见的生物活性分子中氮、氧、硫和金属等原子间化学键的异裂能和均裂能,首次建立了一氧化氮与生物活性分子中氮、氧、硫和金属原子化学亲合势的标度,为化学家和生物化学家们研究一氧化氮化学生物学提供了重要的热力学数据。

在关于生命体内一氧化氮(NO)转移机理化学模拟研究方面,项目组利用 S-亚硝基三苯基甲硫醇作为生命体内 NO 硫载体的模型,利用钴卟啉作为生命体内 NO 金属受体的模型,系统研究了一氧化氮有机分子给体与铁和钴金属卟啉化合物的作用机理。其研究成果对了解 NO 有机小分子给体在体内与以金属卟啉为活性中心的铁血红素以及维生素 B₁₂等反应活性和反应规律提供了重要的热力学、动力学以及机理信息,为深入了解 NO 在人体内的作用方式提供了理论依据。

(2) 环肽化学中的分子识别与组装研究

项目组选择了半刚性的二联苯作为结构改性单元,合成了 3 个二联苯桥连的大环化合物。二联苯作为一个有趣的结构单元,在模拟蛋白质的 type-V' β 转折以及诱导生长激素类似物的生物活性方面表现出优异的性能。对这三个二联苯桥连的大环化合物的晶体结构研究表明这些大环化合物分别组装网状及链状超分子结构,C—H \cdots O 氢键在这些分子的组装中扮演了重要的角色。

(3) 生物有机负氢化学的研究

项目组利用等温量热滴定的方法测定了碳负离子与吡啶盐正离子在乙腈中的反应热,结合碳负离子的氧化电位,通过恰当的热力学循环计算出碳负离子 C—H 键的异裂能、均裂能,为化学家和生物化学家的研究生命体内有机负氢源的化学生物学提供

了非常重要的热力学基础。利用化学模拟的方法设计合成两类负载葡萄糖残基的水溶性烟酰胺辅酶模型物,并利用滴定量热和电化学方法成功地测定了这两类烟酰胺辅酶模型物在水溶液中 C₄—H 键的异裂能和均裂能,为化学家和生物化学家在水相和生物有序微环境中模拟烟酰胺辅酶的化学行为提供重要的热力学数据。设计合成一系列新型的烟酰胺辅酶模型物,研究了它们的物理有机化学性质及在有机合成反应中的应用,阐明了烟酰胺辅酶模型物 BNAH 和 HEH 还原活化烯烃和溴代活化烯烃反应机理。

(4) DNA 和 RNA 自由基性质与损伤机理的理论研究

研究结果发现 DNA 片段 3',5'-二磷酸脱氧核苷及其阴离子 RNA 片段中 3',5'-二磷酸核苷和二价的 3',5'-二磷酸核苷阴离子的分子结构具有明显的区别。同时详细研究了 3',5'-位磷酸基团和水溶液对糖环不同位置碳自由基对稳定性的影响,发现阴离子磷酸基团(⁻OPO₃H)是比 OH 基团更好的自由基稳定基团,然而中性磷酸基团(⁻OPO₃H₂)是比 OH 基团更差的自由基稳定基团。他们还通过高精度计算方法准确预测了 10 类非常重要的抗氧化剂的键解离能值,研究了各类抗氧化剂的构效关系和自由基作用机理,纠正了前人的一些误解,对新型高效的抗氧化剂药物的结构进行合理预测,提出合理的结构活性关系,以帮助设计合成新型更高效的抗氧化剂。

(5) 内源性自由基白藜芦醇、姜黄素等与 DNA 反应机理及化学氧化应激与癌症关系的研究

项目组研究了以天然抗氧化剂为先导的人工合成抗氧化剂的结构-活性关系,发现了几个活性很高的新的生物抗氧化剂和癌细胞增殖抑制剂,得到了抗氧化和抗癌活性直接相关的实验证据。合成了一系列白藜芦醇类似物,发现它们的抗氧化活性与对癌细胞的毒性有相关性,这些生物抗氧化剂可以诱导癌细胞的程序死亡或调节细胞周期,从而抑制癌细胞的增殖。此外还合成了一系列姜黄素类似物,研究了它们的抗氧化及抗癌活性与分子结构的关系。发现其中一个化合物具有很好的抗结肠癌活性,特别是对正常细胞(成纤维细胞)没有毒性,有望成为一个新的抗癌药物。

该重点项目圆满地完成了预定的研究计划,取得非常突出的成果,在该领域的研究取得了国际领先的成果。在项目执行的 4 年中发表学术论文

164 篇, 其中包括 *J. Am. Chem. Soc.* (5 篇); *Angew. Chem. Int. Ed.* (3 篇); *Chem. Eur.* (2 篇); *Chem. Comm.* (2 篇); *Org. Lett.* (4 篇); *Org. Chem.* (11 篇) 等。截止 2007 年 12 月, 这些论文被引用次数为 969 篇次, 平均每篇被引用近 6 篇次。

项目执行期间, 各项目组成员还积极开展国际合作与交流, 共有 5 人次在国际会议上作特邀报告。他们和美国 Ohio State University 的 Dongping Zhong 教授合作, 利用其飞秒时间分辨荧光光谱和瞬态吸收光谱研究模型化合物中嘧啶二聚体光敏化裂解过程; 与美国佛罗里达大学罗渝然教授合作, 研究有机化合物化学键裂解能数据库与结构性能关系研究; 与美国 Utah State University 的 Vernon D. Parker 教授建立合作关系, 开展非稳态动力学研究; 与美国 Miami 大学的 Wyche 和 Han 教授合作进行了抗癌机理的分子生物学研究。

参 考 文 献

- [1] Biobel G, Wozniak R W. Proteomics for pore. *Nature*, 2000, 403(6770):835.
- [2] MarnettLJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, 21:361.
- [3] Friedberg E C, Walker G C, Siede W DNA repair and mutagenesis, ASM press. Washington DC, 1995; Sancar A. *Biochemistry*, 1994, 33:2; DeGrujil F R, Koza L. *Photochem Photobiol B: Biol*, 1991, 10:367; Li Y F, Kim S T, Sancar A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90:4389; Eker A P M, Yjima J, Yasui A. *Photochem Photobiol*, 1994, 60:125; Malhotra K, Kim, S T, Sancar A. *Biochemistry*, 1994, 33: 8712; Kleiner O, Butenandt L, Carell T, Batschauer A. *Eur Biochemistry*, 1999, 264: 161.
- [4] Koshland D E. *Science*, 1992, 258:1861; Bredt D S, Singder S H. *Ann Rev Biochem*, 1994, 63:175; Stamler J S. *Cell*, 1994, 78: 931. Bult H, Pelckmans P A et al. *Nature*, 1990, 345, 346; Mocada S, Palmer R M, Higgs E A. *Pharmacol Rev*, 1991, 43:109.
- [5] Tyryshkin A M, Dikanov S A, Reijerse E J et al. *Am Chem Soc*, 1999, 121:3396; Rich A M, Armstrong R S, Ellis P J et al. *Am Chem Soc*, 1998, 120:10827; Zhao Y, Hoganson C et al. *Biochemistry*, 1998, 37:12458—12464.

SEVERAL PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY PROBLEMS RELATED WITH NATURALLY OCCURRING FREE RADICAL IN THE LIVING SYSTEM

Du Canping Zhu Shizheng Li Najun Chen Yongjun

(*Department of Chemistry Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*)

Key words naturally occurring free radical, DNA, protein, niacinamide coenzyme, reaction mechanism

(上接 166 页)

ROLES OF THE YOUNG SCIENTIST FUND AND INVESTIGATION OF THE RELATED POLICY ISSUES

Lu Qunyan¹ Zhang Nong² Li Dong¹ Tang Yu¹

(1 *National Natural Science Foundation of China*; 2 *Fudan University*)

Abstract Based on the data about the applications and principal investigators of the Young Scientist Fund of NSFC in recent years, this paper outlines the new features of the applications for Young Scientist Fund, and makes suggestions on the funding policy of this category.

Key words young scientist fund of NSFC, funding policy