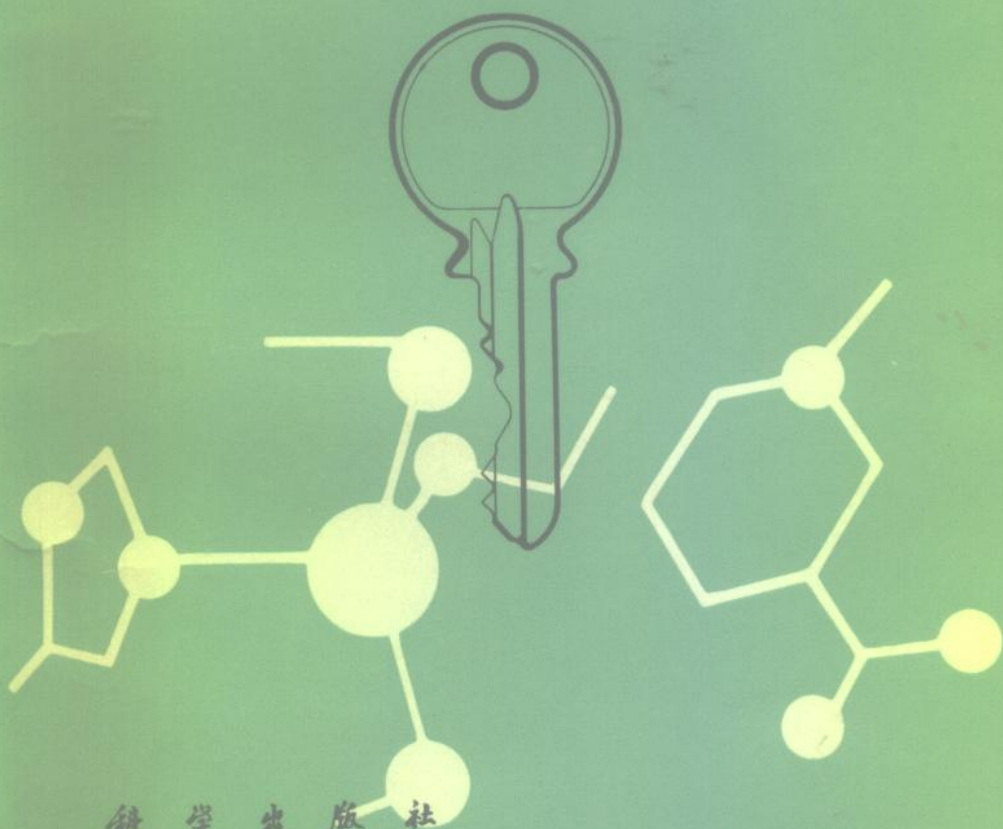


酶 化 学

影响与应用

[英] C. J. 萨克林 主编



科 学 出 版 社

酶 化 学

影响与应用

〔英〕C. J. 萨克林 主编

金道森 童林荟 译
姚钟麒 吴应文

科 学 出 版 社

1 9 9 1

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

酶化学作为生物化学的主要组成领域之一,处在化学和生物学的边缘,历来受到多学科科学家的关注。本书由不同专长的作者分章执笔,介绍了 30 年来酶化学对一些重要化学领域的影响和应用,包括酶催化机理基础、辅酶模型、反应选择性、生物合成、药物合理设计、生物体中金属离子等。最后论述酶学对生物化学及相关学科的影响。本书内容丰富生动,视野开阔,选材颇具匠心,不仅阐述有关领域概貌和研究成果,而且分析、讨论了研究思想及问题症结等,富有启发性。

本书可供生物有机、有机合成、生物催化、天然产物化学、药物设计,以及生物技术等方面教学、科研和生产工作者参考或作为研究生教材。

C. J. Suckling Ed.
ENZYME CHEMISTRY
Impact and Applications
Chapman and Hall, 1984

酶 化 学

影响与应用

[英] C. J. 萨克林 主编

金道森 童林荃 译

姚钟麒 吴应文

责任编辑 杨淑兰

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100707

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1991年 12 月第 一 版 开本: 850×1168 1/32

1991年 12 月第一次印刷 印张: 8 3/4

印数: 0001—2 300 字数: 228 000

ISBN 7-03-002466-4/O · 460

定价: 9.90 元

译者序

当前,生命科学正处在大综合大发展的时期,生物学将成为自然科学的领头学科。各学科间双向渗透,相互促进,同时引起许多边缘学科的蓬勃发展。本世纪以来,在化学与生物学之间的接触地带先后形成了生物化学、生物技术、生物有机、生物无机以及仿生化学等。其中生物化学占据从物理科学到生物科学谱系的中心位置,而酶化学又是它的主要组成分支。在某种意义上,生物化学可看作一种集成酶学。

酶鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等奇妙功能。酶研究不仅深刻影响生物化学以至整个生物学领域,而且刺激了许多化学研究,成为灵感的源泉。酶及其模拟体系应用于实验室规模有机合成以及工业上药物、农业化学品和精细化工产品的生产,有许多优点;在快速和高选择性、高灵敏度的分析上也极有用。至于联系到再生性资源、能源、环境保护等一些较远期的根本性重大问题,也有引人入胜的前景。化学与生物技术结合,有可能焕发出勃勃生机。

本书介绍 30 年来酶化学研究对几个重要化学领域,特别是关系到有机合成和生物有机化学方面的影响和应用,并有一章论述酶学对生物化学及相关学科的影响。不仅阐述重要研究成果和现状,而且夹叙夹议,讨论一些基础概念、方法、研究思想、发展源流和前景预测,很有启发性。

本书第三章由童林荟翻译,第六章由姚钟麒翻译,第八章由吴应文翻译,其余由金道森翻译并整理全稿。由于内容涉及面很宽,有些词的译法不便统一,有些新词尚未见到中译名,原文个别地方比较晦涩或存在其它问题,翻译较费力,虽仔细推敲,仍不尽惬意。加之限于水平,不妥之处谅必难免,诚挚地请读者批评

指正。

译 者

1989年11月于兰州

序 言

在分子科学中，酶化学作为化学和生物学两学科之间主要接触点之一，占有特殊位置。酶是具有选择性的有效的催化剂，这些特殊性质在现今化学家面临的挑战中是特别重要的，在过去 30 年间，酶化学的发展对化学研究已经起了重要的促进作用。在酶的内在性质的研究，以及它们在合成、药物设计和生物合成上的应用方面，已产生巨大影响。本书将几篇描述这些领域的论文汇集于一册，侧重于应用。在序言中概述本书的思路和内容可能是不必要的重复，因为开始的一章比序言更能雄辩地说明这一点，因此建议读者从第一章开始阅读。而在此我愿诚挚地感谢对完成本书作出贡献的各位作者，承他们接受本书总的设想和细心撰写；感谢皇家学会会员 Charles Suckling 博士和 Hamish Wood 教授对全书的建设性批评；以及 Chapman and Hall 出版公司的 John Buckingham 博士和他的同事们在将打字稿变为本书的工作中表现出的效率和热忱。

C. J. 萨克林

University of Strathclyde

目 录

译者序

序言

第一章	初期的酶化学	1
第二章	酶催化的机理基础	8
2.1	引言	8
2.2	催化作用的一些概念	9
2.3	机理的描述	9
2.4	熵与酶催化	18
2.5	质子转移和催化作用	22
2.6	酶的效率	24
2.7	分子内催化的例子	26
2.8	过渡态类似体	29
2.9	多重结合位点	33
2.10	仿生化学	34
2.11	展望未来	37
第三章	辅酶催化的化学模型	39
3.1	引言	39
3.2	辅酶烟酰胺的模型研究	40
3.3	黄素的催化作用	52
3.4	与维生素 B ₁ 及其类似物有关的催化反应	61
3.5	吡哆醛的催化作用	66
3.6	硫醇辅酶的催化作用	71
3.7	结束语	74
第四章	合成中的选择性——化学法或酶法	75
4.1	引言	75

4.2	解决了的问题	78
4.3	酶和微生物在合成上应用的逻辑和类比	83
4.4	“竞争”中的酶和化学试剂	87
4.5	后阶段官能团的修饰	95
4.6	合成中的仿生化学	99
4.7	结束语	114
第五章	酶作为药物设计的靶点	115
5.1	引言	115
5.2	药物发现的案例研究	117
5.3	最近的发展及其在抑制剂设计中的应用	152
第六章	生物体系中的金属离子	158
6.1	引言和一般化学原理	158
6.2	过渡金属元素: (1)铁和铜	163
6.3	过渡金属元素: (2)其它金属	174
6.4	主族元素: 钠、钾、镁和钙	180
6.5	用作药物的金属离子: 金和锂	182
6.6	现代物理方法	186
6.7	结束语	190
第七章	天然产物生物合成在酶水平上的研究	193
7.1	引言	193
7.2	应用无细胞体系的最新进展	196
7.3	异戊二烯类生物合成的无细胞研究	209
第八章	酶学在生物学内外的影响	228
8.1	引言	228
8.2	非酶蛋白质	232
8.3	酶作为生物学工具的应用	235
8.4	酶学概念的影响	239
8.5	生物化学在最近和将来的发展	243
参考文献		247
索引		265

第一章 初期的酶化学

Colin J. Suckling

*(Department of Pure and Applied Chemistry,
University of Strathclyde, Glasgow, UK)*

当最初计划编写这本书的时候,心中的想法是通过几个人执笔写的相互有关的一系列论文来综述过去30年中酶研究对某些重要化学领域的影响,却不料由此而发现19世纪文献中记述的酶已经激起了大量的化学研究,其中有一些已带有明显的现代腔调,这一点读者在以下内容中将会看到。早在1833年,对于马铃薯淀粉自然水解的现象就作了一些观察,但是当时人们心目中活力论的概念还占有很大位置,难以接受生物催化剂的存在。酶是化学制剂的想法引起了漫长的怀疑和纷争。在19世纪上半叶又认识了一些自然发生的反应,特别是与酵母有关的发酵作用。有人主张这些发酵作用所依赖的酶活性与活细胞是不可分的,其中Pasteur就持这种观点。另一方面,Liebig还有Wöhler把酶看作能从细胞分离的化学催化剂,尽管组成未知。实际上这两人可能在Liebig的《药物学年刊》的一篇未署名文章(Anon.,1839)中就讽刺了活力论。在这篇游戏性文章中我们读到如下关于引起化学反应的论述:

“从显微镜观察看到,在糖溶液中从卵(酵母)孵化的小动物形如Beind氏蒸馏装置,但没有冷凝器…。这些小动物没有牙也没有眼,但有胃和膀胱,膀胱装满时像个香水瓶…,贪吃糖而产生排泄物——酒和二氧化碳。”

终于通过实验解决了争论。1897年,Buchner证明酵母的萃取物能够支持糖的发酵,不过几年之前,Emil Fischer(1894)的

实验室已经开始作出一系列令人瞩目的贡献。这些论文使人读之神往,不仅由于它们的科学内容,还因为它们传达了巨大的热忱,有时质朴,但总是有证据的。Fischer 倾注他有力的实验技能和透辟智慧的主题是酶催化中的立体选择性,这是一个至今仍很重要的领域;酶在立体异构体之间作出选择的能力是它们最诱人的性质之一。

Fischer 的论文(1894)由于他的一些发现,也由于他对未来发展的有创造性的见解而令人瞩目。他当然地特别适合从事立体选择性问题的研究,因为他有丰富的一系列立体异构的糖类可供利用,这是他合成出来用以测定构型的。这些化合物的衍生物被用作糖苷酶的底物,这些糖苷酶即使在当时也能以粗的无细胞的形式得到。他的论文开头写道:

“各种立体异构的己糖对于酵母的不同性质使Thierfelder 和我提出一个假设,即酵母细胞的化学作用物(chemical agent)只能攻击它具有相应构型的那些糖。”

支持这个假设的事例之一,就是证明水解蔗糖的酶,Fischer称之为“转化素(酶)(invertin)”仅仅对 α -D-葡萄糖苷起作用,而 β -D-葡萄糖苷和 L-葡萄糖苷完全不被触动。毫无疑问,这并非只是偶然现象,因为发现第二个酶——苦杏仁酶,能水解合成和天然来源的 β -D-葡萄糖苷。这些结果互相补充其性质是带结论性的,并且当然地在现代立体化学研究中仍很重要。Fischer 对他所得结果的评定十分吸引人,它也可作为本书美妙的序言,因为它预示着许多随后的内容。当更往后读时,你可能有兴趣反思以下几行:

“但是结果足以在原理上表明,对于底物的构型,酶是具有选择性的,像酵母和其它微生物一样。在这方面,这些现象之间的类似表现得如此完全,以致人们会假设它们有相同的起源,因此我又回到前面提到过的 Thierfelder 和我本人的假设。转化酶和苦杏仁酶有许多可觉察的类似点,并无疑是由不对称结构的分子组成的…,用一个形象的比喻,我想说酶和糖苷只有彼此配合,像锁和

钥匙一样,才能互相发挥化学影响…。不久后发现,对于复杂的酶已证明的一些事实也适于较简单的不对称作用物,我丝毫不怀疑酶将对测定不对称物质的构型有用…。关系到分子的不对称性,活细胞的化学能力与化学‘作用物’的作用之间的差别,尽管较早被很广泛接受,但实际上并不存在。”

虽然引用的最末一句是针对 Fischer 同时代人的,而以上摘录对于几乎一个世纪后的现代化学家,读起来还是惊人的新鲜。我们有在一些技术上胜于 Fischer 的优点,但是他所提出的某些概念还有待于我们圆满地领悟,像下面我们将要看到的那样。不过 Fischer 也完全不是立体化学领域中唯一的科学先知,他的工作大大地有赖于 Pasteur 所发展的认识。现代立体化学研究几乎没有不从这两位大科学家的实验与概念上的贡献得到知识的(见 Robinson, 1974)。

在 Fischer 的时代,用不纯的酶制剂取得的成就是惊人的。今天能与之相比的,要算是含未纯化神经递质或激素受体的制剂的研究了,而且这些研究现在已能用色谱技术纯化解决了。正像 Fischer 所预见的那样,酶已广泛用于测定构型,但是直到近些年才有“较简单的不对称作用物”能再现酶的立体选择性(见第三和第四章)。毫不奇怪,永远热心进取的 Fischer 本人甚至也尝试了一下不对称合成(Fischer 和 Slimmer, 1903,见图 1.1)。知道葡萄糖是手性的, Fischer 希望自然界存在的一种绣线菊苷能够以某种方式受到葡萄糖环所造成的不对称环境的诱导,在羰基上进行不对称加成。这个方法后来被证明是成功的(第四章),如果 Fischer 用了更庞大的亲核剂,他很可能会获得成功。他最初尝试把氰化氢加成到绣线菊苷上并将得到的产物水解,结果得到无光学活性的产物。因此 Fischer 再试用二乙基锌,这一回由真空蒸馏得到的产物是光学活性的。在发现新事物的兴奋中,他写道:“…由此我们相信,我们解决了不对称合成的问题。”! 然后遇到了障碍,像吉尔伯特喜剧似的“改变了欢天喜地”。严格控制的实验

清楚地表明，表观的不对称诱导是由于在蒸馏中从葡萄糖来的不纯物，后来没有再报告另外的尝试。许多人曾经有类似的但未发表的工作。

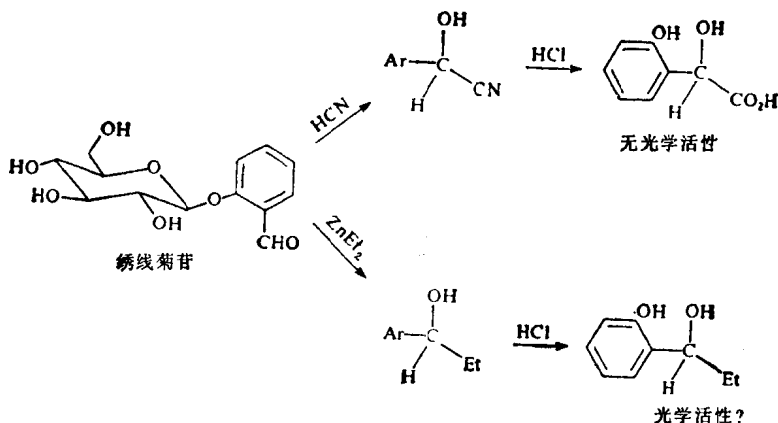


图 1.1

20 世纪伊始也标志着合成上应用酶迈出了第一步。Croft-Hill(1898)证明,酵母的酶能在合成上应用,Emmerling(1900)报告了一个利用酶合成苦杏仁苷的实验。Hoesch(1921)在德国化学会志一个完全刊载 Fischer 传记的专辑中援引了这些以及其他一些先驱者的贡献。Hoesch 的许多见解在 60 多年以后的今日还同样适用。例如,在总结 Fischer 对酶化学的贡献时,Hoesch 指出:“纯粹化学家肯定会对 Emil Fischer 的一些酶研究感到不自在”。另一个值得注意的见解是 Fischer 描述酶特异性的锁和钥匙的比喻在当时很受赞赏。从 Hoesch 的回顾和 Fischer 自己的写作看,似乎 Fischer 从来没有想把这个比喻作为科学的假设,不过是用它对完全不熟悉新概念的听众形象地说明立体化学上的生物特异性这个概念而已。当然,现代的工作弄清楚了,锁和钥匙的物理刚性对于具有构象活动性的酶-底物相互作用是不能作出合适描述的。他一经用酶说明了生物特异性,就热心地讨论起像毒素之类其它生物体系的行为中类似的互补作用了。然而,朴素

的比喻,肯定是有生命力的。

我们的故事还有一部分是在 19 世纪 90 年代开始的。那时科学家不仅研究微生物的酶,也开始研究哺乳动物系统。1898 年证明了肾脏含有蛋白水解活性 (Tigerstedt 和 Bergmann, 1898)。进一步研究表明,血管紧张肽原酶 (renin) 能水解一个大的血浆多肽(现在称它为血管紧张肽原)成为血管紧张肽 I。我们现在知道后者在中枢和周围神经系统中只有极小的活性;它进一步被血管紧张肽转化酶水解为一个较小的多肽,血管紧张肽 II。血管紧张肽 II 对循环系统有强效应,该转化酶的抑制剤的研究最近已发展成为现代药物发明的一个典型事例(见第五章)。

虽然许多现今的工作在世纪交替时已经有了预兆或者甚至已经开始,但是从那时起,化学家同酶的接触比较疏远了,以后 50 年也是这样,除某些名人是例外,化学家们多从事有机化合物反应性的系统研究。Robert Robinson 爵士就是例外者之一,他在对于天然产物化学,当然也对关系到反应性的思想作出巨大贡献的同时,体会到酶是在极温和的条件下催化反应的,他开始寻求实验室合成生物碱的方法 (Robinson, 1917)。与此同时,生物化学家们想要详细探索酶究竟是什么,并着手酶的纯化。19 世纪 20 年代 Willstaetter 开始了最初的系统努力,但第一个实质性的成功来自 Sumner,他在 1926 年报告了脲酶的结晶作用。或许因为不能相信别人先做到了,Willstaetter 争辩说 Sumner 没有真正得到酶。然而不久就有一些蛋白水解酶被纯化得到结晶,并且弄清楚了酶像 Fischer 所推测的那样,是蛋白质。

虽然从那时以后已经能得到纯化的酶,但化学家们没有表示准备接受大分子的概念,更别说大分子催化剂了。高分子化学创始人之一 Staudinger,在一次会议上想要说服瑞士化学会相信大分子存在,遇到了极大困难,会议在喧嚷中结束。在伦敦皇家学会的一次会议上,一个年青的物理化学家 McBain 关于胶束本性的一些想法受到了同样的怀疑。人们告诉他,他的分子聚集体见解是“谬论”。在德国, Hans Fischer 通过降解和合成确定了卟琳

类的结构，而迟至 1937 年似乎还不知道卟啉类在生理学上的重要性，虽然在 20 年代中期 Keilin 已经报道了一些含卟啉的蛋白质——细胞色素的分离。尽管他们关于酶的认识有暂时性和急性的近视症，但化学家们这时候在了解有机化学机理的基础上正取得巨大进展。正在此时，人工高聚物的合成被证明，天然大分子也变得受尊重了。有机化学和酶化学共生式地成长，概念上的基础建立起来了。本书将细述这一成长的某些分支。

在酶的性质中，对化学最有意义的是什么呢？首先，酶是极优良的催化剂。实际上有人主张酶已进化到使它们的催化功能臻于完善（见第二章）。如果是这样，那么，了解酶催化的化学基础是对化学家的一个艰难的挑战，有效的模仿它就是更大的挑战了。可是，在这些纯科学目的之外，酶所具有的性质还有非常重要的实用价值。正像 Fischer 所推测的那样，催化作用的选择性是最重要的应用之一，它可以在有机合成中直接用来实现位置选择性和立体选择性转变（第四章）。此外，选择性酶抑制剂作为药物用于治疗细菌性和病毒性疾病，也很重要（第五章）。

在过去 20 年中，我们对酶催化之化学基础的了解已有长足的进步，酶催化的应用以及有关的酶化学正在迅猛发展。在以下各章中，不同国家不同背景的作者联系两个广泛的主题讨论酶化学，第一个是合成有机化学。你将读到辅酶作用机理的研究怎样导致一些新颖的合成反应（第三章）。辅酶对有机化学家是一个好的起点，因为它们是比较小的分子，即使没有酶存在也带有一些固有的催化活性。能观察到的宽广范围的反应性本身就引人入胜，而 Shinkai 教授还第一次评述了很多最新工作。传统的合成反应与酶催化反应和仿生体系在选择性上的比较是我本人承担的课题（第四章）。第二个主题，对比而言，是关系到更多生物学上有意义的课题。酶化学与化学疗法的关系，在有机和无机方面分别放在第五章和第六章中讨论。生物合成的研究一直在有机化学和生物化学之间建造桥梁，这个领域的一些新近发展由 David Cane 在第七章中评述，酶化学从生物化学得到了许多也给予它很多，本书

末章考察将来两学科之间的相互作用(第八章)。为这些讨论提供基础,也为了说明酶的性质激起的对催化作用本身思索的深度,Kluger 用关于酶催化的机理基础的某些思考开始了本书的一些短论(第二章)。有趣的是,几位作者在一定程度上不谋而合地从不同观点讨论了几个主题领域。这些课题包括酶立体化学(第二至五章)、前列腺素化学(第四和五章), β -内酰胺抗菌素(第四、五、七章),环糊精(第二至四章)和遗传工程(第四、七和八章)。虽然也可以选择另一些化学领域进行讨论,但这七篇短论将更能使读者深入的了解酶化学对实验室和工业化学的影响,以及化学与生命科学的联系。

现在该是让每位作者自己讲话的时候了。在编辑本书中,我从同行撰写人那里学到很多,我确信他们将让读者也相信酶化学对化学作出了很多贡献,而且现在还是生气勃勃、充满活力的。随着科学的继续发展,对生物化学的新挑战正在涌现,化学家在方法、概念和技术方面已从酶学到许多,完全能更好地迎接这些挑战。像前面已提到的,现在已能纯化其它一些蛋白质,特别是抗体、神经递质和激素受体。在 10 年时间里,或许有人将为受体和抗体化学之影响撰写导论。

第二章 酶催化的机理基础

Ronald Kluger

*(Department of Chemistry, University of Toronto
Ontario, Canada)*

2.1 引言

这一章的目的是提供物理有机化学与酶化学的一些概念之间的联系,为此,对连通这两个领域的某些最有用的途径作一通盘考察。然而,这一课题涉及面广,我们不得不有所选择。因此本章中引用的参考文献旨在对于在此所提出的一些问题给读者介绍一些更充分的论述。我们选择了一些综述或广泛的讨论,而不是援引一些实验观察和原始推导。

酶是值得注意的催化剂。通过生物的进化,它们发展出处理一些代谢底物的能力,具有超等的效率和特异性,这些虽然非凡而惊人,但在很大程度上可以从反应机理的角度加以理解,因为进行的是有机分子的转变。阐明酶催化的机理基础已成为有用的研究,因为当我们了解酶怎样完成它们的任务时,常常发现了新的催化机理。有了这种知识,我们就可能开始设计或修饰一些分子成为有用的催化剂,或者在酶的代谢功能之外,应用酶本身作为催化剂。研究酶催化的机理基础,实际上意味着寻找我们能够理解和利用的模式和解释。因此,已经很明显,酶催化的研究很重要,不仅是作为传统的生物化学上的探索,而且也作为发展某些方法的手段,它们对新催化体系有用。这些说法的全部意义在下面三章中将显示出来。

酶化学机理方面的影响已使得对物理有机化学原理的兴趣增

加。物理有机化学家关心有机分子的诸性质与这些分子对结构和反应性的系统关系。酶化学是这种兴趣的逻辑延伸,因为酶反应的主要特点——催化作用和特异性,正是属于物理有机化学范围内的概念。我们将回顾与酶化学中一些问题相关的物理有机化学的某些领域。有了这个背景,我们就可进而考察酶化学研究对机理和结构有机化学研究的现代途径所发生的影响。

2.2 催化作用的一些概念

纵观酶催化反应的类型,揭示它对有机和无机反应的通常类型都适用。这些类型包括取代、消除、加成、氧化和还原。这种反应模式把原料与产物之间的关系作了分类;而机理提供发生联系的手段。虽然酶催化反应的类型很明显,但机理则往往是猜测性的。在能得到够用的信息时,如果能将反应系统地划分到机理类型,如 Ingold 分类 (Ingold, 1953), 那是有用的。这种分类最常见的例子是两个一般的亲核取代机理 S_N1 和 S_N2 。Walsh (1979) 撰写了以反应类型和机理为依据的优秀而全面的酶催化反应的评述。此外,也发表了一些关于一般酶催化作用机理的优秀综述 (Bruice 和 Benkovic, 1966; Fersht, 1977; Scrimgeour, 1977; Metzler, 1977; Jencks, 1969; Bender, 1971; Cunningham, 1978)。既然已有这些广博的综述,我决定对这一主题采取稍稍不同的处理。我提出这样一个问题: 对于观察酶机理有关系的物理有机化学的关键概念是哪些,将给出一些能说明问题的例子,不过得承认我对自己感兴趣的领域有些偏向。

2.3 机理的描述

化学反应中所发生事件的完整描述,特别是溶液中发生的反应,不论催化的或非催化的,都是办不到的,因为可以用众多独立和非独立的变量来描述一个反应。在反应中,除底物发生变化外,

• • •