研究简报

漆树漆酶的催化氧化作用

Ⅳ. 二茂铁及其衍生物的酶促氧化

季立才 王光辉 胡培植 周 穗

(武汉大学化学系，武汉 430072)

关键词: 漆树漆酶 二茂铁 酶促氧化

漆酶是含铜单电子氧化酶，主要催化邻、对苯二酚（胺）类底物氧化[1-2]，它对不溶于水的二茂铁（Fc-H）及其衍生物（Fc-R）的催化氧化未见报道。本文考察了漆树漆酶在磷酸缓冲液-二乙二醇丁醚（DGBE）中对 Fc-H 和 15 个 Fc-R 的催化氧化反应。

实 验 部 分

1.原料和仪器: 竹溪漆树漆酶见文献[1]。Fc-R 系实验室合成，其余试剂为分析纯。主要仪器: 日本岛津 UV-240 自动记录分光光度计。

2.实验步骤和方法: 取 0.1～1mg Fc-H 或 Fc-R 溶于 1.2ml DGBE，加入 0.1mol/l 磷酸缓冲液（pH8.0)4.8ml，混匀后等分为二份，一份加 1.10U 竹溪漆酶，另一份不加（作为空白），任其自氧化。分别观察并比较二份溶液颜色和吸收光谱的变化。

结 果 和 讨 论

1.漆酶对 Fc-H 和 Fc-R 的催化氧化: Fc-H 和 Fc-R 在酶促催化氧化时的溶液颜色和吸收光谱的变化见表 1。Fc-H 氧化后溶液颜色变兰，λ_{617}nm 左右出现$[Fc-H]^+$离子特征峰，这与我们用化学法合成的$[Fc-H]^+$在相同溶液中的颜色和特征峰相符[3]，说明 Fc-H 被氧化成$[Fc-H]^+$。Fc-R 的酶促氧化分以下几种情况: (1) 光谱和溶液颜色都变化且有新峰出现(No.2)；(2) 光谱变化、有新峰出现但溶液颜色不变（No.13)；(3) 与空白（不加漆酶）自氧化比较，溶液颜色未变，但光谱发生明显变化（No. 3，8-12，14，15)。以上十一个 Fc-R 能程度不同的被氧化。(4) 溶液颜色和光谱没有变化，与空白完全相同，可视为未被氧化，包括 No.4，5，7 和 16 四个 Fc-R。No.6 的空白自氧化使溶液颜色和吸收光谱都发生变化，它的酶促氧化不明显。

2.漆酶催化 Fc-H 氧化反应机理: 漆酶催化酚类底物氧化时首先从酚接受一个电子,使漆酶分子中的 Cu^{2+}还原为 Cu^+，酚失去 H^+，经活化 O_2 分子的作用，Cu^+被氧化为 Cu^{2+}，O_2 被还原为水[2]。漆酶对 Fc-H 的催化氧化机理可用下式表示:

$$Fc-H(黄色)\xrightarrow{-e}[Fc-H]^+(兰色，\lambda_{617}nm)$$

本文于1989年10月9日收到。

$E-Cu^{2+}+e \longrightarrow E-Cu^{+}$ ($E-Cu^{2+}$和 $E-Cu^{+}$分别为漆酶的氧化态和还原态).

$E-Cu^{+}+4H^{+}+O_2 \longrightarrow E-Cu^{2+}+2H_2O$

这一机理与漆酶对酚类催化氧化有所不同，酚类酶促氧化时，H^+来源于酚本身，而 Fc–H 酶促氧化时，没有失去 H^+，只是丢失一个电子变为$[Fc-H]^+$. 因此推测，Fc–H 酶促氧化时，H^+可能来源于环境，即缓冲溶液中的水、$H_2PO_4^-$和 HPO_4^{2-}离解出来的质子.

表 1　漆酶催化 Fc–H 和 Fc–R 氧化时溶液颜色和光谱变化

Table 1 Changes of Solution Color and Spectrum in the Laccase–Catalyzed Oxidation of Fc–H and Fc–R(λ_{nm})

No.	Fc–H or Fc–R	solution color	absorption peaks (λ_{nm})	
			before reaction	after reaction
1	Fc–H	yellow→blue	441, 326	increase, new 617
2	$Fc-CH_2OH$	yellow→blue	424, 320	increase, new 628
3	Fc–COOH	colorless→colorless	300	increase
4	$Fc-COOCH_3$	yellow→yellow	310	no change
5	$Fc-SO_3H \cdot 2H_2O$	yellow→yellow	435	no change
6	Fc–CHO	yellow→red	465, 342	increase
7	$Fc-COCH_3$	pale red→pale red	460, 339	no change
8	$Fc-CH_2NEt_2$	colorless→colorless	423, 248	increase
9	$Fc-CH_2NBu_2$	colorless→colorless	247	increase
10	$Fc-CH_2N(cyclo C_6H_{11})_2$	colorless→colorless	248	increase
11	$Fc-CH_2Fc$	yellow→yellow	242	increase
12	Fc–HgFc	yellow→yellow	250	decrease
13	$Fc-CMe_2Fc$	yellow→yellow	228	increase, new 251
14	$Fc-CMe_2Fc \cdot 2DDQ$	yellow→yellow	429	decrease
15	$Fc-CMe_2Fc \cdot B_{12}H_{12}$	colorless→colorless	257	increase
16	$Fc-Hg_2Fc$	yellow→yellow	260	no change

参 考 文 献

(1) 季立才、王光辉、彭庆军，武汉大学学报（自然科学版），**4**，63 (1988).

(2) Holwerda, R.A., Gray, H.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 6008 (1974).

(3) Hendrickson, D.N., Sohn, Y.S., Gray. H.B., *Inorg. Chem.*, **10**(8), 1559 (1971).

CATALYZED OXIDATION BY RHUS VERNICIFERA LACCASE

Ⅳ. ENZYME–CATALYZED OXIDATION OF FERROCENE AND ITS DERIVATIVES

Ji Licai　Wang Guanghui　Hu Peizhi　Zhou Sui

(*Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan,* 430072)

In phosphate buffer–diethylene glycol monobutyl ether(DGBE), the oxidations of ferrocene and 15 derivatives were investigated in the presence of Rhus vernicifera laccase. The results showed that ferrocene and 11 derivatives can be oxidized. The mechanism of Laccase catalyzed oxidation of ferrocene was put forward.

Keywords:　**Rhus vernicifera laccase　ferrocene　enzyme–catalyzed oxidation**