

进展与综述

Q51a.3

铁硫蛋白模型化合物的研究进展

孙为银* 刘红科

(南京大学配位化学国家重点实验室, 配位化学研究所, 南京 210093)

本文综述了目前国际上对铁硫蛋白模型化合物研究的进展情况, 介绍了 NH---S 氢键和芳香环在这些模型化合物及其天然蛋白中的作用。作为铁硫蛋白活性中心的模型, 至今已有许多化合物被合成出来, 通过这些模型化合物的研究知道, NH---S 氢键和芳香环在调控配合物及天然蛋白的氧化还原电位和稳定性方面起着非常重要的作用。另外, 作为顺式乌头酸酶、固氮酶等金属酶的模型, 已成功地合成了含 3Fe4S 核以及含钼的铁硫簇合物。

活性中心

关键词: 铁硫蛋白 模型化合物 NH---S 氢键 芳香环

铁硫蛋白在生物体系中作为电子传递的介体, 参与许多与氧化还原有关的反应。如绿色植物叶绿体中光合作用的电子传递; 在 NADH 脱氢酶和琥珀酸脱氢酶中, 铁硫蛋白参与呼吸链的电子传递过程; 此外还有众所周知的生物固氮过程中也有铁硫蛋白参与。这些蛋白的活性中心都是由 Fe(II) 或 Fe(III) 离子、无机硫离子(S²⁻)以及半胱氨酸侧链中的硫原子组成^[1], 最简单的是单核, 以 Fe(cys)₄ 为活性中心的红氧还蛋白(rubredoxin)(图 1-a)。其它铁硫蛋白可写成通式: Fe_nS_n(cys)_m, 根据 n 和 m 的不同, 主要有以下几种类型: n=2, m=4 时, [Fe₂S₂(cys)₄] 为植物型铁氧还蛋白(plant-type ferredoxin)的活性中心(图 1-b); n=4, m=4 时的 [Fe₄S₄(cys)₄], 细菌铁氧还蛋白(bacteria ferredoxin)和高电势铁硫蛋白(HIPIP)均属此类(图 1-c); n=6, m=6 时 [Fe₆S₆(cys)₆] 类型的铁硫蛋白存在于固氮菌中(图 1-d)。其中研究较多是前三种。最后一种 6Fe6S 蛋白中是否 6 个都是半胱氨酸的硫参与配位目前还未确定。

除了上述这些作为电子传递介体的铁硫蛋白之外, 有些直接参与催化反应的酶如顺式乌头酸酶的活性中心中也含有铁硫蛋白。随着时间的推移和研究的深入, 铁硫蛋白所涉及的内容在不断地加深和扩展。因此对铁硫蛋白的模型研究也就不断地有新的内容出现。尤其是 1992 年, 固氮酶的晶体结构报道之后, 对固氮酶活性中心中铁蛋白、铁钼蛋白的模型研究以及 3Fe4S 中心的模拟等研究领域引起了生物无机化学家们的极大兴趣。下面介绍铁硫蛋白模型化合物的研究进展。并介绍 NH---S 氢键和芳香环在这些模型化合物及其天然蛋白中的作用。

收稿日期: 1997-03-10; 收修改稿日期: 1997-08-12。

* 通讯联系人。

第一作者: 孙为银, 男, 33 岁, 教授; 研究方向: 金属酶和金属蛋白模型化合物的合成与性质研究、无机螺旋体超分子化学的研究。

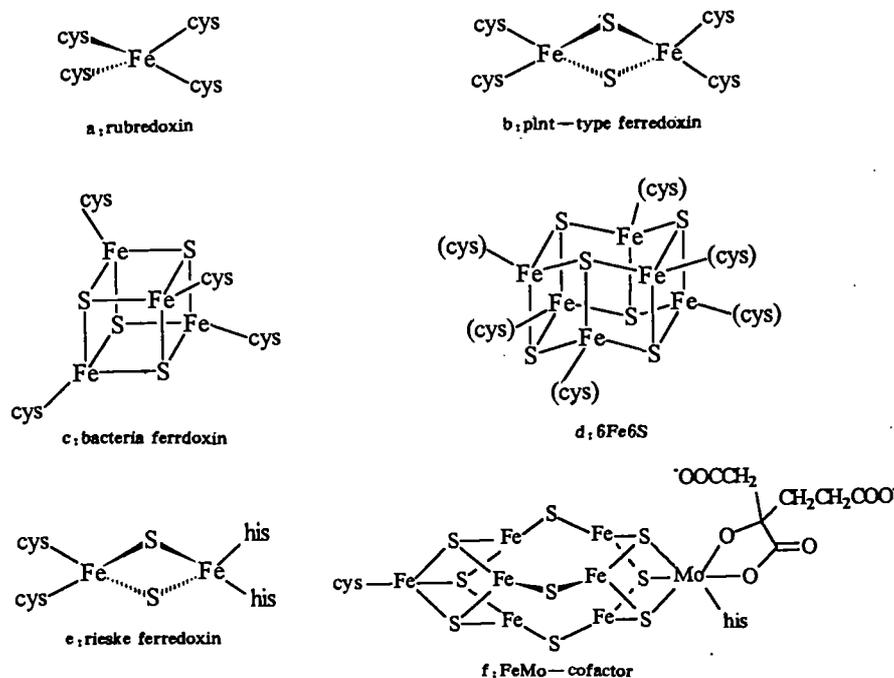


图 1 铁硫蛋白活性中心的结构示意图

Fig. 1 Schematic structures of the active center of iron-sulfur proteins

1 红氧还蛋白

红氧还蛋白是一种活性中心部分没有无机硫(对酸不稳定的硫)的分子量较小的铁硫蛋白^[1]。自从 1963 年 Buchanan 等人在分离铁氧还蛋白时首次分离出了一种红色馏分——红氧还原蛋白以来,在厌氧菌中至今已发现了 14 种红氧还蛋白^[2]。表 1 中列出了从厌氧菌中发现的红氧还蛋白的氨基酸序列。这些蛋白中都含有一个铁离子并与 4 个半胱氨酸残基的硫原子结合。如 Clostridium pasteurianum 红氧还蛋白的 X 晶体结构结果所示,Cys6-Thr-Val-Cys9 和 Cys39-Pro-Leu-Cys42 两个肽链片断中的 Cys6、Cys9、Cys39 和 Cys42 的硫与 Fe(III)离子形成配位键^[1]。只有从厌氧菌 Pseudomonas oleovorans 中发现的红氧还蛋白中含有两个铁离子,它的功能是在碳氢化合物 ω 位羟化过程中作为电子载体^[1]。

红氧还蛋白在水溶液中的氧化还原电位在零伏左右(vs NHE,标准氢电极)。如 Cl. Pasteurianum 红氧还蛋白:-0.06 V vs NHE,亦即-0.31 V vs SCE(饱和甘汞电极)^[1]。红氧还蛋白是作为电子传递的介质,因此其氧化还原电位是一个很重要的性质。为此作为一个好的模型化合物,不仅要有与天然蛋白活性中心相类似的结构,还必须要有与天然蛋白相类似的氧化还原电位,以实现其电子传递功能。

表 1 厌氧菌中发现的红氧还蛋白的氨基酸序列^a
Table 1 Amino Acid Sequences of Rubredoxin from Anaerobic Bacteria^a

	10	20	30	40	50	
1. Me	MDKYECSICG	YIYDEAEGED-	DGNVAAGTKF	ADLPADWVCP	TCGADKDAFV	KMD
2. Pa	MQKFECTLCG	YIYDPALVGP	DTPDQDG-AF	EDVSENWVCP	LCGAGKEDFE	VYED
3. Cpt	MKKYTCVCG	YIYDPEGDGP	DDGVNPGTDF	KDIPDDWVCP	LCGVGKDEFE	EVEE
4. DvH	MKKYVCTVCG	YEYDPQEGDP	DNGVKPGTSF	DDLPAWVCP	VCGAPKSEFE	AA
5. Dg	MDIYVCTVCG	YEYDPAKGDG	DSGIKPGTKF	EDLPDDWACP	VCGASKDAFE	KQ
6. Dd	MQKYVCNVCG	YEYDPAEHD-	-----NVPF	DQLPSSWCCP	VCGVSKDQFS	PA
7. Cbt	MQKYVCSVCG	YVYDPAVGEP	DDPIDPGTGF	EDLPDEWVCP	VCGVDKDLFE	PES
8. Cpf	MKKFICDVCG	YIYDPAVGDP	DNGVEPGTEF	KDIPDDWVCP	LCGVDKSQFS	ETEE
9. Bm	MQKYVCDICG	YVYDPAVGDP	DNGVAPGTAF	ADLPEDWVCP	ECGVSKDEFS	PEA
10. DvM	MKKYVCTVCG	YEYDPAEGDP	DNGVKPGTAF	EDVPADWVCP	ICGAPKSEFE	PA
11. Cts	MEKWQCTVCG	YIYDPEVGDP	TQNIPPGTKF	EDLPDDWVCP	DCGVGKDQFE	KI
12. Pf	-AKWVCKICG	YIYDEADGDP	DNGISPGTKF	EELPDDWVCP	ICGAPKSEFE	KLED
13. Cs	MTKYVCTVCG	YVYDPEVGDP	DNNINPGTSF	QDIPEDWVCP	LCGVGKDQFE	EEA
14. Hm	MKKYGCLVCG	YVYDPAKGDG	DHGIAPGTAF	EDLPADWVCP	LCGVSKDEFE	PL

^a1. Me; *Mgaspheera eisdenii*; 2. Pa; *Peptococcus aerogenes*; 3. Cpt; *Clostridium pasteurianum*; 4. DvH; *Desulfovibrio vulgaris* strain Hildenborough; 5. Dg; *desulfovibrio gigas*; 6. Dd; *Desulfovibrio desulfuricans*; 7. Cbt; *Chlorobium thiosulfatophilum*; 8. Cpf; *Clostridium perfringens*; 9. Bm; *Butyrivibacterium methylotrophicum*; 10. DvM; *Desulfovibrio vulgaris* strain Miyazaki; 11. Cts; *Clostridium thermosaccharolyticum*; 12. Pf; *Pyrococcus furiosus*; 13. Cs; *Clostridium sticklandii*; 14. Hm; *Helioibacillus mobilis*. Conserved cysteines (Cys 6, Cys9, Cys39 and Cys42) are given in bold. Conserved Tyr11 and Phe49 are given italic.

但已报道的铁硫醇化合物的氧化还原电位均向负值方向移动很多。如 $[\text{Fe}(\text{SCH}_2\text{CH}_3)_4]^{2-/-}$; -1.08 V vs SCE, CH_3CN 中; $[\text{Fe}(\text{SPh})_4]^{2-/-}$; -0.53 V vs SCE, CH_3CN 中; $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{-o-xyI})_2]^{2-/-}$; -0.99 V vs SCE, 二甲亚砜中; $[\text{Fe}(\text{S-2,3,5,6-Me}_4\text{C}_6\text{H}_4)_4]^{2-/-}$; -0.85 V vs SCE, CH_3CN 中; $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{-C}_6\text{H}_4)_2]^{2-/-}$; -0.99 V vs SCE, 二甲亚砜中^[3]。除了最后一个以外,上述化合物中铁离子周围的结构均与天然蛋白的活性中心的铁离子周围的结构相似,为近似四面体结构。但它们的氧化还原电位与天然红氧还蛋白相差很大。另外,天然的红氧还蛋白无论是氧化型还是还原型在空气(氧气)和水中都是稳定的,而上面提到的模型化合物对水及空气都极不稳定。为了解决这些问题,选用了人工合成的含半胱氨酸的肽链作配体,而不是用简单的烷基或芳香基硫醇作配体。以含半胱氨酸的肽链为配体的 $\text{Fe}(\text{I})$ 配合物显示出向正方向移动了的氧化还原电位,例如根据天然红氧还蛋白氨基酸序列而设计、合成的模拟化合物 $[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys}(1)\text{-Pro-Leu-cys}(2)\text{-OMe})_2]^{2-}$ (1) 在 CH_3CN 中的氧化还原电位是 -0.54 V vs SCE; $[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys}(1)\text{-Pro-Leu-cys}(2)\text{-Gly-Val-OMe})_2]^{2-}$ (2) 在 CH_3CN 中的氧化还原电位是 -0.46 V vs SCE^[4]。通过合成一系列此类配合物,证实了其向正方向移动的氧化还原电位是由此类分子中存在的分子内 $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键引起的。在进行配合物合成之前,将配体在 CH_3OD 中进行 $\text{H}\sim\text{D}$ 交换,得到含 ND(不是 NH)的配体,再测定其 $\text{Fe}(\text{I})$ 配合物的 ^2H NMR 谱,证明了在化合物 1 中有 $\text{Leu-NH}\cdots\text{S-Cys}(1)$ 和 $\text{Cys}(2)\text{-NH}\cdots\text{S-Cys}(1)$ 两个氢键存在,而在化合物 2 中除了上述两个氢键之外,还有第三个 $\text{Val-NH}\cdots\text{S-Cys}(2)$ 氢键存在^[4]。从表 2 中也可以清楚地看出这种分子内氢键与配合物的氧化还原电位的关系^[4,5]。另外,在极性较小的溶剂 DME(1,2-二甲氧基乙烷)中,化合物 1 的氧化还原电位是 -0.59 V vs SCE。而化合物 2 的电位为 -0.35 V vs SCE,与 CH_3CN 中的电位相比又向正的方向移动了 110 mV,这时由于配合物 2 中的 Gly-Val-OMe 部分处于配体的螯合部分之外,易受溶剂的影响,从而增强了配合物 2 在 DME 溶液中的 $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键强度,

而配合物 1 中都处于螯合配体内,受溶剂影响不大(图 2)^[8]。

表 2 含半胱氨酸肽链的 Fe(I) 模拟配合物在 CH₃CN 中的氧化还原电位

Table 2 Redox Potentials of Fe(I) Model Complexes with Cysteine-containing Peptide Chain in CH₃CN

complexes	number of NH---S	$E_{1/2}$ (V vs SCE)	reference
$[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys}(1)\text{-Ala-Pro-cys}(2)\text{-OMe})_2]^{2-}$	1 ^a	-0.58	5
$[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys}(1)\text{-Pro-Leu-cys}(2)\text{-OMe})_2]^{2-}$	2 ^b	-0.54	4
$[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys}(1)\text{-Pro-Leu-cys}(2)\text{-Gly-Val-OMe})_2]^{2-}$	3 ^c	-0.46	4

^aCys(2)-NH---S-Cys(1); ^bLeu-NH---S-Cys(1), Cys(2)-NH---S-Cys(1); ^cLeu-NH---S-Cys(1), Cys(2)-NH---S-Cys(1), Val-NH---S-Cys(2)

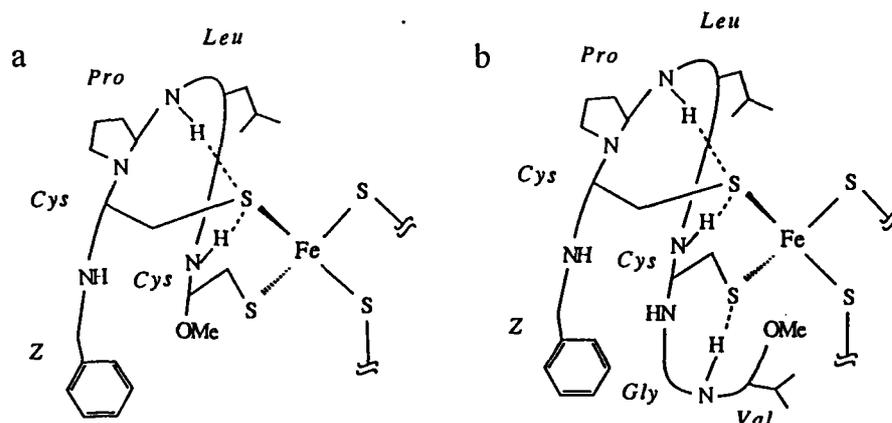


图 2 模型化合物的结构示意图

Fig 2. Schematic structures of the synthesized model complexes

a: $[\text{Fe}(\text{Z-cys-Pro-Leu-cys-OMe})_2]^{2-}$; b: $[\text{Fe}(\text{Z-cys-Pro-Leu-cys-Gly-Val-OMe})_2]^{2-}$

这种 NH---S 氢键的存在从 $[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys-Pro-Leu-Gly-NH-C}_6\text{H}_4\text{-}p\text{-F})_2]^{2-}$ (3) 和 $[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys-Pro-Leu-Cys-Gly-NH-C}_6\text{H}_4\text{-}m\text{-F})_2]^{2-}$ (4) 的 ¹⁹F NMR 结果也得到了证实^[6]。另外从配合物 3 和 4 的研究中还发现,除了 NH---S 氢键的存在之外,在这些配合物中还存在着芳香环和硫原子之间的相互作用。由于这种相互作用和 NH---S 氢键的存在,二者共同作用的结果,使得这类配合物对水和氧的稳定性大大提高。例如, $[\text{Fe}^{\text{I}}(\text{Z-cys-Pro-Leu-cys-Gly-Phe-OMe})_2]^{2-}$ (5) 在 DME 中的氧化还原电位是 -0.33 V vs SCE,这与天然红氧还蛋白的电位相当接近,而且配合物 5 的稳定性与配合物 1 或 2 相比,提高了几个数量级^[7]。

这种分子内 NH---S 氢键的存在从简单模型化合物 $[\text{Fe}^{\text{I}}(o\text{-pivaloylamino-benzenethiolato})_4]^{2-}$ 的 X 衍射晶体结构中也得到了证实^[8]。

2 2Fe2S 植物型铁氧还蛋白

2Fe2S 铁氧还蛋白存在于绿色植物叶绿体和固氮菌中,在光合作用过程中起着重要作用,特别是和 NADP⁺ 氧化还原酶一起,在将 NADP⁺ 还原到 NADPH 过程中发挥作用^[9]。从菠菜中分离得到的是一种典型的植物铁氧还蛋白,其活性中心是一个含 2Fe 和 2 个无机硫组成的 $[\text{Fe}_2\text{S}_2]^{2+}$ 簇合物,从 X-射线测定的晶体结构知道活性中心的结构如图 1-b 所示,每个铁离子

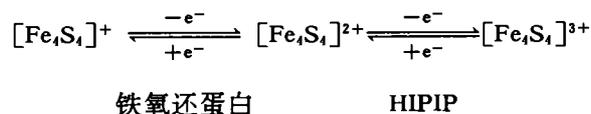
的另外两个配位原子是半胱氨酸的硫原子^[9]。从已知的植物型铁氧还蛋白的氨基酸序列中可知,其氨基酸序列中一个最显著的特点是在活性中心周围存在着 Cys(1)-A-B-C-D-Cys(2)-E-F-Cys(3)(A,B,C,D,E,F 为可变氨基酸残基)序列,其中这三个 Cys 的硫与铁之间有键合作用。

美国哈佛大学的 Holm 研究组合成了一系列含简单配体的 2Fe2S 模型化合物。例如 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{S}_2\text{-}o\text{-xyl})_2]^{2-}$ 等^[10],和红氧还蛋白一样,该模型物在 DMF 中的氧化还原电位为 -1.50 V vs SCE,与天然蛋白的氧化还原电位(-0.64 V vs SCE)相比向负的方向移动了很多。而以含半胱氨酸肽链为配体的模型化合物 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{Z-cys-Ala-Ala-cys-OMe})_2]^{2-}$ 的氧化还原电位在 DMF 中为 -1.06 V vs SCE^[11]。根据天然 *Spirulina platensis* 植物型铁氧还蛋白的一级结构而设计合成了含有 20 个氨基酸残基肽链的 2Fe2S 模型配合物, $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{Ac-Pro-Tyr-Ser-cys-Arg-Ala-Gly-Ala-cys-Ser-Thr-cys-Ala-Gly-Pro-Leu-Leu-Thr-cys-Val-NH}_2)]^{2-}$,由于配位方向的不同,生成了两个几何异构体,其 DMF 中氧化还原电位分别是 -0.64 和 -0.96 V vs SCE^[12]。其中一个异构体的氧化还原电位已和天然蛋白的电位基本一样,表明含 20 个氨基酸残基肽链的模型物与天然蛋白活性中心周围的结构很相似^[12]。这些含半胱氨酸肽链的模型化合物和天然蛋白的氧化还原电位向正方向移动的原因也被认为是由于 NH---S 氢键作用的结果^[11-14]。NH---S 氢键的存在从简单模型化合物晶体结构分析中得到了证实^[15]。

另外,还有一种存在于线粒体中被称之为 Rieske 的 2Fe2S 铁硫蛋白,与上述植物型 2Fe2S 蛋白不同的是 Rieske 2Fe2S 蛋白中的一个 Fe 是与两个 Cys 的硫配位,而另一个 Fe 则与两个 His 的氮配位(图 1-e)^[16]。正因为 His 的氮参与配位使得这类蛋白的氧化还原电位向正的方向移动了许多(+150~+300 mV vs NHE)。作为 Rieske 蛋白的模型化合物,Forde 等人合成了具有 N_2S_2 配位形式的 Fe(Ⅰ)中性化合物 $[\text{Fe}(\text{S-2,6-Pr}_2\text{C}_6\text{H}_3)_2(1\text{-MeIm})_2]$ ^[17,18]。有关 Rieske 2Fe2S 蛋白及其模型研究还处于起始阶段。

3 4Fe4S 细菌铁氧还蛋白和高电势铁氧还蛋白(HIPIP)

4Fe4S 铁氧还蛋白有含 1 个 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇的耐热细菌铁氧还蛋白(如 *Bacillus thermoproteolyticus*)和含 2 个 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇的细菌型铁氧还蛋白(如 *Peptococcus aerogenes*)两种^[19]。在这些蛋白的活性中心的 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇中每个铁离子与 3 个无机硫和 1 个半胱氨酸侧链的硫结合,构成近似四面体结构,而整个 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇为近似立方体结构(图 1-c)。随着铁的氧化态的改变, $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇的立方体结构也会发生变化。



结构和谱学数据显示,细菌铁氧还蛋白的氧化态和 HIPIP 的还原态是一致的(上式)。也就是说 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇可有三种状态: $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^+$ 、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{2+}$ 和 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ 。在天然蛋白中这三种状态都能够稳定存在,但在合成的模型化合物中, $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^+$ 和 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ 两种状态都很不稳定。所以合成、研究得最多的是 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{2+}$,合成出 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SPh})_4]^{2-}$ 等许多模型化合物^[20]。现与已成功地合成并分离出 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SPh})_4]^{3-}$ 和 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_2\text{Ph})_4]^{3-}$ ($[\text{Fe}_4\text{S}_4]^+$ 状态)^[21],但 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ 状态下的模型化合物至今还没有被分离出。最近 Holm 等人又合成了含有桥联配体的,具有两个 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇的

模型化合物, $\{[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{LS}_3)_2(\text{bridge})]^{4-}\}$, 其中 $\text{LS}_3 = 1, 3, 5\text{-tris}[4, 6\text{-dimethyl-3-mercaptophenyl thio}]$ -2, 4, 6-*tris*(*p*-tolylthio)benzene (3-), $\text{bridge} = \text{benzene-1, 4-dithiolate}$; 4, 6-dimethyl-1, 3-benedithiolate 等^[22]。研究了分子内存在两个 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇之间的相互作用, 结果显示 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 簇间存在较弱的相互作用。

从 *P. aerogenes* 铁氧还蛋白的晶体结构推测在 4Fe4S 蛋白中也存在 $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键。根据天然蛋白活性中心周围的氨基酸序列 Cys-Ile-Ala-Cys-Gly-Ala-Cys 而设计、合成的模型化合物: $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Z-cys-Gly-Ala-OMe})_4]^{2-}$, $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Z-cys-Gly-Ala-cys-OMe})_2]^{2-}$ 以及 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Z-cys-Ile-Ala-cys-Gly-Ala-cys-OMe})(\text{S-}t\text{-Bu})]^{2-}$ 等, 红外光谱结果显示在这些模拟物中也有 $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键存在, 从电化学研究结果知道, $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键也使这些簇合物的氧化还原电位向正的方向移动^[23]。 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Z-cys-Gly-NH-C}_6\text{H}_4\text{-}p\text{-X})_4]^{2-}$ ($\text{X} = \text{OMe, H, F, CN}$) 的氧化还原电位与取代基 X 的 Hammett 常数 (σ_p) 成直线关系, 也说明了 $\text{NH}\cdots\text{S}$ 氢键的存在^[24]。

另外, 为了研究 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SR})_4]^{2-/-}$ 氧化还原体系, 作为 HIPIP 的模型化合物合成了 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S-2, 4, 6-triisopropylbenzenethiolato})_4]^{2-}$, $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S-1-adamantanethiolato})_4]^{2-}$, $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S-2, 4, 6-triphenylbenzenethiolato})_4]^{2-}$ 等配合物^[25-27]。这些化合物的电化学研究结果显示, 具有庞大位阻的配体对稳定 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ 状态起着重要作用。

最近, 用过量的 PR_3 ($\text{R} = \text{Cy}$ (cyclohexyl), *t*-Bu, *i*-Pr) 与 $[\text{Fe}_4\text{S}_4\text{Cl}_4]^{2-}$ 反应得到 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{PR}_3)_4]^{1+}$, 经单电子还原首次得到中性化合物 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{PR}_3)_4]^{[28]}$, 并对这些中性化合物在溶液中的性质进行了探讨, $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{PR}_3)_4]$ 在溶液中可失去部分 PR_3 配体而双聚生成 $[\text{Fe}_8\text{S}_8(\text{PCy}_3)_6]$, 或四聚生成 $[\text{Fe}_{16}\text{S}_{16}(\text{PR}_3)_8]$ ($\text{R} = t\text{-Bu, } i\text{-Pr}$)。由于 P 的配位大大稳定了 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{1+/0}$ 状态^[28]。

4 3Fe4S 配合物的合成

顺式乌头酸酶存在于哺乳动物的线粒体中, 催化柠檬酸与异柠檬酸之间的异构化反应, 其活性中心中也存在 4Fe4S 核。但与上述细菌型铁氧还蛋白不同, 4 个 Fe 中有 3 个 Fe 与 Cys 的硫配位, 而另一个 Fe 不与硫配位, 一般认为这个活性铁 (Fe_a) 与反应中间体顺式乌头酸配位。而且这个 Fe_a 容易从 4Fe4S 核中解离下来产生 3Fe4S 硫, 当加入铁离子后 3Fe4S 核可恢复到 4Fe4S 核(下式 1)^[29]。

由于含 3Fe4S 核配合物的高度不稳定性, 合成十分困难。直到 1996 年, Holm 研究组成功地合成了第一个含 3Fe4S 核配合物 $[\text{Fe}_3\text{S}_4(\text{LS}_3)]^{3-}$ (图 3)^[30]。所用配体是前面提到的 LS_3 ($\text{LS}_3 = 1, 3, 5\text{-tris}[4, 6\text{-dimethyl-3-mercaptophenyl thio}]$ -2, 4, 6-*tris*(*p*-tolylthio)benzene (3-)) 三齿螯合配体, 从而得到了稳定的 3Fe4S 配合物。该配合物的谱学结果显示它与天然蛋白中结合的 3Fe4S 核有相同的自旋状态^[30]。

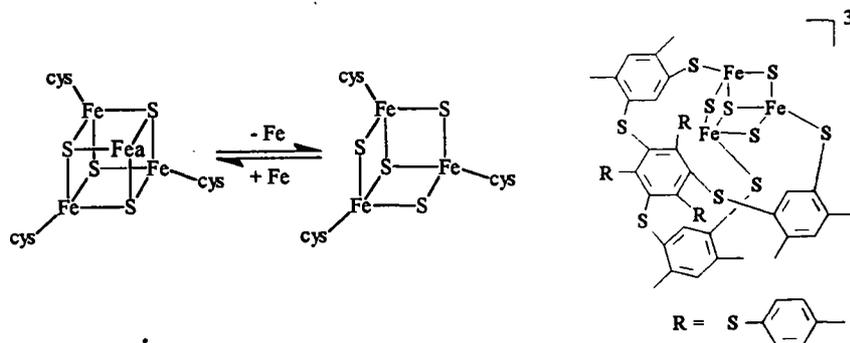


图 3 3Fe4S 配合物的结构示意图

Fig. 3 Schematic structure of 3Fe4S complex

5 固氮酶固氮工作模型的研究

常温常压下将氮气转化为氨,在自然界中通过生物固氮可以顺利地实现。但是为了能够通过人为的方法来实现这一过程,多少年来许多科学工作者做出了不懈的努力。目前这一目标虽然尚未实现,但是固氮过程的模型研究大大推动了铁硫簇合物等相关配合物的合成、催化性质等方面的研究。九十年代,固氮酶的晶体结构解出之后,使这方面的研究有了新的起点。Coucovanis 等人根据固氮酶中铁钼辅因子的结构(图 1-f),用 $[LMoFe_3S_4Cl_3]^{2-}$ ($L = \text{tetrachlorocatecholate}$ 等)做催化剂成功地将 N_2H_4 还原到 NH_3 (常温常压下)^[31]。而在同样条件下 $[Fe_3S_4Cl_4]^{2-}$ 则没有催化活性。说明 Mo 对还原 N-N 键是必需的。当催化还原顺式-二甲基氮烯 (*cis*-dimethyldiazene) 时仅得到甲胺^[32]。而在固氮酶的铁钼硫活性中心作用下,还原同样底物得到的除甲胺之外,还有氨和甲烷。说明合成的钼铁簇合物能断裂(还原)N=N 键,而不能还原 C-N 键^[32]。这些研究无疑给固氮模拟提供了有用的信息。

6 6Fe6S 铁硫蛋白

从 *Desulfovibrio vulgaris* 分离得到的蛋白质经 ESR 和穆斯堡尔 (Mössbauer) 谱 (87% ^{57}Fe) 研究,推测其活性中心含有棱柱形 6Fe6S 簇,与前述铁氧还蛋白一样,6Fe6S 簇中每个铁也是和 3 个无机硫结合,至于第 4 个配体目前尚不完全清楚,根据还原态的 ESR 和穆斯堡尔数据推测,可能有部分 N 与 Fe 配位^[33]。

同样具有棱柱形结构的模型化合物也已合成,如 $[Fe_6S_6Cl_6]^{3-}$ ^[34]。含硫配体的模型化合物虽然有与天然蛋白相同的话旋状态 ($S = 1/2$),但 ESR 和穆斯堡尔谱与天然蛋白有明显的区别。因此,天然 6Fe6S 蛋白及其模型化合物都有待于进一步研究。

7 结束语

本文综述了几种主要的铁硫蛋白的模型化合物的研究进展情况。从这些模型物的研究中发现 NH---S 氢键对控制配合物的氧化还原电位起着重要作用。另外,芳香环和配位硫原子之间存在着相互作用,二者共同作用的结果,使得配合物的氧化还原电位向正的方向移动,同时又大大提高了配合物的稳定性。在天然铁硫蛋白中,从 X-射线晶体结构分析中也推测有 NH---S 氢键存在^[35],但对其作用一直不清楚。另外,如表 1 中所示,含有芳香环的氨基酸如 Phe49, Tyr11 等在不同的红氧还蛋白的氨基酸序列中均保持不变,在铁氧还蛋白的活性中心周围也同样存在着 Phe, Tyr 等含芳香环的氨基酸残基^[36]。因此从模型化合物的研究结果可以推测,在天然铁硫蛋白的活性中心中这些 NH---S 氢键和芳香环在调控蛋白的氧化还原电位和稳定性等方面也同样起着非常重要的作用。

另外,由于 Holm 和 Coucouvanis 等人的出色工作,合成出了许多新颖有趣的铁硫配合物(簇合物)。最近,作为亚硫酸还原酶活性中心的模型,合成出了 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]\text{-S-Ferriheme}$ (血红素铁)化合物^[37]。这些模型化合物的研究大大丰富了铁硫配合物化学。为人类揭示生物体系的奥秘提供了宝贵的资料。

参 考 文 献

- [1] *Iron-sulfur-Proteins* Lovenberg, W. Ed Academic, New York, 1973; Vol, 1 ~ 11.
- [2] Lee, W. Y.; Brune, D. C.; LoBrutto, R. et al *Arch. Biochem. Biophys.* 1995, 318, 80.
- [3] Sellmann, D.; Geck, M.; Moll, M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 5259.
- [4] Ueyama, N.; Sun, W. Y.; Nakamura, A. *Inorg. Chem.*, 1992, 31, 4053.
- [5] Sun, W. Y.; Ueyama, N.; Nakamura, A. *Inorg. Chim. Acta*, 1992, 197, 47.
- [6] Sun, W. Y.; Ueyama, N.; Nakamura, A. *Inorg. Chem.*, 1991, 30, 4026.
- [7] Sun, W. Y.; Ueyama, N.; Nakamura, A. *Inorg. Chem.*, 1993, 32, 1095.
- [8] Ueyama, N.; Okamura, T.; Nakamura, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 1019.
- [9] Fukuyama, K.; Hase, T.; Matsumoto, S. et al *Nature*, 1980, 286, 522.
- [10] Mayerle, J. J.; Denmark, S. E.; Depamphilis, B. V. et al *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, 97, 1032.
- [11] Ueno, S.; Ueyama, N.; Nakamura, A. et al *Inorg. Chem.*, 1986, 25, 1000.
- [12] Ueyama, N.; Ueno, S.; Nakamura, A. et al *Biopolymers*, 1992, 32, 1535.
- [13] Fan, C.; Kennedy, M. C.; Beinert, H. et al *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 374.
- [14] Houseman, A. L. P.; Oh, B. H.; Kennedy, M. C. et al *Biochemistry*, 1992, 31, 2073.
- [15] Ueyama, N.; Yamada, Y.; Okamura, T. et al *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 6473.
- [16] Beckmann, J. D.; Ljungdahl, P. O.; Trumppower, B. L. *J. Biol. Chem.*, 1989, 264, 3713.
- [17] Frode, C. E.; Lough, A. J.; Morris, R. H. et al *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 2747.
- [18] Beardwood, P.; Gibson, J. F. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1992, 2457.
- [19] Fukuyama, K.; Nagahara, Y.; Tsukihara, T. et al *J. Mol. Biol.*, 1988, 199, 183.
- [20] Christou, G.; Garner, C. D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1979, 1093.
- [21] Reynolds, J. G.; Laskowski, E. J.; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 5315.
- [22] Stack, T. D. P.; Carnery, M. J.; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 1670.
- [23] Ueyama, N.; Kajiwara, A.; Terakawa, T. et al *Inorg. Chem.*, 1985, 24, 4700.

- [24] Ohno, R.; Ueyama, N.; Nakamura, A. *Inorg. Chem.*, **1991**, **30**, 4887.
- [25] O'Sullivan, T.; Millar, M. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, **107**, 4097.
- [26] Nakamoto, M.; Tanakam, K.; Tanaka, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 1422.
- [27] 孙为银、上野隆史、上山宪一等, *无机化学学报*, **1997**, **14**(1), 105.
- [28] Goh, C.; Segal, B. M.; Huang, J. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, **118**, 11853.
- [29] Emptage, M. H.; Kent, T. A.; Kennedy, M. C. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1983**, **80**, 4674.
- [30] Zhou, J.; Hu, Z.; Munck, E. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, **118**, 1966.
- [31] Demadis, K. D.; Malinak, S. M.; Coucouvanis, D. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**, 4038.
- [32] Malinak, S. M.; Simeonov, A. M.; Mosier, P. E. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, **119**, 1662.
- [33] Pierik A, J.; Wolbert, R. B. G.; Mutsaers, P. H. et al. *Eur. J. Biochem.*, **1992**, **206**, 697.
- [34] Kanatzidis, M. G.; Dunham, W. R.; Hagen, W. R. et al. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 356.
- [35] Watenpaugh, K. D.; Sieker, L. C.; Jensen, L. H. *J. Mol. Biol.*, **1979**, **131**, 509.
- [36] Morgan, R. S.; Tatsch, C. E.; Gushard, R. H. et al. *Int. J. Peptide Protein Res.*, **1978**, **11**, 209.
- [37] Zhou, C.; Cai, L.; Holm, R. H. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**, 2767.

PROGRESS IN THE MODEL COMPOUNDS OF IRON-SULFUR PROTEINS

Sun Weiyin Liu Hongke

(State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Coordination Chemistry Institute
of Nanjing University, Nanjing 210093)

The review gives the recent progress in the model compounds of iron-sulfur proteins, and described the role of NH---S hydrogen bonds and the aromatic ring in such model complexes and in the native proteins. Up to now, as model of the active site of iron-sulfur proteins many complexes with simple alkane-, arenethiolate and cysteine-containing oligo-peptide ligands have been synthesized. From such model studies, it becomes clear that the NH---S hydrogen bonds and aromatic ring play very important role in controlling the redox potential and stability of model complexes as well as the native proteins. In addition, the 3Fe4S cluster and molybdenum-containing iron-sulfur clusters were synthesized as model of the enzymes of aconitase, nitrogenase etc.

Keywords: iron-sulfur protein model compounds NH---S hydrogen bond aromatic ring