Vol. 18, No. 1 Jan., 2002

后之子子与 【综 述】

# 镍铁氢化酶活性中心的结构、催化机理及化学模拟

### 赵武程 鹛\*

(南开大学化学系,天津 300071)

镍铁氢化酶具有催化分裂重组氢分子的功能,由于其独特的活性中心结构和催化性能及方便、廉价利用氢能源的前景,引起生物学家和化学家的关注,他们对镍铁氢化酶活性中心结构、催化机理及化学模拟做了深入细致研究,本文对此做系统概述和总结。

关键词:	镍铁氢化酶	活性中心结构	催化机理	化学模拟
分类号:	0629.8	0614.8		

氢化酶(Hydrogenase、简称 H<sub>2</sub>ase)是存在于厌氧 微生物中的一类酶,其催化作用是可逆分裂重组氢 分子(反应为 H<sub>2</sub>  $\rightleftharpoons$  2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup>)<sup>[1,2]</sup>。H<sub>2</sub>ase 可以分为 NiFeSe、NiFe、仅含 Fe 和不含金属四类,其中、人们 对 NiFe 氢化酶的研究最为广泛和深入、迄今为止、 活性中心结构已基本弄清楚,对其催化机理也提出 很多合理方案,但还有待进一步确证。在化学模拟 方面、虽做了大量研究、也取得了很多成果,但要达 到利用类似结构的功能模拟配合物通过光作用产生 氢能源<sup>13,4]</sup>的目的,还有很长的路要走。本文介绍了 国际上对 NiFe 氢化酶的活性中心结构、催化机理及 化学模拟研究的最新成果。

# 1 [NiFe]H2ase 活性中心结构

自 70 年代末发现 H<sub>2</sub>ase 以来、科学家们采用电 核双共振(ENDOR)、电子顺磁共振(EPR)、X 射线吸 收谱(XAS)、穆斯堡尔谱(Mössbauer)等研究方法、为 弄清活性中心结构进行了大量探索。1995 年 Volbeda 等人<sup>151</sup>对 D. gigas 菌的 NiFe 氢化酶 0.285 nm 单晶解析表明:活性中心结构不仅含 Ni. 而且在 离 Ni 0.27nm 处还存在一个未知金属原子 M(推测 为 Fe), Ni-M 间通过二硫桥相连, Ni 为四配位、配原 子分别是四个半胱氨酸中的 S、未知金属原子为五 配位,另外三个配体只知是非蛋白配体,现在的问题 是:其一,未知金属原子是什么?是否就是所推测的 Fe?其二,另外三个配体是什么?

#### 1.1 光谱实验结果

1.1.1 X 射线反常色散谱

通过原子吸收谱 (AAS)、EPR 谱和诱导耦合等 离子体 (ICP) 分析, 表明 [NiFe] H<sub>2</sub>ase 中有一个 Ni, 12(±1) 个 Fe<sup>16, 11</sup>, 晶体结构解析表明 11 个 Fe 分散 在 3 个 [FeS] 分子簇中, 那么剩下的第十二个 Fe 可 能就是 Ni 附近的那个神秘金属原子。为了证实这个 猜想, 利用单晶 X 射线衍射在 Fe 吸收边缘(见图 1,  $\lambda_1 = 0, 1733$ nm,  $\lambda_2 = 0. 1750$ nm)两侧所采的数据, 绘



收稿日期:2001-10-11。收修改稿日期:2001-11-13。

国家自然科学基金资助项目(No. 29971017)、教育部"优秀青年教师教学科研奖励计划"和留学回国人员启动基金199-747)资助项目。

<sup>\*</sup>通讯联系人。E-matl: pcheng@ nanka). edu. cn

第一作者:赵 斌、男,29岁、博士研究生;研究方向;生物无机及功能配合物。

出两张不同密度图。波长  $\lambda_1$  的图表明了在1 个 [3Fe-4S] 和两个[4Fe-4S] 簇中 11 个 Fe 位置处的密 度,其高大约是背景水平  $\sigma$  的 11 倍,在 Ni 附近的 未知金属离子处、波长  $\lambda_2$  的图表明在所有金属位置 处只有嗓音信号.将这两张图相减,结果形成  $\lambda_1$ - $\lambda_2$ 差谱图,有 12 个峰(11 $\sigma$ ),相对应于[FeS]分子簇中 的 11 个 Fe 和活性结构中的第二个金属、因为没有 别的峰出现,由此证实每个氢化酶分子中存在 12 个 Fe。这个实验强有力的证明了 Ni 附近的金属就是 Fe<sup>(8)</sup>。

1.1.2 IR 谱

被氧化后的蛋白质活性中心部位含有一个 NnFe 异双核金属中心,一个小的非蛋白质桥联配体和3个Fe 的非蛋白质双原子配体,这种非蛋白配体 在蛋白质中的存在实在出乎意料、为了弄清它们的 实质,进行了大量的实验研究。

对 C. vinosum 氢化酶在不同条件下做出其 IR 谱(见图 2),从谱中可看出,在 A、B、C 三种不同环 境下,总出现两个峰群,一个在1900cm<sup>-1</sup> 附近,另一 个在 2100cm<sup>-1</sup> 附近, 这分别与 CO 和 CN<sup>-</sup>的红外吸 收较吻合、两个峰群可细分为3条谱带。随后、对 C. vinosum 氢化酶和 D. gigus 氢化酶作进一步红外 研究,在酶的各个稳定氧化还原态下,考察了这3个 谱带、结果发现随着 Ni 的氧化还原态的变化、它们 以相同的趋势发生频移<sup>[9]</sup>(见表 1),因此结论认为: 在 C. vinosum 氢化酶中, 所观察到的 3 个红外吸收 谱带,可能是 Fe 的 3 个非蛋白配体的信号,高频谱 带要么是三键要么是毗邻双键所引起的。结合 0.254nm 的单晶解析、认为双原子配体物要么是 CO,要么是 CN-181。再者,红外光谱中较高和较低频 率吸收峰与另外两个吸收峰的相关性表明、是不同 配体混合键合到活性位置上的 Fe 原子所引起的.这 一点已通过 <sup>13</sup>C 和 <sup>15</sup>N 同位素标记的 [NiFe] H<sub>2</sub>ase 的 表 1 D. gigas 和 C. vinosum Hasse 在不同 EPR 态时的 IR 谱 Table 1 Infrared Spectra Corresponding to the Different

EPR of D. gigas and C. vinosum H<sub>2</sub>ase

D. gugas Hanne			C. vinosum H2ase			
form A	1947	2083	2093	form AB	1944	2081 2093 <sup>11,</sup>
form B	1946	2079	2090			
(SU)	1950	2089	2099			
(SI-1)	19[4	2055	2069	(SI)	1910	2051 2067 <sup>[1]</sup>
(SI-2)	1934	2075	2086			
form C	1952	2073	2086	form C	1950	2076 1088
(R)	1940	2060	2073	(R)	1936	2060 2075



molecular hydrogen at 323K; B: illumination for 10min at 23K; C: photolysis at room temperature

IR 分析所证明, 并具体指出 3 个非蛋白双原子配体中, 一个是 CO, 另两个是 CN<sup>-[3]</sup>。

#### 1.2 高分辨率单晶结构分析结果

1996 年 Volbeda 等人又对 *D. gigas* 菌的 NiFe 氢化酶做了 0. 254nm<sup>[5]</sup> 的单晶解析,进一步证实 Ni 附近的金属就是 Fe、并认为三个非蛋白配体分别是 CO 和 CN<sup>-</sup>,这与 IR 分析是一致的。同时新发现 Ni-Fe 间还存在一个氧桥,但氧是来自 O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O 还是 羟基,至今未有定论。这样,Ni 为五配位,四方锥构 型,Fe 为六配位、变形八面体构型(见图 3 其中 L<sub>3</sub> = CO, L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> = CN<sup>-</sup>)。



### 1.3 活性中心结构的最终定型

通过多种研究结果,现在对活性中心结构已基本形成共识: [NiFe] H<sub>2</sub>ase 为异二聚酶,两个亚基紧密相联形成一个近乎于球状的分子 (见图4),活性中心是大亚基上 (60Kda)<sup>110,11</sup> Ni-Fe 异双核配合中心、与 Ni 配位的共有四个半胱氨酸,其中两个半胱氨酸残基 S 作为端基与 Ni 配位,余下的 2 个半胱氨酸残基 S 在 Ni-Fe 之间形成桥联,Fe 周围不再有其他蛋白质的氨基酸配体,单独与 Fe 配位的有 2 个





图 4 活性中心结构 Fig. 4 Active site structure

CN<sup>-</sup>,1个 CO, CO 与 CN<sup>-</sup> 所处蛋白质环境完全不一 样(见图 5)、L(CN-)能与肽键中的-NH-和丝氨酸 (ser486)上的-OH 形成两个氢键、L<sub>2</sub>(CN<sup>-</sup>)能与肽键 中的-NH-和精氨酸(Arg463)上的胍基形成两个氢 键,而L<sub>4</sub>(CO)却只能与疏水的氨基酸残基相联<sup>[8]</sup>。 Ni-Fe 间还有一个含氧配体(氧的类型还不能肯定) 也参与成桥。Ni-Fe 间距约为 0.27nm, 这样 Ni 为五 配位的四方锥构型、而 Fe 为六配位的变形八面体。 两个S与两个CN-在赤道平面上、CO与O位于轴 向,Fe 周围的强场可导致Fe 保持低自旋、小亚基 (30kDa)上含有 2 个[4Fe-4S] 簇和 1 个[3Fe-4S]、并 且这 3 个 Fe/S 几乎按线形排列、[3Fe-4S] 簇在中 间。大亚基深埋于蛋白质内、而小亚基却临近分子 表层<sup>1(2)</sup>、大亚基上 Ni 的位置与小亚基上一端的 [4Fe-4S] 簇靠近, 距离约为 13Å<sup>[12]</sup>, 小亚基远端的 [4Fe-4S]簇与另两个 Fe/S 簇的不同在于 Fe 的 1 个 配体是组氨酸的咪唑基团、而不是半胱氨酸的S配 体。[NiFe]H<sub>2</sub>ase 这种结构就为电子、质子、氢分子在



图 5 CO 与 CN 「所处蛋白质环境

Fig. 5 Protein environment of CO and CN-

活性中心与分子外环境间的转移提供了一个可能的 通道(见图 6)<sup>113</sup>。



图 6 电子、质子、氢分子转移通道图

Fig. 6 Transfer channel of electron, proton and molecular hydrogen

最近、对仅含铁的氢化酶 X 射线结构分析表明、除了一个 Ni 被取代外. 其结构与[NiFe] H<sub>2</sub>ase 的极为相似<sup>114,13]</sup>。

# 2 催化机理

根据方程 H<sub>2</sub> ➡ 2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup>可知, 这是一个有两 电子转移的氧化还原过程, 但很多学者认为在酶的 活性中心, 却只经历一系列单电子转移的氧化还原 反应<sup>[16]</sup>, 如何通过一系列单电子转移的氧化还原反 应实现最终表观为两电子氧化还原反应, 是设计合 理催化机理的关键所在。根据[NiFe]H<sub>2</sub>ase 的电子顺 磁波谱 (EPR) (见图 7), 可把它分为 Form A, Form B, Form C, SI 和 R 五个态, 当酶在隔绝空气的情况 下氧化, 就会产生 Form A, Form B 和 EPR 不响应的



٠	1	1	٠
---	---	---	---

	Table 2 Valent Assignment Based on Ni or NiFe-centered Redox Chemistry					
,		approx. $E_n$	scheme	scheme	scheme	scheme
sample	(/K epr signal	(mV vs NHE, pH 7, 7, 40°)	A	в	С	D
form A	g = 2, 31, 2, 23, 2, 02	$A \rightarrow Sl_{average} - 210$	Nt (III)	Ni(DD)	Ni (I)	
form B	g = 2, 33, 2, 16, 2, 01	$B \rightarrow SI_{cmb}$ -135	N <sub>1</sub> (III)	N1 (11)	Ni (1)	
SL	none	$SI_{math} \rightarrow C-365$	Ni (II)	$N_1(0)$	Ni (II)	Ni (1) -Fe (J. HI)
form C	g = 2, 19, 2, 14, 2, 02	$C \rightarrow R-430$	N(11)	Ni 💷	$N_1(I)$	Ni (11, Fe 10)
R	none		$N_1(0)$	Ni (II)	Ni (II)	Nn (1) -Fe (-I, -III )

态 SI, 处于 Form A 的氢化酶只有在强还原剂下才能 缓慢活化,或者在氢气中培养数小时。而处于 Form B 的氢化酶、经还原数秒钟即可活化,这是两个态的 区别所在、Fernandez 等人最新研究表明, SI 还可进 一步分为两个氧化还原级位,对H/D交换反应有活 性的态称 SL, 没有活性的称为 SL。还原了的[NiFe] H2ase 的 EPR 对应 Form C, 再将 Form C 进一步还 原,其 EPR 谱上无峰信号,称为 R 态。部分学者基于 以 Ni 为中心的氧化还原特性提出一系列催化机理 方案, 见表二中 A, B, C 三方案 Ni 的价态归属, 那是 因为研究发现 Ni (III)化合物的 EPR 谱与氧化后的酶 的 EPR 谱很相似。若用单电子氧化还原规则,则活 性中心 Ni 电对要么是 Ni<sup>3+</sup>/Ni<sup>2+</sup>, 要么是 Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>+</sup>, 又根据 Ni 能产生 EPR 的条件可知、能产生 EPR 的 Ni 价态只能是奇数<sup>(17,18)</sup>(见表 2)。而另有学者提出 以 NiFe 为中心的机理方案(见表 2 中 D 方案),为了 产生 SI 杰, D 方案中必须有低自旋的  $Fe^{-3}$  中 心到 Ni(S=1/2) 中心的电子自旋耦合<sup>[19,20]</sup>。但 Maroney 等人认为如果 A、 B、 C 三方案中某一个正 确、则意味着 Ni (II)到 Ni (I)的氧化还原电对必须压 缩在 - 400 ~ ~ 100mV 的 300mV 宽的电势范围内. 这在单个 Ni 配合物中是没有先例的。

而 Kovacs 及其合作者们<sup>[21]</sup>认为 H<sub>2</sub> 的氧化过程 由 Ni 键合的硫醇盐所辅助。他们已报道 N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 型化 合物 NiLS<sub>2</sub>(Me) N<sub>3</sub>(Pr) 在质子和非质子溶剂中的电 子光谱,在质子溶剂中观察到波谱蓝移。这有力的 表明 S-H 键的存在、以此为据,他们进一步认为在氢 化酶中含硫配体的作用要么储氢、要么参与了促进 H2 的异裂过程。鉴于此、Dole 等人<sup>[10]</sup>提出了更为具 体的两个可能催化机理,在第一个机理中(见图 8), Ni (即化合物被还原成 EPR 不响应 (SI)的 Ni (II)中间 产物, Ni (II)化合物控制着氢气的氧化方向,处于 SI r 态的化合物在氢气和质子作用下、形成 R 态, R 通 过单电子转移氧化成 Form C、C 进一步通过单电子



转移又氧化 SIr, 同时产生两个质子, 一个催化循环 就这样形成。第二个机理(见图 9)、没有涉及 Ni、Fe 的价态变化、在这一过程中、H2 或 H<sup>-</sup>化合物能迅速 转化成质子化状态, 电子从活性中心转移出来也非 常快, 并且决速步也包含有质子的转移。这两个机理 的关键不同在于: 第一个机理中有稳定的中间产物 - 氢化物的生成, 而第二个机理中则没有。最近、Hall 研究小组利用密度泛函理论 (DFT), 就 D. gigus 氢 化酶中活性位的质子化结构和各种氧化还原态进行



维普资讯 http://www.cqvip.com



Fig. 10 Mechanism three

了计算、提出了氧化氢气的催化循环机理<sup>[12]</sup>(见图 10)。根据计算发现:其一,Fe( $\mu$ -S)<sub>2</sub>Ni 随质子化的折 叠和展开这种结构在氢气的活化中,可能发挥了极 其重要的作用,折叠形成于端基S的质子化、它可降 低端基S到Ni 的配键强度、从而使得Ni 到桥联S 间的配键加强,这些变化能引起Fe-S-Ni 的二面角 减小18°。其二,认为俘获氢气的最初位置就是Fe 中 心,形成Ni-R态。Ni (III)的形成在H-H 键断裂之前. Ni-H 键的形成使 Ni (III)态稳定,Ni-C态的桥 H 转移 到端基S产生了异构体。

# 3 化学模拟

随着对活性中心结构研究的明朗以及对催化机 理探索的深入,对[NiFe]H<sub>2</sub>ase 活性中心结构的化学 模拟也进行了大量研究、人们的最终目的是想合成 出具有与 [NiFe] H<sub>2</sub>ase 功能类似的化合物。迄今为 止,这方面的化学模拟按化合物中所含金属离子的 不同可分为三类:

## 3.1 对活性中心的 Ni 位体的模拟

Holm 等人合成了一系列化合物,取得了有意义的进展,这些化合物的氧化还原电势(E值)都很低,Ni(())物种较稳定。根据 Ni 的配位环境不同,又可分为 N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>、S<sub>4</sub>(N<sub>2</sub>)三种类型化合物、其他含氮配体的 Ni 配合物也有报道<sup>[23]</sup>。

3.1.1 N<sub>3</sub>S₂型化合物

Mascharak 及其合作者们集中研究了[Ni(terpy)

 $(2, 6(Me)_2C_6H_3S)_2](terpy = 2, 2', 2''-terpyridine)^{124, 23},$ 类化合物。其空间构型为三角双锥(见图 11A, B),这种分子有 Ni (I)的典型 EPR 谱、能与 H<sup>-</sup>、CO 键合,与 H<sup>-</sup>加成物被认为是 Ni (I)、H<sup>-</sup>、它能产生与 Ni-U态一样的 EPR 谱。但是, terpy 化合物并非好的功能模型物、因为将其氧化到 Ni (II)化合物的可能性极小、从而意义不大。而另一方面、DAPA(2, 6-bis(1-phenylimino) ethylpyridine) 化合物(见图 11C)能被氧化到 Ni (II)、因而认为它是对氢化活性位置的较好模拟<sup>[26]</sup>。氧化 Ni (I)、CO 化合物可直接导致配体的解离、这表明在氢化酶中、Ni (II)态化合物下能与 $CO 和 H<sup>-</sup>键合。[Ni(terpy)(2, 6-(Me)_2C_6H_3S)_2] 和[Ni$  $(terpy)(2, 4, 6-(i-Pr)_3-C_6H_3S)_2] 与氢化酶中 Ni-C 态$ 之间有极其相似的 EPR 谱、说明 Ni-C 态中 Ni 的化合价为 + 1<sup>(25)</sup>,这对机理的研究有较大启示。



Fig. 11 Structural sketch map for mimic compounds with  $N_2S_2$ 

### 3.1.2 S<sub>2</sub>N<sub>2</sub>型化合物

这类化合物的绝大部分模拟工作是由 Darensbourg 等人完成的,母体分子 [(N、N'-bis(mercaptoethanol) -1, 5dia-zacylcyelooctane) Ni] [(bmedaeo) Ni]<sup>[27]</sup>,已被广泛用作合成 Ni(N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)模拟化合物的基 础 (见图 12A), Ni(bme-daco) 经历一系列氧化还原 反应<sup>[28]</sup>,依次形成在氧作用下氢化酶的各个非活性 态<sup>[29]</sup>。氧化后形成其次磺化和亚磺化产物(见图 12B, D),次磺化的形成可以用来解释氢化酶的非活 性中间氧化产物是通过 Ni-SI 到 Ni-A 的转变。作为



图 12 S<sub>2</sub>N<sub>2</sub> 型模拟化合物结构示意图

Fig. 12 – Structural sketch map for mimic compounds with  $N_1S_2$ 

维普资讯 http://www.cqvip.com

Ni-A 态的模拟物,次磺化物比亚磺化物更合适.因 次磺化物的还原可在水中进行<sup>1391</sup>。

3.1.3 S<sub>4</sub>(N<sub>2</sub>)型化合物

基于在氢化酶中活性中心结构 Ni 配位环境有 4个S, Krüger和Holm<sup>130]</sup>等人通过利用富含S配体 的化合物。在已报道的氢化酶 Ni-A 到 Ni-SI 转变过 程电势变化范围内、降低了 Ni (III)/Ni (II)电势。他们 合成了 S<sub>4</sub>N<sub>2</sub> 型化合物 [Ni(pyridine-2, 6-bis(monothiocarboxylate)  $_{2}$ ) ]  $^{1-2-}([Ni(pdtc)_{2}])(见图 13A).$ Ni 分别呈 + 3 价和 + 2 价, 虽然这种化合物在水中 的氧化还原电势(0.125V)有显著降低,但这个值比 氢化酶中活性中心特征氧化还原电势(-0.390V到 -0.640V)仍然高出许多,同时,他们也注意到酶的 活性位置在氧气下氧化不应该有轴向上的 N 配体。Millar 和 Holm 小组<sup>[11,32]</sup>进一步研究[Ni(norbornane-2, 3-dithiolate) 2]<sup>1-2-</sup>([Ni(nbdt) 2])(见图 13B), 在质子溶剂中, 这个化合物的氧化还原电势 与氢化酶中活性位置的最接近。[Ni(pdte)<sub>2</sub>]化合物 中轴向两个 N 被去掉后, 就与 [Ni(nbdt)<sub>2</sub>] 有较大相 似性。但[Ni(nbdt)<sub>2</sub>]<sup>2-</sup>的 EPR 谱与氢化酶的各种已 报道的谱完全不一致<sup>[31]</sup>。这两个小组一致认为:氢 化酶中由 Ni 控制的氧化还原电势, 与富含电子的、 可极化的阴离子硫作配体的 Ni (III)/Ni (II)电对的氧 化还原电势是一致的。





最近、我们组在 Ni 位体的模拟方面也取得了一 定进展, 报道了 S<sub>4</sub> 配位环境的模型化合物 Ni

[(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NS<sub>2</sub>]<sub>2</sub><sup>(33)</sup>。
除了对结构进行模拟外、Sellmann 等人首次对
[NiFe] H<sub>2</sub>ase 的功能进行了较好的模拟<sup>(34)</sup>, 合成出
[Ni(NHPnPr<sub>3</sub>) (S<sub>3</sub>)] (S<sub>3</sub><sup>2-</sup> = bis(2-sulfanyphenyl) sulfide(2-)) 化合物,利用 NMR 跟踪技术、发现该化合

物与 D<sub>2</sub>、D<sub>2</sub>O 分别作用时, N 上的 H 都能与 D 发生

交换、从而形成 HD 与 HDO 小分子化合物、显现出 了此化合物的催化功能。同时 Sellmann 认为、[NiFe] Haase 催化 H<sub>2</sub> 异裂的过程发生在 Ni(Cys)<sub>4</sub> 上, 并且 此过程中 Ni 的价态不发生变化、Ni 轴向配体是酶 的活性开关, 轴向有配体时、酶则失去活性, 反之则 被激活。这对酶的模拟和机理研究有十分重大的借 鉴意义。

### 3.2 对活性中心 Fe 位体的模拟

根据[NiFe]H<sub>2</sub>ase 活性中心 Fe 的配位环境、Darensbourg 合成了一系列[( $\eta^{5}$ -(C<sub>s</sub>H<sub>s</sub>)Fe(CN)<sub>3</sub>CO)]<sup>-</sup> 模型化合物<sup>[35, 36]</sup>(见图 14)、研究表明 Fe(II)在以乙 氰作溶剂时红外光谱数据与酶的相关数据极为接 近.为结构模型的成立提供了证据。为了更接近于生 物体的环境、N、N'、N"-trimethyl-1,4、7-triazacyclononane<sup>137]</sup>和 3.5-二取代三吡唑硼(分别代替环戊二 烯负离子,也合成出了新的 Fe 配合物。Koch 等人报 道了第一种带有 CN<sup>-</sup>和 CO 配体的 Fe(II)含 S 配合 物[Fe<sup>II</sup>(PS<sub>1</sub>)(CO)(CN)]<sup>2-[38]</sup>(见图 15)在溶液中可 逆氧化为 Fe(III)的行为、单从配位环境看、该模拟物 较接近活性中心 Fe 的结构。



图 14 { [ m<sup>5</sup>-(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)Fe(CN)<sub>2</sub>CO) } 一的阴离子结构

Fig. 14 Perspective view of  $[+\eta^{5}-(C_{5}H_{5})Fe(CN)_{2}CO)]^{-}$ 



图 t5 {Fe<sup>1</sup>(PS<sub>2</sub>)(CO)(CN)}<sup>2-</sup>的阴离子结构 Fig. t5 Perspective view of [Fe<sup>1</sup>(PS<sub>2</sub>)(CO)(CN)}<sup>2-</sup> union

### 3.3 对硫原子桥联 NiFe 异双核结构的模拟

Osterloh<sup>[39]</sup> 等人合成了 [(NiL) <sub>2</sub>Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>I<sub>2</sub>] (L = -SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(Et)CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>N(Et)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S<sup>-</sup>)化合物。通 过 CV、IR、UV-Vis、元素分析和晶体结构分析所表 征,该化合物是一中性原子簇化合物、含有两个Ni (II)、两个 Fe (II)和两个 Fe (III)离子,结构见图 16,令人 兴奋的发现是 Ni(1)和 S(2)之间距离是 0.3176(2) nm、存在弱相互作用、这种作用的加强不但会导致 Ni 的配位是四方锥构型、而且会促使 Ni 产生不同 的电子基态,Ni-Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> 间通过两个 S 桥联起来,首次 证明了 Ni 与 Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> 原子簇间 S 桥联的存在、而在此 前这只能是假设。该化合物与前面提到的模拟物比 较起来,则更接近活性中心的结构。



图 16 [(NiL)<sub>2</sub>Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>I<sub>2</sub>]的分子结构 Fig. 16 Molecular structure of [(NiL)<sub>2</sub>Fr<sub>4</sub>S<sub>4</sub>I<sub>2</sub>]

另外, Darensbourg 等人合成了 [(BME-DACD) NiFeC<sub>12</sub>]<sub>2</sub> 化合物<sup>[40]</sup>, 结构见图 17, 基本呈中心对称, 两个 Ni 的配位都是 N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> 型,四配位, 构型为四方平 面, 两个 Fe 都是五配位,四方锥构型。Fe 与 Fe 之间 以 Cl<sup>-</sup>作桥联,而 Fe 与 Ni 间仍以两个 S 作桥联,该 化合物虽与[NiFe]H<sub>2</sub>ase 活性中心的结构相去甚远, 但 Ni-Fe 间通过 S 桥联模拟得比较成功。

此后、Maroney 等人合成了[(Ni(dmpn))<sub>3</sub>Fe] (ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>[41]</sup>,结构见图 18, Fe 周围五配位,研究表明, 与其说其构型是四方锥型,倒不如说它是缺一配体 的变形八面体更恰当。这与活性中心 Fe 的构型较接 近,3个 Ni 都是四配位,配体仍是 N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>型,标准的平 面构型,Fe 与 NiI 只以一个 S<sub>2</sub> 作桥联,而 Ni2, Ni3 间是以两个 S 作桥联,这可算是第三类模拟物的杰 作之处。可能由于配体场较弱的缘故、该化合物中



图 17 [(BME-DACD)NiFeCl<sub>2</sub>]2的分子结构





图 18 [(Ni(dmpn)),Fe](ClO<sub>4</sub>):的分子结构

Fig. 18 Molecular structure of  $[(Ni(dmpn))_3Fe](ClO_4)_2$ 

Fe 处于高自旋态,而活性中心的 Fe 却处于低自旋态。

最近, Darensbourg 与台湾学者又报道了一种新的模型化合物[(ON)NiLFe(NO)<sub>2</sub>](L = -S(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S)<sup>[42]</sup>,其晶体结构见图 19,Fe-Ni间距为 2.8001(6)Å,与[NiFe]H<sub>2</sub>ase 中的Ni-Fe间距 2.7Å 非常接近,其EPR 谱表明 g 值为 2.021,这与[NiFe]H<sub>2</sub>ase 中 Ni-A 态和 Ni-B 态的 g 值 2.02<sup>45</sup> 有着惊人的相似,但此化合物中,Ni、Fe 的配位数和配位场与[NiFe]H<sub>2</sub>ase 中的完全不同。

目前,国际上对 [NiFe] H<sub>2</sub>ase 的研究正方兴未 艾,对活性中心结构已基本明确,而催化机理的研究 却处于百家争鸣时期,至于化学模拟,由于其潜在的 广阔应用前景、吸引了大批生物、化学家们的注意 力,虽取得了可喜进展,但要达到与活性中心有类似

· 15 ·



图 19 [(ON)NiLFe(NO):]的分子结构

Fig. 19 Molecular structure of [(ON)NiLFe(NO)<sub>2</sub>] 功能、却正是路漫漫兮其修远。对于研究 21 世纪利 用量代码的利用工作者们, 注意, 会机遇, 更是, 会

用氢能源的科研工作者们,这是一个机遇,更是一个 挑战。

参考文献

- [1] Adams M. W. W. Biochim Biophys Acta, 1990, 1020, 115.
- [2] Albracht S. P. J. Biochim Biophys Acta, 1993, 1144, 221.
- [3] Happe R. P., Roseboom W., Plerlk A. et al Nature, 1997, 385, 126.
- [4] Maroney M. J. Comments Inorg Chem., 1995, 17, 347.
- [5] Volbeda A., Garcin E., Piras C. et al Nature, 1995, 373, 580.
- [6] Hatchikian E. C., Bruschi N., LeGall J. Brochem Biophys. Res. Comm., 1978, 82, 451.
- [7] Cammack R., Pathl D., Aguirre R., Hatchikhan E. C FEBS Lett., 1982, 142, 289.
- [8] Volbeda A., Garein E., Piras C. J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, 12989.
- [9] Bagley K. A., Albracht S. P. J., Woodruff W. H. Buochemistry, 1995, 34, 5527.
- [10] Przybyła A. E., Robbins J., Menon N. et al FEMS Microbiology Reviews, 1992. 88, 109.
- [11] Albracht S. P. J. Biochim Biophys Acta, 1994, 1188, 167.
- [12] Fery M. Structure and Bonding, 1998, 90, 111.
- [13] Robert L. M. Biochemistry, 1994, 33, 14339.
- [14] Peters J. W., Lanzilotta W. N., Lemon B. J. et al Science, 1998, 282, 1853.
- [15]Nicolet Y., Piras C., Legrand P. et al Structure, 1999, 7, 13.
- [16] Maroney M. J., Davidson G., Allan C. B. et al Structure and

Bonding, 1998, 92, 23.

- [17] Halcrow M. A., Christon G., Allan C. B. et al Chem. Rev., 1994, 94, 2421.
- [18] Moura J. J. G., Teixeira M., Moura I. et al The Biomorga Nic Chemistry of Nickel, VCH: New York, 1988, p191.
- [19] Dole F., Fournel A., Magro V. et al Biochemistry, 1997, 36, 7847.
- [20] Huyett J. E., Carepo M., Pamplona A. et al J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 9291.
- [21]Shoner S. C., Olmstead M. M., Kovaes J. A. et al Inorg. Chem., 1994, 33, 7.
- [22] Niu S, Q., Thomson L. M., Hall M. B. J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 4000.
- [23]Sun Y. J., Cheng P., Yan S. P. et al Inorg. Chem. Commun., 2000, 3, 289.
- [24] Baidva N., Olmslead M. M., Mascharak P. K. Inorg. Chem., 1991, 30, 929.
- [25] Baidva N., Olmstead M. M., Whiteheed J. P. et al Inorg. Chem., 1992, 31, 3612.
- [26] Baidya N., Olmstead M. M., Mascharak P. K. J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 9666.
- [27] Molls D. K., Reibenspics J. H., Darensbourg M. Y. Inorg. Chem., 1990, 29, 4364.
- [28] Farmer P. J., Sonlouki T., Mills D. K. et al J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 4601.
- [29] Farmer P. J., Verpeaux J. N., Amatore C. J. Am. Chem. Soc., 1994, 116, 9355.
- [30] Kruger H. J., Holm R. H. J. Am. Chem. Soc., 1990, 112, 2955.
- [31] Fox S., Wang Y., Millar M. et al J. Am. Chem. Soc., 1990, 112, 3218.
- [32]Kruger H. J., Holm R. H. Inorg. Chem., 1991, 30, 734.
- [33]Cheng P., Dai Y., Zhao B. J. Inorg. Biochem., 2001, 86, 178.
- [34]Selimann D., Geipel F. Moll. Angew. Chem. Int. Ed., 2000, 39, 561.
- [35] Darensbourg D. J., Reibenspies J. H., Lai C. H. et al J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 7903.
- [36] Darensbourg D. J., Lai C. H., Lee W Z. et al J. Am. Chem. Soc., 1998, 120, 10103.
- [37] Moreland A. C., Rauchfuss T. B. *Inorg. Chem.*, 2000, 39, 3029.
- [38] Hsu H. F., Koch S. A., Popescu C. V. et al J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 8371.
- [39]Osterloh F., Saak W., Haase D. et al Chem. Commun., 1996. 6, 777.

[40] Mills D. K., Hsiao Y. M., Patrick J. et al J. Am. Chem. Soc., 1991, 113, 1421.

[41]Gerard J. C., Roberta O. D., Michael J. M. Inorg. Chem., 1992, 31, 5053.

-----

[42] Liaw W. F., Chiang C. Y., Lee G. H. et al Inorg. Chem., 2000, 39, 480.

[43] Cammack R. Nichel in "Adv. in Inorg. Chem.", Sykes A
G. Ed. Academic Press: New York, 1988, 32, 297

### Active Site Structure, Catalytic Mechanism and Chemical Mimic of [NiFe]hydrogenase

### ZHAO Bin CHENG Peng\*

(Department of Chemistry, Nankui University, Tuanjin 3000711

[NiFe] hydrogenase has reversibly catalytic function in the process of cleaving and reforming molecular hydrogen. The biologists and chemists were interested in the enzyme greatly for its unique active site structure and catalytic properties as well as the prospect of utilizing hydrogen-energy cheaply and conveniently. This paper presents recent progress on the active site structure, catalytic mechanism and chemical mimic of [NiFe]hydrogenase.

Keywords: [NiFe]hydrogenase active site structure catalytic mechanism chemical mimic