

烟酰胺辅酶反应中心结构选择 1,4-二氢烟酰胺的热力学和动力学根源

焦晓云, 谭跃, 朱晓晴, 程津培

(南开大学化学系, 元素有机国家重点实验室, 天津 300071)

摘要 合成了对位取代的 1-苯基-1,4-二氢烟酰胺和对位取代的 1-苯基-1,2-二氢烟酰胺作为烟酰胺辅酶两种模型物, 分别测定了它们与 *N*-甲基吡啶正离子反应热和活化吉布斯自由能. 通过对其热力学参数和动力学参数的比较发现, 虽然 1,2-二氢烟酰胺辅酶模型物与吡啶正离子反应热力学驱动力大于相应的 1,4-二氢烟酰胺辅酶模型物与吡啶正离子反应热力学驱动力, 但前者具有很高的活化熵, 从而导致其活化吉布斯自由能反而大于后者. 表明烟酰胺辅酶 NADH 反应中心结构在其氧化还原循环进化过程中选择 1,4-二氢烟酰胺而不是 1,2-二氢烟酰胺的根本原因是烟酰胺辅酶反应中心结构二氢吡啶环 2 位上的氢原子较 4 位上的氢原子有较大的空间位阻.

关键词 1,4-二氢 NADH 模型物; 1,2-二氢 NADH 模型物; *N*-甲基-吡啶正离子; 负氢转移反应; 热力学; 动力学

中图分类号 O621

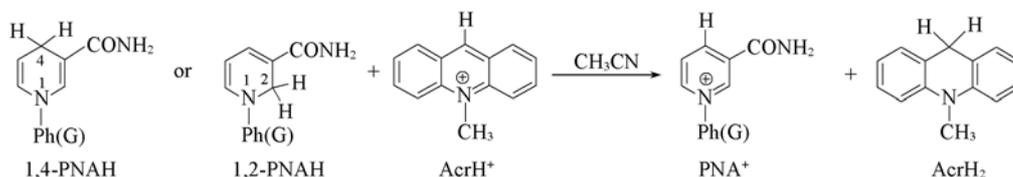
文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)07-1376-03

烟酰胺辅酶 NADH (Nicotinamide adenine dinucleotide hydride) 是生命体内一种非常重要的氧化还原酶的辅酶, 在生命体内的糖酵解、脂肪酸代谢、氨基酸降解、柠檬酸循环以及光合作用、呼吸链和 NO 的生成中起着传递和转移负氢离子(H^-)的作用, 因此备受生物学家和化学家的广泛关注^[1~4].

NADH 辅酶结构复杂, 早期人们曾误认为是 1,2-二氢烟酰胺衍生物, 直到 20 世纪 50 年代, 人们才确定烟酰胺辅酶反应中心结构是 1,4-二氢烟酰胺而非 1,2-二氢烟酰胺^[5]. 我们曾比较了 NADH 辅酶 1,4-二氢模型物和 1,2-二氢模型物与活化烯烃三氟甲基苯基亚乙基丙二腈^[6]、四氯苯醌和 *N,N*-二甲基对苯二胺自由基正离子^[7] 反应热力学和动力学的区别, 初步揭示了 NADH 辅酶在进化过程中选择 1,4-二氢烟酰胺作为其活性中心的结构原因.

本文选用 1-苯基-1,4-二氢烟酰胺(1,4-PNAH) 和 1-苯基-1,2-二氢烟酰胺(1,2-PNAH) 作为烟酰胺辅酶 1,4-二氢和 1,2-二氢模型物, 选用 *N*-甲基吡啶正离子作为烟酰胺辅酶模型物的负氢受体, 研究了它们之间发生负氢转移反应的热力学和动力学 (Scheme 1). 结果表明, 1,4-二氢烟酰胺的反应动力学位阻小是 NADH 辅酶选择它作为活性中心结构的主要原因.



Scheme 1 Hydride transfer from the NADH models to $AcrH^+$

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Yanaco 显微熔点仪; Hitachi U-3000 紫外光谱仪; Bruker AV300 NMR 谱仪; CSC4200 等温滴定量

收稿日期: 2007-10-22.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20125206, 20272027, 20472038)资助.

联系人简介: 朱晓晴, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事物理有机化学研究. E-mail: xqzhu@nankai.edu.cn

热仪. 在分析纯乙腈(天津试剂二厂)中加入 KMnO_4 与 K_2CO_3 , 回流蒸出, 加入 P_2O_5 后再蒸一次.

1.2 烟酰胺辅酶模型物和底物的合成

1,4-PNAH, 1,2-PNAH 和 AcrH^+ 按文献[6]方法合成. NADH 模型物的熔点和核磁共振数据列于表 1.

Table 1 Melting point and ^1H NMR data(CDCl_3) of 1,4-PNAH and 1,2-PNAH

NADH	m. p./ $^\circ\text{C}$	^1H NMR, $\delta(\text{CDCl}_3)$
1,4-PNAH <i>p</i> - CH_3	124—125	2.32(s, 3H), 3.24(m, 2H), 4.93(m, 1H), 5.27(s, 2H), 6.29(m, 1H), 6.99—7.04(m, 2H), 7.11—7.15(m, 2H), 7.51(m, 1H)
H	127—130	3.23(d, 2H), 4.97(m, 1H), 5.47(s, 2H), 6.34(m, 1H), 7.10—7.36(m, 5H), 7.55(s, 1H)
<i>p</i> -Cl	172—174	3.22(m, 2H), 5.01(m, 1H), 5.30(s, 2H), 6.29(m, 1H), 7.02—7.32(m, 4H), 7.50(m, 1H)
<i>p</i> -Br	158—160	3.22(m, 2H), 5.00(m, 1H), 5.32(s, 2H), 6.29(m, 1H), 6.98—7.50(m, 5H)
1,2-PNAH <i>p</i> - CH_3	114—116	2.36(s, 3H), 4.63(s, 2H), 5.16(m, 1H), 5.40(s, 2H), 6.66—7.19(m, 6H)
H	113—115	4.65(s, 2H), 5.19(m, 1H), 5.40(s, 2H), 6.69(m, 1H), 6.80(m, 1H), 7.06—7.40(m, 5H)
<i>p</i> -Cl	131—133	4.60(s, 2H), 5.23(m, 1H), 5.42(s, 2H), 6.66(m, 1H), 6.75(m, 1H), 6.95—7.23(m, 4H)
<i>p</i> -Br	141—143	4.60(s, 2H), 5.24(m, 1H), 5.42(s, 2H), 6.65(d, 1H), 6.75(d, 1H), 6.89—7.46(m, 4H)

1.3 反应热和动力学参数(k_2)的测定

烟酰胺辅酶模型物与吡啶正离子反应热在 CSC4200 等温滴定量热仪上测定, 具体方法见文献[6]. 动力学参数在无水乙腈中测定, 具体方法见文献[6].

2 结果与讨论

2.1 两类模型物还原 AcrH^+ 的热力学比较

热力学数据列于表 2. 由表 2 可以看出, 1,2-二氢 NADH 模型物和 1,4-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 的反应均为放热反应, 而且随取代基由供电子基转变为拉电子基反应热逐渐减小. 同时, 比较相同取代基的反应热发现, 1,2-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 的反应热要比相应的 1,4-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 的反应热大 3.3~6.3 kJ/mol, 说明在反应中, 1,2-二氢模型物负氢转移热力学驱动力要大于 1,4-二氢模型物.

Table 2 Second-rate-constants(k_2), activation parameters and reaction heat of the reactions of the 1,4-dihydro-PNAH and the 1,2-dihydro-PNAH with AcrH^+ in dry acetonitrile

NADH		$k_2/(\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1})^a$					Activation parameter			Reaction heat
		20 $^\circ\text{C}$	25 $^\circ\text{C}$	30 $^\circ\text{C}$	35 $^\circ\text{C}$	40 $^\circ\text{C}$	ΔH^\ddagger ^b	$-T\Delta S^\ddagger$ ^c	ΔG^\ddagger ^d	ΔQ_{rxn} ^e
1,4-PNAH	<i>p</i> - CH_3	6.86	8.35	9.83	11.6	12.8	22.8	45.3	67.9	60.0
	<i>p</i> -H	3.59	4.62	5.53	6.30	7.18	24.1	45.3	69.6	50.3
	<i>p</i> -Cl	1.27	1.66	1.93	2.29	2.75	26.5	45.3	72.1	44.0
	<i>p</i> -Br	1.22	1.57	1.83	2.20	2.59	26.5	45.0	72.1	45.3
1,2-PNAH	<i>p</i> - CH_3	5.13	6.00	6.71	7.76	8.35	16.3	52.4	68.7	63.3
	<i>p</i> -H	3.05	3.63	4.22	4.49	5.18	16.9	52.8	70.0	56.6
	<i>p</i> -Cl	0.86	1.02	1.12	1.39	1.47	18.6	54.5	72.9	49.0
	<i>p</i> -Br	0.88	1.02	1.15	1.38	1.50	18.4	54.5	72.9	51.1

a. Measured in dry acetonitrile; *b.* ΔH^\ddagger is derived from Eyring plot of $\ln(k_2/T)$ vs. the reciprocal of the absolute temperature($1/T$), the unit is $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; *c.* ΔS^\ddagger is derived from intercept of the Eyring plots of $\ln(k_2/T)$ vs. the reciprocal of the absolute temperature($1/T$), the unit of $-T\Delta S^\ddagger$ is $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; *d.* calculated from the equation $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$, the unit is $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; *e.* measured in dry acetonitrile, the unit is $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

2.2 两类模型物还原 AcrH^+ 的动力学比较

比较反应活化参数(表 2)发现, 虽然 1,2-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应的活化焓小于 1,4-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应活化焓, 但 1,2-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应活化自由能要大于 1,4-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应活化自由能, 这说明在动力学上 1,2-二氢 NADH 模型物转移负氢给吡啶正离子不利于 1,4-二氢 NADH 模型物. 1,2-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应的 $-T\Delta S^\ddagger$ 数值远大于 1,4-二氢 NADH 模型物与 AcrH^+ 反应的 $-T\Delta S^\ddagger$ 数值, 说明 1,2-二氢模型物转移负氢给吡啶正离子动

力学位阻大. 因此, 较小的空间位阻使 1,4-二氢烟酰胺较 1,2-二氢烟酰胺有更大的负氢转移动力学优势.

图 1 是两类负氢离子转移反应逆反应热力学参数和动力学参数比较图. 从图 1 可以清楚地看出, NAD^+ 模型物转变成 1,2-二氢模型物较转变成 1,4-二氢模型物在热力学上需要提供更多的外界热量, 在动力学上需要克服更高的活化能垒. 因此, 从 NAD^+ 模型物还原生成 1,2-二氢模型物的过程是动力学和热力学都不利的过程.

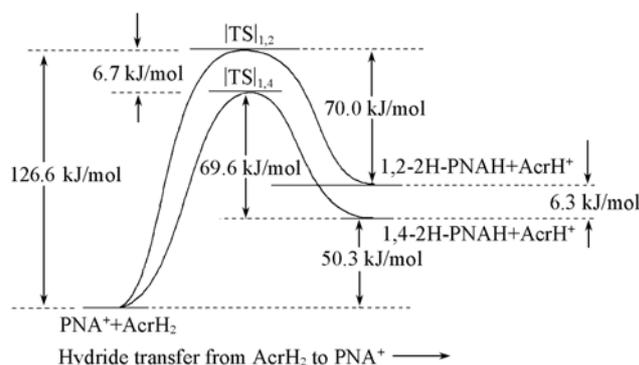


Fig. 1 Reaction coordinate diagram of the hydride transfer from AcrH_2 to the 4-position and the 2-position of PNA^+

参 考 文 献

- [1] Campbell M. K. . Biochemistry, 2nd Ed. [M], London: Saunders College Publishing, 1995: 285—290
- [2] Rydstrom J., Hoeck L. Ernster. Nicotinamide Nucleotide Transhydrogenase in the Enzymes, Vol. XIII [M], New York: Academic Press, 1976: 76—98
- [3] LU Yun(鲁云), CHENG Jin-Pei(程津培), WANG Hong-Xing(王洪星), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 1996, **17**(5): 731—734
- [4] LU Yun(鲁云), XIAN Ming(鲜明), CHENG Jin-Pei(程津培), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 1999, **20**(1): 59—63
- [5] Almarso Ö., Sinha A., Gopinath E., *et al.*. J. Am. Chem. Soc. [J]. 1993, **115**: 7093—7102
- [6] Zhu X. Q., Cao L., Liu Y., *et al.*. Chem. Eur. J. [J], 2003, **9**: 3937—3945
- [7] JIAO Xiao-Yun(焦晓云), ZHANG Ming-Tian(章名田), ZHU Xiao-Qing(朱晓晴), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2008, **29**(6): 1145—1148

Thermodynamics and Kinetics Superiorities of 1,4-Dihydronicotinamide as the Activation Center of NADH

JIAO Xiao-Yun, TAN Yue, ZHU Xiao-Qing*, CHENG Jin-Pei

(State Key Laboratory of Elemento-organic Chemistry, Department of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Two series of substituted phenyl-1,4-dihydronicotinamide and their 1,2-dihydroisomers as NADH models were synthesized. The reaction heats and activation parameters of the hydride transfer from the NADH models to *N*-methylacridinium cation were determined. The results show that the thermodynamic driving force of the hydride transfer from the 1,2-dihydro-NADH models is larger than that of the hydride transfer from the corresponding 1,4-dihydro-NADH models, but the former has quite large positive activation entropy change, which makes the activation free energy change of the former reactions become higher than that of the latter reactions. When the thermodynamics and kinetics on the hydride reverse transfers were examined, the results show that neither thermodynamics nor kinetics are favorable for the hydride transfer to the 2-position of the PNA^+ , the main reason is that the hydrogen atom has larger steric hindrance at 2-position than that at the 4-position.

Keywords 1,4-Dihydro NADH models; 1,2-Dihydro NADH models; *N*-Methylacridinium cation; Hydride transfer reaction; Thermodynamics; Kinetics

(Ed.: H, J, Z)