

网络出版时间: 2015-12-30 14:38 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20151230.1438.064.html>

◇ 经验与体会 ◇

铁卟啉与 O_2 、 N_2 、 NO 结合后的金属自旋状态分析

马 磊, 刘 述, 徐金勇, 李光武

摘要 通过半经验量子化学计算软件 MOPAC2012 研究血红蛋白中铁卟啉与 3 种气体分子 O_2 、 NO 和 N_2 在低、中、高 3 种自旋状态下的结合作用, 计算体系中的基本机构参数和总能量变化, 分析自旋状态在血红蛋白中结合气体分子的作用。铁卟啉结合 O_2 分子时, 在高自旋状态时结合能最低, 为 -96.19 kJ/mol; 结合 N_2 分子时, 在低自旋状态时结合能最低, 为 -48.87 kJ/mol; 结合 NO 分子时, 在低自旋状态时结合能最低, 为 -85.60 kJ/mol。

关键词 铁卟啉; 结合作用; 自旋状态; 量子化学计算

中图分类号 O 621.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)01-0134-04

铁卟啉环结构分子在生物体内血红蛋白运输 O_2 和 CO_2 起着至关重要的作用, 是一种重要的生物载体, 关于其载氧机制的研究正在不断深入, 目前大多数采用拉曼光谱和荧光分光光度法等实验方法^[1], 为进一步研究, 金属自旋状态是实验过程中所不能回避的问题, 通过实验手段很难分析铁卟啉环与气体分子结合的金属自旋状态^[2], 而通过量子化学计算方法却可以准确、直观地解决这个问题。Abdurahman et al^[3] 在 2009 年成功建立了铁卟啉与多种气体分子结合的量子化学体系, Mara et al^[4] 在 2013 年对铁卟啉与 O_2 结合体系进行了量子化学计算, 均发现铁卟啉环复杂的自旋状态对气体分子结合作用起着巨大影响。该研究选取了大气层中最常见的 3 种气体分子 (O_2 、 N_2 、 NO) 进行研究, 通过量子化学理论计算血红蛋白中铁卟啉与 O_2 、 NO 和 N_2 3 种气体分子在低、中、高 3 种自旋状态下的结合能, 分析其金属自旋状态, 为体内血红蛋白结合气体研究提供新的指导。

1 材料与方法

1.1 铁卟啉结构优化 本研究选用的血红蛋白晶

体为氧化性人血红蛋白 (PDB 编号: 1HHO), 在人体内广泛存在, 参与许多重要的生理过程。从蛋白晶体数据库 (www.rcsb.org) 中下载整个晶体结构, 1HHO 晶体由 α 链和 β 链组成, 使用 MAESTRO 软件 (Schrodinger 公司提供的建模软件) 打开导入气体分子结构的 1HHO 晶体 α 链, 利用软件自身所带的蛋白质优化模块对整个 α 链进行氢原子补充, 接下来拆开金属键和纠正金属元素的价态和周边原子的价态, 然后给整个体系施加 OPLS-2005 分子力场, 其中收敛性判定准则参数限制在 0.05 以内, 直到所有非氢原子位置参数误差在均根方差值 $0.3 \text{ \AA}$ 内, 再以亚铁离子为中心, 选取距离亚铁离子直线距离 $8 \text{ \AA}$ 的所有氨基酸作为新的计算体系 (图 1)。这个体系的总原子数是 414 个, 满足接下来量子化学计算的条件。

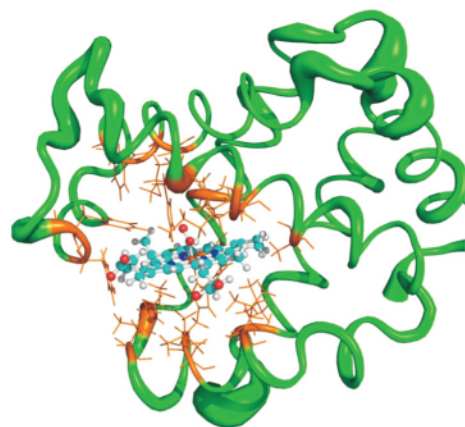


图 1 1HHO α 链上缩减后的计算体系

绿色部分是 1HHO 整条 α 链, 而橙色部分是缩减后的计算体系, 其中 FeP 用的是球棍模型显示, 而周边的氨基酸则用的是线条显示。

1.2 铁卟啉自旋状态设定 在血红蛋白铁卟啉环中心的铁原子通常是有 6 个配位键, 其中 4 个与 4 个吡咯环的氮原子相连接, 另外 2 个分布在垂直于卟啉环平面的轴上, 分别在卟啉环平面的上下, 铁原子在这个 α 链是处于亚铁离子状态, 这个亚铁离子可能存在 3 种不同的自旋多重度, 分别是低自旋 (S

2015-10-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (编号: 81000589)

作者单位: 安徽医科大学神经生物学研究所, 合肥 230032

作者简介: 马 磊, 男, 硕士研究生;

李光武, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: guang-wuli@sina.com

$=1/2$)、中自旋($S=3/2$)和高自旋状态($S=5/2$)下^[9],所以本计算体系采用体系总价态+2价,自旋多重度分别处于3种自旋多重度进行计算。

1.3 量子化学计算 利用半经验量子化学计算软件MOPAC2012的PM7方法对优化后的计算体系分别在3种自旋多重度下进行计算,整个计算体系电荷设置为+2价,其他设置参数都设为默认参数^[9],为了比较计算结果的准确性,同时采用MOPAC2012下的PM6方法采用同样的参数进行同样的计算。统计总计算体系下的结构参数,包括Fe原子到气体分子的直线距离(d_X)、Fe原子到4个氮原子的距离平均值(d_{Fe-4N})、Fe原子的原子电荷(q_{Fe})和体系总能量(E_{FePX})。所有的电荷分析都用自然轨道理论(natural bond orbital,NBO)电荷进行分析。

利用上述计算方法分别计算FeP和单个气(味)体分子体系的能量,根据能量守恒定律,计算体系总结合能公式: $E_{bind} = E_{FePX} - (E_{FeP} + E_X)$,其中 E_{FeP} 指的是FeP体系的总能量, E_X 指的是单个分子体系的总能量。

2 结果

2.1 铁卟啉环与3种气体分子结合体系的位置参数 总计算体系下的结构参数见表1,其中不难看出,整个PM7算法的精确度和稳定性明显高出了PM6算法。

2.2 金属卟啉环与3种气体分子结合体系的结合能 通过计算铁卟啉在没有结合任何气体分子的时候,处于低自旋状态体系总能量为-42.51 kJ/mol,处于中自旋状态体系总能量为-38.62 kJ/mol,处于高自旋状态体系总能量为-22.13 kJ/mol。金属卟啉环与3种气体分子结合体系的不同自旋多重度下结合能见表2。

表1 金属卟啉环与3种气体分子结合体系的位置参数

项目	PM7			PM6		自旋度	
	$d_X(\text{Å})$	$d_{Fe-4N}(\text{Å})$	q_{Fe}	$d_X(\text{Å})$	$d_{Fe-4N}(\text{Å})$	q_{Fe}	M_s
FePO ₂	1.655 9	1.983 4	1.151 6	2.047 5	1.966 4	1.197 6	2
	1.655 9	1.983 4	1.282 0	1.663 1	1.985 1	1.034 6	4
	1.655 9	1.983 4	1.354 4	1.655 9	1.983 4	1.197 6	6
FePN ₂	1.720 1	1.996 9	1.421 0	1.790 9	1.979 0	1.157 1	2
	1.655 9	1.983 4	1.319 5	1.662 2	1.978 8	1.162 1	4
	2.108 5	1.970 1	1.209 9	1.892 1	1.972 2	1.224 2	6
FePNO	1.815 9	1.995 7	1.169 5	1.655 9	1.983 4	0.994 2	1
	1.655 9	1.983 4	1.356 5	1.704 1	1.982 2	1.294 2	3
	1.655 8	1.983 6	1.369 6	1.676 7	1.982 4	1.125 8	5

表2 金属卟啉环与3种气体分子结合体系的不同自旋多重度下结合能

FePX	$E_{bind}(\text{kJ/mol})$		自旋度
	PM7	PM6	
FePO ₂	-93.60	109.75	2
	93.01	-59.54	4
	-96.19	-199.91	6
FePN ₂	-48.87	41.92	2
	-48.79	47.57	4
	-29.54	38.58	6
FePNO	-85.60	-80.79	1
	-51.34	-66.48	3
	-77.66	-58.53	5

2.3 金属卟啉环与不同气体分子在PM7计算方法下的结合图 根据表1的结果分析得知,PM7计算方法在计算精确度与稳定性上明显高于PM6计算方法,同时根据表2的能量值来看,不同自旋多重度下最低能量值的体系是最稳定的体系,也是最有可能存在体内的体系,O₂与金属卟啉环在 $M_s=6$ 自旋多重度下结合体系总能量最低(图2A),NO与金属卟啉环在 $M_s=1$ 自旋多重度下结合体系能量最低(图2B),N₂与金属卟啉环在 $M_s=2$ 自旋多重度下结合体系能力最低(图2C)。

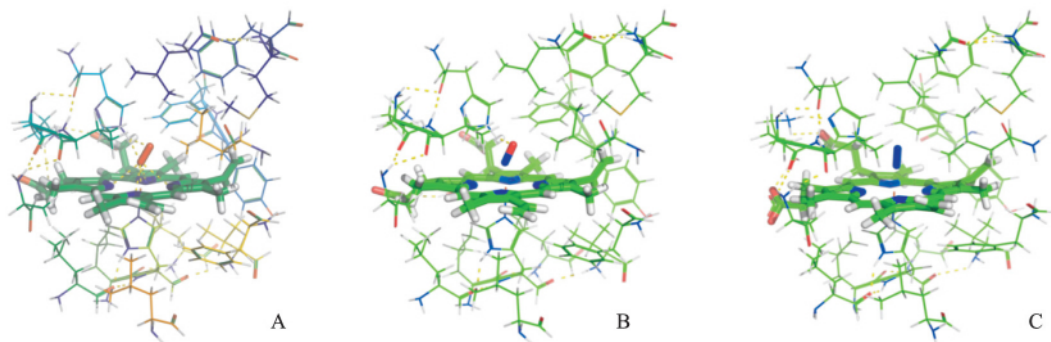


图2 金属卟啉环与不同气体分子结合图

金属卟啉环和气体分子使用杆状结构显示,周边氨基酸使用线状结构显示。A: O₂与金属卟啉环在 $M_s=6$ 自旋多重度下连接图; B: NO与金属卟啉环在 $M_s=1$ 自旋多重度下连接图; C: N₂与金属卟啉环在 $M_s=2$ 自旋多重度下连接图。

3 讨论

通过在表 1 中 FePO_2 的 PM7 算法下结构参数中可以看出,无论在何种自旋多重度下,Fe 原子到 O_2 的键长都是 $1.655\ 9\ \text{\AA}$, Fe 原子到 4 个氮原子的平均距离也都是 $1.983\ 4\ \text{\AA}$,这两组数据说明铁卟啉与 O_2 分子在低、中、高 3 种自旋多重度下结合位置角度都是一致的。检索过去的血红蛋白晶体研究^[7] 数据显示,血红蛋白中铁卟啉与 O_2 结合时,Fe 原子到 O_2 的键长是在 $1.65\ \text{\AA}$ 到 $1.66\ \text{\AA}$ 之间,Fe 原子到 4 个氮原子的平均距离是 $1.99\ \text{\AA}$ 。图 2A 中显示了 FeP 与 O_2 结合模式图,从图中可以看出 O_2 与亚铁离子直接形成角度为 60° ,这也与之前文献^[8] 报道的结果一致,PM7 算法的结果非常符合这 3 项数据,充分说明了 PM7 算法下 FeP 与 O_2 结合的精确性,而 PM6 计算结果却出现了很大的偏差,只有在高自旋时候的计算结果才符合之前的研究数据,单纯从这两项数据对比就能证明 PM7 算法精确性和稳定性高于 PM6 算法,这也为接下来的 PM7 算法的结果准确性做出了解释。

在铁卟啉与 O_2 结合体系下,根据表 2 中所列的结合能数据可以看出,在反应体系处于高自旋状态下,总体系的结合能最低,这个最低能值直接说明着铁卟啉与 O_2 结合最有可能是处于高自旋状态下发生的。值得注意的是,铁卟啉与 O_2 在低、中、高 3 种自旋态下的结合能差异很小,差值都在 $4\ \text{kJ/mol}$ 以内,而先前研究^[9] 报道,在没有其他氨基酸存在于体系中时,铁卟啉与 O_2 结合最低能是处于高自旋状态。这说明铁卟啉与 O_2 结合反应最可能是处于高自旋状态下发生的。

在铁卟啉与 N_2 结合体系下,根据 PM7 算法的结果,总体系的结合能最低能值是处于低自旋状态下,对比低、中、高 3 种自旋多重度下的结合能可以发现明显的差异,说明铁卟啉与 N_2 最有可能发生结合反应是发生在低自旋状态下。根据图 2C 的结合模式图和表 1 中结构数据可以得出, N_2 分子在结合体系中是垂直于铁卟啉平面的,并且 N_2 分子相对于铁卟啉平面有 $0.0642\ \text{\AA}$ 的外移,这说明铁卟啉在分别结合 O_2 和 NO 时体系结构是不一样的。

铁卟啉的金属自旋状态影响铁卟啉环与 3 种气体分子的结合作用,目前通过实验手段很难获取铁卟啉环与气体分子结合的金属自旋状态,利用量子化学计算方法可以定量分析其金属自旋状态。本研究表明,铁卟啉结合 O_2 分子时最低能级是处于高自旋状态,结合 NO 和 N_2 分子时最低能级是处于低自旋状态,对比与没有结合任何气体分子时的铁卟啉的自旋状态可以得出,虽然空气中 N_2 含量高于 O_2 含量,但体内血红蛋白优先结合 O_2 。

(本工作受中国科学技术大学超级计算中心支持)

参考文献

- [1] Reynolds M F, Parks R B, Burstyn J N, et al. Electronic absorption, EPR, and resonance raman spectroscopy of CooA, a CO-sensing transcription activator from *R. rubrum*, reveals a five-coordinate NO-heme [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(2): 388–96.
- [2] Samanta S, Das P K, Chatterjee S, et al. O_2 reduction reaction by biologically relevant anionic ligand bound iron porphyrin complexes. [J]. *Inorg Chem*, 2013, 52(22): 12963–71.
- [3] Abdurahman A, Renger T. Density functional studies of iron-porphyrin cation with small ligands X (X: O, CO, NO, O_2 , N_2 , H_2O , N_2O , CO_2) [J]. *J Phys Chem A*, 2009, 113(32): 9202–6.
- [4] Mara M W, Shelby M, Stickrath A, et al. Electronic and nuclear structural snapshots in ligand dissociation and recombination processes of iron porphyrin in solution: a combined optical/X-ray approach [J]. *J Phys Chem B*, 2013, 117(45): 14089–98.
- [5] 张建坡. 过渡金属配合物激发态和光谱性质的量子理论研究: Os 配合物 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [6] Stewart J J. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters [J]. *J Mol Model*, 2013, 19(1): 1–32.
- [7] 赵艳丽, 许炎, 李遥洁, 等. 量子化学在金属配合物中的应用进展 [J]. *广东化工*, 2010, 37(9): 70–2.
- [8] Ugalde J M, Dunietz B, Dreuw A, et al. The spin dependence of the spatial size of $\text{Fe}(\text{II})$ and of the structure of $\text{Fe}(\text{II})$ -porphyrins [J]. *J Phys Chem A*, 2004, 108(21): 4653–7.
- [9] Bao X, Nie X, Deak D V, et al. A first-principles study of the role of quaternary-N doping on the oxygen reduction reaction activity and selectivity of graphene edge sites [J]. *Top Catal*, 2013, 56(18–20): 1623–33.

网络出版时间: 2015-12-30 14:38 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20151230.1438.066.html>

内镜黏膜下剥离术治疗食管早癌及癌前期病变

王业涛, 张明黎, 张开光, 宋继中, 叶飞, 王巧民

摘要 采用内镜黏膜下剥离术(ESD)治疗食管早癌及癌前期病变的患者65例,其中64例成功切除,1例发生穿孔,60例整块切除,58例完整切除。术中发现卫星灶16例,术后病理较术前病理明显进展20例,其中发现早癌8例,术后狭窄4例。ESD是治疗食管早癌及癌前期病变的微创、较安全、有效的治疗方法,而且能获得准确的病理资料,可更好地评估病情。

关键词 食管早癌; 食管癌前期病变; 内镜黏膜下剥离术; 卫星灶

中图分类号 R 735.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)01-0137-03

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一,早期不易被发现,且针对癌前期病变,外科建议长期随访,直到确诊癌变才行手术治疗。食管早癌及癌前期病变内镜下缺乏典型性,且常规活检不能完全准确评估病情,这个过程中给就诊的患者带来了巨大的心理

压力,且一旦癌变,外科开胸手术创伤大,术后并发症较多,术后生活质量较差,所以食管早癌及癌前期病变的内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)以微创、根治性疗效的优势给患者带来最大利益。该研究通过分析65例食管早癌及癌前期病变患者取得较好的治疗效果,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择安徽医科大学附属省立医院2011年3月~2014年10月65例食管早癌及癌前期病变的患者,其中男39例,女26例,年龄46~75岁,中位年龄55岁。所有病例均经超声内镜(EUS)检查病变位于黏膜层及黏膜下层浅层,固有肌层未受侵犯。所有病例均行胸部或腹部增强CT检查,未见局部及全身淋巴结转移。所有患者术前均签署手术知情同意书,并告知手术可能获益及存在风险。

1.2 主要仪器 使用的内镜型号为Olympus GIF-Q260J电子胃镜、超声系统。超声探头为Olympus UM-2R和UM-3R,频率分别为12 MHz和20 MHz。

1.3 方法

1.3.1 ESD操作方法 ①染色:食管用3%的卢戈液,使病变边界更加清晰。②标记:用APC氩气探头在距离病变边缘0.3~0.5 cm处做点状环形电凝

2015-10-22 接收

基金项目: 安徽省卫生厅医学科学研究计划重点项目(编号: 2010A007)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院消化内科,合肥 230001

作者简介: 王业涛,男,主治医师;

王巧民,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: wqmin928@163.com

Analysis of metal spin state between iron porphyrins with O₂, N₂, NO

Ma Lei, Liu Shu, Xu Jinyong, et al

(Dept of Neurobiology and Anatomy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract To investigate the binding modes between iron porphyrins and the three kinds of gas molecules, O₂, NO and N₂ in the hemoglobin, analyze the influence on the binding modes by three spin states (low, medium, high spin states) of the three gas molecules. Using semi-empirical quantum chemistry calculation software MOPAC 2012, parameters were tuned and the binding free energy was calculated. When the iron porphyrin was combined with O₂, the binding energy was lowest in the high spin state, which was -96.19 kJ/mol; combined with N₂, the binding energy was -48.87 kJ/mol in the low spin state; combined with the NO, the binding energy was -85.60 kJ/mol in the low spin state.

Key words iron porphyrins; binding interaction; spin state; quantum chemical calculation