

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.27.043

· 专论与综述 ·

细胞色素 P450 催化二甲基亚硝胺 C-H 键羟基化机理的理论研究进展*

郭瑞杰 张 然 刘婷婷 赵丽娇[△] 钟儒刚

(北京工业大学生命科学与生物工程学院 北京 100124)

摘要:细胞色素 P450 是广泛存在于哺乳动物微粒体和线粒体内的一类亚铁血红素—硫醇盐蛋白的超家族。它参与内源性物质和包括药物、环境化合物在内的外源性物质的代谢。其代谢机理引起人们的极大关注,同时也存在诸多挑战。通过对不同底物代谢机理的研究有助于人们深入认识 P450 的结构及其催化机理,还可以为物质的体内代谢提供理论指导。本文主要对 P450 的催化氧化机制,二甲基亚硝胺在细胞色素 P450 作用下的代谢机理研究进展及 P450 的活性氧化物等方面的研究进行了综述。

关键词:细胞色素 P450;二甲基亚硝胺;催化机理;羟基化;进展

中图分类号:Q591;R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)27-5356-05

Progresses of NDMA C-H Bond Hydroxylation Mechanisms Catalyzed by Cytochrome P450*

GUO Rui-jie, ZHANG Ran, LIU Ting-ting, ZHAO Li-jiao[△], ZHONG Ru-gang

(School of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing, 100124, China)

ABSTRACT: Cytochrome P450 was a class of heme-thiolate protein superfamily, which widely found in microsomes and mitochondria of living mammalian. It can catalyze the metabolism reaction, includes endogenous compounds and also exogenous compounds like medicine and environment chemicals. The mechanisms has driven a great deal of attention, while there are still many challenges. Research on NDMA C-H metabolism mechanism will help people deeply understand the structure of P450 and its catalytic mechanism. In this paper the catalytic mechanism of P450, the catalysed hydroxylation mechanism of N, N-dimethylnitrosamine and the reactive oxygen species are reviewed.

Key words: Cytochrome P450; NDMA; Mechanism; Hydroxylation; Progress

Chinese Library Classification: Q591; R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)27-5356-05

1 引言

细胞色素 P450 蛋白酶(CYP450)是广泛存在于哺乳动物微粒体和线粒体内的一类亚铁血红素—硫醇盐蛋白的超家族。1958 年, Klingenberg^[1]在研究大鼠肝脏微粒体组分所含色素的光谱性质时,发现向微粒体稀释液加入一种还原剂—连二硫酸钠以后,在通入一氧化碳,就有一种独特的吸收光产生,其最大吸收值为 450 nm。1964 年 Omura 和 Sato^[2]表明这种与 CO 结合的微粒体染料分子具有血红蛋白属性,并且在文献中首次建议将这种蛋白称为“细胞色素 P450”。细胞色素 P450 根据蛋白质的氨基酸序列及其同源性将其分为多个家族、亚家族,主要有 CYP1、CYP2、CYP3、CYP4 等几个家族。

P450 在生物体内可参与众多类型的化学反应,其中一类重要的反应即是化合物 C-H 基团的羟基化反应,此外还可以催化烯烃的双键环氧化、N-脱烷基、O-脱烷基、N-氧化、S-氧化、脱氨基、硝基还原、芳香烃氧化反应等^[3-6]。P450 的活性中心

由一个铁离子与原卟啉 IX 和两个轴向配体络合而成,近端的是半胱氨酸(Cys357)上的巯基,末端是可变配体,通常是与底物结合的部位,也是氧化还原搭配结合部位。在化学反应过程中,通过末端配体的变化,实现 P450 的氧化还原过程^[7]。通过 P450 的催化氧化,外来的亲脂化合物获得极性基团,增加水溶性,从而易于通过肾脏和胆汁代谢,实现人体中的解毒功能。而一些外源性的环境化合物如 N-亚硝胺等由于其结构相对稳定,本身致癌活性相对较弱,但在体内经过 P450 催化氧化羟基化过程后,毒性增加,氧化羟基化产物与 DNA 共价结合或交联后引起 DNA 链的断裂,进而引起基因突变导致细胞癌变^[8,9]。

化合物的氧化羟基化过程往往是启动化合物致癌作用的关键步骤,而 P450 则是催化化合物羟基化的主要反应酶系。通过 P450 的催化作用,使化合物变成潜在致癌物,进而继续分解代谢后产生致癌作用。通过对细胞色素 P450 的结构以及生理功能的模拟,可以用来解释化合物的氧化羟基化过程,并且可以预测其致癌作用机制,本文将对 P450 的催化反应机制以及

* 基金项目:国家自然科学基金项目(21277001)

作者简介:郭瑞杰(1987-),男,硕士研究生,主要研究方向:量子生物学

[△] 通讯作者:赵丽娇,电话:010-67391667, E-mail: zhaolijiao@bjut.edu.cn

(收稿日期:2013-09-19 接受日期:2013-10-16)

二甲基亚硝胺(NDMA)的氧化羟基化过程进行综述。

2 细胞色素 P450 的催化氧化反应机制

P450 催化的反应主要是通过电子传递系统,将分子氧还原,并将其中的一个氧原子插入到底物中。反应中需要细胞色素 P450 还原酶 (NADPH) 参与,后者通过 2 个辅基 FAD 和 FMN,从 NADPH 转移 2 个电子给不同的 P450 酶系。由细胞色素 P450 与 NADPH 组成的单加氧酶系能够催化多种内源、外源物在体内的氧化反应,使化学物质的活性或毒性、药物的药效发生变化,然后释放氧化的底物,P450 酶回到初始状态。以 RH 为例,P450 催化反应循环过程如图 1 所示。在细胞色素 P450 催化反应过程中,化合物 5 是很好的 Lewis 碱,很容易被质子化,质子化后产生正铁-过氧化羟基化合物 0 (Ferric-hydroperoxide complex),通常叫做化合物 0 (Compound 0, Cpd 0) (图 1 中 6)。Cpd 0 经过二次质子化后,O-O 键断裂脱去一分子水,生成铁氧复合物,即化合物 I(Compound I, Cpd I)(图 1 中 7)。Cpd 0 和 Cpd I 被认为是化合物氧化羟基化过程中的两个重要的活性中心物质,然而由于其反应活性太大,至今仍未被有效地观测到。

由于细胞色素 P450 在化合物的代谢过程中起着重要的作用, 化学家们针对其氧化羟基化机理进行了大量的理论研究, 并提出了几种不同的催化机理, 其中比较著名的两种机理是 Groves 等提出的“反弹机理”和 Newcomb 等提出的“双氧化剂

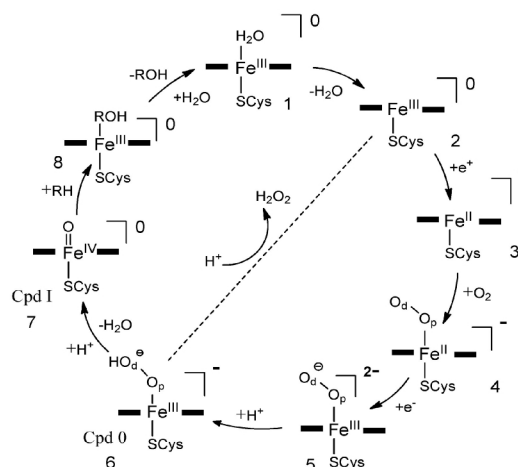


图 1 细胞色素 P450 催化氧化循环过程图^[10]
Fig. 1 The Catalysis Cycle of Cytochrome P450^[10]

机理”。Groves 等^[1]在研究烷烃 C-H 羟基化过程中提出烷烃的羟基化是通过一种“反弹机理”进行的。如图 2 所示,首先,烷烃靠近 P450 活性中心物质 Cpd I 的氧端 (图 2 中 1), 然后底物 C-H 键上一个氢原子被提取,使底物变成烷烃自由基(图 2 中 2);接着烷烃自由基回弹到新生成的羟配化合物 $\text{Por}^{\cdot+}\text{FeIII}(\text{OH})$ 中的氧原子上(图 2 中 3),然后形成羟基化的产物醇,并脱去。烷烃自由基形成后,若发生自由基重排,则形成的产物会丢失反应物的立体化学信息,形成重排的醇。

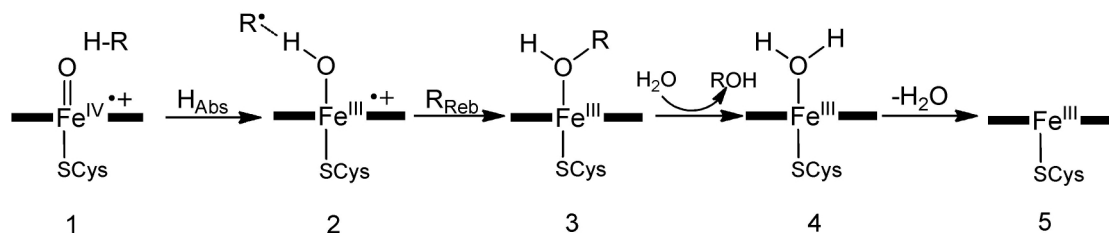


图 2 反弹机理反应过程图

Fig. 2 The “rebound mechanism” Reaction

Newcomb 等^[12]通过研究超快自由基时钟底物(radical clock)与碳阳离子时钟底物(carbocationic clock)发现,反弹机理中的中间体寿命时间太短(~100fs)以至于不能够捕捉到自由基的存在,对反弹机理提出了质疑,并在此基础上提出了与反弹机理有本质区别的双氧化剂机理(two-oxidant mechanism):在 P450 催化化合物羟基化反应中存在的两个活性物质 Cpd 0 和 Cpd I 在反应过程中竞争性的参与反应,如图 3 所示。Cpd I 在反应中采取协同插入氧原子的形式产生非重排的羟基化产

物,而 Cpd 0 则以插入 OH^+ 基团的形式生成重排的羟基化产物,两个反应相互竞争。由于反应过程中两种重要的活性中心物质均无法直接检测到,两种羟基化反应机理也无法得到验证,两种机理处于热烈讨论中,并被称作“反弹论战(rebound controversy)^[13]。

近年来,量子化学密度泛函理论(Density Functional Theory) 被广泛应用于细胞色素 P450 催化烷烃化合物 C-H 键氧化以及 C=C 键环氧化的研究中。Shaik 等^[14,15]以甲烷和乙烷作为

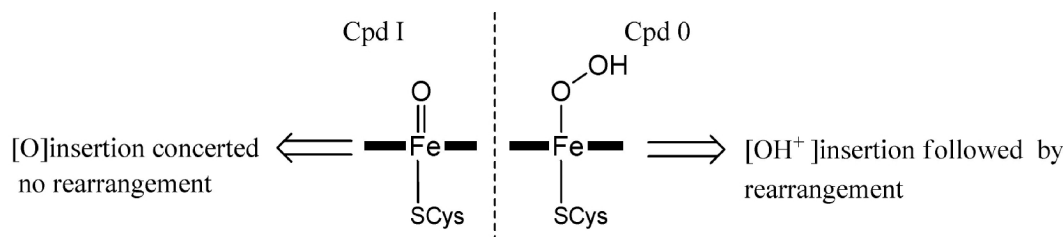


图 3 细胞色素 P450 的双氧化剂结构及其作用机制

Fig. 3 The two oxidation of P450 and the catalyze mechanism

底物模型使用 DFT 方法研究了 P450 活性中心物质 Cpd I 催化羟基化机理,提出了“双态反应性原理 (Two-State Reactivity, TSR)”。双态反应性原理认为 P450 催化 C-H 羟基化的反应主要具有两个特征:第一,C-H 基团的羟基化反应首先通过线性的 $C\cdots H\cdots O$ 过渡态生成烷基自由基,然后烷基自由基反弹到氧原子上与氧原子相结合后形成醇类化合物;第二,参与反应的活性物质 Cpd I 具有三个未配对电子,形成两个能量相近的简并四线态和二线态,因此,C-H 基团的羟基化反应可能存在两种能量接近的自旋态势能面,每个反应势能面上发生的反应可能不同。这个机理的提出调和了“反弹论战”中的相关争论,对于 P450 的研究做出了重要的贡献。Thiel 等^[16-18]采用 QM/MM (Quantum Mechanical/ Molecular Mechanic)的方法对一些结构更加复杂的底物模型来研究化合物 C-H 基团的羟基化机理,并对反应体系的生物环境进行了研究,提出水分子在化合物羟基化过程中起到了氢原子传递的作用,所得结论也支持双态反应性原理。Yoshizawa 等^[19]采用 DFT 的方法研究了配

体 L 对 P450 氧化羟基化的影响,认为配体 L 的给电子能力越强,氧化羟基化越容易进行。de visser 等^[20]用密度泛函理论总结了十多个不同的烷烃底物的反应特性来研究被 Cpd I 代谢的规律性,并建立了预测化合物羟基化代谢方式与 C-H 键能量之间的关系构效关系模型,结果表明 Cpd 0 在双键环氧化和磺化氧化的过程中是非常惰性的,而 Cpd I 可以作为绝大多数反应的催化剂,支持了双态反应性原理。Bach 等^[21-23]在研究烷烃类化合物的羟基化反应中,采用 Cpd 0 和 Cpd I 作为活性底物,对两种活性中心物质的催化氧化机理进行了比较,并提出了不同于双态反应性的另外一种机理,如图 4 所示:Cpd 0 首先经历一个重排过程产生氢氧自由基并与化合物 C-H 原子之间产生氢键(图 4 中 2),进而导致 C-H 键断裂;断裂后产生的氢原子与羟基自由基结合,产生一个水分子,然后水分子的氢氧键发生断裂,产生的氢氧自由基反弹到烷烃的碳原子上形成醇产物。本已得到初步统一的机理论战又增添了神秘面纱,引起了各界学者的新一轮的讨论。

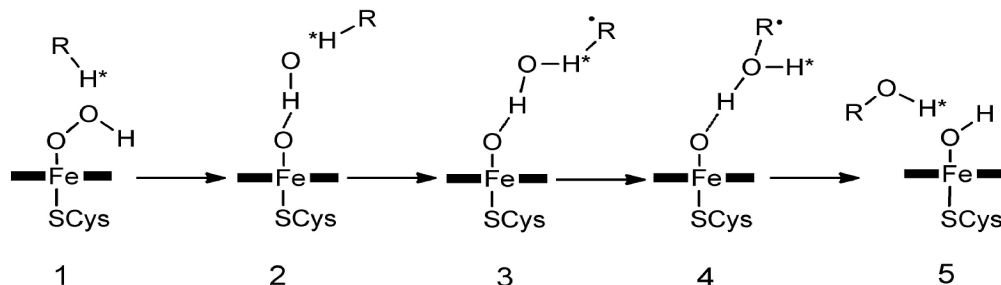


图 4 Cpd 0 参与的烷烃 C-H 基团羟基化反应机理图

Fig. 4 The Mechanism of Alkane C-H Group Hydroxylation Catalyzed by Cpd 0

3 P450 催化 N-亚硝胺代谢反应的机理

P450 可以催化众多的化合物(甾类,脂肪酸,醇类,胺类以及碳氢化合物)的 C-H 键的羟基化反应,以完成内源性和外源性物质的体内代谢。然而,在催化物质代谢过程中,也可能引发物质结构的转变,导致形成具有致癌活性的亲电性物质。其中,N-亚硝胺的代谢便是这样的例子。N-亚硝胺是一类重要的环境致癌物^[24],可以引起不同部位的恶性肿瘤,而针对 N-亚硝胺的羟基化代谢机理研究却很少有人涉及^[25]。目前比较清楚的代谢途径是,在细胞色素 P450 的催化氧化作用下,N-亚硝胺首先发生 α 羟基化反应,即与 N 原子紧密相连的碳原子首先发生羟基化,形成 α -羟基二烷基亚硝胺,随后在体内生理环境下分

解,变成醛和羟基偶氮化合物,羟基偶氮化合物进一步分解后形成羟基重氮化合物,羟基重氮化合物具有很高的亲电性,可以与水反应生成醇,而与 DNA 结合后,可以使 DNA 的碱基发生烷化作用形成 DNA 加合物,最终导致肿瘤的产生。Zhao 等^[26-29]采用 DFT 的方法研究了多种 N-亚硝胺代谢产物与 DNA 的交联作用,阐明了 N-亚硝胺代谢产物的致癌作用机理,然而 N-亚硝胺代谢初始步骤即 N-亚硝胺在 P450 作用下的羟基化机理仍然没有得到阐明。N-亚硝胺的体内代谢的完整过程及其代谢机制的阐明对于致癌活性的了解具有重要意义,有必要通过计算化学的方法模拟其体内代谢过程,进而通过实验的方法进一步进行阐明。

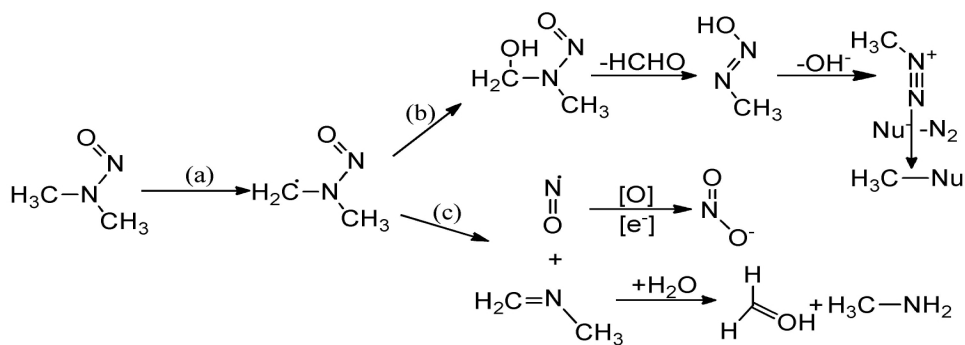


图 5 NDMA 代谢的反应机理图

Fig. 5 Major Metabolic Pathways of NDMA Catalyzed by P450

3.1 Cpd I 催化下 NDMA 的代谢机理过程的理论研究

Ji 等^[30]计算了 NDMA 在 Cpd I 作用下的代谢反应机理。NDMA 进入体内环境后,首先与 P450 发生反应,经过质子的传递过程,形成 α -亚硝基自由基($\cdot\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{NO}$)。NDMA 代谢的化学反应与动力学同位素效应 (KIE) 的测量数据表明^[30], α -H 转移到 P450 的铁原子上后, α -羟基化作用与脱亚硝基作用可以同时发生(如图 5 中路径 b 和路径 c 所示)。 α -亚硝基自由基形成后,NDMA 以两种自旋态进行下一步的代谢反应,在低自旋态(LS)下,反应过程中不需要越过能垒,可以迅速形成羟基化产物,而在高自旋态(HS)下,反应则需要越过一个较高的能垒,经历一个氧反弹的过程才能完成羟基化反应。从图 6 可以看出,NDMA 上的氢原子与 Cpd I 的氧原子通过氢键作用结合形成高自旋态(^4RC)和低自旋态(^2RC)的两种络合物,低自旋态下能量稍高于高自旋态(二者相差 0.5 kcal/mol),且氢原子的离去过程是此反应的限速步骤。 ^4RC 和 ^2RC 均经历反应能垒约为 16 kcal/mol 的过渡态(4TS_H 和 2TS_H),且过渡态结构中均有线性的 $\text{C}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ 结构,从 $\text{C}\cdots\text{H}$ 和 $\text{H}\cdots\text{O}$ 之间距离 (1.36vs1.29Å 和 1.19vs1.24Å) 可以发现,低自旋态下首先达到过渡态结构。这与烃类羟基化的代谢机理类似,都是由 TSR 支配^[31-33]。

3.2 Cpd 0 催化下 NDMA 的代谢机理过程的理论研究

图 7 为 Cpd 0 作用下 NDMA 的 C-H 羟基化代谢反应机理能垒图。由图中看出,Cpd 0 催化下的 NDMA 的羟基化机理与 Cpd I 催化机理类似,反应也经历了两个阶段。初始反应物经过 C-H 键的活化后,C-H 键断裂,氢原子发生转移,经过一个过渡态后形成自由基中间体,水分子充当桥梁左右。之后水分子中的一个氢原子与 Cpd 0 上的氧原子之间形成微弱的氢键作用,由于氢键不稳定,自由基吸引氧原子,使水分子发生翻转,水分子中 O-H 键的氧原子与自由基之间也形成一个氢键左右,形成一个反弹过渡态后自由基攻击水分子中的羟基,最

终形成羟基化产物。

反应初始阶段,高低自旋态下两种络合物参与反应,其中高自旋态下反应物能量略高。Cpd 0 上的 Fe-OOH 中的羟基与 NDMA 上的 α -H 之间产生氢键作用,跨过 ~24kcal/mol 的能垒后,形成自由基中间产物。在此过程中,Fe-O 之间的距离从 1.88Å 逐渐减小到 1.66Å,而 O-O 键之间距离逐渐增大发生断裂。NDMA 中 C-H 之间的距离从 1.09Å 增大到 1.22Å,过渡态 $2/4\text{TS}$ 中 O-H-O 之间形成 ~99 度左右的角。过渡态形成后,NDMA 中离去的氢原子与 O-H 中的 O 结合,形成一个水分子,水分的两个氢原子分别与 Fe-O 中的 O 以及 NDMA 的 C 形成微弱的作用同时水分子在氧原子与碳原子之间旋转,形成反弹过渡态,此时,水分子的一个氢原子反向外侧,氧原子与 NDMA 的碳原子之间距离缩小到 1.99Å,O-H 反弹到碳原子上,形成羟基化的产物。

对比 Cpd I 和 Cpd 0 催化 NDMA 羟基化的过程,可以发现,Cpd I 和 Cpd 0 在催化 NDMA 羟基化的过程中,都要经过氢原子的转移过程,形成过渡态,离去的氢原子分别与 Fe-O 中的氧原子以及 O-H 结合,之后都经过一个 OH 的反弹过程,反弹到 NDMA 的碳原子上完成羟基化。Cpd I 在催化 NDMA 羟基化过程中,低自旋态具有高度的选择性,这与烷烃羟基化反应过程也有类似之处,而 Cpd 0 催化 NDMA 羟基化过程中,其自旋选择性并不明显。反应物经过的氢原子的抽离形成过渡态的过程中,Cpd I 要翻越的能垒为 17 kcal/mol 左右,而 Cpd0 要翻越的能垒则为 24 kcal/mol 左右,此反应在理论上难以发生,两者羟基化的能垒均比烷烃羟基化所需最低能垒要高,可能是存在亚硝基的作用,其结构较为稳定不易分解。氢原子的抽离过程作为反应的限速步骤会直接关系到反应进行的难易程度,可见,在 NDMA 的羟基化过程中,Cpd I 更具有优势,而在体系中缺失 Cpd I 时 Cpd 0 则可以充当催化剂的角色来完成化合物的代谢分解。

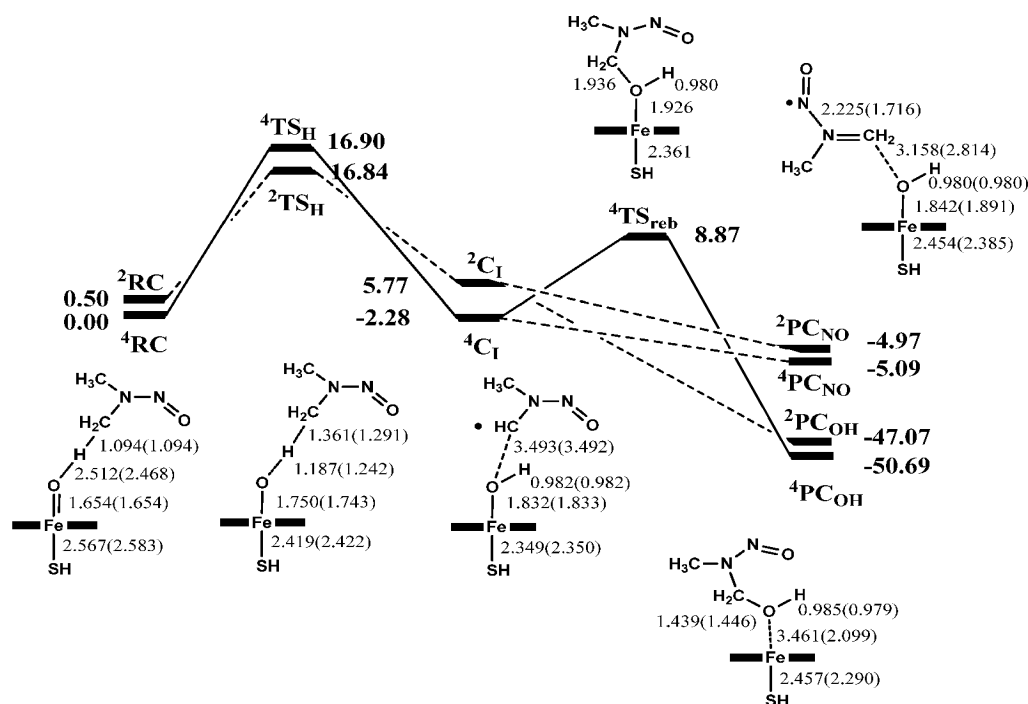


图 6 NDMA 在 Cpd I 作用下代谢的能量过程图及几何结构参数^[30]

Fig. 6 Free Energy Profiles and geometries of key species for the HS and LS α -Hydroxylation of NDMA by Cpd I^[30]

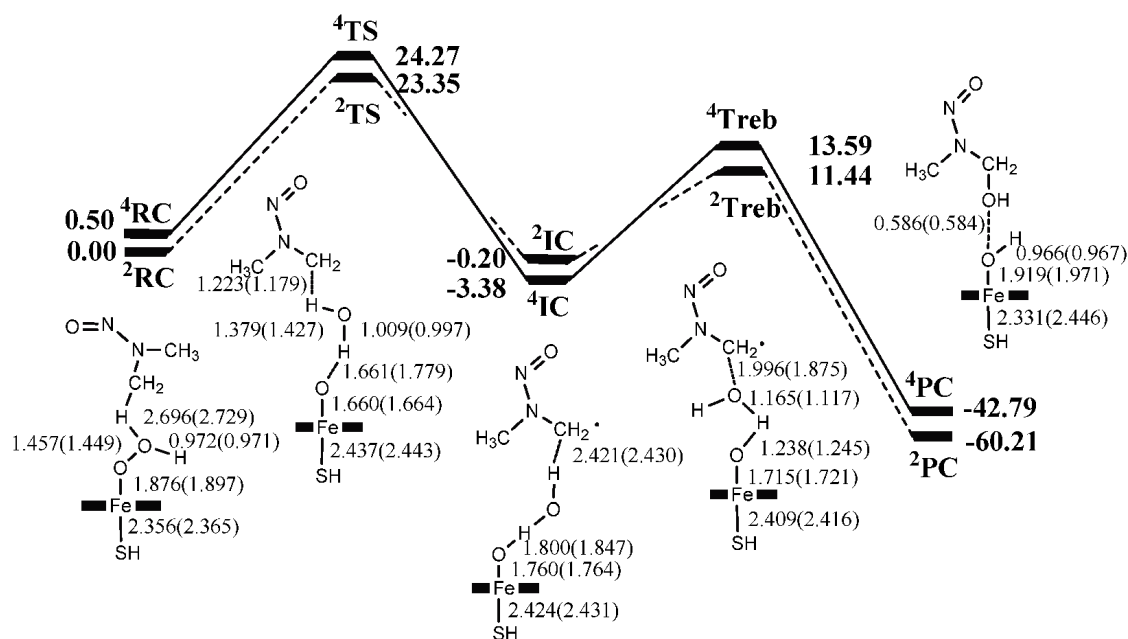


图 7 Cpd 0 作用下 NDMA 的 C-H 羟基化代谢反应中各关键点的结构及其参数(键长单位, Å; 键角单位, °)

Fig. 7 Free Energy Profiles and the geometries of key species for NDMA C-H hydroxylation catalyzed by Cpd 0(bond lengths in Å, angles in °)

4 结语

细胞色素 P450 在催化内源性和外源性化合物的代谢方面表现出重要的作用,引起了人们的广泛关注,更由于其在催化物质羟基化以及环氧化方面的独特机理,吸引人们的注意。P450 在催化物质代谢方面的机理受到了广泛关注并引起人们的热心讨论,但是存在诸多的问题仍然没有解决。

通过对细胞色素 P450 催化二甲基亚硝胺 C-H 键羟基化过程的机理研究,将有助于我们了解 P450 的催化机理,可以为 P450 催化机理的争论提供理论支持,还将对实验数据提供支撑。在 NDMA 的羟基化过程中,P450 的核心物质 Cpd I 显示了其优越性,Cpd I 可能是催化氧化 NDMA 体内代谢的催化剂。仅仅通过几种物质的代谢过程来推断 P450 的催化氧化机制显然证据不足,还需要通过对多种不同类型的化合物的研究才可以明确 P45 的催化过程,进而解决其相关争论。研究化合物经 CYP450 介导的生物转化机制,明确其代谢途径,对制定合理的临床用药方案、剂型设计、重大疾病预防以及新药开发工作都具有重要的指导意义。

参考文献(References)

- [1] Klingenberg M. Pigments of rat liver microsomes [J]. Arch Biochem Biophys, 1958, 75(2): 376-386
- [2] Omura T, Sato R. Carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes.1. Evidence for its hemoprotein nature [J]. J Biol Chem, 1964, 239(7): 2370-2378
- [3] Montellano de P. Cytochrome P450: Structure Mechanism and Biochemistry[M]. 2nd Ed. New York: Plenum Press, 1995
- [4] Guengerich F P, Macdonald T L. Mechanisms of cytochrome P450 catalysis[J]. Faseb, 1990, 4(8): 2453-2455
- [5] Guengerich F P. Cytochrome P450 and chemical toxicology [J]. Chem

Res Toxicol, 2006, 19(12):1679-1679

- [6] Rydberg P, Ryde U, Olsen L. Sulfoxide, sulfur, and nitrogen oxidation and dealkylation by cytochrome P450 [J]. J Chem Theory Compu, 2008, 4(8): 1369-1377
- [7] Poulos T L, Finzel B C, Gunsalus I C, et al. The 2.6-Å crystal-structure of pseudomonas putida cytochrome P450 [J]. J Biol Chem, 1985, 260(30): 6122-6130
- [8] Guengerich F P. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity [J]. Chem Res Toxicol, 2001, 14(6):611-615
- [9] 冷欣夫, 邱星辉 (Qiu X H). 细胞色素 P450 酶系的结构功能与应用前景[M].北京:科学出版社, 2001
- Leng Xin-fu, Qiu Xing-hui. Cytochrome P450: Structure, function and prospect[M]. Beijing Science Press, 2001
- [10] Meunier B, de Visser S P, Shaik S. Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes [J]. Chem Rev, 2004, 104(9): 3947-3980
- [11] Groves J T, Mcclusky G A. Aliphatic hydroxylation via oxygen rebound - oxygen-transfer catalyzed by iron [J]. J Am Chem Soc, 1976, 98(3): 859-861
- [12] Newcomb M, Letadic M H, Putt D A, et al. An incredibly fast apparent oxygen rebound rate-constant for hydrocarbon hydroxylation by cytochrome-P-450 enzymes [J]. J Am Chem Soc, 1995, 117(11): 3312-3313
- [13] Shaik S, Cohen S, de Visser S P, et al. The "Rebound controversy": An overview and theoretical modeling of the rebound step in C-H hydroxylation by cytochrome P450 [J]. European Journal of Inorganic Chemistry, 2004,(2):207-226
- [14] Shaik S, Cohen S, Wang Y, et al. P450 enzymes: Their structure, reactivity, selectivity-modeled by QM/MM calculations [J]. Chem Rev, 2010, 110(2): 949-1017

(下转第 5369 页)

108-116

Zhang Chun-jing, Gu Li-gang, Yu Hai-tao. Antagonism of Baicalin on Cell Cyclical Distribution and Cell Apoptosis in A549 Cells Infected with Influenza A (H1N1) Virus [J]. Chinese Journal of Virology, 2011, 27(2): 108-116

- [27] 吴莹, 金叶智, 吴珺, 等. 汉黄芩素对流感病毒感染肺泡巨噬细胞炎症相关因子的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(3): 533-538

Wu Ying, KIM Ye-ji, Wu Jun, et al. Effects of wogonin on inflammation-related factors in alveolar macrophages infected with influenza virus [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2011, 27(3): 533-538

- [28] 吴莹, 金叶智, 张舒, 等. 汉黄芩素对流感病毒感染肺泡巨噬细胞 NF- κ B 核转位及表达的影响及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 161-165

Wu Ying, KIM Ye-ji, Zhang Shu, et al. Effect and Mechanism of Wogonin on NF- κ B Nuclear Translocation and Expression in NR8383 Cells Infected by Influenza Virus [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(18): 161-165

- [29] Nayak MK, Agrawal AS, Bose S, et al. Antiviral activity of baicalin against influenza virus H1N1-pdm09 is due to modulation of NS1-mediated cellular innate immune responses [J]. J Antimicrob Chemother, 2014[Epub ahead of print]

(上接第 5360 页)

- [15] de Visser S P, Kumar D, Shaik S. How do aldehyde side products by cytochrome P450? Theory reveals a state-specific multi-state scenario where the high-spin component leads to all side products [J]. J Inorg Biochem, 2004, 98(7): 1183-1193

- [16] Senn, Hans M, Thiel W. QM/MM methods for biomolecular systems [J]. Angew Chem Int Edit, 2009, 48(7): 1198-1229

- [17] Wang D, Thiel W. The oxyheme complexes of P450cam: A QM/MM study [J]. J Mol Struct, 2009, 898(1): 90-96

- [18] Kumar D, Altun A, Shaik S, et al. Water as biocatalyst in cytochrome P450 [J]. J Phys Chem B, 2011, 115(9): 2097-2016

- [19] Kamachi T, Yoshizawa K. A theoretical study on the mechanism of camphor hydroxylation by compound I of cytochrome P450 [J]. J Am Chem Soc, 2003, 125(15): 4652-4661

- [20] Shaik S, Kumar D, de Visser S P, et al. Theoretical perspective on the structure and mechanism of cytochrome P450 enzymes [J]. Chem Rev, 2005, 105(6): 2279-2328

- [21] Bach R D, Dmitrenko O. The "sommersault" mechanism for the P-450 hydroxylation of hydrocarbons: the intervention of transient inverted metastable hydroperoxides [J]. J Am Chem Soc, 2006, 128 (5): 1474-1488

- [22] Bach R D, Dmitrenko O. Transient inverted metastable iron hydroperoxides in fenton chemistry. a nonenzymatic model for cytochrome P450 hydroxylation [J]. J Org Chem, 2010, 75 (11): 3705-3714

- [23] Bach R D. The rate-limiting Step in P450 hydroxylation of hydrocarbons: a direct comparison of the "Sommersault" versus the "Consensus" mechanism involving compound I [J]. J Phys Chem A, 2010, 114(34): 9319-9332

- [24] Lijinsky W. Chemistry and Biology of N-Nitroso Compounds [M]. Cambridge University Press. Cambridge, England, 1992: 22-53

- [25] Appel K E, Ruf H H, Schwarz M, et al. Binding of nitrosamines to

cytochrome P450 of liver-microsomes [J]. Chem Biol Interact, 1979, 28(1): 17-33

- [26] Bai B Q, Zhao L J, Zhong R G. Quantification of meCCNU-induced dG-dC crosslinks in oligonucleotide duplexes by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2011, 25(14): 2027-2034

- [27] Zhao L J, Zhong R G, She Y B. Ab initio study on the reactivity of non- α -metabolites of alkyl nitrosamines [J]. Acta Phys Chim Sin, 2005, 21(8): 883-887

- [28] Cao J, Zhao, L J, Jin S B, et al. Relationship between the molecular structure and the anticancer activity of N-(2-chloroethyl)-N'-cyclohexyl-N-nitrosoureas: a theoretical investigation [J]. Int J Quantum Chem, 2012, 112(3): 747-758

- [29] Zhao L J, Ma X Y, Zhong R G. Comparative theoretical investigation of the formation of DNA interstrand crosslinks induced by two kinds of N-nitroso compounds: nitrosoureas and nitrosamines [J]. J Phys Org Chem, 2012, 25(12): 1153-1167

- [30] Ji L, Schueurmann G. Computational Evidence for α -Nitrosamino Radical as Initial Metabolite for Both the P450 Dealkylation and Denitrosation of Carcinogenic Nitrosamines [J]. J Phys Chem B, 2012, 116(2): 903-912

- [31] Shaik S, Kumar D, De Visser, et al. A valence bond modeling of trends in hydrogen abstraction barriers and transition states of hydroxylation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes [J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(31): 10128-10140

- [32] Wang Y, Kumar D, Yang C L, et al. Theoretical study of N-demethylation of substituted N,N-dimethylanilines by cytochrome P450: The mechanistic significance of kinetic isotope effect profiles [J]. J Phys Chem B, 2007, 111(26): 7700-7710

- [33] Cho K B, Wu X J, Lee Y M, et al. Evidence for an alternative to the oxygen rebound mechanism in C-H bond activation by Non-Heme FeIVO complexes [J]. J Am Chem Soc, 2012, 134(50): 20222-20225