

过氧化氢酶对索曼和对氧磷的水解作用

刘昌玲 王国庆 周廷冲 (军事医学科学院药理毒理研究所, 北京 100800)

提要 过氧化氢酶能催化水解索曼和对氧磷。索曼的水解产物是氟化氢(HF)和特己基甲磷酸酯(PMP), 对氧磷的水解产物是对硝基酚, 过氧化氢酶对 VX 无催化作用。不同酶源的过氧化氢酶对索曼的催化作用强度, 以细菌酶最好, 牛肝次之。过氧化氢酶与索曼反应的米氏常数是 0.9-1.0 mM。

关键词 过氧化氢酶; 索曼; 对氧磷; 维埃克斯

1979年我们发现过氧化氢酶对索曼有水解作用, 1981年用牛肝和细菌中提取的过氧化氢酶进一步肯定了这种作用为酶促反应。

过氧化氢酶(编号 EC 1,11,1,6)为专一的催化过氧化氢的酶, 过氧化氢酶对索曼等一些有机磷毒剂的催化水解的作用, 国内外文献均未见报道。本文报道了过氧化氢酶对索曼, 对氧磷和 VX 化合物的作用以及过氧化氢酶催化

Tab 1. Actions of catalases and their analogs on soman and H₂O₂

Enzyme		Soman ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$)	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$)
Peroxidase	(horseradish)	0.54	100
Cytochrome C		0.35	150
Catalase	(fungal)	1.82	7500
Catalase	(liver, Dong-Feng)	2.7-3.6	5700
Catalase	(liver, LIU & WANG)	5.3-7.4	6800-21000
Catalase	(bacteria, crude)	3.5-4.6	6600
Catalase	(bacteria, MERCK)	7.7-8.5	7100

水解索曼的米氏常数 K_m 和最大反应速度 V_{max} 的测定结果。

方法和结果

过氧化氢酶及同系酶对索曼的作用 索曼的水解产物, 用氟离子选择电极法测定。酶对 H₂O₂ 的作用, 用碘量法测定。结果表明(表1)过氧化物酶和细胞色 C 对索曼和过氧化氢, 基本上无作用, 不同来源的过氧化氢酶对索曼的作用强度大小, 依次为细菌 > 牛肝酶 > 霉菌酶。而四种过氧化氢酶对 H₂O₂ 的作用大体相似。

索曼被过氧化氢酶水解后的另一产物为特己基甲磷酸酯(PMP), 用氯仿抽取后, 经硅胶薄层分析, 展开剂为氯仿: 甲醇: 甲酸 (1:1.6:0.2) 显色剂为甲基黄乙醇液, 水解产物层析后与标准的 PMP 的 R_F 0.83 值基本一致, 结果表明过氧化氢酶催化索曼水解, 产物为 PMP。

过氧化氢酶(牛肝)催化索曼水解反应的米氏常数 K_m 和最大反应速度 V_{max} 测定, 用氟离子电极法, 测量过氧化氢酶-底物(索曼)浓度效应。测得结果用 Lineweaver-Burk 双倒数法作图(见图1), 求得 K_m 为 0.9-1.0 mM, V_{max}

为 166-200。这说明索曼对过氧化氢酶的 K_m 在大多数纯酶的 K_m 值范围 0.01-100 mM 之内。

过氧化氢酶(牛肝)对对氧磷的作用 用比色法⁽¹⁾测定水解产物(对硝基酚), 对氧磷的浓度为 5 mM, 酶量为 2-20 mg, 反应系统为: pH 7.2 的 0.05 M 磷酸缓冲液, 反应时间 20 min。结果表明(见图2)。过氧化氢酶对对氧磷也有催化水解作用, 对氧磷水解产物的量随酶量的增加而增加, 酶用量在 2-20 mg 蛋白质范围内呈线性关系。

过氧化氢酶对 VX 的作用, 用层析放射自显影技术, 测定了过氧化氢酶对 [³⁵S]VX 的作用。毒剂反应浓度为 0.01 mM 及 0.5 mM, 过氧化氢酶为 10 mg, 37°C 作用 20 min, 加温 90°C 终止酶反应, 离心, 定量取上清液在纸片和硅胶板上点样, 在展开剂(氯仿: 甲醇: 冰醋酸 3:1:0.2)中层析, 层析后显影。结果: 过氧化氢酶对 VX 无催化作用, [³⁵S]VX 原形自显影的密度未见减少, 离开基团胺基硫醇自显影的密度未见增加, 此外, 还用硫选择性电极法

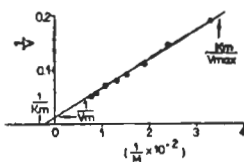


Fig 1. Lineweaver-Burk plot of hydrolytic reaction of soman catalyzed by catalase. 10 mg, 37°C, pH 7.2, 5 min, $r = 0.938$.

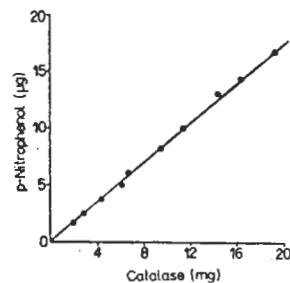


Fig 2. Hydrolysis of paraoxon by catalase.

测定了过氧化氢酶对非标记 VX 的作用, 两种方法测定结果一致。

讨 论

过氧化氢酶对索曼等有机磷化合物有催化水解作用, 但酶用量较大, 这主要是由于索曼等化合物不是该酶的特异性很强的底物。还由

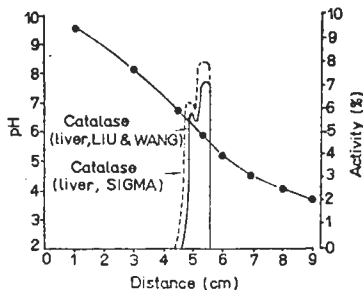


Fig 3. Determination of pI and activity of catalases

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Sep; 6 (3) : 207-209

HYDROLYSIS OF SOMAN AND PARAOXON BY CATALASE

LIU Chang-ling, WANG Guo-qing, ZHOU Ting-chong

(*Inst Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800*)

ABSTRACT Hydrolysis of soman and paraoxon were catalyzed by catalase. The hydrolytic products of soman were hydrofluoric acid (HF) and pinacolyl methylphosphonic acid (PMP), whereas the hydrolytic product of paraoxon was *p*-nitrophenol. VX was not catalyzed by catalase. The hydrolysis rates of soman by

于索曼的水解产物 HF 对过氧化氢酶有一定的抑制作用^(2,3)。

过氧化氢酶对索曼的水解作用, 主要是过氧化氢酶本身的作用, 因所用过氧化氢酶经等电聚焦电泳分析等电点(PI)为 5.6-5.8, 蛋白区带和酶活性区带重叠(见图 3), 但不能完全排除有其它有效成分的作用, 这有待研究。

参 考 文 献

- 1 Losch H, Losch K, Haselmeyer K-H, Chemnitz J-M, Zech R. *Arzneimforsch* 1982; 32 : 1523
- 2 Ogura Y, Tonomura Y. *J Biochem* 1950; 37 : 153
- 3 Boyer PD, Lardy H, Myrbäck K. Catalases. In: Nicholls P, Schonbaum GR, eds. *The enzymes*; vol 8. 2nd ed. NY: Academic Press, 1963 : 201-4

catalase from various sources were different. The catalase obtained from bacteria was the most active one. K_m of the reaction of catalase with soman was 0.9-1.0 mM.

KEY WORDS catalase, soman, paraoxon, VX