

(九大先導研)

○吉澤一成、塩田淑仁、湯村尚史、蒲池高志

【序】生物無機化学は化学と生物学の境界に位置する最先端科学分野である。呼吸、代謝、窒素固定、光合成、発生、神経伝達、筋収縮、シグナル伝達、毒物に対する生体防御など、重要な生体内化学反応には遷移金属イオンが多くの場合関与している。昨今、量子化学計算から生物無機化学にアプローチすることが可能になりつつある。我々はこれまでにメタンモノオキシゲナーゼ、シトクローム P450、ジオールデヒドラターゼその他の金属酵素の活性中心構造と反応性について研究してきた。量子化学の強みは、実験では捕捉することの困難な不安定中間体や遷移状態の構造やエネルギーを容易に求めることができることにある。これまで生物無機化学者の用いる常套手段といえばモデル錯体の合成と分光学的測定であったが、ここに第3の研究手段が出現したと言っても過言ではないだろう。今回はメタンモノオキシゲナーゼやシトクローム P450 といったの酸化酵素による炭化水素のヒドロキシル化のメカニズムについて話す。

【シトクローム P450 によるアルカンの水酸化】 これまでに我々は FeO^+ 活性種やメタンモノオキシゲナーゼによるメタンの水酸化の研究を行ってきた[1,2]。メタンをはじめとするアルカンは極めて不活性な炭化水素であり、これを選択的に酸化してアルコールにする研究は触媒化学のみならず現代化学にとっての最重要課題であると考えられている。これらの研究を土台に最も代表的な酸化酵素であるシトクローム P450 の反応機構の研究を行った[3]。シトクローム P450 は多くの脂肪族分子の一原子酸素添加反応を触媒するヘム酵素である。なかでも P450cam は立体、位置選択的にカンファーを 5-*exo*-hydroxycamphor に転換し、その構造と反応については多くの実験例がある。図 1 にカンファーの 5 位の水素引き抜き、および生成したラジカル種が再結合する遷移状態の最適化構造を示した。

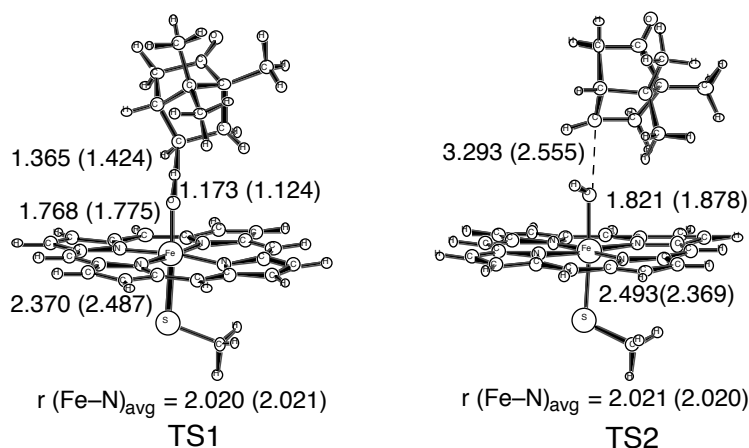


Figure 1. Optimized geometries of the transition states for the H-atom abstraction and recombination in camphor hydroxylation in the doublet (quartet) state. Units in Å.

水素引き抜きの活性化エネルギーは2重項、4重項のそれぞれについて 23.8 kcal/mol、21.4 kcal/mol と高く、エタンを基質とした場合と比べてもわずかに数 kcal/mol 低いくだけであった。また、速度論的同位体効果(KIE)もほぼ同じであり、両基質の水素引き抜き過程は本質的に同じであることが判明した。2重項、4重項共にリバウンドの遷移状態が存在し、その活性化エネルギーは数 kcal/mol ときわめて低いものであった。このリバウンドの遷移状態は水素引き抜きの遷移状態よりも安定であり、観測されている高い立体選択性を説明できる。

しかし、この計算結果からは P450 による高いエネルギー障壁を有するヒドロキシル化が生理的条件下で起こることがうまく説明できない。そこでヒドロキシル化の前段階である酸素分子の活性化に注目することにした。Sligar らによるプロトンリレーモデルに基づいて、酸素分子のプロトン化のエネルギーを算出してみると、この化学反応が顕著な発熱過程であることが分かった。この過程の大きな余剰エネルギーを考慮に入れると、次の段階のヒドロキシル化はエネルギー的に極めて容易に起こることが予想される。このことから、ヒドロキシル化の活性種である鉄オキソ種が実験的に捕捉されない理由が理解できる。

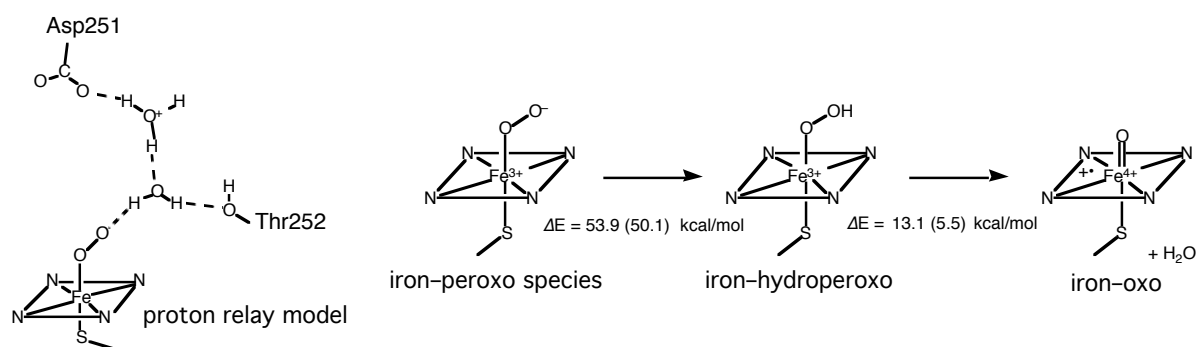


Figure 2. Proton relay model for P450cam proposed by Sligar et al. and calculated energetical change in the process.

- [1] K. Yoshizawa, Y. Shiota, and T. Yamabe, *Chem. Eur. J.*, **3**, 1160 (1997).; *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 564 (1998).; *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 147 (1999).; Y. Shiota and K. Yoshizawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 12317 (2000).
- [2] K. Yoshizawa and R. Hoffmann, *Inorg. Chem.*, **35**, 2409 (1996).; K. Yoshizawa, T. Ohta, T. Yamabe, and R. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 12311 (1997).; K. Yoshizawa, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **3**, 318 (1998).; K. Yoshizawa and T. Yumura, *Chem. Eur. J.*, **9**, 2347 (2003).
- [3] K. Yoshizawa, Y. Kagawa, and Y. Shiota, *J. Phys. Chem. B*, **104**, 12365 (2000).; K. Yoshizawa, T. Kamachi, and Y. Shiota, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 9806-9816 (2001).; T. Kamachi and K. Yoshizawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4652; T. Kamachi, A. F. Shestakov, and K. Yoshizawa, *J. Am. Chem. Soc.*, submitted.