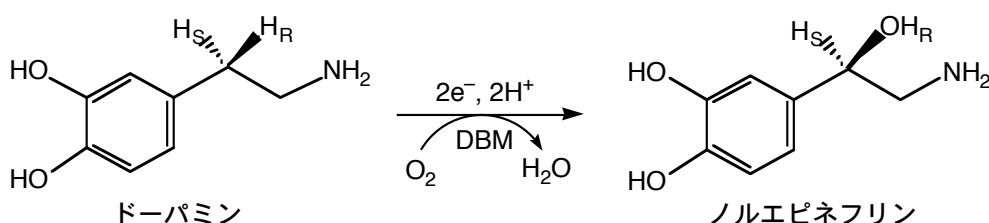


ドーパミンβ-モノオキシゲナーゼによる
ドーパミン水酸化に関する理論的研究
(九大先導研) ○木原直樹、塩田淑仁、蒲池高志、吉澤一成

【序論】ドーパミンβ-モノオキシゲナーゼ(DBM; EC 1.14.17.1) は活性サイト1つあたり2つの銅原子を含んでおり、それらの銅中心は単核で存在している(Cu_A, Cu_B)。Scheme に示すように、DBM はドーパミンのベンジル位にある *pro-R* / *pro-S* と呼ばれる 2 種類の水素原子のうち、*pro-R* の水素原子のみを立体特異的に水酸化し、ノルエピネフリンに変換する。このドーパミンの水酸化は触媒化学的に興味深いだけでなく、生物の生命維持においても非常に重要な反応である。

Scheme



現在までに様々な反応メカニズムが提案されているが、DBM の反応性を完全に説明するには至っていない。そこで本研究は活性種について検討を行い、反応メカニズムの詳細について理論的な解析を行った。

【計算方法】計算方法は B3LYP 法、基底関数は 6-31G*基底を用いた。すべての安定構造と遷移状態について構造最適化を行い、さらに、振動解析によりそれぞれの状態が妥当であることを確認した。エネルギー計算にはゼロ点エネルギー補正を加えた。全ての計算は Gaussian98 プログラムを用いて行った。

【結果と考察】DBM(還元型)のドーパミンの水酸化を行う Cu_B サイトには、2 つのヒスチジンと 1 つのメチオニンが配位している。そこで、それらのアミノ酸残基をそれぞれイミダゾール基($\text{C}_3\text{N}_2\text{H}_4$)、チオエーテル基($\text{S}(\text{CH}_3)_2$)として Cu_B サイトをモデル化した。そして、スーパーオキシ錯体(end-on, side-on)、ヒドロパーオキシ錯体、オキシ錯体の 4 種類を活性種のモデルとして理論的に検討した。Figure 1 はそれぞれのモデルの構造を示している。DFT 計算によると、酸素原子のスピン密度の大きさは、オキシ>スーパーオキシ>ヒドロパーオキシ錯体の順となった。オキシ錯体の酸素原子のスピン密度が最も大きいことから、オキシ錯体が最適な活性種であることが判明した。このオキシ錯体の銅原子と酸素原子の形式電荷は+3 価と-2 価である。しかし、一重項(三重項)状態のスピン密度がそれぞれ 0.6 (0.6)、-0.7 (1.2)となっているので、+2 価と-1 価と考えるのが妥当である。オキシ錯体によるドー

パミンの水酸化のメカニズムは2段階で起こり、まず、オキソ錯体の酸素原子がドーパミンのベンジル位の水素原子を引き抜く遷移状態(TS1)を経由して、ラジカル中間体(Int)を形成する。次に、C-O 結合形成を行う遷移状態(TS2)を経て、生成物錯体(Product complex)を生じる。

Figure 2 は計算して得られたエネルギーダイヤグラムを表している。最初の反応物の基底状態は三重項であり、一重項状態のエネルギーは三重項状態に比べて 4.3 kcal/mol 高い。C-H 結合の活性化エネルギーは、一重項状態、三重項状態ではそれぞれ 1.7、4.6 kcal/mol である。基底状態が三重項状態から一重項状態へ移り、一重項、三重項状態のエネルギー差は反応が進行するにつれて減少していき、Int では 0.1 kcal/mol と非常に小さくなる。Int 以降、三重項状態は一重項状態に比べエネルギー的にかなり不安定になる。これは銅原子の電子配置に由来するものであり、+1 価の基底一重項状態である[Ar]3d¹⁰に比べ、三重項状態の[Ar]3d⁹4s はエネルギー的に約 66 kcal/mol 高いことと関連している。一重項状態の TS2 の活性化エネルギーは 10.7 kcal/mol であり、C-O 結合伸縮に相当する 142i cm⁻¹ の虚の振動モードをもっている。Product complex は銅原子とノルエピネフリンの酸素原子が 3.317 Å と長い距離にあるため、弱く相互作用している。そして、10.7 kcal/mol のエネルギー障壁を越えて、生成物であるノルエピネフリンを放出する。この反応は最終的に 38.5 kcal/mol の発熱反応であることが分かる。

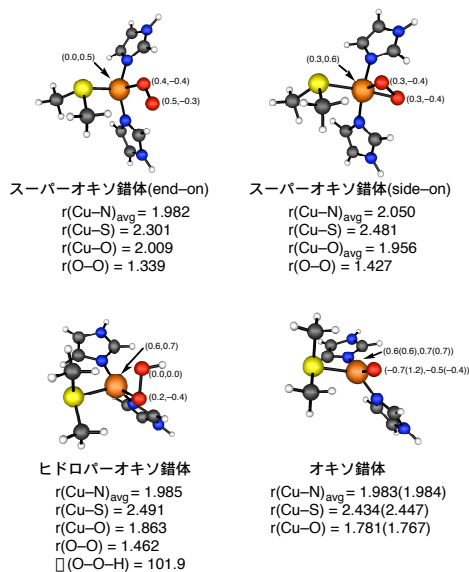


Figure 1. 活性種の最適化構造。オキソ錯体は一重項状態(三重項状態)を表す。結合距離、角度はそれぞれÅ、°単位、かっこ内は(スピン密度,電荷)を表す。白、黒、青、赤、黄、橙色は各々水素、炭素、窒素、酸素、硫黄、銅原子を表す。

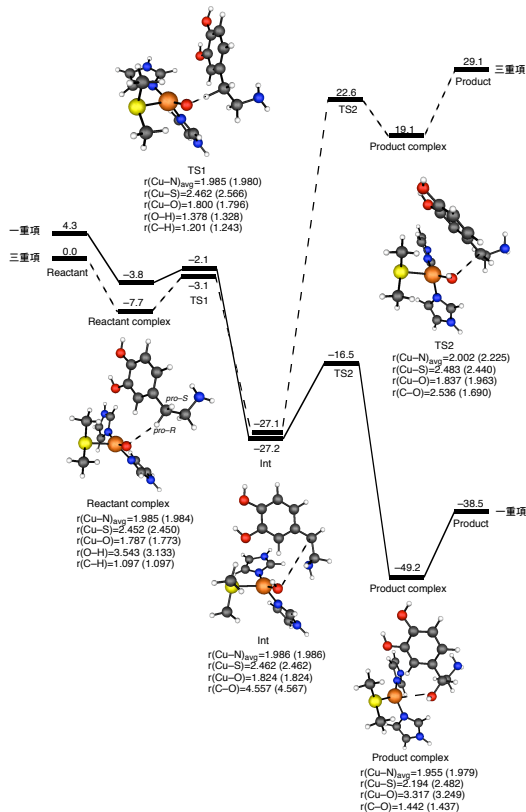


Figure 2. 一重項(三重項)状態のオキソモデルによるドーパミンの水酸化のエネルギーダイヤグラム (エネルギーの単位はkcal/mol、結合距離はÅ) 白、黒、青、赤、黄、橙色は各々水素、炭素、窒素、酸素、硫黄、銅原子を表す。