

氏 名	お だ せい じ 小 田 精 二
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2314 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	Stereoselectivity in the redox reaction and the alkylation of NAD(P) (H) model compounds (補酵素 NAD(P)(H) モデル化合物の酸化還元およびアルキル化反応にお ける立体選択性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 時 任 宣 博 教 授 丸 岡 啓 二 助教授 中 村 薫

論 文 内 容 の 要 旨

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD(H)) とそのリン酸化体 (NADP(H)) は、生体内において酸化還元反応を触媒する酵素の補酵素である。その反応は補酵素 (ニコチンアミド環の C4位) と基質との間の水素移動であり、基質側はもとより補酵素側でも厳格な立体特異性をもって進行する。この水素移動反応は、形式的には一段階のヒドリド移動であるが、補酵素モデルを用いた研究により電子移動を伴う多段階機構であると考えられている。また立体特異性発現の機構においても、補酵素モデルを用いた研究により、ニコチンアミド環の C3位のカルバモイル側鎖上にあるカルボニル基の配向が、選択性に影響しているのではないかとということが示唆されている。これまで目的に応じたモデル化合物が合成され検討が行われてきたが、生体内における補酵素の働き (水素移動および立体特異性発現の機構) を忠実に再現したモデル化合物の構築はこれまで行われていない。本来の補酵素の働きを忠実に再現できてはじめて機構解明につながるものと考えられる。本申請論文は、生体内における補酵素の働きを忠実に再現した補酵素モデル化合物の構築、さらにはその働きの機構解明を目的に行われたものである。

検討に用いたモデル化合物 (1,4,6,7-テトラヒドロ-1,6,11-トリメチル-5-オキソ-5*H*-ベンゾ[*c*]ピリド[2,3-*e*]アゼピン; 11Me-MMPAH) は、アゼピン環に対してジヒドロピリジン環およびベンゼン環がそれぞれ縮環した三環式化合物である。X 線結晶構造解析によりアゼピン環は歪んでおり、それによりアゼピン環上にあるカルボニル基はジヒドロピリジン環平面から突き出た状態で固定されていることが分かっている。これにより、カルボニル基の配向と反応の面選択性との関係 (カルボニル基が突き出た側 (syn 側) の水素とその反対側 (anti 側) の水素との反応性の違い) を明確にすることができる。

反応には、syn 側および anti 側がそれぞれ優先的に重水素化された 11Me-MMPAH を用い、種々の *p*-ベンゾキノン誘導体により酸化反応を行い、その生成物の残存水素の重水素化率から反応の面選択性および生成物同位体効果の値を求めた。反応の面選択性において、金属イオン (Mg^{2+}) を添加しない場合は anti 側において優先的に反応が進行したのに対して、金属イオンを添加した場合 syn 側での反応の割合が増加するという興味深い結果が得られた。この結果は、カルボニル基の配向および金属イオンの有無により反応面が制御されたことを示すものである。また、このようなカルボニル基の配向に起因する反応の立体選択性は、このモデル系に対するアルキル化および還元反応でも確認でき、酸化反応に限られたものではないことがわかった。

次に同様の反応において速度論的解析を行い、速度論的同位体効果の値を求めた。その結果、速度論的同位体効果と生成物同位体効果の値が一致しないことがわかった。すなわち、このことは、この反応が単なる一段階でのヒドリド移動反応ではなく、多段階を経て進行していることを示すものである。

以上、本申請論文において、今回検討に用いた補酵素モデルは、反応の機構および選択性の両方において生体内での補酵素の働きを忠実に再現することに成功した最初の例であり、生体内でも同様の機構で反応が進行していることを示唆してい

ると結論することができる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、生体内における補酵素の働きを統一的に議論できる補酵素モデル化合物の構築、さらにはその働きの機構解明を目的に行われたものである。生体内での立体特異的酸化還元反応に関与する補酵素 NAD(P)(H) の働きで、興味を持たれているのは次の二点である。一つは、補酵素と基質との間の水素移動反応が一段階でのヒドリド移動であるのか、あるいは電子移動を伴う多段階機構であるのかという点である。もう一つは、補酵素のニコチンアミド環の両面で反応が可能であるにも関わらず、生体内では厳格に反応面が制御されており、その立体特異性発現の機構がどのようにになっているのかという点である。これらの機構を明らかにする目的で、これまで補酵素モデルを用いた研究が行われている。しかし、これらの機構はそれぞれ目的に応じた異なるモデル化合物を用いて別々にしか議論されていない。すなわち、これらの機構を統一して議論できるモデル化合物の構築はこれまで行われていない。

申請者の用いた新規モデル化合物 (11Me-MMPAH) は、アゼピン環に対してジヒドロピリジン環およびベンゼン環がそれぞれ縮環した三環式化合物である。このモデル化合物の特徴は、アゼピン環の歪みをうまく利用し、アゼピン環上にあるカルボニル基の配向をジヒドロピリジン環の面外に固定させた構造を有している点である。すなわち、ジヒドロピリジン環の両面の違いは、カルボニル基の配向のみであり、このモデル化合物を用いて得られる反応の面選択性はそのままカルボニル基の配向に結びつけることができる。

申請者は、反応に関与する水素の一方を重水素で標識した 11Me-MMPAH を用い、種々の *p*-ベンゾキノン誘導体により酸化反応を行い、この反応の速度論的および生成物解析に基づいて反応の機構および立体選択性について詳細に検討している。

反応機構において、申請者は速度論的同位体効果と生成物同位体効果の値の不一致から、電子移動を伴う多段階機構であると結論し、反応に用いた *p*-ベンゾキノン誘導体の反応性とこれら同位体効果の値との関係を、多段階機構の観点から見事に説明している。

また、申請者は生成物の残存水素の重水素化率から反応の面選択性の値を導き、初めてカルボニル基の配向と反応の面選択性との関係を定量的に評価することに成功している。その結果、この反応は非常に高い選択性をもって進行していることがわかり、カルボニル基の配向が立体選択性を決定する主要な因子であることを明らかにしている。さらに申請者は、このモデル系に対するアルキル化および還元反応が、同様に高い選択性をもって進行することを報告しており、このようなカルボニル基の配向に起因する反応の立体選択性が酸化反応に限られたものではないことを明らかにしている。

これまで別々に議論されてきたヒドリド移動および立体選択性の機構を、統一して議論できる補酵素モデルの構築に成功したことは非常に興味深く、機能面で補酵素に最も近いモデル化合物であると考えられる。今回、ヒドリド移動および立体選択性の機構を統一して議論できる補酵素モデルの構築に成功したことは、生体内においても同様の機構で反応が進行していることを示唆するものであると結論付けられる。

主論文の基礎となる論文 3 報はいずれも国際的に評価されている学術雑誌に発表されたものであり、本人の寄与が中心となっていることが認められる。

以上のように、本申請論文は当該分野の研究の進展に寄与し、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと判定した。なお申請論文に報告されている研究業績を中心として、これに関する研究分野について試問し、合格と認めた。