

酵素モデル反応の反応速度

群馬大学工学部応用化学科

太 垣 和 一 郎

酵素反応の特徴は基質に対する特異性が高く反応速度が異常に大きいことだと一般に考えられている。異常という意味は反応が室温で中性付近の水溶液中で容易に進行することを指していて、温度を上げ溶媒を変えたり、また強酸、強塩基を用いるなど強い条件で反応を行えば酵素がなくても大きな反応速度を得ることはできる。酵素は水にとけ外見上均一系の触媒であるがミクロ的にみるとそれは不均一系の触媒とも考えられる。なぜなら酵素は巨大な高分子であり低分子の均一系触媒とちがって基質と酵素・基質複合体を形成し固体触媒上におけるガスの吸着と類似の挙動を示すからである。ところでここでいう基質は一般に複雑な多原子分子であり含まれている化学結合には回転、振動など多くの自由度がある。さらに基質の濃度は一般に低く基質は多数の溶媒分子に取り囲まれていわゆる“溶媒和”を受けている。溶媒和の意味には溶媒と溶質間だけでなく溶媒間の相互作用も含まれている。さて酵素・基質複合体のなかで基質はひきつづいて起る反応に最も都合のよい空間配置に“凍結”されていると想像されている。とすると複合体の形成される過程で基質分子の自由度は大きく失われ、また溶媒和も激しい変化を受けるはずである。もしこれが低分子間に起る過程であれば当然外部からのエネルギーを必要とするはずでそれを補ってあまりある結合力が酵素と基質のあいだに働いていなければならない。結合力にはいろいろの種類のもが考えられるがある特定の系について何が主要なものか述べるのは現状ではむづかしい。そこで基質の構造が凍結されたときどの程度の反応速度の増加がみられるかいくつかの実例をあげてみよう。

有機化学的に基質の凍結効果をしらべる手っ取りばやい方法は分子内反応をしらべることである。というのは酵素・基質複合体の反応も分子内反応とみることができるからである。しかしその前に複合体を形成しないで進む分子間反応と分子内反応の比較の基準を定めておかねばならない。いま A と B が同一分

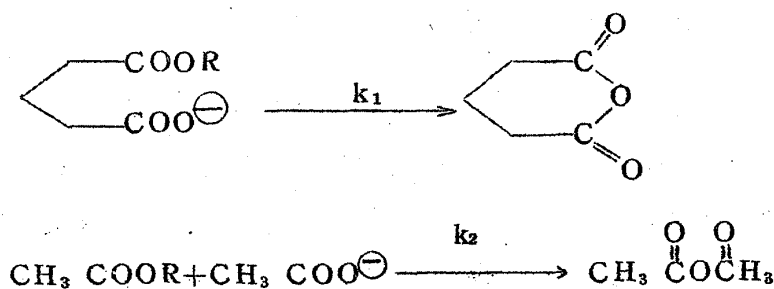
子内で反応するときと別々の分子として反応するときの速度はそれぞれ 1, 2 式で表わされる。速度定数 k_1 , k_2 はそれぞれ

$$\text{速度 (分子内)} = k_1 [\widehat{AB}] \quad (1)$$

$$\text{速度 (分子間)} = k_2 [A] [B] \quad (2)$$

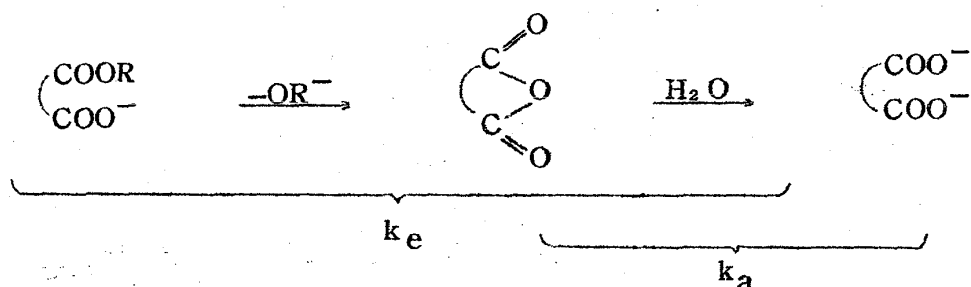
Sec^{-1} と $\text{M}^{-1} \cdot \text{Sec}^{-1}$ の単位を持ち両者の比, k_1 / k_2 は M の単位を持つ。いま $k_1 / k_2 = 5$ という値が得られたとする。すると B を 5 M 用い A の稀薄溶液から得られた (2) 式の擬一次速度定数と k_1 とは等しくなる。つまり k_1 / k_2 比は $\widehat{AB}$ 分子内において A のまわりにある B の有効濃度とみることができる。この有効濃度は A が B によって完全に取り囲まれたとき最大になるであろう。これは水素溶液中では 55 M であり, エントロピー単位にして 8, もしくは 2400 cal/mole (25°C) に相当する。したがって分子内もしくは酵素の反応が分子間反応にくらべてこの程度の速度増加であればたんなる有効濃度の増加とみなすことができよう。しかし実際ははるかに大きな速度比を示す。

典型的な例はジカルボン酸の半エステルの加水分解である。よく引用される Bruice らの結果を表 1 に示す。¹⁾ この反応は中間に酸無水物ができる段階が全体の反応速度を支配し, 酸無水物は速やかに加水分解される。そうして分子内自由回転の自由度の比較的大きいグルタル酸半エステルの加水分解を 1 とすると, その自由度が減少し分子が固定 (凍結) されるほど急激に速度が増大する。標準エステル (1) の速度と相当する分子内反応速度を比較すると前述の k_1 / k_2 比は 600 M 以上になる。



$$k_1 / k_2 = > 600 \text{ M}$$

表 1. ジカルボン酸半エステルの加水分解¹⁾



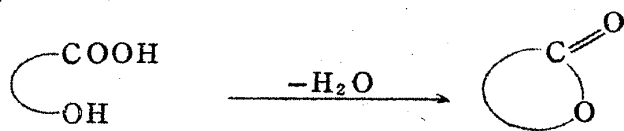
エステル a)	k_e , 相対速度 b)	k_a , 相対速度 b)
$\begin{array}{c} \text{COOR} \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ (I)	1.0	1.0
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \begin{array}{c} \text{COOR} \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ (II)	2.0	0.07
$\begin{array}{c} \text{COOR} \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ (III)	23.0	1.46
$\begin{array}{c} \text{COOR} \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ (IV)	10,000	11.2
$\begin{array}{c} \text{COOR} \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ (V)	53,000	5.2

a) R=C₆H₅ あるいは p-Br-C₆H₄-

b) エステル (I) およびその酸無水物を 1.0 とした値

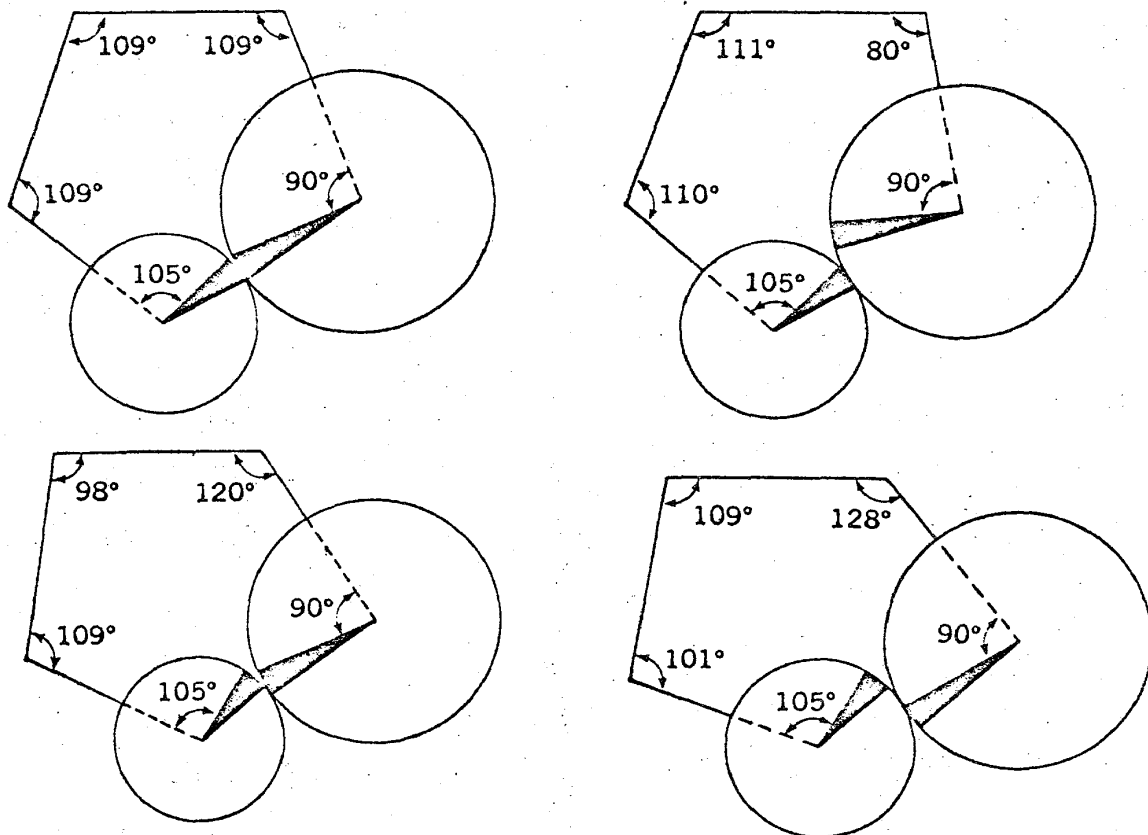
したがって表 1 のエステル (5) 分子間反応にくらべて $600 \times 53,000 = 3 \times 10^7$ M 以上の速度増加を示したことになる。もし 55 M という値を分子内反応のために補正したとしてもその比は約 5×10^5 となりこれはまさに酵素の触媒作用でみられる程度の速度増加である。Koshland らも γ -ヒドロキシ酪酸のラクトン化の反応速度を測定して類似の効果を見出している。²⁾ その結果を表 2 に示す。ここでも分子間反応 (1) にくらべて双環性化合物 (5) のラクトン化は 10^6 倍にもなる。しかしより合理的な比較のためには上記の 55 M と結合回転に伴う異性体数を補正してやらねばならない。それでもなを (1) にくらべて (5) は 20,000 倍の速度を示す。つぎに溶媒和の効果と分子のひずみ効果が考えられる。しかしこれらの効果は小さく、Koshland らによると唯一の原因は -OH 基が -COOH 基に近づくときの方向角であるという。そうして (5) が反応に最も好都合な方向角を持っているという。

表 2. γ -ヒドロキシカルボン酸のラクトン化²⁾



反 応 系	反 応 速 度			
	実測値	相 対	補正值	相 対
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ $+$ CH_3COOH	(1) 1.09×10^{-3}	1	6×10^{-2}	1
	(2) 8.6×10^{-2}	79	2.48×10^1	413
	(3) 3.32×10^{-2}	305	9.96×10^{-1}	17
	(4) 7.23	6630	9.95×10^1	1660
	(5) 1.12×10^3	1,027,000	1.12×10^3	18,700

次図はわずかの結合角の変化がいかに反応の方向角に影響するかを示したものである。この結合角は結合軸の回転や結合角のはさみ運動によって比較的容易に変えうるから酵素のわずかの構造変化がその原因になりうるだろう。つまり酵素は反応に関係する原子の軌道を最も反応しやすい方向に配列する“orbital steering”効果を持っているのではないかと示唆されている。steer とはかじ取りの意味である。



以上のほかにも分子間反応にくらべて 10^3 倍程度の速度増加を示す分子内反応は数多く知られており上記のような例は有機化学では“隣接基効果”と呼んでいる。しかしその内容を個々の場合に定量的に理解することは容易ではない。遷移状態説によれば反応速度は原系と遷移状態とのエネルギー差、活性化自由エネルギー、によってきまる。この活性化自由エネルギーを理論的に計算することは複雑な多原分子の場合、現状ではとても無理であろう。しかし上記の Koshland らの議論が定性的に正しいかどうか、つまり何が反応を支配する主要な因子かを示すことは現在でも可能であろう。ただこれも実験的には非常にむずかしい。活性化自由エネルギー ($\Delta F^\ddagger$) はエントロピー ($\Delta S^\ddagger$) とエンタルピー ($\Delta H^\ddagger$) の項に分離することが出来る。 $\Delta S^\ddagger$ は原系と遷移状態との相対的な自由度の増減を反映するとすると分子内と分子間反応のちがいは原系における自由度のちがいではないかと一応考えられる。しかし同じ分子内反応でもある反応では $\Delta S^\ddagger$ で得をし、別の反応では $\Delta H^\ddagger$ で得をするといったことがあり合理的な説明はむづかしい。特に水は複雑な溶媒であっての効果が原系と遷移状態でどのように働くか、前述の Koshland のように“溶媒和は重要でない”ということは一般には言えないであろう。この辺の具体的な例と議論については Jencks の著書がもっとも詳しい。³⁾

以上酵素反応に関連したモデル化合物の反応速度について簡単に述べてみたが、ある程度速度を観測してもそれを理論的に解析することはとてもむずかしい。現在迅速反応からの知見が蓄積されつつあるしますます多くの理論家がこの方面の開拓に参加されることを切望したい。

参 考 文 献

1. T. C. Bruice, U. K. Pandit, J. Am. Chem. Soc., 82 5858
(1960)
2. C&EN News, July 6, 54(1970)
3. W. P. Jencks, "Catalysis in Chemistry and Enzymology"
McGraw-Hill, New York, 1969, Chapt. 1, 5F.