



研究ノート

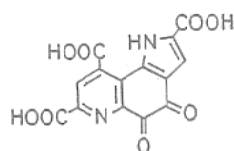
新しい補酵素 PQQ による酸化還元反応

大城 芳樹* 伊東 忍*

1. はじめに

生体内反応は、高度に組織化された酵素という反応場において、多くの場合補酵素（または補欠分子）という比較的単純な化合物により触媒されている。その活性ならびに選択性は、一般の有機反応と比べると比較にならないほど高く、物質、エネルギー収支の面でも全く無駄がない。このような生体内反応では、周知の通り非常に複雑な要素が多数絡み合っておりそれほど単純なものではないが、これらをひとつひとつ紐解いていくことは、より優れた反応系の開発に繋がるものとして期待されている。

今回我々は、近年その構造が明らかとされた補酵素である PQQ（別名：Methoxatin）を取り上げた。PQQ は生体内においてアルコール、アルデヒド、グルコース、アミン類の酸化還元反応をつかさどっており、脱水素酵素の補酵素としては、NAD (P), フラビンに次ぐ第三の補酵素として注目を集めている。



PQQ (4,5-dihydro-4,5-dioxo-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-2,7,9-tricarboxylic acid)

2. PQQ によるアミン類の脱アミノ化反応

哺乳動物の血液に含まれる銅-アミン酸化酵素の第二の補欠分子については、かなり以前から議論されていたが、最近になってそれが PQQ であろうという意見が大勢をしめるようになった⁴⁾⁵⁾。

そこでまず、我々は、このアミン酸化酵素のモデル反応として、PQQ によるアミン類の酸化反応について検討を行った。アミン酸化酵素は、酸素と水の存在下、アミン類を対応するカルボニル化合物と過酸化水素及びアンモニアに変換することが知られている（式1）。

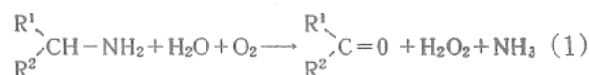


表1. PQQ によるアミン類の酸化的脱アミノ化反応

アミン	pH	生成物	収率 (%)
	7.2		1852
	7.0		4176
	7.3		1568
	7.1		3265

CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) ミセル系, 30℃, 24時間 収率は PQQ 基準

*大城芳樹(Yoshiki OHSHIRO), 大阪大学,工学部,応用精密化学科,大阪大学教授,工学博士,有機合成

**伊東 忍(Shinobu ITOH), 大阪大学,工学部,応用精密化学科,大阪大学助手,工学博士,有機合成

空气中開放下, 中性の水溶液中, 30℃という温和な条件下で, PQQ に対して約100倍当量のアミンを反応させた。今回は反応場として, カチオン性の CTAB ミセルを用いた。その結果, 表1に示したように, 酸化反応は触媒的に進行し, いずれの場合にも対応するカルボニル化合物が得られた⁶⁾。基質としてアミノ酸を用いた場合には, アミノ基の酸化とともに脱炭酸が進行し, 対応するアルデヒドが得られた (Strecker 型分解反応)⁷⁾。このような触媒的酸化反応は, 他のキノン化合物, 例えばフェナントロリンキノンなどを用いた場合にはほとんど進行しなかった。

PQQ とアミンとの反応の速度 (嫌気性条件下での反応速度) を用いて, 種々の界面活性剤の効果を検討したところ, カチオン性ミセルにおいてのみ著しい加速効果が認められ, アニオン性, 非イオン性, および両性のミセルを用いた場合には全く加速効果は認められなかった。また, ことような, カチオン性ミセルによる触媒効果は, 基質としてより疎水性の大きなシクロヘキシルアミンを用いた場合に顕著であった (図1)。ミセルによる触媒効果が, cmc 付近で最大値を示したことや, KCl 添加による著しい塩効果が認められたこと (図2) などから, 反応はミセル表面付近で進行していることが明

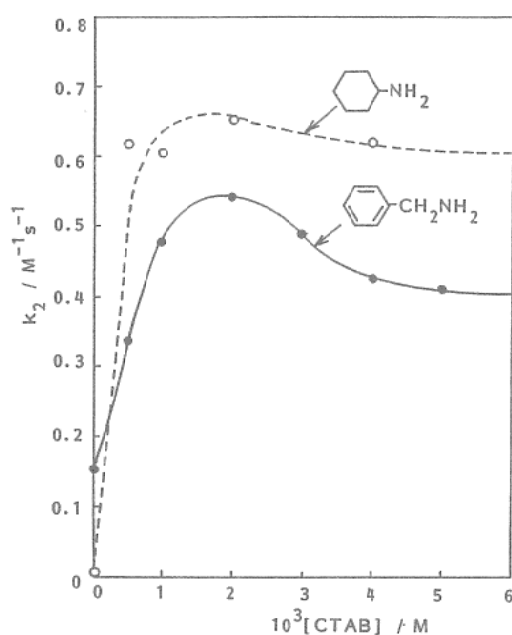


図1. CTAB 濃度効果

らかとなった (図3参照)。疎水相互作用による基質の取り込み, 静電的相互作用による PQQ の取り込み, スターン層に濃縮された OH⁻ の触媒効果など, CTAB ミセルの酵素類似機能をうまく利用することができた⁸⁾。

PQQ とアミンとの反応を速度論的に検討した結果, 本反応は PQQ およびアミンに対してそれぞれ一次であり, また, 二級, 三級アミンの反応性が非常に低いことが明らかとなった。アミノ基の α 位を D 化した場合, 非常に大きな同位体効果 ($k_H/k_D=7.24$) が確認された。さらに, PQQ の還元体としてキノール型とアミノフェノール型の二種類が生成することや, Bruce らのモデル系との類似性から, 反応機

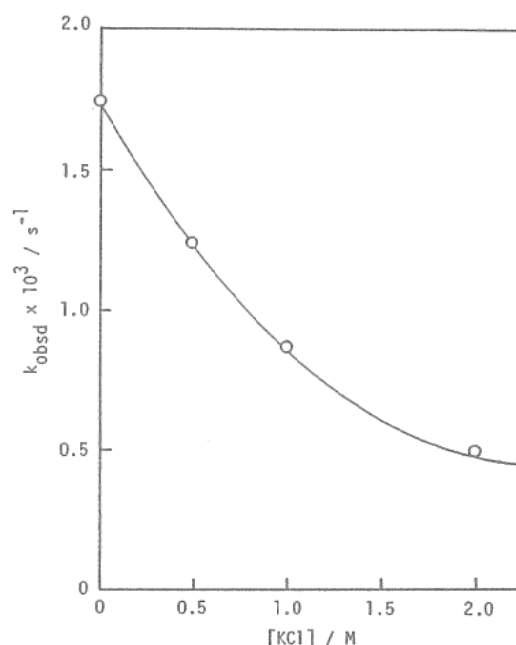


図2. KCl 塩効果

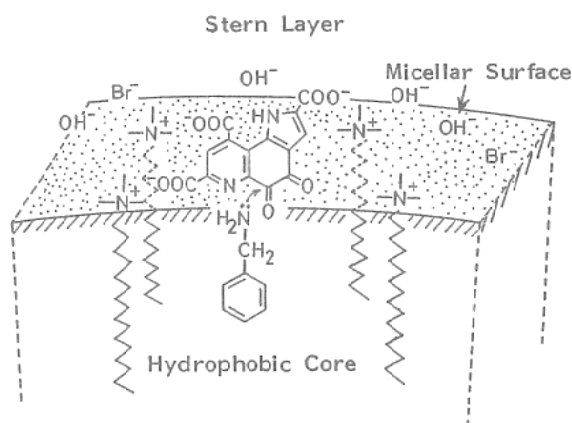
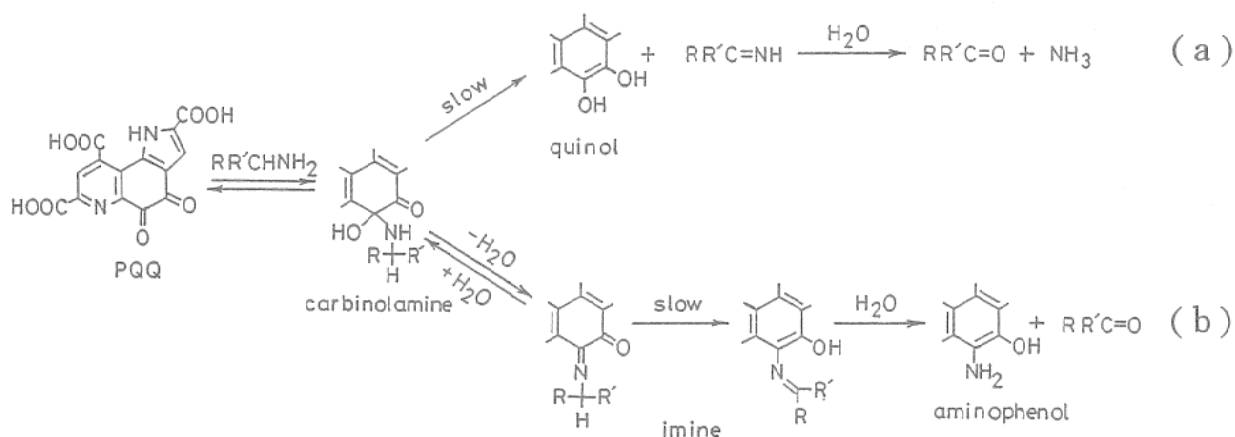


図3.



スキーム

構を次のように推定した(スキーム). すなわち, 遊離のアミンの5位への付加に続く競争的なキノール型還元体の生成(ルートa)と, イミン中間体を経るアミノフェノール型還元体の生成(ルートb)により反応が進行するものと推定した⁹⁾.

一方, いったん生成した還元体は, いずれも空気中の酸素とすみやかに反応して, 元の酸化型PQQ(キノン)にもどる触媒サイクルが構築される. 事実, 別途合成したキノール型の還元体(PQQH₂)は, 中性からアルカリ性の水溶液中で空気中の酸素とすみやかに反応して, 酸化体とH₂O₂を与えることが確認されている¹⁰⁾.

3. おわりに

以上, 新しい補酵素PQQを用いた, アミン類の触媒的酸化反応を明らかにした. 一般に非酵素系では, 補酵素だけによる触媒反応は起こりにくいと考えられているが, 今回, ミセル系を反応場として用いることにより, 生体内のモデル反応をうまく構築することができた. このような生体系のモデル化により, さらに優れた

反応系が開発できるものと確信する. 現在さらに, グルコース脱水素酵素, アルコール脱水素酵素のモデル反応として, PQQによるグルコースやアルコールの酸化反応についても検討中である.

文 献

- 1) J. A. Duine, J. Frank, Trends Biochem. Sci., 6, 278 (1981).
- 2) 飴山實, 現代化学, 7月号, P46 (1985).
- 3) 大城芳樹, 伊東忍, 化学, 8月号, P495 (1986).
- 4) M. Ameyama, M. Hayashi, K. Matsushita, E. Shinagawa, O. Adachi, Agric. Biol. Chem., 48, 561 (1984).
- 5) C. L. Lovenstein - Verbeek, J. A. Jongejan, J. Frank, J. A. Duine, FEBS Lett., 170, 305 (1984).
- 6) Y. Ohshiro, S. Itoh, K. Kurokawa, J. Kato, T. Hirao, T. Agawa, Tetrahedron Lett., 24, 3465 (1983).
- 7) S. Itoh, N. Kato, Y. Ohshiro, T. Agawa, ibid, 25, 4753 (1984).
- 8) S. Itoh, Y. Kitamura, Y. Ohshiro, J. Jpn. Oil, Chem. Soc., 35, 91 (1986).
- 9) S. Itoh, Y. Kitamura, Y. Ohshiro, T. Agawa, Bull. Chem. Soc., Jpn, 59, 1907 (1986).
- 10) S. Itoh, Y. Ohshiro, T. Agawa, ibid, 59, 1911 (1986).