

## 二核亜鉛錯体と二核マグネシウム錯体のアミノペプチダーゼ活性

○石山 晋太郎<sup>1</sup>、金田 力<sup>2</sup>、柴山純<sup>1</sup>、鈴木敬介<sup>1</sup>、山口亮<sup>1</sup>、崎山 博史<sup>2</sup><sup>1</sup>山形大学大学院理工学研究科(〒990-8560 山形市小白川町 1-4-12)<sup>2</sup>山形大学理学部物質生命化学科(〒990-8560 山形市小白川町 1-4-12)

## 【緒言】

アミノペプチダーゼはタンパク質のアミノ末端を加水分解する酵素であり、そのほとんどが活性中心に亜鉛などの金属イオンを二つ有している。このような二核亜鉛構造による加水分解反応は抗生物質に対する細菌の薬剤耐性とも関連があり、注目されている。我々はアミノペプチダーゼの活性中心周りの構造を人工的に再現した二核亜鉛錯体を用いて、アミノペプチダーゼ活性の発現に成功した。

今回の研究に用いた錯体を図1に示す。二核亜鉛錯体(錯カチオン)  $[Zn_2(\text{bomp})(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2]^+$  (**1**)は最初に報告されたアミノペプチダーゼモデル[1]である。錯カチオン **2**は**1**の亜鉛イオンをマグネシウムイオンに置換したものであり、アミノペプチダーゼ活性を示さない。**3**は**1**の側鎖の置換基を小さくしたものであり、**1**よりも高いアミノペプチダーゼ活性を示すが、**3**の亜鉛イオンをマグネシウムイオンに置換した**4**はアミノペプチダーゼ活性を示さない。

錯カチオン **1**は二つの亜鉛間を架橋する酢酸イオンが解離し、生じた空きサイトに基質を取り込むことで基質の加水分解反応を触媒していると考えられている。しかしながら反応の詳細は不明であることから、今回は①計算化学的手法を用いて錯カチオン **1**の基質の取り込み様式について解明した[2]。また、②二核マグネシウム錯体である**2**と**4**がアミノペプチダーゼ活性を示さない理由についても計算によって解明することができた。さらに、③錯カチオン **3**と**1**の構造を比較し、高活性発現には基質の接近しやすさが重要であるという知見を得た。以上の①、②、③について発表する。

## 【方法】

基質の予備計算には MOPAC2012 を用い、RM1 によっておこなった。基質の構造最適化には GAMESS を用い、LC-BOP/6-31G でおこなった。錯体および錯体が基質を取り込んだ構造の予備計算には MOPAC2012 で PM6 を用い、構造最適化には GAMESS で、LC-BLYP/6-31G でおこなった。

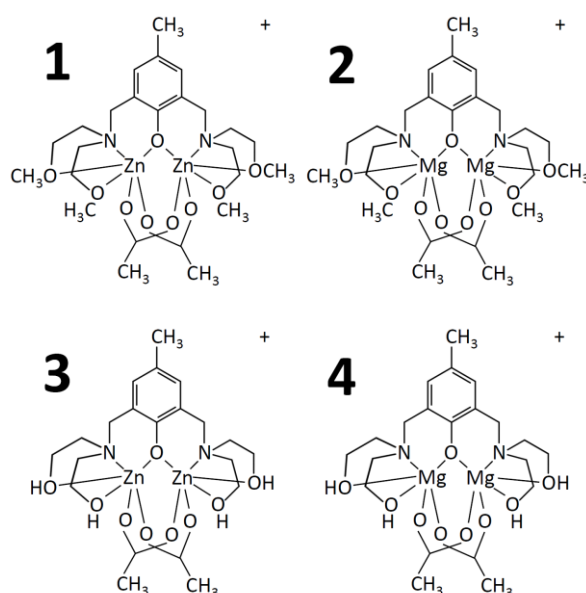


図1 二核亜鉛錯体と二核マグネシウム錯体の化学構造  $[Zn_2(\text{bomp})(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2]^+$  (**1**),  $[Mg_2(\text{bomp})(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2]^+$  (**2**),  $[Zn_2(\text{bhmp})(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2]^+$  (**3**),  $[Mg_2(\text{bhmp})(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2]^+$  (**4**).

## 【結果】

二核亜鉛錯体が基質を取り込んだときの構造について、可能な結合異性体および配座異性体をすべて考慮して最適化計算をおこなったところ、図2に示す構造が基質の加水分解に適した構造であることがわかった。模式図において、右側の亜鉛イオンは一般酸触媒として働き、基質の電子密度を下げることで反応を促進している。一方、左側の亜鉛イオンは求核剤として働く Zn-OH 種の生成に貢献し、取り込んだ基質のカルボニル炭素を求核攻撃しやすい構造になっている。ここで注目したいのが、模式図中一番左にある配位子側鎖のエーテル酸素である。これが亜鉛イオンから解離し、Zn-OH 種に水素結合することで一般塩基触媒として働き、求核性の向上に貢献している。

次に、二核マグネシウム錯体について同様の計算をおこなった。すると前述の配位子側鎖のエーテル酸素がマグネシウムイオンから解離せず、図2のような加水分解に適した構造をとることができなかった。これが二核マグネシウム錯体にアミノペプチダーゼ活性が見られない理由であると考えられる。

さらに、図2の構造について考察すると、基質のフェニル基と配位子側鎖の間の立体反発によってやや窮屈な構造になっていることがわかる。そこで、アミノペプチダーゼ活性を向上させるためには、立体反発を小さくすることで基質を取り込みやすくする必要があると考えられる。実際に錯体 **1** より立体障害が小さい錯体 **3** では、活性が数十倍に向上することがわかっている[3]。今回の計算手法を用いることで、より高活性の二核亜鉛錯体を精密設計することも可能であると考えられる。

今後、本研究手法は、新しい抗生物質の開発や薬剤耐性の原因となる酵素の阻害剤開発においても大いに役立つと期待できる。

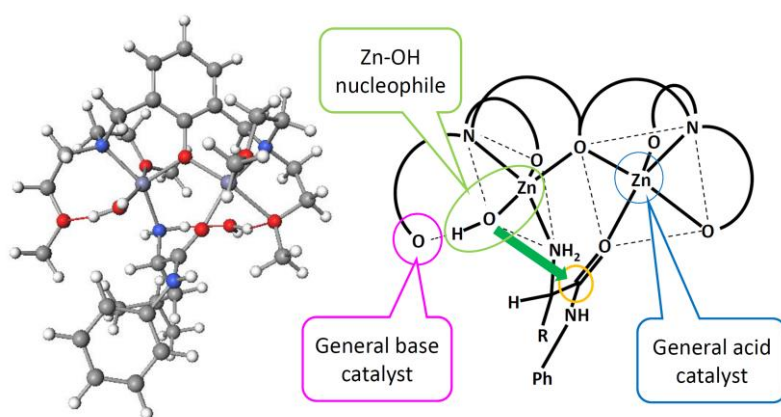


図2 基質の加水分解に適した二核亜鉛錯体による基質取り込み構造：棒と球のモデル（左）と模式図（右）（計算のために置換基などは省いている。）

## 参考文献

- [1] H. Sakiyama, R. Mochizuki, A. Sugawara, M. Sakamoto, Y. Nishida, M. Yamasaki, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1999, 997.
- [2] H. Sakiyama, S. Ishiyama, K. Suzuki, R. Yamaguchi, *J. Comp. Chem., Jpn.*, accepted.
- [3] M. J. Hossain, A. Wada, Y. Igarashi, K. Aimonon, K. Suzuki, K. Tone, H. Sakiyama, *Int. J. Inorg. Chem.*, 2011, 395418.