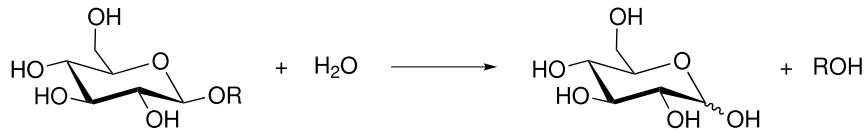


問題 19 グリコシダーゼと阻害剤

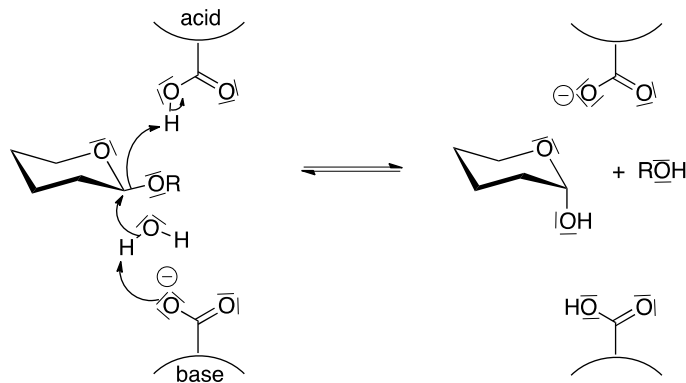
グリコシド結合は、生体高分子における最も安定した結合の一つである。この結合は、DNA、糖タンパク質、そして多糖類において見られる。グリコシダーゼ(グリコシド加水分解酵素)は、スキーム 1 の反応を触媒する、自然界で最も豊富で効率的な酵素である。というのも、C—O 結合開裂反応の速度を 10^{17} 倍に増加させることができるからである。



スキーム 1: グリコシド結合の加水分解

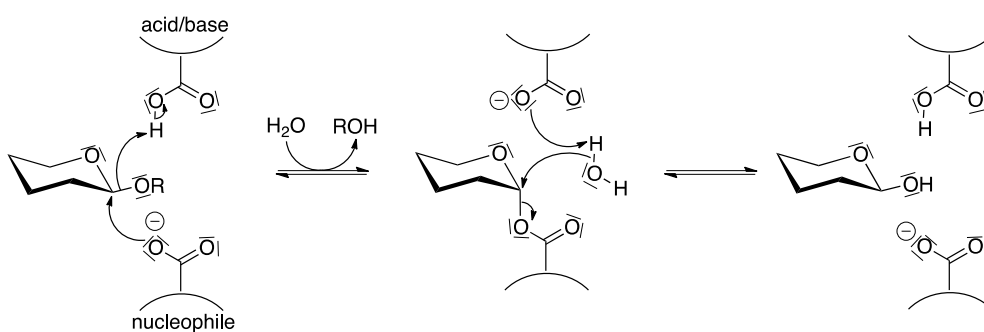
グリコシダーゼを触媒とする加水分解の反応機構

グリコシド結合の加水分解は、立体配置を反転するか(スキーム 2)、もしくは立体配置を保ったまま(スキーム 3)反応が進行する。



脚注 acid: 酸, base: 塩基

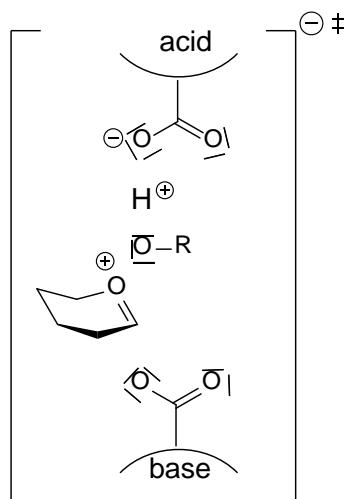
スキーム 2: 立体配置の反転を伴う反応機構



脚注 nucleophile: 求核剤

スキーム 3: 立体配置が保たれる反応機構

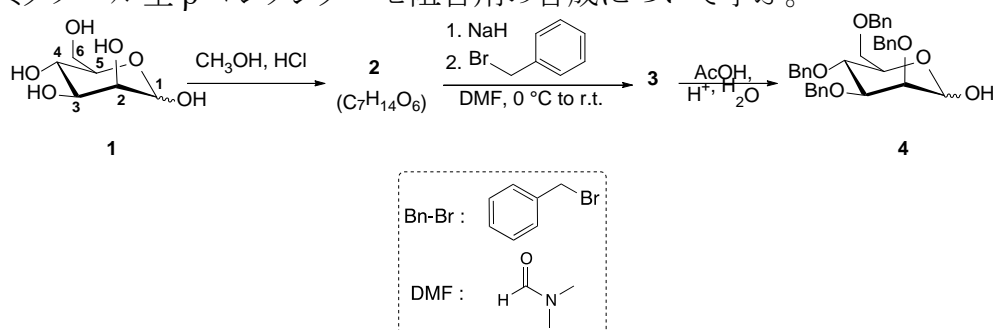
1. 立体配置が保たれる反応機構について、この反応の第一段階における遷移状態の構造(スキーム 4)を完成させなさい。生成されつつある結合や、切断されつつある結合を破線(- - -)で表すこと。(訳者注: 下図のスキーム 4 からいくつかの結合・電荷を消去する必要があるかもしれない。)



スキーム 4: 立体配置を保つ反応機構の第一段階の遷移状態の構造

グリコシダーゼ阻害剤の合成

グリコシダーゼの重要な役割を考えると、グリコシダーゼ阻害剤は非常に重要な研究テーマである。阻害剤の研究により、酵素によるグリコシド結合の加水分解の機構をより深く理解できるほか、研究成果をこれらの酵素に関わる多数の疾患(糖尿病、インフルエンザ、嚢胞性線維症など)の治療に応用することもできる。阻害剤として作用する炭水化物模倣物質を得る方法の一つは、環上の酸素原子を窒素原子で置換するというものである。これらの阻害剤は、グリコシド結合の加水分解での反応中間体や遷移状態を模倣している。この節では、マンノイミダゾール型 β -マンノシダーゼ阻害剤の合成について学ぶ。



脚注 r.t.: 室温
スキーム 5

第一段階では、酸性環境下で天然の炭水化物 **1** をメタノールと反応させて、化合物 **2** を合成する。

- 1** の炭素原子の中で、最も求電子的なものの番号を答えなさい。また、解答の根拠として、酸性環境下での互変異性体を描きなさい。
- 化合物 **2** の分子式は $C_7H_{14}O_6$ である。この立体構造式を描きなさい。

化合物 **2** は、水素化ナトリウム NaH および臭化ベンジル BnBr と反応し、化合物 **3** が得られる。

- 水素化ナトリウムの役割として正しいものを選択しなさい。

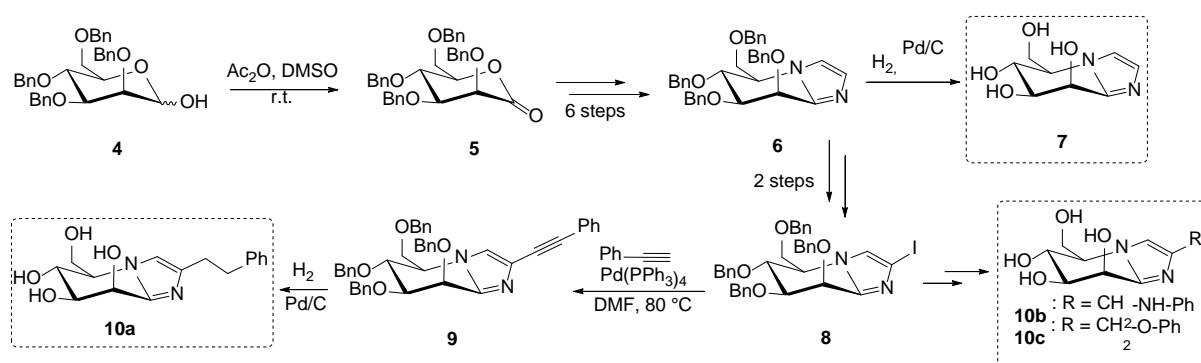
- 塩基
- 酸
- 求核剤
- 求電子剤

5. 第二段階で起こる反応について正しいものを選択しなさい。

- 求核付加
- 求核置換
- 脱離
- 電子移動

6. 化合物 **3** の構造を描きなさい。

化合物 **4** は、**3** のアセタール官能基が加水分解によりヘミアセタール官能基に変換されることによって得られる。



スキーム 6

化合物 **4** からラクトン **5** が生成する。それから **6** 工程を経て二環式化合物 **6** が得られるが、詳細はここでは省略する。その後、**6** のアルコール保護基を Pd/C の存在下で水素との反応により脱保護し、生成物 **7** が得られる。また、**6** から 4 工程で **7** の三種類の類縁体 **10a**, **10b**, **10c** が合成できる。

7. **4** から **5** を得る反応の酸化還元半反応式を書きなさい。

8. 問 1 で得られた構造を参考に、化合物 **7** の阻害作用を説明する反応の遷移状態の構造を描きなさい。

このように、グリコシダーゼ阻害剤の候補をいくつか合成することができた。いま、合成グリコシダーゼ阻害剤が本当に遷移状態の模倣物となっているかどうかを知ることが不可欠である。そのためには、活性部位と各阻害剤との親和性を明らかにする必要がある。以下に示すのは、ミカエリス-メンテンモデルと呼ばれる酵素反応速度論の古典的モデルに基づいた考察である。

ミカエリス-メンテン速度論

以下の手法は、酵素触媒過程の初期段階を説明するためによく用いられる。まずは酵素 **E** が基質 **S** と結合し、酵素-基質複合体 **ES** を形成する。この平衡過程は速い。それから酵素-基質複合体は解離して生成物 **P** を生成し、触媒 **E** が再生する。



9. 反応速度 r が次のように表されることを証明しなさい。

$$r = \frac{R_{\text{max}}[\text{S}]}{[\text{S}] + K_m}$$

ただし、 $[\text{E}]_{\text{tot}}$ を溶液中の全酵素濃度、 $K_m = \frac{k_- + k_{\text{cat}}}{k_+}$ 、 $R_{\text{max}} = k_{\text{cat}}[\text{E}]_{\text{tot}}$ とする。

10. $[\text{S}] \gg K_m$ と $[\text{S}] \ll K_m$ の 2 つの場合を考える。それぞれの場合について、反応速度 r を求め、 r が $[\text{S}]$ の関数としてどのように変化するかというグラフの概形を描きなさい。

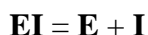
k_{cat} は、酵素-基質複合体から生成物が生成する反応の速度定数である。 K_m はミカエリス定数と呼ばれている。

11. $k_- \gg k_{\text{cat}}$ の場合の K_m の式を書きなさい。

12. 基質-酵素間の親和性と、 K_m との関係を、下の表にチェックを入れて示しなさい。

	K_m 小	K_m 大
高親和性		
低親和性		

競合阻害剤の存在下では、阻害定数 K_i は次の平衡の平衡定数である。



ここで、**I** は阻害剤である。

基質と結合していない酵素の半分がその活性部位を阻害されるような阻害剤の濃度である、阻害濃度 c_i を測定することができる。以下は、*Bacteroides thetaiotaomicron* (訳者注: 細菌の一種) 由来の β -マンノシダーゼに対する様々な模倣物質 (阻害剤) の阻害濃度 c_i の値である。

模倣物質	7	10a	10b	10c	11	12
c_i (mol L ⁻¹)	400	57	72	401	1000	975

13. c_i と K_i の関係を書きなさい。また、酵素と最も高い親和性があり、酵素反応を最もよく阻害する模倣物質を一つ選択しなさい。