

พรเทพ พรหมมา : จลนพลศาสตร์และอุณหพลศาสตร์ปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันด้วย  
เอนไซม์ของกรดไม้อิ่มตัวแอลฟา บีตา: การศึกษาทางทฤษฎี (KINETICS AND  
THERMODYNAMICS OF ENZYMATIC DECARBOXYLATION OF  $\alpha,\beta$ -UNSATURATED  
ACID: A THEORETICAL STUDY) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.กฤษณะ สาคริก,  
96 หน้า

คำสำคัญ: ปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันด้วยเอนไซม์, กรดไม้อิ่มตัวแอลฟา บีตา, วิธีการคำนวณเคมี  
ควอนตัม, ทฤษฎีสถานการณ์เปลี่ยนแปลง, จลนพลศาสตร์และอุณหพลศาสตร์

ปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันของกรดไม้อิ่มตัวแอลฟา บีตา โดยใช้เอนไซม์ ferulic acid  
decarboxylase (FDC1) และ prenylated flavin mononucleotide (PrFMN) เป็นโคแฟกเตอร์  
เป็นที่สนใจเป็นอย่างมากในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา เนื่องจากปฏิกิริยามีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมใน  
กระบวนการผลิตสไตรีนและอนุพันธ์ของสไตรีนจากทรัพยากรที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ที่ผ่านมาถึงแม้จะ  
มีการศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยานี้ทั้งการทดลอง และทางทฤษฎี แต่ยังไม่พบว่ามีการศึกษาผลของ  
ตัวทำละลายที่มีขั้วต่อปฏิกิริยาดังกล่าวในรายละเอียด ดังนั้นงานวิจัยเรื่องนี้จึงได้ทำการศึกษา  
ปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันเพื่อสังเคราะห์  $\beta$ -methylstyrene ( $\beta$ -MeSt) ในสถานะแวดล้อมไดอิเล็ก  
ตริกสูงสุดและต่ำสุดที่เป็นไปได้ในสารละลายที่เป็นน้ำ ( $\epsilon = 1$  และ 78 ตามลำดับ) โดยใช้วิธี  
การคำนวณเคมีควอนตัมที่ระดับ DFT/B3LYP/DZP ซึ่งผลการศึกษาพื้นผิวพลังงานศักย์ แสดงว่า  
สันหลัง (backbone) ของเอนไซม์ FDC1 ไม่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการนี้ ในขณะที่ความผันผวน  
ของสภาพขั้วของตัวทำละลายส่งผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงพลังงานกีดขวางอย่างมีนัยสำคัญ  
โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการเกิดสถานะแทรนซิชันที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนโปรตอน (proton  
transfer) ผลการคำนวณค่าคงที่อัตราโดยใช้ทฤษฎีสถานการณ์เปลี่ยนแปลง (transition state  
theory, TST) ยืนยันว่าไม่มีผลของ quantum mechanical tunneling ต่อพลังงานกีดขวางในช่วง  
อุณหภูมิที่ทำการศึกษา อย่างไรก็ตาม ในการคำนวณจำเป็นต้องพิจารณาผลของไดอิเล็กตริกเฉพาะที่  
(local dielectric environment) ในกลไกการเกิดปฏิกิริยาร่วมด้วย เมื่อพิจารณาค่าคงที่อัตรา พบว่า  
ในบางปฏิกิริยามูลฐาน ไม่สามารถเปรียบเทียบค่าที่คำนวณได้กับค่าที่วัดได้จากวิธีการทดลองโดยใช้  
stopped-flow spectrophotometer แสดงว่าปฏิกิริยาการเกิด  $\beta$ -MeSt โดยตรงหลังจากการขจัด  
คาร์บอนไดออกไซด์ (acid catalyst (2)) ที่มีผู้เสนอไว้ไม่น่าจะเกิดขึ้นได้ ทำให้ปฏิกิริยามูลฐาน  
ไซโคลอีลิมีเนชัน (cycloelimination) ในไดอิเล็กตริกเฉพาะที่ต่ำ เป็นขั้นกำหนดปฏิกิริยา ผลการ  
คำนวณอุณหพลศาสตร์แสดงว่าปฏิกิริยามูลฐานที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนโปรตอน ได้รับผลกระทบ  
จากการผันผวนของสภาพขั้วของตัวทำละลาย นำไปสู่ข้อสรุปที่ว่าปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันด้วย  
เอนไซม์ของกรดไม้อิ่มตัวแอลฟา บีตา โดยรวมเป็นปฏิกิริยาควบคุมทางอุณหพลศาสตร์  
(thermodynamically controlled) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสถานะแวดล้อมไดอิเล็กตริกเฉพาะที่สูง  
โดยการเกิดเป็นโมเลกุลในบริเวณเร่ง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอนโทรปีมากกว่าการสลายหรือการ  
สร้างพันธะโควาเลนต์ ตลอดจนการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลในบริเวณเร่ง โดยงานวิจัยเรื่องนี้แสดง  
การดำเนินไปของปฏิกิริยามูลฐานในรายละเอียดเป็นครั้งแรก และนำไปสู่องค์ความรู้เชิงลึกเกี่ยวกับผล

ของความผันผวนของไดอิเล็กทริกเฉพาะที่ต่อปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันด้วยเอนไซม์ของของกรดไม้อิมัลชันแอลฟา ปีตา ดังนั้นผลการวิจัยจึงสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาปฏิกิริยาปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันของกรดไม้อิมัลชันแอลฟา ปีตา ด้วยเอนไซม์อื่น ๆ ทั้งด้านการทดลองและทางทฤษฎีต่อไปในอนาคตได้



สาขาวิชาเคมี  
ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา พรเทพ นพรัตน์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา R. Suan

PHORNTEP PROMMA : KINETICS AND THERMODYNAMICS OF ENZYMATIC  
DECARBOXYLATION OF  $\alpha,\beta$ -UNSATURATED ACID: A THEORETICAL STUDY.  
THESIS ADVISOR : PROF. KRITSANA SAGARIK, Ph.D. 96 PP.

Keyword: enzymatic decarboxylation, 1,3-dipolar cycloaddition,  $\alpha,\beta$ -unsaturated acid, the DFT method, transition state theory, kinetics and thermodynamics.

Enzymatic decarboxylation of  $\alpha,\beta$ -unsaturated acid through ferulic acid decarboxylase (FDC1) has been of interest because this reaction has been anticipated to be a promising, environmentally friendly industrial process for producing styrene and its derivatives from natural resources. Because the local dielectric constant at the active site is not exactly known, enzymatic decarboxylation to generate  $\beta$ -methylstyrene ( $\beta$ -MeSt) was studied under two extreme conditions ( $\epsilon = 1$  and 78 in the gas phase and aqueous solution, respectively) using the B3LYP/DZP method and transition state theory (TST). The model molecular clusters consisted of an  $\alpha$ -methylcinnamate (Cin) substrate, a prenylated flavin mononucleotide (PrFMN) cofactor and all relevant residues of FDC1. Analysis of the equilibrium structures showed that the FDC1 backbone does not play the most important role in the decarboxylation process. The potential energy profiles confirmed that the increase in the polarity of the solvent could lead to significant changes in the energy barriers, especially for the transition states that involve proton transfer. Analysis of the rate constants confirmed the low/no quantum mechanical tunneling effect in the studied temperature range and that inclusion of the fluctuation of the local dielectric environment in the mechanistic model was essential. Because the computed rate constants are not compatible with the time resolution of the stopped-flow spectrophotometric experiment, the direct route for generating  $\beta$ -MeSt after  $\text{CO}_2$  elimination (acid catalyst (2)) is unlikely to be utilized, thereby confirming that indirect cycloelimination in a low local dielectric environment is the rate determining step. The thermodynamic results showed that the elementary reactions that involve charge (proton) transfer are affected by solvent polarity, thereby leading to the conclusion that overall, the enzymatic decarboxylation of  $\alpha,\beta$ -unsaturated acid is thermodynamically controlled at high  $\epsilon$ . The entropy changes due to the generation of molecules in the active site appeared more pronounced than that due to only covalent bond breaking/formation or structural reorientation. This work examined in detail for the first time the scenarios in each elementary reaction and provided insight into the effect of the fluctuations in the local dielectric environment on the enzymatic decarboxylation of  $\alpha,\beta$ -unsaturated

acids. These results could be used as guidelines for further theoretical and experimental studies on the same and similar systems.



School of Chemistry  
Academic Year 2023

Student's Signature ณัฐพร นิสสัย  
Advisor's Signature Dr. Sopon