

氏名	國嶋資子 くにしまもとこ
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第192号
学位授与の日付	昭和55年11月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科製薬化学専攻
学位論文題目	鉄-硫黄タンパク質の活性中心モデルとしてのチオール-鉄(III)-硫黄錯体に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 田中久 教授 宇野豊三 教授 山科郁男

### 論文内容の要旨

鉄-硫黄タンパク質は光合成、窒素固定、ステロイドや脂肪酸の水酸化などの生化学的に重要な多くの反応に関与している物質で、その活性中心にはタンパク質中のシステイン残基の硫黄が配位した最低1個の鉄原子が存在し、多くの場合この他に不安定硫黄とよばれる硫化水素として遊離しやすい無機硫黄が鉄原子に配位している。このような特殊な配位環境を反映して、鉄-硫黄タンパク質の活性中心は、特徴的な物理化学的性質を示すため錯体化学及び生化学の両面から興味もたれ、生物無機化学の分野における重要な研究対象のひとつとなっている。

近年、鉄-硫黄タンパク質のモデル錯体としていくつかの興味ある化合物が合成され、その性質が詳細に調べられているが、それらは、ほとんど、生体中に存在する化合物とは全く異なる配位子から成る錯体で、主としてそれらの化学物性、構造が研究されてきた。そこで著者は、生理的意義を有する配位子あるいは、関連配位子の鉄(III)錯体を用いて、従来あまり研究されていなかった活性中心の化学的性質、特に無機硫黄の取り込み、起源及び役割などを中心に検討した。一方、鉄-硫黄タンパク質においてはモリブデンが共同因子として作用している場合が知られており、またキサンチン酸化酵素やニトログナーゼなどのモリブデン含有酵素のモデルとしてチオール-モリブデン錯体が注目されているので、著者は鉄(III)錯体として興味ある性質を示したジチオールを用いてそのモリブデン錯体及びその無機硫黄やセレンの取り込みについても、鉄(III)錯体の場合と比較しつつ検討した。また上記のモデル錯体の、機能面でのモデルとしての価値を調べるため、薬物代謝との関連からも有意義であるアニリンやアセトアニリドの水酸化反応に対する上記のモデル錯体の触媒効果を検討した。その結果、以下に列挙する知見を得た。

(1)  $\alpha$ -メルカプトプロピオニルグリシン、グルタチオンなどの硫黄含有ペプチドの鉄(III)錯体は、硫黄を添加すると更に硫黄を配位し、 $2\text{Fe}-2\text{S}^*$  (以下  $\text{S}^*$  は不安定硫黄を示す) 型フェレドキシン類似の吸収スペクトルを示し、また、その EPR シグナルは  $g=4.4$  (高スピン状態) から  $g=2.0$  (低スピン状態) に変化すること、また、これらの含硫黄ペプチド-鉄(III)錯体においては、硫黄を添加しなくても配位子

からの無機硫黄の遊離及びその取り込みが自動的におこり、 $2\text{Fe}-2\text{S}^*$  型フェレドキシン類似の吸収スペクトルを示すそれぞれの鉄(III)-硫黄錯体に変化することがわかった。そして上記の自動的無機硫黄取り込み反応は、本研究で検討した多くのチオール類の中で、配位子中にペプチド結合が存在する場合にのみおこることが見いだされた。

(2) 1,4-ブタンジチオール, 1,5-ペンタンジチオール, 1,6-ヘキサンジチオールの鉄(III)錯体に硫化ナトリウムを加えると緑色植物型フェレドキシン類似の吸収スペクトルを示したが、ジチオスレイトール(以下 DTT と略記)-鉄(III)錯体に硫化ナトリウムを加えると、細菌型フェレドキシン類似のスペクトルを示した。種々のジチオールにおけるその鉄(III)錯体の無機硫黄取り込み反応のおこり易さは 1,4-ブタンジチオール > 1,5-ペンタンジチオール > 1,6-ヘキサンジチオールの順であった。また DTT 及び 1,4-ブタンジチオールの鉄(III)錯体とその無機硫黄配位錯体とにおいて吸収スペクトルに対する溶媒効果は大きく異なっていることが認められた。

(3) ジチオール-鉄(III)錯体による硫黄取り込み反応の至適 pH は 8.0~9.5 であり、500 nm よりも短波長側に吸収極大を有するジチオール-鉄(III)錯体は硫黄と反応して  $2\text{Fe}-2\text{S}^*$  型フェレドキシン類似の吸収スペクトルを示すが、500 nm よりも長波長側に吸収極大を有する錯体は硫黄を取り込まなかった。これらの結果及び種々のチオール-鉄(III)錯体のキレート環の大きさ、キレート環中の共役二重結合の有無など鉄錯体の安定度を左右する要因を考慮すると、硫黄取り込み反応には、もとのチオール-鉄(III)錯体の適度な不安定性が必要で、硫黄を取り込むことにより、より安定な錯体となることがわかった。

(4) DTT や 1,4-ブタンジチオールなどの種々のジチオールのモリブデン(V)錯体は容易に無機硫黄を取り込んで可視部に 2 個の吸収極大を示す無機硫黄を配位した錯体に変化した。また DTT-モリブデン(V)錯体は無機セレンも取り込み、硫黄又はセレンのモリブデンに対するモル比は 1:1 であることがわかった。DTT-モリブデン(V)錯体は固定状態では EPR 不活性であったが、水溶液では  $g=1.979$  に EPR 吸収を示し、この値は、総モリブデン量の 0.5% の電子スピンの相当した。しかし、この錯体に硫黄又はセレンを添加すると EPR シグナルが消失したことから、硫黄又はセレンが架橋して生成したジチオール-モリブデン(V)二量体錯体においては、その常磁性単量体への変化は、よく知られている酸素架橋二量体錯体の場合ほどには容易におこらないことが示唆された。

(5) DTT-鉄(III)錯体に無機硫黄あるいはセレンを添加すると、鉄のスピンの状態は  $g=4.4$  (高スピン) から  $g=2.0$  (低スピン) に変化した。DTT-鉄(III)-硫黄及び DTT-鉄(III)-セレン錯体の平均  $g$  値は 1.99 及び 2.02 で天然のアドレノドキシシン及びセレノアドレノドキシシンの値(1.97, 2.00)より大きかった。

(6) DTT-鉄(III)-硫黄錯体によるアニリンの水酸化反応の主生成物は、*p*-アミノフェノールであり、同時に微量の *o*-アミノフェノール及びフェニルヒドロキシルアミンを生成した。*p*-アミノフェノールの収率は DTT-(鉄)-硫黄錯体触媒系で 8.57%, DTT-鉄(III)-セレン錯体触媒系で 9.29% であった。錯体の溶存酸素取り込み能及びアニリン水酸化触媒活性の大きさは、DTT-鉄(III)-セレン錯体 > DTT-鉄(III)-硫黄錯体 > DTT-鉄(III)錯体の順序で、酸素取り込み及びアニリン水酸化触媒反応の至適 pH 領域は、ほぼこれらの錯生成に対する至適 pH 領域と一致しており、硫黄又はセレンを取り込んだ錯体が強い触媒活性を示すことがわかった。一方、還元型アドレノドキシシンの水酸化反応触媒活性は明らかに還元型セレン

アドレノドキシンの活性よりも大きかった。

(7) チオール-鉄(Ⅲ)-硫黄錯体によるアセトアニリドの水酸化反応の主生成物は *p*-及び *o*-アセトアミノフェノールであり、*p*-アセトアミノフェノールの収率はDTT-鉄(Ⅲ)-硫黄錯体触媒系で34.8%、グルタチオン-鉄(Ⅲ)-硫黄錯体触媒系で31.4%であった。

上記のように著者の見出した一連のチオール-鉄(Ⅲ)-硫黄錯体は物理化学的性質の面ばかりでなく、その反応性や機能の面でも、従来発表された鉄-硫黄タンパク質のモデルに比べて多くの特徴的な点を有していることが示され、それらの知見は関連するモリブデン錯体に関する知見とあわせて、鉄-硫黄タンパク質の特異的な構造と機能との関連の解明に有意義な資料を提供するものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は多くの生化学反応において重要な役割を果たしている鉄-硫黄タンパク質の活性中心モデルとしてのチオール-鉄(Ⅲ)硫黄錯体の生成、性質、機能などに関する研究結果をまとめたものである。

鉄-硫黄タンパク質およびそのモデル錯体の化学物性、構造については数多くの研究がなされ、かなり解明されているが、その特徴的な点である不安定硫黄の取り込み、機能などに関する研究はほとんどなされていないことに着目し、著者はまず多くのチオールの鉄(Ⅲ)錯体への硫黄の取り込み反応を調べ、鉄-硫黄タンパク質の活性中心モデルとして有用な性質を示す錯体を見出した。特にそれらのチオールの中で、 $\alpha$ -メルカプトプロピオニルグルシン、グルタチオンなどの鉄(Ⅲ)錯体においてはそれ自体からの硫黄の遊離、取り込み反応がおこることを見出しており、これらは鉄-硫黄タンパク質における不安定硫黄の起源を示唆するものとして価値ある知見と考えられる。またチオールの種類により緑色植物型フェレドキシンまたは細菌型フェレドキシン類似の性質を示すことを見出している。さらにこれらの錯体はアニリン水酸化反応に強い触媒活性を示すことも見出し、これらの錯体が化学的性質の面からのみでなく、機能の面でも鉄-硫黄タンパク質のモデル錯体として有意義であることを示した。

本研究によって見出されたチオール-鉄(Ⅲ)-硫黄錯体は鉄-硫黄タンパク質のモデル錯体として従来より知られているものにはみられない特徴を有し、薬物代謝においても重要な役割を果たしている鉄-硫黄タンパク質の構造と機能の解明上有意義なものと考えられ、本研究は生物無機化学の分野で重要な研究課題である鉄-硫黄タンパク質の研究の進展に寄与するところが大きいと考えられる。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。