

論文内容の要旨

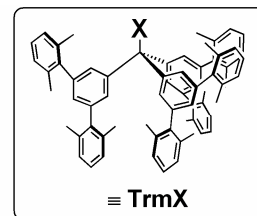
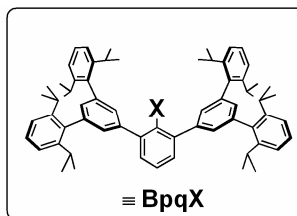
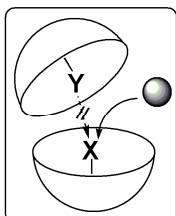
論文題目：Synthetic Model Studies of Chalcogen-Containing Reactive Species Related to Biological Functions

(生体機能に関連する含カルコゲン高反応性化学種の合成モデル研究)

氏名 島田 恵一

酵素の活性部位の特徴の一つとして、官能基が空孔の内部に埋め込まれ他の活性な官能基から孤立した環境にあるために、通常多量化を起しやすい高反応性化学種が安定に存在するという点が挙げられる。例えば、活性部位に存在する孤立したシステイン残基の酸化体（スルフェン酸, R-SOH）、ニトロソ化体（*S*-ニトロソチオール, R-SNO）、およびニトロ化体（チオニトラート, R-SNO₂）が挙げられ、それらは生体内のレドックス制御および信号伝達において重要な役割を果たしている。また近年、セレノシステイン残基のニトロソ化体（*Se*-ニトロソセレノール, R-SeNO）が、活性窒素種によるグルタチオンペルオキシダーゼ（GPx）の失活過程の中間体として提唱されている。しかし、人工系では孤立した環境を構築することが難しく、これらの化学種は二量化や自己縮合などを経て容易に分解してしまうため、構造、物性、および反応性について直接的な情報を得ることが困難である場合が多い。

当研究室では、酵素の活性部位の構造的特性を取り入れた新規な反応場として、種々の bowl 型立体保護基を開発し、高反応性化学種の安定化に応用してきた。筆

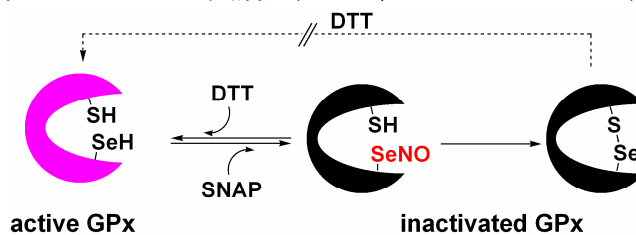


者は博士課程において、bowl 型置換基をもつ安定な化合物を用いることにより、活性窒素種が関与する生体反応の機構として提唱されていたが従来検証が困難であった、いくつかの反応過程を直接的に示すことができた。また、生体内のレドックス制御における重要な中間体でありながら、不安定性のために構造や物性がほとんど知られていなかったスルフェナートアニオン種

(R-SO⁻)を合成・単離し、その性質を明らかにした。

1. システインおよびセレノシステインのニトロソ化およびニトロ化に関する合成モデル研究

S-ニトロソチオールなどの活性窒素種による GPx の失活過程では、セレノシステイン残基のニトロソ化の後、酵素タンパク質の中で Se-S 結合が不可逆的に形成され失活する機構が提唱されている (Figure 1)。第 1 段階で生成する Se-ニトロソセレンールは、ジチオスレイトール (DTT) などにより還元可能と考えられている。しかし、これらの反応素過程に関する実験的な根拠は得られておらず、推測の域を出ていない。筆者は修士課程において、Bpq 基を活用することにより初めての安定な Se-ニトロソセレンールの合成に成功している。Figure 1 の反応素過程を検証するため、セレンール 1 に S-ニトロソグルタチオン (GSNO) を作用させたところ、対応する Se-ニトロソセレンール 2 が生成した。この反応を



UV/vis スペクトルで追跡したところ、GSNO の減少に伴う 2 の増加が等吸収点を持つ変化として観測され、S-ニトロソチオールからセレンールへのニトロソ転移の進行が明らかになった。2 に塩基存在下、過剰量の DTT を作用させたところ、1 が定量的に生成した。一方、2 に過剰量の 1-ブタンチオールを作用させたところ、セレニルスルフィド 3 を定量的に与えた。以上の検討により、Figure 1 に含まれるすべての反応素過程を直接的に示し、Se-ニトロソセレンールが生体内での信号伝達に参与している可能性を示唆することができた (Scheme 1)。

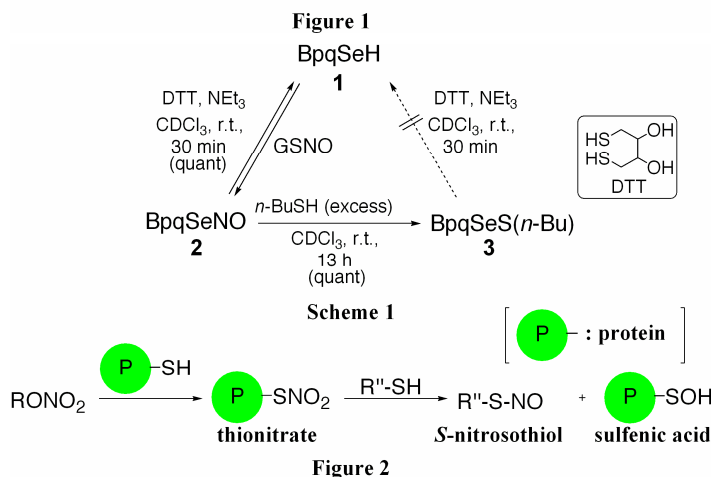
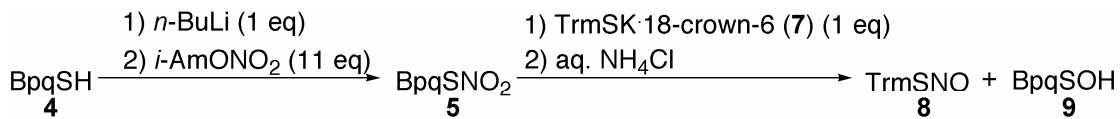


Figure 1 に含まれるすべての反応素過程を直接的に示し、Se-ニトロソセレンールが生体内での信号伝達に参与している可能性を示唆することができた (Scheme 1)。

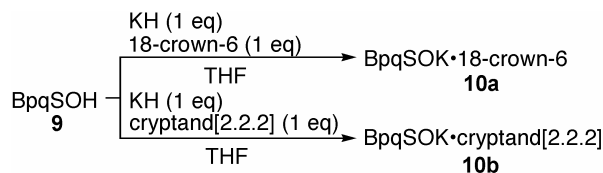
ニトログリセリンをはじめとする硝酸エステルは、顕著な血管拡張作用を有するために狭心症などの特効薬として古くから用いられている。しかし、その作用機序は未だ明らかになっていない。一つの有力な仮説として、チオニトラートを經由して S-ニトロソチオールを生成する機構 (Figure 2) が古くから提唱されているものの、硝酸エステルからチオニトラートの生成反応およびチオニトラートから S-ニトロソチオールの生成反応いずれについても実験的に示した例はこれまでにない。今回、Bpq 基および Trm 基を用いて、これらチオニトラートが関与する反応について検証した。Bpq 基を有するチオール 4 に 1 当量のプチルリチウムを作用させてチオラートとし、過剰量の硝酸イソアミルを作用させることにより、チオニトラート 5 を主生成物として得た。続いて、チオニトラート 5 から Trm 基を有するチオール TrmSH(6)へのニトロソ転移について検討した。チオニトラート 5 にチオール 6 を作用させたところ反応は進行しなかったが、チオール 6 に対して 18-クラウン-6 エーテル存在下水素化カリウムを作用させチオラート 7 とした後にチオニトラート 5 と反応させ、弱酸で処理したところ、Trm 基を有する S-ニトロソチオール 8 とスルフェン酸 9 を得た。以上により、硝酸エステルから S-ニトロソチオールを生成する機構について、チオニトラートを中間体とする経路の反応素過程を実証することができた (Scheme 2)。



Scheme 2

2. 安定なスルフェナートアニオン種の合成、構造、および反応性

スルフェン酸の共役塩基であるスルフェナートアニオン種は、NADH ペルオキシターゼなどの活性中心に存在することが知られているが、人工系においてはスルフェン酸以上に不安定であり、その構造および物性についての知見はほとんど得られていない。生体内における



Scheme 3

スルフェナートアニオン種の挙動を理解するためにも、安定なモデル化合物の合成が必要とされていた。今回、bowl型置換基をもつスルフェン酸の脱プロトン化について検討した結果、最も立体保護効果の高いBpq基を用いた場合に安定なスルフェナートアニオン種を合成することができた。スルフェン酸**9**に対し18-クラウン-6またはクリプタンド[2.2.2]存在下、水素化カリウムを作用させたところ、スルフェナートアニオンのカリウム・18-クラウン-6塩**10a**およびカリウム・クリプタンド[2.2.2]塩**10b**を安定な紫色固体として単離することに成功した (Scheme 3)。ベンゼンからの再結晶により得られた**10a**についてX線構造解析を行ったところ、主に酸素原子がカリウムに配位していることが明らかになった。また、**10a**のイオン-酸素間の結合距離は1.558(6) Åであり、二重結合性を有することが明らかになった。一方、**10b**では、スルフェナート部位とカリウムイオンとの間に相互作用は存在せず、スルフェナートアニオンはフリーな構造をとっていることが明らかになった。**10b**のイオン-酸素間の結合距離は1.485(5) Åであり、**10a**よりもさらに大きい二重結合性を有することが明らかになった。このような構造的特徴を反映して、IRスペクトルにおけるS-O伸縮振動は**10b**(1166 cm⁻¹)の方が**10a**(1110 cm⁻¹)より高波数側に観測された。また、UV/visスペクトルにおいても、**10b**において長波長シフトが見られた。この結果は、溶液中における構造が結晶中での構造を反映していることを示唆している。また、**10a**をTHF溶液から再結晶しX線構造解析を行ったところ、二分子のTHFがカリウムイオンに配位した**10a**·2THF、中心官能基はフリーになっていることが明らかになった (Figure 3)。このような配位子および溶媒の効果は、¹³C NMRにおいても観測された。

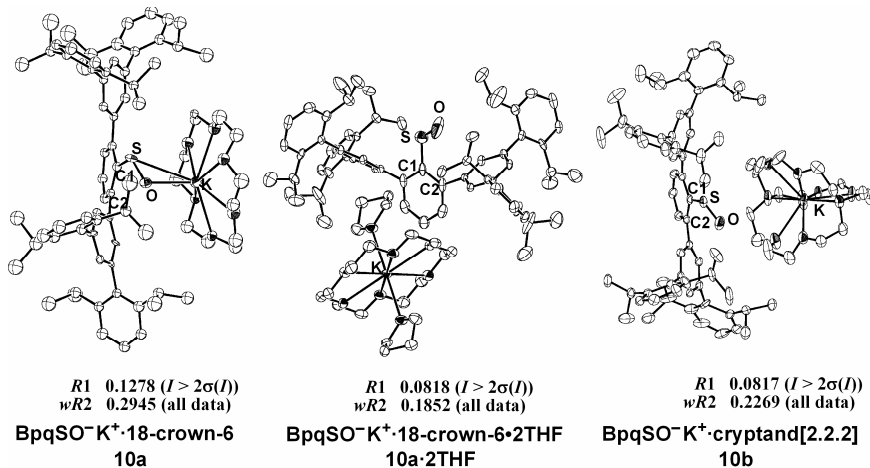
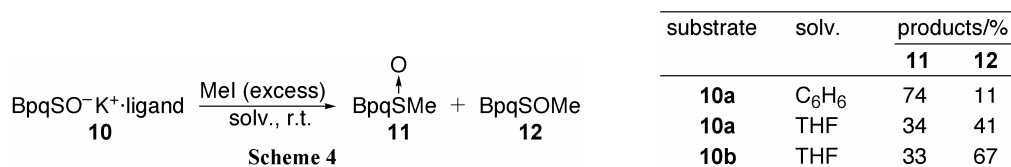


Figure 3

ベンゼン溶液中、**10a** とヨウ化メチルとの反応ではスルホキシド **11** が主生成物として得られたが、THF 中での反応では、主生成物はスルフェン酸メチル **12** となった。同じ条件でクリプタン
ド塩 **10b** の反応を行うと、**12** の割合がさらに増加した (Scheme 4)。このように、**10a** および
10b を用いることで、スルフェナートアニオン種の構造と物性および反応性との関連を直接的に
示すことができた。



また、スルフェナートアニオン種のセレン類縁体であるセレネナートアニオン種の合成についても検討し、その結晶中での構造を X 線構造解析により明らかにすることができた。また、溶液中でのスペクトル的性質および反応性についての知見を得ることに成功した。