

学 位 論 文 題 名

フェニルホスホ硫酸エステル金属錯体の
構造と動力学的性質

学位論文内容の要旨

リン酸基－金属イオン相互作用の無機化学・錯体化学的研究は数多く報告されている。特に ATP とマグネシウムイオンとの相互作用についてはその結晶中および水溶液中におけるキャラクタリゼーションが行われてきた。

ところが溶液内の相互作用を研究する際、溶媒が水であると金属イオンおよびリン酸基に対する溶媒和が金属イオン－リン酸錯体の構造をより複雑にする事が十分考えられる。酵素反応は基質である Mg-ATP 錯体が溶媒の水から隔離された状態で起こる事を考慮すると、リン酸基及び金属イオンを非水溶媒中で研究する事が必要となる。そこで本研究ではリン酸－硫酸結合を有するフェニルホスホ硫酸エステル(PPS)を対象とし、結晶水を持たないマグネシウム塩及びトリエチルアンモニウム塩の結晶解析および非水溶媒である N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)系溶媒中における PPS と Mg^{2+} 、 Ca^{2+} または Zn^{2+} との錯体の構造と錯形成・解離の動力学的を ^{31}P 、 ^{17}O NMR 測定により明らかにした。また Cd^{2+} の存在下における PPS のメタノリシスの反応速度論的研究も併せて行った。

本論文は、全 9 章から成る。第 1 章は序論であり、リン酸基－マグネシウムイオン錯体のキャラクタリゼーションの重要性、過去の研究成果について述べ、非水溶媒中でのフェニルホスホ硫酸エステル(PPS)と 2 価金属イオンからなる錯体の構造と錯形成・解離の動力学的に関する研究の意義、行われた研究の概要について述べた。

第 2 章では PPS の性質、特に P-O-S 結合の加溶媒分解に関して金属イオンの効果、反応機構について述べ、次に溶媒の誘電率、ドナー数、アクセプター数の概要の説明の後、本研究に用いられた DMF、水およびメタノールの溶媒和の性質を述べた。

第 3 章は研究対象である PPS の合成法について述べ、リン酸基に ^{17}O を導入した PPS の合成およびマグネシウム、カルシウムおよび亜鉛の塩化物の脱水方法について述べた。

第 4 章では PPS・マグネシウム塩およびトリエチルアンモニウム塩の結晶構造を X 線回折により決定し、マグネシウム塩は結晶内で 2:2 錯体として存在する事、ホスホ硫酸鎖が "eclipsed" コンホメーションである事を、またトリエチルアンモニウム塩では 2 つの陽イオンがそれぞれリン酸基の非架橋酸素と水素結合をしており、硫酸基

側とは相互作用をしていない事をそれぞれ見いだした。

第5章は DMF、DMF/水、DMF/メタノール、水およびメタノール溶媒中における錯形成能と錯体の同定に関する成果についての章である。 ^{31}P NMR測定から DMF中において4種類のMg/PPS錯体が存在する事を章の最初に示し、それらのピーク強度の $R(=[\text{Mg}]_{\text{T}}/[\text{PPS}]_{\text{T}})$ 依存性および化学シフト値より、2種類のMg:PPS=1:1錯体、1種類の2:1錯体を Mg^{2+} を PPSの硫酸基に局在しているもの、リン酸基に局在しているものおよび2つの Mg^{2+} がそれぞれ硫酸基、リン酸基と結合しているものと同定した。なお、残るひとつの錯体はその化学シフトのR依存性からMg:PPS=1:2錯体と同定した。次に、化学シフトに注目して、各溶媒中における金属イオン滴定を Mg^{2+} 、 Ca^{2+} および Zn^{2+} のそれぞれの金属イオン系に対して行い、水を含む溶媒中では外圏錯体形成により直接の錯形成が阻害されている事、DMF溶液中では Mg^{2+} が PPSの硫酸基よりもリン酸基と結合し易いが、メタノールの存在によって硫酸基の方と結合し易くなる事を明らかにした。さらに Ca^{2+} 系では滴定曲線に Mg^{2+} 系とはほとんど違いが見られなかった事、 Zn^{2+} 系ではそれらとは異なった滴定曲線が得られた事について述べた。

第6章では PPSのリン酸基に関して金属イオンに対する直接の配位原子である酸素の情報を得るべく、リン酸基の架橋、非架橋酸素が ^{17}O で置換された PPS + Mg^{2+} のDMF溶液の ^{17}O NMR測定について述べた。スペクトルには2本のピークが観測されたが、それらは非架橋酸素、P-O-S 架橋酸素と帰属され、それぞれのピークの化学シフトおよび線幅のR依存性から、非架橋酸素のスペクトルには Mg^{2+} のリン酸基への結合効果が、架橋酸素のスペクトルには2:1錯形成の効果が現れている事を見いだした。

第7章では2種類の1:1錯体と1種類の2:1錯体の計3本のピークが得られた $R=3$ のMg/PPS系DMF およびDMF:メタノール=1:1溶液の ^{31}P NMRスペクトルの温度依存性の測定およびスペクトル線形の化学交換シミュレーションの結果について述べた。DMF中においては、結合・解離の動的性質としてリン酸基の方が硫酸基よりも Mg^{2+} を引きつける能力が高い事および Mg^{2+} のリン酸基における寿命は短く、硫酸基における寿命は長い事が判った。

さらに Ca^{2+} 系 DMF溶液中では錯形成・解離の化学交換が Mg^{2+} 系に比べてはるかに速いにもかかわらず金属イオン滴定曲線に両金属イオンの違いが見られなかった。

第8章は PPSの加溶媒分解のカドミウムイオン効果を反応速度論的に研究したものである。DMF:メタノール=1:1(v/v%)中における PPSのメタノリシス反応は Cd^{2+} の存在により加速され、さらにその反応はP-O開裂:O-S開裂=58:42の混合開裂であった。メタノリシス反応速度の Cd^{2+} 濃度依存性を1:1錯形成モデルによってフィットし、反応の速度定数を決定した。

第9章では、結晶解析、多核種NMRおよび反応速度論の立場から行われた本研究を総括した。

本研究は、一般には水以外の溶媒に溶解しないリン酸基を非水溶媒中において行ったリン酸基-金属イオン結合のキャラクタリゼーションであり、水の存在しない環境におけるリン酸エステルと金属との直接の結合に関する情報が得られた点で貴重で興味深い。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 市 川 和 彦

副 査 教 授 喜 多 英 明

副 査 教 授 横 川 敏 雄

副 査 教 授 佐々木 陽 一

学 位 論 文 題 名

フェニルホスホ硫酸エステル金属錯体の構造と動力学的性質

アデノシン 3 リン酸 (ATP) の酵素的加水分解の際、Mg-ATP 錯体は酵素の活性部位に取り込まれる。つまり反応は生体の溶媒である水から隔離された環境下で起こる。ATP をはじめとする 2 リン酸、3 リン酸化合物と 2 価金属イオンの溶液内相互作用、特に配位部位に関して様々な研究報告がされているが、これらの配位子が水以外の溶媒に溶解しないので研究は水溶液中に限定されてきた。しかしながら実際の反応系は水溶液系とは異なることと水和によって外圏錯体という複雑な配位形態を作り易いことのため水溶液中では Mg^{2+} -リン酸基結合のキャラクタリゼーションを行うのは困難である。申請者はリン酸-硫酸エステル結合をもつフェニルホスホ硫酸エステル (PPS) が外圏錯体を形成しにくい N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 溶媒に溶解することに注目し、DMF 中での Mg-PPS 錯体のキャラクタリゼーションを中心に研究を行いリン酸基、硫酸基と Mg^{2+} との結合に関する熱力学的、動力学的性質を明らかにした。さらに X 線結晶解析から決定した結晶中の Mg^{2+} の配位形態と溶液中のそれとを比較検討した。

(1) ^{31}P NMR を用いて DMF 中の Mg-PPS 錯体のキャラクタリゼーションを行った。PPS との各結合部位間のマグネシウム陽イオンの化学交換速度を遅くさせるために、 $-20^{\circ}C$ の低温で ^{31}P NMR スペクトルの $R(=[Mg^{2+}]_T/[PPS^{2-}]_T)$ 依存性を測定することによって 5 種類の錯体の存在を示すことができた。各ピークの強度比および化学シフト値の R 依存性から Mg:PPS が 1:2 錯体、1:1 錯体 (Mg^{2+} が硫酸基に局在)、1:1 錯体 (Mg^{2+} がリン酸基に局在) および 2:1 錯体 (2 つの Mg^{2+} がリン酸基、硫酸基にそれぞれ局在)

とそれぞれ同定した。さらにDMF:メタノール比を変えて溶媒効果を検討し、DMF中では Mg^{2+} はリン酸基と、メタノール中では硫酸基と結合しやすいことを見いだした。また化学シフト変化を利用した金属イオン滴定より錯形成の熱力学的性質を決定したが、 Mg -PPS、 Ca -PPS両錯体間の違いが認められなかった。

(2) 溶液系と同じ溶媒 DMFによって溶媒和されたPPS・マグネシウム塩の単結晶を作成し、X線結晶解析を行った。マグネシウム塩は2:2錯体として結晶化し、 Mg^{2+} に対してリン酸基、硫酸基の酸素がひとつずつ配位したbidentateの配位形態であった。これは溶液中での Mg^{2+} のPPSに対する配位形態とは異なっていた。PPS・トリエチルアンモニウム塩の結晶解析を行い、2つの陽イオンがリン酸基の非架橋酸素の2つに各々水素結合し、硫酸基とは水素結合をしていないという興味深い構造をしていることが明らかとなった。

(3) リン酸基部分を ^{17}O で同位体置換したPPSを合成することによってDMF中におけるPPSの ^{17}O NMRスペクトルのR依存性を測定することができた。リン酸基の非架橋酸素スペクトルの半値幅の顕著なR依存性は Mg^{2+} との結合そのものによることが判明した。

(4) 3サイト化学交換モデルで $R=3$ のDMF溶液中における $-20\sim 20^{\circ}C$ の ^{31}P NMRスペクトルを再現することにより2つの1:1錯体および1つの2:1錯体の間の化学交換の動力学的性質を決定した。PPSのリン酸基は硫酸基よりも Mg^{2+} を引きつける能力が高く、 Mg^{2+} の滞在寿命($10^{-4}\sim 10^{-2}s$)が短い事が分かった。 Ca^{2+} 系におけるスペクトルの温度依存性は、 Mg^{2+} とくらべて Ca^{2+} は PPS^{2-} との錯形成・解離の化学交換がきわめて速い事を示した。

(5) DMF/メタノール(1:1, v/v%)溶液中におけるPPSのメタノリシス反応の Cd^{2+} 触媒効果を反応速度論的に明らかにした。

いくつかの研究方法を駆使して得た主な成果をまとめると、(1)溶液中の配位形態は結晶中とはおなじではなく、 Mg^{2+} と PPS^{2-} はDMF溶液中では結晶中に見られる様なbidentateキレートを両者の間で形成していないこと、(2) Mg^{2+} と Ca^{2+} では、 PPS^{2-} との錯形成・解離の熱力学的性質には違いが認められないが、これ等の動力学的性質が大きく異なることが明らかにされた。このような新しい重要な知見を得たのは、非水溶媒という環境下に系を置く事の独創的着想によるものであって高く評価される。参考論文4編は既に公表されていて、3編は国際誌に、1編は国内誌に発表されている。

以上の研究成果は生物無機化学の分野に溶液化学、錯体化学の立場から寄与するものである。よって審査員一同は、申請者が博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。