

論文題目

Synthesis and Reactivities of Highly Oxidized [Fe₄S₄] Clusters 特異な高酸化状態を有する[Fe₄S₄]クラスターの合成と反応性に関する研究

名古屋大学大学院 理学研究科 物質理学専攻 (化学系)

無機化学研究室

谷藤 一樹

博士論文要約

複数の鉄と硫黄からなる鉄硫黄クラスターは広く金属タンパク中に存在する化合物の一つである。中でもキューバン型 (立方体型) [Fe₄S₄]クラスターは、タンパク中の活性中心として生体内の電子伝達や有機基質の物質変換を主に担っており、またDNAの修復や遺伝子の発現制御という、生命維持の根幹にも一部関与する可能性が示されている。タンパク中の[Fe₄S₄]クラスターは、一般的にシステインに由来するチオラートとクラスターの鉄が相互作用することでタンパク内部に保持されており、生体内で[Fe₄S₄]³⁺、[Fe₄S₄]²⁺、[Fe₄S₄]⁺という三つの酸化状態をとる。[Fe₄S₄]クラスターの基本的な性質を理解する目的で、タンパク中の構造を再現するモデルクラスターが、1970年代より合成されている。最もシンプルな四つのチオラート配位子を持つ[Fe₄S₄]クラスターは、電気化学測定によりタンパク中と同じ[Fe₄S₄]³⁺、[Fe₄S₄]²⁺、[Fe₄S₄]⁺の三つの酸化状態をとりうる事が示されており、このうち最も安定な状態は[Fe₄S₄]²⁺である。実際、この酸化状態を有する[Fe₄S₄(SR)₄]²⁻ (SR = チオラート, Rは任意の置換基) は70例以上合成されているのに対して、これよりも一電子分酸化状態の低い[Fe₄S₄(SR)₄]³⁻は10例程度、一電子分酸化状態の高い[Fe₄S₄(SR)₄]⁻では1例が報告されているのみである。また、これまでにチオラートを配位子に持つ[Fe₄S₄]クラスターを用いて[Fe₄S₄]⁴⁺の酸化状態は観測されていない。一方で我々は、アミド配位子を用いて[Fe₄S₄]⁴⁺の高酸化状態を有する[Fe₄S₄]クラスター、Fe₄S₄{N(SiMe₃)₂}₄ (**1**)を合成している。また、クラスター**1**に対して適切な還元剤を作用させると、一電子還元体、[Fe₄S₄{N(SiMe₃)₂}₄]⁻ (**2**)、二電子還元体、[Fe₄S₄{N(SiMe₃)₂}₄]²⁻ (**3**)が合成可能であることを我々とLeeらが報告している。チオラート配位子を持つ[Fe₄S₄]クラスターが[Fe₄S₄]³⁺から[Fe₄S₄]⁺までの酸化状態をとるのに対して、アミド配位子を持つこれらのクラスターでは[Fe₄S₄]⁴⁺から[Fe₄S₄]²⁺までの酸化状態が安定であり、アミド配位子がその強い電子供与性により高酸化状態を効果的に安定化している。本研究では、[Fe₄S₄]クラスターの安定性や反応性と酸化状態の関係に興味を持ち、最も安定な状態である[Fe₄S₄(SR)₄]²⁻より高酸化状態にある[Fe₄S₄]⁴⁺クラスター**1**と[Fe₄S₄]³⁺クラスター**2**を用いて反応性を検討した。その結果、これらを反応前駆体として用いることにより、[Fe₄S₄]クラスターの周りを自在に修飾できる、あるいはクラスターの骨格を分割もしくは融合させられるという、新しい現象を発見した。

高電位鉄硫黄タンパク(HiPIP)は[Fe₄S₄]³⁺の酸化状態と[Fe₄S₄]²⁺状態の酸化還元を利用して電子伝達を媒介するタンパクであり、その活性中心はチオラート四つが結合したクラスター[Fe₄S₄(Cys)₄] (Cys = システインチオラート) で表される。これに対して同様に[Fe₄S₄(Cys)₄]型の活性中心を持つフェレドキシンは、一電子分酸化状態の低い[Fe₄S₄]²⁺と[Fe₄S₄]⁺状態を電子伝達に用いる。これら二種類のタンパクがどのようにして用いる酸化状態をコントロールしているのかに興味を持たれ、これまでに様々なモデルクラスターが合成されてきたが、酸化型のHiPIPに対応するモデルは1例のみであり、この酸化状態を有するクラスターの構造、性質については十分な知見が得られていなかった。そこでクラスター**2**が[Fe₄S₄]³⁺の酸化状態を持つことに着目し、このクラスターを前駆体として酸化型HiPIPのモデルを合成した。クラスター**2**に対して4当量のかき高いチオールを作用させたところ、アミドが塩基としてチオールからプロトンを引き抜き、代わりにチオラートを配位させたクラスター[Fe₄S₄(SR)₄]⁻ (R = Dmp (**4a**), R = Tbt (**4b**), R = Eind (**4c**), R = Dxp (**4d**), R = Dpp (**4e**), R = Tip (**4f**); Dmp = 2,6-dimesitylphenyl, R = 2,4,6-tris(bis(trimethylsilyl)phenyl)phenyl, Eind = 1,1,3,3,5,5,7,7-octamethyl-s-hydrindacen-4-yl, Dxp = 2,6-di-*m*-xylylphenyl, Dpp = 2,6-diphenylphenyl, Tip

= 2,4,6-triisopropylphenyl)が得られた。これらのクラスターのうち、**4a-e**は結晶構造解析によって分子構造を決定し、報告されている $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{2+}$ あるいは $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^+$ 状態にあるクラスターとの構造比較を行なった。その結果、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターは酸化還元に伴って骨格構造よりも鉄とチオラートの結合長を大きく変化させており、高酸化状態では短くなる傾向が見られた。これは、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターの鉄が、酸化状態の変化に対してクラスター骨格の硫黄よりもチオラート配位子との相互作用を大きく変化させることを示唆する。また、電気化学測定を行なったところ、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}/[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{2+}$ の間の酸化還元波は、チオラートの置換基がかさ高いほど低電位側にシフトする現象が観測された。またこの高酸化状態の安定化の結果、チオラートの置換基に特にかさ高いDmp基とEind基を持つ**4a**、**4c**では、チオラートを持つクラスターでは前例のない、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{4+}/[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ の酸化還元波が見られた。この現象は、かさ高い置換基によってクラスター骨格が覆われた結果、立体障害によってクラスターの溶媒や対カチオンとの相互作用が妨げられ、クラスター骨格が持つ電荷がより小さい状態、すなわちより高い酸化状態が安定化されたためと推測される。特に、チオラートの置換基を導入したわずかな構造の違いが酸化還元電位に100 mV以上のシフトをもたらすという結果は、HiPIPがその酸化還元電位を調節する機構との関連から興味深い。

タンパク中に見られる $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターの多くは、四つの鉄にシステインチオラートを結合させている。一方で二種類の配位子を3:1比で結合させたものは、酵素反応に関係するクラスターにしばしば見られ、例えば $\text{H}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + 2e^-$ の反応を触媒するヒドロゲナーゼでは、三つのチオラートと一つのイミダゾールが結合したクラスター $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys})_3(\text{His})]$ が電子伝達を担っている。通常、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターの鉄は全て等価であるため、このうち一つを区別し、他の三つと異なる環境に置くのは困難である。そこでこれまではこのような[3:1]型の配位構造を有するクラスターを合成するために、三座キレート配位子を用いて置換活性な鉄を一つに限定する、という戦略が用いられてきた。しかしながら、極性溶媒中でクラスターを取り扱うこの方法では、置換反応が可逆であるために生成物の単離が難しいという問題点があった。これらの問題に対して、本研究では高酸化型クラスターの還元を用いた数選択的な配位子置換という解決策を示した。この方法は以下の三つのステップからなる。すなわち、①高酸化型クラスター**1**の安定化に寄与しているアミド配位子($\text{N}(\text{SiMe}_3)_2$)を、チオールとの酸-塩基型反応によりチオラート(SR)へ置換する、②置換後は高酸化状態に耐えられなくなり、チオラートの一つが解離して鉄を還元する、③新たな配位子で、鉄の上に生じた空きを埋める、である。この方法に則り、クラスター**1**に対して4当量のDmpチオールを作用させ、ついで1,2,4,5-tetramethylimidazole (Me_4Im)を導入したところ、三つのDmpチオラートと Me_4Im を配位子に持つ、 $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SDmp})_3(\text{Me}_4\text{Im})$ (**5**)が得られた。また、この反応は $[\text{Fe}_4\text{S}_4]^{3+}$ 状態のクラスターに対しても応用でき、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SDmp})_4]^-$ (**4a**)に対して Me_4Im を作用させたところ、クラスター**5**よりも一電子分酸化状態の低い $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SDmp})_3(\text{Me}_4\text{Im})]^-$ (**6**)が生成した。この場合には、 Me_4Im の添加により、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SDmp})_4]^-$ からチオラートが脱離する反応が誘起される。合成したクラスター**5**、**6**は、ヒドロゲナーゼに存在するヒスチジンが結合した $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターのモデルとして、初めて構造解析に成功し、その分子構造を明らかにしている。クラスター**5**とクラスター**4a**の電気化学測定の結果から、チオラートからイミダゾールへの配位子置換は、酸化還元電位を高電位側へシフトさせることが明らかとなった。この結果は、ヒドロゲナーゼの $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys})_4]$ と $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{Cys})_3(\text{His})]$ を用いた電子伝達経路における、前者から後者への電子移動を示唆する。一方でヒドロゲナーゼは、 $\text{H}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + 2e^-$ の反応を環境に応じてどちらの方向へも進行させるため、クラスターの酸化還元電位を調節して、二つのクラスター間で起こる電子移動の方向を変化させる何らかの機構を持つと推測される。

また本研究では、上述したクラスターの還元を用いた配位子置換反応を利用して、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターと鉄チオラート錯体を連結することにも成功した。クラスター**1**に対して、5-trimethylsilyl-1-[(5-trimethylsilyl-1H-pyrazol-1-yl)methyl]-1H-pyrazole (TMS-bpzm)を二座配位子として持つ鉄ビスアミド錯体 $\text{Fe}\{\text{N}(\text{SiMe}_3)_2\}_2(\text{TMS-bpzm})$ と TMS-bpzm 、ならびに6当量のTipチオールを作用させ、アセトニトリル溶液から結晶化したところ、鉄錯体と $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターがTipチオラートによって架橋された、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{STip})_3(\mu_2\text{-STip})\text{Fe}(\text{TMS-bpzm})_2(\text{NCMe})]$ (**7**)が得られた。このクラスターの構造は、亜硫酸還元酵素に見られる、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターとシロヘムがシステインチオラートを介して結合した活性中心に類似している。金属錯体と $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ クラスターがチオラートによって架橋された構造は、他にも金属タンパクの活性中心に見いだされており、本研究で用いた反応から、さらに新たな構造モデルへの展開が期待される。

$[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ 骨格は熱力学的に安定であることから、骨格構造を変化させる化学反応は極めて困難と

考えられてきた。一方で生化学者からは、タンパクが[Fe₄S₄]骨格の分割あるいは融合を利用して、生体機能の発現や巨大クラスターの生合成を行うと提案している。本研究では、クラスター**1**が高い酸化状態に由来して容易にその骨格構造を変化させる反応を見いだした。この結果は、従来信じられてきた[Fe₄S₄]骨格の安定性が、実際にはその酸化状態に大きく依存することを示している。

クラスター**1**の還元反応を検討する過程で、このクラスターはアルキルホスフィンPR₃ (R = Et, Me)と反応して[Fe₈S₇]骨格を有する[Fe₄S₃{N(SiMe₃)₂}(SPR₃)₂(μ₆-S){μ-N(SiMe₃)₂}₂ (R = Et (**8a**), R = Me (**8b**))を与えることを見いだした。クラスター**8a**、**8b**は、不完全キューバン型の[Fe₄S₃]クラスター二つがμ₆-S原子を介して架橋された立体構造を有しており、窒素還元酵素ニトロゲナーゼの電子伝達を担う、P-クラスターと同じ幾何構造をとる。反応において、ホスフィンは[Fe₄S₄]クラスターから還元的に硫黄を引き抜いてホスフィンスルフィドS=PR₃を生成しており、この生成物は中性配位子としてクラスター**8a**、**8b**に結合している。得られた[Fe₈S₇]クラスターは、ホスフィンによって[Fe₄S₄]クラスターの硫黄が引き抜かれて生成する、不安定な[Fe₄S₃]クラスターが、鉄に生じる空き配位座を用いて未反応の[Fe₄S₄]クラスターの硫黄と結合した結果、生成すると考えられる。P-クラスターの生合成は、二つの[Fe₄S₄]型クラスターの還元を伴った融合反応によって進行すると提案されており、本実験結果は、この反応を無機合成化学的に再現した例として興味深い。

クラスター**1**は過剰量のピリジン存在下で二分割され、二分子の[Fe₂S₂]クラスター、Fe₂S₂{N(SiMe₃)₂}(Py)₂ (**9**, Py = ピリジン)を定量的に与えた。クラスター**9**の¹H NMR測定を行なったところ、**9**は溶液中でクラスター**1**と平衡にあることが明らかになり、van't Hoffプロットを用いてこの平衡の熱力学パラメータを算出した。さらにピリジンの3位または4位に置換基を有する誘導体を用いて同様に[Fe₂S₂]クラスターと[Fe₄S₄]クラスター間の平衡を熱力学的に評価し、Hammettプロットを行なった結果より、ピリジンは鉄に強く電子供与していることが示唆される。またクラスター**9**に対して、2当量のトリスペンタフルオロフェニルボランB(C₆F₅)₃を作用させたところ、ボランがピリジンと安定なアダクトを生成してトラップされ、[Fe₄S₄]クラスター**1**が定量的に再生した。[Fe₄S₄]骨格の再生はピリジンの除去以外にクラスター**9**の試薬還元によっても進行し、**9**に対して0.5当量のナトリウムナフタレニド(Na[C₁₀H₈])を作用させた場合には[Fe₄S₄]³⁺クラスター**2**が、加えるNa[C₁₀H₈]を1.2当量とした場合には[Fe₄S₄]²⁺クラスター**3**が得られた。クラスター**1**よりも低酸化状態の**2**および**3**は、100当量以上のピリジンを加えても[Fe₄S₄]骨格を保持するが、ここに過剰量のフェロセニウムカチオンを加えて酸化したところ、80%以上のNMR収率で[Fe₂S₂]クラスター**9**が生成した。つまり、[Fe₄S₄]から[Fe₂S₂]クラスターへの骨格変換は[Fe₄S₄]⁴⁺状態にあって初めて進行する。これらの結果は、クラスターの酸化状態を利用して[Fe₄S₄]と[Fe₂S₂]骨格の構造を制御した初めての例である。[Fe₄S₄]クラスターから[Fe₂S₂]クラスターへの骨格変換は、FNRタンパクと呼ばれる、DNAの転写を制御するタンパクに見られる。このタンパクは、嫌気条件において[Fe₄S₄]クラスターを持つ二量体を形成するが、ひとたび酸素に曝されると、鉄を遊離して[Fe₂S₂]クラスターを持つ単量体へ解離することが知られている。本研究の結果は、FNRタンパクの骨格変換において、[Fe₄S₄]骨格の分割にはより高い酸化状態が好まれることを示している。

本研究では、[Fe₄S₄]クラスターの安定性と酸化状態に着目し、クラスター**1**および**2**という高酸化型の[Fe₄S₄]クラスターを前駆体に用いることで、クラスターの周りを様々に修飾できる、あるいはクラスターの骨格を組み換えられるという新しい反応や現象を見いだした。これらの結果は、鉄硫黄クラスターの性質をより詳しく理解する上で無機合成ならびに生物無機化学の観点から重要な知見である。