

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23685015

研究課題名(和文)多成分からなる金属-硫黄クラスターの創出と機能

研究課題名(英文)Synthesis and Properties of Metal-Sulfur Clusters Consisting of Multiple Components

研究代表者

大木 靖弘 (Ohki, Yasuhiro)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10324394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 22,300,000円、(間接経費) 6,690,000円

研究成果の概要(和文)：N₂やCO等の小分子を変換する金属酵素の活性中心は、多数の硫黄と鉄、およびもう一種類の金属を含む、複雑な構造の金属-硫黄クラスター化合物である。これらの人工合成と性質の解明を目指して、本研究ではFe/S/OクラスターやV/Fe/Sクラスターを合成する独自の反応手法を開発した。その結果、窒素還元酵素ニトロゲナーゼの活性中心に関連深い[Fe₈S₆O]型クラスターや、一酸化炭素デヒドロゲナーゼの活性中心に関連する[VFe₃S₄-Fe]型クラスターの合成に成功した。

研究成果の概要(英文)：Biological transformations of N₂ and CO are mediated by the metallo-enzymes called nitrogenase and CO-dehydrogenase, respectively. Their active sites consist of sulfur, iron, and another transition metal, and their complex structures have been challenging synthetic targets. In this research project, we developed new synthetic reactions for Fe/S/O and V/Fe/S clusters in non-polar organic solvents. One of the important outcomes of this project is the synthesis of the [Fe₈S₆O] cluster which mimics the active site of nitrogenase. The bonding mode of its central oxygen atom gave us a clue to understand how the enzymatic active site works. Also to be noted is the synthesis of [VFe₃S₄-Fe] cluster which is structurally relevant to the active site of CO-dehydrogenase.

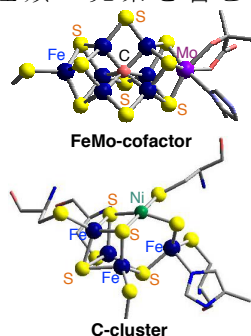
研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・無機化学

キーワード：鉄 硫黄 クラスター ニトロゲナーゼ 一酸化炭素デヒドロゲナーゼ

1. 研究開始当初の背景

遷移金属を活性中心に含む酵素のうち、 N_2 や CO 等の小分子を変換する酵素は、その活性中心として、多数の遷移金属およびスルフィド(S^2)やチオラート($-SR$)などの硫黄配位子を含む金属-硫黄クラスターを持つ。例えば N_2 の還元反応($N_2 + 8H^+ + 8e^- \rightarrow 2NH_3 + H_2$)を担うニトロゲナーゼの活性中心である **FeMo-cofactor** は、四種類の元素を含む $[MoFe_7S_9C]$ クラスターである。また、水と一酸化炭素を二酸化炭素とプロトンに変換して電子を放出する反応($CO + H_2O \rightleftharpoons CO_2 + 2H^+ + 2e^-$)を可逆的に触媒する CO デヒドロゲナーゼの活性中心(**C-cluster**)は、 $[Fe_3NiS_4-Fe]$ 型クラスターを持ち、キューバン型をなす $[Fe_3NiS_4]$ 骨格の外部に鉄原子を連結している。これら活性中心の複雑な構造と性質・機能には関連性があると考えられる。従って活性中心をなす金属-硫黄クラスター化合物は、重要な標的化合物である。



2. 研究の目的

研究代表者らが従来展開してきた金属-硫黄クラスターの合成研究では、クラスター合成の指針を確立することを優先し、鉄-硫黄の二成分系に限定して進めてきた。しかし、その合成手法の根拠をなすコンセプトは、必ずしも鉄-硫黄の二成分系に限定されるものではない。そこで本研究では、二成分系の金属-硫黄クラスター合成手法を多成分系のクラスター合成へと発展させ、先例のない金属-硫黄クラスターを合成する手法を確立するとともに、特に具体的な標的として **FeMo-cofactor** ならびに **C-cluster** の人工構築を目指した。

3. 研究の方法

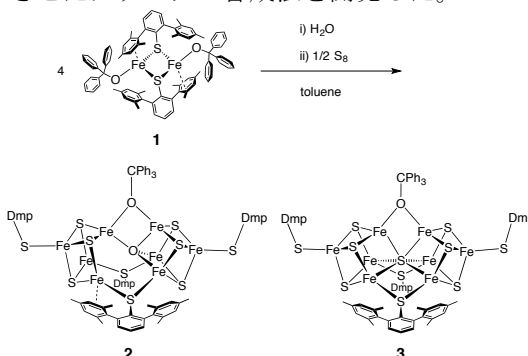
鉄-硫黄クラスターをはじめとした金属-硫黄クラスターは様々な立体構造を取り、うち幾つかの構造は熱力学的に特に安定である。金属を4つ含むキューバン型骨格の $[M_4S_4]$ クラスター($M =$ 任意の金属)は代表的な安定構造であるが、本研究の主な合成標的として掲げた **FeMo-cofactor** や **C-cluster** は、それぞれ金属を8つ、5つ含む。従って、逐次的に金属の数が増える自己集合型(ボトムアップ型)の合成反応から4つ以上の金属を含む金属-硫黄クラスターを合成するには、キューバン型4核クラスターの生成を避けることが重要である。その手段として、本研究では電子状態と安定性の関係に着目し、通常は安定なキューバン型骨格の形成を抑制する反応、すなわち不安定な酸化状態のキューバン型クラスターを標的とする反応条件を設定した。ただし、

金属-硫黄クラスターの多くは構造を変えることなく電子を授受し、柔軟に酸化還元するため、クラスター分子間の電子移動や配位子の移動を抑制する方策として、非極性の有機溶媒中で電荷が中性の化合物だけを用いることとした。

4. 研究成果

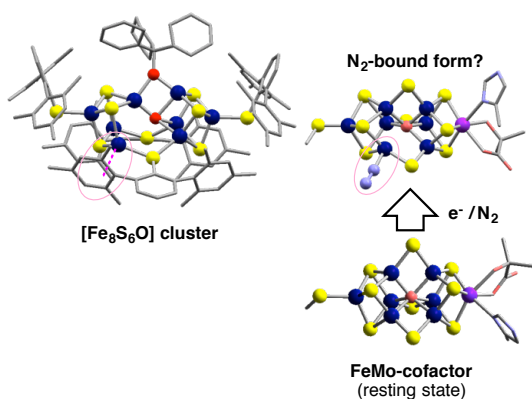
(1) **FeMo-cofactor** に類似した $[Fe_8S_6O]$ 型クラスター

本研究代表者らがこれまでに確立してきた鉄-硫黄クラスター合成反応は、かさ高いチオラートを持つ配位不飽和な鉄(II)錯体と無機硫黄をトルエン中で均一に混合するものであり、これまでに **FeMo-cofactor** の無機骨格を位相学的に再現する $[Fe_8S_7]$ 型および $[Fe_8S_8]$ クラスターの合成に成功してきた。しかし、これらの中心原子が硫黄であるのに対して、**FeMo-cofactor** の中心には軽原子が含まれる(この軽原子は最近Cと同定された。研究開始当初は不明でありOと想定していた)。本研究では、中心に酸素原子を持つFe/S/O三元系クラスターを合成するべく、 H_2O を共存させたクラスター合成法を開発した。



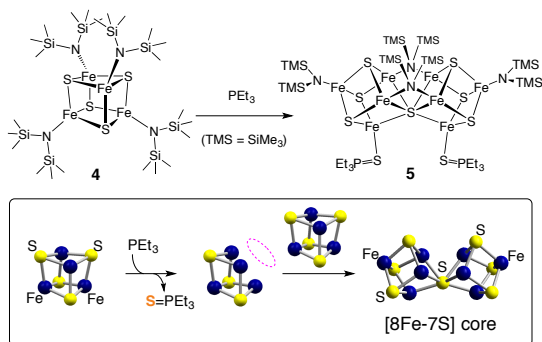
$SDmp$ ($Dmp = 2,6$ -mesityl) $_2C_6H_3$)配位子と $OCPH_3$ 配位子を併せ持つ配位不飽和な鉄二核錯体 **1** を新たな前駆体として合成し、これに少量の水を加えた後に無機硫黄と反応させたところ、中心に酸素原子を持つ $[Fe_8S_6O]$ 型クラスター**2**が少量得られた。このクラスターは、 $[Fe_8S_6O]$ 骨格と四つの $SDmp$ 配位子、一つの $OCPH_3$ 配位子で構成される。**FeMo-cofactor** の中心原子が六つの鉄を架橋する一方で、 $[Fe_8S_6O]$ 型クラスター**2**の中心酸素原子は、周囲にある六つの鉄原子のうち四つと結合している。残る二つの鉄原子は、中心の酸素原子の代わりに、 $SDmp$ 配位子に含まれるメシチル基と弱く相互作用している。つまり、中心酸素原子に多数の鉄を相互作用させるよりも、一部の鉄をクラスター外部からの模擬基質とも見なせるメシチル基と相互作用させる方が安定であることが示唆される。このように鉄原子の一部が、中心酸素原子と結合するよりもクラスター骨格の外にあるメシチル基と相互作用することは、**FeMo-cofactor** による基質の捕捉段階として提案されている、中心原子と鉄の結合を一部開裂させて反応サイトを生じさせるプロセスの実現性を支持する重要な知見と見なさ

れる。



(2) キュバン型[Fe₄S₄]クラスターの還元的脱硫によるニトロゲナーゼ P-cluster 骨格の構築

鉄-硫黄クラスターは、生体内では電子伝達中心もしくは酵素反応中心として働くことが知られている。最も広く存在するのはキュバン型[Fe₄S₄]クラスターであり、電子伝達タンパクでは、2Fe^{III}2Fe^{II} / Fe^{III}3Fe^{II} もしくは 3Fe^{III}Fe^{II} / 2Fe^{III}2Fe^{II} の酸化状態が利用される。より高い 4Fe^{III} 酸化状態は、恐らく不安定なために自然界には存在せず、また人工合成したクラスターでも、チオラートよりも金属へ強く電子供与する配位子を鉄に結合させなければ安定化できない。この点に着想を得て、本研究ではアミド配位子を持ち 4Fe^{III} 状態の [Fe₄S₄] クラスター **4** の脱硫による還元反応を検討した。

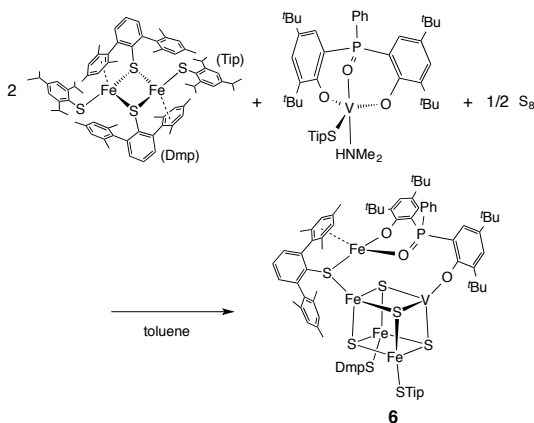


ホスフィンが硫黄と反応してホスフィンスルフィドを与えることに倣って、クラスター **4** に対して 1 当量の PEt₃ を加えたところ、[Fe₈S₇] クラスター **5** が収率 29% で得られた。この反応過程では、加えた PEt₃ が高酸化型 [Fe₄S₄] クラスター **4** から硫黄を引き抜き、生じる [Fe₄S₃] 骨格がさらに [Fe₄S₄] クラスターと反応して [Fe₈S₇] 骨格を生じたと考えられる。クラスター **5** の [Fe₈S₇] 骨格は、ニトロゲナーゼにおいて電子伝達を担う P-cluster の骨格を再現している。我々は、すでに単核の鉄アミド錯体を出発とする自己集合反応より、類似の [Fe₈S₇] クラスターの合成に成功しているが、本反応は熱力学的に安定と考えられている [Fe₄S₄] 骨格の一部を分解してより大きい骨格を再構築した点で、合成化学的に興味深い。またこの結果は、P-cluster の生合成の観点か

らも重要である。遺伝子を部分的に欠損させたニトロゲナーゼを用いた生化学研究からは、P-クラスターの [Fe₈S₇] 骨格が生合成される過程が提案されており、隣接して生成した二つの [Fe₄S₄] に似たクラスターが還元条件下で [Fe₈S₇] 骨格に変換されると述べられている。この提案は、還元条件下で 2 つの [Fe₄S₄] 骨格から [Fe₈S₇] 骨格を構築する点で本研究の結果と共通している。つまり、本研究の結果は P-クラスターの生合成過程においても還元的な脱硫を伴う [Fe₄S₄] クラスターの融合が起こる可能性を示唆している。

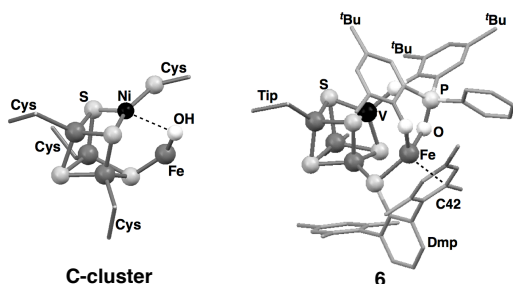
(3) C-cluster に関連する構造の [VFe₃S₄-Fe] クラスター

前頁で述べた FeMo-cofactor や C-cluster のように、小分子を変換する金属酵素には、活性中心として鉄ともう一種類の金属を含むクラスターが存在する。また、FeMo-cofactor のモリブデンの代わりにバナジウムを含む FeV-cofactor の存在も知られている。いずれも重要な標的化合物であるこれらのクラスター、特に本研究では FeV-cofactor の構造を念頭に、新規 V/Fe/S クラスターの合成を検討した。その結果、C-cluster の構造に関連深い V/Fe/S クラスターが得られることを見いだした。



従来研究で確立してきた自己集合型のクラスター構築手法である配位不飽和な鉄(II)チオラート錯体と無機硫黄の反応を参考にしつつ、ここでは適切なバナジウム錯体を共存させることで、より複雑な V/Fe/S クラスターの合成を検討した。前駆体となる V(III)チオラート錯体 [O,O,O]V(SR)(HNMe₂) (SR は任意のチオラート、[O,O,O] は三座配位子) は、アミド錯体 V(NMe₂)₄ と [O,O,O] 型のフェノキシド-ホスフィンオキシド混合型配位子、およびチオールから合成した。得られた V(III)チオラート錯体と鉄(II)チオラート錯体 [(TipS)Fe]₂(μ-SDmp)₂ (Tip = 2,4,6-ⁱPr₃C₆H₂) および無機硫黄をトルエン中で混合したところ、バナジウムと 3 つの鉄、4 つの硫黄を含むキュバン骨格と、もう 1 つ外側から結合している鉄原子から構成される [VFe₃S₄-Fe] 型クラスター **6** が生成した。異種金属からなるキュバン型骨格に、もう一つ鉄を連結したクラスター **6** の構造は、CO デヒドロゲナーゼの活

性中心である C-cluster の構造と関連して興味深い。CO デヒドロゲナーゼではバナジウムではなくニッケルを含んだキューバン型骨格を持つため、クラスター**6** のバナジウム周りの配位構造が C-cluster とはやや異なるものの、ここで達成した V/Fe/S クラスター合成反応を Ni/Fe/S クラスターの合成反応に応用することで、C-cluster を人工構築することも可能ではないかと期待される。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件) 全て査読有

- (1) New Synthetic Routes to Metal-Sulfur Clusters Relevant to the Nitrogenase Metallo-Clusters, Yasuhiro Ohki and Kazuyuki Tatsumi, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **639**, 1340-1349 (2013). DOI : 10.1002/zaac.201300081
- (2) A Nitrogenase Cluster Model [Fe₈S₆O] with an Oxygen Unsymmetrically Bridging two Proto-Fe₄S₃ Cubes: Relevancy to the Substrate-Binding Mode of the FeMo-cofactor, Shun Ohta, Yasuhiro Ohki, Takayoshi Hashimoto, Roger E. Cramer, and Kazuyuki Tatsumi, *Inorg. Chem.*, **51**, 11217-11219 (2012). DOI : 10.1021/ic301348f
- (3) Formation of a Nitrogenase P-cluster [Fe₈S₇] Core via Reductive Fusion of Two All-Ferric [Fe₄S₄] Clusters, Yasuhiro Ohki, Kazuki Tanifuji, Nobuhiro Yamada, Roger E. Cramer, and Kazuyuki Tatsumi, *Chem. Asian J.*, **7**, 2222-2224 (2012). DOI : 10.1002/asia.201200568
- (4) Oxido-bridged Di-, Tri-, and Tetra-nuclear Iron Complexes Bearing Bis(trimethylsilyl)amide and Thiolate Ligands, Shun Ohta, Saori Yokozawa, Yasuhiro Ohki, and Kazuyuki Tatsumi, *Inorg. Chem.*, **51**, 2645-2651 (2012). DOI : 10.1021/ic2025928
- (5) Synthetic Analogues of [Fe₄S₄(Cys)₃(His)] in Hydrogenases and [Fe₄S₄(Cys)₄] in HiPIP Derived from All-Ferric [Fe₄S₄{N(SiMe₃)₂}]₄, Yasuhiro Ohki, Kazuki Tanifuji, Norihiro Yamada, Motosuke Imada, Tomoyuki Tajima, and Kazuyuki Tatsumi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **108**, 12635-12640 (2011). DOI :

10.1073/pnas.1106472108

[学会発表] (計 15 件)

- (1) Synthesis of Iron-Sulfur Clusters Mimicking the Nitrogenase Metallo-Clusters, Yasuhiro Ohki, 第 63 回錯体化学討論会-日韓セッション (2013.11.2-4, 琉球大学)
- (2) Synthesis and Characterization of Iron-Sulfur Cluster Molecules Mimicking the Nitrogenase Metallo-Clusters, Yasuhiro Ohki, Collaborative Conference on 3D and Materials Research 2013 (2013.6.24-28, Jeju, Korea)
- (3) Chemistry of the Unique Cluster Active Sites in Reductases, Kazuyuki Tatsumi and Yasuhiro Ohki, 3rd Asian Conference on Coordination Chemistry (ACCC3) (2011. 10.17-20, New Delhi, India)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
該当無し

[その他]
ホームページ等
<http://inorg.chem.nagoya-u.ac.jp/members/ohki/ohki-j-frame.html>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
大木 靖弘 (OHKI, Yasuhiro)
名古屋大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号 : 10324394