

Nitrofurane系 醫藥品の 安全性에 관한 錯物化學的 研究(I) Mo-thiol錯物에 의한 Nitrofurazone의 觸媒還元

金 鍾 潤 · 崔 鋪 吉

嶺南大學校 藥學大學

(Received October 27, 1977)

Jong Yoon Kim and Bo Gil Choi (*College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 632*): Coordination Chemical Approach to the Safety of Nitrofurane Drugs. I. Reduction of Nitrofurazone Catalyzed by Molybdothiol Complexes

Abstract—In the presence of dithionite, two kinds of molybdothiol complexes, particularly isolated Mo-cysteine complexes, used as models for xanthine oxidase or aldehyde oxidase exhibited catalytic activity on the reduction of nitrofurazone to its amino derivative. Of the two Mo-cysteine complexes, the activity of oxo-bridged one was apparently greater than that of sulfido-bridged one. The promoting effect was hardly shown by added cofactors or their replacements of the enzymes. The catalyzed reduction is considered to take place by consecutive direct two-electron transfer mechanism from catalytically active reduced form of the molybdothiol complexes to nitrofurazone and the probable intermediates.

Mo含有酵素인 xanthine oxidase, aldehyde oxidase, nitrogenase 등은 金屬錯物로서 Mo이 基本的 活性成分인데 蛋白質의 cysteine 殘基, 따라서 thiol 基의 S도 配位하고 있는 것으로 생각되고 있고 構造가 複雜하며 生化學的 反應機轉이 잘 알려져 있지 않다^{1,2}. 따라서 構造가 간단하며 元酵素와 理化學的 性質이 類似한 모델錯物로서 Mo-thiol 錯物, 특히 Mo-cysteine 錯物을 合成하여³ 모델反應을 非酵素的으로 行하여 酵素的 本質을 究明하려는 研究가 nitrogenase에 對해서는 많이 行해졌다⁴.

한편 抗菌劑로 使用되고 있는 여러 가지의 nitrofurane 類의 生體內 代謝還元에 있어서 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase가 關與할 可能性이 示唆되었다^{5,6}. 그런데 大部分의 nitrofurane 類는 動物과 微生物實驗에서 發癌性 및 혹은 突然變異誘起性이 있어서 人體에 대해서도 有害可能性이 있는데 5-nitro 基의 存在가 그러한 有害性的 發現에 主要役割을 할 것으로 생각되고 있다⁷. 그러나 nitro 基還元에 있어서 Mo과 基質과의 相互作用에 對해서는 아무런 研究가 없었

다.

그러므로 著者들은 그들 酵素의 모델로서 Mo-thiol 錯物, 特히 Mo-cysteine 錯物을 사용하여 우선 간단한 構造의 5-nitrofurane 인 Nitrofurazone 의 觸媒還元의 *in vitro* 모델實驗을 行하여 그들 酵素의 生化學的 反應機轉을 錯物化學的으로 檢討, 推定하고 앞으로 亦是 Mo 含有酵素가 關與할 可能性이 있다고 하는 nitro 基含有 發癌性物質인 4-nitroquinoline 1-oxide 의 代謝還元⁸⁾의 모델 反應도 行하여 그 機轉과 比較함으로써 特히 內用되고 있는 nitrofurane 類의 安全性에 關한 앞으로의 研究에 參考資料를 얻고져 하였다.

實 驗

試藥— $\text{Na}_2[\text{Mo}_2\text{O}_4(\text{Cys})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Complex I) 및 $\text{Na}_2[\text{Mo}_2\text{O}_2\text{S}_2(\text{Cys})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Complex II) ($\text{Cys} = \text{L-cysteinato}$)은 既知의 方法³⁾으로 合成하여 使用하였다. Na_2MoO_4 (Koso 製), L-cysteine hydrochloride (Cys), nitrofurazone(I) (以上 Wako 製) 등 大部分의 試藥은 特級品을 그대로, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (Koso 製 最純品)은 N_2 氣流中에 保存하여 使用하였다.

還元操作—還元反應은 褐色의 反應容器 中에서 pH 9.0의 0.25 M borate buffer 40 ml에 反應物質을 溶解시켜 Fieser's solution 으로 O_2 를 除去한 N_2 氣流中 $37 \pm 2^\circ$ 에서 一定한 時間 行하였다.

먼저 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 만에 依한 還元은 一定量의 I의 溶液에 2—10倍量의 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 을 加해서 反應시켰으며 다음 Mo-Cys 錯物— $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 系에 依한 還元은 1) 單離한 錯物을 使用한 경우에는 一定量의 I의 溶液에 相異なる 量의 Complex I 혹은 II와 2倍量의 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 을 加하여 反應시켰고, 2) 溶液 中에서 錯物을 生成시켜 使用한 경우에는 一定量의 I의 溶液에 Complex I의 一定量에 該當하도록 各各 2倍量의 Na_2MoO_4 및 Cys 와 I의 2, 3倍量의 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 을 加하여 反應시켰다. 또 Na_2MoO_4 代身 Na_2WO_4 과 NaVO_3 도 使用하였다. 셋째로 Mo-Cys 以外의 Mo-thiol 錯物을 使用한 경우에는 Cys 代身 2)에서 처럼 β -mercaptoethanol 과 thioglycerol 을 各各 Na_2MoO_4 및 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 과 作用시켜 溶液中에서 錯物을 生成시켜 使用하였다.

反應生成物의 分析—還元反應液과 reagent blank 液 各 0.3 ml 를, 미리 密封 cell 中에 取하여 N_2 氣스로 空氣를 置換한 buffer 3.3 ml 中에 各各 加하여 稀釋하여 뚜껑을 닫고 Hitachi 333型 spectrophotometer 로서 分析하였다.

結果 및 考察

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 만에 依한 還元—Nitrofurazone(I)은 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 에 依해서 5-nitro 基가 5-amino 基로 還元되어 aminofuran 誘導體(II)가 生成됨이 알려져 있다^{5,6,9)}. 따라서 本研究에서 使用한 Mo 錯物에 依한 觸媒作用을 檢討하기에 適當한 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 의 濃度を 알기 위하여 I 0.03 mmole 에 對하여 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 의 量을 달리하여 反應시킨 結果 물 또는 pH 9.0의 borate buffer 中에서의 II의 吸收極大波長(λ_{max})인 335 nm 를 나타내게 하는 量은 0.09 mmole 이었으며 I의 特徵的인 長波長 쪽의 λ_{max} 인 375 nm 에서의 吸收가 거의 없어지고(II의 吸收가 375 nm 에서도 있음⁹⁾) 短波長 쪽의 λ_{max} 인 260 nm 가 II의 開環異性體인 4-cyano-2-oxobutyr-aldehyde semicarbazone(III)⁹⁾의 λ_{max} 인 272 nm 로 完全히 移動토록 하는 量은 0.1 mmole 이었다. 다른 還元劑인 NaBH_4 은 semicarbazone 의 C=N 結合까지 還元시키므로, 또 生體內 還元劑인 ascorbic acid 의 Na 鹽은 還元力이 너무 弱해서 使用할 수 없었다.

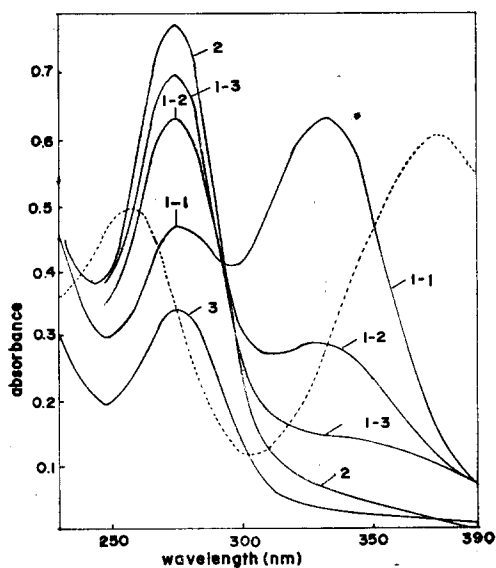


Fig. 1—Effect of varying amounts of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ on the reduction. Reactants (mmole) : I, 0.03 [1/2 for I itself (dotted line)]; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 0.1 (1-1~1-3), 0.2(2), 0.3(3). Reaction time(min): 30(1-1), 60(1-2), 120(1-3), 20(2,3).

였다. 이 混合物은 Complex I 과 같은 構造의 錯物을 生成할 것임에 틀림없다¹¹⁾. 또 必要할 時는 MoO_4^{2-} 과 β -mercaptoethanol (Met) 혹은 thioglycerol (Tg)과의 混合物로서도 使用하였다. Complex II 는 어떤 Mo 含有酵素의 電子移行過程에서 Mo-S 架橋가 關與할 것이라는 示唆가 있

I 이 大量의 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 에 依해서 還元, 變化하는 스펙트럼은 Fig. 1과 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 의 量이 0.2, 0.3 mmole 로 增加될수록 II 의 III 으로 的 開環異性化가 促進될 뿐만 아니라 III 도 變化함을 볼 수 있다.

II 는 水溶液 中에서 6時間 放置했을 때 III 으로 開環異性化되었다고 하는데¹⁰⁾ 本反應은 pH 9의 buffer 中에서 行했으므로 III 으로 的 變化는 一但 알칼리性에 基因하는 것으로 생각할 수도 있으나 $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ 의 量이 增加될수록 促進되며 III 도 變化하므로 還元劑의 效果인 것으로 推定된다.

모델反應系—本實驗에서 xanthine oxidase 등의 모델로서 Mo-thiol 錯物中 主로 다음의 Chart 1에서 보는 바와 같이 MoO_4^{2-} 와 Cys 로부터 合成해서 單離한 O 架橋複核 Mo 錯物(Complex I)과 그것을 H_2S 로 處理해서 單離한 S 架橋錯物(Complex II)을 主로 하고 buffer 中에서 用時 MoO_4^{2-} 와 Cys 과의 混合物로서도 使用하

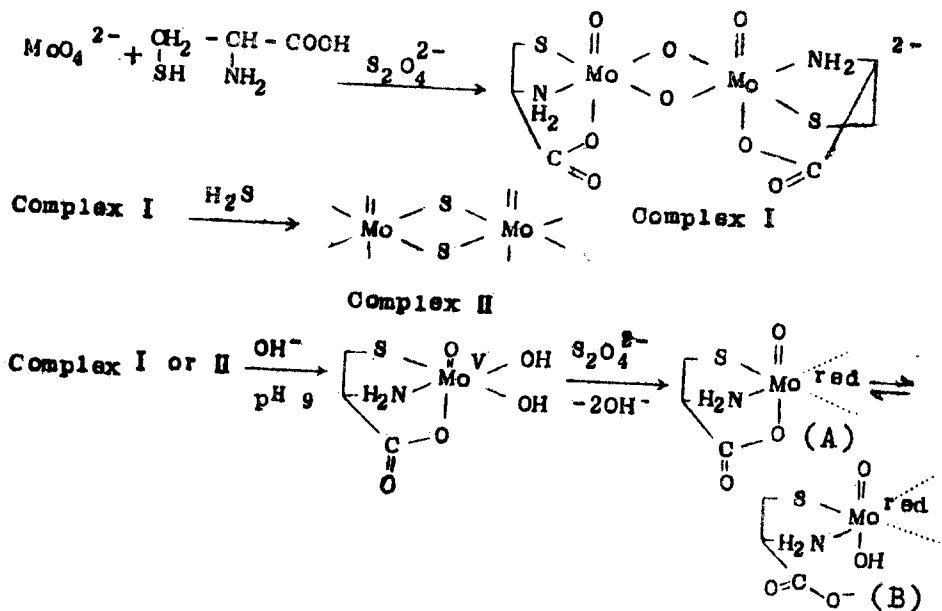


Chart 1—Reducing system using Mo-cysteine complexes.

기 때문에¹²⁾ 사용하였다. Complex I 이나 MoO_4^{2-} -Cys 混合物, 및 Complex II 는 알칼리성에서 Complex I 의 경우 약 2%가 常磁性인 單量體로 解離하며 BH_4^- 이나 $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ 과 같은 還元劑에 依해서 아마 Mo 이 4價이고 平衡狀態에 있는 (A)와 (B)型의 還元型錯物이 生成되어 主로 이들이 還元觸媒의 活性種으로 作用하는 것으로 생각되고 있다¹³⁾.

Table I—Effect of various amounts of Complex I on the reduction

Complex I (mmole)	OD ₃₇₅ (A)	OD ₃₃₅ (λ_{max})(B)	OD ₂₇₂ (λ_{max})(C)	B/A	C/B
0.005	0.685	0.798(345)	0.773(265)	1.17	0.97
0.01	0.715	0.871(340)	0.800(266)	1.22	0.92
0.02	0.715	0.929(338)	0.850(267)	1.30	0.92
0.03	0.676	0.973(335)	0.894(268)	1.44	0.92
0.04	0.641	0.984(335)	0.907(269)	1.54	0.92
0.05	0.710	1.100(335)	0.961(270)	1.55	0.87
0.06	0.684	1.017(335)	0.855(270)	1.49	0.84
0.08	0.707	1.042(335)	0.901(270)	1.47	0.86
I— $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$	0.660	0.761(345)	0.702(266)	1.15	0.91

Reactants(mmole) : I, 0.03; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 0.06. Reaction time : 30 min.

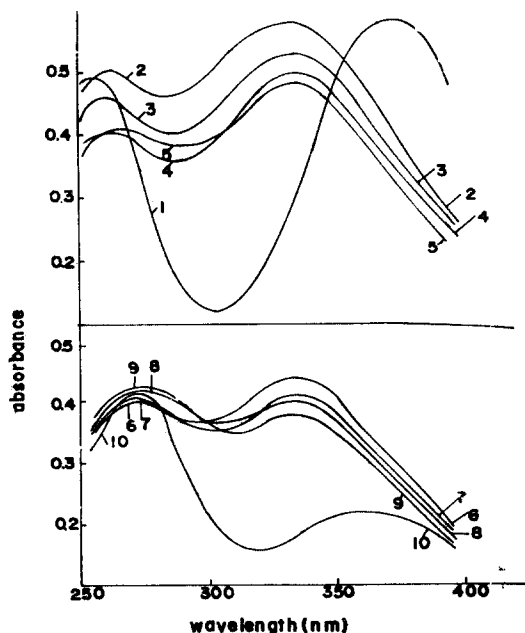


Fig. 2—Time course of the reduction catalyzed by Complex I. Reactants(mmole): I, 0.015; Complex I, 0.025; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 0.03. Reaction time(min): 0(1), 10(2), 15(3), 30(4), 60(5), 90(6), 120(7), 180(8), 210(9), 24 hr (10).

Mo-cysteine 錯物에 依한 觸媒還元—單離한 錯物인 경우에는 干先 Complex I 의 使用量에 따른 觸媒活性을 調査한 結果는 Table I 과 같 다.

基質인 I 의 2倍量(0.06 mmole)의 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 만 에 依해서는 λ_{max} 이 各 各 345 nm, 266 nm 까지 밖 에 移 動 하 지 않 으 나 Complex I 도 添 加 하 여 그 量 을 0.005 mmole 即 R=錯物量/
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 量 \approx 0.08부터 增 大 시 킴 에 따 라 R=
0.03/0.06 \approx 0.5에서 λ_{max} 이 335 nm에 達 하 며 短 波 長 쪽 의 吸 收 도 漸 次 長 波 長 쪽 으 로 移 動 하 지 만 R=0.08/0.06 \approx 1.33에서 도 λ_{max} 이 270 nm 까지 밖 에 移 動 하 지 않 아 서 I 이 完 全 還 元 되 지 않 음 을 보 여 주 다. R에 따 른, I 로 부 터 II 로 의 變 換 率 인 335 nm에 서 의 吸 光 度 B와 375 nm에 서 의 吸 光 度 A와 의 比 는 大 體 로 R=0.05/0.06 \approx 0.83에서 最 高 에 達 하 며 그 보 다 클 때 는 減 少 하 는 傾 向 이 있 다. 한 편 II 의 III 으 로 의 變 換 率 인 272 nm에 서 의 吸 光 度 C와 吸 光 度 B와 의 比 는 R \approx 0.83보 다 작 을 때 는 一 定 하 지 만 그 以 上 에 서 는 亦 時 減 少 하 는 傾 向 이 있 다. 이 것 은 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 단 을 大 量

使用하였을 때의 結果로 미루어 보아 還元型錯物은 濃度가 그 程度로 커지면 II의 III으로의 異性化 및 III의 變化를 促進시키는 것으로 보인다.

한편 Complex I을 使用時의 I의 還元の 經時的 變化는 Fig. 2와 같다.

$R=0.83$ 에서 10分間만 反應해도 λ_{max} 이 이미 335 nm에 達해있다. 그러나 同量의 $Na_2S_2O_4$ 만에 依해서는 30分間 反應시켜도 λ_{max} 이 356 nm까지 밖에 達하지 않았으므로 還元型錯物이 迅速히 生成되어 觸媒作用을 나타냄을 알 수 있다. 이 程度의 R에서는 210分까지는 I이 減少함에 따라 生成되는 II가 別로 增加하지 않아서 II가 쉽게 III으로 異性化하는 것으로 보이는데 實際로 60分부터는 III으로의 異性化率이 높음을 보여 준다. 그러나 1日 放置 後에는 II가 全部 消失해 있지만 III은 같은 程度로 殘存하므로 II의 異性化만큼 쉽게 變化하지 않음을 알 수 있다.

한편 Complex II의 效果를 調査한 結果를 Table II에 表示한다.

Table II—Effect of varying amounts of Complex II on the reduction

Comp. (mmole)	Time (min)	OD ₃₇₅ (A)	OD ₃₃₅ (λ_{max})(B)	OD ₂₇₂ (λ_{max})(C)	B/A	C/B
0.04	30	0.471	0.746(337)	0.497(268)	1.58	0.67
	60	0.427	0.705(335)	0.538(270)	1.65	0.76
0.05	30	0.573	0.901(337)	0.624(266)	1.61	0.69
	60	0.493	0.837(335)	0.608(269)	1.70	0.73
0.06	15	0.561	0.935(336)	0.526(267)	1.67	0.56
	30	0.532	0.927(335)	0.560(269)	1.74	0.60
0.07	15	0.534	0.952(335)	0.456(272)	1.78	0.48
	30	0.468	0.940(335)	0.498(272)	2.01	0.53
Comp. I 0.03	30	0.676	0.973(335)	0.901(268)	1.44	0.92

Amounts of the other reactants were the same as those in Table I.

錯物의 使用量을 除外하고는 같은 條件下에서 Complex I에선 $R=0.03/0.06=0.5$, 反應時間 30分에서 λ_{max} 이 335 nm에 達해 있는데 反하여 Complex II로는 $R=0.06/0.06=1$ 에서 비로소 λ_{max} 이 335 nm에 達한다. 그러나 Complex I의 경우에 比하여 같은 R에서도 B/A는 높아 一見 觸媒活性이 보다 큰 것처럼 보이지만 같은 條件下에 λ_{max} 이 335 nm에 이르게 하는데 보다 많은 Complex II量을 要하므로 Complex II는 Complex I보다 그 活性이 弱한 것으로 보인다. 한편 Complex I과 같은 量으로도 C/B는 錯物이 없는 경우(Table I)보다 낮아서 II의 III으로의 異性化 및 III의 變化를 抑制하는 것으로 보이는데 그 眞相은 不明이다. 그러나 電子스핀 共鳴에 依한 研究結果, 酸素架橋體인 Complex I에 比해서 黃架橋體인 Complex II는 單量體로 의 解離가 容易하지 않음¹⁴⁾에 비추어 위의 結果는 I의 還元反應에서도 活性種은 Mo錯物의 還元型單量體일 것으로 생각되며 Complex II는 觸媒活性이 보다 낮음이 설명된다. 다음에 溶液中에서 生成한 錯物의 경우에는 Mo-Cys錯物은 nitrile의 還元에 있어서 用時 調制한 MoO_4^{2-} -Cys混合物이 單離한 錯物보다 觸媒活性이 크다는 報告가 있다¹⁵⁾. 따라서 本實驗에서도 觸媒活性의 差異有無를 調査하기 위하여 I의 還元反應時 溶液中에서 錯物을 生成시켜 使用해 보았다. 또 thiol과 錯物을 生成할 것으로 생각되며, 還元型錯物에 있어선 金屬이 還元型의 Mo과 같은 外殼電子構造를 가질 것으로 생각되는 WO_4^{2-} 와 VO_3^- 도 使用하여 觸媒活性을 比較하였는데 그 結果는 Table III과 같다.

Table III—Effect of cysteine complexes prepared *in situ* on the reduction

Complex system	Equivalency* (mmole)	Time(min)	OD ₃₇₅	λ_{max} (OD)	λ_{max} (OD)
MoO ₄ ²⁻ —Cys	0.03	30	0.633	342(0.790)	265(0.668)
		60	0.585	341(0.741)	266(0.670)
	0.05	30	0.639	342(0.817)	264(0.658)
		60	0.610	342(0.787)	265(0.658)
WO ₄ ²⁻ —Cys	(0.03)	30	0.617	345(0.758)	266(0.657)
VO ₃ ⁻ —Cys	(0.03)	30	0.593	345(0.714)	266(0.876)
Comp. I	0.03	30	0.676	335(0.973)	268(0.901)

* Double amounts of each metal salt and cysteine were used. Amounts of the other reactants were the same as those in Table I.

nitrite還元時와는 反對로 $R=0.03/0.06=0.5$ 에서 當量의 單離한 Complex I에 比해서 觸媒活性이 훨씬 떨어지며 同量의 Na₂S₂O₄만으로還元시킨 경우(Table I)보다還元이若干促進된다. MoO₄²⁻—Cys 混合物의 量을 많이 使用하여도 ($R=0.05/0.06=0.83$) 마찬가지이다. 또 nitrite의還元에 觸媒活性이 있는 WO₄²⁻—Cys系나 그 活性이 없는 VO₃⁻—Cys系¹⁵⁾는 모두 전혀 效果가 없다. 그런데 用時 生成시킨 MoO₄²⁻—Cys系의 觸媒活性이 훨씬 떨어지는 原因으로서 單離한 錯物을 使用時에 比해서 相對的으로 I의還元에 關與하는 Na₂S₂O₄量의 不足을 생각할 수 있다. 그 까닭은 Mo이 6價인 MoO₄²⁻으로부터 Mo이 5價인 錯物을 生成하는데는 等量의 thiol을 使用時 Na₂S₂O₄이 그還元에 關與하기 때문이다³⁾. 따라서 Na₂S₂O₄의 使用量의 效果를 調査하였는데 Table III에서와, 다른 條件은 같이하고 $R=0.03/0.08=0.37$ 로 하여도 Na₂S₂O₄單獨인 경우와 λ_{max} 의 移動에 있어선 거의 같았다. 그러나 $R=0.03/0.06=0.5$ 부터 $R=0.03/0.09=0.33$ 에 이르기 까지 Na₂S₂O₄單獨인 경우에 比해서 B/A는 보다 높았고 C/B는 보다 낮았다. 따라서 II의 生成이나 III의 變化에 있어서 이 경우에도 錯物의 效果는 있었지만 單離한 錯物에 比해서 觸媒活性이 떨어지는 根本原因은 究明할 수 없어서 더욱 檢討中이다.

觸媒還元에 있어서의 cofactor의 效果—Xanthine oxidase와 aldehyde oxidase는 Mo以外에 cofactor로서 flavin과 非 heme 鐵蛋白質을 含有한다²⁾. 그러므로 모델系에서도 酵素에 가까운 條件을 賦與하기 위하여 cofactor 혹은 그 代替物質도 添加하여 그 效果를 調査하였다. 그런데 flavin으로선 그들 酵素 中の FAD대신 FMN을, 또 電子傳達體인 非 heme 鐵蛋白質 代身 이미 S₂O₄鹽을 使用하고 있지만 그 모델로서 ferredoxin의 作用을 部分的으로 代替할 수 있는 methyl viologen¹⁶⁾과 그 錯物을 nitrogenase의 모델로서 acetylene 등의還元을 行할 때 助觸媒(cocatalyst)의 效果가 알려져 있는 FeSO₄¹¹⁾을 使用하였다. 또 nitrogenase에 있어선 共同因子이고 그들 酵素에 있어서는 그렇지 않지만 亦是 acetylene 등의還元을 促進시키는 ATP¹¹⁾도 使用하였다. 그런데 FeSO₄을 添加時는 pH 9에서는 Fe(OH)₂로서 沈澱하므로 buffer를 pH 7로 調節하여 反應을 行하였다. Complex I을 使用時의 그들 cofactor의 效果를 Table IV에 表示한다.

Table IV에서 보는 바와 같이 基質量의 ATP, methyl viologen을 單獨 添加時 그 效果는 거의 없었으며 兩者를 複合添加하면 그들의 相加的인 若干의 效果가 있는 것으로 보인다. ATP는 nitrogenase의 모델實驗에 있어선還元型錯物의 形成을 容易하게 하는 것으로 생각되고 있으나⁴⁾ 本反應에서는 前述한 바와 같이還元型錯物의 生成이 迅速하므로 ATP의 效果가 거의 없는 것으로 생각된다. 또 methyl viologen은 단순히 弱한還元作用을 나타내는 것으로 생각된다. 한편 助觸媒量의 FeSO₄은 아무런 效果도 없는데(FeSO₄을 添加하지 않은 경우 pH 9에서나 7에서

Table IV—Effect of “cofactors” on the reduction catalyzed by Complex I

“Cofactor”	“Cof.”/Comp. I (mole %)	Time(min)	OD ₃₇₅	λ_{max} (OD)	λ_{max} (OD)	
ATP	200	30	0.371	348(0.412)	265(0.375)	
		60	0.327	346(0.396)	—	
MV*	300	30	0.375	348(0.432)	266(0.455)	
		(ATP) (MV)	(200) (300)	30 60	0.332 0.304	345(0.403) 345(0.364)
FeSO ₄	5	30	0.389	353(0.412)	262(0.367)	
		60	0.366	351(0.391)	264(0.374)	
		10	30	0.382	351(0.408)	263(0.376)
			60	0.357	349(0.359)	266(0.375)
FMN	100	30	0.329	367(0.335)	264(0.365)	
		60	0.316	358(0.330)	265(0.348)	
Comp. I	—	30	0.381	350(0.392)	264(0.397)	
		60	0.383	350(0.393)	265(0.414)	

* MV: methyl viologen. Reactants (mmole): I, 0.015; Complex I, 0.005; Na₂S₂O₄, 0.03.

의 反應結果는 同一하였음) ATP도 거의 效果가 없는 點을 생각할 때 I의 還元에 있어서는 N₂ 혹은 acetylene의 還元の 경우와 電子移行過程이 相異한 것으로 생각된다(推定反應機轉 參照). FMN을 添加時는 抑制效果가 있는데 그 原因을 調査해 본 결과 FMN은 Na₂S₂O₄單獨 혹은 Complex I—Na₂S₂O₄에 依해서 迅速히 還元되었으므로(λ_{max} 445 nm에서의 吸收가 消失) 還元型錯物과 Na₂S₂O₄이 消費된 點을 알 수 있다. 또 I의 還元이 30分間에는 別로 進行하지 않다가 60分後에는 相當히 進行해 있음은 I의 還元이 FMN의 還元보다 徐徐히 일어나는 點으로 생각된다. Complex II의 경우도 Complex I의 경우와 類似한 結果를 나타내었다.

Mo—他 thiol 錯物の 效果—MoO₄²⁻과 Cys 以外的 다른 thiol과의 錯物を 溶液中에서 生成시켜 cysteine 錯物과의 觸媒活性을 比較하였다. 그 結果는 Table V와 같다.

Mo—Met 錯物은 $\left[\begin{array}{c} \text{S} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \text{H} \end{array} \right] \text{Mo} \left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \end{array} \right]_2$ 의 構造를 가질 것으로 생각되고 있으며³⁾ Mo—Tg 錯物の

構造는 未知이나¹¹⁾ 上記의 構造와 類似할 것으로 생각된다. Met 錯物은 觸媒活性이 전혀 없으

Table V—Effect of other molybdothiol complexes prepared *in situ* on the reduction

Complex system*	Time(min)	OD ₃₇₅ (A)	OD ₃₃₅ (λ_{max})(B)	OD ₂₇₂ (λ_{max})(C)	B/A	C/B
MoO ₄ ²⁻ —	30	0.648	0.730(345)	0.668(263)	1.13	0.92
Met	60	0.551	0.637(345)	0.690(267)	1.16	1.08
MoO ₄ ²⁻ —	30	0.579	0.711(342)	0.640(263)	1.23	0.90
Tg	60	0.503	0.634(342)	0.655(266)	1.26	1.03
MoO ₄ ²⁻ —	30	0.633	0.768(342)	0.650(265)	1.21	0.85
Cys	60	0.585	0.716(341)	0.665(267)	1.22	0.93

* Equivalency of the complexes, 0.03 mmole.

Amounts of the other reactants were the same as those in Table I.

며 (Table I) Tg 錯物은 Cys 錯物 程度의 弱한 活性을 나타낸다. Cys 錯物의 경우로부터 類推하면 적어도 Tg의 單離한 錯物은 보다 強한 活性을 가질 것으로 생각된다.

推定反應機轉—過去에 여러가지 方法에 依한 I의 還元에 있어서 어느 方法에서나 λ_{max}^{335} nm에서의 吸光種이 生成됨이 報告되었으나¹⁷⁾ 그 物質의 不安定性 때문에 單離는 하지 못하고 5-hydroxyamino 誘導體가 아니면 5-amino 誘導體(II)인 것으로 推定하였다¹⁷⁾. 그러나 最近 그 物質이 單離되어 II임이, 또 III은 II로부터 生成됨이 確認되었다⁹⁾. nitrofurane類의 nitro基還元の 反應機轉은 NO— → HONH— → NH₂— 誘導體로 還元이 進行하는 것으로 推定되고 있으며¹⁷⁾ 各各 1 mole 당 2, 4 및 6還元當量이 必要하다. 그런데 nitrogenase 모델로서의 Complex I 혹은 MoO₄²⁻-Cys 混合物에 依한 acetylene, N₂ 등의 還元에 있어서 單量體還元型錯物의 Mo에 基質이 “side-on”形으로 附加한 中間體를 經由하는 것으로 推定되고 있다^{11,13)}. 또 이러한 反應에 있어서 ATP는 還元型錯物의 生成을 促進시키고 基質이 그 錯物에 附加時는 電子移行效率도 높이는 것으로 생각되고 있다⁹⁾. 또 前述한 바와 같이 이들 反應에서 FeSO₄도 電子移行에 助觸媒로 作用한다고 한다. 그러나 本反應에 있어서는 ATP나 FeSO₄의 效果를 거의 볼 수 없었으므로 基質인 I이 還元型錯物의 Mo에 配位하지 않고 電子의 直接移行機轉에 依하여 還元이 進行되는 것으로 생각된다. 그런데 生成된 II는, furan環이 開裂하기 쉬울 것으로 생각되는 左記와 같은 水素結合構造 때문에 不安定하여 쉽게 III으로 異性化하는 것으로 생각되고 있다¹⁰⁾. 따라서 本反應에 있어서 Mo 錯物에 依한 觸媒還元은 Chart 2에 表示한 바와 같은 機轉으로 反應이 進行하는 것으로 推定된다 (Chart 1 參照).

還元型錯物(Mo^{red})은 不安定하여 單離되지 않으나 Mo의 酸化數는 +4價인 것이 거의 確實視되며^{11,18)} 따라서 2電子還元劑로 作用할 것

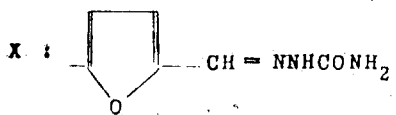
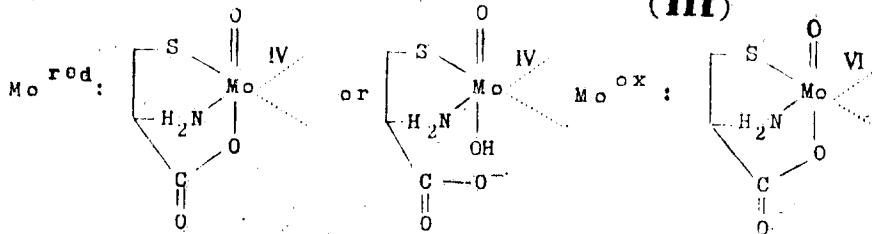
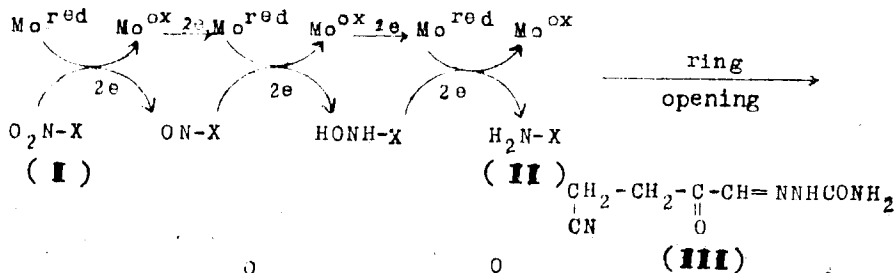
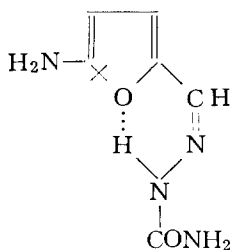


Chart 2— Probable mechanism of molybdothiol-catalyzed reduction of nitrofurzone.

으로 보인다. 한편 反應後 生成되는 酸化型錯物(Mo^{6+})의 Mo의 酸化數는 +6價인 것으로 생각되고 있다¹¹⁾.

結 論

以上の 結果로부터 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Mo—Cys 錯物과 Mo—Tg 錯物은 nitrofurazone의 amino 誘導體로의 還元에 있어서 xanthine oxidase 나 aldehyde oxidase 의 모델로서의 觸媒活性이 있었다.
2. 單離한 Mo—Cys 錯物中 酸素架橋體가 黃架橋體보다 그 活性이 큰 것으로 보였다. 元素素의 cofactor 를 添加해도 活性의 增大效果는 거의 혹은 전혀 없었다.
3. 溶液中에서 Mo—Cys 錯物의 Mo 을 W 혹은 V 으로 代替하였더니 觸媒活性이 없었다.
4. 觸媒作用의 活性種은 2電子還元劑인, Mo 이 4價인 單量體還元型 錯物일 것이며 電子의 直接移行機轉으로 還元이 進行할 것으로 推定된다.

文 獻

1. L.S. Meriwether, W.F. Marzluff, and W.G. Hodgson, *Nature*, **212**, 465 (1966).
2. R.C. Bray and J.C. Swann, *Struct. Bonding*, **11**, 107 (1972).
3. A. Kay and P.C.H. Mitchell, *J. Chem. Soc. (A)*, **1970**, 2421.
4. G.N. Schrauzer, G.W. Kiefer, K. Tano, and P.R. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 6088 (1975) and references cited therein.
5. J.D. Taylor, H.E. Paul, and M.F. Paul, *J. Biol. Chem.*, **191**, 223 (1951).
6. M.K. Wolpert, J.R. Althaus, and D.G. Johns, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **185**, 202 (1973).
7. Y. Tazima, T. Kada, and A. Murakami, *Mutation Research*, **32**, 55 (1975).
8. 森田育男等, 日藥誌, **95**, 954 (1975).
9. K. Tatsumi, S. Kitamura, and H. Yoshimura, *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 131 (1976).
10. F.F. Ebetino, J.J. Carroll, and G. Gever, *J. Med. Pharm. Chem.*, **5**, 513 (1962).
11. G.N. Schrauzer and P.A. Doemeny, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 1608 (1971).
12. A. Kay and P.C.H. Mitchell, *J. Chem. Soc. Dalton*, **1973**, 1388.
13. G.N. Schrauzer, G.W. Kiefer, K. Tano, and P.A. Doemeny, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 641 (1974).
14. P.C.H. Mitchell and R.D. Scarle, *J. Less-Common Metals*, **36**, 265 (1974).
15. G.N. Schrauzer, P.A. Doemeny, R.H. Frazier, and G.W. Kiefer, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 7378 (1972).
16. 虎谷哲夫, 福井三郎, *Bioinorganic Chemistry*(田中久編), 化學同人, 京都, **1974**, p-101.
17. H.E. Paul, V.R. Ellis, F. Kopko, and R.C. Bender, *J. Med. Pharm. Chem.*, **2**, 563 (1960).
18. M. Ichikawa and S. Meshitsuka, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3411 (1973).