修飾シクロデキストリンによる 電子伝達系モデル

服 部 憲治郎*・戸 田 不二緒**

Modified Cyclodextrins Simulating Electron Transport Chain.

Kenjiro HATTORI* and Fujio TODA**

β -Cyclodextrin-nicotinamides reduce a substrate upon complex formation, simulating NADH-dependent enzymes which catalyzes the reductions within the ternary (enzyme-coenzyme-substrate) complexes. The newly synthesized β -cyclodextrin-nicotinamides (4, 7) and (10) have a nicotinamide group on the secondary hydroxy-side of β -cyclodextrin, in an axial configuration for (4), equatorial for (7), and axial configuration with amide linkage for (10). The corresponding reduced forms can reduce ninhydrin with large rate enhancements (7) relative to NADH. They also show enzyme-like saturation kinetics in the reduction of ninhydrin, which indicates that the reaction involves complex formation. The reduction of flavins by NAD(P)H is an important step in the natural respiratory electron transport chain.

This paper demonstrates the non-enzymatic reductions of cytochrome c in aqueous solutions, which are initiated by β -cyclodextrin-dihydronicotinamides and mediated by a riboflavin, oxazine-, diazine-, thiazine- and indophenol-dyes. Rate enhancement associated with complex formation between cyclodextrin-dihydronicotinamides and mediators was demonstrated by the inhibition kinetics and Michaelis-Menten type kinetics.

1. はじめに

疎水の空間をもち、これが取り込み作用を有するので、特定分子を認識して、反応の加速や基質分子の位置選択や不斉選択的反応性などを実現したシクロデキストリン分子に関する解説がすでに数多くの著作¹⁾や総説²⁾により報告されている。この実験事実は酵素反応をはじめとする生体反応に類似した挙動であるので、酵素反応や生体反応モデルとしての応用が盛んに行われている²⁾。シクロデキストリン分子を用いて自在に生体モデル反応を行わせるには種々の官能基の導入が key step の作業となる。著者らはシクロデキストリンが基質の取り込みによって生成したコンプレックス構造³⁾に示唆されるよう

にバケツ型構造のより広がった側(2級水酸基側)への化学的修飾を検討した結果、コンプレックス生成を伴う位置特異的修飾法⁴⁾により、機能的シクロデキストリン分子を得ることができた。この修飾位置は、シクロデキストリン分子に取り込まれた基質に有効に作用できる空間的位置関係にあることを実験的事実により、実証してきた。すなわち、イミダゾール基のような加水分解触媒基をシクロデキストリン分子に導入して、加水分解酵素としての反応加速性⁵⁾や基質への不斉選択反応性⁶⁾を実現した。

一方、生体内における酸化還元反応の多くは NAD 補酵素が関与する酸化還元酵素が与っているが、この反応のモデル化を NAD 補酵素の活性基部分であるニコチン

* 東京工芸大学工学部工業化学科 ()

* Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering Tokyo Institute of Polytechnics ()

**東京工業大学工学部化学工学科 ()

**Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology ()

とトシル置換ヘキソースを得た。溶媒抽出およびセファデックスを用いたクロマトグラフィーによりトシル置換ヘキソースを単離した。一方、文献に従い別途合成した標準試料と比較した結果 C-3 位に置換した 3-トシルグルコースと一致した。このことは当初の β -シクロデキストリンへのトシル化修飾反応が 7 つのグルコースのうちの 1 個のグルコースの C-3 位への位置特異的な置換反応であることを示唆する。

β -シクロデキストリンのグルコース単位は C1 型コンホメーションをとるので 2 級水酸基の立体配置はエクソトリアル位にある。従って β -シクロデキストリンの置換トシル基もエクソトリアル位にある。NADH 依存酵素モデル化合物である **4** が上記スキームによって合成されるとき、トシル基と結合した炭素原子上にピリジン環 N 原子と S_N2 型置換反応し、立体配置の反転を伴い、N 位 4 級化したニコチンアミド基はグルコース環の C-3 位アキシアル位に導入したと推定できる。これと対照的に Iodo- β -CD (**5**) を経由してつぎにニコチンアミド基を 4 級化して導入し (**6**) および (**7**) を合成する場合には立体配置が逆となる。すなわち出発原料のトシル-シクロデキストリンでトシル基と結合していた炭素原子は初めにヨウ素原子と置換、ついでニコチンアミド基に置換されるので計 2 回の S_N2 反応による立体反転が行われ、生成物 (**7**) ではニコチンアミド基はグルコース C-3 位にエクソトリアル位に導入されており、これら 2 種のニコチンアミド-シクロデキストリン化合物は立体配置異性体である。立体構造的に考察するとシクロデキストリン空洞に対するニコチンアミド基の空間的位置関係は距離、方向とも大きく異なっている (図 3)。すな

Fig. 3 Conformation for three enzyme models.

わちアキシアル誘導体 (**4**) ではニコチンアミド基はシクロデキストリン空洞の外側の空間に向いているのに対しエクソトリアル誘導体 (**7**) ではニコチンアミド基は空洞内部に面するように位置している。このことは分子模型を用いた考察からも容易に推定されるが、いくつかの構造的スペクトルデータによりその推定を裏付けることがで

きた。酸化型ニコチンアミド-シクロデキストリン化合物は **3** も **6** も 267 nm に最大吸収をもつ UV スペクトルを示す。**6** は 357 nm にも弱い吸収をもち、酸性条件下では消失した。これは対イオン OH^- がピリジン環に部分的に付加して、ジヒドロ体 (**7**) 構造をとるためと考えられる。ジヒドロ還元した化合物 (**4**) では 268 と 355 nm に UV 吸収をもつのに対し (**7**) ではそれより長波長にシフトして 274 と 357 nm に最大吸収が観測された。これはジヒドロピリジン基が疎水領域にあることを示す。ケイ光スペクトルによる観測では化合物 (**6**) は 435 nm に最大吸収を示し、ピリジン環が疎水環境にあることを示すが、化合物 (**3**) のケイ光スペクトルはまったく観測されなかった⁸⁾。

第 3 番目のニコチンアミド-シクロデキストリン化合物 (**10**) はアミノシクロデキストリン (**8**) を経由して合成された。トシル- β -シクロデキストリン (**2**) をメタノールをふくむアンモニア水中で 24 hr, 160°C に加熱するとアミノ基が導入された。グルコース環の C-3 位にアキシアル位にモノアミノ基を持つシクロデキストリン (**8**) を得た。この化合物にニコチン酸クロリドを反応させてアミド結合生成によりニコチンアミド基とシクロデキストリン環を有する化合物を得た。ピリジン環の N 位をメチル化して酸化型 (**9**) を得、還元剤によりジヒドロ化して還元型 (**10**) を得た。この化合物は図 3 に示すスキームにみられるように、還元機能部位であるジヒドロピリジン環がアミド基のみを隔てて、シクロデキストリン空洞に対して至近の距離に位置しており、シクロデキストリン疎水空洞に取り込まれた被還元基質に対し近接して有効に反応しうると予期される。後述するように **10** の電子伝達能力は他の 2 種の酵素モデル化合物 (**4**), (**7**) に比較してケタ違いに有効である。たとえばニンヒドリン基質に対する還元反応では反応速度は 70 倍以上も差異がみられた。また電子伝達剤を経由してチトクローム C を還元する反応でも 55 倍の加速が観測されている。天然の酵素反応と同様に、ホストゲストコンプレックス生成を伴う反応では触媒構造の微妙な差異が反応性に大いに関係することは興味深い⁹⁾。こうした事実は著者らによる加水分解酵素モデルの反応でも同様のことを議論しており⁹⁾、同一の考え方の線にあることとして酸化還元酵素モデルの探索を行ってきた。

3. デヒドロゲナーゼモデル^{7,8)}

基質から水素を脱離し、電子受容体に渡す脱水素反応を触媒する酸化還元酵素の総称をデヒドロゲナーゼと称する (図 4)。補酵素としての NAD^+ や NADP^+ に依存

Fig. 4 Mechanism of aldehyde dehydrogenase reactions.

Sund and Theorell, *Bioorg. Chem.*, 6, 137 (1977)

する酵素であるアルコールデヒドロゲナーゼや乳酸デヒドロゲナーゼは基質の酸化および還元と共に働き、生体内代謝や発酵生産物の生成に関与することの多い重要な酵素である。

ここでは3種の新規に合成したニコチンアミド-シクロデキストリン化合物(4, 7, 10)をデヒドロゲナーゼモデルとみても、基質としてニンヒドリンを用いてその還元速度を測定して酵素モデルとしての能力を評価した。この結果、第1にこの還元反応がコンプレックス生成を伴う反応であることを確認した。第2に天然の補酵素そのものであるNADHと還元反応の速度を比較したところ、基質取り込み能力をもつこのモデル物質が格段に有利であることを実証できた。これらの事実はニコチンアミドを結合したシクロデキストリンがデヒドロゲナーゼ酵素の反応をモデル化するに好適であることを示す。

デヒドロゲナーゼモデル(4, 7, 10)の還元反応速度の測定は被還元物質として過剰量のニンヒドリンを用い、pH 7.0の緩衝溶液中で25℃で、ジヒドロニコチンアミド基特有の352 nm付近のUV吸収の減少を追跡して行った。基質濃度に対して擬一次反応速度定数のプロットを図5に示す。同一条件下でNADHの還元反応も比較のために示した。

図5aのように飽和曲線となる挙動は次式のように酵素モデル(C)と基質(S)間のコンプレックス形式の結果によるとみなせる。

Fig. 5a Reduction of ninhydrin.
pH 7.0 phosphate buffer, 25℃, $[10]=1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$,
 $[\text{ninhydrin}]=0.07-2.50 \times 10^{-2} \text{ M}$.

Fig. 5b Reduction of ninhydrin with NADH.
pH 7.0 (phosphate buffer), 25℃,
 $[\text{NADH}]=1.00 \times 10^{-4} \text{ M}$.

こうしたミカエリス・メンテン型の反応は酵素反応と同様の扱いで速度定数 k と解離定数 K_d の値が Eadie-Hofstee プロットから求められる。結果を表1に示した。NADHと比較のために同一条件下での2次反応速度定数 k_{II} も示した。

この結果によればいずれの値も $10 > 7 > 4$ の順となっており、酵素モデル構造の違いを顕著に反映している。すなわち、シクロデキストリン空洞に対し、ニコチンアミド基がより近接した構造の7が基質への還元が有利に行われる。しかし解離定数の増加は取り込み作用の低下を示しており4に比較して基質はよりフレキシブルな位置にあると推定される。このようにシクロデキストリン空洞に取り込まれた基質に対する補酵素活性部位モデル

Table 1 Kinetic parameters for the reaction of ninhydrin with the dehydrogenase model compounds **4**, **7**, **10**.

Model compounds	$10^2 k$ (sec $^{-1}$)	$10^3 K_d$ (M)	k_{II}^* (sec $^{-1}M^{-1}$)
4	2.0	2.1	12.6
7	2.7	3.0	18.5
10	145.1	10.6	137.1
NADH	—	—	0.31

*Determined from half-lives (pH 7.0, 25.0 °C)

としてのニコチンアミドジヒドロ基の方向と距離の重要性は第3の酵素モデル化合物(**10**)の場合特に顕著に効果がみられた。

前述のように**10**はジヒドロ基が最も近接しており、他の2種の酵素モデルより50~70倍の速度定数の上昇が見られた。しかし取り込みの強さは1/3~1/5に低下した。解離定数で示される取り込みの強さが触媒能力に必ずしも関係せず、かえって適度なフレキシビリティが必要と考えられる。2次反応速度定数の比較では天然の補酵素のみの、NADHの還元作用と比較してシクロデキストリン取り込み部位のある酵素モデルはいずれも40倍以上の加速を示したがとくに酵素モデル**10**の場合440倍もの加速を示したことは特筆される。

4. 呼吸鎖電子伝達系モデル⁹⁾

ミトコンドリアにおけるピルビン酸とアセチル CoA の酸化は NAD^+ と FAD^+ を酸化剤として反応が進行している。真核細胞では NAD^+ はミトコンドリア内部で消費され $NADH$ に還元されるが、これに接する内膜で次の反応のように再酸化されている。

この反応を触媒する酵素系を呼吸鎖電子伝達系と呼んでいる。この電子伝達系では Friedkin-Lehninger¹⁰⁾に見出されたように3分子のADPがリン酸化されてATP3分子がつくられる。こうした酸化的リン酸化とつながって電子伝達の概略を酸化還元電位 E_{m7} とともに示す¹¹⁾。

E_{m7} の大きく変化する $NADH \longrightarrow \text{flavoprotein}$, $\text{Cyt } b \longrightarrow \text{Cyt } c$, $\text{Cyt } a + a_3 \longrightarrow O_2$ でそれぞれ1分子のATP生成と共役していると考えられている。すなわ

ちチトクローム系が呼吸鎖の基礎をなしており、水素供与体とチトクローム系をつなぐ部分には NAD^+ , フラビン蛋白質, ユビキノンが働いている。 NAD^+ やフラビンは2電子移動系をチトクローム系の1電子移動系に移行するに際し重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では $NADH$ のモデル化合物としてジヒドロニコチンアミド基を有するシクロデキストリン化合物(**4**, **7**, **10**)を用い、チトクロームC(図6)の生体内還元モデル反応を検討し、この反応がリボフラビン(図6)の代りに酸化還元色素を添加することにより同様の促進効果があることを認めた。電子伝達反応の追跡はチトクロームCの還元型(550 nm)の吸収増加を観測し、pH 7.0の緩衝液中 25 °C で測定した。好気性条件ではリボフラビンにより反応は促進され、チトクロームCの還元が飽和に達した後、速やかな再酸化が起り吸光度の減少が観測された(図7)。これは酸素のスーパーオキシドアニオンが生成してチトクロームCを還元しているものと考えられる。窒素置換による嫌気性条件では飽和に達した後の吸光度の減少は認められず、以下の実験では嫌気性に行った。

Fig. 6

Fig. 7 Reduction of cytochrome c in the presence of riboflavin.

$[10] = 1 \times 10^{-4} M$, $[Rf] = 5 \times 10^{-5} M$, $[Cyt c] = 4 \times 10^{-5} M$.

Fig. 8 Reduction of cytochrome c in the presence of riboflavin.

a) $[Rf]=5.0 \times 10^{-6} M$, b) $[Rf]=5.0 \times 10^{-7} M$, c) $[Rf]=5.0 \times 10^{-6} M$, $[cyclohexanol]=1.8 \times 10^{-5} M$, d) $[Rf]=0$, a), b), c), d) $[7]=2.0 \times 10^{-4} M$, $[cyt\ c]=3.6 \times 10^{-5} M$.

Fig. 9 Change in absorption at 550 nm and 634 nm in the presence of Nile Blue.

$[NB]=5.0 \times 10^{-6} M$, $[7]=2.0 \times 10^{-4} M$, $[cyt\ c]=3.6 \times 10^{-5} M$.

リボフラビン存在下 NADH モデル化合物 7 から Cyt c への電子伝反応の特徴は図 8 の条件 b のように Cyt c の濃度が 7 に対しわずか 1/70 存在でも、リボフラビンが存在しない条件 d の場合に比べて非常に加速性とターンオーバー性を示しております。これに対し条件 c のようにシクロヘキサノール分子のようなシクロデキストリン環への競争的取り込みによる阻害剤が存在させると電子伝達速度の顕著な低下がみられた。この事実はリボフラビン電子伝達剤のリサイクルがこの系で極めてすぐれていることと、シクロデキストリン環による取り

込み作用がこの反応に大きく関与していることを示している。

電子伝達剤としてリボフラビンの代りにナイルブルーの 634 nm のスペクトル変化と Cyt c の 550 nm における変化とを同時に図 9 に示した。この結果によると Cyt c が完全に還元をうけた後はナイルブルーがもはやリサイクルしないで消費されてしまうことがわかる。ナイルブルーが存在する間はここでの仕込モル比 7 倍の Cyt c を完全に還元するまでリサイクルしていたことになる。したがって次式のような酸化還元の共役反応が起っている。

酸化還元系色素としてオキサジン系のナイルブルーの他にジアジン系ニュートラルレッド、N位フェニル化したフェノサフランニン、チアジン系のメチレンブルーやチオニンおよびインドフェノール系の 4 種について電子伝達能力を比較した。各色素の構造とその酸化還元電位 (E_{m7})、および酵素モデル物質 7 および 10 によるチトクローム C の還元初速度 V_0 とその比を表 2, 3, 4 にそれぞれ示した。これによるとチオニンを電子伝達剤とするときは 10 と 7 で 55 倍の差異がみられたのをはじめナイルブルー、メチレンブルー、2,6-ジクロロインドフェノール、2,3',6-トリクロロインドフェノールなどでは 10 倍以上の還元速度差が見られ、酵素モデルの構造

Table 2 Structures and redox potentials of dyes.

Dye	Structure	E_{m7} (volt)
Neutral Red (NR)		-0.325
Phenosafranine (PS)		-0.252
Nile Blue (NB)		-0.119
Methylene Blue (MB)		+0.011
Thionine (Th)		+0.064

Table 3 Structures and redox potentials of indophenols.

Indophenol	Structure	E_{m7} (volt)
Tymolindophenol (TyIP)		+0.172
2,6-Dichloroindophenol (DCIP)		+0.217
2,3',6-Trichloroindophenol (3'-TCIP)		+0.219
2,2',6-Trichloroindophenol (2'-TCIP)		+0.254

Table 4 Reduction of cytochrome c by dihydronicotinamide-cyclodextrin compound (7, 10) with various dyes as a mediator.

Carrier	E_{m7} (volt)	$V_0 \times 10^8$ (M sec ⁻¹)		10/7
		10	7	
Riboflavin	-0.221	8.1	2.2	3.7
Neutral Red	-0.325	5.7	2.1	2.7
Phenosafranine	-0.252	3.6	0.5	7.2
Nile Blue	-0.119	105.6	10.6	10.0
Methylene Blue	+0.011	157.5	5.1	30.9
Thionine	+0.064	225.2	4.1	54.9
Tymolindophenol	+0.172	2.6	0.5	5.2
2,6-Dichloroindophenol	+0.217	348.8	9.0	38.8
2,3',6-Trichloroindophenol	+0.219	228.6	20.0	11.4
2,2',6-Trichloroindophenol	+0.254	62.9	13.5	4.7
Without dye	—	1.3	0.5	2.6

[10]= 2.0×10^{-4} M, [7]= 2.0×10^{-4} M, [cyt c]= 3.6×10^{-6} M, [riboflavin]= 5.0×10^{-6} M, [dye]= 5.0×10^{-6} M.

による色素基質の選択性が反映しているものとみられる。このデータで酵素モデル 10 の場合について初速度 V_0 と各酸化還元色素の酸化還元電位をプロットしたのが図 10 である。チモールインドフェノール (TyIP) や 2,2',6-トリクロロインドフェノール (2'-TCIP) を電子伝達剤とする場合特に著しく一般的な直線関係から偏寄して速度低下がある。これは電子を受容する N 原子近くの置換基がシクロデキストリン分子の取り込み作用に不利となる立体構造のためと考えられる。

酸化還元色素がシクロデキストリン環に取り込まれ、コンプレックス生成が電子伝達に重要な役割を果していることは次の 2 つの実験により示される。表 5 はシクロデキストリン環の空洞孔に大きさが一致し、取り込まれ

て塞いでしまうために反応の阻害作用が知られているシクロヘキサノール分子の添加効果を示した。分子が大きいために、もともと取り込み作用の期待されないフェノサフランニンでは阻害効果もみられないがナイルブルーやメチレンブルーでは大きな速度低下が観察され、シクロデキストリン分子の取り込み作用を示唆する。次に酸化還元電位の比較的近いインドフェノール類について別個に求めた β -シクロデキストリンに対しての解離定数 K_{diss} と、酵素モデル物質による Cyt c の還元反応の速度比を表 6 に示した。コンプレックス生成の観測されないチモールインドフェノールに比して最も取り込み能力の高い ($K_{diss}=2.6 \times 10^{-3}$) 2,3',6-トリクロロインドフェノールで 40 倍の速度を示した。これらの結果はいず

Fig. 10 Initial rates versus redox potentials.

Table 5 Effect of added cyclohexanol on the reduction of cytochrome c.

Carrier	V_0 (10^{-8} M s^{-1})	V_{inh} (10^{-8} M s^{-1})	$\frac{V_0 - V_{\text{inh}}}{V_0}$ (%)
Phenosafranine	0.5	0.5	0
Nile Blue	10.6	2.5	76
Methylene Blue	5.1	2.3	55

$[7] = 2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dye}] = 5.0 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{cyt c}] = 3.6 \times 10^{-5} \text{ M}$,
 $[\text{cyclohexanol}] = 1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Table 6 Dissociation constants with β -CD and relative rates.

Indophenol	K_d (10^{-3} M)	Relative rate
TyIP	***	1.0
DCIP	9.7	18.1
3'-TCIP	2.6	40.1
2'-TCIP	5.5	27.4

れもシクロデキストリン環の取り込み作用が有効にジヒドロニコチンアミド-シクロデキストリン化合物から色素への電子伝達を行うことを裏付けている。

5. 呼吸鎖モデル系の速度論スキーム

チトクローム c の還元におけるジヒドロニコチンアミド- β -シクロデキストリンがインドフェノール類により電子伝達される反応機構は次のように書くことができる。

ジヒドロニコチンアミドシクロデキストリン(E)はインドフェノール(D)と包接コンプレックスを生成して、D自身は還元反応をうける(Step 1)。次に Step 2 では還元されたインドフェノール(DH)がシクロデキストリン空洞から出てくるやいなやチトクローム C に酸化されてもとの色素に戻る。こうした反応機構に関して、還元された色素 [DH] および酵素モデル-色素コンプレックス $[E \cdot D]$ の濃度が定常状態であるとの仮定を置くとチトクローム C の還元速度は

$$V = \frac{d[\text{Cyt c}]}{dt} = \frac{[k_3 K_m [D] \text{Cyt c (Fe}^{3+})]}{[\text{Cyt c (Fe}^{3+})] + K_m} \quad (1)$$

$$\text{ここで } K_m = k_2 [E] / \{k_2 [E] + k_3 (k_{-1} + k_2) / k_1\} \quad (2)$$

と求まる。初速度 V_0 と $\text{Cyt c (Fe}^{3+})$ の濃度変化に対してプロットすると、ミカエリス-メンテン型反応式と同様に上式で K_m と $k_3 K_m [D]$ の値が Eadie-Hofstee プロットにより、良好な相関係数で求めることができた(図 11)。ここから k_3 の値が一定の $[E]$ 値に対し 3~5

Fig. 11 Initial rates of cytochrome c reduction in the presence of 3'-TCIP is plotted as a function of cytochrome c concentration.

$[3'\text{-TCIP}] = 5.00 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{cyt c}] = 8.00 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 0.28 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[10] = (\text{A: } 6.00 \times 10^{-4} \text{ M, B: } 4.00 \times 10^{-4} \text{ M, C: } 3.07 \times 10^{-4} \text{ M, D: } 2.00 \times 10^{-4} \text{ M, E: } 1.47 \times 10^{-4} \text{ M, F: } 1.07 \times 10^{-4} \text{ M})$

$\times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ の範囲で求めることができた。この値から還元型電子伝達剤 (DH) は効果的にチトクローム C と反応していることがわかる。

式 (2) を変形して $k_2 \ll k_{-1}$ を仮定すれば

Fig. 12 Lineear relationship between.
 k_3K_m vs. $k_3K_m/[10]$

Fig. 13

$$K_m k_3 = k_2 - K_{diss} \frac{K_m k_3}{[E]} \quad (3)$$

チトクローム C の濃度を変化させて求めた $K_m k_3/[E]$ と $K_m k_3$ の値をプロットすると傾き、切片から K_{diss} , k_2 が求まる。図 12 にこの直線性を示したが相関係数は 0.95 である。 K_{diss} は $(1.57 \pm 0.27) \times 10^{-4} M$, k_2 は $4.70 \pm 0.33 \text{ sec}^{-1}$ と求められた。これらのパラメーターの妥当性は当初の Step 1 および Step 2 の反応機構の妥当性を支持しているものとみられる。Step 1 および Step 2 のこの酵素モデル系における呼吸鎖電子伝達の反応について図 13 に示すようにインドフェノール色素は β -シクロデキストリン空洞にコンプレックス生成の後、ジヒドロニコチンアミド基から還元反応を受けて、空洞から出てチトクローム C 分子へと電子を伝達してゆくものと考えられる。インドフェノール分子は酸化型では直線分子であるが還元により折れ曲り構造となり、シクロデキストリンから離脱すると推定される。実際、還元型インドフェノールと β -シクロデキストリンとの

間に取り込み作用は観察されなかった。このためにインドフェノール色素はシクロデキストリン系外で自由に動き、チトクローム C への速い電子移動を可能にしているとみられる。

6. おわりに

酸化還元酵素モデル E と電子伝達剤としての色素 D との間で充分なコンプレックス形成があつてはじめてチトクローム C の還元が効率よく行われる。コンプレックス生成が可能かどうかはこうした電子伝達剤と β -シクロデキストリンとの立体構造的適合性により決まる。こうした現象は天然の酵素の *in vivo* 反応での基質選択性や近接効果を具現していると見られる。上記の酸化還元色素、チトクローム C および NADH 依存酵素モデル物質によるチトクローム C の *in vitro* 還元は人工的な呼吸鎖電子伝達系とみることができる。

(昭和 57 年 8 月 17 日受理)

文 献

- 1a) M. L. Bender, M. Komiyama, “シクロデキストリンの化学”, 学会出版センター (1979)
- b) 田伏ら “ホスト-ゲストの化学” 共立化学ライブラリー 18, 共立出版 (1979)
- 2a) 上野, 長, ベトロテック, **4**, 227 (1981)
- b) 小島, 戸田, 化学と生物, **18**, 702 (1980)
- c) I. Tabushi, *Acc. Chem. Res.*, **1982**, 66
- d) H. Dugas, C. Penney, “*Bioorganic Chemistry*”, p. 290 (1981) Springer
- 3) W. Saenger, K. Lindner, *Angew. Chem.*, **90**, 738 (1978)
- 4) S. Onozuka, M. Kojima, F. Toda, K. Hattori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 3221 (1980)
- 5) Y. Iwakura, K. Uno, F. Toda, S. Onozuka, K. Hattori, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 4432 (1975)
- 6) S. Onozuka, F. Toda, K. Hattori, 東京工芸大学紀要, **3**, 32 (1980)
- 7) M. Kojima, K. Hattori, F. Toda, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 2721 (1980)
- 8) M. Kojima, K. Hattori, F. Toda, *J. Chem. Soc., Perkin 1*, **1981**, 1647
- 9) K. Hattori, S. Tsurumi, M. Kojima, F. Toda, 第 2 回国際有機化学京都会議 C-28, *J. Chem. Soc.*, 投稿中
- 10) A. L. Lehninger, “*Biochemistry*” (1970)
- 11) たとえば L. Ernster, R. W. Eatabrook, E. C. Slater, Ed., “*Dynamics of Energy-Transducing Membranes*” (1974) Elsevier