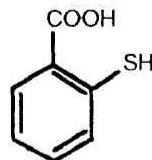


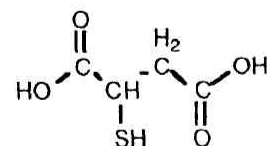
C-5. 生理活性を有する多核銀(I)錯体、金(I)錯体の分子設計と合成

神奈川大・理、明治乳業細胞工学セ¹ 野宮健司 ○長野仁美¹

アニオン性の銀(I)錯体には花の延命効果、抗菌活性などの生理活性を持つものがある。例えば水溶性の $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ (STS) はカーネーションなどのエチレンに鋭敏な切り花に対して顕著な花鮮度保持作用を示す。¹⁾ しかしこの錯体は光に不安定であり特に固体状態では扱いにくい。本研究で



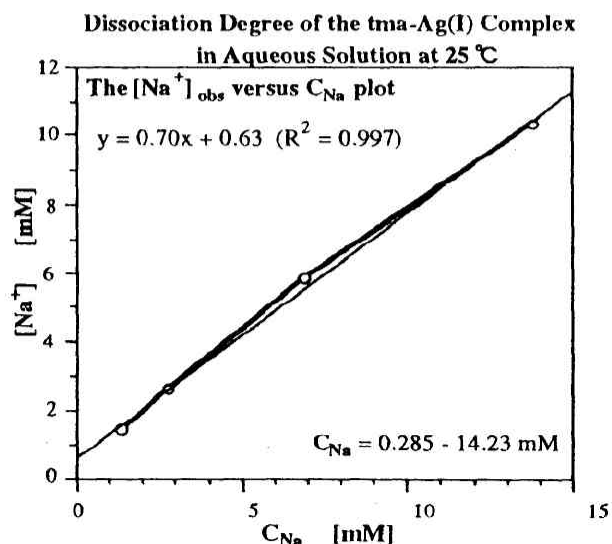
Thiosalicylic acid
(H_2tsa)

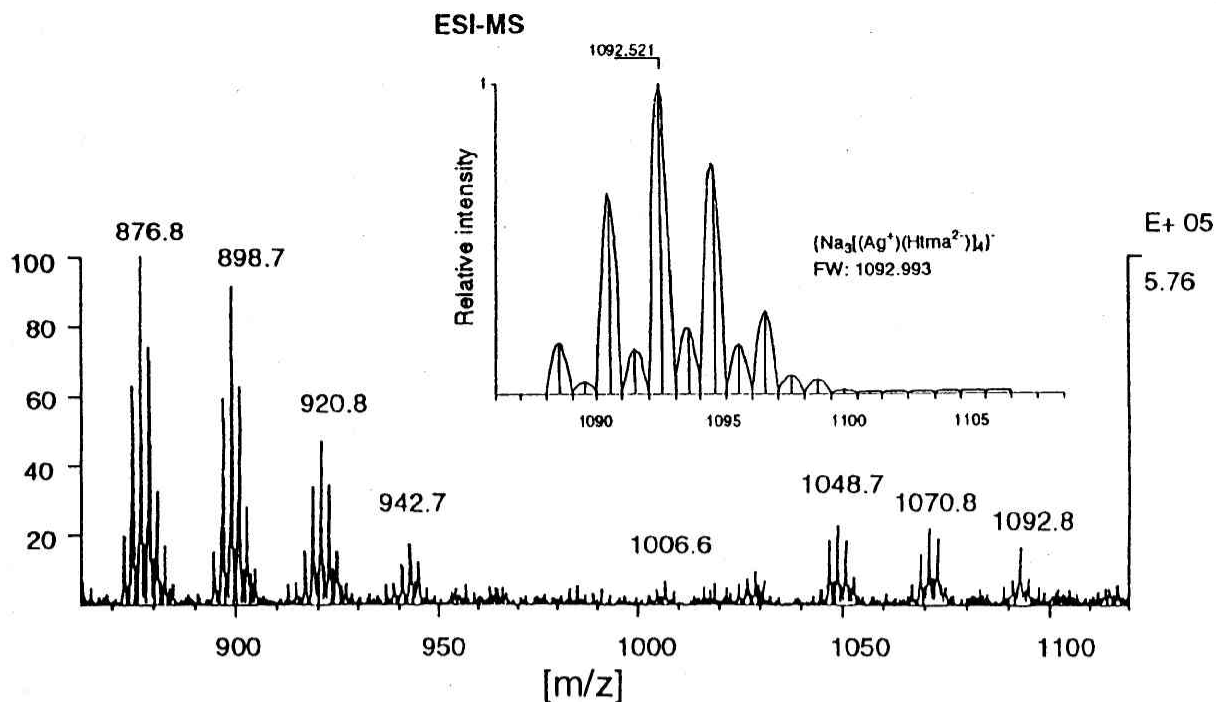


Thiomalic acid
(H_3tma)

は、光に安定で水溶性のアニオン性銀(I)錯体の合成を目的として-SH基および-COOH基や-OH基を持つ30以上の有機配位子についてAg(I)との錯形成を調べた。その中でチオリンゴ酸(H_3tma)およびチオサリチル酸(H_2tsa)をそれぞれ配位子とするアニオン性Ag(I)錯体のNa塩が水に可溶で、光および熱に安定な黄色粉末として単離された。^{2,3,4)} それらは結晶化せず、モノマーではなくポリマー性の化合物であった。特にtsa-Ag(I)錯体は、Na塩(Yellow)の他に水に不溶な錯体(Orange)の二種類が存在し、それらは条件により互いに変換可能であった。合成した錯体は、いくつかのバクテリア、かび、酵母類に対して良好な抗菌活性を示した。一方、これら銀(I)錯体に対して銀の同族元素である金を用いて、同じ配位子からなる金(I)錯体を合成した。花鮮度保持活性を示す $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ (STS) に対応する金(I)錯体 $[\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ (Sanocrysin) は、光に安定であり、関節リウマチ、結核、ハンセン病治療薬として使われてきた。tma-Au(I)錯体は、抗リウマチ薬として市販されているもの(シオゾール; シオノギ)でこの化合物についての研究報告も多い。しかし、文献により重合度や分子量がまちまちである。本研究では、一段階で合成、精製し、水溶液中での分子量を決めた⁵⁾。また、新規錯体であるtsa-Au(I)錯体は、白色結晶として単離することができた⁶⁾。*in vitro*での抗リウマチ活性において、tma-Au(I)錯体はシオゾールと同程度の活性を示し、tsa-Au(I)錯体はシオゾールに比べ低濃度(1/10量)で活性を示した。⁷⁾ tsa-Ag(I)錯体の活性はなかった。

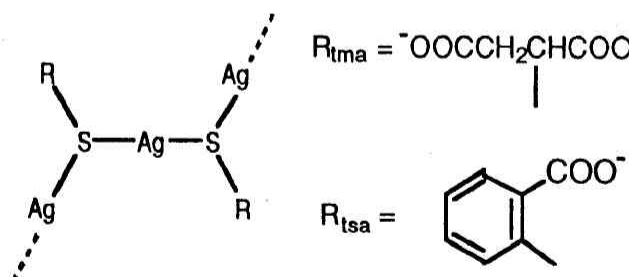
tma-Ag(I)錯体^{2,3)} NaOHを含む H_3tma の水溶液を AgNO_3 水溶液に滴下(モル比 $\text{H}_3\text{tma} : \text{Ag}^+ : \text{NaOH} = 1 : 1 : 2$)し、氷浴中で3回、アセトニトリル中で2回再沈殿させて水に可溶性黄色沈殿を得た。相手カチオンが K^+ 、 Li^+ 、 Cs^+ 、 NH_4^+ などの塩としても合成できた。Na塩について全元素分析、TG/DTA、FT-IR、NMR(^1H 、 ^{13}C 、 ^{109}Ag 、 ^{23}Na)、水溶液中の分子量測定(凝固点降下法によるmolmass測定と Na^+ 選択電極による電離度測定に基づく)、ESI(エレクトロスプレーイオン化法)-MSなどによりキャラクターゼーションを行った。この錯体は、





$\{Na[Ag(Htma)] \cdot 0.5H_2O\}_n$ (FW: 288n)の組成を持ち、Ag(I)に配位しているのはS原子であり、カルボキシル基のOは配位に関与していなかった。錯体水溶液の $[Na^+]$ 測定値と C_{Na} のプロットの直線の傾きとして電離度 α (0.689-0.701)を求めた。この電離度 α とmolmass測定値382を用い、関係式 $382(1+n\alpha) = 279n$ から分子量MW = 6910-9790 (重合度 $n = 24-34$)を決めた。 ^{13}C および ^{109}Ag NMRから、このオリゴマー錯体中のすべてのtma配位子およびすべてのAg(I)は等価であった。²⁾ ESI-MSから、四量体の陰イオン種 $\{Na_3[Ag(Htma)]_4\}^-$ ($m/z=1093$)が検出された。また、固体の ^{23}Na NMRスペクトルにおいて強度比1:3の2本線スペクトルが観測され、強度の小さいピークはブロードであった。即ち、すべての Na^+ イオンは等価ではなく、水溶液中で観測された解離しうるNaと解離しないNaに対応すると思われる。この解離していない Na^+ が四量体種を結びつけていると思われた。従って、tma-Ag(I)錯体はこの四量体種同士を Na^+ が介在したオリゴマー性の化合物と考えられる。³⁾

tma-Ag(I)錯体⁴⁾ 水に可溶性Na塩(Yellow)は、モル比 $H_2tsa : Ag^+ : NaOH = 1 : 1 : 2$ の水-エタノール混合溶液から合成した。水に不溶性



Orange錯体はYellow錯体にHCl水溶液を加えることにより容易に生成し、それにNaOH水溶液を加えると元のYellow錯体に戻った。キャラクタリゼーションは、全元素分析、TG/DTA、FT-IR、ESCAスペクトル測定で行った。Yellow錯体については、 ^{109}Ag NMR、2D

NMR (1H - 1H COSY、 1H - ^{13}C COSY、HMBC)、水溶液中の分子量測定 (凝固点降下法によるmolmass測定、 Na^+ 選択電極による電離度測定) も行った。Yellow錯体はtma-Ag(I)錯体と同様にS原子のみでAg(I)に配位したオリゴマーであり、組成は $\{Na[Ag(tsa)] \cdot H_2O\}_n$ ($n = 21-27$; MW = 6320-8130)であった。アニオン性のtma-Ag(I)およびtsa-Ag(I)錯体はいずれも架橋Sによる直線2配位のAg(I) S_2 をモノマーユニットとするオリゴマーと考えられる。

Numerical Data of Elemental Analyses, TG/DTA, and NMR (¹H, ¹³C, ¹⁰⁹Ag) of the tma-Ag(I) and the tsa-Ag(I) Complexes

Formula	$(\text{Na}[\text{Ag}(\text{tma})] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O})_n$							$(\text{Na}[\text{Ag}(\text{tsa})] \cdot \text{H}_2\text{O})_n$ (Yellow Complex)								
Elemental Analyses	Element	C	H	O	S	Ag	Na	total	Element	C	H	O	S	Ag	Na	total
	Found	17.1	1.8	24.4	11.1	38.3	7.3	99.9 %	Found	27.32	2.15	16.35	10.15	36.40	6.92	99.29 %
	Calcd	16.7	1.8	25.0	11.1	37.5	8.0	100.1 %	Calcd	27.93	2.01	15.94	10.65	35.84	7.64	100.01 %
TG/DTA	Observed weight loss: 3.16 % below 150 °C, Calcd for 0.5H ₂ O: 3.13 % Decomposition temperature: 180 °C							Observed weight loss: 8.1 % below 150 °C, Calcd for H ₂ O: 6.0 % Decomposition temperature: 302 °C								
NMR	¹ H NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 23 °C							¹ H NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 33 °C								
	tma-Ag(I) δ 4.07 3.05 2.98 ppm							tsa-Ag(I) δ 7.18 7.35 6.62 7.03 ppm								
	H ₃ tma δ 3.81 3.01 2.92 ppm							tsa-Na salt δ 7.74 7.71 7.29 7.39 ppm								
¹³ C NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 26 °C							¹³ C NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 33 °C									
tma-Ag(I) δ 183.7 180.2 48.8 45.5 ppm							tsa-Ag(I) δ 129.4 145.2 134.9 138.6 131.0 127.7 180.6 ppm									
H ₃ tma δ 179.3 177.4 42.0 38.5 ppm							tsa-Na salt δ 132.0 138.8 138.2 128.3 133.4 128.7 177.6 ppm									
¹⁰⁹ Ag NMR measured in D ₂ O with an external AgNO ₃ /D ₂ O at 22 °C							¹⁰⁹ Ag NMR measured in D ₂ O with an external AgNO ₃ /D ₂ O at 22 °C									
δ 868.7 ppm							δ 855.6 ppm									

抗菌活性 最小発育阻止濃度(MIC)によって評価した抗菌活性を下の表に示す。tma-Ag(I)およびtsa-Ag(I)錯体の活性をSTS、AgNO₃、配位子(H₃tma、tsaのNa塩)、農薬の一つであるTCPN (tetrachloroiso-phthalonitrile)などと比較した。錯体を形成することによりいくつもの細菌、酵母、かび類に対して優れた抗菌活性を示すことがわかった。

Antimicrobial Activities of Ag⁺ Compounds Evaluated by MIC*

Test Organisms	MIC(μg/mL)								
	tma-Ag(I) Complex	H ₃ tma	tsa-Ag(I) Yellow	tsa-Ag(I) Orange	Na Salt of TSA	STS	AgNO ₃	Zeolite-Ag ⁺	TCPN
<i>Escherichia Coli</i>	31.3	5000	< 2	< 2	>10000	39	6	390	>1000
<i>Staphylococcus Aureus</i>	>2000		32	16			>1600	>50000	15.6
<i>Bacillus Subtilis</i>	>2000	2500	< 2	< 2	>10000	1250	100	195	15.6
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	31.3		16	16			6	390	>1000
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	3.9		125	125			1600	195	15.6
<i>Candida Albicans</i>	>2000		1000	1000			>1600	>50000	31.3
<i>Aspergillus Niger</i>	>2000		>1000	>1000			>1600	3125	31.3
<i>Aureobasidium Pullulans</i>	31.3		>1000	>1000			>1600	1563	31.3
<i>Cladosporium Sphaerospermum</i>	125		>1000	1000			>1600	1563	15.6
<i>Penicillium Citrinum</i>	>2000		>1000	>1000			>1600	3125	31.3
<i>Fusarium Moniliforme</i>	>2000		1000	1000			>1600	3125	15.6
<i>Rhizopus Stolonifer</i>	>2000		1000	1000			>1600	781	31.3

*MIC: Minimum Inhibitory Concentration

tma-Au(I)錯体⁵⁾ NaAuCl₄とH₃tmaを含むNaOH水溶液中(モル比 H₃tma : Au(III) : NaOH = 4 : 1 : 8)で1ステップの反応で合成し、陰イオン交換、ゲルろ過によって精製した。この錯体は、結晶化せず黄色粉体として得られた。元素分析、TG/DTA、FT-IR、NMR(¹H, ¹³C)、水溶液中での分子量測定(凝固点降下法によるmolmass測定、Na⁺選択電極による電離度測定)から組成が{Na₂[Ag(tma)] · 1.75H₂O}_n (n = 3-10; MW = 1260-4220)であることを決めた。アニオン性のtma-Au(I)錯体はAg(I)錯体と同様、架橋Sによる直線2配位のAu(I)S₂をモノマーユニットとするオリゴマーと考えられる。

tsa-Au(I)錯体⁶⁾ H₂tsa : Au(III) : NaOH = 4 : 1 : 8を含むエタノール-水混合溶媒中の反応により白色結晶として単離した。全元素分析、TG/DTA、FT-IR、NMR(¹H, ¹³C)、凝固点降下法によるmolmass測定から組成が{Na₃[Au(tsa)₂] · 5H₂O} (MW = 660.4)であることを決めた。本錯体も直線2配位のAu(I)S₂構造であると思われる。

Numerical Data of Elemental Analyses, TG/DTA, and NMR (¹H, ¹³C) of the tma-Au(I) and the tsa-Au(I) Complexes

Formula	$(\text{Na}_2[\text{Au}(\text{tma})] \cdot 1.75\text{H}_2\text{O})_n$							$(\text{Na}_3[\text{Au}(\text{tsa})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O})_n$ (Yellow Complex)									
Elemental Analyses	Element	C	H	O	S	Au	Na	total	Element	C	H	O	S	Ag	Na	total	
	Found	11.49	1.44	21.90	7.64	46.90	10.80	100.17 %	Found	25.64	2.63	21.00	9.72	29.00	11.20	99.19 %	
	Calcd	11.40	1.55	21.82	7.60	46.72	10.91	100.00 %	Calcd	25.46	2.75	21.81	9.71	29.83	10.44	100.00 %	
TG/DTA	Observed weight loss: 9.63 % below 250 °C							Observed weight loss: 12.5 % below 300 °C									
	Calcd for 1.75H ₂ O: 7.48 %							Calcd for 5H ₂ O: 13.6 %									
	Decomposition temperature: 264 °C							Decomposition temperature: 417 °C									
NMR	¹ H NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 26 °C							¹ H NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 29 °C									
	tma-Au(I)	δ 4.11	2.91	2.82	ppm			tsa-Ag(I)	δ 7.14	7.87	7.11	7.04	ppm				
	H ₂ tma	δ 3.81	3.01	2.92	ppm			tsa-Na salt	δ 7.74	7.71	7.29	7.39	ppm				
	¹³ C NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 26 °C							¹³ C NMR measured in D ₂ O with an internal DSS at 29 °C									
	tma-Au(I)	δ 183.4	181.0	50.0	47.9	ppm			tsa-Ag(I)	δ 128.7	145.1	138.2	137.1	129.9	126.4	181.4	ppm
	H ₂ tma	δ 179.3	177.4	42.0	38.5	ppm			tsa-Na salt	δ 132.0	138.8	138.2	128.3	133.4	128.7	177.6	ppm

抗リウマチ活性⁷⁾ 慢性関節リウマチ (RA) の治療薬として広く用いられている金剤は、マクロファージやリンパ球などの生物活性を抑制すると考えられている。我々は、リンパ球などが接着するヒト滑膜組織の血管内皮細胞における細胞接着分子 ELAM-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1)、VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) の発現が変形性関節症に比べRAに量的に強く検出されていることに注目した⁸⁾。そこで *in vitro*でのヒト臍帯血由来血管内皮細胞をサイトカインTNF-αで刺激することにより両接着分子の発現を誘導させる系⁹⁾を確立した。そしてこの系において市販の金剤 (シオゾール) がVCAM-1発現抑制能を示したため、この系でのVCAM-1発現抑制能を抗リウマチ活性とみなし、金(I)錯体・銀(I)錯体の評価を蛍光標識した抗VCAM-1モノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー (FACS) により解析した。その結果、tma-Au(I)錯体にはシオゾールと同様のVCAM-1発現抑制能が認められた。一方、tsa-Au(I)錯体はシオゾールに比べ低濃度 (1/10量) でVCAM-1発現抑制能を示した。tsa-Ag(I)はVCAM-1発現抑制能を示さなかった。

1) (a) H.Veen, and A.A.M.Kwakkenbos, *Sci. Horticult.* **18**, 277 (1982/83).

(b) H.Veen, *Sci.Horticult.* **20**, 211 (1983) and references therein.

2) K.Nomiya, K.Onoue, Y.Kondoh, N.C.Kasuga, H.Nagano, M.Oda, and S.Sakuma, *Polyhedron* **14**, 10, 1359 (1995).

3) K.Nomiya, Y.Kondoh, H.Nagano, and N.Oda, *J. Chem. Soc. Chem. Commum.* 1679 (1995).

4) K.Nomiya, Y.Kondoh, K.Onoue, N.C.Kasuga, H.Nagano, M.Oda, T.Sudoh, and S.Sakuma, *J. Inorg.Biochem.* **58**, 255 (1995).

5) K.Nomiya, H.Yokoyama, H.Nagano, M.Oda, and S.Sakuma, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **68**, 10, 2875 (1995).

6) K.Nomiya, H.Yokoyama, H.Nagano, M.Oda, and S.Sakuma, *J. Inorg. Biochem.* **60**, 289 (1995).

7) K.Dairiki, Y.Higaki, et al. submitted for publication.

8) A.E.Koch et al. *Lab. Invest.* **64**, 313 (1991).

9) J.S.Pober, *J. Immunol.* **150**, 5114 (1993).