

氏名	林 秀 樹
生年月日	
本籍	愛知県
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第457号
学位授与の日付	平成14年3月22日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	芳香族窒素配位基を有する三脚型配位子を含む二核同錯体による酵素分子の結合と活性化の研究
論文審査委員(主査)	鈴木 正樹(理学部・教授)
論文審査委員(副査)	上原 章(理学部) 櫻井 武(理学部・教授) 宇梶 裕(自然科学研究科・助教授) 渡辺 芳人(岡崎国立共同研究機構分子科学研究所・教授)

## 学 位 論 文 要 旨

### Abstract

A series of copper(I) complexes ( $[\text{Cu}(\text{L})]^+$ ) with various types of sterically bulky tetradentate tripodal ligands having aromatic nitrogen donors such as pyridyl and imidazolyl groups have been prepared and characterized by various physicochemical techniques including X-ray crystallography. It was found that their dioxygen reactivity is highly dependent on the stereochemical and electronic nature of the ligands. A copper(I) complex ( $[\text{Cu}(\text{Me}_2\text{-tpa})]^+$  (**1a**)) with  $\text{Me}_2\text{-tpa}$  (bis(6-methyl-2-pyridylmethyl)(2-pyridylmethyl)amine) reacts with dioxygen at  $-80^\circ\text{C}$  in dichloromethane to give a novel bis( $\mu$ -oxo)dicopper(III) complex ( $[\text{Cu}_2(\text{O})_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2]^{2+}$  (**1b**)), which was characterized by resonance Raman spectroscopy and X-ray analysis. The most striking feature of **1b** is the reversible conversion with a precursor copper (I) complex (**1a**) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  at  $-80^\circ\text{C}$  by bubbling  $\text{N}_2$  gas. Such a reversible behavior has not been observed for the bis( $\mu$ -oxo)dicopper(III) complexes.  $\text{Me}_2\text{-tpa}$  has a unique ability to stabilize both copper(I) and copper(III) oxidation states: it can take not only a square planar structure having weak ligation from the axial positions suitable for formation of copper (III) oxidation state but also a pyramidal structure suitable for formation of copper(I) oxidation state. The complex **1b** also has a regioselective monooxygenase activity for the supporting ligand as substrate to give N-dealkylated ligand. It was also found that, in addition to the above bis( $\mu$ -oxo)dicopper(III) complex, the complexes having other reactive dioxygen intermediates such as *trans*( $\mu$ -1,2-peroxo)dicopper(II) complexes and mononuclear superoxocopper(II) complex have been produced by changing the stereochemical and electronic nature of tripodal ligands. The results show that the reactivity of copper(I) complexes with dioxygen can be controlled by the stereochemical and electronic nature of ligands.

二核銅錯体と酸素分子との反応は生体系における酸素運搬体である hemocyanin (Hc) や、酸化・酸素化触媒である methane monooxygenase (MMO) の構造や機能発現機構を知るうえで重要となっている。また、銅錯体を触媒とした酸化・酸素化反応は工業的にも注目を集めており多くの研究がなされている。しかし、銅錯体と酸素分子との結合過程、さらには結合した酸素分子のさらなる活性化過程の詳細は不明である。これら反応は銅イオンまわりの配位環境の立体的・電子的効果に依存しており、さらなる理解には配位環境の合目的な分子設計による反応性の制御が必要である。

最近、Tolman らのグループは、図 1 に示した脂肪族窒素配位基からなる三座配位子を含む銅(I)錯体と酸素分子との反応により、酸素-酸素結合が開裂した高原子価 bis( $\mu$ -oxo)二核銅(III)錯体が生成し、この種は溶媒効果により ( $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -peroxo) コアを持つ二核銅(II)錯体と可逆的に変換すること

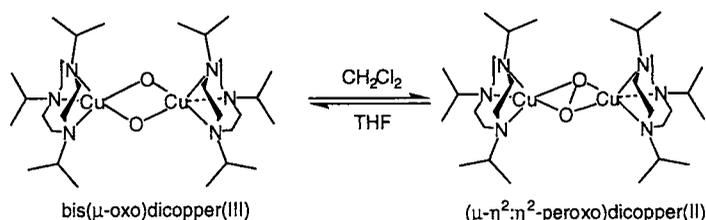


図 1 Bis( $\mu$ -oxo)二核銅(III)種と( $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -peroxo)二核銅(II)種の相互変換

ことを報告している。この結果は、酸素-酸素結合の開裂と生成が金属イオンの働きにより可逆的に制御できることを示した重要な研究結果である。さらに、この高原子価 bis( $\mu$ -oxo)種はモノオキシゲナーゼ活性を有し、配位子の一部を酸化する能力を持つことを見いだされている。しかし、これら反応の詳細は不明な点が多い。特に、酸素-酸素結合の可逆的開裂と生成、及びモノオキシゲナーゼ活性に対する配位環境の効果は十分に理解されていない。このような特異的な反応性は、銅イオンまわりの立体的・電子的効果に依存しており、配位環境と反応性との相関を調べるのが重要な研究課題となっている。

本研究では上記の研究背景をふまえ、生体系の配位子に近いピリジル基やイミダゾリル基を含む芳香族窒素配位基を持つ三脚型四座配位子を合目的かつ系統的に設計・開発し、それらを含む銅(I)錯体と酸素分子との反応性について調べることを目的とした。特に、生成する活性酸素種を含む錯体の構造・物性及び反応性を比較・検討し、配位環境の立体的・電子的効果による反応性の制御を目的としている。本研究では初めに系統的な配位環境の制御が可能な図 2 に示した一連の三脚型四座配位子 ( $\text{Me}_n\text{-tpa}$ ,  $n = 1 - 3$ ) を用いた。これら三脚型配位子は様々な立体化学に対応できる flexible な配位子であり、多様な銅-酸素化学を検討する上で有用である。

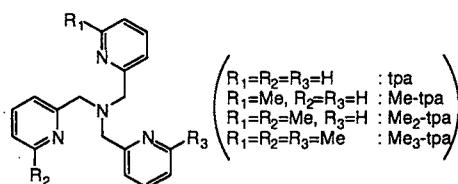


図 2 三脚型四座配位子  $\text{Me}_n\text{-tpa}$  ( $n = 0-3$ )

また銅(I)錯体と酸素分子との反応により生成する銅-活性酸素種は熱的に非常に不安定であるため、本研究で行った X 線結晶構造解析、電子スペクトル、共鳴ラマンスペクトル等の全ての実験は  $-80^\circ\text{C}$  以下の低温で行った。

以前、Karlín らは図 2 に示した tpa (tris(2-pyridylmethyl)amine) を含む銅(I)錯体と酸素との反応により、三方両錘構造をとる  $\text{trans}(\mu\text{-}1,2\text{-peroxo})$  二核銅(II)錯体が生成することを報告している。また、tpa のピリジル基の 6 位にメチル基を 1 つ組み込んだ配位子 Me-tpa を含む銅(I)錯体 ( $[\text{Cu}(\text{Me-tpa})]^+$ ) も、低温下、アセトン中で酸素分子と反応して、tpa と同様に紫色の  $\text{trans}(\mu\text{-}1,2\text{-peroxo})$  二核銅(II)錯体を生成することが、当研究室で見出されている。一方、本研究で用いた 2 つのピリジル基の 6 位にメチル基を導入した配位子  $\text{Me}_2\text{-tpa}$  の銅(I)錯体 ( $[\text{Cu}(\text{Me}_2\text{-tpa})]^+$  (**1a**)) と酸素分子との反応では、Me-tpa 錯体とは全く異なった

褐色の種が生成した。この褐色種は  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中、 $-80^\circ\text{C}$  で  $378\text{ nm}$  及び  $300\text{ nm}$  付近に特徴的な吸収極大を持ち、ラマンスペクトルでは  $587\text{ cm}^{-1}$  に  $^{18}\text{O}_2$  で  $561\text{ cm}^{-1}$  へと同位体シフトするラマンバンドを持つことがわかった。これらのスペクトルパターンは、これまでに報告された bis( $\mu$ -oxo)二核銅(III)錯体に特徴的であり、この褐色種は bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  種 ( $[\text{Cu}_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2(\text{O})_2]^{2+}$  (**1b**))であると推定された。実際、後で示すように結晶構造解析から bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  種であることが確認された。このようにピリジル基のメチル基の数を1つから2つに増やすと、銅-活性酸素種の立体化学が全く異なることが明らかとなった。これはメチル基の立体的な嵩高さのため、三方両錘型の構造をとる *trans*( $\mu$ -1,2-peroxo)種の生成が妨げられたためと考えられる。

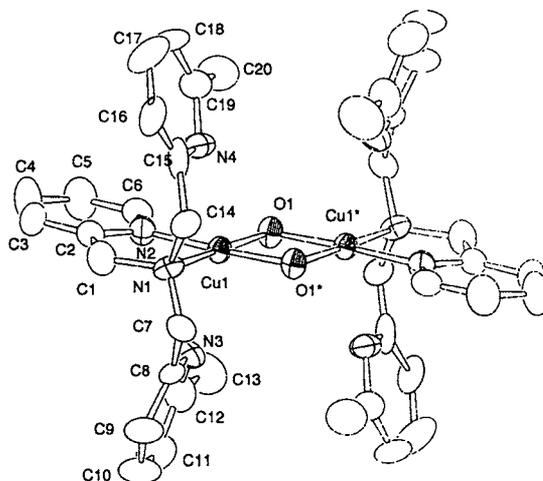


図3 Bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体 ( $[\text{Cu}_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2(\text{O})_2]^{2+}$  (**1b**))の ORTEP 図。水素原子は見やすくするため除いてある。

この bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体(**1b**)は、 $-80^\circ\text{C}$  の低温でも非常に不安定で分解する。様々な条件を検討した結果、アセトン/メタノール混合溶媒中でこの不安定種の単結晶を得ることに成功した。その X 線構造解析の結果を図3に示した。この錯体は中心に  $\text{Cu}_2\text{O}_2$  コアを有し、2つの銅イオンはそれぞれ平面型配位構造をとっている。さらに、銅イオンの軸位には2つの6-メチル-2-ピリジルメチル基が弱く相互作用している。Cu-O の平均距離は  $1.803\text{ \AA}$  であり、類似の構造を持つ銅(II)錯体である bis( $\mu$ -hydroxo)二核銅(II)錯体 ( $[\text{Cu}_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2(\text{OH})_2]^{2+}$ )の  $1.942\text{ \AA}$  と比べて非常に短くなっており、銅(III)イオンとオキソ基は非常に強く結合していることがわかる。

また O...O 間距離は  $2.32(1)\text{ \AA}$  であり、導入した酸素分子の酸素-酸素間の結合は完全に開裂している。このような bis( $\mu$ -oxo)二核銅(III)錯体の構造は、Tolman や他の研究者によってわずかに2例報告されているが、生体系により近い芳香族窒素ドナーや四座配位子を用いた例としては初めての錯体である。

この bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体(**1b**)の最も特徴的な点は、図4の電子スペクトル変化で示すように、窒素ガスを通じると銅(I)錯体(**1a**)へと変換し、さらに再び酸素を通じると bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  種(**1b**)が再生する点である。すなわち、この錯体は酸素分圧が低い条件では酸素-酸素結合を再生し酸素分子として放出す

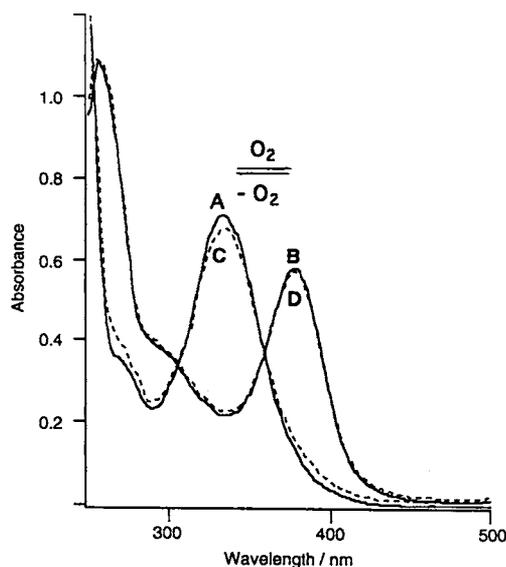


図4 銅(I)錯体 ( $[\text{Cu}(\text{Me}_2\text{-tpa})]^+$  (**1a**))と bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体 ( $[\text{Cu}_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2(\text{O})_2]^{2+}$  (**1b**))の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中、 $-80^\circ\text{C}$  での可逆的変換を示す吸収スペクトル。A: 銅(I)錯体(**1a**)のスペクトル、B: 酸素ガスを吹き込んで生成した bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体(**1b**)のスペクトル、C: アルゴンガスを吹き込んで再生した銅(I)錯体(**1a**)のスペクトル、(d): 酸素ガスを吹き込んで再生した bis( $\mu$ -oxo) $\text{Cu(III)}_2$  錯体(**1b**)のスペクトル。

る能力を持っている。これまでに、銅(I)種と  $(\mu\text{-peroxo})\text{Cu(II)}_2$  種との可逆的な変換、あるいは  $(\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo})\text{Cu(II)}_2$  種と  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種との変換の例は報告されているが、本錯体 (**1a**) は、銅(I)種と  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種との可逆的な変換に成功した初めての例である。また、この反応は酸素分子の四電子酸化還元反応であり、光合成系の酸素発生中心で四核マンガククラスターが行っている水の酸素への四電子酸化反応の機能モデルとしても重要である。

さらにこの  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  錯体 (**1b**) はモノオキシゲナーゼ活性をも有し、配位子の 6-メチルピリジル基を選択的に N-脱アルキル化することも明らかとなった。この反応は  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種 (**1b**) による 6-メチルピリジル基のメチレン基の水素原子引き抜き反応を経て進行したと考えられる。

一方、tpa の 3 つ全てのピリジル基にメチル基を導入した配位子  $\text{Me}_3\text{-tpa}$  を含む銅(I)錯体  $[\text{Cu}(\text{Me}_3\text{-tpa})]^+$  (**2a**) も酸素分子と反応し、同様の  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  (**2b**) 種を生成するが、銅(I)錯体 (**2a**) と酸素分子との反応性は著しく低く、 $-80^\circ\text{C}$ 、 $[\text{Cu}] = \sim 20\text{ mM}$  の条件では、45%程度しか酸化化しないことがわかった。この酸素分子との低い反応性は、結晶構造解析の結果から、銅(I)錯体の 3 つのメチル基のつくる疎水的なキャビティーが銅(I)イオンと酸素分子との反応部位を立体的に囲み、酸素分子の接近を妨げているためと考えられる。この  $\text{Me}_3\text{-tpa}$  を含む  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種 (**2b**) もモノオキシゲナーゼ活性を有するが、 $\text{Me}_2\text{-tpa}$  錯体 (**1b**) の場合と異なり、組み込んだメチル基とメチレン基の両方が酸化されることがわかった。この反応性の違いは、 $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種の立体構造や水素原子が引き抜かれる C-H 結合のエネルギーが関係していると考えられる。図 5 に示したようにオキシ基と軸位のメチレンあるいはメチル基の水素原子との距離はそれぞれ約  $2.6\text{ \AA}$  と  $2.7\text{ \AA}$  である。一般に、メチレン基の C-H 結合はメチル基より弱く、そのため  $\text{Me}_2\text{-tpa}$  ではメチレンの水素原子引き抜き反応が起きたと考えられる。一方、 $\text{Me}_3\text{-tpa}$  の  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種 (**2b**) も **1b** と類似の構造をとっていると仮定すると、メチル基の 1 つは  $\text{Cu}_2\text{O}_2$  平面内に位置し、その水素原子はオキシ基と非常に近接すると考えられる。そのため、 $\text{Me}_3\text{-tpa}$  を含む **2b** ではメチレンの酸化と共にメチル基の酸化が起こったものと考えら

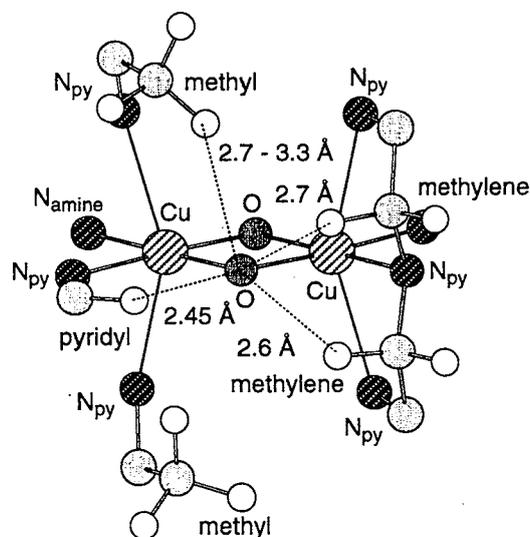


図 5  $\text{Bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  錯体  $[\text{Cu}_2(\text{Me}_2\text{-tpa})_2(\text{O})_2]^{2+}$  (**1b**) の  $\text{Cu}_2\text{O}_2$  コア近傍の構造

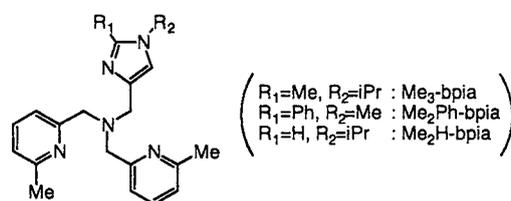


図 6 三脚型四座配位子  $\text{Me}_2\text{R-bpia}$  ( $\text{R} = \text{Me, Ph, H}$ )

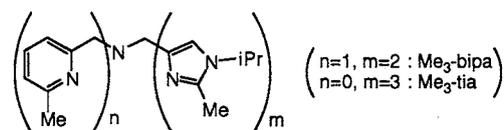


図 7 三脚型四座配位子  $\text{Me}_3\text{-bipa}$ ,  $\text{Me}_3\text{-tia}$

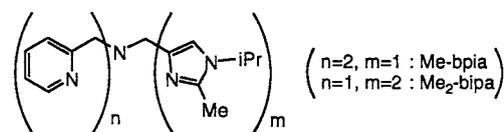


図 8 三脚型四座配位子  $\text{R-bpia}$  ( $\text{R} = \text{Me, Ph}$ )

れる。

次にピリジル基をイミダゾリル基に順次置き換えた配位子を新規合成し、配位基の違いが銅(I)錯体と酸素分子との反応にどのように影響するかを検討した。2つの6-メチルピリジル基と1つの2-置換イミダゾリル基を持つ図6に示した配位子群では、それらの銅(I)錯体と酸素分子との反応により、上述した  $\text{Me}_2\text{-tpa}$  や  $\text{Me}_3\text{-tpa}$  と同様の bis( $\mu\text{-oxo}$ )Cu(III)<sub>2</sub> 錯体が生成した。この酸素化反応の速度はイミダゾリル基の2位の置換基が大きくなるに従い(H, Me, Ph)遅くなる傾向が見られた。これは前の錯体 **1a** の場合に述べたように、イミダゾリル基の置換基が大きいほど、銅(I)イオンと酸素分子との反応部位が立体的に囲まれ、酸素分子の接近が妨げられるためと考えられる。またイミダゾリル基の置換基がメチル基である配位子( $\text{Me}_3\text{-bpia}$ )を含む銅(I)錯体([Cu<sub>2</sub>( $\text{Me}_3\text{-bpia}$ )<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> (**3a**))は、bis( $\mu\text{-oxo}$ )Cu(III)<sub>2</sub> 種を生成し、高収率かつ位置選択的な6-メチルピリジル基のN-脱アルキル化を起こすが、イミダゾリル基及びピリジル基に組み込んだメチル基は酸化されないことが明らかとなった。

さらに、イミダゾリル基の2位のメチル基とピリジル基の6位のメチル基の立体効果を比較検討するため、図7に示した配位子を設計・開発し、それらの銅(I)錯体と酸素分子との反応を検討した。その結果、2-メチルイミダゾリル基を2つと6-メチルピリジル基を1つ含む配位子( $\text{Me}_3\text{-bipa}$ )を含む銅(I)錯体([Cu<sub>2</sub>( $\text{Me}_3\text{-bipa}$ )<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>)は、 $\text{Me}_3\text{-bpia}$  錯体(**3a**)と同様に bis( $\mu\text{-oxo}$ )Cu(III)<sub>2</sub> 錯体を生成するが、全てのサイドアームが2-メチルイミダゾリル基の配位子  $\text{Me}_3\text{-tia}$  を含む銅(I)錯体([Cu<sub>2</sub>( $\text{Me}_3\text{-tia}$ )<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>)は、前述の  $\text{tpa}$  及び  $\text{Me-tpa}$  を含む銅(I)錯体と同様に、*trans*( $\mu\text{-1,2-peroxo}$ )Cu(II)<sub>2</sub> 錯体を生成することが明らかとなった。また、銅(I)錯体([Cu<sub>2</sub>( $\text{Me}_3\text{-tia}$ )<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>)は低濃度条件下で酸素分子と反応すると、単核の(*superoxo*)Cu(II)錯体を生成することが確認された。以上の結果から、3つのイミダゾリル基に組み込んだメチル基は、三方両錘型の *trans*( $\mu\text{-1,2-peroxo}$ )Cu(II)<sub>2</sub> 種の生成を妨げる立体的な効果はないが、単核の(*superoxo*)Cu(II)錯体を安定化する効果を持つことが明らかとなった。さらに図8に示す配位子を用いた場合にも、銅(I)錯体と酸素分子との反応により *trans*( $\mu\text{-1,2-peroxo}$ )Cu(II)<sub>2</sub> 種が生成することがわかった。

以上のように、三脚型四座配位子の立体的・電子的効果により、その銅(I)錯体と酸素分子との反応性が大きく変化することがわかった。すなわち、酸素分子がパーオキシ基となって二つの銅(II)イオンを架橋し、三方両錘型を持つ *trans*( $\mu\text{-1,2-peroxo}$ )Cu(II)<sub>2</sub> 種、配位子の立体障害のため二つの銅(II)イオンが接近しづらく酸素分子はスーパーオキシ基として銅(II)イオンに配位した単核(*superoxo*)Cu(II)種、さらに酸素-酸素結合が切れて銅イオンは三価となった bis( $\mu\text{-oxo}$ )Cu(III)<sub>2</sub> 種を作り分ける制御が可能となった。

これらの配位子の立体的及び電子的効果を理解するため、これら配位子を含む単核クロロ銅(II)錯体([CuCl(L)]<sup>+</sup>)を合成し、X線構造解析によりそれら錯体の構造の比較を行

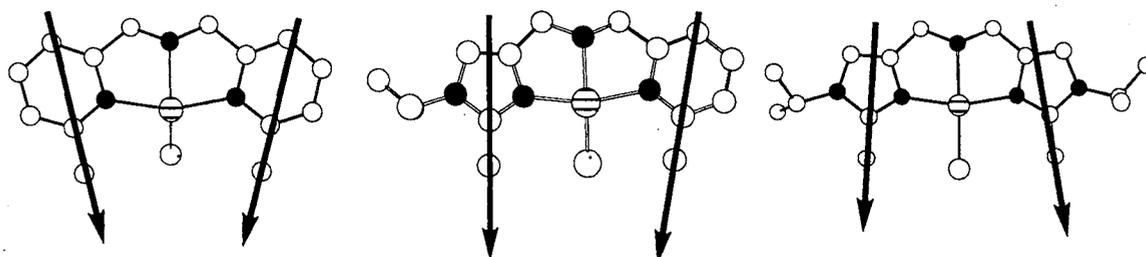


図9 クロロ銅(II)錯体、[Cu( $\text{Me}_3\text{-tpa}$ )Cl]<sup>+</sup>、[Cu( $\text{Me}_3\text{-bpia}$ )Cl]<sup>+</sup>、及び[Cu( $\text{Me}_3\text{-bipa}$ )Cl]<sup>+</sup>の構造を軸位から見た図。軸位の配位基は見やすくするため除いてある。

った。その結果、銅(I)錯体と酸素との反応で  $\text{bis}(\mu\text{-oxo})\text{Cu(III)}_2$  種が生成する配位子群では四角錐型のクロロ銅(II)錯体が得られ、 $\text{trans}(\mu\text{-1,2-peroxo})\text{Cu(II)}_2$  種を生じる配位子群では三方両錐型のクロロ銅(II)錯体が得られた。このように銅-酸素種の立体化学はクロロ銅(II)錯体の構造と極めて良い相関があることも明らかとなった。さらに、ピリジル基の6位のメチル基とイミダゾリル基の2位のメチル基は、図9に示すようにメチル基が張り出す方向が異なり、銅錯体に対する立体効果が大きく異なることが明らかとなり、この効果により、銅活性酸素種の立体制御が可能であることがわかった。

以上の研究により、配位子の立体的・電子的効果が銅(I)錯体と酸素分子との一連の反応に及ぼす影響が明かとなった。この研究により得られた情報は、生体酵素反応の解明及び有用な酸化触媒の開発等において、重要な知見を与えるものと期待される。

## 学位論文審査結果の要旨

提出論文について、平成14年1月26日の第1回論文審査委員会、及び1月30日に開かれた公开发表会と第2回論文審査委員会での審査の結果、下記の結論を得た。

本論文では、生体系での酸素活性化銅タンパクの機能モデル錯体の構築を目的として、配位環境の立体的・電子的効果を合目的に制御可能な一連の三脚型四座配位子(L)を設計・開発し、それらを含む銅(I)錯体( $|\text{CuL}|^+$ )と酸素分子との反応性について系統的な研究を行っている。酸素活性種を含む銅錯体は非常に不安定であるため、 $-80^\circ\text{C}$ 以下の低温での実験を創意工夫することにより、様々な銅-酸素活性種、すなわち(superoxo)銅(II)、( $\mu\text{-peroxo}$ )二核銅(II)、及び $\text{bis}(\mu\text{-oxo})$ 二核銅(III)錯体の合成や検出に成功している。さらに配位子に対してモノオキシゲナーゼ活性を有する $\text{bis}(\mu\text{-oxo})$ 二核銅(III)錯体を単離し、そのX線結晶構造解析や様々な物性測定にも成功している。この $\text{bis}(\mu\text{-oxo})$ 二核銅(III)錯体は、モノオキシゲナーゼ活性ばかりではなく、酸素分圧により銅(I)種と可逆的に相互変換することを見いだしている。この相互変換は、酸素分子とオキソ基の間の可逆的四電子酸化還元による、酸素-酸素結合の開裂と再生を制御した初めての例であり、光合成系の酸素発生中心で四核マンガングラスタールが行っている水の酸素分子への四電子酸化反応の中間体モデルとしても高く評価できる。

以上のように、本論文では配位環境の立体的・電子的効果により様々な銅酸素活性種の合成及び機能制御に著しい業績を上げており、その成果は博士(理学)論文に充分値するものと判定した。