

# 人工酸化酵素の開発を指向した 遷移金属-活性酸素錯体の研究

引地 史郎\*

Studies on the coordination chemistry of transition metal-activated oxygen complexes  
for the development of bio-inspired artificial oxygenases

Shiro HIKICHI\*

## 1. 緒言

生体内での酸素代謝過程における有機化合物への酸素添加反応は、大気中の酸素分子を酸化剤とした極めて穏和な条件下における高効率な反応であることから、その反応機構には生命化学の枠組みを越えて合成化学・触媒化学等の幅広い分野から大きな関心が寄せられている。

遷移金属イオンを触媒反応活性点としている酸化酵素における反応機構を理解するためには、人工的に合成したモデル、すなわち遷移金属-活性酸素錯体の諸性質の解析等、錯体化学的なアプローチによる分子化学的研究が不可欠である。そしてこのような研究を進展させることで酵素模倣型酸化触媒、すなわち“人工酸化酵素”の開発が達成されるものと期待される。本稿では生体内における金属イオンの触媒作用及び炭化水素の酸化反応について概説した上で、筆者が取り組んできた遷移金属錯体による酸素活性化反応に関する研究について解説する。

## 2. 生物無機化学と触媒化学の接点

### 2.1 生体内における金属の触媒作用

生体内における触媒的な物質変換反応、すなわち酵素反応は、通常常温・常圧という穏和な条件下において極めて効率よく進行することから、酵素反応を直接物質生産に利用することはもちろん、酵素反応の仕組みを理解できればそのエッセンスを人工物である触媒及び触媒反応プロセスの設計・構築に取り込めるのではないかとの発想から、酵素における触媒反応活性点の構造と機能・反応性の相関や反応機構については触媒研究開発の観点

から興味が持たれてきた。

生命体にとってはある種の金属元素が生命活動を維持していく上で必須である。そして、これら生体必須金属元素のうちの幾つかは酵素中に含まれており、これが種々の物質変換反応を触媒する機能を担っている(表1)。このような生体内における金属の触媒機能に関する研究は、“生物無機化学(Bioinorganic chemistry)”と総称される学問領域の範疇に入る<sup>1)</sup>。生物無機化学とは通常無機化学において取り扱われる元素の生命体との関わりを研究する学問であり、生物学と化学の接点に位置している学際領域の学問であることから、基礎化学全般(有機化学・物理化学・分析化学・生化学)はもちろんのこと、環境学や工学・医学・薬学・農学等とも関連が深い。近年の基礎化学的事象に関する理解の進歩と様々な分析機器・手法の発達に伴い、以前は直接観察することやデータの解析・解釈が困難であった生物無機化学的な現象についての解明が進行中である。金属イオンが触媒活性点として機能している“金属酵素”に関しても、ここ数年でいくつかのものの構造がX線結晶構造解析等の手法により原子レベルで解明されているが、触媒反応機構に関しては現在のところ未解明な点が多い。金属酵素の場合、その

表1. 生体必須金属元素(d-ブロック元素)の機能

金属	機能
V	酸化(ハロゲンイオンの酸化)、窒素固定
Mo	窒素固定、酸化(酸素転移)
W	酸化(脱水素)
Mn	光合成(酸素発生)、活性酸素(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> )の無毒化
Fe	酸素運搬、酸化、活性酸素の無毒化、窒素固定、電子伝達
Co	アルキル基転移
Ni	水素活性化、一酸化炭素体代謝、加水分解
Cu	酸化、酸素運搬、電子伝達
Zn	加水分解、アルコール酸化、タンパク質構造維持

\*教授 物質生命化学科

Professor, Dept. of Material and Life Chemistry

活性点は分子量が数十万にも及ぶ巨大分子に埋め込まれた状態であり、しかも触媒機能を発揮する条件が極めて限定されてしまうために、反応過程を直接観測することには多くの技術的困難を伴うことがその理由である。また近年の分析技術の進歩により酵素の活性点で進行している反応を観測した例も報告されるようになってきたが、観測結果を合理的に説明するためには根拠となる事例が求められる。そこで人工的に合成したモデル化合物、いわゆるモデル錯体を用いた分子化学的研究（錯体化学的研究）が行われてきた。

モデル錯体には活性点構造や反応中間体の分光学（物理化学）的特徴を再現することを目的とした“構造モデル”と、反応性の再現に重点を置いた“機能モデル”とがある<sup>2)</sup>。かつて現在ほどに酵素そのものの状態を観察する技術が発達していなかった頃は、構造モデルは金属酵素の謎を解き明かす上で大きな役割を担ってきたが、多くの金属酵素の活性点構造が解明されてきたここ数年間で、多くの研究者達の興味の対象は触媒作用機構の解明を目的とした機能モデルに移りつつある。このような生体機能の再現を目的とした研究は“bio-mimetic chemistry”とも表現される。また最近では、生体反応を忠実に再現することにはとらわれずに、酵素や酵素モデルの特性を活かして、生体反応のエッセンスである高効率・高選択性・低環境負荷な化学反応を実践することを目指した取り組み、いわゆる“bio-inspired chemistry”と表現されるような研究も進展しつつある。

## 2.2 配位子（金属支持体）の分子設計

金属酵素において触媒活性点となっている金属イオンは、酵素を構成しているタンパク質のアミノ酸残基や、補欠分子族あるいは補因子と呼ばれる生体中に存在する有機化合物分子に結合しており、これにより金属イオンはその電子的・立体的な環境が制御され、触媒機能を発揮している。モデル錯体とは、金属酵素から触媒活性点である金属イオンの周辺構造のみを切り出したものとイメージされるが、決して酵素の忠実なレプリカではなく、金属イオンの支持体、すなわち配位子には生体系と同じアミノ酸や補欠分子族を用いる必要はない。重要なポイントは金属イオンの触媒能を発現させるためには如何なる環境にあることが必須要件であるかを考察し、配位子自体の分子構造、電子的性質を考慮した分子設計を行うことである。換言すれば、触媒設計に通じる自由な分子設計を行うことも可能であり、研究の最終到達目標を酵素反応機構の解明にとどまらずに触媒開発を念頭に置いた場合にこそ、モデル錯体研究は有意義なものとなる。

筆者らが本稿で紹介する研究では金属酵素における金属中心の環境に類似した構造を構築するために、図1に示したヒドロトリス(ピラゾリル)ポレート(以下  $Tp^R$  と略記)と称される化合物を配位子に用いている<sup>3)</sup>。 $Tp^R$ の原形は1960年代に開発された、ホウ素に3つのピラゾリル基及び1つのヒドリド基が結合した化合物であり、それ以後ピラゾール環上に様々な置換基を導入した類縁体及びそれらを用いた数多くの金属錯体が合成されてきた。 $Tp^R$ はアニオン(-1価)種であることからカチオン種である金属イオンとは静電的な相互作用により解離しにくく安定な錯体を形成するという特性を持つ。またピラゾールについては様々な置換基を持つ類縁体の合成が比較的容易であることから、それらを水素化ホウ素化合物と反応させることで様々な置換基を持つ  $Tp^R$ へと誘導することが可能である。ピラゾール環の3位に導入した置換基( $R^3$ )は金属錯体形成時には金属中心を取り囲むように位置するため、その高高さに応じて中心金属の立体的環境を制御することが可能となる。また3,4,5位のいずれの置換基( $R^3, R^4, R^5$ )ともピラゾリル基を通じて中心金属の電子状態に大きな影響を及ぼす。更にこれらの置換基は錯体全体の溶解性などにも深く関わっている。つまりこの様な効果を理解した上で適宜置換基を選択することにより、錯体の性質を自在に制御することが可能となる。従って  $Tp^R$ は様々な分子設計が可能な配位子として錯体化学全般で広く用いられ、これまでに多くの不安定錯体種の単離・構造決定等に貢献すると共に、近年では錯体触媒における配位子としての応用も検討されている。また  $Tp^R$ はいくつかの金属酵素に見い出されている三つのヒスチジン由来のイミダゾリル基が形成する金属中心の配位環境を再現できるものとして生物無機化学的な研究においては特に注目を集めてきた<sup>4)</sup>。その代表例としては、軟体動物・節足動物の血液中に存在する酸素運搬体である銅タンパク質ヘモシアニンの酸素付加体モデルが挙げ

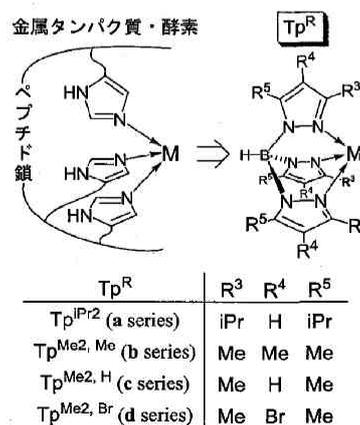


図1. ヒドロトリス(ピラゾリル)ポレート ( $Tp^R$ )

られる。1989年、筆者の恩師である北島・諸岡らはピラゾール環の3及び5位にイソプロピル基を導入した  $\text{Tp}^{\text{IPr}_2}$  を配位子とする複核銅(II)酸素錯体 **1** (図2) を合成し、これがヘモシアニンの酸素付加体に極めて類似したスペクトル的特徴を示したことから、さらにX線結晶構造解析によりペルオキシドイオン(=  $\text{O}_2^{2-}$ )の配位様式が特異な " $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ "型であったことから、銅タンパク中でも酸素分子は同様な配位構造として取り込まれていることを予言した<sup>9)</sup>。後年実際のヘモシアニンの酸素付加体の構造解析がなされ、この予言が正しかったことが証明された<sup>1)</sup>。

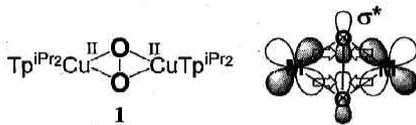


図2. 複核銅(II)- $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -ペルオキシ錯体 **1** 及び金属-ペルオキシ配位子間の軌道相互作用

### 3. 酸素分子の活性化とアルカン水酸化反応

#### 3.1 金属による酸素分子の活性化様式

酸素分子あるいは過酸化水素などの過酸化物を酸化剤として用いる触媒的酸素化反応は、生体内でエネルギー生産・異物代謝などで重要な役割を果たしているのみならず、化学工業や実験室レベルでの合成反応において欠くことのできない素反応となっている。なかでも酸素を酸化剤とした反応系は、酸素分子が最も安価な酸化剤であり、廃棄物が副生しないクリーンなプロセスであるため、工業レベル・実験室レベルではその達成に多くの期待が寄せられているが、現在のところ効率的な反応が達成された例は少ない。一方生体内では、酸化酵素の触媒作用によって酸素分子を酸化剤とする酸化反応が効率よく進行することから、その仕組みに注目が集まっている。生体内の酸素酸化反応は、(a) 金属酵素による遷移金属イオン上での酸素分子の活性化を経由するものと、(b) フラビン酵素などによる有機過酸化物中間体を経由するものに大別されるが、筆者らは(a)のタイプの反応に着目し、研究を展開してきた。

金属酵素による酸素分子を酸化剤とした有機化合物の酸化反応は、①酸素分子の金属イオンへの結合と、②結合した酸素種の活性化とその基質への移行、という段階を経て進行していると考えられる。酸素分子はまず酵素中の金属イオンに結合するが、このとき酸素分子は低原子価状態にある金属から電子移動を受けて還元され、一電子移動の場合はスーパーオキシド( $\text{O}_2^-$ ; 超酸化物イオン)、二電子移動の場合はペルオキシド( $\text{O}_2^{2-}$ ; 過酸化物イオン)となる。これは元来気体であり溶液中にごく低濃度

でしか存在しない酸素を金属イオン上に固定化するためには必須のプロセスである。血液中に存在するヘモグロビン等の酸素運搬をつかさどるタンパク質では、金属イオン上に固定された酸素分子還元体は、周囲の酸素分圧が低い状況下では再び金属へと電子を移動させることで中性の酸素分子となって金属イオン上から解離する。酸素呼吸を行っている生物の体内では、このような可逆的な吸脱着を制御することで酸素運搬は行われている。

一方酸化酵素の場合、続いて起こる酸化反応を進行させるためには、金属イオン上に固定された酸素分子還元体を、もう一段何らかのプロセスにより活性化して触媒作用を発現していると考えられている。なぜならば酸化反応というのは本質的に基質から電子を取り去るプロセスであり、これを効率的に進行させるためには酸素種自体は電子を豊富に持つ基質と反応しやすい(すなわち求電子性が大きい)ことが望ましいが、酸素分子還元体( $\text{O}_2^n$ ;  $n=1,2$ )はそれ自体が電子を豊富に持つことから、電子が不足している基質と反応しやすい種(=求核種)であり、酸化活性種としての反応性は乏しいためである<sup>9)</sup>。酸素分子還元体の活性化としては、ペルオキシドへの $\text{H}^+$ の付加によるヒドロペルオキシド( $\text{OOH}$ )種の発生や、ペルオキシドの2電子還元によるオキソン( $\text{O}^+$ )種の発生が考えられる。ヒドロペルオキシド、オキソン共に陰イオン種であることから、これら自体の求電子性は低いと考えられるが、これらが電気的に陽性な金属イオンに結合することでその性質は変化する。金属-ヒドロペルオキソン種( $\text{M-OOH}$ )の場合、ペルオキシドの両末端に種類の異なる陽イオンが結合しているためにO-O結合が分極して一方の酸素上に $\delta^+$ 性が生じ、これにより求電子性が発現していると考えられる。一方金属-オキソン種( $\text{M=O}$ )の場合、金属イオンが電子が不足した高原子価状態にあるときには図3に示すように低原子価金属-酸素原子結合体(図3における右端の種)と等価であると考えられ、この金属イオンが酸化還元電位が高い(還元状態が安定)ものであれば酸素原子としての反応性、すなわち求電子的な反応性を示すようになると考えられる。

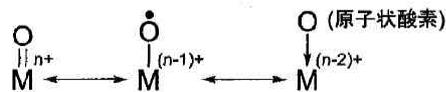


図3. 高原子価金属-オキソン種の共鳴構造

#### 3.2 メタン水酸化反応

メタン( $\text{CH}_4$ )はもともと単純な飽和炭化水素化合物であり、天然ガスの主成分である。天然ガスの埋蔵量は石油に匹敵しており、また最近注目されているメタンハ

イドレート、バイオマス処理ガスなどにおける潜在的な埋蔵量はさらに莫大であることから、石油代替エネルギー・化学資源として近年益々関心が高まっている。現在メタンは直接燃料に用いられる他、水蒸気改質による合成ガス（一酸化炭素と水素の混合ガス）製造を経由してメタノールへと変換され、化成品原料やアルコール燃料として利用されている。しかしこのメタンからメタノールへの転換プロセスは高温・高圧条件下での反応であり、もしもメタンを温和な条件の下で空気中の酸素分子を酸化剤として触媒的にメタノールに変換することが出来たならば、エネルギー消費量及びCO<sub>2</sub>排出量の低減により環境保全に大きく貢献するばかりか、メタノールを出発原料とする多様な化学工業プロセスの発展も期待される。ところがメタンは C-H 結合エネルギーが高く（104 kcal/mol）、また双極子モーメントがなく他の化学種との相互作用を形成しにくい等の理由から、全ての飽和炭化水素類の中で最も水酸化することが困難な物質である。そのため、実用的な観点に加えて学術的な興味からも、多くの化学者達によりメタン水酸化反応触媒に関する研究が行われてきた。

自然界にはメタン資化細菌というメタンを主栄養源とする生物があり、この細菌が保有するメタンの代謝過程に関与する酵素の1つにメタン水酸化酵素(Methane monoxygenase, 通称 MMO)がある。この酵素は、常温・常圧下でのメタンからメタノールへの選択的な酸化を触媒することから特に注目を集めている。1990年代半ばに MMO の単結晶 X 線構造解析が行われ、その触媒活性点が 3Å 程度離れて存在する 2 個の鉄イオンで構成されていることが明らかになった(図4)。さらに反応機構に関する研究から、2 個の鉄イオンによる酸素分子の活性化を経て反応が進行していることが示唆された<sup>8)</sup>。これらの事実より、複核金属中心上での酸素活性化を経たメタン酸化反応機構に対する関心が高まった。

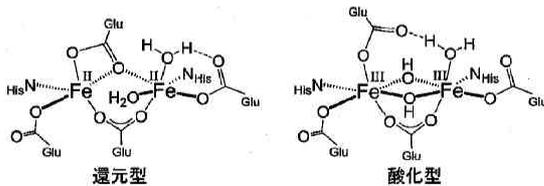


図4. メタン水酸化酵素の触媒活性点の構造

#### 4. 複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体の合成と反応特性に関する研究

##### 4.1 研究のコンセプト

前述したヘモシアニンの酸素付加体モデルである複核

銅(II)酸素錯体 **1** の大きな特徴として、O-O 結合の伸縮振動値が約 750 cm<sup>-1</sup> であり、これは通常 800 cm<sup>-1</sup> 以上に観測されるペルオキシドの振動値に較べて極めて低波数であることが挙げられる。このことはペルオキシドが  $\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$  の配位様式を採った場合、2つの金属中心から O<sub>2</sub><sup>2-</sup> の  $\sigma^*$  軌道への電子逆供与(図2右)の為に O-O 結合次数が低下しており、O-O の結合が切れる寸前の状態にあると解釈される。しかし、ペルオキシドの状態を保っているこの銅酸素錯体はフェノールなどのごく限られた基質以外には顕著な酸化活性を示さない<sup>9)</sup>。

そこで本研究では、複核金属- $\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2\text{-O}_2^{2-}$  錯体に対し、電子的な摂動を与えてペルオキシドの2電子還元を進行させることで、求電子的な反応性を示すことが期待される高原子価金属-オキソ種を発生させることを計画した。可能な方法としては、全く異なった配位子を用いることや、Tp<sup>R</sup> の置換基を調節すること等も考えられるが、筆者等は北島・諸岡の研究を更に展開し、最も直接的に摂動を与える方法として、支持配位子は Tp<sup>R</sup> に固定した上で異なった中心金属を導入することを検討した。金属を変えることによって、d 電子の数および d 軌道のエネルギーレベルは変化するが、同一配位子を用いることによって、基本的な電子及び幾何構造が保たれたまま、生成する酸素錯体に及ぼす金属の効果を直接的に観察することができるのではないかと期待した。そこで中心金属をニッケル及びコバルトへと展開した結果、複核金属中心上でペルオキシドが原子状酸素にまで活性化された複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体の合成に成功し、これが MMO の反応機構とも関連した重要な酸化活性種であることを明らかにするに至った<sup>8)</sup>。

##### 4.2 高酸化活性種の発生- Tp<sup>iPr2</sup> 錯体による研究

研究開始当初、前述の銅酸素錯体 **1** と同様、Tp<sup>iPr2</sup> を用いて複核ニッケル及びコバルト酸素錯体の合成を検討した。一般に酸素錯体の合成法としては低原子価状態にある金属錯体と酸素分子との反応が利用される。実際銅錯体 **1** の場合にも銅+1価錯体と酸素との反応で合成されていたが、複核銅+2価-架橋ジヒドロキソ錯体 [(Tp<sup>iPr2</sup>Cu<sup>II</sup>)<sub>2</sub>( $\mu\text{-OH}$ )<sub>2</sub>] (**2a**<sub>Cu</sub>) と過酸化水素との脱水縮合反応によっても合成可能であるため(図5)、ニッケル及

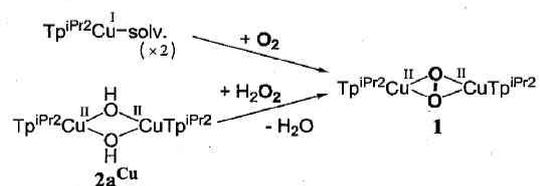


図5. 複核 Cu(II)-ペルオキシ錯体 **1** の合成法

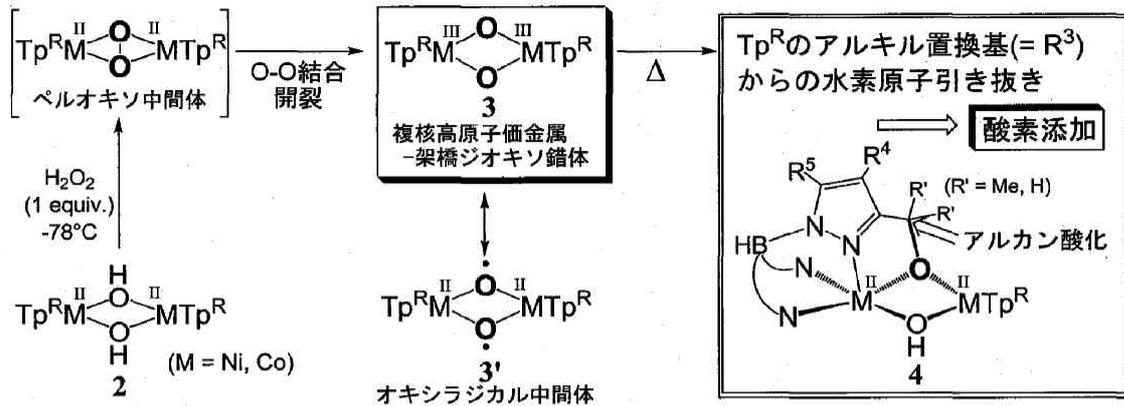


図6. 複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体3の生成とそのアルキル基への酸素添加活性

びコバルト錯体での研究に際しても、原料錯体の合成及び取り扱い容易である後者の脱水縮合法を適用した。複核金属+2価-架橋ジヒドロキソ錯体 $2a^M$  ( $M = Ni, Co$ )<sup>9)</sup>と1等量の $H_2O_2$ との反応では、極低温下 ( $Ni: -60^\circ C, Co: -50^\circ C$ ) においてのみ観測し得る熱的に極めて不安定な褐色の錯体種 $3a^M$ が生成し、しかもそれらの低温下 ( $-40^\circ C$ 以上)での自己分解反応の結果、金属イオンの近傍に位置する配位子のイソプロピル基のメチン部への酸素添加反応が進行 (錯体4が生成; 図6右端) することが判明した。このことは複核金属中心上でペルオキシ中間体のO-O結合の活性化を経てアルキル基への酸化活性を示す中間体が生成していることを示唆するものであるが、この時点では反応中間体の構造決定には至らなかった<sup>10)</sup>。

#### 4.3 酸化活性種の同定- $Tp^{Me_2X}$ 錯体による研究

以上のようにニッケル及びコバルト酸素錯体は極めて反応性に富むことが明らかとなったが、それ故に反応活性種の単離、同定や機構解明は極めて困難で、 $Tp^{Me_2}$ 錯体では反応中間体の単離・構造決定には至らなかった。これは生成した活性種の反応性の高さに加えて、その近傍に酸化を受け易い3級C-H結合 (イソプロピル基のメチン部)が存在するためであると考えられたことから、 $Tp^R$ 配位子のピラゾール環の3,5位の置換基を結合エネルギーが高い1級C-H結合のみから構成されるメチル基とすることで分子内酸素添加反応が抑制できるものと予想した。そこでピラゾール環の3,5位にメチル基置換基を導入した  $Tp^{Me_2X}$  配位子 (= ヒドロトリス(3,5-ジメチル-4-X-1-ピラゾリル)ボレート;  $R = Me, H, Br$ ) を用いてヒドロキソ錯体と1等量の $H_2O_2$ との反応について検討を行った。いずれの配位子を用いた場合にも、ヒドロキソ錯体 $2b-d^M$ は1等量の $H_2O_2$ と反応してそれぞれ $3a^M$ に類似したスペクトルを与える錯体 $3b-d^M$ が生成した。この

うち配位子の4位の置換基がメチル基のものについてニッケル、コバルトの両者につきそれぞれこの不安定種の単離及びX線結晶解析による分子構造の決定に成功し、これらが複核  $Ni(III)$  及び  $Co(III)$ -架橋ジオキソ錯体  $[(Tp^R M^{III})_2(\mu-O)_2]$ であることが確認された<sup>11)</sup>。これらオキソ錯体 $3b-d^M$ はヒドロキソ錯体 $2b-d^M$ と $H_2O_2$ 以外の酸化剤との反応では得られず、従って銅錯体1の場合と同様にヒドロキソ錯体2が $H_2O_2$ と脱水縮合することで $\mu-\eta^2:\eta^2$ -ペルオキシ中間体が生成し、そのO-O結合が開裂して複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体 $3^M$ を与えたものと推定される。

$Tp^R$ 錯体系において中心金属が銅である場合にはO-O結合開裂による複核銅+3価-架橋ジオキソ種の生成は見られない。ここで銅・ニッケル・コバルトのd軌道レベルを比較すると、 $Cu < Ni < Co$ の順である。従ってニッケル・コバルトと比べてd軌道レベルが低い銅錯体では $\sigma^*$ 軌道への逆供与が不十分であるため前述したようにO-O結合が保持された $\mu-\eta^2:\eta^2$ -ペルオキシ錯体1が生成するのに対し、d軌道レベルの高いニッケル・コバルト錯体の場合には $O_2^{2-}$ の $\sigma^*$ 軌道への電子供与によりO-O結合が開裂して複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体 $3^M$ が生成したと解釈することができる。なお銅錯体の場合でも、 $sp^3$ 混成の窒素原子の方が $sp^2$ 混成の窒素原子より電子供与性が大きいことを考慮すると、 $sp^2$ -配位窒素しか持たない $Tp^R$ 錯体1ではO-O結合を保持した $\mu-\eta^2:\eta^2$ -ペルオキシ錯体のみが生成するのに対し、 $sp^3$ -配位窒素を持つアミン系配位子を有する錯体ではO-O結合切断を経て複核銅(III)-架橋ジオキソ錯体が生成することも上記の解釈と一致する<sup>12)</sup>。また $Tp^R$ 錯体以外の系でも、同一配位子に支持された銅とニッケルとでO-O結合活性化能に差が見られる (銅では複核銅(II)- $\mu-\eta^2:\eta^2$ -ペルオキシ錯体、ニッケルでは複核ニッケル(III)-架橋ジオキソ錯体が選択的

に生成する)ことが報告されている<sup>13)</sup>.

単離が可能ほどには安定ではあったものの、 $\text{Tp}^{\text{M}2\text{x}}$ を配位子とするオキソ錯体  $3\text{b-d}^{\text{M}}$ の場合にも室温において自己分解が進行し、アルキル置換基に対する分子内酸化反応が進行することが明らかになった。そこでこのアルキル基酸化過程の速度論的検討を行ったところ、活性種の近傍に位置するC-H結合からの水素引き抜き反応が律速過程に含まれており、またニッケルの方が $10^3$ 程度コバルトよりも大きな速度定数を示す(=酸化活性が高い)ことが明らかになった<sup>8)</sup>.

また特記すべきはコバルト錯体  $3^{\text{Co}}$ がCo(III)種でありながら酸化活性を示す点である。通常コバルト+3価イオンは6配位の低スピン型反磁性種を形成しやすく、またその速度論的・熱力学的安定性の高さゆえ、酸化反応に対して顕著な反応性が観測された例はこれまでない。これに対し、本研究で得られたコバルト錯体  $3^{\text{Co}}$ はCo(III)種としては希な金属中心が5配位構造を持つ常磁性種であり、加えて $\text{Tp}^{\text{R}}$ 配位子が金属中心の低原子価状態を安定化する傾向が強いことから、金属+2価-オキシラジカル構造との間に平衡が存在し、このラジカル種による水素引き抜き活性が発現しているものと考えられる<sup>14)</sup>。またニッケル錯体の方がコバルト錯体よりも活性が高いことも同様にオキシラジカル構造の寄与を考慮することで説明できる。つまりd軌道レベル低いニッケルの方がコバルトよりも低原子価状態が安定でオキシラジカル種への平衡がより傾いており、アルキル基からの水素引き抜き活性が高いと考えられる。このオキシラジカル種を経るアルキル基酸化反応の推定機構を図7に示す。

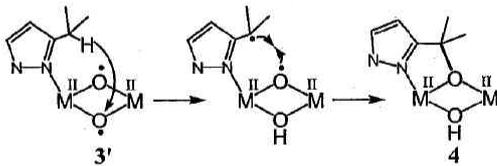


図7. アルキル基酸化の推定反応機構

筆者等の研究に相前後して、MMOにおける複核鉄中心(図8)<sup>15)</sup>や銅・ニッケル・コバルト・鉄などの複核

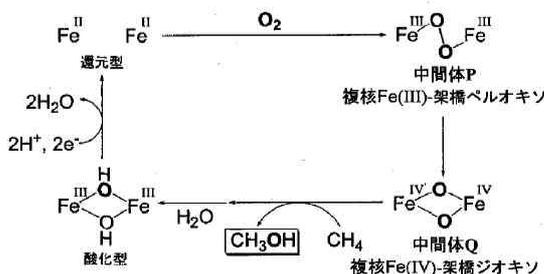


図8. MMOの推定反応機構

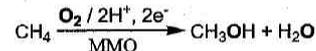
錯体<sup>12-14)</sup>で、O-O結合活性化を経て高原子価金属オキソ種が生成し、しかもこれらがアルキル基酸化の直接的な活性種であることが明らかにされた。これらの反応機構、特にアルカンへの酸素移行の過程に金属によるアルカンC-H結合活性化が含まれているのか否かといった点についてはまだ議論の余地があるものの、このような複核高原子価金属-架橋ジオキソ種を経る反応経路は、複核金属中心を持つ第一周期後遷移金属種による普遍的な酸素活性化様式であると推定される<sup>16)</sup>.

## 5. 単核金属中心を有する酸化活性種に関する研究

### 5.1 研究の背景

飽和炭化水素類の水酸化反応を触媒する酵素には、MMOのように2個の金属イオンが触媒活性点となっているものばかりではなく、1個の金属イオンだけが触媒活性点となっているものもある<sup>1,2)</sup>。例えば、神経伝達物質の代謝に関わる酵素の一種に、ドーパミンβ-水酸化酵素という単核銅サイトが触媒活性点となっているものがある(図9)。そこで本研究では複核金属上でのペルオキシド活性化に有効であったニッケル・コバルト錯体について、単核金属上でのペルオキシド活性化能についても検討した。

・メタン水酸化酵素 (MMO: 複核Fe)



・ドーパミンβ-水酸化酵素 (DBM: 単核Cu)

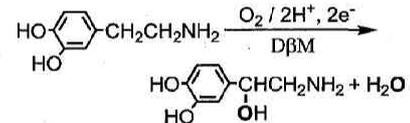


図9. 飽和炭化水素類の水酸化酵素の例

単核金属上でのペルオキシド活性化過程にはヒドロペルオキシ種(M-OOH)が中間体として存在するものと推定される。錯体化学的にM-OOH種を発生させる方法としては、(a) 金属ペルオキシ錯体(M-O<sub>2</sub><sup>2-</sup>)へのH<sup>+</sup>の付加、(b) 金属ヒドリド錯体(M-H)のM-H結合への酸素分子の挿入反応、(c) 金属ヒドロキシ錯体(M-OH)と1等量の過酸化水素との脱水縮合反応、といった方法が考えられる。ところが $\text{Tp}^{\text{R}}$ を配位子としたニッケルおよびコバルト錯体では単核金属-ペルオキシ錯体は得られておらず、また一般に極めて不安定な化学種であるヒドリド錯体も合成困難であった。さらにヒドロキシ錯体2と過酸化水素の反応では、反応させる過酸化水素を2等量以上(過剰量)にしても前章で述べた複核金属オキソ錯体3となってしまう、ヒドロペルオキシ錯体の生成を

確認できなかった。そこでヒドロペルオキシドの末端水素をアルキル基に置き換えたアルキルペルオキシド(OOR)が金属に配位したアルキルペルオキシ錯体(M-OOR)の合成を検討することとした。

## 5.2 アルキルペルオキシ錯体 5 の性質

Tp<sup>IP2</sup>を補助配位子とするヒドロキソ錯体 2a に量論量(2等量)のR'OOH (R' = *tert*-Bu, PhMe<sub>2</sub>C)を作用させることで、ニッケル・コバルトについては銅の場合と同様にそれぞれ対応する単核2価金属アルキルペルオキシ錯体[Tp<sup>IP2</sup>M<sup>II</sup>(OOR')] (5<sup>M</sup>)が生成した(図9)。ニッケル-*tert*-ブチルペルオキシ錯体 5<sup>Ni</sup>については単離及び分子構造決定に成功したが<sup>17)</sup>、コバルト錯体 5<sup>Co</sup>は低温下においてさえ配位子のアルキル置換基の酸素化を引き起こすほど熱的に極めて不安定であったので、ピラゾール環の3位の置換基をイソプロピル基よりも更に高い*tert*-ブチル基としたTp<sup>IBuIPr</sup>を補助配位子に用いることで安定性の向上を図った結果、5<sup>Co</sup>と分光学的特徴が一致したコバルト2価-クミルペルオキシ錯体 5<sup>Co</sup>の構造決定に成功した<sup>10)</sup>。なおCo(III)-OOR錯体については様々な配位子を用いた系で報告例があるものの、Co(II)-OOR錯体の存在が確認された例は本研究が世界で初めてである。

前述の複核高原子価金属-架橋ジオキシ錯体 3<sup>M</sup>と同様、単核金属+2価-アルキルペルオキシ錯体 5<sup>M</sup>では自発的熱分解に伴いTp<sup>IP2</sup>配位子中のイソプロピル置換基への酸素添加が進行することが明らかになった(図10)。

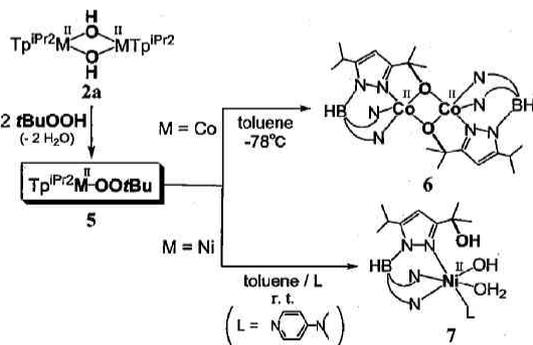


図10. アルキルペルオキシ錯体 5 の合成とその反応性

低温条件下(-78°C)にてヒドロキソ錯体 2a<sup>Co</sup>に2等量のR'OOHを作用させることにより発生させた5<sup>Co</sup>のペンタン溶液をそのまま-78°Cに放置しておいたところ、3a<sup>Co</sup>の自発的熱分解により得られた錯体 4とは異なって、複核錯体中で二ヶ所のアルキル基が酸素化された錯体 6が生成していることが判明した。これまでに数多く報告されているCo(III)-OORが熱的には安定であるのに対して<sup>18)</sup>、この配位子酸化反応は-78°Cにおいて進行しており、

Co(II)-OOR錯体の反応性の高さ(熱的不安定さ)を如実に表している。

一方ニッケルアルキルペルオキシ錯体 5<sup>Ni</sup>は、室温付近で溶液状態における半減期が約三時間とコバルト錯体に比べてかなり熱安定性が高いものの、やはりイソプロピル基への酸素添加を引き起こすことが判明した。配位子酸化生成物の捕捉を目的としてDMAP(4-*N,N*-ジメチルアミノピリジン)存在下で室温での分解反応を検討した結果、期待通り一つのイソプロピル基の三級炭素部位が水酸化された単核ヒドロキソ-アコ錯体 7の単離及びX線結晶解析により構造決定した<sup>17)</sup>。なおコバルト、ニッケルいずれの場合においてもアルキルペルオキシ錯体の熱分解過程での複核金属-オキシ錯体 3a<sup>M</sup>の生成は認められなかった。

ところで5<sup>Ni</sup>について外部基質に対する酸化活性についても検討を行った結果、トリフェニルホスフィン(酸化剤の求電子的反応性の有無を示す指標となる物質の一つ)に対しては室温にてほぼ定量的に酸素添加反応が進行してホスフィンオキシドを与えたものの、ホスフィンよりも酸化されにくいスルフィドやオレフィンに対しては全く酸素添加活性を示さなかったことより、ニッケルに結合したアルキルペルオキシドの求電子性は極めて低いと結論される。このことを考慮すると、5<sup>M</sup>の熱分解過程におけるアルキル基への酸素添加は、ラジカル的な反応中間体を経由する機構、即ち① O-O結合のラジカル的開裂(ホモリシス)によるM-O・と・OR'の発生 ② ・OR'によるメチン水素の引き抜き ③ 三級アルキルラジカルとM-O・とのカップリングによるC-O結合生成という過程を経ているものと推測される<sup>10)</sup>。

## 5.3 活性点の幾何構造と反応性の相関

アルキルペルオキシ錯体 5においてはコバルトの方がニッケル錯体よりも圧倒的に熱安定性が低く、速やかに金属近傍に位置するアルキル基への酸素添加を引き起こすことが判明したが、この結果は上述の複核高原子価金属-架橋ジオキシ錯体 3の熱安定性及びアルキル基酸化活性の序列とは逆転している点は興味深い(オキシ錯体: Co > Ni, アルキルペルオキシ錯体: Ni > Co)。これは2つの金属中心からの協同的な電子供与が為されるために速やかにO-O結合が開裂する複核錯体の場合とは異なり、単核金属-アルキルペルオキシ錯体の場合、O-O結合開裂が分解反応の律速段階であるためと解釈される。つまりd軌道レベルの高いコバルトの方がニッケルよりもパーオキサイドに対して電子供与し易く、その結果O-O結合開裂が促進されるものと考えられる。

一方複核高原子価金属-架橋ジオキソ錯体の安定性については、その共鳴構造体である+2 価金属オキシラジカル構造の寄与を考察することで合理的に説明できる。即ち、d 軌道エネルギーが高く高原子価状態を採りやすいコバルトが中心金属である場合、オキソ錯体  $3^{Co}$  では Co(III)-オキソ種の状態が安定化されるために Co(II)-オキシラジカル構造の寄与が小さく、ニッケル錯体  $3^{Ni}$  に比べてアルキル基酸化能が低下（熱安定性が向上）しているものと解釈される。つまり錯体の幾何構造と中心金属の酸化状態との相関により遷移金属-活性酸素種の反応性が支配されているものと考えられる<sup>19)</sup>。

## 6. 結言

アルカン水酸化酵素における反応中間体と関連の深い、複核高原子価金属-架橋ジオキソ種や単核金属-アルキルペルオキソ種の反応特性に関する知見を得た。これらによるアルキル基酸化では、金属イオンに配位したラジカル種が活性種となっていることが示唆された。これらのラジカル種は金属上に“束縛されて”いるために、いわゆるフリーラジカル種とは異なり、金属イオン(触媒活性点)の近傍に位置する基質に対してのみ酸化活性を示し、反応選択性が高められているものと推測される。

本研究の結果は、ニッケルやコバルトといった天然のアルカン水酸化酵素の触媒活性中心には全く存在しない金属であっても活性点の周辺環境さえ整備すれば酵素と同様な酸化活性が発現し得ることを示唆しており、触媒(人工酵素)の設計を行う上での一つのヒントとなる。また一連の研究を通じて、配位子上の置換基を適宜選択することによる反応中間体の安定化や、酸化剤と金属イオン及び錯体の幾何構造の組み合わせに応じた活性制御といった反応設計が可能であることを示すことが出来た。これらの知見は単一配位子系に基づいた系統的研究によって初めて得られるものであり、他に例を見ない<sup>19)</sup>。従ってこれらの研究は生体機能のモデル化にとどまらず、酸化反応全般に関する知見を与えるものとして大きな意義があるものと考えている。現在、本研究で得られた知見に基づく触媒(人工酵素)の設計・開発を推進している。

21世紀の化学のキーワードとして「グリーンケミストリー」、「省エネルギー」などが標榜されている中で、生体反応に関する分子化学的研究により得られた知見を巧みに触媒や反応プロセスの設計に活用していくことがこの先求められていくであろう<sup>20)</sup>。金属酵素の活性点構造に基づいた触媒の分子設計は今後益々盛んになるものと予想される。

## 謝辞

本研究は文部科学技術省および日本学術振興会からの援助の下で行われたものである。研究遂行に当たって有益な指導・助言を頂いた東京工業大学名誉教授諸岡良彦博士、東京工業大学教授稲田宗隆博士及び東京大学教授水野哲孝博士、さらに共同研究者である学生諸君の熱意と努力に謝意を表す。

## 参考文献

- (1) (a) S. J. Lippard, J. M. Berg (松本和子監訳), “生物無機化学”, 東京化学同人 (1997). (b) 増田秀樹, 福住俊一, “生物無機化学—金属元素と生命の関わり—”, 三共出版 (2005). (c) R. H. Holm, E. I. Solomon (eds.), “Bioinorganic Enzymology”, Chem. Rev., 96, 2237–3042 (1996).
- (2) R. H. Holm, E. I. Solomon (eds.), “Biomimetic Inorganic Chemistry”, Chem. Rev., 104, 347–1200 (2004).
- (3) (a) S. Trofimenko, “Scorpionates – The Coordination Chemistry of Polypyrazolylborate Ligands”, Imperial College Press, London (1999). (b) 稲田宗隆, 引地史郎, 諸岡良彦, 有機合成化学協会誌, 57, 619 (1999).
- (4) N. Kitajima, W. B. Tolman, Prog. Inorg. Chem., 43, 419 (1995).
- (5) N. Kitajima, Y. Moro-oka, Chem. Rev., 94, 737 (1994).
- (6) 諸岡良彦, 触媒, 41, 600 (2001).
- (7) M. Merckx, D. A. Kopp, M. H. Sazinsky, J. L. Blazyk, J. Müller, S. J. Lippard, Angew. Chem. Int. Ed., 40, 2782 (2001).
- (8) S. Hikichi, M. Yoshizawa, Y. Sasakura, H. Komatsuzaki, M. Akita, Y. Moro-oka, Chem. Eur. J., 7, 5011 (2001).
- (9) N. Kitajima, S. Hikichi, M. Tanaka, Y. Moro-oka, J. Am. Chem. Soc., 115, 5469 (1993).
- (10) S. Hikichi, H. Komatsuzaki, M. Akita, Y. Moro-oka, J. Am. Chem. Soc., 120, 4699 (1998).
- (11) S. Hikichi, M. Yoshizawa, Y. Sasakura, M. Akita, Y. Moro-oka, J. Am. Chem. Soc., 120, 10567 (1998).
- (12) L. Que, Jr., W. B. Tolman, Angew. Chem. Int. Ed., 41, 1114 (2002) and references cited therein.
- (13) S. Itoh, H. Bandoh, M. Nakagawa, S. Nagatomo, T. Kitagawa, K. D. Karlin, S. Fukuzumi, J. Am. Chem. Soc., 123, 11168 (2001).
- (14) S. Hikichi, M. Akita, Y. Moro-oka, Coord. Chem. Rev., 198, 61 (2000).
- (15) L. Shu, J. C. Nesheim, K. Kauffmann, E. Münck, J. D. Lipscomb, L. Que, Jr., Science, 275, 515 (1997).
- (16) B. Meunier, “Biomimetic Oxidations Catalyzed by Transition Metal Complexes”, Imperial College Press, London, 2000.
- (17) S. Hikichi, et al., 投稿準備中.
- (18) F. A. Chavez, P. K. Mascharak, Acc. Chem. Res., 33, 539 (2000).
- (19) M. Akita, S. Hikichi, Bull. Chem. Soc. Jpn., 75, 1657 (2002).
- (20) 引地 史郎, 触媒, 46, 262 (2004).