

令和元年6月24日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K13963

研究課題名(和文)新規単核銅オキシラジカル活性種の創成

研究課題名(英文)Development of Mononuclear Copper-oxygen Radical Species

研究代表者

伊東 忍 (Itoh, Shinobu)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：30184659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：単核銅(II)-オキシラジカル種は、銅含有金属酵素や各種銅錯体が触媒する酸化反応に含まれる重要な活性種である。しかし、その物性や反応性は全く分かっていない。本研究では、申請者らが独自に開発した高い置換基を有する多座配位子を用いて、各種銅錯体と過酸化剤との反応について詳細に検討を行い、反応活性種として単核銅(II)-オキシラジカル種が関与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

単核銅(II)-オキシラジカル種は、銅含有金属酵素や各種銅錯体が触媒する種々の酸化反応に含まれる重要な酸化活性種である。しかし、その詳細な構造や物性、および反応性に関する情報は全くなく、それらの解明は、生物無機化学や触媒化学の分野における重要な研究課題となっている。本研究で得られた成果は、このような銅-活性酸素錯体の反応性に関して重要な情報を提供するものであり、生体反応や各種酸化反応の機構解明につながるものとして学術的意義は大きい。また、新しい錯体触媒の開発に対しても有用な指針を提供するものであり、錯体化学や触媒化学の発展に大きく寄与するものである。

研究成果の概要(英文)：The mononuclear copper(II)-superoxide complex has been involved as a key reactive intermediate in a variety of oxidation reactions catalyzed by copper-containing metalloenzymes and several types of copper model complexes. However, little was known about the physicochemical properties and reactivity. In this study, the reactions of copper complexes supported by our functional ligands and peroxides have been investigated in detail to demonstrate possible contribution of such a mononuclear copper(II)-superoxide species in the oxidation reactions.

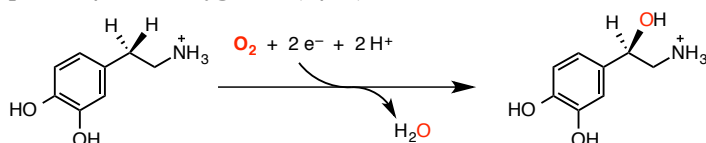
研究分野：錯体化学、生物無機化学、触媒化学

キーワード：単核銅錯体 活性酸素錯体 オキシラジカル錯体 酸化反応 金属酵素 錯体触媒 反応機構

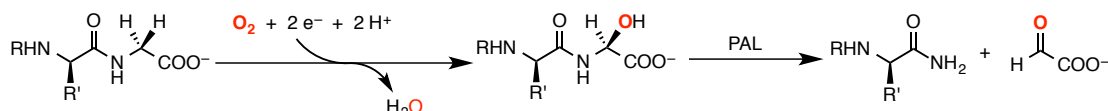
1. 研究開始当初の背景

単核銅(II)-オキシラジカル種 ( $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$ ) は、神経伝達物質の代謝に深く関わっている銅含有酸化酵素 Dopamine  $\beta$ -Monooxygenase ( $\text{D}\beta\text{M}$ )、ペプチドホルモンの代謝を司る Peptidylglycine  $\alpha$ -Hydroxylating Monooxygenase (PHM)、および安定な多糖類であるセルロースやキチンの酸化的分解を触媒する Polysaccharide Monooxygenase (PMO) などにおける酸化活性種であると考えられている。これらの酵素は、分子状酸素 ( $\text{O}_2$ ) を用いて、温和な条件下で各基質の脂肪族炭素の選択的な水酸化反応を司っている (Scheme 1) (E. I. Solomon, *et al. Chem. Rev.* **2014**, *114*, 3659)。しかし、 $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  を単離・同定した報告例はなく、唯一、ガス系の反応で、その存在が質量分析装置を用いて確認されているのみである (H. Schwarz, *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1973)。従って、 $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  の構造や分光学的・磁気的特性、および反応性に関する情報は全くない。

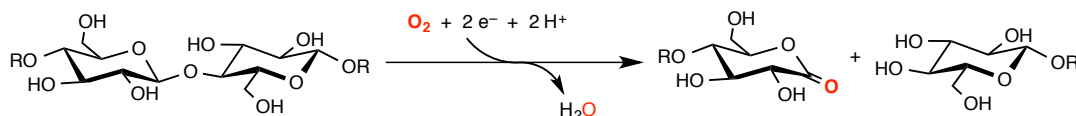
Dopamine  $\beta$ -Monooxygenase ( $\text{D}\beta\text{M}$ )



Peptidylglycine  $\alpha$ -Hydroxylating Monooxygenase (PHM)

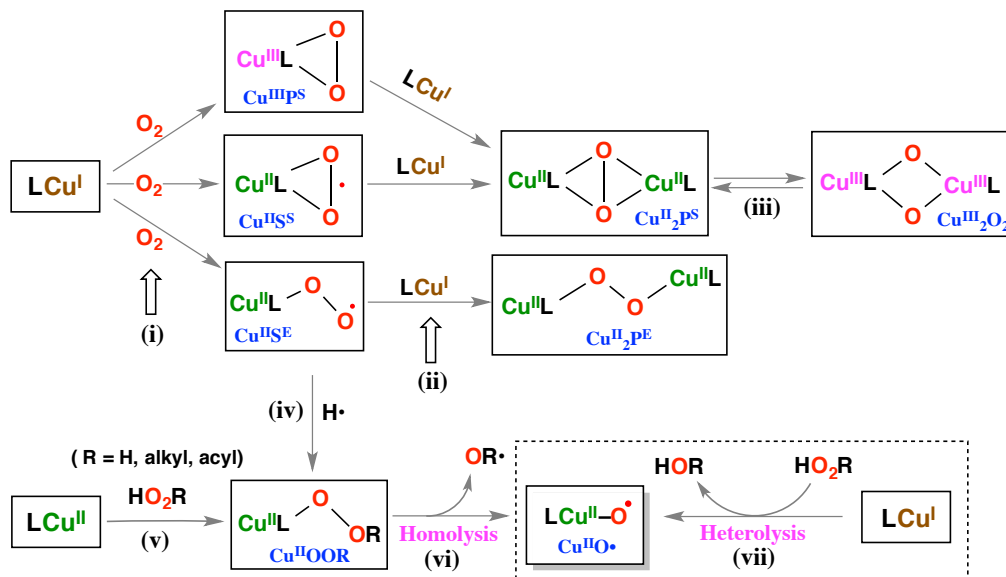


Polysaccharide Monooxygenase (PMO)



Scheme 1. 銅酸化酵素が触媒する反応

Scheme 2 には、溶液中における銅錯体と分子状酸素、あるいは過酸化物との可能な反応経路をまとめて示した。一般的に、銅(I)錯体と分子状酸素 ( $\text{O}_2$ ) との反応 (ルート(i)) では、まず始めに、単核の銅(II)-スーパーオキシ錯体 (side-on 型の  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{S}^{\text{S}}$  や end-on 型の  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{S}^{\text{E}}$ ) あるいは、銅(III)-ペルオキシ錯体 ( $\text{Cu}^{\text{III}}\text{P}^{\text{S}}$ , side-on 型) が生成する。これらの単核銅酸素錯体は、もう一分子の銅(I)錯体と反応して (ルート(ii))、ペルオキシ架橋の二核銅(II)錯体  $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{P}^{\text{S}}$  (side-on 型) や  $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{P}^{\text{E}}$  (end-on 型) を生じる。更に  $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{P}^{\text{S}}$  は、ペルオキシ架橋部位が各銅(II)イオンにより電子移動還元されて酸素-酸素結合が開裂し、ジオキシ架橋型の高原子価二核銅(III)錯体  $\text{Cu}^{\text{III}}_2\text{O}_2$  が生成する場合もある (ルート(iii))。一方、スーパーオキシ錯体が基質や溶媒から水素を引き抜けば単核銅(II)ヒドロペルオキシ種  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{OOH}$  が生成するが (ルート(iv))、同様の電子状態を持ったペルオキシ錯体  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{OOR}$  は、銅(II)錯体と  $\text{ROOH}$  (R は水素、アルキル基、アシル基) との反応によっても生成する (ルート(v))。さらにここから、酸素-酸素結合が均等開裂 (Homolysis) すれば、単核銅オキシラジカル種  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  が生成する (ルート(vi))。しかし、上述のように、単核銅(II)オキシラジカル種  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  の単離・同定に成功した例はまだない。(Copper-Oxygen Chemistry, K. D. Karlin and S. Itoh, Eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2011)。



Scheme 2. 銅-活性酸素錯体の生成経路

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者らが独自に開発した嵩高い置換基を有する多座配位子 **L1** および **L2** (Figure 1) を用いて銅錯体を調製し、主に過酸化物との反応について検討を行う。これにより生成する単核銅-活性酸素錯体の構造と反応性について詳細に検討を加え、単核銅(II)オキシラジカル種  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  の検知を試みる。さらに各種外部基質との反応についても速度論的に検討し、反応性の解明を試みる。

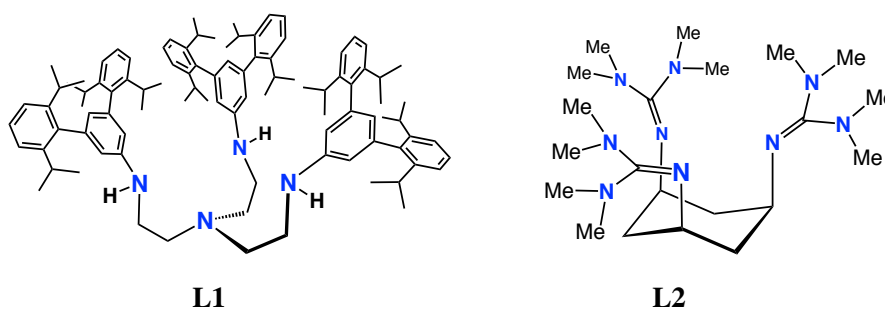


Figure 1. 配位子 **L1** および **L2** の構造

## 3. 研究の方法

以下の項目について検討を行った。

- ① 配位子と銅錯体の合成
- ② 銅錯体の構造と分光学的特性の評価
- ③ 銅(I)錯体と過酸化物の反応により生成する活性酸素錯体の同定と反応性の評価
- ④ 銅(II)錯体と過酸化物の反応により生成する活性酸素錯体の同定と反応性の評価

## 4. 研究成果

### 配位子および銅錯体の合成と構造および物理化学的特性

Figure 1 に示した配位子 **L1** および **L2** を合成し、対応する銅(I)および銅(II)錯体を調製した。Figure 2 には得られた  $\text{Cu}(\text{II})$  の塩化物および臭化物錯体の結晶構造を示す。**L1** 錯体は、5 配位の三方両錐構造を示し、**L2** 錯体は、4 配位の四面体構造を示した。一般に、銅(II)ハロゲン化物錯体はハロゲンイオンを架橋基とする二核構造を取りやすいが、いずれの場合も、銅中心回りは嵩高い置換基に覆われた構造となっており、そのような二核化が押さえられていることが分かった。また、各種分光学的データを解析し、それらの溶液中における構造や物理化学的特性に

についても検討した。

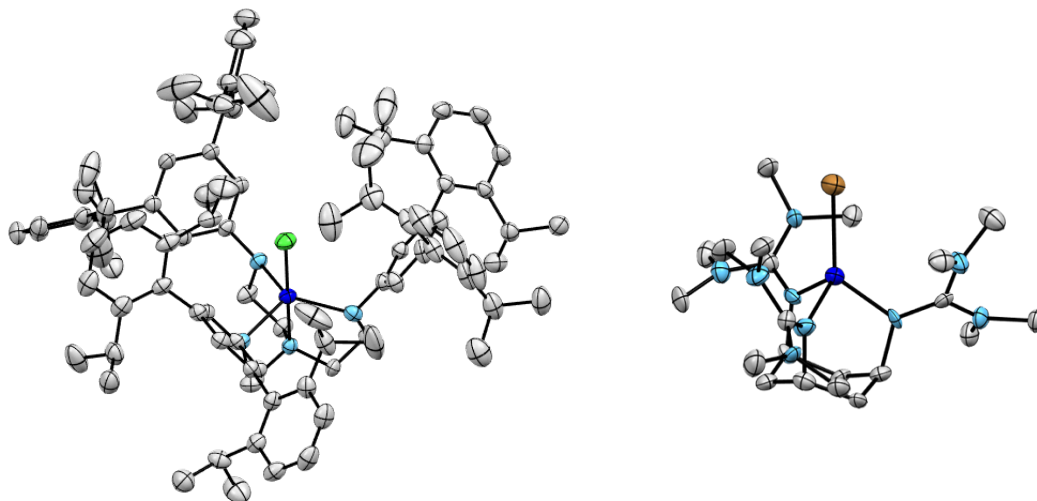
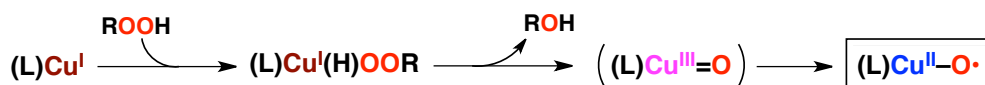


Figure 2. [CuL1(Cl)]<sup>+</sup>および[CuL2(Br)]<sup>+</sup>の結晶構造

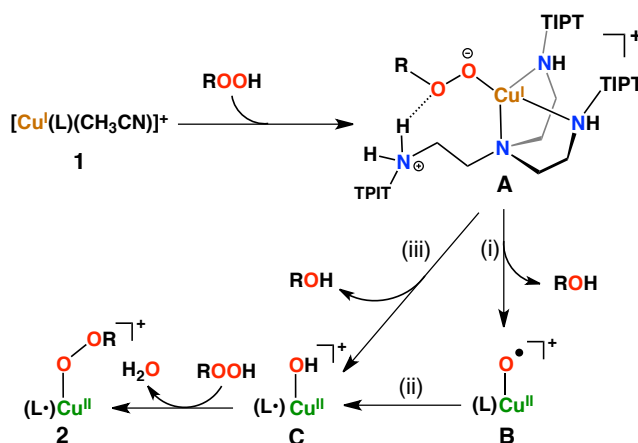
### 銅(I)錯体と過酸化物の反応により生成する活性酸素錯体の同定と反応性の評価

銅-活性酸素錯体の化学では、主に銅(I)錯体と分子状酸素 ( $O_2$ )、あるいは銅(II)錯体と過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) やアルキルヒドロペルオキシド ( $ROOH$ ) との反応が研究されてきた。本研究では、これまで殆ど検討されてこなかった銅(I)錯体の有機過酸化物 ( $H_2O_2$ 、 $ROOH$ 、 $RC(O)OOH$  など) との反応について検討した。この場合、過酸化物の酸素-酸素結合の不均等開裂 (heterolysis) が誘発され、Scheme 3 に示したように、単核銅(II)オキシラジカル種  $Cu^{II}O\cdot$  が生成することを期待した。



Scheme 3

以上の様な作業仮説に基づいて、銅(I)錯体と  $H_2O_2$ 、 $ROOH$ 、 $RC(O)OOH$  などとの反応について、低温紫外吸収スペクトル、低温共鳴ラマンスペクトル、低温エレクトロスプレー質量分析などを駆使して追跡し、生成する中間体のキャラクタリゼーションを行った。その結果、L1 の銅(II)錯体とアルキルヒドロペルオキシドとの反応で配位子が 1 電子酸化された銅(II)-アルキルペルオキシ錯体が得られた。このものの生成段階には、単核銅(II)オキシラジカル種  $Cu^{II}O\cdot$  が重要な活性中間体として含まれていると推察された (Scheme 4)。



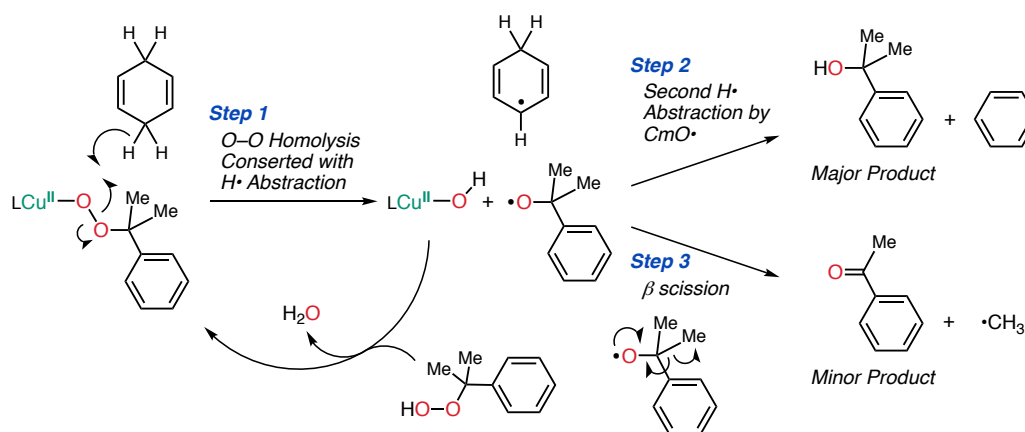
Scheme 4

更に L1 の銅(I)錯体と分子状酸素との反応についても検討し、単核の銅(II)-スーパーオキシ錯体や銅(III)-パーオキシ錯体の調製にも成功した。

### 銅(II)錯体と過酸化物の反応により生成する活性酸素錯体の同定と反応性の評価

次に、L2 配位子を用いて調製した銅(II)錯体と過酸化物との反応についても検討した。この場合には、比較的安定な単核銅(II)-アルキルペルオキシ錯体が得られた。このものも分解過程について検討を行ったが、目的とする単核銅(II)オキシラジカル種  $Cu^{II}O\cdot$  を直接観測することはでき

なかった。しかし、外部基質との反応について速度論的に検討したところ、O-O 結合の均等開裂を伴って、C-H 結合や O-H の酸化が進行することが判った。従って、この場合にも形式的に単核銅(II)オキシラジカル種  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{O}\cdot$  の関与が示唆された。



本研究で得られた成果は、このような銅-活性酸素錯体の反応性に関して重要な情報を提供するものであり、生体反応や各種酸化反応の機構解明につながるものである。また、新しい錯体触媒の開発に対しても有用な指針を提供するものであり、錯体化学や触媒化学の発展に大きく寄与するものである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 5 件)

Characterization and Reactivity of a Tetrahedral Copper(II) Alkylperoxido Complex Ikuma Shimizu, Yuma Morimoto, Gunasekaran Velmurugan, Tulika Gupta, Sayantan Paria, Takehiro Ohta, Hideki Sugimoto, Takashi Ogura, Peter Comba,\* and Shinobu Itoh\*  
*Chem. Eur. J.* in press (2019). <査読あり>

Structure and Reactivity of Copper Complexes Supported by a Bulky Tripodal  $\text{N}_4$  Ligand: Copper(I)/Dioxygen Reactivity and Formation of a Hydroperoxide Copper(II) Complex Sayantan Paria, Takehiro Ohta, Yuma Morimoto, Hideki Sugimoto, Takashi Ogura, and Shinobu Itoh\*  
*Z. Anorg. Allg. Chem. (ZAAC)*, **644**, 780-789 (2018). DOI: 10.1002/zaac.201800083. <査読あり>

Copper(I)-Dioxygen Reactivity in an Isolated Cavity of Nanoscale Molecular Architecture Sayantan Paria, Yuma Morimoto, Takehiro Ohta, Hideki Sugimoto, Nobutaka Fujieda, Takashi Ogura, and Shinobu Itoh\*  
*Eur. J. Inorg. Chem.* 1976-1983 (2018). DOI: 10.1002/ejic.201800029. <査読あり>

Geometric Effects on O-O Bond Scission of Copper(II)-alkylperoxide Complexes Tsukasa Abe, Yuma Morimoto, Kaoru Mieda, Hideki Sugimoto, Nobutaka Fujieda, Takashi Ogura, and Shinobu Itoh\*  
*J. Inorg. Biochem.* **177**, 375-383 (2017). DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2017.08.016. <査読あり>

Tetrahedral Copper(II) Complexes with a Labile Coordination Site Supported by a tris-Tetramethylguanidinato Ligand Ikuma Shimizu, Yuma Morimoto, Dieter Faltermeier, Marion Kerscher, Sayantan Paria, Tsukasa Abe, Hideki Sugimoto, Nobutaka Fujieda, Kaori Asano, Takeyuki Suzuki, Peter Comba,\* and Shinobu Itoh\*  
*Inorg. Chem.* **56**, 9634-9645 (2017). DOI: 10.1021/acs.inorgchem.7b01154. <査読あり>

〔学会発表〕 (計 6 件) 【代表的な招待講演】

Models for Active Oxygen Intermediates of Mononuclear Copper Monooxygenases Shinobu Itoh  
第 56 回日本生物物理学会年会 (Developments and Future of Picrobiology: Prof. Ogura Memorial)、岡山大学、平成 30(2018)年 9 月 16 日。

Versatile Reactivity of Mononuclear Copper(II)-Superoxide Complexes (Keunote Lecture)

Shinobu Itoh

CuBICS 2018 (Copper Bioinorganic Chemistry Symposium)

Pharo Palace, Marseille, France, May 22, 2018.

Oxygen Activation Mechanism by Copper Monooxygenases. From Modeling Studies to Enzymatic Reactions (特別講演)

伊東 忍

第 26 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(SRM2017)、東京理科大学、平成 29 (2017) 年 6 月 16 日

O<sub>2</sub>-activation and Aliphatic Hydroxylation by Copper Monooxygenase Models (**Keynote Lecture**)

Shinobu Itoh

5<sup>th</sup> Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry (SABIC2017)

The Stadel, Kolkata, India, January 7-11, 2017.

Mononuclear Copper Reaction Center for Oxygen Activation (Invited Talk)

Shinobu Itoh

42th International Conference on Coordination Chemistry (ICCC-42)

University of Brest, Brest, France, July 3-8, 2016.

Activation at A Mononuclear Copper Reaction Center

Shinobu Itoh

Telluride Workshop on Activation of Small Molecules, Telluride, Colorado, USA, June 21-25, 2016.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www-bfc.mls.eng.osaka-u.ac.jp/ItohLab/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：森本祐麻

ローマ字氏名：Yuma MORIMOTO

研究協力者氏名：杉本秀樹

ローマ字氏名：Hideki Sugimoto

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。