

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K05765

研究課題名(和文)ラジカル酵素の機能を模した人工反応場による不活性結合の変換

研究課題名(英文)Transformation of unreactive bonds on the artificial reaction sites modeling the function of radical enzymes

研究代表者

清野 秀岳 (Seino, Hidetake)

秋田大学・教育文化学部・准教授

研究者番号：50292751

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：不活性C-H結合変換の役割を担うラジカルSAM酵素は、活性ラジカル発生のために四鉄-四硫黄クラスター構造を利用している。同じ立方体形の幾何構造を持ち鉄と同族のルテニウムで構成された人工の硫黄クラスターを土台として、還元的結合切断によるラジカル発生や電子移動反応に利用できる反応場の開発を行った。四核ルテニウムクラスターと種々の支持配位子とを組み合わせることによって、一つまたは複数の小分子配位サイトを持つ誘導体を合成した。一部をイリジウムで置換したクラスターでは、ルテニウムが配位中心として機能しながら、電子移動型の還元反応において高い触媒活性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

四鉄-四硫黄クラスターは生体内における電子移動で重要な役割を果たしており、その中には化学的に不活性な物質を変換する触媒としての機能も含まれる。触媒活性に優れた貴金属元素によって鉄を置き換えることは、類似の反応に対する活性の向上だけでなく、生体内のような温和な条件で作用する省エネルギー型の反応を実現できることが期待される。本研究では、鉄クラスターがラジカル活性種発生の鍵となっていることに倣い、鉄と同族のルテニウムから構成された人工のアナログを合成して、電子移動反応における挙動や触媒機能を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Radical SAM enzymes, which play important roles in transformation of inactive C-H bonds, utilize a 4Fe-4S cluster center to generate the active radical agent. Artificial reaction sites based on the same cubic skeleton composed of ruthenium in place of iron have been developed in this project with the aim of use in generation of radical species via reductive bond cleavage and in electron transfer catalysis. By combination of a tetranuclear ruthenium cluster with various supporting ligands, a series of cubane-type cluster derivatives having one to four coordinatively active ruthenium sites have been synthesized. The isoelectronic cluster whose three metal sites are substituted by iridium atoms provided the rest ruthenium center for the binding site of small molecules and showed high catalytic activity in electron transfer reduction.

研究分野：生物無機化学

キーワード：触媒化学 生物無機化学 金属-硫黄クラスター ラジカル酵素 酸化還元酵素 クラスター拡張反応 不活性結合切断

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。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

活性化されていない炭化水素基を直接的に官能基化する手段として、ラジカル機構は高い有用性が期待される。有機ラジカルは1電子酸化または還元によってカルボカチオンまたはアニオンを与えるため、他の活性種に誘導することも可能である。強烈な反応条件や酸化力の強い開始剤を用いずに有機ラジカル中間体を発生させる方法として、金属錯体触媒を利用するものがあり、温和な温度・圧力の元で生じた有機ラジカルの付加・脱離・カップリングが実現されている。この分野では既に合成化学的に有用な反応が開発されており、 $sp^2$ 炭素あるいは隣接官能基やヘテロ原子により活性化された  $sp^3$ 炭素から有機ラジカルを生成させているが、不活性結合の直接変換には至っていない。

ところで、生化学反応において有機ラジカル中間体を經由するものが多く知られており、イオン機構では困難な反応に関与している。シトクロム P450 やメタンモノオキシゲナーゼは古くから研究されてきたラジカル酵素の代表例であり、 $O_2$  を利用した有機基質の酸化を触媒する。これらをモデルとした人工錯体の研究もよく行われていて、反応機構の解明や実用酸化触媒への応用が達成されている。一方、無酸素条件を好み S-アデノシルメチオニン (SAM) を補因子とする、ラジカル SAM 酵素の研究が近年飛躍的に進展している (①)。この酵素群には膨大な種類があり反応も多岐にわたるが、ラジカル発生サイトは共通しており、[4Fe-4S]クラスターが核になっている。このクラスターに配位した SAM に対してクラスターから1電子移動が起こると、C-S 結合が切断されて 5'-デオキシアデノシルラジカル (dAdo $\cdot$ ) が生成する。各酵素に特有な基質分子は dAdo $\cdot$ によって H 原子を引き抜かれてラジカルとなるため、dAdo $\cdot$ は生体内で汎用性の高い炭素ラジカル反応剤と言える。

不活性な C( $sp^3$ )-H 結合切断を素反応に含む人工の触媒系において、有機ラジカルを利用した選択的かつ効率的なものは少ない。チオールやアミンの酸化によって発生させた典型元素ラジカル反応剤を利用する方法が近年に開発されており、正に分極させた H 原子に対しては有効である (②)。一方で、炭素ラジカル中間種は、極性による活性化がない一般的なアルキル C-H 結合に対しても有効性が期待される。さらに、SAM 酵素のように還元的条件においてラジカル活性種を生成できれば、共存する官能基への許容範囲が拡張できると考えられる。

### 2. 研究の目的

活性な炭素ラジカルを介して不活性な C( $sp^3$ )-H 結合を切断する反応経路は、有機合成における新たな活性化手法として期待できる。ラジカル SAM 酵素においては、活性炭素ラジカルである dAdo $\cdot$ は、SAM が[4Fe-4S]クラスターと結合して還元されることにより生成する。Holm らはラジカル SAM 酵素の人工モデルとして、[Fe $_4$ S $_4$ (SR) $_4$ ] $^{3-}$ によって第三級スルホニウムから有機ラジカルが生成することを報告しているが、このクラスターは配位可能な鉄サイトを持っていない (③)。ラジカル前駆体が配位できるクラスターを利用すれば、電子移動の加速や基質分子との配向制御が期待できる。

本研究では、ラジカル SAM 酵素の[4Fe-4S]部位と構造的に関連のあるクラスター化合物や金属錯体を開発し、還元的な C-ヘテロ原子結合切断によるラジカル生成について研究する。SAM はラジカル前駆体部位 (スルホニウム) と金属配位部位 ( $\alpha$ -アミノ酸) とを併せ持ち、金属原子から離れたスルホニウム部位において C-S 結合の1つが選択的に切断される。このような構造のスルホニウムや様々な有機オニウム (ホスホニウム, アンモニウムなど) における、電子受容とそれに続く結合開裂を実験的に調べた。還元を担う金属錯体種については、多段階の酸化状態が可能な[4Fe-4S]に類似した硫黄クラスターが有効であると予想した。我々がこれまでに研究対象としてきた金属-硫黄クラスターを土台として、基質分子を可逆的に配位できるサイトを持ち、電子供与能が高いクラスター化合物を開発した。酵素反応の機構と選択性の解明のみならず、不活性結合を変換する実用的な合成触媒につなげることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 小分子配位サイトを有する[4Ru-4S]クラスターの開発

ラジカル SAM 酵素の電子移動中心は、立方体形の[4Fe-4S]クラスターである。これに類する人工のモデル化合物として、金属が同族で幾何構造が同じキューバン型の[4Ru-4S]クラスターの利用を検討した。すべてのルテニウムサイトが  $\pi$ -アレーン配位子でキャップされたクラスター [(CymRu) $_4$ ( $\mu_3$ -S) $_4$ ] (Cym =  $\eta^6$ -*p*-PrC $_6$ H $_4$ Me) は、簡便に合成できることから本研究の前駆体として採用した (④)。炭素ラジカル源となる有機分子の配位サイトは、Cym 配位子の一部を解離させて形成する。キューバン型骨格を保持したままこれを行うため、条件が温和な反応経路を開発し、有効な支持配位子を探索した。誘導された[4Ru-4S]クラスターの配位幾何構造は単結晶 X線構造解析や NMR 分光法により決定し、酸化還元や配位子置換に対する反応性を検討した。

#### (2) 小分子配位サイトを有する[1Ru-3Ir-4S]クラスターの開発

ラジカル SAM 酵素中の[4Fe-4S]クラスターでは、1つの鉄サイトのみが SAM の配位に使われる。先の[4Ru-4S]クラスターと等電子的な[(CymRu)(Cp\*Ir) $_3$ ( $\mu_3$ -S) $_4$ ] (Cp\* =  $\eta^5$ -C $_5$ Me $_5$ ) では、Cp\*配位子でキャップされているイリジウムサイトは置換不活性であり、単一のルテニウムサイトのみが基質分子と結合するモデル化合物になりうる (⑤)。ルテニウムサイトが開放されたクラスターについて、酸化状態変化における挙動や、小分子の還元における触媒活性を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 無電荷ドナー配位子のみで保持された[4Ru-4S]クラスターの合成と性質

Ru(II)<sub>4</sub>の酸化状態を持つ前駆体クラスター[(CymRu)<sub>4</sub>(μ<sub>3</sub>-S)<sub>4</sub>] (**1**)のCym配位子は、加熱や光照射の条件においても置換活性が見られなかったため、高酸化状態に誘導して配位結合を弱めた。2当量の[Cp<sub>2</sub>Fe][PF<sub>6</sub>]と処理することによって得られた2電子酸化体[(CymRu)<sub>4</sub>(μ<sub>3</sub>-S)<sub>4</sub>][PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub> (**1**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>)の結晶構造では、2つのRu(III)サイト間に結合的相互作用が存在し、他の2つのRu(II)サイトと区別される。Cym配位子の中心とルテニウムとの距離は、Ru(III)サイトの方がRu(II)サイトより約0.06 Å伸張していた。**1**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>はジクロロメタン溶液中では安定だが、室温のアセトニトリル溶液中では徐々にCymを遊離しながら不溶性の固体に変化した。

溶媒可溶で構造決定可能なクラスターを得るために、アセトニトリル中で支持配位子の添加を検討したところ、第三級ホスフィンが有効であることが判明した(図1)。単座のPPh<sub>3</sub>との反応ではすべてのCymが置換されて、5分子のPPh<sub>3</sub>が配位したクラスター**2**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>が得られた。各ルテニウムサイトにはさらにアセトニトリルが1分子ずつ配位しているが、ジクロロメタン溶液中では分解することから、解離平衡があると考えられる。二座のPh<sub>2</sub>PCH<sub>2</sub>PPh<sub>2</sub> (dppm)との反応では、主生成物は4分子のdppmが配位したC<sub>s</sub>対称の**3**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>であり、副生成物としてCymが1つ残り架橋dppm 3分子が結合した擬C<sub>3v</sub>対称の**4**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>も得られた。両者においては、3つのルテニウムサイトが3つのdppmによって架橋されている。**3**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>では残りのルテニウムサイトはdppmとキレート環を形成し、さらにアセトニトリルが配位しているが、このアセトニトリルは置換不活性であった。P-N二座配位子Ph<sub>2</sub>P-2-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Nとの反応においては、選択的に3つのCymが置換され、二座配位子が2つずつ架橋配位とキレート配位した**5**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>が生成した。アセトニトリルは配位しておらず、基質分子と結合することは難しいと考えられる。以上の新規クラスターではいずれもキュバン型骨格が保持されており、Ru(II)<sub>2</sub>Ru(III)<sub>2</sub>の酸化状態における高い安定性が示唆された。

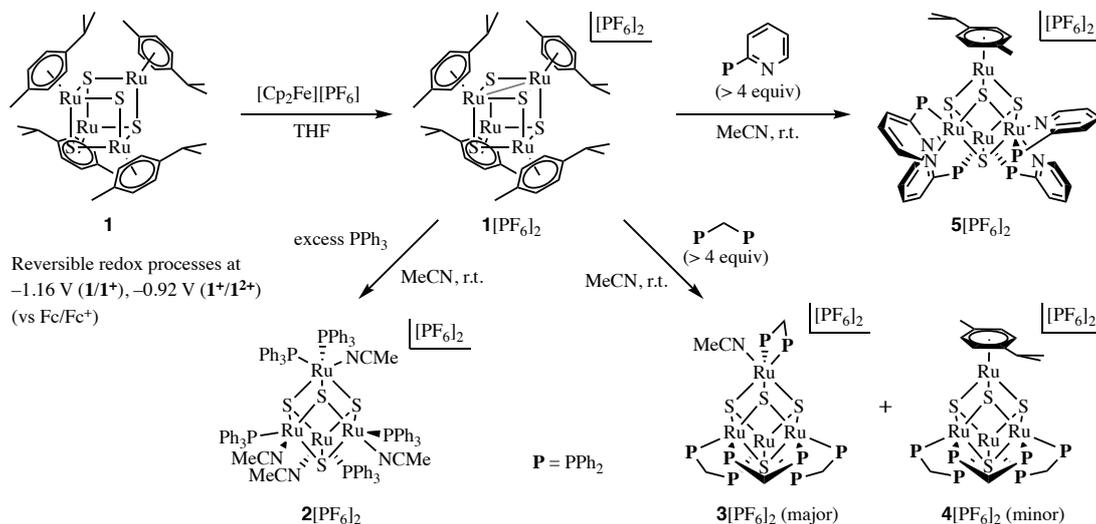


図1 Pドナーで保持されたキュバン型[4Ru-4S]クラスター

配位アセトニトリルが解離しやすい**2**[PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>について基質分子の配位を検討したが、同定可能なものを得ることはできなかった。また、酸化数変化に対するクラスター骨格の安定性を調べるため、一連のホスフィン配位クラスターの化学還元を試みたが、常磁性化合物を含んだ混合物となり構造決定はできなかった。支持配位子によって占有されるルテニウムサイトの数を減らすため、高高い有機リンまたは硫黄配位子との反応も行ったが、クラスターの捕捉はできなかった。

##### (2) 支持配位子としてハロゲンを含む[4Ru-4S]クラスターの合成と性質

クラスター**1**は単体ヨウ素でも酸化され、[(CymRu)<sub>4</sub>(μ<sub>3</sub>-S)<sub>4</sub>][I]<sub>2</sub> (**1**[I]<sub>2</sub>)となることを分光学的に確認した。**1**[I]<sub>2</sub>は溶液状態では不安定で、溶媒によらず室温で徐々にCym配位子が解離して不溶性固体となった。**1**[I]<sub>2</sub>を過剰量のリンまたは窒素ドナー二座配位子L<sub>2</sub>と反応させると、良好な収率で[(CymRu)<sub>2</sub>{Ru(L<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(μ<sub>3</sub>-S)<sub>4</sub>(μ<sub>2</sub>-I)}][I] (**6**[I]<sub>2</sub>)に変換された(図2)。2つのルテニウムサイトにおいてCym配位子が置換されており、それぞれがL<sub>2</sub>のキレート配位を受け、さらにヨージド配位子で互いに架橋されている。これらのルテニウム中心は、結晶構造において互いの金属間結合がみとめられることから、Ru(III)と同定される。架橋ヨージドを除去すれば、隣接した二核配位サイトを生成しうる構造である。L<sub>2</sub>がdppmまたは2,2'-ビピリジルの場合は、この他に副生物が得られ、Cymがすべて置換された[(Ru(L<sub>2</sub>)<sub>4</sub>(μ<sub>3</sub>-S)<sub>4</sub>(μ<sub>2</sub>-I)<sub>2</sub>][I]<sub>2</sub> (**7**[I]<sub>2</sub>)であることを確認した。**7**[I]<sub>2</sub>はすべてのルテニウムが+3の酸化数であり、生成過程で二電子酸化を受けている。このときの酸化剤は明らかになっていないが、配位環境次第でRu(II)<sub>2</sub>Ru(III)<sub>2</sub>コアの還元能が高まることを示唆している。また、**7**[I]<sub>2</sub>は2つの架橋ヨージド配位子を有しており、潜在的

な隣接二核サイトを2つ持つ。dppm 誘導体について対アニオンが異なる  $3[\text{PF}_6]_2$  と比較すると、反応経路と最終的な分子構造はアニオンによっても制御されることが示されている。

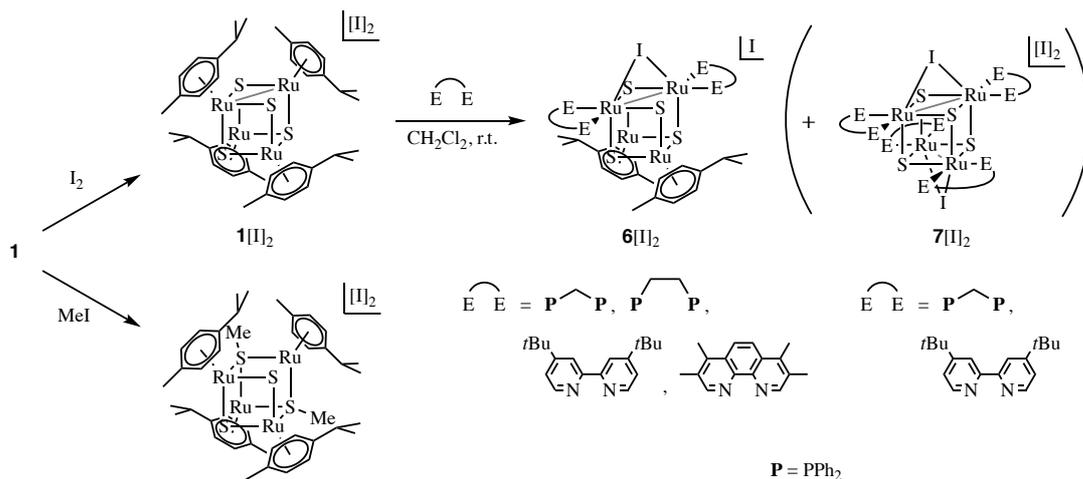


図2 キレート配位子と架橋ヨージド配位子で保持されたキュバン型[4Ru-4S]クラスター

[4Ru-4S]クラスターを機能化する手段として、**1**と求電子試薬との反応も検討した。ヨウ化メチルを1当量加えると硫黄原子上にメチル化が起こり、主生成物のモノメチル体と副生成物のジメチル体が生成した。ジメチル体 $[(\text{CymRu})_4(\mu_3\text{-S})_2(\mu_3\text{-SMe})_2][\text{I}]_2$  (**8[I]2**)はヨウ化メチル2当量との反応で選択的に得られ、キュバン型骨格を保持していた。**1[I]2**と同じジカチオンであるが、**8[I]2**のルテニウムはすべて+2の酸化状態で、Cym配位子は置換不活性であった。

### (3) 小分子配位サイトを有する[1Ru-3Ir-4S]クラスターの合成と性質

$[(\text{CymRu})(\text{Cp}^*\text{Ir})_3(\mu_3\text{-S})_4]$  (**2**)を二電子酸化するとCym配位子が置換活性になることが、先行研究において明らかになっている(5)。**2**を単体ヨウ素で酸化して $[(\text{CymRu})(\text{Cp}^*\text{Ir})_3(\mu_3\text{-S})_4][\text{I}]_2$  (**2[I]2**)に変換した後、ジクロロメタン溶液にするとCymが解離してルテニウム上に空サイトができる。最終的には、このサイトに結合したヨージド配位子が2つのキュバン型骨格を架橋した二量体 $[(\text{Cp}^*\text{Ir})_3(\mu_3\text{-S})_4\text{Ru}]_2(\mu\text{-I})_3\text{I}$  (**9[I]**)へと変換された(図3)。それぞれのキュバン型コアの形式酸化数はRu(III)Ir(IV)Ir(III)<sub>2</sub>で、コア間に結合的相互作用は存在しない。**9[I]**をコバルトセンで還元すると、キュバン型骨格あたり1電子の還元を受け、ヨージド配位子はすべて脱離し、2つのキュバン型骨格が融合した $[(\text{Cp}^*\text{Ir})_6\text{Ru}_2(\mu_3\text{-S})_8][\text{I}]_2$  (**10[I]2**)が生成した。このことは、Cp\*配位子程度の立体効果では、キュバン型クラスター間の結合的相互作用を妨げることができないことを示している。なお、四核クラスターが二量化して八核クラスターが形成される過程は、窒素固定酵素中にある多核クラスターの生合成経路として提案されている(6)。

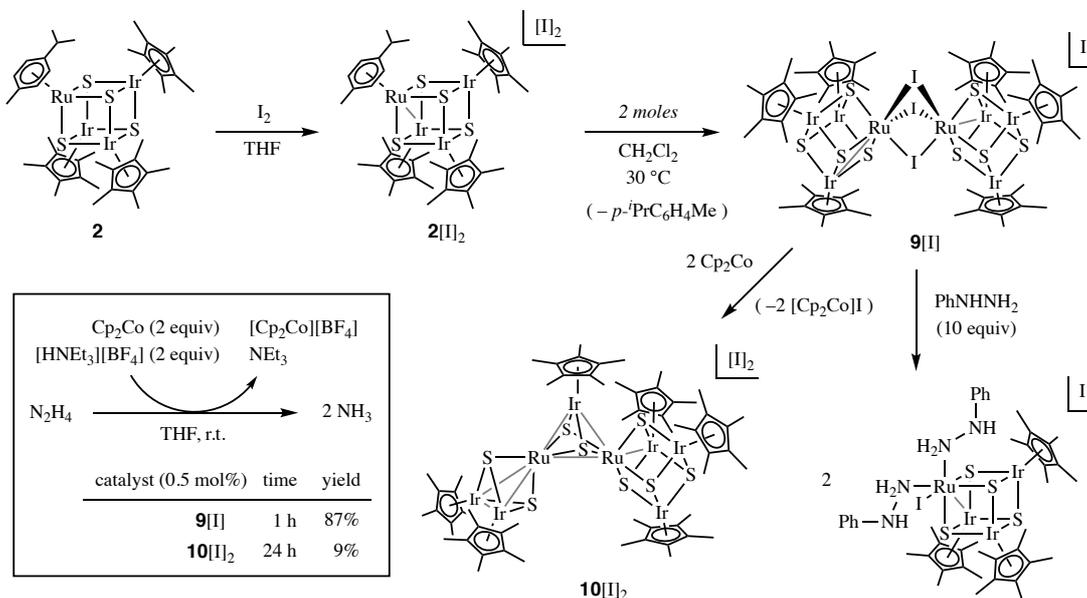


図3 キュバン型[1Ru-3Ir-4S]クラスターの構造変換と触媒活性

キューバン型クラスター二量体 **9**[I]は、ヒドラジンの還元において触媒活性を示した。添加物を加えない反応系では、ヒドラジンが室温で不均化し、アンモニアと窒素ガスに変換された。還元剤のコバルトセンをプロトン源とともに加えると、反応は極めて早く進行し、良好な収率でアンモニアが生成した。還元剤不在下で有機ヒドラジンと反応させると、ルテニウム上に有機ヒドラジンが配位したキューバン単量体が生成することから、触媒反応は単独のキューバンユニットで進行していると推定された。一方、**10**[I]<sub>2</sub>は触媒活性を示さなかったが、これは有効な配位サイトを持たないためと考えられる。還元触媒としての[1Ru-3Ir-4S]クラスターは、SAM 類縁基質のスルホニウムに適用できる可能性があり、今後検討する余地がある。

<引用文献>

- ① J. L. Vey, C. L. Drennan, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 2487–2506; J. B. Broderick, B. R. Duffus, K. S. Duschene, E. M. Shepard, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4229–4317.
- ② D. W. C. MacMillan et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 626–629; *Science* **2015**, *349*, 1532–1536.
- ③ C. J. A. Daley, R. H. Holm, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 2785–2793.
- ④ H. Seino, Y. Mizobe, M. Hidai, *New J. Chem.* **2000**, *24*, 907–911.
- ⑤ H. Mori, H. Seino, Y. Mizobe, M. Hidai, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5431–5434.
- ⑥ M.W. Ribbe, Y. Hu, K.O. Hodgson, B. Hedman *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4063–4080.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hidetake Seino, Keiichi Hirata, Yusuke Arai, Risa Jojo, Masaaki Okazaki	4. 巻 2020
2. 論文標題 An Iodido-Bridged Dimer of Cubane-Type RuIr <sub>3</sub> S <sub>4</sub> Cluster: Structural Rearrangement to New Octanuclear Core and Catalytic Reduction of Hydrazine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1483-1489
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ejic.201901146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 H. Seino, N. Shindo, S. Kanai, M. Okazaki
2. 発表標題 Differentiation of the ruthenium sites in cubane-type Ru <sub>4</sub> S <sub>4</sub> clusters
3. 学会等名 43rd International Conference on Coordination Chemistry, Sendai, Japan (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清野 秀岳, 進藤 尚人, 岡崎 雅明
2. 発表標題 サイトが区別された四核ルテニウムキュバン型スルフィドクラスターの合成
3. 学会等名 第64回有機金属化学討論会 (東北大学)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	岡崎 雅明  (Okazaki Masaaki)  (20292203)	弘前大学・理工学研究科・教授    (11101)	

