

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 1日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009年度～2011年度

課題番号：21350037

研究課題名（和文）分子生命化学を指向した水中で機能する金属錯体の合成

研究課題名（英文）Synthesis of Metal Complexes that can function in an Aqueous Solution Aiming at Application to Chemical Biology

研究代表者

小寺 政人 (KODERA MASAHIRO)

同志社大学・理工学部・教授

研究者番号：00183806

研究成果の概要（和文）：分子生命化学に関連する機能を再現するバイオインスパイアード錯体の開発を目的として、金属錯体の構造を溶液中で特異的に安定化する配位子を新たに開発してその金属錯体を合成した。これらの錯体を用いて、(1) メタンモノオキシゲナーゼ(sMMO)の中間体 P から活性種 Q への変換(P⇌Q 変換)を再現する機能モデルの構築、(2) 酸素活性化に関与する二核鉄酵素に共通する carboxylate-rich coordination environment の機能解明と高速高効率エポキシ化反応、(3) 光合成の酸素発生中心(OEC)モデルとしてルテニウム錯体が触媒する水の酸化による酸素発生反応の効率向上などに成功した。これら全ての系において溶液中での金属錯体の構造の安定化が金属錯体の機能向上や新たな機能発現を引き起こした。これらの結果から、分子生命化学に応用可能なバイオインスパイアード錯体を開発するためには、機能発現に適した構造を溶液中で安定化する事が重要であるといえる。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of developing bio-inspired metal complexes applicable to chemical biology, we synthesized metal complexes with newly designed various ligands that specifically stabilize the structures of the metal complexes in solution. With the metal complexes, we successfully attained following biologically relevant functions, (1) mimicking P-to-Q conversion in the O₂-activation of soluble methane monooxygenase (sMMO), (2) roles of the carboxylate-rich coordination environment in O₂-activating diiron enzymes, and (3) enhancement of catalytic activity of ruthenium complexes for O₂-evolution by water oxidation as a model of oxygen evolution complex (OEC). In these systems, we found that stabilization of the optimal structures for the functions in solution leads to enhancement of the functionality, essential for developing effective bio-inspired metal complexes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2010年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2011年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	13,200,000	3,960,000	17,160,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・無機化学

キーワード：分子生命化学、バイオインスパイアード錯体、メタンモノオキシゲナーゼ、酸素活性化、P⇌Q 変換、carboxylate-rich coordination environment、水の酸化による酸素発生

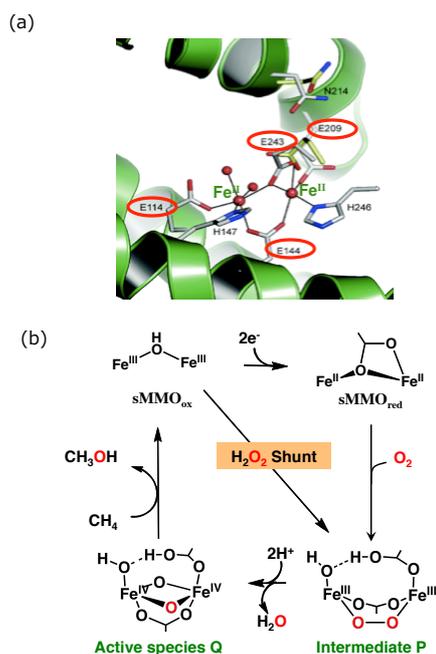
本研究では、次の3点を目的として研究を行った。

(1) 溶液中で安定な二核鉄錯体を用いた酸素活性化機構の解明

(2) 酸素活性化に關与する二核鉄酵素における carboxylate-rich coordination environment の機能解明のための二核鉄錯体の開発

(3) 水中で機能する金属錯体の開発
 ここには(1)の研究成果について詳細に記述する。

1. 研究開始当初の背景



Scheme.1 MMOHox active site showing the diiron center (a) and MMOH catalytic cycle (b) [1][2].

メタンモノオキシゲナーゼ(sMMO)は、メタン資化細菌に含まれ、メタンのメタノールへの酸化を触媒する一原子酸素添加酵素であり、酸化能力が高い為に注目されてきた。sMMO は活性中心に二核鉄をもち、この二核鉄が酸素分子を活性化してメタンを酸化している。この酸素活性化は、二核鉄(II)とO₂の反応によるパーオキシ中間体Pの生成とそのO-O結合の切断による活性種Qの生成を経て進行し、活性種Qはオキシ架橋二核鉄(IV)錯体であると推定されている。ここでsMMOの二核鉄の構造と酸素活性化機構をScheme 1に示す。そこで、sMMOの高い反応性を再現するバイオインスパイアード金属錯体を開発するためには、(1) PやQなどの活性種の構造を明らかにすること、(2) 反応機構を解明することの2点が重要である、しかし、PからQへの変換機構

やQの構造は未だ解明されていない。活性種QについてはUV-vis スペクトル、メスバウアースペクトル、EXAFSなどが報告されている。UV-vis およびメスバウアーのデータをTable 1に示す。

Table 1 Spectroscopic Parameters of Q

	optical		Mössbauer	
	$\lambda_{max}(nm)$	$\epsilon (M^{-1} cm^{-1})$	$\delta (mm s^{-1})$	$\Delta E_Q (mm s^{-1})$
MMOH Q (Me)	420	8415	0.21:0.14	0.68:0.55
MMOH Q (M)	330: 430	7500: 7500	0.17	0.53

メスバウアーデータから、Qはhigh spin $S = 2$ の鉄(IV)状態であることが明らかになっている。またEXAFS測定からは、ジ- μ -オキシ二核鉄(IV)構造をとることが推定されている。しかし、反応性などの観点から、ジ- μ -オキシ二核鉄(IV)の構造以外にも様々な構造が提案されている(Chart 1)。

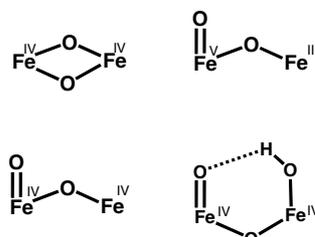


Chart 1 Possible structures for the $\{Fe_2O_2\}^{4+}$ of Q

酵素を用いた研究は、酵素そのものの単離に時間がかかる点、酵素が活性を示す条件が限られている点、不安定な中間体の分光学的測定を行うために低温で測定する必要があるが酵素は水中でのみ機能するために0°Cまでしか温度を下げられない点など克服すべき困難な課題がある。従って酵素そのものを用いて活性種の構造や反応機構を解明することは困難である。これまでに酵素と同様の高効率・高選択的な反応を触媒する生体類似のバイオインスパイアード金属錯体の開発を目指して様々な研究が行われてきた。即ち、これらの問題点を解決するために酵素の構造と機能を再現する様々なモデル化合物の開発が行われてきた。中でもsMMOの活性種Qは、その反応性の高さなどから生物無機化学の重要な研究対象として関心が持たれ、これまでにモデル化合物としてオキシ架橋二核鉄(IV)錯体の合成が試みられてきた。しかし、特殊なポリアミド配位子であるTAML配位子を除けば、オキシ架橋二核鉄(IV)錯体は不安定であり、その合成は困難であった。従ってオキシ架橋二核鉄(IV)錯体は、これまでに2例報告さ

れているだけである。Collins らにより報告された TAML 配位子を用いたオキソ架橋二核鉄(IV)錯体 (Chart. 2a) は、結晶構造が決定されている唯一の例である。しかしながら、テトラアミドである TAML 配位子(3,3,6,6,9,9-hexamethyl-3,4,8,9-tetrahydro-1H-1,4,8,11-benzotetraazacyclotridecine-2,5,7,10(6H,11H)-tetraone)は電子供与性が高いために、そのオキソ架橋二核鉄(IV)錯体の酸化活性は低い。従って、TAML 配位子のオキソ架橋二核鉄(IV)錯体は、優れた基質酸化触媒とはいえない。また、このオキソ架橋二核鉄(IV)錯体は鉄にオキソが1つしか配位しておらず、Q の構造とは異なっている。もう1つの例は、tpa の4つのピリジル基に2つのメチル基と1つのメトキシ基を導入した配位子である tris(3,5-dimethyl-4-methoxy-2-pyridylmethyl)amine (3,5-Me₂-4-MeO-tpa)を用いたオキソ架橋二核鉄(IV)錯体であり、Que らが報告している(Chart 2b, c)。

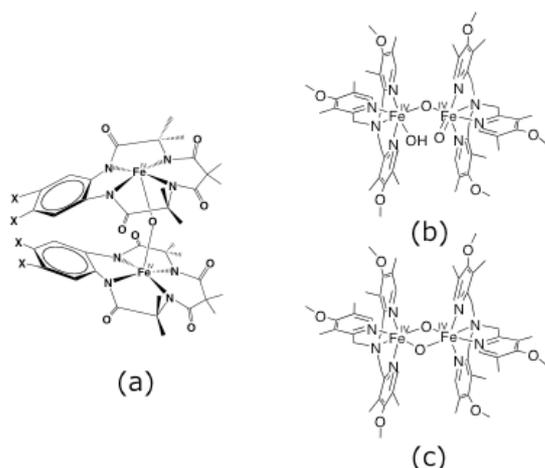


Chart 2 (a) Structure of $[\text{Fe}^{\text{IV}}_2(\mu\text{-O})(\text{TAML})_2]^{2-}$
 (b) $[\text{Fe}^{\text{IV}}_2(\mu\text{-O})(\text{O})(\text{OH})(3,5\text{-methyl-4-methoxytpa})_2]^{3+}$
 (c) $[\text{Fe}^{\text{IV}}_2(\mu\text{-O})_2(3,5\text{-methyl-4-methoxytpa})_2]^{3+}$.

この 3,5-Me₂-4-MeO-tpa の二核鉄錯体は (1) ある程度の酸化触媒能力を有しており、また (2) 2つの鉄(IV)を2つのオキソが架橋した Chart 2(b)の構造および2つの鉄(IV)に2つのオキソと1つのヒドロキソが配位した Chart 2(b)の構造が報告されており、推定されている Q の構造を再現する優れたモデル化合物であるといえる。しかし Collins の錯体および Que の錯体のいずれにおいても鉄(IV)は low spin $S = 1$ 状態であり、活性種 Q の鉄(IV)が high spin $S = 2$ 状態であることは異なっている。また、これらの錯体は、いずれも単核化配位子を

用いている為に溶液中では、二核構造は不安定であり、単核と二核の平衡状態で存在している可能性が高い。そこで、溶液中で二核構造を安定化する配位子が必要になる。

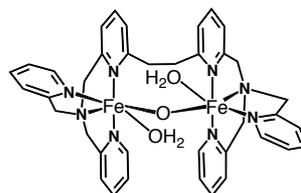
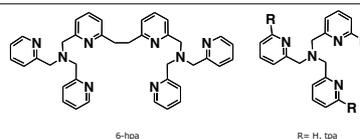


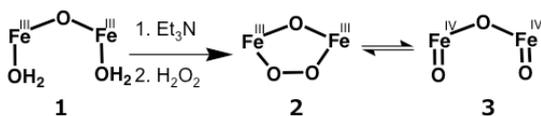
Chart 3 Structure of $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\text{OH})_2(6\text{-hpa})](\text{ClO}_4)_2$

我々は、2つの tpa 配位子を-CH₂CH₂-でつないだ bis-tpa 型二核化配位子 1,2-bis[2-{bis(2-pyridylmethyl)aminomethyl}-6-pyridyl]ethane (6-hpa)を用いて二核鉄(III)錯体 $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\text{OH})_2(6\text{-hpa})](\text{ClO}_4)_4$ (**1**) を sMMO の機能モデル化合物として報告した。錯体 **1** の構造を Chart 3 に示す。錯体 **1** は、MeCN 中 H₂O₂ と反応してパーオキソ二核鉄(III)錯体 $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(6\text{-hpa})](\text{ClO}_4)_2$ (**2**) を生成し、アルケンのエポキシ化を効率的に触媒した。錯体 **1** を用いた cyclooctene のエポキシ化反応における収率を Table 2 に示す。錯体 **1** を用いた場合 epoxide/diol 比は 72/2 と非常に大きく、高選択的にエポキシドを生成した。一方、tpa 配位子の二核鉄錯体を用いた場合には、epoxide/diol 比はほぼ 1 : 1 であり、選択性が低い。tpa 配位子の錯体は二核構造を安定化する要因をもたず、単核鉄錯体が酸化活性種となり、cis-1,2-diol が生成したと考えられる。またエポキシ化反応の詳細な同位体ラベル実験からは、パーオキソ二核鉄(III)錯体 **2** の3つの酸素原子が生成物であるエポキシドに等価に取り込まれる事を見だし、酸化活性種はトリオキソ二核鉄(IV)錯体 (**3**) であると提案した (Scheme 2) 。しかし、このトリオキソ二核鉄(IV)錯体 (**3**) を分光学的に検出することはできなかった。

Table. 2 Oxidation of Cyclooctene by H₂O₂ Catalyzed by Iron Complexes

complex	H ₂ O ₂ (equiv.)	Yield (%)		total turnover number
		epoxide	diol	
$[\text{Fe}^{\text{III}}_2(\text{O})(\text{OH})_2(6\text{-hpa})](\text{ClO}_4)_4$ ^[7]	10	75	2	8
	150	70	2	110
$[\text{Fe}^{\text{III}}_2(\text{O})(\text{OH})_2(\text{tpa})_2](\text{ClO}_4)_4$ ^[8]	10	40	41	8
	10	34	40	7





Scheme 2 Reaction of **1** with Et₃N and H₂O₂ to form peroxodiiron(III) (**2**) and trioxodiiron (IV) (**3**) complexes

2. 研究の目的

溶液中で安定な二核鉄錯体を用いて sMMO の酸素活性化機構の解明を目的として研究を行った。

3. 研究の方法

溶液中や水中で金属錯体の構造を特異的に安定化する 6-hpa 配位子を用いて金属錯体を合成し、研究目的を達成するための様々な機能評価と分光学的測定を行った。具体的には、低温下で二核鉄(III)錯体 **1** と H₂O₂ との反応を行い、電子スペクトル、ESR スペクトル、CSI MS スペクトル、メスバウアースペクトルなどを測定してパーオキシ二核鉄(III)錯体 **2** とトリオキシ二核鉄(IV)錯体 **3** を検出すること、およびその反応性を明らかにすることを試みた。これらの **2** および **3** を単離した固体を用いて 25 K で測定されたメスバウアースペクトルから、high spin パーオキシ二核鉄(III)錯体 **2** と high spin トリオキシ二核鉄(IV)錯体 **3** に帰属される 2 つの四極子分裂が観測された。

4. 研究成果

本研究では、酸素活性化機能をもつ二核鉄酵素の 1 つである sMMO のパーオキシ中間体 P、及びその O-O 結合の切断によって生じる活性種 Q の分光学的特徴を再現する二核鉄錯体の合成とその分光学的キャラクタリゼーションに成功した。具体的には、溶液中で二核構造を安定化する二核化配位子 6-hpa の二核鉄錯体を用いて、これと過酸化水素の反応により、パーオキシ二核鉄(III)錯体が生成し、これは直ちにトリオキシ二核鉄(IV)錯体へと変化した。これを固体で単離してメスバウアースペクトルを測定した。温度変化によってパーオキシ二核鉄(III)錯体とトリオキシ二核鉄(IV)錯体との間で可逆的相互変換が起こる事が見いだされた。このメスバウアースペクトルから、6-hpa の二核鉄(IV)錯体は high spin であった。この様に、二核構造を安定化する 6-hpa の二核鉄錯体から生じるパーオキシ鉄(III)錯体とトリオキシ二核鉄(IV)錯体は sMMO のパーオキシ中間体 P と活性種 Q とよく類似した分光学的性質を示すといえる。また、溶液中にお

ける様々な基質との反応性を検討し、トリオキシ二核鉄(IV)錯体が外部基質の酸化反応に対して高い活性をもつ事が明らかになった。sMMO の活性種 Q は高スピン二核鉄(IV)と考えられているが、そのモデル化合物で高スピン状態の二核鉄(IV)錯体を得た例は全くない。さらに sMMO のメスバウアースペクトルは P と Q を同時に観測しているが、これまでのモデル化合物を用いた研究では、中間体 P に対応するパーオキシ二核鉄(III)錯体と活性種 Q に対応する高原子価二核鉄(IV)錯体を同時に観測した例もない。一方、本研究では、(1) 高スピン二核鉄(IV)錯体を検出していること、(2) 中間体 P と活性種 Q に対応する錯体を同時に観測していることの 2 点において、sMMO の分光学的・磁氣的性質に極めて類似した機能モデルを開発する事ができたといえる。これらは、従来の Q のモデル化合物の研究と比べて非常に優れた特徴である。さらに温度を上昇させてメスバウアースペクトルを測定したところ、錯体 **2** の成分が減少して **3** の成分が増加した。同一のサンプルを用いて再び温度を 25 K に下げて再測定すると、錯体 **2** が増加して **3** が減少し、最初に測定したスペクトルをほぼ完全に再現した。この事実から、**2** と **3** は温度変化に伴って可逆的に相互変換する事がわかった。錯体 **2** は低温で安定であり、温度上昇に伴って O-O 結合の切断が起こり、**3** へと変化していると考えられる。これはモデル化合物を用いてパーオキシ二核鉄(III)錯体からトリオキシ二核鉄(IV)錯体への変換を分光学的に直接観測した初めての例であり、sMMO の P から Q への変換機構に新たな知見を与えるものとして重要である。このように、本研究で開発された二核鉄錯体は、分光学的性質や反応性の点で sMMO の機能を忠実に再現する事が出来る優れた機能モデルであるといえる。さらに本研究を発展させる事により、本錯体の立体効果や電子的効果による微細構造制御により、反応性を制御する事ができる。本研究の成果に基づいて、(1) メタンやベンゼンなどの酸化されにくい基質を酸化できる高い酸化力をもつ鍵中間体 Q の化学的理解を進め、高い酸化活性をもつバイオインスパイアード酸化触媒を開発する事、(2) sMMO による酸素活性化過程に生じる不安定な中間体 P 及び Q の構造・分光学的性質を再現する二核鉄錯体を用いて酸素活性化機構の解明に寄与する事などが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18件)

- (1) Formation mechanism of metal nanoparticles studied by XAFS spectroscopy and effective synthesis of small metal nanoparticles, Tsunehiro Tanaka, Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Yutaka Hitomi, *Catalysis Today*, **183**(1), 108-118 (2012). 査読有
- (2) An Iron(III) Monoamidate Complex Catalyst for Selective Hydroxylation of Alkane C-H Bonds with Hydrogen Peroxide, Yutaka Hitomi, Kengo Arakawa, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 3448-3452 (2012). 査読有
- (3) Detection of Enzymatically Generated Hydrogen Peroxide by Metal-Based Fluorescent Probe, Yutaka Hitomi, Toshiyuki Takeyasu, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, *Analytical Chemistry*, **83**, 9213-9216 (2011). 査読有
- (4) π Back-Bonding of Iron(II) Complexes Supported by Tris(pyrid-2-ylmethyl)amine and its Nitro-Substituted Derivatives, Shinya Furukawa, Yutaka Hitomi, Tetsuya Shishido, Kentaro Teramura, and Tsunehiro Tanaka, *J. Phys. Chem. A*, **115**(46), 13589-95 (2011). 査読有
- (5) Synthesis and characterization of zinc chelator conjugated with cationic peptide, Yutaka Hitomi, Akihiro Kashida, Akiko Nomura, Masanori Hayashi, Masahito Kodera, *Peptide Science*, 319-321 (2011). 査読有
- (6) Development of Metal-complex Catalysts Inspired by the Action Mechanism of Metalloenzymes, Yutaka Hitomi, Kengo Arakawa, Junya Yano, Masashi Hata, Sachi Saito Masahito Kodera, *The Science and Engineering Review of Doshisha University*, **52**(3), 171-176 (2011). 査読無
- (7) Efficient aerobic oxidation of hydrocarbons promoted by high-spin nonheme Fe(II) complexes without any reductant, Shinya Furukawa, Yutaka Hitomi, Tetsuya Shishido and Tsunehiro Tanaka, *Inorganica Chimica Acta*, **378**(1), 19-23 (2011). 査読有
- (8) An *in situ* quick XAFS spectroscopy study on the formation mechanism of small gold nanoparticles supported by porphyrin-cored tetradentate passivants, Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Yasuhiro Higuchi, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuki Aoki, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, Kazuo Kato, Hajime Tanida, Tomoya Uruga, Tsunehiro Tanaka, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 11128-11135 (2011). 査読有
- (9) Multi-State CASPT2 Study of Native Iron(III)-dependent Catechol Dioxygenase and Its Functional Models: Electronic Structure and Ligand-to-Metal Charge-Transfer Excitation, Naoki Nakatani, Yutaka Hitomi, Shigeyoshi Sakaki, *J. Phys. Chem. B*, **115**(16), 4781-4789 (2011). 査読有
- (10) In situ Au L3 and L2 Edge XANES Spectral Analysis during Growth of Thiol Protected Gold Nanoparticles for the Study on Particle Size Dependent Electronic Properties, Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuo Kato, Hajime Tanida, Tomoya Uruga, Tsunehiro Tanaka, *Chem. Phys. Lett.*, **507**(1-3), 105-110 (2011). 査読有
- (11) In-situ Observation of Nucleation and Growth Process of Gold Nanoparticles by Quick XAFS Spectroscopy, Junya Ohyama, Kentaro Teramura, Yasuhiro Higuchi, Tetsuya Shishido, Yutaka Hitomi, Kazuo Kato, Hajime Tanida, Tomoya Uruga, and Tsunehiro Tanaka, *ChemPhysChem*, **12** (1), 128-131 (2010). 査読有
- (12) Synthesis and catalytic performance of organic-inorganic hybrid mesoporous material having basic nanospace, Tetsuya Shishido, Toru Kawaguchi, Tomohito Iwashige, Kentaro Teramura, Yutaka Hitomi, Tsunehiro Tanaka, *Catalysis Letters*, **140**, 3-4, 121-126 (2010). 査読有
- (13) TRIS(2-PICOLINYLMETHANE AND ITS COPPER(I) COMPLEX, Yuuji Kajita, Yoshimitsu Tachi, Yutaka Hitomi, Tomoyuki Nakagawa, Yoshihisa Kishima, Masahito Kodera, *Inorganic Syntheses*, **35**, 74-77 (2010). 査読有
- (14) Efficient Capping of Growing Gold Nanoparticles by Porphyrin Having Two Disulfide Straps over One Face, Yutaka Hitomi, Junya Ohyama, Yasuhiro Higuchi, Kazuki Aoki, Tetsuya Shishido, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, Tsunehiro Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **83**(11), 1392-1396 (2010). 査読有
- (15) Fast Guest Exchange of a 1:1 Zinc Porphyrin-Amine Host-Guest Complex via a Six-Coordinated Zinc Porphyrin, Yutaka Hitomi, Junya Ohyama, Minori Takegoshi, Akira Ando, Takuzo Funabiki, Masahito Kodera, Tsunehiro Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **83**(8), 950-952 (2010). 査読有
- (16) 金属タンパク質の機能を再現する高機能性多核金属錯体の開発, 小寺政人, 化学工業 **60**, No.8, 58-64 (2009). 査読無

- (17) Mechanism of photooxidation of alcohol over Nb₂O₅, Tetsuya Shishido, Toshiaki Miyatake, Kentaro Teramura, Yutaka Hitomi, Hiromi Yamashita, Tsunehiro Tanaka, *J. Phys. Chem. C*, **113**(43), 18713-18718 (2009). 査読有
- (18) Size-controlled synthesis of gold nanoparticles by porphyrin with four sulfur atoms, Junya Ohyama, Yutaka Hitomi, Yasuhiro Higuchi, Tsunehiro Tanaka, *Topics in Catalysis*, **52**(6-7), 852-859 (2009). 査読有

[学会発表] (計 110件)

- (1) M. Kodera, K. Kondo, T. Yasunaga, Y. Kawahara, Y. Hitomi, Dioxygen Activation by Diiron Complex with a Bis-tpa Dinucleating Ligand: μ -Oxo- μ -peroxodiiiron(III) to μ -Oxodioxodiiiron(IV), 3rd Asian Conference on Coordination Chemistry, October 17-20, 2011, India Habitat Center, New Delhi, India. (Invited lecture)
- (2) 小寺政人、非ヘム二核鉄酵素の酸素活性化と関連する二核鉄錯体の開発、第24回生物無機化学夏季セミナー、平成23年8月29日(月)～31日(水)、大阪府羽衣青少年センター(大阪府)(招待講演)
- (3) M. Kodera, Electronic effect on dioxygen activation and substrate oxygenation catalyzed by μ -oxo-diiron complexes supported by bis-tpa type dinucleating ligands with hydrogen peroxide, International Symposium on Activation of Dioxygen and Homogeneous Catalytic Oxidation, ADHOC 2011, July 3-8, 2011, Bankoku Shinryokan, Okinawa, Japan. (Invited lecture)
- (4) M. Kodera, T. Yasunaga, Y. Hitomi, Dioxygen activation of oxoperoxodiiiron complexes: Effect of carboxylate donors of supporting ligand, PACIFICHEM 2010, December 15-20, 2010, Honolulu, Hawaii, USA. (Invited lecture)

[その他]

ホームページ等

<http://www1.doshisha.ac.jp/~mkodera1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小寺 政人 (KODERA MASAHIRO)
同志社大学・理工学部・教授
研究者番号：00183806

(2) 研究分担者

人見 穰 (HITOMI YUTAKA)
同志社大学・理工学部・准教授
研究者番号：20335186

船引 卓三 (FUNABIKI TAKUZO)
同志社大学・理工学部・RCAST 研究員
研究者番号：70026061