

大環状ポリアミンの分子科学創造から超分子科学への展開

木村 榮一

From New Molecular Science to New Supramolecular Science
with Macrocyclic Polyamines

Eiichi KIMURA

Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Medicine, Hiroshima University,
Kasumi, Minami-ku, 1-2-3, Hiroshima 734-8551, Japan

(Received November 26, 2001)

Exploitation of saturated macrocyclic polyamines has led to the discovery of numerous novel functions and new molecules such as 1) unique proton sponge properties; 2) uptake of biological polyanions; 3) peptide-like metal uptake properties; 4) stabilization of unusual oxidation states of metal ions (*e.g.*, Cu^{III}, Ni^{III}); 5) novel uptake and activation of O₂ by new Ni^{II}-macrocyclic complexes; 6) a new synthetic pathway to functionalize macrocyclic polyamines; 7) the first gold (III) complex that is a new candidate for gold-plating agents; 8) intrinsic zinc (II) properties pertinent to zinc enzymes; 9) selective recognition of thymine by Zn^{II} complexes; and 10) new cage supermolecules. These newly discovered molecules and properties have opened up a new field of supramolecular science.

Key words—macrocyclic polyamine; supramolecular science; functional molecule; metalloenzyme model; molecular recognition

1. はじめに

飽和大環状ポリアミンの歴史は1961年にさかのぼる。^{1,2)} Pedersenが1967年に発表した大環状ポリエーテル(“クラウンエーテル”)より以前のことである。³⁾ それ以前は大環状ポリアミンと言えばテトラピロール(“ポルフィリン”)やフタロシアニンといった不飽和化合物のみが知られていたにすぎない。1953年、ニュージーランドの無機錯体化学者Curtis教授は、Ni^{II} トリスエチレンジアミン(en)₃, **1**のシッフ塩基錯体**2**を作るべくアセトン中で熱したところ、きれいな結晶が析出した。しかし、その構造が分かったのは1961年のことで、それは予想もしなかった**3**であることが明らかとなった。¹⁾ それをNaBH₄で還元すると飽和14員環テトラアミン**4**が得られた(Chart 1)。

一方、1961年、ドイツのStetterらは、有機合成的興味から、単純な大環状ポリアミン(例: cyclen **5**, cyclam **6**)を合成した。²⁾ これらにより飽和大環

状ポリアミンの本格的な歴史が始まったのである。大環状ポリアミンは、当初、遷移金属イオンのキレート配位子として金属錯体化学の基礎的な研究において、もっぱら用いられてきた。特に、“macrocyclic effect”と総称される金属錯体の異常な平衡化学的、速度論的安定性が注目された。⁴⁾ 直鎖状ポリアミン錯体に比べ、平衡化学的安定性はエントロピー及び金属サイズにフィットした環上にある二級アミンドナーの強い配位子場効果から成る。動力学的安定性は環状配位子には金属から解かれるべき端がないので解離が極めて遅いことによる。⁵⁾

1970年代後半より、我々は、世界に先駆けて大環状ポリアミンがクラウンエーテルと同じくあるいはそれ以上に優れた機能性分子として大きなポテンシャルを有することを次々と発見した。⁶⁾ 我々が大環状ポリアミンを手掛けるようになった1974年頃は、大環状ポリアミン化合物の種類や数も限られ、金属錯体化学の基礎データも少なく、応用展開もほとんどされていなかった。我々の研究は大環状ポリアミンと金属との相互作用からスタートし、やがて大環状ポリアミンがポルフィリン、ペプチド(例: gly-gly-His)、生体ポリアミン(例: spermine)等

広島大学医学部総合薬学科(〒734-8551 広島市南区霞1-2-3)

*本総説は、平成13年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

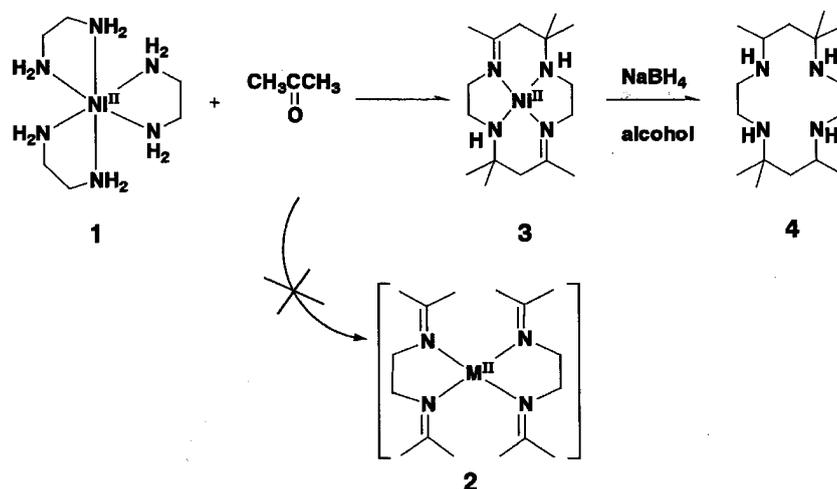


Chart 1

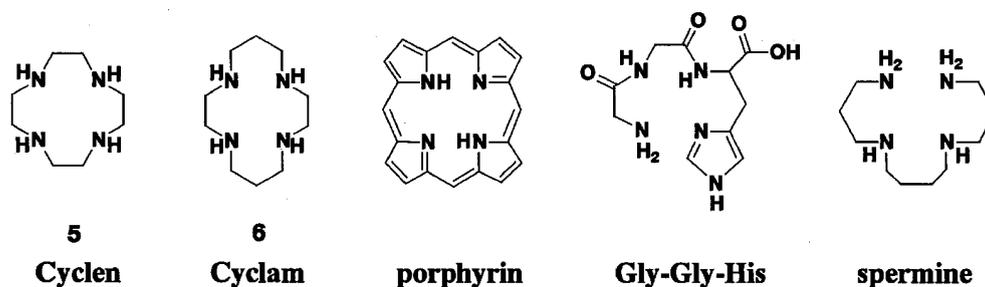


Chart 2

の生体含窒素分子と共通する機能を有することをまず明らかにした (Chart 2).

以来、我々はそれらの新知見に基づき新たな構造を持つ大環状ポリアミンの合成、それらの新機能発見、その新知見に基づきさらに新たな大環状ポリアミンのデザイン、合成…というプロセスを繰り返しながら、大環状ポリアミンの新活性構造化学を確立してきた。さらに最近は、それら分子科学に基づいて新たな超分子科学を創造した。我々の発見した大環状ポリアミン分子の特性・機能を Fig. 1 にまとめ、以下それらについて詳しく説明する。

2. プロトン取り込み (プロトンスポンジ機能)⁷⁾

飽和大環状ポリアミンは、環サイズや窒素官能基の種類・数に応じて、一定の数の H^+ に対して異常に強い親和性を示す。大環状構造によるコンフォメーションの立体的制約あるいは立体的な有利性により N の lone pair が環内で重なり、環内の電子密度が異常に高くなることもある。例えば、12 員環

トリアミン [12]ane N_3 7 では最初のプロトン親和性 (pK_a の大きいもの程大きい) が $pK_1=12.6$ と単独の二級アミンの pK_a ca. 10 よりはるかに大きい。既知のプロトンスポンジ化合物 8 (pK_a ca. 13) のアナログと見ることもできる。しかし、7 の大環状構造によるアミンの近接効果は、2 つ目、3 つ目の H^+ に対して逆に不利に働き、 $pK_2=7.5$ 、 $pK_3=2.4$ と N の塩基性は急激に弱まる (Chart 3)。

3. 大環状ポリアンモニウムカチオンによる生体アニオンの捕捉

環内に複数個の H^+ を収容した大環状ポリアンモニウムカチオンは、(1)環状コンフォメーションが環内の $N-H^+ \cdots N$ 水素結合によって固定化される：(2)限られた狭い空間内に複数の H^+ が集中するので多価カチオン化合物としてふるまう：(3)同じ多価イオンとは言っても金属多価イオンと異なり、 $(N)H^+$ を出せるのでアニオン (特にオキシアニオン) と強い水素結合能を有する等、いくつかの特徴を持つ。

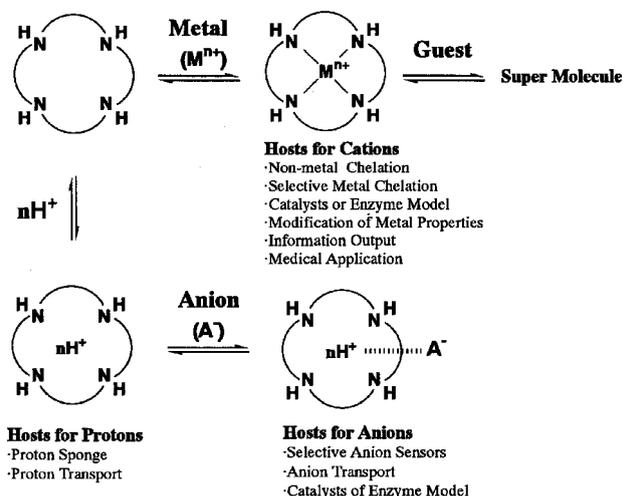
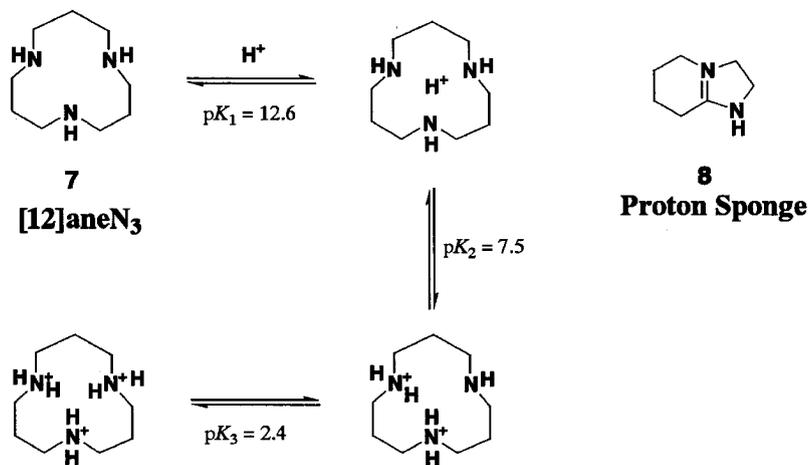


Fig. 1. Characteristic Properties of Macrocyclic Polyamines and Their Applications



したがって、 H^+ を多数取り込んだポリカチオンは有機アニオンと強いイオンペアを形成する。我々は偶然のきっかけからこの事実を発見した。

水溶液中で、大環状ポリアミン類の同定法確立のために電気泳動実験をしていたときのことである。⁸⁾ クエン酸緩衝液中で、cyclam **6** 等多くのポリアミンは程度の差こそあれ、いずれも (-) 極方向へ動いた (弱酸性 pH ではアミンがプロトン化されポリアンモニウムカチオンとして存在するので当然であろう) のに対し、不思議なことに 18 員環ヘキサアミン [18]aneN₆ **9** だけが反対の (+) 極方向へ動いたのである。しかし緩衝液をトリス系に変えると **9** は **6** と同様 (-) 極方向へ動き異常は見られなかった。これらの事実から、弱酸性 pH 付近では 3

つの H^+ を配位した $9 \cdot 3H^+$ がトリカルボン酸であるクエン酸の 3 つのカルボキシレートアニオンとイオン性水素結合し、そのイオンペア **10** が集合してアニオン性を帯びたような形で (+) 極へ動いたのではないかと仮定された。**9** はジカルボン酸緩衝液中でも同じように異常な (+) 極方向への動きが見られたが、モノカルボン酸である酢酸緩衝液中では正常な動きであった。その後、**9** とクエン酸は中性水溶液中で 1 : 1 錯体をつくるのが定量測定で確かめられ、その 1 : 1 錯生成定数も $K = 2.4 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ と決定された (Chart 4) (Table 1).⁹⁾

9 とイオンペアを作るカルボン酸としては、クエン酸、コハク酸、マレイン酸、*o*-フタル酸等で、それらは複数のカルボキシアニオンが互いに近接し、

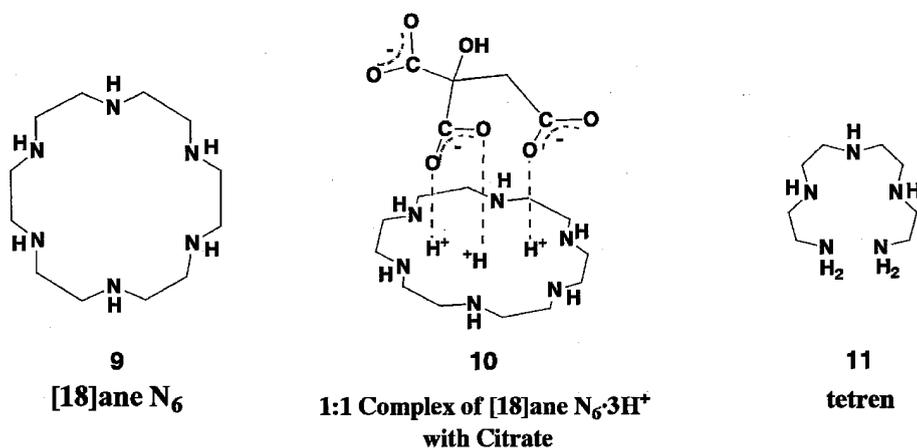


Chart 4

+NH との水素結合に効果的であることが分かる。一方、複数のカルボキシアニオンが互いに離れているフマル酸や *m*-フタル酸等のジアニオンや酢酸、乳酸などモノアニオンは強いイオンペアを作らない。ポリアニオンと強い相互作用を持つことのできるポリアミンは3つの H⁺ をとりこめる大環状 N₅, N₆ であり, N₄ 系ではその相互作用は弱い。N₄ 系は中性 pH では, 2つの H⁺ がくっついた二価カチオンとして存在するためアニオンとの静電的引力が弱いのである。直鎖状 N₅ である tetren **11** も [18]aneN₆ **9** と同じく pH 7 で 3 つの H⁺ が配位し三価カチオンとして存在するが, ポリカルボン酸との相互作用は弱い。

ポリカルボン酸の膜輸送蛋白は無機リン酸によって拮抗的に阻害されることがあるので, ポリカルボキシレート担体モデルである **9** はリン酸アニオンも認識できるのではないかと予想された。そこで前と同様に定量測定すると, はたして中性 pH で 1:1 錯形成が認められた。¹⁰⁾ ポリアミンのカチオンがリン酸アニオンと相互作用することは, spermine 等の生体ポリアミンと AMP, ADP, ATP,¹¹⁾ DNA,¹²⁾ RNA¹³⁾ との錯形成でも知られる。この物理化学的相互作用が生体ポリアミンの生物活性¹⁴⁾の起源である。また生体ポリアミンカチオンは金属イオン(例: Mg²⁺) 賦活化酵素反応において金属イオンの代用をするという事実¹⁵⁾も生体ポリアミンの生理的意義と関係があろう。

9 は中性 pH で ATP⁴⁻ と非常に安定な 1:1 錯体 **12** をつくることも観測された (Chart 5)。¹⁰⁾ その安定度定数 (2.5 × 10⁶ M⁻¹) は, spermine · 4H⁺ (10⁴

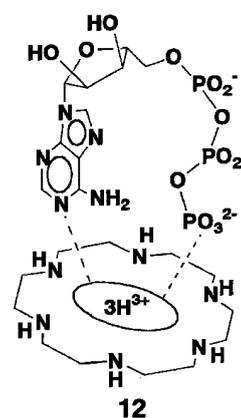
1:1 Complex of [18]ane N₆·3H⁺
with ATP⁴⁻

Chart 5

M⁻¹), Mg²⁺ (1.7 × 10⁴ M⁻¹), Ca²⁺ (10⁴ M⁻¹) の各 ATP⁴⁻ との 1:1 錯形成定数よりもはるかに大きい。

大環状ポリアミンによるポリアニオン捕捉機能は世界中の研究者に大きなインパクトを与え, 様々な展開も見られ, 現在もなお盛んにアニオン complex に関する論文が発表されている。¹⁶⁾

16員環ペンタアミン [16]aneN₅ も **9** と同じくポリアニオンと錯生成するので, 脂溶性 [16]aneN₅ **13** によるポリアニオンセンサー電極開発を行った (Chart 6)。¹⁷⁾

脂溶性 4級アンモニウム塩 capriquat **14** を用いたアニオン電極は知られているが, このようなホスト-ゲスト相互作用に基づくアニオン電極は例がなかった。原理の異なるこれら 2つの電極を用いて, 各々シス, トランスジカルボン酸である maleate,

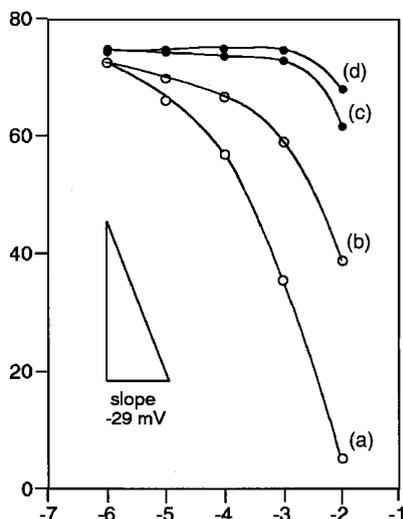


Fig. 2. Potentiometric vs. Concentration Curves Obtained for Maleate and Fumarate at pH 8.2

Curves obtained by the liquid membrane sensor containing macrocyclic polyamine **13** (○) or capriquat **14** (●) are shown. Curves (a) and (c), and (b) and (d) correspond to the cis and trans isomers, respectively. Measured in 5 mM HEPES-NaOH buffer (pH 8.2) at room temperature (ca. 20 °C).

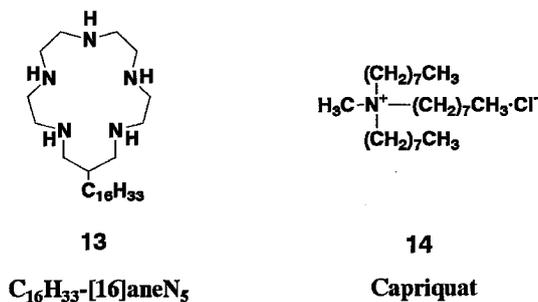


Chart 6

fumarate に対する応答を比較すると、Fig. 2 に示すようなカルボン酸濃度と電位の関係が得られた。^{17b)} Capriquat 電極に比べ、ポリアミン電極は応答が強く、しかもシス型ジカルボン酸 maleate に強く応答する。この事実は、水中でのホスト-ゲスト相互作用が界面でも起こっていることを示唆する。単純な環状ポリアミン構造でもこのように基質選択性が見られるので、それを化学修飾すればもっと分子認識能の高いセンサーの開発も可能である。

4. 貴金属イオンの選択的捕捉、分離、及び機能の開発

4-1. Cyclam 6 とオリゴペプチドの混成分子 Dioxocyclam 15 大環状ポリアミンは、多座キレート配位子としてほとんどすべての重金属イオン、遷

移金属イオンと安定な錯体を作る。当然それらイオンの捕捉、分離、抽出試薬としての用途が考えられる。しかし、それらの錯体はいずれも安定度が高すぎて、実用性がない（例えば、pH 変化で金属イオンの選択的捕捉をしようとしても駄目である）。

そこで、我々は Dioxocyclam **15** をデザインした。¹⁸⁾ Asp-Ala-His… を N 末に持つ銅運搬タンパク **17** の Cu^{II} イオンの pH 依存性の可逆的取込み (= 平面四配位 **18** 錯体の可逆的生成) からヒントを得たものである (Chart 7)。 **15** は遷移金属イオンのうち、Cu^{II},^{18a)} Ni^{II},^{18b)} Co^{II},^{18c)} Pd^{II},^{18d)} Pt^{II},^{18d)} などの平面四配位指向性を持つごく限られたものだけを生理 pH で環内に捕捉し、安定な錯体 **16** を作る。しかも、これらの金属イオンの間でも、各々錯安定性が著しく異なるので、水溶液の pH を調節することにより、分離することも可能である。例えば、pH 3—4 では、Cu^{II} を捕捉するが、Ni^{II} は捕捉しない。pH 6 以上になって初めて Ni^{II} は捕捉される。したがって、Ni^{II} と Cu^{II} を分離することは極めて容易である。しかも、錯体 **16** は pH を酸性にすることによって、金属イオンと配位子を錯体から完全に回収できる。 **15** にアルキル (C₁₀-C₁₆) 直鎖を導入した脂溶性配位子 (例 **19**) は、遷移金属イオンの選択的な有機溶媒抽出分離が可能である。選択的な Cu^{II} イオンの液膜抽出実験の方法を Chart 8 に示す。¹⁹⁾

4-2. 含硫 Dioxocyclam 類縁体 20, 21 と Pt^{II}, Pd^{II} の選択的捕捉 Dioxocyclam の 2 つの NH を硫黄に代えた **20**,²⁰⁾ **21**²¹⁾ は Pt^{II} と Pd^{II} のみを 2 つのアミドプロトンの解離した **16** のような構造で捕捉する (Chart 9)。Cu^{II}, Ni^{II} 等他の金属イオンは相互作用がなく、捕捉しない。ところが、アミドを還元した **22** は、捕捉金属イオンの選択性がなくなり、cyclam **6** と同様ほとんどすべての遷移金属イオンと相互作用する。

4-3. 金の選択的捕捉 Au^{III} の大環状ポリアミン錯体としては、初めての cyclam 錯体 **23** が合成され、Au^{III} の化学的性質を知ることができた (Chart 10)。²²⁾ Au^{III} は、非常に強いルイス酸性を持つので、近くにアンモニウムカチオンがあってもプロトンを追い出してアミンに配位することができる。他の一般的遷移金属イオン (ほとんど 2+ イオン) は、Au^{III} ほど強い酸ではないので、酸性条件

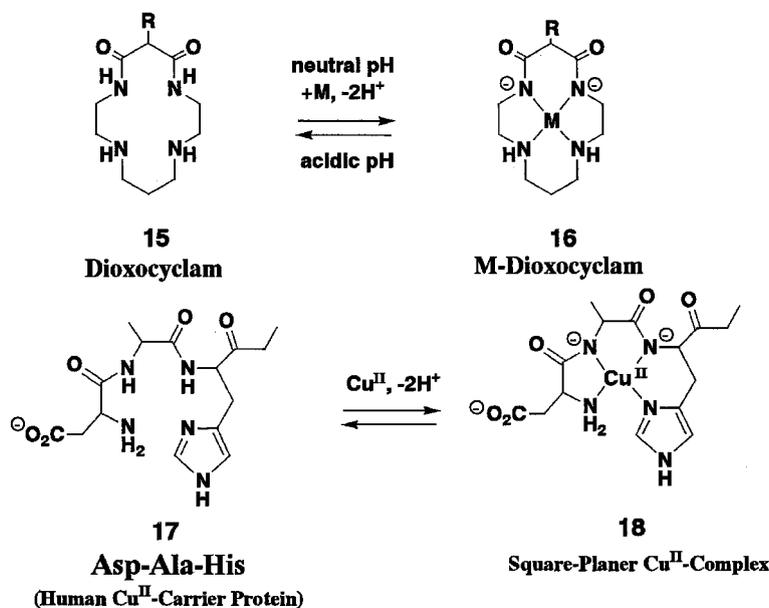


Chart 7

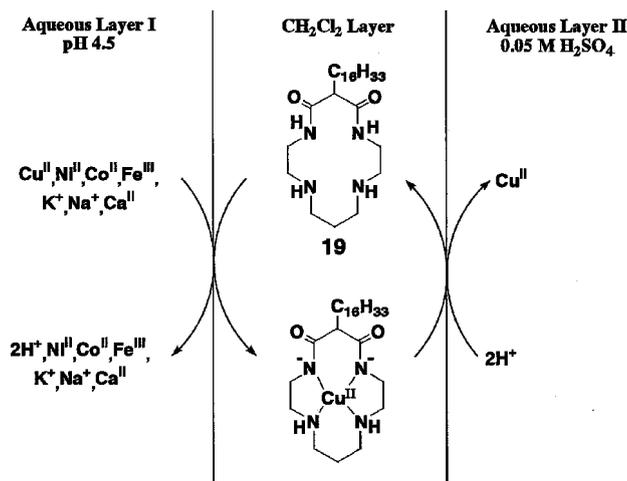


Chart 8

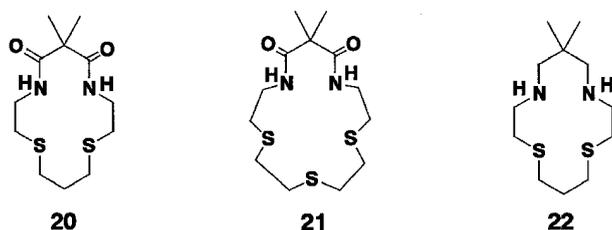


Chart 9

下でアミンドナーと配位する場合、 H^+ によって配位が邪魔される。そのような、 Au^{III} の際立った強い酸性を利用することにより、cyclamは強酸性溶

液中から Au^{III} のみをまず **24**として選択的に捕捉、単離することができる。この条件下では、他のほとんどすべての金属イオンは cyclam に配位できない。Cyclam に脂溶性基をつけた **25**は Au^{III} の溶媒抽出剤として開発された。

4-4. 新規金メッキ剤開発²³⁾ 金(III)ポリアミン錯体の $\text{Au}^{\text{III}} \rightarrow \text{Au}^0$ への還元電位を同一条件下で測定した結果、 Au^{III} は、**23**錯体によって最も安定化 ($E_{1/2} = -0.16 \text{ V vs. SCE}$, すなわち Au^0 になりにくい) されていることが分かった。

金メッキ剤である $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{CN})_2]^-$ の $\text{Au}^{\text{I}} \rightarrow \text{Au}^0$ の還元電位は -0.86 V と Au^0 に最もになりにくい。したがって、大環状ポリアミンの金錯体は、 $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{CN})_2]^-$ に代わる新しい金メッキ剤として使えるのではないかと予想された。はたして、錯体 **23**から、 $-0.16 \text{ V (vs. SCE)}$, pH 1—3でニッケル金属上に均一表面を持つ丈夫な金メッキができた。有毒 CN^- を使わないで、cyclamの完全回収及び再利用可能と従来のシアン法よりも多くの利点を持つことが分かった。また **23**を用いて、ニッケル金属上へ無電解メッキも可能である。

5. 分子状酸素を捕捉、活性化する初の Ni^{II} 錯体
 Cu^{II} や Ni^{II} はオリゴペプチドと反応してイミドアニオンドナーを含む平面四配位錯体になると(例 **18**) $\text{Cu}^{\text{II}}, \text{Ni}^{\text{II}}$ に酸化され易くなる(すなわち $\text{M}^{\text{II}} \leftrightarrow \text{M}^{\text{III}}$ の酸化電位が下がる)。^{24,25)} 簡単なオリゴペ

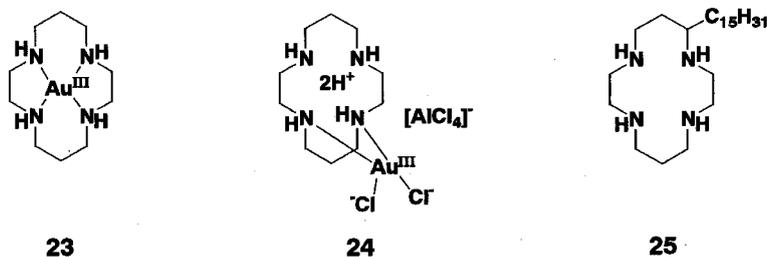


Chart 10

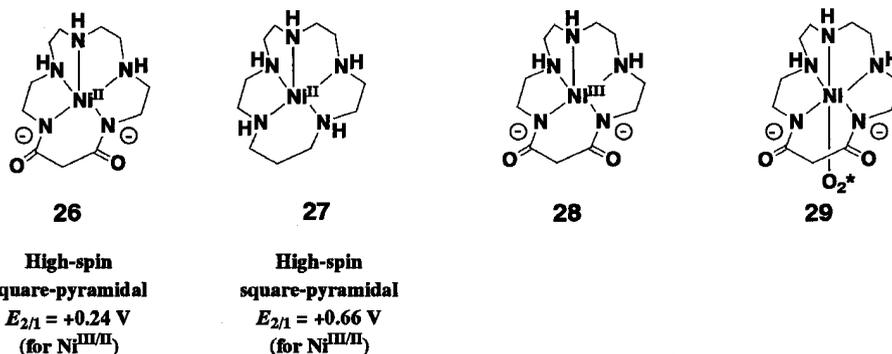


Chart 11

プチドが、銅イオンの異常酸化状態を安定化させることは、タンパク中で Cu^{III} が比較的容易に実現し（例えば空気酸化などによって）それがタンパク自身を破壊したり、近くにいる基質の酸化反応などに関与できることを示唆する。

12—15員環 dioxocyclam 類縁配位子がペプチド性を持つ錯体（例 16）を作ることは先に述べたが、 $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{III}}$ や $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{Ni}^{\text{III}}$ の E 値を下げる点でもペプチドに類似している。^{18b)}

その上大環状 dioxo N_4 錯体はペプチド錯体よりもはるかに長く M^{III} 状態を保持するという動力学的な安定化効果も示し、 M^{III} 生成に大変都合の良い系であることが分かった。配位子が生成した M^{III} によって酸化を受けるためには錯体のコンフィギュレーション変化等を必要とするが、大環状系ではそのためのエネルギーバリアが高すぎる。したがって、 M^{III} 錯体のまま長く存在しうるのである。 M^{II} -ペプチド錯体（例 18）を作るには一般にアルカリ性（アミドプロトンを解離させるため、一般に $\text{pH} > 10$ ）としなければならないが、 M^{III} は逆にアルカリ性では不安定という性質がある。したがって、ペプチド錯体では M^{III} の生成に不利であるのに対し

て、大環状 dioxo N_4 錯体は、その非常に高い安定性のゆえに中性から弱酸性側 ($\text{pH ca. } 5$) で生成し、 M^{III} 生成には大変有利である。

反応機構及び応用面で、最も我々の関心をひいたのは dioxo[16]ane N_5 の Ni^{II} 錯体 26 である (Chart 11).²⁶⁾ その構造は四角錐型五配位で 2 つのイミド基は平面上にある。この錯体の E 値は $+0.24 \text{ V}$ (vs. SCE) で、今まで報告されている水溶液中での Ni^{II} 錯体系で最も低い値である。ジオキソのない [16]ane N_5 の Ni^{II} 錯体 27 も同じように四角錐構造をとるが、その E 値は 0.66 V (vs. SCE) と大きい。Dioxo[16]ane N_5 における 2 つのイミドアニオンと分子内 NH アキシャル配位の Ni^{III} 安定化に及ぼす劇的な効果がよくわかる。

26 の E 値が極端に低く、中性 pH 付近における分子状酸素 O_2 の還元電位 $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 4\text{OH}^-$ の $E = 0.4 \text{ V}$ (vs. SCE) よりも小さいことから、26 中の Ni^{II} は O_2 で酸化されて Ni^{III} -dioxo[16]ane N_5 28 となるのではないかと予想された。後述するように、26 は水溶液中確かに O_2 と反応することが見いだされたが、その最初の反応生成物は、別途電気化学的に酸化して作った Ni^{III} -dioxo[16]ane N_5 28

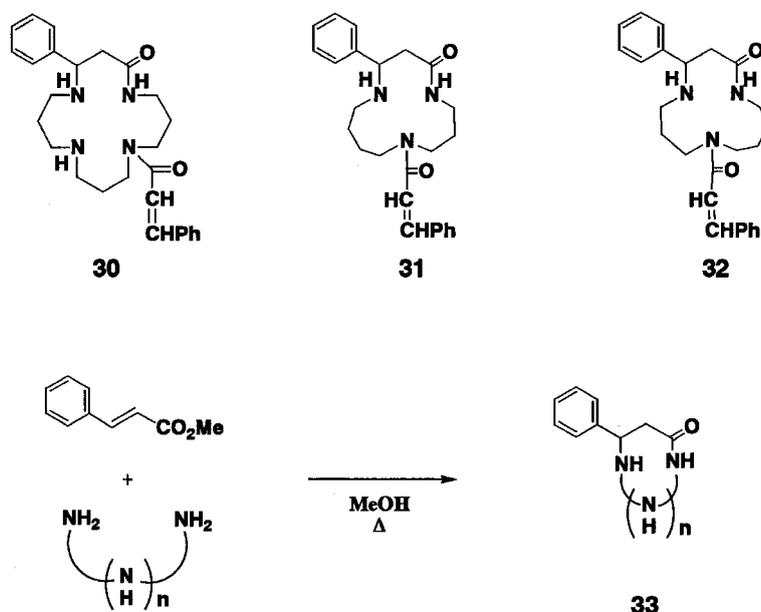


Chart 12

とは異なっており、結局 Ni^{II} -dioxo[16]aneN₅ 錯体の 1:1 O₂ 付加体 **29** であることが分かった。²⁷⁾ これは世界で最初に報告された Ni^{II} -O₂ 付加体である。その Ni^{II} -O₂ 付加体の諸性質は Ni が三価状態に近いことを示唆しており、ちょうどヘモグロビン中 Fe^{II} の 1:1 O₂ 付加体が Fe^{III} -O₂⁻ と説明されているのと同じような電子移動機構が考えられる。 Ni^{II} の O₂ 付加体を水溶液放っておくと一部は Ni^{III} へと自動酸化される。dioxo[16]aneN₅ 配位子のマロン酸メチレン部を水酸化することもその後報告された。²⁸⁾ できたての O₂ 付加体水溶液の pH を酢酸で酸性にすると O₂ が定量的に遊離する等興味深いことも見い出されている。

26 と反応した O₂ はさらにベンゼンをフェノールに変換することも発見された。²⁹⁾ しかも、フェノール中の O は 100% O₂ 由来であることも証明され、**26** の Ni^{II} によって O₂ は活性化され、ベンゼンに O 添加することが明らかとなった。その詳細な機構はいまだ明らかではないが Ni^{II} による O₂ 活性化の最初の例として大きく注目された。

6. 環状スベルミン、スベルミジンアルカロイド生成機構を利用した大環状ポリアミンの官能化

大環状ポリアミンに官能基をつけ、高機能化する方法は、N-アルキル化以外にはほとんど知られていなかった。我々は、ベンゼンの炭素上にペンダン

トを持つ環状スベルミン、スベルミジンアルカロイド (例：**30**–**32**) の生成機構に着目して、芳香族ケイ皮酸エステルと直鎖状ポリアミンをエタノール中で反応させたところ、アルカロイド類縁体 **33** を一段階で合成することに成功した (Chart 12)。³⁰⁾

さらに、クマリンを出発物質とするとフェノールをペンダントに持つ monooxocyclam **34** を一挙に合成することも見い出した (Chart 13)。³¹⁾ この方法は、“coumarine-recycle” 法と名付けられた。環状アルカロイドには生理活性が知られているので我々の類縁体も新たな生理活性物質のリード化合物になるかもしれない。

フェノールペンダント monooxocyclam **34** 自身は、 Cu^{II} , Ni^{II} 等平面配位を好む金属を環内に取り込み、アキシャル位からフェノレートが配位した安定な金属錯体を作る。³²⁾ さらに、**34** をジボランで還元すると、フェノールペンダント cyclam **35** が生成する。この **35** もほとんどすべての遷移金属イオンを取り込む。かくて大環状ポリアミン官能化の簡便な一方法を見出すこととなった (Chart 14)。本法を用いることにより、環サイズや N 原子数の異なるフェノールペンダント (例：**36**,³³⁾ **37**³⁴⁾), カテコールペンダント **38**,³⁵⁾ ピリジルペンダント **39**,³⁶⁾ イミダゾールペンダント **40**,³⁷⁾ 3-ヒドロキシピリジルペンダント **41**,³⁸⁾ トリフェニルフォスフィンペン

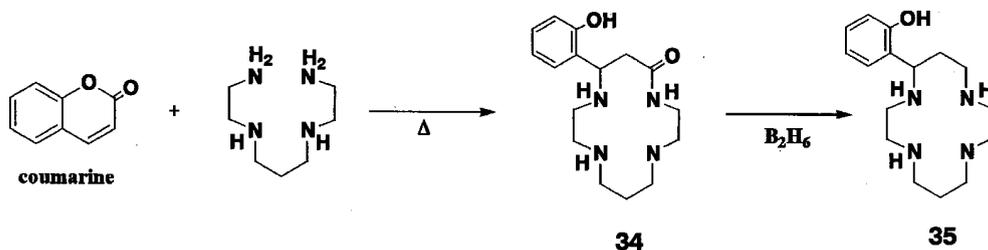


Chart 13

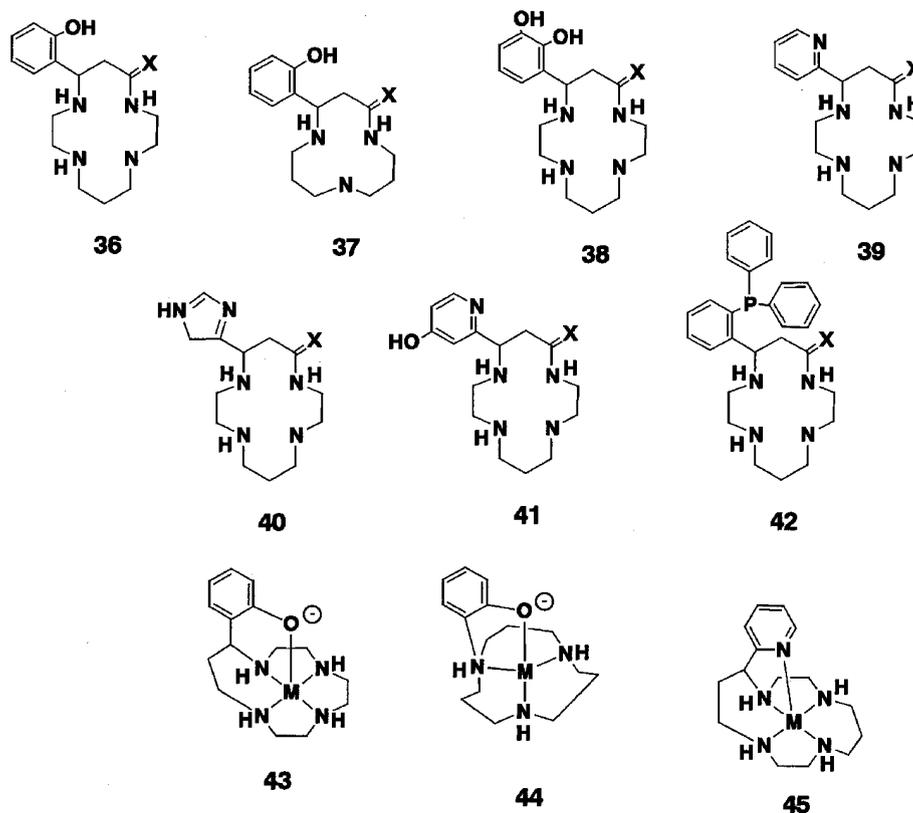


Chart 14

ダント **42**,³⁹⁾ を持つ多数の新規大環状ポリアミンを合成することができた。

これらのドナー性ペンダントを持つ大環状ポリアミンは Cu^{II} , Ni^{II} , Pt^{II} , Pd^{II} , Au^{II} , Fe^{III} , Mn^{III} 等を捕捉し安定な 1:1 錯体 (例: **43-45**) を作る。

ペンダント配位により金属イオンの酸性, 酸化還元性が調節される。また, 金属錯体構造も変化するなど, 金属錯体化学的に, また新たな触媒候補⁴⁰⁾として多くの新知見を与えることができた。

7. 亜鉛酵素中の亜鉛の役割

7-1. 亜鉛酵素と今までの酵素モデル 亜鉛 (Zn^{II} イオン) は生体に必須の微量金属であり, 鉄

に次いで最も多く存在する。その多くは“亜鉛酵素”の活性中心にあつて, それら酵素活性にはなくてはならないものとなっている。

亜鉛酵素の機能, 作用機序など酵素全体としての観点からの研究は大いに進んでいる。しかし, その活性中心における亜鉛の詳細な意義や, その機能などについては, 驚くほど研究が進んでいなかった。その主な理由は, 亜鉛イオンの基礎的な化学的 (特に錯体化学的) 研究がほとんどされていないことであつた。なぜ亜鉛でなくてはならないのか? 酵素でみられる基質特異性や阻害剤による阻害機構など, 中心亜鉛が関与するであろう問題についての突っ込

んだ研究は、今までほとんどなかったと言ってよい。その主たる理由は、亜鉛(II)イオンが d^{10} 電子構造を持つため一般に錯体として不安定 (labile) で (それがゆえに、触媒機能があるのだが)、適当なモデルができなかったことにある。すなわち、i) pH 7 前後の水溶液中で錯体として十分安定であること、ii) 触媒反応場が空いていること、iii) 配位環境が酵素活性中心と構造的ないしは機能的に類似していることなどの条件をすべて満たすような配位子が見つからなかったためである。

7-2. 大環状ポリアミン亜鉛錯体と亜鉛酵素活性中心との構造的並びに機能的類似性⁴¹⁾ 1990年、12員環トリアミン[12]aneN₃ **7**が亜鉛酵素の極めて優れたモデルを作ることを見出した。⁴²⁾ 特に、**7**の亜鉛錯体 **46**は、i) 炭酸脱水酵素 CA、アルカリフォスファターゼ AP、アルコール脱水素酵素 ADH 等多くの亜鉛酵素の活性中心に見られる亜鉛イオン擬四面体配位構造を持ち、ii) **46**の第四配位座に配位した水分子はプロトン解離して ($pK_a = 7.3$, 25°C) OH⁻型錯体 **46'**となる、iii) **46'**中の OH⁻イオンは CA や AP 中の Zn^{II}-OH と同様に強い求核性を示し、二酸化炭素、⁴³⁾ 酢酸エステル⁴²⁾やリン酸エステル⁴⁴⁾の加水分解反応やアセトアルデヒド水和反応⁴²⁾を触媒する (Chart 15)。

すなわち、まず速度論的に優れたモデルである。さらに、それらの二次反応速度定数 ($[Zn]_{total} = [46] + [46']$ 及び [基質] 各々に一次) に対し、pH をプロットすると、CA や AP でみられるのと同じシグモイド曲線 A が得られた (Fig. 3)。そこから求められる pK_a は、pH 滴定法で決定した熱力学的 pK_a とほぼ同じ値であった。これらの事実は、塩基型 **46'**における Zn-OH⁻が、酵素活性中心の Zn-OH⁻と同じく活性本体として働くことを意味する。一方、**46**錯体による HCO₃⁻の脱水和反応 (HCO₃⁻ → CO₂) の場合、pH 依存性反応速度は A と全く対照的な B ようになった。この事実も、CA の場合と同じであり、反応活性種は **46** (酸型) であることがわかる。

以上のように、亜鉛イオンのみで生理 pH の水溶液中、CO₂ の可逆的脱水和反応を触媒することが立証された。この亜鉛の生体 pH での合目的反応性は、次に述べるようにアニオンや中性阻害剤芳香族スルホンアミド (例アセタゾラミド **50**) と **46** との

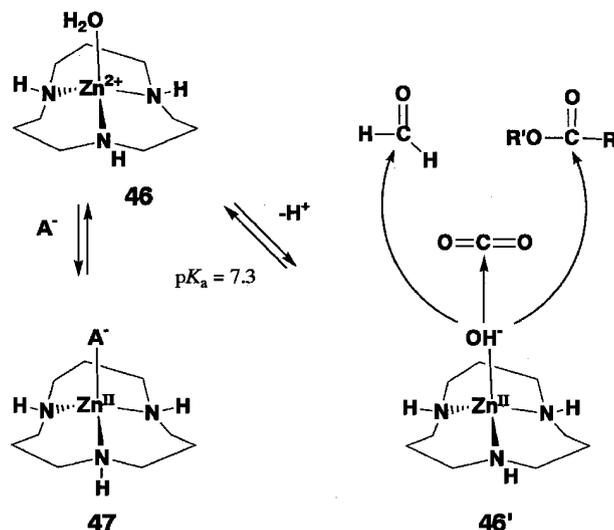


Chart 15

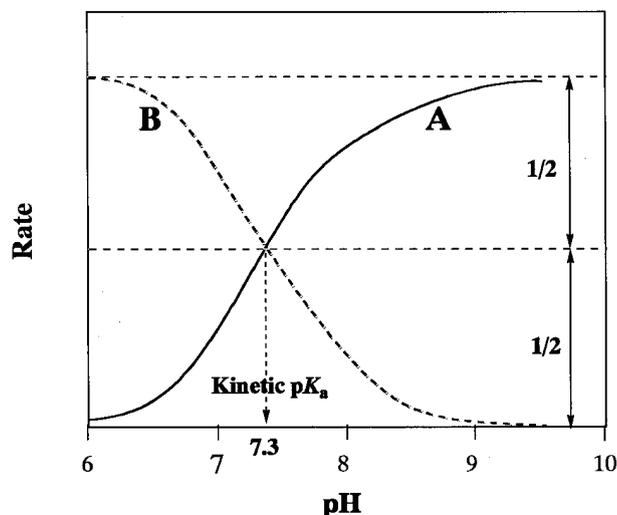


Fig. 3. The pH Dependent Catalytic Rates by Zinc (II)-Macrocyclic Polyamine Complexes

Curve A is for hydration of CO₂ and aldehyde and hydrolysis of esters. Curve B is for dehydration of HCO₃⁻ (to CO₂).

相互作用の研究でさらに確かめられた。

7-3. アニオン及びスルホンアミド錯体 **47 の形成と CA 阻害機構の化学的立証** CA や AP の触媒する反応は、アニオン (I⁻, SCN⁻, CH₃CO₂⁻, リン酸アニオンなど) や中性分子の芳香族スルホンアミドによって阻害されることが知られている。また、CA や AP の基質である炭酸イオンやリン酸モノエステルもアニオンである。CA では、活性中心の亜鉛イオンにアニオンが第四配位座に直接 1 : 1 配位した四配位構造が推定されており、阻害反応の速度論的な研究により、CA と阻害剤との 1 : 1 錯

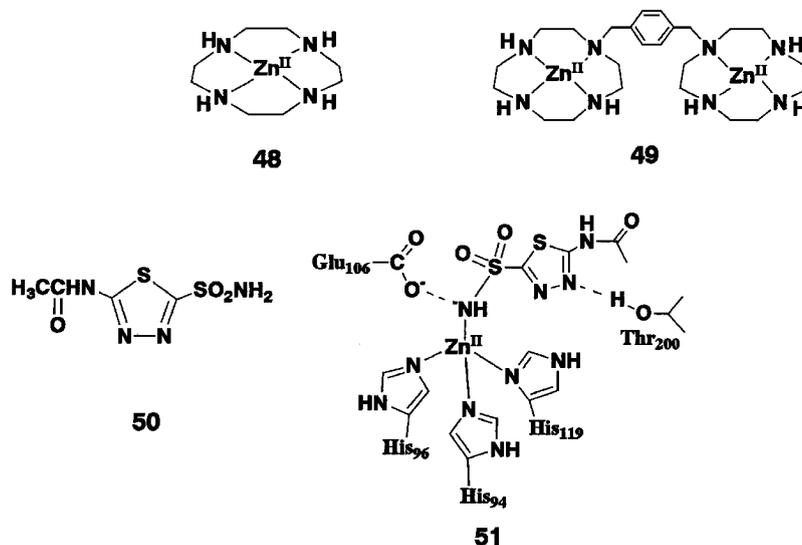


Chart 16

体の生成定数 ($\log K$) が報告されている： OH^- (6.5) $>$ SCN^- (3.2) $>$ HCO_3^- (1.6) $>$ I^- (1.2) $>$ Br^- (1.1) $>$ Cl^- (0.7) $>$ F^- (-0.1). 我々のモデル錯体 **46** でも、これら阻害剤 A^- (アニオンとして亜鉛に配位する) と 1 : 1 の錯体 **47** を形成することが pH 滴定法, *p*-ニトロフェノールエステル加水分解反応の阻害活性測定, あるいは, 錯体の単離などにより確かめられた. さらにそれらの $\log K$ は, CA の場合と驚くほどよく似た傾向を示す： OH^- (6.4) $>$ HCO_3^- (4.0) $>$ SCN^- (2.4) $>$ I^- (1.6) $>$ Br^- (1.5) $>$ Cl^- (1.3) $>$ F^- (0.8). これらの発見は, CA に対するアニオン阻害反応機構を化学的に証明した最初の例である.⁴⁵⁾

このように, モデルと CA 活性中心が同じ機能を示すとしたら, 上記のような亜鉛のアニオン親和性は, 生体環境における CA 触媒に適していることが納得される. すなわち, pH 7.3 前後においては (我々の血液 pH はほぼ pH 7.3 である!), 酸型 **46** (HCO_3^- 基質との交換が可能) と塩基型 **46'** (CO_2 基質に対する求核剤) がほぼ 50% ずつ存在しており, 血液の緩衝 pH 領域内で可逆的な CO_2 水和反応 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$) に常に対処できるようになっている. さらに, 塩素イオン濃度が炭酸イオン濃度よりもはるかに高い血液中でも, CA は塩素イオンに邪魔されることなく選択的に炭酸イオンと反応することも理解される. これら CA の特徴は, すべての金属のうち亜鉛によってのみ達成さ

れうるのである.

AP を理解する上においても, 基質のリン酸エステルアニオンと亜鉛イオンとの親和性を調べることは, その機能解明に大変役立つ. また, 多くの亜鉛酵素はリン酸アニオンによって強く阻害されることも知られている. AP の活性中心は 2 つの亜鉛イオンからなるが, それら亜鉛配位構造は CA のそれと共通点がある. そこで, まず, CA のモデルである **46** と各種リン酸エステルとの親和性について pH 滴定法により検討したところ, 亜鉛アコイオン ($\text{Zn}^{II}(\text{H}_2\text{O})_n$) に比べ錯体 **46** は -2 価を持つリン酸モノエステルに対して強い 1 : 1 親和性を持つことが明らかとなった (例: フェニルフォスフェート, $\log K=3.5$). 一方, 核酸で見られる -1 価のリン酸ジエステルと **46** との相互作用ははるかに弱いことも分かった. さらに, Zn^{II} -cyclen 錯体 **48**, bis(Zn^{II} -cyclen) 錯体 **49** の 4-ニトロフェニルリン酸モノエステルとの 1 : 1 親和定数 $\log K$ を比較すると, 各々 3.3 と 4.0 と決定され, 2 つの亜鉛イオンが隣接することがモノエステル基質捕捉に, より有利であることも確かめられた (Chart 16).⁴⁶⁾

アセタゾラミド **50** など芳香族スルホンアミドは, 酸性度が高く解離可能な水素を有し ($\text{p}K_a=8-10$), CA 活性を強く阻害することが知られている. しかし, CA の活性中心 Zn^{II} がそのアミド水素を解離し, **51** を生成することができるのかは不明であった. そこで, **46** とスルホンアミドの相互作

用を調べてみると、生理的 pH でスルホンアミド水素は解離し、1:1の安定なアニオン錯体 **47** を形成した。しかもそのアニオン錯体になると、 Zn^{II} -OH⁻ による CA 様触媒活性は消失した。アセタゾラミドの 1:1 錯体 **47** 生成定数 $\log K$ は 4.9 もあった。CA の基質である HCO₃⁻ よりもアセタゾールは生理 pH で、より強く亜鉛イオンと結合することが示されたのである。⁴⁵⁾ これらのモデル実験の結果はスルホンアミドの CA 阻害機能を化学的に見事に証明したものである。

亜鉛酵素中において活性中心亜鉛は、周囲のドナー配位子を変化させることによって、その酸性度を合目的に変えられることが大環状ポリアミンモデル錯体で立証された。CA, CP, AP, ADH 等の中で、 Zn^{II} はそれぞれの酵素反応に最もふさわしい酸性度を与えられているのであろう。さらに、それら亜鉛錯体の配位座は基質のために空いており、基質が近づきやすいこと、また 4 ⇌ 5 配位が簡単に起こることも亜鉛錯体の有利な点であることが分かった。⁴⁷⁾ 亜鉛上では基質や阻害剤である配位子の交換速度が極めて速いことも亜鉛が触媒サイクルを行うのに適している。我々の大環状ポリアミンを用いたモデル研究は、これら亜鉛酵素機能の優れた点を化学的に立証するとともに、新たな触媒分子デザインの指針を与えてくれた。

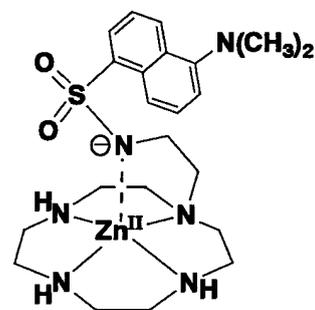
7-4. 細胞中の亜鉛の蛍光プローブの開発⁴⁸⁾

亜鉛がスルホンアミドと反応することを応用して、蛍光団ダンシルスルホンアミドを分子内ペンダントに持つ cyclen 誘導体を合成した。それは亜鉛に対して極めて強い親和性を持ち、**52** の構造を持つ錯体として強い蛍光を発する (Chart 17)。配位子は細胞内に取り込まれ、細胞内の微量の亜鉛を蛍光で認識できる。新規の亜鉛センサーとして大いに注目され、現在市販もされている。

8. 大環状ポリアミン亜鉛錯体と核酸

8-1. 亜鉛酵素モデルから核酸分子認識への展開

大環状ポリアミン錯体を用いて酵素モデル研究を行っていた過程で、我々は、スルホンアミド基とイミド基との類似性に着目した。すなわち、両方とも解離性水素を持ちその pK_a が 10 前後であることである。スルホンアミド同様に、イミドプロトンも亜鉛上で解離し、安定な配位結合を形成するのではないかと考えた。さらに、イミドアニオンの構造が、



52

Chart 17

Zn^{II} -cyclen の構造 **48** と極めて相補性が良いことにも着目した。すなわち、**53** に示したように、脱プロトン化したイミド窒素と亜鉛イオン間の配位結合、及びイミドカルボニル基と亜鉛に配位した cyclen の NH 間の 2 つの水素結合により、電子的、立体的に相補的な相互作用が期待された。この結合様式は、DNA の二重らせん部位に見られる核酸塩基間の認識 (Chart 18(a))、あるいは報告されてきた核酸レセプター合成分子 (Chart 18(b))⁴⁹⁾ とは異った、新しいタイプの核酸分子認識機構である。

8-2. チミン塩基に選択的に結合する亜鉛錯体⁵⁰⁾
イミド化合物の最初の例として核酸塩基のチミン誘導体、抗エイズ薬 (AZT) を取り上げ、 Zn^{II} -cyclen **48** との相互作用を検討した。見事な 1:1 錯体 **54** が結晶として得られ、その三元錯体の X 線結晶構造解析から予想どおりのイミド分子認識が明らかになった (Chart 19)。⁵⁰⁾

pH 滴定や UV 吸収測定により、**48** とヌクレオシド類との水溶液中での結合定数 ($K = [\text{錯体}] / [\text{48}] [\text{基質 (解離型)}]$) を求めた。その結果、**48** は AZT を含む一連のチミン誘導体 (イミドプロトン解離型) と高い親和性 ($\log K = 5.0 - 5.6$) を示し、可逆的に 1:1 結合することが分かった。デオキシグアノシン **55** のアミド水素は、チミジンのイミド水素に近い酸性度 ($pK_a \text{ ca. } 9.3$) を有するにも関わらず、隣接する NH₂ が Zn^{II} -cyclen と立体的反発があるため、それらの間の相互作用は極めて小さい。また、解離できる NH を持たないデオキシアデノシンやデオキシシチジンは、**48** と全く相互作用しない。すなわち、**48** は、水溶液中で核酸塩基中のイミド基を持つチミンあるいはウラシルとのみに選

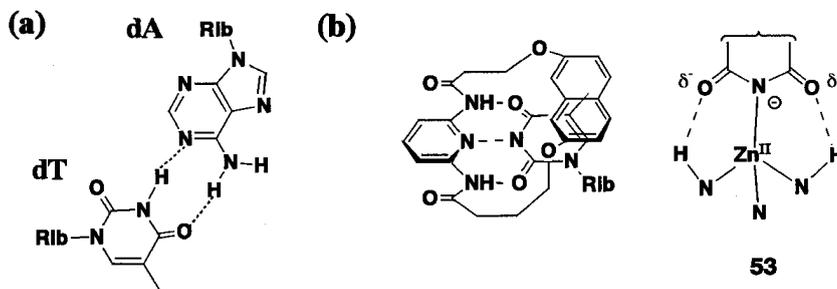


Chart 18

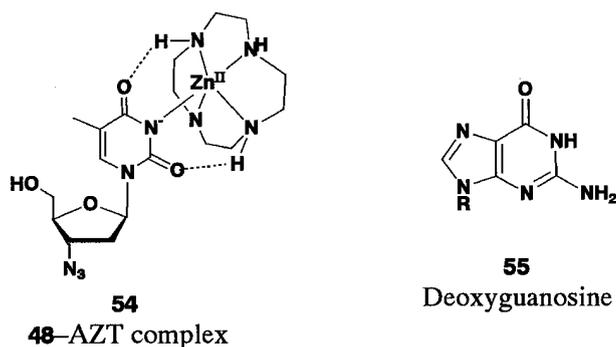


Chart 19

括的かつ可逆的に結合できることが見いだされたのである。48は、新規の優れた核酸塩基人工レセプターであると言えよう。

8-3. チミン塩基にさらに強く結合するアクリジンペンダント型亜鉛錯体 56⁵¹⁾ 我々は次に、チミン塩基に対しより強く結合する亜鉛錯体として、その塩基平面と π - π 相互作用が可能なアクリジンをペンダントに有する亜鉛錯体 56 を新たに合成した。56は48よりも約40倍も強く(イミド水素の解離した)チミンと結合し、57を生成することがわかった($\log K$ はそれぞれ、7.2及び5.6)。また、¹H-NMRを測定した結果、アクリジン環、チミン塩基のピリミジン環、及び糖部の1'位のプロトンシグナルに、大きな高磁場シフトが観測された。これは、チミンとアクリジン間の π - π 相互作用の存在を支持する。サイクレン環上のNHの重水素交換速度の著しい低下も観測され、そのNHとチミン塩基のカルボニル基との間の(水溶液中においても)強い水素結合の存在が示唆された。これらの結果から、Zn^{II}-イミドN-配位結合、2つの水素結合、及び π - π スタッキングの多点相互作用が

働き、強く結合していると結論された(Chart 20)。

このように推定された多点相互作用は、56とメチルチミンとの三元錯体 58 のX線結晶構造解析により確認された。脱プロトン化したイミド窒素から亜鉛への配位結合、直接及び水分子を介した2つのタイプの水素結合、 π - π スタッキング相互作用(アクリジンとピリミジン環の面間距離は3.3—3.4 Å)により56はチミン塩基に相補的に極めて強く結合していることがわかった。

チミン化合物以外の他のヌクレオシドとの相互作用についても検討した結果、デオキシグアノシンとは弱く相互作用する(塩基N7とZn^{II}間の配位結合及び π - π スタッキングによる)ことが分かった。しかし、デオキシアデノシンやデオキシシチジンとの間には、48の場合と同様に、ほとんど相互作用はみられなかった。

56のように、中性水溶液中で特定の核酸塩基を認識し、強く可逆的に結合できる小分子化合物は初めてであり、遺伝子発現に至る生化学的諸過程をコントロールできることが期待された。

8-5. 大環状亜鉛錯体の新しい生化学的機能⁵²⁻⁵⁶⁾ 大環状ポリアミン亜鉛錯体にはいくつもの新たな生化学的機能が見いだされた。例えば、48や56は2重らせんDNAのチミン塩基(T)に特異的に結合し、相補鎖のアデニン塩基(A)との水素結合を解離させ、DNAの2本鎖構造を不安定にする。⁵²⁾このことは、AとTのみから成る人工DNAポリマーの融解温度を、48や56が低下させることからわかる。^{53,54)}また56は真核生物のRNA polymerase IIによって転写される遺伝子のプロモーター領域に存在するAT-richな配列、TATA boxを特異的に認識して結合し、転写因子のTATA binding proteinのTATA boxへの結合を阻害する

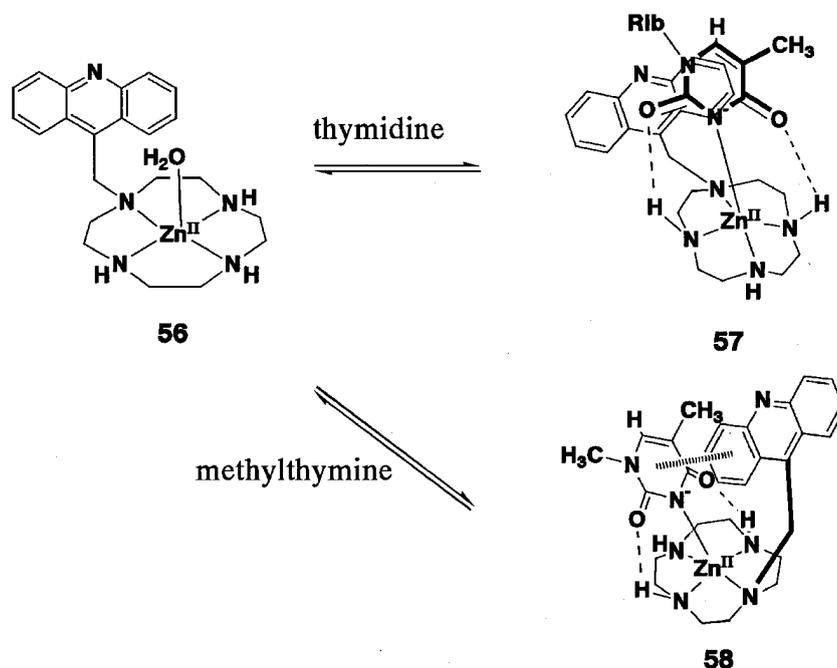


Chart 20

ことも明らかにした。⁵⁵⁾

また、チミンと同じくイミド構造を持ち、RNAを構成する塩基の1つであるウラシル (U) も大環状ポリアミン亜鉛錯体と安定な1:1錯体を形成する。*p*-tris(Zn^{II}-cyclen) **59** (Chart 21) は、HIV-1 ウイルスの遺伝子 (RNA) の転写調節に関わる領域 (TAR) (Fig. 4) のピリミジンバルジ構造 (-UUU-) を特異的に認識・結合し、HIV-1 ウイルスの転写活性化因子である Tat タンパク質の結合を阻止した。⁵⁶⁾ このように大環状ポリアミン亜鉛錯体は、DNA だけではなく、一本鎖構造を持つ RNA にも塩基配列特異的に結合することが、distamycin など AT 認識抗生物質と異なる点であり、特定遺伝子の発現を制御する新たな小分子であると言える。

9. 三核錯体のナノスケールの自己集合による三次元かご型超分子

現在、自己集合による三次元超分子が注目されている。これらは、非共有結合による複数分子の spontaneous な自己集積であるが、その報告例の多くは有機溶液中で水素結合を主とした自己集合現象である。我々は、先の Zn^{II}-cyclen 錯体 **48** がチミンを認識して、**53** を生成することから展開し、水溶液中で極めて安定な三次元かご型超分子が定量的にできることを見出した。

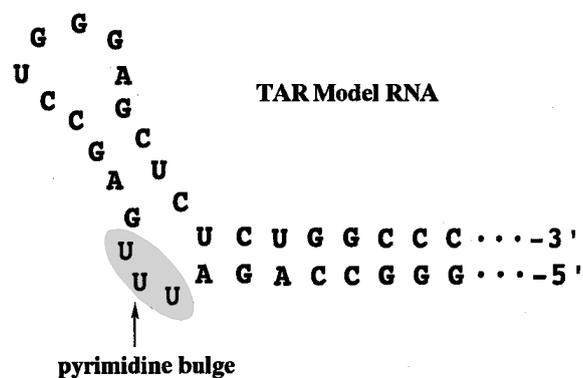


Fig. 4. ATAR model (TAR₃₃), containing residues 17-43 of HIV-1 mRNA and three additional GC pairs.

我々は、分子内に2つのイミド基を持つバルビタールが、中性水溶液中で二核錯体 **49** と1対1複合体 **60** 及び2対2複合体を作ること確かめた (Chart 22)。⁵⁷⁾ バルビタールの2つのイミドプロトンの pK_a は7.9と12以上であるにも関わらず、**60** が安定なため、中性 pH でプロトンが解離するのである。そこで分子内に3つのイミド基を持つシアヌル酸 (CA) が、3つの Zn^{II}-cyclen を持つ tris (Zn^{II}-cyclen) **61** と水溶液中で1対1複合体 **62** を生成するかどうか興味をもたれた (Chart 23)。

アルカリ水中から得られた結晶の元素分析は1対

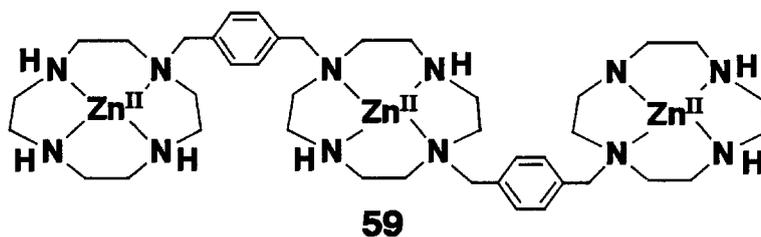


Chart 21

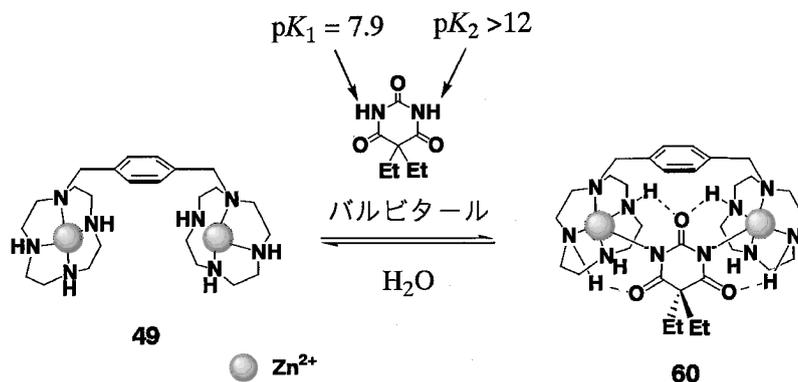


Chart 22

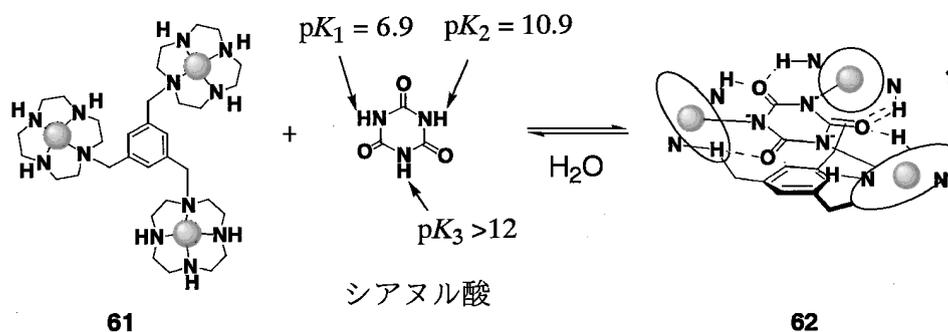


Chart 23

1 複合体 **62** の構造を支持したが、X 線構造解析によって全く予想外の 4 対 4 集積体であるカゴ型超分子 **63** であることが分かった⁵⁸⁾

63 の外形はナノメートルスケールを持つ cuboctahedron (立方八面体) **64**, そして内部空間は truncated tetrahedron (切頂四面体) **65** で表すことができる (Chart 24). 残念なことに、**63** は結晶や DMSO 中のみで安定であり、中性水溶液中では極めて不安定であった。これはシアヌル酸の 3 つ目のイミドプロトンの $\text{p}K_3$ が 12 以上と非常に高いためであると考えられた。

中性水溶液中において **65** のようなナノスケール空間を安定に構築できれば、例えばシクロデキトリンのように有機化合物の認識場になり得ると考えられる。そこでシアヌル酸よりも低い $\text{p}K_a$ 値を持つ (=酸性度が高い) homologue であるトリチオシアヌル酸 (TCA) を用いた (Chart 25).

61 と TCA を 1 対 1 で含む水溶液 (pH 9) から無色プリズム晶が得られ、X 線結晶構造解析の結果、**61** と TCA トリアニオン (TCA^{3-}) の 4 対 4 集積体 **66** のかご型構造が明らかになった。**66** は計 12 の強固な $\text{S}^- \text{Zn}^{\text{II}}$ 配位結合と計 12 の cyclen N-H

化合物の創造及び新規の超分子概念の創造をすることができた。

本研究は新設の広島大学医学部総合薬学科活性構造化学教室において、すべて創成、展開されたものであり、児玉睦夫教授（弘前大）、故八並高志、町田良輔（現日本レダリー）、小池透（現広島大教授）、塩谷光彦（現東京大教授）、青木伸各助教授、及び木下（菊田）恵美子技官を中心として多くの大学院生、学生など献身的な教職員諸君によって成された努力の成果である。X線結晶構造解析の多くは、長年にわたり、城始男博士（理化学研究所）によってなされたものであり、ここに厚く感謝する。

REFERENCES

- 1) a) Curtis N. F., House D. A., *Chem. Ind.* (London), **1961**, 1708–1709; Curtis N. F., b) *Coord. Chem. Rev.*, **3**, 3–47 (1968).
- 2) Stetter H., Mayer K. H., *Chem. Ber.*, **94**, 1410–1416 (1961).
- 3) Pedersen C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 2495–2496 (1967).
- 4) a) Busch D. H., Farmery K., Goldken V., Katicovic V., Melnyk A. C., Sperati C. R., Tokel N., *Bioinorg. Chem.*, **100**, 44–78 (1971); b) Busch D. H., *Acc. Chem. Res.*, **11**, 392–400, (1978); c) Kimura E., *Yuki-gousei kagaku*, **35**, 632–641 (1977).
- 5) a) Kodama M., Kimura E., *J. C. S. Chem. Comm.*, **1975**, 326–327; b) *ibid.*, **1975**, 891–892.
- 6) a) Kimura E., *Kagaku-no-ryouiki*, **35**, 25–34 (1981); b) *Idem.*, *Pharmacia*, **18**, 689–692 (1982); c) *Idem.*, *Yakugaku Zasshi*, **102**, 701–715 (1982).
- 7) Kimura E., “Crown Ethers and Analogous Compounds,” ed. by Hiraoka M., Elsevier 1992, pp. 381–478.
- 8) Yatsunami T., Sakonaka A., Kimura E., *Anal. Chem.*, **53**, 477–481 (1981).
- 9) Kimura E., Sakonaka A., Yatsunami T., Kodama M., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3401 (1981).
- 10) Kimura E., Kodama M., Yatsunami T., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 3182–3187 (1982).
- 11) a) Nakai C., Glinsmann W., *Biochemistry*, **16**, 5636–5641 (1977); b) Bunce S., Kong E. S. W., *Biophys. Chem.*, **8**, 357–368 (1978).
- 12) a) Tabor C. W., Tabor H., *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 285–306 (1976); b) Sakai T. T., Choen S. S., *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **17**, 15–42 (1976).
- 13) Quigley G. J., Teater M. M., Rih A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 64–68 (1978).
- 14) Inoue H., Takeda Y., *Seikagaku*, **49**, 411–428 (1977).
- 15) Yoshino M., Murakami K., *Seikagaku*, **51**, 1328–1336 (1979).
- 16) Aguilar J. A., Espana E. G., Guerrero J. A., Luis S. V., Llinares J. M., Miravet J. F., Ramirez J. A., Soriano C., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1995**, 2237–2239.
- 17) a) Umezawa Y., Kataoka M., Takami W., Kimura E., Koike T., Nada H., *Anal. Chem.*, **60**, 2392–2396 (1988); b) Kataoka M., Naganawa R., Odashima K., Umezawa Y., Kimura E., Koike T., *Anal. Lett.*, **22**, 1089–1105 (1989); c) Odashima K., Naganawa R., Kimura E., Koike T., Sessler J. L., *Supramol. Chem.*, **4**, 101–104 (1994).
- 18) a) Kodama M., Kimura E., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1979**, 325–329; b) *Idem.*, *ibid.*, **1981**, 694–700; c) Ishizu K., Hirai J., Kodama M., Kimura E., *Chem. Lett.*, **1979**, 1045–1048; d) Kimura E., Lin Y., Machida R., Zenda H., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1986**, 1020–1022.
- 19) Kimura E., Dalimunte C. A., Yamashita A., Machida R., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1985**, 1041–1043.
- 20) Kimura E., Kurogi Y., Wada S., Shionoya M., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1989**, 781–783.
- 21) Kimura E., Kurogi Y., Tojo T., Shionoya M., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4857–4864 (1991).
- 22) Kimura E., Kurogi Y., Takahashi T., *Inorg. Chem.*, **30**, 4117–4121 (1991).
- 23) Kimura E., Kurogi Y., Koike T., Shionoya M., Iitaka Y., *J. Coord. Chem.*, **28**, 33–49 (1993).
- 24) Margerum D. W., Wong L.F., Bossu F. P., Challappa K. L., Czarnecki J. J., Kirlsey S. T., Jr., Mewbecker T. A., *Bioinorg. Chem. II*, **162**, 281 (1977).
- 25) Bossu F. P., Margerum D. W., *Inorg. Chem.*,

- 16, 1210–1212 (1977).
- 26) Kimura E., Sakonaka A., Machida R., Kodama M., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 4255–4257 (1982).
- 27) Kimura E., Machida R., Kodama M., *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5947–5505 (1984).
- 28) Chen D., Martel A. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 9411–9412 (1990).
- 29) Kimura E., Machida R., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1984**, 499–500.
- 30) Kimura E., *Pure Appl. Chem.*, **58**, 1461–1466 (1986).
- 31) Kimura E., Koike T., Takahashi M., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1985**, 385–386.
- 32) Kimura E., Koike T., Iitaka Y., *Inorg. Chem.*, **25**, 402–404 (1986).
- 33) a) Kimura E., Uenishi K., Koike T., Iitaka Y., *Chem. Lett.*, **1986**, 1137–1140; b) Kimura E., Koike T., Uenishi K., Davidson R. B., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1986**, 1110–1111.
- 34) a) Kimura E., Yamaoka M., Morioka M., Koike T., *Inorg. Chem.*, **25**, 3883–3886 (1986); b) Kimura E., Koike T., Toriumi K., *Inorg. Chem.*, **27**, 3687–3688 (1988).
- 35) Kimura E., Joko S., Koike T., Kodama M., *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5528–5529 (1987).
- 36) Kimura E., Koike T., Nada H., Iitaka Y., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1986**, 1322–1323.
- 37) Kimura E., Shionoya M., Mita T., Iitaka Y., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1987**, 1712–1714.
- 38) Kimura E., Kotake Y., Koike T., Shionoya M., Shiro M., *Inorg. Chem.*, **29**, 4991–4996 (1990).
- 39) Kimura E., Kodama Y., Shionoya M., Koike T., *Inorg. Chim. Acta.*, **246**, 151–158 (1996).
- 40) Kimura E., Shionoya M., Yamauchi T., Shiro M., *Chem. Lett.*, **1991**, 1217–1220.
- 41) a) Kimura E., Koike T., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (feature article), **1998**, 1495–1500; b) Kimura E., *Acc. Chem. Res.*, **34**, 171–179 (2001).
- 42) Kimura E., Shiota T., Koike T., Shiro M., Kodama M., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5805–5811 (1990).
- 43) Zhang Z., Eldrik R., Koike T., Kimura E., *Inorg. Chem.*, **32**, 5479–5755 (1993).
- 44) Koike T., Kimura E., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 8935–8941 (1991).
- 45) Koike T., Kimura E., Nakamura I., Hashimoto Y., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7338–7345 (1992).
- 46) Fujioka H., Koike T., Yamada N., Kimura E., *Heterocycles*, **42**, 775–787 (1996).
- 47) Kimura E., Koike T., Shionoya M., Shiro M., *Chem. Lett.*, **1992**, 787–790.
- 48) a) Koike T., Watanabe T., Aoki S., Kimura E., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 12696–12703 (1996); b) Kimura E., Koike T., *Chem. Soc. Rev.*, **27**, 179–184 (1998).
- 49) Hamilton A. D., Hinge D. V., *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5035–5045 (1987).
- 50) Shionoya M., Kimura E., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 6730–6737 (1993).
- 51) Shionoya M., Ikeda T., Kimura E., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3848–3859 (1994).
- 52) Kikuta E., Murata M., Katsube N., Koike T., Kimura E., *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 5426–5436 (1999).
- 53) Kimura E., Ikeda T., Aoki S., Shionoya M., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **3**, 259–267 (1998).
- 54) Kikuta E., Katsube N., Kimura E., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **4**, 431–440 (1999).
- 55) Kikuta E., Koike T., Kimura E., *J. Inorg. Biochem.*, **79**, 253–259 (2000).
- 56) Kikuta E., Aoki S., Kimura E., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 7911–792 (2001).
- 57) Koike T., Takashige M., Kimura E., Fujioka H., Shiro M., *Chem. Eur. J.*, **2**, 617–623 (1996).
- 58) Aoki S., Shiro M., Koike T., Kimura E., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 576–584 (2000).
- 59) Aoki S., Shiro M., Kimura E., *Chem. Eur. J.*, in press.