

酸化酵素機能モデル鉄錯体の開発研究

小谷 榮一

The Development Research of Oxidase Functional Model Iron Complexes

Eiichi KOTANI

Showa Pharmaceutical University, 3-3165 Higashitamagawagakuen, Machida 194-8543, Japan

(Received September 13, 2004)

This paper describes research performed in the Laboratory of Organic Chemistry, Showa Pharmaceutical University. Oxidation reactions involving the oxidase can be divided roughly into two kinds of reactions: The first involves electron removal from an aromatic ring or an active CH-bond. The other reaction involves hydrogen abstraction from an inactive CH-bond. The oxidase models, $\text{Fe}(\text{DMF})_3\text{Cl}_2^+$ and $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}/\text{AN}$, which we have synthesized, have been shown to work by the former mechanism, and the models $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}-\text{IO}_4^-/\text{AN}$, $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}-\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$, $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}-2\text{PAH}-5\text{Py}-\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$, $\text{Fe}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ and $\text{Fe}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)-\text{O}_2\text{-electrolysis}/\text{AN}$ do so by the latter mechanism. Further, we found some iron (II or III) picolinate- $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ complexes have the 7α -hydroxylase-like activity.

Key words—redox potential; oxidative phenol coupling; iron picolinate; cholesterol 7α -hydroxylase; oxidase functional model

1. はじめに

本稿は、筆者が学生時代を含め 1960 年から 2004 年までの 44 年間、昭和薬科大学において、恩師飛永精照教授及び薬化学研究室スタッフの皆さんとともにやってきた研究の内、鉄を中心とした表題の研究に関する考えの元になった部分と、研究を通して学んだこと感じたことを中心に記述したものである。本来、平成 9 年度退官時に飛永教授が執筆すべきところを、その時、先生は民族薬学¹⁾についてのみ執筆された。筆者は学部 3 年次、当時飛永先生担当の裁判化学の実習で問題解決型学習が取り入れられていて、ヘム鉄酵素ペルオキシダーゼを使用した酸化反応に関する自由研究をやらせてもらった。この実習がきっかけとなって筆者はその後飛永研究室に残り酸化酵素モデルの研究を続けることとなった。当時の飛永先生はアメリカの E. J. Corey 教授のもとで limonin の構造決定^{2,3)}に参加され帰国されたばかりであった。ミカン科植物に含まれる苦味

成分 limonin は、トリテルペンの高度に酸素化された生成物で、1959 年イギリスの D. H. R. Barton 教授、スイスの O. Jeger 教授、及びアメリカの E. J. Corey 教授の 3 グループの共同研究の結果その構造が明らかになったものである。飛永教授が酸化酵素反応を指標とした酸化反応の研究を始められたのには、この limonin との出会いがあったからと推察される。われわれの研究の目標は、チトクロム P450 やペルオキシダーゼのようなヘム鉄天然酵素が自然に行っている位置選択的及び立体選択的酸化反応を、蛋白で修飾されたポルフィリン鉄あるいは、それから蛋白部分を除き活性点のポルフィリン鉄を残した $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TPP})\text{Cl}$ のような構造の類似した構造モデルではなく、構造のできるだけ簡単な鉄錯体を用いて酵素と同一機能を発現する機能モデルを開発して、天然で行われている高度の反応をコルベン内で実現することであった。

当時から最も簡単な水酸化試薬として知られていた水中で Fe^{2+} と H_2O_2 から $\cdot\text{OH}$ ラジカルを生成する Fenton 系は、溶媒を例えば水からアセトニトリル (AN) に変えるだけで、iron-bound 活性種を生成し、基質によっては多少選択性を出せることが

昭和薬科大学 (〒194-8543 町田市東玉川学園 3-3165)

e-mail: kotani@ac.shoyaku.ac.jp

本総説は、平成 15 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。

のちに明らかにされた。⁴⁻⁶⁾ 水溶液中では生成した $\cdot\text{OH}$ ラジカルより溶媒の水が鉄に配位してしまうため、 $\cdot\text{OH}$ ラジカルは iron-bound ではなく、free $\text{OH}\cdot$ となってしまうため、位置及び立体選択的反応は望めなかったと考えられる。

われわれは大別して2種類の非ヘム鉄酸化試薬系の開発を目指して研究を行ってきた。われわれの開発した両酸化試薬系の簡単な紹介は、ごく最近のものを除き、既に飛永教授が2回にわたりそれぞれ1975年⁷⁾及び1988年⁸⁾のファルマシア誌上でされている。その1つは、主に phenol あるいは non-phenol のような芳香環から3価鉄 d-軌道への電子引き抜き (ET 機構) で反応の始まる酸化的フェノールカップリング反応、及びそれをキーステップとするアルカロイド等の生合成的合成研究のための酸化試薬系の開発⁷⁾であり、今1つは飽和炭化水素から高原子価オキソ鉄への水素引き抜き (HAT 機構) で反応が始まると考えられるモノオキシゲナーゼモデル系の開発⁸⁾である。

生体内で前者の反応はペルオキシダーゼ⁹⁾とチトクロム P450¹⁰⁾が触媒し、後者の反応を触媒しているのはヘム鉄酵素としては主にチトクロム P450 である。そしてカタラーゼ、ペルオキシダーゼ及びペ

ルオキシダーゼ同様 O_2 ではなく H_2O_2 を酸化剤としてバイパスいわゆる Shunt 経路で生成したチトクロム P450 の活性種も含めて、これらすべてのヘム鉄酵素の活性点構造は Fig. 1 に示したような compound I と呼ばれているオキソ鉄 (IV) π カチオンラジカル¹¹⁾ $(\text{porphyrin})\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ である。¹¹⁾ いずれの場合も、酸化剤として酸素 O_2 ではなく、過酸化水素 H_2O_2 を使用した場合には、NADPH のような還元剤は不要で H_2O_2 のみでサイクルは廻る。酸化剤として O_2 を使用した場合と H_2O_2 を使用した場合の還元剤共存の要、不要に関しては、鉄含有酵素モデル等の試薬系においても同様である。

われわれが開発した鉄錯体システムの内、ET 機構すなわち、芳香環や CH-bond からの電子引き抜きで反応が開始されていると考えられる系としては次の2システムがある。フェノールカップリング反応に使用された $\text{Fe}(\text{DMF})_3\text{Cl}_2 \cdot \text{FeCl}_4$ ¹³⁻¹⁵⁾ 及びアルキルベンゼンやケトンの活性メチレンをカルボカチオンにまで酸化する能力を有する $E^0=1.73\text{ V}$ vs SCE の $\text{Fe}(\text{AN})_3^+/ \text{AN}$ 系^{21,22)} である。HAT 機構すなわち CH-bond や OH-bond からの水素引き抜きで反応が始まると考えられる系としては次の5システムがある。アルカンのような不活性メチレンをカ

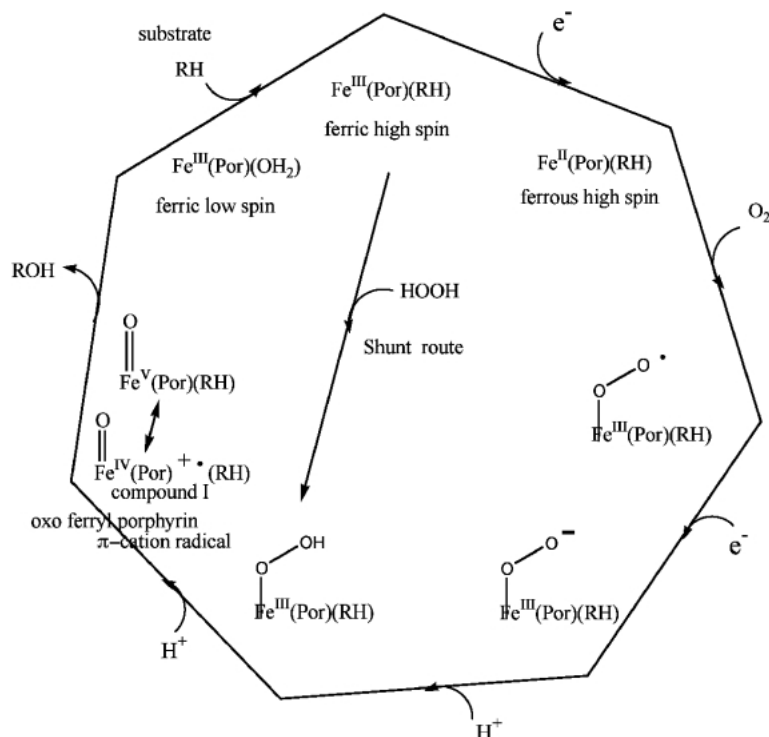


Fig. 1.

ルボカチオンにまで酸化する強い酸化力を有する $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}-\text{IO}_4^-$ 系.²³⁾ この系は最初水素引き抜き反応, 続いて電子引き抜き反応が起こりカルボカチオンを生成しているものと考えられる. Figures 5, 6 及び 8 に示したような強力でアルカンのアセトキシル化を行う $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}-\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系.³¹⁻³⁶⁾ Tables 2, 3, Figs. 6, 7 及び 8 に示したようにアルカンの酸素化, アルキルアミンの酸素化に有効な $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}-2\text{PAH}-5\text{Py}-\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系³⁹⁾ (以下 PAH: picolinic acid, PA: picolinate, Py: pyridine をそれぞれ示す). Figures 9, 11, Tables 4 及び 5 に示したように Δ^5 -steroids 等における allyl 位の位置選択的酸素化に最適な $\text{Fe}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系.⁴²⁻⁴⁴⁾ そして Fig. 11 及び Table 6 に示した $\text{Fe}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)-\text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系の H_2O_2 の代わりに O_2 と電解反応を組み合わせた⁴⁵⁾ $\text{Fe}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)-\text{O}_2$ -electrolysis/AN 系等がある.

2. 研究を始めた頃

飛永研究室に残って, 筆者の選んだ最初のテーマは酸化的フェノールカップリング反応を利用した colchicine (1) の生合成的全合成¹²⁾であった.

Colchicine (1) は tropolone 骨格を有するアルカロイドで, 日本薬局方にも収載されている医薬品である. コルヒチンを含むイヌサフランの球茎のエキスは紀元前から痛風治療薬として用いられていたが, colchicine も同じ目的に使用されている. またコルヒチンには染色体倍加作用があり, 植物の品種改良などにも用いられている. 飛永先生が天然有機化合物の生合成的合成に興味を持たれ, その最初のターゲットに colchicine (1) を選ばれた理由については, 先に紹介したファルマシア誌上⁷⁾で述べられている.

この合成計画は Fig. 2 に示したような Robinson の生合成仮説に基づいたもので, フラボンの中間体である chalcone (2; R=H) から出発し, 還元して化合物 (3; R=H) となし, 酸化的カップリング反応で spirodienone (4; R=H) とし, ついで C_1 -unit を導入して化合物 (5) とし, 環拡大反応と協奏的にアリル転位反応で desacetamidoiso-colchicine (6) としようとするものであった. これより colchicine (1) への誘導は既に Eschenmoser ら及び van Tamelen らによりなされていた. この Robinson 仮説の反応経路中化合物 (3) から (4) への反応は,

Robinson 仮説のキーステップであり, 当時, 植物体内ではペルオキシダーゼと過酸化水素による酸化的フェノール・カップリング反応により生成するものと考えられていた. さて, このフェノール・カップリング反応をコルベン中で行おうとするときの最大の難点は反応収率が一般に極めて悪いことである. われわれも化合物 (3) から (4) への酸化反応を当時知られていた種々の金属塩又は錯塩を用いて実験を試みたが, 収率は最高 30% を超えることができなかった. その時の最良条件は含水メタノール中塩化第二鉄による酸化を 10–15°C で行ったときのものである. しかしその後, われわれの新しく開発した DMF 鉄錯体 $[\text{Fe}(\text{DMF})_3\text{Cl}_2]$ $[\text{FeCl}_4]^{13-15)}$ を用いることにより, その収率を 67% にまで上げることができたが, この酸化剤もすべてのフェノールカップリング反応に有効であるとは言えず限界のあることが分かったので, われわれはついでより一般性の高い酸化方法を開発¹⁶⁻¹⁹⁾しようと考えた. その結果, 電解酸化法において, この種の反応には支持電解質として HBF_4 が最適であることを見出し, コルヒチン合成においても, より原料合成が容易な化合物 (2 及び 3; R=Me) を用いて, 新たに開発した条件で化合物 (3; R=Me) を電解酸化に付し spirodienone (4; R=Me) を 80%¹²⁾の好収率で得ることに成功した.

次の spirodienone (4) の一方の二重結合への選択的 C_1 -unit の導入は 42% の収率で進行し, 最後に化合物 (5) を $\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ で処理することにより, aryl 転位を伴う cyclopropane 環の開裂と脱水素酸化が一挙に進行し目的の desacetamidoiso-colchicine (6) を 90% の高収率で得ることに成功した.

化合物 (3) から (4) への反応収率を上げるための努力に関して先に紹介したファルマシア誌上⁷⁾で飛永教授が次のように述懐しておられる.

「天然物の合成には何段階もの反応のうち大抵少なくとも一箇所はその合成法を特徴づけるステップがあるもので, その段階が計画する人の考え方を最も良く表している箇所である. しかしながら, このような特徴ある反応は一般に反応収率が悪いもので, 私の師事した Corey 教授などはそのような反応の収率を上げるべく躍起になって努力するのである. 彼の合成研究に対する態度なり考え方というのは普通で言う全合成は完了していても収率の悪い反

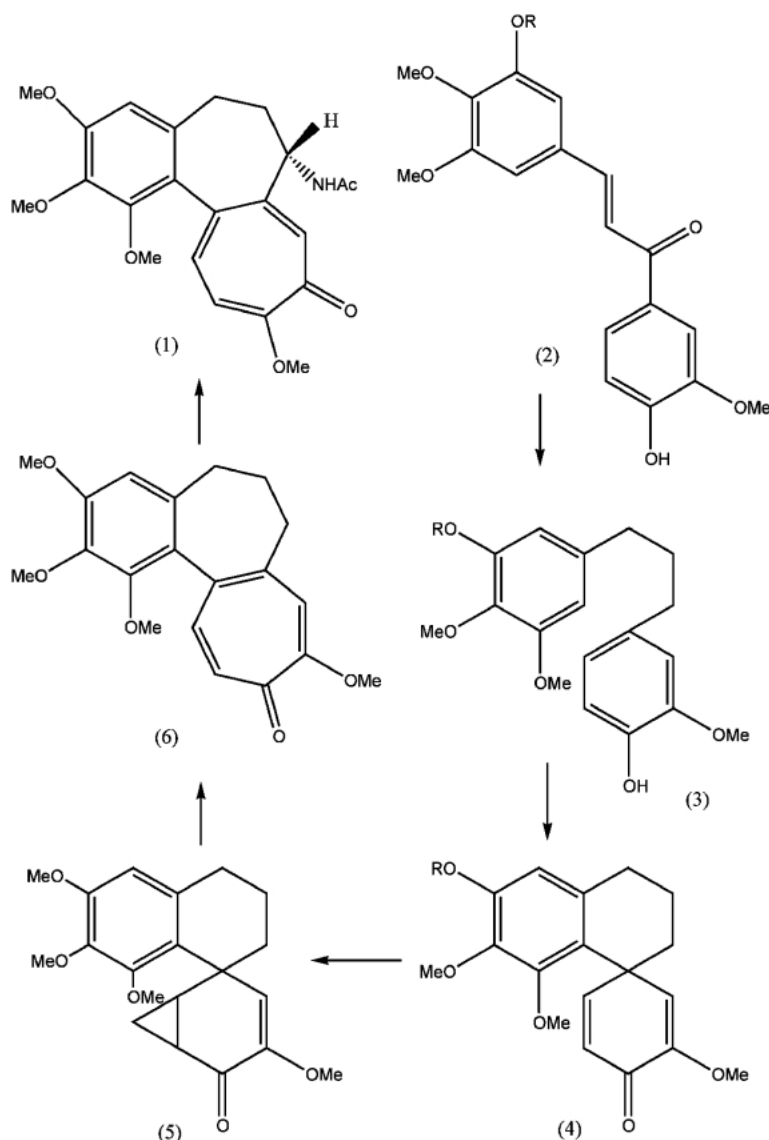


Fig. 2.

応を克服するために新しい反応を開発するなどしてようやく論文を書くという臨み方なのである。このような意味で化合物 (3) から (4) への酸化的カップリング反応を考えると、既存の試薬による収率で満足してすぐ論文を作るのではなく、反応収率を上げるため新しい試薬なり方法を開発しなければならぬと言えるし、また、生物は常に 100%に近い収量の反応を細胞中で行っているのであるから、生物反応に近づくための生合成的合成であるならばそれを克服するための努力がなされなければならぬと言えよう。」

この飛永教授の Corey 教授から受け継いだ研究に対する考え方のおかげで、コルヒチン全合成の論文発表までに十数年を要してしまっただが、それまで

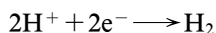
に常に新しいものを開発しようという態度が習慣として身に付いた感じがする。

3. 電子移動反応と標準酸化還元電位 (標準電極電位) E^0 について

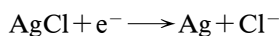
水素引き抜きではなく、電子移動で反応が始まる場合は酸化剤と基質のサイクリックボルタモグラム (電流電位曲線) をサイクリックボルタンメトリー (CV) で測定すれば、反応が進行するかどうかの目安を付けられる。サイクリックボルタモグラムから、酸化剤の標準酸化還元電位 (standard oxidation-reduction potential), 別名で標準レドックス電位 (standard redox potential) あるいは標準電極電位 (standard electrode potential) とも呼ばれる E^0 や、基質の酸化の始まる電位 (onset potential)

E_0 の情報が得られ、電子移動を伴う酸化還元反応が進行するかどうか判断²⁰⁾できる。例えば Fig. 3 に示した化合物の場合は、nonphenol であるが基質の E_0 と試薬の E^0 が近いので酸化が効率よく進み、MeCN 中 Iron (III) bipyridil 錯体 $\text{Fe}(\text{bpy})_3(\text{ClO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ によって収率 95% でカップリング成績体が得られている。

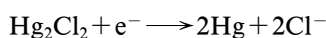
参照電極としては通常 Ag-AgCl 電極あるいは Hg-Hg₂Cl₂ 電極 (standard calomel electrode, SCE) が使用される。標準水素電極 (normal hydrogen electrode, NHE) との関係は次のごとくである。



$$E^0 = 0.0000 \text{ V vs NHE}$$



$$E^0 = +0.2224 \text{ V vs NHE}$$



$$E^0 = +0.2680 \text{ V vs NHE}$$

4. 標準酸化還元電位 E^0 と自由エネルギー変化 ΔG との関係

Figure 3 に示したように基質の酸化波の E_0 に近い E^0 を持つ酸化剤を選ぶことが酸化が進行しなかったり進み過ぎるのを防ぎ酸化収率を上げるためには必要である。酸化剤の酸化力を予想するために、また酸化酵素の活性点付近が多くの場合疎水領域であることを考慮して酵素モデルを考える必要がある。

標準酸化還元電位 E^0 と標準自由エネルギー変化 ΔG^0 、標準エンタルピー変化 ΔH^0 との関係は次のごとくである。

$$nFE^0 = -\Delta G^0 = -(\Delta H^0 - T\Delta S^0)$$

なおエネルギー単位の換算は $1 \text{ eV} = 23.06 \text{ kcal/mol} = 96.5 \text{ kJ/mol}$ 。 $\text{H}^+(\text{aq}) + \text{e}^- \rightarrow 1/2\text{H}_2(\text{gas})$ の全自由エネルギー変化 $\Delta H = -105 \text{ kcal/mol}$ (4.55 eV) を基準として $\Delta G^0 = 0.0000 \text{ kcal/mol}$, $E^0 = 0.0000 \text{ V}$ と定めるので、全自由エネルギー変化 ΔG 、全エン

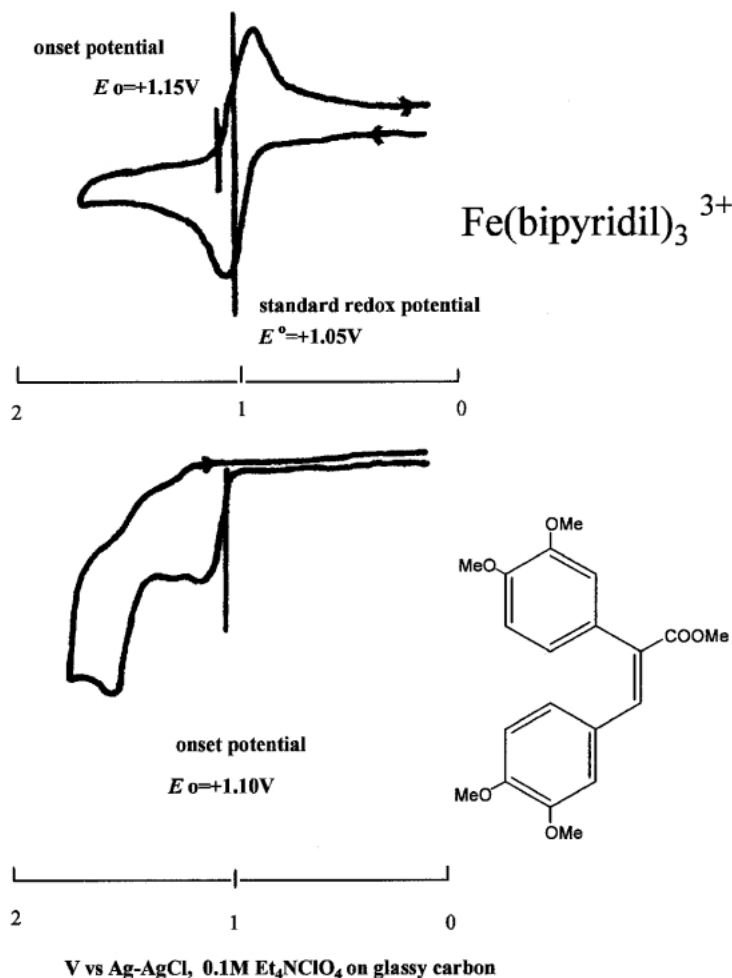
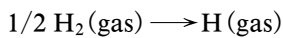
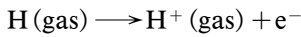


Fig. 3.

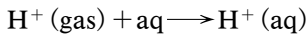
タルピー変化 ΔH と標準自由エネルギー変化 ΔG^0 , 標準エンタルピー変化 ΔH^0 との関係は Fig. 4 に示したようになる。



H_2 の結合解離エネルギー +52 kcal/mol (+2.25 eV)

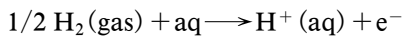


H の Ionization potential +314 kcal/mol (+13.62 eV)

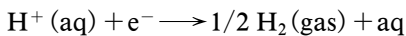


H^+ の水和エネルギー -261 kcal/mol (-11.32 eV)

したがって



$$\Delta H = 2.25 + 13.62 - 11.32 = +4.55 \text{ eV}$$

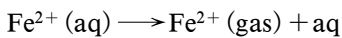


$$\Delta H = -4.55 \text{ eV}$$

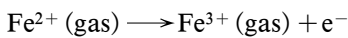
この系を基準に取り, $\Delta H^0 = \Delta G^0 = 0.0000 \text{ eV}$ (0.0000 kcal/mol), $E^0 = 0.0000 \text{ V}$

とすると,

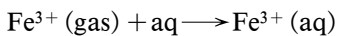
例えば $\text{Fe}^{3+}(\text{aq}) + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}(\text{aq})$ の ΔG^0 と E^0 は次のごとくなる。



$$\text{Fe}^{2+} \text{ の脱水和エネルギー } +19.77 \text{ eV}$$

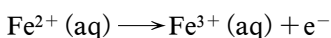


$$\text{Fe} \text{ の第 3 イオン化エネルギー } +30.57 \text{ eV}$$



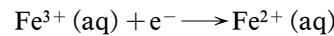
$$\text{Fe}^{3+} \text{ の水和エネルギー } -45.14 \text{ eV}$$

したがって



$$\Delta H = +19.77 + 30.57 - 45.14 = +5.20 \text{ eV},$$

$$\Delta G = +5.32 \text{ eV}$$



$$\Delta G = -5.32 \text{ eV}$$

$$\Delta G^0 = -5.32 - (-4.55) = -0.77 \text{ eV}$$

したがって $E^0 = -\Delta G^0 = +0.77 \text{ V vs NHE}$, $E^0 = +0.77 - 0.2224 = +0.55 \text{ V vs Ag-AgCl}$, $E^0 = +0.77 - 0.2680 = +0.50 \text{ V vs SCE}$ となる。

一般に FeL_6^{3+} の酸化力の強さは, $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ へのイオン化エネルギー+30.57 は変わらず, 溶媒も含めて配位子 L の $\text{Fe}^{2+}(\text{gas})$ に対する配位エネルギーは $\text{Fe}^{3+}(\text{gas})$ に対する配位エネルギーを超えるとは考えられないので, $\text{Fe}^{3+}(\text{gas})$ に対する配位力が弱く, $\text{Fe}^{2+}(\text{gas})$ に対する配位力が相対的に強くて FeL_6^{2+} を安定化させるものほど酸化力は強くなるのが分かる。 Fe^{3+} のまわりが限りなく真空に近い疎水空間であれば, $E^0 = 30.57 - 4.55 = 26.02 \text{ V vs NHE}$ となることが予想される。

5. すべての溶媒和鉄錯体^{21,22}中最高の E^0 を持つアセトニトリル鉄錯体 $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+/3+}$

先に述べたコルヒチンの合成に際し開発した DMF 鉄錯体 $[\text{Fe}(\text{DMF})_3\text{Cl}_2]$ $[\text{FeCl}_4]^{13-15}$ は, 市販の無水塩化第二鉄 $\text{FeCl}_3\text{-dry ether}$ 溶液に攪拌下 1.5 倍モルの DMF を滴下すると, 化学量論的に黄緑色の粉末状結晶が析出し, それを $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-EtOH}$ より再結晶することにより得られた。 DMSO 錯体 $[\text{Fe}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ $[\text{FeCl}_4]$ も同様にして簡単に得られる。塩化第二鉄自身の結晶あるいは水溶液中の構造は $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2] \text{Cl}$ で, DMSO や DMF は H_2O より配位力の指標である DN_{SbCl_5} がかなり大き

Born-Haber Cycle

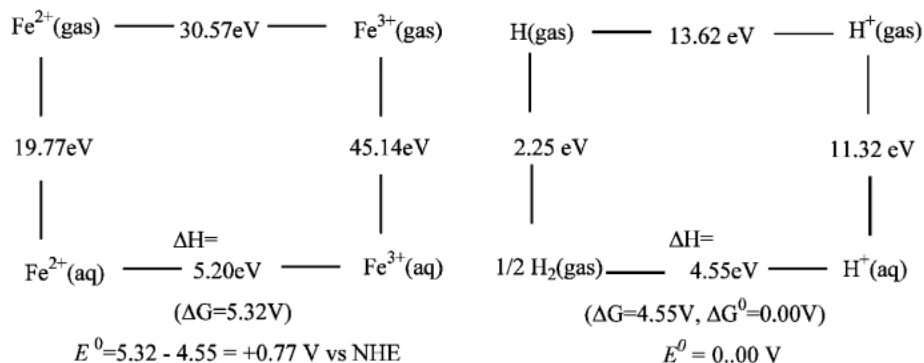
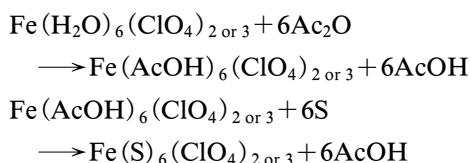


Fig. 4.

いにも係わらず、いずれの場合も、陽イオン部分で鉄に塩素イオン Cl^- 2個がかなりの共有結合性で配位したままである。 Cl^- イオンを ClO_4^- イオンに代えると、 ClO_4^- イオンでは同じ -1 の荷電が広い範囲に分散しているので金属陽イオンへの配位力が弱く、金属イオンとの共有結合性はなくなり、陽イオンとはイオン対を作るだけとなる。われわれはこの ClO_4^- イオンの化学的性質を利用して、市販の過塩素酸第二鉄 $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ あるいは過塩素酸第一鉄 $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ から各種溶媒和鉄錯体 $\text{Fe}(\text{S})_6(\text{ClO}_4)_3$ あるいは $\text{Fe}(\text{S})_6(\text{ClO}_4)_2$ の溶液が簡単に得られることを見出した。第一鉄、第二鉄いずれの場合も結晶水は化学量論の無水酢酸 Ac_2O により瞬時に分解され酢酸となる。意外なことに、酢酸の配位力は非常に弱く、ドナー数 DN_{SbCl_5} 2.7 の nitromethane によっても瞬時に置きかわる (Table 1)。



得られた各種溶媒和鉄錯体の中で、アセトニトリル (AN, MeCN) 鉄錯体の酸化還元電位は一番高く $1.73 \text{ V vs SCE}^{21,22}$ を示し、 $\text{Fe}(\text{bpy})_3(\text{ClO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ の $E^0 = 1.10 \text{ V vs SCE}^{20}$ よりはるかに高く、 $\text{Fe}(\text{AN})_6(\text{ClO}_4)_3$ が alkylbenzene のベンジル位 CH-bond や carbonyl の活性メチレンから電子を引き抜きカルボカチオンを生ずるほどの強力な酸化剤となることを見出した。

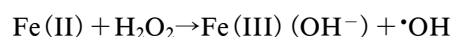
Table 1. Formal Redox Potentials ($E^0 \text{ V vs SCE}$) of $\text{Fe}(\text{S})_6^{2+/3+}$ in Donor Solvents (S)

Solvent (S)	DN_{SbCl_5}	$E^0 \text{ V vs SCE}$
Nitromethane	2.7	1.30
Acetic anhydride	10.5	1.32
Acetonitrile	14.1	1.73
Sulfolane	14.8	1.39
Propylene dicarbonate	15.1	1.28
Acetone	17.0	1.28
Ethyl acetate	17.1	1.24
Water	18.0	0.48
Methanol	19.0	0.70
Dimethylformamide	26.6	0.38
Dimethylsulfoxide	29.8	0.22

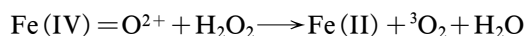
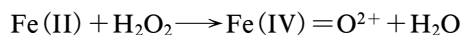
さらに、 $\text{Fe}(\text{AN})_6(\text{ClO}_4)_3$ のアセトニトリル溶液に粉末状の NaIO_4 を加えて溶かし、得られる溶液 $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}-\text{IO}_4^-$ は alkane の中では比較的 Oxidation onset potential E_0 の比較的低い adamantane ($E_0 = 2.5 \text{ V vs SCE}$) は無論 cyclohexane ($E_0 = 2.7 \text{ V vs SCE}$) から水素及び電子を引き抜きカルボカチオンを生ずるほどの強力な酸化剤²³⁾ となることを見出した。

6. 時を同じくして出た D. T. Sawyer らのアセトニトリル鉄錯体 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{MeCN})_4(\text{ClO}_4)_2$ に関する論文²⁴⁻²⁸⁾

D. T. Sawyer らは無水塩 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{MeCN})_4(\text{ClO}_4)_2$ を dry MeCN 中での $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6 \cdot (\text{ClO}_4)_2$ の再結晶を繰り返すことにより得、dry MeCN 中では過酸化水素との反応性も含水溶媒中とは全然異なることを報告している。Sawyer らは過酸化水素も市販の 30% $-\text{H}_2\text{O}_2$ から 0°C で高度真空乾燥することにより 100% の純粋過酸化水素を得、これを dry MeCN で薄めた溶液を使用している。先に述べたように、水中では Fe(II) と H_2O_2 より次の Fenton 反応が進行し、鉄は 3 価に変化し、水酸ラジカル $\cdot\text{OH}$ を生成するが、



dry MeCN 中すべて無水条件では次の反応が起こり、1 分子の H_2O_2 が酸化剤として働き free の $\cdot\text{OH}$ ラジカルではなく、iron-bound の高原子価オキソ鉄 $\text{Fe}(\text{IV})=\text{O}^{2+}$ を生じ、 $\text{Fe}(\text{IV})=\text{O}^{2+}$ によって今度はもう 1 分子の H_2O_2 が酸化されて基質が H_2O_2 以外存在しない場合には三重項酸素 $^3\text{O}_2$ を生成するが、diphenylisobenzofuran (DPBF) 等の diene が存在する場合には singlet oxygen $^1\text{O}_2$ を生じ直ちにその付加体が生成することを見出している。

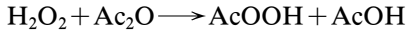
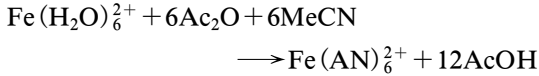


いずれの場合にも無水条件では、鉄の原子価は反応の前後で Fe(II) のままで変化していない。

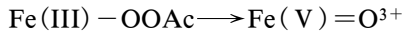
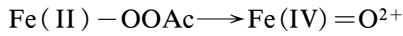
7. 酸素化酵素機能モデル $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系^{31,32)}

先に示したように、われわれも MeCN 中市販の過塩素酸第一鉄 $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ あるいは過塩素酸第二鉄 $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ と無水酢酸から $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{MeCN})_6(\text{ClO}_4)_2$ あるいは $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{MeCN})_6(\text{ClO}_4)_3$ ^{21,22)} が簡単に得られることを見出してい

た。またこの系では結晶水ばかりでなく 30% 過酸化水素中の水も鉄イオンが触媒となって瞬時に分解され酢酸となり、さらに過酸化水素 H_2O_2 も直ちにアセチル化され過酢酸 AcOOH となる。



過酢酸 AcOOH はチトクロム P450 同様のいわゆる Effector 効果^{29,30}も働いて、直ちに $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}$ あるいは $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}$ と反応し、



活性種 $\text{Fe}(\text{IV}) = \text{O}^{2+}$ あるいは $\text{Fe}(\text{V}) = \text{O}^{3+}$ を生成し、瞬時 (H_2O_2 の滴下と同時に) cyclohexane や benzene のような比較的酸化され難い基質をも acetoxyl 化^{31,32}する。本反応の反応速度は非常に早

く、通常触媒量の過塩素酸第一鉄 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6 \cdot (\text{ClO}_4)_2$ と十分量の Ac_2O 及び基質を MeCN に溶かした溶液に室温攪拌下 30%- H_2O_2 の MeCN 溶液を滴下し、滴下終了と同時に氷水に注ぎ処理する。反応後の鉄の原子価は $\text{Fe}(\text{II})$ と $\text{Fe}(\text{III})$ の混じった状態になる。Benzene のような E_0 が 2 V vs SCE 以上の基質で触媒として過塩素酸第一鉄の代わりに過塩素酸第二鉄のみを使用した場合も、反応後の鉄の原子価は $\text{Fe}(\text{II})$ と $\text{Fe}(\text{III})$ の混じったものとなった。^{31,32} その後この系を methyl cyclohexylphenylglycolate,³³ methyl valproate,³⁴ (+)-camphor^{35,36} 等の酸素化に適用し、代謝物との比較を行い、前二者については Fig. 5 に示したような酸素化酵素機能モデルとして有効と考えられる興味ある結果が得られた。

Figure 5 に示したように、methyl cyclohexyl-

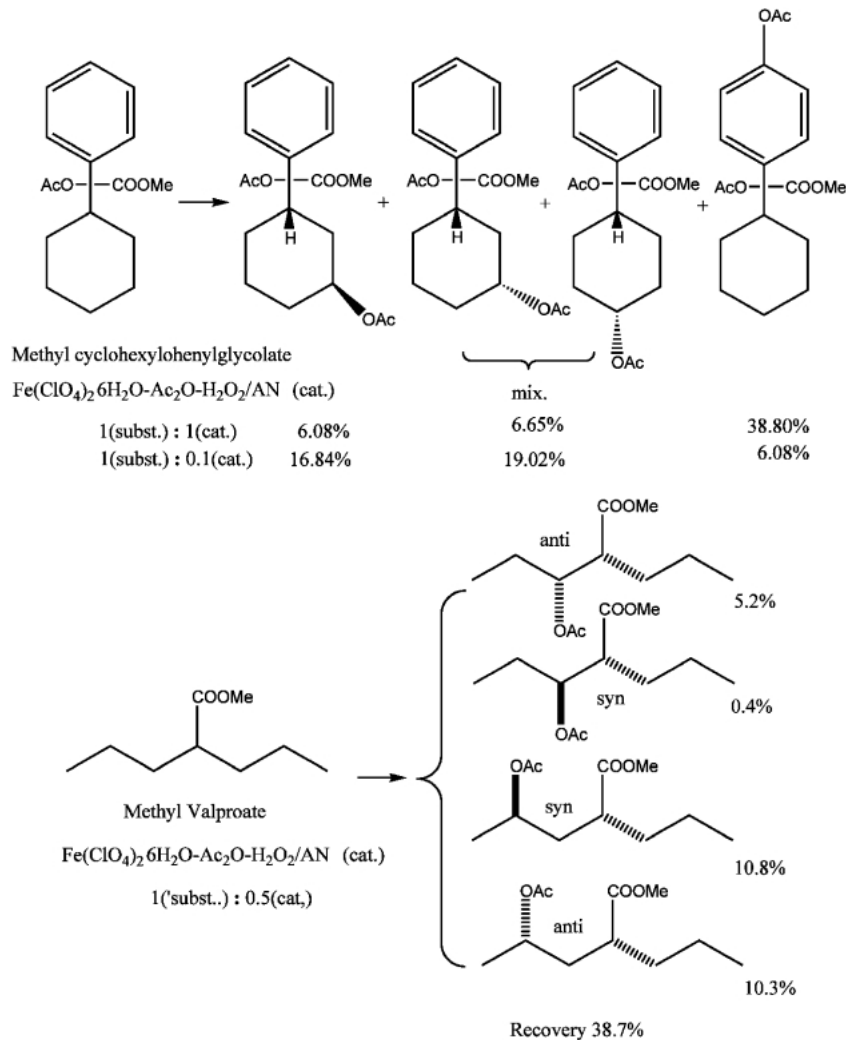


Fig. 5.

phenylglycolate の場合触媒の鉄量が多いと芳香環, 少ないと脂肪族環への水酸化が優先した. また methyl valproate では生体内代謝同様, エステルの α 位-活性メチンでの水酸化反応は進行していない.

この系は脂肪族, 芳香族両炭化水素類やエステル類の酸素化では酸素化酵素モデルとして非常にその有効性を発揮するが, 活性中心の鉄にドナー数の小さいアセトニトリルが配位しているだけなので, 容易に配位子交換が起こり, ドナー数の大きいアミンやアミド類を基質とした場合は Fig. 7 に示したよ

うに, 基質の鉄への配位により不活性化してしまう欠点がある. そこでアミノ基やアミド基を含む窒素系薬物のアルキル C-H 結合酸素化のためこの酸素化酵素モデル系の改良を試みた.

8. 酸素化酵素機能モデル $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot 2\text{PAH} \cdot 5\text{Py} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系³⁹⁾

先に述べた方針に従い $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系をベースにして, これに通常薬物のアミノ基やアミド基より鉄に対して強く配位し, なおかつ不活性 C-H 結合酸素化反応に対する触媒活性を失

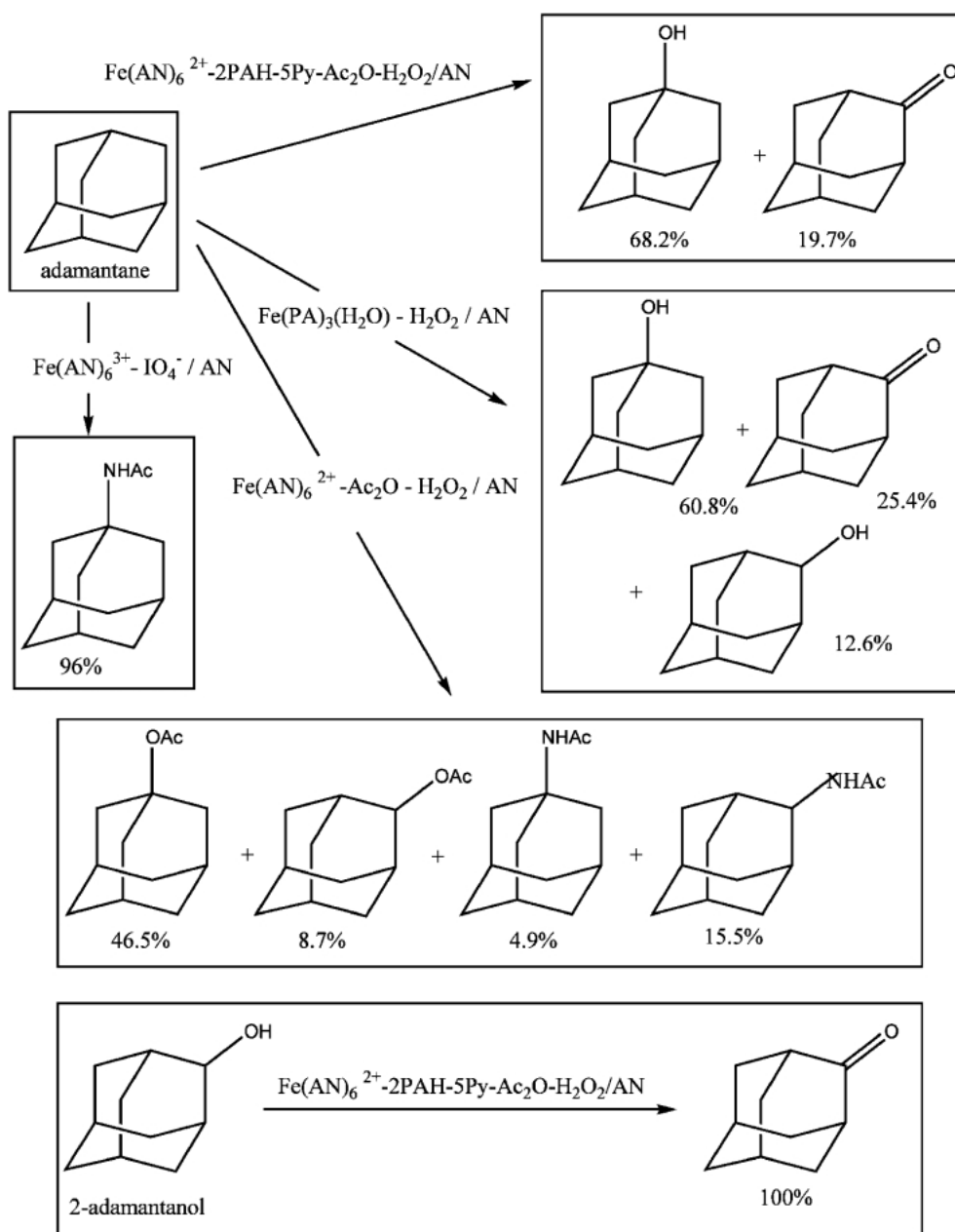


Fig. 6.

わなないキレート性配位子として picolinate を選び、picolinic acid (PAH) と pyridine (Py) を添加した系について、adamantane, hexobarbital 及び含窒素化合物の *N,N*-dimethylaniline 等を基質として酸化反応を試みた。ちょうどその当時酸化酵素モデルとして、D. H. R. Barton らの含水系 Gif システム^{37,38} $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - \text{PAH} - \text{H}_2\text{O}_2 / \text{Py} - \text{AcOH}$ 及び Sawyer ら²⁴⁻²⁸ の無水系 $\text{Fe}(\text{PA})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{Py} - \text{AcOH}$ があり、いずれの場合もこれらの系では $\text{Fe}(\text{PA})_2$ が変化して MeCN に不溶の μ -oxo dimer $[(\text{PA})_2\text{FeOFe}(\text{PA})_2]$ が生成するので溶媒としてこの dimer を溶かす Py-AcOH を使用している。

$\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系では酸化を行うとき、30% H_2O_2 1 mmol (0.11 ml) に対し、

Ac_2O を約 0.8 ml 必要としたが、 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot 2\text{PAH} \cdot 5\text{Py} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系では生成物はアルコールかケトンでアセテートを生成しないことから、 Ac_2O は前者の半分量の約 0.4 ml で十分で、まず $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ に Ac_2O を加え結晶水を除去したのち、溶媒の MeCN を加え、さらにピコリン酸 PAH 及びピリジン Py を鉄 1 mmol に対してそれぞれ 2 mmol と 5 mmol 添加し基質を加えて攪拌下、30% H_2O_2 の MeCN 溶液を滴下し、15 分後に処理した。Figures 6, 7, 8 及び Tables 2, 3 に示したような結果が得られ、アミンやアミド類も予想通り反応が進行した。³⁹

Figures 6, 7 及び 8 では $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot 2\text{PAH} \cdot 5\text{Py} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系のほか、 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot$

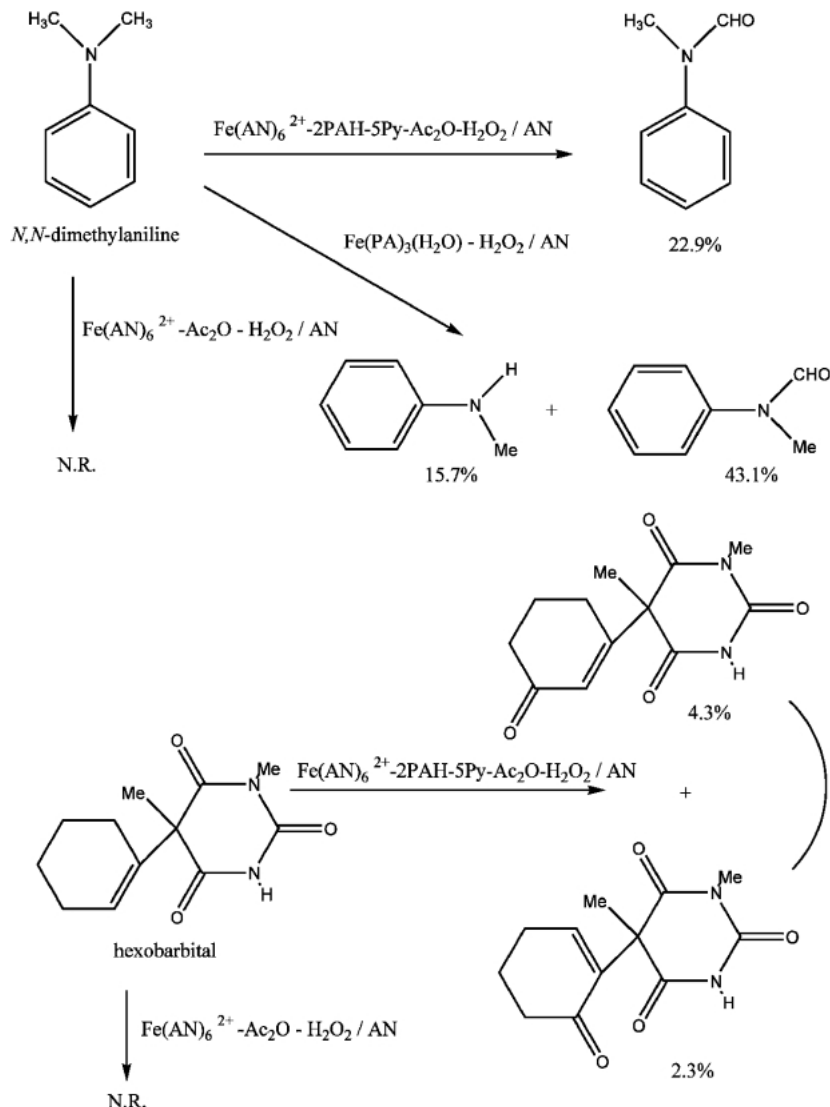


Fig. 7.

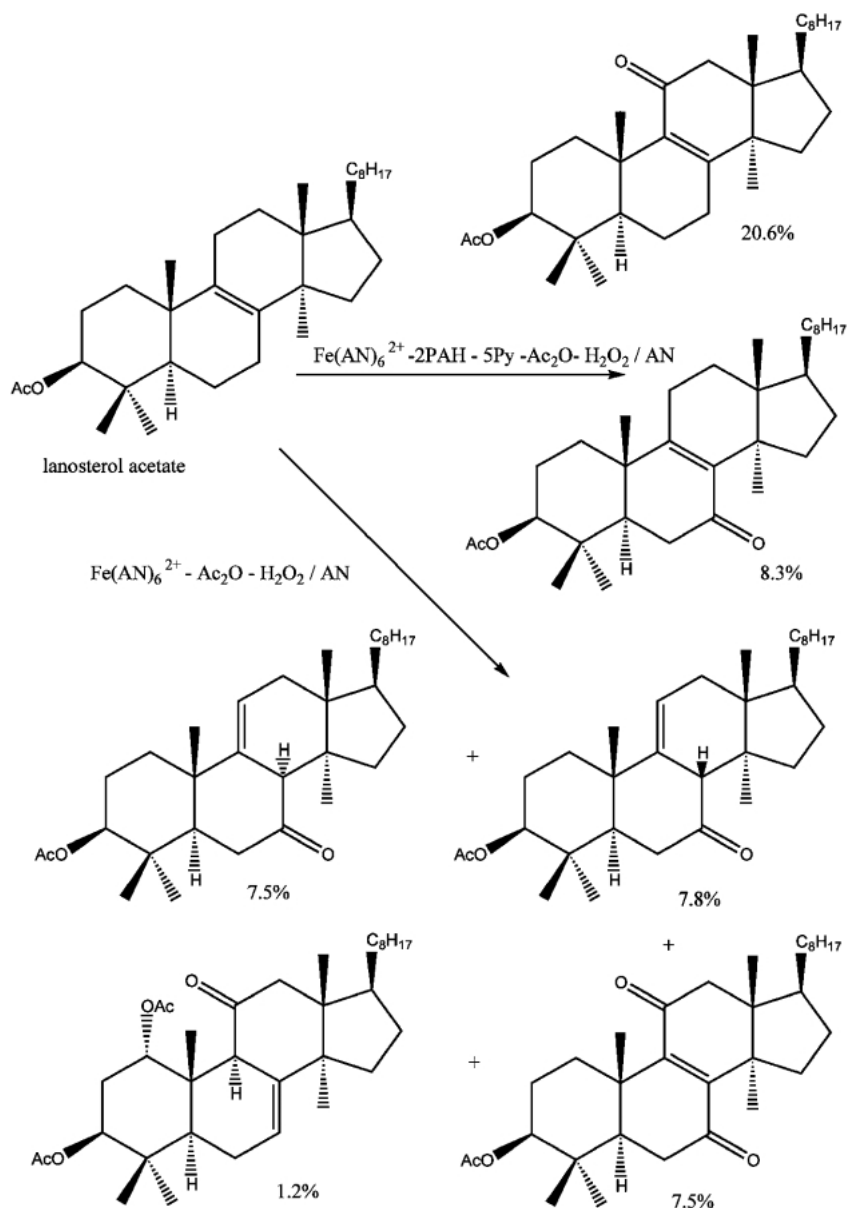


Fig. 8.

$\text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系及び $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系による酸化の結果も比較して示した。Figure 8 に示した 3β -acetoxy- lanost-8-ene の $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{AN})_6^{2+} \cdot \text{Ac}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系による酸化の結果は CrO_3 - HOAc を使用した結果⁴⁶⁾に類似していた。

Table 3 に示した cholesteryl acetate の酸化で、鉄の原子価に関係なく $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3(\text{OH}_2) \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系及び $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PA})_2(\text{OH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系では立体選択的に 7α -hydroxy-体が主生成物として得られたが、他の場合は $5,6$ -epoxy-体が主生成物であった。 $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{acac})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系⁴⁷⁾及び過塩素酸鉄そのものを使用した $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_6 \cdot (\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 / \text{AN}$ 系⁴⁸⁾では

少量の 7 -hydroxy-体も得られているが、立体選択性は全くない。 Gif^{IV} 系⁴⁹⁾では hydroxy-体は得られず、 7 -one 5.9%, 15 -one 2.8%, 16 -one 0.9%, 20 -one 5.1%, 24 -one 2.0%等のケトンのみが得られている。

Blank test として $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ に対し、前記の割合で Ac_2O , PAH , Py を加え次に鉄に対して $1/2$ モルの H_2O_2 又は $1/4$ モルの酸素を加え放置しておくとも不均化が起こり数時間以内に $\text{Fe}(\text{Py})_4(\text{ClO}_4)_3$ について $\text{PyH}^+ \cdot \text{ClO}_4^-$ の 2 種の結晶が析出してきた。したがって溶液中には鉄ピコリナート錯体 $\text{Fe}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ が残っているものと考えられ

Table 2. Oxygenation Reactions of Adamantane with Various Metal-complexes and Oxidants in MeCN

Run	Reagent system 0.2 mmol	Product (yield, %) ^{a)}		
		1-Adamantanol	2-Adamantanol	2-Adamantanone
1	Fe ^{III} (PA) ₃ (OH) ₂ -H ₂ O ₂	60.8	12.6	25.4
2	Fe ^{III} (OH) ₂ (ClO ₄) ₃ -3PAH-5Py-Ac ₂ O-H ₂ O ₂	61.8	3.9	23.2
3 ^{b)}	Fe ^{II} (OH) ₂ (ClO ₄) ₂ -2PAH-5Py-Ac ₂ O-H ₂ O ₂	68.2	—	19.7
4	Mn ^{II} (OH) ₂ (ClO ₄) ₂ -2PAH-5Py-Ac ₂ O-H ₂ O ₂	68.8	2.8	19.8
5	Co ^{II} (OH) ₂ (ClO ₄) ₂ -2PAH-5Py-Ac ₂ O-H ₂ O ₂	69.1	—	28.3
6 ^{c)}	Fe ^{III} (PA) ₃ (OH) ₂ -cathode-O ₂	65.0	—	—

a) Yields were determined by gas chromatography. b) PAH 0.4 mmol, Ac₂O 2 ml, Pyridine 1.0 mmol, 30%—H₂O₂ 7 mmol, MeCN 20 ml. c) Constant potential-0.1 V vs Ag-AgCl, One-compartment cell.

Table 3. Oxygenation Reactions of Cholesteryl Acetate with Various Iron-complexes and Oxidants in MeCN

Run	Reagent system	Product (yield, %)			Recovery (%) 1a
		7-Hydroxy 2a,	7-Oxo 3a,	5,6-Epoxy 4a	
1	Fe ^{III} (PA) ₃ · H ₂ O · H ₂ O ₂	α : 40.0, β : 1.2	20.0	α : 4.3, β : 5.2	22.6
2	Fe ^{II} (PA) ₂ · 4H ₂ O · H ₂ O ₂	α : 27.7, β : 0.5	12.9	α : 5.1, β : 7.0	30.4
3	Fe ^{II} (ClO ₄) ₂ · 6H ₂ O · 2PAH · 2NaOH—H ₂ O ₂	α : 33.5, β : 0.5	13.8	α : 4.9, β : 6.5	32.5
4	Fe ^{III} (PA) ₃ · AcOOH	0.0	6.4	α : 34.3, β : 49.5	0.0
5	Fe ^{III} (PA) ₃ · t-BuOOH	0.0	0.0	0.0	100.0
6	Fe ^{III} (ClO ₄) ₃ · 9H ₂ O · 3PAH · 5Py · Ac ₂ O · H ₂ O ₂	0.0	11.0	α : 28.0, β : 50.6	3.4
7	Fe ^{II} (ClO ₄) ₂ · 6H ₂ O · 2PAH · 5Py · Ac ₂ O · H ₂ O ₂	4.6	13.7	α : 22.0, β : 36.1	5.9
8	Fe ^{II} (ClO ₄) ₂ · 6H ₂ O · 3PAH · 5Py · Ac ₂ O · H ₂ O ₂	0.0	7.9	α : 25.6, β : 43.0	0.0
9	Fe ^{III} (acac) ₃ · H ₂ O ₂ ⁴⁷⁾	5.0(mix.)	4.0	α : 12.8, β : 51.2	27.0
10	Fe ^{III} (ClO ₄) ₃ · 9H ₂ O · H ₂ O ₂ ⁴⁸⁾	8.0(mix.)	6.0	α : 13.3, β : 26.7	46.0
11	Gif(IV) ⁴⁹⁾	0.0	5.9	0.0	68.0

た。そこでこの系の活性種とも考えられる Fe(PA)₃ · H₂O にも H₂O₂ を酸化剤として酸素化触媒活性があるのではないかと考え、次にその触媒活性を検討することとした。

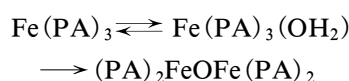
9. Fe(PA)₃ · H₂O の構造と化学的性質

9-1. Tryptophan の代謝物である Picolinic Acid (PAH) の鉄錯体 Iron (III) Tris-picolinate Fe(PA)₃ · H₂O は広い範囲で生体内に存在し、活性酸素種を発生して、DNA 蛋白質のクロスリンク生成、ミクロソームの脂質過酸化及び酵素不活性化等生体を損傷していることが見出されており、老化や病態との関連で興味を持たれる。

Fe(PA)₃ · H₂O は次のようにして簡単に得られる。鉄に対して 3 倍モルの sodium picolinate の水溶液に Fe(ClO₄)₃ · 9H₂O の水溶液を一度に加え、

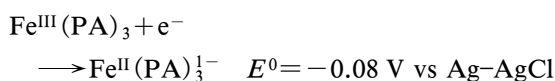
しばらく攪拌すると、淡黄色結晶として Fe(PA)₃ · H₂O がほぼ化学量論的に析出してくる。これを MeOH から再結晶することにより吸湿性の強い無水の Fe(PA)₃ が mp. 285—6°C のクリーム色の結晶として得られる。

Fe(PA)₃ · H₂O は Sawyer らが使用した Fe(PA)₂ ほど不安定ではないが、水中 0.1 mM 以上の濃度では dimer [Fe^{III}(PA)₂OH]₂ となり析出してしまう MeCN 中でもその濃度及び含水量によっては Fe(PA)₃ と Fe(PA)₃(OH)₂ が平衡にあり、時間が経つと μ-oxo dimer (PA)₂FeOFe(PA)₂ が Fe(PA)₃(OH)₂ に混ざり析出してくる。



μ-oxo dimer (PA)₂FeOFe(PA)₂ は MeCN には不

溶であるが, DMF には溶け H_2O_2 を酸化して singlet oxygen $^1\text{O}_2$ を生成することが Sawyer ら²⁴⁻²⁸⁾により確認されている. $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)$ 中の結晶水は $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)$ 同様 X-ray による構造解析からも明らかのように H_2O は奥深くに配位した 7 配位構造^{40,41)}を取っている. そのため $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)$ 中の結晶水は Ac_2O に溶解し煮沸してもそのまま変化せず AcOH を生ずることもない. しかし MeCN 中では結晶水 H_2O が外れ過酸化水素 H_2O_2 と入れ代わることができる. しかし $\text{Fe}(\text{AN})_6^{2+}$ や $\text{Fe}(\text{AN})_6^{3+}$ とは異なり鉄のまわりがしっかりと配位子で固められていて Ac_2O がさらに配位することができないため, 鉄が触媒となって H_2O や H_2O_2 をアセチル化することもできない. MeCN 中の $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3$ の標準酸化還元電位 E^0 は $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{AN})_6^{3+}$ の $E^0 = +1.78 \text{ V}$ vs Ag-AgCl に比べて低く $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3$ 自身には C-H bond 等の酸化能はない.



10. 酸素化酵素機能モデル $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系⁴²⁻⁴⁴⁾

MeCN 中 $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3$ を用いる 30% H_2O_2 による酸化反応を検討し Table 4 に示したような結果が得

られた. Bank test (H_2O_2 自身が基質の場合) では $^3\text{O}_2$ を発生し, 反応液からは $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の結晶を定量的に回収した.

$\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{AN}$ 系による反応で, 特に注目にするのは Fig. 9 及び Table 5 に示した cholesteryl acetate で代表される Δ^5 -steroids の位置選択的, 立体選択的 7α -水酸化反応である. 生体内のコレステロール類の代謝において, 7α -ヒドロキシ化が重要な代謝過程であることから非常に興味が持たれ, この系はコレステロール- 7α -ヒドロキシラーゼ化学モデルとして使用し得る. この反応の機構に関しては本論文の最後に Fig. 11 に示したように考えている.

また, この系では予想通り Fig. 7 に示したように含窒素化合物も基質となり得, *N,N*-dimethylaniline や aminopyrine でも不活性化することなく反応が進行した. 基質が aminopyrine, 1,3-diphenylisobenzofuran 及び *cis*-stilbene の場合は Fig. 10 に示したように electron rich な ene あるいは diene への dioxygenation 付加反応が起こっており, singlet oxygen $^1\text{O}_2$ が発生して反応したものと考えられる.

Table 3 に示したように, MeCN 中 cholesteryl acetate の酸化で, ピコリン酸鉄錯体を使用した系では 2 価鉄, 3 価鉄いずれを使用しても 7α -hydrox-

Table 4. Oxygenation Reactions with $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.1 mmol) $\cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{MeCN}$

Substrate (1 mmol)	30% H_2O_2 reaction		Products (Isolated yields, mol%)
	(mmol)	Time (min)	
Blank	0.2	120	O_2 , H_2O , $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (100%)
Adamantane	6.0	30	1-Adamantanol (60.8%), 2-adamantanol (12.6%), recovered material (25.4%)
2-Adamantanol	2.0	30	2-Adamantanone (43.7%), recovered material (53.0%)
<i>N,N</i> -Dimethylaniline	3.0	30	<i>N</i> -Methylformanilide (43.1%), <i>N</i> -methylaniline (15.7%), recovered material (21.1%)
Aminopyrine	2.0	120	2-Acetyl-2-methyl-1-(<i>N,N</i> -dimethyloxamoyl)-1-phenylhydrazine (80%)
1,3-Diphenyliso-benzofuran	2.0	3	1,2-Dibenzoylbenzene (100%)
<i>cis</i> -Stilbene	3.0	30	Benzaldehyde (41.6%), recovered material (50.1%)
Methyl 3β - <i>O</i> -acetyl- 18β -oleanolate*	3.0	180	11 α -Hydroxy-der. (19.2%), 11-keto-der. (6.8%), methyl 3β - <i>O</i> -acetyl-12,13-dihydro-12-oxo- 18β -oleanolate (9.3%), recovered material (51.3%)
Betulin-diacetate*	2.0	180	3 β ,28-Diacetoxy-(20 <i>R</i>)-lupan-29-al (15.0%), 3 β ,28-diacetoxy-(20 <i>S</i>)-lupan-29-al (29.8%), recovered material (41.4%)
Cholesteryl acetate*	3.0	180	7 α -Hydroxycholesteryl acetate (40.0%), 7-ketocholesteryl acetate (19.8%), 3 β -acetoxy-5,6-epoxycholestane (13.1%, $\alpha=4.7\%$, $\beta=8.4\%$), recovered material (24.7%)

The reaction was carried out in acetonitrile 5-70 ml at room temperature. * $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を 0.5 mmol.

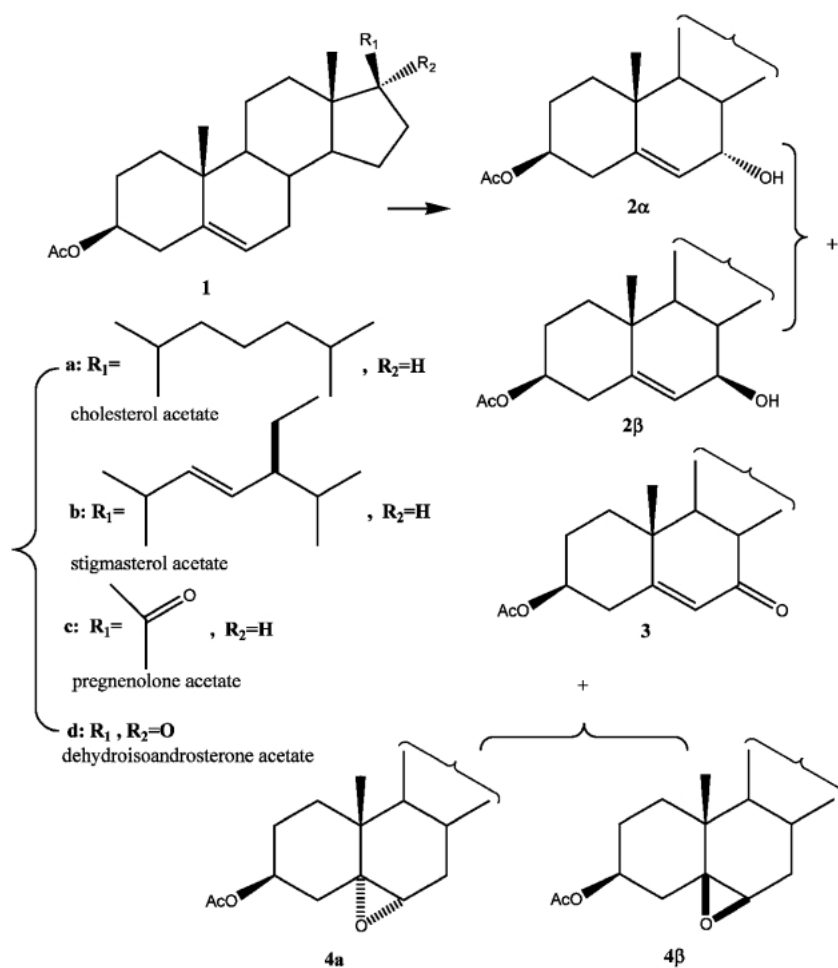


Fig. 9.

Table 5. Oxygenation of Δ^5 -Steroids 1a–1d with $\text{Fe}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2/\text{MeCN}$

Substrate	Product (isolated yields, %)				Recovery (%)	Mass balance (%)
1a	2a- α (40.0)	3a (19.8)	4a- α (4.7)	4a- β (8.4)	22.6	96.6
	2a- β (1.1)*					
1b	2b- α (36.5)	3b (23.1)	4b- α (4.8)	4b- β (6.1)	24.7	95.2
1c	2c- α (33.1)	3c (15.7)	4c- α (3.3)	4c- β (3.4)	19.9	75.4
1d	2d- α (39.3)	3d (22.0)	4d- α (0.7)	4d- β (1.9)	19.8	83.7

*Yields of 2b- β , 2c- β and 2d- β were trace amounts (<0.5%). Typical reaction procedure: to a solution of substrate (1 mmol) and $\text{Fe}(\text{PA})_3$ (0.5 mmol). In MeCN (70 ml) were added three 0.1 s-ml portions of 30% aqueous H_2O_2 (0.3 ml, 3 mmol) every 30 min at room temperature and the reaction mixture was stirred for 3h at room temperature. Isolated yields based on substrates 1.

ycholesteryl acetate が選択的に主生成物として得られることから、あとで述べるように水酸化反応の活性種は 2 価鉄, 3 価鉄いずれを使用しても共通で高張った dimer が考えられる。 H_2O_2 の代わりに *t*-BuOOH を使用した場合は反応が進行せず, AcOOH を使用した場合 7 α -hydroxy-体は得られず 5,6-epoxy-体が主生成物であった。ピコリン酸鉄錯

体の代わりに過塩素酸塩だけを使用した場合も主生成物は 5,6-epoxy-体で, 少量の 7-hydroxy-体が得られたが, α -体と β -体のほぼ等量混合物であった。Table 3 の Run 1, 2 及び 3 では 7 α -ヒドロキシル化が立体選択的に進行し, Run 9 及び 10 では立体選択的でない理由として活性種の大きさが違うためと考えている。この鉄ピコリン酸錯体が Δ^5 -ステロイ

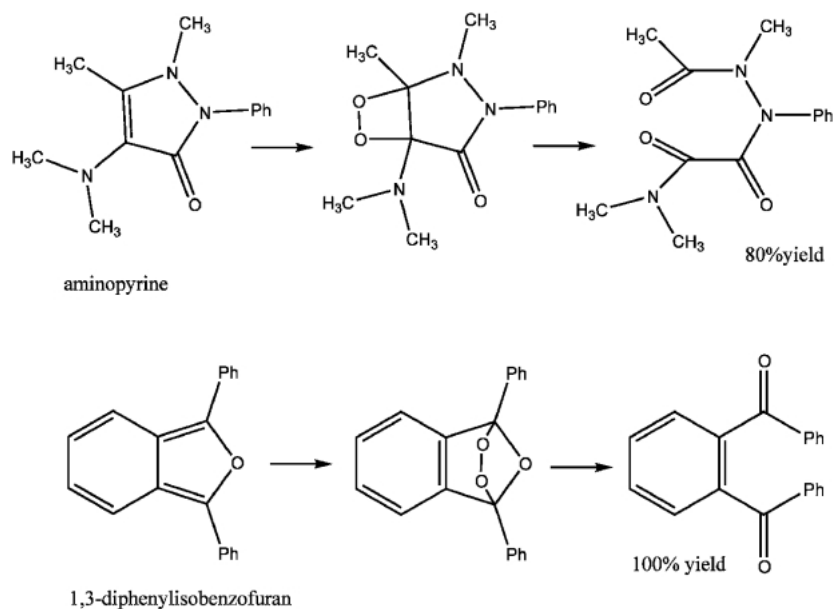
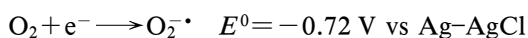


Fig. 10.

ドに対する 7α -ヒドロキシラーゼ酵素機能モデルとして機能する理由が嵩高い活性中間体 dimer にあることが次で述べる過酸化水素 H_2O_2 の代わりに分子状酸素 O_2 と電極を組み合わせた実験により証明された。

11. 酸素化酵素機能モデル $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}-\text{O}_2/\text{MeCN Electro-Redox System}$ ⁴⁵⁾

チトクロム P450 はシャント経路で過酸化水素 H_2O_2 を酸化剤とすることもできるが、本来の経路では O_2 を酸化剤とし、還元酵素がリンクして基質の酸化を行っている。 3β -acetoxy- Δ^5 -steroids に対して 7α -ヒドロキシラーゼ酵素機能モデルとなる iron (II or III) picolinate- $\text{H}_2\text{O}_2/\text{MeCN}$ 系⁴²⁻⁴⁴⁾ の過酸化水素の代わりに O_2 を使用し、酸化還元電位をコントロールし易い電解還元を組み合わせた系での cholesteryl acetate の酸素化を検討することとした。電解還元を組み合わせた類似の系として、Gif-Orsey system [$\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{O}(\text{OAc})_6\text{Pyr}_{3.5}-\text{O}_2/\text{Pyr-AcOH-Electrochemical reduction system}$] 及び牧らのシステムが見られるが、いずれも^{50,51)} 陰極の電位を -0.6 V vs Ag-AgCl 以下に設定し O_2 を還元している。酸素の標準酸化還元電位は溶媒や酸性度によって異なるが、中性では



われわれは酸素の還元電位ではなく、 $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3 + e^- \rightarrow \text{Fe}^{\text{II}}(\text{PA})_3^- \quad E^0 = -0.08\text{ V vs Ag-AgCl}$ から、

$\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3$ の還元電位約 -0.1 V vs Ag-AgCl に作動電極「陰極」の電位を設定し one-compartment glass cell を用い、MeCN 中 cholesterol acetate 0.3 mmol に対して、iron complex 0.06 mmol を使用し、 O_2 gas を吹き込みながら定電位電解を行った。その結果を Table 6 の run 1, 2 及び 3 に示した。Epoxide は痕跡程度しか生ぜず、主生成物は H_2O_2 使用の場合と同様 7α -hydroxy-体と 7 -oxo-体であった。しかし、run 4 に示したように反応容器を陰極と陽極の間を glass filter で区切った two-compartment cell に代えただけで反応は全く進行しなくなった。このことからこの反応には対極（陽極）も必要であることが分かった。

Run 5 は glass filter 隔膜を有する H-型 two-compartment cell 中、基質と等モル 0.3 mmol の $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PA})_3(\text{OH}_2)$ を 0.1 M (*n*-Butyl)₄N⁺BF₄⁻ MeCN 溶液に溶かし、アルゴン気流下、 -0.1 V vs Ag-AgCl で 5 分間定電位還元を行うと、鉄の原子価が変化するため溶液の色が pale-yellow から deep-red に変わる。ここで cholesteryl acetate 0.3 mmol を加え、 O_2 ガスを吹き込むと、鉄に対して 0.5 モル 0.15 mmol の酸素を吸って吸収は止まり、溶液の赤色も消え、化学両論的に μ -oxo-ferric dimer $(\text{PA})_2\text{Fe}-\text{O}-\text{Fe}(\text{PA})_2$ を生成する（量を増やした別の実験で確認）。次に電極の極性を逆にして $+2.0\text{ V vs Ag-AgCl}$ 定電位でアルゴン気流下 15 分間陽極酸化を行うこと

Table 6. Electrochemical Oxygenation of Cholesteryl Acetate (1) with Iron-complexes and Dioxygen in Acetonitrile under Constant Potential Conditions

Run	Iron catalyst	Potential (V vs Ag-AgCl) of working electrode	Product (%)		Recovered		
			2	3	4	1	
1 ^{a)}	Fe ^{III} (PA) ₃ (OH) ₂	-0.1 V	2 α : 19.5	2 β : 1.6	11	trace	26
2 ^{a)}	Fe ^{II} (PA) ₂ (OH ₂ · 2H ₂ O)	-0.1 V	2 α : 27.1	2 β : 1.9	14	trace	24
3 ^{a)}	Fe ^{II} (OH ₂) ₆ · (ClO ₄) ₂	-0.1 V	2 α : 7.65	2 β : 5.35	13	trace	33
4 ^{b)}	Fe ^{III} (PA) ₃ (OH) ₂	-0.1 V	no reaction				
5 ^{b,c)}	Fe ^{III} (PA) ₃ (OH) ₂	-0.1 V, then +2.0 V	2 α : 10.1	2 β : 1.92	1.5	trace	52

a) The reaction was run in the undivided cell (one-compartment cell). b) The reaction was run in the divided cell (two-compartment cell). c) The reaction conditions are different from those of other runs.

により run 5 の結果が得られた。陽極酸化では結晶水の酸化を伴って高原子価鉄 μ -oxo-ferryl dimer Fe^{IV}-O-Fe^{IV} が生成し、ついで水酸化活性種 (PA)₂Fe^{III}-O-Fe^V=O(PA)₂ になる。結晶水の酸化で生じた H⁺ が存在するため基質との反応後に生ずる μ -oxo ferric dimer (PA)₂Fe-O-Fe(PA)₂ がプロトン化し MeCN 溶液からの析出を防いでいるものと考えられる。過酸化水素を使用した場合も Fig. 11 に示したように全く同じ活性種を生じているものと考えられる。Run 3 に示したように過塩素酸鉄を使用した場合も同様な反応が進行するが、H₂O₂ 使用の場合同様 7-hydroxy-体は得られるが立体選択性がないのは活性種が μ -oxo-ferryl dimer であっても配位子が水酸基か水であるためピコリン酸に比べてまだ小さいので十分な立体障害にならないためと考えられる。Fe^{II}(OH₂)₆ · (ClO₄)₂ を触媒とした場合は前に Table 3 の run 10 に示したように H₂O₂ を使用した場合も Table 6 の run 3 同様立体選択的に 7 α -ヒドロキシル化されなかったことから、ピコリネートを使用した場合の立体選択性の原因は基質側の構造に基づく立体電子効果等ではないと考えられ、試薬側にその要因があると考えられる。電極反応を組み合わせた系でほとんどエポキシ体が生成しないのはこの系では還元が続く O₂ の作用ですべての鉄が dimer になるためと考えられる。過酸化水素 H₂O₂ を使用した場合のような monomer の oxo ferryl 活性種 (エポキシ化の活性種と考えられている) を生成できないためと考えられる。Table 6 の run 5 では Fe^{III}(PA)₃(OH)₂ を cholesteryl acetate と等モル量 0.3 mmol 使用したが、run 1—3 では cholesteryl acetate の 1/5 モル量 0.06 mmol の Fe^{III}(PA)₃(OH)₂

を使用しただけなので Fig. 10 に示したようにリサイクルしているものと考えられる。このシステムによる結果⁴⁵⁾は Table 6 に示したように H₂O₂ を使用した場合に類似したものであった。H₂O₂ は酸化剤にも還元剤にもなるが O₂ は酸化剤にしかなり得ず、本システムでの O₂ は二価鉄を酸化して三価鉄ダイマーとする役割だけと考えられ、H₂O₂ を使用した場合も含め Fig. 11 に示したようなサイクルになると考えている。

12. おわりに

本研究を通して自然界での水と脂質あるいは疎水性蛋白質及び酸素それぞれの役割について学び考えさせられた。P450 のような酵素や薬物受容体の活性点は疎水性蛋白質に囲まれた疎水ポケットの中に存在することが多い。例え疎水性細胞膜の中に埋め込まれたものでなく、camphor P450 のような水溶性の酵素でもその反応場は疎水性蛋白質に囲まれた疎水領域なのである。酸塩基の強さにしても、水溶液中と MeCN や DMF のような非プロトン性有機溶媒中、さらには気相中では逆転することもあるほど異なる。薬物受容体を考慮した医薬開発においてはこの点に特に注意する必要があると思う。酸化還元電位に至っては周りの環境の酸塩基の強さ、やわらかさの影響をさらに強く受けるので、酸化還元酵素の活性点における酸化還元電位については多くの場合、反応場が疎水領域であることを頭において考える必要がある。残念ながら生化学の教科書に出てくる pK_a 値、ギブスの自由エネルギー値、標準酸化還元電位 E⁰ 値等の酸塩基・酸化還元に関する値はすべて水溶液中での値である。この値を基にして酵素反応の機構や薬物受容体での受容体と薬物の相互作用

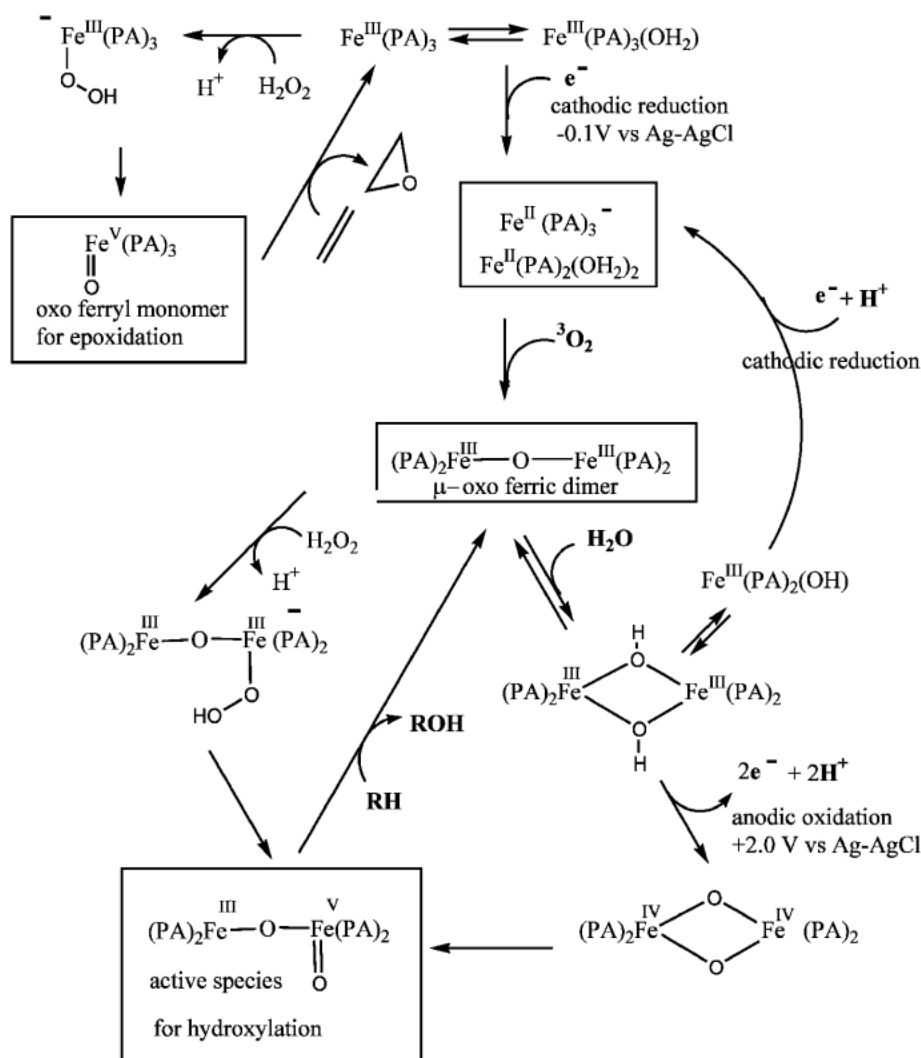


Fig. 11.

用を考えたのではとんでもない間違いをおかす恐れがある。

結局 44 年前に夢に描いていた反応は残念ながらほとんど達成できなかったと言えよう。例えば Fig. 12 に示したような植物体内で P450 が自然に行っている reticuline から morphine への生合成反応中の Oxidative Phenol Coupling 反応を酵素は *ortho-para* で位置選択的にしかもキラルに効率よく行っているが、コルベン内では達成できていない。

Pallidine, flavinantine 及び amurine 等は *para-para* coupling を経て容易に合成¹⁶⁻¹⁹⁾ できるが、*ortho-para* coupling を選択的に効率よく行う方法は酵素を使う¹⁰⁾ 以外見つかっていないと言えよう。又微生物の P450cam が行っている *d*-camphor の選択的 5-*exo*-水酸化も夢の反応であった。エステル

リモート水酸化反応はバルプロ酸の水酸化³⁴⁾ に見られるように一部達成されたが、ケトンの選択的リモート水酸化をコルベン内で効率よく行う方法はまだ見出されていない。

近年、竹谷ら^{52,53)} は *ortho-ortho* 選択性のある SnCl₄-O₂ 系を用いて Fig. 12 に示したような coupling と酸化を一度に行う天然物 elliptinone の簡易合成に成功している。

現在薬化学研究室では、酸素の活性化による有機化合物の酸化とそれを応用した天然物の合成について、竹谷助教授^{54,55)} を中心に活性炭や ZrO₂ 等の半導体固体触媒を使用した green chemistry を念頭においた研究が続けられている。

ここに記載した内容は、表題の鉄を中心にした酵素機能モデルの開発に関するものに限らせていただ

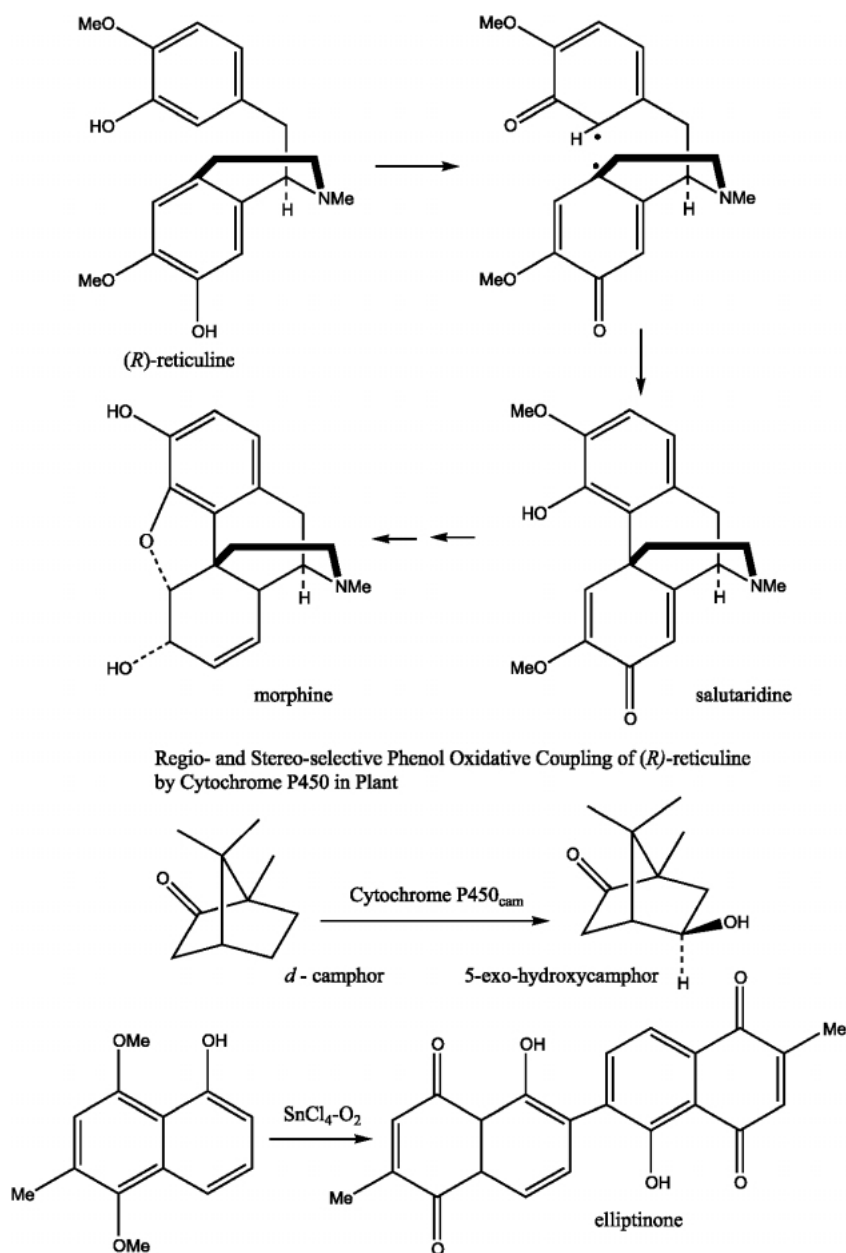


Fig. 12.

いた。本研究を楽しめたのはすべて恩師飛永精照先生のお陰と衷心より感謝している。また薬化学研究室の村瀬雅之助教授，竹谷哲也助教授，岡本巖講師及び引用文献中の共筆者の方々にも厚く御礼申しあげる。

REFERENCES

- 1) Tobinaga S., *Yakugaku Zasshi*, **119**, 185–198 (1999).
- 2) Corey E. J., Slomp G., Dev S., Tobinaga S., Glazier E. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 1204–1206 (1958).
- 3) Arigoni D., Barton D. H. R., Corey E. J., Jegar O., Caglioti L., Dev S., Ferrini P. G., Glazier E. R., Melera A., Pradhan S. K., Schaffner K., Sternhell S., Templeton J. F., Tobinaga S., *Experientia*, **16**, 41–49 (1960).
- 4) Groves J. T., Swanson W. W., *Tetrahedron Lett.*, **24**, 1953–1956 (1975).
- 5) Groves J. T., Van Der Puy M., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5290–5297 (1976).
- 6) Ono K., Katsube J., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1267–1276 (1983).

- 7) Tobinaga S., *Farumashia*, **11**, 873–875 (1975).
- 8) Tobinaga S., *Farumashia*, **24**, 1201–1203 (1988).
- 9) Brossi A., Ramel A., O'Brien J., Teitel S., *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 1839–1840 (1973).
- 10) Zenk M. H., Garady R., Stadler R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1725–1727 (1989).
- 11) Kellner D. G., Hung S.-C., Weiss K. E., Sligar S. G., *J. Biol. Chem.*, **277**, 9641–9644 (2002).
- 12) Kotani E., Miyazaki F., Tobinaga S., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 300–301 (1974).
- 13) Tobinaga S., Kotani E., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 309–310 (1972).
- 14) Reagents for Organic Synthesis, Wiley Interscience, Collective Vol. 4, p. 237.
- 15) Kotani E., Takeuchi N., Tobinaga S., *Tetrahedron Lett.*, 2735–2736 (1973).
- 16) Tobinaga S., Kotani E., *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **35**, 642–652 (1977).
- 17) Kotani E., Takeuchi N., Tobinaga S., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 550–551 (1973).
- 18) Kotani E., Takeuchi N., Tobinaga S., *Tetrahedron Lett.*, 4759–4762 (1973).
- 19) Kotani E., Kitazawa M., Tobinaga S., *Tetrahedron*, **30**, 3027–3030 (1974).
- 20) Murase M., Kotani E., Okazaki K., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3159–3165 (1986).
- 21) Kotani E., Kobayashi S., Ishii Y., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4281–4291 (1984).
- 22) Kotani E., Kobayashi S., Adachi M., Tsujioka T., Nakamura K., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 606–609 (1989).
- 23) Kotani E., Kobayashi S., Ishii Y., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4680–4684 (1985).
- 24) Sugimoto H., Sawyer D. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 4283–4285 (1984).
- 25) Sugimoto H., Sawyer D. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 5712–5716 (1985).
- 26) Sheu C., Richert S. A., Cofre P., Ross Jr. B., Sobkowiak A., Sawyer D. T., Kanofsky J. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 1936–1942 (1990).
- 27) Cofre P., Richert S. A., Sobkowiak A., Sawyer D. T., *Inorg. Chem.*, **29**, 2645–2651 (1990).
- 28) Tung H.-C., Kang C., Sawyer D. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3445–3455 (1992).
- 29) Sliger S. G., Kennedy K. A., Pearson D. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**(3), 1240–1244 (1980).
- 30) Karasevich E. I., Khenkin A. M., Shilov A. E., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 731–732 (1987).
- 31) Kotani E., Kobayashi S., Ishii Y., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4671–4679 (1985).
- 32) Kotani E., Midorikawa Z., Tanaka A., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 916–919 (1987).
- 33) Monden R., Manaka A., Kasama T., Kotani E., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1926–1929 (1988).
- 34) Kotani E., Takeya T., Yoshiike M., Watanabe A., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 981–986 (1997).
- 35) Yamaki S., Kobayashi S., Kotani E., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1501–1503 (1990).
- 36) Kobayashi S., Kotani E., Ishii Y., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 610–614 (1989).
- 37) Balavoine G., Barton D. H. R., Boivin J., Gref A., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 659–662 (1990).
- 38) Barton D. H. R., Doller D., *Acc. Chem. Res.*, **25**, 504–512 (1992).
- 39) Kotani E., Takeya T., Shimizu H., Egawa H., Yamamoto T., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 2089–2092 (1997).
- 40) Shova S. G., Brashovyanu N. V., Turte K. I., Mazus M. D., *Russian J. Coordination Chem.*, **22**(6), 438–443 (1996).
- 41) Figgis B. N., Raston C. L., Sharma R. P., White A. H., *Aust. J. Chem.*, **31**, 2545–2548 (1978).
- 42) Kotani E., Takeya T., Egawa H., Tobinaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 750–752 (1997).
- 43) Takeya T., Egawa H., Inoue N., Miyamoto A., Chuma T., Kotani E., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 64–70 (1999).
- 44) Okamoto I., Takeya T., Kagawa Y., Kotani E., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 120–125 (2000).
- 45) Okamoto I., Funaki W., Nakaya K., Kotani

- E., Takeya T., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 756–759 (2004).
- 46) Lassak E. V., Pinhey J. T., Simes J. J. H., *Aust. J. Chem.*, **26**, 1051–1057 (1973).
- 47) Kimura M., Muto T., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1836–1841 (1980).
- 48) Muto T., Urano C., Hayashi T., Miura T., Kimura M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1166–1171 (1983).
- 49) Barton D. H. R., Boivin J., Hill C. H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1797–1804 (1986).
- 50) Balavoine G., Barton D. H. R., Boivin J., Cref A., Ozbalik N., Riviere H., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 2849–2852 (1986).
- 51) Maki S., Konnoi K., Takayama H., *Tetrahedron Lett.*, **38**(40), 7067–7070 (1997).
- 52) Okamoto I., Doi H., Kotani E., Takeya T., *Tetrahedron Lett.*, **42**, 2987–2989 (2001).
- 53) Ogata T., Okamoto I., Doi H., Kotani E., Takeya T., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 2041–2044 (2003).
- 54) Otsuka T., Okamoto I., Kotani E., Takeya T., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 2643–2647 (2004).
- 55) Ogata T., Okamoto I., Kotani E., Takeya T., *Tetrahedron*, **60**, 3941–3948 (2004).