5 おわりに

以上、補酵素 PQQ の物性と機能についてモデル化学的な立場から検討した最近の結果を簡単にまとめて紹介した。PQQ 分子自身、カルシウムイオンと非常に効率良く錯形成を行えるように設計されており、しかもメタノールの様な低級アルコールを効率よく酸化するための工夫（分子内一般塩基触媒作用など）が、上手く組み込まれていることが判った。さらに、1位のピロールプロトンの解離によって、PQQ 自身の酸化還元電位を大きく変化させることができることも判明した。また、電子伝達反応における重要な中間体であるラジカルアニオン種の電子構造を初めて明らかにするとともに、それに及ぼす溶媒やカルシウムイオンの効果を明らかにすることができた。以上のような成果は、酵素系の反応機構の解明のみならず、新しい電子伝達触媒や生理活性物質の開発に繋がることを大いに期待する。我々はまた新しいキノン系の補欠分子 TTQ の全合成にも成功し¹⁷⁾、その物性や化学的性質¹⁸⁾およびアミンの酸化反応機構^{19,20)}についても詳細に検討を行って来たが、今回は紙面の都合上省略した。最後に、本研究を推進するに当たり大変お世話になった大阪大学大学院工学研究科の福住俊一教授およびその研究室の皆さまに心より感謝申し上げる次第である。

文 献

- 1) S. A. Salisbury, H. S. Forrest, W. B. T. Cruse, and O. Kennard, *Nature*, **280**, 843 (1979).
- 2) J. A. Duine and J. Frank, *Trends Biochem. Sci.*, **6**, 278 (1981).
- 3) S. M. Janes, D. Mu, D. Wemmer, A. J. Smith, S. Kaur, D. Maltby, A. J. Burlingame, and J. P. Klinman, *Science*, **248**, 981 (1990).
- 4) W. S. McIntire, D. E. Wemmer, A. Chistoserdov, and M. E. Lidstrom, *Science*, **252**, 817 (1991).
- 5) S. X. Wang, M. Mure, K. F. Medzihradsky, A. L. Burlingame, D. E. Brown, D. M. Dooley, A. J. Smith, H. M. Kagan, and J. P. Klinman, *Science*, **273**, 1078 (1996).

- 6) Y. Ohshiro and S. Itoh, *Bioorg. Chem.*, **19**, 169 (1991).
- 7) S. Itoh and Y. Ohshiro, *Natural Product Reports (The Royal Society of Chemistry, UK)*, **12**, 45 (1995).
- 8) C. Anthony, *Biochem. J.*, **320**, 679 (1996).
- 9) M. Ghosh, C. Anthony, K. Harlos, M. G. Goodwin, and C. Blake, *Structure*, **3**, 177 (1995).
- 10) Z. Xia, W. Dai, Y. Zhang, S. A. White, G. D. Boyd, and F. S. Mathew, *J. Mol. Biol.*, **259**, 480 (1996).
- 11) S. Itoh, H. Kawakami, and S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 439 (1997).
- 12) S. Itoh, H. Kawakami, and S. Fukuzumi, *Biochemistry*, **37**, 6562 (1998).
- 13) K. Kano, K. Mori, B. Uno, T. Kubota, T. Ikeda, and M. Senda, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **24**, 193 (1990).
- 14) S. Itoh, H. Kawakami, and S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 7271 (1998).
- 15) A. Niemz, J. Imbriglio, and V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 887 (1997).
- 16) H. Ohya-Hishiguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **52**, 2064 (1979).
- 17) S. Itoh, M. Ogino, M. Komatsu, and Y. Ohshiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7294 (1992).
- 18) S. Itoh, M. Ogino, S. Haranou, T. Terasaka, T. Ando, M. Komatsu, Y. Ohshiro, S. Fukuzumi, K. Kano, K. Takagi, and T. Ikeda, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 1485 (1995).
- 19) S. Itoh, N. Takada, S. Haranou, T. Ando, M. Komatsu, Y. Ohshiro, and S. Fukuzumi, *J. Org. Chem.*, **61**, 8967 (1996).
- 20) S. Itoh, M. Taniguchi, and S. Fukuzumi, *Chem. Commun.*, 329 (2000).

●著者プロフィール

氏名：伊東 忍 Shinobu ITOH
 所属：大阪市立大学大学院理学研究科物質分子系専攻（〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138）
 役職：教授
 趣味：車、阪神タイガースの応援

2 酸化還元反応を触媒とする 含マンガンタンパク質のモデル反応

成田 吉徳

1 はじめに

マンガンイオンは酸素原子に対する親和性が高く水と酸素分子の相互変換に深くかかわっている。これは Mn イオンが Mn^{II} から Mn^{VII} の間の多様な酸化状態をとれること、d 軌道電子数、それぞれのイオン間の還元電位の大きさがその大きな理由である。現在までのところ、酵素中のマンガンイオンは Mn^{II}~Mn^{IV} の原子価をとることが知られている。

レドックスを伴うマンガン含有酵素としては、マンガンスーパーオキシドディスムターゼ (Mn-SOD)、マンガカタラーゼ (Mn-CAT)、酸素発生錯体 (OEC) の 3 種類が主要な酵素である。いずれもマンガンイオンの酸化還元を伴って

反応が起こる。興味あることに、反応に関与する電子数と活性中心に含まれるマンガンイオン数が一致している。この他に、特異なヘム-マンガンハイブリッド錯体を有するマンガンペルオキシダーゼ¹⁾が知られており、結晶構造が解明されている²⁾。また、二酸素原子添加酵素としてマンガンジオキ

シゲナーゼ³⁾がある。これらのマンガンタンパク質とそのモデル反応に関する詳細については最近の総説を参照されたい⁴⁻⁸⁾。特に、OEC に関しては関連ある総説を挙げておく⁹⁻¹¹⁾。

この他に、過酸化水素や水の代謝以外の機能を有するものとして、アルギナーゼ、酸性ホスホターゼ、リボスクレオチドリダクターゼを初め多数のマンガン含有酵素が知られている¹²⁾。本稿では紙数の都合から、代表的なマンガンレドックス酵素として Mn-CAT と OEC に焦点を絞り最近の展開を解説する。

2 マンガンカタラーゼ

非ヘム型の配位環境を有し、二核マンガン錯体を活性中心にもつマンガンカタラーゼは $\text{Mn}^{\text{II}}_2/\text{Mn}^{\text{III}}_2$ のレドックスサイクルを経て過酸化水素不均化を触媒している¹³⁾。最近この酵素の活性中心の三次元構造が解明され¹⁴⁾ (Fig. 1) マンガンイオン間距離は還元型 3.18 Å, 酸化型 3.14 Å と決定された。

鉄イオンを含むカタラーゼは活性中心にヘムと酸塩基触媒となるペプチド残基を有しており、鉄ポルフィリンが過酸化水素により二電子酸化を受けて $\text{Fe}^{\text{IV}}(=\text{O})\text{P}^{+*}$ を生成し、これが 2 電子メディエーターとして働くのに対して、マンガンでは各イオンが一電子の酸化還元反応を行うことで、酸化電位が高く、不安定である Mn^{V} を生成しないようにして、高い触媒活性を維持している。

マンガンポルフィリンはピリジンやイミダゾールなどの窒素塩基の存在下で、過酸化水素と反応し高原子価錯体を生成することが知られている。また、ポルフィリン錯体は金属イオンと強固な錯体を形成しており、酸化により Mn^{IV} や Mn^{V} の高酸化状態をとる事ができ、しかもそれらは非ヘム型の錯体とくらべて比較的安定である。そこで、2 個のマンガンイオンを適切な間隔を隔てることにより最適なイオン間距離を有する触媒が合成可能である。多数の非ヘム型のマンガン二核錯体が多数合成されてきているが、そのマンガンイオン間距離を自在に設定することは難しく、多数の二核錯体においてはイオン間距離は 2.6~3.5 Å の範囲にある。一方、マンガンポルフィリン連結部の分子を選ぶことによりかなり広範囲のイオン間距離が実現できる。そこで Fig. 2 にあるように、各種の連結分子で結合したマンガンポルフィリン二量体を合

成し、過酸化水素からの酸素発生速度を測定した。

窒素塩基の存在下でマンガンポルフィリン二量体は過酸化水素の不均化に対して高い活性を示し¹⁵⁾、この不均化による酸素発生速度はマンガンイオン間距離と明瞭な相関が認められた¹⁶⁾ (Fig. 3)。さらに、中間体として予測されている Mn^{IV} 二核中間体と過酸化水素の反応速度は別途合成した $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\text{OMe})_2]_2$ と過酸化水素との反応速度より、マンガンポルフィリン二量体が最初過酸化水素と反応する段階が律速段階であり¹⁷⁾、過酸化水素が Mn^{IV}_2 ヘプロトン共役電子移動を起こすことにより、酸化を受けて酸素発生を行う機構が提案された (Scheme 1)。

一方、この反応で酸素発生速度は窒素塩基の pKa に大きく影響を受けることから¹⁸⁾、最初に過酸化水素が脱プロトン化を受け OOH^- として、マンガンポルフィリンと反応する

Fig. 2 Manganese porphyrin dimers as functional models of Mn-CAT.

Fig. 1 The dimanganese site of the reduced form of Mn-CAT from *T. thermophiles*.¹⁴⁾

Fig. 3 Catalytic activity of manganese porphyrin dimers as Mn-CAT models.

段階が律速であることが、窒素塩基のマングノルフィリンへの配位平衡と一般塩基触媒能の分離により明らかにされた。現在までのところ酵素の触媒活性 ($64,000 \text{ mol} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot (\text{mol cat})^{-1} \text{ s}^{-1}$) には及ばないが、このポルフィリン二量体はマングノ二核錯体としては最大の触媒ターンオーバー数 (206, 単位は同じ) を達成している。

3 酸素発生錯体

高等植物や藻類の光合成系 II (PS II) においては、電荷分離系と電子的に結合した酸素発生錯体は 4 核のクラスターを活性中心に有していると考えられており (Fig. 4), クロロフィル二量体である P680 の励起による電荷分離の結果生じたチロシルラジカル ($\text{Y}_z \cdot$) がこのマングノクラスターを一電子酸化し、4 光子で 1 分子の酸素発生を行う (Kok-Joliot サイクル, Fig. 5b)。この水の酸化反応は電荷分離により生成する P680^+ の酸化還元電位 (約 1.1 V) により規定され、これは pH 7 における標準電位 E^0 ($\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2$) = 0.815 V を少し上回る程度である。さらに Y_z (チロシン) のレドックスを介してマングノクラスターを酸化していることから、OEC そのものは極小の過電圧で水を分解していると考えられる (Fig. 5a)。即ち、植物はエネルギー的に極力利用可能な低エネルギー (長波長) の光をも利用可能となるよう反応設計されていると云える。

OEC の構造については、チラコイドより膜タンパク質を単離する段階において、Mn イオンが脱離するために、均一

な構造を持つ良好な単結晶を得ることが難しい。このため、膨大な結晶化の努力にもかかわらず、X 線による構造解析の研究はまだ十分に進展していない。一方、X 線吸収末端微細構造 (EXAFS) などによる研究より、二種類の Mn イオン間距離 (2.7, 3.3 Å) が算出され、マングノクラスターの構造として μ -オキソマングノ二核錯体の 2 量体が提案されている。

Fig. 4 Schematic drawing of the structure of PSII in a thylakoid membrane.

Fig. 5 Charge separation and water oxidation reaction at PSII. (a) Energy diagram of the reaction at PSII. (b) Kok-Joliot cycle and supposed oxidation states of the manganese cluster.

Scheme 1

S_2 状態では OEC は EPR において特有のマルチラインシグナルを与えることから、その磁気的特性を含めてスペクトルを再現するための多数の構造モデルが提案された¹⁹⁾。しかし、これらの「構造モデル」は酸化条件下ではいずれも不安定であり、水の酸化分解反応を実現するには至っていない。

そこで、われわれは高酸化状態においても安定でかつ Mn イオン間距離が 5~6 Å である Mn ポルフィリン二量体を用いて、含水アセトニトリル中で陽極酸化を行い、酸素発生を酸素電極により検出・定量した²⁰⁾ (Fig. 6)。カソード電位が +1.2 V 以上 (vs. Ag/Ag⁺) で触媒的な酸素発生が観測された。無触媒条件下では電位が +2.3 V 以上でないと酸素発生が認められないことから Mn ポルフィリンの反応への関与が認められ、電流量と発生酸素量より触媒ターンオーバー数 = 9.2 と求められた。

さらに、 $H_2^{16}O/H_2^{18}O$ を用いて発生する酸素の質量分析により、水からの酸素発生が確認された。回転電極を用いて Levich プロットを行うことにより、この酸素発生は 4 電子過程であることが明らかとなった。これは、世界で初めて、構造の明確なマンガン錯体を用いて触媒的な酸素発生が達成された例である²¹⁾。

その中間体を合成すべく、過酸により Mn^{III} 二量体を酸化すると、 $[Mn^{IV}(OH)]_2$ 錯体へと変換され、ESI-MS 等により同定された。陽極酸化による生成物も同様の酸化状態であり、低温では比較的安定であることが明らかになった²²⁾。これは、Kok-Joliot サイクルにおける S_2 に相当すると考えられる。この状態からさらにプロトン共役電子移動により 2 電子酸化を行うと S_4 に相当する、 μ -ペルオキシ錯体を生成して酸素を発生していると推定された (Scheme 2)。

Fig. 6 Anodic oxidation of water catalyzed by manganese porphyrin dimers.

この反応の成功は、OEC における酸素発生機構考察に大きな示唆を与え、 S_4 の構造として Babcock らにより Fig. 7a が提案された²³⁾。その後、この反応を水溶性 Mn ポルフィリン単量体の会合体を用いて陽極酸化し酸素発生を検討した例も報告されている²⁴⁾。

一方、非ヘム型のマンガン錯体を用いて酸化的に酸素発生を行った例は極めて少なく、Brudvig らによる terpyridine を配位子とする di- μ -oxo Mn 二核錯体 (Fig. 8) を一過硫酸化合物²⁵⁾や次亜塩素酸ナトリウム²⁶⁾により酸化を行うと酸素発生が認められている。この反応においては $Mn^V(=O)$ と水との反応による酸素発生が推定され、OEC S_4 の中間体として Fig. 7b が提案されているが、詳細な反応機構については今後の課題である。

Fig. 7 Proposed structures of S_4 . (a) Di-Mn μ -peroxo intermediate²³⁾ and (b) high-valent Mn cluster involving $Mn^V(=O)$ complex.¹⁰⁾

Fig. 8 $[(\text{Terpy})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}(\text{O})_2(\text{OH}_2)(\text{Terpy})]^{+3}$ complex (Terpy = 2,2':6',2''-terpyridine) applied for water oxidation.^{25, 26)}

Scheme 2

現在、マンガンポリフィリン二量体を用いた反応で S_4 に相当する酸素発生の前段階の反応中間体の構造確認を行うべく研究を遂行中である。

以上、OEC における水の酸化反応は、見かけ上単純な反応であるにもかかわらず、機能モデルが 2 例、提案されているに過ぎず、その解明は今後の大きな化学的な挑戦である。また、OEC を含む PSII の高分解能での構造解析は光合成における水の分解反応についての議論の出発点であり、その達成が待たれるところである。

4 おわりに

鉄と異なりマンガニオン含有酵素の化学はマンガニオンが多様な酸化数を取ることや、その不安定性のために構造決定を含めて研究が立ち後れていた。特に、光合成酸素発生錯体の行う水の酸化分解反応は地球上の大部分の生物がその生存をこの反応に依存しており、水を還元剤として利用する極めて重要な反応である。この反応は、物理化学的に可能な限り低い電位で、わずかの過電圧で水の酸化分解を可能とする自然界の生み出した巧妙な反応の一つであることから、この反応の解明は重要な意義を持っている。今後、循環可能で、かつエネルギー効率の高い水の分解反応の創成は、化石燃料や天然ガスに依存しない燃料電池のための水素供給につながることから社会的にも重要であり、基礎科学のみならずエネルギーシステムのモータルシフトとも関連して大きく注目を集めている。

文 献

- 1) J. K. Glenn, L. Akileswaran, and M. H. Gold, *Arch. Biochem. Biophys.*, **251**, 688 (1985).
- 2) M. Sundaramoorthy, K. Kishi, M. H. Gold, and T. L. Poulos, *J. Biol. Chem.*, **269**, 32759 (1994).
- 3) A. K. Whiting, Y. R. Boldt, M. P. Hendrich, L. P. Wackett, and L. Que, *Biochemistry*, **35**, 160 (1996).
- 4) V. L. Pecoraro and W. Y. Hsieh, *Metal Ions in Biological Systems* (Eds. A. Siegel and H. Iegel), Vol. 37, Marcel Dekker, New York, NY, p.429 (2000).
- 5) N. A. Law, M. T. Caudle, and V. L. Pecoraro, *Adv. Inorg. Chem.*, **46**, 305 (1999).
- 6) 成田吉徳, 季刊化学総説 24 生物無機化学の新展開, (日本化学会編), 学会出版センター, p.133 (1995).
- 7) R. Hage, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **115**, 385 (1996).
- 8) G. C. Dismukes, *Chem. Rev.*, **96**, 2909 (1996).
- 9) W. Ruttinger and G. C. Dismukes, *Chem. Rev.*, **97**, 1 (1997).

- 10) J. Limburg, V. A. Szalai, and G. W. Brudvig, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1353 (1999).
- 11) W. Ruettinger and G. C. Dismukes, *Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis* (Eds. G. S. Sieghal, G. Ranger, S. K. Soporay, and K. D. Irrgang), Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, p. 330 (1999).
- 12) L. Que, J. Widom, and R. L. Crawford, *J. Biol. Chem.*, **256**, 10941 (1981).
- 13) M. M. Whittaker, V. V. Barynin, S. V. Antonyuk, and J. Whittaker, *Biochemistry*, **38**, 9126 (1999), and references cited therein.
- 14) S. V. Antonyuk, V. R. Melik-Adamyanyan, A. N. Popov, V. S. Lamzin, P. D. Hempstead, P. M. Harrison, P. J. Artymyuk, and V. V. Barynin, *Cryst. Rep.*, **45**, 105 (2000).
- 15) Y. Naruta and K. Maruyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 3595 (1991).
- 16) Y. Naruta and M. Sasayama, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 2667-2668 (1994).
- 17) M. Sasayama and Y. Naruta, *Chem. Lett.*, 63 (1995).
- 18) Y. Naruta and M. Sasayama, *Chem. Lett.*, 2411 (1994).
- 19) K. Wieghardt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **28**, 1153 (1989).
- 20) Y. Naruta, M. Sasayama, and T. Sasaki, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 1839 (1994).
- 21) Y. Naruta, *New Challenges in Organic Electrochemistry* (Ed. T. Osa), Gordon and Breach, Tokyo, p.323 (1998).
- 22) K. Ichihara and Y. Naruta, *Chem. Lett.*, 158 (1998).
- 23) C. Tommos and G. T. Babcock, *Acc. Chem. Res.*, **31**, 18 (1998).
- 24) I. Ruhlmann, A. Nakamura, J. G. Vos, and J.-H. Fuhrhop, *Inorg. Chem.*, **37**, 6052 (1998).
- 25) J. Limburg, G. W. Brudvig, and R. H. Crabtree, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 2761 (1997).
- 26) J. Limburg, J. S. Vretos, L. M. Liable-Sands, A. L. Rheingold, R. H. Crabtree, and G. W. Brudvig, *Science*, **283**, 1524 (1999).

●著者プロフィール

氏名：成田 吉徳 Yoshinori NARUTA
 所属：九州大学有機化学基礎研究センター物質変換化学部門(〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1)
 役職：教授
 趣味：自動車, 山歩き

編集委員会ページ

第 407 回編集委員会報告

第 407 回編集委員会が平成 12 年 7 月 28 日, 電気化学会会議室(東京都千代田区)において開催されました。主な議事内容は次のとおりです。

1. 会誌発行状況
2. 投稿論文について
3. Vol. 68 No. 9~12 について
4. 展望について
5. 特集について
6. 測定法について
7. 読物について
8. Headline (依頼総合論文) の企画について
9. 2000 年, 2001 年企画について
10. 論文特集号について