

有機金属錯体のUVとESRスペクトル I

— 銅イオンや鉄イオンとヒドロキサム酸の反応 —

曾我部國久*・森山喜代美**・梶谷 忍***
高橋 泰道****・原 一夫*****・坂本 一光*

Kunihisa SOGABE, Kiyomi MORIYAMA, Sinobu KAJITANI,
Taido TAKAHASHI, Kazuo HARA and Ikko SAKAMOTO
UV & ESR Spectra of Organometallic Complexes I.

— Reaction of Copper or Ferric Ion with Hydroxamic Acids —

UV and ESR Spectra of metal complexes formed by the reaction of copper or ferric ion with various hydroxamic acids in dioxane were observed. Especially, ESR data seem to give many informations on metal-containing organic compounds and metal complexes with biological activities. Ferric-hydroxamic acid complexes show no biological information because of their six-coordinated octahedral conformation.

Copper-hydroxamic acid complexes also show low biological activities though their planar conformations. These results suggest copper complexes with high biological activities prefer planar conformation with such group as propane amine or ethylene diamine and halogen atoms as leaving ligand at cis position. However, ferric or copper ion oxidized hydroxamic acids to produce corresponding nitroxide radical which is believed to relate with the carcinogenic mechanism of metabolic compounds.

I. 緒 言

生理作用を持つ化合物と金属の関係は医学的に非常に興味があるが、金属と言えば水銀中毒やイタイイタイ病で代表される様に人体にとって有害なものと言う印象が強い。しかし、生物はすべて正常な生命活動を維持する為に微量の金属を必要としている。例えば、血液中のヘモグロビンの中心原子として鉄を含む事は非常に良く知

られているし、金コロイドがリウマチの薬として、又、白金錯体は制がん作用を示す金属として知られている。

この他に亜鉛、銅、鉄等が金属酵素として生体と深く関わっている事が有機金属化合物の研究を進展させたものと考えられる¹⁾。特に、発熱と同時に血液中の銅イオンは高濃度となるが、投与されたアスピリン等の解熱剤によって配位結合され解熱につながる事が報告されて以来、金属を中心原子とした有機金属化合物が注目されて来ている²⁾。金属や金属イオンが有機物に配位し有機金属化合物を形成する際、有機物中に孤立電子対を有する酸素原子や窒素原子が関与している事が必要である。生体内の有機物は主として、DNAやRNA等の蛋白質、

* 島根大学教育学部
** 大田市立長久小学校
*** 大田市立太田中学校
**** 大田市立志学小学校
***** 島大教育学部付属小学校

即ち、ペプチド結合 ($-\text{C}-\text{N}-$) を有しており、ペプチド結合と金属や金属イオンとの配位結合が生理作用や生体機能を知る上で非常に重要になると考えられる。

蛋白質の構成単位であるペプチド結合に類似した構造を有する *N*-Phenyl, *N*-benzohydroxamic acid は鉄イオンと定量的に結合し、530nm に吸収極大を持つ鮮血色の有機金属錯体を形成する為、定量分析に良く利用されている³⁾。銅イオンの様な他の金属イオンと *N*-Phenyl, *N*-benzohydroxamic acid の錯体形成反応や定量について紫外・可視吸収スペクトルで研究する事は非常に興味がある。又、この *N*-Phenyl, *N*-benzohydroxamic acid は他のヒドロキサム酸と同様、発がん化過程を研究する上で注目されている。ヒドロキサム酸 ($-\text{C}-\text{N}-$) は、蛋白質の構成単位であるペプチド結合が生体内で酵素の作用を受けて水酸基を有した構造である。水酸化された蛋白質が体内で酸化された時、活性なナイトロキサイドラジカルになり発がんを引き起こすと言う説が有力であり、ヒドロキサム酸から生じるナイトロキサイドラジカルの挙動に注目した ESR 研究が多い⁴⁾。

ESR は老化や発がんの過程に関与しているラジカル、即ちその不対電子をプローブとしている為に生体反

応の変化を磁気の利用して間接的な観察が可能な機器であり、NM スキャナーと共に最近特に注目を浴びている。本論文では、ESR を利用して銅イオンや鉄イオン等の金属イオンと種々のヒドロキサム酸との反応や構造を中心に生体内に於ける金属イオンと配位結合に関する検討を行うと共に、可視・紫外分光器を利用して金属イオンの種類と配位化合物の色の変化やその配位化合物に対する紫外線照射の効果等について研究し、生体内に生成可能な配位化合物の反応・構造・機能、更に配位化合物と発がんや制がん作用との相関関係について知見を得ようとした。

II. 実 験

銅イオンとして、塩化銅(II) [CuCl_2]、アセチルアセトン銅 [$\text{Cu}(\text{acac})_2$]、酢酸銅 [$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$] を、鉄イオンは塩化鉄(II) [FeCl_2] を、オキソバナジウムイオンは塩化バナジル [VOCl_2] を東京化成株式会社製の特級試薬を精製することなくそのまま使用した。*N*-フェニル、*N*-ベンゾヒドロキサム酸 (PBHXA)、アセトヒドロキサム酸 (AHXA)、ベンゾヒドロキサム酸 (BHXA) 等のヒドロキサム酸は東京化成株式会社製の特級試薬を精製することなくそのまま使用し、ジオキサンに溶解して約 10^{-2}mol 程度のジオキサン

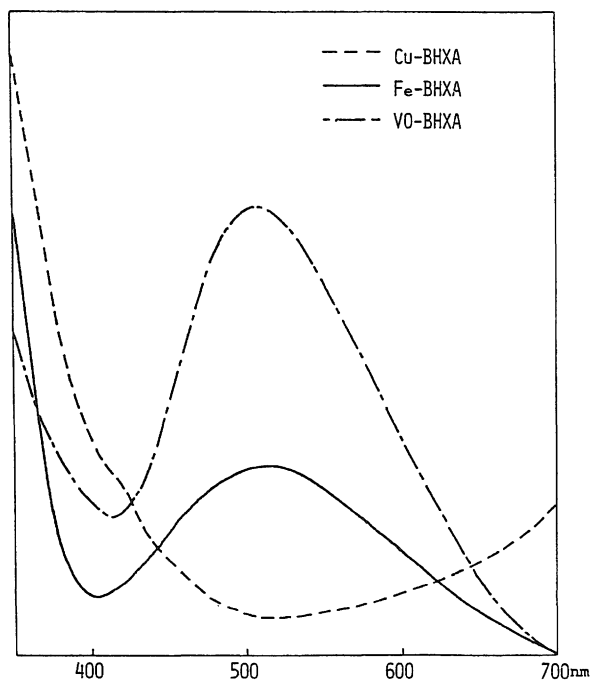


図1 銅、鉄、バナジウムイオンとベンゾヒドロキサム酸錯体の吸収スペクトル

溶液とした。

紫外・可視吸収スペクトルの測定は日立製UV220型を用い、石英製10cmセルとマイクロフローセルを使用した。ESRスペクトルは日本電子製JES-FE1Xを使用して室温と77Kで測定し、紫外線照射は500Wのキセノンランプを線源とし、ESRのキャビティー中の石英試料管に直接照射した。ESRのキャビティー内にフローセルと分光器のマイクロフローセルとを直結し、精密循環ポンプで所定の流速に調節しながらESRと分光器の同時測定を行った。ESR試料管は直径5cmに石英製のものを用い、約200 μ lの試料を注入して測定し、g値と核結合定数はマンガン標準試料との比較から決定した。

III. 結果と考察

塩化銅、塩化鉄、塩化バナジルの3種類の金属イオン溶液とAHXA, BHXA, PBHXAの3種類のヒドロキサム酸溶液を反応させると、鉄イオンとバナジルイオンは赤紫色、銅イオンは暗褐色に着色し、金属イオン特有の有機金属錯体が生成した。図1に3種の金属イオンとBHXAの有機金属化合物の可視・紫外吸収スペクトルを示すが、AHXAやPBHXAのヒドロキサム酸の場合も殆ど同じであった。3種のヒドロキサム酸ではPBHXAの場合がシフトや吸収強度の変化が大

きく、3種の金属イオンでは塩化バナジルの場合が非常に大きな変化をもたらした事が判った。

図1に於いて非常に興味がある事は、鉄イオンとバナジルイオンの有機金属錯体は赤紫色に相当する約520nmに吸収極大をもち、銅イオンの場合は暗褐色で420nm付近に吸収極大を有している事である。この原因としてはこれら遷移金属イオンの3d電子配置と配位結合状態に差に起因しているものと思われる。即ち、銅イオンは3d⁹の電子配置を持ち3d¹のバナジルイオン(オキソバナジウムイオン)と全く正反対の関係にありながらバナジルイオンと同じ平面四配位型の構造をとり⁵⁾、3d⁵の鉄イオンの様に六配位八面体型構造をとらない為、520nm付近に吸収極大を持たないものと考えられる。

この点について明確な結論を求める為に新たな実験を試みなければならないが、スペクトルの変化が最も大きいバナジルイオンは生理活性の点で銅イオンや鉄イオンに劣る為、ここでは省略して次報⁵⁾で詳細に述べる。生理活性の点から銅及び鉄イオンの特異性に注目する必要性があると思われるので、ここでは銅イオンや鉄イオンの有機金属化合物を中心に検討を試みる事にする。

銅イオンの活性を研究する際、出発の銅イオンの構造迄考慮する必要がある、塩化銅、酢酸銅、アセチルアセトン銅を用いて実験を行った。PBHXAと3種の銅イオンの有機金属錯体の可視・紫外吸収スペクトルを図2

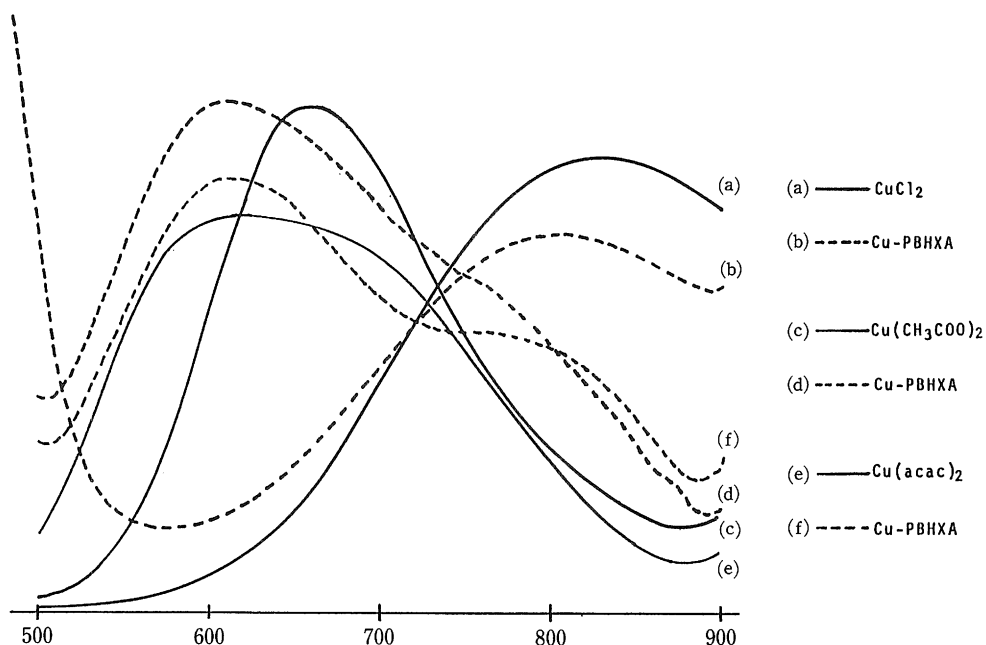


図2 塩化銅、酢酸銅、アセチルアセトン銅とフェニルベンゾヒドロキサム酸錯体の吸収スペクトル

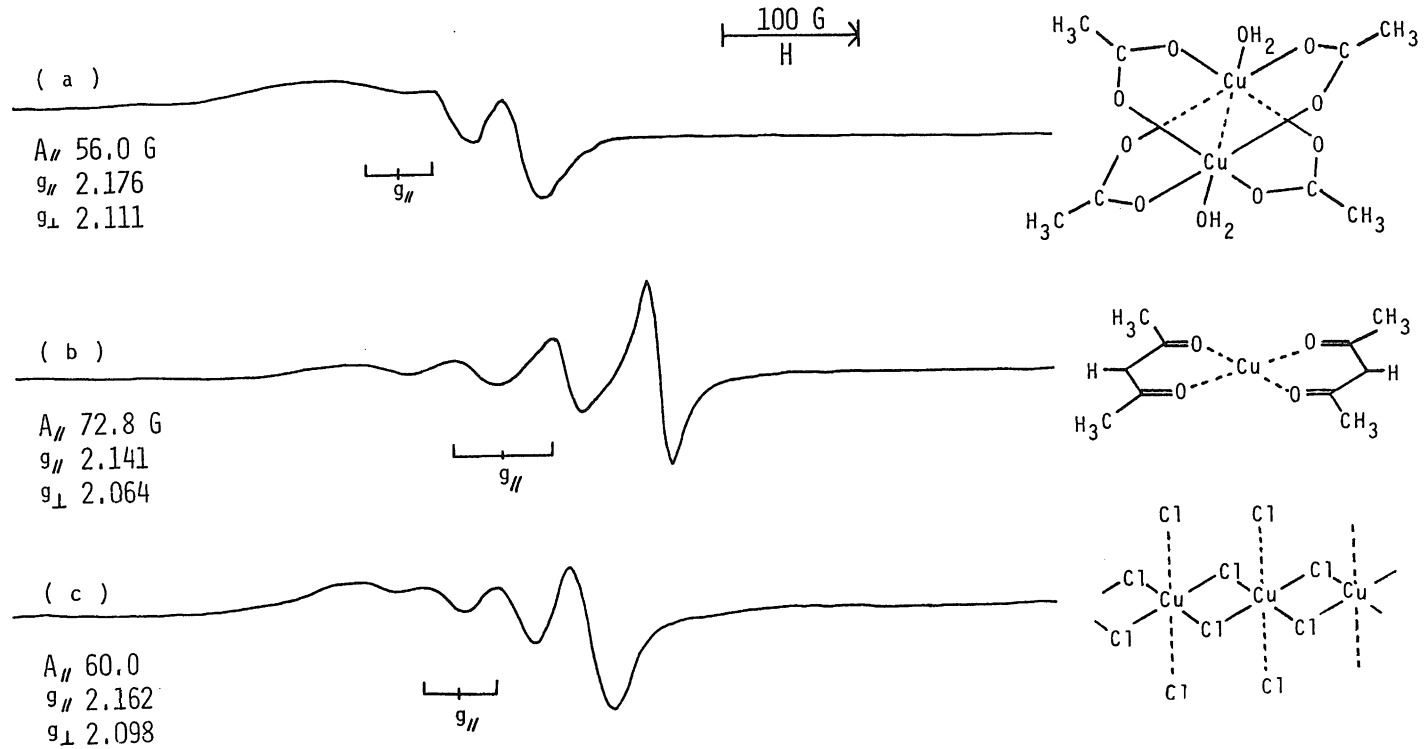


図3 塩化銅，酢酸銅，アセチルアセトン銅のESRスペクトル
 (a)酢酸銅，(b)アセチルアセトン銅，(c)塩化銅

に示すが、図から判る様に、グリーン銅と言われる塩化銅の840nm付近の吸収極大が、PBHXAを配位された時、この吸収極大が30nm程短波長側へシフトした。他方、ブルー銅と言われる酢酸銅は670nm付近に吸収極大を、又、アセチルアセトン銅は600nmと700nm付近にそれぞれ吸収ピークを持つが、これらのピークはPBHXAを配位させた時分裂する事が分かる。即ち、PBHXAの配位によって酢酸銅の吸収帯は約50nm程度短波長側へシフトするものと、100nm程度高波長側へシフト(780nm付近にショルダーとなっている)するものに分裂し、アセチルアセトン銅の場合は低波長側の吸収極大は殆どシフトしないが、高波長側のピークは約100nm程度高波長側へシフト(800nm付近)している。

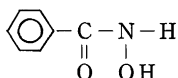
塩化銅はイオン結合であり、方向性がなく六配位八面体的な構造であり、PBHXA等の配位子の置換に対し比較的安定と思われるが、ブルー銅の酢酸銅やアセチルアセトン銅はむしろ平面四配位構造を有し、PBHXA等の配位子による置換反応が容易な為、微小なエネルギーレベルの変動が分裂が生じたと考えられる。しかしながら、可視・紫外スペクトルでは多くの知見を得ることはかなり困難である。

3種の銅イオンがヒドロキサム酸と反応し有機金属錯体を生成する際、銅イオンの微小なエネルギーレベルの変動が分裂に関する詳細なデータを得るためにESR

を測定した。その結果、得られた3種の銅イオンの室温のスペクトルを図3に示す。図からも分かる様に、g値は酢酸銅、塩化銅、アセチルアセトン銅の順に小さくなるが、逆に核結合定数A_{Cu}は酢酸銅、塩化銅、アセチルアセトン銅の順に大きくなる。この事は酢酸銅が結晶中と同様に溶液中でも二量体を保持しているため銅イオンの回りは六配位八面体構造に近く全体として球状になっている事を示唆しており、アセチルアセトン銅はほぼ平面四配位構造、塩化銅はその中間的な構造をしている事と非常に良く一致している。これにBHXAをはじめ他のヒドロキサム酸を反応させた時、塩化銅の反応性が非常に小さかったが、酢酸銅とアセチルアセトン銅は非常に反応性が高く、まったく同じESRスペクトルをしめた。

有機金属錯体のスペクトルはアセチルアセトン銅のそれよりも、若干g値を低下させると同時に核結合定数は増加させ、有機金属錯体がアセチルアセトン銅よりもさらに平面性を帯びている事を示している。酢酸銅がアセチルアセトン銅の有機金属錯体と同じスペクトルを示した事については、球状の酢酸銅がヒドロキサム酸との反応によって平面性を帯びたアセチルアセトン銅錯体と同様な構造をとった為と考えられる。又、塩化銅の反応性については酢酸銅やアセチルアセトン銅の錯体形成に比べ反応時間が10⁻⁵以上も大きく、塩化銅がイオン結合

表1 各種金属イオンとBHXA錯体中に生じたラジカルのESRパラメーター

Table 1 ESR Parameters of nitroxide radicals derived from  with metal ions

metal ions	Radicals (I)						Radicals (II)		
	oxy-trans			oxy-cis type			G-values	AN	AH
	G-values	AN	AH	G-values	AN	AH			
VOCl ₂	2.0070	6.17	10.51	2.0073	5.61	9.81	2.0070	7.29	3.36
CuCl ₂	2.0071	6.17	10.51	2.0073	5.75	9.81	2.0069	7.29	3.92
FeCl ₃	2.0069	6.18	10.52	weak signal					
CoCl ₃	2.0071	6.16	10.48	2.0073	5.68	9.93	2.0069	7.09	3.26
CrCl ₃	2.0070	6.19	10.56	2.0073	5.64	9.93			
MnCl ₂	2.0070	6.18	10.52	2.0073	5.70	9.97			
NiCl ₂	2.0070	6.10	10.50	2.0073	5.69	9.96			
VO (acac) ₂	2.0071	6.15	10.49	2.0072	5.61	9.95	2.0069	7.31	3.37
Cu (acac) ₂	2.0069	6.15	10.49	2.0073	5.61	9.95			
Fe (acac) ₃	2.0070	6.15	10.59	weak signal					
Co (acac) ₃	2.0070	6.12	10.56	2.0073	5.64	9.93	2.0070	7.24	3.27
Cr (acac) ₃	2.0069	6.10	10.38	weak signal					
Mn (acac) ₃	2.0070	6.13	10.55	weak signal					
Ni (acac) ₂	2.0070	6.12	10.48	weak signal					

である上に溶液は強い酸性(約PH=5)であるためと考えられ、アルカリで中和した溶液からはシグナル強度が非常に小さいスペクトルを得る事が出来る。このスペクトルは酢酸銅やアセチルアセトン銅の錯体のスペクトルと同様なスペクトルであった⁶⁾。

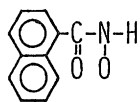
3種の銅イオンはヒドロキサム酸と容易に錯体を形成するが、塩化銅の場合は他の銅イオンと異なり、種々のヒドロキサム酸に起因する有機ラジカルを生成したが、塩化鉄にも同様な反応が観測されている事から、高いイオン性と酸性度を有する塩に共通した現象と思われる。金属イオンが酸化剤と同様に有機ラジカルを生成する事は生体機能面と発がんの両面から注目される⁷⁾。銅イオンや鉄イオン以外の金属イオンの酸性度やイオン性を検討するため、ヒドロキサム酸に対して酸化能力のある金属イオンを用いラジカルの生成を試みた。

ベンゾヒドロキサム酸からは全ての金属イオンによって、ナイトロキサイドラジカルが生成した。このラジカルには、シスとトランスの2種の構造異性のラジカルが含まれる事が判った。表1にBHXAから生成したナイトロキサイドラジカルのESRパラメーターを示

す。BHXAや他のヒドロキサム酸に対して銅イオンや鉄イオンは殆ど同じ反応性を示したが、ナフチルヒドロキサム酸に対して鉄イオンが特異的な反応を行う事が観察された。

図4にナフチルヒドロキサム酸に銅イオンと鉄イオンの反応によって、生じたナイトロキサイドラジカルのESRスペクトルとESRパラメーターを示している。塩化銅の場合は他のヒドロキサム酸と全く同じであるが、塩化鉄の場合はナイトロキサイドラジカルのESRパラメーターが、ヒドロキシウレアから生成するカルバモイルナイトロキサイドラジカルのものと同じで、ナフチル環の束縛が解かれた時に得られたラジカルと予想され、何らかの構造変化が生じたものと考えられる。金属イオンの種類と生成するラジカルの構造との関係を追及し、金属イオンの電子状態に関する知見を得る事は金属イオンの生体機能を知る上で非常に興味がある。

銅イオンや鉄イオンも共にイオン性であるが、若干酸性度に差があると思われる。しかし、生じたラジカルの構造の違いはむしろ塩化銅の場合、平面四配位型の錯体からシスとトランス型のラジカルを生じているのに対し



CuCl_2
oxy-trans type

$g = 2.0072$

$A_N = 5.93 \text{ G}$

$A_H = 10.30 \text{ G}$

oxy-cis type

$g = 2.0074$

$A_N = 5.70 \text{ G}$

$A_H = 9.93 \text{ G}$

FeCl_3

$g = 2.0064$

$A_N = 8.10 \text{ G}$

$A_H = 11.60 \text{ G}$

$A_H = 0.44 \text{ G}$

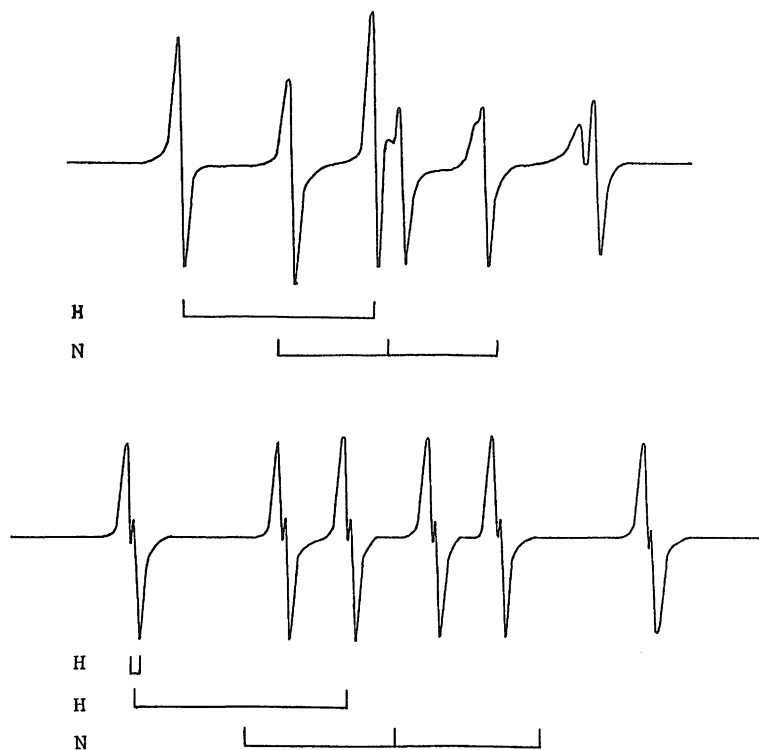


図4 塩化銅(a)および塩化鉄(b)とナフトヒドロキサム酸錯体の中に生じるラジカルESRスペクトル (a)の場合、幾何異性体のラジカルが生成

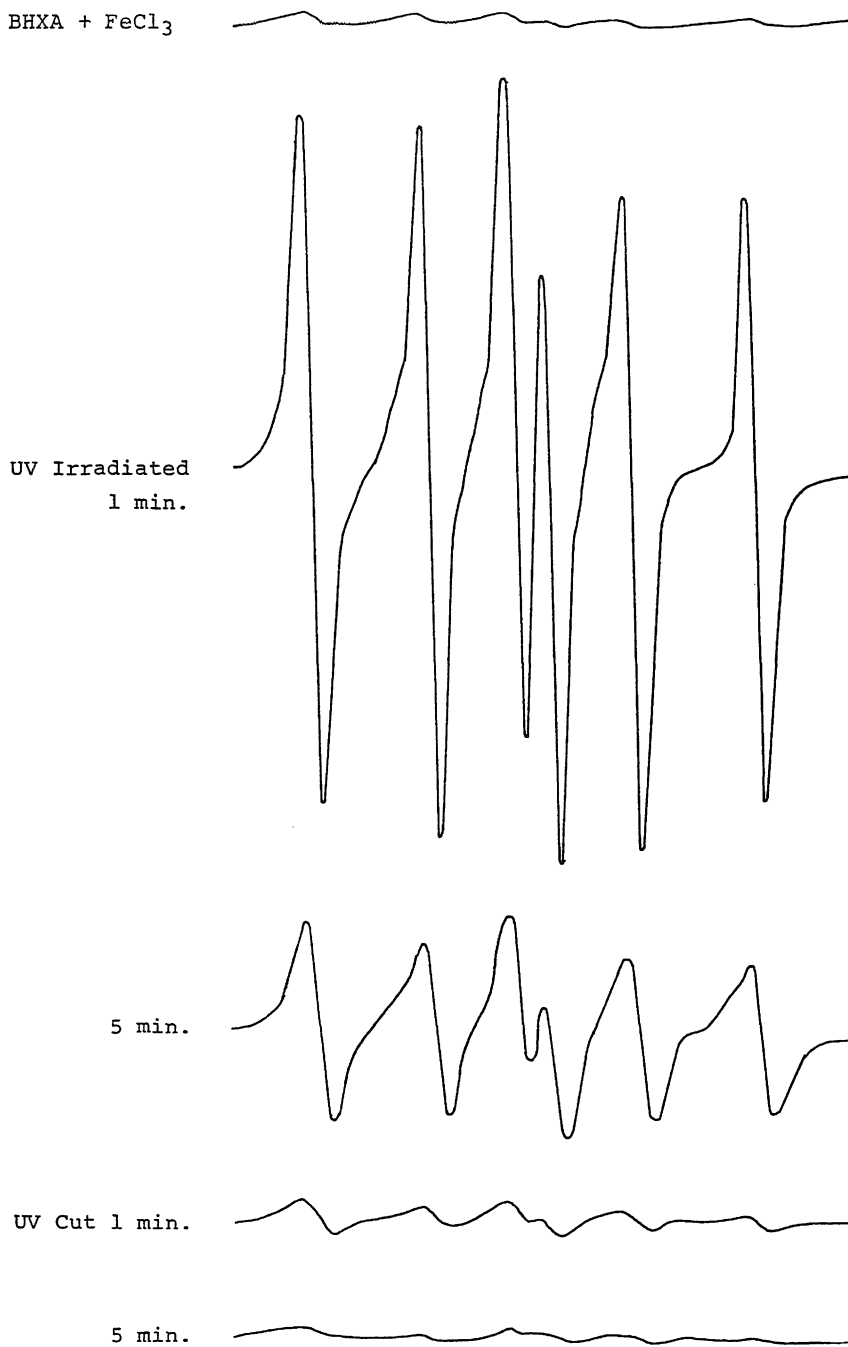


図5 鉄イオンとBHXA錯体中に生じるラジカルのシグナル強度に対する紫外線効果

鉄イオンの場合、八面体六配位の錯体から安定なラジカルを生じていると容易に理解できる。ラジカルの構造にも影響を及ぼしている有機金属錯体の構造は生理作用に大きな影響があると思われる。

銅イオンや鉄イオンの活性の違いに注目し、これらの金属イオンとヒドロキサム酸の錯体に対して紫外線の効果を検討してみた。BHX Aに塩化鉄を加えた時弱いシグナルしか得られないが、紫外線を照射するとただちに数十倍のシグナル強度になり、連続照射の時間と共に減衰して照射5分後に7~8倍位迄になるが、紫外線のカットと共にシグナル強度の急激な減少が起こる。紫外線照射によるシグナル強度の変化の様子を図5に示す。銅イオンも同様な結果を示したが、他のイオンの場合はこのような急激な変化は見られず、銅イオンと鉄イオンのみに生じた現象であり、金属イオンを含まないヒド

ロキサム酸を紫外線照射した際にもこの現象は観測されなかった。

どのような原因で図6に見られる様な結果になったかはさだかでないが、紫外線と銅イオンや鉄イオンの相乗効果によるものである事から、銅イオンと鉄イオンの色に起因している様に思える。これらの結果を図6に示す。更にナフチルヒドロキサム酸に、銅イオンを加えた時に比べ鉄イオンを加えた場合は更に大きな差が生じた。銅イオンより鉄イオンの方が紫外線を有効に吸収するのも知れないが、恐らく銅イオンの平面四配位型と鉄イオンの八面体六配位型の構造の違いが関与していると思われる。

白金(II)錯体は平面四配位型錯体が制がん作用があるとされている⁸⁾。また、白金(IV)錯体は六配位八面体錯体でも活性を示すものもあるが、体内でおそらく還

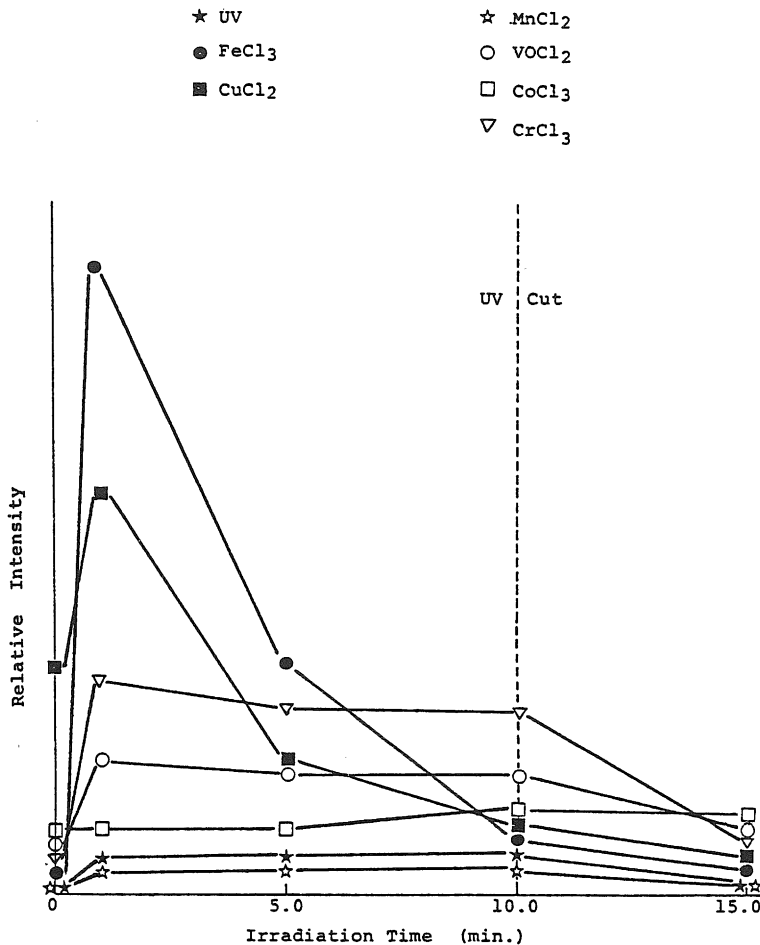


図6 金属イオンとBHX A錯体中に生じるラジカルのシグナル強度に対する紫外線効果

元され白金(II)錯体となっているものと推測されている。制がん作用が活性であるためには、ハロゲンやカルボン酸の様に溶液中で離脱し易く、他の配位子と容易に置換反応する配位子(leaving group)がシス位に2個存在する事が必要であると言われている¹⁾が、銅錯体の場合もこの条件は同様であろうと思われる。更に錯体全体として電荷を持たず中性である事が必要である。中性で脂溶性であることが細胞膜の透過性に必要と思われるので、塩化銅からの錯体は制がんの活性を持たないものと思われる。

酢酸銅やアセチルアセトン銅の錯体の場合はこの脂溶性に関して問題ないが、ヒドロキサム酸の配位部位は2個共、酸素であり、トランス型の配位をしているためにこれらの有機金属錯体も抗癌作用に活性を示さないものと思われる。この事の確認の為、ヒドロキサム酸よりも配位能力の高いと思われるジメチルグリオキシムやビス(O-レゾルシノ)プロパンジアミン等を使用し銅錯体のESRスペクトルを測定した。ジメチルグリオキシムの錯体はトランス型で平面性の高い構造をしており、ビス(O-レゾルシノ)プロパンジアミンの銅錯体はプロパンジアミンの側をシス側にしな平面性である事、更に炭化水素鎖の長さが僅かな歪みをもたらしている事などが分かった。この詳細は別報で報告されるであろう。

IV. 引用文献

- 1) 松本和子, 化学と教育, 37巻, 4号, 374-377頁, 1989年.
- 2) V. Heasley, V. Christensen, and G. Heasley, "Chemistry and life in the Laboratory", Burgess Publishing Co., Minesota, USA, pp. 110-120, (1979).
- 3) K. Edward Van Holde, "Physical Biochemistry", Prentice-Hall, N. J., p. 176, (1978).
- 4) E. C. Miller, P. D. Lothiker, H. C. Pipot, T. L. Fletcher and J. A. Miller, Cancer Research, 26, 2239, (1966).
- 5) 田中信行, 尼子義人訳, "配位子場理論入門", 丸善, 東京, 254頁, 299頁, 1967年.
- 6) 曾我部國久, 梶谷 忍, 森山喜代美, 林田優子, 坂本一光, 日本化学会中四国・九州合同大会講演予稿集, 熊本市, 33-34頁, 1989年; 曾我部國久, ESR討論会講演予稿集, 筑波学園都市, 119-121頁, 1984年.
- 7) 喜谷喜徳, 田中 久, 中原昭次編, "金属イオンの生物活性-生物無機化学の新しい流れ-", 化学増刊 95, 化学同人, 141-149頁, 1982年.
- 8) S. J. Lippard, Ed. "Platinum, Gold and Other Metal Chemotherapeutic Agents" ACS Symposium Series 209, Amer. Chem. Soc., pp. 96-102, (1983).