

有機化合物中に生じたラジカルの研究 I

— イミノキシラジカルのESRスペクトル —

曾我部國久*1・米田 和夫*2・越野 和胤*3
石川 純二*4・高橋 泰道*5・原 一夫*6
坂本 一光*1

Kunihisa SOGABE, Kazuo YONEDA, Kazutane KOSHINO,
Junji ISHIKAWA, Taidou TAKAHASHI, Kazuo HARA
and Ikko SAKAMOTO

A Study of Radicals Produced in Organic Compounds I
— ESR Spectra of Iminoxy Radicals —

Abstract: One-electron oxidation occurred simultaneously on the formation of copper (II), ferric (II) or oxovanadium (II) complexes with oximes and related compounds produces iminoxy radicals. These iminoxy radicals are stable in complexes with metal ions but change into another radical which produced by Beckmann rearrangement reaction of oxime under acidic condition. These results reflect that reactivity of oximes and aldoximes are affected by molecular structure and oxide or metal ion. Behavior of radicals produced in the reaction such as Beckmann rearrangement is suggested to be involved in the similar mechanism detected in metabolism.

I. 緒 言

最近, 生体内に存在する鉄イオンや銅イオン等の微量金属イオンが生体の生理作用に深く関わっている事が注目され, 金属イオンを中心とした有機金属錯体に関する多くの研究がある¹⁾。筆者らは金属イオンとして平面四配位型構造の銅イオンや八面体六配位型構造の鉄イオンやさらに酸素結合体で両イオンの中間的な構造を有するオキソバナジウムイオン等と蛋白質のペプチド結合と類似構造を持つヒドロキサム酸との錯体の構造変化から, 生体の生理作用や制がん作用には金属イオンや錯体

の構造が大きく関係している事を報告した^{2,3)}。この時, 錯体形成の際に金属イオンの一電子酸化によって生成したラジカルの挙動が, 発がん過程に於けるアミンからニトロソアミンへの反応経路中に生じたラジカルの挙動⁴⁾と酷似している事を見出し, これらの金属イオンが発がん過程に関与する可能性を示唆した。同時に多くの金属イオンのうち銅イオンによってのみナイトロオキサイドラジカルの異性体が生成した事実を重視し, 金属イオンと生体の生理作用や制がん作用に関する興味深い知見を報告している。

ニトロソアミンと類似構造を有するニトロソフェノールも発がん性が高く⁵⁾, このニトロソフェノール類やこれと構造異性体の関係にあるケトオキシム類からはイミノキシラジカルの生成することは良く知られている⁶⁾。オキシム類は, E型とZ型の異性体を持ちイミノキシラ

*1 島根大学教育学部理科研究室
*2 江津市立江津中学校
*3 飯石郡三刀屋町立中野小学校
*4 松江市立法吉小学校
*5 大田市立川合小学校
*6 島根大学教育学部附属小学校

ジカルも2種類観測されている場合が多く、発がんのメカニズムを解明する上で非常に興味ある物質である。発がん過程における金属イオンの役割等に関する知見を得るため、金属イオンのオキシム類との錯体形成能力と一電子酸化能力の比較を検討する必要があり、金属イオンとオキシム錯体のESRスペクトルやその錯体から生じるイミノキシラジカルのESRスペクトルの変化を通して錯体中のラジカルの挙動に注目した。オキシムの構造異性体に基づく2種のラジカルが金属イオンによって生成し、酸化剤によって特異な反応を示すことが判明する等発がんに関与するラジカルの挙動について興味ある知見を得た。

II. 実験

金属イオンとして、東京化成株式会社製の特級製品、塩化銅(II)、塩化鉄(III)、塩化バナジル(IV)を、酸化剤として酸化鉛(IV)や四酢酸鉛を、配位子としてオキシム類は東京化成株式会社製の特級製品を精製することなくそのまま使用した。アルドキシム類は文献²⁾に従い、相当するカルボニル化合物と塩酸ヒドロキシルアミンから合成し、減圧乾燥した後デシケーター内に保存

したものを使用した。金属イオンや配位子は精密蒸留したジオキサンにそれぞれ溶解させ約 10^{-2} モル程度のジオキサン溶液を調整し、必要に応じて種々の比率で混合して金属錯体を作成した。実験方法の詳細については前報に記載している²⁾が、ESRスペクトルはJEOL製JES-FE1Xを使用して室温で測定した。ESR試料管は直径5cmの石英製のもので、約200 μ lの試料をマイクロペットを用いて注入した。 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(II)と塩化バナジル(IV)と数種のアルドキシム類からは、銅やバナジル錯体特有のESRスペクトルを示し平面四配位型の構造を保っていると思われる。しかし、これら錯体のESRスペクトルは徐々に変化しイミノキシラジカルのスペクトルが観測された。そのため、塩化銅(II)や塩化バナジル(IV)とアルドキシム錯体は他の錯体に比べてかなり不安定と思われる。塩化鉄(III)とアルドキシム錯体の場合はESRスペクトルは観測されなかった。鉄イオン(III)は緩和時間等の問題で室温ではESRスペクトルが観測されないケースが

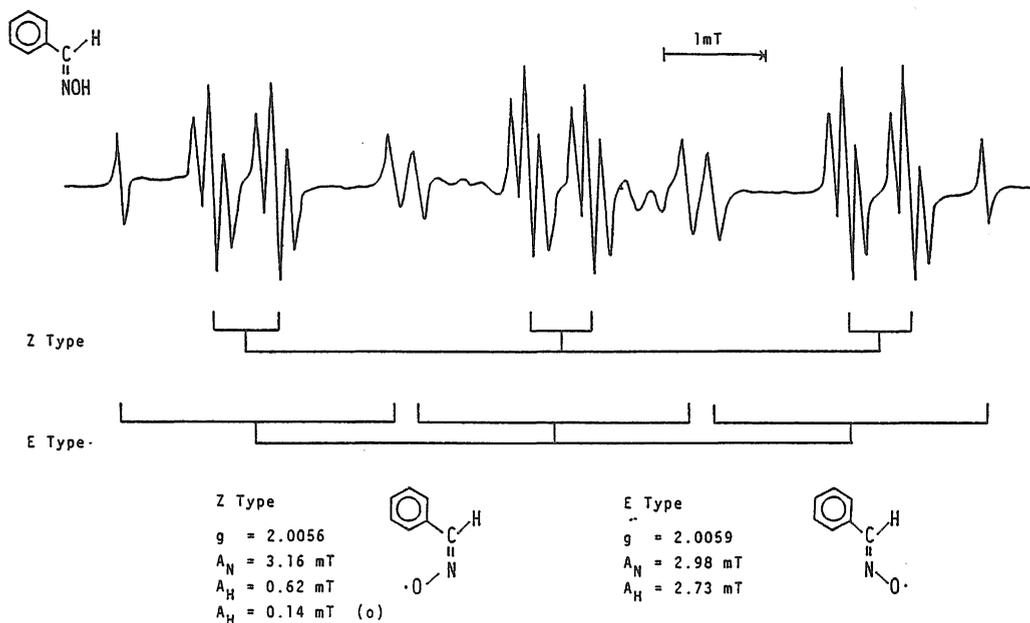


図1 α -ベンズアルドキシムから生じた2種のイミノキシラジカルのESRスペクトル

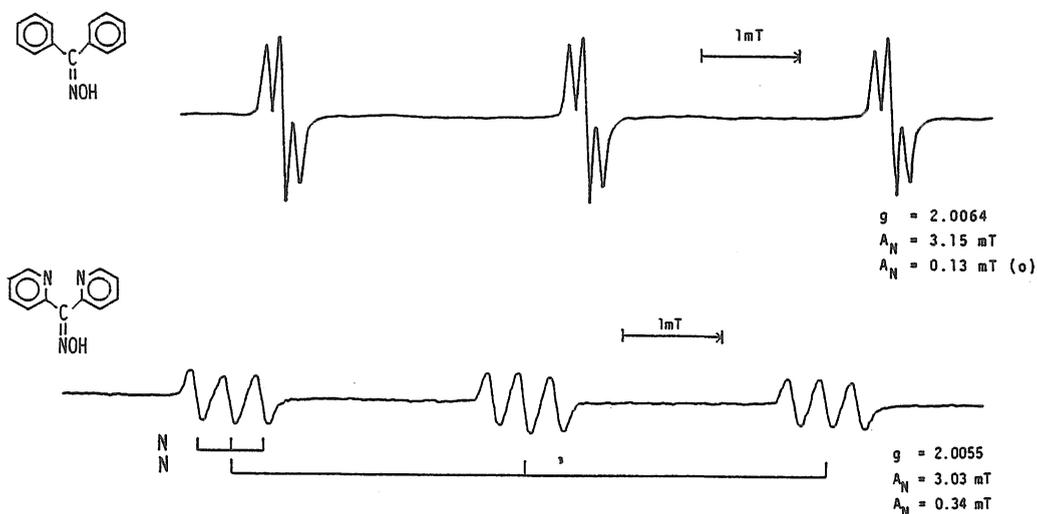


図2 ジフェニールイミノキシラジカル(a)とジ、2-ピリジンイミノキシラジカル(b)の ESRスペクトル

多いが、他の鉄イオン錯体同様、八面体六配位型の構造を保有しているものと思われる。しかし、イミノキシラジカルは有機ラジカルで、緩和時間等は無関係であることを考慮すれば、他の金属イオン錯体の場合と異なりこの錯体からイミノキシラジカルが観測されなかった事実は、むしろ、八面体六配位型の鉄イオンの一電子酸化能力に関係しているように思える。この錯体の構造の違いとラジカル生成との相関関係の成立は、発がんのメカニズムとラジカルとの関係を検討する上で非常に興味ある。

塩化銅(II)や塩化バナジル(IV)と α -ベンズアルドキシムの錯体からは、図1に見られる様に2種類以上のラジカルが混在したESRスペクトルが観測された。 α -ベンズアルドキシムはイミノキシ(C=N-OH)基とメチン(C-H)基を有しているが、E型⁷⁾はイミノキシ基とメチン基がシス側に配置した構造で、Z型はイミノキシ基とメチン基がトランス側にある構造である。この異性体に相当した2種のイミノキシラジカルが確認できた。すなわち、E型のイミノキシラジカルは、不對電子が存在するイミノキシ基とメチン基のプロトンがシス側にあるため相互作用がかなり大きく、約2.6mTのプロトンの核結合定数 A_N を持ったESRパターンに同定出来る。一方、Z型のイミノキシラジカルは不對電子とプロトンがトランス側にあるため相互作用が小さく、プロトンの核結合定数 A_N は約0.6mTとなる反面、新たにフェニール環上のプロトン等との相互作用による約0.1mTと0.04mTのプロトンの核結合定数 A_N を示す

ESRパターンに同定出来た。第3番目のラジカルについてはシグナルが弱く同定出来なかった。

種々の置換基を持ったアルドキシム錯体から生じたイミノキシラジカルのESRパラメーターを表1に示す。これらのESRパラメーターは文献値⁷⁾と良く一致しているが、E型とZ型の構造の違いがメチン基のプロトンの核結合定数 A_N の大きな差として表れている。その他の位置異性体のアルドキシムにおいて、オルト位に置換基を有するZ型のイミノキシラジカルのo位プロトンの核結合定数 A_N は特に大きい値を示している。たとえば、 α -ベンズアルドキシム、4-ピリジンアルドキシムや4-ニトロアルドキシム等のo位プロトンの核結合定数 A_N が0.14mTであるのに比べ、2-ピリジンアルドキシム、2-ピリジンアルドキシムや2-ニトロアルドキシム等のo位プロトンの核結合定数 A_N が0.23mTとなっている。

前者がベンゼン環とアルドキシム基との間が一重結合であるため自由回転し易く、不對電子とフェニール環のo位のプロトンとの相互作用が小さくなるものと思われる。これに反し、後者はピリジン環の窒素原子やベンゼン環上に存在する置換基のニトロ基の π 電子がフェニール環の非局在化を拡大させ、フェニール環とアルドキシム基間のC-C結合に二重結合性が生じるためイミノキシラジカルの構造は平面性を有するようになり、不對電子がフェニール環のo位のプロトンとの相互作用は若干大きくなるものと解釈される。

分子の平面性に対するフェニール環上の置換基の影響は、サリチルアルドキシムの o 位のプロトンの核結合定数 A_N にも良く表れている。すなわち、サリチルアルドキシム類に存在する水酸基がオキシム基と水素結合する構造を想定すれば、 o 位のプロトンとオキシム基が遠くへ離れた位置になる構造となり、プロトンと不対電子との相互作用はプロトンの核結合定数が観測されない程度にまで小さくなる筈である。ところが表1におけるサリチルアルドキシム類のESRデータは、水酸基がオキシム基とは遠くへ離れた位置にある事、さらにこれらイミノキシラジカルが平面構造である事を示している。

ジフェニールケトキシムと2-ピリジルケトキシムからのイミノキシラジカルのESRスペクトルを図2(a)と(b)に示す。図2(a)から判るように、イミノキシ基の不対電子は等価な2個のプロトンと相互作用しているが、この等価な2個のプロトンを2個のフェニール環の o 位のプロトンかどちらか一方のフェニール環の2つの o 位のプロトンと同一するのは困難であるが、ベンゼン環が結合したオキシムの分子構造は平面性を帯びている場合が多く、図2(a)の等価な2個のプロトンは片方のフェニール環に起因していると予想される。このことは図2(b)のESRスペクトルからも理解できるが、いず

れか一方のピリジル環上の窒素核が、オキシム基の不対電子と相互作用しており2つのピリジン環がオキシム基に対して不等価な位置にある事を示している。もし、2個のフェニール環がイミノキシ基に対して等価であるならば、図2(b)で2個の等価な窒素核による5重項(強度比1:2:3:2:1)が観測される筈である。

金属イオンの一電子酸化によってヒドロキサム酸から相当するナイトロキシドラジカルが生成したが、平面性を有するラジカルの安定性に比べ立体性を帯びたナイトロキシドラジカルは次々と他のラジカルへ変化した事を報告している⁹⁾。このラジカルの不安定性は金属イオンより四酢酸鉛等の酸化剤によって増加し、ダイナミックなラジカルの変化に対する酸素の影響を議論した。多くのアルドキシムの場合には金属イオンによって生じたイミノキシラジカルは殆ど変化しないままで減衰したが、このイミノキシラジカルの酸化剤に対する影響については殆ど研究されていない。

α -ベンズアルドキシムと四酢酸鉛の反応によって図3に示されたようなESRスペクトルが得られた。図1で見られた様なイミノキシラジカルの2種の異性体のスペクトルは早く減衰して、図3に見られる様な複雑なスペクトルへと変化した。その内、比較的強度が大きいダ

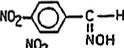
Aldoxime	(Z Type) g-Values	Hf Coupling Constants (mT)					(E Type) g-Values	A_N	A_H^{C-H}	A_H^O
		A_N	A_H^{C-H}	A_H^O	A_H^D	A_H^M				
	2.0056	3.16	0.62	0.14	0.04		2.0059	2.98	2.73	
	2.0051	3.13	0.59	0.14		0.03	2.0056	2.94	2.68 0.04	
	2.0052	3.17	0.59	0.24	0.06	0.02	2.0060	3.00	2.73	
	2.0053	3.13	0.86	0.23	0.06		2.0055	2.98	2.72 0.04	
	2.0053	3.18	0.63	0.13			2.0055	2.94	2.67	
	2.0053	3.21	0.63	0.11	0.04		2.0057	2.99	2.71	
	2.0053	3.29	0.74	0.23		0.06	2.0058	3.01	2.67 0.10	
	2.0056	3.26	0.65	0.28			—	—	— —	
	2.0053	3.26	0.65	0.28			—	—	— —	

表1 種々のアルドキシム類から生じたイミノキシラジカルのESRパラメーター

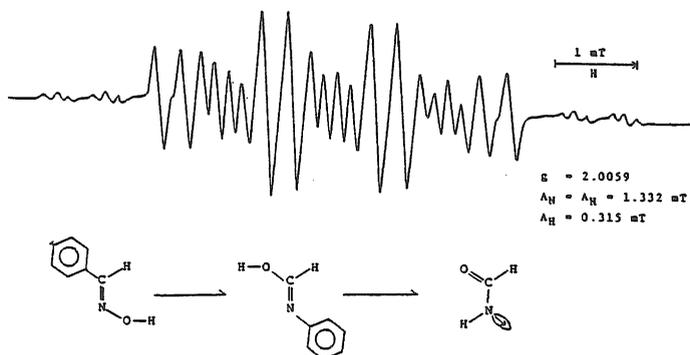


図3 α -ベンズアルドキシムのベックマン転移によって生じたホルミルイミノラジカルのESRスペクトル

ブレットクワルテット(クワルテットの強度比 1:2:2:1)のESRパターンから、1個の窒素核と2個のプロトンが関与しているホルミイミドラジカルであると同定出来た。そのラジカルは、一電子酸化に用いた四酢酸鉛の分解のため酸性条件下でベンズアルドキシムのベックマン転移⁹⁾が起こり、N-フェニルホルミルアミドを生成した後酸化されてホルミイミノラジカルを生成したものと推定される。

フェニルアセトキシムも四酢酸鉛による酸化によっ

て、N-メチルベンズイミドラジカルのESRスペクトルが観測され、ベックマン転移によって生じたN-メチルベンズアミドから容易にN-メチルベンズイミドラジカルが生成する事が確認できた。他のアルドキシム類からは未だ同様のベックマン転移が起こったと言う観測がなされていないが、酸性条件下でしか起こらないベックマン転移が容易に観測出来たことは今までに報告が無く、発がんのメカニズムを考える上で非常に興味がある。

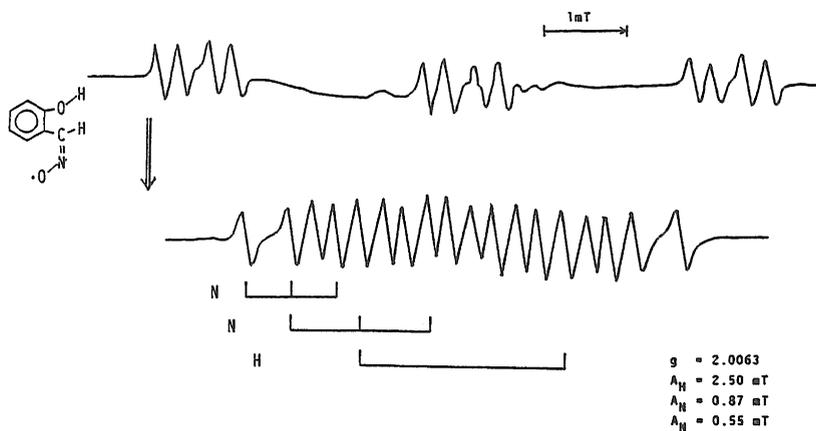


図4 サリチルアルドキシムからのイミノキシラジカル(a)とその反応後生成したラジカル(b)のESRスペクトル

サリチルアルドキシムと4, 5ジプロモサリチルアルドキシムからは相当するイミノキシラジカルのスペクトルが消失した後、興味あるESRスペクトルが観測された。サリチルアルドキシムの場合のESRスペクトルを図4に示す。ESRデータの解析から、2個の窒素核と核結合定数の大きなプロトン1個が関与しているナイトロキサイドラジカルである事が判明した。ラジカルの構造や生成のメカニズムはまだ不明であるが、ベックマン転移とは異なった反応が起こっている様に思える。発がん性の高いニトロソフェノール類はある種のラジカルを捕捉しナイトロキサイドラジカルを生成する事が良く知られているが、ここでも生成したイミノキシラジカルがC-ニトロソ化合物に変化し、それが別のイミノキシラジカルをスピントラップしたものと考えられる。

これらオキシム類は、金属イオンや酸化剤の作用によってイミノキシラジカルを生成するが、ある種のオキシムは酸化剤によってベックマン転移等を起こす事が判った。酸化剤によるイミノキシラジカルから他のラジカルへの興味ある変化は、分子構造に大きく影響されている事、また、発がん性の高いニトロソフェノール類の反応との類似点が少ない事等が判明し、発がんのメカニズムに関する貴重な知見が得られた。

IV. 文 献

- 1) たとえば、松本和子，化学と教育，37巻，4号，374-377頁，1989年；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。
- 2) 曾我部國久，森山喜代美，梶谷忍，高橋泰道，原一夫，坂本一光，島根大学教育学部研究紀要，24巻，11頁，1990年。
- 3) 曾我部國久，中西康恵，高橋泰道，村上隆政，原一夫，坂本一光，島根大学教育学部研究紀要，24巻，21頁，1990年。
- 4) たとえば，E.C.Miller, P.D.Loithiker, H.C.Pipot, T.L.Fletcher and J.A.Miller, Cancer Research, 26, 2239, (1966)。
- 5) 永田親義，“がん発生の機構”，サイエンス社，(東京)，28-84頁，1982年；石館守三，“生活環境と発がん”，朝倉書店，(東京)，13-17頁，1979年。
- 6) 曾我部國久，島根大学教育学部研究紀要，18巻，16頁，1984年。
- 7) K.H.Hellwege，“Landolt-Bornstein”，9，126，

(1979) and papers cited there.

- 8) A.Streiwieser and C.H.Heathcock，“Introduction To Organic Chemistry”，Macmillan Publishing, N.Y. p 789, (1986).