

中谷アドバンスドプログラム報告書

氏名・所属: 上山 航, 東北大学工学部化学バイオ工学科応用科学コース 4 年

ホスト: Prof. Sonja Herres Pawlis, Vitali Sidorin(mentor)

期間: 6th February 2026- 6th April 2026

1. インターン先大学での研究内容

(* 論文化される為, 作成した錯体に関する詳細は伏せています.)

Abstract

本研究では、生体内 bis- μ -oxo 二核銅クラスターを模倣した人工チロシナーゼモデル錯体の開発において、従来の配位子が直面していた「自己酸化による自己分解」という致命的な課題の克服を試みた。先行研究の架橋型配位子二核銅錯体は、活性酸素種が配位子中央の CH を親核的に攻撃して自己水酸化を起こすため、約 1 時間でコアが完全に分解・失活する欠点を持っていた。

本研究では、この攻撃を抑制するため、中央のリンカーをより親核攻撃・酸化に対して安定なヘテロ環へと置換した新規二核化配位子を設計・合成した。

さらに、末端グアニジン部位を環状化した変調配位子 (DMEG, DMBIG) を用いた系では、過度な剛直化に伴う立体障害によって Cu_2O_2 錯体自体の形成が阻害されることを明らかにした。

Introduction

Copper metalloproteins (銅含有金属タンパク質) は、自然界において 電子移動, 酸素分子の結合, 酸素の活性化反応 などに重要な役割を果たしている。銅がこれらの反応に関与できるのは、 $\text{Cu(I)}/\text{Cu(II)}$ の可逆的な酸化還元サイクルが容易に利用できるためであり、この特性により光合成、呼吸、酸素代謝といった生命現象において中心的役割を担っている。さらに、これらの銅タンパク質は、酸素を利用した触媒反応にも広く関与している。銅含有タンパク質は、その構造と分光学的性質に基づいて一般に Type 1, Type 2, Type 3 の 3 種類に分類される。このうち Type 3 銅タンパク質は、2 つの銅原子からなる 二核銅中心を持ち、酸素分子の取り込み、輸送、活性化を行う機能を有する。このタイプの代表的な酵素が チロシナーゼであり、これはフェノール化合物の酸化反応に関与する重要な酵素である。

チロシナーゼは、フェノール類を オルト位で水酸化してカテコールを生成し、さらにそれを酸化してオルトキノンに変換する反応を触媒する(図 1)。この反応は、生体内における

メラニン合成の初期段階に対応しており、皮膚の紫外線防御などにも関係する。また、果物や野菜の褐変現象にも同酵素が関与している。

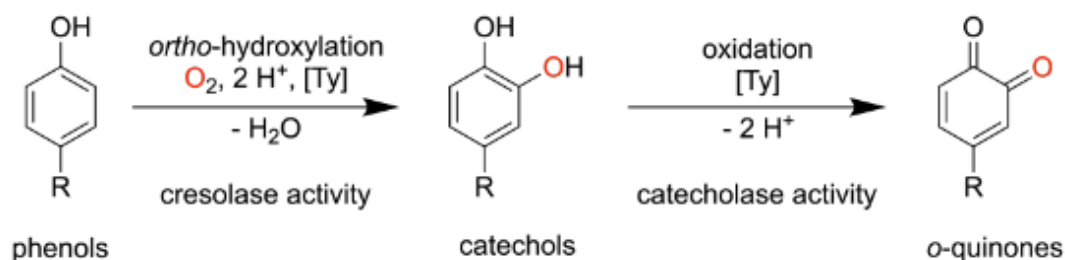


図 1. チロシナーゼのフェノール酸化触媒反応略式図

Tyrosinase の活性中心には、ヒスチジンにより配位された 2 つの銅原子が存在し、反応過程に応じて 3 つの状態 trans-1,2-peroxo 型, $\mu - \eta^2: \eta^2$ -peroxo 型, bis(μ -oxo)dicopper 型を取る。

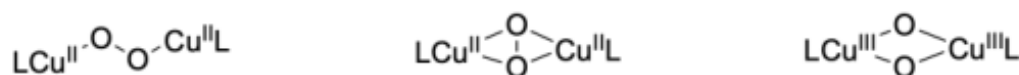


図 2(左から trans-1,2-peroxo 型, $\mu - \eta^2: \eta^2$ -peroxo 型, bis(μ -oxo)dicopper 型)

これまでに Herres-Pawlis 研究グループでは、さまざまな配位子設計により tyrosinase 模倣触媒の開発が進められてきた。例えば グアニジンを含む配位子は、強い塩基性と優れた電子供与性を持つため、高酸化状態の銅 Cu(III)を安定化し、活性な Cu_2O_2 種の形成を可能にすることが報告されている。これにより酸化反応や縮合反応において高い触媒活性が得られている。グアニジンは強い塩基性と高い電子供与能を示す窒素供与性配位子であり、高原子価金属種の安定化に有効であることが知られている。特に、チロシナーゼモデル錯体においては、酸素分子の活性化過程で生成する高反応性の Cu_2O_2 種を安定化するとともに、酸素添加反応や酸化反応を促進する重要な役割を果たす。さらに、グアニジン部位は天然のチロシナーゼ活性中心を構成するヒスチジン残基の電子供与特性を模倣できることから、生体模倣触媒の設計において有望な配位子骨格として注目されている。

当研究グループでは、メチレン架橋ベンゼンリンカーを有する二核銅錯体が合成され、生体の活性中間体を模倣した bis μ -oxo 二核銅(III) (Cu_2O_2) 種の形成に成功している。しかし、この錯体は形成された強力な活性酸素種が配位子中央の C-H 結合を親核的に攻撃して自殺基質的自己分解を引き起こすため、THF 溶液中において約 1 時間で完全に分解・失活するという実用上の致命的な欠点を有していた。本研究では、このような先行研究を踏まえ、既存の **TMGbenza ligand** を基盤として活性酸素種の自己攻撃ターゲットとなる中央芳香環を、親核攻撃に対してより安定なヘテロ環に置換した、2 つの機能性グアニジ

ン配位子を設計した。このように分子骨格を自殺的基質活性から防ぐことで、二核銅中心の距離や幾何構造を制御し、 Cu_2O_2 種の形成や安定性、さらには触媒活性にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

また、末端のテトラメチルグアニジン (TMG) 部位を、より立体・電子制御に富んだ環状構造を有するジメチルエチレングアニジン (DMEG) およびジメチルベンゾイミダゾリルグアニジン (DMBIG) へと構造変調させた新規誘導体の合成も行い、配位子の親核攻撃耐性の向上を目的とした。

Results and Discussion

1. 新規配位子の合成及びキャラクタリゼーション

ターゲットとした新規ヘテロ環含有機能性配位子を多段階有機合成により合成し、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR、および質量分析 (MS) によって高い化学純度で得られていることを同定した。

(反応経路や構造については論文化の事情で省略させて頂いています.)

末端に TMG を有する新規配位子 2 種及び DMEG 導入のピリジン型配位子は、高純度で得ることに成功した。一方、DMBIG 導入型については ^1H -NMR 上で一部不純物の残存が確認された。

2. TMG 型ヘテロ環配位子による酸素化挙動と UV-Vis 吸光スペクトル評価

合成した配位子をアセトニトリル中で $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ と反応させて二核銅 (I) 前駆体錯体を調製し、 -90°C のテトラヒドロフラン (THF) 中において酸素ガスを注入することで酸素化反応の追跡を行った。

・ヘテロ環置換配位子 1

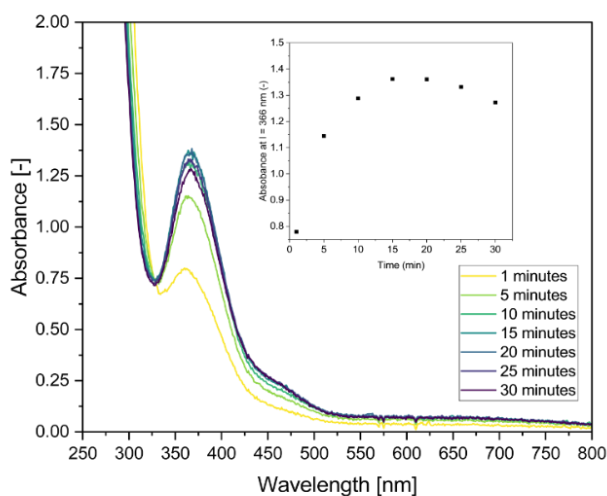


図 3. ヘテロ環置換錯体 1 の酸素導入後の UV-Vis

酸素の注入直後、従来のベンゼン架橋型錯体を凌駕する極めて迅速な錯体形成が観測され、約 20 分でビス (μ -オキソ) 二核銅 (III) コア特有の 375 nm 付近の吸収極大 (UV-Vis ピーク) に到達した。しかし、形成された中間体は 25 分から 30 分を過ぎた時点で速やかに減衰を始め、約 60 分 (1 時間) で吸収が完全に消失した。

・ヘテロ環置換配位子 2

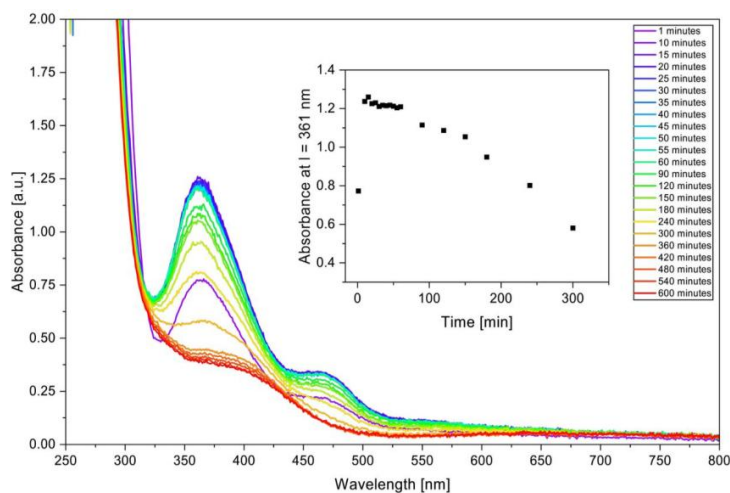


図 4. ヘテロ環置換錯体 2 の酸素導入後の UV-Vis

同様に -90°C で酸素化を行ったところ、約 25 分で吸収極大に到達した。その後は極めて緩慢な減衰に留まり、中間体が完全に失活・分解するまでに 420 分を要した。

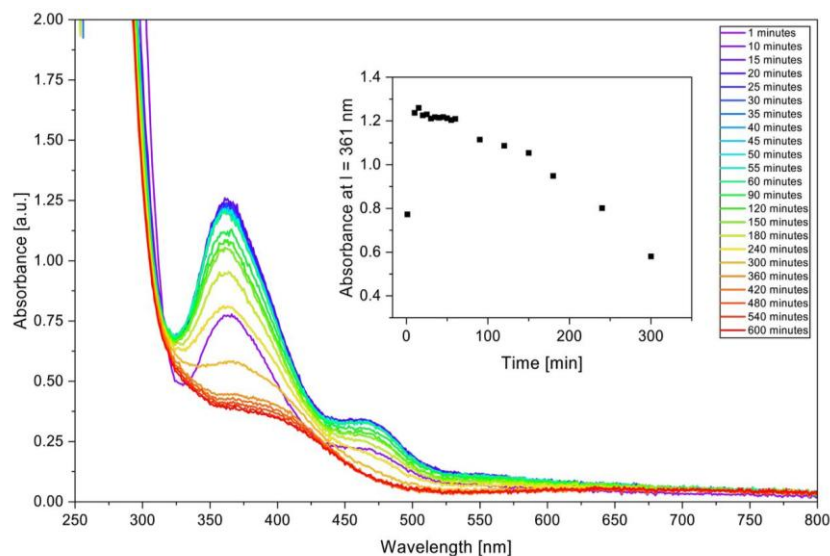


図 2. ヘテロ環置換 CuI 錯体 2 の酸素導入後の UV-Vis

さらに、ヨウ化銅 (CuI) 配位子溶液を用いた室温条件下の安定性評価においては、時間をかけて穏やかに Cu_2O_2 類似活性種が形成され、少なくとも 500 分以上にわたって吸収

強度を完全に維持し、失活しない高いロバスト性を示した。分解後に息を吹き込むことで溶液が緑色へと明瞭に変色する挙動も観測され、中間体の存在が確認された。これは、親核攻撃を受けにくい適度な電子密度と適切な配位平面を持つヘテロ環の導入が、活性中間体によるリンカーへの自殺基質的酸化を劇的にブロックし、モデル錯体の寿命を従来の7倍へと著しく引き延ばしたことを裏付けている。

3. グアニジン末端の環状化(DMEG/DMBIG 導入型)配位子における影響

配位子 1 を共通骨格とし、末端グアニジン部位をエチレン (DMEG) またはベンゾ

(DMBIG) 骨格で閉環した配位子を用いて酸素化を試みたところ、UV-Vis スペクトル上において目的とする Cu_2O_2 中間体 (ビス(μ -オキソ)二核銅) のシグナルは一切観測されなかった。

この不活性化の原因は、グアニジン塩基部位を環状化したことで配位子全体が高度に剛直化し、C-C および C-N 単結合の回転自由度が著しく制限されたことにある。結果として極めて高い立体障害が発生し、外部から浸入する酸素分子が二核の銅 (I) 中心へ接近・配位・活性化するために必要な空間的余裕が物理的に排除されたためと結論付けられる。人工酵素の設計において、親電子的・親核的耐性の向上を目的とした安易な骨格の剛直化は、逆に活性中心への基質の接近を遮断するトレードオフが示唆された。

Conclusion

本研究では、チロシナーゼモデル錯体の自己分解を克服するため、メチレン架橋芳香族リンカーをヘテロ環へと置換する分子設計指針を提案し、その有効性を実証した。

今回合成した配位子 2 の機能性グアニジン配位子配向錯体 は、自己酸化分解経路を効果的に遮断し、活性中間体であるビス (μ -オキソ) 二核銅クラスターの寿命を従来の 1 時間から 7 時間へと飛躍的に向上させることに成功した。また末端グアニジンの環状化

(DMEG / DMBIG の導入) は、骨格の過度な剛直化と立体障害によって酸素分子の配位空間を喪失させることを突き止めた。これらの知見は、安定かつ高活性な均一系生体模倣触媒を合理的設計する上での重要なマイルストーンとなるだろう。

今後は研究室にて、本研究期間では時間的制約により未実施であった、2-ナフトールやモノフェノール類などの外因性有機基質を用いた実際の酸化触媒反応を試行する。新規機能性グアニジン配位子の有する優れた耐久性が、実触媒プロセスにおけるターンオーバー数 (TON) の向上にどのように寄与するかを定量的に評価する。

2. アドバンスドプログラムで習得したもの

・研究活動における日米欧の違い

ドイツの研究室では、学生へのサポートの手厚さと研究設備の充実度を強く実感した。研究スタイルとして特に印象的だったのは、労働時間を厳格に管理するための高い効率性と、規則やマニュアルに基づいた計画的な研究遂行である。ワークライフバランスや私生活を非常に重視する文化が根付いており、18:00 にはその日の研究を必ず終了できるよう、実験計画や作業工程が綿密に組まれていた。また、週末は研究活動を行わないことが一般的であり、研究室だけでなく大学周辺の施設も閉まっていることが多く、仕事と私生活を明確に区別する姿勢が徹底されていた。

そのため、研究者や学生には高い計画性と作業効率が求められる。実験の進行や分析作業には無駄を極力排除することが求められ、計画から大きく逸脱した作業を行うことは基本的に避けられていた。また、安全管理や実験手順に関するマニュアルの遵守も徹底されており、実験中の軽微な事故の記録から手袋の実験室外への持ち出しに至るまで、あらゆる場面で規定に基づいた対応が求められていた。

さらに、研究資金の豊富さも大きな特徴であった。安定した公的研究資金に加え、民間企業からの投資による支援も充実している。その為、アメリカでの研究室よりも資金は比較的安定しているように感じられた。また、私が所属した学科は環境分野を主たる研究対象としていたことから、EU からの研究開発支援も受けており、研究設備は極めて充実していた。

具体的には、以下のような環境が整備されていた。

学生 1 人当たり 2 基程度のドラフトチャンバーを利用可能

- ・ 実質的に学生 1 人当たり 2 基程度のグローブボックスを利用可能
- ・ 各 Working Group ごとに専用の実験室を保有
- ・ 各研究室に NMR や X 線回折装置などの主要分析機器を設置
- ・ 溶媒専用の蒸留設備を完備

加えて、各研究室にはテクニシャンや技術スタッフが常駐していることが多く、試薬の危険性評価や分析機器の保守・管理などを担当していた。そのため、日本で日常的に行っている機器予約や装置の調整、測定準備といった作業の多くが不要であり、例えば NMR 測定であれば試料を準備して測定室へ持ち込むだけで分析を実施できる環境が整っていた。このような分業体制の充実には大きな驚きを感じた。

こうした設備の充実や専門スタッフによるサポート体制、さらに高度に組織化された研究環境があるからこそ、学生は実験やデータ解析に集中することができ、その結果として質の高い研究成果の創出につながっているのだと実感した。

教育制度については、特に修士課程の仕組みが特徴的であった。ドイツの修士課程では、講義に加えて複数の研究室を一定期間ごとにローテーションしながら研究活動を行うこと

が一般的である。学生は異なる研究分野を数か月単位で経験した上で、自らの専門分野を選択し、博士課程へ進学することができる。

この制度は、自身の適性や興味に合った研究分野を見極めるための十分な猶予が与えられる点や、複数分野の研究を実践的に経験できる点で大きな利点がある。一方で、一つの分野に集中して取り組む期間が比較的短いため、早い段階で専門性を深めることが難しいという側面もあると感じた。恐らく修士課程修了次点での専門性は日本の学生の方が要求レベルが高いように感じられた。

また、セミナーは日本と同様に週1回程度開催され、その週の担当者が研究成果や研究進捗について発表を行っていた。さらに、学位論文のディフェンスや研究プロポーザルの発表も研究室内で実施されるなど、日本の研究室運営と共通する点も多く見られた。

・文化・生活面での発見・苦労等

- 苦労した点

言語について

留学前に東北大学に留学していたドイツ人の友人から、ミュンヘンやベルリンなどの大都市では英語話者が多いが地方都市だと若い人以外は英語が話せない事が多いと聞いていた。実際にアーヘンではスーパーマーケットや鉄道の窓口、賃貸の契約の際に英語が通じない事が多く翻訳サイトに頼るなどの代替手段を求められ、久方ぶりに言語の壁を感じた。

また、研究室などでも私とのコミュニケーションは英語で行って貰える一方で、ラボメンバー同士の会話や一部のセミナーの発表はドイツ語で行われていた為、海外で活動する為には英語以外にもその国の言語も話せていた方が確実に良いと痛感した。

鉄道について

時間厳守のドイツのイメージとは異なり、電車が当たり前のように来ない上、時によっては電車がなくなっている事さえある。その為通学の際は余裕をもって登校する必要があった。また、旅行先などで時間に合わせて高速鉄道のチケットを買うため時間変更をしたい時など融通が利かない事が多くあり非常に苦労した。

- 気づき

国際的な人間関係の構築の重要性

私は東北大学の学部1年生時より、国際寮に入っていた事や留学生とのコミュニティと関わる機会が多く、東北大学に短期留学に来ていたドイツ人留学生が友人にいた事やインターナショナルスクール在籍時の友人の一部がドイツの大学に在籍している事もあり、彼らに留学する際の家賃相場や、通学時間の目安、町の案内など非常に手厚くサポートして貰えた。ヨーロッパへの渡航そのものが初めてで心細かった中、過去付き合いのあった友人たちに助けられ幅広い友人関係を築いてきた事の重要性を再認識出来た。

海外での一人暮らしによる自信

上記のように、友人のサポートを受けながらも苦労した事は非常に多くあった。

土地勘の無い場所での物件探しに始まり、現地に到着してクレジットカードの一枚が使用

出来ない、フランクフルト国際空港からアーヘンへの高速鉄道(ICE)の料金が想定以上に高く現金が無くなり一文無しになりかける、バスのチケット手続きを誤り罰金を取られかける、スーパーなどで英語が通じない等、研究以外にて慣れるまでトラブルが相次いだ。しかし、ドイツで暮らしていく内に少しずつ慣れていくことで、現地の人とも簡単なフレーズで質問など出来るようになるなどトラブルの多くを克服でき、自信に繋がった。バーで飲んでいると現地の学生達から一緒に飲まないかと話しかけられ、彼らと貴重な友人関係を構築出来るなど単身でドイツに挑戦したからこそ得られたものが多かった。

3. 本プログラムに参加の成果・意義

2025 年夏の Nakatani RIES に続き、ARIP を通じてドイツで研究留学を経験したことで、私は二つの大きな成果を得ることができた。

第一に、錯体化学のみならず、配位子設計やそれらに関連する合成化学についての知識・技術を深めることができた点である。第二に、異なる研究環境や文化の中でも柔軟に適応し、研究活動を遂行できるという自信を得られた点である。

これまで私は、タンパク質精製や各種アッセイ、細胞培養、生体材料を中心とした、比較的バイオ分野に近い研究に取り組んできた。一方で、有機化学や反応機構における分子の振る舞いについて理解を深めたいと考え、ARIP ではドイツのアーヘン工科大学への留学を希望した。受入先である生物無機化学研究室では、機能性錯体の合成研究が活発に行われており、これまで十分な経験のなかった合成化学に集中的に取り組む機会を得た。言語や実験手法の違いなど多くの困難もあったが、それらを乗り越えて合成化学の基礎を学ぶことができたことは、私にとって非常に大きな財産となった。

現在、私は東北大学環境科学研究所壹岐研究室において、がんの診断・治療を志向した自己組織化近赤外光吸収白金錯体ナノミセルの開発に取り組んでいる。アーヘン工科大学で学んだ錯体合成の基礎に加え、配位子合成におけるリンカー設計の意義や、不均一触媒を用いた水素化反応、DCC を用いた縮合反応などの知識と技術は、現在の研究活動に直接活かされている。

また、本プログラムを通じて機能性配位子の合成および改良に取り組む中で、NMR や質量分析 (MS) を用いて合成過程や生成物を評価し、分子レベルで反応の進行を確認できる合成化学の魅力を実感した。その経験から、今後はこれまで培ってきた生物学的視点に加え、化学や分子設計の視点を融合させながら、創薬や難治性疾患の治療に貢献する研究に取り組みたいという思いをより強く抱くようになった。

研究テーマの選択が求められる学部 4 年生進学直前の時期に、海外大学の研究室で研究者の一員として研究活動に参加できたことは、自身の将来を考える上で極めて貴重な経験であった。さらに、中谷財団のご支援により、私はアメリカとドイツの両国で研究生活を体験する機会を得た。当初は研究環境や生活習慣の違いに戸惑うことも多かったが、一度環境に適応すると、研究を遂行する上で求められる本質的な姿勢や考え方は国を問わず共通していることを実感した。また、新たな環境に挑戦することで、普段以上に高いモチベーションを持って研究に取り組めることも学んだ。加えて、さまざまな国や地域での文化や生活を経験したことで、文化を超えて共通する価値観とは何か、自分に適した環境とは何かについて深く考える機会となった。中学生時代にインターナショナルスクールへ進学して以来抱き続けてきた、「国際的な舞台で研究を通じて社会に貢献したい」という目標を改めて強く意識する契機となった。今後は、国際的な研究環境の中で、難治性疾患の治療技術の発展に貢献できる研究者を目指し、一層努力を重ねていきたい。

4. その他

今回のプログラムにおいて受入れをしてくださった Prof. Dr. Sonja Herres-Pawlis 先生をはじめ、2 か月間にわたり親身にご指導くださったメンターの Vitali 氏ならびに Sonja Lab の皆様に心より感謝申し上げます。

また、Nakatani RIES から ARIP に至るまで継続してご支援くださいました小川様をはじめとする中谷財団の皆様にも、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

本プログラムで得た経験を一過性のものとし、今後も国際的な舞台で活躍し、研究を通じて社会に貢献できる人材となれるよう、一層精進してまいります。

参考文献

- [1] A. Bijelic, M. Pretzler, C. Molitor, F. Zekiri, A. Rompel, The structure of plant tyrosinase from walnut leaves, *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, *54*, 14677–14680.
- [2] C. E. Elwell, N. L. Gagnon, B. D. Neisen, D. Dhar, A. D. Spaeth, G. M. Yee, W. B. Tolman, Copper–oxygen complexes revisited, *Chemical Reviews*, 2017, *117*, 2059–2107.
- [3] L. M. Mirica, X. Ottenwaelder, T. D. P. Stack, Structure and spectroscopy of copper–dioxygen complexes, *Chemical Reviews*, 2004, *104*, 1013–1046.
- [4] M. Paul, M. Teubner, B. Grimm-Lebsanft, C. Golchert, Y. Meiners, L. Senft, K. Keisers, P. Liebhäuser, T. Rösener, F. Biebl, S. Buchenau, M. Naumova, V. Murzin, R. Krug, A. Hoffmann, J. Pietruszka, I. Ivanović-Burmazović, M. Rübhausen, S. Herres-Pawlis, Hybrid guanidine-stabilized bis(μ -oxo) dicopper complexes for catalytic oxygenation reactions, *Chemistry – A European Journal*, 2020, *26*, 7556–7562.
- [5] R. Dalhoff, R. Schmidt, L. Steeb, K. Rabatinova, M. Witte, S. Teeuwen, S. Benjamaâ, H. Hüppe, A. Hoffmann, S. Herres-Pawlis, A dinucleating tyrosinase model complex with enhanced stability, *Faraday Discussions*, 2023, *244*, 134–153.
- [6] A. Müller, “Tyrosinase-like Hydroxylation Catalysis with a Dinucleating Bisguanidine Ligand,” Research Project, RWTH Aachen University, Institute of Inorganic Chemistry, Aachen, Germany, 2026.