

平成二十七年 学位論文

フェノール性化合物のスーパーオキサイド消去メ  
カニズムに関する電気化学的研究

岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬品分析化学教室

中山 辰 史

# 目次

総論の部	3
<hr/>	
第1章 - 緒言	5
第2章 酸存在下における酸素の電気化学的還元特性	10
第1節 酸素の可逆な一電子還元とスーパーオキシドの生成	10
第2節 酸共存下における酸素の電気化学的二電子還元	15
第3節 小括	22
第3章 カテコール類のスーパーオキシド消去反応	23
第1節 ジヒドロキシベンゼン類存在下の酸素の電気化学的還元特性	25
第2節 カテコール類のスーパーオキシド消去反応に関する電気化学的測定と電解分光測定	27
第3節 熱力学的解析	31
第4節 遷移状態探索と反応座標解析	33
第5節 スピントラップ法を用いた反応経路の解析	35
第6節 小括	37
第4章 ハイドロキノン類のスーパーオキシド消去反応	38
第1節 ハイドロキノン類のスーパーオキシド消去反応の電気化学測定と電解分光測定	38
第2節 熱力学的解析	49
第3節 スピントラップ法を用いた反応経路の解析	54
第4節 小括	57
第5章 パラ置換フェノール類のスーパーオキシド消去反応	58
第1節 パラ置換フェノール類共存下の酸素の電気化学的還元挙動	59
第2節 アミノ基置換体のスーパーオキシド消去反応	62
第3節 熱力学的解析	65
第4節 小括	69

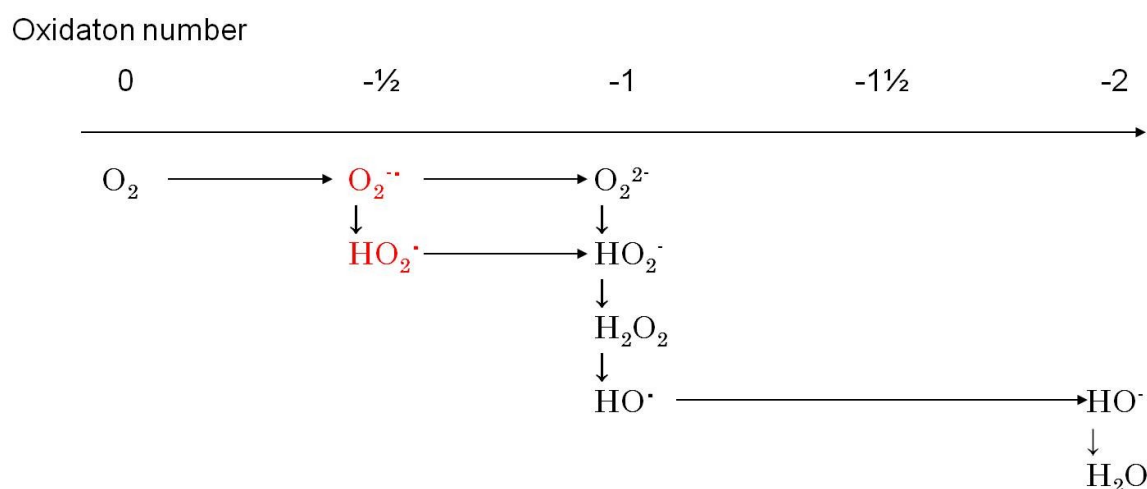
第 6 章 天然フェノール性化合物のスーパーオキサイド消去反応 .....	70
第 1 節   フラボノイド類共存下における酸素の電気化学 還元挙動 .....	71
第 2 節   トコフェロール共存下における酸素の電気化学 還元挙動 .....	73
第 3 節   熱力学的解析 .....	75
第 4 節   小括 .....	79
第 7 章 結 論 .....	80
<b>実験の部</b> .....	83
<hr/>	
1 試 薬 .....	85
2 電気化学測定 .....	89
3 電解分光測定 .....	90
4 量子化学計算 .....	91
参考文献 .....	92
謝 辞 .....	96

# 総論の部



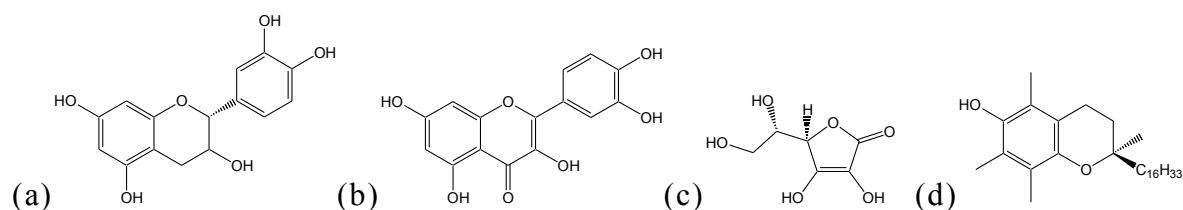
## 第1章 緒言

活性酸素（ROS）は、主に生体内で生成する活性のラジカルを含む高い酸素関連化学種の総称であり、生体防御や生体内の電子移動機構に関与するほか、細胞や DNA、脂質やタンパク質の酸化損傷により様々な疾病の要因となると考えられている<sup>1-2)</sup>。近年では、生体内の炎症作用に起因し、特に発癌や生活習慣病を引き起こす酸化ストレスの実態であることが指摘されており、その疾病メカニズムと消去能を有する物質に大きな関心が寄せられている。ROS のうち酸素の一電子還元体である Superoxide Anion Radical ( $O_2^{\bullet-}$ ) は、ROS 類の中では比較的酸化力が弱く化学的活性は低いと考えられているが、他の ROS 類に派生することから、その生体内代謝・消去機構は重要な研究対象となっている<sup>3-15)</sup>。例えば、 $O_2^{\bullet-}$ へのプロトン付加により容易に生成する Hydroperoxy Radical ( $HO_2^{\bullet}$ ) は、強い酸化作用により DNA や細胞を網羅的に酸化することが知られている。また、 $HO_2^{\bullet}$ は過酸化水素  $H_2O_2$  を経てヒドロキシラジカル  $HO^{\bullet}$ を生成し、更に生体内酸化を繰り返しながら自身は最終的に2電子と2プロトンを受受して水  $H_2O$  へと代謝される (Figure 1-1)。一酸化窒素ラジカルや過酸化脂質等の広義の ROS も起源は  $O_2^{\bullet-}$ であると考えられ、それぞれが様々な疾病に関与するため、 $O_2^{\bullet-}$ を中心とした ROS 類のプロトン移動と電子移動を解析することが重要であり、関連する多くの論文が報告されている。また、 $O_2^{\bullet-}$ は慢性の感染や炎症部位で過剰生産され、このような炎症部位では  $O_2^{\bullet-}$ 自身が DNA の酸化損傷に関わっていることも知られている。



**Figure 1-1.** ROS derived from  $O_2^{\bullet-}$  by reductive electron transfer and hydrogenation, and their oxidation numbers.

一方、ROS の酸化力に対して防御的に作用することで知られる物質を総称して抗酸化性物質と呼んでおり、その代表例として Phenol 性の化合物が含まれている。Phenol 性抗酸化物質には、Catechine ((2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol) や Quercetine (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromene-4-one) などの天然 Flavonoid 類に分類される物質と、Ascorbic Acid や  $\alpha$ -d-Tocopherol などの抗酸化ビタミンに分類される物質があり、いずれも植物由来の多価 Phenol である。これらは、ROS 消去物質として ROS に起因する生体内酸化的連鎖反応を停止することで効果を発揮することが知られている<sup>3-6)</sup>。一般に ROS 消去の実態は、酸化作用の強い ROS 類への電子移動、つまり ROS の還元であると考えられるが、ROS 消去能は、抗酸化力の比較では説明できない。その理由の一つは、フェノール類の局所到達性であり、薬物動態的観点と代謝学的観点から研究が展開されている<sup>8)</sup>。もう一つの理由は、ROS 消去反応の化学メカニズムが単純な抗酸化作用ではないためであり、故に依然として重要な研究対象となっている。



**Figure.1-2.** Structure of natural organic antioxidants. (a) Catechine ((2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol) , (b) Quercetine (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromene-4-one) , (c) Ascorbic Acid ( (R)-3,4-dihydroxy-5-((S)-1,2-dihydroxyethyl)frano-2(5H)-one ) , (d)  $\alpha$ -d-Tocopherol

このような理由から、フェノール性化合物の ROS 消去は古くからの研究対象となっており、極めて多岐にわたる研究が展開されてきた。その中で、その構造活性相関とメカニズムに関して、現在まで多くの論文が報告されている<sup>3-14,19,23-29)</sup>。1980 年代に Sawyer 等は、 $O_2^{\cdot-}$  の塩基としての役割に着目し、プロトン移動により  $HO_2^{\cdot}$  を生成すると、もう一分子の  $O_2$  との不均化反応 (DISP) が促進される様子を明らかにした<sup>34-35)</sup>。この報告によると、溶液中において Ascorbic acid のような酸性抗酸化物質は、 $O_2^{\cdot-}$  への直接の電子移動ではなく、プロトン付加により生成した  $HO_2^{\cdot}$  と  $O_2^{\cdot-}$  の不均化反応により  $O_2$  と  $H_2O_2$  となり、 $O_2$  による anion の一電子酸化が進行する。この DISP を

經由する間接的な電子移動が酸塩基反応を伴うことで速度論的に有利に進行するため、直接的な電子移動よりも効率の良い反応となる。これは、脱プロトンに伴い共役塩基の易酸化性を高め、酸化還元を誘起する反応：Base-catalyzed Autoxidation Reaction (Superoxide-facilitated Oxidation Reaction)とも呼ばれ、 $O_2^{\cdot-}$ の塩基性がドライビングフォースとなる間接的酸化メカニズムである。また、Superoxide dismutase (SOD) は最も有名な  $O_2^{\cdot-}$  消去酵素であり DISP を促進する反応を基にしている<sup>34,35)</sup>。これは、Fe や Mn を活性中心に持つ SOD が電子移動を媒介して  $O_2^{\cdot-}$  を分解する触媒反応であるが、 $O_2^{\cdot-}$  の塩基としての役割が不均化反応の平衡定数を決定する重要な役割を果たす。つまり、 $O_2^{\cdot-}$  へのプロトン移動により生成する  $HO_2^{\cdot}$  は、 $O_2^{\cdot-}$  よりも強力な酸化力を有することで、不均化反応が促進される。このように  $O_2^{\cdot-}$  の塩基としての役割と間接的な電子移動に関する反応は多数報告され、直接的な電子移動よりも DISP が有利に働くことが証明されている一方で、 $HO_2^{\cdot}$  は多くの生体内酸化メカニズムに関与すると言われながら報告例は少なく、不明な部分が多い。

一方で、化学的に ROS 消去作用を評価する方法には、直接的な Single electron transfer (SET) を基にした熱力学的物性値（酸化還元電位( $E^0$ )、軌道エネルギー、イオン化エネルギー(IP)など) が用いられてきた<sup>7-9)</sup>。また、Hydrogen Atom Transfer (HAT) がより効率的な ROS 消去メカニズムであるとして<sup>23)</sup>、水酸基の結合解離エネルギーについて議論されてきた。しかし、このような複数のメカニズムとそれに関連する物性値の研究が表すように、様々に派生する ROS の消去作用を単一的に評価することは難しく、熱力学的物性値は指標でしかない。それは、酸化力の異なる ROS 類の消去が、ROS 類と Phenol 類の各化学種の組み合わせで、それぞれに特徴的な化学反応で進行するためである。

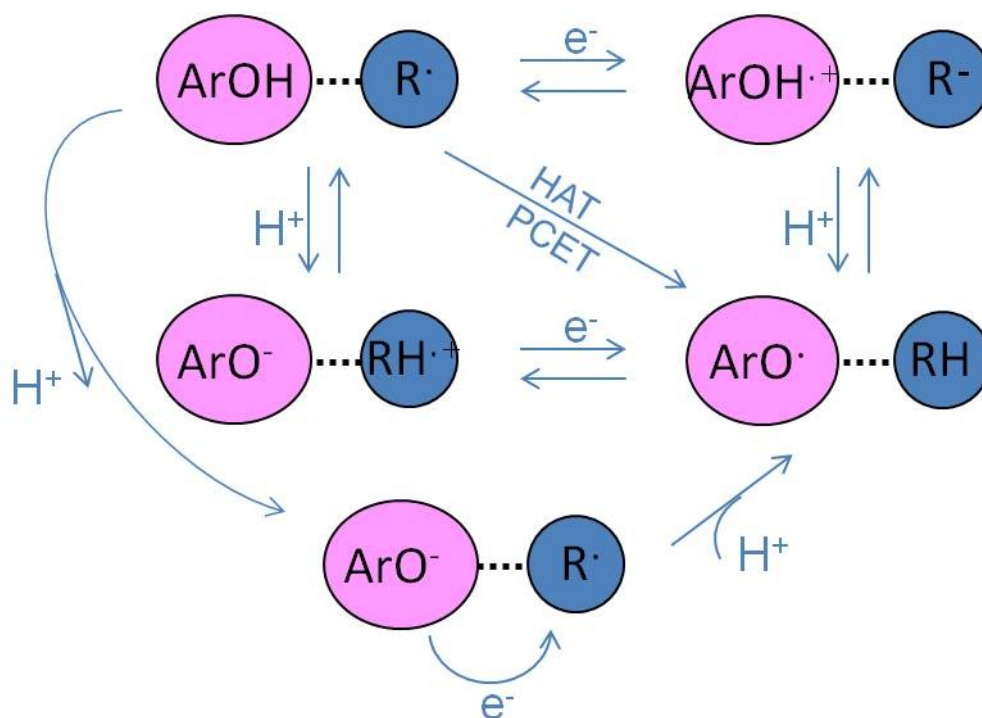
このような背景の元、現在、食品やサプリメントの抗酸化力を科学的に分析する基準として、2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 法<sup>16,17)</sup>や ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity : ROS 吸収能力)<sup>44)</sup>法等のラジカル消去法が世界的に用いられている。DPPH 法は、ラジカルである DPPH を ROS に見立てて抗酸化 Phenol により消去される様子を DPPH の吸収スペクトル変化で観測する方法である。また ORAC 法は、蛍光プローブが ROS により分解されて蛍光強度が減弱する様子を分光測定により評価する手法であり、抗酸化物質の Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) が標準物質として利用されている。これらはいずれもラジカルの水素引き抜き反応を抗酸化作用の化学モデルとし、過酸化脂質生成の連鎖反応を止めるという視点に立って、ラジカル消去能の分光学的評価を行う実験的手法である。



これらの反応は、ラジカルの水素引き抜き反応として知られる HAT として扱われてきたが、熱力学的にはプロトン移動と電子移動が連続的または同時に起こると考えることが出来、現在は、プロトン電子共役移動反応 (Proton-Coupled Electron Transfer : PCET) として総称されている<sup>21)</sup>。PCET に関する研究は、Thomas J. Meyer 等が Ru 錯体を用いる電子移動の機構解析を通じて PCET 機構の実証に世界ではじめて成功したのを始め、現在では PCET 反応を利用したエネルギー変換・触媒等の研究を中心に様々に展開されている<sup>21,45,46)</sup>。この PCET には、HAT, Electron-Proton Transfer (ET-PT), Sequential PCET, Concerted PCET, Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET) 等の反応経路が提唱され<sup>16-19)</sup>、より効率的に ROS を消去するための経路と反応速度が興味の対象となっている。旧来の HAT は、O-H 結合の解離に伴って結合軸方向の  $\sigma$  電子とプロトンが移動する水素引き抜き反応であり、その結合解離エネルギーは容易には許容されないほど大きい。しかし近年提唱される PCET 反応は、この古くから知られる水素原子移動とは区別して、プロトンと電子が別々の軌道で移動するメカニズムであり、自然科学における多くの反応プロセスの中で存在が推察されている。また SPLET は、環境中へのプロトンロスにより生成するフェノキシアニオンの易酸化性がラジカルへの電子移動を容易にし、その後補完的にプロトンが移動する反応を指す。これらの経路は、抗酸化フェノールのラジカル消去・ROS 消去に関与が指摘され、特に協奏的 PCET は、高エネルギー中間体を經由しない効率的な経路であると言われている。

これらの反応経路に対する研究の実際には、実験的或いは理論的取扱から熱力学と反応速度論について明らかとする方法がある。例えば Evans 等は、非水溶媒中の酸素のサイクリックボルタモグラムの測定し、弱酸性物質である水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) を添加して、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  の還元が  $\text{H}_2\text{O}$  からのプロトン移動と共役して進行する PCET 反応であることを明らかとした<sup>47)</sup>。この電気化学測定において観測される電位のシフトは、熱力学的な物性値である還元電位がプロトン移動に支配される様子を示し、協奏的な PCET を実験的に証明した。また、P. Trouillas 等は、天然のポリフェノールによるフリーラジカル消去について DFT 計算を用いた各反応経路のエネルギー比較による速度論的検証を行い、メカニズムに関する知見を与えた。また、Litwinienko 等は、DPPH を用いたラジカル消去能の速度論の実験的取扱から SPLET を経由したラジカル消去能を証明した。これらの研究成果により PCET 反応のメカニズムに関する理解が進む一方で、実際に DNA や細胞を網羅的に酸化する ROS の  $\text{HO}_2^{\cdot}$  や Hydroxy Radical ( $\text{HO}^{\cdot}$ ) を対象とした解析は不十分である。特に、強力な ROS の反応解析において、熱力学的方法是直接的な意味を持たないため反応経路を決められず、速度論的な実験が必要なためである。また、DPPH 等を用い

たラジカル消去反応ではなく，実際の ROS を対象とした速度論的解析の実験は殆ど報告されていない。



**Figure 1-3.** Various pathways of PCET between Phenolic antioxidant (ArOH) and Radical species ( $R^\bullet$ ) forming Phenoxy Radical ( $ArO^\bullet$ ) and RH, ET-PT, Sequential PCET, HAT, Concerted PCET, and SPLET.

筆者の所属する研究室では，抗酸化フェノール類の ROS 消去機構に関する非水電気化学的研究を展開し<sup>38)</sup>，特に生体内の主要な ROS である  $O_2^{\bullet-}$ とその反応過程で容易に生成する  $HO_2^\bullet$ に着目して，その代謝経路と防御機構について熱力学・速度論の両面から解析を行ってきた．これまでに  $O_2^{\bullet-}$ を対象とした非水電気化学的研究は，電極からの電子移動を対象とした Evans 等の報告<sup>47)</sup>以外に，P. Hapiot 等により  $O_2^{\bullet-}$ の再還元電流の減少割合を用いて，フェノールの抗酸化効果を簡便に評価した報告<sup>51)</sup>がある．これらが明らかとしたように，非水電気化学測定では電極上の  $O_2$ の一電子還元により生成させた  $O_2^{\bullet-}$ とフェノール間のプロトン移動・電子移動を含む多様な反応の解析が可能であるが，得られる速度定数や熱力学パラメーターからは PCET 理論を踏まえた反応経路を特定することは出来ない．

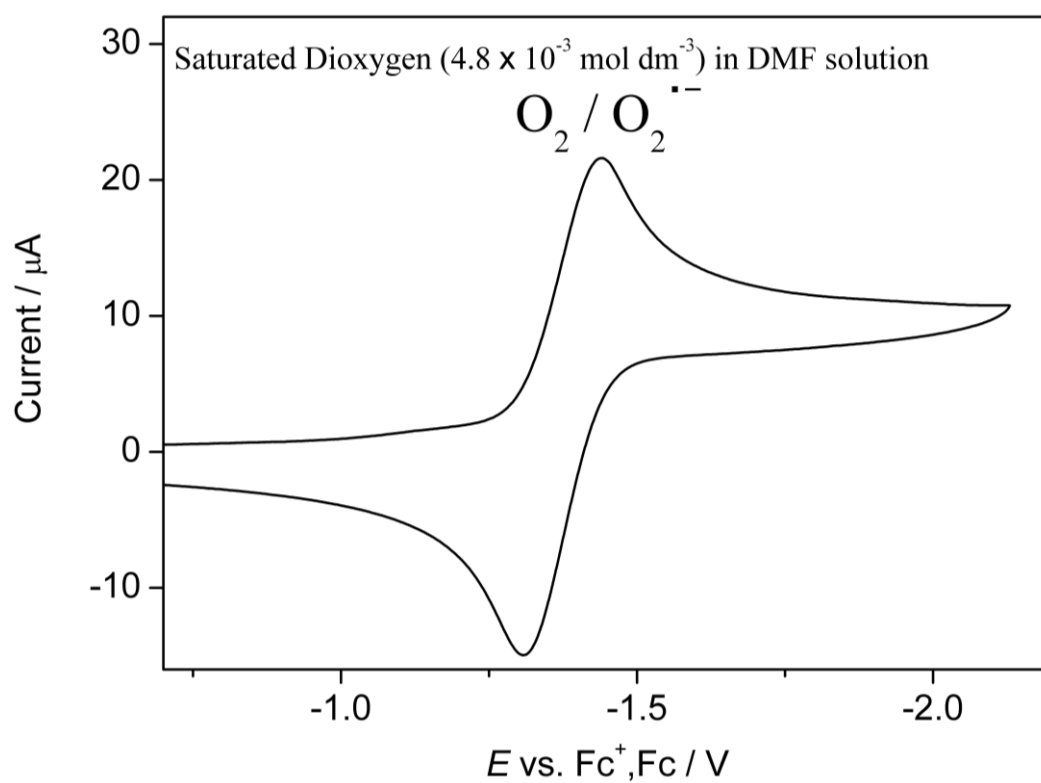
そこで本研究では， $O_2^{\bullet-}$ 消去に係るフェノール性化合物の構造特性とメカニズムを明らかにするための電気化学的実験を行い，理論解析と併せて，プロトン移動と電子移動を含む詳細な反応メカニズム解析を目的とした研究を行った．

## 第 2 章 酸存在下における酸素の電気化学特性

### 第 1 節 酸素の可逆な一電子還元とスーパーオキシドの生成

酸素 ( $O_2$ ) は一電子還元されて Superoxide Anion Radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) となり、錯体形成、プロトン付加、酸化還元、不均化反応等の多様な反応性を示すことが知られている<sup>1-3)</sup>。'Super'は、特に酸化力の強い酸素種という意味ではなく、通常の酸化物 ( $Na_2O$ ,  $K_2O$ ) とは異なる酸化数の酸素種を意味している。 $O_2^{\cdot-}$ の多様な反応を実験的に解析する上で、電気化学測定手法を用いると  $O_2^{\cdot-}$ の電子移動やそれに伴う化学反応を詳細に解析することができるため、本研究では汎用的な電気化学測定手法である Cyclic Voltammetry 法を用いた。測定される Cyclic Voltammogram (CV) では、電極上で  $O_2$  が一電子還元されて  $O_2^{\cdot-}$ となる様子が可逆な電流-電圧曲線として観測される。しかし、 $O_2^{\cdot-}$ は負電荷を持ち、Phenol のような酸に対して Brønsted 塩基 (DMF 中  $K_a=33$ ) としてプロトン受容体として働く。これらの酸塩基反応は、水和状態では CV の定量的変化として観測されにくいため、本研究では非水溶媒中での CV 測定を行った<sup>38,47-48)</sup>。本研究では、抗酸化 Phenol 類と  $O_2^{\cdot-}$ の反応性・消去能について、CV 上に測定される  $O_2/O_2^{\cdot-}$ 可逆波の変化を詳細に解析して明らかとした。

Figure 2-1-1 に、DMF 中の  $O_2$  の一電子還元の CV を示した。測定には、非水溶媒である DMF を用い、十分に脱水・乾燥した条件下で 3 電極系 CV 法を用いた<sup>39)</sup>。支持電解質は  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  Tetrapropylammonium Perchlorate (TPAP) を用い、測定直前に  $O_2$  を DMF 中にバブリングすることにより  $O_2$  を飽和濃度に溶解した状態 ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) で測定した。作用電極には直径 1.0 mm のグラッシーカーボンのディスク電極を用いた。

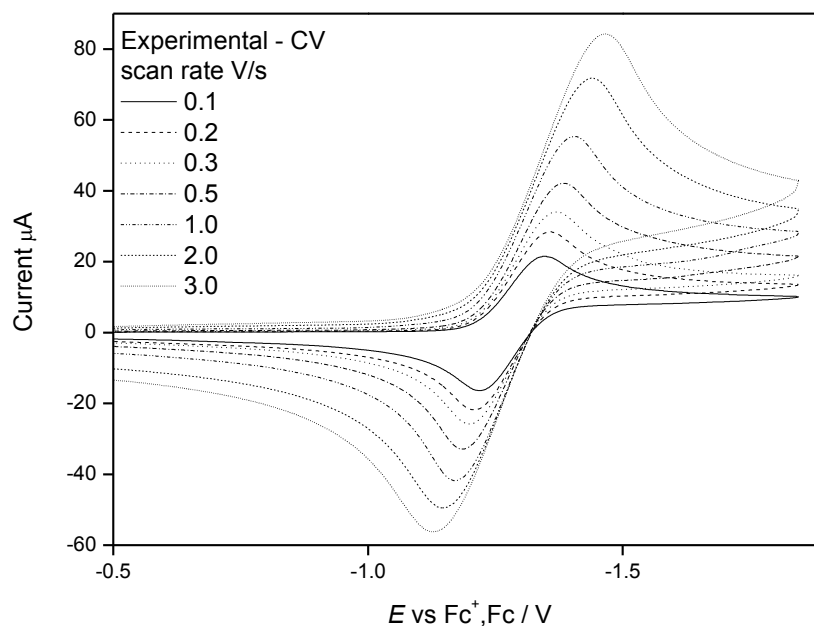


**Figure 2-1-1.** Cyclic voltammogram of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP, recorded with a GC electrode at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ .

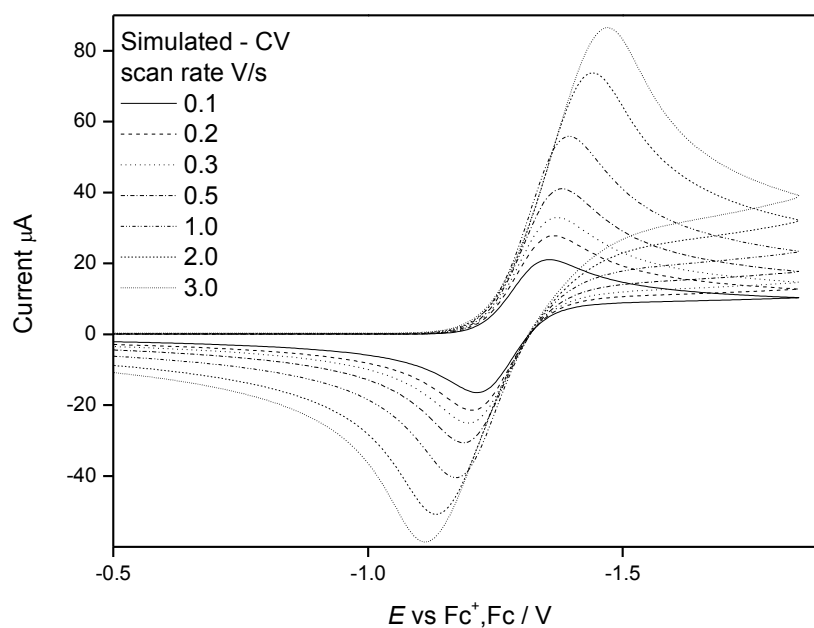
DMF 中における  $O_2$  の還元は準可逆な CV となり， $-0.7 \sim -2.1V$  の電位幅で還元方向に掃引していくと， $O_2$  から  $O_2^{\cdot-}$  への一電子還元波が観測され，折り返して正側へ掃引すると， $O_2^{\cdot-}$  から  $O_2$  への再酸化波が観測される．このように非水溶媒中では，電気化学的還元により生成させた  $O_2^{\cdot-}$  が水和やプロトン移動等の影響を受けずに安定に存在することで  $O_2/O_2^{\cdot-}$  の準可逆的な波が観測され，その酸化還元電位  $E^\circ$  は  $-1.286 V$  vs  $Fc^+/Fc$  であった．アセトニトリル・ジクロロメタン等の非水溶媒中でも同様の  $O_2$  還元 CV 波が観測された．



**(a) Experimental**



**(b) Simulated**



**Figure 2-1-2.** Experimental (a) and simulated (b) cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) at a scan rate of 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, and 3.0  $\text{V s}^{-1}$  in DMF containing 0.1  $\text{mol dm}^{-3}$  TPAP, recorded with a GC electrode.

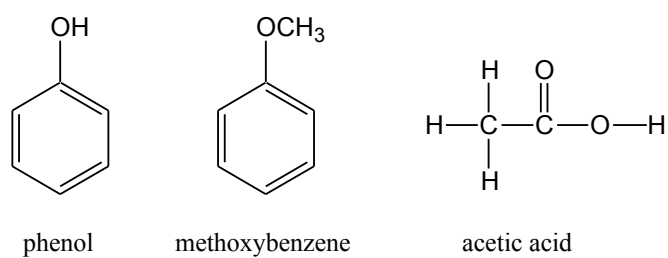
次に、電位の掃引速度を変化させて同様の CV を測定した。Figure 2-1-2 (a) に示すように、掃引速度を  $0.1 - 3.0 \text{ V s}^{-1}$  と増していくと、可逆な 1 電子反応を保ったままで酸化波・還元波共に電流値が増加し、またそれぞれのピーク電位の幅（ピークセパレーション）が広がる様子が観測された。掃引速度の増大に伴うピークセパレーションの増加は、電極表面の電子移動速度の影響によるものと考えられる。各掃引速度で得られた CV をシミュレーション解析したところ<sup>47)</sup>、電子移動速度 ( $k_s = 0.05 \text{ cm s}^{-1}$ ) とともに、以下のパラメーターの場合に最も実測を再現するシミュレーション CV (Figure 2-1-2 (b)) が得られた。得られた電子移動速度は、 $\text{O}_2$  の還元が準可逆系 CV の電子移動であることを示し、拡散速度や溶液中の他の化学反応を CV に反映し得ること示唆している。

**Table 2-1.** Electrochemical parameters for CV of the  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  redox pair in DMF, obtained by CV simulation.

	値	誤差	単位
酸化還元電位 ( $E^{\circ'}$ )	-1.286	$\pm 0.03$	V vs $\text{Fc}^+/\text{Fc}$
転位定数 ( $\alpha$ )	0.5		
電子移動速度 ( $k_s$ )	0.005	$\pm 0.0005$	$\text{cm s}^{-1}$
拡散定数 ( $\text{O}_2$ ) ( $D_{\text{O}_2}$ )	$4.7 \times 10^{-5}$	$\pm 0.4 \times 10^{-5}$	$\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$
拡散定数 ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) ( $D_{\text{O}_2^{\bullet-}}$ )	$1.2 \times 10^{-5}$	$\pm 0.12 \times 10^{-5}$	$\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$

## 第 2 節 酸共存下における酸素の電気化学的二電子還元

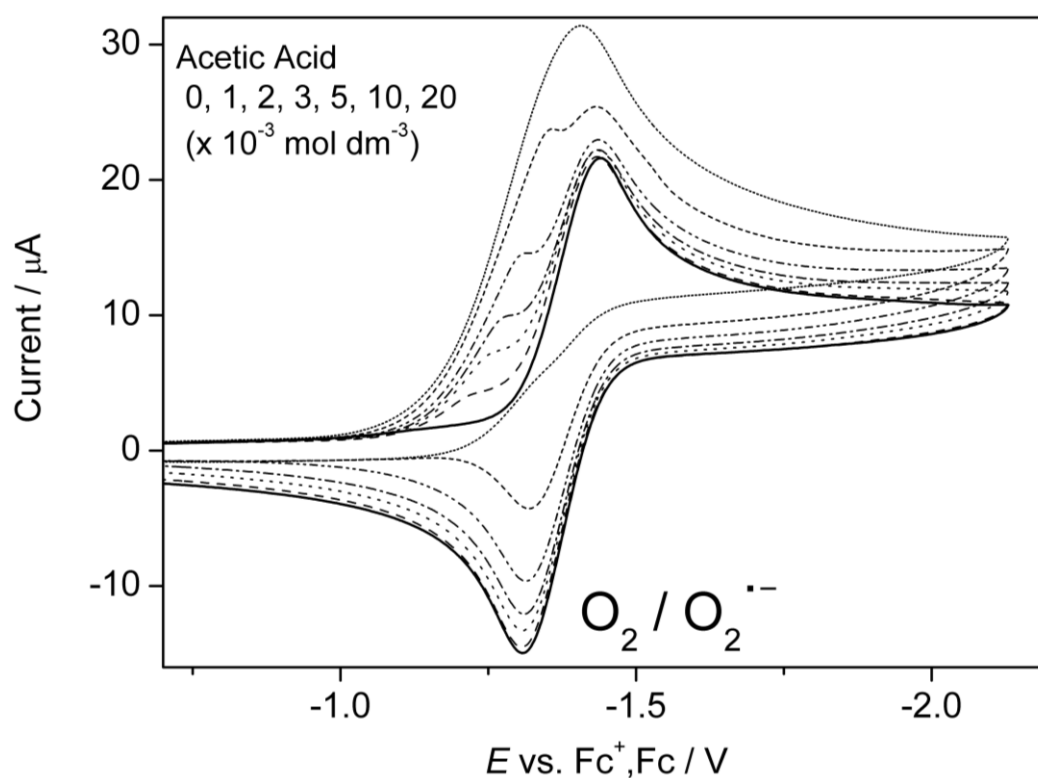
$\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$ の準可逆な CV 測定において, 本節では Figure 2-2-1 に示した Phenol, Methoxybenzene および Acetic acid を共存させた. なお, 同様の電気化学測定系において, 除酸素した DMF 中ではこれらの化合物はいずれも電気化学的に還元されず, DMF の電位窓 ( $0 \sim -2.5 \text{ V vs Fc}^+/\text{Fc}$ ) に還元電流は観測されないことを確認した.



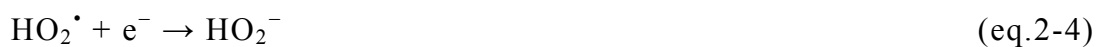
**Figure 2-2-1.** Molecular structures of phenol, methoxybenzene, and acetic acid.



Figure 2-2-2 に DMF 中の Acetic acid 共存下の  $O_2$  の CV を示した．添加濃度を  $0 \sim 20 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  と増加させると， $O_2^{\cdot-}$ 再酸化波は消失して還元波が二電子となり，不可逆な一段階二電子反応となる不可逆波が観測された．これは，水酸基のプロトンと弱塩基である  $O_2^{\cdot-}$  との間のプロトン移動により  $HO_2^{\cdot}$  が生成し (eq.2-3)，その電極還元波 (eq. 2-4) が現れるため，結果としてプロトン移動を伴う  $O_2$  の不可逆な二電子反応 (eq. 2-2) が観測されたと考えられる．



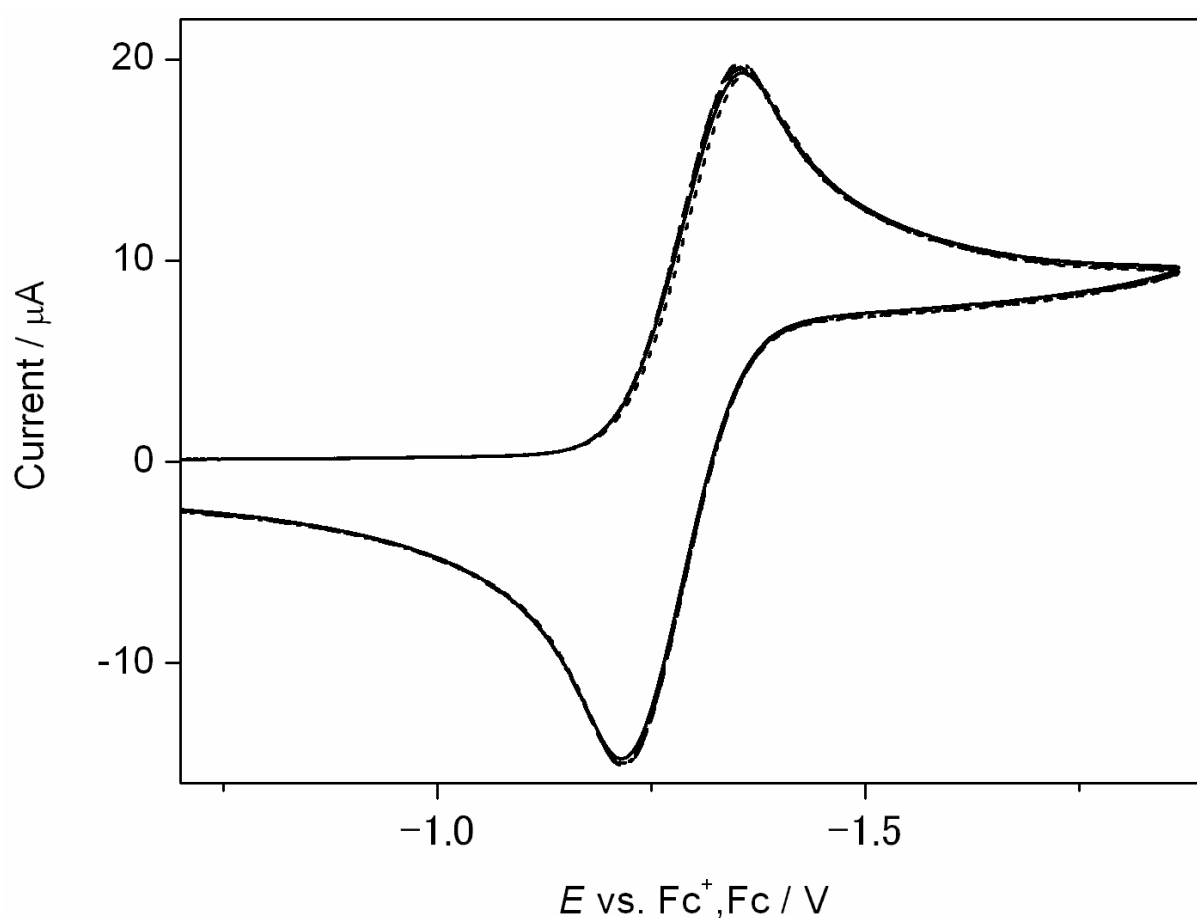
**Figure 2-2-2.** Cyclic voltammograms of the  $O_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of acetic acid, observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of acetic acid are 0, 1, 2, 3, 5, 10 and  $20 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .



Acetic acid 共存下で測定された  $\text{O}_2$  の二電子還元波は、 $\text{O}_2$  の一電子還元に伴う  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の生成、酸からのプロトン付加に伴う  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の生成、 $\text{HO}_2^{\cdot}$  の電極還元 (eq. 2-4) が、電極上で連続的に進行する ECE (Electrochemical-Chemical-Electrochemical) 反応と、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  へのプロトン付加によって助長された不均化反応 (Disproportionation :DISP) (eq. 2-5) により再生成される  $\text{O}_2$  の還元が併せて観測されたと考えられる。このメカニズムは Sawyer 等<sup>34-35)</sup>により詳細に解析されており、水溶液中の  $\text{O}_2$  の還元反応がプロトン移動により促進される事実を明確に説明している。この二電子反応における  $\text{HO}_2^{\cdot}/\text{HO}_2^-$  の電極還元 (eq. 2-4) と DISP (eq. 2-5) の割合は、添加する酸の酸性度に依存して決まり、酸性度の高い物質共存下ほど、ECE 反応が強調されて  $\text{O}_2$  還元の前置波として観測され易い。これは  $\text{O}_2$  の還元電位よりも正側に  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の還元電位が位置するためであり、また酸性度の高い酸の場合にはプロトン移動の速度が速いためである。このように前置波として観測される  $\text{HO}_2^{\cdot}$  がショルダー状の波として観測されるのは、後続の化学反応と拡散等の速度論が支配するためである (第五章参照)。一方で、酸性度の低いプロトン供与体が共存する場合には、前置波は観測されず不可逆度も小さいが、十分量のプロトン供与体を共存させれば DISP の効果によりいずれ完全な二電子還元波となる。

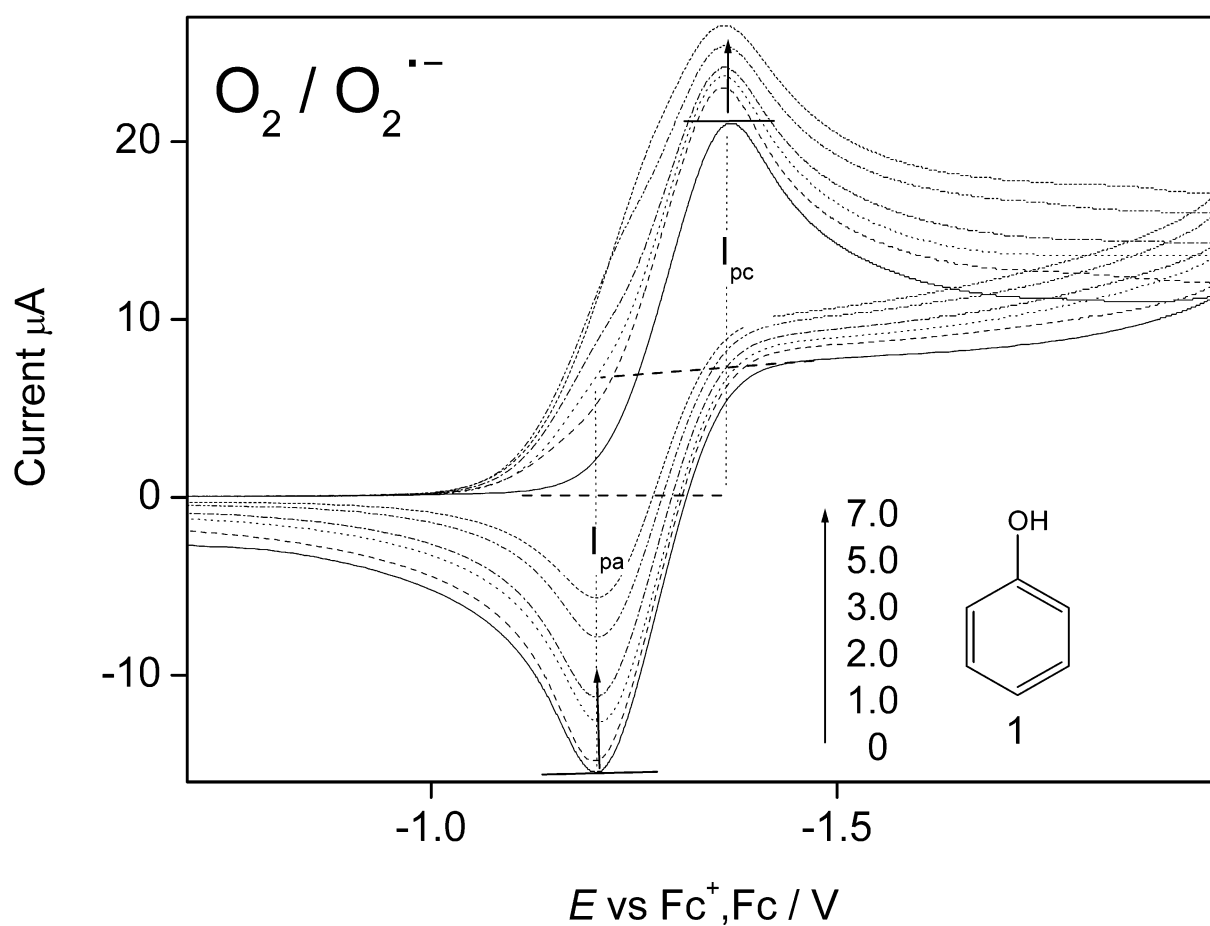


Figure 2-2-3 に DMF 中の Methoxybenzene 共存下における  $O_2$  の CV 波を示した。  $O_2/O_2^{\cdot-}$  の CV プロファイルは全く変化せず，Methoxybenzene と  $O_2$  あるいは  $O_2^{\cdot-}$  の間の相互作用は観測されなかった。また，両者の間に電子移動やプロトン移動が観測されないだけでなく，水素結合錯体の形成のような相互作用も観測されていないことが分かる。なお，Methoxybenzene と同様に，水素結合サイトを持たない芳香族化合物である *p*-Dimethoxybenzene, Toluene および Benzene を共存させた場合においても，同様の結果となった。



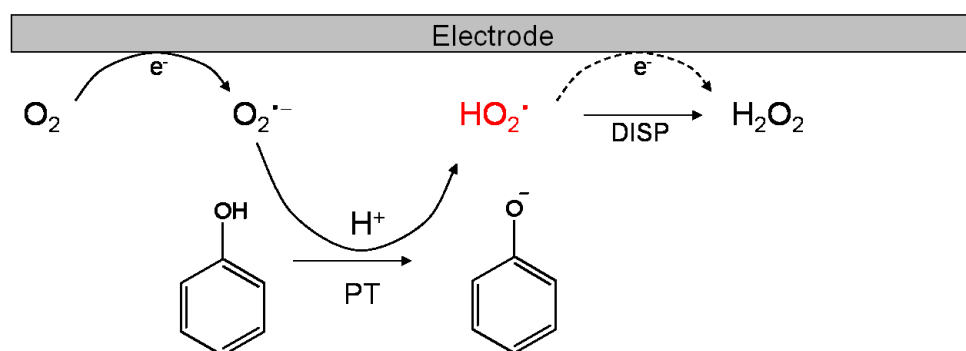
**Figure 2-2-3.** Cyclic voltammograms of the  $O_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of methoxybenzene, observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of methoxybenzene are 0 to  $20 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .

Figure 2-2-4 に Phenol 共存下の  $O_2/O_2^{\cdot-}$  の CV を示した．添加する Phenol 濃度を増すごとに， $O_2^{\cdot-}$  の再酸化ピーク電流 ( $I_{pa}$ ) が消失して還元ピーク電流 ( $I_{pc}$ ) が大きくなり，酢酸添加時と同様に，二電子反応へと変化する様子が観測されている．Figure 2-2-2 の酢酸添加時と異なる点は， $HO_2^{\cdot}$  の直接還元に相当する前置波が小さいこと，また  $O_2^{\cdot-}$  の再酸化波の減少割合（不可逆度）が少ないことである．これらは，前述したように添加する Phenol の酸性度に起因しており， $pK_a$  が 9.7 程度の弱酸性の Phenol 添加時には，前置波のない 2 電子反応が観測される．つまり，観測された電極による二電子反応は，Phenol から  $O_2^{\cdot-}$  や  $HO_2^{\cdot}$  への電子移動が無いことを示めており，酢酸同様にプロトン移動のみが観測される結果となった．



**Figure 2-2-4.** Cyclic voltammograms of the  $O_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of phenol, observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of phenol are 0, 1, 2, 3, 5, and  $7 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .

一方、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ と Phenol, Methoxybenzene, Acetic acid との直接的な電子移動が起こらないことは、単純な軌道エネルギーの比較からも理解できる。Table 2-2 に DFT 計算により得られたこれら化合物の軌道エネルギーを示した。Phenol, Methoxybenzene, Acetic acid のいずれの HOMO も  $\text{O}_2^{\cdot-}$ の SOMO よりも低い軌道エネルギーであるため、直接的な電子移動がアップヒルとなる様子が分かる。したがって、Figure 2-3-1.に示すように、Phenol 共存下の  $\text{O}_2$  の還元はプロトン移動を伴う ECE 反応となることが理解できる。この結果は、Hartree-Hock 法の分子軌道でも同様であった。



**Figure 2-3-1.** Mechanism of the electrochemical reduction of  $\text{O}_2$  in the presence of phenol.

**Table 2-2.** HOMO-LUMO energies of phenol, methoxybenzene, acetic acid and superoxide, calculated by the B3LYP /6-31+G(d) method.

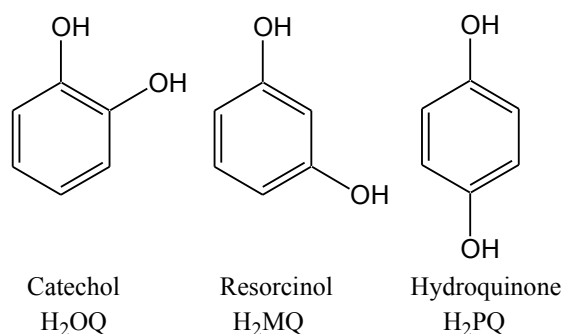
$E_h$	Superoxide	Phenol	Methoxybenzene	Acetic Acid
LUMO/SOMO	0.06331			
HOMO	0.02207	-0.23205	-0.2470	-0.2920

### 第 3 節 小括

本章では、DMF 中での  $O_2$  の電気化学的還元を解析し、 $O_2$  の一電子還元により生成する  $O_2^{\cdot-}$  の反応性とその際の CV 挙動に関する基礎的な知見を得た。特に、プロトン供与体共存下における  $O_2$  の不可逆な二電子還元が、 $HO_2^{\cdot}$  の直接的な電極還元と DISP により構成されており、プロトン供与体の酸性度を反映して特徴的な CV 波を与えることを明らかにした。また、 $O_2^{\cdot-}$  の反応性について、電子移動は容易には進行せず、塩基として作用してプロトン付加して  $HO_2^{\cdot}$  となることにより、電極からの電子移動や DISP が観測されることが考えられた。

### 第3章 カテコール類のスーパーオキサイド消去反応

本章では，第二章で得た Phenol- $O_2^{\cdot-}$ 間の反応に関する基礎的知見を基に，水酸基を二つ有する Dihydroxybenzene と  $O_2^{\cdot-}$ との反応を同様の電気化学測定等を用いて解析した．本章で用いた化合物である Dihydroxybenzene には三つの構造異性体，Catechol ( $H_2OQ$ )，Resorcinol ( $H_2MQ$ )，Hydroquinone ( $H_2PQ$ ) があり，それぞれ Figure 3-1 に示した．

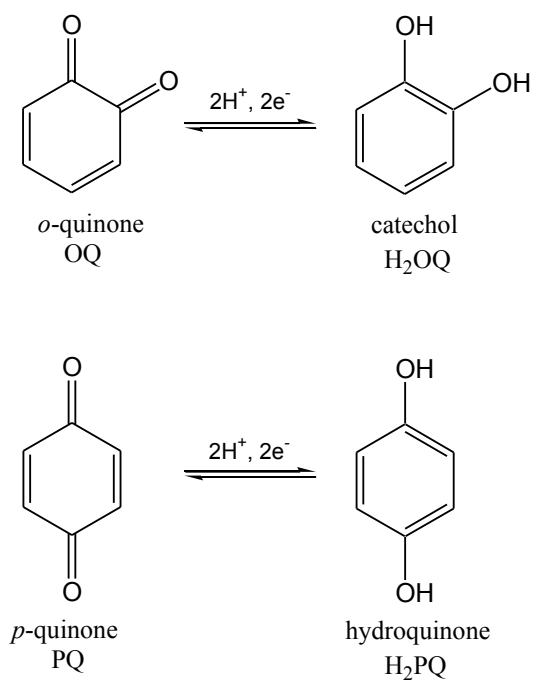


**Figure 3-1.** Molecular structures of *o*-, *m*-, and *p*-dihydroxybenzenes.

これらの構造異性体のうち， $H_2OQ$  と  $H_2PQ$  は Figure 3-2 に示すような 2 プロトンと 2 電子の移動を伴う酸化還元反応が知られている．これは，Quinone-Hydroquinone の酸化還元平衡として古くから研究され，安定な Quinone ラジカルが寄与する電子移動として広く利用されている．また， $H_2OQ$  骨格は，Catechine や Quercetin などの天然 Polyphenol 類の重要な機能性骨格として知られ，ROS 消去に関する多数の研究が展開されている．

本章では， $H_2OQ$ ， $H_2MQ$ ， $H_2PQ$  と  $O_2^{\cdot-}$ の反応を解析し，特に  $H_2OQ$  構造が，Quinone-Hydroquinone の酸化還元平衡系を活用して  $O_2^{\cdot-}$ を消去することを明らかにした．

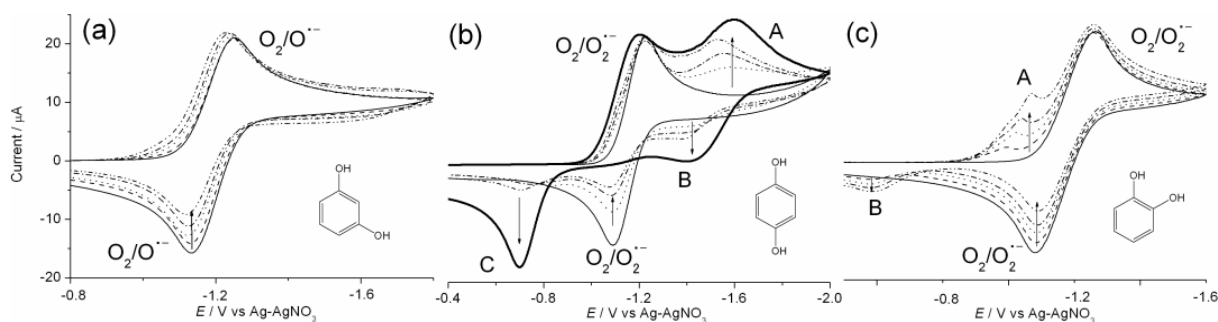




**Figure 3-2.** Quinone-hydroquinone  $\pi$ -conjugated redox system involving 2-proton and 2-electron transfers.

## 第1節 ジヒドロキシベンゼン類共存下の酸素の電気化学的還元特性

Figure 3-1-1 に DMF 中の  $\text{H}_2\text{OQ}$ ,  $\text{H}_2\text{MQ}$  および  $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下における  $\text{O}_2$  の CV を示した. いずれの CV も  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$  (eq 1-1) 対の可逆波が, 共存させた Dihydroxybenzenes の濃度に依存して変化している. これらの CV 測定時における Dihydroxybenzenes の濃度は, 0, 1, 2, 3 および  $5 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  で, この順に矢印で示してある. また, 酸素濃度 ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) よりも高濃度の  $\text{H}_2\text{PQ}$  ( $15 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) を共存させた場合の特徴的な CV を (b) に太線で示した.



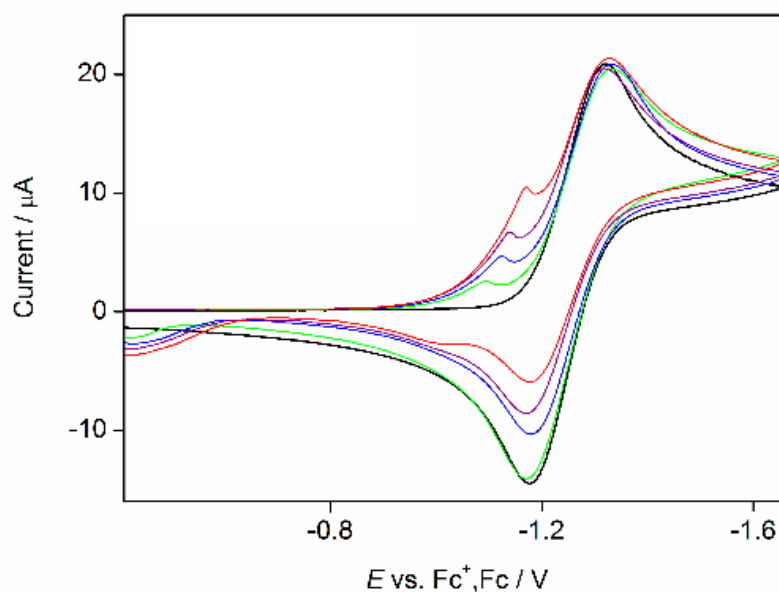
**Figure 3-1-1.** Cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of (a)  $\text{H}_2\text{MQ}$ , (b)  $\text{H}_2\text{PQ}$ , (c)  $\text{H}_2\text{OQ}$ , observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ , concentrations of (a)-(c) are 0, 1, 2, 3, and  $5 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . A typical voltammogram in the presence of (a)  $\text{H}_2\text{PQ}$  ( $15 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) was also illustrated by a bold solid line in (b).

Dihydroxybenzene の濃度を増加させると、(a)-(c)のいずれにおいても  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の再酸化波が減少した。まず、(a)に示した  $\text{H}_2\text{MQ}$  の共存下では、 $\text{O}_2$  還元波が一電子から二電子波へと変化する様子が観測され、Phenol 共存下と同様の CV が観測された。これは、第二章で述べたように、フェノール性水酸基からのプロトン移動により生成した  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の電極還元、または  $\text{HO}_2^{\cdot}$  生成に伴う DISP による  $\text{O}_2$  の再還元によるものと考えられる。したがって、一般の酸共存下における場合と同様に、 $\text{H}_2\text{MQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の反応はプロトン移動のみが関与するものと考えられる。このことは、ナトリウムメチラート存在下（同濃度）では、この二電子反応が阻害されて、減弱されることから確認している。

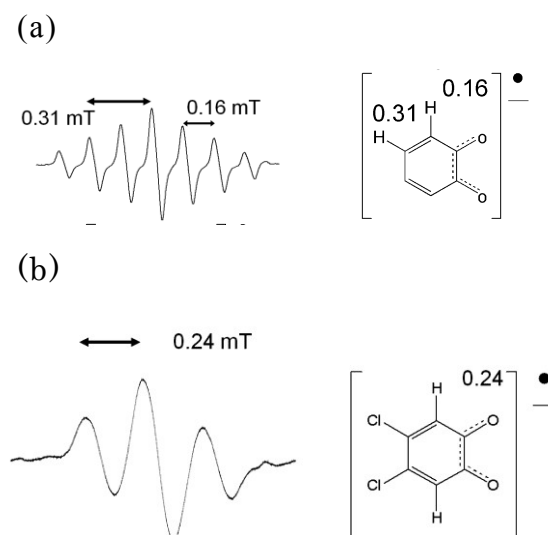
一方、 $\text{H}_2\text{PQ}$  および  $\text{H}_2\text{OQ}$  共存下においては、 $\text{O}_2$  還元波が二電子反応とはならず、プロトン移動により生成したはずの  $\text{HO}_2^{\cdot}$  が消失していることを示唆している。 $15 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  濃度の  $\text{H}_2\text{PQ}$  を共存させた場合では、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  の再酸化波がほぼ完全に消失しているにも関わらず、還元波は一電子反応を保ったままである。さらに、(b)では  $\text{O}_2$  の還元電位よりも負側に新たな還元電流 A および酸化電流 B を、正側にも酸化電流 C が観測された。以上の結果より、初期のプロトン移動の後、生成した  $\text{HPQ}^{\cdot-}$  から  $\text{HO}_2^{\cdot}$  への電子移動が起こっていると推察された。また、(c) の  $\text{H}_2\text{OQ}$  共存下の場合には、正側に新たな還元電流 A および酸化電流 B が観測された。これらの帰属は、 $\text{H}_2\text{OQ}$  については次節、 $\text{H}_2\text{PQ}$  については次章で詳しく述べる。何れにしろ、 $\text{HO}_2^{\cdot}$  が電極で再度還元される以上の速さで、 $\text{HPO}^{\cdot-}$  や  $\text{HQO}^{\cdot-}$  と反応して消失するものと推察できた。

## 第2節 カテコール類のスーパーオキサイド消去反応に関する 電気化学測定と電解分光測定

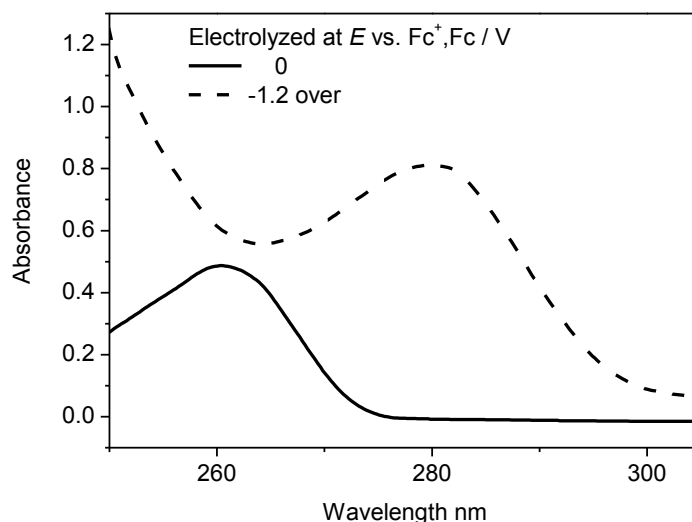
Figure 3-2-1 に DMF 中の 4,5-Diclorocatechol (4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ) 共存下の酸素の CV を示した。Figure 3-1-1 (c) に示した H<sub>2</sub>OQ 共存下の酸素の CV と同様に、一電子反応を保ったままで酸素再酸化波が不可逆となる様子が観測された。これ以外の H<sub>2</sub>OQ 置換体でも同様の CV が得られた。これらの CV では、電極で HO<sub>2</sub><sup>•</sup> が還元されることなく、HOQ<sup>-</sup> によって消去されているものと推察できる。そこで、H<sub>2</sub>OQ および 4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ 共存下で電解によって O<sub>2</sub><sup>•-</sup> を生成したときの電解 ESR スペクトルを測定した。得られた ESR スペクトルを Figure 3-2-2 に示す。H<sub>2</sub>OQ の場合は OQ<sup>•-</sup>、4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ の場合は 4,5-di-Cl-OQ<sup>•-</sup> の生成を示す明瞭な ESR シグナルが得られた。前者の場合、0.16 および 0.31 mT のカップリングはそれぞれ図に示す等価な 2 つの H 原子によるものと帰属された。同様に、Figure 3-2-3(b) に示す 4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ 共存下の酸素の電解 ESR スペクトルは、ESR シミュレーション解析により 0.24 mT のカップリングを持つ 4,5-di-Cl-OQ<sup>•-</sup> に帰着された。したがって、HO<sub>2</sub><sup>•</sup> との電子移動とプロトン移動、広義の Proton-coupled Electron Transfer (PCET) 反応により OQ<sup>•-</sup> を生成したことが理解できる。



**Figure 3-2-1.** Cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of 4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ, observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of 4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ are 0, 1, 3, 5, and  $7 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .



**Figure 3-2-2.** Electrolytic ESR spectrum of the  $\text{O}_2$  solution containing (a) H<sub>2</sub>OQ and (b) 4,5-di-Cl-H<sub>2</sub>OQ ( $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) obtained by the controlled-potential electrolysis at an applied potential of  $-1.2 \text{ V}$  in DMF containing TPAP as a supporting electrolyte.

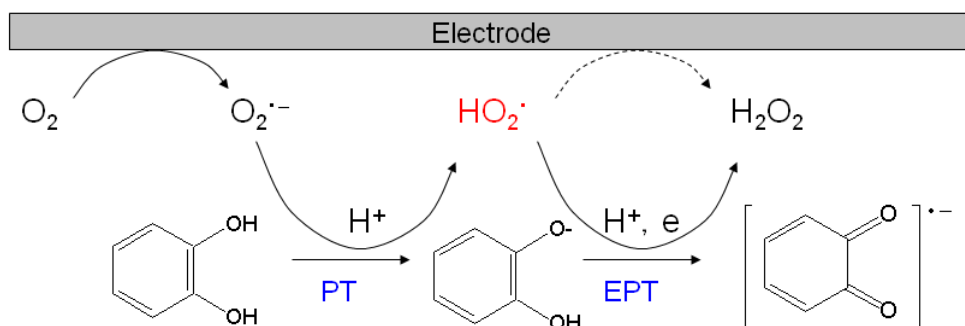


**Figure 3-2-3.** UV-Vis spectral change of the  $O_2$  solution containing  $H_2OQ$  with the OTTLE electrolyses over applied potentials corresponding to the  $O_2^{\bullet-}$  generation. Concentrations of  $H_2OQ$  are  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . All the spectra were observed in DMF containing TPAP as a supporting electrolyte.

続いて、 $H_2OQ$  共存下における  $O_2^{\bullet-}$  生成時のスペクトル変化を測定した。測定された UV-Vis 吸収スペクトルを Figure 3-2-3 に示した。0 V では  $H_2OQ$  に由来する 262 nm の極大吸収を示した。その後、徐々に印加電位を -1.2 V まで負に変化させていくと、280 nm に極大吸収を持つスペクトルへと変化し、さらに負側でも同様のスペクトルを示した。280 nm に極大吸収をもつのは、 $OQ^{2-}$  であると推察される。これは、 $OQ^{\bullet-}$  の還元電位が酸素還元波よりも正にあるため、 $HO_2^{\bullet}$  との電子移動で生成した  $OQ^{\bullet-}$  が電極上で還元されることによると考えられる。このことは、電解 ESR スペクトル測定において、その強度が非常に弱いことをよく説明している。以上から、CV で観測された新たな前置波 A および酸化波 B (Figure 3-1-1 (c)) が  $OQ^{\bullet-}/OQ^{2-}$  対の酸化還元に対応すると推察された。従って -1.2 V より負側で観測される 280 nm に極大吸収を持つ UV-vis スペクトルは、 $OQ^{2-}$  に帰属される。以上の結果は、 $O_2^{\bullet-}$  と  $H_2OQ$  が、初期のプロトン移動の後、生成した  $HO_2^{\bullet}$  と  $HOQ^-$  との間で PCET 反応を起こし  $OQ^{\bullet-}$  生成したものと考えられる。

以上の電解分光測定の結果と前節の CV 測定結果より、Figure 3-2-4 に

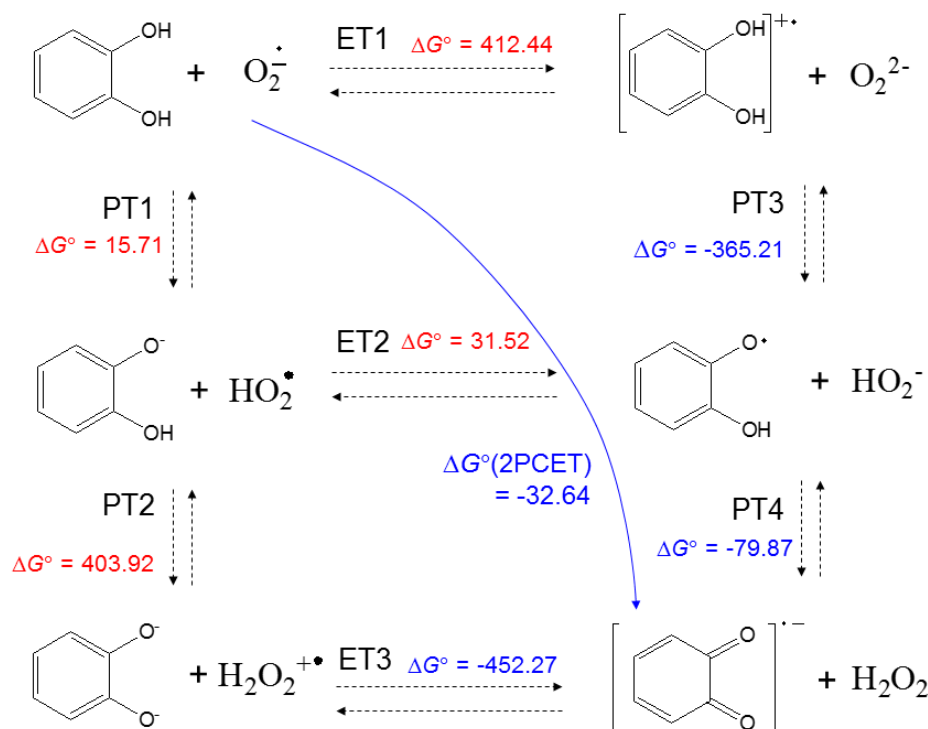
H<sub>2</sub>OQ 共存下の酸素の還元挙動に関する模式図を示した．電極上での O<sub>2</sub><sup>•-</sup>の生成をトリガーとした一連の反応では，Phenol 共存下で観測されるような HO<sub>2</sub><sup>•</sup>の電極による直接還元や DISP に伴う二電子還元波は観測されず，HO<sub>2</sub><sup>•</sup>消去を示す不可逆な一電子還元波と，生成物である OQ<sup>•-</sup>の電極応答が観測された．



**Figure 3-2-4.** Schematic showing of electrochemical reduction of O<sub>2</sub> in the presence of H<sub>2</sub>OQ.

### 第3節 熱力学的解析

Figure 3-3-2 に、 $\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の 2 プロトンと 1 電子の移動を含む PCET 反応について、非断熱的な電子移動過程を含む反応スキームを示した。また、各ステップにおける自由エネルギー変化 ( $\Delta G^\circ$   $\text{kJ mol}^{-1}$ ) を示した。 $\Delta G^\circ$  値は、各化学種の構造最適化計算を行った後、振動解析計算を行い算出した。B3P86/PCM/6-31+G(d,p)法により算出した結果によると、最初のプロトン移動 (PT1) と電子移動 (ET1) はいずれもアップヒルのエネルギー移動であるが、ET1 の  $\Delta G^\circ$  ( $412.44 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) が非常に大きく、容易には進行しないことを示している。一般に、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  との一電子移動が熱力学的に許容されないことと一致している。また  $\text{HOQ}^-$  と  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の反応ではプロトン移動 (PT2) と電子移動 (ET2) のどちらもアップヒルとなっている。しかし、PT2-ET3 と ET2-PT4 のいずれの二段階の反応経路においても、後続する反応 (ET3, PT4) がそれぞれ極めて熱力学的に有利に進行する反応であることを示している。



**Figure 3-3-1.** Six diabatic electronic states and the  $\Delta G^\circ$  values for the PCET reactions between  $\text{O}_2^{\cdot-}$  and  $\text{H}_2\text{OQ}$  (upper) and between  $\text{HO}_2^{\cdot}$  and  $\text{HOQ}^-$  (lower) in DMF. The  $\Delta G^\circ$  values ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) were calculated using the B3P86/PCM/6-31+G(d,p) method.



しかし、電子移動とプロトン移動が連続的に進行する反応経路はいずれもアップヒルの反応を含むため、熱力学的に許容される反応経路とはならない。各種の置換 H<sub>2</sub>OQ の各プロトン移動および電子移動反応の計算によって得られた  $\Delta G^\circ$  値を Table 3-1 に示した。この表から、最初のプロトン移動について、O<sub>2</sub><sup>•-</sup> が弱塩基性であり PT1 が熱力学的にアップヒルなエネルギー移動となることが、他の H<sub>2</sub>OQ 類の幾つかでも同様に確認された。これらの熱力学的解釈からは、反応が最初のステップから全く進行しないと理解される。唯一、2 プロトンと 1 電子の協奏的な経路がダウンヒルで進行可能な反応経路となることが確認できた。

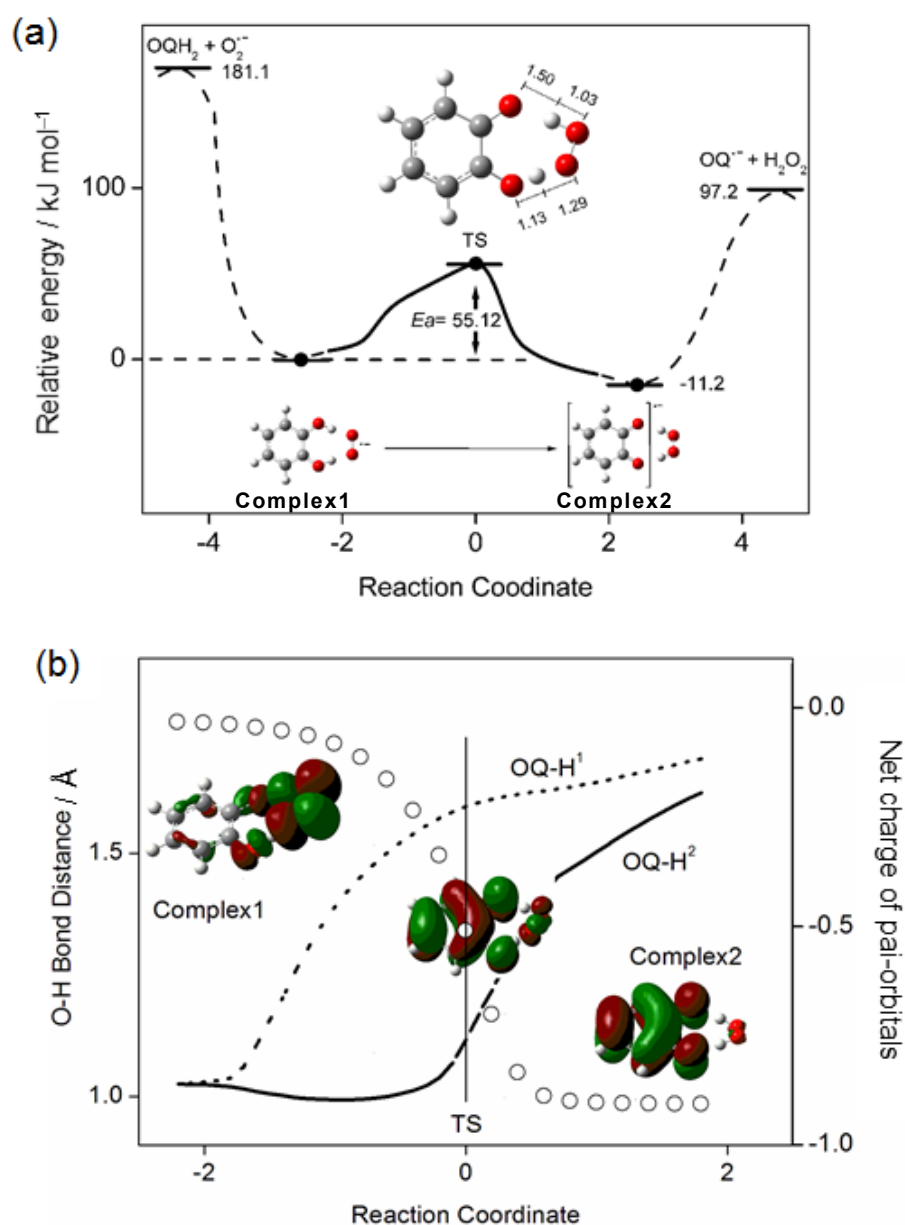
**Table 3-1.**  $\Delta G^\circ$  and  $E_a$  values for the PCET reaction between O<sub>2</sub><sup>•-</sup> and H<sub>2</sub>OQ, calculated using the B3P86/6-31+G(d,p) and B3LYP/6-31+G(d,p) methods, respectively.

Compounds	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )								$E_a$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
	PT1	PT2	PT3	PT4	ET1	ET2	ET3	2PCET	
Catechol	15.71	403.92	-356.21	-79.87	412.44	31.52	-452.27	-32.64	55.12
4-Methyl catechol	15.77	413.82	-355.33	-77.64	395.64	24.54	-466.92	-37.33	54.57
4-Chloro catechol	0.80	393.97	-366.62	-94.37	417.23	49.81	-438.53	-43.76	53.23
4,5-Dichloro catechol	-7.71	382.87	-375.34	-98.26	426.68	59.06	-422.08	-46.93	53.42
Tetrachloro catechol	-32.03	355.82	-399.18	-123.32	454.58	87.43	-391.71	-67.92	46.55

## 第4節 遷移状態探索と反応経路解析

本節では、 $\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の 2 プロトンと 1 電子の移動を含む PCET 反応について、メカニズムと反応速度論の観点から更に詳しく調べるために、量子化学計算による遷移状態探索と反応経路解析を行い反応のエネルギー局面を明らかとした。本来、熱力学的考察から反応経路を決定することは適切ではなく、速度論的解析からしか反応経路を見出すことはできない。Figure 3-4-1 は DFT 計算を用いて算出した  $\text{H}_2\text{OQ}$  による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去の Intrinsic Reaction Coordinate (IRC) および得られた IRC に沿って求められた反応座標の進行とともに変化する二つのプロトンの  $\text{H}_2\text{OQ}$  の OH 結合の距離  $\text{OQ-H}^1$ ,  $\text{OQ-H}^2$  と  $\text{H}_2\text{OQ}$  骨格上の  $\pi$  電子密度を示した。なお、電子密度変化は Natural Atomic Orbital (NAO) を利用した電子密度解析法である Natural Population Analysis (NPA) 法<sup>54)</sup>で算出した。

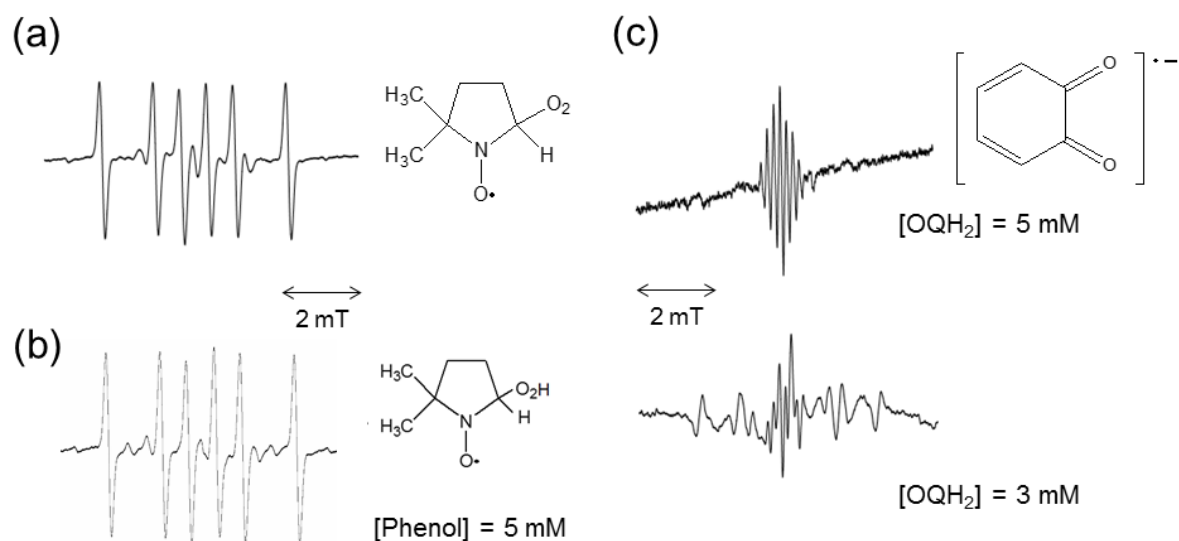
$\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  は特徴的な水素結合錯体 (Complex1) を形成することで二つの水素結合に相当するエネルギー分以上 ( $181.1 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) に安定化する。IRC ではこの Complex1 内において 2 プロトンと 1 電子の移動を経て  $\text{OQ}^{\cdot-}$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  を生成する反応が、活性化エネルギーの低い遷移状態を経て、 $\text{HOQ}^{\cdot}$  や  $\text{HO}_2^{\cdot}$  などの他の中間体を生成することなく一段階で進行する様子が示された。さらに詳しく構造と電子密度の変化を見ると、電子移動が二つの水素結合距離の連続的な変化と同時に進行している。最初の移動は水酸基から  $\text{O}_2^{\cdot-}$  へのプロトン移動 ( $\text{OQ-H}^1$ ) であり、遷移状態はこのプロトン移動がほぼ完了するあたりで、かつ半分の電子が移動した状態にある。二つ目のプロトン移動 ( $\text{OQ-H}^2$ ) は遷移状態以降の電子移動により誘発され、最終的には  $\text{OQ}^{\cdot-}$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  の水素結合錯体 (Complex2) を形成した状態となる。NPA 法でのスピン密度の計算 (ラジカルの分布を示す) においても、この IRC の結果を反映したものとなり、Figure 3-4-1(b) に示した。計算の結果、ラジカルは、最初は  $\text{O}_2^{\cdot-}$  に局在化していたが、遷移状態後には  $\text{OQ}^{\cdot-}$  骨格に非局在化している様子を示した。これは、 $\text{H}_2\text{OQ}$  の HOMO である  $\pi$  軌道から  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の SOMO への電子移動を示唆し、スピン分布と逆相関がある。さらにこの結果は、遷移状態が  $[\text{HOQ}^{\cdot} \cdots \text{HO}_2^{\cdot}]^{\cdot-}$  で示される水素結合した両化学種全体にスピンの分布している状態であることが示された。他の  $\text{H}_2\text{OQ}$  類による IRC の結果も同様となり、活性化エネルギーは水素結合程度の非常に小さいものとなった (Table 3-1)。以上の結果を踏まえて、このような 2 つのプロトンと電子が協奏的に移動する一段階で進行する反応を 2-Proton-Coupled Electron Transfer (2PCET) と命名した。



**Figure 3-4-1.** (a) IRC of the reaction,  $\text{H}_2\text{OQ} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{OQ}^{\bullet-} + \text{H}_2\text{O}_2$ , and structure of the transition state, (b) change in O-H bond distances and net charge on the  $\pi$ -orbitals in the  $\text{H}_2\text{OQ}$  moiety. The calculations were performed using the B3LYP/6-31+G(d,p) method. The dotted and solid lines denote the O-H distances (Å) of  $\text{H}_2\text{OQ}$  (corresponding to the labels of the left vertical axes), and the open circles denote the net charge of the  $\pi$ -orbitals of the  $\text{H}_2\text{OQ}$  moiety (corresponding to the labels of the right axes). Spin density distributions localizing the atoms constituting the radical before and after the PCET reaction and at the transition state are shown in (b).

## 第5節 スピントラップ法を用いた反応経路の解析

$\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  間の協奏的 2PCET 反応を実験的に証明するために、スピントラップ剤の 5,5-Dimethyl-1-pyrroline *N*-Oxide (DMPO) を同様の反応系に共存させ、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  と  $\text{HO}_2^{\cdot}$  のトラップ反応と PCET 反応の速度論的競争反応について、電解 ESR 測定により観測した。DMPO は、酸素の関連ラジカルのトラップ剤として知られ、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  および  $\text{HO}_2^{\cdot}$  をトラップ可能である。また、それらの速度定数 ( $k$ ) が求められており、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  に対しては  $k = 10 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  と遅く、また  $\text{HO}_2^{\cdot}$  に対しては  $k = 66 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  と速いことが知られている<sup>53)</sup>。Figure 3-5-1 に、Phenol と  $\text{H}_2\text{OQ}$  を加えて測定された DMPO の ESR スペクトルを示した。(a) は  $\text{O}_2$  の電解に伴い徐々に観測されたスペクトルであり、DMPO- $\text{O}_2^{\cdot-}$  付加体の生成を示している。一方、Phenol を共存させた場合、電解により  $\text{O}_2^{\cdot-}$  を生成させると直後に ESR シグナルが観測され、DMPO 付加体の生成が観測された (b)。(a) に類似のスペクトルであるが、これは酸共存下における  $\text{O}_2$  の二電子還元の過渡的な中間体である  $\text{HO}_2^{\cdot}$  が、電極で還元されることなく素早く DMPO にトラップされた DMPO- $\text{HO}_2^{\cdot}$  付加体のスペクトルを示している<sup>53)</sup>。次に、 $\text{H}_2\text{OQ}$  共存下においては、DMPO 付加体のスペクトルは  $\text{OQ}^{\cdot-}$  のスペクトルとの混合したシグナルが観測され、さらに  $\text{H}_2\text{OQ}$  濃度が高い場合には  $\text{OQ}^{\cdot-}$  のシグナルのみへと変化する (c)。 $\text{H}_2\text{OQ}$  共存下で DMPO 付加体は完全に消失しており、このことは DMPO スピントラップの速度の範囲内では、 $\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の反応で  $\text{HO}_2^{\cdot}$  は中間体として存在していないことを示している。この結果は、 $\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  間の 2 プロトンと 1 電子の移動が、 $\text{HO}_2^{\cdot}$  等の高エネルギー中間体を経ずに協奏的な 2PCET 反応として 1 段階の経路で進行することを実験的に証明している。



**Figure 3-5-1.** ESR spectra of the electrogenerated  $O_2^{\bullet-}$  spin-trapped by 0.48 mol  $dm^{-3}$  DMPO, (a) in DMF, (b) in the presence of phenol, (c) in the presence of  $H_2OQ$ .

## 第 6 節 小括

本章では，抗酸化 Polyphenol 類の部分骨格である  $\text{H}_2\text{OQ}$  と  $\text{O}_2\cdot^-$  間の 2 プロトンと 1 電子移動の反応が，中間体を生成しない協奏的 2PCET 反応で進行することを提案した．この 2PCET メカニズムは，水素結合の O-H の距離と  $\text{H}_2\text{OQ}$  骨格上の  $\pi$  電子密度の変化の様子，および，高速のスピントラップ ESR 測定を用いた競争反応で中間体が捕捉されなかったことにより証明された．量子科学計算の結果は，電気化学測定等の実験結果を支持するものであった．

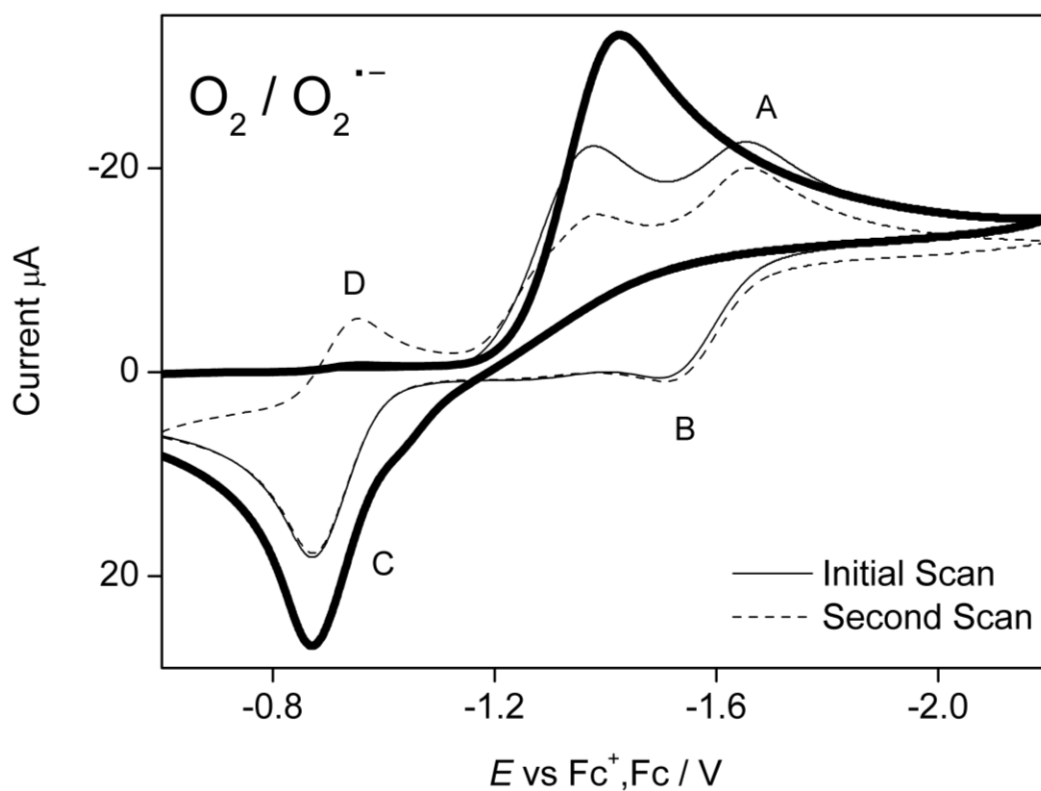
## 第4章 ハイドロキノン類のスーパーオキシド消去反応

### 第1節 ハイドロキノン類のスーパーオキシド消去反応の電

#### 気化学測定と電解分光測定

Figure 3-1-1 (b) および Figure 4-1-1 に  $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下における  $\text{O}_2$  の CV を示した．後者には，高濃度の  $\text{H}_2\text{PQ}$  を共存させたときの CV を示した．Figure 4-1-1 では，生成物由来のピーク電流 A, B, C が第一サイクルで観測され，点線で示した第二サイクルでは A に加え酸化ピーク C に対応する還元ピーク D が新たに観測された．これら DC と AB は，それぞれ可逆な PQ の第一還元電位 ( $\text{PQ}/\text{PQ}^{\cdot-}$ ) と第二還元電位 ( $\text{PQ}^{\cdot-}/\text{PQ}^{2-}$ ) に相当すると推察され，実際の測定された電位は PQ 標準品の CV 測定による第一および第二還元電位と完全に一致した．なお，2 サイクル目の還元電流が減少して見えるのは，折り返し時の基準電流が下がっているためであり，1 サイクル目とほぼ同等の電極反応が観測されていると考えられる．1 サイクル目で D の電流ピークが観測されないのは，このピークが  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の生成と後続するプロトン移動，電子移動の反応生成物由来であることを示唆し， $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下における  $\text{O}_2$  の一電子還元による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  生成が一連の PCET 反応のトリガーとなっている．

さらに，高濃度 ( $30 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) の  $\text{H}_2\text{PQ}$  を共存させると， $\text{O}_2^{\cdot-}$  の再酸化波だけでなく，Quinone 第二還元電位 ( $\text{PQ}^{\cdot-}/\text{PQ}^{2-}$ ) に相当する AB も消失し，不可逆な二電子反応の酸化還元対を含む CV となった．第二章で示したように，一般に，Phenol のような酸を高濃度で共存させると， $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2$  酸化還元対の不可逆な二電子還元反応となり再酸化波は観測されない．しかし， $\text{H}_2\text{PQ}$  や  $\text{H}_2\text{OQ}$  が高濃度に存在する場合に限り，還元電流が二電子分観測されるだけでなく，生成物に由来する再酸化電流が観測される特徴がある．過剰な  $\text{H}_2\text{PQ}$  自身が，生成した  $\text{PQ}^{\cdot-}/\text{PQ}^{2-}$  への水素結合ドナーとなり，A をポジティブシフトさせることから，還元電流はシフトした A と  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$  が重なった二電子波だと推察される<sup>47)</sup>．一方で再酸化波は， $\text{PQ}/\text{PQ}^{2-}$  の二電子酸化と推察される．



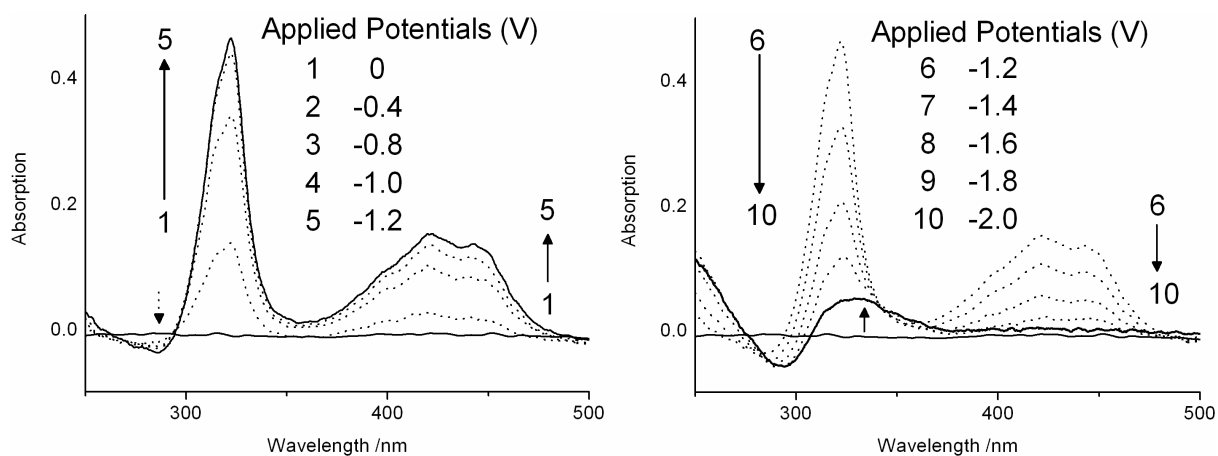
**Figure 4-1-1.** Cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the presence of higher concentrations of  $\text{H}_2\text{PQ}$ , observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . The concentrations of  $\text{H}_2\text{PQ}$  are  $1.5$  and  $3.0 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ . The CV drawn by a heavy line corresponds later. The second scan in the presence of  $15 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$   $\text{H}_2\text{PQ}$  is drawn by a dotted line.



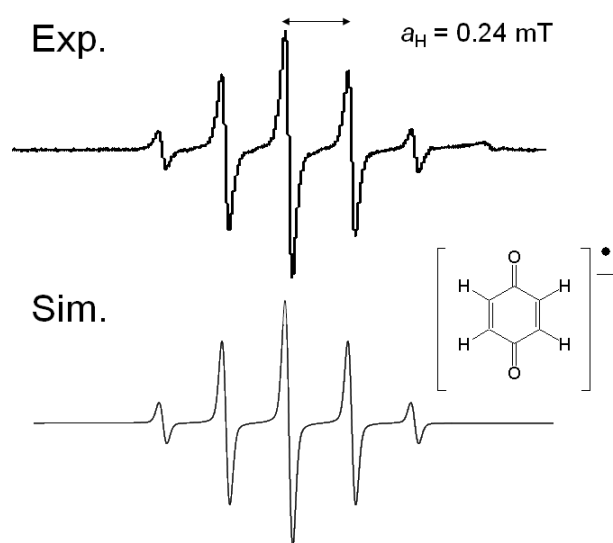
この電気化学測定結果に基づいて、 $\text{H}_2\text{PQ}$ - $\text{O}_2^{\cdot-}$ 間の反応生成物を同定するための電解分光測定を行った。 $\text{O}_2$ と $\text{H}_2\text{PQ}$ を溶解させたDMF溶媒中で電位制御下の電解を行い、UV-VisスペクトルおよびESRスペクトルを測定した。

Figure 4-1-2 に OTTLE セルを用いて測定した電解 UV-Vis スペクトルを示した。これは電解前の $\text{H}_2\text{PQ}$ の吸収スペクトルを基にした差スペクトルとして表されている。試料溶液は CV 測定と同様とし、 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ の $\text{H}_2\text{PQ}$ を溶解した DMF 溶液に気体酸素を飽和させたものを定電位電解して測定した。電解電位を 0 から  $\text{O}_2$ の還元電位のある -1.2V まで変化させていくと、電位に依存して 324 nm, 427 nm, 433 nm に三つの極大吸収を持つスペクトルが徐々に大きくなる様子が観測されている（左図）。この特徴的なスペクトルは、PQ を一電子還元した際に生成する  $\text{PQ}^{\cdot-}$ に一致し、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ の生成とそれに伴う後続反応により  $\text{PQ}^{\cdot-}$ が生成していることが分かった。また、掃引電位を -1.2 から -2.0 V まで更に負とすると、Figure 4-1-2 (b)に示すように、徐々に  $\text{PQ}^{\cdot-}$ に帰属されたスペクトル強度は減少し、変わって 330nm に小さな極大吸収を持つスペクトルが観測された。これは、 $\text{PQ}^{\cdot-}$ が更に電極還元されて  $\text{PQ}^{2-}$ になるスペクトル変化に対応し、別途測定した PQ の還元に伴うスペクトル変化に完全に一致した。したがって、Figure 4-1-1 の A と B が PQ の第二還元波に帰属された。

また、 $\text{O}_2$ の還元電位のある -1.2 V において電解 ESR スペクトルを測定すると、Figure 4-1-3 に示す超微細結合定数 0.24 mT の ESR シグナルが観測され、ESR のシミュレーション解析によって  $\text{PQ}^{\cdot-}$ のスペクトルであると帰属することができた。以上、UV-Vis, ESR 測定と CV の結果より、電解生成物が  $\text{PQ}^{\cdot-}$ であることが確認された。これにより前章で考察したように、 $\text{H}_2\text{OQ}$ の場合と同様に、 $\text{H}_2\text{PQ}$ 共存下の酸素還元に伴う  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成によって、プロトン移動と後続の 1 電子 1 プロトンが関与して進行する協奏的な 2PCET 反応の可能性が示唆された。

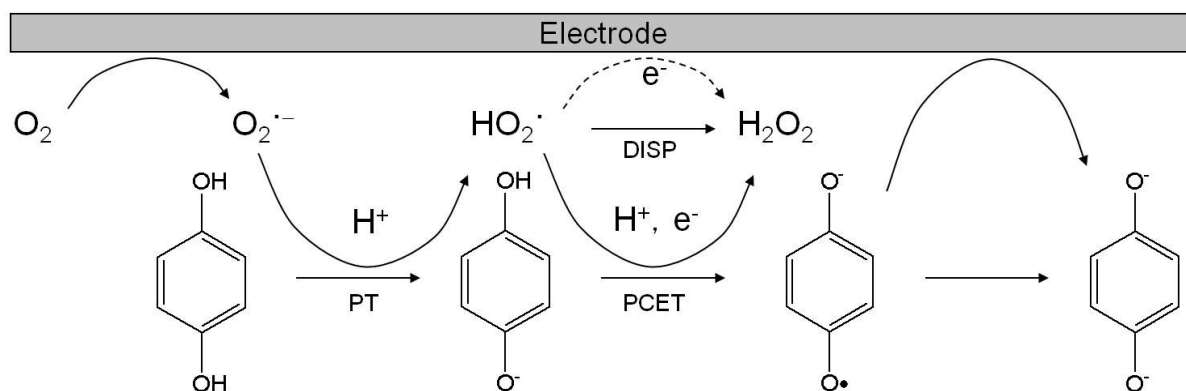


**Figure 4-1-2.** UV-Vis spectral change of the  $O_2$  solution containing  $H_2PQ$  with the OTTL electrolyses over applied potentials corresponding to the  $O_2^{\bullet-}$  generation (left) and over applied potentials corresponding to peak A in Figure 3-1-1 (b). Concentrations of  $H_2PQ$  are  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . The OTTL spectra were observed as differential spectra from those of neutral  $H_2PQ$ . All the spectra were observed in DMF containing TPAP as a supporting electrolyte.



**Figure 4-1-3.** Observed and simulated ESR spectra of the  $\text{O}_2$  solution containing  $\text{H}_2\text{PQ}$  obtained by the controlled-potential electrolysis at an applied potential of  $-1.2 \text{ V}$ .

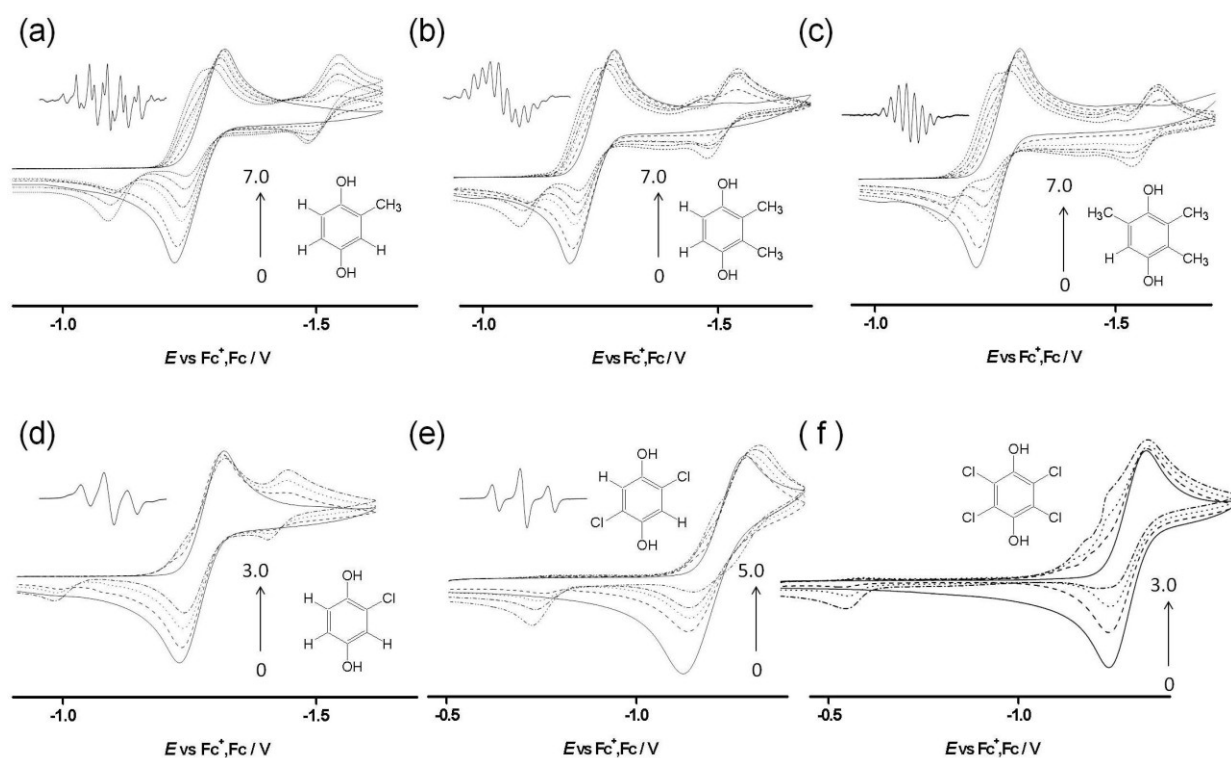
以上の電解分光測定の結果と前節の CV 測定結果より, Figure 4-1-4 に  $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下の  $\text{O}_2$  の還元挙動に関する電極反応スキームを示した. 電極上での  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の生成をトリガーとした一連の反応では, Phenol 共存下で観測されるような  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の直接還元や DISP に伴う二電子還元波を観測することなく, PCET 反応による  $\text{HO}_2^{\cdot}$  消去を示す不可逆な一電子還元波と, 生成物  $\text{PQ}^{\cdot-}$  の電極応答が観測された. この反応は,  $\text{H}_2\text{PQ}$  から  $\text{O}_2^{\cdot-}$  へ 2 プロトンと 1 電子が共役して移動する PCET 反応である.



**Figure 4-1-4.** Schematic showing of electrochemical reduction of  $\text{O}_2$  in the presence of  $\text{H}_2\text{PQ}$ .

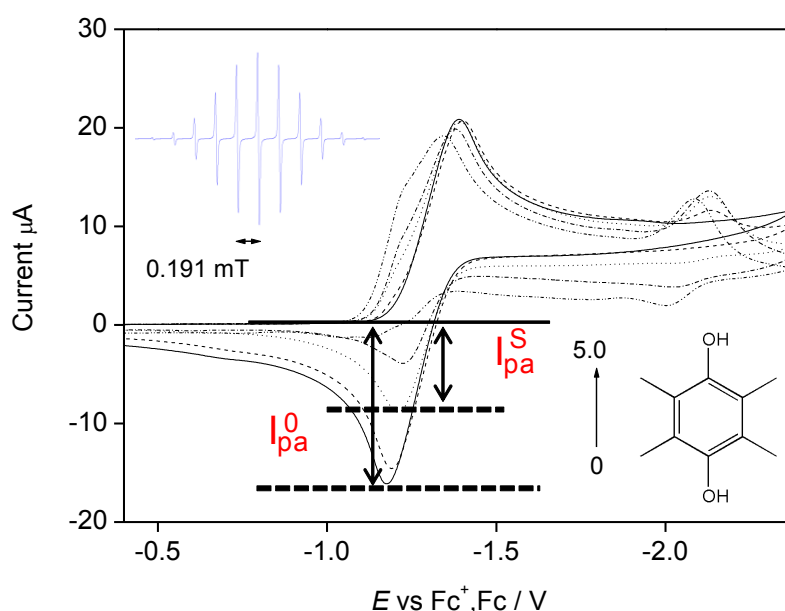
次に置換基を有する  $\text{H}_2\text{PQ}$  の  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応について考察した. Figure 4-1-5 に Methylhydroquinone ( $\text{Me-H}_2\text{PQ}$ ), 2,3-Dimethylhydroquinone (2,3-di-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ ), Trimethylhydroquinone (tri-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ ), Chrolohydroquinone ( $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$ ), 2,5-Dichrolohydroquinone (2,5-di- $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$ ), Tetrachrolohydroquinone (tetra- $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$ ) が共存するときの酸素の CV を示した. いずれの CV も PCET 反応を示す不可逆な 1 電子還元となった. さらに, (a)-(e) の電解 ESR 測定では, 各  $\text{H}_2\text{PQ}$  類からの 2 プロトンと 1 電子移動を示す  $\text{PQ}^{\cdot-}$  のスペクトルが観測され, 超微細結合定数 ( $a_{\text{H}}$ ) は,  $\text{Me-H}_2\text{PQ}$  の場合 0.160, 0.080, および 0.060 mT の 3 種, 2,3-di-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$  の場合 0.220, 0.075 mT の 2 種, tri-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$  の場合 0.120, 0.023, 0.021 および 0.019 mT の 4 種,  $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$  の場合 0.205, 0.200, 0.195 mT の 3 種, 2,5-di- $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$  の場合 0.210 mT の 1 種の水素の存在を示すものが明瞭に観測された. 以上の結果から, 置換基がある場合にも, 同様に PCET 反応が進行し, 対応する  $\text{PQ}^{\cdot-}$  を生成することが示された. なお, tetra- $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$  の場合には, 後述するように tetra- $\text{Cl-PQ}^{\cdot-}$  の還元電位が酸素還元波より正にあるため, 酸素還元電位においては  $\text{PQ}^{\cdot-}$  が  $\text{PQ}^{2-}$  へ電極還元してしまい, ESR が観測されないものと推察される.

また, CV の帰属は次のように考えられる. 生成した  $\text{PQ}$  の第一, 第二還元波は, メチル基置換体では, 置換基の数を反映して負側にシフトしている. これはメチル基の電子供与性基による効果と考えられる. 一方, クロロ基置換体では, 生成する  $\text{PQ}^{\cdot-}$  の還元電位や再酸化により生成する  $\text{PQ}$  の還元電位が, 電子求引性効果により正側にシフトして観測された. また, tetra- $\text{Cl-H}_2\text{PQ}$  の場合には第二還元電位が酸素還元波より正側に大きくシフトし, このことが ESR によって tetra- $\text{Cl-PQ}^{\cdot-}$  生成を確認できないことを合理的に説明していると考えられる.

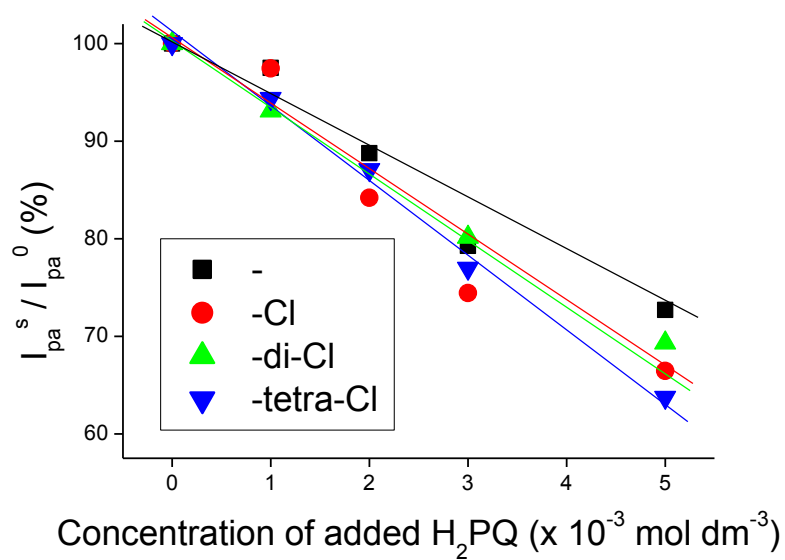
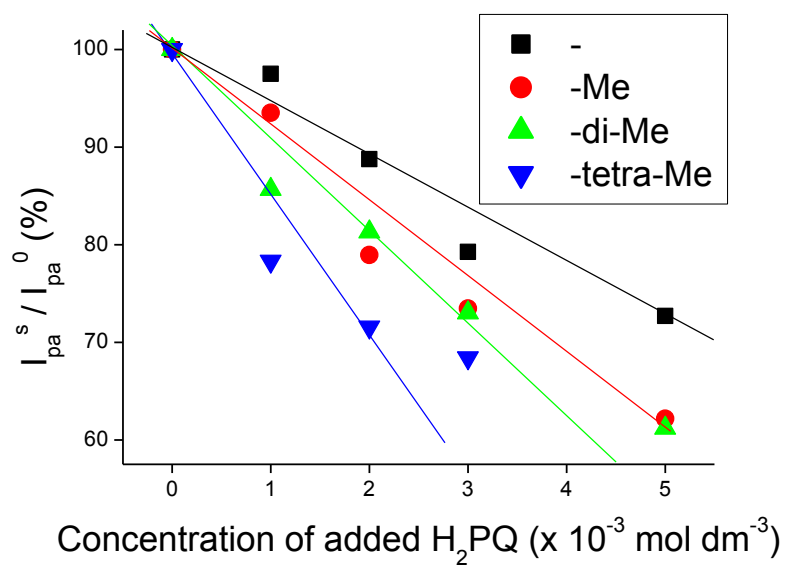


**Figure 4-1-5.** Cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of (a) Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ , (b) 2,3-di-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ , (c) tri-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ , (d) Cl- $\text{H}_2\text{PQ}$ , (e) 2,5-di-Cl- $\text{H}_2\text{PQ}$ , and (f) tetra-Cl- $\text{H}_2\text{PQ}$ , observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ .

次に  $\text{H}_2\text{PQ}$  の PCET における置換基の効果について考察した． Figure 4-1-6 に， Tetramethylhydroquinone (tetra-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ ) 共存下の CV を示した． 他の CV 同様に PCET 反応を示す不可逆な 1 電子還元波となった．  $\text{PQ}/\text{PQ}^{\cdot-}$  に対応するピークは観測されなかったが， 負にシフトしているため酸素還元波と重なっていると考えられる． CV 上の不可逆性の度合いを表す  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の再酸化電流の比 ( $I_p^s/I_p^0$ ) を算出した． 同様に Figure 4-1-5 に示された CV から  $I_p^s/I_p^0$  比をもとめ， これらの値を  $\text{H}_2\text{PQ}$  の添加濃度に対してプロットした． その結果を Figure 4-1-7 に示した．  $\text{H}_2\text{PQ}$  の添加濃度が  $0 \sim 5.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  程度までは， 再酸化波が添加濃度に比例して減少している． この範囲のプロットに対して最小二乗法により引いた直線の傾きは，  $\text{H}_2\text{PQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  間の反応性指標となる． 無置換の  $\text{H}_2\text{PQ}$  に比べて， メチル基の数を増やすとより多く再酸化電流を消失し， 置換基の効果により PCET 反応が促進されることを示唆している． 一方， クロル基を置換した場合にも， 置換基の数を増やす程，  $I_p^s/I_p^0$  値は低くなり PCET 反応が進行することが分かった． しかし， その程度はメチル基のときほど大きくなく， 置換基の個数に対する依存度は低かった． なお， tetra-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下では  $\text{PQ}/\text{PQ}^{\cdot-}$  と， 2,5-di-Cl- $\text{H}_2\text{PQ}$  および tetra-Cl- $\text{H}_2\text{PQ}$  共存下では  $\text{PQ}^{\cdot-}/\text{PQ}^{2-}$  と， それぞれ酸素の還元ピークと重なっているため， 正確な値として評価することは出来なかった． しかし，  $I_p^s/I_p^0$  比の減少に対して置換基の効果が大きく作用していることが分かった．



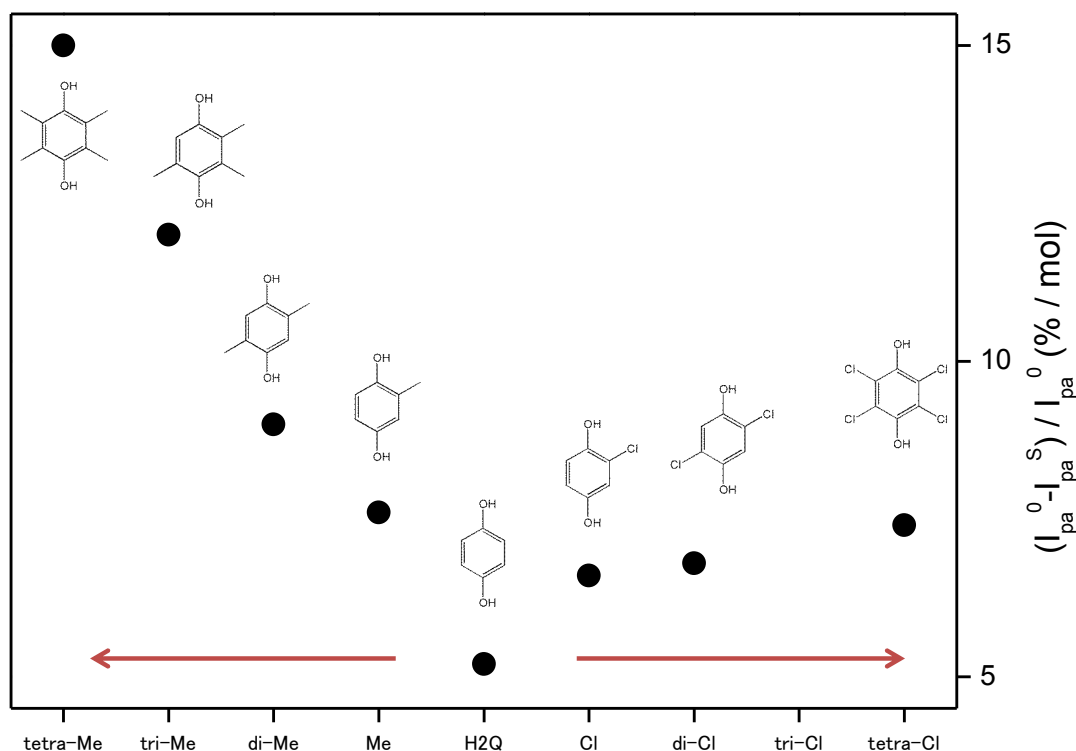
**Figure 4-1-6.** Cyclic voltammograms of the  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP in the absence and in the presence of tetra-Me- $\text{H}_2\text{PQ}$ , observed at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$



**Figure 4-1-7.** Linear relation between  $I_p^s / I_p^0$  (%) value and concentrations of  $H_2PQ$ .



$I_p^s/I_p^0$  比は PCET の反応の促進の尺度と考えられ、Figure 4-1-8 にその比に対する置換基数の依存性をプロットした。電子供与性、電子求引性のいずれでも置換基の数を増やすと  $I_p^s/I_p^0$  の変化率が大きくなり、PCET 反応が促進されることが分かった。PCET 反応はこれに係るプロトン移動と電子移動の両者の兼ね合いによって影響されるため、一概にその置換基効果を論じることができない。しかし、電子供与性置換基であるメチル基がより大きな  $I_p^s/I_p^0$  の変化率を示すのは、電子移動に係る電子供与性の効果が表れたものと考えられる。一方、電子求引性置換基のクロル基でも PCET 反応を促進しており、置換基効果によるプロトンドナー性が発揮されたものと推察できる。しかし、詳細は速度論的なパラメーターを用いて論じる必要があることを付記しておく。



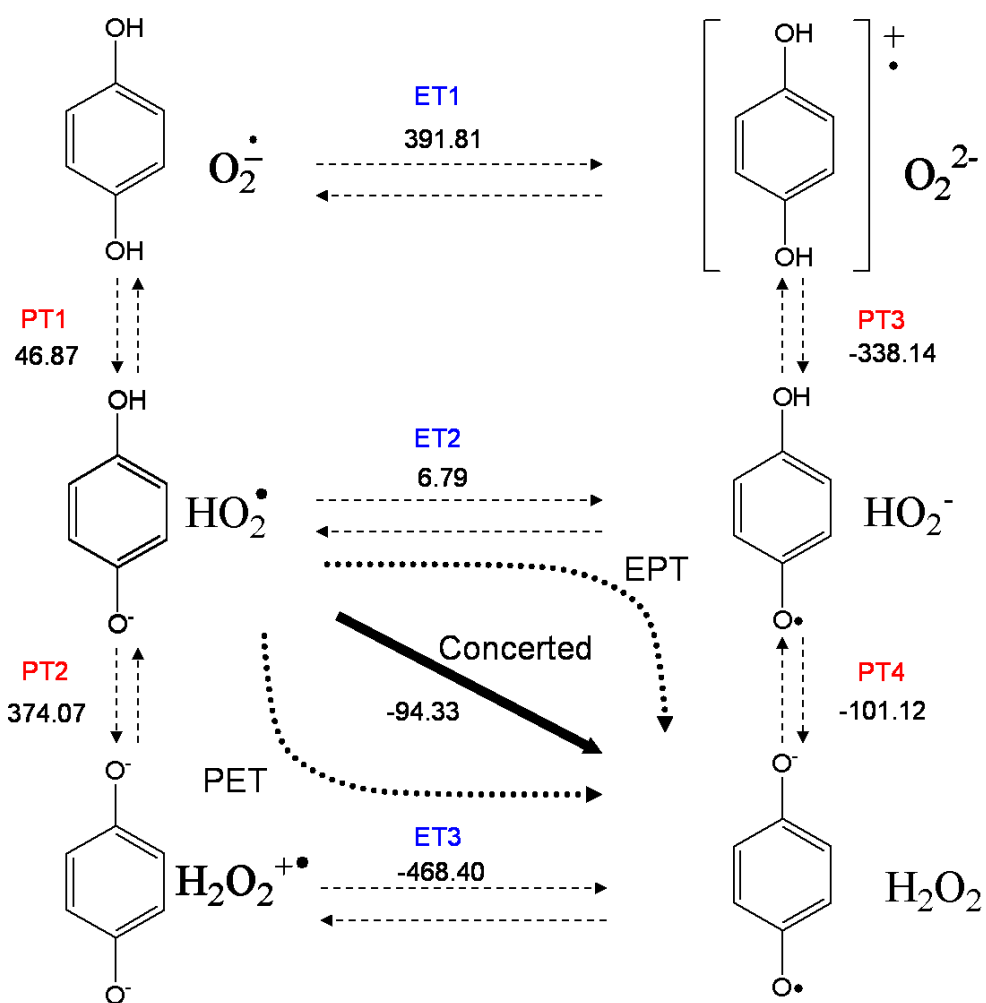
**Figure 4-1-8.** Dependence of  $(I_p^0 - I_p^s) / I_p^0$  (%) values upon the number of substituents.

## 第 2 節 熱力学的解析

電子移動の単純な熱力学的解析として分子軌道を用いることが多い．ここでは，Figure 4-1-5 に示した電極反応について，Hartree Fock 法<sup>40)</sup>による構造最適化を行った後，HOMO, LUMO などの軌道エネルギーを算出した結果を Figure 4-2-1 に図示した．まず， $\text{H}_2\text{PQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 間の HOMO-SOMO 比較によって， $\text{O}_2^{\cdot-}$ の SOMO への電子移動はアップヒルとなっていることが分かる．実験的にも  $\text{O}_2^{\cdot-}$ の還元電位（-2.5V 前後）からも熱力学的に許容されない電子移動であることが理解できる．一方，プロトン移動によって開始された  $\text{HPQ}^-$ と  $\text{HO}_2^{\cdot}$ の電子移動に対しては， $\text{HO}_2^{\cdot}$ の SOMO は  $\text{O}_2^{\cdot-}$ よりも低く，また同時に生成する  $\text{HPQ}^-$ の HOMO が  $\text{H}_2\text{PQ}$  より上昇するため，両者の電子移動はダウンヒルとなる．しかし，電子移動後の  $\text{HPQ}^{\cdot-}$ の SOMO と  $\text{HO}_2^-$ の HOMO のエネルギーは逆方向に大きなギャップがあり， $\text{HO}_2^-$ から  $\text{HPQ}^{\cdot-}$ への逆方向の電子移動もダウンヒルとなっている．このことは，化合物間の分子軌道エネルギー比較だけでは電子移動の方向を決めることは出来ないことを示している．また，最終生成物の  $\text{PQ}^{\cdot-}$ と  $\text{H}_2\text{O}_2$ の軌道エネルギー比較から，両者は安定に存在し，プロトン移動が Quinone—Hydroquinone の  $\pi$ 共役電子移動系の安定化に重要であることを示している．この結果は，密度汎関数 (B3LYP) 法<sup>40)</sup>でも同様であった．



Figure 4-2-2 から分かるように、最初のプロトン移動 (PT1) と電子移動 (ET1) はいずれも熱力学的には不利であるが、ET1 の  $\Delta G^\circ$  ( $391.81 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) が非常に大きく、容易には進行しないことを示している。また、一般に  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の塩基性は弱いため、最初のプロトン移動 (PT1) も熱力学的には優位に進行するためには強い酸が必要である。また、 $\text{HPQ}^-$  と  $\text{HO}_2^\cdot$  の反応でもプロトン移動 (PT2) と電子移動 (ET2) のどちらも熱力学的には許容されない反応である。しかし、PT2-ET3 と ET2-PT4 を経由するステップワイズな反応経路では、何れも後続する反応 (ET3, PT4) は極めて熱力学的には優位に進行する反応と言える。このことは反応メカニズムが HAT, ET-PT, SPLET などのどれに属するかは別にしても、広義の PCET 反応が熱力学的に優位であることを示している。中でも、このような ET1, ET2, PT1 および PT2 が何れも正の値を取る場合には、協奏的に起こる PCET, 特に 2 つのプロトンが 1 電子移動と協奏的に移動する協奏的 2PCET 反応のみが熱力学的に許容される反応と言える ( $\Delta G^\circ = -47.46 \text{ kJ mol}^{-1}$ )。以上の熱力学的考察から、 $\text{H}_2\text{PQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の反応においても、 $\text{H}_2\text{OQ}$  の場合と同様に協奏的 2PCET 反応で  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応が進行するものと考えられる。



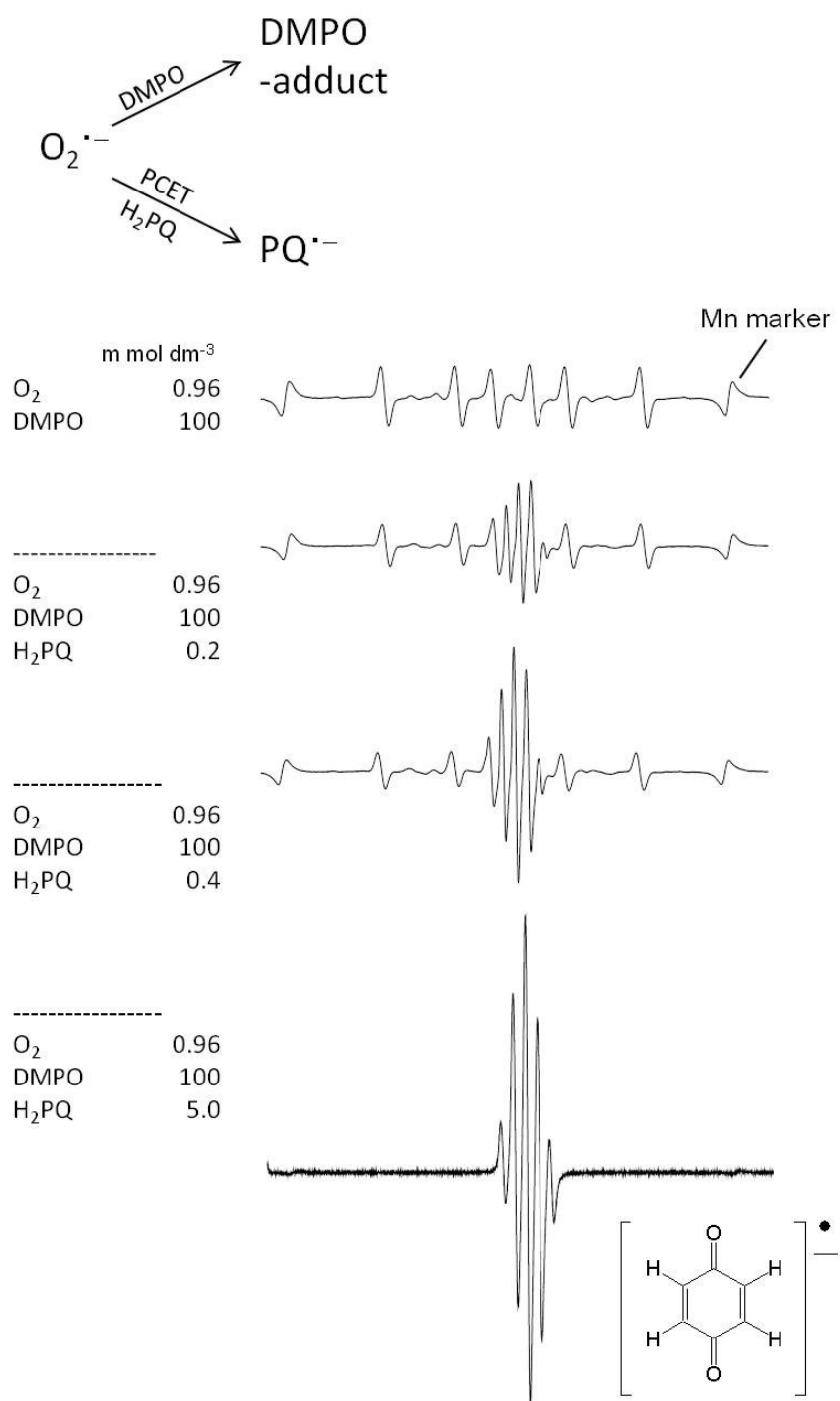
**Figure 4-2-2.** Six diabatic electronic states and the  $\Delta G^\circ$  values for the PCET reactions between  $\text{O}_2^{\bullet-}$  and  $\text{H}_2\text{PQ}$  (upper) and between  $\text{HO}_2^{\bullet}$  and  $\text{HPQ}^-$  (lower) in DMF. The  $\Delta G^\circ$  values (kJ mol<sup>-1</sup>) were calculated using the (U)B3P86/PCM/6-31+G(d,p) method.

**Table 4-1.**  $\Delta G^\circ$  values for the PCET reaction between  $\text{O}_2^{\bullet-}$  and  $\text{H}_2\text{PQ}$ , calculated with the B3P86/PCM/6-31+G(d,p) and B3LYP methods with various basis sets.

methods		$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )								
		PT1	PT2	PT3	PT4	ET1	ET2	ET3	Concerted	Total
B3P86/PCM/6-31+G(d,p)		46.8	374.0	-338.1	-101.1	391.8	6.7	-468.4	-94.3	-47.4
B3LYP PCM	6-31+G(d)	51.1	378.8	-332.0	-94.5	376.8	-6.3	-479.7	-100.9	-49.7
	6-31+G(d,p)	52.5	378.5	-331.4	-93.5	377.2	-6.8	-478.8	-100.3	-47.7
	6-311+G(d)	49.2	363.6	-334.9	-97.0	381.5	-2.5	-463.2	-99.6	-50.4
	6-311+G(d,p)	51.0	366.2	-335.4	-95.7	382.6	-3.7	-465.7	-99.5	-48.5
	6-311++G(d)	49.1	373.9	-335.2	-96.9	381.8	-2.6	-473.5	-99.6	-50.4
	6-311++G(d,p)	50.9	377.4	-335.7	-95.7	382.9	-3.7	-477.0	-99.5	-48.5
B3LYP	6-31+G(d,p)	-10.9	1200.7	-1335.3	-208.9	1409.8	85.4	-1324.2	-123.4	-134.4
	6-311+G(d,p)	-9.7	1202.9	-1342.8	-210.6	1418.1	84.9	-1328.6	-125.7	-135.4
	6-311++G(d,p)	-9.6	1202.2	-1343.1	-210.5	1418.5	85.1	-1327.6	-125.4	-135.1

### 第3節 スピントラップ法を用いた反応経路の解析

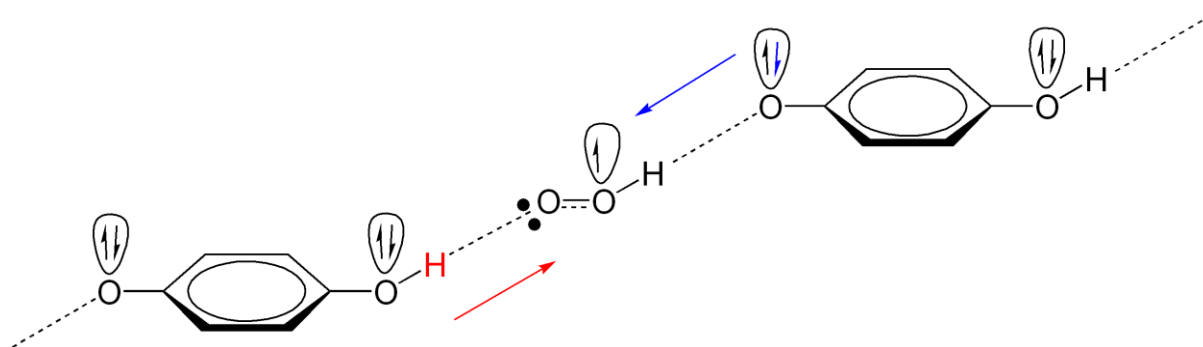
$\text{H}_2\text{PQ}$  による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応の反応経路を明らかにする目的で、スピントラップ剤の (DMPO) を反応系に共存させ反応系の中間体ラジカルを捕捉を試みた。Figure 4-3-1 の最も上の図に示すように、電極で生成した  $\text{O}_2^{\cdot-}$  は DMPO によってトラップされ  $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$  付加体となり、幅の広い 6 本のカップリングを示すシグナルが観測される。これは、DMPO の N 原子と  $\beta$  位 H のカップリングに帰属され  $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$  付加体の特徴的な ESR スペクトルである。ここに  $0.2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  の  $\text{H}_2\text{PQ}$  を共存させると、 $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$  付加体のシグナルに加えて、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  との PCET 反応により生成する  $\text{PQ}^{\cdot-}$  のシグナルが観測された (Figure 4-3-1 の上から 2 番目の図)。この際、電極上で生成した  $\text{O}_2^{\cdot-}$  が、過剰に共存する DMPO ではなく少量の  $\text{H}_2\text{PQ}$  と反応するのは、DMPO による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  トラップ反応よりも、PCET 反応の反応速度が速いためである。したがって、両者のスペクトルが併せて観測されるのは、 $\text{H}_2\text{PQ}$  と反応で消費されなかった  $\text{O}_2^{\cdot-}$  が DMPO と反応しているためである。したがって、 $\text{H}_2\text{PQ}$  の濃度を上げ  $0.4 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  とすると、 $\text{PQ}^{\cdot-}$  のシグナル強度が大きくなり、 $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  とするとさらに大きくなった。これに伴い、 $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$  付加体のシグナルは完全に消失した。このことは、Figure 4-2-2 の平衡系に示す、 $\text{HO}_2^{\cdot}$  が存在していないことを示している。DMPO による  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の捕捉速度は極めて速く ( $k = 66 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>54)</sup>、この電位における  $\text{HO}_2^{\cdot}$  の電極還元電子移動速度より速い。したがって、 $\text{H}_2\text{PQ}$  による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応がプロトン移動から始まるとすると、 $\text{DMPO-HO}_2^{\cdot}$  付加体のシグナルが素早く出現しなければならない。実際には、全てが  $\text{PQ}^{\cdot-}$  の ESR シグナルとなるので、少なくとも DMPO スピントラップの速度の範囲において、 $\text{H}_2\text{PQ}$  と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の反応で  $\text{HO}_2^{\cdot}$  は中間体として存在していないことを示している。つまり、 $\text{H}_2\text{OQ}$  同様に、2 プロトンと 1 電子が協奏的に反応する経路、協奏的 2PCET 反応であると結論付けることができる。



**Figure 4-3-1.** ESR spectrum of competing reaction between DMPO spin trapping and PCET reaction between H<sub>2</sub>PQ and O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. A concentration of DMPO is 1.0 × 10<sup>-1</sup> mol dm<sup>-3</sup>.



前節で述べたように， $\text{H}_2\text{PQ}$  が水素結合を挟んで， $\text{O}_2^{\bullet-}$  と協奏的に 2PCET 反応するためには，Figure 4-3-2 に示すような，連続的に連なる水素結合網の相互作用モデルを考える必要がある．現在のところ，これを支持する構造的な知見はないが，このように協奏的に PCET 反応が進行するためには，リアクタント間の水素結合錯体の生成は極めて重要な要因と言える．



**Figure 4-3-2.** Plausible mechanism for 2PCET between  $\text{H}_2\text{PQ}$  and  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . Proton transfers occur between O lone-pair  $\sigma$ -type orbitals that are nominally in the plane of the molecular framework. Electron transfer between O  $\pi$ -type orbitals that are orthogonal to the molecular framework accompanies the two-proton transfer.

## 第 4 節 小括

本章では， $\text{H}_2\text{PQ}$  による  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応を解析し， $\text{H}_2\text{PQ}$  が 1 段階の協奏的な 2PCET 反応によって進行することを明らかとし，Quinone-Hydroquinone の  $\pi$  共役電子移動系およびその中間体ラジカル  $\text{PQ}^{\cdot-}$  の安定性が  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去反応の重要なファクターであることが分かった．

## 第5章 パラ置換フェノール類のスーパーオキシド消去反応

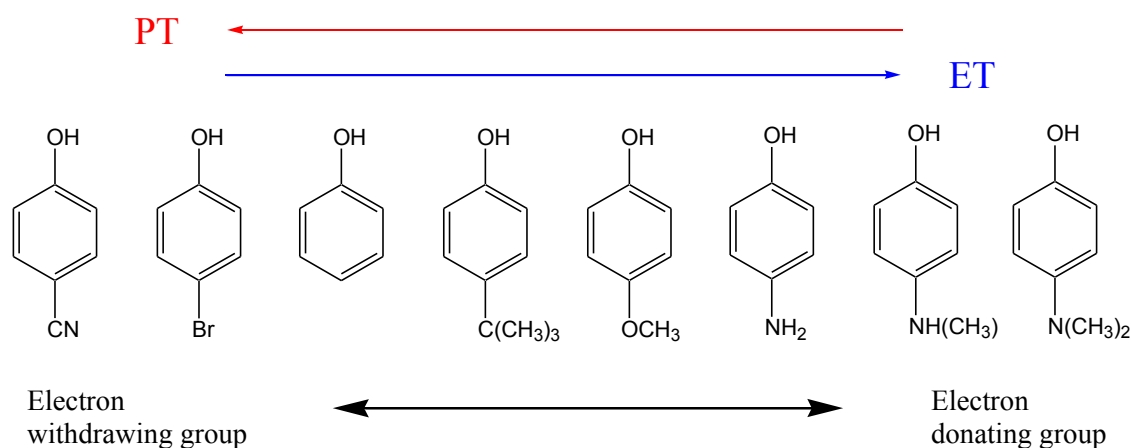
第三章で述べたように、フェノール性化合物の内  $\text{H}_2\text{OQ}$ ,  $\text{H}_2\text{PQ}$  にのみ  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去作用として協奏的な PCET 反応が進行することを明らかとしてきた。しかし、一般に広い意味で PCET はプロトン移動と電子移動が共役して起こる反応であるため、プロトン供与性能 ( $\text{p}K_{\text{a}}$  値) および電子供与性能 (イオン化ポテンシャルや酸化電位) は PCET 反応を制御する重要な要因と言える。これまで、この視点から Phenol 類の酸化電位,  $\text{p}K_{\text{a}}$  値, その他の熱力学的諸量とその抗酸化作用との相関関係については極めて多数の報告があるが<sup>4-13)</sup>, そのデータとの関連性は必ずしも明確ではない。

本章では、p-置換フェノール類 (POH) を用いて、その置換基効果によって電子供与性またはプロトン供与性をコントロールすることにより、PCET 反応に基づく  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去作用を実現できるかについて検討した。

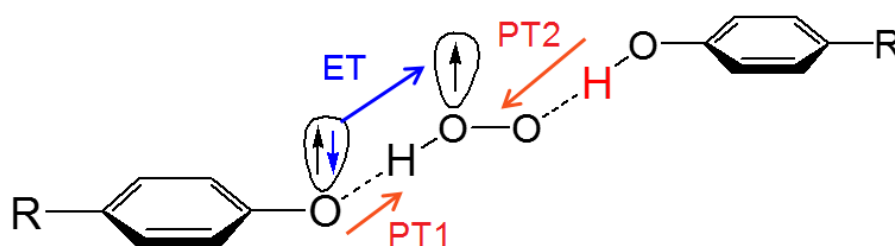
## 第1節 パラ位置換フェノール類共存下の酸素の電気化学還元挙動

Figure 5-1-1 に、本章で用いた POH を図示した。O<sub>2</sub><sup>•-</sup>消去に係る PCET 反応において、Phenol はプロトン供与体かつ電子供与体として働く。したがって、電子求引性基 (CN, Br) 置換体では、フェノール性水酸基のプロトン供与性促進効果と同時に電子供与性を抑制する効果が働くことが期待される。一方で、電子供与性基 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>O, NH<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) を置換した POH では、逆にプロトン移動が抑制され電子供与性が増加する。これらの効果によって、POH に H<sub>2</sub>OQ や H<sub>2</sub>PQ と同様の PCET 反応が期待できるか否かを明らかにして、電子及びプロトン供与性と PCET 反応の関係について言及した。

また、POH と O<sub>2</sub><sup>•-</sup>との間の PCET 反応は Figure 5-1-2 に示すようなモデルを考えることができる。このモデルは O<sub>2</sub><sup>•-</sup>消去反応には 2 つのプロトンが必要な点、および電子供与性能は POH よりも PO<sup>-</sup>の方が高い点で合理的である。

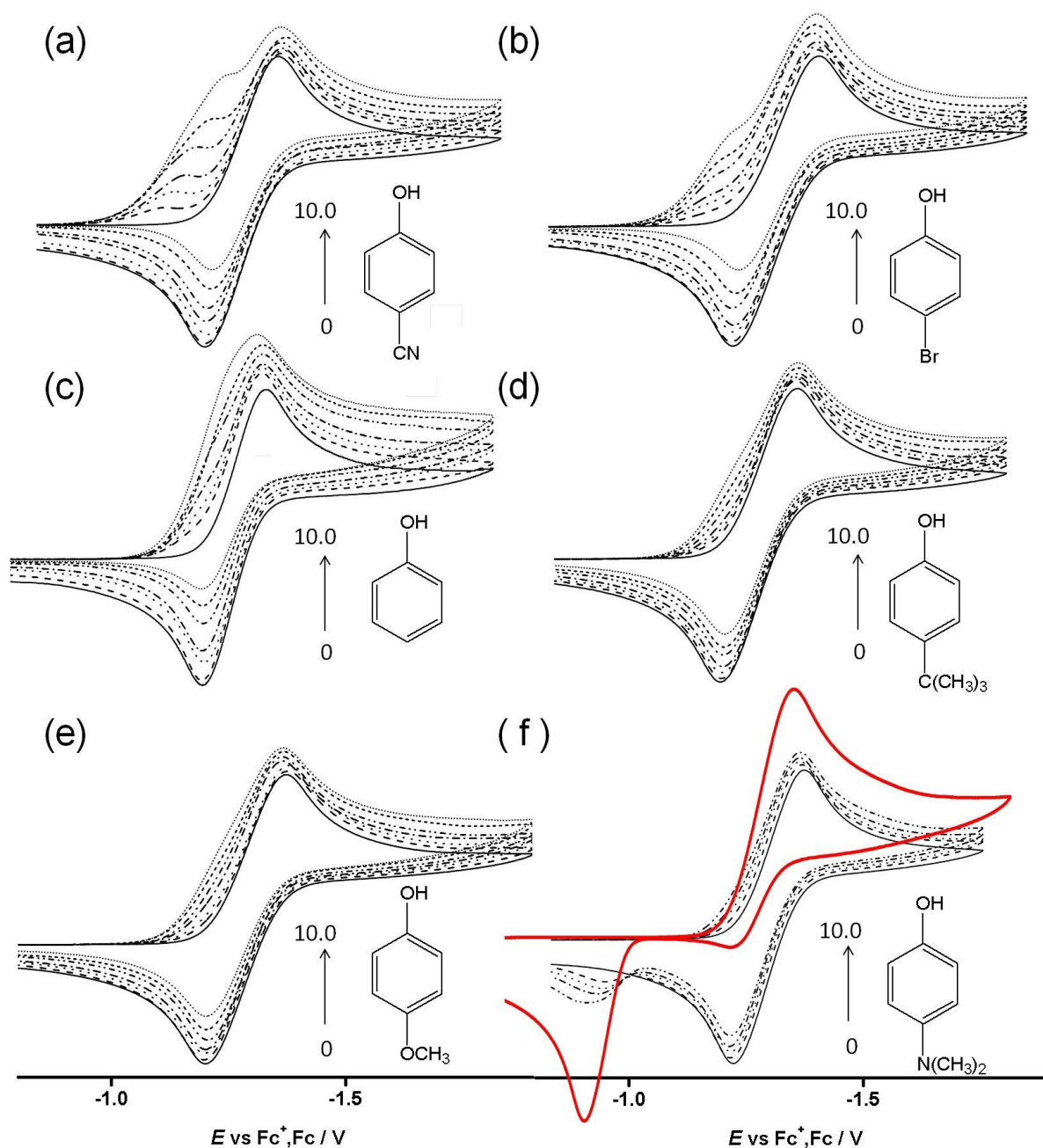


**Figure 5-1-1.** Chemical structures of POHs investigated here.



**Figure 5-1-2.** A plausible model of the PCET reaction for  $\text{O}_2^{\bullet-}$  scavenging by 4-substituted POHs. Abbreviations ET and PT denote electron transfer and proton transfer, respectively.

Figure 5-1-3 に、4-Cyanophenol, 4-Bromophenol, Phenol, 4-tert-Buthylphenol, 4-Methoxyphenol, 4-Dimethylaminophenol をそれぞれ共存させたときの  $\text{O}_2$  の CV を示した。  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  対の可逆な一電子還元波は、これらのいずれの POH を添加した場合においても、添加する POH の濃度を増すと再酸化波が減少する様子が観測された。この再酸化波の減少割合は、加えられた POH の酸性度に依存して大きくなる様子が観測された。なお、POH の  $\text{pK}_a$  値は Table 5-3 にリストしてある。これは第二章で述べた通り、POH から  $\text{O}_2^{\bullet-}$  へのプロトン移動により  $\text{HO}_2^{\bullet}$  を生成し、これが電極上で再度還元されるプロセスである。再酸化波の消失の割合、還元波の増加の程度、および酸素還元前置波の出現は、いずれも POH の酸性度を反映したものである。 $\text{pK}_a$  値が小さく酸性度の高い POH ほど、不可逆度が大きく観測され、還元波の増大も大きくなる。また、4-Cyanophenol や 4-Bromophenol が共存するとき観測される酸素還元前置波は  $\text{HO}_2^{\bullet}$  の直接還元電流であり、フェノール性水酸基からのプロトン移動速度が速い場合に観測されると考えられる。一方、Phenol, 4-tert-Buthylphenol, 4-Methoxyphenol, 4-Dimethylaminophenol が共存したとき、プロトン移動速度が遅いため、 $\text{HO}_2^{\bullet}$  の生成に伴う DISP 反応が起こって還元波が二電子反応となっていく。いずれにせよ、置換基の種類に拘らず、十分な濃度の POH が添加されると、上記のいずれかの反応を経由して、酸性度とは無関係に二電子反応へと変化することを示している。実際に、最も弱い酸性である 4-Dimethylaminophenol を高濃度加えた場合には、Figure 5-1-3 (f) に示すように完全な二電子の不可逆反応が観測されている。一方、4-Dimethylaminophenol の添加時に観測された -0.7V 付近の酸化電流は、プロトン脱離したフェノキシアニオンの再酸化によるものと考えられる。この結果から、POH による  $\text{O}_2^{\bullet-}$  消去反応は、POH の酸性度や酸化力（HOMO の軌道エネルギー、イオン化エネルギーなど）とは無関係に、プロトン移動のみが観測され、両者の間に PCET による電子移動を起こすことはできなかった。

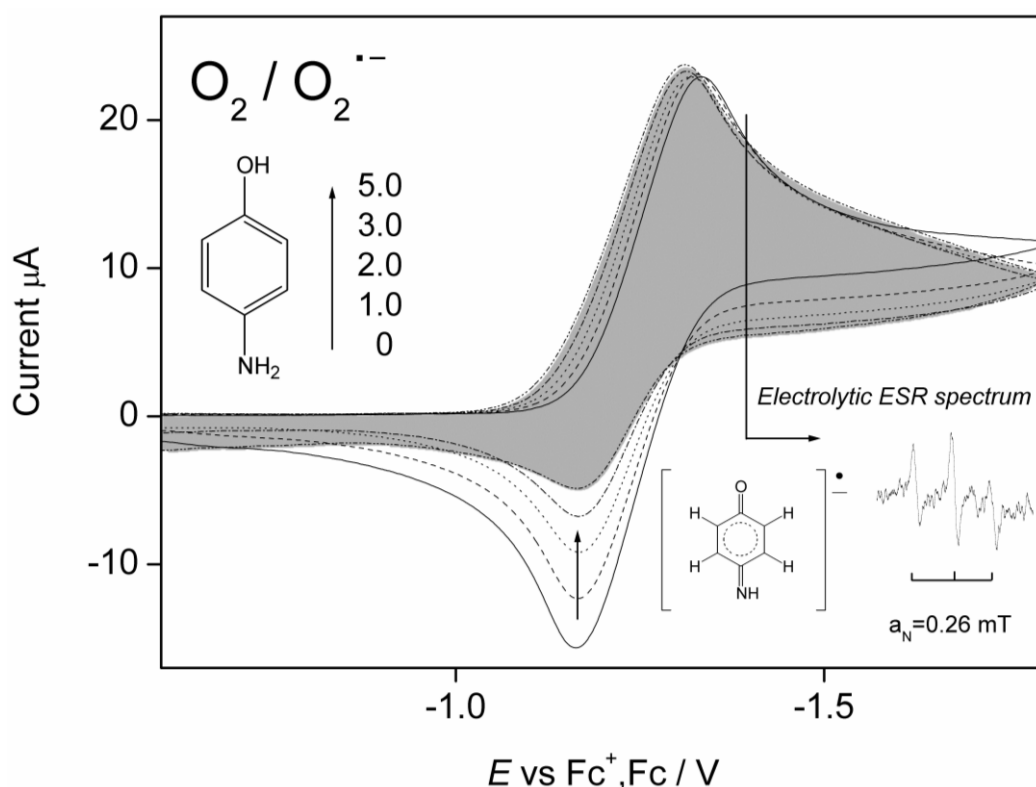


**Figure 5-1-3.** Cyclic voltammograms of  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in the absence and presence of 4-substituted POHs in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP on a GC electrode at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of POHs are  $0, 1.0, 3.0, 5.0,$  and  $10.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . The voltammogram drawn by a red line in Fig. (f) is observed in the presence of  $50 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  4-Dimethylaminophenol.

## 第2節 アミノ基置換体のスーパーオキサイド消去反応

前節で述べたように、置換基の電子供与性やプロトン供与性を制御しても、POHと $\text{O}_2^{\cdot-}$ 間にPCET反応を起こすことはできなかった。しかし、Figure 5-2-1に示すCVのように、4-Aminophenol共存下では $\text{O}_2$ の還元波が一電子を保ったまま再酸化波を消失する現象が観測され、4-Aminophenolと $\text{O}_2^{\cdot-}$ 間にPCET反応が起こったことを明らかとした。このCVは第三章で示した $\text{H}_2\text{PQ}$ や $\text{H}_2\text{OQ}$ 共存下の場合と同様に、不可逆な一電子還元波として観測された。つまり、生成したはずの $\text{HO}_2^{\cdot}$ に起因する前置波や二電子還元とはならず、 $\text{HO}_2^{\cdot}$ を4-Aminophenolまたはそのフェノキシアニオンからの電子移動が観測されたものと考えられる。

そこで、 $\text{O}_2$ の還元電位において定電位電解し、ESRスペクトルを観測した。すると、超微細結合定数が0.26mTの3本線からなるESRシグナルが観測された。スペクトル強度が弱く、スペクトル帰属とラジカル核種の同定には至らなかったが、キノンイミンラジカルの関連ラジカルが観測されたと推定している。ラジカル種を検出したことにより、4-Aminophenolから $\text{O}_2^{\cdot-}$ へのPTと後続するPCET、または2PCETが進行したことは明らかである。

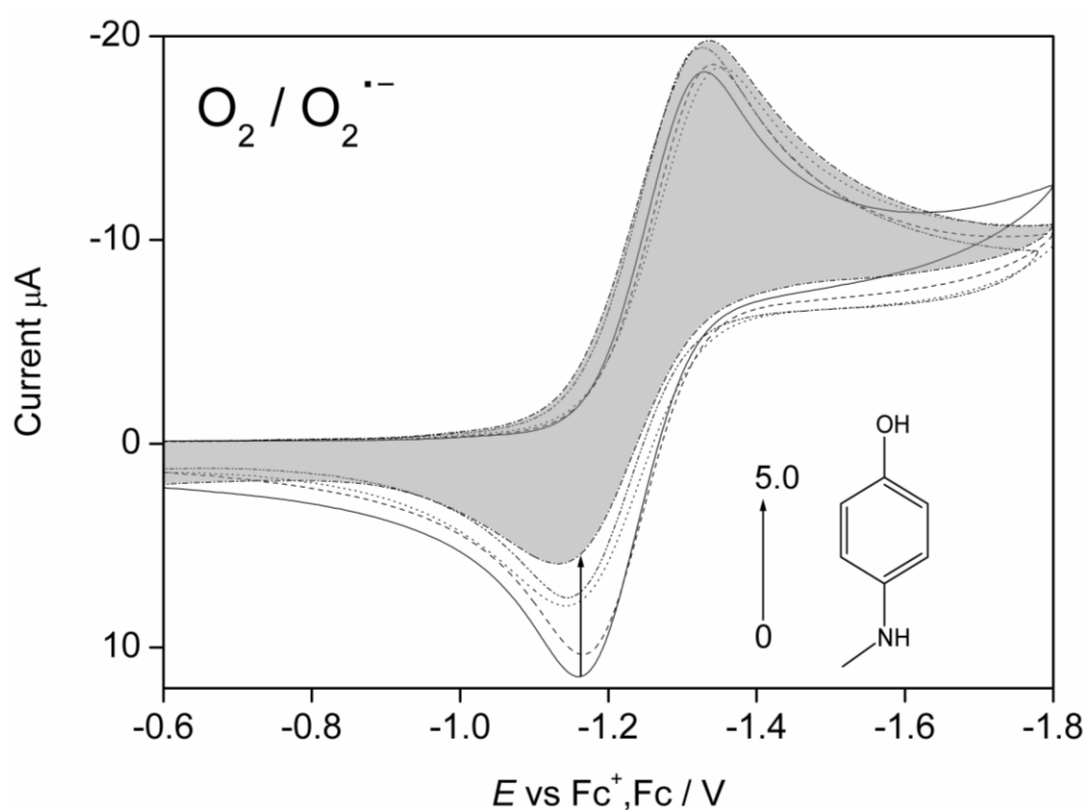


**Figure 5-2-1.** Cyclic voltammograms of  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ ) in the absence and presence of 4-aminophenol in DMF containing 0.1 mol  $\text{dm}^{-3}$  TPAP on a GC electrode at a scan rate of 0.1 V  $\text{s}^{-1}$ , and ESR spectrum obtained by controlled-potential electrolysis of  $\text{O}_2$  solution (DMF) containing 4-aminophenol ( $5.0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ ) at an applied potential of -1.3 V vs  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ . Concentrations of 4-aminophenol are 0, 1, 3, and 5  $\times 10^{-3}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ .

同様の CV を与える置換体として 4-*N*-Methylaminophenol がある． Figure 5-2-2 にその CV を示した． この CV も不可逆な一電子還元が観測されており， PCET 反応による  $\text{HO}_2^{\bullet}$  の消去が推察される． しかし， 電解 ESR 測定では生成物のシグナルを観測することができなかった． これは生成物ラジカルの安定性が低いためと考えられ， またキノンイミンラジカルの様に<sup>53)</sup>， 安定なラジカルを生成することができないためと考えられる． 一方， 4-Dimethylaminophenol 共存下の CV では PCET 反応を示さなかったことから， 4-Aminophenol， 4-*N*-Methyl-aminophenol の NH からのプロトン移動が PCET 反応において必要であり， 構造的に 2 つの水素結合性の水素原子を持つこと



が PCET 反応を起こすための条件と考えられる。つまり、 $\text{H}_2\text{PQ}$  や  $\text{H}_2\text{OQ}$  共存下の場合と同様に、2 プロトンと 1 電子移動の協奏的 PCET モデルが 4-Aminophenol, 4-*N*-Methylaminophenol 共存下でも合理的と考えられるメカニズムである。したがって、POH の  $\text{O}_2^{\cdot-}$  消去能は電子供与性やプロトン供与性を置換基効果で制御することではなく、分子の構造的特性が重要であると考えられた。



**Figure 5-2-2.** Cyclic voltammograms of  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in the absence and presence of 4-*N*-methylaminophenol in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP on a GC electrode at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of 4-*N*-methylaminophenol are 0, 1, 3, and  $5 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .

### 第 3 節 熱力学的解析

Figure 5-3-1 に、POH と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  の PCET モデル (Figure 5-1-2) に対応する 2 プロトンと 1 電子の移動の非断熱的な電子移動過程を含む熱力学平衡スキームを示した。また、Table 5-3 には本章で用いた POH について、DFT 計算を用いて求めた各反応の標準ギブス自由エネルギー  $\Delta G^\circ$  の変化をまとめた。このモデルに於いて熱力学的に有利に進行する反応経路は、最初のプロトン移動 (PT1) に続き、生成した  $\text{PO}^-$  と  $\text{HO}_2^{\cdot}$  間の電子移動 (ET2) と、後続する別の POH からの  $\text{HO}_2^{\cdot}$  へのプロトン移動 (PT4) から成る PCET (sequential PCET) である。しかしながら、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  が弱塩基であるため最初の POH からの PT1 は熱力学的には進行しにくい。実際、Table 5-3 に示したように、PT1 の  $\Delta G^\circ$  は溶媒和の効果を含む計算結果において、全てプラスのエネルギーとなっている。加えて、PT1 と ET2 に対する置換基の効果は互いに逆相関の関係にあり、例えば、電子求引性の性質のあるシアノ基では、PT1 は起こり得るが、後続する ET2 は進行し得ない。それゆえ、本章で研究対象とした全ての POH において、Figure 5-1-2 に示す 2:1 モデルの反応は、熱力学的には進行しない不適当なモデルといえる。ET2 や ET3 のように電子供与性基によって十分に進行し得るダウンヒルの電子移動過程であっても、 $\text{HO}_2^{\cdot}$  の速い DISP により阻害されることには注意が必要である。この計算結果は、後述する 4-Aminophenol と 4-N-Methylaminophenol を除く POH と  $\text{O}_2^{\cdot-}$  間の反応メカニズムがプロトン移動であるという事実と合致し、後続する DISP が平衡系に影響してプロトン移動を促進しているものと考えられる。

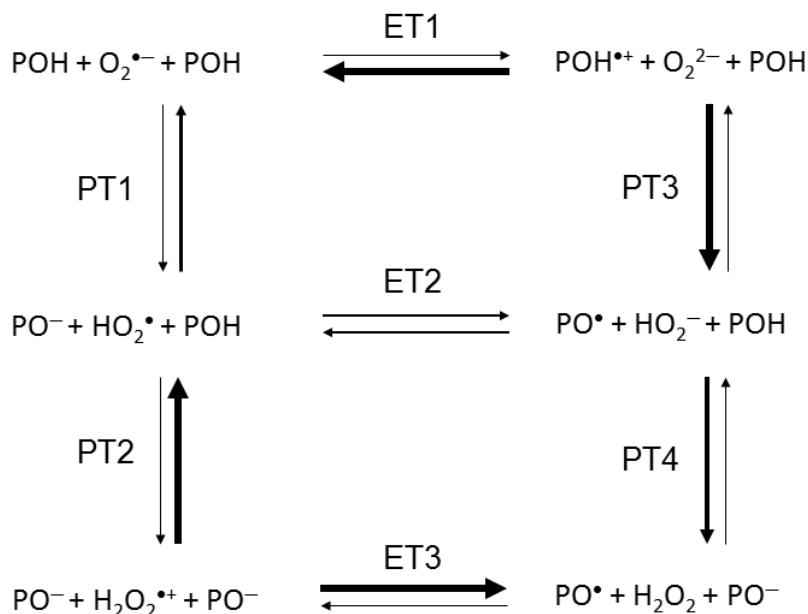
**Table 5-3.**  $pK_a$  values and HOMO energies of 4-substituted POHs, and  $\Delta G^\circ$  values for the PCET reaction (Fig. 5-1-2) between  $O_2^{\bullet-}$  and 4-substituted POHs, calculated using B3LYP/6-31+G(d,p) method.

Substituents	$pK_a$	HOMO <sup>a</sup> Energy/eV	$\Delta G^\circ / \text{kJ mol}^{-1}$							
			PT1	PT2	PT3	PT4	ET1	ET2	ET3	Total <sup>b</sup>
CN	7.95	-5.11	10.09	289.36	-379.94	-62.34	465.46	75.43	-276.27	23.18
Br	9.34	-4.71	34.03	313.30	-352.61	-38.40	421.19	34.54	-317.16	30.17
H	9.98	-4.60	45.25	324.52	-355.97	-27.18	425.28	24.05	-327.65	42.12
C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	—	-4.44	50.27	329.53	-341.07	-22.16	401.40	10.06	-341.64	38.16
OH	9.96	-4.28	52.58	331.85	-331.47	-19.85	377.24	-6.81	-358.51	25.92
CH <sub>3</sub> O	10.20	-4.27	53.13	332.40	-322.67	-19.30	366.12	-9.68	-361.38	24.15
NH <sub>2</sub>	10.30	-4.09	56.11	335.38	-298.08	-16.31	315.13	-39.07	-390.77	0.72
N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	— <sup>c</sup>	-3.81	65.13	344.40	-281.43	-7.30	293.90	-52.66	-404.36	5.17

a) HOMO energy of  $PO^-$ .

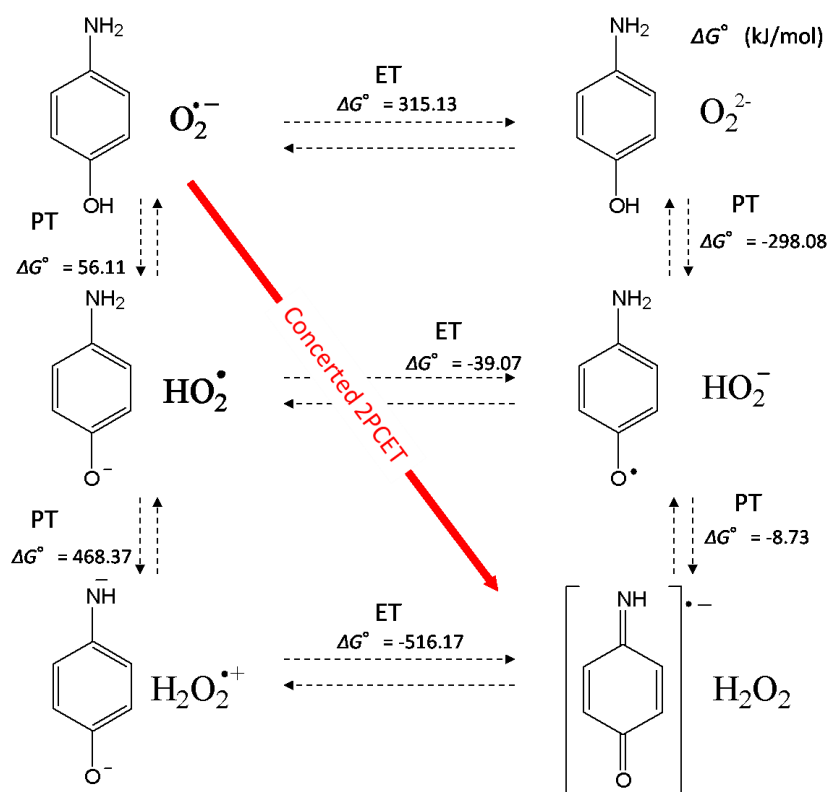
b)  $\Delta G^\circ$  values correspond to the PCET reaction,  $O_2^{\bullet-} + 2POH \rightarrow H_2O_2 + PO^\bullet + PO^-$ .

c) The  $pK_a$  value is not available in the literature, but is estimated as more than 10.5 from the substituent constants.

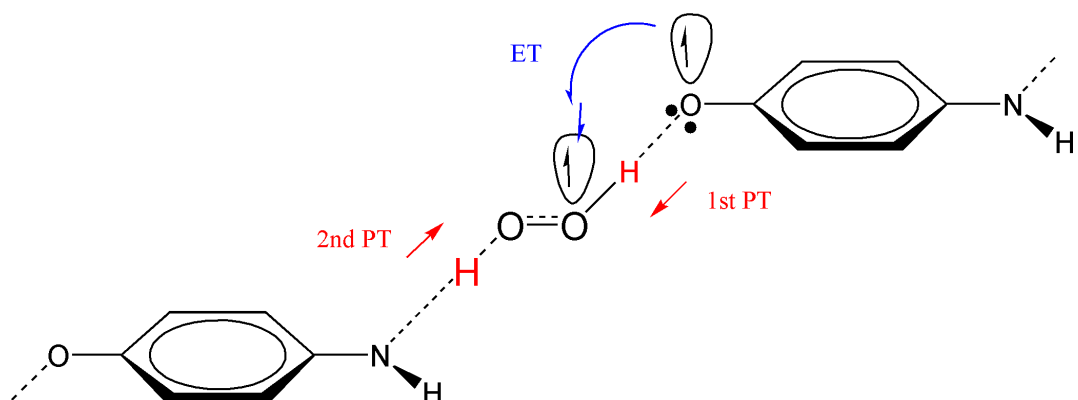


**Figure 5-3-1.** Six diabatic electronic states for the PCET reaction between  $O_2^{\bullet-}$  and POH involving two protons and one electron, based on the model shown in Figure 5-1-2.

一方、4-Aminophenol, 4-*N*-Methylaminophenol と  $\text{O}_2^{\bullet-}$  の反応は、CV の結果よりプロトン移動 (PT1) と後続する ET が進行することは明らかである。また、この ET にはパラ位の水素結合に預かるプロトンが必要であることから、両者の間では 2 プロトンと 1 電子の PCET 反応が進行している。Figure 5-3-2 に非断熱的熱力学平衡スキームと、4-Aminophenolate anion と  $\text{HO}_2^{\bullet}$  を含む各 6 つの電子状態の間の Gibbs 自由エネルギー差  $\Delta G^\circ$  を示した。これによると、最初の PT および ET 反応ともにアップヒルとなり、熱力学的には許容されないエネルギー移動となる。そのため、 $\text{H}_2\text{OQ}$  と同様に 2 プロトンと 1 電子が一段階の協奏的経路 (協奏的 2PCET) で進行する反応経路が期待される。最初の PT により水素結合内で形成する  $\text{HO}_2^{\bullet}$  に向かって、二つ目のプロトン移動が  $\text{N-H}\cdots\text{O}$  の水素結合に沿って進行する。この際、PT はベンゼン環と同一平面にある窒素ローンペア電子の  $\sigma$ -軌道方向から、 $\text{HO}_2^{\bullet}$  のラジカル電子方向に向かって進行するが、ET は反対側 (水酸基側) の  $\pi$  軌道間で進行する。したがって、4-Aminophenol や 4-*N*-Methylaminophenol と  $\text{O}_2^{\bullet-}$  の反応は、見かけ上 1 : 1 の化学量論で、Figure 5-3-3 に示すように 2 つのプロトン移動と電子移動が協奏的に進行する 2PCET 反応であると考えられる。



**Figure 5-3-2.** Six diabatic electronic states and the  $\Delta G^\circ$  values for the PCET reactions between  $\text{O}_2^{\bullet-}$  and 4-Aminophenol (upper) and between  $\text{HO}_2^{\bullet}$  and 4-Aminophenolate ion (lower) in DMF. The  $\Delta G^\circ$  values (kJ mol<sup>-1</sup>) were calculated using the B3LYP/PCM/6-31+G(d,p) method.



**Figure 5-3-3.** A plausible model for the PCET reaction of  $\text{O}_2^{\bullet-}$  scavenging by 4-Aminophenol. The electron transfer occurs concertedly with the second proton transfer after first proton transfer. See the text for details.

## 第 4 節 小括

本章では、4-Aminophenol, 4-*N*-Methylaminophenol 以外の POH と  $O_2^{\cdot-}$  の間の反応メカニズムが主にプロトン移動であり、POH の置換基の効果では PCET 反応を起こすことは不可能であることを明らかとした。一方、4-Aminophenol, 4-*N*-Methylaminophenol は、それぞれ水酸基は一つしか有しないにもかかわらず、強い  $O_2^{\cdot-}$  消去能を示した。これより、アミノ基上の水素原子が水素結合に預かり、電子移動とともにプロトン移動することによって考えられる。このようにプロトン移動と共役する酸化還元  $\pi$  電子系の存在が 2 PCET 反応を実現させており、PCET 反応による  $O_2^{\cdot-}$  消去にはこのような疑似的 Quinone-Hydroquinone の酸化還元平衡系と安定な中間体ラジカルの存在を可能とする構造特性が重要であることが明らかとなった。また、その反応は、2 プロトンと 1 電子の移動が関与する 1:1 モデルの PCET 反応であり、 $H_2PQ$  と同様に協奏的 2PCET の経路で進行すると考えられる。

## 第6章 天然フェノール性化合物のスーパーオキサイド消去反応

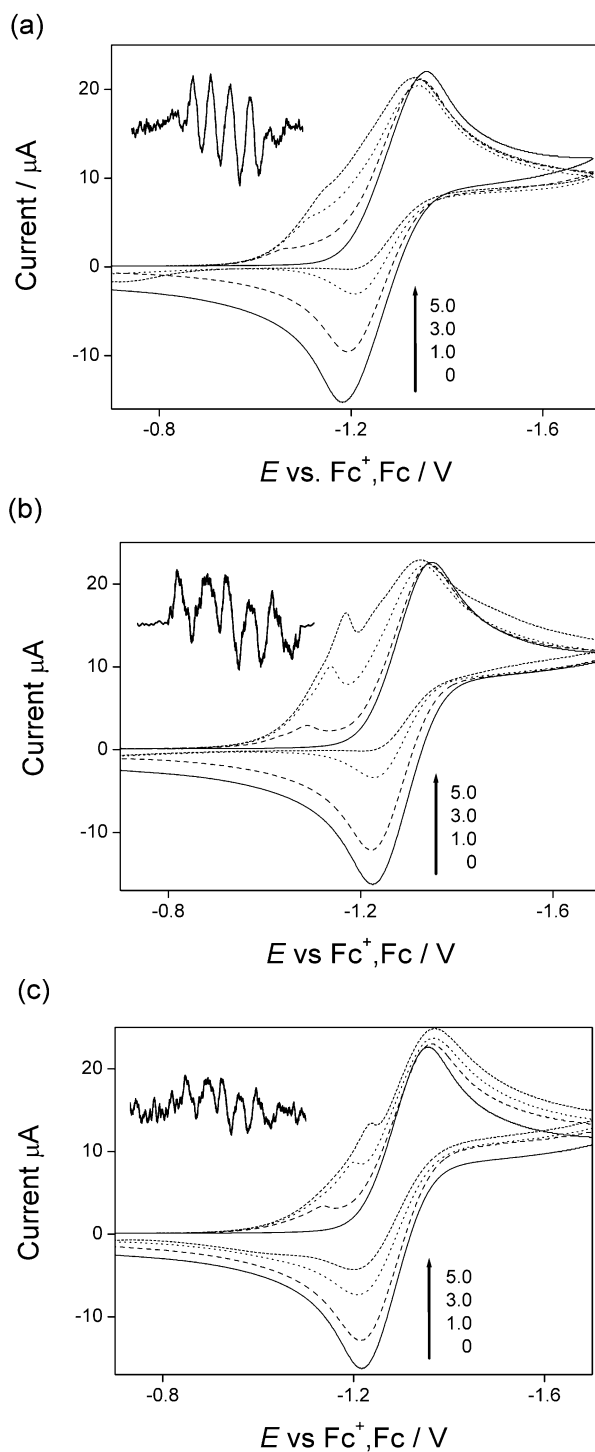
天然 Polyphenol 類の中には，抗酸化力あるいは ROS 消去能を有するものが知られ，その消去メカニズムは現在においても重要な研究対象となっている<sup>4-11)</sup>．本章では，天然 Polyphenol 類である Catechin (Cat), Quercetin (Que), Rutin, および抗酸化ビタミンの一つである  $\alpha$ -Tocopherol ( $\alpha$ -TOH) による  $O_2^{\cdot-}$  消去について，前章までと同様の電気化学測定・分光測定・DFT 計算等を用いて解析を行った．

## 第1節 フラボノイド類共存下における酸素の電気化学還元挙動

Figure 6-1-1 に Flavonoid 類共存下の  $O_2$  の CV を示した。Cat, Que, Rutin のいずれが共存した場合も、第三章、第四章で示した PCET 反応の  $O_2^{\cdot-}$  消去を示す不可逆な一電子反応を特徴とする CV が観測された。 $O_2/O_2^{\cdot-}$  の可逆な一電子還元 CV は、添加する Flavonoid の濃度を増すと再酸化波が減少する様子が観測されているが、これは第二章で述べた通り、Flavonoid の水酸基から  $O_2^{\cdot-}$  への最初の PT により  $HO_2^{\cdot}$  を生成する反応およびその後続反応が不可逆的であることに起因している。しかし二電子還元反応とならないのは、各 Flavonoid 類が PCET により  $HO_2^{\cdot}$  を消去していることを示唆している。また、 $O_2/O_2^{\cdot-}$  よりも正側に前置還元波が観測されている。さらに Flavonoid 類と  $O_2$  を溶存させた DMF 溶液を、-1.3V ( $O_2$  の還元電位) で定電位電解し ESR スペクトルを測定すると、 $OQ^{\cdot-}$  骨格由来と推察されるスペクトルが観測された。これらの ESR スペクトルは Figure 6-1-1 中に示されている。そのため、それぞれの前置波は、各 Flavonoid 類の B 環に位置する  $H_2OQ$  骨格由来の  $OQ^{\cdot-}$  から  $OQ^{2\cdot-}$  への還元 に 帰属され、各 Flavonoid 類の  $H_2OQ$  骨格が  $O_2^{\cdot-}$  消去反応の中心として作用する 2 プロトンと 1 電子の移動を含む協奏的 2PCET 反応が進行することが示唆された。

また、Polyphenol 類の部分構造と抗酸化能の関係はこれまでに多数報告されてきた<sup>6-15)</sup>。これらによると C3-OH 部位と B 環の  $OQH_2$  骨格が Que の  $O_2^{\cdot-}$  に寄与していると考えられている。また、Que と  $O_2^{\cdot-}$  間の反応は Que からの PT により  $HO_2^{\cdot}$  と脱プロトン化した  $Que^-$  を生成する反応に誘起され、Superoxide Facilitated Oxidation 反応を介して高収率でフェノールカルボン酸を生じる Quercetinase 様の酸素原子添加反応が知られている<sup>41)</sup>。本研究では、Que についても同様に  $OQH_2$  骨格に由来する PCET 反応による  $O_2^{\cdot-}$  消去反応を対象として解析し、 $OQ^{\cdot-}$  を生成する反応を明らかにした。



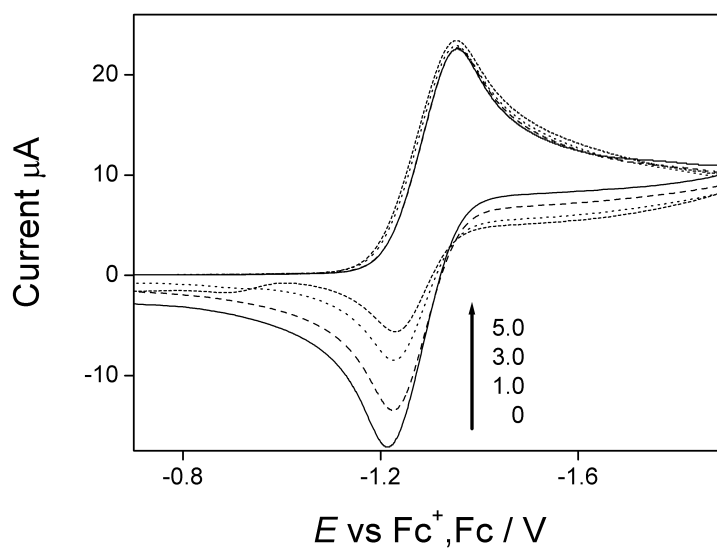


**Figure 6-1-1.** Cyclic voltammograms of  $\text{O}_2$  ( $4.8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) in the absence and presence of flavonoids, (a) Cat (b) Que and (c) rutin in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP on a GC electrode at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of flavonoids are 0, 1.0, 3.0, 5.0,  $\times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . The ESR spectra are obtained by the controlled-potential electrolysis at an applied potential of  $-1.3 \text{ V vs. Fc}^+/\text{Fc}$ .

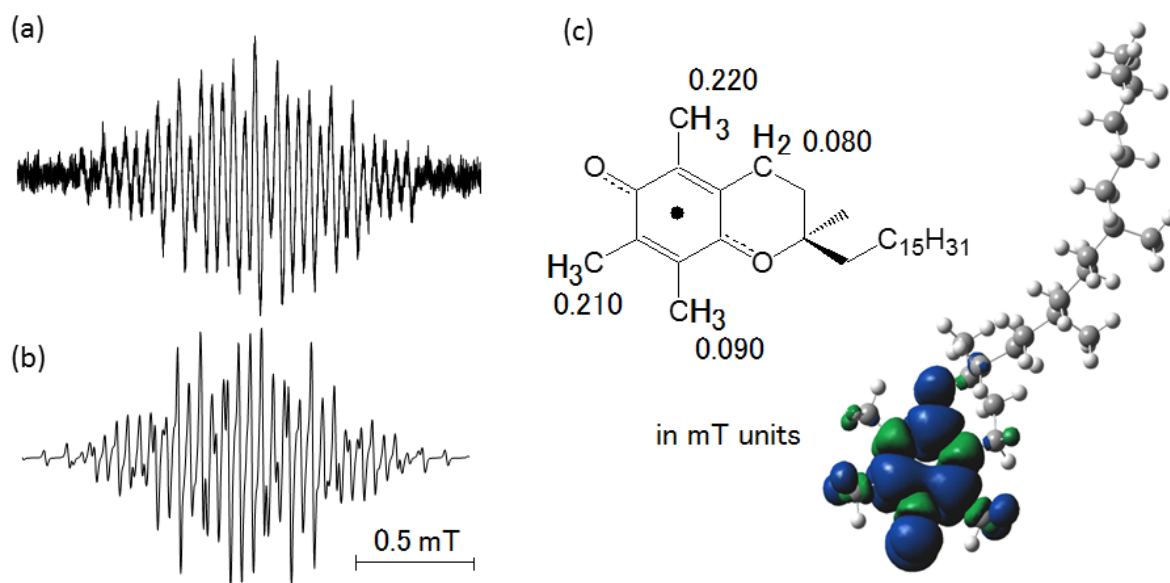
## 第2節 トコフェロール共存下における酸素の電気化学還元挙動

Figure 6-2-1 に $\alpha$ -TOH 共存下の  $O_2/O_2^{\cdot-}$  に対応する CV を示した．第二章で示したように，Methoxybenzene や *p*-Dimethoxybenzene のような水酸基を持たない化合物共存下では，この CV は全く変化せず，一方で第五章に示したように，水酸基を一つ持つ Phenol 類共存下では，置換基の効果によらず，CV はプロトン移動を示す不可逆な二電子反応となった．これらの結果からは， $\alpha$ -TOH 共存下の CV も他の Phenol 類共存下と同様に不可逆な二電子反応を示すと予想された．しかし，Figure 6-2-1 では，一電子還元を保ったまま再酸化波が減少する不可逆な一電子波が観測され，最初の電極還元とプロトン移動からなる EC (Electrochemical-Chemical) プロセスで生成したはずの  $HO_2^{\cdot}$  が消去されていることを示している．この CV は  $H_2PQ$  や  $H_2OQ$  共存下と同様の PCET 反応に起因すると考えられ， $\alpha$ -TO $^{\cdot-}$ あるいは $\alpha$ -TOH が  $HO_2^{\cdot}$  を還元的に消去したと推察される．

また，Figure 6-2-2 (a) には， $O_2$  の還元電位 (-1.3V) で同溶液を定電位電解して測定した ESR スペクトルを示した．(b)の ESR シミュレーション解析は， $\alpha$ -TO $^{\cdot}$ に一致するシグナルであることを示しており， $O_2^{\cdot-}$ と $\alpha$ -TOH の反応生成物であることを示唆している．しかしながら， $\alpha$ -TO $^{\cdot-}$ から  $HO_2^{\cdot}$ への直接の電子移動はアップヒルの反応で熱力学的には許容されない．(c)に示した構造は UB3LYP/6-311+G(d)による構造最適化計算で算出した $\alpha$ -TO $^{\cdot}$ であり，これは Phenoxy radical の構造よりも *p*-Benzoquinone radical anion の構造に類似している．このことから $\alpha$ -TOH の酸化還元は，PCET 反応が関与する Quinone-Hydroquinone $\pi$ 共役酸化還元系のように作用することが期待される．これらの実験および理論計算の結果は， $\alpha$ -TOH の水酸基が  $HO_2^{\cdot}$ との電子移動において重要な役割を果たすことを示唆している．



**Figure 6-2-1.** Cyclic voltammograms of  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  in the absence and presence of  $\alpha\text{-TOH}$  in DMF containing  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  TPAP on a GC electrode at a scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ . Concentrations of  $\alpha\text{-TOH}$  are 0, 1.0, 3.0, 5.0,  $\times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ .



**Figure 6-2-2.** ESR spectrum of the  $\text{O}_2$  solution containing  $\alpha\text{-TOH}$  obtained by controlled-potential electrolysis at an applied potential of  $-1.3 \text{ V vs. Fc}^+/\text{Fc}$  (a), simulated ESR spectrum of  $\alpha\text{-TO}^\bullet$  using constants shown in (c) (b), and spin distribution and plausible coupling constants of  $\alpha\text{-TO}^\bullet$  calculated by the B3LYP/PCM/6-311+G(d) method (c).

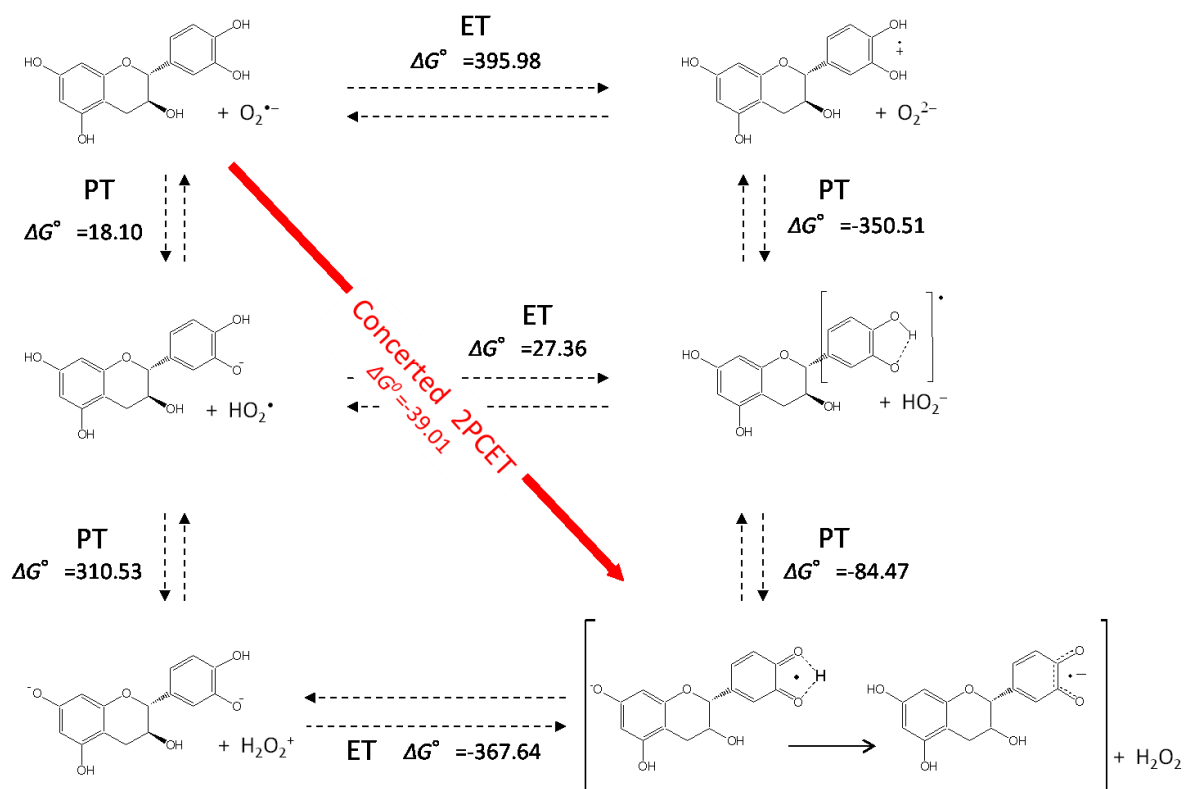
### 第 3 節 熱力学的解析

天然 Polyphenol 類と  $O_2^{\cdot-}$  間 PCET 反応は、最初の PT によって生成する  $HO_2^{\cdot}$  と Phenolate anion とのステップが、効率的な  $O_2^{\cdot-}$  消去に重要なステップであると考えられている。Figure 6-3-1 に Cat, Que について、それぞれ  $O_2^{\cdot-}$  との PCET 反応に関係する非断熱的な 6 つの電子移動過程を含む熱力学平衡スキームと標準 Gibbs エネルギー変化  $\Delta G^\circ$  を示した。このスキームにおいて、それぞれの反応経路を決定する要素は、各化学種間の酸—塩基の相互作用と、酸化還元電位である。Cat の最初の脱プロトンが B 環の C-3' 位の水酸基から、二つ目の脱プロトンは A 環の C-7 位の水酸基からであることは既知であることから、 $Cat^-$ ,  $Cat^{\cdot-}$ ,  $Cat^{2-}$  をそれぞれ図中のように示した。しかし、最初のプロトン移動と電子移動はいずれもアップヒルとなり熱力学的には優位に進行しないことが示唆された。仮にプロトン移動が進行したとしても、その先のプロトン移動と電子移動はいずれもアップヒルとなり進行しない。また、生成物は  $Cat^{2-}$  の酸化により  $Cat^{\cdot-}$  となったのち、分子内プロトン移動により B 環が  $OQ^{\cdot}$  構造となる。しかしながら、 $Cat^{\cdot-}$  から  $HO_2^{\cdot}$  へのプロトン移動と電子移動は、 $Cat^{2-}$  と  $Cat^{\cdot-}$  の不安定性のため進行しない。 $Cat^{2-}$  が高エネルギー化学種であることは、分子状酸素  $O_2$  が  $Cat^{2-}$  に還元されて  $O_2^{\cdot-}$  となることから説明される。以上より、CV の結果と併せて、B 環の  $H_2OQ$  骨格を中心とした 2 つのプロトン移動と電子移動が協奏的に進行する 2PCET 経路が、高エネルギー中間体を経由しない最も効率的な一段階の反応と考えられる。

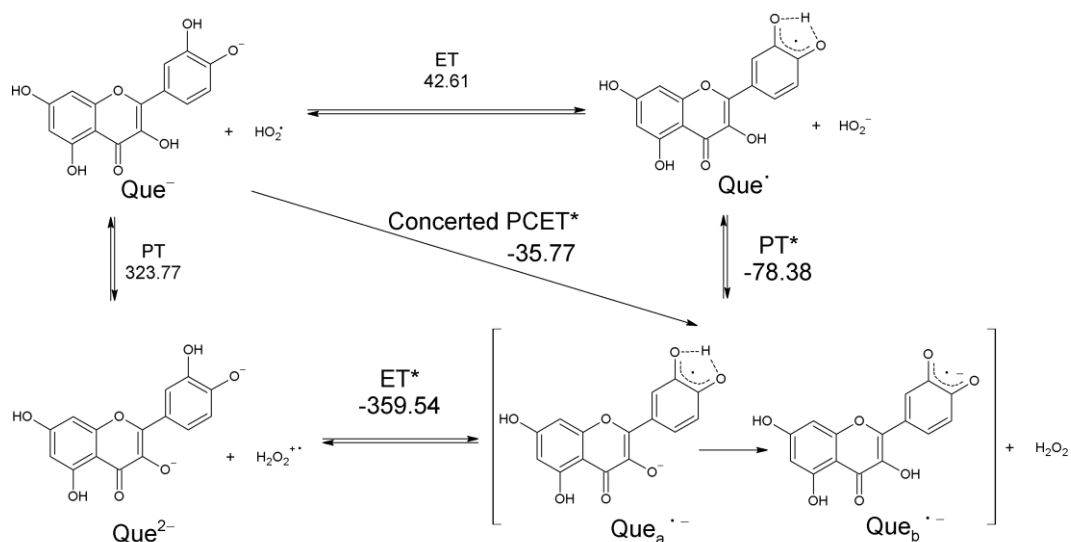
他方で、Que の脱プロトンは最初に B 環の C-4' 位の水酸基から、続いて C 環の C-3 位の水酸基から進行する。しかし Figure 6-3-1 (b) のように、 $Que^-$  からの電子移動とプロトン移動は、いずれも熱力学的に不利であり進行しない。Cat の場合と同様に 2PCET の経路が、高エネルギー中間体を経由しない効率的な反応経路といえる。この協奏的経路は、例え弱酸-塩基の反応であっても、あるいはアップヒルな酸化還元電位の関係であっても、プロトン移動と電子移動が協奏的に行われることにより効率的に進行する。

以上より、Cat あるいは Que と  $O_2^{\cdot-}$  の間の PCET 反応は、分子内に含まれる B 環の  $H_2OQ$  骨格から  $O_2^{\cdot-}$  へ、最初の PT が先導した協奏的経路で進行する。つまり、 $H_2OQ$  骨格からの 2 プロトンと 1 電子の移動が協奏的に進行する反応であり、第四章で明らかにしたように、 $H_2OQ$  から  $O_2^{\cdot-}$  への水素結合錯体内での 2PCET 反応によって進行するものと考えられる (Figure 6-3-2)。

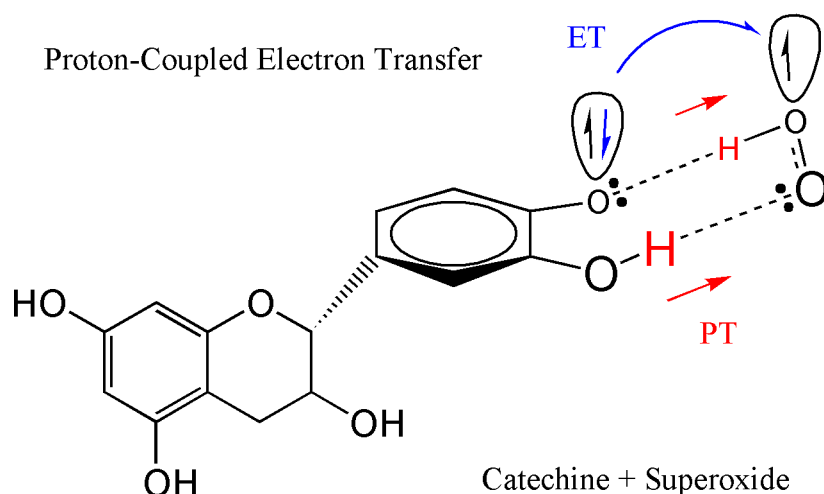
(a)



(b)

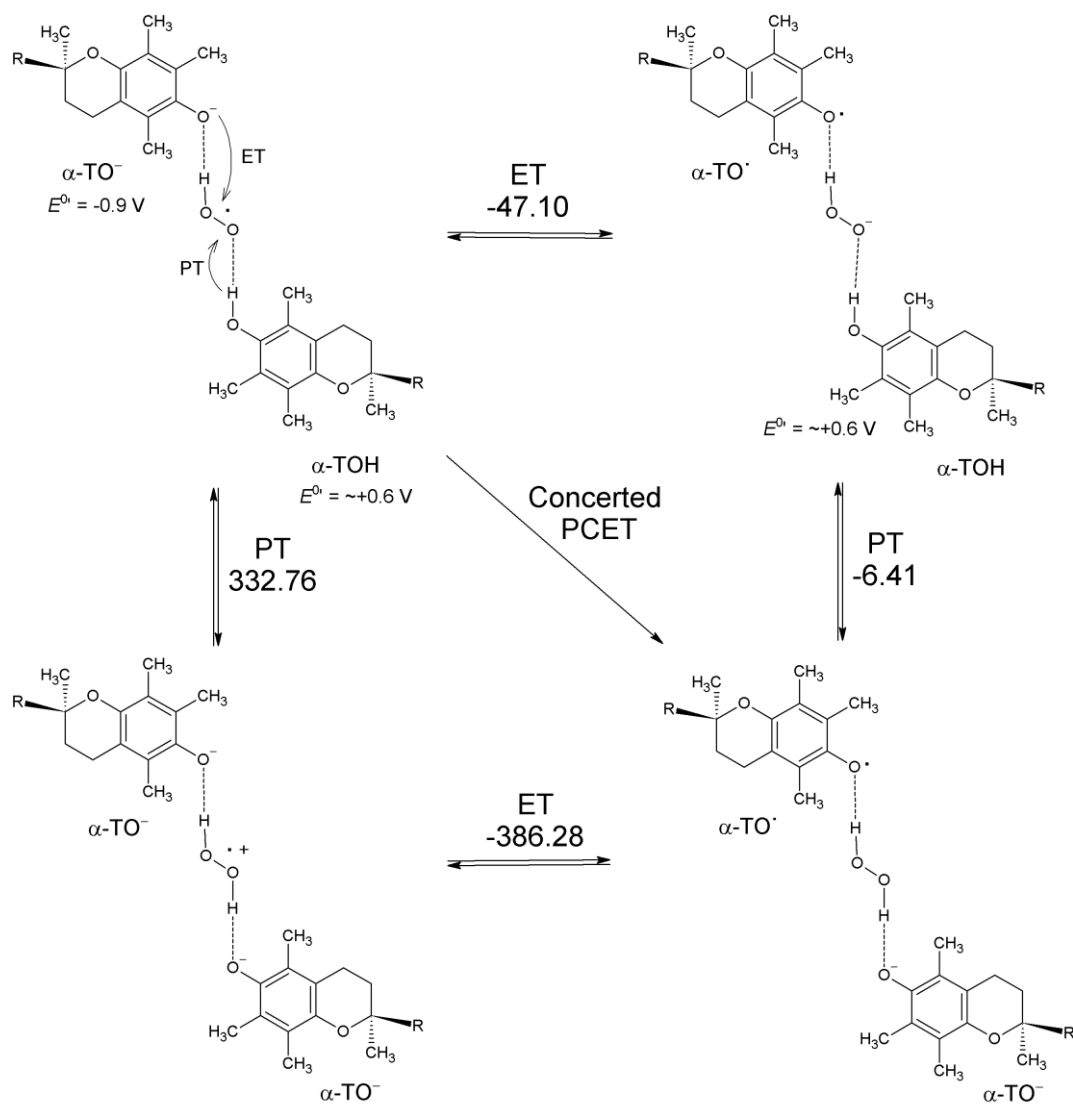


**Figure 6-3-1.** Six and four diabatic electronic states and the standard gibbs energy changes ( $\Delta G^\circ$ ) for the PCET reaction between  $O_2^{\bullet-}$  and Cat (a),  $HO_2^{\bullet}$  and Que<sup>-</sup> (b). The  $\Delta G^\circ$  Values in kJ mol<sup>-1</sup> are calculated by the B3LYP/PCM/6-311+G(d) method.



**Figure 6-3-2.** A plausible model for the PCET reaction of  $\text{O}_2^{\bullet-}$  scavenging by Cat. The electron transfer occurs concertedly with the second proton transfer after first proton transfer. See the text for details.

一方、 $\alpha$ -TOH では最初のプロトン移動が先導して $\alpha$ -TO $^-$ と  $\text{HO}_2^\bullet$ を生じ、後続する PCET 反応により  $\text{O}_2^{\bullet-}$ を消去すると推察される。Figure 6-3-3 に、 $\alpha$ -TO $^-$ と  $\text{HO}_2^\bullet$ およびもう一分子の $\alpha$ -TOH を含む 2:1 モデルの PCET 反応について、後続する 1 プロトンと 1 電子の移動に関する非断熱的な 4 つの電子移動過程についての熱力学平衡スキームと Gibbs エネルギー $\Delta G^\circ$ を示した。塩基性非水溶媒中における電気化学実験では、 $\alpha$ -TO $^-$ / $\alpha$ -TO $^\bullet$ の電極酸化電位 ( $E^\circ = -0.9\text{V vs. Fc}^+/\text{Fc}$ .) が $\alpha$ -TOH ( $E^\circ = 0.6\text{V vs. Fc}^+/\text{Fc}$ .) よりも負側に位置することが知られており、 $\alpha$ -TO $^-$ から  $\text{HO}_2^\bullet$ への直接の電子移動 (Figure 6-3-3) が熱力学的にもダウンヒル (-47.10) となり可能な経路となる。その後、もう一分子の $\alpha$ -TOH から  $\text{HO}_2^\bullet$ へのプロトン移動が進行すると考えられる。



**Figure 6-3-3.** Four diabatic electronic states and the standard gibbs energy changes ( $\Delta G^\circ$ ) for the PCET reaction among  $\text{HO}_2^\bullet$ ,  $\alpha$ -TOH and  $\alpha$ -TO $^-$ . The  $\Delta G^\circ$  Values in  $\text{kJ mol}^{-1}$  are calculated by the B3LYP/PCM/6-311+G(d) method.

## 第4節 小括

本章では、Flavonoid 類に含まれる  $\text{H}_2\text{OQ}$  骨格および $\alpha$ -TOHの水酸基が PCET 反応を介して  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 消去反応に関与することを示した。Flavonoid の抗酸化能は、平面構造とそのラジカルが周りの環状骨格で非局在化することに起因している<sup>13)</sup>。この点について、 $\text{H}_2\text{OQ}$  骨格を有する天然の Polyphenol 類は、 $\text{OQ}^{\cdot-}$ の安定化と関連して強力な  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 消去能を有し、協奏的な 2PCET メカニズムが提唱される。一方、 $\alpha$ -TOHは水酸基を一つしか持たないにも関わらず、強力な  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 消去能を有する。 $\alpha$ -TOHの酸化還元系は、キノイド骨格を中心とした PCET 反応による Quinone-Hydroquinone の共役  $\pi$  電子酸化還元系と同様であると考えられる。本章で示した結果は、生物学的な反応ではなくて、DMF 溶媒中の化学的な反応ではあるものの、PCET 理論は、プロトン性・非プロトン性の両環境を含む生体内の反応としても最も有力な  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 消去メカニズムであると考えることができる。



## 第 7 章 結論

本研究では、フェノール性化合物の抗酸化作用を、 $O_2^{\cdot-}$ を消去反応の点から考察し、フェノール性化合物の  $O_2^{\cdot-}$ 消去反応のメカニズムを明らかにし、また消去に係る構造特性に言及した。さらに、フラボノイドのような天然のフェノール性化合物の  $O_2^{\cdot-}$ 消去反応に適用して、実際にこのメカニズムが合理的に機能することを明らかにした。以下、本研究で得た結論を要約する。

### (1) フェノール性化合物の $O_2^{\cdot-}$ 消去反応のメカニズム

電解発生させた  $O_2^{\cdot-}$ とフェノール性化合物の相互作用を電気化学的に測定することにより、カテコールおよびハイドロキノン骨格が  $O_2^{\cdot-}$ 消去反応に係ることが分かった。ESR 測定から、このときそれぞれオルトベンゾキノンおよびパラベンゾキノンのアニオンラジカルを生成すること確認した。この反応をサイクリックボルタンメトリー、ESR 測定および密度汎関数法により解析した結果、一段階で進行する、二つのフェノール性水酸基からのプロトン移動と協奏的に起こる一電子移動 (two-proton-coupled electron transfer; 2PCET) であることを明らかにし、カテコールやハイドロキノンによる  $O_2^{\cdot-}$ 消去反応として協奏的 2PCET メカニズムを提唱した。

### (2) $O_2^{\cdot-}$ 消去に係るフェノール性化合物の構造特性

置換フェノール類や各種の置換基を有するハイドロキノンおよびカテコールについて、その  $O_2^{\cdot-}$ 消去能を評価した。その結果、ハイドロキノンとカテコールおよびそれらの各種置換体に加え、置換フェノールとして 4-aminophenol に同様の  $O_2^{\cdot-}$ 消去機能が観測され、対応するキノンイミンラジカルを生成することが分かった。したがって、 $O_2^{\cdot-}$ 消去には、安定な中間体ラジカルを有し、かつプロトン移動と電子移動が関与する  $\pi$  電子系であるキノン-ハイドロキノン酸化還元システムおよびこの疑似的  $\pi$  電子系が重要な役割を果たすことが分かった。

### (3) 天然フェノール性化合物の $O_2^{\cdot-}$ 消去能

カテキン、クエルセチン、ルチンなどの天然フェノール性化合物にも、同様の解析を行ったところ、カテコール骨格を有するこれら化合物は、同様のメカニズムで効率的に  $O_2^{\cdot-}$ 消去機能を発現することが分かった。

以上の結果より、本研究で提唱する協奏的 2PCET 反応は、ポリフェノール性抗酸化剤やフェノール性化合物の抗酸化機能に重要な役割を果たすと考えられ、これらの抗酸化能を議論するための基礎的知見を与えるものと考えられる。





## 実験の部



## 1. 試薬

本研究で用いた試薬は以下より購入してそのまま,あるいは適宜精製して使用した. 購入不可能な試薬については合成し, 精製して使用した.

### 1.1 試薬

- a. **Phenol**  
和光純薬(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- b. **Methoxybenzene**  
和光純薬(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- c. **Acetic acid**  
ナカライテスク(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- d. ***p*-Dimethoxybenzene**  
和光純薬(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- e. **Toluene**  
和光純薬(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- f. **Benzene**  
和光純薬(株)から市販されている試薬をそのまま使用した.
- g. **1,4-Dihydroxybenzene(Hydroquinone)**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- h. **1,3-Dihydroxybenzene(Resorcinol)**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- i. **1,2-Dihydroxybenzene(Catechol)**  
ナカライテスク(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- j. **4-Chlorocatechol**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- k. **4,5-Dichlorocatechol**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- l. **Tetrachlorocatechol**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- m. **Methylcatechol**  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.

た.

- n. 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide(DMPO)  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- o. Methylhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- p. 2,3-Dimethylhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- q. Trimethylhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- r. Tetramethylhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- s. Chrolhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- t. 2,5-Dichrolhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- u. Tetrachrolhydroquinone  
東京化成工業(株)から市販されている試薬を昇華精製して使用した.
- v. 4-Cyanophenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- w. 4-Bromophenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- x. 4-Tertiallybutylphenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- y. 4-Methoxyphenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- z. 4-Aminophenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- aa. 4-*n*-Methylaminophenol  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した.
- bb. 4-Dimethylaminophenol

1.2 に記載した方法で合成し，精製して使用した．

- cc. *p*-Anisidine  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- dd. Formaldehyde  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- ee. Acetonitrile anhydrous  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- ff. シアノ水素化ホウ素ナトリウム  
東京化成工業(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- gg. 硫酸水素カリウム  
和光純薬工業(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- hh. ジエチルエーテル  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- ii. 水酸化ナトリウム  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- jj. ジクロロメタン  
キシダ化学(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- kk. 無水硫酸マグネシウム  
和光純薬工業(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- ll. シリカゲル 60F  
MERCK(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- mm. Boron ribromide dimethylsulfide complex  
Sigma-Aldrich(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- nn. 炭酸水素ナトリウム  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- oo. (+)-Catechine  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- pp. Quercetin  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- qq. Rutin  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- rr. dl-( $\alpha$ )-Tocopherol  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- ss. Ferrocene  
ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した．
- tt. *N,N*-Dimethylformamide(DMF) anhydrous  
Sigma-Aldrich(株)から市販されているものをそのまま使用した．



uu. Tetrapropylammonium perchlorate(TPAP)

ナカライテスク(株)から市販されているものをそのまま使用した.

## 1.2 4-dimethylaminophenol の合成

*p*-anisidine(東京化成工業(株))1.2g, paraformaldehyde (東京化成工業(株)) 2.5g にアセトニトル (ナカライテスク(株)) 40mL, 酢酸(ナカライテスク(株))10mL を加え, 窒素置換し水浴(50℃)で攪拌した. シアノ水素化ホウ素ナトリウム (東京化成工業(株)) 2.5g を少しずつ加え, 窒素置換後水浴中で一晩攪拌した. 蒸留水 100mL と硫酸水素カリウム(和光純薬工業(株))5g で硫酸水素カリウム水溶液を調整した. 反応物を氷浴で冷やし, 硫酸水素カリウム水溶液とジエチルエーテル(ナカライテスク(株))を用い数回に分けて分液した. 分取した水層に水酸化ナトリウム(ナカライテスク(株))8g を加え氷冷した(pH14). さらにジクロロメタン(キシダ化学(株))で分液し, 有機層を無水硫酸マグネシウム(和光純薬工業(株))で乾燥後, 減圧による溶媒除去をした. 得られた反応物は PLC ガラスプレート 20x20cm シリカゲル 60F<sub>254</sub>, 2mm(MERCK)を用い, 展開液をヘキサン:ジエチルエーテル=1:1 として R<sub>f</sub> 値 0.6 に相当する物質を分取し, *p*-*N,N*-dimethylanisidine とした.

得られた *p*-*N,N*-dimethylanisidine0.44g と boron tribromide dimethylsulfide complex(SIGMA-ALDRICH)4.3g にジクロロエタン(キシダ化学(株))50mL を加え, 水浴加熱下(70℃)一晩攪拌した. 氷冷下, 反応物に硫酸水素カリウム水溶液 40mL を加え分液し, ジクロロメタンで数回洗浄後水層を分取した. 水層に炭酸水素ナトリウム(ナカライテスク(株))を pH8 になるまで加え, さらにジクロロメタン 100mL で数回にわけて分液し, 有機層を分取した. 分取した有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後, 減圧による溶媒除去をした. 得られた反応物を PLC ガラスプレート 20x20cm シリカゲル 60F<sub>254</sub>, 2mm を用い, 展開液をヘキサン:ジエチルエーテル=1:1 として R<sub>f</sub> 値 0.25 に相当する物質を分取し, *p*-dimethylaminophenol とした. 精製した生成物は EIMS および元素分析によって確認した. 最終精製には昇華を行い使用した.

## 2 電気化学測定

### 2.1 電極

作用電極には BAS(株)から市販されている GC 電極 ( $\phi = 1 \text{ mm}$ ) を十分に研磨して使用した．参照電極は BAS(株)から市販されている RE-5 (Ag/AgNO<sub>3</sub> 電極) を使用した．対極電極は白金線を使用した．

### 2.2 基準電位

基準電位はフェロセン／フェリシニウムイオン系を採用し，フェロセン (ナカライテスク(株)) の酸化還元電位の測定値に基づくものである．

### 2.3 支持電解質

Tetrapropylammonium Perchlorate (TPAP)を以下の方法で調整して用いた． Tetrapropylammonium Bromide (東京化成(株)) 13.2 g (50 mmol) を水 30 mL に溶かし，70 % 過塩素酸 (キシダ化学(株)) 4.1 mL (50 mmol) を加える．その後，ろ過と冷水のリンスを繰り返し，さらにメタノールで再結晶を数回行う．その後，加熱減圧下で一昼夜乾燥し，使用直前に再度減圧乾燥を 2 時間以上行う．

### 2.4 Cyclic voltammetry 測定

Cyclic voltammetry 測定には，作用，参照，対極の 3 電極系を用い，窒素バブリングによって十分に除酸素する，あるいは酸素バブリングによって酸素を飽和濃度まで溶解させた，0.1 M TPAP, DMF 溶液中で行う．測定中，バブリングは行わず，静止状態とした．測定機器には BAS(株)の BAS50w を用いた<sup>39,47,50,51</sup>)．CV シミュレーションは Elchsoft 社製の DigiElch4.0 を使用した．

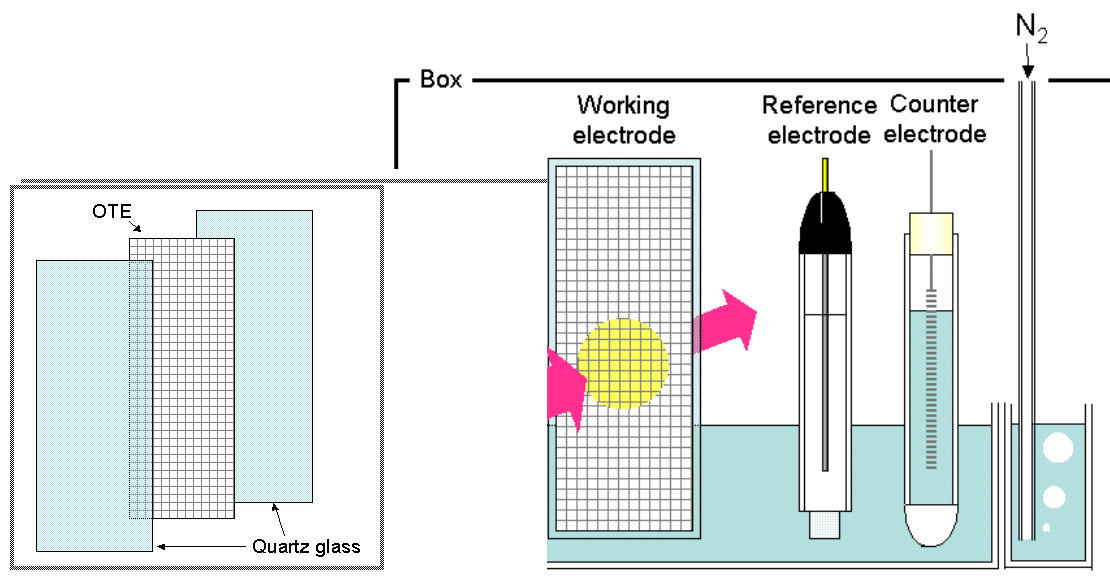
### 3 電解分光測定

#### 3.1 *in-situ* 型電解 ERS 測定

0.1 M TPAP DMF 溶液，酸素バブリング下，作用電極に白金線 ( $\phi = 0.3$  mm) を用いた 3 電極系で，BAS(株)のモデル 1112 ポテンシostat によって定電位電解を行う．また，電解生成物の ESR スペクトルを日本電子(株)の JES-FA200 を用いて測定した．この際，電圧印加とスペクトル測定を同一の反応層で同時に行う (*in-situ* 型)．なお，シミュレーションは等方性シミュレーション バージョン 1 Isotropic を使用した．その他の条件は電気化学測定と同様とした<sup>52,53</sup>).

#### 3.2 OTTLE 紫外可視吸収スペクトル測定

紫外可視吸収スペクトル測定には，Optically Transparent Thin Layer Electrode (OTTLE) セルを用いた装置を使用した．作用電極は白金網電極を石英板で挟んで作製した透明薄層電極（光路長  $l = 0.07$  mm）を用い，毛細管現象によって上昇してきた電解溶液を酸素還元電位において定電位電解し，垂直方向から照射した光の透過光により吸光度を測定した．測定装置には BAS(株)の BS-1 デュアルポテンシostat および Ocean Optics (株)の OOIBase32 ver.105 を用いた．その他の条件はボルタンメトリ一測定と同様とした．



#### 4 量子科学計算

各反応における化学種のジオメトリーは、分子軌道計算 (Hartree Fock 法)、密度汎関数法 (Density Functional Theory) を用い、各種基底関数を用いた SCF level の構造最適化で得られた。遷移状態探索・反応経路探索は、基底関数に B3LYP/6-31+G(d,p) を用いた。また溶媒の効果には、分極連続体 PCM モデルを、電子数変化の見積もりには、標準的な電子密度解析法である NBO 解析を用いた。計算プログラムは Gaussian 社の Gaussian09 を使用した<sup>40,54)</sup>。

## 参考文献

- 1) R. J. Williams, J. P. E. Spencer, C. Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med.*, **2004**, 36, 838.
- 2) C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga, *Free Radic. Biol. Med.*, **1996**, 7, 933.
- 3) A. C. Bagley, J. Krall, R. E. Lynch, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1986**, 83, 3189.
- 4) J. S. Wright, E. R. Johnson, G. A. Di Labio, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 1173.
- 5) M. Leopoldini, I. P. Pitarch, N. Russo, M. Toscano, *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108, 92.
- 6) N. Cotelle, P. Hapiot, J. Pinson, C. Rolando, H. Vézin, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, 23720.  
P. Trouillas, P. Marsal, D. Siri, R. Lazzaroni, J.-L. Duroux, *Food Chem.*, **2006**, 97, 679.
- 7) D. Kozłowski, P. Trouillas, C. Calliste, P. Marsal, R. Lazzaroni, J.-L. Duroux, *J. Phys. Chem. A*, **2007**, 111, 1138.
- 8) M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, M. Toscano, *Theor. Chem. Acc.*, **2004**, 111, 210.
- 9) M. Lucarini, G. F. Pedulli, M. Guerra, *Chem.-Eur. J.*, **2004**, 10, 933.
- 10) K. I. Priyadarsini, D. K. Maity, G. H. Naik, M. S. Kumar, M. K. Unnikrishnan, J. G. Satav, H. Mohan, *Free Radical Biol. Med.*, **2003**, 35, 475.
- 11) S. Fiorucci, J. Golebiowski, D. Cabrol-Bass, S. Antonczak, *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, 55, 903.
- 12) S. Fiorucci, J. Golebiowski, D. Cabrol-Bass, S. Antonczak, *ChemPhysChem*, **2004**, 5, 1726.
- 13) N. Russo, M. Toscano, N. Uccella, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 3232.
- 14) L. Kong, L.-F. Wang, H.-Y. Zhang, *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, **2005**, 716, 27.
- 15) M. C. Foti, C. Daquino, C. Geraci, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 2309.
- 16) M. Musialik, G. Litwinienko, *Org. Lett.*, **2005**, 7, 4951.
- 17) G. Litwinienko, K. U. Ingold, *Acc. Chem. Res.*, **2007**, 40, 222.
- 18) J. M. D. Marković, D. Milenković, D. Amić, M. Mojović, I. Paštia, Z.

- S. Markovićbd, *RSC Adv.*, **2014**, 4, 32228.
- 19) A. Vagánek, J. Rimarčík, K. Dropková, J. Lengyel, E. Klein, *Comput. Theor. Chem.*, **2014**, 1015, 31.
  - 20) M. H. V. Huynh, T. J. Meyer, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 5004.
  - 21) C. Costentin, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 2145.
  - 22) J. M. Mayer, I. J. Rhile, *Biochim Biophys. Acta*, **2004**, 1655, 51.
  - 23) F. D. Meo, V. Lemaure, J. Cornil, R. Lazzaroni, J.-L. Duroux, Y. Olivier, P. Trouillas, *J. Phys. Chem. A*, **2013**, 117, 2082.
  - 24) T. Inagaki, T. Yamamoto, *J. Chem. Phys. B*, **2014**, 118, 937.
  - 25) P. Trouillas, P. Marsal, A. Svobodova, J. Vostalova, R. Gazak, J. Hrbac, P. Sedmera, V. Kren, R. Lazzaroni, J.-L. Duroux, D. Walterová, *J. Phys. Chem. A*, **2008**, 112, 1054.
  - 26) E. Anouar, C. A. Calliste, P. Kosinova, F. Di Meo, J. L. Duroux, Y. Champavier, K. Marakchi, P. Trouillas, *J. Phys. Chem. A*, **2009**, 113, 13881.
  - 27) M. C. Foti, C. Daquino, I. D. Mackie, G. A. DiLabio, K. U. Ingold, *J. Org. Chem.*, **2008**, 78, 9270.
  - 28) I. Fridovich, *Annu. J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 18515. J. S. Valentine, P. J. Hart, E. B. Gralla, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1999**, 448, 193.
  - 29) B. Halliwell, *Mutat. Res.*, **1999**, 443, 37.
  - 30) H. C. Birnboim, *Carcinogenesis*, **1986**, 7, 1511.
  - 31) H. C. Birnboim, M. Kanabus-Kaminska, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1985**, 82, 6820.
  - 32) A. C. Bagley, J. Krall, R. E. Lynch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1986**, 83, 3189.
  - 33) I. Fridovich, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1986**, 247, 1.
  - 34) E. J. Nanni, Jr., M. D. Stallings, D. T. Sawyer, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 4481.
  - 35) D. T. Sayer, G. Chiericato, C. T. Angelis, E. J. Nanni, T. Tsuchiya, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1720.
  - 36) C. P. Andrieux, P. Hapiot, J. M. Saveant, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 3768
  - 37) C. Sotiriou, W. Lee, R. W. Giese, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 2160.
  - 38) T. Nakayama, B. Uno, *Chem. Lett.*, **2010**, 39, 162.
  - 39) B. Uno, N. Okumura, M. Goto, K. Kano, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 1448.

- 40) M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, Jr. Montgomery, J. A., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. Stratmann, E., O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision B.01*, Gaussian, Inc., **2010**, Wallingford CT,.
- 41) K. Kano, T. Mabuchi, B. Uno, Y. Esaka, M. Goto, T. Tanaka, M. Iinuma, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 593.
- 42) S. Peressini, C. Tavagnacco, G. Costa, C. Amatore, *J. Electroanal. Chem.*, **2002**, 532, 295.
- 43) Leodrina L. Williams, Richard D. Webster., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 12441.
- 44) D. Huang, B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan, E. K. Deemer, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50,1815.
- 45) D. R. Weinberg, C. J. Gagliardi, J. F. Hull, C. F. Murphy, C. A. Kent, B. C. Westlake, A. Paul, D. H. Ess, D. G. McCafferty, T. J. Meyer, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 4016.
- 46) S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 8860.
- 47) S. Pradyumna Singh, Dennis H. Evans, *J.Phys.Chem.* **2006**, 110 637.
- 48) T. Nakayama, B. Uno, *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, 63 967.
- 49) T. Nakayama, B. Uno, *Int.J. Adv. Res. Chem. Sci.*, **2016**, 3(1), 1.
- 50) C. Le Bourvellec, D. Hauchard, A. Darchen, J. -L. Burgot, M. -L. Abasq, *Talanta*, **2008**, 75, 1098.
- 51) A. René, M. -L. Abasq, D. Hauchard, P. Hapiot, *Anal. Chem.* **2010**, 82, 8703.
- 52) K. Kano, K. Mori, T. Konse, B. Uno, T. Kubata, *Anal. Sci.* **1989**, 5, 651.

- 53) E. Finkelstein, G. M. Rosen, E. J. Rauckman, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4994.
- 54) E. R. Alan, B. W. Robert, W. Frank, *J. Chem. Phys.* **1985**, 83, 3265.
- 55) G. A. DiLabio, E. R. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6199.
- 56) B. Hadi, A. Ameneh, N. Davood, K. Sadegh, *Electrochimica Acta.*, **2015**, 235, 154.
- 57) Z. Dhaouadi, M. Nsangou, N. Garrab, E. H. Anouar, K. Marakchi, S. Lahmar, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **2009**, 35, 904.
- 58) M. Nsangou, Z. Dhaouadi, N. Jaidane, Z. B. Lakhdar, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **2008**, 135, 850.



## 謝辞

本研究を遂行するにあたり，始終直接の御指導と御教示をいただきました岐阜薬科大学機能分子学大講座薬品分析化学研究室，宇野文二教授に深く感謝致します．また，江坂幸宏准教授，山本拓平助教には研究上多くの有益な御助言をいただきましたこと，ここに深く感謝致します．また，研究上数々の御協力を頂きました学生諸氏に心より感謝致します．

平成二十八年一月 著者