

# 平成 17 年度 応用化学科セミナー学生発表会

平成 17 年 11 月 28 日 17:00-18:30

於:工学部 5 号館リフレッシュコーナー(3、5F)

1. ホスファゼン環を核とする新規星型ポリグルタミン酸誘導体の合成  
(高分子化学)○新宅 ひかる、伊藤 大道、井原 栄治、井上 賢三
2. アミノ基を有する両親媒性ブロック共重合体を用いた分散重合  
(高分子化学)○福谷 香織、伊藤 大道、井原 栄治、井上 賢三
3. ベンザインとピリジンの新規交互共重合反応  
(高分子化学)○黒川 敦史、伊藤 大道、井原 栄治、井上 賢三
4. 遷移金属アート錯体を対アニオンとして用いたイソブチルビニルエーテルのカチオン重合  
(高分子化学)○吉田 尚記、伊藤 大道、井原 栄治、井上 賢三
5. フェニルジアゾメタンとジアゾカルボニル化合物との共重合  
(高分子化学)○木多 昌美、伊藤 大道、井原 栄治、井上 賢三
6. 三元系複合金属酸化物によるメタンの酸化カップリング反応  
(無機物質化学)○小松 裕実子、宮崎 隆文、山口 カ
7. ポリアニリン複合膜を用いた直流駆動型湿度センサの開発  
(工業物理化学)○山中 崇司、松口 正信
8. ペロブスカイト型酸化物基板上に形成したプロトン導電性酸化物膜の電気特性  
(材料物性化学)○浅本 麻紀子、白井 裕乃、山浦 弘之、八尋 秀典
9. 無機化合物上に担持した銅フタロシアニンの状態と反応性  
(材料物性化学)○杉谷 興一、木本 邦博、山浦 弘之、八尋 秀典
10. アルミナ担持 Cu 触媒の水性ガスシフト反応  
(材料物性化学)○山本 哲也、佐伯 和彦、中矢 健太、山浦 弘之、八尋 秀典
11. Nox2 の活性化因子 p47<sup>phox</sup> の Actin 結合部位の同定とその役割  
(分子生命化学)○伊藤 克法、奥 知士、田村 実

12. p51<sup>nox</sup> 短縮型と Rac の融合タンパク質の大量発現とその特性  
(分子生命化学)○大原 卓也、田村 実
13. 大腸菌を用いた Nox1 活性化因子 p41 と p51 の発現と精製の試み  
(分子生命化学)○楠野 太郎、水木 一洋、田村 実
14. 新規レクチンを装着したミサイル型人工細胞の担がんマウス体内動態  
(生体環境機能工学)○竹乗 秀樹、秋山 浩一、菅原 卓也、重川 庸介、川久保 明宏、増田 晴造、青儀 健二郎、能勢 真人、宮崎 龍彦、加藤 敬一
15. 脳腫瘍標的機能を有する人工細胞の調製とその腫瘍のマウス体内動態ーヒト脳腫瘍治療の臨床応用に向けてー  
(生体環境機能工学)○水岡 大樹、秋山 浩一、菅原 卓也、真鍋 太一、山崎 等、増田 晴造、青儀 健二郎、能勢 真人、宮崎 龍彦、加藤 敬一
16. 新規レクチンを装着したミサイル型人工細胞によるマウス大腸癌治療  
(生体環境機能工学)○福田 祐介、福田 勇騎、菅原 卓也、秋山 浩一、増田 晴造、川久保 明宏、宮崎 龍彦、加藤 敬一
17. がん臨床応用に向けての新規レクチンを利用したドラッグデリバリーシステム  
(生体環境機能工学)○重川 庸介、秋山 浩一、菅原 卓也、川久保 明宏、増田 晴造、青儀 健二郎、能勢 真人、加藤 敬一
18. 酸化チタンマイクロ粒子の多孔質化  
(分離分析化学)○木村 志、山下 浩、前川 尚
19. 浮選法を用いたホウ素含有水からのホウ素の除去  
(分離分析化学)○赤木 裕幸、山下 浩、前川 尚
20. ホウケイ酸塩ガラスの構造とガラス転移点との関係  
(分離分析化学)○山下 浩、相本 恭正、前川 尚
21. ゲノムワイドなヒト及びマウスプロテインカイネースの自己リン酸化機能の比較  
(無細胞遠藤研)京嶋 沙和
22. 高感度無細胞マラリアワクチン候補タンパク質の探索  
(無細胞遠藤研)松岡 和弘

23. 無細胞タンパク質合成技術を利用した植物タンパク質の機能解析  
(無細胞戸澤研)宮田 拓治
24. 80S リボソーム翻訳調節因子の機能解析  
(無細胞戸澤研)宮本 英治
25. *Aquifex aeolicus* tRNA ( $m^2_2G26$ )methyltransferase は、今までにない基質認識メカニズムをもつ  
(応用生物化学)粟井 貴子
26. 固相プローブ RNA 精製法の改良  
(応用生物化学)越智 杏奈
27. 無細胞翻訳系によるヘテロサブユニット酵素合成の検討  
(応用生物化学)松本 啓介
28. 真正細菌と古細菌の RNA 転写後修飾過程の比較に向けての高温培養系の確立  
(応用生物化学)岩下 知香子
29. RNA 修飾酵素 tRNA グアニン・トランスグリコシラーゼは DNA に作用するか？  
(応用生物化学)車田 光謙
30. tRNA ( $m^7G46$ ) methyltransferase の精製法の確立 -結晶化に向けて-  
(応用生物化学)富川 千恵
31. tRNA ( $m^1G37$ ) methyltransferase の二量体構造安定化機構  
(応用生物化学)豊岡 峻
32. *Thermus thermophilus* ポリアミンの高温環境下での RNA 修飾に対する影響  
(応用生物化学)中本 知里
33. コムギ胚芽無細胞系を用いた三日熱マラリア原虫キチナーゼの合成と精製  
(無細胞坪井研)久森 大輔
34. 拡張型テトラチアフルバレン型ドナーの合成と性質  
(構造有機化学)藤岡 純
35. 新規なテトラチアフルバレンダイマーの合成と性質  
(構造有機化学)山田 智彦

36. テトラチアフルバレン骨格を有する新規ドナー・アクセプター分子系の合成と性質  
(構造有機化学)松本 智嗣
37. アルキルカルコゲノ基を有するテトラチアペンタレン系導体の構造と物性  
(構造有機化学)辻 裕也
38. コドン-アンチコドン相互作用における塩基の結合様式  
(無細胞高井研)山内 裕之
39. tRNA 分子中の修飾ウリジンのプロトン解離  
(無細胞高井研)武智 正洋
40. 活性汚泥の中空糸精密濾過特性に及ぼす懸濁固形物及び溶存固形物の影響  
(化学工学)○谷本 寿子、川崎 健二、松田 晃
41. 吸収冷凍機の再生器、吸収器の性能向上に関する研究  
(化学工学)○兵頭 善章、川崎 健二、松田 晃
42. 超音波照射を利用した凍結濃縮分離に及ぼす凍結速度・凍結管内径の影響  
(化学工学)○伏田 祥吾、川崎 健二、松田 晃
43. 膜分離を用いた活性汚泥法の効率的な処理方法の検討  
(化学工学)○丸岡 志登司、川崎 健二、松田 晃
44. インシュリン作用に関与するイノシトールグリカンの全合成  
(反応有機化学)○岩永 隆之
45. ポリオキサカルボン酸による塩基性アミノ酸の選択的抽出と合成反応  
(反応有機化学)○丹 康賢
46. アルキンのホスフィン化を経由する新規有機リン化合物の合成と構造解析  
(反応有機化学)○西村 康伸
47. 生理活性イノシトールリン脂質 PI3P、PI(3,4)P2 等の実用的な効率合成法の開発  
(反応有機化学)○三宅 慶行
48. *myo*-イノシトールを用いたカルバ糖の合成  
(反応有機化学)○姚 永輝

49. ポリオールのスズ誘導体を経由した選択的リン酸化法の開発  
(反応有機化学)○坂東 里香
50. イソプロピルベンゾフェノン系結晶の光反応に伴う表面形態変化  
(機能有機化学)井手 佑弥、深野 道太郎、小島 秀子
51. アクリジンとN-フタロイルグリシンから成る2種類の複合結晶の光反応性  
(機能有機化学)谷口 明広、小野 幸太郎、小島 秀子
52. トリプタミン-安息香酸系複合結晶のキラル結晶化におけるエナンチオ制御  
(機能有機化学)谷口 智哉、小島 秀子
53. クマリン誘導体のゲル化におけるキラリティー発生  
(機能有機化学)守時 達也、小林 史明、中田 彩香、小島 秀子
54. N-ベンゾイルグリシン結晶のキラル光学的研究  
(機能有機化学)大塚 将成、小島 秀子
55. グリシンイミンエステルの溶媒蒸気中での固相不斉アルキル化  
(機能有機化学)吉岡 慎市、光富 浩太郎、小島 秀子

# ホスファゼン環を核とする新規星形ポリグルタミン酸誘導体の合成

高分子化学研究室 新宅ひかる 伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】我々はホスファゼン環を核とし6本のポリグルタミン酸鎖を持つポリマーを合成し、それらが光学異性体分離能を発揮することや6本鎖ポリグルタミン酸の末端に長鎖アルキル基を導入した両親媒性星形ポリマーの二次構造や集合状態について検討を行ってきた。本実験ではホスファゼン環を核としてコア近傍に疎水性基を持つ両親媒性ポリアミノ酸の合成を試み、それらの $\alpha$ -ヘリックス構造形成と集合挙動について検討した。

【実験・結果・考察】Figure 1のポリマー(6p6-s-PLG)の合成は以下のように行った。シクロトリホスファゼンに *p*-安息香酸エチルを全置換し加水分解した後、酸クロライドにしたものと一方のアミノ基を保護したヘキサメチレンジアミン誘導体とを反応させ、その後脱保護によって開始剤 [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>3</sub>(6p6)を合成した。まず6p6のアミノ基が全て重合に関与するかどうかを調べる目的で、[BLG-NCA]/[6p6]=18とし反応させたところアミノ基がほぼ同時に反応することを<sup>1</sup>H-NMRより確認した。仕込み比を[BLG-NCA]/[6p6]=60~230と変えて得たポリマーの分子量分布はGPCより  $M_w/M_n=1.03\sim 1.11$  となったことから、各鎖長は比較的そろっていると考えられる。またTableに示すように一本鎖当たり14残基以上のポリマー6p6-PBLG(Run 3~7)の $\alpha$ -ヘリックス含有量は90%以上を示した。次にポリマー(14)の側鎖のベンジル基を加水分解したポリマー(6p6-s-PLG)のCDスペクトル測定では、pH=5.0付近でランダムコイル構造から $\alpha$ -ヘリックス構造へ転移することを示した。

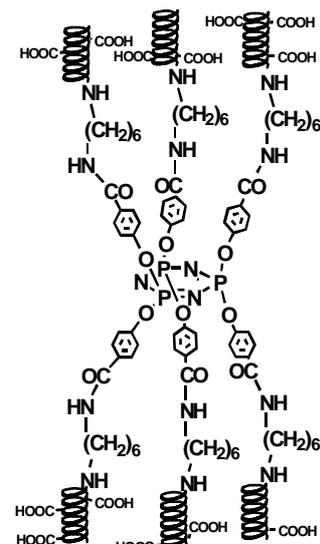


Figure 1. Structure of 6p6-s-PLG

Figure 2に7.4残基の6p6-PLG(7.4)の疎水性蛍光プローブであるANS(8-アニリノナフタリル-1-スルホン酸)を用いた蛍光測定の結果を示した。

系のpHをpH=5.0からpH=3.7にすると $\alpha$ -ヘリックス含有量(HC)は3.0%から15.2%と増加し、このHCの増加に伴ってANSの蛍光のF<sub>max</sub>は510nm付近から470nm付近に短波長シフトし、蛍光強度も著しく増加した。これらの結果は $\alpha$ -ヘリックス構造形成とともに疎水場が構築されていることを示している。この疎水場はポリグルタミン酸鎖に影響され、6p6-PLG(10)では蛍光スペクトルは観測されなかった。これらの結果及びアルキル鎖の長さや位置の異なる開始剤による星形ポリグルタミン酸の二次構造及び集合挙動について報告する。

Table. Polymerization of BLG-NCA

Run	[NCA]/[6p6]	conv(%)	$M_{n,NMR}$ $\times 10^{-4}$	$M_{n,cal}$ $\times 10^{-4}$	$\alpha$ -helix content (%)	Polymer(*)
1	60	65	1.1	1.0	50	6p6-PBLG(7.4)
2	90	68	1.5	1.4	64	6p6-PBLG(10)
3	190	53	1.9	2.2	92	6p6-PBLG(14)
4	120	73	2.0	1.9	89	6p6-PBLG(15)
5	120	63	2.5	1.8	82	6p6-PBLG(17)
6	120	86	3.0	2.4	>95	6p6-PBLG(21)
7	230	67	4.1	3.7	94	6p6-PBLG(30)

(\*) Number of  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate residues per polymer chain

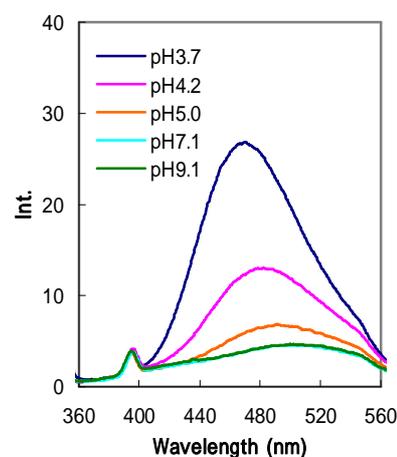
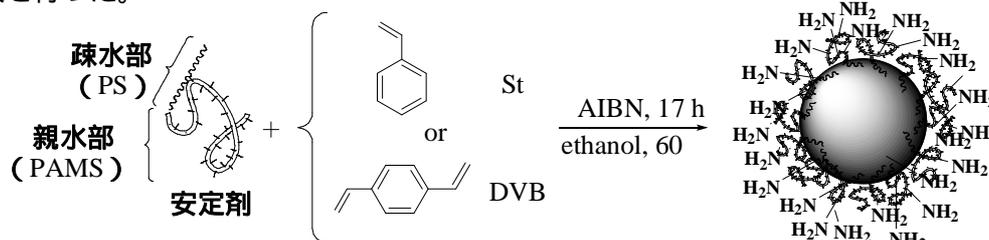
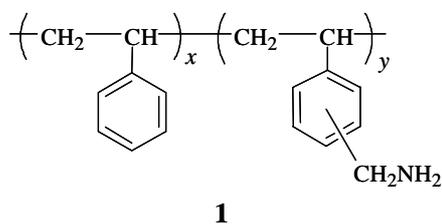


Figure 2. Fluorescence spectra of 6p6-PLG(7.4) at various pHs

# アミノ基を有する両親媒性ブロック共重合体を用いた分散重合

高分子化学 福谷香織・伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】本研究では、アミノ基を有する両親媒性ブロック共重合体 1 (PS-*b*-PAMS) を合成し、これを安定剤としてスチレン (St) やジビニルベンゼン (DVB) について無攪拌非水系分散重合法 (NAD) を行い、高分子微粒子を得ている。これよりブロック共重合体の組成比について着目して、粒径・粒径分布の制御を試み、次いで微粒子表面の様々な官能基変換を行った。



【実験】ポリスチレン (PS) とポリビニルベンジルフタルイミド (PVBP) からなるジブロック共重合体を ATRP により合成し、フタルイミド基を脱保護することで、様々な分子量と組成を有する 1 を得た。次いで、溶媒にエタノール、モノマーに St もしくは DVB、安定剤として 1 を、開始剤に AIBN を用いて、NAD により高分子微粒子を作製した。

【結果と考察】1 の分子量および組成の変化によって、約 0.2 ~ 2.0  $\mu\text{m}$  の粒径を持つ高分子微粒子を得た。ブロック共重合体の  $DP_{\text{PS}}$  が 17 から 36 へと長くなると、溶媒への溶解性が下がり、微粒子への 1 の吸着能が高まるので、PS 粒径は 0.89  $\mu\text{m}$  から 0.34  $\mu\text{m}$  へと小さくなった。また、 $DP_{\text{PS}} = 24$  では  $DP_{\text{PAMS}}$  が 62 から 120 へと長くなると、粒径が 1.78  $\mu\text{m}$  から 1.03  $\mu\text{m}$  へ減少した上、粒径分布は 1.19 から 1.03 へと狭くなった。これは、PAMS 鎖の慣性半径の増大により微粒子の立体反発能が上昇し、合体が抑制されたためだと考えられる。

また、得られた微粒子表面のアミノ基の塩酸塩、アミド、ポリペプチドへの変換を試みたところ、いずれの微粒子も溶媒の分散性に変化が見られたことから、微粒子表面の改質が認められた。

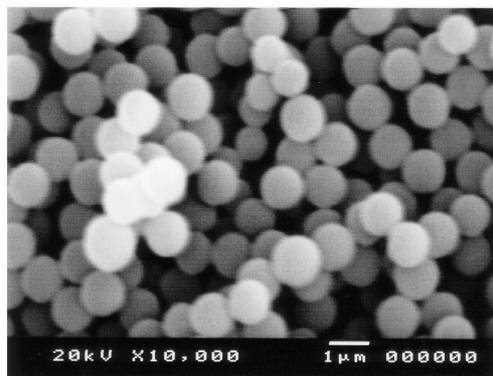


Fig 1. SEM photograph of PS particles with narrow size distribution.

Table. Synthesis of PS particles

run	stabilizer		monomer	[M] / [I]	yield / %	$D_n / \mu\text{m}^b$	PSD <sup>c)</sup>
	wt % <sup>a)</sup>	$DP_{\text{PS}} : DP_{\text{PAMS}}$	St / wt% <sup>a)</sup>				
1	0.5	17 : 112	10	100/1	75	0.87	1.01
2	0.5	36 : 112	10	100/1	83	0.34	1.13
3	0.5	24 : 62	10	100/1	53	1.78	1.19
4	0.5	24 : 120	10	100/1	66	1.03	1.03

a) Relative to solution. b) Determined by SEM. c) Particle size distribution determined by SEM.

# ベンザインとピリジンの新規交互共重合反応

愛媛大工・VBL 黒川敦史・幸田武士・村木孝仁・伊藤大道・井原栄治・井上賢三

## 【緒言】

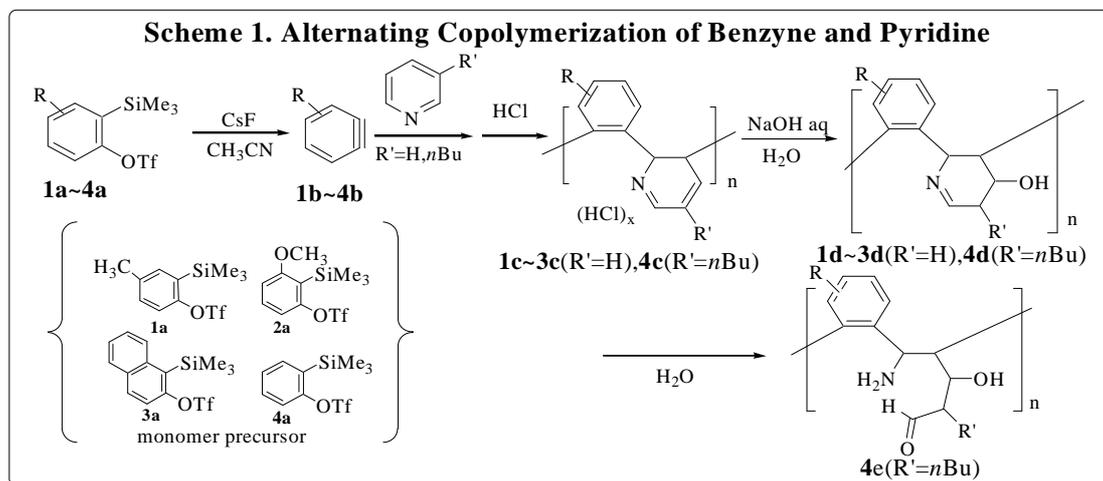
ベンザインは反応性の高い中間体として、有機合成に利用されてきたが、これを重合のモノマーとして用いる試みはこれまで全くされていない。そこで本研究では、ベンザインをモノマーとして用いる重合反応の開発を試みた。その結果、ベンザインとピリジン誘導体が交互共重合体を形成することが判明した<sup>1)</sup>。

## 【実験方法】

反応は窒素雰囲気下で行った。モノマー前駆体(1a~4a)及び CsF、ピリジン誘導体を CH<sub>3</sub>CN に懸濁させ、攪拌しながら室温で 15-22h、重合を行った。

## 【結果と考察】

ベンザイン(1b~4b)とピリジン誘導体の反応により、濃い紫色のポリマー(1c~4c)が生成した。得られたポリマーの分子量は GPC により  $M_n=1310-1880$  であった。元素分析、MALDI-TOF-MS、IR、<sup>1</sup>H-NMR 等により、得られたポリマーがベンザインとピリジンの交互共重合体に塩酸が付加したもの(1c~4c)であることが確認できた。さらに、10wt%の NaOH aq で処理を行うとピリジンに由来する六員環が OH の求核攻撃を受けた構造(1d~3d)になった。さらに 4d の場合には、その後イミンが加水分解されて、アミンとアルデヒドを持った構造のポリマー(4e)が得られた。



**Table 1. Alternating Copolymerization of Benzyne and Pyridine Derivatives**

Run	Monomer Precursor (M)	Pyridine derivatives (Py)	[Py] [M]	product	yield (%)	$M_n$	$M_w/M_n$	elemental analysis	
								calcd	found
1	1a	pyridine	5	1c	19.1	1730	1.39	C, 67.57; H, 5.39; N, 7.35	C, 68.01; H, 5.61; N, 6.61 (x=1.00, y=0.40)
2	1a	pyridine	1	1c	38.4	1530	1.25	C, 72.60; H, 6.05; N, 8.67	C, 72.65; H, 6.00; N, 7.06 (x=0.80, y=0.00)
3	1a	pyridine	1 / 2	1c	41.7	1880	1.20	C, 75.63; H, 6.13; N, 7.33	C, 75.42; H, 6.12; N, 7.33 (x=0.60, y=0.00)
4	1a	pyridine	5	1d	38.6	1200	1.70	C, 76.08; H, 6.19; N, 8.43	C, 76.97; H, 6.99; N, 7.48 (x=0.00, y=0.00)
5	3a	pyridine	5	3d	17.5	1540	1.27	C, 67.47; H, 4.50; N, 5.29	C, 68.20; H, 5.19; N, 5.30 (x=1.00, y=1.30)
6	4a	3- <i>n</i> -Bu-pyridine	3	4c	14.5	1310	1.14	C, 71.50; H, 6.92; N, 6.14	C, 71.94; H, 6.90; N, 5.99 (x=1.00, y=0.00)

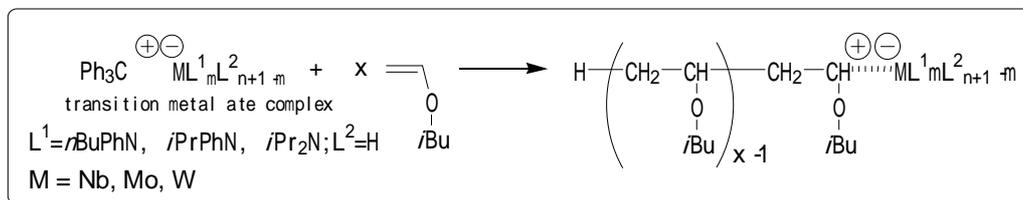
solvent: CH<sub>3</sub>CN(40ml) , temp: r.t.(except runs 4, 6), 40 (runs 4, 6) , time: 15-22h

1) E. Ihara, A. Kurokawa, T. Koda, T. Muraki, T. Itoh, K. Inoue, *Macromolecules*, **38**, 2167-2172(2005)

## 遷移金属アート錯体を用いたイソブチルビニルエーテルのカチオン重合

(愛媛大工) 吉田 尚記 (愛媛大工・VBL) 伊藤 大道・井原 栄治・井上 賢三

【Introduction】イソブチルビニルエーテル (IBVE) のカチオン重合において、遷移金属アート錯体を用いることが重合挙動に与える影響について検討を行った。



【Results and Discussion】五塩化ニオブ (NbCl<sub>5</sub>) に *n*-ブチルリチウム、リチウムアミド、トリチルクロライドを反応させて生成するアート錯体を用いた IBVE のカチオン重合によりポリマーが得られることを見出した。例えば NbCl<sub>5</sub>、*n*BuPhNLi、*n*BuLi を 1:1:5 の比で反応させて得られたアート錯体を用いて r.t. で 62.5h、金属に対して 100 当量の IBVE を反応させると収率 60%、*M<sub>n</sub>*=8100、*M<sub>w</sub>*/*M<sub>n</sub>*=1.13 の分子量の制御されたポリマーが得られた。(run 1) これと同様の条件下で重合温度を 40、50 にした場合も分子量のそろったポリマーが得られた。(runs 4, 5)

さらに *n*-ブチルリチウムとリチウムアミドの当量を変えた場合や、Nb と同様に toluene に可溶性の Mo、W の塩化物を用いた場合の重合も行ったが分子量の制御されたポリマーは得られなかった。従ってこの重合における分子量の制御にはアート錯体の構造が非常に重要であることが明らかとなった。

Table. 1 Polymerization of IBVE by transition metal ate complex

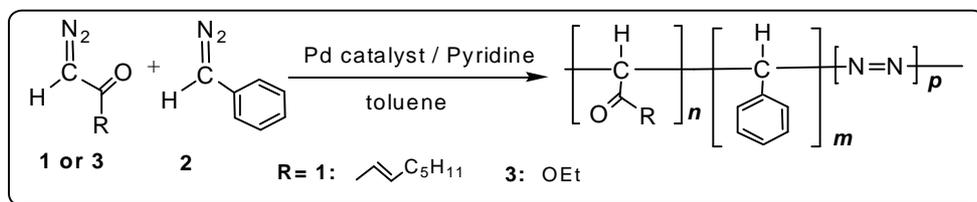
run	M	Ligand		[IBVE]/[I]	temp.( )	time(h)	yield(%)	GPC	
		L <sup>1</sup> (m)	L <sup>2</sup> (n+1-m)					<i>M<sub>n</sub></i>	<i>M<sub>w</sub></i> / <i>M<sub>n</sub></i>
1		<i>n</i> BuPhNLi(1)	<i>n</i> BuLi(5)	20.0			60.3	8100	1.13
2		<i>n</i> BuPhNLi(2)	<i>n</i> BuLi(4)	20.0	r.t.	62.5	11.4	23900	2.57
3	Nb	<i>n</i> BuPhNLi(3)	<i>n</i> BuLi(3)	20.0			34.9	2000	1.05
4		<i>n</i> BuPhNLi(1)	<i>n</i> BuLi(5)	20.1	40	14.5	63.4	8200	1.16
5		<i>n</i> BuPhNLi(1)	<i>n</i> BuLi(5)	20.2	50	14.5	76.8	8600	1.20
8		<i>n</i> BuPhNLi(1)	<i>n</i> BuLi(5)	20.1			63.7	31300	3.51
9	Mo	<i>n</i> BuPhNLi(2)	<i>n</i> BuLi(4)	20.3			59.7	35200	3.28
10		<i>n</i> BuPhNLi(3)	<i>n</i> BuLi(3)	20.0			26.8	29800	2.47
11		<i>n</i> BuPhNLi(1)	<i>n</i> BuLi(6)	19.8	r.t.	62.5	53.5	20900	4.63
12	W	<i>n</i> BuPhNLi(2)	<i>n</i> BuLi(5)	20.0			28.1	19400	3.36
13		<i>n</i> BuPhNH(3)	<i>n</i> BuLi(4)	20.3			17.1	22100	3.54

また 40 で得られたポリマーの MALDI-TOF MASS による測定を行ったところ、モノマーユニット (IBVE) の分子量 100.16 と一致する間隔で二種類のピークが観測された。それらのピークの分析の結果、これら二種類のポリマーの開始末端はともに H であり、停止末端は重合後に加えた MeOH が結合したものと、β-水素脱離によって生成した炭素-炭素二重結合を有するものであることが判明した。しかしトリチルカチオンにより開始が起こると考えていた開始末端が H となっていた理由は今のところはっきりとは分かっていない。

## ジアゾカルボニル化合物とフェニルジアゾメタンの共重合

愛媛大工 木多昌美、愛媛大工・VBL 伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】我々はポリ(置換メチレン)合成と呼ばれる新しい炭素-炭素結合を主鎖骨格とするポリマーの合成について検討を行っている。これまで、ジアゾ酢酸エステルとジアゾケトンモノマーとした単独重合・共重合について報告している<sup>1),2)</sup>。ここでは、この二つのモノマーとフェニルジアゾメタンの共重合を検討した。



【実験】反応は窒素雰囲気下で行った。まず Pd 触媒をトルエンに懸濁させ、そこにピリジン(Py)を加え 30 分間攪拌し、モノマーを加え 17h 加熱しながら攪拌した。後処理後に得られた固体を分取 GPC で精製することにより、共重合体を単離した。

【結果と考察】ジアゾケトン 1 とフェニルジアゾメタン 2 の共重合では 1:2 = 300:100 のとき、[1+2]:[PdCl<sub>2</sub>(MeCN)<sub>2</sub>]:[Py] = 400:2:50 という反応条件において、収率 30% で  $M_n=2090$  の共重合体(組成比 1:2 = 2.8:1.0) が得られた(run 1)。ジアゾ酢酸エステル 3 の場合は 3:2 = 300:100 のとき、[3+2]:[Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>]:[Py] = 400:2:100 という反応条件において、収率 16.0% で  $M_n=1240$  の共重合体(組成比 3:2 = 1.8:1.0) が得られた(run 6)。<sup>1</sup>H-NMR から、フェニルジアゾメタンとジアゾカルボニル化合物のモノマーユニットのピークがそれぞれ観測されることから、確かに共重合体ができていると考えられる。元素分析等の結果から、窒素の含有が確認され、主鎖中にはモノマーに由来するアゾ基 (-N=N-) が含まれていることが示唆された。アゾ基が主鎖中に含まれているとした場合、分子量の計算値は実測値と一致した。そのアゾ基の存在をラマン分光法により確認した。さらに、仕込み比を変えて共重合を行った。結果を Table 1 に示す。ジアゾケトンの場合、フェニルジアゾメタンの仕込み比が上がるにつれて分子量が低下する傾向はあるが、比較的仕込み比に対応した組成をもつポリマーが得られた。ジアゾ酢酸エステルの場合でも、ある程度仕込み比に対応したポリマーが得られた。

Table 1. Copolymerization of Diazocarbonyl Compounds with Phenyldiazomethane<sup>a</sup>

run	monomer		yield (%)	$M_n^b$	$M_w/M_n^b$	composition in
	feed	initiating system				copolymer <sup>c</sup>
						[1]or[3]:[2]
1	[1]:[2] = 3:1	PdCl <sub>2</sub> (MeCN) <sub>2</sub>	34.2	1500	1.50	2.8:1.0
2	[1]:[2] = 3:1	PdCl <sub>2</sub> (MeCN) <sub>2</sub> /Py	26.2	2090	1.33	3.1:1.0
3	[1]:[2] = 1:1	PdCl <sub>2</sub> (MeCN) <sub>2</sub> /Py	33.5	1720	1.23	1.1:1.0
4	[1]:[2] = 1:3	PdCl <sub>2</sub> (MeCN) <sub>2</sub> /Py	35.0	1240	1.29	1.0:1.6
5	[3]:[2] = 3:1	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	37.6	470	1.70	16.7:1.0
6	[3]:[2] = 3:1	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Py	16.0	1240	1.19	1.8:1.0
7	[3]:[2] = 1:1	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Py	17.2	1230	1.27	1.0:1.4
8	[3]:[2] = 1:3	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Py	18.8	940	1.36	1.0:2.5

<sup>a</sup>Toluene = 10mL, 60°C, 17h. <sup>b</sup> $M_n$  and  $M_w/M_n$  were obtained by GPC calibration using a standard PMMA and dibutyl sebacate in THF solution. <sup>c</sup>Determined by <sup>1</sup>H NMR.

- 1) E. Ihara, N. Haida, M. Iio, K. Inoue, *Macromolecules*, **36**, 36-41 (2003).
- 2) E. Ihara, M. Fujioka, T. Itoh, K. Inoue, *Macromolecules*, **38**, 2101-2108 (2005).

# 三元系金属複合酸化物によるメタンの酸化カップリング反応

(無機物質化学分野) 小松裕実子・宮崎隆文・山口力

【緒言】メタンの有効利用法としてエタンやエチレン (C<sub>2</sub>)への直接転換法の開発は重要な課題である。しかし、工業化の目安となる収率 35%以上を得られる触媒は未だ報告例がない。LiNiO<sub>2</sub> は選択的に C<sub>2</sub>-炭化水素を生成するメタンの酸化カップリング (OCM) 反応触媒として報告されたが、低表面積や活性の持続性に問題がある。そこで、本研究では LiNiO<sub>2</sub> の Li と Ni の一部を他の金属元素で置換した三元系複合金属酸化物 Li<sub>x</sub>Ni<sub>2-x-y</sub>M<sub>y</sub>O<sub>2</sub> (M=Ti, Al, Mn, Fe; 0.7 < x < 0.9, 0.1 < y < 0.5)を調製して、結晶構造、表面積、CH<sub>4</sub> 転化率、C<sub>2</sub> 選択率、OCM 反応の持続性に及ぼす置換効果について検証した。

【実験】試料合成は市販の金属硝酸塩または金属水酸化物を相当する組成比となるように混合した後、Ti 置換体は固相反応法、Al、Mn、Fe 置換体はゾル-ゲル法で調製した。各試料は粉末 X 線回折による同定と BET 法による比表面積測定を行った。各試料の反応活性は固定床流通型反応装置を使用して、触媒量 1g、760 における生成ガスをガスクロマトグラフ(TCD 検出器)により定量して評価した。

【結果と考察】Fig.1 に Li<sub>x</sub>Ni<sub>2-x-y</sub>Al<sub>y</sub>O<sub>2</sub> (x=0.8, y=0.1, 0.2, 0.3)の XRD パターンを例示する。y=0.1, 0.2 の試料では LiNiO<sub>2</sub> と同系の回折ピークのみを観測し、金属の添加量に対して d 値が系統的に変化した。y=0.3 以上では LiAlO<sub>2</sub> などを含んだ混合相になっていた。Fig. 2 は Li<sub>x</sub>Ni<sub>2-x-y</sub>M<sub>y</sub>O<sub>2</sub> (M=Ti, Al, Mn, Fe)の比表面積に対する反応開始 60 分後の CH<sub>4</sub> 転化率および C<sub>2</sub> 選択率を示している。混合相では比表面積に対する反応性のバラツキが大きく、単一相では金属置換による依存性が認められた。金属置換による表面積変化は LiNiO<sub>2</sub> と比べて最高 3.9 倍まで増大し、CH<sub>4</sub> 転化率は Al, Mn 置換体において最大 2.6 倍となった。また、反応の持続性についても Al 置換体を選択性低下の抑制効果が認められた。その結果、C<sub>2</sub> 選択率の低下が僅少だった Al 置換体において C<sub>2</sub> 収率は LiNiO<sub>2</sub> の約 1.8 倍となることが分かった。これらのことから Li<sub>x</sub>Ni<sub>2-x-y</sub>M<sub>y</sub>O<sub>2</sub> の OCM 反応に対する活性は置換金属種に依存性を示しており、表面積の増加だけでなく CH<sub>4</sub> 転化率と C<sub>2</sub> 選択率からも Al 置換の有効性が確認された。

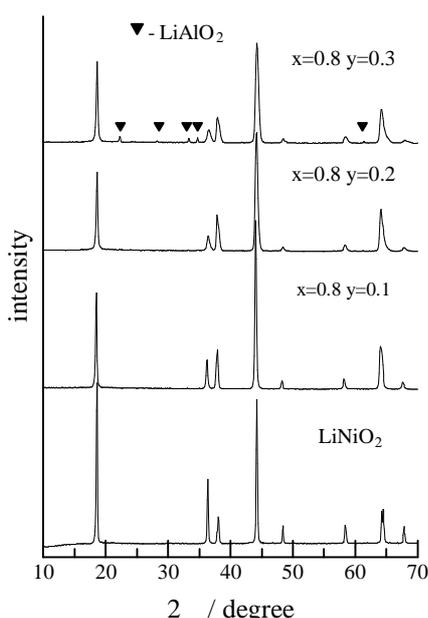


Fig. 1 Li<sub>x</sub>Ni<sub>2-x-y</sub>Al<sub>y</sub>O<sub>2</sub>のXRDパターン

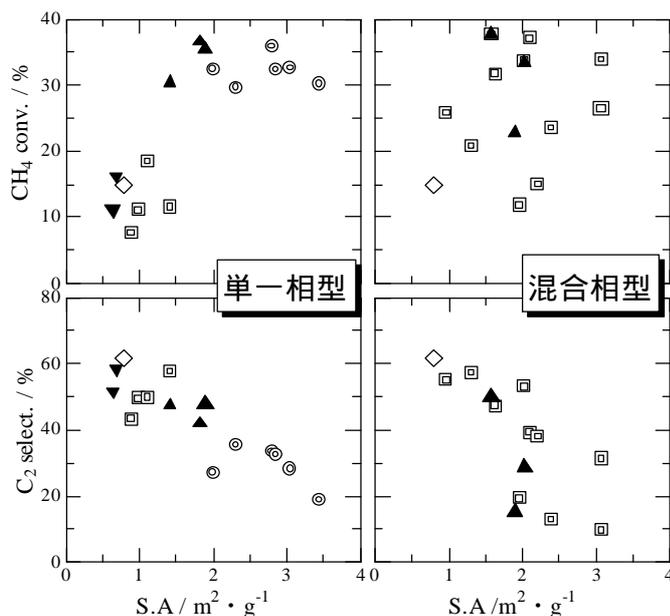


Fig. 2 反応開始60分後のCH<sub>4</sub>転化率、C<sub>2</sub>選択率 vs 比表面積

◇ LiNiO<sub>2</sub> □ Ti置換体 ▲ Al置換体 ○ Mn置換体 ▼ Fe置換体

# ポリアニリン複合膜を用いた直流駆動型湿度センサの開発

(工業物理化学) 山中崇司・松口正信

[緒言] 現在市販されている湿度センサは、感湿材料にイオン伝導性の材料を用いており、直流で測定を行うと電解による分極の影響を受けるため、交流インピーダンスを測定している。そのため、測定回路が複雑になり、測定装置が大きく高価となっている。従って、より安価で利便性の良い湿度センサを実現するためには、直流駆動でも長期間に渡って安定に動作するセンサ素子の開発が必要不可欠である。

そこで本研究では、感湿材料としてより電解の影響を受けにくい電子伝導性高分子であるポリアニリン(PANI)と種々のマトリックスポリマーとの複合膜を作製し、直流駆動型湿度センサ素子への適用の可能性について検討を行った。

[実験] プロトン酸をドーパした PANI と種々のマトリックスポリマーとの混合溶液を、櫛型金電極を焼き付けたアルミナ基板上にコートし、乾燥したものを湿度センサ素子とした。

作製した素子を 30 の恒温恒湿槽中にセットし、湿度を 0-30-60-90-60-30-0%と 15 分間隔で切り替え、直流 1V 印加した時の電流値の変化を、デジタルエレクトロメーターを用いて測定した。湿度センサ素子は長期間に渡って実験室で保存しながら、定期的に上記の感湿特性を測定することによって長期安定性を調べた。長期安定性は、X 日後の 0%RH での抵抗値と 0-90%RH での感度をセンサ作製直後の初期抵抗値及び初期感度に対するドリフト量として湿度換算値で表して評価した。

[結果と考察] 使用したマトリックスポリマーの中では、ポリスチレン (PSt) を用いた複合膜が初期感湿特性及び長期安定性に優れていたが、センサ出力のドリフトを目標値以内に抑えることができなかった。そこで、センサ出力のドリフトの主な原因は複合膜の形態変化にあるのではないかという考えから、次にこの複合膜に架橋構造を導入し、膜の形態変化を抑制させ、センサ出力のドリフトのさらなる抑制を試みた。

まず、PANI 複合膜を用いた湿度センサの初期感湿特性を Fig. 1 に示す。架橋ポリスチレン (c-PSt) を用いた複合膜の方が全体に抵抗値は高かった。一方、どちらの複合膜を用いた場合でも相対湿度変化に対する抵抗値の変化(感度)はイオン伝導性の感湿膜を用いた場合と比べて小さいもののヒステリシスが小さく、初期特性に優れていることがわかった。

Fig.2 は、PANI 複合膜の長期安定性を示している。まず、0%RH での抵抗値の変化をしてみると PSt を用いた複合膜では、センサ作製直後から値が大きくドリフトしているのに対し、c-PSt を用いた複合膜では、作製直後を除き、約 30 日程度まで値が安定していた。この抵抗値のドリフトの主な原因は、長期間に渡る水分子の吸着と脱離による膜の膨潤と収縮の繰り返しによって起こる PANI 粒子の分相化にあることが確かめられた。一方、感度のドリフトは、Nafion などのプロトン酸を用いた場合に比べて両者共にかかなり小さく抑えられた。

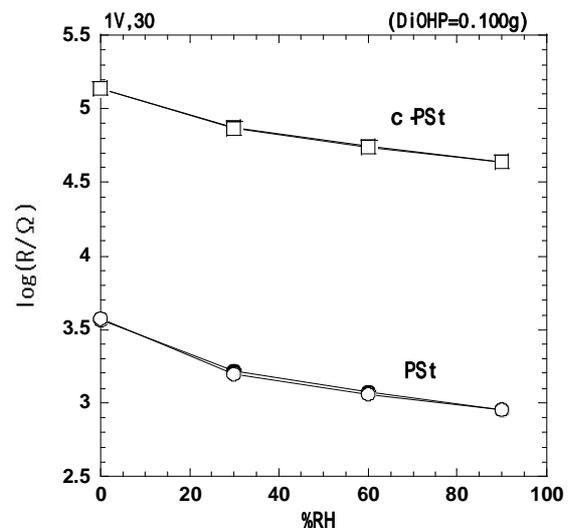


Fig.1 PANI 複合膜を用いた湿度センサの初期感湿特性

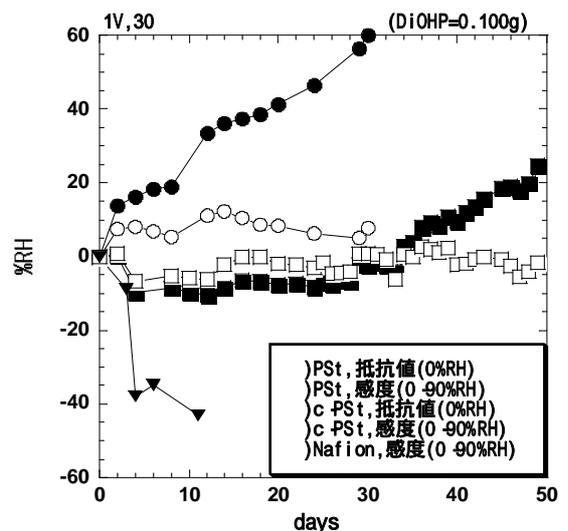


Fig.2 PANI 複合膜を用いた湿度センサの長期安定性

# ペロブスカイト型酸化物基板上に形成したプロトン導電性酸化物膜の電気特性 (材料物性化学) 浅本麻紀子・白井裕乃・山浦弘之・八尋秀典

## 1. 緒言

固体電解質形燃料電池 (SOFC) は、イオン導電性を持つ酸化物セラミックスを電解質に用いた燃料電池で、電解質は十分な導電性を有するよう薄膜化される。我々は以前、プロトン導電性酸化物 ( $\text{SrCe}_{0.95}\text{Yb}_{0.05}\text{O}_3$ , 以後 SCY) を利用した燃料電池のカソード材として  $\text{La}_{0.7}\text{Sr}_{0.3}\text{FeO}_3$  が有効であることを報告した [1]。本研究では種々のペロブスカイト型酸化物 ( $\text{La}_{0.7}\text{Sr}_{0.3}\text{MO}_3$ ,  $M=\text{Fe}(\text{LSF})$ ,  $\text{Co}(\text{LSC})$ ,  $\text{Mn}(\text{LSM})$ ) 基板上への SCY 膜の形成方法および得られた膜の電気特性について検討した。

## 2. 実験

固相反応によって調製したペロブスカイト型酸化物粉末をディスク状 (直径 10mm, 厚さ 1mm) に成型したものを 1300-1400 で熱処理して多孔質な基板と緻密な基板を作製した。基板上への SCY 膜の作製は二種類の方法で行った。1) 錯体重合法によって調製した前駆体溶液を基板上にスピンコーティングし、400 で熱処理した。スピンコーティング 400 熱処理を繰り返し、最終的に 900 で熱処理することにより得た (作製法 A)。2) 原料粉末をイソパノール中で分散させた溶液を基板上にスピンコーティングして、1000 - 1200 で熱処理することにより得た (作製法 B)。導電率、プロトン輸率はそれぞれ交流二端子法、水素濃淡電池法により評価した。

## 3. 結果と考察

作製法 A、B による基板上の膜は、いずれも SCY に帰属可能な XRD 回折線が認められ、本実験条件下で SCY が形成していることが確かめられた。LSF、LSC、LSM の多孔質基板上では繰り返しのコーティングにより 10 ~ 20  $\mu\text{m}$  が膜の形成できた。緻密な基板より亀裂やピンホールが多く確かめられた。

Fig.1 に、多孔質 LSF 基板上の SCY 膜 (作製法 A) のプロトン輸率を測定した結果を示す。コーティング回数 10 回膜の輸率は約 0.6 (600) であり、コーティング数を増やすことで輸率は増加した。このことから、コーティングを繰り返すことで膜の緻密さが増すことが分かった。

Fig.2 に、緻密な LSF 基板上に 1200 で熱処理した SCY 膜 (作製法 B) の SEM 写真を示す。作製法 B は、コーティングを繰り返さずに緻密な膜を形成できる。しかし、高温での熱処理が必要となり、基板と膜との界面で反応が進み導電性を妨げる物質の形成が示唆されたため、さらなる検討が必要である。

[1] H. Yamaura, T. Ikuta, H. Yahiro, G. Okada, *Solid State Ionics*, **176**, 269 (2005).

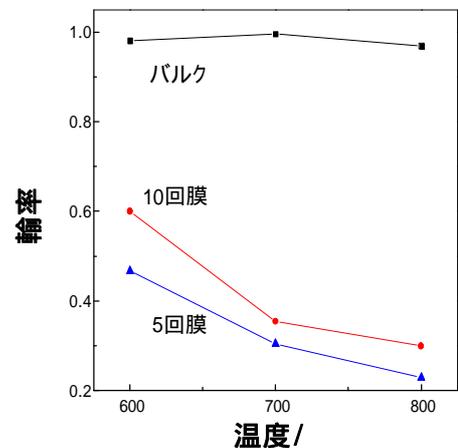


Fig.1

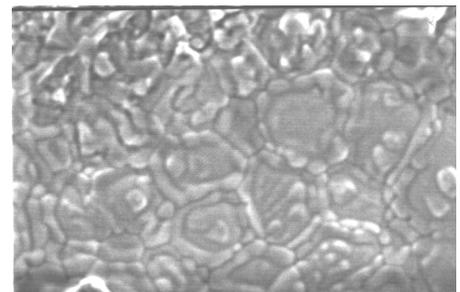


Fig.2

# 無機化合物上に担持した銅フタロシアニンの状態と反応性

(材料物性化学) 杉谷興一・木本邦博・山浦弘之・八尋秀典

## 1. 緒言

銅フタロシアニン(CuPc、Fig.1)は熱・光・酸・塩基に安定であるため、インク、染料、顔料として用いられている。一方で、CuPc 担持触媒は酸化反応に活性を示すことが報告されている。本研究では酸化反応触媒として用いられている CuPc の無機担体上での状態を ESR により検討した。また、無機担体上とゼオライト細孔内での CuPc の構造を比較し、検討した。

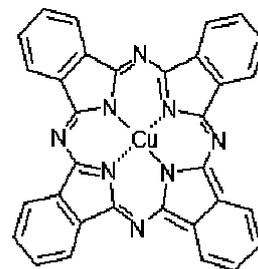


Fig.1

## 2. 実験

ペーライト AlO(OH)を水溶性 CuPc 溶液中で 24 h 攪拌し、遠心分離後、沈殿物を乾燥し粉碎して、AlO(OH)上に吸着した CuPc の固体試料 (CuPc / AlO(OH)) を調製した。CuPc / ゼオライト試料は既報[1]に従って調製した。試料を真空中、473K で 2h 処理し、ESR 測定 (77K) を行った。スペクトルのシミュレーションには Bruker 製 SimFonia プログラムを用いた。

## 3. 結果と考察

Fig.2 (a), (b)に市販 CuPc と CuPc / AlO(OH)の ESR スペクトルを示す。市販の CuPc は銅の凝集によりスペクトルの線形がブロードになったが、AlO(OH)に吸着させることにより、孤立した Cu<sup>2+</sup>に特徴的な Cu の核スピンと電子スピンの相互作用である超微細構造 (hfs) に帰属されるシグナルが確認された。また、Cu の hfs に加えて CuPc に特徴的な N 核による shfs も認められた。Fig.2 (c)に CuPc / AlO(OH)のシミュレーションを示す。シミュレーションより得られた ESR パラメータは  $g_{\parallel}=2.025$ 、 $g_{\perp}=2.152$ 、 $A_{\parallel}=16.0$ 、 $A_{\perp}=224.5$  であった。一般に Cu<sup>2+</sup>の 4 配位錯体は  $g_{\perp}=2.16$  と報告されており、

CuPc / AlO(OH)の  $g_{\perp}=2.152$  であることから Cu は 4 配位平面構造が維持されていることがわかった。

Fig.3 (a), (b)に市販 CuPc と CuPc / AlO(OH)の拡散反射 UV-vis スペクトルを示す。両試料とも電子系の状態と関連深い Q バンドの信号が確認された。

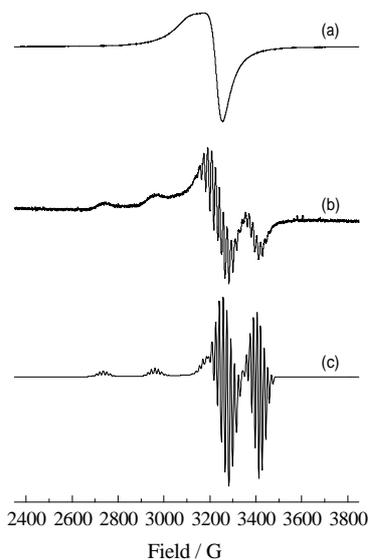


Fig.2 ESR spectra of (a) "neat" CuPc, (b) CuPc / AlO(OH), and (c) simulation.

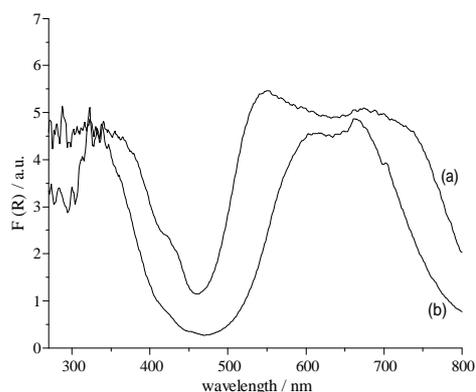


Fig.3 UV-vis spectra of (a) "neat" CuPc and (b) CuPc / AlO(OH)

## References

[1]H. Yahiro, K. Kimoto, H. Yamaura, K. Komaguchi and A. Lund, Chem. Phys. Lett., 415(2005) 126-130.

# アルミナ担持 Cu 触媒の水性ガスシフト活性

(材料物性化学) やまもと 山本 哲也・佐伯 和彦・中矢 健太・山浦 弘之・八尋 秀典

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 担持 Cu 触媒 (Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) の一酸化炭素の水性ガスシフト反応 (WGS; CO + H<sub>2</sub>O → H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>) に対する焼成温度 (773-1173 K) の影響について検討した。WGS 活性が最も高い 1073 K 焼成触媒では CuO と CuAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> が共存すること, CuO は 473 K 水素還元によって高分散 Cu<sup>0</sup> として Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> に担持されることがわかった。

水性ガスシフト反応・一酸化炭素・銅・アルミナ・スピネル型酸化物

## 1. 緒言

WGS は純粋な水素製造プロセスに欠かせない反応である。これまでに WGS には Cu 系酸化物あるいは担持 Cu 触媒が活性を示すことが報告されている[1]。本研究では, Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 触媒の WGS に対する焼成温度の影響について検討した。

## 2. 実験

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(JRC-ALO8)上に Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O を含浸させ, 所定温度 (773-1173 K) で 8 h 焼成することにより前駆体を得た。反応前に 20% H<sub>2</sub>/He 中 523 K, 2 h 還元処理を行った。WGS は CO(5.4%)+H<sub>2</sub>O (21.6%)+H<sub>2</sub>(57%)+CO<sub>2</sub>(16%), GHSV = 6000 h<sup>-1</sup> の条件で行った。試料のキャラクタリゼーションとして BET, XRD, TPR, N<sub>2</sub>O パルス測定を行った。

## 3. 結果と考察

図 1 に Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 触媒の還元前の XRD 結果を示す。焼成温度 973 K 以下の触媒では CuO および -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> に帰属されるピークが確認された。焼成温度 1073 K の触媒では, CuO に帰属されるピークは消失し,新たにスピネル型酸化物 CuAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> に帰属されるピークが認められた。さらに焼成温度を上げた触媒では, CuAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 粒子の成長およびアルミナ担体の結晶相の転移 (-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> → γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) が起こることがわかった。523 K で水素還元を行ったところ, 焼成温度 973 K 以下では金属 Cu (Cu<sup>0</sup>) に帰属される XRD ピークが出現したが, 1073 K 以上の触媒では Cu<sup>0</sup> の明確な XRD ピークは認められなかった。

種々の焼成温度で調製した触媒の TPR 測定を行った。焼成温度 973 K 以下の触媒には 473-523 K に CuO の還元(CuO+H<sub>2</sub> → Cu+H<sub>2</sub>O)に帰属可能なピークのみが確認された[2]。一方, 1073 K 以上で焼成された触媒では CuO のピークに加えて, 623-673 K に CuAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> の還元ピークが認められた。水素消費量から求めた担持銅量に対する CuO の割合を表 1 にまとめた。焼成温度の増加とともに CuO の割合は低下したが, 1073 K 焼成でも約 7 割の Cu は CuO

として存在していることがわかった。また, 還元した触媒の Cu<sup>0</sup> 表面積を N<sub>2</sub>O パルス測定より求めた。表 1 に示すように 1073 K 焼成触媒の Cu<sup>0</sup> 表面積が最も大きく, 高分散していた。以上の XRD, TPR, N<sub>2</sub>O パルス測定から, 1073 K 焼成触媒では CuO と CuAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> スピネル酸化物が共存し, CuO は水素還元によって高分散 Cu<sup>0</sup> となることがわかった。

表 1 には Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 触媒の CO 転化率の焼成温度依存性も示している。表より CO 転化率と Cu<sup>0</sup> 表面積とは相関があるようである。すなわち, 1073 K 焼成触媒が最も高い活性を示すのはスピネル型酸化物が共存することで Cu<sup>0</sup> が高分散化したためであると結論した。

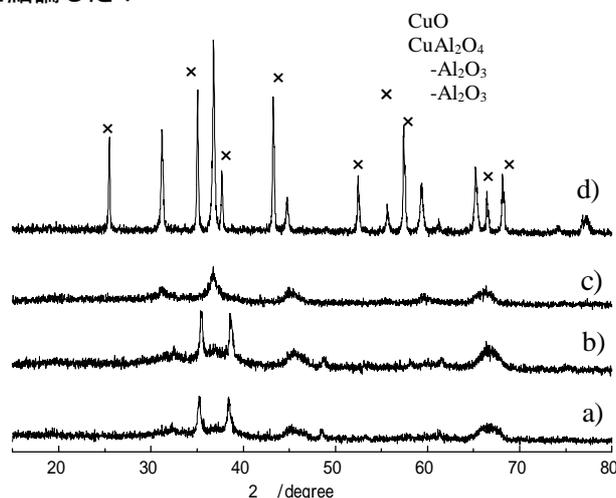


図 1 Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 触媒の還元前の XRD パターン。焼成温度 a) 773, b) 973, c) 1073, d) 1173 K。

表 1 種々の焼成温度で調製した触媒の触媒活性<sup>a)</sup>, 比表面積<sup>b)</sup>, Cu<sup>0</sup> 表面積<sup>c)</sup>, CuO の割合<sup>d)</sup>。

	焼成温度 / K			
	773	973	1073	1173
CO 転化率/%	56	73	76	52
比表面積/ m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup>	163	137	115	18
Cu <sup>0</sup> 表面積/ m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup>	4.6	8.7	11.9	4.1
CuO の割合/%	92	92	70	18

a) 498 K での CO 転化率。b) BET 法。c) N<sub>2</sub>O パルス法。d) TPR 法 (室温-573K の水素消費量より計算)。

[1] Y. Tanaka et al., *Appl. Catal. A*, **238** (2003) 11.

[2] W.-P. Dow et al., *J. Catal.*, **160** (1996) 155.

# 新規レクチンを装着したミサイル型人工細胞の担がんマウス体内動態

(生体環境機能工学) 竹乗秀樹 (M2)<sup>1)</sup>・秋山浩一<sup>2)</sup>・菅原卓也<sup>3)</sup>・重川庸介<sup>1)</sup>  
川久保明宏<sup>4)</sup>・増田晴造<sup>2)</sup>・青儀健二郎<sup>5)</sup>・能勢真人<sup>6)</sup>・宮崎龍彦<sup>6)</sup>・加藤敬一<sup>1)</sup>

1) 愛媛大工 2) 愛媛大総研支援 3) 愛媛大農 4) (株)ヤマキ 5) 四国がんセンター 6) 愛媛大医

## 1 緒言

海藻由来の新規レクチン ESA は大腸癌細胞表面の異常糖鎖構造に対する特異認識物質であり、さらにその癌細胞のアポトーシスを誘引することを、筆者らはこれまでの研究で明らかにした。<sup>1)</sup> この ESA を、Span80 を主成分とするベシクルに固定化してドラッグキャリアーとして利用し、DDS (Drug Delivery System) におけるヒト大腸癌治療の実用化に寄与することを、筆者らはこれまで試みてきた。<sup>2)</sup> 本研究では、ヒト大腸癌 (col10201) の担癌マウスでの、この ESA 固定化ベシクルの体内動態を検討した。すなわち、放射性同位体 <sup>125</sup>I を BSA に標識した <sup>125</sup>I BSA をトレーサーとして用いて、ESA 固定化ベシクル、非固定化ベシクルなどいくつかのベシクルに内包させた。これらのベシクルを上記の担癌マウスに静脈注射して、このマウス体内の各臓器への動態を RI (放射性同位元素) で測定して、ESA ベシクルの動態を評価した。

## 2 実験方法

**2.1 担癌マウスの体内動態** 今回使用したベシクルは、(1)非固定化ベシクルである ノーマルベシクル (NV)、(2)ESA 固定化ベシクル (EV)、および(3)PEG 脂質で修飾したベシクル (ステルスベシクル) に ESA を固定化したもの (EPV) の 3 種類である。これらのベシクルを担癌マウスの尾より静脈投与した。サンプル投与後、任意の時間 (1, 3, 6, 15, 24 時間) 放置した後、担癌マウスを心灌流法により脱血処理を行った。その後、マウスの臓器を取り出し、腫瘍と各臓器 (心臓、腎臓、肝臓、脾臓、肺、甲状腺) に蓄積した放射能を カウンターにより測定を行った。またベシクル粒径は動的光散乱法により測定した。

## 3 結果と考察

### 3.1 <sup>125</sup>I BSA のベシクル包括による体内動態への影響

担癌マウスの尾より各ベシクルを静脈投与することにより、どのような体内動態を示すかを検討した。

その結果、すべてのベシクルにおいて肝臓への集積が高くなった (結果省略)。これは、ベシクルそのものの粒径 (ベシクル粒径は約 300nm) が大きいいため、肝臓に取り込まれやすくなったと考えられる。

**3.2 PEG 脂質修飾の効果** 今回使用した ESA 固定化 PEG 修飾ベシクルの場合、PEG 脂質修飾効果によりマクロファージからの攻撃を回避する、いわゆるステルス機能をベシクルに付与することができ、肝臓への取り込みを減少させることができた (結果省略)。またこのベシクルの体内の長期滞留性も示唆された。

**3.3 ESA による腫瘍への標的性** ESA ベシクル (EV) の腫瘍部への標的能は、ノーマルベシクル (NV) に比べて、打ち込み後 6 時間以内で高い値を示した。さらには、ベシクル調製時に添加する ESA 濃度によっても腫瘍への標的効果に違いが生じることが判明した。図は ESA ベシクル投与 6 時間後での、腫瘍部における単位重量当たりの放射能分率 (腫瘍、各臓器の放射能値の合計を分母におき、分子を腫瘍、各臓器の単位重量当たりの放射能とした%) で示した。なお、血液の影響を除外するために、上述したように心灌流法により、脱血処理を行った。このベシクルの体内動態はベシクルの粒径により腫瘍への標的性が異なることが示唆された。また、ベシクルの優れた代謝性が示唆された。

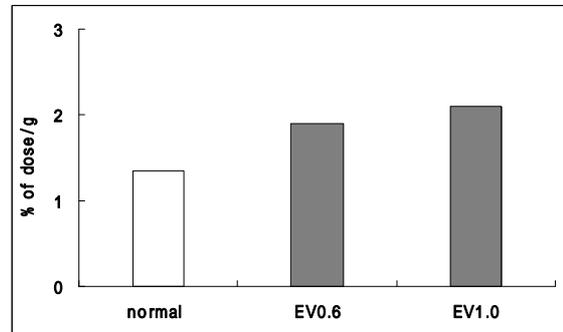


図 ベシクルによる腫瘍部への蓄積

### [参考文献]

- 1) Sugahara, T., Y. Ohama, A. Fukuda, M. Hayashi, A. Kawakubo and K. Kato, "The Cytotoxic effect of Eucheuma serra agglutinin (ESA) on cancer cells and its application to molecular probe for drug delivery system using lipid vesicles," *Cytotechnology*, 36, 93-99 (2002)
  - 2) K. Kato, Y. Omokawa et al. "Anti-cancer effect to colon cancer in either vitro or vivo using lipid vesicle combined with alga lecthin ESA"
- \* Keiichi Kato Dept. of Applied Chem. Univ., Bunkyo chou 3, Matsuyama, 790-8577  
TEL&FAX 089-927-9928  
E-mail kato@eng.ehime-u.ac.jp  
*Proc. of the 10th APCCHE 2004 Congress, A162(1P-01-032)(2004)*

# 新規レクチンを装着したミサイル型人工細胞によるマウス大腸癌治療

(生体環境機能工学) 福田祐介 (M1)<sup>1)</sup>、福田勇騎<sup>2)</sup>・菅原卓也<sup>2)</sup>・秋山浩一<sup>3)</sup>  
増田晴造<sup>3)</sup>・川久保明宏<sup>4)</sup>・宮崎龍彦<sup>5)</sup>・加藤敬一<sup>1)</sup>  
1) 愛媛大工 2) 愛媛大農 3) 愛媛大総研支援 4) (株)ヤマキ 5) 愛媛大医

## 1. 緒言

筆者らはこれまで、海藻由来の新規レクチン ESA が癌細胞の異常糖鎖構造を認識して特異的に結合し、アポトーシス経路による細胞死を誘導することを明らかにした。一方、非イオン性界面活性剤 Span80 を主成分とするベシクルにこの ESA を固定化したベシクルの調製に成功した。この ESA ベシクルを Colo201 担癌ヌードマウスに投与した動物実験を行った結果、DDS におけるこのベシクルの腫瘍増殖抑制効果を明らかにした。本研究ではヒト臨床実験を視野に入れて、この ESA ベシクル投与による腫瘍増殖抑制効果と免疫システムとの関わりを調べるため、免疫機能を有するマウスにマウス大腸癌細胞株 Colon26 を移植して担癌マウスを育種し、このマウスに対する上記の ESA ベシクルの腫瘍増殖抑制効果を検討することを目的とした。

## 2. 実験方法

**2.1 in vitro** : マウス大腸癌細胞 Colon26 に対して、PBS (Control)、ESA、Span ベシクルを添加し、トリパンブルーによって死細胞を染色し、細胞の生存率を測定した。

**2.2 in vivo (No.1)** : Colon26 担癌 BALB/c マウスを育種した後、尾静脈より PBS (Control)、ESA、PV (PEG 修飾ベシクル)、EPV (ESA を PV に固定化)、EEPV (ESA を EPV 内に内包) を 3 日ごとに計 15 日間投与して腫瘍体積・体重を測定した。

**2.2 in vivo (No.2)** : No.1 と同様に尾静脈より PBS (Control)、TXT (市販の抗癌剤)、EPV、ETPV (EPV に TXT を内包) を 3 日ごとに計 15 日間投与して腫瘍体積・体重を測定した。またマウスの腫瘍を回収し、TUNEL 法により皮下腫瘍中での細胞死の検討を行なった。

## 3. 結果と考察

**3.1 in vitro** : ESA は 0.1mg/ml の時 48 時間で約 80%、ベシクルは濁度 2.0 の時 12 時間で約 90% 細胞の増殖を阻害していることがわかった。また Caspase-3 活性の測定等により、両サンプルによってアポトーシスが誘導される事が明らかになった。

**3.2 in vivo (No.1)** : PV、EPV、EEPV、ESA の順に抗腫瘍効果が増大し、コントロール群に対して ESA 投与群の腫瘍体積増加は顕著に抑制され、両

者には投与開始 6 日目以降、腫瘍体積に有意差が認められた。

**3.3 in vivo (No.2)** : EPV、TXT、ETPV の順に腫瘍増殖抑制効果が増大し、コントロール群に対して ETPV 投与群の腫瘍体積増加は顕著に抑制され、両者には、投与開始 9 日目以降、腫瘍体積に有意差が認められた。(Fig.1) 更に、TXT と同様の体重変化でありながら、TXT 単独投与よりも高い腫瘍増殖抑制効果を得ることができた。また TUNEL 法により、ESA によって皮下腫瘍中でもアポトーシスが誘導されることが明らかになった。

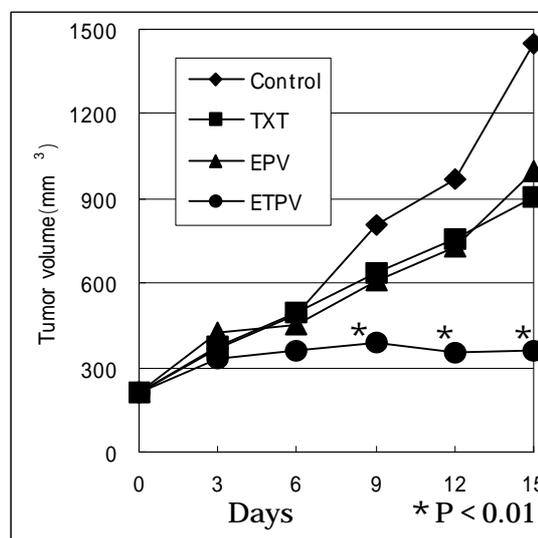


Fig.1 マウスの平均腫瘍体積変化

## 4. 今後の展望

今後は臨床研究への移行のための ESA 及びベシクルの毒性試験や、更なる腫瘍増殖抑制効果の向上を行っていく予定です。

### 【参考文献】

- 1) Keiichi Kato, Yousuke Omokawa, Koichi Akiyama, Takuya Sugahara, Akihiro Kawakubo and Toshiaki Saeki: Anti-cancer effect to colon cancer in either *in vitro* or *in vivo* using lipid vesicle combined with alga lecithin ESA, *Proc. of the 10<sup>th</sup> Asian Pacific Confederation of Chem. Eng. (APCCHE)*, J-STAGE, Vol.2004, pp500 (2004)
- 2) Keiichi Kato, Takuya Sugahara, Koichi Akiyama, Yousuke Omokawa, Norihiko Tateishi and Motomich Sato : New Preparation of the Surface-Modified Lipid Vesicle Targeting to a Cancer Cell and the Vesicle Function, *Proc. of the First International Congress on Biop-Nanointerface (ICBN)*, 201 (2003)

\* Keiichi kato Dept of Applied Chem, Ehime Univ, Bunkyo cho 3, Matsuyama, Ehime, 790-0826, TEL and FAX: 089(927)9928  
E-mail kato@eng.ehime-u.ac.jp

# がん臨床応用に向けての新規レクチンを利用したドラッグデリバリーシステム

Drug delivery system using new lectin for the clinical application of cancer therapy

(生体環境機能工学) 重川庸介(D2)<sup>1)</sup>・秋山浩一<sup>2)</sup>・菅原卓也<sup>3)</sup>・川久保明宏<sup>4)</sup>・  
増田晴造<sup>2)</sup>・青儀健二郎<sup>5)</sup>・能勢真人<sup>6)</sup>・加藤敬一<sup>1),\*</sup>

1) 愛媛大工 2) 愛媛大総研支援 3) 愛媛大農 4) ヤマキ 5) 四国がんセンター 6) 愛媛大医

## 1. 緒言

これまでの研究で、抗癌作用を有する海藻トゲキリンサイ由来のレクチン、*Eucheuma serra* agglutinin (ESA) を固定化したベシクルの調製に成功した。またベシクルを PEG (ポリエチレングリコール) 脂質でコーティングした、いわゆるステルスベシクル上に ESA を固定化した ESA 固定化ベシクルを調製した。そのベシクルを、ヒト大腸癌細胞 colo201 を移植したヌードマウスに注射して、癌腫瘍への蓄積と増殖抑制に関する動物実験を行った。その結果、ESA による標的効果と、そのベシクルの抗腫瘍増殖効果がみとめられ、今後のヒト大腸癌治療に対する利用の道が拓けた。

## 2. 実験方法

### 2.1 生体投与用のベシクル調製

ベシクルは、主成分である非イオン性界面活性剤 Span80 230mg とレシチン 24mg とコレステロール 12mg を用いて、二段階乳化法により調製した。また、ベシクルには、(a)PBS、(b)ヨードゲン法により放射性同位体 <sup>125</sup>I をラベルした bovine serum albumin (BSA)、(c)1 mg/ml ESA のいずれかを包括させた。ESA は、脂質アンカーとして 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(succinyl) 3.25 mg を用いて、ベシクル上に固定化した。さらに、ベシクルの血中滞留性を向上させるために、PEG 脂質である N-(monomethoxy-polyethylene-glycol-carbamyl)-distearoyl-phosphatidyl-ethanolamine 34 mg を用いて、ベシクルを修飾した。

### 2.2 担癌ヌードマウスによる in vivo 実験

ヒト大腸癌細胞 (Colo201) をヌードマウス (Balb/cAJcl-nu) に移植した担癌マウスを育種した。この担癌マウスに、上記トレーサーである<sup>125</sup>I-BSA を内包した ESA 固定化ベシクルを投与して、ベシクルの癌標的効果を検討した。体内動態測定は、灌流固定法で処理したマウス臓器の感光写真撮影 (オートラジオグラフィ) を行った。

### 2.3 ESA 固定化 PEG 修飾ベシクルを用いた動物実験

ESA 固定化ベシクルによるがん治療を検討するために、ESA 固定化 PEG 修飾ベシクル、EPV (ESA 含有量: 200 $\mu$ g) と、さらに ESA 含有率を高めた ESA 固定化 ESA 内包 PEG ベシクル、EEPV (ESA 含有量: 250  $\mu$ g/ml) を Colo201 担癌マウスへ静脈内注射により投与した (0.01ml/g of body weight)。それぞれのベシクルによる抗腫瘍効果は、癌腫瘍体積より算出した T/C% 値を用いて評価した。対照群として、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を担癌マウスへ投与した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 ESA 固定化ベシクルのマウスでの標的機能

[<sup>125</sup>I]-BSA 内包 ESA 固定化ベシクルを投与したマウスの各臓器のオートラジオグラフィより、ESA 固定化ベシクルの蓄積量を評価した。[<sup>125</sup>I]-BSA 内包 ESA 固定化ベシクル投与後のマウスのオートラジオグラフィは、腫瘍 (Colo201) 部分が最も強く感光していた。この結果により、生体内での ESA による大腸癌細胞への標的が示された。

### 3.2 ESA 固定化ベシクルのマウスでの制癌機能

図 1 に示したように、ベシクル投与 9 日後で、EPV は T/C% 値を 66.9 % まで低減できた。また、EEPV は EPV よりも高い抗腫瘍効果 (50.6 %) を示した。しかしながら、顕著な体重減少は認められなかった。これにより、(a) EPV による抗腫瘍効果が認められ、(b) さらに ESA をベシクルに内包することにより、抗腫瘍効果を向上させることが出来た。これらの結果により、抗癌剤を使用することなく、EPV 単独でがん治療へ利用することが可能であることが示された。

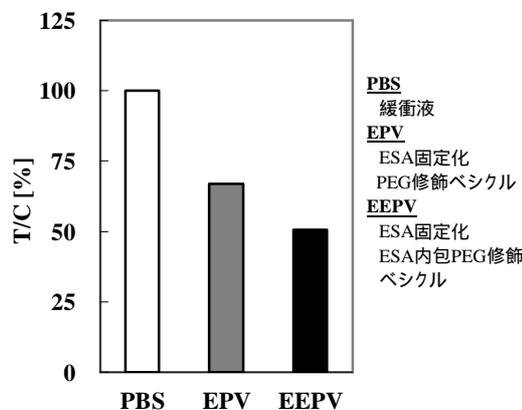


図1 EEPVとEPVの抗腫瘍効果の比較

### 参考文献

- 1) 加藤 敬一: リボソーム応用の新展開 — 人工細胞の開発に向けて— (第3編8章; 非イオン性界面活性剤 Span80 ベシクルの構造と利用), NTS出版, (2005)
- 2) K. Kato, Y. Omokawa, K. Akiyama, T. Sugahara, A. Kawakubo and T. Saeki: Anti-cancer effect to colon cancer in either *in vitro* or *in vivo* using lipid vesicle combined with alga lectin ESA, *Proc. of the 10<sup>th</sup> Asian Pacific Confederation of Chem. Eng. (APCCHE)*, J-STAGE, Vol.2004, pp500 (2004)
- 3) K. Kato: Preparation and characterization of vesicle for DDS mainly composed of nonionic surfactant span80, *Proc. of the 2<sup>nd</sup> Symposium of Engineering Science of Liposome*, 3 (2004)

\* Keiichi Kato Dept of Applied Chem, Ehime Univ, Bunkyo chou 3, Matsuyama, Ehime, 790-8577 TEL and FAX: 089(927)9928 E-mail: kato@eng.ehime-u.ac.jp

## 酸化チタンマイクロ粒子の多孔質化

(分離分析化学) 木村 志・山下 浩・前川 尚

### ．緒言

液体クロマトグラフィー (HPLC) は試料適応性の広さ、分離手法の豊富さ、再現性の高さ、システムに対する信頼性などのさまざまな特徴をもつ非常に有用な汎用分析法である。

HPLCのカラム充填剤として一般的に使用されているのは球状多孔質シリカ粒子である。しかし、シリカは酸性酸化物であるために、充填剤そのものが溶出してしまうという欠点を持っている。そこで、本研究では $\text{SiO}_2$ 粒子に代わるHPLC充填剤として耐薬品性に優れた $\text{TiO}_2$ 粒子の合成を試る。

$\text{TiO}_2$ はその結晶性により、熱処理を施すと著しく比表面積が減少するという問題を含んでいる。カラム充填剤のような吸着分離剤として、比表面積が低いことは致命的な問題である。そこで、本研究では $\text{TiO}_2$ 粒子の多孔質化による比表面積の拡大を目的とした。

### ．実験

チタンの金属アルコキシドを溶媒と混合し、 $\text{SiO}_2$ 粒子を分散させた水を加えて攪拌する事でゾル溶液を調整した。そのときの実験装置の概略図を図1に示す。W/Oエマルジョンを反応場として攪拌する事で球状湿潤ゲルを得、これを洗浄・乾燥後、熱処理を施した。さらに、NaOH水溶液にてアルカリ処理を施し、 $\text{SiO}_2$ 粒子を溶出させ、SEM・細孔分布などにより粒子を評価した。

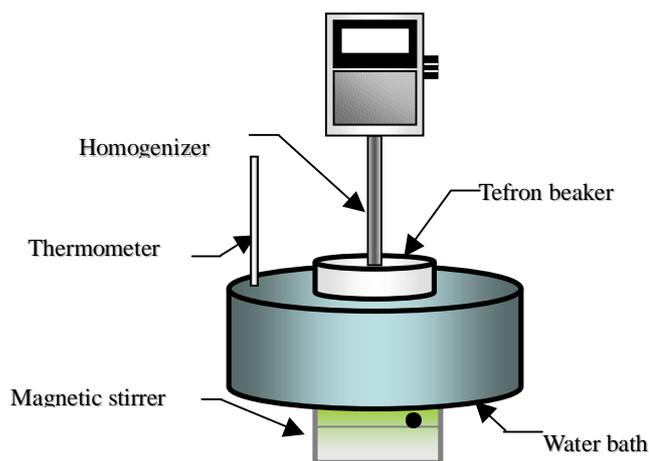


図1 実験装置概略図

### ．結果と考察

$\text{TiO}_2$ 粒子内部に $\text{SiO}_2$ 微粒子を分散させた粒子の完成後、 $\text{SiO}_2$ 成分を溶出させる事により、図2に示すような球状多孔質粒子を得た。 $\text{TiO}_2$ 粒子に $\text{SiO}_2$ 粒子を内包する事で純粋な $\text{TiO}_2$ 粒子より高表面積の $\text{TiO}_2$ 粒子を合成できる事が確認できた。

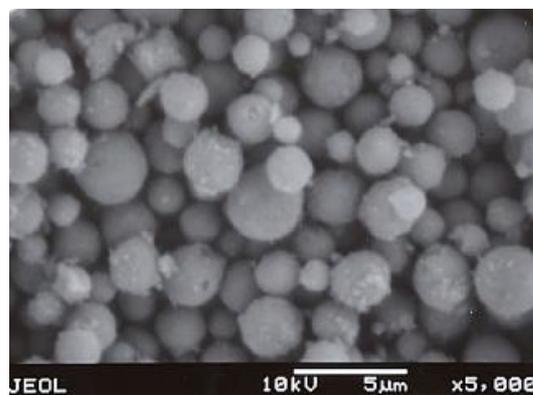


図2  $\text{TiO}_2$ 粒子 SEM写真

# 浮選法を用いたホウ素含有水からのホウ素の除去

(分離分析化学) 赤木裕幸・山下 浩・前川 尚

## 1. 緒言

ホウ素は単体で用いられるよりも化合物として用いられることが多く、ホウ素を混ぜたガラスは耐火ガラスとして、ホウ酸 ( $H_3BO_4$ ) を水に溶かしたホウ酸水は弱酸性で消毒薬としてうがい薬・目薬として利用されている。

一方、ホウ素は毒性を持つ金属で、多量摂取による動物の成長阻害や神経障害を引き起こすなど人体にとっては有害な金属である。そのため、平成 11 年 2 月に新たに環境基準が設定され、排水基準 10ppm を上回るものは除去しなければいけなくなった。そこで、本研究では、浮選法を用いホウ素の除去を試みた。

## 2. 実験方法

一定濃度のホウ素溶液に各金属溶液を加え、よく攪拌した。さらに、界面活性剤を加えた後攪拌した。その溶液を 15 ml 取り、浮選管に移し、窒素ガスを通じて泡が出なくなるまで浮選させた。

## 3. 結果と考察

1 元素添加系では鉄を添加したものの浮選率が高かった。2 元素添加系では、1 元素添加系に比べ浮選率はどの組み合わせでも高かった。同じ組み合わせでも、各々の濃度によって浮選率が違った。一例として、図 1 に鉄及びマンガン添加系での、ホウ素浮選率に及ぼす pH の影響を示す。鉄を 200ppm、マンガン を 100ppm 添加し、pH を 8 から 10 に調整して浮選した際、浮選率は 65%であった。添加濃度範囲を 100ppm ~ 300ppm で変化させたが、添加濃度が高ければ浮選率が高いわけではなく、これは pH と添加金属量が生成する水酸化物綿状沈殿の状態に影響を及ぼしているためであると考えられる。

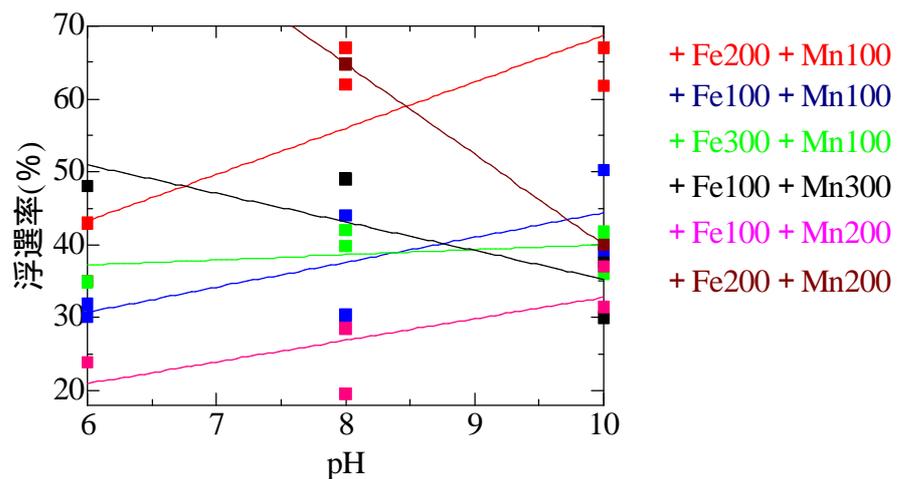


図 1 ホウ素浮選率に及ぼす pH の影響

# ホウケイ酸塩ガラスの構造とガラス転移点との関係

(分離分析化学) 山下 浩・相本恭正・前川 尚

## 1. はじめに

フラットディスプレイは、近年我々の身近のいたるところで見られるようになった。その中でも液晶ディスプレイは、パソコン、液晶テレビ、携帯電話など最も広く実用化されている。この液晶ディスプレイ用ガラス基板には、無アルカリで、耐熱性、低熱収縮、耐薬品性、高透過率などさまざまな物性を要求されている。これらの物性を発現させるためには基板となるガラスの構造を把握する必要がある。これまで我々は、固体NMRを用い、液晶ディスプレイ用ガラスのNMR スペクトルから、ガラスの組成とその時とりうる構造ユニットとの関係を明らかにし、ガラスの構造を酸・塩基反応の観点から考察してきた。また、塩基性酸化物種の違いによる酸性酸化物との反応性について、定数化を試みた。これらのことから、ガラスのバッチ組成から、その時取りうるガラス構造ユニットを予測できることが明らかとなった。今回は、液晶ディスプレイガラスの組成を考慮し、 $0.139MO (M'_2O) \cdot 0.188B_2O_3 \cdot 0.673SiO_2$  ( $M = Mg, Ca, Sr, Ba, M' = Na, K$ ) ガラスを作成し、 $^{11}B$  の NMR スペクトルから得られるガラス構造ユニットとガラス物性の代表としてのガラス転移点 ( $T_g$ ) との関係を見たので報告する。

## 2. 実験

ガラス作成時の出発原料としては  $H_3BO_3$ 、 $SiO_2$  を用い、アルカリ金属酸化物、アルカリ土類金属酸化物についてはそれらの炭酸塩を用いた。これらを目的の組成となるように秤量し、この混合物にアセトンを加えて磁性の乳鉢で良く混合し、電気炉中 1200 ~ 1600 で溶融した後、ステンレス板上に流しだし、ガラス化させた。得られたガラスを粉碎して JEOL 製 JNM CMX300 により、 $^{11}B$  の NMR スペクトルを測定した。また、島津製 DTG-50 によりガラス転移点を測定した。

## 3. 結果と考察

$rK_2O \cdot (0.139-r)CaO \cdot 0.188B_2O_3 \cdot 0.673SiO_2$  ガラスの  $r$  とガラス転移点  $T_g$  との関係は、 $K_2O$  がリッチになるにつれて、 $B(Q_4)$  及び  $Si(Q_4)$  ユニットの割合が大きくなり、ガラスネットワークがより密になり結果として  $T_g$  も大きくなった。

図 1 に  $rK_2O \cdot (0.139-r)CaO \cdot 0.188B_2O_3 \cdot 0.673SiO_2$  ガラスの  $X_{Si(Q_4)+B(Q_4)}$  と  $T_g$  との関係を示す。まだ一例だけではあるが、これらの間には良い相関性が見られた。今後は、種々の組成のガラスの  $T_g$  をとり、組成から  $T_g$  を見積もることを可能にしたい。

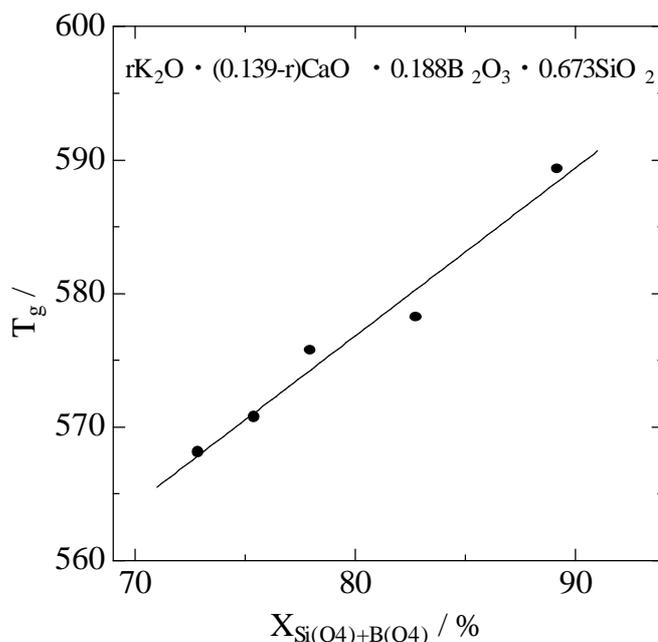


Fig. 1 Relation between  $T_g$  and  $X_{Si(Q_4)+B(Q_4)}$ .

## ゲノムワイドなヒト及びマウスプロテインカイネースの自己リン酸化機能の比較

愛媛大学工学部応用化学科（無細胞センター遠藤研） 京嶋 沙和

**【緒言】** 分化・増殖・プログラム死などの多種多様な細胞機構の多くは、細胞内情報伝達機構により制御されている。細胞内情報伝達の主要制御機構は、タンパク質の活性を制御する分子スイッチとして機能するリン酸化修飾反応と考えられ、それらはプロテインカイネース(P K)により触媒される。P Kにはセリン/トレオニン残基をリン酸化するS/T型とチロシン残基をリン酸化するY型カイネースの2種類がある。タンパク質のリン酸化は、細胞の癌化に関与していることが報告されており、まだほとんど解明されていないプロテインカイネースのリン酸化ネットワークは、生命現象の根幹をなすのみでなく、創薬ターゲットを知るうえにおいても重要である。ヒトゲノムには518種類のP K遺伝子がコードされており、マウスゲノムにはそのうち510種類のヒトオースログP Kを含む540種類のP Kがコードされていると考えられている。マウスはモデル哺乳動物として利用されており、ヒトオースログマウスP Kも細胞内でよく似た機能を有していると期待されている。しかし、マウスにはマウスの、ヒトにはヒト特有の細胞内タンパク質リン酸化ネットワークが存在することは、容易に想像できることから、それらの違いを担うP Kが存在する可能性が考えられる。そこで、本研究では理化学研究所のマウス完全長cDNAリソース(FANTOM)に含まれるマウスP K232種類とヒトP K216種類の自己リン酸化機能を調べることで、オースログP Kにおいてリン酸化アミノ酸触媒活性が異なるP Kの探索を行った。

**【方法】** FANTOM よりマウスP K232種類と我々の研究室でクローニングしたヒトP K216種類を、コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて合成し、それらの自己リン酸化活性を抗リン酸化S/T抗体、抗リン酸化Y抗体を使ったエネルギー転位アッセイ系を用いて解析した。

**【結果】** 顕著に自己リン酸化活性のみられたものはマウスP Kで33種類、ヒトP Kでは50種類だった。そのうち抗リン酸化S/T抗体で活性のみられたものはマウスP Kで26種類、ヒトP Kで36種類、抗リン酸化Y抗体で活性のみられたものはマウスP Kで9種類、ヒトP Kでは13種類だった。マウスP KとヒトP Kの結果を比較すると、ヒトP KとマウスP Kともに活性のみられたものは抗リン酸化S/T抗体で2種類、抗リン酸化Y抗体で1種類であった。また、ヒトP KとマウスP Kともに両方の抗体で活性が得られたものも1種類あった。活性のみられたオースログP Kは31種類であったことから、21種類のオースログP Kはヒトとマウスで異なった働きをもっている可能性が示唆される。今後はこれらのP Kのターゲット分子の解析等を進める予定である。

## 高感度無細胞マラリアワクチン候補タンパク質の探索

愛媛大学工学部応用化学科（無細胞センター遠藤研）松岡 和弘

【目的】近年薬剤耐性マラリア原虫の出現により患者数が急増しているマラリアは、現在もなお、世界三大疾病の一つとして猛威を振っている。しかし、長年の研究から20種類程度のマラリアタンパク質がワクチン候補として解析されてきているが、現時点において、決定的なマラリアワクチンの開発には至っていない。このような背景から2002年に熱帯熱マラリア原虫のゲノムシーケンシングが行われ、約5400種の遺伝子が見いだされ、ゲノムワイドにマラリアワクチン候補をスクリーニングできる環境が整った。しかし、マラリア原虫遺伝子のAT含量は70%以上と非常に高いため、従来の方法では、スクリーニングに必要なマラリア原虫タンパク質を得ることは不可能であった。我々は、これまでにコムギ無細胞タンパク質合成系を用いて、マラリア原虫タンパク質（マラリアタンパク質）の網羅的な発現に成功しており、現在、世界で最も多種類のマラリアタンパク質を保持しているセンターであるといえる。そこで本研究は、マラリアワクチン候補をゲノムワイドに探索することを目指して、コムギ無細胞系で合成したマラリアタンパク質とマラリア患者血清に含まれる抗体との反応を、高感度かつハイスループットに検出可能な新規マラリアワクチン候補スクリーニング法の開発を行った。

【実験方法】マラリアゲノム情報を元に、マラリア原虫のヒト血中ステージ（トロフォゾイト、スポロゾイト、メロゾイト）の遺伝子クローニングを行った。得られたクローンをsplit-PCR法により転写・翻訳に必要な鋳型を構築し、コムギ無細胞系を用いたマラリアタンパク質の合成、さらにビオチン化を行った。スクリーニングは、患者もしくは健常者から得られた血清と、ビオチン化された合成マラリアタンパク質を混合後、アルファスクリーン法により行われた。

【結果と考察】得られた169種類のマラリアタンパク質をスクリーニングを行った。その結果、健常者血清と比較し、患者血清でより顕著な抗原抗体反応を示すものを、28クローン得ることができた。今後、得られたクローンの大量タンパク質合成を行い、それを抗原として、抗体を作製し、候補タンパク質がマラリア原虫の表面に局在しているか、またその抗体が生育阻害を引き起すかどうか調べることにより、ワクチン候補としての生理学的な解析を試みる予定である。

## *Aquifex aeolicus* Trm1 [tRNA(m<sup>2</sup>G26)methyltransferase]は

今までにない基質認識メカニズムを持つ

応用生物化学 粟井 貴子

### 【緒言】

DNA 情報をもとにしたタンパク質の合成は生命の根幹をなす現象である。タンパク質の翻訳過程における tRNA の役割は、コドン・アンチコドン対合により DNA 上に暗号化された情報をアミノ酸に対応させるという非常に重要なものである。tRNA の特徴として、さまざまな修飾塩基が見られるが、それらは tRNA がその機能を発揮するために必須のものである。修飾塩基の多くは、tRNA の転写後、修飾酵素によって合成される。

超高温菌 *Aquifex aeolicus* は生物進化において最も初期に分岐したと考えられる真正細菌である。つまり、本菌の RNA 修飾酵素の分析により、初期のタンパク質合成系に関する重要な情報が得られるだろう。当研究室の武田らによって、本菌が真正細菌に属するにも関わらず、真核生物と古細菌だけにしか発見されていない tRNA(m<sup>2</sup>G26)methyltransferase (*trm1*) 遺伝子を保持していることが確認されている。この酵素は、S-adenosyl-L-methionine をメチル基供与体として tRNA の G26 を m<sup>2</sup>G26 へとメチル化する酵素である。本研究では、*Aquifex aeolicus* Trm1 がどのような基質認識メカニズムを持つのかを調べることを目的とした。

### 【実験方法及び結果・考察】

まず、*Aquifex aeolicus* の Trm1 を大腸菌内で発現させるためアミノ酸配列を変化させることなく *trm1* 遺伝子の 1/3 を合成 DNA で置換した。*Aquifex aeolicus* のコドン使用頻度はきわめて A-T rich であるため、もとの遺伝子配列のままでは大腸菌内でのその発現がきわめて困難だからである。この遺伝子を用いた大量発現系によって、培地 1L あたり 1 g 以上の Trm1 が得られた。発現したタンパク質は、heat treatment (70 °C, 30 min.)、DE52 column chromatography そして CM-Toyopearl 650M column chromatography によって調製した。

これを用いて、さまざまな tRNA transcript のメチル基受容活性を調べたところ、*Aquifex aeolicus* の Trm1 は 真核生物、古細菌どちらの Trm1 とともに完全に異なる基質認識メカニズムを持つことがわかった。真核生物の Trm1 は D-ステムの G10-C11 塩基対が必須であり、また、Class Ⅱ tRNA しかメチル化しない。*Aquifex aeolicus* の Trm1 は G10-C25、A11-U24 である tRNA Metf をメチル化した。そして Class Ⅱ tRNA である tRNA<sup>Leu</sup>(CAG) もメチル化した。古細菌の Trm1 は 4 塩基からなる可変ループを持つ tRNA が基質となるが、そうでない tRNA も基質となった。

二次元薄層クロマトグラフィーを行ったところ、m<sup>2</sup>G、m<sup>22</sup>G 以外の修飾塩基が見られる場合があった。この修飾塩基を同定するために分析を行ったところ、調整された Trm1 には RNA 分子が混ざっているためにうまく同定できなかったため、現在、Trm1 から、RNA 分子を取り除く操作を模索している。

# 固相プローブ RNA 精製法の改良

応用生物化学 越智 杏奈

## < 緒言 >

DNA 上にコードされた遺伝情報は、RNA を介してタンパク質へと変換される。故に、遺伝子を基本として生命現象を理解する上で、RNA の解析は重要である。しかしながら、生体内には様々な RNA 分子種が存在し、それらの一つ一つを単離精製することは極めて難しい。その単離方法の一つとして、固相プローブ精製法が開発されている。

固相プローブ精製法とは、相補な配列をもつ一本鎖の核酸同士が、水素結合により二本鎖核酸 (hybrid) を形成する性質を用いて、目的とする核酸を単離する方法である。

今回、この固相プローブ精製法をより簡単に行えるよう改良することを目指した。まず、モデルシステムとして、酵母 tRNA 混合物からの tRNA<sup>Phe</sup> の単離を試みた。目的とする tRNA<sup>Phe</sup> とその相補な配列である YF3'biotin primer を用いて選択的に hybrid を形成させる。YF3'biotin primer には 3'末端に biotin が付いており、これは streptavidin と特異的に結合するため、streptavidin を固定化したカラムにより単離出来る。また、後処理によって hybrid を解離させることで tRNA<sup>Phe</sup> のみを得ることが出来る。

## < 実験結果と考察 >

最初に、酵母 tRNA<sup>Phe</sup> 転写産物と YF3'biotin で hybridization を行い、その条件および最良のモル比を確認した。次に、大腸菌 tRNA 混合物と酵母 tRNA<sup>Phe</sup> 転写産物の混合物を用いて行い、YF3'biotin が酵母 tRNA<sup>Phe</sup> 転写産物とのみ選択的に hybrid 形成することを確認した。最後に、スケールを大きくして、ドライイーストより得た天然の tRNA 混合物中 tRNA<sup>Phe</sup> の単離を試みたが、後処理として尿素処理を行っても hybrid を解離出来ず、tRNA<sup>Phe</sup> を得ることはできなかった。

現在、より短い YF3'biotin primer を用いて hybridization を行い、どのようにして tRNA<sup>Phe</sup> をはずすか検討中である。

また、好熱菌 tRNA など、立体構造が安定で hybrid 形成しにくいことより固相プローブ精製を用いるのが難しいとされるものへの適用を考えている。

## 無細胞翻訳系によるヘテロサブユニット酵素合成の検討

応用生物化学分野

松本 啓介

緒言：tRNA の修飾は、tRNA 分子の立体構造の安定化、受容ステムへの適切なアミノ酸の結合、コドン・アンチコドン相互作用の強化などに関与している。tRNA 中で 79 種類以上の修飾が確認されており、酵母においては 25 種類の修飾が発見されている。これらの修飾を行う酵素の多くは、ホモサブユニットから成っている。しかし、酵母由来の tRNA ( $m^7G46$ ) methyltransferase は例外的にヘテロサブユニットタンパク質である。よって、我々はこのヘテロサブユニットの tRNA メチル化酵素に注目することにした。本酵素は Trm8, Trm82 という二つのタンパク質のヘテロ二量体から形成されている。この二種類のタンパク質をコムギ無細胞翻訳系によって共発現させ、ヘテロサブユニット酵素を合成し、活性の有無を検討した。

実験方法：まず、trm82 は His-Tag を付加させ、trm8 はそのまま、それぞれ無細胞系用汎用ベクター pEU3 に組み込み、ベクターを構築した。次に、透析合成法を用いて Trm8 と Trm82 を共発現させ、アフィニティカラムクロマトグラフィーにより精製した。透析後、本酵素を用いて、メチル基転移活性の有無を確認した。

結果・考察：バッチ合成を用いて  $^{14}C$ -Leu で標識合成された Trm8 と Trm82 は、電気泳動上、目的通りの大きさであった。また、Trm8 と Trm82 を共発現させた試料を、アフィニティカラムクロマトグラフィー精製し、電気泳動した結果、Trm8 と Trm82 両方のバンドが確認でき、ヘテロ二量体を形成していることが強く示唆された。さらに、メチル基転移活性があることも確認した。今後は、活性の経時変化を追跡し、さらに、TLC を用いて本当に tRNA が  $m^7G$  に修飾されているかを確認していきたい。最終的には、真核生物にしか発見されていない、Trm8 と Trm82 が生物進化の過程でどのように変化してきたのかを、アミノ酸配列や機能解析を行うことによって明らかにしていきたい。

# 真正細菌と古細菌の RNA 転写後修飾過程の比較に向けての高温培養系の確立

応用生物化学 岩下 知香子

## ・ 緒言

原核生物は、真正細菌と古細菌に分けられる。真正細菌の tRNA 前駆体にはイントロンが含まれていないが、古細菌のものには含まれている。イントロンは真核生物 tRNA 前駆体にも含まれており、タンパク質をコードしておらず、遺伝情報を持たないのに存在する不可解なものとしてきた。しかし、現在、イントロンは、修飾ガイド機能をもち RNA 修飾に関与する可能性があることが判ってきた。RNA 修飾では修飾酵素が RNA の特定部位に結合することが必要である。本研究では、イントロンの有無により修飾過程にどのような影響があり、また、どういう順序で RNA 修飾がおこるのかを調べたいと考えている。そのためには、生きた細胞を使って、成熟 RNA に至るまでの様々な段階にある tRNA を取り出すことが必要となる。そこでまず、真正細菌と古細菌の生きた細胞を得るため、本研究室における培養系を確立することに取り組んでいる。真正細菌、古細菌として、それぞれ高度好熱性真正細菌 *Thermus thermophilus* (至適温度 70 )、超好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* (至適温度 90 ) を使っている。

## ・ 方法

[*Aeropyrum pernix*] : 90 という高温培養であるため、東京薬科大の超好熱菌培養システムを借用した。マリンアート スーパーフォーミュラ SF1、Bact peptone、yeast extract を使用して 20L+10L の栄養培地を調製し、ジャーファーメンターを用いて 90 で培養した。

[*Thermus thermophilus*] : インキュベータでの高温培養を実現するため、メディウムビン、エアーポンプ等を用いて培養装置を組み立て、空気による冷却に対して培地の温度を一定に保てるように温度の調整をし、60~80 での培養を試みている。

## ・ 結果、考察

*Aeropyrum pernix* の培養では、培地 30L、96 時間の培養で約 3g の菌体量を得た。これは、文献値の 10 分の 1 の量である。温度に関しては、至適温度の 90 を保っており、酸素もよく供給されているので、問題点として栄養培地が考えられた。この栄養培地の組成に関して最適なものを調製していこうと思う。

また、*Thermus thermophilus* の培養では、温度一定のもとでの培養ができるようにしたいが、その温度調整に苦戦している。インキュベータを用いての培養装置において、エアーポンプを通じて送られる空気によって培地の温度が下がってしまうため、途中で設定温度を上げる必要がある。この温度調整で *Thermus thermophilus* の一定温度での培養ができ次第、その装置でさらに高温の 90 で *Aeropyrum pernix* を培養することにも着手する。

## RNA 修飾酵素 tRNA トランス・グリコシラーゼは DNA に作用するか？

車田光謙

緒言：RNA 中には基本となる四種のヌクレオシド (A、U、G、C) の他に、修飾ヌクレオシドが存在する。とりわけ tRNA 上には数多くの修飾ヌクレオシドが存在し、tRNA の立体構造の安定化や翻訳時におけるコドン認識等に作用している。修飾ヌクレオシドは、tRNA 上の塩基配列や立体構造を認識して作用する生合成酵素によって導入される。7-デアザグアノシン骨格を持つ修飾ヌクレオシドとして、tRNA のアンチコドン文字目に存在するキューオシンが知られている。キューオシンは、tRNA 上で塩基の交換反応によって導入される。この交換反応を触媒する酵素が tRNA トランス・グリコシラーゼ(TGT)である。

近年、Garcia らにより明らかにされた TGT の触媒メカニズムによると、TGT はリボースの 2'位を認識していない。すなわち、DNA にも作用する潜在活性を有しているのではないだろうか？もし、TGT が DNA 塩基の交換反応を触媒しうる場合、TGT が tRNA 遺伝子自身に作用し、その分子進化に影響を与えてきた可能性が考えられる。本研究では、TGT が DNA の塩基交換反応を触媒しうるかどうかを調べることを第一の目的とした。

### 実験方法：

- (1) *Aquifex aeolicus* TGT-pET30a 大腸菌発現系は、当研究室の當間によって作成されていたが、PCR クローニング時に 2 カ所変異が入っていた。そこでまず、ゲノムプロジェクトの報告した配列に基づき、部位特異的に変異を導入し、発現系を再構築した。
- (2) 上記発現系は、大腸菌にとってきわめて負荷の大きな発現系であり、イソプロピル 1-チオ-β-D-ガラクトシド(IPTG)による誘導で溶菌が起こった。そこで、添加する IPTG 量の最適化をはかった。
- (3) 上記発現系の細胞抽出液を加熱処理し、内在性の大腸菌 TGT を失活させ、上清溶液中のグアニン塩基交換活性を、<sup>14</sup>C-グアニンの tRNA<sup>Asp</sup> 転写産物への取り込みにより測定した。
- (4) (3)の結果、耐熱性 TGT 活性の発現を確認できたので、大量培養系から DE52 及び CM-Toyopearl カラムクロマトグラフィにより、TGT の精製を行った。

結果と考察：変異 2 カ所について、順次、部位特異的に変異導入し、目的とする *Aquifex aeolicus* TGT-pET30a 大腸菌発現系を構築した。本発現系に対して、IPTG を最終濃度 50 μM になるように加えると、溶菌することなく細胞を遠心操作で回収することができることが判った。リコンビナント TGT はグアニン塩基交換活性を有しており、電気泳動上でシングルバンドになるまで精製することができた。

今後はこの酵素が DNA に作用するかどうかを調べていきたい。

# tRNA(m<sup>7</sup>G46) methyltransferase の精製法の確立

—結晶化に向けて—

応用生物化学 富川 千恵

生命が地球上に誕生して、約40億年経過すると言われるが、この間に、生命体は、どのような栄枯盛衰をし続けてきたのであろうか。もし、生命の起源がある一つの種に集約していると仮定するのなら、どのようなきっかけで種の分岐が起こったのか。生命の進化を語る上で、生命活動の中心であるタンパク質にスポットがあたることは少なくない。我々は、生命進化のおこる前の化学進化の過程で獲得されたと考えられる、RNA修飾酵素に着目している。好熱性細菌の多くは、地球が高温であった頃の残存種であるかもしれない。なかでも、90℃を超える高温下で生息する、超高度好熱菌 *Aquifex aeolicus* は、最も初期に分岐した真正細菌で、生命維持に必要な最小クラスの遺伝子セットしか持っていない。本種のRNA修飾酵素の構造解析・生化学的解析を行なうことで、分子進化の基本原理の解明、あるいは、広義に渡り、生命そのものの意義について言及できるのではないかと考えている。

7-メチルグアノシン(m<sup>7</sup>G)は、tRNA、rRNA、さらに mRNA や snRNA の Cap 構造などにみられる、最も普遍的な修飾ヌクレオシドである。このうち、真正細菌、真核生物、古細菌に共通に存在する tRNA の m<sup>7</sup>G46 は、分子種・部位特異性の高い酵素、tRNA (m<sup>7</sup>G46) methyltransferase によって修飾される。また、m<sup>7</sup>G46 は tRNA 中で、三塩基対合(レビット塩基対)を形成し、L 字型立体構造の維持に重要である。従来、tRNA (m<sup>7</sup>G46) methyltransferase の基質認識メカニズムは不明であったが、2004 年、当研究室の岡本らにより、T アームとアンチコドンシステムの重要性が報告された。

しかしながら、活性中心および原子レベルでの触媒反応メカニズムは、未解明のままである。生物機能を理解するためには、それに関わる物質を直接見ることが非常に重要である。よって、我々は、tRNA (m<sup>7</sup>G46) methyltransferase の X 線結晶構造解析に着手した。これまでの精製方法では、結晶化に至るほどのタンパク質量を得ることができず、純度も低いといった問題があった。そこで、様々な精製方法・条件を検討し、プロトコルの最適化を行った。

## tRNA(m<sup>1</sup>G37) methyltransferase の二量体安定化機構

応用生物化学分野

豊岡 峻

### < 緒言 >

超好熱性細菌 *Aquifex aeolicus* は、95 °C という高温環境で生育する真正細菌である。近年のゲノムプロジェクトの進展により、*A. aeolicus* の全遺伝子配列が解読され、非寄生生物としては最小の遺伝子セットをもつため、生命に必須な遺伝子を絞り込む上で有力な情報源となることが期待されている。また、真正細菌の中で最も初期に分岐したと考えられ、進化の観点から非常に興味深い。

本菌は、tRNA (m<sup>1</sup>G37) methyltransferase 遺伝子 (trmD) を保持しており、本研究室の武田らによって、TrmD の大量発現系および精製法が確立されている。2003 年、海外のグループにより X 線結晶構造解析がなされ、TrmD は二量体を形成していることが報告された。我々は、この報告から、当該酵素のアミノ酸配列の 20 番目のシステイン (Cys) 残基同士がジスルフィド結合を形成しうること気づいた。この Cys 残基は、他の生物種由来 TrmD には保存されておらず、*A. aeolicus* TrmD に特異的である。我々は、このジスルフィド結合が、高温環境下で TrmD が機能するために必要なのではないかと推定した。本研究は、Cys 残基を中心に、その周辺のアミノ酸残基を標的としてキメラ酵素を作成し、高温下での野生型酵素の二量体構造安定化機構の追究を目的とする。

### < 実験方法および結果、考察 >

まず、野生型酵素がジスルフィド結合を形成しているかどうかを調べた。ジスルフィド結合を切断する作用を持つジチオスレイトールを加えることで、野生型酵素が二量体から単量体に移り変わっていく様子を電気泳動で示すことができた。

次に、野生型酵素をベースに以下の 3 つのキメラ酵素の作成に着手した。

*C20S* : アミノ酸配列の 20 番目の Cys を -OH 基を持つ Ser に変えた。

*E.coli* 型 : アミノ酸配列の 16 ~ 23 番目を *E.coli* の TrmD の配列に変えた。

*T.toga* 型 : アミノ酸配列の 16 ~ 23 番目を *T.toga* の TrmD の配列に変えた。

野生型酵素の精製法を用いて、この 3 つのキメラ酵素を精製することができた。

現在、野生型酵素とキメラ酵素の耐熱性に差が生じる条件や、高温下における酵素の構造変化の詳細について検討している。

## *Thermus thermophilus* 由来ポリアミンが高温環境下で RNA に及ぼす影響

応用生物化学 中本 知里

### ■ 目的

高温環境下で生育している生物の RNA はメチル化などの修飾を受けることによって、耐熱化されている。そして高温下で、より効率良く RNA 修飾が行われるためには、転写直後の未修飾 RNA の構造が安定化される必要がある。その安定化因子の一つとしてポリアミンが挙げられる。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* は、Caldopentamine や Caldohexamine の様に直鎖状のものや、アミノ基が4つ結合し分岐した状態の Tetrakis(3-aminopropyl)ammonium(Taa)など 16 種類の特異的なポリアミンを生産している。これまでに、Caldopentamine や Caldohexamine, Taa については調べたのであるが、残りのポリアミンについて、これらが RNA 修飾に高温環境下でどの様な影響を与えているのかを調べたい。

### ■ 実験方法

まず初めに、化学合成した2種類の好熱菌特有ポリアミン (Homospermidine, Thermine) と市販されている3種類のポリアミン (Putrescine, Spermidine, Spermine) について、tRNA の G18 を修飾する酵素である *Thermus thermophilus* tRNA(Gm18) methyltransferase (TrmH) のメチル基転移活性に対する影響を調べた。放射性標識された S-Adenosyl-L-Methionine (AdoMet) を用いて、tRNA へのメチル基転移活性を測定し、各ポリアミンの至適温度や至適濃度を調べた。

### ■ 結果・考察

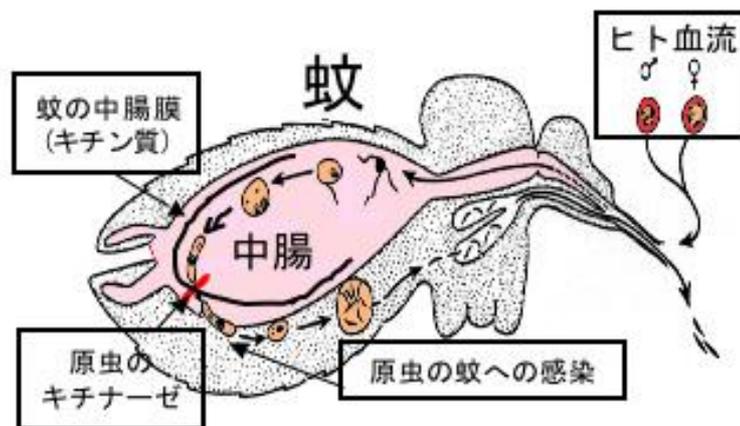
酵素活性を測定した結果、Putrescine などの短く直鎖状のポリアミンは比較的低温側で有効であり、Homospermidine, Thermine などの長鎖状のポリアミンは低温側でも有効であるが、高温側では他のポリアミンに比べより有効であることが判った。よって分子量が大きいもの(長鎖や分岐しているもの)ほど、より高温側で有効なのではないかと考えられる。この様に1種のポリアミンだけを用いても高温環境下で tRNA 修飾に大きく関与していると言えるであろう。おそらく生体内でポリアミンは混合物として作用すると考えられる。今後は *Thermus thermophilus* を模擬したポリアミン混合液を用いて高温環境下でのメチル基転移活性に対する影響を調べていきたいと思う。そして更に、今は試験管内転写した酵母由来の tRNA<sup>Phe</sup> を使用しているので、*Thermus thermophilus* 由来の tRNA を調製し、ポリアミンと修飾塩基の相互作用についても調べていきたいと思う。

## コムギ胚芽無細胞系を用いた三日熱マラリア原虫キチナーゼの合成と精製

(応用生物化学) 久森大輔

【緒言】マラリアは年間約 5 億人が感染し死亡者は 300 万人にも及ぶと推定されている重要な寄生虫感染症である。マラリア原虫はハマダラカによってヒトからヒトへ媒介される。マラリア原虫のヒトから蚊への感染は、ヒト血流中の原虫が蚊に吸血された後、蚊中腸内でキチンに富む膜を通過することで成立する。この過程には原虫のキチン分解酵素キチナーゼが関与し、この活性を阻害することで原虫の蚊への感染を阻止できることが知られている。したがって、マラリア原虫のキチナーゼは原虫の生活環を媒介蚊内で断つ伝搬阻止ワクチンや伝搬阻止薬の有望な標的分子と考えられている。しかし、詳細な解析に必要な量のキチナーゼタンパク質を原虫から抽出することは困難である。特に温帯地域にまで広く分布している三日熱マラリア原虫のキチナーゼは、遺伝子の存在は知られていたが、組換えタンパク質の発現には既存の系で成功していない。そこで我々は、コムギ胚芽無細胞系を用いて三日熱マラリア原虫キチナーゼの合成及び精製を試みた。

【実験方法】C 末端にヒスチジンタグを付加した三日熱マラリア原虫キチナーゼ遺伝子をコムギ胚芽無細胞系発現ベクターに組み込み、コムギ胚芽無細胞系を用いて組換えタンパク質の合成を行った。そして、Ni-NTA カラムを用いてアフィニティ精製を行った。また、キチナーゼ活性は蛍光基質を用いて測定した。

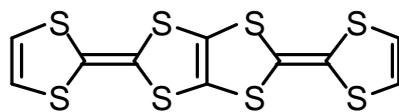


【結果】組換えタンパク質合成反応産物を SDS-PAGE により解析したところ、予想されたサイズの分子量 60kDa 付近に可溶性の組換えタンパク質の発現を確認できた。次にアフィニティ精製を行ったところ、200 mM イミダゾール溶出画分に組換えタンパク質が溶出され、この画分に量依存的にキチナーゼ活性が認められた。一方、同様に合成した陰性コントロールの原虫表面タンパク質 Pvs25 にはキチナーゼ活性は認められなかった。さらに、アフィニティカラムからの溶出条件を検討することにより、80kDa 付近に混在するコムギ胚芽由来の内在タンパク質を除去することができた。

# 拡張型テトラチアフルバレン型ドナーの合成と性質

(構造有機化学) 藤岡 純, 久保高志

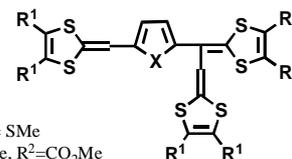
【序】 二分子の TTF が融合した TTP は、低温まで金属的な塩を与える事が明らかとなっている。このような TTP を一次元に拡張した高次 TTP 分子系は分子性金属の伝導成分、更には分子ナノワイヤーとして有望であると期待される。今回、その前駆体となる化合物の合成法を改善し、それを用いて新規な拡張型 TTP ドナー (1~6) の合成を行なったので報告する。



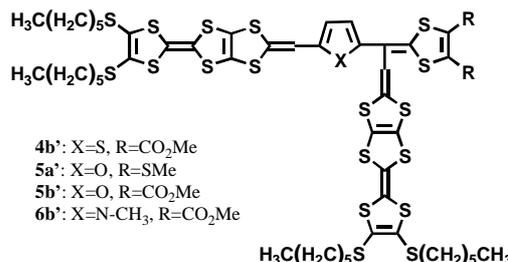
TTP

【結果と考察】 拡張型ドナー 1~6 は、ジアルデヒド 7 (X=S, O, N-CH<sub>3</sub>) を 8, 9, 10 に対してそれぞれ THF 中、BuLi 存在下 -70 °C で反応させることで得られた。

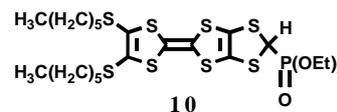
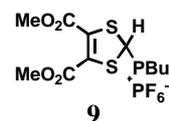
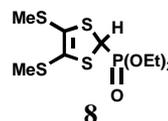
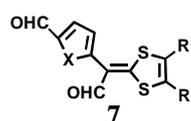
分子軌道計算 (PM 3) により拡張型ドナー 1 の最適化構造を求めたところ、ジチオール環が拡張 TTF ユニットに対して直交していることがわかった。HOMO は主に拡張 TTF ユニットの部分に分布し、一方、HOMO-1 は主にジチオール環の部分に分布している。1a についての電気化学的性質をサイクリックボルタンメトリー法を用いて調べたところ、3 つの一電子移動過程が観測された。1a の分子軌道計算でジチオール環が立っていたことを考慮すると、最初の 2 電子酸化は主にチオフェン拡張 TTF ユニットで起こり、続いてジチオール環で酸化されると考えられる。また、2~6 の分子軌道計算と電気化学的性質についても調べたので併せて報告する。



- 1a: X=S, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=SMe
- 1b: X=S, R<sup>1</sup>=SMe, R<sup>2</sup>=CO<sub>2</sub>Me
- 1c: X=S, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=CO<sub>2</sub>Me
- 2a: X=O, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=SMe
- 2c: X=O, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=CO<sub>2</sub>Me
- 3b: X=N-CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>=SMe, R<sup>2</sup>=CO<sub>2</sub>Me



- 4b': X=S, R=CO<sub>2</sub>Me
- 5a': X=O, R=SMe
- 5b': X=O, R=CO<sub>2</sub>Me
- 6b': X=N-CH<sub>3</sub>, R=CO<sub>2</sub>Me



QuickTimey C2  
TIFFAia\*4K\*CuA1 8LLEVEcEOEAEA  
C™CzCAEsENE EEC%a@CEC2C%...ÇOKvÇ-C-AB

Fig. 1 PM3-optimised conformations calculated for 1.

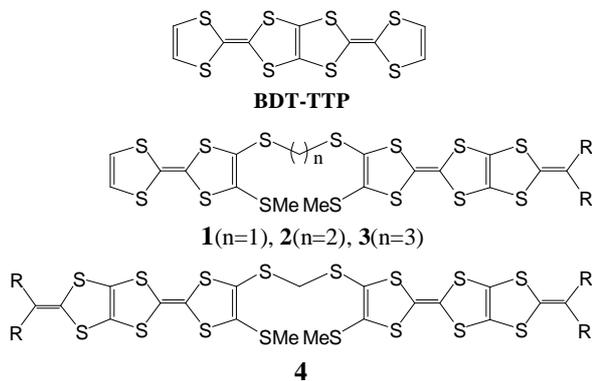
QuickTimey C2  
TIFFAia\*4K\*CuA1 8LLEVEcEOEAEA  
C™CzCAEsENE EEC%a@CEC2C%...ÇOKvÇ-C-AB

Fig. 2 Electronic density contours calculated for the HOMO of 1.

# 新規なテトラチアフルバレンダイマーの合成と性質

(構造有機化学) 山田智彦・棚橋徹彦

**【序】** BDT-TTP のダイマーは、結晶構造を形成する際に平面構造のみならず様々な形をとるため、分子内相互作用による新しい電子構造を持つ物質の発見が期待される。当研究室では、これまでに TTF と BDT-TTP をアルキルジチオ鎖で架橋した非対称ダイマーの酸化還元挙動ならびに電子状態について検討を行ってきた。しかしながら TTP 骨格を含むダイマーは、溶解度が低く、ラジカルカチオン塩の作製が困難であった。そこで今回、溶解度の向上のために BDT-TTP より 骨格を縮小した DT-TTF 骨格を含む対称ならびに、非対称ダイマー(1-4)の合成を行い、それらの性質について検討したので報告する。

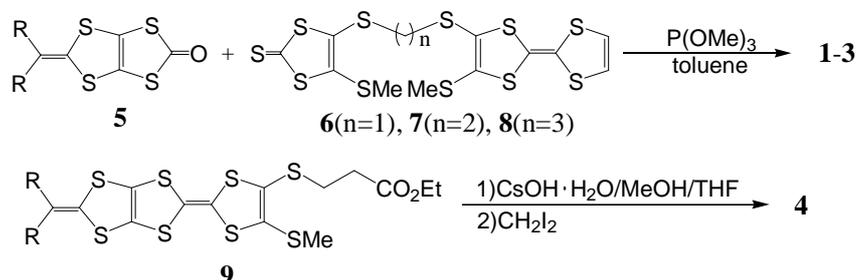


a, R=Me  
b, RR=(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>

## 【結果と考察】

1-3 は下の Scheme のように 5 と 6-8 をトルエン中で P(OMe)<sub>3</sub> を用いてクロスカップリング反応させることにより 20-44% の収率で得られた。一方、4 はチオレート保護基の付いた DT-TTF(9) を THF、水酸化セシウム-水和物により脱保護した後、ジヨードメタンと反応させることにより 89-91% の収率で得られた。

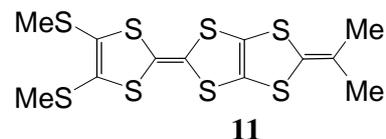
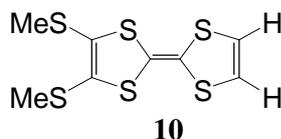
### Scheme



次に合成した 1 並びに 4 の電気化学的性質をベンゾニトリル中、サイクリックボルタンメトリーにより検討した結果を Table に示した。いずれも 4 対の酸化還元波を示し、各段階のピーク電流値ならびに対応するモノマー(10, 11)の酸化還元電位との比較から 1 の第三段階目は二電子移動過程、残りは一電子移動過程に対応するものと考えられる。一方、4 については最初の二段階が一電子移動過程で、残りは二電子移動過程に対応すると考えられる。

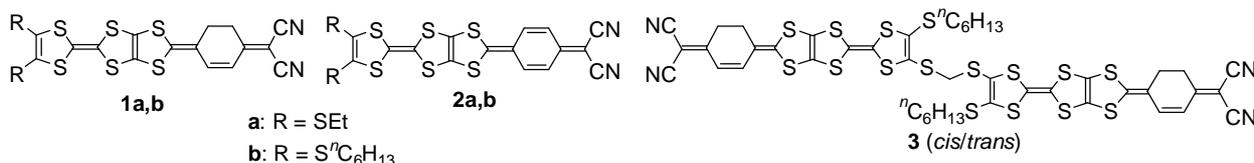
Table. Redox Potentials of 1, 4 in benzonitrile (V vs. Fc/Fc<sup>+</sup>)

Donor	$E_1$	$E_2$	$E_3$	$E_4$	$E_5$	$E_6$
<b>1a</b>	-0.01	0.06	0.44		1.03	—
<b>4a</b>	0.00	0.07	0.45		1.02	—
<b>10</b>	-0.01	0.36	—	—	—	—
<b>11</b>	0.03	0.30	0.98	—	—	—



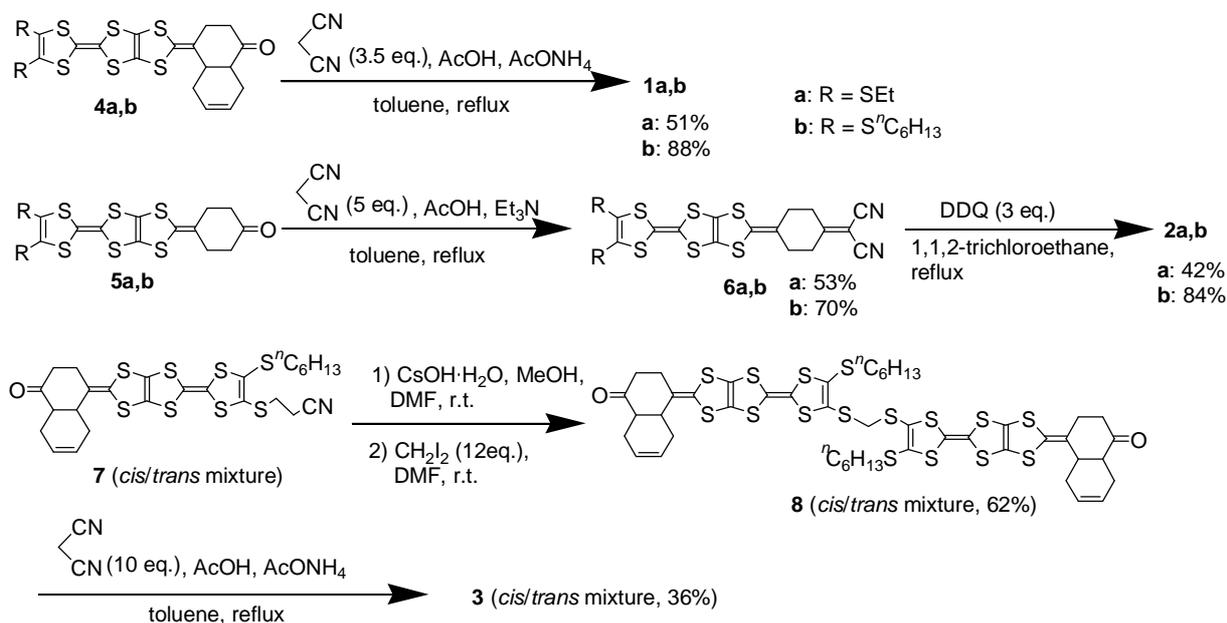
テトラチアフルバレン骨格を有する新規ドナー・アクセプター分子系の合成と性質  
(構造有機化学) 松本智嗣

テトラチアフルバレン(TTF)誘導体は多くの導電性錯体を与えることが知られている。我々はアクセプターを加える代わりに TTF にアクセプター部位を導入した TTF 誘導体を単一成分有機導体の候補として考え、研究を行っている。導電性には TTF 部位間の軌道の重なりが重要である。当研究室ではすでに 1,3-ジチオール-2-イリデンが縮合した TTF (DT-TTF) 誘導体を合成し、それらを用いた導電性錯体が多次元結晶構造を有していることを見出している。本発表ではアクセプター部位としてジシアノメチレン基を導入した DT-TTF 誘導体 **1, 2** を合成し、性質を検討した。またこのような分子をユニットとしてアルキル鎖で結合したオリゴマーは、ユニットの配列により導電性を示す分子ナノワイヤーとしても興味深いことから、そのプロトタイプとして DT-TTF 二量体 **3** の合成および性質の検討を行った。



**1-3** は下記の Scheme に従って合成した。**1b, 2b, 3** の電子スペクトルにおいて最長波長吸収ピークはそれぞれ 560, 691, 556 nm (in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)に観測された。**1b** と **3** は吸収波長がほぼ同じことから TTF ユニット間の相互作用は見られなかった。さらに **1b, 2b** および **3** の酸化還元電位を CV 法を用いて測定したところ、**1b, 3** は DT-TTF の酸化に相当する三対の酸化還元電位を、**2b** は TTF の酸化に相当する二対の酸化還元電位とジシアノメチレン基の還元に対応する一対の酸化還元電位を示した。酸化還元電位は以下の通りである。**1b**: 0.16, 0.47, 1.05 V (vs. Fc/Fc<sup>+</sup>, in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), **2b**: -1.06, 0.26, 0.51 V, **3**: 0.18, 0.52, 1.09 V。**2b** がジシアノメチレン基の還元に対応する酸化還元電位を示したのは、キノイド構造を持っていることにより第一還元状態が安定化しているためと考えられる。また **3** は **1b** と比べての第一酸化還元電位がブロード化しており、酸化状態において 2 つの DT-TTF ユニット間にある程度相互作用があることが示唆される。**1a** について X 線結晶構造解析を行ったところ、TTF 部位をアクセプター部が囲んだ構造を持っており、伝導パスが形成されていないことが分かった。

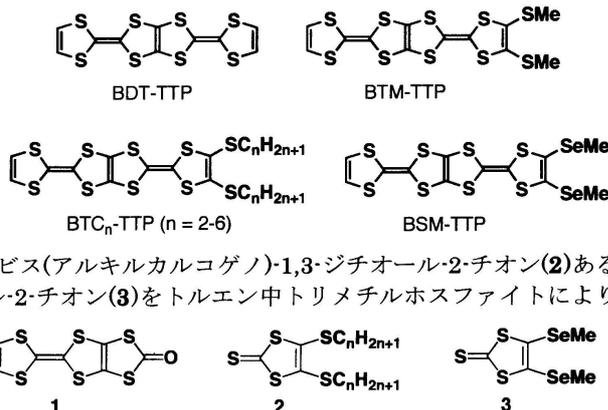
Scheme



## アルキルカルコゲノ基を有するテトラチアペンタレン系導体の構造と物性

(構造有機化学) ○辻 裕也, 宮本久一, 御崎洋二

【序】我々はこれまでに、二分子の TTF が融合した BDT-TTP とその誘導体が低温まで金属的な挙動を示す分子性金属を与えることを報告してきた。無置換の BDT-TTP は対イオンの大きさや形状に関係なく  $\beta$  型の分子配列を示す傾向があるが、適当な置換基の導入により他の分子配列が現れることから、TTP 系導体の分子配列に対する置換基効果を系統的に調べることは、有機導体の分子配列制御を目指す上で興味深い。最近メチルチオ基が置換したビス(メチルチオ)-TTP(BTM-TTP)がユニフォームに積層した  $\beta$  型配列を有する金属あるいは  $\theta$  型分子配列を有する半導体を与えることを見出している[1]。今回、ビス(アルキルカルコゲノ)基をもつ一連の TTP 誘導体ならびにビス(セレンメチル)-TTP (BSM-TTP)を合成し、それらをドナーとして用いた分子性導体の構造と物性について検討したので報告する。



【結果と考察】新規ドナーはいずれも TTF が融合した 1,3-ジチオール-2-オン(1)と 4,5-ビス(アルキルカルコゲノ)-1,3-ジチオール-2-チオン(2)あるいは 4,5-ビス(メチルセレン)-1,3-ジチオール-2-チオン(3)をトルエン中トリメチルホスファイトによりクロスカップリングさせることにより 31-39%の収率で得られた。伝導性錯体の単結晶はクロロベンゼン中電解法により得られた。

(BTC<sub>n</sub>-TTP)I<sub>3</sub>(n = 4, 5): ドナーとアニオンの組成比はいずれも 1 : 1 であった。Figure 1 に分子長軸方向から眺めた(BTC<sub>4</sub>-TTP)I<sub>3</sub>の結晶構造を示す。(BTC<sub>5</sub>-TTP)I<sub>3</sub>もほぼ同じ分子配列を有している。これらの物質では、二量化したドナー分子平面の真上にアニオンが存在するといった DDADDA 型の交互積層構造を形成している。また、ドナー分子から成るダイマーの side-by-side 方向には I<sub>3</sub><sup>-</sup>アニオンが存在するため、この方向の伝導パスは存在しない。従って、伝導パスは a, c 方向に形成している 2 本の擬カラム方向に存在すると思われる。これらの塩は室温において、10<sup>-4</sup>—10<sup>-3</sup> Scm<sup>-1</sup>の伝導性を示し、活性化エネルギーは 0.18-0.23 eV と大きな値を示した。

(BSM-TTP)<sub>2</sub>SbF<sub>6</sub><sup>-</sup>: ドナーとアニオンの組成比は 2 : 1 であり、ドナー分子は一般位置、アニオンは対称心上にある。Figure 2 に示すように BSM-TTP 分子は擬カラム構造を有する  $\beta$  型配列をとっている。硫黄類縁体である BTM-TTP は SbF<sub>6</sub><sup>-</sup>アニオンとの間に  $\beta$  型および  $\theta$  型構造を有する 2 種の 2:1 塩を与えることが明らかとなっており、分子配列に対するセレン原子の効果について今後検討していく必要がある。この塩は室温において、60 Scm<sup>-1</sup>の伝導性を示し、4.2 K まで金属的な温度依存性を示した。バンド計算によるとこの塩は二次元的な閉じたフェルミ面を有することが示唆された。

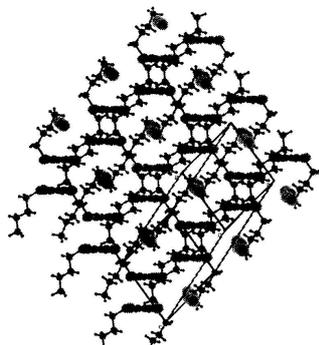


Figure 1. Crystal structure of (BTC<sub>4</sub>-TTP)I<sub>3</sub> viewed along the donor long axis.

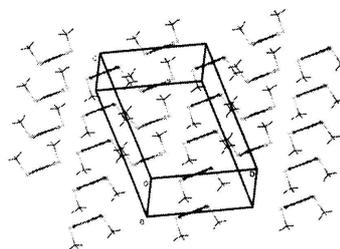


Figure 2. Donor array of (BSM-TTP)<sub>2</sub>SbF<sub>6</sub><sup>-</sup> viewed along the donor long axis.

【緒言】生体内で様々な働きをするタンパク質は、DNA から転写された mRNA をリボソーム内で翻訳することで合成される。mRNA がリボソーム内で翻訳される時、mRNA のコドンとよばれる三塩基が、対応する tRNA の三塩基(アンチコドン)に読み取られ、アミノ酸がつながっていく。コドン - アンチコドン間の認識では通常、Watson-Crick 型の塩基対ができるが、コドン三字目とアンチコドン一字目との塩基対としては Watson-Crick 型塩基対以外にゆらぎ型塩基対も可能である。本研究では、この部位でのアンチコドン一字目のウリジン誘導体とコドン三字目のグアノシンが塩基対合する場合、ウリジン誘導体の種類によって、水素結合様式の異なる 2 種の塩基対が可能と考えた。この仮説を検証するため、グアノシンの 2 位のアミノ基および 6 位の O 原子が、塩基対に必要なか調べる。

【実験及び結果】図 1 のグアノシン誘導体を mRNA の一箇所のみ含み、その他の部分には含まない mRNA を調製し、翻訳することでコドン - アンチコドンの認識を調べることを計画した。翻訳に必要な開始コドンを含む前半の RNA と特定部位のみにグアノシン誘導体を含みその他の部位にはグアノシンが含まれない後半の RNA との二つをそれぞれ転写により合成した。得られた 2 つの RNA を連結して mRNA を作り、大腸菌の無細胞タンパク質合成系で翻訳を試みた。

まず始めにイノシンを用いて実験を行った結果、イノシンを mRNA に特異的に導入することはできたが、翻訳はされなかった。原因を検討した結果、mRNA の配列及び連結に用いた酵素に問題があることがわかった。mRNA の配列については、翻訳されることが確認されている他の配列を組み込むことで解決した。現在は連結の方法と条件を検討している。また、キサントシンや 6-チオグアノシンといった他のグアノシン誘導体についても同様の実験を進めている。

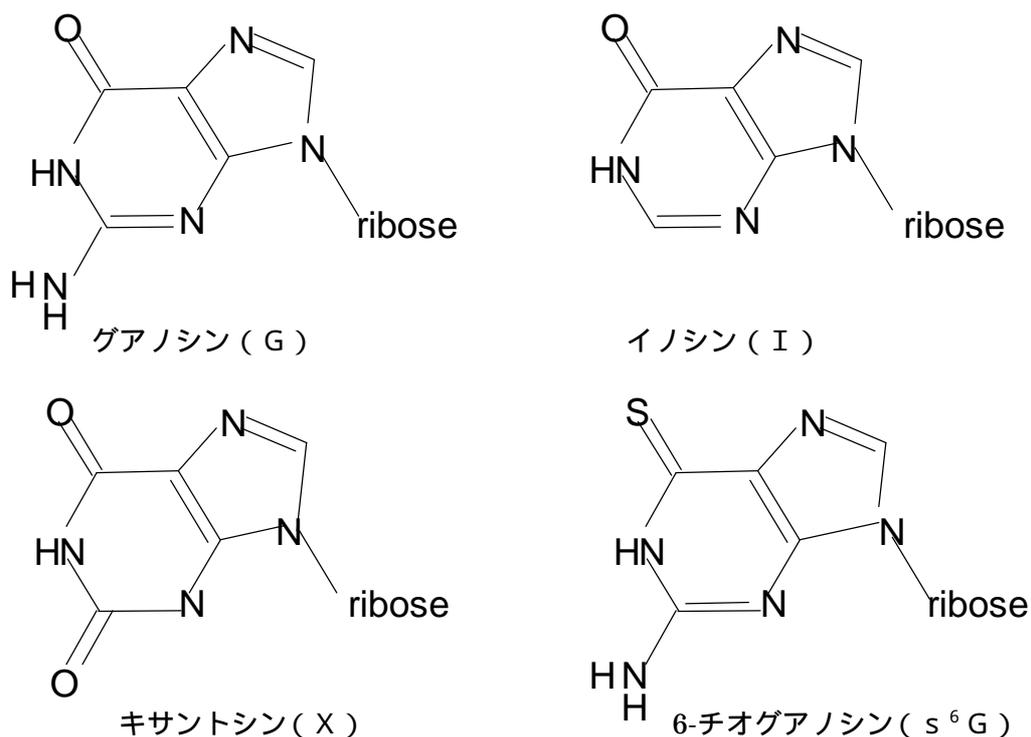


図 1 : グアノシンとグアノシン誘導体

## tRNA 分子中の修飾ウリジンのプロトン解離

(無細胞生命科学分野)

武智 正洋

〔緒言〕tRNA は mRNA 中の遺伝情報を解読する機能を持つ。その際、tRNA のアンチコドン 1 字目は、mRNA のコドン 3 字目と塩基対合する。これは、一般にアンチコドンが  $U^*(34)^{(\text{注})}$  の時、 $A(\quad)$  の他に  $G(\quad)$  とともに塩基対合すると考えられるが、これは tRNA の  $U^*(34)$  が修飾されていることに依存する。5-メチルウリジン誘導体 ( $xm^5U^*$ ) のうち、5-アミノメチルウリジン誘導体 ( $xnm^5U^*$ ) は原核生物の tRNA に見られ、 $G(\quad)$  と塩基対合するが、5-カルボニルメチルウリジン誘導体 ( $xcm^5U^*$ ) は真核生物に見られ、 $G(\quad)$  と塩基対合しない。 $xm^5U^*$  は多くの場合、その 2 位の酸素原子が硫黄に置換されている ( $xnm^5s^2U^*$ ) が、コドン選択性は 2-チオ化の有無にはあまり関係ない。ここで、このコドン選択性の違いは、' $xnm^5U^*$  が生理的条件下で部分的に図 1 のようにプロトン解離しており、 $xcm^5U^*$  ではプロトン解離が起きない' と考えると説明出来る。しかし、そのことを示す直接的な証拠はない。そこで、tRNA 中の  $xnm^5s^2U^*$ 、 $xcm^5s^2U^*$  の  $pK_a$  を測ることが重要だと考えた。

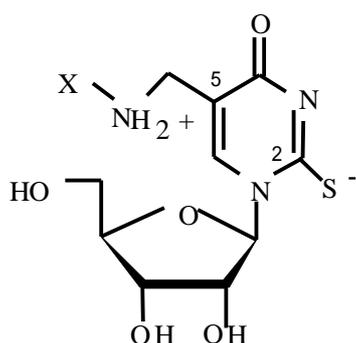


図1. プロトン解離した原核生物型修飾ウリジン  
( $xnm^5s^2U$ )

$xnm^5s^2U$  をもつ大腸菌 tRNA はヨウ素と反応することが知られている。この反応の速度は、硫黄原子上の電荷に依存することが期待できる。色々な pH でヨウ素と混ぜ、各 pH における反応進行度を測定することによって、 $pK_a$  を求めることが可能であると考えられる。その反応進行度の分析法として、現段階では次の 2 つの方法を計画している。第一に、反応産物はアミノ酸受容活性を失うと期待されるので、アミノアシル

tRNA 合成酵素によりどれだけアミノアシル化されるかを測定する方法が考えられる。第二に、反応産物は電気泳動における移動度が未反応物と異なると考えられるので、ノーザンプロット法により定量する方法が考えられる。現在までに、大腸菌から約 60mg の tRNA 混合物を調製出来たので、これを用いてヨウ素との反応を試みている。また、コムギ、酵母、ヒトの tRNA で同様に  $pK_a$  を測定することも検討している。

注) \*で、誘導体も含むことを示す。また、ヌクレオシド記号の直後の括弧の中に、ヌクレオシドの位置 (アンチコドン 1 字目では '34', コドン 3 字目では ' ') を示す。

# 活性汚泥の中空系精密濾過特性に及ぼす懸濁固形物及び溶存固形物の影響

(化学工学) 谷本寿子・川崎健二・松田晃

## 1. 緒言

膜分離を用いた排水処理システムは水中に含まれる微粒子・細菌等の非溶解性物質及び高分子量の溶解性物質を高度に分離でき、消費エネルギーが小さい等の利点があるので、今後の利用と拡大が期待されている。その一つとして浸漬型膜分離活性汚泥法がある。この方法は、高い汚泥濃度での処理が可能で、装置をコンパクトにできる。また、汚泥の沈降性に左右されずに非常に良好な処理水が得られる等の利点がある。しかしながら濾過の経過に伴い、膜の細孔が目詰まりを起したり、膜の表面上に汚泥が付着して、膜の透過性能が低下するという問題点がある。

本研究では膜分離の基礎的な知見を得ることを目的とし、実際に水処理に用いられる中空系精密濾過膜を用いて活性汚泥及び遠心分離液、ガラス繊維濾液での定圧濾過実験を行い、結果から懸濁固形物及び溶存固形物が中空系精密濾過特性に及ぼす影響について検討した。

## 2. 実験

**2.1 実験試料** 活性汚泥(松山市下水道中央浄化センターの返送汚泥を冷蔵庫内に一晩静置し上澄みを除いて調整したもの)、遠心分離液(活性汚泥を遠心加速度 1600g で遠心分離して得た上澄み液)、及びガラス繊維濾液(遠心分離液をガラス繊維濾紙(公称孔径 0.6 μm)を用いて濾過した濾液)の三つの試料を用いた。

Table1 に三つの試料の懸濁固形物濃度及び溶存固形物濃度を示す。懸濁固形物(SS)はガラス繊維濾紙に残る固形物と定義し、溶存固形物(DS)はガラス繊維濾紙を通る固形物と定義している。

Table1 試料の性状

	懸濁固形物濃度 [mg/L]	溶存固形物濃度 [mg/L]
活性汚泥	8950	390
遠心分離液	43	
ガラス繊維濾液	0	

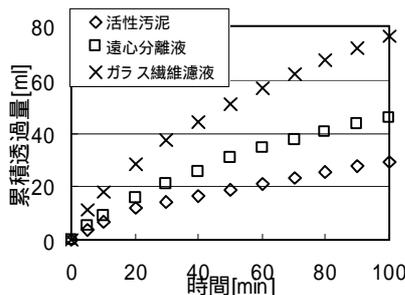


Fig.2 累積透過量の経時変化

**2.2 実験方法** ポリエチレン製、公称孔径 0.1 μm、長さ 20cm の中空系精密濾過膜 5 本を U 字型に束ねて作製した膜モジュールを使用した。この膜モジュールを Fig.1 に示すように装置に取り付け、30 一定のもと濾過圧力 34.7 kPa で吸引濾過し、100 分間定圧濾過実験を行い、濾液量の経時変化(透過流束  $J_v$ )を測定した。

## 3. 結果と考察

Fig.2 にそれぞれの試料の累積透過量の経時変化を示す。SS 濃度が増えるにつれて透過量が少なくなっていることから SS が中空系精密濾過に及ぼす影響が大きいことが分かった。結果から定圧濾過実験で膜面上に形成したケーキによる濾過抵抗  $R_c$  を求めた。

膜を透過する時、透過流束  $J_v$  [m/s] は濾過圧力  $P$  [Pa] に比例することから、濾過抵抗  $R$  [1/m] との間に  $R = \Delta P / \mu \cdot J_v$  の関係が成り立つ。ここで  $\mu$  は試料の粘度 [Pa·s] である。活性汚泥には SS と DS が含まれるが、さらに SS は遠心分離で取り除くことができる固形物 ( $SS_a$ )、遠心分離後残存する固形物 ( $SS_b$ ) の二種類に分けられる。膜面上に堆積したケーキを構成する固形物を上記の固形物で示すと、活性汚泥は  $SS_a + SS_b + DS$ 、遠心分離液は  $SS_b + DS$ 、ガラス繊維濾液は  $DS$  となる。以上から求めた活性汚泥中の各種の固形物が濾過抵抗に占める割合を Fig.3 に示す。活性汚泥中の各固形物が濾過抵抗に及ぼす割合は  $DS : (SS_a + SS_b)$  は約 1 : 2 となった。すなわち濾過抵抗に  $DS$  も大きく影響することが分かる。

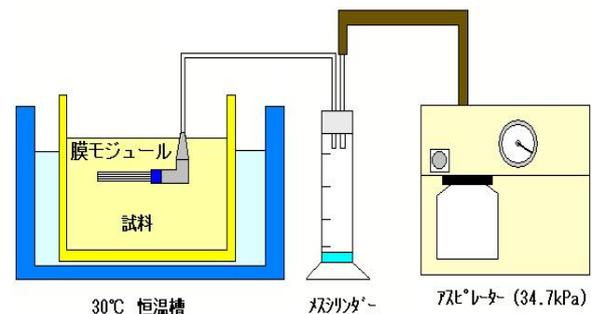


Fig.1 実験装置図

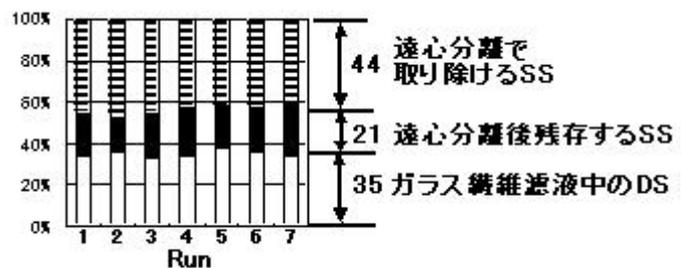


Fig.3 各種固形物の濾過抵抗に占める割合

# 吸収冷凍機の再生器、吸収器の性能向上に関する研究

(化学工学) 兵頭善章・川崎健二・松田 晃

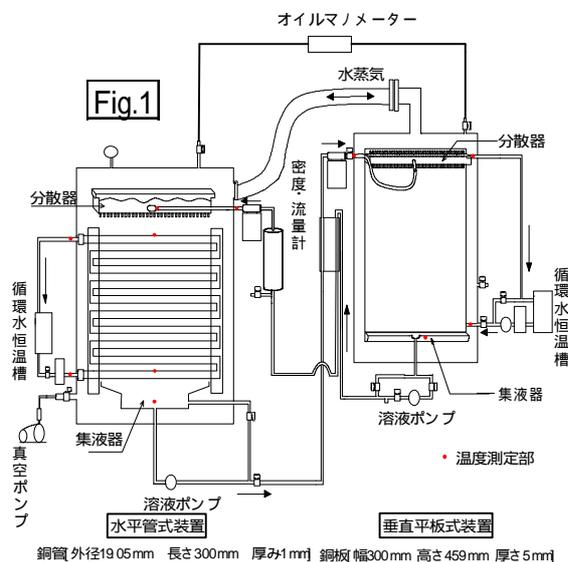
**1.緒言** 現在一般に普及している圧縮冷凍機は、フロンガスを圧縮機で圧縮して液化し、この液体フロンを低圧で蒸発させるときの蒸発潜熱を冷熱として利用する方法である。このときの駆動源は電気であることから、夏の昼間の電力消費量の増大や使用したフロンによるオゾン層の破壊などの問題がある。一方、吸収冷凍機は水やアンモニアなどの自然冷媒を使用するので環境への影響が少ない。加えて動力源として都市ガス・石油・蒸気の熱を利用するので圧縮冷凍機と比べ電力の消費を大きく抑えることができる。

吸収冷凍機は主に蒸発器、吸収器、再生器、凝縮器の4つから構成されていて、二重効用の場合、再生器は高温再生器と低温再生器の2つからなる。水平管式装置は吸収器として広く用いられており、低温再生器としても使用されることがある。また垂直平板式装置は熱・物質移動特性が優れており、単位体積あたりの表面積を大きくできる利点も有している。私共の研究室ではこの2つの装置を用いて水/LiBr系の吸収・再生実験を行ってきた。本研究では再生器の加熱水温度、吸収器の冷却水温度の再生・吸収性能に及ぼす影響について調べ、また実機の吸収器の性能向上のためにLiBr水溶液に加えられている界面活性剤濃度の影響についても検討する。

**2.実験** 実験装置を Fig.1 に示す。サンドブラストして表面の濡れ性を高めた銅板からなる垂直平板式装置を再生器に、平滑な10本の銅管からなる水平管式装置を吸収器に用いている。減圧した装置内でLiBr水溶液を循環させ、再生器で濃縮したLiBr水溶液を吸収器に送り、再生器で発生した水蒸気を吸収させる循環式で実験する。定常状態に達した後再生器、吸収器の入口・出口でのLiBr水溶液の濃度、温度、流量と、加熱・冷却水の入口・出口での温度、流量及び系内圧力を測定する。実験は再生器/吸収器に流す加熱水/冷却水の温度を47/21、53/27、59/33に設定し、界面活性剤(1-Octanol)濃度を0、500、1000、5000ppmで行う。

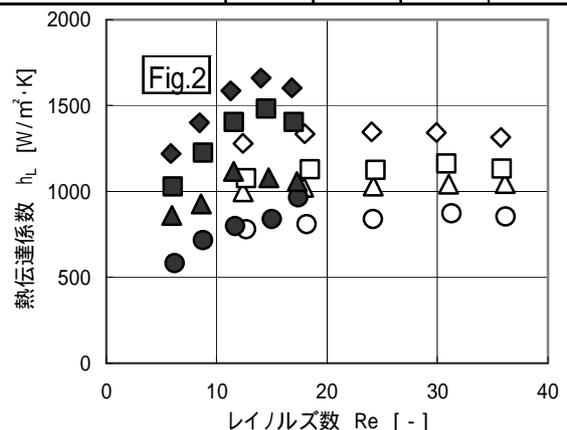
**3.結果および考察** Fig.2 に垂直平板式装置(再生器)および水平管式装置(吸収器)におけるLiBr水溶液の流下液膜熱伝達係数  $h_L$  [ $W/m^2 \cdot K$ ] とレイノルズ数  $Re$  [-] の関係を示す。垂直平板(再生)の場合、表面張力により液膜は均一になるので壁面が一様に濡れ、そのため  $h_L$  は流量に関係なくほぼ一定の値をとる。界面活性剤濃度が高いほど  $h_L$  は大きくなっている。観察によって添加濃度が高いほど液がさざ波のように細かく波打つことから、液膜がよく攪拌されていると推測される。水平管(吸収)の場合、低流量では分散器での液の分配が十分でなく、流量が大きくなると水平管全体に均一に分散されるようになり吸収面積が増えるため  $h_L$  は増加すると思われる。界面活性剤の添加濃度が高いほど液表面での表面張力差が小さくなり、液膜が切れにくくなって水平管が濡れやすくなる。また吸収では液膜表面での表面張力の違いにより、液膜内で混合が生じ、熱・物質が移動しやすくなると考えられる。

このことから水平管と垂直平板を比べると界面活性剤の影響は水平管のほうが大きいことがわかる。なお両装置とも循環水温度の影響はあまりなかった。



銅管 外径19.05mm 長さ300mm 厚み1mm 銅板 幅300mm 高さ459mm 厚さ5mm

界面活性剤濃度 [ppm]	0	500	1000	5000
垂直平板 (再生器 59)			?	
水平管 (吸収器 33)				



# 超音波照射を利用した凍結濃縮分離に及ぼす凍結速度及び凍結管内径の影響

(化学工学) 伏田祥吾・川崎健二・松田 晃

## 1. 緒言

溶質や懸濁固形物を含んだ水を端から凍結すると凍結部に純粋な氷が成長し、溶質などは未凍結部に押し出され、濃縮、分離することができる。この原理を利用したのが本研究で行っている凍結濃縮分離法であり(Fig.1参照)、以下のようなメリットがある。

- ・溶質成分が変質しにくい

低温で操作され、しかも気液界面を少なくできるため、微生物汚染、溶質の劣化、揮発芳香成分の散逸を極めて低いレベルに抑えられる。

- ・加熱濃縮分離法に比べてエネルギー的に有利

蒸発熱:  $2257\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}$  凝固熱:  $334\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}$

溶液を凍結する際、凍結速度が速いとそのままでは十分濃縮分離できない。凍結界面付近を激しく乱してやると凍結界面は滑らかなまま成長し、溶質が液全体に拡散され、凍結界面付近の濃度を比較的低位に保つことが出来る。したがって、凍結界面に溶質を取り込み難くさせることができ、溶質を濃縮分離出来ることが知られている。

凍結界面を乱す方法として超音波照射法を用いると、超音波を照射するときに振動子を液に浸すだけで簡単に凍結界面付近の液を激しく攪拌でき、凍結濃縮分離法の適用範囲を大きく広げることが出来ると考えられる。本研究では照射距離一定型装置を用い凍結速度・凍結管内径を変化させた場合の濃縮分離特性の変化について調べ、その結果を報告する。

## 2. 実験方法

実験装置図をFig.2に示す。試料は約0.03mol/Lのフェニルアラニン溶液(0.03mol/L)を使用した。内径の違う二種類のステンレス製凍結管(内径 30,55mm)に試料をそれぞれ 150,500mL 入れ、超音波(20kHz)を照射しながら冷媒中(-16.5℃)に降下し、凍結速度80mm/hで凍結した。所定時間後に冷媒から取り出した試料は凍結部と未凍結部に分離し、それぞれの濃度と体積を測定した。凍結部は6~8分割して測定し、高さ方向の濃度分布を調べた。

## 3. 結果・考察

凍結管内径差による濃縮分離効率の違いを調べた結果を Fig.3に示す。分配係数は凍結部の濃度とそれに対応する未凍結部の濃度の比であり、小さいほど良く濃縮分離されていることを示す。また、凍結距離は凍結部の底面を0として上方向にとった距離

である。

未照射では凍結管内径によらずほぼ1を示しほとんど濃縮分離されないが、超音波を照射すると凍結管内径が小さい方が分配係数が全体的に低い値をとることが分かる。これは凍結管内径を小さくすることで超音波照射により凍結管の内径方向全体を均一に攪拌することができるからである。

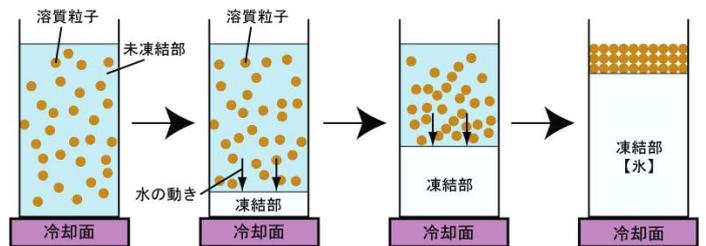


Fig.1 凍結濃縮分離の様子

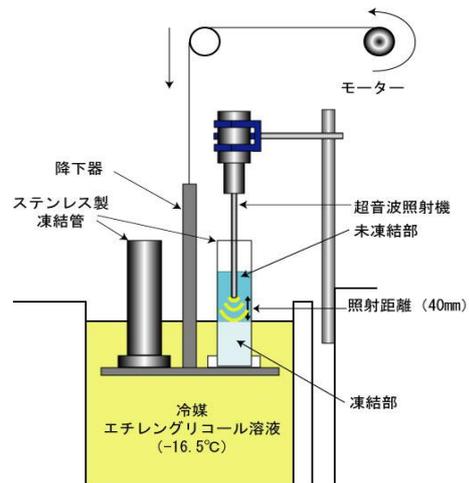


Fig.2 実験装置図

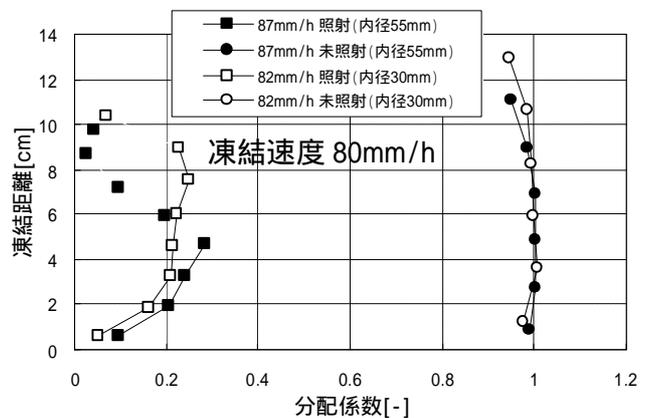


Fig.3 分配係数に及ぼす凍結管内径の影響

# 膜分離を用いた活性汚泥法の効率的な処理方法の検討

化学工学 丸岡志登司・川崎健二・松田 晃

## 1. 緒言

現在、我が国では一般的な排水処理方式として活性汚泥法が用いられている。活性汚泥法は、懸濁固形物の物理化学的な除去をし、微生物（活性汚泥）による排水中有機物の分解を行い、その後、活性汚泥と処理水の分離を沈殿槽で重力沈降により行い、上澄み液を処理水として放流する処理法である。

これに対し、浸漬型膜分離活性汚泥法は、活性汚泥と処理水の分離を膜によって行うものである。分離膜を生物反応槽である曝気槽に直接浸漬して処理水を吸引濾過するため沈殿槽が不要となり、生物反応槽の微生物濃度を高く保てることから、装置のコンパクト化が可能となる。また、処理水質が汚泥の沈降性に左右されず固形物が完全に除去されることから、安定して清澄な処理水を得ることができる。

本法においては、槽内の微生物濃度(MLSS)が余り高くなると膜に汚泥が付着することにより吸引圧が上昇し、安定な操作が難しくなるので汚泥の引抜きが必要となる。ここで、引抜き後のMLSS濃度が低いほど、引抜きの間隔を長くでき、汚泥引抜きの手間とコストの削減ができる。よって本研究では、汚泥引抜き後の生物反応槽内汚泥濃度の違いによる処理特性について検討をした。

## 2. 実験

浸漬型膜分離活性汚泥法の装置図を Fig.1 に示す。処理実験では有効容量 20L の PVC 樹脂製円筒槽に中空系膜を浸漬した。膜モジュールは、長さ約 70cm の中空系を半分に曲げて U 字型にし、両端を同一集水部へと繋いだ構造となっている。グルコースとペプトンを基質とした合成排水を定量供給し、処理水は膜透過流束  $20\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$ 、6分吸引4分停止の間欠運転で吸引濾過して得た。槽内の活性汚泥は槽底部にあるディフューザからの曝気によりドラフトチューブ内を上昇し槽内を循環する。なお、この曝気は、活性汚泥微生物への酸素供給だけでなく、中空系膜への汚泥付着防止のための物理洗浄を兼ねている。本実験では、BOD 容積負荷  $0.5\text{kg BOD}/\text{m}^3\cdot\text{d}$  の条件で開始MLSS濃度を  $1350\text{mg}/\text{L}$ 、 $3000\text{mg}/\text{L}$ 、 $9300\text{mg}/\text{L}$  として実験を行った。

## 3. 結果と考察

MLSS と吸引圧の経日変化をそれぞれ Fig.2 と Fig.3 に示す。RUN1( )では、処理開始直後、MLSS濃度が低すぎたため、単位微生物量あたりに供給された基質量(F/M比)が  $0.37\text{kg BOD}/\text{kg MLSS}\cdot\text{d}$  と高くなった。このため有機物を十分に分解できず、残存有機物が膜の目詰まりの原因となり、安定な吸引が困難となった。

MLSS  $3000\text{mg}/\text{L}$  で処理を開始した RUN2( )では吸引圧は  $20\text{kPa}$  を超えることなく長期の安定処理が可能であった。

MLSS  $9300\text{mg}/\text{L}$  で処理を開始した RUN3( )では、RUN2

と比べ MLSS 濃度が高く、60 日目に  $15000\text{mg}/\text{L}$  を超えると、膜に汚泥が付着しやすくなり吸引圧の上昇が速くなった。80 日目に MLSS が  $18000\text{mg}/\text{L}$  になると吸引圧は  $30\text{kPa}$  を超えてしまい安定操作ができなくなった。

以上より、BOD 容積負荷  $0.5\text{kg}/\text{m}^3\cdot\text{d}$  の条件では、開始 MLSS 濃度  $3000\text{mg}/\text{L}$  で長期の処理が可能であることがわかった。また、MLSS 濃度は低すぎても高すぎても安定な長期運転ができないことがわかった。

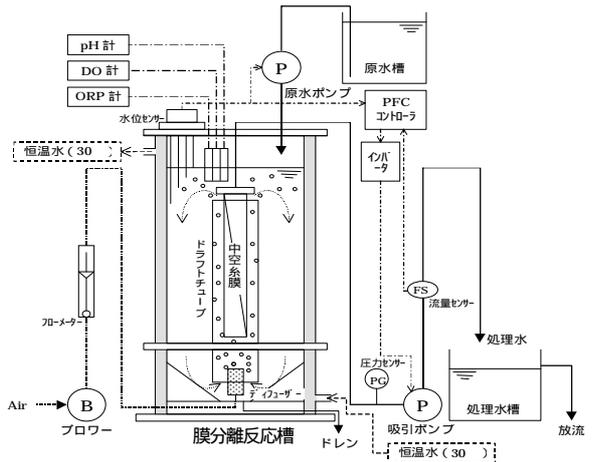


Fig.1 浸漬型膜分離活性汚泥法の装置図

	RUN1	RUN2	RUN3
Key			
開始 MLSS 濃度 [mg/L]	1350	3000	9300
BOD 容積負荷 [kg BOD/m <sup>3</sup> ·d]	0.5	0.5	0.5

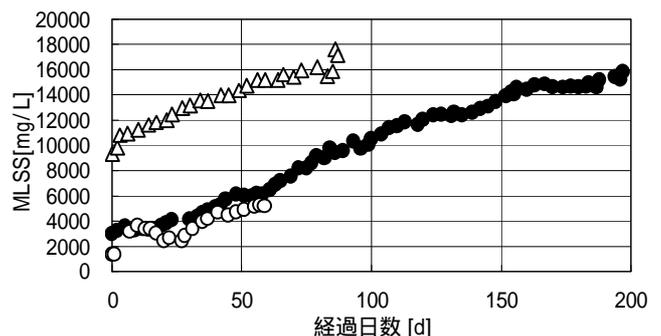


Fig.2 MLSSの経日変化

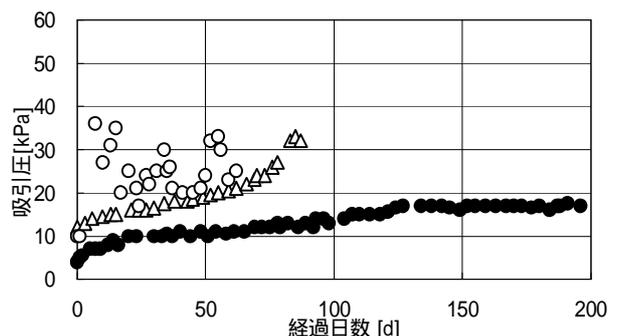
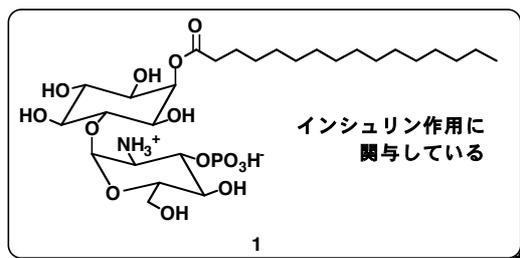


Fig.3 吸引圧の経日変化

## インシュリン作用に関与するイノシトールグリカンの全合成

(反応有機化学) 岩永 隆之

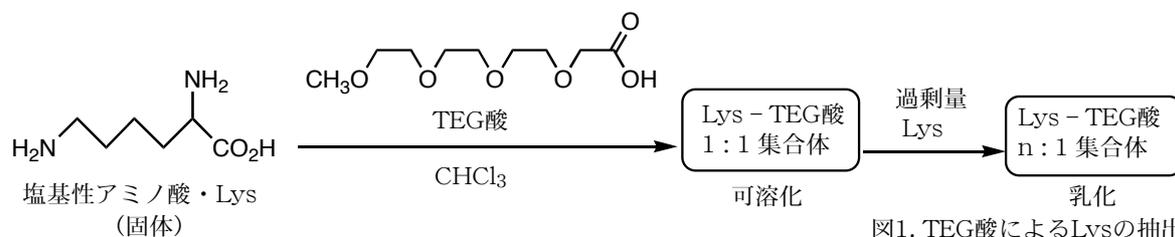
糖質は近年その生理学的意義および疾病との関わりから注目されている。こうした背景から有機化学の分野でも糖質合成に関する研究が活発に展開されている。その中でイノシトールグリカン類がインシュリン作用に関与していることが示唆されている。その本体の構造を明らかにし、インシュリン作用の詳細の解明や糖尿病の治療薬の開発することが重要な研究課題となる。そこで、本研究ではイノシトールグリカンの候補のひとつと考えられる **1** 及び周辺誘導体の合成を目的とした。



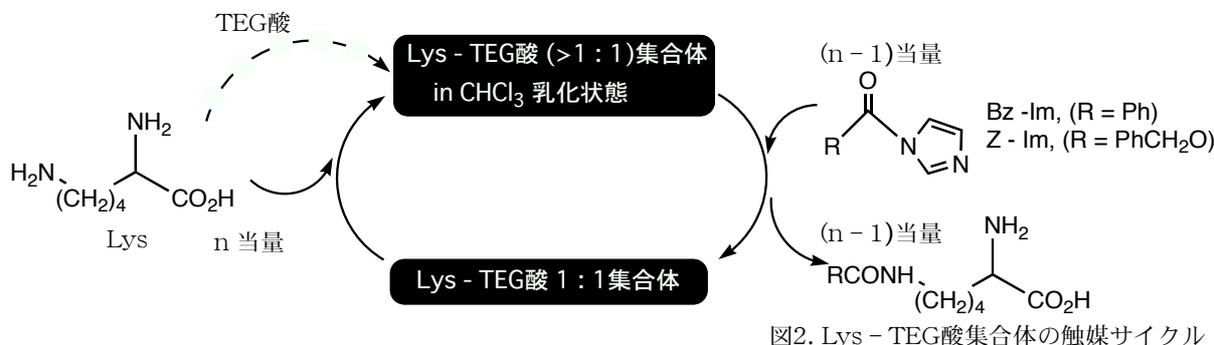
ポリオキサカルボン酸による塩基性アミノ酸の選択的抽出と合成反応

(反応有機化学) 丹 康賢

アミノ酸は通常有機溶媒に不溶であるがポリオキサカルボン酸 (TEG 酸) を混ぜると塩基性アミノ酸のみがクロロホルムに可溶化し、しかも Lys の場合には 1:1 以上に過剰の Lys が抽出され集合体を形成することを当研究室で既に見出している。この集合体を有機合成に活用する目的で今回はアシル化反応を試みた。その結果について報告する。



クロロホルムに可溶化された Lys-TEG 酸 (>1:1) の組成比の集合体にベンゾイルイミダゾール (Bz-Im) を作用させると高収率で選択的に末端 N-ベンゾイル化体 ( $\omega$  Bz Lys) のみが得られることがわかった (表 1)。この反応は TEG 酸が存在しないと進行しないが用いる TEG 酸の量を 1 モル%まで下げても触媒的にアシル化が進行した。通常のアシル化法では Lys の選択的アシル化は困難で  $\omega$  N アシル体を得るためには銅錯体を用いる煩雑な合成操作を必要としている。このような事実に対して本反応は選択的に進行するので合成法として利用できることが期待できる。そこで Z-Im を用いて同様に反応を行ったところ収率よく選択的に目的物を得た。今後様々なアシル化剤で Lys 以外の各種塩基性アミノ酸への選択的アシル化反応を検討し、実用化を目指していく予定である。



アシル化剤	TEG酸モル%	収率(%)	
		$\omega$ 体	$\alpha$ 体
Bz - Im	10	100	-
	5	76	-
	1	79	-
	0 (in CHCl <sub>3</sub> )	-	-
	0 (in H <sub>2</sub> O)	63	3
Z - Im	10	71	-

表1. Lysのアシル化反応

## アルキンのホスフィン化を経由する新規有機リン化合物の合成と構造解析

(反応有機化学)○西村康伸・河村有香・林 実・渡邊裕

当研究室では、リンーケイ素結合 (P-Si) を有するシリルホスフィンを用いる合成反応について研究を行っており、これまでにシリルホスフィンとアルキン類の反応により、シリルホスフィン化生成物が収率よく得られることを見出している。この反応の際に、アルキンとしてアセチレンジカルボン酸ジメチル 2 を用いると、低温では付加体が見られるが、室温では複数の着色生成物が生成する。その反応生成物はホスフィンに対してアルキン 2 が多重付加した環状イリド構造を有する化合物が含まれていることが既に分かっている。

今回、ホスフィン源としてリンーリン結合を有するテトラフェニルジホスフィン 5 を用いてアルキン 2 との反応を行なったところ、シリルホスフィン 1 と 2 の反応とは異なる着色化合物が複数得られた。反応混合物から黄 6、青 7 といった色を有する化合物を分離した。これらはシリルホスフィン 1 とアルキン 2 の反応同様リンを含む共役系化合物であると考えられる。それらの構造は、物性と共に興味を持たれるため構造解析を行なった。

$^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{31}\text{P}$ -NMR および質量スペクトルより黄 6 は 1 : 1 付加体であることが分かった。また、6 はジホスフィンがシン付加した化合物であることもわかった。

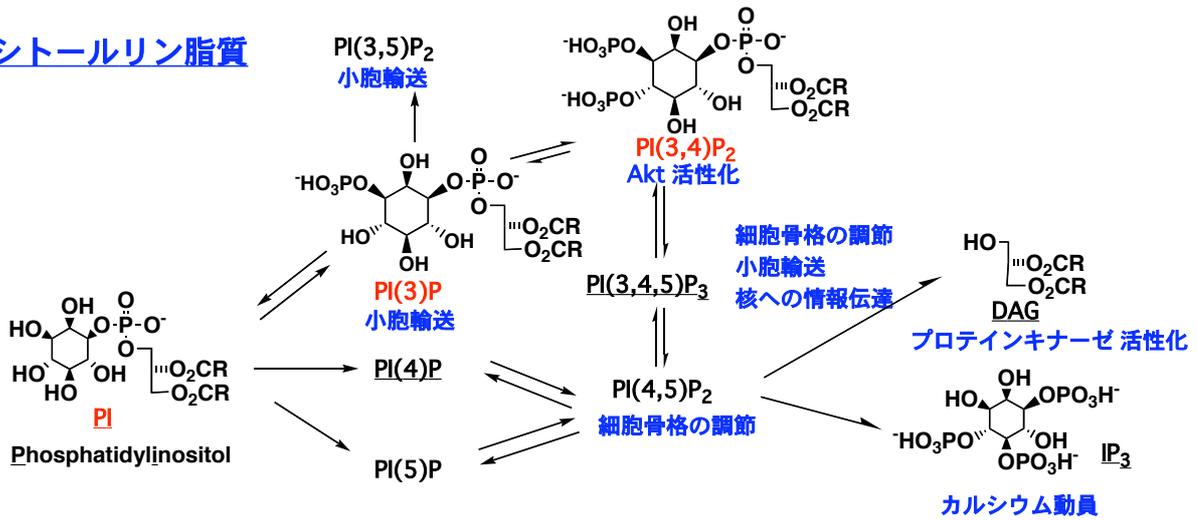
青 7 の構造を決めようとしたが、青 7 はあまり安定な化合物ではなく、きれいなスペクトルデータがとれず構造決定が困難であるので、青 7 を別ルートで合成することで構造を検討しようと考えた。1 : 1 付加体を経由していると考えて、まず黄 6 とアルキン 2 との反応を試みた。すると、6 にアルキンがもう 1 分子反応した化合物 8 が得られた。8 は、5 と 2 の反応では得られない化合物である。

現在、青 7 の構造の検討、4、8 の誘導化による構造の検討、ジホスフィンのアルキンへのシン付加の検討を行なっている。

# 生理活性イノシトールリン脂質 PI (3)P, PI (3, 4)P<sub>2</sub> 等の実用的な効率合成法の開発 (反応有機化学) 三宅 慶行

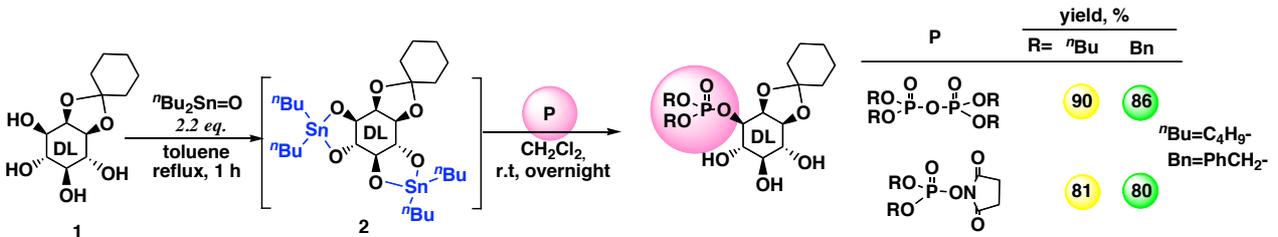
イノシトールリン脂質類 ( PtdIns) は、細胞内の情報伝達系の担い手として様々な場面で重要な役割を演じていることが明らかにされてきた。その機能の詳細を明らかにしたり、医薬への展開が近年の重要な研究課題となっている。しかし、これらは細胞内に極微量しか存在しておらず、化学合成による供給が望まれている。

## イノシトールリン脂質

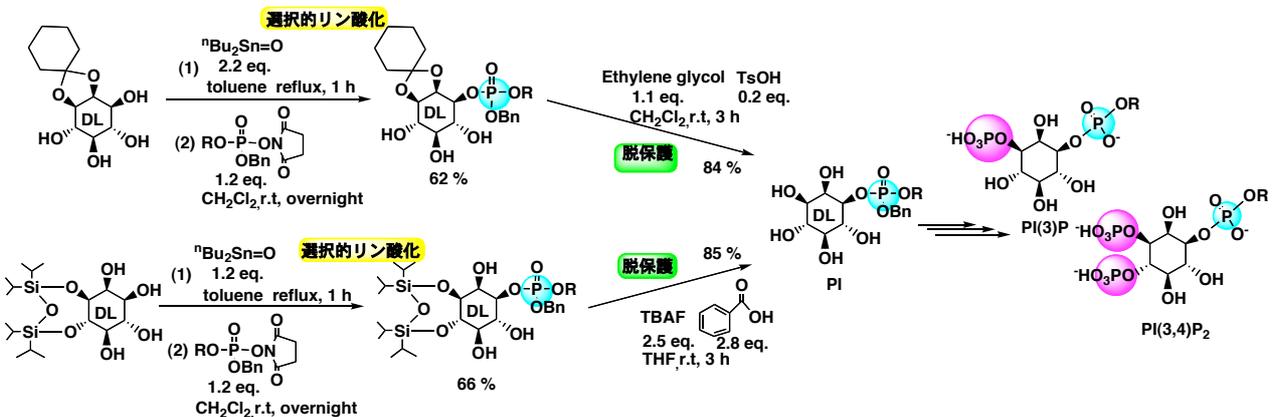


実用的な供給を考えた場合、より簡便な合成法が望まれ、保護基の利用を最小限にし、選択的反応を駆使することが重要と考えた。この考えに基づき、ひとつの保護基のみをもつイノシトール誘導体を選び、PI (3)P およびPI (3, 4)P<sub>2</sub> の効率的かつ実用的な合成法の確立を目指すことにした。

下式従って、スズ誘導体を形成させた後にリン酸スクシニドエステルを作用させたところ、選択的に1位モノリン酸エステルを得ることに成功した。これまでリン酸化剤としてピロリン酸エステルを用いていたが、この場合には半分のリン酸残基が無駄になっていた。



次に脱保護を行うことにより、PIを得ることに成功した。現在、PIを選択的リン酸化することでPI(3)PとPI(3,4)P<sub>2</sub>を簡便に合成しようと検討中である。



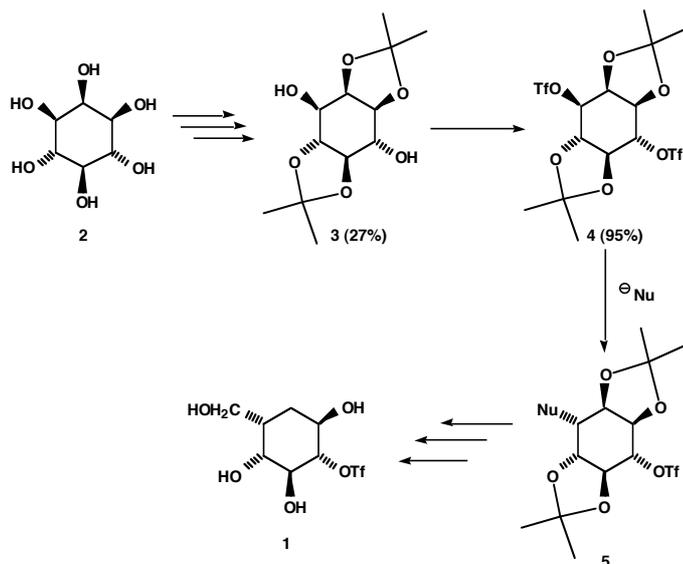
# myo-イノシトールを用いたカルバ糖の合成

(反応有機化学) 姚 永輝

グルコースの環内酸素原子を炭素原子で置き換えて得られる炭素環（シクロヘキサン環）のグルコース類似体はカルバ糖質（carba-sugars）と呼ばれている。カルバ糖質には、糖質に似て異なる性質に基づく特異な生理活性を持つものが多く、糖鎖化学、工学、生物学の研究分野で重要な研究対象の一つとなっている。近年の糖鎖の生理的重要性からも、カルバ糖への興味が今後益々広がるものと考えられる。そこで、天然から豊富に得られる myo-イノシトール **2** を基盤としたカルバ糖の簡便な合成経路の開拓を目指すこととした。



まず **2** から 1,2:4,5-ジケタール **3** を合成し、続いて 3,6 位をトリフルリル化することによって **4** を得た。 **4** に各種炭素系求核剤を作用させ炭素-炭素結合の形成の難易度を検討した（表）。



run	$\ominus\text{Nu}$	condition	solution	yield(%)
1	$\ominus\text{C}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9$	-20 °C, 3h then r.t.,overnight	THF:HMPA=6:1	77
2	$\ominus\text{CH}_2\text{NO}_2$	-20 °C, 3h then r.t.,overnight	THF:HMPA=6:1	no reaction
3	$\ominus\text{C}_4\text{H}_9$	-20 °C, 3h then r.t.,overnight	THF:HMPA=6:1	no reaction
4	$\ominus\text{CH}_2\text{CN}$	-20 °C, 3h then r.t.,overnight	THF:HMPA=6:1	29
5	$\ominus\text{CH}_2\text{SOCH}_3$	-20 °C, 3h then r.t.,overnight	THF:HMPA=6:1	検討中

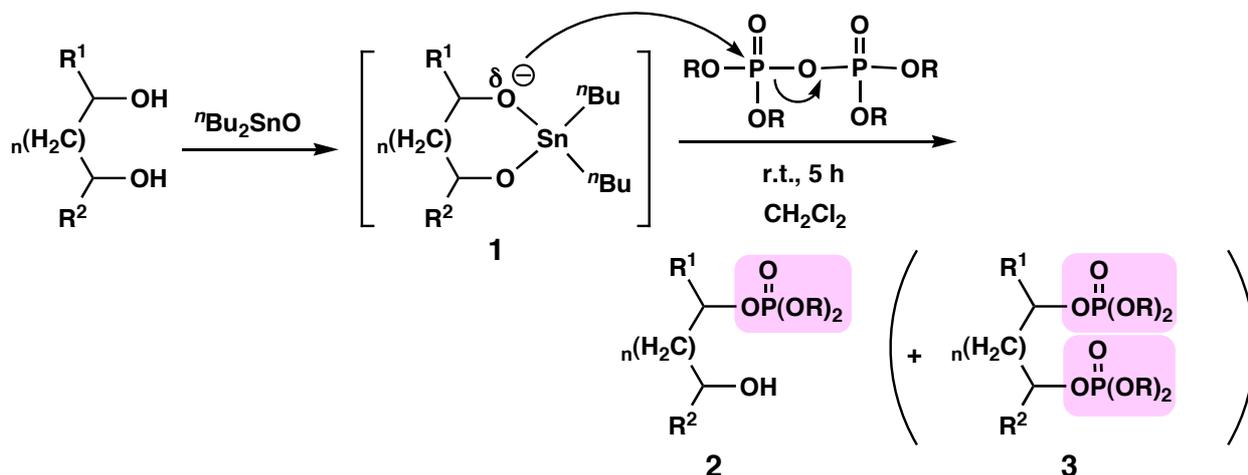
今後、より良い炭素系求核剤を検討するとともに、カルバ糖の合成を行っていく予定である。

## ポリオールのスズ誘導体を経由した選択的リン酸化法の開発

(反応有機化学) 坂東 里香

核酸やリン脂質に代表されるように、リン酸エステルは生体内において重要な生理的役割を演じている。また、各種リン酸塩類の原料、触媒、医薬品として広く利用されている。これらリン酸エステルの合成が望み通りにできることは有用である。そこで、本研究ではスズ誘導体を経由した選択的リン酸化法の開発を目指した。

### 選択的リン酸化反応



上記のスキームはジオールの選択的リン酸化法を示したものである。ジオールと  $n\text{Bu}_2\text{SnO}$  をトルエン (またはベンゼン) 中で2時間加熱還流し、環状スズ誘導体 **1** を形成させた後に、溶媒を塩化メチレンに換え、ピロリン酸エステル ( $R=\text{Bn}, n\text{Bu}$ ) と室温で反応させた。その結果、1,3-プロパンジオール、1,4-ブタンジオールからモノリン酸エステルが高収率かつ選択的に得られた (table 1, table 2)。しかし、1,5-ペンタンジオールの場合には全く反応が進行しなかった。この原因は、下図のような8員環状中間体 **4** が大きなひずみにより形成されにくいと考えられる。そこで、1,3-プロパンジオールと1,5-ペンタンジオールの混合物で同様の反応を行ったところ、1,3-プロパンジオールからモノリン酸エステル **5** のみを得られた。

table 1 Bn pyroを用いたリン酸化

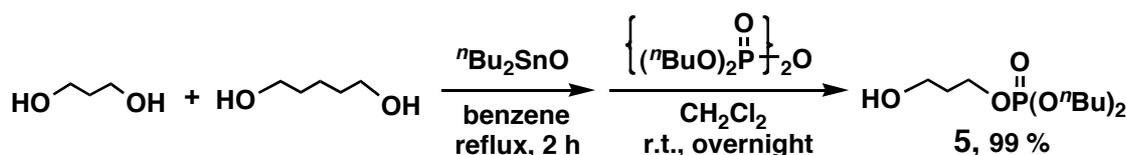
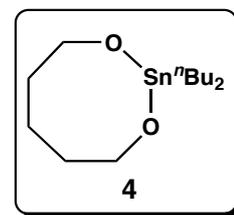
run	substrate	yield, %	
		モノリン酸	ジリン酸
1		99	-(a)
2		93	6
3		92	7
4		no reaction <sup>(b)</sup>	

(a) ジリン酸は生成しなかった。

(b) 室温で一晩反応。

table 2  $n\text{Bu}$  pyroを用いたリン酸化

run	substrate	yield, %	
		モノリン酸	ジリン酸
1		88	-(a)
2		93	4
3		89	10
4		no reaction <sup>(b)</sup>	

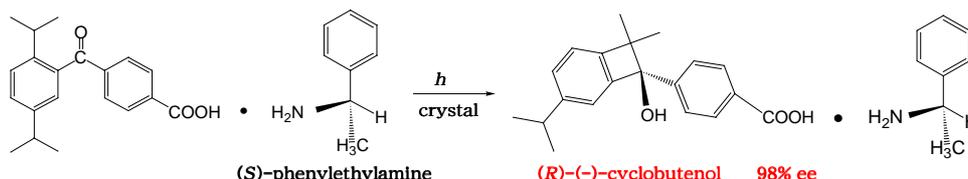


今後は、本方法を利用してトリオールなどのポリオールの選択的リン酸化やトシル化、アシル化の検討を行う予定である。

# イソプロピルベンゾフェノン系結晶の光反応に伴う表面形態変化

(機能有機化学) 井手佑弥・小島秀子

[緒言] ジイソプロピルベンゾフェノンのカルボン酸誘導体は、(S)-または(R)-フェニルエチルアミンとのキラルな塩結晶中でエナンチオ特異的光環化を起こす。その反応は最初の結晶構造をほとんど保ちながら進行する単結晶-単結晶反応である。今回、結晶の反応に伴う分子レベルの構造変化と、結晶表面のナノレベルでの形態変化との関係を調べた。



[結果と考察] 反応の進行とともに結晶表面の形態がどのように変化するかを原子間力顕微鏡を用いて観察した。その結果、(001)面と(010)面については、照射前はほとんど平らで滑らかであったが、光照射に伴って数十 nm 程度のふくらみやしわが現われることが分かった(図1)。また(100)面は自然面に出なかったため、カミソリで切断して面を出したところ、nm レベルの粗い表面が観察された(図1)。この面では光照射に伴い、表面がしだいに滑らかに変化する様子が観察された。この観察で、単結晶-単結晶反応を起こす二分子結晶であるにも関わらず、結晶の表面では nm レベルの形態変化が起こっていることが分かった。

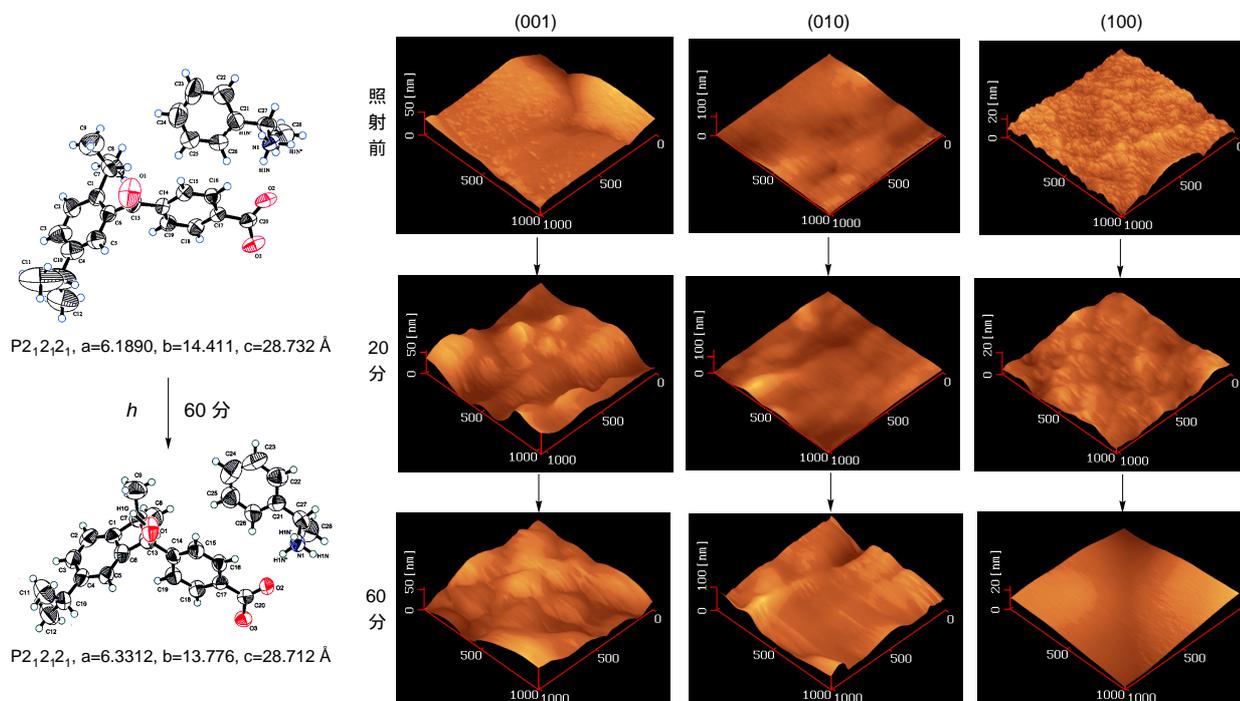


図1 2,5-ジイソプロピル 4'カルボキシベンゾフェノンと(S)-フェニルエチルアミンの塩結晶の単結晶 - 単結晶エナンチオ特異的光環化に伴う表面形態変化の AFM 像

# アクリジンと *N*-フタロイルグリシンから成る 2 種類の複合結晶の光反応性

(機能有機化学) 谷口 明広・小野 幸太郎・小島 秀子

【緒言】 結晶中では分子が 3 次的に規則正しく配列しているため、分子の動きは溶液中よりもはるかに拘束されている。このため結晶状態の反応性は、分子の性質ばかりではなく結晶構造によっても左右される。今回、アクリジンと *N*-フタロイルグリシンの溶液から、同時に黄色と橙色の 2 種類の複合結晶が生成することを見出した。本研究では、両結晶の光反応性の違いと結晶構造との関連性について検討を行なった。

【結果と考察】 アクリジンと *N*-フタロイルグリシンの混合溶液から、再結晶法により、同時に黄色結晶 (mp 151 ) と橙色結晶 (mp 165 ) の 2 種類の複合結晶が得られた。アクリジンと *N*-フタロイルグリシンの組成は、黄色結晶は 1 : 1、橙色結晶は 1 : 2 であり、組成が異なる。両方の単結晶を作製し X 線結晶構造解析を行なった。その結果、黄色結晶は空間群  $P2_1/n$  のアキラル結晶であったが、橙色結晶はキラル空間群  $P1$  に属するキラル結晶であることがわかり、アキラル成分からなる新たなキラル複合結晶を見出すことができた。図 1 a に示すように、黄色結晶中では、アクリジンと *N*-フタロイルグリシンは水素結合を介して分子対を形成しており、2 つの分子対が対称中心をもって head-to-tail に配列している。一方、橙色結晶では、2 分子の *N*-フタロイルグリシンがカルボン酸の部分で水素結合でつながり、さらに一方の *N*-フタロイルグリシンはアクリジンと塩結合し、1 : 2 の分子対を形成している (図 1 b)。この分子対が結晶格子中で head-to-head に対称中心を欠いて配列することによりキラルな構造となっている。光反応性については、黄色結晶は光照射により脱炭酸を速やかに起こすが、橙色結晶はほとんど反応を示さないという大きな違いが見られた。

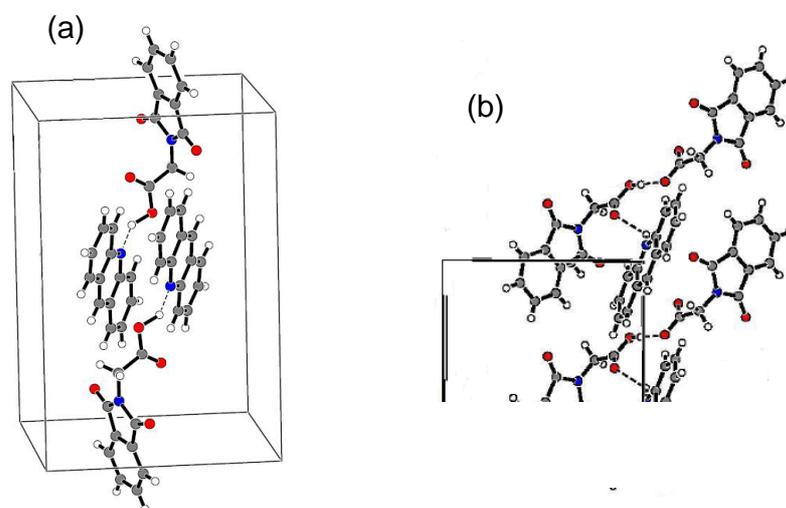


図 1 (a) 黄色結晶と(b) 橙色結晶の分子配列

# トリプタミン - 安息香酸系複合結晶のキラル結晶化におけるエナンチオ制御

(機能有機化学) 谷口 智哉・小島 秀子

【緒言】 アキラルな分子であってもキラルな結晶を形成するキラル結晶化現象は今まであまり知られていなかったが、このような結晶を反応させると絶対不斉合成が可能となるので大変有用である。このため私達は、アキラルな異種分子を組み合わせるキラルな複合結晶を創製する研究を進めており、すでに数多くのキラル複合結晶を見出ししている。またこのようなアキラル分子のキラル結晶化は、必ず右と左の両方の鏡像結晶を与えるので、一方の結晶を作り分けるエナンチオ制御の方法として、結晶構造のよく似た結晶を互いに種結晶として用いる「擬似種結晶法」を開発している。そこで今回、二成分ともアキラルなトリプタミンと安息香酸置換体とのキラル複合結晶の創製とそれらのエナンチオ制御を検討した。

【結果と考察】 トリプタミン(1)とアキラルな種々の安息香酸置換体(a-g)を1:1のモル比でメタノールに溶解し、室温で蒸発させることにより複合結晶を作製した。単結晶 X 線構造解析を行った結果、図 1a に示す一連のキラル結晶が見い出された。それら結晶の空間群は  $P2_1$  または  $P2_12_12_1$  に属しており、いずれの結晶中에서도四級アンモニウム塩と水素結合の連なった、同じ様式の一方向ヘリックス構造が形成されている(図 1b)。溶液からの自然晶出では  $P$  体(右巻ヘリックス)、 $M$  体(左巻ヘリックス)両方の鏡像結晶が生成した(図 1c)。ところが、空間群が異なる結晶( $P2_1$  と  $P2_12_12_1$ ) どうしであっても、 $P$  結晶を互いに種結晶として加えて結晶化させた場合、必ず  $P$  結晶が生成し、逆に  $M$  結晶を種結晶とした場合は  $M$  結晶が生成することがわかり、エナンチオ制御に成功した。このような結果は、結晶形成過程において、溶液中の分子は擬似種結晶の分子全体を認識するのではなく、極性の強いカルボキシル基とアミノ基を優先的に認識して集合し結晶に組み込まれるために、擬似種結晶と同じ様式、同じ方向のヘリックス構造が形成されることを示唆している。

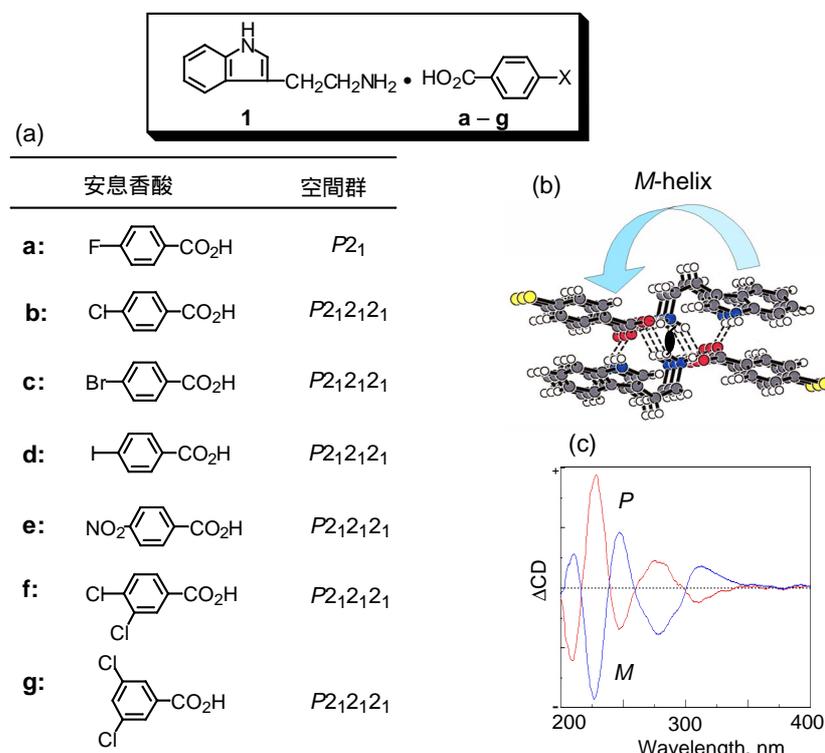
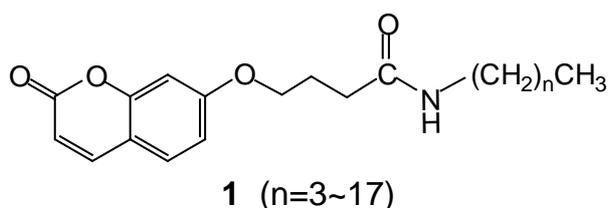


図 1 (a)トリプタミンと安息香酸のキラルな複合結晶と(b) $M$ 結晶1•b内で形成された左巻きヘリックス構造、および(c) $P$ 、 $M$ 結晶の固体CDスペクトル

# クマリン誘導体のゲル化におけるキラリティー発生

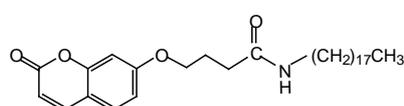
(機能有機化学) 守時 達也・小林 史明・中田 彩香・小島 秀子

【緒言】 アキラルな有機化合物であってもキラルな結晶を形成するキラル結晶化現象は知られている。今回、ゲル化においても同様な現象が起きることをアキラルな成分であるクマリン誘導体(1)について見出したので報告する。

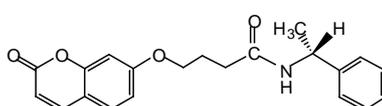


ゲル化  
アキラル分子 → キラルゲル

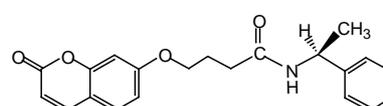
【結果と考察】クマリン骨格にエーテル結合とアルキルアミドを導入した一連の化合物 1 は、ヘキサン、シクロヘキサンなどの無極性溶媒、および、グリセロールなどの高極性溶媒中でゲルを形成した。ゲルの微細構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察したところ、多くは繊維状であったが、中に、とくに、シクロヘキサンを用いて作製したゲルは、アルキル基の長さにかかわらず、 $n = 3 \sim 17$  すべてについてらせん状のキラルなゲルが生成した。この場合、らせんの方向は、右巻き、左巻きのものが共存していることがわかった (図 1 a)。これはアキラル成分からのキラル結晶化が右と左の両方の鏡像結晶与えるのと同じ現象と言える。これに対して、(R)-フェニルエチルアミンとのアミド結合を導入した(R)体のキラルなクマリン誘導体 1-R が、シクロヘキサン中で形成するゲルは左巻きのみのらせんであることがわかった (図 1 b)。一方、逆の(S)体のクマリン誘導体 1-Sからは右巻きのみのらせん状ゲルが形成されることがわかった (図 1 c)。はらせん状の形態のゲルも観察され、アキラルな成分からキラルなゲルが生成することを見出した



(a) アキラル成分 1-17 のゲル  
右巻きと左巻きらせん混合



(b) キラル成分 1-R のゲル  
左巻きらせんのみ



(c) キラル成分 1-S のゲル  
右巻きらせんのみ

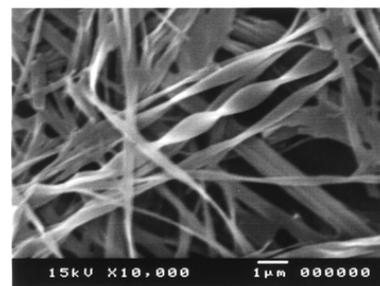
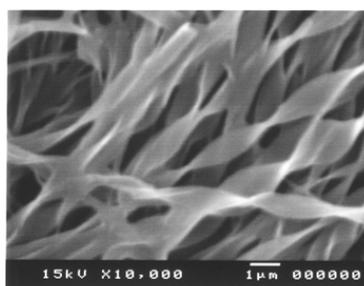
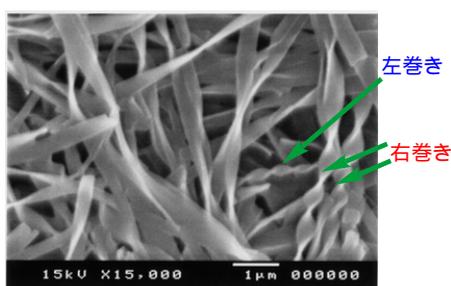


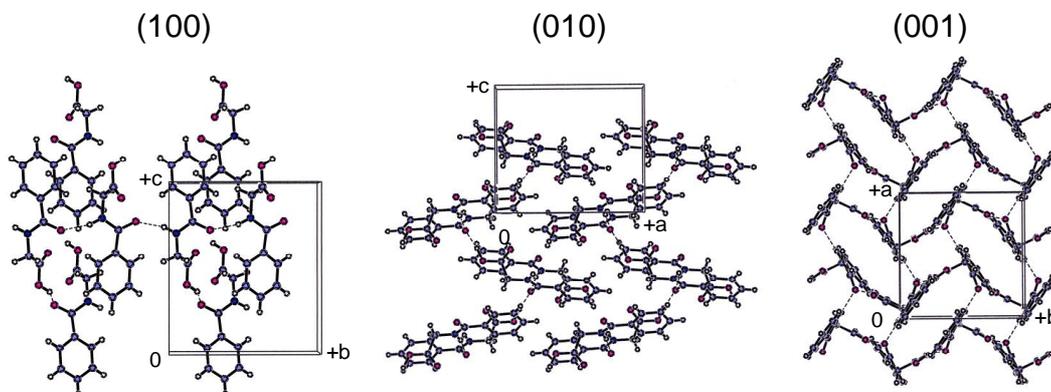
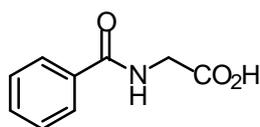
図 1 シクロヘキサン中で生成したクマリン誘導体のらせん状ゲルのSEM像

# N-ベンゾイルグリシン結晶のキラル光学的特性

(機能有機化学) 大塚将成・小島秀子

[緒言] 最も簡単でしかもアキラルなアミノ酸であるグリシンは多形結晶を形成し、そのうちの一つはキラルな結晶であることが知られている。グリシン結晶のキラル光学的特性を測定できれば意義深い、キラルなグリシン結晶は空気中では不安定であるため測定は難しい。このため、アキラルなグリシン誘導体で安定なキラル結晶を形成する *N*-ベンゾイルグリシンについて検討を行なった。測定は HAUP ( High Accuracy Universal Polarimeter ) 法を用いた。

[結果と考察] この結晶は空間群  $P2_12_12_1$  に属しており、結晶中で分子がらせん状に配列している。メタノール溶液を室温でゆっくり蒸発させることにより数ミリメートルの大きさの単結晶を作製した。アルミナのラッピングフィルムにより研磨し、仕上げにはより柔らかい酸化鉄のものをを用い、両面を光学面とした。次に、He-Ne レーザーの 632.8 nm の波長、30 ~ 40 ° の範囲で消光位の温度依存性を測定した。*P* 結晶、*M* 結晶それぞれの (100)、(010)、(001) の 3 つの面について測定を行なった。偏光板の寄生楕円率は、光学不活性な  $\text{LiNbO}_3$  結晶を測定して求め、系統誤差の補正を行い、比旋光能 ( 厚さ 1 mm 当たりの旋光度 ) および複屈折を決定した。その結果、らせん構造を形成している (100) 面と (010) 面について大きな旋光性が得られた。



# グリシンイミンエステルの溶媒蒸気中での固相不斉アルキル化

(機能有機化学) 吉岡 慎市・光富 浩太郎・小島 秀子

**【緒言】** 光学活性 $\alpha$ -アミノ酸は生体成分であり医薬品の原料としても用いられる重要な物質である。天然型、非天然型 $\alpha$ -アミノ酸のエナンチオ選択的合成法として、グリシンイミンエステルの相間移動触媒を用いる不斉アルキル化は活発に研究されてきた。私達は以前に、塩基処理した粘土やアルミナの固相担体表面でキラル相間移動触媒の存在下、*N*-ジフェニルメチレングリシン *t*-ブチルエステル (1) のアルキルハライド (2) による不斉アルキル化が迅速かつ高収率、高エナンチオ選択的に進行し、さらにカラム法を用いることで生成物 (3) が反応混合物から容易に分離できることを報告した<sup>1,2)</sup>。そこで今回、飽和蒸気中での反応を試みたところ、不斉アルキル化が迅速に進行することがわかった。

**【結果と考察】** 表 1 に、1、2a、KOH、触媒として 2,7-ビス[0(9)-アリルヒドロシンコニジウム *N*-メチル]ナフタレンジブロミドの固体混合物を、飽和溶媒蒸気中で静置して反応させた結果を示す。 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 、 $\text{CHCl}_3$  蒸気を用いた場合、わずか 2 分で反応が簡潔し、良い収率、エナンチオ選択性でアルキル化体 3a を得た (エントリー 2、3)。この場合、溶媒蒸気を用いないまったくの固相状態では反応の進行は非常に遅かった (エントリー 1)。

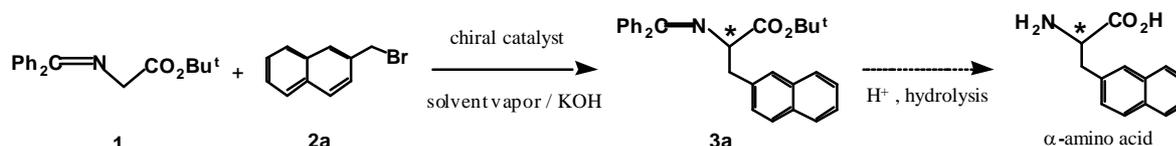


表 1 グリシンイミンエステルの飽和蒸気中での固相不斉アルキル化

エントリー	飽和蒸気	反応時間 (分)	収率 (%)	光学純度 (ee%)
1	なし	42 (日) <sup>a</sup>	63	19 (S)
2	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2	70	65 (S)
3	$\text{CHCl}_3$	2	59	69 (S)
4	エーテル	10	74	39 (S)
5	ヘキサン	40	80	38 (S)
6	トルエン	60	70	38 (S)

<sup>a</sup> 反応未完結

## 文献

(1) Yu, H.; Koshima, H. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 141.

(2) Yu, H.; Takigawa, S.; Koshima, H. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8405.