

フルオラスレゾルシンアレーンの6量体カプセル化および分子包接特性における疎フルオラス性相互作用の効果

日大生産工 ○清水正一

1. 緒言

多相系反応は、グリーンケミストリーのコンセプトに則った反応プロセスを構築する上で、大きな貢献が期待されている。そのためフルオラス溶媒、超臨界流体、イオン性液体などの溶媒を活用した多相系反応が数多く報告されている¹。我々もこれまでに、分子包接能を有する水溶性触媒、すなわち水溶性カリックスアレーンを水相-有機相二相系反応に適用し、幾つかの優れた環境調和型反応プロセスを開発してきた²。しかしながら、この水相-有機相二相系反応プロセスは、理論的に水が反応を阻害すると考えられる反応、あるいは反応物や生成物が水に対して不安定な場合には適していない。このような観点から、フルオラス溶媒やイオン性液体を用いた反応に関する研究は欠かせないが、中でもフルオラス溶媒は、水とも有機溶媒とも混ざらずに三相を形成し、また有機溶媒との組み合わせでは加熱すると均一相を形成するといった特徴を有していることから特に注目されている。

1994年にHorváthら³は、フルオラスロジウム錯体触媒を用いることにより、この特徴を巧みに活用した有機相-フルオラス相二相系ヒドロホルミル化反応を開発した。このロジウム錯体触媒にはパーフルオロアルキル基を持ったリン配位子が結合していることから、親フルオラス性が強く、フルオラス相にはほぼ選択的に分配し、実質的に固定化されていると見做すことができる。したがって、反応終了後には生成物を含む有機相と触媒のフルオラス相を分液するだけで、触媒と生成物を分離することができる。さらには、触媒が溶解しているフルオラス相をそのまま次の反応に使用することもできる。この研究を先駆けとして、その有効性が広く認められるようになり、フルオラスな基質や反応剤をも含めてフルオラスケミストリーとして爆発的に広がってきた⁴。

これまでに多くのフルオラス触媒⁵⁻⁹が開発され

てきたが、金属を含まない触媒である有機触媒を二相系不斉触媒反応に用いた例は殆ど知られていない。この理由は、有機触媒を用いる不斉触媒反応¹⁰で一般的に用いられる反応温度が有機溶媒とフルオラス溶媒が相溶性を示す温度よりも低いため、反応中も二相状態が保たれ、反応物の物質移動が律速で、反応が起こり難いためと考えられる。

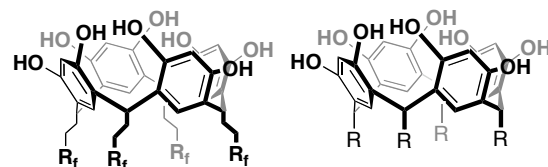
そこで本研究では、フルオラス二相系不斉触媒反応に用いることのできる有機触媒を開発することを目的の一つとして、これまでにフルオラス溶媒中で機能する新規包接化合物（フルオラスカリックスアレーン）の合成を報告した。

今回は、合成したパーフルオロアルキル基を有するカリックス[4]レゾルシンアレーン **1c** (FIGURE 1)のフルオラス溶媒中でのカプセル形成およびそのカプセルの分子包接特性を評価検討したので報告する。

2. 結果および考察

フルオラスレゾルシンアレーン **1a-c** は、それぞれ対応するフルオラスアルデヒドとレゾルシノールとの酸触媒環化縮合反応により、53-68%の比較的良好な収率で得られた (FIGURE 1)。通常のフッ素化されていないウンデシル基を有するレゾルシンアレーン **1d** は、ドデカノールとレゾルシノールから合成した(FIGURE 1)。

このようにして得られた **1a-c** の各種有機溶媒に対する溶解性を調べた結果、**1a** はメタノールおよび酢酸エチルに室温で溶解した。これに対し、



1a : $R_f = (\text{CF}_2)_5\text{CF}_3$, 68% **1d** : $R = (\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$, 68%
1b : $R_f = (\text{CF}_2)_9\text{CF}_3$, 56%
1c : $R_f = \text{CH}[\text{CH}_2(\text{CF}_2)_9\text{CF}_3]_2$, 53%

Figure 1. Structures of Resorcinarenes

Assembly of Hexameric Capsule of Fluorous Resorcinarene in Fluorous Solvents and Fluorophobic Effects on Its Encapsulation

Shoichi SHIMIZU

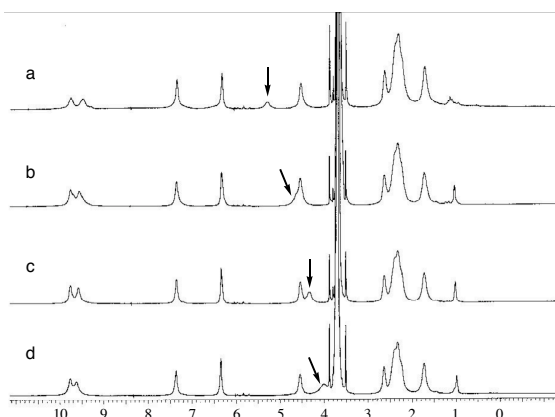


FIGURE 2. ^1H NMR spectra of the HFE-7100 solution of **1c** for different **1c**: H_2O ratios: (a) 6:4.6, (b) 6:9.5, (c) 6:10.8, (d) 6:16.8. The arrows indicate the water peaks in the solutions.

1c は汎用される有機溶媒には全く溶けず、フルオラス溶媒であるパーフルオロブチルメチルエーテル(HFE-7100)やパーフルオロヘキサン(FC-72)に溶解した。

このように、**1c** はフルオラス溶媒に対して良好な溶解性を示したので、次にフルオラス溶媒中での挙動を検討した。

最近、固体状態¹¹と同じく溶液状態でも6分子のレゾルシンアレーンと8分子の水が水素結合することにより、6量体分子カプセルを形成することが相次いで報告され、その特徴も次第に明らかになってきた¹²⁻¹⁸。例えば、 CDCl_3 中で**1d**が6量体分子カプセルを形成している系の ^1H NMRスペクトルにおいて、カプセル中に水素結合で組み込まれている水分子とバルク相の水分子の平均として水のシグナルが現れ、その系中の水の量に大きく依存することが示された¹³。そこで、フルオラス溶媒中でも同様の現象が現れるかどうかを確かめるため、**1c**のHFE-7100溶液に水を添加して、その ^1H NMRを測定した(FIGURE 2)。 CDCl_3 中の**1d**の系と同様の結果を示したことから、フルオラス溶媒中で**1c**も8分子の水と共に6量体分子カプセルを形成しているものと考えられる。

また、**1d**の分子カプセルは、種々の割合の CDCl_3 /ベンゼン混合溶媒中での ^1H NMRスペクトルからも確認されている¹⁵。そこで、**1c**の分子カプセルの存在を確認する目的で、HFE-7100/ベンゼン混合溶媒系で**1c**のスペクトルを測定した(FIGURE 3)。ベンゼンが存在しないHFE-7100中では、**1c**の分子カプセルに包接されたと考えられるHFE-7100分子のメチル基のシグナルが1 ppm付近に現れた。このシグナルは、溶媒中のベンゼ

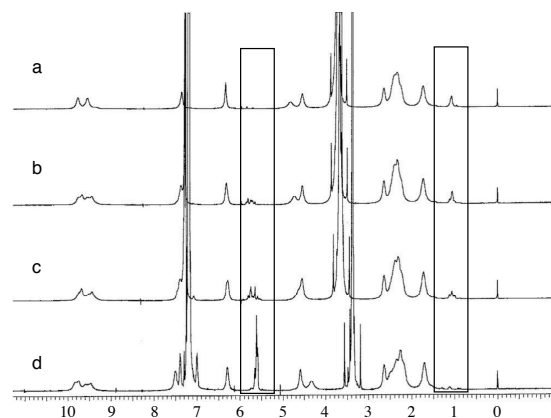
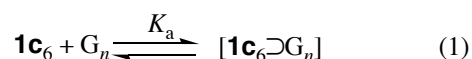


FIGURE 3. ^1H NMR spectra of **1c** (50 mM) in HFE-7100 and the mixture of HFE-7100 and benzene. (a) HFE-7100. (b) HFE-7100/benzene = 100:1 (v/v). (c) 20:1 (v/v). (d) 5:2 (v/v).

ンが増加するにつれて消失し、代わりに包接されたベンゼンの芳香族水素のシグナルが5.5–5.9 ppmに現れた。このシグナルの強度比から、HFE-7100/ベンゼン = 5/2の混合溶媒において、**1c**の6分子からなる分子カプセル1個に平均7.2分子のベンゼンが包接されていることが分かった。これは**1d**で得られている結果(8分子)¹⁵とほぼ一致しており、フルオラスレゾルシンアレーンもフルオラス溶媒中で6量体分子カプセルを形成していることが確認された。

次に、6量体カプセルへのゲスト分子選択性を評価する目的で、フルオラス溶媒中での**1c**と3,3-ジメチル-1-ブタノールおよび*tert*-ブチルベンゼンとの会合定数 K_a を測定した。

1cはHFE-7100中で6量体カプセルを形成しているので、**1c**とゲスト(G)の間で(1)式が成り立つ。ここで、(2)式が成立すると仮定すると K_a は(3)式で表すことができる。この(3)式を(4)式に代入することで(5)式が得られる。(5)式に従い $1/[\mathbf{1c}_6\text{G}_n]$ を $1/[\mathbf{1c}_6]$ に対してプロットするとScatchardプロットが得られ、勾配から会合定数 K_a を求めること



$$[\text{G}_n] = [\text{G}]/n \quad (2)$$

$$K_a = \frac{[\mathbf{1c}_6\text{G}_n]}{[\mathbf{1c}_6][\text{G}]/n} \quad (3)$$

$$[\text{G}] = [\text{G}]_{\text{total}} - n[\mathbf{1c}_6\text{G}_n] \quad (4)$$

$$\frac{1}{[\mathbf{1c}_6\text{G}_n]} = \frac{n/K_a}{[\text{G}]_{\text{total}}} \cdot \frac{1}{[\mathbf{1c}_6]} + \frac{n}{[\text{G}]_{\text{total}}} \quad (5)$$

ができる。

まず、HFE-7100 溶媒中、**1c** と 3,3-ジメチル-1-ブタノールとの K_a を求めた。初めに、**1c** のカプセル中に包接されている 3,3-ジメチル-1-ブタノールの分子数を明らかにする目的でジョブプロットを作成した。 $f_{1c}=0.5$ で最大値を示したことから、**1c** のカプセル中に 3-3 ジメチル-1-ブタノールが 6 分子包接されていることが明らかとなった。そのため、(5)式に $n=6$ を代入して Scatchard プロットを作成した。得られたプロットの傾きから求めた K_a を TABLE 1 に示した。比較のため、クロロホルム中でのカプセル化した **1d** と 3,3-ジメチル-1-ブタノールの K_a も求めた。

1d のクロロホルム中での会合定数が 55 であるのに対して、フルオラス溶媒中での **1c** の会合定数は 18.2×10^3 であり、約 330 倍であった。これは、疎フルオラス性効果¹⁹⁻²¹によるものであると考えられる。同様に *tert*-ブチルベンゼンの K_a も求めた。**1c** のカプセル中に包接される *tert*-ブチルベンゼンの分子数は、そのジョブプロットが $f = 0.54$ で最大値を示したことから 5.1 と求まり、この値を用いて K_a を求めた。**1d** のクロロホルム中での会合定数が 1.2 であるのに対して、フルオラス溶媒中での **1c** の会合定数は 55 であり、46 倍であった。これも疎フルオラス性効果によるものであると考えられるが、3,3-ジメチル-1-ブタノールに見られるような著しい会合定数の向上は見られなかった。これは、ゲスト分子のカプセルへの包接の駆動力の違いによるものと考えられる。3,3-ジメチル-1-ブタノールの包接が主に水素結合によるものであるのに対して、*tert*-ブチルベンゼンの包接が主に CH- π と π - π 相互作用によることに起因すると考えられる。すなわち、水素結合による相互作用の方が、疎フルオラス性効果による影響をより受けやすいことを示していると考えられる。一方、**1c** と 3,3-ジメチル-1-ブタノールとの会合定数 K_a を *tert*-ブチルベンゼンのそれと比較すると約 330 倍も大きいことから、**1c** は非常に大きな基質選択的を示したと言える。

TABLE 1. Association Constants (K_a) for the Complexation of Host **1c** or **1d** with 3,3-Dimethyl-1-Butanol (**2**) and *tert*-Butylbenzene (**3**)

	Solvents	T (°C)	K_a (M^{-1})	
			2	3
1c	HFE-7100	25	18.2×10^3	55
1d	Chloroform	25	55	1.2

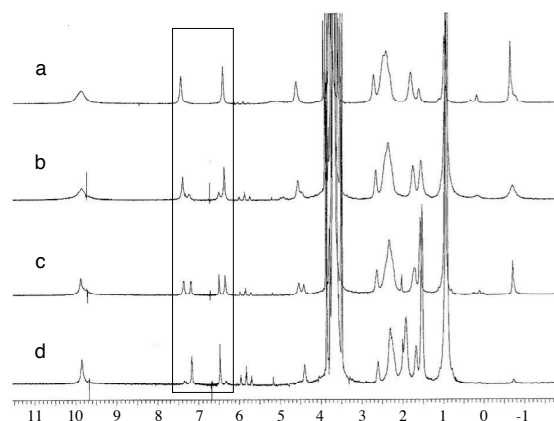


FIGURE 4. 1H NMR spectra of the HFE-7100 solution of **1c** for different **1c**:3,3-dimethyl-1-butanol ratios: (a) 6:12, (b) 6:33, (c) 6:42, (d) 6:111.

次に、水酸基を有するゲスト分子がフルオラス溶媒中での分子カプセルに与える影響について明らかにする目的で、**1c** の HFE-7100 溶液に 3,3-ジメチル-1-ブタノールを徐々に添加して、その 1H NMR を測定した (FIGURE 4)。**1c** の分子カプセルに対してアルコールの分子数が少ない場合には、カプセルに包接されたアルコールの *tert*-ブチル基に帰属されるシグナルが -0.2 ppm 付近に現れており、アルコールが増えるにつれて消失した。一方、代わりに HFE-7100 分子が包接されたことを示すメチル基のシグナルは出現しなかった。これはカプセルの崩壊を示していると考えられ、**1c** の芳香族水素に帰属されるシグナルに、対応する変化が確認された。すなわち、**1c** がカプセルを形成しアルコールを包接している場合には、6.3 および 7.4 ppm 付近に 2 本の一重線が現れているのに対し、包接されているアルコールのシグナルの強度が低下するにつれて、その 2 本のシグナルは 6.5 および 7.2 ppm 付近のシグナルに徐々に置き換わった。1 個のカプセルに対してアルコール分子が 42 個の場合 (c) には、両方のシグナルがほぼ等しい強度で現れており、カプセル化した **1c** と単量体の **1c** 分子がほぼ同数で共存していることを示していると考えられる。同様の実験を $CDCl_3$ 中で **1d** を用いて行ったところ、分子カプセルの崩壊を示す結果は得られなかった。両者の違いは、疎フルオラス性効果¹⁹⁻²¹に起因すると考えられる。すなわち、フルオラス溶媒中の **1c** は、疎フルオラス性効果により水素結合が強められてカプセル化し易くなっているが、一方では、系中に水酸基を有するゲスト分子が増えてカプセルの形成に関わっている水分子とも強く水素結合することになり、カプセ

ルの崩壊を引き起こしているものと推察される。

分子カプセルと単量体が共存することを直接示しているスペクトルなどの実験的証拠はこれまでに全く報告されておらず、非常に価値ある結果と考えられる。

3. 実験

3.1. 合成

フルオラスレゾルシンアレーン **1a-c** は、先に報告した方法²²で合成した。また、レゾルシンアレーン **1d** は、既往の文献に従って合成した²³。

1c: ¹H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃/C₆F₆, 3:1 (v/v)) δ 8.49 (s, 8H), 7.37 (s, 4H), 6.22 (s, 4H), 4.42 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H), 2.35-2.68 (m, 28H), 1.68-1.82 (m, 8H); partial ¹³C NMR (100 MHz, CD₃COCD₃/C₆F₆, 2:1 (v/v)) δ 153.9, 125.1, 125.0, 104.7, 35.9 (t, *J*_{CF} = 20.6 Hz), 35.2, 34.6, 32.1, 26.9; IR (KBr) ν 3250, 2946, 2874, 1621, 1503, 1445, 1205, 1114, 901, 710 cm⁻¹. Anal. Calcd for C₁₂₈H₅₈F₁₆₈O₈ • 1.4H₂O (4915.56): C, 31.13; H, 1.20. Found: C, 31.15; H, 1.47.

3.2. 装置

NMRスペクトルの測定には、Bruker Avance-400を用いた。基準物質にはテトラメチルシラン(TMS)を用い、400 MHz (¹H), 100 MHz (¹³C)で測定した。IRスペクトルは、Bio-Rad FTS-60Aを用い、KBr錠剤法で測定した。

3.3. ¹H NMR スペクトルの測定

1c の HFE-7100 (あるいはベンゼン混合溶媒) 溶液を 50 mM の濃度となるように調製し、超音波照射・静置した後、その ¹H NMR を測定した。分子カプセルに包接されたゲストの分子数は、**1c** の芳香族水素に帰属されるシグナルと包接されたゲスト分子の水素のシグナルとの積分強度比から計算により求めた。

4. 参考文献

- 1) *Multiphase Homogeneous Catalysis, 2 Volumes*; Cornils, B.; Hermann, W. A.; Horváth, I. T.; Leitner, W.; Mecking, S.; Olivier-Bourbigou, H.; Vogt, D., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
- 2) a) Shimizu, S.; Shimada, N.; Sasaki, Y. *Green Chem.* **2006**, *8*, 608–614. b) Shimizu, S.; Suzuki, T.; Shirakawa, S.; Sasaki, Y.; Hirai, C. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 370–378. c) Shimizu, S.; Shirakawa, S.; Suzuki, T.; Sasaki, Y. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6169–6173. d) Shirakawa, S.; Shimizu, S.; Sasaki, Y. *New J. Chem.* **2001**, *25*, 777–779. e) Shimizu, S.; Shirakawa, S.; Sasaki, Y.; Hirai, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1256–1259; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1313–1315.
- 3) Horváth, I. T.; Rábai, J. *Science* **1994**, *266*, 72–75.
- 4) *Handbook of Fluorous Chemistry*; Gladysz, J. A.; Curran, D. P.; Horváth, I. T., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2004.
- 5) Xiang, J.; Toyoshima, S.; Orita, A.; Otera, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3670–3672.
- 6) Wende, M.; Meier, R.; Gladysz, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11490–11491.
- 7) Ishihara, K.; Kondo, S.; Yamamoto, H. *Synlett.* **2001**, 1371–1374.
- 8) Shirakawa, S.; Tanaka, Y.; Maruoka, K. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1429–1431.
- 9) Takeuchi, S.; Nakamura, Y. In *Handbook of Fluorous Chemistry*; Gladysz, J. A.; Curran, D. P.; Horváth, I. T., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2004; pp 316–322.
- 10) Berkessel, A.; Gröger, H. *Asymmetric Organocatalysis – From Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis*; Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
- 11) MacGillivray, L. R.; Atwood, J. L. *Science* **1997**, *389*, 469–471.
- 12) Avram, L.; Cohen, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15148–15149.
- 13) Avram, L.; Cohen, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4365–4368.
- 14) Avram, L.; Cohen, Y. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3329–3332.
- 15) Shivanyuk, A.; Rebek, J., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3432–3433.
- 16) Avram, L.; Cohen, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11556–11563.
- 17) Yamanaka, M.; Shivanyuk, A.; Rebek, J., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2939–2943.
- 18) Philip, I.; Kaifer, A. E. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1558–1564.
- 19) Myers, K. E.; Kumar, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12025–12026.
- 20) Leeder, S. M.; Gagué, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9048–9054.
- 21) Martin, O. M.; Yu, L.; Mecozzi, S. *Chem. Commun.* **2005**, 4964–4966.
- 22) 清水正一, 第 38 回日本大学生産工学部学術講演会オーガナイズドセッション講演概要 **2005**, 1–4.
- 23) Tunstad, L. M.; Tucker, J. A.; Dalcanale, E.; Weiser, J.; Bryant, J. A.; Sherman, J. C.; Helgeson, R. C.; Knobler, C. B.; Cram, D. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1305–1312.

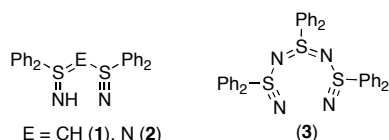
高選択的分離を指向した機能性材料の創製

—新規スルファンニトリル配位子の錯形成について—

日大生産工 ○藤井 孝宜・平田 光男

1 緒言

本プロジェクト研究では、新しい配位子の設計および合成を行い、これを有価金属の高選択的分離並びに微量分析が可能な誘導化試剤として利用することを目的としている。新規配位子としては、我々がすでに合成・単離に成功した硫黄-窒素三重 (S≡N) 結合を有する化合物 (λ^6 -スルファンニトリル) を鍵化合物とする。この S≡N 結合は、極めて希な結合であり、その化学ならびに物理的性質は非常に興味を持たれる。昨年度までに我々は、末端に S≡N 結合と S=NH 結合を備え持つ新規スルファンニトリル配位子 **1**, **2** と両端に S≡N 結合を有する配位子 **3** の合成に成功している。また、得られた配位子と有機スズ試薬との反応では、配位子 **1—3** の末端窒素がスズ原子に配位した 6, 8 員環化合物が高収率で得られ、これらの結果より配位子 **1—3** は 2 座キレート配位子として利用できることを明らかにしている¹⁾。



平成 18 年度は、新規スルファンニトリル配位子 **1—3** を遷移金属に対する分離誘導化試剤として活用するため、各種金属錯体の合成および、それらのキャラクタリゼーションと金属キレートの抽出挙動について検討している。本発表では、配位子 **3** と Co(II), Ni(II), Cu(II) との 8 員キレート錯体の合成と各種錯体の分子構造、安定度および電気化学的性質について明らかにしたので報告する。

2 実験

2.1 合成

既知の方法で合成した配位子 **3**¹⁾ と各金属塩化物 (MCl₂, M=Co, Ni, Cu) とをメタノール中、種々のモル比で反応させた。溶媒濃縮後、再結晶することにより、各種金属錯体 ([MCl₂·**3**] 又は [M·**3**]₂[2Cl]) が得られた。

2.2 単結晶 X 線構造解析

各金属錯体 ([MCl₂·**3**], [M·**3**]₂[2Cl]) の X 線回折測定は Rigaku 製 RAXIS- RAPID を用いて測定を行い、構造解析は SHELXL-97 プログラムを用いて行った。

2.3 安定度定数

高濃度の各金属錯体 ([MCl₂·**3**], [M·**3**]₂[2Cl]), 金属塩化物 (MCl₂, M=Co, Ni, Cu) および配位子 **3** の UV-vis スペクトルを測定し、安定度測定に最適な波長を決定し、その波長での各金属錯体の検量線を作成した。[MCl₂·**3**] と [M·**3**]₂[2Cl] 錯体の安定度定数の測定は、[MCl₂] : [**3**] = 100 : 1 および 1 : 100 のメタノール溶液をそれぞれ調整してスペクトルを測定し、その時の吸光度により、各金属錯体の濃度を計算し、式(1)より安定度を算出した。

$$\beta_n = [ML_n] / [M][L]^n \quad (1)$$

2.4 サイクリックボルタンメトリー

各金属錯体の電位は、ポテンションスタットに ALS 製 [H]CH Instruments 600B, 参照電極に Ag/Ag⁺ (TBAP/CH₃CN), 作用電極にグラッシーカーボンを使用し、各金属錯体を 0.1 M テトラエチルアンモニウム過塩素酸塩 (TEAP) /CH₂Cl₂ 支持電解質溶液に溶解 (0.5 x 10⁻³ M) して N₂ 雰囲気下で測定した。

Design and Synthesis of Novel Functional Materials Directed toward High Selective Separation

— Complexation of Novel Sulfanenitrile Ligands with Transition Metals —

Takayoshi FUJII and Mitsuo HIRATA

3 結果と考察

3.1 合成

5 当量の各金属塩化物 (MCl_2 , $M=Co, Ni, Cu$) のメタノール溶液に配位子を室温で加え攪拌したところ, それぞれ対応する $[MCl_2 \cdot 3]$ 錯体が青色 ($M=Co, Ni$) および, 黄色 ($M=Cu$) の固体としてほぼ定量的に得られた。次に, 配位子 **3** が複数配位した錯体を得るため, 各金属塩化物と 5 当量の配位子 **3** とをメタノール中, 室温で反応させた結果, それぞれ対応する $[M \cdot 3_2][2Cl]$ が青色 ($M=Co, Ni$) および, 緑色 ($M=Cu$) の固体がほぼ定量的に得られた。各金属錯体の同定および構造は, 単結晶 X 線構造解析より明らかにした。

3.2 単結晶 X 線構造解析

各金属錯体 ($[MCl_2 \cdot 3]$, $[M \cdot 3_2][2Cl]$, $M=Co, Ni, Cu$) は, メタノール—エーテルまたは, ジクロロメタン—エーテル溶媒で再結晶することにより単結晶を得ることが出来た。

3.2.1 $[MCl_2 \cdot 3]$ 錯体の分子構造

$[MCl_2 \cdot 3]$ ($M=Co, Ni, Cu$) 錯体の結晶および精密化データおよび, 主な結合長, 結合角を表 1-2 に示した。また, $[CoCl_2 \cdot 3]$ の分子構造を図 1 に示した。

Table 1. Relevant Crystallographic Data for $[MCl_2 \cdot 3]$ ($M=Co, Ni, Cu$)

	$[CoCl_2 \cdot 3]$	$[NiCl_2 \cdot 3]$	$[CuCl_2 \cdot 3]$
formula	$C_{36}H_{30}Cl_2CoN_4S_3$	$C_{36}H_{30}Cl_2NiN_4S_3$	$C_{36}H_{30}Cl_2CuN_4S_3$
formula weight	744.65	744.43	749.26
crystal system	orthorhombic	orthorhombic	orthorhombic
space group	Pbca	Pbca	Pbca
temp, K	120(2)	120(2)	90(2)
<i>a</i> , Å	16.696(3)	16.5832(18)	16.315(2)
<i>b</i> , Å	17.612(3)	17.568(3)	17.785(3)
<i>c</i> , Å	22.944(3)	22.977(4)	22.955(3)
<i>V</i> , Å ³	6746.9(17)	6694.1(17)	6660.6(18)
<i>Z</i>	8	8	8
μ (Mo K α)	0.886 mm ⁻¹	0.960 mm ⁻¹	1.038 mm ⁻¹
θ range/deg	3.02-27.48	3.03-27.48	3.06-27.48
reflns colled	61237	60522	60478
reflns/Rint	7714/0.095	7640/0.026	7625/0.042
refined params	415	415	536
<i>R</i> (%) (<i>I</i> >2 σ [<i>I</i>]) ^a	3.96	3.09	2.69
<i>R</i> _w (%) ^b	8.27	8.16	6.91

^a $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^b $R = [\sum (w(F_o^2 - F_c^2)^2) / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$.

Table 2. Selected Bond Lengths (Å) and Angles (deg) for $[MCl_2 \cdot 3]$ ($M=Co, Ni, Cu$)

	$[CoCl_2 \cdot 3]$	$[NiCl_2 \cdot 3]$	$[CuCl_2 \cdot 3]$
M-Cl(1)	2.2810(7)	2.2687(5)	2.2677(5)
M-Cl(2)	2.2776(7)	2.2659(5)	2.2756(5)
M-N(1)	2.003(2)	1.9736(14)	1.9503(13)
M-N(4)	1.982(2)	1.9586(14)	1.9387(13)

The atom labeling scheme is shown in Figure 1.

Table 2. (Continue)

	$[CoCl_2 \cdot 3]$	$[NiCl_2 \cdot 3]$	$[CuCl_2 \cdot 3]$
S(1)-N(1)	1.4682(2)	1.4702(14)	1.4716(13)
S(1)-N(2)	1.667(2)	1.6606(14)	1.6539(14)
S(2)-N(2)	1.554(2)	1.5570(14)	1.5604(13)
S(2)-N(3)	1.5581(19)	1.5561(13)	1.556(13)
S(3)-N(3)	1.675(2)	1.6758(13)	1.6758(13)
S(3)-N(4)	1.468(2)	1.4719(13)	1.4700(13)
Cl(1)-M-Cl(2)	111.60(3)	117.019(19)	104.954(18)
Cl(1)-M-N(1)	112.09(6)	108.50(4)	104.96(4)
Cl(1)-M-N(4)	112.27(6)	111.58(4)	125.98(4)
Cl(2)-M-N(1)	112.64(6)	113.99(4)	125.96(4)
Cl(2)-M-N(4)	108.46(6)	106.26(4)	101.06(4)
N(1)-M-N(4)	99.13(8)	97.81(6)	96.25(6)
N(1)-S(1)-N(2)	121.37(11)	121.23(7)	120.70(7)
N(1)-S(1)-C(1)	115.34(12)	116.42(8)	116.92(8)
N(1)-S(1)-C(2)	111.62(11)	111.07(8)	110.57(7)
N(4)-S(3)-C(3)	109.63(12)	109.35(8)	109.42(8)
N(4)-S(3)-C(4)	117.44(12)	117.58(8)	116.40(8)
M-N(1)-S(1)	124.68(12)	125.69(8)	125.78(8)
S(1)-N(2)-S(2)	118.95(12)	118.58(8)	117.36(8)
S(2)-N(3)-S(3)	118.78(12)	118.23(8)	119.08(8)
M-N(4)-S(3)	128.19(13)	128.87(8)	128.03(8)

The atom labeling scheme is shown in Figure 1.

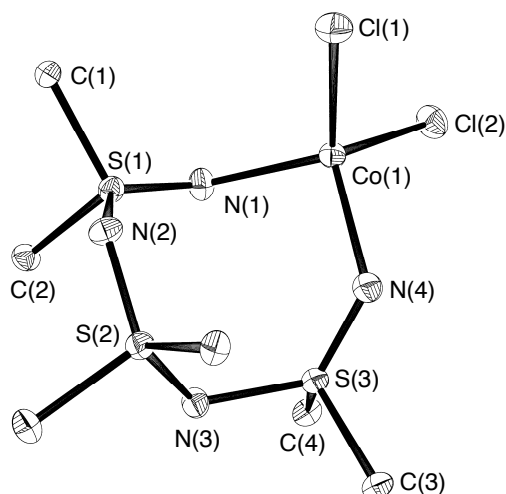


Figure 1. ORTEP drawing of $[CoCl_2 \cdot 3]$ [50% probability thermal ellipsoids; H and C atoms (apart from the C α atoms of the phenyl rings) have been omitted for clarity.]

$[MCl_2 \cdot 3]$ ($M=Co, Ni, Cu$) 錯体の分子構造は, 配位子 **3** の両端 N 原子が金属に配位した 8 員キレート環構造を形成していた。金属を中心とした立体化学は, いずれの錯体も N-M-N 結合角 ($M=Co: 99.13(8)^\circ$, $Ni: 97.81(6)^\circ$, $Cu: 96.25(6)^\circ$) が, 正四面体の結合角 (109.5°) よりも約 10° ほど狭まった歪んだ四面体構造を形成していた。また, $[CuCl_2 \cdot 3]$ 錯体においては, $Cl(1)-Cu(1)-N(4)$ および $Cl(2)-Cu(1)-N(1)$ の結合角が, それぞれ $125.98(4)$, $125.96(4)^\circ$ と正四面体の結合角から大きくずれており, Cl と N 間の非共有電子対による反発が大きくなっていることが示唆された。

各金属錯体の配位子部の構造は、いずれも同様な結合長および結合角を有していた。配位子部の S(1)-N(1)および S(3)-N(4)結合長は、対応する遊離の配位子 **3** の結合長 (S-N_{term}: 1.457(2) Å)^{1b)} とほぼ同じであったが、N(1)-S(1)-C(2)および N(4)-S(3)-C(5)の結合角は、化合物 **3** の N_{term}-S-C (av. 116.4) よりも幾分か小さく、四面体構造の結合角に近くなっていた。結合角が小さくなることは、配位子 **3** をプロトン化した化合物の構造からも確認できたが、この場合、末端 S-N 結合長 (S-N_{term}: 1.503(3), 1.512(4) Å) は伸長し、結合次数が小さくなっていた。これは、N 原子の非共有電子対の 1 つがプロトン化されることにより、N 原子の混成軌道が sp から sp² に変化したためと考えられる。しかし、各金属錯体の M-N-S 結合角は、124.68(12)° から 128.87(8)° と sp² 混成軌道の結合角 (120°) よりも大きく、プロトン化した化合物の N 原子よりも s 性が大きくなっていたことから、S-N 結合は短くなったと考えられた。

3.2.2 [M·3₂][2Cl]錯体の分子構造

[M·3₂][2Cl] (M = Co, Ni, Cu) 錯体の結晶および精密化データおよび、主な結合長、結合角を表 3-4 に示し、それらの分子構造を図 2-4 に示した。

[M·3₂][2Cl] (M = Co, Ni, Cu) 錯体は、配位子 **3** の両端 N 原子が金属に配位子した 2 組の 8 員キレート環を有していた。配位子部の結合長および結合角は、上述の[MCl₂·**3**] (M = Co, Ni, Cu) 錯体とほぼ同様であった。

Table 3. Relevant Crystallographic Data for [M·3₂][2Cl] (M = Co, Ni, Cu)

	[Co·3 ₂][2Cl]	[Ni·3 ₂][2Cl]	[Cu·3 ₂][2Cl]
Formula	C ₇₂ H ₆₀ Cl ₂ CoN ₈ S ₆ ·2MeOH·9H ₂ O	C ₇₂ H ₆₀ Cl ₂ Ni ₈ NiS ₆	C ₇₂ H ₆₀ Cl ₂ CuN ₈ S ₆ ·4H ₂ O
formula weight	1569.89	1359.25	1428.08
crystal system	monoclinic	monoclinic	monoclinic
space group	P21/a	P21/c	P21/c
temp, K	90(2)	90(2)	123(2)
a, Å	17.544(3)	10.146(2)	10.470(3)
b, Å	23.162(4)	17.284(4)	18.848(4)
c, Å	21.496(4)	17.518(4)	17.112(6)
β, deg	111.023(6)	93.260(9)	91.751(12)
V, Å ³	8154(3)	3067.1(12)	3375.1(16)
Z	4	2	2
μ(Mo Kα)	0.489 mm ⁻¹	0.661 mm ⁻¹	0.645 mm ⁻¹
θ range/deg	2.98-23.26	2.99-27.48	3.03-27.49
reflms colld	46760	29012	13082
reflms/Rint	11655 /0.0456	7004 /0.0270	7692 /0.0359
refined params	989	524	551
R (%) (I>2σ[I]) ^a	6.96	3.13	5.71
R _w (%) ^b	19.26	9.18	14.49

^aR = Σ||Fo| - |Fc||/Σ|Fo|. ^bR = [Σ(w(Fo² - Fc²)²)/Σw(Fo²)^{1/2}].

Table 4. Selected Bond Lengths (Å) and Angles (deg) for [M·3₂][2Cl] (M = Co, Ni, Cu)

[Co·3 ₂][2Cl]			
Co(1)-N(1)	1.996(4)	S(1)-N(1)	1.480(4)
Co(1)-N(4)	1.994(4)	S(3)-N(4)	1.472(4)
Co(1)-N(5)	1.991(4)	S(4)-N(5)	1.468(4)
Co(1)-N(8)	1.965(4)	S(6)-N(8)	1.467(4)
N(1)-Co(1)-N(4)	103.26(16)	N(5)-Co(1)-N(8)	105.87(16)
N(1)-Co(1)-N(5)	107.46(16)	Co(1)-N(1)-S(1)	131.2(3)
N(1)-Co(1)-N(8)	113.88(16)	Co(1)-N(4)-S(3)	125.0(2)
N(4)-Co(1)-N(5)	117.64(16)	Co(1)-N(5)-S(4)	136.4(3)
N(4)-Co(1)-N(8)	109.02(16)	Co(1)-N(8)-S(6)	140.0(3)
[Ni·3 ₂][2Cl]			
Ni(1)-N(1)	1.9201(14)	S(1)-N(1)	1.4792(14)
Ni(1)-N(4)	1.9165(14)	S(3)-N(4)	1.4717(14)
N(1)-Ni(1)-N(4)	92.20(6)	N(4)-Ni(1)-N(4)*	180.00(8)
N(1)-Ni(1)-N(1)*	180.00(8)	Ni(1)-N(1)-S(1)	124.24(9)
N(1)-Ni(1)-N(4)*	87.80(6)	Ni(1)-N(4)-S(3)	130.65(9)
[Cu·3 ₂][2Cl]			
Cu(1)-N(1)	1.984(3)	S(1)-N(1)	1.471(3)
Cu(1)-N(4)	1.984(3)	S(3)-N(4)	1.468(3)
N(1)-Cu(1)-N(4)	91.68(11)	N(4)-Cu(1)-N(4)*	180.00(19)
N(1)-Cu(1)-N(1)*	180.00(19)	Cu(1)-N(1)-S(1)	125.36(17)
N(1)-Cu(1)-N(4)*	88.32(11)	Cu(1)-N(4)-S(3)	125.17(19)

The atom labeling scheme is shown in Figure 2-4.

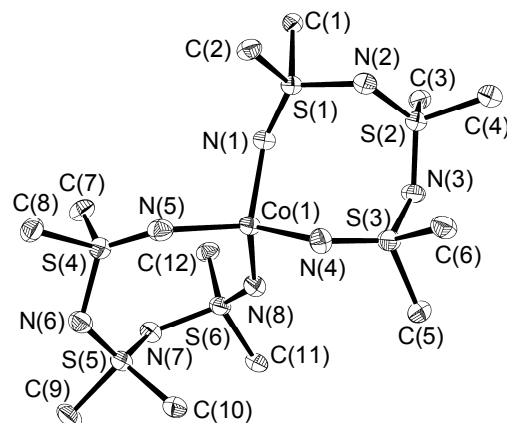


Figure 2. ORTEP drawing of [Co·3₂][2Cl] [50% probability thermal ellipsoids; H, C atoms (apart from the Cα atoms of the phenyl rings), two methanol, and nine water molecules have been omitted for clarity.

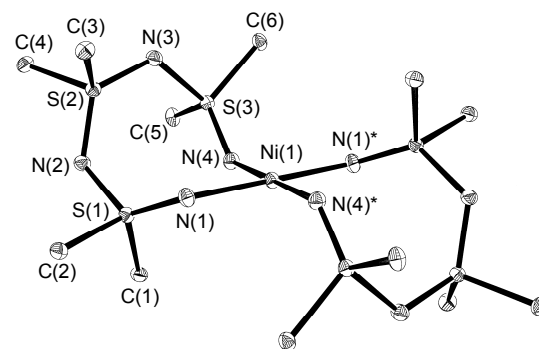


Figure 3. ORTEP drawing of [Ni·3₂][2Cl] [50% probability thermal ellipsoids; H and C atoms (apart from the Cα atoms of the phenyl rings) have been omitted for clarity.

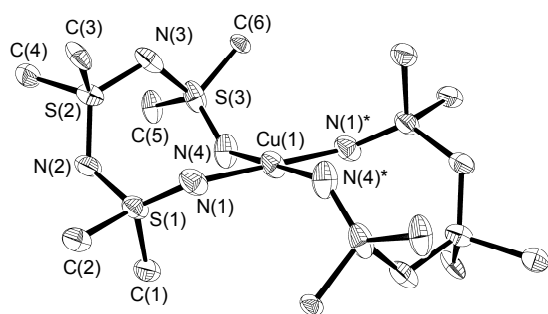


Figure 4. ORTEP drawing of $[\text{Cu}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ [50% probability thermal ellipsoids; H, C atoms (apart from the C α atoms of the phenyl rings), and four water molecules have been omitted for clarity.

金属を中心とした立体化学は、Co 錯体が四面体構造を形成していたが、Ni および Cu 錯体は $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ (M = Ni, Cu) 錯体とは異なり、平面四角形構造を形成していた (表 4)。これは、Cl イオンから配位子 **3** に交換したことから、非共有電子対間の大きな反発がなくなったため、4 配位の Ni(II) および Cu(II) イオンがとりやすい dsp^2 混成軌道を形成したためと考えられる。

3.3 安定度定数

$[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ および $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Ni, Cu) 錯体の安定度定数をメタノール中、UV-vis を用いて決定した (表 5)。その結果、いずれの金属錯体においても $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ 型錯体の安定度定数が大きくなっていることが分かり、 $[\text{NiCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ 錯体においては、生成定数が小さく測定することが出来なかった。また、 $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ および $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ 錯体において、Cu 錯体の安定度定数がもっとも大きく、Co, Ni 錯体の順に小さくなることが分かった。

Table 5. Stability Constants ($\log K$) of $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ and $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Ni, Cu)^a

	M = Co	M = Ni	M = Cu
$[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$	1.48 ^b	N.D.	2.88 ^b
$[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$	2.23 ^c	2.34 ^d	3.23 ^c

^a β_n is the formation constant based on the reaction: $\text{M}^{2+} + n\text{L} = [\text{ML}_n]$. ^b $\log K_1 = \log \beta_1$. ^c $\log K_2 = \log(\beta_2 - \beta_1)$. ^d $\log \beta_2$.

3.4 サイクリックボルタンメトリー

$[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ および $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Ni, Cu) 錯体の酸化還元電位測定を TEAP (0.1 $\times 10^{-3}$ M) を支持電解質として含むジクロロメタン溶液中で行い、各酸化電位を表 6 に示した。

各 $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ (M = Co, Ni, Cu) 錯体のサイクリックボルタノグラムから、第 1 および第 2 酸化ピークがそれぞれ観測され、第 1 酸化電位より、 $\text{Cu} \gg \text{Co} > \text{Ni}$ の順に酸化されやすいことが分かった。また、 $[\text{CuCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ 錯体の第 1 波においては可逆性が確認できた。

$[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Ni, Cu) 錯体のサイクリックボルタノグラムからは、第 1 酸化ピークのみが検出され、 $[\text{Co}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ 錯体においては可逆性が確認できたが、Ni, Cu 錯体においては対応する還元ピークはほとんど確認することが出来なかった。

Table 6. Oxidation Potentials of $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ and $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Ni, Cu) in CH_2Cl_2

	First	Second	(Epa + Epc)/2
$[\text{CoCl}_2\cdot\mathbf{3}]$	0.883	1.277	—
$[\text{NiCl}_2\cdot\mathbf{3}]$	0.956	1.235	—
$[\text{CuCl}_2\cdot\mathbf{3}]$	0.409	0.850	0.357
$[\text{Co}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$	0.898	—	0.835
$[\text{Ni}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$	0.956	—	—
$[\text{Cu}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$	0.876	—	—

Conditions of cyclic voltammetric measurements: glassy carbon working electrode; Ag/Ag⁺ reference electrode. Scan rate: 100 mV/s. Electrolyte: tetraethylammonium perchlorate.

4 結言

新規配位子 **3** と各種金属塩化物 (MCl_2 , M = Co, Ni, Cu) とをメタノール中、種々のモル比で反応させたところ、 $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ および $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ (M = Co, Cu) 錯体が得られた。各金属錯体の分子構造を X 線構造解析により明らかにした結果、いずれの錯体においても配位子 **3** は、2 つの末端 N 原子が金属に配位した 8 員キレート環構造を形成していた。各金属錯体の安定度および酸化還元電位を調べたところ、 $[\text{M}\cdot\mathbf{3}_2][2\text{Cl}]$ 錯体の安定度は、 $[\text{MCl}_2\cdot\mathbf{3}]$ 錯体より大きく、各金属間では、 $\text{Ni} < \text{Co} < \text{Cu}$ の順に大きくなることが分かった。また、この序列と酸化電位と相関があることが分かった。

5 参考文献

- 1) a) 藤井孝宜, 平田光男, 日本大学生産工学部ハイテク・リサーチ・センター平成 17 年度研究報告書, p. 5 (2006); b) T. Fujii, M. Kanno, M. Hirata, T. Fujimori, T. Yoshimura, *Inorg. Chem.* **44**, 8653 (2005).

1. 緒言

20世紀のめざましい産業の発達は我々の生活を快適かつ向上させてきたが、無計画でしかも無軌道であったために地球環境に大きなダメージを与える結果になってしまった。21世紀に入り、環境保全と環境修復を視野に入れたグリーンケミストリー、サステイナブル、ゼロエミッションなどの環境を意識した新しい認識が重要視されはじめている。このように環境を考えた場合、正確な環境理解は重要な意味を持つ。そのためには環境汚染状況および環境汚染物質の存在量の正確な把握は必要不可欠である。水銀、鉛、カドミニウムなどは少量でも人体に影響を与える有害重金属であるが、人類にとっての必須元素であっても多量の存在で人体に影響を与えるものも少なくない。いずれにしても、環境中に存在する重金属類の正確な存在量の把握は環境を理解する上で非常に重要である。環境試料中の重金属イオンの分高感度モニタリング法として原子吸光分析法は非常に有効な方法であるが、最近ではICP発光分析法（誘導プラズマ発光分析法）およびICP発光質量分析法がより高感度な分析法として用いられるようになってきたがコストがかかる、装置が高価であるなどの理由からまだまだ一般的とはいえず、原子吸光分析法は最も汎用な分析方法の一つである。原子吸光分析法にはフレーム法とフレームレス法の2つの方法がある。フレーム法は液体試料を霧状にした後にアセ

チレンを助燃剤として燃焼させてそのフレーム中の金属元素の存在量を定量する方法である。一方、フレームレス法はフレームを形成することなく、直接、試料を黒鉛やタングステンなどを素材とした炉に注入し、炉を高温に加熱することで原子蒸気を形成させ、この原子蒸気中の金属元素の存在量を定量する方法で、液体試料以外にも固体試料への適用が可能である。いずれの方法もホロカソードランプを用い、金属元素の存在量に比例する吸光度から金属元素の濃度を定量するものである。しかしながら、実際の分析では、分析対象金属の定量時におけるマトリックスの影響の排除およびより高感度な分析のために溶媒抽出法や固相抽出法などの予備濃縮操作を併用するのが一般的である。本講演会では予備濃縮操作に溶媒抽出法を用いたフレーム原子吸光法による環境試料中の微量鉄の定量法および固相抽出法を予備濃縮操作に用いたフレームレス原子吸光法による環境試料中の微量マンガンの定量法について検討した結果を述べる。

2. フレーム原子吸光分析法による環境試料中の微量鉄の定量法

2. 1. はじめに

2,4,6-トリ-2-ピリジル-1,3,5-トリアジン（以下、TPTZと略記）はFe(II)と青色の錯体を生成することからTPTZを比色定量試薬とする微量Fe(II)の吸光光度法の報告がある。しかし、Fe(II)の存在量が極微量の場合は吸光光度法に

Study on separation and determination of heavy metal ion
in environmental sample

Hiroaki MINAMISAWA

よる定量は困難になるため、このような場合は原子吸光分析法が用いられるが、種々の予備濃縮操作を併用することでより高感度な定量が可能になる。

本報告では水中の Fe(II)-TPTZ 錯体が過塩素酸とイオン対を形成してニトロベンゼンに抽出され、フレイム原子吸光法により定量できることを見出したので、溶媒抽出および原子吸光分析法における最適条件の検討、抽出されるイオン対錯体の組成等について検討を行った結果を述べる。

2. 2. 定量操作

5.0 μ g 以下の Fe(II)を含む試料溶液に 10⁻²M-アスコルビン酸溶液 3.0cm³, 10⁻²M-TPTZ 溶液 2.0cm³, 1M-NaClO₄ 溶液 2.5cm³ を加え、希 HCl 及び希 NaOH 水溶液を用いて水相の pH を 4.0 に調整後、全容を 50cm³ とする。これを分液ロートに移し、抽出溶媒であるニトロベンゼン 5.0cm³ を加え、振り混ぜ機で焼く 5 分間振り混ぜる。しばらく静置後、水相から有機相を分離し、得られた有機相は遠心分離機 (3,500r.p.m) にかけて水相と完全に分離し、この有機相中の Fe(II)濃度を原子吸光分析法により測定した。なお、から試験溶液についても同様の操作を行い、結果を補正した。原子吸光分析における測定条件は、分析波長 248.3nm, ランプ電流 10mA, バックグラウンド補正 D2 ランプ, 10cm スリットバーナー(水冷式), 光束位置はバーナー上 8.0mm, アセチレン流量 1.3dm³/min, 空気流量 7.0dm³/min とした。

2. 3. 結果および考察

2. 3. 1. 定量条件の検討

溶媒抽出-原子吸光分析法における抽出溶媒は生成した金属キレート抽出率が良好である他に溶媒の燃焼に際して有毒ガスを発生しない、不完全燃焼を起こさない、燃焼時のフレイムの吸光値が安定であるなどの条件を備えていることが望ましい。よく用いられ溶媒としてメチルイソブチルケトン (MIBK) などのケトン類、酢酸ブチル

などのエステル類、n-ブチルアルコールなどのアルコール類がある。そこで、抽出溶媒に MIBK, ニトロベンゼン, n-ブチルアルコール, m-キシレンを用いて前述の定量操作を行った。その結果, MIBK, ニトロベンゼンを用いた場合に Fe(II)の吸収が認められ, 生成した Fe(II)-TPTZ 錯体が抽出されていることがわかった。なお, 得られた吸光値はニトロベンゼンの方が安定した値を示した。溶媒抽出法では有機溶媒の水に対する溶解度が大きいと水相と有機相の割合の違いによって, 抽出前後の溶媒量が増えるために吸光値に影響を与える。ここで, 水に対する溶解度はニトロベンゼンが 0.21g/100cm³(20 \square), MIBK が 2.0g/100cm³(20 \square) であることから, ニトロベンゼンの方が水への溶解度が小さくために水相の量の変化による吸光値の影響を受け難く, 定量する際に十分なサンプル量を確保することができる。一方, MIBK は水への溶解度が大きく抽出後の溶媒量が増える, 比重が小さいために水相の上層に有機相がきて分離操作に時間がかかるなどの問題点がある。したがって, 本法ではニトロベンゼンを抽出溶媒とした。

その他, 抽出時の水相の pH, 試薬の添加量, 試料溶液の液量, 共存イオンの影響などについて検討を行い, 定量操作を決定した。

2. 3. 2. 検量線

検量線は Fe(II)5.0 μ g/50cm³ 以下で原点を通る直線関係が得られた。Fe(II)1.0 μ g および 5.0 μ g を含む試料溶液についての本法での繰り返し精度(n=10)はそれぞれ 2.6%, 2.9%であった。なお, 本法での定量下限は S/N \geq 3 で, Fe(II)0.4 μ g/50cm³, すなわち, 8.0ppb である。

2. 3. 3. 錯体の組成

Fe(II)は TPTZ と錯体を生成して過塩素酸イオンとイオン対を形成してニトロベンゼンに抽出される。そこで, 連続変化法と平衡移動法によりニトロベンゼンに抽出される Fe(II)錯体の組成比を求めた。その結果, その組成比は Fe(II) : TPTZ : ClO₄⁻ = 1 : 2 : 2 であった。Fig.1 に抽出錯体の構造式を示した。

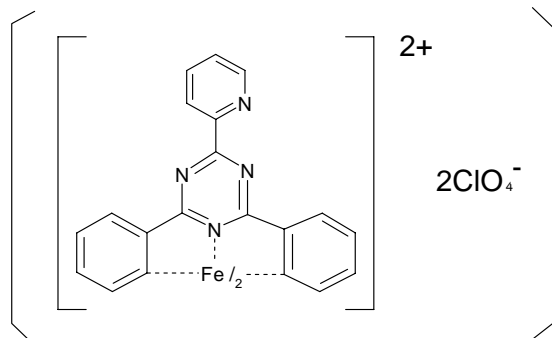


Fig.1 Schematic representation of Fe(II)-TPTZ-ClO₄⁻ complex

3. フレームレス原子吸光分析法による環境試料中の微量マンガンの定量法

3. 1. はじめに

キチンは天然多糖類の一種で、カニなどの甲殻類やイカなどの軟体動物の生体内に広く分布しているバイオポリマーの一つである。キチンの構造はセルロースに類似しており、セルロースの C-2 位の水酸基がアセトアミド基で置換されたものである。キチンは耐化学薬品性に優れており、広い pH 範囲で安定に存在する。また、酸性領域で分子内のアセトアミド基にプロトンが付加するために正電荷を持ち、陰イオン吸着体として作用することが知られている。星らは、このキチンの陰イオン吸着体としての特性を微量金属の吸光度分析における予備濃縮操作に適用する方法について報告している。

一方、ここで分析対象とした Mn は代表的な遷移金属であり、地殻中に広く分布するが、河川などの環境水中ではイオンまたはコロイドのかたちで僅かに存在している程度である。しかし、最近では河川中の Mn 濃度は増加の傾向にある。これは酸性雨により地殻中の Mn の溶出や化学肥料などによる河川の水質汚濁が原因ではないかとの指摘がある。また、富栄養化の進んだ湖沼や貯水池でも Mn 濃度の増加が認められ、環境水中の Mn 濃度の正確な把握は河川や湖沼の環境汚染の程度を知るうえで大きな指針となる。そこで、ここでは Mn が水中で過マンガン酸イオン(MnO₄⁻)として安定に存在する性質と

キチンが酸性領域で陰イオン吸着体として作用する性質に注目し、環境水中の Mn を MnO₄⁻に酸化処理した後にキチンに吸着濃縮させ、分離操作を伴わずに、MnO₄⁻の吸着したキチンを少量の純水に分散後、その一部を直接メタル炉に注入するサスペンション法による環境水中の極微量 Mn のフレームレス原子吸光分析法」について、分離濃縮条件の適正化および測定条件の最適化の検討をおこなった。

3. 2. 定量操作

1.0μg 以下の Mn を含む試料溶液(100cm³以下)に、6M-H₂SO₄2.0cm³, 6M-HNO₃2.0cm³, KIO₄粉末 0.2g を順次加えて約 30 分間煮沸し、すべての Mn を MnO₄⁻に酸化させる。放冷後、メスフラスコ(100cm³)に移し、純水を加えて全量を 100cm³とする。この溶液をビーカーに移し pH をアンモニア水 または HNO₃ を用いて 4.0 に調整した後、キチン 50mg を加え、スターラーで約 15 分間かき混ぜて MnO₄⁻をキチンに吸着させる。その後、メンブラフィルター(内径 23mm, 孔径 8.0μm)を用いて吸引ろ過し、MnO₄⁻の吸着したキチンをフィルターごと共栓付小型試験管に移す。純水を正確に 5.0cm³ 加え、試験管ミキサーで均一になるように分散させ、10 秒以内に懸濁液の一部(10μl)をメタル炉に直接注入し、原子吸光分析法により定量を行う。測定時の諸条件は Table 1 に示した。なお、から試験溶液についても同様の操作を行い、結果を補正した。

3. 結果および考察

3. 1 Mn のキチンへの吸着

Mn は多くの酸化数を持つことが知られているが、実際には+II および+VII の酸化状態が安定であり一般的である。そこで、Mn(II)および MnO₄⁻のキチンへの吸着に及ぼす pH の影響について検討を行った。その結果を Fig.2 に示す。キチンは酸性領域で陰イオン吸着体として作用するため、酸性～中性領域では陽イオンである Mn(II)はほとんどキチンに吸着されなかったが、pH の上昇に伴い Mn(II)の吸着率は上昇した。同様の実験をキチン無添加の条件で行っ

たところ、キチン無添加の条件でも pH の上昇と伴にろ液中の Mn 濃度は減少した。これは Mn(II)がキチンに吸着濃縮されるのではなく Mn(OH)₂または MnO などの沈殿を生成してメンブランフィルター上に捕捉され、見かけ上の Mn(II)のキチンへの吸着率が上昇したものと考えられる。

一方、MnO₄⁻は pH3.0~4.0 の範囲で最大の吸着率を示したが、その吸着率は最大でも 70%程度であった。これは MnO₄⁻が強い酸化剤であるために操作中に酸化還元反応が起こり、MnO₄⁻としての存在が不安定となり、陰イオン吸着体であるキチンへの吸着率が低下したものと考えられる。そこで、酸化処理を施した MnO₄⁻を用いてキチンへの吸着率を調べた。その結果、MnO₄⁻は pH3.0~5.0 の範囲でキチンにはほぼ 100%吸着された。また、Mn(II)を含む溶液にも同じ酸化処理を行い、同様の実験を行ったところ、酸化処理を施した MnO₄⁻を用いて行った結果と同様に pH3.0~5.0 の範囲ではほぼ 100%の安定した吸着率を示した。これらの検討結果より、Mn(II)と MnO₄⁻の分別定量は困難であるが、水中に存在する Mn を酸化処理することで、水中の全 Mn をキチンに濃縮できるので、本研究では環境水を酸化処理した後に pH4.0 に調整し、水中の全 Mn をキチンに吸着濃縮させることにした。

3. 2 分離濃縮条件の検討

前述の定量操作における吸着時間、キチン量など、水中の Mn をキチンに分離濃縮する際の諸条件の検討を Mn として 0.5μg を含む試料溶液 100cm³ を用いて行った。MnO₄⁻のキチンへの吸着率はキチン 50mg を含む Mn0.5μg/5.0cm³H₂O 懸濁液の吸光値と上記の操作により得られた懸濁液の吸光値を比較して求めた。その結果、吸着時間は 5 分以上で一定値を示したので、定量時には吸着時間を 15 分とした。吸着時間（実験時間）が長くなると MnO₄⁻が還元される可能性も出てくるため、15 分の吸着時間は妥当であると考えた。

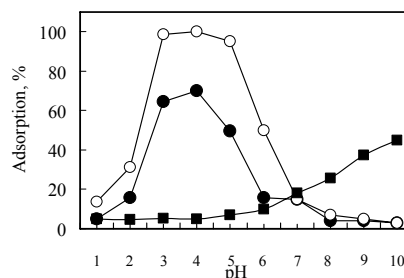


Fig.2 マンガンのキチンへの吸着における水相のpHの影響

○:MnO₄⁻(oxidation treatment), ●:MnO₄⁻(without treatment), ■:Mn(II), Mn 0.5 μg/100cm³, chitin:50mg, adsorption time:30min.

キチン量は 30mg 以上で一定の値を示したが、キチン量が多すぎると原子吸光測定時に分散液の一部がマイクロピペットや炉内に残留して誤差の原因となるため、定量時には実試料中の Mn 量および測定時における精度を考慮してキチン量を 50mg とした。なお、粒度の大きなキチンを用いた場合は分散後の沈降が早く、しかもマイクロピペットでの分取が不均一になるため、本実験では 300mesh 以下のキチンを用いることにした。

サスペンション法(分散法)においては、比重の大きな吸着担体を用いる際は沈降を防ぐためにグリセリン溶液などを使用することもあるが、キチンは純水でも十分安定した均一な懸濁液を得ることができたので、本研究では純水を分散液とした。なお、分散液量が少ないほど濃縮倍率は上昇するが、操作による誤差も大きくなるため、本実験では安定した懸濁状態が得られる 5.0cm³ を分散液量とした。このようにキチンは安定した懸濁状態をつくるが、それでも分散後の放置時間が長くなると放置時間の経過と共にキチンが沈降するため、測定誤差が大きくなる。よって、本実験では分散後、10 秒以内に分散液の液面下 1cm からマイクロピペットで分取することにした。

3. 4 検量線

検量線は Mn1.0μg/100cm³ 以下で原点を通る直線関係が得られた。Mn0.2μg および 0.5μg を含む試料溶液についての本法での繰り返し精度(n=5)はそれぞれ 4.7%, 3.9%であった。なお、本法での定量下限は S/N ≥ 3 で、Mn0.05μg/100cm³, すなわち、0.5ppb である。

『酵素を固定化したグラフト化 ePTFE 膜の複合化による薬物の透過促進』

日大生産工 ○松田清美・柏田 歩・山田和典・平田光男

1. 緒論

薬物を使用した化学療法は、古来からの草木や動物の成分の利用をはじめとして、19世紀の化学工業の発展による化学新薬の開発にあわせて進歩してきた。薬物の薬理効果を追及する合成化学技術ばかりでなく、薬物をいかに投与するかの研究も重要である。そのような製剤学の中で、より安全に、効果的に薬物化学療法を行う手段として“必要最小限の薬物を、必要な場所に、必要な時に供給する”という概念が生まれた。これがドラッグデリバリーシステム(薬物送達システム, DDS)である。DDSは薬物の血中濃度を長期間一定に保つことを目的とした薬物徐放化と、生体リズムにあわせて血中濃度を調節する制御放出、および薬物を患部に選択的に輸送するターゲティングに分類することができる¹⁾。より理想的な薬物療法を目的とする場合にはDDS, コントロールドリリースシステムにおいて、薬物の動きを時間的、空間的に制御することにより達成される。特に時間的制御には、様々な刺激応答材料などが利用され、自己制御型のコントロールドリリースシステムデバイスが実現されつつある²⁾。

生体組織の機能を代替する人工臓器の開発は1950年代より本格的に始まり、失われた生体の機能を代替する数々の人工臓器が開発されているが、現在使用されている人工臓器の素材は、工業用汎用性材料を医療用に加工したものに過ぎず、機械的特性は優れているものの、生体にとっては異物となる。そのため、生体に優しくかつ安全性の高い人工臓器の開発が強く望まれている。

近年、膜自体が置かれた環境変化を敏感に感知して膜の透過特性を変化させる、すなわちセンサー機能とバルブ機能を有する開発が行われるようになってきている。

一方、水溶性高分子(中性または電解質)をグラフト化した延伸ポリテトラフルオロエチレン(ePTFE)フィルムは高強度・高含水性であり、これらを酵素固定化基盤として活用し、酵素が有する基質特異性、穏和な反応条件といった特徴を生体外において高効率で反復して行うことは本テーマとして重要であると考えられる。グラフト鎖から酵素の遊離・脱着を抑えるために、不動化法として共有結合法を適用するが、これはグラフト鎖の高い易動性で固定化時の酵素の変性を低減できるという固定化基質としての優れた特徴を利用しようとしたものである。固定化酵素は反復利用が可能となり、酵素の耐酸性、耐塩基性、熱安定性なども向上するので、バイオリアクターの構築、特定物質との選択的反応と物質除去(例えば水質浄化)、固定化酵素による低コストの有機合成方法、基質特異性を利用したDDSへの展開も期待される。

固定化GODを用いたグルコース感応型のインスリン透過に関しては、カタラーゼがインスリンの透過を促進することが確認されたため、さらにこのカタラーゼの再利用を考慮して、GODと同様に固定化を試みた結果、十分可能となった。そこで今回は、生体内での高血糖値を感知してインスリンの放出を繰り返し行うことができる装置の設計を試みた。平行して、透過膜としてゲル膜を用

Acceleration of Drug Permeation through Combination of Enzyme Immobilized g-ePTFE Films

Kiyomi MATSUDA, Ayumi KASHIWADA, Kazunori YAMADA, and Mitsuo HIRATA

いることでゲルの網目の調節により酵素を固定化できること、共有結合で固定化した酵素に比べ高い活性を維持できることの利点を活かした複合膜の調製を検討する。

2. 実験

2.1 アクリル酸グラフト化延伸PTFE膜の調製

延伸 PTFE 膜 (ePTFE 膜 ; ADVANTEC 社製, 直径 47mm, 孔径 0.5 μ m, 空隙率 78%, 膜厚 65 μ m) を前報³⁾同様に洗浄後, 常温で減圧乾燥した。乾燥重量を測定後, 島津製作所製 LCVD-20 型プラズマ装置を使用して前報同様に酸素プラズマ処理を行った。プラズマ処理後, ePTFE 膜を常温・常圧の酸素雰囲気下のデシケーター内に 30 分間放置して, 酸素含有基を形成させた。光グラフト重合は, リコー科学産業製リコーロータリー光化学反応装置 RH400-10W を用いた。反応条件は前報³⁾同様である。重合後, 反応管より ePTFE-g-PAAc 膜を取り出し, 水道水および純水で手洗した。さらにホモポリマーを除去するため, 純水中に 24 時間浸漬した後さらに純水で洗浄した後, 減圧乾燥した。グラフト量はグラフト重合前後の重量変化から求めた。

2.2 ePTFE-g-PAAc膜への酵素GODおよび Catalaseの固定化^{4), 5)}

2.2.1 ePTFE-g-PAAc 膜への GOD の固定化

前報同様, 調製した ePTFE-g-PAAc 膜をリン酸緩衝溶液で十分膨潤させた後, *N*-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)によりグラフト鎖を活性化させ後, GOD と 1-シクロヘキシル-3-(2- (モルフォリノエチル) カルボジイミド-メソ-*p*-トルエンスルホネート (CMC ; 縮合剤) を反応させた。固定化量は, GOD の最大吸収波長である 277nm における UV 吸光度測定により決定した。

2.2.2 ePTFE-g-PAAc 膜への Catalase の固定化

2.2.1 の GOD と同様に ePTFE-g-PAAc 膜を NHS で活性化した後, Catalase と CMC を pH 6.30 リン酸緩衝溶液中で反応させた。

2.3 PAAc ゲル膜の作成と Catalase の包括

AAc モノマー, 架橋剤メチレンビスアクリルアミドおよび促進剤テトラメチルエチレンジアミンを純水に溶かし, 冷却しておく。一方, 開始剤過硫酸アンモニウムと Catalase を純水に溶解し, モノマー溶液と混合し, 直ちに冷却しておいたガラス板の間に流し込み, 3°C から 5°C で低温重合により調製した。

2.4 酵素活性測定

2.4.1 GOD

反応溶液中のグルコース (基質) 濃度を測定し, 減少したグルコース量から活性を評価した。

測定には, ベーリンガー・マンハイム社製 F-キット グルコースを用い, 340nm の吸光度変化から評価した。

2.4.2 Catalase

溶液中の残存過酸化水素を, 4-アミノアンチピリン, フェノール, ペルオキシダーゼにより発色させ, 505nm の吸光度測定により評価した。

2.5 Glucose添加によるInsulinの透過実験

2.5.1 ePTFE-g-PAAc-i-GOD 膜と ePTFE-g-PAAc-i-Catalase 膜を用いたインスリンの透過

Fig. 1 に示す透過装置の中央に pH 7.80 リン酸緩衝溶液中で 24 時間膨潤させた ePTFE-g-PAAc-i-GOD 膜および ePTFE-g-PAAc-i-Catalase 膜をシリコンゴムスペーサーを用いて固定した。供給側セルにはインスリンを含む pH 7.80 リン酸緩衝溶液を入れ, 透過側のセルには緩衝溶液だけを入れ, 30°C の恒温槽中で実験を開始した。30 分ごとに透過側のセル中の溶液を採取して, インスリンの最大吸収波長である 276.5nm で吸光度を測定し, 透過量を求めた。インスリンの透過状態を 150 分間観察後, グルコースを 2 枚の膜の間のセルに加え, 引き続き吸光度の測定を 30 分ごとに行った。

2.5.2 ePTFE-g-PAAc-i-GOD 膜と Catalase 包括 PAAc ゲル膜を用いたインスリンの透過

2.5.1 の ePTFE-g-PAAc-i-Catalase 膜の代わりに Catalase 包括 PAAc ゲル膜を用いて、中間のセルを除いて従来通りの方法でグルコース添加によるインスリンの透過実験を行った。

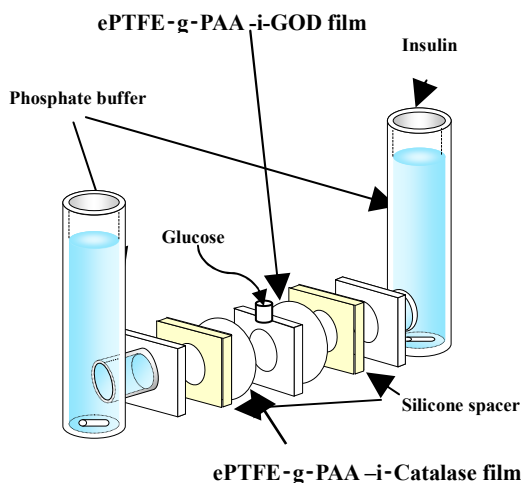


Fig. 1 A new apparatus for Insulin permeation experiments

3. 結果および考察

3.1 ePTFE 膜の PAAc グラフト量

今回使用した ePTFE-g-PAAc 膜の PAAc グラフト量は、平均 0.5g/g であった。

3.2 ePTFE-g-PAAc 膜固定化酵素の活性

3.2.1 Catalase の酵素活性

ePTFE-g-PAAc-i-Catalase 膜の Catalase の酵素活性を吸光度測定から求めた結果を Fig. 2 に示す。反応時間の経過に伴い、酵素 Catalase の基質である過酸化水素の減少が確認された。このことから、固定化された Catalase が活性を持っていることが確認された。

3.2.2 GOD の酵素活性

ePTFE-g-PAAc-i-GOD 膜の GOD 場合も同様に時間の経過とともに基質グルコースの濃度の減少に

より、活性の保持を確認した。しかし、GOD のグルコース消費量は小さく Catalase の促進作用が強く求められる状態であった。

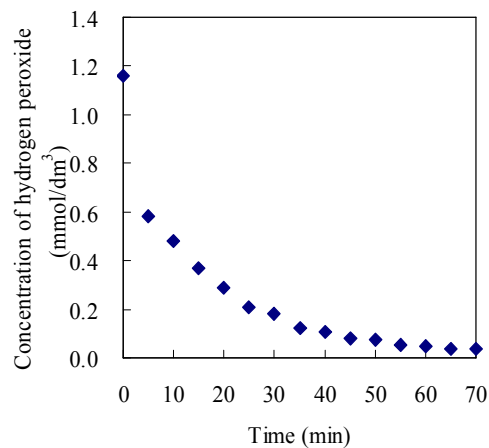


Fig. 2 Enzyme activity of immobilized Catalase on PAAc-g-ePTFE film

3.3 ePTFE-g-PAAc-i-GOD 膜および ePTFE-g-PAAc-i-Catalase 膜を用いたインスリンの透過

Fig. 1 に示した装置を用い、2.5 に従い実験した結果を Fig. 3 に示す。PAAc グラフト量が 0.5g/g と小さかったため、グルコース添加前にインスリンが連続的に放出される結果となった。

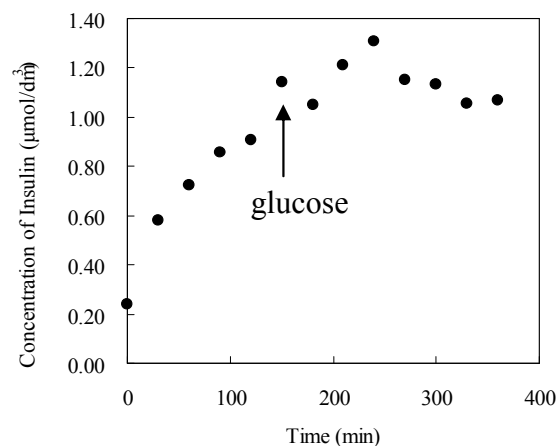


Fig. 3 Changes in the Insulin permeabilities through ePTFE-g-PAAc-i-GOD and ePTFE-g-PAAc-i-Catalase films

150分経過後グルコースを添加した時点でインスリンが減少した現象は、グルコース溶液の注入により透過側の溶液が増加したためではないかと考えられる。その後インスリンの増加が観察されたが、240分後には減少に転じた。このことはインスリンの透過セル内の濃度の減少を意味している。その原因は、膜のPAAcグラフト鎖が収縮することによりグルコースが透過側に移動し相対的にインスリンの濃度の低下になったものと解釈される。

3.4 ePTFE-g-PAAc-i-GOD膜およびCatalase包括PAAcゲル膜を用いたインスリンの透過

新しい装置の使用は、現在不調である。従来通りの装置でゲル膜を用いて、グルコースの添加によるインスリンの透過促進実験を行った結果をFig. 4に示す。初期にインスリンの少量の漏れは観察されたが、150分後にグルコースを添加した後、徐々にインスリンの透過が観察され、240分以降には透過が促進されていることが確認された。従って、GODとCatalaseを組み合わせることでインスリンの透過を促進できることは明らかである。

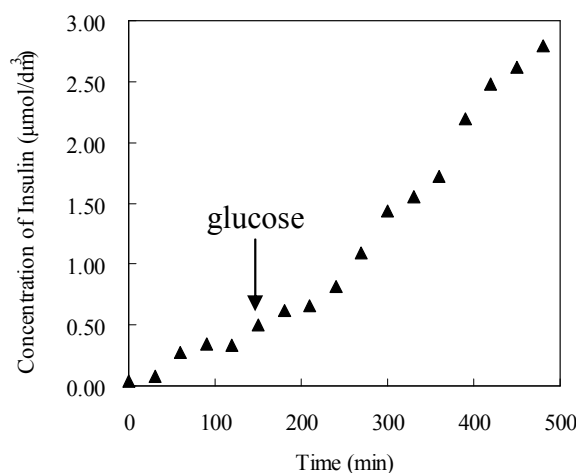


Fig. 4 Changes in the Insulin permeabilities through ePTFE-g-PAAc-i-GOD film and Catalase trapped PAAc gel film

5. 今後の課題

糖尿病対策として、その治療薬であるインスリンをグルコースの増加を検知して提供でき、グルコース値が正常に戻ればその提供を中止できるシステムが望まれる。今回用いた新装置への膜の設置方法を再検討するとともに、GODとCatalaseを同一膜に固定化し、更なる効率化を図る。また、基質膜の孔の形状を延伸した孔ではなく、膜を貫通する孔をもつものに変えることも検討する。現在、入手している膜はポリカーボネート製で強度に問題があるが、外的環境変化への応答が早いという報告⁹⁾があり、本研究への適用は大いに期待できるものと考えている。

【参考文献】

- 1) Kai Zhang, Xiao Yu Wu, *J. Controlled Release*, **80** (2002), 169
- 2) S. Sershen, J. West, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54** (2002), 1226
- 3) Lei Ying, E. T. Kang, K. G. Neoh, *J. Membrane Sci.*, **208** (2002), 361
- 4) K. Podual, F. J. Doyle III, N. A. Peppas, *J. Controlled Release*, **67** (2000), 9
- 5) 松田清美・柏田 歩・山田和典・平田光男, 日本大学生産工学部ハイテク・リサーチ・センター平成17年度研究報告書(2005), 13
- 6) H. Ohashi, N. Miyaoi, and T. Yamaguchi, *J. Photopolym. Sci. Tech.*, **19** (2006), 251