

中央分析センター報告

— 第6号 —

REPORT

OF

THE CENTER OF ADVANCED INSTRUMENTAL ANALYSIS

KYUSHU UNIVERSITY

NUMBER 6

1988

九州大学
中央分析センター

目 次

機器分析学の進歩

| | | |
|-------------------|------------|---|
| セラミックスとCVD | 加藤昭夫 | 1 |
| ニューガラスの開発動向 | 森永健次 | 3 |

研究報告

| | | | | | |
|--|------|-----------|------------|------------|----|
| 還元糖のポストカラム蛍光誘導体化高速液体クロマト | 梅香家 | 佳彦 | 彦均 | 5 | |
| 1. グラフィー：1,2-ビス(4-メトキシフェニル)エチレ ンジアミン試薬の応用開発 | 能大倉 | 田倉洋 | 甫洋 | | |
| ¹ H-、 ³¹ P-核磁気共鳴スペクトルによる光学活性環状 有機リン酸エステルの立体配置決定 | 呉平江 | 少島守 | 明勇 | 法総 | 11 |
| 3. リン脂質膜 Dipalmitoyl phosphatidylcholine のゲル -液晶相転移 | 坂西林 | 下山寛 | 宣文 | 昭虎 | 17 |
| 4. 培地中に生成する揮発性成分による Bacillus 属細菌の 分類 | 下篠長 | 田島満 | 哉利 | 豊彦 | 24 |
| 5. 長鎖脂肪酸と 11-(9-カルバゾリル)ウンデカン酸と の混合単分子累積膜の構造 | 豊小 | 村田重 | 賢彦 | 信士 | 33 |
| 6. 核酸デオキシリボース環の動的構造 | 西林 | 山村宣 | 虎 | 昭和 | 38 |
| 7. 単結晶構造解析による混晶の組成決定 | 岡西岩平 | 崎嶋進 | 嵩宣 | 虎篤昭和 | 44 |
| 8. シクロデキストリンとハンマー ヘッドビオローゲン 間の安定包接複合体の高分解能NMRによる研究 | 斎米中松 | 藤村弘 | 村尾英明 | 博拓 | 52 |
| 中央分析センター機器の利用状況（その6） | | | | | 59 |
| A. エスカ・スキャンニングオージュ表面分析装置（筑紫地区） | | | | | |
| B. 蛍光X線分析装置（筑紫地区） | | | | | |
| C. 集中法粉末X線回析計（筑紫地区） | | | | | |
| D. 4軸型自動X線回析計（筑紫地区） | | | | | |
| E. フーリエ変換赤外分光光度計 | | | | | |
| 昭和63・64年度 中央分析センター委員 | | | | | 66 |
| ESCAを利用した研究成果（1985—1988） | | | | | 69 |
| X線を利用した研究成果（1985—1988） | | | | | 70 |
| センター業務記録 | | | | | 73 |

一機器分析学の進歩

中央分析センター講演会（第6回）が加藤昭夫教授（工学部）と森永健次教授（総理工）を講師として迎え、昭和63年3月12日筑紫地区共通管理棟大会議室において午前10時より開催されました。この講演要旨を以下に掲載いたします。

セラミックスとCVD

九州大学工学部 加藤昭夫

セラミックス（固体無機材料）は構造および形態から、下記のように分類される。

構造による分類

製法による分類

①多結晶体

④結晶質材料

②単結晶体

液体の自然放冷 固体無機材料

③非晶質材料

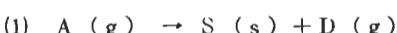
液体の急速冷（ $10^3 \sim 10^{12}$ K/min）

経由の熟着膜

形態による分類

①粒子（0次元）、②繊維（一次元）、③膜（二次元）、④三次元体（焼結体）

①の多結晶体材料のはとんどは、粉体から焼結によって製造される。一方CVDはChemical Vapor Depositionの略で、気体成分の化学反応によって固体を析出させる方法である。CVDの化学反応にはつきの型がある。



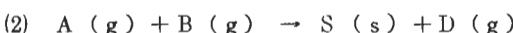
等方性・組織均



元素分布の均



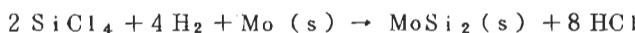
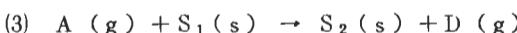
光（電離波）の



容易加工性



-P、B）、次回



CVDで析出する固体の形態には、固体表面上に析出・成長する薄膜、ウィスカーよりバーカ結晶と、気相で生成する粒子がある。これらの形態から判るように、CVD法は上記の構造あるいは形態をもつセラミックスの製造に応用できる。CVD法は、PVD法とともに、薄膜—装飾用薄膜、保護膜、光学的薄膜、電気的薄膜—の製造法として広く利用されてきており、今後も益々重要になる方法である。このようにCVD法は薄膜生成法として発展してきたので、CVD法=薄膜形成法と一般に受け取られているが、CVD法は高純度物質の製造法、ウィスカーや成長法、および超微粒子生成法としても重要な方法になってきている。

CVD法では化学反応を起こさせるために反応物を活性化しなければならない。最も一般的な方法は加熱による方法である。加熱法としては、電気炉法、化学炎法、プラズマ（熱）法および最近注目されているレーザー法などがある。新しい反応分子の活性化法として、光、レーザー、プラズマ（低温）の利用がある。これらの利用によってCVDプロセスを低温化できる。一方、原料物質としては、従来は金属ハロゲン化物、あるいは金属を中心であったが、最近は有機金属化合物の利用（MOCVD）が注目されてきた。



電子ビーム活性化

本節は、電子ビーム活性化によるCVD法の概要である。電子ビーム活性化によるCVD法は、電子ビームをガス分子に照射して、そのエネルギーにより分子が活性化され、その後、活性化された分子が基板表面に到達して、そこで反応して薄膜や結晶が生成される。また、電子ビーム活性化によるCVD法は、電子ビームをガス分子に照射して、そのエネルギーにより分子が活性化され、その後、活性化された分子が基板表面に到達して、そこで反応して薄膜や結晶が生成される。

電子ビーム活性化によるCVD法



ニューガラスの開発動向

クロマトグラフィー

総理工・材料開発

ニル

森永健次

梅香家作成スカラム検討会議

光の時代を迎へ、ニューガラスへの期待が高まっている。ニューガラスを理解する上で最も重要な問題は、“何故ガラスにするのか？”である。この間に答えるためガラスの分類法を提唱した。

High-performance liquid chromatographic formation of reducing sugars by postcolumn fluorescence

〈組成による分類〉

I. 酸化物系

II. カルコゲナイド系

III. ハロゲン系

IV. テトラヘドラル系

V. 合金系

VI. 有機系

〈製法による分類〉

① 融体の自然放冷 (10^2 °C/sec 以下)

② 融体の超急冷 ($10^2 \sim 10^{12}$ °C/sec)

③ 気体の蒸着 ($10^{10} \sim 10^{16}$ °C/sec)

④ 気体→プラズマ経由の蒸着膜 (非平衡化学種)

⑤ 固体の表面のアモルファス化 (放射線損傷等)

⑥ 溶液からの析出 (ブルーゲル法、合金電着法など)

〈材料学上の特徴による分類〉

A. 組成任意性

B. 等方性-組織均一性

C. 非晶/結晶のコントロール

D. 元素分布のコントロール

E. 準安定相の析出

F. 光 (電磁波) のコントロール

G. 欠陥の多量導入

H. 容易加工性

これらの分類法の活用を基礎として (例えば光ファイバー; I-③, ①-F, H) 、次世代に期待される次に挙げたニューガラスを解説した。

A. 光学的機能ガラス

- A-1. 光ファイバー
- A-2. 屈折率分布ガラス
- A-3. レーザーガラス
- A-4. 光メモリーガラス
- A-5. 選択吸収反射ガラス
- A-6. ICフォトマスク

D. 熱的機能ガラス

- D-1. 热膨張ゼロガラス
- E. 機械的機能ガラス
- E-1. 高強度ガラス
- E-2. 精密加工用ガラス

B. 磁気的機能ガラス

- B-1. フラーダー回転ガラス
- B-2. フェライト系ガラス

- F-1. 廃棄物固化処理用ガラス
- F-2. 触媒担体ガラス
- F-3. 人工骨ガラス
- F-4. 化学強化ガラス

C. 電気的機能ガラス

- C-1. ハイブリットIC
- C-2. 透明導電膜付ガラス基板
- C-3. 磁気記録用ディスク基板

封

一層構造一層式

封底封頭

モノマーに由る素元

この品種へ晶形

モノマーに（多層）

出荷の時 宝塚市

封工販售

人暮屋の品種

質) 10 μl を用い

関連し分離する。上層部を下の HPLC に注入する。

還元糖のポストカラム蛍光誘導体化高速液体

クロマトグラフィー: 1,2-ビス(4-メトキシフ

ニル)エチレンジアミン試薬の応用開発

九州大学薬学部 梅香家佳彦、能田 均

大倉 洋甫

High-performance liquid chromatographic determination of reducing sugars by postcolumn fluorescence derivatization: development of 1,2-bis(4-methoxyphenyl)-ethylenediamine reagent

Yoshihiko Umegae, Hitoshi Nohta and Yosuke Ohkura

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

1. 緒論

糖類は重要な生体成分であり、生体試料中の還元糖の分析が biomedical 研究に重要である。従来から、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による還元糖の一斉分析法が報告されており、検出には近紫外外部吸光 (UV) 法^{1,2)}、示差屈折率 (RI) 法^{3,4)} またはポストカラム蛍光誘導体化法が用いられている。UV 法と RI 法は検出感度と選択性に問題がある。一方、ポストカラム蛍光検出法は感度、選択性ともに高い。蛍光試薬として、タウリン⁵⁾、エタノールアミン⁶⁾、2-シアノアセトアミド⁷⁾、2-アミノプロオニトリルフマレート⁸⁾ 及び 4-メトキシベンズアミジン⁹⁾ が報告されている。今回我々はメゾー 1、2-ビス(4-メトキシフェニル)エチレンジアミン (*p*-MOED) を還元糖の蛍光試薬として見出した。これを還元糖のポストカラム蛍光誘導体化 HPLC に利用した方法を確立した。本法は還元糖をホウ酸錯化合物として陰イオン交換カラムによって分離^{8,10-12)} した後、*p*-MOED で蛍光ラベルし検出するものである。又この方法の実試料（尿と血清）への応用についても報告する。

2 Chromatogram of a standard mixture of 14 reducing sugars at various concentrations. Concentration, mol/l. In parentheses, injection volume in parentheses.

2. 実験

2.1 試薬

p-MOEDは文献¹³⁾に従って合成した。糖類の標準品は和光純薬製またはナカライテスク社製特級品を用いた。水は蒸留した脱イオン水を、他の試薬は市販の特級品あるいは得られる最上級品を使用した。

2.2 装置

Fig.1に我々が組み立てたHPLCシステムを示す。還元糖の分離カラムには陰イオン交換カラム、TSK-gel Sugar AXG (150 X 4.6 mm i. d.) を用いた。移動相には0.5 M ホウ酸塩緩衝液 (pH 8.7) を用い、0.4 ml/minで送液した (カラム温度は60°C)。試薬送液用の2連ポンプを用いて15 mM p-MOEDの30%エタノール溶液及び0.75 M 水酸化ナトリウムを各々0.15 ml/minの流速で混合し、これをカラムからの溶出液に導入する。蛍光反応は20 mM 0.5 mm i. d. のステンレスコイル中 (通過時間、約1.4分)、140°Cで行う。反応後冷却コイル (1 mM 0.5 mm i. d. ステンレスチューブ、空冷) を通したのち蛍光検出を行う (励起側: 330 nm、発光側: 460 nm)。

2.3 試料の前処理

尿または血清250 μlにアセトニトリル250 μl、10 μmol/mlメリビオース (内標準物

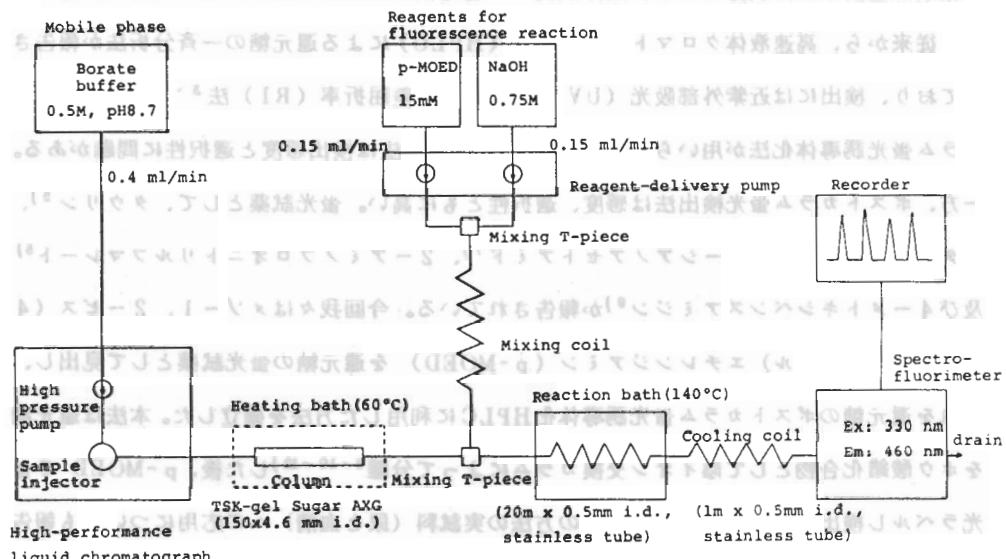


Fig. 1 Flow diagram of the HPLC system for reducing sugars

質) $10 \mu\text{l}$ を加え、 1500 g で 10 分間遠心分離する。上清 $100 \mu\text{l}$ に 0.5 M ホウ酸緩衝液 (pH 8.7) $200 \mu\text{l}$ を加えてその $100 \mu\text{l}$ を HPLC に注入する。

3. 結果と考察

3.1 HPLC 条件及びポストカラム蛍光反応条件

条件検討には主にセロビオース、マルトース、D-リボース、D-マンノース、D-アラビノース、D-ガラクトース、D-キシロース及びD-グルコース（計 8 種）を用いた。分離カラムには陰イオン交換カラムの他にシリカゲルにアミノ基を修飾したもの、TSKgel Amide-80 や TSKgel NH₂-60 などを検討したが、これらは溶離に高濃度の有機溶媒（アセトニトリル）を必要としたため、ポストカラム反応の最適化が困難であった。陰イオン交換カラムを用いたとき最も良好な分離と最も高い感度が得られた。ホウ酸濃度と pH の上昇と共に 8 種すべての糖の溶出は早くなる。ホウ酸濃度 0.5 M 、pH 8.7において最も分離状態が良好であった。

2.2 の HPLC 条件下で得られる 14 種の還元糖の標準混液のクロマトグラムを示す。

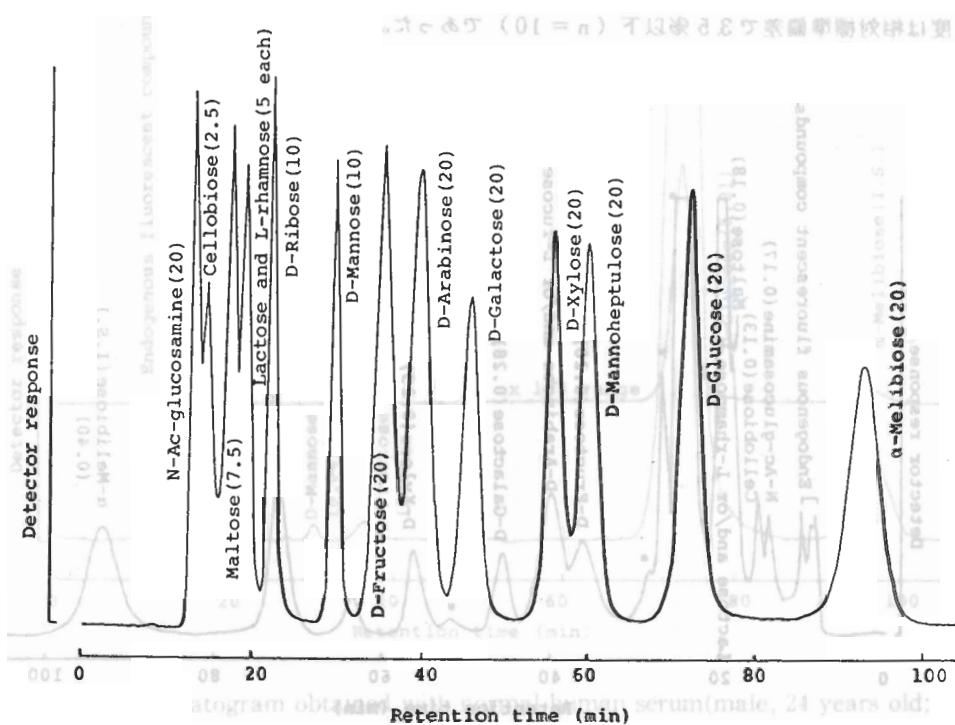


Fig. 2 Chromatogram of a standard mixture of 14 reducing sugars
Concentrations, nmol/100- μl injection volume in parentheses.

ラムをFig. 2に示す。p-MOEDは30%エタノール中15 - 20 mMで最大かつ一定の蛍光強度を与えた。D-ガラクトース及びD-アラビノースより得られる蛍光強度は水酸化ナトリウム濃度が0.7 Mで最大を与え、他の糖に対しては0.75 Mで最大の蛍光強度を与えたため、本法では0.75 M水酸化ナトリウムを用いた（最終反応液のpH、12）。いずれの糖においても反応温度の上昇に伴って蛍光強度の増大が観察された。なお150°Cより高温では気泡が発生してノイズの原因となるので本法では140°Cとした。

3.2 検量線、検出限界及び繰り返し精度

8種の還元糖の標準混液で検量線を作成したところいずれも0.1 - 10 nmol/HPLC注入量で原点を通る直線が得られた。S/N = 2における検出限界(pmol/HPLC注入量)は22(セロビース)、27(マルトース)、25(D-リボース)、35(D-マンノース)、53(D-アラビノース)、89(D-ガラクトース)、80(D-キシロース)及び105(D-グルコース)であった。10 nmol/mlの8種の還元糖の標準混液についての繰り返し精度は相対標準偏差で3.5%以下(n = 10)であった。

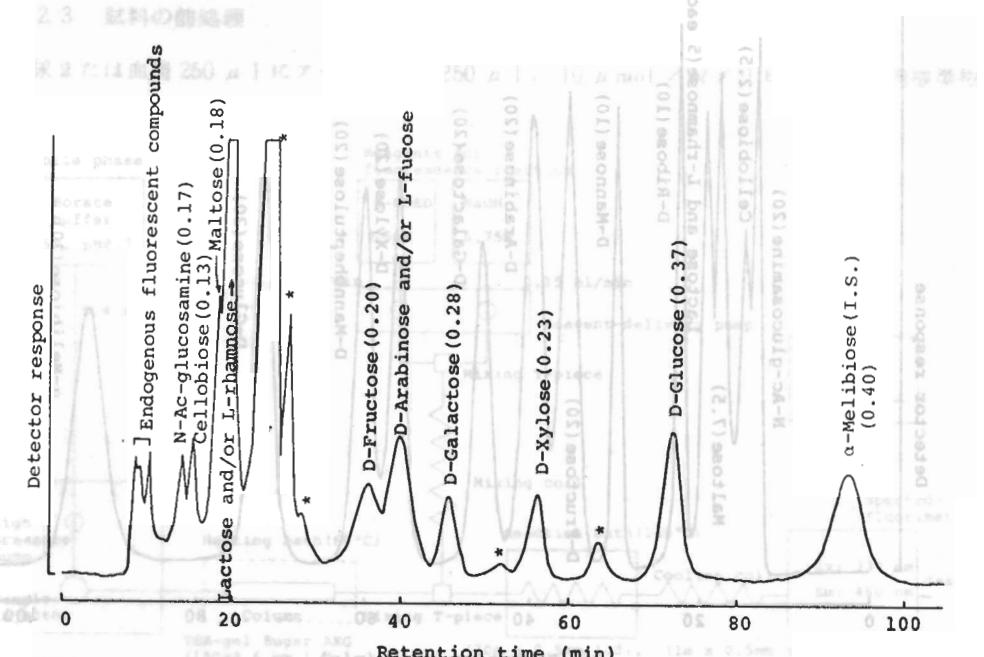


Fig. 3 Chromatogram obtained with temporary urine from normal man (male, 24 years old) Concentrations, $\mu\text{mol}/\text{ml}$ urine in parentheses.

* Unidentified, probably reducing sugars

3.3 実試料（尿及び血清）への応用

論文卷

本法を健常人の尿及び血清試料へ応用した。内標準物質としてメリビオースを用いた。

Fig. 3 及び 4 に尿試料及び血清試料のクロマトグラムをそれぞれ示す。ピークの同定は標準品との co - chromatography、保持時間の比較、浴出液の蛍光スペクトルなどにより行った。ここで検出された還元糖の種類及び濃度は従来の報告と一致した。試料に添加した還元糖及びメリビオース（いずれも $0.1 \mu\text{mol}/\text{ml}$ ）の回収率は 88 %以上であった。

以上、p-MOED との反応を陰イオン交換カラムと組み合わせることにより高感度な還元糖のポストカラム HPLC が確立できた。この HPLC は簡便な前処理で生体試料中の還元糖の定量に応用できる。また p-MOED は、2-デオキシ糖やシアル酸等に対しても強い蛍光を与えることが特徴で、分離モードを選択すれば本システムでこれらの定量も可能と考えられる。

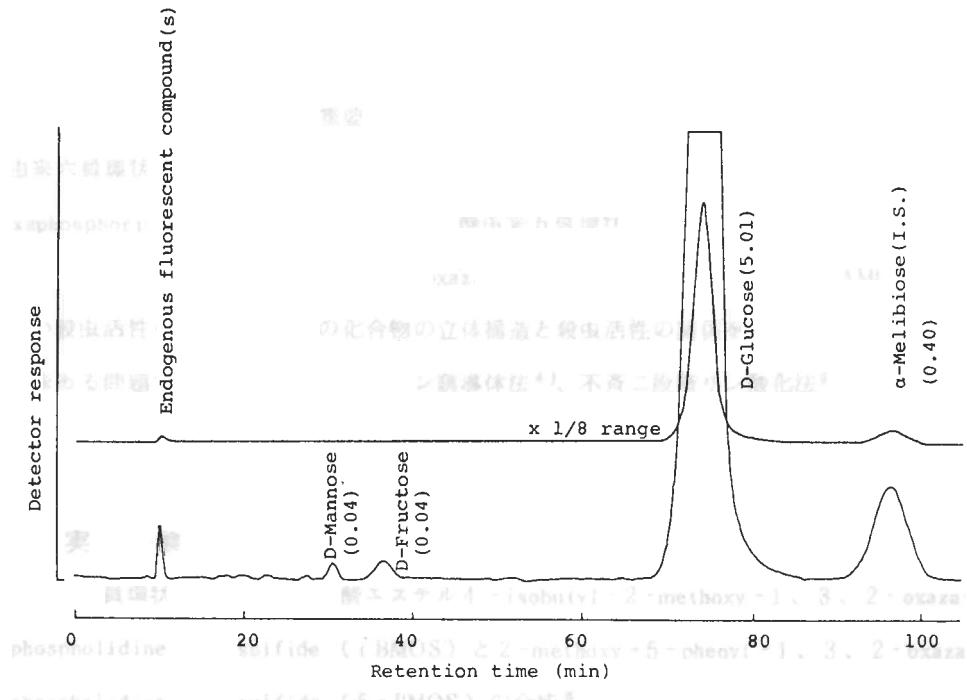


Fig. 4 Chromatogram obtained with normal human serum(male, 24 years old; 2h after lunch) Concentrations, $\mu\text{mol}/\text{ml}$ serum in parentheses.

- 1) S. Katz and L. H. Thacker, J. Chromatogr., 64, 247 (1972).
- 2) G. K. Grindle, H. M. Barker and R. H. Taylor, Anal. Biochem., 128, 422 (1983).
- 3) M. R. Ladisch, A. L. Huebner and G. T. Tsao, J. Chromatogr., 147, 185 (1978).
- 4) L. W. Doner, Carbohydr. Res., 70, 209 (1979).
- 5) 加藤武彦, 飯沼文夫, 木下俊夫, 日本化学会誌, 10, 1603 (1982).
- 6) T. Kato and T. Kinoshita, Anal. Biochem., 106, 238 (1980).
- 7) S. Honda, Y. Matsuda, M. Takahashi and K. Kakehi, Anal. Chem., 52, 1079 (1980).
- 8) 加藤武彦, 木下俊夫, 分析化学, 31, 615 (1982).
- 9) M. Kai, K. Tamura, M. Yamaguchi and Y. Ohkura, Anal. Sci., 1, 59 (1985).
- 10) J. Barr and P. Nordin, Anal. Biochem., 108, 313 (1980).
- 11) S. Katz, W. W. Pitt, Jr., J. E. Mrochek and S. Dinsmore, J. Chromatogr., 101, 193 (1974).
- 12) S. Honda, M. Takahashi, K. Kakehi and S. Ganno, Anal. Biochem., 113, 130 (1981).
- 13) F. Vögtle and E. Goldschmitt, Chem. Ber., 109, 1 (1976).

図3 (レガラ)

→グルコース》であった。10 nmol/mmol の各糖の測定値の標準偏差について

常に相対標準偏差で 3.5 % 以下 ($n = 10$) であった。

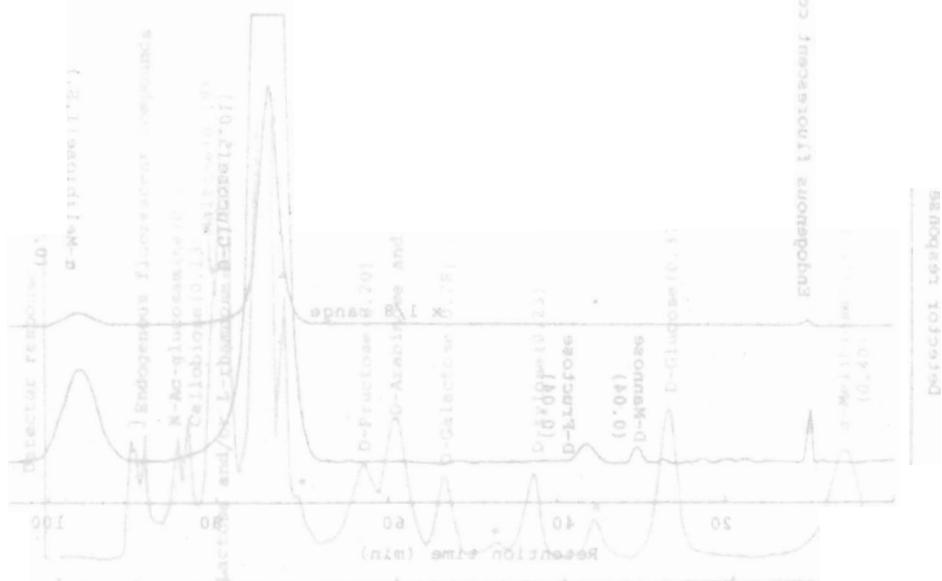


Fig. 3 Chromatogram obtained with temperature urine from normal person (reduced sugar). a) (left) Concentrations, $\mu\text{mol}/\text{ml}$ urine in parentheses. b) (right) Concentrations, $\mu\text{mol}/\text{ml}$ urine in parentheses.

Id) Concentrations, $\mu\text{mol}/\text{ml}$ urine in parentheses.
Identified, probably reducing sugars

^1H -、 ^{31}P -核磁気共鳴スペクトルによる光学活性環状有機リン酸エステルの立体配置決定

九州大学農学部 呉少勇, 平島明法

江藤守総

Assignment of configuration of optically active cyclic phosphorothionates by ^1H - and ^{31}P -NMR

Shao-Yong Wu, Akinori Hirashima and Morifusa Eto

Faculty of Agriculture, Kyushu University

Fig. 1 ^1H and ^{31}P NMR features of *cis*- and *trans*-BMO

1. 序論

リン原子を不斉中心とする有機リン化合物の光学異性が生物活性に及ぼす影響を明らかにしようとする試みは近年益々重要になってきている。¹⁾ 当研究室で見いだされたサリゲニン由来六員環状リン酸エステルのサリチオン (*2-methoxy-4H-1,3,2-oxazaphosphorin 2-sulfide*)²⁾ やアミノ酸由来五員環状ホスホロアミド酸エステルの *4-alkyl-2-methoxy-1,3,2-oxazaphospholidine 2-sulfide* (AMOS)³⁾ は、高い殺虫活性を有し、これらの化合物の立体構造と殺虫活性の関係を明らかにすることは、興味ある問題であった。そこでプロリン誘導体法⁴⁾、不斉二段階リン酸化法⁵⁾を用いてサリチオンとAMOS等の立体異性体を合成し、その光学純度及び立体配置の決定を行った。

2. 実験

- (1) 五員環状ホスホロアミド酸エステル *4-isobutyl-2-methoxy-1,3,2-oxazaphospholidine 2-sulfide* (i-BMOS) と *2-methoxy-5-phenyl-1,3,2-oxazaphospholidine 2-sulfide* (5-PMOS) の合成^{6,7)}
 $(S)(+)-、(R)(-) -methyl p-mitrophenyl phosphorochloridothionate (MNP-C)$ ⁸⁾、または、 $(S)(+)-、(R)(-) -2,6-dichloro-4-methyl-phenyl methyl phosphorochloridothionate (CMPC)$ ⁹⁾ と 2 当量の対応するアミノアルコールとを NMR

サンプル管にいれた CDCl_3 中で反応させ、 ^{31}P -NMR で反応をモニターした。 MNPC や CMPC のピークが殆ど無くなつた（約 10 時間）後、生成物をカラムクロマトグラフィー（ヘキサン・エーテル）で精製した。

(2) 六員環状リン酸エステルの合成⁴⁾

サリゲニンとチオホスホリルクロリドから、ベンゼン中トリエチルアミンを触媒として得た $2\text{-chloro-1,3,2-benzodioxaphosphorin-2-sulfide}$ は、L-プロリンメチルエ斯特塩酸塩を CHCl_3 中トリエチルアミン存在下反応させ、ジアステレオマー中間体 (PS-a と b の混合物) を得た。PS-b は再結により、PS-a はカラムクロマトグラフィー（ヘキサン・エーテル）により精製した。X線解析の為に、PS-b は更に再結を繰り返した。一方、 $2\text{-hydroxyacetophenone}$ をリチウムアルミニウムハイドライドで還元して得られた $1\text{-(2-hydroxyphenyl)ethanol}$ とピロールから、同様にして PS-c と PS-d を得、ローバーカラムクロマトグラフィー（ヘキサン・エーテル）で分離精製した。PS-a と PS-b 及び PS-c と PS-d を各々室温 3 日間、硫酸触媒メタノリシス後、TLC で精製してサリチオン及び 4-メチルサリチオン (BS) の各立体異性体を得た。

(3) 分析

^1H -、 ^{31}P -NMR スペクトルは、JNM-GX 400 (400 MHz)、JNM-FX 100 (40 MHz) 核磁気共鳴装置により、内部標準物質 TMS、外部標準物質 80 % H_3PO_4 を用いて各々測定した。X線解析には、Enraf-Nonius CAD-4 を用いた。

3. 結果と考察

合成した i-BMOS、5-PMOS やサリチオン、PS-a、b の各光学異性体は、 ^1H -、 ^{31}P -NMR や HPLC 分析等により、ほぼ純粋である事が分かった。^{4,6,7)} i-BMOS、5-PMOS の立体配置は、出発物質 CMPC やアミノアルコールの立体配置と反応機構（リン原子に於て 2 回反転を伴う）より決定した。⁷⁾ P = S 結合と 4 位イソブチル基や 5 位フェニル基との立体的関係は、 $^1\text{H-NMR}$ によって求めた (Fig. 1)。即ち、環状リン酸エステルに於いては、P = S 結合とシス位にあるプロトンは、P = S により脱遮蔽され低磁場シフトする性質を利用したものである。⁹⁾ *cis*-(S)c(R)p-i-BMOS の場合、イソブチル基の $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ (0.96 ppm) と CH_2 (1.52 ppm) は、トランス体 (0.94、1.40 ppm) に比べて、またトランス体では、4 位 CH (3.88 ppm) が、シス体 (3.80 ppm) より低磁場シフトしている。 *cis*-(R)c(R)p-

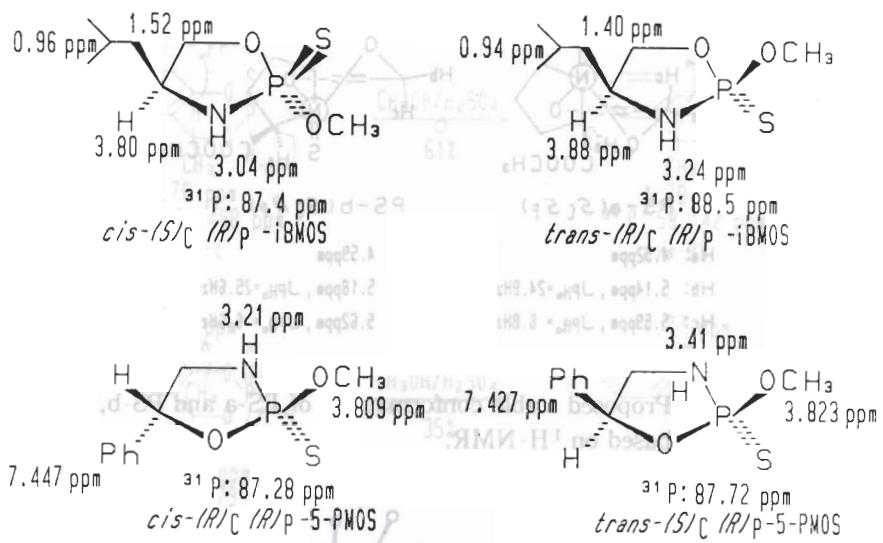


Fig. 1 ^1H - and ^{31}P -NMR features of *cis*- and *trans*-iBMOS, and *cis*- and *trans*-5-PMOS.

- 5 - PMOS の場合、 $5 - \text{C}_6\text{H}_5$ (7.447 ppm) は、トランス体 (7.427 ppm) に比べて、各々 $\text{P} = \text{S}$ の脱遮蔽効果のため低磁場にある。なお、NHの化学シフト値は、このプロトンが常に立体的に込み合わない側に位置すると仮定すれば、 $\text{P} = \text{S}$ 結合の脱遮蔽効果として理解される。また、*trans* - (*S*)c(*R*)p-5-PMOS の CH_3O (3.823 ppm)、5位ベンゼン環の脱遮蔽効果により、シス体 (3.809 ppm) より低磁場にシフトしている。

環状リン酸エステルの立体配置の決定には ^{31}P -NMR もまた有用である。即ち、オキサザホスホリジン¹⁰⁾や、オキサザホスホリナン¹¹⁾の POCH_3 がエカトリアルに位置した場合、アキシャル体よりそのシフト値は、より低磁場にある性質を利用したものである。*trans* - (*R*)c(*R*)p - iBMOS (88.5 ppm) や *trans* - (*S*)c(*R*)p-5-PMOS (87.72 ppm) の場合、4 - イソチブチル基や5 - フェニル基との立体障害により、 POCH_3 はよりエカトリアルに位置し、シス体 (87.4、87.28 ppm) の場合、4 - イソブチル基や5 - フェニル基と $\text{P} = \text{S}$ との立体障害により、 POCH_3 はよりアキシャルに位置すると考えられる。

六員環状リン酸エステル PS-a、b の立体配置も以上の原理を応用して決定した (Fig. 2)。即ち、PS-b の H_{α} (4.59 ppm) は $\text{P} = \text{S}$ の脱遮蔽効果により、PS-a の H_{α} (4.52 ppm) より低磁場にある。同様の理由で PS-a (5.59 ppm) や PS-b (5.62 ppm) の H_{c} は、立 PS-a

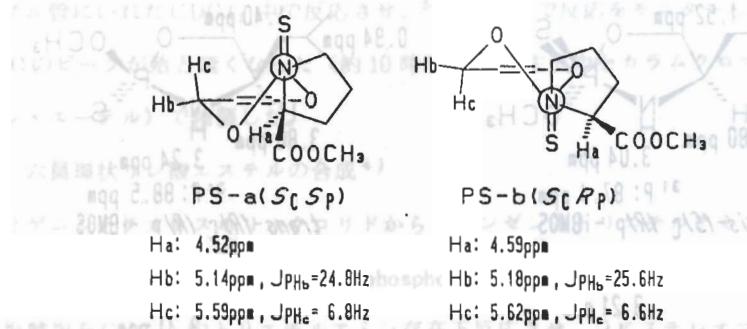


Fig. 2 Proposed stable conformations of PS-a and PS-b, based on ^1H -NMR.

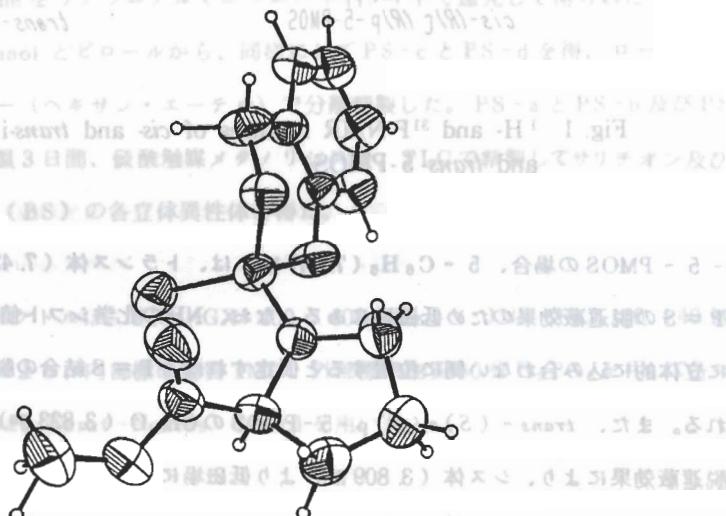


Fig. 3 Computer-generated ORTEP drawing of the x-ray model for PS-b.

(5.14 ppm) や PS-b (5.18 ppm) の Hb より低磁場シフトする。また、この立体配置は、POCH二面角とカップリング定数 J_{PH} の関係より確認された。即ち、P-O-C-Hbのなす二面角は約 120° で、リン原子と Hb のカップリング定数 (J_{PH_b}) は、24.8 Hz (PS-a)、25.6 Hz (PS-b) と大きな値を示し、P-O-C-Hc の二面角は約 90° で、 J_{PH_c} は、6.8 Hz (PS-a)、6.6 Hz (PS-b) と小さな値となる。更に、PS-b の X 線解析によりこの立体配置を確認した (Fig. 3)。

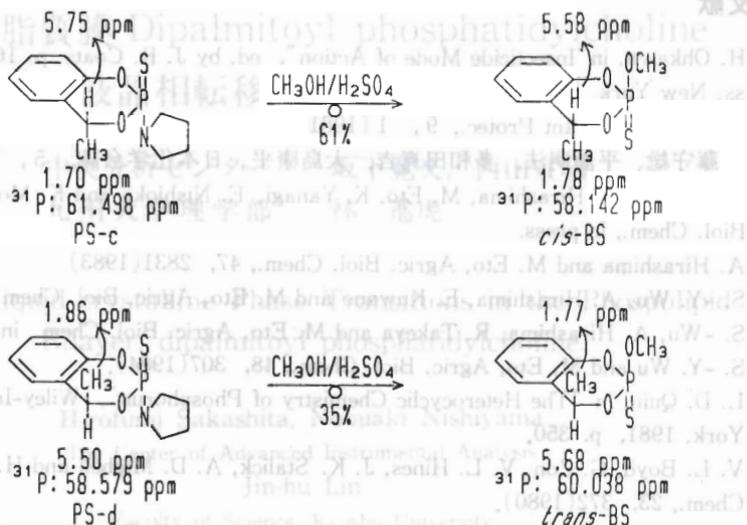


Fig. 4 The reaction mechanism assignment of PS-c and PS-d methanolysis, based on NMR features.

§1. 球

dipalmitoyl phosphatidylethanolamine (DPPC) に示すように過剰水では結晶化するサリチオノンの合成に於いて、PS-a と PS-b の硫酸触媒メタノリシスの反応機構を解明する為に、モデル化合物 PS-c と PS-d を用い同様な反応を試みた (Fig. 4)。ジアステレオマーのシス・トランス立体配置は、上記の様に、 ^1H - と ^{31}P -NMR により決定した。即ち、PS-c (5.75 ppm) と trans-BS (5.68 ppm) の 4 H は、P=S の脱遮蔽効果の為、PS-d (5.50 ppm) や cis-BS (5.58 ppm) より低磁場に、同様に PS-d (1.86 ppm) と cis-BS (1.78 ppm) の 4-CH₃ は、PS-c (1.70 ppm) や trans-BS (1.77 ppm) より低磁場にシフトしている。また、PS-c (61.498 ppm)、trans-BS (60.038 ppm) に於いて、P=S はアキシャル位にあり、エカトリアル位にある PS-d (58.579 ppm)、cis-BS (58.142 ppm) よりも低い ^{31}P -NMR シフト値を示す。以上より、硫酸触媒メタノリシスは、リン原子上で立体反転を伴うことが分かり、サリチオノンの立体配置を決定することが出来た。⁴⁾ PS-b の X 線解析は、住友化学高機能研にお願いした。ここに改めて、謝意を表する。

Fig. 1 Phase sequence of DPPC/excess water system and the molecular structure of DPPC.

る温度範囲でなぜ
このようないくつ

参考文献

- 1) H. Ohkawa, in "Insecticide Mode of Action", ed. by J. R. Coats, p. 163, Academic Press, New York, 1982.
 - 2) M. Eto, Rev. Plant Protec., 9, 1 (1981).
 - 3) 江藤守総、平島明法、多和田真吉、大島康平, 日本化学会誌, 5, 705(1981).
 - 4) S. -Y. Wu, A. Hirashima, M. Eto, K. Yanagi, E. Nishioka and K. Moriguchi, Agric. Biol. Chem., in press.
 - 5) A. Hirashima and M. Eto, Agric. Biol. Chem., 47, 2831(1983)
 - 6) S. -Y. Wu, A. Hirashima, E. Kuwano and M. Eto, Agric. Biol. Chem., 51, 537(1987).
 - 7) S. -Wu, A. Hirashima, R. Takeya and M. Eto, Agric. Biol. Chem., in press.
 - 8) S. -Y. Wu and M. Eto, Agric. Biol. Chem., 48, 307(1984).
 - 9) L. D. Quin, in "The Heterocyclic Chemistry of Phosphorus", Wiley-Inter-science, New York, 1981, p. 350.
 - 10) V. L. Boyd, G. Zon, V. L. Hines, J. K. Stalick, A. D. Mighell and H. V. Secor, J. Med. Chem., 23, 372(1980).
 - 11) B. E. Marvanoff, R. O. Hutchins and C. A. Marvanoff, Top. Stereochem., 11, 187(1979).



リン脂質膜 Dipalmitoyl phosphatidylcholine のゲル-液晶相転移

中央分析センター 坂下寛文, 西山宣昭
九州大学理学部 林 進虎

Gel to Liquid-crystalline Phase Transitions in the Phospholipid Bilayer, dipalmitoyl phosphatidylcholine.

Hirofumi Sakashita, Nobuaki Nishiyama
The Center of Advanced Instrumental Analysis
Jin-hu Lin

Faculty of Science, Kyushu University

§1. 序

dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) は図 1 に示すように過剰な水の存在下では結晶相 (L_c)、ゲル相 ($L\beta'$)、ripple 相 ($P\beta'$)、液晶相 (La) の 4 つの相を持ち、各相転移は低温側からそれぞれ subtransition, pretransition, maintransition と呼ばれている¹⁾。(220

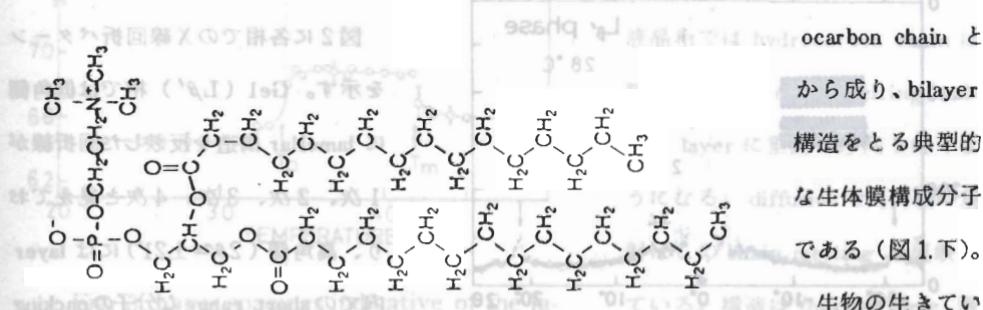
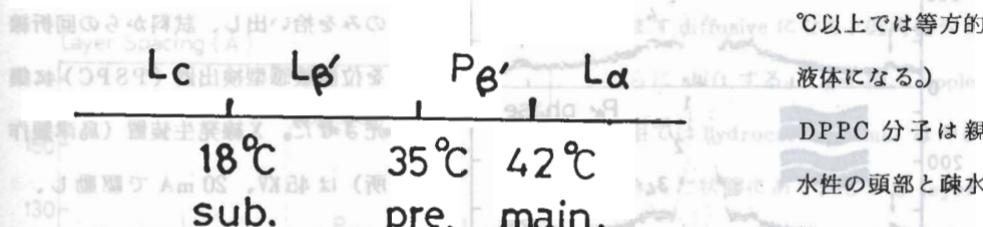


Fig. 1 Phase sequence of DPPC/(excess water)system and the molecular structure of DPPC.

もの相が存在するのか、この事が生きている事とどうつながるのか等の謎は早急には解決されそうもないが、単に相転移という立場から見ても生体膜は非常に面白い物質である。DPPCは最もよく研究されている生体膜であるが、細部についてはまだ十分に理解が進んでいない。我々はX線回折により構造変化を調べたので報告する。

§ 2. 実験と考察

試料はSigma Chemical社製の合成されたdipalmitoyl-L- α -phosphatidylcholineを用いた。銅製のセルにイオン交換後の蒸留水をつめ、DPPCを分散させた。水の重量比は75wt. %に調整した。lipid + 水の体積は $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ であり、X線が通過する窓には熱接触を良くするため雲母を使った。試料セルにマンガニン線を巻きヒーターとし、2組の銅ーコンスタンタン熱電対で温度をモニターした。大倉電機の温度調節器で温度コントロールを行い、±0.1°C以内でstabilizeした。

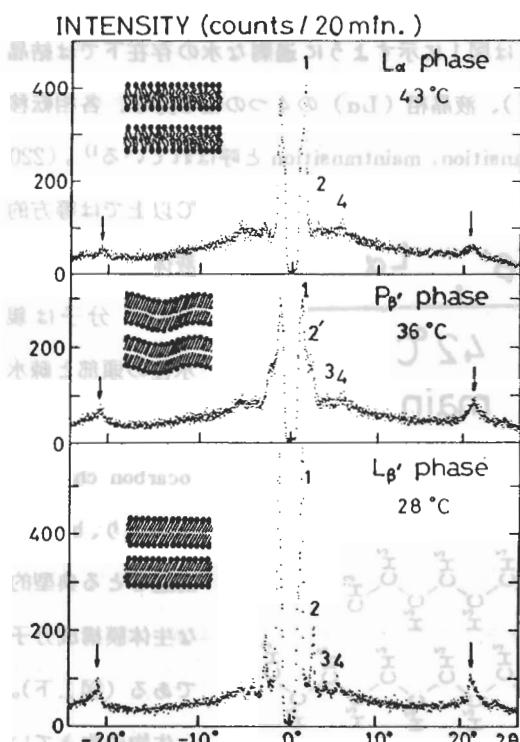


Fig. 2 x-ray diffraction patterns of DPPC/75 wt. % H₂O dispersions.

X線回折 systemは、中央分析センター常備のSTOE社製集中法粉末X線回折計を利用した。彎曲Ge monochromatorで特性X線Cu K α_1 のみを拾い出し、試料からの回折線を位置敏感型検出器(PSPC)に集光させた。X線発生装置(島津製作所)は45 KV, 20 mAで駆動し、fine focus のX線管球を使用した。

図2に各相でのX線回折パターンを示す。Gel (L β')相では低角側にlamellar構造を反映した回折線が1次、2次、3次、4次と見えており、高角側($2\theta \approx \pm 21^\circ$)にはlayer内のshort rangeな分子のpackingを反映した回折線が見えている。分子配向の状態は挿入図に示したよう

に thermotropic 液晶の Smectic-C に似ているが、layer の中ではほぼ hexagonal な配置を取っている。高角側の反射は非対称の形をしており、sharp な 4.18 \AA に相当する反射と broad な 4.1 \AA の反射とが重なっている。挿入図に示したような lamellar 構造が試料全体にわたっていれば、低角側の反射と高角側の反射は同時に観測され得ない。即ち、入射 X 線の方向を回転軸として、相対的に 90° 程度回すと低角側あるいは高角側の反射のみが現らわれねばならない。図の profile のように両方が同じ幾何学的（ビームと試料と検出器の）配置で観測されるという事は、layer の向きの異なる domain が多数存在することを示している。

さて、温度を上げて ripple ($P\beta'$) 相にはいると、もともとの lamellar 構造を反映する反射の他に新らたな反射（図中の $2'$ 反射）が現らわれる。さらに、非対称な形をしていた高角側の反射が対称的になるとともに、わずかながら低角側へ shift する。この相の構造は挿入図に示したように各 layer が波打つようになる事が電子顕微鏡観察で知られている²⁾。この相の特徴は 2 つの長周期構造が同時に存在する事であるが、それぞれの周期の波数ベクトルの比が commensurate であるか incommensurate であるかは判然としない。

さらに温度を上げて液晶 ($L\alpha$) 相にはいると、波打ちの長周期構造を反映する反射が消え、新らたな lamellar 構造に相当する反射が成長して来る。とともに、高角側の反射はますます diffusive になり、低角側へさ

Layer Spacing (Å)

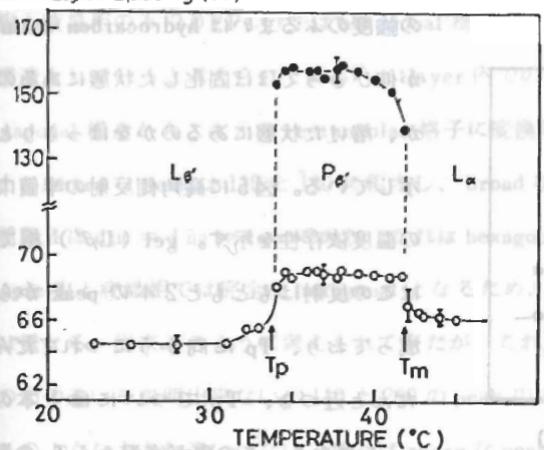


Fig. 3 Layer spacings indicative of the lamellar and the ripple structure of DPPC/75wt. % H_2O as a function of temperature.

らに shift する。gel 相、ripple 相では hydrocarbon chain は伸びきった状態にあり、しかも layer に垂直な方向から傾いているが、液晶相では hydrocarbon chain は縮んでおり (chain melting)，かつ、layer に垂直な方向を向くようになる。diffusive な高角側の反射はこの chain melting を反映し

ている。構造は thermotropic 液晶の smectic-A に似たものとなる。各温度での lamellar 構造の

layer spacing (○) と波打ちのくりかえし距離 (●) を図3に示す。gel、ripple、液晶でのlayer spacingはそれぞれ64.5 Å、69 Å、66 ÅでInokoらの測定結果とはほぼ一致している³⁾。pretransition (T_p) と maintransition (T_m) でlayer spacingは飛びを示すが、転移点の近傍ではわずかながら温度変化がある。波打ちの周期構造は T_p で突如として出現するが、 T_m に向かって徐々に壊されて行き、秩序度数に似たふるまいを示している。この波長は36 °C付近では153 ÅでありJaniakらの結果とはほぼ一致している⁴⁾。しかし、Janiakらのdataでは温度変化が見られない。以上の事から、ripple相の特徴の1つは、bilayerが波打ちしかもその波長が温度とともに変化することにあると言える。このようなmodulation構造が出現する機構はbilayer内のhead group間とhydrocarbon chain間のlateral packingによるものであることが理論的モデルとして提出されている⁵⁾。我々は、このmodulationの波長が過剰な水の量にかなり敏感に依存することを見い出しているが、この事はlateral packingだけでなく水のlayerとの相互作用もmodulationの重要な要因であることを示している。

さて、lateral packingの情報は高角側の反射にすべて含まれている。図4に高角側の反射のpeak強度の温度依存性を示す。温度上昇とともに強度は少しづつ減少し、 T_p では顕著な差異は見られないが、 T_m では急激に減少する。 T_m 直上ではわずかな強度が残っているが、さらに温度が上がるとbackgroundにかくれて、ほとんどわからなくなる。 T_m 近傍で

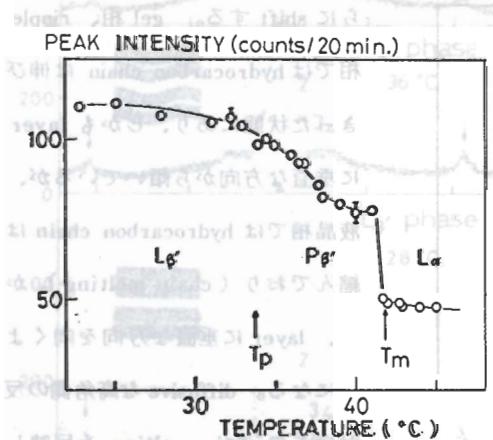


Fig. 4 Peak intensity of the wide-angle reflections of DPPC/75wt.% H_2O as a function of temperature.

の強度のふるまいは hydrocarbon chain が伸びきってほぼ固化した状態にあるのか、溶けた状態にあるのかをはっきりと示している。図5に高角側反射の半値巾の温度依存性を示す。gel ($L\beta'$) 相ではこの反射はもともと2本のpeakから成っており、 T_p に向かうにつれてだんだんと近づき、 T_p でついには1本のpeakになる。この事が室温から T_p の温

度範囲での半値巾の減少に反映されている。ripple相では巾は若干増加するが、 T_m 近傍で飛躍的に増大する。 T_m での

相転移は1次の相転移であり、 T_m

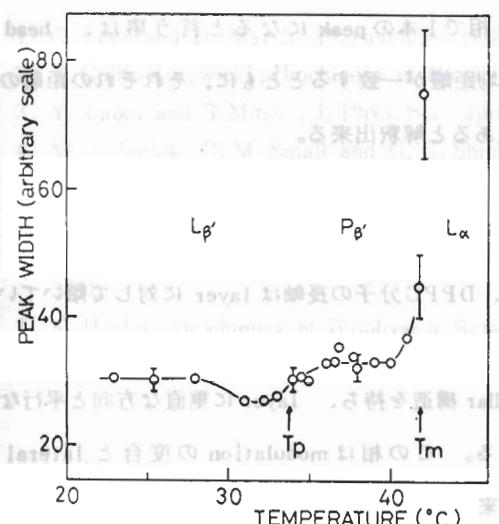


Fig. 5 Full width at half maximum (FWHM) of the wide-angle reflections of DPPC/75wt. % H_2O as a function of temperature.

より数度低温側からの巾の増大は2次の相転移に見られる critical fluctuation によるものではない⁶⁾。

したがって、これは hydrocarbon chain の partial melting に対応したものであると考えられる。ripple 相での半値巾は gel 相のそれよりわずかに大きいが、これは modulation 構造によるものなのか、あるいは partial melting によるものなのか明らかでない。partial melting によるもののか

(即、液晶でよく見られる disclination の部分) での lateral packing の乱れによると考えた方が自然だと思われる。

最後に、高角の反射が gel 相で 2 本現らわれる理由について考えてみたい。従来、ripple 相と液晶相のみで DPPC 分子は hexagonal 構造を取っており、gel 相では直んだ hexagonal 構造をしていると考えられている⁷⁾。layer 内での分子の配置だけを問題にするので、hexagonal 構造から 2 次元の rectangular 格子に変換し、この格子にもとづいて考える。すると、sharp な peak は 110 と $\bar{1}10$ に相当し、broad な peak は 220 に相当する。それぞれの面間隔 d は $d_{110} = d_{\bar{1}10} \approx d_{200}$ であり、これは hexagonal が直んでいるためである。一方、ripple 相と液晶相では完全な hexagonal となるため、 $d_{110} = d_{\bar{1}10} = d_{200}$ となり 2 本の peak は重なる。従来このように考えられて来たが、これでは 110 (あるいは $\bar{1}10$) と 200 の peak の巾の違いを説明出来ない。110 と 200 の peak 巾は 2 倍は異なっており、普通の物質ではこのような大きな違いはない。我々は sharp な peak は head group 間の packing を反映したものであり、broad な peak は hydrocarbon chain 間の packing を反映したものであると考える。gel 相では hydrocarbon chain は伸びきって、ある程度 rigid な状態にはあっても、隣り合う chain 間の距離は head group 間の距離に比べ、かなりゆらいでいると考えられる。つ

まり、距離の平均2乗偏差（分散）の大小によって、peakのbroadnessが決まると考えた方が自然である。この立場に立てば、ripple相で1本のpeakになるとと言う事は、head group間あるいはhydrocarbon chain間の平均距離が一致するとともに、それぞれの距離のゆらぎの度合（分散）も同程度になるためであると解釈出来る。

§3. まとめ

- ① gel ($L\beta'$)相は lamellar 構造を持ち、DPPC分子の長軸は layer に対して傾いている。
- ② ripple ($P\beta'$)相は modulated lamellar 構造を持ち、layer に垂直な方向と平行な方向に2つの長周期の秩序が同時に存在する。この相は modulation の度合と lateral packing の再配向とで特徴づけることが出来る。
- ③ 液晶 ($L\alpha$)相は gel、ripple 相とは異なる周期の lamellar 構造を持ち、hydrocarbon chain が melt した状態にある。

中央分析センターに設置されている集中法粉末X線回折装置は、液晶、生体膜、高分子、溶液等の回折実験に最も適した装置であり、しかもこの system はまだ日本に1台しかない（似たようなものはかなりある）。我々はリン脂質膜の相転移を調べ、この装置がどの程度の偉力を発揮するかを試みた。今後の展望と問題点を以下に述べる。まずDPPCについては、この分子の tilt angle を直接測定すること、ripple 相の構造をさらに詳しく調べることを行いたい。そのためには、single domain の試料を作る事が最重要課題である。また、他のリン脂質やタンパク質との混合溶液を作り、相転移の様相がどう変わるか、温度を高温から低温へ quench した時の相分離の時間変化等を調べたい。このような研究を行うには、強力な X線源が必要となるが、残念ながら集中法粉末X線回折装置が乗っているX線発生装置は15年前の封入管式のものである。

最後に本研究の data 解析にあたり、理学部物理の阿知波助教授よりパソコンのソフトをいただきましたことを感謝致します。

TEMPERATURE (°C)
reflections of DPPC 75wt %
 H_2O as a function of temperature

参考文献

- 1) G. Cevc and D. Marsh ; Phospholipid Bilayers (1987) John Wiley & Sons, Inc.
 - 2) T. Gulik-Krzywicki ; Biochimica et Biophysica Acta, Vol. **415** (1975) 1 ~ 28.
 - 3) Y. Inoko and T. Mitsui ; J. Phys. Soc. Jpn., No.6, Vol. **44** (1978) 1918 ~ 1924.
 - 4) M. J. Janiak, D. M. Small and G. G. Shipley ; Biochemistry, No. 21, Vol. **15** (1976) 4575 ~ 4580.
 - 5) J. M. Carlson and J. P. Sethna ; Phys. Rev., A36, No. **7** (1987) 3359 ~ 3374.
 - 6) S. Imaizumi and C. W. Garland ; J. Phys. Soc. Jpn., No. 11, Vol. **56** (1987) 3887 ~ 3892.
 - 7) K. Harlos : Biochimica et Biophysica Acta, Vol. **511** (1978) 348 ~ 355.

帰属（分散）の大小によって、peak の broadness が決まる。

培地中に生成する揮発性成分による *Bacillus* 属細菌の分類

九州大学農学部 下田満哉、篠島 豊

Classification of *Bacillus* sp. by Determination
of Volatile Compounds Produced in the Culture

Mitsuya Shimoda and Yutaka Osajima

Faculty of Agriculture, Kyushu University

有芽胞細菌は、蛋白質、澱粉等の高分子物質に対する強力な加水分解酵素を生産するものが多く、特に好気的に成育する *Bacillus* 属細菌は極めて多くの食品から腐敗原因菌として分離されている。松田らは、Berger's Manual (第 8 版)¹⁾ を参考にして、有芽胞細菌の簡易同定法を設定しているが、種々の培地を準備する必要があるうえに、結果の判定においては非定型的性状を示す菌が多く、菌の同定も困難な場合が多い²⁾³⁾。一方、微生物の化学的分類には極めて多くの手法が利用されている。例えば、細胞壁成分特にペプチドグリカンの化学構造⁴⁾、脂肪酸組成⁵⁾、チトクロムの（酸化型）—（還元型）の差スペクトル⁶⁾、蛋白質の電気泳動パターン⁷⁾、核酸の塩基組成による方法⁸⁾などがある。しかしながら、菌の同定という見地から最も直接的にその目的を追求したものとして熱分解ガスクロマトグラフ (PGC) 法が挙げられる。この方法によると、*Bacillus* 属の 9 菌株を 90 % の正確さで分類し得たとしている⁹⁾。しかしながら、PGC 法では熱分解過程で生成するタールのために流路の汚染がひどく、長期にわたって再現よく分析を行なうことは困難である。

著者らは、微生物を培養した時の培養液の臭いが菌株により若干異なることに着目し、培養液中に放出された揮発性成分による *Bacillus* 属細菌の化学的同定法の設定を試みた。

実験方法

1. 供試菌株

本実験では、*B. Megaterium* (JCM 2506)、*B. Polymyxa* (JCM 2507)、*B. cereus* (JCM 2152)、*B. sphaericus* (JCM 2502)、*B. circulans* (JCM 2504)、*B. licheniformis* (JCM 2505)、*B. Macerans* (JCM 2500)、*B. subtilis* (JCM 1465)、*B. pumilus* (JCM 2508) の 9 種類、および *B. subtilis* の 6 菌株 (IFO 12210, 3007, 3009, 3037, 3125, 3335) を用いた。

2. 培養液

培地組成は、種々検討した結果、前培養、本培養とも酵母エキス（大五栄養化学社製）0.5%、グルコース 0.5%、バクトリプト（Difco 社製）1.0%、リン酸水素二カリウム 3.66%、リン酸水素一カリウム 0.54% を最適とした。なお、グルコース溶液は別に殺菌し使用直前に混合した。

3. 培養

前培養は、5 °C で保存されているスラントから菌体を 1 白金耳採り、試験管内の培養液 10 ml に接種し、旺盛な発育が見られるまで 30 °C、1~3 日間往復振とう培養することにより行なった。本培養は、培養液 200 ml を含む 500 ml 容坂口フラスコに前培養液 10 ml を加え、24 時間往復振とう培養することにより行なった。

4. 培養液中の揮発性成分のカラム濃縮

揮発性成分の分析のための前処理には、簡易、迅速で特殊な装置を必要としない手法として、著者らが報告したポーラスボリマービーズを充填したカラム法による揮発性成分の濃縮法を用いた¹⁰⁾。充填剤として用いたポラパック R (50~80 mesh) (Waters 社製) は、ヘキサンを抽出溶媒としてソックスレー抽出器で 6 時間抽出することにより精製して以後の実験に供した。この精製樹脂 1.5 ml をガラスカラム ($\phi 1.5 \times 3 cm$) に充填し、エーテル 30 ml、メタノール 20 ml、水 20 ml で順次洗浄し、揮発性成分濃縮用カラムとした。培養液中の揮発性成分のカラム濃縮法を Fig. 1 に示した。すなわち、培養液 200 ml を 10,000 rpm で 15 分間遠心分離し、その上澄を 2~3 ml/min の流速でカラムに流した。次に、約 1.5 ml の水でカ

culture medium, 200ml

centrifuged

precipitate

supernatant

passed through the column ^{a)}

washed with 1.5ml of water

added internal standard(I)^{b)}

eluted with 1.5ml of ethyl ether

eluate

added internal standard(II) ^{c)}

concentrated to 30 μl under N_2 stream

GLC analysis

Fig.1 Procedure of concentration of volatile compounds from culture medium

a; the column was packed with porapak R.

b; 4 μl of 1 % cyclohexanol.

c; 10 μl of solution(each 1~2 mg/ml) of hydrocarbons with 8~20 carbon atoms in ethyl ether

ラムを洗浄し、ガスクロマトグラフ分析のための内標(定量用)として1%シクロヘキサンオール溶液4 μl を直接カラムヘッドに添加した後に、カラムに吸着されている揮発性成分を1.5 mlのエーテルで抽出した。使用後のカラムは、水、1%NaOH、1%HCl、メタノール、エーテル、メタノール、水各約10 mlで順次洗浄することにより再生した。本カラムは20回以上の繰り返し使用が可能である。

5. ガスクロマトグラフ(GC)分析

島津GC-6A型を用い、水素炎イオン化検出器を使用した。キャリヤーガスはヘリウム(0.6 ml/min)とした。カラムは化学結合型シリカキャビリーカラムCBP1(ϕ 0.32 mm × 25 m)(島津社製)を用い、カラム温度は50 °Cから250 °Cまで3 °C/minの割合で昇温した。なお、ピーク面積は島津クロマトパック C-R3Aにより求めた。

本法では、種々の菌から得られる複雑なGCデータをコンピューターで解析することから、各ピークの保持指標を正確に求めることが最も重要となる。そこで保持指標算出用の内標として炭素数8~20までの直鎖炭化水素を各1~2 mg/ml含むエーテル溶液10 μl をエーテル抽出液に添加した後に、窒素気流下で約40 μl まで濃縮し、その1.5 μl をGCへ注入した。

6. GCデータの加工とクラスター分析

得られたガスクロマトグラムのパターンによって分類するために、クロマトグラムを保持指標（Kovats Index）10単位ずつに分割し各小領域を1つの変数に対応付けて取り扱った。なお、1つの小領域に2つ以上のピークが存在する場合には、それらの合計の値を変数値とし、2 ppb 以上のピークが検出されない場合には、その変数の値を0とした。

クラスター分析は、FACOMOSIVCLUSTER プログラム¹¹⁾を用いて、FACOM M-380 Sコンピューターシステムにより行なった。本法では、相関行列を用いて解析し、最短距離法によりクラスターリングを行なった。

結果および考察

1. 挥発性成分の分析

B. subtilis の培養液から得られた揮発性成分の濃縮物のガスクロマトグラムを Fig. 2 に示した。保持指標 1,700 以降には、テーリングやリーディングを伴ったピークが現われたことから、データ解析には保持指標 850 ~ 1,700までの領域を使用した。

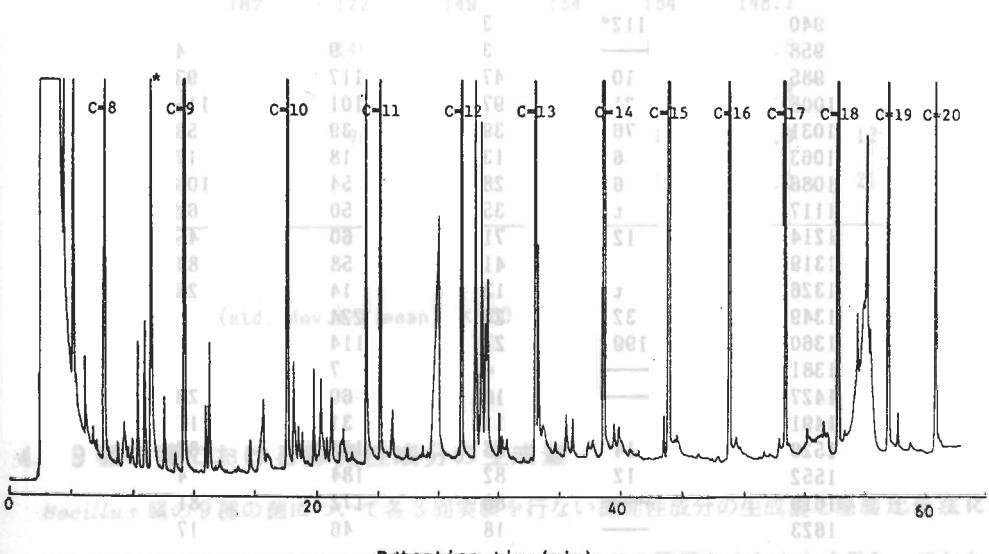


Fig. 2 Gas chromatogram of volatile compounds produced by *B. subtilis* in the culture medium

*Internal standard (cyclohexanol) for quantitative analysis.
Normal hydrocarbons were co-chromatographed for calculating kovats index.

2. 培養中における揮発性成分の消長

本実験では大部分の菌が本培養開始後4～8時間で定常期に入り、96時間後にも胞子形成が認められなかったこと、および揮発性成分の生成パターンが定常期において最も安定したことから、12、24、48時間培養した後に培養液中の揮発性成分の分析を行なった。例として、*B. cereus*について、任意に選ばれた20個の成分の培養中の濃度と培養時間との関係をTable 1に示した。なお、プランクの値は24時間振とうした未接種培地中の濃度である。

Table 1より明らかのように、約半数の成分はプランク中にも少量ながら存在したが、菌を接種培養することにより著しく増大する成分および著しく減少する成分が存在することが明らかとなった。また、揮発性成分の生成量は24時間培養したときに20成分中13成分が最高値に達した。従って、以後の実験では培養時間を24時間とした。

Table 1 Quantitative values of volatile compounds^{a)}
in the culture medium of *B. cereus*

| K.I. ^{b)} | Blank ^{c)} | incubation time(hr) | | | |
|--------------------|---------------------|---------------------|-----|-----|---|
| | | 12 | 24 | 48 | |
| 940 | クロマトク ーク | 112 ^{d)} | 3 | 7 | 3 |
| 958 | — | — | 3 | 9 | 4 |
| 985 | 10 | 47 | 117 | 93 | — |
| 1008 | 21 | 97 | 101 | 115 | — |
| 1031 | 76 | 39 | 39 | 53 | — |
| 1063 | 6 | 13 | 18 | 17 | — |
| 1086 | 6 | 28 | 54 | 106 | — |
| 1117 | t | 35 | 50 | 62 | — |
| 1214 | 12 | 71 | 60 | 45 | — |
| 1319 | t | 41 | 58 | 84 | — |
| 1326 | t | 13 | 14 | 28 | — |
| 1349 | 32 | 23 | 224 | 8 | — |
| 1360 | 199 | 23 | 114 | 8 | — |
| 1381 | — | 4 | 7 | — | — |
| 1427 | — | 16 | 60 | 23 | — |
| 1491 | t | 11 | 31 | 11 | — |
| 1520 | 14 | 38 | 142 | 82 | — |
| 1552 | 12 | 82 | 184 | 4 | — |
| 1619 | — | 88 | 172 | 81 | — |
| 1623 | — | 18 | 46 | 17 | — |

a) The compounds were arbitrarily selected.

b) Kovats index

c) The culture medium was incubated for 24 hours without inoculation.

d) Each value(ppb) was average of three measurements.

3. 繰り返し実験

菌の培養から揮発成分の濃縮、GC分析までを含めた本法の再現性を明らかにするために、*B. megaterium* を用いて 5 回繰り返し実験を行ない、任意に選ばれた 8 個のピークの定量結果を Table 2 に示した。各成分の変動係数は保持指標 1171 のピークの 7 % から 1390 のピークの 42 % までの範囲にあったが、培養も含めた変動係数であることを考慮すると十分満足のいく値であった。

Table 2 Reproducibility of five experiments with *B. megaterium*

| K.I. | Run | | | | | \bar{X} | C.V. ^b (%) |
|------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 940 | 19 ^a | 11 | 13 | 12 | 11 | 13.2 | 25 |
| 985 | 40 | 19 | 27 | 16 | 23 | 25.0 | 37 |
| 1008 | 116 | 107 | 136 | 96 | 112 | 113.4 | 13 |
| 1093 | 162 | 122 | 149 | 154 | 154 | 148.2 | 10 |
| 1171 | 151 | 146 | 146 | 151 | 125 | 143.8 | 7 |
| 1390 | 14 | 3 | 13 | 13 | 11 | 10.8 | 42 |
| 1542 | 88 | 70 | 79 | 97 | 90 | 84.8 | 12 |
| 1547 | 14 | 9 | 15 | 15 | 17 | 14.0 | 21 |

a; ppb

b; C.V. = σ (std. dev.) / \bar{X} (mean) $\times 100$

4. 9 種の菌における揮発性成分の生成量

Bacillus 属の 9 種の菌について各 3 回実験を行ない揮発性成分の生成量と懸濁比色法による吸光度を Table 3 に示した。揮発性成分の生成量は菌の種類により大きく異なっており、最も生成量が多い *B. sphaericus* は最も少ない *B. circulans* の 15 倍ほどであった。また、3 回の実験結果を比較してみると、*B. cereus*、*B. licheniformis* および *B. circulans* では揮発性成分の生成量に大きな変動が認められたが、クラスター分析の結果 (Fig. 3) いずれも誤クラスターリングすることなく正しいグループに帰属した。*B. cereus* と *B. liche-*

Table 3 Total concentration of volatile compounds
and turbidity of the culture medium

| | | Run | 1 | 2 | 3 |
|------------------|------------|--|-----------|------------|---|
| B. megaterium | (JCM 2506) | 961 ^{a)} (.25 ^{b)}) | 1009(.23) | 932(.24) | |
| B. polymyxa | (JCM 2507) | 4918(.33) | 5014(.31) | 6619(.35) | |
| B. pumilus | (JCM 2508) | 622(.34) | 811(.40) | 657(.42) | |
| B. cereus | (JCM 2152) | 654(.37) | 790(.40) | 1611(.41) | |
| B. sphaericus | (JCM 2502) | 9454(.24) | 8005(.24) | 10061(.27) | |
| B. macerans | (JCM 2500) | 2015(.33) | 1778(.33) | 1848(.37) | |
| B. subtilis | (JCM 1465) | 622(.37) | 802(.32) | 599(.37) | |
| B. circulans | (JCM 2504) | 320(.48) | 703(.44) | 850(.44) | |
| B. licheniformis | (JCM 2505) | 2354(.24) | 782(.15) | 1783(.19) | |

a) Total concentration (ppb)

b) Turbidity; absorbance at 660 nm

niformis では濁度が増大するほど揮発性成分の生成量も増大したが、B. circulans では逆の傾向が認められ、濁度と揮発性成分の生成量との間には単純な相関は認められなかった。

5. *Bacillus* 属の 9 種の菌のクラスター分析

本解析では、ある成分が生成しないことは非常に重要な情報であること、また大きなピクルが必要以上に解析結果に大きな影響を及ぼさないように、成分濃度の平方根を用いてクラスター分析を行なった。得られたデンドログラムを Fig. 3 に示した。3 回の繰り返し実験の結果はお互いに極めて近い距離で結合している一方、種が異なる菌はそれぞれ大きい結合距離を持っており、9 種 27 個の試料は明瞭に分類された。このように、本法は生化学的性状試験とは異なる観点から菌類を分類しているので、B. subtilis と B. licheniformis などのように生化学的に性

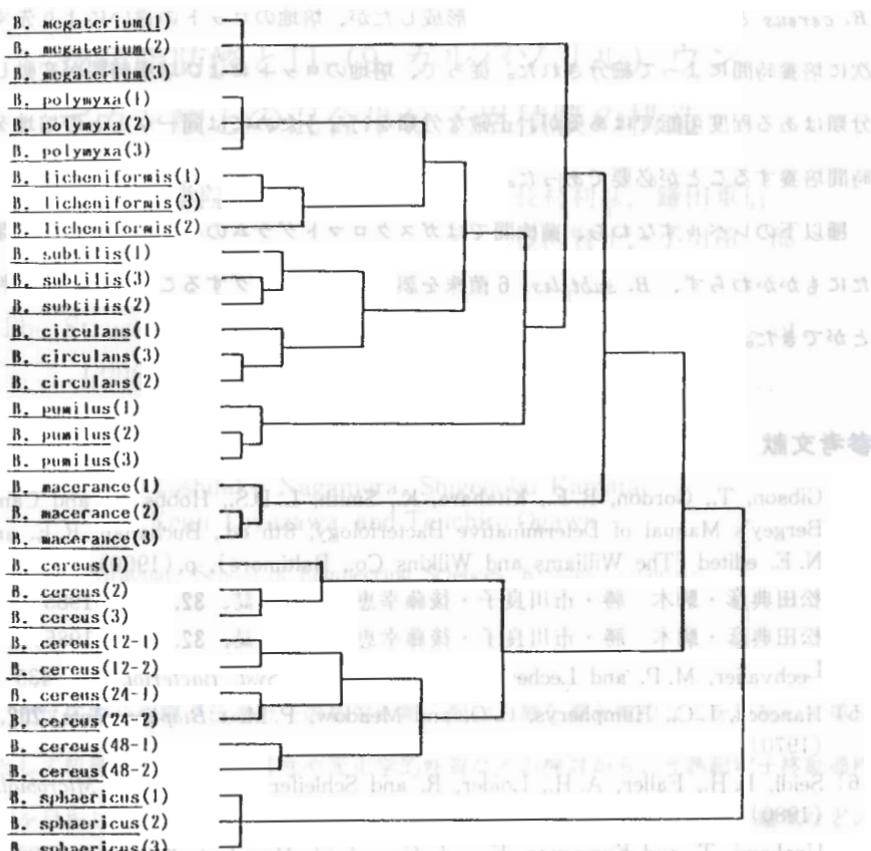


Fig.3 Dendrogram of the 9 species of genus *Bacillus* on the basis of volatile compounds produced in culture medium.

Culture media were prepared three times separately for the repeat experiments(1) to (3).

B. cereus in the series of (12-1) to (48-2) was cultured in the medium prepared from another lot of the nutrients and grown for 12 to 48 hours.

状の似ている菌株の同定を行なう時には非常に有力な情報を与えるものと考えられる。なお、培地は日を変えて3回に亘って調製したが、本解析ではプランクの結果を何ら考慮する必要がなく培養液のみのデータで正確に分類することができた。更に、酵母エキスやトリプトンのロットの違いおよび培養時間のクラスターングへの影響を明らかにするために、新たなロットの酵母エキスとトリプトンを用いて培地を調製し、*B. cereus*を12、24、48時間培養したものについても一緒にクラスター分析を行なった。Fig.3から明らかなように、

B. cereus として1つのクラスターを形成したが、培地のロットの違いにより先ず2分され、次に培養時間によって細分された。従って、培地のロットおよび培養時間が変動しても菌の分類はある程度可能ではあるが、正確な分類を行なうためには同一ロットの培地を用い一定時間培養することが必要であった。

種以下のレベルすなわち、菌株間ではガスクロマトグラムのパターンが非常に類似していたにもかかわらず、*B. subtilis* 6菌株を誤クラスタリングすることなく明瞭に判別することができた。

参考文献

- 1) Gibson, T., Gordon, R. E., Kitahara, K., Smith, L. D.S., Hobbs, G. and Campbell, L. L.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. edited (The Williams and Wilkins Co., Baltimore), p.(1900).
- 2) 松田典彦・駒木 勝・市川良子・後藤幸恵：日食工誌, **32**, 391 (1985).
- 3) 松田典彦・駒木 勝・市川良子・後藤幸恵：日食工誌, **32**, 399 (1985).
- 4) Lechvalier, M. P. and Lechevalier H. A. : Int. J. Syst. Bacteriol., **20**, 435 (1970).
- 5) Hancock, I. C., Humpherys, G. O. and Meadow, P. M. : Biophys. Acta, **202**, 389 (1970).
- 6) Seidl, P. H., Faller, A. H., Loider, R. and Schleifer, K. H. : Arch. Microbiol., **127**, 173 (1980).
- 7) Urakami, T. and Komagata, K. : J. Gen. Appl. Microbiol., **27**, 381 (1981).
- 8) Nakase, T. and Komagata, K. : J. Gen. Appl. Microbiol., **17**, 259 (1971).
- 9) Stern, N. J. : J. Food Sci., **46**, 1427 (1981).
- 10) 下田満哉・平野好司・篠島 豊：分析化学, **36**, 792 (1987).
- 11) FACOM OSIV CLUSTER, Fujitsu (1977).
- 12) 東 量三：ニュー・フード・インダストリー, **4**, (10), 61 (1962).

長鎖脂肪酸と11-(9-カルバゾリル)ウンデカン酸との混合単分子累積膜の構造

九州大学大学院総合理工学研究科 長村利彦, 鎌田重信
豊沢賢士, 小川慎一郎

The Structure of Mixed Langmuir-Blodgett Multilayers of
Long-Chain Fatty Acids and 11-(9-Carbazolyl)
undecanoic Acid

Toshihiko Nagamura, Shigenobu Kamata,
Kenji Toyozawa, and Teiichiro Ogawa

Graduate School of Engineering Sciences, Kyushu University

1. 序

我々は、光反応中心や電子伝達分子の相対距離、配向、酸化還元電位などを規制して単分子累積膜として組織化し、光電応答性や光化学的性質などの検討から、光誘起電子移動過程の分子制御を目指して研究を進めている^{1) 2)}。単分子累積膜の構造特性は、光、電気などの物性や機能発現に直接関わっており、X線回折、電子スペクトル、振動スペクトルなどいくつかの方法で検討されている。既に報告しているように^{2) 3)}、偏光吸収スペクトルの入射角あるいは偏光角依存性、蛍光スペクトル測定などから、単分子累積膜中の酸化還元基の配向、分子配列状態に関する知見が得られる。また、小角X線回折は、層の規則性や膜面に垂直方向の酸化還元基間距離に関する重要な知見を与える^{3) 4)}。

本論文では、酸化還元型単分子累積膜系で電子供与体あるいは正孔伝達体としての機能が期待されるカルバゾリル基を有する11-(9-カルバゾリル)ウンデカン酸(以下 CUAと略称)と長鎖脂肪酸との混合単分子累積膜の構造特性について報告する。この混合系は、水面上15°C、約13 mN·m⁻¹以上の表面圧では、混合単分子膜状態からのある成分分子の抜け出し(squeeze out)が見られている⁵⁾。最近、水面上でsqueeze outなどにより多層構造をとるスクエアリリウム塩と長鎖脂肪酸混合系が閑体基板上に多分子累積膜として採取されたという報告がある⁵⁾⁻⁷⁾。本混合系の累積膜構造を明らかにすることは、CUA累積膜に光反応中心として組織化するポルフィリンなどからの光誘起電子移動反応の解析において是

非必要である。

2. 実験

2-ニトロビフェニルより合成したカルバゾールと11-ブロモウンデカン酸メチルエsterを反応させ、水酸化リチウム触媒により加水分解してCUAを合成した。純度は、TLC、NMR、元素分析、及び蛍光スペクトルにより確認した。

CUAとパルミチン酸（PAと略称）あるいはアラキシン酸（AAと略称）の混合系（CUA/PA (1:2.7)、CUA/AA (1:4)）について、0.25 mM CdCl₂を含むサブフェイズ上で单分子膜特性を測定した。これら混合系をポリエチレンテレフタレートフィルムへ20 mN·m⁻¹、15 °Cで30往復累積しX線回折測定用試料とした。これを幅約1 mmに切断し、10枚重ねて基板面に平行にX線（CuKa₁線、λ = 0.154 nm）を入射した。小角X線回折測定は、九州大学中央分析センターにおいて湾曲モノクロメーター、湾曲型位置検出器及びOrtec 7010マルチチャンネルアナライザ等で構成されたStoe社のシステムにより行なった。ビームストッパーとして、厚さ0.5 mm、幅3 mmの白金板を湾曲型位置検出器の表面にとりつけた⁸⁾。積算時間はいずれの試料も5分である。回折角の校正にはアラキシン酸カドミウム塩累積膜を用いた。

3. 結果及び考察

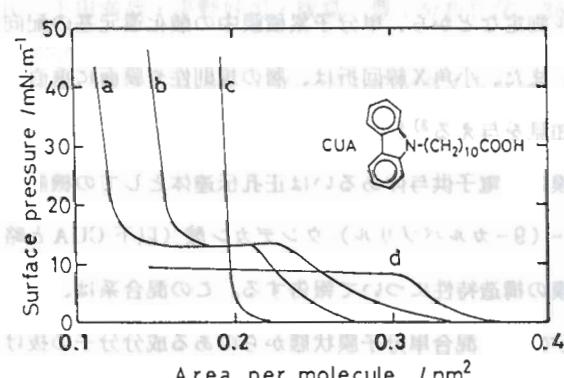


Fig. 1にCUAの構造とともに

(a) CUA/PA (1:2.7)、

(b) CUA/AA (1:4) 混合系、

(c) PA単独、(d) CUA単独系の15

°Cでの表面圧-分子占有面積曲

線を示す。混合系で約13 mN·

m⁻¹より低圧側では、表面圧が

検出される分子占有面積のCUA

Fig. 1 Surface pressure-molecular area isotherms for (a) CUA/PA(1:2.7), (b) CUA/AA(1:4), (c) PA alone, and (d) CUA alone at 15°C. The subphase contained 0.25 mM CdCl₂ and 0.05 mM NaHCO₃.

いえる。一方、高圧側での表面

圧一分子占有面積曲線はいずれの混合系でも長鎖脂肪酸単独の場合と同様な固体凝縮膜特性を示したが、極限面積は CUA 分率の増加に伴って減少した。長鎖脂肪酸のモル分率で規格化した高圧側の極限面積は、長鎖脂肪酸単独の極限面積と実験誤差内で一致した³⁾。また、約 13 mN·m⁻¹ で面積変化によらず、表面圧が一定の領域がみられ、CUA 分率とともにその領域は増加した。これらの結果から、CUA がその領域で squeeze out され、高圧側では水面上で二層構造の单分子膜が形成されているものと考えられる。

Fig. 2 に(a) CUA/PA (1 : 2.7)、(b) CUA/AA (1 : 4) 系累積膜の小角 X 線回線像を示す。5 次ないし 7 次までの明瞭な回折が観測された。この結果から混合累積膜の長周期

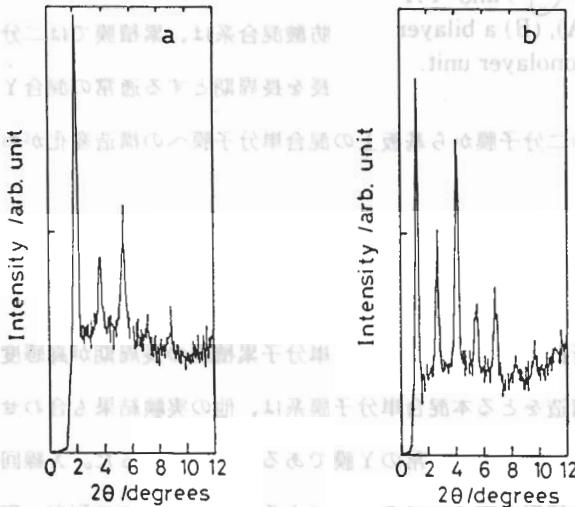


Fig. 2 The small-angle X-ray diffraction profiles for mixed LB multilayers of (a) CUA/PA(1:2.7) and (b) CUA/AA(1:4) deposited at 15°C and 20 mN·m⁻¹

アラキジン酸単独系と同様であり、良好な層構造が示された。

水面上で二層構造をとる混

合系の累積膜構造としては、Fig. 3 に CUA/PA について模式的に示すような 3 種が考えられる。この図でカルバゾリル基の配向状態は、偏光吸収スペクトルの入射角及び偏光角依存性の結果に基づいている³⁾。X 線回折の結果から单分子構造(C)が強く示唆されるが、二層構造(A)、(B) で CUA に関する長周期が低分率のため見えなかった可能性も完全には除外できないと思われる。

そこで X 線回折の他に次の実験を行なった。キャパシタンスの累積回数依存性を長鎖脂肪酸単独系及び CUA との混合系で測定した。また CUA/PA (1 : 2.7) 累積膜にいくつかの

エネルギーアクセプターを累積し、

エネルギー移動から膜構造を検討

した。詳細は別に報告するが¹⁰⁾、

このような実験結果から Fig. 2

の二層構造 (A)、(B) は否定され、

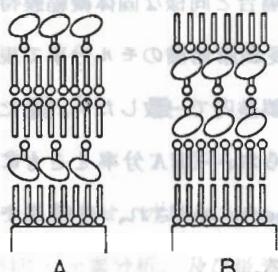
単分子構造 (C) が支持された。す

なわち水面上で squeeze out によ

る二層構造をとる CUA と長鎖脂

肪酸混合系は、累積膜では二分子

長を長周期とする通常の混合 Y 膜



A B C

Fig. 3 Schematic representation of mixed LB multilayers of CUA (○○) and PA (—) composed of (A), (B) a bilayer unit and (C) a mixed monolayer unit.

と結論される。累積過程で水面上の二分子膜から基板上の混合単分子膜への構造変化がおこっているものと推察される。

4. 結 語

中央分析センターの小角 X 線回折測定システムにより、単分子累積膜の長周期が高感度・高精度で決定され、水面上で二層構造をとる本混合単分子膜系は、他の実験結果も合わせて固体基板上では混合単分子層の繰り返しによる通常の Y 膜であることがわかった。X 線回折による距離、配列状態のこのような情報と電子スペクトルによるクロモフォアの配向、電子的相互作用等に関する知見をあわせることが、本研究者らが進めている単分子累積膜系の高度に組織化された光反応中心と酸化還元基集団による光誘起電子移動研究の展開に極めて重要な寄与をすると期待される。

参考文献

- 1) T. Nagamura, K. Matano, and T. Ogawa, J. Phys. Chem., **91**, 2019 (1987).
- 2) T. Nagamura, K. Matano, and T. Ogawa, Ber. Bunsenges. Phys. Chem., **91**, 759 (1987).
- 3) 長村, 鎌田, 小川, 日本化学会誌, 2090 (1987).
- 4) T. Nagamura, K. Sakai, and T. Ogawa, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1035 (1988).
- 5) Y. Kawabata, T. Sekiguchi, M. Tanaka, T. Nakamura, H. Komizu, K. Honda, E. Manda, M. Saito, M. Sugi, and S. Iizima, J. Am. Chem. Soc., **107**, 5270 (1985).
- 6) M. Matumoto, T. Nakamura, M. Tanaka, T. Sekiguchi, H. Komizu, S. Y. Matsuzaki, E. Manda, Y. Kawabata, M. Saito, S. Iizima, and M. Sugi, Bull. Chem. Soc. Jpn., **60**, 2737 (1987).

- 7) S. Kim, M. Furuki, L. S. Pu, H. Nakahara, and K. Fukuda, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1201 (1987).
- 8) 简井, 江良, 徐, 斎藤, 九州大学中央分析センター報告, 4, 56 (1986).
- 9) A. Matsuda, M. Sugi, T. Fukui, S. Iizima, M. Miyahara, and Y. Otsubo, J. Appl. Phys., 48, 771 (1977).
- 10) T. Nagamura, S. Kamata, K. Toyozawa, T. Ogawa, to be submitted.

DNA
分子の分子を示す。
Dinucleoside triphosphate triose ring
の構造は、中性核酸ヌクレオチド、Nucleotide Nucleotides
を行なった。Nucleotides
下記
る。

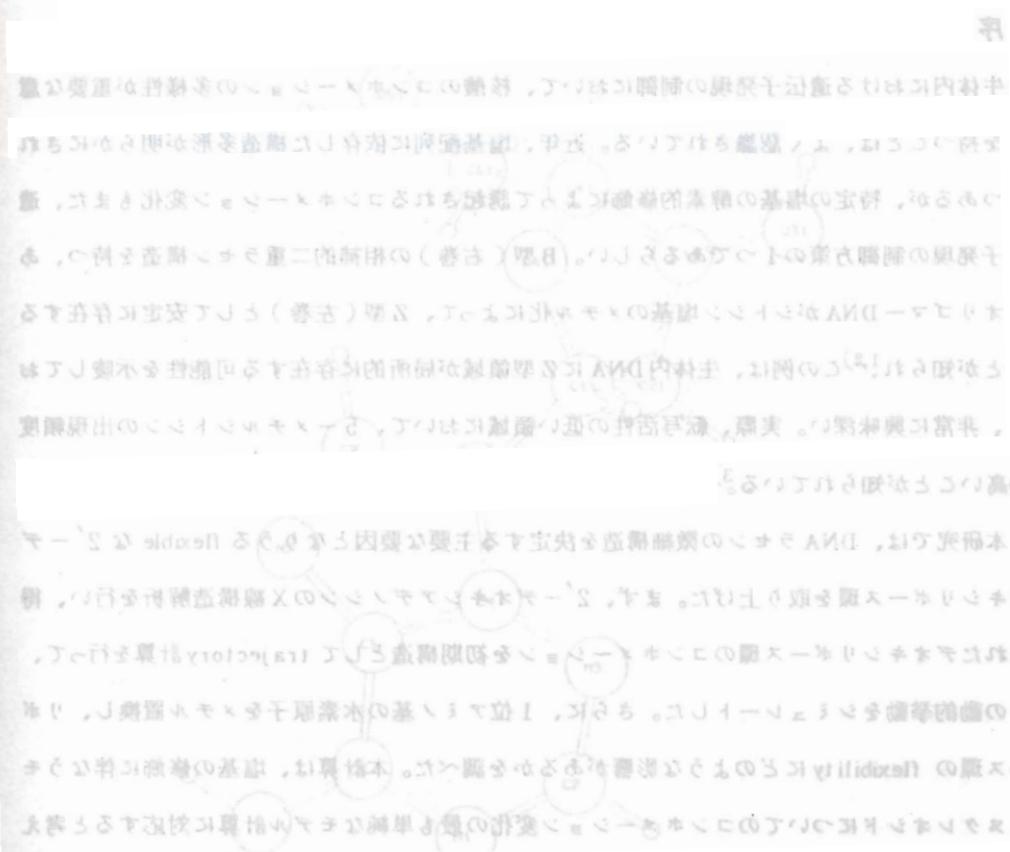


Fig. 1 Molecular structure of 3'-deoxyadenosine
from X-ray structure analysis.

本稿は上記合議の一部を示す。お品物の単位は(単位 kg)で示す。モード

核酸デオキシリボース環の動的構造

九州大学中央分析センター 西山宣昭

Dynamical Structure of 2'-deoxyribose ring in DNA

Nobuaki Nishiyama

The Center of Advanced Instrumental Analysis, Kyushu University

序

生体内における遺伝子発現の制御において、核酸のコンホーメーションの多様性が重要な意味を持つことは、よく認識されている。近年、塩基配列に依存した構造多形が明らかにされつつあるが、特定の塩基の酵素的修飾によって誘起されるコンホーメーション変化もまた、遺伝子発現の制御方策の1つであるらしい。B型（右巻）の相補的二重ラセン構造を持つ、あるオリゴマーDNAがシトシン塩基のメチル化によって、Z型（左巻）として安定に存在することが知られ^{1,2)}。この例は、生体内DNAにZ型領域が局所的に存在する可能性を示唆しており、非常に興味深い。実際、転写活性の低い領域において、5-メチルシトシンの出現頻度の高いことが知られている。³⁾

本研究では、DNAラセンの微細構造を決定する主要な要因となりうる flexible な 2'-デオキシリボース環を取り上げた。まず、2'-デオキシアデノシンのX線構造解析を行い、得られたデオキシリボース環のコンホーメーションを初期構造として trajectory 計算を行って、その動的挙動をシミュレートした。さらに、1位アミノ基の水素原子をメチル置換し、リボース環の flexibility にどのような影響があるかを調べた。本計算は、塩基の修飾に伴なうモノスクレオシドについてのコンホーメーション変化の最も単純なモデル計算に対応すると考える。

M. Sugi, T. Sekiguchi, M. Tanaka, T. Nakamura, H. Komizu

M. Sugii, and S. Iizima, J. Am. Chem. Soc., 107, 5270

2'-デオキシアデノシンのX線構造解析
M. Sugii, Bull. Chem. Soc. Jpn., 60, 1087

2'-デオキシアデノシン（Sigma 社製）の単結晶は、水-メタノールの混合溶媒より蒸発

法によって得た。中央分析センター設置の4軸自動X線回析計CAD4によって、Mo $\text{k}\alpha$ 線、 $1^\circ \leq \theta \leq 30^\circ$ で2064個の反射強度を収集した。空間群 P_{21}/m 、格子定数 $a = 16.177(5)$ 、 $b = 7.877(3)$ 、 $c = 4.724(2)\text{\AA}$ 、 $\beta = 96.12(3)^\circ$ 、 $Z = 4$ 。反射強度 3σ よりも弱い反射を捨て、1482個の独立反射を用いて、直接法(MULTAN 78)により位相を決定した。原子座標及び温度因子を full matrix 最小二乗法により精密化した。すべての水素原子及び1分子の水分子を Difference Fourier 合成により見出した。最終的な R 因子は 3.6 % であった。以上の解析は、中央分析センター DEC PDP 11/23、プログラムパッケージ SDP によって行った。得られた構造を図1に示す。リボース環の puckering は、C3'-exo、グリコシド結合のまわりのねじれは、anti、また C31-C41-C51-O51 のねじれは、trans である。

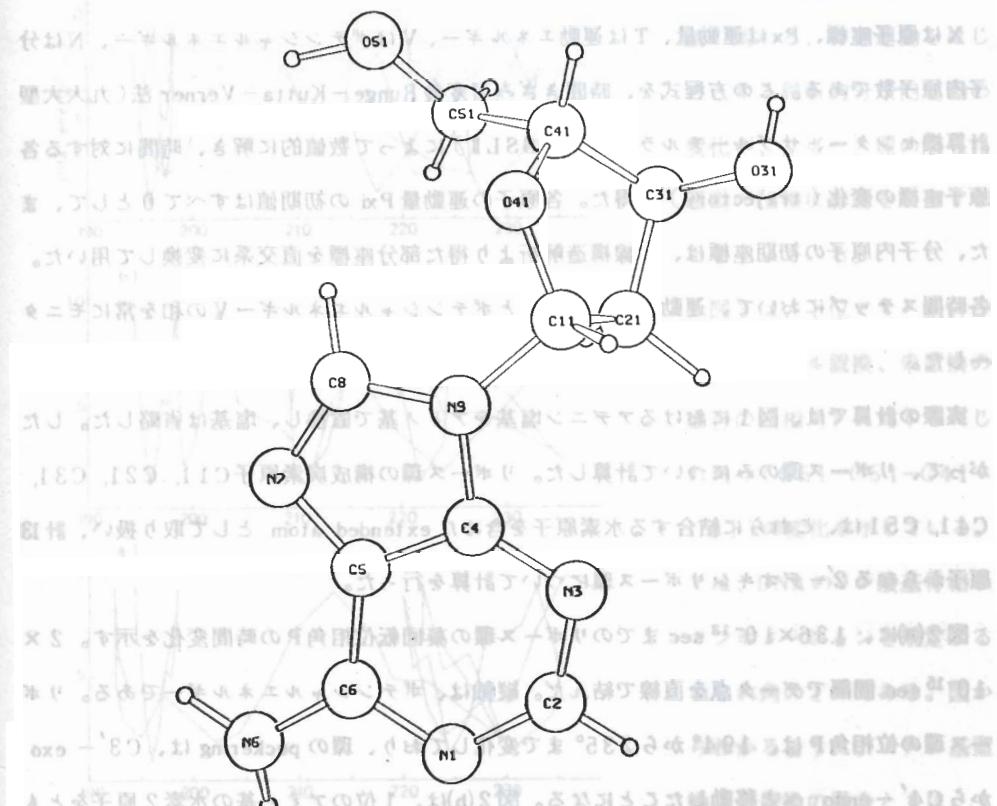


Fig. 1 Molecular structure of 2'-deoxyadenosine from X-ray structure analysis.

2'-デオキシリボース環についての trajectory 計算

計算において、ポテンシャルエネルギー曲面を、以下のように分子内伸縮、変角、ねじれ、Van der Waals 各エネルギーの線形結合で近似した。

$$E = E_{st} + E_{be} + E_{to} + E_{vw}$$

各エネルギー項の関数形及びパラメータの値は文献に従った^{4,5)}。ポテンシャルエネルギー曲面上での各原子の運動方程式は、以下のような連立一次微分方程式となる。

$$\frac{dX_i}{dt} = -\frac{\partial T}{\partial P_{xi}}$$

$$\frac{dP_{xi}}{dt} = -\frac{\partial V}{\partial X_i} \quad (i = 1, \dots, 3N)$$

X は原子座標、Px は運動量、T は運動エネルギー、V はポテンシャルエネルギー、N は分子内原子数である。この方程式を、時間きざみ可変の Runge-Kutta-Verner 法（九大大型計算機センター、サブルーチルライブラリ SSLII）によって数値的に解き、時間に対する各原子座標の変化（trajectory）を得た。各原子の運動量 Px の初期値はすべて 0 として、また、分子内原子の初期座標は、X 線構造解析より得た部分座標を直交系に変換して用いた。各時間ステップにおいて、運動エネルギー T とポテンシャルエネルギー V の和を常にモニターした。

実際の計算では、図 1 におけるアデニン塩基をアミノ基で置換し、塩基は省略した。したがって、リボース環のみについて計算した。リボース環の構成炭素原子 C11, C21, C31, C41, C51 は、これらに結合する水素原子を含めた extended atom として取り扱い、計 13 原子からなる 2'-デオキシリボース環について計算を行った。

図 2(a)に、 1.36×10^{-13} secまでのリボース環の凝回転位相角 P の時間変化を示す。 2×10^{-15} sec 間隔でデータ点を直線で結んだ。縦軸は、ポテンシャルエネルギーである。リボース環の位相角 P は、 194° から 235° まで変化しており、環の puckering は、C3'-exo から C4'-endo へと移動したことになる。図 2(b)は、1 位のアミノ基の水素 2 原子をともにメチル基で置換した場合の結果である。(a)では、 $220^\circ \leq P \leq 235^\circ$ と、比較的狭い範囲に落ちついている同じ時間領域において、(b)では、 $210^\circ \leq P \leq 235^\circ$ と、より flexible に puckering が変化している。このような軌跡の差異の原因として、メチル基置換に伴なう質

量効果と、静電相互作用の変化が考えられる。メチル基未置換、置換の場合とも、分子内原子電荷は、重なり積分を無視したCNDO近似で、分子軌道計算により得たが、メチル基置換したアミノ基部分の電荷を除いて、ほとんど変化はなかった。 $(-\text{NH}_2 : \text{N}(-0.305), \text{H}(0.113), \text{H}(0.110); -\text{N}(\text{CH}_3) : \text{N}(-0.201), \text{CH}_3(0.066), \text{CH}_3(0.058))$ 、以上電子の電荷-1を基準として)

図2(c)は、メチル基置換した分子について、分子内の原子電荷は変えずに、2つのメチル基の質量をともに水素原子の質量で置き換えたときの位相角Pの変化である。図2(a)、すなわち未置換の場合とかなりよく一致している。一方、質量は変えずに、原子電荷に未置換の場合の水素原子の値を使って同様に計算したが、図2(b)に示した挙動と、ほとんど差はなかった。以上のことから、図2(a)と(b)との差異は、メチル基置換に伴なう質量効果によるもの

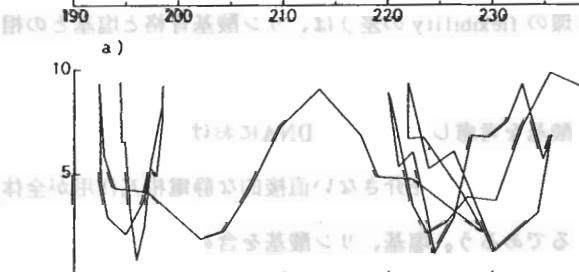
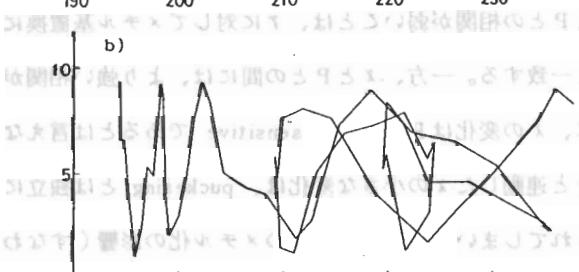
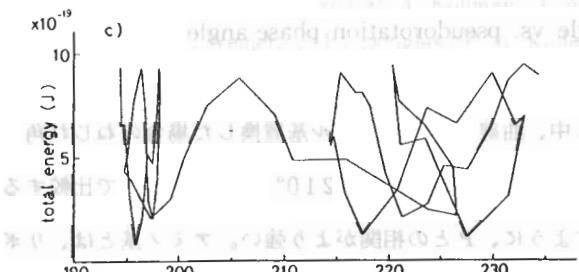


Fig. 2 Potential energy vs. pseudorotation phase angle P plot.

a) unmethylated, b) methylated,
c) methylated(methyl group has
mass of H atom).

であると結論できる。メチル基の関わる、伸縮運動をはじめとする局所的分子内運動の変化が、リボース環のねじれ運動の位相に影響を及ぼすことを示している。

図3は、1位アミノ基についてのメチル置換、未置換の場合の位相角Pに対するねじれ角 τ (O51-C51-C41-C31)の変化を示している。

これは、DNAのリン酸基骨格のコンポーメーションを規定するねじれ角の1つである。図からわかるように、メチル基置換、未置換の場合とともに、 τ の方向へと変化するが、その時間変化に、質量効果による

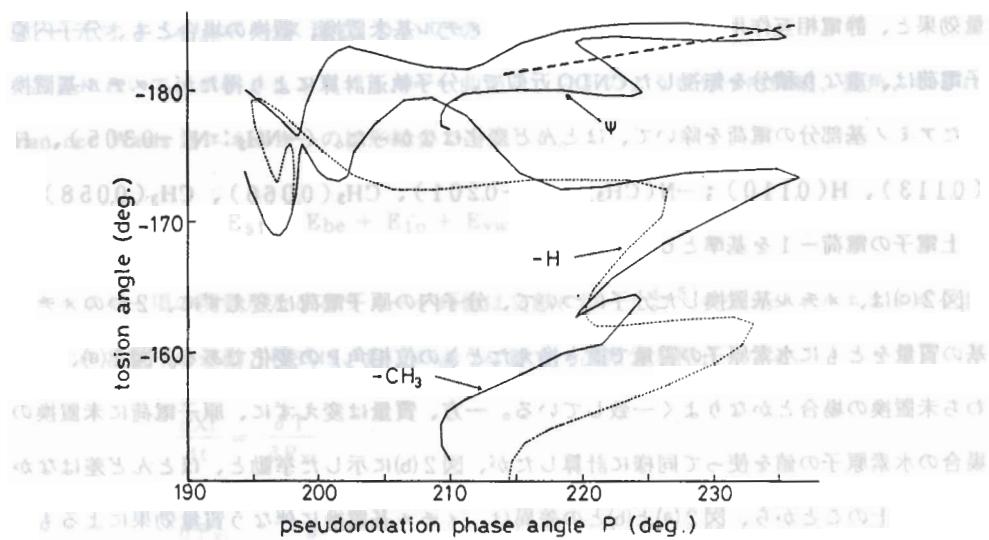


Fig. 3 Torsion angle vs. pseudorotation phase angle P plot.

差異は、ほとんど認められない。図3中、曲線(ψ)は、メチル基置換した場合のねじれ角 χ (C21-C11-N9-CH₃)の変化を示している。 χ と τ とを $210^\circ \leq P \leq 235^\circ$ で比較すると、 τ に比べて χ の方が太破線で示すように、Pとの相関がより強い。アミノ基とは、リボース環を隔てて位置するねじれ角 τ とPとの相関が弱いことは、 τ に対してメチル基置換に伴なう質量効果が認められることと一致する。一方、 χ とPとの間には、より強い相関が認められるが、図から明らかなように、 χ の変化はPに対して sensitiveであるとは言えない。つまり、リボース環のpuckeringと連動した χ の小さな変化は、puckeringとは独立に大きな変化を示す τ によって打ち消されてしまい、1位アミノ基のメチル化の影響(すなわち、図2(a)、(b)で認められたりボース環のflexibilityの差)は、リン酸基骨格と塩基との相対配置には反映されないことになる。

本計算では、極性の強い塩基、リン酸基を考慮していない。DNAにおけるモノヌクレオチド単位では、これら塩基とリン酸基とのリボース環を介さない直接的な静電相互作用が全体のコンホーメーションの規定に効いてくるであろう。塩基、リン酸基を含めたモノヌクレオチドについての同様な計算が望まれる。同時に、以上のような trajectory 計算の数 Picosec 程度の結果の吟味は、NMRによるリボース環puckeringのpopulation解析結果と対比させることによってある程度可能であると思われる。

(謝 辞)

分子内電荷計算のためのMO計算プログラムは、理学部化学科権藤恭彦助教授よりいただいた。また、X線構造解析以外のすべての計算は、九大大型計算機により行った。また、貴重なご助言を、当センター坂下寛文助教授よりいただいた。ここに感謝いたします。

参考文献

- 1) S. Fujii, A. H. J. Wang, G. Marel, J. H. Boom and A. Rich, Nucleic Acids Res. **10**, 7879(1982).
- 2) L. P. M. Orbons, G. A. Marel, J. H. Boom and C. Altona, Adv. Mag. Res. Tech. in systems of Molecular Complexity **2**, 141(1986).
- 3) Molecular Biology of the Gene, 4th edition, J. D. Watson et al. ed. (1988).
- 4) M. E. Nuss, F. J. Marsh and P. A. Kollman, J. Amer. Chem. Soc. **101**, 825(1979).
- 5) F. J. Marsh, P. Weiner, J. E. Douglas, P. A. Kollman, G. L. Kenyon and J. A. Gerlt, J. Amer. Chem. Soc. **102**, 1660(1980).

特 櫻

単結晶構造解析による混晶の組成決定

九州大学理学部 林進虎, 岡崎篤

九州大学中央分析センター 西山宣昭

九州大学工学部 岩坂正和, 平川一美

Determination of the Composition of Mixed Crystals by Means of the Single-Crystal Structure Analysis

Jin-hu Lin, Atsushi Okazaki

Faculty of Science, Kyushu University

Nobuaki Nishiyama

The Center of Advanced Instrumental Analysis,
Kyushu University

Masakazu Iwasaki, Kazuyoshi Hirakawa

Faculty of Engineering, Kyushu University

1. 序

混晶の組成決定を、X線回折法により非破壊的に行うのに最も広く用いられる方法は、Vegard 則が成立つという仮定に基づいて格子定数から推定する方法である。従って、組成決定を慎重に行う場合には、Vegard 則が成立することを先ず確認する必要があり、そのためには別の手段での組成決定が必要になる。これも非破壊的に行うことができれば、場合によっては有用な手段となり得る。ここで報告するのは、単結晶構造解析法を利用する方法である。従って0.1mm程度の微小結晶で充分といいうものの単結晶試料が必要であるので、方法的一般性といいう点に弱点はある。しかし単結晶が入手できれば、組成決定と格子定数決定とを同一試料についての同一実験で非破壊的に行えるので利用価値は高い。1次元磁性体KFe_{(S_{1-x}Se_x)₂}の場合を例にとって、この方法の開発過程ならびに使用法を報告する。

2. 予備的実験の規定に従い

試料の作製は、DeutschとJonassen¹⁾が示した方法に従って行った。すなわち、K₂CO₃、Fe、S+Se、Na₂CO₃を適量混合して石英管に入れ、Ar雰囲気中で800~900°Cで熔融。徐冷したのち、蒸溜水、アルコール、エーテルで順次洗滌して乾燥することにより、断面が長方形の多数の針状結晶を得た。サイズ約0.3×0.2×10mm³が標準的なものである。

$x = 0$ および 1 の組成、すなわち KFeS_2 と KFeSe_2 については格子定数が既知^{2,3)}であるので、各試料について格子定数を決定すれば、 x の値が推定できるというのが当初の考え方で、しかもそれは粉末法 X 線回折で容易に行えると予想した。ところが結晶の対称が monoclinic と低く、回折パターンの解析が容易でない上に、S と Se との原子散乱因子の差が大きいため、 x の変化に伴うパターンの変化が著しく、中央分析センターの現有設備ではピークの指指数付けが困難であることが判明した。幸い得られた結晶は単結晶法 X 線回折を適用するのに充分な大きさと完全性とをもっていたので、単結晶法による格子定数決定を試みた。

使用した装置は中央分析センターの CAD-4 型自動回折計。グラファイト結晶で单色化した $\text{MoK}\alpha$ 特性 X 線を用いた。試料温度は室温。解析は上記回折計に付属のプログラム (SDP)

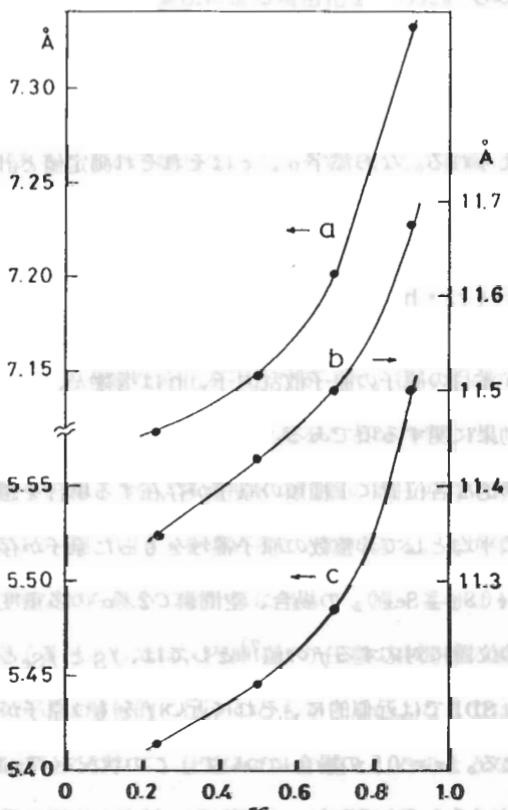


Fig. 1. The lattice constants vs. composition plot for $\text{KFe}(\text{S}_{1-x}\text{Se}_x)_2$. An apparent deviation from Vegard's law is due to a use of the nominal values for x . The lines are guides for the eye.

を用いて行った。試料作製の際の S と Se との仕込み量に対する x の値 (nominal value) が、0.24, 0.5, 0.7, 0.9 の 4 種の試料 (断面積約 0.01 mm^2 の針状結晶) について、それぞれ格子定数を決定したところ、Fig. 1 に示すように、格子定数と組成との関係は、線形関係 (Vegard 則) から大きく逸脱していることが判明した。従ってこの挙動が真性のものであるのか、組成に誤りがあるために生じた見かけ上のものであるのかを判別することが必要となった。なお、上記自動回折計による格子定数決定の正確度は、相対値で $10^{-3} \sim 10^{-4}$

である。

3. 単結晶構造解析

前記4種の試料について、組成、特にSとSeとの成分比を示すパラメータ x の値を、単結晶構造解析法を用いて決定することを試みた。試料、回折計、X線、解析用プログラムは前記の通り。各試料について、Bragg角30°以下で観測した回折(1300~1400個)の中で、回折強度がその標準誤差の3倍より大きいもの500~560個についての強度データを解析に用いた。 x 値の異なる試料について原子座標パラメータは大きな変化を示さないこと、従ってKFe₂S₂について既知⁵⁾の値を、最小二乗法による精密化の初期値として使用できることが判明した。従って殆どの解析はこの手順での精密化により行った。計算はすべて中央分析センターのPDP11/23を用いて行った。構造解析の結果の首尾を判断する目安には、次式で定義されるR因子を用いた。すなわち

$$R = \sum | |F_o| - |F_c| | / \sum |F_o|$$

ここでFは結晶構造因子であり次式で与えられる。なお添字o、cはそれぞれ測定値と計算値とを意味する。

$$F(hkl) = \sum_j f_j \exp 2\pi i (r_j \cdot h) \times T$$

ここで f_j は単位格子内 r_j の位置にあるj番目の原子の原子散乱因子、hは指指数 h 、 k 、 l に対応する逆格子ベクトル、Tは温度の効果に関する項である。

ところで、プログラムSDPでは、結晶学的な各位置に1種類の原子が存在する場合を想定しているが、混晶の場合には、ある位置に平均として非整数の原子番号をもった原子が存在することに対応する場合も生じ得る。KFe_{(S_{1-x}Se_x)₂}の場合、空間群C2/cの多重度8の位置*にSとSeとが共存するので、この位置に対応するfの値⁷⁾としては、 f_S と f_{Se} との値の重荷平均を用いるべきである。しかしSDPでは近似的に、それに近いfをもつ原子がその位置にあるものとして計算することになる。 $x=0.5$ の場合について、この状況をTable Iに示す。SとSeとの原子番号はそれぞれ16と34であり、 $x=0.5$ に対応する原子番号は25であるので、 f_{Mn} を比較のために最下欄に示す。最終的なR因子の値は数%の程度であるので、(S_{0.5}Se_{0.5})の状態をMn原子で近似しても、fの誤差はR因子に重大な影響は及

* International Table⁶⁾では、Wyckoff記号fで指定してあるが、原子散乱因子とまぎらわしいので、この報告では「多重度8の位置」と記す。

Table I. Comparison of atomic scattering factors⁷⁾.

| | (sin θ)/λ (Å ⁻¹) | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 |
| f_S | 16.00 | 14.33 | 11.21 | 8.99 | 7.83 | 7.05 | 6.31 | 5.56 |
| f_{Se} | 34.00 | 31.43 | 26.91 | 23.24 | 20.08 | 17.63 | 15.20 | 13.06 |
| $\frac{1}{2}(f_S + f_{Se})$ | 25.00 | 22.88 | 19.06 | 16.12 | 14.06 | 12.34 | 10.76 | 9.31 |
| f_{Mn} | 25.00 | 22.61 | 19.06 | 15.84 | 13.02 | 10.80 | 9.20 | 8.09 |

ばさない。

最初に解析した $x = 0.5$ の場合は、先ず直接法による各回折の結晶構造因子の位相決定を行い、次に最小二乗法による精密化を行った。その結果、構造パラメータは $x = 0$ についての文献値⁵⁾と良く対応するが、R 因子値が 10.1% と予想外に大きいことが判明した。このことは多重度 8 の位置に Mn 原子の存在を仮定したこと、すなわち $x = 0.5$ と仮定したこと間に問題があることを示唆している。そこで、この位置にある原子として、Mn に近い原子番号の原子を順次仮定し、それぞれの場合について最小二乗法による精密化（計算時間は各原子番号につき約 1 時間）を行って、R 因子の値を比較した。その結果を Fig. 2 に示す。注目すべきことは、R 値が組成に対し顕著な極小を示すことである。かつ構造パラメータはどの組成を仮定しても有意な変化を示さなかった。従ってこの方法は、混晶の（少なくとも KFe(S_{1-x}Se_x)₂ の）組成決定に有用であることが判明した。すなわち、この曲線の極小に対応する原子番号（20.7）を、多重度 8 の位置の原子の有効原子番号とすることにすれば、それに対応する x の値（0.26）を求めることができる。この手順の利点の一つとして次の点が挙げられる。すなわち最小二乗計算に当って、原子番号は 1 刻みでしか変えられないが、最終的な有効原子番号としては、内挿により任意の中間値の場合を対象とすることである。この決定は解析的に行うこともできるが、ここではグラフから判定した。

各試料について、仕込みの x の値と、このような手順で決定した x の値（real value）とを Table II に示す。この新しい x の値に基づいて、格子定数と組成との関係をプロットし直したのが Fig. 3 である。正しい組成については Vegard 則が成立することが明らかである。なお、 $x = 0$ や 1 についての文献値^{2,3)}も示す。 $x = 0$ での c の値を除いて、異なる研究の結果が良く一致していると云える。

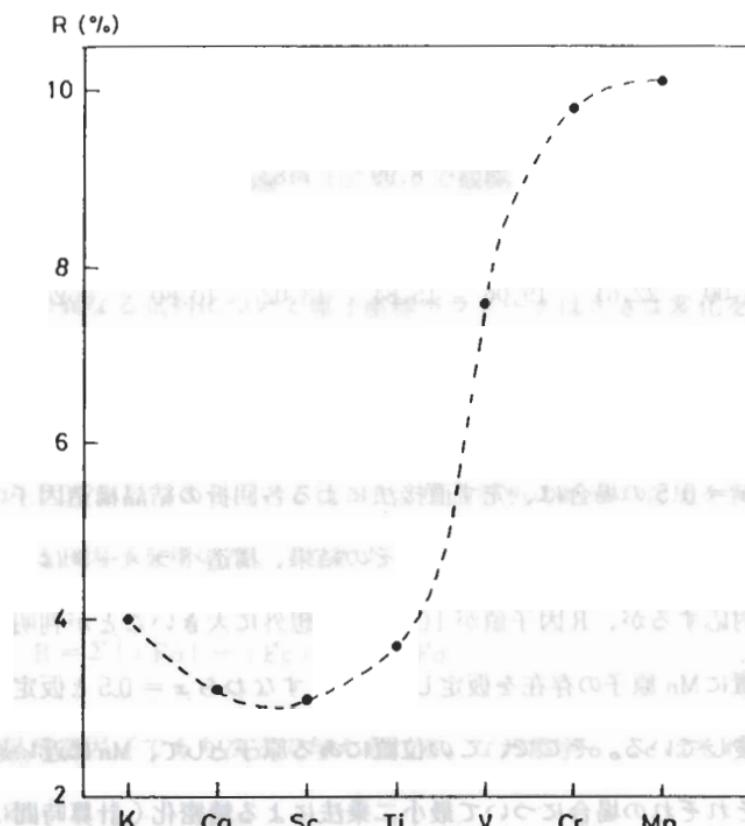


Fig. 2 R factors after the least-squares refinement for $\text{KFe}(\text{S}_{0.5}\text{Se}_{0.5})_2$. The element on the abscissa indicates that the atomic scattering factor of that element is used in the calculation in place of $\frac{1}{2}(f_s + f_{se})$.

Table II. Real x values corresponding to minimum R factor values; they are referred to nominal x values.

| nominal values | 0.24 | 0.50 | 0.70 | 0.90 |
|----------------|------|------|------|------|
| real values | 0.14 | 0.26 | 0.48 | 0.89 |

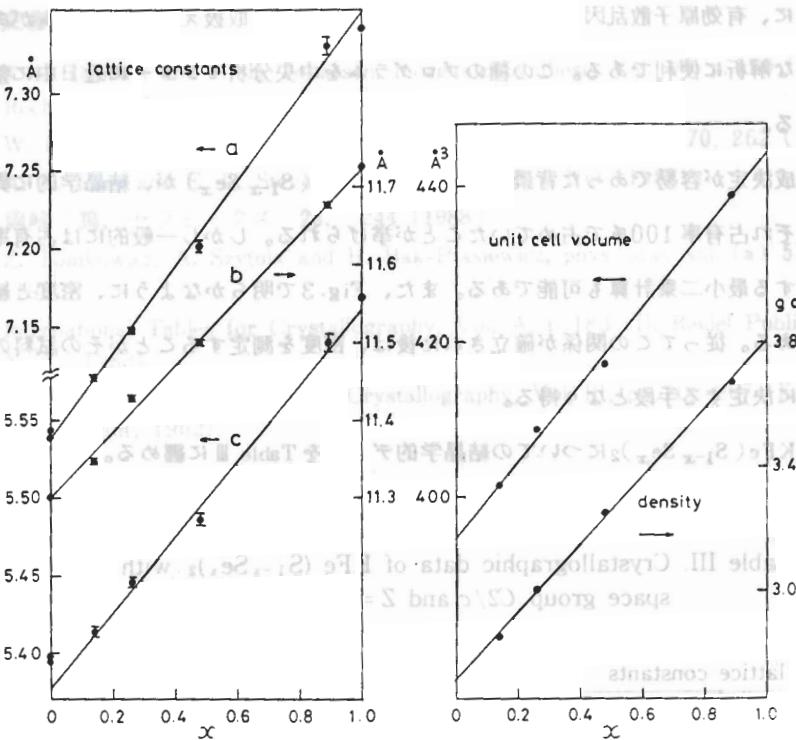


Fig.3 The lattice constants, unit cell volume and density as a function of the real value of x . The values for $x=0$ and 1 are those given in ref. 2 and 3.

4. 考察および結論

ここで記した方法による組成決定の精度の限界を吟味する。 $\text{KFe}(\text{S}_{1-x}\text{Se}_x)_2$ の場合、多重重度 8 の位置の原子の原子番号は、 $x=0 \sim 1$ に対して 16 ~ 34 の変化をする。Fig. 2 から、有効原子番号を 0.2 の精度で、従って x を 0.01 の精度で決定するのは困難ではないことが明らかである。一方、 $x=0 \sim 1$ の範囲での格子定数の変化は 3 ~ 4 % である。格子定数の測定精度は $10^{-3} \sim 10^{-4}$ であるので、組成の変化 $\Delta x = 0.01$ に対応する格子定数の変化 $3 \sim 4 \times 10^{-4}$ を測定するのは比較的容易である。ここに記した数字は、混晶系により異なるが、「単結晶構造解析により組成を 1 % の精度で決定できる」という結論に大きな影響を与える場合は例外的であると云えよう。本報告では、方法論の確立を主眼としたので、4 種の組成についてのみ測定を行った。組成決定を目的とする場合は、より多数の試料について格子定数 - 組成などの関係を求める必要があろう。なお、結晶学的に同一の位置を A、B 原子が共

有する場合に、有効原子散乱因子を $(1-x)f_A + xf_B$ として取扱えるプログラムがあれば、今回のような解析に便利である。この種のプログラムを中央分析センターに近日中に整備する予定である。

上記の組成決定が容易であった背景として、K、Fe、 $(S_{1-x}Se_x)_2$ が、結晶学的に異なる位置をそれぞれ占有率 100%で占めていたことが挙げられる。しかし一般的には占有率をパラメータとする最小二乗計算も可能である。また、Fig. 3 で明らかのように、密度と組成も線形関係にある。従ってこの関係が確立された後は、密度を測定することがその試料の組成を最も簡単に決定する手段となり得る。

最後に、 $KFe(S_{1-x}Se_x)_2$ についての結晶学的データを Table III に纏める。

Table III. Crystallographic data of $KFe(S_{1-x}Se_x)_2$ with space group $C2/c$ and $Z = 4$.

lattice constants

| x | 0.14 | 0.26 | 0.48 | 0.89 |
|-------------------|------------|------------|------------|------------|
| $a(\text{\AA})$ | 7.119 (2) | 7.148 (2) | 7.203 (4) | 7.333 (7) |
| $b(\text{\AA})$ | 11.350 (4) | 11.426 (6) | 11.500 (3) | 11.678 (5) |
| $c(\text{\AA})$ | 5.415 (3) | 5.451 (3) | 5.487 (4) | 5.602 (6) |
| $\beta(^{\circ})$ | 113.38 (3) | 113.38 (3) | 113.37 (5) | 113.87 (9) |

position parameters

| x | 0.14 | 0.26 | 0.48 | 0.89 |
|------------|-------|-------|-------|-------|
| $y(K)$ | .1425 | .1421 | .1416 | .1409 |
| $y(Fe)$ | .0033 | .0034 | .0033 | .0034 |
| $x(S, Se)$ | .6974 | .6985 | .6997 | .7009 |
| $y(S, Se)$ | .1115 | .1124 | .1136 | .1140 |
| $z(S, Se)$ | .6076 | .6082 | .6089 | .6097 |

参考文献

- 1) J. L. Deutsch and H. B. Jonassen, Inorganic Synthesis Vol. VI, p. 170 (Ed. E. G. Rochow, McGraw Hill, N. Y. 1960).
- 2) W. Bronger, A. Kyas and P. Müller, J. Solid State Chemistry **70**, 262 (1987).
- 3) A. K. Pant and E. D. Stevens, Phys. Rev. **37B**, 1109 (1988).
- 4) 岡崎 篤, セラミックス **23**, 244 (1988).
- 5) Z. Tomkowicz, A. Szytula and H. Bak-Ptasiewicz, phys. stat. sol. (a) **57**, K25 (1980).
- 6) International Tables for Crystallography, Vol. A, p. 183 (D. Reidel Publishing Co., N. Y., 1983).
- 7) International Tables for X-ray Crystallography, Vol. III, pp. 202-207 (Kynoch Press, Birmingham, 1962).

β-グルコシダーゼ活性を有するビオロゲンとして取扱えるアグリ糖文字等

シクロデキストリンとハンマー ヘッド ビオロゲン間の安定包接複合体の高分 解能NMRによる研究

九州大学工学部 齊藤 英, 米村弘明

中村 博, 松尾 拓

Formation of Stable Inclusion Complex between
Cyclodextrin and Hammer Head Viologen as Revealed
by High Resolution NMR Spectroscopy

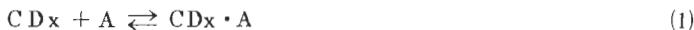
Hide Saito, Hiroaki Yonemura, Hiroshi
Nakamura and Taku Matsuo

Faculty of Engineering, Kyushu University

1. はじめに

シクロデキストリン(CD_xと略す)は環状オリゴ糖であり、とくに構成単位数n=7のβ-CD_xは食品添加物や医薬品、色素、香料の安定化保持剤などとして最も広く利用されている。CD_xは底のぬけたバケツ状の構造をもつ分子であり単位数nによってその内孔の大きさは異なる(図1)。内孔は疎水的であるが外側には多数の水酸基がある。そのため水溶液中で疎水性分子の包接が可能である。¹⁾

CD_xに関する水溶液内の1:1包接複合体の生成は通常平衡系で表わされる。そのような系に高分解能NMRを適用する場合は単純な分子Aを用い、AとCD_x・Aの速い化学交換により平均化した化学シフト値を求めることが多かった。しかし、Aを選択することによりその



包接複合体CD_x・AがNMRの時間尺度($\Delta\nu^{-1}$ sec)を越えて長寿命の安定種となるようになるならば、その組成、構造ないしは動的性質までも直接に検討できる。

さいわい、近年広く普及した超伝導NMR分光法によって溶液内の化学種をほぼ確実に同定

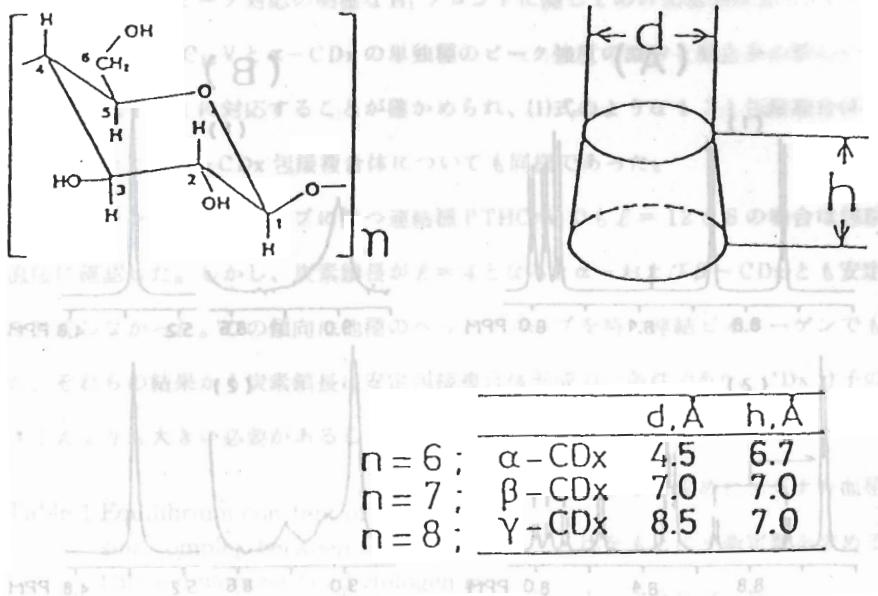


Fig. 1 Structure of cyclodextrin

し、精度よく定量することが可能になった。さらには高次測定も可能である。筆者らはその応用によって、アルキル鎖($\text{CH}_2\ell$)を介してカルバゾールやフェノチアジンを連結した非対称ビオローゲン類(ハンマー ヘッド ビオローゲン; 図3参照)が水溶液内でCDxと安定な1:1包接複合体を形成することを下記のとおり明らかにすることができた。

2. 結果および考察

NMR測定は日本電子製GSX400超伝導NMR分光計によった。その結果をカルバゾール- $(\text{CH}_2)_n$ -ビオローゲン連結種(Cz C_nV)について図2に示した。常温、8~9.2 ppm領域の部分スペクトルにおいてCz C_nV単独系の共鳴ピークはカルバゾール環プロトンの8.1 ppmダブレットおよび非対称ビオローゲン環プロトンの4本のダブレットからなる。それらのCz C_nVのピークは α および β -CDxを等モル含む系でもすべて存在することが確認できるがシグナル強度は一様に減少している。かわりに高強度のピークが出現しているがそれはすべて、図中に示すようにCz C_nVのピークに対応する。 α -CDx混合系の対応ピーク間のシグナル面積強度比はビオローゲン環とカルバゾール環のプロトンについてそれぞれ0.25と0.26であった。

α -CDxの共鳴ピークはH₁に帰属される~5 ppmのピークを除いて複雑な分裂パターン

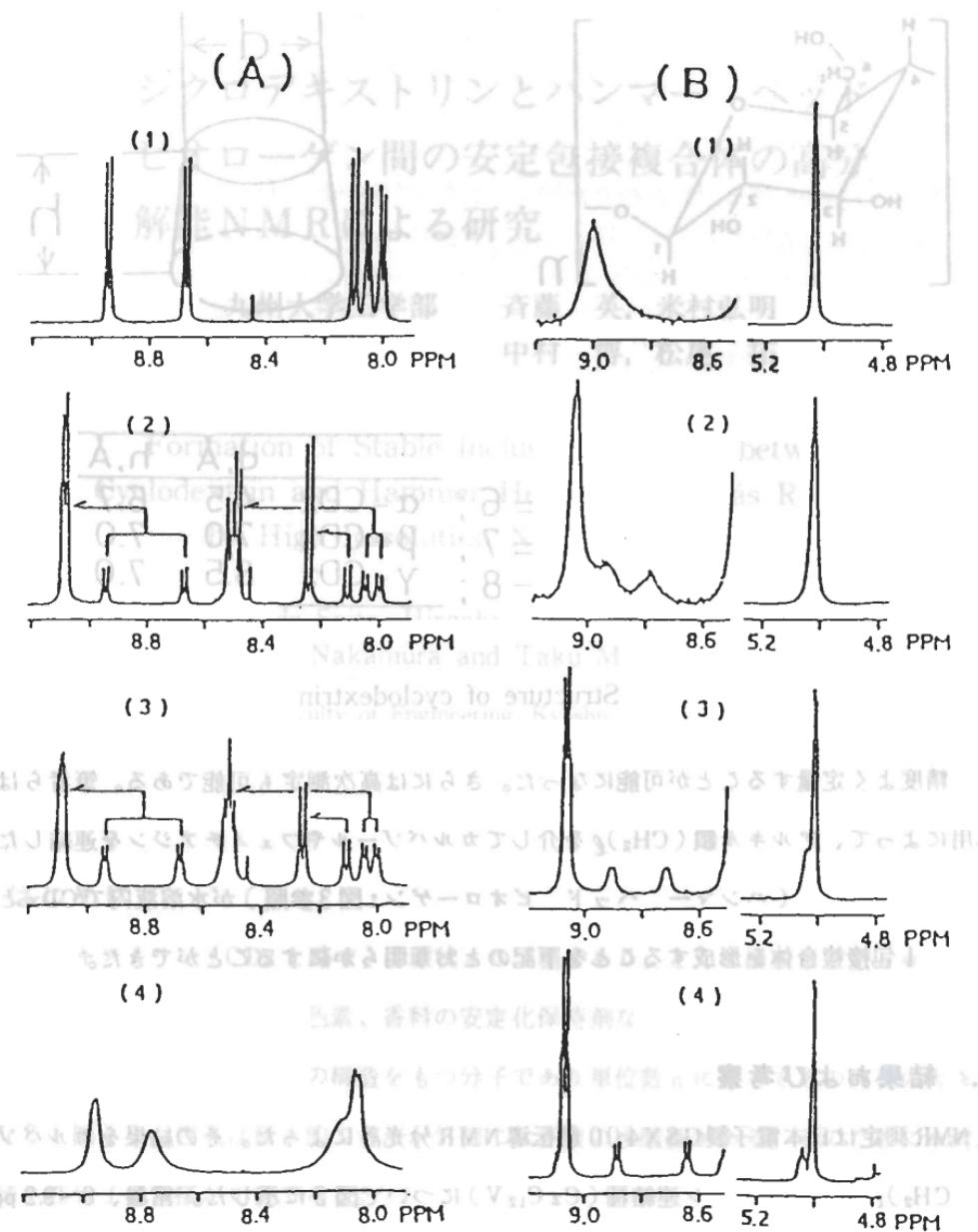


Fig. 2 Proton NMR spectra of D_2O solutions containing equimolar amount of CzC_{12}V and cyclodextrin. (A) Difference in complexing behavior of CDx as observed with 0.4 mM solutions at 30°C : (1) without CDx , (2) with α - CDx , (3) with β - CDx , and (4) with γ - CDx . (B) Temperature effects on the line shape in CzC_{12}V - β - CDx system (2 mM each) : (1) 90°C, (2) 70°C, (3) 50°C, and (4) 30°C.

を示す。したがってピーク対応の明確な H_1 プロントに関してのみ面積強度比 0.26 が得られた。以上の結果、 $CzC_{12}V$ と $\alpha-CDx$ の単独種のピーク強度の減少と混合系の新しい化学種のピーク強度は 1 : 1 に対応することが確かめられ、(1)式のような 1 : 1 包接複合体の形成が直接に示された。 $\beta-CDx$ 包接複合体についても同様であった。

フェノチアジンをヘッドグループを持つ連結種 $PTHC_{\ell}V$ でも $\ell = 12$ と 8 の場合は包接複合体を直接に確認した。しかし、炭素鎖長が $\ell = 4$ となると α -および $\beta-CDx$ とも安定な複合体を形成しなかった。この傾向は他種のヘッドグループを持つ連結ビオローゲンでも認められた。それらの結果から炭素鎖長は安定包接複合体形成の一条件であり、 CDx 分子の内孔の長さ 7 Å よりも大きい必要があることがわかった。

Fig. 4 External magnetic field effects on the H_1

Table 1 Equilibrium constant of 1:1 inclusion complex between cyclodextrin and hammer head viologen in D_2O solutions containing equimolar amount (0.4 mM) of the solutes at 30°C

| $CDx \backslash HHV$ | $CzC_{12}V$ | $PTHC_{12}V$ |
|----------------------|-------------------|-------------------|
| $\alpha-CDx$ | 4.9×10^4 | 4.4×10^4 |
| $\beta-CDx$ | 1.5×10^4 | 2.5×10^4 |

さきに求めたシグナル面積強度

比をもとに平衡定数を求めると表 1 のようになった。

$CzC_{12}V$ と $\gamma-CDx$ の混合系で

は単独種と包接複合体間のかなり迅速な化学交換が起きていることが図 2 のシグナルブロードニングからわかる。また、 $CzC_{12}V$ と $\beta-CDx$ の混合系でも昇温測定から

単独種と包接複合体の共鳴ピーク

の融合 (coalescence) が確認できた。図 2 (B) でビオローゲン環プロトンの 9 ppm 付近のピーク対は $\Delta\nu = 72$ Hz であり約 70°C で融合を起すのに対し、 $\beta-CDx$ の H_1 プロトンのピーク対は $\Delta\nu = 12$ Hz であり約 50°C で融合する。Tc 法によれば(2)式によって交換速度が求まるから、近似的に $CzC_{12}V \cdot \alpha-CDx$ の生成・解離の速度定数を見積ることができる。

$$k = \pi \Delta\nu / \sqrt{2}$$

$$k = kT / \hbar c_0 \cdot \exp(-\Delta G^\ddagger / RT) \quad (3)$$

速度定数としては 50°C ~ 70°C の範囲で $27 \sim 160 \text{ sec}^{-1}$ の値が得られた。また(3)式 (Eyring 式) で $C_0 = 1$ とおいて活性化自由エネルギー ΔG^\ddagger 値を求めるとき $16.8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ となった。

α -CDx 包接複合体では測定可能である 100°C 付近までいずれの場合も共鳴ピークの融合は観察されなかった。したがって連結ビオローゲンと CDx 間の包接複合体の生成・解離速度は数十倍以上の違いで α -CDx < β -CDx < γ -CDx の順に増加していることが明らかになった。

表 1 の平衡定数では α -および β -CDx の包接複合体の間で 2~3 倍しか異ならない。これに対して複合体生成・解離の速度の違いが著しいからそれらの遷移状態エネルギーは各 CDx の内孔径に強く依存していると考えることができる。CDx 包接複合体としては大きい活性化エネルギーは親水性のビオローゲン環が疎水性の強い CDx の内孔を貫入することによると考えられる。内孔径が 4.5 Å と特に小さい α -CDx でもビオローゲン環の通り抜けは可能であるが、歪みのかかることが CPK 分子模型から確かめられる。 α -CDx 包接複合体の特異的な安定性は恐らく遷移状態のエネルギーがとくに高いことに起因していると推定される。

連結ビオローゲンの炭素鎖長

および CDx の内孔径の効果から、

例えば PTHC₁₂V と α -CDx 間の安定包接複合体では図 3 のよう

うな相対配置にあることを推定

できる。事実、NMR より PTH

C₁₂V はほぼ 100% 包接されて

いることが確認された、0.1mM

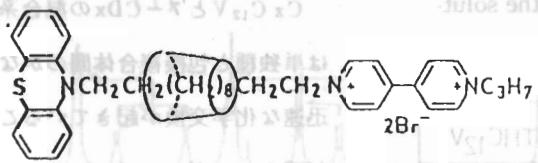


Fig. 3 PTHC₁₂V and α -CDx Incorporated System

PTHC₁₂V と 2 mM β -CDx の混合系ではフェノチアジン蛍光の増強がみられ、また、分子内電荷移動吸収の減少が著しい。これらはフェノチアジンとビオローゲン環が遠ざけられ相互作用が阻害されていることによる。

上の事柄に関連して光誘起電子移動において重要な結果が見い出されている⁸⁾。フェノチアジン環を光励起した場合、PTHC₁₂V の単独系とは異なり包接複合系では図 4 のようにフェノチアジンの励起三重項からビオローゲン環へ電子移動したことが確かめられた。ここで生成したビオローゲンラジカルからの逆電子移動は磁場の印加により顕著に抑制された。すなわち、0.3 テスラ以上の磁場を印加した場合、逆電子移動速度は磁場無印加時に比較して 10 分の 1 以下に低下した。これらの結果は光電荷分離における分子配置などの効果をあらためて示している。

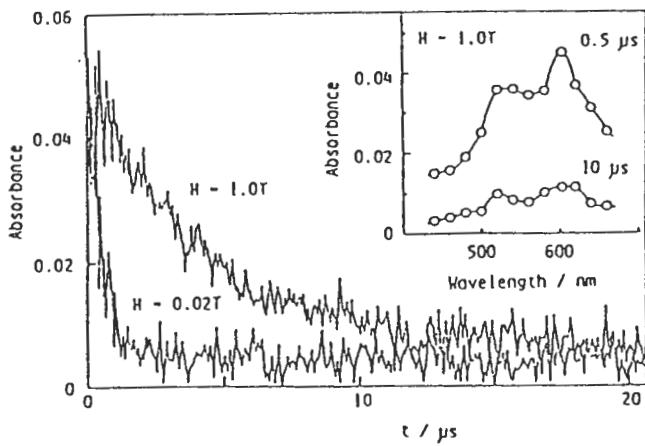


Fig. 4 External magnetic field effects on the transient absorption at 603 nm on laser excitation of the aqueous solution containing PT-HC₁₂V (0.1 mM) and β -CDx (2 mM). Transient spectra at 0.5 and 10 microseconds after the laser excitation at 1.0 Tesla are shown in the inset.

3. おわりに

ハンマー ヘッド ピオローゲン・CDx 1 : 1 包接複合体の安定構造を超伝導 NMR 分光法により推定した。その構造は CDx の包接複合体としてこれまでの報告例がない新規の包接形態のものであり、分子内光励起電子移動の問題にも関連し非常に有意義である。今後、高次 NMR 測定などからこの新しい CDx 複合体の詳しい構造や動的性質に関する情報も深めることが出来よう。種々のタイプの安定分子複合体の構成とその機能性の開発に期待したい。

参考文献

- 1) M. L.ベンダー、M. コミヤマ著、平井英史、小宮山真訳 “シクロデキストリンの化学”、1979年、学会出版センター。
- 2) L. M. Jackman, F. A. Cotton (ed.), “Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy”, (1975) Academic Press.
- 3) H. Yonemura, H. Nakamura, T. Matsuo, Chem. Phys. Lett., 投稿中。