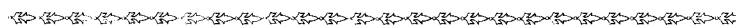


オキシジェニクス

研究代表者 早稲田大学 理工学部 教授 土田 英俊

[ポスター発表]

- 1) 酸素配位の μ -oxo 錯体形成と続く4電子移動過程 小柳津研一
- 2) 酸素分子の活性化を利用する新しい重合反応 小柳津研一
- 3) 酸素4電子過程とポリスルホニウム薄膜を組合わせた酸素電池 Eniya Listiani Dewi
- 4) 拡張 π 共役分子ポリスルホニオアセン類の合成と性質 小柳津研一
- 5) 芳香族ポリスルホン酸系の非水系プロトン伝導 武岡真司
- 6) リピドヘム自己組織体の構造と酸素輸液の構築 小松晃之
- 7) アルブミン-ヘムの特徴と酸素配位 dynamics 小松晃之
- 8) ヘム利用酸素輸液の生体内酸素輸送 小松晃之
- 9) 光電子利用によるリピドヘミンの還元と酸素配位能の復元 中川晶人
- 10) メトヘモグロビンの光電子還元過程の確立 酒井宏水
- 11) POE 脂質によるリン脂質小胞体の表面修飾と物性制御 大川春樹
- 12) 4電子移動過程を利用する無酸素雰囲気下でのヘモグロビンの安定保存
黄宇彬¹⁾、武岡真司
- 13) 高分子錯体膜による酸素濃縮と促進輸送 篠原浩美、西出宏之²⁾



Oxygenics

Eishun Tsuchida

Professor, Waseda University

“Oxygenics” is a general term of molecular science on oxygen and its technologies, as well as derived new materials and its wide-ranging applications. For instance, using one-step multi-electron transfer process of oxygen, synthesis of engineering plastic (polythiophenylene) at room temperature under the air has been established. On the other hand, using regulation procedure of the electron transfer by the microenvironment made of molecular assembly, concentration and facilitated transport of oxygen have been realized not only in the solid state, but also in aqueous media. This research project has already provided several new technologies, such as thermo- and radiation-stable polymers having high proton conductivity, and oxygen-infusion, which can keep respiration and existence of tissue cells in our body.

オキシジェニクス

土田 英俊

早稲田大学理工学部 教授

1. はじめに

「オキシジェニクス (Oxygenics)」とは、空気の成分である酸素の分子科学とその利用技術全般、更にそれから派生する材料や広範な応用すべての総称である。酸素は生命の根幹を担い、人類の安全保障にも密接に関連している。つまり、生体内での酸素の役割を再現する挑戦と、資源としての大気酸素を利用した次世代核心技術の確立が“オキシジェニクス”なのである。

本プロジェクトでは、高分子錯体が構築する極微小特異空間を利用した「錯体部の配位活性制御と革新的化学反応の構築」を研究目標とした。例えば分圧（濃度）差だけで簡単に結合脱着を観測できるヘモグロビンでは、酸素が結合しても電子移動は生起しない。そこで酸素結合席であるポルフィリンだけを取り出して電子移動抑制の仕掛けを備えると、水の中でも酸素配位が可能となり、血液の役割を代替できる酸素輸液が実現した。他方、酸素架橋の複核錯体を介し一段階の4電子移動を生起させると、従来反応しないとされてきた化合物でも活性化できるようになり、それらを巨大分子に成長させる発明、つまり新しい分子変換法の誕生となった。興味深いことは、大気圧下、室温、空気の吹込みだけで反応が進行することである。

我々は、オキシジェニクスを基礎科学として確立するだけでなく、人類生存に役立つ広範な科学技術展開のための突破口として、生命・エネルギー・環境の諸科学に跨る新領域として定着させようとしている。得られた成果は、社会との接点も極めて明確な対象であり、産業界への波及から具体的な社会貢献へ繋がるものと信じている。

2. 研究経過

研究開始当初から、「多電子移動と分子変換」および「電子移動抑制と分子機能」の二つに分けた展開を進めてきた。その概要は次の通り。

- A: 多電子移動と分子変換：** 極微小幾何学空間に取込まれた酸素分子の架橋配位により生成する μ -dioxo型複核錯体に着目し、酸素分子を任意に開裂させる環境条件を解明、得られた活性酸素種を利用する新しい分子変換法を確立した。まず、①一段階4電子過程の基礎科学を樹立、②この知見を従来重合不活性種として認められていた芳香族ジスルフィド化合物の重合に応用すると、容易に直鎖の高分子量体(分子量 2.8×10^2 kDa)が得られた。強酸性下のバナジル錯体系では重合活性種がポリスルホニウムの形態をとるため、高重合度まで成長できるのが特徴である。この発見を契機として、③ポリヘテロアセン、環状チオフェニレン、ポリ(チオエーテルスルホン)、ポリ(フルオロフェノール)などの新物質群の合成法を次々に確立、いずれも優れた物性を有することを見出し、新しい機能高分子材料として位置付けた。また、④多核錯体をグラファイト電極に充填させた修飾電極(正極)と、ポリスルホニウム隔膜および亜鉛負極とを組合せた空気電池は、従来のMn系正極空気電池をはるかに超える充放電特性を示した。
- B. 電子移動抑制と分子機能：** 電子移動の阻止あるいは抑制については、配位子場の調節が分子機能に繋がる。分子集合体が構築する極微小幾何学空間を利用した酸素配位錯体の電子過程制御法を確立。酸素の可逆的配位の指標を濃度の関数として表現することに開始された基礎化学は、やがて液相や固相での酸素濃縮、または促進輸送の具体化に繋がり、最終的には赤血球の酸素輸送機能を代替できる酸素輸液の誕生に至った。まず、①種々の両親媒性鉄ポルフィリン誘導体(略称：リピドヘム)の自己集合体や、アルブミ

ンに包接させた複合体について、その構造解析法を確立。リポドヘム集合体の酸素配位平衡、配位酸素の電荷分極状態と、ヘム近傍分子環境との相関を明らかにした。②他方、光電子を利用した中心鉄の非酵素的還元を実現、もはや化学試薬を必要としない酸素配位能の還元法を具体化した。これらの知見を進展させ、③生体内の細胞呼吸に不可欠な必要量の酸素を供給できる酸素輸液を開発。次世代医療にも大きな衝撃を与える化学技術として国内外で注目を集めている。また、④酸素錯体を含有する固相高分子膜を利用した酸素濃縮系を確立。分光解析と透過挙動のシミュレーション(二元モデル)から、高分子錯体中をホッピングして透過する酸素の拡散定数を算出することに成功した。空気からの(酸素/窒素)分離比は100を達成している。

以下に、本研究の経過を年度ごとにまとめる。

2-1. 第1・2年次 (1996～1997年度)

- 1) μ -オキソバナジウム複核錯体の一段階多電子移動機構の解明
- 2) 酸素4電子過程による芳香族ジスルフィド化合物の重合
- 3) 一段階多電子移動系の拡張とそれを利用した分子変換
- 4) ポリスルホニウムの展開とスルホニオ基 ($-S^+$) の親電子性を利用するポリアセン合成
- 5) リポドポルフィリンの分子集合機構と酸素配位 dynamics の解明
- 6) アルブミン-ヘム共集合体の構造と酸素配位平衡の解明
- 7) 固相系酸素配位 dynamics と酸素促進輸送の確立

2-2. 第3・4年次 (1998～1999年度)

- 1) μ -dioxo 錯体の電子過程解明と分子活性化法の普遍化
- 2) 多核錯体系の電子構造と架橋配位子開裂活性化への展開
- 3) スルホニウム基を利用するエネルギー素子の開発
- 4) 多電子過程を実現できる多核錯体系の探索と分子変換系の拡張
- 5) スルホニウムの親電子反応を利用するポリヘテロアセン合成
- 6) 高分子化集合体の特徴と分子集合過程の解析
- 7) アルブミン-ヘムにおける酸素配位 dynamics の解明
- 8) 光電子利用による光還元法の確立と配位機能の還元
- 9) ヘム利用酸素輸液の生体内酸素輸送能評価

2-3. 第5年次 (2000年度)

- 1) 酸素開裂を応用した酸化重合のまとめ、拡張 π 共役系の光電子物性の解析
- 2) 多電子移動過程が誘導する分子活性化法の応用 (有機基質の多電子酸化)
- 3) 有機配位子錯体に取込まれる架橋酸素分子開裂時の多電子移動を利用する空気電池の開発
- 4) 長寿命酸素化錯体リポドヘム小胞体の構築と酸素配位能の解明
- 5) 長寿命酸素化錯体アルブミン-ヘムの構築と酸素配位能の解明
- 6) 酸素輸液としてのアルブミン-ヘムの特徴と生体内微小循環動態
- 7) 光電子利用による配位機能の還元と機構解明

3. 研究成果・トピックス

3-1. 多電子移動 と 分子変換

① 酸素配位の μ -oxo 錯体形成と続く 4 電子移動過程

バナジウム μ -oxo 複核錯体が、酸素分子を挟んで構成する μ -dioxo 二量体 (4 核錯体) が高い活性を示すとの発見が契機となって開始された研究は、(1) 単核に比較して μ -oxo 複核錯体の場合、中心金属の電子密度が高くなるので (電子供与効果)、接触的に酸素分子が μ -dioxo 型 4 核錯体形成の役割を果たすこと、(2) 次にこれが一段階 4 電子移動をもたらし、瞬時に酸素分子の開裂を生起し、分子変換に繋がることを明らかにした。この知見は (3) 酸素の 4 電子還元による水分子の生成、(4) 例えば芳香族ジスルフィドのスルホニウムを經由したポリチオフェニレン (PTP) 合成 に繋がるなど、幅広い物性を持つ機能高分子の新しい合成法として確立された。

一段階 (同一電位) で複数電子を連続的に移動させることのできる錯体系に着目、 μ -オキソバナジウム複核錯体が常温常圧下で水生成を駆動力として酸化重合を進行させることを見出した。この反応系より、低原子価錯体として 4-3 価バナジウム複核錯体 $[(\text{salen})\text{V}^{\text{IV}}\text{OV}^{\text{III}}(\text{salen})]^+$ の単結晶が単離された (図 1)。この錯体は酸素との接触により、4-5 価の高原子価オキソ錯体 $[(\text{salen})\text{V}^{\text{IV}}\text{OV}^{\text{V}}(\text{salen})]^+$ (図 2) へと定量的に変換される。この複核錯体系では、 μ -ジオキソ 4 核錯体 ($[(\text{V}(\text{salen}))_2(\mu\text{-O})_2(\text{O}_2^{2-})]^{2+}$) の形成による触発的な 4 電子移動が先行し、高原子価オキソ錯体が生成することを解明、後続してプロトン付加による水生成 ($\text{VOV} \cdots \text{O} \cdots \text{O} \cdots \text{VOV} \rightarrow 2 \text{VOV}=\text{O}^+ \rightarrow 2 \text{VOV}^{3+} + 2 \text{H}_2\text{O}$) が生起する循環機構を確定した。

μ -ジオキソ 4 核錯体の一段階 2 電子移動による酸素分子開裂が、選択的 4 電子還元の本となることが実証され、一段階多電子移動錯体を利用する分子変換系としての展開が明確にされた。

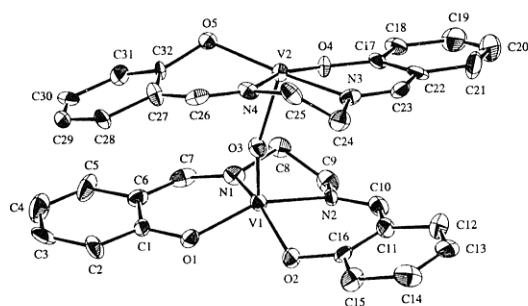


図 1 混合原子価 μ -オキソバナジウム錯体

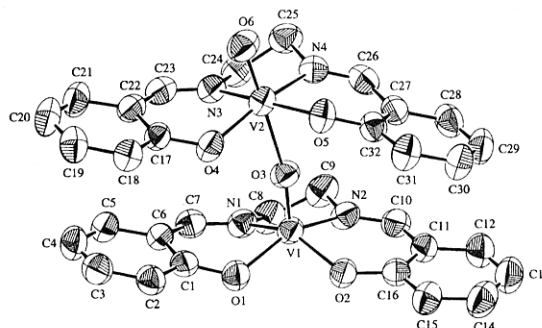
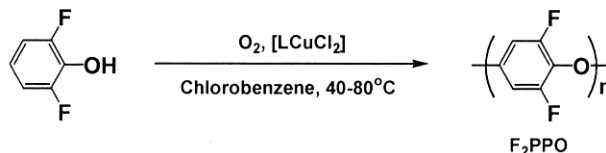


図 2 高原子価オキソバナジウム錯体

② 酸素分子の活性化を利用する新しい重合反応

μ -oxo バナジウム複核錯体を触媒とするジフェニルジスルフィドの酸化重合では、4 電子移動による酸素開裂が効率高く生起し、室温大気下でポリチオフェニレンが生成する。酸素開裂を利用した分子変換系の拡張として、複核銅錯体を触媒に用いると、2,6-ジフルオロフェノールの酸化重合が生起することを初めて見出した。電子吸引基を有するフェノール類 (例えば 2,6-ジフルオロフェノール) は、酸化電位が高いために酸化重合による重合体の生成例は殆どない。酸化酵素を触媒に用いた 2,6-ジフルオロフェノールの酸化重合が唯一の従来報告例であるが、酵素反応の要件として水が溶媒に用いられており、生成重合体の重合度は著しく低くなる。これに対し、酸素分子が



二つの銅中心に架橋配位した複核錯体の生成が、フルオロフェノールの酸化に有効であることを見出した。脂肪族環状アミン系多座配位子を有する錯体系が特に有効で、中心金属の銅の1価～3価の原子価変換が触媒活性の役割を担い、配位子は酸化還元電位の調節と迅速な酸素架橋配位の形成に寄与する。生成高分子は高純度、直鎖、高分子量 (M_n : 13 kDa, M_w : 66 kDa) で、熱分解温度 500°C 以上の新しい非晶質耐熱材料として得られた。

③ 酸素 4 電子過程 と ポリスルホニウム薄膜を組合せた酸素電池

NaVO_3 とアセチルアセトンから得られる 10 核クラスター ($[(\text{O}=\text{V})_{10}(\mu_2\text{-O})_9(\mu_3\text{-O})_3(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2)_6]$ (図 3) の中空構造に由来する溶媒可溶の特徴を利用し、一段階 10 電子過程の介在により溶存酸素の 4 電子還元が効率高く生起することを見出した。この錯体をグラファイト電極に充填させた修飾電極を正極とし、ポリスルホニウム隔膜 (ポリ (メチルスルホニオ-1, 4-フェニレンチオ-1, 4-フェニレントリプレート)) および亜鉛負極と組合せた空気電池を試作、従来の Mn 系正極空気電池を超える充放電特性が確認された。

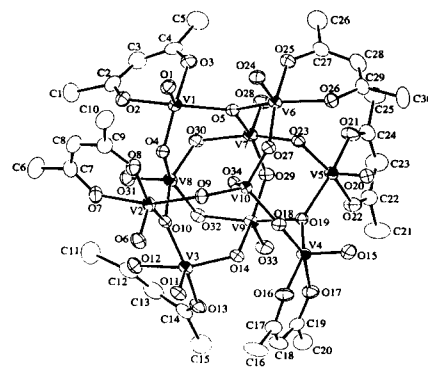
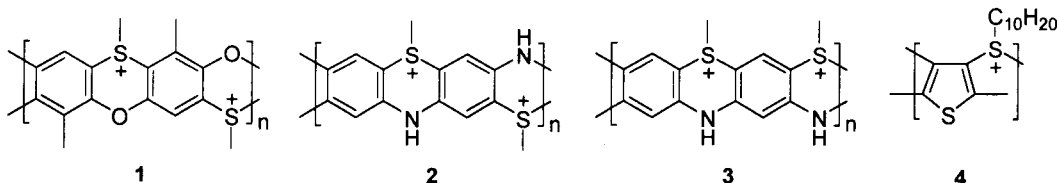


図 3 バナジウム 10 核錯体の構造

④ 拡張 π 共役分子ポリスルホニオアセン類の合成と性質

スルホニウムの近傍芳香核に対する親電子置換により、超分極スルホニウムで連結された芳香族連鎖が得られ、幅広い応用に適応できる物質系として確立した。一次元 π 共役連鎖では微小な分子変形でも容易に共役鎖が切断され、安定な電子物性の期待に欠ける。強固な擬二次元共役系の骨格を構築するため、スルホニウムの親電子的閉環反応を利用して、ヘテロ原子を構成要素に含むポリスルホニオアセンを初めて合成した。



まず、2-メチル-6-(メチルチオ)フェノールの酸化重合により、ポリ (オキシ-2-メチル-6-メチルチオ-1, 4-フェニレン) を合成 (M_n : 10 kD, M_w : 35 kD)、過酸化水素/酢酸を用いて酸化し、側鎖にメチルスルフィニル基を有するポリ (オキシ-2-メチル-6-メチルスルフィニル-1, 4-フェニレン) を得た。これをトリフルオロメタンスルホン酸中で閉環させることにより、エーテル結合とスルホニオ結合を持つポリヘテロアセン (1) が黒色粉末として得られる。UV スペクトルにおいて吸収端は 560 nm 付近まで拡大しており、閉環前のポリマーより著しく長波長シフトしているため、スルホニオアセン骨格の形成による π 共役系の拡大が明らかとなった。

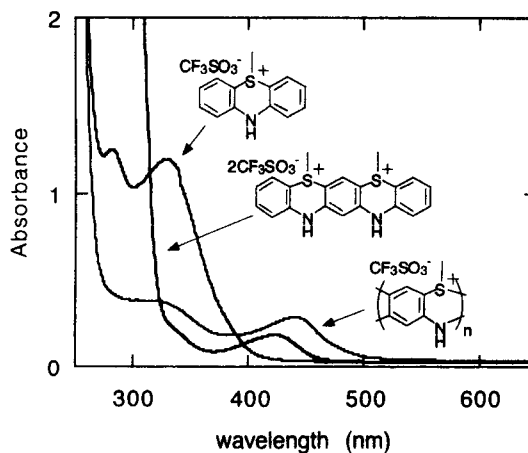


図 4 オリゴスルホニオアセンおよびポリスルホニオアセンの UV-Vis. スペクトル

この反応を各種の平面共役型ポリヘテロアセンの合成に拡張し、これが一般性の高い方法であることを明らかにした。まず、フェノチアジンスルホニウム骨格を有する共役連鎖を合成するため、1,3-ジブromo-4,6-ビスメチルチオベンゼンと *m*-フェニレンジアミンの重合を行い、酸化反応を経て側鎖にメチルスルホキシド基を有するポリアニリン (M_w : 6.2 kDa, M_n : 2.1 kDa) を得た。スルホキシド基の環化は常温においては立体障害のため進行しないが、トリフルオロメタンスルホン酸中 80℃では、メチルヒドロキシスルホニウムの芳香族置換反応が定量的に進行、イミノ基とスルホニオ基により連結された黒色粉末のポリヘテロアセン (2) が生成した。このポリイミノスルホニオアセンは極性有機溶媒や強酸に可溶であり、 ^1H , ^{13}C NMR, および IR 分光から構造を確認した。UV スペクトルにおいて λ_{max} : 440nm, 吸収端が 500nm 付近まで拡大しており、前駆重合体 (λ_{max} : 308, 313 nm) に比べて著しい長波長移動が見られるので、スルホニオアセン形成に基づく π 共役系の拡大が明らかとなった (図 4)。

⑤ 芳香族ポリスルホン酸系の非水系プロトン伝導

ポリスルホニウムの溶媒可溶性を利用して、スルホン酸化されたポリチオフェニレンスルホン酸を合成し、生成ポリマーの熱特性、プロトン伝導性を解析した。ポリ (メチルスルホニオ-1,4-フェニレンチオ-1,4-フェニレン トリフレート) を 10% 発煙硫酸に溶解し、加熱しながらスルホン酸基導入反応を実施した。スルホン酸基導入率は反応温度によって制御可能であり、120℃でのスルホン酸化により高導入率 ($\geq 2\text{SO}_3\text{H}/\text{unit}$) が達成された。これを脱メチル化して得られるポリチオフェニレンスルホン酸は薄黄色粉末であり、溶媒キャスト法により成膜も容易である。ポリチオフェニレンスルホン酸の 10% 重量減少温度は H 型、Na 型でそれぞれ 368℃、520℃であり、優れた耐熱性を有するイオン交換樹脂であることが明らかにされた。また、この高分子は水溶性であり、含水時 (RH: 96%) におけるプロトン伝導度は、30~180℃の範囲において 10^{-2}Scm^{-1} と Nafion ($< 10^{-3}\text{Scm}^{-1}$) にくらべても高い値を示している。

ポリチオフェニレンスルホン酸 (PTPS) とポリオキシエチレン (POE) の複合膜が、高温下でも高いプロトン伝導を保持することを見出した。PTPS の含水膜 (含水率 30wt%) は 30~160℃の温度において、 10^{-3}Scm^{-1} 以上の高いプロトン伝導を示すが、100℃以上では脱水に伴うキャリア (ヒドロニウムイオン) 濃度減少のため伝導度は低下した。PTPS を POE と複合させた非水膜では、150℃以上でも伝導度低下が認められず高い値 (10^{-3}Scm^{-1}) が維持された。他方、Nafion/POE 複合膜のプロトン伝導度は PTPS/POE 複合膜に比較して低く、 $5.6 \times 10^{-9}\text{Scm}^{-1}$ に留まった。これは PTPS のスルホン酸基当りの重量が小さく (PTPS: 210, Nafion: 1100)、しかも POE との親和度が高いためと考えられる。

伝導度の温度依存性について、重水素化 PTPS 試料 (PTPS-D) との比較測定では、PTPS と PTPS-D の伝導度比は 1.4 を示した (30~150℃の温度範囲)。キャリア移動度はキャリア質量の平方根に比例するので、この非水複合膜の伝導キャリアはプロトンであると想定される。含水膜は従来、水によるスルホン酸基の解離によるヒドロニウムイオンの移動となるのに対し、PTPS/POE 複合膜では POE エーテル酸素によるスルホン酸基解離の促進に基づき、プロトン単独で移動する機構が明らかとなった。

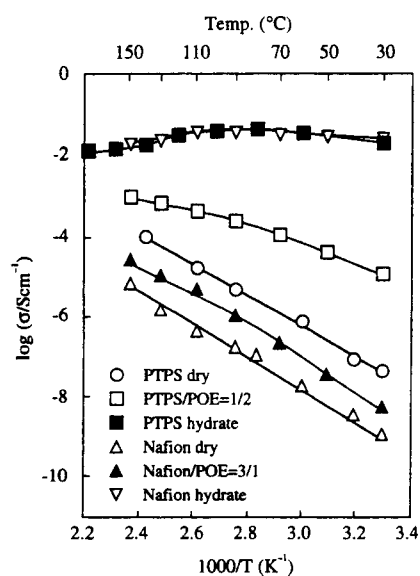


図 5 複合膜の伝導度の温度依存性

3-2. 電子移動制御と分子機能

① リピドヘム自己組織体の構造解析と酸素輸液の構築

両親媒性ポルフィリン鉄誘導体（リピドヘム）が、水相系で自己集合して組織体（小胞体、繊維、平板、管状組織 など）を形成する現象を見出した（図 6）。集合形態は構成する分子の構造とその親疎水平衡に支配される。励起子相互作用に基づく可視部吸収帯最大吸収波長のシフト幅から、組織内ポルフィリン環の配向間隔・角度の決定法を確立。例えば、共役ポリエーテル鎖 (bixin) を導入した誘導体 (9) では電子移動経路の構築が可能となり、ミリ秒単位の電荷分離が観測できるので、分子チップへの展開も期待できる。

また、この種のリピドヘム組織体は、生理条件下（生理塩水溶液、pH 7.4、37°C）で酸素を可逆的に結合解離できる。酸素配位平衡・dynamics、配位酸素の電荷分極状態を分光観測し、集合構造との相関を解明した。軸塩基配位子の σ -または π -電子供与度は酸素親和度調節の鍵となるので、近位 (proximal) 塩基を分子内に導入。リピドヘム (5) からなる繊維（幅: 10 nm）の中心は、ポルフィリンの環状構造が連結した中空管（直径: 2.8 nm）から構成された。また、7 は自己組織化して二分子膜小胞体を形成、その酸素錯体半減期は生理条件下で 20hr と実用に耐える安定度を持つ。

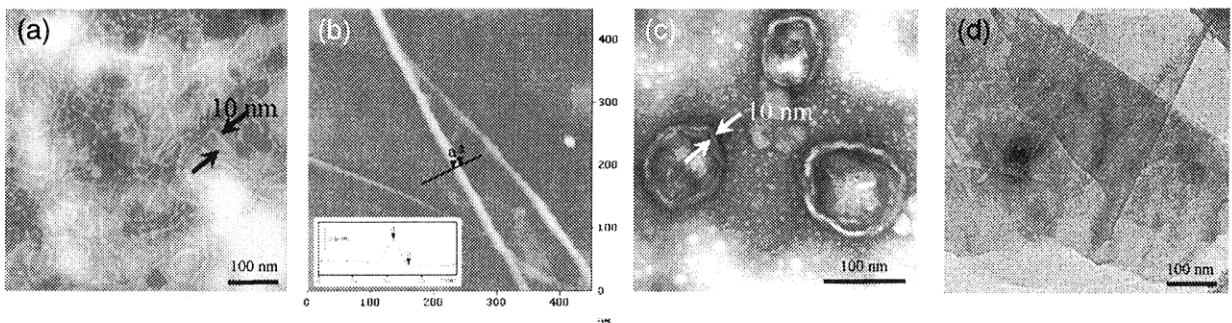
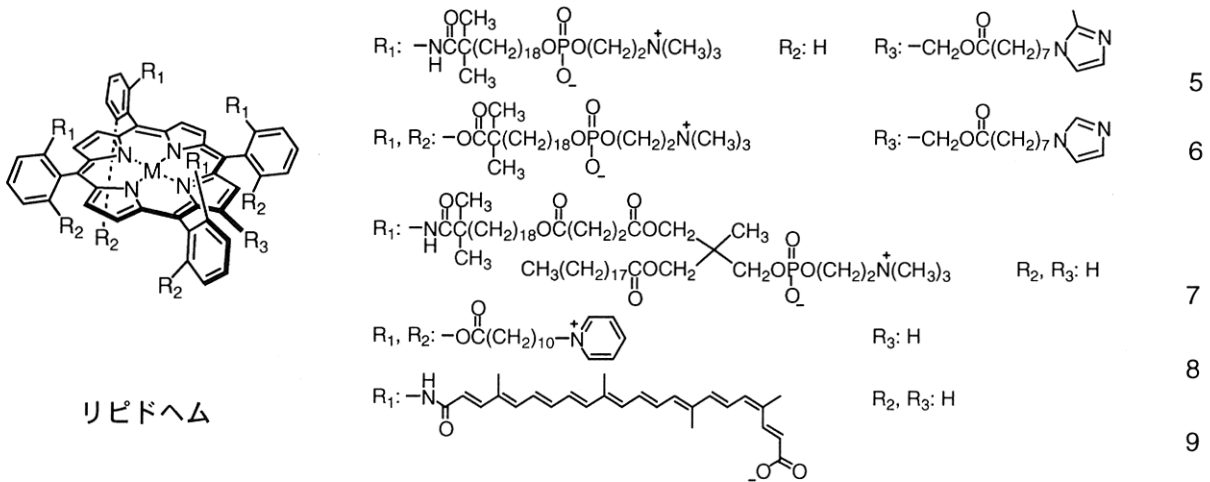


図 6 リピドヘムの組織構造。5 からなる管状繊維の (a) TEM と (b) AFM 像。 (c) 7 からなる二分子膜小胞体の TEM。 (d) 8 からなる一分子膜平板の TEM。

② アルブミン-ヘム酸素輸液による生体内酸素輸送

分子内に近位塩基を共有結合したリピドヘム類（図 7 (a)）をヒト血清アルブミンに包接させて得たアルブミン-ヘム複合体が、生理条件下で酸素を可逆的に結合解離できることを見出した。アルブミン 1 分子当りの最大ヘム結合数は 8、結合部位はビリルビン、ヘミン、脂肪酸サイトと一致する。平衡定数は $10^4 \sim 10^6 \text{ M}^{-1}$ 。結

合位置は分子シミュレーションからも推定可能 (図 7 (b))。この種の包接ではアルブミンの形態や物理化学的特性に殆ど変化を認めない。ヒト血液と 1:1 で混合しても粘度上昇はなく、血液適合性はきわめて高い。酸素結合解離曲線 ($P_{1/2}$: 32 Torr) の調整により酸素輸送効率をヒト血液と同等に調節。また、アルブミン二量体に 16 分子のヘムを包接することにより、膠質浸透圧 (18 Torr) を保持したまま、赤血球の 1.3 倍量の酸素濃縮を可能にした。また、アルブミン-ヘムの酸素結合過程がヘム近傍分子環境に大きく影響を受けることをレーザーフラッシュホトリシス法を用いて詳細に解析。酸素結合の速いサイトと遅いサイトの二種の存在が明確となった。

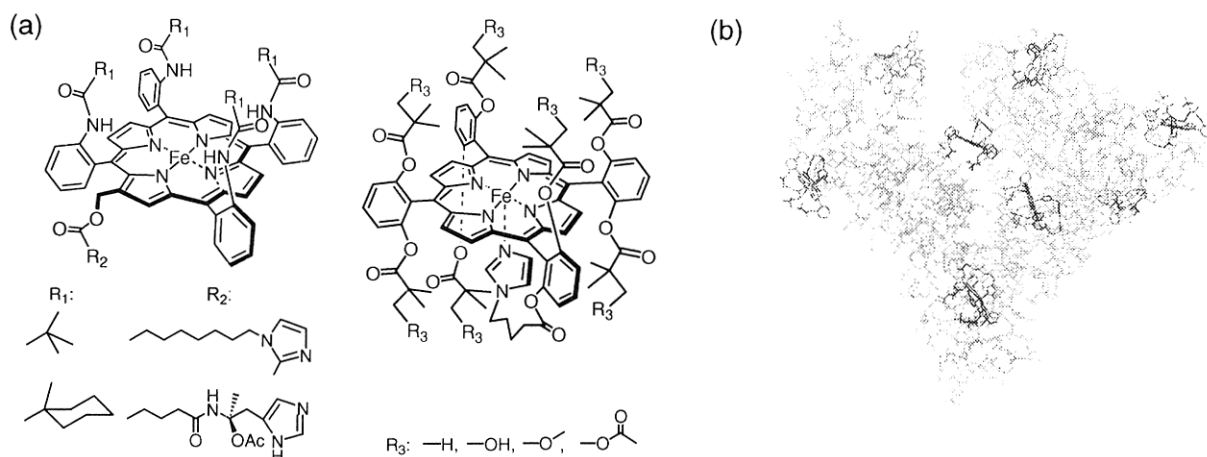


図 7 (a) ヒト血清アルブミンに包接できるリポドヘム。(b) 分子シミュレーションにより描いたアルブミン-ヘムの三次元構造。

本物質が生体内の細胞呼吸に必要な充分量の酸素を輸送できる赤血球代替物 (酸素輸液) として実用化可能であることを初めて実証。脱血ショックラットへの交換投与試験から、血圧 (MAP) の回復、腎皮質への酸素供給 ($P_{tO_2}(R)$) の上昇を観測した (図 8 (b))。対象群のアルブミン投与だけでは 5 分以内に全例が死亡するのに対し、アルブミン-ヘム投与群では全例が生存。また、酸素錯体半減期は *in vitro* では 2 hr であるが、*in vivo* では 4 hr に延長され、さらにヘム構造の変換により 9~25hr まで延長できる。天然のヘモグロビンと同じヒスチジンを分子内に共有結合した系が、最も安定な酸素錯体を形成できる点は興味深い。

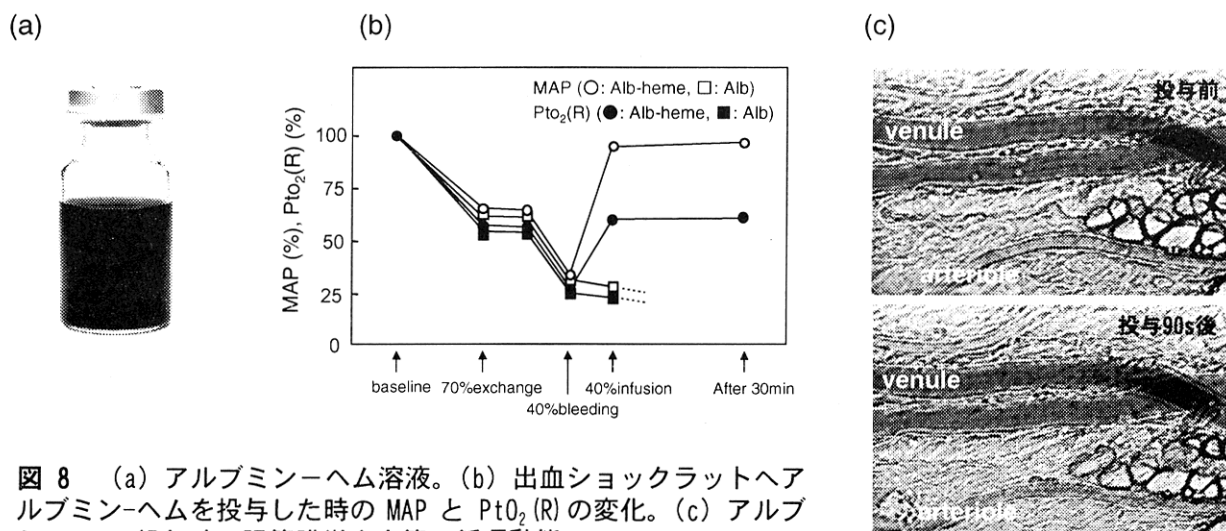


図 8 (a) アルブミン-ヘム溶液。(b) 出血ショックラットへアルブミン-ヘムを投与した時の MAP と $P_{tO_2}(R)$ の変化。(c) アルブミン-ヘム投与時の腸管膜微小血管の循環動態。

血管弛緩因子である NO に対するアルブミン-ヘムの親和度はヘモグロビン (Hb) の 8 倍と高いが、アルブミン分子の血管透過性が Hb の 1/100 と低いために、修飾 Hb 製剤に見られる血管収縮・血圧上昇の副作用は全くない。これは腸管膜微小血管の循環動態観察において、アルブミン-ヘム溶液投与後に血管径の変化が認められないことから確認された (図 8 (c))。リポドヘムの分子集合体が大气から水中へ酸素を高濃度に濃縮できる知見の確立と、酸素輸液への展開は本研究により初めて具体化された成果である。

③ 光電子利用による配位機能の復活

水相系における可逆的な酸素配位錯体系が達成された後に残る問題は、酸素分子の脱着により自動酸化 (メト化) した高酸化状態中心 Fe (III) の再還元過程の実現にある。人工系を利用する際、直ちに直面する問題であり、この対策なしで順調な体組織呼吸の維持はあり得ない。メトヘムの化学還元は従来報告例も多いが、必ずしも適切でないので、化学試剤を全く使用しない光電子によるヘムの配位能復活法を確立した。具体的には、リポドヘミン集合体の生理塩水溶液に少量の糖質 (ヒアルロン酸など) を添加し、窒素雰囲気下で配位子-Fe (III) 間の電荷移動吸収 (LMCT) 帯を光照射 (365nm) すると、中心鉄の還元が起こり 5 配位 Fe (II) 高スピン錯体が得られる (図 9 (a))。光還元反応の初期過程は分子内電子移動であるが、共存する糖質はこの電子移動の欠損を補充して酸化され、逆電子移動を抑止する (図 9 (b))。過渡吸収分光測定から 100ns 以内に 5 配位 Fe (II) 高スピン錯体が形成されることを確認。アルブミン-ヘム複合体の場合、アルブミン自身が電子供与体としての役割を果たし、光還元が進行した。勿論、得られた Fe (II) 体へ酸素を通気すると速やかに酸素錯体が形成され、その結合解離は可逆的であった。

これに対し、天然の Hb の場合は多少異なる機序と考えられた。CO 雰囲気下のみで効率良い還元を観測。50 ns 以内に deoxyHb (430nm) 生成が見られ、続いて HbCO (419nm) 生成となって安定する (図 9 (c))。添加物の共存 (mannitol, Trp, Tyr など) は光還元を著しく促進するので、 N -バンド励起 (π, π^*) 後のポルフィリン π カチオンラジカル生成と中心 Fe (III) の還元、グロビンからの電荷供与、また、グロビンのアミノ酸残基を経由した電子移動も考え得る。特に Trp 添加系では Ar 雰囲気でも還元が 100% 進行。酸素との接触により HbO₂ を生成する。フラビンなどの光還元剤の使用も視野に入れながら、反応収率向上と具体化を目的に検討を継続している。光電子を利用した錯体配位能の復活は恒久的な酸素輸送を保障するものであり、その意義は錯体化学のみならず、生化学、医化学などの広い領域に亘って大きい。

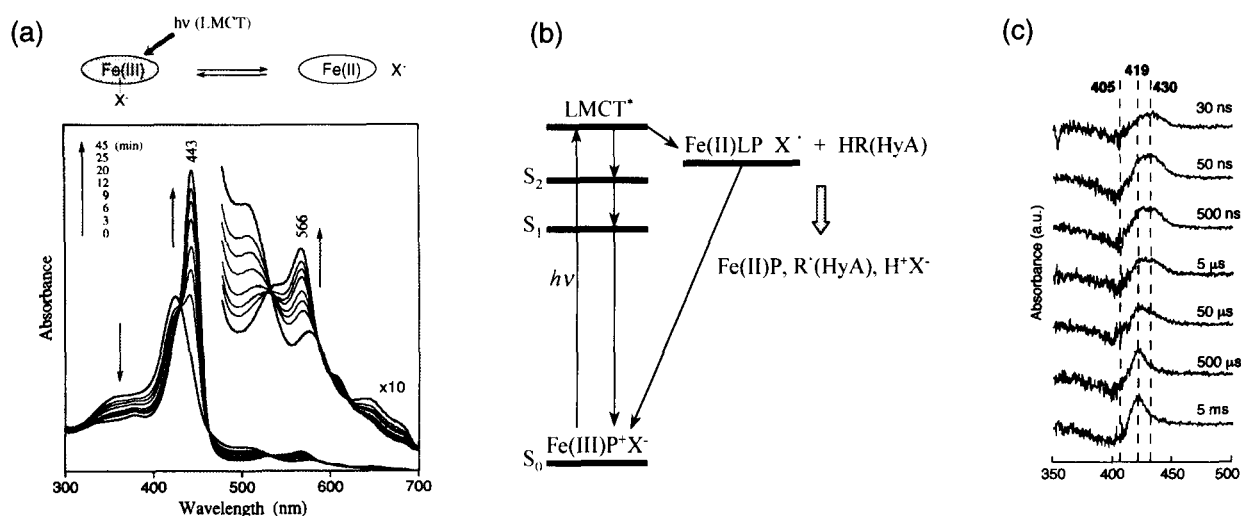


図 9 (a) リポドヘミンの光還元に伴う吸収スペクトル変化。(b) LMCT 励起による光還元反応機構。(c) Hb の光還元過程における過渡吸収スペクトル変化。

④ 分子集合過程 と 酸素輸液

分子環境構築の基礎知見を集積する目的で、モデル物質としてリン脂質の自己集合現象を解析、小胞体の粒径制御 (Extrusion 法)、形態安定度の向上、凝集と融合の抑制 に関する諸要件を解明。成分脂質の組成の影響も定量的に明らかにした。溶液安定度とレオロジーの制御には、ポリオキシエチレン (POE) 脂質による表面修飾が有効、アシル鎖数、POE 鎖長の異なる一連の POE 脂質を合成し、高分子量の POE 鎖を安定固定するにはアシル鎖数増大が不可欠との結論を得た。この場合、単に適当量の POE 脂質を系に添加するだけで自発的に共集合現象が生起する。

さらに、小胞体内相に Hb を内包させる過程を設計。条件と溶液組成 (pH、イオン強度、小胞体膜の成分組成、温度) により、均一粒子の調整に成功 ($[Hb]/[Lipid] \geq 2.2$)。この場合、Hb を内包した細胞型酸素輸液の出現と成る。

⑤ 固相系酸素配位 dynamics と 促進輸送

特定配位子を結合する錯体を含む高分子錯体膜では、特定成分の溶解度に加えて錯体だけ濃度増加が起こるため、成分透過量のみが増大する。この時の駆動力は急峻な濃度勾配であり、促進輸送と呼んでいる (図 10)。コバルトポルフィリン酸素錯体を高濃度に含有する固相高分子膜では、酸素の促進輸送効果が著しい。空気からの酸素の分離比 (O_2/N_2 比) 100 を初めて達成。また、酸素配位錯体膜について分光解析と透過挙動 (二元モデル) の simulation を用い、高分子膜に均一分散している錯体間をホッピング移行する酸素の拡散定数を算出。空気の一段透過処理で 70%酸素を含む酸素富化空気の調製が可能となったほか、99.3%窒素の一段処理では純窒素 99.999%が得られた。酸素親和度が相違する 3 種の高分子積層膜の場合、酸素配位平衡が 3 成分錯体の和として表現されるので、幅広い酸素分圧で酸素濃度を色調変化 (大きな吸光度変化) として検出できる。この膜を隔膜とした酸素/窒素混合ガスの透過実験からは、酸素透過係数: 150 Barrer を保持しながら、高い選択比が得られている。

さらに、共役系高分子配位子を酸化重合により合成し、それらとコバルトポルフィリンからなる高分子錯体膜を作成した (図 10 (c))。この膜はそれ自身で酸素配位能と導電性を併せ持つので、微小電圧印加による局所発熱を利用して、吸蔵酸素の瞬時放出が可能である。 π 共役系高分子配位子鎖からの電子注入による酸素の直接還元にも繋がると考えている。

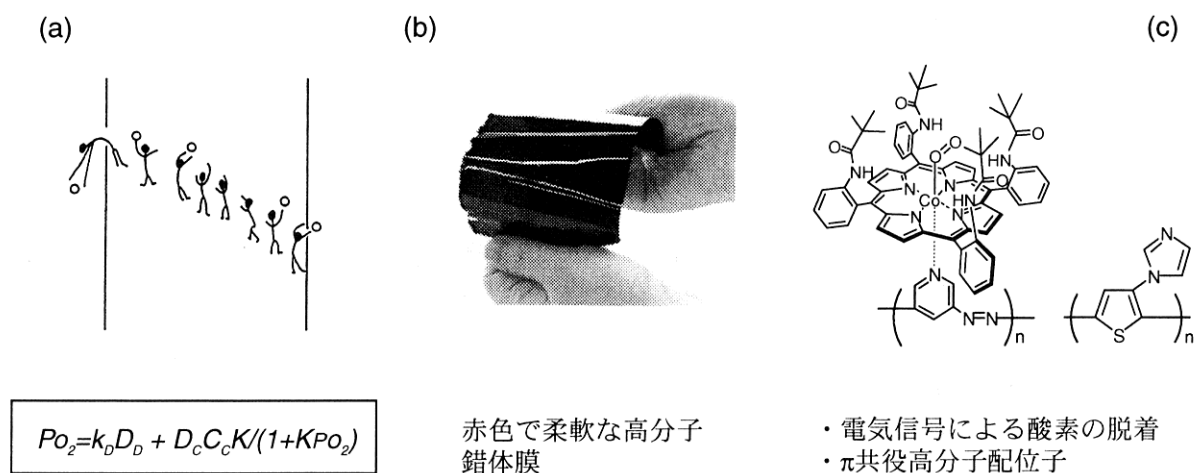


図 10 (a) 高分子錯体膜における酸素の促進輸送。(b) コバルトポルフィリン錯体膜。(c) π 共役系高分子配位子からなる錯体例。

4. 研究成果

4-1. 研究論文

1. One-Pot Synthesis of Aryl Sulfoxides and Sulfonium Salts from Sulfinic Acid as a Novel Sulfurizing Agent, K. Yamamoto, K. Miyatake, Y. Nishimura, E. Tsuchida, *Chem. Commun.*, **1996**, 2099-2100.
2. Multielectron Redox Process of Vanadium Complexes in Oxidation of Low-Coordinate Vanadium(III) to Oxovanadium(V) with Dioxygen, K. Oyaizu, K. Yamamoto, K. Yoneda, E. Tsuchida, *Inorg. Chem.*, **35**, 6634-6635 (1996).
3. Catalytic Cycle of a Divanadium Complex with Salen Ligands in O₂ Reduction: Two-Electron Redox Process of the Dinuclear Center (Salen=N,N'-Ethylenebis-(salicylideneamine)), K. Yamamoto, K. Oyaizu, E. Tsuchida, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 12665-12672 (1996).
4. First Phenylene Polymers Linked by Sulfonium Groups, E. Tsuchida, K. Yamamoto, K. Miyatake, Y. Nishimura, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **35**, 2843-2845 (1996).
5. Micellar Fibers of Octopus-Porphyrin. Photoinduced Electron Transfer Reactions in Aqueous Media, T. Komatsu, K. Yamada, E. Tsuchida, U. Siggel, C. Böttcher, J.-H. Fuhrhop, *Langmuir*, **12**, 6242-6249 (1996).
6. Synthesis and Proton Conductivity of Highly Sulfonated Poly(thiophenylene), K. Miyatake, E. Shouji, K. Yamamoto, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **30**, 2941-2946 (1997).
7. A Selective and Efficient Synthesis of Cyclic Hexakis(thio-1,4-phenylene) through Oxidative Polymerization of Diphenyl Disulfide, K. Miyatake, Y. Yokoi, K. Yamamoto, E. Tsuchida, A. S. Hay, *Macromolecules*, **30**, 4502-4503 (1997).
8. Solid Vesicle Membrane Made of meso-Tetrakis[(bixynylamino)-o-phenyl]porphyrins, T. Komatsu, E. Tsuchida, C. Böttcher, D. Donner, C. Messerschmidt, U. Siggel, W. Stocker, J. P. Rabe, J.-H. Fuhrhop, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 11660-11665 (1997).
9. Surface Modification of Hemoglobin Vesicles with Poly(ethyleneglycol) and Effects on Aggregation, Viscosity, and Blood Flow during 90% Exchange Transfusion in Anesthetized Rats, H. Sakai, S. Takeoka, S.-I. Park, T. Kose, H. Nishide, Y. Izumi, A. Yoshizu, K. Kobayashi, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **8**, 23-30 (1997).
10. Highly Selective Oxygen Transport through a Cobalt Porphyrin Liquid Membrane, X.-S. Chen, H. Nishide, K. Oyaizu, E. Tsuchida, *J. Phys. Chem.*, **10**, 5725-5729 (1997).
11. Novel Synthesis of Linear Perfluorinated Poly(phenylene sulfide) from Aryl Sulfoxide, K. Miyatake, K. Yamamoto, Y. Yokoi, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **31**, 403-407 (1998).
12. A Novel Decavanadium(V) Cluster with a Chiral Framework: [(O=V)₁₀(μ₂-O)₉(μ₃-O)₃(C₅H₇O₂)₆] Having an Approximate C₃ Symmetry, K. Oyaizu, E. Tsuchida, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 237-238 (1998).
13. Cyclic Arylene Sulfides: A Novel Synthesis and Ring-Opening Polymerization, E. Tsuchida, K. Miyatake, K. Yamamoto, A. S. Hay, *Macromolecules*, **31**, 6469-6475 (1998).
14. Superacidified Reaction of Sulfides and Esters for the Direct Synthesis of Sulfonium Derivatives, K. Miyatake, K. Yamamoto, K. Endo, E. Tsuchida, *J. Org. Chem.*, **63**, 7522-7524 (1998).
15. Synthesis and Dioxygenation of Tetrakis(α,α,α,α-o-pivaloyloxynaphthyl)porphinatoiron(II) with a Covalently Bound Imidazolylalkyl Group, T. Komatsu, K. Sano, E. Tsuchida, *Chem. Commun.*, **1998**, 977-978.
16. Monolayer Assemblies Made of Octopusporphyrins with Pyridinium Headgroups: Electron-Transfer Reactions in Noncovalent Porphyrin-Quinone Platelets in Aqueous Media, T. Komatsu, T. Yanagimoto, E. Tsuchida, U. Siggel, J.-H. Fuhrhop, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 6759- 6765 (1998).
17. Highly Selective Oxygen Permeation through a Poly(vinylidene dichloride)-Cobalt Porphyrin Membrane: Hopping Transport of Oxygen via the Fixed Cobalt Porphyrin Carrier, H. Nishide, Y. Tsukahara, E. Tsuchida, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 8766-8770 (1998).
18. Synthesis of a Novel Oligo(p-phenylene) Ladder by Sulfide and Sulfonio Groups, A. Haryono, K. Miyatake, J. Natori, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **32**, 3146-3149 (1999).
19. A Novel Electroactive Polyelectrolyte with Alternating Seleno- and Selenoniophenylene Units, K. Miyatake, T. Ishikawa, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **32**, 4497-4499 (1999).
20. Catalysis of the Electroreduction of O₂ to H₂O by Vanadium-Salen Complexes in Acidified Dichloromethane, E. Tsuchida, K. Oyaizu, E. L. Dewi, T. Imai, F. C. Anson, *Inorg. Chem.*, **28**, 3704-3708 (1999).
21. Synthesis and Characterization of Nickel Dithiocarbamate Complexes Bearing Ferrocenyl Subunits, K. Oyaizu, K. Yamamoto, Y. Ishii, E. Tsuchida, *Chem. Eur. J.*, **5**, 3193-3201 (1999).
22. Solubilization of Poly(phenylene sulfide) via Sulfonium Formation by Alkylation, K. Miyatake, K. Endo, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **32**, 8786-8790 (1999).

23. Physicochemical Properties and O₂-Coordination Structure of Human Serum Albumin Incorporating Tetrakis(o-pivalamido)phenylporphyrinatoiron(II) Derivatives, T. Komatsu, K. Hamamatsu, J. Wu, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **10**, 82-86 (1999).
 24. Self-Assembled Fibers Made of Lipidporphyrinato-Zinc(II) and -Iron(II) Complexes with an Intramolecular Coordinated Axial Imidazole, T. Komatsu, T. Yanagimoto, Y. Furubayashi, J. Wu, E. Tsuchida, *Langmuir*, **15**, 4427-4433 (1999).
 25. Human Serum Albumin Incorporating Tetrakis(o-pivalamido)phenylporphyrinatoiron(II) Derivative as a Totally Synthetic O₂-Carrying Hemoprotein, E. Tsuchida, T. Komatsu, Y. Matsukawa, K. Hamamatsu, J. Wu, *Bioconjugate Chem.*, **10**, 797-802 (1999).
 26. Cross-Linked Human Serum Albumin Dimers Incorporating Sixteen (Tetraphenylporphyrinato)- iron(II) Derivatives: Synthesis, Characterization, and O₂-Binding Property, T. Komatsu, K. Hamamatsu, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **32**, 8388-8391 (1999).
 27. Nonaqueous Proton Conduction in Poly(thiophenylenesulfonic acid)/Poly(oxyethylene) Composite, K. Miyatake, K. Fukushima, S. Takeoka, E. Tsuchida, *Chem. Mater.*, **11**, 1171-1173 (1999).
 28. First Synthesis of High Molecular-Weight Poly(2,6-difluoro-1,4-phenylene oxide) by Oxidative Polymerization, K. Oyaizu, Y. Kumaki, K. Saito, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **33**, 5766-5769 (2000).
 29. Exchange Transfusion of Albumin-Heme as an Artificial O₂-Infusion into Anesthetized Rats: Physiological Responses, O₂-Delivery and Reduction of the Oxidized Hemin Sites by Red Blood Cells, E. Tsuchida, T. Komatsu, K. Hamamatsu, Y. Matsukawa, A. Tajima, A. Yoshizu, Y. Izumi, K. Kobayashi, *Bioconjugate Chem.*, **11**, 46-50 (2000).
 30. Kinetics of CO- and O₂-Binding to Human Serum Albumin-Heme Hybrid, T. Komatsu, Y. Matsukawa, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **11**, 772-776 (2000).
 31. Synthesis and Physicochemical Characterization of a Series of Hemoglobin-Based Oxygen Carriers: Objective Comparison between Cellular and Acellular Types, H. Sakai, M. Yuasa, H. Onuma, S. Takeoka, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **11**, 56-64 (2000).
 32. Poly(ethylene glycol)-Modification of the Phospholipid Vesicles by using the Spontaneous Incorporation of Poly(ethylene glycol)-Lipid into the Vesicles, K. Sou, T. Endo, S. Takeoka, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **11**, 372-379 (2000).
 33. Assemblies of Multiacyl Poly(ethyleneglycol) Lipids and Co-Assemblies with Phospholipid Vesicles, S. Takeoka, K. Mori, H. Ohkawa, K. Sou, E. Tsuchida, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 7927-7935 (2000).
 34. Photoreduction of Methemoglobin by Irradiation in Near-Ultraviolet Region, H. Sakai, H. Onuma, M. Umeyama, S. Takeoka, E. Tsuchida, *Biochemistry*, **39**, 14595-14602 (2000).
 35. Membranes of the Picket Fence Cobalt Porphyrin Complexed with Poly(vinyl-imidazole and -pyridine)s: Selective Optical Response to Oxygen, Y. Suzuki, H. Nishide, E. Tsuchida, *Macromolecules*, **33**, 2530-2534 (2000).
 36. Reaction of Nitric Oxide with Synthetic Hemoprotein, Human Serum Albumin Incorporating Tetraphenylporphyrinatoiron(II) Derivatives, T. Komatsu, Y. Matsukawa, E. Tsuchida, *Bioconjugate Chem.*, **12**, 71-75 (2001).
- など計 118 報。

4-2. 総説

1. 酸素 4 電子還元触媒, 山元公寿, 土田英俊, *高分子*, **46**, 83 (1997).
2. 血液代替物の探索・血液代替物から人工血液へ, 土田英俊, *日経サイエンス*, **5**, 98-99 (1998).
3. An Overview on the Development of Macromolecule-Metal Complexes and Brief Sketch on Their Recent Trends, E. Tsuchida, *Macromol. Symp.*, **131**, 155-163 (1998).

など計 27 報。

4-3. 著書

1. Blood Substitutes -Present and Future Perspectives, Ed. by E. Tsuchida, Elsevier (Amsterdam, 1998).
2. Bioinorganic Catalysis, 2nd Ed., Ed. by J. Reedijk, E. Bouwman, Marcel Dekker (1999): Multielectron Transfer and Catalytic Mechanisms in Oxidative Polymerization (Chapt. 15), E. Tsuchida, K. Yamamoto, K. Oyaizu, p. 535-562.
3. Macromolecule-Metal Complexes (MMC-8), Macromolecular Symposia 156, Ed. by E. Tsuchida, Wiley-VCH (Weinheim, 2000).

など計 9 編。