

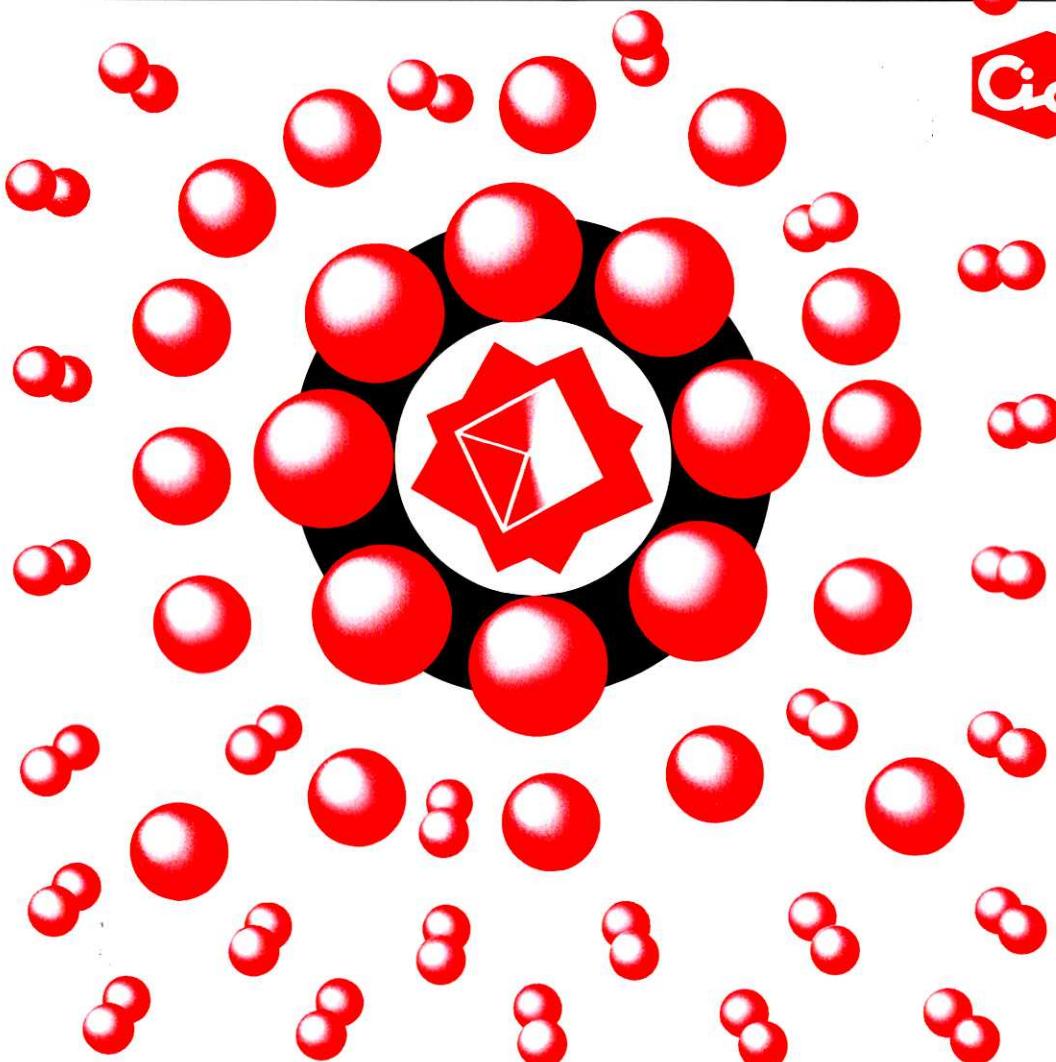
THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

2000 No.1 (通巻175号)



目 次

新しいミレニアム！2000年を迎えて.....	野澤 俊太郎.....	2
ミルクオリゴ糖(乳中少糖)の比較生化学(V).....	齋藤 忠夫.....	3
化学構造的特徴とその利用性 医療における薬物分析.....	浦島 匡 江藤 精二.....	9
Therapeutic Drug Monitoring から派生した基礎的研究(II)		
IASO-薬品管理支援システム.....	秋山 三雄.....	15
有機金属化学からみた均一系オレフィン重合触媒の最近の進歩(2).....	小坂田耕太郎.....	19
極性モノマーの重合と非メタロセン触媒		
編集後記.....	24	



新しいミレニアム！2000年を迎えて

代表取締役社長 野澤俊太郎

新年あけましておめでとうございます。

ケミカルタイムズの読者の皆様並びにご執筆の諸先生方にはさぞよい新春を迎えられたこととお慶び申し上げます。

我が国は戦後半世紀は、欧米諸国に追いつき追い越せを目標に、鉄鋼、造船、自動車等に代表される重厚長大なる“もの作り”を基盤とし、更には半導体、情報機器のハードとソフトとを融合した軽薄短小と言われる“もの作り”へと展開され、世界に類を見ない高度成長を遂げ経済大国を築きました。この間、変動相場制による円高、二度の石油危機という試練を省資源、技術革新等で克服いたしました。その後、日本経済はバブル崩壊により長い景気低迷のトンネルに突入いたしましたが、規制緩和、公共投資、金融機関への資金投入等の企業再生政策によって、景気は厳しい状況にあるものの回復の兆しが見えつつあります。

一方、この高度成長は、大量生産、大量消費、大量廃棄の社会を進展させ、それらの“ツケ”として温暖化現象、オゾン層の破壊、環境汚染等の環境問題を起こしております。このような背景のもと、我が国は21世紀に向けて新しい変革を求められ、昨年「環境との調和」をめざした「循環型経済社会」の構築が提唱され、更に「化学物質の管理と環境保全のためのシステム」であるPRTR法が新規に制定されました。

このような状況下、弊社は創立55周年を迎えました。55年の歴史の上に蓄積された財産である「伝統を生かした技術」「時代の変化に対応できる経営資源」「次代を担う多くの若い世代の誕生」等をフルに活用して、21世紀に向けての厳しい低成長時代における企業改革を目指しております。

また試薬業界において、第一番目に認証を取得いたしました「品質と環境の国際規格(ISO 9000, ISO 14001)」を有効に活用して、「お客様、地域社会、企業のすべてによる協調」の精神をもち、かつ「無駄のない、自然を汚さない、限りある資源を有効活用する製品作り」に取り組むことによって、環境との調和がより一層図られるものと確信しております。

皆様方におかれましては、この1年が光輝に満ちた実り多い年でありますよう祈念し、新年のご挨拶といたします。

ミルクオリゴ糖（乳中少糖）の比較生化学（V）

— 化学構造的特徴とその利用性 —

東北大大学院農学研究科 助教授 農学博士 斎藤忠夫
帯広畜産大学畜产学部 助教授 農学博士 浦島匡

1. はじめに

これまで、人乳(Human breast milk)¹⁾、ウシ初乳(Bovine colostrum)²⁾、ヒツジ初乳(Ovine colostrum)³⁾およびウマ初乳(Horse colostrum)³⁾、またヤギ初乳(Goat colostrum)⁴⁾から単離された特徴的な一連の「ミルクオリゴ糖(Milk oligosaccharides)」の種類と構造上の特徴を中心に、それらに予想される生理機能なども含めて最新の文献を考察してきた。

これらのミルクオリゴ糖研究の歴史的背景には、小児栄養学の分野において母乳栄養児の腸管に優勢で、感染防御に関係の深いと考えられるビフィズス菌(*Bifidobacterium*)を特異的に増殖させる因子(ビフィズス因子)の検索を目的として初期の研究があった。また近年では、ミルクオリゴ糖研究などにおいて、医学・薬学的視点から重要性を増してきたことは既に述べた。

これらのラクトース(乳糖)以外のミルクオリゴ糖が、多くの哺乳動物種においてなぜ泌乳初期に限定されて分泌される「初乳」に比較的多量に見いだされるが、分娩後3日目以降の乳では激減するのかは、最大の疑問点である。また、人乳では全泌乳期間を通して1.2~1.4%もの高含量のミルクオリゴ糖群の存在することが、他の動物種には見られない最大の特徴であり、特筆される点である。

これまでの歴史的研究と、近年の著者らのミルクオリゴ糖研究からの新知見が徐々に蓄積するにつれて、「ミルク中に合目的性の無い成分は存在しない。」という基本的な我々の考え方に対する支持があつた。すなわち、これらのミルクオリゴ糖には、従来言われているビフィズス因子以外にも細胞増殖や感染予防などの何らかの重要な生理的な役割(生物活性)を発現するために、乳腺細胞により合目的に生合成されてきたに違いないと考え始めている。近年、生体調節機能を調節する因子を発現するために予め設計された食品としてミルクが捉え直されて來ており、食品の「第三次機能」と呼ばれている。我々は、これらミルクオリゴ糖にこの生体機能を調節する第

三次機能が有るのではないかと推定している。

そこで今回は、初乳中のミルクオリゴ糖研究においてイオン交換カラムに非吸着の酸性オリゴ糖があるのではないかと推定していた「夢のオリゴ糖」の化学構造が解明され、さらに全く新しい生理機能が推定されたので、その概要を述べることにする。

2. ウシ初乳からの中性ミルクオリゴ糖調製時における大きな疑問点

我々が日常的に食卓で飲んでいる牛乳は、ウシ常乳(Bovine normal milk)と呼ばれる、泌乳期では分娩後一週間以降に分泌される。一方、分娩後一週間以内に分泌されるウシ初乳(colostrum)には、ラクトース以外に糖質の数パーセントの含有量で、この動物種に特徴的なミルクオリゴ糖が含まれている。最近では、糖質の検出感度や分析方法が進歩した為に、ウシ常乳中にも初乳で観察される微量の中性ミルクオリゴ糖の存在することが知られてきている⁵⁾。わが国の乳等省令では、ウシ初乳の製品への使用は認められていないので、有効成分はウシ常乳から取り出す等の大変な努力が乳業メーカーではなされている。将来的には、貴重な生物資源の高度利用の観点からも、日本の法令の改正が成されても良いのではないかと考えている。ウシ初乳は免疫グロブリン等のタンパク質含量が極めて高く、モンゴル等では素晴らしい美味なケーキを作り、ご馳走であることを聞いている。

さて、著者らがウシ初乳などから中性オリゴ糖を分離・精製する過程で、これまでの本シリーズの中で触れなかった大きな疑問点が残っていた。ミルクオリゴ糖の調製方法には種々あるが、著者らの初期の研究では、次の様な方法により中性糖画分を調製していた。すなわち、ウシ初乳を透析チューブに詰め、蒸留水に対して透析する。透析外液を濃縮してから、エタノールを添加して50%濃度とし、4°Cに冷却する。結晶化してきたラクトースを除去してから、上清をCl⁻型にしたDowex 1×2アニオニン交換樹脂によるイオン交換クロマトグラフィーに供する。

TADAO SAITO Dr. Agric.

Laboratory of Animal Products Chemistry,
Graduate School of Agricultural Science, TOHOKU University

TADASU URASHIMA Dr. Agric.

Department of Bioresource Chemistry,

OBIHIRO University of Agriculture and Veterinary Medicine

- 3 -

"Comparative Biochemistry of Milk
oligosaccharides (V)"

— Characteristics on the Chemical Structure and
Their Application —

酸性オリゴ糖はカラムに吸着するので、非吸着の中性糖画分を集め。この画分を活性炭カラムクロマトグラフィーでエタノール濃度に基づく分画をし、ついでペーパークロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーにより中性ミルクオリゴ糖を分離・精製する。

しかしながら、この様に調製したウシ初乳中性ミルクオリゴ糖画分の中には、理由は不明だったが、シアル酸(本シリーズ「その2」²⁾参照)を含有する酸性ミルクオリゴ糖が含まれていた。すなわち、上記の方法で調製した中性ミルクオリゴ糖試料を、最終的にペーパークロマトグラフィー(展開溶媒: n-ブタノール/ピリジン/水=6:4:3, v/v)や薄層クロマトグラフィー(展開溶媒: アセトン/2-プロパノール/0.1M乳酸=2:2:1, v/v)で精製した。すると、市販されている標準品のN-アセチルノイラミニル(Neu5Ac) α (2→3)ガラクトシル(Gal) β (1→4)グルコース(Glc)(シアルラクトース、酸性3糖)と¹³C-核磁気共鳴スペクトル法(NMR)による解析で同定されるオリゴ糖成分が確かに存在した。このオリゴ糖の化学構造を図1に示した。

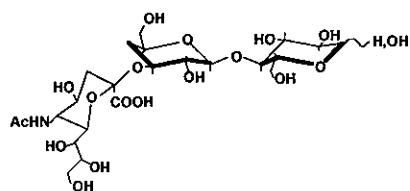


図1. N-アセチルノイラミニル α 2→3ガラクトシル β 1→4グルコース(3'-シアルラクトース)の化学構造

また興味深い点は、この糖質は、イオン交換クロマトグラフィーや活性炭クロマトグラフィーなどの分画過程でのペーパークロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーによる純度チェックの段階では、標準品とは異なった移動度(Rf値)を与えていた事実である。「なぜ一部の酸性ミルクオリゴ糖が陰イオン交換カラムに吸着せず、中性糖画分に回収されて来るのか?」に関するこの化合物を巡るミステリーは、その後も確かな証拠が得られぬまま10年近くの歳月が流れた。ちなみに、これまでドイツのR. Kuhnらの初期の著名な研究者(本シリーズ「その2」²⁾参照)が報告しているウシ初乳由来のシアルミルクオリゴ糖は、すべてアニオニン交換樹脂に一旦吸着させて中性ミルクオリゴ糖を除去した後に、カラムより溶出させた成分を構造決定したものであった。従って、著者らが注目した成分は、初期のミルクオリゴ糖研究者が

見逃した新成分である可能性が急浮上してきた。

3. ヒツジ初乳からの陰イオン交換カラム非吸着性のシアルオリゴ糖の調製

この謎は、著者らの研究グループの中村(帯広畜産大学・助手)により、ごく最近に解明された。⁶⁾分娩後3日以内のヒツジ初乳を塩酸によりpH4.6に調整し、沈殿するカゼインを遠心分離により除去した。遠心上清を水酸化ナトリウム溶液でpH7.0に中和してから、硫酸アンモニウムを加えて85%飽和とした。沈殿するホエータンパク質を除去し、遠心上清を濃縮してから、等量のエタノールを加えて沈殿した硫酸アンモニウムの結晶を除いた。遠心上清をBio-Gel P-2によるゲルろ過に供し、硫酸アンモニウムを除去と共に、シアル酸の簡易定量法であるレゾルシノール・塩酸反応陽性区分を集めた。

この画分を50mMトリス・塩酸緩衝液(pH8.5)を移動相とするDEAE-Cellulofine A-500カラム(2.6×20cm)による陰イオン交換クロマトグラフィーに供した。溶出は、同緩衝液を十分量流した後、NaClによる直線的濃度勾配法を行った。溶出曲線は、図2に示した。非吸着の成分は3つ(画分A, B, C)に分離し、吸着の成分は2つ(画分D, E)に分離し、合計で5つの画分に分離した。最も注目したのが、非吸着成分の中の「画分B」であった。この画分は陰イオン交換カラムに結合しないのに、

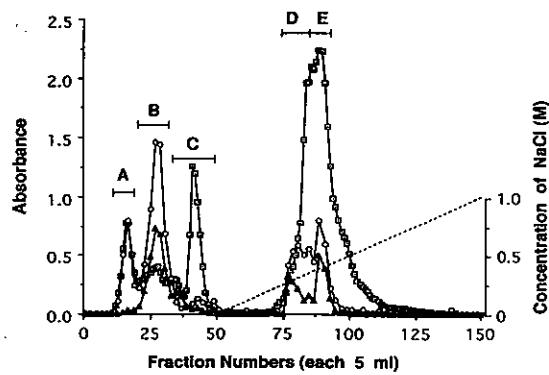


図2. ヒツジ初乳からのシアル酸を含む酸性オリゴ糖画分の陰イオン交換クロマトグラフィーによる分画
カラム: DEAE-Cellulofine A-500(2.6×20cm)
移動相: 50mMトリス・塩酸緩衝液(pH8.5)
溶出: 緩衝液中のNaCl濃度を1.0Mまで直線的に上昇させた
検出: カルボキシル基(□, 220nm), 中性糖(○), シアル酸(▲)

レゾルシノール・塩酸反応が陽性であり、「シアル酸」を結合することが示唆されたからである。しかし、この段階ではまだシアル酸と確定した訳ではなく、さらに解析を進めることにした。

この画分 B を 15mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 5.2) とアセトニトリル混液を移動相とする TSK gel Amido-80 カラムによる高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に供した。溶出は、同緩衝液中のアセトニトリル濃度を 80-65% に減少させることで行った。得られた溶出曲線は、図 3 に示した。画分 B に含まれるシアリルオリゴ糖は、4 つのピーク (OS 1-OS 4) に分離し、4 種のオリゴ糖の混合物であることが推定された。

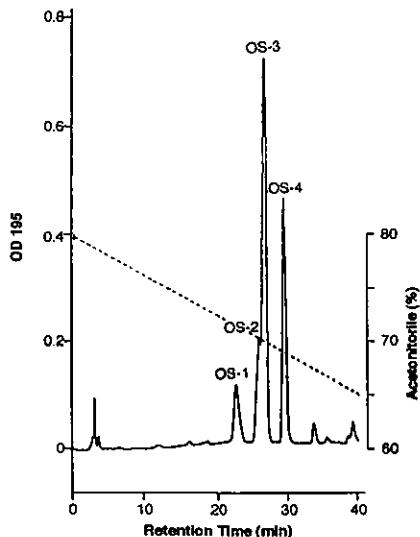


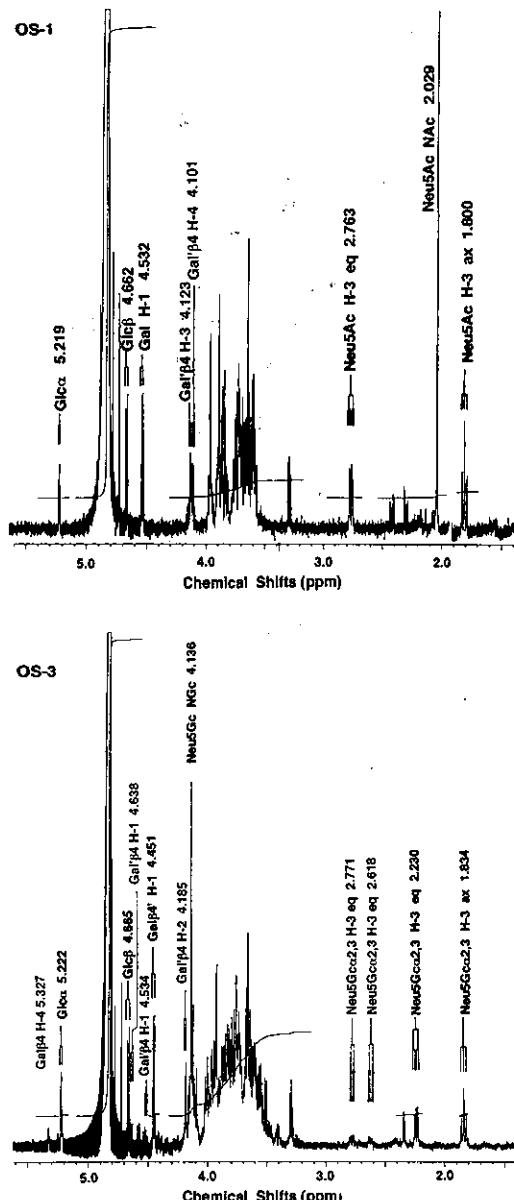
図 3. イオン交換クロマトグラフィーの画分 B の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析
カラム: TSKgel Amido-80 ($4.6 \times 250\text{mm}$)
移動相: 15mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 5.2)-アセトニトリル
溶出: 緩衝液中のアセトニトリル濃度を 80% から 50% に直線的に減少させた
検出: カルボキシル基 (195nm)

4. ラクトン型シアリルラクトースの発見

最終的に精製されたオリゴ糖を 600MHz の $^1\text{H-NMR}$ により構造決定を試みた。得られたスペクトルは、図 4 にまとめて示した。

OS-1 は以下に示す 3 点の特徴的なシグナルを与え、また標準品のスペクトルとの比較から、3'-シアリルラクトース ($\text{Neu5Ac} \alpha 2 \rightarrow 3 \text{Gal} \beta 1 \rightarrow 4 \text{Glc}$) であることが確

認された。すなわち、① 2.029ppm に Neu5Ac のアセチル基の保護基であるアセチルメチル基のメチルプロトンシグナルがシングレット (単重線) に鋭く立ち上がる。シグナルの高さはプロトンの存在比を反映し、積分値はプロトン 3 個分を示す。② 1.800ppm に Neu5Ac の C-3 位に結合するプロトンのアクシャル (ax) 位の結合を反映するトリプレット (3 重線) が観察され、プロトン 1 個分の積分値を示す。③ 2.763ppm に Neu5Ac の C-3 位



OS-4

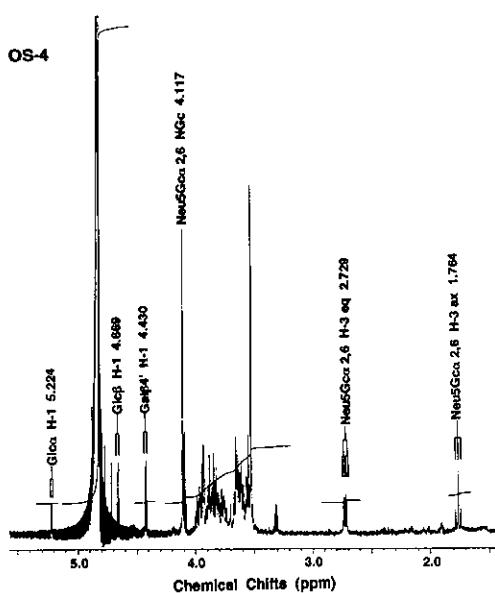


図4. ヒツジ初乳から単離された3種のシアリルオリゴ糖の600MHzにおける核磁気共鳴スペクトル(NMR)分析

試料番号は、図3のHPLC分析でのピーク番号を示す。

溶 媒：重水，測定温度：300K

に結合するもう一つのプロトンのエクアトリアル(eq)位の結合を反映するダブルレットダブルレット(4重線)が観察され、こちらもプロトン1個分の積分値を示す。

OS-4は、上のNeu5Acの確認事項の②(H-3, ax, 1.764 ppm)および③(H-3, ax, 2.729 ppm)は満たすが、①のアセチルメチルプロトンのシングレットが2.03 ppmには全く見あらない。代わりに、4.117 ppmにN-グリコリル基に由来する特徴的なシングレットのシグナルを与えるので、N-グリコリルノイラミン酸(Neu5Gc)を結合する、6'-N-グリコリルノイラミルラクトース(OS-4)であることが確認された。また、ヤギ初乳から単離同定されている同糖とのNMRスペクトラムが一致した。

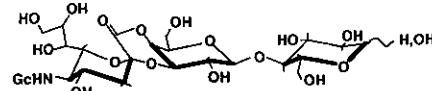
問題は、OS-3の解釈である。このオリゴ糖の還元末端Glcの α , β -アノマーのプロトンが5.222 ppm, 4.665 ppmに、またNeu5GcのN-グリコリル基に由来するシグナルが4.136 ppmに、②の条件であるH-3, axに由来するシグナルが1.834 ppmに認められる。これらの結果から、このオリゴ糖はNeu5Gc α 2→3Gal β 1→4Glcという構造を持つことが推定された。しかしながら、③の条件で

あるH-3, eqに由来する特徴的なクアルテットのシグナルは2.230 ppmに認められた。すなわち、H-3, eqは通常のシグナル位置(2.771 ppm)から大きく高磁場シフト(0.54 ppm)していたことが明らかとなった。

この通常とは異なるシグナルを与えるシアリルラクトースの存在は、前述のウシ初乳からのミルクオリゴ糖調製時に直面した疑問点と重なり合った。この命題の解明を急いでいた矢先、平成9年8月に神戸で開催された第19回糖質シンポジウムにおいて、有益な情報が得られた。それは東海大学工学部の中原義昭先生が、Neu5Ac α 2→3Galの1-4ラクトン誘導体(Neu5AcのC-1位のカルボキシル基とGal残基のC-4位の水酸基が脱水縮合したもの)を合成され、その¹H-NMRスペクトラムを発表されていた。⁷⁾

中原先生の化合物では、Neu5AcのH-3, eqの0.2 ppmの高磁場シフトと、5.25 ppmに低磁場シフトしたH-4シグナルが認められた。OS-3においても、Neu5GcのH-3, eqシグナル(2.618 ppm)の約0.2 ppmの高磁場シフトおよび5.327 ppmに特徴的な低磁場シフトしたシグナルが認められたので、このオリゴ糖はNeu5Gc α 2→3Gal β 1→4Glcの1-4ラクトン体を含むことが考えられた。(図5の(A))

(A)



(B)

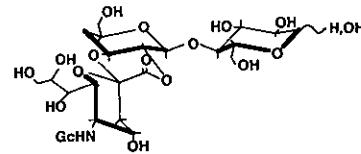


図5. OS-3に含まれる2種のラクトン体の3'-シアリルラクトースの化学構造

(A): 3'-シアリルラクトースの1-4ラクトン体(副成分)
(B): 3'-シアリルラクトースの1-2ラクトン体(主成分)

一方、主要なNeu5GcのH-3, eqの高磁場シフトしたシグナル(2.230 ppm)も、ラクトン化すればシアル酸のH-3, eqが高磁場シフトするという経験則(この経験則は、細菌由来のシアル酸のホモポリマーであるコロミン酸でも、カルボキシル基と隣接残基の9位のOH基とが脱水して出来たラクトン環の場合にも当てはまる)から、ラ

クトン体に由来するであろうと考えられた。一般に、自然界では、 α 2,3シアリルラクトースとセラミドが結合したGM3ラクトンでは、1-2ラクトンの存在が知られており、1-4ラクトンよりも優先的であることから、ヒツジ初乳由来のこの α 2,3N-グルコリノイラミニルラクトースは1-2ラクトンを優先的に含むものと推定した。そこで、2.230 ppmのシグナルは、同オリゴ糖の1-2ラクトン体のNeu5Gc H-3, eqに帰属させた。(図5の(B))

すなわち、OS-3はNeu5Gc α 2→3Gal β 1→4Glcの1-2および1-4ラクトン体の混合物であることが証明された。また一方、2.771 ppmに通常のシアル酸のH-3, eqシグナルが若干立ち上がっていることから、この画分にそれらのラクトン体と共に通常型のNeu5Gc α 2→3Gal β 1→4Glcも混在していることが示された。

OS-1やOS-4などの通常のカルボキシル基を持つシアリオリゴ糖がなぜイオン交換カラムに非吸着であったかの詳細は不明であるが、OS-3ラクトンを中心とするクラスターの中に、一部が取り込まれたのではないかと考えている。もちろん、大部分のこれらのオリゴ糖はイオン交換樹脂に吸着したと考えられる。

5. ラクトン型シアリルラクトースの特徴と由来

一般に、ラクトン化合物とは、カルボン酸とヒドロキシル基が分子内で脱水・環化(閉環)した環状エステルの総称である。今回その存在が明らかになったシアリルラクトースのラクトン体は、シアル酸のカルボキシル基と隣のガラクトース残基の水酸基間で脱水により環化した誘導体である。今回のOS-3の主成分である1-2ラクトン体(図5-(B))と副成分である1-4ラクトン体(図5-(A))では、いずれも6員環の形をとり、その為に比較的安定に存在し、単離精製に成功したものと考えられた。これらのラクトン類は、一般にアルカリ性には極めて不安定であり、ミルクオリゴ糖の調製過程においても、アルカリ性にするプロセスがあると、速やかに開環して通常型のシアリルラクトースに変化してしまうと考えられる。

今夏に札幌で開催された第20回糖質シンポジウムでは、工業技術院の石塚靖子先生との討論の中で興味深い知見を頂戴した。石塚先生は、市販の3'-シアリルラクトースを重水に溶解し、微量のアンモニウム塩を加えると、2.2 ppm付近に小さなシグナルが観察され、同3糖のGlcの3位にフコースが導入された4糖でも2.6 ppm付近に小さなシグナルが観察されることを指摘されている。おそらく微量のラクトン体が形成されたことを示していると考えられた。著者らのオリゴ糖の調製過程の初期段階では、除タンパク質処理にアンモニウム塩である硫酸アン

モニウムを多量に添加しているので、それによる影響とも考えられた。しかしながら、現在進めているウシ初乳中におけるシアリルラクトースラクトンの検索実験では、調製過程で硫酸アンモニウムを使用していないにも係わらず、普遍的にこれらのラクトン体の存在が示唆されている。従って、著者らはこれらのシアリルラクトースのラクトン体は、初乳中にもとともに存在し、何らかの生理活性を有していると考えている。しかしながら、これらのラクトン体が乳腺細胞内で生合成されるのか、または生合成後の乳叢内ミルク中のアミン類などの触媒作用で副成されるのかについては、現在の所全く不明である。

6. ラクトン化シアリルラクトースの生理機能

既に糖脂質のシアリル糖鎖においては、前述の様にラクトン体の存在が報告されている。一般に、シアリルオリゴ糖とセラミドが結合した糖脂質は、「ガングリオシド」と総称される。ガングリオシドの1種である、GM3やGD3を強酸性下に置くと、ラクトン体が誘導されることが知られている。この様なラクトンを形成したシアル酸残基は、一般的のシアル酸分解酵素では加水分解されなくなり、酵素的加水分解抵抗性を示すことが知られている。

東京工業大学の佐藤智典先生は、このGM3ラクトン体は、インフルエンザウィルス表面のヘマグルチニンにレセプター能は持つが、ノイラミニダーゼによる加水分解には抵抗性を示すことを報告している。⁸⁾インフルエンザウィルスは、ヘマグルチニンと共にノイラミニダーゼを持っている。一般的には、インフルエンザウィルス膜上のヘマグルチニンがクラスター状に存在する糖タンパク質糖鎖やガングリオシドのシアル酸を認識して標的細胞膜に結合し、ついでノイラミニダーゼによりシアル酸を切断し、後から来るウィルスが結合出来ない様にし、自分の結合を確実なものにしてから、内部に侵入し自己増殖を図るとされている。しかしながら、これは同ウィルスがヘマグルチニンと共にノイラミニダーゼを有していることの理由の解釈の一つに他ならない。ウィルスのノイラミニダーゼによってガングリオシドのシアル酸が切断されれば、同ウィルス自身の細胞表層への結合能も失われることも予想される。佐藤氏らの結果からは、ヘマグルチニンに対して結合能を持つ一方で、ノイラミニダーゼによって切断されないラクトン体が同ウィルスのレセプターとなっている可能性も示唆される訳である。

この仮説に基づくと、初乳中に存在するシアリルラクトースのラクトン体は、病原性ウィルスの乳児腸管への付着を阻止する役割があるのではないかと推定される。ガングリオシドのラクトン体は、最近ミンククジラの脳

などでも見つかっている¹⁰⁾が、親ガングリオシドとそのラクトン体との存在比は約1000:1程度であり、初乳シリルラクトースのラクトン体の通常型に対する存在比は脳とは比較にならない程高い。そのことも、初乳におけるシリルラクトースラクトンの機能性と存在意義を裏付けている感触を持っている。また、初乳中のシリルラクトースは、乳腺内においてラクトン型と通常型に互変し、そのことによって生理機能を使い分けているとしたら、非常に興味深い抗病性機構のメカニズムと考えられる。また、シリルラクトースを開環させないような条件で初乳より単離したり、そのまま感染予防剤として乳児用調製粉乳などに利用する可能性も考えられ、将来的にその高度利用に対して夢が膨らむ分野である。

引用文献

- 1) The Chemical Times, No. 154, 13 (1997).
- 2) The Chemical Times, No. 165, 15 (1998).
- 3) The Chemical Times, No. 167, 3 (1998).
- 4) The Chemical Times, No. 173, 2 (1999).
- 5) 木村一雅、渡邊陽子、松本圭介、宮城昭彦、ヤクルト研究所研究報告集、17, 1 (1997).
- 6) Nakamura, T., T. Urashima, M. Nakagawa and T. Saito, *Biochim. Biophys. Acta*, 1381, 286 (1998).
- 7) Nakahara, Y., H. Iijima and T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.*, 35, 3321 (1994).
- 8) Sato, T., M. Ishii, T. Terabayashi, Y. Kawanishi, and Y. Okabata, *Chem. Lett.*, 669, (1997).
- 9) 佐藤智典、大竹冬華、井上裕規、岡畑恵雄、第20回糖質シンポジウム講演要旨（平成10年7月、札幌）、p. 48(B2-02).
- 10) Terabayashi, T. and Y. Kawanishi, *Carbohydr. Res.*, 307, 281 (1998).

微量タンパク質の検出には

ICN Pharmaceuticals, Inc. Chemiluminescent Detection System

AURORA™ WESTERN BLOT KIT

AURORA™ Western Blot Kit は、アルカリフォスファターゼを用いた化学発光検出キットです。
メンブレン上の微量な抗原を迅速かつ高感度に検出できます。



ULTRA SENSITIVE

¹²⁾を用いた分析法に匹敵する感度です。pgオーダーの微量な抗原を検出できます。発色法より高感度ですので、一次抗体を更に希釈してご使用頂けます。貴重な抗体を無駄にしません。

REPROBING

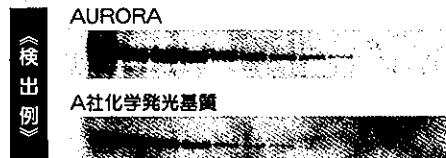
添付のプロトコールにより一次抗体を剥して、プロットの再検出が可能です。一枚のメンブレンで複数の一次抗体による検出が行えます。

LOW BACKGROUND

キットには、特異性の高いALP標識抗体と、高感度検出に適した専用のプロッキング剤が付属しております。これにより非特異的の反応は極めて低くなっています。

StarLight™ Chemiluminescent Substrate
Secondary antibody conjugate (アルカリフォスファターゼ標識抗体)
AURORA™ Blocking Reagent
Opti-Membrane™ Reagent
10X Assay Buffer
Development Folder

(化学発光基質)
(アルカリフォスファターゼ標識抗体)
(プロッキング剤)
(エンハンサー)
(濃縮緩衝液)



《キット構成》

キットにはAnti-Mouse, Anti-Rabbit, Anti-Rat, Anti-Humanの4種類がございます。お使いになる一次抗体に合わせてお選びください。
DNAの検出にはAURORA™ Southern Blot Kitをご利用下さい。



関東化学株式会社 試薬事業本部

<< 関東化学インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp> >>

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631
〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(6222)2796
〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2-22-3 092(414)9361

医療における薬物分析

Therapeutic Drug Monitoring から派生した基礎的研究 (II)

産業医科大学病院 薬剤部科長 薬学博士 江藤 精二

I. はじめに

前回 (1999 No.2) は、血中濃度測定が日常的に行われる薬物を取り上げ、一般的な Therapeutic Drug Monitoring (TDM) の概念を説明した。今回は、薬物の代謝物血中濃度測定、特に光学活性な代謝物の測定法について触れたい。

薬物の代謝物血中濃度が日常的に測定されることはほ

とんどない。しかしながら、血液で検出される主代謝物が薬理活性である場合には、患者によって代謝物血中濃度測定が臨床的に重要なことがある。また、たとえ薬理活性がなくても、代謝物血中濃度が薬物相互作用や薬物代謝能力の指標になれば、臨床的に測定意義がある。今回は、そのような可能性を示す代謝物血中濃度測定について述べたい。

ところで薬物に限らず代謝物には光学的に活性なものが多い。例えば、抗てんかん薬として使用頻度が高く、TDM が必須とされるフェニトイン (PHT) の主代謝物である 5-(*p*-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin (*p*-HPPH) もその一つである。

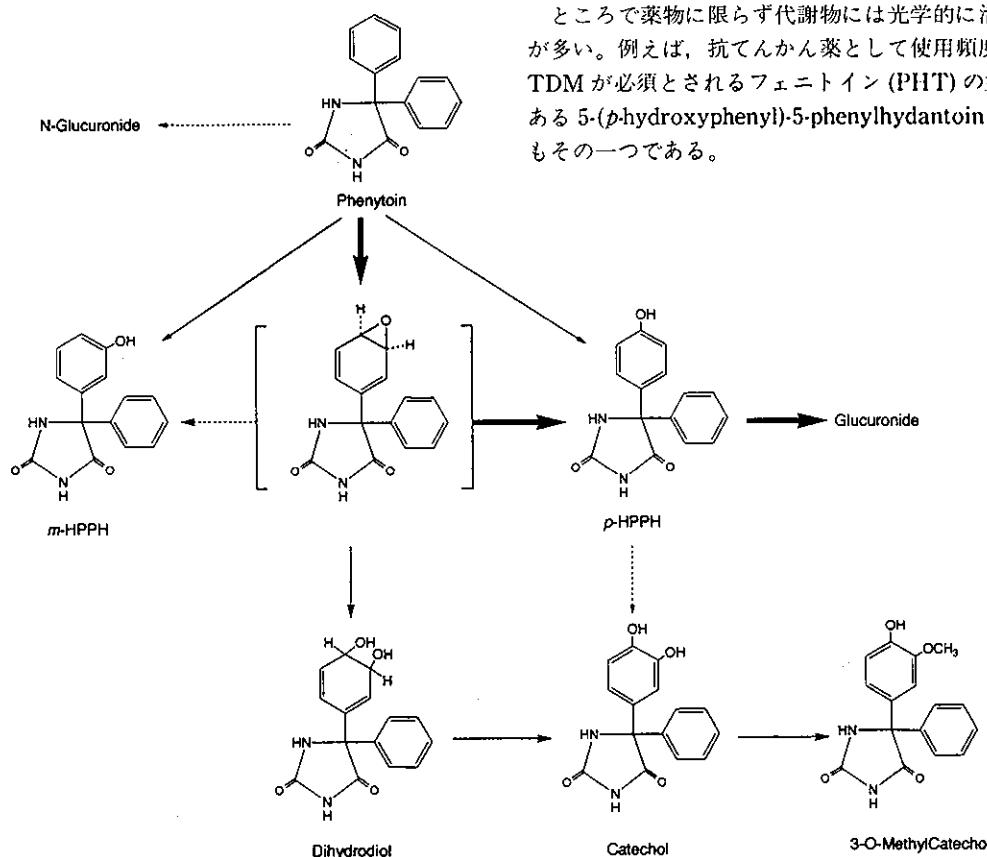


Fig. 1 Pathways of phenytoin metabolism in human

著者らは、PHTとイソニアジドなどヒドラジノ系薬物の薬物相互作用を検討しているが¹⁾²⁾、より詳細な相互作用機序を解明するため *p*-HPPH の光学異性体を定量する必要があった。また、後述するが PHT 代謝に関与する cytochrome P 450 (Cyt P 450) を同定するためにも *p*-HPPH 光学異性体を定量しなければならない。しかしながら、当時確立された *p*-HPPH の光学分離定量法がなかったため、筆者らはこの定量法を検討することにした。以下に *p*-HPPH の光学分離定量法について述べる。

II. *p*-HPPH の光学分離定量法

1. β -Cyclodextrin を利用した光学分離定量法

まず、光学活性固定相カラム用いる HPLC により、 α -HPPH 光学分離定量を開発した³⁾。しかしながら、光学活性固定相カラムは高価であること、また血清試料を分析した場合しばしばクロマトチャート上のベースラインが不安定となり、安定化に 1~2 時間を要することがあった。そこで溶離液に β -Cyclodextrin (β -CyD) を添加した逆相系カラムを用いる HPLC 法を検討した。 β -CyD を利用した光学分離法としては、 β -CyD 固定相カラムを用いた mephenytoin などいくつかの光学異性体の光学分離に成功した例や⁴⁾⁵⁾、 β -CyD を溶離液に添加する逆相系 HPLC 法により mephenytoin, barbiturates あるいは Norgestrel の光学分離を行った報告があつた⁶⁾⁷⁾⁸⁾。しかしこれらの方法は光学分離は可能であっても保持時間が極めて大きいため、あるいは理論段数の低下などのため生体試料中の光学分離定量法としてはほとんど実用化さ

れていなかった。また β -CyD を用いる α -HPPH の光学分離の報告はなかった。そこで、適正な分析時間を得るために、カラム長さの異なる数種の ODS カラムを用いて検討した。その結果、カラム長さは短くても良好に光学分離できたので、長さ 50mm の ODS カラム (LiChroCART Superspher RP-18e, E. Merck) を用いて検討した。また、 β -CyD 溶液と混合する有機溶媒として methanol, ethanol あるいは acetonitrile を用いたときの α -HPPH の光学異性体の保持時間と分離度も検討した。その結果、methanol > acetonitrile > ethanol の順に大きい分離度が得られたが、これは β -CyD の各溶媒に対する溶解性の差によるものと思われる。しかしどの有機溶媒を用いても長さ 50 mm のカラムで十分な分離度が得られたので、methanol を用いる混合溶媒により、PHT を服用中のてんかん患者における血清中 *p*-HPPH の光学分離定量を試みた。Fig. 2 には最適と思われる分離条件におけるクロマトグラムを示す。*p*-HPPH の光学分離は完全であり、併用中の

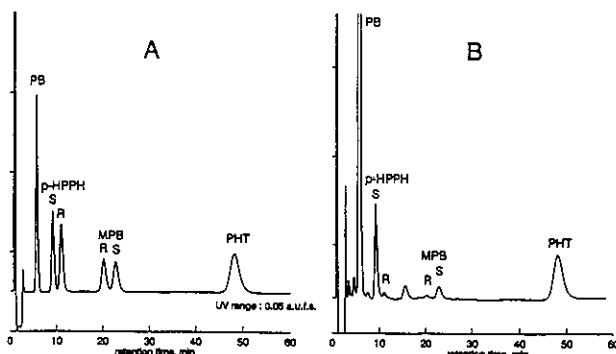


Fig. 2

Chiral separation of *p*-HPPH and MPB enantiomers on a 50mm ODS cartridge column via β -CyD inclusion complexes
 (A) : Chromatogram of methanolic solution of the compounds.
 (B) : Chromatogram of serum sample taken from a patient at 2 hours after the administration of each 50mg of PB, MPB and PHT.
 HPLC conditions : column ; LiChroCART Superspher RP-18e(4x50mm, E.Merck), eluent ; 11.2mM β -CyD in 1/30M KH₂PO₄/methanol(94:6, v/v), flow rate : 0.8ml/min. UV range : 0.05a.u.f.s.

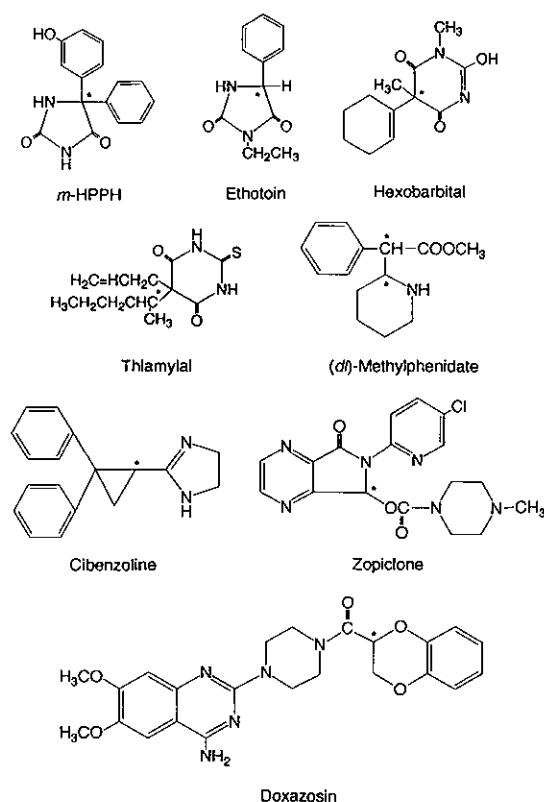


Fig. 3

Structures of chiral compounds optically resolved on reversed-phase HPLC via β -CyD inclusion complexes

* Asymmetric carbon atom

mephobarbital(抗てんかん薬, MPB)も良好な精度で光学分離定量が可能であった。ところで本HPLC分離条件により, *p*-HPPHとMPBの他にも, PHTのminorな代謝物である5-(*m*-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin(*m*-HPPH), ヒダントイン系抗てんかん薬であるmephenytoinとethotoxin, バルビツレート系薬物であるhexobarbitalおよびthiamylal, またこれら以外にも中枢神経刺激薬であるmethylphenidate, 催眠鎮静薬のzopiclone, 抗不整脈薬のcibenzoline, および高血圧治療薬のdoxazosinなども光学分離が可能であった(Fig. 3に構造式を示す)⁹⁾。

2. 抗てんかん薬ならびに主代謝物の同時光学定量法

β -CyDを用いる方法により*p*-HPPHの光学分離定量が可能となったが, PHTおよび併用の頻度が高いCarbamazepine(抗てんかん薬, CBZ)の保持時間がそれぞれ48分, 120分と大きいため, ルーチン的な同時定量にはなお改良の余地があった。長さ25mmのカラム(LiChro-CART Superspher RP-18e, E. Merck)を用いても, CBZおよびCBZ-diol(CBZの主代謝物)の溶出に約70分を要した。そこでこの問題を解決するために、長さ25mmのODSカラム2本を高圧流路切換バルブで連結したカラムスイッチングシステムを考案した(Fig. 4)。

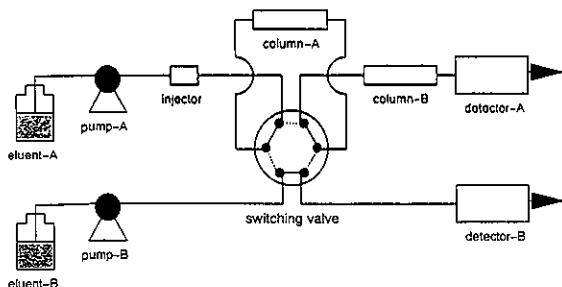


Fig. 4 Schematic diagram of column-switching system
eluent-A: methanol / 20mM KH₂PO₄ containing β -CyD(5 : 95, v/v)
eluent-B: acetonitrile / 20mM KH₂PO₄(16 : 84, v/v)
column-A and B: 25mm length ODS column
detector-A and B: UV detection at 210nm

最初バルブにより2本の25mm(カラムAとカラムB)を連結し(バルブにおいて実線で示す), β -CyD添加溶離液(eluent-A)を流す。Phenobarbital(PB), zonisamide, I.S.(allobarbital)さらに*p*-HPPHとMPBの光学異性体がカラムAから完全に溶出されカラムBに流入しはじめる時間(12分)にバルブを切り換える(点線で表示)。これによりカラムAはacetonitrile-KH₂PO₄混合溶離液(eluent-B)で置換され、カラム内に留まっていたCBZ-diolとCBZ-epoxide(CBZの薬理活性代謝物),さらにPHTおよびCBZが溶出され, detector-Bで検出される。一方,

カラムBには β -CyDが添加されたeluent-Aが引き続き流入するため, *p*-HPPHの完全な光学分離が実現し, detector-AによりPB, zonisamideとともに検出される。Fig.5に本システムにより得られた典型的なクロマトグラムを示す。定量精度も良好であり, CBZを併用している患者血液においても約25分で*p*-HPPHの光学分離定量が可能となった。CBZを服用していなければ、分析時間も20分以内で終了するので臨床的にも実用的な定量法となった。なお、血液から代謝物の抽出はエキストレートカラム(E. Merck)を用いたが、極めて簡便で効率の高い抽出が可能であった¹⁰⁾。

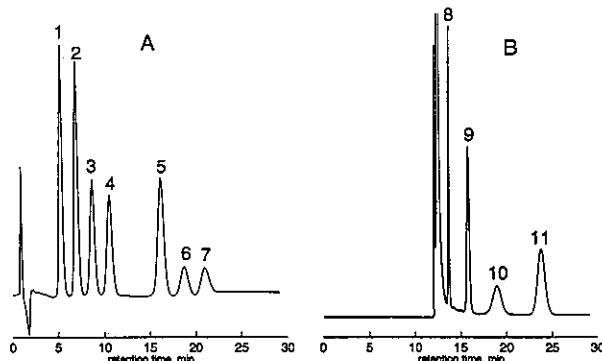
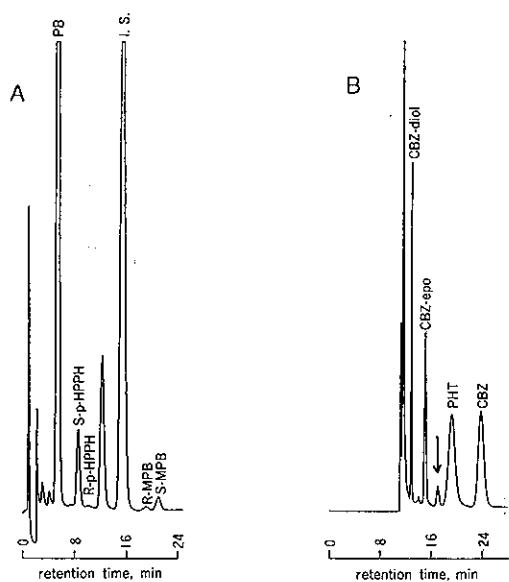


Fig. 5

Chromatograms of antiepileptic drugs and the metabolites obtained by (A) detector-A and (B) detector-B with the column-switching system
(A) 1:PB, 2:zonisamide, 3:*S*-HPPH, 4:*R*-HPPH, 5:I.S., 6:*R*-MPB, 7:*S*-MPB.
(B) 8:CBZ-diol, 9:CBZ-epoxide, 10:PHT, 11:CBZ.

Fig. 6はPHT, CBZ, PBおよびMPBを併用しているてんかん患者血液で得られたクロマトチャートである。Fig. 6Aにおいて, *R*-HPPHとI.S.の間に出現するピークは血液成分由来である。Fig. 6BにおいてCBZ-epoxideとPHTの間のピークは(↓で表示), CBZを服用している患者血液のみに出現するためCBZ代謝物とみなされるため、血液中のCBZ代謝物を文献検索したが、該当するCBZ代謝物の報告は全くなかった。この未知ピークについては、後に著者らがCBZの縮環反応で生じる9-hydroxymethyl-10-carbamoylacridanによるものであることを同定した¹¹⁾。

ところで、CBZ-diolも光学活性代謝物であるが、 β -CyDを利用した方法ではCBZ-diolの光学分離は達成できなかった。CBZ-diolの保持時間が β -CyD濃度に依存しなかったことから、 β -CyDにCBZ-diolが包装されないため光学分離ができないものと思われる。なおCBZ-diolの光学分離はキラルカラムを用いて達成できた¹²⁾。

**Fig. 6**

Chromatograms of the extract of a serum sample taken from an epileptic patient administered 200mg of CBZ and 100mg each of PB, MPB and PHT

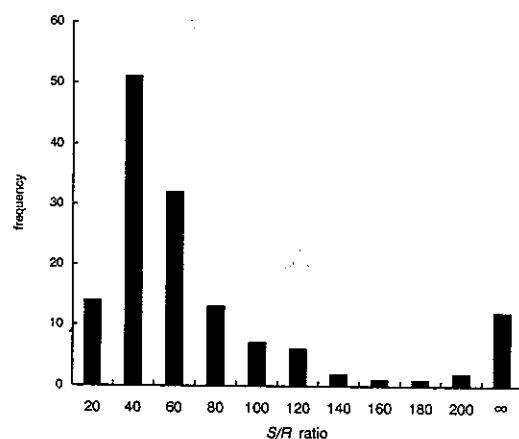
Chromatograms(A) and (B) were obtained by detector-A and detector-B with the column-switching system, respectively.
The serum sample was drawn 2 hour after dosing.
The following concentrations were obtained : PB : 34.61 μ g/ml,
S-HPPH : 2.4 μ g/ml, R-HPPH : 0.01 μ g/ml, R-MPB : 0.48 μ g/ml,
S-MPB : 1.92 μ g/ml, CBZ-diol : 1.69 μ g/ml,
CBZ-epoxide : 2.13 μ g/ml, PHT : 6.85 μ g/ml and CBZ : 2.98 μ g/ml.

3. PHT 服用患者血液中における p-HPPH 光学活性体の定量

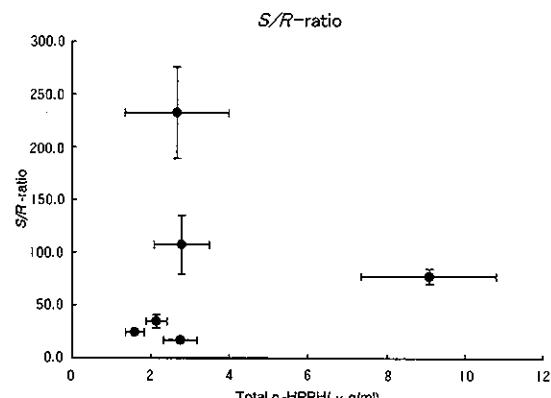
開発したカラムスイッチングシステムを用い、PHT 単独投与で PHT 血中濃度が定常状態に達しているてんかん患者 141名の S-HPPH と R-HPPH 血中濃度を測定し、得られた S/R 比 20~40 が最も頻度が高く、80以下で78%を占める。 ∞ で示された患者群は R-HPPH 濃度が定量下限以下 (0.02 μ g/ml) であり、R-HPPH 生成能力が極めて低いと考えられる。

これらの患者は全体の 5.6% であった。Fritz らは、尿中に排泄された p-HPPH の S/R 比は、S-mephentyoin の poor metabolizer¹⁾において 75/1 に対し extensive metabolizer では 19/1 であり、mephentyoin 型遺伝多型に依存することを示した。S-mephentyoin の poor metabolizer のアジア人における比率は 12~18% とされている¹³⁾。上に示したように R-HPPH 血中濃度が定量下限以下の

*1) extensive metabolizer: 薬物代謝が大きい個体をいう。逆に代謝能力が小さい個体は poor metabolizer と呼ばれる。

**Fig. 7**

Frequency distribution of S/R ratio of serum p-HPPH enantiomers levels at steady-state in epileptic patients receiving PHT monotherapy

**Fig. 8**

Variation of S/R ratio and total concentration of serum p-HPPH during the long period of PHT administration in six epileptic patients

患者は全体の 5.6% であったが、S-mephentyoin poor metabolizer の約半分の比率であった。

次に S/R 比の個体内変動および PHT 投与期間による変動を検討した。Fig. 8 は、PHT を単剤で長期投与中の 6 名のてんかん患者における p-HPPH 血中濃度の S/R 比を全 p-HPPH 濃度に対してプロットした。測定は個々の患者に対して 1~6 ヶ月間に 4~10 回行った。S/R 比 100 以下の患者は、S/R 比の変動は 10% 以下と極めて小さい。S/R 比が 100 以上の患者は、R-HPPH 血中濃度が定量下限近くの濃度となるので変動が大きくなるが、20% 以内の変動に納まつた。このように、個体固有の S/R 比が認められることは、S/R 比を決定する遺伝的要因の存在を示唆するものといえる。

III. あとがき

著者らによるこの方法は、PHTの副作用発現と p -HPPH光学異性体のS/R比との関連性の検討に活用されるなど、多くの他施設においても活用されている¹⁴⁾。筆者らも延べ約200件の血液検体の連続分析に問題なく適用することができた。その結果との一つとして、PHT単剤長期服用患者の5.6%においてR-HPPH血中濃度が定量下限(0.02 μg/ml)以下というデータが得られた。これらの患者のR-HPPH血中濃度は別の採血ポイントの繰り返し測定においても常に定量下限以下であり、R-HPPH生成能がきわめて小さいかあるいはR-HPPHの代謝排泄能が他の患者群より大きいことが示唆された。FritzらはR-HPPH尿中排泄量がmephenytoin型遺伝多型と相同性があることを報告している¹⁵⁾。筆者が見出したS/R比5.6%の患者群は、mephenytoinのアジア人におけるpoor metabolizerの比率の12~18%に比べると約1/2と低いものの、S-mephenytoinのpoor metabolizerの可能性がある。GoldsteinらはS-mephenytoin酸化的代謝にCYP2-C19^{*2)}が関与していることを示し、CYP2C19の遺伝多型性を明らかにした¹⁶⁾。また、BajpaiらはPHTの p -HPPHへの酸化的代謝にはCYP2C9と2C19が関与しており、R-HPPH生成にはCYP2C19、S-HPPH生成にはCYP2-C9の寄与が大きいことをヒトCyt P450発現系ミクロソームを用いた代謝実験により示した¹⁷⁾。これらの報告により、PHTからR-HPPHへの酸化的代謝にCYP2C19が関与していることは明らかであり、血液中 p -HPPH両エナンチオマーのS/R比によるCYP2C19のフェノタイピング^{*3)}の可能性が示唆された。最近、MoraisらはS-mephenytoinの遺伝多型を決定するCYP2C19におけるexon5上のグアニン(G)→アデニン(A)変異(ml)と、exon4上636位のグアニン(G)→アデニン(A)変異(m2)の1塩基突然変異を発見し、ml/ml, ml/m2およびm2/m2ではCYP2C19の機能が欠損しており、S-mephenytoinのpoor metabolizerとなることを示した¹⁸⁾¹⁹⁾。このような報告を踏まえれば、血液中 p -HPPHのS/R比による簡便なCYP2C19のフェノタイピングへの活用が期待できるので、現在患者データを集めている。

References

- H. Noda, S. Eto, M. Minemoto, A. Noda, and K. Ohno : Effect of isoniazid and its metabolites on phenytoin biotransformation in isolated rat hepatocytes, *Chem. Pharm. Bull.*, 35 : 277-281(1987).
- S. Eto, H. Noda, M. Minemoto, and A. Noda : Effect of safrazine, a monoamine oxidase inhibitor bearing a hydrazine-terminal, on phenytoin metabolism in isolated rat hepatocytes, *Chem. Pharm. Bull.*, 36 : 456-458(1988).
- S. Eto, H. Noda, and A. Noda : High-performance liquid chromatographic method for direct separation of 5-(p -hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin enantiomers using a chiral tris-(4-methylbenzoate) column, *J. Chromatogr. B*, 568 : 157-163(1991).
- D. W. Armstrong and W. DeMon : Cyclodextrin bonded phases for the liquid chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers, *J. Chromatogr. Sci.*, 22 : 411(1984).
- T. J. Ward and D. W. Armstrong : Improved cyclodextrin chiral phases: a comparison and review, *J. Liq. Chromatogr.*, 9 (2 & 3) : 407(1986).
- D. Sybilska, J. Źukowski and J. Bojarski : Resolution of mephenytoin and some chiral barbiturates into enantiomers by reversed phase high performance liquid chromatography via β -CyD inclusion complexes, *J. Liq. Chromatogr.*, 9 (2 & 3) : 591(1986).
- J. Źukowski and D. Sybilska : Resolution of chiral barbiturates into enantiomers by reversed phase high performance liquid chromatography using methylated β -cyclodextrins, *J. Chromatogr.*, 436 : 381(1988).
- M. Gazdag, G. Szepesi and L. Huszar : α -, β - and γ -Cyclodextrins as mobile phase additives in the high-performance liquid chromatography separation of enantiomeric compounds, *J. Chromatogr.*, 436 : 31(1988).
- S. Eto, H. Noda, and A. Noda : Chiral separation of barbiturates and hydantoins by reversed phase high-performance liquid chromatography using a 25 or 50 mm short ODS cartridge column via β -cyclodextrin inclusion complexes, *J. Chromatogr. B*, 579 : 253-258(1992).
- S. Eto, H. Noda, and A. Noda : Simultaneous determination of antiepileptic drugs and their metabolites, including chiral compounds, via β -cyclodextrin inclusion complexes by a column-switching chromatographic technique, *J. Chromatogr.*, 658 : 385-390(1994).
- S. Eto, N. Tanaka, H. Noda, and A. Noda : 9-Hydroxymethyl-10-carmaboylacrideran in human serum is one of the major metabolites of carbamazepine, *Biol. Pharm. Bull.*, 18(6) : 926-928(1995).
- S. Eto, N. Tanaka, H. Noda, and A. Noda : Chiral separation of 10, 11-dihydro-10, 11-trans-dihydroxycarbamazepine, a metabolite of carbamazepine with two asymmetric carbons, in human serum, *J. Chromatogr. B*, 677 : 325-330(1996).
- Y. Horai, M. Nakano, T. Ishizaki, K. Ishikawa, H.-H. Zhou, C.-L. Liao and L.-M. Zhang : Metoprolol and mephenytoin

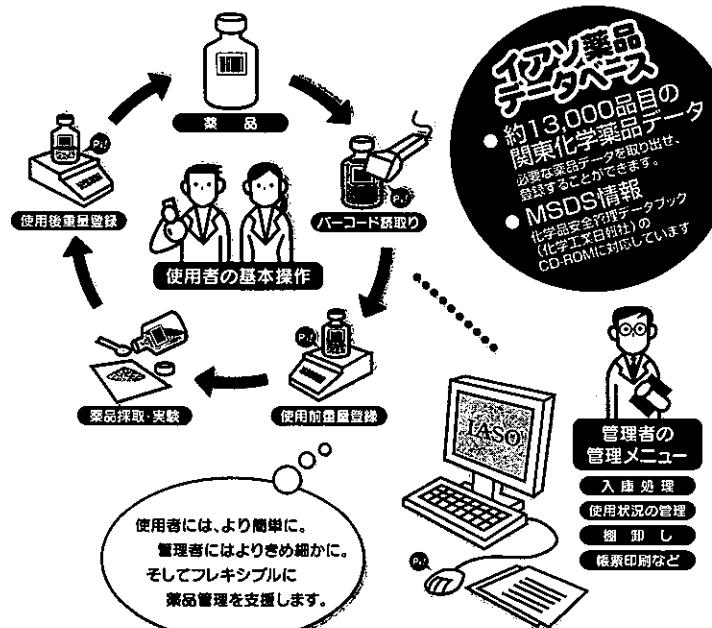
*2) CYP2C19: 薬物代謝に関与するCyt P450 isoformの一つである。薬物代謝に重要なCyt P450 isoformとしてCYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6およびCYP3A4が知られている。現在、遺伝多型が確認されているのはCYP2C19とCYP2D6である。

*3) フェノタイピング: 薬物代謝能をpoor型とextensive型あるいはintermediate(中間型)に分類すること。遺伝子増幅法などにより遺伝多型を診断することをフェノタイピングという。

- oxidation polymorphisms in far eastern oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 46: 198(1989).
- 14) I. Ieiri, W. Goto, K. Hirata, A. Toshitani, S. Iimayama, Y. Ohyama, H. Yamada, K. Ohtsubo, and S. Higuchi: Effect of 5-(*p*-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin (*p*-HPPH) enantiomers, major metabolites of phenytoin, on the occurrence of chronic-gingival hyperplasia: *in vivo* and *in vitro* study, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 49: 51(1995).
 - 15) S. Fritz, W. Linder, I. Roots, B. M. Frey and A. Kupfer: Stereochemistry of aromatic phenytoin hydroxylation in various drug hydroxylation phenotypes in humans, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 241: 615(1987).
 - 16) J. A. Goldstein, M. B. Faletto, M. Romkes-Sparks, T. Sullivan, S. Kitareewan, and J. L. Raucy: Evidence that
- CYP2C19 is the major (*S*)-mephennytoin 4'-hydroxylase in humans, *Biochemistry*, 33: 1743(1994).
- 17) M. Bajpai, L. K. Roskos, D. D. Shen and R. H. Levy: Roles of cytochrome P4502C9 and cytochrome P4502C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite, *Drug Metab. Disp.*, 24(12): 1401(1996).
 - 18) S. M. F. de Morais, G. R. Wilkinson, J. Blaisdell, K. Nakamura, U. A. Meyer, J. A. Goldstein: The major genetic defect responsible for the polymorphism of *S*-mephennytoin metabolism in humans, *J. Biol. Chem.*, 269: 15419(1994).
 - 19) S. M. F. de Morais, G. R. Wilkinson, J. Blaisdell, U. A. Meyer, K. Nakamura, J. A. Goldstein: Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of *S*-mephennytoin metabolism in Japanese, *Mol. Pharmacol.*, 46: 594(1994).

IASO

薬品管理支援システム



ISO9000・14000シリーズ、GLP…など、国際標準化が進んでいるなか、薬品の管理も安全性はもちろんのこと、よりトレスブルであることが求められています。このような時代のニーズに先がけ、開発したシステムがIASO(イアソ)です。IASOはパソコンを使ってバーコードと電子天秤をリンクさせることで、薬品の使用量を記録し、さらに、正確な履歴管理や各種帳票の印刷、薬品情報の確認などをスピーディに行い、薬品管理を全面的にサポートするシステムです。

販売元

関東化学株式会社 試薬事業本部

開発・製造元 東北緑化環境保全株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目11番5号 TEL.03-3663-7631
 〒541-0048 大阪市中央区瓦町2丁目5番1号 TEL.06-6222-2796
 〒812-0007 福岡市博多区東比恵2丁目22番3号 TEL.092-414-9361
 【関東化学インターネットホームページ】 <http://www.kanto.co.jp>

〒980-0014 仙台市青葉区本町2丁目5番1号 TEL.022-263-0607

IASO-薬品管理支援システム

東北緑化環境保全株式会社 環境事業部 秋山三雄

1. はじめに

'98年の和歌山のカレー事件以降全国で毒物による事件が頻発しており、試験研究機関における薬品の管理に関しても問題提起することとなりました。とりわけ、きわめて一般的な試薬であり、毒物とは認識されていなかったアシ化ナトリウムによる事件は、更に問題を深刻なものにしています。

試験研究機関では主として「毒物及び劇物取締法」に基づいた薬品管理が一般的であり、同法が適用されない薬品の管理は必ずしも充分であるとは言えないのではないかでしょうか。

現在市販されている試薬・標準物質等は数万種と言われており、数千種の薬品を常時保管している試験研究機関も数多く存在するものと思われます。しかも、プロジェクトが終了した後長期に保管されている薬品も多いのではないでしょうか。アシ化ナトリウム（現在は毒物に指定）のように法の枠外にありながら毒性の強い物質も数多くあるものと思われます。法を遵守しているだけでは社会的責任を果たせない時代になってきています。

また、GLP, ISO 9000s, ISO/IEC Guide 25 等システム規格の普及に伴い薬品の品質面からの管理についても注目されています。

2. IASO の開発

当社は、東北電力グループの一員であり、主として新潟県を含む東北地域において、各種緑化事業や環境調査・研究など総合的な環境保全に関する事業を行っています。その一環として、宮城県多賀市の測定分析事業部において環境・公害関連の測定分析を行っており、常時約 1000 品目・3000 本の試薬・標準物質を在庫して使用しています。

これら薬品類の管理には、従来、台帳方式（薬品種別による管理）による管理を行ってきました。その内容は次のようなものです。

- ① 薬品購入時に台帳に記帳。

- ② 毒物・特化物（労安法）及び相当品は使用の都度、使用者名・使用量を記帳。
- ③ 毒物等は毎月、その他は 6 カ月に一回在庫量を確認・記帳。（棚卸）

このような管理では、毒物等については使用の都度の管理が行われていますので、粉失等の事故の発見は期待できますが、他の薬品については購入量から在庫量を差し引いて使用量を算出しており、粉失等の発見はほとんど不可能です。全ての薬品について使用の都度記帳すればよいのでしょうか、それは、規模にもよりますが、事実上実行不可能と思われます。

また、1000品目・3000本に及ぶ薬品の在庫量の確認（棚卸）には、2人でおこなっても4~5日を要し、大変な手数がかかる作業ですが、その割には成果の少ない作業と言えます。

私たちが最初に考えたのは、この手数のかかる棚卸作業を何とか効率化したいと言うことです。そこで、パソコンに電子天秤とバーコードリーダーを接続し、従来の台帳管理を電子化したシステム（IASO Ver.1）を開発いたしました。同システムは96年には運用を開始し、棚卸等の効率化を実現するとともに、全ての薬品について使用の都度の管理が可能となり、管理範囲・管理精度も大幅に向上了がりました。

その後、ISO 14001 の認証取得を準備する過程において、システム規格に関する学習を積み重ねるうちに薬品管理の考え方についても整理されてきました。

それは別段目新しいものではありませんが、薬品管理には安全衛生管理、品質管理、経費管理の要素があること。更に、安全衛生管理には、防災を含めた職員の安全衛生、環境保全、犯罪防止の要素があります。というよりも、むしろ、これらはより上位の管理システムであり、これらの要素として薬品管理システムが構築される必要があります。

もちろん、ISO 14001 では主として環境保全の面から薬品の管理が要求されることになります。また、規格の要

求事項である「監視及び測定」から、自ら自社の排水等を分析する場合は品質管理も重視されなければなりません。

このような観点からIASO Ver.1を見直し、次のような変更を行いました。

- ① Ver.1では薬品種別にデータベースを作成し、出入りを管理していましたが、薬品1本1本についてデータベースを作成し、入庫から廃棄に至る使用履歴を管理する。
- ② 種々の管理要素に基づいた管理を行うために管理区分を10種類用意する。

詳しくは後述しますが、このように10種類の管理区分で薬品を1本1本管理することによりシステムのフレキシビリティが大幅に向ふるとともに、管理方針を直接的に反映させることができるようになりました。

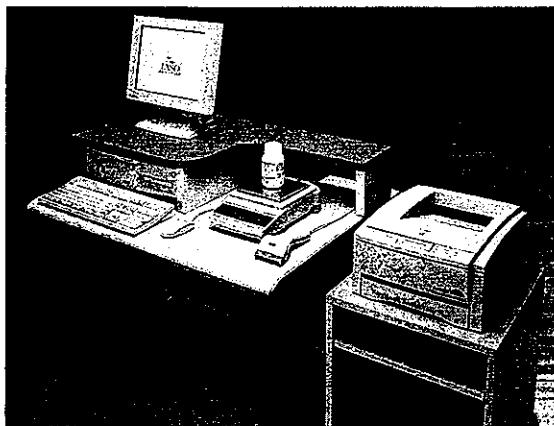
このように自社の管理の必要性から薬品管理システムの開発を行ってきましたが、環境技術センターを訪問された方々が同システムについて多大な関心を示され、また不幸なことではあります、冒頭に述べたような事件が頻発したこともあり、このような薬品管理支援システムが社会的にも要求されているのではないかと考え、関東化学㈱の協力を得て、更に改良を加えて発売することにいたしました。

3. IASO の特徴

1) システム構成

標準のシステム構成を図-1に示します。

図1.



- ・薬品管理支援ソフト“IASO Ver.2.1”
- ・IASO 薬品データベース
- ・パソコン：OS Windows 98

・電子天秤：最小表示 0.01g, 通信機能付

・バーコードリーダ

・プリンター、光磁気ディスク、専用ラック

他にオプションとしてタッチパネルディスプレー、指紋認識薬品室入室管理システム、MSDS データベース（化学工業日報社）を用意しています。

2) 薬品使用者の操作は簡単に

薬品管理のルールを定めて管理を行なおうとする時、担当者が最初に直面するのは「決めたことを守ってくれない人がいる」とことではないでしょうか。どんなシステムでもルールを守らない人が一人でもいれば、「在庫が合わない、なぜだ？」となり、そのメンテナンスは大変な作業になります。

全ての人にルールを守ってもらうには、次の条件を満たすことが必要です。

① 薬品管理の必要性・重要性の理解。

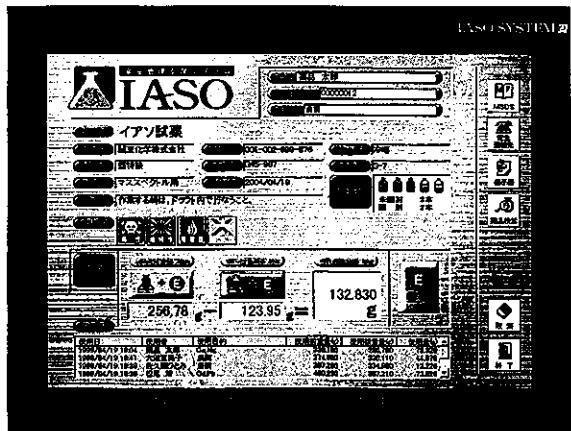
② 使用者の操作が簡単であり負担にならない。

③ ルール違反者を特定できる。

試験研究機関で働く人には、自立心が強い反面規則遵守意識が低い特性があるため、特に①が重要になります。③はあまり強調しない方がよいでしょうが、ルール違反者にプレッシャーをかけることになります。IASO では一本毎に履歴が管理されており、また、異常増減警告機能もあるため不正使用の時期を容易に特定でき、不正使用者の特定は比較的簡単にできます。入室管理システムで入室履歴を管理すれば更に容易に特定できます。

薬品管理システムにとって②は重要な要件になります。IASO では、使用者は図-2に示す画面で使用前後に、「パスワード入力→バーコード読み取り→使用目的選択

図2.



(使用前のみ) → 秤量 (重量管理の場合) → 登録」の操作を行なうだけで済みます。なお、使用量の管理は重量管理又は本数管理となりますが、重量管理の場合は天秤の秤量値を登録、本数管理の場合は使用履歴のみ登録となります。

また、使用者は、同画面で履歴情報・危険区分・在庫情報などの使用する薬品の基本情報を得ることができます。MSDS を登録する、あるいは、オプションのデータベースを検索すれば、より詳細な安全情報を得ることができます。

3) 管理方針に柔軟に対応

「管理・管理と言っても、一体、何をしたら管理していることになるのか?」

適正な管理を実現するには、管理責任者・管理担当者を任命し、管理方針を定め、そして順次管理手順を定めることが必要になります。

管理の基本的考え方は既に述べましたが、具体的には、定められた方針から薬品をどのような管理区分により管理するかを、最初に決定しなければなりません。決定に当たっては、まず法令等外部からの要求事項が考慮される必要があります。

薬品の安全衛生管理について、各種法令による規制がありますが、その大部分は製造や流通における規制であり、通常の認験研究機関に適用される規制はそれほど多くありません。大部分の機関に適用されるのは次の法令です。

- ① 毒物及び劇物取締法
- ② 労働安全衛生法
- ③ 水質汚濁防止法（又は下水道法）
- ④ 廃棄物の処理及び清掃に関する法律
- ⑤ 消防法（取扱量が多い場合）

使用する薬品によってはその他各種法令が適用されますが、それらは購入の際、使用許可の要件等販売業者から指摘されるものと思われます。

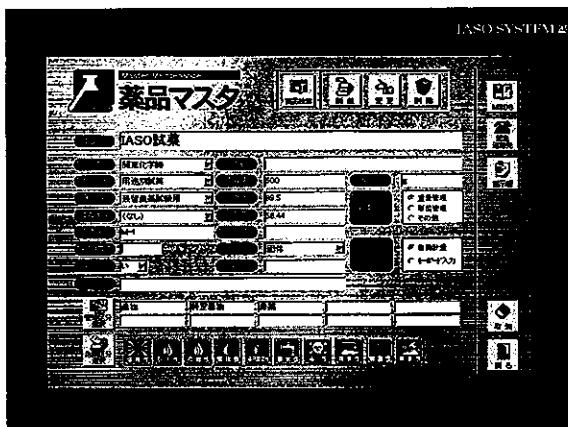
IASO では図-3 に示すように薬品種別に最大10種類の管理区分を設定できます。第1欄に毒劇法上の管理区分（特定毒物・毒物・劇物）を、第2欄に労安法上の管理区分（特化1類・特化2類……）を登録すると言うような使い方をします。一定期間内の毒物の使用量リスト、現在の在庫状況などが直ちに作成されます。たとえ保健所等の立ち入り調査があっても適正に使用されており、紛失等のないことを直ちに示すことができます。

法令に基づく管理区分の設定は最低限の管理事項ですが、管理区分に棚卸区分（1ヶ月・3ヶ月・6ヶ月）を登録し、棚卸時の対象薬品を選択するなどの使い方ができ

ます。

管理区分は薬品種別に登録されますが、それ以外にも、使用時に登録する使用目的に、あるプロジェクト名を登録し、そのプロジェクトで使用した薬品の一覧を作成し、経費管理に役立てるこどもできます。

図 3.



管理方針を定めるに当たって、IASO の各機能を参照することは大いに役立つことと思われます。

このように IASO の各機能はユーザーの管理方針に柔軟に対応できます。私たちが予想もしていなかった使い方をされることを期待しています。

4) 管理担当者を強力にサポート

どんなシステムでも、その運営をスムーズに行なうにはそれなりの苦労が伴います。薬品管理でもやはり担当者には汗をかいていただかなければなりません。しかし、苦労はなるべく少なく、成果はなるべく多くありたいものです。

IASO を導入したその日から薬品管理を開始できるわけではありません。運用開始に当たって、若干の作業が必要になります。

まず IASO で管理する薬品リストを作成し、薬品毎の使用量の管理方法（重量 or 本数）等を決めます。

次に管理上の基本情報を登録する「使用者」「管理区分」などのマスタファイルを整備します。これらのマスターにはある程度の情報を既に登録しておりますので、不要なものを削除し、必要なものを追加登録することになります。

そして薬品マスターの登録です。この作業が最も労力を要する作業となります。図-3 に示す薬品マスターに薬品毎に基本情報を入力していかなければなりません。数百、

数千の薬品マスターを登録するとなると膨大な作業になります。そこで支援ツールとして、約13,000品目の薬品データを収録した「IASO 薬品データベース」を用意しました。当社の担当者から最も強い要望のあったものです。また、先に作成した各種マスターもここで使用します。機関独自に決めなければならない収納場所等は最初のリスト作成時に決めておくとよいでしょう。

最後に、管理対象薬品全てにバーコードラベルを貼り、入庫処理を行なって運用開始となります。開始後直ちに棚卸を行なっておくとよいでしょう。

IASOでは情報はすべてシステム内のマスターに登録されており、バーコードは薬品1本1本を識別するための番号に過ぎません。そのためバーコードの管理は極めて単純であり、同じ番号を使用しないことだけです。バーコード印刷メニューもあり、自社で印刷できるため、運用コストを低く抑えることができます。

運用開始になると担当者の仕事は基本的に、購入の都度の入庫処理、定期的な棚卸及び管理情報の収集となりそれほど大きな負担にはならないでしょう。

このように管理担当者は決して楽ができると言うわけではありませんが、各種の支援ツールが用意されており、その負担を最小限に抑える工夫がなされています。そして成果は確実に上がります。

5) 品質管理

「試験結果がおかしい。コンタミかな?」こんなとき、ISO 9000s等では、原因の調査を要求しており、当然使用した試薬・標準物質もその対象になります。IASOでは薬品は1本1本管理されていますので、使用した試薬・標準物質を容易に特定できます。

試薬が汚染されていることが判明したならば、過去に溯ってその試薬を用いた試験のチェックを行なわなければなりません。試薬の履歴(使用日・使用者・使用目的・使用量)が一覧で見られるので、その試薬を用いた試験を容易に特定できます。

使用の都度、保存方法・収納場所を確認できますので、誤った保管によるトラブルを未然に防ぐことができます。

また、あまり推奨できませんが「○△さんの使った試薬は使いたくない。」「自分専用にしたい。」と言ったようなことも可能です。

IASOを試験研究業務の品質管理システムの1要素とすることにより、システム構築はより確実なものとなります。

6) 経費管理

購入前の在庫確認により過剰在庫を抑制できます。過剰在庫は購入・保管そして廃棄コストのアップにつなが

ります。

試験目的に合った試薬を使用していますか? 過剰品質の試薬使用はコストアップの元凶です。薬品管理カードで容易にチェックできます。

前述のように使用目的の使い方によって、プロジェクト別薬品コスト管理も可能です。

7) アクセス管理

薬品へのアクセス管理は盗難等犯罪防止上重要な管理です。しかし、IASOは通常用いられるパスワードによる薬品庫の施錠・解錠のような機能を持ちません。

アクセス管理は、薬品室・薬品庫の配置等に応じて、極めて多様な形態をとらざるを得ないと思われます。パスワード解錠は小規模の機関で、毒劇物のみを管理するには有効でしょうが、大規模機関で多様な管理を行なうには不向きと思われます。

IASOはアクセス管理に、オプションで指紋認識薬品室入室管理システムを用意しました。薬品庫単位ではなく薬品室単位で管理しようという考え方です。また、パスワードやカードリーダーのような管理の煩わしさのない指紋認識を採用しました。もちろん、毒物等は薬品庫の施錠管理も必要であり、それには、管理者が対面で鍵を授受する方式が、使用者の体調や精神状態を判断できるため、やはり最も有効であると考えています。

8) 万全の保証体制

IASOは出荷前に全ての機器を接続して適正動作確認を行なっています。また、パソコンも、天秤も全国的なサービス網を持つ供給者と提携してハード面の保証体制を整えています。

ソフトは買ったけど結局実運用には至らなかったなどということのないように、確実な適正管理が実現するよう、私達はバックアップしていきます。

4. おわりに

「使用者にはより簡単に、管理者にはより詳細に。フレキシブルに薬品管理を支援する。」そんなコンセプトでIASOを開発してきました。

幸いにも、5月にIASOの発売を開始して以来各方面的皆様から注目していただいている。

PRTR等化学物質を巡る情勢は、益々厳しくなってきました。試験研究機関は少量でも多種多様な化学物質を使用していますが、今後益々薬品管理の必要性が高くなるものと思われます。この際、薬品管理の在り方を見直されではいかがでしょうか。

有機金属化学からみた 均一系オレフィン重合触媒の最近の進歩（2）

極性モノマーの重合と非メタロセン触媒

東京工業大学 資源化学研究所 教授 小坂田 耕太郎

1. はじめに

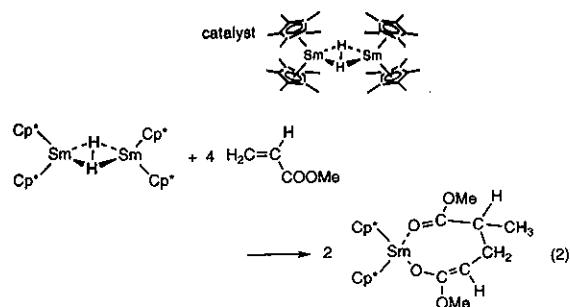
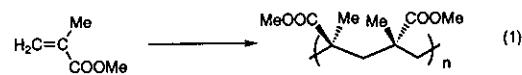
前回述べたように、メタロセン触媒は、不均一系のチーグラー触媒にみられない重合反応性、選択性を示すとともに、触媒の分子構造に応じて選択性を制御できるという均一系触媒ならではの特徴を有する。メタロセン触媒のこれまでの発展は遷移金属上のシクロペンタジエニル配位子の各種置換基による修飾と新しい助触媒の創案の両方の立場からすすめられてきた。最近の新たな動向として、ビスシクロペンタジエニル型のチタン、ジルコニウム錯体を成分とするメタロセン触媒からシクロペンタジエニル配位子を含まない均一系オレフィン重合触媒の開発や、さらには4価のチタン、ジルコニウム以外の遷移金属錯体を用いた触媒を探索することなどが積極的に試みられ、この分野の新しい流れの一・つとして注目を集めている。本稿では、メタロセン触媒および関連する均一系触媒による極性モノマーの重合反応と、上記の非メタロセン触媒によるオレフィン重合の最近の研究を紹介したい。

2. 極性モノマーの重合

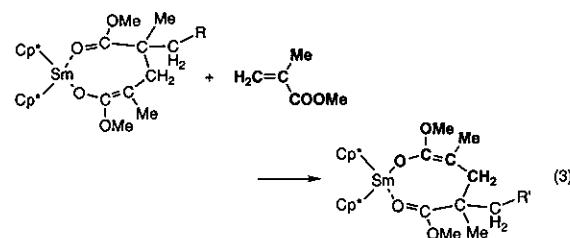
アクリル酸エステル、メタクリル酸エステルは代表的な極性モノマーであり、その重合体は実用上も重要である。種々の重合が知られているが、チーグラー触媒を用いると、チタン、ジルコニウムの高原子価種の高い求電子性のために、エステル酸素が金属に強く配位して触媒を不活性化する可能性や、助触媒の有機アルミニウムが構造によりエステル類と反応しうることから、その配位重合触媒の設計には注意が必要であった。

安田らは2つの置換シクロペンタジエニル基が配位したヒドリドまたはメチルサマリウム錯体がメタクリル酸メチル(MMA)のすぐれた重合開始剤になることを報告した。¹⁾ この重合は完成度が高く、生成ポリマーの多分散度が極めて小さいリビング重合であること、助触媒を要しないこと、高分子量の生成物が得られること、シンジオタクチックポリマーが高い立体選択性で生成すること

などの際立った特徴を有する。このなかで立体選択性の発現機構については重合反応機構とともにモデル反応を用いて明解に説明されている。すなわち、ヒドリドサマリウム錯体は2倍モル量のアクリル酸メチル(MA)分子のサマリウムー水素結合への挿入反応を定量的に行い、この2量体を環状配位子として含む新たな有機サマリウム錯体を生成する(式2)。



3価サマリウムは高い求電子性ならびに酸素親和性を有するため、この錯体の中心サマリウムは生長末端のエノラート酸素およびもう一つのモノマー単位のカルボニル酸素と結合している。環状エノラート配位子のコンホーメーションは結晶構造解析により明らかになっているが、その構造は重合中の生長末端においても同様に保たれていると判断される。式3に示すように、重合の生長反応



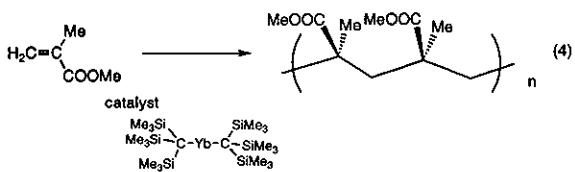
KOHTARO OSAKADA

Research Laboratory of Resources Utilization,
Tokyo Institute of Technology

はサマリウム-エノラート結合が新たに MMA に 1,4-付加する過程であるが、ここで新たに生じる C-C 結合は環状エノラート配位子の立体環境によって、メチル基がシンジオタクチックな立体配置を形成する配向をする。

このメタロセン触媒はエチレンの重合や環状ラクトンの開環重合の開始剤としてもはたらき、リビング重合も可能とするために、エチレンと極性モノマーとのAB型ブロック共重合体の合成も可能である。光学活性なネオメンチル基を導入したメタロセン触媒によってアイソタクチックなPMMAを得ることができることも報告されている。²⁾また、メタロセン触媒を用いるアイソタクチッククリッチナボリマーの合成も報告されているが、立体選択性は十分ではない。³⁾

シクロペンタジエニル基以外のアルコキシド、アルキル、アセチリド等の電子供与性配位子を有する希土類金属錯体においても MMA の重合が検討されている。例えば、2 個のイッテルビウム錯体を開始剤とする MMA の重合では上記のメタロセン触媒重合とは異なり、アイソタクチック構造を有する生成物が得られる(式 4)。⁴⁾



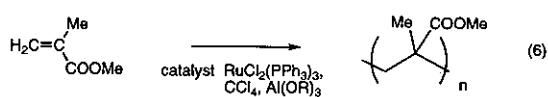
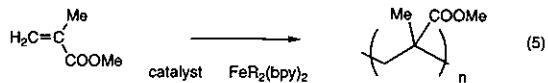
ここでも、重合体の生長末端はイッテルビウムエノラートであるが、上のメタロセン触媒と異なり、新たなモノマーのカルボニル酸素が配位するために、生長末端は非環状の単座配位をしていると考えられる。したがって、重合反応中には生長末端と金属中心との立体構造の関係が一定であるためにアイソタクチック重合が実現したものと理解されている。

チタン、ジルコニウム錯体のメタロセン触媒によるこれら極性モノマーの重合も検討されている。^{5,6)} いずれも有機ホウ素化合物、特にフッ素置換芳香環を有するものを助触媒に用いて反応を制御している。含ホウ素助触媒の使用により高いアイソタクチック選択性と良好な分子量分布が得られる触媒やシンジオタクチックリッチなポリマーが得られる触媒などが報告されており、重合を広範囲に制御できる反応として興味深い。

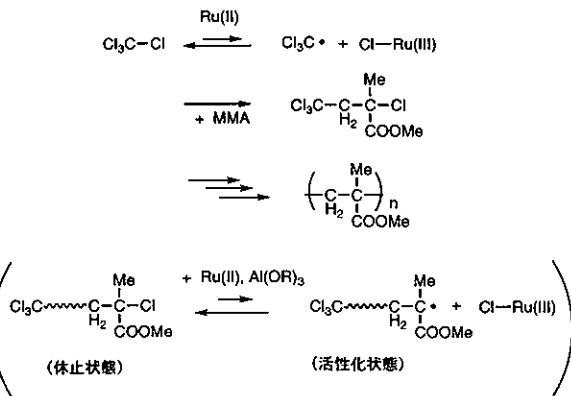
一方、後期の遷移金属錯体が MMA の配位重合を行う例は1970年代から報告されており、ビピリジン等の支持配位子を有する有機鉄錯体が重合中間体のモデル化合物として詳細に研究され、モノマーの配位や挿入の各段階について錯体化学的な立場からの考察を加えた裏づけが

提出されている(式5)。⁷⁾

一方、最近、ルテニウム錯体、銅錯体触媒を用い、有機ハロゲン化物や各種ラジカル発生剤存在下で MMA のリビング重合が報告された(式 6)。^{8,9)}



これらの反応は有機合成の分野すでに報告されているラジカルのオレフィンへの環化付加反応と類似の反応系を用いており、¹⁰⁾ ラジカル重合が進行している可能性が示唆される。実際、精力的な研究の結果、スチレンとMMAとのランダム共重合が可能である点を含めて多くのラジカル重合の反応特性を示すこと、ESR等の測定によってラジカル種が系中に観測されることなどの事実が得られた。これに基づいてスキーム1に示すように、低原子価遷移金属錯体によってラジカル活性種が適切に捕捉されて休止状態を形成し、これが系中で微量の反応性の高いラジカル活性種と平衡にある重合機構が提案されている。



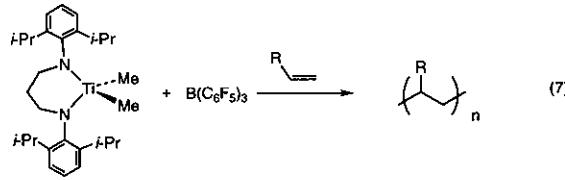
スキーム 1

3. 非メタロセン触媒

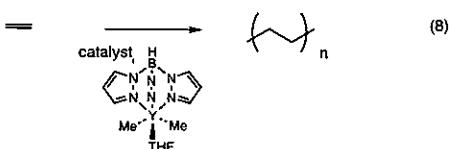
3.1 チタン触媒

前回述べたように、メタロセン触媒から発展したハーフメタロセン触媒のうち、CGC触媒とよばれるシクロペンタジエニル環と側鎖アミノ基を有する配位子を用いる触媒も特徴的な機能を有している。さらに、キレート性のシアミンを支持配位子とするチタン錯体を遷移金属成分として

含む重合触媒が開発された(式7)。¹¹⁾



当初 MAO 助触媒が用いられたが、チタンからアルミニウムへの連鎖移動反応が観測されたことから、有機ホウ素助触媒への改良が行われ、 α -オレフィンのリビング重合 ($M_n > 10^5$, $M_w/M_n = 1.05$) が可能になった。この重合の各段反応について理論化学による解析が行われ、配位子のかさだかいイソプロピル基が芳香環による反応の立体規制を効果的にしていること、チタン錯体と同じ構造を有するジルコニウム錯体では連鎖移動がきわめておこりやすいために重合触媒としての機能が低いこと、などが説明されている。¹²⁾ さらに、配位子にさらに立体障害の大きい基を導入したジルコニウム錯体は上記のチタン錯体よりも高活性をもつことが計算結果から予測されている。チタン、ジルコニウムを中心金属とする非メタロセン触媒については配位子の修飾や有機亜鉛等の助触媒の開発が行われ、さらに新たな知見が得られている。^{13~16)} 多くの場合、かさだかいN置換基を有するジアミン、ジイミン等が配位子として用いられており、活性中心の金属の周囲の立体規制を行うとともに、連鎖移動等の副反応を抑制するよう錯体構造が設計されている。希土類金属であるイットリウムのピラゾリルボラート錯体もエチレンの重合触媒となり、 $M_w > 10^6$ のポリエチレンが合成できることが報告されている(式8)。

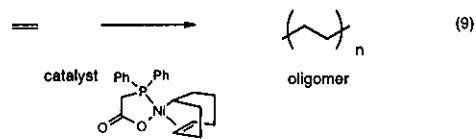


3.2 後期遷移金属触媒の非メタロセン触媒

鉄、コバルト、ニッケルおよび周期表でその下に位置する貴金属をあわせた8-10族遷移金属の錯体触媒は水素化、カップリング、酸化など様々な反応に有効であり、有機合成化学の分野では欠くことのできない反応剤である。8-10族遷移金属のアルキル錯体の金属-炭素結合にオレフィン等の不飽和分子が挿入する例は多いが、これが効率よくくりかえせば重合が進行することから、これらの金属錯体の潜在的な重合触媒機能が期待されてい

た。しかし、後期遷移金属錯体が実際のオレフィンの高重合反応に用いられた例は最近までごく限られていた。ノルボルネン等の高歪みシクロオレフィンは、連鎖移動や解重合反応がおこりにくいため、パラジウム触媒により比較的容易に重合する。また、ジカチオン性のパラジウム錯体触媒によってジビニルベンゼンは重合するが、同じ触媒はエチレンやスチレンとの反応では低重合体を生成する。¹⁸⁾

これらの後期遷移金属錯体触媒によるオレフィンの重合では金属-炭素結合へのオレフィンの挿入反応と生長末端の連鎖移動反応が競争的におこり、ポリマーよりもむしろオリゴマーが生成する場合が多い。チーグラー触媒の発見の発端ともなったように、ニッケル塩と有機アルミニウムとの混合系はエチレンやオレフィンの二量化や低重合を促進する。この低重合触媒として最も代表的なものは、官能基化モノホスフィンをキレート配位子にもつニッケル錯体を触媒とするものであり、SHOPプロセスとよばれる。¹⁹⁾ この触媒は式9に示すように直鎖状のエチレンオリゴマーを生成するが、触媒が不溶であるヘキサンに分散して反応を行うとポリエチレンを与える。

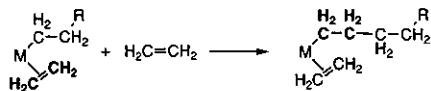


このニッケル錯体はエチレンおよび α -オレフィンの低重合触媒として重要であるが、その反応効率がすぐれている。ニッケルの同族元素であるパラジウムのジアミン錯体もエチレン低重合を触媒するが、その素反応の各段階について錯体化学的な研究が行われた。²⁰⁾ 一方、上記に示した SHOP プロセスのオリゴマー生成反応の効率が高いことは、ニッケル-炭素結合へのエチレン挿入速度がきわめて大きいことを意味し、アルキル配位子の β 水素脱離による連鎖移動を抑制する系を見い出せば、エチレンの高重合が達成される可能性がある。

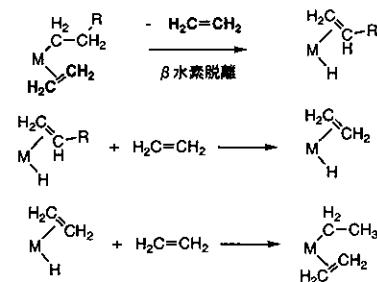
後期遷移金属に配位したアルキル基からは β 位の水素が金属によりひきぬかれるいわゆる β 水素脱離反応が容易に進行することが一般に報告されている。 β 水素脱離反応と重合の生長末端の連鎖移動反応との関係は以下のスキーム2にしたがって説明される。すなわち、 β 水素脱離により生じる炭素炭素二重結合で配位した重合生長末端がモノマーと配位子交換を行うと、新たにヒドリド-金属間へのモノマー挿入がおこり、重合が開始される。チタン等の前周期遷移金属アルキル錯体では β 水素脱離

反応自体が速度論的に不利であり、これを触媒として重合では連鎖移動の反応に与える影響は後周期遷移金属ほど重要ではない。

生長反応

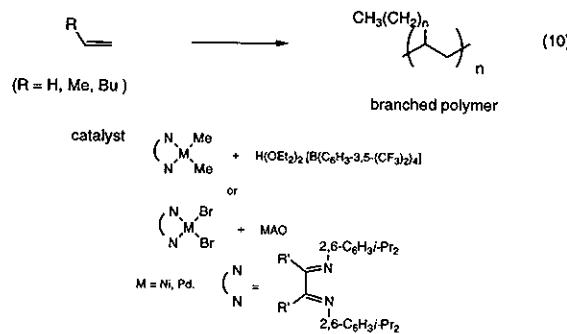


連鎖移動反応



スキーム 2

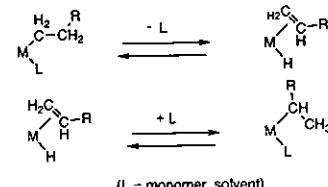
1996年に Brookhart らはニッケル、パラジウムのジイミン錯体を錯体成分とするオレフィンの重合触媒の開発に成功した(式10)。^{21, 22)}



この触媒系の特徴は、かさだかい置換基を有する芳香環を含むイミン配位子を用いることとフッ素置換芳香族ポラートを対アニオンと用いていることである。ニッケル、パラジウムを用いた重合触媒としては例外的に重合挙動が安定しており、高分子量生成物を得ることができる。その主な理由の一つは窒素原子上の芳香環のコンフォメーションがかさだかい置換基により固定されており、平面4配位の金属中心の上下のアビカル配位座へのモノマー配位がさまたげられていることによる。スキーム2の連鎖移動反応のうち末端のβ水素脱離はこの系でもおこるもの、オレフィン配位した生長末端とモノマーとの会合的な交換がおこらないために連鎖移動反応がおこ

らず、高分子量生成物が得られるものと理解される。この知見に対応して、重合系で生長末端の構造変化が生長反応よりもすみやかにおこるために、エチレンの重合では高度に分岐したポリエチレンが生成し、その融点は通常よりもはるかに低い場合によって観測されない。

一方、 α -オレフィンの重合では逆に分岐度が計算値よりも小さいポリマーが得られる。条件や触媒によって直鎖状のポリエチレンを得ることも可能である。この生長末端の構造変化についてはスキーム3に簡単にまとめた。生長末端の β 水素脱離はすみやかにかつ可逆におこっているために、オレフィン配位子の金属-水素結合への挿入方向の違いによりもとの生長末端と異なる構造が反応中に出現することになる。

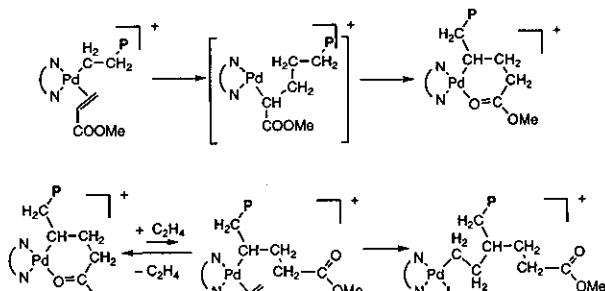


スキーム 3

フッ素置換芳香族ポラートはカチオン金属中心への配位力が小さく、重合中オレフィンモノマーの配位をさまたげない役割を發揮していると理解してきた。しかし、簡便な触媒調製法としてジイミン配位子を有するジブロモニッケル錯体とMAOとから合成した触媒も良好なオレフィン重合触媒として機能することから、上記の対アニオンの使用は必ずしも必須ではない。他のニッケル錯体やニッケル塩をベースとする他の重合触媒の再検討も行われ、ニッケロセン触媒やニッケルの非メタロセン触媒の重合パフォーマンスの違いも研究されている。²³⁾

Brookhart らの重合触媒の重要な特徴の一つはエチレンとMMAとの共重合が可能であることである。²⁴⁾ MMAを含むパラジウム錯体触媒を含む溶液をエチレンと接触させることによって両モノマーを含む生成物を得ることができる。 α -オレフィンとMMAとの共重合也可能である。これらの反応では生成物に含まれる各モノマー成分の割合はモノマーの仕込み比によって制御可能である。ポリマーの構造の解析の結果、極性モノマーに由来する単位構造はいずれもポリマーの分岐の末端にあり、主鎖中に両モノマーがランダムに含有されているわけではないことがわかった。これはスキーム4の重合反応機構で以下のように説明できる。生長末端にMMAが挿入した場合、新たな生長末端へのモノマー挿入はおこらず、

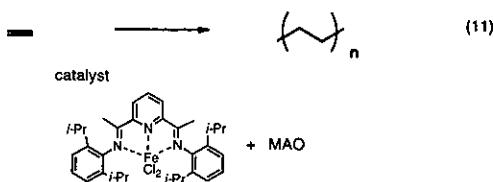
スキーム3の構造変化を経て新たなパラジウムー炭素結合へのモノマー挿入によって生長反応が再開される。



スキーム4

この系で特筆すべき点は、均一系触媒反応の利点を十分に活用し、モノマーの配位の平衡定数や挿入反応性の相対的な違いなどが緻密に解明されていることである。ここで明らかにされたいいくつかの基礎データは今後極性の異なる2種のモノマーのランダム共重合触媒を設計する上で重要な指針を与えるものと期待される。

類似のイミンを3座配位子に有する鉄錯体を用いる重合触媒が検討され、エチレンの重合、低重合にすぐれた特性をあらわすことが明らかになった(式11)。^{25,26)}



MAOを助触媒とすると触媒1mmolあたり1時間100kg以上のポリエチレンを与える例も報告されている。イミン窒素の芳香環のかさだかい置換基は連鎖移動を抑制することに役立っており、これがない場合には生成物の分子量は著しく低い。類似の触媒によるプロピレンの重合も行われ、アイソタクチック選択性が見い出されている。²⁷⁾ 鉄2価錯体の安定構造の一つは5配位であるが、これが適度な置換活性を有する上に、3座配位子のかさだかい置換基や安定なキレートコンフォメーションが鉄の配位環境を規制することにより、重合に適した反応場が得られたものと考えられる。この重合の詳細については、ニッケル、パラジウム系との違いを含めては今後検討されることになろう。

4. おわりに

非メタロセン触媒特にニッケル、パラジウム触媒によるエチレン、 α -オレフィンの高重合の発見はこの分野のブレークスルーとして価値の高いものであったが、報告されたときに寄せられた内外の大きな関心は、この分野に対する依然として高い社会的な期待を我々に認識させる結果となった。後期遷移金属錯体がチタン、ジルコニウム等と異なり配位環境によってその反応性を大きく変化させる特徴は重合触媒反応の設計の上で必ずしもよい材料ではないが、後期遷移金属錯体の反応の多様性や有機合成の分野で發揮されている反応選択性の高度制御は、これを用いる新触媒開発の面では大きな魅力である。今後この分野の研究が大きく発展することを祈りたい。

参考文献

- H. Yasuda, H. Yamamoto, K. Yokota, S. Miyake, and A. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4908(1992); H. Yasuda, N. Furo, H. Yamamoto, A. Nakamura, S. Miyake, and N. Kibino, *Macromolecules*, **25**, 5115(1992); H. Yasuda, H. Yamamoto, M. Yamashita, K. Yokota, A. Nakamura, S. Miyake, Y. Kai, and N. Kanehisa, *Macromolecules*, **26**, 7134(1993).
- M. A. Giardello, Y. Yamamoto, L. Brard and T. J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 3276(1995).
- S. Ya Knjazhanski, L. Elizade, G. Cadenas, and B. M. Bulychev, *J. Polym. Sci. : Part A : Polym. Chem.*, **36**, 1599 (1998).
- H. Yasuda, E. Ihara, Y. Nitto, T. Kakehi, M. Morimoto, and M. Nodono, *ACS Symp. Ser.*, **704**, 149(1998).
- H. Deng, T. Shiono, and K. Soga, *Macromol. Chem. Phys.*, **196**, 1971(1995); H. Deng, T. Shiono, and K. Soga, *Macromolecules*, **28**, 3067(1995); T. Shiono, T. Saito, N. Saegusa, H. Hagihara, T. Ikeda, H. Deng, and K. Soga, *Macromol. Chem. Phys.*, **199**, 1573(1998); N. Saegusa, T. Saito, T. Shiono, T. Ikeda, H. Deng, and K. Soga, *Macromol. Chem., Macromol. Symp.* in press(1999).
- S. Collins, D. G. Ward, and K. H. Suddaby, *Macromolecules*, **27**, 7222(1994); Y. Li, D. G. Ward, S. S. Reddy, and S. Collins, *Macromolecules*, **30**, 1875(1997); E. Hong, Y. Kim, and Y. Do, *Organometallics*, **17**, 2933(1998).
- T. Yamamoto, A. Yamamoto, and S. Ikeda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **45**, 1104 and 1111(1972); A. Yamamoto and T. Yamamoto, *J. Polym. Sci. : Macromol. Rev.*, **13**, 161(1978).
- M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, and T. Higashimura, *Macromolecules*, **28**, 1721(1995); H. Uegaki, M. Kamigaito, and M. Sawamoto, *Macromolecules*, **30**, 2249(1997); Y. Kotani, M. Kamigaito, and M. Sawamoto, *Macromolecules*, **31**, 5582(1998).
- J. S. Wang and K. Matyjaszewski, *Macromolecules*, **28**, 7572 (1995); T. E. Patten, J. Xia, T. Abernathy, and K. Matyjaszewski, *Science*, **272**, 866(1996); K. Matyjaszewski, *Macromolecules*, **31**, 4710(1998); K. Matyjaszewski and B. E.

- Woodworth, *Macromolecules*, **31**, 4718(1998).
- 10) H. Matsumoto, T. Nikaido, and Y. Nagai, *J. Org. Chem.*, **41**, 396(1976); H. Nagashima, H. Wakamatsu, and K. Ito, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 652(1984); H. Nagashima, K. Ara, H. Wakamatsu, and K. Ito, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 518(1985).
 - 11) J. D. Scollard and D. H. McConville, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10008(1996); J. D. Scollard, D. H. McConville, N. C. Payne, and J. J. Vittal, *Macromolecules*, **29**, 5241(1996).
 - 12) L. Deng, T. Ziegler, T. K. Woo, P. Margel, L. Fan, *Organometallics*, **17**, 3240(1998).
 - 13) T. H. Warren, R. R. Schrock, and W. M. Davies, *Organometallics*, **15**, 562(1996); R. Baumann, W. M. Davies, and R. R. Schrock, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 3830(1997).
 - 14) J. Jin, S. Tsubaki, T. Uozumi, T. Sano, and K. Soga, *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 597(1998).
 - 15) M. Bouwkamp, D. van Leusen, A. Meetsma, and B. Hessen, *Organometallics*, **17**, 3645(1998);
 - 16) V. C. Gibson, B. S. Kimberley, A. J. P. White, D. J. Williams, and P. Howard, *Chem. Commun.*, 313(1998).
 - 17) D. P. Long and P. A. Bianconi, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 12453(1996).
 - 18) Z. Jiang and A. Sen, *Organometallics*, **12**, 1406(1993).
 - 19) W. Keim, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **29**, 235(1990); W. Keim, *Chimia*, **35**, 344(1981); B. Akerman, J. Martin, J.-E. Nystrom, S. Stromberg, M. Svensson, K. Zetterberg, and M. Zuber, *Organometallics*, **17**, 5367(1998); B. Ellis, W. Keim, and P. Wasserscheid, *Chem. Commun.*, 337(1999).
 - 20) S. Y. Desjardins, A. A. Way, M. C. Murray, D. Adirim, and M. C. Baird, *Organometallics*, **17**, 2382(1998).
 - 21) L. K. Johnson, C. M. Killian, M. Brookhart, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6414(1995); C. M. Killian, D. J. Tempel, L. K. Johnson, and M. Brookhart, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 11664(1996); C. M. Killian, L. K. Johnson, and M. S. Brookhart, *Organometallics*, **16**, 2005(1997); D. J. Tempel and M. S. Brookhart, *Organometallics*, **17**, 2290(1998).
 - 22) C. Wang, S. Freidrich, T. R. Younkin, R. T. Li, R. H. Grubbs, D. A. Bansleben and M. E. Day, *Organometallics*, **17**, 3149(1998).
 - 23) P. Longo, F. Grist, A. Proto, and A. Zambelli, *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 31(1998).
 - 24) S. Mecking, L. K. Johnson, L. Wang, and M. S. Brookhart, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 888(1998).
 - 25) B. L. Small, M. Brookhart, A. M. A. Bennett, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 4049(1998); B. L. Small and M. Brookhart, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 7143(1998).
 - 26) G. J. P. Britovsek, V. C. Gibson, B. S. Kimberley, P. J. Maddox, S. J. McTavish, G. A. Solan, A. J. P. White, D. J. Williams, *Chem. Commun.*, 849(1998).
 - 27) C. Pellecchia, M. Mazzeo, and D. Pappalardo, *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 651(1998).

(お知らせ)

■「ケミカルタイムズ・ライブラリー」のご案内

当社インターネットホームページ「知識の泉／ケミカルタイムズ・ライブラリー」におきまして100号（1981年発行）以降最新号までの、「掲載号、発行年月、表題、執筆者、執筆者所属」等がご覧になれます。ぜひご利用ください。

〈編集後記〉

明けましておめでとうございます。

2000年時代の幕開けにふさわしく、本年の干支は「辰」で“伸びる”という意味をもち、ものごとが盛んになる年といわれています。期待される「伸びーる夢」とは

- ・2000円札発行記念のメニュー人気で、「個人消費」が伸びる。
- ・ガソリンの高騰で、「自家用充電式自動車」が伸びる。
- ・身長、服装、天気に合った「ファッション靴底」が伸びる。
- ・新幹線がリニアに変わり、「北海道から九州までの日帰

■郵送先変更の場合のお願い

弊誌は年4回発行しご愛読者の皆様に郵送しており、皆様に確実にお届けするために、「組織名称、所在地、所屬」等の見直しを行っております。

異動および宛先変更の場合は、下記の住所、電話、FAXで弊社広報室 北原まで、ご連絡をお願い申し上げます。

E-mail : chemiti-info@gms.kanto.co.jp

り出張」が伸びる。

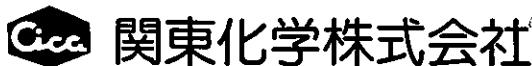
・携帯電話に変わり、「テレビ、電話、音楽、記憶付きのニューモバイル」が伸びる。

・化石燃料からの二酸化炭素排出抑制で、「太陽エネルギーの利用」が伸びる。

・ホームページ ケミカルタイムズ（英語版）が世界中の科学者に愛読され、「シカマーク市場」が伸びる。

それらが実現して、ゆとりと豊かさをもちたいものです。本年も弊誌をご愛読くださいますようお願い申し上げます。

（三城）



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 三城 侑三 平成12年1月1日 発行