

# THE CHEMICAL TIMES

KANTO CHEMICAL CO., INC.



2006 No.4(通巻202号)

ISSN 0285-2446

水中での有機金属化学(2) -水溶性有機遷移金属錯体の合成と水中での $\beta$ -水素脱離反応および還元的脱離反応-	小峰伸之 平野雅文 小宮三四郎	2
フェニルボロン酸薄膜を用いる電気化学的および光学的糖センサー	江川祐哉 高橋成周 安斎順一	12
MRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)をめぐる混乱と新しいMRSAの概念“BIVR”	花木秀明 久保亮一	17
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(15) ヨハン・ヴォルフガング・デベライナー	原田 馨	23
編集後記		24



# 水中での有機金属化学(2)

Organometallic Reactions in Water (2)

—水溶性有機遷移金属錯体の合成と水中での $\beta$ -水素脱離反応および還元的脱離反応—

—Synthesis of Water-soluble Organotransition-metal Complexes and  
 $\beta$ -Hydrogen Elimination and Reductive Elimination in Water—

国立大学法人 東京農工大学 大学院工学研究科 助手 小峰 伸之  
NOBUYUKI KOMINE (Research Associate)

助教授 平野 雅文  
MASAFUMI HIRANO (Associate Professor)

教授 小宮三四郎  
SANSHIRO KOMIYA (Professor)

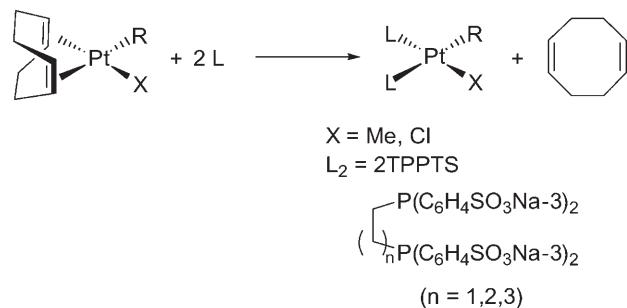
Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology

## 1. はじめに

遷移金属錯体触媒反応の多くは一般に有機溶媒中で行われている。しかしながら、近年グリーンケミストリーの観点から、有機溶媒の使用量の削減が叫ばれている。水は天然に豊富に存在し、人体や環境にも優しく、pHの制御が容易であるといった特有の性質も有しており、また、水中での遷移金属錯体触媒反応では系中の水の作用による触媒活性の向上も期待される<sup>1)</sup>。前稿では、水溶性遷移金属錯体触媒を水相に、反応基質を主に有機相にした環境調和型水／有機溶媒二相系の触媒反応に関する我々の最近の成果について述べた<sup>2)</sup>。水中での遷移金属錯体触媒反応では、中間体として炭素－遷移金属結合を有する有機金属錯体が反応に関与しているものと推測されている。したがって、水中での有機金属錯体の反応性を明らかにすることは、既存の水メディアを用いた触媒反応の機構を解明するだけでなく、新たな触媒反応を開発する上で重要な知見が得られるものと考えられる。これまでにも、水溶性有機金属錯体の合成と水中での反応性を関するいくつかの検討がなされてきた。水溶性配位子を有する水溶性有機金属錯体としては、白金、パラジウム、ロジウム、金などを含む錯体が報告されている<sup>3)-6)</sup>。水溶性ホスフィン配位子を有する水溶性有機白金(II)錯体の例として、Pringleらによりトリス(ヒドロキシメチル)ホスフィン( $P(CH_2OH)_3$ , THMP)を配位子とするジメチル白金錯体およびメチルハロゲノ白金錯体の合成が試みられているが、十分な同定には至っていない<sup>3a)</sup>。これに対してAtwoodらは、最近トリフェニルホスフィントリス(3-スルホン酸ナトリウム)( $P(C_6H_4SO_3Na-3)_3$ , TPPTS)な

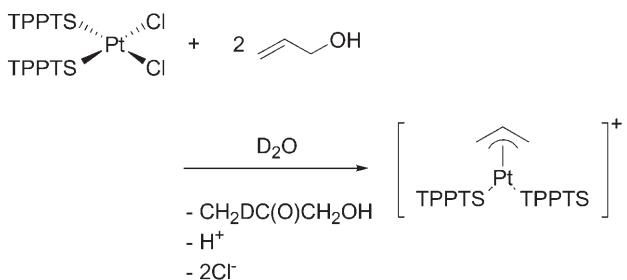
どのスルホン酸塩系の单座および二座の水溶性ホスフィン配位子を有するジメチルおよびモノメチル白金錯体を合成し、その水中での安定性を検討した。その結果、水中でpH3～14の範囲内では白金－炭素結合は安定であると報告している<sup>3b)</sup>。

Scheme 1



加えてAtwoodらは、TPPTSを配位子とするジクロロ白金錯体 $cis$ - $\text{PtCl}_2$  ( $\text{TPPTS}$ )<sub>2</sub>とアリルアルコール類との水中での反応による水溶性アリル白金錯体の合成も報告している<sup>3c)</sup>。

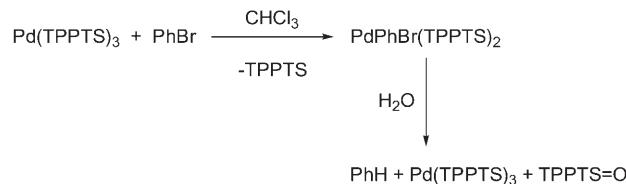
Scheme 2



水溶性パラジウム(II)錯体<sup>4)</sup>として、MonteilらはTPPTSを配位子とするフェニルもしくはベンゾイルパラジウム錯体 $\text{PdRBr}(\text{TPPTS})_2$  ( $R = \text{Ph, COPh}$ )を $\text{Pd}(\text{TPPTS})_3$

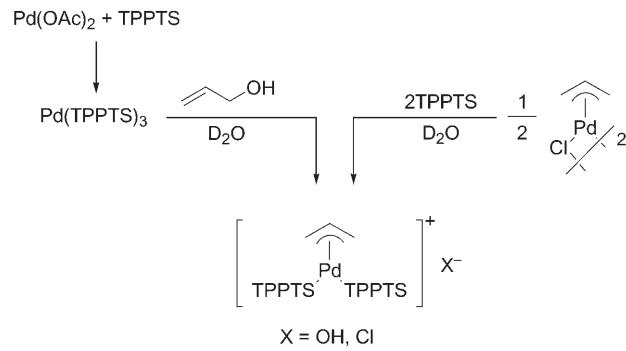
への臭化フェニルの酸化的付加、もしくはトリフェニルホスフィンを配位子とするベンゾイル錯体とTPPTSとの配位子交換により合成、単離している<sup>4a)</sup>。また、Monteilらは、フェニルパラジウム(II)錯体PdPhBr(TPPTS)<sub>2</sub>が水中で不安定であることも報告している。

Scheme 3



一方、忍久保、大島ら<sup>4b)</sup>および我々<sup>7)</sup>は独立に、[PdCl( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)]<sub>2</sub>/TPPTSもしくはPd(OAc)<sub>2</sub>/TPPTSを触媒とした水／有機溶媒二相系によるアリルアルコールを用いたアミン、1,3-ジカルボニル化合物およびチオールの効率的なアリル化反応を報告しているが、忍久保、大島らは、これらの触媒反応の中間体として考えられる水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)(TPPTS)]<sup>+</sup>の生成を、D<sub>2</sub>O中TPPTS存在下でのPd(OAc)<sub>2</sub>とアリルアルコールとの反応において確認している。また、D<sub>2</sub>O中のアリルクロロパラジウム(II)ダイマー錯体[PdCl( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)]<sub>2</sub>とTPPTSとの反応による水溶性 $\eta^3$ -アリルアリルパラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)(TPPTS)]<sup>+</sup>の生成も確認している。また、Kuntzら<sup>4c)</sup>も、同様な水溶性 $\eta^3$ -アリルアリルパラジウム(II)錯体に関する検討を行っている。

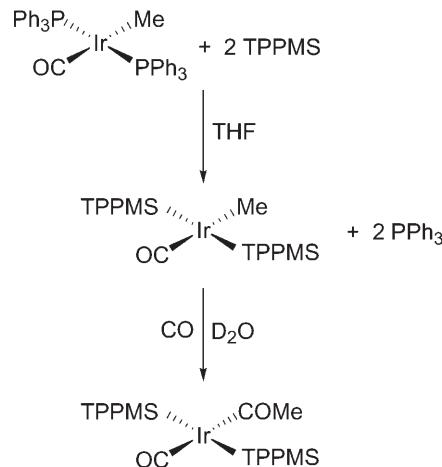
Scheme 4



また、Atwoodらはトリフェニルホスフィンモノ(3-スルホン酸ナトリウム)(P(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>Na-3), TPPMS)を配位子とする水溶性メチルイリジウム錯体trans-IrMe(CO)(TPPMS)<sub>2</sub>を、トリフェニルホスフィンを配位子とするメチルイリジウム錯体trans-IrMe(CO)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>とTPPMSとの配位子交換反応により合成している<sup>5a)</sup>。この錯体は、過剰

の水溶性ホスフィン存在下では、水中においても比較的安定であり、一酸化炭素との反応によりアシル錯体が得られることも明らかにしている<sup>5b)</sup>。

Scheme 5



以上のように、これまでに炭素-金属結合を有する水溶性有機遷移金属錯体の合成については、いくつかは報告されているものの、水中での遷移金属-炭素結合の反応、特に触媒反応と関連する、炭素-炭素結合生成を伴う還元的脱離や $\beta$ -水素脱離、酸化的付加、求核的反応等の素反応に関する研究はほとんど行われてこなかった。

一方、パラジウムの2価錯体に代表されるd<sup>8</sup>の平面4配位錯体は、有機溶媒中でのニッケルやパラジウム錯体を用いたカップリング反応などの10および11族遷移金属触媒反応における重要な反応中間体のひとつであり、これまでにも有機溶媒中における多くの錯体レベルでの研究が行われてきた。また、有機遷移金属錯体の水中での反応性を有機溶媒中でのそれと比較検討することは、既存の水中での遷移金属錯体触媒反応の機構を明らかにすることのみならず、新たな水中での触媒反応を開発するための知見を得るために、特に重要であると考えられる。そこで本稿では、d<sup>8</sup>の平面4配位錯体である水溶性のジアルキル白金(II)<sup>8)</sup>、パラジウム(II)<sup>9)</sup>および金(III)錯体<sup>10)</sup>の合成と水中での反応性、中でも炭素-炭素結合生成を伴う還元的脱離反応や $\beta$ -水素脱離反応に関する最近の我々の研究成果について紹介する。また、アリルパラジウム(II)ダイマー錯体と水溶性ホスフィンとの反応による種々のアリル基を有する中性およびカチオン性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体の合成と求核剤との反応についてもあわせて紹介する<sup>11)</sup>。

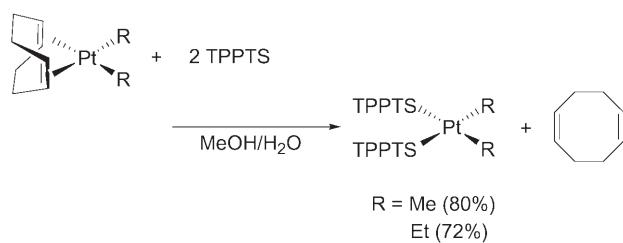
## 2. 水溶性ホスフィン配位子を有するジアルキル白金錯体(II)の合成と水中での反応性<sup>8)</sup>

ジアルキルビスホスフィン白金錯体(II)の有機溶媒中の反応性として、ジエチル錯体の熱分解反応ではエチル基の不均化反応が進行し、定量的にエチレンとエタン(1:1)で生成することが明らかにされている。有機溶媒中の不均化の反応機構については、既にWhitesides<sup>12a,b)</sup>や我々の研究グループ<sup>12c)</sup>により、主に一分子のホスフィンが解離した3配位の遷移状態を経て進行することが明らかとされている。本節では、水溶性配位子として、TPPTS、THMPもしくは1,2-ビス(ジヒドロキシメチルホスフィノ)エタン((HOCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>PCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, DHMPE)を有する*cis*-ジメチル、ジエチルおよびジフェニル白金錯体を合成し、水中での安定性や反応性について検討した結果について紹介する。また、ジエチル錯体の水中での不均化反応における反応機構に関する知見についても述べる。

### 2-1 水溶性ホスフィン配位子を有するジアルキル白金錯体(II)の合成

1,5-シクロオクタジエン(COD)を配位子とするジメチル白金(II)錯体PtMe<sub>2</sub>(COD)とTPPTSとの配位子交換により、*cis*-ジメチルビス(TPPTS)白金(II)錯体*cis*-PtMe<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>を合成した(収率80%)。生成物の同定は、<sup>1</sup>H NMR、IRおよび元素分析により行った。

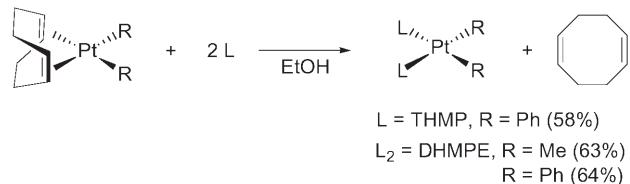
Scheme 6



同様にして、CODを配位子とするジエチル白金(II)錯体PtEt<sub>2</sub>(COD)とTPPTSとの水/メタノール混合溶媒中の配位子交換により、粉末状の白色固体として、*cis*-ジエチルビス(TPPTS)白金(II)錯体*cis*-PtEt<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>を得た。また、これらの錯体のD<sub>2</sub>O中での<sup>1</sup>H NMRにおいて、白金に結合したメチル基およびエチル基が観測されたことから、これらの錯体の白金-炭素結合は水中においても安定に存在していると考えられる。

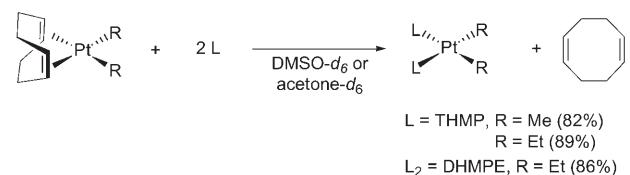
また、THMPを有するジフェニル白金(II)錯体*cis*-PtPh<sub>2</sub>(THMP)<sub>2</sub>およびDHMPEを有するジメチルおよびジフェニル白金(II)錯体*cis*-PtR<sub>2</sub>(DHMPE)(R = Me, Ph)は、TPPTS錯体と同様にそれぞれ対応するCOD錯体とのエタノール中での配位子交換により合成し、エタノール/ヘキサン系での再沈殿により、粉末状の白色固体として単離した。これらの錯体の同定も<sup>31</sup>P {<sup>1</sup>H} NMR、<sup>1</sup>H NMR、IRおよび元素分析等により行った。また、これらの錯体のD<sub>2</sub>O中での<sup>1</sup>H NMRにおいて、白金に結合したメチル基およびフェニル基が観測されたことから、水中でも白金-炭素結合が安定に存在することが明らかとなった。

Scheme 7



これに対して、THMPを配位子とする*cis*-ジメチルおよびジエチル白金(II)錯体*cis*-PtR<sub>2</sub>(THMP)<sub>2</sub>(R = Me, Et)やDHMPEを有する*cis*-ジエチル白金(II)錯体*cis*-PtEt<sub>2</sub>(DHMPE)の合成、単離を試みたが、現在までのところ単離には至っていない。しかしながら、これらの錯体については重アセトン中や重DMSO中で配位子交換を行うことで、対応するCOD錯体からの生成が<sup>31</sup>P {<sup>1</sup>H} NMR、<sup>1</sup>H NMRにより確認された。

Scheme 8

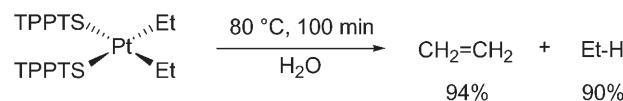


### 2-2 水溶性ジアルキル白金錯体(II)の水中での熱安定性

水溶性ジアルキル白金錯体の水中での反応性について検討した。*cis*-ジメチルビス(TPPTS)白金(II)錯体*cis*-PtMe<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>を水中50°Cで2週間加熱したが、メタンやエタンの生成は全く確認されなかった。この錯体の炭素-白金結合は非常に水に対して安定であると考えられる。一方、PtMe<sub>2</sub>(COD)に対して2当量のTHMPもしくは1当量のDHMPEをDMSO中で反応させることにより、THMPやDHMPEを有する*cis*-ジメチル白金(II)錯体*cis*-PtMe<sub>2</sub>L<sub>2</sub>(L<sub>2</sub> = 2 THMP, DHMPE)を合成した後、水/

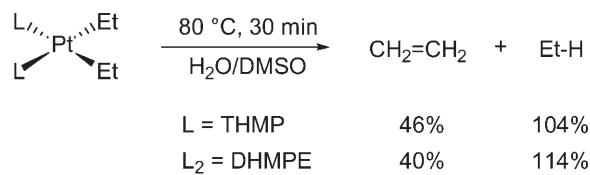
DMSO (5:1) 混合溶媒中で50°Cに加熱したところ、いずれの場合にも、メタンの生成が確認された。以上のように、ヒドロキシル基を持つ水溶性配位子を有するメチル錯体が比較的加水分解され易いことから、THMPおよびDHMPEのヒドロキシル基が白金-炭素結合の加水分解に関与していると考えられる。また、THMPを配位子とするジフェニル白金錯体*cis*-PtPh<sub>2</sub> (THMP)<sub>2</sub>を50°Cに加熱したところ、1週間後には、ベンゼンが白金錯体に対して163%発生した。これに対して、TPPTSを配位子とする*cis*-ジエチル白金(II)錯体*cis*-PtEt<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>の熱分解反応を水中80°Cで行ったところ、100分後にはジエチル錯体は完全に分解し、エチレンとエタンがそれぞれ収率90、94%発生した。

Scheme 9



一方、THMPやDHMPEを有するジエチル錯体*cis*-PtEt<sub>2</sub>L<sub>2</sub> (L<sub>2</sub> = 2 THMP, DHMPE)をDMSO中で合成した後、水/DMSO (5:1) 混合溶媒中で80°Cに加熱した。その結果、いずれの場合にも、エチレンとエタンの発生が確認された。しかしながら、この時エチレンに比べ過剰にエタンが発生したことから、これらの錯体の熱分解においては、β-水素脱離とともに加水分解反応が併発するものと考えられる。

Scheme 10



### 2-3 水中のジエチル白金錯体(II)のβ-水素脱離反応における反応機構

水中で加水分解が進行しない*cis*-ジエチルビス(TPPTS)白金(II)錯体*cis*-PtEt<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>の熱分解の反応機構を解明するために、反応の経時変化を追跡するとともにホスフィン配位子の添加効果について検討した。錯体に対して5当量のTPPTSを加え、水中80°Cに加熱したところ反応は抑制された(図1)。このことは、本反応はホスフィンの解離が律速であることを示唆している。

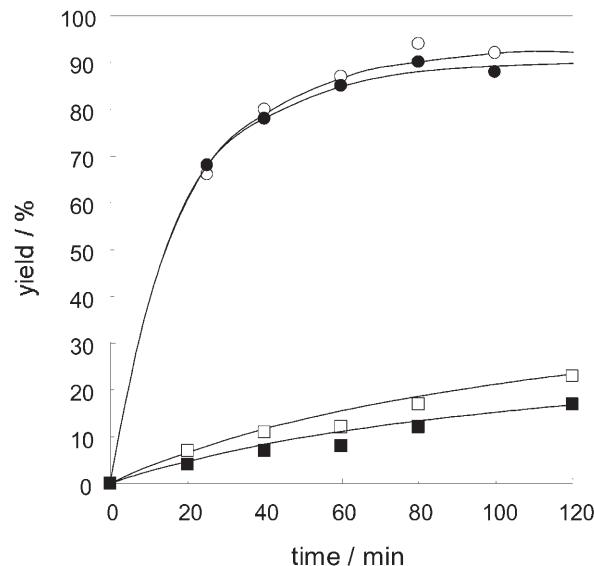


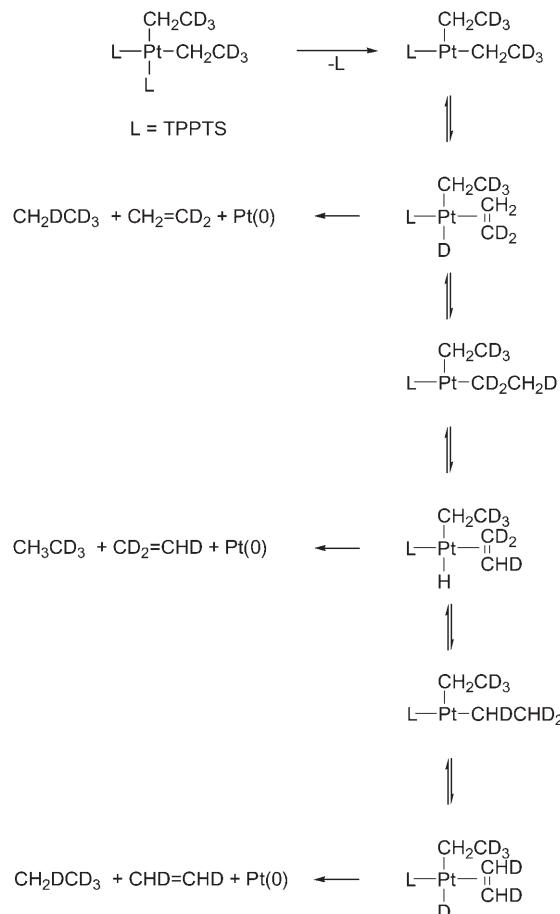
図1 *cis*-PtEt<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>の熱分解反応によるエタンの生成量の経時変化。  
エタン:TPPTS/Pt = 0 (●), 5 (■), エチレン:TPPTS/Pt = 0 (○), 5 (□)

また、反応機構を解明するためにエチル基の末端のメチル基上の水素が全て重水素化された*cis*-Pt(CH<sub>2</sub>CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>を水中80°Cで加熱後、発生したエチレンガスを分取し、そのIRを測定することにより、重水素化エチレン成分の分析を行った。その結果、CH<sub>2</sub>=CD<sub>2</sub>に加えてCHD=CD<sub>2</sub>, *trans*-および*cis*-CHD=CHDに由来する吸収は観測されたが、CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>=CHDおよびCD<sub>2</sub>=CD<sub>2</sub>の生成は確認されなかった。このことは、一つのエチル基内での水素の速い交換反応(スクランブル)が起きていることを示している。即ち、水素(あるいは重水素)原子は一つのエチル基内で交換しており、錯体中のもう片方のエチル基や、他分子の水素(あるいは重水素)とは交換しないものと考えられる。

以上の結果から、水中での*cis*-PtEt<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>の熱分解反応の反応機構を推定した(Scheme 11)。まず、ホスフィンが解離し、白金上に空の配位座が生成した後、エチル基の一つがβ-水素脱離し、ヒドリド(エチレン)エチル錯体を生成する。この反応は可逆的であり、ヒドリド(エチレン)エチル錯体とジエチル白金錯体の間に速い平衡が存在している。その後、ヒドリド(エチレン)エチル錯体からエチレンが解離してヒドリドとエチル基による還元的脱離が起こることで、エチレンとエタンが生成するものと考えられる。この反応機構は、既に知られている有機溶媒中での*cis*-ジアルキルビス(トリフェニルホスフィン)白金(II)錯体*cis*-PtR<sub>2</sub> (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>の熱分解によるアルキル基の不均化機構と同様である<sup>12a,b)</sup>。興味深いことには、過

剩のホスフィン存在下での $cis$ -PtEt<sub>2</sub> (TPPTS)<sub>2</sub>の水中での熱分解反応は、ジフェニルメタン中のトリフェニルホスフィン錯体 $cis$ -PtEt<sub>2</sub> (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>の熱分解反応と比べて極めて速い。この結果は、 $\beta$ -水素脱離にひき続くエチレンおよびエタンの解離が、水中で促進されている可能性を示唆するものである。

Scheme 11



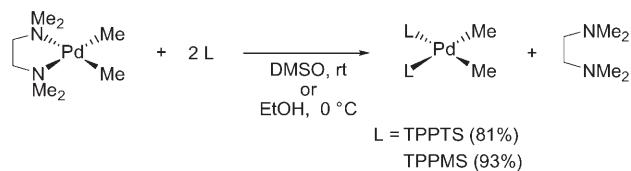
### 3. 水溶性ホスフィン配位子を有する $cis$ -ジメチルパラジウム(II)錯体の合成と水中での還元的脱離反応<sup>9)</sup>

$cis$ -ジアルキルビスホスフィンパラジウム錯体(II)の有機溶媒中での熱分解反応では、炭素-炭素結合生成を伴ったパラジウム上での還元的脱離反応が進行することは広く知られている。有機溶媒中でのジアルキルパラジウム(II)錯体の還元脱離反応の機構に関しては、小沢、山本らおよびStilleらによる詳細な研究が行われており、ホスフィンの解離を伴い、3配位中間体を経て進行することが明らかにされている<sup>13)</sup>。本節では、TPPTSおよびTPPMSを配位子とする水溶性ジメチルパラジウム錯体の合成と水中での反応性について紹介する。

### 3-1 水溶性 $cis$ -ジメチルパラジウム(II)錯体の合成と水中での還元的脱離反応

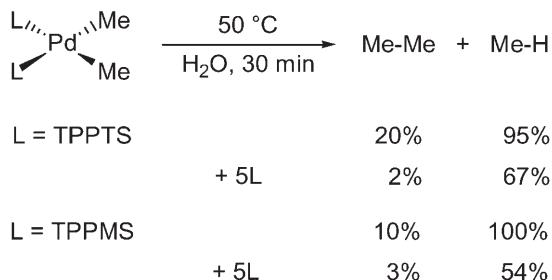
$N,N,N',N'$ -テトラメチルエチレンジアミン (tmada) を配位子とするジメチルパラジウム(II)錯体とTPPTSおよびTPPMSとの配位子交換により、 $cis$ -ジメチルビスホスフィンパラジウム(II)錯体 $cis$ -PdMe<sub>2</sub>L<sub>2</sub> ( $L = \text{TPPTS}$  (81%), TPPMS (93%))を合成した。

Scheme 12



TPPTSを配位子とするジメチルパラジウム錯体を水中で $50^\circ\text{C}$ に加熱したところ、30分後にはエタンとメタンがパラジウム錯体あたりそれぞれ20%、95%発生した。エタンおよびメタンは、それぞれ還元的脱離と加水分解によって生成したものと考えられる。同様に、TPPMSを配位子とするジメチルパラジウム錯体についても、 $50^\circ\text{C}$ に加熱したところ、30分後にはパラジウム錯体あたりエタンが10%、メタンが100%それぞれ生成した。また、それぞれの反応系に対して、5当量の水溶性ホスフィンを添加すると、還元的脱離によるエタンの生成が抑制された。このことから、ジメチルパラジウム(II)錯体の還元的脱離反応は水中においてもホスフィンの解離を伴って進行しているものと考えられる。

Scheme 13

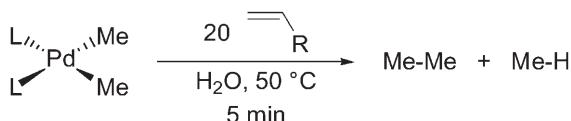


### 3-2 水溶性 $cis$ -ジメチルパラジウム(II)錯体の水中での還元的脱離反応におけるオレフィンの添加効果

水中での熱分解反応におけるオレフィンの添加効果を検討した。有機溶媒中において、ジアルキルニッケル(II)およびパラジウム(II)錯体に対して、電子吸引性オレフィンを添加することにより、還元的脱離が促進されることが

知られている<sup>14)</sup>。オレフィンとしてアクリロニトリル、アクロレイン、メチルビニルケトン、アクリルアミドをそれぞれ20当量添加し、水中で50 °Cで20分間加熱したところ、いずれの場合もオレフィンを添加しない場合に比べ、エタンの発生量が増加した<sup>9c,d)</sup>。

Scheme 14



L = TPPTS	R = CN	73%	14%
	CHO	88%	<1%
	COMe	87%	<1%
	CONH <sub>2</sub>	67%	18%
L = TPPMS	R = CN	58%	40%
	CHO	97%	4%
	COMe	94%	3%
	CONH <sub>2</sub>	42%	52%

以上の結果は、水溶性ジメチルパラジウム(II)錯体では、オレフィンを添加することにより水中でも有機金属特有の反応である炭素-炭素結合生成を伴う還元的脱離が選択的に進行することを示している。反応機構の詳細は現在、検討中である。

#### 4. 水溶性ホスフィン配位子を有するジアルキルハロゲノ金(III)錯体の合成と水中での還元的脱離反応<sup>10)</sup>

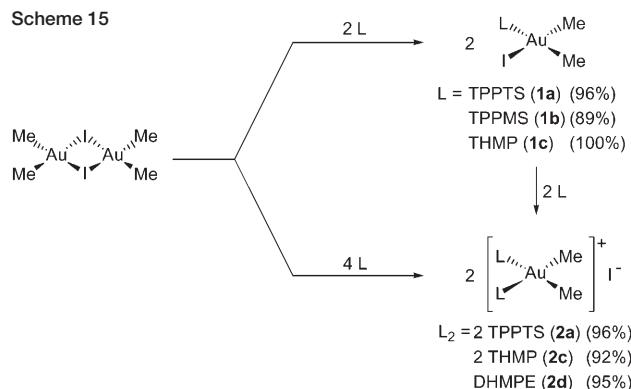
3価の有機金錯体の有機溶媒中での還元的脱離反応については、同族の銅試薬を用いたカップリング反応と関連して、多くの研究がなされている<sup>15)</sup>。本節では、ジアルキルモノハロゲノ金二量体  $[AuR_2X]_2$  ( $R = Me, Et; X = Br, I$ )と水溶性ホスフィン配位子との反応による *cis*-ジメチルおよびジエチル金(III)錯体の合成と水中での還元的脱離反応について述べる。

##### 4-1 水溶性ホスフィン配位子を有するジアルキルハロゲノ金(III)錯体の合成

ジ- $\mu$ -ヨードテトラメチル二金  $[AuMe_2I]_2$  と Au 当たり 1 当量の TPPTS との反応により、*cis*-ジメチルヨード(TPPTS)金(III)錯体 *cis*- $AuMe_2I$ (TPPTS)を合成した(収率 100%)。同様にして、TPPMS や THMP を配位子とするジメチルヨード

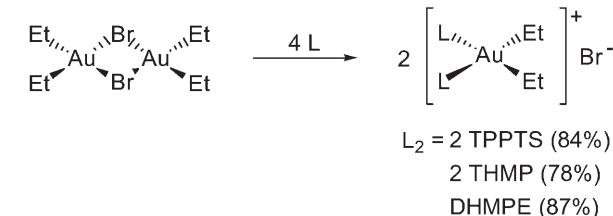
ドホスフィン金(III)錯体 *cis*- $AuMe_2IL$  ( $L = TPPMS, THMP$ ) の合成を行った。また、 $[AuMe_2I]_2$  と Au 当たり 1 当量の 1,2-ビス(ジヒドロキシメチルホスフィノ)エタン(DHMPE)との反応、もしくは 2 当量の TPPTS や THMP との反応により、カチオン性の *cis*-ジメチル金(III)錯体 *cis*- $[AuMe_2L_2]I$  ( $L_2 = 2$  TPPTS, 2 THMP, DHMPE) についても合成した(Scheme 15)。

Scheme 15



また、ジ- $\mu$ -プロモテトラエチル二金  $[AuEt_2Br]_2$  と Au 当たり 1 当量の DHMPE との反応により、カチオン性の *cis*-ジエチル {1,2-ビス(ジヒドロキシメチルホスフィノ)エタン} 金(III)錯体を合成した。TPPTS および THMP を配位子とするジエチル金(III)錯体の合成を同様にして試みたが、現在までのところ、単離には至っていない。しかしながら、D<sub>2</sub>O 中でジ- $\mu$ -プロモテトラエチル二金  $[AuEt_2Br]_2$  と Au 当たり 4 当量の THMP および TPPTS を D<sub>2</sub>O 中で反応させることにより、カチオン性の *cis*-ジエチルビスホスフィン金(III)錯体 *cis*- $[AuEt_2L_2]Br$  ( $L = TPPTS, THMP$ ) の生成を確認した。

Scheme 16

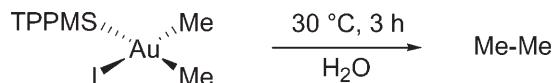


##### 4-2 水溶性ジアルキルハロゲノ金(III)錯体の還元的脱離反応

TPPMS を配位子とする *cis*-ジメチルヨードモノホスフィン金(III)錯体 *cis*- $AuMe_2I$ (TPPMS) では、水中 30 °Cにおいて容易に還元的脱離が進行し、3時間後にはエタンが定量的に生成した。この時、メタンの生成は全く見られな

かった。この事実から、水溶性ジメチル金(III)錯体では、水中においても金-炭素結合は加水分解されず、還元的脱離のみが進行したものと考えられる。

Scheme 17



また、この錯体はTHF、アセトニトリル、エタノール、DMSOなどのいくつかの有機溶媒に可溶である。そこで、これらの有機溶媒中での安定性について検討した結果、30°Cにおいて水に比べいずれの有機溶媒中においても、還元的脱離によるエタンの発生はほとんど見られなかった(図2)。水に比べてより大きな極性を有するN-メチルホルムアミド中で、還元的脱離がほとんど進行しなかつたことから、水による還元的脱離の促進効果は、水の高い極性によるものだけではないものと考えられる。

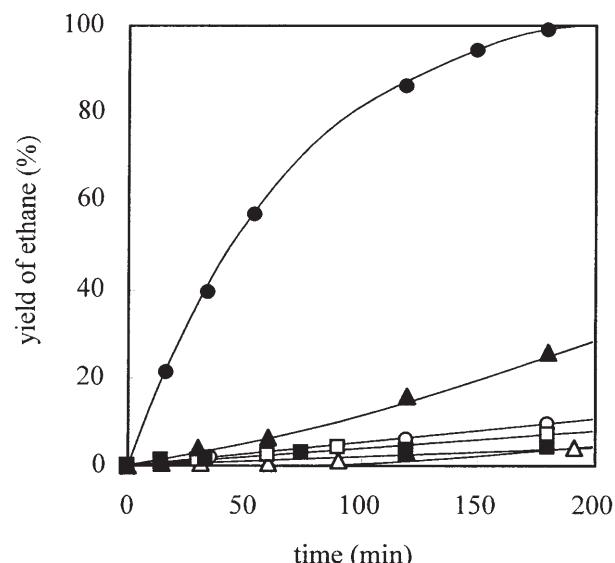
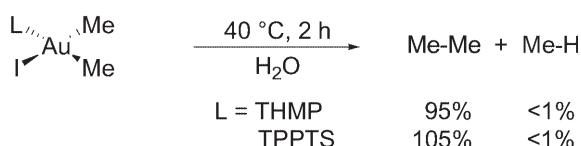


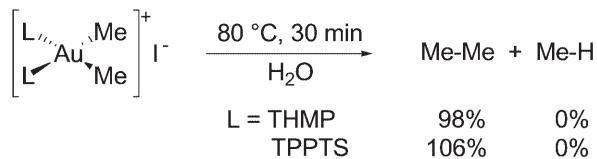
図2 *cis*-AuMe<sub>2</sub>(TPPMS)の熱分解によるエタンの発生量の経時変化: H<sub>2</sub>O (●)、THF(▲)、EtOH (■)、MeCN (○)、DMSO (△)および HCONHMe (□) 中での熱分解反応

同様に、TPPTSやTHMPを有する水溶性の中性およびカチオン性の*cis*-ジメチルヨードモノホスフィン金(III)錯体についても水中で還元的脱離が進行し、定量的にエタンが発生した。

Scheme 18

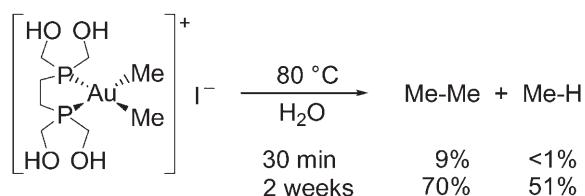


Scheme 19



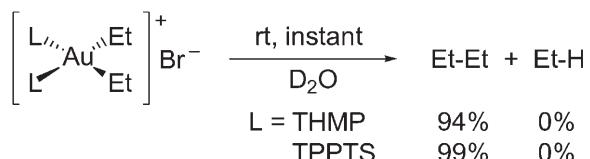
一方、DHMPEが配位したカチオン性ジメチル錯体*cis*-[AuMe<sub>2</sub> (DHMPE)] I<sup>-</sup>を水中で30分間80°Cで加熱したところ、ほとんど分解が進行しなかつたため、さらに加熱を続けると、2週間後には収率70/Au%でエタンの生成が確認された。この時、同時に金-炭素結合の加水分解によるメタンの発生(収率51/Au%)も確認された。

Scheme 20



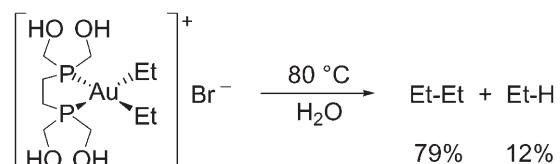
また、カチオン性のジエチルビスホスフィン錯体*cis*-[AuEt<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] Br (L = TPPTS, THMP)は、水中で室温下においても還元的脱離によるブタンの定量的な生成が確認された(それぞれ収率94%, 99%)。この時、β-水素脱離や金-炭素結合の加水分解によるエチレンやエタンの発生は確認されなかつた。なお、有機金(III)錯体ではβ-水素脱離が進行せず、還元的脱離が優先することは、有機溶媒中の熱分解反応において良く知られた事実である<sup>15)</sup>。

Scheme 21



これに対して、DHMPEが配位したカチオン性ジエチル錯体*cis*-[AuEt<sub>2</sub> (DHMPE)] Brの熱分解反応では、金-炭素結合の加水分解が併発し、エタンの発生も確認されたものの(収率12%)、主に還元的脱離によるブタンが生成した(収率79%)。

Scheme 22



#### 4-3 水中のジメチルハロゲノ金(III)錯体の還元的脱離

##### 反応の反応機構

水溶性ホスフィン配位子を有する水溶性有機金(III)錯体の還元的脱離の反応機構について検討した。TPPTSを配位子とする中性のジメチルヨードホスフィン金(III)錯体 *cis*-AuMe<sub>2</sub>I(TPPTS)と、カチオン性ビスホスフィン錯体 *cis*-[AuMe<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>]Iの水中、40°Cでの熱分解反応について比較を行った(図3)。その結果、カチオン性錯体 *cis*-[AuMe<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>]Iの熱分解反応は、モノホスフィン金(III)錯体に比べて遅かった。さらに、カチオン性錯体 *cis*-[AuMe<sub>2</sub>(TPPTS)<sub>2</sub>]Iの熱分解反応を5当量のTPPTS存在下で行うと、熱分解反応はほとんど進行せず、還元的脱離によるエタンの生成が極めて遅くなつた。また、中性のジメチルヨードホスフィン金(III)錯体 *cis*-AuMe<sub>2</sub>I(TPPTS)の場合には、ヨウ素イオンのイオン解離により還元的脱離が促進される可能性があるため、ヨウ化ナトリウムを5当量添加し反応を行うと、還元的脱離の反応速度の低下が見られた。

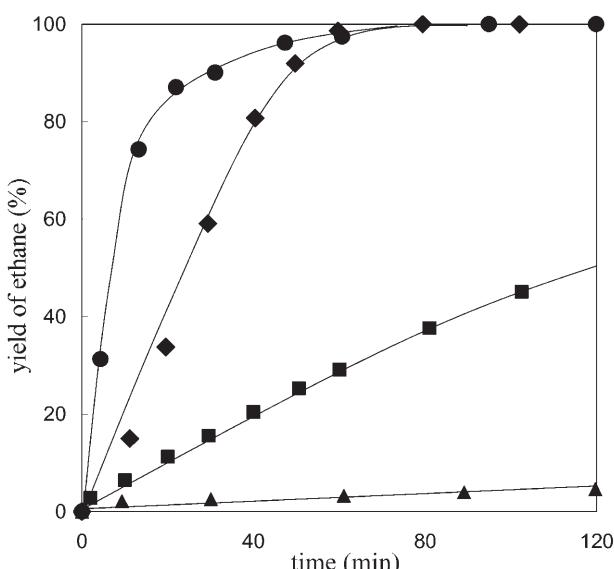
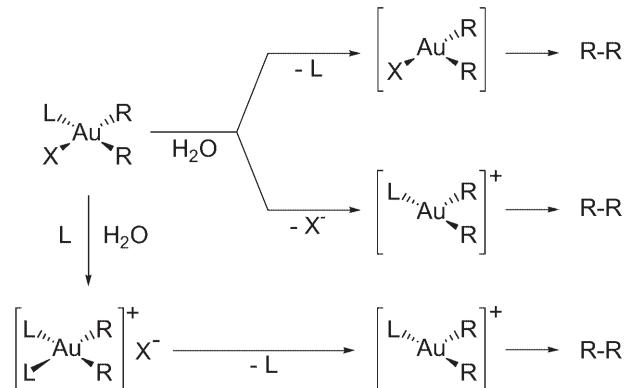


図3 ジメチル金錯体の熱分解によるエタンの発生量の経時変化  
 $\text{AuMe}_2\text{I}(\text{TPPTS}) : \text{NaI}/\text{Au} = 0$  (●), 6 (■),  $[\text{AuMe}_2(\text{TPPTS})_2]\text{I}$ :  
 $\text{TPPTS}/\text{Au} = 0$  (◆), 5 (▲)

以上の結果から、水溶性配位子を有するジメチル金(III)錯体の熱分解反応は、メチル基2つとヨウ素が配位した中性の3配位中間体[AuMe<sub>2</sub>I]およびメチル基2つとホスフィンが配位したカチオン性の3配位中間体[AuMe<sub>2</sub>(TPPTS)]<sup>+</sup>を経由して進行しているものと考えられる(Scheme 23)。

Scheme 23



以上のように、ジオルガノ金(III)錯体の還元的脱離反応が有機溶媒中に比べ、水中で極めて速く進行することが明らかとなった。3価の有機金錯体の還元的脱離が水中で促進されるというこの事実は、還元的脱離を素反応に含む触媒反応に対して、水を溶媒に用いることで、反応が効率的に進行しうることを示唆するものである。しかしながら、水中で還元的脱離が促進される理由を明らかにするためには、さらなる検討が必要である。

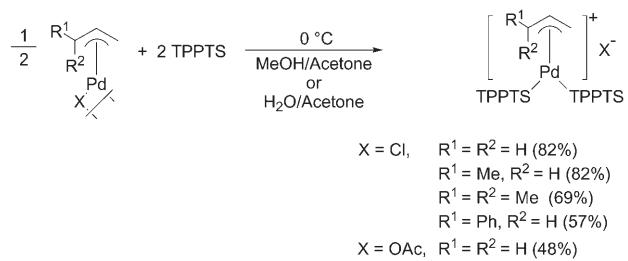
#### 5. 水溶性ホスフィン配位子を有するアリルパラジウム(II)錯体の合成<sup>11)</sup>

辻-Trost反応に総称されるパラジウム錯体による触媒的アリル化反応は、有機合成反応として広く用いられている<sup>17)</sup>。完全水中もしくは水／有機溶媒二相系でのアリル化反応についても報告されており、我々の研究グループにおいても水／有機溶媒二相系でのアリルアルコールによるアリル化反応について報告している<sup>16)</sup>。これらの反応における中間体として考えられるアリルパラジウム(II)錯体の合成や有機溶媒中の反応性についても広く研究が行われている。水溶性アリルパラジウム(II)錯体については、前述のように大島ら<sup>4b)</sup>やKuntzら<sup>4c)</sup>によりD<sub>2</sub>O中での水溶性 $\eta^3$ -アリルアリルパラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)(TPPTS)]X(X = Cl, OH)の生成が確認されている。本研究では、種々のアリルパラジウム(II)ダイマー錯体とTPPTSとの反応により、種々のアリル基やカウンターアニオンを有する中性およびカチオン性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体の合成と水中での安定性について検討した結果について紹介する<sup>11)</sup>。

## 5-1 水溶性ホスフィン配位子を有する水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウムの合成

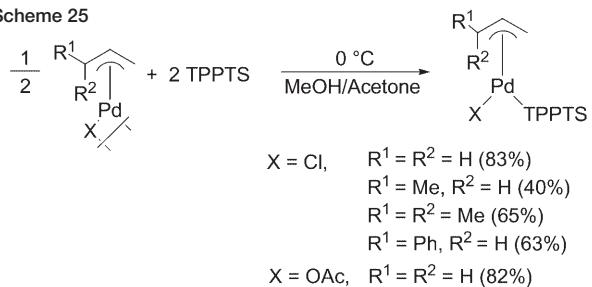
水中での $\eta^3$ -アリルパラジウム種の構造や反応性は、水中での触媒的アリル化と関連して非常に興味深い。特に塩基を必要としないチオールの触媒的アリル化<sup>17)</sup>は、原子利用効率も高く有用である。すでに水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム錯体の生成に関する報告はあるが、単離はされておらず、その反応性も明らかでない<sup>4c,d)</sup>。これに対して、我々はいくつかのアニオンを持つ水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム錯体を合成、単離し、若干の反応性を検討した。ビス( $\eta^3$ -アリル)ジ(μ-クロロ)二パラジウム[PdCl( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)]<sub>2</sub>とPd当たり2当量のTPPTSとをメタノール／アセトンもしくは水／アセトン混合溶媒中に溶解し、0°Cで5時間攪拌した。この反応溶液を減圧下濃縮し、得られた白色粉末をメタノール／アセトン系で再沈殿することにより、粉末状の白色固体として、水溶性( $\eta^3$ -アリル)ビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)(TPPTS)<sub>2</sub>]Clを収率82%で単離した。同様にして、種々のアリル基やカウンターアニオン(X)を有するパラジウムダイマー錯体[PdCl( $\eta^3$ -CH<sub>2</sub>CHCR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)]<sub>2</sub>とPd当たり2当量のTPPTSとの反応により、種々の水溶性( $\eta^3$ -アリル)ビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -CH<sub>2</sub>CHCR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)(TPPTS)<sub>2</sub>]Xを合成・単離した。これらの錯体の同定は<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR、<sup>1</sup>H NMR、IRおよび元素分析等により行った。

Scheme 24



また、ビス( $\eta^3$ -アリル)ジ(μ-クロロ)二パラジウム[PdCl( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)]<sub>2</sub>とPd当たり1当量のTPPTSとの反応により、粉末状の白色固体として、水溶性( $\eta^3$ -アリル)モノ(TPPTS)パラジウム(II)錯体Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)Cl(TPPTS)を収率83%で単離した。同様にして、種々の水溶性( $\eta^3$ -アリル)モノ(TPPTS)パラジウム(II)錯体Pd( $\eta^3$ -CH<sub>2</sub>CHCR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)X(TPPTS)を合成した。これらの錯体の同定も<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR、<sup>1</sup>H NMR、IRおよび元素分析等により行った。

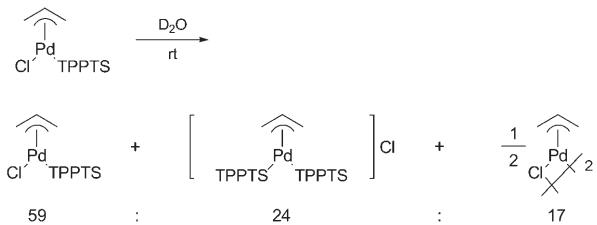
Scheme 25



## 5-2 水溶性ホスフィン配位子を有するアリルパラジウム(II)錯体の水中での挙動

水溶性 $\eta^3$ -アリルビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体をD<sub>2</sub>Oに溶解し、<sup>1</sup>H NMR、<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMRを測定した。その結果、 $\eta^3$ -アリルビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体は水中で安定であり、加水分解反応はほとんど進行しなかった。一方、 $\eta^3$ -アリル(TPPTS)パラジウム(II)錯体をD<sub>2</sub>Oに溶解し、<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}および<sup>1</sup>H NMRを測定したところ、 $\eta^3$ -アリル(TPPTS)パラジウム(II)錯体に帰属されるシグナルとともに、 $\eta^3$ -アリルビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体とビス( $\eta^3$ -アリル)ジ(μ-クロロ)二パラジウム錯体に帰属されるシグナルも観測された。この結果は、 $\eta^3$ -アリル(TPPTS)パラジウム(II)錯体は水中で不均化し、 $\eta^3$ -アリルビス(TPPTS)パラジウム(II)錯体とビス( $\eta^3$ -アリル)ジ(μ-クロロ)二パラジウム錯体との混合物になることを意味している。

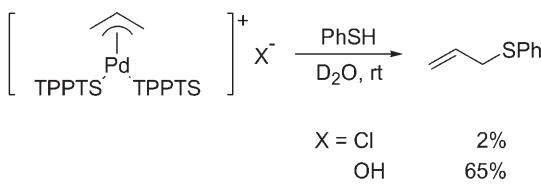
Scheme 26



水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体と求核剤との反応についても検討した。求核剤として、ベンゼンチオールを用いて反応を行ったところ、カウンターアニオンにCl<sup>-</sup>を有する水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体との反応では、対応するアリル化体はほとんど得られなかった。これに対して、D<sub>2</sub>O中、ビス( $\eta^3$ -アリル)ジ(μ-ヒドロキシ)二パラジウム[Pd(OH)( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)]<sub>2</sub>とPd当たり2等量のTPPTSから調製した水溶性 $\eta^3$ -アリルパラジウム(II)錯体[Pd( $\eta^3$ -C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>)(TPPTS)<sub>2</sub>]OH(NMR収率81%)との反応では、アリルフェニルスルフideが生成した。このアリル化反応では、カウンターアニオンであるOH<sup>-</sup>がチオールと反応することにより、チオラトアニオンが効率的に生成し、その結果アリ

ル化が効率的に進行したと考えられる。この結果は、アリルアルコールを用いた触媒的アリル化反応においても、ヒドロキシドアニオンが重要な役割を果たしていることを示唆している<sup>18)</sup>。

Scheme 27



## 6.まとめ

水溶性のd<sup>8</sup>の有機遷移金属錯体の合成と水中での反応性に関する研究を紹介した。水溶性ジエチル白金(II)錯体を水中で加熱することにより、β-水素脱離と還元的脱離を伴ったエチル基の不均化が進行し、エタンとエチレンが発生した。一方、ジメチルパラジウム(II)錯体では、オレフィンを添加することにより、水中においても選択的に還元的脱離が進行した。ジメチルおよびジエチル金(II)錯体においても、水中での還元的脱離反応が進行し、ジメチル金(III)錯体ではその還元的脱離反応が、有機溶媒中に比べて水中で極めて速く進行することが明らかとなった。以上のように、水中でも有機金属錯体特有のβ-水素脱離や還元的脱離は進行することが明らかとなった。中でも、ジメチル金(II)錯体の還元的脱離反応が水中において速やかに進行するという事実は、水が単なる有機溶媒の代替溶媒としてのみならず、反応の促進効果をもたらす極めて有用な溶媒となる可能性を示唆するものである。

最後に、本研究は、新エネルギー・産業技術開発機構(NEDO)、(財)化学技術戦略推進機構および文部科学省科学研究費の支援を受けて行われたものであり、ここに記して感謝します。また、本研究に精力的に取り組んでいただいた院生・学生諸氏に謹んで感謝します。

## 参考文献

- 1) a) "Aqueous-Phase Organometallic Catalysis, Concepts and Applications," ed. by B. Cornils and W. A. Herrmann, Wiley-VCH, Weinheim (1998) and references cited therein. b) "Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds," ed. by B. Cornils and W. A. Herrmann, VCH, Weinheim, 1996, Vols. 1 and 2. c) S. Ogo, Y. Takebe, K. Uehara, T. Yamazaki, H. Nakai, W. Hidetaka; Y. Watanabe, S. Fukuzumi, *Organometallics*, **25**, 331 (2006) and references cited therein.
- 2) 小峰伸之、平野雅文、小宮三四郎, *The Chemical Times*, **2**, 2 (2006).
- 3) 水溶性有機白金錯体:a) J. E. Ellis, K. N. Harrison, P. T. Hoye, A. G. Orpen, P. G. Pringle, and M. B. Smith, *Inorg. Chem.*, **31**, 3026 (1992). b) D. W. Lucey, D. S. Helfer, and J. D. Atwood, *Organometallics*, **22**, 826 (2003). c) D. S. Helfer, D. S. Phaho, and J. D. Atwood, *Organometallics*, **25**, 410 (2006).
- 4) 水溶性有機パラジウム錯体:a) F. Monteil and P. Kalck, *J. Organomet. Chem.*, **482**, 45 (1994). b) G. Verpu, F. Schanssema, and R. A. Sheldon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 804 (2000). c) H. Kinoshita, H. Shinokubo, K. Oshima, *Org. Lett.*, **8**, 4085 (2004). d) E. Kuntz, A. Amgoune, C. Lucas, and G. Godard, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **244**, 124 (2006).
- 5) 水溶性有機イリジウム錯体:a) D. P. Aterniti and J. D. Atwood, *Chem. Commun.*, **1997**, 1665. b) D. P. Paterniti, J. D. Atwood, *Polyhedron*, **17**, 1177 (1998). c) A. A. Bowden, J. L. Kubicka, and J. D. Atwood, *Inorg. React. Mech.*, **3**, 249 (2001).
- 6) 水溶性有機金錯体:F. Mohr, E. Cerrada, and M. Laguna, *Organometallics*, **25**, 644 (2006) and references cited therein.
- 7) N. Komine, A. Sako, S. Hirahara, M. Hirano, and S. Komiya, *Chem. Lett.*, **34**, 246 (2005).
- 8) a) S. Komiya, M. Ikuine, N. Komine, and M. Hirano, *Chem. Lett.*, **2002**, 72. b) S. Komiya, M. Ikuine, N. Komine, and M. Hirano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 183 (2003).
- 9) a) 小峰伸之・生稻美保・佐藤克磨・平野雅文・小宮三四郎、第49回有機金属化学討論会、PA104、神戸(2002). b) 関孝紀・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、第96回触媒討論会、4K02、熊本(2005). c) 関孝紀・森杏奈・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、日本化学会第86春季年会、2F4-42、船橋(2006). d) 関孝紀・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、第96回触媒討論会、4J01、富山(2006).
- 10) N. Komine, K. Ichikawa, A. Mori, M. Hirano, and S. Komiya, *Chem. Lett.*, **34**, 1704 (2005).
- 11) a) 佐藤克磨・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、第83春季年会、4F5-31、東京(2003). b) 佐藤克磨・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、第92回触媒討論会、3E28、徳島(2003). c) 小峰伸之・佐藤克磨・平野雅文・小宮三四郎、第54回錯体化学討論会、3Aa03、熊本(2004). d) 佐古明理・石川弘樹・小峰伸之・平野雅文・小宮三四郎、第53回有機金属化学討論会、PA223、大阪(2006).
- 12) a) G. M. Whitesides, *Pure & Appl. Chem.*, **53**, 287 (1981). b) T. J. McCarthy, R. G. Nuzzo, and G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 1676, 3396, 3404 (1981). c) S. Komiya, Y. Morimoto, A. Yamamoto, and T. Yamamoto, *Organometallics*, **1**, 1528 (1982).
- 13) a) A. Gille and J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 4933 (1980). b) F. Ozawa, T. Ito, Y. Nakamura, and A. Yamamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 1868 (1981).
- 14) a) T. Yamamoto, A. Yamamoto, and S. Ikeda, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 3350 (1971). b) J. Lau and R. Sustmann, *Tetrahedron Lett.*, **26**, 4907 (1985). c) R. Sustmann and J. Lau, *Chem. Ber.*, **119**, 2531 (1986). d) R. Sustmann, J. Lau, and Z. Manfred, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **105**, 356 (1986).
- 15) a) C. F. Shaw, III, J. W. Lundein, R. S. Tobias, and R. Stuart, *J. Organomet. Chem.*, **51**, 365 (1973). b) P. L. Kuch and R. S. Tobias, *J. Organomet. Chem.*, **122**, 429 (1976). c) S. Komiya, T. A. Albright, R. Hoffmann, and J. K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 7255 (1976). d) S. Komiya and J. K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 7599 (1976). e) S. Komiya and A. Shibue, *Organometallics*, **4**, 684 (1985). f) S. Komiya, S. Ozaki, and A. Shibue, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1986**, 1555. g) S. Komiya, A. Shibue, and S. Ozaki, *J. Organomet. Chem.*, **319**, C31 (1987).
- 16) J. Tsuji, "Palladium Reagents and Catalysts," Wiley, Chichester (1995).
- 17) a) C. Goux, P. Lhoste, and D. Sinou, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 8099 (1992). b) M. Moreno-Manas, R. Pleixats, and M. Villarroyo, *Tetrahedron*, **49**, 1457 (1993). c) C. Goux, P. Lhoste, and D. Sinou, *Tetrahedron*, **50**, 10321 (1994). d) M. Frank and H.-J. Gais, *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 3353 (1998). e) T. Kondo, Y. Morisaki, S. Uenoyama, K. Wada, and T. Mitsudo, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 8657 (1999). f) K. Tsutsumi, T. Yabukami, K. Fujimoto, T. Kawase, T. Morimoto, and K. Kakiuchi, *Organometallics*, **22**, 2996 (2003).
- 18) 小宮ら、投稿中

# フェニルボロン酸薄膜を用いる電気化学的および光学的糖センサー

*Electrochemical and Optical Sugar Sensors Using Phenylboronic Acid Films*

国立大学法人 東北大学 大学院薬学研究科 助手 江川 祐哉  
YUYA EGAWA (Assistant Professor)

大學生 高橋 成周  
SHIGEHIRO TAKAHASHI (Graduate Student)

教授 安斎 順一  
JUN-ICHI ANZAI (Professor)

*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University*

## 1. はじめに

糖類の検出は重要な課題であり、これまでに種々の糖センサーが開発されている。電気化学的な方法を用いるセンサーとしては、電極に酵素を固定化したセンサーが開発され、すでに製品が市販されて血糖や尿糖の検出に利用されている。しかし、酵素を用いるために製品の規格化が必ずしも容易ではないことや使用寿命が十分ではないことなど、さらに克服すべき問題点もある。

このような問題点を解決する一つの方策は、合成物質を用いるセンサーを開発することであると考え、われわれはフェニルボロン酸の利用を検討している。以下に述べるように、フェニルボロン酸はジオール構造と強く結合するので、糖を結合することができる。このことを利用して、電極表面にフェニルボロン酸単分子膜を形成した電気化学センサーおよびフェニルボロン酸色素を交互累積膜とした光学センサーの開発を検討してきた。本稿では、これらの研究結果の一端を紹介する。

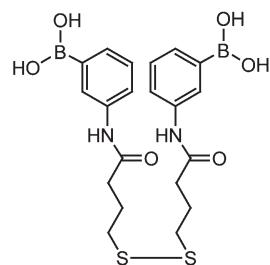
## 2. フェニルボロン酸単分子膜修飾電極の糖応答性

フェニルボロン酸誘導体は、これまで溶液中の糖検出試薬として使われてきた。また、フェニルボロン酸誘導体を電極や光学素子に固定化して劣化しない糖センサーの開発についても研究が行われている<sup>1)</sup>。われわれは、金電極にフェニルボロン酸誘導体単分子膜を修飾して、電気化学糖センサーを作製した<sup>2)</sup>。

### 2-1 フェニルボロン酸単分子膜修飾電極の作製と評価

図1に、使用したフェニルボロン酸誘導体、ジチオビス(4-アミノフェニルボロン酸) (DTBA-PBA) を示した。金電極は、アルミナ研磨後、5分間の超音波洗浄を2回行い、0.5 M硫酸中で0.2 ~ 1.5 V、掃引速度 100 mV/sで20分間連続掃引して清浄化した。その後、清浄化した金電極をテトラヒドロフラン:メタノール=9:1溶液にて調製した0.5 mg/mL DTBA-PBA溶液に8時間浸してフェニルボロン酸単分子膜修飾電極を作製した。

作製した修飾電極の表面分子密度は $5.1 \times 10^{-10}$  mM·cm<sup>-2</sup>であることがわかり、DTBA-PBAがほぼ単分子膜を形成していることがわかった。



DTBA-PBA

図1 フェニルボロン酸誘導体(DTBA-PBA)の化学構造

### 2-2 フェニルボロン酸単分子膜修飾電極上でのフェリシアン酸イオンの電極応答

フェニルボロン酸は、塩基性でホウ素原子にOH<sup>-</sup>イオンが配位してアニオン型となることが知られている(図2)。そのため、溶液のpHに依存して電極表面の負電荷を持つアニオン型フェニルボロン酸密度が変化するので、負電荷を持つフェリシアン酸イオンの電極応答が変化する。

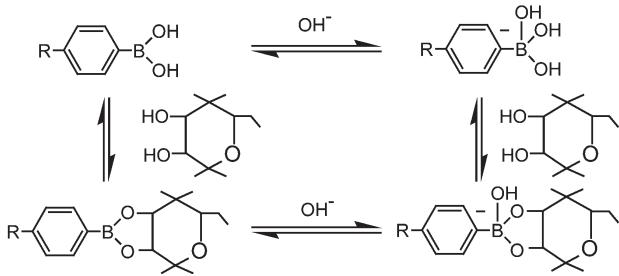
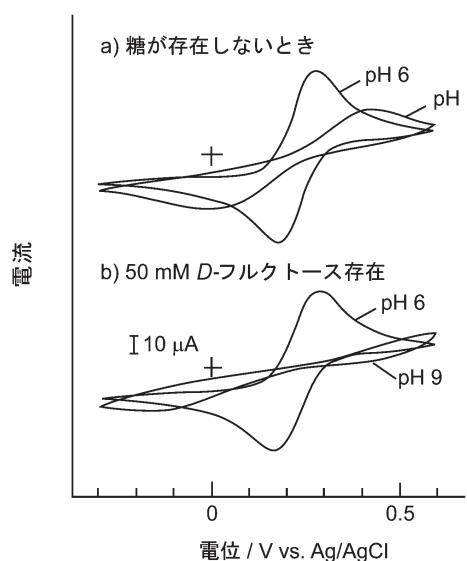
図2 フェニルボロン酸誘導体への糖およびOH<sup>-</sup>イオンの結合

図3に、DTBA-PBA単分子膜修飾電極を用いたときの、50 mM D-フルクトースが存在するときとしないときのpH 6および9におけるフェリシアン酸イオンのボルタモグラムを示した。D-フルクトースはフェニルボロン酸と強く結合することが知られている<sup>3)</sup>。図3aに示すように、D-フルクトース非存在時には、pH 6においてピーク間電位差がおよそ80 mVで、ほぼ可逆的なボルタモグラムが得られた。一方pH 9においては、応答が著しく減少してピーク間電位差がおよそ430 mVを示した。これは、pH 9では電極に修飾されたDTBA-PBAにOH<sup>-</sup>イオンが配位して電極表面が負電荷を持つため、フェリシアン酸イオンが静電的に反発して応答が阻害されたためである。同様の実験を50 mM D-フルクトース存在下で測定したところ、pH 6ではほぼ同様のボルタモグラムが得られたが、pH 9ではD-フルクトース非存在時と比較すると、フェリシアン酸の応答が大きく阻害されることがわかった(図3b)。これは、フェニルボロン酸とD-フルクトースが結合することによって

図3 DTBA-PBA単分子膜修飾電極の応答性。  
a) 糖が存在しないとき, b) 50 mM D-フルクトースが存在するとき

OH<sup>-</sup>イオンの配位が促進されて電極表面の負電荷密度が増加することによって、フェリシアン酸イオンの応答が著しく抑制されたためである(図4)。

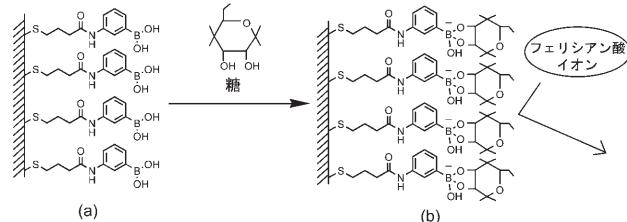


図4 DTBA-PBA単分子膜修飾電極(a)への糖の結合とフェリシアン酸イオンの電極応答の妨害(b)

### 2-3 フェニルボロン酸単分子膜修飾電極のフェリシアン酸イオンに対する応答へのpHと糖の影響

DTBA-PBA単分子膜修飾電極のフェリシアン酸イオンに対する応答電流( $i_p$ )のpH依存性を調べた。その結果、D-フルクトースの有無にかかわらず酸性度が増すと $i_p$ が増加することがわかった。また中性付近においては、50 mM D-フルクトース存在下において $i_p$ の遷移曲線が酸性側にシフトすることが確認できた。一般にフェニルボロン酸は糖と結合すると $pK_a$ が小さくなることが知られており、電極表面に固定化されたDTBA-PBAでも同様の現象が起こっていることがわかった。

電極に固定化されたフェニルボロン酸の見かけの $pK_a$ は、負電荷を持ったフェニルボロン酸濃度を[B<sup>-</sup>]、電荷を持たないフェニルボロン酸濃度を[B]として酸塩基平衡を考慮すると(1)式と表すことができる。

$$pK_a = \text{pH} + \log ([B^-]/[B]) \quad (1)$$

また、各pHにおける $i_p$ は、電極の単分子膜が負電荷を持った部分と中性の部分に覆われている状態での酸化還元反応の和と考えると(2)式で与えられる。

$$i = i_B [B]/([B]+[B^-]) + i_{B^-} [B^-]/([B]+[B^-]) \quad (2)$$

ここで*i*は、各pHにおいて記録された*i<sub>p</sub>*であり、*i<sub>B</sub>*および*i<sub>B^-</sub>*は単分子膜のフェニルボロン酸がすべて電気的に中性のときおよび負電荷を持つときの*i<sub>p</sub>*をそれぞれ表している。結果として、(1)式および(2)式から(3)式を得ることができる。

$$pK_a = pH + \log [(i_B - i) / (i - i_{B^-})] \quad (3)$$

実験結果を(3)式に基づいて解析することにより単分子膜のp<sub>K<sub>a</sub></sub>を決定した(表1)<sup>2)</sup>。

表1 DTBA-PBA単分子膜および溶液中でのp<sub>K<sub>a</sub></sub>の比較

D-フルクトース/mM	単分子膜 <sup>a)</sup>	溶液 <sup>b)</sup>
0	8.0 ± 0.2	8.6 ± 0.1
50	7.1 ± 0.1	6.0 ± 0.1
100	6.4 ± 0.1	5.7 ± 0.1

a) サイクリックボルタノメトリーより決定。

b) メタノール:水(1:9)溶液中で紫外可視吸収スペクトルより決定。

## 2-4 フェニルボロン酸単分子膜修飾電極の糖応答性

図5に、DTBA-PBA単分子膜修飾電極を用いて0.1 M KClおよび5 mM フェリシアン酸カリウムを含有する緩衝液(pH 7.6)にD-フルクトースを添加したときの、ボルタモグラムを示した。D-フルクトースが存在していない時はほぼ可逆的なボルタモグラムが得られた。僅かに幅広いボルタモグラムが得られたのは、pH 7.6において単分子膜のフェニルボロン酸が部分的に負電荷を持っているため

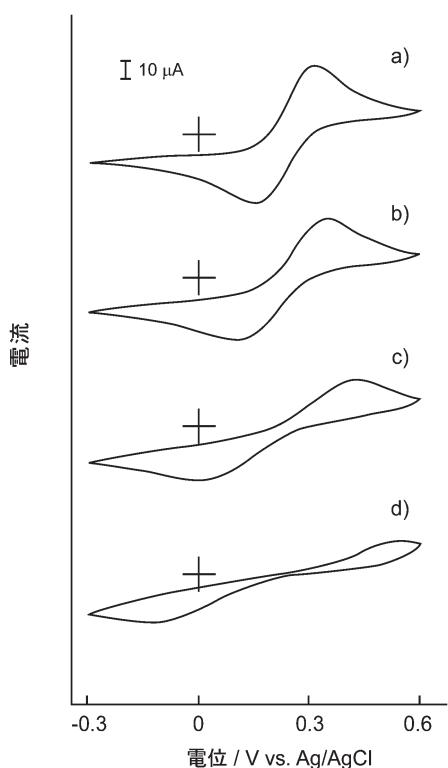


図5 D-フルクトース共存下におけるDT BA-PBA単分子膜修飾電極のフェリシアン酸イオンに対する応答(pH 7.6)。  
D-フルクトース: a) 0 mM, b) 1 mM, c) 10 mM, d) 100 mM.

と考えられる。一方、D-フルクトース存在下で測定したところ、D-フルクトース濃度依存的にボルタモグラムの形が変化して電極応答が抑制されることが確認できた。これは、pH 7.6においてD-フルクトースが電極表面のフェニルボロン酸と結合して応答を抑制するためである。

図6に、DTBA-PBA単分子膜修飾電極の*i<sub>p</sub>*と試料中のD-フルクトースおよびD-グルコースの濃度の関係を示した。この結果から、D-フルクトースでは0.3~30 mM、D-グルコースでは3~300 mM程度の測定ができることがわかった。

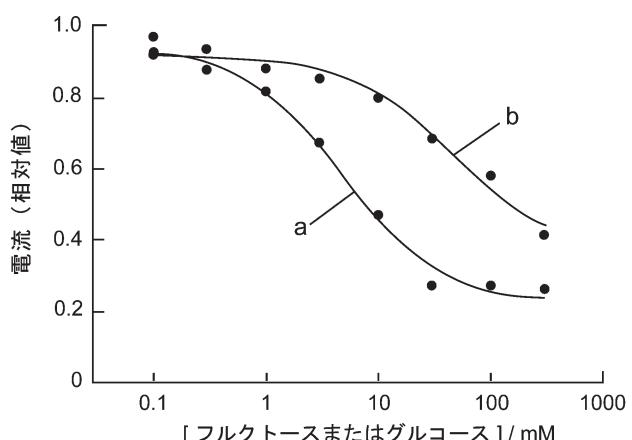


図6 D-フルクトースおよびD-グルコースに対する検量線(pH 7.6)。  
a) D-フルクトース, b) D-グルコース

## 3. フェニルボロン酸交互累積膜による光学的糖センサー

すでに述べたようにフェニルボロン酸誘導体は糖と結合するが、結合するだけでは糖センサーとして利用することはできない。糖認識素子として利用するには、フェニルボロン酸誘導体と糖が結合することによってなんらかのシグナル変化が引き起こされ、それを読み取る必要がある。このような研究が開始された当初、フェニルボロン酸誘導体による糖認識は円二色性スペクトル変化に基づくものであった。その後、蛍光を指標とするフェニルボロン酸誘導体についても優れた成果が得られている<sup>4)</sup>。しかし、われわれの最も身近で識別しやすい「色」を指標とするフェニルボロン酸の研究は、他の手法に比べて進展が遅れていた。その理由は色調の変化、すなわちシグナル変化が比較的小さいことによるものと推測される。しかし近年になり、優れた色調変化を示す化合物の合成が報告されている(図7、色素1)<sup>5)</sup>。これらの化合物を

用いることで目視での簡易的な糖検出が可能となった。われわれはこれら色調変化を示すフェニルボロン酸誘導体の更なる展開として、光学的糖センサーへの利用を試みた。センサーの開発では、検出素子を検出器表面へ固定化する工程が最も重要である。これは従来のバイオセンサー開発でも、酵素を電極表面に固定化したことが開発へのブレイクスルーとなつたことからもうかがえる。われわれは光学検出器表面に色素1を固定化することを目的とし、交互累積膜法の利用を試みた<sup>6)</sup>。



図7 色素1とポリアリルアミンの化学構造

### 3-1 交互累積膜法

高分子電解質溶液に固体基板を浸すと、高分子が基板上へ自発的に吸着する。このとき、一種類の高分子電解質溶液に浸しただけでは高分子は単層吸着するのみである。しかし、二種類の高分子電解質溶液を用意し、交互に基板を浸すと高分子が何層にも積み上げられる。これが高分子電解質交互累積膜法と呼ばれる手法である。この手法は高分子機能を固体基板表面で増幅することが可能であるため、センサーの感度増幅などで利用価値が高い。一般的に累積膜の形成の駆動力となるのは静電的相互作用であるため、反対の電荷を持つ二種類の高分子電解質溶液が用いられる。また近年では、高分子同士だけでなく様々な材料で交互累積膜法が作製され、高分子と低分子の組み合わせでも交互累積膜の作製が可能と報告されている。このとき低分子は複数の電荷を持つことが必要であり、電荷の中和と逆転が低分子と高分子の間で起こる。この手法は低分子の機能をそのまま薄膜中に導入できる利点がある。先に述べた色素1はスルホン酸残基由來の二つの負電荷を持つ。そのため、正電荷を持つ高分子と組み合わせることで、交互累積膜法に適用できると考えられる。われわれは、色素1とポリアリルアミン(PAA)を用いて交互累積膜の作製を試みた(図7、8)。

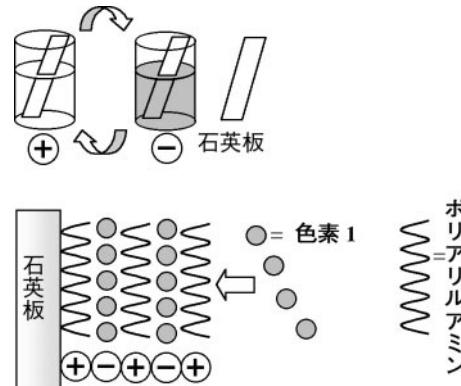


図8 交互累積膜作製方法と色素1含有薄膜の模式図

### 3-2 色素1含有薄膜の作製

固体基板として石英板を使用した。PAAとの親和性を考慮し、石英板はジクロロジメチルシランによる疎水化を行ってから使用した。PAA溶液(0.10 mg/mL PAA、150 mM NaCl水溶液)と色素1溶液(0.20 mM 色素1、150 mM NaCl水溶液)に疎水化石英板を交互に浸したときの石英板の紫外可視吸収スペクトルを図9に示す。積層操作数に依存して色素1由來の吸収が増加したことから、交互累積膜法により色素1含有薄膜を作製できることが確認された。

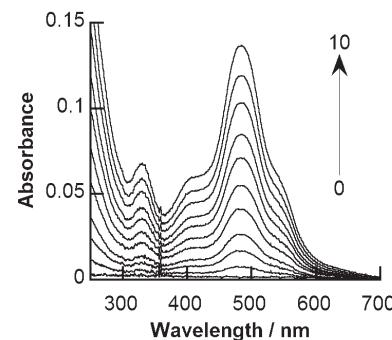


図9 交互累積膜修飾石英板の紫外可視吸収スペクトル、(PAA/色素1)<sub>n</sub>PAA (n = 0-10), PAA積層後のスペクトルを表示

### 3-3 光学的糖センサーとしての評価

3-2で調製した(PAA/色素1)<sub>10</sub>PAA(PAAを11回、色素1を10回積層したもの)について糖応答性を調査した。pH 7.0リン酸緩衝液中に色素1含有薄膜を浸し、ここに糖を添加した。図10はD-フルクトースを添加したときのスペクトル変化である。D-フルクトースの濃度が増えるに連れて、480 nm～600 nm付近の吸収スペクトルの増加が見られた。スペクトル変化は比較的小さいが、明確な濃度依存性も確認された。図11は460 nmと542 nmの吸光

度の比を糖濃度に対してプロットしたものである。血糖値の測定対象となるD-グルコースに対しても濃度依存的な応答が確認された。以上から色素1含有薄膜は糖濃度に応じて吸収スペクトルが変化し、光学的糖センサーに成りうる可能性が示された。

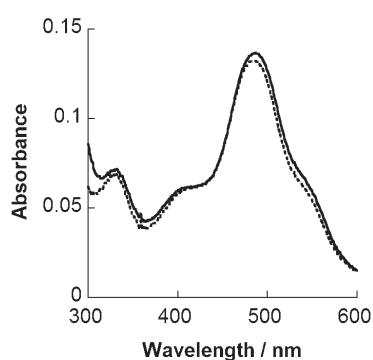


図10 (PAA/色素1)<sub>10</sub>PAA修飾石英板の紫外可視吸収スペクトル、破線:糖が存在しないとき、実線:D-フルクトース 92 mM

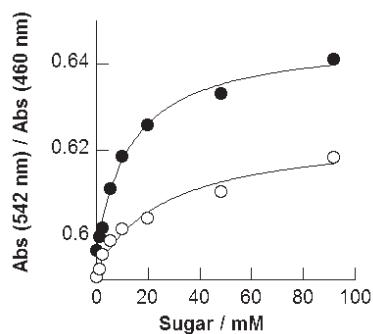


図11 吸光度比の糖濃度に対するプロット。●:D-フルクトース、○:D-グルコース

#### 4. まとめ

以上のように、フェニルボロン酸誘導体を電極表面に単分子膜として被覆すると、糖を検出することのできる電気化学センサーとなることがわかった。また、フェニルボロン酸誘導体のアニオン性色素(色素1)を交互累積膜とすると色調変化を利用する糖センサーとして利用できることが明らかになった。しかし、糖に対する選択性や出力信号の感度など改善しなければならない課題は残っている。今後さらに高性能の糖センサーの開発が期待される。

#### 参考文献

- 1) a) C. J. Davis, P. T. Lewis, M. E. McCarroll, M.W. Read, R. Cueto, R. M. Strongin, *Org. Lett.*, **1**, 331 (1999). b) S. Gao, W. Wang, B. Wang, *Bioorg. Chem.*, **29**, 308 (2001). c) T. Kimura, M. Kakeuchi, T. Nagasaki, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 559 (1995). d) M. Lee, T. Kim, K. Kim, J. Kim, M. Choi, H. Choi, K. Koh, *Anal. Biochem.*, **310**, 163 (2002).
- 2) a) S. Takahashi, Y. Kashiwagi, T. Hoshi, J. Anzai, *Anal. Sci.*, **20**, 757 (2004). b) S. Takahashi, J. Anzai, *Langmuir*, **21**, 5102 (2005).
- 3) a) G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron*, **58**, 5291 (2002). b) J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter, B. Wang, *Tetrahedron*, **60**, 11205 (2004).
- 4) S. Shinkai, M. Takeuchi, *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1250 (2004).
- 5) N. DiCesare, JR. Lakowicz, *Org. Lett.*, **3**, 3891 (2001).
- 6) 江川祐哉, 安斎順一, 日本薬学会第126年会要旨集, P28[R] pm-153 (2006).

# MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）をめぐる混乱と新しいMRSAの概念“BIVR”

The confusion for MRSA (methicillin resistant Staphylococcus aureus) and unprecedented type of MRSA "BIVR" ( $\beta$ -lactam antibiotic induced-vancomycin resistant MRSA)

北里研究所抗感染症薬研究センター センター長/医学博士 花木 秀明

Hideaki Hanaki Ph.D.

Kitasato Research Center for Anti-infection Drugs

関東化学株式会社 ライフサイエンス部 久保 亮一

Ryoichi Kubo

Life Science Dept.Kanto Chemical Co.,Inc

## 1. はじめに

MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）は、耐性を獲得しやすい多様性を有す病原菌であり、その耐性度も様々である。また、従来は院内感染型であったが、最近は市中感染型MRSAも散見されるようになっている。この院内感染型のMRSAと市中感染型のMRSAはmecの遺伝型も耐性度も異なっているため、耐性度を表すMRSA、感染場所を表すMRSA、疫学的を表すMRSA等に関する言葉が散乱しあじめており、医療専門家の間でも混乱が起きている。

そこで本稿では、こうした薬剤耐性の黄色ブドウ球菌をめぐる問題を整理するとともに、どのような耐性黄色ブドウ球菌が新たな脅威に成り得るかを概説してみた。

## 2. 黄色ブドウ球菌の進化

1930年代の黄色ブドウ球菌に耐性遺伝子はない。不必要的抗菌薬のプレッシャーがないため、耐性を獲得する必要がなかったためである。1940年にペニシリンが実用化されるが、その翌年1941年にはペニシリナーゼ産生菌が出現している。抗菌薬プレッシャーによる耐性遺伝子の獲得である。さらに、1960年にペニシリナーゼに安定なメチシリンが市販されるが、これもその翌年には耐性菌が検出されている。世界で初めてのmecA遺伝子を保有したMRSAの出現である。このmecAを獲得したMRSAは、現在のように全ての $\beta$ -ラクタム薬に耐性を示すわけではなく、グラム陽性菌に活性の強い抗菌薬には感受性を示していた。現在のMRSA

は、長年の $\beta$ -ラクタム薬による抗菌薬プレッシャーで高度耐性化が進行した結果であり、さらにVCM（バンコマイシン）に偏った治療によって、VCMに抵抗性を有すMRSAまで出現してきている。

## 3. MRSAの多様性

MRSAは時代の流れ、抗菌薬使用状況と共に進化し続けている。この進化はMRSAの多様性を如実に表しているものであり、その多様性から様々な名称がつけられている。

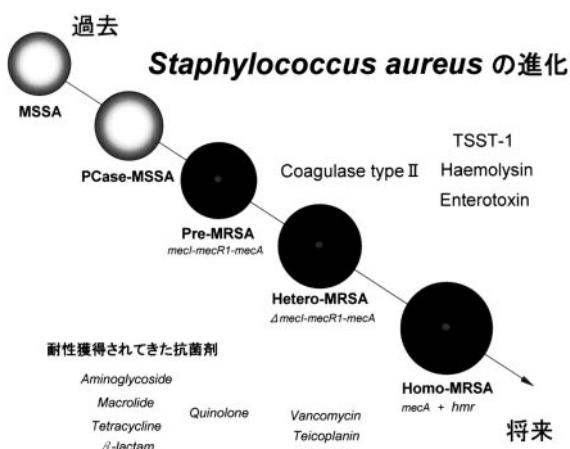


図1 MRSAの変遷

### 3-1 Pre-MRSA : *mecI* 正常

Pre-MRSAは、*mec*領域を獲得したMRSAであり、耐性遺伝子(*mecA*:PBP2'(penicillin-binding protein 2')の構造遺伝子)を調節する制御遺伝子(*mecI*:抑制遺伝子と*mecR*:誘導遺伝子)を完全な形で保有している。*mecI*は*mecA*の読み取りを強力に抑制しており、この遺伝子が

存在すると *mecA* は読み取られず、その産物である耐性を発揮する PBP2' の产生ができない(図1)。PBP2' が产生されなければ、もしくはその产生に長い時間を必要とするなら、グラム陽性菌に活性の強い抗菌薬は感受性を示すことになる<sup>1)</sup>。

### 3-2 Hetero-MRSA : *mecI* 機能不全

Hetero-MRSA は、Pre-MRSA から  $10^6$  個に 1 個以上の頻度で出現する *mecI* が機能不全(変異や脱落)に陥った MRSA である。*mecI* が機能しないため、*mecA* は構成的に読み取られ、PBP2' は常時產生されている状態になる(図1)。Pre-MRSA の感受性は、ほとんどの  $\beta$ -ラクタム薬に中程度耐性(臨床では無効)を示す<sup>1)</sup>。

### 3-3 Homo-MRSA : *hmr* 遺伝子

Homo-MRSA は、*mec* 以外の耐性遺伝子が発現した hetero-MRSA である。その遺伝子の一つとして *hmr* 遺伝子が検出されている(図1)。また、何らかの理由によって PBP2' を過剰に产生する MRSA も高度耐性を示す<sup>1)</sup>。

### 3-4 VRSA : バンコマイシンMIC値 $\geq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$

VRSA は、VCM 耐性の黄色ブドウ球菌 (Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: VRSA) を意味している。今まで検出されている耐性菌は 5 株(2002 年 Michigan と Pennsylvania で各 1 株<sup>2)3)</sup>、2003 年 New York で 1 株<sup>4)</sup>、2005 年に 2 株) は全て *mecA* を保有し、アメリカでのみ検出されている。この MRSA は、VCM 耐性腸球菌 (VRE) の VCM 耐性遺伝子 (*van* 遺伝子) を獲得し、VCM に高度耐性化している(図2)。

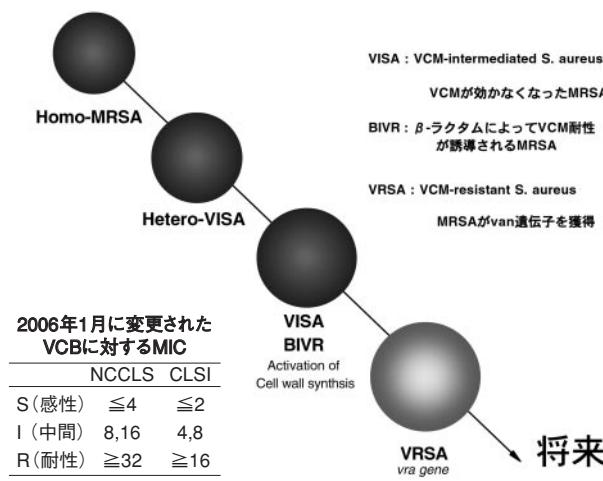


図2 MRSA のさらなる進化

### 3-5 VISA(GISA) : バンコマイシンMIC値 $4 \sim 8 \mu\text{g}/\text{mL}$ のMRSA

VISA (GISA) は、VCM 中程度耐性の黄色ブドウ球菌 (Vancomycin-intermediated-resistant *Staphylococcus aureus*: VISA) を意味する(図2)。全世界から 20 株程度が報告されており、これらの株も全て *mecA* を保有する MRSA である。この 20 株というのは、VCM に対する MIC (minimum inhibitory concentration, 最小増殖阻止濃度) 値が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  の株であり、旧 NCCLS に準じた VISA 株である<sup>5)</sup>。この基準は 2006 年初頭に CLSI (旧 NCCLS) によって改められ、VCM の MIC 値が、 $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$  は感性、4 および  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  は中間(中程度耐性)、 $\geq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$  は耐性<sup>6)</sup> となった。このため、VISA に分類される株は飛躍的に増加していると考えられる。この VCM の基準が改訂になった最大の理由は、Fridkin ら<sup>7)</sup> の発表した VCM の MIC 値と臨床効果の調査に関する論文であると考えられる。この論文では、VCM の MIC 値が 4 および  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  (厳密には  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  が 15 株、 $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  が 4 株) の MRSA と、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下の MRSA に分けて調査し、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下の MRSA では 5%、4 および  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  の MRSA では 63% の確率で致死的感染を起こす結果を得ている(図3)。

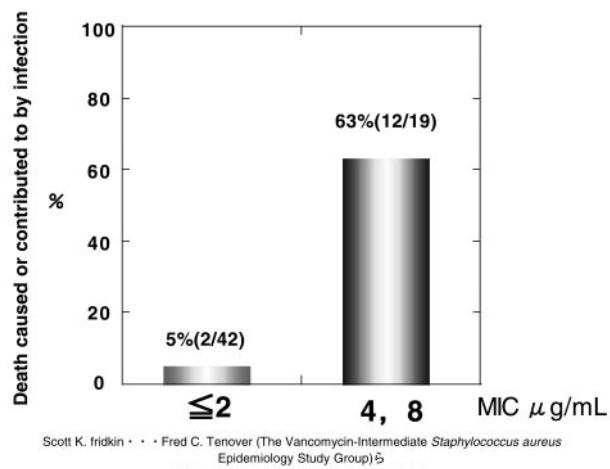


図3 VCM の MIC 値が 4 と  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  の MRSA

この結果を受けて、CLSI は VCM の耐性基準を下げたと考えられる。驚くことに、VCM の抗菌力と臨床効果のデータがない状態で、我々は闇雲に NCCLS の基準を信奉していたことになる。臨床データが存在しない状態で、 $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  でも充分な効果が期待できる。ましてや  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  なら尚更だという考えがまかり通っていた時期があったことは真摯に反省すべきであろう。

VISAと同様の言葉として、GISA(glycopeptide-intermediated Staphylococcus aureus)があるが、厳密にはVCMとテイコプラニン(ともにグリコペプチド系抗生物質)の耐性は若干異なっており、グリコペプチド系抗生物質を一纏めにした耐性の表現には無理がある。

### 3-6 Hetero-VISA : VISA細胞含有MRSA

Hetero-VISAは、VISAの性質(VCMのMIC値が4もしくは8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )の細胞を含むMRSAを意味する(図2)<sup>8)9)</sup>。Hetero-VISAに関しては色々な意見があるが、少なくとも検出に値しない耐性菌とは考えられない。VISAの性質を有す細胞を含む細胞集団であれば、VCMの暴露(抗菌薬プレッシャー)によって耐性細胞のみが選択され、最終的にVISAとなることは明白である。このようなMRSAにVCM以外の抗菌薬を使用すればVISAは出現しない。そのために、CLSIもHetero-VISAの検出を推奨している<sup>6)</sup>。しかも、Hetero-VISA検出の必要性がない、もしくはHetero-VISA自体が存在しない<sup>10)11)</sup>、という意見の根本的原因であったBrain Heart Infusion(BHI)寒天培地を用いての検出が推奨されている<sup>6)</sup>。この誤った意見は、耐性菌の検出培地とMIC測定培地を混同していること、ヘテロ耐性菌(どの耐性菌にもヘテロ耐性は存在する)という言葉の理解不足に起因すると考えられる<sup>9)</sup>。何れにしても、ヘテロ耐性菌を無視することは臨床的に危険である。

### 3-7 Borderline MRSA<sup>12)</sup>

Borderline MRSAは、オキサシリン低感受性MRSAを意味するが定義はない。単にオキサシリンに低感受性を示すMRSAの増加(主にCA-MRSA, Community-acquired MRSA)に伴い、この言葉が出てきたと思われる(図4)。オキサシリンのMIC値が8~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下のMRSAを呼称することが多い。

### 3-8 Low-level resistant MRSA<sup>13)</sup>

Low-Level resistant MRSAは、Borderline MRSAと同じ意味を有すオキサシリン低感受性MRSAである(図4)。

### 3-9 OS-MRSA (Oxacillin-susceptibility MRSA)

OS-MRSAは、オキサシリン感性であるがmecAを保有する黄色ブドウ球菌を意味する(図4)。オキサシリンのMIC

値が4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であればMRSAと判断するが、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であればMSSA(Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus)と判断される。しかし、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であってもmecAを保有するMRSAが存在する。このMRSAをOS-MRSAと呼んでいる。OS-MRSAをMSSAと判断して、経口のペニシリンやセフェム薬を投与しても、完治させることは困難である。むしろ抗菌薬プレッシャーによって高度耐性MRSAに変わる恐れがある。In vitroの研究では、低濃度、中濃度、高濃度の $\beta$ -ラクタム薬に1回接触させるだけで、低度耐性、中程度耐性、高度耐性菌になることが確認されている。前述したPre-MRSAと同じ挙動を示す。

### 3-10 BIVR( $\beta$ -lactam antibiotic induced-vancomycin-resistant MRSA)

BIVRは、 $\beta$ -ラクタム薬によってVCM耐性が誘導されるMRSAを意味する(図2)。このMRSAは、 $\beta$ -ラクタム薬が存在することによってVCM耐性が発現するため、通常の検査では検出できない<sup>14)15)</sup>。

### 3-11 HA-MRSA (Hospital-acquired MRSA) : 院内もしくは病院獲得型MRSA

HA-MRSAは、耐性度を示す言葉ではなく、院内で免疫不全患者に感染する現在のMRSAを意味する(図4)。ほとんどが高度耐性であり、かつmec領域(SCCmec)はII型(まれにI, III)である<sup>16)</sup>。

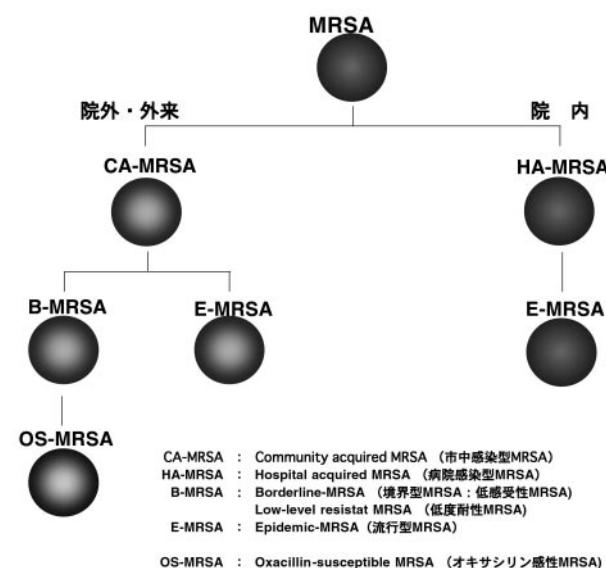


図4 MRSAの現状

### 3-12 CA-MRSA(Community-acquired MRSA)

CA-MRSAは、市中で感染するMRSAであり、最近増加傾向にある(図4)。オキサシン以外の $\beta$ -ラクタム薬に対する耐性度は低い。*mec*領域(*SCCmec*)はIV型(時にV型)主に若年者の皮膚や軟部組織に感染し、表皮剥離毒素(SEB、SEC、SHE)やパントンバレンタインロイコジン(PVL)を産生する。ただし、日本でのPVL産生CA-MRSAは極めて少ない。CA-MRSAからは、borderline MRSA(low-level resistant MRSA)やOS-MRSAの検出率が高い<sup>17)~19)</sup>。

### 3-13 E-MRSA (epidemic MRSA)

E-MRSAは、HA-MRSAでもCA-MRSAでも、流行型のMRSAが存在する。この流行型のMRSAを意味する(図4)。特にHA-MRSAは個々の病院特有のMRSAが院内感染をおこすため、その特定のMRSA(E-MRSA)を検出することは、院内感染対策上必須である<sup>20)</sup>。

## 4. BIVRについて

BIVRとは、 $\beta$ -lactam antibiotic-induced-vancomycin-resistant MRSAの略であり、 $\beta$ -ラクタム系抗菌薬によってVCM耐性が誘導されるMRSAを意味する。このVCM耐性には $\beta$ -ラクタム薬の存在が不可欠であり、 $\beta$ -ラクタム薬がない場合、VCM耐性は発現しない。ここに、BIVRが検出できない最大の問題点がある。通常の検査では、特定の1抗菌薬に対する感受性検査は実施されるが、2薬剤が存在した場合の感受性測定は行なわれない。つまり、VCM単剤の抗菌力は測定されるが、 $\beta$ -ラクタム薬共存下での抗菌力は測定されない。その結果、BIVRであってもVCM耐性が誘導されないため、VCMは感性(S)と表示されてしまう。

### 4-1 BIVRの検出方法

基本的な原理は、VCMと $\beta$ -ラクタム薬との拮抗( $\beta$ -ラクタム薬によるVCM耐性の誘導現象)を利用した検出方法(図5)である。当初は、Mu3培地を用いて検出していたが、Mu3培地はhetero-VISAの検出培地<sup>21)</sup>として販売されているため、誤解を招きやすい危険性を含んでいる。その危険性を避けるため、新たにBIVRの検出培地を作成した。この新たなBIVR検出培地は、BHI寒天培地を

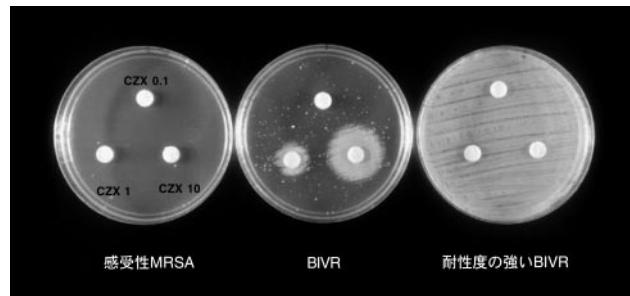


図5 Mu3培地(4 $\mu$ g/mlのVCM含有培地)でのBIVR株の検出

基礎培地とし、MRSAに対する $\beta$ -ラクタム薬感受性測定の際に添加する塩化ナトリウム、緩衝作用を強めるリン酸(第一と第二)カリウムを添加している。VCM濃度は4 $\mu$ g/mLであり、4 $\mu$ g/mLで生育可能なMRSAが検出できる。仮に基盤培地にMueller Hinton(MH)寒天培地を用いた場合は、2 $\mu$ g/mLのVCM添加で同じ結果になるが、MH寒天培地に血液やresting medium(細胞壁構成成分)を添加した場合は、4 $\mu$ g/mLのVCM添加でBHI寒天培地を基礎培地とした結果と同じになる。

2 $\mu$ g/mLのVCM添加MH寒天培地で生育するMRSAはVCMの中程度耐性MRSA(VISA)の可能性を秘めている。また、より生体に近づけた血液添加MH寒天培地での検出はBHI寒天培地と同等の検出率となるため、わざわざ血液を添加した培地を使用する必要はなく、血液添加と同等の検出率が得られるBHI寒天培地をBIVR検出の基礎培地として用いることとした。10<sup>8</sup>CFU/mLに調整した菌液を滅菌綿棒で培地全面に塗布し、その上に $\beta$ -ラクタム薬含有ペーパーディスクを置いて培養する。ペーパーディスク周辺に生育円、もしくは全面に生育が認められればBIVRと判定する。接種菌量が多いという意見もあるが、見た目(10<sup>8</sup>CFU/mL)にごまかされているに過ぎない。10<sup>8</sup>CFU/mLの菌液の80 $\mu$ Lが綿棒にて培地全面に塗布されることになるが、培地全面の面積は少なくとも40mm×40mm×3.14=5024mm<sup>2</sup>であり、この上に10<sup>8</sup>CFU/mL×0.08mL=8×10<sup>6</sup>CFUが塗布されるため、1mm<sup>2</sup>中には8×10<sup>6</sup>CFU/5024mm<sup>2</sup>=1.6×10<sup>3</sup>CFU/mm<sup>2</sup>の菌数が存在することになる。一方、CLSIの準じたMIC測定時の菌量は、10<sup>7</sup>CFU/mLの5 $\mu$ Lが1mm×1mm×3.14=3.14mm<sup>2</sup>に接種される。この1mm<sup>2</sup>当たりの菌数は、10<sup>7</sup>CFU/mL×0.005mL/3.14mm<sup>2</sup>=1.6×10<sup>4</sup>CFU/mm<sup>2</sup>となり、単位面積あたりの菌量は、MIC測定時の方が10倍も多いことが分かる。むしろ、塗布する菌量は少なすぎるのかもしれない。

## 4-2 BIVRのマウス全身感染:β-ラクタム薬併用による死亡率の増加

BIVRをマウス腹腔内に感染させて、VCM単剤とβ-ラクタム薬併用による感染治療効果を検討した(図6(a)(b))。

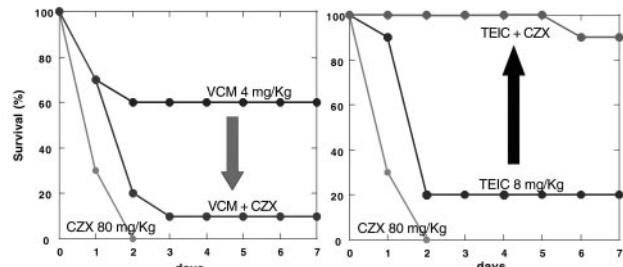


図6(a) Vancomycin(VCM)とTeicoplanin(TEIC)を単剤で用いた場合とCeftizoxime(CZX)を併用した場合のBIVRに対する治療効果(マウス感染実験)

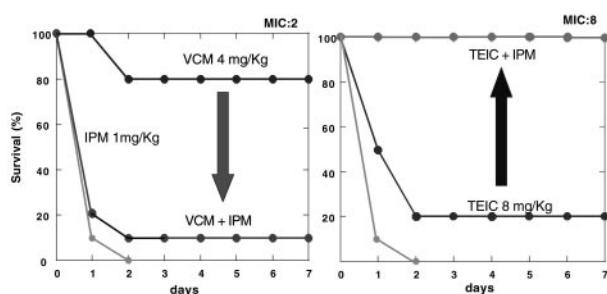


図6(b) Vancomycin(VCM)とTeicoplanin(TEIC)を単剤で用いた場合とImipenem(IPM)を併用した場合のBIVRに対する治療効果(マウス感染実験)

VCM単剤の生存率は70~90%であったが、βラクタム薬としてflomoxef(FMOX)、aminobenzylpenicillin(ABPC)、imipenem(IPM)のそれぞれを併用した場合、生存率は10~20%しかなかった。つまり、β-ラクタム薬との併用によって死亡率が極端に上がった結果となった。これは、*in vitro*で確認されたバンコマイシンとβ-ラクタム薬との拮抗作用、言い換えればβ-ラクタム薬によってVCM耐性が誘導されるためVCMの効果がなくなる現象と一致している<sup>22)</sup>。

## 4-3 BIVRの臨床例

BIVRの臨床例は、福岡大学医学部、北里大学医学部、社会保険中央病院から発表されている。福岡大学の症例は、熱傷患者にMRSAが感染した患者であり、VCMとIPMの併用でBIVRが出現したこと、2週間程度の併用期間で耐性度の強いBIVRに変わったことが報告されている(図7)<sup>23)</sup>。また、北里大学の症例は、MRSAの感染性心内膜炎にVCMとIPMを併用した時点から、同じ遺伝型を有すMRSA(同一株)がBIVRの性質(β-ラク

タム薬によってVCM耐性が誘導)を発揮した症例であり、治療に失敗している(図8)<sup>24)</sup>。また、社会保険中央病院の症例は大塚らによって感染症学会で発表されたものである。これは、MRSA肺炎治療にVCMとpanipenem(PAPM)を投与した後にBIVRへと変わり、胃瘻造設とともにBIVRの菌血症がおき、VCMとPAPMの21日間の投与でも血液中から消失しなかった症例である。VCMはTDMによって充分な血中濃度が確認されているにも拘らず、奏功していない。

実在するこれらの臨床例を、たまたま起きたこととして切り捨てるわけには行かない。当事者である患者にとって、たまたまで済まされることではないからである。

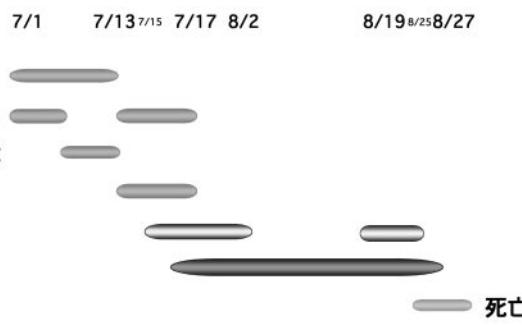


図7 BIVRの出現により、化学療法が失敗した事例  
62歳男性患者。腎移植、糖尿病、感染性心内膜炎あり(PFGEで同一の菌である事が確認された。)感染症学雑誌.V75. p473-479.による

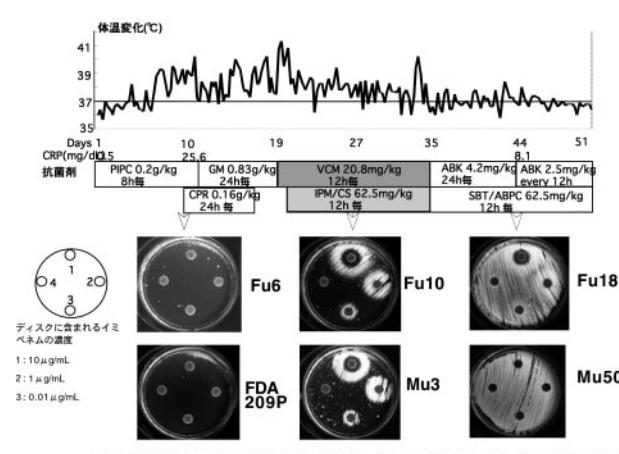


図8 MRSAがBIVRの出現により難治化した臨床事例

## 5. まとめ

BIVRについては、検出法や耐性機序などを含めた多くの問題点が残されている。併し、*in vitro*での効果、マウス感染実験結果、臨床例を考えると、BIVRに対してバンコマイシンとβ-ラクタム薬の併用が有効な効果をもた

らすとは考えにくい。BIVRに対して、バンコマイシンを用いる必要性があるなら、単剤で用いた方が治療効果は得られやすいと考える。また、 $\beta$ -ラクタム薬との併用が必須であるなら、抗MRSA薬のテイコプラニン（強力な相乗効果を発揮する）やアルベカシン（相加・相乗）、リネゾリド（相加）との併用が可能である。 $\beta$ -ラクタム薬について上記のような否定的なデータがあるなかで、また他の抗菌薬が使用できる条件下で、無理してバンコマイシンと $\beta$ -ラクタム薬との併用を行なう必要性はないと考える。

## 参考文献

- 1) Asada K, Inaba Y, Tateda-Suzuki E, Kuwahara-Arai K, Ito T, Hiramatsu K. Evolution and resistance expression of MRSA. Evaluation of beta-lactam antibiotics against a set of isogenic strains with different types of phenotypic expression. *Acta Biochimica Polonica*, **42** (4), 517-24 (1995).
- 2) CDC. Staphylococcus aureus resistant to vancomycin --- United States, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **51**, 565-567 (2002).
- 3) CDC. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus --- Pennsylvania, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **51**, 902 (2002).
- 4) CDC. Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus --- New York, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **53**, 565-567 (2002).
- 5) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed Approved standard NCCLS publication no. M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. (2003).
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 7th ed. Approved standard. CLSI publication no. M7- A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa (2006)
- 7) Fridkin SK, Hageman J, McDougal LK, Mohammed J, Jarvis WR, Perl TM, Tenover FC: Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus Epidemiology Study Group. Epidemiological and Microbiological Characterization of Infections Caused by Staphylococcus aureus with Reduced Susceptibility to Vancomycin, United States, 1997-2001. *Clin Infect Dis.*, **15**, 36:429-39 (2003).
- 8) Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, Fukuchi Y, and Kobayashi I, Dissemination in Japanese hospitals of strains of Staphylococcus aureus of heterogeneously resistant to vancomycin, *Lancet*, **350**, 1668-71 (1997).
- 9) Howe RA, Walsh TR. hGISA: seek and ye shall find. *Lancet*, **364**, 500-501 (2004).
- 10) Ike Y, Arakawa Y, Ma X, Tatewaki K, Nagasawa M, Tomita H, Tanimoto K, Fujimoto S. Nationwide survey shows that methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains heterogeneously and intermediately resistant to vancomycin are not disseminated throughout Japanese hospitals, *J Clin Microbiol.*, **39**:4445-51 (2001).
- 11) Arakawa Y, Ike Y, Nagasawa M, Where has vancomycin-heterogeneously resistant Staphylococcus aureus gone? *Lancet*. **363**:1401 (2004).
- 12) Liu H, Buescher G, Lewis N, Snyder S, Jungkind D, Detection of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* and differentiation from methicillin-resistant strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, **9** (10), 717-24 (1990).
- 13) Sa-Leao R, Santos Sanches I, Dias D, Peres I, Barros RM, de Lencastre H. Detection of an archaic clone of *Staphylococcus aureus* with low-level resistance to methicillin in a pediatric hospital in Portugal and in international samples: relics of a formerly widely disseminated strain? *J Clin Microbiol.*, **37** (6), 1913-1920 (1999).
- 14) Hanaki H, Yamaguchi Y, Yanagisawa C, Uehara K, Matsui H, Yamaguchi Y, Hososaka Y, Barada K, Sakai F, Itabashi Y, Ikeda S, Atsuda K, Tanaka H, Inamatsu T, Nagayama A, Sunakawa K. Investigation of beta-lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR). *J Infect Chemother.*, **11** (2), 104-106 (2005).
- 15) Hanaki H, Yamaguchi Y, Nomura S, Haraga I, Nagayama A, Sunakawa K. Method of detecting beta-lactam antibiotic induced vancomycin resistant MRSA (BIVR), *Int J Antimicrob Agents.*, **23** (1), 1-5 (2004).
- 16) Fey PD, Said-Salim B, Rupp ME, Hinrichs SH, Boxrud DJ, Davis CC, Kreiswirth BN, Schlievert PM. Comparative molecular analysis of community- or hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob Agents Chemother.*, **47** (1), 196-203 (2003).
- 17) Storch GA, Rajagopalan L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in children, *Pediatr Infect Dis.*, **5** (1), 59-67 (1986).
- 18) Jansen WT, Beitsma MM, Koeman CJ, van Wamel WJ, Verhoef J, Fluit AC. Novel mobile variants of staphylococcal cassette chromosome mec in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.*, **50** (6), 2072-2078 (2006).
- 19) Takizawa Y, Taneike I, Nakagawa S, Oishi T, Nitahara Y, Iwakura N, Ozaki K, Takano M, Nakayama T, Yamamoto T. A Panton-Valentine leucocidin (PVL)-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain, another such strain carrying a multiple-drug resistance plasmid and other more-typical PVL-negative MRSA strains found in Japan. *J Clin Microbiol.* **43** (7), 3356-3363 (2005).
- 20) Peacock JE Jr, Moorman DR, Wenzel RP, Mandell GL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: microbiologic characteristics, antimicrobial susceptibilities, and assessment of virulence of an epidemic strain, *J Infect Dis.*, **144** (6), 575-82 (1981).
- 21) Hanaki H, Inaba Y, Sasaki K, Hiramatsu K. A novel method of detecting *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin (hetero-VRSA). *Jpn J Antibiot.*, **51** (8), 521-530 (1998).
- 22) Hatano K, Yokota Y, Hanaki H, Sunakawa K. Combined effect of vancomycin or teicoplanin plus a beta-lactam antibiotic in mouse infection models caused by beta-lactam antibiotic-induced vancomycin resistant MRSA (BIVR). *Kansenshogaku Zasshi.*, **80** (3), 243-50 (2006).
- 23) Haraga I, Nomura S, Fukamachi S, Ohjimi H, Hanaki H, Hiramatsu K, Nagayama A. Emergence of vancomycin resistance during therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn patient--importance of low-level resistance to vancomycin. *Int J Infect Dis.*, **6** (4), 302-308 (2002).
- 24) Takayama Y, Hanaki H, Irinoda K, Kokubun H, Yoshida K, Sunakawa K, Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* showing reduced vancomycin susceptibility isolated from a patient with infective endocarditis. *Int J Antimicrob Agents.*, **22** (6), 567-73 (2003).

# ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(15) ヨハン・ヴォルフガング・デベライナー

Scientists and Engineers in German Stamps (15). Johann Wolfgang Doeberreiner

筑波大学名誉教授 原田 馨  
KAORU HARADA

Professor Emeritus, University of Tsukuba.

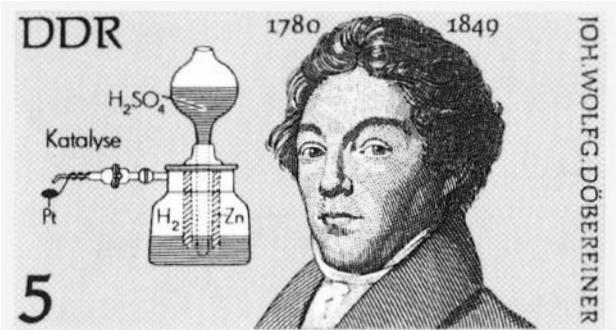
## ヨハン・ヴォルフガング・デベライナー

ヨハン・ヴォルフガング・デベライナー (Johann Wolfgang Doeberreiner, 1780-1849) ドイツの化学者。

デベライナーは、バーバリア州のホーフに生まれた。家が貧しく正規の教育を受けられなかつたが、多くの書物を読み、学術的な集まりには積極的に参加して、独学を続けた。デベライナーはJ. W. ゲーテ (J. W. Goethe, 1749~1832、作家、学者、政治家)と親交があり、彼の能力を知ったゲーテの推薦により、1810年イエナ大学の物理学及び化学の教授となり生涯大学人として過ごした。

彼の成し遂げた大きな発見の一つは白金触媒に関するものである。白金粒子は小さくなる程有機物を酸化する能力が高まることを見出した。この性質を利用して白金粒子をアスペスト上に分散させるか、または白金を海綿状にすると白金の表面積が増大して白金の活性が上昇する。発生させた水素ガスを活性な白金触媒中に通すと水素ガスは着火する。この装置は一種の点火のためのライターとして利用することができ、これをデベライナーのライターと云う。白金の研究から始まり、更に種々の触媒の研究が行われ、触媒化学と称される化学分野が誕生した。

もう一つの発見は、フランスのバラール (Antoine Jerome Balard, 1802-1876) が臭素を発見したこと (1826) により生まれた。新しく発見された臭素の性質は、今までに発見されている塩素とヨウ素の中間であることを見出し、塩素、臭素、ヨウ素は自然界に存在する3種の性質のよく似た元素であると考えた。このように考えれば、更にカルシウム、ストロンチウム、バリウムも性質の似た3種の元素であり、イオウ、セレン、テルルももう一組のよく似た元素グループである。



この切手はDDRが1980年に発行した著名人切手の一枚。数少ないデベライナーの肖像と彼の創造した発火装置の絵がある。これは亜鉛に希硫酸を加えて発生する水素ガスを白金アスペスト中に通すと自然発火する。この装置は全体として白金アスペストを利用する発火装置となっているが、これは最初の金属触媒の発見であり、触媒化学の先駆的研究であった。



ヨハン・ヴォルフガング・デベライナーの肖像。

1829年デベライナーは、このような性質の似た「三つの元素」の考えを提唱した。これら三つ組元素を化学記号で書けば、(Cl, Br, I) (Ca, Sr, Ba) 及び (S, Se, Te) である。当時このような三つ組元素の存在の意味については一般化学者の意識にのぼらなかつたが、これは19世紀後半に発見された元素の周期律の前駆をなす発見であった。

デベライナーの墓はイエナの旧墓地 (Alter Friedhof) にあり、彼の立像がゲーテ大通りのイエナ大学の化学の新棟前にある。

## ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(15) ヨハン・ヴォルフガング・デベライナー



### 表紙写真

**チングルマ（稚児車）バラ科**  
黄色い雄しべ、雌しべと、白い花びらで夏山に咲き誇るチングルマの群生は、大変な人気です。その花びらが落ちればこのような姿に変わり、更にこれが、タンポポの穂のように白く姿を変えます。秋に鮮やに赤く染まる葉も含め、どの時期も被写体としては魅力溢れるものです。地表から高さ10cm程度ですが、こんなに小さくてもこれで「木」の仲間で年輪もあるそうです。鯉のぼりのポールの先端に付いている風車や、古来の風車の玩具を稚児車と言い、チングルマの名前は、花が落ちてこれに形が似ていることから由来します。  
(写真・文 北原)

### 編 集 後 記

試薬は、試験・研究に不可欠な化学材料ですが、その危険有害性を配慮し安全な扱いを喚起するため多くの約束事があります。そのため国内では、実際に百種にも及ぶ化学薬品を規制する法律がありますが、中でも流通や使用の過程で安全に正しく扱うことができるよう製品に留意点を表示するよう求めているもの(安衛法、化審法、消防法等)があります。化学物質の危険有害性の分類を世界的に統一していくこうとする動きの中で、このたび安衛法が世界で初めてこの国際分類基準を採用することになり、弊社製品でもこの表示方式を今年の12月から採用すべく準備しているところです。試薬ほか弊社製品が

お手元に届けられたとき、ご使用前にラベルのちょっとした変化にもお気づき頂きまして、是非とも安全にお仕事をされますよう心より願っております。

また製品評価技術基盤機構のホームページでは、これら化学物質の基礎データのほか総合的な安全情報が公開されていますのでご参考まで。

ケミカルタイムズでは、このコラムを通じて化学物質に関する情報も適宜織り交ぜ、皆様のお仕事の安全の一助になりますよう鋭意心がける所存でございます。

今後とも、皆様のご愛読を賜りますよう何卒よろしくお願い申し上げます。  
(吉藤 記)



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 古藤 薫 平成18年10月1日 発行