

ルテニウム錯体からなるイオン液体の合成と触媒反応

(神戸大院・理)

○稲垣 堯、安部 健一、持田 智行

【序】近年多くのイオン液体が開発され、様々な用途を指向した応用研究が多数なされている。イオン液体とは、融点が 100 °C 以下の塩であり、不揮発性、不燃性、高イオン伝導性や、目的に合わせた分子設計が可能である等の有用な特徴を持っている。一方、我々はこれまでに非オニウム骨格からなるイオン液体として、メタロセニウム系カチオンからなるイオン液体を開発してきた。これらは特徴ある磁性流体となるほか、化学反応性の観点からも興味ある性質を示すことを報告した[1]。

有機金属錯体は触媒能の観点からも重要な分子である。中でもアレーン環を含むルテニウム錯体は、ギ酸を水素源とする水素移動反応の触媒となることで知られている[2]。これらの触媒反応は水溶液中、穏和な条件下で行われており、低環境負荷反応触媒として注目されている。さらに、ルテニウム触媒は、水素源であるギ酸を CO₂ と H₂ から合成する触媒ともなる [3]。

本研究ではこうした点に着目し、アレーンルテニウム錯体のイオン液体化を試みた。錯体触媒をイオン液体化できれば、液-液不均一反応、分離精製の簡素化など、合成手法の上でも多様な展開が期待される。

ここでは低融点化、触媒能の向上、安定性の向上の 3 項目の最適化を目指した分子設計を行った (Fig. 1)。アレーン環としてブチルペンタメチルベンゼン、ヘキサメチルベンゼン、二座配位子(L-L)としてアミノピリジン誘導体(ampy)、エチレンジアミン誘導体(C6-en)、単座配位子(L')として Cl、HCOO、H を用いた。アニオンには TFSA

(bis(trifluoromethanesulfonyl)amide) を使用した。これらの錯体の合成法、熱物性、および水素移動触媒反応について報告する。

【実験】 [(η⁶-arene)RuCl₂]₂ と二座配位子(L-L)を EtOH 中で反応させることで、錯体の Cl 塩を合成し、KPF₆ を用いてアニオン交換反応を行うことにより、クロリド錯体 (L' = Cl) の PF₆ 塩を合成した。この段階で再結晶を行ったのち、さらに水/MeOH 混合溶媒中で LiTFSA を用いてアニオン交換反応を行うことで、目的の TFSA 塩 **1(Cl)**–**4(Cl)** を合成した(Scheme 1)。得られた塩は分液操作と真空加熱乾燥によって精製した。**1(Cl)**、**4(Cl)** に対して Ag₂SO₄、HCOONa、LiTFSA を順次反応させることにより、ギ酸錯体 **2(HCOO)**、**4(HCOO)** を合成した。触媒反応として、シクロヘキサノンを経由してシクロヘキ

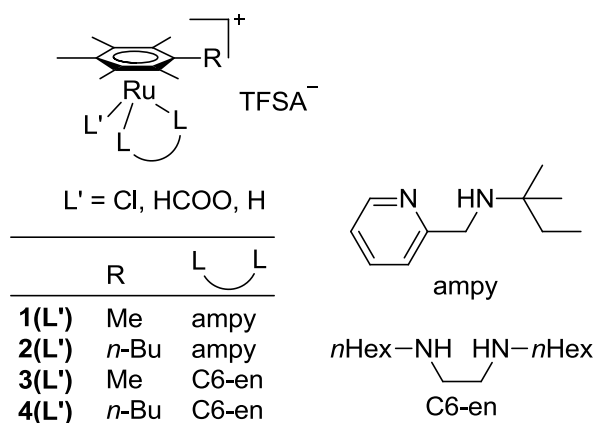
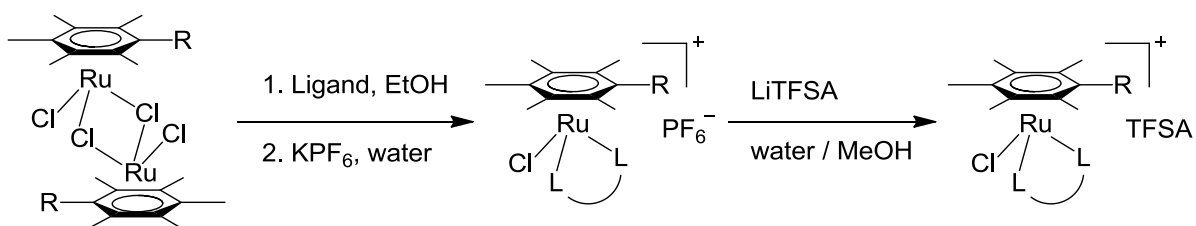


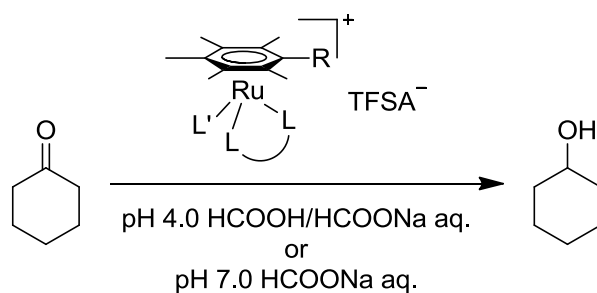
Figure 1. Chemical formulas of the Ru ILS [(η⁶-arene)Ru(L')(L-L)]TFSA investigated in this study.



Scheme 1. Preparation of ionic liquids **1(Cl)**–**4(Cl)**.

サノールへと変換する反応を検討した。ここではギ酸イオンを含む水層と有機相（シクロヘキサノン + イオン液体）の二層系で反応を行い、70 °C で 10 時間反応を行った後、ヘキサン又はペンタンで反応生成物のみを抽出し、¹H NMR によって変換率を求めた。水層には pH 4.0 の HCOONa/HCOOH 水溶液または pH 7.0 の HCOONa 水溶液を用いた。触媒：基質：HCOO⁻の比率は 1：200：6000 とした。

【結果と考察】アレーンルテニウム錯体 **1(Cl)**–**4(Cl)**は、いずれも室温で高粘度のイオン液体であり、光、熱、空気に対して安定であった。対応するギ酸錯体 **2(HCOO)**、**4(HCOO)**もイオン液体となった。ただし前者は容易に CO₂ の脱離を起こし、ヒドリド錯体 **2(H)**に変化した。



Scheme 2. Hydrogen transfer reaction.

シクロヘキサノンとシクロヘキサノールへと変換する水素移動反応（Scheme 2）を対象として、

これらのイオン液体の触媒活性を調べた。反応は、ギ酸イオンを含む水層と有機相（シクロヘキサノン + イオン液体）の二層系で行った。**2(Cl)**および**4(Cl)**は、pH や二座配位子の種類にかかわらず低活性であり、変換率は 6% 程度であった。これは、疎水的なイオン液体中では、反応中間体であるアクア錯体 $[(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_6)\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}_n)]^{2+}$ が生成する過程が不利であるためと考えられる。

そのため、より活性種に近い**2(H)**および**4(HCOO)**を触媒に用いることとした。その結果、大幅に変換効率が改善され、pH 4.0 の条件下では、変換率がそれぞれ 89%、36% となった。前者は類似のアレーンルテニウム錯体を用いた均一系反応と同程度の高い値である[2]。なお反応終了後はイオン液体と水層が相分離した状態にあり、ヘキサンを加えて三層系とし、混合攪拌することで生成物を簡便に抽出できた。同様に、触媒のリサイクルも容易であった。

本研究では以上のように、適切な分子設計を施すことで、有用な触媒能を持ち、生成物の分離精製も簡便な金属錯体系イオン液体が開発できることを示した。

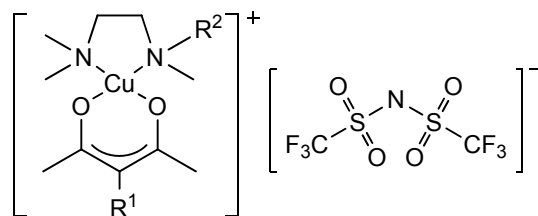
[1] (a) T. Inagaki, T. Mochida, *Chem. Lett.*, **39**, 572 (2010), (b) Y. Funasako, T. Mochida, T. Inagaki, T. Sakurai, H. Ohta, K. Furukawa, T. Nakamura, *Chem. Commun.*, **47**, 4475-4477 (2011). [2] Y. Himeda, N. Onozawa-Komatsuzaki, H. Sugihara, H. Arakawa, K. Kasuga, *J. Mol. Catal. Chem.*, **195**, 95-100 (2003). [3] Z. Zhang, S. Hu, J. Song, W. Li, G. Yang, B. Han, *ChemSusChem*, **2**, 234–238 (2009).

外場応答性を示す遷移金属イオン液体の合成と物性

(神戸大院理) ○舟浴佑典、持田智行

【序】イオン液体とは、融点が 100 °C 以下の塩のことを指し、難燃性、難揮発性、高導電性といった興味深い性質を示すことから、広く研究がなされている。また近年では、構成イオンに金属を導入することで、磁性や光学特性、酸化還元能を付与した機能性イオン液体の開発も盛んに行われている。当研究室でもこれまで、メタロセン系金属錯体をカチオンとして用いることで、特徴的な磁気応答物性を示すイオン液体を実現してきた^{1,2)}。このように、遷移金属錯体を液化することで、新たな機能性を有する液体材料が実現可能となる。

こうした観点から、今回ソルバトクロミズムを示すことで知られる遷移金属錯体の塩に着目した。これらの塩を液化すると、金属部分への溶媒・気体分子の脱着や配位環境の歪みに応じ、色や融点、磁性などの物性変化を起こす液体が生成すると期待される。本研究では、こうした多重応答性液体の実現を目的として、直鎖アルキル基を導入したジアミン・ジケトナート銅錯体のカチオンと TFSA アニオンを組み合わせさせた塩 (Fig. 1) を合成した。これらの熱物性評価を行い、溶媒蒸気に対する応答性と熱物性変化について検討を加えた。本系は、種々の蒸気に応答してベイポクロミズムを示す液体となった。



Cu01: R¹ = H, R² = Me
Cu04: R¹ = H, R² = ⁿBu
Cu44: R¹ = R² = ⁿBu

Fig. 1. 銅錯体カチオンを有するイオン液体の構造式.

【結果・考察】

1. 合成と基本物性

目的の塩は、対応するジアミン、ジケトナート配位子と硝酸銅三水和物をエタノール中で混合し、LiTFSA とアニオン交換を行うことで、暗紫色の液体もしくは固体として得られた。得られた塩は全て大気中で十分安定であり、水やヘキサン、エーテルなどの非極性有機溶媒には不溶、ジクロロメタン、アルコール、アセトンなどの極性有機溶媒に易溶であった。

DSC 測定の結果、**Cu04** は結晶化せずガラス転移 ($T_g = -48.8$ °C)のみを示した。一方、**Cu01**、**Cu44** はそれぞれ 94.7 °C、59.6 °C で融解した。**Cu04** について粘度測定を行ったところ、25 °C における粘度は 1188 mPa s であり、[ブチルメチルイミダゾリウム][TFSA] (49 mPa s) と比較して 10 倍以上高粘度であった。

2. ベイポクロミズム特性

これらのイオン液体は、有機溶媒蒸気下でベイポクロミズムを示した。**Cu04** は、単体では暗紫色の液体だが、ドナー数の異なる有機溶媒蒸気を吸収することで、紫色から青緑色まで色調が変化した (Fig. 2)。これは、金属部分に溶媒分子が配位したためである。色調変化に必要な時間は数秒から数十時間であり、蒸気圧の高い溶媒ほど短時間となる傾向にあった。こ

の色変化は可逆であり、大気中で数日放置すると溶媒分子が脱離し、元の暗紫色へと戻った。

Cu04 と DMSO 蒸気の組み合わせについて、一定時間ごとに秤量操作を行い、溶媒付加量をモニタリングした。結果、イオン液体に対して DMSO の量がおよそモル比 2 当量までは一定の重量増加を示し、それ以上ではより緩やかな重量増加が見られた。これは、まず溶媒分子が金属の上下に配位した六配位種が生成し、さらに溶媒蒸気を吸うことで、六配位種と溶媒分子の混合物が生成していることを示唆している。

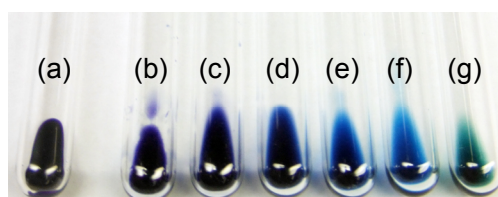


Fig. 2. (a) **Cu04** 単体, および(b) アセトニトリル, (c) アセトン, (d) MeOH, (e) DMF, (f) DMSO, (g) ピリジン蒸気を 2 当量吸収した状態の写真。

3. 溶媒付加前後の熱物性

0–4 当量の DMSO 蒸気を吸収した **Cu04** について、DSC 測定により、溶媒付加前後での熱物性変化を検討した。イオン液体単体は降温過程で結晶化せず、ガラス転移のみを示したが、溶媒を 1 当量以上吸収した試料は昇温過程で結晶化を起こし、室温付近 (6–24 °C) で融解した (Fig. 3)。すなわち、溶媒蒸気の付加によって、液体から結晶への相変化が起こるようになった。これは溶媒付加により、液体の粘度が低下したためである。なお DMSO が 4 当量含まれた試料では、昇温時に全体が結晶化した後、DMSO の融解ピークとイオン液体の融解ピーク

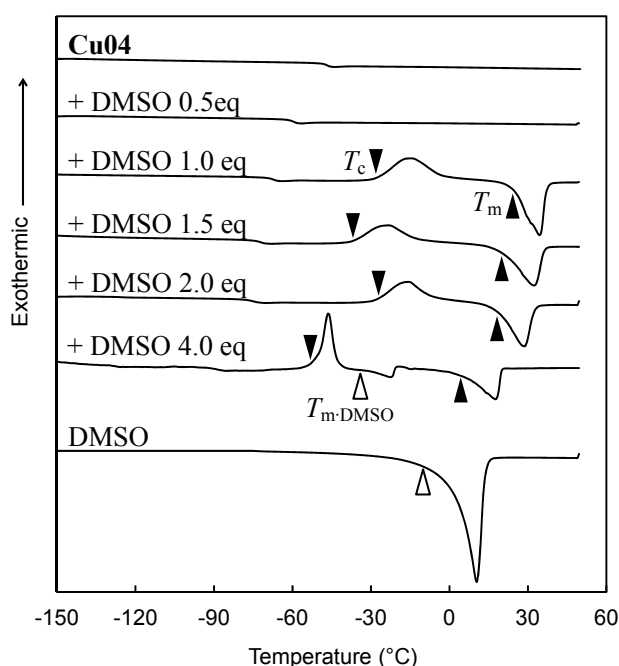


Fig. 3. **Cu04** 単体, DMSO 単体, および DMSO 蒸気を吸収した **Cu04** の DSC 曲線 (昇温過程)。

が個別に観測された (Fig. 3)。このことは、この液体が六配位錯体と DMSO の混合物であることを支持している。また、溶媒付加体のガラス転移点および融点は、溶媒の増加に伴って低下する傾向にあった。

一方 **Cu44** では、溶媒付加によって、融点が 59.6 °C の固体から液体 ($T_g = -83.9$ °C) に変化した。すなわち室温では、色変化とともに、結晶から液体への相変化が認められた。

以上のように、キレート配位子を有する銅錯体を液化することで、溶媒蒸気の脱着によって色変化および相挙動変化を示すイオン液体が実現した。

【文献】

- 1) T. Inagaki, T. Mochida, *Chem. Lett.* **39**, 572–573 (2010).
- 2) Y. Funasako, T. Mochida, T. Inagaki, T. Sakurai, H. Ohta, K. Furukawa, T. Nakamura, *Chem. Commun.*, **47**, 4475–4477 (2011).

4D13

シクロアルカンを導入したイミダゾリウム塩の構造とダイナミクス

(¹千葉大院融合,²千葉大分セ) ○万代俊彦¹, 今成司², 西川恵子¹

【緒言】

イオン液体は、室温付近で液体状態を示す『塩』の総称である。イオン液体の相転移挙動や粘度などの物性は構成イオン種間の静電相互作用のみならず、イオンに導入された置換基の構造やフレキシビリティにも強く影響を受けることが知られている。^{1,2} これまでに我々は、最も代表的なシクロアルカンの一つであるシクロヘキサン(Cyh)を導入した新規イミダゾリウム塩について、横緩和時間の観点から置換基としての性質を評価し、Cyh 環がイオン液体中で特徴的な運動性を保持していることを明らかにしている。³ その一方で、粘度や熱物性などの巨視的な物性と、ダイナミクスや結晶構造などの微視的な運動性・構造の相関については、いまだ不明瞭な点が多い。そこで本研究では、Cyh 基を有するイミダゾリウム塩(Fig. 1)を調製し、縦緩和時間(¹³C-T₁)を測定することにより回転的なダイナミクスを評価した。炭素数の対応する直鎖炭化水素をイミダゾリウムに導入したイオン液体と比較することにより、Cyh 基の特徴や物性との相関性の抽出を試みた。さらに単結晶 X 線回折測定から、結晶相における環状炭化水素の構造やパッキングを解析した。

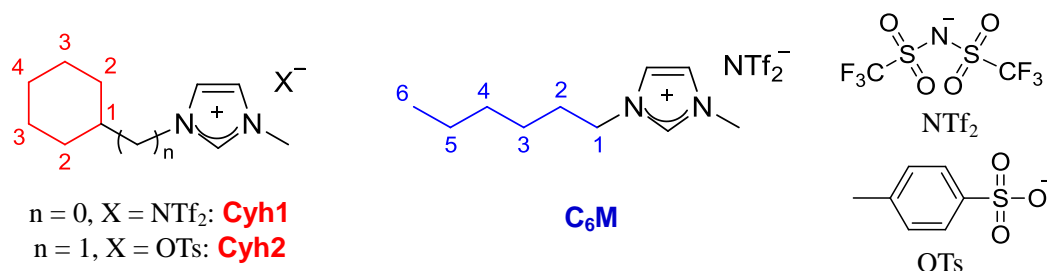


Fig. 1. Chemical Structures of Cyclohexylimidazolium (**Cyh-n**) and *n*-Hexylimidazolium (**C₆M**) salts.

【実験】

シクロヘキシルイミダゾリウム塩は、イミダゾールとシクロヘキサン誘導体を出発物質として合成した。³ アニオン種には NTf₂⁻および OTs⁻を選択し、構造および純度は二次元 NMR および元素分析により確認した。液体として得られた **Cyh1** および **C₆M** は、¹³C-T₁ を 303 K から 393 K の温度範囲で反転回復法により測定した。室温で固体状態の **Cyh2** は、単結晶 X 線回折測定により構造を決定した。

【結果と考察】

種々のイミダゾリウム塩および導入した置換基に対応する分子性液体のガラス転移温度(*T_g*), 融点(*T_m*), 密度(*d*)および粘度(*η*)を Table 1 に示す。分子性液体の物性とイミダゾリウム塩の物性を詳細に比較した結果、これらの塩の *d* および *η* は置換基本来の性質の差異を直接的に反映することが明らかになった。特に **Cyh1** と **C₆M** の粘度の比は、対応する分子性液

Table 1. Physicochemical Properties.

	<i>T_g</i> (K)	<i>T_m</i> (K)	<i>d</i> (g/cm ³)*	<i>η</i> (cP)*
Cyh1	211.8	n. o.	1.446	192.3
C₆M	189.8	265.4	1.372	66.96
C₆H₁₂	—	267	0.774	0.898
C₆H₁₄	—	178	0.656	0.299

*Measured at 298.15 K.

体間の比と良い一致を示した。同体積のカチオン-アニオン間における静電相互作用が同程度と仮定すると、イオン液体の粘度には、ファンデルワールス相互作用と側鎖の運動性が強く影響しているといえる。 C_6H_{12} と C_6H_{14} の化学的性質の類似性から、Cyh基は直鎖アルキル基と比べて側鎖の運動性が低いということが示唆された。

置換基の回転的なダイナミクスを評価するために、 $^{13}C-T_1$ 測定を303 Kから393 Kの温度範囲で行った。炭素に直接結合した水素との双極子-双極子相互作用が主に縦緩和に寄与すると仮定し,² 結合している水素数で規格化した **Cyh1** および **C₆M** の $^{13}C-T_1$ を Fig. 2 に示す。同じ温度での T_1 値を比較すると、**Cyh1-C1** を除き、**Cyh** 環の方が直鎖アルキル基の炭素よりも緩和時間が短く、**Cyh** 環の運動性が低いことが示された。これはマクロな物性である粘度からの予測と矛盾せず、**Cyh** 環の低い運動性がイオン液体に高粘性をもたらす要因の一つであることが明らかになった。また、直鎖アルキル基の運動性はイミダゾール環から離れるにつれて上昇していったのに対し、**Cyh** 環はイミダゾール環から最も離れた位置にある **C4** の運動性が最も低かった(Fig. 2, 矢印)。

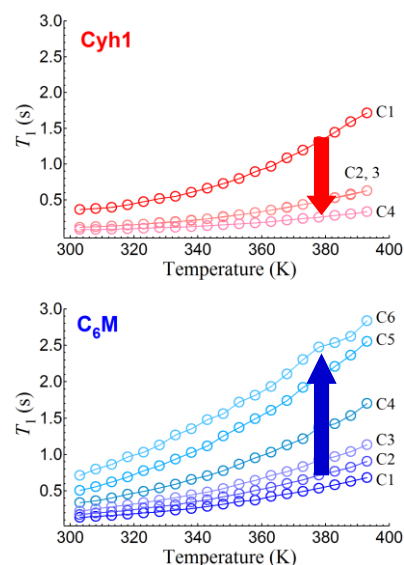


Fig. 2. $^{13}C-T_1$ for **Cyh1** and **C₆M**. Atomic numbering corresponds to the manner in Fig. 1.

この結果は、これらのイミダゾリウム塩は、回転運動の重心が異なるということを示唆している。**Cyh** 環部位の密度や **Cyh** 環同士のファンデルワールス相互作用による非極性部位の凝集、嵩高いアニオンによるイオン部位周辺の自由体積の広がりなどが影響しているものと考えられる。

一方、**Cyh2** の 173 K における結晶構造を Fig. 3 に示す。この塩の結晶系および空間群は三斜晶系で $P\bar{1}$ であった。また Fig. 3 より、イミダゾリウムカチオンに導入した **Cyh** 環は最も安定な椅子形構造をとっていること、カチオン・アニオン両イオンの極性部位と非極性部位がマイクロに相分離した結晶構造をとること、そして **Cyh** 環とアニオン由来のベンゼン環がほぼ平行にスタッキングすることが明らかになった。

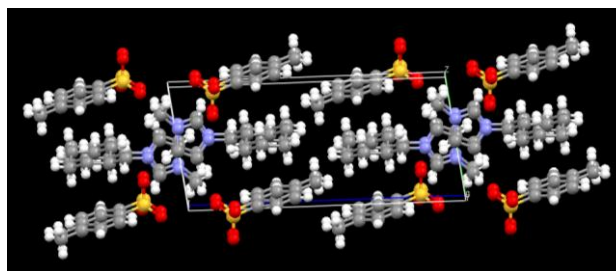


Fig. 3. Crystal Structure (packing) of **Cyh2**.

発表当日は、シクロヘキシルイミダゾリウム塩の結晶構造と融点との相関性について報告するとともに、**Cyh** 環とは異なる環状炭化水素としてシクロペンタンを導入した新規イミダゾリウム塩についても、巨視的な物性と微視的な構造・運動性との相関性の観点から議論する。

【参考文献】

- 1) R. Bini, M. Malvaldi, W. R. Pitner, and C. Chiappe, *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 622.
- 2) M. Imanari, K. Uchida, K. Miyano, H. Seki, and K. Nishikawa, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 2959.
- 3) T. Mandai, M. Imanari, and K. Nishikawa, *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *507*, 100.

4D14

ピリジニウム系イオン液体におけるカチオンーアニオン間の電荷移動遷移
(東工大 理工) ○小倉隆宏、赤井伸行、河合明雄、渋谷一彦

【序】イオン液体は、カチオン、アニオンのみからなり難揮発性、高粘度、難燃性などの性質をもつ常温付近で液体の塩である。イオン液体の電子状態に関する研究は数多くなされているが、我々は最小単位である 1:1 イオン対の電子状態に着目した。1:1 イオン対は、イオン対間の電荷移動(CT)遷移とイオン固有の電子遷移(LE)遷移を研究するに適した化学種である。我々の研究グループでは、昨年度の討論会で Tf_2N^- をアニオンとするイオン液体について、気相中での孤立イオン対の吸収測定について報告した。また、加藤らによってアセトニトリル中での Bmim^+I^- イオン対の CT 遷移が観測されている。[1] この報告では、電荷が局在化したイオン対の場合、イオン間電荷移動遷移が観測される可能性が示されている。

本研究では、電荷移動吸収帯が比較的低エネルギー領域に現れ観測しやすいピリジニウムカチオンーハライドアニオンからなるイオン液体を対象とした。また溶媒としては、溶質ー溶質間相互作用や溶媒物性の変化を無視できるよう、希薄溶液でもイオン対の生成が起こるジクロロメタンを用いた。

【実験方法】イオン液体 (EpyCl^+ , EpyBr^+ , EpyI^+) を水、アセトニトリル、ジクロロメタンに溶解させた各種溶液を調整し、紫外可視分光光度計を用いて吸収スペクトルを測定した。各溶液について会合度を測るため電気伝導度を測定した。また、イオン間電荷移動が起こる相対配置を調べるため、 EpyCl^+ , EpyTf_2N^+ (図 1) の重水、重アセトニトリル、重ジクロロメタンの溶液として NMR 分光測定を行った。 EpyCl^+ の構造最適化には量子化学計算として Gaussian09 DFT 法の B3LYP 汎関数を用いた。基底関数には 6-311++G(3df,3pd)レベルを用いた。

【結果と考察】図 2 に EpyCl^+ の各溶液の吸収スペクトルを示す。溶媒の誘電率に着目すると、水、アセトニトリルは極性溶媒、ジクロロメタンは無極性溶媒である。ジクロロメタン溶液では明らかに異なる吸収帯が現れている。電気伝導度測定の結果によると、水、アセトニトリル溶液で測定した濃度領域ではイオン対はほぼ完全解離しており、得られた吸収帯は、アニオンと解離して溶媒和された Epy^+ の $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移と帰属できる。より短波長領域には Cl 由来の CTTS (Charge Transfer To Solvent) 遷移も観測された。一方、ジクロロメタン溶液では数 10%程度が会合していることから、新たに現れた吸収帯はカチオンーアニオン間 CT 遷移であると結論した。 EpyTf_2N^+ のジクロ

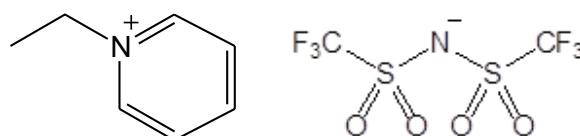


図 1 EpyTf_2N^+ の構造式

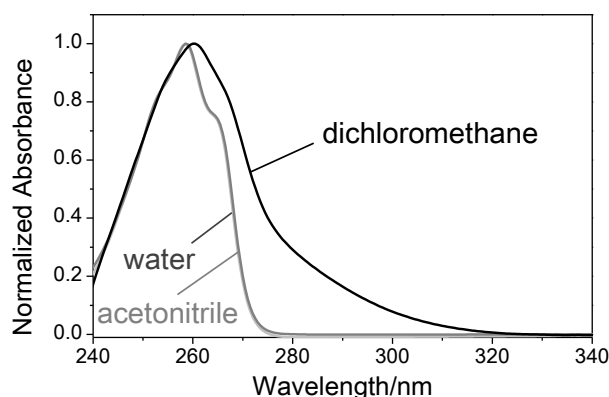


図 2 各溶液中での EpyCl^+ の吸収スペクトル

ロメタン溶液では CT 遷移は観測されず、電荷が局在化したハライドイオンのようなアニオンを有するイオン対では効率的に CT が起こることがわかった。図 3 に吸収スペクトルの濃度依存性を示す。濃度が大きくなると π - π^* 吸収強度が小さくなり、CT 吸収強度が大きくなる。その際、等吸収点の存在も確認できる。このことから、イオン対となることで π - π^* 遷移の遷移モーメントが小さくなると示唆される。図 4 に EpyCl 及び EpyTf₂N の重ジクロロメタン溶液の NMR スペクトルを示す。* を付したバンドは不純物によるものである。EpyTf₂N は電荷移動遷移の観測されないイオン対のため対比として測定を行った。化学シフトの違いに着目すると、A,B と記号をつけた 2 本のバンドがアニオンを変えることで大きくシフトしていることがわかる。バンド A はピリジニウム環の二位の水素、バンド B はエチル基の CH₂ の水素によるものである。アニオンが Cl の場合に、これらのバンドを示す水素原子がかなり電子密度の低下した状態となっている。図 5 に量子化学計算によって得られた最安定構造を示す。図 4 におけるピーク A,B を示す水素とアニオンが強く相互作用しているイオン対相対配置であることがわかる。以上より、図 5 のイオン対相対配置でのアニオンからカチオンへの CT 遷移が観測されたと示唆される。

口頭発表では、ハライドアニオンの異なるイオン対についての実験結果も合わせて報告する。

【文献】 [1] R. Katoh *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, **112**, 15426-15430 (2008).

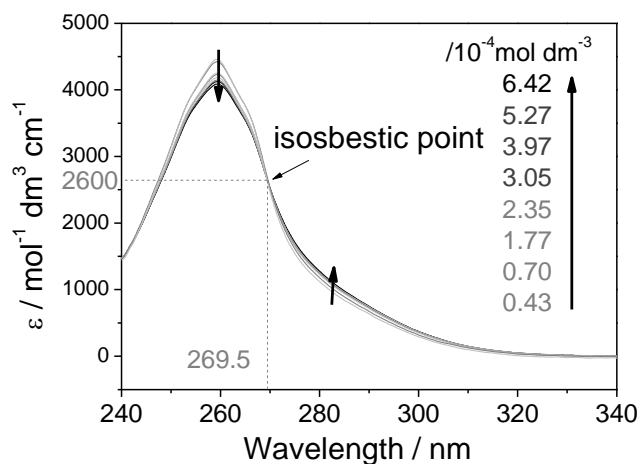


図 3 EpyCl/CH₂Cl₂ 溶液の吸収スペクトルの濃度依存性

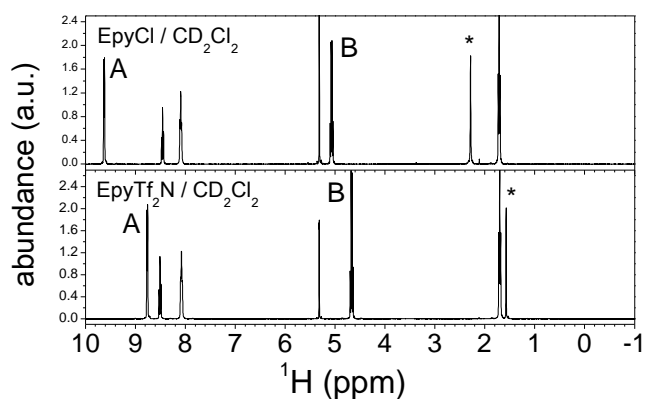


図 4 EpyCl, EpyTf₂N CD₂Cl₂ 溶液の NMR

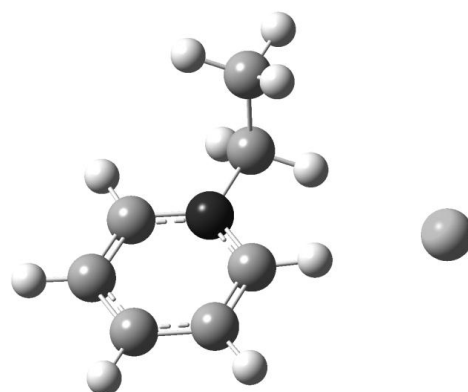


図 5 CT 遷移が起こっていると示唆される EpyCl の相対配置

cyclopentane-1,3-diyl 型ジラジカル種の時間分解赤外分光

(広島大院・理¹, 広島大・理², 広島大QuLiS³)
 前田晃宏^{1,3}, 背山信², 尾下隆英¹, 安倍学¹, 石橋孝章^{1,3}

【序】 電子のスピン多重度は、分子の構造や反応性に深く関係する。一重項ジラジカルはホモリシス開裂における中間体として重要であるが、比較的安定な三重項ジラジカルと比べて寿命が短いため、その性質については十分に解明されているとは言えない。近年、安定化に向けた研究により、数百ナノ秒～数ミリ秒の寿命を持つ一重項ジラジカル種が合成され、紫外可視吸収などを用いてその電子状態の性質は明らかにされつつある。しかし、分子構造に対して鋭敏な振動スペクトルの観測はまだ行われていない。そこで今回、構造や結合に関する知見を得ることを目的としてマイクロ秒領域の時間分解赤外分光法を用いてシクロペンタン-1,3-ジイル型ジラジカルの一重項および三重項状態の測定を試みた。

【実験】 図1に測定対象種の構造を示す。前駆体のアゾアルカン(a)のジクロロメタン溶液(10 mM)を、紫外光励起 (Nd:YAG レーザーの4倍波 266 nm, 3 mJ/pulse, 0.4 Hz) することでジラジカル(b)を発生させ、ジラジカルの生成および崩壊過程を自作の AC 結合方式分散型赤外分光装置(赤外光源はセラミック光源、検出器に光起電力型 MCT を使用)を用いて観測した。なお、測定には溶液循環セルを用いた。時間分解能は検出器の前増幅器によって制限され約 30 ns である。

前駆体アゾアルカンとして、一重項ジラジカルを発生させることが知られている^[1]、1,3-ジ-(4-シアノフェニル)-2,2-ジメチルオクタヒドロペンタレンの NN 架橋体(図1(a) X=OMe の場合。以下メキシ体と表記。)と、三重項ジラジカルを発生させることが知られている^[2]、1,3-ジ-(4-シアノフェニル)-2,2-ジメチルオクタヒドロペンタレンの NN 架橋体(図1(a) X=Me の場合。以下メチル体と表記。)を用いた。

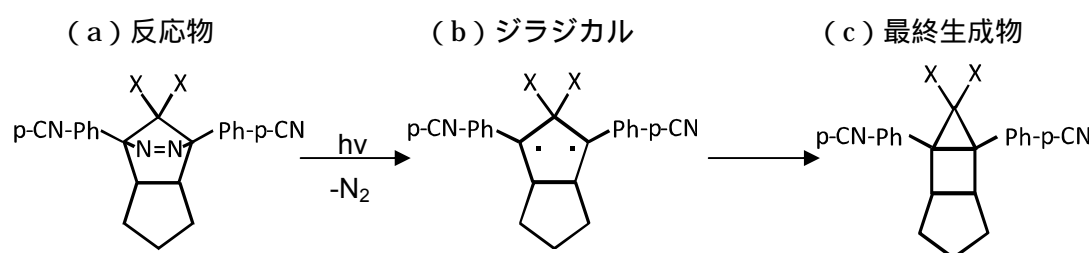


図1 測定対象種の構造

ジラジカル(b)は、X=OMe の時に一重項基底状態、X=Me の時に三重項基底状態をとる。^{[1][2]}

【結果と考察】 図2に時間分解赤外分光測定の結果を示す。(a)がメキシ体の場合、(b)がメチル体の場合の結果である。ここに示した結果は定常状態と比較した差スペクトルであり、バンドの増加は吸収の増加、バンドの減少は吸収の減少を表す。なお、定常状態では両者ともほぼ同じ位置に吸収が観測され、この 2232 cm⁻¹ の吸収は反応物のシアノ基の CN 伸縮による吸収に帰属できる。

メキシ体の差スペクトルを見ると(図2(a))、紫外光の照射の直後に 2235 cm⁻¹ 付近の吸収の減少と 2218 cm⁻¹ 付近の吸収の増加が見られ、その後増加した 2218 cm⁻¹ の吸収が徐々に減少するのに伴って 2226 cm⁻¹ 付近の吸収が増加した。これは、紫外光照射の直後にまず反応物から過渡種が生成し、その後、過渡種が徐々に最終生成物へと変化している様子に対応していると考えられる(図1、X=OMe)。過渡種の寿命は約 740 ns であり、各吸収の位置や寿命は、N₂ バブリングや O₂ バブリングによって変化しな

かった。

一方で、メチル体(図 2(b))では、紫外光の照射の直後 2235 cm^{-1} 付近の吸収の減少と 2210 cm^{-1} 付近の吸収の増加が見られ、2210 cm^{-1} の吸収が徐々に減少するのに伴って 2226 cm^{-1} 付近の吸収が増加した。これもメトキシ体の時と同様に反応物が過渡種となり最終生成物へと変化する様子に対応していると考えられる(図 1, X=Me)が、過渡種の寿命はメトキシ体の場合とは明らかに異なっており、 N_2 バブリングした状態で約 5.3 μs であった。また、 O_2 バブリングによってこの寿命は約 500 ns にまで短寿命化することから、三重項であることを確認した。

さらに、得られたスペクトルをバンド分割し、フィッティング解析を行うことで、反応物、過渡種、最終生成物のピーク位置を決定した(表 1 上段)。その結果、ジラジカル種の CN 伸縮振動はどちらの場合も出発物質のものよりも低波数シフトしており、一重項ジラジカルのピークは三重項ジラジカルのピークに比べて 8 cm^{-1} 高波数側に吸収があることが分かった。

反応に関係する化学種の量子化学計算(UB3LYP/6-31G(d))を行い、過渡種(ジラジカル種)の CN 伸縮振動の結果を比較したところ、一重項ジラジカルの方が三重項ジラジカルよりも、高波数となることが分かった。(表 1 中・下段)これは測定データの傾向と一致している。

以上より、赤外分光法を用いて、ジラジカルのラジカル中心に付いたベンゼン環のパラ位のシアノ基の状態に、一重項と三重項の間で違いがあることを実験的に確認した。

[1] Abe, M., et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6540.

[2] Kita, F., et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9265.

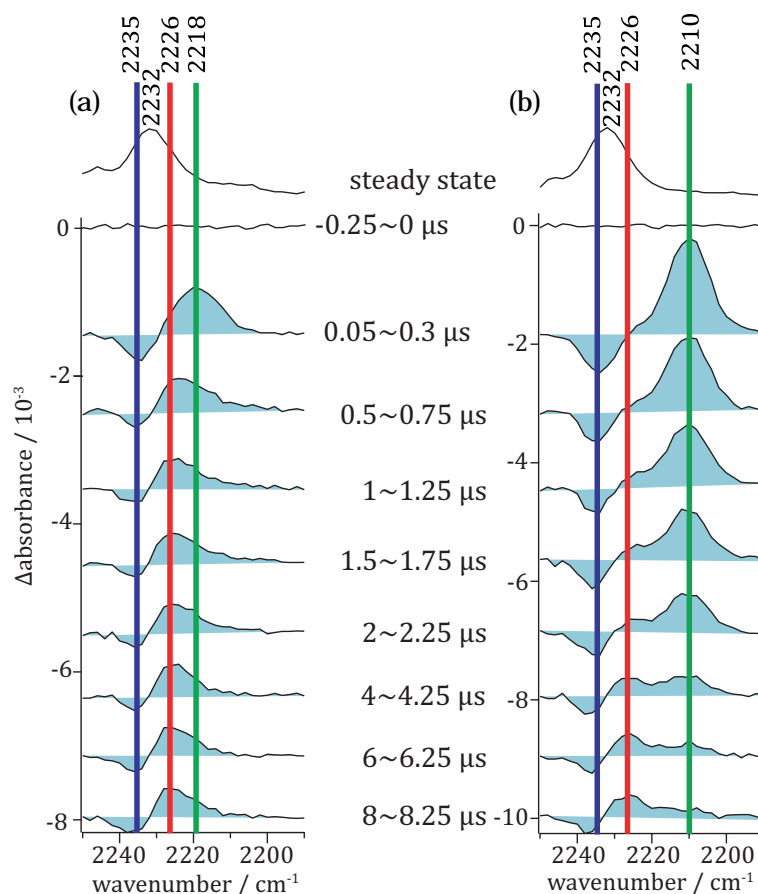


図 2 測定した時間分解赤外スペクトル

(a)はメトキシ体(一重項ジラジカル)

(b)はメチル体(三重項ジラジカル)(N_2 バブリング有)

一重項ジラジカル

分子種	反応物	過渡種	最終生成物
実測値(fitted) / cm^{-1}	2235	2218	2228
CN 逆対称伸縮 / cm^{-1}	2257	2239	2255
CN 対称伸縮 / cm^{-1}	2257	2239	2257

三重項ジラジカル

分子種	反応物	過渡種	最終生成物
実測値(fitted) / cm^{-1}	2235	2210	2231
CN 逆対称伸縮 / cm^{-1}	2257	2236	2255
CN 対称伸縮 / cm^{-1}	2257	2236	2256

表 1 実測値のフィッティング解析の結果得られたピーク位置と、UB3LYP/6-31G(d)で計算した CN 伸縮振動ピーク位置 (scaled; scaling factor = 0.9613)

4D16

イオン液体中の三重項消光で生じた $O_2(^1\Delta_g)$ の生成と緩和ダイナミクス

(東工大 理工) 文字群生、秀森丈寛、Schamel, Debora、塩崎雄大、赤井伸行、

○河合明雄、渋谷一彦

【序】イオン液体は、20世紀末に研究上で大きなブレイクがあり、それ以降、広い分野で研究されるようになった新しい液体である。この液体は特異的な物性を多くもち、その原因について様々な計測実験や理論計算が行われている。一般的な分子性液体に比べて粘性が高いことが一つの特徴であり、この性質からイオン液体中の拡散は遅い、すなわち化学反応速度は分子性溶媒中よりも遅い、との見方があった。しかし、計測されたイオン液体中の溶質分子の拡散係数は、粘度を Stokes-Einstein の式に当てはめて計算した値よりも数倍程度大きい [1-3]。そのため、定性的な表現ではあるが、イオン液体中の化学反応は思ったほど遅くない、と認識されている。このような特徴がどのような仕組みでもたらされるのかについては未解明な点が多く、MD 計算で予測されるイオン液体中の極性と無極性ドメインのマイクロ構造をもとに、議論がさかんである。

我々は、イオン液体中の光化学反応ダイナミクスやイオン液体自体のフォトクロミック反応[4]に興味をもっている。このような過程を理解するために、光励起状態の緩和過程として極めて基本的な反応である溶存酸素による消光反応を研究対象とし、酸素分子の溶解や拡散運動、励起状態との衝突錯体形成と錯体内緩和過程、などについて報告してきた。本研究では、酸素による励起状態消光で発生した一重項酸素 $O_2(^1\Delta_g)$ の分散りん光スペクトルやりん光寿命のイオン液体依存性をもとに、酸素分子の拡散や溶解と励起状態緩和の関わりについて議論したい。

【実験方法】イオン液体中での反応速度計測および分光計測では、ナノ秒レーザーによる過渡吸収法、および酸素の励起状態（一重項酸素、 $O_2(^1\Delta_g)$ ）からの近赤外発光の時間分解計測法を用いた。観測対象としては、メチレンブルー(MB) やポルフィリン誘導体のレーザー光励起で生じた三重項が溶存酸素で消光され、 $O_2(^1\Delta_g)$ が生成する一連の反応系を選んだ。励起光源としては、過渡吸収計測では OPO レーザー (657nm ; MB の吸収ピーク波長)、近赤外発光検出では YAG レーザーの第二高調波(532nm)を用いた。サンプルの溶存 O_2 濃度は、任意の混合比の O_2/Ar 混合ガスをバブリングすることで変化させ、様々な O_2 濃度のサンプルに対して三重項寿命を決定した。近赤外分光では、1270nm 付近のりん光を干渉フィルターあるいは近赤外分光器を通し、サブナノ秒の時間応答をもつ近赤外用光電子増倍管 (浜松ホトニクス C7990-11) を検出器として用いた。溶媒には、分子性溶媒の他、イオン液体として [Bmim][anion] (anion= PF_6^- , BF_4^- , Tf_2N^-), [MeBuPyr][Tf_2N^-], $[N_{3,1,1,1}][Tf_2N^-]$ (略称: Chart 1) などを用いた。イオン液体の粘度は、回転型粘度計(Brookfield, DV-II+ Pro)を用いて測定した。

【結果と考察】 Fig 1 は $N_{3111}Tf_2N$ 中において MB 三重項の溶存酸素消光により生じた $O_2(^1\Delta_g)$ の時間分解

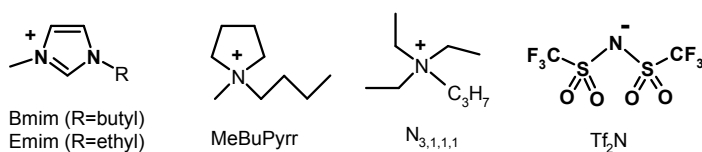


Chart 1 用いたイオン液体の例

近赤外発光スペクトル (a)、およびそのピーク波長で測定した O_2 $^1\Delta_g$ 発光の時間変化 (b)である。スペクトルには 1270nm 付近にピークをもつバンドが現れており、これは O_2 の $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ 遷移によるりん光と帰属した。発光の時間変化は、単一指数関数減衰で解釈でき、寿命はおおよそ 72 μ s であった。早い時間領域では、MB 三重項から O_2 $^1\Delta_g$ が生成する過程が立ち上がり成分として観測された。

O_2 分子のイオン液体中の拡散は、Stokes-Einstein の式による予測よりも数倍速い。その説明として、カチオンのアルキル鎖が作る領域がイオン液体中に存在し、 O_2 がその間隙をぬって移動する機構が提唱されている。 O_2 分子は無極性な溶媒の方が溶解しやすい傾向にあるため、 O_2 分子がアルキル鎖のつくる無極性ドメインに存在しやすいと考えられ、拡散のモデルと合致する。 O_2 が無極性領域に存在することを直接観ることは難しい。しかし、 O_2 $^1\Delta_g$ の場合は、りん光の中心波長 λ_p が溶媒環境に依存することが知られ、分散りん光スペクトル測定から存在する環境の情報を引き出せる可能性がある。今回このよ

うな観点から、様々なイオン液体中で分散りん光スペクトルを測定した。分子性溶媒中では、 λ_p が溶媒の分極率に相関をもつことが知られているが、イオン液体中に関する今回の結果にそのような傾向はみられなかった。むしろ、アニオンの種類に依存する結果が得られた。一般に溶液中の λ_p は気相中に比べてレッドシフトするが、アニオンが BF_4^- のイオン液体の方が Tf_2N^- の場合より大きくするレッドシフトした。このことは、 O_2 $^1\Delta_g$ が極性ドメインのアニオンと相互作用しながら溶存していることを示唆する。寿命に関しても、カチオンの依存性はあまり明確ではなく、アニオンの種類に依存することがわかった。例えば Tf_2N^- のイオン液体中ではりん光寿命が数 10 μ s であるのに対し、 BF_4^- のイオン液体中では 10 μ s 以下程度であった。このように、 O_2 $^1\Delta_g$ は、アニオン近辺に存在し、アニオンの影響で λ_p やりん光寿命が決まることが示唆された。 λ_p や寿命の気相からのずれは、 BF_4^- のイオン液体中の方が Tf_2N^- のイオン液体中よりも大きいいため、 O_2 $^1\Delta_g$ とアニオン間の電荷移動のような相互作用が溶媒効果として重要であると推測している。

この他、イオン液体中の三重項が O_2 分子によって消光されて O_2 $^1\Delta_g$ を生成する反応についても過渡吸収測定を行った。その速度定数などについて、イオン液体の溶媒効果をもとに議論する予定である。

【文献】

- [1] D. Morgan, L. Ferguson, P. Scovazzo, *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 4815 (2005).
- [2] X-J Huang, E.I.Rogers, C.Hardacre, R.G.Compton, *J. Phys. Chem. B* **113**, 8953 (2009).
- [3] Y. Nishiyama, M. Fukuda, M. Terazima, Y. Kimura, *J. Chem. Phys.* **128**, 164514 (2008).
- [4] A. Kawai, D. Kawamori, T. Monji, T. Asaka, N. Akai, K. Shibuya, *Chem.Letters*, **39**, 230 (2010).

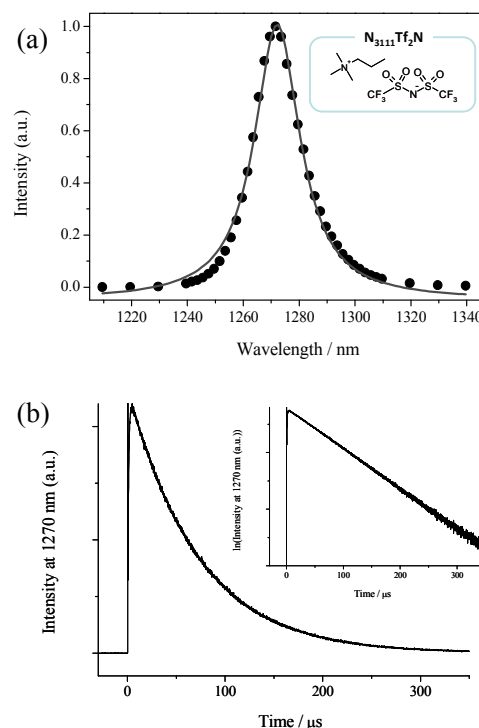


Fig 1 イオン液体中の O_2 $^1\Delta_g$ (a) 時間分解分散りん光スペクトル、(b) その時間減衰曲線。

大自由度分子系のダイナミクスを記述する低次元力学系の抽出

(北大電子研) ○河合 信之輔, 寺本 央, 小松崎 民樹

【序】生体を含め多くの重要な化学反応が凝縮相で起こっている。通常ひとつの分子は多数の原子から構成され、それをさらにアヴォガドロ数オーダーの溶媒分子が取り囲んでいる。計算技術の発展に伴い、多数の原子をあらわに扱ったシミュレーションが可能になってきているが、その結果を解釈し理解を得たい時にこれら大多数の原子の動きを全て詳細に把握する必要があるのであるだろうか？直観的には、系を「代表」する少数個の変数があり、それらによって現象の本質的な所が大部分記述できると想像できるが、そのような「本質的な変数」を客観的に抽出する手法があれば様々な現象の理解に大きく貢献するものと期待できる。

【手法】大規模系の運動方程式を興味ある少数の変数に射影し、低次元の見通し良い解析を可能にするのが一般化ランジュバン方程式(GLE)という記述方法である。

$$\frac{d^2}{dt^2} q(t) = -\frac{\partial V(q)}{\partial q} - \int_0^t K(t-t'; q(t'), \dot{q}(t')) dt' + \xi(t)$$

あるいはその摩擦項を線形近似した以下の方程式がよく使われる。

$$\frac{d^2}{dt^2} q(t) = -\frac{\partial V(q)}{\partial q} - \int_0^t \gamma(t-t') \dot{q}(t') dt' + \xi(t)$$

ここで、 $q(t)$ は系を記述するために選ばれた変数、 V は平均力ポテンシャル、 K は系の履歴に依存する摩擦力、 ξ は環境から受けるランダム力である。摩擦項が線形な場合の係数 $\gamma(t-t')$ は摩擦核と呼ばれる。任意の系がこの形に書けることは60年代の研究で既に証明されているが[1]、具体的な系で平均力ポテンシャルや摩擦核の関数形を第一原理から計算するのは実際上困難である。本研究ではまず全原子を明示的に扱ったシミュレーションを行い、その結果得られる時系列を用いてGLEを求める。得られた摩擦核は系として選んだ変数 $q(t)$ の周囲の環境自由度と系との相互作用の情報を含んでおり、その関数形を用いて実効的な環境自由度を抽出する事が可能である。全原子レベルのシミュレーションを出発点とすることで、モデル化による恣意性を最大限排除するとともに、GLEとその摩擦核から得られる環境自由度による少自由度の見通し良い記述を得ることができる。さらに、取り出した自由度と元の原子座標との関係をも含めて現象を理解することを目指す。

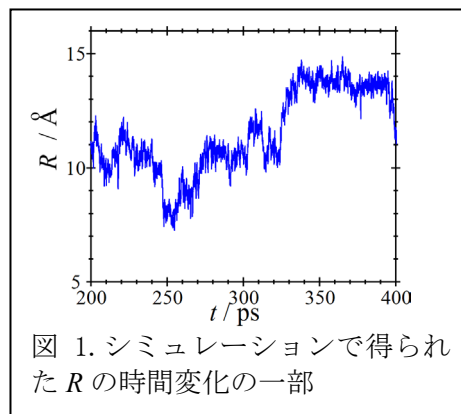


図 1. シミュレーションで得られた R の時間変化の一部

【結果】例として、生体分子 Met-enkephalin の水中での構造転移を解析した。系を記述する変数 q としては末端間距離 R を取った。図 1 に R の時間変化の一例を示す。このような R の時系列から、これの従う GLE を得た。得られた GLE に含まれる平均力ポテンシャルの R 依存性と摩擦核の時間依存性とを図 2 に示す。シミュレーションの先行研究[2]により、この分子は常温で 3 つの構造異性体の間を転移する事が分かっているが、それに対応してポテンシャル上に複数の極小領域が存在する。また、摩擦核の時間依存性は 12 個の振動成分に分解できる事が分かった。このことは、今選んだ変数 R の周囲に 12 個の振動的自由度が存在し、構造異性化反応のダイナミクスは本質的に R と 12 個の環境自由度との相互作用によって記述できる事を示している。結果として溶質 75 原子と溶媒 2517 原子から成る系(自由度約 8000)が、末端間距離 R と 12 個の実効的環境自由度から成る系に落としたことになる。

以下、ここで見出された環境自由度を振動数の高い順に ζ_1 から ζ_{12} と書く。 ζ_n の時間発展は減衰振動であり、振動数は $30\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ 、時定数は $20\text{ fs-}2\text{ ps}$ の範囲で広く分布していた。これらの環境自由度が実際の原子のどのような動きに対応しているのかを調べるため、得られている軌道データを用いて ζ_n と結合距離・結合角との相関を調べた。例として ζ_3 と ζ_8 についての結果を図3に示す。結合が赤で示されている所は、該当する結合長と ζ_n との相関が正、すなわち核間距離が長いほど ζ_n も大きいことを表わしており、青はその逆、色が示されていないのは相関が小さい(0.05以下)ことを示す。結合角についても同様に示した。この表示から、 ζ_8 は複数の核間距離・結合角が協同的に増減する動きに対応しており、一方 ζ_3 は特定の結合に比較的局在していることが分かる。また、GLEの変数として選んだ末端間距離 R に対応する場所を緑色の矢印で示すが、 ζ_n は R と実質的に相互作用している自由度として抽出してきたため、 R と近い位置にある結合への射影が大きい事も分かる。このように ζ_n は一様ではなくモードによって異なる場所の原子の運動に対応している。

以上の解析により、大多数の原子から成る系が少数(今回扱った系の場合は13個)の変数によって実質的に記述できることと、その実効的な変数と元の原子座標との関係を明らかにする事が出来た。このように系の実効的な次元を減らしたことにより、これまで少自由度の力学系理論から開発されてきた手法を凝縮相化学反応の解析に今後用いていく事が可能になると期待される。例として、我々がこれまで行ってきた標準形理論の手法[3]により、反応が起こるか起こらないかを分ける相空間内の分割面を抽出し、その位置を決めている種々の物理的効果を議論する事が可能である。

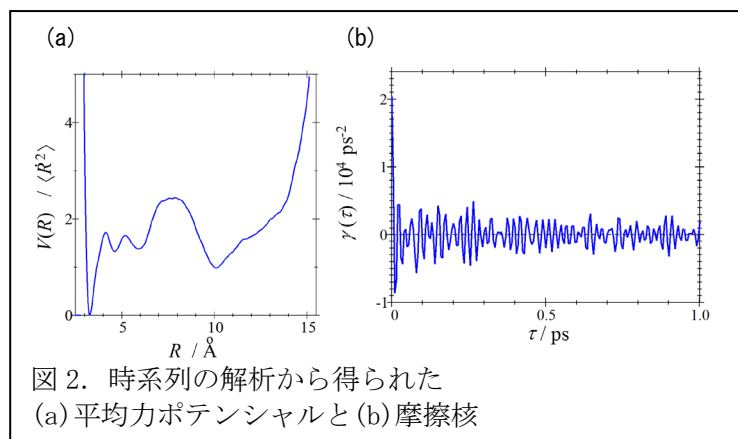


図2. 時系列の解析から得られた
(a)平均力ポテンシャルと(b)摩擦核

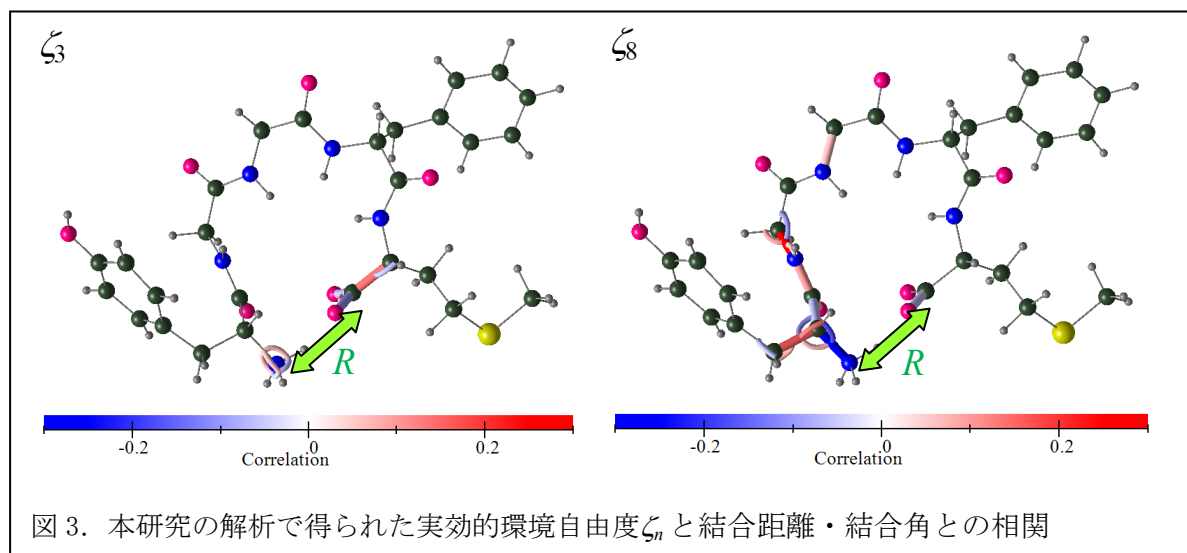


図3. 本研究の解析で得られた実効的環境自由度 ζ_n と結合距離・結合角との相関

- [1]Mori, Progr. Theor. Phys., 33, 423 (1965); Kubo, Rep. Progr. Phys., 29, 255 (1966); Zwanzig, "Nonequilibrium Statistical Mechanics"
- [2]Sanbonmatsu and García, PROTEINS 46,225–234 (2002); Zaman, Shen, Berry, and Freed, J. Phys. Chem. B, 107, 1685 (2003)
- [3]Kawai and Komatsuzaki, J. Chem. Phys., 131, 224505 (2009); J. Chem. Phys., 131, 224506 (2009); Phys. Chem. Chem. Phys., 12, 7626 (2010); Phys. Chem. Chem. Phys., 12, 7636 (2010); Phys. Chem. Chem. Phys., 12, 15382 (2010)

電解質溶液中での同符号マクロイオン間引力と生体分子間相互作用

(九大・理) ○秋山 良, 坂田 亮

1 : はじめに

同符号の電荷を持つ2つのマクロイオンについて考える。例えば、負の符号を持つマクロイオン同士は、真空中にその2つだけしかないならば反発する。しかし、実験事実は液体の中では必ずしもそうではない事を示している。溶液中の実効相互作用が真空中での相互作用とは定性的に異なっている事は珍しくない。この事は既に現象としては良く知られている。一例を挙げると、長い紐状分子であるDNAは、紐全体に負電荷が広がった高分子である。真空中の相互作用を基に予測するならば、(高分子のモノマー配座のエントロピー損失をも跳ね返して)クーロン反発によってピンと伸びきった形状が安定になると予想できる。実際、電解質濃度の低い溶液中では、その予想は概ね妥当である(図1左)。しかし、塩を添加する事でDNAは凝縮状態になってしまう(図1中)。塩添加が原因となって負電荷を持つモノマー間に強い実効引力が働いていると考えられる。ところが、更なる塩添加でDNAは再び広がってコイル状態になってしまう(図1右)。つまり、引力は消失すると考えられる。また、このリエントラントな挙動は、凝縮がチェーンエントロピーの効果のみによっているわけではない事を示唆する。こうした現象の理解を目指してモデル系を用いて理論的なアプローチを開始した。この同符号イオン間引力に関するリエントラントな挙動について、理論的に再現する事が出来たので、その結果と解釈を報告する。

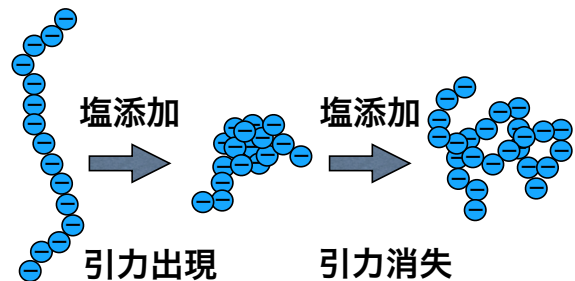


図1. 電解質濃度上昇に伴うDNAのリエントラントな振る舞い

2 : 理論計算

電解質水溶液を想定した水溶液中に無限希釈で負の符号を持つマクロイオンを浸した。すなわち、陰イオン、陽イオン、溶媒分子は 2.8\AA の直径を持ち、剛体球相互作用とクーロン相互作用で表現した。ただし、溶媒分子は無電荷とした。クーロン相互作用は水の誘電率で割り、体積充填率は常温の水程度とした。電解質濃度は $10^{-6}\text{M}\sim 10^{-0}\text{M}$ の間で変化させた。マクロイオンも6倍の剛体球に電荷を埋め込んだも

のとした。その電荷は、変化させた。こうしたモデルに対して HNC-OZ 理論を用いて計算を行った。まずマクロイオンを電解質溶液に沈めて動径分布関数を求め、その分布関数を用いてマクロイオン間の実効相互作用を計算した。

3 : 結果と議論

マクロイオン間の実効相互作用から求めた結合自由エネルギー W を図 2 に示す。まず、マクロイオンの電荷が $-8e$ 以下の場合には、カチオンによる遮蔽効果が見られる。すなわち、電解質濃度が上昇するに従いマクロイオン間のクーロン斥力がカチオンにより遮蔽され、電解質濃度の上昇とともに W は減少する。しかし、強く安定化される事は無い。一方で、マクロイオンの電荷が $-9e$ より大きい場合には、電解質濃度が mM オーダーとなる領域でマクロイオン 2 量体は強く安定化される。しかし、更に濃度が上昇すると、そのマクロイオン間引力は消える。即ち、実験結果と同様なリエントラントな挙動を示す。

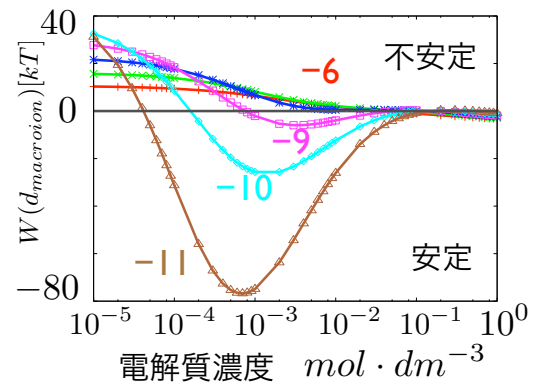


図 2. 同符号マクロイオン 2 量体の結合自由エネルギー W の電解質濃度依存性

この同符号マクロイオン間の強い引力は、共有結合と同様な機構で説明できる。即ち、イオン分布の雲を電子雲をととして捉えると対符号イオン（今回の場合カチオン）による“共有結合”が二つのマクロイオンを結びつけていると捉える事も出来る。実際、重ね合わせ近似を用いて結合部近傍でのカチオンの局所濃度を縦軸に、電解質濃度を横軸にプロットすると、完全に対応がつく。重ね合わせ近似が定性的に良い結果を与えるという事は、本来の共有結合でも定性的には LCAO 近似で説明可能な事が多く有る事に対応している。当日はこの同符号粒子間引力の研究の歴史を踏まえて、biological な文脈での議論を行う予定である。例えば、DNA の情報読み出しや、蛋白質分子であるアクチンの会合と分子モーターの機能についてもコメントする予定である。

[1]モデルと計算の方法は基本的には以下の文献と同様である。（ただし、イオン半径を変えて計算している。） R. Akiyama, N. Fujino, K. Kaneda, and M. Kinoshita, *Cond. Matt. Phys.*, **10**, 587-596 (2007)

4D19

タンパク質内エネルギー散逸の時空間分解観測：ヒーター分子からの距離依存性

(阪大院理) 藤井 直樹, 水野 操, 石川 春人, ○水谷 泰久

はじめに 反応余剰エネルギーの緩和は、液相中での化学反応を理解するうえで非常に重要な過程である。この緩和機構の解明には、分子レベルの空間分解能とピコ秒の時間分解能でエネルギー分布を求める必要がある。本研究では、ヘムタンパク質のヘムを光励起し、そこで発生した余剰エネルギーがタンパク質内をどのように伝搬するかを、時間分解共鳴ラマン分光法を用いて調べた。220-250 nm の紫外光を用いると、タンパク質中に含まれる芳香族アミノ酸残基の共鳴ラマンスペクトルが選択的に得られる。また、アンチストークスラマン散乱光の発生は振動励起状態に特有の現象であるので、その強度から残基がもつ余剰エネルギーの大きさを求めることができる。したがって、ヘムの光励起後、アミノ酸残基のアンチストークス共鳴ラマンスペクトルを時間分解測定することによって、特定の残基に関するエネルギーの流入・流出を実時間測定することができる。本研究では、このような共鳴ラマン分光法の長所を最大限に活かして、ミオグロビンのタンパク質内エネルギー散逸の時空間マッピングを試みた。ミオグロビンを用いた理由は、ヘムの光励起に対して安定であること、変異体も含めタンパク質の立体構造が X 線結晶構造解析から詳細に調べられていること、大腸菌中の発現によって比較的大量にタンパク質試料が調製可能であるためである。

実験 モード同期チタンサファイアレーザーの出力を再生増幅器（繰り返し周波数 1 kHz）で増幅して得られたパルス光（波長 810 nm、パルス幅 2.6 ps）より、自作の波長変換システムを用いてプローブパルス（波長 230 nm）およびポンプパルス（波長 410 nm）を得た。ポンププローブ法（相互相関幅 3.7–3.8 ps）によって時間分解ラマンスペクトルを測定し、バンド面積強度の時間依存性から振動エネルギー励起／緩和の時定数を求めた。

試料には、立体構造が詳細に調べられているマッコウクジラ由来のミオグロビンを用いた。このミオグロビンにはトリプトファンが 2 残基含まれているため、まずこれらをラマン散乱強度の弱いチロシン、フェニルアラニンに置換した変異体(W7Y/W14F)を作製した。その際、大腸菌での発現量が著しく低下したため、ベクターの交換、培養条件の最適化を行った。これによって、収量を約 10 倍に改善することができた。この変異体にトリプトファン残基を 1 残基導入し、トリプトファン残基の振動エネルギー励起／緩和を、その時間分解アンチストークス共鳴ラマンスペクトルによって観測した。ヘムから同じ方向で、かつ距離の異なった位置にトリプトファンを導入した変異体 2 種、W68 および W28 変異体、を作製し、ヘムからのエネルギー伝搬について、距離依存性を調べた（ヘムからトリプトファン残基までの距離は、それぞれ 6.2 および 11.8 Å である）。これらに加え、クジラ由来ミオグロビンの 14 番目のトリプトファンを残した変異体、W14 変異体についても振動エネルギー励起／緩和を調べた。この変異体において、ヘムからトリプトファン残基の距離は 15.2 Å である。

結果・考察 W68 変異体の時間分解アンチストークス紫外共鳴ラマンスペクトルを図 1 に示す。ヘムの光励起に伴って、バンド強度の増大とそれに引き続いた減少が観測された。バンド強度の増大はトリプトファン残基へのエネルギーの流入に、バンド強度の減少はトリプトファン残基か

らのエネルギーの流出に対応している。図2は、760 cm^{-1} にみられるW18 バンド強度の時間変化を示している。縦軸の強度は、W68 変異体の 5 psでのバンド強度で規格化したものである。図中の実線は、関数 $A[\exp(-t/\tau_{\text{decay}}) - \exp(-t/\tau_{\text{rise}})]$ と、装置応答関数とをコンボリュートした関数でフィットした結果である。バンド強度の増加と減少の時定数は、W68 変異体では 3.0, 9.6 psと、W28 変異体では 4.0, 19.2 psと求められた。われわれは以前、リガンドの光解離後のヘムの振動冷却過程を調べ、その時定数を 1-2 psと求めた¹。また、水の赤外吸収スペクトル変化から求められたタンパク質から水へのエネルギー移動は、7.5 ps (60%)および約 20 ps (40%)の時定数で表される2つの成分からなることが報告されている²。トリプトファン残基へのエネルギー流入の時定数がヘム冷却の時定数よりも大きく、かつエネルギー流出の時定数がヘム冷却の時定数（遅い成分）と同程度かそれよりも小さいことは、余剰エネルギーが、ヘム→タンパク質→水と伝搬するという描像と矛盾しない。さらにアンチストークスバンド強度の比較から、28番目の位置には、68番目の位置の約 1/3 のエネルギーが到達していることがわかった。W14 変異体では、アンチストークスW16 およびW18 バンドは観測されたものの、その強度はきわめて弱かった。熱源からの距離が離れると、観測サイトでのエネルギーの伝達速度が遅くなるということ、および余剰エネルギー量が低下するということが、熱拡散の考え方と矛盾しない。しかし、3種類の変異体の測定結果それぞれに、熱拡散方程式から得られた関数を当てはめると、同一のパラメーターでは表現できなかつた。これはナノメートル前後のマイクロなスケールでのエネルギー伝達を考える際、通常の熱拡散の考え方では、その挙動を適切に表現できないことを示している。

本研究は、タンパク質内でヒーターサイトと観測サイトの相対位置を制御し、エネルギーの移動を直接観測した最初の例である。この観測の成功によって、本研究の手法が、エネルギー緩和の解明に極めて有効であることを示すことができた。

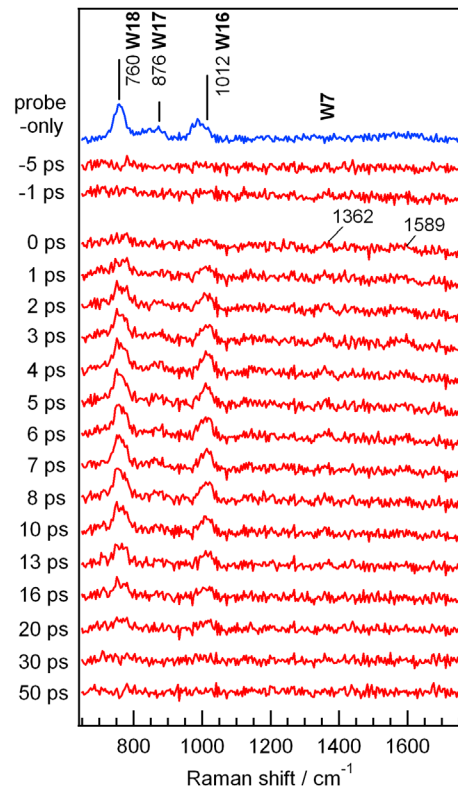


図1. V68W 変異体の時間分解アンチストークス紫外共鳴ラマンスペクトル。一番上のスペクトルは、プローブ光のみで測定したスペクトル、その他のスペクトルは、時間分解差スペクトルである。

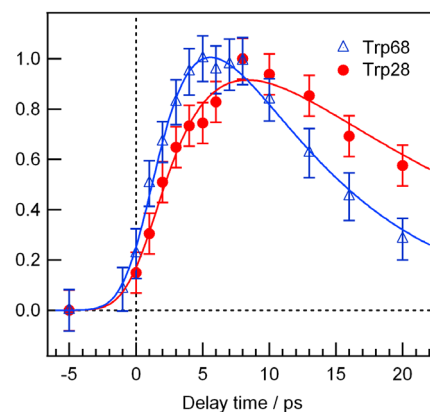


図2. Trp68 と Trp28 の W18 バンドの面積強度変化の比較。縦軸の強度は、それぞれの強度変化において、最も強い値で規格化した値である。

¹ Mizutani, Y.; Kitagawa, T. *Science* **1997**, 278, 443; Mizutani, Y.; Kitagawa, T. *Chemical Record* **2001**, 1, 258.

² Lian, T.; Locke, B.; Kholodenko, Y.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 11648.