

ナノ多孔質ガラス中での光合成タンパク質による 光誘起水素発生系の構築 _{出羽 毅久} (名古屋工業大学)

Light-Driven Hydrogen Production by Photosynthetic Proteins Immobilized in Nanoporous Glass Plates

Takehisa Dewa (Nagoya Institute of Technology)

Abstract :

Methods to efficiently produce clean energy, e.g., solar hydrogen, generated by sunlight must be developed. Natural photosynthesis is a highly efficient system of light-energy conversion, which provides high-energy products from sunlight and water through light reaction processes. There are a lot of key elements that we have to learn from natural photosynthesis: strategies of light harvesting, charge separation, and subsequent electron transfer to produce high-energy compounds, e.g., NADPH equivalent to H_2 . Photosystem I (PSI), a photosynthetic pigment-protein complex, which consists of light harvesting, charge separation, and electron transfer elements, is a potential candidate as a photosensitizer for a component of conversion system from light energy to highenergy compounds. However, oxygen molecules in such catalytic systems hinder reactions as a quencher and inhibitor. This would prevent practical use of light-induced H_2 production systems. In this study, we constructed photocatalytic systems immobilized in nanoporous glass plates, which work efficiently. We demonstrate that nanoporous glass plate systems containing a Ru-complex and PSI as photosensitizers function as light-driven hydrogen production systems.

1. はじめに

太陽光によるクリーンエネルギーの生産システムの開発と実用化は必ず達成されなければならな

い課題である。小規模でも高効率な家庭用システムが実現できれば、住居/都市における環境や生 活スタイルに革新的な変化が起こせると期待できる。光合成は非常に高効率な光エネルギー変換シ ステムである。その明反応では光と水(電子供与源)を原料として高エネルギー物質(水素と等価)を 生産している。この光反応はクロロフィルなどの色素とタンパク質の複合体により行われている。 光化学系I複合体 (PSI) と光化学系II複合体(PSII)は光収穫、電荷分離、電子伝達機能を有する部品 から形成されており、光エネルギーから高エネルギー物質生産を担う重要な要素を含んでいる。近 年、PSIに水素発生触媒部位を結合させた光誘起水素発生系が報告された¹⁻³。しかし、系中に存 在する酸素は光触媒反応を阻害することが問題である。光合成系では、PSIIが光エネルギーを利 用して水から電子を引き抜き、PSIに電子を供給しているが、このとき水の酸化により酸素が発生 する。PSI(カソード反応:水素発生)とPSII(アノード反応:水の酸化)を人工系で利用することに より、光と水を原料とするクリーンな水素発生系の構築が期待できるが、発生する酸素に対する水 素発生系の耐性が大きな問題となる。この問題に取り組むために、本研究課題ではナノ多孔質ガラ ス中に光合成タンパク質PSIなどからなる光誘起水素発生系を構築し、外部に存在する酸素により 阻害を受けない触媒反応系を開発した。まず、低分子光増感剤のルテニウム錯体(Ru(bpy)₃²+)を用い た光触媒系について検討し、ナノ多孔質ガラス中に固定化することにより酸素存在下で均一溶液系 と比較し約3000倍もの高い水素発生活性を有することが分かった。さらに、PSIを固定化したナノ 多孔質ガラスを作成し、高い酸素耐性を有する光誘起水素発生系が構築できた。

ナノ多孔質ガラス中でのルテニウム錯体/電子伝達体/水素発生触媒(ヒドロゲナーゼ)による光 誘起水素発生

光合成タンパク質(PSI)による検討を始める前に、低 分子化合物のルテニウム錯体(Ru(bpy)_s²⁺)を光増感剤とす る水素発生系をナノ多孔質ガラス中に構築した(図1)。

2.1 ナノ多孔質ガラス(PGP:図1a)

ナノ多孔質ガラス(nanoporous glass plate: PGP)は共 同研究者の神 哲郎博士(産業総合技術研究所)に作成し て頂いたものを用いた。PGPの模式図を図1aに示す。 ナノ多孔質ガラスはホウケイ酸ガラスを熱処理により SiO₂相とB₂O₃-Na₂O相に相分離させ、酸処理により後 者を溶出させることにより内部に細孔が形成される⁴⁵。 このプレート状のナノ多孔質ガラス中の細孔径は制御 可能で、本研究では細孔径50 nmのもの(PGP50)を用い た。細孔体積および内部表面積はそれぞれ0.323 mL/g、 35.194 m²/gであった。興味深い特徴は、細孔がプレー トの一方の面から反対の面に貫通している点である。 PGPは乾燥状態では光散乱により白色であるが、水溶 液に浸漬すると透明になり、可視領域の光を透過する。



図1. ナノ多孔質ガラス(a)とナノ細孔内での光誘 起水素発生系(b). Ru(bpy)₃: 光増感剤、 MV:メチルビオロゲン(電子伝達体) ヒド ロゲナーゼ:水素発生触媒

a ナノ多孔質ガラス (PGP50)

2.2 ナノ細孔内への触媒成分の固定化(図1b、図2a c)⁷

光増感剤としてRu(bpy)s²⁺(R)、電子伝達体 としてメチルビオロゲン(MV²⁺)(M)、水素発 生触媒として[NiFe]型ヒドロゲナーゼ(H: *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F)を用いた (図1b)。光照射によりRが光励起され、電 子がMに移る。還元型のMがHに電子を伝達 し、水中のプロトンを還元し、水素(H₂)を発 生する。酸化されたRは溶液中に添加した



EDTA (犠牲的還元剤)から電子を受け取り、次の光反応に備える。酸素を除去した溶液系でこの光 反応が触媒的に起こることはすでに報告されている⁶。これらの触媒成分をナノ細孔内に固定化し た。R, M, Hを含む水溶液中にPGP50を浸漬することにより、容易にこれらの成分が吸着固定化さ れる (図 2 a-c)。これらの成分を吸着したものをRMH-PGP50と表記する(c)。

2.3 ナノ細孔内での触媒成分の分布

Ru(bpy)²⁺とヒドロゲナーゼのガラ ス細孔内での分布を共焦点レーザー 顕微鏡により観察した。Ru(bpy)²⁺は 光励起によるリン光を、ヒドロゲ ナーゼは蛍光プローブ(ローダミン) を結合したものを作成し、この蛍光 を検出した。図3はPGP50のプレー ト断面の発光強度プロファイルを示



す。Ru(bpy)²⁺はナノ多孔質ガラス中に均一に固定化していることがわかった(図3A)。ヒドロゲ ナーゼは主にガラスプレート表面付近に吸着し、内部での吸着量は少ない(図3B)。メチルビオロ ゲンは後述するように、Ru(bpy)²⁺と同様にPGP50内に均一に分散することが分かった。

2.4 ナノ細孔内での光還元反応(還元型メチルビオロゲンの蓄積)

光増感剤のRu(bpy)₃²⁺(R)と電子伝達体の メチルビオロゲン(M)をPGP50に固定化し たもの(RM-PGP50)を電子供与体EDTAを 含む溶液に浸漬し、光照射によるRu(bpy)₃²⁺ からメチルビオロゲンへの電子移動を調べ た。酸化状態のメチルビオロゲン(MV²⁺)は 光励起したRu(bpy)₃^{2+*}から1電子還元を受 けると600 nmに吸収帯をもつラジカルカチ オン(MV⁻⁺)となり、青色を呈する。その様 子を図4に示す。



図4. Ru(bpy)s²⁺(M)とメチルビオロゲン(M)を固定化したRM-PGP50の光 化学反応。光照射前(a)はRu(bpy)s²⁺由来の黄色であるが、光照射 により速やかにメチルビオロゲン還元体(MV*)生成による青色に変 化し(b)、その後多量の還元型メチルビオロゲンの細孔内での蓄積 により黒く変化する(c)。酸素存在下においてもナノ多孔質ガラス 中に還元体のメチルビオロゲンが大量に生成することがわかった。

光照射前はRM-PGP 50はRu(bpy)₃²⁺による黄色 であるが(a)、光照射(ソーラーシュミレーター) により速やかに還元型メチルビオロゲン(MV⁺)由 来の青色に変化する(b)。光照射を続けると、さら にMV⁺の蓄積が進み 見かけ上黒く変化する(c)。 特筆すべき事は、この反応は溶存酸素が存在する 溶液中で起こっていることである。図5に約2時 間光照射した場合の600nmの吸光度変化(MV⁺)を 示す。溶液系(b)では、光照射直後に還元型メチル ビオロゲンMV⁺が生成するが、その後溶存酸素に よる酸化により、徐々に酸化型メチルビオロゲン (MV²)に戻る。一方、ナノ多孔質ガラス系(a: RM-PGP50)ではMV⁺がガラス内で蓄積し、そ の後非常にゆるやかに減少する。光照射をやめ ると(図中off)徐々に酸化されるが、長時間にわ たりMV^{**}が存在し続ける。

ナノ多孔質ガラス中のどの部分でメチルビオ ロゲンの反応が起こるのかをガラス断面を観察 することにより調べた(図6)。浸漬溶液を脱気 し、酸素を除去したRM-PGP50では光照射後(a) 暗所で30分放置しても還元型メチルビオロゲン



図5. 溶存酸素存在系での光照射によるRu(bpy)₅²⁺から メチルビオロゲンの光還元反応。a: ガラス (RM-PGP50)内反応、b:溶液系反応。



図6. RM-PGP50を溶存酸素除去下(a, b)および溶存酸素 存在下(c-f)で光照射した場合の還元型メチルビオロ ゲン(MV*)の変化。30分光照射(a,c)し、その後30分 暗所下で静置(b,d)。eとftdcとdの断面部分の写真。

の蓄積が確認できた(b)。溶存酸素存在下では30分の光照射により、(a)と同様に還元型メチルビオ ロゲンの生成がみられ(c)、そのガラス断面を観察するとガラス内部に均一に還元型メチルビオロ ゲンが生成していることが分かった(e)。これは、Ru(bpy)³⁺と同様メチルビオロゲンもガラス内部 に均一に吸着し、近接するRu(bpy)³⁺により光還元を受けていることを示している。この試料を30 分暗所で静置するとカラスの端の部分から少しずつ色が薄くなり、還元型メチルビオロゲンが酸化 されている様子が見られる。このガラス断面を観察すると(f)、ガラスの表面から酸化が進み、徐々 に内部に酸化反応が進んでいる。これは、外部溶液中の酸素が内部に浸透しているためであると考 えられる。ガラスの中心部分では還元型メチルビオロゲンが存在していることから、外部溶液から の酸素の侵入はナノ細孔の効果により非常に遅いと推察される。

2.5 ナノ細孔内での光誘起水素発生

上述のように、ナノ細孔に還元型メチルビオロゲンが安定に蓄積することから、それを利用して ヒドロゲナーゼへの電子伝達によりプロトンから水素生成が可能になると期待できる。図7に RMH-PGP50系および均一溶液系での光誘起水素発生反応の時間変化を示した。

均一溶液系 ([Ru(bpy)₃²⁺] = 0.5 mM, [MV²⁺] = 3 mM, [ヒドロゲナーゼ] = 5.5 μ M) で溶存酸素を除去 した場合、水素発生が確認できた (b)。水素発生速度は 2.9 μ mol H₂ m⁻² s⁻¹であった。溶存酸素存 在下では、わずかな水素発生しか見られなかった (c) (水素発生速度10⁻³ μ mol H₂ m⁻² s⁻¹)。一方、 ナノ多孔質ガラス系(RMH-PGP50: $[Ru(bpy)_{s}^{2+}] = 2.9$ $\mu mol/g, [MV^{2+}] = 22 \mu mol/g, [ヒドロゲナーゼ] = 55$ nnol/g)では溶存酸素存在下においても高い活性を示 U(a)、水素発生速度は2.7 $\mu mol H_2 m^{-2} s^{-1}$ であった。 溶存酸素存在系ではRMH-PGP50は溶液系と比較し、 約3000倍の活性を有する。最大の変換効率は0.36% であった。溶存酸素除去系でのRMH-PGP50の水素 発生活性は溶存酸素存在系の約1.7倍であった。この ことは外部溶液中の溶存酸素による阻害をある程度 受けていることを示している。



図7. RMH-PGP50よる光誘起水素発生(a)。 Ru(bpy)s²⁺/メチルビオロゲン/ヒドロゲナーゼを 含む水溶液系での反応(b, c)。bは溶存酸素除 去系、cは溶存酸素存在系。

上述のように、酸素分子は還元型メチルビオロゲ ンから電子を奪い、またヒドロゲナーゼも不活性化する。さらに、増感剤のRu(bpy)₃²⁺の励起三重 項を消光する。このように酸素分子はこの光誘起水素発生系に対して深刻な阻害剤となる。ナノ多 孔質ガラス中にはおそらくゆっくりとではあるが、外部溶液中の溶存酸素が侵入し、反応をある程 度阻害するが、光照射により連続的に還元型メチルビオロゲンがナノ細孔内に生成し蓄積するた め、ナノ細孔内は常に低酸素環境(嫌気環境)となっているため、反応が非常に効率よく進むと考え られる。また、触媒成分(Ru(bpy)₃²⁺, MV²⁺, ヒドロゲナーゼ)が密に吸着しているため、均一溶液系 と比較し高効率な電子伝達系が形成されているものと考えられる⁷。

2.6 くりかえし利用:耐久性

この水素発生系は電子源としてEDTAを用いて おり、EDTAが消費されると反応は停止する。そ こで、繰り返し利用が可能であるか検討した。図 8に溶存酸素存在下でのRMH-PGP50([Ru(bpy)₃²⁺] = 3.0 μ mol/g, [MV²⁺] = 17 μ mol/g, [ヒドロゲナー ゼ] = 27 nnol/g)による光誘起水素発生の繰り返し 実験を示す。光照射36時間後に光照射を停止し、 外部溶液のEDTA溶液を新しく置換(20 mM)し、 再び光照射(60時間後)すると再び水素発生が見ら



図8. RMH PGP50よる繰り返し光誘起水素発生

れた。水素発生速度は僅かに遅くなっているものの、活性は良く維持され、耐久性を有しているこ とが示された。このことは、外部溶液中の電子源(EDTA)をフローシステムなどにより交換するこ とにより、連続的な光誘起水素発生系が構築できると期待できる。RMH-PGP50中でヒドロゲナー ゼは非常に高い回転数で機能していることもわかった。触媒回転数は12時間で1.3 x 10⁵回ターン オーバーしていた。このことは、壊れやすい生体分子でもナノ細孔環境で非常に安定に機能するこ とを示唆している。

3. 水素発生機能を付加した光化学系 | 複合体(PSI)の作成とナノ多孔質ガラス中での光誘起水素発生

上述のRMH-PGP50では光増感部分と水素発生触媒部位を電子輸送体のメチルビオロゲンで結ぶ

ことにより電子伝達系を形成させた。ここでは高い光還元力 をもつ光合成タンパク質の光化学系 I 複合体(PSI)に水素発 生触媒部位として白金ナノ粒子(PtNP: 粒径3 nm)を結合させ たものを作成し(PSI-PtNP:図9)、ナノ多孔質ガラス中での 光誘起水素発生系の構築を行った。電子供給源として、アス コルビン酸、電子メディエーターとしてシトクロームc₆(cvt c₆)を用いた。

3.1 PSI-PtNP複合体の作成とPGP50への固定化

(PSI-PtNP/PGP50)

光化学系I複合体(PSI)と白金ナノ粒子(PtNP)結合 体の作成は既報を参考にして行った³。PSIはシアノ バクテリア(T elongatus)から単離精製したものを用い た。

まず、PtNPを既報に従い作成した^{3,8}。透過型電子 顕微鏡(TEM)、動的光散乱(DLS)により、粒径3nmの PtNPが形成されていることを確認した。PtNPと PSIとの結合は静電相互作用により結合(PtNP表面 の負電荷とPSI正電荷領域(図9))させた。PSI-PtNPの形成はICP-AESにより確認した。PSIは光 励起によりクロロフィル二量体(P700)のカチオンラ ジカル(P700⁺)を生じる。この正孔に電子を効果的に 注入するためには電子伝達酵素であるシトクローム c₆(cyt c₆)が有効であることが知られている。そこで、 cvt c₆を大腸菌発現系を用いて調製した。

図10に各種PSIの吸収スペクトルを示す。吸収は PSIが有するクロロフィルおよびカロテノイド由来 のものである。図10bでは680nmのクロロフィルの Qy体でノーマライズしたスペクトルを示す。PSI とPtNPを結合させたPSI-PtNP, PSI-PtNPを PGP50に結合したもの(PSI PtNP/PGP50)ともに 同様の吸収スペクトルを示している。このことは PtNPの結合やPGP50への吸着過程でPSIからクロ ロフィルなどの色素の脱離は起こっていないこと を示している。PSI-PtNP/PGP50はcvt c₆も同時 に吸着している。そのため cyt c₆由来の小さな吸



Absorbance

収帯が552 nmと417 nmに見られる(図10b)。PGP50は短波長領域に散乱に由来する吸収帯の増加 がある(図10a)。bのPSI-PtNP/PGP50のスペクトルは、この吸収帯を差し引くことにより得られ

Fluorescence

た。

PSIが機能を保持していることを示すために、77Kにおける蛍光スペクトルを測定した。PSIは エネルギーアクセプターとなる長波長クロロフィルを有しており、77Kでの低温測定によりこの 長波長クロロフィルからの発光が観察される⁹。図11に修飾前のPSI, PSI-PtNP, PSI-PtNP/ PGP50の蛍光スペクトルを示す。PSIとPSI-PtNP/PGP50では、この長波長クロロフィル由来の 発光ピークが729 nmに観察された。このことから、PSI-PtNPは天然のPSIの色素(クロロフィル) 配置を維持したままPGP50中に固定化されていることが分かる。PGP50に固定化する前のPSI-PtNPでは、より短波長領域(670 nm)にわずかに発光が見られていることから、長波長クロロフィ ルにエネルギー移動しないクロロフィルが存在しており、一部PSIの構造が変化しているものと考 えられる。しかし、PSP50中のものにはこの発光ピークは無いことから PGP50中では天然の PSIの構造を保っていることがわかる。

3.2 PSI-PtNPおよびCyt c₆のナノ多孔質ガラス中での分布

PSI-PtNPのナノ多孔質ガラス(PGP50)中での 分布を2.3と同様に共焦点レーザー顕微鏡により 調べた(図12)。図の横軸はガラスの厚さ方向の距 離 縦軸はPSI中のクロロフィル由来の蛍光強度 である。厚さ500μmのナノ多孔質ガラスプレート の両面に強いクロロフィル蛍光が見られ、内部で はその強度は弱くなっている。このことから、 PSI-PtNPはガラス表面に多く吸着し、表面から 約150μmまでの領域に存在していることが分かっ た。図中の写真はPSI-PtNPとcyt c₆を吸着させた PGP50の断面写真である。写真では見えにくい



PGP50の断面与具である。与具では見えにくい 示している。 が、縦の点線はガラス表面を表しており、矢印部分はPSI-PtNPの存在を示す緑色のバンドが見ら れる。写真中の濃淡はcyt c₆由来の赤色のバンドで 中央部分がより濃くなっている。この写真か ら明らかなように、cyt c₆はガラス断面の中央部分により多く吸着する傾向があることがわかった。

3 3 PSI PtNPによる光誘起水素発生¹⁰

PSI-PtNPによる光誘起水素発生は、還元剤(電 子源)としてアスコルビン酸ナトリウム、電子メ ディエーターとしてcyt c₆を用いた。アスコルビン 酸は溶液中に01 M添加した。まず、均一溶液系 ([PSI-PtNP] = 10 nM, [cyt c₆] = 10 μ M添加)で光 誘起水素発生活性を調べたところ、酸素除去系 (図13□)で2000 mol H₂ (mol PSI monomer unit)⁻¹ h⁻¹と高い活性を示した。酸素存在下(■)では活性 が08%に著しく低下した。これは触媒サイトの



図13. PSI-PtNPによる光誘起水素発生の時間変化。
□:酸素除去溶液系、○:酸素除去PGP50系、
■:酸素存在下溶液系、●酸素存在下PGP50系。

PtNP部分で溶存酸素が反応阻害しているためであると考えられる。PSI-PtNPをPGP50内に固定 化した系では、酸素除去系では水素発生速度は11 mol H₂ (mol PSI monomer unit)⁻¹ h⁻¹であった (○)。酸素存在系では16%に減少した(●)。RMH-PGP50系でも見られたように、酸素が存在す ると活性は低下するものの、ナノ多孔質ガラス中ではその阻害が均一溶液系と比較し極めて軽減さ れていることが分かる(0.8%から16%:酸素耐性として20倍)。この効果はRMH-PGP50系と同様 に、ナノ細孔内により溶存酸素の内部への侵入が妨げられているためであると考えられる。酸素除 去系でPGP50系が均一溶液系よりも活性が低くなったのは、電子メディエーターであるcyt c₆がナ ノ細孔内で拡散できず、また3.2で見られたように、cyt c₆のガラス内での吸着部分がPSI-PtNPの それとは異なるため、PSI-PtNPとcyt c₆間の電子伝達効率が低くなっているためであると推察さ れる。

4. まとめ

本研究では、ナノ多孔質ガラス内部への酸素侵入のしにくさを利用し、ナノ細孔内に光増感剤/ 電子伝達体/水素発生触媒系を構築し、溶存酸素存在下で高い光誘起水素発生機能を有する材料の 開発に成功した。光増感剤としてルテニウム錯体および光合成タンパク質(光化学系I複合体:PSI) を用いることにより光を利用した水素発生系が構築できた。ナノ多孔質ガラスは天然のタンパク質 (ヒドロゲナーゼ、PSI、cyt c₆)を安定に固定化することができ、光合成機能をナノ細孔内で発現 することが可能であることを示した。現在、光合成タンパク質の光収穫系複合体II(LHCII)をナノ 細孔に固定化し、同様に光誘起水素発生ができることが分かってきた。また、ナノ細孔内での LHCIIの光化学反応の特性についても明らかになりつつある。このように、ナノ細孔内での光合成 機能の利用に新たな道を開くことができた。本研究ではカソード反応としての光誘起水素発生を検 討したが、冒頭で述べたように、最終目標は光化学系II複合体(PSII)によるアノード反応との組み 合わせによる、水を電子源とする光誘起水素発生系の構築である。水の酸化反応により生じる酸素 により阻害されない水素発生系を構築するために、本研究でのナノ多孔質ガラスは極めて有用であ ると期待できる。現在も共同研究者とともにこの目標に向かって研究を進めている。

謝辞

本研究は主に名古屋工業大学 野地智康博士(現在、大阪市立大学複合先端研究機構プロジェクト 講師)、近藤政晴博士(若手研究イノベーター育成センター)および研究室学生諸氏により行われま した。厚く感謝申し上げます。また、ナノ多孔質ガラスをご提供いただいた神 哲郎博士(産業総合 技術研究所)、ヒドロゲナーゼをご提供いただいた樋口芳樹教授(兵庫県立大学)に厚く感謝申し上 げます。

参考文献

- Ihara, M.; Nishihara, H.; Yoon, K.-S.; Lenz, O.; Friedrich, B.; Nakamoto, H.; Kojima, K.; Honma, D. Kamachi, T.; Okura, I. *Photochem. Photobiol.* 2006, 82, 676-682.
- Lubner, C. E.; Applegate, A. M.; Knorzer, P.; Ganago, A.; Bryant, D. A.; Happe, T.; Golbeck, J. H. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2011, 108, 20988-20991.

- Utschig, L. M.; Dimitrijevic, N. M.; Poluektov, O. G.; Chemerisov, S. D.; Mulfort, K. L.; Tiede, D. M. J. Phys. Chem. Lett. 2011, 2, 236-241.
- 4. Tanaka, H.; Yazawa, T.; Eguchi, K.; Nagasawa, H.; Matsuda, N.; Einishi, T. J. Non-Cryst. Solids 1984, 65, 301-309.
- 5. Yazawa, T.; Tanaka, H.; Eguchi, K.; Yokoyama, S. J. Mater. Sci. 1994, 29, 3433-3440.
- 6. Okura, I.; Kim-Thuan, N. J. Mol. Catal. 1979, 5, 311-314.
- Noji, T.; Kondo, M.; Jin, T.; Yazawa, T.; Osuka, H. Higuchi, Y.; Nango, M.; Itoh, S. Dewa, T. J. Phys. Chem. Lett., 2014, 5, 2402-2407.
- 8. Chen, S.H. and Kimura, K. J. Phys. Chem. B 2001, 105, 5397-5403.
- Shibata, Y.; Yamagishi, A.; Kawamoto, S. Noji, T.; Itoh, S. J. Phys Chem. B. 2010, 114, 2954-2963
- Noji,T,; Suzuki,T.; Kondo,M.; Jin,T.; Kawakami,K.; Mizuno,M.; Oh-oka,H.; Ikeuchi,M.; Nango M.; Amao,Y.; Kamiya,N.; Dewa, T. Res. Chem. Intermed. in press