

— 総説 —

プラズマ照射により生成する固体糖類のラジカル解析と その反応性に関する研究

山内 行玄、葛谷 昌之*

要約：我々は本研究により、室温において固体グルコース系糖類に生成するプラズマ誘起ラジカルの構造、およびその反応に関する一般性を確立した。短時間プラズマ照射により、種々のグルコース系糖類（単糖、二糖、多糖）に生成するラジカルの ESR スペクトルはそれぞれ異なり複雑なパターンを示したが、それらはすべて基本的に類似した成分スペクトルの異なった構成比により成立していることが明らかになった。さらに、いずれの糖類に生成するラジカルも同類の反応経路が進行し、グルコース単位の各炭素部位より水素引き抜き反応によりヒドロキシルアルキルラジカルが生成し、その後一部が脱水反応によりアシルラジカルに変換することを明らかにした。なお多糖類、特にセルロースのアルキル（アルコキシル）誘導体に生成するラジカルはダングリングボンドを多く含有し、架橋反応進行を示唆する結果が得られた。さらに、種々の糖ラジカルと酸素との反応性には差異が見られ、それはオリゴ糖と多糖の間の結晶構造の相違に起因することを明らかにした。

索引用語：プラズマ照射、糖類、フリーラジカル、電子スピン共鳴 (ESR)、コンピュータシミュレーション

Study on Structural Elucidation of Plasma-Induced Radicals of Solid-State Saccharides and their Reactivities

Yukinori YAMAUCHI, Masayuki KUZUYA*

Abstract: Based on electron spin resonance (ESR) plasma-induced free radical formation of solid saccharides consisting of glucose units was studied. The observed ESR spectra of plasma-irradiated samples at room temperature showed multicomponent spectra which differ in pattern from each other. Systematic computer simulations enabled us to clarify the precise nature of radical formations in saccharides by plasma irradiation and disclosed that the observed spectra of glucose-based saccharides consist of spectral components similar to each other: an isotropic doublet and triplet assigned to a hydroxylalkyl radical at C1, C2, C3 and C4. A part of the hydroxylalkyl radicals underwent spontaneous dehydration to produce the corresponding acylalkyl radical. Furthermore, a singlet spectrum assigned to dangling-bond sites (DBS) was a major component in the simulated spectra of cellulose derivatives, suggesting a higher tendency to undergo the cross-link reaction.

The different reactivity of saccharide radicals with oxygen in the atmosphere could be explained by considering the difference in the polymorphic forms of the oligosaccharide and polysaccharide types.

Keyphrases: plasma-irradiation, saccharide, free radical, electron spin resonance (ESR), computer simulation.

緒 言

X線、 γ 線、紫外線 (UV) などの高エネルギー放射線照射により、種々の固体糖類に生成する安定なフリーラジカルの電子スピン共鳴 (ESR) 研究は古くから数多く行わ

れており¹⁻³⁾、これは生物の生命維持に必要な不可欠な糖類の重要性を反映しているものと考えられる。しかしながら、多糖類を含む従来の固体糖ラジカルに関する報告例は、すべて低温 (77K) 下にて実施されており⁴⁾、室温における研究は行われていない。さらに、それらの ESR 解析では

g 値や α 水素の超微細構造における異方性等を考慮した研究例はほとんどなく、納得しがたい解釈を含むものが多い。

一方、プラズマ表面処理法は機能性新素材開発や生体適合性付与等の新技術として注目されており、その薬学的応用の一つとして、多糖類を含む医用高分子材料の表面改質が挙げられる。しかしながら、プラズマ表面処理はプラズマ誘起ラジカルが関与する反応であると言われているものの著者らの教室からの報告⁵⁾以外にはその分子機構解明は積極的に行われておらず、未開拓の部分も多い。プラズマ照射は、他の高エネルギー照射の場合とは異なり極短時間(数秒から、数分)の処理によって物質の構造を大きく変化させることなく効果的に表面改質(ラジカル生成)が可能であることから、実際にプラズマ処理が行われる室温におけるラジカル生成に関する知見は極めて有意義である。事実、著者らの教室では、基本的な合成高分子に関して、そのラジカル解明、および得られた知見をもとに、新たな DDS への応用について報告し(図 1)、その有用性を明らかにしている⁵⁾。

この様な背景から著者らは、現在まで未検討であった室温下固体糖類に生成するプラズマ誘起表面ラジカル構造と、その反応性に関する一般性の確立とその体系化を目指し、系統的なコンピュータシミュレーションを駆使した詳細な ESR スペクトル解析に着手した。以下に本研究で得られた新知見を総括する。

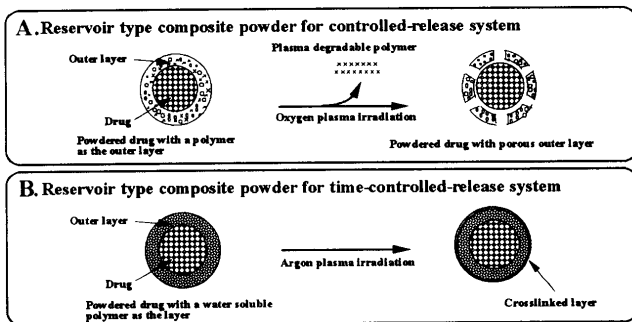


Fig. 1 Conceptual illustration for preparation of functionalized composite polymers.

1. 単糖類 (α -、 β -グルコース) のプラズマ照射により生成するラジカル構造の解析について：一般に多くの固体高分子ラジカルは、気相や液相中のラジカルが極めて短命であることに比較して、高分子自身がマトリックス効果を持つためにそのラジカル再結合反応は著しく抑制され、長寿命性となり、室温でも ESR スペクトル測定が可能となる。固体グルコースは、多数の水素結合のネットワークによって形成された結晶構造を構成しており、分子内運動が抑制され、高分子と同様に室温における ESR スペクトル測定が可能となる。さらに、著者らが考案した簡便で再現性の高い実験方法(図 2)を用いた短時間プラズマ

照射では、糖類の構造を大きく変化させることなく、生成する糖ラジカル構造の研究および、ESR 速度論的解析が可能である⁶⁾。そこで、かかる方法に準じて、密封系短時間プラズマ照射により種々の単糖類粉末表面に生成するラジカルの ESR スペクトルを測定した。

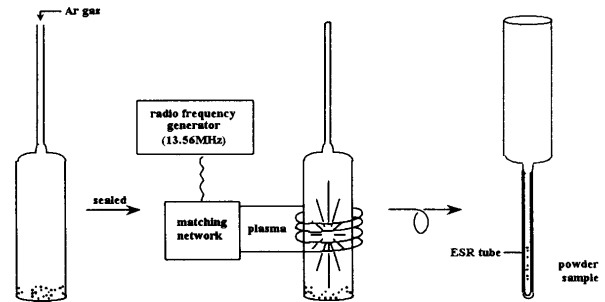


Fig. 2 Schematic representation for plasma-irradiation and ESR spectral measurement.

図 3 は、室温でのプラズマ照射時間による α -、 β -グルコースの ESR スペクトルの経時変化 (A, B) を後に詳細に述べるが、プラズマ照射アミロース、セルロース (C, D) の経時変化と並べて示したものである。なお、図 3 中に示した点線のスペクトルは、シミュレーションスペクトルである。プラズマ照射時間が数秒以下においても通常の ESR 測定装置で十分検出可能なラジカルが生成することが分かる。図 3 より、ESR スペクトルのパターンは α -、 β -グルコースによって異なるが、各々、プラズマ照射過程においてスペクトル外形はほとんど変化していない。これらのスペクトルは、両者ともそのスペクトルパターンから、一見して複数の構成スペクトルから成り立っていることは明らかである。さらに、 α -、 β -グルコースはそれぞれ多糖類であるアミロース、セルロースの加水分解物であり、同じグルコース単位から成り立っているにも関わらず、両者のスペクトル外形は、多糖類のものと異なっている。

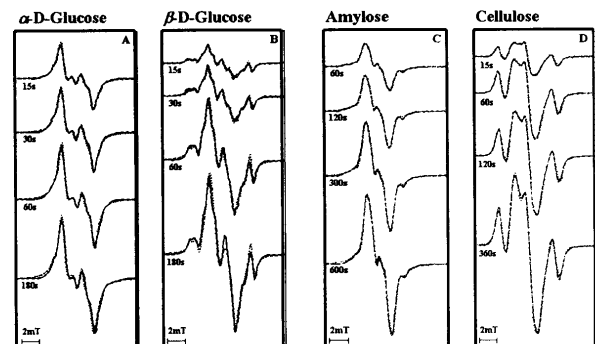


Fig. 3 Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-irradiated α -、 β -glucose, amylose and cellulose, respectively, together with the simulated spectra shown as dotted lines.

図 4 は、プラズマ照射時間によるラジカル量の変化 (A) と、室温放置時間によるラジカル減衰率 (B) を示したものである。プラズマ照射時間にしたがって、いずれの糖類

のスペクトル強度も大きくなるが、照射時間の増加に伴い、ラジカル生成速度の減少が認められた。

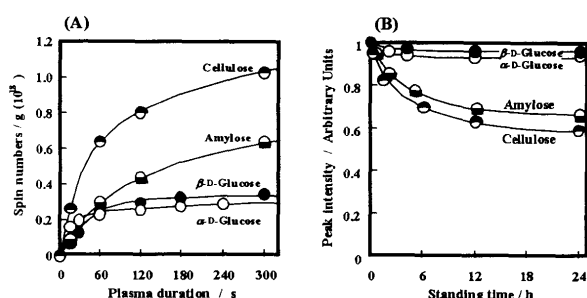


Fig.4 Progressive changes in spectral intensities determined by double integration (A) on plasma-duration, (B) on standing at room temperature.

一方、プラズマ照射により生成したグルコースラジカルは室温放置時間にしたがって ESR スペクトル外形、強度ともあまり変化せず、観測されるグルコースラジカルは、すべて室温において熱的に安定であることが示唆された。

ところで、ESR スペクトルにより粉末のラジカルを同定することは困難であるが、コンピュータシミュレーションを駆使して、ESR 速度論を含めた系統的な解析を行い、そのスペクトルを直接分析することによってラジカルの性質について有用な情報が得られることは、種々の合成ビニルポリマーやミオ-イノシトールなどに生成するラジカルの多成分スペクトル解析に関する報告から証明済みである^{5,7)}。著者らは、かかる方法に準じて、 α -、 β -グルコースのスペクトル経時変化の系統的なコンピュータシミュレーションを駆使した ESR スペクトル解析を実施した。

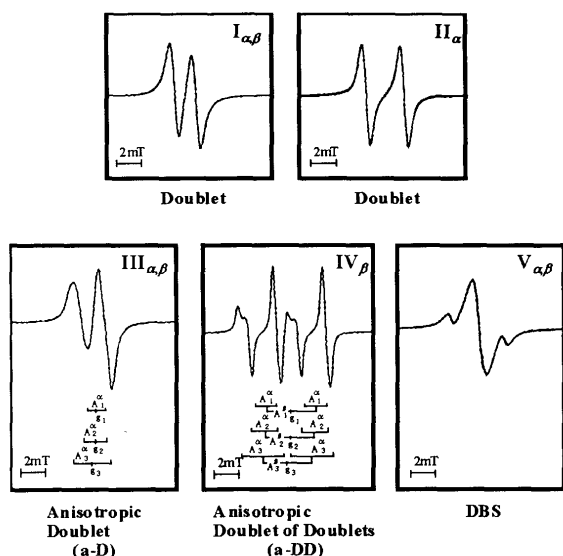


Fig. 5 Representative selection of component spectra (I-V) for the simulated ESR spectra.

図3に、実測スペクトルに対応したシミュレーションスペクトルを点線で示したが、全ての実測スペクトルの特徴はシミュレーションスペクトルによりよく再現されて

いる。シミュレーションの結果、 α -、 β -グルコースは、図5に示したような成分スペクトルから構成されており、全てのシミュレーションスペクトルは、それらの成分スペクトルの構成比を変えることによって得られることが明らかになった。すなわち、 α -グルコースは二つの等方性スペクトル [二重線 (I_α) および、(I_α) とは超微細結合定数 (HSC) の異なる二重線 (II_α)] と、一つの異方性スペクトル [二重線 (III_α)] 及び、一つの不規則な多重線スペクトル (V_α) の四種から、 β -グルコースは、(I_β)、(III_β)、(V_β) 及び、異方性スペクトル [四重線 (IV_β)] の四種の成分スペクトルから各々成り立っている。

Table 1 ESR Spectral Data for Component Radicals in Simulated Spectra of α - and β -Glucose^a

	I	II	III	IV	V	
α -D-Glucose	g	2.0057	2.0021	$\bar{g}=2.0027$		2.0034
	A_α			$\bar{A}_\alpha=1.88$		
	$A\beta(1)$	1.74	3.04	$\bar{A}_\beta=0.52$		
	$A\beta(2)$	—	—			
β -D-Glucose	g	2.0056		$\bar{g}=2.0028$	$\bar{g}=2.0028$	2.0036
	A_α			$\bar{A}_\alpha=2.09$	$\bar{A}_\alpha=2.41$	
	$A\beta(1)$	1.74		$\bar{A}_\beta=0.20$	$\bar{A}_\beta=3.89$	
	$A\beta(2)$	—	—			

^a Values of HSC are given in mT.

コンピュータシミュレーションから導き出されたこれらの成分スペクトルの詳細な数値を表1に要約する。なお、不規則な多重線スペクトル (V_α : $g=2.0034$; V_β : $g=2.0036$) は、一重線 (V_α : 線幅 (ΣH) = 11.3mT; V_β : $\Sigma H=12.3mT$) と、少量の三重線 (V_α : A (HSC) = 2.20mT; V_β : $A=2.21mT$) とを混合したスペクトルである。

図6は、シミュレーションスペクトルに対応する、各々の成分スペクトルの構成比を示したものである。全スペクトル強度は、実測スペクトルの二回積分によって求めた値とよく一致した。さらに、 α -、 β -グルコース両者ともプラズマ照射時間にしたがって、いずれの成分スペクトルも同じように定常化に向かって増加することがわかりスペクトル外形に変化がなかったことと一致する。また、 α -グルコースには、 β -グルコースにない二重線 (II_α) が多量に含まれており、両者の ESR スペクトル外形が異なる一要因であることが示された。なお、両者とも同様の成分スペクトルをそれぞれ構成比を変えることにより、全ての ESR スペクトルが再現できたことより、信頼性あるシミュレーションスペクトルが得られたものと考えられる。

ところで、我々はすでにプラズマ誘起表面ラジカル解明の研究の一環として、最近、複雑な糖類への足がかりとなる基礎的モデルとして、対称性のよい単糖類であるミオ-イノシトールの ESR 研究を報告した⁷⁾。そして、ミオ-イノシトールの三次元結晶構造を考慮した、室温におけるプラズマ誘起粉末糖ラジカルの構造とその安定性および、生

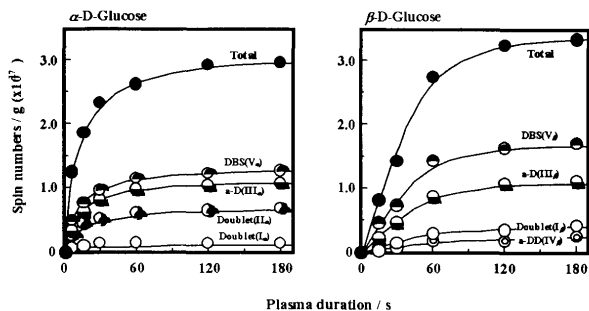


Fig. 6 Progressive changes in spectral intensities of component spectra corresponding to the simulated spectra of plasma-irradiated α - and β -glucose on plasma-duration.

成ラジカルの転位反応等を、反応速度論を含めて詳細に解明した。すなわち、プラズマ照射によって各炭素部位より水素引き抜き反応によってヒドロキシルアルキルラジカルが生成し、一部、脱水反応によってアシルアルキルラジカルが生成することを明らかにしている。その反応過程は立体化学を除外すれば、図7のように簡略化して示すことができ、プラズマ照射によって各炭素部位より水素引き抜き反応によってヒドロキシルアルキルラジカルが生成し、一部、脱水素反応によってアシルアルキルラジカルが生成することを明らかにしている。

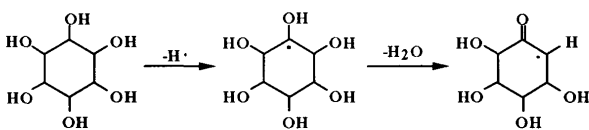


Fig. 7 Reaction pathway of *myo*-inositol radical, cited from ref. 7.

そこで、著者らは、これらの基礎的知見を基に、 α -、 β -グルコースへのプラズマ照射によって生成するラジカルの構造とその生成機構を検討した。

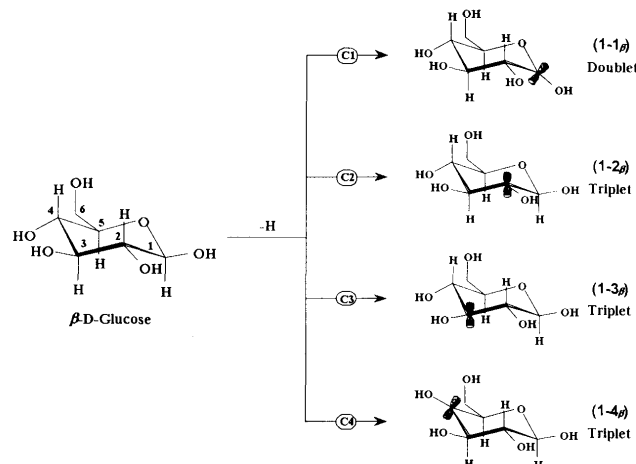
糖類を含む様々なアルコール類からの水素引き抜き反応は、放射線照射光化学反応だけでなく、化学的酸化によりヒドロキシル基を有する炭素部位で起こり、ヒドロキシルアルキルラジカルが生成することはよく知られている⁸⁾。したがって、 α -、 β -グルコースにおいても同様に、主反応としてヒドロキシル基を有する炭素部位から水素の脱離が起こり、1位から4位までの炭素部位にヒドロキシルアルキルラジカル (1-1-1-4 _{α,β}) が生成するものと考えられる (Scheme 1, 2)。ここで、5位、6位の炭素部位においても、水素引き抜き反応が起こり、同様にラジカル生成が可能である。しかしながら、5位に生成するラジカルは転位反応により環開裂を容易に引き起こす (Scheme 3)。一方、6位に生成するラジカルは二級ラジカルであり、不安定であるため架橋反応等を速やかに進行させることは、容易に推測されるため、ラジカル生成機構の考察から除外できる。

さて、アルキルラジカル類の β 水素のHSC (A_β^H) は式1で示される“ $\cos^2 \theta$ ”則により表されることが知られ

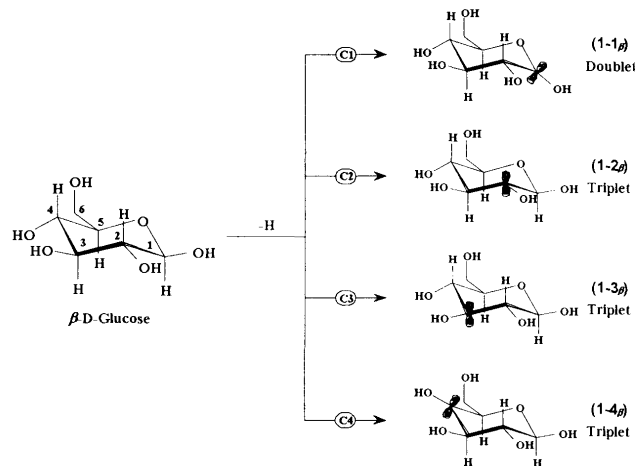
ている。

$$A_\beta^H = K\rho_\alpha^C \cos^2 \theta \quad \dots \dots \dots \text{Eq. 1}$$

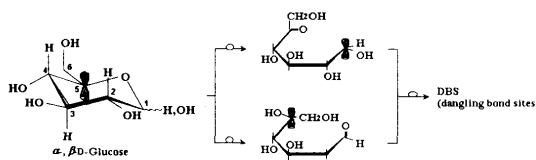
式1において、 θ は C_α - C_β 結合に垂直な面に投影した時の対電子の P_z 軌道と H_β - C - C 面とのねじれの角度を示し (図8)、 K は比例定数、 ρ_α^C はラジカル中心のスピンドensityを表す。



Scheme 1



Scheme 2



Scheme 3

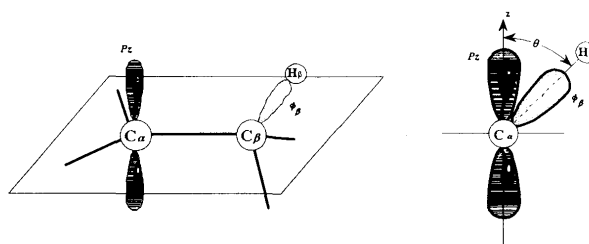
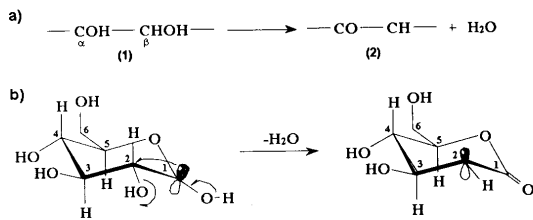


Fig. 8

この“ $\cos^2 \theta$ ”則に基づいて、HSC が約 1.7 mT である等方性二重線 ($I_{\alpha,\beta}$) (図 5 を参照) は、水素引き抜きによって形成される C_1 位のヒドロキシルアルキルラジカル ($1-1_{\alpha,\beta}$) に帰属される。ここで、 C_2 位のアクシャル β 水素により分裂する二重線 ($I_{\alpha,\beta}$) の比較的大きな g -値 (α -グルコース : 2.0057、 β -グルコース : 2.0056) と小さな HSC (α -グルコース : $A=1.74$ 、 β -グルコース : $A=1.74$) (一般に、ラジカル中心である炭素原子に酸素原子が隣接していないとき HSC は約 3.0 mT となることが知られている) は、ラジカル中心に結合した酸素二原子の影響に由来する。さらに、 α -、 β -グルコース両者の成分スペクトルの最も興味深い差異は、 α -グルコース中のみ ($I_{\alpha,\beta}$) とは HSC の異なる二重線 (II_{α}) が含まれていたことである。この (II_{α}) は、 α -グルコースの C_2 位の水素引き抜きにより生成するヒドロキシルアルキルラジカル ($1-2_{\alpha}$) に帰属できる。これは、 α -グルコースの C_1 位の β 水素がエクアトリアルであることに起因するものであり、 C_1 位の β 水素がアクシャルである β -グルコースには含まれない。



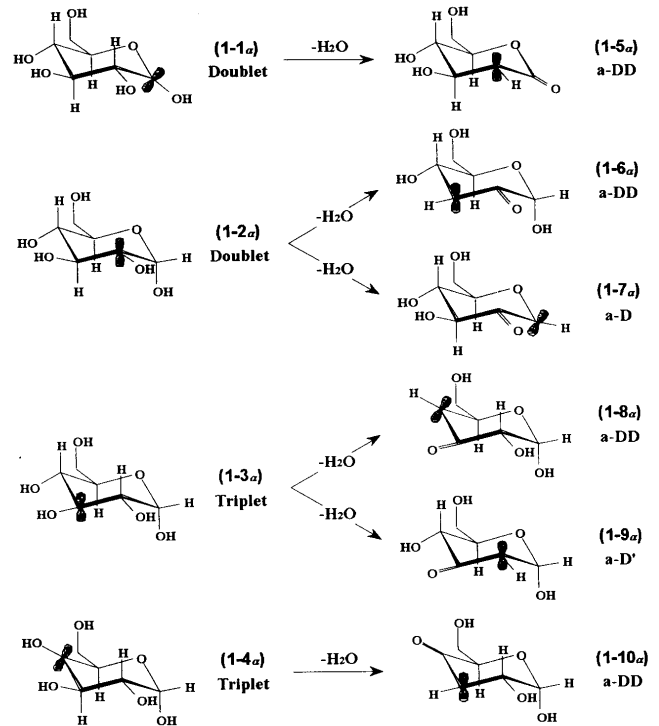
Scheme 4

一方、溶液中において、ヒドロキシルアルキルラジカル(1)は、 β 位にヒドロキシル基が存在するとき水分子の脱離により、対応するアシルアルキルラジカル(2)が生成することが知られている⁹⁾ (Scheme 4a)。

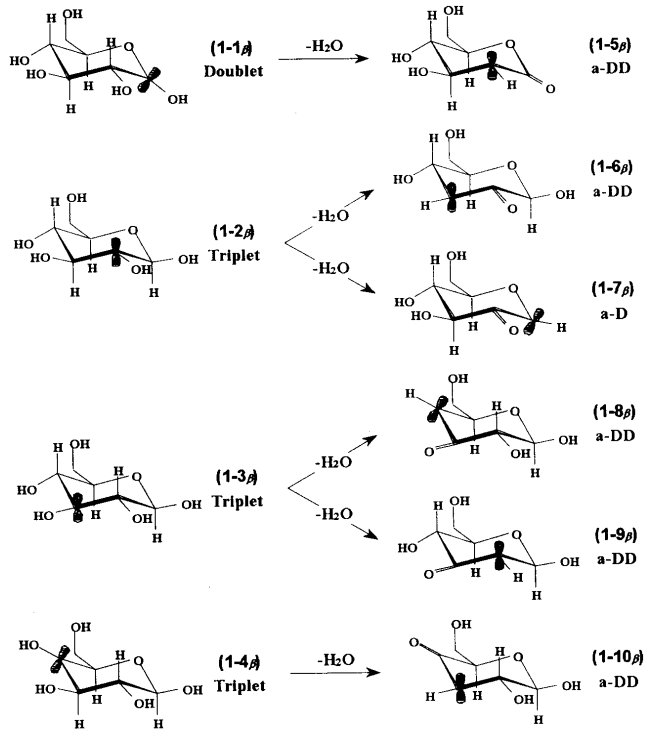
実際、プラズマ照射によって生成するラジカルのスペクトル解析の結果、この種の反応 (Scheme 4b) が固体中においても、生じたことが明らかになった。すなわち、グルコース単位の C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 位に生成したヒドロキシルアルキルラジカル ($1-1-1-4_{\alpha,\beta}$) からの水の脱離により C_2 、 C_3 、 C_4 位にアシルアルキルラジカル ($1-5-1-10_{\alpha,\beta}$) の生成が進行する (Scheme 5, 6)。なお、 C_2 、 C_3 位のヒドロキシルアルキルラジカル ($1-2-1-3_{\alpha,\beta}$) は、二つの β 位ヒドロキシル基が存在するため、それぞれ、二種類のアシルアルキルラジカル ($1-6-1-9_{\alpha,\beta}$) が生成する。

そのうち、 C_2 位のヒドロキシルアルキルラジカルから、脱水反応により生成するアシルアルキルラジカル ($1-7_{\alpha,\beta}$) は β 位水素が存在しないため、 α 水素とのみ超微細相互作用し、二重線を示すものと考えられる。ここで、異方性の二重線 ($III_{\alpha,\beta}$) は、 C_2 位の水素引き抜きによって生成するヒドロキシルアルキルラジカル ($1-2_{\alpha,\beta}$) からの

容易な脱水により生じる C_1 位のアシルアルキルラジカル ($1-7_{\alpha,\beta}$) に帰属することができる。



Scheme 5



Scheme 6

つぎに、 β -グルコースに含まれる異方性四重線 (IV_{β}) は、 C_2 、 C_3 、 C_4 位に生成するアシルアルキルラジカル ($1-5$ 、 -6 、 -8 、 -9 、 -10_{β}) に帰属できる。しかしながら、得ら

れた ESR スペクトルから C_2 、 C_3 、 C_4 位の個別のラジカルを識別することは、その構造から明らかなように不対電子の環境が似ているため不可能である。なお、反応機構 (Scheme 5) より、 α -グルコースにおいても、異方性四重線に帰属されるアシルアルキルラジカル (1-5, -6, -8, -10_a) が生成するものと考えられるが、観測されなかった。この要因は、そのようなアシルアルキルラジカルが生成しても、速やかな逐次反応が進行したことによるものと考えられる。事実、 β -グルコースに含まれる異方性四重線 (IV_{β}) の生成比が、大変少ないことからそれは理解できる。

これら二重線 ($III_{\alpha, \beta}$)、四重線 (IV_{β}) の、 g -値、超微細構造両者の異方性は、カルボニルとの共役、 α 水素の存在により生じたものである。 α 水素超微細異方性 ($A_3 - A_1$) の大きさや等方性の値 (A_0) (表 1) は両者とも、さまざまなカルボニル共役アルキルラジカルに関して報告されている値と一致している¹⁰⁾。ここで、 A_1 値は C-H 結合に沿う方向に、 A_2 値は p 軌道方向に、 A_3 値は平面内で C-H 結合に垂直な方向にそれぞれ対応することが知られている (図 9)。

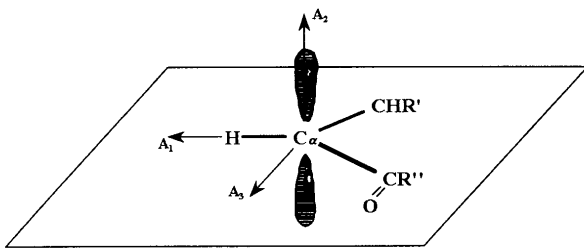


Fig. 9

最後に、 α -、 β -グルコース両方のシミュレーションスペクトルにおいて、不規則な多重線スペクトル ($V_{\alpha, \beta}$) が主成分スペクトルとして含まれていたが、表 1 に示したように、この ($V_{\alpha, \beta}$) の g -値は炭素中心であり、酸素中心のラジカルではないことがわかる (一般に、酸素中心ラジカル: $g \approx 2.010$ 、炭素中心ラジカル: $g \approx 2.003$ 、となる)。さらにここで、この ($V_{\alpha, \beta}$) は、得られた ESR スペクトルから、個別のラジカル構造を示すことはできないが、以前までの我々の報告結果と同様に、生成したラジカルの転位、架橋反応などによって二次、三次的に生成する未結合手 (ダングリングボンド (DBS)) を含む多構造ラジカルであると考えられる。

上記したように、著者らは、 g -値および α 水素の超微細構造の異方性を考慮した、系統的なコンピュータシミュレーションを駆使した ESR スペクトルの詳細な解析を行うことにより、室温における α -、 β -グルコースのプラズマ誘起ラジカル構造とその反応性を明らかにした。

本研究によるプラズマ誘起ラジカル解析により、固体

グルコース系糖類に生成するラジカルは、ヒドロキシルアルキルラジカルだけでなく、一部脱水反応により、二次的産物としてアシルアルキルラジカルが生成することを初めて明らかにした。さらに、 α -、 β -グルコース両者のラジカル構造の差異は、 C_1 位アノマー炭素の α 形、 β 形の構造様式によって生起するものであり、両者のスペクトル外形が異なる要因であることが明らかになった。

本結果は、プラズマ照射によりグルコースに生成するラジカルの理解を高めるのに寄与しただけではなく、さらに複雑な糖類に生成するラジカル構造解明や反応性の研究に対しての基礎的知見として有用であると考えられる。

2. 二糖類 (マルトース、セロビオース) のプラズマ照射により生成するラジカル構造の解析について: 単糖類の検討により得られた知見を多糖類に応用するにあたり、同じグルコース単位から成り最も一般的な二糖類であるマルトース (麦芽糖) およびセロビオースを選択し、それらに生成するプラズマ誘起ラジカルについて検討した。

図 10 は、プラズマ照射マルトース、セロビオースの ESR スペクトルの経時変化を、比較対照として先に明らかにした、プラズマ照射 α -、 β -グルコースの経時変化と共に示したものである。

図 10 より ESR スペクトル特性はマルトース、セロビオースによって異なっているが、各々、プラズマ照射過程ではスペクトル外形はほとんど変化していない。これらのスペクトルは、両者とも、そのスペクトルパターンより複数の構成スペクトルから成り立っていることは明らかである。

また、マルトース、セロビオースは、図 10C、10D に示した α -、 β -グルコースのスペクトルとは明らかに異なるパターンを示しており、より複雑なスペクトルを与えている。

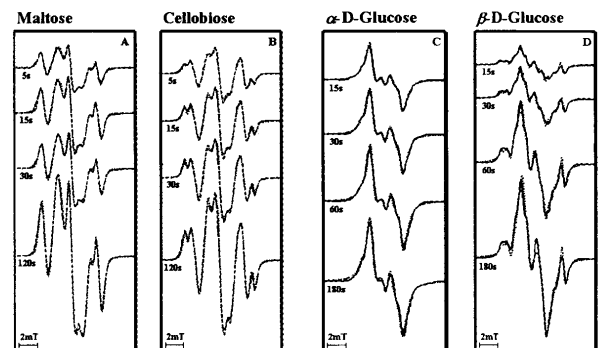


Fig. 10. Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-irradiated maltose, cellobiose, α -glucose and β -glucose, respectively, together with the simulated spectra shown as dotted lines.

著者らは、単糖類で得られた結果を元に、常法にしたがってコンピュータシミュレーションによるスペクトル解析を行った。その結果、紙面の都合上、詳細は割愛する

が、単糖類と異なるスペクトルパターンを示すものの、単糖類と類似のラジカル構造、反応経路であるが明らかになった。

さらに、マルトース、セロビオースの ESR スペクトル外形の差異は、1-4 グリコシド結合の結合様式による成分スペクトルのパターンの差異に起因することが明らかになった。

3. 多糖類（アミロース、セルロース）のプラズマ照射により生成するラジカル構造の解析について： これまでに代表的な単糖類、二糖類に生成するプラズマ誘起ラジカルの構造と反応特性、および、アノマー異性体間に生成するラジカルの相違について明らかにした。ところで、最も一般的な多糖類であるアミロース、セルロースは自然界に最も多量に存在する有機化合物の一つであり、各種産業界において汎用されている代表的な天然高分子である。したがって、これら多糖類に生成するプラズマ誘起ラジカルの構造とその反応性の解明は、学術的商業的価値が非常に高いものと考えられる。この様な背景より、これら多糖類に生成するプラズマ誘起ラジカルについて検討した。

図 11、12 はそれぞれプラズマ照射時間によるアミロース、セルロースの実測 ESR スペクトルの経時変化 (A)、プラズマ照射試料の無酸素下室温放置 (B)、および開封室温放置 (C) における ESR スペクトルの経時変化をシミュレーションスペクトルと共に示したものである。

図 11A と 12A を比較すると、アミロース、セルロースの ESR スペクトルの特性は異なっているが、プラズマ照射過程においてそれらのスペクトル外形はほとんど変化していない。また、これらのスペクトルはそのスペクトル外形より一見して複数の成分スペクトルより成り立っているのは明らかである。

プラズマ照射試料の無酸素下室温放置において、アミロース (図 11B) のスペクトルパターンは、ほとんど変化しないのに対し、セルロース (図 12B) は両端のピークと中央のピークが共に逐次的に減少しているのが特徴的である。一方、プラズマ照射試料を室温空气中放置したときのスペクトル変化は、無酸素条件下の場合とは異なり、アミロース (図 11C) はわずかに異方性のある幅広い一重線スペクトルへ、セルロース (図 12C) は三重線スペクトルへとそれぞれ徐々に変化している。

著者らは、常法に準じて、これらのスペクトル解析を実施した結果、アミロース、セルロースはそれぞれ図 13 に示したような、基本的に単糖、二糖類と類似の成分スペクトルから構成されていることが明らかになった。

なお、幅広い一重線 (IV_{a,c}) は、少量 (10%未満) の異方性の一重線 ($g_1=2.0051$, $g_2=2.0017$, $g_3=2.0066$, $g_4=2.0070$) を含むが、ほぼ等方性の一重線であった。また、異方性の四重線 (III_{a,c}) は、単糖類に含まれた四重線と一

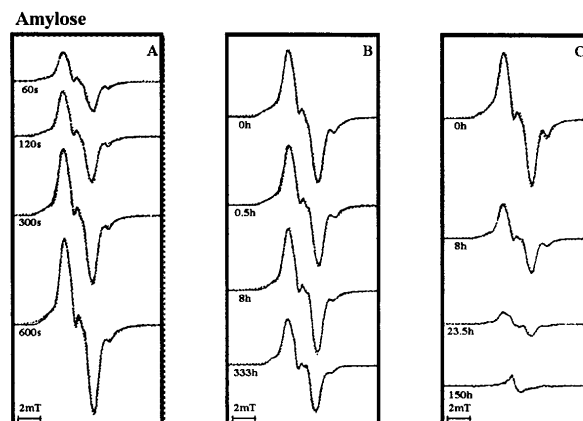


Fig. 11. Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-irradiated amylose as a function of plasma duration (A) and of 120 s plasma-irradiated amylose as a function of time spent standing at room temperature (B) and standing in air at room temperature (C), respectively, together with the simulated spectra shown as dotted lines.

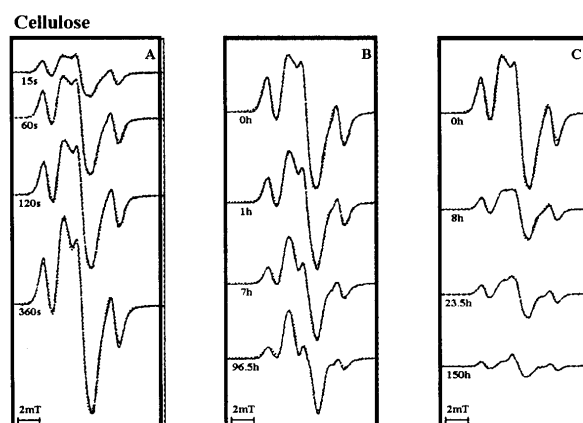


Fig. 12. Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-irradiated cellulose as a function of plasma duration (A) and of 120 s plasma-irradiated cellulose as a function of time spent standing at room temperature (B) and standing in air at room temperature (C), respectively, together with the simulated spectra shown as dotted lines.

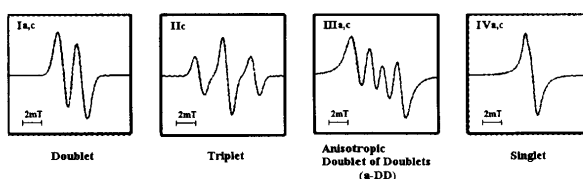


Fig. 13. Four component spectra (I-IV) for the simulated ESR spectra of plasma-irradiated amylose and cellulose.

見異なりピーク幅がブロードであるが、これは高分子効果によるものであり本質的に類似のスペクトルである。

なお、コンピュータシミュレーションから導き出されたこれらの成分スペクトルの詳細な数値を表 2 に要約しておく。

次に、成分スペクトルのスペクトル強度の経時変化を図 14、15 に示した。図 14A、15A より、アミロース、セルロース両者ともプラズマ照射時間にしたがって、いずれの成分スペクトルも同じように定常化に向かいながら増加しており、照射時間により ESR スペクトル外形に変化のなかったことと符合する。なお、セルロースにおいて、ア

ミロースにはない三重線 (II_c) が多量に含まれていることは特徴的であり、両者のスペクトル外形の異なる要因であることが示された。事実、セルロースラジカルのスペクトルから三重線 (II_c) を差し引くとアミロースラジカルのスペクトルとほぼ同一のものが得られることを確認している。

Table 2 ESR Spectral Data for Component Radicals in Simulated Spectra of Amylose and Cellulose^a

	I	II	III	IV		
Amylose	g	2.0056	2.0049	$\bar{g}=2.0046$	$g_1=2.0040$ $g_2=2.0040$ $g_3=2.0050$	
	$A\alpha$			$\bar{A}\alpha=1.65$	$A_1=1.37$ $A_2=1.56$ $A_3=2.01$	
	$A\beta(1)$	1.67		$\bar{A}\beta=2.86$	$A_1=2.86$ $A_2=2.86$ $A_3=2.86$	
	$A\beta(2)$	—				
Cellulose	g	2.0051	2.0036	2.0038	$\bar{g}=2.0045$	$g_1=2.0040$ $g_2=2.0040$ $g_3=2.0055$
	$A\alpha$				$\bar{A}\alpha=1.63$	$A_1=1.40$ $A_2=1.55$ $A_3=1.95$
	$A\beta(1)$	1.77	2.98		$\bar{A}\beta=2.94$	$A_1=2.94$ $A_2=2.94$ $A_3=2.94$
	$A\beta(2)$	—	2.98			

^a Values of HSC are given in mT.

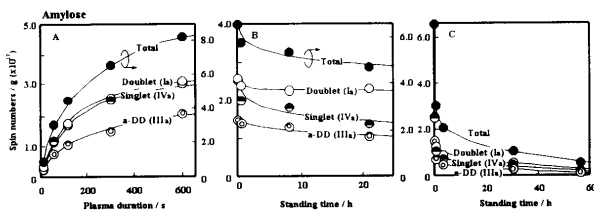


Fig. 14. Progressive changes in spectral intensities of component spectra corresponding to the simulated spectra of plasma-irradiated amylose.

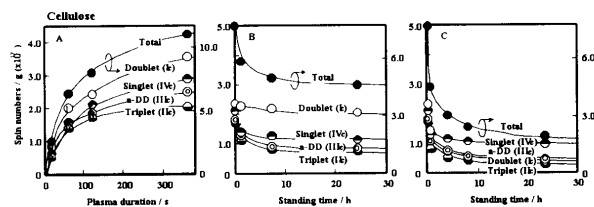


Fig. 15. Progressive changes in spectral intensities of component spectra corresponding to the simulated spectra of plasma-irradiated cellulose.

また、図 14B、15B に示したように、室温放置においてアミロース、セルロースの両者とも、いずれの成分スペクトルも、速やかに減衰した。特に、セルロースにおいては、三重線 (II_c) は、他の三つの成分スペクトルに比べて初期段階において早く減衰しており (図 15B)、実測スペクトルの変化の特徴の要因となっている。

一般にプラズマ照射高分子が使用されるのは大気中であり、生成ラジカルは酸素と反応してパーオキシラジカルになり表面改質が進行することが知られているが、アミロース、セルロースの場合 (図 14C、15C) は、典型的なパーオキシラジカルのスペクトルに変換することなく、どの成分スペクトルも急速に失活した。これは、アミロース、セルロースラジカルが、酸素と容易に反応し、非ラジカル

酸化体に変化することを示しており、室温乾燥雰囲気下において長時間にわたりラジカルが安定に存在する単糖類や二糖類と非常に対照的である。

さらに、アミロースにおいてはいずれの成分スペクトル強度も連続的に減少するのに比べ、セルロースの成分スペクトルは空气中放置初期で急速に失活した後、定常化を示す点は大変特徴的な相違である。

以上の結果および、前章までのオリゴ糖類で得られた知見より、アミロース、セルロースに生成するラジカル構造とその反応経路はオリゴ糖類のそれらと類似しているものと考えられる。

さらに、HSC が 2.98mT である三重線 (II_c) はセルロースの C₂、C₃、C₄ 位に生成するヒドロキシルアルキルラジカルに帰属できる。しかしながら、アミロースは C₁ 位アノマー炭素が α 形であるため、C₂ 位に生成するヒドロキシルアルキルラジカルは三重線を示さず、C₃、C₄ 位に生成するラジカルに帰属できるものと考えられる。それではなぜ、アミロースには三重線が含まれなかったのだろうか。

著者らは、この原因を解明するため、アミロース、セルロースの高次構造の差異に注目した。

図 16 は、アミロース、セルロースの高次構造の簡略図を示したものである。図から分かるように、アミロースは、螺旋構造¹¹⁾を形成しており (空洞直径は 6–10 Å)、すべてのグルコース単位の C₂ と C₃ 位のアクシャル水素が、その螺旋構造の外側と内側にそれぞれ位置している。したがって、C₃ 位のヒドロキシルアルキルラジカル生成につながるアミロースの C₃ 位の水素引き抜きが大きく抑制され、逆に C₂ 位の水素引き抜き反応が効率よく生じたものと考えられる。一方、セルロースは、グルコース単位の C₁–C₄ 位が β -グリコシド結合により形成された直線構造 (図 16) であり、いずれの方向からもプラズマ照射が可能であるため、そのような制限は認められないものと考えられる。

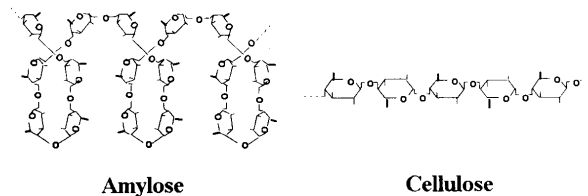


Fig. 16. Cylindrical projection of amylose and cellulose. Thin and thick lines denote OH and CH₂OH groups, respectively.

さらに、このように生成したヒドロキシルアルキルラジカルのうち一部脱水反応進行により生成するアシルアルキルラジカルは g 値および超微細構造両者とも異方性の四重線に帰属できる。

最後に、少量の g -異方性を持つ一重線として表された、

幅広いスペクトル (IV_{ac}) は、これまでの結果と同様に、環構造開裂や、グリコシド結合の分裂を含む、生成したラジカルの転位、架橋反応等により二次的、三次的に生成する多構造のダンダリングポンドに帰属できる。

このように、プラズマ照射アミロース、およびセルロースに生成するラジカルは明らかになり、前章までのオリゴ糖類と同様にヒドロキシルアルキルラジカルあるいはアルコキシルアルキルラジカルの他に、二次産物としてアシルアルキルラジカルが含まれていることを初めて明らかにした。他の高エネルギー照射多糖類の ESR 解析はいくつか報告されているが、いずれのシミュレーションスペクトルも、解釈できない超微細構造を持つものを含めて、等方性の成分スペクトルからのみ成り立っている。さらに、高エネルギー照射により生成するラジカルの ESR スペクトルは、本研究におけるプラズマ照射によるものと類似しているため、一次生成ラジカル (ヒドロキシルアルキルラジカル) から一部脱水反応によって生じた二次産物 (アシルアルキルラジカル) についても同様に考察して初めて、正確なラジカル解析が達成できたものと考えられる。

一方、プラズマ照射アミロース、セルロースラジカル両者の ESR スペクトル外形は大きく異なり、C₂あるいはC₃位のヒドロキシルアルキルラジカルに帰属される H S C が約 3.0 mT である三重線の成分スペクトルはセルロースには存在したがアミロースには含まれないことに起因しており、この相違は二つのアノマー異性多糖類の高次構造の差異によるものであることを明らかにした。

4. セルロース誘導体のプラズマ照射により生成するラジカル構造の解析について: 前章における、代表的なグルコース系多糖類アミロース、セルロースで得られた知見をもとに、セルロース誘導体に生成するラジカル構造について検討した。これらセルロース誘導体は、官能基の種類や置換度を操作することにより様々な物理化学特性を発現させることが容易であり、医薬品業界をはじめ諸分野において汎用されている。したがって、緒言に記したような新規 DDS の外層高分子としてセルロース誘導体を用い、新たな機能性付与等が可能になると、本 DDS のさらなる応用・展開のみならず、実用化へと飛躍的に加速できるものと期待できる。このような観点から、医薬品添加物としてすでに汎用されている数種のセルロース誘導体を選択し、それらに生成するラジカルの構造とその反応性について詳細に検討した。

図 17 は、プラズマ照射 EC、HEC、L-HPC および HPC の ESR スペクトルの経時変化をシミュレーションスペクトル (点線) と共に示したものである。

図 17 より、いずれのセルロース誘導体の ESR スペクトル特性も、基本骨格であるセルロースのものと同じく

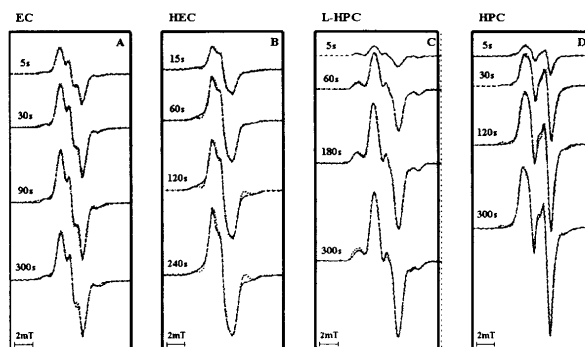
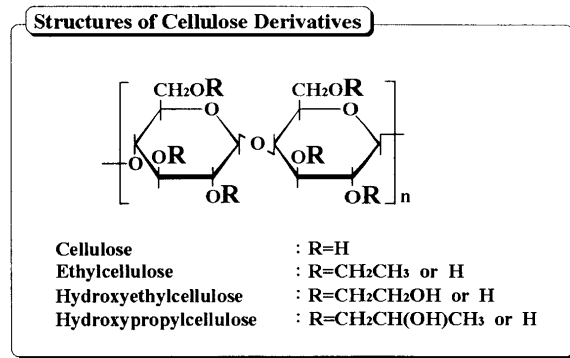


Fig. 17. Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-irradiated EC, HEC, L-HPC and HPC, respectively, together with the simulated spectra shown as dotted lines.

異なっており、大変興味深い相違である。

図 18 はプラズマ照射時間によるラジカル量の変化と、室温放置時間によるラジカル量減衰率を示したものである。いずれのセルロース誘導体においても、セルロースに比べ短時間のプラズマ照射によりラジカルの生成は定常化を示す傾向を示している。また、それぞれの多糖類の室温放置時間によるラジカル減少度を互いに比較すると、セルロース誘導体はセルロースよりも大きな減衰率を示し、不安定なラジカルを多く含むことが示された。

著者らは、常法に準じてセルロース誘導体のスペクトル経時変化のコンピュータシミュレーションを実施した結果、いずれのセルロース誘導体も基本的にセルロースと類似した成分スペクトルから構成されていることが明らかになった。

しかしながら、セルロース誘導体の一重線の構成比はセルロースに比べて大幅に増加し (EC : 40 %, HEC : 65 %, L-HPC : 11.5 %, HPC : 50 %, Cel : 25 %)、最大の構成スペクトルになっているが、その一方で三重線の構成比が低下していた (EC : 1.5 %, HEC : 1.5 %, L-HPC : 7.3 %, HPC : 0.3 %, Cel : 20 %)。したがって、セルロース誘導体とセルロースは成分スペクトルの構成比に大きな違いがあるため、ESR スペクトル外形が異なることが示された。

このようにセルロースと類似の成分スペクトルが得られたことから明らかのように、セルロース誘導体は、基本骨格であるセルロースと同様のラジカル構造、および反応経路であるものと考えられる。

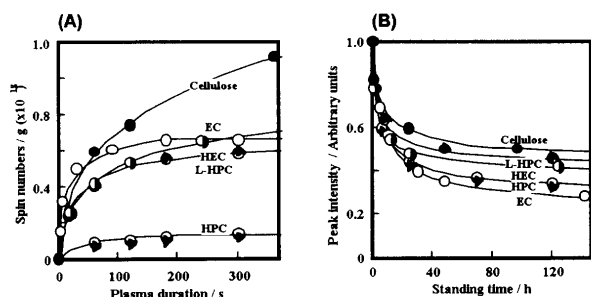


Fig. 18. Progressive changes in spectral intensities determined by double integration (A) on plasma-duration, (B) on standing at room temperature.

したがって、セルロース誘導体に多構造のダングリングボンドに帰属される一重線が大量に含まれていたことから明らかのように、側鎖のアルキル（アルコキシル）基は固体中においても比較的自由度が大きいため生成したラジカル種は、主鎖上に生成するグルコース単位のラジカルよりも反応性に富み、引き続いて転位、再結合等の二次反応に速やかに移行し、失活したことを示唆している。

以上、本章により得られた知見は、水溶性 HEC、HPC の短時間 Ar プラズマ照射によってその粉末表面に難溶性の架橋層を形成し、溶解性の制御が可能であることを示唆しており、完全乾式過程による新規 DDS 錠剤の外層に水溶性高分子の HEC、HPC などを用いる速放性固形剤の、簡便な遅延化法としての応用・展開が期待できる。

5. 粉末グルコース系糖ラジカルと酸素との反応性について：一般に、プラズマ照射を含めた高エネルギー放射線照射により、あるいは、機械的エネルギーを加えることにより生成する多くの高分子ラジカルは、空气中に曝されると、酸素と結合してパーオキシラジカルに変換することが知られている^{5, 8, 12}。したがって、プラズマ誘起糖ラジカルの反応性についての知見を得るため、酸素との反応性について検討した。

図 19 は、本研究にて使用した糖類粉末にプラズマ照射した後、室温下乾燥空气中に曝したときのラジカル強度の経時変化を示したものである。なお、いずれの糖ラジカルの ESR スペクトルも、典型的なパーオキシラジカルのスペクトルは観測されず、もとのスペクトル外形から大きく変化することなくスペクトル強度のみが減少した。一般に、ヒドロキシルアルキルラジカルは酸素と反応すると速やかに、ケトンとヒドロパーオキシラジカル (HOO·) が生成することが知られている (Scheme 7)¹³。したがって、これまでに明らかにしたように、観測される糖ラジカルの多くはヒドロキシルアルキルラジカルであることより、同様の反応が進行することより、パーオキシラジカルのスペクトルが観測されなかったものと推測される。

なお、生成ラジカルの減衰状況については、図 19 より、単糖類、二糖類に生成したラジカルは、乾燥雰囲気下酸素

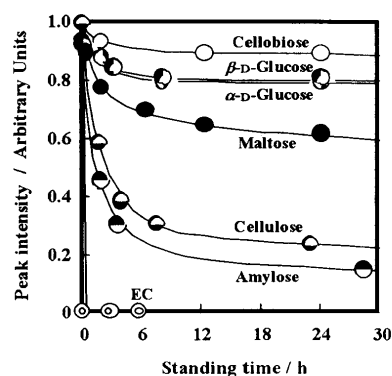
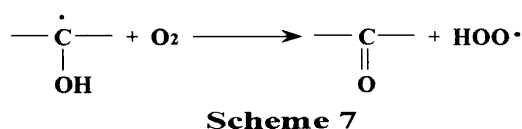


Fig. 19. Progressive changes in spectral intensities determined by double integration on standing in air of carbohydrates plasma-irradiated for 3 min.



存在中においても、比較的安定に存在し、それとは対照的に、多糖類、とりわけ EC をはじめとするセルロース誘導体は、空気中では ESR スペクトルは観測されず瞬時に失活するのがわかる。

これは、別途実施した粉末 X 線回折測定 (XRD) から明らかのように、単糖、二糖類は完全結晶構造であり、多数の水素結合のネットワーク¹⁴によって構成された結晶構造が堅固に保たれることで、酸素の拡散が抑制される結果安定となるものと考えられる。一方、セルロース誘導体に生成するラジカルは、セルロースに置換基を導入することにより結晶構造形成が抑制されるため容易に酸素と反応し、非ラジカル酸化体に変化することにより、失活するものと考えられる。別途、XRD により、いずれのセルロース誘導体も完全アモルファス状態であることを確認している。

以上より、結晶部位と非晶質部位の酸素の拡散の差がラジカル失活の有無の要因であり、プラズマ照射糖ラジカルの安定性に対する、分子間水素結合の寄与が強く示唆された。

一方、本研究にて用いたセルロース誘導体のプラズマ照射前後において赤外吸収 (IR)、元素分析、XRD、核磁気共鳴スペクトル測定 (NMR) 等の測定にて顕著な変化が認められず、かつ、医薬品添加物規格に記載されている各種試験方法を満たすことを確認しており、プラズマ照射の特徴の一つである高分子自身のバルク特性が保持される等多くの利点に加え、プラズマ照射セルロース誘導体は空気に曝すと速やかにラジカルが消失することより残留ラジカルによる生体への影響の危惧がないことから、その薬学的応用は確実に可能であり、かつ大きく期待できるものと考えられる。

総括

以上、本研究により、グルコース系糖類に室温にて生成するプラズマ誘起ラジカルの構造解析とその反応特性に関して一般性を確立することができた。本研究で得られた知見は、さらに複雑な糖類に生成するラジカルの研究への基礎的知見を与えるのみならず、放射線化学をはじめ、他の諸分野における糖ラジカルの解明、およびその応用利用についての画期的な進歩への一助となるものと確信している。

例えば本研究にて得られた知見をもとに、このようなプラズマ照射多糖類粉末の薬学的応用を考えると、図20に示したように、プラズマ照射多糖類と薬物とを同時に混合処理を行えば、生成ラジカルは高分子主鎖上に存在するため、ラジカルカップリングにより架橋反応が進行し、粉末マトリックスを形成させた、新たな DDS デバイスへの応用が期待できる。

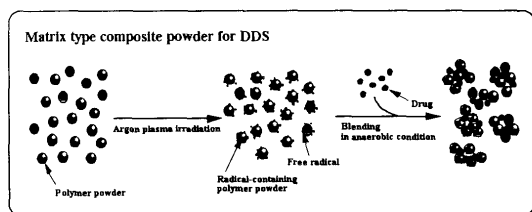


Fig. 20 Matrix type composite powder for DDS

謝辞

本研究は、岐阜薬科大学薬品物理化学教室で行われたものであり、教室員の方々をはじめ多くの大学院修了生、学部卒業生、研究生を含むすべての共同研究者と研究協力者の諸氏に深甚なる謝意を表します。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金「重点領域研究 (05237228, 07217218, 07650457)、一般研究 C (04671327, 06672148, 07672319)、総合研究 A (07304047)」の研究助成によって実施されたものであり、ここに厚く御礼申し上げます。

引用文献

1) C. Sonntag, Free-Radical Reactions of Carbohydrates as Studied by Radiation Techniques. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, R. S. Tipson, D. Horton, Eds.; Academic Press: New York, 1980; Vol. 37, pp 7-77.
 2) (a) F. K. Truby, W. H. Storey, Jr. *J. Chem. Phys.*, 31, 857 (1959).
 (b) A. J. Bailey, S. A. Barker, J. S. Brimacombe, D. Pooley, D. H. Spence, *Nature* (London), 190, 259 (1961).

(c) M. A. Collins, *Nature* (London), 193, 1061 (1962).
 (d) H. Shields, P. Hamrich, *J. Chem. Phys.*, 37, 202 (1962).
 (e) S. Dilli, I. L. Garnett, *Nature* (London), 198, 984 (1963).
 (f) J. N. Herak, K. Adamic, R. Blinc, *J. Chem. Phys.* 42, 2388 (1965).
 (g) G. C. R. Lomaglio, *Seances Acad. Sci., Ser. B.*, 264, 1637 (1967).
 (h) P. J. Baugh, K. Kershaw, G. O. Phillips, *Nature*, 221, 1138 (1969).
 (i) H. Neubacher, *Biophysik*, 6, 161 (1969).
 (j) E. G. Derouane, J. V. Ventrine, *Chem. Phys. Lett.*, 29, 222 (1974).
 (k) M. Dizdaroglu, D. Henneberg, K. Neuwald, G. Schomburg, C. Sonntag, *Z. Naturforsch.*, 32b, 213 (1977).
 3) (a) H. Ueda, Z. Kuri, S. Shida, *J. Chem. Phys.*, 35, 2145 (1961).
 (b) H. Ueda, *J. Phys. Chem.*, 67, 2185 (1963).
 (c) G. O. Phillips, *Radiat. Res. Rev.*, 3, 335 (1972).
 (d) A. Graslund, G. Lofroth, *Acta Chem. Scand., Ser. B*, 29, 475 (1975).
 (e) M. Iwasaki, K. Toriyama, *Chem. Phys. Lett.*, 41, 59 (1976).
 (f) E. E. Budzinski, W. R. Potter, G. Potienko, H. C. Box, *J. Chem. Phys.*, 70, 5040 (1979).
 (g) H. C. Box, E. E. Budzinski, H. G. Freund, W. R. Potter, *J. Chem. Phys.*, 70, 1320 (1979).
 (h) K. P. Madden, W. A. Bernhard, *J. Phys. Chem.*, 83, 2643 (1979).
 (i) K. P. Madden, W. A. Bernhard, *J. Chem. Phys.*, 70, 2431 (1979).
 (j) K. P. Madden, W. A. Bernhard, *J. Chem. Phys.*, 72, 31 (1980).
 (k) S. E. Locher, H. C. Box, *J. Chem. Phys.*, 72, 828 (1980).
 (l) E. E. Budzinski, W. R. Potter, H. C. Box, *J. Chem. Phys.*, 72, 972 (1980).
 (m) P.-O. Samskog, A. Lund, *Chem. Phys. Lett.*, 75, 525 (1979).
 (n) P.-O. Samskog, A. Lund, G. Nilsson, M. C. R. Symons, *J. Chem. Phys.*, 73, 4862 (1980).
 (o) P.-O. Samskog, A. Lund, G. Nilsson, *Chem. Phys. Lett.*, 79, 447 (1981).
 (p) P.-O. Samskog, L. D. Kispert, A. Lund, *J. Chem. Phys.*, 77, 2330 (1982).
 (q) K. P. Madden, W. A. Bernhard, *J. Phys. Chem.*, 86, 4033 (1982).
 (r) K. P. Madden, W. A. Bernhard, *J. Phys. Chem.*, 86, 1712 (1982).
 (s) H. C. Box, E. E. Budzinski, *J. Chem. Phys.*, 79, 4142 (1983).
 (t) A. Lund, O. Awadelkarim, M. Lindgren, J. Westerling, *J. Phys. Chem.*, 90, 5584 (1986).
 4) (a) J. C. Arthur, Jr. T. Mares, O. Hinojosa, *Textile Res. J.*, 630 (1966).
 (b) A. U. Ahmed, W. H. Rapson, *J. Polym. Sci., Part A-1*, 10, 1945 (1972).
 (c) H. Kubota, Y. Ogiwara, *J. Appl. Polym. Sci.*, 22, 3327 (1978).
 (d) A. Merlin, J.-P. Fouassier, *Angew. Makromol. Chem.*, 86, 109 (1980).
 (e) J. J. Raffi, J.-P. L. Agnel, C. J. Thiery, C. M. Frejaville *J. Agric. Food Chem.*, 29, 1227 (1981).
 (f) A. M. Henderson, A. Rudin, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, 19, 1721 (1981).
 (g) J. J. Raffi, J.-P. L. Agnel *J. Phys. Chem.* 87, 2369, (1983).

- (h) Hon, N.-S. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1975**, *13*, 1347.
- (i) Hon, N.-S. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **1975**, *13*, 955.
- (j) Hon, N.-S. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **1975**, *13*, 1933.
- (k) Hon, N.-S. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **1975**, *13*, 2653.
- (l) Hon, N.-S. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **1976**, *14*, 2513.
- (m) Hon, N.-S. *Polym. Lett. Ed.* **1976**, *14*, 225.
- (n) Hon, N.-S. *D. J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1979**, *17*, 441.
- (o) Hon, N.-S. D.; Chan, H.-C. *ACS Symp. Ser.* **1982**, *187*, 101.
- 5) (a) M. Kuzuya, A. Koide, A. Ito, A. Noguchi, *Chem. Lett.*, 555 (1989).
- (b) M. Kuzuya, A. Noguchi, H. Ito, S. Kondo, N. Noda, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **29**, 1 (1991).
- (c) M. Kuzuya, A. Noguchi, M. Ishikawa, A. Koide, K. Sawada, A. Ito, N. Noda, *J. Phys. Chem.*, **95**, 2398 (1991).
- (d) M. Kuzuya, H. Ito, S. Kondo, N. Noda, A. Noguchi, *Macromolecules*, **24**, 6612 (1991).
- (e) M. Kuzuya, K. Kamiya, K. Sawada, *Proc. Jpn. Symp. Plasma Chem.*, **4**, 317 (1991).
- (f) M. Kuzuya, M. Ishikawa, A. Noguchi, K. Sawada, S. Kondo, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **30**, 379, (1992).
- (g) M. Kuzuya, S. Kondo, H. Ito, A. Noguchi, *Appl. Surf. Sci.*, **60/61**, 416 (1992).
- (h) M. Kuzuya, M. Ishikawa, A. Noguchi, K. Sawada, S. Kondo, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **30**, 379 (1992).
- (i) M. Kuzuya, K. Sawada, T. Takai, A. Noguchi, *Polymer J.*, **25**, 75 (1993).
- (j) M. Kuzuya, J. Niwa, H. Ito, *Macromolecules*, **26**, 1990 (1993).
- (k) M. Kuzuya, J. Niwa, H. Ito, *Macromolecules*, **26**, 1990 (1993).
- (l) M. Kuzuya, K. Kamiya, Y. Yanagihara, Y. Matsuno, *Plasma Sources Sci. Technol.*, **2**, 51 (1993).
- (m) M. Kuzuya, J. Niwa, T. Noguchi, *Polym. J.*, **27**, 521 (1995).
- (n) M. Kuzuya, T. Yamashiro, S. Kondo, M. Sugito, M. Mouri, *Macromolecules*, **31**, 3225 (1998).
- (o) M. Kuzuya, S. Kondo, M. Sugito, T. Yamashiro, *Macromolecules*, **31**, 3230 (1998).
- (p) M. Kuzuya, K. Kamiya, Y. Yanagihara, Y. Matsuno, *Plasma Source Sci. Technol.*, **2**, 51 (1993).
- (q) See for review, M. Kuzuya,; Electron Spin Resonance Study on Solid State Radicals Induced by Plasma Irradiation. Trends in Physical Chemistry; Science Research Integration, India, 1991,; Vol.2, pp 39-63.
- 6) M. Kuzuya *Hyoumen*, **27**, 885 (1989).
- 7) M. Kuzuya, N. Noda, S. Kondo, K. Washino, A. Noguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 6505 (1992).
- 8) (a) M. Kuzuya, S. Kondo, A. Noguchi, N. Noda, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **29**, 489 (1991).
- (b) M. Kuzuya, S. Kondo, A. Noguchi, N. Noda, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **30**, 97 (1992).
- 9) (a) R. Livingston, H. Zeldes, *J. Chem. Phys.*, **44**, 1249 (1966).
- (b) A. L. Buley, R. O. C. Norman, R. J. Pritchett, *J. Chem. Soc., (B)*, 849 (1966).
- (c) S. Steenken, M. J. Davies, B. C. Gilbert, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 1003 (1986).
- 10) See for example: R. Lefebvre, J. Maruani, *J. Chem. Phys.*, **42**, 1480 (1965).
- 11) (a) H.-C. H. Wu, A. Sarko, *Carbohydrate Res.*, **61**, 7 (1978).
- (b) H.-C. H. Wu, A. Sarko, *Carbohydrate Res.*, **61**, 71 (1978).
- 12) M. Kamachi, *Adv. Polym. Sci.*, **82**, 207 (1987).
- 13) (a) W. P. L. Carter, K. R. Darrnall, R. A. Graham, A. M. Winer, J. N. Pitts, Jr., *J. Phys. Chem.*, **83**, 2305 (1979).
- (b) T. Ohta, H. Bandow, H. Akimoto, *Int. J. Chem. Kinet.*, **14**, 173 (1982).
- (c) N. Washida, *J. Chem. Phys.*, **75**, 2715 (1981).
- (d) N. Washida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 3757 (1987).
- (e) A. Miyoshi, H. Matsui, N. Washida, *J. Phys. Chem.*, **94**, 3016 (1990).
- 14) H. Ueda, Z. Kuri, S. Shida, *Nippon Kagaku Kaishi (Jpn)*, 82 (1961).