

平成30年 5月10日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05454

研究課題名(和文)キノリンおよびイソキノリンを基盤とする蛍光性配位子の機能拡張

研究課題名(英文)Exploration of Fluorescent Ligands based on Quinoline and Isoquinoline

研究代表者

三方 裕司(Mikata, Yuji)

奈良女子大学・自然科学系・教授

研究者番号：10252826

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では特に、キノリンの特性を活用した特異的蛍光センサーについて研究を行い、カドミウムイオン、亜鉛イオン、およびリン酸を厳密に区別できる化合物を開発した。連結鎖長、連結鎖に存在する配位原子の種類および数、キノリン環に存在する置換基の種類及び数、キノリンからイソキノリンへの変換等により、特定金属イオンおよびアニオン への特異性を向上させることができた。また、その特異性発現のメカニズムをX線結晶構造解析および理論計算から明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have investigated specific fluorescent sensors based on the property of quinoline, and developed several compounds that can strictly discriminate metal ions and anions in environment and living systems. By changing the linker length, nature and number of coordination atoms in the linker and substituents of the quinoline ring, as well as the replacement of quinoline with isoquinoline, we could improve the selectivity toward specific metal ions and anions. We also clarified the mechanism of specificity by X-ray crystallography and theoretical calculations.

研究分野：生物無機化学

キーワード：キノリン イソキノリン 蛍光センサー 亜鉛 カドミウム リン酸 ピロリン酸 グルコース

1. 研究開始当初の背景

カドミウム、鉛、クロム、水銀等の重金属およびフッ素、リン酸などのアニオン類などは、水質汚濁に係る環境基準のうちの健康項目に含まれ、その環境中濃度の監視と制御が求められている。さらに、測定に専門性や大型機器を必要としない、広範囲かつ長期にわたる継続的な調査も求められている。

2. 研究の目的

本研究では、上述の重金属類を現地で簡便・安価に検出するシステムの開発を目的に掲げた。本研究の後半では、認識のメカニズムを詳細に解明するとともにさらに研究を進展させ、新規骨格の開拓と検出剤から補足・除去剤への展開を目指す。

特に本研究では、これまでに得られた申請者の研究成果を進展させ、対象となる溶液中の重金属イオンを特異的に高感度で検出する化合物の開発を行う。同族元素である亜鉛イオンとカドミウムイオンを厳密に識別できる化合物はまだ例が少なく、合理的な分子設計に基づいた化合物開発を展開する。

3. 研究の方法

実際の研究開発に際しては、化合物のデザイン、合成法の立案、合成研究とデザインおよび合成法へのフィードバック、得られた化合物の機能評価、というプロセスを経る。化合物のデザインに関しては、これまで申請者がその多くの機能を引き出してきた「キノリン化合物」に着目した。

4. 研究成果

(1) C_3 対象を有する TQA (トリス(2-キノリルメチル)アミン) 誘導体の亜鉛イオン特異的蛍光応答

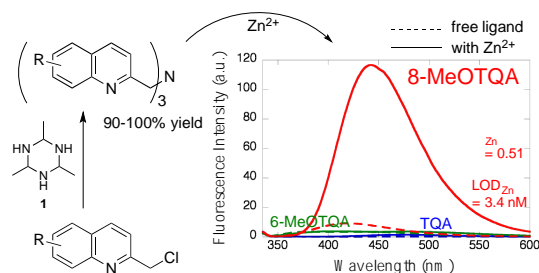


図1 8-MeOTQAの合成と亜鉛イオン特異的蛍光応答

アセトアルデヒドアンモニアトリマーが取り扱いやすく汎用性に富んだアンモニア等価体として作用し、非常に簡便な C_3 対称型配位子の合成法として利用できることを見いだした(図1)。この反応は収率も非常に良く、操作も簡便であり、短時間で効率的に生成物を得ることができるため有用である。脂肪酸ハライドやアリルハライドには全く応用できないが、ベンジルハライドには非常に効果的である。

新しく開発した配位子合成法を用いて、様々な置換基を有する C_3 対称型の TQA 誘導

体を合成し、それらの金属イオンに対する蛍光応答について調べたところ、8位にメトキシ基を有する8-MeOTQAが1当量の亜鉛イオン存在下で非常に高い蛍光量子収率を示し($\phi = 0.51$)、また亜鉛イオン選択性にも優れていることを見いだした($I_{Cd}/I_{Zn} = 16\%$)。6-MeOTQA-Zn 錯体では、これほどまでに高い蛍光量子収率は得られなかったことから($\phi = 0.027$) 電子の効果に加えて立体的効果が大きく影響していることが示唆された。そこで、それぞれの亜鉛錯体のX線結晶構造解析を行い、その構造を詳しく調べたところ、8-MeOTQA-Zn 錯体では、3つのメトキシ基が亜鉛に弱く相互作用し($Zn-O_{methoxy} = 2.5-2.6 \text{ \AA}$) 溶媒分子およびカウンターアニオンが入る空間をブロックしていることが明らかとなった。これにより、亜鉛—キノリン窒素間の結合距離の平均は 2.06 \AA となり、8-MeOTQA ではキノリンが非常に強く亜鉛に配位していることがわかった。すなわち、8位のメトキシ基の立体障害によって、キノリンの窒素原子が亜鉛に強く結合し、その結果蛍光が飛躍的に増大するという興味深い結果が得られた(図1)。

(2) チオエーテル連結ビスキノリン誘導体の水銀(II)および鉄(III)イオン特異的蛍光応答

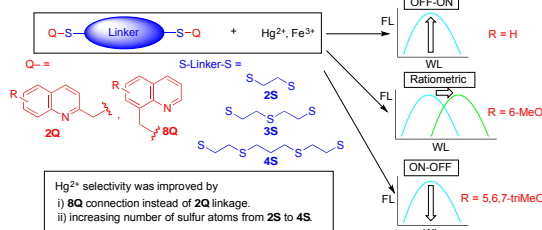


図2 BQET 誘導体の水銀(II)および鉄(III)イオン特異的蛍光応答

分子の中心骨格にチオエーテルをもつビスキノリン(BQET)誘導体をいくつか合成し検討したところ、それらがアセトニトリル中で水銀(II)および鉄(III)イオンに対するセンサーとして機能することを見いだした。興味深いことに、その蛍光応答様式は置換基の導入によって大きく変化し、水銀イオンの添加に伴って 蛍光が増大する OFF-ON 型、蛍光強度はあまり変化せず、蛍光波長がシフトするレシオ型、 蛍光が消光する ON-OFF 型の3つの代表的な蛍光応答様式が、同じ分子骨格を用いて実現できることが示された(図2)。これは、置換基の導入による配位子の蛍光強度の増大と、水銀錯体形成時における錯形成誘起蛍光(Chelation Enhanced Fluorescence, CHEF)および重原子効果による錯形成誘起消光(Chelation Enhanced Quenching, CHEQ)とのバランスがうまくとれた結果、 ~ のような蛍光応答の発現に至ったと考えられる。

(3) テトラキスイソキノリン誘導体 1-isoHTQHNP (*N,N,N',N'*-tetrakis(1-isoquinolylmethyl)-1,3-propanediamine) による亜鉛イオン特異的 OFF-ON-OFF 型蛍光応答

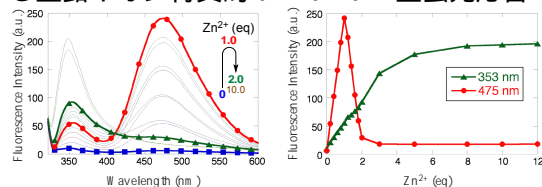


図3 1-isoHTQHNPの亜鉛イオン特異的蛍光応答

テトラキスイソキノリン誘導体である 1-isoHTQHNP は、1 当量の亜鉛イオン存在下で 475 nm における蛍光強度が特異的に増大し、さらに亜鉛イオンを加えるとその蛍光強度は減少し、2 当量の亜鉛イオン存在下ではほとんど蛍光を発しなくなった(図3)。これは、1-isoHTQHNP が、蛍光性の単核錯体と非蛍光性の二核錯体を形成するとして説明することができる。このことは、それぞれの錯体の X 線結晶構造解析によって確認され、また、亜鉛イオンを 1 当量および 2 当量含む 1-isoHTQHNP 溶液のマススペクトル測定により確認された。当量点で鋭敏な蛍光極大をもつ滴定曲線が得られたことから、濃度既知の 1-isoHTQHNP 溶液を用いることにより、亜鉛イオンの精密な定量ができることが示された。

(4) テトラキスキノリン誘導体 HT(6-MeO8Q)HPN (*N,N,N',N'*-tetrakis(6-methoxy-8-quinolylmethyl)-1,3-propanediamine) によるリン酸イオン特異的蛍光応答

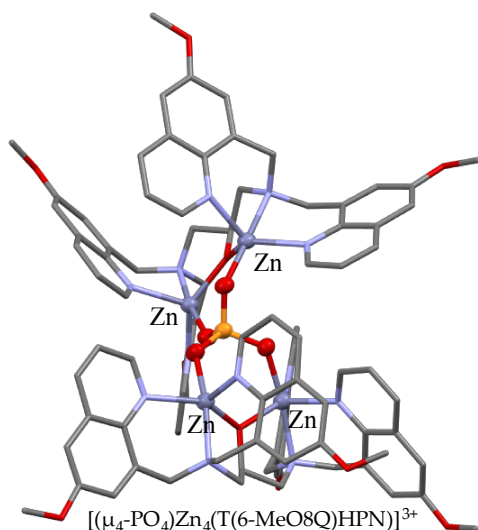


図4 HT(6-MeO8Q)HPN とリン酸を含む亜鉛四核錯体の結晶構造

テトラキスイソキノリン誘導体である HT(6-MeO8Q)HPN は、2 当量の亜鉛イオン存在下でわずかに蛍光増大を示すが、その溶液に 0.5 当量のリン酸イオン (PO_4^{3-}) を加えると蛍光強度が特異的に増大した。X 線結晶構

造解析およびマススペクトル解析から、リン酸イオンに特異的な蛍光増大は、脱プロトン化した配位子 ($[\text{T}(6\text{-MeO8Q})\text{HPN}]^-$)、亜鉛イオン、リン酸イオンを 2:4:1 の比で含む亜鉛四核錯体の形成によるものであることが明らかとなった。この亜鉛四核錯体の結晶構造(図4)においては、キノリン環に特異的な相互作用は見られないことから、蛍光強度の増大は、リン酸イオンの介在により亜鉛イオンとの錯形成が誘起されることによるものであると説明された。

(5) キノリン/イソキノリンの置換による亜鉛イオンセンサーからカドミウムイオンセンサーへの変換

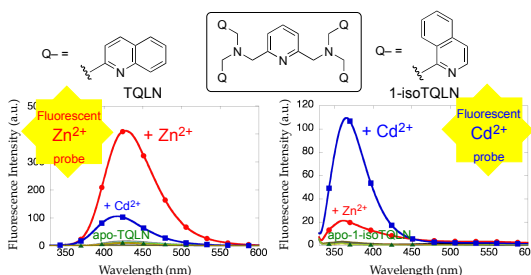


図5 TQLN と 1-isoTQLN の蛍光応答の金属イオン選択性

分子の中心に 2,6-ルチジレンジアミンを有するキノリン誘導体 TQLN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-2,6-bis(aminomethyl)pyridine) は、亜鉛イオンおよびカドミウムイオンと単核錯体を形成し、1 当量の金属イオン存在下での蛍光強度増大は亜鉛に対して選択的であった ($I_{\text{Cd}}/I_{\text{Zn}} = 24\%$) (図5)。それに対し、TQLN の 4 つのキノリン部位をイソキノリンに置き換えた 1-isoTQLN (*N,N,N',N'*-tetrakis(1-isoquinolylmethyl)-2,6-bis(aminomethyl)pyridine) では、1 当量の金属イオン存在下でカドミウムに対して顕著な蛍光増大を示した ($I_{\text{Cd}}/I_{\text{Zn}} = 510\%$) (図5)。1-isoTQLN はカドミウムに対しては単核錯体を形成するが、亜鉛に対しては、TQOPEN と類似のヒドロキソ架橋を有する二核錯体を形成することが X 線結晶構造解析から明らかになった。1-isoTQLN の亜鉛に対する結合は弱く、1 当量の金属イオン存在下ではカドミウムに対して選択的な蛍光増大を示した。

(6) 七座配位子 TQOPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-oxa-1,5-pentanediamine) 誘導体によるカドミウムイオン特異的蛍光応答

我々は、TPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-pyridylmethyl)ethylenediamine) の亜鉛錯体が六配位構造をとるのに対し、カドミウム錯体では TPEN の 6 つの窒素原子に加えて水の酸素原子がカドミウムに配位した七配位構造をとることから、七座配位子 TQOPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-oxa-1,

5-pentanediamine)、TQNPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-aza-1,5-pentanediamine)、および TQSPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-thia-1,5-pentanediamine)をカドミウムイオンに対する蛍光センサーとして設計した。

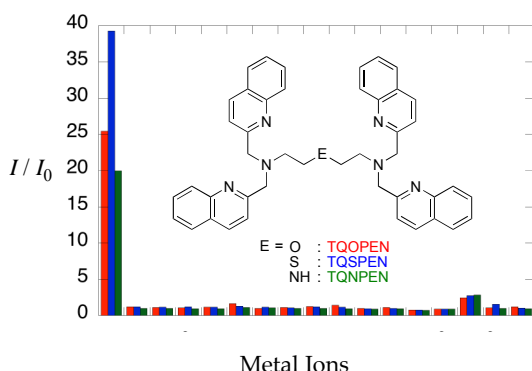


図6 TQOPEN, TQNPEN, TQSPEN のカドミウムイオン特異的蛍光応答

いずれの化合物も、金属イオン1当量添加時にカドミウムイオンに特異的な蛍光増大を示した。滴定実験より、TQOPENは、カドミウムイオン1当量の添加で蛍光増大が飽和するのにに対し、亜鉛イオンを2当量以上加えても蛍光が増大し続けたことから、亜鉛イオンに対する親和力は非常に低いことがわかった。金属錯体の結晶構造解析にも成功し、TQOPENはカドミウムとは単核錯体、亜鉛イオンとはヒドロキソ架橋を有する亜鉛二核錯体を形成することが明らかとなった。興味深いことに、結晶中ではTQOPENはカドミウムに対し六座配位子として作用し、1つのキノリンがカドミウム中心から少し離れた位置に存在していたが、錯体の溶液中でのNMR解析によりTQOPENの4つのキノリンは全て等価であることが示され、理論計算によるPES (Potential Energy Surface)解析からも、TQOPEN-Cd²⁺錯体の動的なキノリンの配位が示唆された。実際、七座配位子であるTQOPENの窒素および酸素原子を1つ削除した六座配位子では、蛍光応答のカドミウムイオン特異性が失われることから、TQOPENの七座構造が重要であることが示された。

(7)糖連結 TQNPEN 誘導体による細胞内カドミウムイオンのイメージング

TQNPEN, TQSPENもTQOPENと同様のメカニズムによりカドミウムイオン特異的な蛍光応答を示した。しかし残念ながら、これらの化合物はすべて細胞に取り込まれにくく、細胞内のカドミウムイオンの検出には適していなかった。そこで我々は、細胞内への取り込みを促進するためにTQNPENに糖分子を導入することとした。TQNPENの中心に存在する窒素原子にリンカーを介してグルコース、ガラクトース

およびマルトースを連結した誘導体を合成し、それらを用いてHeLa細胞中におけるカドミウムイオンの蛍光イメージングを行ったところ、グルコースおよびガラクトース誘導体が効果的に作用することが明らかとなった。

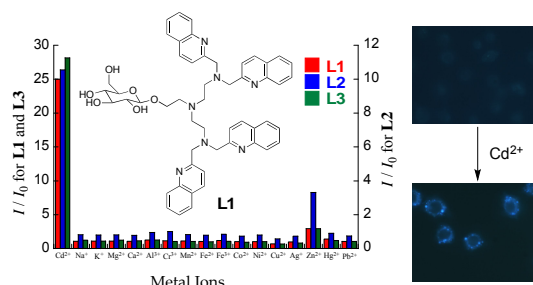


図7 L1, L2, L3のカドミウムイオン特異的蛍光応答とL1を用いた細胞内カドミウムイオンのイメージング

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

1. Y. Mikata,* K. Nozaki, M. Kaneda, K. Yasuda, M. Aoyama, S. Tamotsu, and A. Matsumoto Carbohydrate-Appended TQNPEN (*N,N,N',N'*-Tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-aza-1,5-pentanediamine) Derivatives for Fluorescent Detection of Intracellular Cd²⁺

Eur. J. Inorg. Chem., in press (2018).

Selected as a Front Cover Picture Article

DOI: 10.1002/ejic.201800086

2. Y. Mikata,* A. Kizu, K. Nozaki, H. Konno, H. Ono, S. Mizutani, and S. Sato

TQOPEN

(*N,N,N',N'*-Tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-oxa-1,5-pentanediamine) Family as Heptadentate Fluorescent Cd²⁺ Sensors

Inorg. Chem., **56**(13), 7404-7415 (2017).

DOI: 10.1021/acs.inorgchem.7b00560

3. Y. Mikata,* A. Takekoshi, M. Kaneda, H. Konno, K. Yasuda, M. Aoyama and S. Tamotsu Replacement of quinolines with isoquinolines affords target metal ion switching from Zn²⁺ to Cd²⁺ in the fluorescent sensor TQLN (*N,N,N',N'*-tetrakis(2-quinolylmethyl)-2,6-bis(aminoethyl)pyridine)

Dalton Trans., **46**(3), 632-637 (2017).

Selected as a Back Cover Picture Article

DOI: 10.1039/C6DT03948K

4. Y. Mikata,* R. Ohnishi, R. Nishijima, and H. Konno

Fluorescent Detection of Phosphate Ion via a Tetranuclear Zinc Complex Supported by Tetrakisquinoline Ligand and μ_4 -PO₄ Core

Inorg. Chem., **55**(21), 11440-11446 (2016).

DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6b01967

5. Y. Mikata,* R. Ohnishi, A. Ugai, H. Konno, Y. Nakata, I. Hamagami, and S. Sato

OFF-ON-OFF Fluorescent Response of *N,N,N',N'*-Tetrakis(1-isoquinolylmethyl)-2-hydro

xy-1,3-propanediamine (1-isoHTQHPN) toward Zn^{2+}

Dalton Trans., **45**(17), 7250-7257 (2016).

Selected as a Front Cover Picture Article

DOI: 10.1039/C6DT00506C

6. Y. Mikata,* K. Nakanishi, F. Nakagaki, A. Kizu, and H. Konno

OFF-ON, Ratiometric, and ON-OFF Fluorescent Responses of Thioether-Linked Bisquinolines toward Hg^{2+} and Fe^{3+} Ions

Eur. J. Inorg. Chem., (22), 3769-3780 (2015).

DOI: 10.1002/ejic.201500220

7. Y. Mikata,* Y. Nodomi, R. Ohnishi, A. Kizu and H. Konno

Tris(8-methoxy-2-quinolylmethyl)amine (8-MeOTQA) as a highly fluorescent Zn^{2+} probe prepared by convenient C_3 -symmetric tripodal amine synthesis

Dalton Trans., **44**(17), 8021-8030 (2015).

DOI: 10.1039/C5DT00514K

[学会発表](計 29 件)

1. 金田みのり・松本有正・三方裕司: キレート配位子 BAPTA を基本骨格とするテトラキスキノリン誘導体のカドミウム特異的蛍光応答 日本化学会第 98 春季年会(千葉)2018 年 3 月

2. T. Ishii, A. Matsumoto, Y. Mikata: Synthesis and Reactivity of Cobalt Complexes with Isoquinoline-Based Ligands Derived from TPA 日本化学会第 98 春季年会(千葉)2018 年 3 月

3. 内藤恭子・松本有正・三方裕司: キノリン類縁体を含む配位子を用いたマンガン二核錯体の合成とその特性 日本化学会第 98 春季年会(千葉)2018 年 3 月

4. Y. Mikata, Quinoline/Isoquinoline-Based Heptadentate Ligands with Zn^{2+}/Cd^{2+} -Specific Fluorescent Response, SPACC24 (Auckland, New Zealand, 11/22-25, 2017).

5. A. Matsumoto, M. Akizuki, A. Tanaka, Y. Mikata, T. Kawasaki, K. Soai: Structure of Zinc Alkoxide Complexes in Asymmetric Autocatalysis of Pyrimidyl Alkanol 第 67 回錯体化学会討論会(札幌)2017 年 9 月

6. 青野有理・松本有正・三方裕司: イソキノリン部位を有する TPA 誘導体を用いたオキソ架橋を含む鉄二核錯体の構造と反応 第 67 回錯体化学会討論会(札幌)2017 年 9 月

7. 中山広実・松本有正・三方裕司: イソキノリン部位を有するエチレンジアミン誘導体を用いたオキソ架橋を含む鉄二核錯体の構造と反応 第 67 回錯体化学会討論会(札幌)2017 年 9 月

8. 金田みのり・松本有正・三方裕司: キレート配位子 EGTA および BAPTA を基本骨格とするテトラキスキノリン誘導体のカドミウム特異的蛍光応答 第 67 回錯体化学会討論会(札幌)2017 年 9 月

9. 三方裕司・竹腰綾香・金田みのり:

テトラキスキノリン誘導体の金属イオン特異的蛍光応答 第 15 回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム(立命館大学・草津)2017 年 6 月

10. 金田みのり・竹腰綾香・三方裕司: キノリン及びイソキノリン部位を有する蛍光性七座配位子による亜鉛とカドミウムの識別 日本化学会第 97 春季年会(横浜)2017 年 3 月

11. R. Nishijima, R. Ohnishi, and Y. Mikata: Fluorescent Response of Substituted Tetrakisquinoline and Phenanthridine Derivatives toward Pyrophosphate Ion 日本化学会第 97 春季年会(横浜)2017 年 3 月

12. Y. Mikata, M. Kaneda, and A. Kizu, Molecular Design of Cadmium-Specific Fluorescent Sensors, AsBIC8 (Auckland, New Zealand, 12/4-9, 2016).

13. Y. Mikata, M. Kaneda, and A. Kizu: Quinoline-Based Molecular Design of Cd^{2+} -Specific Fluorescent Probes, SPACC23 (Okayama, 11/21-22, 2016). Oral Presentation

14. 青野有理・山川咲季・三方裕司: TPA 骨格を持つイソキノリン誘導体を配位子として用いた鉄二核錯体の構造とその安定性 第 66 回錯体化学討論会(福岡)2016 年 9 月

15. 野崎香名・木津朝子・三方裕司: キノリン部位を有する糖含有カドミウム特異的蛍光センサーの開発 第 66 回錯体化学討論会(福岡)2016 年 9 月

16. 三方裕司・木津朝子・野崎香名: テトラキスキノリン誘導体のカドミウムイオン選択的蛍光応答 第 14 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム(高知)2016 年 6 月

17. 野崎香名・三方裕司: 糖含有 TQEN 誘導体のカドミウム特異的蛍光応答 日本化学会第 96 春季年会(京都)2016 年 3 月

18. A. Kizu and Y. Mikata: Mechanism for Specific Response of TQEN-Based Heptadentate Ligands toward Cadmium Ion 日本化学会第 96 春季年会(京都)2016 年 3 月

19. 内藤恭子・村上可愛・越智文香・三方裕司: キノリンおよびキノキサリン部位を有する配位力の異なるリガンドを用いたマンガン二核錯体の構造と特性 日本化学会第 96 春季年会(京都)2016 年 3 月

20. 青野有理・山川咲季・三方裕司: TPA 骨格を持つイソキノリン誘導体を配位子として用いた鉄二核錯体の合成とその構造 日本化学会第 96 春季年会(京都)2016 年 3 月

21. Y. Mikata: Quinoline-based ligand design for fluorescent sensing of metal ions, Pacificchem2015 (Honolulu, Hawaii, USA, 12/15-20, 2015). Oral Presentation

22. 内藤恭子・村上可愛・越智文香・三方裕司: キノリンおよびキノキサリン誘導体を配位子として用いたマンガン二核錯体の合成とその特性 第 48 回酸化反応討論会(京都)2015 年 10 月

23. 三方裕司・木津朝子・竹腰綾香：テトラキスキノリン誘導体のカドミウムイオン特異的蛍光応答 第 48 回酸化反応討論会（京都）2015 年 10 月
24. 野崎香名・三方裕司：TQEN 誘導体におけるエチレンジアミン部位の立体規制による亜鉛錯体形成時の蛍光挙動変化 第 65 回錯体化学討論会（奈良）2015 年 9 月
25. 木津朝子・三方裕司：TQEN を基本骨格とした七座配位子のカドミウム特異的蛍光応答 第 65 回錯体化学討論会（奈良）2015 年 9 月
26. 大西理佐・三方裕司：キノリン部位を有する亜鉛二核錯体を用いたピロリン酸イオン及びリン酸イオンの検出 第 65 回錯体化学討論会（奈良）2015 年 9 月
27. Y. Mikata: Fluorescent Sensing of Specific Metal Ions with Quinoline-Amine Conjugates, SPACC22 (Windhoek, Namibia, 8/13-17, 2015). INVITED LECTURE
28. Y. Mikata, Quinoline-Based Fluorescent Ligand for Detection of Biological Metal Ions, ICBIC17 (Beijing, China, 7/20-24, 2015). Oral Presentation
29. 三方裕司・木津朝子・竹腰綾香：キノリン誘導体のカドミウムイオン特異的蛍光応答 第 13 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム（仙台）2015 年 6 月

〔図書〕(計 1 件)

1. Y. Mikata

“Metal-Carbohydrate

Interactions/Complexes,” in “Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry,” Robert A. Scott and Tim Storr Eds., Wiley 2017, Online ISBN: 9781119951438

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三方 裕司 (MIKATA, Yuji)

奈良女子大学・研究院自然科学系・教授

研究者番号：1 0 2 5 2 8 2 6