

機関番号：14403

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20550075

研究課題名（和文） カルバゾール発色団をアーキテクチャーとする超分子型リン酸イオン定量法の開発

研究課題名（英文） Development of Determination Method of Phosphate Using Carbazole Chromophore as Supramolecular Architecture

研究代表者

久保埜 公二 (KUBONO KOJI)

大阪教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：00269531

研究成果の概要（和文）：本研究はカルバゾールを検出部位とし、これをアーキテクチャーとする超分子反応利用したリン酸イオン定量法の開発を行うものである。カルバゾールに、金属イオン並びにリン酸イオンと配位結合或いは水素結合をすることが可能なカルボキシル基、ウレア基、アザクラウンエーテル部位、アミノフェノール部位などの導入を試みた。得られたカルバゾール誘導体について金属イオン並びにリン酸イオンとの相互作用を調べるために、吸収スペクトル並びに蛍光スペクトル測定を行った。このうちアザクラウンエーテル基を有するカルバゾール誘導体（カルバゾロファン）**1**では亜鉛(II)イオンの存在下で吸光度が増大し、蛍光スペクトルにおいて発光強度の増加と発光極大波長の長波長シフトが確認された。さらに、この溶液にリン酸二水素イオンを添加すると亜鉛(II)錯体のみのときと比べて発光強度は減少するものの、発光極大波長の短波長シフトが確認された。また、アミノフェノール部位を含むカルバゾール誘導体**2**では、銅(II)イオンを添加すると蛍光スペクトルは消光するが、これにリン酸二水素イオンを添加すると蛍光強度は増加し、蛍光強度とリン酸二水素イオン濃度（10～150 nM）との間に直線関係が得られた。

研究成果の概要（英文）： This study is a development of determination method of phosphate utilizing supramolecular reaction between carbazole derivatives metal ions and the target ion. We tried to synthesize the carbazole compounds containing coordinating groups and hydrogen-bonded groups which can form complexes with phosphate, such as carboxyl group, urea group, azacrownether, aminophenol, etc. The obtained carbazole derivatives have been characterized by UV-Vis and fluorescence spectroscopy to study the interactions between them with metal ions and phosphate. Carbazolophane (**1**), containing azacrownether moiety, gave rise to the enhancement of absorbance in UV-Vis and emission intensity, and the red-shift of fluorescence spectra by the addition of Zn(II). Fluorescence spectra of Zn(II) complex with **1** in the presence of dihydrogenphosphate were greatly changed, that is the decrease of emission intensity and the blue-shift were observed. In the solution of carbazole derivative (**2**), containing aminophenol moiety, fluorescence quenching was observed by the addition of Cu(II). However, the addition of dihydrogenphosphate in the solution of Cu(II) complex with **2** gave the enhancement of emission intensity in fluorescence spectra. The calibration curve was linear in the range of 10-150 nM of dihydrogenphosphate.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：分析化学，超分子化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：環境分析，超分子，リン酸イオン，カルバゾール

1. 研究開始当初の背景

環境水中に含まれるリン酸イオンは，植物プランクトンが生育する上で極めて重要であり，その濃度測定は日常的に行われてきている。ところが近年，リン酸イオンが制限因子となっている水域での溶存態リン酸イオン濃度が， 1×10^{-10} Mを下回るとの報告がなされた。しかし，頻繁に用いられているモリブデンブルー吸光光度法や，これに多少の修正を加えた方法では著しく感度が不足している。なお，リン酸は水圏環境を把握する上で環境科学的に最も重要な化学種と言っても過言ではなく，植物プランクトンの生育状況が大気中の二酸化炭素に与える影響や，地球温暖化に与える影響を鑑みると，指摘されているような低濃度のリン酸イオンを正確に測定する必要があることから，新規定量法の開発が切望されている。そこで，有機 ELの青色発光材料として注目されているものの，分析化学的な研究報告例の少ないカルバゾールに着目し，これを検出部位とするリン酸イオン微量定量法の構築を検討することにした。

2. 研究の目的

本研究は，カルバゾールを検出部位とし，これをアーキテクチャーする超分子反応を利用したアプローチによりリン酸イオンの微量定量法の開発することを目的とする。ここで，アーキテクチャーとしてカルバゾールを選定した理由としては，1 電極活性な芳香環をもつ化合物であること，2 吸着濃縮ボルタンメトリー法への応用が可能であり，それに加えて高感度な蛍光分析にも応用可能であること，3 他の発色団（アントラセンやピレンなど）よりも溶媒に対する溶解性が高いこと，4 近年多くの誘導体の合成方法が確立されてきており，検出部位以外にも複数の置換基の導入が可能であること，などが挙げられる。具体的には，カルバゾールに金属イオンが配位可能な置換基や水素結合が可能な部位を導入し，リン酸イオン、或いはリンモリブデン酸イオンと超分子錯体を形成させ，この超分子錯体を検出化学種とする蛍光分析法や，吸着濃縮ボルタンメトリー法の実験を行うものである。

3. 研究の方法

カルバゾール誘導体の合成については，金属イオン並びにリン酸イオンと超分子相互作用するための置換基としてカルボキシル基，アザクラウンエーテル基，ウレア基，アミノフ

ェノール部位などを選定し，これらの導入を検討した。さらに，検出化学種となる超分子錯体の合成については，得られたカルバゾール誘導体とその前駆体を配位子とし，これに銅(II)イオンや亜鉛(II)イオンなどの金属イオンとリン酸二水素イオンを加えることで行った。このうち，優れた結果が得られたアザクラウンエーテル基を含むカルバゾロファン **1** とアミノフェノール誘導体 **2** について，吸収スペクトル並びに蛍光スペクトルを測定し，これらの結果から詳細な検討を行った。それぞれの試薬について，合成およびスペクトル溶液の調製などの実験方法を以下の(1)および(2)に示す。なお，計画当初は吸着濃縮ボルタンメトリー法についても検討を行う予定であったが，カルバゾール誘導体が硫酸イオンを含む溶液中で不安定であったため，蛍光分析法による構築を重点的に行った。

(1)カルバゾロファン **1** について

ジ-N-(3-ホルミルカルバゾイル)ペンタンとジエチレントリアミンをジクロロメタン溶媒中で3日間室温にて攪拌した後，アルミナカラムクロマトグラフィーによる精製を行い，カルバゾロファン **1** を得た。**1** をテトラヒドロフラン/アセトニトリル (10/90) 混合溶媒に溶解させて，濃度が $5 \mu\text{M}$ になるよう溶液を調整し，それぞれの溶液について吸収スペクトルおよび蛍光スペクトル測定を行った。さらに，この溶液に銅(II)，亜鉛(II)，コバルト(II)，ニッケル(II)などの各種金属イオンの過塩素酸塩を添加した溶液や，金属塩に加えてリン酸二水素イオンなどの各種アニオンのテトラブチルアンモニウム塩を等量添加した溶液についても，同様にスペクトル測定を行った。

(2)アミノフェノール誘導体 **2** について

アミノエチルカルバゾールのメタノール溶液にサルチルアルデヒドを加えて室温で攪拌し，得られた Schiff 塩基を水素化ホウ素ナトリウムで還元することで **2** を得た。**2** をメタノールに溶解させて，濃度が $50 \mu\text{M}$ および $1 \mu\text{M}$ になるよう溶液を調整し，それぞれの溶液について吸収スペクトルおよび蛍光スペクトル測定を行った。さらに，この溶液に銅(II)，亜鉛(II)，コバルト(II)，ニッケル(II)などの金属イオンや，リン酸二水素イオンなどの各種アニオンのテトラブチルアンモニウム塩を等量添加した溶液についても，同様にスペクトル測定を行った。

4. 研究成果

(1)カルバゾロファン **1** に関する研究成果

①**1** と金属イオンとの相互作用について

吸収スペクトルにおいて、マグネシウム(II)イオン、カルシウム(II)イオン、並びに亜鉛(II)イオンなどの遷移金属イオンの共存下では、**1** のみの溶液のときに比べ、金属イオン濃度の増加に伴い吸光度が増大した。しかし、リチウム(I)イオン、ナトリウム(I)イオンなどの共存下では吸光度変化は認められなかった。一方、蛍光スペクトルでは、**1** のみの溶液ではカルバゾール由来のモノマー型の蛍光を375 nm に示すが、亜鉛(II)イオンとカドミウム(II)イオン共存下では蛍光発光極大波長は475 nm まで長波長シフトし、この蛍光強度はイオン濃度の増加に伴い増大した。しかし、その他の金属イオンではモノマー型発光の消光のみが確認された。この結果、**1** は亜鉛(II)イオン 或いはカドミウム(II)イオンと錯形成することで、光物性が大きく変化することが分かった。なお、カドミウム(II)イオンよりも亜鉛(II)イオンの方が高感度であることから、**1** と超分子錯体を形成させるための金属イオンとして亜鉛(II)イオンを選定した。

②各種アニオン共存下での亜鉛(II)錯体 [$\text{Zn}(\mathbf{1})^{2+}$] の蛍光スペクトル変化

溶液調製の際、亜鉛(II)イオンの添加については過塩素酸塩を選定し、各種アニオンについてはテトラブチルアンモニウム塩を [$\text{Zn}(\mathbf{1})^{2+}$] と等量になるように行った。これらの蛍光スペクトル測定結果を図1に示す。

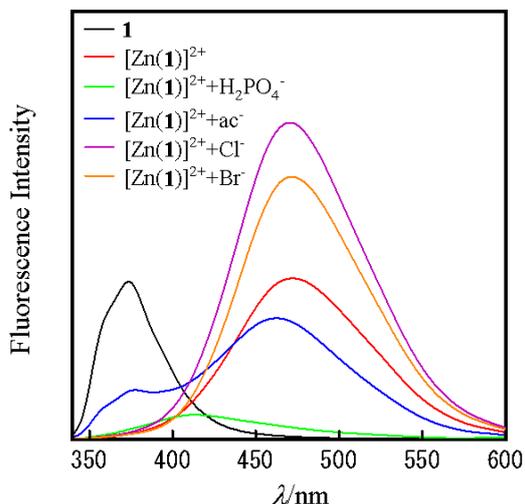


図1 亜鉛(II)イオンと各種アニオン共存下における**1**の蛍光スペクトル

非配位性アニオンの共存下では [$\text{Zn}(\mathbf{1})^{2+}$] のみと同様なスペクトルであったが、臭化物イオン、塩化物イオンの共存下では蛍光強度が増加した。しかし、酢酸イオンやリン酸二水素イオンでは蛍光強度が顕著に減少し、特にリ

ン酸二水素イオンについては、極大蛍光波長は **1** のみのときと [$\text{Zn}(\mathbf{1})^{2+}$] のときの間となる410 nm にシフトした。

以上のことから、 [$\text{Zn}(\mathbf{1})^{2+}$] は共存するアニオンと相互作用するが、配位性のアニオンの場合において発光挙動が変化する場合があります、特にリン酸二水素イオンにおいては発光強度が減少するものの、大きく蛍光特性が変化することが分かった。

(2)アミノフェノール誘導体 **2** に関する研究成果

①**2** と金属イオンとの相互作用について

2 のメタノール溶液に等量の各種金属イオンの酢酸塩を添加したところ、銅(II)イオンを含む溶液において吸収スペクトルに顕著な変化が見られ、450 nm 付近に新たな吸収が現れた。しかし、銅(II)イオン以外の酢酸塩ではスペクトル変化は確認されなかった。また蛍光スペクトルについては、**2** のみの溶液 (励起波長 $\lambda_{ex} = 300$ nm, 発光極大波長 $\lambda_{max} = 445$ nm) に比べて酢酸銅(II)を添加した溶液では添加量の増加に伴って蛍光強度が大きく減少したが、他の金属イオンでは顕著な変化はみられなかった (図2)。

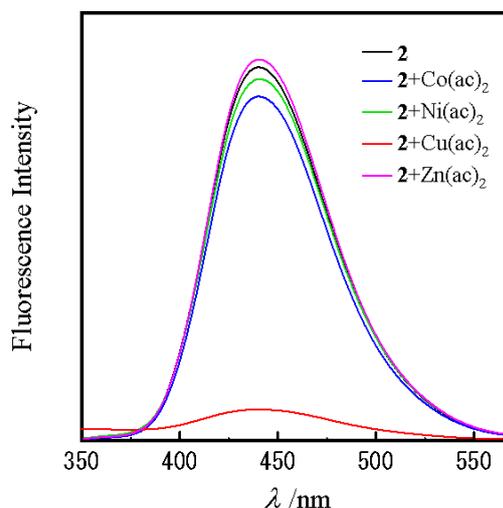


図2 各種金属の酢酸塩共存下における**2**の蛍光スペクトル

これらの結果から、**2** と超分子錯体を形成させるための金属イオンとして銅(II)イオンを選定した。なお、連続変化法より銅(II)イオンと **2** は 1 : 2 の組成比で錯形成していることが分かった。

②各種アニオン共存下での銅(II)錯体 [$\text{Cu}(\mathbf{2})$] の蛍光スペクトル変化

2 の溶液に酢酸銅(II)以外の銅(II)塩を添加したところ、アニオンによる発光強度の違いが確認され、酢酸イオンの場合に最も発光強

度が減少した。そこで、**2** に酢酸銅(II)を添加して発光強度を減少させた溶液に各種テトラブチルアンモニウム塩をさらに等量添加すると、リン酸二水素イオン共存下のように吸収スペクトル並びに蛍光スペクトルが**2** のみの場合とほぼ同じになった(図3)。この結果から、リン酸二水素イオン共存下では、銅(II)錯体から化学量論的に銅(II)イオンが解離すると考えられる。

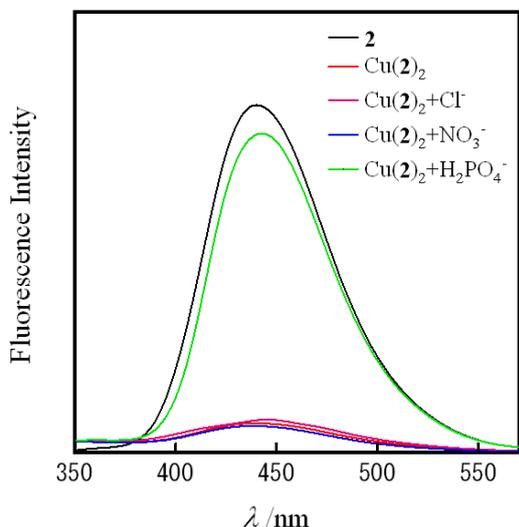


図3 酢酸銅(II)と各種アニオン共存下における**2**の蛍光スペクトル

そこで、**2** (1 μM) と酢酸銅(II) (0.5 μM) を含む溶液に濃度の異なるリン酸二水素イオンを添加したところ、10~150 nM の範囲でリン酸二水素イオン濃度と極大発光強度に比例関係が見られた(図4)。なお、この検量線の方程式は $y = 0.0360x + 82.8$ (相関係数 $r = 0.992$) であった。

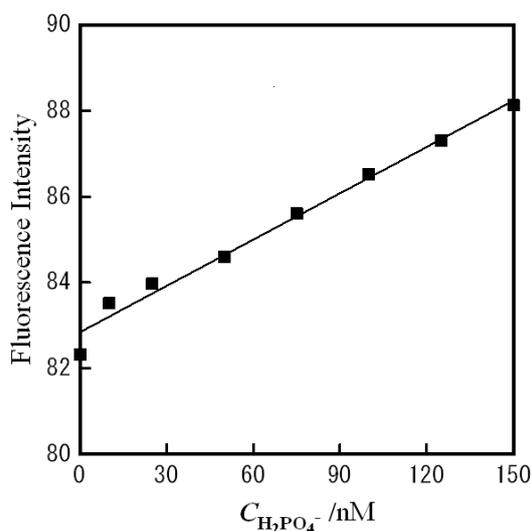


図4 H_2PO_4^- の濃度と発光強度

以上より、**2** は金属イオンのうち銅(II)イオ

ンのみと強く相互作用し、共存するアニオンの影響も受け、光物性が変化することが明らかになった。さらに、**2** の蛍光特性を利用してリン酸二水素イオンの微量定量が可能であることが明らかになった。

(1)と(2)の結果より、カルバゾール発色団をアーキテクチャーとするリン酸イオン定量法の開発に関する一定の成果が得られた。

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 6 件)

- ① Aqua[2,2',4,4'-tetrafluoro-6,6'-(piperazine-1,4-diyl)dimethylene)diphenolato]copper(II). K. Kubono, Y. Tsuno, K. Tani and K. Yokoi. *Acta Crystallographica*, **E66**, m1397-m1398, (2010). 査読有り.
- ② 溶存態リン化学種のスペシエーションのための光分解前処理法と光分解反応機構, 西崇司, 平康 剛大, 久保埜 公二, 横井 邦彦, 分析化学, **59**, 659-664, (2010). 査読有り.
- ③ Bis[μ-4,4',6,6'-tetrachloro-2,2'-(piperazine-1,4-diyl)dimethylene)diphenolato]dicopper(II). K. Kubono, C. Noshita, K. Tani and K. Yokoi. *Acta Crystallographica*, **E65**, m1685-m1686, (2009). 査読有り.
- ④ Synthesis and Photophysical Properties of Tris-bridged [3.3.n](3,6,9)Carbazolophanes. K. Tani, N. Sakumoto, K. Kubono, K. Hori, Y. Tohda, H. Benten, H. Ohkita, S. Ito and M. Yamamoto. *Chemistry Letters*, **38**, 140-141, (2009). 査読有り.
- ⑤ A monoclinic polymorph of 4,4'-dichloro-2,2'-(piperazine-1,4-diyl)dimethylene)diphenol. K. Kubono, Y. Tsuno, K. Tani and K. Yokoi. *Acta Crystallographica*, **E64**, o2446, (2008). 査読有り.
- ⑥ 4,4'-Dichloro-2,2'-(piperazine-1,4-diyl)dimethylene)diphenol. K. Kubono, Y. Tsuno, K. Tani and K. Yokoi. *Acta Crystallographica*, **E64**, o2309, (2008). 査読有り.

[学会発表] (計 10 件)

- ① 楠本 直, 久保埜 公二, 谷 敬太, 横井 邦彦, カルバゾロファン型蛍光イオンセンサーの開発とアニオン効果, 日本化学会第91春季年会, 2011年3月28日, 神奈川大学.
- ② 楠本 直, 久保埜 公二, 谷 敬太, 中川 小百合, 横井 邦彦, アザクラウン型カルバゾールを配位子とする金属錯体の生成と分光学的性質, 第60回錯体化学討論会, 2010年9月27日, 大阪国際交流センター.

- ③久保埜 公二, 楠本 直, 谷 敬太, 中川 小百合, 横井 邦彦, アザクラウン型カルバゾロファン型金属センサーの開発とアニオン効果, 日本分析化学会第 59 年会, 2010 年 9 月 17 日, 東北大学.
- ④楠本 直, 久保埜 公二, 谷 敬太, 横井 邦彦, カルバゾールを発色団とする金属イオンセンサーの蛍光挙動, 日本分析化学会第 59 年会, 2010 年 9 月 15 日, 東北大学.
- ⑤久保埜 公二, 袴 理沙, 谷 敬太, 横井 邦彦, カルバゾールを有するアニオンレセプターの設計と発光挙動, 第 71 回分析化学討論会, 2010 年 5 月 16 日, 島根大学.
- ⑥楠本 直, 久保埜 公二, 谷 敬太, 横井 邦彦, カルバゾールを発色団とする金属イオンセンサーの蛍光特性, 日本化学会第 90 春季年会, 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学.
- ⑦袴 理沙, 久保埜 公二, 谷 敬太, 横井 邦彦, ウレア基を有する蛍光性アニオンレセプターの設計と発光挙動, 日本化学会第 90 春季年会, 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学.
- ⑧久保埜 公二, 上野 貴之, 大嶋 俊一, 谷口 智弘, 横井 邦彦, 超分子相互作用を利用した多核錯体の生成とイオン認識, 日本分析化学会第 58 年会, 2009 年 9 月 25 日, 北海道大学.
- ⑨久保埜 公二, 谷 敬太, 中川 小百合, 嶽 佑輔, 横井 邦彦, カルバゾールを発色団とするアザクラウン型金属イオンセンサーの蛍光特性, 第 70 回分析化学討論会, 2009 年 5 月 17 日, 和歌山大学.
- ⑩久保埜 公二, 谷 敬太, 中川 小百合, 嶽 佑輔, 横井 邦彦, カルバゾールを発色団とするアザクラウン型蛍光センサーの開発, 日本分析化学会第 57 年会, 2008 年 9 月 10 日, 福岡大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保埜 公二 (KUBONO KOJI)
大阪教育大学・教育学部・准教授
研究者番号：00269531

(2) 研究分担者

横井 邦彦 (YOKOI KUNIHICO)
大阪教育大学・教育学部・教授
研究者番号：30144554

谷 敬太 (TANI KEITA)
大阪教育大学・教育学部・教授
研究者番号：60207165