

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：14403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05565

研究課題名(和文) イオン対金属錯体を蛍光プローブとする超分子型アニオン定量法の構築

研究課題名(英文) Development of Anion Determination System Utilizing Supramolecular Fluorescent Probe Based on Ion-pair Metal Complex

研究代表者

久保 公二 (Kubono, Koji)

大阪教育大学・教育学部・教授

研究者番号：00269531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アニオンを高選択的に捕捉し、水溶液中で強い蛍光を示すカチオン性金属錯体の創製と、この錯体のイオン対結晶を蛍光プローブとする超分子型アニオン定量法の構築を試みた。キノリノール系配位子と硝酸インジウム(III)との間で得られた水溶性二量体型二核錯体のイオン対結晶を水系溶媒に溶解し、これに各種アニオンを添加したところ、ニリン酸イオンに対して選択的に蛍光強度が減少した。このプローブ錯体溶液についてニリン酸イオンを滴定したところ、pH5.5の水溶液では0～7.5 μMの範囲で蛍光強度との間に良好な直線関係が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水溶液中におけるニリン酸イオンの高感度定量を構築することができ、蛍光アニオンプローブの水溶性を高めるための手法として、プローブをイオン対錯体結晶として用いることの有用性を示すことができた。さらに、スペクトル測定とX線構造解析を組み合わせることで、プローブ錯体の溶液内での挙動に関する考察が可能となることを示した。これらの成果は、今後の分析化学の発展に繋がるものと考えられる。また、本研究で構築した水溶液中のニリン酸イオンの定量法によって水圏環境の一部を把握することや、生体内におけるターゲットイオンの分析が可能となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cationic metal complex capturing anions with high selectivity and exhibiting strong fluorescence in aqueous solution has been developed, and constructed a supramolecular anion determination method using its ion-pair complex solution as a fluorescent probe one. In the addition of diphosphate ion to the aqueous solution of anion probe, which is the ion-pair complex between indium(III) nitrate and quinolinol derivative, fluorescence spectra selectively displayed remarkable decrease of emission intensity. The calibration curve indicated a good linear relationship between the fluorescence intensity and the concentration of diphosphate ion (0-7500 nM).

研究分野：分析化学

キーワード：蛍光プローブ アニオン定量 環境分析 金属錯体 超分子相互作用

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る。しかし、20 世紀末に、リン酸イオンが制限因子となっている水域で見積もられた溶存態リン酸イオン濃度は、 1×10^{-10} M ($M = \text{mol dm}^{-3}$) を下回るという報告がなされた。リン酸は水圏環境を把握する上で最も重要な化学種であり、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などを鑑みると、指摘されているレベルまでの低濃度のリン酸イオン量を正確に測定する必要がある。さらに、その他のアニオンについても、微量でも生体に影響を及ぼす場合があることから、それぞれ高感度検出法の開発が期待されている。

アニオン分析法の一つにプローブを用いた蛍光分析法があり、近年は金属錯体型のアニオンプローブが注目されている。ここで水溶液中では、アニオンは水和により水と強く相互作用しており、有機溶媒中で特定アニオンと強く相互作用するプローブを用いた場合でも、ターゲットを捕捉することは容易ではない。また、プローブ錯体側も金属イオンに水が配位するため、配位性アニオンでさえもその捕捉が水に妨害される。よって、水溶液中におけるリン酸イオンの微量定量には、リン酸イオンと強く結合する蛍光プローブ錯体が不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、リン酸イオンなどのアニオンを高選択的に捕捉し、水溶液中で強い蛍光を示すカチオン性金属錯体の創製と、この錯体をイオン対結晶として単離し、これを蛍光プローブとする超分子型アニオン定量法の構築を目的とする。本研究における主なターゲットはリン酸イオンであるが、環境水中のリン分析においてリン酸イオンとの間の分別定量が必要であり、DNA 複製などの生体内反応において重要な役割を担う二リン酸イオンや、乳幼児の発達障害を引き起こすことが指摘されている非配位性の過塩素酸イオンにも焦点を当て、それぞれに適した超分子相互作用に基づく微量定量法へと導く。

3. 研究の方法

イオン対金属錯体型アニオン蛍光プローブにおける蛍光部位としてキノリノール、サリチルヒドラゾン、クマリン、カルバゾールなどを選定し、これらの化合物に配位部位の導入を行った。得られた蛍光性試薬を配位子とする亜鉛(II)、インジウム(III)のイオン対金属錯体の結晶を単離し、得られた錯体結晶について、溶液の吸収スペクトル並びに蛍光スペクトル測定、単結晶 X 線構造解析などを行い、錯体の安定性や分子構造の面からもアニオンプローブの評価を行うとともに、ターゲットアニオンに対する微量定量法の構築を行った。

4. 研究成果

(1) 蛍光性配位子の合成および蛍光プローブ錯体の結晶化と生成確認

キノリノール系、クマリン系についてはそれぞれジピコリルアミンを導入した化合物を、サリチルヒドラゾン系についてはピペラジンを導入した化合物を合成し、NMR、質量分析法、元素分析、単結晶 X 線構造解析により同定した。得られた化合物を配位子とし、それぞれ亜鉛(II)塩、インジウム(III)塩とのイオン対金属錯体の合成と結晶化を試みた。結晶が得られた錯体については、X 線構造解析を行うとともに、これらの結晶を水系溶媒に溶解し、それぞれ溶液の吸収スペクトル並びに蛍光スペクトル測定を行い、錯体の生成確認を行った。キノリノール系配位子 HL^1 と HL^2 については、硝酸インジウム(III)との間でイオン対錯体結晶が得られた。X 線構造解析の結果、これらは共にキノリラト酸素が架橋配位した二量体二核構造のカチオン性錯体であり、インジウム(III)イオンはそれぞれ配位子と硝酸イオンが配位した七配位構造であった。結晶中に対アニオンとして硝酸イオンと水和水を含んでいる。それぞれのイオン対錯体の分子構造を図 1 と図 2 に示す。また、 HL^1 については硝酸亜鉛(II)とのイオン対金属錯体の結晶も得られた。X 線構造解析の結果、こちらもキノリラト酸素が架橋配位した二量体二核構造のカチオン性錯体であり、亜鉛(II)イオンはそれぞれ L^1 のみが 2 分子配位した六配位構造で、結晶中に対アニオンとして硝酸イオンと水和水を含ん

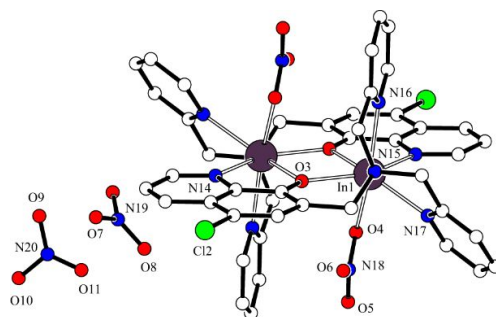


図 1 . $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ の分子構造

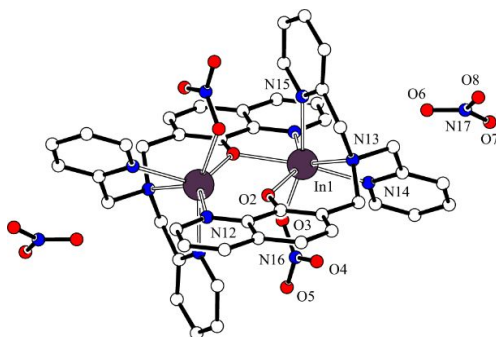


図 2 . $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ の分子構造

でいる。このイオン対錯体の分子構造を図3に示す。溶液のスペクトルからもこれらの錯体の生成が確認された。この他に、 HL^1 と亜鉛(II)のハロゲン化物塩との間で単核錯体 $\text{ZnBr}_2(\text{HL}^1)$ などが得られたが、これらは水溶性であるがイオン対錯体ではなく、電気的中性なキレート錯体であった。さらにクマリン系配位子については硝酸亜鉛(II)、塩化インジウム(III)と、サリチルヒドラゾン系配位子では塩化亜鉛(II)との単核錯体結晶が得られたが、いずれもイオン対錯体ではなく、電気的中性な錯体であった。なお、カルバゾール系については、ジピコリルアミンの導入を試みたが目的化合物の合成には至らず、三級アミンにより2つのカルバゾールを架橋した化合物の合成には成功したが、亜鉛(II)塩やインジウム(III)塩との錯体は得られなかった。また、キノリノールを2つ連結させた化合物も合成したが、その亜鉛(II)錯体やインジウム(III)錯体の結晶は得られなかった。

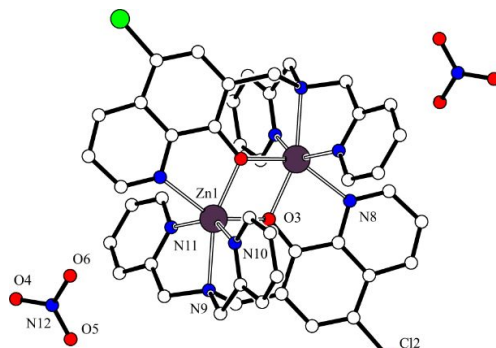


図3 . $[\text{Zn}_2(\text{L}^1)_2](\text{NO}_3)_2$ の分子構造

(2) 蛍光プローブ錯体におけるアニオンとの超分子錯体の生成とアニオン選択性

得られた硝酸インジウム(III)とのイオン対錯体を蛍光プローブとして用い、これらの錯体の水/メタノール溶液 (50/50, v/v, pH5.5 MES) 並びに水溶液 (pH5.5 MES) に各種アニオンをそれぞれ等量添加し、吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルを測定することでアニオン応答と超分子錯体の生成確認を行った。

$[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 、並びに $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液に二リン酸イオン (PPi) を添加したところ、共に蛍光スペクトルでの顕著な蛍光強度の減少が確認された。しかし、リン酸水素イオンや過塩素酸イオンなど他のアニオンを添加しても、蛍光強度の減少は僅かしかなかった。ここで、 $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ については、PPi 添加後の吸収スペクトルが HL^1 のそれに近づく方向にシフトすることから、この変化はインジウム(III)イオンの解離によるものと考えられ、超分子錯体は生成されていないといえる。一方、 $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ については、PPi 添加後の吸収スペクトルが HL^2 のそれには近づかないことから、PPi が錯体に配位結合し、より蛍光強度の低い超分子錯体が生成したと考えられる。なお、PPi の添加によって蛍光強度が減少したことから、このPPi の付加プロトンが L^2 の酸素原子と水素結合しているものと推測できる。 $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液におけるアニオン添加の吸収スペクトルと蛍光スペクトルを図4に示す。

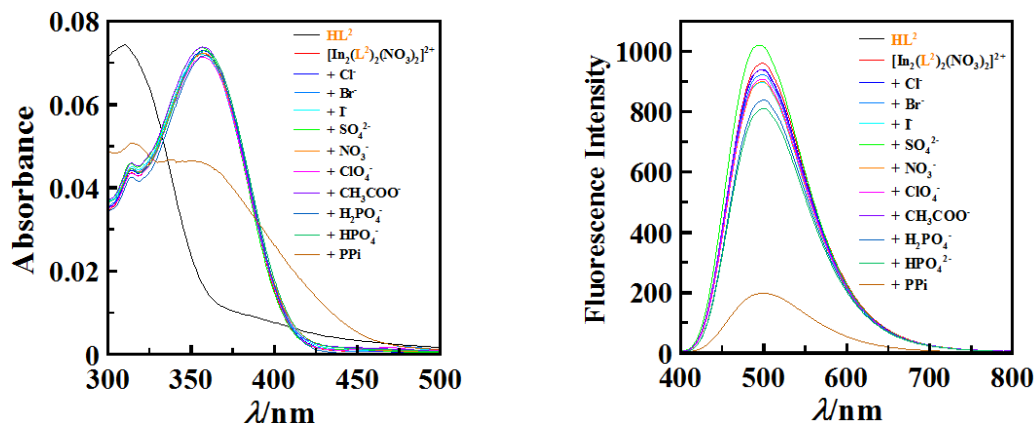


図4 . $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液のアニオン添加の吸収スペクトルと蛍光スペクトル

$[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 、並びに $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水溶液 (pH5.5 MES) では、水/メタノール溶液と同様にPPi の添加によって蛍光スペクトルにおける蛍光強度の減少がみられた。これら2つのプローブ錯体の水溶液における各種アニオン添加後の蛍光強度を図5に示す。これより $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の方が $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ よりも水溶液中でのPPi の選択性が高いことが分かる。

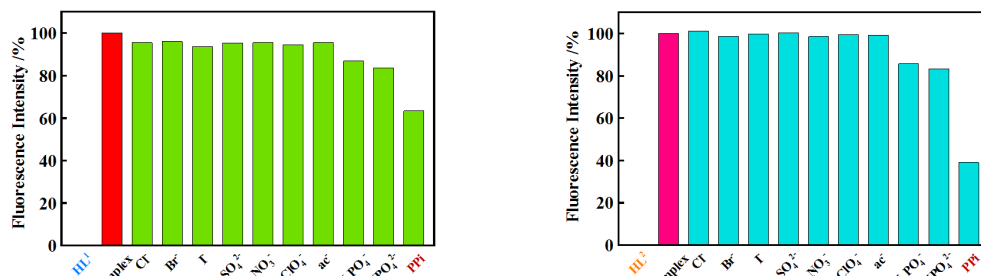


図5 . 各種アニオン添加後の蛍光強度(左: $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 水溶液, 右: $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 水溶液)

ここで、PPi 添加による $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 水溶液の吸収スペクトルは、配位子溶液のスペクトルに近づく方向へのシフトは見られず、 $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液とよく似た変化を示した。また、 $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水溶液でも PPi 添加後の吸収スペクトルは配位子溶液のそれとは異なり、水/メタノール溶液と同様の変化を示した。よって、これら 2 つの錯体は水溶液中で PPi が共存する場合、インジウム(III)イオンの解離は起こらず、PPi がさらに配位した蛍光強度の低い超分子錯体が生成すると結論づけることができる。

(3) ニリン酸イオン微量定量法の構築

濃度を $15 \mu\text{M}$ に調製した $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ と $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液 (50/50, v/v, pH5.5 MES) にそれぞれ PPi 滴定を行ったところ、PPi 濃度の増加に伴い蛍光強度は減少し、 $0 \sim 9 \mu\text{M}$ の範囲で濃度と蛍光強度との間に良好な直線関係が得られた。一方、水溶液 (pH5.5 MES) でも同様に PPi 滴定を行ったところ、蛍光強度の減少率は水/メタノール溶液には及ばないものの、共に PPi 濃度の増加に伴い蛍光強度の減少が確認された。この条件での検量線の直線応答範囲は $0 \sim 7.5 \mu\text{M}$ であった。これらの PPi 滴定における検量線を図 6 に示す。より感度の高いプローブ錯体は水/メタノール溶液、水溶液共に $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ であり、それぞれ検量線の方程式は $y = -85.5x + 1150$ (相関係数: 1.00), $y = -46.2x + 627$ (相関係数: 0.999) が得られた。ここで、水/メタノール溶液の場合、測定試料に含有する PPi の濃度は同体積のメタノールを添加するため元の二分の一となることから、感度に関しても最適条件は $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 水溶液となる。

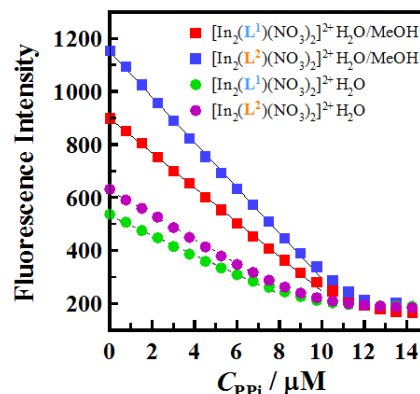


図 6 . PPi 滴定の検量線

(4) 蛍光プローブ錯体のアニオン検出機構

$[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 並びに $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ の水/メタノール溶液、および水溶液中における PPi 検出機構についての考察を行うために、それぞれの蛍光スペクトルデータを用いて縦軸に蛍光強度比を、横軸に PPi 濃度を取りプロット (Stern-Volmer plot) を行った。その結果、いずれも直線関係は得られなかった。ここで、 HL^1 と亜鉛(II)との単核錯体 $\text{ZnBr}_2(\text{HL}^1)$ は、水溶液中でプロミドが解離し $[\text{Zn}(\text{L}^1)]^+$ として溶存していることが示唆されており、この水溶液中での PPi の添加による Stern-Volmer plot は良好な直線が得られている。このプロット結果は、PPi は消光剤として働いており、且つ $[\text{Zn}(\text{L}^1)]^+ : \text{PPi} = 1 : 1$ となる超分子錯体を形成していること示している。これに加えて、硝酸亜鉛(II)とのイオン対錯体 $[\text{Zn}_2(\text{L}^1)_2](\text{NO}_3)_2$ の水溶液では、 $[\text{Zn}(\text{L}^1)]^+$ の水溶液と非常に近いスペクトルを示し、さらには Stern-Volmer plot においても良好な直線が得られた。各種錯体の水溶液中での PPi 添加における Stern-Volmer plot を図 7 に示す。これらの結果から、 $[\text{Zn}_2(\text{L}^1)_2](\text{NO}_3)_2$ は水溶液中では二核錯体のほとんどが解離して単核錯体として溶存していることが推測できる。一方、 $[\text{Zn}_2(\text{L}^1)_2](\text{NO}_3)_2$ の水/メタノール溶液での蛍光スペクトルの蛍光強度は、 $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ や $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ のそれらよりも低いが、単核錯体である $[\text{Zn}(\text{L}^1)]^+$ よりは強度が高く Stern-Volmer plot も曲線となることから、溶液内の挙動は $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ と $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ に非常に似ている。よって、 $[\text{Zn}_2(\text{L}^1)_2](\text{NO}_3)_2$ は水/メタノール溶液では、結晶中での構造と同様の分子骨格が硬く強い蛍光を示す二量体二核構造として溶存していると考えられる。したがって、水/メタノール溶液、並びに水溶液中でも蛍光強度が高い $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ 並びに $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ は、二量体二核構造として溶存していることが結論づけられる。

以上の結果から、 $[\text{In}_2(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ と $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ は水溶液中でも二量体二核構造を維持し、PPi が共存するとそれぞれの二核錯体が PPi を取り込んで超分子錯体を形成することで消光すると考えられる。さらに、 $[\text{In}_2(\text{L}^2)_2(\text{NO}_3)_2]^{2+}$ はプローブ錯体として蛍光強度が高く、水溶液中の PPi に対して高感度定量が可能であると結論づけることができる。

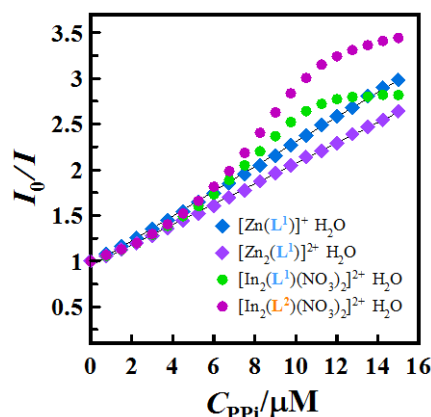


図 7 . Stern-Volmer plot

本研究で開発した方法により水溶液中におけるニリン酸イオンの高感度定量が可能であり、これによって水圏環境の一部を把握することや、生体内でのターゲットの分析に繋がることが期待される。さらに、プローブ錯体を結晶化し、単結晶 X 線構造解析を行うことは、プローブ錯体の組成決定のみならず、ターゲットアニオンの検出機構の考察にも役立つことが証明された。X 線構造解析のみから溶液内の錯体構造を予測するのは困難であり、そのため吸収スペクトル法や蛍光スペクトル法などの分光学的手法との併用が不可欠であるが、このような試みは今後の分析化学や溶液化学の発展に貢献できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kubono Koji, Tani Keita, Kashiwagi Yukiyasu, Tani Fumito, Matsumoto Taisuke	4. 巻 78
2. 論文標題 Synthesis and crystal structure of <i>anti</i> -10-butyl-10,11,22,23-tetrahydro-9 <i>H</i> ,21 <i>H</i> -5,8:15,12-bis(metheno)[1,5,11]triazacyclohexadecino[1,16- <i>a</i>]:5,6- <i>a</i>]diindole	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section E Crystallographic Communications	6. 最初と最後の頁 477 ~ 480
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S2056989022003383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kubono Koji, Kashiwagi Yukiyasu, Tani Keita, Yokoi Kunihiro	4. 巻 78
2. 論文標題 Crystal structure of (7- ³ [[bis(pyridin-2-ylmethyl)amino- <i>N</i>], <i>N</i>]methyl}-5-chloroquinolin-8-ol)dibromidozinc(II)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section E Crystallographic Communications	6. 最初と最後の頁 326 ~ 329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S2056989022001530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kashiwagi Yukiyasu, Kubono Koji, Tamai Toshiyuki	4. 巻 76
2. 論文標題 Crystal structure of 7,7 -[(pyridin-2-yl)methylene]bis(5-chloroquinolin-8-ol)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section E Crystallographic Communications	6. 最初と最後の頁 1271 ~ 1274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S2056989020009317	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久保 公二, 田中 奏多, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 イオン対型亜鉛(II)二核錯体型蛍光プローブにおけるアニオン応答
3. 学会等名 日本化学会第103春季年会 (2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柏木 行康, 久保埜 公二
2. 発表標題 蛍光性超分子アニオンプローブを志向したキノリノール系配位子の合成と結晶構造
3. 学会等名 日本結晶学会年会 (2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保埜 公二, 田中 奏多, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 亜鉛(II)二核錯体型蛍光プローブにおけるアニオン応答
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 奏多, 久保埜 公二, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 インジウム(III)二核錯体型蛍光プローブにおけるアニオン応答
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 (2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保埜 公二, 杉山 拓弥, 田中 奏多, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 イオン対錯体型蛍光アニオンプローブの結晶化と高感度化
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保 公二, 安部 太陽, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 サリチルヒドラゾン系蛍光アニオンプローブの結晶化による精製と高感度化
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保 公二, 岸上 剛, 杉山 拓弥, 柏木 行康, 谷 敬太, 横井 邦彦
2. 発表標題 イオン対型インジウム(III)錯体におけるアニオンセンシング
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会 (2021)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	横井 邦彦 (Yokoi Kunihiko) (30144554)	大阪教育大学・教育学部・名誉教授 (14403)	
研究 分担者	谷 敬太 (Tani Keita) (60207165)	大阪教育大学・教育学部・教授 (14403)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	柏木 行康 (Kashiwagi Yukiyasu)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------