

## バーミキュライトの Cs<sup>+</sup>収着における pH の影響

薬品分析化学研究室 総合薬学コース 田宮 将光

### 【目的】

バーミキュライトの陽イオン交換能を利用した水溶液中の Cs<sup>+</sup>除去を想定し、異なる pH に調整した水溶液を用いてのバーミキュライトの Cs<sup>+</sup>収着における pH の影響を調査する。

### 【方法】

バーミキュライトは二種類の粒子径(53  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ )を用いた。5 mM CsOH(pH:5.7), 5 mM CsCl(pH:11.4)を調製した。前述の CsOH と CsCl の比が 1:100 の混合溶液(pH:8.0)を調製した。それぞれ 20 mL をバーミキュライト 0.2 g と 48 時間プラスチック容器の中で反応させた。反応後、溶液中に残存する Cs<sup>+</sup>濃度を原子吸光光度計で測定し、収着率・収着量を算出した。

### 【結果・考察】

粒子径 53  $\mu\text{m}$  のバーミキュライトでは pH の増加に伴って収着量の上昇が見られた(図 1)が、粒子径 300  $\mu\text{m}$  のバーミキュライトでは同様の相関性を確認することが出来なかった(図 2)。

粒子径 53  $\mu\text{m}$  では pH 上昇に伴い Cs<sup>+</sup>収着率は上昇し、粒子径 300  $\mu\text{m}$  の Cs<sup>+</sup>収着率は酸性～中性領域で上昇、中性～塩基性領域で減少となった。このような挙動を示した理由としては Cs<sup>+</sup>収着に対する H<sup>+</sup>の競合、OH<sup>-</sup>による層間の Mg<sup>2+</sup>の脱着促進などが考えられるが、中性～塩基性領域では二つの粒子径で異なる挙動を示した。粒子径が大きいバーミキュライトにおける収着率はばらつきが大きく、また、反応液の濃度が大きいものを用いた実験においてもばらつきが大きい傾向にあった。そのため、試行回数や pH 条件を増加させることによってより正確な収着等温線が得られると考えられる。

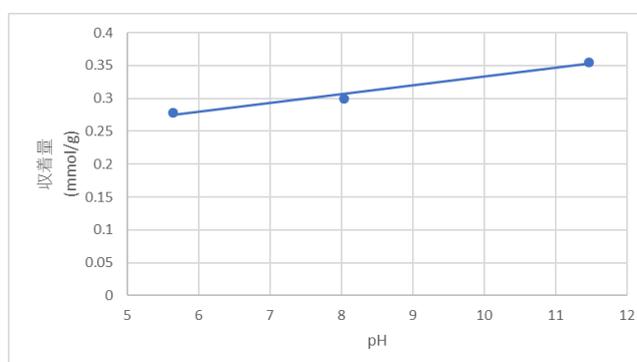


図 1 粒子径 53  $\mu\text{m}$  バーミキュライト  
1 g あたりの収着量

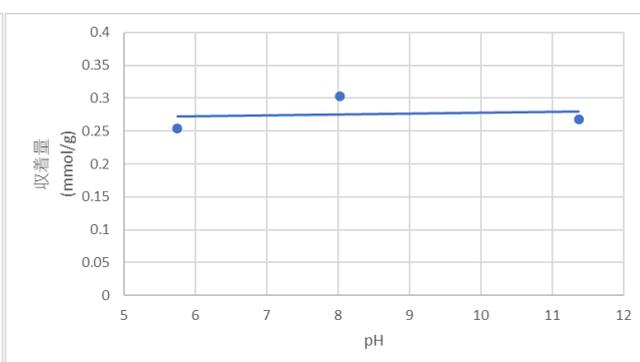


図 2 粒子径 300  $\mu\text{m}$  バーミキュライト  
1 g あたりの収着量

## バーミキュライトによる Cs<sup>+</sup>収着に対する陰イオンの影響について

薬品分析化学研究室 総合薬学コース 富田有哉

【目的】 バーミキュライトの Cs<sup>+</sup>収着に対する陰イオンの影響について検討した。

- ・バーミキュライト収着能に CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>が与える影響について
- ・バーミキュライト収着能に NO<sub>3</sub><sup>-</sup>が与える影響について
- ・バーミキュライト収着能に SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が与える影響について

【方法】 南アフリカ産のバーミキュライト、粒子径 53 μm、300 μm を使用して Cs<sup>+</sup>収着実験を行った。反応液は塩化セシウム水溶液、炭酸セシウム水溶液、硝酸セシウム水溶液、硫酸セシウム水溶液を用い、反応時間を 24 時間、48 時間、72 時間とした。反応後、液相の Cs<sup>+</sup>濃度を原子吸光光度計にて測定した。

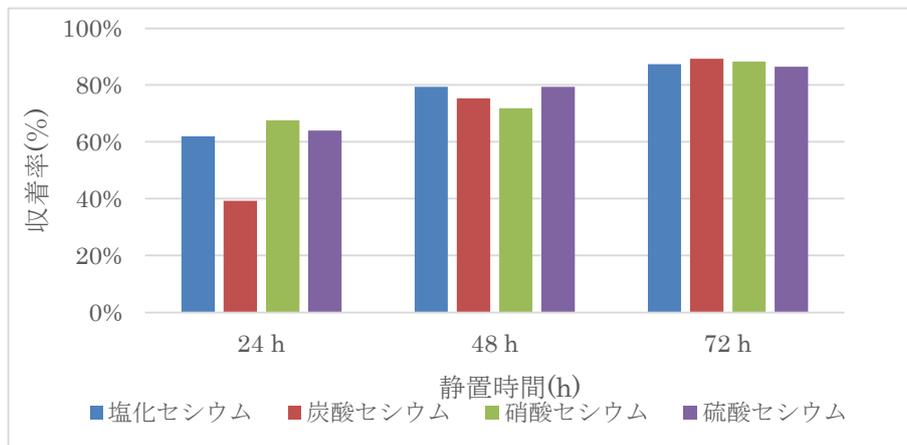


図 1 各陰イオン下での Cs<sup>+</sup>収着率の比較(粒子径 300 μm)

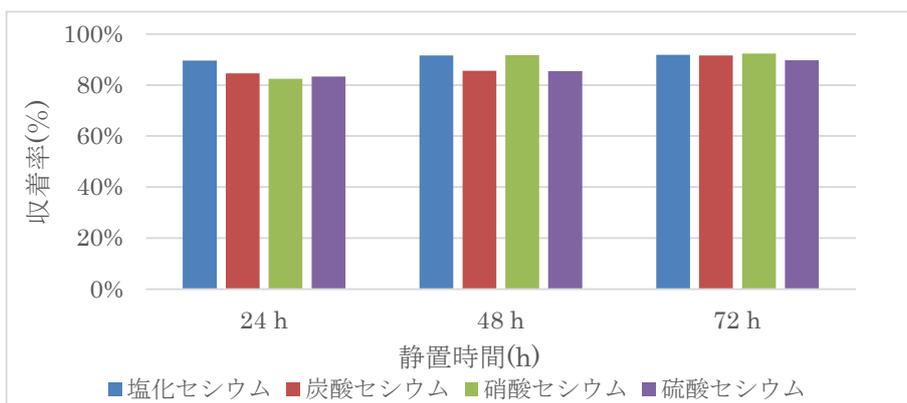


図 2 各陰イオン下での Cs<sup>+</sup>収着率の比較(粒子径 53 μm)

【結果・考察】 図 1、図 2 より実験した炭酸セシウム水溶液と硝酸セシウム水溶液は収着率に変化を与えた。しかし Cs<sup>+</sup>収着において単独の陰イオンでは陽イオンの共存やバーミキュライトの粒子径と比較すると大きな影響を与えないということがわかった。

【目的】我々はプッシュプル型蛍光物質である **TFMAQ** を基本骨格とした誘導体について、様々な外部刺激応答性に関する研究を行ってきた。<sup>[1]</sup> 最近光刺激によってヘテロ元素を含む多環芳香族の一種であるジピリドカルバゾール体の生成を報告しており、<sup>[2]</sup> 今回ピリダジン環を含むアザヘリセン誘導体である **PDH** の合成反応と構造解析を目的とし研究を行った。

【方法】**Di-TFMAQ-Br<sub>2</sub>** を基質とし、アセトン中ハロゲン化剤と塩基の存在によって、アザヘリセン誘導体 **PDH** が定量的に得られた (図 1)。この反応と生成物の報告例はないため、塩基の種類を中心とした反応条件検討を行った。また基質依存性について、電子求引性基を有する **TFMAQ-NO<sub>2</sub>** と **TFMAQ-F** についても同様に反応を行い生成物解析を行った。また、得られた **PDH** の光反応についても検討を行った。

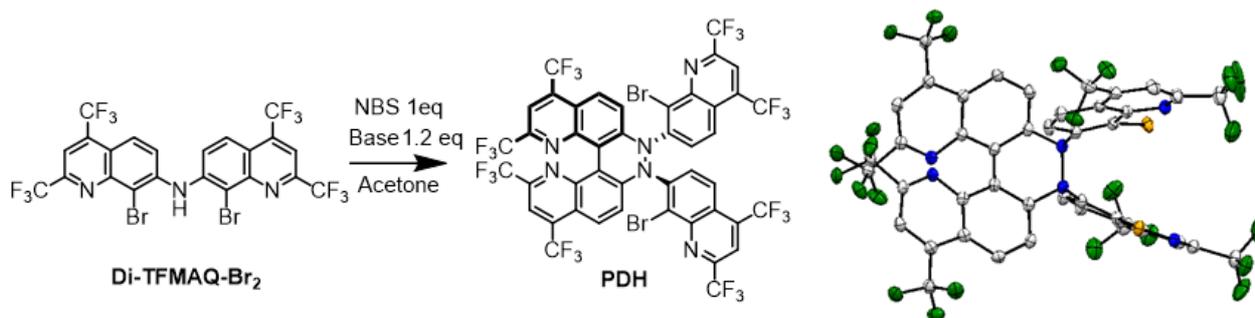


図 1. **PDH** の合成スキームと X 線解析で得られた ORTEP 図

【結果・考察】**PDH** 合成に関して、ハロゲン化剤は *N*-Bromosuccinimide (1 eq)、塩基は  $\text{CsCO}_3$  (1.2 eq) が最適であることが分かった。また、**TFMAQ-NO<sub>2</sub>**、**TFMAQ-F** を出発物質とした場合でもピリダジン環を含むアザヘリセン誘導体が定量的に得られ (図 2)、X 線解析で分子構造を明らかとした。**PDH** を溶液中で光照射することで光反応生成物が得られ、*n*-Hexane 中では構造未決定であるがラジカル体の生成が ESR から確認され、THF 中の生成物は X 線結晶構造解析から、ピリダジン環の窒素-窒素結合が開裂したスピロ骨格を有する環化生成物であることが明らかとなった。

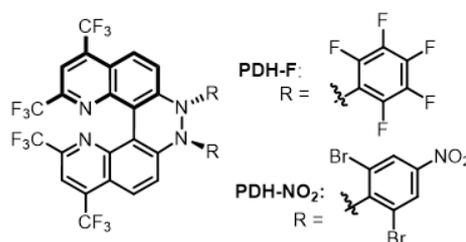
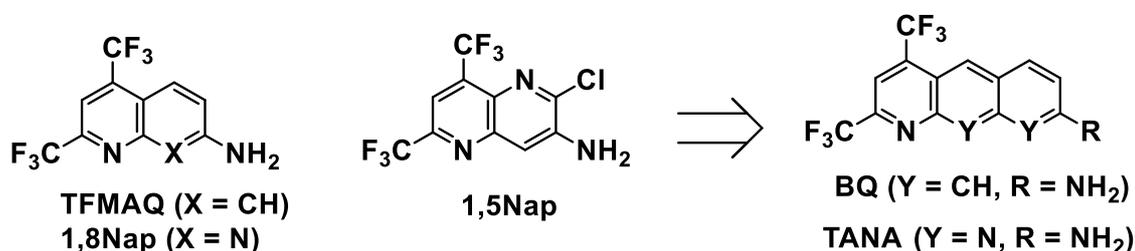


図 2. 電子求引性基を有する **PDH-NO<sub>2</sub>** と **PDH-F** の構造

[1] Y. Abe, S. Karasawa, N. Koga, *Chem Eur J.* **2012**, *18*, 15038-15048.

[2] S. Karasawa, J. Todo, K. Usui, N. Koga, *et al. Chem Eur J.* **2016**, *22*, 7771-77781.

【目的】当研究室では、プッシュプル型蛍光物質の開発を行っている。キノリン環やナフチリジン環などの二環式発光体 (**TFMAQ**, **1,8Nap**, **1,5Nap** in **Scheme 1**) を使って、様々な外部刺激に応答した蛍光変化について報告している。<sup>[1]</sup> また最近 **TFMAQ** を増環させた三環性ベンゾキノリン誘導体(**BQ**)についても報告している(**Scheme 1**)。<sup>[2]</sup> 今回 **1,8Nap** 骨格を増環させた新規三環性 1,9,10-アンチリジン誘導体 **TANA** を設計した。この分子は $\pi$ 共役系拡張による蛍光の長波長シフトや窒素原子の導入による水溶化が可能で、生体イメージングプローブとしての適合性が期待された。また、**TANA** 骨格中の三つの窒素原子は水素結合アクセプターとしても機能するため、**TANA** は分子認識化合物としての展開も可能である。<sup>[3]</sup>



**Scheme 1.** 我々の開発したプッシュプル型蛍光物質の分子構造

【結果・考察】**TANA** は 2,6-ジアミノピリジンを出発物質として 6 段階で合成した。蛍光スペクトルでは、増環効果によって **1,8-Nap** よりも長波長に蛍光極大が観測され、また中程度の蛍光量子収率であることから ( $\phi^{\text{fl}} = 3\text{--}14\%$ )、生体イメージングには十分な蛍光強度であった。一方 **TANA** は水にも溶解したが (< 1 mM)、生体イメージング可能な濃度調整には不十分であったため、ヘキサエチレングリコール (HEG) を導入した **TANA-HEG** (R = -NHHEG) を合成した (> 1 mM)。生理食塩水中 (37 °C) では 100 nm 程度のナノ微粒子形成が確認され、EPR 効果<sup>[4]</sup>による *in vivo* 腫瘍蛍光イメージングが期待された。

担がんマウスに (大腸がん)、**TANA-HEG** 溶液 (1 mM, 200  $\mu\text{L}$ ) を尾静投与後、任意の時間毎にマウス個体を蛍光観察 (集積に時間必要な場合は数時間) し、その後開腹して臓器ごとの蛍光観察を行った。その結果、わずかではあるが腫瘍への集積が認められたが、再現性については現在検討中である。

[1] J. Hirota, K. Usui, Y. Fuchi, S. Karasawa *et al.* *Chem Eur J.* **2019**, *25*, 14943–14952.

[2] Y. Fuchi, T. Umeno, K. Usui, K. Ikeno, S. Karasawa *et al.* to be submitted.

[3] Y-F. Han, W-Q. Chen, H-B. Wang, X-Z. Song *et al.* *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 16980–16986.

[4] J. Fang, H. Nakamura, H. Maeda, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2011**, *63*, 136–151.

## 8-thio-cGMP を標的とした Turn-ON 型蛍光プローブに向けた基礎研究

薬品分析化学研究室 総合薬学コース 倉田 翔

【目的】これまで活性酸素種 (ROS) や活性窒素種 (RNOS) などの酸化ストレスは生体分子に酸化損傷を与える毒性物質として捉えられてきたが、近年ではシグナル伝達過程において役割を担っていることが示唆されている。8-nitro-cGMP は RNOS によって生成する酸化損傷核酸であり、多様な生理活性を示す。さらには反応性の高い活性硫黄種 (RSS) によって 8-thio-cGMP へ変換され、続く 8 位チオール酸化を経て cGMP を生成することも見出されて、新たな代謝経路としての可能性が示唆されたが、詳細は未解明のままである (図.1) <sup>(1)(2)</sup>。そこで本研究では 8-thio-cGMP を特異的に検出する、蛍光 Turn-ON 型低分子プローブを開発することを目的とした。

【方法】8-thio-cGMP を水素結合認識することが報告されている強発光性 1,3-ジアザフェノキサジン骨格に消光団である Nitrobenzenesulfonyl (Ns)基や phenylenediamine Ns 基を導入し Ns 体と phenylenediamine Ns 体を合成した。これらを 8-thio-cGMP の前駆体である 8-thioguanosine と混合し、蛍光強度変化を追跡した。

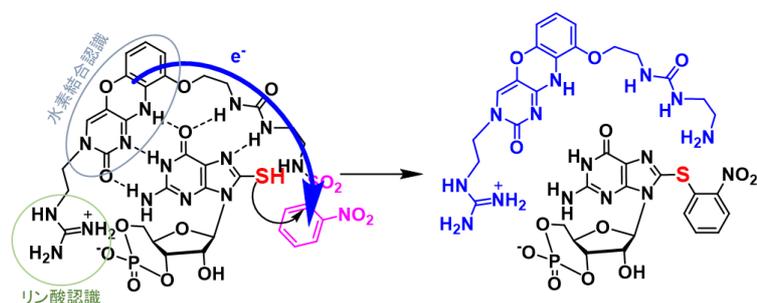


図 1. 本研究の分子設計

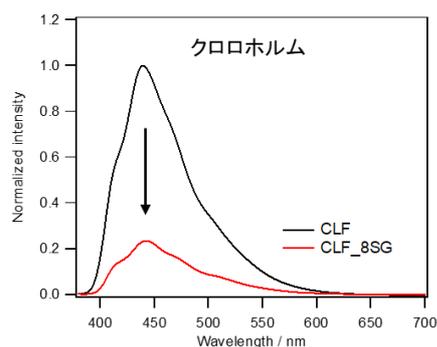


図 2. 分子認識による蛍光強度変化

【結果・考察】Ns 体及び phenylenediamine Ns 体は 8-thioguanosine と混合することで低極性溶媒中では蛍光強度の減少が観測された。これは合成したフェノキサジン誘導体と 8-thioguanosine が分子間相互作用し、発光団と消光団が近接したためと推測している。しかしながら、強塩基存在下での極性溶媒である DMF 中では、時間をかけながら蛍光強度の増大が確認された。DMF と強塩基で生じた物質が引き金となって蛍光増強が観測された可能性が示唆された。

(1) Y. Fuchi, T. Fukuda, S. Sasaki, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 7949-7955.

(2) Y. Fuchi, H. Obayashi, S. Sasaki, *Molecules*, **2015**, *20*, 1078-1087.

## アミノキノリン誘導体の発光特性と細胞イメージング

薬品分析化学研究室 総合薬学コース 佐久間雅臣

【目的】当研究室で開発されたアミノキノリン誘導体 TFMAQ に様々な置換基を導入し、新規誘導体を得るとともに、細胞内における集積を調査した。また、新たに得られた新規ピリドカルバゾール誘導体 PC-X の物性と細胞内における挙動を調査した。

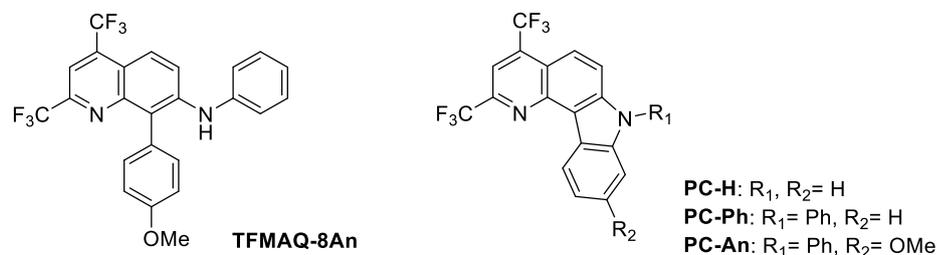


図1. TFMAQ-8An と PC-X の分子構造

【方法】TFMAQ の7位アミノ基と8位炭素に置換基を導入した TFMAQ-8An を合成し、吸収・蛍光スペクトル等の発光特性の調査を行った。3T3-L1 細胞を用いて TFMAQ-8An の細胞内における集積を追跡した。さらに反応条件の検討も行い、収率の改善を図った。<sup>[1]</sup> 一方で、副生成物として得られたピリドカルバゾール誘導体 PC-X についても発光特性を調査し、光増感剤としての機能を評価した。<sup>[2]</sup> また、HeLa 細胞を用いて、オルガネラ染色試薬と共染色を行うことにより、細胞内における集積の調査を行った。さらに、PC-H によって染色を行った HeLa 細胞に光照射を行い、経時的な細胞形態の変化を追跡した。

【結果・考察】合成した TFMAQ-8An は溶媒の極性によって蛍光波長が変化するソルバトクロミズム性を示し、特定のオルガネラへの集積が確認された。さらに反応条件の検討により、収率を改善することができた。一方で、全てのピリドカルバゾール誘導体はソルバトクロミズム性を示したが、特定のオルガネラへの集積は確認されなかった。また、PC-H によって染色を行った HeLa 細胞では光照射を行うことでアポトーシスが誘導された。

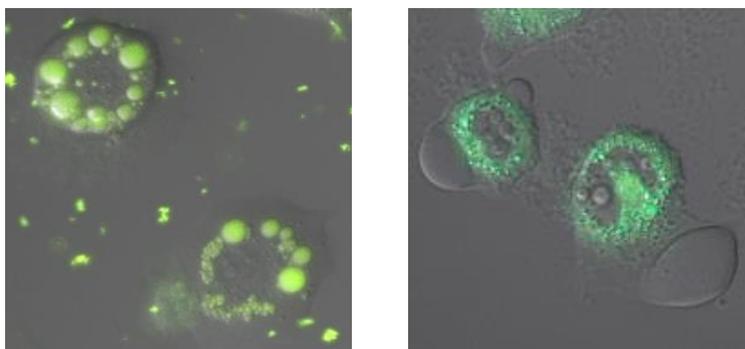


図2. (左)：TFMAQ-8An による細胞染色、(右)：PC-H によるアポトーシス誘導

[1] Y. Fuchi, M. Sakuma, K. Ohyama, S. Karasawa *et al. Sci. Rep.* **2019**, *9*, 17723.

[2] M. Sakuma, Y Fuchi, K. Usui, S. Karasawa *Chem. Asian J.* **2019**, *14*, 3938-3945.

【目的】ガドリニウム (Gd) 錯体は、高い緩和能を持つことから  $T_1$  強調型 MRI 造影剤として臨床現場で汎用されている。一方で Gd 錯体は腎毒性や脳蓄積の症例があること、レアメタルであることから、代替 Gd 錯体が望まれている背景がある。我々のグループでは、代替 Gd 造影剤として有機ラジカルを用いた造影剤開発を行っている<sup>[1]</sup>。しかしながら有機ラジカルは極めて低緩和能であることから、有機ラジカル造影剤を達成するためには、精密な分子設計に基づいた戦略的なアプローチが必須となる。

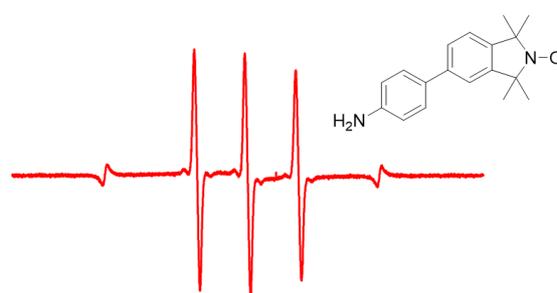
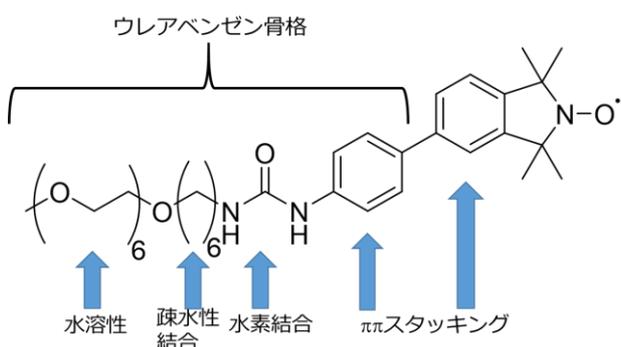


図 1. 目的分子 **TMIO-UBD** の分子構造

図 2. **TMIO-Ph-NH<sub>2</sub>** の水溶液中の ESR スペクトル

【結果・考察】今回、造影剤の分子サイズを大きくして回転相関時間 ( $\tau_R$ ) を延長する方法に従って、新たな超分子ナノ微粒子型造影剤を構築することとした。ナノ微粒子構築のためには分子間相互作用が必要であり、水素結合部位、 $\pi$ - $\pi$ スタッキング部位、疎水性相互作用部位を持ち合わせたウレアベンゼン誘導体 (UBD) を基本骨格とした (図 1)<sup>[2]</sup>。またラジカル部位としてイソインドリン骨格を有する NO ラジカル **TMIO** を候補とした。**TMIO** 骨格は、一般的な安定ラジカルである TEMPO や PROXYL に比べて分子サイズが大きく剛直であるため、 $\tau_R$  延長が期待できる。無水フタル酸を出発物質として、現在目的物質の前駆体であるビフェニル体 **TMIO-Ph-NH<sub>2</sub>** の合成に成功し、水溶液中の ESR スペクトルにより化合物のスピン状態を明らかとした (図 2)。また **TMIO** 合成過程で、**TMIO** 骨格が二量化した副生成物が得られ、X 線構造解析によって分子構造を明らかとした (図 3)。さらに Mass スペクトルから三量体の生成も示唆された。

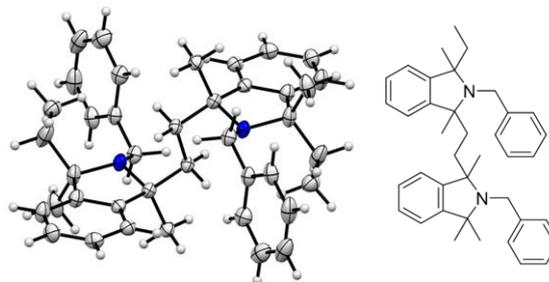


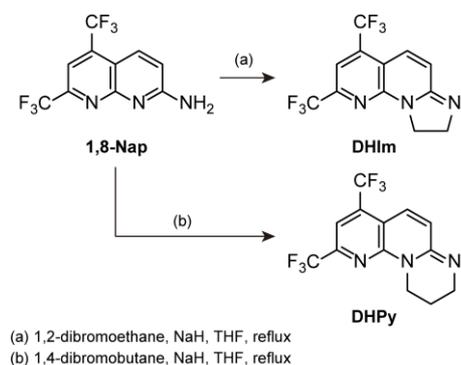
図 3. 二量体の X 線結晶構造解析結果

[1] R. Shiraishi, K. Usui, K. Yamada, S. Karasawa, *et al.* *ACS omega*, **2019**, *4*, 20715-20723.

[2] H. Koi, Y. Fuchi, S. Karasawa, H. Oguri, *et al.* *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5339-5343.

【目的】当研究室ではプッシュプル型蛍光分子である **1,8-Nap** に様々な置換基を導入した誘導体を合成し、外部刺激応答性に着目した物性や発光特性について報告してきた。今回、**1,8-Nap** を環拡張した **DHIm**, **DHPy** を合成し (Scheme 1)、外部刺激として酸応答性に着目し、ターンオン型蛍光プローブの開発を目指した。今回我々は、芳香族性の変化を利用した新たな機構に基づいたターンオン型プローブについて報告する。(1)

【方法】X線結晶構造解析、DFT 計算にて **DHIm**, **DHPy** の芳香族性を評価した。また、プロトン化、二価遷移金属による錯体形成を吸収蛍光スペクトル測定で追跡し、その発光挙動の変化を評価した。



Scheme 1. **DHIm**, **DHPy** の合成経路

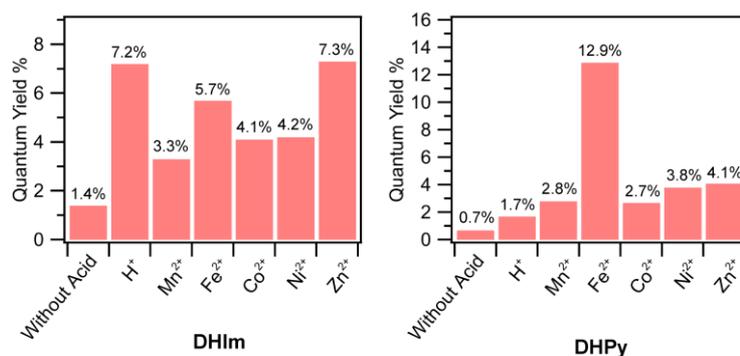


Figure 1. 酸応答前後における蛍光量子収率

【結果・考察】X線結晶構造解析の結果、**DHIm**, **DHPy** において分子間ではイミン窒素原子で CH $\cdots$ N 相互作用が確認され、イミン窒素原子の塩基性が示された。イミン窒素原子の塩基性に注目し、プロトン化を行い、吸収蛍光スペクトルを追跡したところ、プロトン濃度の上昇に伴って吸収スペクトルは等吸収点を示しながら変化した。また蛍光スペクトルは発光強度の上昇が確認され、蛍光量子収率が上昇した (Figure 1)。DFT 計算にてプロトン化前後の NICS 値を算出したところ、プロトン化によって **DHIm**, **DHPy** の芳香族性の上昇が示唆された。さらにルイス酸である遷移金属を加えることによっても蛍光量子収率は増大し (Figure 1)、Job's Plot により **DHIm**, **DHPy** と金属は 1:1 で錯体を形成していることが示唆された。以上の事から、**DHIm**, **DHPy** は酸に応答して芳香族性が上昇する機構によって蛍光が増強する、新たなターンオン型プローブの性質を有していた。

(1) Matsumoto, S., Karasawa, S. *et. al. J. Org. Chem.* **84**, 6612–6622 (2019).