

## 1. Introduction

### ● ボロン酸型糖センサー

糖と反応し、ボロン酸部位がRB(OH)<sub>2</sub>型からRB(OH)<sub>3</sub>型へ構造変化することで、明瞭な色調変化を引き起こす<sup>[1]</sup>  
→ 目視による糖センシングが可能  
→ 簡便な糖センサーとして注目されている

緩衝剤 CHES  
イオン強度はNaClO<sub>4</sub>を用い、0.10 Mに調整

### ● D-グルコース、D-ガラクトースとジボロン酸の反応

D-グルコース、D-ガラクトースは一分子中にボロン酸との反応部位を2ヶ所持つ  
モノボロン酸はD-グルコース、D-ガラクトースとの反応性は低い、ジボロン酸はこれらの糖と選択的に反応<sup>[2]</sup>

## 4. Conditional equilibrium constants

Table 3 conditional equilibrium constants for the reaction of OLO, OLP, NLP with saccharides in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10 M.

	D-グルコース	D-ガラクトース	D-フルクトース*	D-マンノース*
OLO*	32.9	37.0	51.5	16.2
OLP*	11.3	84.5	57.6	14.1
NLP*	11.4	88.3	68.9	13.1

\*ピリジルボロン酸は糖類に対する反応性が高いため、反応において糖と四配位イオンエステルを形成しているものとして、アゾボロン酸部位との糖の反応を1:1モデルで解析・評価した。  
a, pH=9 b, pH=10で測定

### ● 背景[9],[10]

ジボロン酸はD-グルコース、D-ガラクトースと結合環を形成することで構造がキラルになり、CD活性が強まる

2つのボロン酸を介する炭素数が少ないOLOは、NLP, OLPに比べD-グルコースとの反応の条件平衡定数は大きい⇨D-ガラクトースでは小さい  
→ D-ガラクトース<sup>[6]</sup>はD-グルコース<sup>[7]</sup>よりも分子間のジオール部位の距離が長いことに対応<sup>[8]</sup>

D-フルクトース、D-マンノースではリンカーの長さによる条件平衡定数の違いは小さかった  
→ リンカーの構造を変化させることで、D-グルコースとD-ガラクトースとの選択性のコントロールが可能

1) Y. Endo et al., Chem. Lett., 1995, 892.  
2) T. D. James et al., J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 1049.  
3) Y. Egawa et al., Bioorganic Med. Chem. Lett., 2007, 3789.  
4) S. Inanaga et al., J. Phys. Org. Chem., 2012, 25, 760.  
5) Green View, Ver 6.0.16  
6) M. Nicholls et al., Org. Biomol. Chem., 2004, 1434.  
7) M. Biednicki et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1999, 2, 449.  
8) 鈴木陽太, 日本分析化学会第69回年会, 2014, 13194.  
9) Y. Shizumi et al., J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1993, 17, 2111.  
10) C. Yoshigaki et al., J. Org. Chem., 1991, 56, 409.

## 2. This work

### ● ピリジリボロン酸 (PyB)

高い酸性度 (pKa = 4) を持ち、中性水溶液中での糖に対する反応性が高い  
→ 捕捉部位として働く

### ● オルトアゾフェニルボロン酸 (azoB)

糖との反応によって劇的な色調変化を示す  
→ 発色部位として働く

azoB部位とPyB部位を反応部位として持つジボロン酸を合成、種々の糖類に対する糖化学センサーとしての性能を評価、反応のメカニズムを検討した。  
リンカーの長さを変え、糖選択性のコントロールを行った。

Table 1 Acid dissociation constants of NLP in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C, I = 0.10 M and pH = 10.

	pK <sub>a(azoB)</sub>	pK <sub>a(PyB)</sub>
NLP*	10.97	4.68

Table 2 Acid dissociation constants of OLP, OLO in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C, I = 0.10 M and pH = 9.

	pK <sub>a(azoB)</sub>	pK <sub>a(PyB)</sub>
OLP	10.18	4.56
OLO	10.14	4.50

Table 3 Acid dissociation constants of OLO, OLP, NLP with saccharides in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10 M.

	D-グルコース	D-ガラクトース	D-フルクトース*	D-マンノース*
OLO*	32.9	37.0	51.5	16.2
OLP*	11.3	84.5	57.6	14.1
NLP*	11.4	88.3	68.9	13.1

### ● 検討した糖類

反応部位を二ヶ所持つ: D-Glucose, D-Galactose  
反応部位を一ヶ所持つ: D-Mannose, D-Fructose

## 5. CD spectra

### ● 測定結果

緩衝剤 CHES  
イオン強度はNaClO<sub>4</sub>を用い、0.10 Mに調整

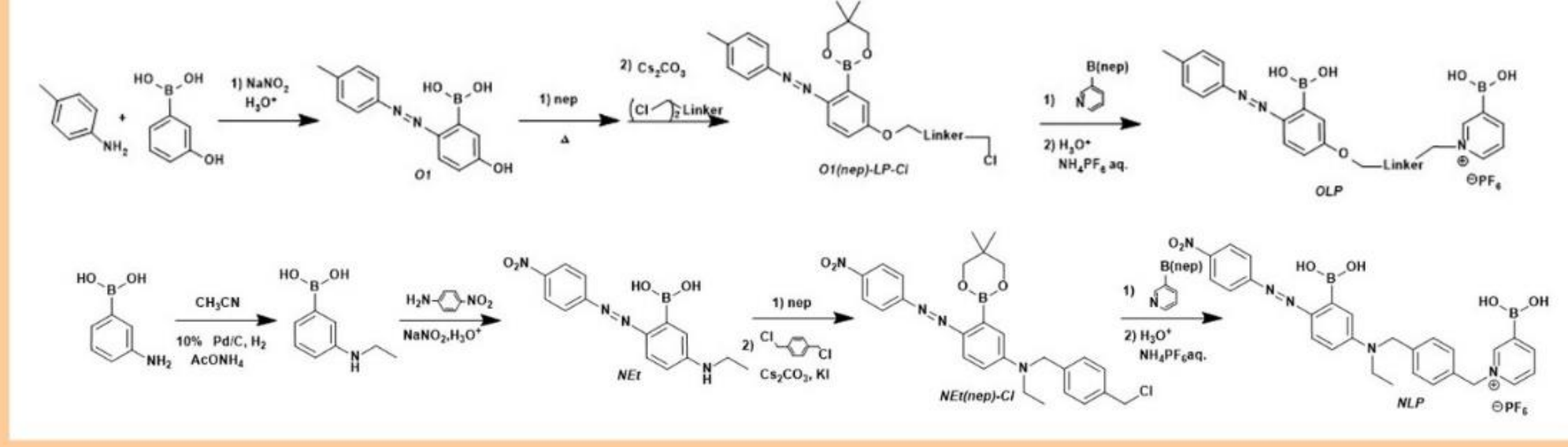
OLO, OLPとD-グルコース、D-ガラクトースとの反応のCDスペクトルを測定→2ヶ所(240~350, 400 nm付近)でCD活性の変化が確認された。

Figure 1 CD spectral change for the reaction of OLP (21 µM) with D-glucose (107 mM) in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10.

## 7. Summary

- 高い酸性度のPyB部位、色調変化の大きいazoB部位を有するジボロン酸について種々の糖類に対する糖化学センサーとしての性能を評価した。
- リンカーの構造を変えることで、D-グルコースとD-ガラクトースとの選択性のコントロールが可能であったことが分かった。
- CDスペクトルから、OLO, OLPとD-グルコース、D-ガラクトースは二ヶ所のボロン酸部位で反応しており、ジボロン酸と糖は1:1で反応していることが分かった。
- NLPと各種糖類との反応のメカニズムを検討した。

## 3. Synthesis



## 6. Kinetic analysis

溶媒 MeOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 1  
緩衝剤 CHES  
イオン強度はNaClO<sub>4</sub>を用い、0.10 Mに調整

### ● D-グルコース、D-ガラクトースとNLPの反応

D-グルコース、D-ガラクトースとNLPの反応は1段階で進行  
→ k<sub>obs</sub>は濃度依存性を示した = 分子間反応が起きている  
→ D-グルコース、D-ガラクトースの二ヶ所のジオール部位のうち、一つ目のジオール部位がPyBと反応する過程が律速であり、二つ目のジオール部位とazoBとの反応は迅速であると考えられる。

Figure 2 Dependence of k<sub>obs</sub> on C<sub>1</sub> for the reaction of NLP (40 µM) with D-glucose in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10 M.

### ● D-フルクトースとNLPの反応

D-フルクトースとNLPの反応は2段階で進行  
→ k<sub>obs1</sub>は濃度依存性を示したが、k<sub>obs2</sub>は濃度依存性を示さなかった。  
→ D-フルクトースとD-フルクトースとの反応が二段階で見えていると考えられる。

Figure 3 Dependence of k<sub>obs1</sub> and k<sub>obs2</sub> on C<sub>1</sub> for the reaction of NLP (40 µM) with D-fructose in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10 M.

### ● D-マンノースとNLPの反応

D-マンノースとNLPの反応は1段階で進行  
→ k<sub>obs</sub>は濃度依存性を示した。  
→ azoB部位とD-マンノースとの反応が一段階で見えていると考えられる。

Figure 4 Dependence of k<sub>obs</sub> on C<sub>1</sub> for the reaction of NLP (40 µM) with D-mannose in 1/1 (v/v) methanol-water mixture at 25 °C and I = 0.10 M.

# クラウンエーテル配位子を有するシクロメタレート型発光性Ir(III)錯体による金属イオン認識

(早大院先進理工<sup>1</sup>・上智大理工<sup>2</sup>・千葉工大工<sup>3</sup>) ○今西都巳<sup>1</sup>・鈴木陽太<sup>1,2</sup>・廣岡晴嗣<sup>1</sup>・菅谷知明<sup>3</sup>・石原浩二<sup>1</sup>

## Introduction

### ○ 金属イオン

- 摂取すると人体への健康被害を引き起こし得る<sup>[1]</sup>
- 主流の検出法は原子吸光法やICPなど(機器が高価、操作が複雑)
- 簡便な金属イオン検出・定量法の開発は重要な課題

### ○ 先行研究<sup>[2]</sup>

2,2'-bipyridine-3,3'-diol配位子を有するシクロメタレート型Ir(III)錯体  
→ Al<sup>3+</sup>と選択的に反応し発光強度が大きく上昇、発光色も変化

2つのピリジン環がねじれた構造であり、その二面角の大きさがAl<sup>3+</sup>の捕捉に適している

これをもとに新規発光性Ir(III)錯体による金属イオン認識システムの開発をめざした

## Previous work<sup>[3]</sup>

### ○ 発光性Ir(III)錯体の配位子にクラウンエーテル構造を導入

クラウンエーテルによるサイズ選択的な金属イオン認識を期待(ホスト-ゲスト相互作用)

ppyo06, R = H  
dfO6, R = F

- どちらの錯体もPb<sup>2+</sup>と選択的に反応して1:1錯体を形成する事が分かった
- Pb<sup>2+</sup>と反応することでppyo06は発光強度が減少、dfO6は発光強度が上昇
- 異なる環サイズのクラウンエーテルを導入した際の金属イオンとの親和性についても検討したい

## This work

分子の発光による認識は、turn-on型の方が優れている  
→ C\*N配位子にはdFppyを採用

## Reactivity: UV-vis. Spectra

錯体と18種類の金属イオン(錯体の10当量)をアセトニトリル中で混合(Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ga<sup>3+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, In<sup>3+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>の18種) K<sup>+</sup>のアニオンはPF<sub>6</sub><sup>-</sup>, その他はClO<sub>4</sub><sup>-</sup>

Figure 1. UV-vis spectra of O5 in MeCN (30 µM) in the presence of various cations (300 µM).

Figure 2. UV-vis spectra of O6 in MeCN (30 µM) in the presence of various cations (300 µM).

Figure 3. UV-vis spectra of O7 in MeCN (30 µM) in the presence of various cations (300 µM).

Figure 4. UV-vis spectra of O6 in MeCN (30 µM) with various amounts of Pb<sup>2+</sup> (0-300 µM) and the plot of A<sub>345</sub> vs. [Pb<sup>2+</sup>].

Figure 5. UV-vis spectra of O7 in MeCN (30 µM) with various amounts of Pb<sup>2+</sup> (0-300 µM) and the plot of A<sub>360</sub> vs. [Pb<sup>2+</sup>].

### ● O6, O7とPb<sup>2+</sup>との1:1錯体の生成定数をSpecfitによる解析から算出

	K / M <sup>-1</sup>
O6 + Pb <sup>2+</sup>	3.14x10 <sup>3</sup>
O7 + Pb <sup>2+</sup>	1.19x10 <sup>4</sup>

## Reactivity: Emission Spectra

Figure 6. Emission spectra of O6 in MeCN (10 µM, λ<sub>exc</sub>=380 nm) with various amounts of Pb<sup>2+</sup> (0-1500 µM) and calibration curve at 550 nm.

Figure 7. Emission spectra of O7 in MeCN (10 µM, λ<sub>exc</sub>=380 nm) with various amounts of Pb<sup>2+</sup> (0-1000 µM) and calibration curve at 550 nm.

## X-ray Crystallography

Figure 8. Molecular structures of O6 (left) and O6+Pb<sup>2+</sup> (right).

2つのピリジン環平面の二面角  
反応前: 35.50°  
反応後: 37.58°  
→ 二面角は大きく変化しない

	O1-O4 / Å	O2-O5 / Å	O3-O6 / Å
Before	6.373	3.494	6.373
After	5.227	5.176	5.492

## Discussion

- 錯体と金属イオンの親和性について 18-crown-6はPb<sup>2+</sup>との親和性が高い<sup>[4]</sup>ため、18-crown-6と似た構造であるO6もPb<sup>2+</sup>との親和性が高くなったと考えられる。
- O7もPb<sup>2+</sup>との高い親和性を示し、Pb<sup>2+</sup>に対してO6よりも高い反応性を持つ → この錯体のような一部がねじれたクラウンエーテル構造では、O7に相当する環の方がPb<sup>2+</sup>のサイズに近いと考えられる
- Pb<sup>2+</sup>認識能について O7はより高感度にPb<sup>2+</sup>を認識できるが、他の金属イオンと比べた選択性はO6の方が優れている → Pb<sup>2+</sup>認識の場面において、状況や目的によって使い分けが可能
- 今後の課題 溶媒に水やメタノールを含ませて測定した結果、反応性が大きく下がった → 金属イオンが水に溶媒とされ、クラウンに包摂されにくくなる傾向が報告されている

界面活性剤を使用し、水を含む系でもミセルによる疎水性環境を形成することで反応性を確保できる可能性

## Summary

異なる環サイズのクラウンエーテル部位を持つO5, O6, O7錯体を新規に合成した。18種類の金属イオンとの反応性を吸収スペクトル測定により確認した結果、O5はどの金属イオンとも反応せず、O6, O7はどちらもPb<sup>2+</sup>と反応することが分かった。反応性はO7の方が高かった。発光スペクトル測定から、どちらもPb<sup>2+</sup>との反応に伴って発光強度の上昇を起こすことが分かった。10 µMオーダーのPb<sup>2+</sup>の定量も可能だと考えられる。

## Acknowledgment

単結晶X線構造解析は、埼玉大学理学部基礎化学科 藤原隆司准教授、大野史博博士にご指導いただきました。