

異核金属錯体の分離分析法の開発

東北大学大学院環境科学研究科

唐島田 龍之介

1. はじめに

金属錯体は中心金属に由来する機能を示すものが多い。中でも原子番号 57～71 (La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) の元素群はランタニド (Ln) と呼ばれ、発光・磁性・放射能・触媒といった様々な材料へ応用されている。Ln 錯体は、配位子の分子設計と合わせて様々な Ln 錯体が報告されており、特に分子としての応用が可能であるため、発光プローブや磁気共鳴画像法 (MRI) の造影剤などへも応用されている¹⁻³⁾。近年、この Ln 錯体の機能向上を狙い、一分子中に異なる Ln を有する異核 Ln 錯体の設計が注目されている。複数の Ln に由来する多機能化や Ln 間での相互作用の発現による高機能化が期待できる⁴⁻⁶⁾。

異核 Ln 錯体の合成において、目的外の組成の異核 Ln 錯体や同核 Ln 錯体が副生成物として生成する^{7,8)}。これは Ln 同士の化学的性質が似ていることから配位子との反応性の違いも小さいためであり、意図した異核 Ln 錯体の合成は困難である。さらに、Ln 同士の化学的性質が似ていることは分離分析においても困難である。一般的な Ln の分析には誘導結合プラズマ発光 (ICP-OES) 分析といった物理的な手法が用いられるが、異核 Ln 錯体の分析においては Ln のみを分析しても試料中の各 Ln の比率がわかるのみであり、目的の異核 Ln 錯体と副生成物の異核 Ln 錯体、同核 Ln 錯体が共存しても区別できない。現状では、エレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) といった質量分析でのみ分析可能であるが、質量分析のシグナル強度は濃度やイオン化効率、さらにアダクトに依存して同じ化学種が複数のシグナルとして検出されるため、シグナル強度から定量分析には至っておらず、異核 Ln 錯体の研究において課題となっている。そのため、意図した異核 Ln 錯体を分子として定量的に分離分析する手法が求められるとともに、ICP-OES や質量分析は破壊分析であるため、混合物からの分取も可能にするような分離分析手法の開発が求められる。

そこで本研究では、同核・異核 Ln 錯体の混合物を定量的に分離分析および分取できる手法の開発を目指す。これを達成する手法としてキャピラリー電気泳動 (CE) に注目した。CE は後述の通り、理論段数が高く精密な分離が狙えるだけでなく吸収や蛍光といった定量的な分析が可能である。同核・異核 Ln 錯体のモデルとしては、申請者がこれまで開発してきた配位子チアカリックスアレーン (TCAS) と異種ランタニド (Ln, Ln') からなる同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$)^{9,10)}を用いる。

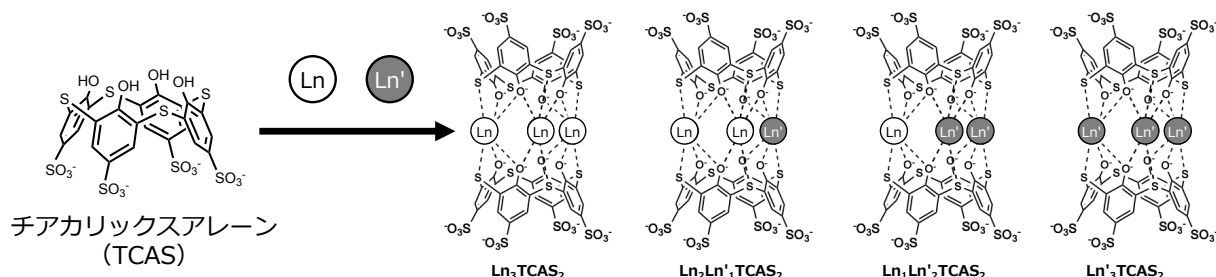


図 1-1 TCAS および同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の構造。

2. キャピラリー電気泳動

電気泳動は溶液中で電荷をもった分子あるいは荷電粒子が電場によって移動する現象であり、内径 100 μm 以下のキャピラリー中で電気泳動を行う手法がキャピラリー電気泳動 (CE) である (図 2-1)。

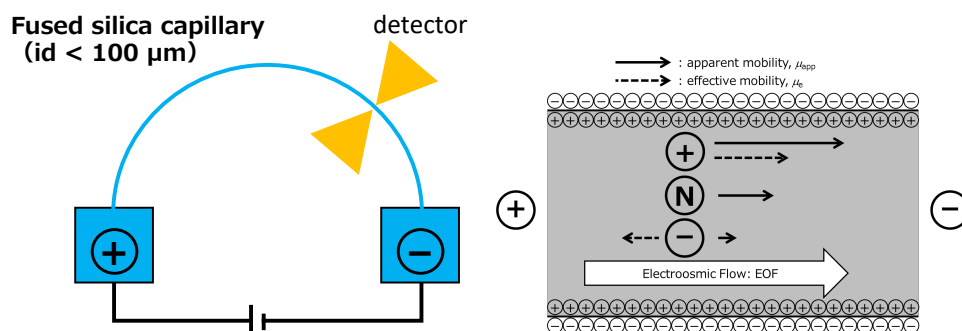


図 2-1 キャピラリー電気泳動装置と EOF の概要図。

電場中での溶質の電気泳動移動度は式(2-1)で表せられ、溶質の電荷とイオン半径に依存して変化する。

$$\mu_e = \frac{q}{6\pi\eta r} \quad (2-1)$$

ここで、 μ_e ：電気泳動移動度、 E ：電場の大きさ、 q ：電荷、 η ：溶液の粘度、 r ：イオン半径である。CEによく用いられるフュージドシリカキャピラリー内の表面は、シラノール基のイオン化により負電荷を帯びる。この電荷のバランスをとるため対イオンが引き寄せられて電気二重層を形成する。ここでキャピラリーの両端に電圧を印加すると、キャピラリー表面の正電荷が陰極の方に移動するため、キャピラリー内の溶液全体も一緒に陰極方向へ移動する。この現象を電気浸透(electroosmosis)と呼び、これによる流れを電気浸透流(electroosmotic flow: EOF)と呼ぶ。EOFの大きな特徴はプラグフローであり、溶質ゾーンの拡散が起きにくいので、溶質のピークは数万～数十万という大きな理論段数を持つ。通常 EOFの速度は陰イオンの電気泳動移動度よりも1ケタ以上大きいので陰イオンも陰極へ押し流されるため、電荷に関係なくほとんどすべての溶質を同じ方向に移動させることができる(図 2-1)。EOFは以下の式(2-2)で表される。実験的には式(2-3)を用いて、中性物質の移動時間から μ_{EOF} を算出し、溶質の見かけの電気泳動移動度 μ_{app} から式(2-4)の関係を用いて溶質の真の移動度 μ_e を求められる。

$$\mu_{\text{EOF}} = \frac{\varepsilon\zeta}{\eta} \quad (2-2)$$

$$\mu_{\text{EOF}} = \frac{Ll}{tV} \quad (2-3)$$

$$\mu_{\text{app}} = \mu_e + \mu_{\text{EOF}} \quad (2-4)$$

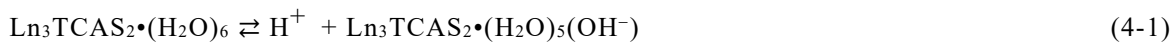
ここで、 ε ：誘電率、 ζ ：ゼータ電位、 L ：キャピラリーの全長、 l ：キャピラリーの有効長、 t ：移動時間、 V ：印加電圧である。

3. キャピラリー電気泳動を用いた異核 Ln 錯体の分離戦略

本研究では、CE によって同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の分離分析の達成を目指す。化学的性質が似ている Ln であるが、ランタニド収縮によってイオン半径にわずかながら差がある。一方、Ln は通常 3 価の陽イオンであるため、イオン半径の違いによりルイス酸性に差が生じる。本研究ではこのルイス酸性の差を利用した異核 Ln 錯体の分離戦略に取り組む。 Ln_3TCAS_2 の中心 Ln は配位水分子を有する。すなわち、中心 Ln の種類によりそのルイス酸性の影響で配位水分子の酸解離定数が変化することが期待できる。泳動緩衝溶液の pH の制御によって、Ln 錯体の見かけの電荷に差を持たせることで電気泳動移動度に差が生じて分離できることが期待できる。また、CE では泳動緩衝溶液に相互作用試薬を添加することで様々な分離場を形成できる。金属錯体において配位子のスルホ基とポリエチレングリコール (PEG) が水素結合相互作用し、その強さは中心金属のルイス酸性に依存することが知られている¹¹⁾。これを参考に、中心 Ln のルイス酸性の違いを配位子の TCAS のスルホ基を通じて PEG と生じる水素結合相互作用の強さの差を利用した分離を試みる。

4. Ln_3TCAS_2 錯体の配位水分子の酸解離定数の差を利用した CE 分離

Ln_3TCAS_2 錯体の酸解離定数 ($\text{p}K_a$) の差を利用した CE 分離を試みた。ここで Ln_3TCAS_2 錯体の配位水分子に由来する酸解離反応式を式(4-1)、酸解離定数を式(4-2)と定義した。ただし、 Ln_3TCAS_2 錯体の配位水分子数は Ln 一つあたり 2 分子とした。



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{Ln}_3\text{TCAS}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH}^-)]}{[\text{Ln}_3\text{TCAS}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6]} \quad (4-2)$$

以下、簡略化のため $\text{Ln}_3\text{TCAS}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6 \equiv \text{HA}$, $\text{Ln}_3\text{TCAS}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH}^-) \equiv \text{A}^-$ と表記する。CE を用いて測定できる電気泳動移動度は、HA と A^- それぞれの電気泳動移動度 μ_{HA} , μ_{A^-} からなる見かけの電気泳動移動度 μ_{app} である。これは A^- のモル分率 x_{A^-} を用いて以下のように表せる。

$$[\text{A}]_{\text{T}} = [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (4-3)$$

$$x_{\text{A}^-} = \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}] + [\text{A}^-]} \quad (4-4)$$

$$\mu_{\text{app}} = (1 - x_{\text{A}^-})\mu_{\text{HA}} + x_{\text{A}^-}\mu_{\text{A}^-} \quad (4-5)$$

以上から式(4-6)が導かれる。

$$\mu_{\text{app}} = \mu_{\text{HA}} + \frac{1}{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_a}} (\mu_{\text{A}^-} - \mu_{\text{HA}}) \quad (4-6)$$

したがって、種々の pH 条件で得られた μ_{app} を $[\text{H}^+]$ に対してフィッティングすることで K_a , μ_{HA} , μ_{A^-} を求めることができる。

続いて、軽希土の Nd, 中希土の Tb, 重希土の Yb を中心 Ln に選択し、種々の pH 条件の泳動緩衝溶液で CE 測定を行った。得られた電気泳動図から各条件での見かけの電気泳動移動度 μ_{app} を算出し、pH に対してプロットした (図 3-1)。このプロットを式(4-6)でフィッティング

することで pK_a を算出したところ, Nd_3TCAS_2 の $pK_a = 8.27$, Tb_3TCAS_2 の $pK_a = 8.35$, Yb_3TCAS_2 の $pK_a = 8.39$ となり, pK_a に差があることがわかった.

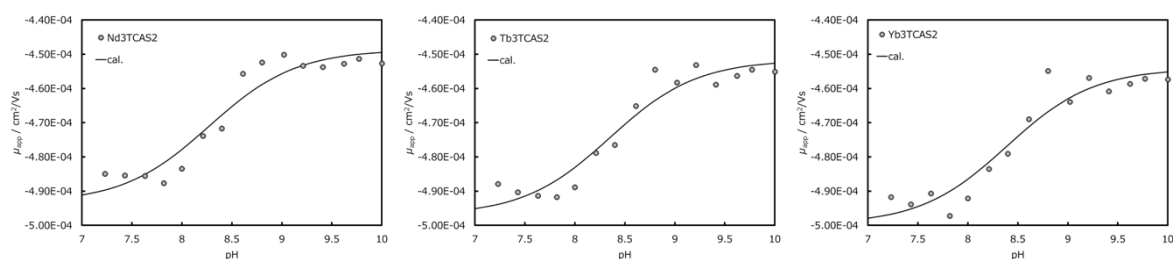


図 3-1 Ln_3TCAS_2 の電気泳動移動度 μ_{app} の pH 依存性. Sample: $[Ln_3TCAS_2] = 20 \mu M$, 10% EtOH, Electrophoresis: $[TAPS \bullet Na] = 0.02 M$, $L = 50 cm$, $l = 37.8 cm$, $id = 50 \mu m$, $V = 20 kV$, $\lambda = 252 nm$.

これを基に, pK_a 付近の pH で Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の分離度を調査したところ pH 8.8 で最大の分離度を示した (図 3-2(a)). この条件で同核・異核 3 核錯体の混合物 ($Tb_{3-x}Yb_xTCAS_2$, $x = 0-3$) の分離を試みたところ, 一つのブロードなピークを示した (図 3-2(b)). これは pK_a にはあるものの, 2 種の異核錯体 ($Tb_{3-x}Yb_xTCAS_2$, $x = 1, 2$) を含む試料では分離度が不十分で全てのピークが合わさったブロードなピークとなったと考える. 本錯体では十分な分離とならなかったが, 他の配位水分子を持つ Ln 錯体へ応用できる成果となった.

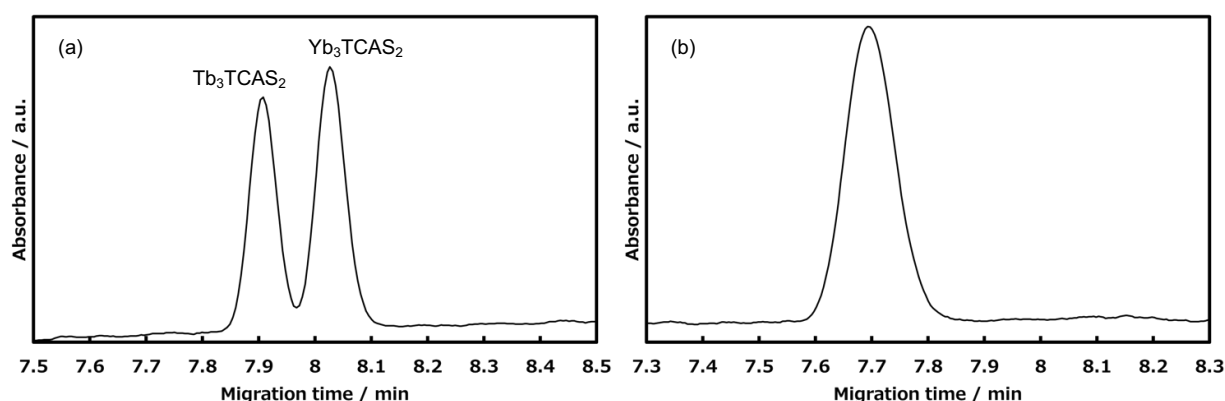


図 3-2 Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の混合物(a)および同核・異核 3 核錯体 ($Tb_{3-x}Yb_xTCAS_2$, $x = 0-3$) の混合物(b)の電気泳動図. Sample: (a) $[Tb_3TCAS_2] = [Yb_3TCAS_2] = 10 \mu M$, 10% EtOH, (b) $[Tb_{3-x}Yb_xTCAS_2] = 20 \mu M$, 10% EtOH, Electrophoresis: $[Na_2B_4O_7] = 0.02 M$, pH 8.8, $L = 50 cm$, $l = 37.8 cm$, $id = 50 \mu m$, $V = 20 kV$, $\lambda = 252 nm$.

5. 相互作用試薬としてポリエチレングリコールを用いた CE 分離

Ln_3TCAS_2 錯体と相互作用する試薬としてポリエチレングリコール (PEG) を泳動緩衝溶液へ添加することで分離度の向上を試みた. はじめに, Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の分離度の PEG 濃度依存性を調査したところ, PEG 濃度の増加に伴って分離度が増加し, 1.0w/v%で一定となった (図 3-3).

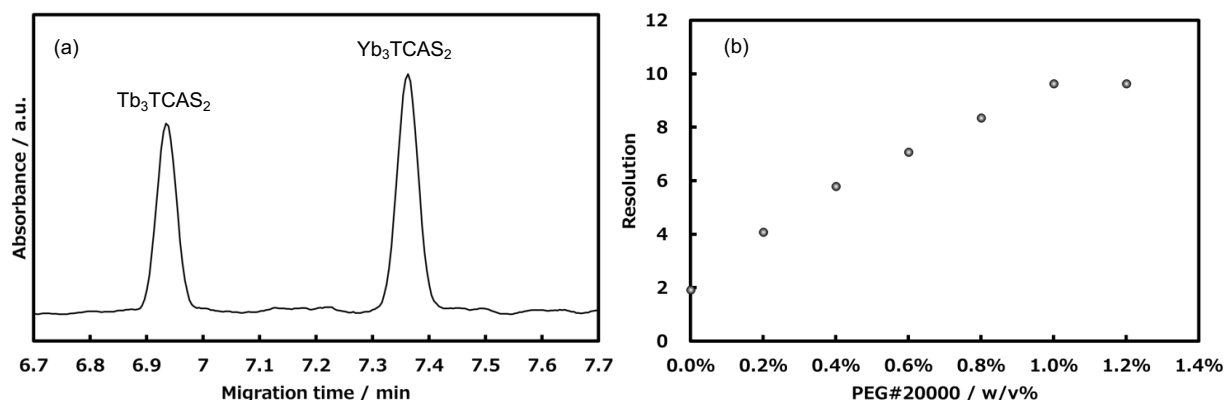


図 3-3 PEG 共存下泳動緩衝溶液による Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の混合物の電気泳動図(a)と分離度の PEG 濃度依存性(b). Sample: $[\text{Tb}_3\text{TCAS}_2] = [\text{Yb}_3\text{TCAS}_2] = 10 \mu\text{M}$, 10% EtOH, Electrophoresis: $[\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7] = 0.02 \text{ M}$, pH 8.8, 0–1.2w/v% PEG#20000, $L = 50 \text{ cm}$, $l = 37.8 \text{ cm}$, $\text{id} = 50 \mu\text{m}$, $V = 20 \text{ kV}$, $\lambda = 252 \text{ nm}$.

Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の検出時間の差が大きく、このピークの上に異核錯体のピークが生じて十分な分離が期待できる。この条件において同核・異核 3 核錯体の混合物 ($\text{Tb}_{3-x}\text{Yb}_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の分離を試みたところ、6 本のピークを観測した (図 3-4(a))。 Tb_3TCAS_2 と Yb_3TCAS_2 の電気泳動移動度 μ_e からそれぞれのピークを帰属したところ、一番早く検出された泳動時間約 6.7 分のピークを Tb_3TCAS_2 、一番遅く検出された泳動時間約 7.1 分のピークを Yb_3TCAS_2 と帰属した。このピークの上に生じた 4 本のピークは異核錯体と考えられ、それぞれ約 6.8, 6.9 分のピークを $\text{Tb}_2\text{Yb}_1\text{TCAS}_2$ 、約 6.97, 7.05 分のピークを $\text{Tb}_1\text{Yb}_2\text{TCAS}_2$ と帰属した。2 種の異核錯体 ($\text{Tb}_{3-x}\text{Yb}_x\text{TCAS}_2$, $x = 1, 2$) がそれぞれ 2 本のピークに分裂された理由について考察する。 Ln_3TCAS_2 の Ln_3 コアは二等辺三角形の配置を取るため、異核錯体においては異種 Ln の配置によって 2 種類の配置異性体が生じると考えられる。これは、PEG が Ln の配位水分子と相互作用しているため、 Ln_3 コアの配置異性体という僅かなルイス酸性の差を認識できているために生じる精密な分離であると言える。

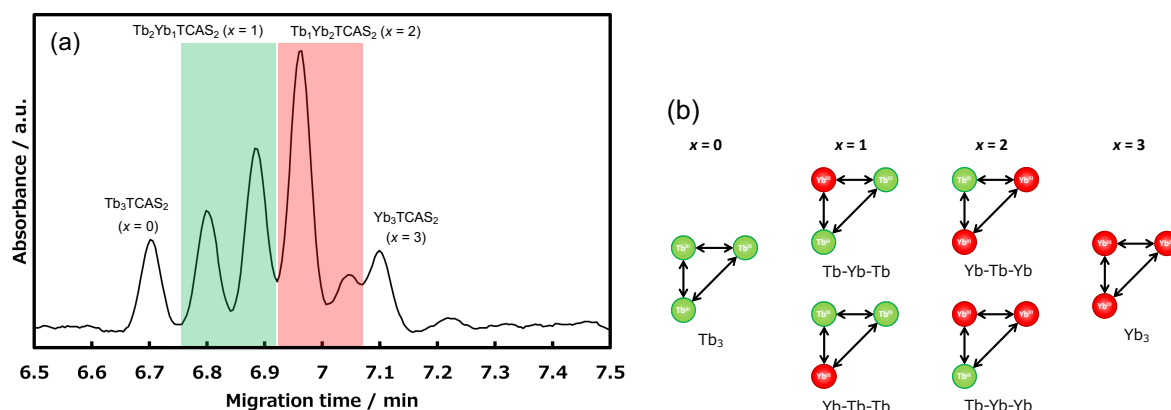


図 3-4 同核・異核 3 核錯体 ($\text{Tb}_{3-x}\text{Yb}_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の混合物の電気泳動図(a)と中心 Ln の配置(b). Sample: $[\text{Tb}_{3-x}\text{Yb}_x\text{TCAS}_2] = 20 \mu\text{M}$, 10% EtOH, Electrophoresis: $[\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7] = 0.02 \text{ M}$, pH 8.8, 0–1.2w/v% PEG#20000, $L = 50 \text{ cm}$, $l = 37.8 \text{ cm}$, $\text{id} = 50 \mu\text{m}$, $V = 20 \text{ kV}$, $\lambda = 252 \text{ nm}$.

以上のことから、 Ln_3TCAS_2 と PEG の相互作用は中心 Ln の配置異性体まで識別できていると言える。すなわち、中心 Ln のルイス酸性の差異が TCAS 骨格を通じてスルホ基の負電荷の大小にあらわれることによるスルホ基と PEG との相互作用の大きさに差異が生じたことに加え、中心 Ln の配位水分子を通じて PEG が相互作用することによってルイス酸性の差異がより大きく反映されたと考える (図 3-5)。以上のような相互作用の発現により、各錯体の移動度に違いが生じたため、中心 Ln の配置異性体までも分離分析が可能な精密分離を達成したと言える。

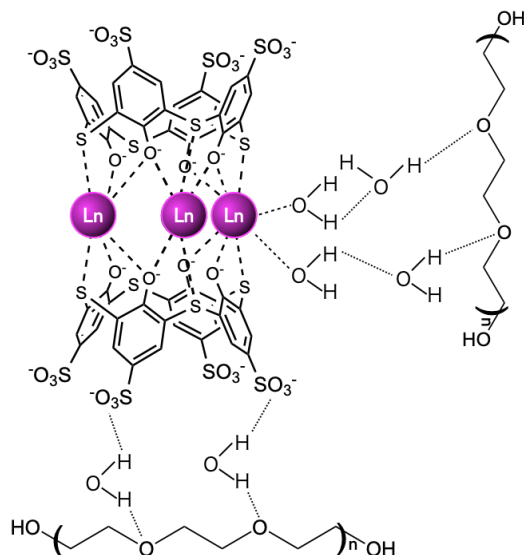


図 3-4 Ln_3TCAS_2 と PEG との水分子を介した水素結合相互作用の模式図。

9. まとめ

本研究では、異核 Ln 錯体として同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) を用い、CE による分離分析法の開発を行った。中心 Ln のルイス酸性の違いを利用した分離戦略のうち、配位水分子の酸解離定数の違いに注目した戦略では、酸解離定数を算出することで Ln の種類で酸解離定数に差が生じることを明らかにできた。さらに、同核 3 核錯体同士の分離においては十分な分離分析を達成したが、同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の混合物については完全分離できなかった。一方、相互作用試薬の PEG を用いた戦略では、PEG が同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) と相互作用することで大幅な分離度の向上を達成し、同核・異核 3 核錯体 ($\text{Ln}_{3-x}\text{Ln}'_x\text{TCAS}_2$, $x = 0-3$) の混合物についても分離分析が可能であることを明らかにした。ここで、2 種の異核錯体 ($\text{Tb}_{3-x}\text{Yb}_x\text{TCAS}_2$, $x = 1, 2$) はそれぞれ 2 本のピークに分裂して中心 Ln_3 コアの配置異性体までも認識しており、このような分離分析は他の分析手法では不可能であり、組成のみでなく異性体までも分離できる可能性を示した。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。

参考文献

- 1) J.-C. G. Bünzli, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 2729-2755.
- 2) J.-C. G. Bünzli and S. V. Eliseeva, *J. Rare Earths*, 2010, **28**, 824-842.
- 3) S. V. Eliseeva and J.-C. G. Bünzli, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 189-227.
- 4) F. Artizzu, F. Quochi, A. Serpe, E. Sessini and P. Deplano, *Inorg. Chem. Front.*, 2015, **2**, 213-222.
- 5) J.-R. Jiménez, B. Doistau, M. Poncet and C. Piguet, *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **434**.
- 6) X.-Z. Li, C.-B. Tian and Q.-F. Sun, *Chem. Rev.*, 2022, **122**, 6374-6458.
- 7) N. Iki, *Supramol. Chem.*, 2011, **23**, 160-168.
- 8) A. M. Nonat and L. J. Charbonnière, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **409**, 213192-213208.
- 9) R. Karashimada and N. Iki, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 3139-3142.
- 10) R. Karashimada, K. Musha and N. Iki, *BUNSEKI KAGAKU*, 2022, **71**, 145-151.
- 11) N. Iki, *BUNSEKI KAGAKU*, 2002, **51**, 495-505.