

## 脂溶性 $N_4$ 及び $N_5$ 大環状ポリアミンを感応素子とする 陰イオン選択性液膜の電位応答挙動の比較

長縄 竜一\*, 片岡 正光\*\*, 小田嶋和徳,  
梅澤 喜夫<sup>Ⓞ\*</sup>, 木村 栄一, 小池 透\*\*\*

(1990年6月28日受理)

人工合成ホスト化合物である2種類の脂溶性大環状ポリアミン ( $C_{16}H_{33}-[16]aneN_5: 1$ ,  $C_{16}H_{33}-[14]aneN_4: 2$ ) を感応素子とした電位応答型の高分子支持液膜型陰イオン選択性電極を作製し, 電荷の集中度が異なる一連のジカルボン酸ジ陰イオン類の異性体, 又電荷の大きさの異なる  $ATP^{4-}$ ,  $ADP^{3-}$ ,  $AMP^{2-}$  に対する電位応答を測定した. いずれのシリーズのゲストに関しても, 両電極による選択性の序列は同じで, 二つの負電荷がより集中しているもの, あるいはより大きな負電荷を持つものに高い選択性を示した. 電位変化の濃度依存性はホスト 1 を含む電極のほうがホスト 2 を含む電極よりも大きく, ネルンストの理論値に近い値を示した. これは, 高い塩基性を示すホスト 1 は膜界面で 2 に比べてより多くのプロトンを取り込むことができ, その結果生じたホストポリ陽イオンはゲスト陰イオンとより強くホスト-ゲスト錯体を形成することができるためと考えられる.

### 1 緒 言

従来, 人工ホスト化合物をイオン感応物質として用いたニュートラルキャリアー型イオンセンサーの開発は活発に行われてきた. しかしながら, これらの研究はクラウンエーテル<sup>1)</sup>, 非環状リガンド<sup>2)</sup>などを用いたアルカリ又はアルカリ土類金属イオンなどの陽イオンを対象とするものが主流である. 一方陰イオンを目的イオンとするニュートラルあるいはチャージドキャリアー型イオンセンサーは, 現在までに数例が報告されているにすぎず, しかもこのいずれもが一価の無機陰イオンを対象とするものである<sup>3)</sup>. 人工ホスト化合物の一つである大環状ポリアミンは, 中性から酸性の条件下で環内に複数のプロトンを逐次取り込み, この結果生じた高い電荷密度を持ったポリ陽イオンは種々の陰イオンに対するリセプターとして機能する<sup>4)</sup>. 著者らは脂溶性を高める目的でヘキサデシル基を導入した5個の窒素原子を含む16員環の脂溶性大環状ポリアミン ( $C_{16}H_{33}-[16]aneN_5: 1$ ) をイオン感応物質として, 電荷の大きさの異なる

$ATP^{4-}$ ,  $ADP^{3-}$ ,  $AMP^{2-}$  を高い選択性で電位応答識別するポリ塩化ビニル支持液膜型 ATP センサーを開発した<sup>5)</sup>. 又このセンサーが基本的な構造を有する一連のジカルボン酸ジ陰イオン類の分子構造を, ゲスト分子内の電荷の集中度の違いによって識別できることを報告した<sup>6)</sup>. 更に, このホスト化合物を含む Langmuir-Blodgett 累積膜のマーカージオン透過性をゲスト陰イオンの刺激によって制御する. “イオンチャンネル型センサー”を開発した<sup>7)</sup>. 今回, より高度な電位応答識別が可能なホスト分子を設計するために必要な基礎的知見を得ることを目的として, 新たにホスト分子として4個の窒素原子を含む14員環の脂溶性大環状ポリアミン ( $C_{16}H_{33}-[14]aneN_4: 2$ ) を加え, この二つのホスト分子を比較することにより, ホスト分子の窒素の数, 環サイズ, さらにプロトン化による電荷の大きさの違いが各種ゲスト分子に対する応答性に与える影響について比較検討を行った.

### 2 実 験

#### 2.1 試 薬

本研究に使用した脂溶性大環状ポリアミン及びゲスト陰イオンを Fig. 1 に示す. 感応物質である大環状ポリアミンの脂溶性誘導体 1 は既報<sup>8)</sup>に従って合成した. 2 は田伏らの報告<sup>9)</sup>に従って合成した. ポリ塩化ビニル

\* 北海道大学理学部化学科: 060 北海道札幌市北区北10条西8丁目

\*\* 小樽商科大学商学部: 047 北海道小樽市緑3-5-21

\*\*\* 広島大学医学部総合薬学科: 734 広島県広島市南区霞1-2-3

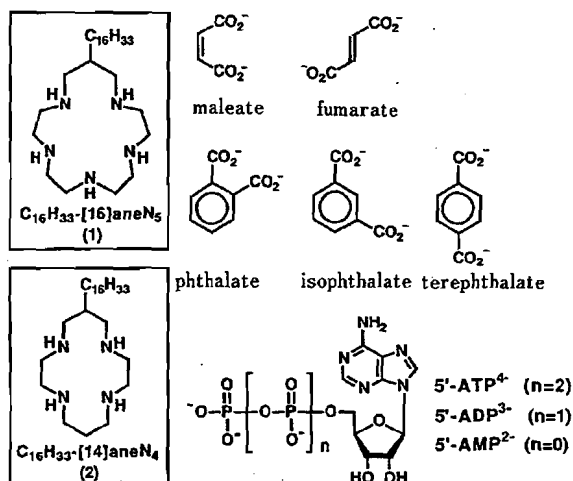
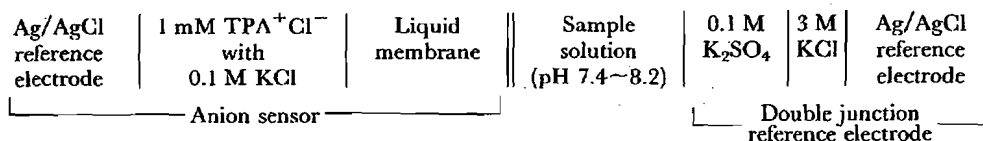


Fig. 1 Lipophilic macrocyclic polyamines and guest anions used in the present study

(PVC; 平均重合度 1100) は和光純薬工業製を用いた。ジオクチルフタレート (DOP) は和光純薬工業製を減圧蒸留 (bp<sub>4</sub> 211°C) により精製した。テトラヒドロフラン (THF) は和光純薬工業製をベンゾフェノン及び金属ナトリウム存在下、アルゴン雰囲気中で使用直前に蒸留して使用した。ジカルボン酸類は試薬特級品を TLC により純度を確認した後使用した。5'-ATP, 5'-ADP, 5'-AMP は Sigma 製のそれぞれ A5394, A2754, A1752 を使用した。緩衝剤には同仁化学研究所製 *N*-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-*N'*-2-エタンスルホン酸 (HEPES,  $pK_2=7.55$ ) を用いた。試料溶液は、すべてミリポア製 Milli-Q Type I 試薬グレード純水製造システムにより比抵抗値 17.5 M $\Omega$  以上に精製したものをを用いて調製した。

## 2・2 装置

電位差及び pH の測定には電気化学計器 (DKK) 製 COM-20R 型 pH/mV メーターを使用した。参照電極には DKK 製 4083 型電極, pH 電極には DKK 製 6157 型複合電極を使用した。測定は室温 (25°C) において 50 ml の試料溶液を一定速度でかき混ぜて行った (東洋製作所製 Model A-2 型スターラーを使用)。作製した液膜電極を含む測定系の構成を以下に示す。



## 2・3 液膜電極の作製

感応膜を作製する際、2 種類のホスト分子の機能を正しく評価するために膜中での各ホストのモル数を等しくそろえて電極を作製した。すなわち感応物質である脂溶性大環状ポリアミン [(1)2.0 mg; (2)1.9 mg], DOP 50 mg, PVC 15 mg を THF 1 ml に溶解した溶液を用い、既報<sup>5)</sup>に従って作製した。一昼夜以上室温で放置して十分に THF を揮発させた液膜型電極外筒は、内部をよく洗浄し、KCl 10 $^{-1}$  M 及び塩化テトラベンチルアンモニウム 10 $^{-3}$  M を含む内部参照溶液 600  $\mu$ l を入れ、DKK 製液膜型イオン電極ボディに取り付けた。

## 2・4 選択係数

選択係数は、ジカルボン酸類に関しては単独溶液法<sup>9)</sup>に従って求めた。5 mM HEPES 緩衝液 (pH 8.2) を使用し、10 $^{-2}$  M の試料溶液に対する電位応答の大きさを計算に用いた。又、電荷の大きさの異なるゲスト陰イオン (アデノシンヌクレオチド類) の選択係数も同様の単独溶液法により求めたが、その結果は 10 $^{-3}$  M の ATP $^{4-}$ , ADP $^{3-}$ , AMP $^{2-}$  に対してそれぞれ 1, 2.3, 83.0 (電極 I), 1, 2.4, 1.5 (電極 II) となりこの値は電位応答の大きさの序列 (電極 I, II とも, ATP $^{4-}$  > ADP $^{3-}$  > AMP $^{2-}$ ) さえも反映しない。電荷の異なる系列につき Nicolsky-Eisenman の式に基づき選択係数を求めると、このように価数の小さなイオンの妨害が過大に評価されることがある (文献 5 を参照)。参考までに単独溶液法において電荷の違いを無視し、同じ大きさの電位変化を引き起こす試料濃度 (=活量) の比から選択係数  $K_{ATP,j}^{pot}$  を求めたところ、実際の電位応答の大きさの序列を比較的よく反映しているとも推定される結果が得られた。すなわち目的イオン (ATP $^{4-}$ ) と妨害イオンに関して、それぞれ単独に、コンディショニング時より -30 mV 低い膜電位を示す濃度を求め (それぞれ  $c_{ATP}$ ,  $c_j$ ), 次式より  $K_{ATP,j}^{pot}$  を求めた。

$$K_{ATP,j}^{pot} = c_{ATP}/c_j$$

混合溶液法における同様の取り扱いとは Matched potential 法<sup>10)</sup>として既に知られている。

### 3 結果と考察

#### 3.1 電位応答の pH 依存性

先にも述べたように, 大環状ポリアミンは中性から酸性溶液中で複数のプロトンを取り込み, 正電荷を持つ. 例えばヘキサデシル基を持たない **1**, **2** の対照ホスト化合物 [16]aneN<sub>5</sub> 及び [14]aneN<sub>4</sub> の水溶液中での p*K*<sub>a</sub> は, それぞれ 10.64, 9.49, 7.28, 1.7, 1.5 及び 11.50, 10.30, 1.62, 0.94 である<sup>11)</sup>. 従って両電極とも膜電位は強い pH 依存性を示す.

Fig. 2-I 及び Fig. 2-II はホスト **1** 又は **2** を感応物質とした電極 (以下それぞれ, 電極 I, 電極 II と略記) の電位-pH 曲線である. ゲスト陰イオンが存在しない場合 (曲線 a), 電極 I, II とも中性から弱酸性の領域において高い膜電位を示す. これは膜界面における水溶液中からのプロトンの取り込みにより, ホストである大環状ポリアミンの正電荷が大きくなるためと考えられる. pH が上昇するにつれて膜電位は低下する. これはプロトン化されたホストがプロトンを解離し感応膜の正電荷が減少するためと考えられる.

ゲスト陰イオンが存在する場合でも, アルカリ性の領域ではホスト分子の正電荷が小さいためゲスト陰イオンとの静電的相互作用に基づく錯体形成が十分ではないと考えられる. 実際に膜電位 (曲線 b) はゲスト陰イオンが存在しない場合 (曲線 a) とほぼ一致する. pH の低下に伴い膜電位は曲線 a に比べてマイナス方向に低下

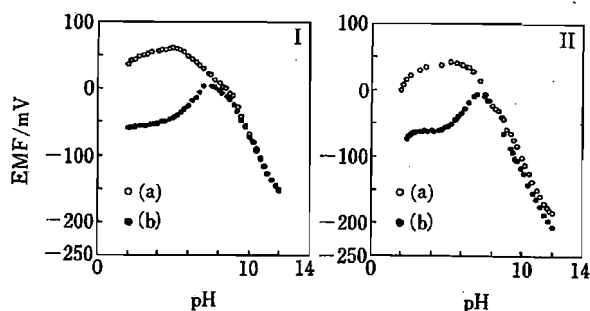


Fig. 2 Effect of pH on the potentiometric response of the liquid membrane containing macrocyclic polyamine (**1**) or (**2**) (electrode I and II, respectively) in the absence (a) and presence (b) of maleate

(a)  $10^{-2}$  M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: The pH was adjusted by addition of NaOH containing  $10^{-2}$  M NaSO<sub>4</sub>.  
(b)  $10^{-2}$  M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> +  $10^{-2}$  M maleic acid: The pH was adjusted by addition of NaOH containing  $10^{-2}$  M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and  $10^{-2}$  M maleate anion.

する. これはプロトン化によってホスト分子の正電荷が大きくなるためゲスト陰イオンとの静電的相互作用が強まり, 電極膜界面でホスト-ゲスト錯体が形成される結果, 負電荷を持ったゲスト陰イオンが膜中に取り込まれ, プロトン化によって得られた膜の正電荷の一部が打ち消されるためと考えられる. このことから電極膜界面におけるプロトンの取り込みが本センサーが機能するうえでの必須の条件であることが分かる<sup>5)6)</sup>.

#### 3.2 基本的な構造を持つジカルボン酸ジ陰イオン類に対する応答

ジカルボン酸類をゲスト陰イオンとする場合, 試料溶液の pH は次に述べる二つの理由から緩衝液を用いて最も酸性度の低いゲスト分子の p*K*<sub>2</sub> より 2 ユニット高い値に設定した. ①ホスト-ゲスト錯体形成は主に正電荷-負電荷間の静電的相互作用に基づくものと考えられるため, ジカルボン酸ゲストの識別はそれらが二価の陰イオンとして存在するときに最も有効に行われると考えられる. ②一価の陰イオンと二価の陰イオンでは電位応答の強度が異なるため (ネルンストの式より一価の陰イオンは二価陰イオンの 2 倍), 同じ条件で測定を行うためには二価の陰イオンの状態で比較しなければならない. そこで 5 mM HEPES 緩衝液を使用して, 幾何異性体の場合は pH 8.2, 位置異性体の場合は pH 7.4 に調整した. この設定により, 検討したあらゆるジカルボン酸類ゲストについて二価の陰イオンの存在割合は 99% 以上となる (文献 6 を参照).

##### 3.2.1 幾何異性体の識別 Fig. 3 にシス/トラン

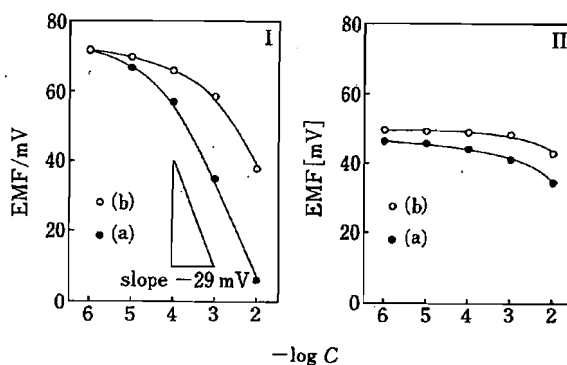


Fig. 3 Potentiometric response of the liquid membrane containing macrocyclic polyamine (**1**: **I**) or (**2**: **II**) as a sensory element toward geometrical isomers of dicarboxylates in 5 mM HEPES buffer at pH 8.2

(a) maleate; (b) fumarate

Table 1 Potentiometric selectivity coefficients for geometrical and positional isomers of dicarboxylates, and a series of adenosine nucleotides

Ion, j	Electrode	
	I	II
	$K_{i,j}^{pot}$	
Geometrical isomers <sup>a)</sup>		
Maleate	1 <sup>c)</sup>	1
Fumarate	0.08 <sup>c)</sup>	0.65
Positional isomers <sup>a)</sup>		
Phthalate	1	1
Isophthalate	0.31	0.98
Terephthalate	0.24	0.56
Nucleotides <sup>b)</sup>		
ATP <sup>4-</sup>	1	1
ADP <sup>3-</sup>	0.19	0.07
AMP <sup>2-</sup>	0.07	d)

a) determined by the separate solution method<sup>9)</sup>, at fixed concentrations of primary and interfering ions (see text). b) determined by ignoring differences in the magnitude of charge (see text). c) reference 6. d) the negative potential change with increasing concentration was too small to calculate the selectivity coefficient.

スという幾何異性体の関係にあるマレイン酸 (a) とフマル酸 (b) の電極 I, II (等モルのホストを含む。以下の測定もすべて同様の電極を使用) に対する電位応答の濃度依存性を示す。二重結合により固定された二つのカルボキシル基の負電荷が、離れた位置にあるフマル酸 (トランス) よりも、同じ側に接近しているマレイン酸 (シス) に対してより大きな電位応答を示した。又、その電位応答の濃度依存性は電極 II に比べて電極 I のほうが大きく、ネルンストの理論値に近い値を示した。電位応答の選択係数を Table 1 に示す。電極 I, II とも、シス>トランスの順に高い選択性を示した。

**3・2・2 位置異性体の識別** Fig. 4 にオルト/メタ/パラという位置異性体の関係にあるフタル酸の 3 種の異性体に対する電極 I, II の電位応答の濃度依存性を示す。共にベンゼン環によって固定された二つの負電荷が最も近い位置にあるフタル酸 (オルト: a) に対して最大の電位応答を示すが、イソフタル酸 (メタ: b), テレフタル酸 (パラ: c) と二つの負電荷の距離が離れるほど電位応答は弱くなる。電位応答の選択係数 (Table 1) は電極 I, II とも、オルト>メタ>パラの順に高い選択性を示した。両電極とも幾何異性体、位置異性体をその二か所の負電荷間の距離 (電荷の集中度) の違いに

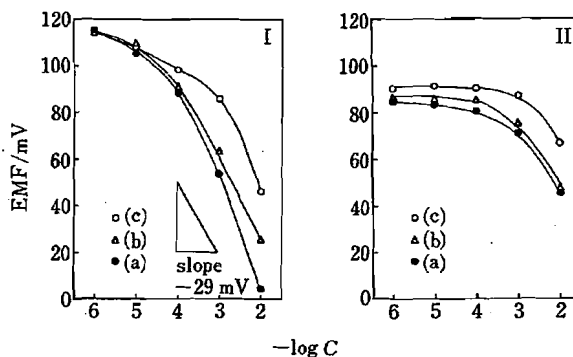


Fig. 4 Potentiometric response of the liquid membrane containing macrocyclic polyamine (1: I) or (2: II) as a sensory element toward positional isomers of dicarboxylates in 5 mM HEPES buffer at pH 7.4

(a) phthalate; (b) isophthalate; (c) terephthalate

よって識別することが可能であり、負電荷が接近しているゲスト陰イオンに対してより大きな電位応答を示す。又、いずれのシリーズのゲスト陰イオンの場合も電位応答の濃度依存性は電極 I のほうが電極 II よりも大きく、ネルンストの理論値に近い値を示した。

このことは次のように説明される。2種類のホスト分子を比較すると  $pK_a$  の違いのために中性から弱酸性溶液中で 1 のほうが電極膜界面でより多くのプロトンを取り込むことができると推定される。このことは事実 Fig. 2~5 のいずれの場合も相対的に電極 I の膜電位の表示値が電極 II のそれより絶対値として大きいことから支持されよう。膜中の感応素子が等モルなのでこのような比較が可能である。よって生成したホストポリ陽イオンの正電荷は 1 のほうが大きいと考えられる。大環状ポリアミンとゲスト陰イオンがホスト-ゲスト錯体を形成する際、ホスト分子の電荷が大きいほど分子間に働く静電的親和力が強くなり高い錯形成率を示す<sup>12)13)</sup>。一般に、錯形成率が高いほど膜電位変化は大きくなると考えられるが、より大きな正電荷を持つと考えられる 1 はゲスト陰イオンとより高い割合で錯形成するので大きな膜電位変化が起こり、選択性も結果的に高くなると考えられる。

### 3・3 電荷の大きさの異なる各種アデノシンヌクレオチド類に対する電位応答

Fig. 5 に電荷の大きさの異なるゲスト陰イオンとして ATP<sup>4-</sup>, ADP<sup>3-</sup>, AMP<sup>2-</sup> を用いた場合の電極 I, II

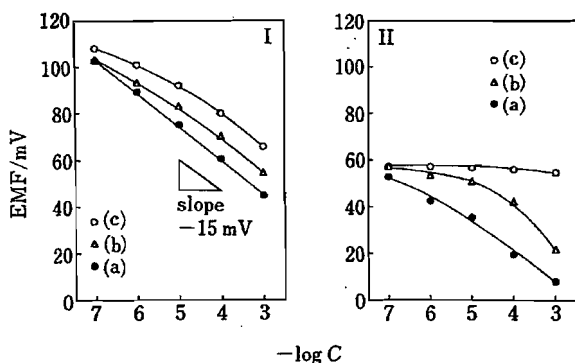


Fig. 5 Potentiometric response of the liquid membrane containing macrocyclic polyamine (1: I) or (2: II) as a sensory element toward a series of adenosine nucleotides in 0.01 M HEPES buffer at pH 6.7

(a)  $\text{ATP}^{4-}$ ; (b)  $\text{ADP}^{3-}$ ; (c)  $\text{AMP}^{2-}$

による電位応答の濃度依存性を示す。試料溶液は既報<sup>5)</sup>に従って HEPES 緩衝液を用い pH 6.7 に調製した。共に、 $\text{ATP}^{4-}$  (a) に対して最も大きな電位応答を示し、 $\text{ADP}^{3-}$  (b)、 $\text{AMP}^{2-}$  (c) の順に弱くなった。又、ここでも電位応答の濃度依存性は電極 I が電極 II より大きかった。電位応答の選択係数 (Table 1) は電極 I, II とも、 $\text{ATP}^{4-} > \text{ADP}^{3-} > \text{AMP}^{2-}$  の順に高い選択性を示した。両電極とも負電荷が最も大きい  $\text{ATP}^{4-}$  に対して最大の膜電位変化を示した。これはゲスト陰イオンの負電荷が大きいほどホストポリ陽イオンとの静電的相互作用が強まるためと考えられるが、電極 I により強い応答を示すのは、ジカルボン酸類をゲスト陰イオンとした場合と同様に、大きな正電荷を持つ 1 のほうがゲスト陰イオンとの間に働く静電的親和力が強く、高い錯形成率を示すためと考えられる。

### 3.4 ゲスト陰イオンに対する選択性

等モルのホストを用いた電極 I, II による各種ゲストに対する電位応答の選択性を比較すると、ゲスト陰イオンがジカルボン酸類の場合、両電極とも二つの負電荷が接近しているものに対して高い選択性を示した。電荷の大きさの異なるヌクレオチドをゲストとした場合、電荷の大きい陰イオンに対して高い選択性を示した。しかし、ホスト分子の環サイズの違いによる選択性の序列に変化はなかった。これは、大環状ポリアミンがゲスト陰イオンとホスト-ゲスト錯体を形成する際、主にゲストの電荷の集中度、あるいは電荷の大きさに起因する静電

的相互作用の強さが錯体の安定性を支配するため、クラウンエーテルなどの場合とは異なり、ホスト分子のサイズの違いによる効果は選択性の序列の変化という形では十分に反映されなかったためと思われる。陰イオンの識別という観点からホスト 1 と 2 を比較すると、プロトン化によってより大きな電荷を持ちゲスト陰イオンに対してより強い応答を示すホスト 1 のほうが、ゲストの電位応答識別に関して有利であるということが分かった。

### 文 献

- 1) 木村恵一, 庄野利之: 表面, **24**, 117 (1986).
- 2) D. Ammann, W. E. Morf, P. Anker, P. C. Meier, E. Pretsch, W. Simon: *Ion-Selective Electrode Rev.*, **5**, 3 (1983).
- 3) U. Wuthier, H. V. Pham, B. Rusterholz, W. Simon: *Helv. Chim. Acta*, **69**, 1435 (1986); P. Schulthess, D. Ammann, W. Simon, C. Caderas, R. Stepánek, B. Kräutler: *ibid.*, **67**, 1026 (1984).
- 4) E. Kimura: *Top. Curr. Chem.*, **128**, 113 (1985); 木村栄一: 有機合成化学, **44**, 871 (1986).
- 5) Y. Umezawa, M. Kataoka, W. Takami, E. Kimura, T. Koike, T. Nada: *Anal. Chem.*, **60**, 2392 (1988).
- 6) M. Kataoka, R. Naganawa, K. Odashima, Y. Umezawa, E. Kimura, T. Koike: *Anal. Lett.*, **22**, 1089 (1989).
- 7) S. Nagase, M. Kataoka, R. Naganawa, R. Komatsu, K. Odashima, Y. Umezawa: *Anal. Chem.*, **62**, 1252 (1990).
- 8) I. Tabushi, H. Okino, Y. Kuroda: *Tetrahedron Lett.*, 4339 (1976).
- 9) K. Srinivasan, G. A. Rechnitz: *Anal. Chem.*, **41**, 1203 (1969).
- 10) V. P. Y. Gadzekpo, G. D. Christian: *Anal. Chim. Acta*, **164**, 279 (1984).
- 11) M. Kodama, E. Kimura: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2335 (1976); M. Kodama, E. Kimura: *ibid.*, 104 (1978).
- 12) B. Dietrich, M. W. Hosseini, J. M. Lehn, R. B. Sessions: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 1282 (1981).
- 13) E. Kimura, A. Sakonaka, T. Yatsunami, M. Kodama: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3041 (1981).

☆

Comparison of potentiometric response behavior of liquid membranes incorporated with  $\text{N}_4$  and  $\text{N}_5$  lipophilic macrocyclic polyamines. Ryuichi NAGAWA, Masamitsu KATAOKA<sup>†</sup>, Kazunori ODASHIMA, Yoshio UMEZAWA\*, Eiichi KIMURA and Tohru KOIKE\*\* (\*Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Kita 10 Jo, Nishi 8 Chome, Kita-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 060; <sup>†</sup>Present address: Otaru University of Commerce, 3-5-21, Midori Otaru-shi,

Hokkaido 047; \*\*Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine, 1-2-3, Kasumi, Hiroshima-shi, Hiroshima 734)

A comparison of potentiometric responses of PVC-supported liquid membranes containing the same molar amounts of lipophilic  $N_4$  and  $N_5$  macrocyclic polyamines as anion receptors is described. Potentiometric discrimination was observed for a series of geometrical isomers (maleate and fumarate) and positional isomers (phthalate, isophthalate and terephthalate) of dicarboxylates, and for a series of adenosine nucleotides (5'-ATP, 5'-ADP, 5'-AMP). The order of selectivity for all the series of anionic guests was found virtually the same between the two electrodes containing the  $N_4$  and  $N_5$  hosts. For both electrodes, greater potentiometric responses were obtained for the dicarboxylate isomers with the shorter distance between the two negative charges, and

for the nucleotides having higher magnitude of charge. The slopes of the  $\log C$  vs.  $E$  curves with the  $N_5$  electrode were closer to a theoretical Nernstian value ( $-29.5$  mV/decade for divalent anions at  $25^\circ\text{C}$ ) than those with the  $N_4$  electrode for all the series of anionic guests. This may be attributed to stronger complexation with anionic guests by the  $N_5$  host, for which the cationic property due to protonation is expected to be stronger than for the  $N_4$  host.

(Received June 28, 1990)

**Keyword phrases**

charge effect of protonated macrocyclic polyamines; discrimination of geometrical isomers and positional isomers of dicarboxylates and adenosine nucleotides;