

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5834274号
(P5834274)

(45) 発行日 平成27年12月16日(2015. 12. 16)

(24) 登録日 平成27年11月13日(2015. 11. 13)

(51) Int. Cl. F 1
C O 7 D 471/04 (2006. 01) C O 7 D 471/04 1 1 2 T
G 2 1 C 17/02 (2006. 01) C O 7 D 471/04 C S P
G O 1 N 21/64 (2006. 01) G 2 1 C 17/02 F
 G O 1 N 21/64 F

請求項の数 4 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2012-34711 (P2012-34711)
 (22) 出願日 平成24年2月21日(2012. 2. 21)
 (65) 公開番号 特開2013-170141 (P2013-170141A)
 (43) 公開日 平成25年9月2日(2013. 9. 2)
 審査請求日 平成26年12月11日(2014. 12. 11)

(73) 特許権者 505374783
 国立研究開発法人日本原子力研究開発機構
 茨城県那珂郡東海村大字舟石川765番地
 1
 (73) 特許権者 504190548
 国立大学法人埼玉大学
 埼玉県さいたま市桜区下大久保255
 (74) 代理人 100145920
 弁理士 森川 聡
 (74) 代理人 100139103
 弁理士 小山 卓志
 (74) 代理人 100139114
 弁理士 田中 貞嗣
 (74) 代理人 100157118
 弁理士 南 義明

最終頁に続く

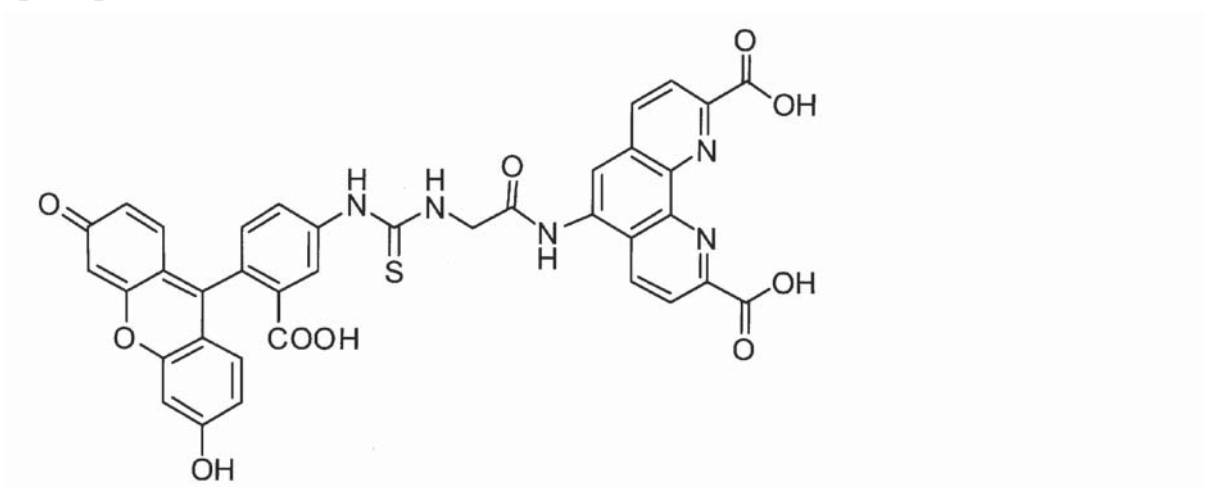
(54) 【発明の名称】 蛍光性ウラン錯体を形成する化合物、その合成方法、ウラン測定用蛍光プローブ及びウランの測定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記式で示される化合物。

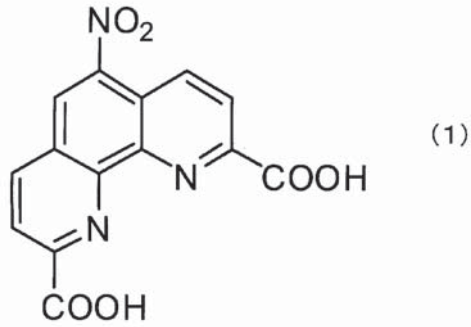
【化 1】



【請求項 2】

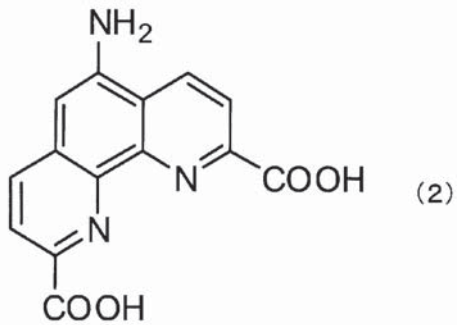
下記式(1)で示される化合物と水素が反応させられ、下記式(2)で示される化合物が得られる工程(a)、

【化 2】



10

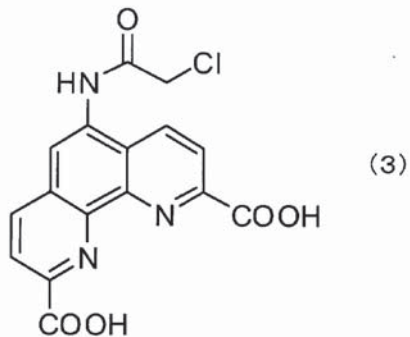
【化 3】



20

上記式 (2) で示される化合物とクロロアセチルクロリドが反応させられ、下記式 (3) で示される化合物が得られる工程 (b)、

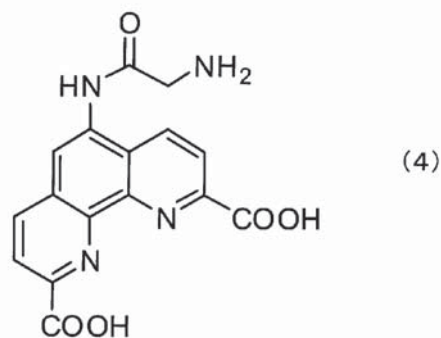
【化 4】



30

上記式 (3) で示される化合物とアンモニア水が反応させられ、下記式 (4) で示される化合物が得られる工程 (c)、

【化 5】



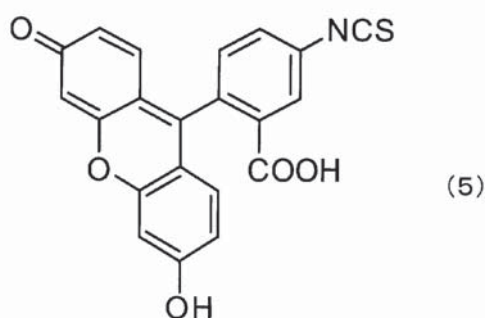
40

上記式 (4) で示される化合物と下記式 (5) で示されるフルオレセイン-4-イソチアネートが反応させられる工程 (d) が実施される、請求項 1 に記載された化合物の合成

50

方法。

【化 6】



10

【請求項 3】

請求項 1 に記載された化合物からなるウラン測定用蛍光プローブ。

【請求項 4】

ウランを含む試料と請求項 3 に記載されたウラン測定用蛍光プローブが混合され、蛍光性ウラン錯体が混合液中に形成される工程 (A)、

蛍光性ウラン錯体を含む混合液がキャピラリー中で電気泳動される工程 (B)、

蛍光強度が測定される工程 (C) が実施される、ウランの定性及び定量分析方法。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、安定な蛍光性ウラン錯体を形成する化合物、その合成方法、当該化合物からなるウラン測定用蛍光プローブ及び当該プローブが使用されるウランの測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

原子力発電所、放射性同位元素を扱う研究施設等の放射性物質を扱う施設から排出される廃液及び廃棄物はウラン化合物を含有し得る。当該廃液及び廃棄物がウラン化合物を含有する場合、当該廃液及び廃棄物が処分される前に、当該廃液及び廃棄物中のウラン濃度が測定されなければならない。従来、当該廃液及び廃棄物中のウランが、イオン交換樹脂、溶媒抽出等の煩雑な分離方法で分離され、当該廃液及び廃棄物中のウラン濃度が質量分析法により定量されていた。質量分析によるウランの検出限界値は ppq ~ ppt ($10^{-12} \sim 10^{-10}$ M) レベルであった。しかし、質量分析法で使用される機器は非常に高価であり、分析設備は廃液及び廃棄物に含まれる様々な放射性核種により広範に放射能汚染されやすい。

30

【0003】

一方、「配位部位—スペーサー—蛍光団」の構造よりなる金属測定用蛍光プローブと金属を含む試料が混合され、蛍光性金属錯体が形成され、当該蛍光性金属錯体がゲル中を電気泳動されて、試料中の金属が定性分析及び定量分析される方法が検討された (例えば、特許文献 1 及び 2 参照)。本発明の発明者らは、当該方法で使用された 2-(4-フルオロセイン-チオカルバミル-アミノベンジル)-エチレンジアミン四酢酸 (FTC-ABEDTA)、2-(4-フルオロセイン-チオカルバミル-アミノベンジル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (FTC-ABDOTA)、2-(4-フルオロセイン-チオカルバミル-アミノベンジル)-ジエチレントリアミン五酢酸 (FTC-ABDTPA)、N-[(R)-2-アミノ-3-(p-フルオロセイン-チオカルバミル-フェニル)プロピル]-トランス-(S, S)-シクロヘキサン-1, 2-ジアミン-N, N', N', N'', N''-五酢酸 (FTC-CHX-A"-DTPA) のそれぞれと UO_2^{2+} イオンからなる蛍光性ウラン錯体を形成し、当該蛍光性ウラン錯体を電気泳動に付して、試料に含まれるウランの定性分析及び定量分析を

40

50

試みた。しかしながら、これらの蛍光性ウラン錯体は不安定で、短時間プローブと金属に分解してしまい、試料に含まれるウランの定性分析及び定量分析は不可能であった。

【0004】

ところで、 UO_2^{2+} イオンと安定な錯体を形成する化合物が検討された（例えば、非特許文献1参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開2009-150650号公報

【特許文献2】特開2009-168450号公報

10

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Diane A. Blake 外5名、Biosensors & Bioelectronics 16, 2001, p799-809

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

近年、ウランを含む廃液及び廃棄物中のウランの安価な装置による定性分析法及び定量分析法が希求されていたが、このような方法は見出されていなかった。

本発明が解決しようとする課題は、安定な蛍光性ウラン錯体を形成する化合物とその合成方法の提供である。

20

本発明が解決しようとする別の課題は、上記化合物からなるウラン測定用蛍光プローブと当該プローブが使用されるウランの安価な定性及び定量分析方法の提供である。

【課題を解決するための手段】

【0008】

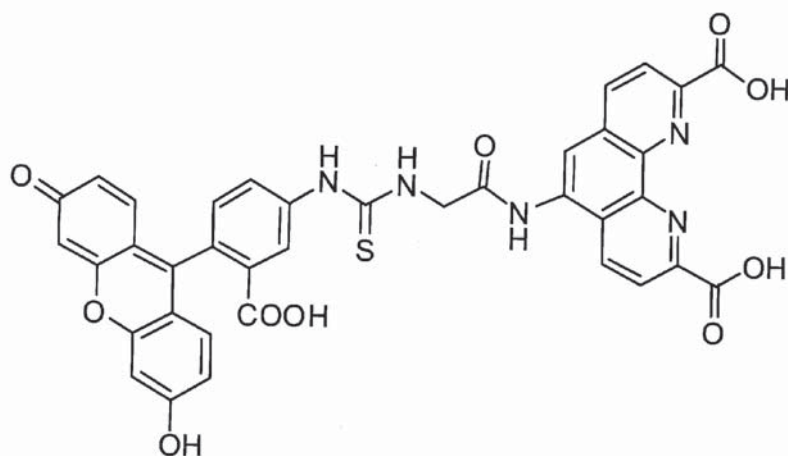
本発明の発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、特定の化合物がウランと安定な錯体を形成することを見出し、本発明を完成させた。

【0009】

本発明の化合物は、下記式で示される5-(2-(3-(3-carboxy-4-(3-hydroxy-6-oxo-6H-xanthen-9-yl)phenyl)thioureido)acetamido)1,10-phenanthroline-2,9-dicarboxylic acid (FTC-PDA)である。

30

【化1】



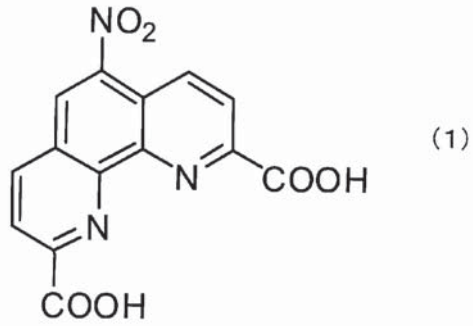
40

【0010】

下記工程(a)～(d)が、本発明の化合物の合成方法で実施される。

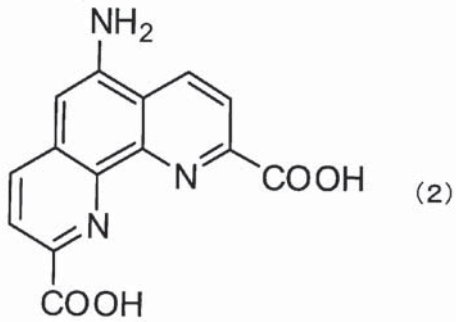
下記式(1)で示される化合物と水素が反応させられ、下記式(2)で示される化合物が得られる工程(a)、

【化 2】



10

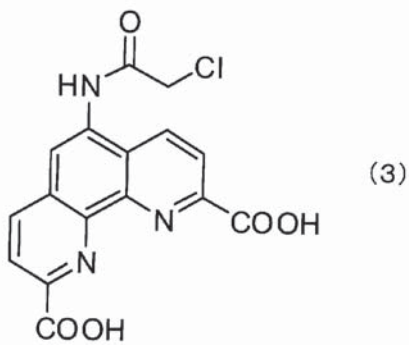
【化 3】



20

上記式 (2) で示される化合物とクロロアセチルクロリドが反応させられ、下記式 (3) で示される化合物が得られる工程 (b)、

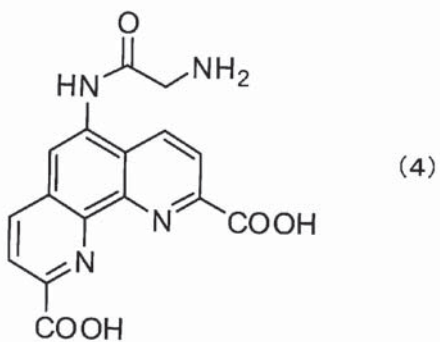
【化 4】



30

上記式 (3) で示される化合物とアンモニア水が反応させられ、下記式 (4) で示される化合物が得られる工程 (c)、

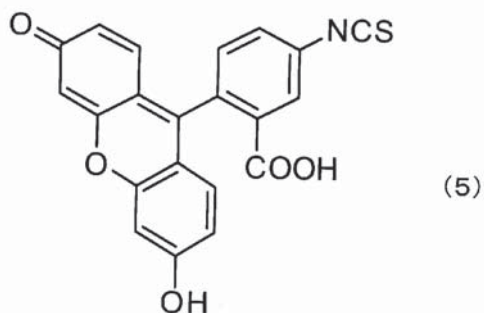
【化 5】



40

上記式 (4) で示される化合物と下記式 (5) で示されるフルオレセイン-4-イソチアネートが反応させられる工程 (d)

【化 6】



10

【0011】

本発明のウラン測定用蛍光プローブは上記化合物からなる。

下記工程（A）～（C）が、本発明のウランの定性及び定量分析方法で実施される。

ウランを含む試料と上記ウラン測定用蛍光プローブが混合され、蛍光性ウラン錯体が混合液中に形成される工程（A）、

蛍光性ウラン錯体を含む混合液がキャピラリー中で電気泳動される工程（B）、

蛍光強度が測定される工程（C）

【発明の効果】

【0012】

本発明の化合物は、 UO_2^{2+} イオンと安定な蛍光性ウラン錯体を形成する。本発明のウランの定性及び定量分析方法は、微量の試料と安価な機器で実施可能であり、ウランによる分析設備の汚染は少ない。本発明のウランの定性及び定量分析方法によるウランの検出限界値は数十pptレベルである。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】本発明の化合物の合成方法の一部を示す図

【図2】本発明の化合物と UO_2^{2+} イオンからなる蛍光性ウラン錯体を示す図

【図3】本発明のウランの定性及び定量分析方法で使用されるキャピラリー電気泳動装置を示す図

【図4】電気泳動図

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明の化合物の合成方法を、図1により説明する。

まず、上記式（1）で示される化合物が、Bioconjugate Chem., Vol. 15, No. 5, 2004, p1125-1136に記載方法に基づいて合成される。

【0015】

図1の式（A）で示される2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリンと、硝酸及び硫酸からなる混酸が反応させられ、図1の式（B）で示される5-ニトロ-2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリンが得られる。5-ニトロ-2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリンは二酸化セレンと反応させられ、図1の式（C）で示されるジアルデヒド化合物が得られる。当該ジアルデヒド化合物が酸化され、上記式（1）で示される化合物が得られる。

【0016】

上記式（1）で示される化合物は水素で還元され、上記式（2）で示される化合物が得られる。上記式（2）で示される化合物はクロロアセチルクロリドと反応させられ、上記式（3）で示される化合物が得られる。上記式（3）で示される化合物はアンモニア水と反応させられ、上記式（4）で示される化合物が得られる。上記式（4）で示される化合物は、上記式（5）で示されるフルオレセイン-4-イソチアネートと反応させられ、FTC-PDAが得られる。

50

【0017】

F T C - P D A は UO_2^{2+} イオンと安定な蛍光性ウラン錯体を形成する。光が当該錯体に照射されると、当該錯体は蛍光を発する。そこで、F T C - P D A はウラン測定用蛍光プローブとして使用される。当該錯体は、図2に示されるように、(蛍光部位) - (スペーサー) - (配位部位) からなると考えられる。

【0018】

図3は、本発明のウランの定性及び定量分析方法で使用されるキャピラリー電気泳動装置を示す図である。最初に、キャピラリー3内が泳動液で洗浄され、キャピラリー3内は泳動液で満たされる。次に、F T C - P D A と UO_2^{2+} イオンで形成された蛍光性ウラン錯体を含む試料溶液が入った容器が、+極側の泳動液が入った容器と交換され、圧力差又は落差により、当該試料溶液がキャピラリー3に注入された後、速やかに泳動液が入った容器が元の位置に戻される。その後、電源1に電荷が印加されると、当該錯体はキャピラリー3内の泳動液中を-極側の泳動液2' 方向へ移動する。レーザー光が移動途中の当該錯体に照射されると、当該錯体は蛍光を発する。当該蛍光の強度が検出され、ウランの定性及び定量分析が実施される。

10

【実施例】

【0019】

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されない。F T C - P D A の合成

硝酸(和光純薬工業(株)製特級原液) 5 mL及び硫酸(和光純薬工業(株)製特級原液) 10 mLが混合された混酸が、図1の式(A)で示される2, 9-ジメチル-1, 10-フェナントロリン(和光純薬工業(株)製) 0.5 gに加えられ、115℃で1時間加熱された。100 gの水が得られた溶液に加えられ、冷却された溶液のpHが水酸化ナトリウムで8.0に調整された。生成した沈殿が濾過され、110℃で乾燥され、図1の式(B)で示される5-ニトロ-2, 9-ジメチル-1, 10-フェナントロリンが得られた。

20

【0020】

次に、1 gの5-ニトロ-2, 9-ジメチル-1, 10-フェナントロリンと1 gの二酸化セレンの混合物が5 mLの96%ジオキサン水溶液に溶解され、3時間加熱還流され、セライトパッド(登録商標)(Celite Corporation製)で濾過された。図1の式(C)で示されるジアルデヒド化合物が黄赤色の沈殿として得られた。当該ジアルデヒド化合物が、10 mLの硝酸(和光純薬工業(株)製特級原液)で3時間加熱還流され、得られた溶液が水で冷却され、沈殿物が得られた。当該沈殿物がテトラヒドロフラン水溶液で再結晶させられ、上記式(1)で示される化合物が得られた。

30

【0021】

110 mgの上記式(1)で示される化合物が5 mLのエタノールに溶解され、15 mgのパラジウム触媒(Aldrich社製パラジウム炭素、パラジウムの担持率10%)が更に添加され、水素ガス圧60 psiで水素化還元が実施され、上記式(2)で示される化合物が溶解する溶液が得られた。当該溶液が空気に触れると、当該溶液の色が黄色から鮮紅色に変色した。10 mLの3M塩酸が変色した溶液に添加され、パラジウム触媒が濾過により除去された。次いで、0℃で減圧が実施され、エタノールが蒸発させられた。20 mLのジクロロメタンで希釈された0.42 mLのクロロアセチルクロリド溶液が、攪拌されている溶液に添加され、溶液は室温で一晩攪拌され続けた。得られた2相の混合物が減圧蒸留され、固体が得られた。当該固体が10 mLの冷水で洗浄され、減圧下で乾燥され、上記式(3)で示される化合物が得られた。

40

【0022】

上記式(3)で示される化合物100 mgは20 mLの25%アンモニア水とシールドチューブの密閉された系内で25℃で16時間反応させられ、上記式(4)で示される化合物が得られた。

60 mgの上記式(4)で示される化合物が2 mLの 10^{-2} Mマレイン酸緩衝水溶液に

50

懸濁させられ、2 mL のテトラヒドロフランが懸濁液に添加されて溶解された。更に、68 mg の上記式 (5) で示されるフルオレセイン-4-イソチアネート (Aldrich社製) が混合され、暗所にて40℃で12時間加熱された。そして、本発明の化合物であるFTC-PDAが、高速液体クロマトグラフィー装置 (日本分光 (株) 製HPLC-2000) とカラム (サーモサイエンティフィック (株) 製Hyperasil BDS C18) により、反応生成物から分離された。アセトニトリル (A液) と0.1%トリフルオロ酢酸水溶液 (B液) が移動相として使用され、A液とB液の体積比 (A/B) が、開始時5/95、開始時~6分後まで5/95、6分~15分後まで40/60、15分~20分後まで90/10と変化するグラジエント法が採用され、移動相の流量は1.20 mL/min、カラム温度は30℃とされた。ピークが開始から18.4分後に現れ、その時点で集められた溶液の溶媒が減圧下で蒸発させられ、本発明の化合物であるFTC-PDA 52 mg が精製された。

10

【0023】

各種溶液の調製

(1) ウラン測定用蛍光プローブ水溶液の調製

精製されたFTC-PDAが秤量され、超純水に溶解されて、 10^{-3} M水溶液が調製された。なお、FTC-PDAが超純水に溶解されない場合、水酸化ナトリウム溶液 (関東化学 (株) 製、等級 Ultrapur) が添加される。

【0024】

(2) ウラン溶液の調製

ICP-MS (誘導結合プラズマ質量分析装置) で検定されたウラン標準溶液が希釈され、 2.0×10^{-5} Mのウランを含む0.1 M硝酸溶液が調製された。

20

【0025】

(3) ホウ酸水溶液の調製

ホウ酸 (MERCK社製、純度99.9999%) が超純水に溶解され、0.1 Mホウ酸水溶液が調製され、当該水溶液のpHが水酸化ナトリウム溶液 (関東化学 (株) 製、等級 Ultrapur) で10.0に調整された。

【0026】

(4) トランス-1, 2-ジアミノシクロヘキサン-N, N, N', N'-四酢酸 (CyDTA) 水溶液の調製

CyDTA ((株) 同人化学研究所製、純度99.0%) が超純水に溶解され、 10^{-3} MのCyDTA水溶液が調製された。なお、CyDTAが超純水に溶解されない場合、水酸化ナトリウム水溶液が添加される。

30

【0027】

試料溶液の調製

上記ウラン測定用蛍光プローブ水溶液、ウラン溶液及びホウ酸水溶液が混合され、3 M水酸化ナトリウム水溶液 (関東化学 (株) 製、等級 Ultrapur) が添加され、ウラン測定用蛍光プローブ濃度が 5.0×10^{-7} M、ウラン濃度が 5.0×10^{-8} M、ホウ酸濃度が 2.0×10^{-2} M、pHが9.6~10.0である試料溶液が調製された。

【0028】

泳動液の調製

上記ホウ酸水溶液及びCyDTA水溶液が混合され、上記3 M水酸化ナトリウム水溶液が添加され、ホウ酸濃度が 2.0×10^{-2} M、CyDTA濃度が 2.5×10^{-5} M、pHが10.0である泳動液が調製された。

40

【0029】

キャピラリー電気泳動

電気泳動装置はAgilent Technologies社製G7100、検出器はレーザー励起蛍光検出器 (Picometrics社製ZETALIF Discovery)、レーザー光源はMelles Griot社製Blue Solid-State Laser System 85-Z48804、励起波長は488 nmであった。キャピラリーは集光レンズ付き溶融シリカキャピラリー (Picometrics社製、内径50 μm、外径375 μm

50

、全長69cm、有効長50cm)であった。

【0030】

キャピラリーが1M水酸化ナトリウム水溶液で20分間、超純水で20分間、上記泳動液で10分間順次洗浄された。次に、キャピラリー内が上記泳動液で満たされ、5nLの試料溶液が圧力50mbar、注入時間5秒で加圧法により+極側からキャピラリー内に注入され、20kVの電圧が印加され、電気泳動装置の温度が25℃とされて電気泳動が実施された。レーザー励起蛍光検出器のレーザー出力は8mA、光電子増倍管の電圧は570Vであった。図4は電気泳動図である。FTC-PDAとUO₂²⁺イオンで形成された蛍光性ウラン錯体のピーク(図4のUO₂²⁺)及びFTC-PDAのピーク(図4のL)が検出され、FTC-PDAがウラン測定用蛍光プローブとされるキャピラリー電気泳動法で、ウランの定性分析が可能であるとわかった。

10

更に、検量線法による定量分析も可能であるとわかった。検出限界値は3.5×10⁻¹⁰M程度であった。なお、上記泳動液による洗浄が分析と別の分析の間に5分間実施された。

【産業上の利用可能性】

【0031】

本発明の化合物は、UO₂²⁺イオンと安定な蛍光性ウラン錯体を形成する。当該錯体はキャピラリー中で電気泳動され、当該錯体が発する蛍光の強度が測定される。従って、本発明の化合物は、安価な電気泳動装置が用いられるウランの定性及び定量分析方法で使用される蛍光プローブとして使用され得る。

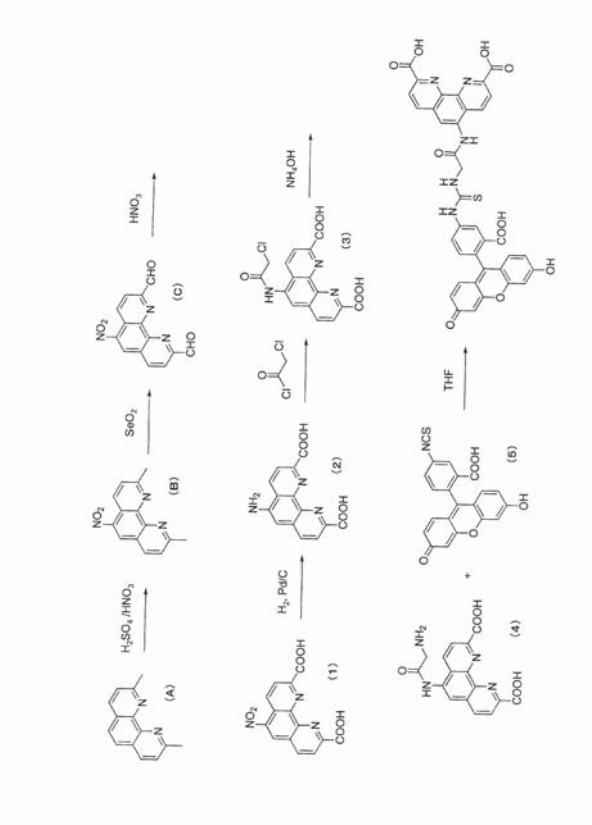
20

【符号の説明】

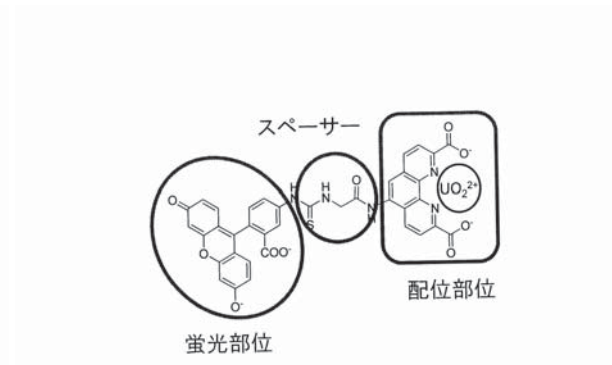
【0032】

1…電源、2, 2'…泳動液、3…キャピラリー

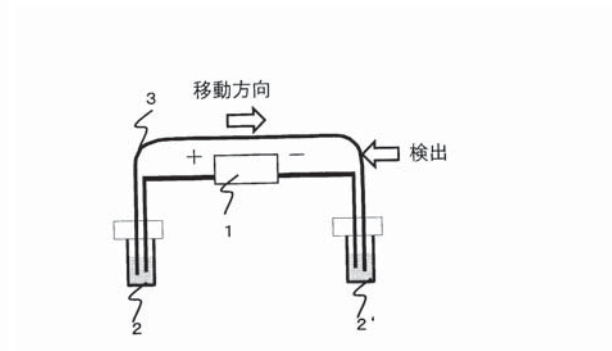
【図1】



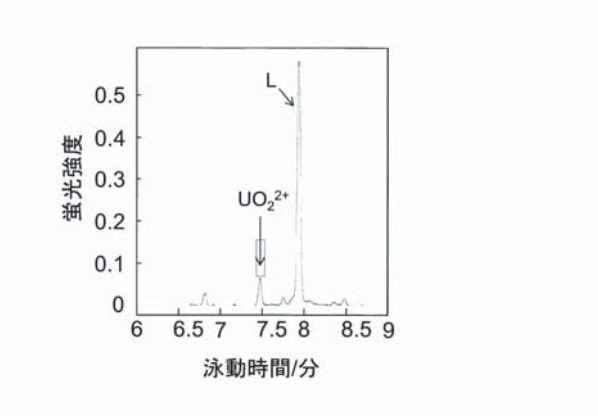
【図2】



【図3】



【図 4】



フロントページの続き

- (72)発明者 原賀 智子
茨城県那珂郡東海村白方白根2番地4 独立行政法人日本原子力研究開発機構 東海研究開発センター原子力科学研究所内
- (72)発明者 齋藤 伸吾
埼玉県さいたま市桜区下大久保255 国立大学法人埼玉大学大学院理工学研究科内
- (72)発明者 佐藤 義行
埼玉県さいたま市桜区下大久保255 国立大学法人埼玉大学大学院理工学研究科内

審査官 黒川 美陶

- (56)参考文献 特開2009-168450 (JP, A)
特開2009-150650 (JP, A)
国際公開第2011/014042 (WO, A2)
Kristy M. DiVittorio, et al., Org. Biomol. Chem., 2006年, Vol.4, pp.1966-1976
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D
CAplus/REGISTRY (STN)