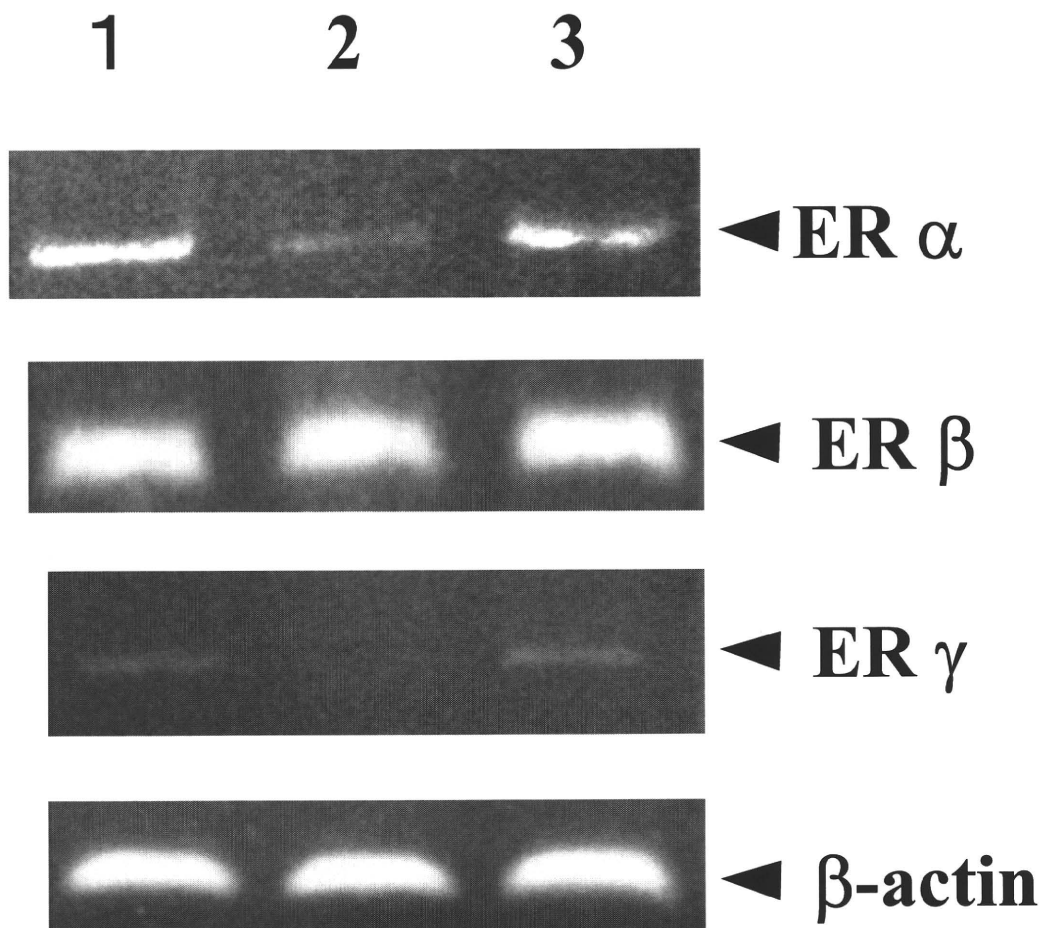


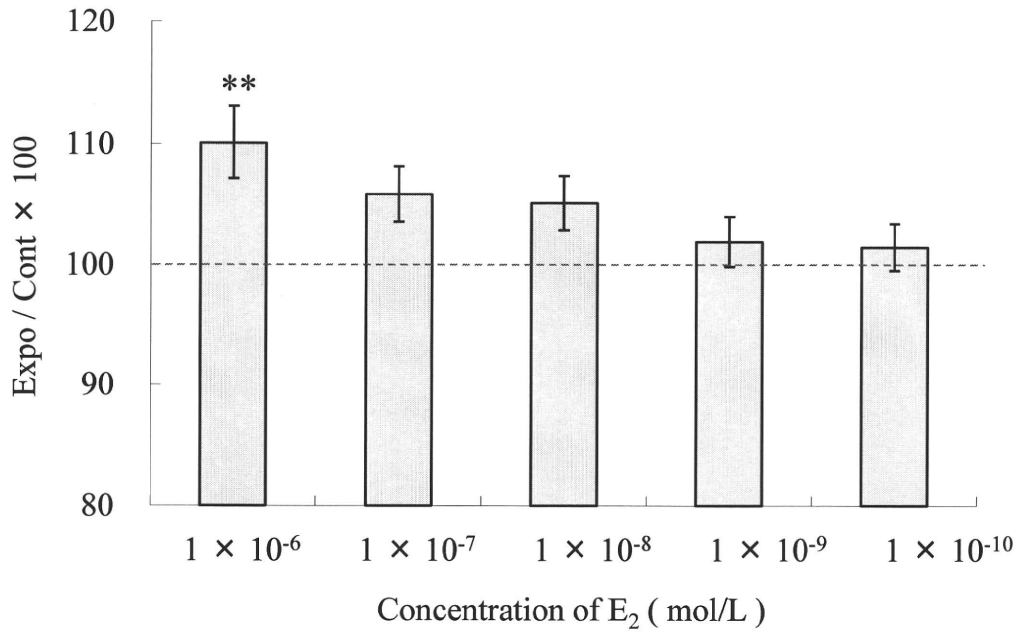
Fig. 16 Ratio of living cells by BaA treatment.



**1 : Intact Scale**  
**2 : Regenerating Scale**  
**3 : Ontogenic Scale**

Fig. 17 Expression analysis of estrogen receptor (ER) by RT-PCR methods

(A : ALP activity)



(B : TRAP activity)

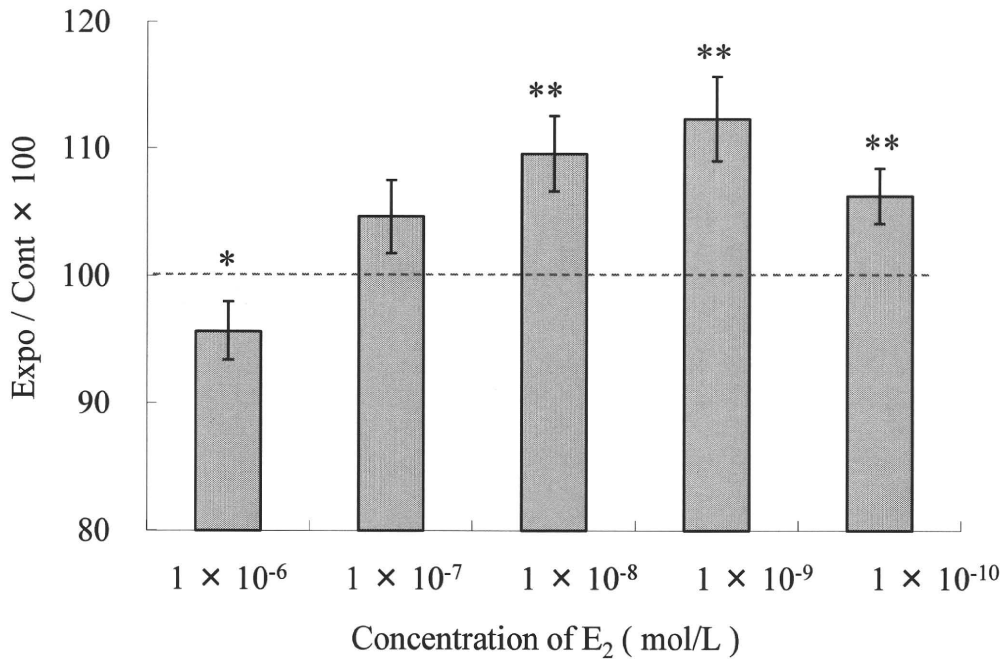
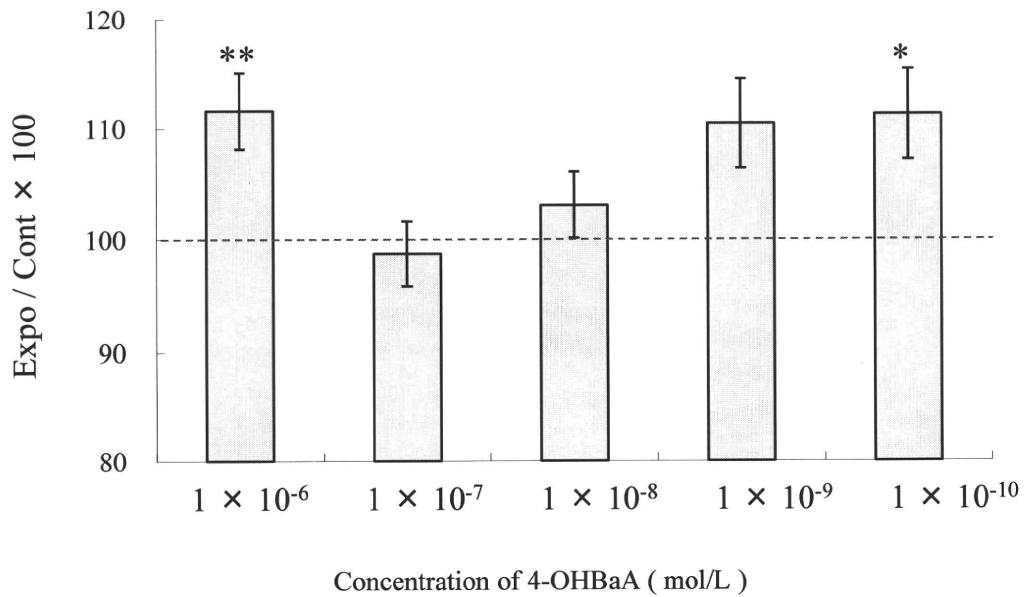


Fig. 18 Effect of E<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup> mol/L ~ 10<sup>-10</sup> mol/L) on (A) ALP and (B) TRAP activities in the scales of goldfish.  
(\* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01, \*\*\* : P < 0.001)

(A : ALP activity)



(B : TRAP activity)

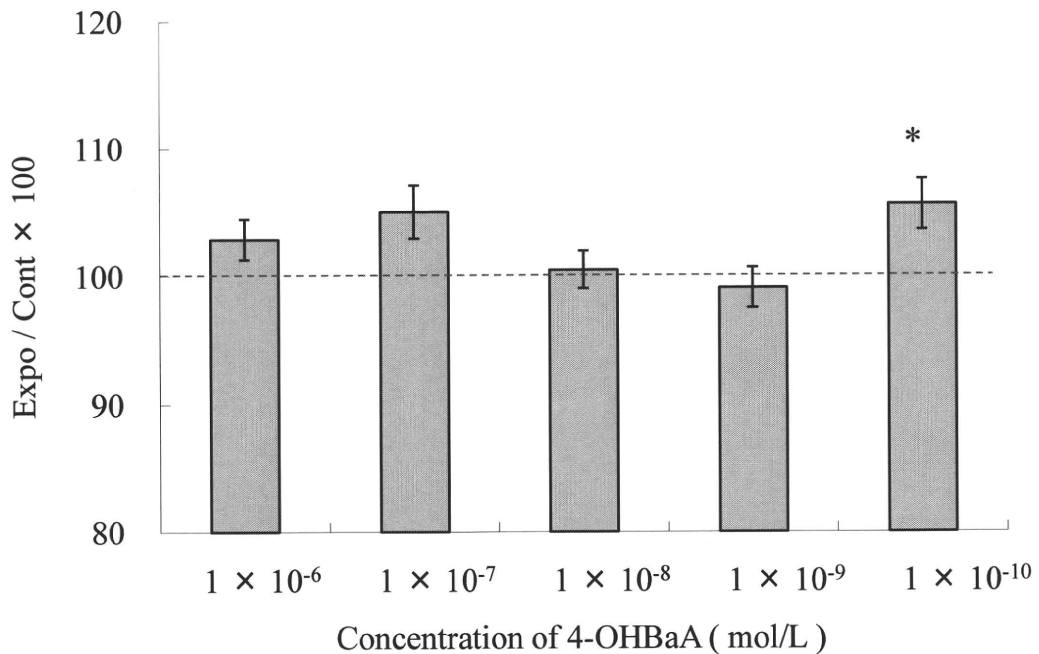


Fig. 19 Effect of 4-OHBaA ( $10^{-6}$  mol/L ~  $10^{-10}$  mol/L) on (A) ALP and (B) TRAP activities in the scales of goldfish. (\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ )



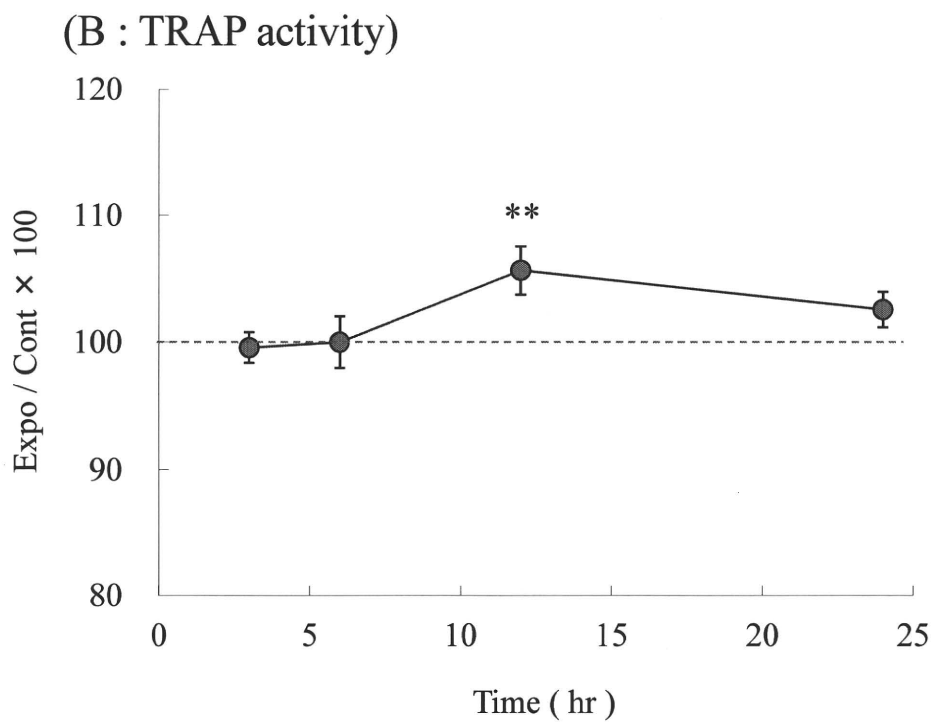
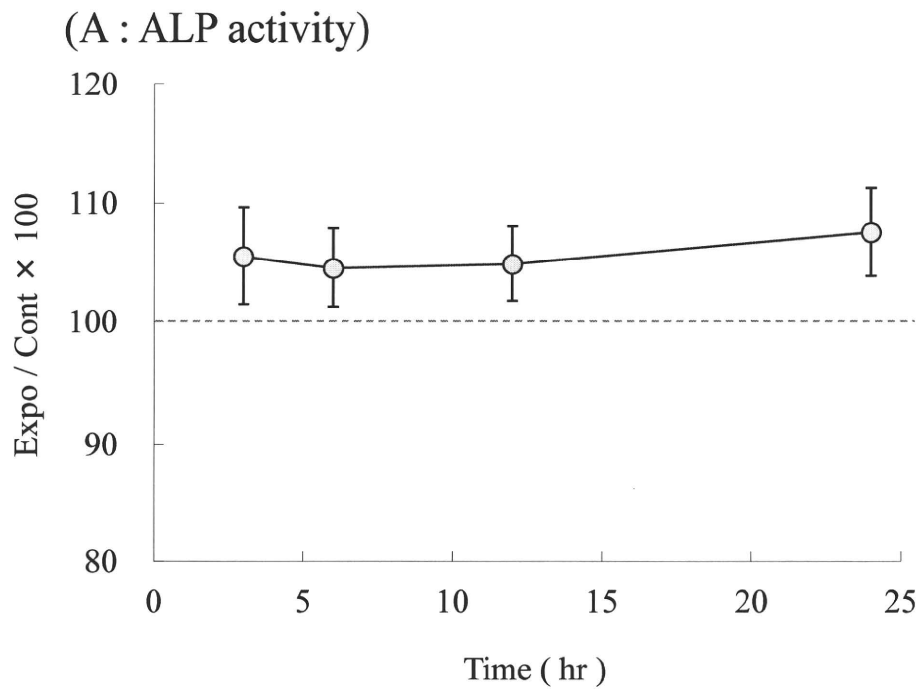


Fig. 20 Time course of the effect of BaA ( $10^{-6}$  mol/L) on (A) ALP and (B) TRAP activities in the scales of goldfosh.  
 (\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ )

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の構造活性相関に基づく毒性評価システム  
に関する研究  
平成 22 年度分担研究報告書

有機化合物の純度決定に関する研究  
-NMRを用いた水酸化多環芳香族炭化水素化合物の絶対純度測定-

研究分担者 杉本 直樹 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長  
研究協力者 田原麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 研究員  
研究協力者 西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長

研究要旨

環境中の多環芳香族炭化水素(PAH)類について国際単位系(SI)にトレーサブルな信頼性の高い分析法を構築するために、定量核磁気共鳴法(定量NMR: quantitative NMR (qNMR))を応用し、入手可能であった9種の水酸化PAH類(OHPAH)の市販試薬について計量学的に信頼性の高い純度値を求めた。その結果、OHPAH市販試薬製品の純度値は、 $93.4 \pm 0.4 \sim 101.6 \pm 0.2 \%$  (AV $\pm$ RSD)であり、市販試薬製品により大きく異なることがわかった。また、市販試薬製品に記載されていたGC面積百分率による純度値は、98.0%または99.0%以上であり、9製品中7製品はqNMRにより記載通りの純度が確認できたが、純度値の記載がなかった1,6-dihydroxynaphthalene (1,6-(OH)<sub>2</sub>Np)および4-hydroxybenzo[a]anthracene (4-OHBaA)の純度値は93.4%および94.3%であった。仮にこれらの純度を100%として定量用標準品の代用とし、検量線を作成し定量分析を行ったとすると、得られる定量値は6.6および5.7%の誤差を生じることになることが示唆された。

A. 研究目的

環境中の有機化合物の分析法には、分離能および微量分析能に優れた質量分析計(MS)を検出器としたクロマトグラフ法が広く採用されている。ガスクロマトグラフ(GC)や液体クロマトグラフ(HPLC)をMSと組み合わせたGC/MSやLC/MSは、既知物質の同定や未知物質の推定に極めて有用な質量情報を与え、また、観察された測定対象の分子量関連イオンをモニターすることによって超高感度の定量分析を可能とする重要な手法となっている。

一方、環境分析においては、水や空気など常に流動的なものが分析対象となる場合が多く、

再度サンプリングを行っても同一の試料を得ることができないため、正確且つ信頼性の高い分析結果を得ることが求められている。実際に、近年、分析結果の信頼性を確保するために、繰り返し精度はもちろんのこと、試料調製から分析法までの一連の操作についてバリデーションあるいはクロスチェックの実施が要求されることが多くなっている。

GC/MSを分析機器とした環境薬学分析法の一連の操作をFig. 1に示した。分析操作の過程には、①試料の採取、②試料調製、③標準物質の入手、④検量線作成、⑤定量分析(データ解析)があり、これらのすべての過程が正確に行われ

なければ、得られた定量分析値の信頼性は確保できない。①の試料の採取に関しては前述したように、サンプリング方法と数が重要であり、②④⑤に関しては、方法論および実際の操作の妥当性検証の実施が要求される。特に、③に関しては、定量分析の結果の精度に大きく影響を与えるため、純度や含量が正確に値付けられた標準品の入手が可能であるか、あるいは、入手した標準品の純度の確認が重要であるかが重要である。しかしながら、①②④⑤の過程では再現性や妥当性試験が行われているが、③の標準品に関しては科学的な根拠に基づく純度の証明がほとんどの場合なされていないという問題が無視されている。GC/MS や LC/MS 等の機器分析では、分析対象の有機化合物の標準品(標準物質)には純度が正確に値付けられていることが前提となっており、実際に、標準品あるいはその代用に用いられた市販試薬製品に表示された純度値や含量値の真否が具体的に問われることは通常まれである。仮に少しでも純度に疑義がある場合は同じロットの製品を用いることで純度の差異に由来する実験誤差を極力小さくし、その研究方法や実験系自体の再現性を確保しているのが現状である。すなわち、いずれにしても標準品の絶対的な純度や含量がわからない以上、得られた定量分析値の信頼性は厳密な意味で確保できていないと言える。

物質量の絶対値は、国際単位系(International System of Units: 以下、SI)にトレーサブルな測定によって得られると定義されている。このような測定法は「一次標準測定法」と呼ばれている。市場に流通する「実用標準物質」は、「国家標準物質(NMIJ CRM)」を介して同じ物質同士の校正の連鎖で SI トレーサビリティを確保している(計量標準供給制度(JCSS : Japan Calibration Service System))。「国家標準物質」は SI にトレーサブルな方法である上述の「一次標準測定法」を利用して厳密に値付けを行っている。この「国家標準物質」を利用して「二次標準物質」、次いで「実用標準物質」を段階的に

校正しつつ量的な拡大を行い、市場に要求される量を供給している(Fig. 2 左)。この標準物質供給システムは必ず同じ物質の上位標準を 1 対 1 の関係で参照して SI へのトレーサビリティを確保している。したがって、滞りなく段階的な校正が行われ、最終的に「実用標準物質」=「市販標準品」の関係が成り立っていれば、その純度値について疑うべき問題は全くない。しかしながら、分析・評価対象となる有機化合物の標準品や試薬の供給について市場の要求は絶え間なくあるため、結果として、それぞれの試薬会社はその要求に応えるべく、各社独自の方法、例えば、比吸光度あるいはクロマトグラム上で観察される主ピークの面積百分率などから純度や含量を品質保証の目的で値付けて供給している。すなわち、ほとんどの市販標準品や試薬は、「国家標準物質」を上位標準とした標準物質供給システムで値付けされては供給されておらず、SI トレーサビリティの連鎖から外れているため、極端に言えば、これらに表示された純度値を保証する根拠はないに等しいということになる。

このような背景から、我々は、定量分析値の精度と信頼性を向上するために、SI にトレーサブル且つ測定対象の標準品を必要としない新規分析法の開発を行っている。今年度は、早川和一研究分担者の担当研究課題の主要被検化合物の内から水酸化多環芳香族炭化水素 9 種を選択し、それらの市販試薬の絶対純度を核磁気共鳴装置(quantitative NMR: qNMR)により測定し、SI への計量トレーサビリティの確保を行い、その結果をフィードバックした。

## B. 研究方法

### 1. 試薬および試料

高純度ヘキサメチルジシラン(hexamethyl disilane: HMD)は、和光純薬工業株式会社製特注品、重アセトン(acetone- $d_6$ )は、Isotec 製(99.9 atom %D)を用いた。フタル酸ジエチル(diethyl

phthalate: DEP)は、独立行政法人 産業技術総合研究所製の認証標準物質(NMIJ CRM 4022-b: 純度 99.98 ± 0.09 w/w % (99.74 ± 0.09 mol/mol %))を用いた。水酸化ナフタレン類 8 種は、1-hydroxynaphthalene (1-OHNp), 2-hydroxynaphthalene (2-OHNp), 1,3-dihydroxynaphthalene (1,3-(OH)<sub>2</sub>Np), 1,5-dihydroxynaphthalene (1,5-(OH)<sub>2</sub>Np), 1,6-dihydroxynaphthalene (1,6-(OH)<sub>2</sub>Np), 2,3-dihydroxynaphthalene (2,3-(OH)<sub>2</sub>Np), 2,6-dihydroxynaphthalene (2,6-(OH)<sub>2</sub>Np), 2,7-dihydroxynaphthalene (2,7-(OH)<sub>2</sub>Np)はすべて和光純薬工業株式会社製、4-hydroxybenzo[a]anthracene (4-OHBaA)は金沢大学 早川和一教授および戸次加奈江博士から分与された市販試薬を試料として用いた。測定に供した OHPAH の構造式を Fig. 3 に、市販試薬のグレードおよび Lot 番号を Table 1 に示す。

## 2. 装置

核磁気共鳴装置(NMR): オートサンプラー付き JNM-ECA (600 MHz) (日本電子(株)製)。qNMR および qNMR 多変量解析のケミカルシフト値は、HMD を基準シグナル(0 ppm)とし、 $\delta$  値を ppm 単位で表した。

ウルトラマイクロ天秤: XP2U (メトラートレド製)。試料の秤量値は、特に断りのない限り、最小目盛 0.0001 mg まで読み取った値を用いた。

なお、標準液および試料溶液の調製には、化学用体積計(20~100 mL メスフラスコ)または電動オートピペッター(マルチピペット Xstream (エッペンドルフ製)、10 mL (不確かさ ± 0.4%)、1~5 mL (不確かさ ± 0.5%))を用いた。

## 3. qNMRによるOHPAHの純度決定

### 3-1. qNMR 標準液の調製および濃度校正

qNMR 標準液の調製および標準液中の HMD の濃度校正は既報に準じた。すなわち、HMD 約

100 mg を精密に量り取り、acetone-*d*<sub>6</sub> 25 mL に定容した。この溶液を acetone-*d*<sub>6</sub> で 5 倍希釈したものを qNMR 用標準液とした。qNMR 用標準液中の HMD の濃度 186.6 ± 0.4 μg/mL (n = 3, AV ± SD)を下記に従い、DEP により校正して求めた。すなわち、CRM の一つである DEP 約 10 mg を精密に量り取り、qNMR 用標準液 1.0 mL に溶解した。この溶液 0.6 mL を NMR 試験管(5 mm φ × 200 mm, (Wilmad LabGlass 社製, Part No. 507-PP-8)に封入したものを HMD 濃度校正用試料溶液とした。この溶液を qNMR に付し、DEP の CH<sub>2</sub> × 2 および HMD の CH<sub>3</sub> × 6 に由来するシグナル面積、分子量、濃度等を式(1)に代入し、qNMR 用標準液中の HMD の濃度を校正した。

$$W_{HMD} = \frac{M_{HMD} \times I_{HMD}}{H_{HMD}} / \frac{M_{DEP} \times I_{DEP}}{H_{DEP} \times W_{DEP}} \times \frac{P_{DEP}}{100} \quad \text{--- (1)}$$

ただし、 $W_{HMD}$ ,  $W_{DEP}$  = HMD および DEP の濃度(mg/mL)、 $M_{HMD}$ ,  $M_{DEP}$  = HMD および DEP の分子量 (146.38 および 222.24)、 $H_{HMD}$ ,  $H_{DEP}$  = HMD の CH<sub>3</sub> × 6 および DEP の CH<sub>2</sub> × 2 のプロトン数、 $I_{HMD}$ ,  $I_{DEP}$  = HMD の CH<sub>3</sub> × 6 および DEP の CH<sub>2</sub> × 2 のシグナル面積、 $P_{DEP}$  = DEP の純度 (99.98 w/w%)。

### 3-2. OHPAH の純度決定

OHPAH 標準品を約 10 mg 精密に量り取り、予め調製した qNMR 用標準液 1.0 mL に溶解した。4-HBA は秤量が不可能であったため、試薬瓶に表記され 2.102 mg を秤量値とし、qNMR 用標準液 1.0 mL で溶解し 2.102 mg/mL とした。これらの溶液 0.6 mL を NMR 試験管に封入したものを試料溶液とした。この試料溶液を qNMR に付し、HMD のシグナル強度面積、OHPAH に由来するそれぞれの特定シグナルの相対面積、分子量、濃度等を式(2)に代入し、OHPAH の純度

を算出した。この一連の操作を3試行し、各シグナルより算出された純度値の平均を最終的に OHPAH の純度値として表した。

$$P_{\text{OHPAH}} = \frac{I_{\text{OHPAH}} / H_{\text{OHPAH}}}{I_{\text{HMD}} / H_{\text{HMD}}} \times \frac{M_{\text{OHPAH}} / W_{\text{OHPAH}}}{M_{\text{HMD}} / W_{\text{HMD}}} \times 100 \quad \text{--- (2)}$$

ただし、 $W_{\text{HMD}}$ ,  $W_{\text{OHPAH}} = \text{HMD}$  および OHPAH の濃度(mg/mL)、 $M_{\text{HMD}}$ ,  $M_{\text{OHPAH}} = \text{HMD}$  および OHPAH の分子量(146.38 および Table 1)、 $I_{\text{HMD}}$ ,  $I_{\text{OHPAH}} = \text{HMD}$  および OHPAH の特定基のシグナル強度面積、 $H_{\text{HMD}}$ ,  $H_{\text{OHPAH}} = \text{HMD}$  および OHPAH の特定基のプロトン数、 $P_{\text{OHPAH}} = \text{OHPAH}$  の純度(%)。

### 3-3. qNMR 測定条件および解析処理

qNMR 測定条件の基本情報は Table 1-2 に示した。qNMR データ解析には、得られた Free Induction Decay (FID)信号データを定量解析ソフトウェア(日本電子(株)製、Alice2 for qNMR)に導入して自動処理した。すなわち、このソフトウェア上で、qNMR データをフーリエ変換(および自動位相調整を行い、HMD および特定シグナルの積分範囲設定等を設定後、予め入力した HMD および OHPAH の濃度、分子量、特定基のプロトン数等の化合物情報から自動解析処理を行い、定量値(純度%)を式(2)に従い算出した。

## C. 結果及び考察

### 1. qNMR による純度測定の実理

有機化合物は炭素、水素、酸素などが共有結合した分子である。異なる分子構造で異なる物性値を持つ分子であっても、構成する最小単位と同種の原子同士は等価である。qNMR は、この原子レベルの比較分析である。定量用に最適

化された  $^1\text{H-NMR}$  では、化学シフトの異なる各シグナルの面積比は、分子上の各炭素に結合した水素原子の数の比に対応し、測定対象の化合物の分子構造に関わらず、すべて水素原子が定量的な信号として観測される。このことから、化合物 A の特定の置換基上の水素のシグナル面積( $I_A$ )は、置換基上の水素の数( $H_A$ )×化合物 A のモル濃度( $m_A$ )として観察される(式1の分子)。別の分子構造の化合物 B の特定の置換基上の水素のシグナル面積( $I_B$ )についても同様な関係式が当然成り立つ(式1の分母)。よって、2つのシグナルが異なる化合物(A, B)に由来する場合には個々のシグナル面積と化合物のモル濃度は式1の関係式で表すことができる。さらに純度が明らかな化合物を基準物質として用いれば、モル比と溶液の調製値の関係から測定対象のあらゆる有機化合物の純度を決定できる式2の関係が成り立つ。qNMR は、式2を利用した分析技術である。したがって、式2からわかるように「物質量の基準となる別の化学物質を用い、それとの比較において目的の化学物質の物質量を測れる方法」であり、前述の「一次標準測定法」のうち「一次比率法」の資格を有する測定法であると言える。このことから、qNMR はこれまでの標準物質供給システムを刷新する手法として国内外の研究機関および試薬会社より注目され始めている(Fig. 2 右)。

$$\frac{I_A}{I_B} = \frac{H_A m_A}{H_B m_B} = \frac{H_A W_A / M_A}{H_B W_B / M_B} \quad \text{---(1)}$$

$$P_{\text{sample}} = \frac{I_{\text{sample}} / H_{\text{sample}}}{I_{\text{std}} / H_{\text{std}}} \times \frac{M_{\text{sample}} / W_{\text{sample}}}{M_{\text{std}} / W_{\text{std}}} \times P_{\text{std}} \quad \text{---(2)}$$

ただし、 $I$  = シグナル面積、 $H$  = 特定基のプロトン数、 $m$  = モル濃度、 $W$  = 重量、 $M$  = 分子量、 $P$  = 純度%、sample = 測定対象の有機化合物、std = 基準物質。

## 2. SI トレーサビリティの確保

従来の定性分析用の  $^1\text{H-NMR}$  測定条件では、分子上の水素原子の数が整数比で確認されれば、構造解析に必要な情報が十分に得られるので  $\text{NMR}$  現象の定量性を犠牲にして検出感度を優先した測定条件に設定されている。一方、 $\text{qNMR}$  では、分析対象の化合物の分子上の原子の数が信号強度が正確に比例して観察されることが必須条件であるので、 $\text{qNMR}$  用に測定条件の最適化が必要である。そこで各種測定パラメータを検証した結果、Table 2 に示す測定条件が最適化された。

また、 $\text{qNMR}$  によって得られる測定値の SI への計量トレーサビリティを Fig. 3 に示す様に実現した。認証標準物質(CRM)である NMIJ CRM 4022-b (ジエチルフタレート(DEP)(有機溶媒系用))を一次標準(上位標準)として用い、 $\text{qNMR}$  標準液中の HMD の濃度を校正した後に、HMD を二次標準として測定対象化合物の  $\text{qNMR}$  測定を行う 2 段階の方式を用いることとした。すなわち、 $\text{qNMR}$  の基準物質として HMD を用いた際の測定対象の化合物の定量値の SI トレーサビリティは、CRM である DEP を介して実現された。

$\text{qNMR}$  による定量分析の実際の手順を Fig. 4 に示した。まず、校正用試料として  $\text{qNMR}$  基準物質と CRM を混合したものを調製して測定を行い、シグナル面積と濃度比の関係から  $\text{qNMR}$  基準物質の正確な純度または濃度を値付ける。次に、正確に値付けられた  $\text{qNMR}$  基準物質と分析対象化合物を混合したものを調製して測定と解析を行うことによって、分析対象化合物の純度または濃度の絶対量が求められる。なお、 $\text{qNMR}$  による 1 測定当たりの所要時間は約 10-20 分であり、かつ、得られた測定値は高い再現性を示し、不確かさは概ね 1.0 %以内が達成されている。

## 3. $\text{qNMR}$ による OHPAH の純度決定

Table 1 に今回純度測定に供した 9 種の OHPAH を示したが、いずれもいわゆる市販標準品としてではなく、市販試薬として流通しているものであった。これらの試薬のグレードは様々であり、「特級」、「一級」、「試薬」、「化学用」と記載されており、4-OHBaA についてはグレードが不明であった。これらの OHPAH を試料とし、正確に秤量後、 $\text{qNMR}$  標準液にそれぞれ溶解し、 $\text{qNMR}$  測定を行った。得られたスペクトルを Fig. 4-6 に示した。 $\text{qNMR}$  スペクトル上に観察された基準物質 HMD および OHPAH に由来する各シグナル面積、水素数、濃度等を関係式(1)に代入し、それぞれの純度値を算出した。なお、OH 基のプロトンは、重水素置換が考えられるため、定量には用いなかった。また、定量に用いた各シグナルを 1~9 で示したが、それぞれのシグナルより算出された純度値の平均を OHPAH の純度値として表した(Table 3)。その結果、1-OHNp 101.0% (RSD 0.2%)、2-OHNp 101.6% (0.2%)、1,3-(OH)<sub>2</sub>Np 99.3% (1.0%)、1,5-(OH)<sub>2</sub>Np 96.6% (0.3%)、1,6-(OH)<sub>2</sub>Np 93.4% (0.4%)、2,3-(OH)<sub>2</sub>Np 99.7% (0.2)、2,6-(OH)<sub>2</sub>Np 97.5% (0.1%)、2,7-(OH)<sub>2</sub>Np 100.2% (0.4%)、4-OHBaA 94.3% (0.5%)の純度値を与えた。OHPAH の試薬製品によりその純度値は大きく異なり、 $93.4 \pm 0.4 \sim 101.6 \pm 0.2\%$  (AV $\pm$ RSD)の幅があることがわかった。また、試薬製品に記載されていた GC 面積百分率による純度値は、98.0%または 99.0%以上であり、これと比較して  $\text{qNMR}$  により得られた 1,6-(OH)<sub>2</sub>Np および 4-OHBaA 以外の 7 種の純度は、ほぼ記載値の通りであった(Table 4)。 $\text{qNMR}$  により得られた純度値が 93.4%の 1,6-(OH)<sub>2</sub>Np、94.3%の 4-OHBaA については、製品に純度値の記載がなかったが、仮にこれらの純度を 100%として定量用標準品の代用とし、検量線を作成し定量分析を行ったとすると、得られる定量値は 6.6 および 5.7%の誤差を生じることになることが示唆された。

OHPAH の標準品の流通を市場に確認することができなかつたため、入手可能であった市販試薬の OHPAH 各 1 製品 1 ロットについてのみ qNMR による純度測定を行ったが、さらに、これら市販製品の純度について正確な情報を収集するためには、試薬メーカー間差、ロット間差についても今後検討する必要があると考えられる。引き続き、他の PAH 類の絶対純度についても調査を行う予定である。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 杉本直樹, 多田敦子, 末松孝子, 有福和紀, 定量 NMR を用いた有機化合物の絶対定量法の開発と食品分析の信頼性の確保, FFI ジャーナル, **215** (2), 129-136 (2010).
- 2) 杉本直樹, 分析対象の有機化合物の純度は大丈夫ですか? 定量 NMR による絶対純度測定法の開発, 日薬雑誌(Folia Pharmacol. jpn.), (2011), in press.

##### 2. 学会発表

- 1) 杉本直樹, 田原麻衣子, 多田敦子, 久保田領志, 清水久美子, 山崎 壮, 河村葉子, 合田幸広, 西村哲治, qNMR に基づく有機化合物の微量分析の検討, 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会, 2010. 11. 11-12, 兵庫.
- 2) Sugimoto, N., Tahara, M., Kubota, R., Shimizu, K., Hayakawa, K., Nishimura, T.: Development of a novel quantitative GC/MS using multidimensional property database. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), 2010.12.15-20, Hawaii, USA.

##### 3. 招待講演

- 1) Sugimoto, N., Innovation of Analytical Technique for Food Chemistry and Safety. 第 10 回国際計量標準シンポジウム, 2010. 5. 26, 東京.
- 2) 杉本直樹, qNMR を用いた有機化合物の絶対定量法の開発と実用化に関する研究, 日本食品化学学会第 16 回総会学術大会, 2010. 6. 9-10, 大阪.
- 3) 杉本直樹, 定量 NMR の食品分析への応用, 東京コンファレンス 2010, 2010. 9. 1-3, 千葉.

##### 4. 学会賞等

- 1) 杉本直樹, qNMR を用いた有機化合物の絶対定量法の開発と実用化に関する研究. 日本食品化学学会奨励賞受賞, 2010. 6.

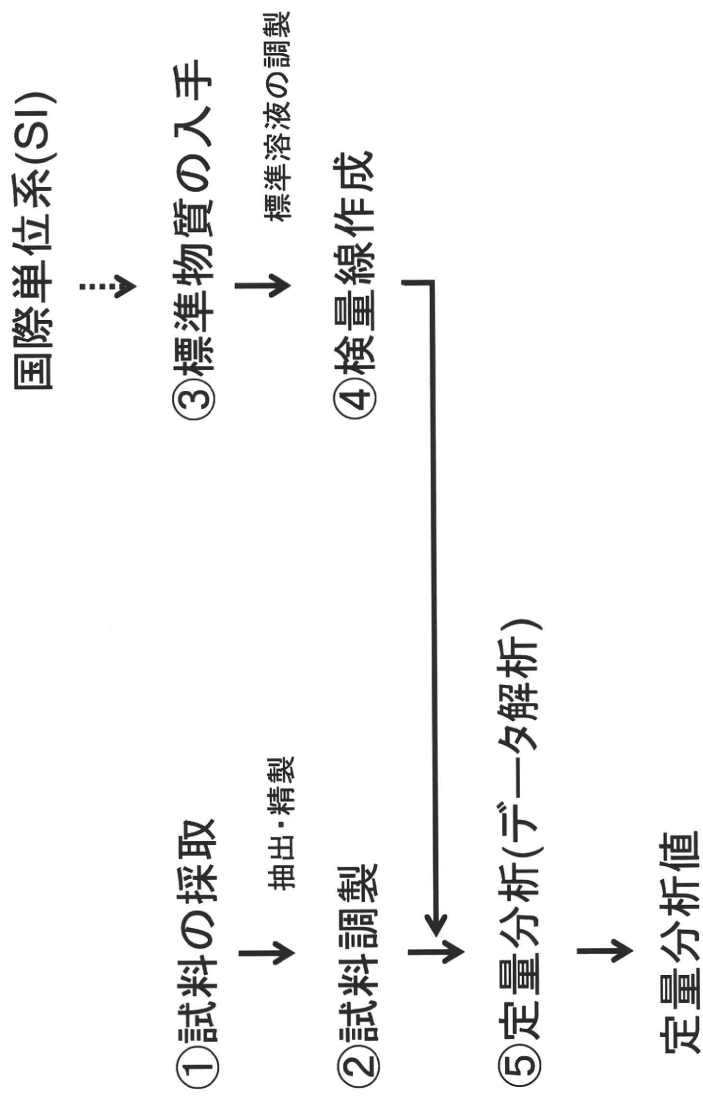
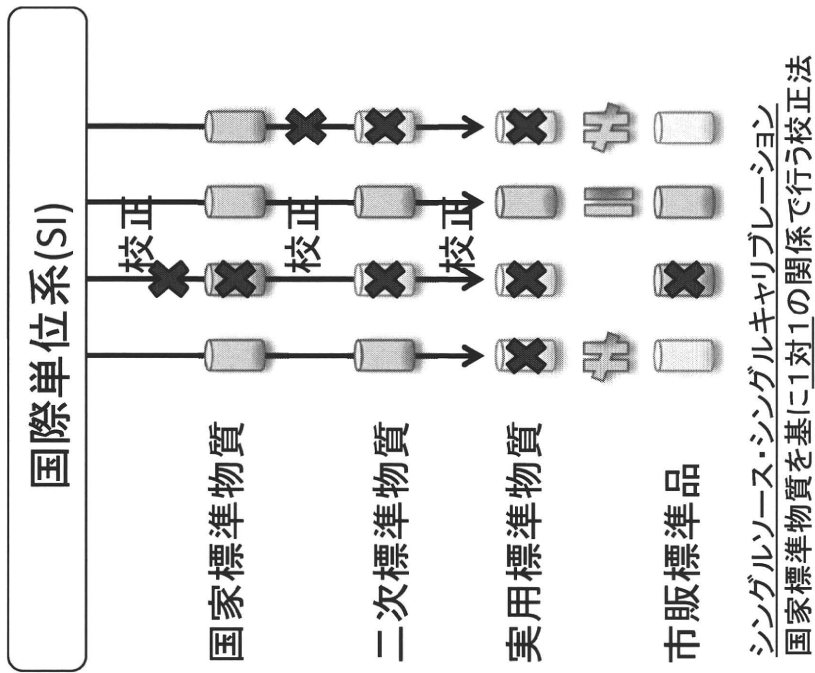


Fig. 1 定量分析の操作過程



従来の標準品供給システム



次世代の標準品供給システム

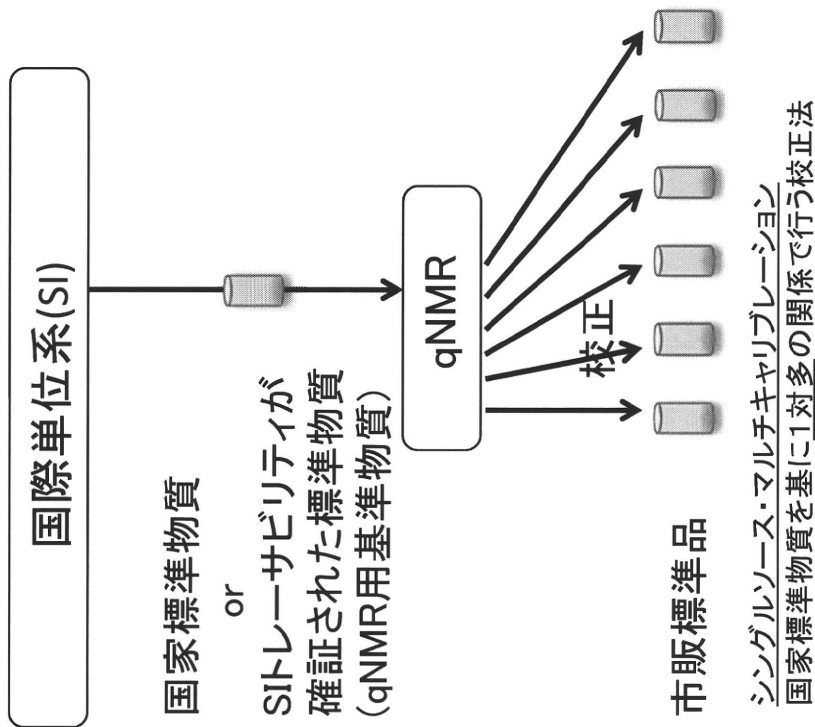


Fig. 2 従来の標準物質供給システムとqNMRによるSITレーサビリティ体系の再構築

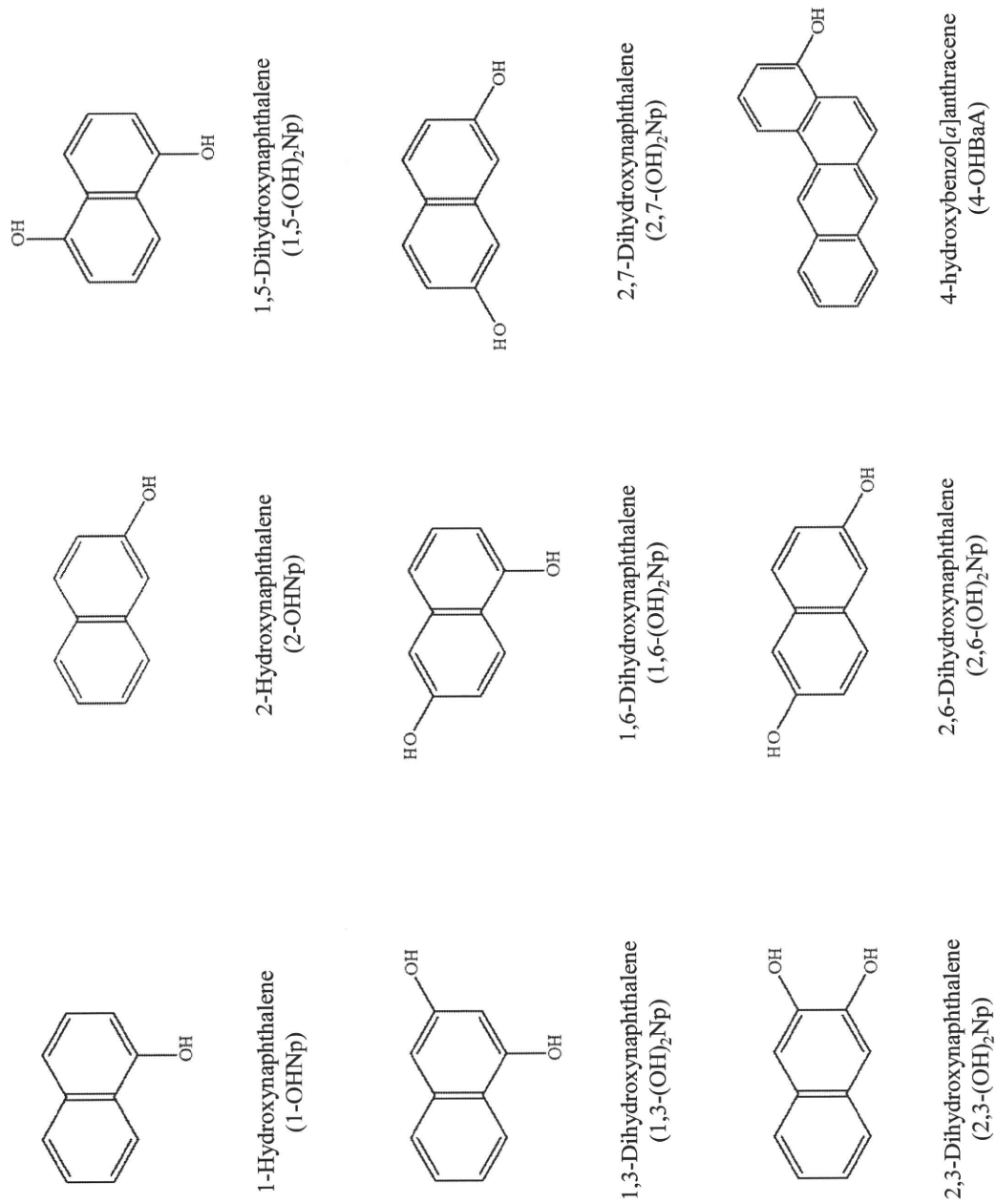


Fig. 3 Chemical structures of OHPAHs

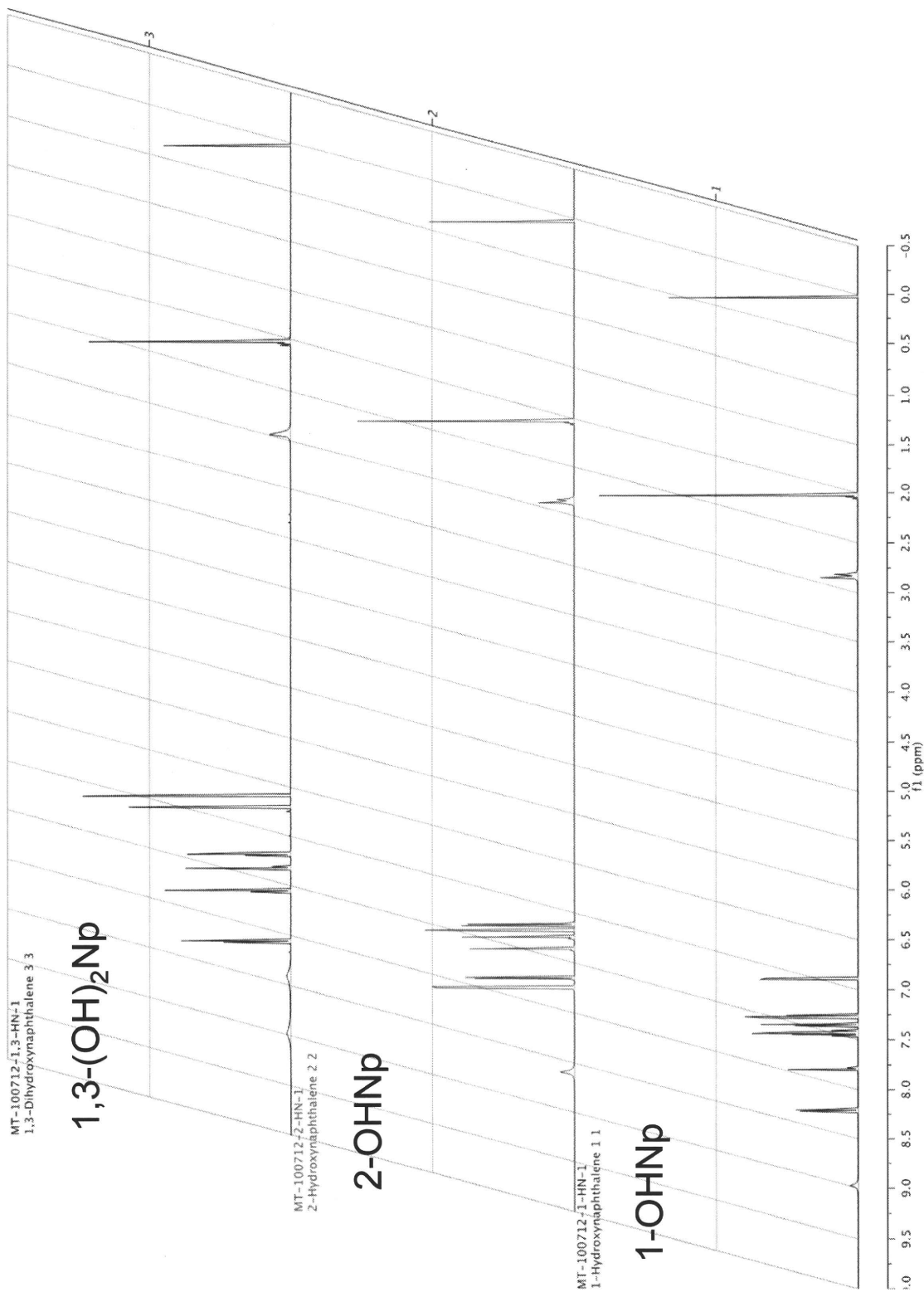


Fig. 4a qNMR spectra of OHPAH reagents; 1-OHNp, 2-OHNp, 1,3-(OH)<sub>2</sub>Np

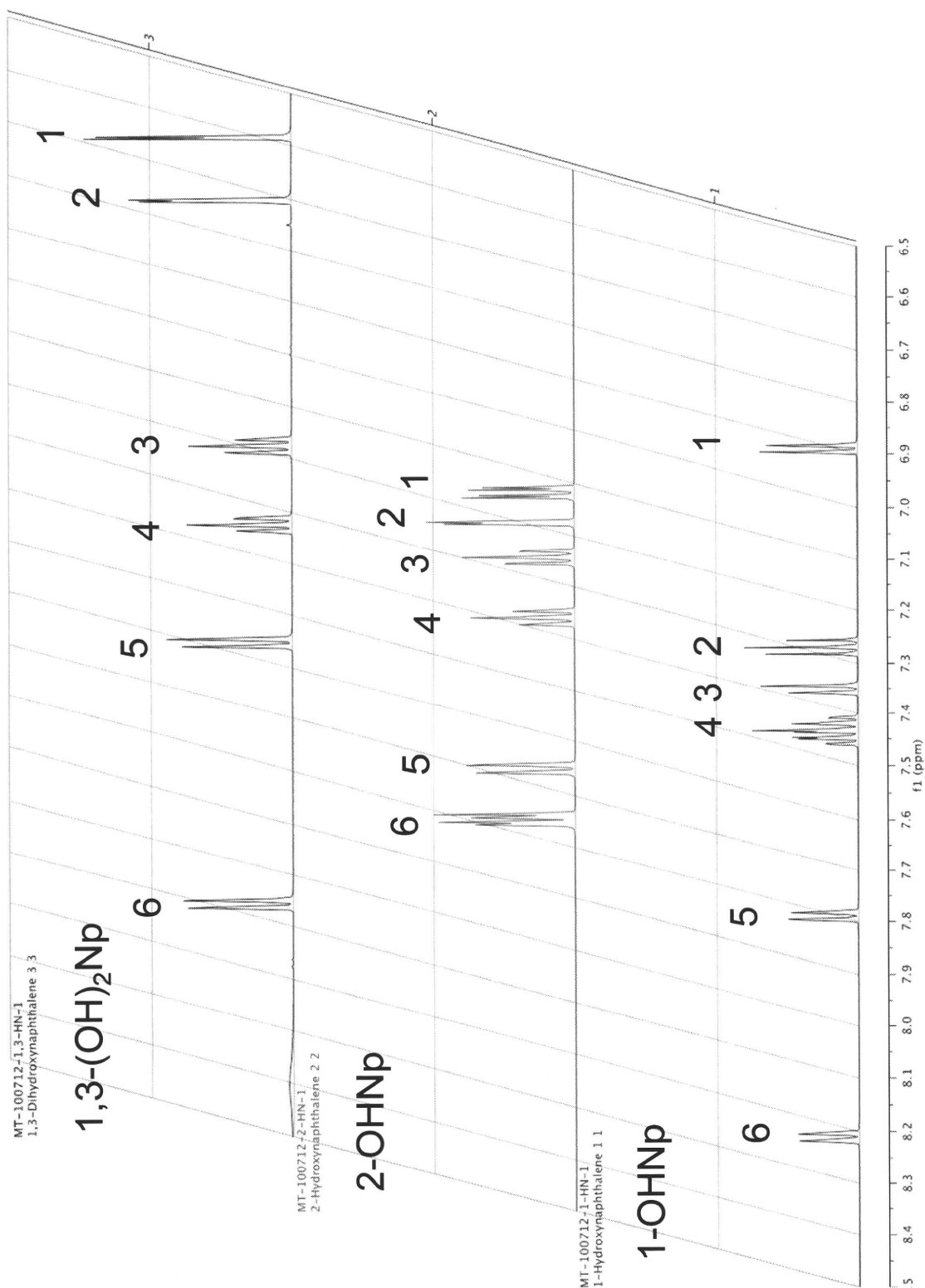


Fig. 4b qNMR spectra of OHPAH reagents; 1-OHNp, 2-OHNp, 1,3-(OH)<sub>2</sub>Np (magnified)

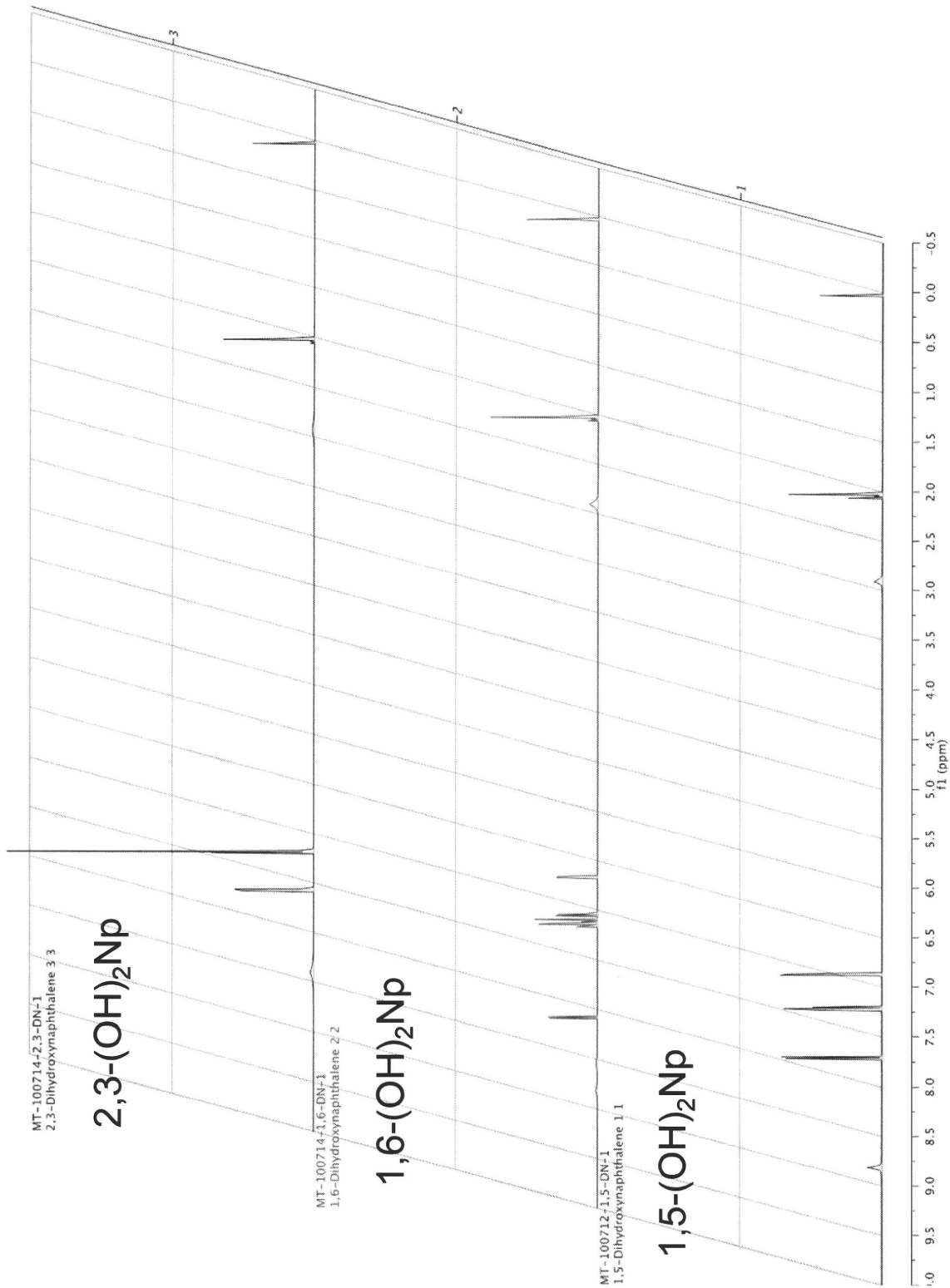


Fig. 5a qNMR spectra of OHPAH reagents; 1,5-(OH)<sub>2</sub>Np, 1,6-(OH)<sub>2</sub>Np, 2,3-(OH)<sub>2</sub>Np

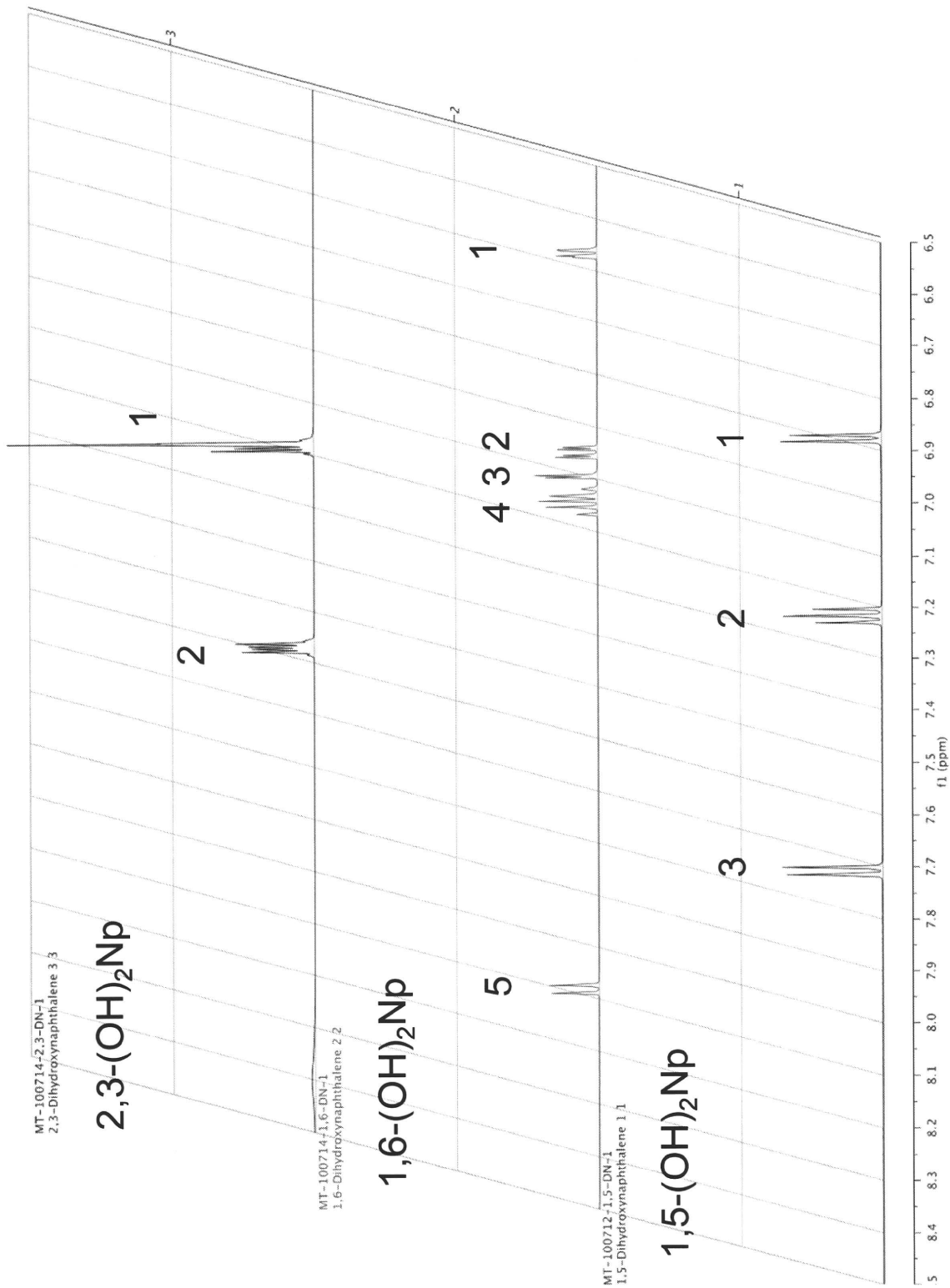


Fig. 5b qNMR spectra of OHPAH reagents; 1,5-(OH)<sub>2</sub>Np, 1,6-(OH)<sub>2</sub>Np, 2,3-(OH)<sub>2</sub>Np (magnified)

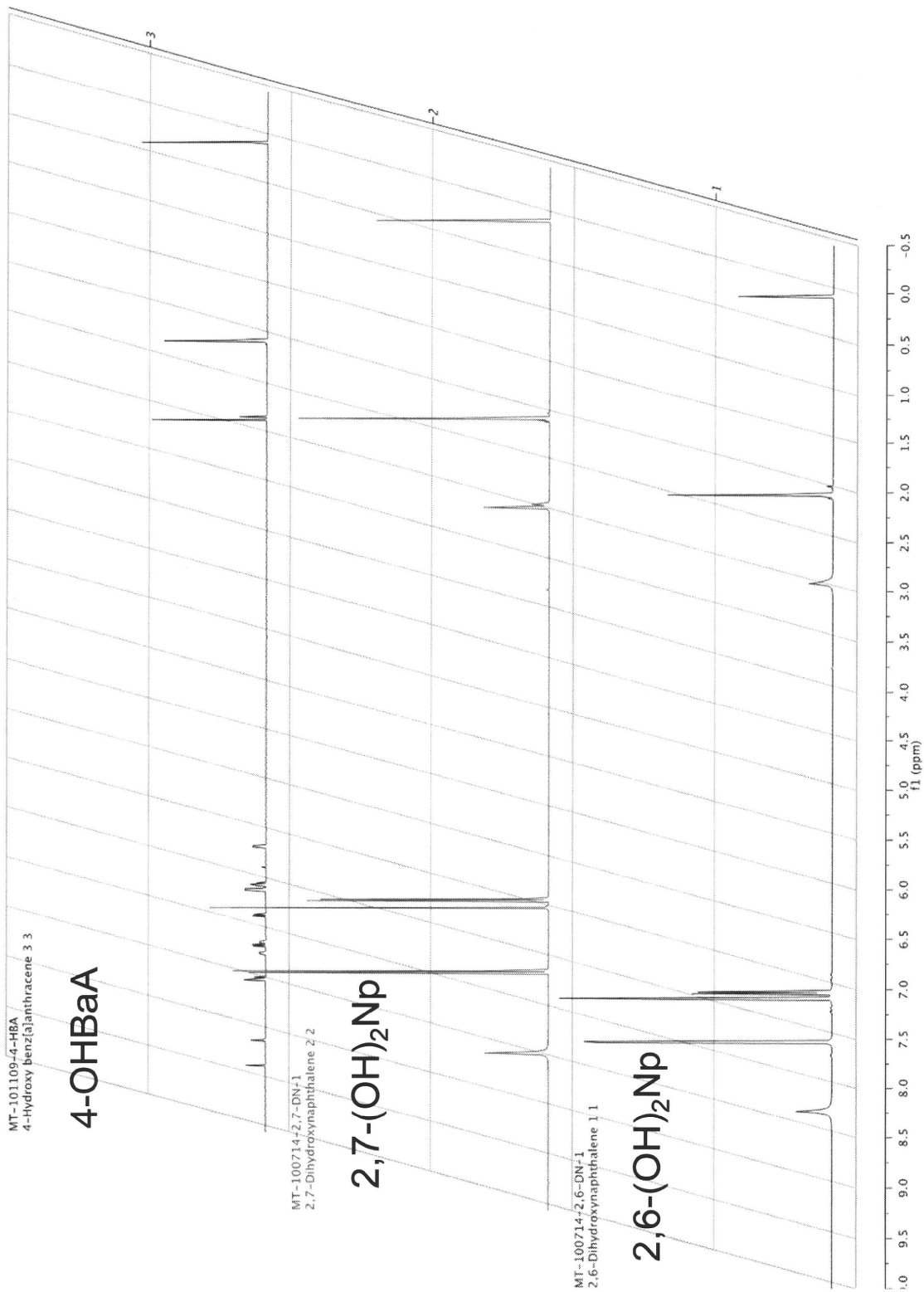


Fig. 6a qNMR spectra of OHPAH reagents; 2,6-(OH)<sub>2</sub>Np, 2,7-(OH)<sub>2</sub>Np, 4-OHBaA

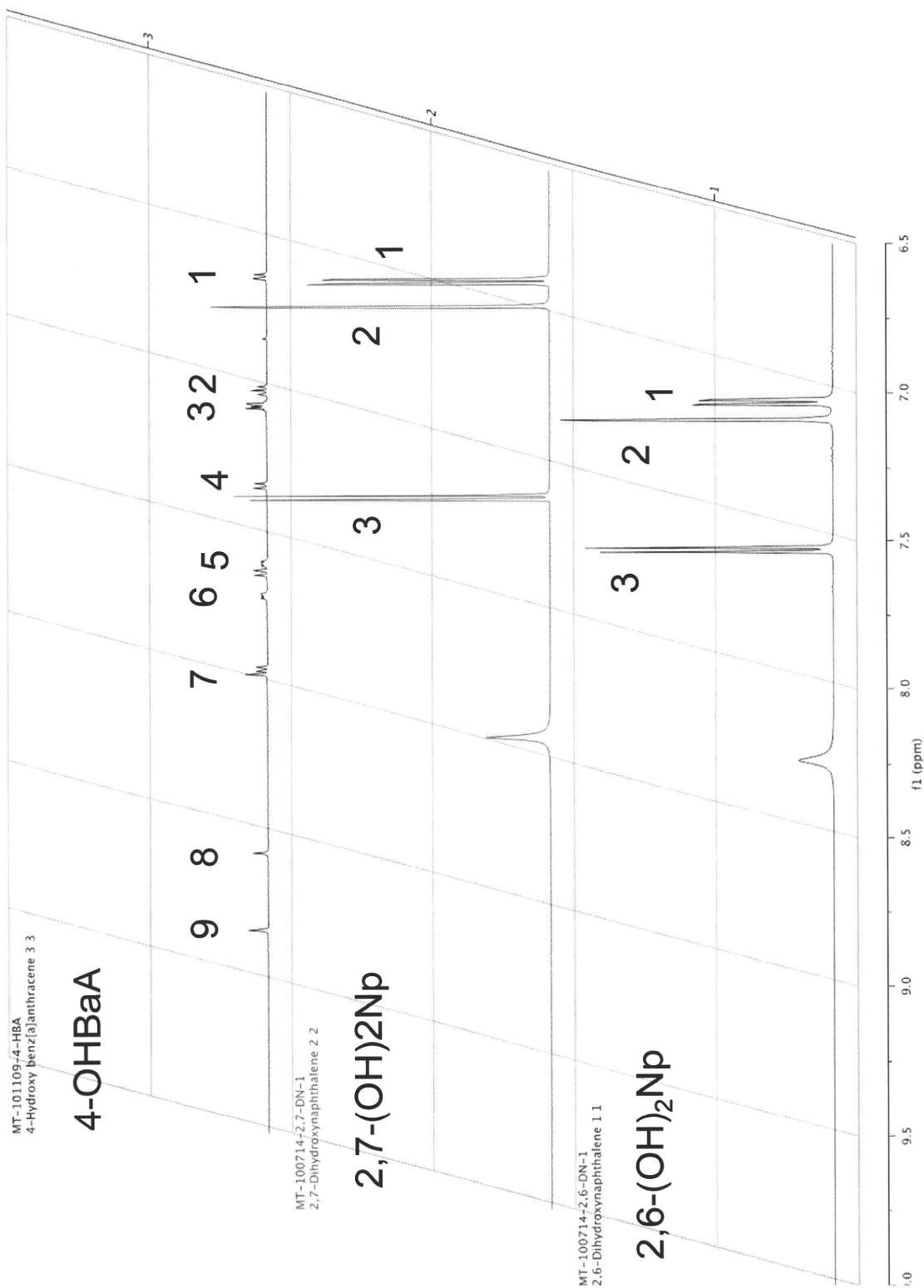


Fig. 6b qNMR spectra of OHPAH reagents; 2,6-(OH)<sub>2</sub>Np, 2,7-(OH)<sub>2</sub>Np, 4-OHBaA (magnified)