

〈一般研究課題〉 高感度オプトード開発のための分子集合体  
ケモセンサーの開発

助成研究者 名城大学 藤田 典史



## 高感度オプトード開発のための分子集合体 ケモセンサーの開発

藤田 典史  
(名城大学)

### Development of Chemosensing Molecular Assemblies for Highly Sensitive Optode System

Norifumi FUJITA  
(Meijo University)

#### Abstract :

To aim at development of molecular assembly-based chemosensor for highly ion-sensitive materials for optode, a novel curcumin-based molecular assembly was designed. The designed compound **1** having long alkyl chains at the periphery of a curcumin core, gelatinizes hydrocarbons such as hexane, heptane, and cyclohexane after heating-cooling process, which strongly suggests that long one-dimensional molecular assemblies form. UV-Vis spectroscopy revealed that compound **1** adopts H-aggregation manner in the assemblies. Upon addition of Fe(III) ions to the solution of **1**, a new absorption band assignable to the MLCT band appears, which suggests that compound **1** can accept Fe(III) ion in the solution state. Stable thin films can be prepared just by dipping the heptane gel of compound **1** and drying in the air. The film consisting of the molecular assembly of **1** was tested for Cu(II) sensitivity and the intensity of the fluorescence the thin film was weakened upon dipping the film into Cu(II) aqueous solution. This result strongly suggests that the thin film can be applicable to optode materials for various metal ions in an aqueous nature.

#### はじめに

電気化学的に分析対象物質(アナライト)を検出するイオン選択性電極法は、簡便なセットアップでイオン選択性に優れた検出が可能であるため、生体試料や環境試料中の高精度イオン定量を目指

して開発されている。中でも、電極内の感応膜中に組み込まれたイオン感応性物質がイオンセンサーの性能を決定するが、非イオン性化合物が高いイオン選択性を持つことから、バリノマイシンを用いたカリウムイオンセンサーや、合成物質であるクラウンエーテルなどの大環状化合物を用いたイオン選択性電極の開発が進められてきた。一方、近年は目的イオンの濃度を光学的なシグナルとして検出する”オプトード”の開発が盛んである。オプトード用感応物質は、色素分子にイオンと相互作用する部位が連結した分子構造を持ち、多くはイオン選択性電極に用いられた中性化合物が用いられている。本研究では、分子集合体において色素部位同士が近接に位置するようにデザインし、分子集合体内でアナライトが相互作用して生成する低エネルギー錯体への高効率なエネルギー移動を利用した発光または消光により、高感度ケモセンシングを見込む。本研究で検討する繊維状分子集合体は、感応性物質をオプトード先端に固定する担体である高分子との相性がよく、センシング感度とセンサー固定化の両面での性能向上を目指す。生体試料や環境試料中の極微量イオン定量検出を目的として、従来の単分子センサーから脱却した、分子集合体を用いたケモセンサーの開発を進め、高感度オプトード用イオン感応物質の開発を目的とした(図1)。

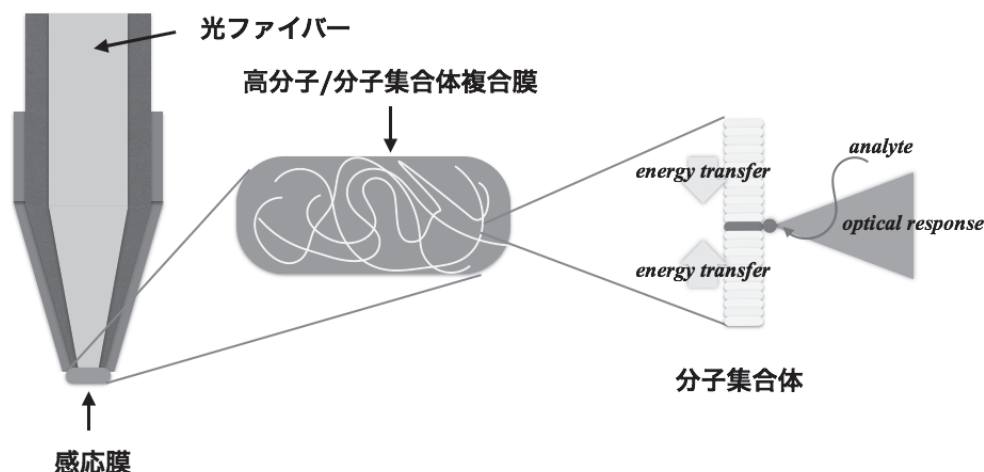


図1 高分子/分子集合体複合膜を用いたオプトードの概念図

## 分子設計

DNAにもみられる $\pi$ 電子系化合物集積体は、有機導電体の構成要素として古くから注目を集めている。これまでに芳香族性が発達した $\pi$ 系化合物の集積化について研究をすすめているが、本研究では新たな基体としてクルクミンに注目した。クルクミンは約420 nm付近の極大吸収波長のモル吸光係数が数万という非常に濃い色素であり、同時に発光性も示す。共役が発達した対称的な板状構造の外縁部には有機合成的に修飾が容易なフェノール性ヒドロキシ基、中央部には金属イオンや極性化合物と相互作用可能な二つのカルボニル基を持つ。クルクミン中央部の近接したカルボニル基は、様々な金属元素や典型元素に対して効果的に相互作用する配位子として振る舞う事が知られている。例えば、クルクミンはロソシアニンと呼ばれるホウ素イオンとの二量体構造を与え鮮やかな赤色を呈することから、ホウ素の定量試薬として用いられている。このような特徴を有するクルクミンに着目し、一次元分子集合性を付与すべく、化合物**1**を設計した。

化合物は剛直なクルクミン核と対照的に、分子周縁部に没食子酸誘導体を足がかりとして柔軟な

長鎖アルキル基を導入し、メソゲン状の効果により分子に一次元集積を促す設計になっている(図2)。

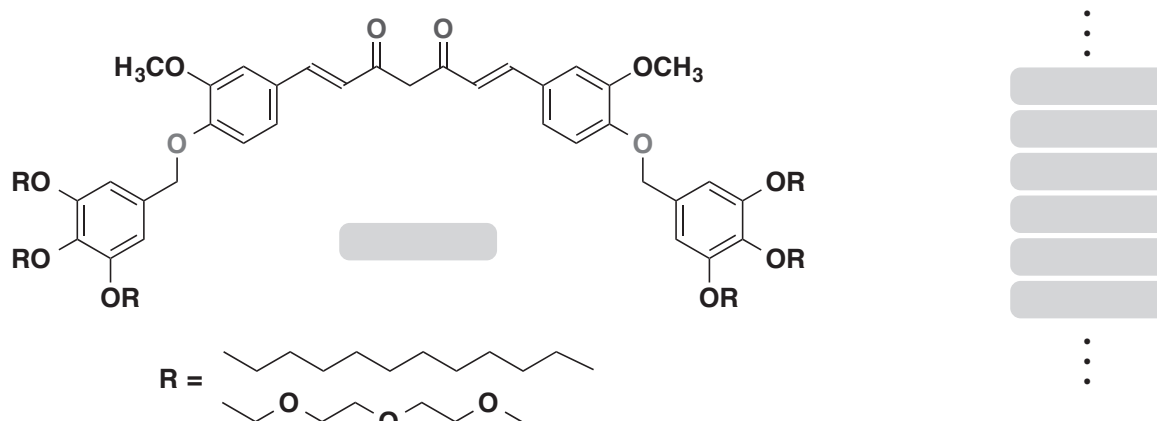


図2 長鎖を導入したクルクミン誘導体 (1) とその一次元集積構造

### 実験結果

化合物**1**の合成は、当初、入手容易なクルクミンを出発物質とする合成ルートに取り組んだが、クルクミンに含まれる $\beta$ -ジカルボニル基の互変異性と、 $\beta$ -ジカルボニル基に挟まれた酸性度の高い活性メチレンの影響により、目的化合物を得ることができなかった。そのため、クルクミン骨格を最後に構築する以下のルートを検討した(図3)。

臭化ドデシルと没食子酸エチルを塩基性条件下で反応させ、長鎖アルキル基置換没食子酸エチルを収率96%で得た。次いでリチウムアルミニウムヒドリドでエステル部位を還元し(94%)、得られたアルコールを塩化チオニルにより塩素化した(99%)。ヨウ化ナトリウムとアセトンを用いて系中でヨウ素化を行いつつバニリンを塩基性条件下で反応させ、クルクミン前駆体を収率99%で得た。最終段階であるクルクミン骨格の構築では、あらかじめ一方の原料であるアセチルアセトンの活性メチレンを酸化ホウ素により保護した後に、塩基性条件下でアルドール縮合を行い**1**を収率20%で得た。構造決定は<sup>1</sup>HNMRおよびMALDI TOF-MSを用いて行った。

得られた**1**の一次元分子集合能は低分子ゲルを作製することで評価した。低分子ゲルは、溶液中で発達した一次元分子集合体が三次元的に絡み合い、擬似的に網目状に仕切られた空間に閉じ込められた溶媒分子がその運動性を失うことで、マクロにも流動性を失ったゲル状となる物であると理解されている。そこで、密栓可能な少量バイアルに、所定の量の**1**と共にゲル化溶媒となる有機溶媒を入れ、加熱溶解後に放冷あるいは冷却した。十分な時間が経過した後に、バイアルを逆さにしても内容物が落下しないものをゲルとした。種々の有機溶媒を用いて**1**のゲル化試験を行ったところ、アセトンやアルコールなどには不溶、ヘキサンやシクロヘキサン、ヘプタン、ジエチルエーテル、酢酸エチルはゲル化し、ベンゼンやトルエンなどの芳香族系溶媒やジクロロメタンやクロロホルムなどのハロゲン系溶媒には溶解することが明らかとなった。この結果より、**1**は主に炭化水素系溶媒中にて一次元分子集合体を形成することが示唆された。中でもヘキサンあるいはヘプタンから得られたゲルは透明であり、光学的な評価に適していることがわかった。以下の実験ではより安定にゲル状態を維持できる**1**のヘプタンゲルを用いて行った。

**1**の分子集合体会合様式を評価するために、紫外可視(UV-Vis)分光光度法による吸光スペクトル測定を行った。まず比較となる**1**のヘプタン溶液について、濃度と吸光度の関係を示すLBプ

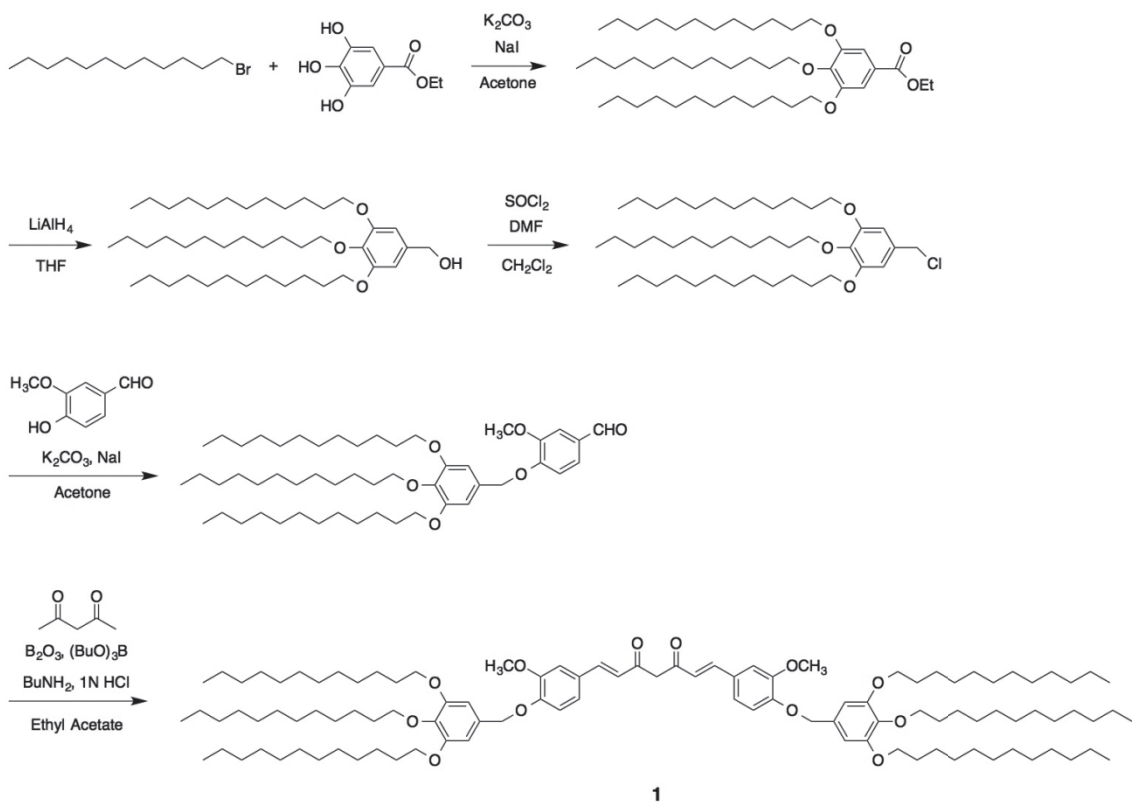


図3 長鎖を導入したクルクミン誘導体 (1) の合成スキーム

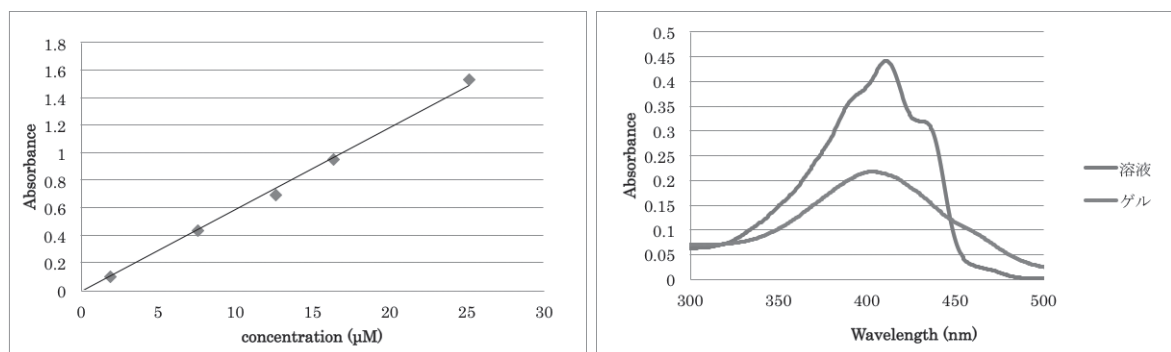


図4 (左)クルクミン誘導体 (1) のLBプロット ( $[1] = 1.9 \sim 25 \mu\text{M}$ 、ヘプタン中)と(右) 1のヘプタン溶液中 ( $[1] = 7.5 \mu\text{M}$ : 赤線)およびヘプタンゲル中 ( $[1] = 18 \text{mM}$ : 青線)のUV-Visスペクトル

ロットにより、少なくとも  $1.9 \mu\text{M} \sim 25 \mu\text{M}$  の範囲では直線関係を示し、この濃度範囲で **1** は単分散状態であることが明らかになった(図4左)。ヘプタン中における **1** の溶液状態 ( $[1] = 7.5 \mu\text{M}$ ) とゲル状態 ( $[1] = 18 \text{mM}$ ) のUV-Visスペクトルを比較すると、ゲル状態では400 nm付近の極大吸収波長が411 nmから403.5 nmへ7.5 nmの短波長シフトしていることから、ヘプタンゲル内に生成している一次元分子集合体はH会合性を有していることが明らかとなった(図4右)。

クルクミンは溶液中で種々の金属イオンと相互作用し、金属錯体を形成することが知られている。クルクミン骨格を有する **1** の溶液中における金属錯体形成能を検討した。**1** のTHF溶液 ( $[1] = 12.5 \mu\text{M}$ ) に  $\text{FeCl}_3$  のTHF溶液 ( $[\text{Fe}^{3+}] = 16.6 \text{mM}$ ) を滴下したところ、500 nm付近にMLCTバンドに由来すると考えられる吸収が現れたことから、**1** はクルクミン同様、金属イオンと相互作用することが明らかとなった(図5)。

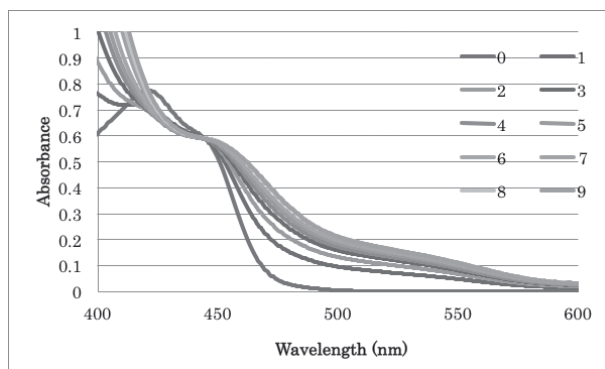


図5 **1**のTHF溶液(12.5  $\mu$ M)に対する $\text{Fe}^{3+}$ (16.6 mM、THF溶液、10 mL毎)の滴下による吸収スペクトルの変化(短波長側は $\text{Fe}^{3+}$ の吸収があるため400-600 nmの拡大図)

発光による金属イオンセンシングの評価は、**1**から作成したゲルをガラス基板上に塗布して作成した薄膜を用いて行った。これを金属イオンを含む水溶液中に所定の時間含浸することで行った。**1**のヘプタン溶液をスライドガラス上に滴下し、溶媒の蒸発と共にガラス上に分子集合体を形成させた。得られた薄膜を十分に乾燥させた後、2.0 mMの $\text{CuCl}_2$ 水溶液に所定の時間含浸し、蛍光分光測定を行ったところ、5分後では十分な変化は観測されなかったが、1時間後には発光の強度がほぼ半分となり、**1**が与える分子集合体がケモセンサーとして利用できることが示唆された(図6)。

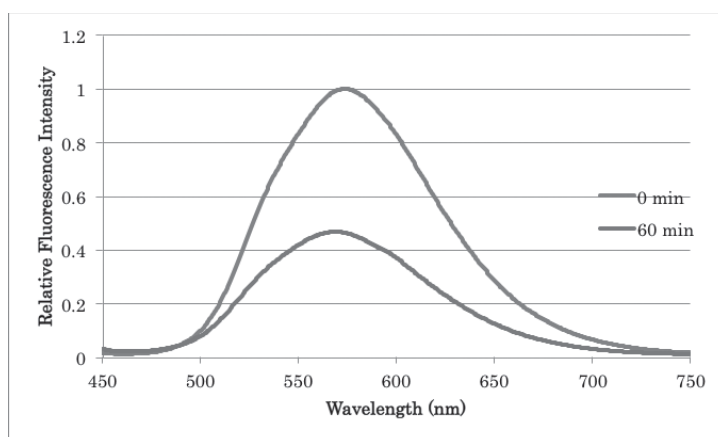


図6 **1**の薄膜を $\text{CuCl}_2$ 水溶液(2.0 mM)に1時間浸したときの相対的な蛍光スペクトル

## まとめと今後の展望

イオンと相互作用可能な色素であるクルクミンを基体とした、新しい一次元分子集合性化合物を合成した。この化合物**1**は、主に炭化水素系溶媒をゲル化し、これらの有機溶媒内で発達した一次元分子集合体が生成していることが強く示唆された。紫外可視吸光分析により、分子集合体内の**1**はH会合性であることが示唆された。**1**は溶液中で鉄(III)イオンと相互作用することがわかり、**1**の分子集合体より作成した薄膜を用いた銅(II)イオンのセンシングでは有意な消光がみられた。今後は分子集合体の電子顕微鏡による観察をすすめ、さらに、種々の金属イオンとの相互作用能や吸収スペクトル及び発光スペクトルの変化について検討したい。また、今回は色素部位の共役系はクルクミン由来のものを用いたが、クルクミン骨格を自在に改変可能な合成ルートを構築したことから、金属イオン相互作用時における吸収及び発光波長の調節は共役系の長さを変えることで自在に

変化させる事が可能である。また、金属イオン配位部位の設計により、イオン選択的ケモセンシングも検討したい。今後は高分子との複合化及び、感度の定量的な評価に重心を移し、分子集合体を基盤とした高感度ケモセンサー材料の開発を進めていきたい。

## 謝辞

本研究は、名城大学大学院機能工学専攻の今泉智二郎君及び坂優太君との共同研究によるものである。ここに記して謝意を表する次第である。また、本研究の遂行にあたり、名城大学分析センターの酒井達子先生には核磁気共鳴分光装置及びマトリクス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置の利用にあたり便宜を図って頂きました。ここに深く感謝いたします。

## 参考文献

- 1) Takahiro Fukino, Hyunho Joo, Yuki Hisada, Maiko Obana, Hiroshi Yamagishi, Takaaki Hikima, Masaki Takata, Norifumi Fujita, Takuzo Aida *Science* **2014**, *344*, 499-504.
- 2) Michihiro Shirakawa, Norifumi Fujita, Akihiko Takada, and Seiji Shinkai *Chem. Lett.* **2014**, *43*, 1330-1332.
- 3) Pritam Mukhopadhyay, Norifumi Fujita, Takanori Kishida, Akihiko Takada, Seiji Shinkai *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6338-6342.
- 4) Arnab Dawn, Norifumi Fujita, Shuichi Haraguchi, Kazuki Sada, Seiji Shinkai *Chem. Commun.* **2009**, 2100-2102.
- 5) 日本化学会第95春季年会講演予稿集 2PC-026