



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study of novel off-on responsive fluorescent probe using supramolecular complex formation with crown ether and cyclodextrin [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	岡, 佳和
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第11357号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55542
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshikazu_Oka_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

環境物質科学専攻：博士（環境科学） 氏 名 岡 佳 和

学 位 論 文 題 名

Study of novel off-on responsive fluorescent probe using supramolecular complex formation with crown ether and cyclodextrin
(クラウンエーテルおよびシクロデキストリンを用いた超分子複合体形成に基づく
新奇Off-On型蛍光プローブに関する研究)

ホスト-ゲスト超分子相互作用に基づいた蛍光プローブは、その利便性により多くの分野で研究・開発がなされている。蛍光プローブは金属イオン、生体分子の存在やpHの変化を発光の変化(“Off” to “On”)により可視化し、測定者に伝達する。現在、化学分析ではHPLC、GC、ICP、MS、NMR などの分析機器がある。これらの分析機器からは詳細な情報が得られるが、機器の利用には多くのコストを必要であり屋内での使用に限定される。しかし、分析試薬は試薬と簡素な攪拌容器、そして光源のみのシンプルな構成である。したがって、実験操作の短縮、省コスト、省スペース化、そして屋外におけるその場(*in situ*)分析の実現が期待される。特に、迅速な対応が求められる分解性試料の測定や化学物質の流出事故等における汚染状況の把握に効果的であると思われる。

本研究では、クラウンエーテルおよびシクロデキストリンの超分子相互作用に基づく、蛍光“Off-On”プローブを新奇に合成した。前者は、アルカリ土類金属に応答的であり、後者は特定の界面活性剤を選択的に検出した。いずれの蛍光プローブもホスト-ゲスト超分子が1:1の化学平衡で形成され、また加熱や長時間の攪拌は必要としなかった。

フェナントレン誘導体を発色団としたフェナントレン-クラウン型蛍光プローブ(**P1**)は、アセトニトリル溶液中で光誘起電子移動(PET)により消光した。この溶液にアルカリ土類金属を添加すると、添加量の増加に伴い蛍光強度が増加し、その発光倍率($I_{\max}/I_0$)は最大約5倍であった。“Off-On”型の蛍光プローブでは蛍光“Off”と“On”の両状態の蛍光強度の差がプローブの性能に影響する。**P1**に電子ドナー部位に電子供与基を置換したプローブ(**P2**)は $I_{\max}/I_0$ が最大約17倍となり性能の向上がなされた。さらにNMR測定より、**P1**及び**P2**の蛍光“Off-On”挙動がプローブと金属イオン間で形成される超分子錯体構造に起因する事を見出した。

蛍光プローブは溶解性の理由から有機溶媒の使用を必要とする場合もあるが、蛍光試薬を利用することは河川水のような水系試料直接分析する際に有用であると考えられる。アントラセン誘導体を修飾した β -CyD型蛍光プローブ(**Ant-CyD**)の水溶液はねじれ型分子内電荷移動により消光していた。CyDと錯体を形成することで知られる環状炭化水素化合物を添加した場合、最大で1.7倍の蛍光増大を示した。これに対し、非イオン性界面活性剤Triton X-100の場合、臨

界ミセル濃度以下で最大9.8倍の蛍光増大を示し、Triton X-100に対して選択性に蛍光発光することが見いだされた。この蛍光選択性について詳細に検討するために、Triton X-100の構造に類似した界面活性剤について同様に蛍光スペクトルを測定した。親水基をポリオキシエチレンからスルホン酸に置換した場合、蛍光増大は9.5倍と同程度の値を示すものの、疎水基の構造を置換した3種の界面活性剤とドデシル硫酸ナトリウム(SDS)やその他に対しては最大で2.7倍であった。この結果は、Ant-CyDがTriton X-100の疎水基に対して蛍光選択性であることを示している。さらに、Ant-CyDとTriton X-100の錯体構造を解析するために ^1H NMRおよび ^1H - ^1H NOESY測定をおこなった。その結果から、両者の包接錯体はアントラセン環の励起状態における分子内回転、すなわちTICTを阻害する立体障害を形成していると考えられる。

γ -CyDを用いたアントラセン蛍光プローブ(AC1)では、SDSに対して12倍の蛍光増大を示し、TritonX-100に対しては1.1倍とAnt-CyDに比べて対照的な結果が得られた。AC1と置換基の位置のみが異なる数種の類似化合物では、一つを除きいずれのゲスト化合物においても発光増大は小さい値を示した。このように、蛍光選択性は分子構造に大きく影響を受け、分子認識化学の観点から興味深い結果が得られた。

長波長領域(500nm以上)に発光をもつ蛍光色素は、それ以下のものに比べて合成の難易度が上昇する。これは長波長の発光領域をもつ化合物が、一般に長い共役系をもち分子構造が巨大化するためであり、プローブの適切な分子構造を決定するためには複数の類似化合物を同時に合成する必要がある。したがって、合成ステップ数の少ない蛍光プローブが望ましい。本研究では、鈴木一宮浦クロスカップリングを介して長波長領域の蛍光を発するチオフェン誘導体TH-CyDを合成した。TH-CyDは、SDSをはじめとするイオン性界面活性剤に対し、界面活性剤不在下において、TH-CyD溶液の蛍光スペクトルは発光極大波長を505 nmにもつ弱い緑色発光を示した。この発光は室内ではごく弱く、暗室中にてのみ視認が可能であった。この溶液にSDSを逐次添加すると、添加量の増大に伴って蛍光強度の増大と発光極大波長のレッドシフトが観測された。CMC以下の濃度においてTH-CyDの最大蛍光増加率は8倍、発光極大波長525 nmの緑色発光を示し、明確に視認可能であった。その他イオン性界面活性剤に対しても6-8倍の増加率を示した。他方、Triton X-100などの非イオン性界面活性剤に対しては蛍光倍率が最大で1.5程度であり、イオン性界面活性剤に対して選択的であった。円偏光二色性スペクトルより、この選択性の違いは包接体の発色団の位置に起因すると考えられる。

また、SDSの検出下限(LOD)値は0.08ppmであり、これはアメリカ合衆国環境保護庁(USEPA)並びに厚生労働省で設定された上水基準値(0.5, 0.2 ppm)の界面活性剤を検出可能であることを示している。この結果は環境試料の分析を目指す上で興味深い。

結論として、超分子複合体の形成に基づく新奇プローブを合成した。これらはアルカリ土類金属または特定の界面活性剤と超分子錯体を形成することでPET、TICTを制御し、蛍光の"Off-On"挙動を示した。また、CyD型プローブにおいて、置換基・CyDサイズ分子構造が異なるプローブ間で大きく異なることは、分子認識化学の観点から興味深い結果である。さらに環境基準値以下のSDSを検出する事が可能であった。以上の結果は、蛍光プローブを用いた分析法の開発に大きな期待をもたらすものと考えられる。