

学 位 論 文 題 名

Synthesis and Photophysical Properties
of Novel Emission Sensors for Biomolecules(生体分子に対する新規発光性センサーの合成
および光化学物性に関する研究)

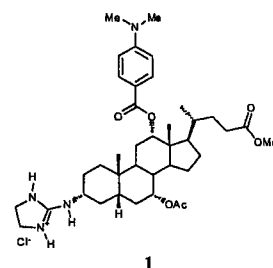
学位論文内容の要旨

分子認識は生体内のみならず様々な研究分野において非常に重要な役割を担っている。そのため、今日までに様々な人工センサーが報告されている。中でも、発光性センサーは高感度かつ非破壊で分子認識を検出可能であり、その開発は分析化学の分野で大変重要な研究課題となっている。そこで本研究では、アミノ酸や糖類に対する新規の発光性センサーを合成し、その光化学物性および分子認識挙動について検討を行った。

(1) TICT 型発色団を有する新規アミノ酸蛍光センサー (Chapters 2–5)

本研究では、Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) 型プローブの二重蛍光性に着目し、アミノ酸類の存在を蛍光強度比の変化として高感度かつ定量的に検出可能な新規 TICT 型蛍光センサーを合成することを目的とした。4-(*N,N*-dimethylamino)benzoate (DMAB) 誘導体は、極性溶媒中において、構造の異なる 2 つの励起状態に起因する二重蛍光性を示すことが広く知られている。すなわち、発色団部位が平面構造をとった励起状態からの Locally Excited (LE) 蛍光と、ジメチルアミノ基のねじれを伴う分子内電荷移動状態が溶媒によって大きく安定化することによって蛍光を発する TICT 蛍光である。この二重蛍光挙動、特に、TICT/LE 蛍光強度比は DMAB 周辺の局所的な極性環境や立体的なこみ具合を鋭敏に反映して変化することが知られている。したがって、DMAB を分子認識プローブとして用いることにより、アミノ酸類認識に伴う DMAB 周辺の局所的な極性環境の変化や立体障害によって TICT 蛍光挙動が変化し、分子認識を蛍光強度比の変化として高感度かつ定量的に読み出すことができると期待される。

コール酸を基本骨格とし、分子認識部位としてグアニジニウム基および分子認識プローブとして DMAB を有する分子である新規蛍光センサー1 を設計・合成した。また、反応中間体の X 線結晶構造解析より、コール酸分子の 3 位に導入した置換基と 12 位に導入した DMAB との距離がおよそ 4.6 Å と非常に近接していることを明らかにした (Chapter 2)。



1 および参照化合物に対する詳細な光化学物性の測定により、1 が TICT 型の二重蛍光性を示すこと、また、分子認識部位であるグアニジニウム基が 1 の光化学物性に非常に大きく影響していることを明らかにした (Chapter 3)。

1 を 1,2-ジクロロエタン、アミノ酸類である *N*-アセチル-D-フェニルアラニン (Ac-D-Phe) を水中に溶解し液/液抽出を行った。抽出後の有機層の蛍光スペクトルは TICT 型の二重蛍光を示し、その強度比 ($I_{\text{TICT}}/I_{\text{LE}}$) は水中に溶解した Ac-D-Phe の濃度増加に伴い低下した (Figure)。さらに、この蛍光挙動変化より見かけの結合定数 (K_{ass}) が $7.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ と非常に大きな値であることを明らかにした。また、1 は Ac-D-Phe の光学異性体である Ac-L-Phe に対しても同様の蛍光挙動変化を示した ($K_{\text{ass}} = 7.9 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)。これは 1 がアミノ酸のカルボキシレート部位でのみ結合しており、いずれの光学異性体についても認識可能であるためと考えられる (Chapter 4)。

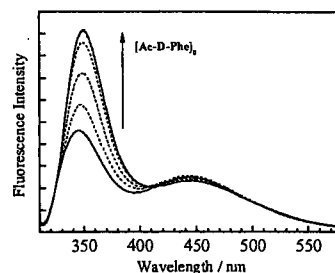


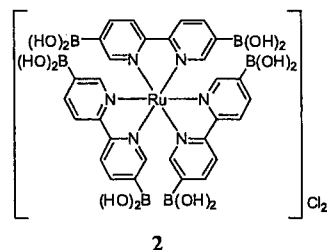
Figure Ac-D-Phe 添加に伴う液/液抽出後の有機層の蛍光スペクトル変化

1 の蛍光挙動変化の詳細を明らかにするために、Ac-D-Phe 添加前後における蛍光スペクトルの温度依存性を測定したところ、Ac-D-Phe 添加に伴う蛍光挙動変化は 1 の励起状態における LE-TICT 状態間の活性化エネルギーの増大を反映していることを明らかにした (Chapter 5)。

(2) ルテニウム(II)ポリピリジル錯体を用いた新規水溶性糖センサー (Chapter 6)

アリールボロン酸は糖類の水酸基と共有結合を形成することが知られており、近年アリールボロン酸を分子認識部位とする化学センサーが数多く報告されている。しかしながら、それらの多くはアリール基の疎水性により難水溶性であり、有機溶媒中若しくは含水有機溶媒中において使用されている。そこで本研究では、室温において比較的強い発光を示す水溶性遷移金属錯体であるルテニウム(II)ポリピリジル錯体に着目し、ボロン酸を有する新規ルテニウム(II)錯体型センサーを合成し、水中における光化学物性および D-グルコースに対する分子認識挙動について検討を行った。

2,2'-ビピリジンの 5 および 5' 位にボロン酸を導入した新規発光センサー 2 を設計・合成した。2 は水中において $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ と同様の MLCT に帰属される吸収・発光を示した。また、吸収および発光スペクトルの pH 依存性から、2 および配位子である 2L の酸解離定数をそれぞれ決定した。水中において D-グルコース添加に伴う 2 の発光強度の低下が観測され、発光強度変化より水中における 2 と D-グルコースの結合定数を $1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ と決定した。また、動的発光異方性により、この発光挙動変化は 2 による D-グルコース認識に伴う変化であることを明らかにした。



以上より、本研究ではアミノ酸や糖類に対する新規発光性センサーを合成し、その光化学物性および分子認識挙動について検討を行った。いずれの分子も対象分子を発光挙動変化として高感度に検出可能であり、本研究により得られた指針に基づいてさらなる発光性センサーの開発が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜多村 昇

副 査 教 授 加 藤 昌 子

副 査 教 授 村 越 敬

副 査 教 授 鈴 木 孝 紀

学 位 論 文 題 名

Synthesis and Photophysical Properties of Novel Emission Sensors for Biomolecules

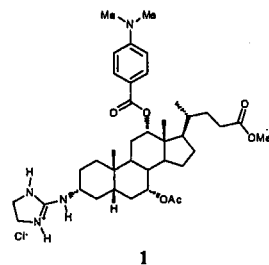
(生体分子に対する新規発光性センサーの合成
および光化学物性に関する研究)

分子認識は生体関連研究分野のみならず様々な分野において非常に重要な役割を担っている。そのため、今日までに様々な人工センサーが報告されている。中でも、発光性センサーは高感度かつ非破壊的に分子認識を検出可能であり、その開発は分析化学の分野で大変重要な研究課題となっている。このような背景のもと、本研究では、アミノ酸や糖類に対する2種類の新規な発光性センサーを合成し、その光化学物性および分子認識挙動について詳細な研究を行った。

(1) TICT 型発色団を有する新規アミノ酸蛍光センサー

本研究では、Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) 型プローブの二重蛍光性に着目し、アミノ酸類を高感度かつ定量的に検出可能な新規 TICT 型蛍光センサーを開発することを目的とした。4-(*N,N*-dimethylamino)benzoate (DMAB) 誘導体は、極性溶媒中において、構造の異なる2つの励起状態に起因する二重蛍光性を示す。すなわち、発色団部位が平面構造をとった励起状態からの Locally Excited (LE) 蛍光と、ジメチルアミノ基のねじれを伴う分子内電荷移動状態が溶媒によって大きく安定化することによって蛍光を発する TICT 蛍光である。TICT/LE 蛍光強度比 ($I_{\text{TICT}}/I_{\text{LE}}$) は DMAB 周辺の局所的な極性環境や立体的なこみ具合を鋭敏に反映して変化する。したがって、DMAB を分子認識プローブとして用いることにより、アミノ酸類認識に伴う DMAB 周辺の局所的な極性環境の変化や立体障害によって TICT 蛍光挙動が変化し、分子認識を蛍光強度比の変化として高感度かつ定量的に読み出すことができると期待される。

そこで、コール酸を基本骨格とし、分子認識部位としてグアニジニウム基および分子認識プローブとして DMAB を有する分子である新規蛍光センサー1を設計・合成した (Chapter 2)。1 および参照化合物に対する詳細な光化学物性の測定により、1 が TICT 型の二重蛍光性を示すこ



と、また、分子認識部位であるグアニジニウム基が1の光化学物性に非常に大きく影響していることを明らかにした(Chapter 3)。1を1,2-ジクロロエタン、*N*-アセチル-D-フェニルアラニン(Ac-D-Phe)を水中に溶解し液/液抽出を行った。有機層の蛍光スペクトルはTICT型の二重蛍光を示し、 $I_{\text{TICT}}/I_{\text{LE}}$ 比は水中に溶解したAc-D-Pheの濃度増加に伴い低下した(Figure)。さらに、

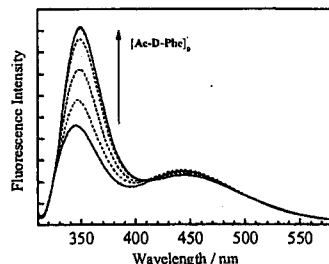


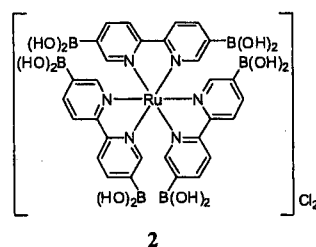
Figure Ac-D-Phe添加に伴う液/液抽出後の有機層の蛍光スペクトル変化

この蛍光挙動変化より結合定数は $7.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ と非常に大きな値であることを見出した(Chapter 4)。次に、1の蛍光挙動変化の詳細を明らかにするために、Ac-D-Phe添加前後における蛍光スペクトルの温度依存性を測定し、Ac-D-Phe添加に伴う蛍光挙動変化は1の励起状態におけるLE-TICT状態間の活性化エネルギーの増大を反映していることが明らかにし、アミノ酸の分子認識挙動の機構を解明する事に成功した(Chapter 5)。

(2) ルテニウム(II)ポリピリジル錯体を用いた新規水溶性糖センサー

アリールボロン酸は糖類の水酸基と共有結合を形成することが知られており、近年アリールボロン酸を分子認識部位とする化学センサーが数多く報告されている。しかしながら、それらの多くはアリール基の疎水性により難水溶性であり、有機溶媒中若しくは含水有機溶媒中において使用されている。そこで本研究では、室温において比較的強い発光を示す水溶性遷移金属錯体であるルテニウム(II)ポリピリジル錯体に着目し、ボロン酸を有する新規ルテニウム(II)錯体型センサーを合成し、水中における光化学物性およびD-グルコースに対する分子認識挙動について検討を行った(Chapter 6)。

2,2'-ビピリジン(bpy)の5および5'位にボロン酸を導入した新規発光センサー2を設計・合成した。2は水中において $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ と同様の metal-to-ligand charge transfer に帰属される吸収・発光を示した。また、吸収および発光スペクトルのpH依存性より、2および配位子である2Lの酸解離定数をそれぞれ決定した。水中においてD-グルコース添加に伴う2の発光強度の低下が観測され、発光強度変化より水中における2およびD-グルコースの結合定数を $1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ と決定した。また、動的発光異方性により、この発光挙動変化は2によるD-グルコース認識に伴う変化であることが明らかにした。



以上、本研究ではアミノ酸や糖類に対する新規発光性センサーを合成し、その光化学物性および分子認識挙動について検討を行った。その結果、いずれのセンサーも対象分子を発光挙動変化として高感度に検出可能であること、また、その発光センシングの分子機構についても知見を得た。本実験結果は、生体関連物質の高感度蛍光センシングのための新たなアプローチを示し、今後の新規発光センサーの分子設計指針を与えるものと高く評価される。

これを要するに、著者は、アミノ酸や糖類の新規発光型センサーを開発するとともに発光センシングの分子機構を解明した。その結果は様々な生体関連物質の高感度計測へ新たな道を拓くものであり、その学問的価値は極めて大きい。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。