

# アニオン制御型相互作用点を利用した自己組織材料の創製

## Development of self-organized materials using anion-controllable interactions

プロジェクト代表者: 久保 由治 (大学院理工学研究科・助教授)

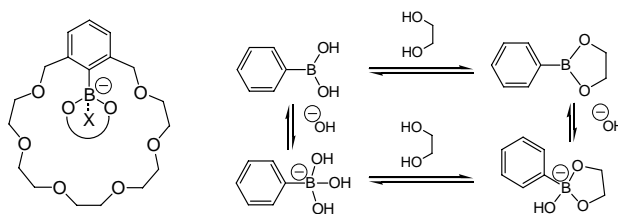
Yuji Kubo (Graduate School of Science and Engineering, Associate Professor)

### 1. はじめに

ある目的にそって、機能ユニット(分子)を並べ組み合わせる技術は、単一分子系では得られない高次機能システムの創製や巨大分子・超分子・バイオ分子に発展させていく方法論を提供する。また、機能システムを望んだ状態へと誘導するしくみの理解と設計(分子プログラミング)は、高度機能材料(ナノ材料)の創製に大きなヒントを与えるかもしれない。こうした背景のもと、われわれは望んだナノ構造体の創製に対して、構成ユニット(要素)間相互作用を設計しその高次元(システム)化に取り組むことに興味がある。本報告では、ボロネートエステル化反応に着目し、調製が簡単な自己組織型センサーに誘導した結果をまとめる。

### 2. 設計:ボロネートエステル化反応

フェニルボロン酸(PBA)は、ホウ素金属中心を有するルイス酸性の官能基であり、ルイス塩基性のアニオンと相互作用する。また、*cis*-ジオール体と可逆的な結合を通じて  $sp^3$  型環状ボロネートエステル構造を形成する性質もあわせもつ

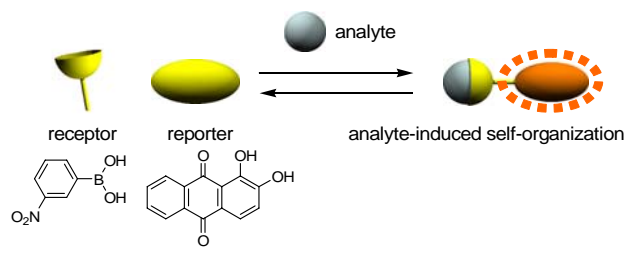


Scheme 1. The properties of organoborons.

(Scheme 1)。これらの性質は、ジオール型色素であるアリザリン色素と可逆的な相互作用を発現させ、その色素の光学特性を制御できることを意味する。われわれは、この点に着目した自己組織型センサーを設計し、アニオン類に対する蛍光応答性の機能発現を検討した。

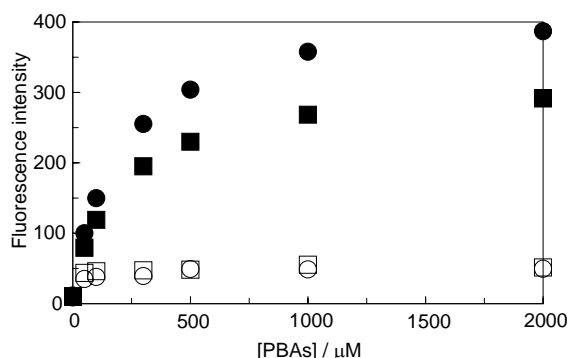
### 3. アニオンで誘導されるフェニルボロン酸-アリザリン共役化<sup>1,2)</sup>

PBA のホウ素中心にルイス塩基性アニオンが配位したとき、*cis*-ジオール体との相互作用が強くなる。これは、レセプター(PBAs)とレポーター(アリザリン)の共役化を被検査アニオン種が誘導できることを意味し、新しい自己組織型アニオンセンサーとして機能発現が期待される(Scheme 2)。

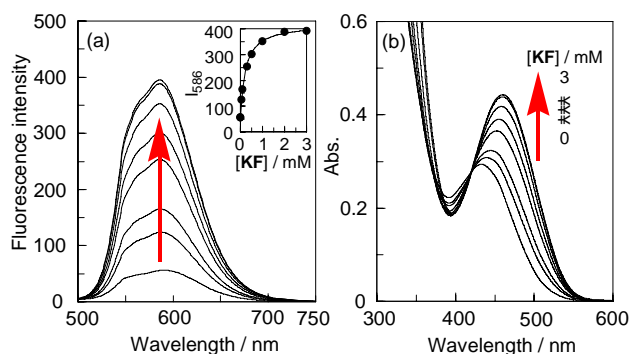


Scheme 2. Concept of analyte-induced self-organization.

メタノール中、アリザリンに PBAs を添加しても反応しない。しかしながら、KF(40 当量)存在下で同様な滴定実験をおこなったところ、蛍光応答することを見いだした(Figure 1)。この応答は、3-ニトロフェニルボロン酸(NPBA)において顕著であったことから、ホウ素のルイス酸性が大きな役割を果たしている。そこで、アリザリンと 40 当量の NPBA 存在下、KF を添加したところ、蛍光応答の増大を観測した(Figure 2;  $\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 586 \text{ nm}$ )。この応答挙動は、 $\text{F}^-$  が誘導した NPBA-アリザリン共役体形成を示唆する。われわれは、その反応経路に関する知見を得るため、各種機器分析をおこなった。

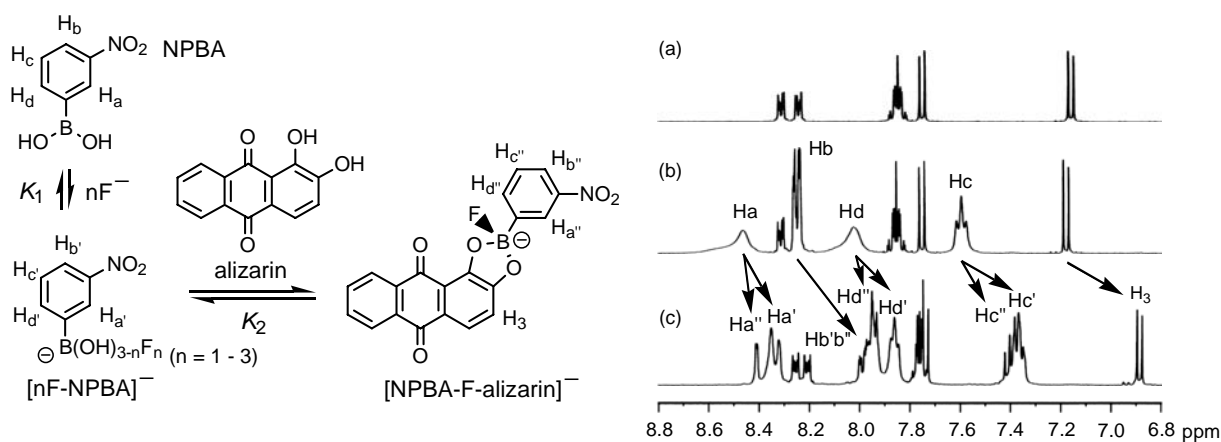


**Figure 1.** Plots of the fluorescence intensity of alizarin with an incremental amount of NPBA or PBA in the absence and presence of KF at 25 °C; (●) NPBA plus KF (40 eq.) at 586 nm; (○) NPBA at 586 nm; (■) PBA plus KF (40 eq.) at 600 nm; (□) PBA at 600 nm. [alizarin] = 50 μM, [KF] = 2 mM.  $\lambda_{\text{ex}} = 420$  nm.



**Figure 2.** Change in fluorescence spectra (a) and UV-vis spectra (b) for alizarin (50 μM) upon the addition of KF in the presence of NPBA (2 mM) in MeOH at 25 °C. Inset: representative titration curve and fit of  $K_a$  to a 1 : 1 binding model.  $\lambda_{\text{ex}} = 420$  nm.

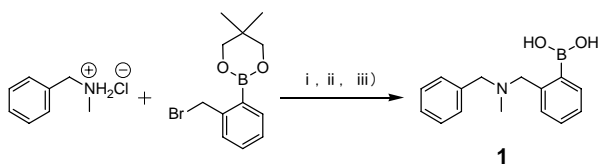
Figure 3 に  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを示す。Figure 3 (a, b)から、アリザリンに NPBA を添加しても化学シフト変化はみられない。しかしながら、過剰量の  $(n\text{-Bu})_4\text{NF}$  を添加すると、NPBA に由来する化学シフトが高磁場シフトとともに分裂し、アリザリンの  $\text{Ar-H}_3$  に 0.28 ppm の高磁場シフトが観測された (Figure 3c)。参照実験として NPBA 単独に  $(n\text{-Bu})_4\text{NF}$  を添加した  $^1\text{H}$  NMR 滴定実験から、 $\text{Ha}''\cdot\text{Hb}''\cdot\text{Hc}''$  は  $[\text{NPBA-F-アリザリン}]^-$  錯体のものと帰属され、その存在を FAB MS で確かめた ( $m/z = 390$ )。一方、NPBA が  $\text{F}^-$  と反応して  $[\text{nF-NPBA}]^-$  が生成することは、 $^1\text{H}$  NMR とともに蛍光滴定実験 ( $K_1 = 9.4 \times 10^9 \text{ M}^{-3}$ ) から認められたので、Figure 3 の経路によってアリザリンの蛍光応答が観測されるものと考えられる。ここで、Figure 2 の蛍光滴定実験の結果がアリザリンと NPBA の 1 : 1 錯体形成を仮定した非線形カーブフィッティングで再現できたことから、モノフルオロボロネート体  $[\text{F-NPBA}]^-$  が形成されると、ただちにアリザリンと反応すると思われる ( $K_2 = 4800 \pm 150 \text{ M}^{-1}$ )。この考察は UV-vis スペクトル滴定実験で等吸収点が観測されたことから支持された。以上の知見より、メタノール中、NPBA はアリザリンと殆ど相互作用しないが、 $\text{F}^-$  を添加すると  $sp^3$  型フェニルフルオロボロネート体が生成し、それがアリザリンと強く相互作用した結果、蛍光強度の増加を導くものと類推した。この応答挙動は、各種アニオンを用いて調査され、添加したアニオンの  $\text{p}K_a$  値に依存することがわかった。



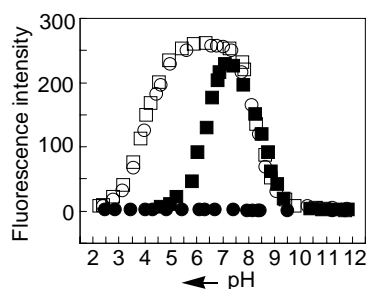
**Figure 3.**  $^1\text{H}$  NMR spectra (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , room temperature) of alizarin (a), alizarin plus NPBA (b) and alizarin plus NPBA upon adding  $(n\text{-Bu})_4\text{NF}$  (c). [alizarin] = 3.8 mM, [NPBA] = 20 mM,  $[(n\text{-Bu})_4\text{NF}] = 20$  mM.

#### 4. *o*-アミノメチルフェニルフェニルボロン酸-アリザリン共役化の pH 依存性を利用したフッ化物イオンセンシング<sup>3)</sup>

アニオン種は、その生物学的な重要性が指摘されながら水和されやすい性質をもつため、水系媒質における光学センシングが依然として重要なターゲットとなる。われわれは、*o*-アミノメチルボロン酸誘導体(**1**)<sup>6)</sup> とアリザリンの共役化を検討していたところ、水系媒質中、被検査アニオンの存在によってアリザリンの光学特性が制御できることを見いだした。



**Scheme 3.** Reagents and conditions; i)  $K_2CO_3$ , THF / MeCN (1/1, v/v), reflux, ii) silica gel column chromatography, precipitation from  $CHCl_3$  / Hexane, iii)  $H_2O$  / MeOH.



**Figure 4.** Spectrofluorimetric pH-titrations of alizarin (●); alizarin plus **1** with  $F^-$  (■); alizarin plus **1** with  $AcO^-$  (○) in  $H_2O$ -MeOH (1:4 w/w); 100 mM NaCl; [alizarin] = 50  $\mu$ M; [**1**] = 459  $\mu$ M; [KF] = [KOAc] = 30 mM;  $\lambda_{ex}$  = 420 nm;  $\lambda_{em}$  = 550 nm.

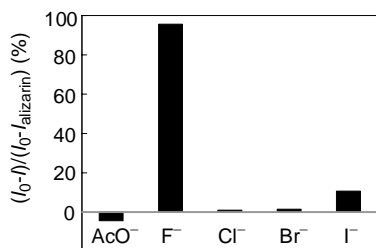
Scheme 3 にしたがって合成された **1** は、ボロン酸部位に隣接するアミン部位と効果的な B-N 相互作用を発現し、 $sp^3$  型ボロン構造をとる<sup>7)</sup>。そこで、**1** とアリザリンを 20 wt% 含水メタノールに溶解させ、その会合挙動を検討した。アリザリンは単独では蛍光を示さないが、**1** を添加すると、蛍光発光が観測された ( $\lambda_{ex}$  = 420 nm,  $\lambda_{em}$  = 550 nm)。これは迅速なボロネートエステル化を通じて、**1** とアリザリンが会合したことを示唆する。1 : 1 の錯体形成モデルに基づく非線形カーブフィッティングプロットより、**1** とアリザリンの会合定数は、 $K_a = (1.22 \pm 0.09) \times 10^4$

$M^{-1}$  と見積もられ、この会合体の形成は FAB MS によって支持された ( $m/z$  = 460)。

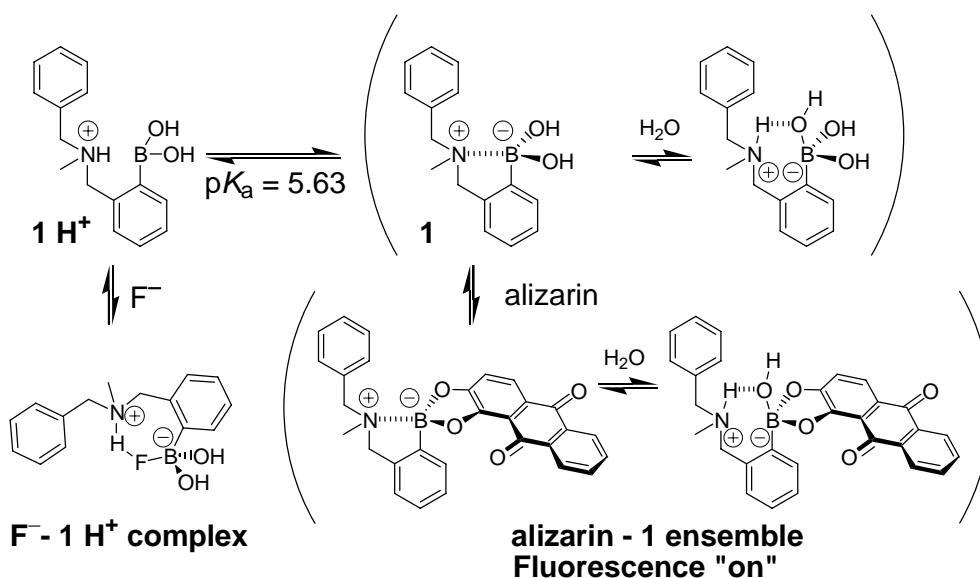
ここで、**1**-アリザリン共役体の蛍光特性について詳細な知見を得るため、その pH 依存性を調査した (Figure 6)。アリザリンは全 pH 領域において蛍光を示さないが (●)、10 当量の **1** を共存させると、pH 5–8 の広い範囲で蛍光発光を維持した (□)。興味あることに、その pH 依存性をアニオンの存在・非存在下で検討したところ、 $F^-$  存在下、pH < 7 において顕著な蛍光消光を観測した (■)。一方、被検査アニオンに  $AcO^-$  を用いた場合では、同様の消光過程はみられなかった (○)。

以上の調査をもとに、pH 5.5 に調整した溶液に各種アニオン ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $AcO^-$ ) をした結果、 $F^-$  において選択的な蛍光消光を見だし、水系媒質中における高選択的  $F^-$  センシングを達成した (Figure 7)。

<sup>11</sup>B, <sup>19</sup>F NMR を駆使した調査から当該反応機構を以下のように提案している。



**Figure 5.** Fluorescence quenching for alizarin upon adding various anions in the presence of **1** in  $H_2O$ -MeOH (1:4 w/w); 100 mM NaCl; MES buffer (pH 5.5); 25 °C, [alizarin] = 50  $\mu$ M, [**1**] = 454  $\mu$ M,  $\lambda_{ex}$  = 420 nm. *I* denotes the fluorescence intensity in the presence of 30 mM of  $X^-$  ( $X^-$  =  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $AcO^-$  as potassium salts).



## 5. 結語

本研究では、フェニルボロン酸とジオール型色素であるアリザリンの可逆的な相互作用が、その色素の蛍光特性をコントロールできることに着目し、アニオン類を被検査物質とした自己組織型蛍光センサーの開発をおこなった。これら蛍光センサーは、要素(分子)間相互作用を利用していることから、調製が簡便であり、リサイクル化が容易であるという利点をもつ。

当該プロジェクトの実施に際して、多大なご支援をいただきましたことに厚くお礼申し上げます。

## 参考文献

1. Y. Kubo, T. Ishida, A. Kobayashi and T. D. James, *J. Mater. Chem.*, **2005**, *15*, 2889-2895.
2. Y. Kubo, A. Kobayashi, T. Ishida, Y. Misawa and T. D. James, *Chem. Commun.* **2005**, 2846-2848.
3. Y. Kubo, T. Ishida, T. Minami and T. D. James, *Chem. Lett.*, **2006**, *35*, 996-997.