

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24550097

研究課題名(和文) 液液界面における dendrimer の反応特異性と電気化学的分離・検出系の構築

研究課題名(英文) Specific reaction of dendrimers at liquid/liquid interfaces and its application to electrochemical separation and detection systems

研究代表者

永谷 広久 (Nagatani, Hirohisa)

金沢大学・物質化学系・准教授

研究者番号：90346297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：イオン性分子と dendrimer との相互作用を利用した液液分配反応の電気化学的制御と光機能化 dendrimer の分光検出試薬としての応用について分光電気化学的に研究した。界面電荷移動反応の解析により、イオン性分子の dendrimer への包接は、dendrimer のサイズと荷電状態の変化に依存することが明らかとなった。さらに、対称性や電荷数が同じ条件でも、被包接分子の中心金属への配位などが包接安定性に強く影響することを見いだした。また、金ナノドットとの複合化や化学処理を通じて dendrimer を光機能化し、液液分配系における金属イオンの分離・検出試薬としての適応性を確認した。

研究成果の概要(英文)：Electrochemical control of liquid/liquid distribution of ionic species through specific interactions with the dendrimer and application of photofunctionalized dendrimers as a spectrophotometric reagent were studied by means of spectroelectrochemical techniques. The mechanistic analysis of charge transfer reactions across the liquid/liquid interface demonstrated that the encapsulation behavior of ions into the dendrimer significantly depends on the molecular size and charged state of the dendrimer. It was also indicated that the axial-coordinations of the dendrimer to the metal center of encapsulated species could enhance the ion association stability. In addition, the photofunctionalized dendrimers obtained from the hybridization with luminescent gold nanodots and chemical modifications were examined as separation and spectrophotometric reagents for metal ions in liquid/liquid systems.

研究分野：分光電気化学

キーワード： dendrimer 分子包接 液液界面 イオン移動 界面吸着 電位変調蛍光分光法 ドラッグデリバリー

1. 研究開始当初の背景

混じり合わない液体の境界領域である液液界面は、溶媒抽出に代表される分離・検出の反応場としての分析化学的な重要性に加えて、生体膜のモデル反応場としてドラッグデリバリーシステム(DDS)の研究にも利用できる二次元特異反応場である。本研究で用いる dendrimer は、規則的な三次元階層構造を持つ多岐高分子化合物で、高分子化合物でありながら分子サイズや官能基の種類・数を正確に制御できる。また、末端基と分子内の官能基の反応性の違いから、正負の電荷がペリフェリ(外殻)とインテリア(内殻)に局在化するため、共存イオンと特異な静電相互作用を生じる。このような dendrimer の反応特異性は DDS や分離・検出反応系において非常に有用であると考えられる。しかしながら、液液界面における dendrimer の関与する電荷移動反応の研究は、測定手段が限られているため、世界的にも報告例が極めて少ない。これまでに永谷らは、界面電荷移動反応の高感度測定が可能な電位変調蛍光分光法(PMF)を適用することで dendrimer による蛍光色素の包接・分配挙動を研究した^{1,2}。その中で、分子包接が溶液条件と被包接分子の構造に大きく影響されることを明らかにした。また、dendrimer が安定な包接化合物を形成し、包接状態を維持したまま界面電位差に依存して相間分配することや、有機相の疎水性アニオンに対する相間移動触媒として機能することなどを報告した。これらの反応性は、dendrimer を分離・検出試薬として応用する上で必須の機能である。被包接分子の構造・物性と包接安定性の関係およびその電位依存性を明らかにできれば、dendrimer の分析化学的応用を行う上で非常に有用である。

2. 研究の目的

液液界面における dendrimer の分配・吸着挙動を電気化学的に制御することにより、共存分子との相互作用を利用した分離試薬としての応用、および光機能化を通じた検出試薬としての機能開発を進めるため、以下の研究を実施した。

(1) 溶液内および液液界面における dendrimer の有機分子や金属錯体に対する包接挙動を解明し、分離・抽出試薬としての反応性を明らかにする。

(2) dendrimer の化学処理による蛍光性の付与や発光性金ナノドットとの複合化を通じた光機能化を行う、分子包接機能を有する高感度分光検出試薬としての機能性を評価する。

本研究を通じて、既存の分析試薬や発光性ナノ粒子では実現が難しい、高度な反応選択性を有する分析試薬として dendrimer の機能性を開発し、新規な分離・検出系の構築を行う。

3. 研究の方法

(1) 電気化学的に分極した水/1,2-ジクロロエタン(DCE)界面におけるアミノ末端およびカルボキシ末端ポリアミドアミン(PAMAM) dendrimer と共存イオンの会合・包接および相間分配機構を解明するために、イオン移動ポルタンメトリーと PMF による解析を行った。測定対象に蛍光性配位子である水溶性ポルフィリンとその亜鉛(II)錯体を用い、dendrimer による包接安定性や選択性を定量的に評価した。また、各種の薬剤分子との相互作用についても検討した。

(2) dendrimer の光機能化は、発光性金ナノドット(AuND)との複合化と過硫酸アンモニウム(APS)処理による蛍光性付与を試みた。AuND との複合化は、水溶液中で出発物質である塩化金酸イオンをヒドロキシ末端 PAMAM dendrimer のインテリアに取り込ませ、還元剤を添加することで発光特性を有する AuND を dendrimer のインテリアで *in situ* 合成した。水溶液中の光機能性 dendrimer の発光特性の分光測定と水/DCE 界面における分光電気化学解析から、光機能化による dendrimer の界面物性の変化を評価した。また、2価金属イオン共存下の発光強度変化から、分光検出試薬としての機能性を評価した。

4. 研究成果

(1) dendrimer による水溶性ポルフィリンの分子包接と液液界面における反応挙動

アミノ末端 PAMAM dendrimer とポルフィリンの *meso*-スルホナトフェニル誘導体の Free Base (H_2TPPS^+) または亜鉛(II)錯体 ($ZnTPPS^+$) を水溶液中に共存させた条件下では、吸収・蛍光スペクトルが pH に依存して変化した。ポルフィリンのプロトン付加体 (H_4TPPS^{2+}) が生成する酸性条件下では、dendrimer によって H_4TPPS^{2+} の J 会合の形成が促進された。一方、 $ZnTPPS^+$ を用いた場合は、酸性から塩基性までの広い pH 条件において吸収極大波長の大きな変化はなく、dendrimer と安定な会合を形成することで $ZnTPPS^+$ の酸分解(金属解離反応)が抑制されることを確認した。これらのことから、ポルフィリン錯体の中心金属が dendrimer との包接・会合形成に重要な役割を担

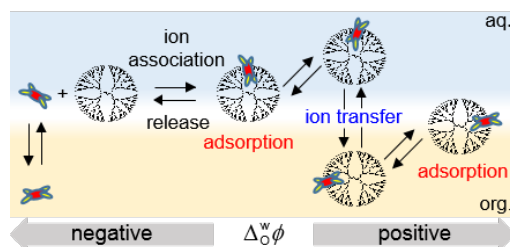


図1. 電気化学的に制御した水/DCE 界面における PAMAM dendrimer と水溶性ポルフィリンの相互作用。

ていることが示唆された。ポルフィリンと dendriマー共存系の水/DCE 界面における PMF 測定から、ガルバニ電位差 ($\Delta\phi^w$) が正の分極条件では、ポルフィリンと会合した dendriマーの吸着過程を伴ったイオン移動が生じることを確認した。また、dendriマーの共存によってポルフィリンのイオン移動電位がネガティブシフトし、水相で dendriマーと会合したポルフィリンが界面領域で放出されることでイオン移動が生じていることが明らかとなった(図1)。イオン移動電位のシフト量からポルフィリン-dendriマー間の会合体形成によるギブズ自由エネルギー変化を見積った。会合体は、高い世代の dendriマーでより形成されやすく、また、垂鉛ポルフィリンの中心金属への軸配位が会合体の安定化に大きく寄与していることが明らかとなった。

(2) dendriマーと薬剤分子の相互作用

薬剤分子としてカチオン性のプロプラノロール (PPL, 心筋梗塞治療薬) とジピリダモール (DIP, 心筋梗塞治療薬) を用いて、dendriマーとの相互作用および界面反応機構について検討した。薬剤分子の水溶液の吸収・蛍光スペクトルは pH に依存して変化したが、dendriマーの共存による明瞭な変化は観測されなかった。一方、PPL と dendriマー共存系の水/DCE 界面における電気化学測定では、高 pH 条件で PPL のイオン移動電位が正電位側にシフトした。さらに、酸性条件下ではイオン移動より正側で PPL の吸着に起因すると考えられる応答が得られた。これらの変化は用いる dendriマーの世代や末端官能基に依存したため、分子間の静電的あるいは疎水性相互作用が変化し、界面反応機構に影響していることが示唆された。また、DIP は pH に依存して水相あるいは有機相への溶解度が著しく変化した。酸性条件下では、DIP はカチオン種としてイオン移動反応と有機相側での界面吸着過程を生じることが明らかとなった。中性条件下では、界面吸着に関する応答が主に観測された。カルボキシ末端 PAMAM dendriマー共存下では、dendriマーが正に帯電する酸性条件下では静電反発、負に帯電する中性条件下では静電

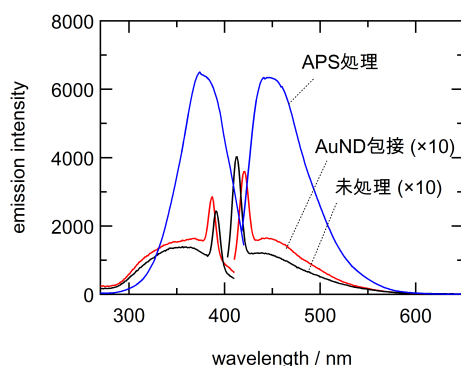


図2. 発光性 dendriマーの励起・蛍光スペクトル。

相互作用により、界面反応機構が変化することが示唆された。

(3) 光機能性 dendriマーの発光特性と界面反応機構

ヒドロキシ末端 PAMAM dendriマーを出発物質として得られた光機能性 dendriマーの発光特性は、未処理のものとは比べて APS 処理 dendriマーで 50 倍程度、AuND 包接 dendriマーで 1.3 倍の発光強度が得られた(図2)。APS 処理 dendriマーの発光強度は、インテリアのブランチポイントである三級アミンの pK_a よりも低い pH 条件で大きく増加することを確認した。強い発光強度が得られた APS 処理 dendriマーについて、各種金属イオンの添加による発光強度変化を測定したところ、銅(II)イオンによる発光強度の低下が観測され、dendriマーが金属イオンと相互作用することで消光されることを見いだした。さらに、光機能性 dendriマーの水/DCE 界面における電気化学測定および PMF 測定から、界面反応挙動は光機能化の影響をほとんど受けず、正の分極領域で吸着過程を伴うイオン移動反応が生じることを確認した。以上の結果から、簡単な化学処理によって dendriマーに発光性を付与することができ、金属イオンによる消光特性を利用した分光検出試薬や液液分配を利用した分離試薬としての可能性が示された。

<引用文献>

H. Nagatani, T. Ueno, T. Sagara “Spectro-electrochemical analysis of ion-transfer and adsorption of the PAMAM dendrimer at a polarized liquid|liquid interface” *Electrochim. Acta* **53(22)** 6428-6433 (2008).

H. Nagatani, T. Sakamoto, T. Sagara, “Encapsulation of anilinonaphthalene-sulfonates in carboxylate-terminated PAMAM dendrimer at the polarized water|1,2-dichloroethane interface” *Langmuir* **26(22)**, 17686-17694 (2010).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

H. Nagatani, H. Sakae, T. Torikai, T. Sagara, H. Imura “Photoinduced electron transfer of PAMAM dendrimer-zinc(II) porphyrin associates at polarized liquid|liquid interfaces” *Langmuir*, 査読有, in press. doi: 10.1021/acs.langmuir.5b01165

T. Yoshimura, H. Nagatani, T. Osakai “Combined use of two membrane-potential-sensitive dyes for determination of the Galvani potential difference across a biomimetic oil/water interface” *Anal. Bioanal. Chem.*, 査読有, **406(14)**, 3407-3414 (2014). doi: 10.1007/s00216-014-7776-x

H. Sakae, H. Nagatani, K. Morita, H. Imura “Spectroelectrochemical characterization of

dendrimer-porphyrin associates at polarized liquid|liquid interfaces” *Langmuir*, 査読有, **30(3)**, 937-945 (2014). doi:10.1021/la404079m

H. Nagatani, M. Harada, H. Tanida, H. Sakae, H. Imura “Coordination structure of bromide ions associated with hexyltrimethylammonium cations at liquid/liquid interfaces under potentiostatic control as studied by total-reflection X-ray absorption fine structure” *J. Chem. Phys.*, 査読有, **140(10)**, No.101101 (2014). doi:10.1063/1.4867899

T. Osakai, T. Yoshimura, D. Kaneko, H. Nagatani, S. H. Son, Y. Yamagishi, K. Yamada “Potential-modulated fluorescence spectroscopy of zwitterionic and dicationic membrane-potential-sensitive dyes at the 1,2-dichloroethane/water interface” *Anal. Bioanal. Chem.*, 査読有, **404(3)**, 785-792 (2012). doi:10.1007/s00216-012-6199-9

A. J. Olaya, D. Schaming, P.-F. Brevet, H. Nagatani, H. J. Xu, M. Meyer, H. H. Girault “Interfacial self-assembly of water-soluble cationic porphyrins for the reduction of oxygen to water” *Angew. Chem. Int. Ed.*, 査読有, **51(26)**, 6447-6451 (2012). doi:10.1002/anie.201202266

[学会発表](計19件)

坂江広基, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “挙動に及ぼすデンドリチック分子の効果” 第60回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会, 京都工芸繊維大学(京都市), 2014年11月16日.

山本翔, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “全内部反射偏光変調蛍光分光法による液液界面化学種の吸着・配向挙動の高感度測定” 第60回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会, 京都工芸繊維大学(京都市), 2014年11月16日.

坂江広基, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “デンドリチック分子共存下の液液界面における薬剤分子のイオン移動・吸着反応挙動” 日本分析化学会第63年会, 広島大学(東広島市), 2014年9月18日.

山本翔, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “液液界面におけるイオン性色素の吸着・配向挙動の偏光変調蛍光測定” 日本分析化学会第63年会, 広島大学(東広島市), 2014年9月17日.

永谷広久 “新規な *in situ* 分光電気化学測定法を用いた液液界面吸着化学種の状態分析” ソフト界面科学研究会, 東京大学(東京都), 2014年9月13日.

H. Sakae, H. Nagatani, K. Morita, H. Imura “Ion Transfer and Adsorption Behavior of Organic Ions Associated with PAMAM Dendrimers at Liquid|Liquid Interfaces” 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Lausanne (Switzerland),

2014年9月1日.

H. Nagatani, S. Yamamoto, K. Morita, H. Imura “Spectroelectrochemical Characterization of Ionic Dyes at Liquid|Liquid Interfaces by Polarization-Modulation Total Internal Reflection Fluorescence Spectroscopy” 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Lausanne (Switzerland), 2014年9月1日.

安藤太一, 吉田昇平, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “金属ナノ粒子共存下の液液界面における不均一光誘起電子移動反応の検討” 日本化学会北陸地区講演会と研究発表会, 石川県ハイテク交流センター(石川県・能美市) 2013年11月22日.

永谷広久 “液液界面における電荷移動・吸着反応機構の分光電気化学解析” 2013年度第2回関西電気化学研究会, 大阪市立大学(大阪市), 2013年10月19日.

山本翔, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “全内部反射偏光変調蛍光分光法による液液界面吸着化学種の配向特性と動的挙動の高感度解析” 日本分析化学会第62年会, 近畿大学(東大阪市), 2013年9月12日.

家中杏奈, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “蛍光性デンドリマーの発光特性と液液界面における反応挙動” 日本分析化学会第62年会, 近畿大学(東大阪市), 2013年9月10日.

坂江広基, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “液液界面におけるPAMAMデンドリマーのアニオン性ポルフィリンに対する分子包接挙動の分光電気化学解析” 日本分析化学会第62年会, 近畿大学(東大阪市), 2013年9月10日.

H. Sakae, H. Nagatani, K. Morita, H. Imura “Spectroelectrochemical Analysis of Encapsulation Behavior of Anionic Porphyrins in PAMAM Dendrimers at Liquid|Liquid Interfaces” The Twelfth Asian Conference on Analytical Sciences (Asianalysis XII), 九州大学(福岡市), 2013年8月22日.

H. Nagatani, M. Harada, H. Tanida, H. Sakae, H. Imura “Total-Reflection XAFS Analysis at Polarized Liquid|Liquid Interfaces” The Twelfth Asian Conference on Analytical Sciences (Asianalysis XII), 九州大学(福岡市), 2013年8月22日.

坂江広基, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “液液界面におけるアニオン性ポルフィリンデンドリマー会合体の分光電気化学解析” 第58回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会, 高尾の森わくわくビレッジ(東京都・八王子市), 2012年11月27日.

永谷広久, 原田誠, 谷田肇, 坂江広基, 井村久則 “全反射X線吸収分光法による2-オクタノン/水界面における吸着化学種の直接測定” 第58回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会, 高尾の森わく

わくビレッジ(東京都・八王子市), 2012年11月26日.

永谷広久 “液液界面における電荷移動・吸着反応機構の分光電気化学解析” 第31回分析化学中部支部夏期セミナー, 信州大学(松本市), 2012年8月31日.

永谷広久, 吉田昇平, 増富千種, 相樂隆正, 森田耕太郎, 井村久則 “液液界面における金コア - 銀シェルナノ粒子の光電流増幅効果” 第72回分析化学討論会, 鹿児島大学(鹿児島市), 2012年5月20日.

坂江広基, 永谷広久, 森田耕太郎, 井村久則 “アミノ末端PAMAM dendrimerによるアニオン性ポルフィリンの分子包接と液液界面における反応挙動” 第72回分析化学討論会, 鹿児島大学(鹿児島市), 2012年5月20日.

[図書](計1件)

H. Nagatani “*In Situ* Spectroscopic Characterization of Porphyrins at Liquid Interfaces” in *Handbook of Porphyrin Science*, 査読有, Vol. 34: Harnessing Solar Energy, K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard eds., World Scientific Publishing Co., Singapore, pp 51-96 (2014).

[その他]

ホームページ等

<http://chem.s.kanazawa-u.ac.jp/anal/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永谷 広久 (NAGATANI, Hirohisa)
金沢大学理工研究域物質化学系・准教授
研究者番号: 90346297

(2) 研究分担者

井村 久則 (IMURA Hisanori)
金沢大学理工研究域物質化学系・教授
研究者番号: 60142923