

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：32621

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22350039

研究課題名(和文)疎水ナノ空間包接場を用いる超分子分離システムの開発

研究課題名(英文)Development of Supramolecular Separation Systems Based on Inclusion Function of Hydrophobic Nano Spatial Field

研究代表者

早下 隆士 (HAYASHITA, TAKASHI)

上智大学・理工学部・教授

研究者番号：70183564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円、(間接経費) 4,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、様々な鎖長のフェニルボロン酸型アゾプローブ(B-Azo-Cn (n = 6, 8, 10 and 12))を設計し、ソフト鋳型を用いてプローブ分子を $\gamma$ -CyDに埋設したゲルによる単糖類の選択的分離法の開発を行った。疎水的なアゾプローブB-Azo-C10は安定に $\gamma$ -CyD空洞に包接され、優れたガラクトース選択性を示すことを見いだした。一方、グルコースで鋳型した $\gamma$ -CyDゲルでは、グルコース選択的な吸着が得られた。糖の繰り返し吸着実験による結合サイトの再配向により、標的とする糖への選択性が向上するCyDゲルの新しい自己学習機能の発現に成功した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have designed phenylboronic acid azoprobes possessing various alkyl chain lengths (B-Azo-Cn (n = 6, 8, and 10)) and introduced it into a CyD cavity to form a gel for the selective adsorption of monosaccharides based on the template effect. The hydrophobic azoprobe, B-Azo-C10, was stably incorporated inside the  $\gamma$ -CyD cavity and exhibited the highest adsorption selectivity for galactose. On the other hand the  $\gamma$ -CyD gel with the glucose template exhibited glucose-selective adsorption. Based on the repositioning of the binding sites for target sugar recognition by repeating sugar adsorption, novel self-learning ability of CyD gel was successfully realized.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：糖識別 分離システム ソフト分子鋳型 フェニルボロン酸 シクロデキストリンゲル 超分子 自己学習機能

### 1. 研究開始当初の背景

非共有結合相互作用で結びつけられた超分子は、環境の変化に応答して再配列し、複合体としての機能を変化させることができる。これまでに我々は、これら超分子が示す動的分子認識機能に着目した超分子化学センサーの開発を進めてきた。特に水溶性の環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (CyD) の包接能を使って、分子認識プローブの $\gamma$ -CyD 空洞内での組織構造変化に基づくアルカリ金属イオン認識、有害鉛(II)イオン認識、およびグルコース認識等の開発に成功している。本研究では、これら超分子計測システムの原理を、分離技術に応用することを考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、超分子の特性を活かし、疎水ナノ空間包接場を提供できる CyD ゲルを設計し、これに水に不溶の様々な分子認識リガンドを導入することで、動的分離機能を有する超分子分離システムを開発を行う。非共有結合相互作用で固定化された分子認識リガンドは、疎水ナノ空間包接場の中で分離対象の基質に応答して、動的な再配列を行い、従来の分離材とは異なった、より複雑な構造の基質を識別できる分離機能材料の開発が期待できる。またソフト分子鑄型の概念も導入可能である。生体機能のように、基質形体に合わせて認識構造を変える自己学習能力

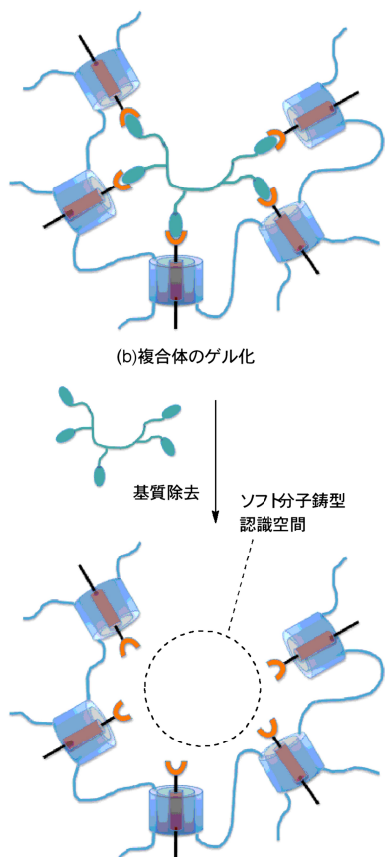


図1 ソフト分子鑄型に基づくCDゲルの設計

や、認識部位が崩壊しても自分で崩壊部位を修復し自発的に機能を回復する全く新しい超分子分離システムを開発する(図1)。

### 3. 研究の方法

本研究で用いる糖認識プローブ **B-Azo-Cn** と CyD ゲルの構造式を図2に示す。プローブである **B-Azo-C6, C8, C10, C12** をアゾカップリングにより合成し、 $\gamma$ -CyD に包接させゲル化させた。**B-Azo-Cn** は糖と結合するボロン酸部位、CyD と疎水性相互作用するアルキル鎖を持つアゾプローブである。CyD ゲルは $\gamma$ -CyD をモノマーとしエチレングリコールジグリシジルエーテル (EGDE) を架橋剤として塩基性条件下 (0.2 M KOH 水溶液) で合成した。CyD ゲルに **B-Azo-Cn** (プローブ) が包接によって固定化されており、従来の分離材料と異なり非共有結合型の分離材料となっている。この相互作用により本研究のゲルは自己学習能力を発現することが期待できる。糖添加/未添加のゲルをそれぞれ作成し、ゲルの添加前後での糖溶液の濃度変化量から吸着量を求めることで吸着等温線を算出し、ゲルの鑄型効果を調べた。吸着挙動の解析は、Langmuir プロットで行った。糖の定量はフェノール硫酸法を用いた。なお研究に必要な分析機器は、全て上智大学現有設備を用いた。

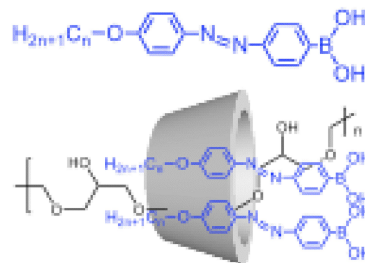


図2 B-Azo-CnおよびB-Azo-Cn/ $\gamma$ -CyDゲルの構造

### 4. 研究成果

#### (1) 超分子 CyD ゲルのソフト分子鑄型効果

本研究では、選択的に糖を分離するために、CyD ゲル合成時の糖鑄型を用いたソフト分子鑄型効果を調べた。超分子 CyD ゲルに対するグルコース鑄型ゲルと分子鑄型なしのゲル、それぞれの吸着等温線を図2に示す。グルコース鑄型ゲルはグルコースを選択的に吸着した。これはゲル化する際のグルコースとの前配向により、ボロン酸と2:1型でグルコースに結合しやすい配置になり、一方、結合位置が違うガラクトースの吸着量は減少し、1:1型で結合するフルクトースはボロン酸との静電的な反発、立体障害のため結合しにくくなったと考えられる。しかし、分子鑄型なしのゲルではガラクトースに対して高い吸着選択性を示した。これは **B-Azo-C8/ CyD** 複合体と **B-Azo-C8/ CyD**-ガラクトース複合体の結合様式が似ているた

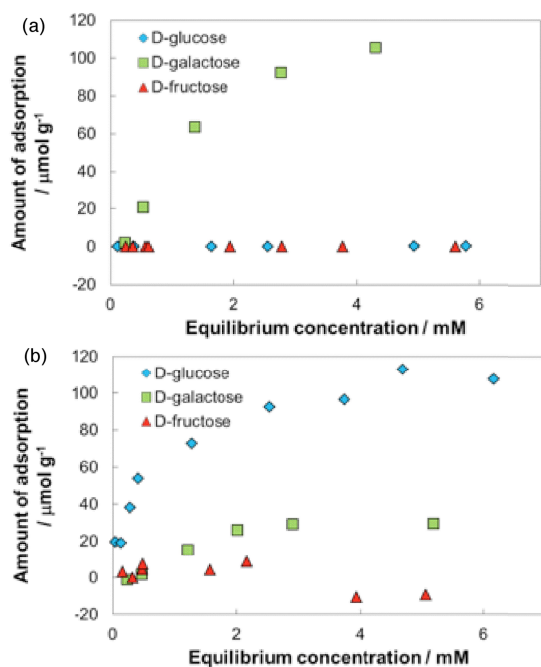


図3 B-Azo-C8/γ-CyDゲルに対する各種糖の吸着等温線。  
(a) 非鑄型ゲル、(b) グルコース鑄型ゲル

表1 CyDゲルの飽和吸着量 /μmol g<sup>-1</sup> (吸着平衡定数 /mol<sup>-1</sup>m<sup>3</sup>)

| ゲル                  | グルコース        | ガラクトース     | フルクトース |
|---------------------|--------------|------------|--------|
| ブランク                | n.d.         | n.d.       | n.d.   |
| B-Azo-C8 (非鑄型)      | n.d.         | 0.51(303)  | n.d.   |
| B-Azo-C6 (グルコース鑄型)  | -88.5 (n.d.) | n.d.       | n.d.   |
| B-Azo-C8 (グルコース鑄型)  | 1.38(125)    | n.d.       | n.d.   |
| B-Azo-C10 (グルコース鑄型) | 1.35(208)    | 0.41(49.0) | n.d.   |

n.d.: 未測定

めと考えられる。バルク中で B-Azo-C8/CyD 複合体の UV-Vis、誘起円二色性 (ICD) 測定により包接状態を調べた結果、糖なしの状態とガラクトースのスペクトルが類似していることが分かった。Langmuir の吸着唐音式の解析から得られたいくつかの CyD ゲルの吸着パラメーターを表 1 にまとめる。

## (2) アルキル鎖の効果

自己学習能はゲルと認識プローブの相互作用が重要であるため、アルキル鎖を変更することで CyD との相互作用の強さによる吸着量の影響を調べた。結果を図 4 にまとめる。アルキル鎖が短い B-Azo-C6 では CyD から脱離したプローブのアゾ基の吸収により吸着量が負の値になった。アルキル鎖を長くすることによって、グルコースの吸着量が上昇することが分かった。これはアルキル鎖が長いことで CyD との相互作用が強まり包接量が上がったためである。ポロン酸の絶対量の増加ため吸着量は上昇したが、吸着平衡定数は減少した。アルキル鎖長が長くなることで柔軟性が低下していることが明らかとなった。

## (3) 自己学習機能の評価

糖の吸脱着を繰り返し行い、その際の選択性的変化から超分子 CyD ゲルの自己学習機能の評価を行った。また自己学習能の発現す

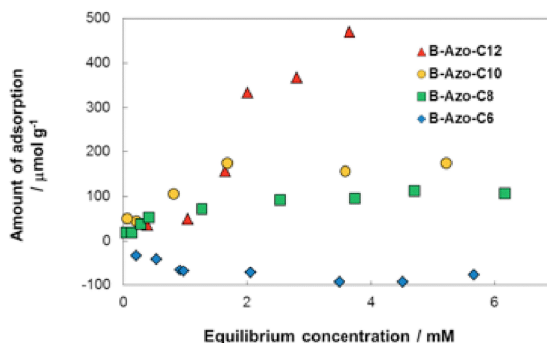


図4 B-Azo-Cn/γ-CyDゲルのグルコース吸着に及ぼすアルキル鎖長の効果

るメカニズム、ゲルの構造・特性を確認することを目的とした。結果を図 5 にまとめる。繰り返し吸脱着を行うことにより、グルコースの選択性が上昇することが分かった(図 5 a)。これはプローブの CyD ゲル内での再配向により選択性が向上したと考えられる。また鑄型なしのゲルでは自己学習能がないことから、自己学習能の発現にはグルコース鑄型のゲルを用いることが重要であることが明らかとなった。

以上のように、本研究では CyD 空洞内への疎水性リガンド B-Azo-Cn の導入により、超分子が示す動的分子認識機能に着目した糖に対する新しい分離システムの開発に成功した。特に使えば使うほど賢くなる自己学習型の糖認識機能は、本研究で初めて得られた超分子機能と言える。

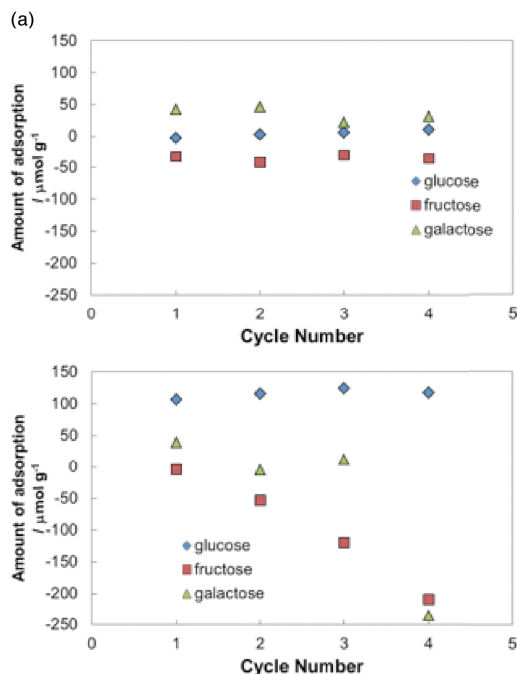


図5 B-Azo-C8/γ-CyDゲルに対する各種糖の繰り返し吸着と自己学習効果。  
(a) 非鑄型ゲル、(b) グルコース鑄型ゲル

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 21 件)

- (1) H. Kano, D. Tanoue, H. Shimaoka, K. Katano, T. Hashimoto, H. Kunugita, S. Nanbu, T. Hayashita, and K. Ema, Effects of Cyclodextrins on Intramolecular Photoinduced Electron Transfer in a Boronic Acid Fluorophore, *Anal. Sci.*, 査読有, **30**, 2014, 643-648. DOI: [10.2116/analsci.30.643](https://doi.org/10.2116/analsci.30.643)
- (2) T. Hashimoto, M. Yamazaki, H. Ishii, T. Yamada, and T. Hayashita, "Design and Evaluation of Selective Recognition on Supramolecular Gel Using Soft Molecular Template Effect", *Chem. Lett.*, 査読有, **43**(2), 2014, 228-230. DOI: [10.1246/cl.130902](https://doi.org/10.1246/cl.130902)
- (3) R. Manikandan, P. Viswanathamurthi, K. Velmurugan, R. Nandhakumar, T. Hashimoto, A. Endo, Synthesis, characterization and crystal structure of cobalt(III) complexes containing 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: DNA/protein interaction, radical scavenging and cytotoxic activities, *J. PhotoChem. PhotoBiol., B*, 査読有, **130**, 2014, 205-216. DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2013.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.11.008)
- (4) N. Selvakumaran, N. S. P. Bhuvanesh, A. Endo, and R. Karbemu, Synthesis, structure, DNA and protein binding studies, and cytotoxic activity of nickel(II) complexes containing 3,3-dialkyl/aryl-1-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea ligands, *Polyhedron*, 査読有, **75**, 2014, 95-109. DOI: [10.1016/j.poly.2014.03.010](https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.03.010)
- (5) S. Selvamurugan, P. Viswanathamurthi, A. Endo, T. Hashimoto, and K. Natarajan, Synthesis, spectral characterization, antioxidant, anticancer in vitro, and DNA cleavage studies of a series of ruthenium(II) complexes bearing Schiff base ligands, *J. Coord. Chem.*, 査読有, **66**(22), 2013, 4052-4066 DOI: [10.1080/00958972.2013.858135](https://doi.org/10.1080/00958972.2013.858135)
- (6) A. A. Kiswandono, D. Siswanta, N. H. Aprilita, S. J. Santosa, and T. Hayashita, Extending the Life Time of Polymer Inclusion Membrane Containing Copoly(Eugenol-DVB) as Carrier for Phenol Transport, *Indo. J. Chem.*, 査読無, **13**(3), 2013, 254-261.
- (7) R. Ariadi Lusiana, D. Siswanta, Mudasir, and T. Hayashita, The Influence of PVA.citric acid/chitosan membrane hydrophilicity on the transport of creatinine and urea, *Indo. J. Chem.*, 査読無, **13**(3), 2013, 262-270.
- (8) D. Mandal, S. M. T. Abtab, A. Audhya, E. R.T. Tiekink, A. Endo, R. Clérac, and M. Chaudhury, Targeted syntheses of homo- and heterotrinary complexes involving  $M^{II}-Ni^{II}-M^{II}$  (M = Ni, Cu, and Pd) nonlinear core: Structure, spectroscopy, magnetic and redox studies, *Polyhedron*, 査読有, **52**, 2013, 355-363. DOI: [10.1016/j.poly.2012.09.006](https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.09.006)
- (9) 早下隆士, "シクロデキストリンを用いる糖認識センサーの開発", *オレオサイエンス*, 査読無, **13**(3), 117-122 (2013).
- (10) 早下隆士, 「超分子形成に基づくシクロデキストリン複合体センサーの開発」, *超分子研究会アニュアルレビュー*, 査読無, **33**, 2012, 12-13.
- (11) A. Endo, H. Minesaka, T. Hashimoto, and T. Hayashita, Electrochemical sugar recognition using a ruthenium complex with boronic acid assembled on polyamidoamine (PAMAM) dendrimer, *Anal. Methods*, 査読有, **4**, 2012, 2657-2660. DOI: [10.1039/c2ay25518a](https://doi.org/10.1039/c2ay25518a)
- (12) K. Bhattacharya, M. Maity, D. Mondal, A. Endo, and M. Chaudhury, Targeted Synthesis of Heterobimetallic Compounds Containing a Discrete Vanadium(V)- $\mu$ -Oxygen-Iron(III) Core, *Inorg. Chem.*, 査読有, **51**(14), 2012, 7454-7456. DOI: [10.1021/ic301054r](https://doi.org/10.1021/ic301054r)
- (13) T. Hashimoto, S. Oyaidu, and T. Hayashita, Design and Function of Novel Azoprobe Possessing Multipoint Binding Sites for Dopamine Recognition, *Bunseki Kagaku*, 査読有, **61**, 2012, 213-219. DOI: [10.2116/bunsekikagaku.61.213](https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.61.213)
- (14) S. Priyarega, D. S. Raja, S. G. Babu, R. Karvembu, T. Hashimoto, A. Endo, and K. Natarajan, Novel binuclear palladium(II) complexes of 2-oxoquinoline-3- carbaldehyde Schiff bases: Synthesis, structure and catalytic applications, *Polyhedron*, 査読有, **34**, 2012, 143-148. DOI: [10.1016/j.poly.2011.12.017](https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.12.017)
- (15) M. Kumai, S. Kozuka, M. Samizo, T. Hashimoto, I. Suzuki, and T. Hayashita, Glucose Recognition by a Supramolecular Complex of Boronic Acid Fluorophore with Boronic Acid-Modified Cyclodextrin in Water, *Anal. Sci.*, 査読有, **28**, 2012, 121-126. DOI: [10.2116/analsci.28.121](https://doi.org/10.2116/analsci.28.121)
- (16) N. Kundu, S. M. T. Abtab, S. Kundu, A. Endo, S. J. Teat, and M. Chaudhury, Triple-Stranded helicates of Zinc(II) and Cadmium(II) involving a new redox-active multiring nitrogenous heterocyclic ligand: Synthesis, structure, and electrochemical and photophysical properties, *Inorg. Chem.*, 査読有, **51**(4), 2012, 2652-2661. DOI: [10.1021/ic202595p](https://doi.org/10.1021/ic202595p)
- (17) F. Sato, and T. Hayashita, Alkali Metal Ion Recognition by Amphiphilic Crown Ether Azoprobe/Cyclodextrin Complex in Water, *Bunseki Kagaku*, 査読有, **60**, 2011, 845-852. DOI: [10.2116/bunsekikagaku.60.845](https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.60.845)
- (18) N. Kundu, M. Maity, P. B. Chatterjee, S. J. Teat, A. Endo, and M. Chaudhury, Reporting a Unique Example of Electronic Bistability Observed in the Form of Valence Tautomerism with a Copper(II) Helicate of a Redox-Active Nitrogenous Heterocyclic Ligand, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, **133**, 2011, 20104-20107. DOI: [10.1021/ja2088986](https://doi.org/10.1021/ja2088986)
- (19) S. Priyarega, P. Kalaivani, R. Prabhakaran, A. Endo, T. Hashimoto, K. Natarajan, Nickel(II) complexes containing thiosemicarbazone and triphenylphosphine: Synthesis, spectroscopy,

crystallography and catalytic activity, *J. Molecular Structure*, 査読有, **102**, 2011, 58-62. DOI: [10.1016/j.molstruc.2011.06.046](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.06.046)

- (20) A. Endo, H. Tsuboya, N. Fujita, Y. Ito, T. Hashimoto, and T. Hayashita, Preparation and Electrochemical Properties of Novel Cyclic Dinuclear Acetylacetonato Ruthenium Complexes Doubly Bridged with Sulfur and/or Disulfur, *Inorg. Chim. Acta*, 査読有, **373**, 2011, 142-149. DOI: [10.1016/j.ica.2011.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ica.2011.04.003)
- (21) S. Nakajima, M. Masuko, A. Oosawa, T. Goto, T. Hashimoto, A. Endo, and T. Hayashita, NMR study on Ru-based quantum spin systems of [Ru(acac)<sub>3</sub>] and [Ru(acac)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>(μ-OEt)<sub>2</sub>, *J. Phys.: Cong. Ser.*, 査読有, **302**, 2011, 012008. DOI: [10.1088/1742-6596/302/1/012008](https://doi.org/10.1088/1742-6596/302/1/012008)

#### 〔学会発表〕(計 117 件)

- (1) 橋本剛・上村拓也・越野杏奈・佐藤一輝・土戸優志・早下隆士, “ジピコリルアミノ型アゾプローブ超分子複合体の設計とリン酸類認識機能評価”, 日本化学会第 94 春季年会, 名古屋大学, 2014 年 3 月 27 日 ~ 30 日 (名古屋).
- (2) T. Hayashita, “Development of Supramolecular Sensors Based on Ditopic Azoprobe/Cyclodextrin Complexes in Water”, Pure and Applied Chemistry International Conference 2014 (PACCON2014), Khon Kaen, January 8-10, 2014 (Thailand).

他 3 件 (2014 年)

- (6) T. Hayashita, “Design and function of supramolecular sensors based on ditopic azoprobe/cyclodextrin complexes in water”, 46th ACS National Meeting & Exposition, Indianapolis, September 8-12, 2013 (Indiana, USA).
- (7) K. Katano, K. Ogura, M. Samizo, T. Hashimoto, T. Hayashita, “Design and ion recognition function of dipicolylamine modified cyclodextrin for ATP sensing in water”, RSC Tokyo International Conference 2013, Makuhari Messe, September 5-6, 2013 (Chiba, Japan).

他 47 件 (2013 年)

- (55) T. Hayashita, "Ratiometric Anion Sensing by 2,2'-Bispyridylmethylamine Fluorophore/Cyclodextrin Complexes in Water", Sendai Symposium on Analytical Sciences 2012, Tohoku University, Katahira Campus, Nov. 9-10, 2012 (Sendai, Japan).
- (56) 早下隆士, “超分子形成に基づく分離分析試薬の設計”, 第 29 回シクロデキストリンシンポジウム, 星薬科大学, 2012 年 9 月 6 日 ~ 7 日 (東京).

他 28 件 (2012 年)

- (85) M. Samizo, K. Ogura, T. Hashimoto, T. Hayashita, “Design and Function of 2,2'-Bispyridylmethylamino Fluorescent Probe/Cyclodextrin Complex Sensors in Water”, 分析展 2011 (第 49

回), 幕張メッセ国際展示場, 2011 年 9 月 7 日 ~ 9 日 (千葉).

- (86) T. Hayashita, S. Kozuka, M. Kumai, M. Samizo, T. Hashimoto, B. D. Smith, “Design and Function of Supramolecular Fluorescent Probe/Cyclodextrin Complexes for Ion and Molecule Recognition in Water”, IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011 (ICAS 2011), Kyoto International Conference Center, May 22-26, 2011 (Kyoto, Japan).

他 31 件 (2011 年)

#### 〔図書〕(計 4 件)

- (1) 橋本剛, 早下隆士, “シクロデキストリンの科学と技術”, 第 3 編第 9 章「シクロデキストリン複合体を用いる糖認識センサーの開発」, シーエムシー (寺尾 啓二, 池田 幸 監修), pp.90-97, 2013 年 12 月.
- (2) 岡田哲男, 早下隆士編, 「トコトンやさしいイオン交換の本」, (株)日刊工業新聞社, 160 頁, 2013 年 6 月.
- (3) 遠藤明, 立間徹, 青木幸一他, “電気化学/インピーダンス測定ノウハウと正しいデータ解釈”, 第 3 章第 1 節 [2] 「In situ 測定-電気化学との同時測定法と電極表面の評価方法」, pp.102-105 (全 632 頁), (株)技術情報協会, 2013 年 5 月 31 日
- (4) 早下隆士, 遠藤明, 橋本剛他, 「分析化学用語辞典 (日本分析化学会編) [分担執筆]」, 全 451 頁, オーム社, 2012 年 10 月.

#### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 構造体ならびにこれを用いた細菌の捕集および検出方法

発明者: 早下 隆士、神澤 信行、小林 広幸

権利者: 学校法人上智学院

種類: 特許

番号: 特願2013-191926

出願年月日: 2013年9月17日

国内外の別: 国内

#### 〔その他〕

研究室ホームページ:

<http://www.mls.sophia.ac.jp/analysis/index.html>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

早下 隆士 (HAYASHITA Takashi)

上智大学・理工学部・教授

研究者番号: 70183564

(2) 研究分担者

遠藤 明 (ENDO Akira)

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号: 00119124

橋本 剛 (HASHIMOTO Takeshi)

上智大学・理工学部・助教

研究者番号: 20333049