

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13979

研究課題名(和文) バイオセンシングを目指した発光プロセス変換有機ナノクリスタルの開発

研究課題名(英文) Development of Luminescence Changeable Organic Crystals aiming for Bio-sensing Materials

研究代表者

藤内 謙光 (Tohnai, Norimitsu)

大阪大学・工学研究科 准教授

研究者番号：30346184

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：バイオセンシング材料を指向して、様々な化学刺激に応じて光学的性質を変化させる有機結晶材料の開発を行った。スルホン酸と種々のアミンからなる有機塩は多孔質構造を構築する性質がある。本研究ではこの多孔質有機塩が化学種を選択的に取り込み、特異的に光学特性を変化させることが解った。アミノアゾスルホン酸塩は分子の精密なキラリティを認識して、非線形光学効果を変化させた。また、スルホフェニルアントラセン塩は、分子構造および電子構造を認識して発光特性を変化させた。これらの特性はセンシング材料を開発する上で非常に重要である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop an optics changeable organic crystal responsive to external stimuli, which would be applied for sensing tools and imaging materials. In order to realize this theme, we employed organic salts composed of aromatic sulfonate and various amines. Chiral amines and 4-aminoazobenzene-4-sulfonic acid gives organic salts which have polar crystals by incorporating guest molecules to yield hyperpolarizability. Guest molecules precisely controlled the polarity and then the crystals became to generate a large non-linear optical (NLO) effect. Triphenylmethylamine (TPMA) and 2-sulfophenyl anthracene (2-SPA) constructed five types of different porous organic salts (POS) depending on template molecules. These POS crystals give various luminescent properties responsive to the difference in molecular and electronic structure of the templates. These effects responsive to chemical species are significant for sensing and imaging materials.

研究分野：超分子化学、結晶工学

キーワード：有機塩 多孔質材料 分子認識 非線形光学効果 蛍光発光

1. 研究開始当初の背景

ゲノム解析が完了し、その後タンパク 3000 プロジェクトなどによって多くの蛋白質の構造が明らかとなりつつある。しかし、生体内の情報伝達では蛋白質だけではなく、プロスタグランジンやロイコトリエンなどの脂質メディエーターやステロイド系のホルモン物質など多くの生体有機低分子が関与している。これらの物質は直接遺伝情報で決まるものではないために、ポストゲノム時代の主要な標的分子と考えられ注目が集まっている。脂質メディエーターやステロイドは種類が多く、僅かな構造の違いで全く正反対の生理活性を示すこともある。また生体内では極めて微量かつ不安定で、定性・定量分析や生理活性の作用機序など明らかになっていないことが多い。研究代表者らはこれまで研究を行ってきた発光可変多孔性結晶をもちいて、これらの情報伝達物質を選択的に捕捉し、細胞を損傷することなく、時間分解、空間分解よく情報伝達物質の生理活性をイメージングすることができるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

研究代表者らはこれまで「有機固体の物性はその分子構造だけでなく、分子集合にも大きく依存する」ということを基本概念に有機固体の光物性、光反応に関する研究を続けている。有機固体発光材料に関する研究では、固相中で分子の配列や配向が発光挙動に大きく影響を与えることを示し、その作用機序を明らかとしてきた。本研究では生体低分子を選択的に取り込み、特異的に発光を変換する物質を開発する。具体的には、多環式芳香族により階層的に柔軟な多孔性結晶を構築し、凝集変換と発光変調を達成すると同時にその作用機序を明らかにする。素子として応用するために、得られた超分子結晶の微細構造を保ったまま、ナノクリスタル化し、極微状態での挙動、機能について解明する。また、形態変化と光学特性の関係についても検証を行っていく。

本研究は結晶状態において化学刺激および物理刺激により動的に分子配列を変換し、発光プロセス制御による劇的な発光挙動の変化を生じる、ダイナミック発光変調多孔性物質の開発を狙いとしている。この多孔性物質に有機情報伝達物質を選択的に取り込み、特異的に発光挙動を変化させるシステムを構築する。これまで情報伝達物質のような生体有機低分子を直接生細胞内で可視化する手法は、タンパクや金属イオン、オルガネラと違い構築されていない。得られた発光変調物質をナノクリスタル化し、水分散性、細胞膜透過性を付与する。生体有機低分子が関与する生命機構を明らかとするバイオセンサーおよび新規の作用機序に基づく生体機構イメージングプローブを創製することに挑戦する。

3. 研究の方法

研究代表者らの生化学的研究経験を活かし、これまで開発してきた多孔性結晶と超分子発光結晶を組み合わせ、それをナノクリスタルにするという斬新なシステムを考案した。化学物質の多孔性結晶による取り込みは選択性が高く、有機色素・蛍光材料は退色が大きな問題となるが、単分子状態にくらべて結晶状態では飛躍的に耐性が向上する。また、ナノクリスタルにすると、有機物質が水に分散するようになり、細胞膜透過性を付与することができる。さらに、遺伝子組み換えに利用されるリポソームを用いれば、比較的容易に細胞内導入が可能となると考えられる。

以下具体的な手順を示す。①多環式芳香族化合物に酸性基を導入した機能団分子を合成する。酸性基としてはカルボン酸やスルホン酸、ホスホン酸を用いる。導入する酸性基によって構築される超分子集合様式が変化し、違った大きさ、形の多孔質構造が得られる。②得られた機能団分子と種々のアミンとを組み合わせ複合体物質を作成する。アミンに関しては無数に市販されており、多量の複合体物質を高速に作成可能である。③単結晶 X 線構造解析により超分子集合を明らかにする。さらに構造データを詳細に検討することで発光機能団の集合様式、発光機能団に作用する種々の相互作用について考察する。ホスト-ゲスト間、ホスト-ホスト間に働いている相互作用を読み解くことで、ゲスト分子の吸脱着や物理情報に対する感受性を考察し、分子集合様式の転移を誘引する設計にフィードバックする。④また同時に発光特性・発光挙動について測定する。蛍光分光、燐光分光法により、発光スペクトル、発光量子効率、発光寿命を明らかにする。⑤さらに発光変調物質（結晶材料）をナノクリスタル化することにより、高速応答・高感度化を達成し、センシングデバイスおよびバイオイメージングツールとしての応用を検討する。

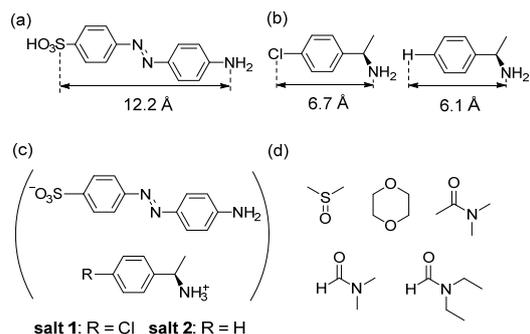
4. 研究成果

1) 複数成分を用いた第二次高調波 (SHG) 活性を示す極性結晶の構築

大きな分極率を持つスルホン酸、キラルアミン、ゲスト分子という複数の成分を用いて分子を望み通りの配列に制御することで、高い極性を持ち、第 2 次高調波発生 (SHG) を示す結晶を構築した。有機分子からなる極性結晶は高い非線形光学特性を示すことが知られている。特に非局在化した共役電子を持つ有機化合物は、 π 電子の動きやすさに基づく大きな非線形光学特性と高速応答性など優れた特性を持ち、注目を集めている。しかしながら、分子は結晶化する際、エネルギー的に安定な、極性を持たない対称中心性の分子配列を形成する傾向にある。一方で、点群の観点から考えると、アキラルな分子よりもキラルな分子の方が極性配列を取り易い。

そこで本研究では、大きな分極率を持つ 4-

アミノアゾベンゼン-4-スルホン酸 (AAS) を設計した (Scheme 1a)。



Scheme 1. Molecular structures of (a) AAS, (b) chiral amines, (c) organic salts, and (d) guest molecules.

この分子はアミンとスルホン酸を持つことから分子間水素結合により、大きな分極率を持つシート構造を形成することが期待される。このシート構造を順平行に積層させ、極性結晶を構築するため、キラルアミンと塩形成させ salt1 と salt2 を作製した (Scheme 1b and c)。さらにこの有機塩に異なるサイズのゲスト分子を取り込ませることで、結晶中の分子配列を精密に制御し、優れた SHG 特性を示す極性結晶の作製に成功した (Scheme 1d)。AAS のみの再結晶を行い、得られた結晶に対して単結晶 X 線構造解析を行ったところ、設計通りアミンとスルホン酸の分子間水素結合により、シート構造を形成していた (Figure 1a and b)。しかしながら、この結晶は反転して積層し、極性を完全に打ち消す逆平行の分子配列となっており、極性を持たない P-1 の空間群に属していた (Figure 1c and d)。次にこのシート構造を平行積層させるために作製した salt1 をメタノールのみから再結晶を行い単結晶を作成した。単結晶 X 線構造解析を行った結果、極性を持つ空間群

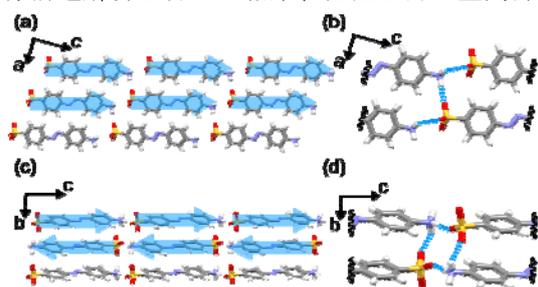


Figure 1. (a) Polar sheet structures in AAS crystal. (b) Hydrogen-bonding network in the polar sheet structure. (c) Crystal structure of AAS crystal. (d) Hydrogen-bonding network between the polar sheets.

P21 に属していたが、AAS は目的とする極性を持ったシート構造を形成していなかった。これは、AAS の分子長と、アミンの分子長が異なることが原因であると考えられる。AAS の極性シート構造を形成し、順平行積層させるため、アミン分子とゲスト分子を用いて、アミン/ゲスト分子からなるシート分子を構

築し、AAS シートとアミン/ゲストシートを平行積層させることを試みた。

ゲスト溶媒には、アミンとゲスト溶媒の分子長の和が AAS の分子長に近くなり、アミンと水素結合が形成可能なものを用いた。これにより、ゲスト溶媒を効率的に結晶中に取り込ませ、アミンとシート構造を構築することができる。salt1 と salt2 をメタノールに溶解させ、種々のゲスト溶媒を加え再結晶を行った。得られた結晶中において、AAS は水素結合によりシート構造を形成し、アミンとゲスト分子も水素結合を形成していた。AAS シートとアミン/ゲスト分子からなるシート構造が水素結合により交互に積層することで、すべて極性を持つ空間群 P21 及び P1 に属していた。結晶の極性の大きさは、結晶全体の極性方向に対する AAS の傾き θ に応じて異なり、この値が小さいほど極性が大きくなる。今回、適切なサイズのゲスト分子を選択することにより、この極性を制御することに成功した。

再結晶により得られた極性結晶に対して SHG 特性の測定を行ったところ、 θ の値に応じて異なる値を示し、尿素に比べ salt1 からなる結晶においては最大 38.5 倍、salt2 からなる結晶において 58.8 倍の値を示した。極性の大きな結晶ほど大きな SHG シグナルを示したことから、適切なゲスト分子を用いることで、SHG 特性を制御できることがわかった。

2) 多方向に連結可能な超分子クラスターを用いた多孔性有機塩 (POSS) の構築

スルホン酸トリフェニルメチルアミン塩によって形成される様々な連結方向を持つ超分子クラスターを多孔性結晶を構築するためのビルディングブロックとして設計した。この超分子クラスターを用いて 1 種類の有機塩から多様な多孔性フレームワークを形成できることを示し、取り込む鑄型分子に応じて複数種の多孔性結晶を作製した。多孔性材料は物質の貯蔵・分離、触媒など幅広い分野に利用できることから、古くから多くの分野で利用されてきた。有機多孔性結晶材料は、空孔の形状が規則的であり、機能の複合化が容易であるため、近年盛んに研究が行われている。有機低分子からなる非共有結合性の多孔質構造は、成型加工性や再利用性などに優れることから薄膜などによる応用も可能である。しかしながら、有機低分子のみから大きな空孔を持つ多孔性結晶を構築するのは未だ困難である。また従来までの設計の多くは単分子構造に依存しており、構築された多孔質構造の機能化や設計手法の汎用性の面で多くの課題が残されている。

これらの課題を解決するため、研究代表者らはスルホン酸アミン塩を用いて階層的に大きな空孔をもつ多孔性結晶を構築する手法を提案し、これを Porous organic salts (POSS) と名づけた (Figure 3a)。種々のスルホン酸とトリフェニルメチルアミンは

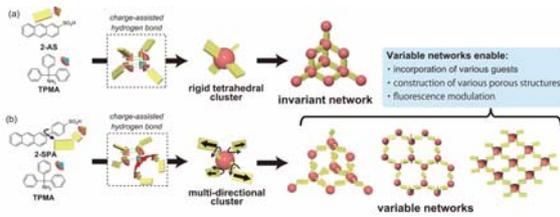


Figure 3. (a) Previous strategy for constructing diamond porous network on the basis of rigid tetrahedral supramolecular cluster. (b) New design of multi-directional supramolecular cluster forming various types of porous networks.

塩形成することで、特異的に[4+4]型の超分子クラスターを形成し、芳香族スルホン酸などを用いた場合においては、このクラスターが四面体方向に連結され、ダイヤモンドネットワークを形成する。超分子クラスターが立体障害となり、このネットワークの相互陥入を適度に抑制することで、大きな空孔を持つ多孔性結晶が構築される。従来の超分子クラスターの設計においては、リンカーとなる芳香族部位に直接スルホン酸がついているため、リンカー部位の一部がクラスターの中心

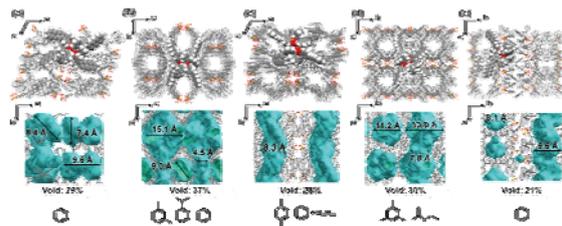


Figure 4. Crystal structures and void spaces. (a) POS-a, (b) POS-b, (c) POS-c, (d) POS-d, (e) POS-e. Each

部位に入りこみ、連結方向が制限されていた。そのため、取り込まれる鋳型分子にかかわらず、ダイヤモンドネットワークしか構築できなかった。そこで本研究では、リンカー部位とスルホン酸部位の間にフェニレン基を導入した 2-スルホフェニルアントラセン (2-SPA) を設計した (Figure 3b)。リンカーとスルホン酸の間にフェニレン基を導入することで、リンカー部位であるアントラセンはクラスター中心から独立して回転することができ、多様な連結方向を向くことができる。その結果ダイヤモンド以外のネットワークを形成することが可能となり、取り込む鋳型分子の構造を認識して異なる多孔性結晶を構築すると考えた。

作製した有機塩をクロロホルムに溶解させ、種々の溶媒を鋳型分子として加えて再結晶を行い単結晶を作製した。単結晶 X 線構造解析の結果、再結晶条件や用いた鋳型分子に応じて異なる多孔性結晶を構築していることがわかり、これを POS-a-e とした (Figure 4)。それぞれの POS において、クラスターのコンフォメーションは異なっており、POS-d においては結晶中において 2 種類のクラスターが形成されていることが確認できた。コン

フォメーションの違いは、フェニレン基とアントラセンの回転に加え、クラスター部位のロッキングモーションにも起因している。このことから、クラスターの連結方向はクラスター自体のロッキングモーションによっても自由度があることが明らかとなった。また、このクラスターはコンフォメーションの違いに応じてそれぞれ、3次元のダイヤモンドネットワークや2次元のグリッドネットワークなど多様な超分子ネットワークを形成していた。このネットワークが相互陥入することで、POS-a-e が構築される。これらの結果から、超分子クラスターの連結方向に自由度を与えることにより、ダイヤモンド以外の多様なネットワークを形成できることが明らかとなった。

Figure 4 はそれぞれの POS の結晶構造と結晶内に存在する空孔を可視化したものである。同じ再結晶条件で異なる鋳型分子を加えた場合、POS-a-d が得られる。ベンゼンを用いた場合には 0 次元上の小さな空間を持った POS-a が得られる。しかし、より大きな m-キシレンなどを用いた場合においては、この空間に存在することができないため大きなボトルネックの空孔を持つ POS-b の結晶となる。より長い p-キシレンなどを用いると、POS-b の 9 Å の閉じた空間に取り込まれることができないため、チャンネル状の空孔のみを持つ POS-c となる。より大きなメシチレンなどを用いた場合においては POS-c のチャンネルに入ることができず POS-d の結晶が得られる。以上のことから今回作製した有機塩は、鋳型分子の構造を認識して異なる多孔性結晶を構築したと言える。

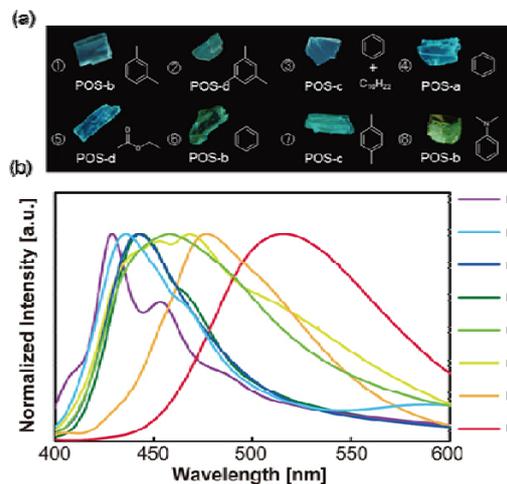


Figure 5. (a) Photographs of POSs crystals containing various template molecules under UV irradiation ($\lambda=365$ nm). (b) Normalized fluorescence spectra of each POS crystals excited at 365 nm.

POS-a-d はそれぞれ異なる発光を示した (Figure 5)。これは、それぞれの結晶中において形成されるアントラセン同士の相互作用の違いや、アントラセンとフェニレン基の二面角の違いに起因する。また、POS-b においては同じ結晶構造にも関わらず取り込ん

だ溶媒に応じて異なる発光特性を示している。N,N-ジメチルアニリンを取り込んだ POS-b の発光は m-キシレンを取り込んだ POS-b の発光よりもレッドシフトしているが、励起スペクトルは変化しておらず、蛍光寿命が 60ns と長いことから、エキサイプレックス発光であることがわかる。また、m-キシレンを取り込んだ POS-b の結晶に対してベンゼンと N,N-ジメチルアニリンの蒸気暴露を行うと鑄型分子が入れ替わることで発光がレッドシフトし、エキシマー発光やエキサイプレックス発光に変化したことが確認できた。このことから、この有機塩は鑄型分子の分子構造だけでなく電子構造も認識し、外部刺激に応じ発光変調することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- ① Dynamic Polymorph Formation During Evaporative Crystallization from Solution: The Key Role of Liquid-like Clusters as "Crucible" at Ambient Temperature, N. Oka, Y. Haketa, H. Maeda, T. Miyano, N. Tohnai, S. Ito, H. Miyasaka, S. Ozeki, F. Ito, *Chem. - Eur. J.* 2018, 24, 4343-4349, 10.1002/chem.201705356
- ② Aggregation-Induced Singlet Oxygen Generation: Functional Fluorophore and Anthrylphenylene Dyad Self-Assemblies, S. Kim, Y. Zhou, N. Tohnai, H. Nakatsuji, M. Matsusaki, M. Fujitsuka, M. Miyata, T. Majima, *Chem. - Eur. J.* 2018, 24, 636-645, 10.1002/chem.201703686
- ③ AIE Active Carbazole-Benzothiazole Based ES IPT Motifs: Positional Isomers Directing the Optical and Electronic Properties, V. S. Padalkar, K. Kuwada, D. Sakamaki, N. Tohnai, T. Akutagawa, K.-i. Sakai, T. Sakurai, S. Seki, *ChemistrySelect* 2017, 2, 1959-1966, 10.1002/slct.201602044
- ④ Optical and Structural Properties of ES IPT Inspired HBT-Fluorene Molecular Aggregates and Liquid Crystals, V. S. Padalkar, Y. Tsutsui, T. Sakurai, D. Sakamaki, N. Tohnai, K. Kato, M. Takata, T. Akutagawa, K.-i. Sakai, S. Seki, *J. Phys. Chem. B* 2017, 121, 10407-10416, 10.1021/acs.jpcc.7b08073
- ⑤ New Strategy to Construct Functional Porous Crystals by Mixed Crystallization through Charge-transfer Interactions, T. Miyano, I. Hisaki, N. Tohnai, *Chem. Lett.* 2017, 46, 225 - 227, 10.1246/cl.160947
- ⑥ A Hydrogen-Bonded Hexagonal Buckybowl Framework, I. Hisaki, N. Tohnai, H. Toda, H. Sakurai, H. Sato, *Angew Chem Int Ed Engl* 2017, 56, 15294-15298, 10.1002/anie.201708115
- ⑦ Precise elucidations of stacking manners of hydrogen-bonded two-dimensional organic frameworks composed of X-shaped π -conjugated systems, I. Hisaki, N. Q. Emilya Affendy, N. Tohnai, *CrystEngComm* 2017, 19, 4892-4898, 10.1039/C7CE00183E
- ⑧ CO₂ regulates molecular rotor dynamics in porous materials, S. Bracco, T. Miyano, M. Negroni, I. Bassanetti, L. Marchio, P. Sozzani, N. Tohnai, A. Comotti, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* 2017, 53, 7776-7779, 10.1039/C7CC02983G
- ⑨ Hierarchical construction of SHG-active polar crystals by using multi-component crystals, T. Miyano, T. Sakai, I. Hisaki, H. Ichida, Y. Kanematsu, N. Tohnai, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* 2016, 52, 13710-13713, 10.1039/C6CC07544D
- ⑩ A Structurally Variable Porous Organic Salt Based on a Multidirectional Supramolecular Cluster, T. Miyano, N. Okada, R. Nishida, A. Yamamoto, I. Hisaki, N. Tohnai, *Chem. - Eur. J.* 2016, 22, 15430-15436, 10.1002/chem.201602233

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① テトラスルホン酸と嵩高いアミンによる四面体型多孔質有機塩(d-POS)の構築とその触媒反応場への応用、土屋慧歩・久木一朗・藤内謙光、日本化学会第 98 春季年会、2018 年 3 月
- ② スルホン酸とアミンによる多孔質有機塩の分子設計による構造安定性制御、富本篤功、土屋慧歩、藤内謙光、久木一朗、日本化学会第 98 春季年会、2018 年 3 月
- ③ Construction of Triangle-Shaped Porous Structure with Organic Salts composed of Aromatic Divinylsulfonic Acids and Triphenylmethanamine, Norimitsu Tohnai, Taiwan-Japan Bilateral Workshop 2017, 2017/11
- ④ 超分子的アプローチによる多孔質有機塩の階層的構築と機能制御、藤内謙光、平成 29 年度日本結晶学会年会、2017 年 11 月
- ⑤ Hierarchical Construction of Versatile Diamondoid Porous Organic Salts (d-POS), Norimitsu Tohnai, The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, 2017/6
- ⑥ 四面体型芳香族テトラスルホン酸と嵩高いアミンによる多孔質有機塩(POSs)の構築とその特性、土屋 慧歩・宮野 哲也・岡田 直樹・久木 一朗・藤内 謙光、日本化学会 第 97 春季年会、2017 年 3 月
- ⑦ Construction of Diamondoid Porous Organic Salts (d-POS) with Various Connectivities and their Properties, Norimitsu Tohnai, 7th Japan-Taiwan Bilateral Workshop on Nano-Science, 2016/11

- ⑧ 刺激に応じて輝きを変える有機宝石！
発光性多孔質有機塩、藤内謙光、CSJ 化学フェスタ 2016、2016 年 11 月
- ⑨ ターフェニルジスルホン酸誘導体を用いた柔軟な超分子ネットワークの構築と動的変換、宮野 哲也・岡田 直樹・久木 一郎・藤内 謙光、第 25 回有機結晶シンポジウム、2016 年 9 月
- ⑩ Design of Porous Organic Salts (POS) with Versatile Function, Norimitsu Tohnai, 12th International Workshop of the Crystal Growth of Organic Material, 2016/6

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

http://www.mls.eng.osaka-u.ac.jp/~mol_rec/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤内 謙光 (TOHNAI, Norimitsu)
大阪大学・大学工学研究科・准教授
研究者番号：30346184

(3) 連携研究者

久木 一郎 (HISAKI, Ichiro)
大阪大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：90419466

(4) 研究協力者

宮野 哲也 (MIYANO, Tetsuya)
土屋 慧歩 (TSUCHIYA, Keiho)