

機関番号：14401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21760619

研究課題名 (和文) 新規分子センサーによる水中イオン種の高感度発色センシング

研究課題名 (英文) Highly selective colorimetric sensing for ionic species in aqueous media with newly-synthesized molecular sensors

研究代表者

白石 康浩 (SHIRAIISHI YASUHIRO)

大阪大学・太陽エネルギー化学研究センター・准教授

研究者番号：70343259

研究成果の概要 (和文)：本研究では、水中に含まれるカチオン、アニオンなどのイオン種を、吸収および蛍光スペクトル測定により迅速かつ正確に定量することのできる「分子センサー」を開発することを目的とした。申請者らの独自の発想に基づく分子設計により、①ターゲットイオンに対する高い選択性、②迅速な応答、③大きな応答の、従来の分子センサーで問題となっている3つの課題を克服する新規分子センサーを開発した。

研究成果の概要 (英文)：In this research subject, we have tried to develop the molecular sensors that enable rapid and accurate detection of cations, anions, and amino acids dissolved in aqueous media. Conventional molecular sensors hold several disadvantages such as 1) low selectivity for targeted ions, 2) long response time, and 3) weak spectral response. We developed several molecular sensors that overcome these issues based on our unique strategy for molecular design.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：反応工学 反応システム・プロセス工学

キーワード：分子センサー・発色・発光・イオン種

1. 研究開始当初の背景

水中には様々なイオン種が含まれている。例えば、Hg(II)イオンなどの金属カチオンは低濃度でも人体に極めて有害であるため、精度の高い定量法の開発が不可欠である。これらの測定は通常、誘導結合プラズマ発光分析装置や原子吸光装置などの高価な分析機器により行われる。それゆえ、汎用の機器によ

りイオン種を簡便かつ正確に測定する方法の開発は喫緊の課題である。一方、イオン種の生体内における挙動の解明は、疾患発現のメカニズムを明らかにするうえで極めて重要な課題である。そのため、生体に含まれるイオン種の位置、分布、あるいは局所濃度を直接観察できる手法の開発が強く求められている。

これらの課題を解決する手法として注目を集めているのが、特定のイオン種に対して発光または発色する「分子センサー」である。これらの分子は特定のイオン種と選択的に相互作用することにより、吸収または蛍光スペクトルを変化させる。そのため、低濃度のイオン種でも正確に定量することが可能である。ここ数年、分子センサーは盛んに開発されているが、水溶液中で機能するセンサー分子はほとんど開発されていない。さらに、①特定のイオン種に対する選択性が低い、②応答速度が遅い、③発色が弱い、などの問題が残されており、環境中や農産物、さらには生体中のイオン種を正確かつ迅速に定量できるセンサーはほとんどない。

2. 研究の目的

本研究では、水中に含まれるカチオン、アニオンなどのイオン種を、吸収または蛍光スペクトル測定により迅速かつ正確に定量することのできる「分子センサー」を開発することを目的とした。申請者らの独自の発想に基づく分子設計により、①ターゲットイオンに対する高い選択性、②迅速な応答、③大きな応答の、従来の分子センサーで問題となっている3つの課題を克服する新規分子センサーを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

2009年度は、金属イオンセンサーの開発を中心に進めた。特に、分子内に電子ドナーと電子アクセプターを含む、ドナー-アクセプター分子へ、特定の金属イオンに対して強く相互作用、または反応する官能基を導入することにより、課題の達成を目指した。

2010年度は、アニオンセンサーの開発を中心に研究を進めた。これに対しては、フォトクロミック分子であるスピロピランを基盤分子として用いるセンサー設計を進めた。

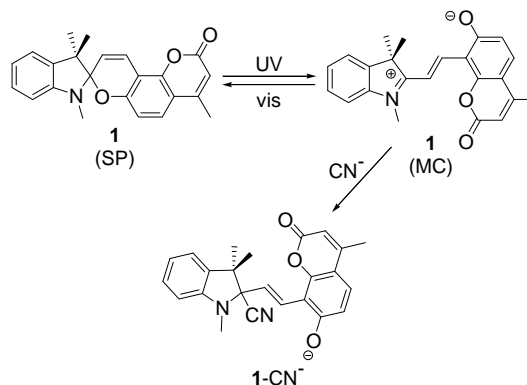
これらの研究を通して、これまで困難であった、水溶液中におけるイオン種の定量を迅速かつ正確に行うことのできるセンサーを開発するほか、新センサー開発のための設計指針を打ち立てることを目的とした。

4. 研究成果

上述の研究方針に基づき、金属イオンならびにアニオンセンサーの開発を行った。これらの研究成果は全て投稿論文として発表した。これらの成果の中で、極めて重要なシアンイオンセンサーに関する研究成果を以下にまとめる。

シアン化物イオン(CN⁻)は人体に極めて有害であり、CN⁻に対して選択的に応答する蛍光プローブの開発は重要な課題となっている。これまでに様々な蛍光プローブが開発されているが、i) 選択性が低い、ii) 検出感度

が低いなどの多くの問題を抱えている。本研究では、クマリンにスピロピランを結合させた分子(1)を新たに合成し、本分子が水溶液中のCN⁻に対して選択的に青色発光を示す蛍光プローブとなることを明らかにした(Scheme 1)。



Scheme 1. Fluorometric sensing of CN⁻ by the receptor 1.

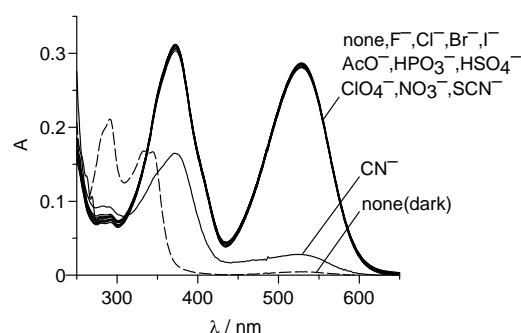


Figure 1. Absorption spectra of **1** (10 μM) measured with 50 equiv of respective anions (as *n*-Bu₄N⁺ salts) in a buffered water/MeCN mixture (8/2 v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) under UV irradiation (334 nm) at 25°C. The dotted spectrum is obtained without anion in the dark condition.

1 を水溶液 (water/MeCN, 8/2, v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) に溶解させて UV 照射を行うと、372 nm および 528 nm を極大とするメロシアンニン (MC) 種に由来する吸収が現れる (Figure 1)。この溶液に CN⁻ を添加すると MC に由来する吸収は減少する。一方、他のアニオンが存在する場合にはこのような応答は見られない (Figure 1)。すなわち、**1** (MC) は CN⁻ に対して選択的に相互作用することが分かる。

1 を水溶液 (water/MeCN, 8/2, v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) に溶解させ、UV を照射しても蛍光は見られない (Figure 2a)。ところが、CN⁻ を添加すると、390–580 nm にクマリンに由来する青色蛍光が現れる。一方、他のアニオンが存在する場合にはこのような応答は

見られない (Figure 2)。さらに、**1** は他のアニオン存在下においても CN^- の検出が可能であり、極めて選択的に応答する。なお、 CN^- 添加による蛍光増加は、非添加時の 497 倍であり (Figure 2b)、これまでに報告された CN^- 蛍光プローブの中で最も大きな蛍光増加を示す。

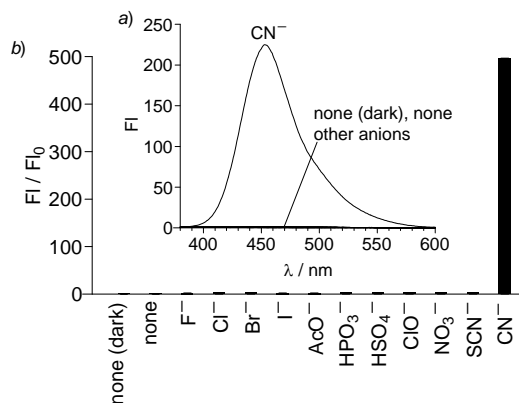


Figure 2. a) Fluorescence spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 309 \text{ nm}$) of **1** ($10 \mu\text{M}$) measured with 50 equiv of respective anions (as $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$ salts) in a buffered water/MeCN mixture (8/2 v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) under UV irradiation (334 nm) at 25°C . b) The ratio of fluorescence intensity (FI/FI_0) of **1**, where FI and FI_0 are the intensity measured at 453 nm with and without anions (50 equiv).

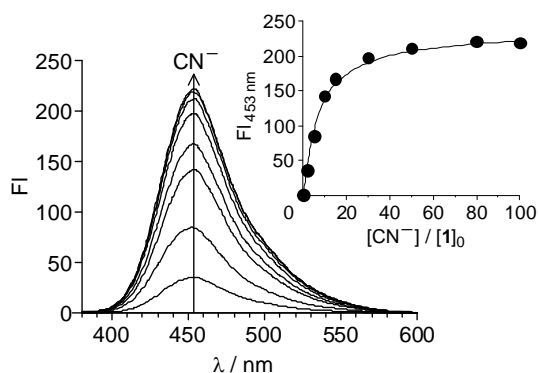


Figure 3. Fluorescence titration ($\lambda_{\text{ex}} = 309 \text{ nm}$) of **1** ($10 \mu\text{M}$) with CN^- in a buffered water/MeCN mixture (8/2 v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) under UV irradiation (334 nm) at 25°C . (Inset) Change in fluorescence intensity at 453 nm. The line is the nonlinear fitting curve obtained assuming a 1:1 association between **1** and CN^- .

Figure 3 に示すように、**1** の蛍光強度は CN^- の添加量の増加とともに大きくなり、80

等量程度の添加により頭打ちする。Inset に示すように、1:1 相互作用を仮定して非線形最少二乗フィッティングを行ったところ、実験値と計算値は良好に一致し、1:1 種が形成されていることが分かる。この 1:1 種の形成はマスペクトルからも確認された。

Figure 4 に示すように、 CN^- 添加量に対する **1** の蛍光強度は直線的に増加することが分かる。蛍光強度/バックグラウンド比 (S/B 比) が 3 となる CN^- 濃度は $0.5 \mu\text{M}$ であり、 $0.5 \mu\text{M}$ 以上の CN^- を正確に定量できることが分かる。この検出限界はこれまでの CN^- 蛍光プローブの中で最も低い値である。

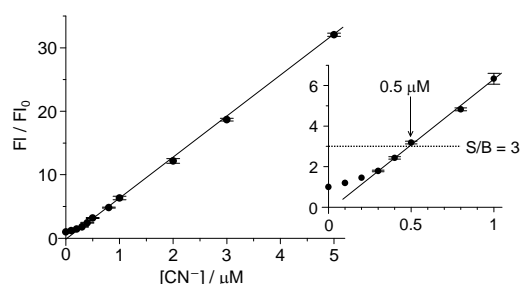


Figure 4. Change in the ratio of fluorescence intensity ($\lambda_{\text{ex}} = 372 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 453 \text{ nm}$) of **2** ($10 \mu\text{M}$) with CN^- concentration. The titration was carried out (10 times) in a water/MeCN mixture (8/2 v/v; CHES 100 mM, pH 9.3) under UV irradiation (334 nm) at 25°C . The spectra at each CN^- concentration were obtained after stirring the solution for 30 min under UV irradiation.

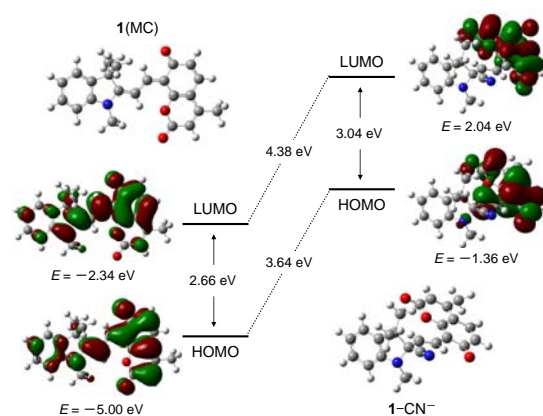


Figure 5. Energy diagrams of HOMO and LUMO orbitals of **1**(MC) and **1-CN⁻** calculated at the DFT level using a B3LYP/6-31+G* basis set.

1 の CN^- に対する応答は、求核性の高い

CN⁻がスピロ炭素に配位することにより起こる (Scheme 1)。Figure 5 には、非経験的分子軌道計算により求めた、**1** (MC) および **1**-CN 種の HOMO、LUMO 状態における電子密度分布を示している。CN⁻の **1** (MC) 中のスピロ炭素への配位により、**1** (MC) 上に非局在化した π 電子が、クマリン上へ局在化することが分かる。このため、**1**-CN 種の HOMO-LUMO 間の遷移エネルギーは、**1** (MC) に比べ 0.38 eV 増加する。したがって、CN⁻の添加による **1** (MC) の吸収スペクトルの変化は、**1** (MC) 上の π 電子がクマリン上に局在化することにより起こることが分かる。したがって、クマリン上への電子の局在化によりクマリン由来の蛍光が出現すると考えられる。

上述のように、クマリンにスピロピランを結合させた分子 (**1**) が、水溶液中の CN⁻に対して選択的に青色発光を示す蛍光プローブとなることを明らかにした。本分子は、これまで報告された CN⁻蛍光プローブの中で最も低い検出限界を示し、極めて高感度な CN⁻検出が可能であることを見出した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① Yasuhiro Shiraishi, Shigehiro Sumiya, Takayuki Hirai, “Highly Sensitive Cyanide Anion Detection with a Coumarin-Spiropyran Conjugate as a Fluorescent Receptor,” *Chemical Communications*, **47**, 4953-4955 (2011), 査読有
- ② Yasuhiro Shiraishi, Masataka Itoh, Takayuki Hirai, “Rapid Colorimetric Sensing of Cyanide Anion in Aqueous Media with a Spiropyran Derivative Containing a Dinitrophenolate Moiety,” *Tetrahedron Letters*, **52**, 1515-1519 (2011), 査読有
- ③ Dongping Wang, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “A BODIPY-Based Fluorescent Chemodosimeter for Cu(II) Driven by Oxidative Dehydrogenation Mechanism,” *Chemical Communications*, **47**, 2673-2675 (2011), 査読有
- ④ Yasuhiro Shiraishi, Masataka Itoh, Takayuki Hirai, “Colorimetric Response of a Spiropyran Derivative to Anions in Aqueous or Organic Media,” *Tetrahedron*, **67**, 891-897 (2011), 査読有
- ⑤ Chizuru Ichimura, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “Cu(II)-Selective Fluorescence of a Bis-Quinolylimine Derivative,” *Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry*, **217**, 253-2584 (2010), 査読有
- ⑥ Yasuhiro Shiraishi, Takuya Inoue, Takayuki Hirai, “Local Viscosity Analysis of Pluronic Triblock Copolymer Micelle with Cyanine Dyes as Fluorescent Probe,” *Langmuir*, **26**, 17505-17512 (2010), 査読有
- ⑦ Yasuhiro Shiraishi, Masataka Itoh, Takayuki Hirai, “Thermal Isomerization of Spiropyran to Merocyanine in Aqueous Media and Its Application to Colorimetric Temperature Indication,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, **12**, 13737-13745 (2010), 査読有
- ⑧ Chizuru Ichimura, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “Fluorescence Properties of Polyamines Bearing Two Terminal Quinoline Fragments in Water,” *Tetrahedron*, **66**, 5594-5601 (2010), 査読有
- ⑨ Dongping Wang, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “A Distyryl BODIPY Derivative as a Fluorescent Probe for Selective Detection of Chromium(III),” *Tetrahedron Letters*, **51**, 2545-2549 (2010), 査読有
- ⑩ Yasuhiro Shiraishi, Shigehiro Sumiya, Takayuki Hirai, “A Coumarin-Thiourea Conjugate as a Fluorescent Probe for Hg(II) in Aqueous Media with a Broad pH range 2-12,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, **8**, 1310-1314 (2010), 査読有
- ⑪ Dongping Wang, Ryo Miyamoto, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “BODIPY-Conjugated Thermoresponsive Copolymer as a Fluorescent Thermometer Based on Polymer Microviscosity,” *Langmuir*, **25**, 13176-13182 (2009), 査読有
- ⑫ Yasuhiro Shiraishi, Kenichi Adachi, Masataka Itoh, Takayuki Hirai, “Spiropyran as a Selective, Sensitive, and Reproducible Cyanide Anion Receptor,” *Organic Letters*, **11**, 3482-3485 (2009), 査読有
- ⑬ Xuan Zhang, Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, “Effects of Alkyl Chain Length on Cu(II)-Selective Green Fluorescence of Rhodamine-Diacetic Acid Conjugates,” *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, **205**, 215-220 (2009), 査読有

- 有
- ⑭ Yasuhiro Shiraishi, Kenichi Adachi, Shunsuke Tanaka, Takayuki Hirai, "Effect of Poly-N-Isopropyl acrylamide on Fluorescence Properties of CdS/Cd(OH)₂ Nanoparticles in Water," *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, **205**, 51-59 (2009), 査読有
 - ⑮ Yasuhiro Shiraishi, Hajime Maehara, Takahiro Sugii, Dongping Wang, Takayuki Hirai, "A BODIPY-Indole Conjugate as a Colorimetric and Fluorometric Probe for Fluoride Anion Detection," *Tetrahedron Letters*, **50**, 4293-4296 (2009), 査読有
 - ⑯ Yasuhiro Shiraishi, Hajime Maehara, Takayuki Hirai, Indole-Azadiene Conjugate as a Colorimetric and Fluorometric Probe for Selective Fluoride Ion Detection," *Organic & Biomolecular Chemistry*, **7**, 2072-2076 (2009), 査読有
 - ⑰ Yasuhiro Shiraishi, Ryo Miyamoto, Takayuki Hirai, Spiropyran-Conjugated Thermoresponsive Copolymer as a Colorimetric Thermometer with Linear and Reversible Color Change," *Organic Letters*, **11**, 1571-1574 (2009), 査読有

[学会発表] (計 13 件)

- ① Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "クマリン-スピロピラン複合体による水中シアン化物イオンの選択的蛍光センシング," 日本化学会第 91 春季年会、2011 年 3 月 28 日、神奈川大学、査読無
- ② Yasuhori Yoshida, Takuya Inoue, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "スピロピラン-コレステロール複合体のゲル化およびフォトクロミッング挙動," 日本化学会第 91 春季年会、2011 年 3 月 27 日、神奈川大学、査読無
- ③ Takayuki Doi, Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "フルオレセイン-スピロピラン複合体によるシアン化物イオンの発色センシング," 日本化学会第 91 春季年会、2011 年 3 月 26 日、神奈川大学、査読無
- ④ Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "クマリン-スピロピラン複合体による水中シアン化物イオンの選択的蛍光センシング," 第 29 回溶媒抽出討論会、2010 年 11 月 26 日、広島大学東広島キャンパス、査読無
- ⑤ Takuya Inoue, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "スピロピラン類の熱異性化における溶媒粘度の効果," 2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 9 日、千葉大学西千葉キャンパス、査読無
- ⑥ Takahiro Sugii, Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "ベンゾキサジアゾール-チオウレア複合体によるHg(II)イオンの選択的蛍光センシング," 2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 9 日、千葉大学西千葉キャンパス、査読無
- ⑦ Masataka Itoh, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "二つのニトロ基を有するスピロピラン誘導体を用いたシアン化物イオンによる高感度発色センシング," 2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 8 日、千葉大学西千葉キャンパス、査読無
- ⑧ Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "クマリン-スピロピラン複合体による水中シアン化物イオンの選択的蛍光センシング," 2010 年光化学討論会、2010 年 9 月 8 日、千葉大学西千葉キャンパス、査読無
- ⑨ Masataka Itoh, Ryo Miyamoto, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "水溶液中におけるスピロピラン類のサーモクロミズム," 日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 29 日、近畿大学東大阪キャンパス、査読無
- ⑩ Chizuru Ichimura, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "キノリン誘導体によるCu(II)の選択的蛍光センシング," 日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 27 日、近畿大学東大阪キャンパス、査読無
- ⑪ Takahiro Sugii, Hajime Maehara, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "BODIPY誘導体によるフッ化物イオンの発色・発光センシング," 日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 27 日、近畿大学東大阪キャンパス、査読無
- ⑫ Shigehiro Sumiya, Yasuhiro Shiraishi, Takayuki Hirai, "クマリン-チオウレア複合体によるHg(II)イオンの選択的発色センシング," 2009 年光化学討論会、2009 年 9 月 17 日、桐生市民文化会館、査読無
- ⑬ Yasuhiro Shiraishi, Masataka Itoh, Kenichi Adachi, Takayuki Hirai, "スピロピランをプローブ分子とするシアン化物イオンの高感度発色センシング," 2009 年光化学討論会、2009 年 9 月 16 日、桐生市民文化会館、査読無

[産業財産権]

○出願状況（計1件）

①

名称：シアン化物イオンを蛍光により検出するためのキット

発明者：白石康浩

権利者：大阪大学

種類：特許

番号：特願 2010-137589

出願年月日：2010年6月16日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cheng.es.osaka-u.ac.jp/hirai/lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白石 康浩 (SHIRAIISHI YASUHIRO)

大阪大学・太陽エネルギー化学研究センター・准教授

研究者番号：70343259