

不斉認識能を有する自己組織化単分子膜の合成と分子認識の解析

Preparation and characterization of self-assembled monolayers which recognize chirality of guest molecules

研究代表者 富山大学工学部化学生物工学科 助手

前田 寧

Instructor, Dep. of Chemical & Biochemical Engineering, Toyama Univ.
Yasushi MAEDA

Self-assembled monolayers of thiolated cyclodextrin (CD) on gold or silver were prepared and regio and stereo-selective complexation was examined by surface enhanced resonance Raman spectroscopy and cyclic voltammetry. Association constants for complexation between CD and chiral azo compounds, *o*- or *p*-methyl red and (R)-(+)- or (S)-(-)-phenylethylamine conjugates (MR-PEA), were evaluated and it was concluded that *o*-isomers formed more stable complex than *p*-isomers (regio-selectivity) and that (R)-enantiomer of *o*-isomer more preferentially associated with CD than (S)-enantiomer (stereo-selectivity), whereas no stereo-selectivity was observed for *p*-isomers.

1. 研究目的

近年、各種の刺激に対する応答性や、分子認識能といった有機分子の機能を利用するデバイスの実現にむけて、金属や半導体表面における分子認識や分子集合体の構造に関する情報の蓄積が望まれている。有機分子の持つ機能を最大限に引き出すための最も現実的なデバイスの姿として、配向が制御された有機超薄膜が有力視されているが、自己組織化膜 (self-assembled monolayer (SAM))は、配列や配向が制御された秩序構造を有する超薄膜として、Langmuir-Blodgett(LB)膜と並んで注目を集めている。SAMはチオールやジスルフィド等の硫黄化合物が金や銀の表面に、Au-SあるいはAg-S結合を作って自発的に形成する単分子膜であり、調製の容易さや、構造の安定性の点でLB膜より優れており、近年盛んに研究が行われている。

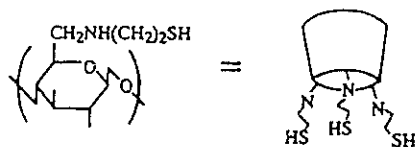
そこで、本研究では、疎水性の空洞を持ち、様々な物質を取り込み包接複合体を形成することが知られているシクロデキストリン(CD)の一級水酸基にメルカプト基を導入した 6-(2-mercaptoethylamino)-6-deoxy-CD (MEA-CD)のSAMを調製し、光学活性を有するアゾ色素との包接化合物形成の立体選択性をラマン分光法および電気化学的方法で解析した。

2. 研究経過

2. 1. 方法

チオール化CDの合成

チオール化CD、6-(2-mercaptoethylamino)-6-deoxy-CD (MEA-CD)は、 α -CDまたは β -CDの一級水酸基をトシル化した後、メルカプトエチルアミンで置換することにより合成した。



光学活性なアゾ色素の合成

光学活性なアゾ色素(methyl red- α -phenylethylamine conjugate, MR-PEA)は、*o*-および *p*-methyl redと光学活性な α -phenylethylamineをDCC/HOBtを用いて縮合して得た。

SAMの調製

銀コロイドは、0°Cで水酸化ホウ素ナトリウムでAgNO₃を還元して調製した。

CD誘導体のSAMは、MEA- α -CDを銀コロイド溶液に加え1時間静置することにより調整した。金電極は1 mM MEA- α -CD溶液に1昼夜浸漬してSAMを形成した後、メタノールと純水で繰り返し洗浄してから用いた。

2. 2. 結果および考察

遊離 α -CDと光学活性なアゾ色素の会合

光学活性なアゾ色素であるMR-PEAは、酸性(pKa = 4.0 (o-体), 4.2 (p-体))でキノイド型 ($\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{N}=\text{N})$ が特徴)、中性およびアルカリ性でアゾ型 ($\nu(\text{N}=\text{N})$, $\nu(\phi-\text{N}=\text{N})$)の構造をとる(Figure 1)。酸性溶液に、 α -CD溶液を加えると、溶液の色が赤から黄に変化し、キノイド型を示すラマンバンドの強度の減少とアゾ型を示すバンドの強度の増大が見られた(Figure 1)。このスペクトル変化は、 α -CDが色素のアゾニウム基付近を包接することにより、キノイド型からアゾ型に構造が変化したことを示している。

CDの包接により強度が変化しないピーク(1025 cm^{-1} ; PEAのベンゼン環)を基準とした $\nu(\phi-\text{N}=\text{N})$ バンドの相対強度をCD濃度の逆数に対してプロットしたところ、直線関係が得られ、この直線から会合定数を求めた(Table 1)。

R体とS体の会合定数を比較すると、o-体では中性でも、酸性でも立体選択性が認められR体が優先的に包接された(R/S=1.9 (pH7.4), 1.7 (pH3.0))のに対し、p-体では、中性では立体選択性を示さなかったが(R/S=1.1 (pH7.4))、酸性でS体への選択性が認められた(R/S=0.76 (pH3.0))。

また、p-体、o-体ともに酸性における会合定数の方が中性の場合よりも大きかった。これはキノイド構造のアゾニウム結合(=N-NH-)の回転の自由度が、アゾ結合の自由度より高く、キノイド型の方が柔軟性に富んでいるために、

深く包接され安定な包接複合体を形成しているためであると考えられる。

この包接反応の熱力学パラメーターを比較すると、p-体では、包接複合体形成はエントロ

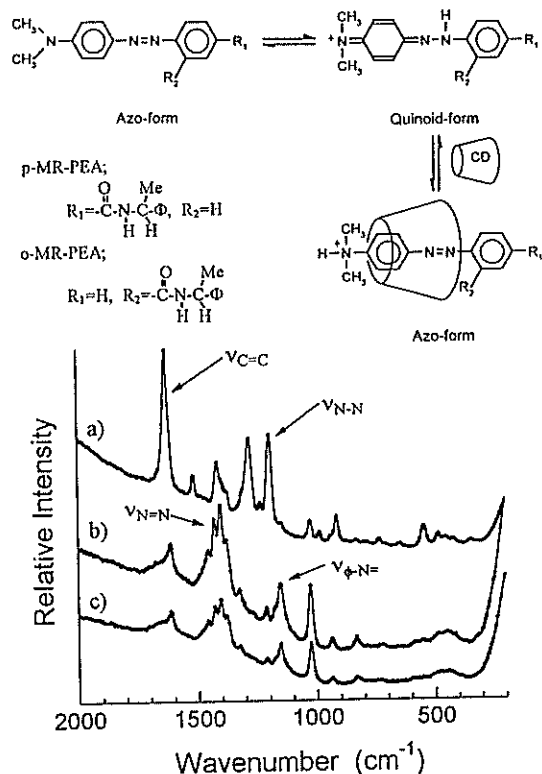


Figure 1. Top; structure of MR-PEA. Bottom; Raman spectra of MR-PEA in aqueous solutions. a) pH 3, b) pH 7.4, c) pH 3 with α -CD.

Table 1. Association constants and stereo-selectivities for the inclusional complexation of MR-PEA with free and surface-confined α -CD at 25 °C.

α -CD	pH	p-MR-PEA			o-MR-PEA		
		(R)	(S)	R/S	(R)	(S)	
Free	3.0 ^{a)}	58 ± 23	73 ± 23	0.79 ± 0.4	138 ± 21	84 ± 12	1.6 ± 0.3
	3.0 ^{b)}	68 ± 8	90 ± 9	0.76 ± 0.1	140 ± 9.5	83 ± 7	1.7 ± 0.2
Free	7.4 ^{a)}	18 ± 4	17 ± 8	1.0 ± 0.2	84 ± 21	46 ± 16	1.9 ± 0.4
	7.4 ^{b)}	15 ± 4	14 ± 5	1.1 ± 0.2	90 ± 11	48 ± 8	1.9 ± 0.3
SAM ^{c)}	7.4	21.2 ± 0.2 ^{d)}	23.0 ± 0.1 ^{d)}	0.92 ± 0.08	2.0 ± 0.1 ^{d)}	1.3 ± 0.3 ^{d)}	1.6 ± 0.4

a) By RR b) By UV-VIS c) By SERRS with SAM of MEA- α -CD on Ag. d) $\times 10^4$

Table 2. Thermodynamic parameters for the complexation of MR-PEA with α -CD in 10 mM HEPES buffer (pH 7.35).

	<i>p</i> -MR-PEA		<i>o</i> -MR-PEA	
	(R)	(S)	(R)	(S)
ΔH° (kJ/mol)	-33.9	-34.2	-6.6	-16.7
ΔS° (J/K mol)	-90	-90	13	-26
ΔG° (kJ/mol)	-7.0	-7.0	-11.0	-9.0

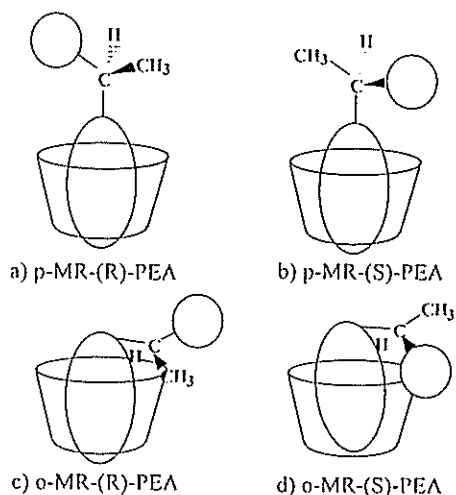


Figure 2. Schematic drawings of inclusional complexes of MR-PEA and CD.

ピー的に不利であるが($\Delta S = -90$ J/K/mol)、それを補うだけの大きなエンタルピー変化($\Delta H = -34$ kJ/mol)により支えられているのに対し、*o*-体では、*R*体は主にエントロピーに、(*S*)体はエンタルピーに支配されている (Table 2)。

Figure 2に色素分子とCDの会合体のモデルを示す。ラマンスペクトルから、*o*-体、*p*-体ともアゾ基付近の環境が大きく変わっていることわかるので、この部分がCDの空洞に包接されていると考えられる。*p*-体では、不斉炭素がCDから離れた位置に存在するため選択性が生じないが、*o*-体の不斉炭素は光学活性なCD環と相互作用するために、立体的に有利な*R*体が優先的に包接されたと考えられる。この相互作用により、phenylethylamino基周りの水クラスターの崩壊が起こり、その結果として*R*体では包接複合体形成において非常に有利なエン

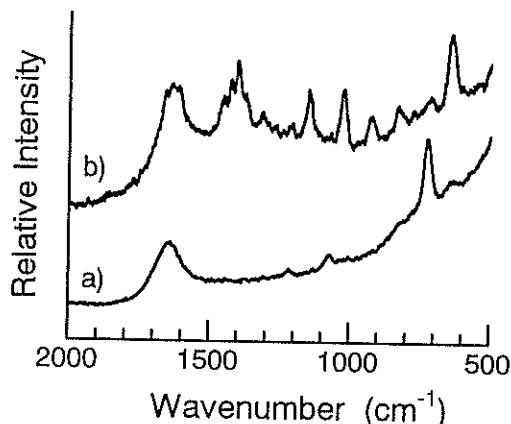


Figure 3. Surface-enhanced Raman spectra of a) SAM of MEA- α -CD and b) MR-PEA included by MEA- α -CD

トロピー変化を生じたものと推定される。

CD-SAMによる光学活性アゾ色素の包接 (ラマン分光法による解析)

次に、チオール基を導入したMEA- α -CDのSAMを調製し、界面での分子認識を表面増強ラマンスペクトル(SERS)で解析した。

MEA- α -CDのSAMでは、 $\nu(\text{C-S})$ バンドが固体および液体状態と比べて低波数側にシフトし、 $\nu(\text{S-H})$ バンドが観測されなかった。さらにMEA- α -CDで修飾した電極を用いてKOH中でボルタメグラムを測定すると、S-Ag結合の還元($\text{R-S-Ag} \rightarrow \text{R-SH} + \text{Ag}$)に帰属できる非可逆な電流が観測された。これらの結果は、MEA- α -CDがAg-S結合を介して銀表面に吸着していることを示している。

このMEA- α -CDのSAMを用い、光学活性な色素*o*-および*p*-MR-PEAの、銀コロイド表面に固定化されたCDによる包接の立体選択性を表面増強共鳴ラマン分光法を用いて解析した。MEA- α -CDのSAMを形成させた銀コロイド溶液に色素溶液を加えたところ、SAMのSERSにオーバーラップしてMR-PEAに由来するピークが観測された (Figure 3)。この濃度では、遊離の色素からのラマン散乱は無視できることから、観測された色素由来のピークは、銀コロイド表面に結合したCDに包接された色素からの表面増強共鳴ラマン散乱(SERRS)によるともの考えられる。SERRSの増強効果は共鳴ラマン散乱(RR)の増強効果より 10^3 倍以上大きいため、実験を行った濃度範囲では溶液中に遊離の色

素が存在しても、界面に吸着した色素からのラマン散乱のみを選択的に観測できる。したがって、MR-PEAの濃度を変化させてSERRSの強度を測定すれば、CDに包接されたMR-PEAを定量することができる。

SAM由来のν(C-S)バンドの強度で規格化した色素由来のバンドの相対強度と、溶液中の色素濃度の関係を調べたところ、o-体ではLangmuir型の、p-体では、Freundlich型の吸着等温式に従うことがわかった。MR-PEAと表面に固定化されたα-CDとの会合定数をTable 1の最下段に示した。遊離のCDの場合と同様に、o-体においては不斉認識が認められR体が優先的に包接されるのに対し、p-体では選択性が見られないことがわかった。このことは、表面に固定化されたCDにおいても遊離のCDと同様な立体選択性が保持されていることを示している。

CD-SAMによる光学活性アゾ色素の包接（電気化学的解析）

次に、電気化学的手法を用いてMEA-α-CDとアゾ色素の包接を解析した。MEA-α-CDのSAMで修飾した金電極を用いてヒドロキノン(HQ)のサイクリックボルタモグラムを測定すると、可逆的な酸化還元波が観測された。この反応のピーク電流値はスキャン速度に対して直線的に増加することから、測定された電流はCDに包接されて表面に固定化されたHQによるものであることがわかった。HQの溶液にMR-PEAを共存させるとHQのCDへの包接が拮

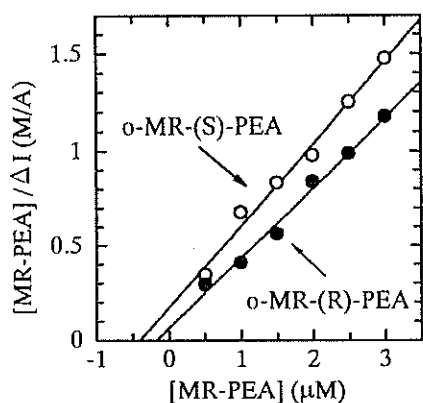


Figure 4. [MR-PEA]/ΔI is plotted against [MR-PEA]. Au/MEA-α-CD electrode, 0.1mM HQ, 0.1M Na₂SO₄, scan rate 1V/s.

抗的に阻害されるため、酸化還元電流の減少が見られた。電流の減少値(ΔI)は、MR-PEAの濃度に対してLangmuir型の等温吸着式に従って増加した(Figure 4)。サイクリックボルタメトリーの結果でも、o-体ではR体が優先的に包接されることがわかり、ラマン分光法による結果が支持された。

まとめ

ここで合成したチオール化したCD誘導体であるMEA-CDは、銀あるいは金の表面にAg-S、あるいはAu-Sで結合してSAMを形成することがわかった。表面に固定化されたCDのゲスト分子の構造に対する選択性は遊離のCDと同様であり、不斉認識能も保持されることがわかった。

3. 研究成果

溶液に浸漬するだけで容易に金属表面に不斉認識能を有する単分子膜を形成することができるCD誘導体の合成に成功し、界面での不斉認識包接反応をはじめて解析した。

4. 今後の課題と発展

本研究で得られたCD誘導体の単分子膜は、不斉認識能を有するものの、その選択性は実用的には十分なものではない。今後は、CDの2級水酸基側を修飾することにより立体選択性をさらに向上させるとともに、認識部位の構造を変化させて、種々の化合物を選択的に包接、認識することができる実用的なセンサーの開発を試みる。さらに、界面における特異的相互作用に関する基礎的な知見を集積し、有機薄膜を用いた分子デバイスの開発に寄与して行きたい。

5. 発表論文リスト

1. Inclusional Complexation by Cyclodextrins at the Surface of Silver as Evidenced by Surface Enhanced Resonance Raman Spectroscopy. Maeda Y., Kitano H. *J.Phys.Chem.*, 1995, 99, 487-488
2. Molecular Recognition by Self-Assembled Monolayer of Cyclodextrin on Ag. Yamamoto H., Maeda Y., Kitano H. (投稿準備中)
3. Chiral Recognition by Self-Assembled Monolayer of Thiolated Cyclodextrin on Gold Electrode. Maeda Y., Fukuda T., Nishiki M., Kitano H. (投稿準備中)