

氏 名 (本籍) 長 谷 部 ^は^せ^べ ^{やすし} 靖

学 位 の 種 類 薬 学 博 士

学 位 記 番 号 薬 博 第 200 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 3 年 3 月 28 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 門 課 程 東 北 大 学 大 学 院 薬 学 研 究 科
(博士課程) 製薬化学専攻

学 位 論 文 題 目 Studise on the Photoinduced Membrane Potential of Spirobenzopyran-Modified Membrane and Its Applications to the Photo-Switchable Ion Sensors (スピロベンゾピラン固定化膜の光誘起膜電位と光スイッチ型イオンセンサーへの応用に関する研究)

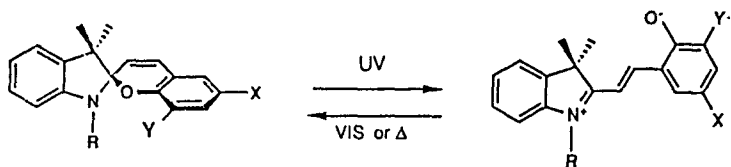
(主 査)
論 文 審 査 委 員 教 授 長 哲 郎 教 授 原 田 一 誠
教授 山 中 宏


論文内容要旨

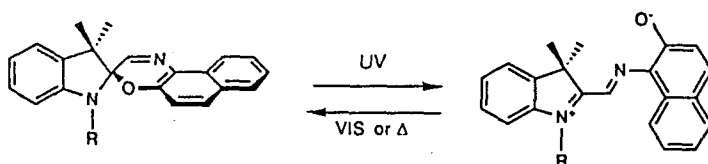
光照射によってその分子構造や電気的性質を変化させる有機化合物は、人工の光応答系を制御する光トリガーとして非常に有用である。一般にスピロピラン類は光照射により閉環型（スピロピラン型） \rightleftharpoons 開環型（メロシアン型）の光異性化反応を起こしホトクロミズムを示すことが知られている。著者は、このスピロピラン誘導体を可塑剤により軟質化したポリ塩化ビニル（PVC）膜に固定化してその膜電位の光応答性を検討した。これまでに報告されているスピロピラン固定化人工膜では、紫外光照射により誘起される膜電位変化が20~30 mV程度で応答時間も5分またはそれ以上と比較的長時間を要した。これに対し、本研究ではこの光応答性を著しく改良することに成功し、100 mV以上の光誘起膜電位変化を1~2分程度の速い応答時間で達成することができた。

1. スピロピラン固定化膜の光誘起膜電位

膜は、ポリ塩化ビニル（PVC）、可塑剤、および計算量の1~4を用いてキャスト法により厚さ約0.1 mmのスピロピラン包括PVC膜を得た。膜をパッキングにはさみガラス製2室型セルに固定し、膜によって隔てられた両室に電解質溶液を入れ、銀/塩化銀電極を用いて膜電位差を測定した。光照射は500Wキセノンランプを光源とし、ガラスフィルターにより照射波長（紫外光： $320 < \lambda < 400$ nm, 可視光： $\lambda > 550$ nm）を選択した。膜中でのスピロピラン誘導体のホトクロミック挙動は膜の吸収スペクトル測定により解析した。PVC/1膜の結果を図1に示す。膜



- 1: X=NO₂, Y=H, R=C₁₆H₃₃
- 2: X=NO₂, Y=NO₂, R=C₁₆H₃₃
- 4: X=NO₂, Y=H, R=-CH₂-



- 3: R=C₁₆H₃₃

に約1.5分間紫外光を照射すると膜は紫色に着色し565 nm に強い吸収極大を示した。これは1がPVC膜中で光応答を示し、開環型が生成したことを示している。また、開環型から閉環型への転換反応は可視光照射により促進され565 nm の吸収は約2分以内に完全に消失したもとの閉環型に転換した。

また暗所での開環型1の半減期は約8分であった。図2に膜電位の光応答の典型例を示した。暗所下で膜電位が一定になった後で紫外光を照射すると、膜電位は負の方向にシフトし約2分後に最大値に達した。ここで照射光を可視光に切り替えると速やかにもとの電位に戻った。また紫外光照射後、膜電位が最大値に達した後に、照射光を遮断し測定セルを暗所に放置すると膜電位は徐々に正の方向に減衰し、この半減期は約12分であった。紫外光および可視光照射による膜電位変化が迅速であることは、膜中の1のホトクロミズムが迅速であることとよく対応する。また、この紫外光照射による膜電位変化の強度は膜中のスピロピラン含量に著しく依存しており、誘起される膜電位変化が膜中の1の光異性化反応によるものであることは明らかである。

一般に、膜電位は2つの膜/溶液界面に発生する界面電位と膜中の拡散電位の和として与えられる。本系では、

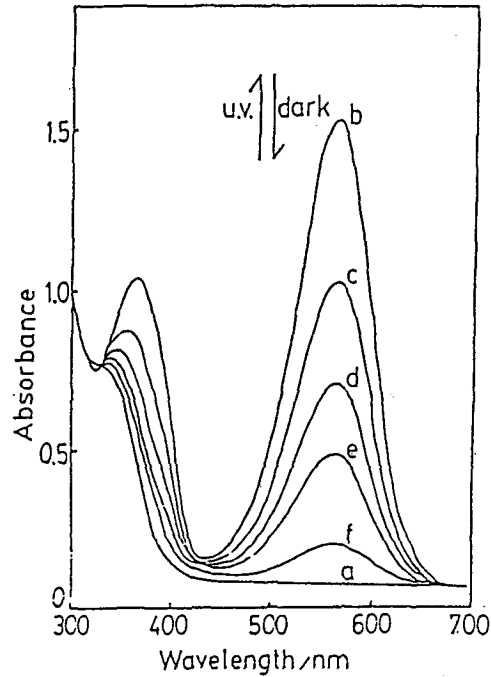


図1 PVC/1膜のホトクロミズム
可視光照射後(a)、紫外光照射後(b)、
紫外光照射後 暗所下5分(c)、
10分(d)、15分(e)、30分(f)

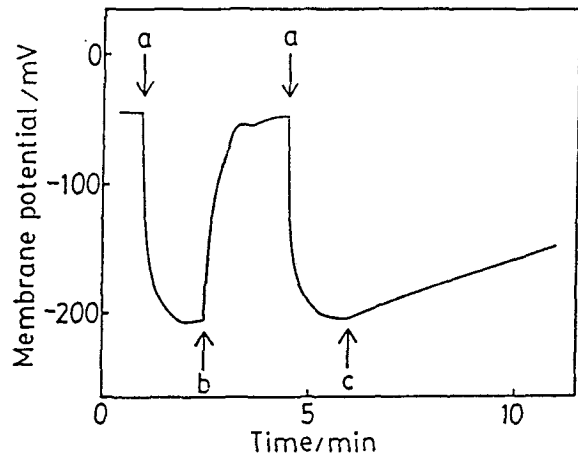


図2 膜電位の光応答
紫外光照射(a)、可視光照射(b)、
光照射遮断(c)

膜の両側の水溶液間に電解質濃度差が存在しない場合にも光誘起膜電位変化が観察され、膜電位変化の極性は明らかに光照射方向に依存した。紫外光照射時に膜の両表面の荷電密度が異なっていると考えられる。この荷電密度の差は、紫外光照射により生成する開環型 1 含量が光照射側膜表面が非照射側膜表面より多いことに起因すると考えられる。つまり、片側からの紫外光照射により、この PVC/1 膜は荷電を有する開環型 1 含量に関して非対称膜を形成し、光誘起膜電位が発生すると考えられる。この非対称膜の形成は、膜の片側および両側から光照射した時の膜の吸収スペクトル強度の経時変化の測定からも裏づけられた。このように片側からの光照射でのみ膜が非対称構造をとる例は、可塑化 PVC 膜を用いた本系の特徴である。

また光誘起膜電位の強度は光照射側膜表面に接している水溶液の pH に依存し、酸性側でより大きな膜電位が誘起され、pH がアルカリ側になるにつれ抑制された。このことは、膜電位変化に直接関与する化学種が開環型 1 の H⁺ 付加体であることを示唆している。すなわち紫外光照射により光照射側膜表面に生じた両性イオンの開環型 1 のフェノレートアニオン部に溶液の H⁺ イオンが付加し、膜の内表面が全体として正に帯電し界面電位が変化すると考えられる。

PVC/2 膜の場合には、膜電位の光応答はほとんど観察されなかった。ジニトロスピロピラン誘導体 2 の場合は 8'-位のニトロ基の電子吸引効果によりフェノール酸素原子上の電子密度が低下し H⁺ イオンの付加が抑制されたものと考察した。また PVC/3 膜では光誘起膜電位の強度は 10~20 mV であった。スピロオキサジン誘導体 3 は開環型の数種の異性体のうち無荷電型のキノイド構造がより安定であるため、光照射前後の膜荷電密度変化の寄与が小さいためと考えられる。

2. 光誘起膜電位に及ぼす膜荷電密度の影響

このように、本系における光誘起膜電位発生にはスピロピランの光異性化反応に伴う膜表面荷電密度変化が大きく関与している。そこで、イオノフォアや種々の脂溶性塩化合物を膜に添加することによりさまざまな荷電を有するスピロピラン固定化膜を作製し、スピロピラン以外の膜内もしくは膜表面の荷電が光誘起膜電位に及ぼす影響を検討した。

アンモニウムイオノフォアであるノナクチンをスピロピランと同時に含有する膜 (PVC/1/ノナクチン膜) を介する光誘起膜電位の強度は、光照射側膜表面に接する NH₄⁺ イオン濃度に顕著な依存性を示し、高濃度領域 (>10⁻³M) で著しく抑制された。また PVC/1/バリノマイシン膜の場合にも K⁺ イオン存在下で K⁺ イオン濃度に対して同様の現象が観察された。これらの結果は、イオノフォアとイオンとの特異的な複合体形成に起因する膜の荷電密度の増大が、膜電位の光応答を阻害したことを意味する。また膜荷電密度は、脂溶性塩化合物を膜に添加することにより直接制御することも可能である。そこで膜内正電荷としてテトラデシルアンモニウム塩

(TDA 塩) を、また負電荷としてテトラフェニルホウ酸塩 (TPB 塩) をスピロピランと同時に包括固定化した膜を調製し、膜内荷電種の種類および濃度の影響を検討した。光誘起膜電位の強度は、スピロピランのわずか 1/20 当量の脂溶性カチオンの存在により著しく抑制された。このような膜内正電荷による光誘起膜電位の抑制には、以下の要因が推定される。1) 紫外光照射により生成した開環型 1 への溶液からの H^+ イオンの付加が、イオノフォア-イオン複合体や脂溶性カチオンが膜/溶液界面に形成する正の電荷層による静電的反発により抑制される、2) 光照射側膜表面の荷電密度の上昇により、スピロピランに基づく荷電密度変化の寄与が全体として相殺される、および 3) 開環型スピロピランが膜内カチオン種と安定なイオン対を形成し H^+ イオンの付加が困難になる、等の要因が考えられる。

一方、脂溶性アニオン (TPB 塩) がスピロピランの 1/20~1/10 当量膜中に存在すると、光誘起膜電位は最大 400 mV 近くまで増幅された。また TPB 塩含有膜の光誘起膜電位の pH 依存性は酸性領域でより顕著に増大し、優れた pH 感応性の光応答膜として機能した。これは膜中の TPB 塩の作用により、膜/溶液界面での H^+ イオンの移動が促進されることに起因すると考えられる。さらにこの膜を介する光誘起膜電位は、溶液中のヒスタミンやビタミン B_1 等の有機アミン濃度の増大に伴って減少した。これらの結果は、TPB 塩のカチオン交換反応により膜内に取り込まれた有機アミンが膜の内表面でイオン対を形成し、これが H^+ イオンの膜への取り込みのエネルギー障壁となり、結果として光誘起膜電位が減少したものと考えられる。

膜担体としてカルボキシル基を導入した PVC 膜 (COOH-PVC) やアミノ基を導入した PVC 膜 (NH_2 -PVC) を用いると、COOH-PVC 膜では大きな影響はないものの、 NH_2 -PVC 膜では膜電位の光応答は著しく阻害された。アミノ基に由来する正荷電が光誘起膜電位発生に好ましくない影響を与えていることが推定される。

3. 光スイッチ型イオンセンサー

PVC/1/ノナクチン膜や PVC/1/バリノマイシン膜は、膜に接する溶液イオン濃度に著しく依存した光誘起膜電位を与えた。そこでイオンセンシングの観点から、これらの膜を溶液中のイオンを光起電力として検出する新しい原理に基づく光スイッチ型のイオンセンサーの感応膜に応用した。センサーの構成は以下の通りである。銀/塩化銀電極 | 内部液 | 感応膜 | 試料液 | 銀/塩化銀電極。試料液中のイオン濃度が $10^{-6} M$ と低い場合には、イオンの種類にかかわらず膜への紫外光照射により約 100 mV の光誘起膜電位が発生し、この大きさはイオン濃度の増大に伴って減少した。単独溶液法および混合溶液法により NH_4^+ イオンおよび各種のアルカリ金属イオンに対する光応答のカチオン選択性を検討した。ノナクチン含有膜ではその選択性は $NH_4^+ > K^+ > Rb^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$ の順であり、バリノマイシン含有膜では $Rb^+ > K^+ > Cs^+ > NH_4^+ > Na^+$

Li⁺となった。これらの結果は、ノナタチンやバリノマイシンのイオン選択性を直接反映したものと考えられる。このスピロピラン固定化膜を利用したイオンセンサーは光の On-Off を利用した全く新しいタイプのセンサーであり、通常のセンサーとは逆にイオン濃度が低い程より大きな電位変化を誘起し μM レベルでの NH₄⁺、K⁺および Rb⁺ イオンの定量が可能である。

以上のように、本研究ではスピロピラン固定化 PVC 膜の光誘起膜電位発生機構を明らかにするとともに、イオノフォア共存スピロピラン固定化膜を用いて光スイッチ型のイオンセンサーを作製した。さらに、これらのイオノフォア含有膜や脂溶性アニオン含有膜を適当な酵素膜と組み合わせると、溶液中の酵素基質濃度を光誘起膜電位の強度として検出する光起電力応答型の酵素センサーの開発も可能であろう。

審査結果の要旨

論文提出者の研究は主査の研究室で進められている光応答性膜に関する研究の一部を構成している。分子設計されたスピロピラン化合物を軟質ポリ塩化ビニル膜に包括し、紫外光-可視光の繰り返し照射により、光誘起膜電位約200 mV、応答時間約1分で可逆的に応答する膜を作製した。その応答機構を解明するとともに、各種イオンセンサーを構築した。

合成したスピロピラン系クロモフォアとしては疎水性の1'-hexadecyl-3',3'-dimethyl-6-nitro-spiro-[2H-1-benzopyran-2,2'-indoline], 高分子としては可塑化ポリ塩化ビニル, 可塑剤としてはフタル酸系誘導体から構成される薄膜が、光誘起膜電位差の大きさ, 応答速度の速さから適当であった。この膜電位発生機構は、紫外光照射によりプロトン付加した開環型アンモニウムイオンを生成し、膜の両界面での電荷密度の相異による非対称膜の生成によるものであることを、膜に接する電解質の種類と濃度, pHの影響などから明らかにした。

バリノマイシン, ノナクチンのイオノフォアを上述の膜にさらに共存させると、その膜はそれぞれ K^+ , NH_4^+ に対し μmol レベルで選択的に応答するイオンセンサーとして機能した。他のアルカリ金属イオンとの選択係数についても測定し考察した。油性界面活性剤の膜への添加実験から、テトラフルオロフェニルホウ酸イオンなどの親油性陰イオンが適しており、特にこの系はヒスタミン, ビタミン B_1 などの有機アミンに対するセンサーとなることを明らかにした。これらのセンサーはいずれも低濃度側で応答電位差が大きくなり、通常のセンサーと異なる特徴を有している。カルボキシル基を含有するポリ塩化ビニル, 可塑剤の種類と添加効果などは、いずれも陽イオン電荷型非対称性膜の生成機構を支持する結果を与えた。

上述のように、本研究は新しい光機能性膜の基礎および生体機能に関連するイオンやアミン類測定への応用の両分野に新基軸を拓いたものであり、学位を授与するに十分値する内容と認める。