

化粧品の評価・開発に資する微小な力を 検知する水溶性の分子集合体の開発

北海道大学電子科学研究所

相良 剛光

Molecular assembled materials that change emission properties in response to tiny mechanical forces are valuable to develop various cosmetic products. In this study, we developed a green-emissive, one-dimensional supramolecular fiber consisting of fluorescence dumbbell-shaped amphiphile **1** having 9,10-bis(phenylethynyl)anthracene as the emission core. Mechanical grinding leads to emission color change from green to yellow on glass substrates under ambient condition. The emission spectrum shows a further red-shift when the ground sample was exposed to water vapor. Interestingly, the green fluorescence recovers after exposure to methanol vapor. Emission lifetime measurements and steady-state spectroscopic measurements reveal that the observed color change from green to yellow is ascribed to mechanical stimuli-induced excimer formation between the fluorescent cores. Infrared spectroscopic measurements clarified the amide groups are involved in hydrogen bonding and closer inspection revealed that a peak corresponding to C=O stretching becomes broad after mechanical grinding, which suggested that a linear hydrogen-bonds become disordered ones upon grinding. One-dimensional linear supramolecular fibers with width of ca. 5 nm were observed in transmission electron microscope images for the initial samples, while micellar structures were found to attach the both edges of short fibrous structures for ground samples. These results indicated that mechanical stimuli cut the supramolecular fiber and the micellar molecular assemblies form at the cut positions. The emission cores never form excimer in the initial fibers. In contrast, excimer should form in the mechanical stimuli-induced micellar molecular assemblies. Because the green-emissive fibers do not dissolve in water, we searched suitable amphiphilic molecular structures. Though we were not able to find the best amphiphiles, correlation between the dendritic structures and the molecular assembled structures in water have been partially clarified.

1. 緒言

化粧品は成熟した人類社会ではなくてはならないものであり、化粧品市場がさらに拡大することが容易に想像できる。市場の拡大と共に化粧品に求められるのは、より安全で、高機能な化粧品であることは言うまでもない。そのような最先端の化粧品開発において重要であるのは、その機能評価である。化粧品を肌に塗布する際には機械的刺激が発生しているが、印加される機械的刺激を細胞レベルで評価することは極めて難しい。

本研究では、きわめて小さい力を鋭敏に検出できる親水性かつ蛍光性の分子集合体を開発することを目指している。近年、機械的な刺激により蛍光色に変化する有機分子集合体の報告例が、我々の報告に端を発し¹⁾、世界的に増えている²⁾。観察される蛍光色変化は、機械的な刺激により蛍光団の共有結合が切断されることが原因ではなく、材料内の蛍光団の集積構造が変化することで達成されている。このような材料は、比較的大きな力を必要とする共有結合の切断を伴わずに蛍光色変化を達成できるため、皮膚に印加される微小な力を評価・可視化するには、とても有望で

ある。

我々はこれまでに、約15～20個の両親媒性分子で構成される水溶性の繭状分子集合体を設計・開発し、水中でその繭状分子集合体が機械的刺激を受けて内部の蛍光部位の集積構造が変化し、蛍光スペクトルが短波長シフトすることを見出している³⁾。この繭状分子集合体は市販のリンカー化合物を用いることで、表面にアミノ基を持つガラスやポリマー材料、さらには生細胞に共有結合を介して導入することができ、十分な力がガラスやポリマー材料に印加されると繭状分子集合体の発光色に変化することが確認できた。しかし、この繭状分子集合体が機械的刺激に応答して示す蛍光スペクトル変化は非常に小さく、そのため生細胞にかかる力を正確に評価できなかった。

そこで本研究課題では、先行研究の結果を踏まえ、より大きな蛍光色変化を示し、生細胞に作用する機械的刺激を鋭敏に検出することができる水溶性の分子集合体を創製することを目指した。

2. 方法

2.1. 両親媒性分子1の合成

先行研究³⁾において開発した両親媒性分子は、1,6-bis(phenylethynyl) pyreneを発光部位として持ち、水溶性のデンドロン構造がアミド基を介して二つ導入された分子構造となっている。そこで、本研究では発光部位を9,10-bis(phenylethynyl) anthracene骨格に変更し、先行研究と同じデンドロンを蛍光団の長軸方向ではなく、60°ねじれた位置に導入した新規の両親媒性分子**1**を設計・合成し



Development of water-soluble molecular assemblies that detect tiny mechanical forces to evaluate and prepare cosmetic products

Yoshimitsu Sagara

Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University

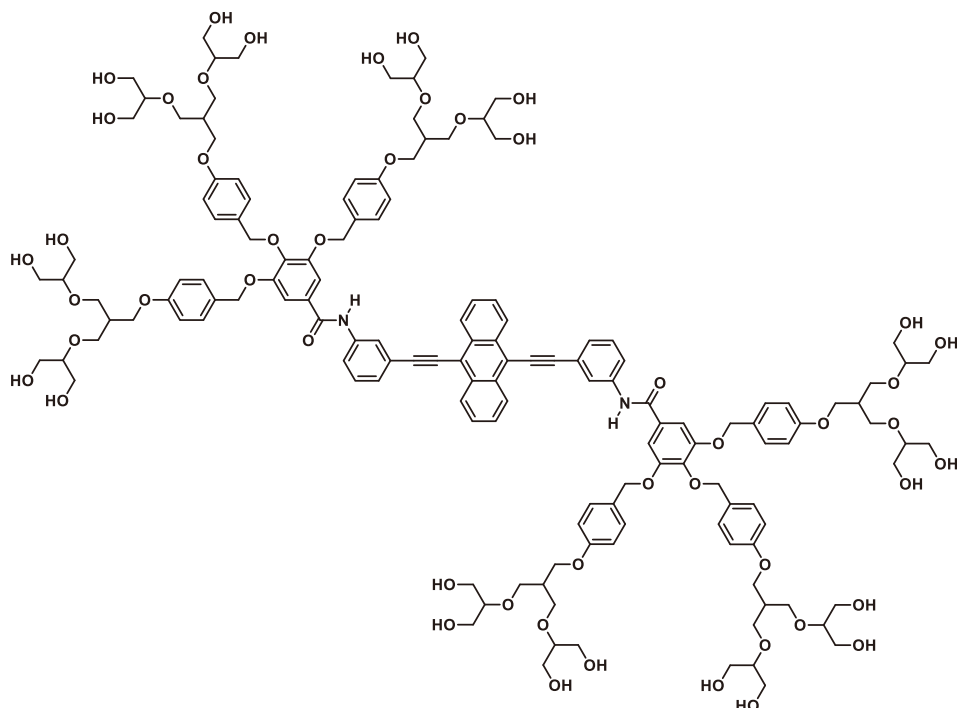


図1 新しく合成した両親媒性分子 1 の分子骨格

た(図1)。

2.2. 両親媒性分子1の機械的刺激に対する応答性評価

新しく設計・合成した両親媒性化合物 1 が示す刺激応答発光特性をバルクの状態でも調べた。図2に外部刺激に応答して 1 の発光色が変化する様子を示す。

化合物 1 は 365nm の励起光照射下、初期状態では緑色の発光を示す。これをスパチュラなどでこすると発光色が黄色に変化する。この発光色変化は、先行研究の繭状分子集合体が発した応答特性とは全く異なり、長波長側にシフトしていることがわかった(先行研究では短波長シフト)。さらに黄色に変化した発光色は、水蒸気に曝露することで発光色が橙色まで変化する。また、面白いことに、その後メタノールの蒸気にさらすと元の緑色の発光色が回復する。一方で、初期状態のサンプルを機械的刺激を印加せずに水蒸気にさらしても発光色変化は観察されない。橙色の発光色を得るには最初に機械的刺激を印加することが必要要件となることがわかった。

次に、固相での発光スペクトル測定を行った(図3)。機械的刺激を印加する前は 537nm にピークを持つスペクトルが観察される。一方で、機械的刺激を印加すると、発光スペクトルは大きく長波長シフトし、そのスペクトルの形状はブロードとなった。これは機械的刺激を印加されて、発光部位がエキシマーを形成できるようになったことを示唆している。さらに水蒸気にさらすと、蛍光スペクトルがより長波長側にシフトすることがわかった。一方でメタノ

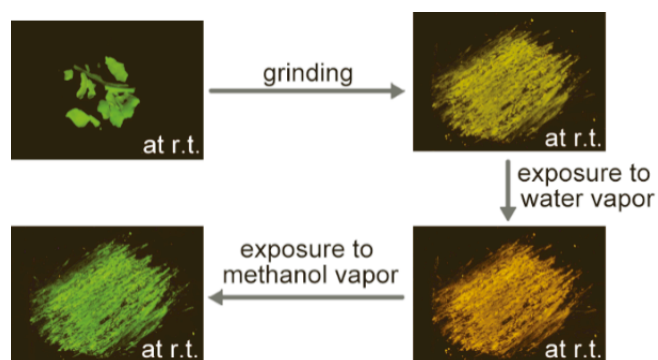


図2 化合物 1 が固相で示す、外部刺激に応答して発光色が変化する様子

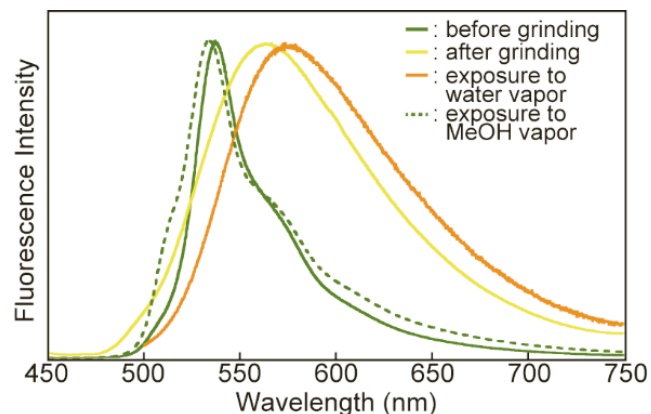


図3 化合物 1 の固相での発光スペクトル変化

ール蒸気にさらした後は蛍光スペクトルが大きく短波長シフトし、機械的刺激を印加する前のスペクトルと同じ波長領域に観察されるようになった。

機械的刺激を印加したのちに得られる発光色が発光部位のエキシマー形成に起因しているかどうかを確かめるため、蛍光寿命測定を行った。溶液及び固相で機械的刺激を印加する前後の減衰曲線を図4に示す。クロロホルムとメタノールの混合溶媒（混合比1:1）中では2.9nsの単一成分が観察される（黒線）。一方で固相での減衰曲線は溶液の減衰曲線とは大きく異なっており、それぞれ triexponential decay function でのフィッティングを行った。機械的刺激を印加する前（緑線）では0.8, 2.9, 9.3nsの成分が観察され、機械的刺激を印加したのちは（黄線）、1.2, 6.0, 23nsの寿命成分が観察される結果となった。機械的刺激を印加した後の23nsの成分が発光部位のエキシマーに対応していると考えられる。以上より、機械的刺激を印加した際に、発光部位がエキシマーを形成できる相関配置となった結果、発光色が緑から黄色に変化したのだと結論付けた。

さらに、化合物1が形成する分子集合構造中でアミド基が水素結合を形成しているかを明らかにするために、IR測定を行った。結果を図5に示す。固相で機械的刺激を印加する前後で1650 cm^{-1} 付近にアミド基のC=O伸縮振動に対応するピークが観察され、固相ではアミド基間で水素結合が形成されていることがわかった。しかし、そのピークの形状は機械的刺激を印加する前後で大きく異なっている。印加前はシャープなピークが観察されるのに対して、印加後はピークがブロードニングすることがわかった。これは、機械的刺激を印加する前はリニアな水素結合が形成されていたが、機械的刺激を印加されることにより、ある程度乱れた水素結合モードに変化したことを意味している。

化合物1がどのような分子集合構造を形成しているかを明らかにするために、透過型電子顕微鏡観察を行った。得られた像を図6に示す。均一な太さを持つファイバー状の分子集合体が観察され、このファイバーの幅はおよそ5nmであり、これは化合物1の分子長とほぼ同じ大きさであった。すなわち化合物1は機械的刺激を印加する前は隣接する分子のアミド基間でリニアな水素結合を形成し、超分子ファイバーを形成することがわかった。さらに面白いことに、機械的刺激を印加したサンプルでは、ファイバーが切断されている箇所が著しく増加しており、切断箇所に繭状の分子集合体が形成されていることがわかった。この繭状の分子集合体は先行研究で観察されたミセル状の分子集合体とよく似ていた。先行研究では、ミセル内でエキシマーが形成されていたため、化合物1が切断箇所でも発光部位がエキシマーを形成していると考えられる。

以上の実験事実より、機械的刺激により発光色が変化

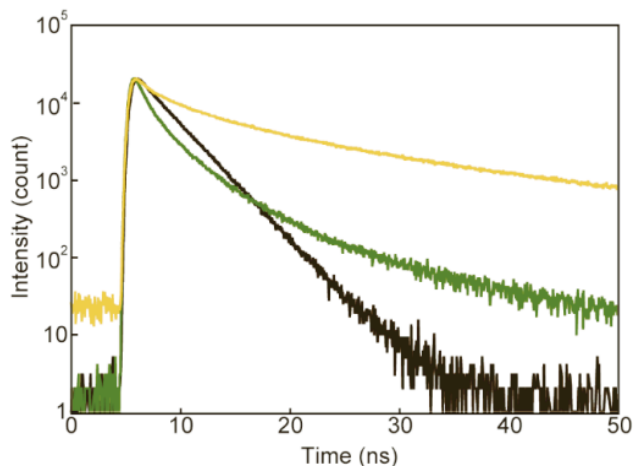


図4 蛍光減衰曲線



図5 機械的刺激印加前後のIRスペクトル

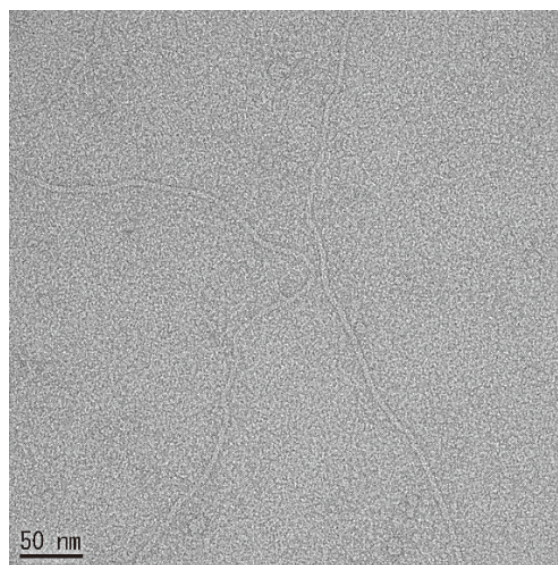


図6 透過型電子顕微鏡での観察結果

するメカニズムは次のように考えられる。化合物**1**は最初、一次元の超分子ファイバーを形成し、そのファイバー内で発光部位は規則正しく並び、エキシマーは形成されず緑色の発光色が観察される。しかし、いったん機械的刺激が印加されると、ファイバーが切断されると同時に切断箇所での分子の再配列が起き、発光部位がエキシマーを形成できる相関配置となることで発光色が緑から黄色に変化したと考えられる。

2.3. 構造を変えた両親媒性分子の探索

両親媒性分子**1**は先行研究の繭状分子集合体とは異なり、一次元の超分子ファイバーを形成し、切断されることにより発光色変化が達成される全く新しい特性を示す分子となった。しかし、初期状態では水には不溶となってしまった。そこで、次に化合物**1**が示す、「機械的刺激を受けて蛍光スペクトルが長波長シフトする」という特性を維持したまま、水溶性を付与することを試みた。まず、化合物**1**に導入した水溶性デンドロンの世代を1世代増やした化合物**2**の合成を試みたが、水酸基を保護した状態のデンドロン骨格がかさ高過ぎたため、9, 10-ジブromoアントラセンとアセチレン基を持つデンドロン構造との間の菌頭反応がうまく進行せず、目的化合物を得ることはできなかった。そこで脂溶性骨格の構造やデンドロンの世代を変更した化合物**3**~**5** (図7) を設計・合成した。しかし、いずれの化合物も化合物**1**が初期状態で形成する緑色発光を示す超分子ファイバーを形成せずに、黄色の発光を示す水溶性の分子集合体を初期状態から形成してしまうことがわかった。

3. 考察

両親媒性分子**1**では先行研究の分子とは異なり、初期状態で緑色の発光色を示す超分子ファイバーを形成した。先行研究の分子から、水溶性デンドロンの導入位置を変更し、蛍光団を変更しただけであるが、その刺激応答発光特性は大きく変化した。先行研究では、分子が15~20個程度集まり、発光部位がスタックすることでエキシマーを形成し、黄色の発光色が観察されていた。機械的刺激が印加されると、発光団がエキシマー形成できない相関配置に置かれ、発光色が緑色となる。ここで重要な点は、先行研究では発光色変化を誘起するために、繭状分子集合体を形成するすべての分子でエキシマー形成を阻害する必要があるということである。少しでもエキシマーサイトが残っていると、そこにエネルギー移動が起きてしまい、分子集合体からの発光色に変化は観察されない。一方で化合物**1**では、機械的刺激を受けて発光部位がエキシマーを形成していない相関配置から、エキシマー形成できる相関配置に変化する。ファイバーが少しでも切断されれば、付近のエキシマーを形成していないサイトからのエネルギー移動が起き、すべ

ての分子をエキシマー形成できる相関配置に変換しなくとも、全体としての発光色変化が達成される。つまり、化合物**1**では機械的刺激に対する蛍光特性変化が増幅されるのである。スペクトル変化の大きさも、化合物**1**の方が先行研究のシフト幅と比較して大きいことと併せて、**1**が形成した緑色蛍光超分子ファイバーは、水には不溶ではあるが、機械的刺激のセンシング材料として非常に有望である。

次に、初期状態での緑色蛍光超分子ファイバーに水溶性を付与することを目的とし、分子骨格の探索を行った。デンドロンの導入位置が重要ではないか考え、デンドロンを導入する位置は化合物**1**と同じとし、デンドロン構造の異なる分子**3**-**5**を合成したが、残念ながら緑色の発光を示す超分子ファイバーの形成は確認できず、おそらく先行研究と同様に繭状の分子集合体を形成していることが考えられる。以上の知見から**1**のデンドロンの枝分かれ構造が、緑色の発光色を示す超分子ファイバーの形成に重要な役割を担っていると考えられる。今後は、**1**の分子骨格を大きく変更せずに、形成される超分子ファイバーに水溶性の付与を目指したい。

4. 総括

本研究では、きわめて小さい機械的刺激を検知して発光色に変化する親水性の分子集合体の開発を目指した。もし鋭敏に力を検出し、大きな発光色変化を誘起できる材料ができれば、化粧品を肌に直接塗布する際に発生するきわめて小さい機械的刺激を、細胞レベル、さらには分子レベルで可視化・評価することができるようになるのではないかと考えている。これまでに多数の機械的刺激応答性蛍光材料が開発されているが、それらは疎水性の高い材料であり、生体に応用することはできない。また、限られた分子数でユニット化されていないため、発光色変化を誘起するために必要な力が大きかった。本研究で目指している、きわめて鋭敏な機械的刺激応答性蛍光材料は、これらの課題をすべて解決することになり、化粧品を肌に塗布する際に重要な因子となっている機械的刺激の影響を製品開発の段階で定量的に評価できるようになることが期待できる。最近我々のグループが報告したロタキサン型超分子メカノフォア⁴⁾などと併せて、個々の細胞が生み出す力や印加される力を定量的に評価できるようになれば、化粧品を肌に塗布する際に起きる細胞内の様々な機械的刺激によるシグナル伝達を解明することができるようになり、それらの知見は、より安全・高品質な化粧品の開発に生かされることになる。

本研究では研究実施期間中に、先行研究の発光特性変化より、大幅に機械的刺激に対する応答性が改善された1次元超分子ファイバーを形成できる化合物**1**の特性評価を行い、そのメカニズムが解明された。残念ながら水溶性の1次元超分子ファイバーを形成することができる化合物の

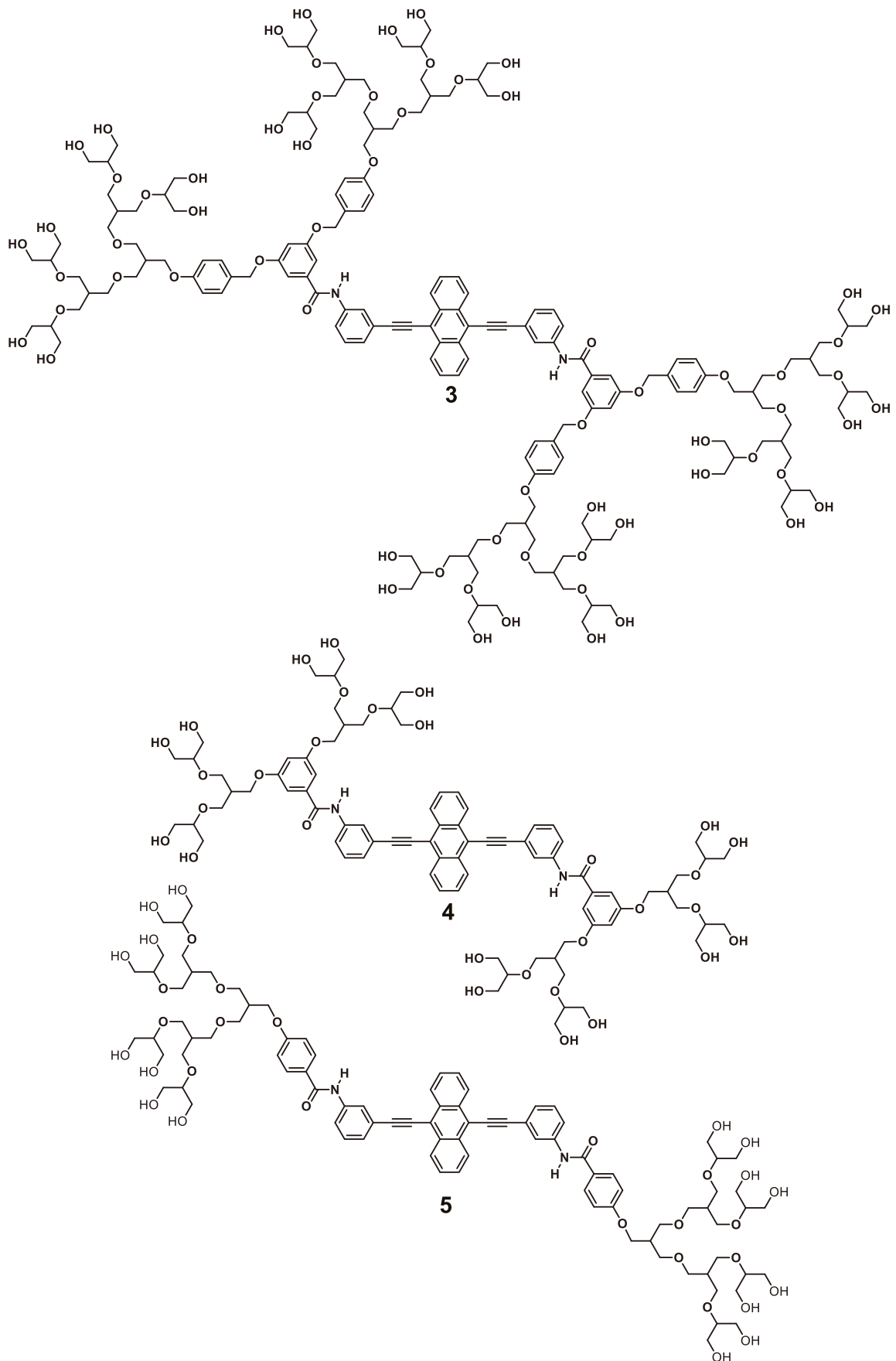


図7 新しく設計・合成した両親媒性化合物3-5の分子骨格

発見には至らなかったが、デンドロン構造と分子が最初に形成する集合体の発光特性との相関に関する知見を多く得ることができた。引き続き、機械的刺激を受けて切断され、発光色変化が達成されるような超分子ファイバーの創製に取り組む予定である。

最後に、本研究はコスメトロジー研究振興財団の助成金によって、はじめて推進することができました。私の研究課題を採択して頂いた財団の方々、選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

(引用文献)

- 1) Y. Sagara, T. Mutai, I. Yoshikawa, K. Araki, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 1520-1521 (2007); Y. Sagara, T. Kato, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 5175-5178 (2008).
- 2) Y. Sagara, T. Kato, *Nat. Chem.*, **1**, 605-610 (2009); Y. Sagara, S. Yamane, M. Mitani, C. Weder, T. Kato, *Adv. Mater.*, **28**, 1073-1095 (2016).
- 3) Y. Sagara, T. Komatsu, T. Ueno, K. Hanaoka, T. Kato, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 4273-4280 (2014).
- 4) Y. Sagara, M. Karman, E. Verde-Sesto, K. Matsuo, Y. Kim, N. Tamaoki, C. Weder, *J. Am. Chem. Soc.*, **140**, 1584-1587 (2018).