

平成22年5月1日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19550137
 研究課題名（和文）分子設計に基づく化学発光の機能化による分子認識およびセンシング
 研究課題名（英文）Molecular recognition and sensing by sophisticated chemiluminescence based on molecular design

研究代表者
 本吉谷 二郎 (MOTOYOSHIYA JIRO)
 信州大学・繊維学部・教授
 研究者番号：60126711

研究成果の概要（和文）：本研究において、既存の有機化合物の酸化反応による化学発光に用いる化合物に有機合成化学観点からの工夫を加え、目標として化学発光の機能化による金属イオンの認識の可能性を追求した。金属イオン認識法として、種々の金属イオン-配位子の識別能を利用し、それらの相互作用により、発光強度または発光波長を制御することを可能とした。これらの研究過程において、電子移動を含む発光機構の解明にも貢献したことで学術的な意義を持つとともに、化学発光の応用の拡張に向けた新局面を切り拓くことができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, some new developments from an organic synthetic point of view were induced to the previously known organic chemiluminescence, and the possibility of metal ion recognition by chemiluminescence was presented. The combination of chemiluminescent molecules and the ligands that coordinate to the suitable metal ions enabled to recognize the certain metal ions by the change in chemiluminescence intensities and wavelengths. This study provides not only a contribution to elucidate the mechanism of a light emission process involving an electron transfer but also shows the possibility of practical use for chemical sensing.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：化学発光、過シュウ酸エステル化学発光、CIEEL、分子認識、配位子

1. 研究開始当初の背景

化学発光は、化学反応により生成した励起蛍

光物質から蛍光を発する現象で、その研究は人造有機化合物であるロフィンの酸化による化学発光の最初の発見から

130年の歴史をもっている。1960年～70年代に多くの研究者が様々な化学発光反応の研究に取り組み、光化学の発展もあってそのルネッサンスを迎えた。ここで、種々の化学発光の詳しい発光メカニズム、環状過酸化物の分解における励起分子生成過程、電子移動を含む CIEEL (chemically induced electron exchange luminescence) 機構の提唱などがなされ、現在の化学発光における基礎理論が形成された。この進展によってホタルなどに代表される生物発光も化学発光と深く関係することが明かとなりその理解も深まった。

現在では、これらの展開を踏まえて多種多様な化学発光系により様々な分野で利用または応用されている。たとえば、熱を出さず電気を必要としない光源としての利用やフォトン検出の感度が格段に向上したことから、化学発光による特定物質の微量検出が注目されている。その酸化反応に基づく生体内の活性酸素の微量定量、あるいは多様な生態関連物質の検出、定量、さらにイムノアッセイなど医療分野において応用に向けた研究が精力的に行われている。これらの分析ではこれまでのような、放射性物質や高価な定量試薬、あるいは特殊な光源を必要としないため多くの利点があり、化学発光は将来の分析手段として欠かせないものになっていくと期待され、その研究の重要性は今後もさらに大きくなっていくと考えられる。

本邦におけるこの分野におけるこれまでの貢献も大きく、さらに積極的な研究を行う必要があるが、化学発光を有機化学的な立場から専門に行っている研究者は極めて少ないのが実情である。化学発光における発光機構については、まだ未解明の部分が存在するため、申請者はこれまでいくつかの代表的な有機化学発光反応について新しい化学発光物質の設計、合成を行いつつ、発光の高効率化ならびに発光機構の解明に貢献することを目的として研究を行ってきた。この中で、種々のシュウ酸エステル誘導体の速度論的解析からこれまで提唱されてきた 1,2-ジオキセタンジオンに加えて 1,2-ジオキセタノンも高エネルギー鍵中間体である可能性を指摘した (*J. Org. Chem.*, 2002. *Chem. Commun.*, 2003.)。さらに蛍光性部位を組み込んだシュウ酸エステルの反応解析から電子移動が関与する CIEEL 機構が適用されることを示した一方、

ルミノール類縁体であるフタルヒドライド化学発光についても、蛍光性の強い共役スチルベン部位を導入することにより、高い発光量子収率を達成した。

我々は化学発光研究をほぼ十年前から行ってきたが、この分野の研究者が少ない現在、これまで我が国の先輩が築いてきた伝統の灯火を絶やさないためにも着実な研究を継続していく必要性を痛感している。本研究は、ここ信州大学において化学発光の基礎ならびに応用に向けた研究に参画し、我が国のこの分野の発展への貢献をさらに大きなものにしりたいと企画するものである。また、機能化された化学発光系を確立し、この分野をさらに洗練された魅力あるものにしりたいと考えている。

2. 研究の目的

本研究では、先に述べた化学発光研究の現状に鑑み、有機合成的手法により積極的に新規化合物を設計・合成して研究を進め、基礎研究ならびに化学発光による分子認識、マイクロ環境認識へと展開したいと考えている。過シュウ酸エステル化学発光は数多くの化学発光の中でも最も発光効率のよいものとして知られており、この系の基礎および応用の確立によって化学発光全体の研究に与えるインパクトは非常に大きい。

また、この発光系と関連して他のジオキセタン経由の化学発光にも目を向け研究を行ってゆきたいと考えている。本研究において達成しようとした目標は以下の(1)～(3)である。

(1) 過シュウ酸エステル化学発光の発光機構において電子移動(CIEEL)が含まれるか否かを明確にする(CIEELであることを証明する)。

(2) 過シュウ酸エステル化学発光を利用して化学発光による分子認識およびセンシングシステムを構築する。

(3) 環状過酸化物経由の他の化学発光系の機能開拓を行う。

(1) について、すでにこれまでの研究によって過シュウ酸エステル化学発光は CIEEL による可能性が強く支持する結果を得ているが、さらに進めてより説得力のある直接的な証明を行いたいと考えている。

この延長線上にあるのが(2)の応用展開である。発光という現象は直接目で観測できる最も効果的なシグナルとなりうる。化学発光における発光強度の変化、発光色調の変化は極めて識別しやすく検出感度も高い。例えば、過シュウ酸エステル化学発光がCIEELを含むのであれば種々の電子供与体あるいは受容体の共存下で発光に影響を与えるはずである。このことを利用すれば各種分子、イオンなどの認識へと展開できる。一方、蛍光センサーの研究は数多くあるが、これを化学発光系と組み合わせることでより鋭敏なセンシングシステムを構築することにより微量分析が可能になると期待できる。

(3)ではすでに当研究室で着手しているベンジリデンアクリダン類の一重項酸素酸化による化学発光の応用、ルミノール類縁体のフタルヒドロリド化学発光においてクラウンエーテル部位などの分子認識サイト導入により機能化を行う。すでに化学発光による金属イオン(特にカルシウムイオン)認識に成功している。さらにフォトケミカルセラピーへの展開も念頭に置きながら研究を強力に押し進めたいと考えている。

過シュウ酸エステル化学発光の機構解明の意義は非常に大きく、この有用な化学発光を論ずるときには必ず引用される成果を挙げることができると確信している。すでに最近の国外の論文で申請者らの研究がいくつか引用されている。電子移動は光化学の中でも現在とくに重要なテーマになっており、本研究の成果は別の切り口からのサポートになると期待している。化学発光における電子移動を利用するセンシングは未開拓の分野であり、光源が不要なので、分子構造を工夫すれば医療分野における画像診断への応用も期待できる。夢の実現まではまだ遠い道のりがあるが、化学発光は多くの可能性を秘めており、非常に魅力的な研究分野である。ここ信州大学が化学発光研究のひとつの拠点として数えられる様に努力したいと考えている。

3. 研究の方法

(1) シュウ酸エステル化学発光においてCIEEL機構に基づくことの立証

本発光系においてCIEEL機構で進行するならばジオキセタンと蛍光剤との間で電子移動が行われるはずである。そこで、強力な電子

供与体でありかつ亜鉛イオンのキレートによってその電子放出を制御できるアミンの存在下での発光を速度論的に解析する。すなわち、アミン存在下では発光が抑えられるが、亜鉛イオン添加によって発光が回復すると考えられるのでその様子を詳しく解析することによって電子移動の関与を立証する。この実験が予期した成果を収めることができれば、同時に、生体内での役割が注目されている亜鉛イオンの微量定量への応用へと展開できる。

(2) 上記の系における電子移動に関する研究と並行して励起種生成の際の相互作用部位間の距離を固定あるいは制御した系を設定し、電子移動あるいはエネルギー移動の効果を評価する。すでにこの研究には着手しており、いくつかのシュウ酸エステル誘導体の化学発光を検討している。

(3) 蛍光剤には電子移動消光を行うものが多い。これまで当研究室では置換基により電子的性質を付与したジスチリルベンゼン蛍光性化合物を合成し化学発光の蛍光剤として用いてきた(*J.Org.Chem.*2003, *Tetrahedron*, 2005)。例えば、push-pull型のジスチリルベンゼンでは爆薬などに用いられているニトロ化合物や農薬残量物として存在する有機塩素化合物の存在によって蛍光消光されることが明らかとなったので、これを過シュウ酸エステル化学発光系に適用し、より鋭敏な検出法として確立する。ドナー置換基としてクラウンエーテル部位の導入も計画している。

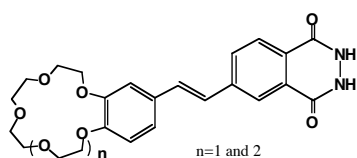
(4) 化学発光を利用した金属イオン認識をさらに進める。アミンの構造を工夫すれば種々の特定金属イオンのセンサーに展開できる。特にウランなど今後重要になってくる金属イオン検出・定量にチャレンジしたいと思っている。過シュウ酸エステルと同様に、一重項酸素酸化によるジオキセタン形成による化学発光も魅力的な系である。以前申請者らは一重項酸素酸化やアクリダン類の化学発光について研究した(*J.Org.Chem.*1999, 2003, *Heterocycles*, 2003, 2004)。これらの成果を踏まえ、下記のようなアザクラウンエーテル部位を導入したベンジリデンアクリダンについて検討する。これはアザクラウン部位が一重項酸素に対して電子移動消光を行うことを逆に利用する。すなわち、金属イオンが配位することにより電子移動が制御され、一重項酸素酸化が進行して発光すると予想される(図6)。現在基礎的なデータを集めつつあるが、こ

の系をさらに洗練し、工夫することにより大きな金属イオンのセンサーとしての可能性を追求する。

4. 研究成果

化学発光を利用した分子や金属イオンのセンシングを目的とし、種々の有機分子を設計、合成し、これらについてセンシングの可能性を検討した。はじめに、強い蛍光を有するジスチリルベンゼンに電子供与性置換基を導入し、有機ハロゲンおよびニトロ化合物存在下での蛍光挙動を調べたところ、これらの存在によって効果的に蛍光消光されることが明らかとなった。蛍光消光の程度は、消光剤の還元電位と相関が見られたことから電子移動消光によることが明らかとなった。

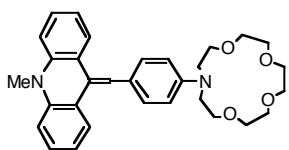
一方、金属イオンセンシングを目的としてクラウンエーテル置換基を導入したジスチリルベンゼン骨格を有するフタルヒドラジド誘導体



(下図)の化学発光について詳しく検討した。このフタルヒドラジド

誘導体は、塩基性条件下で酸素酸化することにより化学発光を示した。過剰のカリウムイオン存在下で酸化すると、発光スペクトルは短波長側に大きくシフトすることが判明した。このことにより、カリウムイオンの存在がその発光スペクトルに変化を与えたことになる。さらに、長鎖アルキルアミノ基を有するフタルヒドラジド誘導体について種々の化学的環境における化学発光について調べた。界面活性剤を含む水溶液中ではアルブミンの存在によって発光強度が変化することが明らかとなったことからタンパク質などの検出への応用の可能性が示された。

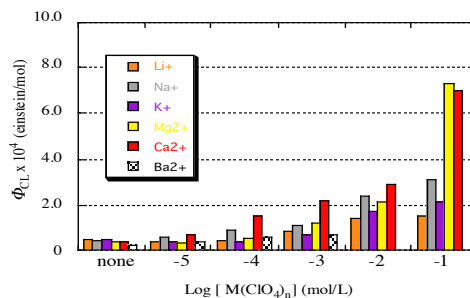
金属イオンのセンシングにおいて、より大きな効果を期待し、アザクラウン置換基を有するベンジリデンアクリダン (下図) について種々の金属イオン存在下での化学発光を調べた。マグネシウム、カルシウムなどの2価の金属イオン



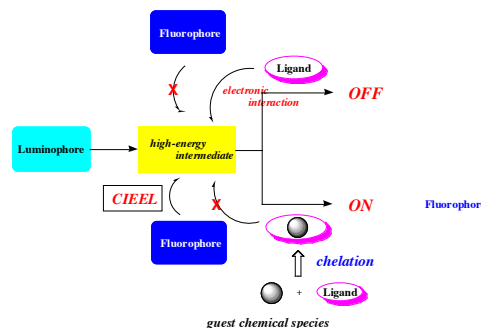
の存在によって化学発光強度が大きく増大することが判明した。これはこれらの金属イオンの存在によって発

光種の蛍光寿命が長くなることに起因することが明らかとなっている。

これまで続けてきた過シュウ酸エステル化学発光のメカニズムの研究において、含窒素化合物などの電子供与物質を添加すると発光が消光されることを明らかにしている。これは、化学発光反応で生じる高エネルギー中間体である環状過酸化物と電子放出能の高い配位子との間の相互作用により、蛍光剤との CIEEL 阻害が起こることによる。一方、配位子に金属イオンなどが配位してその電子放出能が減少すると CIEEL 阻害が解除され、蛍光剤の励起状態が生成し発光が観



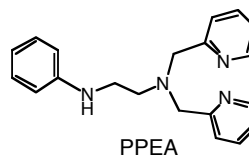
測される。したがって CIEEL スwitching が形成されることになる (下図)。このことを利用して金属イオンや特定の分子のセンシングへ展開することを目指し検討を行った。はじめに、配位子としてアザクラウン部位が結合したアントラセン誘導体を過シュウ酸エステル化学発光系に共存させると、

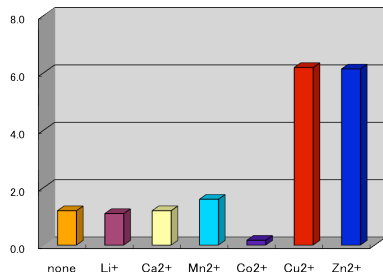


アザクラウン部位に適合する金属イオンの有無により発光を制御できることがわかった。ただし、これは分子内での PET 蛍光消光による switching によるものである。次に、配位子と蛍光剤を別々の分子として共存させた場合について検討したところ、アザクラウンエーテルだけの存在下では発光が消光されるが、特定の金属イオン添加により発光が回復することが観測された。この場合では配位子からの電子移動による分子間 PET 蛍光消光に起因する化学発光消光では

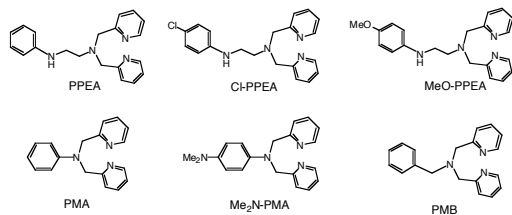
ないことがスペクトル測定により確認されている。したがって、高エネルギー中間体との相互作用による CIEEL switching であることが強く支持される。また、特に新

たに合成した簡単な構造を有する配位子 PPEA (図) は亜鉛イオンおよび銅イオンに選択的に配位し、これらの金属イオンに対する化学発光の switching システムを構築できることが明らかになった。



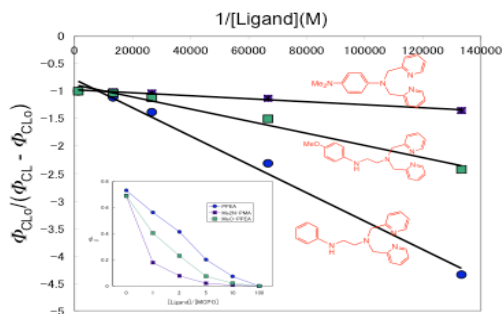


さらに、様々な酸化電位を有する種々の含窒素配位子について化学発光消光能について速度論に基づく下式検討を行ったところ、配位子の酸化電位と消光能に密接な関係があることがわかった(下図)。



$$\frac{\Phi_{\text{CLo}}}{(\Phi_{\text{CL}} - \Phi_{\text{CLo}})} = \frac{a}{b-a} \left(\frac{1}{Kq [\text{Ligand}] + 1} + 1 \right)$$

Φ_{CLo} : Φ_{CL} in the absence of ligands
 a, b : parameters depending on the conditions
 Kq : CL-quenching constant



この図の直線の傾きの対数と配位子の酸化電位はほぼ直線関係にあることも判明し、電子移動に関する Weller rate law にも適合した。これらの関係は、過シュウ酸エステル化学発光において提唱されている CIEEL 機構の最も強力な根拠を与えている。

以上の方法では蛍光剤と配位子の様々な組み合わせが可能であるので対象化学種の適用範囲が広がることが期待される。

以上、本研究においては、化学発光を有機化学的な立場から工夫を加えて機能化し、新境地を切り拓くことを意図した。その結果、副産物として学術的に意義深い反応機構解明にも触れること

ができ、さらにこの分野の魅力を引き出すことができたと考えている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

1. J. Motoyoshiya, T. Maruyama, A CIEEL Switching Controlled by Metal Ion-Ligand Interaction in Peroxyoxalate Chemiluminescence, *Luminescence*, **2010**, 25 181-182. (査読有)
2. J. Motoyoshiya, T. Tanaka, M. Kuroe, Y. Nishii, Toward a Chemiluminescent Molecular Device: Metal Ion-Enhanced Chemiluminescence of Benzylidenacridan with 15-Monoaza-crown-5, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 1014-1018. (査読有)
3. J. Motoyoshiya, T. Tanaka, M. Kuroe, Y. Nishii, Chemiluminescence of 9-benzylidene-10-methyl-acridans with electron-donating groups by chemically generated singlet oxygen. Application to metal ion sensing using azacrowned compound. *Bioluminescence and Chemiluminescence*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. **2009**, 237-240. (査読有)
4. J. Motoyoshiya, M. Hotta, Y. Nishii, and H. Aoyama, Chemiluminescence of 4-styryl-phthalhydrazides with crown ether as ionophore, *Luminescence*, **2008**, 23, 37-41. (査読有)
5. J. Motoyoshiya, Z. Fengqiang, Y. Nishii, H. Aoyama, Fluorescence quenching of versatile fluorescent probes based on strongly electron-donating distyryl-benzenes responsive to aromatic chlorinated and nitro compounds, boronic acid and Ca^{2+} , *Spectrochimica Acta part A*: **2008**, 69, 167-173. (査読有)

[学会発表] (計 9 件)

1. 丸山貴之、保坂英介、大島圭介、金澤亜紀、早川麻耶、西井良典、本吉谷二郎、金属イオンセンシングへの応用に向けた過シュウ酸エステル化学発光における CIEEL スwitching システムの研究、2009 年光化学討論会、2009. 9. 18、桐生

2. 倉本達己、日岡利晃、鯨晴美、西井良典、本吉谷二郎、ベンジリデンアクリダン誘導体の化学発光による一重項酸素および金属イオンセンシングへの応用、2009 年光化学討論会、2009. 9. 16, 桐生
3. 阿部克和、平野勇治、澤田美穂子、西井良典、本吉谷二郎、金属イオンキレート能を有するフタルヒドラジド誘導体の化学発光、2009 年光化学討論会、2009. 9. 17, 桐生
4. J. Motoyoshiya, T. Maruyama, R. Arai, Y. Nishii, CHEMILUMINESCENCE CONTROLLED BY INTERACTION OF LIGANDS AND METAL IONS, 18th International Symposium on the Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds, 2009. 7. 5, Sapporo.
5. 本吉谷二郎、田中俊光、黒江元紀、西井良典、過シュウ酸エステル化学発光の機構と金属イオンセンシングへの応用、2008 光化学討論会、2008, 9, 12, 堺
6. J. Motoyoshiya, T. Tanaka, M. Korue, Y. Nishii, Chemiluminescence of 9-benzylidene-N-methylacridans with electron-donating groups by chemically generated singlet oxygen. Application to metal ion sensing using azacrowned compound, 15th International symposium on Bioluminescence and chemiluminescence, 2008. 5. 14, Shanghai.
7. 山野 弘樹・堀田 正則・西井 良典・本吉谷 二郎、新規フタルヒドラジドの化学発光とその応用、第 37 回複素環化学討論会、2007. 10. 18, 長野
8. 田中俊充・西井良典・本吉谷二郎、アザクラウンエーテル部位を有するベンジリデンアクリダンの金属イオン存在下における化学発光挙動、2007. 10. 18, 長野
9. 大谷 宜之・藤江 泰之・西井良典・青山弘・本吉谷 二郎、金属イオンのキレート効果による過シュウ酸エステル化学発光の制御、2007 光化学討論会、2007. 9. 28, 松本

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本吉谷 二郎 (MOTOYOSHIYA JIRO)
信州大学・繊維学部・教授
研究者番号： 60126711