

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15259

研究課題名（和文）低分子量と熱力学的安定性を両立したNIR-II色素の創製と蛍光プローブへの応用

研究課題名（英文）Development of small thermodynamically stable NIR-II dyes, and their application as fluorescent probes.

研究代表者

谷岡 卓 (Tanioka, Masaru)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・助教

研究者番号：40846359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者は、低分子量かつ熱力学的に安定な近赤外色素の創出を目的に、独自に開発した『架橋キサントン色素』を分子基盤とした色素開発研究をおこなった。本研究を通じて以下の成果を得ることができた。[1]フルオレセイン型架橋キサントン色素（BFL）の、合成法・光物性・機能を解明し、350g/mol以下の小分子NIR-I, II色素を開発に成功した。[2]ロドール型架橋キサントン系色素（BRO）が、無極性環境中でのみ発光する『無極性選択発光』という新現象を示すことを見出し、センサーやセキュリティインクとしての有用性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「大きく・不安定であった」近赤外色素を「小さく・安定」にするための方法論は、新たな近赤外テクノロジーの開拓を可能にする点で材料化学分野に対して学術的意義を有する。また、本研究で見出した「無極性選択発光」現象は、新たな光物理現象として、光化学や理論化学分野の発展に資する。さらに、本研究で創出した色素を用いた水中での近赤外光レドックス触媒反応は、『生体の光レドックス治療』の第一歩と考えられるため、新たな光治療の創出に貢献する点で社会的な意義を有する。

研究成果の概要（英文）： We developed small and thermodynamically stable near-infrared dyes based on "bridged xanthene dyes". Through this study, we succeeded in obtaining two new results, as described below. [1] We have clarified the synthetic method and optical properties of fluorescein-type bridged xanthene dyes (BFLs), and have succeeded in developing small-molecule NIR-I and -II dyes with less than 350 g/mol. [2] We discovered that rhodol-type bridged xanthene dyes (BRO) exhibit a new phenomenon called "non-polar selective emission (NPSE)," in which they emit light only in non-polar environments, and also found their potential as emission sensors and security inks.

研究分野：有機化学

キーワード：近赤外光 キサントン色素 架橋キサントン色素 低分子量 熱力学的安定性 架橋フルオレセイン 架橋ロドール 無極性選択発光

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の近赤外テクノロジーの発展によって利用可能となった、波長 1000 nm ~ 1400 nm の第 2 近赤外光学窓 (NIR-II) 領域は、生体組織による光の吸収や散乱、自家蛍光の影響が非常に少ないため、色素を利用した生体深部の蛍光イメージングに適しており近年注目されている。一方で、NIR-II 領域で光吸収や蛍光を示す NIR-II 色素には、大きく拡張した π 平面に由来する溶解性の低さ、熱力学的安定性の低さ、アニオン/カチオン型の状態の分子が少ないという色素の電荷状態の多様性の低さ、などの問題があった。これらの問題は、NIR 色素を生体応用する上での障害となるため、これらの問題を解決する「分子デザイン」が求められていた。

2. 研究の目的

本研究は、独自に開発した『架橋キサンテン色素』を分子基盤とし、小さな分子サイズと熱力学的安定性を両立した NIR-II 色素をデザイン・創製することを試みた。そして、創出した色素の蛍光プローブとしての有用性を明らかにすることを 2 つ目の目的とし研究に着手した。

3. 研究の方法

これまでの代表者らの研究において、キサンテン系色素を分子内架橋することで近赤外領域まで光物性が長波長化することを見出していた (*JACS* 2018, *ChemComm* 2020, *ChemComm* 2022)。一方で、これまでに開発した架橋キサンテン色素は、比較的大きな π 共役平面やハロゲン置換基を有していた影響で、溶解性、特に水溶性が低かった。そこで本研究では、より単純なキサンテン色素を分子内架橋することで、溶解性 (水溶性) と近赤外光物性の両方を兼ね備えた分子の開発を目指した。3 種類の代表的なキサンテン色素 (フルオレセイン、ロドール、ローダミン) を対象に架橋キサンテン色素を開発し、物性解析を進めた結果、以下の内容において大きな進展が得られた。

[1] 架橋フルオレセインの合成と機能開拓

[2] 架橋ロドールの合成と『無極性選択発光』の発見

4. 研究成果

1) 架橋フルオレセインの合成と機能開拓

1-1) 架橋フルオレセインの合成と光物性解析¹⁾

架橋フルオレセイン (Bridged fluorescein: **BFL**) の研究を始めるにあたって、まず合成条件の検討から取り組んだ。種々の酸や温度条件を検討した結果、180°C の濃硫酸中でフルオレセインを 24 時間反応させることで、目的の **BFL** が得られることがわかった (図 1a)。**BFL** はジクロロメタン (CH_2Cl_2) や酢酸エチル (AcOEt) などの、化合物精製で汎用される低極性溶媒への溶解性は低かったが、ジメチルスルホキシド (DMSO) やジメチルホルムアミド (DMF) などの高極性溶媒への溶解性は高く、特に塩基性水溶液に対して高い溶解性を示した。

続いて、**BFL** の光物性を解析した結果、DMSO 中において、800 nm 付近まで広がるブロードな吸収を示した (図 1b)。解析の結果、このブロードなスペクトルは中性型分子種 (**BFL**) とアニオン型分子種 (**BFL⁻**) の混合物に由来することがわかった。一方で、酸性条件では、水酸基部位 (OH) がプロトン化されたカチオン型分子種 (**BFLH⁺**) が生成していることがわかった (図 1c)。**BFL** の 3 つの分子種の中で、

BFL⁻ は 814 nm に発光極大波長を有する近赤外発光を示した。一方で、 ϕ_{em} は約 3% と低い値であった。

続いて **BFL** の蛍光プローブ化について検討した。**BFL** は中性の水中では **BFL⁻** を形成し近赤外光物性を示すため、ヒドロキシ部分に刺激応答性の基質をつけることで、特定の化学的刺激 (化合物) の存在によって基質が外れ、近赤外蛍光を示す蛍光プローブとなると考えた。そこで **BFL** に、ペンタフルオロベンゼンスルホニルクロリドやジフェニルホスフィン酸クロリドを反

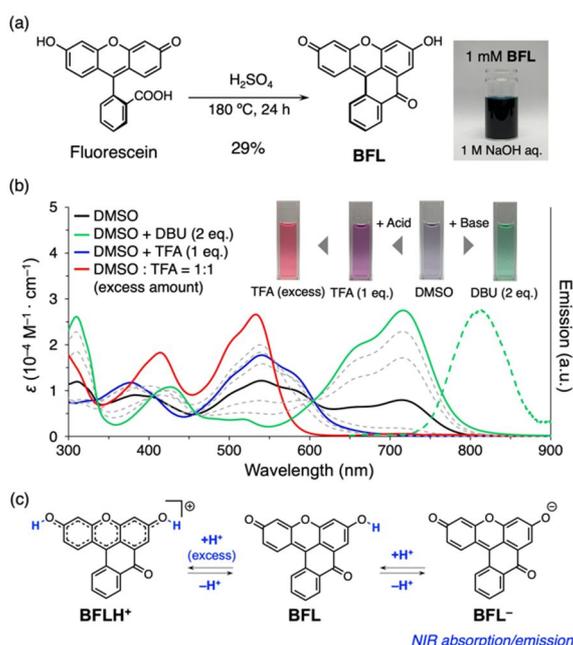


図 1. (a) **BFL** の合成 (b) **BFL** の DMSO 中での吸収・発光スペクトル (c) **BFL** の分子種

応させることで、水酸基部分が修飾された BFL 誘導体を合成した(図2)。これらの誘導体 1 および 2 の置換基質は、過酸化水素とスーパーオキシドアニオンの存在下でそれぞれ容易に脱離させることが可能であり、実際に、1 に過酸化水素を反応させることで、水中で BFL⁻ が生成することを確認した。一方で、前述のように、BFL⁻ は ϕ_{em} が低く、さらに、水中ではさらなる発光の減弱が確認された。そこで、近赤外「発光」が重要な光診断としての蛍光プローブ化の前に、近赤外「吸収」が重要な光治療としての光レドックス触媒化の検討を行うこととした。

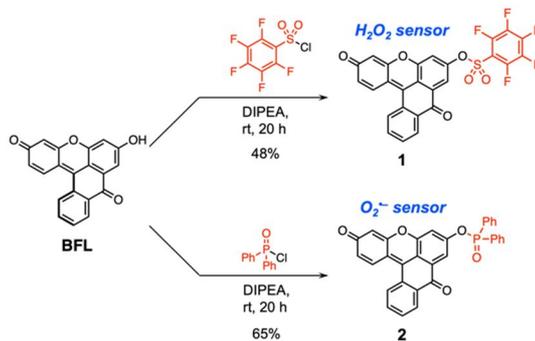


図2. BFL を利用した過酸センサー

1-1) 架橋フルオレセインの近赤外光レドックス触媒への応用¹⁾

光レドックス触媒反応とは、光エネルギーを吸収した触媒分子が試薬を 1 電子酸化または還元する現象を利用した反応である。近年、生体内の電子伝達系を光レドックス触媒反応で制御し、腫瘍組織を死滅させる『生体内光レドックス触媒』の概念が登場し、医学・薬学の分野でも注目を集め始めている。しかし従来用いられている光レドックス触媒は可視光の光を利用するものがほとんどであり、生体応用を志向した近赤外光レドックスの開発は未開拓の領域であるため、水中で利用可能な近赤外光レドックス触媒の開発に着手した。

BFL は酸性色素であり、高極性溶媒中では中性型分子種とアニオン型分子種の平衡状態で存在しているため、触媒が光励起により試薬に 1 電子を与える「酸化的消光サイクル」で進行する反応が適切であると考えた。そこで、アリールジアゾニウム塩とフランのカップリング反応を DMSO 中 631 nm の光源を用いておこなった結果、光励起に伴う触媒から基質への円滑な電子授受が起こり、目的物が 64% の収率で得られた(図 3a)。またこの反応は、730 nm (63%)、および 830 nm (42%) の近赤外光源を利用した場合でも同様に進行した。また、フランの代わりにチオフェン(47%)、*N*-Boc-ピロロール(76%)、ベンゼン(27%)などのアリール類を使用した場合でも問題なく進行することが確認された。

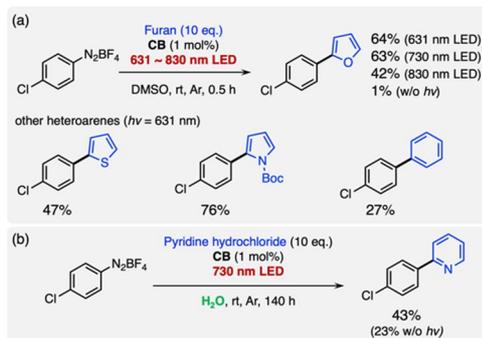


図3. BFL を利用した光レドックス触媒反応

生体内で光レドックス触媒反応を行うためには、水中で利用できることは必須の条件である。前述のように、BFL はアニオン型分子種として水に溶解するため、近赤外光を利用した水溶性光レドックス触媒となるのではないかと考えた。そこで、アリールジアゾニウム塩とピリジン塩酸塩の水中でのカップリング反応の触媒として BFL を用いた(図 3b)、光源として 730 nm の近赤外光を利用した結果、43% の収率で目的の化合物が得られ、照射なしの結果(23%)と比較して、BFL が水中かつ近赤外光で触媒として作用する分子であることが確認できた。

1-2) NIR-II 領域に光物性を有する架橋フルオレセインの開発

フルオレセイン型架橋キサンテン色素の研究開発を進める過程で、NIR-II 領域(またはその周辺波長域)まで光物性を長波長化させる方法として次の 2 つの方法があることがわかった(図 4)。

最初の方法はキサンテン部分の π 骨格の拡張である。例えば、 π 骨格が拡張したフルオレセインに相当するナフトフルオレセインの分子内架橋により合成した架橋ナフトフルオレセイン(3)は、932 nm に吸収極大波長を有し、吸収末端は 1100 nm まで長波長化する。このようにキサンテン部位の π 共役系の拡張は、分子サイズが増大するという欠点があるものの、架橋キサンテン系色素において特に有効であることがわかった。

2 点目は架橋キサンテン色素への置換基修飾である。特にキサンテン部位の 4,5 位への電子供与性の置換基修飾によって吸収末端は大幅に長波長化シフトする。たとえば、4,5 位にヒドロキシ基を有する化合物 4 は中性条件で、1000 nm 付近まで吸収を有する。この原因としては、電子供与性置換基によって色素の HOMO のエネルギー準位が不安定化し、HOMO-LUMO エネルギーギャップが狭まったことに由来すると考えられる。

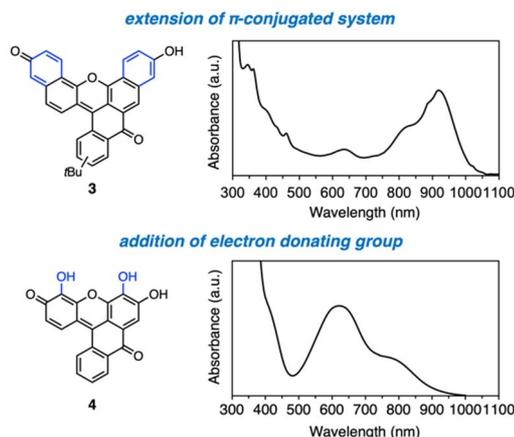


図4. NIR-II 領域に吸収を示す BFL 誘導体

このように発光量子収率には課題が残るものの、フルオレセイン型架橋キサンテン系色素は、NIR-II 領域に光物性を有する「小さな分子サイズの」発光プローブ、また、光治療薬の基本骨格として有望であると考えられる。

2) 架橋ロドールの合成と『無極性選択発光』の発見²⁾

分子周囲の環境を認識して発光の ON/OFF を切り替えることが可能な分子は、細胞内環境や化学ガス、水分などを検出する発光センサーとして注目されている。代表者らは架橋ロドールが無極性環境中でのみ発光する「無極性選択発光」という現象を示すことを見出したので、その詳細について報告する。

まず、既存のロドール分子を濃硫酸中で分子内架橋させることで架橋ロドール (Bridged Rhodol: **BRO**) の合成を試みた。しかし、キサンテン骨格上に置換基のないロドールの場合、反応系が複雑化し、直接環化は困難であることがわかった。そこで、**BFL** のヒドロキシ基をトリフラート化し、Buchwald-Hartwig アミノ化反応により、種々のアリールアミン構造を有した **BRO1-3** を合成した (図 5a)。

続いて合成した **BRO** の有機溶媒中での発光特性を調査した結果、**BRO1, 2** は、トルエンおよびベンゼン中で約 670 nm に極大波長を有する発光を示すことがわかった (図 5b)。一方で、予想に反し、**BRO1, 2** は他の有機溶媒中ではほとんど発光を示さなかった。一方で、**BRO3** では様々な溶媒中で発光が観察された。これらの **BRO** の ϕ_{em} を、溶媒の極性パラメータの 1 つである $E_T(30)$ 値に対してプロットした。その結果、**BRO1, 2** は、トルエンやベンゼンなどの非極性溶媒中でのみ発光を示す、非極性選択発光 (Nonpolar Selective Emission; NPSE) を示すことがわかった (図 5c)。特に **BRO2** において、トルエンとテトラヒドロフラン (THF) 中の発光を比較すると、溶媒極性のわずかな違いにもかかわらず、 ϕ_{em} は 100 倍以上変化することがわかった。

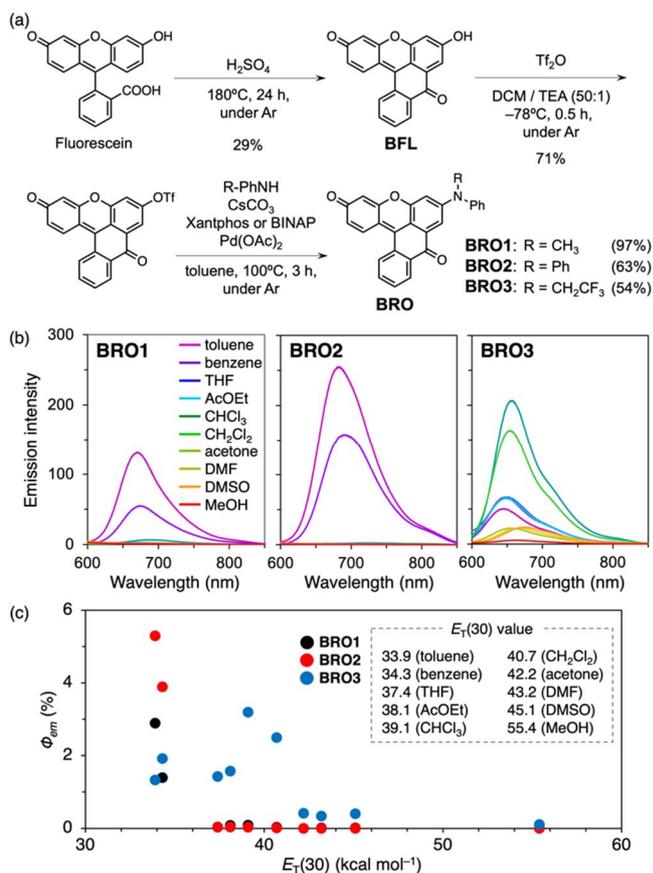


図 5. (a) **BRO** の合成 (b) **BRO** の発光スペクトル (c) 発光量子収率 (ϕ_{em}) と溶媒極性 ($E_T(30)$) の関係性

次に、**BRO** の NPSE 特性の根底にあるメカニズムの解明を試みた。本研究で用いたような *N*-Ph 型のキサンテン系色素は、ねじれ型分子内電荷移動 (Twisted Intramolecular Charge Transfer: TICT) を起こすため、非発光性であることが過去の研究で報告されていた。一方で、**BRO** では、励起状態で分子内電荷移動 (ICT) を起こしていることは確認できるものの、*N*-Ph 部分が S_1 状態で約 90 度ねじれた TICT の特徴的な構造は観察されなかった (図 6a)。

一般に、TICT 過程を含む分子運動は周囲の媒体の剛直性の増加によって抑制されるため、粘性媒体環境では TICT 分子の発光強度が増加する。そこで、**BRO** の ICT 過程の種類を解析するために、低粘性溶媒 (MeOH) と高粘性溶媒 (グリセロール) 中での **BRO** の発光スペクトルを比較した (図 6b)。その結果、NPSE 特性を示さない **BRO3** では、メタノール中と比較して、グリセロール中では発光強度が増加した ($\phi_{em}=0.1\% \rightarrow$

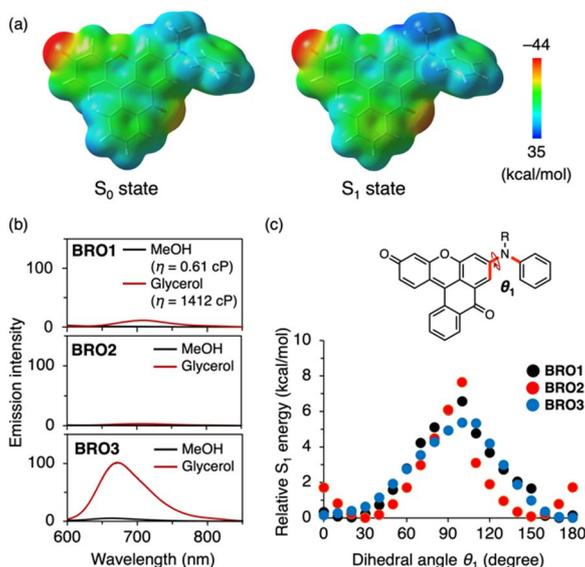


図 6. (a) **BRO1** の S_0 および S_1 状態の ESP マップ (b) **BRO** の発光特性の粘度依存性 (c) **BRO** の S_1 状態におけるねじれ角と相対エネルギーの関係性

1.7%)。一方で、**BRO1** では発光強度の増加は小さく、最も明確な NPSE 特性を示した **BRO2** では、発光強度はほとんど増加しないことがわかった ($\Phi_{em} < 0.1\%$)。この **BRO2** の溶媒粘性に依存しない発光特性は、溶媒の粘度が増加すると発光強度が増加するという一般的な TICT 色素の発光特性と矛盾する。

次に、アミン部位のねじれ過程における各 θ_1 の角度における S_1 状態の **BRO** の最小エネルギーを計算した (図 6c)。TICT 過程は発熱プロセスであるため、 θ_1 が約 90° のときに TICT 色素は最小エネルギーを示す。しかし **BRO** の場合、 θ_1 が $90\sim 100^\circ$ の時に最もエネルギーが高く不安定であることがわかった。以上の結果から、**BRO1,2** の NPSE 特性は、大きな分子のねじれを伴わない平面型 ICT (Planar ICT: PICT) に由来する可能性が考えられる。

最後に、本研究で発見した NPSE 現象を利用した、新たなセンシング技術の開発に取り組んだ。**BRO** の NPSE 特性は媒体の剛性にほとんど依存しないため、色素を添加したポリマーフィルムを使用した、発光性のガスセンサーとしての応用を試みた。**BRO** をポリスチレン (PS) のトルエン溶液に溶解し、ガラス板に塗布することでポリマーフィルムを調製した (図 7a)。予想どおり、調製した PS フィルムを CH_2Cl_2 蒸気に曝露すると、NPSE 特性を持つ **BRO1, 2** を添加した PS フィルムの発光は減衰することがわかった (図 7b)。また減衰した発光は、PS フィルムを乾燥させることで復活した。**BRO1, 2** 添加 PS フィルムの可逆的な発光減衰は、エーテル、ケトン、エステル、ハロゲンなどを含むさまざまな溶媒蒸気に曝露した場合も同様に観察された (図 7c)。これらの結果は、NPSE 色素が turn-off 型の可逆性ガスセンサーとして使用できる可能性を示している。

次に、NPSE 色素を添加したフィルムから、溶媒が揮発することで発光が回復する現象に注目した。すなわち、クエンチャー (溶媒) の揮発性を調整することで、発光開始時間を制御できるのではないかと考えた。図 8 の文字のうち、「C」、「B」、「R」には揮発性の低いクエンチャーとしてシクロヘキサノンが含まれ、「N」、「P」、「S」および「E」には揮発性クエンチャーとして 2-ヘキサノンが含まれている。サンプル調製から 1 日の段階ではほとんど区別がつかないが、4 日後には 2-ヘキサノンの揮発により「NPSE」の文字だけが明示されることがわかった。このように、NPSE 色素を用いれば、時間情報を含んだセキュリティインクを開発できることがわかった。さらに、NPSE セキュリティインクでは、「極性」を持った多様な分子を利用できる点が、従来の分子とは異なる利点であると考えている。

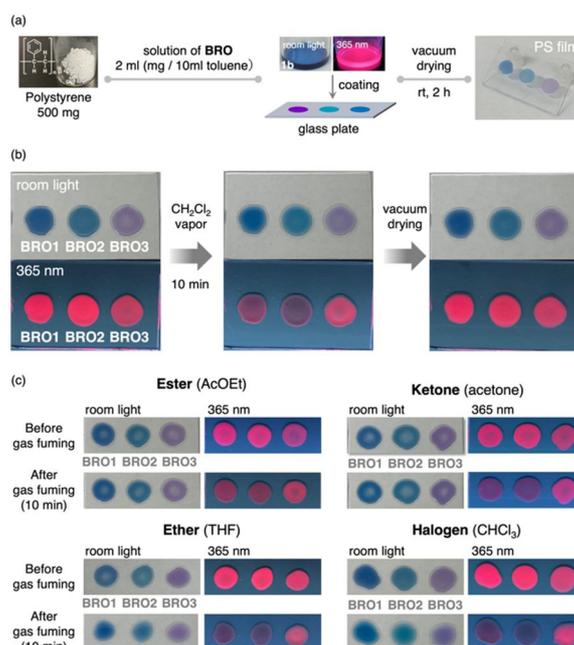


図 7. **BRO** を利用した発光センサーの開発 (a) 調製方法 (b) CH_2Cl_2 蒸気を暴露した際の発光の変化 (c) 様々な溶媒蒸気を暴露した際の発光の変化

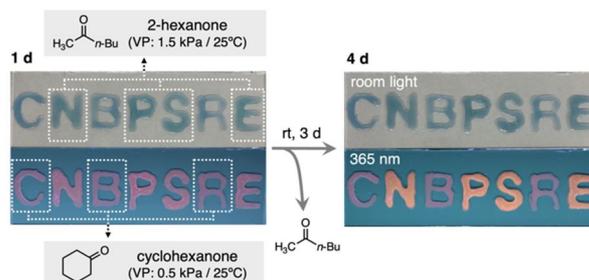


図 8. 時間依存的セキュリティインクの開発

参考文献

- 1) M. Tanioka*, M. Oyama, K. Nakajima, M. Mori, M. Harada, Y. Matsuya*, S. Kamino*, “Coerulein B: a water-soluble and water-compatible near-infrared photoredox catalyst” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2024**, 26, 4474–4479.
- 2) M. Tanioka*, M. Mori, M. Harada, Y. Matsuya*, S. Kamino*, “Nonpolar selective emission (NPSE) of carbonyl-bridged rhodols.” *Chem. Commun.* **2024**, accepted (doi: 10.1039/D4CC01071J).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanioka Masaru, Ebihana Tsugumi, Uraguchi Manaе, Shoji Haruka, Nakamura Yuka, Ueda Rina, Ogura Shota, Wakiya Yoshifumi, Obata Tohru, Ida Takahiro, Horigome Jun, Kamino Shinichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Visualization of the photodegradation of a therapeutic drug by chemometric-assisted fluorescence spectroscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 20714 ~ 20720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2RA03534K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kohyama Aki, Shiuchi Aya, Zhou Yue, Tanioka Masaru, Sugimoto Kenji, Sakurai Hiroaki, Matsuya Yuji	4. 巻 21
2. 論文標題 Controllable conformation and reactivity of bicyclic α -methylene cyclopentanones and their NF-B pathway inhibitory activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 4656 ~ 4660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D30B00357D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Harada Mei, Kutsuna Misa, Kitamura Taichi, Usui Yusuke, Ujiki Masayoshi, Nakamura Yuka, Obata Tohru, Tanioka Masaru, Uchiyama Masanobu, Sawada Daisuke, Kamino Shinichiro	4. 巻 29
2. 論文標題 Nucleophile Triggered Topological Transformation: A New Synthetic Approach to Near Infrared Emissive Rhodamines	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202301969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202301969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanioka Masaru, Oyama Masaya, Nakajima Kaito, Mori Minoru, Harada Mei, Matsuya Yuji, Kamino Shinichiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Coerulein B: a water-soluble and water-compatible near-infrared photoredox catalyst	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 4474 ~ 4479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d3cp05585j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanioka Masaru, Mori Minori, Harada Mei, Matsuya Yuji, Kamino Shinichiro	4. 巻 60
2. 論文標題 Nonpolar selective emission (NPSE) of carbonyl-bridged rhodols	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 accepted
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d4cc01071j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 ○森 みのり, 谷岡 卓, 中村 友香, 小幡 徹, 神野 伸一郎
2. 発表標題 分子内架橋ロドールの合成と近赤外光物性の解析
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ○谷岡卓
2. 発表標題 近赤外光を利活用可能な分子の創出と光触媒への応用
3. 学会等名 令和4年度トメックス第20回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ○谷岡卓, 清水璃音, 中村あすか, 森みのり, 松谷裕二, 神野伸一郎
2. 発表標題 近赤外光物性を示す分子内架橋ロドールの合成と応用
3. 学会等名 2022年度北陸支部 第134回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ○尾山雅弥, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 フルオレセインの分子内架橋を利用した近赤外色素の合成と応用
3. 学会等名 2023年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 ○谷岡卓
2. 発表標題 近赤外光を利用可能な光レドックス触媒の開発
3. 学会等名 Toyama Academic GALA 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 ○谷岡卓, 尾山雅弥, 松谷裕二
2. 発表標題 フルオレセイン型色素の分子内架橋を鍵とする近赤外色素の合成と応用
3. 学会等名 第49回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 ○尾山雅弥, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 架橋フルオレセイン型色素の合成と近赤外光レドックス触媒への展開
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------