

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03355

研究課題名(和文) 機能性蛍光色素の新展開

研究課題名(英文) New strategies for the functional fluorescent dyes

研究代表者

榎 一典 (Tsubaki, Kazunori)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：50303897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：今回、生体を指向した新たな蛍光色素骨格の開発、蛍光色素の精密配置に基づいた円偏光発光(CPL)材料の開発、色素を用いた新たな有機化学の創出の三点に注力し、呈色/蛍光色素研究を基盤とした研究を行った。その結果、細胞中で強く光るV字型の蛍光色素の開発、ピナフトールを基本骨格とし、フェニルアセチレンを多数導入したCPL材料の開発、架橋インジゴを用いた異性化のメカニズムの解明などの成果を上げた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

V字型の蛍光色素においては、導入した置換基が分子のLUMOのレベルに大きな影響を与え、幅広い吸収波長、発光波長をもつ化合物の合成が可能である。また導入した置換基のハメット定数から吸収波長、発光波長が予測可能であった。ピナフトールを基本骨格としたCPL活性分子の研究では、二面角と系拡張の方向について精査し、より活性の高い分子創出の基礎データを得た。架橋インジゴの研究では、シス-トランスの異性化に加え、キラリティーを導入することで高次の応答分子のデザインを可能にした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on three points: (1) development of new fluorescent dyes for living organisms, (2) development of circularly polarized luminescent (CPL) materials based on precise arrangement of fluorescent dyes, and (3) creation of new organic chemistry using dyes. As a result, we developed (1) V-shaped fluorescent dyes that strongly glow in cells, (2) CPL materials based on a binaphthol skeleton with many phenylacetylenes, and (3) elucidated the mechanism of isomerization using chiral cross-linked indigos.

研究分野：有機合成化学

キーワード：蛍光色素 円偏光発光 オリゴナフタレン V字型蛍光色素 インジゴ

1. 研究開始当初の背景

我々は今回の「機能性蛍光色素の新展開」の研究期間において、次に示す三つのサブテーマを中心に研究を行った。これら三つの研究開始当初の背景は以下の通りである。

- (1) **生体を指向した新たな蛍光色素骨格の開発**：生体の窓と称される赤色～近赤外領域に励起・発光波長と高い量子収率を持ち、さらに水系において十分な溶解度を持ち機能を発揮する化合物をいかにすれば開発できるかに関心がもたれていた。
- (2) **蛍光色素の精密配置に基づいた円偏光発光 (CPL) 材料の開発**：物理学的には電気遷移双極子モーメント μ と磁気遷移双極子モーメント m の二つのモーメントで CPL の異方性因子 g は記述されるが、それを化合物の構造に反映できるかに、大きな関心がもたれていた。
- (3) **色素を用いた新たな有機化学の創出**：蛍光色素を有機化学に用いる例としては光レドックス触媒が脚光を浴びている状況であったが、我々は、フェノール類の水酸基の pK_a が励起状態と基底状態では大きく異なる (=光酸現象) ことに気づき、この現象を有機化学の反応開始の引き金として利用できれば、時空間制御型の新たな有機化学が展開できると着想し研究を開始した。

2. 研究の目的

上述の研究背景のもと、我々は (1) 生体を指向した新たな蛍光色素骨格の開発、(2) 蛍光色素の精密配置に基づいた円偏光発光 (CPL) 材料の開発、(3) 色素を用いた新たな有機化学、を三本柱とした研究を通じて、色素研究を基盤とした新たな次元の化学へと昇華することを目的とし研究を推進した。

3. 研究の方法

(1) 生体を指向した新たな蛍光色素骨格の開発：

- ① 蛍光色素であるフルオレセインのキサンテン環の左右にベンゼン環を追加し、さらに水酸基の位置を変化させたジナフトフルオレセインを合成し、その光学特性を精査した。
- ② フルオレセインと同程度の分子量ながら、フルオレセインよりも長波長に吸収・発光波長をもつ蛍光色素として、V字型の蛍光色素を新たに合成し、その光学特性を評価した。

(2) 蛍光色素の精密配置に基づいた円偏光発光 (CPL) 材料の開発：

- ① 研究当初はキラルオリゴナフタレンの 2,3-位の水酸基を足場として用い、ホウ素または白金を介して、その外周に BODIPY やほかの蛍光色素を規則正しく配置した化合物を合成し、高い異方性因子 g を持つ化合物の創出を目指した。次に、② 系をキラルオリゴナフタレンからビナフチル骨格に大きく簡略化し、ビナフチル骨格がなす二面角とビナフチル骨格に導入する新たな π 系が異方性因子 g に与える影響を精査した。

(3) 色素を用いた新たな有機化学：

- ① 光酸性を示すフェノール部位と反応部位を一つの分子内に組み込んだ all-in-one 基質を合成し、光照射で駆動するかどうかの検討を行った。次に② インジゴ骨格の窒素原子を炭素鎖で連結し、面性不斉を持つインジゴを合成し、その光応答性を精査した。

4. 研究成果

(1) 生体を指向した新たな蛍光色素骨格の開発：

- ① 拡張キサンテンおよび拡張フルオレセイン蛍光色素

キサンテン型の蛍光色素 **1** にベンゼン環を加え、 π 系を拡張した化合物 (**2**, **3a-c**) を合成した。これらの化合物は π 系が拡張するにつれて顕著に長波長に吸収・発光波長がシフトした。しかし同時に LUMO が大きく低下し、求核性のある溶媒中では、トリチル位が溶媒分子の攻撃を受け失活する。特に **3a** はクロロホルム中に 0.5% 含まれるメタノールとも速やかに反応し、その半減期は 360 秒程度であった。そこで、上部ベンゼン環部位にメチル基を導入し、立体的に保護したところ、安定性は向上し、**3c** ではメタノール中での退色は認められなかった (Figure 1)。

これらのジベンゾキサンテン型の蛍光色素は、付け加えたベンゼン環の向きによって、発光波長や蛍光量子収率が大きく異なることが、以前の研究から分かっている。すなわち、真横方向に一直

Figure 1a. キサンテン型蛍光色素

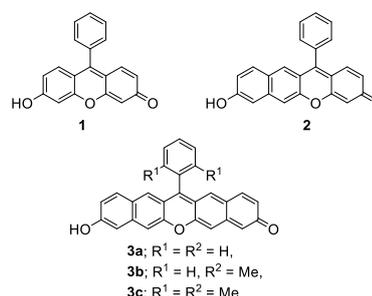
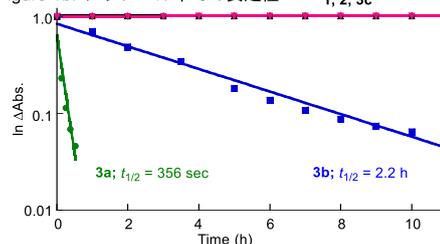


Figure 1b. メタノール中での安定性



Determination of half-life of **1**, **2**, and **3a-c** (1×10^{-4} M) in methanol. For compound **3a**, the decay curve was monitored in CH_2Cl_2 containing 0.5% MeOH as a stabilizer.

線に環が整列した化合物がもっとも長波長側に発光を示し、下側方向にベンゼン環が縮環した化合物は蛍光量子収率が高いことが判っている。そこで長波長発光と、蛍光量子収率の両立を狙いフルオレセイン骨格の左右に、一ユニットのベンゼン環は真横方向に、もう一ユニットのベンゼン環は下側方向に縮環した化合物をデザインした。さらに共鳴構造が成立する位置に水酸基を網羅的に導入し、合計4種類のL字型のジナフトフルオレセイン **4a~d** を合成し、その機能を評価した (Figure 2)。その結果、化合物 **4d** は明確な蛍光を示さなかったが、**4a~4c** は蛍光発光を示し、その波長は水酸基の位置により、大きく変化することが判った。特に、波長の長波長化には R^2 の位置に水酸基を導入するのが有効であることが判った。

② V字型蛍光色素

フルオレセインと同程度の分子量ながら長波長に発光を示す化合物として、フルオレセインのキサンテン骨格に導入されているフェニル基をキサンテン骨格と同一平面になるように環化し、 π 系を広げたV字型蛍光色素を合成し、その機能を評価した (Figure 3)。

その結果、V字型キサンテン色素の吸収・発光波長は導入した置換基 X, Y により大きく変化することが判った (Figure 3a, 3b)。また目視による確認でも溶液の色がオレンジ色から青まで変化した (Figure 3c, 3d)。これらの変化が何に起因するのか DFT 計算を実施したところ、これらの分子のジアニオンの HOMO は下部キサンテン骨格に分布するのに対し、LUMO は分子全体に分布していることが判った。すなわち、X または Y に導入した置換基は、分子の HOMO のレベルには影響を与えず、LUMO のレベルに大きな影響を与えることが判った。通常の蛍光色素では、導入した置換基は HOMO, LUMO 両方のレベルに影響を与え、その変化量の差が吸収・発光波長に反映される。これに対し、V字型の蛍光色素では、置換基は LUMO のレベルに大きな影響を与え、この変化量が HOMO, LUMO のエネルギーギャップにダイレクトに連動するために、大きな置換基の影響が出ることを判った。

X, Y に導入した置換基のハメットの置換基定数と吸収波長、発光波長との相関を調べたところ、これらに明確な相関が認められた (Figure 4)。すなわち、化合物を合成する前に、蛍光色素の吸収波長、発光波長がおおよそ見積もれることを示しており、欲しい波長を有する蛍光色素の合理的なデザインが可能となった。

Figure 2. L字型ジナフトフルオレセインと発光特性

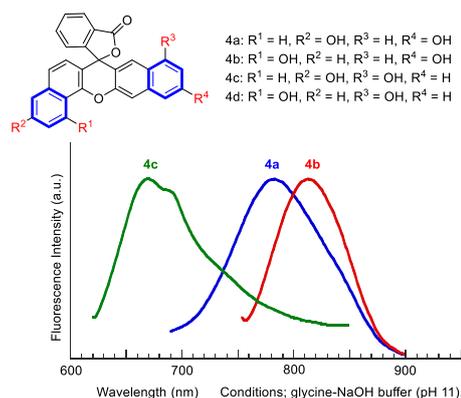
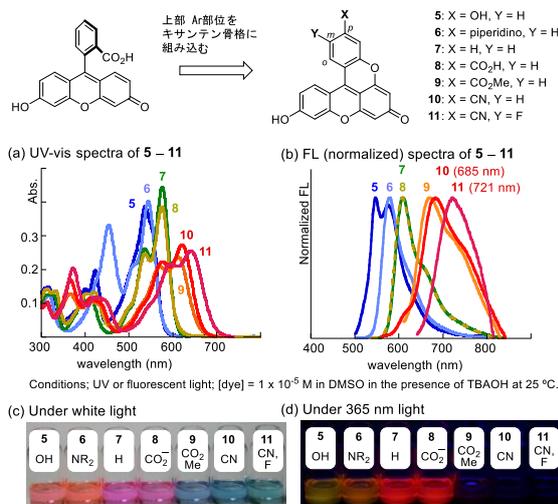
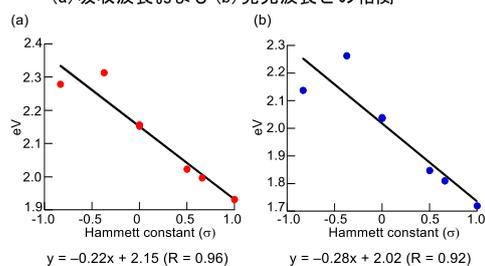


Figure 3. V字型キサンテン色素の構造と、吸収・蛍光スペクトル



Photographs of anionic V-shaped dyes (2.5×10^{-5} M in DMSO at 25 °C) obtained under (c) white light and (d) black light (365 nm).

Figure 4. ハメットの置換基定数と (a) 吸収波長および (b) 発光波長との相関

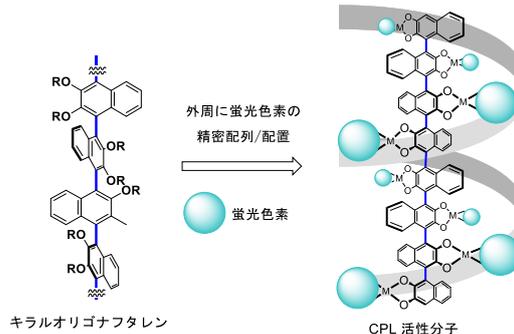


(2) 蛍光色素の精密配置に基づいた円偏光発光 (CPL) 材料の開発：

①キラルオリゴナフタレンに蛍光色素を導入した化合物の合成と機能

我々は、長年 2,3-位に水酸基を有するナフタレンを 1,4-位で連結したオリゴナフタレンの研究を行い、ナフタレン環とナフタレン環を連結する軸性不斉を制御し、らせん階段状の分子の合成に成功している。研究当初はこれらのらせん階段状オリゴナフタレンを骨格として用いて、2,3-位水酸基を足場に蛍光色素を導入するデザインで、高い異方性因子 (g 値) を持つ化合物の創出を目指した (Figure 5)。このアイデアに沿っていくつかの化合物を合成したが、導入した蛍光色素のユニット数と、蛍光スペクトルおよび CPL スペクトルの強度の間に加減性が認められた。このため、(CPL スペクトルの強度)/(蛍光スペクトルの強度) で求められる、 g 値の大きさは積層化したナフタレンのユニット数に影響されず、ほぼ一定となることが明らかとなった。

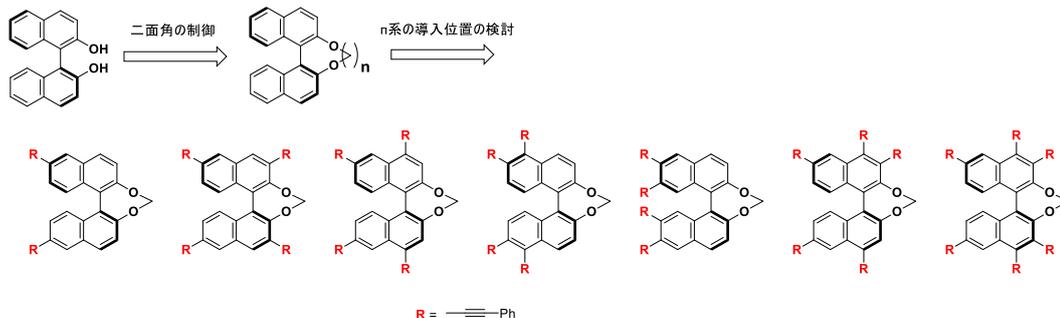
Figure 5. 高オリゴナフタレン骨格を利用した CPL 活性分子の開発



② ビナフチルの二面角と新たに導入した π 系が異方性因子 (g 値) に与える影響

オリゴナフタレンを骨格とした変換を行ったがナフタレンのユニット数と光学特性の間の相関の解析が困難であったため、系を簡略化し、オリゴナフタレンの最小のユニットである、キラルビナフタレンに着目し、ビナフトールの二面角や導入する新たな π 系がどのように異方性因子に影響するのかの精査を行った (Figure 6)。

Figure 6. ビナフチル骨格の二面角の制御と新たな π 系の導入位置の検討



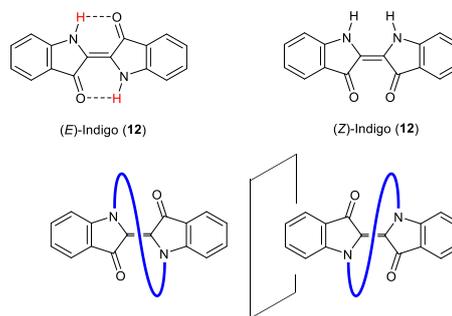
これらの化合物の合成はすでに達成しており、光物性のデータも揃いつつある。例えばフェニルアセチレンを 4 ユニット導入した化合物の間で、導入した位置の違いにより、 π 系の拡張度合いが大きく異なることなど、興味深い知見を得ている。

(3) 色素を用いた新たな有機化学：

励起状態を用いた有機化学を展開すべく、光酸現象に着目した反応開発を行ったが、明確に光酸発生に伴う反応と断定できる事例は見出すことができなかった。しかしながら、励起状態が関与する有機化学の一環としてインジゴを用いた研究を展開した。

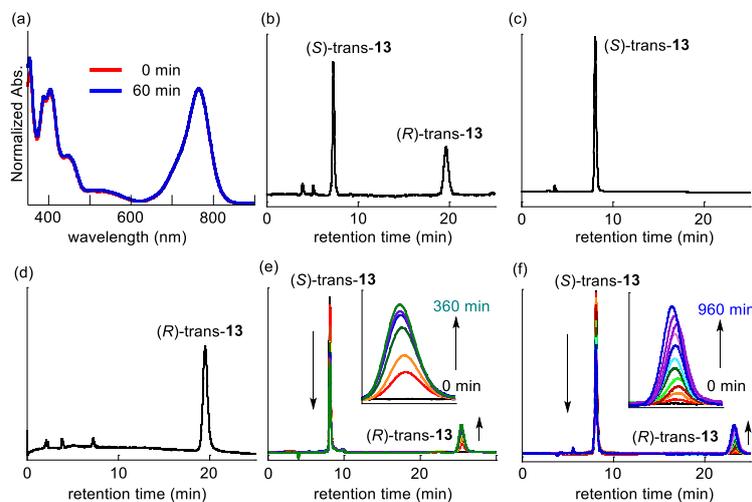
インジゴ (12) は藍色の色素として知られているが通常は強固な分子内水素結合のために E 型の立体配置を取り異性化は困難である。そこでインジゴ骨格内の二つの窒素原子間を適当な長さのアルキル鎖で架橋した化合物を合成した。この変換により、二本の強固な水素結合は無くなり、さらに架橋インジゴは面性不斉を持つようになる (Figure 7)。

Figure 7. インジゴの構造と面性不斉をもつ架橋インジゴ



8炭素で窒素間を架橋した化合物 **13** を用いて光異性化を検討した。一時間の光照射後、UV スペクトルを測定したが、光照射前の UV と全く変化がなく、*trans*-**13** から *cis*-**13** の異性化が起こっていないようであった (Figure 8a)。そこでキラルカラムを用いて、*trans*-**13** を分割した (Figure 8b-d)。ついで(*S*)-*trans*-**13** を用いて光照射下および 50 °C 条件下で反応を追跡したところ、(*S*)-*trans*-**13** から (*R*)-*trans*-**13** への異性化が観測された (Figure 8e, 8f)。

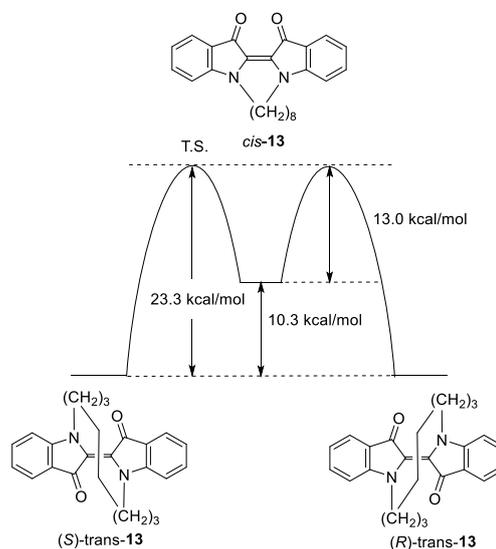
Figure 8. 架橋インジゴ **13** の異性化挙動



(a) UV-Vis spectra of *trans*-**13** before and after irradiation at 670 nm. Conditions: $c = 2.0 \times 10^{-5}$ M; CH_3CN ; light pass length 10 mm; 25 °C; excitation wavelength, 670 nm; bandwidth, 20 nm. (b, c, d) Chromatograms of racemic *trans*-**13**, (*S*)-*trans*-**13** (fraction 1), and (*R*)-*trans*-**13** (fraction 2). (e) Photo-isomerization of (*S*)-*trans*-**13**. Conditions: using a spectrofluorometer (FP-8000; excitation wavelength, 665 nm; bandwidth, 20 nm; *n*-hexane:*iso*-propanol = 1:1; temp. = 25 °C). HPLC (COSMOSIL CHIRAL 5A, *n*-hexane/*iso*-propanol = 50/50, flow rate = 1 mL/min, $\lambda = 254$ nm, tR = 8.1 min ((*S*)-*trans*-**13**), 25.5 min (*R*)-*trans*-**13**). (f) Thermal isomerization of (*S*)-*trans*-**13**. Conditions: *n*-hexane:*iso*-propanol = 1:1; temp. = 50 °C. HPLC (COSMOSIL CHIRAL 5A; *n*-hexane/*iso*-propanol = 1:1, 50/50, flow rate = 1 mL/min, $\lambda = 254$ nm, tR = 8.1 min ((*S*)-*trans*-**13**), 23.4 min ((*R*)-*trans*-**13**).

すなわち、異性化の途中で経由すると思われる *cis*-**13** は HPLC や UV スペクトル上では全く観察されず、あたかも *trans*-**13** から *trans*-**13** へ異性化するような挙動が観察された。この現象がどのようにして起こるのかを異性化実験および計算化学を用いて精査したところ、*trans*-**13** と *cis*-**13** のエネルギー差が 10.3 kcal/mol と大きく、さらに *trans*-**13** からの異性化の障壁が 23.3 kcal/mol と見積もられた。このため *cis*-**13** から *trans*-**13** への異性化の障壁は 13.0 kcal/mol と小さいことが判った。この低い異性化の障壁のため *cis*-**13** から *trans*-**13** への異性化は容易に起こるために、あたかも *trans*-**13** から *trans*-**13** への異性化が起こったように観察されることが判った (Figure 9)。

Figure 9. 架橋インジゴ **13** の異性化のダイアグラム



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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsubaki Kazunori, Katori Akane, Yamagami Akari, Wakabayashi Sae, Kuramochi Kouji, Imayoshi Ayumi	4. 巻 103
2. 論文標題 An Alternative Approach to the Development of Near-Infrared Fluorescent Dyes Based on Fluorescein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 365 ~ 365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-20-S(K)19	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 該当する
1. 著者名 Kaji Daiki, Kitayama Masumi, Hara Nobuyuki, Yoshida Keishiro, Wakabayashi Sae, Shizuma Motohiro, Tsubaki Kazunori, Imai Yoshitane	4. 巻 397
2. 論文標題 Sign control of circularly polarized luminescence by substituent domino effect in binaphthyl-Eu(III) organometallic luminophores	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 112490 ~ 112490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2020.112490	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 Tsubaki Kazunori, Yamashita Hikari, Minari Chihiro, Azuma Eriko, Kuramochi Kouji, Imayoshi Ayumi	4. 巻 101
2. 論文標題 Synthesis and Optical Properties of L-Shaped Dinaphthofluoresceins with Two Peripheral Hydroxy Groups	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 536 ~ 536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-19-S(F)44	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 Yamagami Akari, Kiyotaki Kotaro, Wakabayashi Sae, Egami Naoki, Kawano Kenichi, Futaki Shiroh, Imayoshi Ayumi, Tsubaki Kazunori	4. 巻 87
2. 論文標題 Synthesis and Properties of V-Shaped Xanthene Dyes with Tunable and Predictable Absorption and Emission Wavelengths	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 2336 ~ 2344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.1c02139	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 Kanda Junya, Egami Naoki, Sasamori Takahiro, Imayoshi Ayumi, Hosoya Takashi, Tsubaki Kazunori	4. 巻 86
2. 論文標題 Synthesis of Bridged Indigos and Their Thermoisomerization and Photoisomerization Behaviors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 17620 ~ 17628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.1c01726	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12件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 野田 駿介・藤尾 晋哉・長屋 勇輝・吉田 圭史朗・木元 隆裕・今吉 亜由美・今井 喜胤・椿 一典
2. 発表標題 軸性不斉を有するピアリール類の光学特性の解明
3. 学会等名 第31回基礎有機化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤尾晋哉・野田 駿介・長屋 勇輝・酒井 美里・宮崎 貴俊・木元 隆裕・岡田 啓汰・今吉 亜由美・今井 喜胤・椿 一典
2. 発表標題 ピナフチルの二面角とCPL特性の関連性の研究
3. 学会等名 第31回基礎有機化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazunori Tsubaki
2. 発表標題 Synthesis and evaluation of binaphthol-based functional molecules
3. 学会等名 The 5th International Symposium of Quantum Beam Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋 一典
2. 発表標題 連結ナフタレンを用いた光学活性分子の合成と機能
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤尾 晋哉、長屋 勇輝、木元 隆裕、今吉 亜由美、今井 喜胤、橋 一典
2. 発表標題 CPL 特性と立体構造の関連性の解明
3. 学会等名 第70回 日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 綿野 真実、平田 瞭、今吉 亜由美、橋 一典
2. 発表標題 光酸を鍵とした新規酸触媒反応の開発
3. 学会等名 第49回 複素環化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 若林 沙依、正田 孝明、今吉 亜由美、橋一典
2. 発表標題 ヘテロ原子を基本骨格に有する新奇 CPP誘導体軍の合成と機能評価
3. 学会等名 日本薬学会141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazunori Tsubaki
2. 発表標題 CPL Properties of Dye-connected Oligonaphthalenes
3. 学会等名 International Symposium on Circularly Polarized Luminescence and the Related Phenomena (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masumi Kitayama, Keishiro Yoshida, Ayumi Imayoshi and Kazunori Tsubaki
2. 発表標題 Functionalization of Oligonaphthalenes by Adding Appropriate Component
3. 学会等名 International Symposium on Circularly Polarized Luminescence and the Related Phenomena
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎直樹、鳥居彩芽、山上紅里、今吉亜由美、椿一典
2. 発表標題 新奇なV字型キサンテン色素の合成
3. 学会等名 第13回 有機 電子系シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北山真珠美, 吉田圭史朗, 今吉亜由美, 椿一典
2. 発表標題 オリゴナフタレンを骨格とした2種のらせん状分子の合成と物性評価
3. 学会等名 第45回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 綿野真実, 平田瞭, 今吉亜由美, 椿一典
2. 発表標題 光酸を利用した新規反応の開発
3. 学会等名 第45回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2019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
研究分担者	今吉 亜由美 (Imayoshi Ayumi) (20786462)	京都府立大学・生命環境科学研究科・助教 (24302)	

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
---------	---------