

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(c)

研究期間：2009～2012

課題番号：21550052

研究課題名（和文）配座変化感応型ジオキセタンを用いた化学発光プローブの開発

研究課題名（英文）Development of chemiluminescence probe using dioxetanes responsive to a conformational change

研究代表者

渡辺 信子 (WATANABE NOBUKO)

神奈川大学・理学部化学科・助教

研究者番号：40291744

研究成果の概要（和文）：ピロリジン環と縮環した *N*-置換ジオキセタンでは、芳香環の回転異性あるいは *N*位アシル基の配座異性にもとづく立体異性体の単離が可能であり、その発光が異性体間で異なることが分かった。新たに設計した立体的に込み合ったビスナフトール置換ジオキセタンは、二価の金属アルコキシドでも効率よく発光することが分かった。また、アルキル置換基を変えた一連のベンゾチアゾリル基を有するジオキセタンについてその分解の熱力学的特性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：An aryl-substituted dioxetane fused with *N*-acylpyrrolidine gave four conformational isomers due to rotation of an aryl ring around the bond joining it to a dioxetane ring and/or conformational isomerism of *N*-acyl group. These conformational isomers were found to become possible to be effectively isolated by design of the *N*-acyl group. The thus-isolated conformational isomers showed the unique chemiluminescence, the properties of which were significantly different from each other. A new dioxetane bearing a sterically congested bisnaphthol moiety was found to give chemiluminescence in the presence of a Mg alkoxide. Furthermore, the thermodynamic properties were clarified for chemiluminescent decomposition of benzothiazolyphenol-substituted dioxetanes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1000000	300000	1300000
2010 年度	900000	270000	1170000
2011 年度	900000	270000	1170000
2012 年度	700000	210000	910000
年度			
総計	3500000	1050000	4550000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・有機化学

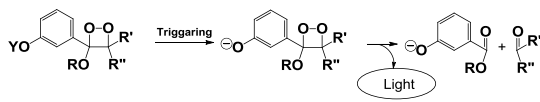
キーワード：有機光化学・化学発光・ジオキセタン・発光プローブ

1. 研究開始当初の背景

1, 2-ジオキセタンは合成化学・構造化学的な視点だけでなく化学発光・生物発光の機構解明という視点から盛んに研究されて来た。

その中で、3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンに代表される CTID (Charge-transfer-induced decomposition, 電荷移動誘発分解) により発光するジオキセタンは、トリガリン

グ（一般に塩基処理）することにより自在に発光させることができることから超高感度生化学分析系への応用という面からもその研究は重要となってきた。CTID 型ジオキセ



タンを利用した発光分析は、光源を必要とせず、すでに実用の域にある酵素イムノアッセイ (EIA) 法を例にすると超高感度分析 (10^{-10} ~ 10^{-20}) が可能である。我々の研究グループは、新しい発光基質である CTID 型ジオキセタンの設計と合成に重点をおいて研究を行なってきており (*Photochem Photobiol. C: Photochem. Rev.* **2004**, *5*, 27, *Bull. Chem. Soc. Jpn, Accounts.* **2005**, *78*, 1899, *Chemical Record*, **2008**, *8*, 213)、安定なジオキセタン骨格である双環性ジオキセタンを設計し、その骨格を利用して様々な特性（発光色調、発光効率、発光分解速度）の発光を示す CTID ジオキセタンを創出してきた。さらにその生化学分析系に必要な水系媒体中でも効率良く発光する CTID 型ジオキセタンの創出等、広範囲に研究を行ってきた。その中で、a) ジオキセタンの分解を誘発するトリガー分子（塩基性化合物）により同一のジオキセタンで発光に違いがあること、b) ジオキセタンの発光色調と発光種である分解後のアリールカルボニル化合物の同一条件下での蛍光色調とが一致しない現象が数多く確認されたこと、さらには c) テトラヒドロピロール環と縮環したアミノ置換ジオキセタンにおいて、同一のアリールカルボニル化合物に分解する立体異性体間でその発光に著しい違いがあることを発見した。これらの現象は、CTID 型ジオキセタンの分解ではジオキセタンの立体配座の履歴を留めた励起分子が生成し、その励起分子から発光している可能性を示している。そこで CTID 型ジオキセタンの新たな可能性として、トリガー分子に応じた相互作用により立体配座を変化させ特徴ある発光を示す「配座感応型ジオキセタンを用いた新たな化学発光プローブの開発」の研究を行うことにした。

2. 研究の目的

本研究ではジオキセタンの立体構造と発光特性の相関の基礎検討を基に、ジオキセタンの配座変化がもたらす特異な発光を利用した 3 種の新奇化学発光プローブの開発を目指し、その目的に合致するジオキセタンの設計と合成、その発光を調べた。ジオキセタンにキラル認識部位を導入し、アミノ酸等生体関連物質との相互作用による発光増強を利用した「分子認識プローブの開発」、金属イオンとの配位能を発光種となるフルオロ

フォア部分に組み込むことによる「金属イオンプローブの開発」、さらに単なる熱分解でエントロピー制御型の高効率発光を示すジオキセタンを利用した「溶媒極性評価プローブの開発」である。

3. 研究の方法

(1) 分子認識プローブの開発：ピロリジン環と縮環した *N* 置換ジオキセタンで検討を行なった。*N* 置換ジオキセタンでは芳香環のみならず *N* 置換基の変換が可能であり、3-ヒドロキシフェニル置換体でまず *N* 置換基の変換を行い、置換基の熱安定性および発光特性におよぼす影響を調べた。また 1,6-置換様式のナフチル置換体で単離に成功した芳香環の回転異性体 *syn* 体および *anti* 体の発光効率の相異が、他の芳香環でも共通に観測されるかを確認するため種々の骨格について検討した。

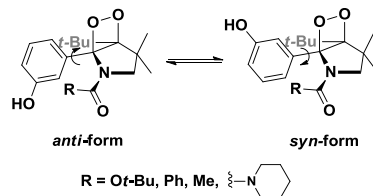
(2) 金属イオンプローブの開発：2つのナフチル環およびナフタレン環とジオキセタン環の2つの軸回りのねじれがより期待できる7位にジオキセタン環を導入した新たな2,2'-ビスナフトール骨格での展開を図った。

(3) 溶媒極性評価プローブの開発：ベンゾチアゾリル基を4位に有する3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン化合物がこの目的に合致しており、この骨格の発光について詳細に検討した。ベンゾチアゾリル基と同じベンゾアゾリル基であるベンゾイミダゾリル置換体についても検討した。

4. 研究成果

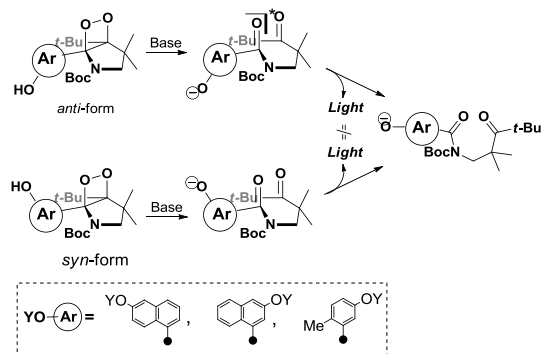
(1) 分子認識プローブの開発

ピロリジン環と縮環した *N* 置換ジオキセタンの熱安定性および発光特性について詳細に調べた (*J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5920)。3-ヒドロキシフェニル置換体は、芳香環の回転異性に基づく2相性の分解を示すこと、導入した *N* 位アシル基により最大発光波長が 564nm ~ 600nm と変化し、さらに *N* ベンズイル体では他の置換体と比較し、主に一重項励起効率の低下により著しく発光効率が低下することが分かった。



また、3種の *N* 置換ジオキセタンについて芳香環の回転異性体 *syn* 体および *anti* 体をそれぞれ単離に成功し、その発光について発光種となるヒドロキシアリールイミド体の蛍光とともに詳細に調べた (*J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5006)。 *syn* 体と *anti* 体では同一

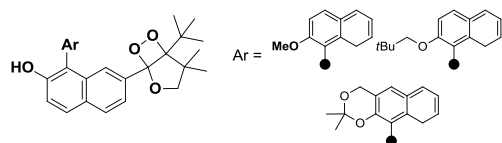
の分解物となるヒドロキシアリールイミド体を与えるにもかかわらず、発光最大波長、分解速度に違いが観測され、特に *anti* 体が *syn* 体の 8~19 倍も高い発光効率を示し、ジ



オキセタンの立体化学が発光に著しく影響することを明らかとした。さらに、*N* 置換ジオキセタンでは、*N* 位アシル基の配座により発光系での挙動に大きな違いがあることを見出した (*Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 5309)。 *anti-N*-acyl 体では TBAF 系に対し *t*-BuOK 系では最大発光波長が通常の短波長シフトするのに対し、 *syn-N*-acyl では大きく長波長シフトし、カリウムイオンがアシル基カルボニルとジオキセタン酸素とに配位することにより発光種イミドの立体を制御していることが示唆された。

2) 金属イオンプローブの開発

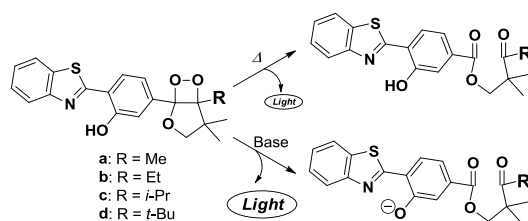
7 位にジオキセタン環を有する立体的に込みあった新たなビスナフトール骨格のジオキセタンについて検討した (*Luminescence*, **2013**, in press)。この一連のジオキセタンではアルカリ金属アルコキッド系に比較しマグネシウムアルコキッド系でより効率のよい発光を示した。この結果はアルカリ土類金属アルコキッド系で効率良く発光するジオキセタンを見出した最初の例である。また、



光学活性体の合成も行い光学活性クラウンエーテルを用いた配位場系での発光を調べたところ、より小さな光学活性クラウンエーテルの配位場を認識することが分かった。

(3) 溶媒極性評価プローブの開発

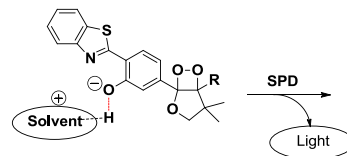
4-ベンゾチアゾリル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンのジオキセタン環アルキル置換基である *t*-Bu 基を他のアルキル基 (Me, Et, *i*-Pr) に変換したジオキセタンを合成し、その塩基誘発分解 (CTID) および熱分解 (TD) での発光および分解の熱力学的特性に及ぼす置換基の影響を詳細に調べた (*J. Org. Chem.*, **2010**,



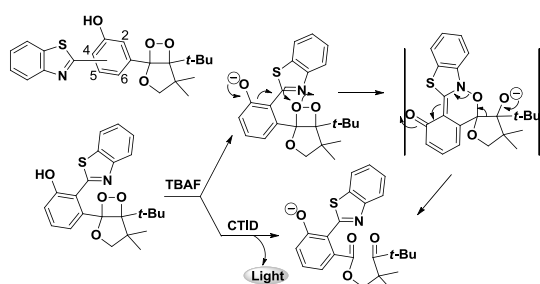
75, 3678)。CTID および TD 共に活性化自由エネルギーは、アルキル置換基が高くなるにつれて増加し、Taft's の DSP を用いた分析では両者とも極性因子および立体因子の影響を受けるものの CTID のほうがより極性因子に影響されることが明らかとなった。一方、活性化エントロピーは両者で大きく異なり、TD ではアルキル置換の変化との相関が見られないのに対し、CTID ではアルキル基が小さくなるにつれ活性化エンタルピーが 0 から大きな負の値へと変化し、芳香族電子供与体が特定の配座をとる時に CTID が進行し易くなることが明らかとなった。CTID と TD はその発光効率および分解速度に極めて大きな違いがあることから、両者の動力学的および熱力学的特性をこれまで同じ土俵で比較検討する研究はなかった。この研究により CTID と TD の反応は熱力学的に類似性が高く、CTID ではジオキセタン環に結合している芳香族性電子供与体の立体化学に影響されることが分かった。

アルキル置換基を変化させた一連のベンゾチアゾール置換ジオキセタンについて、本研究の目的である「溶媒極性評価プローブの開発」の根幹となる溶媒促進分解 (SPD) について詳細に調べた (*J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 902)。ベンゾチアゾール置換ジオキセタンは NMP、DMF、DMPU および PPC の様な非プロトン性極性溶媒中、60~100° で加熱することにより塩基誘発分解 (BID) と同等の極めて高い効率で発光した。ベンゾチアゾール置換ジオキセタンのヒドロキシ基は、NMP のような強いプロトンアクセプターである非プロトン性極性溶媒と水素結合することにより活性化され、CTID 経路での発光分解が進行すること、さらに SPD の活性化エントロピーは置換基 R に関係なく大きな負の値を示すことから、溶媒分子と水素結合したジオキセタンのオキシドアリール基の立体配座が極めて規制されたときに SPD が進行することを明らかとした。この

結果より、このジオキセタンは極性溶媒中での発光分解速度を測ることで、その溶媒のプロトンアクセプター能を測るプローブとなり得ることを提示した。

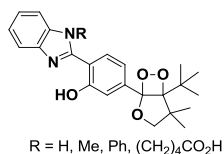


さらにベンゾチアゾリル基の効果を調べるため、その置換様式を変えた新たなジオキセタンを合成し、その発光を調べた。その結果これらのジオキセタンが芳香族電子供与性置換基の構造的要因に依存した特徴ある化学発光を示すことを明らかとした(*J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 4725)。4 位置換体と異なりベンゾチアゾリル基が直接ヒドロキシ基との π -共役系に入っていない 6 位および 5 位置換体では 40nm 長波長側の発光最大波長を示し、その発光効率は 4 位置換体の 1/6 および 1/25 を示したのに対し、4 位と類似の π -共役系を持つ 2 位置換体では発光色調はほぼ同じであるが、発光効率が 1/78 と極めて低下することが分かった。2 位置換体では CTID と並行して今まで報告例のない新たな異常分解の進行を明らかとし、発光効率の優



れたジオキセタン設計のための新たな1つの指針を提示した。

4-ベンゾイミダゾリル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンは、*N*位置換基によって特徴ある発光を示した(*Heterocycles*, **2013**, *87*, 65)。*N*-Me および *N*-Ph 体では、水系でも非プロトン性極性溶媒系の 1/10 程度の効率の良い発光を示したのに対し、*N*-H 体では非プロトン性極性溶媒中で発光の効率が逆に低下し、非プロトン性極性溶媒中ではジアニオンに基づく発光であることが分かった。*N*位へのアルキル鎖の導入では発光効率に影響がなく、末端官能基化したアルキル鎖の導入により他の分子へのジオキセタン導入が可能な骨格であることを提示した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① N. Watanabe, K. Matsumoto, T. Tanaka, H. Suzuki, H. K. Ijuin, M. Matsumoto, *N*-Acygroup-directed color modulation in the *t*-BuOK-mediated chemiluminescent decomposition of hydroxyaryl-substituted dioxetanes fused with a pyrrolidine ring *Tetrahedron Letters*, **2012**, *53* 5309-5313 DOI:10.1016/j.tetlet.2012.07.086, 査読有

② M. Matsumoto, H. Suzuki, N. Watanabe, H. K. Ijuin, J. Tanaka, C. Tanaka Crucial dependence of chemiluminescence efficiency on the syn/anti conformation for intramolecular charge-transfer-induced decomposition of bicyclic dioxetanes bearing an oxidoaryl group *The Journal of Organic Chemistry*, **2011**, *76*, 5006-5017, DOI:10.1021/jo2006945, 査読有

③ M. Tanimura, N. Watanabe, H. K. Ijuin, M. Matsumoto Intramolecular charge-transfer-induced decomposition promoted by an aprotic polar solvent for bicyclic dioxetanes bearing 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety *The Journal of Organic Chemistry*, **2011**, *76*, 902-908., DOI:10.1021/jo1021822, 査読有

[学会発表] (計 33 件)

① 谷村昌俊、渡辺信子、伊集院久子、松本正勝 「(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニルで置換された双環性ジオキセタンの発光分解」

2010年 光化学討論会 2010年9月8日～10日、千葉大学西千葉キャンパス

② 渡辺信子、川島英久、長谷川智司、松本正勝 「立体的に込み合ったビナフチル置換ジオキセタンの合成と発光」

日本化学会第90春季年会 2010年3月26日～29日 近畿大学本部キャンパス

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 信子 (WATANABE NOBUKO)
神奈川大学・理学部化学科・助教
研究者番号：40291744

(2) 研究分担者

松本 正勝 (MATSUMOTO MASAKATSU)
神奈川大学・理学部・教授
研究者番号：10260986