

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410056

研究課題名(和文) 高効率トポケミルミネセンスの開発を目指した固相トリガリングシステムの構築

研究課題名(英文) Development of new triggering system in solid state for unprecedented topochemiluminescence with high efficiency

研究代表者

渡辺 信子 (WATANABE, Nobuko)

神奈川大学・理学部・助教

研究者番号：40291744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンは固相状態で加熱することで、CTID(Charge-transfer-induced decomposition)型の発光を示すことがわかった。X線構造解析の結果から、その発光はフェノール性ヒドロキシル基とジオキセタン環酸素との分子間水素結合によって誘発されたものであり、4-ベンゾアゾリル-3-ヒドロキシ置換ジオキセタンの分子内水素結合と共に、固相でのCTID型発光に有効であることが分かった。また、4-(N-フェニルベンジイミダゾール)置換体の固相光分解の分解物は、標品分解物と異なる固体蛍光を示すことが分かった。

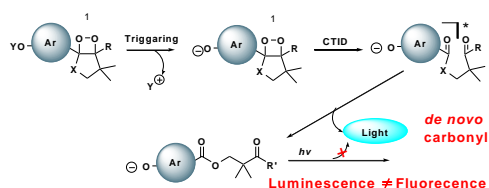
研究成果の概要(英文)：A 3-hydroxyphenyl-substituted dioxetane fused with a tetrahydrofuran ring thermally decomposes (TD) in apolar solution to give a 3-oxopropyl 3-hydroxybenzoate with the emission [$L_{max} = 405 \text{ nm}$] due to excited ketone moiety. The dioxetane gave also the keto ester by TD in crystal (TDcryst), though the light emitted was due to excited oxidobenzoate [$L_{max} = 464 \text{ nm}$] formed by CTID (CT-induced decomposition) mechanism. The unique chemiluminescent TDcryst of the dioxetane was presumably the result of hydrogen bonding (HB) formed in the crystal between a phenolic proton of a dioxetane molecule and a peroxide oxygen of another dioxetane. On the other hand, a 4-benzazolyl-3-hydroxyphenyl substituted dioxetanes underwent TDcryst to effectively give light. Furthermore, photolysis of a crystalline dioxetane bearing a 4-benzimidazolyl-3-hydroxyphenyl group at -78°C gave the corresponding keto ester, the stereochemistry of which was apparently different from that of authentic one.

研究分野：有機光化学

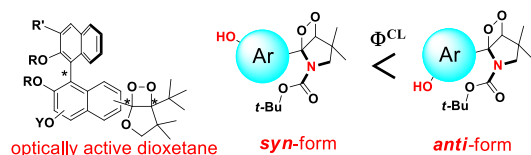
キーワード：化学固体発光 ジオキセタン型発光基質 トポロジー

1. 研究開始当初の背景

フェノール性ヒドロキシ基に代表される CTID (Charge-transfer-induced decomposition) 型ジオキセタンは、非プロトン性極性溶媒中塩基処理することにより、極めて効率のよい発光を示し、化学発光および生物発光機構の解明のみならず超高感度生化学・医療分析への応用の視点からも盛んに研究されてきた。われわれはこの CTID 型ジオキセタンに関する研究の過程で、ジオキセタンからの発光が、その立体化学の履歴を反映した *de novo* (生まれたての) カルボニルによるものであることを強く示唆する研究結果を種々見出してきた。一つは、ジオキセタンの発光スペクトルと、その発光種とされるカルボニル化合物標品の蛍光スペクトルが乖離する現象である。



また、光学活性ジオキセタンでの光学活性反応場を認識した発光、また、*N*-置換ジオキセタンの *syn*-体と *anti*-体間で観測される発光量子収率の違いに代表されるような、立体異性体間での発光の違いである。



そこで、ジオキセタンを結晶中で分解し、*de novo* カルボニルの補足を目指すことにした。われわれが検討している双環性ジオキセタンは、その分解で生じる2つのカルボニル種が分離せず、単分子が単分子に分解する。この分解物は溶液中では安定配座の混合物となるが、ジオキセタンを固体のまま分解すれば、溶液からの結晶化では決して得られない構造のカルボニル化合物、*de novo* カルボニルが得られると考えた。

すでに、ジオキセタンが結晶状態を保ったまま、トリガーである固体アミンの共存下で、塩基誘発発光分解を起こすことを見出し、初歩的知見として報告した (Matsumoto, Watanabe, et al., *Heterocycles*, 2008, 75, 1725)。その他、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が、中性極性溶媒中での単なる熱分解でも効率良く発光するという新たな発光系 SPD (solvent-promoted decomposition) を見出していた (Tanimura, Watanabe, et al., *J. Org. Chem.*, 2011, 76, 902)。

2. 研究の目的

本研究は、CTID 型ジオキセタンの立体化学が発光にどう反映するかを直接明らかと

するため、ジオキセタンとトリガー (その分解を誘発する化学種) との固体状態での発光システムを構築し、先例のない固相 CTID 型発光を開拓しようとするを目的とした。固体状態では、均一溶液系とは異なり、ジオキセタンとトリガーをあたかも凍結した状態において、発光分解過程を観ることができる。このような研究により、今までほとんど検討されていない‘発光前駆体やエミッターの立体化学’という視点から、ホタルに代表される生物発光の化学励起過程や色調変調のメカニズムの解明に対し、寄与することを目的とした。

3. 研究の方法

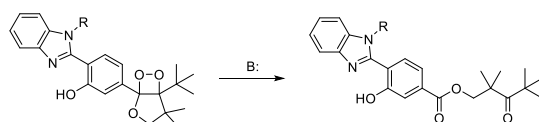
本申請研究は、次の3項目に関してフィードバックをかけながら検討した。

- 1) ジオキセタンの選定**：立体異性体が存在しかつその発光特性が異なるジオキセタン、あるいは SPD 発光を示すジオキセタンでまず固相発光の検討を行い、その結果をもとに新たなジオキセタン設計を行う。ジオキセタンの固相での熱分解に関する基礎検討 (熱安定性、分解様式) を行う。
- 2) トリガー試薬の選定による固相トリガリングシステムの構築**：固体アミン、アミドあるいはウレア等水素結合能を有する中性分子、金属アルコキシドのトリガー能について、単なる混合物さらには混晶での基礎検討を行い、固体トリガリング系を構築しその特性を明らかとする。
- 3) ジオキセタンの立体化学と発光との関係の解明**：X線構造解析が可能な固相トリガリング系 (ジオキセタンとトリガー分子の混晶) を 1) および 2) の検討により選出し、ジオキセタンの立体化学と発光の関係を立てて立体化学が固定された状態で検討する。

4. 研究成果

1) 4-ベンゾアゾリル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン

分子内水素結合を有する 4-ベンゾアゾリル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン類は、非プロトン性極性溶媒中、中性条件下での単なる熱分解で効率の良い発光を示す。これまで重点的に研究を行ってきたベンゾチアゾリル体に加え、ベンゾイミダゾリル体について、まず、基本となる溶液中での発光特性について検討を行った。ベンゾイミダゾリル体では1位窒素への置換基導入が可能であることから、R=H, Me, Ph, (CH₂)₄CO₂H の4種のジオキセタンについて有機溶媒系 (TBAF/ CH₃CN) と水系 (NaOH/H₂O) で



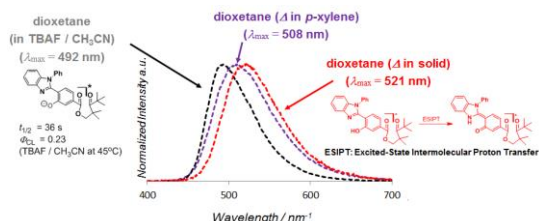
R = H, Me, Ph, (CH₂)₄CO₂H

の発光について調べた。その結果、N 位置換基により発光色調が異なること、R=H 体以外の3種のジオキセタン有機溶媒系では $\Phi^{CL} = 0.2$ 程度、水系でも $\Phi^{CL} = 0.09 \sim 0.02$ と、効率の良い発光を示すことがわかった。一方、R=H 体の有機溶媒系ではトリガーヒドロキシ基さらにベンゾイミダゾリル環 N 位でのアニオン生成によるジアニオンに基づく発光が進行することがわかった。

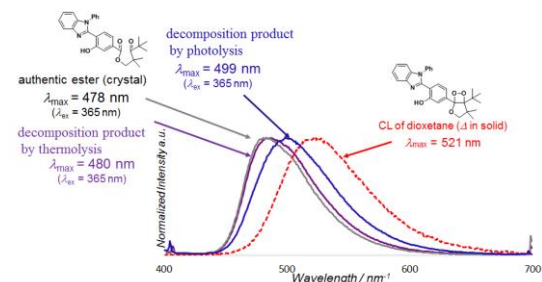
R = (CH₂)₄CO₂H 体で効率のよい発光を示したことから、側鎖末端に HOSu エステルを導入したジオキセタンを合成し、それを他分子に導入することを検討した。このジオキセタンを無機材料表面に共有結合を介して導入すれば、新たな固体発光場の構築が可能となる。加えてジオキセタンをアミノ酸あるいはタンパク等へ導入することで、生体内微量成分の検出等応用面での別の展開へ繋がる。

まず、側鎖の長さによる発光への影響を調べるため R = (CH₂)_nCO₂H の n の数を変えたジオキセタンを合成し、その発光を調べた。有機溶媒系 (TBAF/CH₃CN) と水系 (NaOH/H₂O) で検討したところ、有機溶媒系において発光分解速度が側鎖の伸長とともに長くなること、水系において n=9,14 の発光効率が他の短い場合より2倍程度良いことがわかった。そこで側鎖末端 HOSu エステルを導入した2種 (n=4,14) のジオキセタンを合成し、単純なアミン、アミノ酸、アルブミンおよびアミノプロピル基が修飾されたシリカ上への導入を検討した。いずれの反応も、室温、短時間で進行することがわかり、アルブミンへの導入については MALDY-TOF MS によって確認した。

さらに R=H, Me および Ph 体について固体での熱分解による発光特性、そして熱分解および光分解 (-70°C) での分解生成物を調べた。その結果、他のベンゾチアゾール体およびベンゾオキサゾール体に比較して、Norrish I 型の副反応の進行が少ないことがわかった。またジオキセタンを固体のまま分解した各分解物の固体蛍光を測定したところ、R=Ph 体では単離精製した標品分解物の蛍光スペクトルが熱分解での蛍光スペクトルと一致する一方、光分解で得られた固体では異なるスペクトルが得られた。有機溶媒系の塩基誘発分解 (TBAF/CH₃CN) では $\lambda_{max} = 492$ nm の発光が観測されたのに対し、非極性溶媒の p-キ

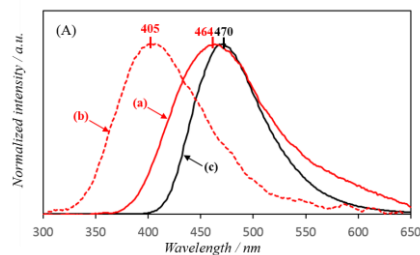
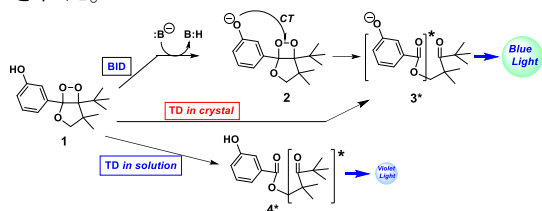


シレン中での熱分解では $\lambda_{max} = 508$ nm とより長波長側の発光が確認され、さらにジオキセタンの固体熱分解による発光は、 $\lambda_{max} = 521$ nm と熱分解では ESIPT が進行したケト型の励起種からの発光することがわかった。発光に対し分解物の固体での蛍光を測定したところ、標品および熱分解の分解物では $\lambda_{max} = 478$ nm であるのに対し、光分解物では $\lambda_{max} = 499$ nm と異なり、まだ予備的な結果ではあるが、標品分解物とは異なる立体構造を有した分解物の得られた可能性が高い。また、発光と蛍光スペクトル自体が乖離しており、標品エステル体では ESIPT 発光が起こっていないと考えられた。



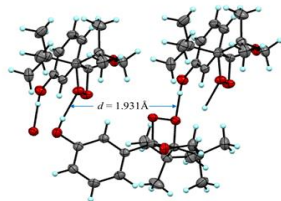
2) 3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンの分子間水素結合を利用した固相発光

基本となる 3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンが、結晶状態で加熱することにより CTID 型の発光を示すことを見出した (T.L., 2016)。このジオキセタンは TBAF/acetonitrile 系ではオキシド安息香酸エステルが発光種となる $\lambda_{max} = 470$ nm の発光を示すのに対し、p-キシレン中 110°C で加熱すると $\lambda_{max} = 405$ nm のジオキセタン環の分解で生じるアルキルケトン側の発光を示す。この非極性溶液中の熱分解での発光に対し、ジオキセタンの結晶をそのまま 100°C で加熱したところ $\lambda_{max} = 464$ nm の発光スペクトルを示し、固体での熱分解では非極性溶媒中での熱分解と異なり、CTID 型の分解が進行することが新たに見出された。

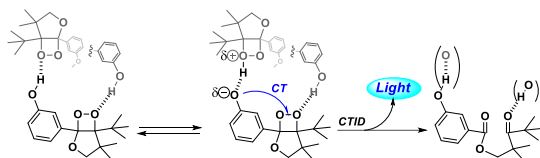


Chemiluminescence spectra of dioxetane (a) for TD_{cryst}, (b) for TD_{soln} in p-xylene and (c) for BID in TBAF/CH₃CN

単結晶 X 線構造解析の結果より、トリガーヒドロキシ基と他のジオキセタン環酸素 (2,6,7-トリオキサビシ



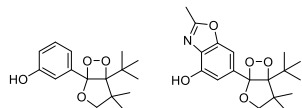
クロ [3.2.0] ヘプタン骨格の 6 位酸素) とが分子間水素結合しており、その水素結合によりオキソドアリアル種 (oxidoaril) の生成と、ジオキセタン環の不安定化を引き起こし CTID 型の分解が進行することが分かった。これは 4-ベンゾアゾ



リル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン類の分子内水素結合によるオキソドアリアル種の生成に加えて、分子間水素結合が CTID 型の発光に有効であることを新たに示す結果となった。

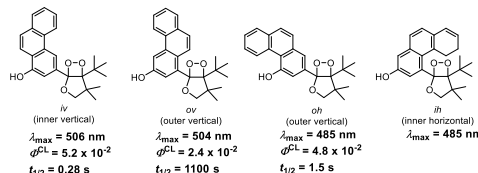
3) 3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン類の水系中での発光量子収率低下の原因解明

ジオキセタンの発光は、一重項励起分子の生成効率と発光種の蛍光量子収率の積として示され、発光種の蛍光量子収率を測定することで一重項励起分子の生成効率を見積もることができる。CTID 型ジオキセタンの基礎検討として水系での発光効率の低下について調べ、水系での発光効率の低下が、一重項励起分子の生成効率と発光種の蛍光量子収率の両者の低下が原因であることを見出した (T.L., 2014)。3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンは、非プロトン性極性溶媒中では効率良く発光するが、水系溶媒中 (NaOH/H₂O) では発光効率が著しく低下する。これまで AMPPD に代表されるアダマンチル置換ジオキセタンでは、発光種である安息香酸メチルエステルが NaOH/H₂O 系で蛍光量子収率の高い安息香酸に容易に加水分解されるため、エステルの蛍光量子収率を測定することができなかった。われわれは 3-ヒドロキシフェニルおよび 4-ヒドロキシ-2-メチルベンゾオキサゾール-6-イル置換双環性ジオキセタンとその発光種で検討することにより、それぞれの NaOH/H₂O 系での一重項励起効率が 6.1×10^{-3} および 1.9×10^{-2} であることを示した。



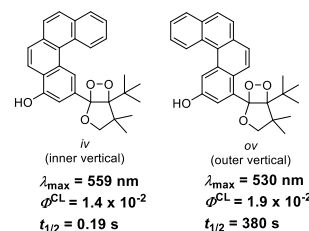
4) ヒドロキシフェナンスレン置換ジオキセタンおよびヒドロキシヘリセン置換ジオキセタンへの展開

ヘリセン類は光学活性体が存在し、高い旋光度を有する蛍光性の高い縮環系炭化水素である。発光種としてジオキセタンに導入した場合、固体発光での偏光観測検討の基質として期待できる。ヘリセン置換ジオキセタンの設計では、トリガーヒドロキシ基とジオキセタンの置換様式が問題となる。そこで次に



示した 4 種のフェナンスレン置換ジオキセタンを合成し、その熱安定性および有機溶媒系 (TBAF/CH₃CN) での発光を調べ、ヘリセン骨格へ展開するためのトリガーとジオキセタン環の置換様式の知見を得た。フェナンスレン環 2,4 位置換様式のジオキセタン oh-体および ih-体は熱的に不安定で、ih-体はジオキセタンのみを単離精製することができなかった。一方 1,3 位置換様式の iv-体および ov-体は、室温で容易に取り扱うことができ、その量子収率も 0.052 と 0.024 と良好であった。そこで熱的に安定で良好な量子収率を示し、分解速度の異なる iv-および ov-骨格で [4] へリセン骨格のジオキセタン 2 種 iv-および ov-体を合成し、その発光を調べた。量子収率は 0.014 と 0.019

と縮環数の増加による減少は少ないことがわかった。特に ov-体では発光波長の深色シフト (26 nm) が少なく、半減期も 380 秒と本目的に合致する骨格であることを見出した。



5) コハクオナジマイマイの黄色蛍光物質探索

コハクオナジマイマイはその外套膜に黄色蛍光物質を蓄積しており、それがリボフラビン関連物質であることをすでに見出している。新規な蛍光物質をジオキセタンに導入することは、新たな発光基質の創出につながる。ここでは新たな蛍光物質の探索として、コハクオナジマイマイの近縁種およびコハクオナジマイマイの卵、幼生、成体等ライフサイクルごとの蛍光物質の調査を行った。その結果、いずれの場合でも存在する蛍光物質はリボフラビン関連物質であり存在濃度に違いがあることが分かった。

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 3 件)

- ① N. Watanabe, H. Takatsuka, H. K. Ijuin, A. Wakatsuki, and M. Matsumoto, 'Hydrogen bonding network-assisted chemiluminescent thermal decomposition of 3-hydroxyphenyl-substituted dioxetanes in crystal' *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 2558-2562, DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.05.004 査読有
- ② Y. Koyama, N. Watanabe, H. K. Ijuin, and M. Matsumoto, 'Synthesis of bicyclic dioxetanes bearing a hydroxyl[4]helicene moiety and their base-induced chemiluminescent decomposition' *Heterocycles*, **2015**, 90, 462-481, DOI: 10.3987/COM-14-S(K)43 査読有
- ③ N. Watanabe, A. Oguri, M. Horikoshi, H. Takatsuka, H. K. Ijuin, and M. Matsumoto, 'Chemiexcitation efficiency for the charge-transfer-induced chemiluminescent decomposition of 3-hydroxyphenyl-substituted dioxetanes in an aqueous system' *Tetrahedron Letters*, **2014**, 55, 1644-1647, DOI:10.1016/j.tetlet.2014.01.089 査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 伊集院久子、渡邊信子、浅見崇比呂、松本正勝、「コハクオナジマイマイのライフサイクルにおける黄色蛍光物質の変遷」生物発光化学発光研究会第 31 回学術講演会、東京工業大学 (2014 年 11 月 1 日)
- ② 伊集院久子、重田沙季江、品田麻美、中島愛乃、渡邊信子、浅見崇比呂、松本正勝、「コハクオナジマイマイおよびその近縁種の黄色蛍光物質」生物発光化学発光研究会第 30 回学術講演会、東京工業大学 (2013 年 11 月 2 日)
- ③ 入江花風、渡邊信子、伊集院久子、山口和夫、松本正勝、「 ω -位を官能基化したリンカーで修飾されたジオキセタン型化学発光化合物」2013 年光化学討論会、愛媛大学 (2013 年 9 月 11 日~13 日)

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・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・付置研究所・プロジェクト
研究員
研究者番号：102602896

(3)連携研究者

伊集院 久子 (IJUIN Hisako)
神奈川大学・付置研究所・プロジェクト
研究員
研究者番号：60398948