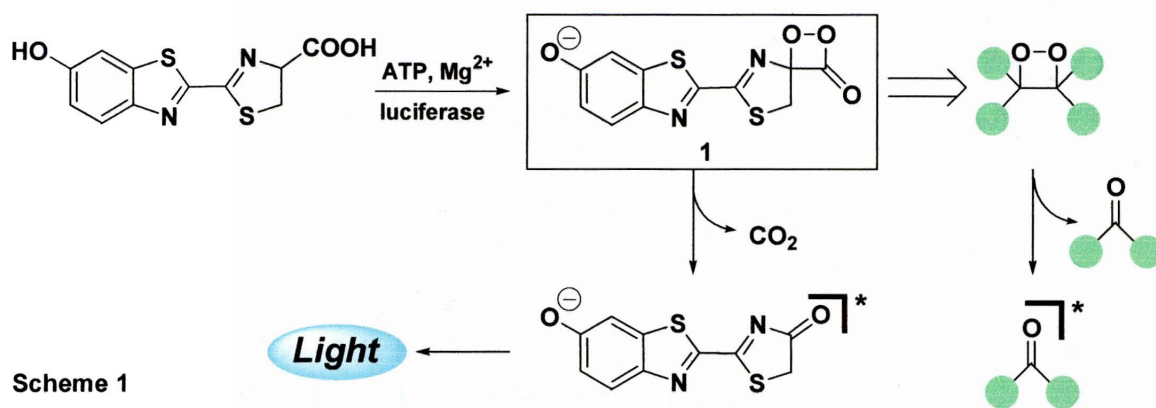
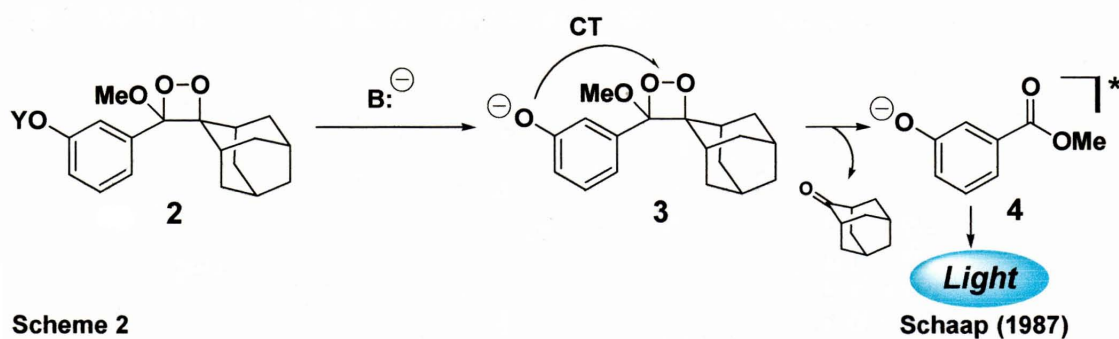


ホタル、オワンクラゲなどの生物は熱をほとんど出さずに極めて高い効率で発光する。これら生物の発光には高エネルギー中間体として4員環過酸化物であるジオキセタン $1$ が深く関わっていることが示唆されて以来40年が経過する(Scheme 1)。この間、ジオキセタンに対する合成化学、構造化学、物理化学的興味から様々なジオキセタンが合成されてきた。



しかし初期に合成されたジオキセタン類は単なる熱分解(TD, Thermal decomposition)ではほとんど発光せず、生物発光とは比較にならなかった。これがジオキセタンの化学史における初期20年ほどの間の解決できないジレンマであった。その後、分子内電荷移動誘発分解(CTID, Charge-transfer-induced decomposition)型のジオキセタンが創出され、今では生物発光に匹敵する効率で光を放つものも見出されている。このようなCTID型のジオキセタンは電子供与性置換基を有しており、例えば *m*-オキシフェニル基を有するジオキセタン $2$ は脱プロトン化あるいは脱保護により不安定なオキシドフェニル置換ジオキセタン $3$ を生成し、これが分子内電荷移動(CT)により誘発されて分解を起こし、一重項励起分子 $4$ を生成、効率良く発光する(Scheme 2)。



現在ではこのようなCTID活性ジオキセタンが生体内微量成分の検出試薬として医療現場などで利用され始めている。また、ジオキセタンの発光機構は生物発光の機構解明とも関連して盛んに研究されてきている。

このような背景の中、われわれは熱安定性に優れ、構造変換も容易な骨格である双環性ジオキセタン $5$ を見出し、これを母核として様々なCTID型ジオキセタンを設計、合成してきた。その1つとして開発した、4-(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタン $6$ が有機溶媒系のみならず、水系溶媒系でも極めて高い発光効率を示すことを見出し報告している(Chart 1)。

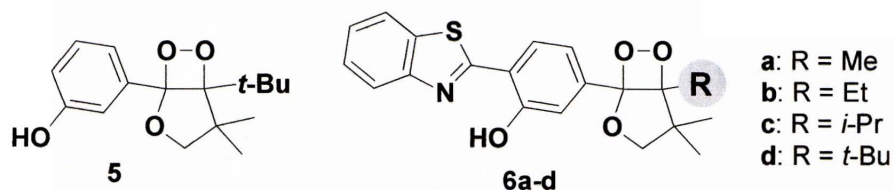
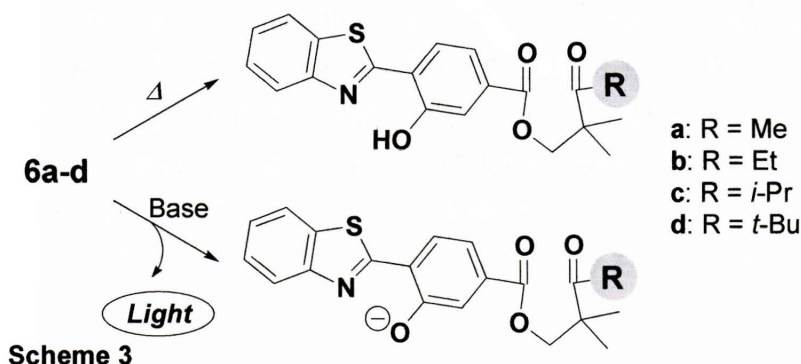


Chart 1

本研究では、このジオキセタン **6** を基軸とし、ジオキセタンの発光分解を基礎から見直し、新たな発展の方向性を探ることを大きな目的とした。そこでまずジオキセタンの典型的な分解様式である TD と CTID について熱力学的特性の面から詳細に調べ、ジオキセタンの化学励起メカニズムについて検討を行った。また、このような研究の過程で、従来知られていなかった溶媒促進分解 (SPD, Solvent-promoted decomposition) を見出し、これについても熱力学的特質を明らかにした。さらに、世界的にも先例のない結晶での発光現象を見出し、その予備的な検討を行った。

#### 4-(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニル部位を有する双環性ジオキセタンにおける熱分解および電荷移動誘発発光分解の熱力学的特性 (第2章)

ヒドロキシアリール置換ジオキセタンの TD では主に三重項励起分子を生成するのに対し、CTID では効率よく一重項励起分子を生成することから、それぞれの分解の機構について現在も議論がされている。しかし、TD と CTID に関して、それらの発光効率および分解速度が極端に大きく異なることもあって、両者の動力学および熱力学的特性を同じ土俵で検討するような (どのように TD と CTID が互いに機構的に関連しているのかという) 研究は今まで全く行われてこなかった。そこで様々な大きさの置換基 R を有するベンゾチアゾリルフェノール置換ジオキセタン **6a-d** (**6a**, R=methyl; **6b**, R=ethyl; **6c**, R=isopropyl; **6d**, R=*tert*-butyl) を用いて、TD および CTID を測定し、これらの分解の熱力学的特性に及ぼす置換基の影響を詳細に検討した (Scheme 3)。

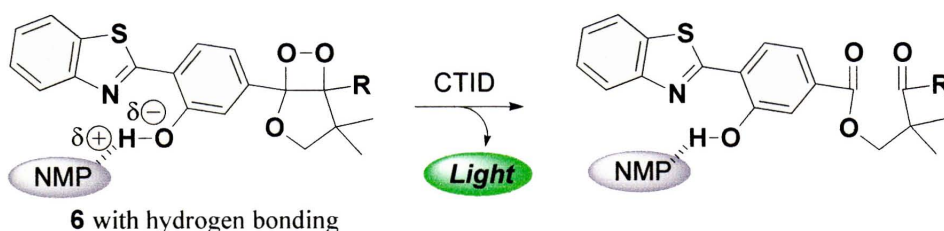


その結果、TD および CTID において活性化自由エネルギー  $\Delta G_{TD}^\ddagger$  および  $\Delta G_{CTID}^\ddagger$  はいずれも置換基 R が methyl < ethyl < isopropyl < *tert*-butyl のように嵩高さが大きくなるにつれ増加することがわかった。また、置換基 R の嵩高さに関係なく  $\Delta G_{TD}^\ddagger$  は  $\Delta G_{CTID}^\ddagger$  よりも約 27 kJ mol<sup>-1</sup> 大きく、これは、

ジオキセタン **6** の中性ベンゾチアゾリルフェノールと、そのオキシドフェニルアニオンの自由エネルギー差によると考えられた。Taft's の DSP (Taft's dual substituent parameter) を用いた分析では、 $\Delta G^\ddagger_{TD}$  および  $\Delta G^\ddagger_{CTID}$  はいずれも置換基 R の極性因子と立体因子の両方に影響されているが、 $\Delta G^\ddagger_{CTID}$  は明らかに  $\Delta G^\ddagger_{TD}$  よりもアルキル置換基 R の極性因子に対して敏感であることが示唆された。一方、活性化エントロピー  $\Delta S^\ddagger$  に対する置換基効果は TD と CTID において著しく異なることを示した。 $\Delta S^\ddagger_{CTID}$  は置換基 R が小さくなるにつれ、ほぼ 0 から大きな負の値へ変化し、 $\Delta S^\ddagger_{TD}$  ではそのような傾向は見られなかった。これらの結果と MO 計算から CTID は芳香族電子供与体が特定の配座をとるときに進行し易く、一方、TD は芳香環の配座にあまり影響されないことが示唆された。以上のことから、TD と CTID は化学励起の様式は極端に異なるが、反応の熱力学的特性には類似性が高いことが、そして CTID 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敏感であるということが示唆された。

### 非プロトン性極性溶媒により促進される発光分解：4-(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニル部位を有する双環性ジオキセタンの発光 (第3章)

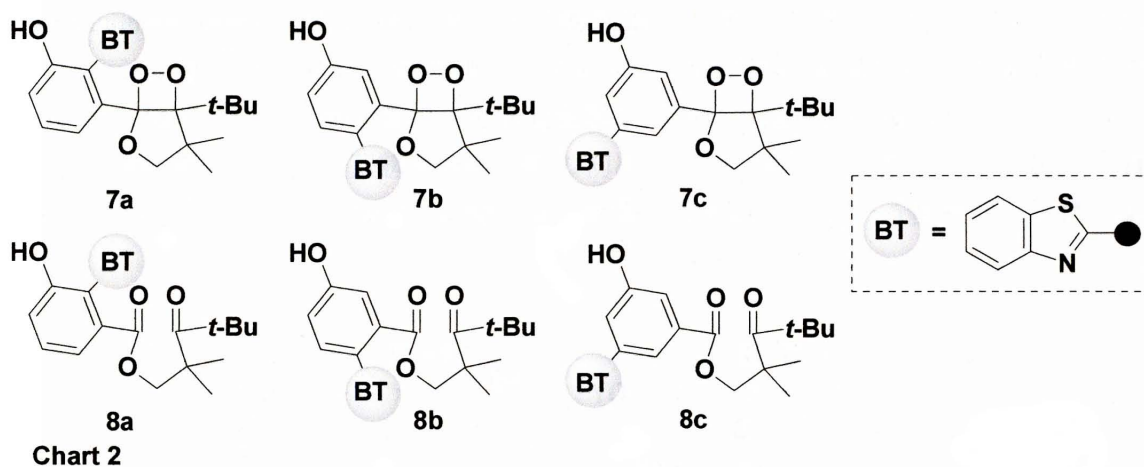
第2章で述べた 4-(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニル基を導入した双環性ジオキセタン **6a-d** の研究を行っている過程で、このジオキセタンを NMP のような非プロトン性極性溶媒中に溶解させると自発的に発光することを偶然に発見した。この現象について詳細に検討した結果、これは前章で述べた塩基誘発分解 (BID, Base-induced decomposition) とは異なる分解であり、溶媒で促進される新しいタイプのジオキセタンの発光分解、すなわち溶媒促進分解 SPD であることがわかった。この SPD によるジオキセタンの発光特性は塩基誘発分解 BID と類似しており、発光効率についても BID と同じく高効率であった。SPD はジオキセタン **6a-d** が 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 経路の発光分解が進行すると示唆された (Scheme 4)。また、熱力学的側面からこれらの分解について調査したところ、両者の活性化自由エネルギー  $\Delta G^\ddagger_{SPD}$  および  $\Delta G^\ddagger_{BID}$  はジオキセタン **6a-d** の置換基 R の高さに依存して増加し、これらは直線的に相関した。SPD の活性化エントロピー  $\Delta S^\ddagger_{SPD}$  は置換基 R に関係なく大きな負の値 ( $-69 \sim -74 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ) であったが、一方 BID では置換基 R が小さくなるにつれ  $0.5$  から  $-22 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$  へ変化した。これらの結果は、溶媒分子と水素結合したジオキセタン **6** のオキシドアリアル基の立体配座が極めて規制されたときのみ SPD が進行することを示唆している。以上の結果より SPD は BID とは異なる新たな CTID 型の発光分解様式であり、溶媒分子とジオキセタンの強い水素結合に起因するエントロピー制御型のジオキセタン分解であると言える。このような考えは SPD の活性化エンタルピー  $\Delta H^\ddagger_{SPD}$  が  $\Delta H^\ddagger_{BID}$  よりもかなり低いことから支持される。



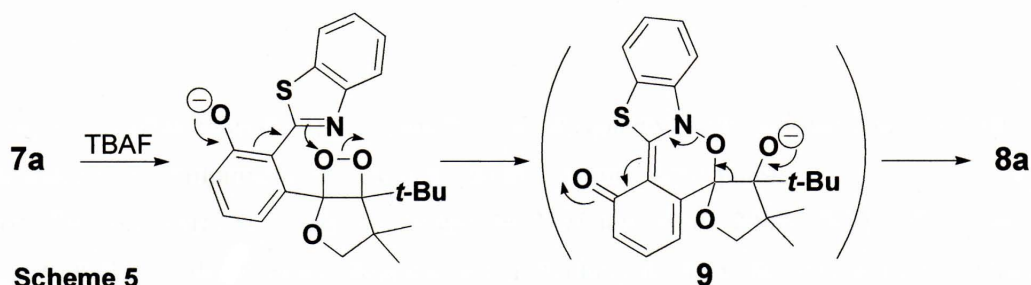
Scheme 4

ベンゾチアゾール置換フェノール骨格を有する双環性ジオキサンの塩基誘発発光分解：  
化学発光効率の著しい低下に繋がる無放射分解経路（第4章）

第2章および第3章で述べたように4-(ベンゾチアゾール-2-イル)-3-ヒドロキシフェニル基を有する双環性ジオキセタン **6** は有機溶媒系だけでなく水系溶媒系においても高い効率で発光し、さらに効率のよい SPD 発光を起こすという優れた性質を有している。そこで(ベンゾチアゾール-2-イル)基(BT)の置換したジオキセタン **6** が何故このような性質を発現するのかを明らかにするために、新たに3種類の異性体、すなわち BT 基が3-ヒドロキシフェニル基の2位、6位および5位に置換したジオキセタン類 **7a-c** を合成した(Chart 2)。これらのジオキセタン **7a-c** の塩基誘発分解について調べたところ、ジオキセタン **7a-c** 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的な化学発光を起こすことがわかった。



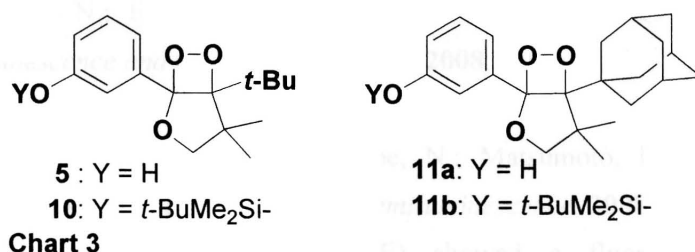
ジオキセタン **7b** および **7c** の CTID ではジオキセタン **6d** と同様に、効率良く対応する一重項励起状態のケトエステル **8b** および **8c** を与えたが、ジオキセタン **7a** だけが極めて低い一重項化学励起効率であった。このジオキセタン **7a** の一重項化学励起効率の異常な低下の原因は分解の際に主に BT 基の窒素からジオキセタン O-O への分子内求核攻撃が起こり、環状中間体 **9** を経て、ケトエステル **8a** に至るといふ無放射分解によることがわかった(Scheme 5)。このような分解経路は今までほとんど知られておらず、ジオキセタン型高効率発光物質の設計において、発光分解と同様にカルボニルフラグメントを生成する無放射分解も考慮する必要があることが明らかとなった。



## 5-(アダマンタン-1-イル)-4,4-ジメチル-1-(3-オキシフェニル)-2,6,7-トリオキサビシクロ[3.2.0]

### ヘプタン類の合成と液相/固相におけるそれらの塩基誘発化学発光分解 (第5章)

第4章まで述べた研究の過程で、溶媒促進分解などの優れた性質を有しているベンゾチアゾリルフェノール置換ジオキセタン **6d** の結晶が単純な加熱だけで結晶状態を保ったまま発光分解することを融点測定時に偶然発見した。結晶のままジオキセタンがこのように発光分解するという例は過去に全く知られていなかった。そこでわれわれはこのような固体発光をトポケミルミネセンス (Topochemiluminescence) と名付け、この新たな発光系の予備的研究として 3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンとしては高い融点を持つアダマンチル-1-イル基を有する双環性ジオキセタン **11a** を用いトポケミルミネセンスについて検討した(Chart 3)。まず液相でのジオキセタン **11a** および **11b** の TBAF 誘発分解を行ったところ、これらのジオキセタンは母核双環性ジオキセタン **5** および **10** と同程度に高い発光効率を有することがわかった。次にジオキセタン **11a** の結晶と DMAP (4-Dimethylaminopyridine) の結晶の微粉末の混合物を 80-110 °C で加熱すると、青色の発光が観測された。また、ジオキセタン **11a** と DMAP の共晶においても同様に結晶状態での塩基誘発化学発光が観測された。現時点では結晶状態での化学発光効率についてはまだ見積もっていないが、これらの結果は、結晶状態における塩基誘発発光分解の初めての例である。固体のジオキセタン **11a** と固体塩基を単に混合するだけで溶液中と同様の塩基誘発分解が起こるという興味深い結果である。



以上、第2章から第4章において詳述したように、本研究においてベンゾチアゾリルフェノール置換ジオキセタン **6** を基軸として、ジオキセタン型化学発光物質の発光分解を基礎から見直し、その過程で数々の過去に例のない新たな分解様式を見出した。これらの成果はジオキセタン型化学発光のみならず、今も議論の続いている生物発光における励起分子生成過程や色調変調などの機構に関し、大きく寄与するものである。また、第5章で述べたトポケミルミネセンス (Topochemiluminescence) は今後化学発光の新しい分野を切り拓く魁となるものである。

### 投稿論文リスト

1. Synthesis of 5-(adamantan-1-yl)-4,4-dimethyl-1-(3-oxyphenyl)-2,6,7-trioxabicyclo[3.2.0]heptanes and their base-induced chemiluminescent decomposition in liquid / solid phase  
Matsumoto, M.; Tanimura, M.; Tachi, M.; Watanabe, N. *Heterocycles*, **2008**, 75(7), 1725-1734.
2. Solvent-promoted chemiluminescent decomposition of a bicyclic dioxetane bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety  
Matsumoto, M.; Tanimura, M.; Akimoto, T.; Watanabe, N.; Ijuin, H. K. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4170-4173.

3. Thermodynamic aspects of thermal decomposition and charge-transfer-induced chemiluminescent decomposition for bicyclic dioxetanes bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety  
Tanimura, M.; Watanabe, N.; Ijuin, H. K.; Matsumoto, M. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 3678-3684.
  4. Marked difference in fragmentation between collision-induced excitation and chemi-excitation of keto esters produced from dioxetanes bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety in negative-mode matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight tandem mass spectrometry  
Ijuin, H. K.; Yamada, M.; Ohashi, M.; Tanimura, M.; Watanabe, N.; Matsumoto, M. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2010**, *24*, 2715-2722.
  5. Synthesis of thermally stable acylamino-substituted bicyclic dioxetanes and their base-induced chemiluminescent decomposition  
Watanabe, N.; Sano, Y.; Suzuki, H.; Tanimura, M.; Ijuin, H. K.; Matsumoto, M. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 5920-5926.
  6. Intramolecular charge-transfer-induced decomposition promoted by an aprotic polar solvent for bicyclic dioxetanes bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety  
Tanimura, M.; Watanabe, N.; Ijuin, H. K.; Matsumoto, M. *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 902-908.
- Proceedings—
7. Solvent-promoted chemiluminescent decomposition of bicyclic dioxetanes bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl moiety  
Tanimura, M.; Watanabe, N.; Ijuin, H. K.; Matsumoto, M. *Proceedings of the 15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence.*, **2008**, 139-142.
  8. Mass spectrometric approach to elucidation of chemiexcitation of dioxetanes  
Ijuin, H. K.; Ohashi, M.; Tanimura, M.; Watanabe, N.; Matsumoto, M. *Proceedings of the 15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence.*, **2008**, 115-118.
  9. Benzothiazolylphenol-substituted ketoester (TPKE) showed a fluorescent signal in a single mitochondrion of sea urchin sperm: possibility of a new fluorescent probe  
Kazama, M.; Tanimura, M.; Hino, A.; Suzuki, S.; Matsumoto, M. *Proceedings of the 9<sup>th</sup> Asian-Pacific Microscopy Conference in conjunction with the 39<sup>th</sup> Annual Meeting of the Korean Society of Microscopy, Korean Journal of Microscopy*, **2008**, *38*(4), 968-969.
- 紀要—
10. Benzothiazolylphenol-substituted ketoester is a useful fluorescent probe for detection of the mitochondrion in sea urchin sperm  
Kazama, M.; Kanda, K.; Tanimura, M.; Hino, A.; Matsumoto, M.; Suzuki, S. *Science Journal of Kanagawa University*, **2008**, *19*, 19-26.
  11. Mechanistic aspects of color tuning in bioluminescence of fireflies  
—A proposition from the viewpoint of dioxetane-based chemiluminescence—  
Matsumoto, M.; Watanabe, N.; Ijuin, H. K.; Tanimura, M. *Science Journal of Kanagawa University*, **2009**, *20*(2), 227-232.
  12. Electron-transfer induced decomposition of 1,2-dioxetanes using MALDI-TOF-MS  
Ijuin, H. K.; Yamada, M.; Ohashi, M.; Tanimura, M.; Watanabe, N.; Matsumoto, M. *Science Journal of Kanagawa University*, **2009**, *20*(2), 237-240.

# **Mechanistic Aspects of the Decomposition Leading to Chemiexcitation for Dioxetane-Based Chemiluminescent Substrates**

(Kanagawa Univ. Dept. of Chemistry) Masatoshi Tanimura

High-energy molecules, dioxetanes, have received a great deal of attention because of their unique property to decompose thermally into electronically excited carbonyl products. Their chemistry originates from studies on molecular mechanisms of bioluminescence and has a history of over 40 years. However, in the early decades of the history of dioxetanes, a puzzling problem was the crucial discrepancy in the efficiency of light emission between uncatalyzed thermal decomposition (TD) of dioxetanes with poor light yield and effective bioluminescence: for the bioluminescence represented by the firefly, the luciferin / luciferase reaction has been believed to produce a dioxetanone intermediate which belongs to the family of dioxetanes.

The clue leading to dioxetanes with high efficiency was the theory of chemically initiated electron exchange luminescence (CIEEL), which we call charge-transfer-induced decomposition (CTID). Nowadays, dioxetane-based chemiluminescent compounds have been designed that exhibit luminescent efficiencies as high as those of most bioluminescences, and certain substrates are now being used for modern high-sensitivity biochemical and biomedical analyses. However, further investigation of dioxetane-based chemiluminescent compounds is eagerly expected from the viewpoints of understanding the chemiluminescence and bioluminescence mechanisms as well as of realizing high-performance chemiluminescent substrates.

In such a situation, we first investigated how TD and CTID mechanistically related each other and showed their kinetic and thermodynamic aspects. Secondly, during the investigation of TD and CTID, we found that hydroxyaryl-substituted dioxetanes spontaneously underwent decomposition to give bright light in an aprotic polar solvent, and we clarified that this phenomenon was a new mode of chemiluminescent decomposition, which we called solvent-promoted decomposition (SPD), and SPD was an entropy-controlled reaction. The third was related to a subject how the chemiluminescent efficiency can be improved, for which knowledge of the detailed chemiexcitation mechanism is quite important. Thus, we found an unprecedented decomposition pathway without chemiexcitation for CTID-active dioxetanes.