

総合理学研究所共同研究報告（2000年度）

(1)テーマ：A. 生物発光および関連化学発光の機構解明

(2)テーマ区分：海洋資源活用

(3)研究メンバー：松本正勝（神奈川県立理学部化学科・教授・代表者）
 大橋 守（神奈川県立理学部化学科・教授）
 渡辺信子（神奈川県立理学部化学科・助手）
 丹羽治樹（電気通信大学・量子・物質工学科）

(4)研究期間：平成12年4月 ～ 13年3月

(5)研究成果の概要：

1) **"Design and synthesis of chemiluminescent substrates with high luminescent efficiency in aqueous system: 5-tert-butyl-4,4-dimethyl-2,6,7-trioxabicyclo-[3.2.0]heptanes bearing a 3-hydroxy-4-(1-iminoethyl)phenyl moiety at the 1-position"**

Matsumoto, M.; Sakuma, T.; Watanabe, N. *J. Biolumin. Chemilumin.* **2001**, in press.

CIEEL活性な3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンはDMSOなどの有機溶媒中では効率良く発光するが水系ではその発光効率は3万分の一以下に低下する。一方、4アセチル-3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンは水系においてもかなりの効率で発光するもののCIEEL分解速度が極めて遅くなる。ここでは、生物発光に匹敵する化学発光基質の開発に関する研究の一環として、水系において高い発光効率を維持しかつCIEEL分解速度も速い基質の実現を目指し、表題のような3-ヒドロキシ-4-イミノフェニル置換ジオキセタンの合成を行い、それらの水系における発光特性を調べた。その結果、3-ヒドロキシフェニルの4位にセミカルバゾノ基を導入した誘導体は有機溶媒系と水系における発光効率の乖離が従来になく小さい発光基質であることが明らかとなった。

2) **"Synthesis, chemi- and bioluminescence properties, and photolysis of a coelenterazine analogue having a photoreactive azido group"**

Zheng, J. L.; Chen, F. Q.; Hirano, T.; Ohmiya, Y.; Maki, S.; Niwa, H.; Ohashi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, 73, 465 - 469.

オワンクラゲの生物発光においては、coelenterazine、酵素、そしてapoequorin (apoAQ) からなる複合体 aequorin (AQ) が関わっている。AQはカルシウムイオンにより活性化され coelenterazine を酸素化し高エネルギー物質であるジオキセタン中間体を生成、このも

の分解により発光する。ここで、AQへのcoelenterazineの結合部位については今だ分かっていない。そこで光によりタンパクに結合しうるcoelenterazine類縁体として表題化合物を合成しその基礎的性質を調べた。

3) "Viscosity dependence of the chemically induced electron-exchange chemiluminescence triggered from a bicyclic dioxetane"

Adam, W.; Matsumoto, M.; Trofimov, A. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8631 - 8634.

電子供与体となる芳香環を持つジオキセタンはいわゆるCIEEL型分解により効率良く発光することが知られている。この反応の機構としては、①芳香環からのジオキセタンO-Oへの電子移動、②ジオキセタン環の開裂によるラジカルイオンペアの形成、③ラジカルイオンペア中のラジカルアニオンからラジカルカチオンあるいはラジカルへの逆電子移動(BET)による励起分子の生成という素過程が有力視されている。この機構に従うならば③のラジカルイオンペア消滅過程におけるBETの効率が発光効率に直接反映されることになる。このような考えの中で、2環性ジオキセタンである5-tert-butyl-1-(3-tert-butyl-dimethylsiloxyphenyl)-4,4-dimethyl-2,6,7-trioxabicyclo[3.2.0]heptaneのジフェニルエタン系溶媒中での発光効率と溶媒の粘度との相関を詳細に検討したところ、BETには励起一重項分子を生成するチャンネルの他、直接一重項基底状態が生成するチャンネルのあることを考えざるを得ない結果を得た。

4) "Base-induced chemiluminescent decomposition of stereoisomeric 5-tert-butyl-1-(3-tert-butyl-dimethylsiloxy)phenyl-4,4-dimethyl-3-phenyl-2,6,7-trioxabicyclo[3.2.0]heptanes and their related dioxetanes"

Matsumoto, M.; Ito, Y.; Matsubara, J.; Sakuma, T.; Mizoguchi, Y.; Watanabe, N. *Tetrahedron Lett.* **2001**, in press.

CIEEL活性な3-ヒドロキシフェニル置換ジオキセタンの発光効率は励起一重項分子(エミッター)の生成効率とエミッターの蛍光量子収率の積となる。従って、同一エミッターを生成しかつ構造の異なるCIEEL活性ジオキセタンにおいては、発光効率は励起一重項分子の生成効率の違いに他ならない。この励起一重項生成効率が、CIEEL分解においてエミッターと共に生成するもう一つのカルボニルフラグメントにどのように影響されるかは全く不明であった。本研究においては、表題のようなジオキセタンの立体異性体を合成しそれらの発光効率を調べることによって、前述の問題に対する基礎的な解答を得ようとした。表題のジオキセタンの立体異性体のいずれからも同一のカルボニルフラグメント対が得られるにもかかわらず、発光効率に違いが生ずること、すなわち励起一重項生成効率が異なることが明らかとなった。この事実は、発光に直接関与しないジオキセタンの構造が励起分子の生成効率に関わるということを示すものであり、ホタルに匹敵する高効率の発光基質を実現する上で重要な知見となるものである。