

専攻名	化学
学籍番号	201330111
学生氏名	本田 拓也
学位名	博士 (理学)
指導教員	新井 達郎

博士論文題目 Studies on photochemical properties of caged compounds and hydrogen bonded compounds  
(ケージド化合物と水素結合系化合物の光化学的性質に関する研究)

## 序論

光化学反応によって生理活性物質を瞬時に放出する化合物は、生物学の分野でケージド化合物として知られている。多くのケージド化合物は光分解性保護基によって生理活性物質を保護した化合物であり、暗所では生理活性が失われているが、光照射により生理活性物質を局所的に素早く放出させることが出来る。ケージド化合物に求められる性質としては①細胞にダメージの少ない波長(350 nm 以上)の光で励起が可能であること、②単一の光反応により効率良く生理活性物質を放出すること、③生体内の環境 (pH=7.4)と同様な水溶液に高い溶解性を示すこと、④暗所での安定性が高いことなどが挙げられる。

ケージド化合物の研究としては、これらの性質を満たすために既存の色素骨格への置換基の導入や新たな色素骨格の提案など実用性を重視したものが多く行われている。グルタミン酸や GABA などのカルボキシル基を有する生理活性物質を保護する光分解性保護基には、エステル結合、またはアミド結合を用いるものが一般に報告されている。我々の研究室でも、これまでにアミド結合によって生理活性物質を保護することで暗所での安定性を高めたケージド化合物についていくつか報告し、一部の化合物は海馬スライス中の錐体神経細胞を活性化できることを示すことができた。しかしながら、これまでに報告されているケージド化合物には、吸収波長の制御や、光分解反応を制御する構造因子に関して不明な点が残っている。このような観点から、第1章では「アミド結合を活用したケージド化合物の吸収特性の向上と反応制御に関する構造因子の解明」を目的とし「N-carboxymethyl-2-nitroanilinyll 骨格を有するケージド化合物の置換基効果」について検討を行った。

また、置換基の導入のような従来から行われているアプローチとは異なる、新しい反応制御方法を見出すこともケージド化合物の発展には重要なことであると考えた。我々の研究室では以前から、分子内水素結合が化合物の蛍光特性や光化学反応（主に励起状態分子内水素原子移動反応や C=C 二重結合の光異性化反応）に及ぼす効果に着目して研究を行っており、一部の化合物においては分子内水素結合の効果により C=C 二重結合の光異性化反応の方向を制御できることを見出している。このような背景から、我々は分子内水素結合の効果を利用して光分解反応を制御することを考え、エステル結合の光分解により生理活性物質を放出することが可能なケージド化合物に関する研究を行った。第2章、3章、4章では分子内水素結合を導入したケージド化合物の光分解反応、蛍光特性、溶媒依存性などについて検討を行った。さらに第5章では、高効率な蛍光を示すホルミル基を導入した 2-(2'-hydroxyphenyl) benzazole 誘導体の励起状態分子内水素原子移動反応と蛍光特性について検討を行った。

## Chapter 1 N-carboxymethyl-2-nitroanilinyll 骨格を有するケージド化合物の光反応に対する置換基効果

我々の研究室では、これまでにアミド結合によって生理活性物質を保護することで暗所での安定性を高めたケージド化合物について、吸収特性及び分解量子収率の改良を目指し研究を行ってきた。そこで本章では、化合物の吸収波長の制御や、光分解反応を制御する構造因子に関してさらに検討するため、基本的な構造でかつ水溶性を高めた光分解性保護基である N-carboxymethyl-2-nitroanilinyll 基 (CNA 基) を基本骨格とした、ケージド化合物(CNAn-Ac)を合成し、その光化学的性質について検討を行った (Fig. 1)。

Fig. 2 には各化合物の吸収スペクトルを示す。ベンゼン環の  $R_1$  へ電子供与基を導入した **CNA2-Ac**、**CNA3-Ac**、**CNA4-Ac** では **CNA1-Ac** に比べ、365 nm でのモル吸光係数が増加し、 $R_2$  にも電子供与基を導入した **CNA4-Ac** においては 365 nm でのモル吸光係数がさらに増加した。 $R_2$  にベンズイル基を導入した **CNA5-Ac** の 365 nm のモル吸光係数は **CNA1-Ac** と比べてわずかしき増加しなかった。この結果から、 $R_1$  へ電子供与性置換基を導入することが、365 nm のモル吸光係数を増加させるために有効であることが示された。また、吸収スペクトルの長波長端の波長から各化合物の励起一重項エネルギーを算出した結果を Table 1 にまとめた。**CNA2-Ac**、**CNA3-Ac**、**CNA4-Ac** は **CNA1-Ac** と比べ、励起一重項エネルギーが低下しており、特に  $R_2$  に電子供与基を導入した **CNA4-Ac** においては大きく低下した。

各化合物の分解量子収率( $\Phi_p$ )に関しては、**CNA1-Ac**、**CNA2-Ac**、**CNA3-Ac**、**CNA5-Ac** では 0.08-0.11 であったが、**CNA4-Ac** のみ 0.02 と他の化合物より小さい値であった。ここで励起一重項エネルギー  $E_s$  に着目すると、**CNA4-Ac** では 5 つの化合物の中で最も低い値であり、このことが分解量子収率の低下に繋がったと考えられる。このように分解量子収率と励起一重項エネルギーに相関が見られたことから励起一重項状態から反応が進行していることが示唆され、一重項エネルギーが  $290 \text{ kJ mol}^{-1}$  かそれよりも高い場合に、比較的効率よく分解反応を起こし、生理活性物質を放出することがわかった。今回合成した化合物においては **CNA2-Ac** や **CNA3-Ac** がケージド化合物として適した光化学的性質を有しているといえる。

## Chapter 2 光分解反応における分子内水素結合の効果

この章では分子内水素結合が光分解反応を制御する新たな要因に成り得るかを検討するために、光分解部位のみを有する **BiPh-Ac** と光分解部位及び分子内水素結合部位を有する **PyPh-Ac** について、非プロトン性溶媒及びプロトン性溶媒中における光化学的性質について検討した(Fig. 3)。

$^1\text{H NMR}$  スペクトルを用いて、313 nm 照射下で **BiPh-Ac** の  $\text{CDCl}_3$  中、 $\text{CD}_3\text{OD}$  中の光分解反応を追跡した結果、

両溶媒中において光分解反応が進行することを確認した。また、 $\text{CHCl}_3$  中と  $\text{CH}_3\text{OH}$  中で蛍光スペクトルを測定した結果、それぞれ 340 nm, 346 nm に発光極大を有する  $5000\text{-}6000 \text{ cm}^{-1}$  程度の Stokes shift を持つ蛍光が観測された。それに対して、**PyPh-Ac** について室温で同様の光照射を行った結果、光分解反応は観測されず、また、蛍光も観測されなかった。しかし、77 K、methylcyclohexane 中と ethanol 中で **PhPy-Ac** の蛍光スペクトルを測定した結果(Fig. 4)、それぞれ、507 nm, 556 nm に発光極大を有する Stokes shift の大きな蛍光スペクトル( $10900\text{-}13200 \text{ cm}^{-1}$ )が観測され、これを励起状態分子内水素原子移動反応によって生成した **PhPy-Ac(tautomer)\***からの蛍光であると帰属した (Fig. 5)。 **PhPy-Ac** は基底状態で Fig.5 に示す O-H:N 水素結合型

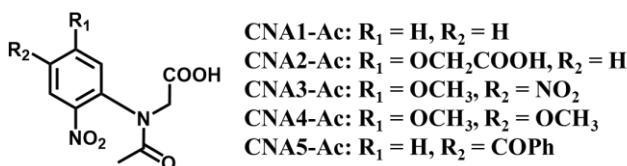


Fig. 1. Structure of **CNA $n$ -Ac**.

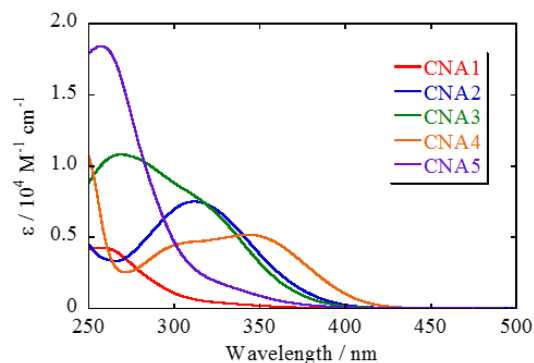


Fig. 2. Absorption spectra of **CNA $n$ -Ac** in phosphate buffer solution (pH 7.4) under air.

Table 1. Quantum yield of photocleavage reaction and singlet energy of **CNA $n$ -Ac** in phosphate buffer solution (pH 7.4) under air

Compound	$\Phi_p$	$E_s / \text{kJ mol}^{-1}$
<b>CNA1-Ac</b>	0.08	326
<b>CNA2-Ac</b>	0.08	290
<b>CNA3-Ac</b>	0.11	294
<b>CNA4-Ac</b>	0.02	278
<b>CNA5-Ac</b>	0.11	300

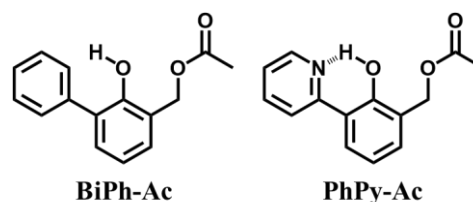


Fig. 3. Structure of **BiPh-Ac** and **PhPy-Ac**.

(PhPy-Ac(normal-1))かO-H:O水素結合型(PhPy-Ac(normal-2))で存在しうる。光分解反応が進行するためには、PhPy-Ac(normal-2)が光を吸収し、反応することが必要と考えられるが、実験結果からは、PhPy-Ac(normal-1)が支配的に存在していることが示唆され、そのためにPhPy-Acでは光分解反応が進行しなかったと考えられる。これらの結果から分子内水素結合を利用することで光分解反応を制御することが可能であると考えられた。

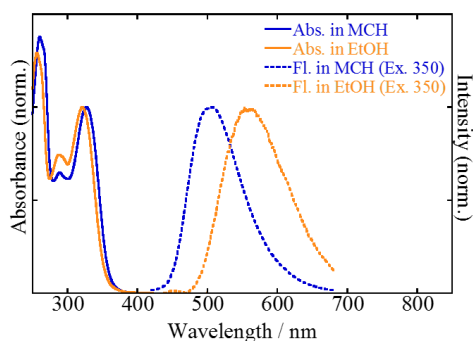


Fig. 4. Absorption (solid line) and fluorescence spectra (dot line) of PhPy-Ac in methylcyclohexane (blue) and ethanol (orange) at 77 K under  $N_2$ .

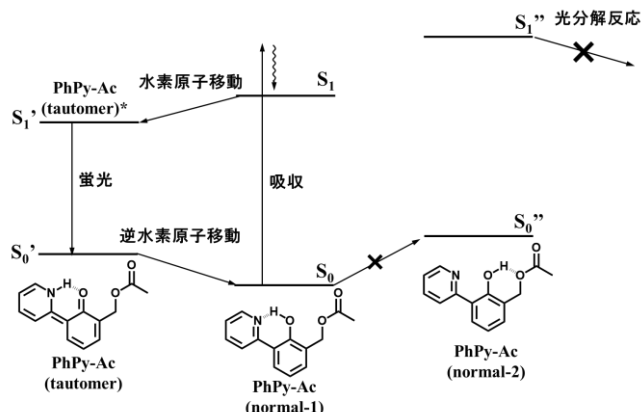


Fig. 5. Reaction diagram of PhPy-Ac.

### Chapter 3 水素結合の効果による HBO 誘導体の光分解反応の制御

第2章で述べたように、分子内水素結合部位を導入することで光分解反応を抑制出来ることが示唆された。第3章では、水素結合を活用して、さらに極性やプロトン性などの環境の効果を導入することによる光分解反応の制御の可能性を検討するため、第2章とは異なる水素結合系化合物を用いたケージド化合物の合成と光反応性の検討を行った。

すなわち、新たな分子内水素結合部位として 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole (HBO)に着目し、光分解部位を有する HBO 誘導体 (HBO-Ac)を合成し (Fig. 6)、 $CHCl_3$ 中と  $CH_3OH$  中の光化学的性質について検討した。HBO は基底状態で、O-H:N 及び O-H:O 水素結合構造などいくつかの異性体が存在し、溶媒の違いによって異性体の存在比が変化すると報告されている。そのため、HBO 誘導体を用いることで水素結合と溶媒の効果によって光分解反応を制御することが出来る考えた。実際、HBO-Ac では Fig. 6 に示すように、benzoxazole 側との水素結合を考えると N または O と水素結合をした *syn-enol* 型、*anti-enol* (b)型で存在する可能性が考えられた。

HBO-Ac では、溶媒によって蛍光スペクトルの形状に変化が見られた (Fig. 7)。 $CHCl_3$  中では、331 nm にピークを持つ吸収スペクトルと 514 nm にピークを持つ蛍光が主に観測されると共に、363 nm にピークを持つ蛍光がわずかに観測された。514 nm に観測された Stokes Shift の大き

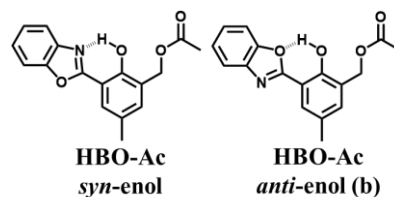


Fig. 6. Structure of HBO-Ac.

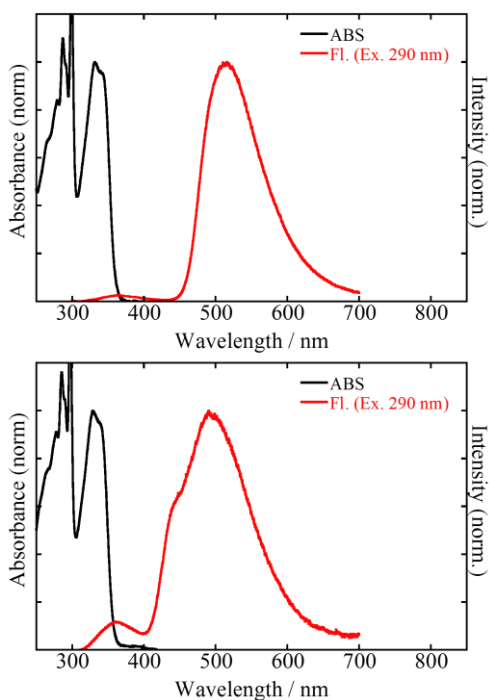


Fig. 7. Absorption and fluorescence spectra of HBO-Ac in chloroform (top) and methanol (bottom) under Ar.

な蛍光 (Stokes shift = 10050  $\text{cm}^{-1}$ )は、Fig. 6 の *syn-enol* 型の励起状態分子内水素原子移動反応により生成した互変異性体からの蛍光と帰属された。CH<sub>3</sub>OH 中においては 363 nm 及び 499 nm に極大波長を持ち 460 nm に発光の肩がある蛍光スペクトルが観測された(Fig. 7)。499 nm の蛍光は CHCl<sub>3</sub> 中と同様に互変異性体からの蛍光と考えられる。363 nm に観測された蛍光は Fig. 6 に示す *anti-enol*(b) 型または Fig. 9 に示すエステル部位と O-H:O 水素結合を形成した *anti-enol* (a) 型由来の蛍光と考えられる。また、CH<sub>3</sub>OH 中でのみ観測された蛍光は Fig. 9 に示すような CH<sub>3</sub>OH (または水分子)との水素結合を形成した solvated form 由来のものと考えられる。

**HBO-Ac** の CHCl<sub>3</sub> 中、CH<sub>3</sub>OH 中での光分解反応を HPLC 分析によって検討した。Fig. 8 は **HBO-Ac** に CHCl<sub>3</sub> 中と CH<sub>3</sub>OH 中で照射を行った時の HPLC のピークの変化を示している。CHCl<sub>3</sub> 中では、新たなピークは観測されなかったが、CH<sub>3</sub>OH 中では **HBO-Ac** (11.3 min) のピークが減少し、新たに **HBO-OH** (6.3 min) と **HBO-Me** (13.2 min) のピークが現れた(Fig. 8)。これらの分解生成物は光分解反応によって生成したキノンメチドが CH<sub>3</sub>OH や溶媒中に微量に存在する水と反応することで生成したものと考えられる。**HBO-Ac** における光分解反応は、基底状態において存在する *anti-enol* (a) 型や solvated form が Fig. 9 に示す(A) か(B)の経路で反応を起こすことで観測されたと考えられる。

#### Chapter 4 HBT、HBI 誘導体の光分解反応におけるヘテロ原子の効果

第3章において、分子内水素結合を形成した複数の異性体が存在するために **HBO-Ac** が光分解反応を起こすことが示唆された。第4章では、**HBO** 誘導体と類似の構造をもつ、**HBT**、**HBI** 骨格をケージング基として活用した化合物の光分解効率や溶媒効果などの体系的な研究を行うことで、水素結合を活用したケージド化合物に関する更なる知見を得ることを考えた。そこで **HBO-Ac** の類縁体である **HBT-Ac**、**HBI-Ac** (Fig. 10)を新たに合成し、その光化学的性質について検討を行った。**HBT-Ac** と **HBI-Ac** の CHCl<sub>3</sub> 中及び CH<sub>3</sub>OH 中における蛍光スペクトルを測定したところ、**HBO-Ac** と同様に溶媒によりスペクトルの形状が異なった。また、<sup>1</sup>H NMR スペクトルを用いて CDCl<sub>3</sub>、CD<sub>3</sub>OD、

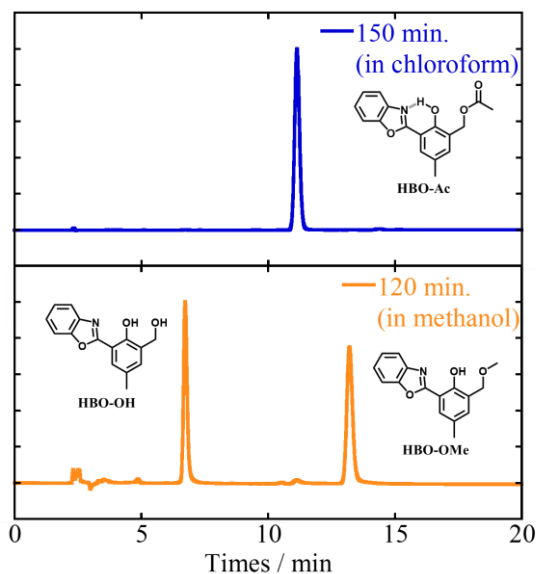


Fig. 8. HPLC peaks of photoirradiated samples of **HBO-Ac** in chloroform (top) and in methanol (bottom).

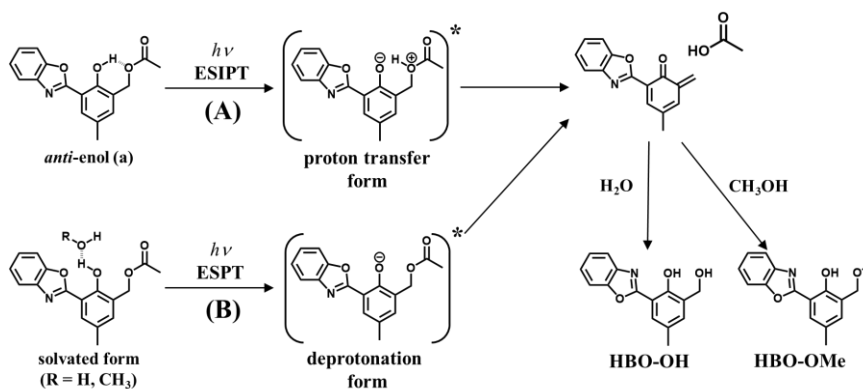


Fig.9. Photocleavage reaction of **HBO-Ac** in methanol.

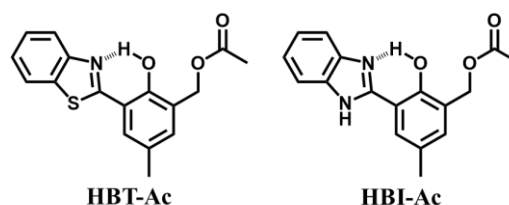


Fig. 10. Structure of **HBT-Ac** and **HBI-Ac**.

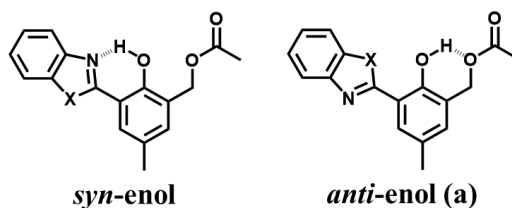


Fig. 11. Structure of *syn-enol* and *anti-enol* (a).

CD<sub>3</sub>OD:D<sub>2</sub>O = 10:1 中における光分解反応を追跡した。その結果、**HBT-Ac**、**HBI-Ac** では **HBO-Ac** と比較してすべての溶媒中で効率よく光分解反応が進行した。これらの反応性の違いについて検討を行うため、DFT 計算によって基底状態で存在すると考えられる **HBO-Ac**、**HBT-Ac**、**HBI-Ac** の異性体のエネルギーを見積もった。その結果、全ての化合物において *syn-enol* 型(Fig. 11)が最も安定な構造であることが示されたが、*syn-enol* 型に対する *anti-enol(a)*型 (Fig. 11)の安定性は化合物によって異なった。**HBT-Ac** や **HBI-Ac** では *anti-enol(a)*型が **HBO-Ac** よりもエネルギー差が小さいことがわかり、基底状態において *anti-enol (a)*型で存在する割合が多いことが推定された。従って、*syn-enol* 型に対する *anti-enol (a)*型の安定性の違いが光分解反応の効率に影響を与えていることが示唆された。これらの結果から、導入する分子内水素結合系を変えることで光分解反応の効率を制御することが可能であることがわかった。

## Chapter 5 HBO、HBT 誘導体の蛍光特性におけるホルミル基の置換基効果

分子内水素結合を有する分子は Stokes shift の大きな蛍光を発することや、光安定性が高いことから発光材料等への応用も期待されている。我々は **HBO-Ac** や **HBT-Ac** を合成する過程で、ホルミル基を導入した **HBO-mf**、**HBT-mf** (Fig. 12)を合成し、これらの化合物が非常に高効率に蛍光を発していることに気が付いた。これらの化合物の母体の化合物に関して、**HBI**は高い蛍光量子収率を持つが、**HBO**、**HBT** の蛍光量子収率は低いことが報告されている ( $\Phi_f = 10^{-2}$  -  $10^{-3}$  程度)。そのためこれらの化合物に適切な置換基を導入することにより高効率な蛍光を示す化合物を見出すことも重要な研究と考え、ホルミル置換基を有する **HBO-mf**、**HBT-mf** の光化学的性質について研究を行った。

本章では **HBO-mf**、**HBT-mf** の光化学的性質について研究し、ホルミル基を持たない **HBO-m**、**HBT-m** (Fig. 12)と比較した。吸収及び蛍光スペクトルを測定した結果、すべての化合物において Stokes shift の大きな蛍光が観測され、これらの蛍光は O-H:N の分子内水素結合 (Fig.12) を介した励起状態分子内水素原子移動反応によって生成した互変異性体由来の蛍光であると帰属した。また、各化合物の蛍光量子収率を算出した結果、ホルミル基の導入により互変異性体の蛍光量子収率は、**HBO** 誘導体で約 27 倍、**HBT** 誘導体で約 63 倍に増加し、これまで報告されている **HBO**、**HBT** 誘導体と比較して、極めて高い蛍光の量子収率を与えることを見出した。また、蛍光寿命測定を行い、蛍光放射の速度定数( $k_f$ )と無輻射失活の速度定数( $k_{nr}$ )を算出した結果、ホルミル基を導入することで無輻射失活過程が抑制されることにより蛍光量子収率が増加したことがわかった。

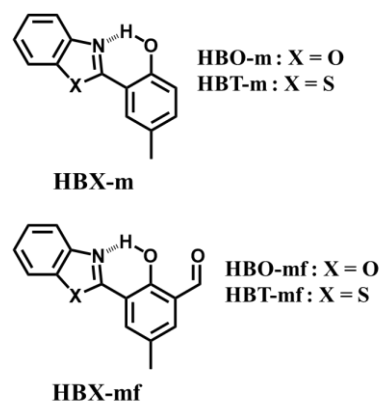


Fig. 12. Structure of **HBX-m** and **HBX-mf**.

Table 2. Photochemical parameters of **HBO**, **HBX-m** and **HBX-mf** in benzene

Compound	$\lambda_{\text{abs}} / \text{nm}$	$\lambda_{\text{fl}} / \text{nm}$	$\nu_{\text{ss}} / \text{cm}^{-1}$	$\Phi_f$	$\tau_f / \text{ns}$	$k_f / 10^7 \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{nr}} / 10^7 \text{ s}^{-1}$
HBO	335	497	9730	0.007 <sup>a</sup>	0.172 <sup>a</sup>	4.1	580
HBO-m	343	522	10000	0.00986	<0.5		
HBO-mf	365	526	8390	0.265	4.6	5.8	12.7
HBT-m	357	559	10100	0.00247	0.084	2.9	1171
HBT-mf	373	560	8950	0.155	3.8	4.1	22.4

<sup>a</sup> in dioxane (*J. Phys. Chem.*, **1994**, 98, 9126).