

(別刷)

# 分析化学

(Bunseki Kagaku)

プッシュプル型アミノナフチリジン及びアミノキノリン誘導体を  
基盤とした可逆的酸塩基検出試薬の開発

松本 祥汰, 梅野 智大, 白井 一晃, 唐澤 悟

日本分析化学会

The Japan Society for Analytical Chemistry

総合論文

## プッシュプル型アミノナフチリジン及びアミノキノリン誘導体を 基盤とした可逆的酸塩基検出試薬の開発

松本 祥汰<sup>1</sup>, 梅野 智大<sup>1</sup>, 白井 一晃<sup>1</sup>, 唐澤 悟\*<sup>1</sup>

電子ドナー性置換基とアクセプター性置換基を導入した二環性アミノキノリン誘導体やアミノナフチリジン誘導体は、溶媒などの環境に反応して発光変化する特徴を有し、プッシュプル型発光物質に分類される。著者らはこれまでに、これらの誘導体を使って様々な外部刺激に反応した発光現象を見いだしており、本稿では外部刺激として酸塩基に反応する三つの誘導体について紹介する。酸反応性では、ジヒドロイミダゾナフチリジン誘導体の芳香族性の違いに着眼した検出試薬である。塩基反応性では、アミン類に対して特徴的に反応する二つの発光物質について報告する。1,5-ナフチリジン誘導体はアミン類に対して、励起状態で錯体(エキサイプレックス)を形成し長波長発光を示す。もう一つは、アミノベンゾキノリン誘導体とHClとで生じる塩酸塩についてである。この塩酸塩はアミノ基のドナー性が失われるため無着色・無発光性を示すが、アンモニアによって脱塩し呈色・発光が回復する。以上、酸塩基に対して反応する3種類のプッシュプル型発光物質についての報告であり、これらは反応前後で大きく化学構造が変化しない特徴があり、再利用可能な検出試薬として分類できる。

### 1 緒言

「生体窓」と呼ばれる650 nm付近から1100 nm付近の電磁波を透過可能な発光性物質は、低エネルギーの長波長で励起し発光観測できることもあいまって、生体発光イメージングプローブの候補化合物として注目されている。長波長発光を生み出すためには、HOMO-LUMOギャップを小さくする必要があり、発光団の $\pi$ 共役系を拡張し縮環数を増やし長波長化する手法はよく知られている。例えばピレンやペリレンなど多環式芳香族化合物<sup>1)~3)</sup>並びに様々な置換基を導入したこれらの誘導体は、拡大された $\pi$ 拡張と高い平面性から溶液・固体状態で長波長発光を示すことから長波長発光プローブや材料としてひろく認知されている。一方発光団に電子ドナー性置換基とアクセプター性置換基を導入した物質は、二環式や三環式芳香族化合物のように縮環数がそれほど多くなくても長波長発光を示し、その電子状態からプッシュプル型発光物質と呼ばれている。電子ドナー性置換基はHOMOに対して、電子アクセプター性置換基はLUMOに対して強く影響を与え、結果としてHOMO-LUMOギャップが小さくなることで長波長吸収・発光へと導く。また、プッシュプル型発光物質は溶媒の極性などの環境反応性を示す特徴がある。これら発光

団は励起状態において部分的な電荷分離状態、すなわち分子内電荷分離状態(Intramolecular Charge Transfer, ICT)となり、極性溶媒では強く溶媒と相互作用し溶媒が再配向することから、極性溶媒中では長波長発光を示す。一方で極性溶媒中での完全な電荷分離状態(Electron Transfer, ET)によるラジカル発生や逆電子移動による熱失活のため、発光量子収率が低下することになり、極性溶媒中での発光波長と強度とはトレードオフの関係が生じてしまう<sup>4)</sup>。

著者らは、電子ドナー性置換基としてアミノ基、電子アクセプター性置換基としてトリフルオロメチル基を有するアミノキノリン誘導体(TFMAQ)やアミノ1,8-ナフチリジン誘導体(18Nap)について(Fig. 1)、外部刺激反応性を中心に研究対象としてきた<sup>5)6)</sup>。TFMAQや18Napは一般的なプッシュプル型発光物質と同様に溶媒の極性に依存した発光挙動を示し、高極性溶媒中では長波長発光と量子収率の低下を示した。またTFMAQのアミノ基にアルキル基やフェニル基を導入し電子ドナー性を高めることでICTを促進させることができ、無置換のTFMAQに比べてさらに長波長吸収・発光を示した。このことは、アミノ基へ置換基を導入することで電子状態を制御できることを意味する。今まで報告してきている外部刺激反応性の例として、先に述べたメチル基やフェニル基を導入したTFMAQ-Meや-Ph並びに18Nap-Meは結晶多形が生じやすい性質も有することから、得られた多形間での加熱結晶相転移や機械

\* E-mail: karasawa@ac.shoyaku.ac.jp

<sup>1</sup> 昭和薬科大学薬学部薬学科: 194-8543 東京都町田市東玉川学園 3-3165

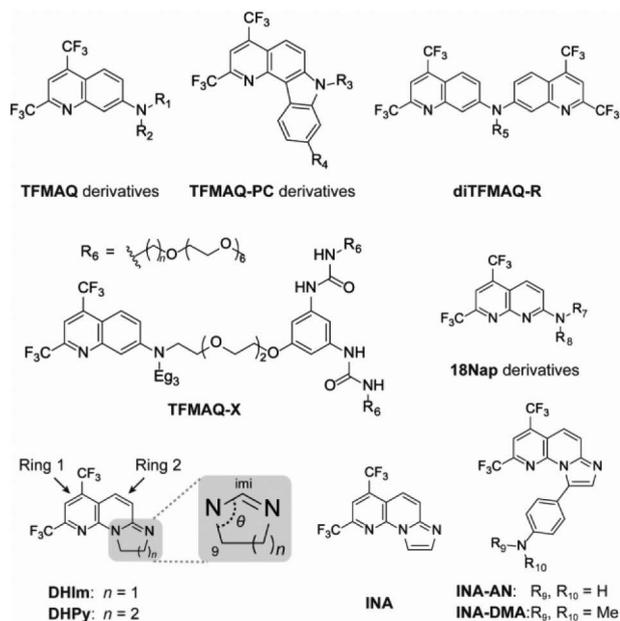


Fig. 1 Molecular structures of TFMAQ and 18Nap analogues

的刺激応答性を示した。また、TFMAQを二つアミノ基で連結したdiTFMAQ-Rは、光刺激によって二つのTFMAQの8位炭素-炭素間で結合が生じジピリドカルバゾール体が生成した<sup>7)</sup>。いずれの応答性においても、刺激前後で発光波長や強度変化が見いだされている。また、生体系を対象とした応答性についても検討しており、TFMAQへ自己集合化能を有する置換基を導入したTFMAQ-Xにおいては、オリゴエチレングリコールの作用によって水溶液中加熱することで微粒子形成が促進される。がん組織は正常組織よりも若干高温である性質や血管内皮細胞が粗雑で数十から数百ナノメートルの隙間がある性質を利用し、TFMAQ-Xによるがん発光イメージングも達成している<sup>8)</sup>。さらに、TFMAQを三環性に増環させたピリドカルバゾール誘導体TFMAQ-PC-Rでは光増感作用が見いだされ、光刺激によって一重項酸素が発生し、HeLa細胞をアポトーシス誘導させることができた<sup>9)</sup>。

以上のようにTFMAQや18Nap誘導体は、アミノ基へ置換基を導入することで様々な外部刺激に応答する現象が見いだされている。今回、これら誘導体を基盤とした酸塩基応答性について報告する。酸応答性については発光団の芳香族性に着目し、プロトン付加によって芳香族性が增大することで発光が増強するTurn-On型発光変化について説明する。塩基応答性では、アミン類に対して励起状態で錯体を形成し(エキサイプレックス)、長波長発光を示す二環式1,5-ナフチリジンについて、また三環式ベンゾキノリンを用いた系では、塩酸塩とすることで無色・発光固体をつくり、その固体に対してアンモニアが応答し脱塩することで発光が回復する新しいアミン検出法を開発した。これら

酸塩基応答性はいずれも大きな化学構造変化を伴うことがないことから、再利用可能な検出試薬として分類することができる。

## 2 酸応答型検出試薬

### 2.1 分子設計<sup>10)</sup>

生体において、腫瘍組織はpHが約6.5であるのに対し、正常組織のpH値は約7.4であることや、細胞内のオルガネラのひとつのリソソームが酸性であることは広く知られている<sup>11)</sup>。したがって、酸性条件で応答する検出試薬は、バイオイメージングツールとして有望である。一方先に述べたTFMAQや18Nap誘導体は酸性下において、アミノ基へのプロトン化に伴い、電子ドナー性が失われるため発光は消光する。したがって酸性条件に応答し発光が増大するTurn-On型の検出試薬を開発するためには、TFMAQや18Nap誘導体の分子骨格をチューニングする必要がある。今回、酸に応答するTurn-On型発光検出試薬として、アミジンを塩基性部位として導入した二つの発光性三環式ジヒドロイミダゾナフチリジン誘導体DHIm及びジヒドロピリミジノナフチリジン誘導体DHPyを合成し、対照化合物として、18Napのアミノ基にピロリジン環を導入した18Nap-pyrroを準備し、酸応答性と発光挙動の相関性について検討を行った(Fig. 1)。ここで、DHImとDHPyを区別しないときはDHXとして表す。

### 2.2 単結晶X線構造解析

得られた誘導体について溶媒拡散法により再結晶を行ったところ、DHImがDHIm-1、-2の2種類の多形、DHPyでは1種類、18Nap-pyrroでは18Nap-pyrro-blue、-greenの2種類の多形がそれぞれ得られた。

得られた単結晶を用いて単結晶X線構造解析(Single-crystal X-ray Diffraction, SXRD)を93 Kで行い、詳細に分子構造を調べた。DHIm-X(X=1 and 2)の構造においてナフチリジンとジヒドロイミダゾール環の平面性は高く、共平面にあることが示された。さらに5員環がナフチリジン環に縮環したことによりジヒドロイミダゾール環内の $\angle C_{\text{im}}-N-C_9$ (Fig1.  $\theta$ )は $108^\circ \sim 109^\circ$ であり、 $sp^2$ 混成軌道で示される $120^\circ$ と比べて大きく歪んでいた。一方で、DHPyにおいてはジヒドロピリミジン環の歪みによって平面性はDHIm-Xと比べて低下した。

DHIm-X、DHPyにおけるナフチリジン環を構成する二つのピリジンの結合長を評価した結果、DHIm-1において、トリフルオロメチル基を持つRing 1の平均結合長は約 $1.38 \text{ \AA}$ であり、DHIm-2、DHPyにおいても同様な結合長が観測された。一方、Ring 2における平均結合長は約 $1.41 \text{ \AA}$ であり、Ring 1との差は約 $0.03 \text{ \AA}$ であった。この小さな結合長の差が、後述するRing 1と2の芳香族性の違い

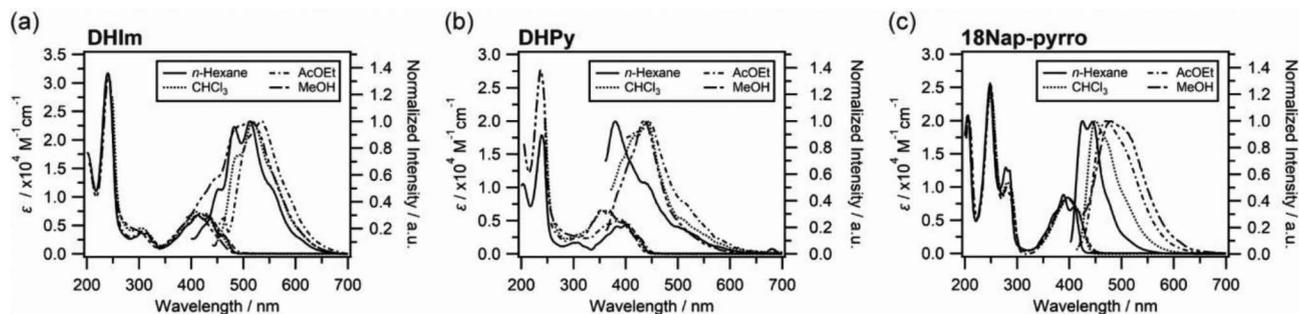


Fig. 2 (a-c) Absorption and fluorescence spectra of **DHIm**, **DHPy** and **18Nap-pyrro** in various solvents (100  $\mu\text{M}$ )

Table 1 Values of  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$ ,  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$ , and  $\Phi^{\text{fl}}$  for naphthyridine derivative (**DHX** and **18Nap-pyrro**) and their protonated analogues ( $[\text{DHX-H}]^+$  and  $[\text{18Nap-pyrro-H}]^+$ ) in various solvent

solvents	<i>n</i> -hexane	$\text{CHCl}_3$	AcOEt	MeOH	MeOH + HCl
<b>DHIm</b>					$[\text{DHIm-H}]^+$
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}/\text{nm}$	412	408	416	404	372
$\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}/\text{nm}$ ( $\Phi^{\text{fl}}$ %)	513 (1.8)	518 (1.8)	534 (1.4)	513 (2.3)	442 (7.2)
<b>DHPy</b>					$[\text{DHPy-H}]^+$
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}/\text{nm}$	402	354	382	368	351
$\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}/\text{nm}$ ( $\Phi^{\text{fl}}$ %)	380 (0.14)	440 (0.34)	443 (0.24)	435 (0.74)	402 (1.7)
<b>18Nap-pyrro</b>					$[\text{18Nap-pyrro-H}]^+$
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}/\text{nm}$	388	396	396	396	362
$\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}/\text{nm}$ ( $\Phi^{\text{fl}}$ %)	425 (34)	450 (41)	470 (15)	479 (1.6)	n.d. (n.d.)

に關係する。

分子パッキングにおいて、**DHX** はイミンを形成する窒素原子と  $\text{C}_6$  に結合する水素原子との間で分子間水素結合を形成していた。水素結合長は **DHIm-1** において 2.44 Å, **DHIm-2** において 2.54 Å, **DHPy** において 2.42 Å であり、これらの水素結合はイミン窒素の強い塩基性によって形成されたと考えられる。対照化合物の **18Nap-pyrro** のナフチリジン環中のピリミジンにおける結合長は Ring 1, 2 でそれぞれ約 1.38, 1.39 Å であり、その差は約 0.01 Å であった。この結合長の差は **DHX** と比較して小さかった。

### 2.3 吸収・発光スペクトル

**DHIm** と **DHPy** について、様々な溶媒中での吸収・発光スペクトル測定を *n*-hexane,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt, MeOH 中、100  $\mu\text{M}$  で行った。吸収スペクトルにおいて、両 **DHX** は **TFMAQ** や **18Nap** と比べ、溶媒の極性が変化しても顕著なソルバトクロミズム性は観測されず、**DHIm** では全溶媒で吸収極大波長 ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$ ) が 410 nm 付近であった。一方で **DHPy** の  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$  は弱い溶媒依存を示したが極性には非依存的で、*n*-hexane と AcOEt 中においては約 390 nm,  $\text{CHCl}_3$  と MeOH 中においては約 360 nm に観測された (Fig. 2, Table 1)。次に **DHX** の様々な溶媒中での発光スペクトル

を Fig. 2 へ示す (Table 1)。**DHIm** では、発光極大波長 ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$ ) が 513~534 nm に観測され、吸収スペクトルと同様に、弱いソルバトクロミズム性が示された。発光量子収率 ( $\Phi^{\text{fl}}$ ) は 1.4~2.3 % と低値を示した。**DHPy** では、 $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  が 380~443 nm で **DHIm** と同様に弱い溶媒依存性が観測された。さらに発光量子収率も低く、 $\Phi^{\text{fl}} = 0.14 \sim 0.74 \%$  と **DHIm** の約 1/10 の値であった。*n*-hexane 中において、 $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  が 402 nm,  $\Phi^{\text{fl}}$  が 0.14 % と非常に低い値を示したが、その他の溶媒中においては  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  が長波長側の 435~443 nm に観測され、 $\Phi^{\text{fl}}$  が 0.24~0.74 % と上昇していた。これらの挙動の違いは詳細には明らかになっていないが、*n*-hexane 中ではモノマーで存在し、*n*-hexane 以外の溶媒中においてはダイマーやオリゴマーなどの会合体や溶媒との錯形成が考えられる。

一方、**18Nap-pyrro** は、吸収及び発光スペクトルにおいて、強いソルバトクロミズム性を示し、溶媒の極性が高くなるほど  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  が長波長側にシフトした (Fig. 2, Table 1)。さらに、 $\Phi^{\text{fl}}$  は **DHX** よりも大きく、*n*-hexane,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt, MeOH ではそれぞれ 34, 41, 15, 1.6 % であった。この強いソルバトクロミズム性は、以前に報告された **18Nap** 誘導体の挙動と同様であった<sup>12)</sup>。

#### 2・4 DFT 計算：芳香族性の検証

**DHX** の吸収スペクトルから得られた電子状態を調べるため DFT 計算を行い、最高被占分子軌道 (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO) と最低空分子軌道 (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO) を算出した。さらに、時間依存密度汎関数法 (TD-DFT) を用いて、様々な溶媒中における吸収スペクトルを算出した。また、両 **DHX** の芳香族性を評価するために、NICS 値 (Nucleus-Independent Chemical Shift) を見積もった。

まず簡単に芳香族性の違いを確かめるため、**DHX** に加えプロトン化した **[DHX-H]<sup>+</sup>** の LUMO における軌道関数を調べた。アミジンの第三級窒素原子に着目し比較した結果、二つの **DHX** において、他の窒素原子に比べて小さい値であったが、**[DHX-H]<sup>+</sup>** となることで値が大きくなったことから、プロトン化が引き金となり芳香族性が增强することが示唆された。

次に TD-DFT 計算を用いて、様々な溶媒中におけるモノマー状態での吸収スペクトルの算出を行った。**DHIm** では、計算値と実測値の差  $\Delta\lambda_{\max}$  ( $\lambda_{\max}^{\text{ab,calc.}} - \lambda_{\max}^{\text{ab}}$ ) は 18~26 nm で差が小さいことから、実験で得られたスペクトルはモノマー由来であることが示唆された。しかし、**DHPy** の場合、計算で得られたスペクトルは、*n*-hexane 以外、実測値よりも大きく長波長側にシフトしていた ( $\Delta\lambda_{\max} = 23 \sim 50$  nm)。このことから、**DHPy** は *n*-hexane 以外の溶媒中においてはダイマーやオリゴマー、溶媒との錯形成などの会合状態で存在し、実測の  $\lambda_{\max}^{\text{ab}}$  はそれを反映した結果であることが確かめられた。X 線結晶構造解析の結果より比較的強い水素結合が生じていたことから、**DHX** のイミン窒素が分子間あるいは分子-溶媒間相互作用の起点となると考えられる。

**DHX** のイミン窒素原子の塩基性が相互作用の起点となることが示唆されたため、イミン窒素原子をプロトン化した **[DHIm-H]<sup>+</sup>** 及び **[DHPy-H]<sup>+</sup>** における吸収スペクトルを TD-DFT 計算で算出した。**[DHIm-H]<sup>+</sup>** 及び **[DHPy-H]<sup>+</sup>** は、中性化学種 (**DHX**) の吸収スペクトルよりも顕著な短波長シフトを示し、算出されたメタノール中における  $\lambda_{\max}^{\text{ab,calc.}}$  は **DHIm**, **DHPy** で 358 nm 及び 337 nm で、それぞれのモノマーにおける計算結果よりも 72 nm 及び 65 nm 短波長側であった。

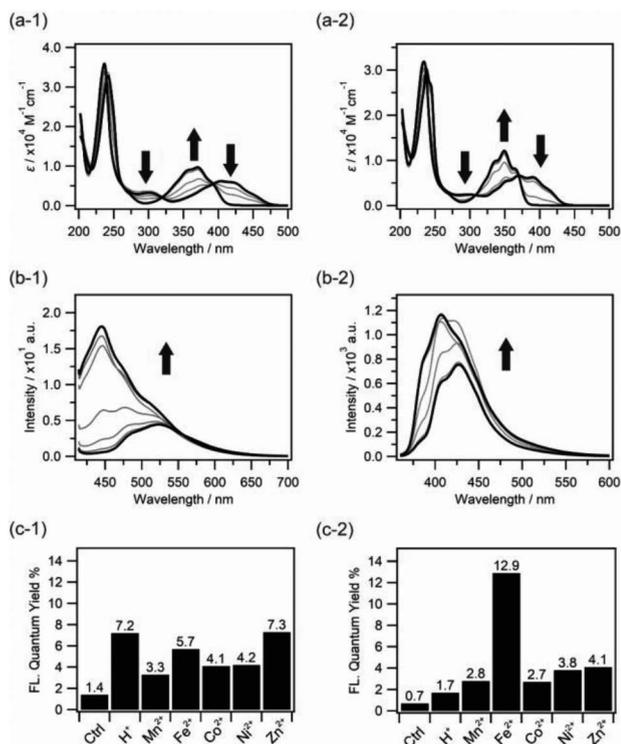
詳細にそれぞれの環の芳香族性を評価するために、DFT 計算により NICS 値を算出した。NICS(0) と (1) において、NICS(0) は 1 個のダミー原子を芳香環共平面上に配置し、NICS(1) は芳香環平面垂直方向に 1 Å 離れた位置に配置した場合の計算値である。MeOH 中では、トリフルオロメチル基を持つピリジン環である Ring 1 では、**DHIm** 及び **DHPy** の NICS(0) 及び NICS(1) が -8.4 ~ -5.8 ppm の範囲で負の値を示し、Ring 1 が十分な芳香性を示すことが示

唆された。一方、ジヒドロイミダゾール環またはジヒドロピリミジン環が縮合した Ring 2 では、NICS(0) 及び NICS(1) の値が -1.2 ~ 1.9 ppm の範囲でゼロに近い値を示し、Ring 1 に比べて芳香性が低下していることが示唆された。さらに、イミン窒素原子上でプロトン化した化合物である **[DHX-H]<sup>+</sup>** においては、Ring 1 の NICS(0) 及び NICS(1) が -10.8 ~ -8.8 の範囲で算出され、Ring 2 の NICS(0) 及び NICS(1) が -6.0 ~ -3.8 の範囲で算出された。したがって、プロトン化された **[DHX-H]<sup>+</sup>** は中性化学種 **DHX** と比較して、より負の NICS 値が算出され、**DHX** はプロトン化されることによってナフチリジン骨格全体において芳香性が增大することが計算結果として得られた。これらの DFT による結果は、先に述べた **DHX** と **18Nap-pyrro** のナフチリジン環を成す原子同士の平均結合距離が異なるという X 線結晶構造解析の結果からも支持された。また、<sup>1</sup>H-NMR のケミカルシフト値の違いを **DHX** とトリフルオロ酢酸でプロトン化した **[DHX-H]<sup>+</sup>** で比較した結果、**[DHX-H]<sup>+</sup>** が低磁場シフトした実験結果からも、プロトン化による芳香族性増大が確かめられた。

#### 2・5 酸応答性：プロトン化及び金属錯体

DFT 計算より、プロトン化が引き金になって芳香族性が增大されることが示された。実験的に証明するため、プロトンヤルイス酸である金属との錯形成に伴う発光増強を期待して、プロトン、金属共存下における吸収と発光スペクトル変化について調べた。**DHIm** と **DHPy** の吸収スペクトルでは、MeOH 溶液中に HCl 溶液を添加すると、それぞれ 404 nm と 368 nm に  $\lambda_{\max}^{\text{ab}}$  を持つ元の中性分子の吸収が消失し、等吸収点を示しながら 372 nm と 351 nm に新たな吸収が出現した (Fig. 3a, Table 1)。これらのスペクトル変化はプロトン化前と比較し、ブルーシフトシフトしており、DFT 計算で得られた結果と一致し、**[DHX-H]<sup>+</sup>** の形成を示唆している。また、発光スペクトルにおいてもブルーシフトしており、**DHIm** 及び **DHPy** でそれぞれ  $\lambda_{\max}^{\text{fl}}$  は 442 nm 及び 402 nm に観測された (Fig. 3b, Table 1)。さらに、 $\phi^{\text{fl}}$  は **[DHIm-H]<sup>+</sup>** と **[DHPy-H]<sup>+</sup>** において、それぞれ 7.8 % と 1.7 % まで増大した。これらの値は、プロトン化前の **DHX** の場合と比べて約 5 倍と 2 倍であった。一方で **18Nap-pyrro** においては、プロトン化によって **[18Nap-pyrro-H]<sup>+</sup>** が形成され、アミノ基によるドナー性が消失するため、発光消光が生じるといった、これまでに報告されている **18Nap** 誘導体と同様の挙動が見られた<sup>5)6)</sup>。

ルイス酸である Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) の 5 種類の金属イオンを用いて、吸収と発光の変化をモニターした。100  $\mu\text{M}$  (**[DHX]<sup>+</sup>** + **[M<sup>II</sup>]**) の MeOH 溶液の吸収スペクトルの変化を用いて Job's Plot を行い、金属に対する配位数を調べた<sup>13)</sup>。その結果メタノール中、**DHX** と金属



**Fig. 3** Absorption (a) and fluorescence (b) spectral changes upon adding HCl solutions in the range of 0 ~ 27  $\mu\text{M}$  into 100  $\mu\text{M}$  MeOH solutions for **DHIm** (a-1 and b-1) and **DHPy** (a-2 and b-2). (c) Changes in the fluorescence quantum yields of **DHIm** (c-1) and **DHPy** (c-2) in methanol solutions with various acids. Numerical number on the histogram indicate  $\Phi^{\text{fl}}$  values.

イオンとの錯形成におけるモル比は 1:1 と推定されたが、これらの錯体の構造（八面体、四面体、平面四角形など）はまだ決定されていない。また、錯形成による発光への影響を調べるために、 $\text{DHX}/\text{M}(\text{II}) = 1:10$  のモル比で調製したメタノール溶液を用いて発光量子収率測定を行った。**DHIm** では、 $\Phi^{\text{fl}}$  は 3.3 ~ 7.3 % となり、金属イオンを含まない場合の 2 ~ 4 倍の大きさとなった (Fig. 3c-1)。さらに、**DHPy** においても、 $\Phi^{\text{fl}}$  は金属イオンの共存によって顕著に増強され (Fig. 3c-2)、特に Fe(II) の場合、 $\Phi^{\text{fl}}$  は 12 % 以上になり、Fe(II) を含まない場合の約 20 倍になった。この Fe(II) による顕著な  $\Phi^{\text{fl}}$  の増大については大変興味深く、現在詳細を検討中である。

### 2.6 分子設計: イミダゾナフチリジン<sup>14)</sup>

**DHX** の酸性条件下における発光変化は顕著であった一方で、 $\Phi^{\text{fl}}$  が低いことや発光が短波長であり、バイオイメージングプローブとして展開するためには課題である。それらを改善するために **DHIm** におけるジヒドロイミダゾール環から芳香族性を与えたイミダゾール環を持つイミダゾナフチリジン骨格へと  $\pi$  拡張し、 $\Phi^{\text{fl}}$  の上昇、発光の長波

長化を期待し、**INA** 並びにドナー性置換基を導入した **INA-AN**、**INA-DMA** をそれぞれ合成した (Fig. 1)。

### 2.7 イミダゾナフチリジン誘導体の基本的分光特性

得られたイミダゾナフチリジン誘導体の様々な溶媒中における吸収、発光スペクトルを測定した。

**INA** における  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$ 、 $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  はそれぞれ 361 ~ 388 nm、449 ~ 506 nm に観測された。様々な溶媒中で  $\Phi^{\text{fl}}$  が 62.8 ~ 84.9 % と非常に高い値を示しており、 $\pi$  拡張による芳香族性の上昇及び構造の剛直性の上昇が寄与していると考えられる。一方で **DHIm** より短波長発光であり、先に挙げた課題の長波長化は達成されなかった。

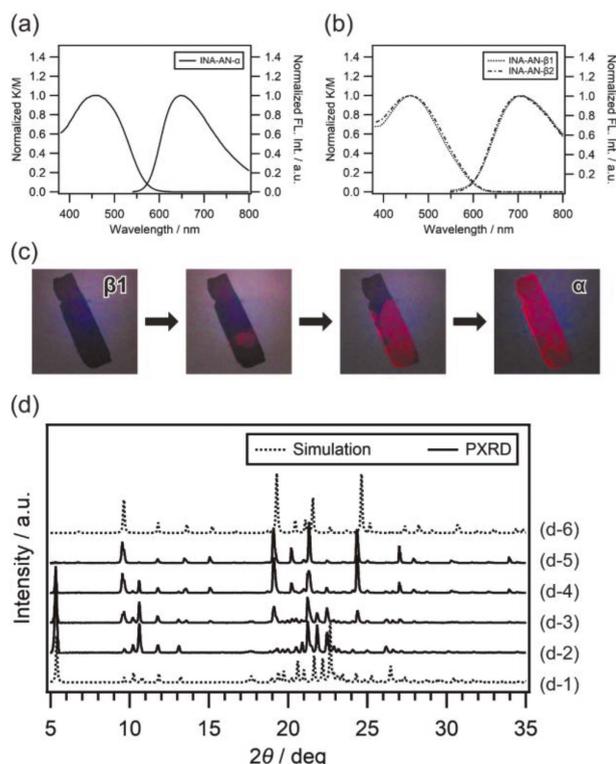
ドナー性置換基であるアニリノ基をイミダゾール環に導入した **INA-AN** における  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$ 、 $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  はそれぞれ 420 ~ 440 nm、608 ~ 790 nm、さらに強力なドナー性置換基、*N,N*-ジメチルアミノフェニル基を導入した **INA-DMA** ではそれぞれ 444 ~ 463 nm、537 ~ 653 nm に観測された。両誘導体で  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  がメタノール中において 600 nm 以上であり、発光波長の長波長化に成功した一方で、**INA** と比較すると  $\Phi^{\text{fl}}$  が著しく減少する結果となった。これは導入したフェニル基の自由回転による励起状態でのエネルギーロスやアミノ基による強いドナー性が影響していると考えられる。置換基のドナー性を低下させること、もしくはなくすことで **INA** のように  $\Phi^{\text{fl}}$  が上昇すると推測されるが、 $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  はブルーシフトすることが予想され、トレードオフの関係となる。現在この課題を克服するため、**INA** を基盤とした長波長発光及び高発光量子収率の実現に向け、ドナー性置換基や発光団の改良を続けている。

### 2.8 イミダゾナフチリジンの発光変化を伴う加熱結晶相転移現象

現在、溶液中における長波長化と高い量子収率の両立は実現されていないが、イミダゾナフチリジン誘導体の結晶状態において興味深い結晶相転移が観測されたため、本稿で一部紹介する。

**INA-AN**、**INA-DMA** についてそれぞれ再結晶により単結晶が得られ、単結晶 X 線構造解析を行った。

**INA-AN** は室温下、*n*-hexane/AcOEt 共溶媒に溶解させ、ゆっくりと溶媒を蒸発させることにより、**INA-AN- $\alpha$** 、**INA-AN- $\beta$ 1** の 2 種類の多形を得た。**INA-AN- $\alpha$**  (No.88) の **INA-AN- $\beta$ 1** は *Pc* (No.7) の空間群であり、前者は  $Z' = 1$  で反転対象を有し、後者は  $Z' = 4$  で反転対象を持たない。**INA-AN- $\alpha$**  及び **- $\beta$ 1** における固体吸収、固体発光スペクトルを測定した結果、**INA-AN- $\alpha$**  の  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$  及び  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  はそれぞれ 458、649 nm で  $\Phi^{\text{fl}}$  は 2.3 % であった。一方で **INA-AN- $\beta$ 1** における  $\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$  及び  $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$  はそれぞれ 462 nm、703 nm であり、 $\Phi^{\text{fl}}$  は著しく小さく、0.1 % 以下でほぼ無



**Fig. 4** (a-b) Diffuse reflection and fluorescence spectra of **INA-AN- $\alpha$** ,  **$\beta$ 1** and  **$\beta$ 2** in the solid state. (c) Monitoring of the single-crystal transformation through a microscope under UV irradiation (365 nm). (d) PXRD patterns at 23 °C; (d-1) simulation of the SXRD results of **INA-AN- $\beta$ 1**; (d-2) the polycrystals of **INA-AN- $\beta$ 1** before heating; the polycrystals of **INA-AN- $\beta$ 1** after heating for (d-3) 5 and (d-4) 10 min; (d-5) the polycrystals of **INA-AN- $\alpha$**  before heating; (d-6) simulation of the SXRD result of **INA-AN- $\alpha$** .

発光であった (Fig. 4a-b).

**INA-AN** は結晶状態において大変興味深い熱的挙動を示し、無発光性の **INA-AN- $\beta$ 1** を約 180 °C で加熱すると発光性の **INA-AN- $\alpha$**  へ結晶相転移することが確認された (Fig. 4c-d). **INA-AN- $\beta$ 1** を約 180 °C で加熱した過程を粉末 X 線回折測定 (Powder X-Ray Diffraction, PXRD) でモニターし、単結晶 X 線構造解析で得られた **INA-AN- $\alpha$**  及び  **$\beta$ 1** のシミュレーション回折パターンと比較すると、加熱によって回折パターンが **INA-AN- $\beta$ 1** から **INA-AN- $\alpha$**  へと徐々に変化の様子が観測された (Fig. 4d). この加熱相転移は UV 照射下において、肉眼でも観察することが可能であり、加熱によって徐々に発光する部分が広がり、最終的には結晶全体が発光を示す、すなわち、無発光性の **INA-AN- $\beta$ 1** から発光性の **INA-AN- $\alpha$**  への転移が示された (Fig. 4c).

結晶転移について詳細に理解するため、**INA-AN- $\alpha$**  及び **INA-AN- $\beta$ 1** について示差走査熱量 (Differential Scanning Calorimetry, DSC) 測定及び PXRD 測定を行った。 **INA-**

**AN- $\alpha$**  を 0 ~ 230 °C (5 °C/min) の範囲で 3 サイクル DSC 測定を行ったところ、1st サイクルで 204 °C に吸熱ピークが観測され、3rd サイクルにおいては吸熱ピークが 192 °C に観測された。 DSC 測定後のサンプルをそのまま PXRD 測定を行い、 **INA-AN- $\beta$ 1** の単結晶 X 線構造解析によるシミュレーション回折パターンと比較したところよく一致した。 **INA-AN- $\beta$ 1** についても同条件で DSC 測定を行ったところ、1st サイクルで 207 °C に吸熱ピークが観測され、3rd サイクルにおいては吸熱ピークが 190 °C に観測された。 また、PXRD 測定では DSC 測定後の回折パターンは **INA-AN- $\beta$ 1** のシミュレーション回折パターンと比較したところよく一致した。

しかしながら、DSC 測定後の試料をホットプレート上で約 180 °C に加熱し観察したところ、 **INA-AN- $\beta$ 1** で観察された **INA-AN- $\alpha$**  への転移は観測されなかった。 したがって、DSC 測定により融解-再結晶を繰り返された固体試料は PXRD 測定では **INA-AN- $\beta$ 1** との回折パターンとよく一致するが、 **INA-AN- $\beta$ 1** と比較して加熱下においては **INA-AN- $\alpha$**  への相転移過程が異なることが明らかとなった。 この加熱条件下における挙動の違いにより、DSC 測定によって得られた結晶試料を **INA-AN- $\beta$ 2** として区別できる。

**INA-AN- $\beta$ 2** の単結晶 X 線構造解析から、 **INA-AN- $\beta$ 1** と  **$\beta$ 2** における結晶学的パラメータはよく一致していたものの、小さいながらも分子内における結合長や結合角がそれぞれ異なり、それに基づく分子間近接や相互作用も異なっていた。 **INA-AN- $\beta$ 1** と  **$\beta$ 2** の結晶中における加熱相転移現象の違いは、これら微妙なコンホメーションの違いに起因していると考えている。

## 2・9 酸応答型まとめ

著者らは三環式アミジン誘導体 **DHX** を用いて、プロトンなどの酸や金属イオンに応答する二つの新規 Turn-On 型発光プローブである **DHIm** と **DHPy** を見いだした。 両 **DHX** の X 線結晶構造解析では、イミン窒素原子と  $C_6$  原子に結合する水素原子との分子間水素結合によって生じる二量体またはポリマー構造が観測され、イミン窒素原子が比較的強い塩基性を持つことが示唆されるものの、溶液中の発光は弱かった。 一方、 **18Nap-pyrro** は **DHX** に比べて強い発光を示し、ソルバトクロミズム性を示した。 プロトンを添加した場合、 **[DHX-H]<sup>+</sup>** が形成され、 **DHIm** と **DHPy** の  $\Phi^{\text{fl}}$  は添加前に比べてそれぞれ約 5 倍と 2 倍に増大した。 さらに、ルイス酸である M(II) イオンを添加すると、 **[DHX-M]<sup>2+</sup>** の生成に伴い、顕著な発光増加が観測され、約 2 ~ 20 倍の  $\Phi^{\text{fl}}$  であった。 一方、 **18Nap-pyrro** はプロトンによって消光された。 DFT 計算では、対応する環の芳香族性を NICS 値から見積もった。 プロトン付加前は、ジヒドロイミダゾール環やジヒドロピリミジン環に隣接する環 (Ring 2)

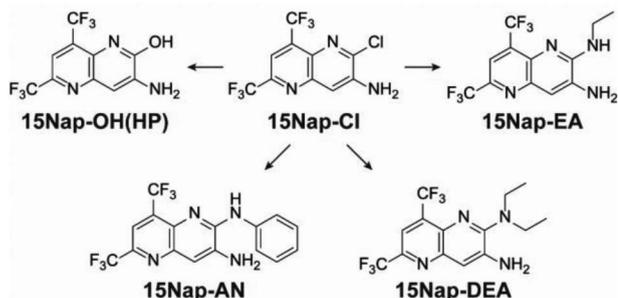


Fig. 5 Molecular structures of 15Nap derivatives

は芳香族性が低かったが、付加後は芳香族性の向上が見積もられ、芳香族性の増強が  $\Phi^{\text{I}}$  の増強を引き起こしていることが示唆され、実験結果と一致した。この芳香族性増強に由来する Turn-On 型蛍光発光機構は、これまで報告されている PET, AIEE, TICT に分類されるものではない。さらに、プロトン化後順次化学反応を起こす機構にも属さない<sup>15)16)</sup>。著者らの知る限り、芳香族性の変化を利用した Turn-On 型発光分子は、本報告が初めての例である。この発光挙動は低 pH 環境である腫瘍組織やリソソームなどにおけるイメージングや金属に対する発光センサーとしての応用が期待される。

$\lambda_{\text{max}}^{\text{I}}$  の長波長化及び  $\Phi^{\text{I}}$  の上昇を期待して DHIm を  $\pi$  拡張し、加えてドナー性置換基の導入を行った INA-AN, INA-DMA について吸収・発光特性を調べた結果、長波長化と高量子収率のトレードオフは解消されておらず、実用的なバイオイメージングプローブとしての課題が残されている。現在、実用化に向けた前述の課題克服のため、分子設計の改良を進めている。

### 3 塩基応答性: アミン類検出薬

#### 3.1 分子設計

酸応答性については芳香族性の制御に着眼し、プロトンやルイス酸である金属イオンに対して応答する Turn-On 型発光プローブの開発について説明した。塩基応答性については、アミン類に対して励起状態で錯体 (エキサイプレックス) 形成する検出試薬並びに塩酸塩に対して酸塩基反応により色調変化する検出試薬について報告する。

芳香族 1 級アミン検出には津田試薬が、アミノ酸検出にはニンヒドリン試薬やオルトフタルアルデヒドが広く使われている。これらの試薬は定量的な化学反応によって検出試薬と対象化合物との間に共有結合が生じ色調変化や発光誘導されており、共有結合生成のため検出試薬の再利用は難しい。今回報告する 2 種類の方法は、アミン類に対して共有結合を生じることなく応答して発光または色調変化するため、元となる検出試薬を再利用することが可能である。

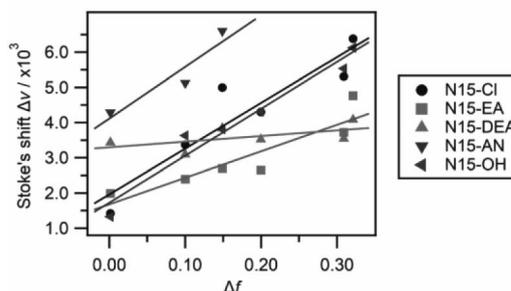
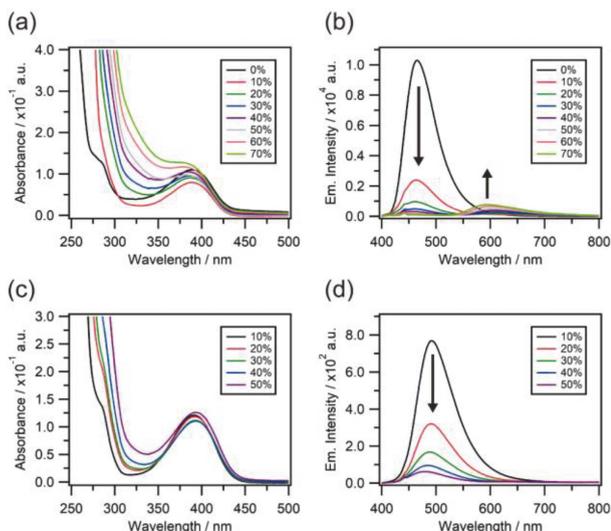


Fig. 6 Lippert–Mataga plot of 15Nap derivatives. Marks and lines colored black, orange, green, blue, and purple indicate 15Nap-Cl, -EA, -DEA, -AN, and -OH, respectively. The solid lines are the least-squares fittings.

#### 3.2 エキサイプレックス型<sup>17)</sup>

1,5-ナフチリジン骨格に電子ドナー性とアクセプター性置換基を導入した 15Nap-Cl は、溶媒の極性に依存して吸収と発光が変化するプッシュプル型発光物質である (Fig. 5)<sup>17)</sup>。また、15Nap-Cl のクロロ基は求核剤によって容易に置換され、エチルアミン、ジエチルアミン、アニリンやヒドロキシル基に対して、それぞれ 15Nap-EA, -DEA, -An や -OH が生成し、15Nap-Cl と同様な溶媒極性に依存した発光変化を示す。これら 5 種類の誘導体について ICT の寄与を求めるため、溶媒の配向分極率  $\Delta f$  に対するストークスシフト  $\Delta\nu$  の関数で表される Lippert–Mataga プロット (Fig. 6) を作成し、その傾きを基に励起状態と基底状態の分極率の差  $\Delta\mu$  を求めた<sup>18)</sup>。15Nap-Cl, -EA, -An と -OH はそれぞれ、 $\Delta\mu = 13.0, 10.0, 15.4$  と  $12.9$  D となり、TFMAQ (8.1 D) や 18Nap (4.6 D) よりも大きいことから、容易に ICT 状態を形成しやすいことが分かった。一方誘導体の中で、15Nap-DEA のみ 4.3 D と著しく値が低下した。15Nap-DEA は他の誘導体と比べジエチルアミノ基の立体的な高さにより、ナフチリジン平面に対してツイスト状態をとることが困難であるため、小さい  $\Delta\mu$  値を有していると考えられる。興味深いことに、15Nap-Cl をトリエチルアミン (TEA) 中で測定した結果、Lippert–Mataga プロットから得られる傾きに対して大きく逸脱し、吸収極大波長は他の溶媒とほとんど変わらないものの、発光極大波長では 600 nm 付近の領域に確認され、溶媒の極性に非依存的な現象が生じていることが示唆された。

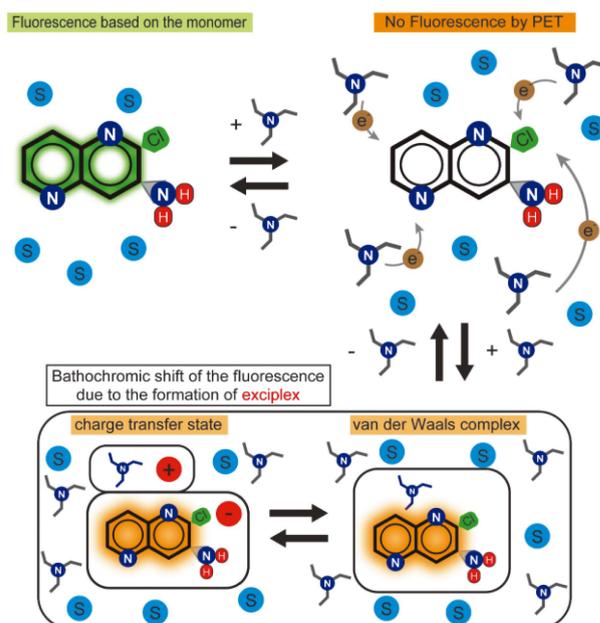
そこで TEA 中で観測された長波長発光について詳細に検討するため、15Nap-Cl の吸収・発光挙動を 1,4-ジオキササンや THF などの非プロトン性極性溶媒及びプロトン性のメタノール中で、TEA の割合を変化させスペクトル測定を行った。その結果、非プロトン性溶媒中では TEA の割合を増加させることで、460 nm 付近の発光強度が低下するとともに、600 nm 付近の発光強度が増加することが分



**Fig. 7** Absorption (a) and fluorescence (b) spectral changes in THF for **15Nap-Cl** in the absence and the presence of TEA. Percentages indicate the volume ratio of TEA with respect to THF. Absorption (c) and fluorescence (d) spectral changes in MeOH for **15Nap-Cl** in the absence and presence of TEA. Percentages indicate the volume ratio of TEA to MeOH.

かった (Fig. 7). 一方吸収極大波長には違いが観測できなかったことから、励起状態で特異的に生じる現象であることが示唆された。次に、プロトン性のメタノール中で TEA の割合を変えて吸収と発光の変化を追跡した。その結果、460 nm 付近の発光強度低下は観測されたものの、600 nm 付近の発光は観測できず、励起状態での溶媒効果が示唆された。以上のことから、極性溶媒中では **15Nap-Cl** と TEA との間で、**15Nap-Cl** を電子アクセプター (A)、TEA を電子ドナー (D) とする励起状態でエキサイプレックス [**15Nap-Cl**·TEA] が生成していると考えた (Fig. 8)<sup>19</sup>。短波長領域に観測される発光成分は、局所的に励起した **15Nap-Cl** に基づく発光で、長波長発光成分はエキサイプレックス形成に基づく発光である。またメタノール中で長波長成分が観測されず、加えて短波長が消光されていく過程は、メタノールの影響によるエキサイプレックス生成の抑制、さらに極性溶媒効果による Photoinduced Electron Transfer (PET) が生じていたためと考えられる。Tramer らはエキサイプレックス生成について<sup>20</sup>、 $D^+$  と  $A^-$  から生じる ICT 状態から 3 種類に分類されると報告し、下記の式(1)のようにイオン化ポテンシャル ( $I_D$ )、電子親和力 ( $E_A$ ) と励起一重項状態における再安定化エネルギー ( $\epsilon_A$ ) から計算される  $\Delta E$  の大きさを分類の指標としている。

$$\Delta E = I_D + E_A - \epsilon_A \quad (1)$$



**Fig. 8** Schematic of the PET mechanism and the formation of the exciplex for **15Nap-Cl** in the presence of TEA

[**15Nap-Cl**·TEA] は、 $\Delta E$  値が 2.16 eV であり、 $D^+$  と  $A^-$  の相互作用の強さは中程度で、ペリレン (Pryl) と *N,N*-ジメチルアニリン (DMA) から得られるエキサイプレックス [Pryl·DMA] やアントラセン (Ant) と DMA から成るエキサイプレックス [Ant·DMA] と同程度の強さであった。

エキサイプレックス生成を理論的に確かめるため、TD-DFT 計算によって  $D^+$  と  $A^-$  の近接距離と発光波長変化の相関性を調べた (Fig. 9)。15Nap-Cl の真上に TEA を配置し THF 中で再安定化構造を求めた結果、3.125 Å の距離でエキサイプレックスは生成し 658 nm の発光が見積もられた。実験的に得られた波長と 50 nm 程度差が生じていたため、近接距離が 3.153 Å である 2 番目に安定なエキサイプレックスで発光波長を見積もったところ、波長が 630 nm でより実験値に近かった。以上のことから、15Nap-Cl と TEA とはエキサイプレックスを形成し、600 nm 程度の長波長発光を示すことが確かめられた。

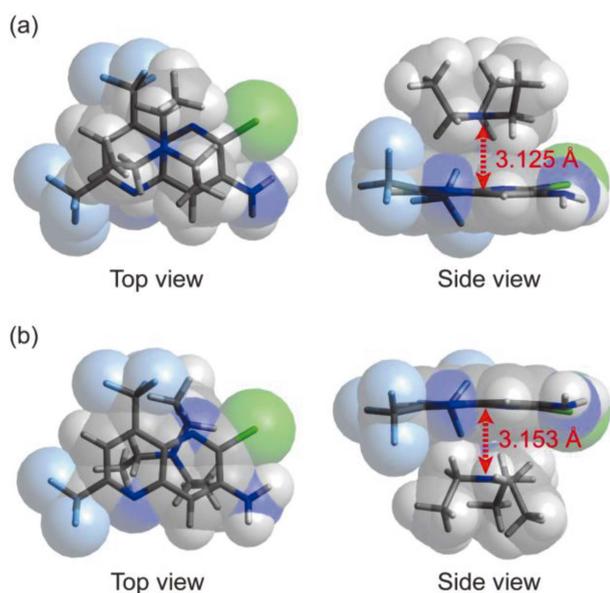
さらに 15Nap-Cl に対してドナーを TEA からジエチルアミン (DEA) やエチルアミン (EA) に変えて同様にスペクトル測定を行った。その結果、DEA に対しては TEA と同様なエキサイプレックスの生成 ([15Nap-Cl·DEA]) が確認され、エキサイプレックスに基づく発光波長は 10 nm 程度 TEA 錯体よりレッドシフトした。一方で EA に対しては、異なる挙動が観測され、他のドナーでは観測されなかった吸収増強が EA の割合を増やすことで観測された。これは 15Nap-Cl と EA との間で置換反応が生じ、クロロ基が EA と置き換わった生成物 15Nap-EA が一部生じていたことが原因である。したがって励起状態では、[15Nap-Cl·EA] と

[15Nap-EA·EA] との混合物が存在し, それらに基づく発光は, [15Nap-Cl·TEA] と比べて 10 nm 程度ブルーシフトした. 以上のように, ドナーであるアミン類を変化させることによって, 異なる発光波長が得られることが明らかとなり, このことを利用できれば異なるアミン類認識のための検出試薬として展開できると考えた.

### 3.3 エキサイプレックス型を使った簡易検出キットの作成

アミン類認識のための簡易検出キットを作成するため, ポリメタクリル酸メチル (PMMA) 中に 10 wt% の 15Nap-

Cl を加えた薄黄色の透明樹脂を作成した. 得られた樹脂に対して, 上記で述べた EA, DEA, TEA に加えジアミン類, 環状アミン類や芳香族アミン類など様々な種類のアミン類, シクロヘキサンジアミン (CHDA), ヘキシルアミン (HA), ジヘキシルアミン (DHA), パラヘキシルアニリン (*p*-HA) を選び, 樹脂中にアミン類を滴加することで生じる発光変化を観察した (Fig. 10). その結果, 滴加したアミン類の種類によってエキサイプレックスの種類や形成程度が異なるため, 発光色が青色から深い赤色まで様々に変化していた. 今回, エキサイプレックス形成を基盤とする研究から, アミン類を識別可能な簡易検出キット作成へ展開することができた.

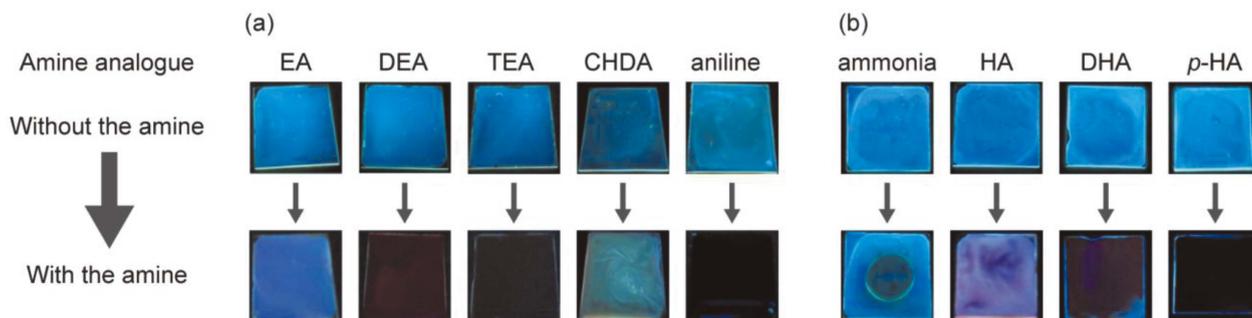


**Fig. 9** Calculated molecular structures of the S1 excited states of [15NapCl-TEA]

The most stable (a) and second most stable (b) structures. The numerical numbers indicate the shortest distance between 15Nap-Cl and TEA within the exciplex.

### 3.4 塩酸塩型<sup>21)</sup>

TFMAQ を増環したベンゾキノリン誘導体 (BQ) は,  $\pi$  拡張されているため TFMAQ に比べて長波長吸収・発光が期待される. BQ は増環の位置によって 2 種類の異性体である直線型 (Linear) とねじれ型 (Angular) が得られる (Fig. 11). さらに, これら異性体のアミノ基にドナー性のフェニル基を導入することによって吸収・発光の長波長化が可能で, 合成した 6 種類の誘導体 BQL, -Ph, -diPh 並びに BQA, -Ph, -dPh について溶液中と固体中での吸収・発光測定を行った. X 線結晶構造から BQL は高い平面性を有していたが, BQA はベンゾキノリン環がお椀型に歪んでおり, 歪み角は 6° 程度であった. そのため p 軌道の重なりが BQL に比べて小さくなり, Fig. 12 に示すように様々な溶液中での発光は, BQL 誘導体の方が長波長を示した. 固体中では, 分子のパッキングによる影響も加味されるため溶液中とは若干異なる吸収・発光挙動が観測されたが, おおむね BQL 誘導体のほうが長波長の吸収・発光を示した (Fig. 12). 繰返しになるが, BQL と BQA はプッシュプル型であるため, アミノ基のドナー性が吸収・発光に対して強く影響を及ぼす. ドナー性置換基のフェニル基を導入



**Fig. 10** Photographs of glass plates coated with 15Nap-Cl in the absence (top) and presence (lower) of amines (a) From left to right: ethylamine (EA), diethylamine (DEA), trimethylamine (TEA), 1,2-trans-cyclohexyldiamine (CHDA), and aniline. (b) From left to right: ammonia, hexylamine (HA), dihexylamine (DHA), and *p*-hexylaniline (*p*-HA). The photographs were taken under 345 nm UV irradiation.

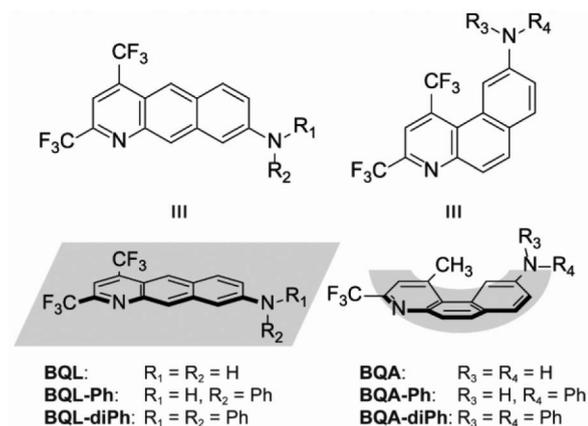


Fig. 11 Molecular structures of **BQL**, **-Ph**, **-diPh**, **BQA**, **-Ph**, and **-diPh**

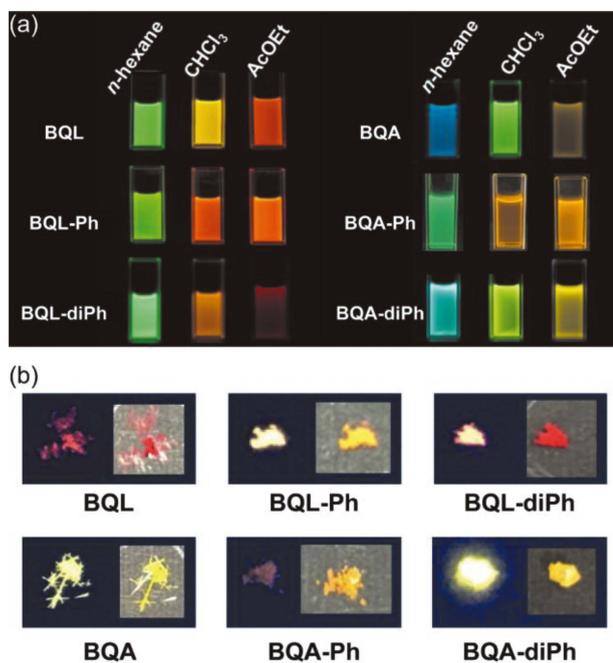


Fig. 12 (a) Photographs taken under UV light (365 nm) in *n*-hexane, chloroform, and ethyl acetate. (b) Images of crystalline samples taken under room and UV lighting (365 nm).

した **BQL-Ph**, **-diPh** 並びに **BQA-Ph**, **-diPh** は、無置換の **BQL** や **BQA** に比べて長波長側に吸収・発光を有する。そこで、アミノ基をプロトン化することによってドナー性を喪失させた場合の吸収と発光挙動について調べた。メタノール中に塩酸を加え、吸収・発光を調べた結果、アミノ基と塩酸による塩酸塩生成にもなって、無色・無発光となった。

### 3.5 塩酸塩型を使った簡易検出キットの作成

この塩酸塩生成過程の酸塩基反応を利用したアミン類簡易検出キットを作成するため、赤色に着色している **BQL**

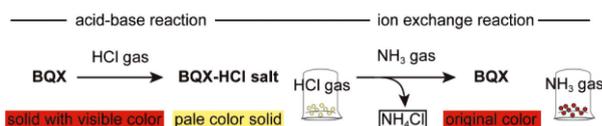


Fig. 13 Schematic of an ammonia sensor taking advantage of the acid-base reaction between **BQX** (X = L and A) and HCl, and the ion-exchange reaction between **BQX-HCl** and NH<sub>3</sub>

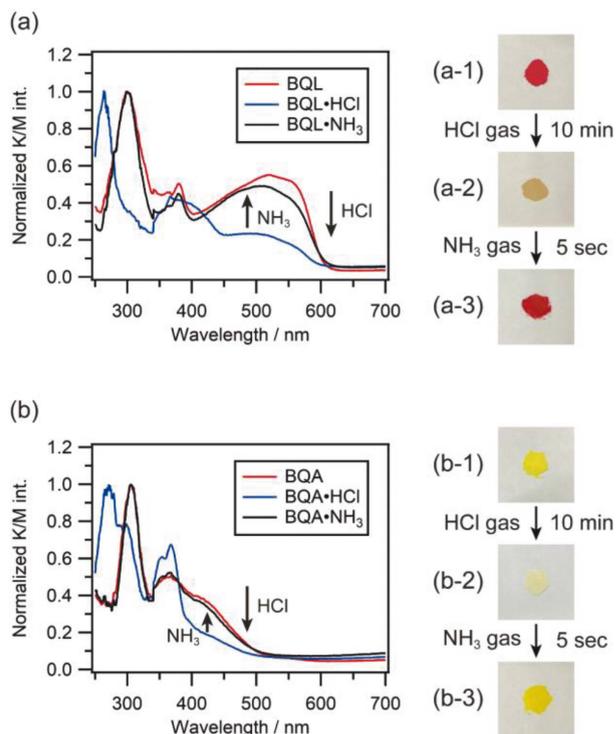


Fig. 14 Solid-state spectral changes and photographs before and after exposures to HCl gas and NH<sub>3</sub> gas for (a) **BQL** and (b) **BQA** diluted by KBr (2 wt %). In the spectra, reddish, bluish, and black solid lines represent **BQX** after exposure to HCl and the resulting **BQX-HCl** after exposure to NH<sub>3</sub> gas. In the photographs, top (a or b-1), middle (a or b-2), and bottom (a or b-3) panels represent **BQX** after exposure to HCl gas for 10 min and the resulting **BQX-HCl** salt after exposure to NH<sub>3</sub> gas for 5 s.

と黄色に着色している **BQA** をそれぞれ KBr で希釈して粉末とし、HCl 蒸気暴露で生成する塩酸塩の色調変化と、得られた塩酸塩に対してのアンモニア蒸気暴露前後での色調変化を調べた (Fig. 13). HCl 蒸気暴露前の **BQL** は赤色で **BQA** は黄色を呈していたが、HCl 蒸気暴露によって速やかに色調が変化し、ほぼ無色の薄黄色に着色した粉末となり、塩酸塩生成が示唆された (Fig. 14). 固体拡散反射スペクトル変化から、HCl 暴露によって **BQL** の 550 nm 付近の吸収、**BQA** の 420 nm 付近の吸収が減少していたことから (Fig. 14), 反応によりそれぞれ **BQL-HCl**, **BQA-HCl** の生

成が確かめられた。次に塩酸塩の粉末をアンモニア蒸気暴露した結果、速やかに色調が変化し **BQL·HCl** は赤色へ、**BQA·HCl** は黄色へと誘導体オリジナルの色調に回復した。スペクトルにおいても、それぞれ可視領域の吸収が回復していたことから、脱塩によって **BQL** と **BQA** が再生成した。以上のように、プッシュプル型のベンゾキノリン誘導体を HCl 暴露することによって得られる塩酸塩を利用して、アミン類を検出できる簡易検出キットを作成することができた。この簡易検出キットは、単純な可逆的酸塩基反応を利用しているため、元となるベンゾキノリン誘導体は再利用可能で、ニンヒドリン試薬や津田試薬によるジアゾ化とは一線を画する手法である。

#### 4 結 語

著者らは今までにプッシュプル型発光物質を使って、様々な外部刺激に応答した発光挙動について報告してきた。今回、酸塩基に応答する 3 種類の検出試薬について概説した。

酸応答性については、ジヒドロイミダゾリルナフチリジン **DHIm** とジヒドロピリミジルナフチリジン **DHPy** のプロトン化で生じる芳香族性の変化に着眼した。プロトンやルイス酸である金属イオンが **DHIm** または **DHPy** の窒素原子に付加することによって、ナフチリジン環の芳香族性が増大し、発光も増強された。このような酸に応答し芳香族性が増大することを引き金とした、Turn-On 型の検出試薬の報告例は初めてである。しかしながら、**DHIm** または **DHPy** は潜在的に発光量子収率が低いうえ、発光波長が短波長である問題点があり、これらを解決するために **DHIm** を  $\pi$  拡張したイミダゾナフチリジン誘導体 **INA** を用いて、現在溶液中の発光特性を調査中である。先に述べた **INA** の多形間における、加熱結晶相転移は大変興味深いのが、それに加え予備の結果であるが、**INA-AN**, **-DMA** が特定の金属イオンや pH に対して特異的に応答し、10 倍以上の発光増強する系を見いだしている。今後詳細な研究結果について改めて報告したい<sup>22)</sup>。

塩基応答性については、共有結合を形成しない化学反応を利用した 2 種類の検出試薬について報告した。プッシュプル型 **15Nap-Cl** はアミン類に対してエキサイプレックスを形成し、発光はレッドシフトする。アミンの種類によって得られるエキサイプレックスが異なること、さらに **15Nap-Cl** のクロロ基と置換反応が生じる場合があることから、発光挙動はアミン類によって変化する。この性質を利用して PMMA 樹脂中に **15Nap-Cl** を混合することによって、簡易検出キットを作成した。キット中の樹脂にアミン類を滴加することでエキサイプレックスが生成し、発光色がアミン類に依存して変化する。キット作成は達成できた。一方問題点として、エキサイプレックス生成には大量のア

ミンが必要であり、今後はプッシュプル型発光物質を再デザインし、より効果的なアミン類を識別可能なシステム構築を目指していく。

二つ目としてプッシュプル型ベンゾキノリン誘導体 (**BQ**) を使ったアミン応答性について報告した。直線型の異性体である **BQL** は電子効果とパッキング効果によって結晶色、発光色、並びに極性溶媒中での吸収・発光はすべて赤色を呈する。この赤色溶液に塩酸を加えると酸塩基反応によって塩酸塩の沈殿が生じる。ドナー性置換基であるアミノ基がプロトン化することでドナー性は消失するため、色調は無色となり発光は消光する。この単純な酸塩基反応を利用した簡易検査キット作成のため、**BQL** を KBr で希釈した粉末を準備した。赤色 **BQL** 粉末を HCl 蒸気に暴露させると、速やかに反応し無色に近い薄黄色となる。さらに得られた塩酸塩に対してアンモニアを暴露すると速やかに酸塩基反応し、色調も発光も回復し、赤色を示す。

上記の二つのアミン認識検査試薬は、アミノ酸検出に用いられるニンヒドリン試薬や芳香族 1 級アミンに対する津田試薬などと異なり、アミン類に対して共有結合をつくることなく可逆的に発光色や呈色に変化する検査試薬であり、再利用可能である。塩酸塩を使った検査薬は様々な用途への展開が期待され、共役酸の pKa を精密にチューニングすることによって、例えば先にも述べたニンヒドリン試薬の代替検査試薬として<sup>23)24)</sup>、さらにはエタノール中の不純物のメタノールを検出する検査試薬などへ応用が期待される<sup>25)</sup>。今後もプッシュプル型物質を軸に、様々な外部刺激に応答して呈色や発光が変化する、生体プローブ、検出試薬や材料を開発していきたい。

#### 謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金「基盤研究 (C)」(S. K.: 19K07016)、日本薬学会長井記念薬学研究奨励金 (S. M.: N-212901)、コーセーカスタムロジック研究助成 (S. K.) の支援によりなされたことを付記し、ここに謝意を表します。

(平成 30 年 9 月 6 日, 第 29 回基礎有機化学討論会, 令和 1 年 9 月 26 日, 第 30 回基礎有機化学討論会, 令和 2 年 3 月 26 日, 日本薬学会第 140 年会, 令和 3 年 9 月 2 - 3 日, 第 33 回バイオメディカル分析科学シンポジウム及び令和 3 年 9 月 21 日, 第 31 回基礎有機化学討論会, *J. Org. Chem.*, **84**, 6612, (2019), *Cryst. Growth Des.*, **21**, 5251, (2021), *Chem. Eur. J.*, **25**, 14943, (2019) 及び *J. Org. Chem.*, **85**, 13177, (2020) において、一部発表)

#### 文 献

- 1) K. Kudo, A. Momotake, Y. Kanna, Y. Nishimura, T. Arai: *Chem. Commun.*, **47**, 3867 (2011).
- 2) J. Zhang, Z. C. Smith, S. W. Thomas 3rd: *J. Org. Chem.*, **79**, 10081 (2014).
- 3) H. Yamada, Y. Yamashita, M. Kikuchi, H. Watanabe, T. Okujima, H. Uno, T. Ogawa, K. Ohara, N. Ono:

- Chem. Eur. J.*, **11**, 6212 (2005).
- 4) K. Rotkiewicz, K. H. Grellmann, Z. R. Grabowski : *Chem. Phys. Lett.*, **19**, 315 (1973).
  - 5) Y. Abe, S. Karasawa, N. Koga : *Chem. Eur. J.*, **18**, 15038 (2012).
  - 6) N. Harada, Y. Abe, S. Karasawa, N. Koga : *Org. Lett.*, **14**, 6282 (2012).
  - 7) S. Karasawa, J.-I. Todo, K. Usui, N. Harada, K. Yoza, H. Suemune, N. Koga : *Chem. Eur. J.*, **22**, 7771 (2016).
  - 8) T. Araki, S. Murayama, K. Usui, T. Shimada, I. Aoki, S. Karasawa : *Nano Lett.*, **17**, 2397 (2017).
  - 9) M. Sakuma, Y. Fuchi, K. Usui, S. Karasawa : *Chem. Asian J.*, **14**, 3938 (2019).
  - 10) S. Matsumoto, Y. Fuchi, K. Usui, G. Hirai, S. Karasawa : *J. Org. Chem.*, **84**, 6612 (2019).
  - 11) H. Yu, Y. Xiao, L. Jin : *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 17486 (2012).
  - 12) N. Harada, S. Karasawa, T. Matsumoto, N. Koga : *Cryst. Growth Des.*, **13**, 4705 (2013).
  - 13) Z. D. Hill, P. MacCarthy : *J. Chem. Educ.*, **63**, 162 (1986).
  - 14) S. Matsumoto, T. Umeno, K. Usui, S. Karasawa : *Cryst. Growth Des.*, **21**, 5251 (2021).
  - 15) C. Colomban, V. Martin-Diaconescu, T. Parella, S. Goeb, C. García-Simón, J. Lloret-Fillol, M. Costas, X. Ribas : *Inorg. Chem.*, **57**, 3529 (2018).
  - 16) G. Niu, P. Zhang, W. Liu, M. Wang, H. Zhang, J. Wu, L. Zhang, P. Wang : *Anal. Chem.*, **89**, 1922 (2017).
  - 17) J. Hirota, K. Usui, Y. Fuchi, M. Sakuma, S. Matsumoto, R. Hagihara, S. Karasawa : *Chem. Eur. J.*, **25**, 14943 (2019).
  - 18) G. Zhang, J. Lu, M. Sabat, C. L. Fraser : *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 2160 (2010).
  - 19) M. Guzauskas, D. Volyniuk, A. Tomkeviciene, A. Pidluzhna, A. Lazauskas, J. V. Grazulevicius : *J. Mater. Chem.*, **7**, 25 (2018).
  - 20) M. Castella, P. Millie, F. Piuze, J. Caillet, J. Langlet, P. Claverie, A. Tramer : *J. Phys. Chem.*, **93**, 3941 (1989).
  - 21) Y. Fuchi, T. Umeno, Y. Abe, K. Ikeno, R. Yamasaki, I. Okamoto, K. Usui, S. Karasawa : *J. Org. Chem.*, **85**, 13177 (2020).
  - 22) 松本祥汰, 唐澤 悟 : 未発表データ.
  - 23) R. Suzuki, H. Konno : *Org. Lett.*, **22**, 3309 (2020).
  - 24) 特願 2021-03341 発明者 : 唐澤 悟・梅野智大・松本祥汰・臼井一晃, 名称 : アミン類検出薬, 出願人 : 昭和薬科大学, 出願日 : 令和 3 年 3 月 4 日.
  - 25) 梅野智大, 瀬戸玲美, 臼井一晃, 唐澤 悟 : 第 33 回バイオメディカル分析化学シンポジウム講演要旨集, p. 52 (2021).
-

## Development of Reversible Acid-Base Detection Reagents Based on Push-pull Type Aminonaphthyridine and Aminoquinoline Derivatives

Shota MATSUMOTO<sup>1</sup>, Tomohiro UMENO<sup>1</sup>, Kazuteru USUI<sup>1</sup> and Satoru KARASAWA<sup>\*1</sup>

\* E-mail : karasawa@ac.shoyaku.ac.jp

<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Showa Pharmaceutical University, 3-3165, Higashi-tamagawagakuen, Machida-shi, Tokyo 194-8543

(Received December 24, 2021; Accepted January 8, 2022)

Bicyclic aminonaphthyridine and aminoquinoline derivatives, which were introduced as electron-donor and -acceptor substituents in the frameworks, show specific emissions along with environmental dependence, for instance, solvents, classifying as “push-pull type fluorophores”. The emission behaviors of the several push-pull type fluorophores in response to external stimuli, such as heat, light, vapor, and mechanical stimuli have been discussed previously. In this study, the detection reagents in response to acid and base that utilize the three push-pull type fluorophores are introduced. Regarding the acid response reagents, the Turn-On type fluorophore is triggered by aromaticity enhancement before and after protonations in the dihydroimidazolynaphthyridine derivatives, and the aromaticity enhancement causes the emission enhancement. In the case of the base response reagents, the two reagents were introduced as a specific response to the amine analogues. In the first reagent, regarding the formation of an exciplex, the 1,5-naphthyridine derivatives are capable of forming the complexes in an excited state (exciplex) in response to the amine analogues that exhibit long emission wavelengths. With regards to the color change of the HCl salt under the HCl condition in the second reagent, the aminobenzoquinoline derivatives react with the HCl, turning the reddish color into no color. Under the ammonium condition as the amine analogue accompanied by the acid-base reaction, the salt color recovers its reddish color. These three detection reagents for the acid and base undergo minor chemical structure changes before and after the responses, therefore the reagents can be reused for further detection.

**Keywords:** detection reagents; push-pull type fluorophores; acid and base; amine analogues; aromaticity change; exciplex; HCl salt; reversible reagents.