

4P050

イミダゾピラジノン誘導体の化学発光に関する理論的研究

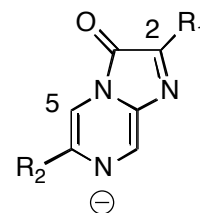
(阪大院理) ○磯部寛, 山中秀介, 倉光成紀, 山口兆

【序】近年, 生物発光及び化学発光が, 高感度なバイオセンサーやバイオイメージング技術として, 最先端の生命科学の分野において注目されている。一方で, 新規高効率発光系の探索のためには, 生物発光及び化学発光のメカニズムをより深く理解することが必要不可欠である。化学的には, 酸素分子による酸化反応が主な発光エネルギー源であることがよく知られているが, その反応過程で生成する高エネルギー過酸化中間体の生存時間が非常に短いため, このような活性種がタンパク質環境下でどのように制御され, どのように効率よく励起分子を生成するのかはまだよく分かっていない。このような観点から, 我々はこれまで発光反応で重要な過酸化 (特にジオキセタノン) の反応を理論化学的アプローチで検討してきた [1-3]。

生物発光では, 基底状態である三重項酸素と基質 (ルシフェリン) が反応して一重項励起状態の発光体を生成するので, 途中でスピン多重度が増加する。本研究では, スピン軌道相互作用 (SOC) に着目して, 図に示したイミダゾピラジノン誘導体と酸素分子の反応性及び化学発光の高効率化のメカニズムを調べた。イミダゾピラジノン骨格は, オワンクラゲやウミボタルなど多くの海洋性発光生物のルシフェリンが有する構造である。**4** は CLA (Cypridina luciferin analog) と呼ばれ, 生理的条件下でスーパーオキシドアニオンや一重項酸素と特異的に反応するため, MCLA (methoxylated CLA) などと共に超微量の活性酸素種を検出・定量するための優れた化学発光プローブとして現在研究者の間で広く用いられている [4]。


【計算方法】構造最適化・エネルギー計算は密度汎関数法 (B3LYP/6-31+G*) で行った。SOC は full Pauli-Breit ハミルトミアンを用いて計算した。SOC 計算では, state-averaged CASSCF 又は ROHF レベルで最適化した参照軌道を用いた。


【結果・考察】多くの求電子剤とオレフィンの反応に見られるように, 一重項酸素のイミダゾピラジノン誘導体 **1-4** への付加反応は負の活性化エネルギー・エントロピーによる反応性の制御を示し, 微妙ではあるが, エキシプレックス生成の可能性も示唆されることが明らかになった。一方, 三重項酸素と **1-4** は電荷移動錯体を経由せず直接反応することが分かった。この過程で一重項と三重項の交差シームにエ




1, R₁ = H, R₂ = H

2, R₁ = CH₃, R₂ = H

3, R₁ = H, R₂ = 

4, R₁ = CH₃, R₂ =  (CLA)

5, R₁ = H, R₂ = O[⊖]

6, R₁ = CH₃, R₂ =  O[⊖]

エネルギー的に到達可能であり、シーム付近で SOC はゼロではないので、 $T_1 \rightarrow S_0$ スピン反転可能である。SOC は位置 (2- or 5-position) 及び配向 (gauche-in or gauche-out conformation) 依存性があり、一重項波動関数に混入したイオン項の程度と密接な関係があることが分かった。同様に、酸素分子の付加反応で生成したジオキセタノンの分解過程でも S_0/T_1 交差シームが関与する。SOC は基質のイオン化状態に顕著に依存しており、ペルオキシド結合にある不対電子対が決定的な役割を果たしていることが分かった。気相中の計算では、三重項酸素取込み段階ではジアニオン状態 (**5** or **6**) のとき最もスピン反転し易く、ジオキセタノンの分解過程ではフェノール性水酸基がプロトン解離したモノアニオン状態のときスピン許容反応になる可能性が高いことが分かった。しかしながら、このような理想的なイオン化状態の場合、必然的に自動酸化反応や CIEEL (chemically initiated electron-exchange luminescence) 機構を伴う可能性が出てくるため、議論は単純ではない [2]。

オワンクラゲ生物発光では、酸素分子が基質セレンテラジンへ位置選択的に付加することでチロシンの酸化サイクルが成り立っている [4]。さらに、SOC のイオン化状態依存性に関する研究から、位置選択性が触媒のターンオーバー数の向上のみならず励起過程の高効率化とも深く関連している可能性が高いことが明らかになった。**1-6** では、エネルギー及び SOC の両方とも 5 位への攻撃の方が圧倒的に有利なので、位置選択性の起源は単純に stepwise 反応の二段階目 (閉環過程) のエネルギー障壁の差、すなわち反応が可逆のかそれとも不可逆のかにあると考えられる。これは、一段階目で生じるペルオキシド (中間体) の性質がラジカルのか又は双極イオンのかに依存する。**1** と **2** では 5-より 2-ペルオキシドの方が双極イオンのである。当然のことながら、ペルオキシドの性質は置換基の影響を大きく受ける。6 位の置換基 R_2 が電子供与性の場合 (**5** のとき)、5-ペルオキシドが双極イオン構造になるため、5 位への付加反応が優先的に起こると予想される。一方、 R_2 がラジカルを安定化する場合、5-ペルオキシドの閉環のエネルギー障壁が顕著に大きくなるので、2 位への付加の方が有利になる。**3** と CLA (及び MCLA) はこの条件を満たす。一方ルシフェリン型基質 **6** の場合、 R_2 が電子供与性であると同時にラジカルも安定化するため、計算結果からは 2 位と 5 位への付加が同程度起こると予想される。したがって、生物発光では、基質周辺にあるアミノ酸との相互作用など様々な要因が複合的に組み合わせることで機能するようになると考えられ、現在検討中である [1]。

【参考文献】 [1] 磯部寛, 奥村光隆, 倉光成紀, 山口兆 分子構造総合討論会 2005, **1P107** [2] H. Isobe, Y. Takano, M. Okumura, S. Kuramitsu, and K. Yamaguchi *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 8667-8679 [3] Y. Takano, T. Tsunesada, H. Isobe, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi, and I. Saito *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1999**, *72*, 213-225 [4] 活性酸素 中野稔, 浅田浩二, 大柳善彦編 共立出版 (1988)