

# リュウコ体の色素増感光酸化反応

## I リュウコウラニンのメチレンブルーおよび ローズベンガル増感剤による光酸化反応

勝 呂 宏 堀 合 公 威\*

リュウコウラニンのメチレンブルーおよびローズベンガル増感剤による光酸化反応生成物は主に可視部に吸収のあるウラニン〔生成物 I, ( $P_1$ )〕である。他に少量の可視部に吸収の無い、キサンテン環が酸化されたと思われる物質〔生成物 II ( $P_2$ )〕が生成した。

生成物 I の生成過程は、三重項の増感剤とリュウコウラニンとの相互作用の後励起されたリュウコウラニンが酸素と反応して得られると結論した。一方、生成物の生成過程は、三重項の増感剤と溶存酸素との相互作用により生じた励起酸素がリュウコウラニンを酸化することによって生じると結論した。又この反応中間体、励起酸素は一重項酸素であると結論した。

### 1. 緒 論

色素の光退色の初期過程は光を吸収した励起色素がただちに項間交差によって比較的寿命の長い三重項色素 ( $T_1$ ) に遷移し、この三重項色素が種々の反応を起こす<sup>(1)</sup>。小泉氏等はチラジン系色素、キサンラン系色素の光退色について研究し、 $T_1$  と基底状態の色素との反応 ( $D-D$  機構と  $T_1$  と溶存酸素との反応 ( $D-O$  機構) との並列反応が初期過程であり、酸素濃度によってその優劣がきまるとしている<sup>(2,3)</sup>。リュウコウラニンのメチレンブルー増感剤による光酸化反応の研究も小泉氏等によっておこなわれており、溶存酸素濃度変化の研究から、その初期過程は  $D-O$  機構とし、反応中間体は一重項酸素と推論しているが、実験的に確かめられていない。一方メチレンブルーなどの色素を増感剤に用い、種々の物質の光化学反応についての研究も多くなされており、その中間体としては一重項素 ( $^1O_2$ )、スーパーオキシド ( $O_2^-$ ) と結論した報告がある。一重項酸素の確認には重水中で一重項酸素の寿命が長くなることを利用したり、一重項酸素と選択的に反応するアジ化ナトリウム ( $NaN_3$ ) の添加効果が用いた報告がある<sup>(4,5,6)</sup>。 $O_2^-$  はスーパー

\* 城西大学・理学部・化学科所属

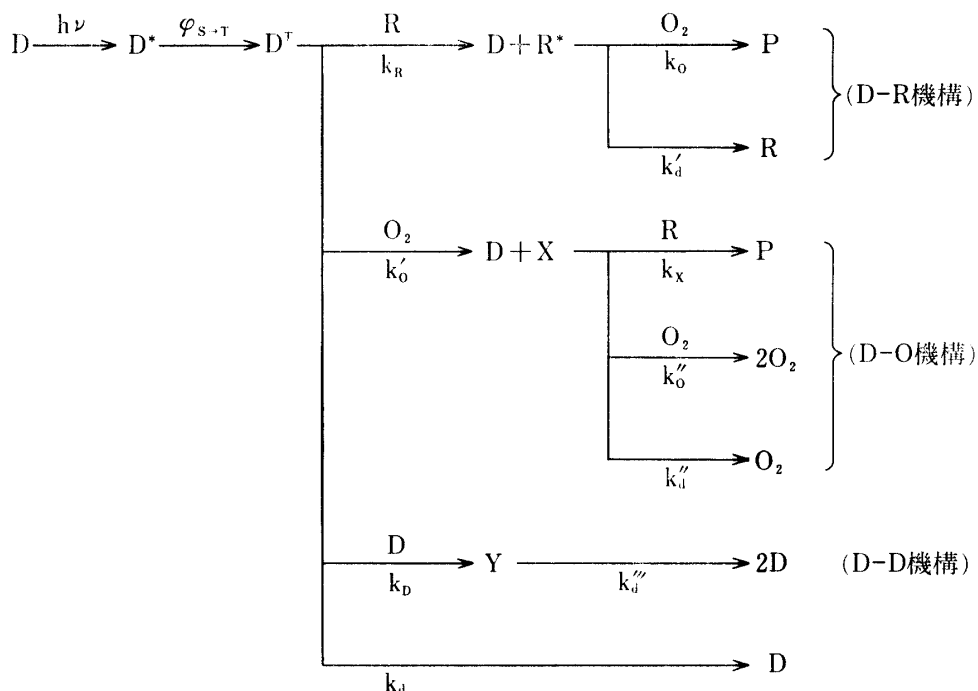
オキシドキシムターゼ<sup>(7,8)</sup>による失活反応が用いられている。

## 2. 原 理

リュウコウラニンの増感光酸化反応の生成物がウラニンであり、その機構は  $D-O$  機構、中間体は  ${}^1O_2$  とされているが、我々は生成物はウラニン、これを  $P$  とし、経路、中間体は不明とし、中間体を  $X$  とし、反応機構-Iに示す反応機構を考えた。以後この機構により、生成物は  $D-R$  機構、 ${}^1D-O$  機構のいずれの機構により生じるか、中間体  $X$  は  ${}^1O_2$  であるか否かについて検討する原理について述べる。尚  $D-D$  機構が反応機構-Iに示すように反応に関係していることは先きの色素の光退色の報告から明らかではあるが、結果として、単に励起三重項色素の安定化とした。又本実験の光照射時間内では増感剤色素の退色は2~3%で無視できる。 $D-R$  機構のみでウラニンが生成するとすれば、反応機構より、生成速度  $v_R$  は式(1)になる。

$$v_R = \frac{dP}{dt} I_{abs} \cdot \varphi_{S \rightarrow T} \times \frac{k_R[R]}{k_P[R] + k_O[O_2] + k_D[D] + k_d} \times \frac{k'_O[O_2]}{k'_O[O_2] + k'_d} \quad (1)$$

反応機構-I



$D$ : 増感剤色素     $D^*$ : 励起一重項色素     $D^T$ : 励起三重項色素

$R$ : リュウコウラニン     $P$ : 生成物 (ウラニン)

$X$ : 反応中間体 ( ${}^1O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2^-$  のいずれかを予想)

$k_R, k_O, k_D, k'_O, k_X, k'_O$ : それぞれの反応の速度定数

$k_d, k'_d, k''_d, k'''_d$ : それぞれ溶媒との相互作用等による安定化の速度定数

$\varphi_{S \rightarrow T}$ : 遷移確率     $Y$ :  $D^T$  と  $D$  との反応により生じる中間体

$I_{abs}$ : 光量子の吸収速度

また生成速度の逆数は式(2)になる。

$$\frac{1}{v_R} = \frac{1}{I_{abs} \cdot \varphi_{S \rightarrow T}} \times \frac{k_R[R] + k_D[O_2] + k_D[D] + kd}{k_R[R]} \times \frac{k'_o[O_2] + k'_d}{k'_o[O_2]} \quad (2)$$

ここでリュウコウラニンの濃度  $[R]$  を変化させ、吸収光量速度  $I_{abs}$ 、増感剤濃度  $[D]$ 、溶在酸素濃度を一定にすれば、 $D-R$  機構による生成の初速度  $v_o$  と  $[R]$  との関係は(3)式になる。

$$\frac{1}{v_R} AB_1 + AC_1[R]^{-1} \quad (3)$$

ただし、

$$A = \frac{1}{I_{abs} \cdot \varphi_{S \rightarrow T}} \quad (3.1) \quad B_1 = \frac{k'_o[O_2] + k'_d}{k'_o} \quad (3.2) \quad C_1 = \frac{k_o[O_2] + k_D[D] + k_d}{k_R} \quad (3.3)$$

また、 $[O_2]$  のみを変化させ、 $I_{abs}$ 、 $[D]$ 、 $[R]$  を一定とすると  $1/v_o$  と  $[O_2]$  との関係は式(4)になる。

$$\frac{1}{v_o} A \cdot (C_2 + B_2 \cdot D_2) + AC_2 D_2 [O_2]^{-1} + AB_2 [O_2] \quad (4)$$

ただし、

$$B_2 = \frac{k_o}{k_R[R]} \quad (4.1) \quad C_2 = C_1 \times \frac{1}{[R]} \quad (4.2) \quad D_2 = \frac{k'_d}{k'_o} \quad (4.3)$$

同様に、 $D-O$  機構によりウラニンが生成するとして、 $[R]$  のみ変化させたとき、 $[O_2]$  のみ変化させたときのそれぞれウラニン生成の初速度の逆数  $1/v_o$  と  $[R]$  および  $[O_2]$  との関係はそれぞれ式(5)、式(6)となる。

$$\frac{1}{v_o} A(C_3 + B_3 D_3) + AB_3 [R]^{-1} + AD_3 [R] \quad (5)$$

ただし、

$$B_3 = \frac{k''_o[O_2] + k''_d}{k_x} \quad (5.1) \quad C_3 = \frac{k_o[O_2] + k_D[D] + k_d}{k_o[O_2]} \quad (5.2) \quad \frac{k_R}{k_o[O_2]} \quad (5.3)$$

$$\frac{1}{v_o} = A(B_4 + C_4 + D_4) + AB_4 C_4 [O_2]^{-1} + D_4 [O_2] \quad (6)$$

ただし、

$$B_4 = \frac{k_x[R] + k''_d}{k_x[R]} \quad (6.1) \quad C_4 = \frac{k_R[R] + k_D[D] + k_d}{k_o} \quad (6.2) \quad D_4 = \frac{k''_o}{k_x[R]} \quad (6.3)$$

従って、他の条件を一定にし、リュウコウラニン濃度を変化させ、 $v_o^{-1}$  と  $[R]^{-1}$  との関係を求め、直線関係が得られれば、式(3)が成立し  $D-R$  機構を支持することになり、成立しなければ  $D-O$  機構の可能性が強くなる。またいづれの機構であるかは、式(4)、(6)により酸素の濃度変化の実験からでは判定することはできない。しかし  $^1O_2$ 、 $O_2$ 、 $H_2O_2$  等がウラニンの生成に関与しているか否かについては、重水溶媒効果、アジ化ナトリウム、スーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼの添加効果により判定できると考えられる。

### 3. 実 験

(1) 試薬 メチレンブルー (MB), ウラニン, ローズベンガル (RB) はいづれも和光純薬 K. K. の特級試薬をメタノールで再結晶した。リュウコウラニン (LU) はウラニン (U) をナトリウム-水銀アマルガムを用いて還元し, 冷やした 3 N 塩酸にて沈殿, ろ過後, メタノールで溶解, 3 N NaOH を加えナトリウム塩とし, 再結晶した。重水 (99.87%), アジ化ナトリウム, スーパーキンドジスムターゼはいづれもメルク社のものを使用した。その他の試薬は全て和光純薬の特級試薬をそのまま使用した。

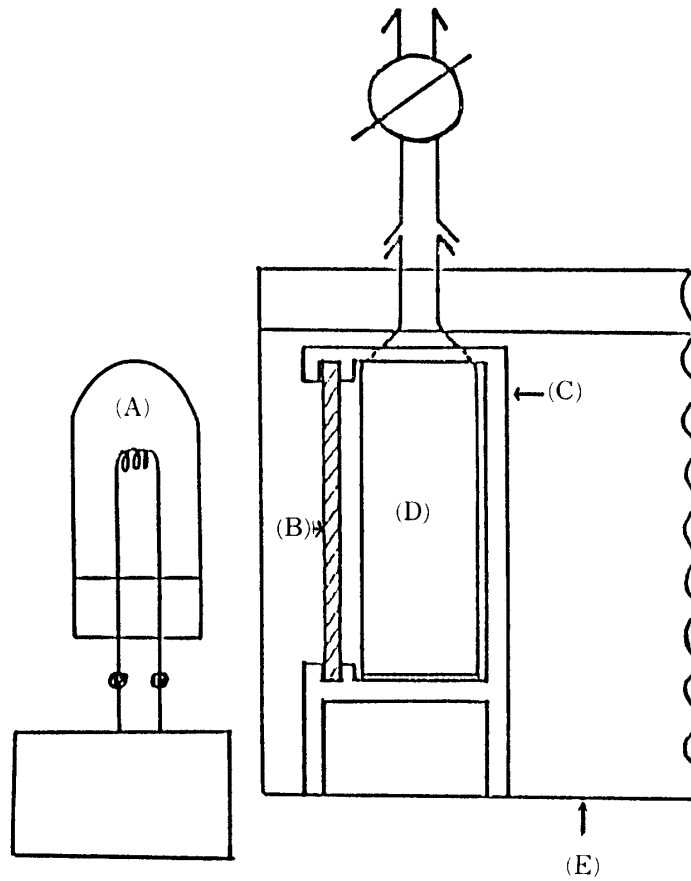


Fig.1. Apparatus.

- |                     |                |                 |
|---------------------|----------------|-----------------|
| (A) Source of light | (B) Filter     | (C) Cell holder |
| (D) Reaction vessel | (E) Thermostat |                 |

(2) 照射装置 照射装置を Fig. 1 に示す。

Ⓐ光源 分光光度計用のタングステンランプを定電圧装置を用い、8.5V にして使用した。

Ⓑフィルター 増感剤にメチレンブルーを用いたときには東芝O54型、ローズベンガルを用いたときには東芝R62型フィルターを使用した。

Ⓒセルホルダー

Ⓓ反応容器 分光光度計用のガラスセル (1×1×5 cm<sup>3</sup>) に真空コック付きの枝をつけた。この容器はそのまま分光用セルとして用いた。定量に使用した分光器は日立 124 型分光光度計である。

Ⓔ恒温水槽

(3) 反応溶液の調整 保存溶液はメチレンブルー、ローズベンガル、リュウコウラニン、ウラニン共  $1.0 \times 10^{-2}$  M 溶液にし、使用するときにはこれを100倍希釈した溶液を用い、Palitzsch—緩衝溶液、蒸留水を加えて所定の濃度および pH 0.7 に調整した。溶存酸素濃度は真空ラインに反応溶液を入れた反応容器を接続し、真空排気した後、所定の圧の酸素と反応溶液と接触させ平衡になるまで放置し調整した。

(4) フィルターの選別 Fig. 2 にそれぞれの色素の吸収曲線を示す。尚リュウコウラニンは可視部に吸収を示さない。増感剤であるメチレンブルー、またはローズベンガルのみが光を吸収して、生成物であるウラニンが光を吸収しないためにそれぞれつぎのフィルターを用いた。メチレンブルーを用いるときには 620 nm 以下を吸収する東芝 O-54型を、ローズベンガルを用いたときには 530 nm 以下を吸収する東芝 R-62型を用いた。

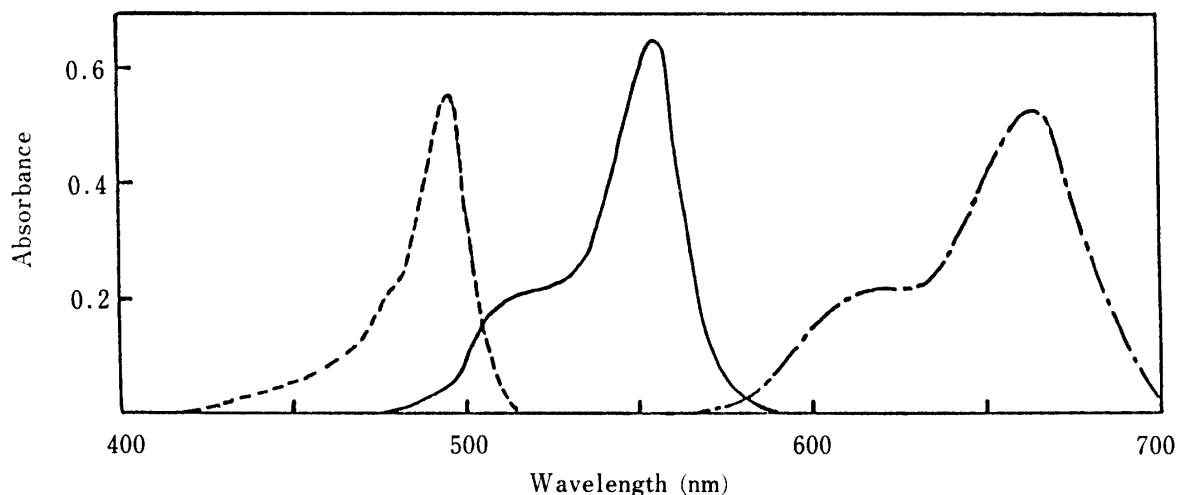


Fig. 2. Absorption spectra of uranine, rosebengal and methylene blue.

--- uranine

— rosebengal

- · - · - methylene blue

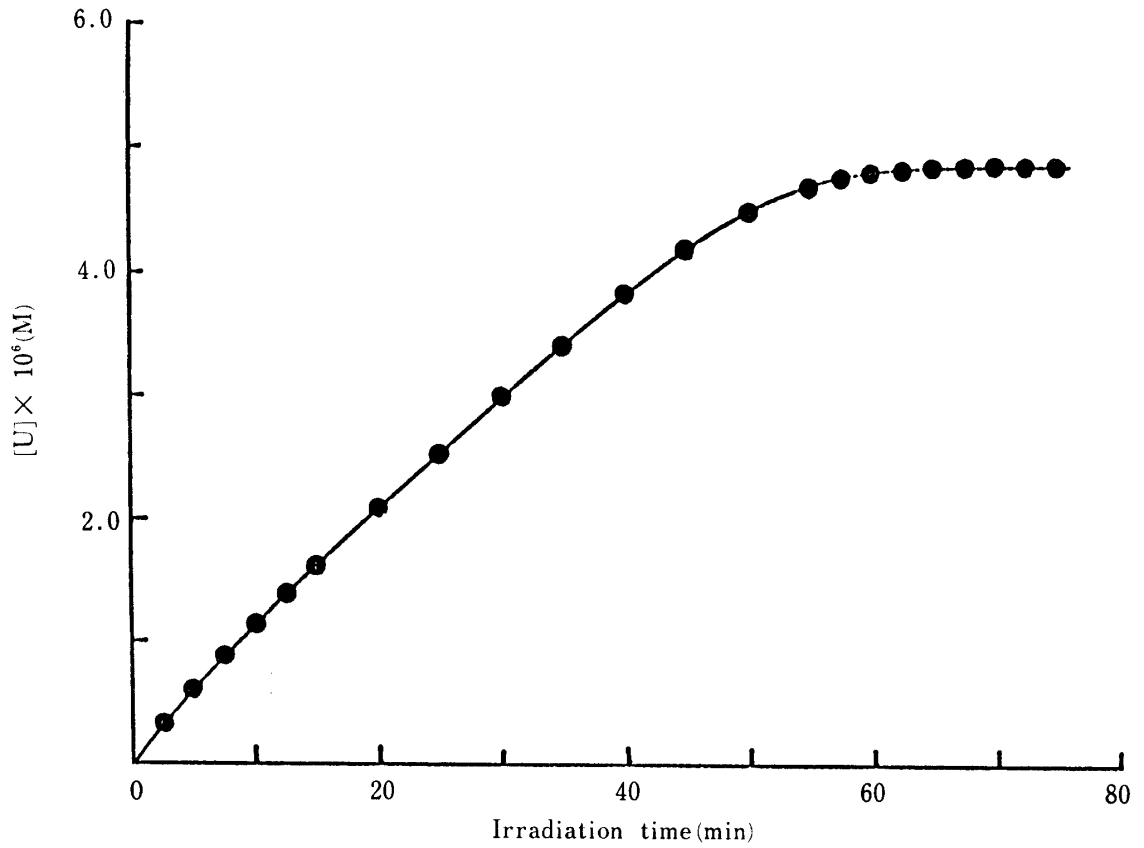


Fig. 3. Photooxidation of leuco uranine.

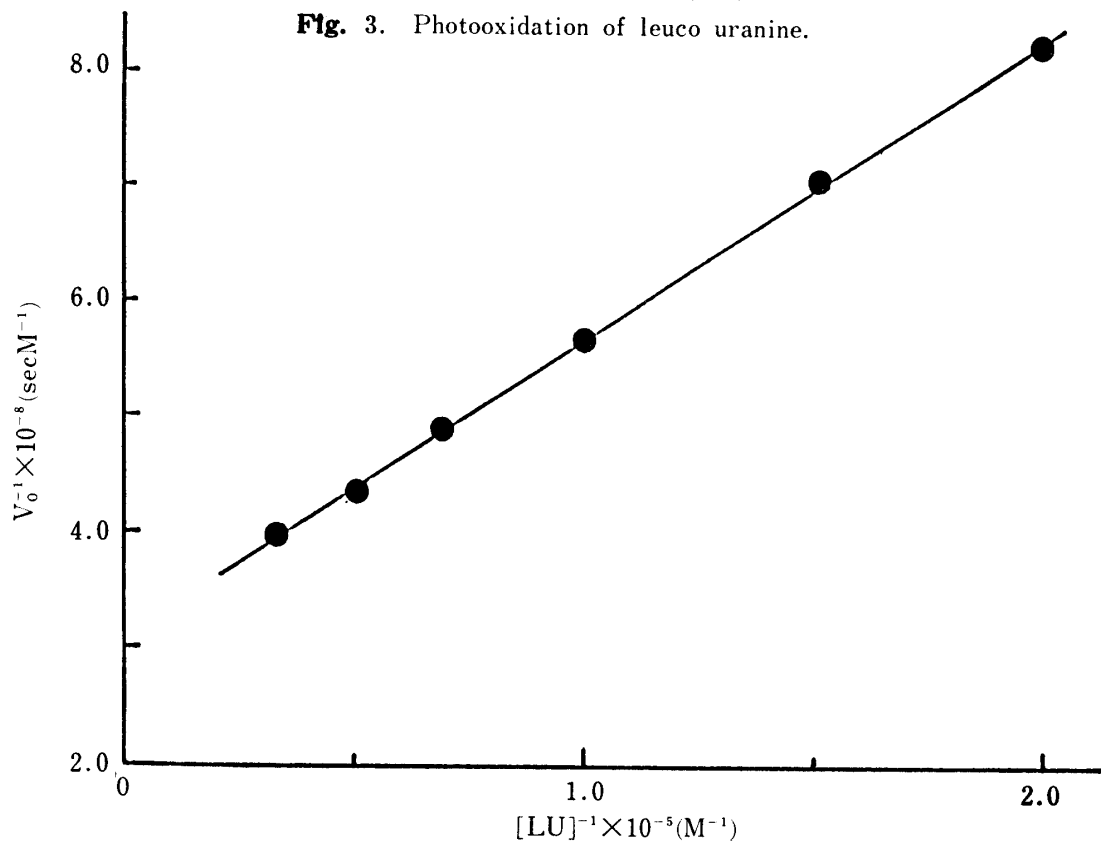


Fig. 4. Leuco uranine concentration effect on the initial rate of photooxidation of leuco uranine.

## 4. 実験結果

(1) **リュウコウラニンの濃度効果** Fig. 3 にメチレンブルー増感剤,  $1.0 \times 10^{-5}$  M, リュウコウラニン  $5.0 \times 10^{-6}$  M, 溶存酸素  $2.5 \times 10^{-4}$  M, 溶液を  $25^\circ\text{C}$  で光照射したときの照射時間と生成したウラニン濃度との関係を示した。この曲線の照射時間0における接線からウラニン生成の初速度を求めた。Fig. 4 に増感剤, 溶存酸素, 照射光の強度, 反応温度等の反応条件を先きと同じにし, リュウコウラニンの濃度のみ変化させ, それぞれの濃度の逆数と初速度の逆数との関係を示した。図に示したように, 濃度の逆数と初速度の逆数とは直線となり, 式(3)が成立し式(5)が成立しないことを示している。従ってウラニン生成の経路は *D-R* 機構の可能性が強いと言える。

(2) **溶存酸素の濃度効果** リュウコウラニン濃度を  $1.0 \times 10^{-5}$  M 一定にし, 他の反応条件も先きの条件と同じにし, 溶存酸素濃度のみを  $2.5 \times 10^{-4} \sim 11.3 \times 10^{-4}$  M の範囲で変化させ実験をおこなった。Fig. 5 には増感剤にローズベンガル, メチレンブルーを用い, それぞれの増感剤について溶存酸素濃度が  $2.5 \times 10^{-4}$  M,  $11 \times 10^{-4}$  M についてのウラニン濃度の照射時間による変化を示した。先きと同様に求めた各濃度における初速度の逆数と溶存酸素濃度の逆数との関係を Fig. 6 に示す。Fig. 6 は式(4), (6)から予想されるように直線関係を示していないし, 当然この結果からはウラニン生成の経路が *D-R* 機構であるか, *D-O* 機構であるかの判別はできない。しかしながら, Fig. 5 は溶存酸素濃度を増加していくと, ウラニン生成の初速度が小さくなり最終ウラニン生成量も微かではあるが減少している。この傾向は増感剤にローズベンガルを用いた場合, より顕著である。いづれにしても, このことはウラニン以外の生成物が生じたことを意味している。なお照射後の反応溶液の吸収曲線が可視部に於いては増感剤とウラニンの吸収曲線の形と同じであったことから, この生成物は可視部に吸収の無い, 無色の物質と考えられる。今後はこの無色の物質を生成物 II ( $P_2$ ) と記し, ウラニンを生成物 I ( $P_1$ ) と記す。(1), (2)の結果から生成物 I は *D-R* 機構により, 生成物 II は *D-O* 機構で生じるとし, *D-O* 機構の中間体 *X* について生成物 II の増減と関連づけ以後の実験をおこなった。

(3) **添加物効果** (2)溶存酸素の濃度効果と同じ反応条件にアジ化ナトリウムを  $2.0 \times 10^{-2}$  M の濃度になるように加え, 溶存酸素濃度を変化させて照射した。その結果を Fig. 7 に示す。また同様にスーパーオキシドディスムターゼを  $1.0 \mu\text{g ml}^{-1}$  になるように添加した結果を Fig. 8 に示す。Fig. 7 は明らかにウラニンの生成初速度は溶存酸素の増加に伴って遅くなっているが, ウラニンの最終生成量には変化が無く, はじめ加えたリュウコウラニンの全てがウラニンに変化している。一方, Fig. 8 に於いては, Fig. 5 と全く変化は無く, スーパーオキシドディスムターゼの添加効果は無いと言える。またカタラーゼを添加した実験もおこなったが添加効果は見られな

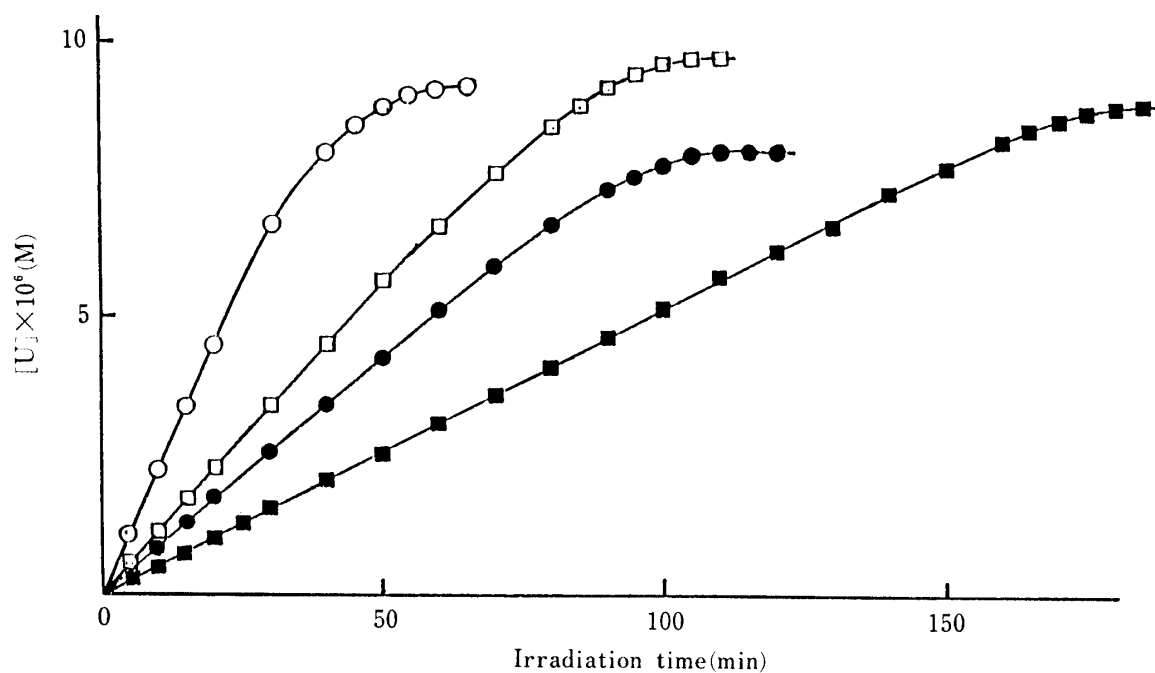


Fig. 5. Oxygen concentration effect on photooxidation of leuco uranine.

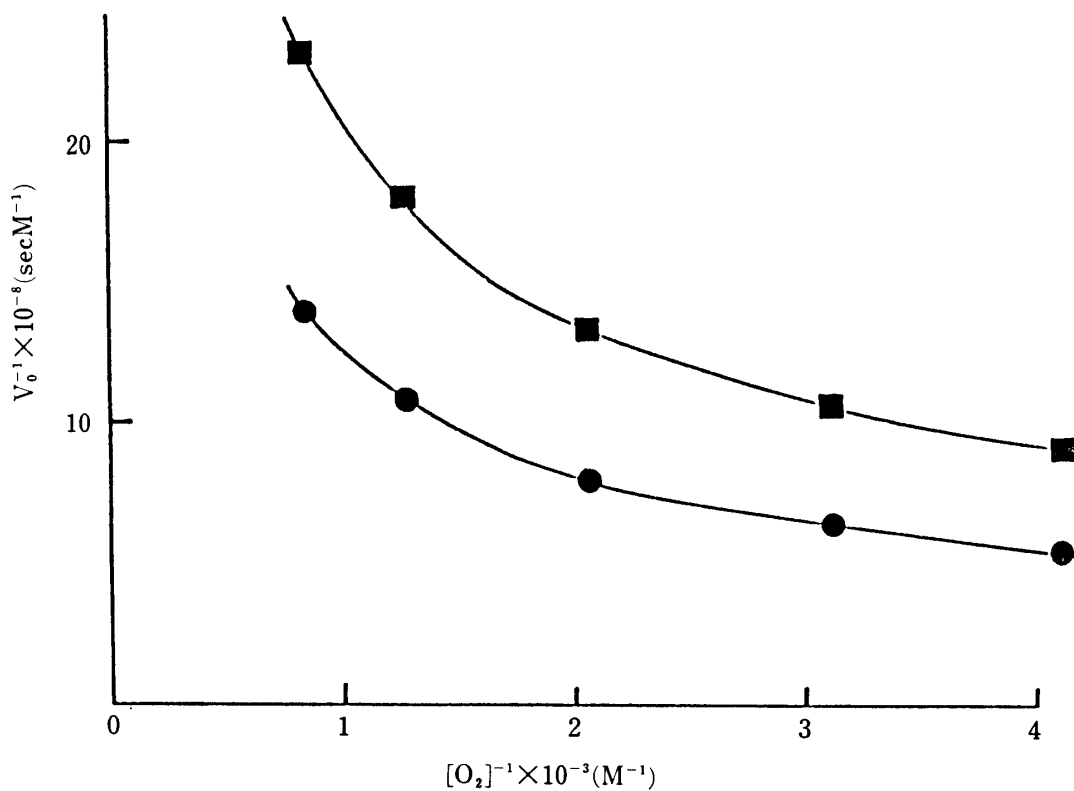
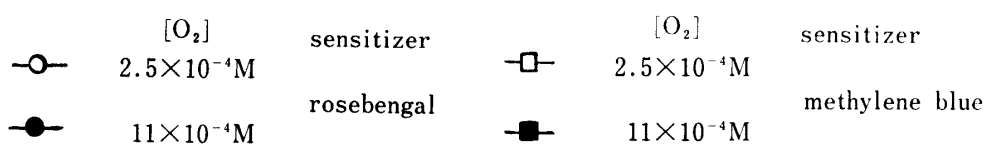


Fig. 6. Oxygen concentration effect on initial rate of photooxidation of leuco uranine.





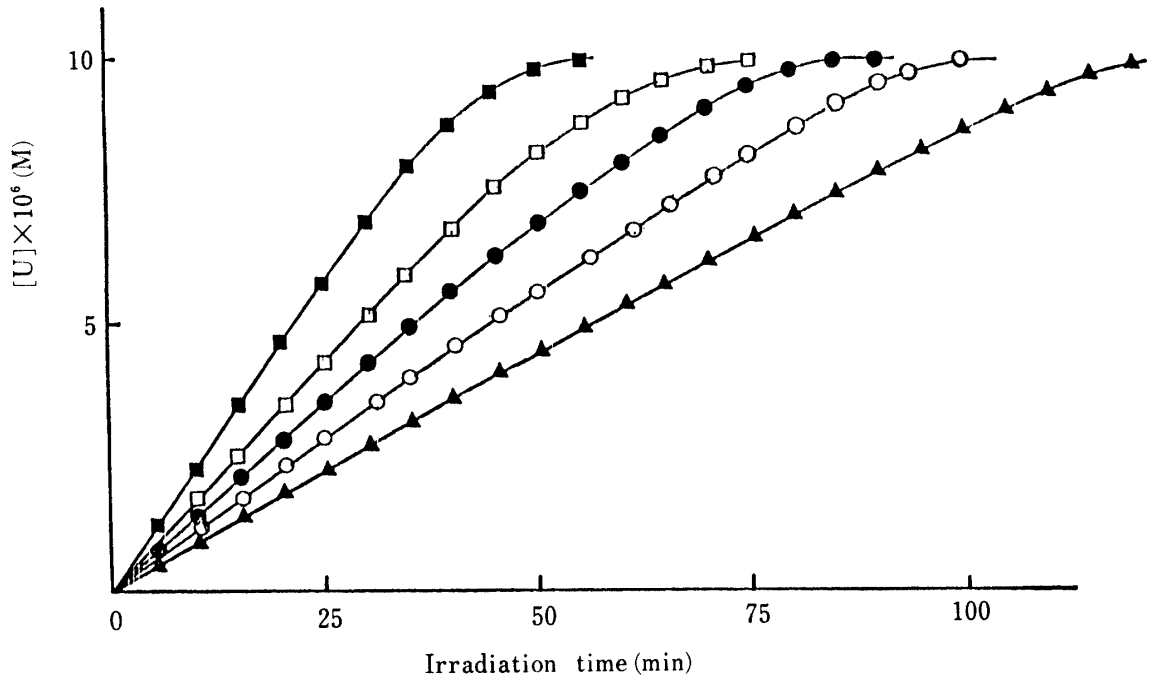


Fig. 7. Influence of NaN<sub>3</sub> on photooxidation of leuco uranine in the presence of various concentration of oxygen.

■ 2.5 × 10<sup>-4</sup>M                      □ 3.2 × 10<sup>-4</sup>M                      ● 4.9 × 10<sup>-4</sup>M  
 ○ 8.1 × 10<sup>-4</sup>M                      ▲ 11 × 10<sup>-4</sup>M

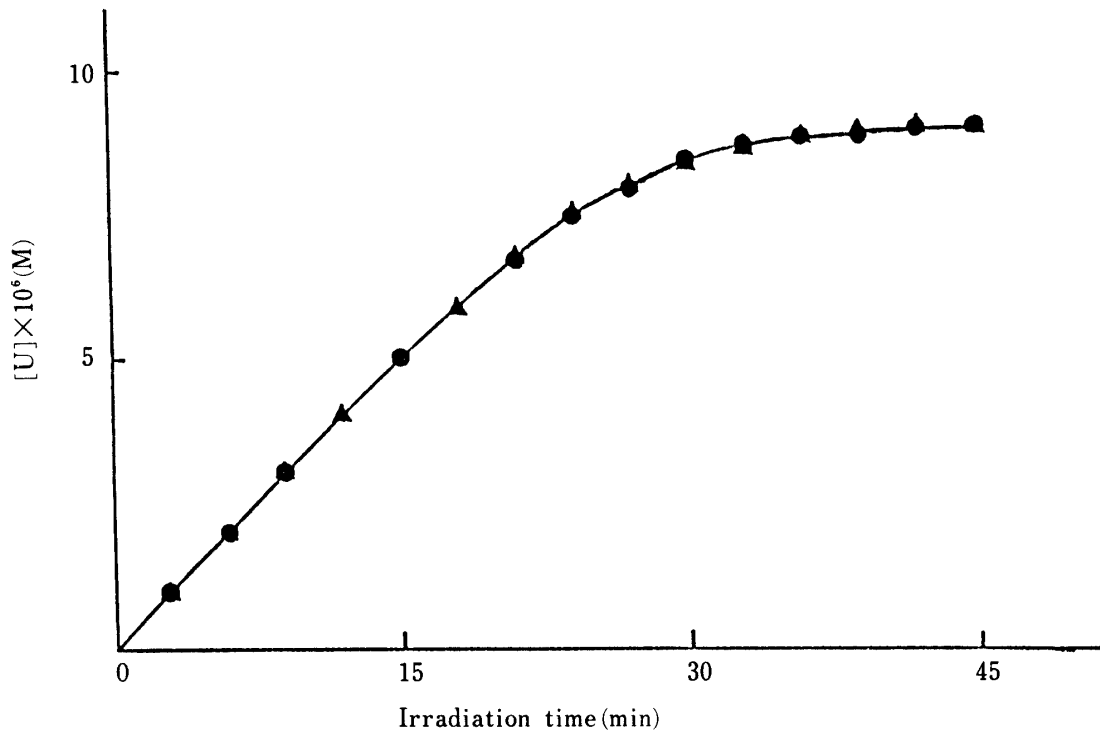


Fig. 8. Influence of SOD on photooxidation of leuco uranine.

▲ additive                      ● non additive

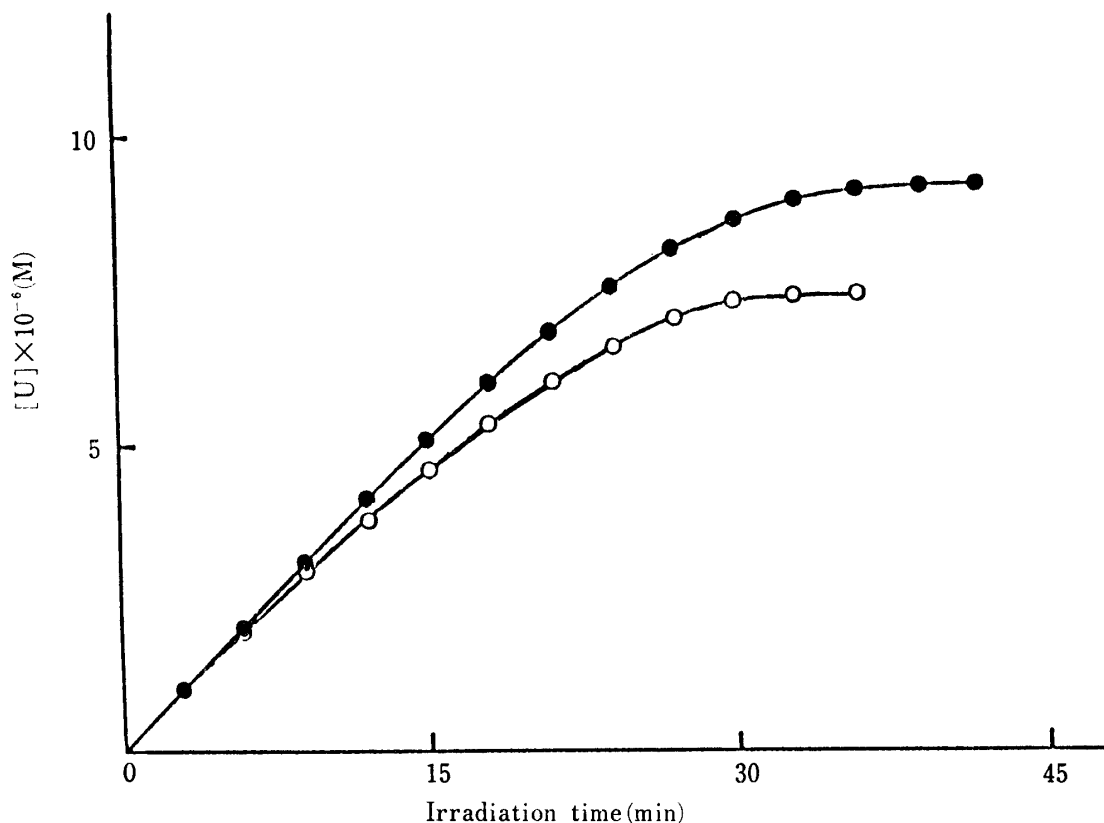


Fig. 9.  $\text{D}_2\text{O}$  solvent effect on photooxidation of leuco uranine.

●  $\text{H}_2\text{O}$       ○  $\text{D}_2\text{O}$

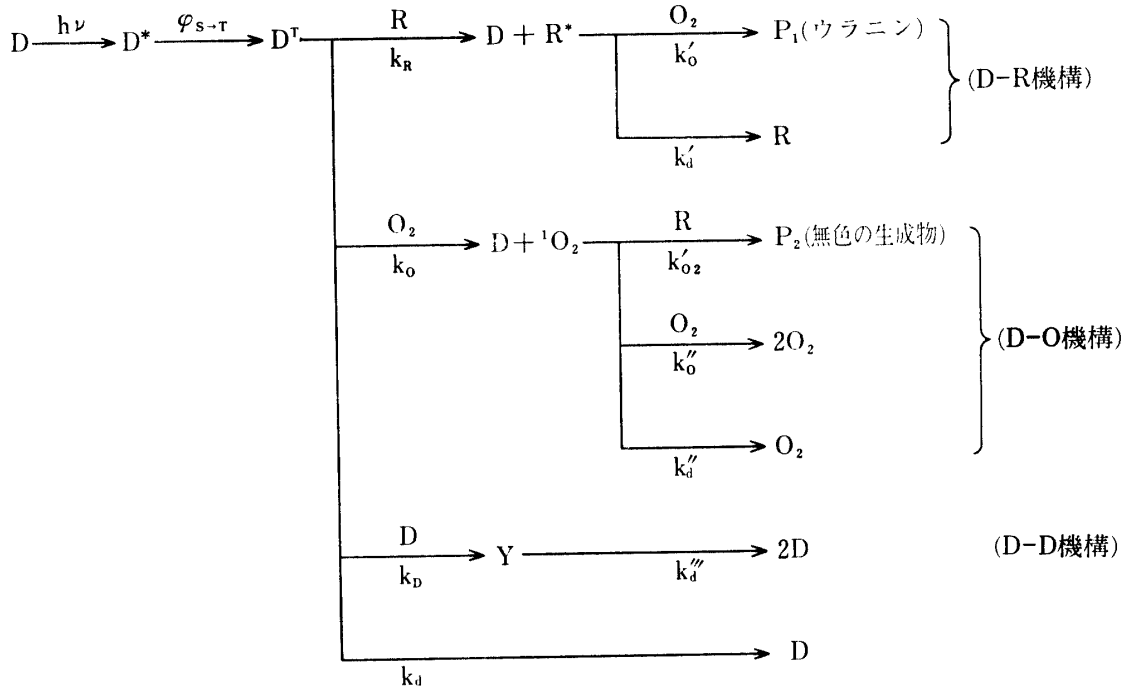
った。アジ化ナトリウムは一重項酸素と選択的に反応し、SOD、カタラーゼはそれぞれ  $\text{O}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  と反応することからして、中間体  $X$  は一重項酸素であり、生成物IIは一重項酸素との反応により生じると結論づけられる。

(4) 重水溶媒効果 ローズベンガル増減剤  $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、リュウコウラニン  $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ 、溶存酸素濃  $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$  にし溶媒が重水と常水について照射した結果を Fig. 9 に示す。ウラニンの最終生成量からして、生成物-IIは常水の約8%から重水では約17%と2倍強増加している。このことは重水中では一重項酸素の寿命が伸び、一重項酸素と基質との反応の機会が増加したことと思われ、中間体  $X$  が一重項酸素であることを支持する。

## 5. 考察とまとめ

実験結果(1)~(3)からして、小泉氏等の報文を参考にした Fig. 1 の反応機構はおおよそ誤りでなかったが、つぎの2点が明確になった。1. 生成物には当初考えていたウラニンの他に無色の生成物があり、前者は  $D-R$  機構で生じ、後者は  $D-O$  機構で生じること。2.  $D-R$  機構の中間

反応機構-II



$D$ : 増感剤色素  $D^*$ : 励起一重項色素  $D_T$ : 励起三重項色素  
 $R$ : リュウコウラニン  $^1O_2$ : 一重項酸素  
 $k_R, k_O, k_D, k_D', k_{O_2'}, k_{O''}$ : それぞれの反応の速度定数  
 $k_d, k_d', k_d'', k_d'''$ : それぞれ溶媒との相互作用等による安定化の速度定数  
 $\phi_{S \rightarrow T}$ : 遷移確率  $Y$ :  $D_T$  と  $D$  との反応により生じる中間体  
 $I_{abs}$ : 光量子の吸収速度

体は一重項酸素である。従って全体の反応は反応機構IIになる。また式(1), 式(3)はウラニンの生成に関する式になるが, ここにウラニン生成の式として記すとそれぞれ(7), 式(8)式になる。

$$v_{P1} = \frac{dP_1}{dt} = I_{abs}\phi_{S \rightarrow T} \frac{k_R[R]}{k_R[R] + k_O[O_2] + k_D[D] + k_d} \times \frac{k'_O[O_2]}{k'_O[O_2] + k'_d} \quad (7)$$

$$\frac{1}{v_{R10}} = AB_1 + AC_1[R]^{-1} \quad (8)$$

当然のことながら, この(8)式は実験(1)の結果, ウラニン生成の初速度の逆数とリュウコウラニン濃度の逆数との間には直線関係を示すことと一致している。また酸素濃度効果についての結果も式(4)と矛盾しない。しかしながら, 無色の生成物の生成速度 ( $v_{P2}$ ) は Fig. 11 より式(9)になる。

$$v_{P2} = \frac{dP_2}{dt} = I_{abs}\phi_{S \rightarrow T} \frac{k_O[O_2]}{k_R[R] + k_O[O_2] + k_D[D] + k_d} \times \frac{k_{1O_2}[R]}{k_{1O_2}[R] + k_{d''}[O_2] + k_{d''}} \quad (9)$$

この(9)式から,  $[R]$  のみを変化させ, 他を一定とし, 初速度の逆数  $v_{P2}^{-1}$  と  $[R]$  との関係を求めると式(10)になる。

$$\frac{1}{v_{P20}} A[(C_4 + B_4 D_4) C_4 B_4 [R]^{-1} + D_4 [R]] \quad (10)$$

ただし、 $A$  は(3・1)式で示され、

$$B_4 = \frac{k_D [O_2] + k'_d}{k_{1O_2}} \quad (10 \cdot 1) \quad C_4 = \frac{k_o [O_2] + k_D [D] + k_d}{k_o [O_2]} \quad (10 \cdot 2) \quad D_4 = \frac{k_R}{k_o [O_2]}$$

ここで、もし  $D_4$  即ち  $k_R/k_o[O_2]$  が非常に小さな値ならば、言い代れば、三重項色素と酸素との反応が非常に速いか、三重項色素とリュウコウラニンとの反応が非常に遅ければ、このことは溶存酸素濃度とリュウコウラニン濃度から考えて可能性はかなり高いのだが、(10)式の  $[R]$  の項は無視できることになる。すると式(10)は式(8)と同じく  $[R]$  について  $-1$  次の式になる。従ってリュウコウラニン効果のみでウラニンの生成過程が  $D-R$  機構とするのは早計であることになる。然しながら、実験(3)のいずれの結果も過酸化水素を含めて酸素の励起種がウラニン生成に関与していないことを示している。従ってウラニンは  $D-R$  機構により生成することになる。

重水を用いたとき、一重項酸素の寿命、 $k'_d$  だけが変化すると仮定すれば、重水、常水中での無色の生成物の生成速度比は式(11)で示される。

$$\frac{v_{P2}(\text{重水})}{v_{P2}(\text{常水})} = \frac{k'_{O_2}[R] + k'_o[O_2] + k'_d(\text{常水})}{k'_{O_2}[R] + k'_o[O_2] + k'_d(\text{重水})} \quad (11)$$

ここで  $k'_d$  (常水)、 $k'_d$  (重水) はそれぞれ常水、重水中での一重項酸素が基底状態の酸素に変る速度定数で、 $k'_d$  (常水)/ $k'_d$  (重水)=11~18である<sup>(9,10)</sup>。このことは、重水溶媒効果によって無色の生成物が増加したと一致する。

$D-D$  機構がどのようにこの反応に関与しているかについては、色素濃度を変化させると吸収光量に変化し、解析が困難になることと定量方法も変えなくてはならず今回は検討しなかった。無色の生成物については、その構造を質量分析計等によって確認しようとしたが、その収量が微量で確認できなかった。ただ分子量がウラニンに比べてかなり小さく、キサンテン環が酸化され一部分解されているものと思われる。一重項酸素が関与することは明らかになったが、無色の生成物の収量が少なく、また反応経過にしたがって直接定量していない点など、本研究は不十分な点がある。今後は一重項酸素との反応性に富んだリュウコ体を選び、無色の生成物を直接定量する方法をみつけ、より正確な機構を確立したいと考えている。おわりに本実験に参加した多くの物理化学第一研の卒業生諸君に感謝する。

#### 引用文献

- (1) Koizumi, Kalo, Matsura, Usui, Photosensitized reaction p. 192—198. 小泉先生追悼事業団
- (2) M. Koizumi and Y. Usui, Mol. photochemistry, 4 57 (1972)
- (3) Y. Usui, K. Itoh and M. Koizumi Bull. Chem. Soc. Japan, 40 1035 (1968)
- (4) T. Ito photochem. photobiol, 28 498 (1978)

- ( 5 ) H. Schmidt, A. AL-Ibrahim, U. Dietzel and L. Bieker photochem. photobiol **33** 127 (1981)
- ( 6 ) J.M. Aubry, J. Rigandy and N.K. Cuong photochem. photobiol **33** 155 (1981)
- ( 7 ) M.R. Chedekel, P.P. Agin and R.M. Sayre photochem. photobiol **31** 553 (1980)
- ( 8 ) I. Fridovich, photochem. photobiol **28** 733 (1978)
- ( 9 ) P.B. Merkel and D.R. Kearns J. Am. Chem. Soc **102** 1942 (1972)
- (10) C.S. Foote, photochem, photobiol **38** 922 (1978)