

ルミノールとその関連物質の化学発光

岩 城 良 次 郎

1 はじめに

物質を熱してその温度を上げていくと、まず赤色に発光するが、さらに温度が高まると発光の色は白色に近づき、所謂白熱状態に達する。これは発光の可視部におけるスペクトル分布が最初赤色であったものが温度の上昇に伴って次第に緑や青の短波長光の領域をも含むようになるからである。これに反して、ある種の物質は化学反応において比較的低温（多くは 500°C 以下）にも拘わらず、緑色や青色のような短波長可視光を発することができる。このような発光現象は**化学発光**または**冷光**と呼ばれ、高温度における灼熱発光と区別されている。

化学発光の研究は生物発光機構解明の基礎ともなる点で重要であるが、一方発光現象が他物質の添加によって特有の挙動を示すことを利用して、種々の応用面を持っている。化学発光の応用については、すでに報告した⁽¹⁾ので、今回は発光強度が強い点で有名なルミノールを中心に、化学発光の基礎的研究の発展について解説してみたい。

2 ルミノールの化学発光法

ルミノール(5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione)は1902年 Schmitz により合成されたが、化学発光能については知られていなかった。このものの化学発光をはじめて発見したのはドイツの I. G. の研究室にいた Lommel で、

i) ルミールの酸性水溶液にオゾンを通す

筆者はルミノールの水酢酸溶液（強い青紫色の蛍光を示す）にオゾンを通すと、よく発光することを見出した。この場合水が混入すると蛍光も化学発光も弱まり、水酢酸に等量の水を加えた溶液中では化学発光は認められなくなる。塩酸やギ酸は溶媒として不適であった。ルミノールは酸性溶液中では蛍光を発するのでこのような化学発光法は蛍光と化学発光との関係を比較検討する上に都合のよい方法である。

ii) ルミノールのアルカリ性水溶液にある種の気体を通す

ルミノールの炭酸ナトリウム水溶液にオゾンを通すとかなり強く発光する。⁽³⁾⁽⁴⁾
 オゾンの代りに酸素を用いたときの発光は極めて弱いので、玉虫, Drew, Ha-⁽⁵⁾⁽⁶⁾
 rvey⁽³⁾ らは発光しないとしているのに対し、Bernanose, Bremer, Svashnikov,⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾
 Wilhelmssen⁽¹⁰⁾ らは微光を発すると報告している。筆者はルミノールの炭酸ナ
 トリウム溶液の温度を約 90°C にしたとき、発光が強められ容易に認められる
 ことから、酸素ガスによっても発光することを確認した。⁽¹¹⁾ また、発光は硫化水
 素や一酸化炭素ガスを通してでも起こることが見出された。⁽¹¹⁾

iii) ヘミンの存在下でルミノールのアルカリ性水溶液に酸素またはオゾンを通す

前述のように酸素によるルミノールの発光は極めて弱い⁽⁴⁾が、ヘミンが共存すると、その触媒作用により発光が強められる。また、酸素の代りにオゾンを用いても同様の現象が見られる⁽¹²⁾。

iv) ルミノールのアルカリ性水溶液に酸または塩基を加える

ルミノールの炭酸ナトリウム水溶液に酸または塩基を加えると瞬時強い発光が見られる場合がある。酸または塩基として有効なものは、硝酸、塩酸、酢酸、マロン酸、コハク酸⁽⁹⁾などが、あるいはシュウ酸または炭酸ナトリウム⁽¹¹⁾などである。

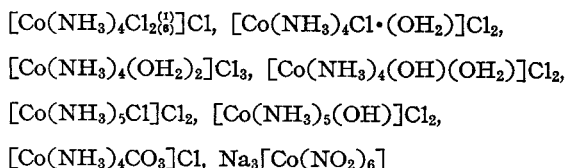
る。

v) ルミノールのアルカリ性水溶液に過酸化水素水を加える

⁽²⁾Albrecht が最初に用いた方法の一つである。発光はそれほど強くないが、⁽⁹⁾⁽¹³⁾長時間発光が持続するのが特徴である。

vi) ルミノールのアルカリ性水溶液にある種の金属塩または金属錯塩を加える

ルミノールのアルカリ水溶液に過マンガン酸カリウム、⁽²⁾フェリシアン化カリウム、⁽²⁾⁽¹⁴⁾次亜塩素酸塩を加えると強力な発光が起きることは古くから知られていたが、筆者の⁽¹¹⁾研究により硫酸第一鉄、塩化第一鉄、モール塩、シアン化カリウム、シアン化ナトリウム、ロダンアンモニウム、硫酸ニッケルなども有効であること、発光には溶存酸素が作用することが知られた。アルカリとしては炭酸ナトリウムが適している。またコバルト (III) アンミン錯塩も有効であることが⁽¹⁶⁾尾嶋氏により発見された。この種の錯塩はつぎの 8 種である。

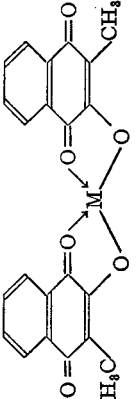
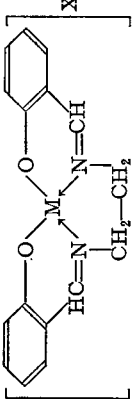


この中の前 4 者は置換し易い水分子または塩素イオンを配位する錯塩で発光が特に顕著である。発光には溶存酸素が必要であること、また、 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)_2]\text{Cl}_3$ を用いた場合、加える錯塩水溶液の調製後の放置時間を長くするほど発光初期強度は大となるなどの事実より、この系の化学発光はコバルト (III) アンミン錯塩の配位子置換を起こし易い水分子と共存する酸素とが発光機構にあずかるものと考えられる。

vii) ルミノールのアルカリ性水溶液に過酸化水素と触媒とを加える

v) の発光法で述べたように、アルカリ性水溶液に過酸化水素水を加えると弱く発光するが、さらに適当な触媒を用いると発光は極度に高められる。発光に対する正触媒の多くは金属錯塩であり、今までに表 1 に示すものが知られている。

表 1 ルミノール発光に対して正触媒となる金属錯塩⁽¹⁷⁾

金 属 錯 塩	備 考, 発光触媒能の順位など	文 献
ヘミンまたはヘモグロビン	M: Fe(II) ≡ Fe(III) > Co(II) > Cr(III) > Ni(II)	(2)(5)(24~32)
金属フタロシアニンテトラ- (4)-スルホン酸ナトリウム	Cu(II) は触媒能なし	(33)
	M: Co(II) > Cu(II) > Fe(II) > Fe(III) > Ni(II) > Mn(II)	(34)
	M: Mn(II) > Fe(III) > Co(II) X: (M: Fe(III) の場合) Cl, NCS, C ₆ H ₄ (o-OH)COO, C ₆ H ₃ -CH=CH-COO, C ₆ H ₄ (p-NH ₂)COO など	(19) (25)
[Cu(OH ₂) _{4-n} (amine) _n] ²⁺	amine: NH ₃ , NH ₂ -R, ピリジン	(35) (36)
[Cu(OH) ₂ (amine)] ²⁺	amine: エチレンジアミンおよびその N-アルキル誘導体, エタノールアミン, およびその N-アルキル誘導体, ジピリジルなど	(36)
[CoX ₂ (NH ₃) ₄ Cl] ₁₋₃	X ₂ : Cl ₂ , Cl(OH ₂), (OH ₂) ₂ , (OH)(OH ₂)	(16)(17)(37)
K ₃ [Fe(CN) ₆]		(2)(8)(14)(32)(38~43)

一方、金属錯塩以外では、 $\text{MnO}_2^{(2)}$ 、白金コロイド⁽²⁾、 $\text{SO}_2^{(18)}$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_3^{(7)}$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4^{(7)}$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8^{(7)}$ 、 $\text{FeSO}_4^{(7)}$ 、 $\text{SnCl}_2^{(7)}$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2^{(7)}$ 、 $\text{TiCl}_3^{(7)}$ 、硫酸ヒドラジン⁽⁷⁾、 $\text{CuSO}_4^{(18)(19)(20)}$ 、 $\text{Co}(\text{II})$ および III 塩⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾、 $\text{Fe}(\text{II})$ 塩⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾、 $\text{Mn}(\text{II})$ 塩⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾、 $\text{RuCl}_3^{(22)}$ 、 $\text{VOSO}_4^{(22)}$ 、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8^{(23)}$ が触媒として有効である。特に $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ の使用は発光が非常に強く、且つ持続時間が長いので発光機構解明上最適の方法である。

viii) 水以外の溶媒を用いる発光法

ルミノール溶液にオゾンを通して発光させるとき水溶液中では発光しないがメチル、エチル、*n*-プロピル、*i*-プロピルの各アルコール中あるいはアセトン、ジオキサン中では弱い発光が見られる。一方強アルカリ性の *t*-butoxide ion (アルコールと金属カリウムからつくる) を含む dimethylsulfoxide、または dimethylformamide の液にルミノールを溶解させ、それに酸素ガスを通す発光法が White らによって開発された⁽⁴⁴⁾。この方法は系の組成が簡単でしかも発光が強いため発光機構の研究に適している。これらの溶液中でルミノールは dianion になっている。

ix) その他の発光法

以上の発光法の他に知られているものにはルミノールのアルカリ性水溶液を放射線⁽⁴⁵⁾、または超音波⁽⁴⁶⁾で照射する方法や、電気分解による陽極発光法などがある。白金を電極とした電解においては通常陽極付近が発光するが、水銀を電極にしたときには陰極付近で発光が見られる⁽⁴⁸⁾。これは陰極で酸素が還元されて過酸化水素となり、これがルミノールと反応するからである。

3 ルミノール関連物質の化学構造と発光能との関係

より強力な化学発光能のある物質の発見を目指して、発光性物質の化学構造と化学発光能との関係が多くの人々によって研究されてきた。Albrecht はルミノールの diacetyl 誘導体と phthalichydrazide が発光すること、また Witte⁽⁴⁹⁾ は 5-amino および 6-aminohydrazide は発光するが、5-nitro および 6-nitrohydrazide は発光しない (現在では微光を発することが知られている) ことを見出した。それに続いて 1936~1938 年頃には Gleu⁽²⁴⁾⁽⁵⁰⁾、Wegler⁽⁵¹⁾、Drew⁽⁵²⁾、

(53) Zellner, らが広汎な研究を進め, さらに最近⁽⁴⁴⁾は White, Ponomarenko, Gunde-
rmann,⁽⁵⁴⁾ 杉山⁽⁵⁵⁾らによって詳細な研究がなされ, ルミノールの数倍も発光能の大きい物質が発見されるに至った. つぎにこれらの研究の成果について解説する.

ルミノールの化学構造は図1の(I)式中のベンゼン環の5の位置に NH₂⁽⁵²⁾基がついたものである. Drew は phthalaz-1,4-dione の各置換体を合成し, その化学発光能を比較した. その結果発光能の大きい方から置換基の位置と種類を配列すると, 次のようであることを見出した.

ヘミン存在下 (18°C)

5-NH₂ > 5, 8-di(NH-CO-CH₃) > 5-OH > 5-NH-NH₂ > 5-NH-CO-CH₃ >
6-NH₂ > 5, 8-diCl > 5-Cl > 6-NH-CO-CH₃ > 5-NH-CO-C₆H₅ > none >
6, 7-diCl
5-Br > 6-Br > 6-I > none > 5-CH₃

無触媒下 (18°C)

5, 8-di(NH-CO-CH₃) > 5-NH-CH₃ > 5-OH > 5-NH₂ > 5-NH-CO-CH₃ >
5-NH-NH₂ > 6-NH₂ > 5, 8-diCl > none > 5-Cl > 6-NH-CO-CH₃ >
5-NH-CO-C₆H₅ > 6, 7-diCl

この他, 5, 8-di(NH₂); 5, 7-di(NH₂) も大変発光が弱い⁽⁵²⁾⁽⁵⁴⁾. また, 5-NH₂, 8-OCH₃ は初期強度は強いが発光がすぐ弱まってしまう.

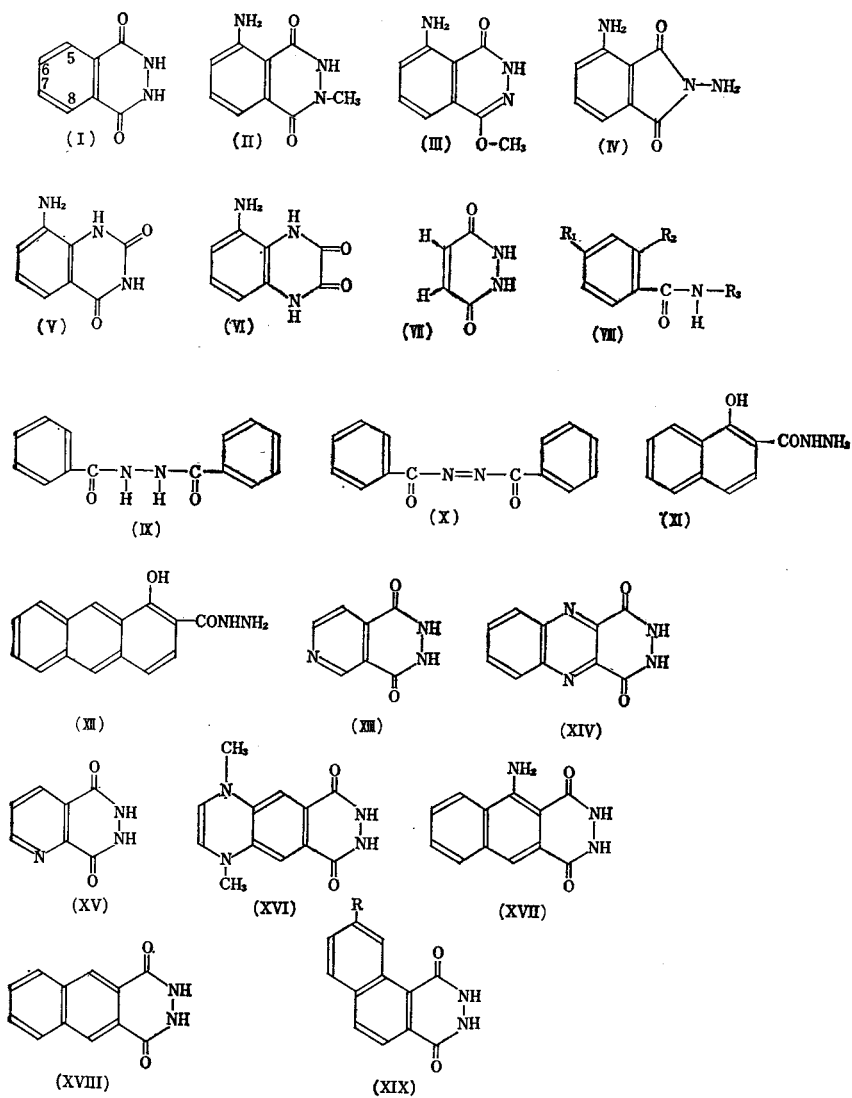
その後, 発光能の順位ばかりでなく発光強度の定量的比較がなされるようになり, それらの結果を総括したものを表2に示した.

以上の発光能順序をながめた場合, 5-CH₃ 誘導体と 6, 7-diCl 誘導体の順序のような異常はあるが, 一般に 5-位置換体は 6-位置換体よりも発光能がすぐれていること, また化学発光能と置換基の電子供給能とが平行関係にあることがわかる⁽⁵²⁾. ハロゲンの相対的順序とニトロ基の効果は置換基の誘導効果よりも, むしろ共鳴効果が発光能に関係することを示している. 表2より発光能は 5-位置換体についてみれば -NH₂ > -NHCH₃ > -N(CH₃)₂ となり, 一方 6-位置換体では -NH₂ < -N(CH₃)₂ < -N(C₂H₅)₂ となり前者とは傾向が全く逆の順序となる. これは置換基の電子供給能が -NH₂ < -N(CH₃)₂ < -N(C₂H₅)₂ の順

表 2 Phthalazinedione 類の化学発光能

置 換 基	相対発光強度	文献番号
5-NH ₂ , 6-OCH ₃	130>	(54)
5-NH ₂ ; 6, 7, 8-tri(CH ₃ O)	130	(57)(58)
6-N(C ₂ H ₅) ₂	120, 100	(58)(54)
5-NH ₂ ; 7, 8-di(CH ₃ O)	113	(57)(58)
6-Pyrrolidinyl	105	(58)
5-NH ₂ (Luminol)	100(基準)	(41)(54~56)
6-N(CH ₃) ₂	94, 87	(54)(58)
6-Piperidinyl	80	(58)
5-NH-CH ₃	60, 46	(56)(54)
5-OH	20, 19	(56)(54)
5-NO ₂	12, 0.01	(41)(56)
6-NH ₂	10, 4.5, 4	(54)(41)(56)
5-NH-CO-CH ₃	10, 3	(55)(54)
5-NH-CO-C ₂ H ₅	8	(55)
5-NHCO(CH ₂) ₈ CHCH ₂	5	(55)
5-N(CH ₃) ₂	2	(54)
5-NHCONHCOCH ₃	2	(56)
6-NO ₂	1.5	(41)
5-Br	1	(56)
5, 6, 7, 8-tetra Cl	0.532	(41)
5-Cl	0.222	(41)
5, 6-diCl	0.202	(41)
5-NHNHSO ₃ Na	0.2	(56)
6-Cl	0.084	(41)
none	0.02	(56)

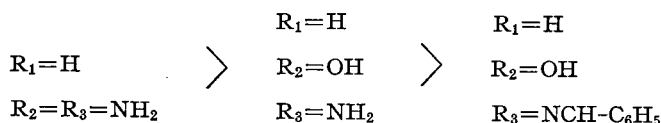
図 1



であるが、6-位置換体では近くにある CO 基との間に立体障害を起こさないので発光能の順序と置換基の電子供給能の順序とは一致するが、5-位置換体の

ときは立体障害による共鳴禁止がその置換基効果を阻害するからである。⁽⁵⁴⁾ 5-methylphthalaz-1,4-dione が phthalaz-1,4-dione よりも弱い発光を示すのもメチル基の電子供給能よりも立体障害作用の方が発光能に大きな影響を与えるからである。

つぎに発光能を持つためには少なくともどのような化学構造を持たねばならないか、またどのような部分構造が発光能を強めるかについて考えてみよう。前述のように (I) において 5-CH₃ 置換体は発光するが hydrazide 環を壊した N-methyl 及び O-methyl 置換体 (II), (III) は発光しない。⁽⁵⁹⁾ またルミノールの異性体 (IV), (V), (VI) についても同様に発光しない。⁽⁵⁹⁾ hydrazide 環の部分だけに相当する maleic hydrazide (VII) およびこの環が切れた linear hydrazide 類 (VIII) も弱いながら発光能をもっている。(VIII) における置換基 R₁, R₂, R₃ の種類と発光能順序において、次の関係が知られており、やはり置換基位置の影響が顕著にあらわれている。⁽⁶⁰⁾



R₁=H, R₃=NH₂ のとき R₂ が o-HOC₆H₄, m-HOC₆H₄, o-H₂NC₆H₄, m-H₂NC₆H₄ は発光するが, R₂ が H, C₆H₅, p-HOC₆H₄, p-H₂NC₆H₄, 2,5-(HO)₂C₆H₃, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3,4,5-(HO)₃C₆H₂ のものは発光しない。⁽⁶⁰⁾ また, R₁=R₃=NH₂, R₂=H のもの, R₁=OH, R₂=H, R₃=NH₂ のものも発光しない。⁽⁶⁰⁾ 対称構造型の (IX) は発光するが, hydrazide 鎖をアゾ基にした (X) は発光しない。

(VIII) は hydrazide 鎖にベンゼン環が結合したものであるが, これをナフタレン環にした (XI) はルミノールと同程度の発光能を, またアントラセン環にした (XII) はルミノールの3倍強の発光能をもつことが見出された。⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾ 他方, 前述のように hydrazide 環にベンゼン環が接続したものは発光能が大きいが, この接続すべき環が heterocyclic なもの⁽⁶³⁾, (XIII), (XIV) のときは発光は微弱にすぎないか, あるいは (XV) のように発光しないものになってしまう。しか

しベンゼン環を経て接続したもの⁽⁶⁵⁾ (XVI) は発光能が大きい (ルミノールの約 1/3)。他方この接続すべき環がナフタレン環になった⁽⁶⁶⁾ (XVII), (XVIII), (XIX) はルミノールの発光能の 1~3 倍を示す。 (XIX) の置換基 R と発光量 (ルミノールを 100 とする)⁽⁶⁸⁾ との関係は表 3 のようである。

表 3 (XIX) 式中の R の種類の発光量との関係

R	-N(n-C ₈ H ₇) ₂	-N(C ₂ H ₅) ₂	-N(CH ₃) ₂	-Pyrrolidinyl	-OH	-OCH ₃
発光量	300	254	228	207	95	79

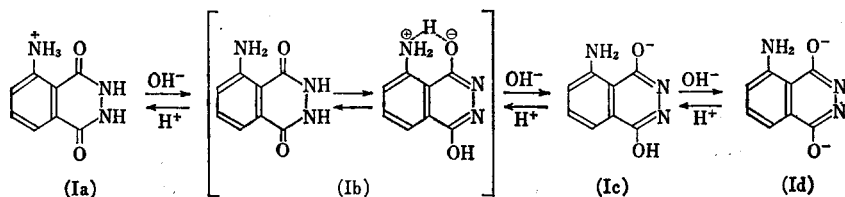
上述のことを総括すると結論的につぎのことが言える。hydrazide 環または鎖の存在が発光能を持つために必要であり、この環または鎖に直接に大きな芳香族環を接続させることにより発光能を増大させることができる。またその芳香族環上の適当な位置に電子供給能の大きな置換基を導入すると発光能はさらに増大する。

4 発光種の解明

化学発光能と化学構造との関係は前述したが、その関係が何故起きるかを解明することが重要である。第一に考えられることは、発光能の大小が発光反応速度の大小と対応しているかどうかである。この疑問は Zellner⁽⁵³⁾ による実験により解決され、酸化速度は多数の hydrazide に対してほとんど同じであることがわかった。第二に考えられることは発光能の大きな物質は結局励起状態になり易く、従って蛍光能も大きいと推定される。この見地から発光能と蛍光能との比較がなされてきた。

ルミノールは水溶液中で図 2 に示すような平衡を保っている。 $I_b \rightleftharpoons I_c$, $I_c \rightleftharpoons I_d$

図 2



の平衡定数はそれぞれ $K_1=10^{-6}$, $K_2=10^{-13}$ と測定されている。⁽³⁸⁾ ルミノールの酸性水溶液は青紫色の強い蛍光を発するが、中性およびアルカリ性水溶液では蛍光は消失する。他方、化学発光は蛍光とは逆に酸性水溶液中よりもアルカリ性水溶液中で起こりやすい。ルミノール関連物質についても表4のような関係

表4 Phthalazinedione 類の化学発光と蛍光との比較⁽⁹⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁶⁷⁾

置 換 基	化 学 発 光		蛍光(酸性中)	
	相対強度	λ , m μ	収量 %	λ , m μ
5-NH ₂	100	424	10	424
5-NHCH ₃	60	451	10	449
5-OH	20	416	2	—
6-NH ₂	4	418	2	423
5-NHCONHCOCH ₃	2	463	0.1	424
5-Br	1	417	2	424
5-NHCOCH ₃	1	424	7	425
5-NHNH ₂ SO ₃ Na	0.2	424	0.02	424
none	0.02	413	—	—
5-NO ₂	0.01	402	0.02	425

が知られている。表4によると一見化学発光と蛍光との対応性があるように思えるが、化学発光はアルカリ性溶液中で、蛍光は酸性溶液中で測定されたものであり、同一条件下での比較でないことに留意せねばならない。従って発光種が phthalazinedione であると断定できない。

最近は同一実験条件下で化学発光と蛍光との両スペクトルが一致する物質の探究が行なわれるようになり、hydrazide 類の発光における発光種が化学発光反応において生成された phthalate ion⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁷⁾ であることが明らかになってきた(表5参照)。

直鎖状 hydrazide 類では同一実験条件下で化学発光能と蛍光能との対応性⁽⁶¹⁾ が見出されている。たとえば o- および m-aminobenzoate は化学発光も蛍光

表 5 Hydrazide 類の化学発光と螢光との比較⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁷⁾

Hydrazide 類	溶 媒	化学発光 $\lambda_{\max}$	螢 光		
			化学発光前 溶液 $\lambda_{\max}$	化学発光後 溶液 $\lambda_{\max}$	Phthalate ion, $\lambda_{\max}$
(I) 中の 置換基	7, 8-di(CH ₃ O)	DMSO	465	—	465
		DMSO-H ₂ O	465, 405	—	465, 405
		H ₂ O	405	—	440
	6, 7, 8-tri(CH ₃ O)	DMSO	465	—	465
		DMSO-H ₂ O	465	—	465(sh405)
		H ₂ O	405	—	440
	5-NH ₂ (Luminol)	DMF-H ₂ O	470	410	475
		H ₂ O	465	417	430
	5-NHCOCH ₃	DMF-H ₂ O	480	412	500
		H ₂ O	470	500	490
(XIX) 中の R	5-NHCOC ₂ H ₅	DMF-H ₂ O	480	412	500
	5-NHCO(CH ₂) ₈ -CHCH ₂	DMF-H ₂ O	480	412	495
	N(CH ₃) ₂	H ₂ O	515	529	515
	N(C ₂ H ₅) ₂	H ₂ O	514~518	529	516
	NH ₂	H ₂ O	483	513	485
	OH	H ₂ O	512	537	513
	OCH ₃	H ₂ O	415~420	527	521, 417

も示すが、化学発光をしない p-aminobenzoate は螢光もしない。

化学発光スペクトルは反応における触媒の有無によって影響をうけ、つぎの⁽⁶⁸⁾関係が知られている。

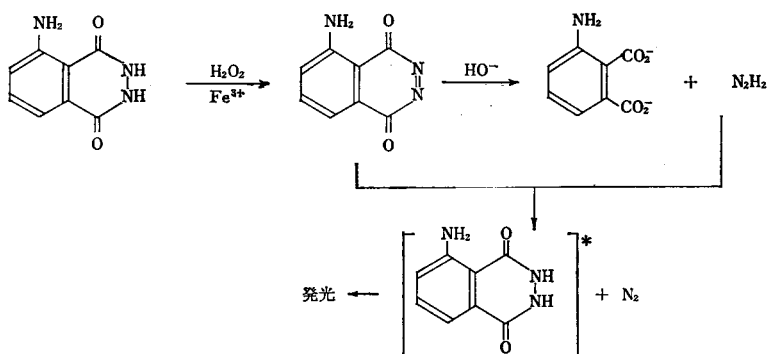
$$(\lambda_1/\lambda_2)=1-(RT/E)\ln(I_2/I_1)$$

ここで、 λ_1 および I_1 はそれぞれ無触媒下の発光波長および強度、 λ_2 および I_2 は触媒存在下の発光波長および強度、 E は発せられる光量子のエネルギー、 R は気体定数、 T は絶対温度である。

5 水溶液中におけるルミノールの発光機構

ルミノールの発光機構に関する最初の報告は Albrecht⁽²⁾ によってなされた。彼は反応中に窒素ガスの放出があること、反応後に aminophthalic acid ion の他に少量のルミノールが残存することから、反応の途中でルミノールが再生されると考え、またルミノールの蛍光と化学発光との両スペクトルの類似からルミノールの励起状態が発光種であると考え図3に示す発光機構を提唱した。

図 3

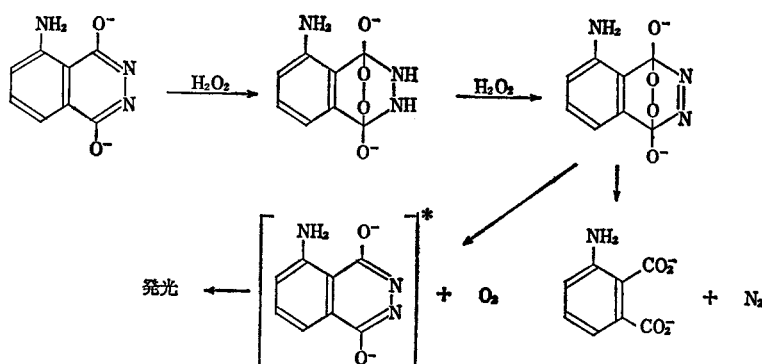


この説はその後 Stross, Kautsky⁽³⁸⁾ のように支持する人々もいるが、アルカリ性溶液中のルミノールは非蛍光性であり、発光種とは考えられないという難点を持っている。さらにこの機構中にアゾ化合物中間体の生成を推定したが、その後その存在が Bernanose⁽⁶⁹⁾ により確認された。しかし、Stross 等によってこの中間体は化学発光能がないことが見出されたので、発光過程に至る反応経路中に、この化合物を考えることは不適當であると思われる。また図1の (IX) の分解においては化学発光反応と似て安息香酸と窒素ガスだけが生成するのに、アゾ化合物である (X) の分解においては窒素ガスの他に近似的に等モルの benzaldehyde と安息香酸とができることから類推しても、この機構中にアゾ化合物を想定することは妥当でない。それにも拘わらずこの中間体を考慮に入れた説を出す人もあり、またルミノールの化学発光過程の中にこの中間体が関与することを有機反応の立場から実証する研究もなされている。最近低温で固体

として diimide (N_2H_2) が遊離できたので、Albrecht の説を支持する人もあ
 る。⁽⁷²⁾ 結局このようなアゾ化合物中間体が発光過程にあるかどうかについては
 両説がありまだ確定できない状態である。

Albrecht の機構に次いで有名なものは Drew の機構である⁽⁷³⁾ (図4)。Drew
 は化学構造と発光能との研究から、ルミノールの dilactimion 構造が必要で

図 4

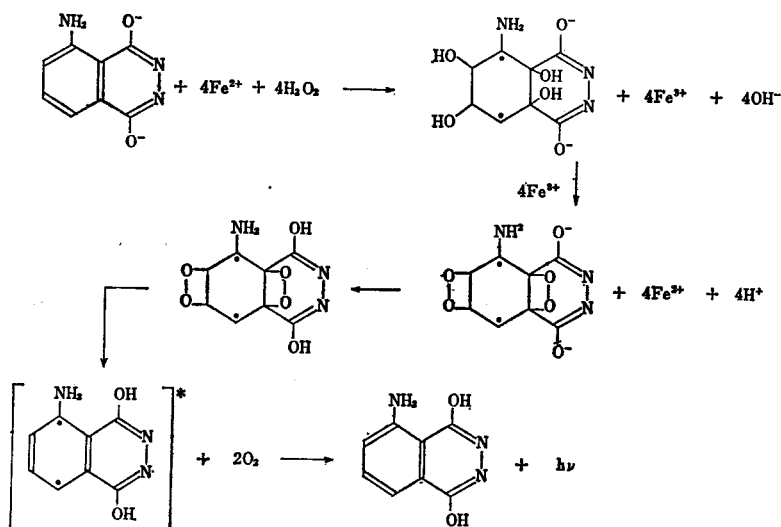


あると考えた。また、反応中間体として過酸化物の単離に成功し、その分析結
 果から中間体を架橋状過酸化構造のものと推定して機構を考えた。⁽⁶⁾ Mayneord
⁽⁴⁵⁾ 等は発光量が H_2O_2 濃度の 1.7 乗に比例することから、このような dilactim
 型の中間体の存在を推定している、ルミノールの発光スペクトルの中心は 424
 ~465 $\text{m}\mu$ 附近であるから、そのエネルギーは約 60 kcal と推定されるが、こ
 の機構によると励起のためのエネルギーは $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ の反応の遊離
 エネルギー 50 kcal となるので発光に必要なエネルギーを提供できないことにな
 る。これがこの機構の最大の難点であった。

Eyring 等は⁽⁷⁴⁾ Drew の機構を修正し、4 モルの H_2O_2 による発光機構 (図
 5) を出したが実験的根拠に乏しい。

他方、Bernanose, Bremer は反応の中間に励起ラジカルが生成するという機
 構を提出していた。この説は水溶液中の発光反応が quinol, phenol 及び CN^-
⁽³⁵⁾⁽⁵⁶⁾ により阻止されたり、また Fe^{3+} , Cu^{2+} から成る無機酸化剤により促進される

図 5



ことから支持される。Eyring⁽⁷⁵⁾等は先に示した機構を変更し、 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ と O_2 による発光反応を反応速度論的見地から研究し、ルミノール陰イオンの電子が触媒によって引きぬかれてラジカルを生成し、これが O_2 と反応して発光するという機構を考えた(図6)。この機構は実験的根拠に乏しいが、lophineの化学発光、電解生成物による発光反応、固体マトリックス中での発光などがラジカルを媒介にしたものであるという事実と関連して注目に値する。

Reid⁽⁷⁶⁾はDrewと同様に励起中間体がdilactim型のイオンであるとし、図

図 6

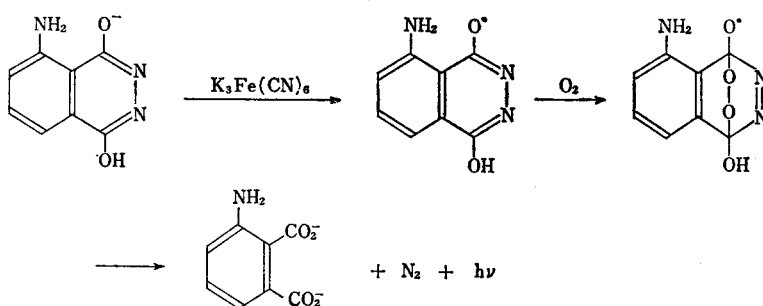
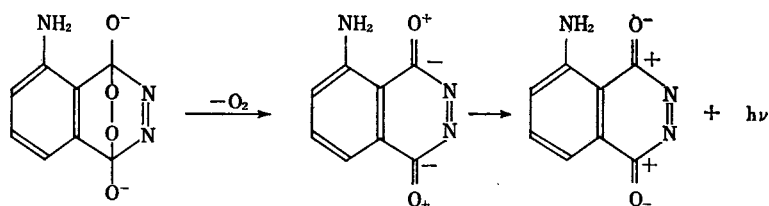
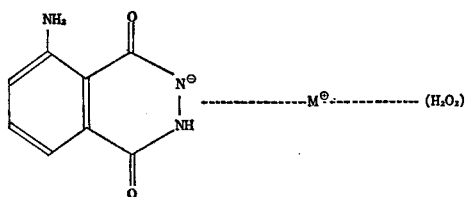


図 7



7に示す反応を考えた。この中間体の過酸化橋をつくる酸素原子は電気陰性度が高いので、過酸化橋が切れる以前では $C=O$ 結合の一方は $C=O^+$ のように分極しており、橋が切れた瞬間でもそのままの状態であると思われる。この状態は O 原子の P 軌道にある非結合電子が $C=O$ 結合の反結合性 π 軌道励起準位に移った状態ということができる。この励起状態にある電子が $n \rightarrow \pi^*$ 遷移によって光を放出すると共に $C=O$ 結合の極性は $C^+=O^-$ のように反転する。この説は多くの化学発光系が励起ケトン化合物を生成するという事実と関連して興味がある。

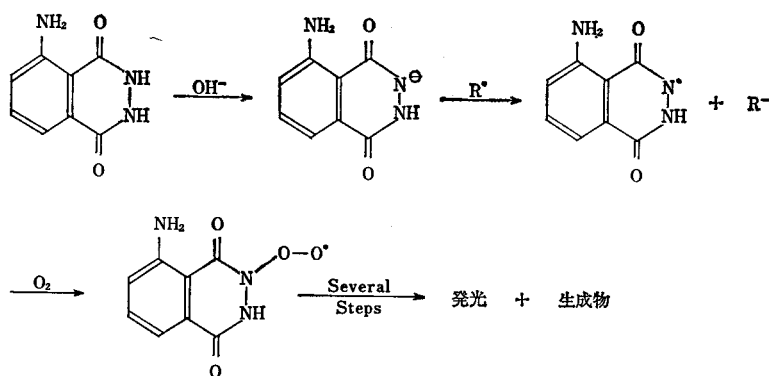
上述の各機構の多くは反応中間体の過酸化物に対する化学構造として過酸化橋を想定しているが、⁽⁴⁴⁾ White 等は過酸化物 (Ba 塩) の赤外線吸収スペクトルの解析と有機合成反応の経験から、中間に生成する過酸化物塩は



のような金属原子にルミノールと H_2O_2 が配位した錯化合物であるとし、もっと別な発光機構を提出した (図 8)。

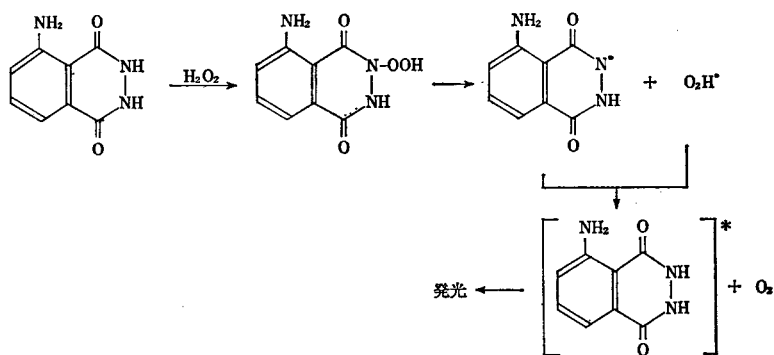
⁽⁷⁷⁾ Stauff と Hartmann は Cu^{2+} を触媒としてルミノールを H_2O_2 で酸化する場合、反応中間体として $390 m\mu$ に吸収極大をもつ物質の生成を認め、これがキノイド型化合物であると考え、また発光がラジカル反応抑制剤 (Hydroquinone など) で阻止されることから、ラジカルが関与する反応であるとし図

図 8



9の機構を提出した。このような二つのラジカルの再結合はしばしば発光を伴うが、まだ不明の点も多く残されている。

図 9



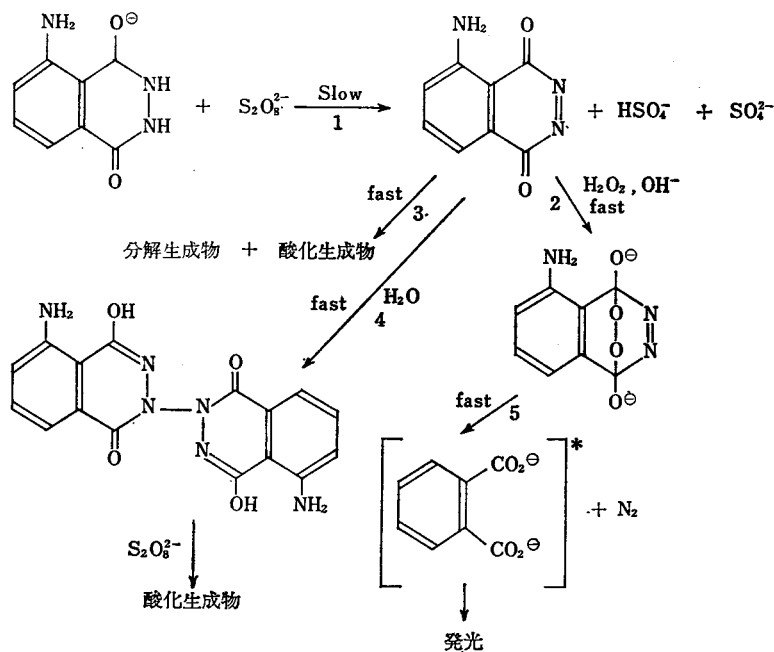
最近⁽²³⁾ Rauhut 等は発光強度の強いルミノール・ K_2CO_3 ・ H_2O_2 ・ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 系について反応速度論的立場から研究を進め、つぎの事実を見出した。

- (a) 反応はルミノール、 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ について一次、 H_2O_2 と塩基について零次反応を示す。
- (b) 反応速度と量子収率は allyl alcohol により影響をうけない。
- (c) 量子収率は H_2O_2 の濃度が増加すると限界値に近づく。

(d) 量子収率はルミノールの高濃度, $S_2O_8^{2-}$ の高濃度で減少する.

以上の結果を説明するため図 10 の機構を考えた. (b) の実験結果は $SO_4^{\cdot -}$ が発光反応に関与しないことを示している. 図 10 において step 4 による二

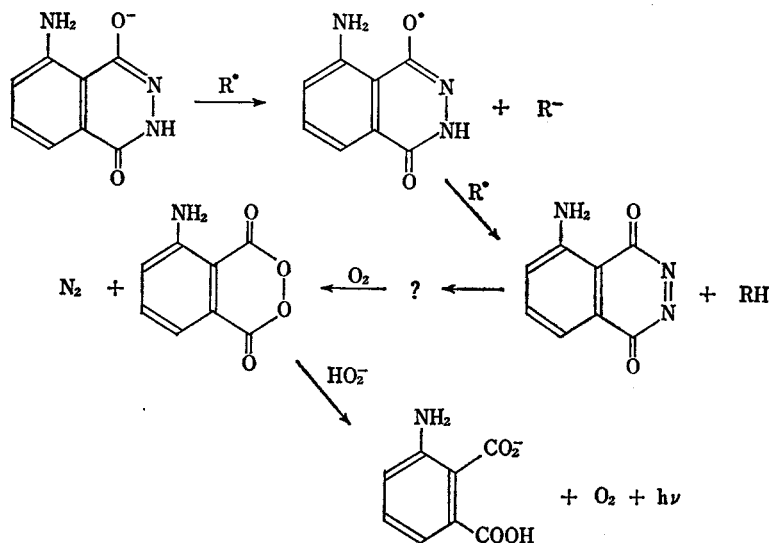
図 10



量体の生成の可能性は既に知られている. step 2 には $HOO^{\cdot -}$ または $O_2H^{\cdot}$ が関与するであろう. またその際生じる中間体は Drew が推定したと同一構造のものである. 発光種に aminophthalate ion の励起状態を考えているのも, この説の特徴である.

Totter と Philbrook⁽⁸⁰⁾ はルミノール・ H_2O_2 ・ $K_2S_2O_8$ 系について研究を行ない, 図 11 に示すような発光反応に酸化過程と還元過程が関与する反応機構を考えた. この機構の特徴はラジカル反応を含むこと, また反応の中間に aminoperoxophthalic anhydride ができ, その還元過程によって発光種 aminophthalate ion を生じるとする点である. これと類似の機構を Kuwana がルミ

図 11

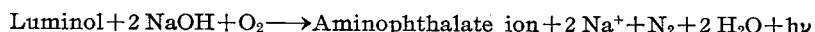


ノールの電解発光において発表している⁽⁴⁷⁾。

6 有機溶媒中におけるルミノールの発光機構

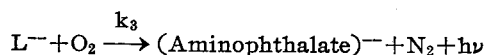
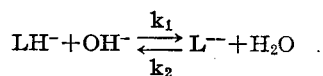
水溶液中での発光反応は種々の発光機構説が出されていることから判断されるように、かなり複雑なものようである。これに反して dimethylformamide や dimethylsulfoxide などの有機溶媒中では塩基と酸素ガスだけで発光することが White⁽⁴⁴⁾ 等によって見出された。この発光法は前述のように発光がやや弱い難点はあるとしても反応が簡単であり、機構解明上好都合である。発光生成物は窒素ガスと aminophthalic acid であることが紫外吸収およびガス、液、ペーパーの各クロマトにより確認された。aminophthalic acid は反応の進行に伴って acetamidophthalic anhydride と dimethylaminophthalate に変化する。表 5 の値とスペクトルの pH 変化とから発光種は aminophthalate ion の励起一重項状態であることがわかった⁽⁶²⁾。さらに発光が 1 モルのルミノール二価イオンに対して 1 モルの O_2 と 2 モルの NaOH が反応し 1 モルの N_2

を放出すること、また O^{18} に富んだ O_2 をえ加て反応させると aminophthalic acid の生成に必要な酸素原子の半数は加えた O^{18} からのもので、液中に存在していた OH^- や $O_2H\cdot$ の酸素原子によるものでないことが見出された。水溶液中の反応と異なり CN^- や遷移金属イオンによってそれほど顕著な影響をうけないのでラジカル分解経路は考えられない。さらに反応速度論的研究の結果によると、ルミノール濃度に比較して高濃度の塩基と酸素を用いたとき発光強度の時間変化は疑一次反応的減衰を示す。White 等⁽⁴⁴⁾⁽⁶²⁾ はこれらの実験事実に基づき、発光反応をつぎのように考えた。



中間体は現在のところ未確定であるが、直鎖状 hydrazide 類の可能性が大きい。

ルミノールの monoanion を LH^- 、dianion を L^{--} とすると発光反応は次式のように書ける。ここで k_1 , k_2 , k_3 は各反応の速度定数である。



この機構によると発光強度 I は

$$I = k_3 [L^{--}] [O_2]$$

定常状態近似法と $k_1 [H_2O] \gg k_3 [O_2]$ より $I = k_1 k_3 [LH^-] [OH^-] [O_2] / k_2 [H_2O]$ となる。上式は $[OH^-]$ と $[O_2]$ がルミノールに比較して過剰にある場合、 $I \propto [LH^-]$ となり実験結果をよく説明できる。

7 結 び

ルミノールの発光機構は現段階で化学技術と機器の進歩によって、かなり解明されて来ているが、まだ中間体の検出など困難な問題があり、未確定の部分が残されている。特に水溶液中での反応は複雑で、種々の説が出されているが、筆者は反応に酸素または酸素を発生する物質が必要であること、還元性物質を

添加すると発光が強められること, free radical が関与すること, 反応生成物に窒素ガスと aminophthalate ion を生じ, この ion の蛍光スペクトルが, 化学発光スペクトルとほとんど一致することなどから考え, 図 11 に示した機構が最適のものであると思っている。

本論説を書くにあたって, つぎに示す文献(この内綜説に関するものは 10, 17, 44, 74, 76, 81 である)を参考にさせていただいた。各文献の著者に対して深く感謝する次第である。

参 考 文 献

- (1) 岩城, 一橋大学一橋学会編, 自然科学研究 **11**, 35 (1969)
- (2) H. O. Albrecht, *Z. physik. Chem.*, **135**, 321 (1928)
- (3) E. N. Harvey, *J. Phys. Chem.*, **33**, 1456 (1929)
- (4) E. Briner, *Helv. chim. Acta.*, **23**, 320 (1940)
- (5) B. Tamamushi, *Naturwiss.*, **25**, 318 (1937)
- (6) H. D. K. Drew, R. F. Garwood, *J. Chem. Soc.*, **1938**, 791
- (7) A. Bernanose, T. Bremer, P. Goldfinger, *Bull. soc. chim. Belges*, **56**, 269 (1947)
- (8) T. Bremer, *Bull. soc. chim. Belges*, **62**, 569 (1953)
- (9) B. Y. Sveshnikov, *Acta Physicochim. U. R. S. S.*, **8**, 441 (1938)
- (10) F. H. Johnson, "The Luminescence of Biological System" (1955) 中の一部 (p. 75~98), American Association for the Advancement of Science, Washington, D. C.; C. W. Wilhelmsen, R. Lumry, H. Eyring, "Kinetics of Chemiluminescence of the 2,3-Dihydrophthalazine-1,4-diones"
- (11) 岩城, 日本化学雑誌 **79**, 161 (1958)
- (12) M. T. Dimitriev, N. A. Kitrosskii, *Zh. Fiz. Khim.*, **42**, 3125 (1968)
- (13) H. Kautsky, K. H. Kaiser, *Naturwiss.*, **30**, 148 (1942)
- (14) K. Weber, R. Kostelac, *Croat. Chem. Acta.*, **28**, 33 (1956)
- (15) A. Bernanose, *J. chim. phys.*, **49**, 442 (1952)
- (16) 尾嶋, 日本化学雑誌 **79**, 188 (1958)
- (17) 尾嶋, 日本化学雑誌 **82**, 973 (1961); 化学 **19**, 862 (1964)
- (18) A. Steigmann, *J. Soc. Chem. Ind.*, **61**, 68 (1942)
- (19) 妻木, 吉野, 倉元, 日本化学雑誌 **64**, 1511 (1943); **65**, 53 (1944); **72**, 626

- (1951); 妻木, 吉野, 広, 日本化学雑誌 **72**, 624 (1951); 妻木, 吉野, 倉元, 九州大学理学部研究報告 (化学) **1**, (No. 1) 6 (1947); **1**, (No. 2) 6 (1950); **1**, (No. 2) 63 (1950); **1**, (No. 3) 161 (1950); **1**, (No. 4) 208 (1953); 吉野, 同誌 **2**, (No. 1) 23 (1954)
- (20) E. S. Vasserman, *Compt. rend. acad. Sci. U. R. S. S.* **24**, 704 (1939); O. Schales, *Ber.* **71 B**, 447 (1938)
- (21) A. K. Babko, N. M. Lukovskaya, *Ukr. Khim. Zh.*, **34**, 1279 (1968)
- (22) K. Weber, W. Lahm, E. Hieber, *Ber.* **76 B**, 366 (1943)
- (23) M. M. Rauhut, A. M. Semsel, B. G. Robret, *Org. Chem.*, **31**, 2431 (1966)
- (24) K. Gleu, K. Pfannstiel, *J. prakt. Chem.*, **146**, 137 (1936)
- (25) H. Thielert, P. Pfeiffer, *Ber.*, **71 B**, 1399 (1938)
- (26) A. H. Cook, *J. Chem. Soc.*, **1938**, 1845
- (27) O. Schales, *Ber.*, **72 B**, 167 (1939)
- (28) E. Baur, *Helv. chim. Acta.*, **23**, 449 (1940)
- (29) E. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 1477 (1941)
- (30) B. Tamamushi, *Sci. Papers. Inst. Phys. Chem. Research (Tokyo)*, **41**, 166 (1943)
- (31) V. Vouk, *Kem. Vjestnik*, **17**, 87 (1943); K. Weber, J. Frketic, *Arhiv Hig. Rada*, **4**, 1 (1953)
- (32) L. Erdey, W. F. Pickering, C. L. Wilson, *Talanta* **9**, 653 (1962)
- (33) 深田, 日本化学雑誌 **77**, 1421 (1956)
- (34) B. P. Geyer, G. McP. Smith, *J. Amer. Chem. Soc.*, **63**, 3071 (1941)
- (35) K. Weber, M. Krajeinović, *Ber.*, **75 B**, 2051 (1942)
- (36) 尾嶋, 日本化学雑誌 **79**, 1076 (1958); **80**, 965, 1371 (1959); H. Ojima, K. Sone, *Bull. Chem. Soc. Japan* **35**, 298 (1961); A. K. Babko et al., *Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSSR, Ser Khim. Nauk* **1968**, 21, 28
- (37) 尾嶋, 日本化学雑誌 **78**, 1632 (1957); **79**, 658 (1958)
- (38) F. H. Stross, G. E. K. Branch, *J. Org. Chem.*, **3**, 385 (1938)
- (39) K. Weber, A. Rezek, V. Vouk, *Ber.*, **75 B**, 1141 (1942)
- (40) K. Weber, *Arhiv Kem.* **23**, 173 (1951)
- (41) A. A. Ponomarenko, N. A. Markaryan, A. I. Komlev, *Doklady Akad. Nauk S. S. S. R.*, **89**, 1061 (1953)
- (42) K. Weber, K. F. Schulz, *Arhiv Kem.*, **26**, 173 (1954)
- (43) K. Weber, Z. Procházka, J. Spoljarić, *Croat. Chem. Acta.*, **28**, 25 (1956)

- (44) E. H. White, *A. Symposium on Light and Life*, p 183~205 (1961); E. H. White, O. Zafriou, H. H. Kägi, J. H. M. Hill, *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 940 (1964)
- (45) H. Bergstermann, *Strahlentherapie* **98**, 474 (1955); W. V. Mayneord, W. Anderson, H. D. Evans, D. Rosen, *Radn. Res.*, **3**, 379 (1955)
- (46) L. A. Chambers, *Amer. J. Med. Sci.*, **190**, 857 (1935); E. W. Flosdorf et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, **58**, 1069 (1936); E. N. Harvey, *J. Amer. Chem. Soc.*, **61**, 2392 (1939); 尾嶋, 日本化学雑誌 **81**, 1785 (1960); K. Negishi, *J. Phys. Soc. Japan*, **16**, 1450 (1961); 根岸, 小林理研報告 **11**, 118 (1961)
- (47) T. Kuwana, *J. Electroanal. Chem.*, **6**, 164 (1963); T. Kuwana, B. Epstein, E. T. Seo, *J. Phys. Chem.*, **67**, 2243 (1963); B. Epstein, T. Kuwana, *Photochemistry and Photobiology* **4**, 1157 (1965); **6**, 605 (1967); B. Epstein, *Diss. Abstr.*, **B 27**, 3809 (1967)
- (48) V. Vojir, *Chem. Listy.*, **48**, 520 (1954)
- (49) A. A. Witte, *Rec. trav. chim.*, **54**, 471 (1935)
- (50) K. Gleu, K. Pfannstiel, *J. prakt. Chem.*, **148**, 72 (1937)
- (51) R. Wegler, *J. prakt. Chem.* **148**, 135 (1937)
- (52) H. D. K. Drew, F. H. Pearman, *J. Chem. Soc.*, **1937**, 26, 586; H. D. K. Drew, R. F. Garwood, *J. Chem. Soc.*, **1939**, 836
- (53) C. N. Zellner, G. Dougherty, *J. Amer. Chem. Soc.*, **59**, 2580 (1937)
- (54) K. D. Gundermann, M. Drawert, *Chem. Ber.*, **95**, 2018 (1962)
- (55) Y. Omote, T. Miyake, S. Ohmori, N. Sugiyama, *Bull. Chem. Soc. Japan* **39**, 932 (1966); **40**, 899 (1967); 表, 三宅, 杉山, 日本化学雑誌 **87**, 621 (1966); Y. Omote, S. Ohmori, N. Sugiyama, *Bull. Chem. Soc. Japan* **40**, 1693 (1967)
- (56) A. Spruit-van Der Burg, *Rec. trav. chim.*, **69**, 1536 (1950)
- (57) E. H. White, M. M. Bursey, *J. Org. Chem.*, **31**, 1912 (1966)
- (58) K. D. Gundermann, W. Horstmann, *Leibigs Ann. Chem.*, **684**, 127 (1965); *Angew. Chem.*, **76**, 686 (1964); **77**, 572 (1965)
- (59) H. D. K. Drew, R. F. Garwood, *J. Chem. Soc.*, **1937**, 1841; E. H. Huntress, J. V. K. Gladding, *J. Amer. Chem. Soc.*, **64**, 2644 (1942)
- (60) H. Ojima, *Naturwiss.*, **48**, 600 (1961)
- (61) E. H. White, M. M. Bursey, D. F. Roswell, J. H. M. Hill, *Org. Chem.*, **32**, 1198 (1967)
- (62) E. H. White, M. M. Bursey, *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 941 (1964)

- (63) Yale, et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 1933 (1953)
- (64) 吉野, 日本化学雑誌 **81**, 173 (1960)
- (65) E. H. White, K. Matsuo, *J. Org. Chem.*, **32**, 1921 (1967)
- (66) E. H. White, E. G. Nash, D. R. Roberts, O. C. Zafiriou, *J. Amer. Chem. Soc.*, **90**, 5932 (1968)
- (67) H. Kautsky, K. H. Kaiser, *Z. Naturforsch.*, **56**, 353 (1950)
- (68) J. Kroh, *Wiadomości Chem.*, **7**, 23 (1953)
- (69) A. Bernanose, *Bull. soc. chim. France*, **17**, 567 (1950)
- (70) Y. Omote, T. Miyake, N. Sugiyama, *Bull. Chem. Soc. Japan* **40**, 2446 (1967)
- (71) E. J. Blau, B. F. Hochheimer, H. J. Unger, *J. Chem. Phys.*, **34**, 1060 (1961)
- (72) W. S. Metcalf, T. I. Quickenden, *Nature*, **206**, 506 (1965)
- (73) H. D. K. Drew, *Trans. Faraday Soc.*, **35**, 207 (1939)
- (74) F. H. Johnson, H. Eyring, M. J. Polissar, "The Kinetic Basis of Molecular Biology" p. 166, John Wiley (1954)
- (75) P. C. Wilhelmsen, R. Lumry, H. Eyring, "The Luminescence of Biological Systems" p. 75, American Association for the Advancement of Science, Washington, D. C. (1955)
- (76) C. Reid, "Excited States in Chemistry and Biology" p. 135~150 Butterworths Scientific Publ. (1957)
- (77) J. Stauff, G. Hartmann, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **69**, 145 (1965)
- (78) T. J. Kealy, *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 966 (1962)
- (79) H. H. Seliger, 文献 (44 の前半) p. 200
- (80) J. R. Totter, G. E. Philbrook, *Photochemistry and Photobiology*, **5**, 177 (1966)
- (81) 林, 化学と工業 **14**, 224 (1961); 科学 **33**, 114 (1963); 神谷, 名古屋大学教養部紀要 **11**, 44 (1967); N. N. Dhar "The Chemical Action of Light" p. 350, Blackie and Son Ltd. (1931); 八木, 吉田, 太幡, "螢光" 南江堂 (1958); IUPAC, "Organic Photochemistry" p. 473 Butterworths (1965); D. M. Hercules, "Fluorescence and Phosphorescence Analysis" p. 185, Interscience Publishers (1965); F. McKapra, *Quat. Rev.*, **20**, 485 (1966); K. D. Gundermann, *Naturwiss.*, **56**, 62 (1969)

1969年10月9日 (一橋大学教授)