

## &lt;研究報告&gt;

## フラビリウム塩の色変化に及ぼす置換基効果

伊藤冬樹 信州大学教育学部理数科学教育講座  
橋詰昌史 信州大学教育学部中学校教員養成課程(平成12年度卒)  
上原宏昭 信州大学教育学部中学校教員養成課程(平成12年度卒)  
勝木明夫 信州大学全学教育機構

キーワード: アントシアニン系色素, 色変化, 置換基効果, 電荷移動吸収, 二量体化

## 1. はじめに

花やムラサキキャベツ等の色は, アントシアニン系色素と呼ばれる化合物によるものであることが知られている。特に身近で入手しやすい素材であるため, 小中学校での酸アルカリ反応の指示薬として使われており pH を変化させることにより様々な色を呈することが知られている<sup>1)</sup>。このアントシアニン系色素に関する研究は1900年頃から行われている。しかしながらこの色素に関しては今日に至るまで多くの疑問点を投げかけてきている。特に植物の多種多様な色彩をもつ理由については(1)アントシアニンの構造が pH に応じて変化する, (2)植物体中でカルシウム, マグネシウムなどの金属塩と種々の複雑な錯体をつくる, (3)複数の分子が集まっていわゆる会合体を形成する, といった点が挙げられている<sup>2)</sup>。しかしながら, これらの発色機構に関する詳細な機構は解明されておらず, また植物体中でアントシアニンがどのような分子構造をとっているのかも確定されていない。

このような背景に基づき, 我々はアントシアニン系色素の基本骨格となる図1に示したフラビリウム塩(FV)に着目した。合成したFVの再結晶条件の違いにより黄色, 緑色, 赤色の3種類の色を持つ固体が得られた<sup>3-5)</sup>。この事実については1900年初頭から知られているが, 原因については未だに知られていない。また, 黄色FV溶液の色も時間の経過とともに黄色から緑色を経由して赤色へ徐々に変化することを初めて見出した<sup>3)</sup>。このような色変化の機構は物理化学的な観点のみならず, 花卉に存在するアントシアニン色素の構造と色調との関係の観点からも興味深い。これらの色調の変化について各種溶媒効果の実験, 分子軌道計算などの結果から, 黄色種は単量体, 緑色種は電荷移動(Charge Transfer; CT)錯体, 赤色種は二量体であると結論付けた<sup>3-5)</sup>。黄色種はFV分子構造から予測できる電子遷移に基づく。また赤色種は濃度依存性の実験よりFV二分子が会合した二量体種であると帰属できた。しかしながら, 緑色種は分子軌道計算や溶媒効果の実験に基づいた帰属であり, 実験的な証拠は不十分である。CT種とは, 2種類以上の分子の間で, 部分的に電荷が移動した種のことを指し, 本系の場合, 対イオンである過塩素酸イオンからFVへ

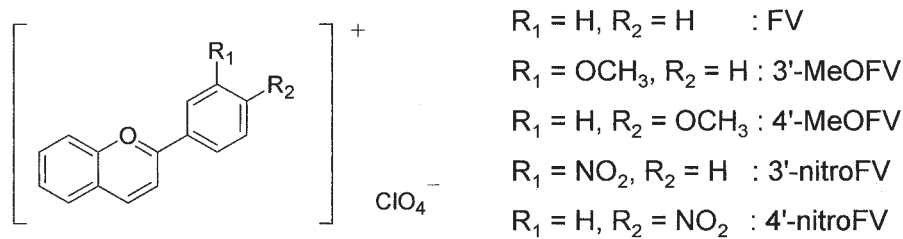


図1 フラビリウム過塩素酸塩の構造式

電荷移動したものである。これらの反応様式を図2に示した。本研究では、置換基によってFV環上の電荷密度を変化させた際の色変化の挙動を調べることによって、中間体である緑色種に関する詳細な知見が得られると考えた。そこで、電子供与性基であるメトキシ基および電子受容基であるニトロ基を置換基として有するFVを合成し、その色変化挙動について無置換FVで得られている結果と比較することによって検討した。

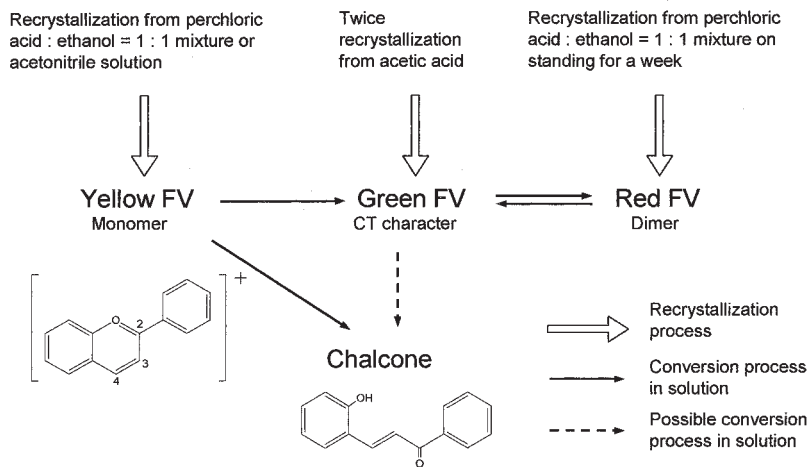


図2 色変化の反応スキームと再結晶条件

## 2. 実験

FVは、サリチルアルデヒドとアセトフェノンの酸触媒アルドール縮合により合成した<sup>6)</sup>。4'-メトキシフラビリウム塩 (4'-MeOFV) は、サリチルアルデヒド (和光純薬工業株式会社 特級) 1.75 g と *p*-メトキシアセトフェノン (和光純薬工業株式会社 特級) 1.32 g を 85% ぎ酸 (和光純薬工業株式会社 特級) 10 mL に溶かし、室温で2時間塩化水素を通じた。塩化水素は、濃硫酸 (和光純薬工業株式会社 特級) に濃塩酸 (和光純薬工業株式会社 特級) を滴下し、ガス洗浄瓶を通じたものを使用した。冷却後 20% 過塩素酸を加え生成物を得た。3'-メトキシフラビリウム塩 (3'-MeOFV)、および4'-ニトロフラビリウム塩 (4'-nitroFV)、3'-ニトロフラビリウム塩 (3'-nitroFV) は、それぞれアセトフェノン誘導体として、*m*-メトキシアセトフェノン (和光純薬工業株式会社 特級) 1.32 g、*p*-ニトロ

アセトフェノン (和光純薬工業株式会社 特級) 1.83 g, *m*-ニトロアセトフェノン (和光純薬工業株式会社 特級) 1.83 g を用い, 上記と同様の方法により合成した。それぞれの分子構造を図1に示した。得られた粗生成物は, ぎ酸+過塩素酸あるいはぎ酸+純水を溶媒とした再結晶法により精製した。これらは赤外吸収 (IR) スペクトル (Shimadzu FTIR-8200A) により構造を検証した。

紫外-可視吸収スペクトルは, Shimadzu UV-160 および Shimadzu UV-2450PC 分光光度計を用いて測定した。

電子状態などの分子軌道計算は WinMOPAC (富士通) を用いて, MP3 法により構造最適化した後 CNDO/S 法を用いて電子遷移エネルギーを見積もった。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 メトキシ基置換 FV

合成した 4'-MeOFV を再結晶したところ, 無置換 FV のように 3 種類の色を示す結晶は得られず, オレンジ色の針状結晶のみが得られた。また, 3'-MeOFV からは褐色の結晶のみが得られた。4'-MeOFV と 3'-MeOFV および比較として無置換の FV の IR スペクトルを図3に示す。IR スペクトルは分子結合の振動に由来する吸収であり, 特に  $1600\text{ cm}^{-1}$  より低波数側は指紋領域と呼ばれ, その化合物に固有の複雑な吸収を示すことが知られている。1000 から  $1200\text{ cm}^{-1}$  の領域には C-O 伸縮振動, また 1500 から  $1600\text{ cm}^{-1}$  の領域に芳香環の C=C 伸縮振動にそれぞれ起因する吸収が観測された。以上のことより, 4'-MeOFV, 3'-MeOFV 共に無置換 FV と同じ基本骨格を持つことがわかる。

次に, メトキシ基置換 FV の紫外-可視吸収スペクトルを測定した。図4に 4'-MeOFV および 3'-MeOFV の  $2.97 \times 10^{-5}\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  アセトニトリル溶液の吸収スペクトルを示す。4'-MeOFV では 430 nm 付近にピークを有する吸収が観測された。一方 3'-MeOFV では 390 nm 付近のピークと 420 nm に肩が観測された。無置換 FV の吸収極大は 400 nm であるので<sup>3,5)</sup>, 置換基の導入およびその位置の違いにより電子状態は変化することがわかる。また, 吸収スペクトルの溶媒依存性を検討したところ, 大きな変化は観測されなかった。このことよりメトキシ基置換 FV は周辺環境 (電荷等) の影響を受けにくいということが明らかとなった。時間経過にともなう吸収スペクトル変化については後述する。

メトキシ基置換 FV の電子状態に関する知見を得るために, 分子軌道計算を適用した。まず, PM3 法による構造最適化を行い, 続いて配置間相互作用を考慮した CNDO/S 法による計算から励起エネルギーを見積もった。表1に CNDO/S 法より得られた励起エネルギーと振動子強度 (吸収強度) を示した。第一遷移エネルギーは, 4'-MeOFV では 432 nm, 3'-MeOFV では 420 nm であり, いずれも  $\pi\text{-}\pi^*$  遷移の性質を示した。この結果は, THF 溶液中での吸収スペクトルと定性的に対応している。また, 3'-MeOFV と 4'-MeOFV の HOMO (分子軌道番号 44) と LUMO (分子軌道番号 45) の軌道エネルギーはそれぞれ, -12.27 eV, -6.13 eV および -12.10 eV, -6.07 eV であった。3'-MeOFV に比べ 4'-MeOFV の HOMO のエ

エネルギーの安定化の程度が大きいため短波長シフトしたと考えられる。

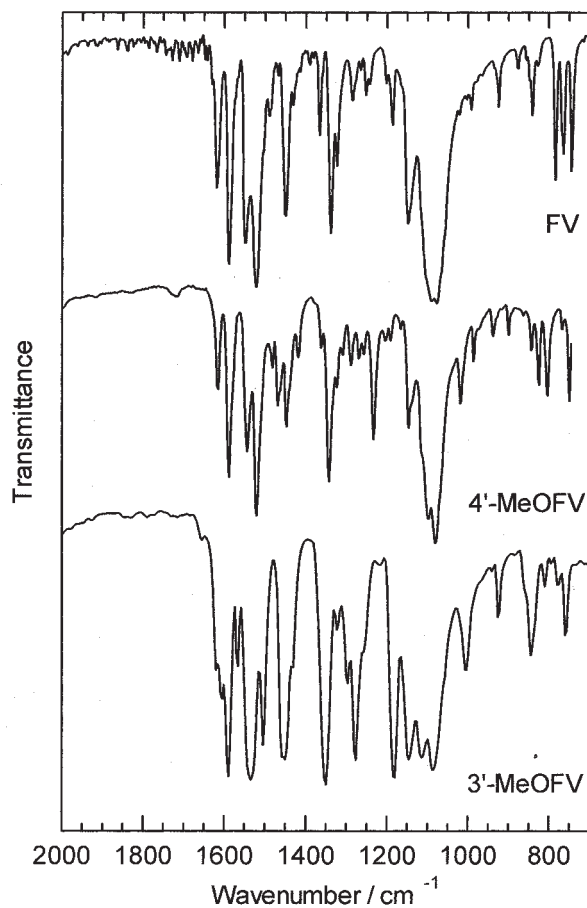


図3 メトキシ基置換FVのIRスペクトル

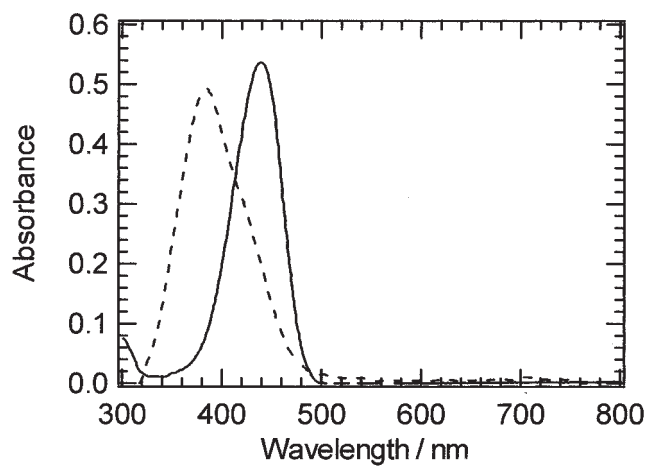


図4 4'-MeOFV, 3'-MeOFVのアセトニトリル溶液の吸収スペクトル。濃度は $2.97 \times 10^{-5}$  mol $\cdot$ dm<sup>-3</sup>である。

表1 メトキシ基置換 FV に対する分子軌道計算の結果

State	Transition Energy		Oscillator strength	MO
	eV	nm		
4'-MeOFV				
1	2.87050	431.925	0.845563	44 → 45
2	3.67212	337.637	0.061841	43 → 45
3	3.79463	326.736	0.033196	42 → 45
-----				
3'-MeOFV				
1	2.95071	420.184	0.730183	44 → 45
2	3.39435	365.267	0.032536	43 → 45 44 → 45
3	3.62340	342.177	0.071945	42 → 45

### 3.2 ニトロ基置換 FV

合成したニトロ基置換 FV の再結晶を行った。再結晶溶媒として純水で希釈したぎ酸を用いたところ、4'-nitroFV では黄色結晶、3'-nitroFV では緑色結晶が得られた。また、4'-nitroFV においては MeOH を再結晶溶媒とした際、青色結晶が析出した。メトキシ基置換 FV とは異なり、無置換 FV と同様再結晶溶媒による色変化を示した。また 4'-MeOFV と 3'-MeOFV の IR スペクトルを測定した。図 5 に IR スペクトルを示す。メトキシ基置換体と同様複雑なスペクトルを示した。1000 から 1200  $\text{cm}^{-1}$  の領域には C-O 伸縮振動、また 1500 から 1600  $\text{cm}^{-1}$  の領域に芳香環の C=C 伸縮振動にそれぞれ起因する吸収が観測された。また、ニトロ基置換 FV では 1735  $\text{cm}^{-1}$  に無置換 FV では観測されない吸収が現れた。一般にニトロ基の吸収は、これより低波数側に観測されるため帰属は困難である。いずれにせよ、他の波数領域において無置換 FV およびメトキシ基置換 FV と類似したスペクトルが観測されたことより FV の基本骨格を有するということがわかる。

THF 溶液中での吸収スペクトルを図 6 に示す。ニトロ基置換 FV の吸収スペクトルでは、450 nm より長波長側に吸収が観測された。4'-nitroFV では、730 nm 付近のピークおよび 510 から 680 nm にかけてブロードな吸収帯が観測された。一方 3'-nitroFV では 715 nm および 605 nm, 550 nm に吸収が観測された。この長波長の吸収は、メトキシ基置換 FV では観測されなかったものである。また無置換 FV で観測された吸収スペクトルとも異なる。長波長領域の吸収帯に関する知見を得るために、ニトロ基置換 FV の吸収スペクトルに及ぼす溶媒の影響を調べた。図 7 に 3'-nitroFV のベンゼン、THF およびアセトニトリル溶液の吸収スペクトルを示す。溶媒極性はベンゼン、THF、アセトニトリルの順に増加する。長波長側の吸収帯はベンゼン中では 725 nm, THF 中で 715 nm, アセトニトリル中で 700 nm にピークが観測された。この吸収帯はカウンターイオンである過塩素酸イオンから FV 環への CT 吸収帯に帰属することができる。一般の中性分子同士の CT 吸収帯は極性の増大に

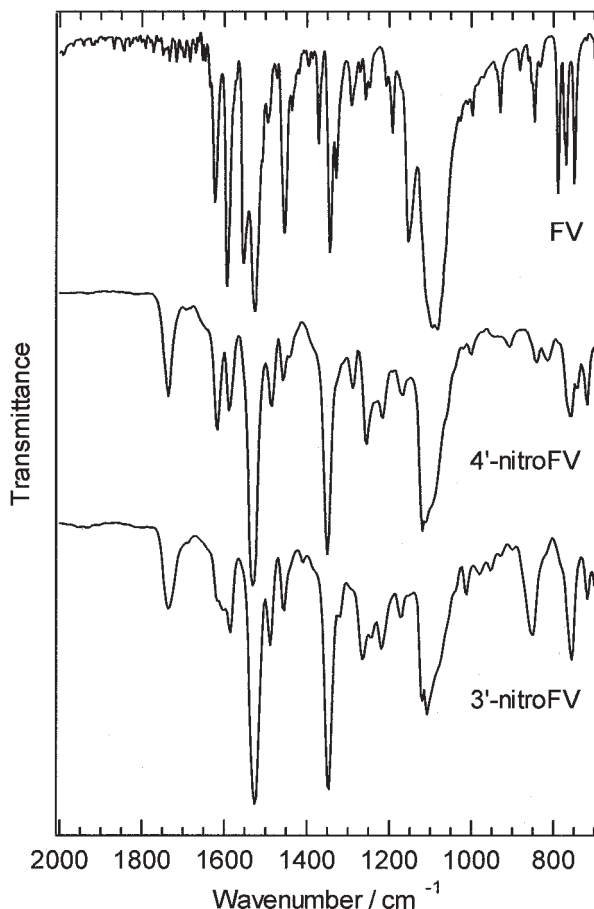


図5 4'-nitroFV および 3'-nitroFV の IR スペクトル (KBr 法により測定)

ともない長波長シフトする傾向である。しかしながら本系のようなイオン間の CT 吸収の場合、極性の減少とともに吸収ピークは長波長シフトすることが知られており、この知見とも一致する<sup>7)</sup>。以上のことより、ニトロ基置換 FV では、CT 吸収が観測されたことより、電子吸引性基を導入することによって CT 形成を有利な方向へ進めていると考えられる。

一方、510 から 680 nm にかけてブロードな吸収帯の由来については不明である。そこでメトキシ基置換 FV と同様に、分子軌道計算を行った。4'-nitroFV および 3'-nitroFV について PM3 法による構造最適化の後、CNDO/S 法による計算から励起エネルギーを算出した。両者とも、メトキシ基置換 FV より長波長側 (440 nm 以上) に遷移が確認された。これらの遷移の振動子強度は非常に小さく、またこの遷移にともなう分子軌道は FV のフェニル基でのみの遷移である。実測値はより長波長側に吸収が観測されており、この遷移に関する詳細については不明である。

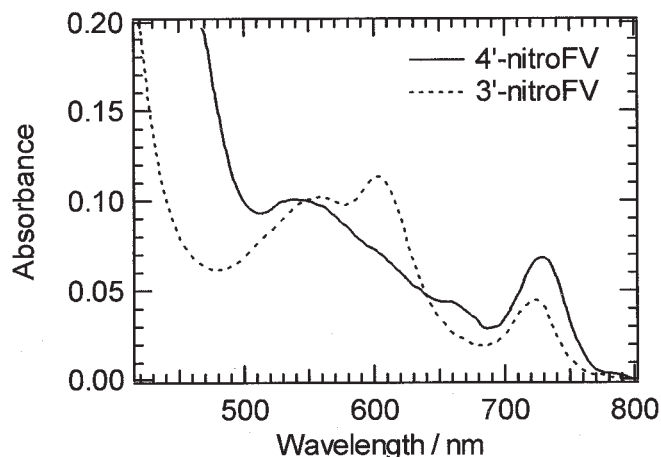


図6 4'-nitroFVおよび3'-nitroFVのTHF溶液の吸収スペクトル。濃度は $2.85 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ である。

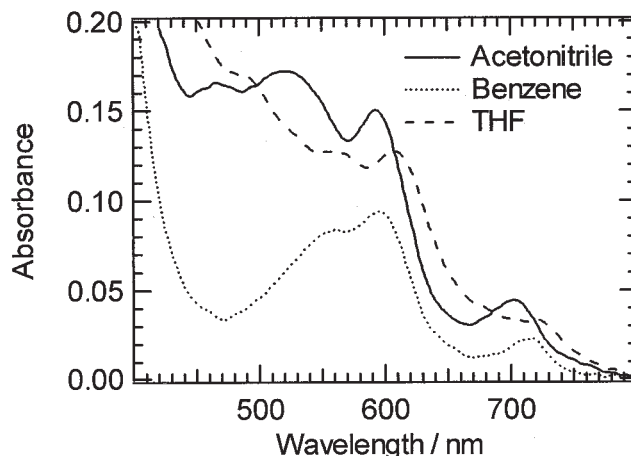


図7 3'-nitroFVの各種溶液の吸収スペクトル。濃度は $2.85 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ である。

### 3.3 時間経過にともなう吸収スペクトル変化

無置換FVにおいて、各種溶媒中に黄色FVを溶解し放置しておくと、色が黄色から緑色を経由して赤色へと変化する。この変化のスキームを図2に示した。我々は吸収スペクトル変化に及ぼす溶媒依存性および濃度依存性の実験から、黄色FVは単量体、緑色FVはCT種、赤色は二量体（会合体）であるということを報告してきた。しかしながら緑色FVはCT種であるという積極的な証拠は得られていない。そこで、本研究では、メトキシ基置換FVとニトロ基置換FVにおける時間経過にともなう吸収スペクトル変化を検討した。

図8に4'-MeOFVのアセトニトリルおよびTHF溶液における吸収スペクトルの時間変化を示す。いずれの溶媒においても調製直後は、FV由来の吸収が観測された。時間の経過

表2 ニトロ基置換FVに対する分子軌道計算の結果

State	Transition Energy		Oscillator strength	MO
	eV	nm		
4'-nitroFV				
1	2.64592	468.587	0.000001	41 → 48 41 → 49 41 → 47
2	2.80988	441.244	0.000003	39 → 48 39 → 49 37 → 48 39 → 47
3	3.79463	422.782	0.758934	46 → 47
4	3.47903	356.376	0.064774	45 → 47
-----				
3'-nitroFV				
1	2.69441	460.153	0.000002	41 → 48 41 → 51 35 → 48
2	2.86858	432.215	0.000000	38 → 48 38 → 51
3	2.96877	417.629	0.677800	46 → 47
4	3.51778	352.450	0.071776	45 → 47

とともにこの吸収強度は減少し続けた。無置換FVで見られたような長波長領域における吸収の出現はなかった。これは、無置換FV体のジオキサン溶液における吸収変化と類似していることから、フラビリウム環の開裂によってカルコンを生成したものと考えられる(図2)。アセトニトリル中(図8(a))では40時間経過後の吸光度は調製直後の吸光度より約20%減少した。一方、THF溶液中(図8(b))では3時間経過した段階で80%減少した。THF溶液における吸収変化はアセトニトリル中のそれに比べ高速であった。極性溶媒中では比較的安定に存在するというを示しており、無置換FVの結果と一致する。さらに、再結晶条件を変化させてもCT種に相当する長波長領域に吸収をもつものは得られなかった。以上の知見より、電子供与基で置換してFV環の電子密度を増加させるとCT種は形成されにくいと結論付けられる。すなわち、カウンターイオンである過塩素酸イオンからの電子受容はないといえる。また、濃度依存性を検討したところ顕著な変化は現れず、無置換FVで観測された二量体種の形成も起こっていないということがわかった。これは、CT種を経由しないと二量体を形成しないという無置換FVで得られている結果と矛盾しない。



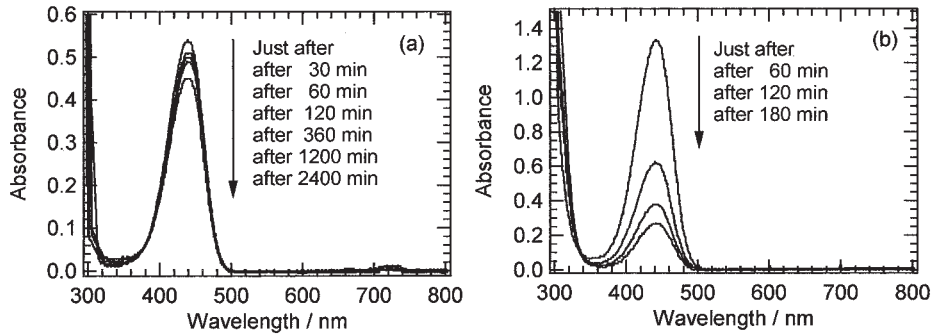


図8 4'-MeOFV のアセトニトリル(a)および THF(b)溶液における吸収スペクトルの時間変化

次に、ニトロ基置換 FV の溶液中における吸収スペクトル変化を測定した。図9に 4'-nitroFV および 3'-nitroFV の THF 溶液における吸収スペクトルの時間変化を示す。濃度はいずれも  $8.55 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  である。4'-nitroFV (図9 (a)) では、調製直後よりニトロ基置換 FV において、730 nm のピークおよび510 から 660 nm にかけて広幅なスペクトルが観測された。時間経過とともに730 nm の吸収強度は増加した。また広幅なスペクトル領域では、600 nm より短波長側では減少し、それより長波長側では増加した。一方、3'-nitroFV (図9 (b)) では、時間経過とともに710 nm のピークの吸光度は増加した。これに付随して600 nm の吸光度も増加した。一方500 から 560 nm の吸光度は時間の経過とともに減少した。このような吸収スペクトル変化から、ニトロ基置換 FV では前述のように、長波長領域に吸収を有する結晶のみ得られている。電荷移動前のいわゆる単量体種が不安定であり即座に CT 種を形成することを意味する。元来 CT 錯体的な性質を有しているにもかかわらず、溶液中に溶解することにより CT 形成は促進した。またこの吸収スペクトルの時間変化に対する濃度依存性を検討したが、溶解度の問題等により二量体形成に関する知見を得ることはできなかった。

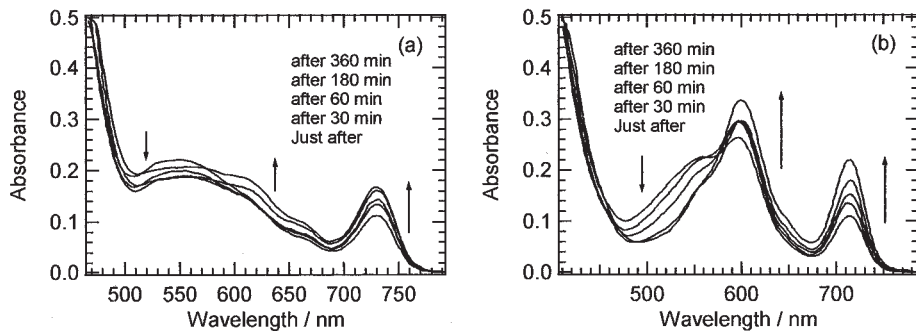


図9 4'-nitroFV(a)および 3'-nitroFV(b) THF 溶液における吸収スペクトルの時間変化

#### 4. 結論

本研究では、置換基によってFV環上の電荷密度を変化させた際の色変化を検討することによって、中間体である緑色種に関する帰属を試みた。電子供与性基であるメトキシ基を導入した場合、CT種に相当する吸収帯の出現はなかった。一方電子受容基であるニトロ基を置換基として有するFVにおいて、長波長領域に弱い吸収帯の出現を観測した。これは、電子密度の減少にともないカウンターイオンである過塩素酸イオンの電荷を受容しやすくなり、CT錯体を形成しやすくなったためと考えられる。置換基やその置換位置を変化させることで劇的な光化学特性の変化が見られた。さらに、電子供与性基および電子受容性基の置換によってFVの色変化の挙動が大きく変化することがわかった。置換基を付与することにより、溶解性や可溶性溶媒の種類が減少し、無置換FVのような広範な検討を行うことは困難であった。しかしながら、置換基効果を検討することによりCT種に関する考察を深めることが可能であった。このようにさまざまな発色を示すアントシアニン系色素は非常に奥が深く、生体系での発色原理も含めまだまだ研究の余地があることを示している。

#### 謝辞

本研究を遂行するにあたり、IRスペクトルを拝借いたしました信州大学工学部環境機能工学科、藤井恒男教授、田中伸明准教授へ感謝申し上げます。また、紫外可視吸収スペクトル測定装置は信州大学教育学部人工気象室より拝借いたしました。ライフプランニング分野の関係の先生方へ感謝申し上げます。

#### 参考文献

- 1) R. Brouillard, "The Flavonoids, Advances in Research," ed by J. B. Harborne, Chapman and Hall, London, 1988.
- 2) Y. Yoshida, T. Kondo, Y. Okazaki, and K. Kato, *Nature*, **373**, 291 (1995); 近藤忠雄, 吉田久美, *現代化学*, **376**, 25 (2002).
- 3) F. Ito, N. Tanaka, A. Katsuki, and T. Fujii, *J. Photochem. Photobiol. A*, **105**, 155 (2002).
- 4) F. Ito, N. Tanaka, A. Katsuki, and T. Fujii, *J. Photochem. Photobiol. A*, **161**, 111 (2004).
- 5) F. Ito, N. Tanaka, A. Katsuki, A. Kakehi, and T. Fujii, *Res. Chem. Intermed.*, **30**, 331 (2004).
- 6) C. Michaelis and R. Wizinger, *Helv. Chim. Acta*, **34**, 1761 (1951).
- 7) F. Ito and T. Nagamura, *J. Photochem. Photobiol. C*, **8**, 174 (2007).

(2009年8月25日 受付)

(2010年1月20日 受理)