

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ホスホール誘導体の合成、光物性、及びセンサーへの応用
Title(English)	
著者(和文)	白石健太郎
Author(English)	Kentaro Shiraishi
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第7650号, 授与年月日:2009年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 正人
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第7650号, Conferred date:2009/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

平成 20 年度 学位論文

ホスホール誘導体の合成、光物性、 及びセンサーへの応用

東京工業大学

総合理工学研究科 物質電子化学専攻

白石 健太郎

目次

第1章 緒言

1-1 典型元素を含む π 共役系分子	1
1-2 ホスホール	2
1-3 本研究	6
1-4 参考文献	6

第2章 ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成と光物性

2-1 緒言	
2-1-1 縮環型ホスホール	8
2-1-2 本研究	10
2-2 結果と考察	
2-2-1 ベンゾ[<i>b</i>]ホスホール誘導体の合成法	11
2-2-2 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシドの合成	12
2-2-3 分子内環化反応によるベンゾ[<i>b</i>]ホスホールオキシドの合成	14
2-2-4 ビス-ベンゾ[<i>b</i>]ホスホール誘導体の合成	16
2-2-5 ベンゾビスホスホールオキシドの結晶構造	18
2-2-6 ベンゾ[<i>b</i>]ホスホールオキシド誘導体の THF 溶液中での光物性	19
2-2-7 ベンゾ[<i>b</i>]ホスホール誘導体の THF 溶液中での光物性	21
2-2-8 ビス-ベンゾ[<i>b</i>]ホスホール誘導体の THF 溶液中での光物性	22
2-3 まとめ	24
2-4 実験項	
2-4-1 分析機器	24
2-4-2 溶媒	25
2-4-3 試薬	25
2-4-4 合成	25
2-4-5 蛍光量子収率の算出法	34
2-4-6 X線構造解析に用いた結晶	34
2-5 参考文献	34

第3章 ホスホールをコアとするデンドリマーの合成と光物性

3-1 緒言	
3-1-1 デンドリマー	36
3-1-2 本研究	38

3-2	結果と考察	
3-2-1	ホスホールをコアとするデンドリマーの合成	38
3-2-2	GnP の THF 中での光物性	42
3-2-3	GnPO の THF 中での光物性	43
3-2-4	GnP および GnPO のエネルギー移動	44
3-2-5	フィルム状態での光物性	48
3-2-6	ホスホールオキシドの凝集誘起型発光特性	49
3-2-7	凝集体の粒子径	52
3-2-8	2,5-ジフェニルホスホールオキシドの X 線結晶構造解析	54
3-2-9	粘性溶液中および低温での蛍光スペクトル	55
3-2-10	ホスホールの凝集状態での蛍光スペクトル	56
3-3	まとめ	57
3-4	実験項	
3-4-1	分析機器	57
3-4-2	溶媒	57
3-4-3	試薬	57
3-4-4	合成	58
3-4-5	蛍光量子収率の算出法	64
3-4-6	X 線構造解析に用いた結晶	64
3-5	参考文献	64

第4章 ホスホールオキシドを利用した爆薬検出センサー

4-1	緒言	
4-1-1	爆薬検出センサー	67
4-1-2	本研究	68
4-2	結果と考察	
4-2-1	分子モデル計算による HOMO - LUMO エネルギー準位	68
4-2-2	水/THF 混合溶液中でのニトロ化合物の検出	69
4-2-3	ニトロ化合物の蒸気検出	73
4-2-4	ニトロ化合物のろ紙上での検出	74
4-3	まとめ	77
4-4	実験項	
4-4-1	分析機器	77
4-4-2	試薬	77
4-4-3	測定溶媒	77
4-4-4	水/THF 混合溶液中での蛍光スペクトルの試料調製	77

4-4-5	蒸気検出	77
4-4-6	ろ紙上での検出	78
4-4-7	写真撮影	78
4-4-8	画像解析	78
4-4-9	分子モデル計算	78
4-5	参考文献	78
第5章 凝集誘起型発光特性を利用したバイオセンサーの開発		
5-1	緒言	
5-1-1	レクチン検出センサー	80
5-1-2	本研究	82
5-2	ホスホールオキシドの凝集誘起型発光特性を利用した レクチン検出センサー	
5-2-1	分子設計と合成	83
5-2-2	糖 - レクチン相互作用の蛍光測定	83
5-3	テトラフェニルエテンの凝集誘起型発光特性を利用した レクチン検出センサー	
5-3-1	分子設計	90
5-3-2	合成	91
5-3-3	糖結合 TPE とレクチンの相互作用	95
	(1) マンノース結合 TPE を用いた ConA 検出	95
	(2) ラクトース結合 TPE を用いた RCA120 検出	101
5-4	タンパク質間相互作用を利用した”turn-off”型センサー	
5-4-1	タンパク質間相互作用	102
5-4-2	チログロブリンとの相互作用	103
5-4-3	測定	105
5-5	まとめ	108
5-6	実験項	
5-6-1	分析機器	108
5-6-2	溶媒	108
5-6-3	試薬	108
5-6-4	合成	109
5-6-5	試料調製	117
5-6-6	各タンパク質の吸収スペクトル	118
5-7	参考文献	118

第6章 総括	121
本研究に関する論文	122
特許	123
本研究に関する学会発表	123
謝辞	

第1章 緒言

1-1 典型元素を含む π 共役系分子

有機エレクトロニクス材料等として利用が期待される π 共役系分子において、最近、典型元素を組み込んだ π 共役系分子が注目されている¹。これは典型元素を π 共役系分子に組み込むことで、典型元素と π 共役系が特異な軌道間相互作用し、その電子構造を制御することが可能であることが明らかになってきたからである。例えばシクロペンタジエンのリン類縁体であるホスホールあるいはケイ素類縁体であるシロールは、リンあるいはケイ素上の環外 σ 結合の σ^* 軌道とブタジエン部分の π^* 軌道との $\sigma^*-\pi^*$ 共役により、LUMO のエネルギーレベルが低い電子的特徴を示す (図 1)²。また、シクロペンタジエンのホウ素類縁体であるボロールは、ホウ素上の空の p 軌道とブタジエン部分の π^* 軌道との $p_{\pi}-\pi^*$ 共役により LUMO のエネルギーレベルが非常に低い。

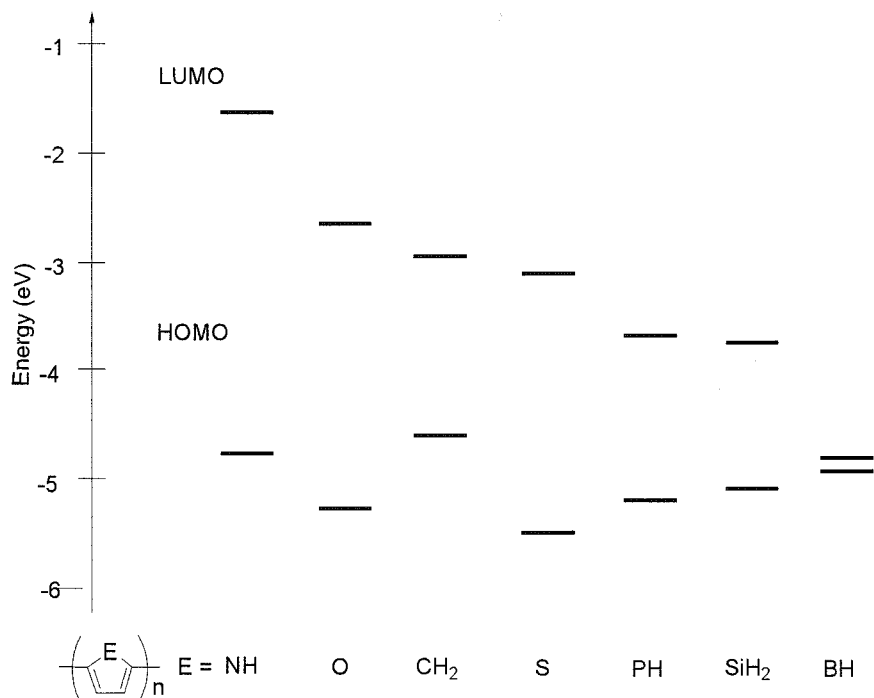


Figure 1. ポリヘテロールの HOMO - LUMO エネルギー準位図 (HF/6-31G(d)レベルでの計算)

このような特異な電子状態をもつリン、ケイ素およびホウ素等の典型元素を含む π 共役系分子は発光材料や電子輸送材料として注目されている。例えばシロール誘導体 **1** は優れた電子輸送性を示し、すでに有機 EL (エレクトロルミネッセンス) ディスプレイ発光素子の電子輸送材料として実用化されている (図 2)³。

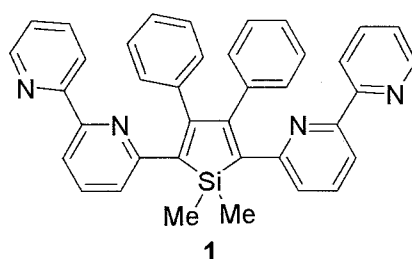


Figure 2. 電子輸送材料として用いられるシロール誘導体

またジベンゾボロール **2** は低い LUMO のエネルギーレベルを反映して、発光極大が **514 nm** に観測され、フルオレンの発光極大の **314 nm** に対し **200 nm** の長波長シフトを示す (図 3) ⁴。

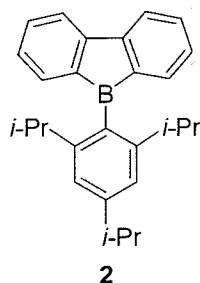


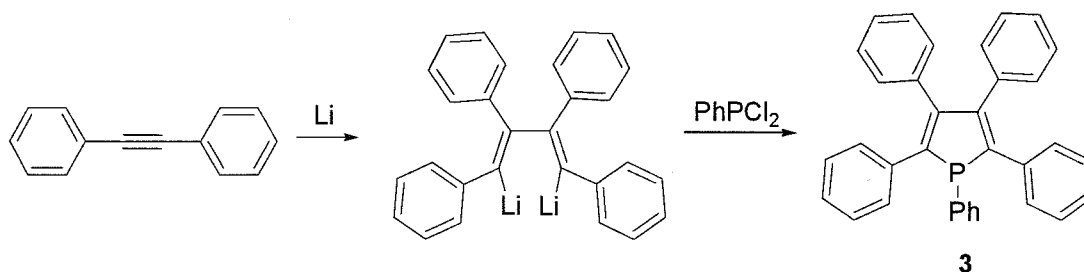
Figure 3. ジベンゾボロール

1-2 ホスホール

ホスホールは、LUMO のエネルギーレベルが低い電子的な特徴に加え、リン原子は多様な結合様式をとるため、リン原子上への単純な化学修飾により、ホスホールの電子および光物性を変化させることも可能である ⁵。

ホスホールの典型的な合成例を以下に示す。テトラフェニルホスホール **3** はジリチオテトラフェニルブタジエンとジハロゲン化ホスフィンとの反応により合成できる (スキーム 1) ⁶。

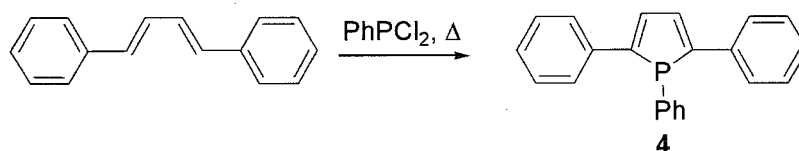
Scheme 1. テトラフェニルホスホールの合成



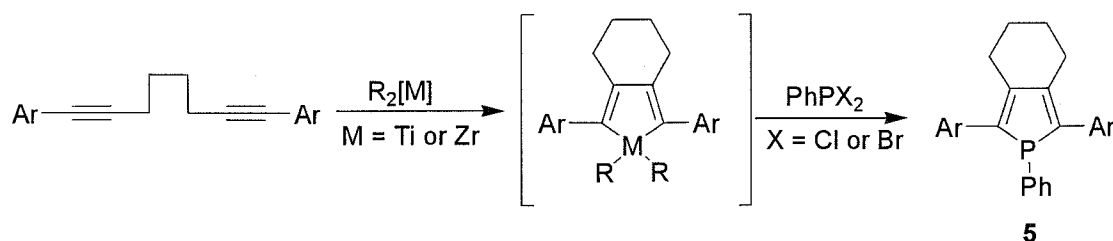
また 2,5 - ジフェニルホスホール **4** は、1,4 - ジフェニルブタジエンをジハロゲン化ホスフィン存在下で加熱することで合成できる (スキーム 2) ⁷。また最

近では、ジイン誘導体と低原子価ジルコニウムあるいはチタンとの分子内環化反応により生成するメタラサイクルと、ジハロゲン化ホスフィンとの反応によって 2,5 - ジフェニルホスホール **5** を合成する方法が報告されている (スキーム 3) ⁸。

Scheme 2. 2,5 - ジフェニルホスホールの合成 (1)

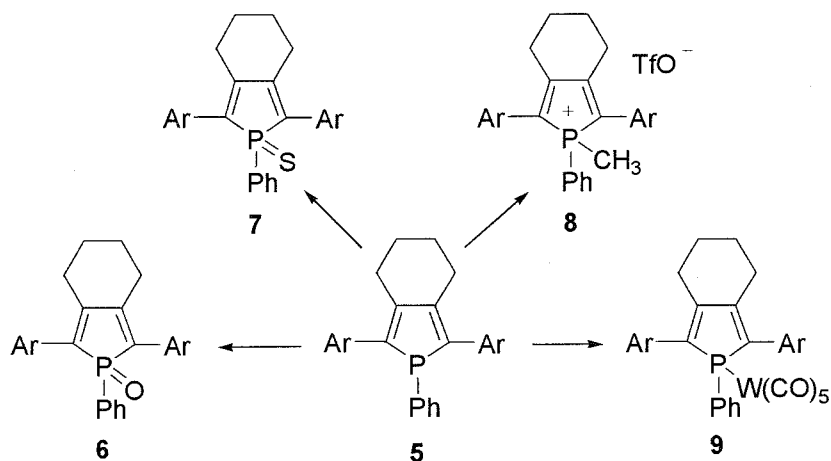


Scheme 3. 2,5 - ジフェニルホスホールの合成 (2)



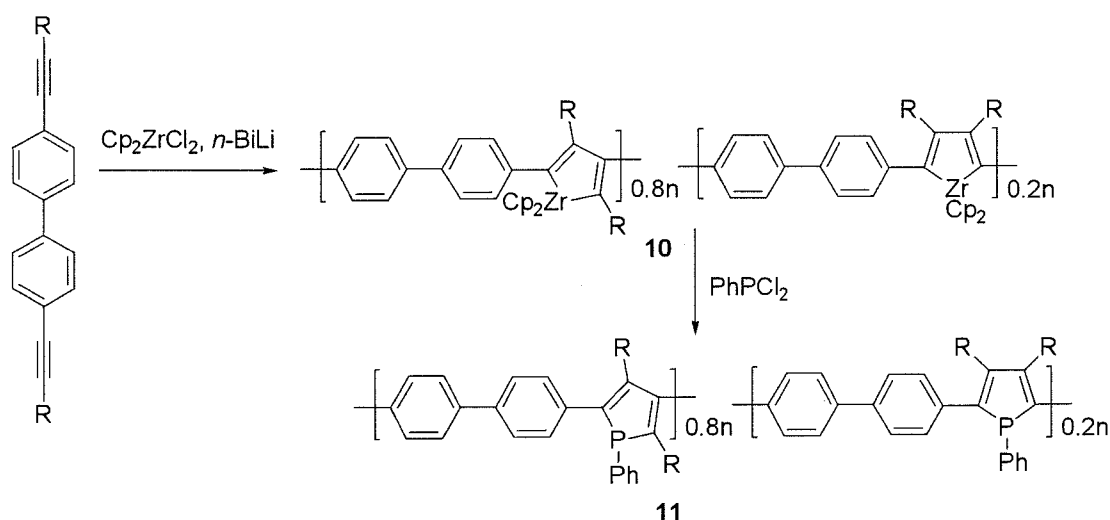
ホスホールの最初の合成例は 1950 年代に報告されているが⁹、電子および光物性に関する報告例は最近になってからである。例えば Réau らは 2,5 - ジアリール型ホスホールの合成と光物性について報告した^{8a}。**5** のリン原子を酸化した **6**、硫化した **7**、メチル化した **8** あるいは金属配位した **9** はいずれも異なる電子および光物性を示した (スキーム 4)。特に **6**、**7** および **8** は分極した構造に由来した LUMO の低下に起因して、吸収および発光極大が **5** と比較して長波長側に観測された。

Scheme 4. ホスホールのリン原子への化学修飾



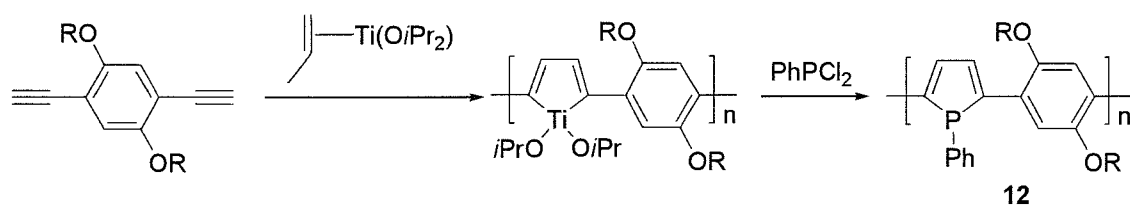
ホスホールのポリマーへの展開もなされている。1997年に Tilley らはホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマーについて初めて報告した¹⁰。ポリマー11はジイン誘導体と低原子価ジルコニウムとの分子間環化反応により生成するポリメタラサイクル10と、ジハロゲン化ホスフィンとの反応により合成される(スキーム5)。この反応は分子内環化が位置選択的に進行しないため、2,4-あるいは2,5-結合のホスホールが主鎖中に混在する。ポリマー11は発光極大を470 nmに示した。

Scheme 5. ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー (1)



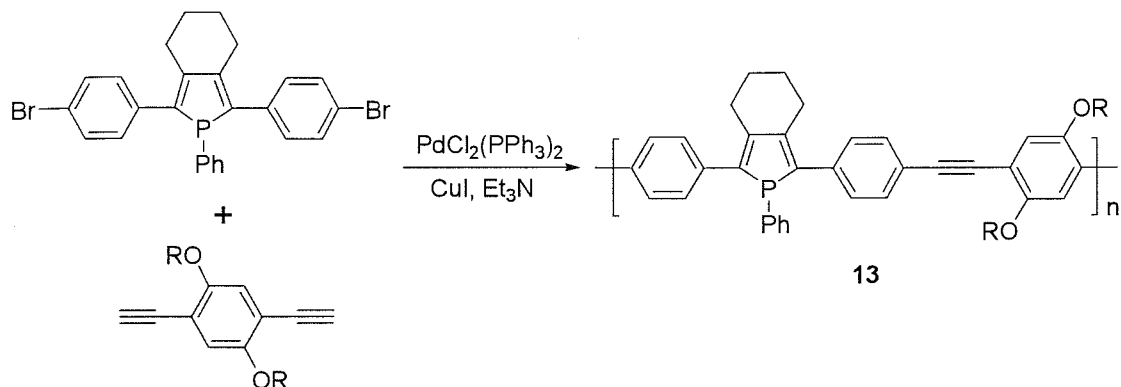
Tomita らはジイン誘導体と低原子価チタンとの分子間環化反応、続くジハロゲン化ホスフィンとの反応によって、ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー12を報告した(スキーム6)^{8b,c}。この場合は先の例と違い、ポリマー主鎖中に2,5-位で連結してホスホールは組み込まれている。ポリマー12は吸収極大を500 nmに、また発光極大を600 nmに示した。

Scheme 6. ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー (2)



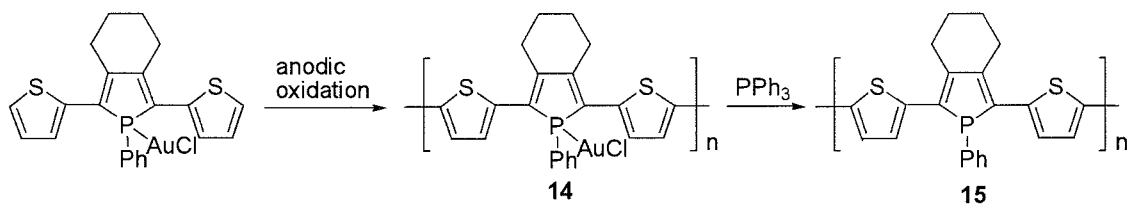
一方 Chujo らによってもホスホール骨格をもつモノマーとジイン誘導体との園頭カップリングによる合成により、ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー13が報告されている(スキーム7)¹¹。ポリマー13は吸収極大を約410 nmに、また発光極大を約490 nmに示した。

Scheme 7. ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー (3)



また Réau らは、金がリンに配位した 2,5-ジチエニルホスホールをモノマーとして用いた電解重合法によるポリマー14、リン原子を還元したポリマー15の合成について報告した (スキーム 8) ¹²。

Scheme 8. ホスホールを主鎖骨格に含む π 共役ポリマー (4)



一方で、ホスホール誘導体は有機エレクトロニクス材料として展開されている。最近ホスホール誘導体を用いた有機 EL デバイスが報告され (図 4) ¹³、例えばホスホールスルフィド 7 は比較的高い EL 効率を示した。

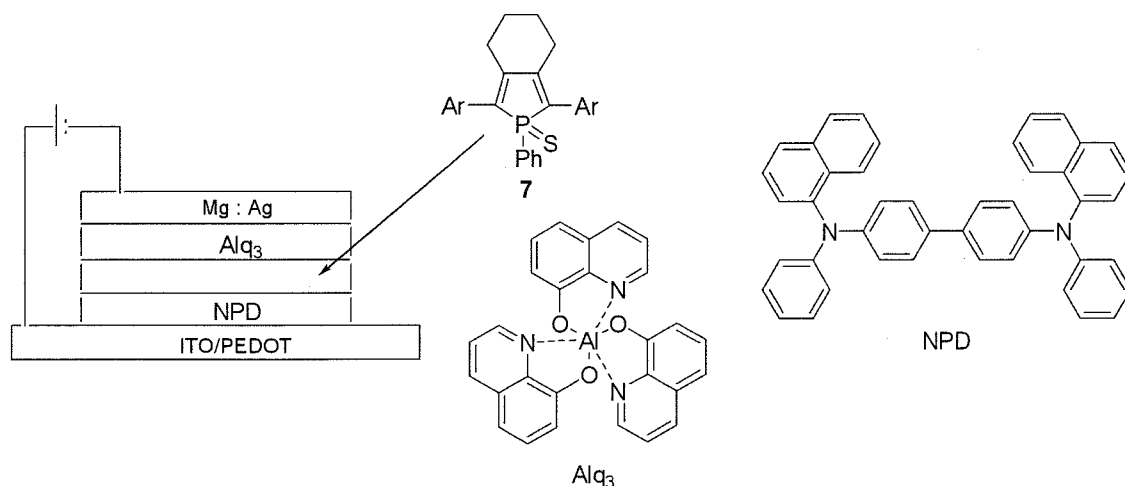


Figure 4. ホスホール誘導体を用いた有機 EL デバイス

さらにごく最近 Matano らはビチオフエン縮環型ベンゾ[*d*]ホスホールオキシドの電子輸送性について報告し (図 5) **14**、**16** は一般的に使用される電子輸送材料である Alq₃ を上回る高い電子輸送性を示した。

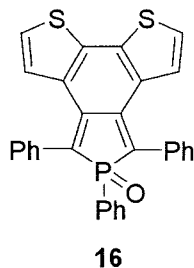


Figure 5. 高い電子輸送性を示すホスホール誘導体

1-3 本研究

本研究では、ホスホールを基幹ユニットとした分子の合成と光物性、またセンサーへの応用について検討した。

第 2 章ではインドールのリン類縁体であるベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の分子内環化反応による合成とその光物性について述べる。さらに、 π 共役系を拡張したビス-ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成とその光物性について述べる。

第 3 章では 2,5 - ジフェニルホスホールをコアとするベンジルエーテル型 dendrimer の合成とその光物性について述べる。

第 4 章ではホスホールオキシドを利用した蛍光消光による爆薬検出センサーへの応用について述べる。

第 5 章ではホスホールオキシド及び関連分子の凝集誘起型発光を利用したバイオセンサーの開発について述べる。

第 6 章では総括と今後の展望について述べる。

1-4 参考文献

- 1 a) Yamaguchi, S.; Tamao, K. *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 2. b) Hissler, M.; Dyer, P. W.; Réau, R. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *244*, 1.
- 2 Salzner, U.; Lagowski, J. B.; Pickup, P. G.; Poirier, R. A. *Synth. Met.* **1998**, *96*, 177.
- 3 a) Tamao, K.; Uchida, M.; Izumizawa, T.; Furukawa, K.; Yamaguchi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11974. b) Uchida, M.; Izumizawa, T.; Nakano, T.; Yamaguchi, S.; Tamao, K.; Furukawa, K. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 2680.
- 4 Yamaguchi, S.; Shirasaka, T.; Akiyama, S.; Tamao, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8816.

- 5 a) Baumgartner, T.; Réau, R. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 4681. b) Crassous, J.; Réau, R. *Dalton Trans.* **2008**, 6865.
- 6 Braye, E. H.; Hübel, W.; Caplier, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 4406.
- 7 Gampbell, I. G. M.; Cookson, R. C.; Hocking, M. B.; Hughes, A. N. *J. Chem. Soc.* **1965**, 2184.
- 8 a) Hay, C.; Hissler, M.; Fischmeister, C.; Berthelot, J. B.; Toupet, L.; Nyulászi, L.; Réau, R. *Chem. Eur. J.* **2001**, *19*, 4222. b) Tomita, I. *Polym. Prep.* **2004**, *45*, 415. c) Tomita, I.; Ueda, M. *Macromol. Symp.* **2004**, *209*, 217. d) Matano, Y.; Miyajima, T.; Nakabuchi, T.; Matsutani, Y.; Imahori, H. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5792.
- 9 Wittig, G.; Geissler, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1953**, *580*, 44.
- 10 Mao, S. S. H.; Tilley, D. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5566.
- 11 a) Morisaki, Y.; Aiki, Y.; Chujo, Y. *Macromolecules* **2003**, *36*, 2594. b) Na, H.-S.; Morisaki, Y.; Aiki, Y.; Chujo, Y. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2007**, *45*, 2867.

第2章 ベンゾ[b]ホスホール誘導体の合成と光物性

2-1 緒言

2-1-1 縮環型ホスホール

ホスホールは、ブタジエン π^* 軌道とリン上の環外 σ 結合の σ^* 軌道が効果的に軌道間相互作用するため、LUMO レベルが低い電子的な特徴をもつ。さらに、リン原子は多様な結合様式をとるため、例えば酸化など、リンへの単純な化学修飾により、ホスホールの電子・光物性を変化させることも可能である¹。このような特徴から、ホスホールを含む π 共役系分子は発光材料や電子輸送材料として期待される。最近では、縮環型ホスホールが π 共役の拡張の点で注目されている。縮環型ホスホールとして、例えばジベンゾホスホール²、ジチエノホスホール³、リン架橋型スチルベン⁴またベンゾ[c]ホスホール⁵などが報告されている。

ジベンゾホスホールは 1953 年に 2a、またジチエノホスホールは 1974 年に 3a 合成例が報告されているが、これらの光物性について報告されたのはいずれも 2000 年代になってからである(図 1)。例えばジベンゾホスホールを酸化した 1、また金がリンに配位した 2 は、リン原子の結合様式に関わらず、いずれも吸収極大を約 330 nm に、また発光極大を 366 nm に示す。一方、チオフェン縮環型ホスホール(ジチエノホスホール)は、リン原子への化学修飾によって光物性が変化する。ジチエノホスホール 3 は吸収極大を 338 nm にまた発光極大を 415 nm に示すが、リン原子を酸化した 4 では吸収および発光極大をそれぞれ 366 および 453 nm に示す。また、酸化体のジチエノホスホールオキシド 4 は、ベンゾホスホールオキシド 1 と比べ長波長側に吸収及び発光が観測される。

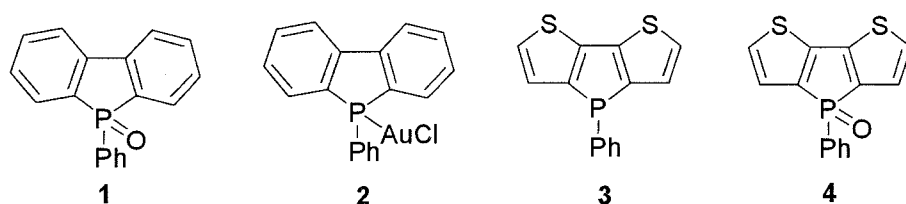
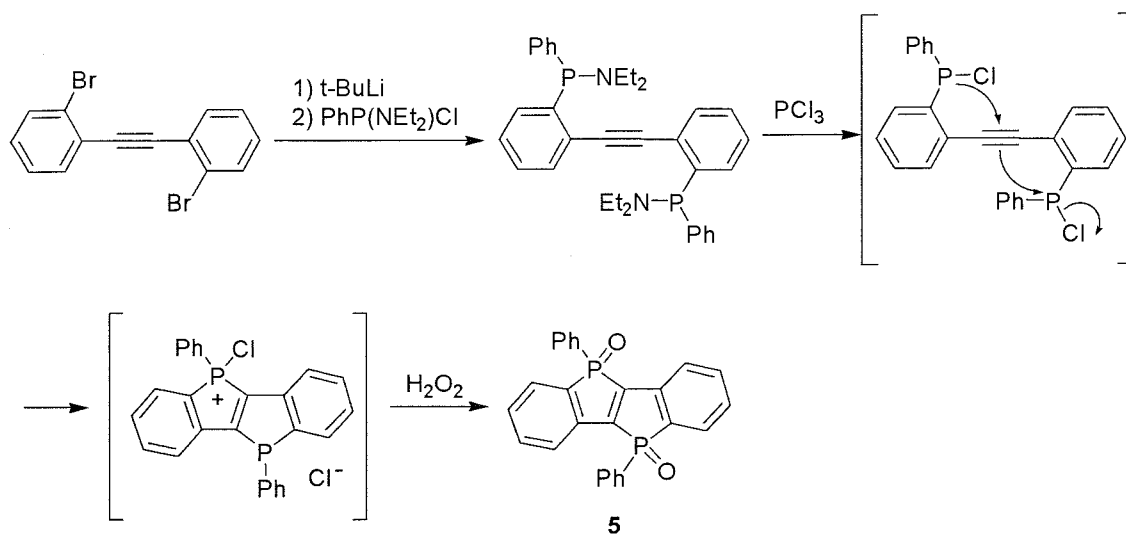


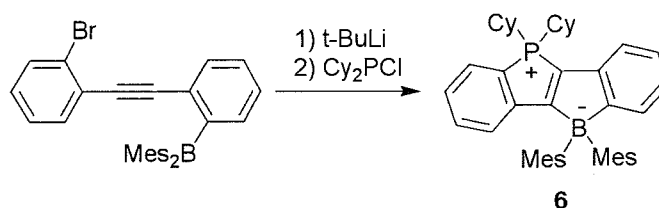
Figure 1. ジベンゾホスホールおよびジチエノホスホール誘導体

最近 Yamaguchi らは、 π 共役系をさらに拡張したリン架橋型スチルベンを分子内二重環化反応により合成した(スキーム 1) 4a。5 は、ベンゾホスホールオキシド 1 に対し発光極大が約 100 nm 長波長シフトし、480 nm の強い発光を示す。また、同様な分子内二重環化反応によって合成した分子内にホスホニウムとボレートユニットを有する双極性スチルベン 6 では、その分極した構造を反映して 520 nm とより長波長側に発光を示す(スキーム 2) 4b。

Scheme 1. リン架橋型スチルベンの合成

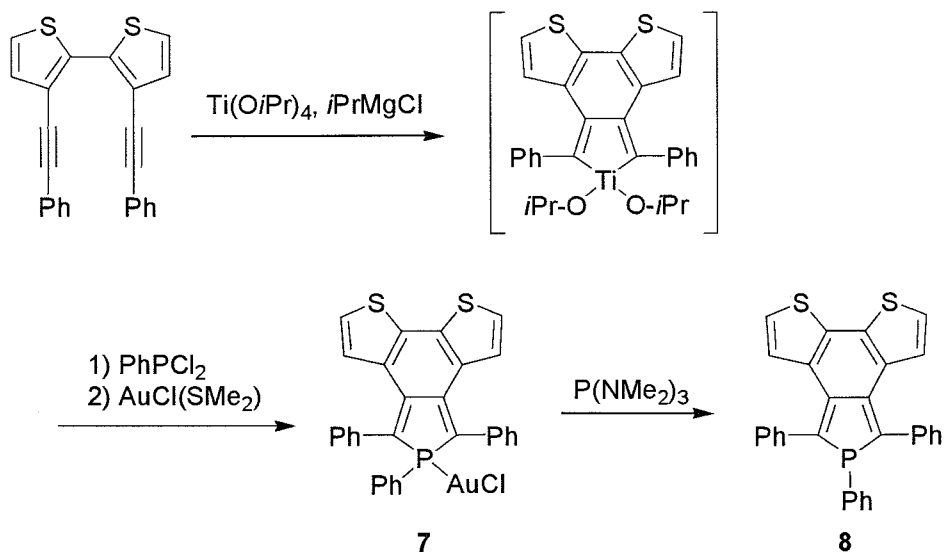


Scheme 2. リンおよびホウ素架橋型スチルベンの合成



ごく最近 Matano らはビチオフエン縮環型ベンゾ[*c*]ホスホールについて報告した⁵。ビチオフエン縮環型ベンゾ[*c*]ホスホール誘導体 **8** はジチエニルジイン誘導体から、低原子価チタンを用いた分子内環化反応により合成した(スキーム 3)。**8** は π 共役系の拡張を反映し、**600 nm** に発光極大を示した。また、リン原子に金が配位した **7** では **661 nm** に発光極大を示し、**8** と比べ約 **60 nm** の長波長シフトが観測された。

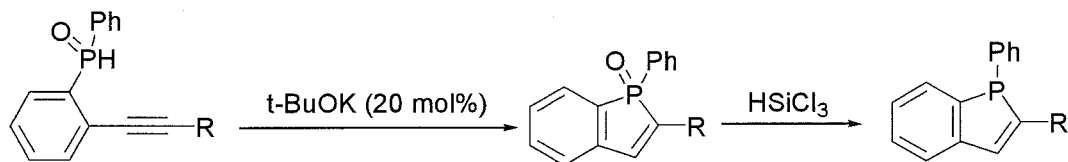
Scheme 3. ビチオフェン縮環型ベンゾ[*c*]ホスホール誘導体の合成



2-1-2 本研究

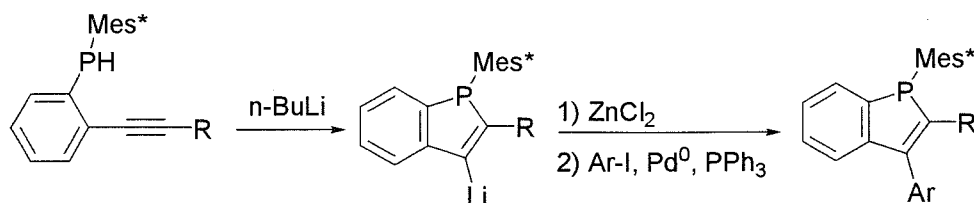
本研究では、ベンゼン縮環型ホスホールであるベンゾ[*b*]ホスホールに注目した。ベンゾ[*b*]ホスホールはインドールのリン類縁体である。インドール誘導体は有機化学における基本骨格として知られており、これまでに多くの合成例が報告されている⁶。ところがベンゾ[*b*]ホスホール⁷の合成例は少なく、また光物性に関する報告例はほとんどない。そこで本研究では、*t*-ブトキシカリウムを塩基触媒とした P-H のアルキンへの分子内付加環化反応によって、ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体を合成し（スキーム 4）、その光物性について検討した。さらに、 π 共役系を拡張したビス-ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体を合成し、その光物性について検討した。

Scheme 4. ベンゾ[*b*]ホスホールの合成



なお、本研究と同時期に Nakamura らは *n*-ブチルリチウムを用いた 2-アルキニルフェニルホスフィンの分子内環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成について報告した（スキーム 5）⁸。

Scheme 5. n -ブチルリチウムを用いたベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成

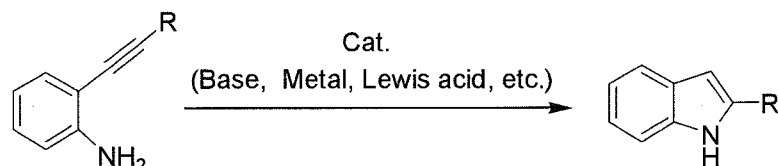


2-2 結果と考察

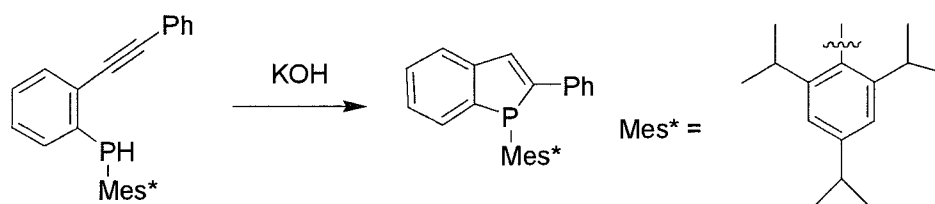
2-2-1 ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成法

ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成法として、P-H のアルキンへの分子内付加環化反応に注目した。なぜなら N-H のアルキンへの分子内付加環化反応はインドールの合成法における有用な手法の一つで、非常に多くの合成例が報告されており（スキーム 6）^{6b}、インドールのリン類縁体のベンゾ[*b*]ホスホールの合成でも分子内環化反応が有効であると考えられるからである。実際、塩基触媒を用いた P-H のアルキンへの分子内付加環化反応が 1 例のみ報告されている（スキーム 7）^{7a}。

Scheme 6. 分子内環化反応によるインドールの合成

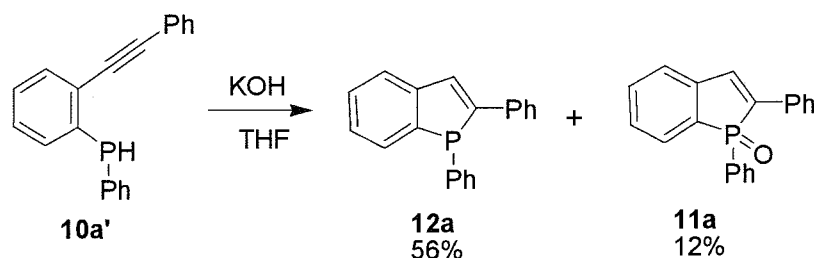


Scheme 7. 分子内環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホールの合成



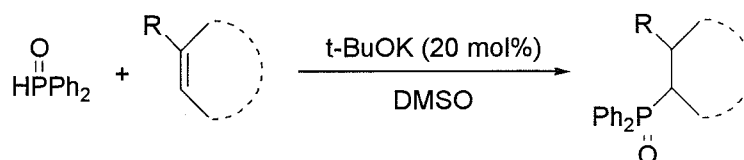
まず 2-アルキニルフェニルホスフィン **10a'** を、塩基として KOH を用い、ベンゾ[*b*]ホスホールの合成を行った（スキーム 8）。反応後シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる単離を行ったところ、目的物のベンゾ[*b*]ホスホール **12a** が収率 56% で得られた。しかしこの場合、原料の 2-アルキニルフェニルホスフィン **10a'** および生成物の **12a** も空気中の酸素によってリン原子が酸化されやすく、実際反応後 **12a** が酸化されたベンゾ[*b*]ホスホールオキシド **11a** が収率 12% で得られた。

Scheme 8. ベンゾ[*b*]ホスホールの合成



そこで、ジフェニルホスフィンオキシドの分子内環化反応について検討することにした。アルケンへの H-P(O)付加反応についても Knochel らによって、DMSO 中 70 °C で 20 mol% の *t*-ブトキシカリウムを塩基触媒とした方法が報告されている (スキーム 9) ⁹。

Scheme 9. アルケンへの H-P(O)付加反応



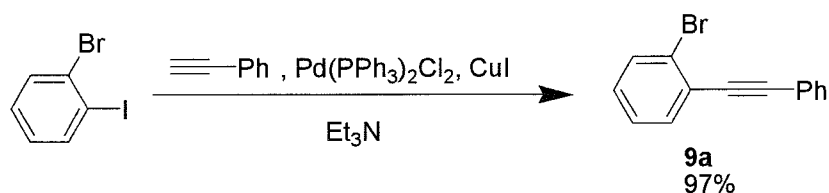
本研究では 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシド誘導体を出発物質とし、20 mol% のカリウム *t*-ブトキシドを塩基触媒として用い、DMSO 中 70 °C での反応により種々の置換基を有するベンゾ[*b*]ホスホールオキシドの合成を検討した。

2-2-2 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシドの合成

ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドを合成するにあたり、まず原料となる種々のアリール置換基を有する 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシドの合成を行った。なお、アリール置換基としてフェニル基、電子供与性置換基を有する 4-メトキシフェニル基、電子求引性置換基を有する 4-トリフルオロメチルフェニル基、また複素環の 2-チエニル基を選択した。

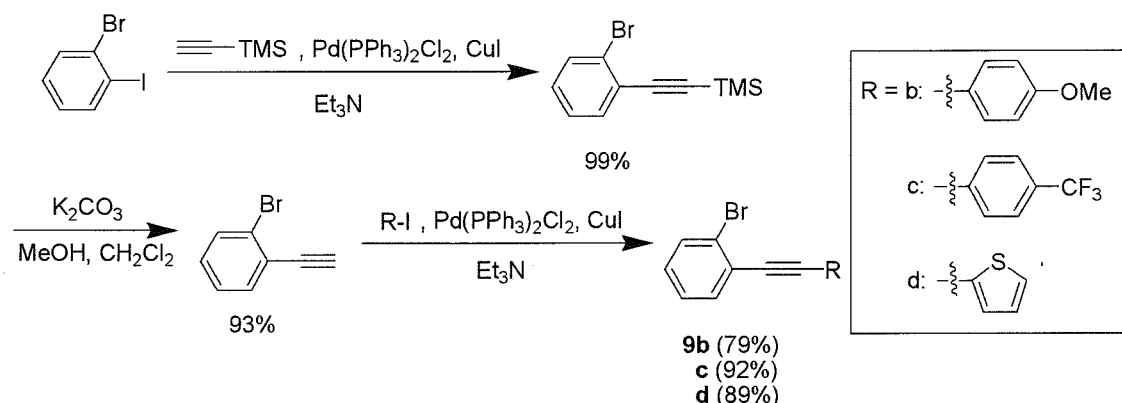
まず、2-ブロモヨードベンゼンとフェニルアセチレンとの園頭カップリングにより **9a** を収率 97% で合成した (スキーム 10) ^{7a}。

Scheme 10. 9a の合成



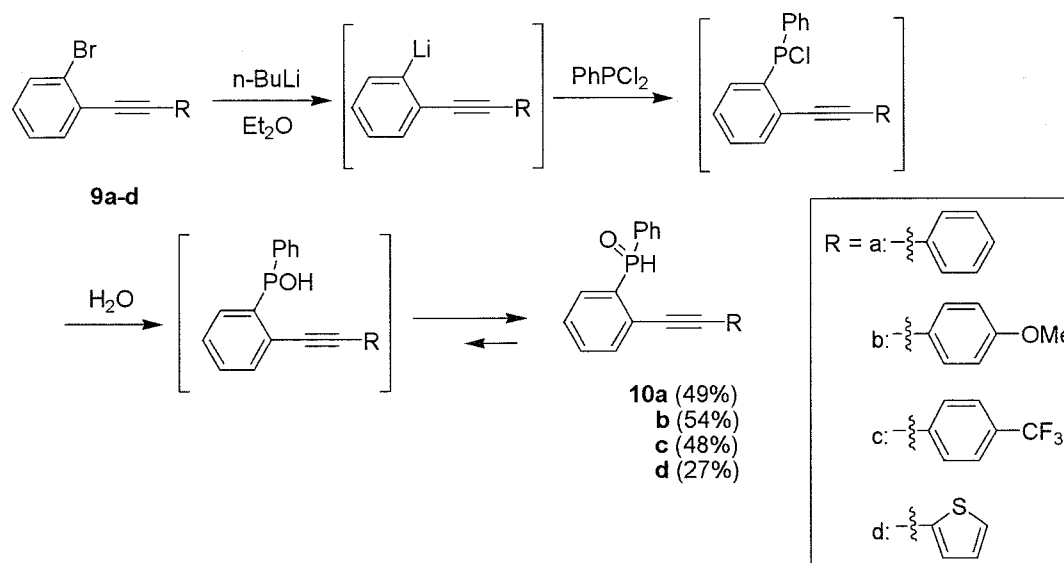
また、2-ブロモヨードベンゼンとトリメチルシリルアセチレンとの園頭カップリングにより 1 - (2 - ブロモフェニル) - 2 - トリメチルシリルアセチレンを合成し、続いてトリメチルシリル基を脱保護することで 1 - ブロモ - 2 - エチニルベンゼン ¹¹ とした。その後、4 - メトキシヨードベンゼンとの園頭カップリングにより 4 - メトキシフェニル基を有する **9b** を収率 79% で合成した (スキーム 11) ^{7a}。同様な反応により、4 - トリフルオロメチルフェニル基を有する **9c**¹⁰ を収率 92%、また 2 - チエニル基を有する **9d** を収率 89% で合成した。

Scheme 11. 9b, 9c および 9d の合成



続いて、2 - アルキニルフェニルホスフィンオキシド **10a-d** の合成を行った。**9a** を *n* - ブチルリチウムでリチオ化し、ジクロロフェニルホスフィンと反応させ、その後加水分解することで、2 - アルキニルホスフィンオキシド **10a** を収率 49% で合成した (スキーム 12) ¹²。同様に、**10b** を収率 54%、**10c** を収率 48%、また **10d** を 27% で合成した。なお、**10a-d** の構造は ¹H、¹³C 及び ³¹P NMR、高分解能質量分析により確認した。

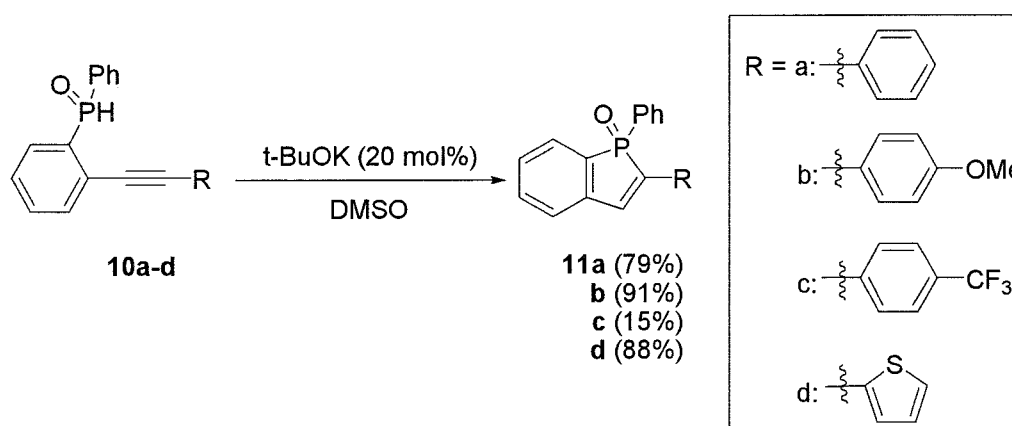
Scheme12. 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシド **10a-d** の合成



2-2-3 分子内環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホールオキシドの合成

分子内付加環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホールオキシド **11a-d** の合成を試みた。2-アルキニルフェニルホスフィンオキシド誘導体 **10a** を 20 mol% のカリウム *t*-ブトキシドを塩基触媒として用い、DMSO 中 70 °C で 22 時間反応させた。反応はスムーズに進行し、目的物 **11a** はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより容易に単離できた (スキーム 13)。その結果、**11a** を収率 79% で得た。同様に、**11b** を収率 98%、**11c** を収率 15%、また **11d** を収率 88% で得た。

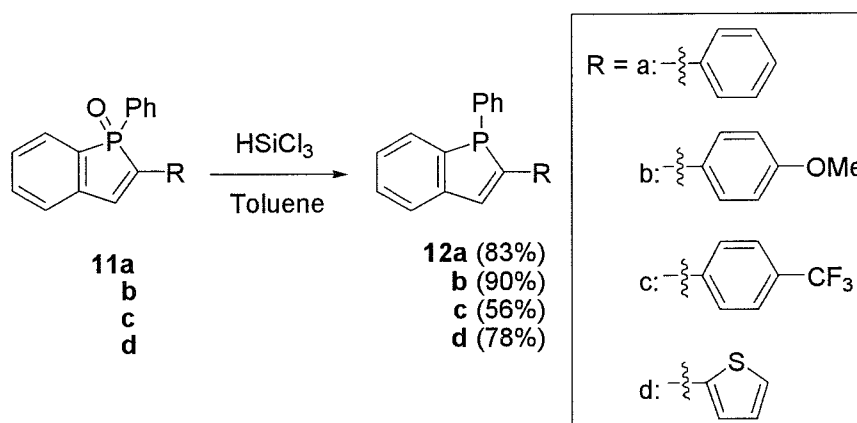
Scheme13. ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド **11a-d** の合成



さらに、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドの還元を行った。還元にはリン原子の還元試薬として一般的に用いられるトリクロロシランを用いた ^{7d}。ベンゾ[*b*]ホ

スホールオキシド **11a** をトルエン中 110 °C でトリクロロシランを用いて還元したところ、反応はスムーズに進行した (スキーム 14)。**12a** は酸化されやすい化合物であるが、反応後シリカゲルカラムに素早く通すだけで容易に単離できた。その結果、ベンゾ[*b*]ホスホール **12a** を収率 83% で得た。同様に、**12b** を収率 90%、**12c** を収率 56%、**12d** を収率 78% でそれぞれ得た。

Scheme 14. ベンゾ[*b*]ホスホール **12a-d** の合成



なお、**11a-d** および **12a-d** 構造は ^1H 、 ^{13}C 及び ^{31}P NMR、元素分析又は高分解能質量分析により確認した。例えば、**10a** は ^{31}P NMR において 17.3 ppm にピークを示すが、環化後の **11a** は 39.6 ppm にピークを示し、また還元後の **12a** は -0.2 ppm にピークを示す (図 2)。

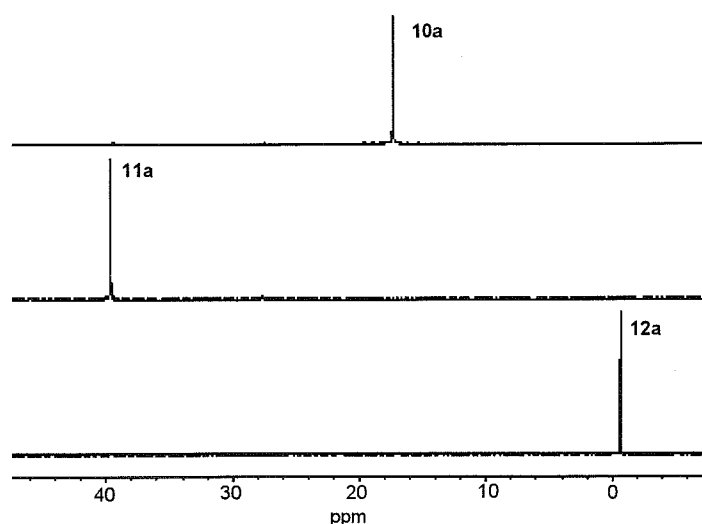
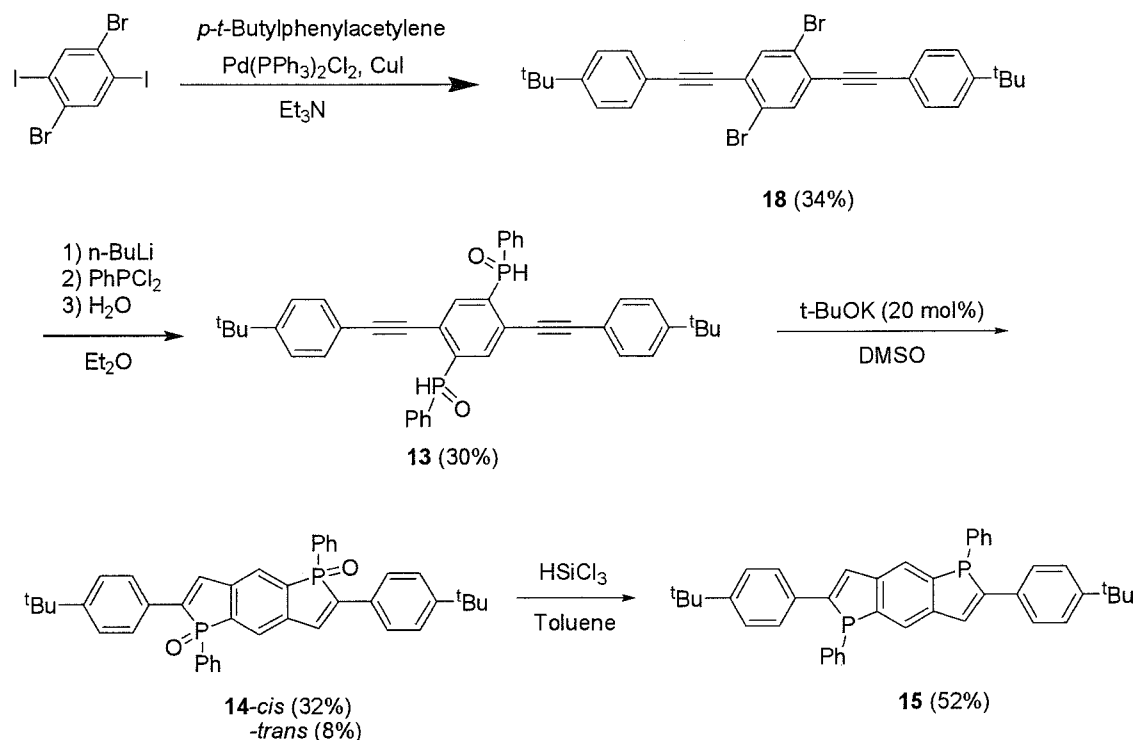


Figure 2. **10a**、**11a** および **12a** の ^{31}P NMR スペクトル (CDCl_3)

2-2-4 ビス・ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成

π 共役系を拡張したベンゾビスホスホール誘導体を、前述した分子内環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成方法を用い、合成した。合成経路をスキーム 15 に示す。

Scheme 15. ベンゾビスホスホール誘導体の合成



2,5 - ジブロモ - 1,4 - ジヨードベンゼンを出発物質とし、4 - *t* - ブチルフェニルアセチレンとの園頭カップリングにより **18** を収率 34% で合成した。続いて、**18** を *n* - ブチルリチウムでジリチオ化し、ジクロロフェニルホスフィンと反応させ、その後加水分解することで、二つのアルキニルホスフィンオキシド部位を有する **13** を収率 30% で合成した。続いて **13** を DMSO 中 70 °C で 20 mol% のカリウム *t* - ブトキシドを塩基触媒とした分子内環化反応により、ベンゾビスホスホールオキシド誘導体 **14** を合成した。なお **14** には P=O の向きに対してシスおよびトランス異性体が存在し、反応終了後の混合物の ³¹P NMR からシス体とトランス体が 1:0.32 の割合で存在していることが確認できた (図 3)。14 のシス、およびトランス異性体はそれぞれ極性が異なるため、分取 TLC により収率 32% および 8% でそれぞれ単離できた。後述する X 線結晶構造解析から、主生成物はシス体であった。なお、構造は ¹H、¹³C、³¹P NMR、高分解能質量分析、および X 線結晶構造解析により確認した。

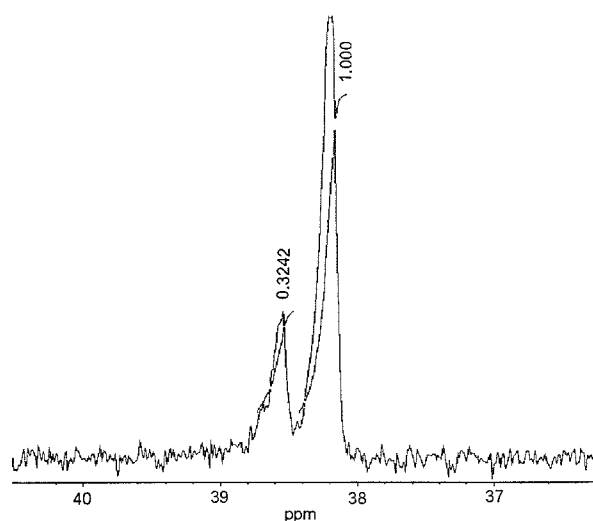


Figure 3. 14 の ^{31}P NMR スペクトル (CDCl_3)

次に *cis*-14 をトリクロロシランを用いて還元し、ベンゾビスホスホール誘導体 15 を収率 52% で合成した (スキーム 15)。15 にもシスおよびトランス異性体が存在し、 ^{31}P NMR から 1:0.9 の割合で存在していた (図 4)。しかし異性体の極性が近く、シリカゲルカラムクロマトグラフィーでそれぞれ単離することはできなかった。そのため 15 は、シス-トランス混合体として得た。なお、構造は ^1H 、 ^{31}P NMR、および高分解能質量分析により確認した。

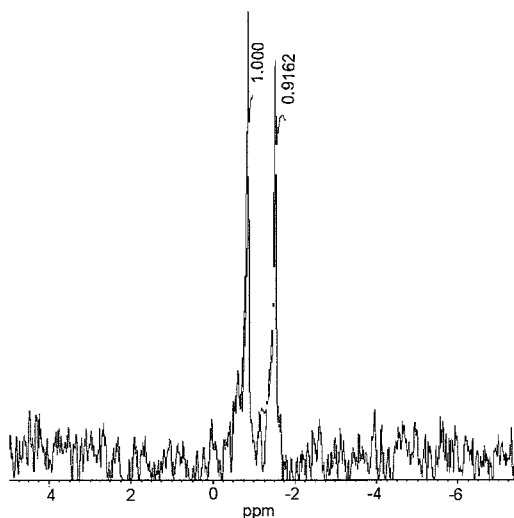
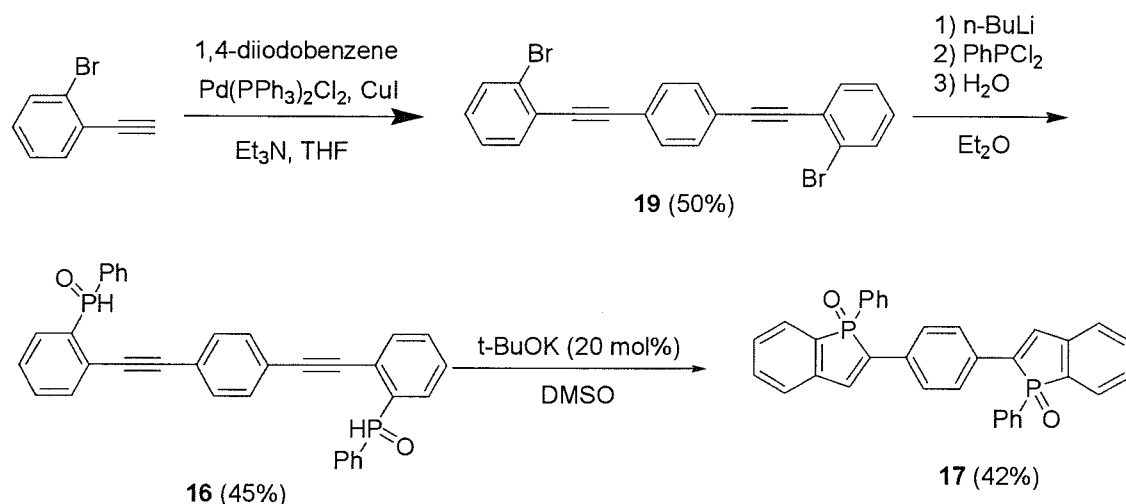


Figure 4. 15 の ^{31}P NMR スペクトル (CDCl_3)

さらに、二つのベンゾホスホール部位を有する 17 の合成を行った (スキーム 16)。2-ブロモフェニルアセチレンを出発物質とし、園頭カップリングにより 19 を収率 50% で合成した。続いて、19 を *n*-ブチルリチウムでジリチオ化し、ジクロロフェニルホスフィンとの反応によりクロロホスファニル基を導入し、

その後加水分解することで、二つのアルキニルホスフィンオキシド部位を有する **16** を収率 45% で合成した。その後 **16** を DMSO 中 70 °C で 20 mol% のカリウム *t*-ブトキシドを塩基触媒とした分子内環化反応により、**17** を収率 42% で合成した。なお構造上 **17** には P=O の向きに対してシスおよびトランス異性体が存在すると考えられるが、³¹P NMR のピークが重なっていたため、シス/トランス体の比率を算出することはできなかった。また異性体の極性が近く、シリカゲルカラムクロマトグラフィーでそれぞれ分離することはできなかった。そのため、**17** はシス-トランス混合体として得た。なお、構造は ¹H、¹³C 及び ³¹P NMR、高分解能質量分析により確認した。

Scheme 16. 二つのベンゾホスホール部位を有する **17** の合成



2-2-5 ベンゾビスホスホールオキシドの結晶構造

ベンゾビスホスホールオキシド誘導体 **14** の主生成物の X 線結晶構造を図 5 に示す。なお、結晶学的データを表 1 および 2 に示した。

ビスホスホールオキシド環の二つのリン上の酸素原子は同じ方向に向いており、反応終了後の主生成物は *cis* 体であることを結晶構造から確認した。また、各ホスホール環の平面ねじれ角は 7.2 °であり、ほぼ平面骨格であった。さらに、隣接するπ共役環の C-C 結合長と C=C 結合長の差は 0.05-0.13 Å と小さく、十分に環全体で共役していることがわかる (表 1)。

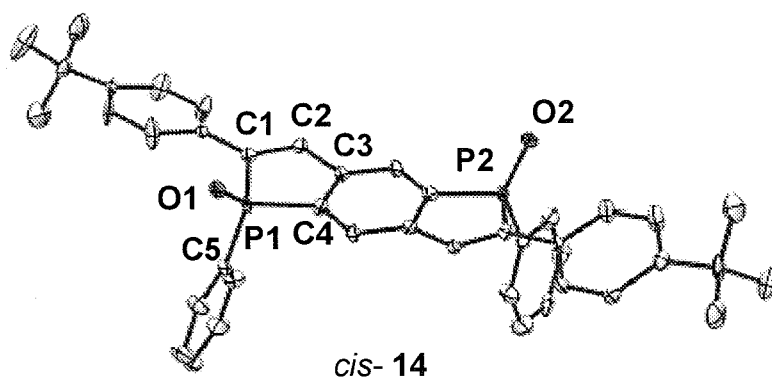


Table 1. 結合長

	Å
P1-C1	1.81
P1-C4	1.80
P1-C5	1.80
P1-O1	1.49
C1-C2	1.35
C2-C3	1.48

Figure 5. *cis*-14 の結晶構造

Table 2. 結晶学的データ

Empirical Formula	C ₄₄ H ₄₂ O ₂ P ₂ Cl ₆	Space Group	P-1 (#2)
Formula Weight	877.48	Z value	2
Crystal Color, Habit	yellow, needle	Dcalc	1.310 g/cm ³
Crystal System	triclinic	2θmax	55.0°
Lattice Parameters	a = 12.273(4) Å b = 13.405(5) Å c = 14.376(5) Å α = 106.891(4)° β = 96.650(4)° γ = 95.930(4)° V = 2224.4(13) Å ³	No. of Reflections Measured Total: 16896 Unique: 9535 (R _{int} = 0.030) Residuals: R (I>3.00σ(I)) 0.094 Residuals: R _w (I>3.00σ(I)) 0.148 Goodness of Fit Indicator 0.929	

2-2-6 ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド誘導体の THF 溶液中での光物性

ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド誘導体 **11a-d** を合成することができたので、光物性について検討した。図 6 に **11a-d** の THF 溶液中での紫外可視吸収スペクトル及び蛍光スペクトルを示した。また、各スペクトルデータを表 3 に示した。

11a ではベンゾ[*b*]ホスホールオキシド環のπ-π*遷移に帰属される吸収が 347 nm に観測された。一方、電子供与性基の 4 - メトキシフェニル基を有する **11b** は 362 nm また 2 - チエニル基を有する **11d** では 368 nm に吸収極大をそれぞれ示し、**11a** と比べ約 20 nm の長波長シフトが観測された。これに対し、電子求引性置換基の 4 - トリフルオロメチルフェニル基を有する **11c** は 342 nm に吸収極大を示し、**11a** と比べわずかな短波長シフトが観測された。

吸収極大を励起した際の蛍光スペクトルでは、**11a** は発光極大が 417 nm に観測された。一方、**11b** は 443 nm また **11d** は 444 nm に発光極大を示し、電子供与性置換基の導入によって **11a** よりいずれも約 30 nm の長波長シフトが観測された。これに対し電子求引性置換基をもつ **2c** は 414 nm に発光極大を示し、**11a** よりわずかな短波長シフトが観測された。また、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド **11a**、**11b**、**11c**、および **11d** の蛍光量子収率はそれぞれ 30、41、65、および 23% であり、いずれも比較的強い発光を示した。

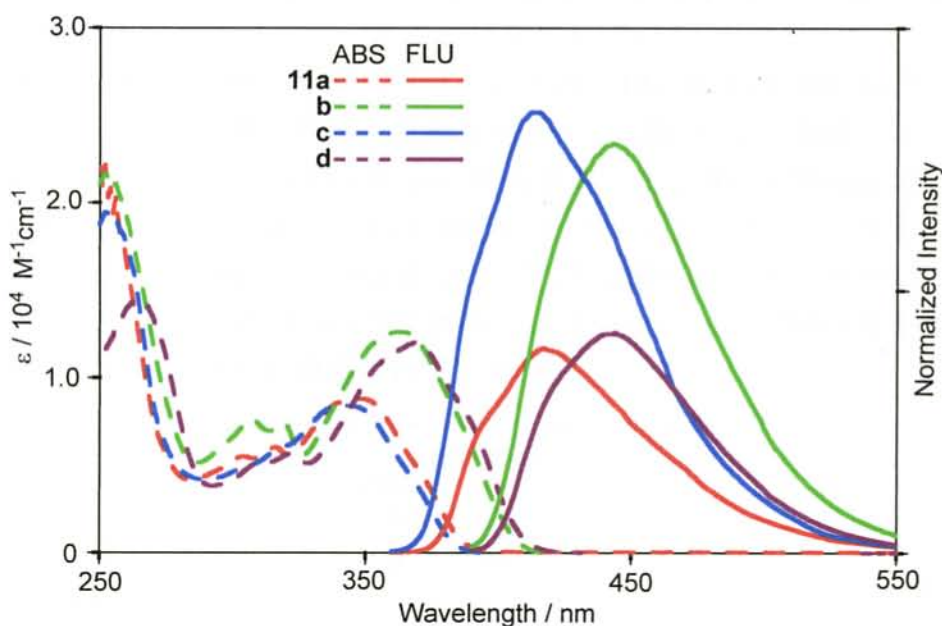
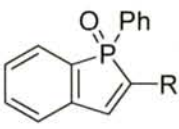


Figure 6. **11a-d** の THF 中での吸収および蛍光スペクトル(吸収極大で励起)

Table 3. **11a-d** の THF 中でのスペクトルデータ

	Compound	Absorption		Fluorescence	
		$\lambda_{\max}^a$ (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)	λ_{em}^b (nm)	$\phi_f^{c, d}$
	11a : R = Ph	347	8800	417	0.30
	b : R = 4-MeOC ₆ H ₄	362	12600	443	0.41
	c : R = 4-CF ₃ C ₆ H ₄	342	8400	414	0.65
	d : R = 2-Thienyl	368	12000	444	0.23

^a Longest wavelength absorption maximum is shown. ^b Excited at wavelength of absorption maximum. ^c Fluorescence quantum yield. ^d Determined with quinine sulfate as a standard.

2-2-7 ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の THF 溶液中での光物性

11a-d を還元したベンゾ[*b*]ホスホール誘導体 12a-d の THF 溶液中での紫外可視吸収スペクトル及び蛍光スペクトルを図 7 に示した。また、各スペクトルデータを表 4 に示した。

吸収スペクトルにおいて 12a は 321 nm 付近にベンゾ[*b*]ホスホール環の π - π^* 遷移に帰属される吸収が観測され、還元前の 11a の吸収極大 (347 nm) と比べ 26 nm の短波長シフトが観測された。同様に、12b、12c、および 12d でも吸収極大の短波長シフトが観測された。これは 12 に対して 11 が $P^{\delta+}=O^{\delta-}$ の分極した構造により LUMO が低下していることに起因している。

吸収極大を励起した際の蛍光スペクトルでは、12a および 12c は全く発光を示さなかった。また、電子供与性置換基を有する 12b および 12d では、対応する酸化体に対し、発光極大は約 30 nm 短波長シフトし 410-420 nm 付近に観測されたものの、その蛍光量子収率は 10%以下であった。12a-d がほとんど発光を示さないことは、酸化体の 11a-d はいずれも比較的強い発光を示したのと対照的である。なお、その理由は現在解明できていないが、同様の現象はリン架橋型スチルベンにおいても観測されている^{4a}。

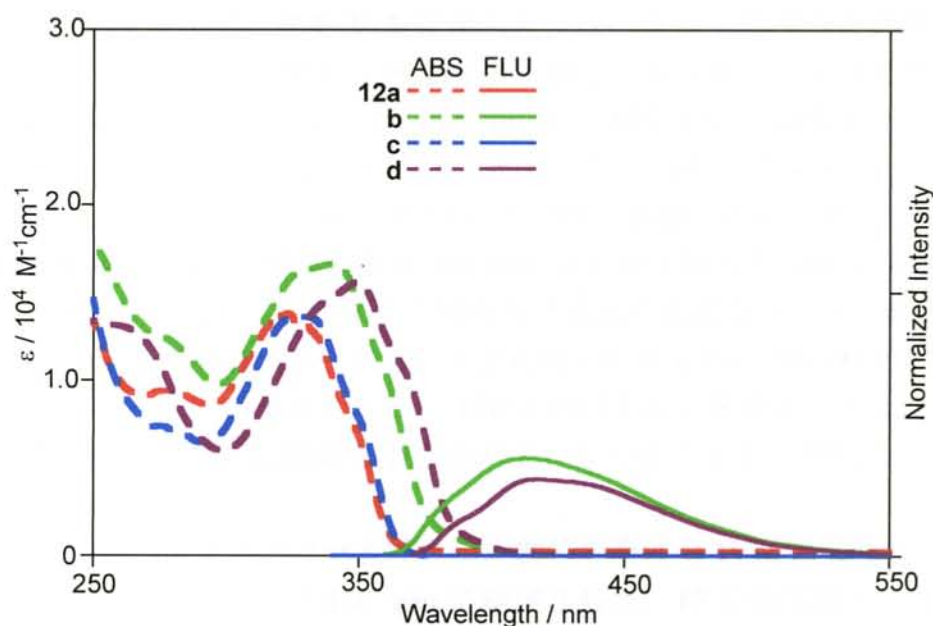
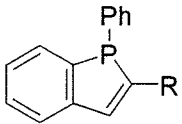


Figure 7. 12a-d の THF 中での吸収および蛍光スペクトル (吸収極大で励起)

Table 4. 12a-d の THF 中でのスペクトルデータ

	Compound	Absorption		Fluorescence	
		$\lambda_{\max}^a$ (nm)	ϵ (cm ⁻¹ M ⁻¹)	λ_{em}^b (nm)	ϕ^c, d
	12a: R = Ph	321	13800	n.d. ^e	–
	b: R = 4-MeOC ₆ H ₄	340	16600	412	0.09
	c: R = 4-CF ₃ C ₆ H ₄	329	13600	n.d. ^e	–
	d: R = 2-Thienyl	350	15600	417	0.07

^a Longest wavelength absorption maximum is shown. ^b Excited at wavelength of absorption maximum. ^c Fluorescence quantum yield. ^d Determined with quinine sulfate as a standard. ^e Not detectable.

2-2-8 ビス - ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の THF 溶液中での光物性

二つのベンゾホスホール部位を有するビス - ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体 **14**、**15** および **17** についても、その光物性について検討した。図 8 に、**14**、**15** および **17** の THF 溶液中での紫外可視吸収スペクトル及び蛍光スペクトルを示した。また、各スペクトルデータを表 5 に示した。*cis*-**14** は π 共役系の拡張を反映して、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド **11a** と比較して吸収極大および発光極大はいずれも長波長シフトし、それぞれ 433 nm また 495 nm に観測された。なお、*trans*-**14** でも吸収および蛍光スペクトルはほとんど同じであった。したがって P=O の配向はホスホールオキシド **14** の光物性に影響しないと考えられる。一方 *cis*-**14** を還元した **15** は吸収極大を 396 nm、また発光極大を 438 および 463 nm に示し、酸化体の **14** と比較すると吸収及び発光の短波長シフトが観測された。なおビス - ベンゾ[*b*]ホスホール **15** は蛍光量子収率 61% と強い発光を示した。これは前述したベンゾ[*b*]ホスホール **12a-d** はほとんど発光を示さなかったことと対照的であり、さらに縮環の平面性が高くなったことが、要因の一つとして考えられる。

また、二つのベンゾホスホールオキシド部位を有する **17** は吸収極大が 387 nm に、発光極大が 431 および 456 nm に観測された。**17** の発光極大は **14** と比較して約 40 nm の短波長シフトが観測され、ストークスシフトは 1000 cm⁻¹ ほど大きくなった。これは、**14** が剛直な骨格であるのに対し、**17** は末端の二つのベンゾホスホール部位が互いに回転できる構造を反映しているためと考えられる。

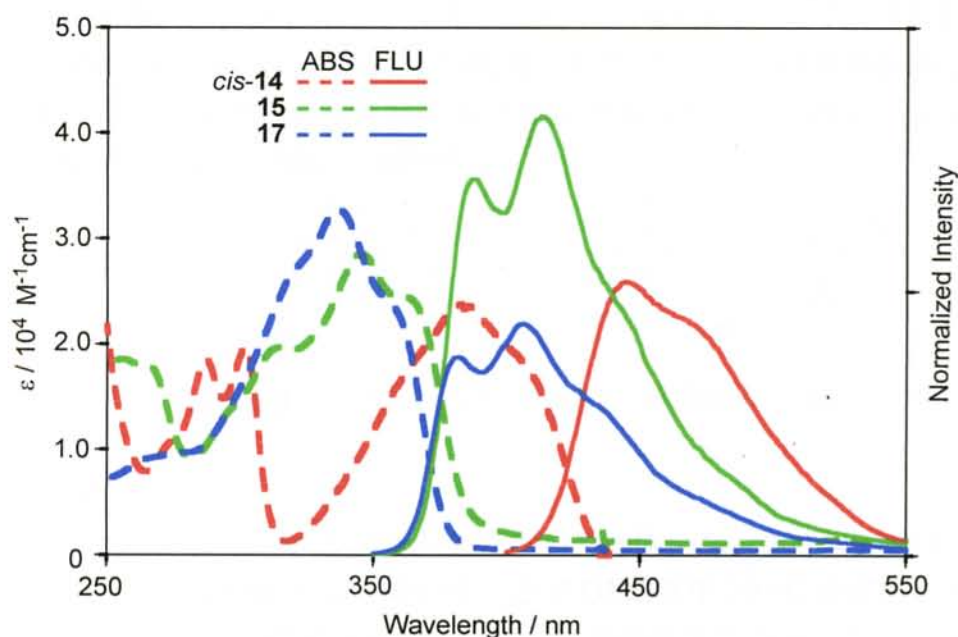
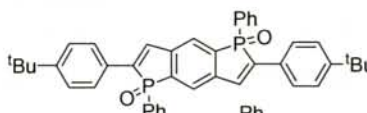
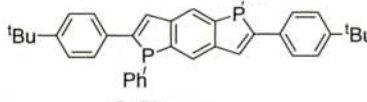
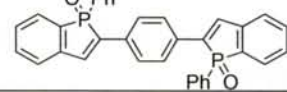


Figure 8. 14、15 および 17 の THF 中での吸収および
蛍光スペクトル（吸収極大で励起）

Table 5. 14、15 および 17 の THF 中でのスペクトルデータ

	Compound	Absorption		Fluorescence	
		$\lambda_{\text{max}}^{\text{a}}$ (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)	$\lambda_{\text{em}}^{\text{b}}$ (nm)	$\phi_{\text{f}}^{\text{c, d}}$
	<i>cis</i> -14	433	23800	495	0.44
	<i>trans</i> -14	433	19500	496	0.47
	15 ^e	396	28500	438, 463	0.61
	17 ^e	387	32700	431, 456	0.29

^a Longest wavelength absorption maximum is shown. ^b Excited at wavelength of absorption maximum. ^c Fluorescence quantum yield. ^d Determined with quinine sulfate as a standard. ^e Mixture of *trans* and *cis* isomers.

ビス - ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体 14、15 および 17 と同様な骨格をもつ典型元素を含んだ共役系分子として、最近ベンゾシロールの二重環化生成物 20 および 21 が報告されている¹⁴。ここで典型元素の導入による π 共役について比較してみると、ホスホールオキシド 14 はシロール 20 より約 30 nm 長波長側に吸収および発光極大が観測された。一方ホスホール 15 はシロール 20 とほぼ同じ吸

収および発光極大位置を示した。また、ホスホールオキシド **17** は **21** より約 20 nm 長波長側に吸収および発光極大が観測された。シロール誘導体に対してホスホールオキシドで観測される吸収および発光の長波長シフトは、ベンゾホスホールオキシドの低い LUMO に起因する。

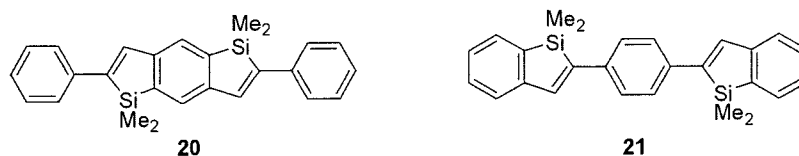


Figure 9. ベンゾシロールの二重環化生成物

2-3 まとめ

2-アルキニルフェニルホスフィンオキシド誘導体から、20 mol%のカリウム *t*-ブトキシドを塩基触媒として用いることで DMSO 中 70 °C で容易に分子内環化反応が進行し、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド誘導体を合成できた。また、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシド誘導体をトリクロロシランにより還元し、ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体を合成した。さらに、 π 共役系を拡張した新たなホスホール骨格として、ベンゾ[*b*]ホスホールの二重環化生成物も合成した。

ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドは 2 位に導入された置換基によって吸収および発光極大が変化した。また、還元したベンゾ[*b*]ホスホールでは還元前のオキシド体と比べ、吸収および発光の短波長シフトが観測され、蛍光量子収率は著しく減少した。ベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の二重環化生成物は π 共役系の拡張を反映して、より長波長側に吸収及び発光極大が観測された。

2-4 実験項

2-4-1 分析機器

^1H および ^{13}C NMR は、Bruker 製 DPX300 型スペクトロメーターを用いてそれぞれ 300 および 75.4 MHz で測定した。 ^{31}P NMR は日本電子製 JNM-Ex400 型スペクトロメーターを用いて 162 MHz で測定した。紫外可視吸収スペクトルは Agilent 8453 分光光度計を用いて測定した。蛍光スペクトルは日立製 F4500 型分光光度計を用いて測定した。融点測定は井内盛栄堂製デジタル融点測定装置 IA9100 で行った。高分解能マススペクトル測定は日本電子製二重収束型質量分析装置 JMS-700 で行った。X 線構造解析は Rigaku Saturn AFC10 で行った。元素分析は東京工業大学技術部分析支援センターで行った。

2-4-2 溶媒

乾燥ジエチルエーテルおよび乾燥トルエンは金属ナトリウム存在下で蒸留し

用いた。乾燥 DMSO および乾燥トリエチルアミンは水素化カルシウム存在下で蒸留し用いた。NMR 測定に用いた重クロロホルムは市販のものを用いた。吸収および蛍光スペクトル測定には、金属ナトリウム存在下で蒸留した THF を用いた。

2-4-3 試薬

全ての試薬は下記に記すもの以外は全て市販のものを用いた。2,5-ジブロモ-1,4-ジヨードベンゼンは文献¹³にしたがって合成した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーに用いたシリカゲルは Merck 社製 Silica Gel 60, 0.040-0.063 mm を用いた。中性アルミナカラムクロマトグラフィーで用いた中性アルミナは ICN 社製 Alumina N-Super I を用いた。TLC 板は Merck 製 TLC アルミニウムシート シリカゲル 60 F₂₅₄ を用いた。

2-4-4 合成

9d の合成

磁気攪拌子を備えた 100 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、トリエチルアミン (40 mL)、2-ヨードチオフェン (2.93 g, 14.0 mmol)、ジクロロビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) (0.31 g, 0.44 mmol)、ヨウ化銅(I) (0.13 g, 0.69 mmol) を加え、この溶液に 2-エチニルブロモベンゼン (2.51 g, 13.9 mmol) を滴下し、室温で 5 時間攪拌した。反応終了後飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、ジエチルエーテルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン)で単離して、9d を得た (3.24 g, 12.3 mmol, 収率 89%)

9d: 無色油状; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.02-7.05 (m, 1H), 7.15-7.21 (m, 1H), 7.27-7.36 (m, 3H), 7.53-7.56 (m, 1H), 7.60-7.63 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 87.1, 91.6, 122.7, 125.3, 125.6, 127.0, 127.2, 128.9, 129.5, 132.36, 132.42, 133.0. Anal. Calcd. for C₁₂H₇BrS: C, 54.77; H, 2.68. Found: C, 54.92; H, 2.94.

10a の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、9a (3.02 g, 11.7 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (15 mL) を加え、-50 °C で 1.65 M *n*-ブチルリチウム (7.1 mL, 11.7 mmol) を滴下した。室温で 3 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (2.14 g, 11.9 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (15 mL) の入った 100 mL 三

ロフラスコに $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、17時間攪拌した。その後水を加え、ジエチルエーテルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル=1/2）を用いて単離し、**10a**を得た（1.74 g, 5.76 mmol, 収率 49%）。

10a: 淡黄色油状; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.28-7.49 (m, 11H), 7.67-7.74 (m, 2H), 7.91-8.00 (m, 1H), 8.40 (d, 1H, $J(\text{P}, \text{H}) = 496.4\text{ Hz}$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 85.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.6\text{ Hz}$), 96.7, 121.8, 124.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 10.0\text{ Hz}$), 128.2, 128.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 11.2\text{ Hz}$), 128.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 12.8\text{ Hz}$), 128.8, 130.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 11.6\text{ Hz}$), 130.8, 131.2, 132.0, 132.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 5.7\text{ Hz}$), 132.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 1.8\text{ Hz}$), 132.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 31.1\text{ Hz}$), 132.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.3\text{ Hz}$); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 17.3. HRMS Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{OP}$ (M^+): 302.0861. Found: 302.0851.

10b の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**9b** (1.71 g, 5.95 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (8 mL) を加え、 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1.65 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (3.61 mL, 5.95 mmol) を滴下した。室温で 3 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (1.26 g, 7.04 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (8 mL) の入った 100 mL 三口フラスコに $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、19 時間攪拌した。その後水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル = 1/3）を用いて単離し、**10b**を得た（1.08 g, 3.24 mmol, 収率 54%）。

10b: 淡黄色油状; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.63 (s, 3H), 6.70-6.73 (m, 2H), 7.15-7.17 (m, 2H), 7.29-7.44 (m, 6H), 7.63-7.68 (m, 2H), 7.88-7.92 (m, 1H), 8.32 (d, 1H, $J(\text{P}, \text{H}) = 496.2\text{ Hz}$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 54.8, 84.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.5\text{ Hz}$), 96.8, 113.6, 113.7, 124.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.8\text{ Hz}$), 127.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 11.3\text{ Hz}$), 128.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 12.8\text{ Hz}$), 130.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 11.5\text{ Hz}$), 130.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.3\text{ Hz}$), 131.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 3.5\text{ Hz}$), 131.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.3\text{ Hz}$), 131.8, 132.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 3.6\text{ Hz}$), 132.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.3\text{ Hz}$), 132.6, 159.8; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 17.5. HRMS Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{P}$ (M^+): 332.0966. Found: 332.0961.

10c の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**9c** (1.60 g, 4.91 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (8 mL) を加え、

-50 °C で 1.65M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (2.98 mL, 4.91 mmol) を滴下した。室温で 3 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (0.91 g, 5.08 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (8 mL) の入った 100 mL 三口フラスコに -78 °C で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、23 時間攪拌した。その後水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/3) を用いて単離し、**10c** を得た (0.88 g, 2.39 mmol, 収率 48%)。 **10c**: 白色固体; m.p. 102.3-103.7 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.48 (m, 4H), 7.52-7.62 (m, 6H), 7.68-7.75 (m, 2H), 7.99-8.06 (m, 1H), 8.42 (d, 1H, *J*(P,H) = 481.6 Hz); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 88.2 (d, *J*(P, C) = 8.4 Hz), 95.0, 123.7 (quart, *J*(F, C) = 270.6 Hz), 125.3 (quart, *J*(F, C) = 3.8 Hz), 125.8, 128.2, 128.7 (d, *J*(P, C) = 13.0 Hz), 129.1 (d, *J*(P, C) = 11.3 Hz), 130.7 (quart, *J*(F, C) = 33.8 Hz), 130.8 (d, *J*(P, C) = 11.6 Hz), 130.8, 131.7, 132.1, 132.3 (d, *J*(P, C) = 2.3 Hz), 132.4 (d, *J*(P, C) = 2.9 Hz), 132.6 (d, *J*(P, C) = 8.8 Hz), 133.1 (d, *J*(P, C) = 8.6 Hz); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 17.5. HRMS Calcd. for C₂₁H₁₄F₃OP (M⁺): 370.0734. Found: 370.0727.

10d の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**9d** (1.60 g, 6.08 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (5 mL) を加え、-50 °C で 1.65 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (3.68 mL, 6.08 mmol) を滴下した。室温で 4 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (1.18 g, 6.59 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (8 mL) の入った 100 mL 三口フラスコに -78 °C で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、19 時間攪拌した。その後水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (トルエン/酢酸エチル = 1/1) を用いて単離し、**10d** を得た (0.50 g, 1.61 mmol, 収率 27%)。 **10d**: 淡黄色油状; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.88-7.04 (m, 1H), 7.09 (m, 1H), 7.21-7.23 (m, 1H), 7.35-7.50 (m, 7H), 7.65-7.72 (m, 2H), 7.97-8.03 (m, 1H), 8.11 (d, 1H, *J*(P,H) = 619.8 Hz); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 89.3 (d, *J*(P, C) = 8.6 Hz), 90.0, 121.4, 124.1 (d, *J*(P, C) = 9.7 Hz), 124.9, 126.9, 128.1, 128.2 (d, *J*(P, C) 60.1 Hz), 128.4 (d, *J*(P, C) = 26.9 Hz), 128.4 (d, *J*(P, C) = 8.2 Hz), 130.4 (d, *J*(P, C) = 11.6 Hz), 130.8 (d, *J*(P, C) = 27.0 Hz), 131.9 (d, *J*(P, C) = 4.4 Hz), 132.0, 132.2 (d, *J*(P, C) = 18.6 Hz), 132.4; ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 17.6. HRMS Calcd. for C₁₈H₁₃OPS (M⁺): 308.0425. Found: 308.0422.

11a の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、10a (1.12 g, 3.71 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (90 mg, 0.74 mmol)、乾燥 DMSO (50 mL) を加え、70 °C で 22 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、ジエチルエーテルで抽出、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン) によって単離し、11a を得た (0.89 g, 2.93 mmol, 収率 79%)。

11a: 白色固体; m.p. 162.4-163.8 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.28-7.72 (m, 15H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 124.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.5$ Hz), 126.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.2$ Hz), 128.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.5$ Hz), 128.9, 128.9, 128.9, 129.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.6$ Hz), 129.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 97.9$ Hz), 130.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 10.7$ Hz), 132.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 32.7$ Hz), 132.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.7$ Hz), 133.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 65.1$ Hz), 133.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.0$ Hz), 136.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.0$ Hz), 138.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 94.1$ Hz), 141.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 28.0$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 39.6. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{OP}$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 303.0939. Found; 303.0946.

11b の合成

磁気攪拌子を備えた 100 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、10b (0.63 g, 1.88 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (50 mg, 0.41 mmol)、乾燥 DMSO (25 mL) を加え、70 °C で 24 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、ジエチルエーテルで抽出、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン) によって単離し、11b を得た (0.57 g, 1.71 mmol, 収率 91%)。

11b: 淡黄色固体; m.p. 155.8-157.8 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.67 (s, 3H), 6.76-6.79 (m, 2H), 7.20-7.74 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 55.0, 114.2, 124.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.6$ Hz), 124.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.6$ Hz), 127.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.6$ Hz), 128.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 10.7$ Hz), 128.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 12.4$ Hz), 128.7, 130.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 97.5$ Hz), 130.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 10.7$ Hz), 131.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.8$ Hz), 132.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 108.3$ Hz), 133.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 1.6$ Hz), 137.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 94.1$ Hz), 134.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.2$ Hz), 141.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 28.3$ Hz), 159.9; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 39.7. HRMS Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{P}$ (M^+); 332.0966. Found; 332.0965.

11c の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素

雰囲気下、**10c** (0.40 g, 1.09 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (30 mg, 0.25 mmol)、乾燥 DMSO (10 mL) を加え、70 °C で 24 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、ジエチルエーテルで抽出、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/3) によって単離し、**11c** を得た (60 mg, 0.16 mmol, 収率 15%)。

11c: 白色固体; m.p. 131.2-132.3 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.81 (m, 14H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 123.9 (quart, *J*(F, C) = 270.5 Hz), 125.1 (d, *J*(P, C) = 9.7 Hz), 125.8 (quart, *J*(F, C) = 3.8 Hz), 126.7 (d, *J*(P, C) = 6.2 Hz), 128.6, 129.0 (d, *J*(P, C) = 12.2 Hz), 129.2, 129.6 (quart, *J*(F, C) = 87.2 Hz), 129.7 (d, *J*(P, C) = 10.7 Hz), 130.7 (d, *J*(P, C) = 10.8 Hz), 130.9 (d, *J*(P, C) = 152.8 Hz), 132.5 (d, *J*(P, C) = 2.9 Hz), 133.4 (d, *J*(P, C) = 2.0 Hz), 136.0 (d, *J*(P, C) = 10.8 Hz), 137.5 (d, *J*(P, C) = 94.4 Hz), 138.6 (d, *J*(P, C) = 19.6 Hz), 141.1 (d, *J*(P, C) = 27.5 Hz); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 39.3. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₂₁H₁₅F₃OP (value for [M + H]⁺); 371.0813. Found; 371.0820.

11d の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**10d** (0.23 g, 0.75 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (20 mg, 0.16 mmol)、乾燥 DMSO (10 mL) を加え、70 °C で 24 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、塩化メチレンで抽出、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン) によって単離し、**11d** を得た (0.20 g, 0.66 mmol, 収率 88%)。

11d: 淡黄色固体; m.p. 142.5-143.9 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.86-6.89 (m, 1H), 7.17-7.43 (m, 9H), 7.71-7.77 (m, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 124.3 (d, *J*(P, C) = 9.6 Hz), 126.2, 127.4 (d, *J*(P, C) = 3.8 Hz), 128.0, 128.7, 128.7 (d, *J*(P, C) = 29.5 Hz), 128.7 (d, *J*(P, C) = 12.3 Hz), 128.9 (d, *J*(P, C) = 99.4 Hz), 130.6 (d, *J*(P, C) = 10.8 Hz), 131.6 (d, *J*(P, C) = 108.5 Hz), 132.2 (d, *J*(P, C) = 2.8 Hz), 133.2 (d, *J*(P, C) = 1.9 Hz), 133.3 (d, *J*(P, C) = 94.0 Hz), 134.0 (d, *J*(P, C) = 19.1 Hz), 135.8 (d, *J*(P, C) = 14.6 Hz), 141.7 (d, *J*(P, C) = 27.5 Hz); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 38.7. Anal. Calcd. for C₁₈H₁₃OPS: C, 70.12; H, 4.25. Found: C, 69.96; H, 4.42.

12a の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**11a** (30 mg, 0.10 mmol)、乾燥トルエン (3 mL)、トリクロロシラ

ン (0.02 mL, 0.2 mmol) を加え、110 °C で 1 時間攪拌した。その後 0 °C に冷却し、2M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.5 mL) を加え、トルエンで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン=1/2) で単離して、**12a** を得た (24 mg, 80 μ mol, 収率 83 %)。

12a: 白色固体; m.p. 165.5-166.7 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.22-7.26 (m, 6H), 7.30-7.41 (m, 4H), 7.59-7.67 (m, 5H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 124.0, 126.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.0$ Hz), 127.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.2$ Hz), 127.7, 128.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 23.6$ Hz), 128.7, 128.7, 128.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.7$ Hz), 129.4, 132.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.4$ Hz), 133.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.0$ Hz), 136.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 16.7$ Hz), 143.6, 146.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.9$ Hz), 149.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.4$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 0.6. HRMS Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{P}$ (M^+): 286.0911. Found: 286.0913.

12b の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**11b** (0.22 g, 0.66 mmol)、乾燥トルエン (10 mL)、トリクロロシラン (0.13 mL, 1.3 mmol) を加え、110 °C で 1.5 時間攪拌した。その後 0 °C に冷却し、2M 水酸化ナトリウム水溶液 (2.0 mL) を加え、トルエンで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン=1/2) で単離して、**12b** を得た (0.188 g, 0.59 mmol, 収率 90 %)。

12b: 白色固体; m.p. 159.2-159.7 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.79 (s, 3H), 6.86-6.89 (m, 2H), 7.13-7.28 (m, 4H), 7.35-7.43 (m, 3H), 7.49-7.52 (m, 1H), 7.57-7.65 (m, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 55.2, 114.1, 123.6, 125.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.1$ Hz), 128.1, 128.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 3.8$ Hz), 128.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.0$ Hz), 129.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.6$ Hz), 129.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 17.3$ Hz), 129.4, 131.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.3$ Hz), 133.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 19.7$ Hz), 133.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 14.7$ Hz), 143.2, 146.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.7$ Hz), 149.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.2$ Hz), 159.3; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ -0.6. HRMS Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{OP}$ (M^+): 316.1017. Found: 316.1015. Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{OP}$: C, 79.73; H, 5.42. Found: C, 79.80; H, 5.24.

12c の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**11c** (37 mg, 98 μ mol)、乾燥トルエン (3 mL)、トリクロロシラン

(0.02 mL, 0.20 mmol) を加え、110 °C で 1.5 時間攪拌した。その後 0 °C に冷却し、2M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.4 mL) を加え、トルエンで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン = 1/3) で単離して、**12c** を得た (20 mg, 55 μ mol, 収率 56 %)。

12c: 白色固体; m.p. 131.7-132.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.21-7.43 (m, 7H), 7.55-7.74 (m, 7H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 124.2 (quart, $J(\text{F}, \text{C}) = 270.5$ Hz), 124.5, 125.6 (quart, $J(\text{F}, \text{C}) = 3.8$ Hz), 126.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.2$ Hz), 127.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.2$ Hz), 128.5, 128.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.1$ Hz), 129.1 (quart, $J(\text{F}, \text{C}) = 63.8$ Hz), 129.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.9$ Hz), 129.8, 132.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 14.9$ Hz), 133.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.1$ Hz), 134.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.5$ Hz), 139.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 16.6$ Hz), 143.9, 145.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.4$ Hz), 148.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.7$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ -0.2. HRMS Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{P}$ ($[\text{M}]^+$): 354.0785. Found: 354.0795.

12d の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**11d** (0.13 g, 0.42 mmol)、乾燥トルエン (7 mL)、トリクロロシラン (0.08 mL, 0.8 mmol) を加え、110 °C で 1.5 時間攪拌した。その後 0 °C に冷却し、2M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.3 mL) を加え、トルエンで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン = 1/3) で単離して、**12d** を得た (95 mg, 0.33 mmol, 収率 78%)。

12d: 白色固体; m.p. 129.8-130.5 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.94 (m, 1H), 7.11-7.12 (m, 1H), 7.19-7.44 (m, 9H), 7.53-7.55 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 123.7, 125.0, 125.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 7.4$ Hz), 126.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.0$ Hz), 127.8, 128.5, 128.8 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 8.3$ Hz), 129.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.9$ Hz), 129.7, 132.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 5.9$ Hz), 133.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 15.8$ Hz), 133.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 20.3$ Hz), 140.4 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 21.9$ Hz), 142.9 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 21.9$ Hz), 143.1, 146.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 4.3$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 2.0. HRMS Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{PS}$ (M^+): 292.0476. Found: 292.0482. Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{PS}$: C, 73.95; H, 4.48. Found: C, 73.55; H, 4.59.

13 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、**18** (1.52 g, 2.60 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (10 mL) を加え、

-50 °C で 1.55 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (3.4 ml, 5.2 mmol) を滴下した。ゆっくり室温に戻しながら 4 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (0.93 g, 5.2 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (10 ml) の入った 50 mL 三口フラスコに -78 °C で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、19 時間攪拌した。その後水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 20/1) を用いて単離し、13 を得た (0.49 g, 0.77 mmol, 収率 30%)。

13: 淡黄色固体; m.p. 106.0-109.3 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.27 (s, 18H), 7.26-7.36 (m, 8H), 7.38-7.53 (m, 6H), 7.74-7.81 (m, 4H), 8.26-8.32 (m, 2H), 8.44 (d, 2H, *J*(P,H) = 504.6 Hz); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 84.8 (d, *J*(P, C) = 8.5 Hz), 100.6, 118.4, 124.6 (dd, *J*(P, C) = 19.3 Hz, *J*(P, C) = 11.0 Hz), 125.6, 128.9 (d, *J*(P, C) = 13.6 Hz), 130.7 (d, *J*(P, C) = 103.7 Hz), 130.8 (d, *J*(P, C) = 12.1 Hz), 131.3, 132.8, 135.9 (dd, *J*(P, C) = 96.8 Hz, *J*(P, C) = 2.1 Hz), 136.4 (dd, *J*(P, C) = 8.3 Hz, *J*(P, C) = 8.3 Hz); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 16.0. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₄₂H₄₁O₂P₂ (value for [M + H]⁺); 639.2582, Found; 639.2601.

14 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、13 (0.12 g, 0.19 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (9 mg, 75 μmol)、乾燥 DMSO (5 mL) を加え、70 °C で 22 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後分取 TLC (塩化メチレン/アセトン = 10/1) で単離し、14-*cis* (38 mg, 60 μmol, 収率 32%) および 14-*trans* (10 mg, 15 μmol, 収率 8%) を得た。

14-*cis*: 黄色固体; m.p. > 300 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (s, 18H), 7.33 (d, 4H, *J* = 8.0 Hz), 7.41-7.60 (m, 14H), 7.77-7.84 (m, 4H); ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 31.1, 34.7, 124.5 (dd, *J*(P, C) = 10.6 Hz, *J*(P, C) = 10.6 Hz), 126.0, 126.5 (d, *J*(P, C) = 6.8 Hz), 129.1, 129.3 (d, *J*(P, C) = 97.9 Hz), 130.0 (d, *J*(P, C) = 109.1 Hz), 130.7 (d, *J*(P, C) = 11.2 Hz), 132.5, 134.7 (d, *J*(P, C) = 20.2 Hz), 138.2 (d, *J*(P, C) = 101.1 Hz), 139.2 (d, *J*(P, C) = 94.4 Hz), 142.2 (dd, *J*(P, C) = 10.5 Hz, *J*(P, C) = 29.3 Hz), 152.7; ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 38.2. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₄₂H₄₁O₂P₂ (value for [M + H]⁺); 639.2582, Found; 639.2592.

14-*trans*: 黄色固体; m.p. > 300 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (s, 18H), 7.32-7.35 (m, 4H), 7.40-7.61 (m, 14H), 7.76-7.84 (m, 4H); ³¹P{¹H} NMR (162

MHz, CDCl₃) δ 38.5. HRMS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₄₂H₄₁O₂P₂ (value for [M + H]⁺); 639.2582, Found: 639.2581.

15 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、14-*cis* (70 mg, 0.11 mmol)、乾燥トルエン (10 mL)、トリクロロシラン (0.04 mL, 0.4 mmol) を加え、110 °C で 1 時間攪拌した。その後 0 °C に冷却し、2M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.0 mL) を加え、塩化メチレンで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン = 1/3) を用いて単離して、15 を得た (35 mg, 60 μ mol, 収率 52 %)。

15: 淡黄色固体; m.p. >300 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.28 (s, 18H), 7.26-7.32 (m, 10H), 7.42 (m, 4H), 7.52-7.55 (m, 6H), 7.76 (m, 2H); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ -1.6, -1.0. HRMS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₄₂H₄₀P₂ (M⁺); 606.2605, Found: 606.2609.

16 の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、19 (0.68 g, 1.57 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (5 mL) を加え、-50 °C で 1.55 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (2.0 mL, 3.1 mmol) を滴下した。ゆっくり室温に戻しながら 4 時間攪拌した後、反応溶液をシリンジを用いて、ジクロロフェニルホスフィン (0.61 g, 3.41 mmol)、乾燥ジエチルエーテル (5 mL) の入った 50 mL 三口フラスコに -78 °C で滴下した。その後ゆっくりと室温に戻し、21 時間攪拌した。その後水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した後、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 2/1) を用いて単離し、16 を得た (0.37 g, 0.71 mmol, 収率 45%)。

16: 白色固体; m.p. 62.0-66.5 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.11 (m, 4H), 7.24-7.40 (m, 13H), 7.52-7.59 (m, 4H), 7.77-7.83 (m, 2H), 9.05 (s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 87.7 (d, *J*(P, C) = 8.3 Hz), 95.5, 122.0, 124.0 (d, *J*(P, C) = 9.2 Hz), 128.2, (d, *J*(P, C) = 12.8 Hz), 128.4, 130.1, 130.1 (d, *J*(P, C) = 11.4 Hz), 130.6, 130.9, 131.3 (d, *J*(P, C) = 61.4 Hz), 131.4 (d, *J*(P, C) = 57.6 Hz), 131.8, 132.4 (d, *J*(P, C) = 8.3 Hz); ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 17.5. HRMS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₃₄H₂₅O₂P₂ (value for [M + H]⁺); 527.1330, Found: 527.1338.

17 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 ml 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、16 (81 mg, 0.15 mmol)、カリウム *t*-ブトキシド (7 mg, 60 μ mol)、乾燥 DMSO (5 ml) を加え、70 °C で 23 時間攪拌した。その後反応液に水を加え、塩化メチレンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後中性アルミナカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 2/1 $\rightarrow$ 1/2 $\rightarrow$ 塩化メチレン/メタノール = 3/1) で単離して、17 を得た (34 mg, 64 μ mol, 収率 42%)。

17: 淡黄色固体; m.p. > 300 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.25-7.71 (m, 24H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 124.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 9.5$ Hz), 127.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 6.5$ Hz), 129.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 12.3$ Hz), 129.1, 129.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 21.2$ Hz), 129.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 97.7$ Hz), 130.7 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 10.8$ Hz), 132.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 49.7$ Hz), 132.3 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 2.8$ Hz), 133.1 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 48.0$ Hz), 133.2 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 1.4$ Hz), 136.6 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 19.8$ Hz), 138.0 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 94.1$ Hz), 141.5 (d, $J(\text{P}, \text{C}) = 27.9$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 39.5. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{P}_2$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 527.1330, Found; 527.1342.

2-4-5 蛍光量子収率の算出法

蛍光量子収率は式 1 によって算出した。なお、標準物質としては硫酸キニーネを用いた。

$$Q_x = Q_{std} \times \frac{I_x}{I_{std}} \times \frac{A_{std}}{A_x} \times \left(\frac{n_x}{n_{std}} \right)^2 \quad (1)$$

Q : 量子収率、I : 蛍光スペクトルの波数積分、A : 励起波長における吸光度
n : 溶媒の屈折率、(std : 標準物質の項)

2-4-6 X線構造解析に用いた結晶

cis-14 はクロロホルム/ヘキサンを用いた再結晶により、良好な針状結晶を得ることができた。なお、*cis*-14 一分子あたり溶媒として用いたクロロホルム二分子が入り込んだ結晶構造をとっていた。

2-5 参考文献

1 Baumgartner, T.; Réau, R. *Chem. Rev.* 2006, 106, 4681.

2 a) Wittig, G.; Geissler, G. *Liebigs Ann. Chem.* 1953, 580, 44. b) Ogawa, S.;

- Tajiri, Y.; Furukawa, N. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1991, 64, 3182. c) Su, H.-C.; Fadhel, O.; Yang, C.-J.; Cho, T.-Y.; Fave, C.; Hissler, M.; Wu, C.-C.; Réau, R. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 983. d) Makioka, Y.; Hayashi, T.; Tanaka, M. *Chem. Lett.* 2004, 33, 44.
- 3 a) Baumgartner, T. *Macromol. Symp.* 2003, 196, 279. b) Baumgartner, T.; Neumann, T.; Wirges, B. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2004, 43, 6197. c) Dienes, Y.; Durben, S.; Kárpáti, T.; Neumann, T.; Englert, U.; Nyulászi, L.; Baumgartner, T. *Chem. Eur. J.* 2007, 13, 7487. d) Hobbs, H. G.; Baumgartner, T. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2007, 3611.
- 4 a) Fukazawa, A.; Hara, M.; Okamoto, T.; Son, E.-C.; Xu, C.; Tamao, K.; Yamaguchi, S. *Org. Lett.* 2008, 10, 913. b) Fukazawa, A.; Yamada, H.; Yamaguchi, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2008, 47, 5582.
- 5 a) Miyajima, T.; Matano, Y.; Imahori, H. *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 255. b) Matano, Y.; Miyajima, T.; Fukushima, T.; Kaji, H.; Kimura, Y.; Imahori, H. *Chem. Eur. J.* 2008, 14, 8102.
- 6 a) Cacchi, S.; Fabrizi, G. *Chem. Rev.* 2005, 105, 2873. b) Humphrey, G. R.; Luethe, J. T. *Chem. Rev.* 2006, 106, 2875. c) Arcadi, A.; Bianchi, G.; Inesi, A.; Marinelli, F.; Rossi, L. *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 783.
- 7 a) Märkl, G.; Jin, G. Y.; Berr, K.-P. *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 3103. b) Butters, T.; Winter, W. *Chem. Ber.* 1984, 117, 990. c) Kurita, J.; Ishii, M.; Yasuike, S.; Tsuchiya, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1993, 1309. d) Deckn, A.; Bottomley, F.; Wilkins, B. E.; Grill, E. D. *Organometallics* 2004, 23, 3683.
- 8 Tsuji, H.; Sato, K.; Ilies, L.; Itoh, Y.; Sato, Y.; Nakamura, E. *Org. Lett.* 2008, 10, 2263.
- 9 Bunlaksananusorn, T.; Knochel, P. *J. Org. Chem.* 2004, 69, 4595.
- 10 Campeau, L. C.; Parisien, M.; Jean, A.; Fagnou, K.; *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 581.
- 11 Odedra, A.; Wu, C.; Pratap, T. B.; Huang, C.; Ran, Y.; Liu, R.; *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 3406.
- 12 Han, L.; Huang, Z.; Matsuyama, S.; Ono, Y.; Zhao, C.; *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 2005, 43, 5328.
- 13 Chanteau, S. H.; Tour, J. M. *J. Org. Chem.* 2003, 68, 8750.

第3章 ホスホールをコアとする dendroliマーの合成と光物性

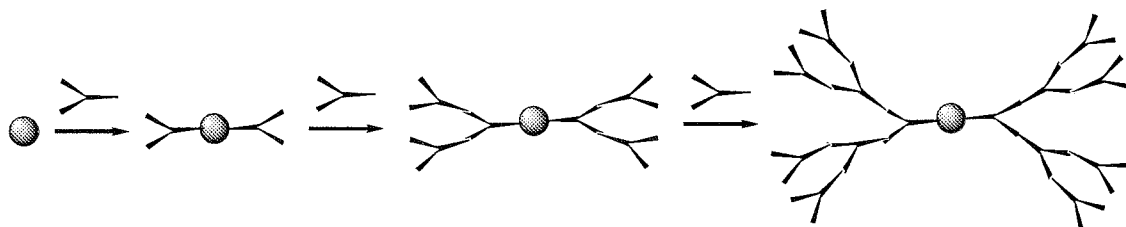
3-1 緒言

3-1-1 dendroliマー

dendroliマーとは規則正しい枝分かれ構造をもつ樹木状多分岐高分子である¹。通常の直鎖状高分子は、分子量分布をもち構造が不明確であるのに対し、dendroliマーは高分子でありながら均一な分子量と明確な三次元構造を持つ。dendroliマーの重合度は「世代」と呼ばれ、第1世代をG1、第2世代をG2というような表現が用いられる。dendroliマー末端の数は、例えば第1世代で4末端、第2世代で8末端、第3世代で16末端と、世代の増加に伴い指数関数的に増加する。

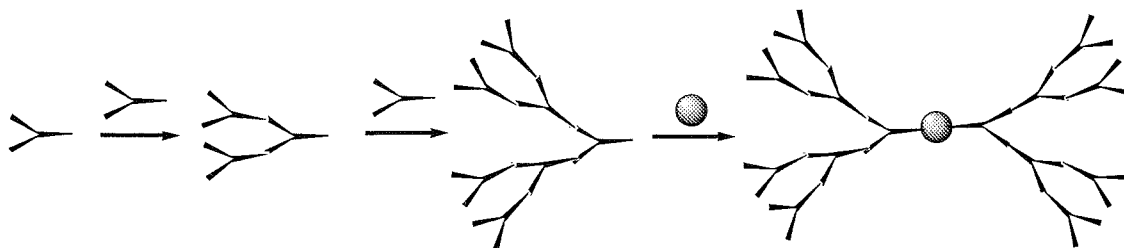
dendroliマーの合成法は、ダイバージェント法とコンバージェント法がある。1986年に Tomalia らによって最初に報告された dendroliマーは、ダイバージェント法によって合成された²。ダイバージェント法はコア分子から、外側に向かって、末端を保護した dendroli ユニットの導入と末端部位の脱保護反応を繰り返して世代を増加させていく合成法である（スキーム 1）。この方法で合成される dendroliマーは末端に活性置換基を有しており、様々なユニットを末端に組み込むことができる。

Scheme 1. ダイバージェント法



一方、コンバージェント法は、1990年に Hawker と Fréchet によって報告された³。コンバージェント法は、導入反応と末端部位の脱保護反応を繰り返して dendroli ユニット部位を合成し、最後にコアへ dendroli ユニット部位を導入する合成法である（スキーム 2）。この方法では、様々なコア分子を用いることができる。

Scheme 2. Convergent synthesis of dendroliomers



デンドリマーはコア、デンドロン、あるいは末端官能基に様々な機能性ユニットを導入でき、また多用な分子設計が可能であるため、近年活発に研究が行われている⁴。その中でも、光捕集機能を持つデンドリマーは、有機電子デバイスとしての応用などが期待されている⁵。

例えば、光捕集機能を有するデンドリマーとして、ポルフィリンをコアとするベンジルエーテル型デンドリマーが Aida らによって報告された (図 1)^{5b}。このデンドリマーはデンドロンユニットの吸収極大 (280 nm) で励起しても、デンドロンユニットからの発光 (約 310 nm) はほとんど観測されず、ポルフィリンコアからの発光 (656 および 718 nm) が観測される。この現象はデンドロンユニットが吸収した光エネルギーがコアへ移動する光捕集機能として理解される。

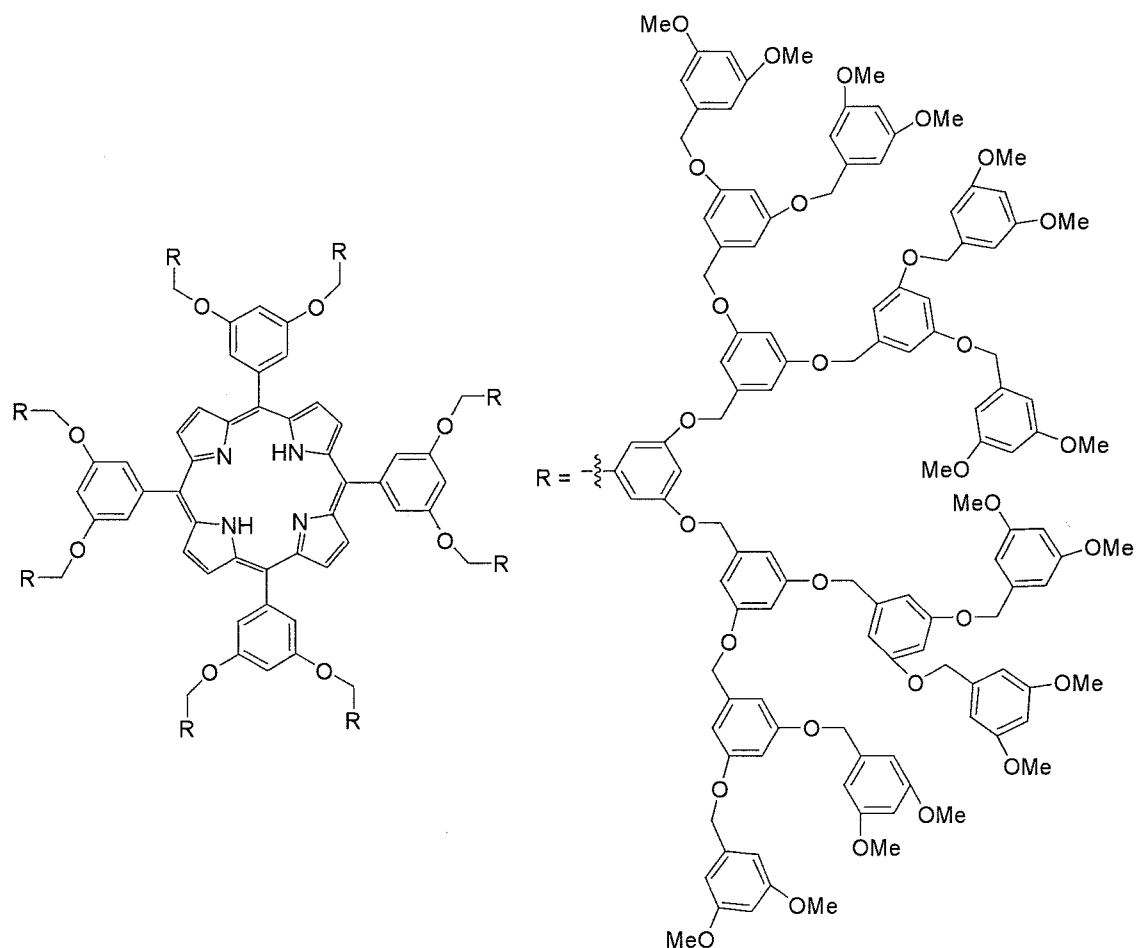


Figure 1. ポルフィリンをコアとするデンドリマー

3-1-2 本研究

本研究ではホスホールをコアとするベンジルエーテル型デンドリマーを設計・合成し、その光物性について検討した。

ホスホールは、ブタジエン π^* 軌道とリン上の環外 σ 結合の σ^* 軌道が効果的に軌道間相互作用するため、LUMO レベルが低い特徴をもつ。さらに、リン原子は多様な結合様式をとるため、例えば酸化など、リンへの単純な化学修飾により、ホスホールの電子・光物性を変化させることも可能である。したがって、ホスホールを新しい π 共役ユニットとしてデンドリマーのコアに組み込むことは興味深い。また、ホスホールは嵩高いデンドロンユニットで保護された状態になり、励起状態での熱振動等が抑制され発光効率が向上することが期待される。さらに、素子への応用を考えた場合、デンドロンユニット部による成膜性の向上や結晶化の抑制なども可能となる。

なお、先に当研究室では、シロールをコアとするベンジルエーテル型デンドリマーの合成と光物性について報告した(図2)⁶。これらのデンドリマーでは、世代の増加に伴い、蛍光量子収率の大きな向上が確認された。また、デンドロンユニットを励起した場合、デンドロンユニットからコアへエネルギー移動が起こり、シロール環からの発光が観測された。

本研究のホスホールをコアとするデンドリマーにおいても、上記のような世代の増加に伴う蛍光量子収率の向上、およびデンドロンユニットからコアへのエネルギー移動等が期待できる。

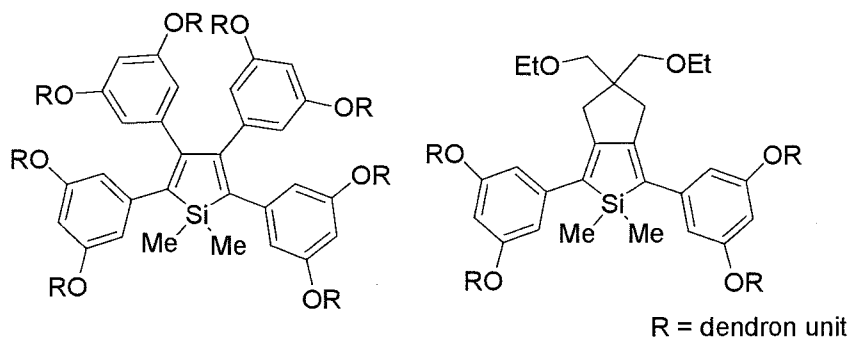


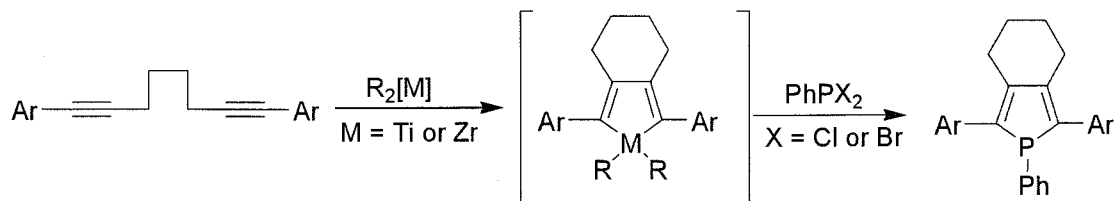
Figure 2. シロールをコアとするデンドリマー

3-2 結果と考察

3-2-1 ホスホールをコアとするデンドリマーの合成

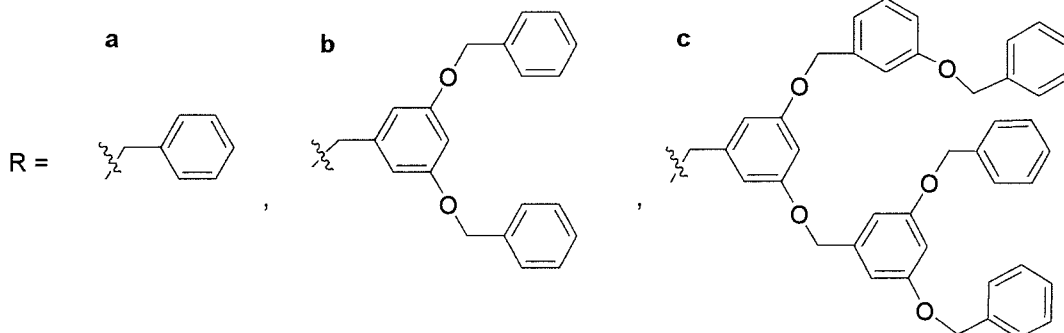
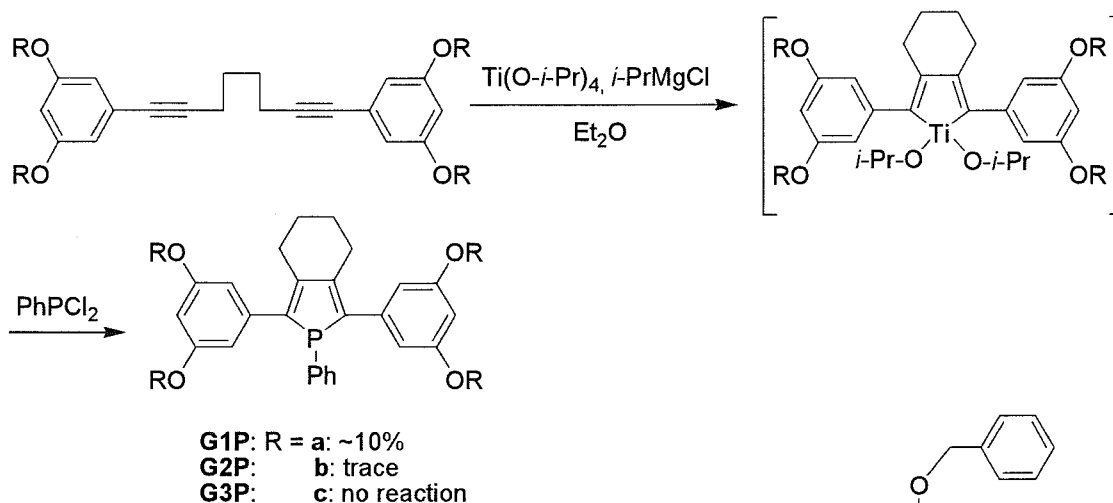
2,5-ジアリールホスホールは、ジイン誘導体と低原子価ジルコニウムあるいはチタンとの分子内環化反応により生成するメタラサイクルと、ジハロゲン化ホスフィンとの反応により合成できる(スキーム3)⁷。

Scheme 3. 2,5-ジアリールホスホールの合成法



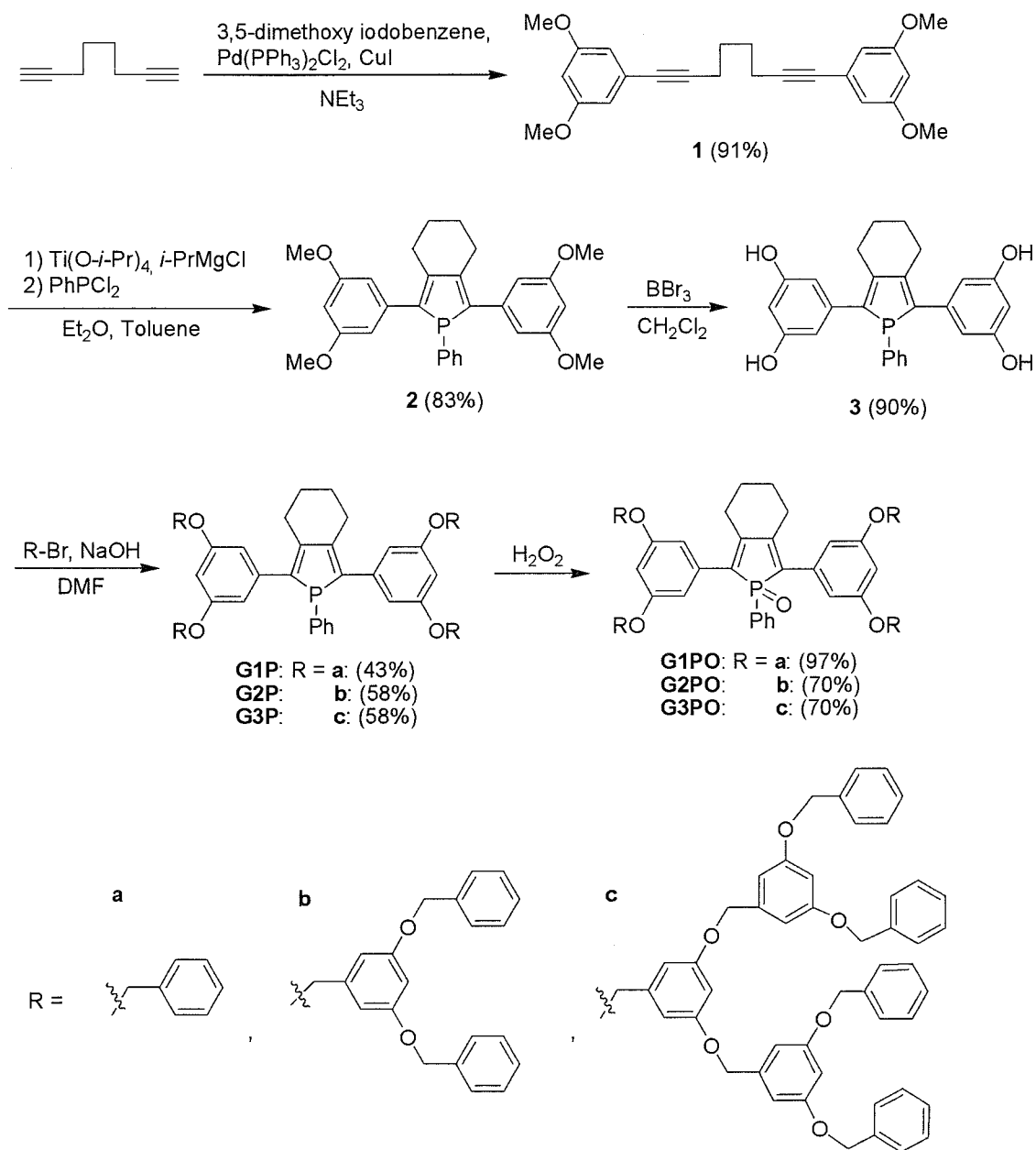
ホスホールをコアとするデンドリマーの合成は、まずデンドロンユニットを導入したジイン誘導体の分子内環化による一段階の反応によって試みた（スキーム 4）。ところが、対応するデンドリマーの収率は第 1 世代で 10% 程度であり、第 2 世代で痕跡量、さらに第 3 世代では全く反応は進行せず、未反応の原料がほとんどであった。嵩高いデンドロンユニットのため、分子内環化反応が進行しにくくなったのだと考えられる。

Scheme 4. 分子内環化反応によるホスホールをコアとするデンドリマーの合成



そこでデンドリマーの合成は、先にホスホール骨格を持つコア部分を合成し、そこに各世代のデンドロンユニットを導入するコンバージェント法を用いて行った（スキーム 5）。

Scheme 5. コンバージョン法によるホスホールをコアとする
デンドリマーの合成



まず、1,7-オクタジインと 3,5-ジメトキシヨードベンゼンの園頭カップリングにより **1** を 91%の収率で合成した。その後 **1** を低原子価チタンを用いた分子内環化反応によりチタナシクロペンタジエンを形成させ、続いてジクロロフェニルホスフィンとの反応によりホスホール誘導体 **2** を 83%で合成した。続いて **2** のメトキシ基を三臭化ホウ素を用いて水酸基とし、コア部分となるホスホ

ール **3** を収率 90% で合成した。

次に **3** に各世代のベンジルエーテル型デンドロンユニットを導入した。なおベンジルエーテル型デンドロンユニットは文献にしたがって合成した³。**3** とデンドロンユニットを水酸化ナトリウム存在下、室温で反応を行った。反応追跡は TLC で容易に行うことができた。その結果、反応時間は第 1 世代で 1 時間、第 2 世代で 2 時間、第 3 世代では 4 時間と、デンドロンユニットの立体的要因を反映し、世代の増加に伴い長くなった。各デンドリマーはシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの単離が容易に行うことができた。その結果、第 1 世代 **G1P** を収率 43%、第 2 世代 **G2P** を収率 58%、また第 3 世代 **G3P** を収率 58% で合成した。

次に、最も簡単なホスホールの化学修飾として、酸化を行った。ホスホールをコアとするデンドリマー **GnP** を過酸化水素を用いて酸化して、ホスホールオキシドをコアとする各世代のデンドリマーの合成を行った。酸化反応はスムーズに進行し、また酸化させると極性が大きく変わることから、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる単離も容易であった。その結果 **G1PO** を収率 97% で合成した。同様に、第 2 世代の **G2PO** を収率 70%、また第 3 世代の **G3PO** を収率 70% で合成した。

なお各デンドリマーの構造は ^1H 、 ^{13}C 及び ^{31}P NMR、元素分析によって確認した。例えば、 ^{31}P NMR において酸化前の **G1P** は 13.1 ppm ピークを示すのに対し、酸化後の **G1PO** は 43.4 ppm 付近にピークを示す (図 3)。

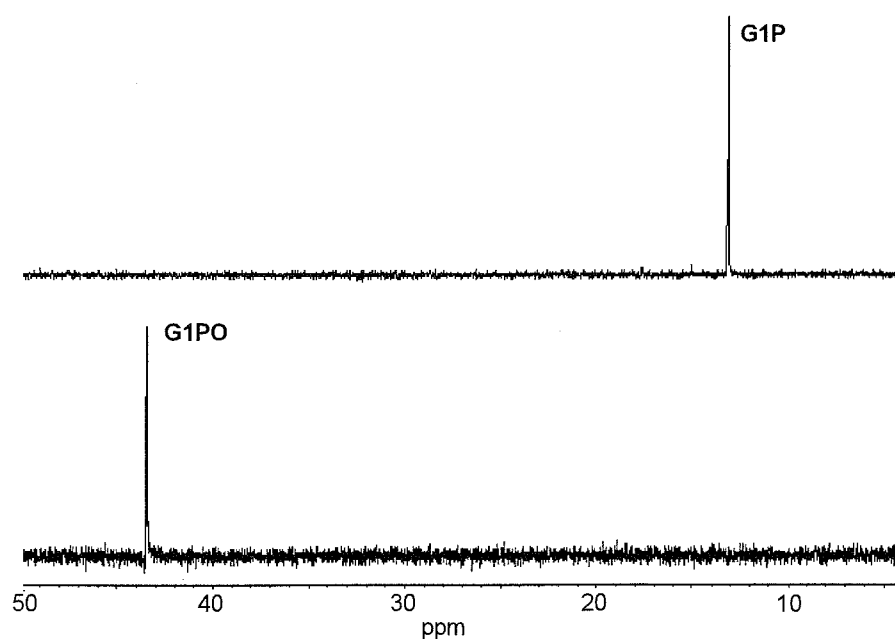
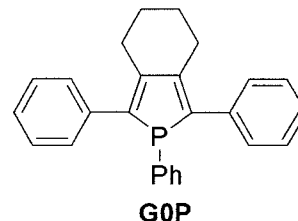


Figure 3. **G1P** および **G1PO** の ^{31}P NMR スペクトル (CDCl_3)

3-2-2 GnP の THF 中での光物性

第 1 世代から第 3 世代のホスホールをコアとするデンドリマー-GnP の光物性について検討した。なお、ここではモデル化合物の 2,5-ジフェニルホスホール^{7d}を第 0 世代 G0P として、先に示した同様な分子内環化反応により合成した。図 4 にホスホールをコアとするデンドリマー-GnP の THF 溶液中での紫外可視吸収スペクトルと蛍光スペクトルを示した。また、表 1 に各スペクトルデータを示した。



紫外可視吸収スペクトルにおいて、いずれの世代も 360 nm 付近にホスホール環の π - π^* 遷移による吸収が観測された。モル吸光係数は世代によらずほぼ同程度 (約 $11000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) であった。また、280 nm 付近のベンジルエーテル型デンドロンユニットの π - π^* 遷移による吸収が、世代の増加と共に大きくなった。

一方蛍光スペクトルでは、ホスホール環の π - π^* 遷移である 360 nm 付近で励起すると、いずれの世代も 470 nm 付近に発光極大が観測された。蛍光量子収率はモデル化合物の G0P では 12% であったが、デンドリマーの G1P、G2P および G3P でそれぞれ 19、37 および 45% と世代の増加に伴い増加した。これまでに報告されている 2,5-ジアリール型ホスホールの蛍光量子収率は高くても 10~20% 程度である⁸。したがって、G3P の示す 45% という蛍光量子収率は、これまで報告されている中で最も高い値となった。G3P においてホスホール環の周りが嵩高くなることで、励起状態での熱振動等による無放射失活過程等が効果的に抑制されるため、蛍光量子収率が大きく向上したと考えられる。

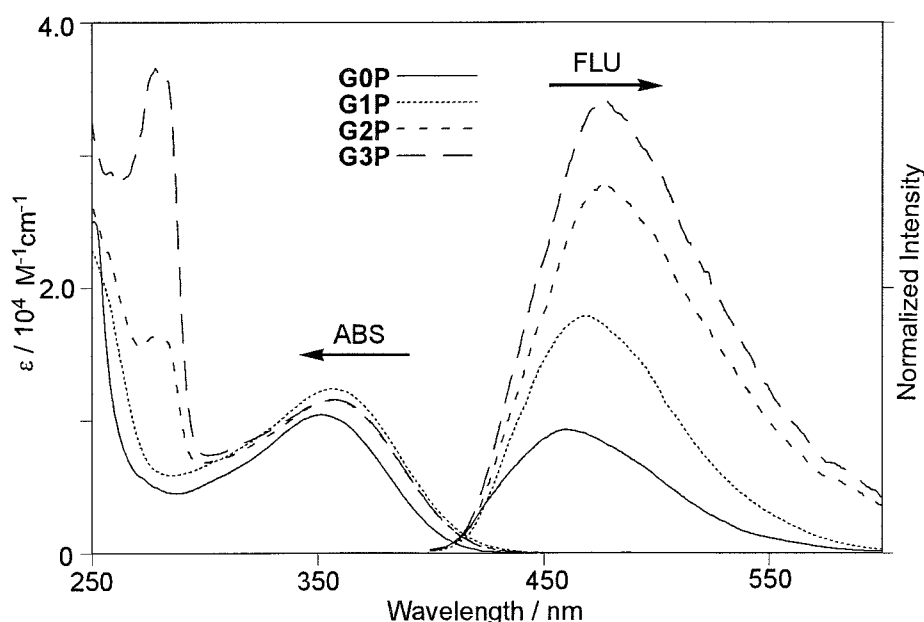


Figure 4. GnP の THF 中での吸収および蛍光スペクトル (吸収極大波長で励起)

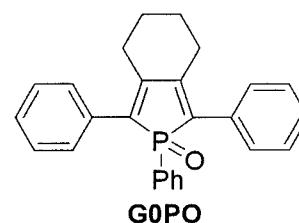
Table 1. **GnP** の THF 中でのスペクトルデータ

Compound	Absorption		Fluorescence	
	$\lambda_{\max}^a$ (nm)	ϵ (cm ⁻¹ M ⁻¹)	λ_{em}^b (nm)	$\phi_f^{c, d}$
G0P	352	10400	460	0.12
G1P	357	12200	469	0.19
G2P	357	11500	477	0.37
G3P	357	11600	476	0.46

^a Longest wavelength absorption maximum is shown. ^b Excited at 360 nm. ^c Fluorescence quantum yield. ^d Determined with quinine sulfate as a standard.

3-2-3 **GnPO** の THF 中での光物性

一方、ホスホールを酸化したホスホールオキシドをコアとするデンドリマー**GnPO**の光物性を検討した。なお、先と同様にここではモデル化合物の**2,5-ジフェニルホスホールオキシド**を第**0**世代**G0PO**と定義する。図5に**GnPO**のTHF溶液中での紫外可視吸収スペクトルと蛍光スペクトルを示した。また、各スペクトルデータを表2に示した。



紫外可視吸収スペクトルにおいて、いずれの世代も**380 nm**付近にホスホールオキシド環の π - π^* 遷移による吸収が観測され、酸化前の**GnP**の吸収(約**360 nm**)と比較して約**20 nm**の長波長シフトが観測された。

一方蛍光スペクトルでは、ホスホールオキシド環の π - π^* 遷移である**380 nm**付近で励起した際に、いずれの世代も**500 nm**付近に発光極大が観測された。これは酸化前の**GnP**の発光(約**470 nm**)と比較して約**30 nm**の長波長シフトした値である。観測された吸収および発光の長波長シフトは、ホスホールオキシド骨格での $P^{\delta+}=O^{\delta-}$ ユニットの分極した構造に由来したLUMOの低下に起因する^{7d}。蛍光量子収率は最も世代の大きい**G3PO**においても**1.63%**であり、**GnP**の蛍光量子収率(**12 - 46%**)と比べ著しく低下した。

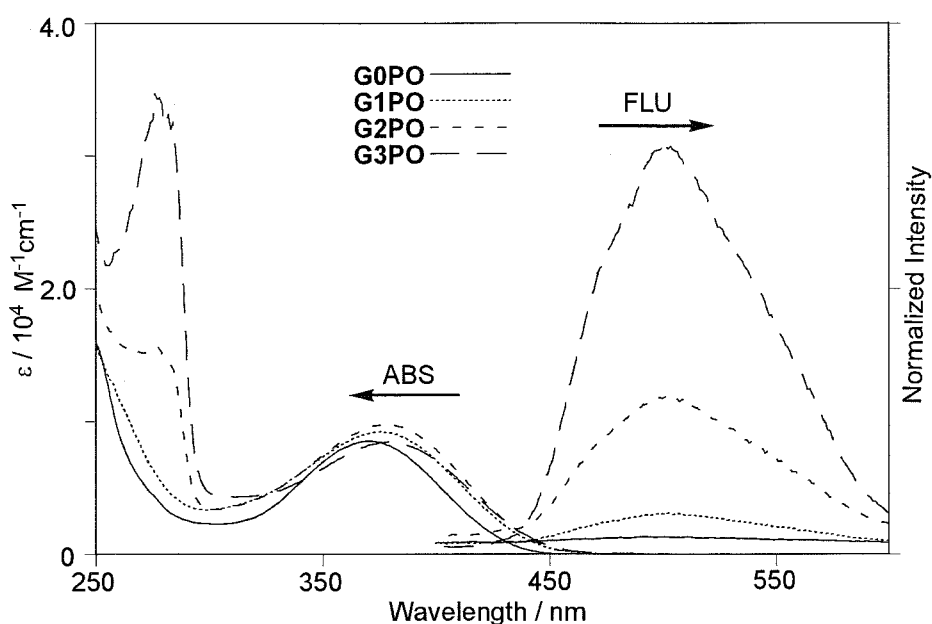


Figure 5. GnPO の THF 中での吸収および
蛍光スペクトル（吸収極大波長で励起）

Table 2. GnPO の THF 中でのスペクトルデータ

Compound	Absorption		Fluorescence	
	$\lambda_{\max}^a$ (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)	λ_{em}^b (nm)	ϕ_f^c, d
G0PO	370	8500	505	0.0012
G1PO	375	9200	505	0.0020
G2PO	379	9800	502	0.0062
G3PO	379	8500	501	0.0163

^a Longest wavelength absorption maximum is shown. ^b Excited at 380 nm. ^c Fluorescence quantum yield. ^d Determined with quinine sulfate as a standard.

3-2-4 GnP および GnPO のエネルギー移動

GnP および GnPO におけるエネルギー移動について検討した。ベンジルエーテル型のデンドロンユニット自体は 280 nm の光励起によって通常 310 nm 付近で発光する^{5b}。GnP を 280 nm で励起したところ、デンドロンユニット自体の発光 (310 nm) は全く観測されず、いずれの世代もホスホール環由来の 470 nm 付近に発光を示した (図 6)。

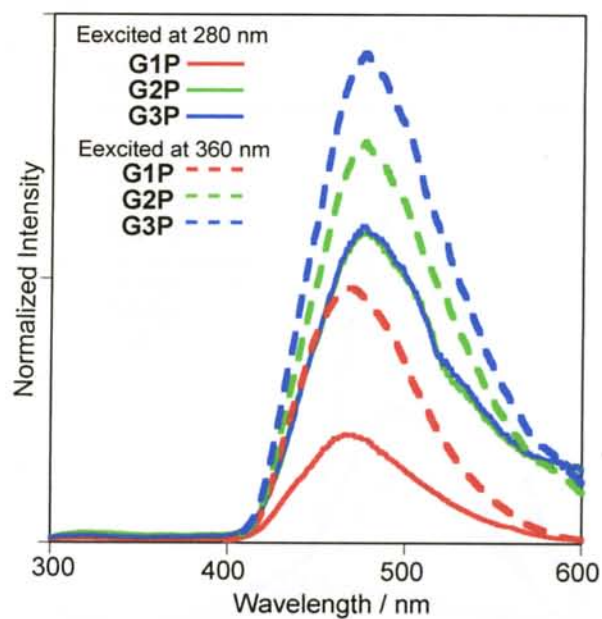


Figure 6. GnP を 280 および 360 nm で励起した際の THF 中での蛍光スペクトル

そこで G3P の発光極大 476 nm をモニターした励起スペクトルを測定した。G3P の励起スペクトル(実線)では、ベンジルエーテル部位の π - π^* 遷移の 280 nm と、ホスホール環の π - π^* 遷移の 360 nm の吸収が観測され、吸収スペクトル(点線)と一致した(図 7)。

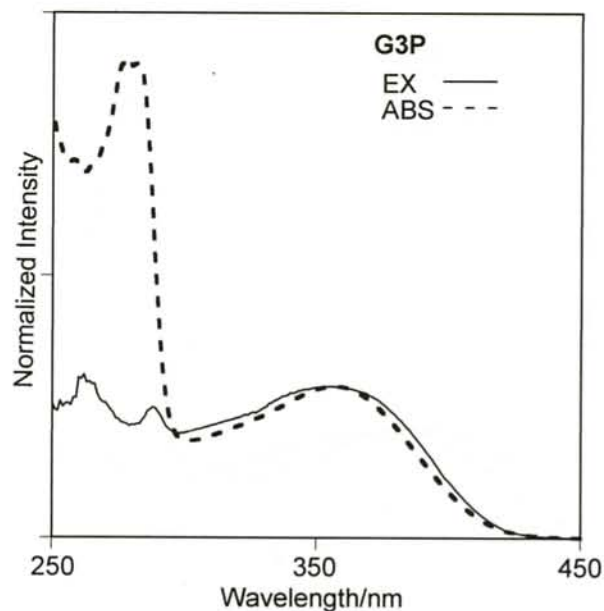


Figure 7. G3P の THF 中での吸収および励起スペクトル (モニター波長 476 nm)

一方 **GnPO** でも 280 nm で励起したところ、ホスホールオキシド環由来の 500 nm 付近に発光を示した (図 8)。

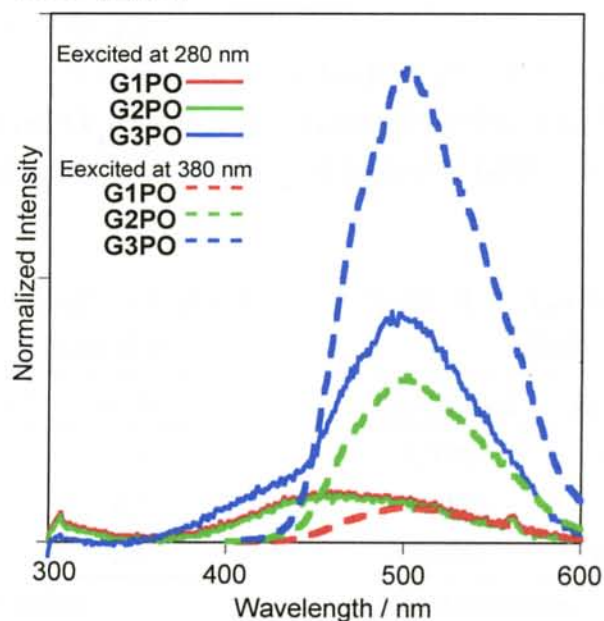


Figure 8. **GnPO** を 280 および 380 nm で励起した際の THF 中での蛍光スペクトル

同様に、**G3PO** の発光極大 501 nm をモニターした励起スペクトル (実線) も吸収スペクトル (点線) と一致した (図 9)。

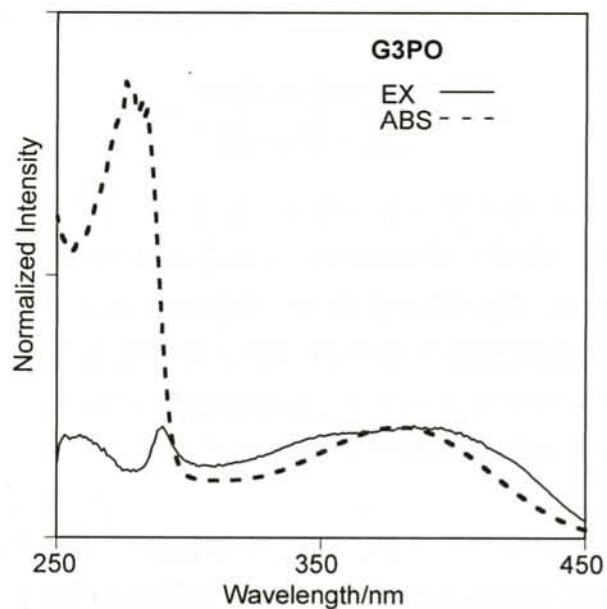


Figure 9. **G3PO** の吸収および励起スペクトル (モニター波長 501 nm)

これらの結果は、デンドロンユニットからコアのホスホールあるいはホスホ

ールオキシド環へのエネルギー移動が生じていることを示唆する。しかし、発光強度はホスホール環 360 nm を直接励起したほうが高く、いわゆる「アンテナ効果」は観測されなかった。

ホスホールをコアとするデンドリマー-GnP 及びホスホールオキシドをコアとするデンドリマー-GnPPO のエネルギー移動効率を吸収と励起スペクトルとの比較により求めた (表 3, 4) ⁹。エネルギー移動効率は G2P で 67%、G3P で 24%、G3PO で 16%であった。

Table 3. GnP のエネルギー移動効率

Compound	$\phi_{ET}/\%$
G1P	— ^a
G2P	67
G3P	24

^a Not detectable.

Table 4. GnPPO のエネルギー移動効率

Compound	$\phi_{ET}/\%$
G1PO	— ^a
G2PO	— ^a
G3PO	16

^a Not detectable.

エネルギー移動の機構としては結合経由型の Dexter 機構と空間経由型の Förster 機構が知られている。今回のエネルギー移動は、デンドロンユニットのベンジルエーテルユニットとホスホール環との間に電子の移動が可能な共役はなく、Förster 機構でエネルギー移動が起こると考えられる。Förster 機構によるエネルギー移動の速度定数を式 1 に示す。

$$k_{ET} = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\phi_D J}{128\pi^5 n^4 N \tau_D R_{DA}^6} \quad (1)$$

κ は D (エネルギードナー) と A (エネルギーアクセプター) の遷移双極子モーメントの積、 ϕ_D は D の A が存在しない時の量子収率、 J は D の蛍光スペクトルと A の吸収スペクトルとの重なった部分の積分値、 n は溶媒の屈折率、 N はアボガドロ定数、 τ_D は A が存在しない時の D の発光寿命、 R_{DA} は D と A の距離である。よってエネルギー移動効率は、ドナーとアクセプターの距離が近く、またドナーの蛍光スペクトルとアクセプター吸収スペクトルの波長領域の共有が大きいほど効率が良い。

したがって、GnP および GnPPO においては、デンドロンユニットの発光(310 nm)と GnP および GnPPO の吸収 (360 - 380 nm) の波長領域の共有が小さいため、効率よくエネルギー移動が起きていない。また GnP においては、世代の増加に伴うエネルギー移動効率の低下も観測されるが、これはドナーとアクセプター間の距離が遠くなるためと考えられる。

3-2-5 フィルム状態での光物性

有機 EL 等の素子などへの応用を考えた場合、固体状態での光物性が重要である。そこで、ホスホールおよびホスホールオキシドをコアとする dendritic のフィルム状態での吸収と蛍光スペクトルの測定を行った。なお測定用のフィルムは、各 dendritic をトルエンに溶解させ、それを石英板に塗布し乾燥させて作成した。いずれの場合もトルエン溶液から良好なフィルムを調製することが出来た。

フィルム状態での **GnP** の吸収および蛍光スペクトルを図 10 に、**GnP_O** を図 11 に示す。また、各スペクトルデータを表 5 に示す。吸収スペクトルにおいて、**GnP** は溶液状態とほぼ同じ吸収極大（約 360 nm）を示した。一方蛍光スペクトルでは溶液状態と比較して、**G0P** は約 30 nm、**G1P** は約 20 nm の長波長シフトが観測されたのに対し、**G2P** および **G3P** では溶液状態とほぼ同じ発光極大を示した。この結果は、世代の低い dendritic はホスホール環同士の π - π 相互作用が起きているのに対し、世代の高い dendritic はコアのホスホール環が嵩高い dendritic ユニットによって、 π - π 相互作用が抑制されていることを示唆する。

一方吸収スペクトルにおいて、**GnP_O** は溶液状態と比較して各世代で 10 nm 程度の長波長シフトのみが観測された。一方発光極大は溶液状態とほぼ同じ 500 nm であった。

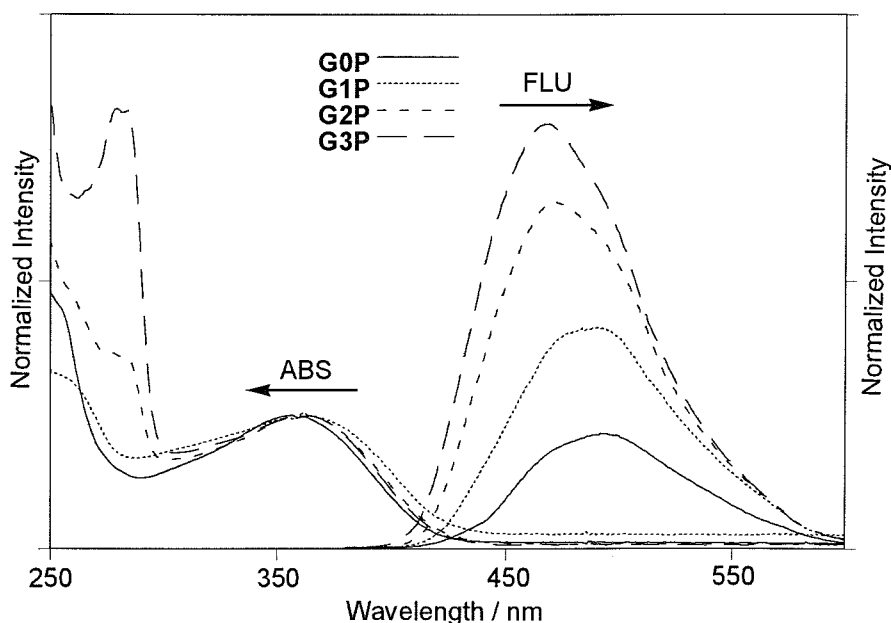


Figure 10. **GnP** のフィルム状態での吸収および
蛍光スペクトル（吸収極大波長で励起）

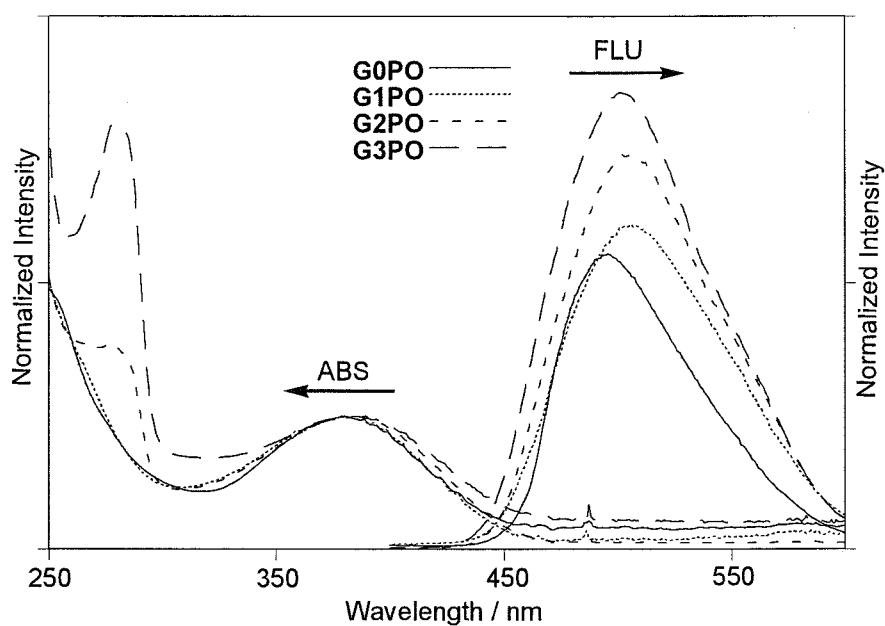


Figure 11. GnP_O のフィルム状態での吸収および
蛍光スペクトル (吸収極大波長で励起)

Table 5. フィルム状態でのスペクトルデータ

Compound	film ^a	
	$\lambda_{\text{max}}^{\text{b}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}^{\text{c}}$ (nm)
G0P	356	492
G1P	362	489
G2P	359	472
G3P	357	469
G0PO	380	496
G1PO	379	503
G2PO	382	505
G3PO	389	501

^a Cast film from a toluene solution on a quartz plate.

^b Longest wavelength absorption maximum is shown.

^c Excited at wavelength of absorption maximum.

3-2-6 ホスホールオキシドの凝集誘起型発光特性

通常 π 共役発光性分子は溶液状態で強い発光を示しても、凝集あるいは固体状態では π - π 相互作用等により発光強度の減少が観測される。しかし最近、多分岐型構造を有するいくつかの π 共役系分子が凝集あるいは固体状態で、発光強度が

著しく増加することが報告されている¹⁰。この現象は凝集誘起型発光 (Aggregation-induced emission; AIE) と呼ばれ、2001 年に Tang らが初めて報告した^{10a}。

ホスホールオキシド **GnPO** の各フィルムを UV ランプ (365 nm) を用いて光照射すると、明らかに溶液の状態の時と比べ強い発光が観察された。これは、ホスホールオキシドは凝集誘起型発光を示すことを示唆する。そこでホスホールオキシドの凝集誘起型発光特性を詳しく調べるため、凝集状態での蛍光スペクトルを測定した。**G1PO** を THF に溶解させた状態に、貧溶媒である水を加えていくと凝集体が形成され、それに伴い発光強度の著しい増加が観測された (図 9a)。実際図 10 のように、THF 溶液中ではほとんど発光を示さないのに対し、凝集状態では強い発光を示すことが肉眼でも観測できた。なお、同様に **G2PO** および **G3PO** も凝集体形成に伴い発光の増加が観測された (図 9b, c)。いずれの世代の **GnPO** も凝集状態において約 500 nm の発光極大を示し、フィルム状態あるいは溶液状態の発光極大波長とよく一致した。

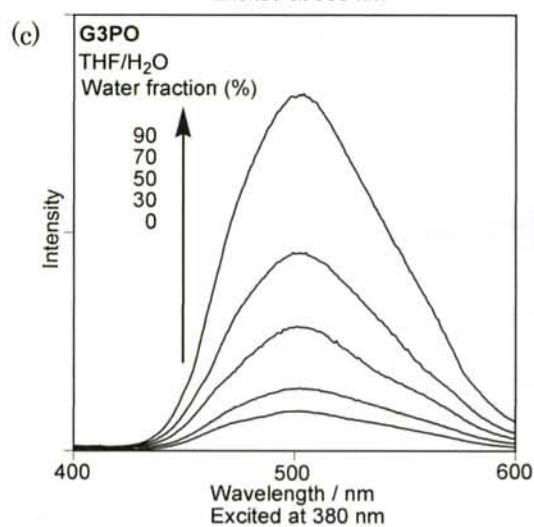
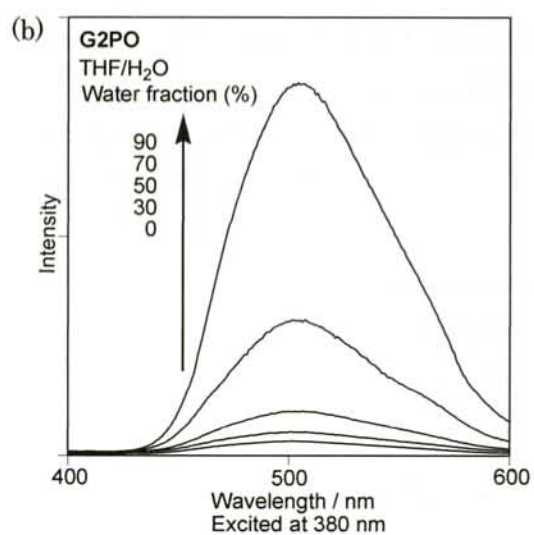
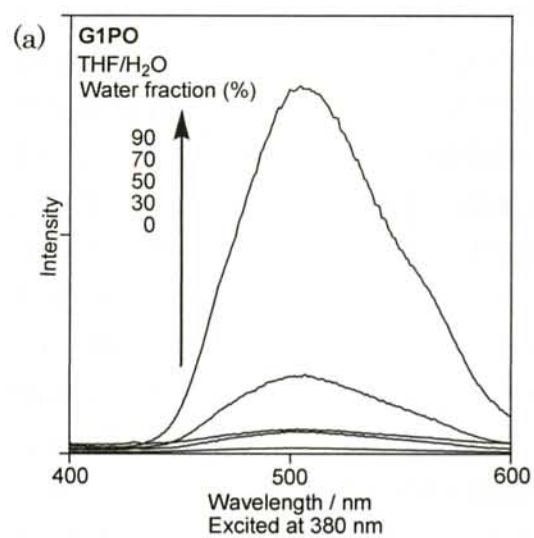


Figure 9 (a) **G1PO**、(b) **G2PO** および (c) **G3PO** の水/THF 混合溶媒中での蛍光スペクトル (励起波長 380 nm)

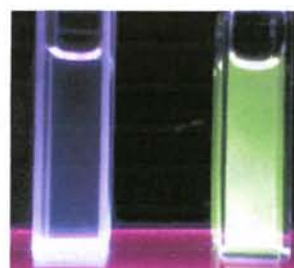


Figure 10. 紫外線 (365 nm) 照射時の写真 (**G1PO**: 19 μ M、左: THF、右: THF/H₂O = 1/9)

図 11 に各デンドリマーGnPO の発光強度比 I/I_0 を示した。なお、 I は水の各割合での発光強度、 I_0 は THF のみのときの発光強度を示す。その結果、 I/I_0 の増加は G1PO が最も大きく、水の割合が 90% のとき約 70 倍近く発光強度が増加した。実際写真のように、紫外線 (365 nm) 照射時 THF 溶媒のときはほとんど発光していないのに対し、凝集状態では強い発光を示すことが確認できた。同様に、水の割合が 90% のとき G2PO は 25 倍、G3PO は 10 倍、G0PO は 5 倍程度の発光強度の増加が観測された。

G1PO が最も大きな I/I_0 を示したのは、次の二つの要因が考えられる。第一に、GnPO の凝集能の違いである。ホスホールオキシドは $P^{\delta+}=O^{\delta-}$ に分極しており、比較的極性の高い化合物である。そのため、疎水性のベンジルエーテル型デンドロンユニットを有していない G0PO は、水の割合 90% でもほとんど凝集せず、 I の増加が小さいと考えられる。また第二に、各世代での I に対する I_0 の大きさである。G1PO、G2PO および G3PO はデンドロンユニットを有しているので、いずれも水の割合 90% で十分に凝集体を形成し、同程度の発光強度 I を示した。一方 I_0 は世代の増加に伴い大きくなる。したがって、G1PO が最も大きな I/I_0 を示したと考えている。

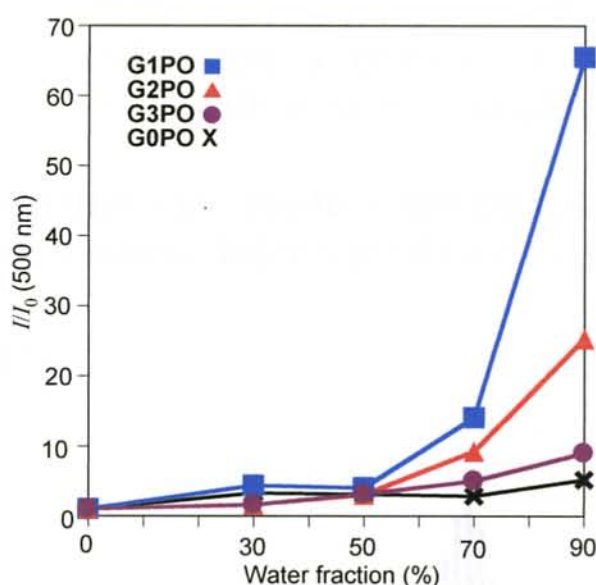


Figure 11. 水の各割合における GnPO の発光強度比 (励起波長 238 nm、モニター波長 500 nm、 I/I_0 = 水の各割合での発光強度 / THF のみのときの発光強度)

3-2-7 凝集体の粒子径

次に、GnPO の凝集体の粒子径について検討した。G1PO および G3PO の水の割合 90% における凝集体を 0.45 μm のフィルタに通した後、蛍光スペクトル

を測定した。その結果、G1PO は発光強度にほとんど変化がなかったのに対し、G3PO の発光はほとんど観測されなかった (図 12)。この結果は、G1PO は粒子径 $0.45\ \mu\text{m}$ 以下の粒子を形成しているのに対し、G3PO は粒子径 $0.45\ \mu\text{m}$ より大きい粒子を形成していることを示す。また、G1PO の凝集体は分散しており、二週間静置しても発光強度にほとんど変化がなかった。

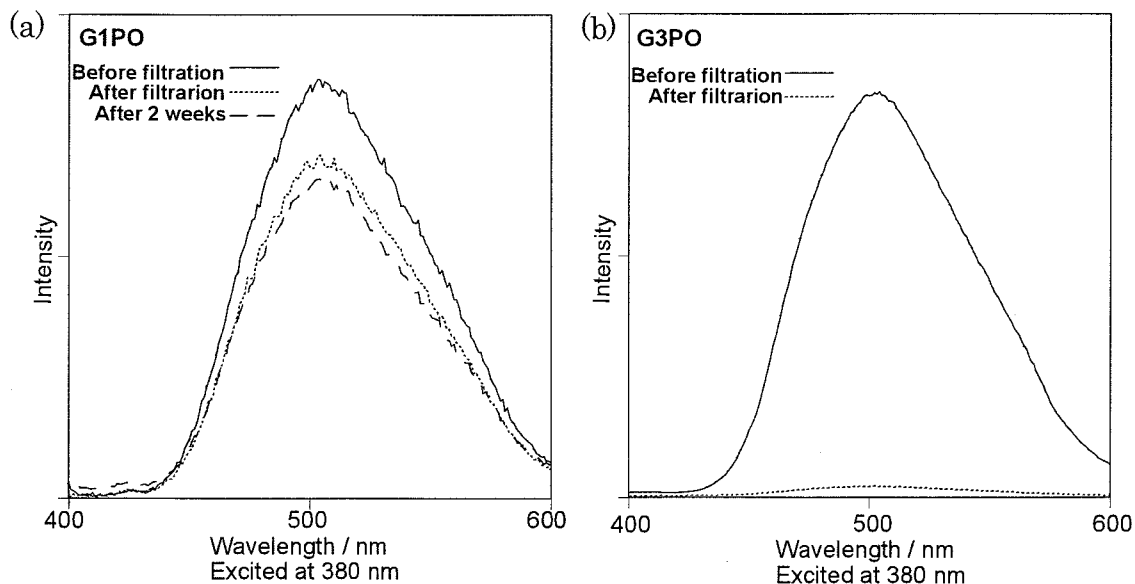


Figure 12. 凝集体の粒子径と安定性 (a) G1PO および (b) G3PO の凝集体のろ過前後の蛍光スペクトル (水/THF 混合溶液中、励起波長 380 nm)

G1PO 凝集体 (THF/H₂O = 1/9、20 μM) の動的光散乱による粒径分布測定を行ったところ、積算分布値 50% に対応する粒子径 (メジアン径) は 117.1 nm であった (図 13)。

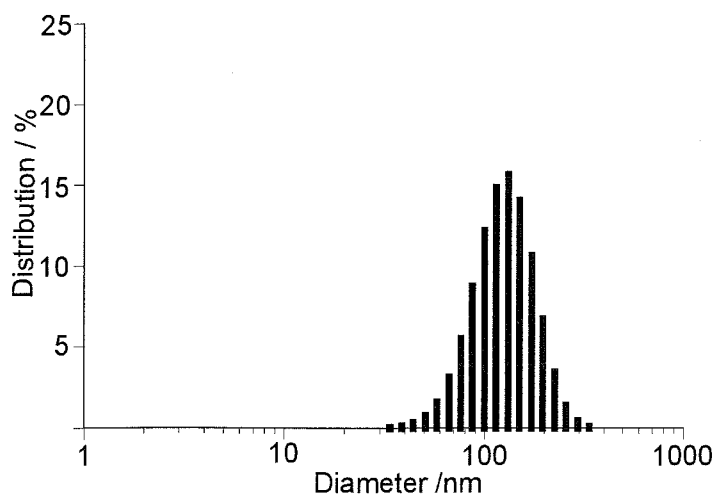


Figure 13. G1PO の粒子径分布

3-2-8 2,5-ジフェニルホスホールオキシドの X 線結晶構造解析

ホスホールオキシドが凝集誘起型発光を示す要因を探るため、モデル化合物である 2,5-ジフェニルホスホールオキシドの X 線結晶構造解析を行った。なお結晶学的データを表 6 に示した。図 14 にパッキング構造を示す。

ホスホールオキシドの向かい合う 2 分子間の距離は 8.74 Å、また重なり合う 2 分子間の距離は 9.64 Å と互いに離れており、 π - π スタッキングしていない。また、2,5-位のフェニル基がホスホール環に対して 46.5 度ねじれており、非平面的な構造でフェニル基どうしが空間的に近い位置に存在する。そのため固体あるいは凝集状態でフェニル基の振動や回転が抑制され、その結果励起状態での無放射失活過程が抑制され発光強度が著しく増加しているものと考えられる。

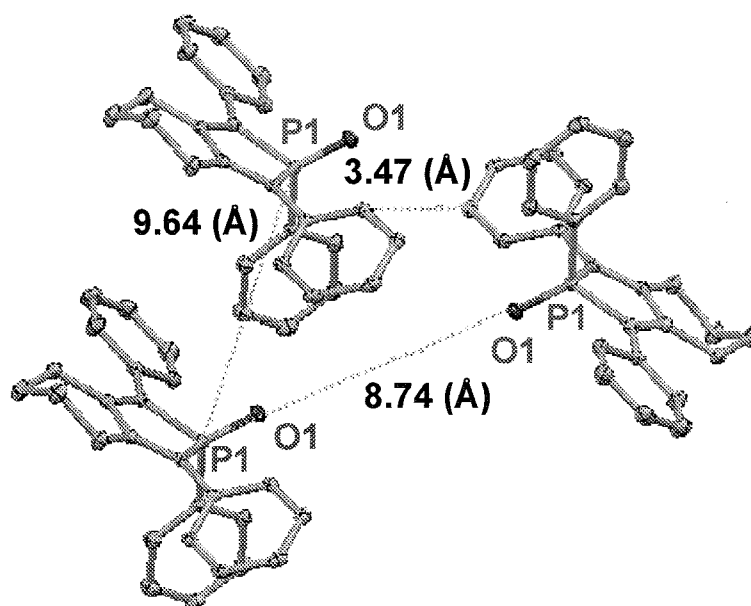


Figure 14. G1PO の X 線構造解析

Table 6. 結晶学的データ

Empirical Formula	C ₂₆ H ₂₃ OP	Space Group	P21/n (#14)
Formula Weight	382.44	Z value	4
Crystal Color, Habit	yellow, block	Dcalc	1.308 g/cm ³
Crystal System	monoclinic	2 θ max	55.0 °
Lattice Parameters	a = 8.737(2) Å	No. of Reflections Measured	Total: 13782
	b = 14.917(4) Å		Unique: 4282 (Rint = 0.016)
	c = 15.313(4) Å	Residuals: <i>R</i> (<i>I</i> > 3.00 σ (<i>I</i>))	0.034
	β = 103.399(4) °	Residuals: <i>R</i> _w (<i>I</i> > 3.00 σ (<i>I</i>))	0.047
	V = 1941.5(9) Å ³	Goodness of Fit Indicator	1.099

3-2-9 粘性溶液中および低温での蛍光スペクトル

前述した X 線結晶構造解析の結果から、ホスホールオキシドは凝集状態で分子内のフェニル基の振動や回転が抑制されるため強い発光を示すようになると考えた。したがって溶液状態でも、粘度の高い溶媒を用いた場合、あるいは低温では強い発光を示すと考えられる。そこで、**G1PO** の粘性溶媒中および低温での蛍光スペクトルを測定した。

まず粘性溶液中での蛍光スペクトルを測定した。測定溶媒として、ジエチレングリコールを選択した。ジエチレングリコールの粘性は **35.7 cp (20 °C)** であり、先に測定溶媒として用いた **THF (0.55 cp, 20 °C)** に比べ粘度が高い。

G1PO (19 μM) は **THF** 中では先に示したようにほとんど発光しないのに対し、ジエチレングリコール中では約 **13 倍** の強い発光を示した (図 15)。

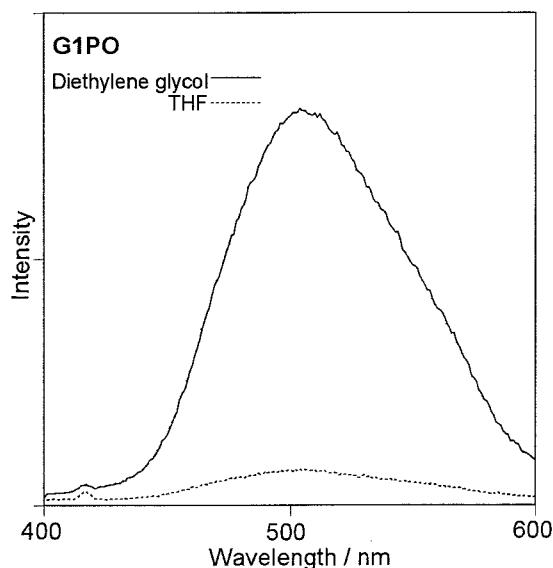


Figure 15. THF およびジエチレングリコール中での
蛍光スペクトル (励起波長 380 nm)

次に、低温での蛍光スペクトルを測定した。低温剛体溶媒として 2 - メチルテトラヒドロフランを選択し、液体窒素で冷却し **-196 °C** で測定した。**G1PO (19 μM)** は室温 (**20 °C**) ではほとんど発光を示さないが、**-196 °C** では約 **120 倍** 強い発光を示した (図 16)。

以上の結果から、ホスホールオキシドは分子内のフェニル基の振動や回転の抑制によって凝集誘起型発光が起こると結論付けられる。

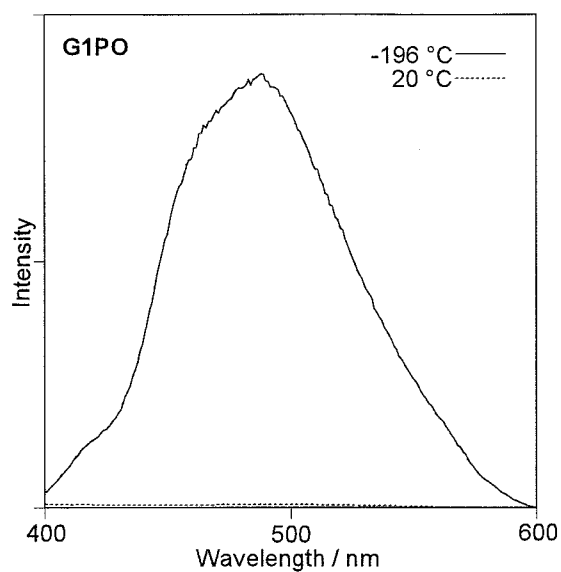


Figure 16. 低温での蛍光スペクトル (励起波長 380 nm)

3-2-10 ホスホールの凝集状態での蛍光スペクトル

G1P を THF に溶解させた状態に、非溶媒である水を加え凝集体を形成させ、蛍光スペクトルを測定した。G1P ではホスホールオキシド GnPPO で観測されたような凝集誘起型発光は観測されず、 π - π 相互作用による発光強度の減少と発光の長波長シフトのみが観測された (図 17)。

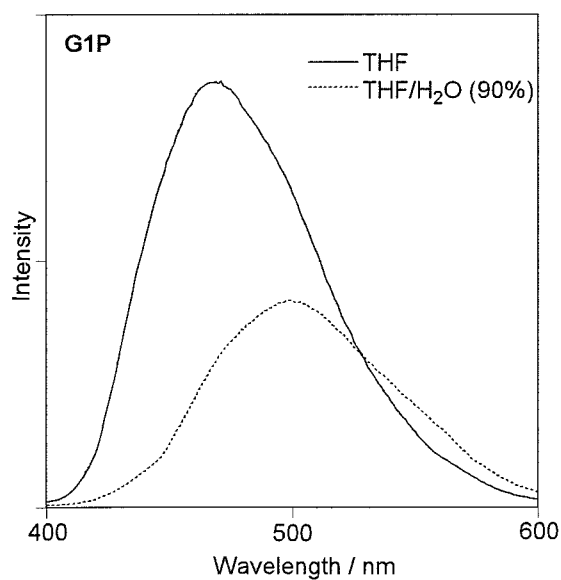


Figure 17. G1P の水/THF 混合溶媒中での蛍光スペクトル (励起波長 380 nm)

3-3 まとめ

ホスホール環を持つコア部分に各世代のベンジルエーテル型デンドロンを導入するコンバージェント法により、ホスホールをコアとするデンドリマー**GnP**を合成した。さらに、**GnP**の酸化によりホスホールオキシド**GnPO**を合成した。

THF溶液において、**GnP**は360 nm付近に吸収極大、また470 nm 付近に発光極大を示し、この時の蛍光量子収率は世代の増加に伴い向上した。一方**GnPO**は380 nm付近に吸収極大、また500 nm付近に発光極大を示し、**GnP**と比べいずれも長波長シフトが観測された。

さらに、**GnPO**は溶液状態ではほとんど発光を示さなかったが、凝集状態で著しく発光強度が増加する凝集誘起型発光を示した。

3-4 実験項

3-4-1 分析機器

^1H および ^{13}C NMRは、Bruker製DPX300型スペクトロメーターを用いてそれぞれ300および75.4 MHzで測定した。 ^{31}P NMRは日本電子製JNM-Ex400型スペクトロメーターを用いて162 MHzで測定した。紫外可視吸収スペクトルはAgilent 8453分光光度計を用いて測定した。蛍光スペクトルは日立製F4500型分光光度計を用いて測定した。融点測定は井内盛栄堂製デジタル融点測定装置IA9100で行った。高分解能マスマススペクトル測定は日本電子製二重収束型質量分析装置JMS-700で行った。X線構造解析はRigaku Saturn AFC10で行った。動的光散乱式粒径分布測定はHORIBA製LB-550で行った。元素分析は東京工業大学技術部分析支援センターで行った。

3-4-2 溶媒

乾燥 THF は市販の脱水溶媒（関東化学）を用いた。乾燥ジエチルエーテルおよび乾燥トルエンは金属ナトリウム存在下で蒸留し用いた。乾燥塩化メチレン、乾燥 DMF および乾燥トリエチルアミンは水素化カルシウム存在下で蒸留し用いた。NMR 測定に用いた重クロロホルムおよび重アセトン市販のものを用いた。吸収および蛍光スペクトル測定には、金属ナトリウム存在下で蒸留した THF を用いた。

3-4-3 試薬

全ての試薬は下記に記すもの以外は全て市販のものを用いた。3,5-ジメトキシノードベンゼン¹¹、ベンジルエーテル型デンドロンユニット³は文献にしたがって合成した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーに用いたシリカゲルはMerck 社製 Silica Gel 60, 0.040-0.063 mm を用いた。TLC 板は Merck 製 TLC

アルミニウムシート シリカゲル 60 F₂₅₄ を用いた。

3-4-4 合成

1 の合成

磁気攪拌装置を備えた 300 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥トリエチルアミン (50 mL)、乾燥 THF (35 mL)、3,5-ジメトキシオードベンゼン (25.8 g, 97.7 mmol)、1,7-オクタジイン (5.10 g, 48.1 mmol)、ジクロロビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) (0.64 g, 0.92 mmol)、ヨウ化銅(I) (0.34 g, 1.81 mmol) を加え、室温で 60 時間攪拌した。その後、酢酸エチルを加え、セライト吸引ろ過し、溶媒留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/塩化 = 2/1 → 1/1) で単離して、1 を得た (16.6 g, 43.9 mmol, 収率 91%)。

1: 白色固体; m.p. 85.1-86.2 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.76-1.82 (m, 4H, CCH₂CH₂), 2.45-2.49 (m, 4H, CCH₂CH₂), 3.77 (s, 12H, CH₃), 6.40 (s, 2H, Ar), 6.59 (s, 4H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 19.0 (CCH₂CH₂), 27.8 (CCH₂CH₂), 55.3 (CH₃), 80.9 (Ar-CCH₂), 89.5 (Ar-CCH₂), 101.1 (Ar), 109.3 (Ar), 125.2 (Ar) 160.4 (Ar). MS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) *m/z* 379 (value for [M + H]⁺). Anal. Calcd for C₂₄H₂₆O₄: C, 76.17; H, 6.92. Found: C, 76.03, H, 7.09.

2 の合成

磁気攪拌装置を備えた 1000 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥ジエチルエーテル (200 mL) および乾燥トルエン (200 mL)、1 (5.69 g, 15.0 mmol)、蒸留したオルトチタン酸テトライソプロピル (6.38 g, 22.4 mmol) を加え、-78 °C で塩化イソプロピルマグネシウム 2.0 M ジエチルエーテル溶液 (22.5 ml, 45.0 mmol) を滴下した。-50 °C で 4 時間攪拌した後、蒸留したジクロロフェニルホスフィン (5.69 ml, 31.8 mmol) を加え、ゆっくり室温に戻し 13 時間攪拌した。その後溶媒留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/塩化メチレン = 1/1) で単離して、2 を得た (6.02 g, 12.4 mmol, 収率 83%)。

2: 淡黄色固体; m.p. 153.5-154.4 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.65-1.70 (m, 2H, C=CCH₂CH₂), 1.75-1.89 (m, 2H, C=CCH₂CH₂), 2.68-2.73 (m, 2H, C=CCH₂CH₂), 2.89-2.96 (m, 2H, C=CCH₂CH₂), 3.75 (s, 12H, CH₃), 6.37 (s, 2H, Ar), 6.61 (s, 4H, Ar), 7.11-7.20 (m, 3H, Ar), 7.24-7.34 (m, 2H, Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 23.2 (CCH₂CH₂), 28.1 (CCH₂CH₂), 55.2 (CH₃), 98.4 (C2 Ar), 107.2 (d, ³J(P, C) = 9.4 Hz, C4 Ar), 128.4 (d, ³J(P, C) = 7.9 Hz, *m*-C Ar),

128.9 (*p*-C Ar), 131.9 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 12.4$ Hz, ipso-C Ar), 133.1 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 18.0$ Hz, *o*-C Ar), 139.2 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 18.3$ Hz, C5 Ar), 143.0 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 2.3$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 144.5 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.2$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 160.4 (C1 Ar), $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 13.5. MS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 486 (M^+). Anal. Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{O}_4\text{P}$: C, 74.06; H, 6.42. Found: C, 73.73, H, 6.82.

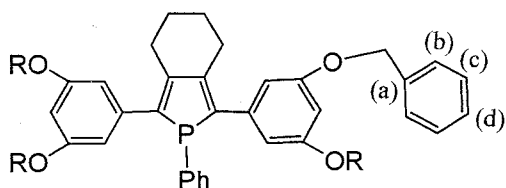
3 の合成

磁気攪拌装置を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥塩化メチレン (15 mL)、2 (0.49 g, 1.0 mmol) を加え、 -28°C で 1M 三臭化ホウ素ジクロロメタン溶液 (8.0 mL, 8.0 mmol) を滴下し、室温で 24 時間攪拌した。その後反応溶液を氷水 (20 mL) に流し込み、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過した。溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (アセトン/塩化メチレン = 1/2) で単離して 3 を得た (0.39 g, 0.90 mmol, 収率 90%)。

3: 黄色固体; m.p. $153.0\text{--}156.3^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, Acetone- d_6) δ 62-1.82 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.62-3.00 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 6.24 (s, 2H, Ar), 6.49 (s, 4H, Ar), 7.13-7.38 (m, 5H, Ar), 8.24 (m, 4H, OH); ^{13}C NMR (75 MHz, Acetone- d_6) δ 23.5 (CCH_2CH_2), 28.3 (CCH_2CH_2), 101.3 (C2 Ar), 108.1 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 9.7$ Hz, C4 Ar), 128.7, (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 7.8$ Hz, *m*-C Ar), 129.4 (*p*-C Ar), 132.7 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 11.6$ Hz, ipso-C Ar), 133.5 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 18.8$ Hz, *o*-C Ar), 139.5 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 18.1$ Hz, C5 Ar), 143.7 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 3.0$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 144.3 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.4$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 158.6 (C1 Ar); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, Acetone- d_6) δ 13.5. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{P}$ (M^+): 430.1334. Found: 430.1343.

G1P の合成

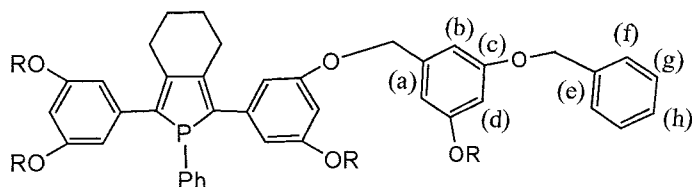
磁気攪拌装置を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥 DMF (5 mL)、3 (0.10 g, 0.22 mmol)、水酸化ナトリウム (47 mg, 0.89 mmol)、ベンジルブロミド (0.173 g, 1.01 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。その後塩化メチレン、水を加え抽出し、有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/塩化メチレン = 1/1) で単離して、G1P を得た (77 mg, 97 μmol , 収率 44%)。



G1P: 淡黄色固体; m.p. 55.8-57.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.57-1.69 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 1.71-1.86 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.56-2.71 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.76-2.91 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 5.00 (s, 8H, Ar- CH_2), 6.52 (s, 2H, Ar), 6.67 (s, 4H, Ar), 7.10-7.23 (m, 5H, P-Ar-H), 7.31-7.49 (m, 20H, Ar-H(b)(c)(d)); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 23.2 (CCH_2CH_2), 27.9 (CCH_2CH_2), 69.9 (Ar- CH_2), 100.4 (C2 Ar), 108.4 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 9.4$ Hz, C4 Ar), 127.5 (Ar(b)), 127.9 (Ar(d)), 128.3 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 7.8$ Hz, *m*-C Ar), 128.5 (Ar(C)), 128.8 (*p*-C Ar), 131.9 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 12.2$ Hz, ipso-C Ar), 133.1 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 17.8$ Hz, *o*-C Ar), 136.9 (Ar(a)), 139.1 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 18.5$ Hz, C5 Ar), 142.9 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 2.3$ Hz, $\text{P}=\text{C}$), 144.6 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 11.2$ Hz; $\text{P}=\text{C}$), 159.5 (C1 Ar); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 13.1. MS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 791 (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{54}\text{H}_{47}\text{O}_4\text{P}$: C, 82.00; H, 5.99. Found: C, 82.06; H, 5.92.

G2P の合成

磁気攪拌装置を備えた 50 mL ニ口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥 DMF (8 mL)、**3** (0.15 g, 0.35 mmol)、水酸化ナトリウム (78 mg, 1.95 mmol)、G2-デンドロン (0.540 g, 1.41 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。その後塩化メチレン、水を加え抽出し、有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/塩化メチレン = 1/1) で単離して、**G2P** を得た (0.323 g, 0.197 mmol, 収率 56%)。

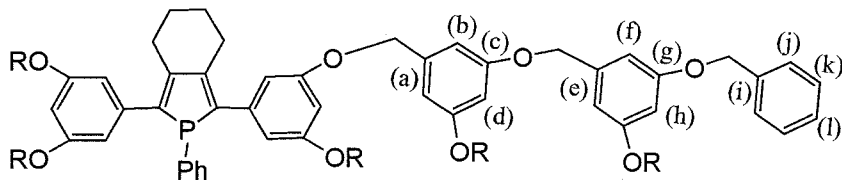


G2P: 淡黄色固体; m.p. 63.7-65.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.60-1.72 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 1.74-1.89 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.59-2.72 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.80-2.95 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 4.98 (s, 8H, Ar- CH_2), 5.05 (s, 16H, Ar- CH_2), 6.52 (s, 2H, H2 Ar), 6.74 (s, 4H, H4 Ar), 6.70 (s, 4H, Ar-H(d)),

6.77 (s, 8H, Ar-H(b)), 7.09-7.50 (m, 45H, Ar-H(f)(g)(h), P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 23.2 (CCH_2CH_2), 28.0 (CCH_2CH_2), 69.8 (Ar-CH_2), 70.0 (Ar-CH_2), 100.4 (C2 Ar), 101.5 (Ar(d)), 106.3 (Ar(b)), 108.4 (d, $^3J(\text{P,C}) = 9.3$ Hz, C4 Ar), 127.5 (Ar(f)), 128.0 (Ar(h)), 128.3 (d, $^3J(\text{P,C}) = 7.9$ Hz, *m*-C Ar), 128.5 (Ar(g)), 128.8 (*p*-C Ar), 131.8 (d, $^1J(\text{P,C}) = 12.3$ Hz, ipso-C Ar), 133.1 (d, $^2J(\text{P,C}) = 17.8$ Hz, *o*-C Ar), 136.7 (Ar(e)), 139.1 (d, $^2J(\text{P,C}) = 18.4$ Hz, C5 Ar), 139.3 (Ar(a)), 142.8 (d, $^1J(\text{P,C}) = 2.5$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 144.7 (d, $^2J(\text{P,C}) = 11.3$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 159.4 (C1 Ar), 160.1 (Ar(c)); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 13.1. MS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 1640 (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{110}\text{H}_{95}\text{O}_{12}\text{P}$: C, 80.56; H, 5.84. Found: C, 80.25; H, 5.90.

G3P の合成

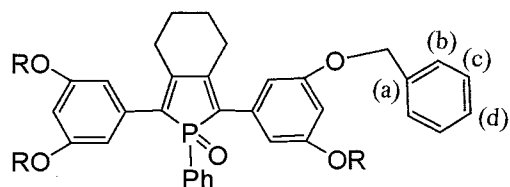
磁気攪拌装置を備えた 50 mL ニ口フラスコを用意し窒素置換した。これに窒素雰囲気下、乾燥 DMF (6 mL)、3 (0.20 g, 0.47 mmol)、水酸化ナトリウム (0.10 g, 2.33 mmol)、G3-デンドロン (1.50 g, 1.86 mmol) を加え、室温で 4 時間攪拌した。その後塩化メチレン、水を加え抽出し、有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/塩化メチレン = 1/2) で単離して、G3P を得た (0.90 g, 0.27 mmol, 収率 58%)。



G3P: 淡黄色固体; m.p. 68.5-70.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.71 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 1.87 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.62 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.80 (m, 2H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 4.89-5.19 (m, 56H, Ar- CH_2), 6.47-6.89 (m, 42H, Ar-H) 7.09-7.62 (m, 85H, Ar-H(j)(k)(l), P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 23.1 (CCH_2CH_2), 28.0 (CCH_2CH_2), 69.9 (Ar- CH_2), 100.3 (C2 Ar), 101.5 (Ar(d)(h)), 106.3 (Ar(b)(f)), 108.3 (d, $^3J(\text{P,C}) = 8.6$ Hz, C4 Ar), 127.4 (Ar(j)), 127.9 (Ar(l)), 128.4 (*m*-C Ar), 128.5 (Ar(k)), 128.8 (*p*-C Ar), 131.8 (d, $^1J(\text{P,C}) = 11.9$ Hz, ipso-C Ar), 133.0 (d, $^2J(\text{P,C}) = 17.6$ Hz, *o*-C Ar), 136.7 (Ar(i)), 139.1 (Ar(a)(e)) 139.3 (C5 Ar), 142.7 ($\text{PC}=\text{C}$), 144.7 (d, $^2J(\text{P,C}) = 10.8$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 159.4 (C1 Ar), 159.9 (Ar(c)), 160.0 (Ar(g)); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 13.1. Anal. Calcd. for $\text{C}_{222}\text{H}_{191}\text{O}_{28}\text{P}$: C, 79.88; H, 5.77. Found: C, 79.66; H, 5.66.

G1PO の合成

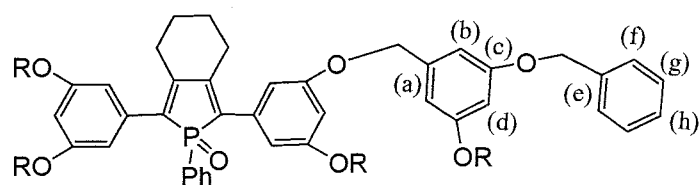
磁気攪拌装置を備えた 50 mL フラスコを用意し、これに THF (10 mL)、G1P (0.15 g, 0.193 mmol)、30%過酸化水素 (26 mg, 0.21 mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。その後溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン→ヘキサン/酢酸エチル = 2/1) で単離して、G1PO を得た (0.15 g, 0.187 mmol, 収率 97%)。



G1PO: 黄色固体; m.p. 73.2-74.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.68 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.68 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 4.98 (s, 8H, Ar- CH_2), 6.51 (s, 2H, H2 Ar), 6.66 (s, 4H, H4 Ar), 7.28-7.42 (m, 23H, Ar-H(b)(c)(d), P-Ar-H), 7.66-7.73 (m, 2H, P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.4 (CCH_2CH_2), 27.5 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 14.3$ Hz, CCH_2CH_2), 69.9 (Ar- CH_2), 102.1 (C_2 Ar), 107.5 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 5.5$ Hz, C_4 Ar), 127.6 (Ar(b)), 127.9 (Ar(d)), 128.5 (Ar(c)), 128.8 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 11.9$ Hz, *m*-C Ar), 129.7 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 93.3$ Hz, ipso-C Ar), 130.4 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 97.0$ Hz, P-C=C), 130.7 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 10.3$ Hz, *o*-C Ar), 131.8 (d, $^4J(\text{P}, \text{C}) = 3.0$ Hz, *p*-C Ar), 134.7 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.4$ Hz, C_5 Ar), 136.7 (Ar(a)), 149.0 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 26.1$ Hz, P-C=O), 159.7 (C_1 Ar); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 43.4. MS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 807 (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{54}\text{H}_{47}\text{O}_5\text{P}$: C, 80.38; H, 5.87. Found: C, 80.04; H, 6.16.

G2PO の合成

磁気攪拌装置を備えた 50 mL フラスコを用意し、これに THF (8 mL)、G2P (0.24 g, 0.15 mmol)、30%過酸化水素 (20 mg, 0.16 mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。その後溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン→ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で単離して、G2PO を得た (0.17 g, 0.10 mmol, 収率 70%)。

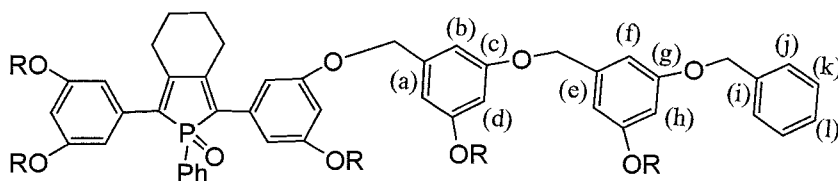


G2PO: 黄色固体; m.p. 70.1-71.1 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.69 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.70 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 4.91 (s, 8H, Ar- CH_2), 5.05 (m, 16H, Ar- CH_2), 6.52 (s, 2H, H2 Ar), 6.60 (s, 4H, H4 Ar), 6.68 (s, 8H, Ar-H(b)), 6.70 (s,

4H, Ar-H(d)), 7.36-7.45 (m, 43H, Ar-H(b)(c)(d), P-Ar-H), 7.69-7.75 (m, 2H, P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.3 (CCH_2CH_2), 27.4 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 14.4$ Hz, CCH_2CH_2), 69.8 (Ar-CH₂), 70.0 (Ar-CH₂), 101.5 (C2 Ar), 102.1 (Ar(d)), 106.3 (Ar(b)), 107.6 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 5.3$ Hz, C4 Ar), 127.5 (Ar(f)), 127.9 (Ar(h)), 128.5 (Ar(g)), 128.8 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 11.9$ Hz, *m*-C Ar), 129.6 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 93.5$ Hz, ipso-C Ar), 130.3 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 96.9$ Hz, $\text{P}=\text{C}$), 130.7 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 10.3$ Hz, *o*-C Ar), 131.8 (d, $^4J(\text{P},\text{C}) = 2.6$ Hz, *p*-C Ar), 134.7 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 11.9$ Hz, C5 Ar), 136.7 (Ar(e)), 139.2 (Ar(a)), 149.0 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 26.0$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 159.6 (C1 Ar), 160.1 (Ar(c)); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 43.4. MS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 1656 (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{110}\text{H}_{95}\text{O}_{13}\text{P}$: C, 79.79; H, 5.78. Found: C, 79.51; H, 6.02.

G3PO

磁気攪拌装置を備えた 50 mL フラスコを用意し、これに THF (5 mL)、G3P (0.180 g, 54 μmol)、30%過酸化水素 (20 mg, 0.16 mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。その後溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン→ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で単離して、G3PO を得た (0.13 g, 38 μmol , 収率 70%)。



G3PO: 黄色固体; m.p. 68.6-70.1 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.70 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.73 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 4.85-5.03 (m, 56H, Ar-CH₂), 6.56-6.77 (m, 42H, Ar-H), 7.33-7.45 (m, 83H, Ar-H(j)(k)(l), P-Ar-H), 7.70-7.76 (m, 2H, P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.2 (CCH_2CH_2), 27.4 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 14.9$ Hz, CCH_2CH_2), 69.8 (Ar-CH₂), 69.9 (Ar-CH₂), 70.0 (Ar-CH₂), 101.5 (Ar(d)(h)), 102.1 (C2 Ar), 106.3 (Ar(f)), 106.4 (Ar(b)), 107.5 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 6.4$ Hz, C4 Ar), 127.5 (Ar(j)), 127.9 (Ar(l)), 128.5 (Ar(k)), 128.8 (d, $^3J(\text{P},\text{C}) = 12.0$ Hz, *m*-C Ar), 129.7 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 95.3$ Hz, ipso-C Ar), 130.2 (d, $^1J(\text{P},\text{C}) = 96.5$ Hz, $\text{P}=\text{C}$), 130.7 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 10.2$ Hz, *o*-C Ar), 131.8 (d, $^4J(\text{P},\text{C}) = 3.0$ Hz, *p*-C Ar), 134.8 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 11.8$ Hz, C5 Ar), 136.7 (Ar(i)), 139.1 (Ar(a)(e)), 149.0 (d, $^2J(\text{P},\text{C}) = 25.5$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 159.6 (C1 Ar), 160.0 (Ar(c)), 160.1 (Ar(g)); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 43.6. Anal. Calcd. for $\text{C}_{222}\text{H}_{191}\text{O}_{29}\text{P}$: C, 79.50; H, 5.74. Found: C, 79.78; H, 5.92.

G0PO の合成

磁気攪拌装置を備えた 100 mL フラスコを用意し、これに THF (40 mL)、G0P (0.43 g, 1.17 mmol)、30%過酸化水素 (0.15 g, 1.29 mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。その後溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン→ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で単離して、G0PO を得た (0.34 g, 0.89 mmol, 収率 76%)。

G0PO: 黄色固体; m.p. 233.0-234.6 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.75 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 2.80 (m, 4H, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$), 7.18-7.42 (m, 13H, Ar-H, P-Ar-H), 7.68-7.75 (m, 2H, P-Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.5 (CCH_2CH_2), 27.5 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 14.6$ Hz, CCH_2CH_2), 127.6 (C4 Ar), 128.4 (C3 Ar), 128.6 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 5.3$ Hz, C2 Ar), 128.9 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 11.4$ Hz, *m*-C Ar), 129.7 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 92.6$ Hz, ipso-C Ar), 130.6 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 10.3$ Hz, σ -C Ar), 130.7 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 96.3$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$), 131.7 (d, $^4J(\text{P}, \text{C}) = 2.7$ Hz, *p*-C Ar), 132.9 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.1$ Hz, C1 Ar), 148.4 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 26.3$ Hz, $\text{PC}=\text{C}$); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 43.7. Anal. Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{OP}$: C, 81.66; H, 6.06. Found: C, 81.33; H, 5.69.

3-4-5 蛍光量子収率の算出法

蛍光量子収率は式 2 によって算出した。なお、標準物質としては硫酸キニーネを用いた。

$$Q_x = Q_{std} \times \frac{I_x}{I_{std}} \times \frac{A_{std}}{A_x} \times \left(\frac{n_x}{n_{std}} \right)^2 \quad (2)$$

Q: 量子収率、I: 蛍光スペクトルの波数積分、A: 励起波長における吸光度
n: 溶媒の屈折率、(std: 標準物質の項)

3-4-6 X線構造解析に用いた結晶

2,5 - ジフェニルホスホールオキシド G0PO は、塩化メチレン/ジエチルエーテルを用いた再結晶により良好なブロック状結晶を得ることができた。

3-5 参考文献

- 1 a) Grayson, S. M.; Fréchet, J. M. *Chem. Rev.* 2001, 101, 3819. b) Archut, A.; Vögtle, F. *Chem. Soc. Rev.* 1998, 27, 233. c) Dykes, G. M. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2001, 76, 903. d) Bosman, A. W.; Janssen, H. M.; Meijer, E. W. *Chem. Rev.* 1999, 99, 1665.

- 2 Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Ryder, J.; Smith, P. *Macromolecules* **1986**, *19*, 2466.
- 3 Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638.
- 4 a) Boas, U.; Heegaard, P. M. H. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 43. b) Denning, J. *Top. Curr. Chem.* **2003**, *228*, 227. c) Esumi, K. *Top. Curr. Chem.* **2003**, *227*, 31. d) Kreiter, R.; Kleij, A. W.; Gebbink, R. J. M. K.; van Koten, G. *Top. Curr. Chem.* **2001**, *217*, 163. e) Branchi, B.; Ceroni, P.; Bergamini, G.; Balzani, V.; Maestri, M.; Heyst, J.; Lee, S.-K.; Luppertz, F.; Vögtle, F. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8926.
- 5 a) Devadoss, C.; Bharathi, P.; Moore, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9635. b) Jiang, D.-L.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10895. c) Sato, T.; Jing, D.-L.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10658. d) Lo, S.-C.; Burn, P. L. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1097. e) Adronov, A.; Fréchet, J. M. J. *Chem. Commun.* **2000**, 1701. f) Burn, P. L.; Lo, S.-C.; Samuel, I. D. W. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 1675. g) Wang, P.-W.; Liu, Y.-J.; Devadoss, C.; Bharathi, P.; Moore, J. S. *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 237. h) Freeman, A. W.; Koene, S. C.; Malenfant, P. R. L.; Thompson, M. E.; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12385. i) Lo, S.-C.; Male, N. A. H.; Markham, J. P. J.; Magennis, S. W.; Burn, P. L.; Salata, O. V.; Samuel, I. D. W. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 975.
j) Markham, J. P. J.; Lo, S.-C.; Magennis, S. W.; Burn, P. L.; Samuel, I. D. W. *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 2645.
- 6 a) Sanji, T.; Ishiwata, H.; Kaizuka, T.; Tanaka, M.; Sakurai, H.; Nagahata, R.; Takeuchi, K. *Can. J. Chem.* **2005**, *83*, 646. b) Sanji, T.; Ishiwata, H.; Kaizuka, T.; Tanaka, M.; Sakurai, H.; Nagahata, R.; Takeuchi, K. *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 1144. c) Sanji, T.; Kanzawa, T.; Tanaka, M. *J. Organomet. Chem.* **2007**, *692*, 5053.
- 7 a) Tomita, I.; *Polym. Prep.* **2004**, *45*, 415. b) Tomita, I.; Ueda, M. *Macromol. Symp.* **2004**, *209*, 217. c) Matano, Y.; Miyajima, T.; Nakabuchi, T.; Matsutani, Y.; Imahori, H. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5792. d) Hay, C.; Hissler, M.; Fischmeister, C.; Berthelot, J. B.; Toupet, L.; Nyulászi, L.; Réau, R. *Chem. Eur. J.* **2001**, *19*, 4222.
- 8 a) Su, H.-C.; Fadhel, O.; Yang, C.-J.; Cho, T.-Y.; Fave, C.; Hissler, M.; Wu, C.-C.; Réau, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 983. b) Miyajima, T.; Matano, Y.; Imahori, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 255. c) Matano, Y.; Miyajima, T.;

- Fukushima, T.; Kaji, H.; Kimura, Y.; Imahori, H. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 8102.
- 9 Devadoss, C.; Bharathi, P.; Moore, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9635.
- 10 a) Luo, J.; Xie, Z.; Lam, J. W. Y.; Cheng, L.; Chen, H.; Qiu, C.; Kwok, H. S.; Zhan, X.; Liu, Y.; Zhu, D.; Tang, B. Z.; *Chem. Commun.* **2001**, 1740. b) Ren, Y.; Lam, J.; W. Y.; Dong, Y.; Tang, B. Z.; Wong, K. S. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 1135. c) Xie, Z.; Yang, B.; Xie, W.; Liu, L.; Shen, F.; Wang, H.; Yang, X.; Wang, Z.; Li, Y.; Hanif, M.; Yang, G.; Ye, L.; Ma, Y. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 20993. d) Zeng, Q.; Dong, Y.; Di, C.; Qin, A.; Hong, Y.; Ji, L.; Zhu, Z.; Jim, C. K. W.; Yu, Gui.; Li, Q.; Li, Z.; Liu, Y.; Qin, J.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* **2007**, 70. e) Tong, H.; Dong, Y.; Hong, Y.; Häußler, M.; Lam, J. W. Y.; Sung, H. H.-Y.; Yu, X.; Sun, J.; Williams, I. D.; Kwok, H. S.; Tang, B. Z. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 2287. f) Liu, Y.; Tao, X.; Wang, F.; Shi, J.; Sun, J.; Yu, W.; Ren, Y.; Zou, D.; Jiang, M. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 6544.
- 11 Zhao, J.; Larock, R. C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5340.

第4章 ホスホールオキシドを利用した爆薬検出センサー

4-1 緒言

4-1-1 爆薬検出センサー

爆薬として用いられる 2,4,6 - トリニトロトルエン (TNT) などニトロ化合物の微量検出は、地雷撤去、犯罪捜査やテロ対策といった点から求められている。さらに、TNT などニトロ化合物には人体への毒性があるため、環境中における微量検出も重要な課題である。これまで爆薬の微量検出に検知犬の利用や、また質量分析¹、ラマンスペクトル²、X線回折³、サイクリックボルタンメトリー⁴、イオン移動度分析 (IMS)⁵などの機器分析がある。ところが、検知犬の場合では長時間の訓練が必要であり、また機器分析では測定装置が高価であり、さらに操作性、携帯性が悪いといった問題がある。

最近発光性分子を用いた蛍光消光法によるニトロ化合物の検出が報告されている⁶。この方法は、特別な装置を必要とせず、また携帯性および操作性に優れ、ニトロ化合物の検出を目視で確認できる簡便な検出法として注目される。この場合ニトロ化合物の検出メカニズムは、光照射下で、発光性分子の励起状態からニトロ化合物の LUMO への電子移動による蛍光消光に基づいている。代表的な例を以下に示す。

1998 年に Swager らはポリフェニレンエチニレン誘導体 **1** を用いた蛍光消光によるニトロ化合物の検出について報告した (図 1)⁷。**1** では高高い置換基を側鎖に有するため、分子鎖間の π -スタッキング等による消光が抑制される。さらに **1** のフィルム状態において、検体であるニトロ化合物がポリマー分子鎖間の空間に入り込み易い。そのため、**1** のフィルムは TNT などの蒸気に対して高感度なセンサーとして用いることができる。

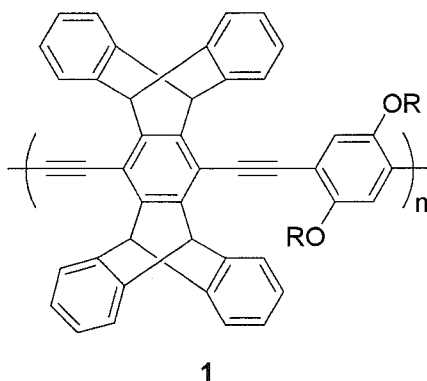


Figure 1. ポリフェニレンエチニレン誘導体

また、Trogler らはシロールを主鎖骨格に含む π 共役系ポリマーを用いたニトロ化合物検出について報告した（図 2）⁸。2 - 4 は、ニトロ化合物の微量の付着物の検出に有効であり、例えば TNT を数ナノ～数ピコグラム/cm²の検出下限で検出可能である。

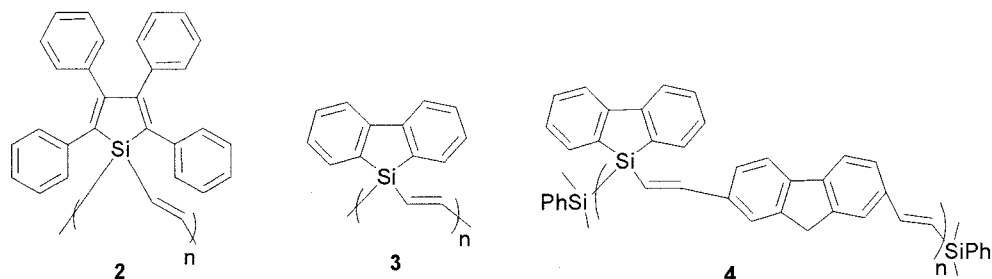


Figure 2. シロールを主鎖骨格に含む π 共役系ポリマー

4-1-2 本研究

本研究ではニトロ化合物検出の π 共役系発光材料として 2, 5 - ジフェニルホスホールオキシドに注目した。ホスホールは前述したシロールと LOMO レベルが同程度であること、また、固体あるいはフィルム状態で強い発光を示すため、TNT などのニトロ系爆薬の検出に有効であると期待した。

4-2 結果と考察

4-2-1 分子モデル計算による HOMO - LUMO エネルギー準位

前述したように、蛍光消光法によるニトロ化合物の検出メカニズムは、発光性分子の励起状態からニトロ化合物の LUMO への電子移動によるものである。したがって、高感度検出には発光性分子とニトロ化合物の LUMO エネルギー準位が重要である。そのため、ホスホールオキシドとニトロ化合物の電子状態、特に HOMO - LUMO エネルギー準位について分子モデル計算（PM3）を行った。ホスホールオキシドはモデル化合物の G0PO、またニトロ化合物は 2,4,6 - トリニトロトルエン (TNT)、2,4 - ジニトロトルエン (DNT)、ピクリン酸 (PA)、トリニトロフェニルメチルニトロアミン (Tetryl)、トリメチレントリニトロアミン (RDX) およびシクロテトラメチレントラニトロアミン (HMX) とした。各 HOMO - LUMO エネルギー準位の分子モデル計算（PM3）を図 3 および表 1 に示す。いずれのニトロ化合物も G0PO より低い LUMO をもち、ホスホールオキシドの光励起状態からニトロ化合物の LUMO への電子移動による消光が期待された。

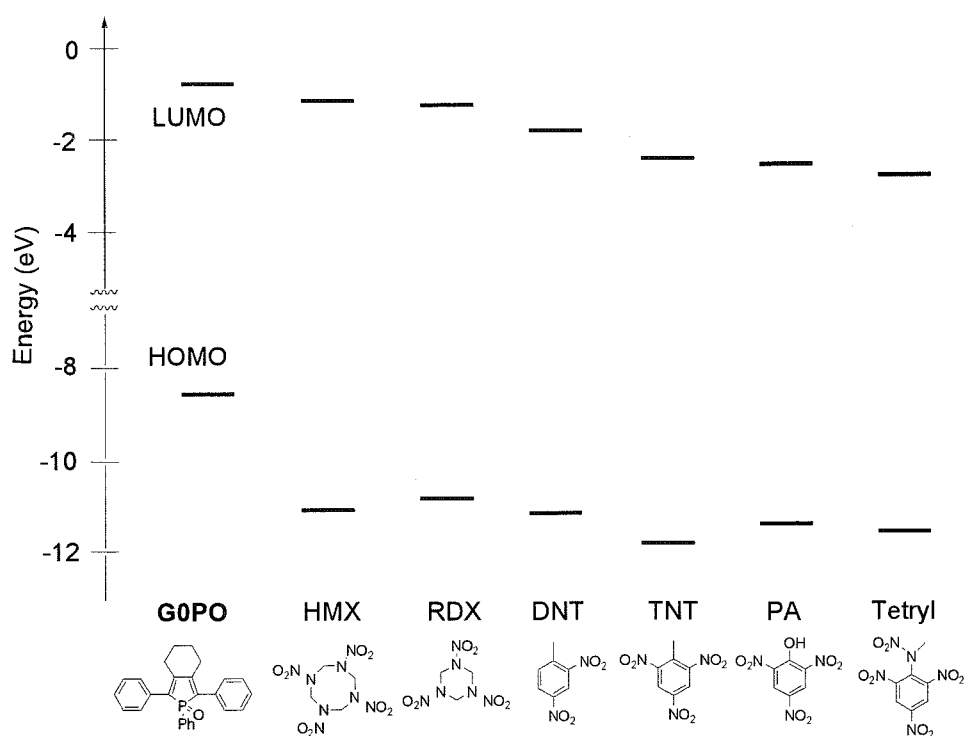


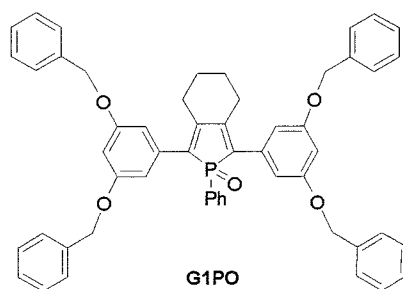
Figure 3. HOMO - LUMO エネルギー準位図 (PM3 レベル)

Table 1. HOMO-LUMO エネルギー
(PM3 計算)

	LUMO (ev)	HOMO (ev)
G0PO	-0.832	-8.591
TNT	-2.433	-11.843
DNT	-1.886	-11.140
PA	-2.520	-11.338
Tetryl	-2.773	-11.572
RDX	-1.246	-10.822
HMX	-1.132	-11.084

4-2-2 水/THF 混合溶液中でのニトロ化合物の検出

ホスホールオキシドの各ニトロ化合物に対する基本的な検出性能、すなわち消光効率について検討した。ホスホールオキシドとして **G1PO** を用いた。第 3 章で述べたように、**G1PO** は凝集状態で強い発光を示すため、水/THF 混合溶液中で、**G1PO** とニトロ化合物を混合し蛍光スペクトルを測定した。ニトロ化合物として、芳



香族の DNT、TNT および PA、ニトロアミンの RDX を検出対象とした。G1PO の凝集体 (THF/H₂O = 1/9、19 μ M) に各濃度の TNT を加えたサンプルを調製し、蛍光スペクトルを測定した。その結果、例えば図 4 のように TNT の濃度増加に伴い、消光が観測された。TNT の濃度が 20、40 および 60 μ M のとき、それぞれ元の発光の 95、90 および 80%程度まで発光強度が減少し、数十 μ M レベルでも十分に消光が観測された。同様に、DNT では数百 μ M レベル (図 5)、PA では数 μ M~数十 μ M レベル (図 6)、またニトロアミンの RDX では数百 μ M レベルで消光が観測された (図 7)。一方、ニトロ化合物以外の検体を用いる対照実験として、ベンゾキノン (BQ) を用いたところ、数 mM レベルを加えると消光が観測されたが、前述したニトロ化合物と比較すると、桁違いに検出感度は悪いものであった (図 8)。

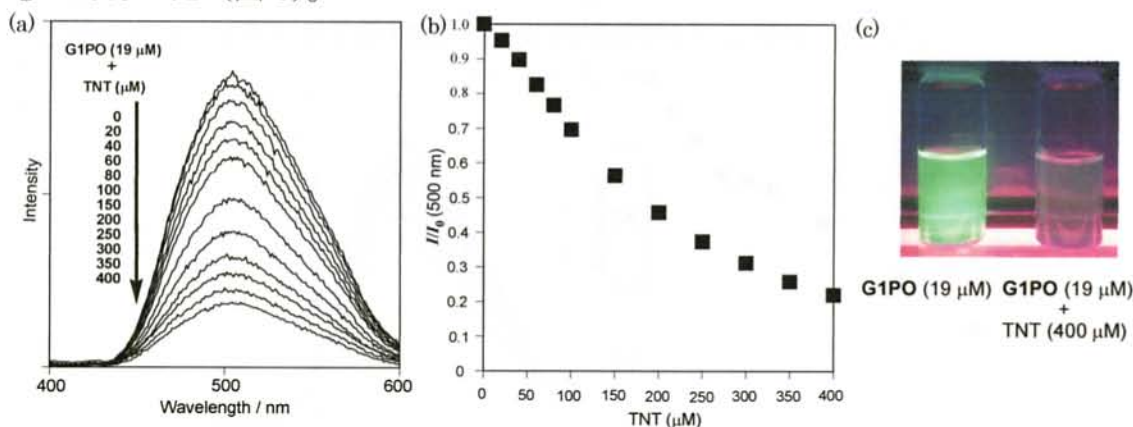


Figure 4. (a) TNT の濃度に対する G1PO の蛍光スペクトル (THF/H₂O = 1/9、励起波長 380 nm) の変化、(b) TNT の濃度に対する G1PO の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = TNT 添加後の発光強度/初期発光強度) の変化、(c) 紫外線 (365 nm) 照射時の写真

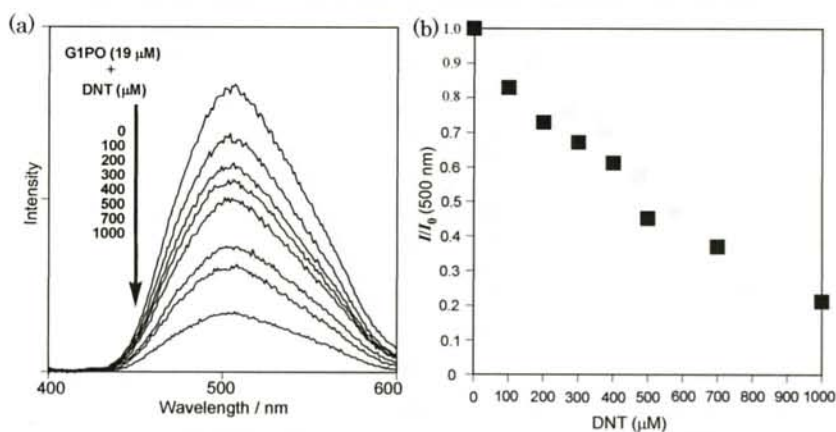


Figure 5. (a) DNT の濃度に対する G1PO の蛍光スペクトル (THF/H₂O = 1/9、励起波長 380 nm) の変化、(b) DNT の濃度に対する G1PO の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = DNT 添加後の発光強度/初期発光強度) の変化

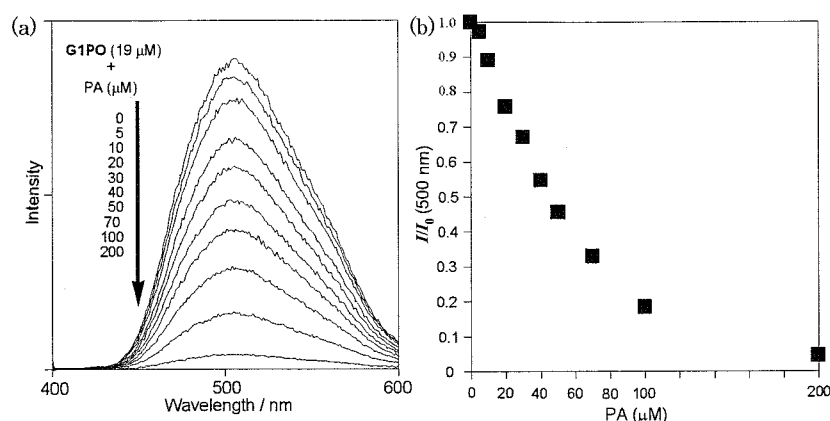


Figure 6. (a) PA の濃度に対する G1PO の蛍光スペクトル (THF/H₂O = 1/9、励起波長 380 nm) の変化、(b) PA の濃度に対する G1PO の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = PA 添加後の発光強度/初期発光強度) の変化

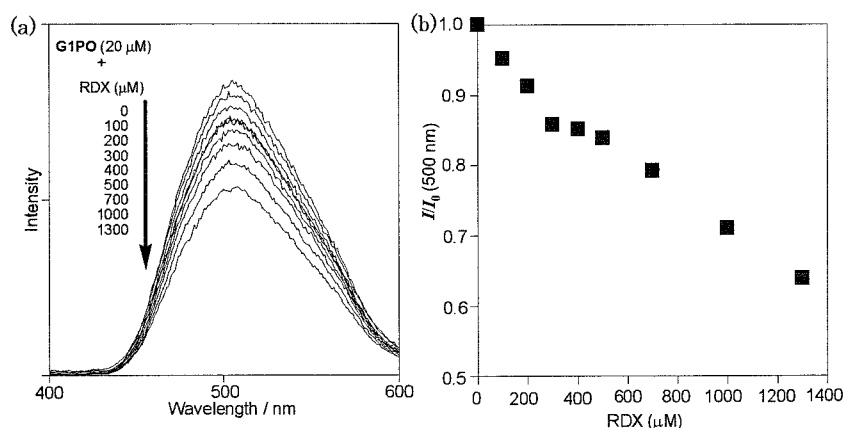


Figure 7. (a) RDX の濃度に対する G1PO の蛍光スペクトル (THF/H₂O = 1/9、励起波長 380 nm)、(b) RDX の濃度に対する G1PO の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = RDX 添加後の発光強度/初期発光強度) の変化

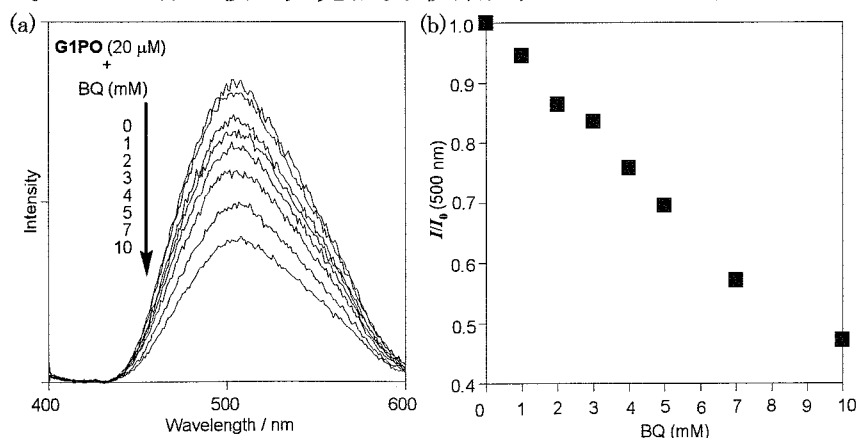


Figure 8. (a) BQ の濃度に対する G1PO の蛍光スペクトル (THF/H₂O = 1/9、励起波長 380 nm) の変化、(b) BQ の濃度に対する G1PO の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = BQ 添加後の発光強度/初期発光強度) の変化

これまでに得られたスペクトルデータをもとに、Stern-Volmer プロット ^{8a} を行った (図 9)。グラフの傾きから、式 1 で表される Stern-Volmer 定数 (K_{sv}) (消光効率) を算出した (表 2)。

$$(I_0/I) - 1 = K_{sv} [A] \quad (1)$$

なお I_0 は最初の発光強度、 I は検体を加えた後の発光強度、 $[A]$ は検体濃度を示す。

Stern-Volmer 定数 (K_{sv}) は芳香族ニトロ化合物の中では PA が最も大きく 20300、次いで TNT は 3900、DNT は 1700 となった。ニトロアミン (RDX) の K_{sv} は 420 と芳香族ニトロ化合物より小さかった。ニトロ化合物以外の BQ の K_{sv} はわずか 80 であった。したがって、G1PO はニトロ化合物を特異的に検出可能であると考えられる。なお、前述したシロールを主鎖骨格に含む π 共役系ポリマーと芳香族ニトロ化合物との K_{sv} は、PA (10000~20000)、TNT (4000~10000) および DNT (2000~4000) であり ^{8a}、G1PO は同程度の消光効率を示した。

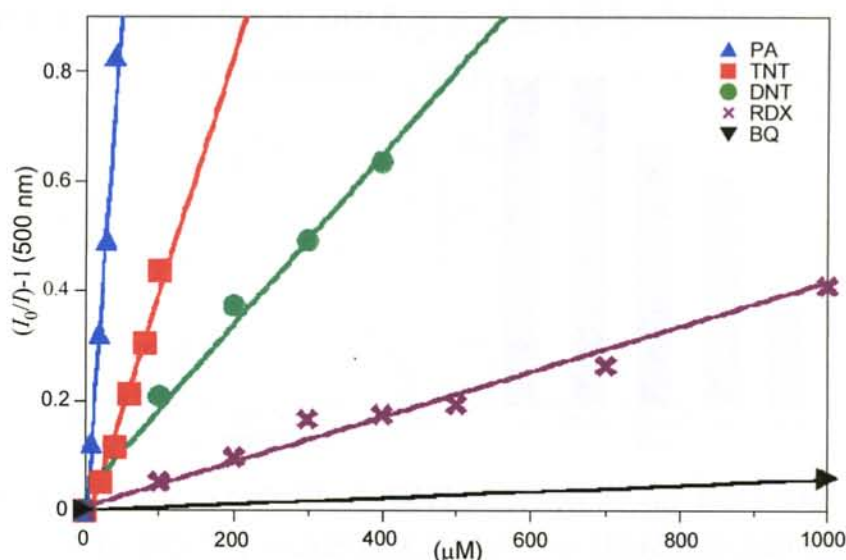


Figure 9. Stern-Volmer プロット

Table 2. Stern-Volmer 定数

Compd	K_{sv}
PA	20300
TNT	3900
DNT	1700
RDX	420
BQ	80

4-2-3 ニトロ化合物の蒸気検出

前述したように、溶液状態で **G1PO** の各ニトロ化合物に対する蛍光消光を確認することができたので、次にニトロ化合物の蒸気検出を試みた。**G1PO** はベンジルエーテルユニットを有しており成膜性を有する。そこで **G1PO** のフィルムを用い、DNT および TNT の蒸気検出を行った。なお測定用のフィルムは、**G1PO** をトルエンに溶解させ、それを石英板に塗布し乾燥させて作成した。

サンプル瓶に DNT と脱脂綿を入れ、サンプル瓶内部に DNT の蒸気を充満させた。そのサンプル瓶内に **G1PO** フィルムを入れ栓をして、一定時間 DNT の蒸気にさらした後サンプル瓶内から **G1PO** フィルムを取り出して蛍光スペクトルを測定した (図 10)。DNT の蒸気にさらして 20 秒までフィルムの発光強度に変化はなかったが、60 秒経ったところで元の発光の 20%程度の発光強度の減少が確認された。その後 1 時間で 30%の消光、さらに二日間で 70%程度の消光が観測された。したがって、この条件では 1 分程度で DNT の蒸気検出が可能であることがわかった。なお、DNT の蒸気に二日間さらしたフィルムを空気下で 4 日間放置すると、元の発光の 50%程度まで発光強度が回復した。

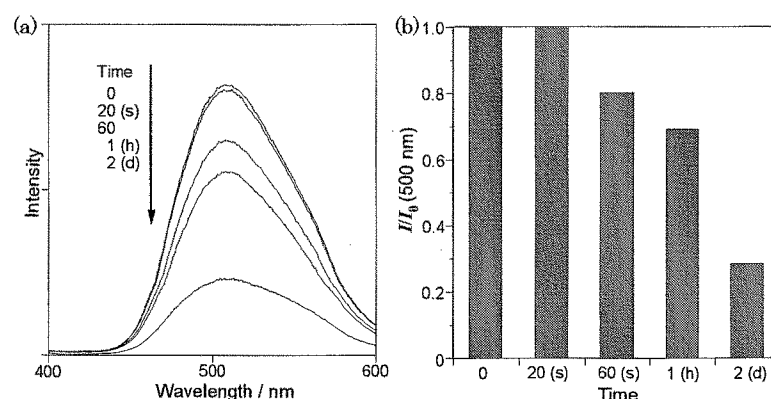


Figure 10. **G1PO** フィルムを用いた DNT の蒸気検出 (a) DNT の蒸気にさらした時間に対する **G1PO** フィルムの蛍光スペクトル (励起波長 380 nm) の変化、
(b) DNT の蒸気にさらした時間に対する、**G1PO** フィルムの 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = DNT 蒸気にさらした後の発光強度/初期発光強度) の変化

同様な手法を用い、TNT の蒸気検出も行った (図 11)。TNT の蒸気に 60 秒さらしても発光強度に変化はなかったが、10 分経ったところで元の発光の 10%程度の消光が確認された。その後 1 時間で 25%の消光、さらに二日間で 50%程度が消光した。DNT の蒸気圧は 1.1×10^{-4} Torr また TNT の蒸気圧は 5.8×10^{-6} Torr であるため TNT より DNT のほうがより検出感度が高くなったものと考えられる。

以上のように、**G1PO** フィルムを用い DNT および TNT の蒸気を検出するこ

とはできたが、検出時間は DNT でも最低 1 分、TNT では最低 10 分かかり、実用的なレベル（数秒～数十秒）での検出は困難であった⁹。

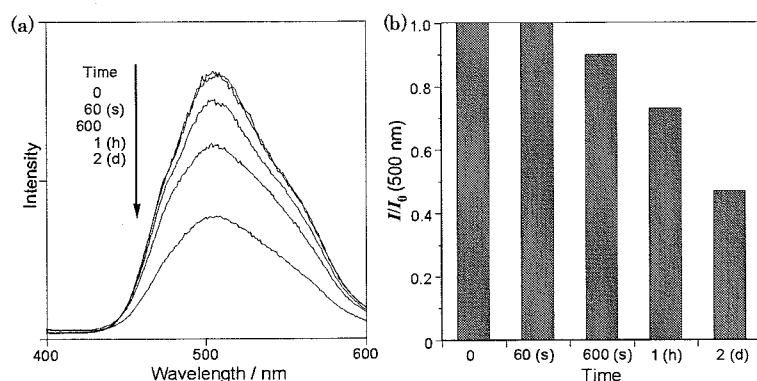


Figure 11. G1PO フィルムを用いた TNT の蒸気検出 (a) TNT の蒸気にさらした時間に対する G1PO フィルムの蛍光スペクトル（励起波長 380 nm）の変化、
(b) TNT の蒸気にさらした時間に対する、G1PO フィルムの 500 nm における発光強度比（ I/I_0 = TNT 蒸気にさらした後の発光強度/初期発光強度）の変化

4-2-4 ニトロ化合物のろ紙上での検出

実際の使用を想定したニトロ化合物の検出として、蒸気検出の他に、例えば爆薬を扱ったあとの手や毛髪、衣類などに付着した微量の残留物質の検出法が挙げられる。そこで、各ニトロ化合物をろ紙に付着させ、G1PO の溶液を噴霧し、消光の有無を確認する検出を行った。ニトロ化合物は前述した DNT、TNT、PA および RDX に加え、芳香族ニトロとニトロアミンをもつ Tetryl、ニトロアミンの HMX を用いた。

ろ紙上に各濃度のニトロ化合物を付着させ、各ろ紙に G1PO の THF 溶液を噴霧し、乾燥させた後 UV ランプ（365 nm）照射下で、写真撮影を行った（図 12）。なお写真の一番上の段はニトロ化合物および G1PO を全く付着させていない紙のみのものである。図 12 のように、各ニトロ化合物で付着量増加に伴い蛍光消光する様子が肉眼で観測できた。さらに、写真のデジタル解析を行い、3D 画像化したものを図 13 に、また解析画像から得られた強度変化を図 14 に示した。これらの結果、TNT、PA および Tetryl は数十ナノグラム/cm² レベルで消光が確認でき、検出可能であることがわかった。また、DNT は数百ナノグラム/cm²、RDX は数百ナノ～数マイクログラム/cm²、また HMX は数マイクログラム/cm² レベルで検出可能であった。先に述べたように既に実用化されているイオン移動度分析（IMS）⁵などの機器分析では、芳香族ニトロ化合物の検出限界が数マイクロ～数十ナノグラムである。したがって、G1PO は芳香族ニトロ化合物の検出限界が数百～数十ナノグラムレベルであることから、実用的に使える検出感度を示したといえる。

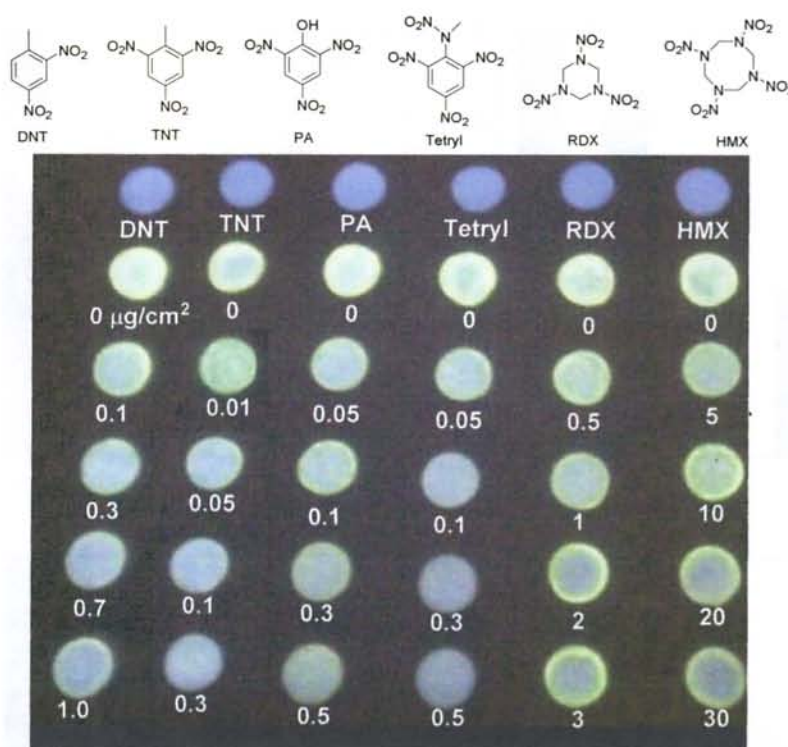


Figure 12. ろ紙上での各ニトロ化合物の微量検出 (365 nm の紫外線照射時の写真、左から DNT (0, 0.1, 0.3, 0.7, 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)、TNT (0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)、PA (0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)、Tetryl (0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)、RDX (0, 0.5, 1, 2, 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) および HMX (0, 5, 10, 20, 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

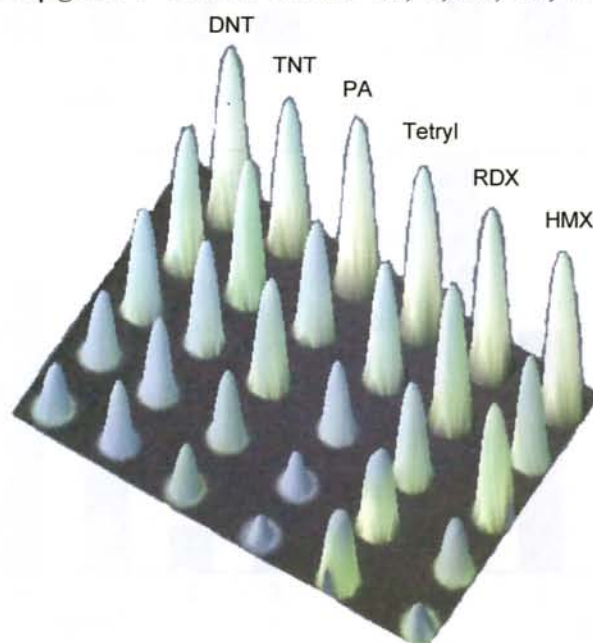


Figure 13. ろ紙に付着させた各ニトロ化合物 (a) DNT (b) TNT (c) PA (d) Tetryl (e) RDX および (f) HMX の量に対する強度変化の 3D 解析画像 (図 12 の写真から判定)

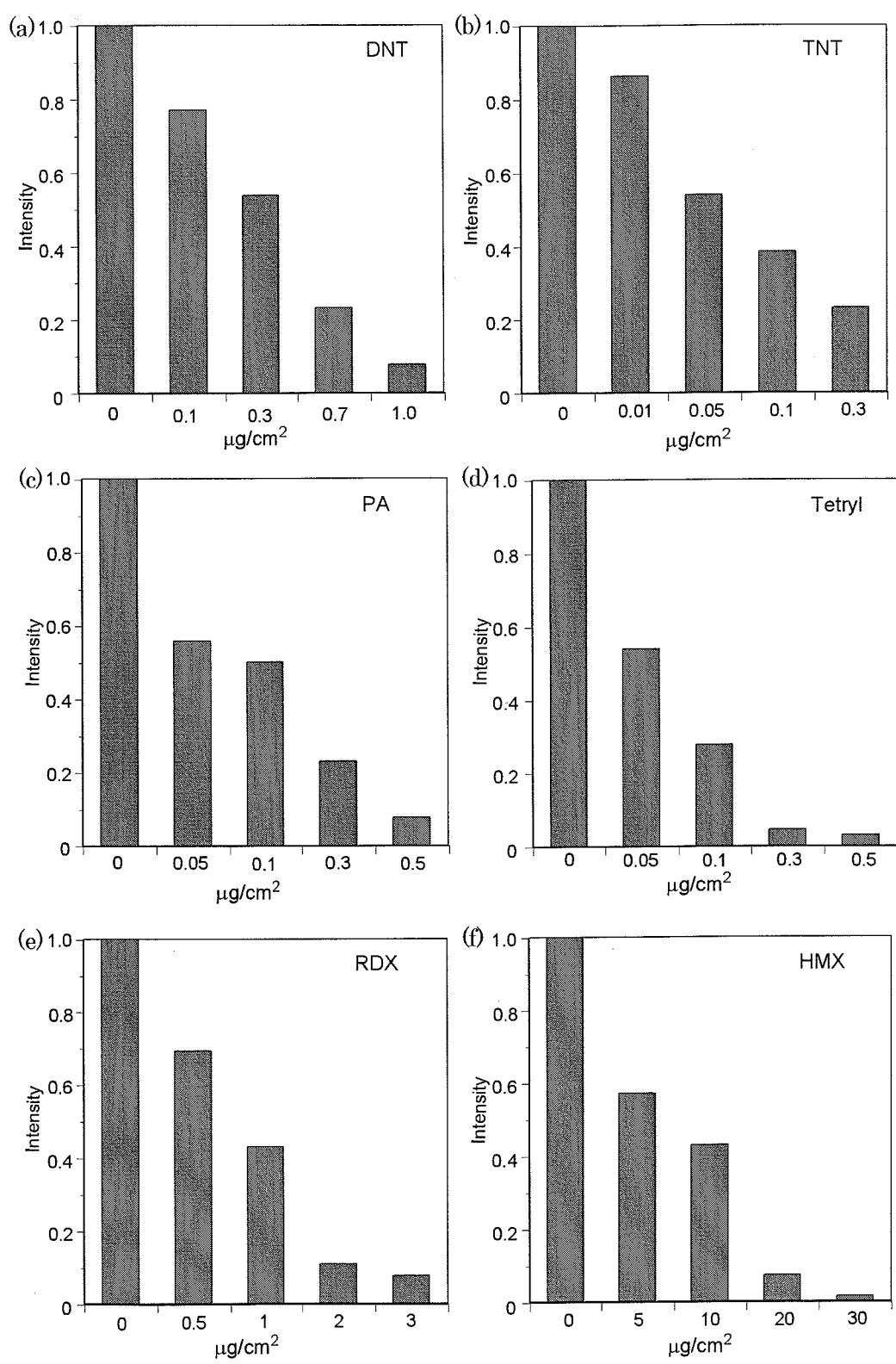


Figure 14. ろ紙に付着させた各ニトロ化合物 (a) DNT (b) TNT (c) PA (d) Tetryl (e) RDX および (f) HMX の量に対する強度変化 (図 12 の写真の画像解析から判定)

4-3 まとめ

第 1 世代のホスホールオキシドをコアとするデンドリマー**G1PO** を用い、ニトロ化合物の検出を行った。DNT、TNT、PA、Tetryl、RDX および HMX をろ紙に付着させ、**G1PO** の THF 溶液を噴霧することで、ろ紙上での検出を行った結果、例えば TNT は 10 ng/cm^2 で検出が可能であった。これは実用的に使えるレベルの検出感度である。なお、前述したシロール誘導体を用いた TNT の検出下限値は、数ナノ～数ピコグラム/ cm^2 であり、今後ホスホール誘導体の構造を最適化し、また LUMO エネルギーレベルを調整することで、より高感度な検出が可能になると考える。特にホスホール誘導体はリン原子上への単純な化学修飾により LUMO エネルギーレベルの調整が可能であり、この点において優位であると考えられる。

4-4 実験項

4-4-1 分析機器

蛍光スペクトルは日立製 F4500 型分光光度計を用いて測定した。

4-4-2 試薬

全ての試薬は下記に記すもの以外は全て市販のものを用いた。**G1PO** は本文第 3 章で報告したものを用いた。

4-4-3 測定溶媒

蛍光測定溶媒は市販の THF と精製水を用いた。

4-4-4 水/THF 混合溶液中での蛍光スペクトルの試料調製

G1PO (0.30 mg) に THF (1 mL) を加えた後精製水を加え、計 10 mL としたストックソリューション A を用意した。また、DNT (1.8 mg) に THF (0.5 mL) を加えた後精製水を加え、計 5 mL としたストックソリューション B を用意した。ストックソリューション A (1 mL) にストックソリューション B を 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.7 および 1 mL と、水/THF 混合溶液 (水/THF = 1/1) を加え計 2 mL とした試料を調製した。なお試料中の **G1PO** の濃度は $19 \mu\text{M}$ 、DNT の濃度はそれぞれ、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.7、1 mM となる。TNT、PA、RDX および BQ も同様にして試料調製した。

4-4-5 蒸気検出

50 ml のサンプル瓶に DNT (1 mg) 又は TNT (1 mg) と脱脂綿を加え、栓をして一晩放置し、サンプル瓶内部に蒸気を充満させた。その後 **G1PO** のフィ

ルムを素早くサンプル瓶内に入れ、一定時間経った後に取り出し、蛍光スペクトルを測定した。

4-4-6 ろ紙上での検出

ろ紙はアドバンティック製 No. 2 を直径 6 mm (0.28 cm^2) に切り取って用いた。各ニトロ化合物のアセトニトリル溶液を、マイクロピペットを用い $1.4 \text{ }\mu\text{L}$ ずつろ紙上にスポットした。TNT は $8.8 \times 10^{-7} \text{ M}$ と $4.4 \times 10^{-5} \text{ M}$ の二種類の濃度の溶液を用いた。DNT は $1.1 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、PA は $4.4 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、Tetryl は $3.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、RDX は $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、HMX は $3.4 \times 10^{-3} \text{ M}$ の濃度の溶液を用いた。加える量は、一度スポットした部位を乾燥させ、その上に重ねてスポットすることで調整した。

4-4-7 写真撮影

写真は UV ランプ (365 nm) 照射下、デジタルカメラレンズに 420 nm UV カットフィルタをつけて撮影した。

4-4-8 画像解析

画像解析は Image J を用いて行った¹⁰。

4-4-9 分子モデル計算

分子モデルは計算ソフトに HyperChem7.5 を使用し、MM 力場により構造最適化した後、更に PM3 により各エネルギー準位を算出した。

4-5 参考文献

- 1 Hakansson, H.; Coorey, R. V.; Zubarev, R. A.; Talrose, V. L.; Hakansson, P. *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 337.
- 2 Sylvia, J. M.; Janni, J. A.; Klein, J. D.; Spencer, K. M. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5834.
- 3 Luggar, R. D.; Farquharson, M. J.; Horrocks, J. A.; Lacey, R. J. *X-Ray Spectrom.* **1998**, *27*, 87.
- 4 Krausa, M.; Schorb, K. *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *461*, 10.
- 5 Eiceman, G. A.; Stone, J. A. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 390A.
- 6 a) Toal, S. J.; Trogler, W. C. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 2871. b) Thomas III, S. W.; Joly, G. D.; Swager, T. W. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1339. c) McQuade, D. T.; Pullen, A. E.; Swager, T. M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2537.

- 7 Yang, J.-S.; Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, *120*, 5321.
- 8 a) Sanchez, J. C.; Dipasquale, A. G.; Rheingold, A. L.; Trogler, W. C. *Chem. Mater.* 2007, *19*, 6459. b) Sanchez, J. C.; Trogler, W. C. *J. Mater. Chem.* 2008, *18*, 3143. c) Sanchez, J. C.; Urbas, S. A.; Toal, S. J.; DiPasquale, A. G.; Rheingold, A. L.; Trogler, W. C. *Macromolecules* 2008, *41*, 1237. d) Toal, S. J.; Magde, D.; Trogler, W. C. *Chem. Commun.* 2005, 5465.
- 9 a) Tao, S.; Li, G.; Zhu, H. *J. Mater. Chem.* 2006, *16*, 4521. b) Naddo, T.; Che, Y.; Zhang, W.; Balakrishnan, K.; Yang, X.; Yen, M.; Zhao, J.; Moore, J. S.; Zang, L. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, *129*, 6979.
- 10 <http://rsb.info.nih.gov/ij/>

第5章 凝集誘起型発光特性を利用したバイオセンサーの開発

5-1 緒言

5-1-1 レクチン検出センサー

ある種の細胞、細菌やウイルスの表面には、特定の糖鎖と特異的に結合する糖結合タンパク質（以下レクチンと総称）が存在する¹。糖鎖 - レクチン相互作用は細胞間相互作用、免疫応答、細菌やウイルス感染など生体内において重要な役割を果たしている。したがって、簡単な操作で迅速、高感度かつ高選択的なレクチン検出法が求められている。

レクチンの多くは同一分子内に複数の結合サイトを有しており、糖鎖との相互作用により凝集体を形成する（図 1）。これらが示す凝集特性を利用すれば、レクチンの光学的な検出が可能となる。例えば金属ナノ粒子や π 共役系分子といった吸収あるいは蛍光スペクトルによる検出に適した材料に糖を導入すれば、レクチンと凝集体を形成した際のスペクトルの変化によって、レクチンの検出が可能となる。

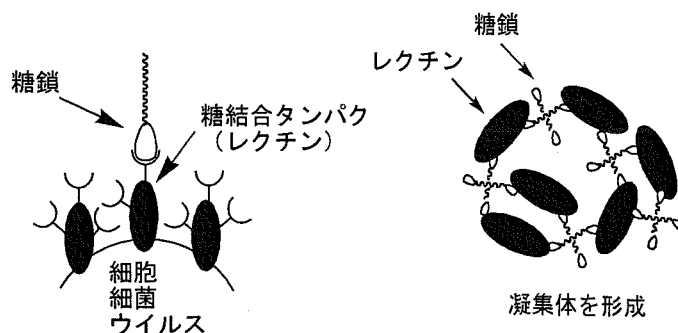


Figure 1. 糖鎖 - レクチン相互作用

吸収波長の変化を利用したレクチン検出法として、金ナノ粒子を糖で修飾した方法が報告されている（図 2）²。この場合、金ナノ粒子上の糖がレクチンと相互作用し凝集することで金ナノ粒子の表面プラズモン吸収波長位置および強度に変化が生じ、可視領域の色の变化として観測される。

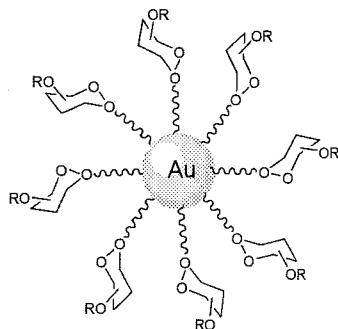


Figure 2. 糖修飾金ナノ粒子

また、 π 共役系ポリマーの側鎖に糖を導入したレクチン検出法も報告されている（図 3）³。この場合、側鎖の糖とレクチンが相互作用し凝集した際に、ポリマーのコンホメーションが変化し、可視領域の色の变化として観測される。

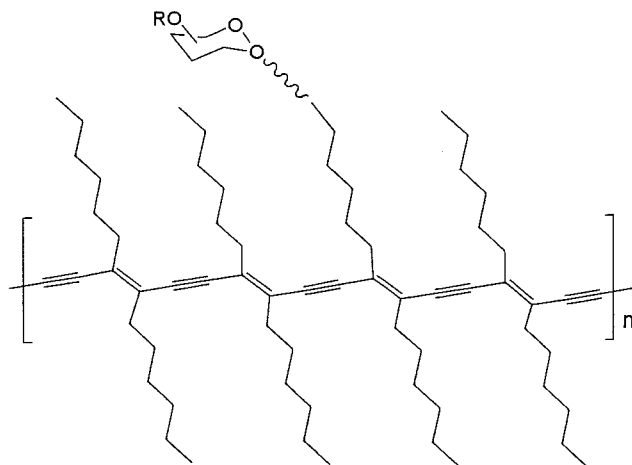


Figure 3. 側鎖に糖を導入した π 共役系ポリマー

ところが、吸光度や吸収波長の変化を観測するレクチンの検出は、懸濁あるいは着色したサンプル溶液をそのまま測定することが困難である。また、一般に検出に時間がかかるといった問題点がある。

一方、蛍光スペクトルを利用したレクチン検出法として、発光性共役ポリマーの側鎖に糖を導入した方法が報告されている（図 4）⁴。この蛍光検出法は発光性分子の消光機構に基づいたものであり、レクチンを認識し凝集した際に共役系分子のコンホメーション変化あるいは π - π 相互作用によって起こる蛍光消光を利用した“turn-off”型検出法である（図 5）。

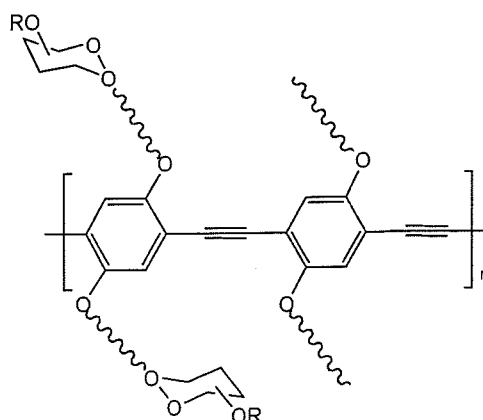


Figure 4. 側鎖に糖を導入した発光性共役系ポリマー

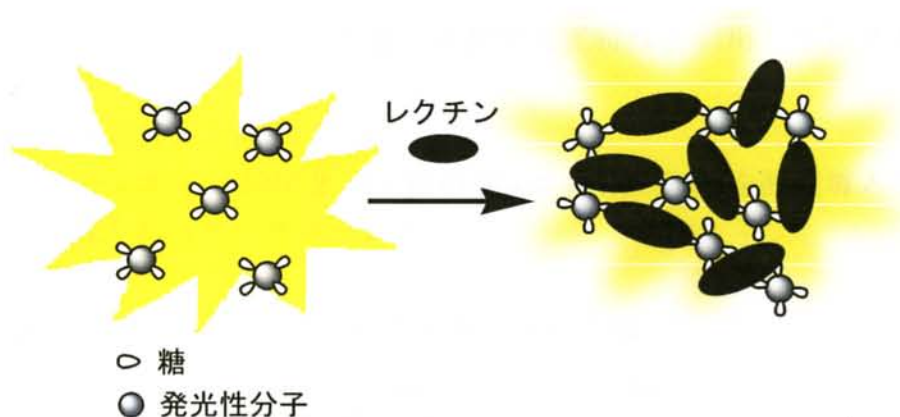


Figure 5. レクチンの”turn-off”型検出法

ところが、糖—レクチン相互作用によって起こる蛍光消光は 40～60%程度であり、蛍光消光を目視で判断するのは難しく、厳密な蛍光測定を必要とする。

5-1-2 本研究

最近いくつかの π 共役系分子が凝集した際に、発光強度が著しく増加する凝集誘起型発光特性 (AIE, Aggregation-Induced Emission) を示すことが報告されている⁵。この発光特性はプロペラ型多分岐構造を有する π 共役系分子において観測される。これは溶液中では自由に共役分岐が回転するためほとんど発光しないのに対し、凝集状態では共役分岐の回転が抑えられ励起状態の無放射失活が抑制されること、なおかつ π - π 相互作用による蛍光消光が起こらないことに起因している。本研究においても第3章で述べたように、2,5-ジフェニルホスホールオキシドが凝集誘起型発光を示すことを見出している。

本研究では検出対象となるレクチンに対して選択的に相互作用しうる糖ユニットを凝集誘起型発光性分子に導入し、レクチンを検知した際に発光強度が増加する”turn-on”型の新たなバイオセンサーを開発した (図6)。

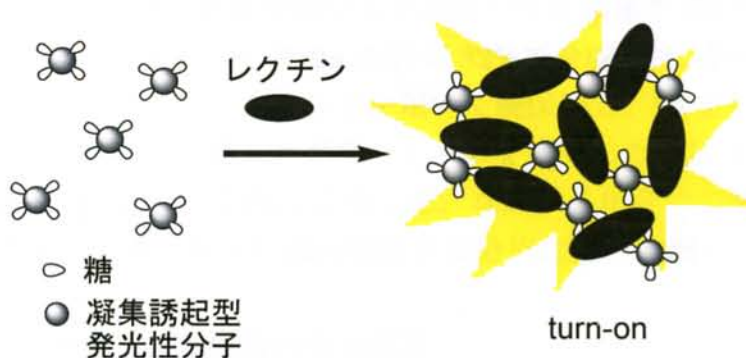


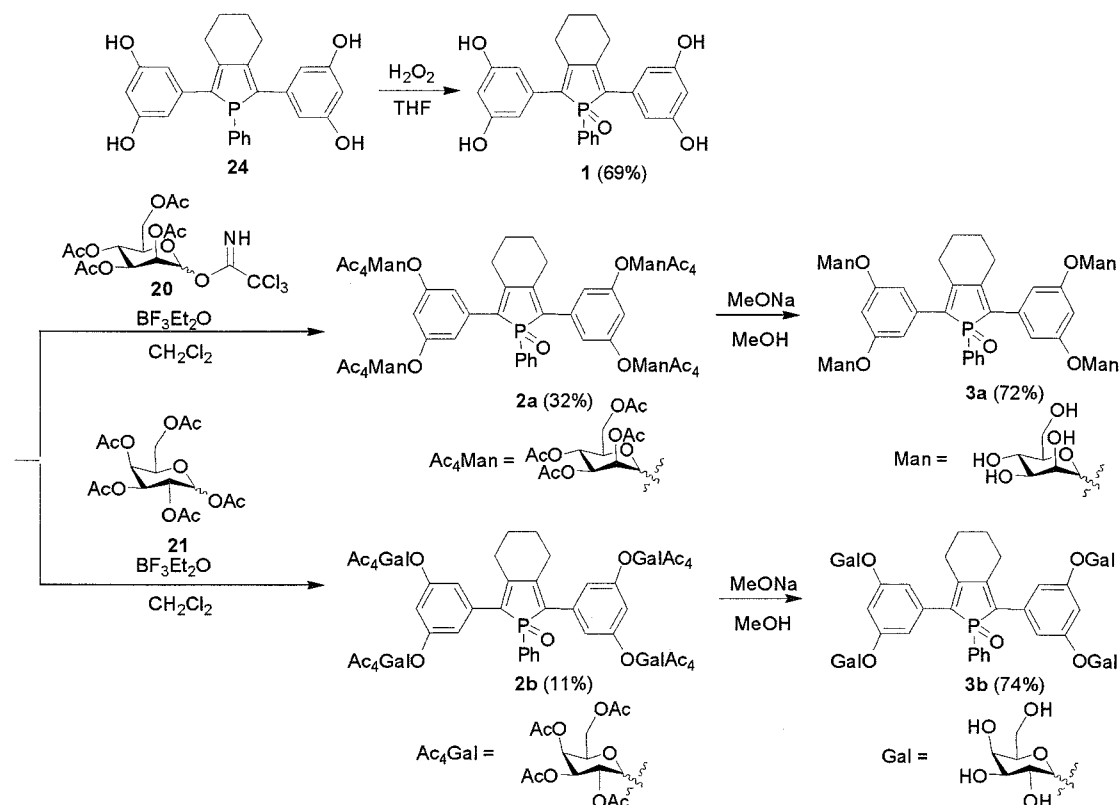
Figure 6. レクチンの”turn-on”型検出法

5-2 ホスホールオキシドの凝集誘起型発光特性を利用したレクチン検出センサー

5-2-1 分子設計と合成

ホスホールオキシドの 2, 5 - 位のフェニル基上に糖を直接導入した化合物を設計し合成を行った (スキーム 1)。

Scheme 1. 糖修飾ホスホールオキシドの合成



まず、ホスホール **24** を酸化して、ホスホールオキシド **1** を収率 69% で合成した。次に糖ユニットの導入を行った。アセチル保護したマンノースのイミデート体 **20** と **1** を、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体を用い反応させ、4つのマンノースユニットを導入した **2a** を収率 32% で合成した。最後にマンノースのアセチル基をナトリウムメトキシドを用いて脱保護し、**3a** を収率 72% で合成した。同様に、アセチル保護したガラクトースを導入した **2b** を収率 11%、また **2b** を脱保護し **3b** を収率 74% で合成した。なお、各化合物の構造は ^1H 、 ^{13}C および ^{31}P NMR、元素分析又は高分解能質量分析により確認した。

5-2-2 糖 - レクチン相互作用の蛍光測定

マンノースユニットを導入したホスホールオキシド **3a** およびガラクトースユニットを導入したホスホールオキシド **3b** を合成することができたので、蛍光ス

ペクトルによるレクチンの検出実験を行った。

まず検出対象となるレクチンとして、マンノースに対して特異的に結合するコンカナバリン A (ConA) を用いた¹⁾。測定溶媒には緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) を用いた。なお、 CaCl_2 と MnCl_2 は ConA の凝集能を活性化させるために通常添加される。

緩衝液中で一定量の **3a** に各濃度の ConA を加え、10 分間攪拌しサンプル調製を行った。サンプル溶液中の **3a** の濃度は $19 \mu\text{M}$ 、また ConA の濃度はそれぞれ 0、0.2、0.6、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 および $30.0 \mu\text{M}$ である。**3a** の極大吸収波長 370 nm で励起した際の蛍光スペクトルでは、ConA の濃度増加に伴い、**3a** の 500 nm 付近の発光強度が増加した (図 7)。実際図 8 に示した写真のように、サンプル溶液に紫外光 (365 nm) を照射すると、ConA を加える前はほとんど発光していないのに対し、ConA を加えた後では強い発光が観測される。期待した通りこれは **3a** のマンノースユニットと ConA の相互作用によって、凝集体を形成したためと考えられる。また、その際の発光強度比 (I/I_0) を図 8 に示す。なお I_0 は ConA を加える前の 500 nm での発光強度、また I は ConA を加えた際の発光強度を示す。 I/I_0 を比較すると、ConA の濃度が $0.6 \mu\text{M}$ までほとんど発光強度に変化はなかったが、1.0、2.0、4.0 および $8.0 \mu\text{M}$ でそれぞれ 2、3.7、7.5 および 10 倍と増加した。ConA の濃度が $8.0 \mu\text{M}$ 以降は大きな発光強度の増加は観測されなかった。このことから **3a** と ConA の錯体形成比は 2:1 であると推測される。

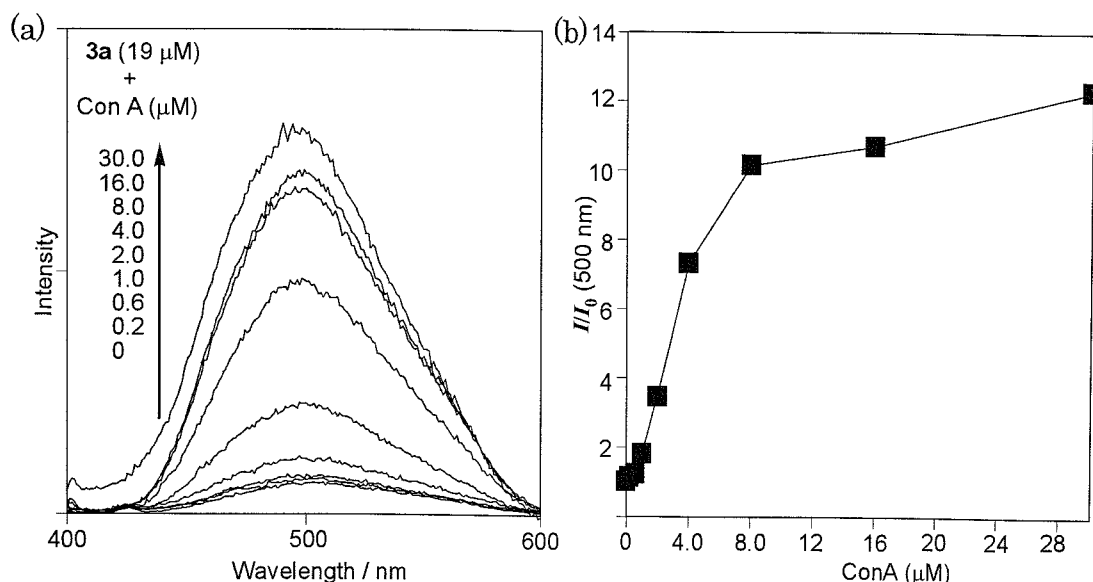
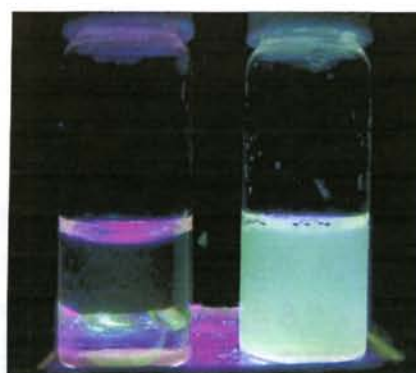


Figure 7. (a) **3a** に各濃度の ConA を加えた際の蛍光スペクトル (緩衝液中、励起波長 370 nm)、(b) **3a** に各濃度の ConA を加えた際の 500 nm における発光強度比 ($I/I_0 = \text{レクチン添加後の発光強度/初期発光強度}$)



3a (19 μM) 3a (19 μM) +
ConA (8 μM)

Figure 8. 紫外線 (365 nm) 照射時の写真

なお図 9a に示したように、3a に各濃度の ConA を加えた際の濁度（非透過率）は、ConA の濃度増加に伴い増加し、図 7b に示した発光強度の増加率とほぼ一致した。したがって、3a と ConA は凝集体を形成しているといえる。さらに、3a (19 μM) と ConA (30 μM) を混合したサンプルを 0.45 μm のフィルタでろ過し、ろ液を蛍光スペクトルで測定したところ、ほとんど発光を示さなかった（図 9b）。したがって、3a - ConA 凝集体は 0.45 μm 以上の凝集体を形成していると考えられる。

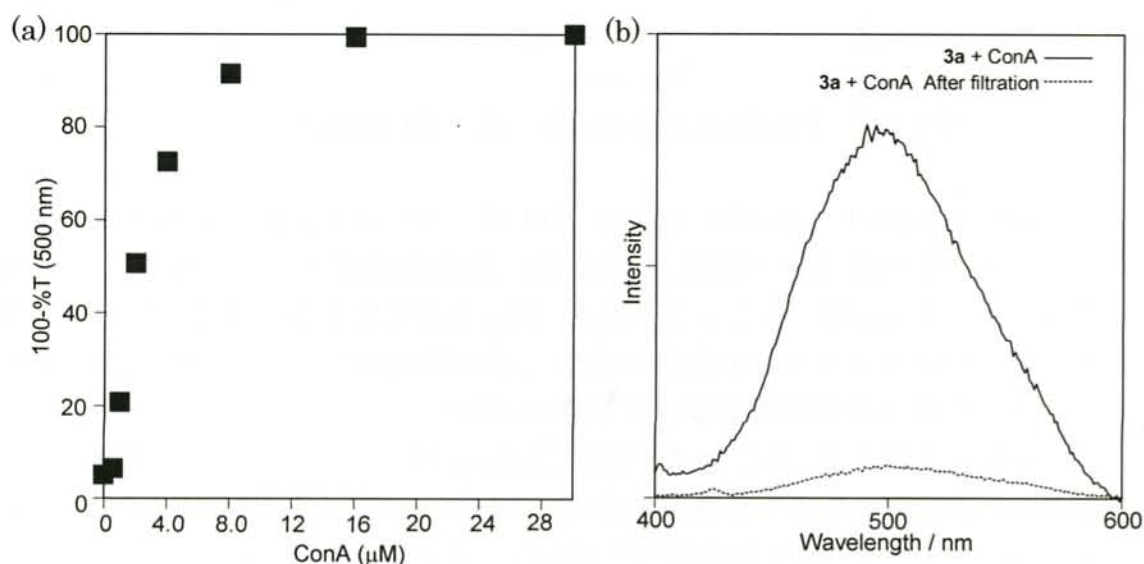


Figure 9. (a) 3a に各濃度の ConA を加えた際の 500 nm における濁度（非透過率: 100-%T）、(b) 3a - ConA 凝集体のろ過前およびろ過後の蛍光スペクトル（励起波長 370 nm）

さらに、Scatchard プロット⁶を用いて 3a - ConA の会合定数 (K_a) を算出した。会合定数 (K_a) は式 1 で表される。

$$[\text{lectin}] \cdot F_0 / \Delta F = [\text{lectin}] \cdot F_0 / \Delta F_{\max} + F_0 / \Delta F_{\max} K_a \quad (1)$$

$[\text{lectin}]$ はレクチン濃度、 F_0 はレクチンを加える前の発光強度、 ΔF はレクチンを加えたときの発光強度の変化量を示す。図 10 に示したグラフの傾きと切片から K_a を算出した。その結果、3a の会合定数 $K_a = 1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ となり、この値はメチル α - マンノースの会合定数^{1c} $K_a = 8.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ よりも高い値であり、複数個のマンノースユニット導入したことを反映して 3a は ConA との親和性が増加したと考えられる。

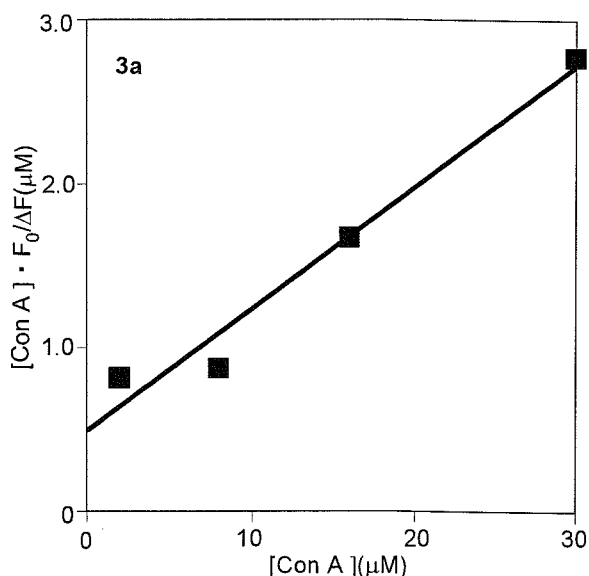


Figure 10. 3a - ConA の Scatchard プロット

発光の経時変化測定を行った (図 11)。緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 10 mM トリス塩酸緩衝液、 $\text{pH } 7.6$) に溶解させた 3a (19 μM) に各濃度の ConA (2.0 、 4.0 および 8.0 μM) を加えたところ、ConA を加えた瞬間に発光強度が増加した。この結果から、非常に迅速なレクチンの検出が可能であることがわかった。さらに、いずれの濃度でも発光強度変化が観測されなくなった 300 秒で α - マンナン (0.5 mg/ml) を加えたところ、発光強度が減少した。 α - マンナンはマンノースの α - (1, 6 -) 結合を主鎖とする多糖類であり、単糖のマンノースを導入した 3a よりも、ConA との親和性が高い。このため α - マンナンを加えることで ConA から 3a が外れ、その結果発光強度が減少したと考えられる。

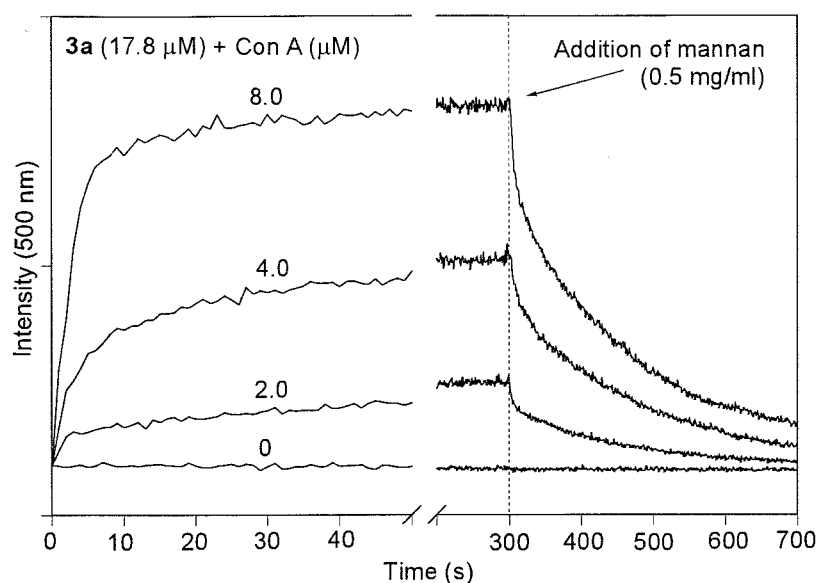


Figure 11. **3a** に各濃度の ConA を加えた際の経時変化グラフ（緩衝液中、励起波長 370 nm、モニター波長 500 nm）

一方、ガラクトースユニットを導入したホスホールオキシド **3b** (22 μM) に各濃度の ConA (2.0、4.0 および 8.0 μM) を加えても、発光強度にほとんど変化はなかった（図 12）。ConA はガラクトースとの結合能を有していないので、**3b** は ConA と相互作用せず、発光強度は増加しなかったと考えられる。したがって、先に観測されたように ConA は **3a** のマンノース部位を特異的に認識して、その結果発光強度が増加したといえる。

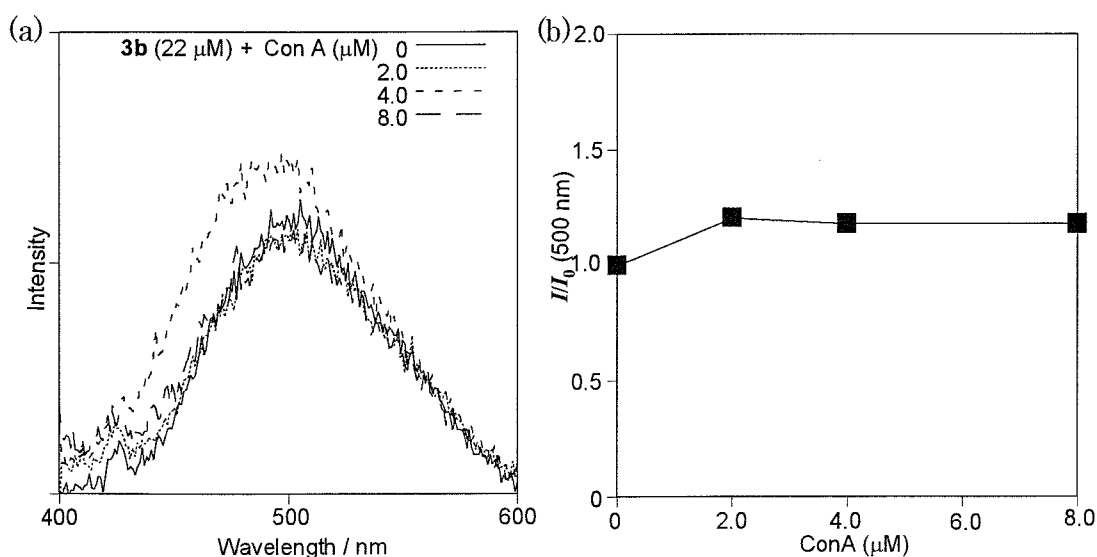


Figure 12. (a) **3b** に各濃度の ConA を加えた際の蛍光スペクトル（緩衝液中、励起波長 370 nm）、(b) **3b** に各濃度の ConA を加えた際の 500 nm における発光強度比 (I/I_0 = レクチン添加後の発光強度/初期発光強度)

次に検出対象のレクチンとして、ガラクトースに対する特異的に結合するピーナッツ凝集素 (PNA) ⁷を用いた。

緩衝液 (10 mM リン酸緩衝液、pH 7.4) 中に一定量の **3b** に各量の PNA を加え、10 分間攪拌しサンプル調製を行った。サンプル溶液中の **3b** の濃度は 20 μM 、PNA の濃度はそれぞれ 0、4.0、8.0、10 および 20 μM となる。370 nm で励起した際の蛍光スペクトルでは、PNA の濃度増加に伴い、**3b** の 500 nm 付近の発光強度が増加した (図 13)。20 μM の PNA を加えたときは、加える前と比較して約 2 倍の発光強度の増加が観測された。この場合も発光強度の増加は **3b** のガラクトースユニットと PNA の相互作用により、凝集体を形成したことに起因する。

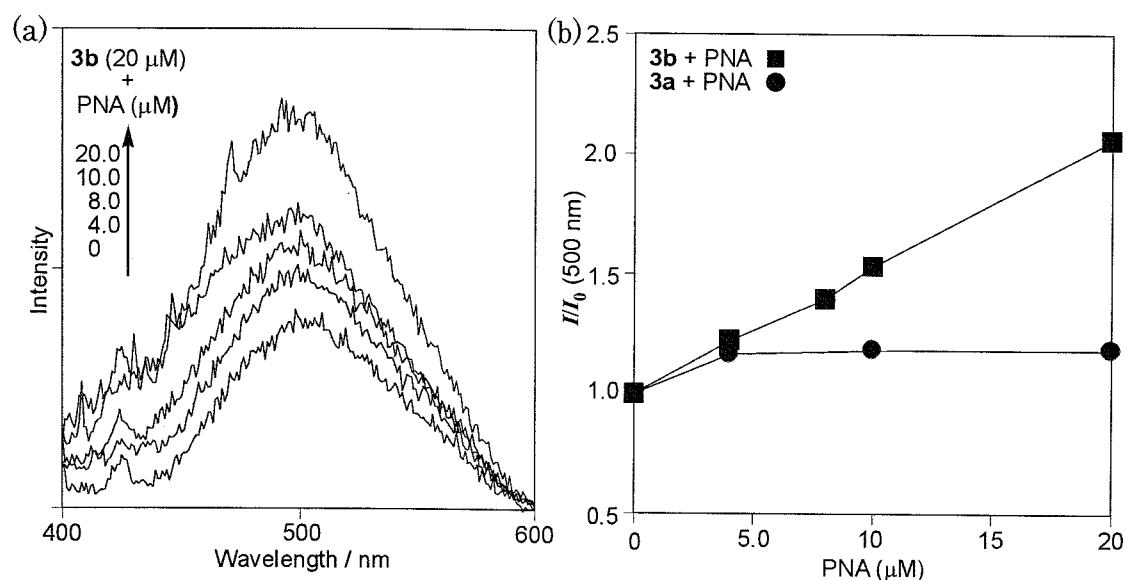


Figure 13. (a) **3b** に各濃度の PNA を加えた際の蛍光スペクトル (緩衝液中励起波長 370 nm)、(b) **3b** および **3a** に各濃度の PNA を加えた際の 500 nm における発光強度比の比較 (I/I_0 = レクチン添加後の発光強度/初期発光強度)

さらに、Scatchard プロットから **3b** - PNA の会合定数 (K_a) を算出した (図 14)。その結果、 $K_a = 3.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ と算出された。これはメチル α -ガラクトースの会合定数 ^{7b} $K_a = 1.8 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ とほぼ同程度であり、前述した **3a** - ConA よりも小さかった。そのため **3b** - PNA の発光強度の増加の度合いは、**3a** - ConA と比較して小さいと考えられる。

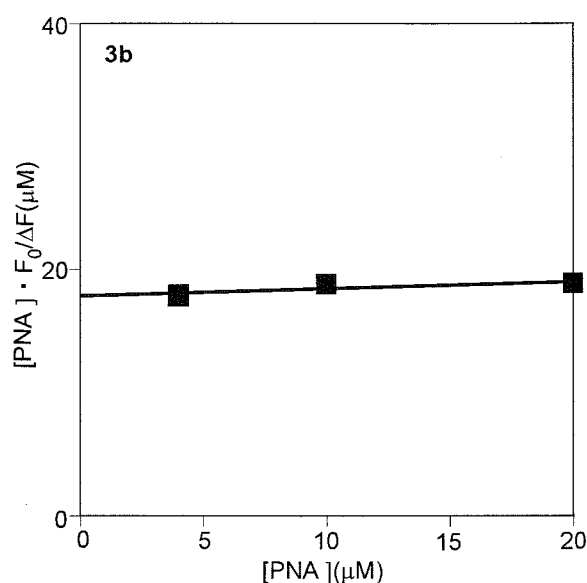


Figure 14. 3b - PNA の Scatchard プロット

一方、マンノースユニットを導入したホスホールオキシド **3a** (20 μM) に各濃度の PNA (4.0、10 および 20 μM) を加えても、発光強度にほとんど変化は観測されなかった(図 13b)。PNA はガラクトースとの結合能を有していないので、**3a** は PNA と結合しなかった。

実際のセンサーとしての利用にはいろいろなレクチン (あるいはタンパク質) の混合状態での検出が期待される。そこで最も簡単なモデル実験として、ConA と PNA の混合状態での ConA の検出を試みた。緩衝液 (CaCl₂ = 1 mg/ml、MnCl₂ = 1 mg/ml、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) に溶解させた **3a** (19 μM) に ConA (8 μM) および PNA (8 μM) を加え、10 分間攪拌した後蛍光スペクトルを測定した (図 15)。その結果、前述した **3a** (19 μM) に ConA (8 μM) を加えたときとほぼ同程度の発光強度を示した。したがって他のレクチンが存在していても、ConA の検出に影響はないと考えられる。ただし **3a** と ConA および PNA 混合物を更に長時間攪拌し、蛍光スペクトルを測定したところ発光強度の減少が観測された。これは後述するが、ConA と PNA が相互作用し、ConA から **3a** が外れたためと考えられる。

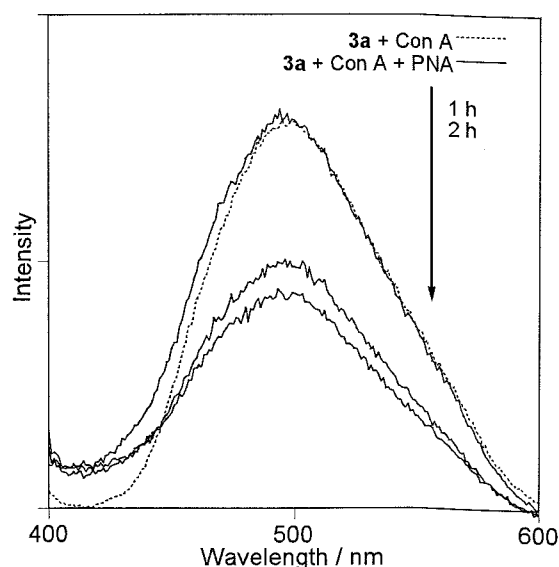


Figure 15. 3a、ConA および PNA が混合した状態での蛍光スペクトル（緩衝液中、励起波長 370 nm）

5-3 テトラフェニルエテンの凝集誘起型発光特性を利用したレクチン検出センサー

5-3-1 分子設計

前述したように、マンノースを導入した 2,5-ジフェニルホスホールオキシド誘導体 **3a** は、ConA との相互作用により発光強度が増加するバイオセンサーとしての利用が可能であることが明らかとなった。実際にバイオセンサーとしての応用を考えた場合、検出感度は重要な要素である。前述した金ナノ粒子あるいは発光性共役ポリマーを用いた方法では、ConA の検出下限値が数十～数百 nM レベルである。ところが **3a** は、数 μ M レベルの ConA が検出下限値であった。そこで、より高感度にレクチンを検出するために、糖を導入した凝集誘起型発光性分子とレクチンの親和性を高めることが必要であると考えた。レクチンとの親和性は、1) 凝集誘起型発光性分子と糖の結合部位にリンカーを導入し、糖ユニット部位を柔軟にする⁹。2) さらに導入する糖の数を増やしたいいわゆるクラスター効果¹⁰により向上すると予想される。

凝集誘起型発光を示す π 共役系分子として、ここでは新たにテトラフェニルエテン (TPE) に注目した^{5c,d}。TPE は分子設計の自由度も高く、また誘導体の合成は比較的容易である。したがって、糖との結合部位にリンカーを導入したり、導入する糖ユニットの数を変えるなどして、レクチンとの相互作用などを検討する上で、TPE はより都合がよいと考えられる。以下、TPE 誘導体 **11**、**13**、**16a** および **19** を用い、導入する糖の数 (2、4 および 8 個)、あるいはリンカーの有無によって、レクチンの検出挙動にどのように影響を与えるか検討した (図

16)。さらに、二糖であるラクトースを導入した TPE 誘導体 **16b** を合成し、対応するレクチンとの相互作用を検討した。

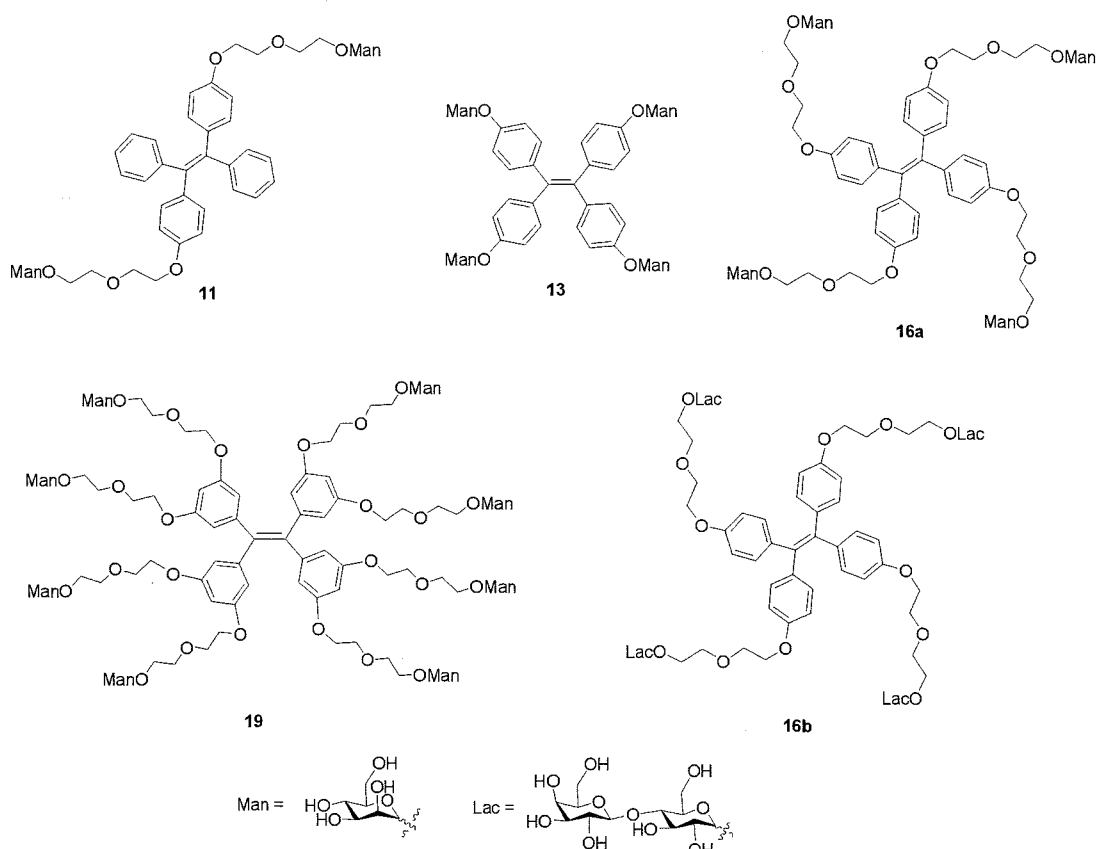
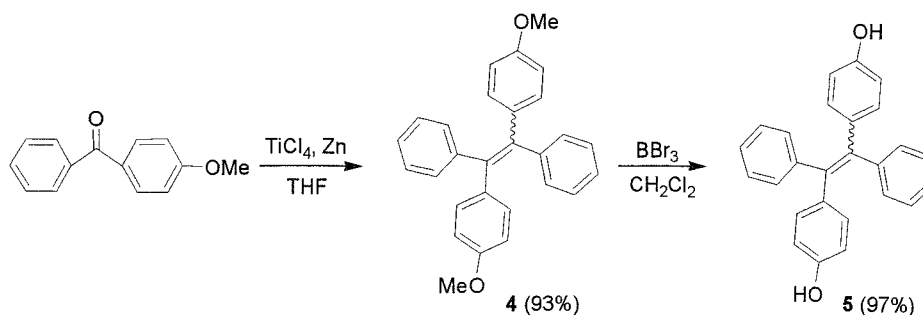


Figure 16. 糖ユニットを導入した TPE 誘導体

5-3-2 合成

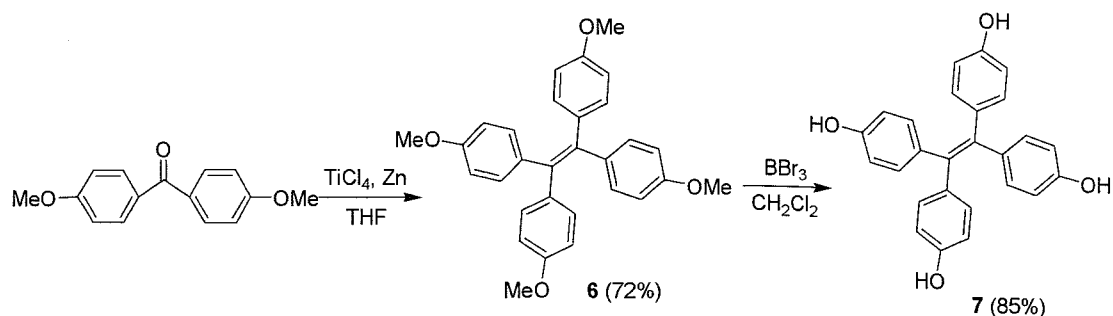
前駆体として、水酸基を 2 つ有する TPE 誘導体の合成を行った (スキーム 2)¹¹。*p*-ジメトキシベンゾフェノンのマクマリー反応により **4** を収率 93% で合成した。その後メトキシ基を三臭化ホウ素で脱保護し、**5** を収率 97% で合成した。

Scheme 2. 水酸基を 2 つ有する TPE 誘導体の合成



また、水酸基を4つ有する TPE 誘導体 **7** の合成は、先と同様に対応するベンゾフェノンのマクマリー反応により **6** を収率 72% で合成した後メトキシ基を三臭化ホウ素で脱保護し、収率 85% で合成した (スキーム 3) ¹²。

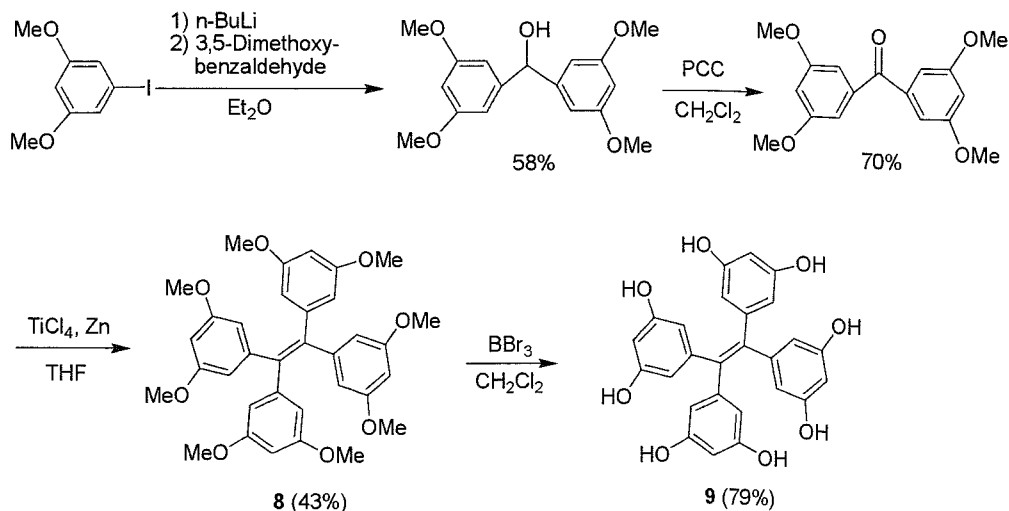
Scheme 3. 水酸基を4つ有する TPE 誘導体の合成



さらに、水酸基を8つ有する TPE 誘導体 **9** もスキーム 4 に示すようにして合成した。

なお、各化合物の構造は ¹H、¹³C NMR、および元素分析又は高分解能質量分析により確認した。

Scheme 4. 水酸基を8つ有する TPE 誘導体の合成

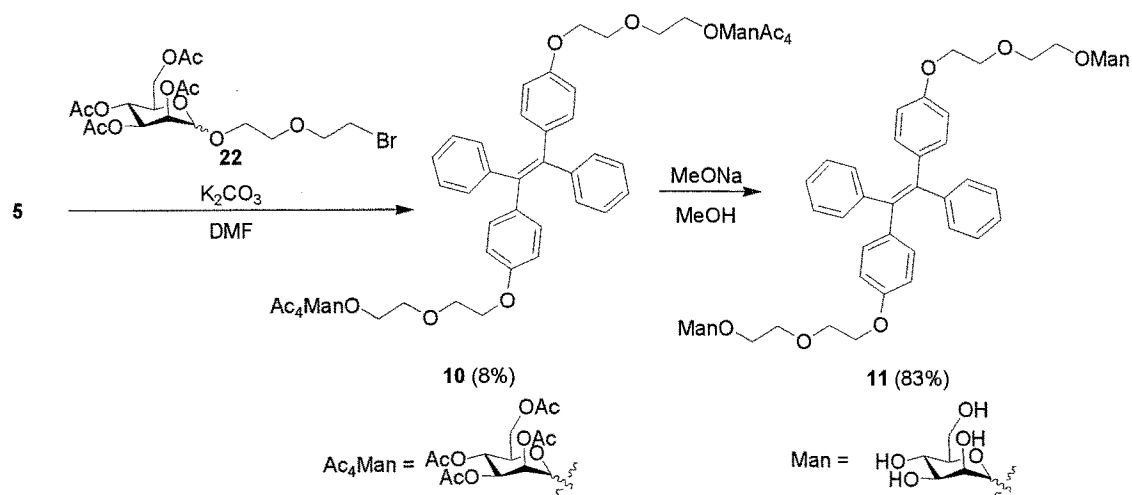


フェニル基上に水酸基を2, 4 および 8 個有する TPE 誘導体に糖ユニットの導入を行った。

まず、2 個のマンノースをリンカーを介して結合させた TPE 誘導体の合成を行った。リンカーは水への溶解性を考慮しジエチレングリコールユニットとした。2 個の水酸基を有する TPE 誘導体 **5** に **22** を炭酸カリウム存在下 80 °C で

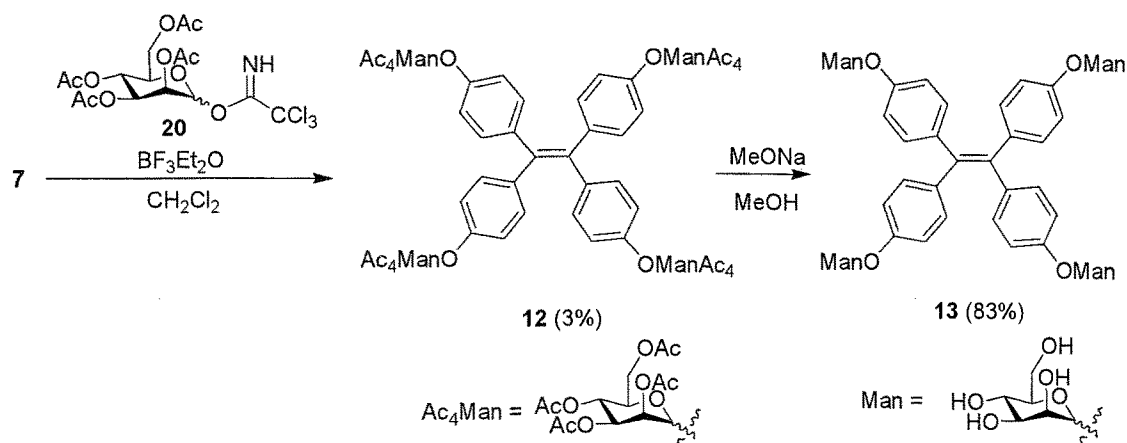
反応させ、**10** を収率 8%で合成したのちアセチル基を脱保護し、TPE 誘導体 **11** を収率 83%で合成した（スキーム 5）。

Scheme 5. 2 個のマンノースユニットをリンカーを介して結合した TPE 誘導体の合成



4 個のマンノースを直接結合させた TPE 誘導体 **13** は、TPE 誘導体 **7** と **20** を、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体存在下反応させ **12** を収率 3%で合成した後、アセチル基を脱保護し、収率 83%で合成した（スキーム 6）。

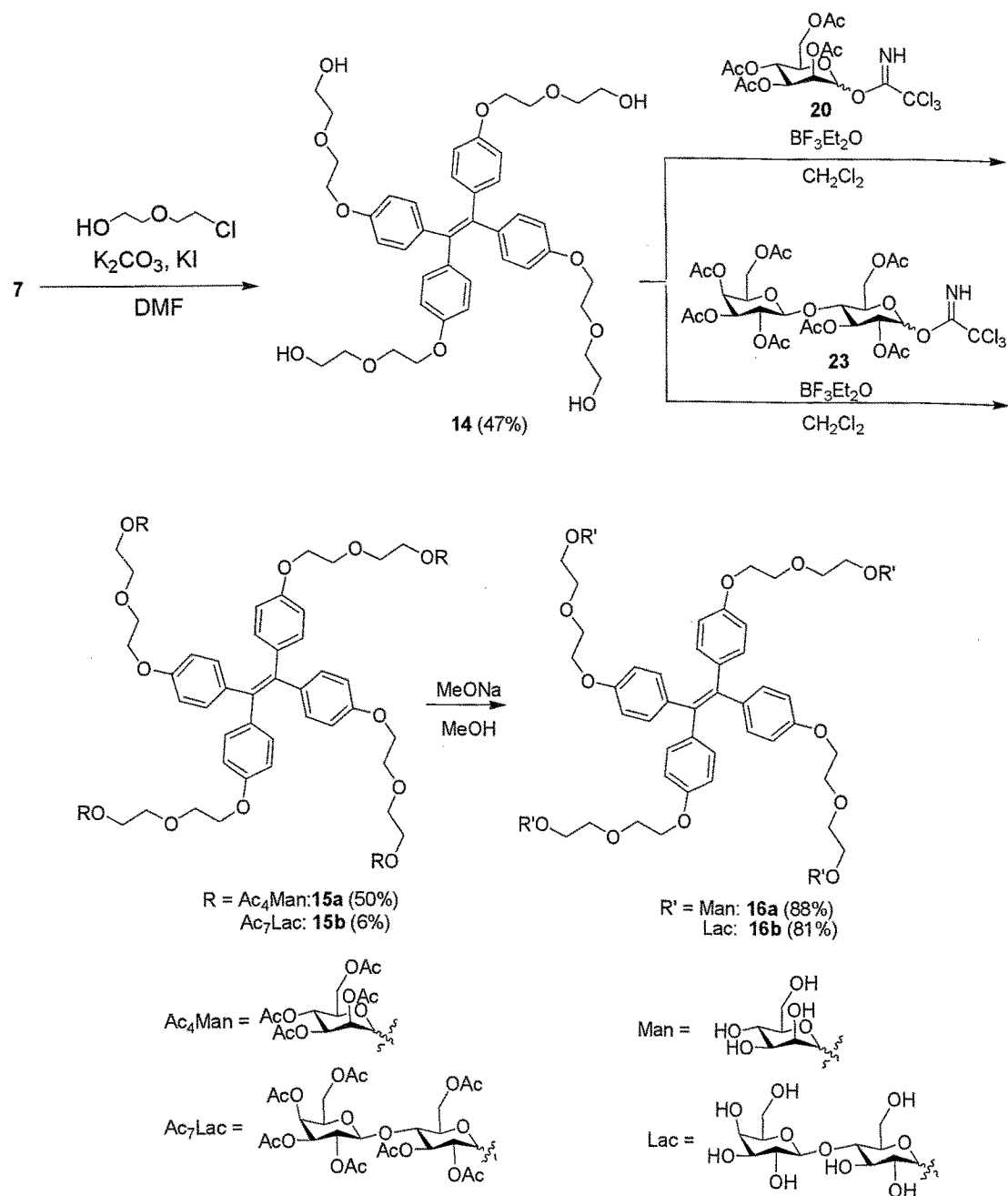
Scheme 6. 4 個のマンノースユニットを直接結合した TPE 誘導体の合成



4 個のマンノースをリンカーを介して結合させた TPE 誘導体 **16a** は、TPE 誘導体 **7** に炭酸カリウム存在下 2 - (2 - クロロエトキシ)エタノールを反応させ **14** を収率 47%で合成し、続いてマンノースユニット **20** を導入し **15a** を収率 50%

で合成した後アセチル基を脱保護することで、収率 88%で合成した（スキーム 7）。同様に、**16b** はラクトースユニットを導入した **15b** を収率 6%で合成した後アセチル基を脱保護することで、収率 81%で合成した。

Scheme 7. 4 個のマンノースおよびラクトースユニットをリンカーを介して結合した TPE 誘導体の合成

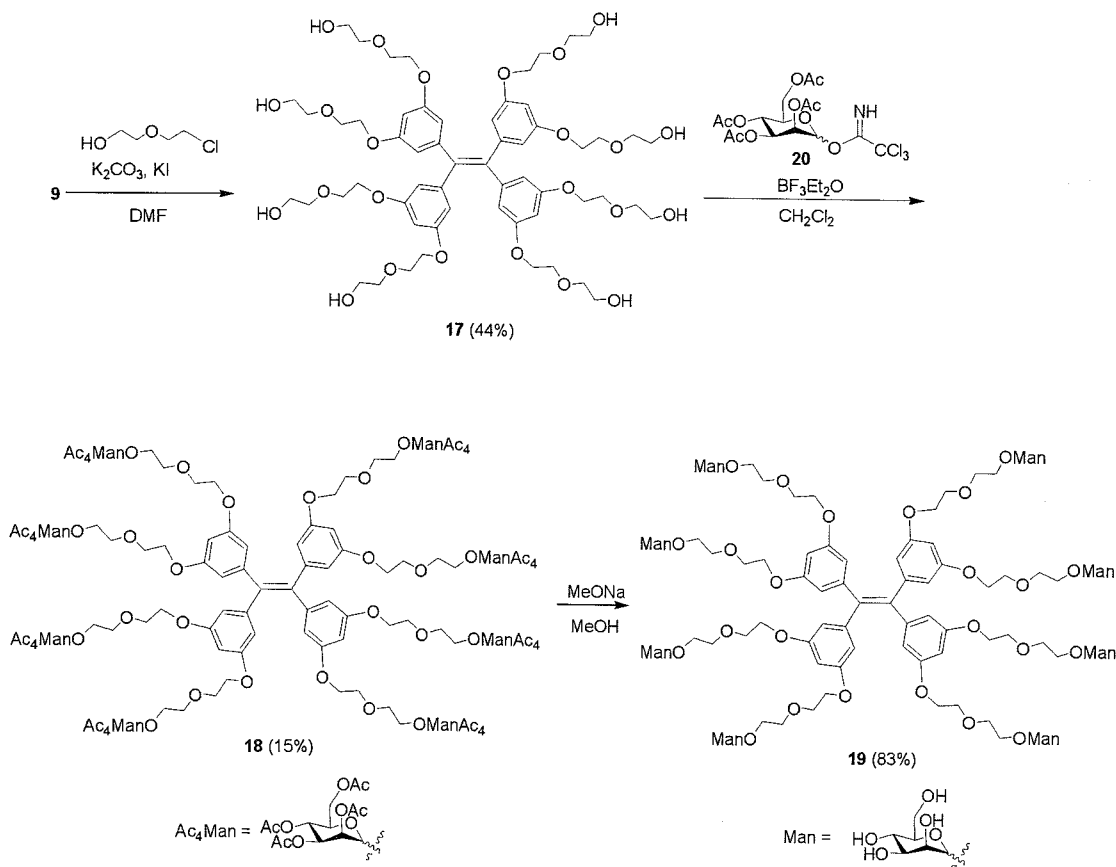


さらに、8 個のマンノースをリンカーを介して結合させた TPE 誘導体 **19** も先と同様に、TPE 誘導体 **9** から **17** を収率 44%で合成し、マンノースユニット

を導入した **18** を収率 15%で合成した後アセチル基を脱保護し収率 83%で合成した (スキーム 8)。

なお、各化合物の構造は ^1H 、 ^{13}C NMR、および元素分析又は高分解能質量分析により確認した。

Scheme 8. 8 個のマンノースユニットをリンカーを介して結合した TPE 誘導体の合成



5-3-3 糖結合 TPE とレクチンの相互作用

(1) マンノース結合 TPE を用いた ConA 検出

2 個のマンノースをリンカーを介して結合した **11**、4 個のマンノースを直接結合した **13**、4 個のマンノースをリンカーを介して結合させた **16a**、また 8 個のマンノースをリンカーを介して結合した **19** と ConA との相互作用を蛍光スペクトルを用いて測定した。

まず、**11** を用い ConA の検出を試みた。ところが **11** は緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) に溶解しなかった。**11** は導入した糖の数が少ないためと思われる。そこでメタノールと緩衝液の混合溶媒 (メタノール:緩衝液 = 1:25) を測定溶媒として用いた。[**11**] = 21 μM 、

[ConA] = 7.9 μ M とし、10 分間攪拌してサンプルを調製した。11 のみで、312 nm で励起した際の蛍光スペクトルでは、460 nm 付近に発光極大を示したが、11 に ConA (7.9 μ M) を加えたサンプルは発光強度がさらに大きくなり、11 のみに比べ 2.8 倍の増加が観測された (図 17)。

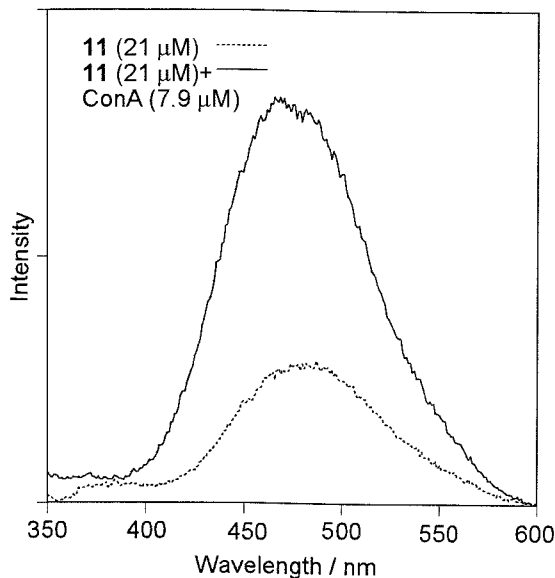


Figure 17. 11 - ConA の蛍光スペクトル (メタノール/緩衝液溶媒中、励起波長 312 nm)

次にマンノースユニットを 4 つ結合した 13 と 16a および 8 つ結合した 19 を用い、ConA の検出挙動の比較を行った。13、16a および 19 は、いずれも緩衝液 (CaCl₂ = 1 mg/ml、MnCl₂ = 1 mg/ml、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) に完全に溶解した。

まず、緩衝液中 13 (7.2 μ M) に各濃度の ConA を加え、10 分間攪拌しサンプル調製した後蛍光スペクトルを測定した。その結果 ConA の濃度増加に伴い 460 nm 付近の発光強度が増加した (図 18)。[ConA] = 0.1 および 0.2 μ M のとき発光強度はそれぞれ 1.3 および 2.4 倍に増加し、数百 nM レベルの ConA も検出できた。また、[ConA] = 6.0 μ M の時点で発光強度が約 25 倍まで増加し続けており、13 と ConA の錯体形成比は 1:1 であると推測された。

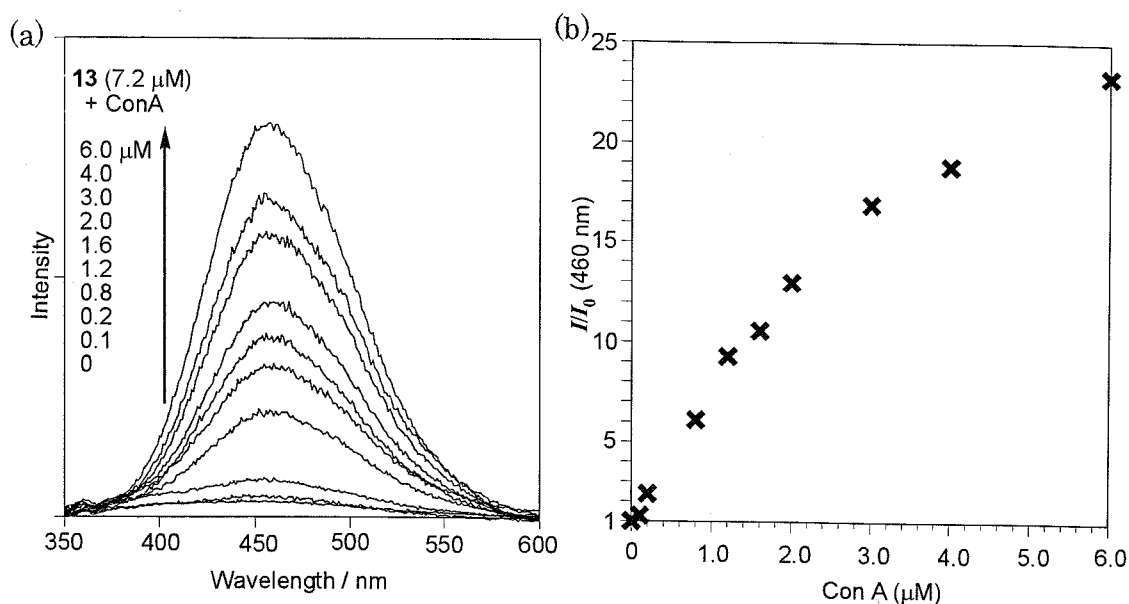


Figure 18. (a) 13 に各濃度の ConA を加えた際の蛍光スペクトル（緩衝液中、励起波長 320 nm）、(b) 13 に各濃度の ConA を加えた際の 460 nm における発光強度比 (I/I_0 = レクチン添加後の発光強度/初期発光強度)

ここで 13 - ConA 複合体の粒子径について、レーザー回折/散乱式粒径分布測定を行った。緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) 中 13 の濃度 $8 \mu\text{M}$ 、ConA の濃度 $1 \mu\text{M}$ としたサンプル溶液を 10 分間攪拌して 13 - ConA 複合体を調製し粒子径測定を行った。その結果、13 - ConA 複合体のメジアン径（積算分布値 50% に対応する粒子径）は $10.3 \mu\text{m}$ だった（図 19）。

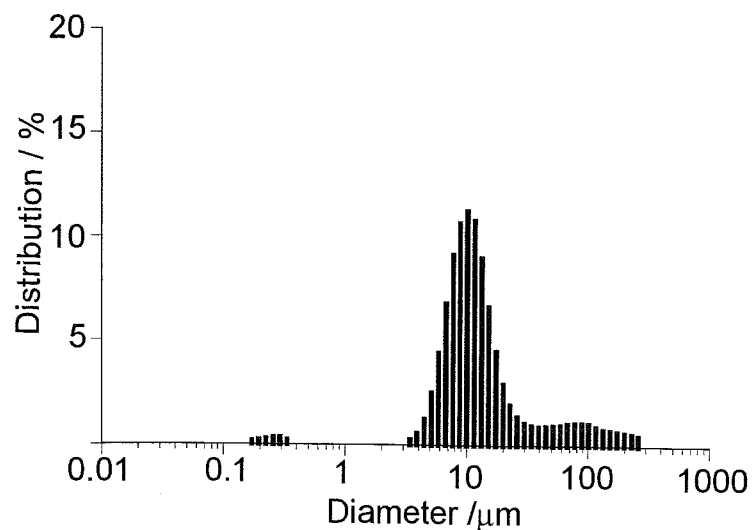


Figure 19. 13 - ConA 複合体の粒子径

次に、緩衝液中 **16a** ($7.1\ \mu\text{M}$) に各濃度の **ConA** を加え 10 分間攪拌しサンプル調製した後、蛍光スペクトルを測定した。 $[\text{ConA}] = 0.1$ および $0.2\ \mu\text{M}$ を加えたとき、 $470\ \text{nm}$ 付近の発光強度がそれぞれ 1.6 および 2.3 倍に増加し、**16a** も数百 nM レベルの **ConA** の検出が可能だった (図 20)。また **16a** は、 $[\text{ConA}] = 2.0\ \mu\text{M}$ で発光強度増加の上限をむかえた。さらに、**16a** - **ConA** は発光強度の増加が最大 10 倍程度であり、**13** - **ConA** と比べ増加の度合いは小さかった。これは糖と **TPE** の間にリンカーがあると、凝集誘起型発光の効果が弱まるためだと考えられる。つまり凝集誘起型発光は、凝集状態で分子内にあるフェニル基の回転や振動を抑制することで起こるため、糖がテトラフェニルエテンのフェニル基に直接結合しているほうが、**ConA** と相互作用した際に、フェニル基の回転や振動を効率よく抑制することが出来ると考えられる。

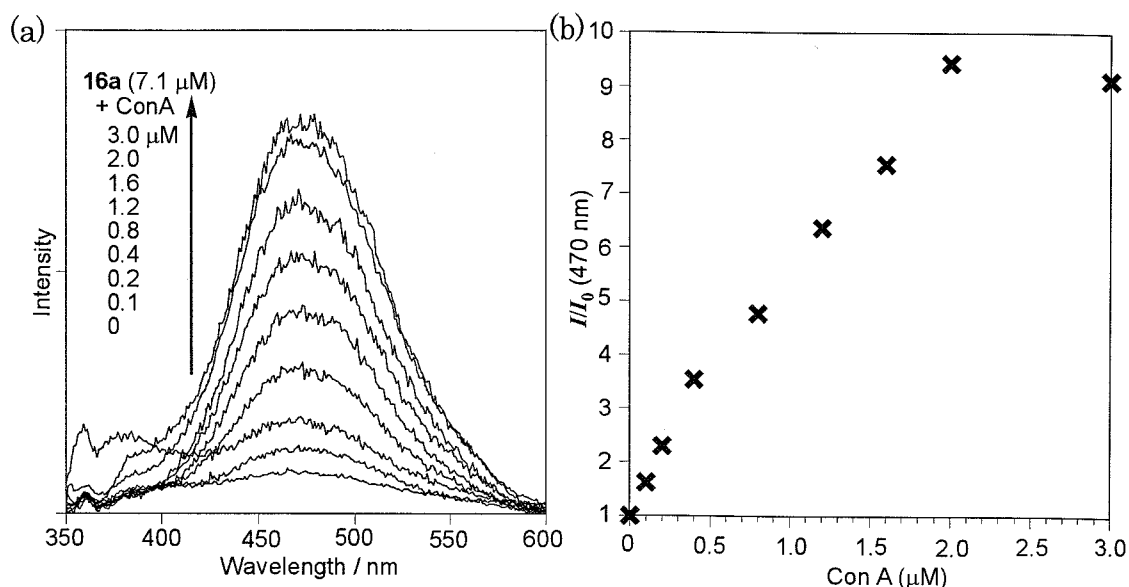


Figure 20. (a) **16a** に各濃度の **ConA** を加えた際の蛍光スペクトル (緩衝液中、励起波長 $320\ \text{nm}$)、(b) **16a** に各濃度の **ConA** を加えた際の $470\ \text{nm}$ における発光強度比 ($I/I_0 = \text{レクチン添加後の発光強度}/\text{初期発光強度}$)

さらに、**19** (7.3 μM) と ConA での蛍光スペクトルを測定した。 $[\text{ConA}] = 0.02$ 、0.04 および 0.08 μM を加えたとき、450 nm 付近の発光強度がそれぞれ 1.4、1.7 および 2.0 倍に増加し、この場合は数十 nM レベルの低濃度の ConA の検出が可能だった (図 21)。

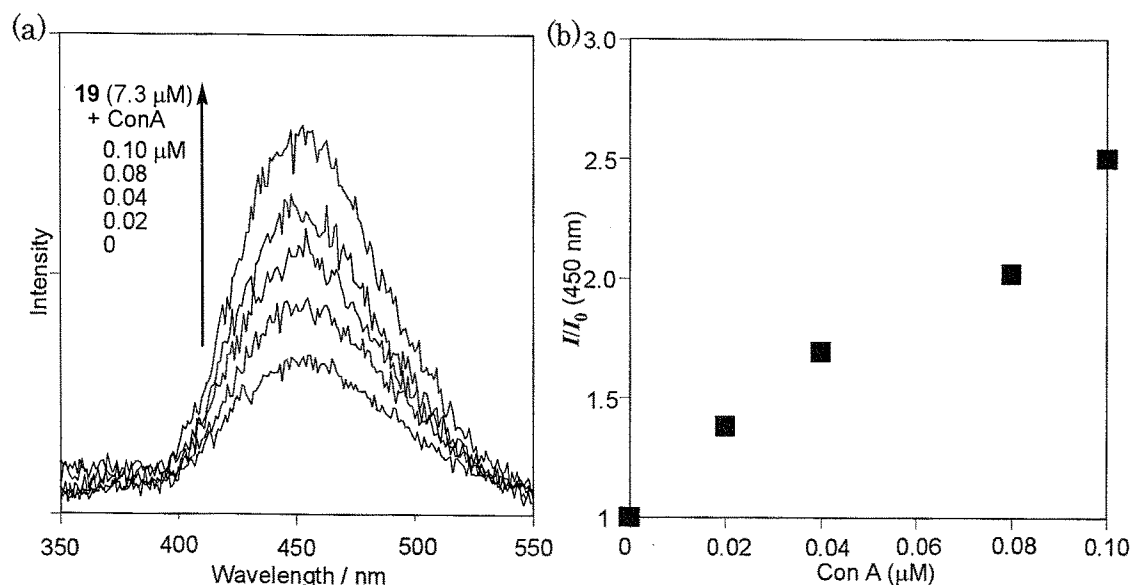


Figure 21. (a) **19** に各濃度の ConA を加えた際の蛍光スペクトル (緩衝液中、励起波長 300 nm)、(b) **19** に各濃度の ConA を加えた際の 450 nm における発光強度比 (I/I_0 = レクチン添加後の発光強度/初期発光強度)

13、**16a** および **19** と ConA との会合定数 (K_a) を Scatchard プロットを行い算出した (図 22)。**13** - ConA では $K_a = 2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、**16a** - ConA では $K_a = 7.9 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、また **19** - ConA では $K_a = 5.3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ となった。これらの値のうち、8 個のマノースを導入した **19** の会合定数が桁違いに高く、ConA との高い親和性を示した。また前述したように、実際 **19** を用いた際の ConA の検出感度が最も高かった。以上の結果から、凝集誘起型発光を示す分子により多くの糖を導入し、レクチンとの親和性を高めれば、検出感度の向上が可能であると結論付けられる。

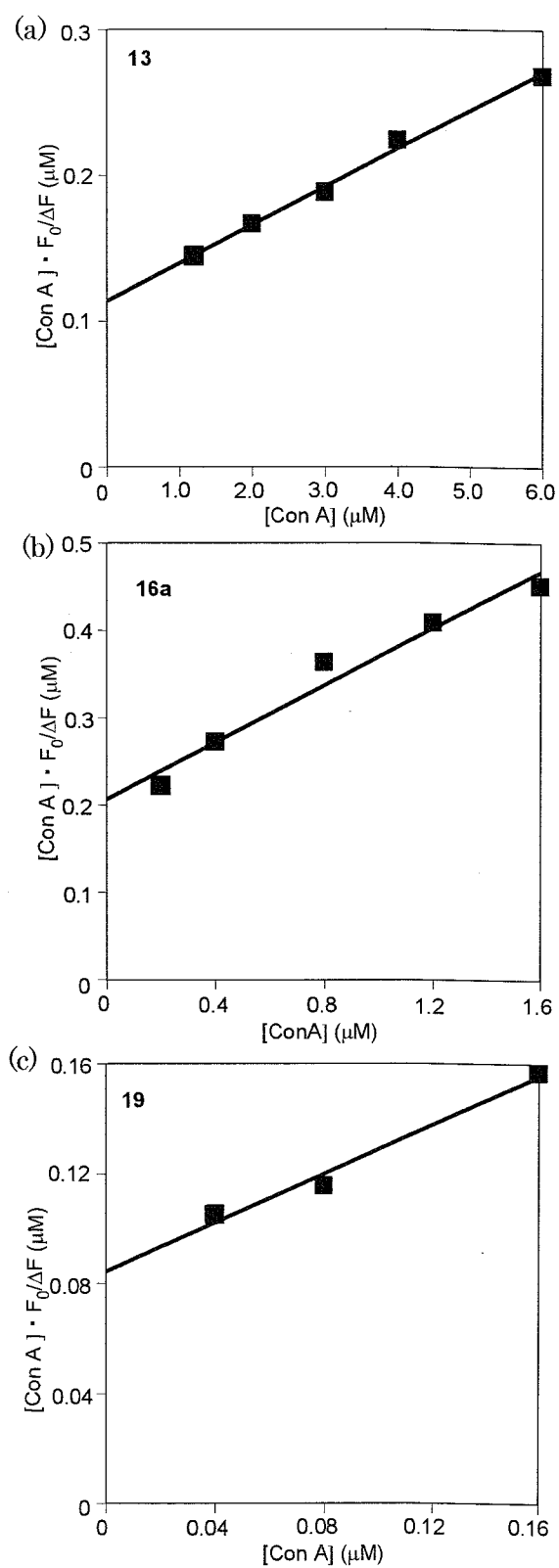


Figure 22. Scatchard プロット (a) 13 - ConA、 (b) 16a - ConA および (c) 19 - ConA

(2) ラクトース結合 TPE を用いた RCA120 検出

二糖であるラクトースを結合させた **16b** と、ラクトースと親和性のあるレクチン RCA120¹⁴ を用い検出実験を行った。

緩衝液 (10 mM リン酸緩衝液、pH 7.4) 中一定量の **16b** に各量の RCA120 を加え、10 分間攪拌しサンプル調製を行った。なおサンプル溶液中の **16b** の濃度は 6.7 μM 、また RCA120 の濃度はそれぞれ 0、0.5、1.0、2.0、3.0 および 5.0 μM である。蛍光スペクトルでは、RCA120 の濃度増加に伴い **16b** の 400 nm 付近の発光強度が増加した (図 23)。[RCA120] = 1.0、2.0 および 3.0 μM で発光強度がそれぞれ 1.5、1.8 および 2.7 倍に増加し、数 μM レベルで検出が可能だった。なお、観測される発光波長位置は約 400 nm であり、前述したマンノースを導入したテトラフェニルエテンで観測された 450-470 nm に比べ大きく短波長シフトしている。TPE 誘導体は、コンホメーションによって大きく発光波長位置が変化することが知られているが^{5c,e}、ここで観測される発光波長の違いは、**16b** - RCA120 と **16a** - ConA ではそれぞれレクチンと結合形態が異なり、凝集形態も違っていることによるものと考えられる。

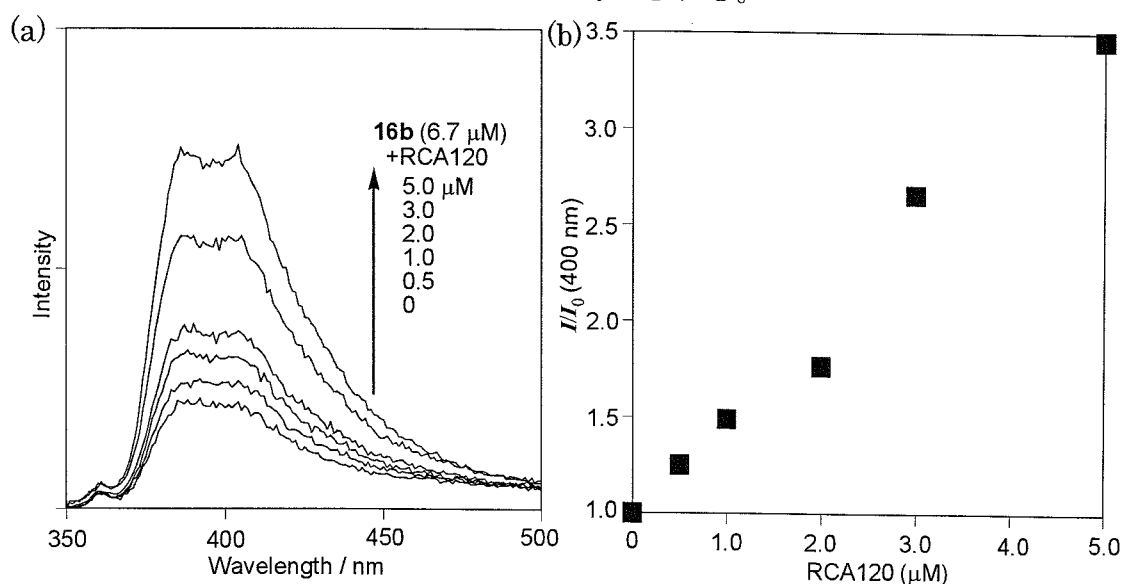


Figure 23. (a) **16b** に各濃度の RCA120 を加えた際の蛍光スペクトル (緩衝液中、励起波長 320 nm)、(b) **16b** に各濃度の RCA120 を加えた際の 400 nm における発光強度比 (I/I_0 = レクチン添加後の発光強度/初期発光強度)

さらに、Scatchard プロットから **16b** - RCA120 の会合定数 $K_a = 2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ と算出した (図 24)。

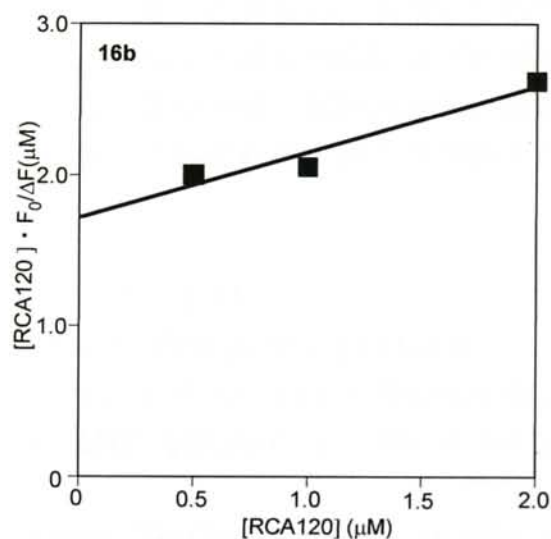


Figure 24. 16b - RCA120 の Scatchard プロット

5-4 タンパク質間相互作用を利用した”turn-off”型センサー

5-4-1 タンパク質間相互作用

本研究では、糖を導入した凝集誘起型発光性分子を利用し、発光”turn-on”型のレクチン検出法について検討してきた。ここでさらに、レクチンと糖を導入した凝集誘起型発光性分子の複合体にレクチンと相互作用しうる他のタンパク質を加えれば、糖がレクチンから外れ消光が起こると考えた（図 25）。さらに、この際の消光挙動は、糖とレクチンの親和性およびレクチンと他のタンパク質の親和性の程度によって変化すると考えられる。したがって、タンパク質の種類によってそれぞれ異なる消光パターンを示すと期待できる。

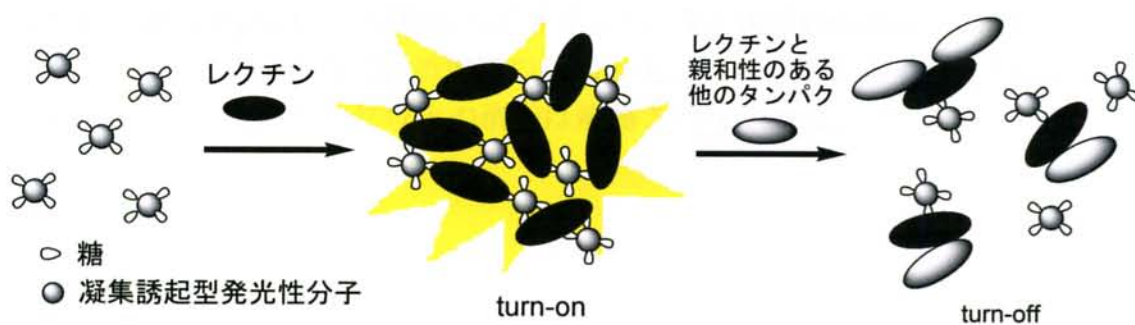


Figure 25. タンパク質の”turn-off”型検出法

実際、タンパク質間の相互作用は生体内において、細胞認識、細胞接着、シグナル伝達、DNA 転写また抗原 - 抗体認識といった様々な役割に関与しており、タンパク質間の相互作用に関わるタンパク質の検出および判別は重要な課題である。これまで一般的なタンパク質検出法として酵素結合免疫吸着検定法

(ELISA) がある。これは抗原 - 抗体反応を利用した特異性の高い検出法であるが、検体ごとにそれぞれ対応した酵素標識抗体が必要である。一方最近、センサー分子と各タンパク質の異なる結合親和性から、検出挙動の違いをパターン化し、複数のタンパク質をそれぞれ検出および判別する手法が報告されている¹⁵。

5-4-2 チログロブリンとの相互作用

マンノースを 4 つ導入した TPE 誘導体 **13** は前述したように、ConA との複合体形成により発光を示す。まず **13** - ConA 複合体を用い、糖タンパク質であるチログロブリン (Tg, MW: 670,000) との相互作用を蛍光スペクトルを用いて測定した。

緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) 中の **13** ($7.7 \mu\text{M}$) に ConA ($1 \mu\text{M}$) を加え 10 分間攪拌した。この時先に示したように **13** - ConA は複合体形成に伴い発光強度が増加した。そこに各濃度の Tg (0.10、0.05 および 0.01 mg/ml) を加え、蛍光強度変化を観測した (図 26)。

13 - ConA 複合体に Tg (0.05 mg/ml) を加えると 460 nm の発光強度は徐々に減少し、4 時間後では約 60% の蛍光消光が確認された。実際図 27 に示した写真のように、サンプル溶液に紫外光 (365 nm) を照射すると、**13** のみだとほとんど発光を示さないが、**13** - ConA 複合体は強い青色発光を示し、さらに Tg を加えると蛍光消光が肉眼で観測できた。これは期待した通り、ConA と Tg が相互作用した結果 **13** - ConA 複合体が解離したためであると考えられる。また、加える Tg の濃度に対する蛍光消光の大きさ比較すると、Tg (0.10 mg/ml) では Tg (0.05 mg/ml) と同程度の消光を示し、Tg (0.01 mg/ml) では消光の程度は小さくなった。また Tg 添加後の時間変化についてみると、Tg 添加後 4 時間以上攪拌してもそれ以上の消光は観測されなかった。

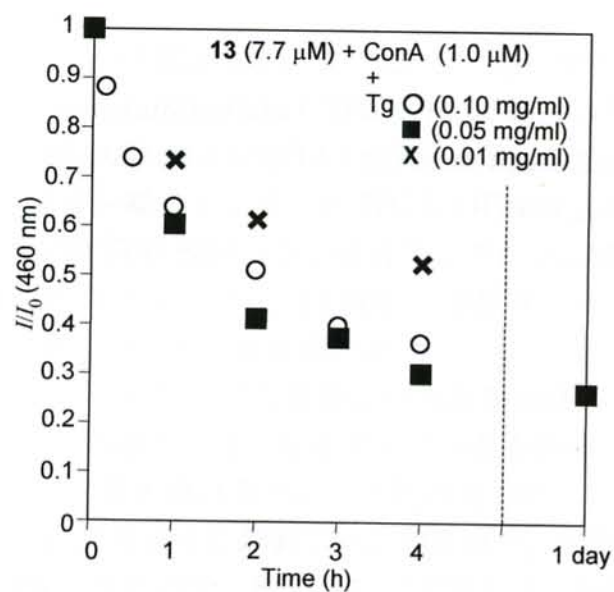
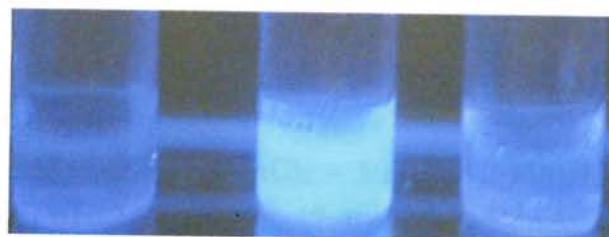


Figure 26. 13 - ConA 複合体に各濃度の Tg を加えた際の発光強度の経時変化 (緩衝液中、励起波長 320 nm、モニター波長 460 nm、 I/I_0 = タンパク質添加後の発光強度/初期発光強度)



13 (7.8 μ M) 13 (7.8 μ M) + ConA (1.0 μ M) 13 (7.8 μ M) + ConA (1.0 μ M) + Tg (0.05 mg/ml)

Figure 27. 13、13 + ConA および 13 + ConA + Tg の紫外線 (365 nm) 照射時の写真

5-4-3 測定

検出対象となるタンパク質として、先に述べた Tg、ガラクトース結合レクチンの BS-I (*Bandeiraea simplicifolia* I, MW: 114,000)、PNA (*Arachis hypogaea agglutinin*, MW: 108,000) および SBA (*Soybean agglutinin*, MW: 104,000)、*N*-アセチルグルコサミン結合レクチンの WGA (*Wheat germ agglutinin*, MW: 18,000)、酸性タンパク質の BSA (ウシ血清アルブミン, MW: 66,000)、塩基性タンパク質の His (ヒストン, MW: 14,000)、金属タンパク質の CytC (シトクロム C, MW: 12,000) の計 8 種類を用いた。

一般的に未知サンプルの判別等を視野にいたした検出法では、吸収スペクトルなどで客観的に得られる値が一定となるサンプル量を用いる。そこで文献⁶を参考に、加える各タンパク質の量は各タンパク質の芳香族アミノ酸由来の吸収 280 nm の吸光度が一定になるように調製した。例えば Tg は濃度 0.05 mg/ml のとき、吸光度 $A = 0.06$ となるので、他のタンパク質も $A = 0.06$ となる濃度、すなわち BS-I (0.04 mg/ml)、BSA (0.01 mg/ml)、CytC (0.04 mg/ml)、His (0.5 mg/ml)、PNA (0.1 mg/ml)、SBA (0.05 mg/ml) および WGA (0.04 mg/ml) にそれぞれ調製した量を用いた。

また、各タンパク質の検出を行うにあたり、センサー材料として 13 - ConA 複合体に加え、親和性および種類の異なる 16a - ConA 複合体および 16b - RCA120 複合体を用いた。16a - ConA および 16b - RCA120 はいずれも複合体形成にともない発光を示す。

16a - ConA 複合体は緩衝液 ($\text{CaCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、 $\text{MnCl}_2 = 1 \text{ mg/ml}$ 、10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) 中 16a ($7.4 \mu\text{M}$) に ConA ($1 \mu\text{M}$) を加え、また 16b - RCA120 複合体は緩衝液 (10 mM リン酸緩衝液、pH 7.4) 中 16b ($6.7 \mu\text{M}$) に RCA120 ($3 \mu\text{M}$) を加え 10 分間攪拌しそれぞれ調製した。その後各糖 - レクチン複合体に、 $A = 0.06$ となる濃度に調製した各タンパク質を加え 4 時間攪拌した後、蛍光スペクトルを測定した。各蛍光測定で観測された消光割合 (%) を図 28 に、各蛍光スペクトルを図 29 に示した。なお消光割合は各複合体の最初の発光強度 I_0 、タンパク質を加えた後の発光強度 I としたとき、 $(I_0 - I)/I_0 \times 100$ で表される。

例えば 13 - ConA 複合体に Tg を加えると 460 nm の発光が 70%程度消光され、同様に 16a - ConA 複合体では 470 nm の発光が 70%程度消光された。ところが、16a - ConA 複合体は同時に 400 nm 付近の発光強度が 20%程度増加した。この場合レクチンとタンパク質の相互作用により、糖が外れ消光すると同時に、TPE のコンホメーションが変化し発光波長位置も 400 nm に変化すると考えられる。一方 16b - RCA120 と Tg では 400 nm の発光が 35%程度消光した。

BS-I、CytC および SBA を加えたとき、いずれの糖 - レクチン複合体でも 40

～50%程度の蛍光消光が観測された。BSAを加えたとき、13 - ConAおよび16a - ConAでは40%程度消光されたが、16b - RCA120は20%程度だった。Hisを加えたときは、いずれも5～15%程度しか消光されなかった。一方PNAを加えたとき、16b - RCA120は25%程度しか消光されなかったのに対し、13 - ConAは65%、また16a - ConAは90%消光された。WGAを加えたとき、13 - ConAおよび16b - RCA120は30%程度、16a - ConAでは55%程度の消光が観測された。

以上のように、13 - ConA、16a - ConAおよび16b - RCA120複合体を用い、各タンパク質の性質、すなわち含まれる糖鎖の種類や数、あるいは構造や大きさ、疎水性等の違いを蛍光消光のパターンとして観測することができた。

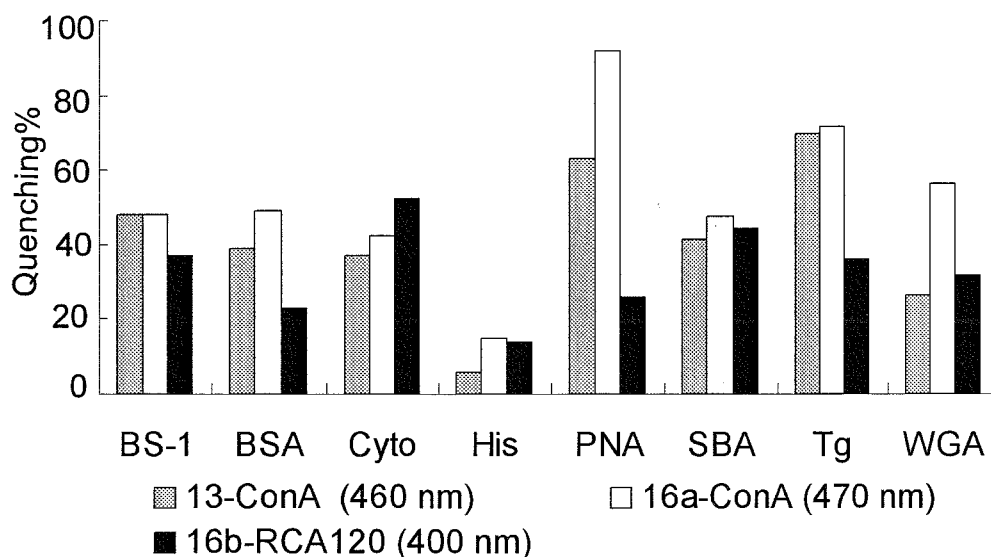


Figure 28. 各タンパク質を加えた際の消光割合の比較、灰色: 13 - ConA 複合体 (モニター波長 460 nm)、白: 16a - ConA 複合体 (モニター波長 470 nm) および黒: 16b - RCA120 複合体 (モニター波長 400 nm)

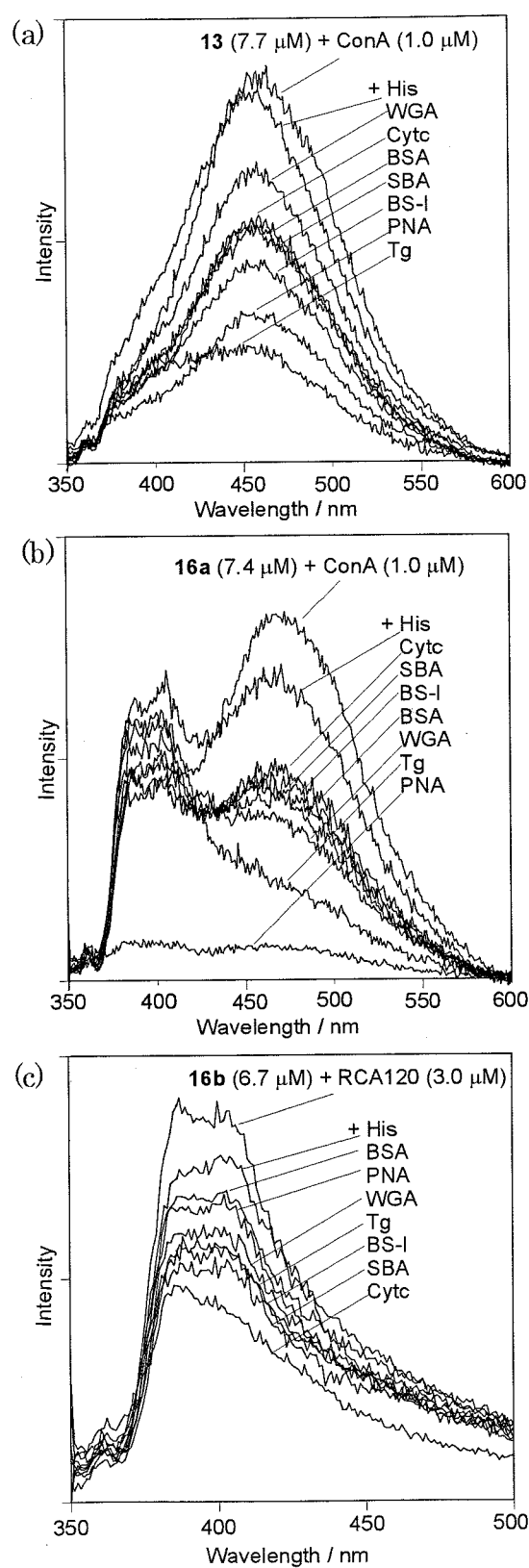


Figure 29. (a) 13 - ConA、(b) 16a - ConA および (c) 16b - RCA120 複合体に他のタンパク質を加えた際の蛍光スペクトル（緩衝液中、励起波長 320 nm）

5-5 まとめ

凝集誘起型発光を示すホスホールオキシドあるいはテトラフェニルエテン誘導体に糖を導入することで、レクチンを検知した際に発光強度が増加する”turn-on”型の新たなレクチンセンサーを開発した。レクチンの検出感度は、糖を導入した凝集誘起型発光分子とレクチンの親和性を高めることで、改善した。

さらに、糖を導入した凝集誘起型発光分子とレクチンが相互作用した状態に他のタンパク質を加えることで、発光強度が減少する”turn-off”型のタンパク質検出センサーへと展開した。観測される消光挙動は、検体となるタンパク質の種類によって変化した。

5-6 実験項

5-6-1 分析機器

^1H および ^{13}C NMRは、Bruker製DPX300型スペクトロメーターを用いてそれぞれ300および75.4 MHzで測定した。 ^{31}P NMRは日本電子製JNM-Ex400型スペクトロメーターを用いて162 MHzで測定した。紫外可視吸収スペクトルAgilent 8453分光光度計を用いて測定した。蛍光スペクトルは日立製F4500型分光光度計を用いて測定した。融点測定は井内盛栄堂製デジタル融点測定装置IA9100で行った。高分解能マスマススペクトル測定は日本電子製二重収束型質量分析装置JMS-700で行った。MALDI-TOF-MSは島津製KRATOS飛行時間型質量分析装置AXIMA-CFR Plusで行った。レーザー回折/散乱式粒径分布測定はHORIBA製LA-950で行った。リサイクル分取HPLCは日本分析工業製LC908、JAIGEL-Hカラムを用い、トルエン溶媒で行った。超純水はMILLIPORE製Simpli Lab超純水装置を用いて製造した。元素分析は東京工業大学技術部分析支援センターで行った。

5-6-2 溶媒

乾燥 THF はおよび乾燥ジエチルエーテルは市販の脱水溶媒（関東化学）を用いた。乾燥塩化メチレンおよび乾燥 DMF は水素化カルシウム存在下で蒸留し用いた。NMR 測定に用いた重クロロホルム、重アセトン、重メタノールおよび重水は市販のものをを用いた。吸収および蛍光スペクトル測定には、市販のトリス塩酸緩衝液およびリン酸緩衝液を、超純水でそれぞれ 100 倍および 20 倍に希釈し、それぞれ pH7.6 および 7.4 として用いた。

5-6-3 試薬

全ての試薬は下記に記すもの以外は全て市販のものをを用いた。糖ユニット

20¹⁶, 21¹⁷, 22¹⁸, 23¹⁹ および 3,5-ジメトキシオードベンゼン²⁰ は文献にしたがって合成した。ホスホール 24 は第 3 章で述べた方法にしたがって合成した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーに用いたシリカゲルは Merck 社製 Silica Gel 60, 0.040-0.063 mm を用いた。TLC 板は Merck 製 TLC アルミニウムシート シリカゲル 60 F₂₅₄ を用いた。ConA、PNA、Tg、BS-I、SBA、PNA、BSA、WGA、Cytc および His は Sigma-Aldrich 社製のものをを用いた。RCA120 は Vector Laboratories 社製のものをを用いた。

5-6-4 合成

1 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL フラスコに 24 (0.31 g, 0.73 mmol)、30%過酸化水素水 (90 mg, 0.80 mmol)、THF (30 mL) を加え、室温で 20 分攪拌した。その後溶媒留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) で単離して、1 を得た (0.22 g, 0.50 mmol, 収率 69%)。

1: 黄色固体; m.p. 215.1-219.3 °C; ¹H NMR (300 MHz, Acetone-*d*₆) δ 1.67-1.75 (m, 4H), 2.61-2.89 (m, 4H), 6.24 (s, 2H), 6.49 (s, 4H), 7.37-7.49 (m, 3H), 7.73-7.79 (m, 2H), 8.59 (s, 4H); ¹³C NMR (300 MHz, Acetone-*d*₆) δ 22.6, 28.0 (d, ³*J*(P, C) = 14.7 Hz), 103.0, 107.7 (d, ³*J*(P, C) = 5.6 Hz), 129.3, (d, ³*J*(P, C) 11.9 Hz), 130.2 (d, ¹*J*(P, C) = 93.6 Hz), 130.5 (d, ¹*J*(P, C) = 97.3 Hz), 131.2 (d, ²*J*(P, C) 10.3 Hz), 132.3 (d, ⁴*J*(P, C) = 2.6 Hz), 135.0 (d, ²*J*(P, C) = 11.3 Hz), 149.5 (d, ²*J*(P, C) = 26.6 Hz), 159.0; ³¹P{¹H} NMR (162 MHz, Acetone-*d*₆) δ 44.5. HRMS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for C₂₆H₂₄O₅P (value for [M + H]⁺); 447.1361, Found; 447.1371.

2a の合成

磁気攪拌子を備えた 25 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (5 mL)、1 (76 mg, 0.17 mmol)、20 (0.42 g, 0.85 mmol)、モレキュラーシーブス (4A) を加え、-30 °C で三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (0.26 mL, 2.0 mmol) を滴下し、室温で 20 時間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シリカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン→ヘキサン/酢酸エチル = 1/1→塩化メチレン/アセトン = 10/1) で単離して、2a を得た (94 mg, 53 μmol, 収率 32%)。

2a: 黄色固体; m.p. 123.1-125.9 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.72-1.80 (m, 4H), 1.99-2.01 (m, 36H), 2.16 (s, 12H), 2.72-2.78 (m, 4H), 3.95-3.98 (m, 8H),

4.18-4.23 (m, 4H), 5.27-5.46 (m, 16H), 6.69 (s, 2H), 6.76 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 7.36-7.45 (m, 3H), 7.61-7.67 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.6, 20.8, 22.1, 27.4, 60.3, 61.8, 65.5, 68.7, 69.0, 95.5, 104.4, 111.2, 128.6 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 93.7$ Hz), 129.0 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 11.9$ Hz), 130.3 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 97.3$ Hz), 130.5 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 10.4$ Hz), 132.1, 135.1 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.5$ Hz), 149.3 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 26.2$ Hz), 156.3; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 42.8. MS (FAB, matrix: 2-nitrobenzyl alcohol) m/z 1768 (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{82}\text{H}_{95}\text{O}_{41}\text{P}$: C, 55.72; H, 5.42. Found: C, 55.63; H, 5.75.

2b の合成

磁気攪拌子を備えた 30 mL ニロフラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (5 mL)、1 (0.15 g, 0.34 mmol)、21 (0.52 g, 1.34 mmol) を加え、塩化スズ (IV) (0.71 g, 2.72 mmol) を滴下し、室温で 5 日間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、塩化メチレンで抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、セライト吸引ろ過し、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/1 $\rightarrow$ 1/3 $\rightarrow$ アセトン/塩化メチレン = 1/5) および分取 HPLC で単離して、2b を得た (65 mg, 37 μmol , 収率 11%)。

2b: 黄色固体; m.p. 146.8-149.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.71-1.76 (m, 4H), 2.00-2.01 (m, 18H), 2.04-2.08 (m, 18H), 2.15-2.16 (m, 12H), 2.74-2.81 (m, 4H), 3.91-3.93 (m, 2H), 4.01-4.16 (m, 10H), 4.91-4.94 (m, 2H), 5.02-5.13 (m, 6H), 5.36-5.44 (m, 8H), 6.51 (s, 2H), 6.63 (s, 2H), 6.75 (s, 2H), 7.44-7.49 (m, 3H), 7.68-7.75 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.5, 20.6, 20.72, 20.74, 22.3, 27.5 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 13.9$ Hz), 60.8, 66.6, 68.4, 70.7, 70.8, 98.5, 105.2, 110.9, 129.15, 129.2 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 93.0$ Hz), 130.2 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 96.6$ Hz), 130.7 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 10.4$ Hz), 132.2, 134.7 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.4$ Hz), 149.5 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 23.5$ Hz), 157.4, 169.3, 170.0, 170.1, 170.4; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 42.8. Anal. Calcd. for $\text{C}_{82}\text{H}_{97}\text{O}_{42}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 55.16; H, 5.48. Found: C, 54.92; H, 5.43.

3a の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに 2a (30 mg, 17 μmol)、ナトリウムメトキシド (3 mg, 50 μmol)、メタノール (2 mL) を加え、室温で 30 分攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、3a を得た (13 mg, 12 μmol , 収率 72%)。

3a: 黄色固体; m.p. 267.3-268.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1.75-1.84 (m, 4H), 2.75-2.88 (m, 4H), 3.51-3.58 (m, 4H), 3.69-3.75 (m, 12H), 3.82-3.86 (m, 4H), 3.95 (s, 4H), 5.40 (s, 4H), 6.82 (s, 2H), 6.92 (s, 4H), 7.46-7.53 (m, 3H), 7.68-7.75 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 23.4, 28.8, 62.6, 68.2, 71.8, 72.3, 75.5, 100.3, 106.4, 112.0, 130.3 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 12.4$ Hz), 130.5 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 98.5$ Hz), 130.6 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 98.3$ Hz), 131.9 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.0$ Hz), 133.7 (d, $^4J(\text{P}, \text{C}) = 2.9$ Hz), 135.6 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.0$ Hz), 151.9 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 26.1$ Hz), 158.9; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 46.4. HRMS (FAB, matrix; glycerol) Calcd. for $\text{C}_{50}\text{H}_{63}\text{O}_{25}\text{PLi}$ (value for $[\text{M} + \text{Li}]^+$); 1101.3556, Found; 1101.3533.

3b の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに **2b** (33 mg, 20 μmol)、ナトリウムメトキシド (3 mg, 50 μmol)、メタノール (3 mL) を加え、室温で 30 分攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、**3b** を得た (15 mg, 14 μmol , 収率 74%)。

3b: 黄色固体; m.p. 230.0-233.5 °C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1.75-1.83 (m, 4H), 2.89-3.07 (m, 4H), 3.53-3.56 (m, 4H), 3.69-3.77 (m, 16H), 3.87-3.88 (m, 4H), 4.80-4.81 (m, 4H), 6.79-6.82 (m, 4H), 6.87 (s, 2H), 7.43-7.54 (m, 3H), 7.66-7.72 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 23.5, 28.9, 62.5, 70.3, 72.1, 74.8, 77.1, {102.2, 102.4}, 105.6, {111.5, 111.9}, 130.3 (d, $^3J(\text{P}, \text{C}) = 11.7$ Hz), 130.3 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 98.8$ Hz), 131.3 (d, $^1J(\text{P}, \text{C}) = 98.8$ Hz), 131.9 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 10.3$ Hz), 133.6, 135.3 (d, $^2J(\text{P}, \text{C}) = 11.6$ Hz), 151.4, {159.9, 160.0}; $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 47.2. HRMS (FAB, matrix; glycerol) Calcd. for $\text{C}_{50}\text{H}_{64}\text{O}_{25}\text{P}$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 1095.3474, Found; 1095.3468.

8 の合成

磁気攪拌子を備えた 300 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、亜鉛粉末 (4.47 g, 68.3 mmol)、乾燥 THF (100 mL) を加え、 -10 °C で塩化チタン (IV) (6.48 g, 34.2 mmol) を滴下し、ゆっくり室温に戻した後、 70 °C で 2 時間攪拌した。その後 0 °C で、乾燥 THF (50 mL) に溶解させた 3, 3', 5, 5' - テトラメトキシベンゾフェノン (3.57 g, 11.8 mmol) を加え、 70 °C で 5 時間攪拌した。その後室温に戻し、10%炭酸カリウム水溶液 (100 mL) を加え、塩化メチレン (200 mL) で抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/ヘキサン = 2/1) で単離して、**8** を得た (1.45 g, 2.53 mmol, 収率 43%)。

8: 白色固体; m.p. 210.0-210.8 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.65 (s, 24H), 6.21-6.25 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 55.3, 99.4, 109.0, 140.9, 145.0, 160.0. Anal. Calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_8$: C, 71.31; H, 6.34. Found: C, 71.20; H, 6.04.

9 の合成

磁気攪拌装置を備えた 200 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (50mL)、8 (1.25 g, 2.18 mmol) を加え、 $-50\text{ }^\circ\text{C}$ で 1M 三臭化ホウ素塩化メチレン溶液 (34.9 ml, 34.9 mmol) を滴下し、室温で 18 時間攪拌した。その後反応溶液を氷水 (200 mL) に流し込み、酢酸エチル (300 mL) で抽出し、有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 1/1) で単離して 9 を得た (0.792 g, 1.72 mmol, 収率 79%)。

9: 白色固体; m.p. $> 300\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, Acetone- d_6) δ 6.07 (s 8H), 6.12 (s, 4H), 8.04 (s, 8H); ^{13}C NMR (75 MHz, Acetone- d_6) δ 101.7, 110.0, 140.5, 146.6, 158.3. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{O}_8$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 461.1236, Found; 461.1230.

10 の合成

磁気攪拌装置を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥 DMF (10 mL)、5 (0.19 g, 0.51 mmol)、22 (0.56 g, 1.12 mmol)、炭酸カリウム (0.18 g, 1.31 mmol)、18 - クラウン - 6 (7 mg, 25 μmol) を加え、 $80\text{ }^\circ\text{C}$ で 17 時間攪拌した。その後、塩化メチレン (100 mL) を加え、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 20/1) 及び分取 HPLC で単離して、10 を得た (50 mg, 42 μmol , 収率 8%)。

10: 白色固体; m.p. 64.2-68.7 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.96-2.00 (m, 12H), 2.06-2.09 (m, 6H), 2.11-2.14 (m, 6H), 3.68-3.74 (m, 6H), 3.77-3.83 (m, 6H), 4.00-4.10 (m, 8H), 4.23-4.30 (m, 2H), 4.87-4.90 (m, 2H), 5.24-5.38 (m, 6H), 6.61-6.67 (m, 4H), 6.87-6.93 (m, 4H), 6.97-7.10 (m, 10H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.6, 20.6, 20.7, 20.8, 62.3, 66.0, 67.1, 67.3, 68.3, 69.0, 69.5, 69.8, 70.1, 97.7, {113.5, 113.6}, 126.1, {127.5, 127.6}, 131.3, 132.4, 136.5, 139.5, 144.1, 157.0, 169.7, 169.8, 169.9, 170.5. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{62}\text{H}_{72}\text{O}_{24}$ (M^+); 1200.4414, Found; 1200.4443.

11 の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに **10** (33 mg, 27 μ mol)、ナトリウムメトキシド (2 mg, 40 μ mol)、メタノール (2 mL) を加え、室温で 40 分攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、**11** を得た (19 mg, 22 μ mol, 収率 83%)。

11: 白色固体; m.p. 111.2-115.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 3.60-3.81 (m, 24H), 3.96-4.06 (m, 4H), 4.77-4.83 (m, 2H), 6.64-6.71 (m, 4H), 6.86-7.08 (m, 14H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 62.9, 67.8, 68.4, 68.5, 70.8, 71.5, 72.1, 72.5, 74.6, 101.8, 114.8, {127.3, 127.4}, {128.6, 128.7}, 132.4, 133.6, {137.8, 137.9}, 141.2, {145.5, 145.6}, 158.7. HRMS (FAB, matrix; glycerol) Calcd. for $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{O}_{16}\text{Na}$ (value for $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 887.3466, Found; 887.3470.

12 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (15 mL)、**7** (0.20 g, 0.50 mmol)、**20** (1.21 g, 2.46 mmol)、モレキュラーシーブス (4A) を加え、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (0.76 ml, 6.0 mmol) を滴下し、室温で 16 時間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 20/1) 及び分取 HPLC で単離して、**12** を得た (28 mg, 16 μ mol, 収率 3%)。

12: 白色固体; m.p. 114.1-118.4 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.02 (m, 24H), 2.04 (s, 12H), 2.17 (s, 12H), 4.04-4.12 (m, 8H), 4.25-4.31 (m, 4H), 5.31-5.54 (m, 16H), 6.82 (d, 8H, $J=8.7$ Hz), 6.91 (d, 8H, $J=8.7$ Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.6, 20.8, 62.0, 65.9, 68.8, 69.1, 69.4, 95.9, 115.9, 132.5, 138.5, 138.8, 154.2, 169.7, 169.86, 169.93, 170.4. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{82}\text{H}_{92}\text{O}_{40}$ (M^+); 1716.5165, Found; 1716.5171.

13 の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに **12** (25 mg, 15 μ mol)、ナトリウムメトキシド (3 mg, 50 μ mol)、メタノール (2 mL)、THF (2 mL) を加え、室温で 60 分攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、**13** を得た (13 mg, 12 μ mol, 収率 87%)。

13: 淡黄色固体; m.p. 255.2-258.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 3.52-3.58 (m, 8H), 3.67-3.70 (m, 4H), 3.77-3.83 (m, 4H), 3.93-4.00 (m, 8H), 5.34 (s, 4H), 6.61-6.67 (m, 8H), 6.71-6.75 (m, 8H); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 61.3, 67.1, 71.1, 71.6, 74.2, 99.2, 117.0, 133.5, 139.0, 139.7, 155.3. HRMS (FAB, matrix: glycerol) Calcd. for $\text{C}_{50}\text{H}_{61}\text{O}_{24}$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 1045.3553, Found; 1045.3533.

14 の合成

磁気攪拌装置を備えた 300 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥 DMF (100 mL)、7 (0.40 g, 1.00 mmol)、2-クロロエトキシエタノール (1.25 g, 10.0 mmol)、炭酸カリウム (4.16 g, 30.1 mmol)、ヨウ化カリウム (0.21 g, 1.27 mmol) を加え、100 °C で 8 時間攪拌した。その後、溶媒留去し、酢酸エチル (100 mL) を加え、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 1/3) で単離して、14 を得た (0.35 g, 0.47 mmol, 収率 47%)。

14: 白色固体; m.p. 138.6-140.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.25-2.29 (m, 4H), 3.63-3.66 (m, 8H), 3.72-3.75 (m, 8H), 3.81-3.84 (m, 8H), 4.06-4.87 (m, 8H), 6.65 (d, 8H, $J = 8.4$ Hz), 6.91 (d, 8H, $J = 8.4$ Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 61.8, 67.2, 69.7, 72.6, 113.7, 132.5, 137.1, 138.5, 156.9. Anal. Calcd. for $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$: C, 67.36; H, 7.00. Found: C, 67.30; H, 6.97.

15a の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (15 mL)、14 (0.23 g, 0.30 mmol)、化合物 20 (0.73 g, 1.48 mmol)、モレキュラーシーブス (4A) を加え、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (0.45 mL, 3.6 mmol) を滴下し、室温で 20 時間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 10/1) で単離して、15a を得た (0.31 g, 0.15 mmol, 収率 50%)。

15a: 淡黄色固体; m.p. 57.3-62.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.95-1.96 (m, 24H), 2.05 (s, 12H), 2.10 (s, 12H), 3.68-3.78 (m, 24H), 4.02-4.07 (m, 16H), 4.21-4.25 (m, 4H), 4.85 (s, 4H), 5.24-5.31 (m, 12H), 6.60 (d, 8H, $J = 7.2$ Hz), 6.85 (d, 8H, $J = 7.2$ Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.5, 20.6, 20.7, 62.3, 66.0, 67.0, 67.2, 68.3, 68.9, 69.4, 69.7, 70.0, 97.6, 113.5, 132.4, 136.9, 138.2,

156.8, 169.6, 169.7, 169.8, 170.4. Anal. Calcd. for $C_{98}H_{124}O_{48}$: C, 56.86; H, 6.04. Found: C, 57.15; H, 5.96.

15b の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (15 mL)、14 (55 mg, 74 μ mol)、23 (0.46 g, 0.59 mmol)、モレキュラーシーブス (4A) を加え、0 °C で三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (0.47 mL, 3.7 mmol) を滴下し、室温で 4 日間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去した。その後シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセトン = 5/1) 及び分取 HPLC で単離して、15b を得た (14 mg, 4.3 μ mol, 収率 6%)。

15b: 淡黄色固体; m.p. 96.5-99.7 °C; ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.96 (s, 12H), 2.00 (s, 12H), 2.04 (s, 24H), 2.11 (s, 12H), 2.14 (s, 12H), 3.58-4.16 (m, 56H), 4.46-4.56 (m, 12H), 4.87-4.97 (m, 8H), 5.07-5.22 (m, 8H), 5.34-5.36 (m, 4H), 6.62 (d, 8H, J = 8.2 Hz), 6.89 (d, 8H, J = 8.2 Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 20.5, 20.6, 20.7, 20.8, 20.9, 60.8, 62.0, 66.6, 67.1, 69.1, 69.2, 69.9, 70.3, 70.6, 71.0, 71.6, 72.6, 72.8, 76.2, 100.6, 101.1, 113.6, 132.5, 137.0, 138.4, 156.9, 169.1, 169.7, 169.8, 170.0, 170.1, 170.34, 170.35. MALDI-TOFMS (matrix: DHBA) Calcd. for $C_{146}H_{189}O_{80}$ (value for $[M + H]^+$); 3222.07, Found: 3222.43.

16a の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに 15a (24 mg, 11 μ mol)、ナトリウムメトキシド (2 mg, 40 μ mol)、メタノール (2 mL) を加え、室温で 80 分攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、16a を得た (14 mg, 9.0 μ mol, 収率 88%)。

16a: 淡黄色固体; m.p. 86.6-89.3 °C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 3.59-3.73 (m, 28H), 3.81-3.87 (m, 20H), 4.02-4.05 (m, 8H), 4.81 (s, 4H), 6.68 (d, 8H, J = 8.4 Hz), 6.89 (d, 8H, J = 8.4 Hz); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 62.9, 67.8, 68.5, 68.6, 70.8, 71.5, 72.1, 72.5, 74.6, 101.8, 114.8, 133.7, 138.3, 140.0, 158.7. HRMS (FAB, matrix: glycerol) Calcd. for $C_{66}H_{92}O_{32}$ (M^+); 1396.5572, Found: 1396.5605.

16b の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに 15b (14 mg, 4.3 μ mol)、ナトリウムメトキシド (1.4 mg, 26 μ mol)、メタノール (2 mL)、THF (1 mL) を加え、室温で 2 時間攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、16b を得た (7.1 mg, 3.5 μ mol, 収率 81%)。

16b: 淡黄色固体; m.p. 170.1-173.5 °C; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 3.26-3.36 (m, 8H), 3.49-3.86 (m, 76H), 4.36-4.39 (m, 4H), 6.43-6.51 (m, 8H), 6.72-6.81 (m, 8H); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 61.5, 62.0, 67.9, 69.6, 70.0, 70.8, 72.0, 72.9, 73.6, 73.9, 75.4, 75.8, 76.4, 79.5, 103.3, 104.0, 114.9, 133.4, 138.0, 139.6, 157.6. MALDI-TOFMS (matrix; DHBA) Calcd. for $\text{C}_{90}\text{H}_{132}\text{O}_{52}\text{Na}$ (value for $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 2067.76, Found; 2067.71.

17 の合成

磁気攪拌装置を備えた 200 mL 三口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥 DMF (100 mL)、9 (0.38 g, 0.82 mmol)、2-クロロエトキシエタノール (2.04 g, 16.4 mmol)、炭酸カリウム (6.83 g, 49.4 mmol)、ヨウ化カリウム (0.33 g, 2.01 mmol) を加え、100 °C で 13 時間攪拌した。その後、溶媒留去し、塩化メチレン (200 mL) を加え、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 5/1) で単離して、17 を得た (0.42 g, 0.36 mmol, 収率 44%)。

17: 淡黄色油状; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.17-3.20 (m, 8H), 3.54-3.55 (m, 16H), 3.62-3.71 (m, 16H), 3.84-3.91 (m, 16H), 6.21 (s, 8H), 6.26 (s, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 61.5, 67.2, 69.2, 72.6, 100.9, 110.0, 140.7, 144.8, 159.0. HRMS (FAB, matrix; 2-nitrobenzyl alcohol) Calcd. for $\text{C}_{58}\text{H}_{85}\text{O}_{24}$ (value for $[\text{M} + \text{H}]^+$); 1165.5431, Found; 1165.5413.

18 の合成

磁気攪拌子を備えた 50 mL 二口フラスコを用意し窒素置換した。窒素雰囲気下これに、乾燥塩化メチレン (15 mL)、17 (0.33 g, 0.28 mmol)、20 (1.43 g, 2.90 mmol)、モレキュラーシーブス (4A) を加え、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (0.85 mL, 6.7 mmol) を滴下し、室温で 41 時間攪拌した。その後反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液の中へ流し込み、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒留去し、シルカゲルカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン/アセト

ン = 5/1) で単離して、18 を得た (0.16 g, 42 μ mol, 収率 15%)。

18: 淡黄色固体; m.p. 59.2-62.9 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.96 (s, 24H), 2.01 (s, 24H), 2.06 (s, 24H), 2.12 (s, 24H), 3.64-3.73 (m, 40H), 3.78-3.85 (m, 24H), 4.05-4.08 (m, 16H), 4.24-4.29 (m, 8H), 4.85 (s, 8H), 5.25-5.33 (m, 24H), 6.17 (s, 8H), 6.24 (s, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.61, 20.64, 20.7, 20.8, 62.3, 66.0, 67.2, 67.2, 68.3, 69.0, 69.4, 69.6, 70.0, 97.7, 100.6, 109.8, 140.6, 144.8, 159.0, 169.7, 169.8, 169.9, 170.6. Anal. Calcd. for $\text{C}_{170}\text{H}_{228}\text{O}_{96}$: C, 53.63; H, 6.04. Found: C, 53.84; H, 5.92.

19 の合成

磁気攪拌子を備えた 10 mL フラスコに 18 (41 mg, 11 μ mol)、ナトリウムメトキシド (4 mg, 70 μ mol)、メタノール (3 mL) を加え、室温で二時間攪拌した。その後陽イオン交換樹脂 (DOWEX 50WX8-100) を反応溶液が酸性になるまで加え、ろ過し、溶媒留去し、19 を得た (24 mg, 9.2 μ mol, 収率 83%)。

19: 淡黄色固体; m.p. 83.7-87.6 °C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 3.59-3.72 (m, 72H), 3.81-3.93 (m, 40H), 4.82 (s, 8H), 6.28 (s, 8H), 6.37 (s, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 62.9, 67.8, 68.6, 68.7, 70.6, 71.5, 72.1, 72.5, 74.6, 101.8, 102.1, 111.0, 142.3, 146.5, 160.8. MALDI-TOFMS (matrix: DHBA) Calcd. for $\text{C}_{106}\text{H}_{164}\text{O}_{644}\text{Na}$ (value for $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 2483.95, Found: 2484.26.

5-6-5 試料調製

図 7 で示した各濃度の 3a - ConA 複合体の試料調製法を以下に示す。あらかじめ調製した緩衝液 (CaCl_2 および MnCl_2 をそれぞれ 1 mg/ml の濃度になるように加えた 10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) を 3a (1.05 mg) に体積が 10 mL になるように加えたストックソリューションを用意した。このストックソリューション 1 mL に、ConA を、0、0.1、0.3、0.5、1.0、2.1、4.2 および 8.3 mg 加え、緩衝液を足して計 5 mL とした後 10 分間攪拌し試料を調製した。なお、試験液中の 3a の濃度は 19 μM 、ConA の濃度はそれぞれ、0、0.2、0.6、1.0、2.0、4.0、8.0 および 16.0 μM となる。他の糖 - レクチン複合体も同様にして試料調製を行った。

また図 27 で示した 13 - ConA 複合体に Tg を加えた試料の調整法を以下に示す。あらかじめ調製した緩衝液 (CaCl_2 および MnCl_2 をそれぞれ 1 mg/ml の濃度になるように加えた 10 mM トリス塩酸緩衝液、pH 7.6) を 13 (0.40 mg) に体積が 5 mL になるように加えたストックソリューション A を用意した。このストックソリューション A 1 mL に、ConA (1.0 mg) を加え、緩衝液を足して計 10 mL とした後 10 分間攪拌しストックソリューション B (13 - ConA 複合

体)を調製した。その後ストックソリューション B に Tg (0.05 mg) を加え計 1 mL とした試料を調製した。他のタンパク質あるいは他の糖 - レクチン複合体を用いた場合も同様にして試料調製を行った。

5-6-6 各タンパク質の吸収スペクトル

図 30 に各タンパク質 Tg、BS-I、SBA、PNA、BSA、WGA、Cyt c および His の吸収スペクトルを示す。いずれのタンパク質も 280 nm 付近に芳香族アミノ酸由来の吸収極大が観測された。ここで得られた結果を元に、280 nm の吸光度が一定になるような各タンパク質のサンプルを調製した。

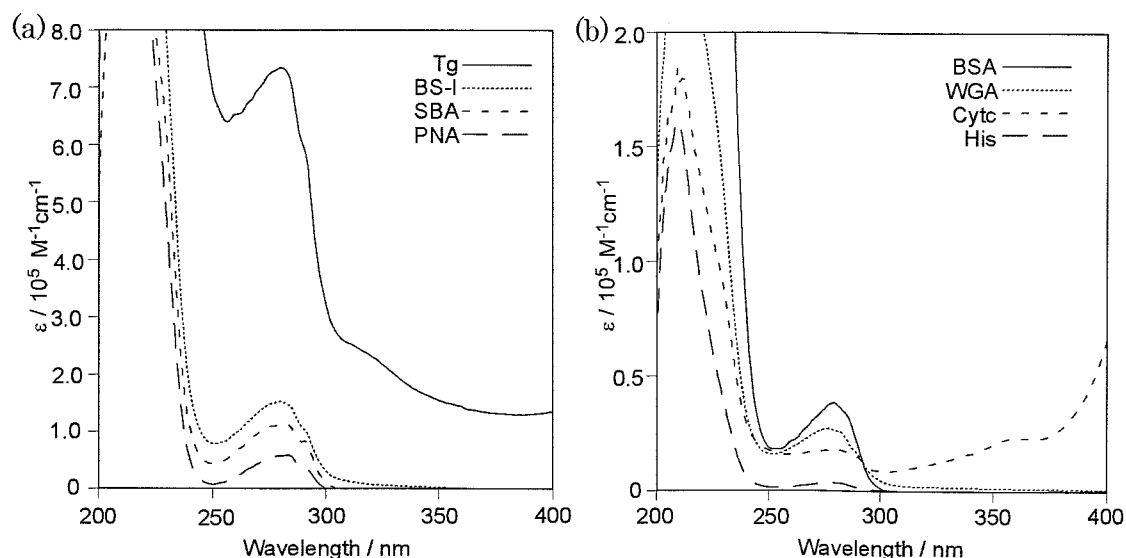


Figure 30. (a) Tg、BS-I、SBA および PNA、(b) BSA、WGA、Cyt c および His の水溶液中の吸収スペクトル

5-7 参考文献

- 1 a) Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* 1998, 37, 2754. b) Lis, H.; Sharon, N. *Chem. Rev.* 1998, 98, 637. c) Mandal, D. K.; Kishore, N.; Brewer, F. *Biochemistry* 1994, 33, 1149.
- 2 a) Otsuka, H.; Akiyama, Y.; Nagasaki, Y.; Kataoka, K. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 8226. b) Hone, D. C.; Haines, A. H.; Russell, D. A. *Langmuir* 2003, 19, 7141. c) de la Fuente, J. M.; Penadés, S. *Biochim. Biophys. Acta* 2006, 1760, 636. d) Ojeda, R.; de Paz, J. L.; Barrientos, A. G.; Martín-Lomas, M.; Penadés, S. *Carbohydr. Res.* 2007, 342, 448. e) Zhang, J.; Fu, Y.; Lakowicz, J. R. *Bioconjugate chem.* 2007, 18, 800.
- 3 a) Charych, D. H.; Nagy, J. O.; Spevak, W.; Bednarski, M. D. *Science* 1993,

- 261, 585. b) Spevak, W.; Nagy, J. O.; Charych, D. H.; Schaefer, M. E.; Gilbert, J. H.; Bednarski, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, *115*, 1146. c) Yamanaka, S. A.; Charych, D. H.; Loy, D. A.; Sasaki, D. Y. *Langmuir* 1997, *13*, 5049. d) Lio, A.; Reichert, A.; Ahn, D. J.; Nagy, J. O.; Salmeron, M.; Charych, D. H. *Langmuir* 1997, *13*, 6524. e) Niikura, K.; Kamitani, R.; Kurogochi, M.; Uematsu, R.; Shinohara, Y.; Nakagawa, H.; Deguchi, K.; Monde, K.; Kondo, H.; Nishimura, S. *Chem. Eur. J.* 2005, *11*, 3825. f) Baek, M.; Stevens, R. C.; Charych, D. H. *Bioconjugate chem.* 2000, *11*, 777.
- 4 a) Kim, I.-B. Wilson, J. N.; Bunz, U. H. F. *Chem. Commun.* 2005, 1273. b) Disney, M. D.; Zheng, J.; Swager, T. M.; Seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, *126*, 13343. c) Kelly, T. L.; Lam, M. C. W.; Wolf, M. O. *Bioconjugate chem.* 2006, *17*, 575. d) Xue, C.; Jog, S. P.; Murthy, P.; Liu, H. *Biomacromolecules* 2006, *7*, 2470. e) Phillips, R. L.; Kim, I.-B.; Tolbert, L. M.; Bunz, U. H. F. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, *130*, 6952.
- 5 a) Luo, J.; Xie, Z.; Lam, J. W. Y.; Cheng, L.; Chen, H.; Qiu, C.; Kwok, H. S.; Zhan, X.; Liu, Y.; Zhu, D.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* 2001, 1740. b) Zeng, Q.; Dong, Y.; Di, C.; Qin, A.; Hong, Y.; Ji, L.; Zhu, Z.; Jim, C. K. W.; Yu, Gui.; Li, Q.; Li, Z.; Liu, Y.; Qin, J.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* 2007, 70. c) Tong, H.; Hong, Y.; Dong, Y.; Häußler, M.; Lam, J. W. Y.; Li, Z.; Guo, Z.; Guo, Z.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* 2006, 3705. d) Tong, H.; Hong, Y.; Dong, Y.; Häußler, M.; Li, Z.; Lam, J. W. Y.; Dong, Y.; Sung, H. H.-Y. Williams, I. D.; Tang, B. Z. *J. Phys. Chem. B* 2007, *111*, 11817. e) Hong, Y.; Häußler, M.; Lam, J. W. Y.; Li, Z.; Sin, K. K.; Dong, Y.; Tong, H.; Liu, J.; Qin, A.; Renneberg, R.; Tang, B. Z. *Chem. Eur. J.* 2008, *14*, 6428.
- 6 Otsuka, I.; Hongo, T.; Nakade, H.; Narumi, A.; Sakai, R.; Satoh, T.; Kaga, H.; Kakuchi, T. *Macromolecules* 2007, *40*, 8930.
- 7 a) Lotan, R.; Skutelsky, E.; Danon, D.; Sharon, N. *J. Biol. Chem.* 1975, *250*, 8518. b) Neurohr, K. J.; Young, M.; Mantsch, H. H. *J. Biol. Chem.* 1980, *255*, 9205.
- 8 Tsai, C.-S.; Yu, T.-B.; Chen, C.-T. *Chem. Commun.* 2005, 4273.
- 9 Lehmann, J.; Weitzel, U. P. *Carbohydr. Res.* 1996, *294*, 65.
- 10 Lundquist, J. J.; Toone, E. J. *Chem. Rev.* 2002, *102*, 555.
- 11 Watanabe, S.; Kobayashi, A.; Kakimoto, M.; Imai, Y. J. *Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1994, *32*, 909.
- 12 Hussain, Z.; Hopf, H.; Oeser, T. *Lett. Org. Chem.* 2005, *2*, 518.
- 13 Akita, T.; Koga, N. *Polyhedron* 2005, *24*, 2321.

- 14 Sweeney, E. C.; Tonevitsky, A. G.; Temiakov, D. E.; Agapov, I. I.; Saward, S.; Palmer, R. A. *Proteins* **1997**, *28*, 586.
- 15 a) You, C.-C.; Miranda, O. R.; Gider, B.; Ghosh, P. S.; Kim, I.-B.; Erdogan, B.; Krovi, S. A.; Bunz, U. H. F.; Rotello, V. M. *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 318. b) Zhou, H.; Baldini, L.; Hong, J.; Wilson, A. J.; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2421. c) Kim, I.-C.; Dunkhorst, A.; Bunz, U. H. F. *Langmuir* **2005**, *21*, 7985. d) Sandanraj, B. S.; Demont, R.; Asthimanikandan, S. V.; Savariar, E. N.; Thayumanavan, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10686.
- 16 Free, P.; Hurley, C. A.; Kageyama, T. Chain, B. M.; Tabor, A. B. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1817.
- 17 Bukowski, R.; Morris, L. M.; Woods, R. J.; Weimar, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2697.
- 18 Laville, I.; Pigaglio, S.; Blais, J.-C.; Doz, F.; Loock, B.; Maillard, P.; Grierson, D. S.; Blais, J. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2558.
- 19 Kale, R. R.; Clancy, C. M.; Vermillion, R. M.; Johnson, E. A.; Iyer, S. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2459.
- 20 Zhao, J.; Larock, R. C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5340.

第 6 章 総括

第 2 章では分子内環化反応によるベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の合成とその光物性について述べた。20 mol%のカリウム *t*-ブトキシドを塩基触媒として用いた 2-アルキニルフェニルホスフィンオキシド誘導体の分子内環化反応により、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドを合成した。また、ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドをトリクロロシランにより還元し、ベンゾ[*b*]ホスホールを合成した。さらに、 π 共役系を拡張したベンゾ[*b*]ホスホールの二重環化生成物の合成も行った。ベンゾ[*b*]ホスホールオキシドは 2 位に導入された置換基によって吸収および発光極大が変化した。一方、還元したベンゾ[*b*]ホスホールでは還元前のオキシド体と比べ、吸収および発光の短波長シフトが観測され、蛍光量子収率は著しく減少した。またベンゾ[*b*]ホスホール誘導体の二重環化生成物は π 共役系の拡張を反映して、より長波長側に吸収及び発光極大が観測された。

第 3 章ではホスホールをコアとする dendritic 分子の合成とその光物性について述べた。ホスホール環を持つコア部分に各世代のベンジルエーテル型 dendritic 分子を導入するコンバージェント法により、ホスホールをコアとする dendritic 分子 **GnP** を合成した。さらに、**GnP** の酸化によりホスホールオキシド **GnPO** を合成した。THF 溶液において、**GnP** は 360 nm 付近に吸収極大、また 470 nm 付近に発光極大を示し、この時の蛍光量子収率は世代の増加に伴い向上した。特に、第 3 世代の **G3P** の蛍光量子収率は、これまで報告された 2,5 - ジアリール型ホスホールの中で最も高い値となった。一方 **GnPO** は 380 nm 付近に吸収極大、また 500 nm 付近に発光極大を示し、**GnP** と比べいずれも長波長シフトが観測され、また蛍光量子収率は著しく減少した。**GnPO** は溶液状態ではほとんど発光しなかったが、凝集状態で著しく発光強度が増加する凝集誘起型発光を示した。**GnPO** の凝集誘起型発光は、X 線結晶構造解析、粘性溶媒中あるいは低温での蛍光スペクトル測定より、凝集状態でホスホールオキシド環上のフェニル基の振動や回転を抑制するために起こることを確認した。

第 4 章ではホスホールオキシドを利用した爆薬検出センサーについて述べた。第 3 章で示した第 1 世代のホスホールをコアとする dendritic 分子 **G1PO** を用い、蛍光消光によるニトロ化合物の検出を行った。例えば微量の爆薬残留物質の検出を想定して、ろ紙上に付着した微量のニトロ化合物の検出を検討した。その結果、例えば TNT は 10 ng/cm² で検出が可能であり、実用的に使用できるレベルの検出感度を示した。今後ホスホール誘導体の構造を最適化し、また LUMO エネルギーレベルを調整することで、より高感度な検出が可能になると期待できる。

第 5 章では凝集誘起型発光を利用したバイオセンサーについて述べた。第 3

章で見出したホスホールオキシドの凝集誘起型発光を利用し、糖を導入したホスホールオキシドがレクチンを検出した際に発光強度が増加する”turn-on”型の新たなレクチン検出センサーを開発した。また凝集誘起型発光を示すテトラフェニルエテン誘導体を用い、導入する糖の数を変えることで、レクチンの検出感度が向上した。今後、実際の細菌やウイルスを認識する糖鎖を凝集誘起型発光分子に導入することで、細菌やウイルスを発光により特異的に検出できるバイオセンサーへの展開が期待される。さらに、糖を導入した凝集誘起型発光分子とレクチンが相互作用した状態に他のタンパク質を加えることで、発光強度が減少する”turn-off”型のタンパク質検出センサーへと展開した。観測される消光挙動は、糖を導入した凝集誘起型発光性分子とレクチンとの親和性、またレクチンの種類によって変化し、タンパク質によって、それぞれ異なる蛍光消光パターンを示した。この技術を応用すれば、タンパク質の検出および判別が可能になると期待される。

本研究に関する論文

第2章

1. Takanobu Sanji, Kentaro Shiraishi, Taigo Kashiwabara, Masato Tanaka
“Base-Mediated Cyclization Reaction of 2-Alkynylphosphine Oxides: Synthesis and Photophysical Properties of Benzo[*b*]phosphole Oxides”
Org. Lett. 2008, 10, 2689.

第3章

2. Takanobu Sanji, Kentaro Shiraishi, Masato Tanaka
“Synthesis and Photophysical Properties of Phosphole-Cored Dendrimers”
Org. Lett. 2007, 9, 3611.
3. Kentaro Shiraishi, Takanobu Sanji, Taigo Kashiwabara, Masato Tanaka
“Aggregation-Induced Emissions of Dendritic Phosphole Oxides”
New J. Chem. 2009, 33, in press.

第4章

4. Kentaro Shiraishi, Takanobu Sanji, Masato Tanaka
“Trace Detection of Explosives with a Phosphole Oxide”
in preparation.

第 5 章

5. Takanobu Sanji, Kentaro Shiraishi, Masato Tanaka

“Sugar-Phosphole Oxide Conjugates as “Turn-On” Luminescent Sensors for Lectins”

ACS Appl. Mater. Interfaces 2009, 1, in press.

6. Kentaro Shiraishi, Takanobu Sanji, Masato Tanaka

“Fluorescence Turn-On Sensing of Lectins with Mannose-Substituted Tetraphenylethylenes Based on the Aggregation-Induced Emission Feature.”

in preparation.

7. Kentaro Shiraishi, Takanobu Sanji, Masato Tanaka

“A Displacement Assay for the Sensing of Protein Interactions Using Sugar-Tetraphenylethylene Conjugates.”

in preparation.

特許

1. 国内出願

発明者：田中 正人、三治 敬信、白石 健太郎

発明の名称：蛍光性糖誘導体化合物及びそれを用いるセンサー

国内出願番号：特願 2008-261130

出願日：平成 20 年 9 月 8 日

2. 国内出願

発明者：田中 正人、三治 敬信、白石 健太郎

発明の名称：ニトロ化合物の検出法

国内出願番号：特願 2009-406

出願日：平成 21 年 1 月 5 日

本研究に関する学会発表

1. 白石 健太郎・三治 敬信・田中 正人

ホスホールをコアとする dendritic マーの合成と光物性

日本化学会第 87 春季年会（関西大学）2007 年 3 月

2. 白石 健太郎・三治 敬信・田中 正人
ホスホールをコアとするデンドリマーの合成と光物性
無機高分子研究討論会（東京工業大学すずかけ台キャンパス）2007 年 11 月
3. 白石 健太郎・三治 敬信・田中 正人
分子内環化反応によるベンゾホスホールオキシドの合成と物性
日本化学会第 88 春季年会（立教大学）2008 年 3 月
4. 白石 健太郎・三治 敬信・田中 正人
ホスホールオキシドを用いた爆薬検出センサー
日本化学会第 89 春季年会（日本大学船橋キャンパス）2009 年 3 月
5. 白石 健太郎・三治 敬信・田中 正人
ホスホールオキシドを用いたレクチン検出センサー
日本化学会第 89 春季年会（日本大学船橋キャンパス）2009 年 3 月

謝辞

本研究を行うにあたり、懇切丁寧なご指導ご鞭撻をいただきました本学資源化学研究所 田中正人教授に心より深く感謝いたします。

本研究に関して丁寧なご指導、貴重なご助言をいただきました本学資源化学研究所 三治敬信特任准教授に心より深く感謝いたします。

事務手続き等の面で支えてくださった田中研究室秘書 山田雅子さんに感謝いたします。

元素分析、質量分析の測定をお願いいたしました本学技術部分析支援センターの石川薫代さん、小泉公人さん、大竹里美さん、米山和子さんに感謝いたします。

実験に関し並々ならぬご協力をいただき、また日常生活においても大いに支えていただいた田中研究室の先輩の今井拓郎氏、同期の柏原泰吾君、加藤野歩君、後輩の金田純君、佐藤裕文君、卒業生の神澤智史君、布施耕一郎君、小畑知弘君、佐藤優太君、田村祐介君、星野貴子さんに深く感謝いたします。

博士課程進学に関して、親身になって相談に乗ってくださいました東邦大学 岩村道子名誉教授ならびに市村國宏特任教授に心より深く感謝いたします。

最後に、長い学生生活を経済面、精神面で支えてくださいました家族に心より深く感謝いたします。