

論文 / 著書情報
Article / Book Information

| | |
|-------------------|---|
| 題目(和文) | 光線力学治療を指向したスピン軌道電荷移動型光増感剤の開発 |
| Title(English) | |
| 著者(和文) | 津賀雄輝 |
| Author(English) | Yuki Tsuga |
| 出典(和文) | 学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11397号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:湯浅 英哉,中村 浩之,小倉 俊一郎,清尾 康志,大窪 章寛 |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11397号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,, |
| 学位種別(和文) | 博士論文 |
| Type(English) | Doctoral Thesis |

博士論文

光線力学治療を指向した
スピン軌道電荷移動型光増感剤の開発

指導教員 湯浅 英哉 教授

東京工業大学生命理工学院

生命理工学系 生命理工学コース

津賀 雄輝

目次

| | |
|------------------------------------|--------|
| 第一章 序論 | 1~21 |
| 第一節 緒言 | 2 |
| 第二節 癌の光線力学治療と光増感剤 | 4 |
| 第三節 光増感機構 | 6 |
| 第四節 項間交差促進機構 | 8 |
| 第一項 重原子効果 | 8 |
| 第二項 El-sayed 則 | 9 |
| 第三項 スピン軌道電荷移動 | 10 |
| 第四項 ラジカルペア機構 | 13 |
| 第五節 既存の光増感剤の課題 | 15 |
| 第六節 本博士論文における研究の構想 | 19 |
| 第二章 ビフェニル光増感剤の合成と光物性評価 | 22~68 |
| 第一節 緒言 | 23 |
| 第二節 ビフェニル光増感剤の合成 | 28 |
| 第三節 光吸収特性 | 31 |
| 第四節 一重項酸素生成能 | 44 |
| 第五節 蛍光 | 52 |
| 第六節 過渡吸収 | 59 |
| 第七節 二光子励起による一重項酸素生成 | 64 |
| 第八節 光安定性 | 66 |
| 第九節 まとめ | 67 |
| 第三章 ビフェニル光増感剤の光増感機構の検討 | 69~83 |
| 第一節 緒言 | 70 |
| 第二節 ラジカルペア機構の検討 | 72 |
| 第三節 結合の回転を伴うスピン軌道電荷移動の検討 | 77 |
| 第四節 まとめ | 83 |
| 第四章 糖修飾ビフェニル光増感剤による光線力学治療を指向した細胞実験 | 84~101 |
| 第一節 緒言 | 85 |
| 第二節 糖修飾ビフェニル光増感剤の設計・合成 | 91 |

| | | |
|-----|------------------------------|---------|
| 第三節 | 糖修飾ビフェニル光増感剤の光物性評価 | 95 |
| 第四節 | 糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞取り込み実験 | 98 |
| 第五節 | 糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞への光線力学治療効果検証 | 100 |
| 第六節 | まとめ | 101 |
| 第五章 | 総括 | 102~106 |
| | 実験項 | 107~136 |
| | 参考文献 | 137~143 |
| | 論文および学会発表目録 | 144 |
| | 謝辞 | 145 |

略語表

| | |
|---|---------------------|
| PDT: Photodynamic therapy | (光線力学治療) |
| $^3\text{O}_2$: Triplet oxygen | (三重項酸素) |
| $^1\text{O}_2$: Singlet oxygen | (一重項酸素) |
| ALA: 5-Aminolevulinic acid | (5-アミノレブリン酸) |
| PPIX: Protoporphyrin IX | (プロトポルフィリン IX) |
| S_0 : Ground state | (基底状態) |
| S_n : Excited singlet state | (励起一重項状態) |
| T_n : Excited triplet state | (励起三重項状態) |
| TTA: Triplet-triplet annihilation | (三重項-三重項消滅) |
| HOMO: Highest occupied molecular orbital | (最高被占分子軌道) |
| LUMO: Lowest unoccupied molecular orbital | (最低空分子軌道) |
| SOC: Spin-orbit coupling | (スピン軌道相互作用) |
| RP: Radical pair | (ラジカルペア) |
| SOCT: Spin-orbit charge transfer | (スピン軌道電荷移動) |
| BODIPY: Boron-dipyrromethene | (ボロンジピロメテン) |
| PET: Photo-induced electron transfer | (光誘起電子移動) |
| CT: Charge transfer | (電荷移動) |
| ICT: Intramolecular charge transfer | (分子内電荷移動) |
| LE: Local excitation | (局所励起) |
| D: Electron donor | (電子ドナー) |
| A: Electron acceptor | (電子アクセプター) |
| HFC: Hyperfine coupling | (超微差相互作用) |
| GLUT: Glucose transporter | (グルコース輸送体) |
| PICT: Planar intramolecular charge transfer | (平面分子内電荷移動) |
| TICT: Twisted intramolecular charge transfer | (ねじれ分子内電荷移動) |
| TPCPD: Tetraphenylcyclopentadienone | (テトラフェニルシクロペンタジエノン) |
| DPBF: 1,3-Diphenylisobenzofuran | (1,3-ジフェニルイソベンゾフラン) |
| DFT: Density-functional theory | (密度汎関数法) |
| TDDFT: Time-dependent density-functional theory | (時間依存密度汎関数法) |
| ND: Not detected | |
| NA: Not applicable | |
| FMN: Flavin mononucleotide | (フラビンモノヌクレオチド) |
| EPR: Enhanced permeability and retention | |
| ADC: Antibody-drug conjugate | (抗体-薬物複合体) |

CD44: Cluster of differentiation-44

PBS: Phosphate buffered salts (リン酸緩衝生理食塩水)

DMEM: Dulbecco's modified Eagle's medium (ダルベッコ改変イーグル培地)

CytoB: Cytochalasin B (サイトカラシンB)

MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

NMR: Nuclear magnetic resonance (核磁気共鳴)

TLC: Thin-layer chromatography (薄層クロマトグラフィー)

UV: Ultra violet (紫外線)

DMF: N,N-dimethylformamide (ジメチルホルムアミド)

DMSO: Dimethyl sulfoxide (ジメチルスルホキシド)

第一章 序論

第一節 緒言

癌の光線力学治療(Photodynamic therapy, PDT)¹⁻⁷は1979年にアメリカで実用化され、現在では約10種類のPDT用光増感剤が上市されている⁸。PDTでは、癌細胞内に活性酸素を生成させるために光増感剤と呼ばれる光感受性分子が用いられる。これまでの光増感剤の課題を挙げる。

1) 分子サイズが比較的大きく⁹⁻¹²、癌細胞に過剰発現するチャネルタンパク質などを通り抜けることが困難であり、これらを標的として癌選択デリバリーができない可能性が高い。

2) 組織深達性の高い近赤外光(800~1100 nm)で光増感できるような光増感剤によるPDTの実用化がなされておらず⁸、組織深部の癌を治療することが困難である。

3) 分子量が比較的大きく⁹⁻¹²、肝臓などによるクリアランスが比較的遅いため、血中滞在時間が長く光線過敏症^{13,14}のリスクが大きい。

4) 分子量が500より大きいため経口投与できない。リピンスキーの法則^{15,16}によれば経口投与できる薬剤の条件は分子量が500以下であり、実用化されている光増感剤は分子量が500を超えている⁸。

本研究では上記課題の1)、2)に焦点を絞り、これらを解決できる小さい光増感剤の開発を目的とした。小さい光増感剤の設計にあたっては、本研究室で発見されたイソフタル酸結晶の燐光発光における、電荷移動を経るラジカルペア機構¹⁷⁻¹⁹に着目した。本研究ではこの電荷移動を経て励起三重項を生成するメカニズムを用いて小さい光増感剤を開発できないか検証した。ラジカルペア機構を可能にする分子として、ベンゼン環が二個結合したビフェニルに着目し、種々のビフェニル誘導体を合成・光物性評価し、新たな分子設計指針の確立に伴う小さい光増感剤の開発を行った。さらにこの小さい光増感剤を用いて、癌細胞で過剰発現するグルコース輸送体²⁰⁻²³を通過でき、その結果癌選択的となり得るPDTを目標とした。このような小さい光増感剤は上記課題3)、4)の解決にもつながる。本研究においてビフェニル誘導体の光物性評価などを種々検討した結果、**図 1-1a**のように小分子ながら一重項酸素生成効率93%を持つ優れたビフェニル光増感剤を発見し、その光増感機構として回転型スピン軌道電荷移動を経る独自の機構を提唱するに至った。現在臨床で使用されている光増感剤レザフィリン[®]の分子サイズ(1.7×1.0 nm)と比較して、ビフェニル光増感剤は分子サイズが0.5×1.0 nmと小さく、孔径が0.4~0.8 nm²³であるグルコース輸送体を通過し得る。実際に、本研究で癌細胞選択的PDTを指向して合成したグルコース修飾ビフェニル光増感剤は、グルコース輸送体を介して癌細胞に取り込まれ、かつレーザー照射による癌細胞へのダメージすなわちPDT効果を示した(**図 1-1b**)。さらに**図 1-1a**のビフェニル光増感剤は近赤外光レ

レーザーにより二光子励起で光増感させることができたため、組織深部癌の PDT への応用が期待される。

第一章序論では、第二節で PDT と光増感剤について、第三節で光増感機構について、第四節で光増感に必要な項間交差を促進させる機構について、第五節で、既存の光増感剤の課題について、第六節でその課題解決に向けた本論文における研究の構想について詳細に述べる。

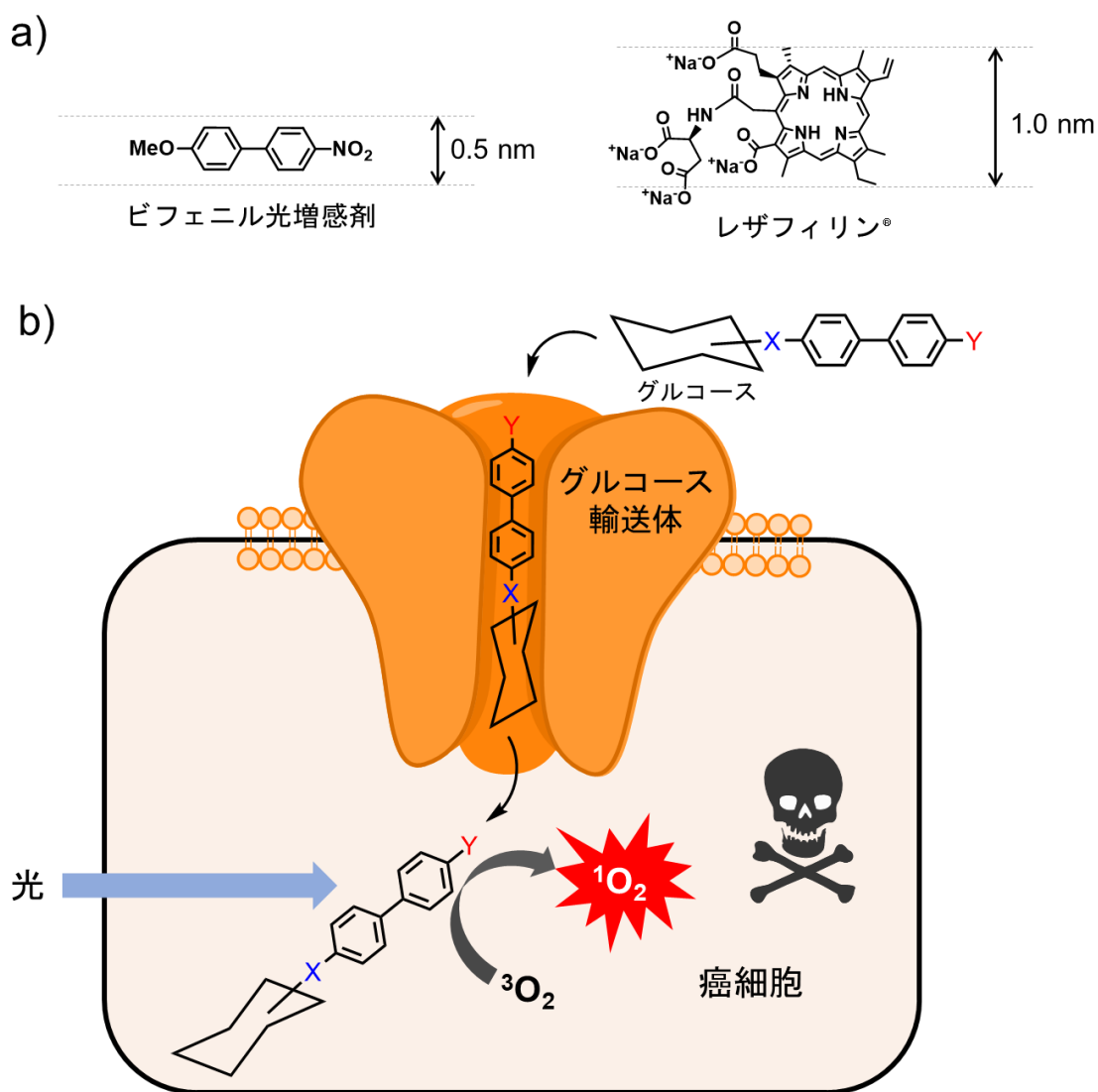


図 1-1. a) 本研究で開発したビフェニル光増感剤と従来の光増感剤レザフィリンの分子サイズの比較。b) 本研究が目的とするグルコース輸送体を介した癌選択 PDT の概要(X: 電子供与性基、Y: 電子吸引性基)。

第二節 癌の光線力学治療と光増感剤

癌は国内死因第一位の疾患であり²⁴、治療法の研究開発は医学における重大なテーマの一つである。近年、癌の治療法として光線力学治療（PDT）が研究されている。PDTは生体に対する危険性の低い光と光増感剤のみで癌細胞を殺傷することができるため癌の三大治療法（外科手術・抗がん剤治療・放射線治療）に比べ、より低侵襲的な治療法となり得る²。図 1-2 に PDT の概略図を記す。PDT では癌細胞に光増感剤を蓄積させ、外部から光を照射して光増感剤を励起する。励起された光増感剤が癌細胞内にある三重項酸素（ $^3\text{O}_2$ ）を活性酸素の一つである一重項酸素（ $^1\text{O}_2$ ）に変換する。この $^1\text{O}_2$ の細胞毒性によって癌細胞を死滅させるのが PDT である。

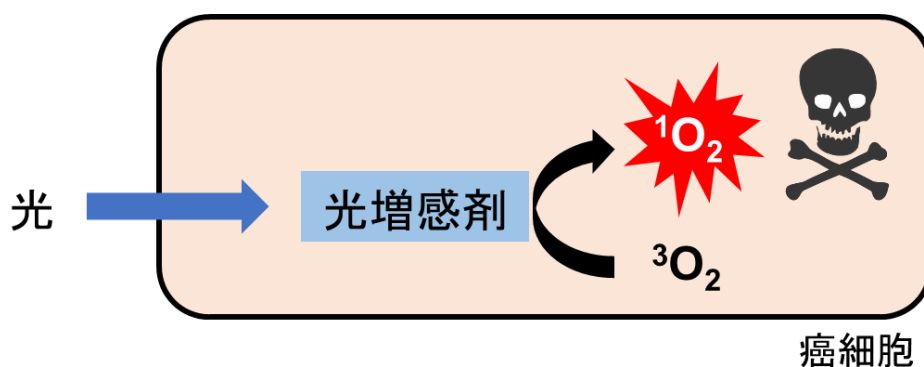


図 1-2. PDT の概要。

PDT による癌治療が最初に行われたのは 1979 年のアメリカで、Dougherty らが光増感剤としてヘマトポルフィリン誘導体を用いて乳癌の皮膚転移に対する治療を行った²⁵。それ以来、数々の PDT の研究がなされている。第一世代の光増感剤として知られるフォトフリン[®]（日本ワイスレダリー（株）、図 1-3a）は 1994 年に日本で保険適用として認可され、早期肺癌や早期胃癌、早期食道癌に対しての治療効果を挙げている²⁶。さらに 2003 年には第二世代の光増感剤として知られるレザフィリン[®]（Meiji seika ファルマ（株）、図 1-3b）が早期肺癌に対する治療で保険適用されている²⁶。レザフィリンはフォトフリンに比べ体内からの排泄速度が速く、PDT の副作用として問題となる光線過敏症が軽減できる（光線過敏症とは治療後、正常組織に残った光増感剤が太陽光や室内灯の光によって励起されて $^1\text{O}_2$ を生成し正常組織を傷つけること）。しかし、レザフィリンを用いた PDT でも、治療後約一週間は遮光が必要となり、副作用の問題が完全に解決されたとは言えない状況である。第三世代の光増感剤としては、5-アミノレブリン酸（5-Aminolevulinic acid, ALA）が挙げられる²⁷⁻²⁹（図 1-3c）。ALA は天然の内在性アミノ酸であり、細胞内でプロトポルフィリン IX（Protoporphyrin IX, PPIX）、次いでヘムに代謝される。しかし癌細胞に対して過剰の ALA が投与されるとヘムの前段階の PPIX

が蓄積する。癌細胞では ALA を取り込むペプチドトランスポーター1 (peptide transporter 1, PEPT1) が過剰発現しており、正常細胞よりも多量の ALA が取り込まれる。また癌細胞では PPIX をへムに代謝する酵素フェロキラーゼの活性と、PPIX をミトコンドリアおよび細胞の外に排出する ABC トランスポーター (ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2) の発現が抑制されている^{30,31}。その結果、癌細胞には PPIX が選択的に蓄積する。PPIX は光増感能を持つため、ALA を使うことで癌選択的な PDT が可能である。ALA 自体は光増感能を持たず、細胞に取り込まれなかった ALA は 24 時間以内に腎排泄されるため、光線過敏症はほとんど問題にならないとされる²⁷。しかし、PPIX は近赤外光で増感することはできないため、深部組織にある癌細胞への適用が困難である。

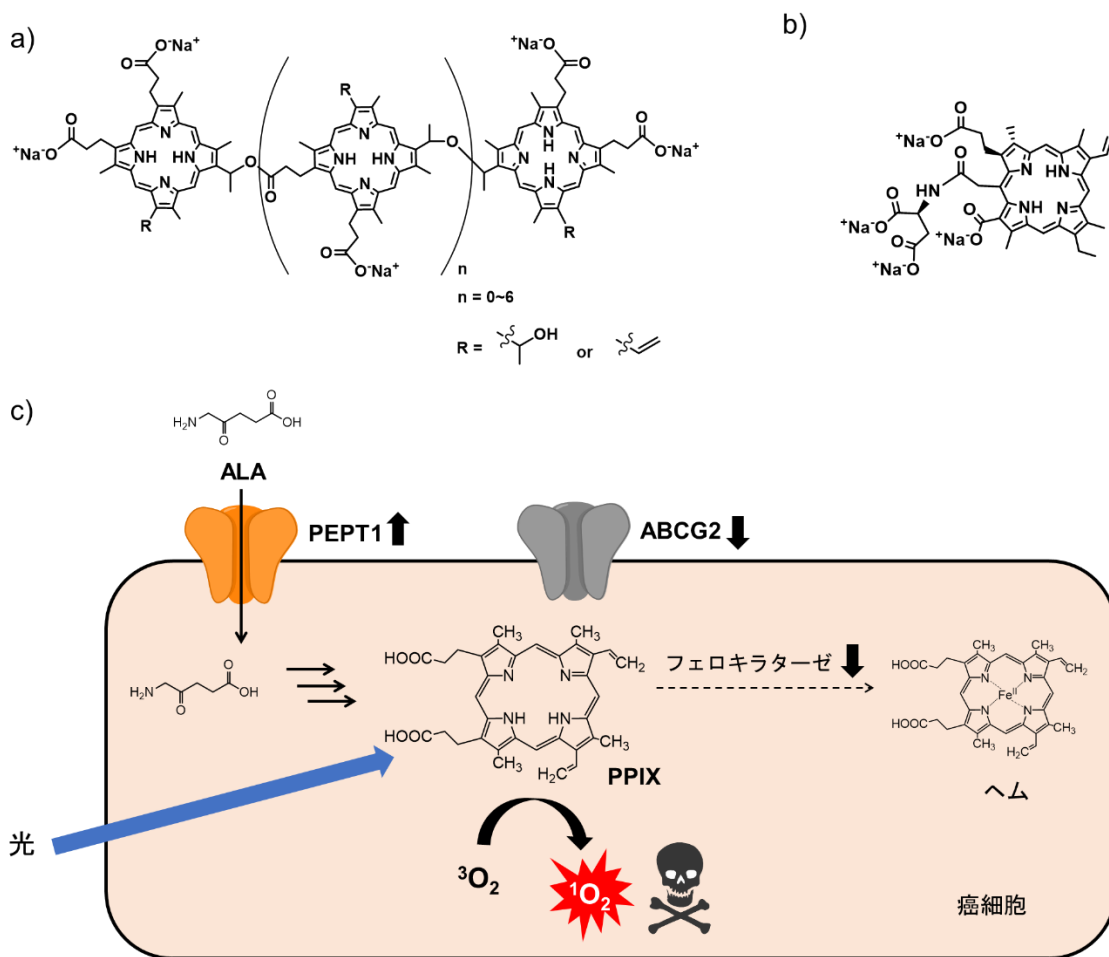


図 1-3. a) フォトフリン®の構造、b) レザフィリン®の構造、c) ALA を用いた PDT の概要。

第三節 光増感機構

一般的な光増感剤の光増感機構は Jablonski 図を用いて、**図 1-4** のように説明される³²。基底状態 (S_0) の光増感剤は光を吸収すると励起一重項状態 (S_n) に遷移し、振動緩和、内部変換を経て最低励起一重項 (S_1) になる。その後、項間交差を起こし励起三重項状態 (T_n または T_1) になる。長寿命の T_1 分子と基底状態である 3O_2 の間で三重項-三重項消滅 (triplet-triplet annihilation, TTA) 機構により電子交換が起こり、 1O_2 が生成され、 T_1 分子は S_0 に戻る。 S_0 では最高被占分子軌道 (highest occupied molecular orbital, HOMO) に二個の電子のスピンが反対向きに存在する。 S_1 では電子が一個励起されるが、2つのスピンはそのまま反対向きに存在する。 T_1 では S_1 と電子配置は同じだが、2つのスピンは同じ向きになる。光増感ルート以外に代表的な電子遷移として S_1 から発光でエネルギーを放射する蛍光、発光を伴わず分子振動 (熱) でエネルギーを放射する内部変換、 T_1 から発光を伴い S_0 に遷移する燐光などが挙げられる。蛍光および燐光の効率は量子収率 Φ_F および Φ_P で表され、量子収率の定義は式 1 で表される。また、 T_1 生成量子収率 Φ_{ISC} は式 2、光増感 (1O_2 生成) 量子収率 Φ_Δ は式 3 のように表される。

$$\Phi_{F,P} = \frac{\text{発光過程で放出された光子の数}}{\text{分子に吸収された光子の数}} \dots (1)$$

$$\Phi_{ISC} = \frac{\text{生成した } T_1 \text{ の数}}{\text{分子に吸収された光子の数}} \dots (2)$$

$$\Phi_\Delta = \frac{\text{生成した } ^1O_2 \text{ の数}}{\text{分子に吸収された光子の数}} \dots (3)$$

光増感において、 3O_2 と 1O_2 はスピン多重度が異なるため、 3O_2 を直接光励起して 1O_2 を生成させることは量子禁制のため困難であり、光増感剤を用いて間接的に生成させる方が効率的である。光増感剤の S_1 と T_1 もスピン多重度が異なり、このようなスピン反転を伴う項間交差は量子禁制である。光増感剤を分子設計するためには量子禁制である項間交差をいかに効率良く起こさせるかが重要である。

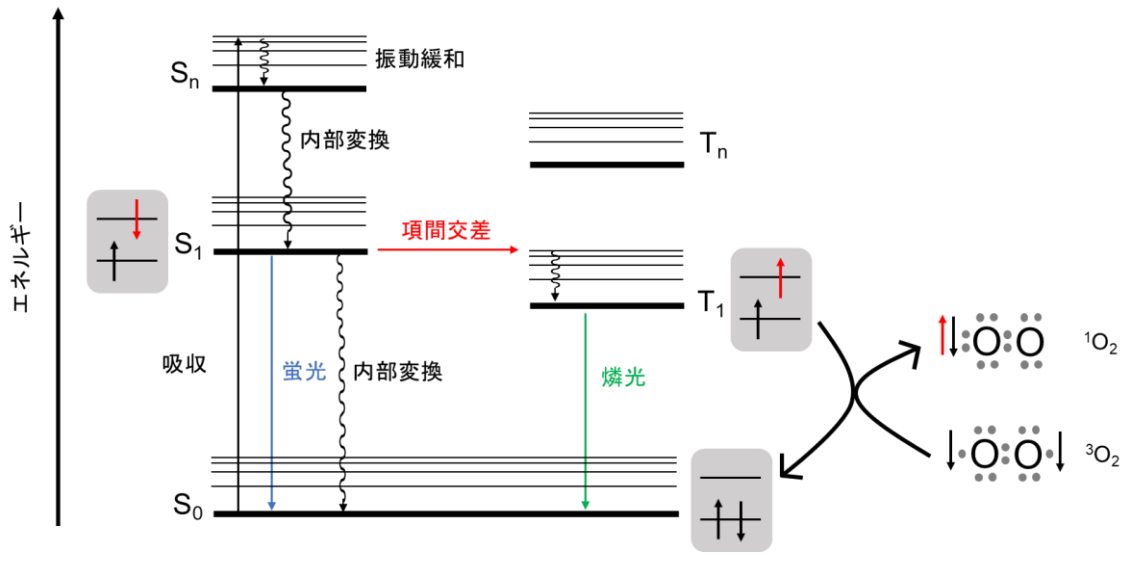


図 1-4. 蛍光、燐光および光増感における Jablonski 図

第四節 項間交差促進機構

前節で述べたように光増感剤を設計するには禁制遷移である項間交差を起こさせる必要がある。項間交差の速度は S_n と T_n の共鳴積分の 2 乗に比例し、 S_n と T_n のエネルギー差 (ΔE_{ST}) の 2 乗に反比例する³²。項間交差を許容にする一般的機構には共鳴積分が大きくなるスピン軌道相互作用 (spin-orbit coupling, SOC)³² と ΔE_{ST} が小さくなるラジカルペア (radical pair, RP) 機構³³⁻³⁶ がある。SOC としては重原子効果³²、El-sayed 則³²、スピン軌道電荷移動 (spin-orbit charge transfer, SOCT)³⁷⁻⁴² などが知られている。以下に重原子効果、El-sayed 則、SOCT、RP 機構について詳しく説明する。

まず SOC について概説する (図 1-5)。電子は電荷を持ち、スピン (自転) するためスピン磁場が生じる。一方で、電子は原子核のまわりを公転しており (図 1-5 左)、電子から見ると原子核が電子の周りを公転しているとみなせ (図 1-5 右)、この公転運動によって生じる円電流によって軌道磁場が生じる。電子の自転によるスピン磁場と公転による軌道磁場の相互作用が SOC である。

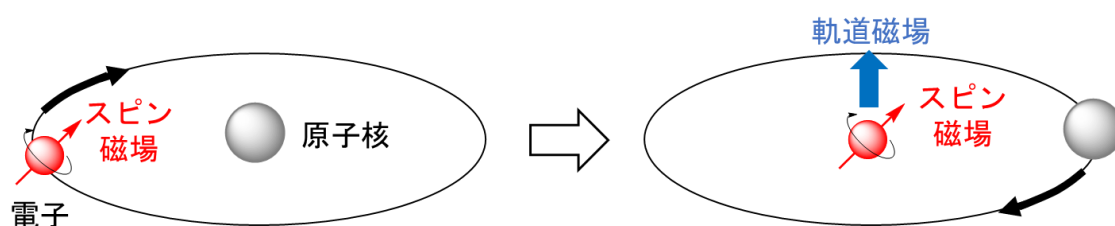


図 1-5. SOC の概念図。

第一項 重原子効果

重原子効果³²では、分子に重原子を導入するだけで項間交差を促進できる。図 1-6a に重原子効果による項間交差促進機構の概要を記す。 S_1 では 2 つの軌道に電子が一個ずつ反対向きに収容されているが、内側にある電子は外側にある電子よりも原子核からの遮蔽が弱く、原子核の周りを公転することによって受けるみかけの軌道磁場が相対的に大きくなる (図 1-6a 左)。すると二つの電子が異なる磁場環境におかれ、それぞれが異なる角速度でラーモア歳差運動を行い、電子スピンの向きが横磁場方向に揃う瞬間が生じるつまり、 T_1 が生成する (図 1-6a 右)。原子核が大きいほど、二つの電子が受けるみかけの磁場の差は大きくなり、項間交差の効率が上がる。重原子効果により項間交差を起こす化合物としては金属元素を持つ有機金属錯体の亜鉛フタロシアニン ($\Phi_A = 0.49$)⁴³、色素分子にハロゲン原子が導入されたローズベンガル ($\Phi_A = 0.47$)⁴⁴、ヨウ素化ボロンジピロメテン (boron-dipyrromethene, BODIPY; $\Phi_A = 0.79$)⁴⁵ などが知られている (図 1-6b)。

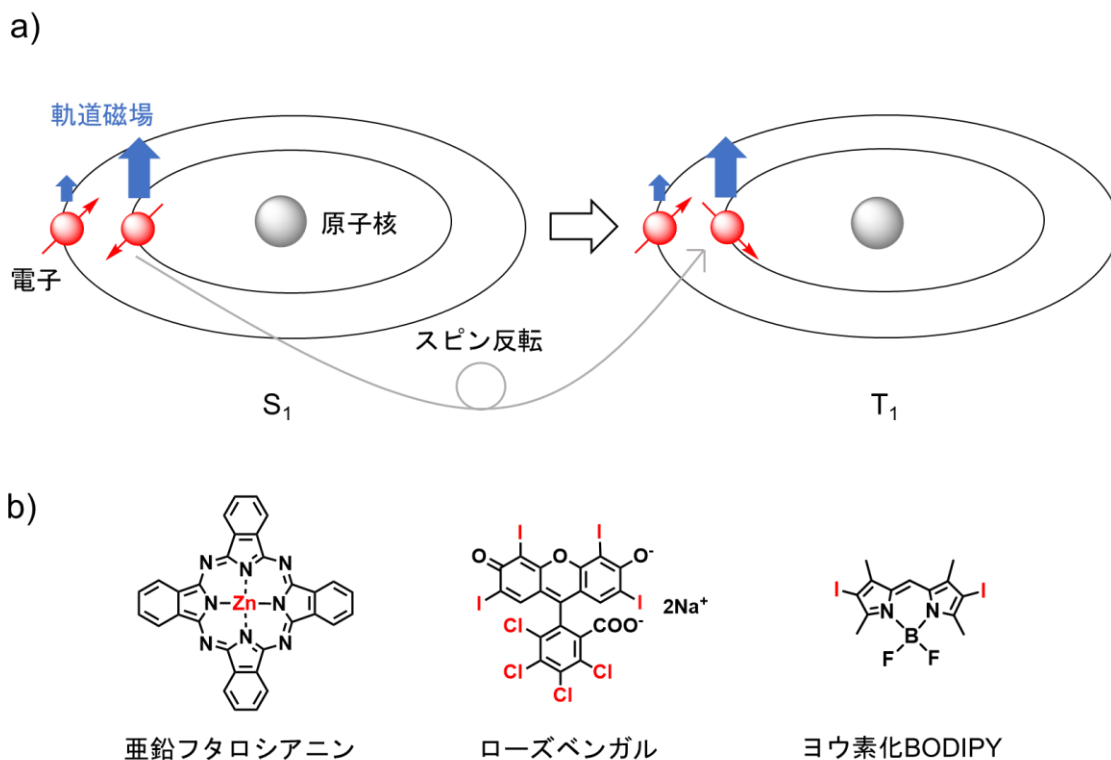


図 1-6. a) 重原子効果による項間交差（スピン反転）促進機構。b) 重原子効果により項間交差を起こす化合物の例（重原子は赤字でハイライト）。

第二項 El-sayed 則

El-sayed 則は、カルボニル基の π 軌道と直交する n 軌道の電子遷移の際に項間交差が起こりやすいことを説明する（図 1-7）。例えば、ベンゾフェノン π - π^* 吸収で $S_2(\pi, \pi^*)$ に遷移した後、内部変換で $S_1(n, \pi^*)$ になる。そして $S_1(n, \pi^*)$ から $T_2(\pi, \pi^*)$ への項間交差が量子収率 $\Phi_{ISC} = 1^{46}$ で効率よく起こる（図 1-7a）。電子遷移前後ではスピン角運動量と軌道角運動量を合成した全角運動量は保存されなければならないため、直交する軌道間の電子遷移では、全角運動量を保存するように電子スピンの反転（図 1-7b）。いっぽう、ベンゾフェノンの 1O_2 生成効率 Φ_{Δ} は 0.37⁴⁷ に過ぎない。ベンゾフェノンの T_1 は溶媒分子などの水素引き抜き反応を起こすことが知られており^{48,49}、これが Φ_{Δ} を低下させる原因と考えられる。

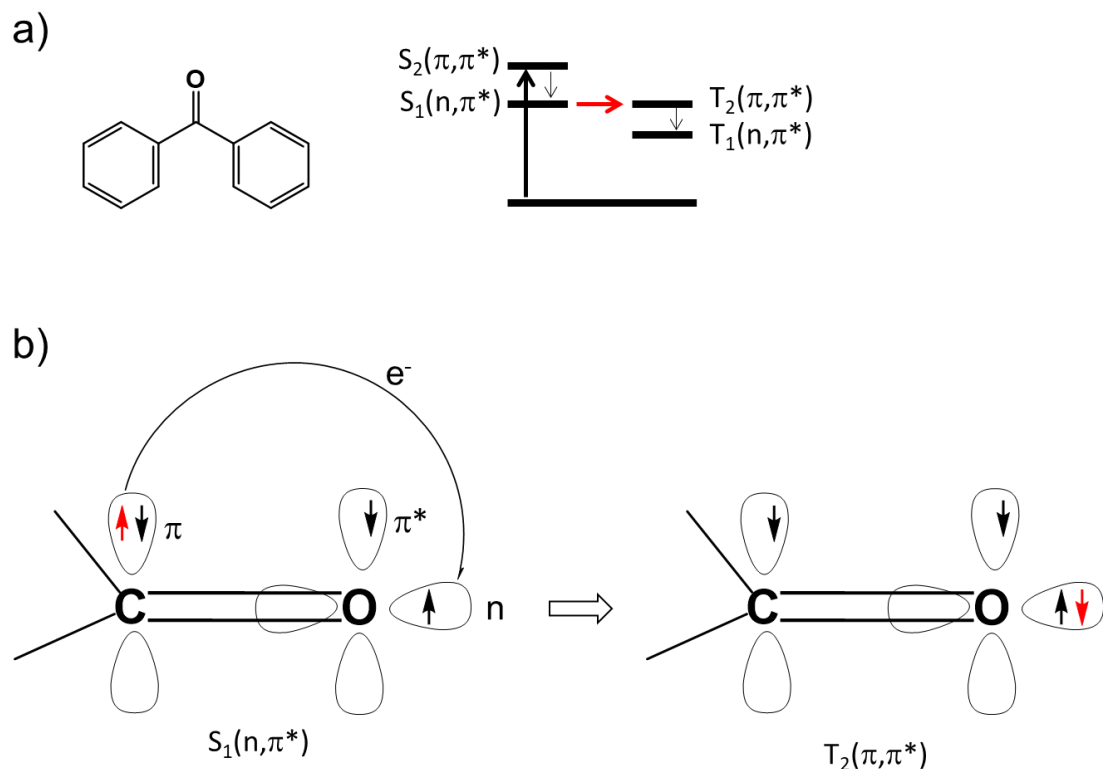


図 1-7. a) ベンゾフェノン構造とエネルギー準位。b) El-sayed 則による $S_1(n, \pi^*)$ から $T_2(\pi, \pi^*)$ への項間交差。

第三項 スピン軌道電荷移動

カルボニル基において直交する n 軌道と π^* 軌道の間での遷移で電子スピンの反転する El-sayed 則を、直交する π 軌道間での電子遷移に拡張したのがスピン軌道電荷移動 (SOCT) である (図 1-8)³⁷⁻⁴²。分子が電子供与性を持つドナー D と電子受容性を持つアクセプター A で構成される場合、光を吸収すると光誘起電子移動 (photo-induced electron transfer, PET)^{50, 51} または電荷移動 (charge transfer, CT) 吸収⁵²⁻⁵⁴ により電荷が D^+ と A^- に分離した一重項 CT 励起状態 (1CT) になる (図 1-8a)。 1CT の生成ルートは 3 通り考えられる。すなわち、D の局所励起 (local excitation, LE) で励起一重項 ($^1D^*$) が生成した後、励起された電子が PET により A に移動するルート x、A の LE で $^1A^*$ が生成した後、D の電子 1 個が PET により A に移動するルート y、D の電子 1 個が CT 吸収により A に移動するルート z である。 D^+ と A^- が直交する場合、 1CT から電荷再結合により A^- から D^+ に電子が移動する際に全角運動量保存のために電子スピンの反転し T_1 が生成する (図 1-8b)。図 1-8b において、図左の 1CT での全角運動量 (スピン磁場と軌道磁場のベクトルの合成) と図右の T_1 での全角運動量は、A の軌道から D の軌道への遷移の際に電子スピンの反転することで保存されていることがわかる。これが SOCT による項間交差促進機構である。近年 SOCT により項間交差を可能とする化合物として、

図 1-8c に示すような化合物 (1-1~1-4) が見出されている。1-1 は D として BODIPY、A として *N*-メチルピリジンを持ち、ルート x により ^1CT を生成する化合物で $\phi_{\text{isc}} = 0.75$ と高い項間交差能を持つ⁵⁵。1-2 (D はアントラセン、A は BODIPY) と 1-3 (D はフェノチアジン、A はペリレン) はルート y を通り、 $^1\text{O}_2$ 生成の量子収率 ϕ_{Δ} はそれぞれ 0.67⁵⁶ と 0.60⁵⁷ である。1-4 (D はアントラセン、A はジュロリジン) は CT 吸収で ^1CT を生成するルート z で T_1 を生成し ϕ_{isc} は 0.45 であるが、励起光には高出力レーザーによる強い光が必要である³⁷。上記の例はいずれも基底状態で D と A がほぼ直交しており CT 吸収は起こりにくいと考えられる。CT 吸収は基底状態で D と A が平面に近い方が好ましいはずであるが^{58, 59}、その場合、SOCT による項間交差の効率が低下してしまうと考えられる。

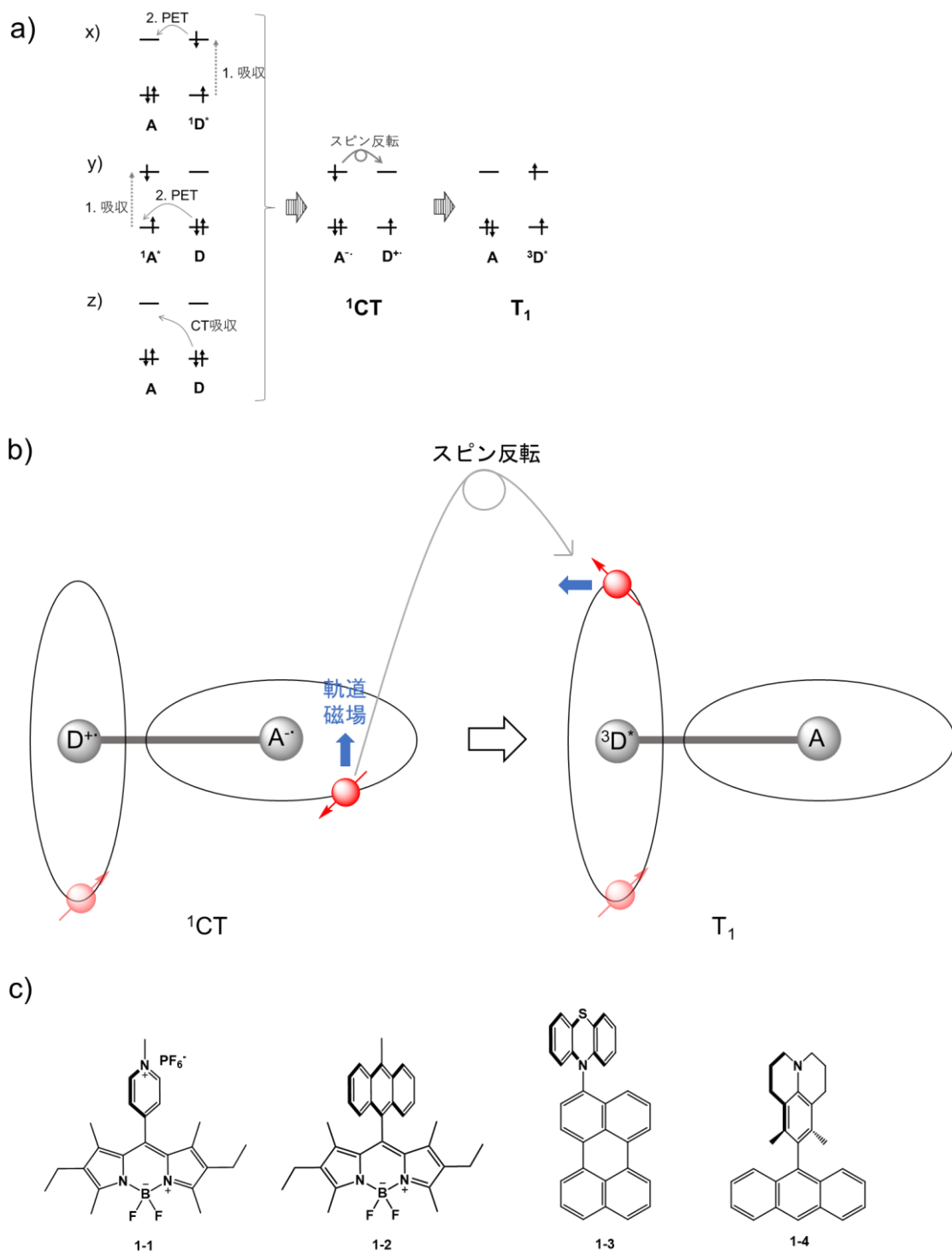


図 1-8. a) D と A で構成される化合物の光吸収による 1CT 生成ルート。b) SOCT による項間交差 (スピン反転) 促進機構。c) SOCT により項間交差を起こす化合物の例。

第四項 ラジカルペア機構

電子は負電荷を持ちスピン（自転運動）するため電子スピン磁場を持つが、原子核も同様に核スピン磁場を生じ得る。この核スピン磁場は電子スピンの影響を与え超微細相互作用（hyperfine coupling, HFC）を生じる。電子ドナーDと電子アクセプターAを含む化合物においてDとAの距離が十分に離れている場合、電荷移動によって生じるラジカルカチオン D^+ とラジカルアニオン A^- の電子間相互作用は無視でき、それぞれの電子スピンは独立したラーモア歳差運動をする。 D^+ と A^- それぞれの電子スピンは核からの距離が異なるため、感じるHFCの程度、つまり核から受けるスピン磁場の大きさも異なる。ラーモア歳差運動の速さは外部磁場の大きさに比例するため、遮蔽度のより小さい D^+ のラーモア歳差運動は A^- のものより大きくなり、やがてスピンの向きが横磁化方向に揃う瞬間が生じる、つまりスピンの向きが平行な三重項状態が生成する（図1-9a）。これがRP機構による項間交差促進機構である。RP機構により項間交差を起こす化合物の例として、当研究室が発見したイソフタル酸結晶の例を紹介する¹⁷。イソフタル酸結晶に光を照射すると、結晶内の二分子のイソフタル酸がそれぞれDとAとして働き、分子間CT錯体が形成される。励起子移動により D^+ と A^- の距離は十分に離れることが出来るため、RP機構により項間交差を起こし、室温で長寿命の燐光を発する（図1-9b）。

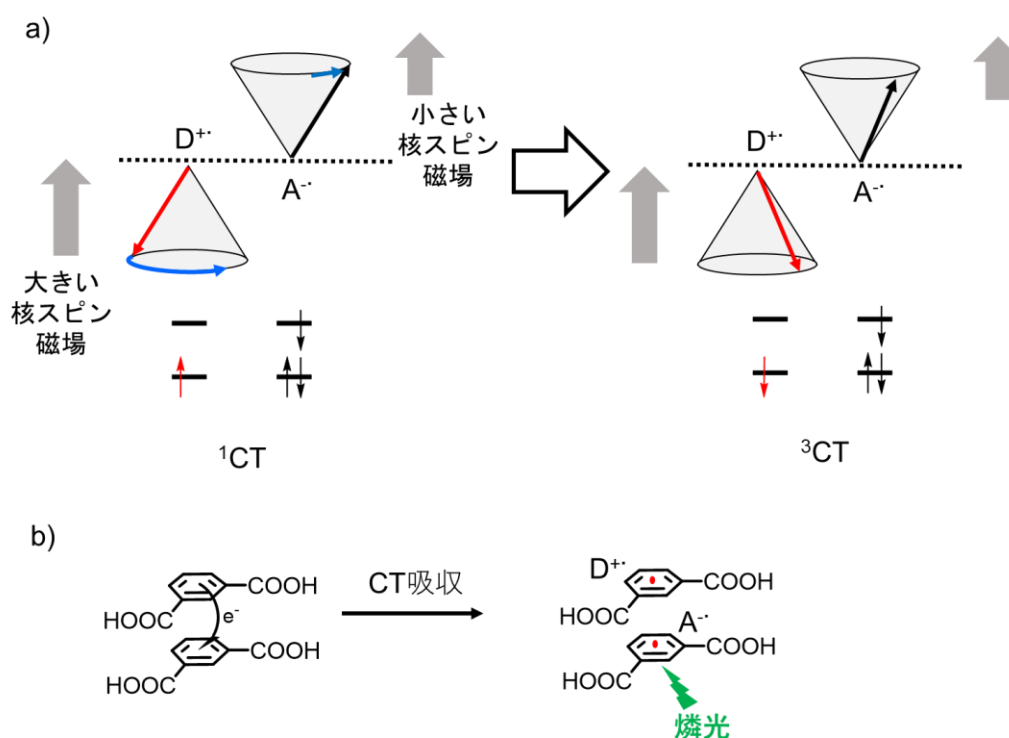


図1-9. a) RP機構による項間交差促進機構。b) イソフタル酸結晶の分子間CT吸収によるCT錯体形成、燐光発光の概略図。

以上、本節ではこれまでに知られているいくつかの項間交差機構について説明した。光増感剤を設計・開発する上で項間交差は不可欠であり、上記機構は光増感剤の分子設計の指針となる。

第五節 既存の光増感剤の課題

フォトフリンやレザフィリンなどのポルフィリン系光増感剤 (図 1-3) は既に PDT で実用化されている。しかし、ポルフィリン系光増感剤の PDT への応用においては以下の問題点が挙げられる。

- i) 分子サイズが比較的大きいため⁹⁻¹²、癌細胞に特異的に発現するチャンネルタンパク質などを通り抜けることが困難であり、これらを標的とした癌細胞選択的デリバリーができない可能性が高い。
- ii) 分子量が比較的大きく、肝臓などによるクリアランスが比較的遅いため、血中滞在時間が長く光線過敏症^{13,14}のリスクが大きい。
- iii) 分子量が 500 より大きいため経口投与できない。
- iv) ポルフィリン系増感剤はその光増感機構が解明されておらず⁶⁰、ポルフィリン骨格を基にした新たな光増感剤の分子設計指針を見いだせない。

本研究では、i) の問題点に焦点を絞り、チャンネルタンパク質としてグルコース輸送体 (GLUT) に着目し、癌細胞選択的にデリバリー可能な光増感剤の開発を目指す。正常細胞では、エネルギー産生のために取り込まれたグルコースは好氣的条件下、解糖系→クエン酸回路→電子伝達系で代謝され、グルコース 1 分子から最大 36 分子のアデノシン三リン酸 (ATP) を生成する。一方、癌細胞は嫌氣的条件下の解糖系で ATP を生成するが、グルコース 1 分子から 2 分子の ATP しか得られないため、癌細胞は過剰増殖のために大量のグルコースを取り込む必要がある (Warburg 効果)⁶¹。そのために癌細胞では正常細胞よりもグルコースを取り込む輸送体 GLUT の発現量が多い⁶²⁻⁶⁴。GLUT の孔径は 0.4-0.8 nm であるが²³、板状のポルフィリン骨格は一辺の長さが約 1.0 nm なので GLUT を通り抜けることは困難と予想される。いっぽう、癌細胞選択的に取り込まれるようなグルコース修飾プラチナ抗癌剤 (Glc-6Pt)^{22,65}や細胞のグルコース取り込み量を定量する蛍光色素 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2-deoxy-D-glucose (2-NBDG)⁶⁶、光増感剤 Pyropheophorbide 2-Deoxyglucosamide (Pyro-2DG)⁶⁷が報告されており、これらの分子は GLUT の通り抜けが可能であると判断される (図 1-10)。さらに、Pyro-2DG については PDT 効果が認められている。Pyro-2DG のようなポルフィリン化合物が GLUT を通り抜けることは、GLUT のチャンネル孔の大きさと比較すると解釈が困難である。いっぽう、当研究室では増感剤の一種であるピレンをグルコースに結合させた化合物 (図 1-11) が癌細胞の GLUT を通過できないことを確認しており⁶⁸、0.8 nm 程度の幅を持つ分子は GLUT を通り抜けることが困難であり、より小さな増感剤の開発の動機付けとなる。

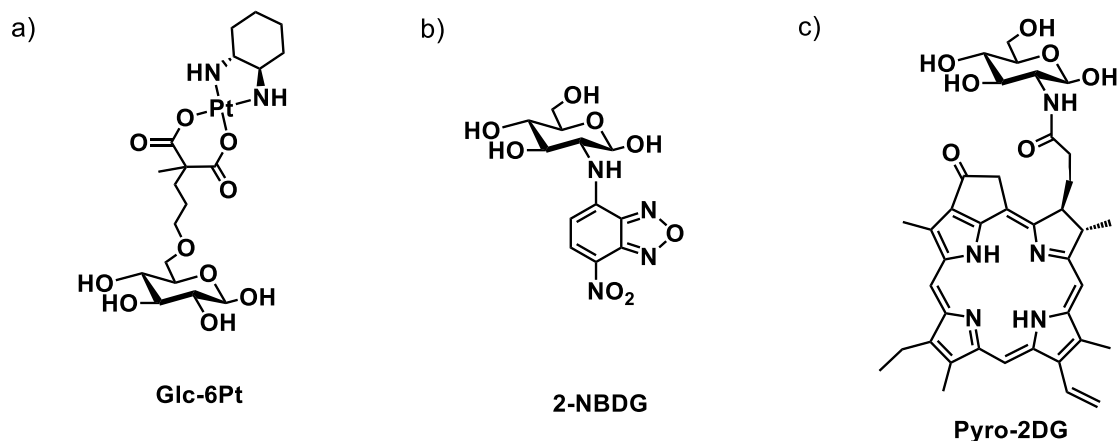


図 1-10. GLUT を標的としたグルコース修飾分子の例。a) グルコース修飾プラチナ抗癌剤 (Glc-6Pt) の構造、b) グルコース修飾蛍光色素 (2-NBDG) の構造。c) グルコース修飾ポルフィリン系光増感剤 (Pyro-2DG) の構造。

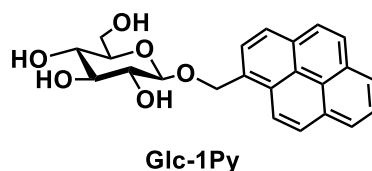


図 1-11. GLUT を通過できないグルコース修飾ピレン増感剤 (Glc-1Py) の構造。

重原子効果により光増感能を持つ光増感剤(図 1-6b)には以下の課題⁶⁹が挙げられる。原子番号の大きい元素を含むため、分子量・分子サイズが大きくなる傾向にあり、上述のポルフィリン系光増感剤の問題点として挙げた i) ~iii) は重原子効果を利用した光増感剤にも該当する。また、重原子、特に金属元素は高価な場合があったり、潜在的な生体毒性が懸念されたりするため、生体応用には向いていない。重原子効果は項間交差を促進させるのに最も容易な方法ではあるが、上記の問題点を孕んでおり、PDT 応用には適していない。

El-sayed 則により項間交差を起こすベンゾフェノン (図 1-7a) は小分子であり、ポルフィリン系光増感剤や重原子効果を用いた光増感剤の問題点を克服する候補となり得る。しかし、ベンゾフェノンの吸収極大波長は 286 nm と短く、この波長の光は生体透過性の低さや毒性が問題となり生体応用には適さない⁷⁰。また、ベンゾフェノンの T_1 は反応性の高いビラジカル構造を持つため水素引き抜き反応を起こすことが知られており^{48, 49}、意図しない核酸やタンパク質などの生体分子との反応が起きて 1O_2 生成量が低下する可能性が大きい点も PDT 応用には適さない。

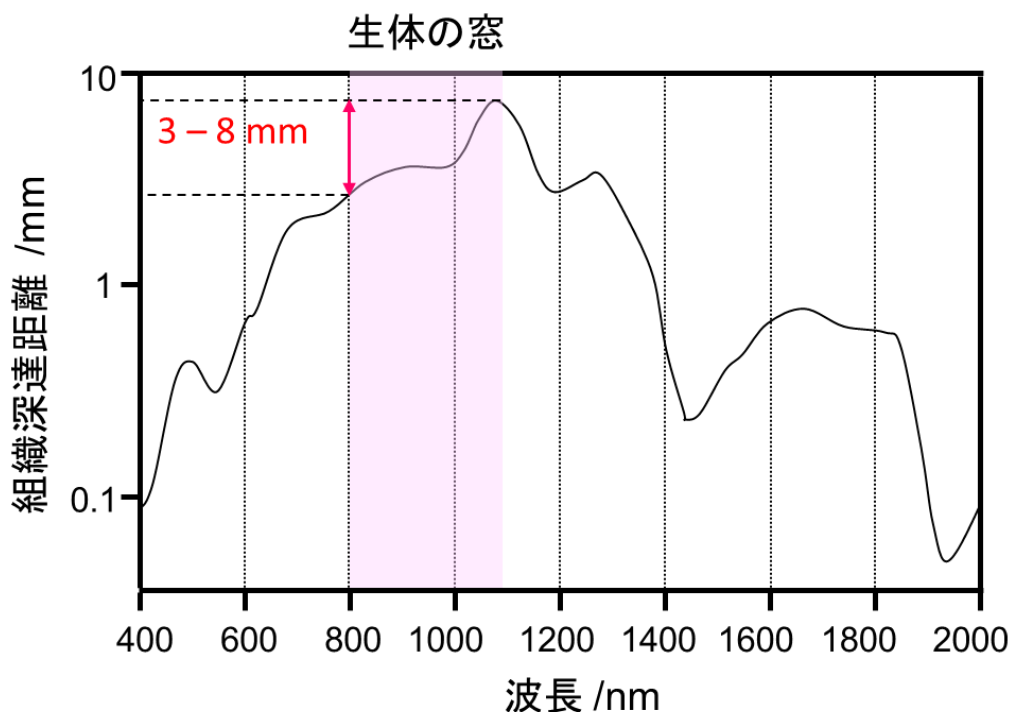
また、上記で述べた光増感剤は紫外光 (337 nm) や可視光 (532~670 nm) によって励起されて 1O_2 を生成するが (表 1-1)^{43, 44, 47, 56, 71-73}、例えばブタの肝臓組織では紫外光や

可視光の波長領域は深達性が約 1.5 mm 以下であり、これより深部にある癌は治療できない (図 1-12) ⁷⁴。いっぽう、近赤外線領域の波長 (800~1100 nm) は「生体の窓」と呼ばれており、組織深達性は 3~8 mm である。これらの知見から、組織深部の癌を治療するには、「生体の窓」にあたる近赤外光で ¹O₂ 生成できる光増感剤が必要である。

表 1-1. 既存の光増感剤の励起波長 (λ_{ex}) と ¹O₂ 生成量子収率 (Φ_{Δ})

| 光増感剤 | λ_{ex} /nm | Φ_{Δ} |
|------------------------------|--------------------|-------------------|
| フォトフリン | 630 | 0.25 ^a |
| レザフィリン | 654 | 0.77 ^b |
| PPIX | 646 | 0.60 ^b |
| 亜鉛フタロシアニン | 670 | 0.49 ^c |
| ローズベンガル | 560 | 0.47 ^a |
| ベンゾフェノン | 337 | 0.37 ^d |
| BODIPY-anthracene dyad (1-2) | 532 | 0.67 ^e |

a: リン酸緩衝生理食塩水中、b: リン酸ナトリウム緩衝液中、c: ジメチルホルムアミド中、d: アセトニトリル中、e: エタノール中の値。



J-P. Ritz, et al, *Lasers in Surgery and Medicine* 2001, **29**, 205-212.

図 1-12. 照射光の波長とブタ肝臓組織深達距離の相関。

現状の光増感剤には以上のような問題点があるが、禁制遷移である項間交差をコントロールするのが困難なため、PDTを指向した重原子フリーの小さい光増感剤を設計・合成する方法は確立されていない⁶⁰。重原子効果やEl-sayed則は古くから教科書に載る項間交差促進機構ではあるが上記の理由からPDTを指向した小さい光増感剤の設計機構としては適さない。一方で、最近SOCTやRPにより項間交差を起こす化合物の報告が散見され^{17, 18, 33-42, 55-57}、小さい光増感剤設計への応用可能性を秘めている。

第六節 本博士論文における研究の構想

本研究では前節で述べた現状の光増感剤の課題、すなわち 1) 癌細胞に過剰発現するチャンネルタンパク質の通過が困難である点と 2) 組織深達性の高い近赤外光で $^1\text{O}_2$ を生成できない点、を克服できる小さい光増感剤の開発を目指す。当研究室では、シンプルな小分子であるイソフタル酸の結晶が分子間 CT を経る RP 機構によって項間交差を起こし、燐光を発することを見出した¹⁷。イソフタル酸は結晶状態での分子間 CT が項間交差に必要で、溶液中の単分子状態では高効率な $^1\text{O}_2$ 生成を示さなかった。本研究では、このイソフタル酸結晶の分子間 CT から着想を得て、分子内 CT (intramolecular charge transfer, ICT) 化合物であれば単分子でも $^1\text{O}_2$ を生成して光増感剤になり得るか検証を行うことにした。ICT 化合物としてはベンゼン環を二つ持ち、CT を起こすための電子供与性基と電子吸引性基をそれぞれのベンゼン環に導入しやすいビフェニル誘導体に着目した (図 1-13)。ICT 型ビフェニルは光励起による二つのベンゼン環間の電子移動で平面分子内電荷移動状態 (planar intramolecular charge transfer, PICT) になり、その後ねじれ分子内電荷移動状態 (twisted intramolecular charge transfer, TICT) になると考えられる^{75, 76}。TICT では分子内で RP それぞれが直交する別の軌道に存在することになり、RP 機構もしくは、SOCT により項間交差を起こし、 $^1\text{O}_2$ を生成すると予想される。

本研究ではまず上記仮説機構に従い、ICT を利用した小さい光増感剤開発を目指す。光増感能を示した化合物については、RP 機構なのか SOCT 機構なのかを探る。さらにその機構を確定させるための種々の光物理学的検討を行う。

光増感能を示した ICT 化合物については、二光子励起による $^1\text{O}_2$ 生成の可否を検証する。二光子励起では、光源としてフェムト秒パルスレーザーを用いることにより高密度の励起光子クラスターを形成し、仮想励起状態を経由して励起光エネルギーの 2 倍以上のエネルギー準位へ 2 段階以上の励起を可能にする⁷⁷⁻⁸²。二光子吸収断面積 (二光子吸収効率を表す値) は遷移双極子モーメントの二乗に比例するため、分子内の CT 性を大きくすることで二光子励起の効率を上げることができる。実際に ICT は二光子励起色素の分子設計に用いられている⁸¹。本論文では ICT 型ビフェニル誘導体を組織深達性の高い近赤外光フェムト秒パルスレーザーを使って二光子励起により $^1\text{O}_2$ を生成させることができるか検証する。これにより、組織深部癌の PDT への応用可能な光増感剤開発を目指す。

さらに、本研究ではビフェニル光増感剤の小さい分子サイズを利用して、グルコース修飾ビフェニル増感剤を合成し、図 1-1b に示したように GLUT を通過する癌選択的 PDT を目指す。

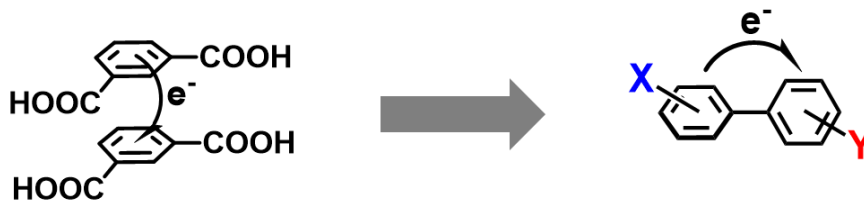


図1-13. イソフタル酸の分子間CTから着想を得たICT型ビフェニルの分子設計(X: 電子供与性基、Y: 電子吸引性基)。

本研究の目的を以下に整理する。目的1：GLUTを通過できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証、目的2：組織深達性の高い近赤外光による $^1\text{O}_2$ 生成。

本博士論文の構成は以下の通りである。

第一章、「序論」においては、第一節で緒言として本研究の概要を述べた。第二節では PDT の概要や簡単な歴史とこれまでに開発されてきたポルフィリン系の光増感剤について述べた。第三節では一般的な光増感剤の光増感機構を Jablonski 図で説明し、光増感剤開発において禁制遷移である項間交差をどう効率良く起こさせるかが重要であることを述べた。第四節ではその項間交差を促進する機構として、第一項で重原子効果、第二項で El-sayed 則、第三項でスピン軌道電荷移動、第四項でラジカルペア機構について述べた。第五節では PDT への応用における従来の光増感剤の課題を述べ、第六節でその課題を解決するための本研究の構想を述べた。

第二章、「ビフェニル光増感剤の合成と光物性評価」においては、第一節では緒言として、光増感剤候補としてのビフェニル誘導体の分子設計、合成法である鈴木宮浦カップリングの概要、光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能の評価方法について述べた。第二節では光増感剤候補化合物として種々の電子供与性基と電子吸引性基を持つビフェニル誘導体の合成について、第三節ではビフェニル誘導体の電子供与性基・吸引性基の種類や置換位置などと ICT の相関を調べるために行った吸収スペクトル測定と分子軌道計算について、第四節ではビフェニル誘導体の光増感剤としての要の機能である $^1\text{O}_2$ 生成能評価について、第五節ではビフェニル誘導体の励起状態の挙動を考察するために測定した蛍光スペクトルや蛍光寿命について、第六節では、 $^1\text{O}_2$ 生成能を持つビフェニル増感剤が項間交差を起こして T_1 に遷移しているかを確認するために測定した過渡吸収について、第七節では、ビフェニル増感剤の近赤外レーザーを用いた二光子励起による $^1\text{O}_2$ 生成について、第八節ではビフェニル増感剤の光安定性について、それぞれの実験結果と考察を述べた。第九節では第二章のまとめを述べた。

第三章、「ビフェニル光増感剤の光増感機構の検討」においては、第一節では緒言として、第二章までの検討で推定されたビフェニル光増感剤の光増感プロセス ($S_0 \rightarrow \text{PICT} \rightarrow \text{TICT} \rightarrow T_1$) を整理し、 $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構として RP 機構または

SOCT が推定されることを述べた。第二節では、ビフェニル化合物の光物性に対する外部磁場効果を調べ、項間交差機構が RP 機構であるかの検証について述べた。結果として外部磁場効果は観察されず、項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆された。そこで第三節では、ビフェニル化合物の光物性に対する溶媒の粘度の効果について調べ、項間交差機構が SOCT であるか検証を行ったの検証について述べた。結果としてビフェニル化合物の蛍光スペクトルと過渡吸収において強く粘度の影響が観測された。この結果を基に、DFT 計算による Ph-Ph 結合および Ph-NO₂ 結合の回転障壁エネルギーの計算と合わせ、結合の回転を伴う SOCT を経るビフェニル光増感剤の独自の光増感機構を提唱した。第四節では第三章のまとめを述べた。

第四章、「糖修飾ビフェニル光増感剤による光線力学治療を指向した細胞実験」においては、第一節では緒言として、これまで知られている薬剤の癌選択的デリバリーについて概説し、グルコースの癌標的リガンドとしての有用性と本研究が目的とする GLUT を標的とした癌選択的 PDT の概要を述べた。第二節では糖修飾光増感剤の分子設計と合成について、第三節では糖修飾光増感剤の ¹O₂ 生成能を含む光物性評価について、第四節では糖修飾光増感剤の前立腺癌細胞への取り込みを共焦点顕微鏡で評価した結果について、第五節では糖修飾光増感剤の光照射による前立腺癌細胞へのダメージ、すなわち PDT 効果の評価について述べた。第六節では第四章のまとめを述べた。

第五章、「総括」においては本研究において開発したビフェニル光増感剤について総括した。また、ビフェニル光増感剤の PDT への応用可能性についての考察を述べた。

第二章 ビフェニル光増感剤の合成と光物性評価

第一節 緒言

本章では小さい光増感剤の開発に向け、分子内電荷移動 (ICT) を光増感剤設計指針としたビフェニル誘導体の合成、その光物性評価について研究を行った結果を述べる。図 2-1 に本研究で光物性を評価したビフェニル誘導体 (ベンゼン誘導体 1 種類含む) 2-1~2-29 の構造を示す。ICT を促進するために、ビフェニルのそれぞれのベンゼン環に電子供与性基と電子吸引性基を導入した化合物を設計した。置換基の選択にあたっては、(メチルチオ基を除いて) 重原子でない第二周期以下の元素のみを含み、共鳴電子供与性 $\sigma_{\text{R}}(-)$ または共鳴電子吸引性 $\sigma_{\text{R}}(+)$ が比較的大きい物に着目した。化合物 2-1~2-16 は、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基としてメトキシ基 (σ_{R} 値: -0.42)、 $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基としてニトロ基 (σ_{R} 値: 0.18) をオルト、メタ、パラ位それぞれに持つような誘導体で、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基と $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基の位置と CT 性や $^1\text{O}_2$ 生成能 (増感能) との相関を調べた。2-16~2-19 は、 $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基をニトロ基に固定し、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基としてそれぞれメトキシ基、ヒドロキシ基 (σ_{R} 値: -0.38)、メチルチオ基 (σ_{R} 値: -0.27)、ジメチルアミノ基 (σ_{R} 値: -0.64) を導入した誘導体で、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基の種類が CT 性や $^1\text{O}_2$ 生成能に与える影響を調べた。2-16, 2-20, 2-21 は、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基をメトキシ基に固定し、 $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基としてそれぞれニトロ基、シアノ基 (σ_{R} 値: 0.10) を持つ誘導体または片方の環自体をピリジンオキシドにして電子吸引性を持たせた誘導体で、 $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基の種類が CT 性や $^1\text{O}_2$ 生成能に与える影響を調べるために設計した。2-22 は、 $\sigma_{\text{R}}(-)$ 基がメトキシ基で $\sigma_{\text{R}}(+)$ 基がニトロ基だがベンゼン環が一つの誘導体で、二つベンゼン環を持つ場合との CT 性や O_2 生成能に与える影響を比較した。2-23~2-28 は、二つのベンゼン環とベンゼン環の結合 (Ph-Ph 結合) のねじれ角を架橋やメチル基の導入によって変化させた誘導体で、Ph-Ph 結合のねじれ角と CT 性や $^1\text{O}_2$ 生成能との相関を調べた。また、ベンゼン環とニトロ基の結合 (Ph- NO_2 結合) のねじれ角と CT 性や $^1\text{O}_2$ 生成能との相関を調べるために、ニトロ基の隣にメチル基を導入して Ph- NO_2 結合の二面角をほぼ直角に固定した 2-29 も設計した。

ビフェニル誘導体は主に鈴木宮浦カップリング⁸³によって合成した。鈴木宮浦カップリングは、パラジウム触媒を用いて、有機ハロゲン化合物 (R-X) と有機ホウ素化合物 ($\text{R}'\text{-BY}_2$) をクロスカップリングさせる反応で、アリール化合物間で炭素-炭素結合を形成するのに有用である。スキーム 2-1 に一般的な鈴木宮浦カップリングの反応機構を示す。I) 酸化付加により R-X に 0 価のパラジウム (Pd^0) が挿入される。II) トランスメタル化により、塩基 (OR'') で活性化された $\text{R}'\text{-BY}_2(\text{OR}'')$ の R' とハロゲン X が入れ替わる。III) 還元的脱離により $\text{R-R}'$ 結合が形成され、 Pd^0 が再生する。鈴木宮浦カップリングが報告された 1979 年以前にも様々なクロスカップリング反応の研究はなされており、例えば Grignard 試薬を用いる高知・Furstner クロスカップリング (1971)^{84, 85} や有機スズ化合物を用いる Stille クロスカップリング (1978)⁸⁶ が知られているが、Grignard 試薬は水に対して不安定、有機スズ化合物は毒性が高いなどの問題点があった。

一方、鈴木宮浦カップリングは、用いられる有機ホウ素化合物が水に対して安定で取り扱いが容易であり、また毒性が低いという利点があり、医薬品合成や液晶材料など工業的にも多く用いられている⁸⁷。

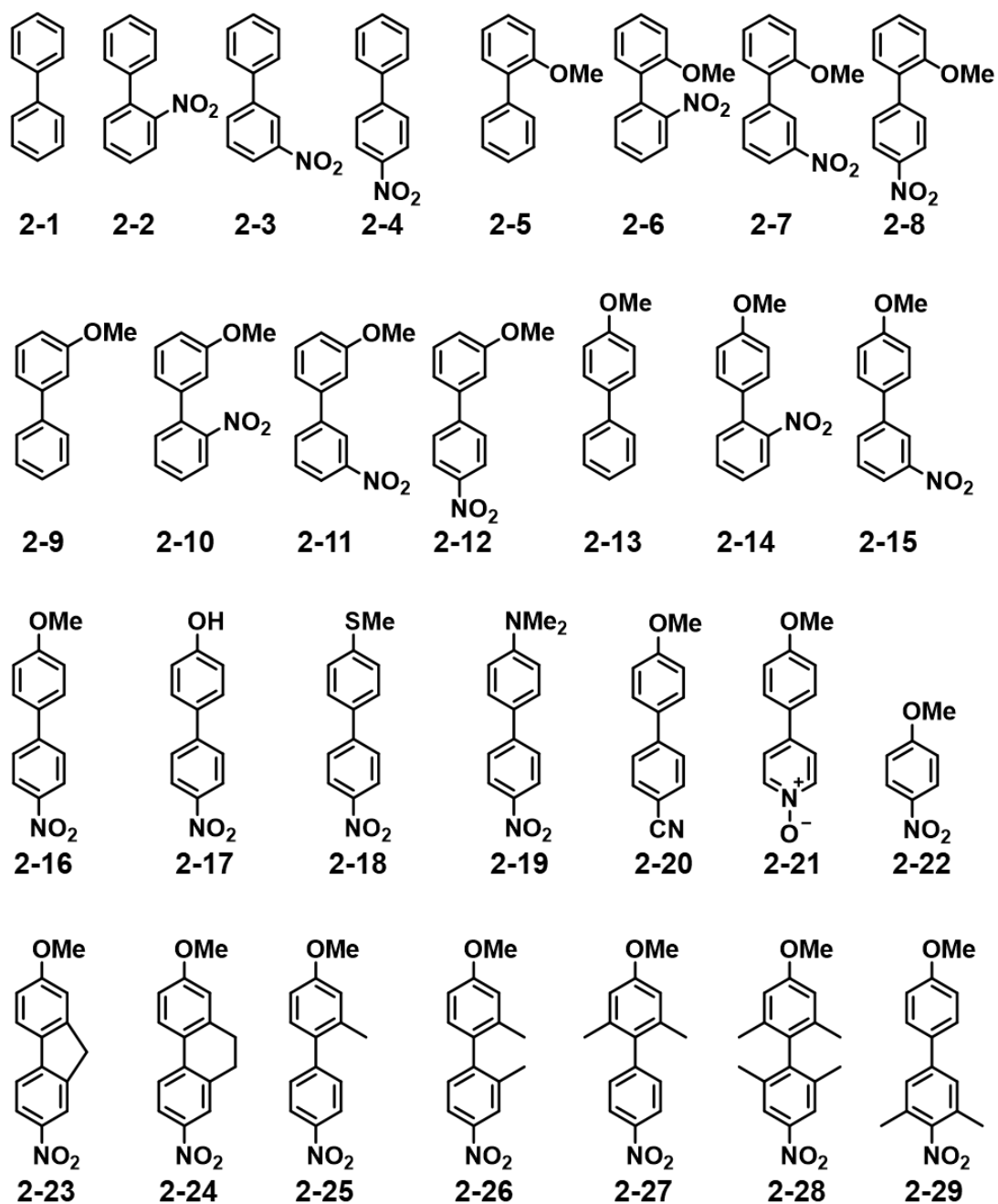
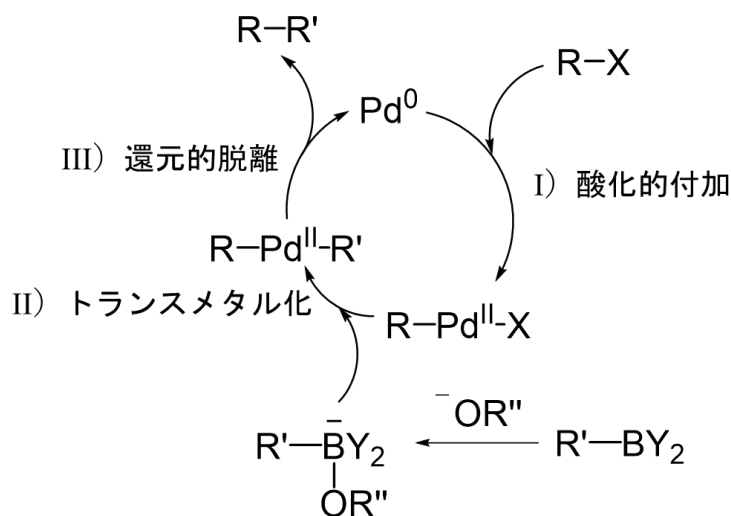


図 2-1. 本研究で合成、光物性評価した化合物一覧。



スキーム 2-1. 鈴木宮浦カップリングの反応機構。

2-1~2-29 が光増感剤としての要の機能である光増感能 ($^1\text{O}_2$ 生成能) を持つかどうかはテトラフェニルシクロペンタジエノン (Tetraphenylcyclopentadienone, TPCPD) ^{88, 89} という $^1\text{O}_2$ 検出試薬を用いて評価した。TPCPD は 500 nm 付近に吸収ピークを持つが、 $^1\text{O}_2$ によって酸化されるとこのピークは減少する (図 2-2)。つまり、増感剤候補化合物と TPCPD の混合溶液に励起光を照射し、TPCPD の 500 nm 付近の吸光度を追跡することで $^1\text{O}_2$ 生成能を評価できる。この $^1\text{O}_2$ 検出試薬の吸光度変化を利用した $^1\text{O}_2$ 生成能評価は一般的な方法である。最も頻繁に使われる $^1\text{O}_2$ 検出試薬は 1,3-ジフェニルイソベンゾフラン (1,3-Diphenylisobenzofuran, DPBF) ⁹⁰⁻⁹³ であるが、DPBF を $^1\text{O}_2$ 生成能評価に用いる場合、400 nm 付近の吸光度を追跡するため本研究で評価する化合物の CT 吸収波長と重なる場合がある。そこで、本研究では追跡波長がビフェニル誘導体の CT 吸収波長と重ならない TPCPD で $^1\text{O}_2$ 生成能評価することとした。TPCPD は水への溶解性が低いため、水中での光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能は発する燐光を直接検出する方法 ⁴⁵ で評価した。基底状態である $^3\text{O}_2$ の電子配置は図 2-3a のように示され、 $2p_y$, $2p_z$ 軌道どうしの結合でできる反結合性の π_y^* , π_z^* 軌道に電子スピンの向きが同じ向きで一個ずつ収容される (この状態を $^3\Sigma_g^-$ と書く)。励起状態である $^1\text{O}_2$ は 2 通りの電子配置をとり、 π_y^* , π_z^* 軌道のどちらかのみ電子スピンの向きが反対向きで二個収容される $^1\Delta_g$ (図 2-3b) と π_y^* , π_z^* 軌道に電子スピンの向きが反対向きで一個ずつ収容される $^1\Sigma_g^+$ (図 2-3c) がある。 $^1\Delta_g$ の方が $^1\Sigma_g^+$ よりもエネルギーが低く、 $^1\Delta_g$ から $^3\Sigma_g^-$ に遷移する際に 1270 nm の燐光を発する (図 2-3d) ⁹⁴。この燐光を検出することで、光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能を評価できる。

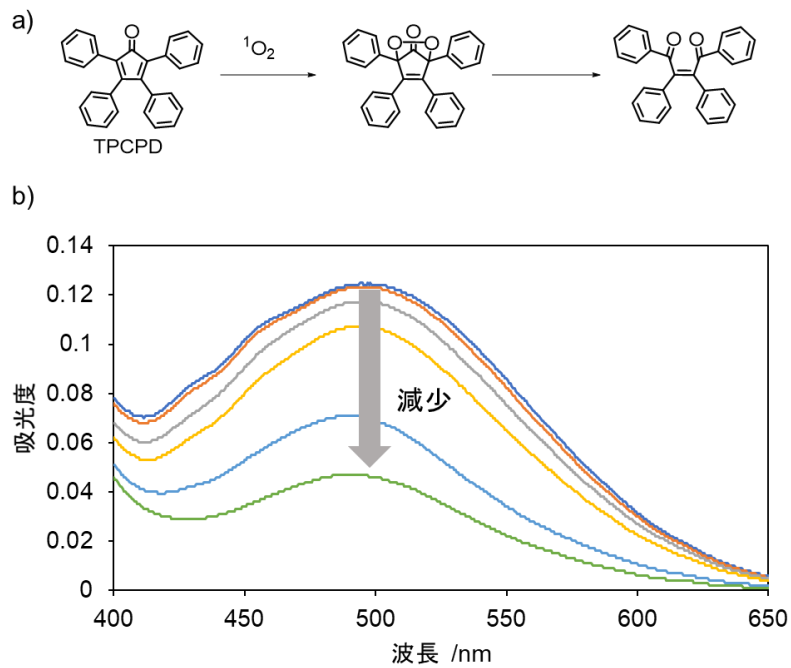


図 2-2. a) TPCPD と $^1\text{O}_2$ の反応式。b) a) の反応による TPCPD の 500 nm 付近の吸収の減少。

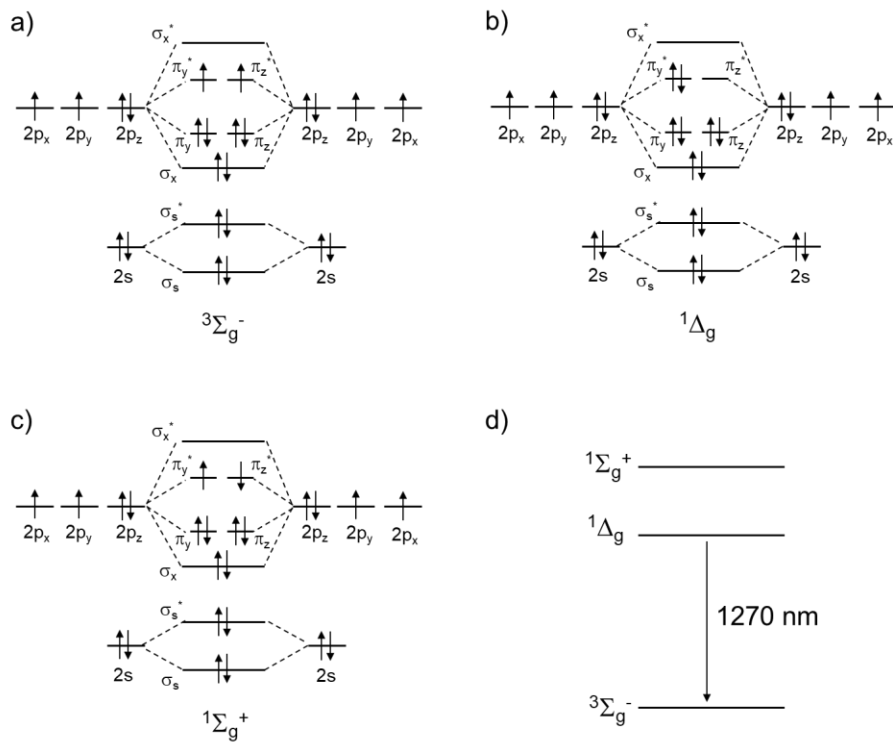


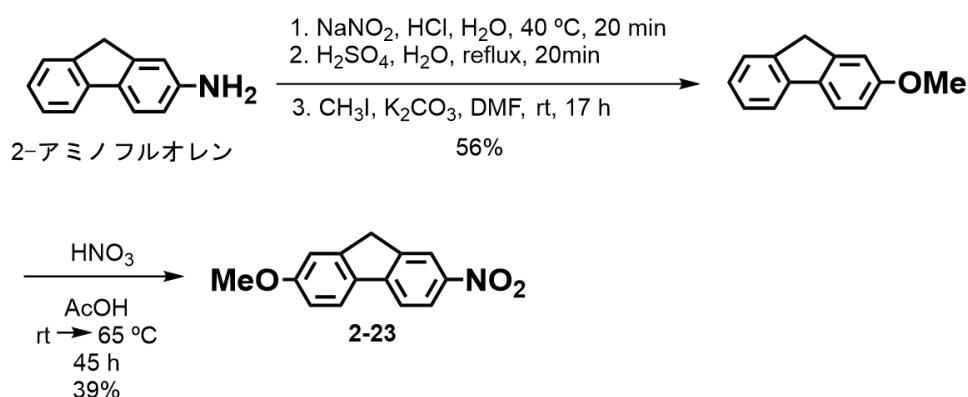
図 2-3. a) $3\Sigma_g^-$ の電子配置。b) $1\Delta_g$ の電子配置。c) $1\Sigma_g^+$ の電子配置。d) $3\Sigma_g^-$ 、 $1\Delta_g$ 、 $1\Sigma_g^+$ のエネルギー準位。

本章の構成を以下に述べる。第一節では緒言として、光増感剤候補としてのビフェニル誘導体の分子設計、合成法である鈴木宮浦カップリングの概要、光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能の評価方法について述べた。第二節では光増感剤候補化合物として種々の電子供与性基と電子吸引性基を持つビフェニル誘導体の合成について、第三節ではビフェニル誘導体の電子供与性基・吸引性基の種類や置換位置などと ICT の相関を調べるために行った吸収スペクトル測定と分子軌道計算について、第四節ではビフェニル誘導体の光増感剤としての要の機能である $^1\text{O}_2$ 生成能評価について、第五節ではビフェニル誘導体の励起状態の挙動を考察するために測定した蛍光スペクトルや蛍光寿命について、第六節では、 $^1\text{O}_2$ 生成能を持つビフェニル増感剤が項間交差を起こして T_1 に遷移しているかを確認するために測定した過渡吸収について、第七節では、ビフェニル増感剤の近赤外レーザーを用いた二光子励起による $^1\text{O}_2$ 生成について、第八節ではビフェニル増感剤の光安定性について、それぞれの実験結果と考察を述べる。第九節では本章のまとめを述べる。

第二節 ビフェニル光増感剤の合成

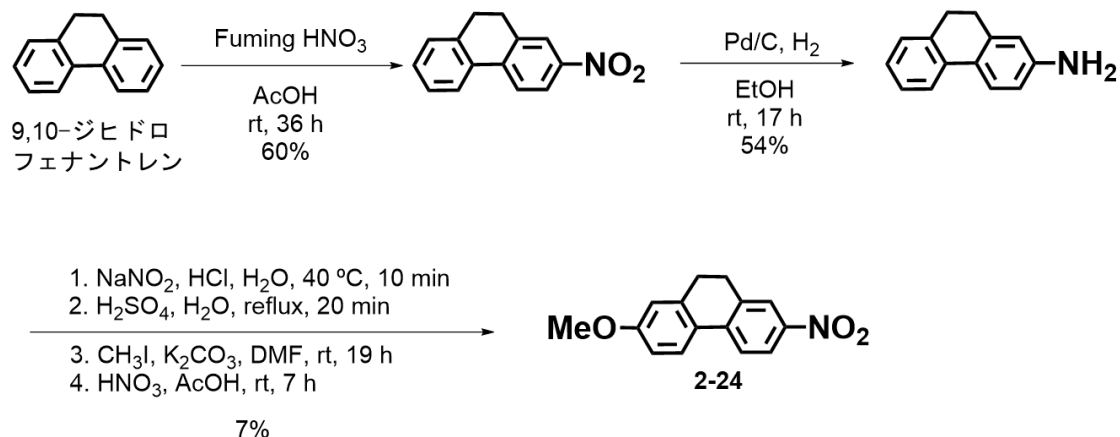
2-1, **2-2**, **2-3**, **2-5**, **2-16**, **2-22** は購入した化合物で、常温で液体の **2-5** 以外の化合物は分光測定に向け純度を上げるためリグロインから再結晶した。**2-4**⁹⁵, **2-6**⁹⁶, **2-7**⁹⁷, **2-8**⁹⁸, **2-9**⁹⁹, **2-10**¹⁰⁰, **2-11**¹⁰¹, **2-12**¹⁰², **2-13**¹⁰³, **2-14**¹⁰⁴, **2-15**¹⁰⁵, **2-17**⁹⁷, **2-18**¹⁰⁶, **2-19**¹⁰⁷, **2-20**¹⁰⁸, **2-21**¹⁰⁹ は既知化合物であり、緒言で述べた鈴木宮浦カップリングで合成した。その他の化合物は新規化合物であり、以下に示すように合成した。

2-23 は 2-アミノフルオレンを原料に合成した。2-アミノフルオレンのアミノ基をジアゾ化に次ぐ加水分解によってヒドロキシ基に変換し、ヒドロキシ基をヨードメタンでメチル化した。その後、硝酸でニトロ基を導入した。不明の副生成物が混合していたが、反応後の粗生成物をトルエンから再結晶することで、クロマトグラフィーによる精製なしで目的物を得た (スキーム 2-2)。



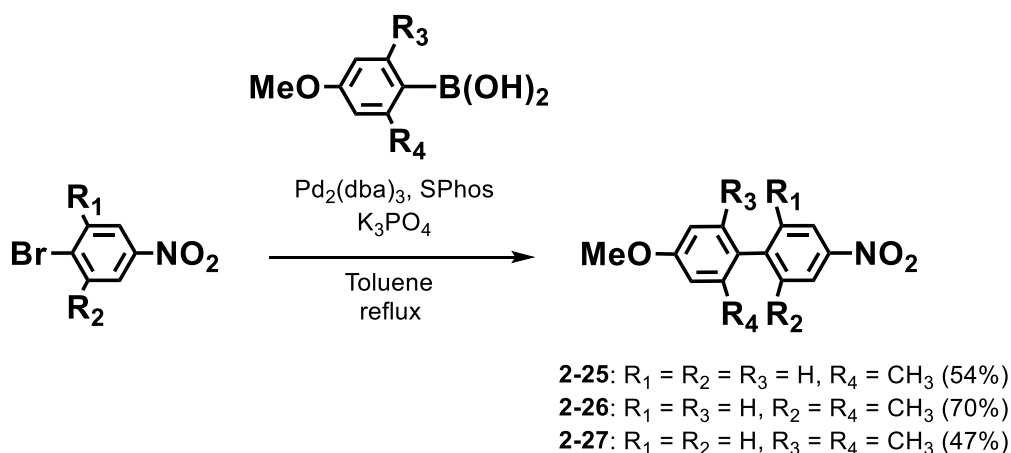
スキーム 2-2. **2-23** の合成。

2-24 は 9,10-ジヒドロフェナントレンを原料に合成した。9,10-ジヒドロフェナントレンに発煙硝酸を用いてニトロ基を一個導入した後、ニトロ基をパラジウム炭素でアミノ基に還元した。その後は **2-23** と同様の方法で **2-24** を合成した (スキーム 2-3)。



スキーム 2-3. 2-24 の合成。

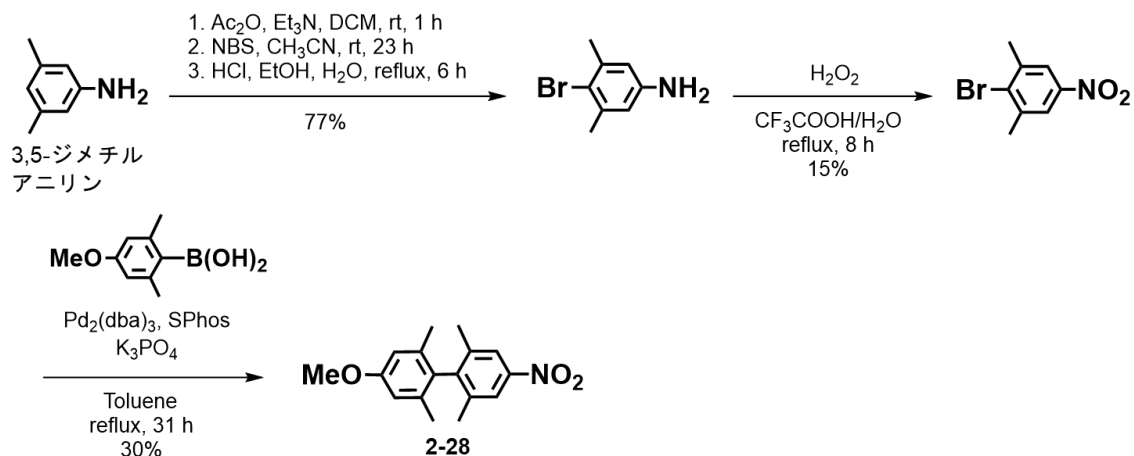
2-25~2-27 はそれぞれの構造に対応するブロモベンゼン誘導体とボロン酸誘導体を原料に鈴木宮浦カップリングで合成した。これらの反応では、反応点のオルト位のメチル基による立体障害があるため、通常の鈴木宮浦カップリングの条件（パラジウム触媒：Pd(PPh₃)₄、塩基：K₂CO₃ など）¹¹⁰ではなく、Buchward らによって報告された立体障害があってもカップリングが進みやすい条件¹¹¹を用いることとした。パラジウム触媒としてトリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（0）（Pd₂(dba)₃）、リガンドとして 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'ジメトキシビフェニル（SPhos）、塩基として K₃PO₄ を用いた条件で鈴木宮浦カップリングを行い、**2-25~2-27** を合成した（スキーム 2-4）。



スキーム 2-4. 2-25~2-27 の合成。

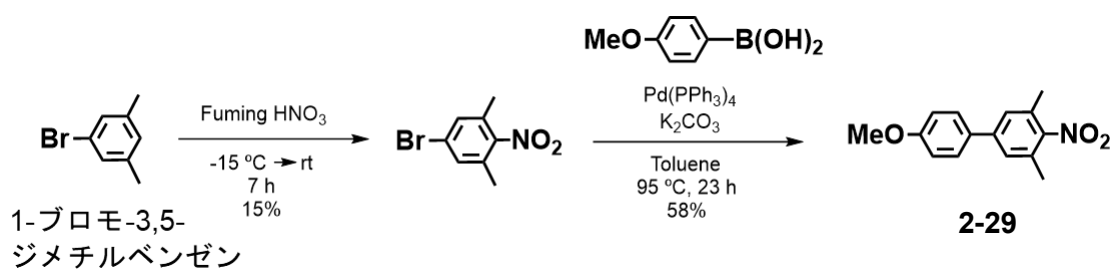
2-28 は 3,5 ジメチルアニリンを原料に合成した。3,5 ジメチルアニリンのアミノ基をアセチル化し、アセチルアミド基のパラ位を *N*-ブロモスクシンイミド（NBS）でブロ

モ化した後、アミノ基のアセチル保護基を塩酸で脱保護して4-ブロモ-3,5-ジメチルアニリンを得た。4-ブロモ-3,5-ジメチルアニリンのアミノ基を過酸化水素とトリフルオロ酢酸を用いて還流条件下で酸化し、4-ブロモ-3,5-ジメチルニトロベンゼンを得た。4-ブロモ-3,5-ジメチルニトロベンゼンと2,6-ジメチル-4-メトキシフェニルボロン酸を原料に、Buchwardらの鈴木宮浦カップリング条件で**2-28**を合成した（スキーム2-5）。



スキーム 2-5. **2-28** の合成。

2-29 は1-ブロモ-3,5-ジメチルベンゼンを原料に合成した。1-ブロモ-3,5-ジメチルベンゼンのブロモのパラ位を発煙硝酸でニトロ化した。1-ブロモ-3,5-ジメチル-4-ニトロベンゼンと4-メトキシフェニルボロン酸を原料に、パラジウム触媒としてPd(PPh₃)₄を用いて鈴木宮浦カップリングで**2-29**を合成した（スキーム2-6）。



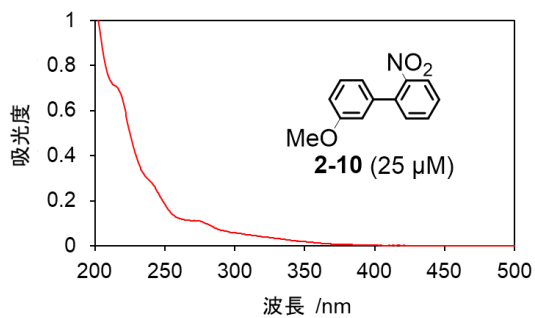
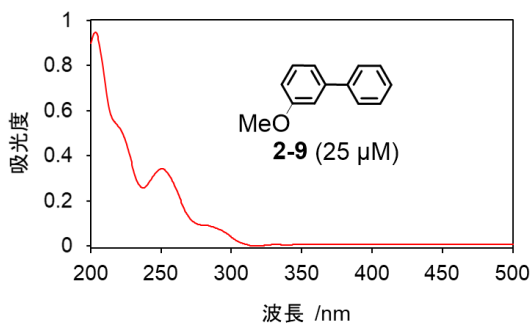
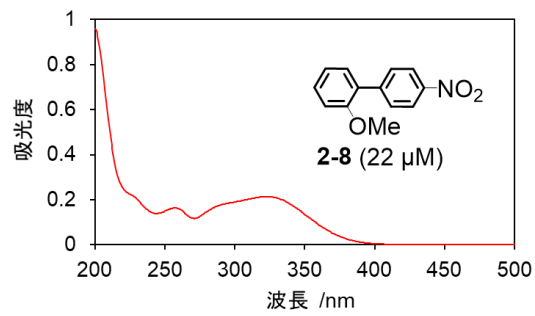
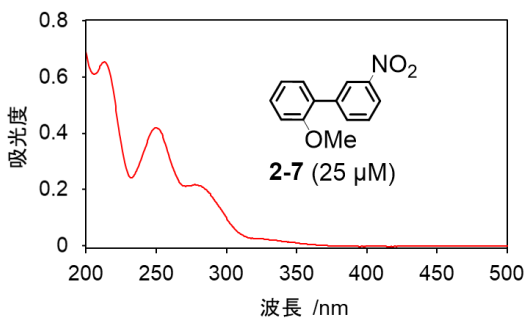
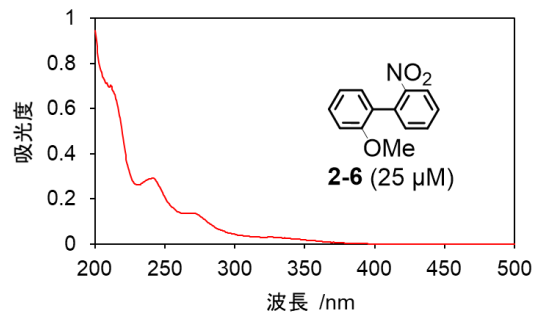
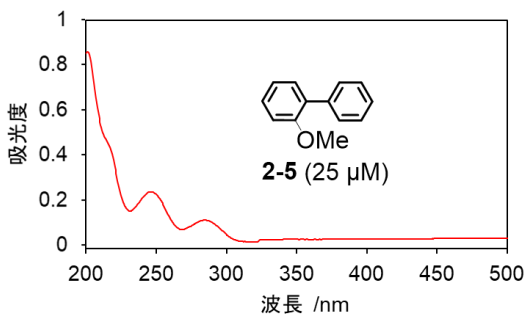
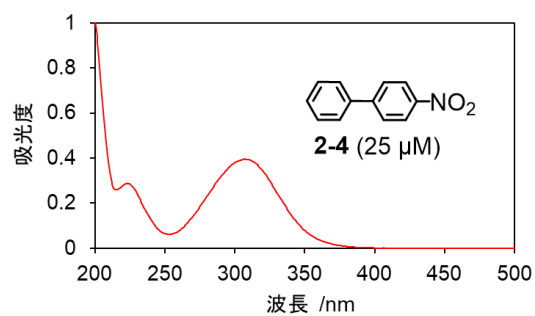
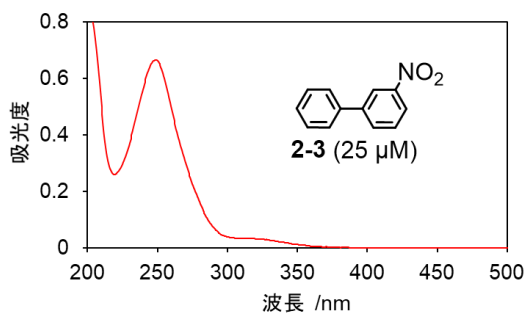
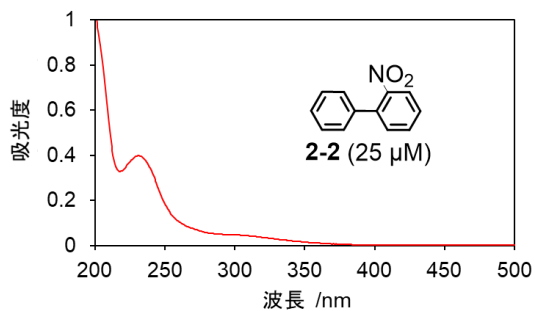
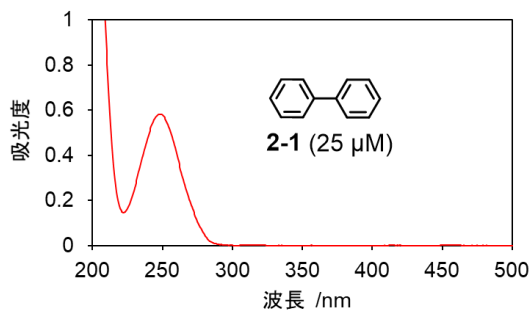
スキーム 2-6. **2-29** の合成。

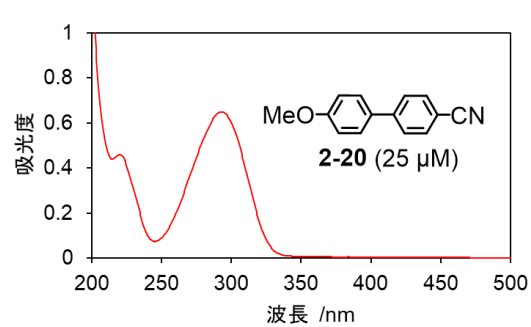
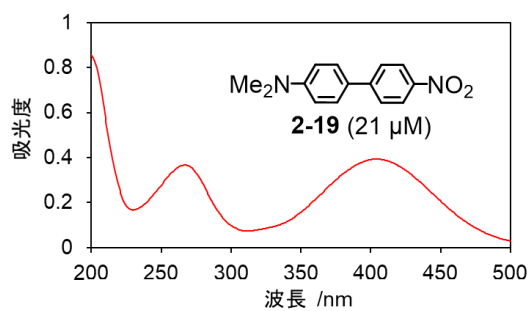
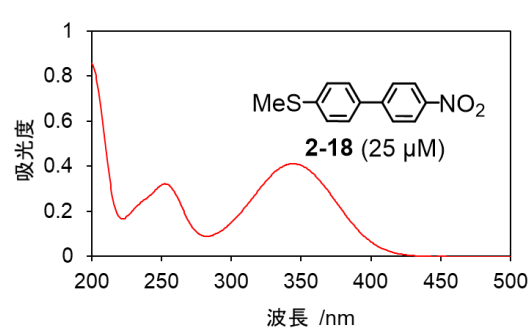
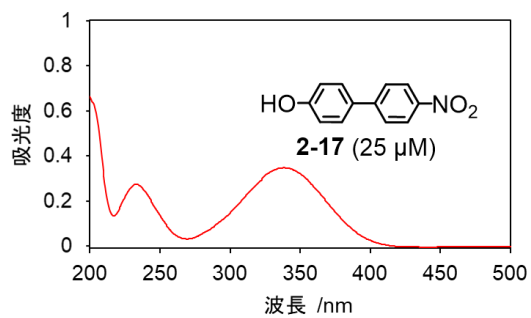
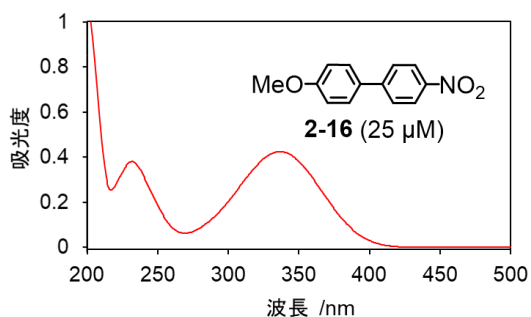
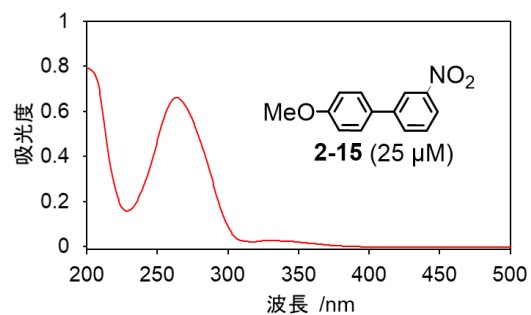
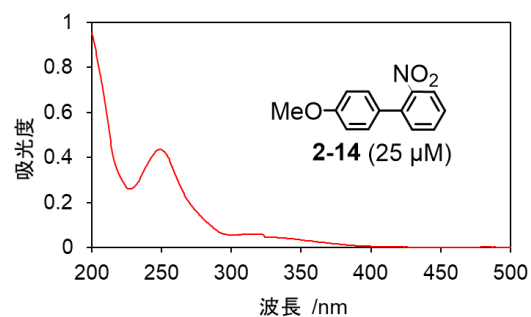
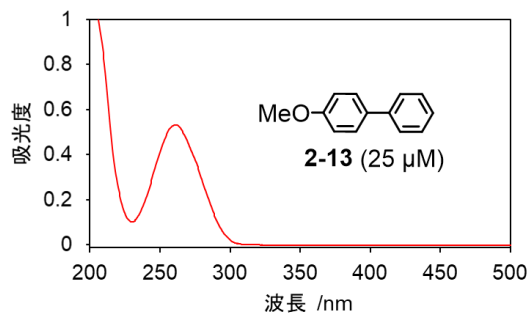
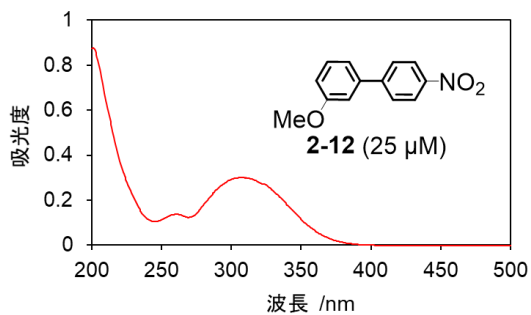
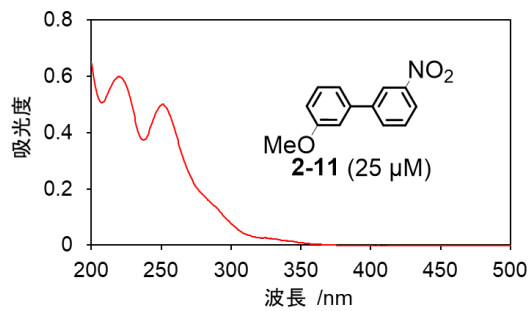
第三節 光吸収特性

ICT を起こす化合物は吸収スペクトルにおいて π - π^* 吸収バンドよりも長波長側にブロードな CT 吸収バンドを示す^{52-54, 58, 59}。本節では、前節で述べたビフェニル化合物の吸収スペクトルを測定し、CT 吸収バンドの有無と吸光係数を調べ、CT 吸収に関連する分子軌道計算を行った結果を述べる。**2-1~2-29** のアセトニトリル中での吸収スペクトルを図 **2-4** に、吸収スペクトルから得た吸収ピーク波長と吸光係数を表 **2-1** に示した。置換基を持たないビフェニル (**2-1**) は 250 nm に一つの吸収ピークを示した。このピークは π - π^* 吸収 (HOMO \rightarrow LUMO) に相当すると考えられる。**2-1** 以外の、電子供与性基と電子吸引性基を片方もしくは両方導入したビフェニル誘導体の多くに 250 nm よりも長波長領域 (280~450 nm) にブロードな吸収バンド (ピークやショルダー) が見られた。これは CT に特徴的な吸収バンドである。

電子供与性基と電子吸引性基の有無による CT 性の違いを評価するため、置換基を持たない **2-1** と 4 位にメトキシ基を持つ **2-13**、4'位にニトロ基を持つ **2-4**、4 位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つ **2-16** に着目し、吸収スペクトルと時間依存密度汎関数法 (time-dependent density-functional theory, TDDFT) 計算により求めた HOMO と LUMO の電子分布を併せて図 **2-5a** に示した。分子軌道計算には Gaussian 09 を用い、DFT 計算 (汎関数: CAMB3LYP、基底関数: 6-31G(d)) で構造最適化、TDDFT 計算 (汎関数: CAMB3LYP、基底関数: 6-31G(d)) でエネルギー計算を行った。**2-1** は遷移が起こる HOMO-LUMO 間において分子軌道計算上、電子分布の局在変化はほとんど見られず、吸収スペクトルでは 250 nm をピークとする π - π^* 吸収しか持たなかった。計算した振動子スペクトルにおいても 4 化合物中最も短波長側の 228 nm にピークがあるのみであった。メトキシ基を導入した **2-13** は、HOMO-LUMO 間でアニソール側から無置換ベンゼン側への電子分布の局在変化がごくわずかに観測され、吸収ピークは **2-1** のものよりも 10 nm 長波長側に現れた。振動子ピークも **2-1** に比べ 10 nm ほど長波長側に表れた。ニトロ基を導入した **2-4** ではより顕著に両ベンゼン環での電子分布の局在変化が見られ、吸収ピークは **2-1** のものよりも 60 nm 長波長側に CT 吸収バンドが現れた。このような顕著な長波長シフトは 266 nm に表れる振動子ピークにも反映された。メトキシ基とニトロ基を両方持つ **2-16** は最も顕著に HOMO-LUMO 間での電子分布の局在変化が見られ、吸収ピークは **2-4** のものよりもさらに長波長 (337 nm) に現れた。振動子ピークも 284 nm に現れた。それぞれの振動子ピーク波長は、HOMO \rightarrow LUMO 遷移エネルギーに相当する。振動子ピークが実測の吸収ピークより短波長側に現れるのは、分子軌道計算が真空中を想定しているためで、実測では溶媒効果により励起状態が安定化され長波長側に現れたと考えられる。以上のことから電荷の偏りを持たない **2-1** に電子供与性基と電子吸引性基を導入することで CT を伴う HOMO \rightarrow LUMO 遷移を起こすことが示唆された。特に **2-16** では光吸収により顕著な CT が起こることが示唆された。図 **2-5b** では、

分子軌道計算で **2-16** の短波長側の吸収の解釈を行った。振動子強度スペクトルにおける 210 nm 付近の吸収は HOMO→LUMO+2 の遷移に相当し、電子分布の図からこの遷移は局在励起 (LE)^{32,58} に相当することがわかった。これは実測吸収スペクトルの 230 nm 付近のバンドに相当し、**図 2-5b** の HOMO と LUMO+2 の分子軌道における電子局在が示すように、 π - π^* 吸収によるものと考えられる。





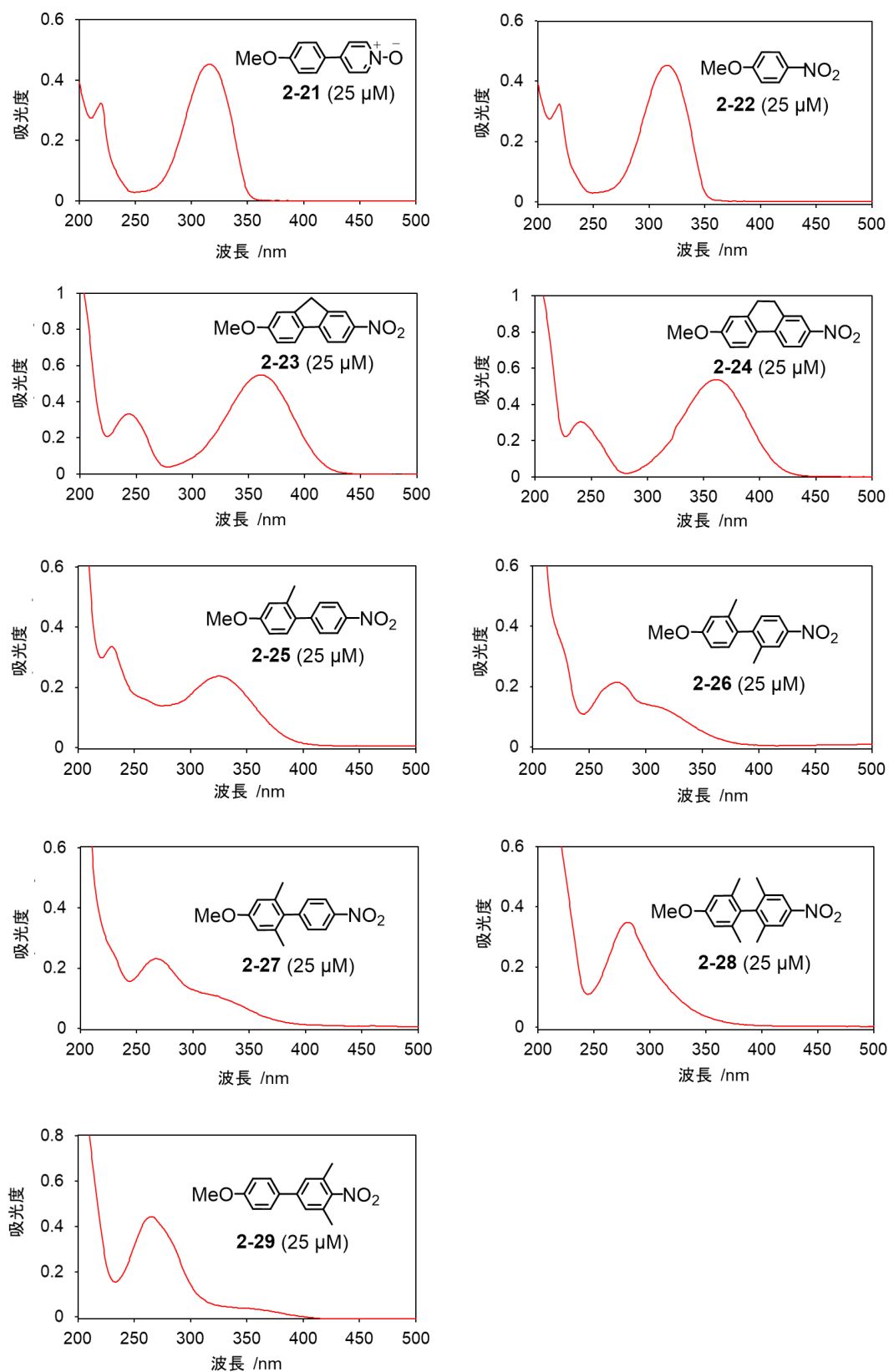


図 2-4. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の吸収スペクトル。

表 2-1. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の吸収ピーク (λ_{Abs}) と吸光係数 (ε)。

| Compd. (θ of Ph-Ph) ^a | $\lambda(\text{LE})_{\text{Abs}} / \text{nm}$ ($\varepsilon / \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) | $\lambda(\text{CT})_{\text{Abs}} / \text{nm}^{\text{b}}$ ($\varepsilon' / \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) |
|---|--|--|
| 2-1 | 248 (23500) | ND ^c |
| 2-2 | 231 (15600) | 300 (1800) |
| 2-3 | 248 (25200) | 330 (1100) |
| 2-4 | 222 (11600) | 307 (15700) |
| 2-5 | 246 (8900) | 284 (3500) |
| 2-6 | 240 (11900) | 271 (5500) |
| 2-7 | 250 (16700) | 276 (8600) |
| 2-8 (46°) | 257 (7100) | 324 (9600) |
| 2-9 | 250 (13600) | 290 (3000) |
| 2-10 | 244 (9900) | 276 (4200) |
| 2-11 | 250 (19900) | 330 (<1000) |
| 2-12 | 260 (5700) | 307 (12300) |
| 2-13 | 261 (20700) | ND |
| 2-14 (49°) | 249 (17300) | 330 (1800) |
| 2-15 | 263 (26700) | 330 (1200) |
| 2-16 (37°) | 231 (15200) | 337 (16900) |
| 2-17 | 233 (10600) | 338 (13600) |
| 2-18 | 252 (13100) | 344 (16700) |
| 2-19 | 266 (16800) | 404 (18500) |
| 2-20 | 220 (17800) | 292 (26400) |
| 2-21 | 220 (18300) | 315 (21300) |
| 2-22 | 221 (7400) | 308 (11000) |
| 2-23 (0°) | 243 (13200) | 360 (21700) |
| 2-24 (21°) | 240 (12000) | 360 (21400) |
| 2-25 (51°) | 230 (13100) | 325 (9300) |
| 2-26 (87°) | 275 (5600) | 325 (3800) |
| 2-27 (90°) | 268 (8500) | 325 (3600) |
| 2-28 (90°) | 280 (13500) | 325 (3600) |
| 2-29 | 265 (17200) | 360 (1600) |

a: DFT 計算により求めた基底状態の最安定構造における Ph-Ph 結合のねじれ角 (Gaussian 09, CAM-B3LYP/6-31+G (d))。b: CT 吸収波長、もしくは最長吸収ピーク波長。

c: Not detected.

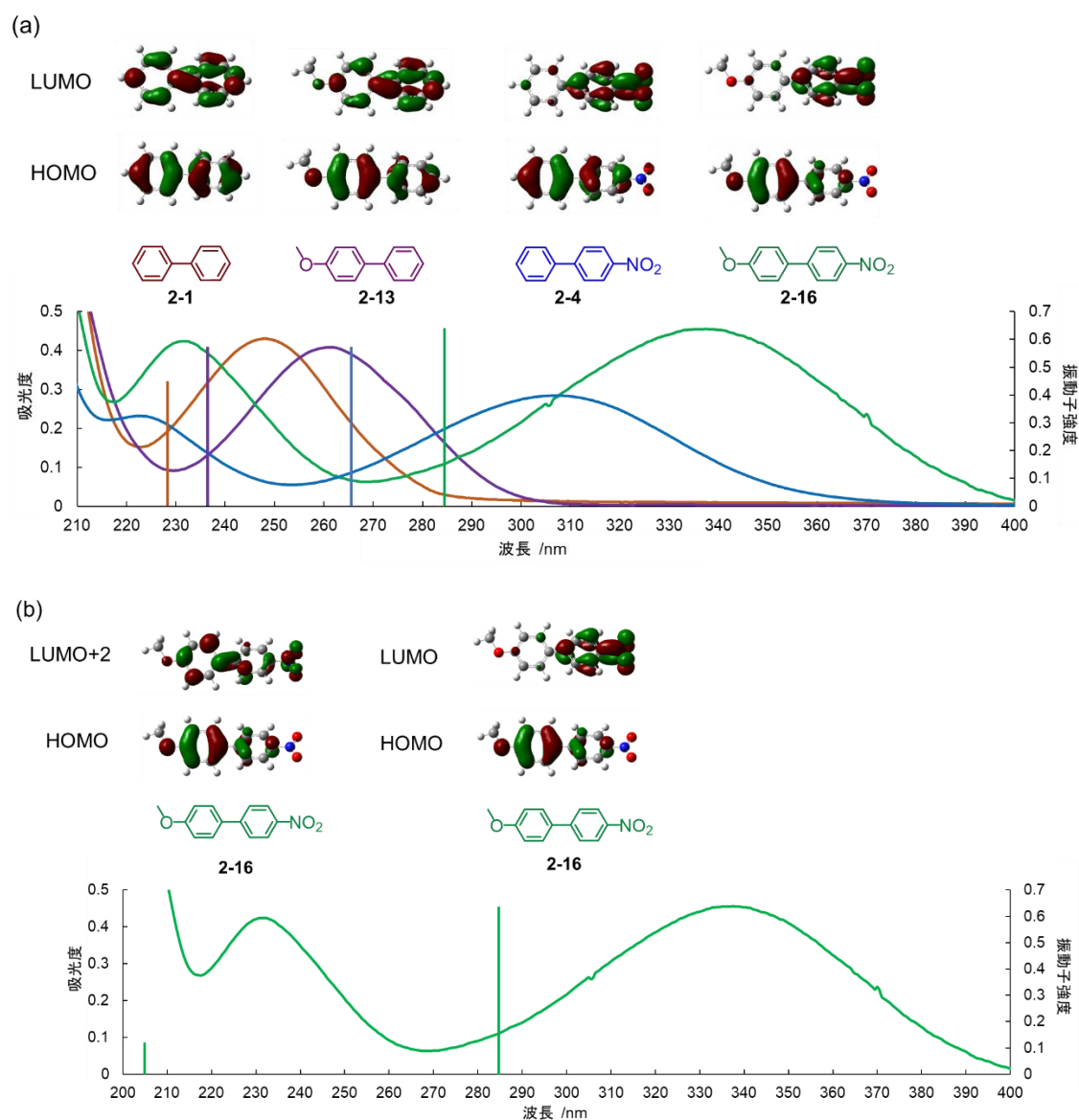


図 2-5. a) **2-1**, **2-4**, **2-13**, **2-16** のアセトニトリル中の吸収スペクトル (連続線) と振動子強度スペクトル (ピーク)、分子軌道図 (Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d))。b) **2-16** の吸収スペクトルと振動子強度スペクトル、分子軌道図。

ビフェニルの 4'位にニトロ基、4 位にヒドロキシ基 (**2-17**)、メチルチオ基 (**2-18**)、ジメチルアミノ基 (**2-19**) を持つ化合物、4 位にメトキシ基、4'位にシアノ基を持つ化合物 (**2-20**)、および電子吸引性側にピリジン-*N*-オキシドを持つ化合物 (**2-21**) は **2-16** 同様、顕著な CT 吸収ピークを示した。一方、2,2'位がメトキシ基とニトロ基で置換された **2-6**、2,3'位が置換された **2-7**、3,2'位が置換された **2-10**、4,2'位が置換された **2-14** は CT 吸収が顕著には観測されなかった。この要因の 1 つは、2,2'位に置換基があると立体障害により Ph-Ph 結合がねじれて 2 つのベンゼン環が平行でなくなり、共役の

拡がりが小さくなったことが考えられる。

ビフェニルの平面性と CT 性の相関を詳細に調べるために、様々な Ph-Ph 結合ねじれ角に固定した **2-23~2-28** の吸収スペクトルを **2-16** と比較した。DFT 計算から求めた **2-16, 2-23~2-28** の基底状態の最安定構造における Ph-Ph 結合のねじれ角は表 2-1 に示した通り (37°, 0°, 21°, 51°, 87°, 90°, 90°) である。吸収スペクトル (図 2-4) と CT 吸収の吸光係数 (表 2-1) から、**2-16, 2-23~2-28** では、Ph-Ph 結合のねじれ角が小さい、つまりビフェニルの平面性が高いほど 300~400 nm の CT 吸収バンドが長波長化し吸光係数も大きくなることがわかった。この傾向は、佐々木らによって報告された、電子供与性基としてジメチルアミノ基、電子吸引性基としてアルデヒド基を持つビフェニル誘導体の傾向と一致している⁵⁸。**2-16, 2-23~2-28** が CT を起こすかを計算的にも確かめるため、TDDFT 計算によって分子軌道と遷移エネルギーを求めた (図 2-6~図 2-12)。**2-16, 2-23~2-28** の全ての化合物において、それぞれの分子軌道図から、HOMO→LUMO 遷移が CT 遷移に相当する結果となった。それぞれの化合物 (Ph-Ph 二面角 θ) の HOMO→LUMO 遷移吸収の振動子強度 f と波長は、**2-23** (0°): 0.6610 (299 nm); **2-24** (21°): 0.6161 (301 nm); **2-16** (37°): 0.6415 (284 nm); **2-25** (51°): 0.4744 (280 nm); **2-26** (87°): 0.0231 (259 nm); **2-27** (90°): 0.0000 (270 nm); **2-28** (90°): 0.0193 (264 nm)であった。 f の理論的な最大値は 1 である³²。分子軌道計算は真空中を想定しているので遷移吸収波長は、励起状態が安定化されるアセトニトリル中での実測スペクトルの吸収ピークよりも短波長側に現れたと思われる。Ph-Ph の π 共役平面の重なりがある **2-16, 2-23~2-25** の HOMO→LUMO 遷移の振動子強度 f は 0.4 を超えており、計算上でも CT の遷移確率が高いことが示唆される。一方、Ph-Ph の π 共役平面の重なりがほぼ、もしくは完全にない **2-26~2-28** の振動子強度 f は 0.03 以下で、CT 遷移の確率が低いことが示唆される。以上、吸収スペクトル測定の実験値におけるビフェニルの平面性が高いほど CT 吸収波長が長波長に現れ CT 吸光係数が大きくなるという相関が、TDDFT 計算によっても概ね再現された。

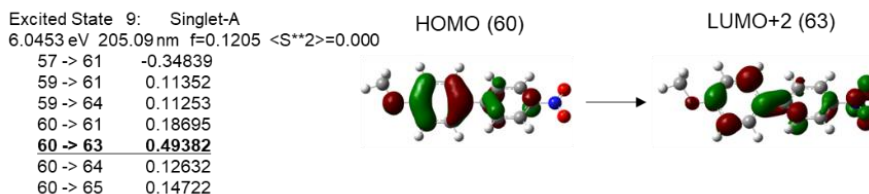
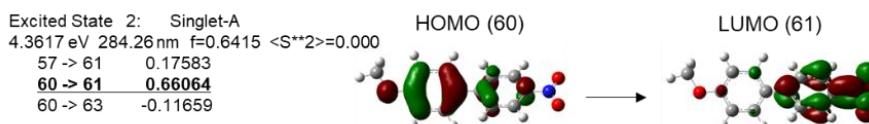
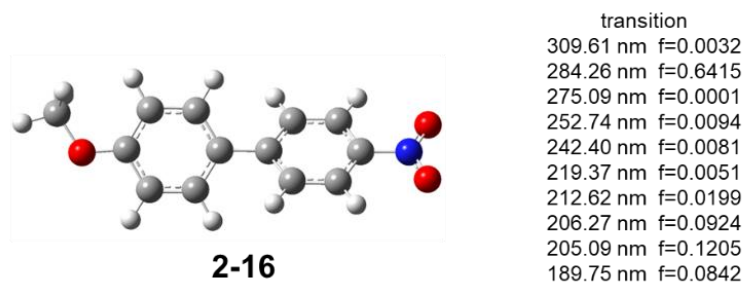


図 2-6. 2-16 の分子軌道図と遷移エネルギー。
(Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).

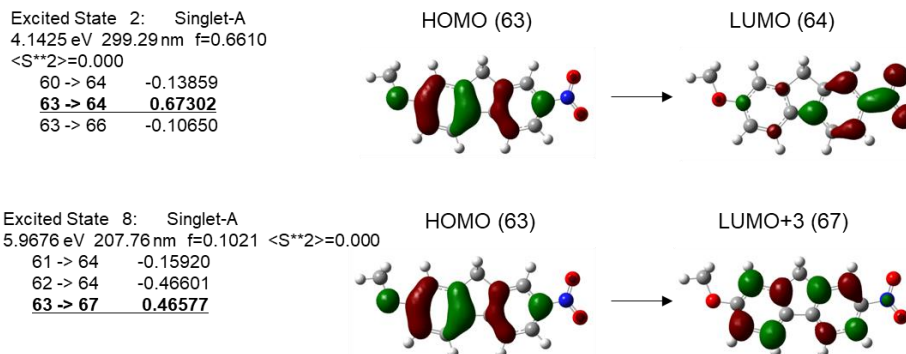
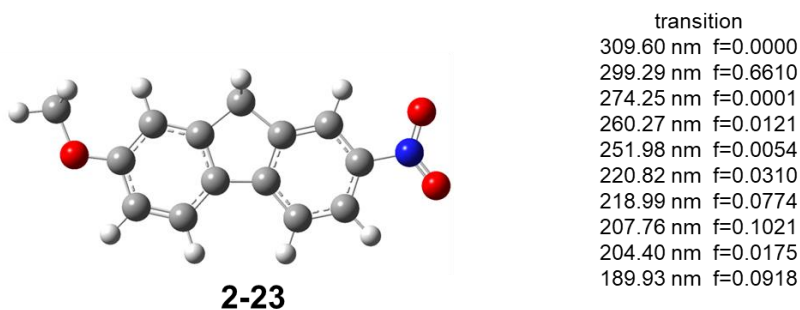
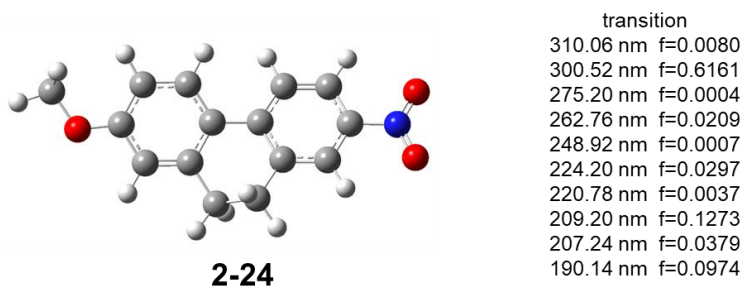
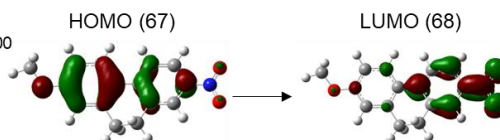


図 2-7. 2-23 の分子軌道図と遷移エネルギー。
(Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).



Excited State 2: Singlet-A
 4.1257 eV 300.52 nm f=0.6161 <S**2>=0.000
 64 -> 68 0.12924
67 -> 68 0.66225
 67 -> 70 -0.10744



Excited State 8: Singlet-A
 5.9267 eV 209.20 nm f=0.1273 <S**2>=0.000
 64 -> 68 -0.16105
 65 -> 68 0.28381
 65 -> 70 0.13160
 66 -> 68 -0.29038
 67 -> 69 0.16116
67 -> 71 0.47970

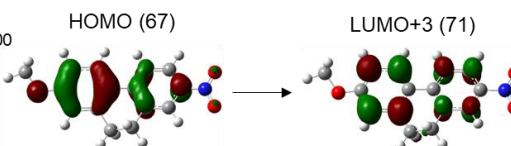
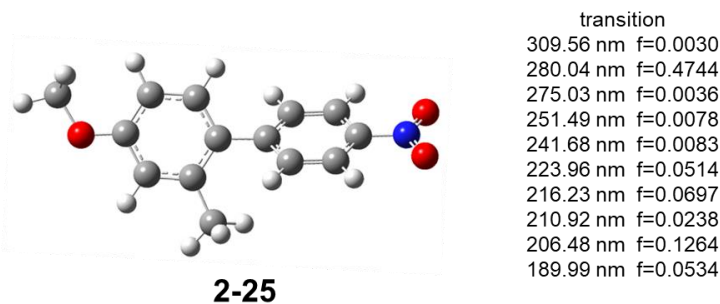
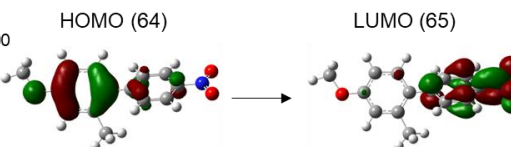


図 2-8. 2-24 の分子軌道図と遷移エネルギー。
 (Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).



Excited State 2: Singlet-A
 4.4274 eV 280.04 nm f=0.4744 <S**2>=0.000
 61 -> 65 0.18351
64 -> 65 0.65138
 64 -> 67 0.13441



Excited State 9: Singlet-A
 6.0046 eV 206.48 nm f=0.1264 <S**2>=0.000
 61 -> 65 0.15333
 63 -> 68 -0.23699
 64 -> 65 -0.16309
64 -> 67 0.54157
 64 -> 68 -0.15732
 64 -> 69 0.21366

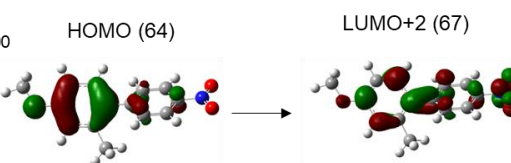
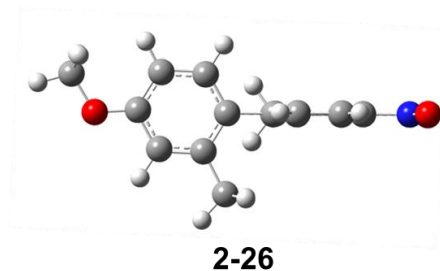
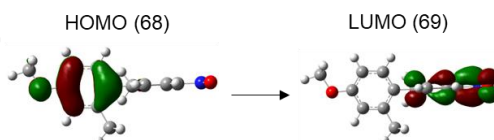


図 2-9. 2-25 の分子軌道図と遷移エネルギー。
 (Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).



| transition | |
|------------|----------|
| 309.42 nm | f=0.0000 |
| 275.11 nm | f=0.0001 |
| 259.47 nm | f=0.0231 |
| 256.22 nm | f=0.0195 |
| 240.46 nm | f=0.3878 |
| 233.72 nm | f=0.0207 |
| 217.12 nm | f=0.0012 |
| 206.55 nm | f=0.1255 |
| 200.60 nm | f=0.0258 |
| 195.82 nm | f=0.0316 |

| Excited State 3: Singlet-A | | | |
|----------------------------|----------------|----------|--------------|
| 4.7783 eV | 259.47 nm | f=0.0231 | <S**2>=0.000 |
| 65 -> 69 | -0.11675 | | |
| 66 -> 69 | 0.31487 | | |
| 68 -> 69 | 0.57528 | | |
| 68 -> 73 | 0.13742 | | |



| Excited State 8: Singlet-A | | | |
|----------------------------|----------------|----------|--------------|
| 6.0026 eV | 206.55 nm | f=0.1255 | <S**2>=0.000 |
| 67 -> 70 | 0.14390 | | |
| 67 -> 71 | 0.27841 | | |
| 68 -> 70 | -0.25641 | | |
| 68 -> 72 | 0.56167 | | |

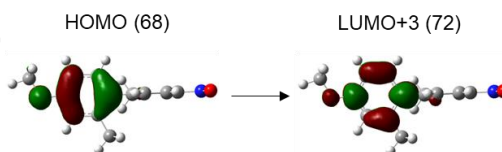
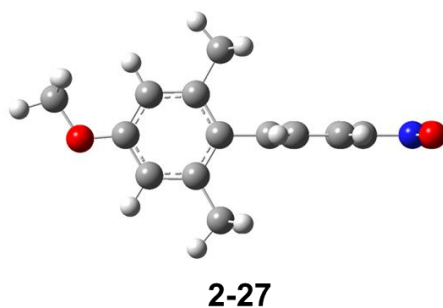
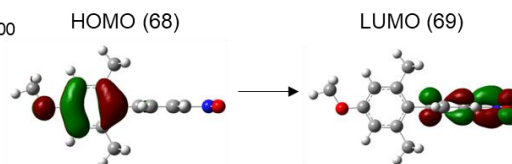


図 2-10. 2-26 の分子軌道図と遷移エネルギー。
(Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).



| transition | |
|------------|----------|
| 309.26 nm | f=0.0000 |
| 274.94 nm | f=0.0001 |
| 269.83 nm | f=0.0000 |
| 248.18 nm | f=0.0130 |
| 238.72 nm | f=0.4424 |
| 233.78 nm | f=0.0134 |
| 229.03 nm | f=0.0000 |
| 212.16 nm | f=0.0004 |
| 208.73 nm | f=0.1324 |
| 194.71 nm | f=0.0050 |

| Excited State 3: Singlet-A | | | |
|----------------------------|----------------|----------|--------------|
| 4.5948 eV | 269.83 nm | f=0.0000 | <S**2>=0.000 |
| 61 -> 69 | -0.11015 | | |
| 68 -> 69 | 0.66769 | | |
| 68 -> 73 | 0.17192 | | |



| Excited State 9: Singlet-A | | | |
|----------------------------|----------------|----------|--------------|
| 5.9400 eV | 208.73 nm | f=0.1324 | <S**2>=0.000 |
| 67 -> 71 | 0.26027 | | |
| 67 -> 72 | -0.15205 | | |
| 68 -> 71 | 0.37152 | | |
| 68 -> 72 | 0.50063 | | |

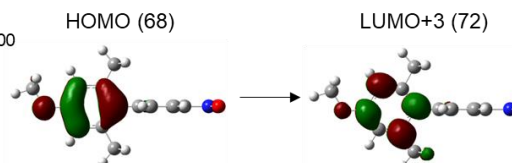
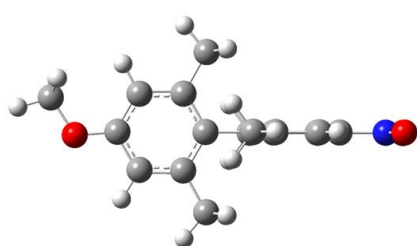


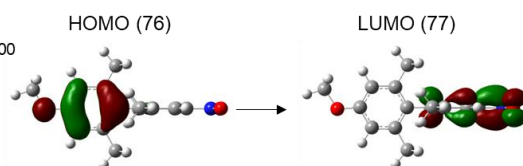
図 2-11. 2-27 の分子軌道図と遷移エネルギー。
(Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).



2-28

| transitions | |
|-------------|----------|
| 309.64 nm | f=0.0000 |
| 275.09 nm | f=0.0001 |
| 264.36 nm | f=0.0193 |
| 263.48 nm | f=0.0043 |
| 245.38 nm | f=0.3921 |
| 234.42 nm | f=0.0146 |
| 222.89 nm | f=0.0000 |
| 208.99 nm | f=0.1313 |
| 201.85 nm | f=0.0002 |
| 197.32 nm | f=0.0200 |

| Excited State 3: Singlet-A | |
|---|---------|
| 4.6900 eV 264.36 nm f=0.0193 <S**2>=0.000 | |
| 73 -> 78 | 0.19187 |
| 74 -> 77 | 0.58191 |
| 75 -> 77 | 0.16073 |
| 76 -> 77 | 0.28927 |



| Excited State 8: Singlet-A | |
|------------------------------|----------|
| 5.9327 eV 208.99 nm f=0.1313 | |
| <S**2>=0.000 | |
| 75 -> 79 | -0.29096 |
| 76 -> 79 | -0.26848 |
| 76 -> 80 | 0.56473 |

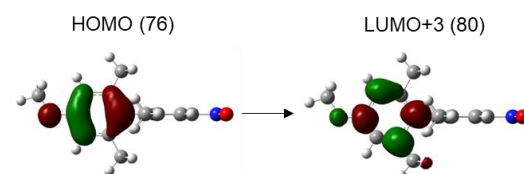


図 2-12. **2-28** の分子軌道図と遷移エネルギー。
(Gaussian 09, TDDFT-CAM-B3LYP/6-31+G (d)).

ICT は溶媒の極性が高いほど電荷が分離した状態が溶媒和により安定化されるため、CT 吸収バンドが長波長に現れる^{52, 58, 59}。そこで、4 位にメトキシ基と 4'位にニトロ基を持つ **2-16** の吸収スペクトルへの溶媒効果を調査するため、種々溶媒中での吸収スペクトルを測定した (図 2-13)。**2-16** の CT 吸収ピークは低極性のヘキサンで最も短波長 (320 nm) に観測された。CT 吸収ピークは溶媒の極性が高くなるにつれて長波長シフトしており、CH₃CN 中ではヘキサン中から 20 nm、DMSO 中では 30 nm ほど長波長シフトした。この吸収スペクトルへの溶媒効果から、**2-16** の CT 性が支持された。

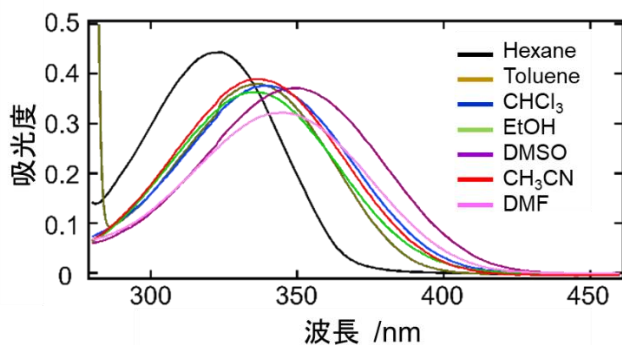


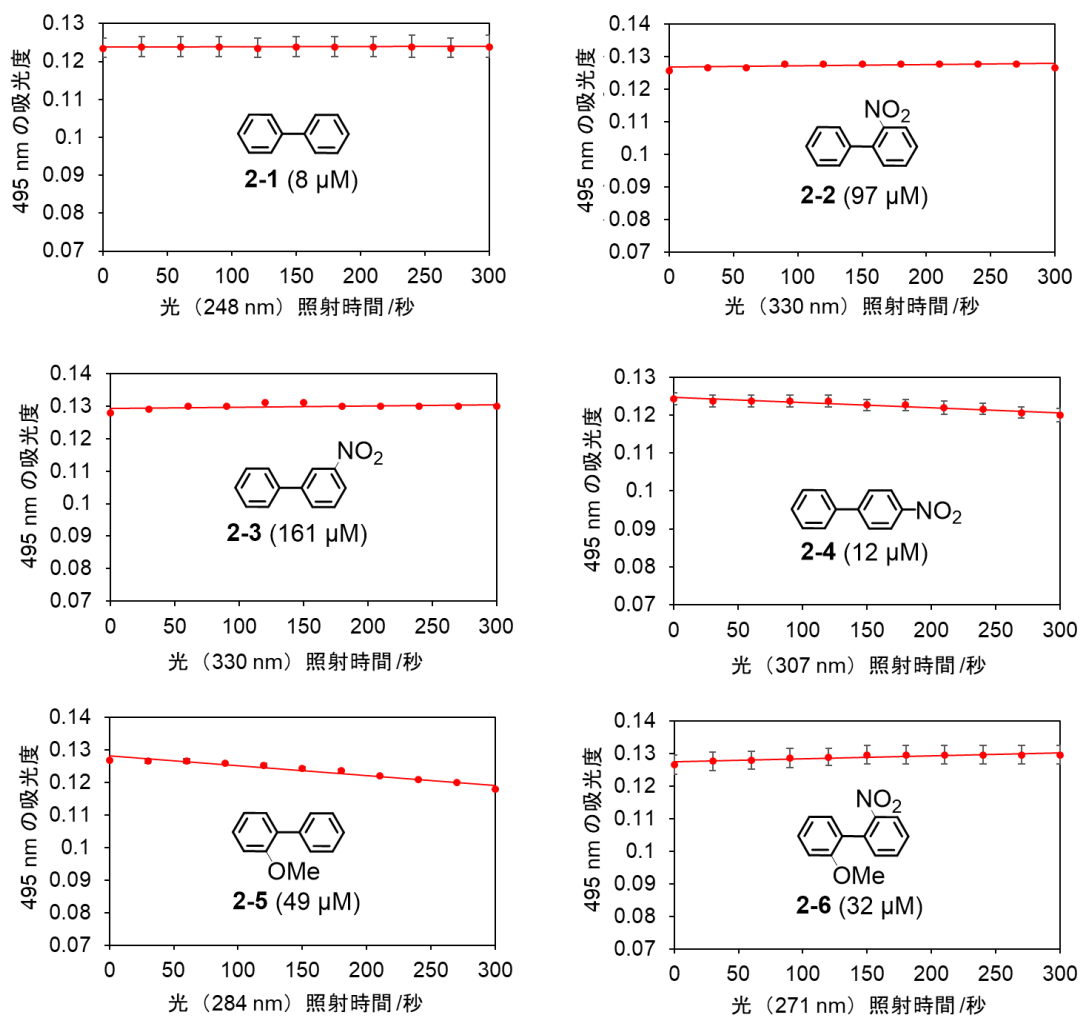
図 2-13. **2-16** (22 μM)の種々溶媒中の吸収スペクトル。

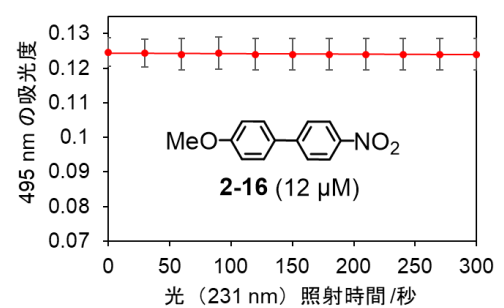
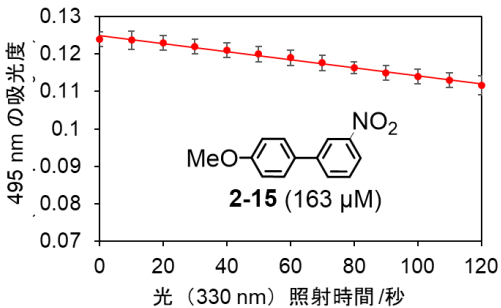
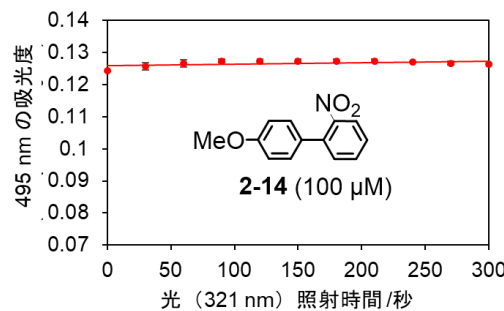
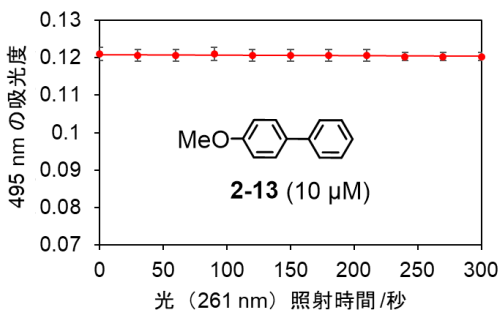
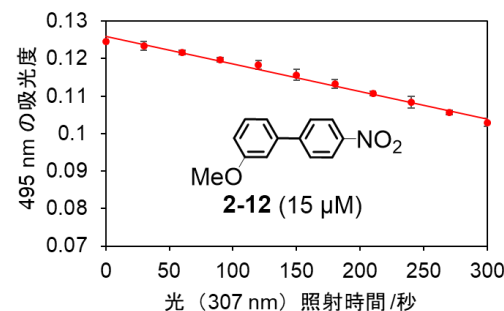
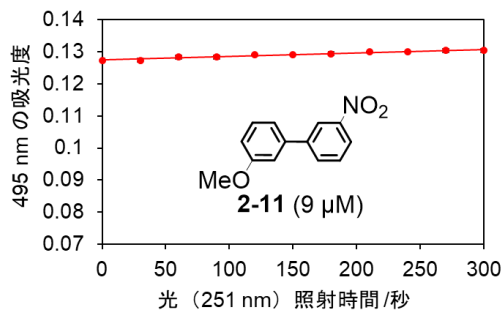
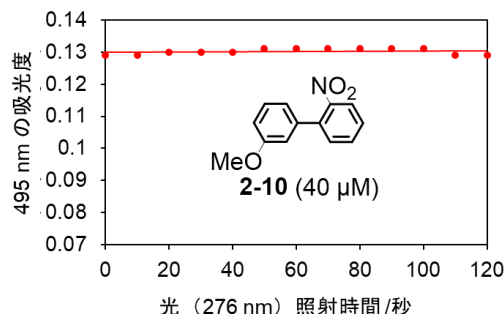
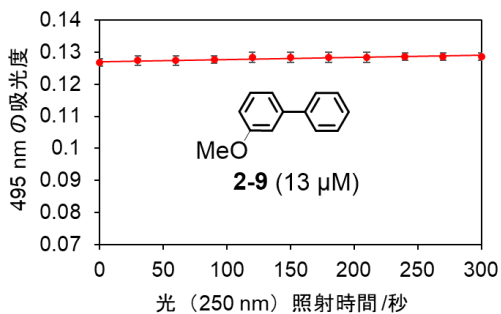
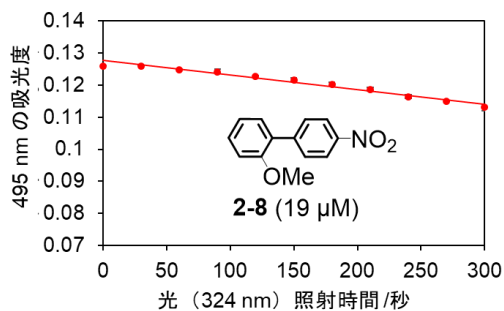
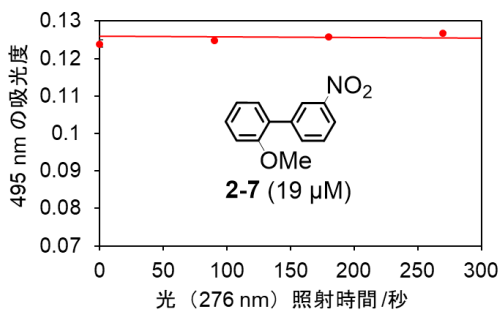
以上、第二章第三節では吸収スペクトルと分子軌道計算から、ビフェニル誘導体（ベンゼン誘導体一種含む）の構造と CT 性について述べた。電子供与性基と電子吸引性基の導入によりビフェニルが CT 性を持つようになることがわかり、特に 4,4'位に電子供与性基と電子吸引性基を持つビフェニル誘導体（**2-16~2-21**）が顕著な CT 吸収を起こすことが示された。また、ビフェニルの平面性が高いほど CT 性が高いことが示された。さらに **2-16** は ICT に特徴的な溶媒効果を示した。

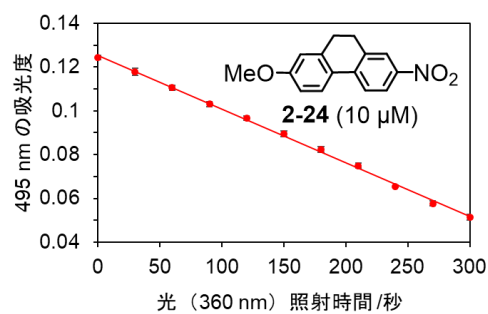
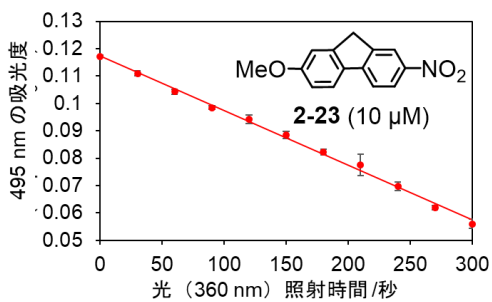
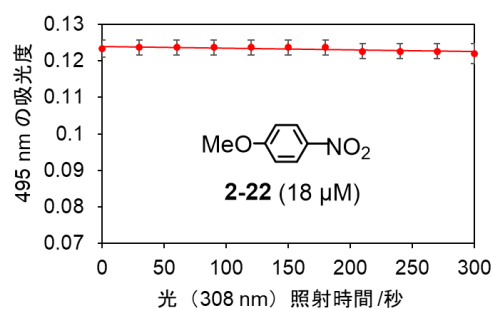
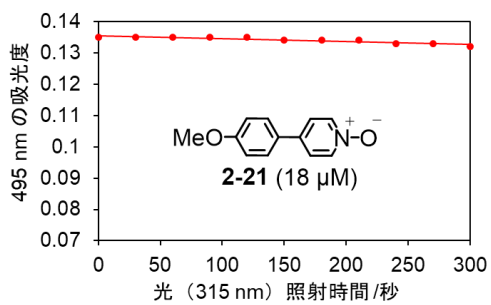
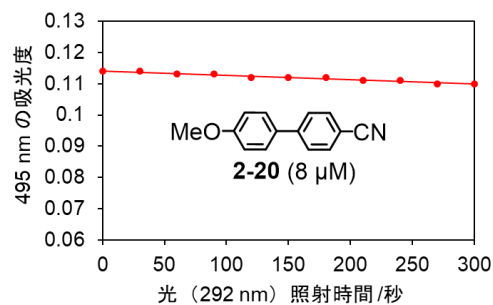
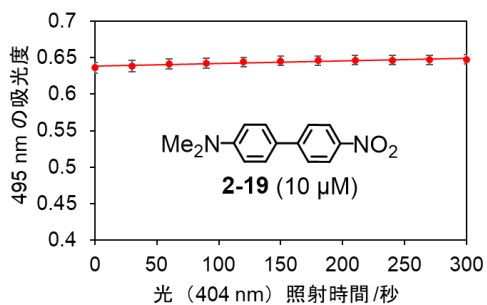
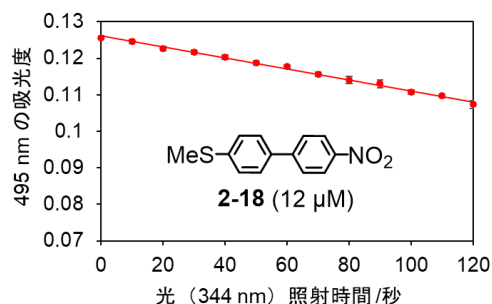
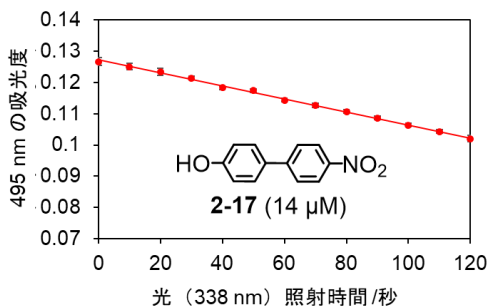
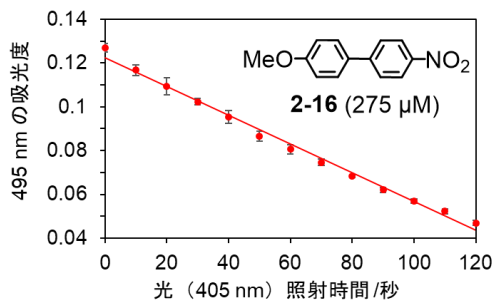
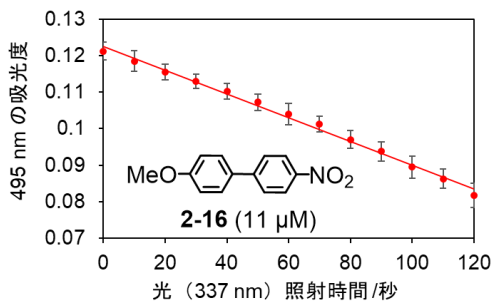
第四節 一重項酸素生成能

本節では、緒言で述べた TPCPD を用いて小さい光増感剤候補化合物 **2-1~2-29** の $^1\text{O}_2$ 生成能を評価した結果を述べる。また、 $^1\text{O}_2$ 生成能とビフェニル誘導体の構造および CT 性との相関について考察する。

光増感剤候補化合物と TPCPD のアセトニトリル中の混合溶液に励起光を照射し、TPCPD の 495 nm の吸光度を光照射時間に対してプロットした (図 2-14)。この結果から、既存の光増感剤であるベンゾフェノンの $^1\text{O}_2$ 生成量子収率 $\Phi_{\Delta} = 0.37^{47}$ を基準にして **2-1~2-29** の Φ_{Δ} を算出した (表 2-2)。







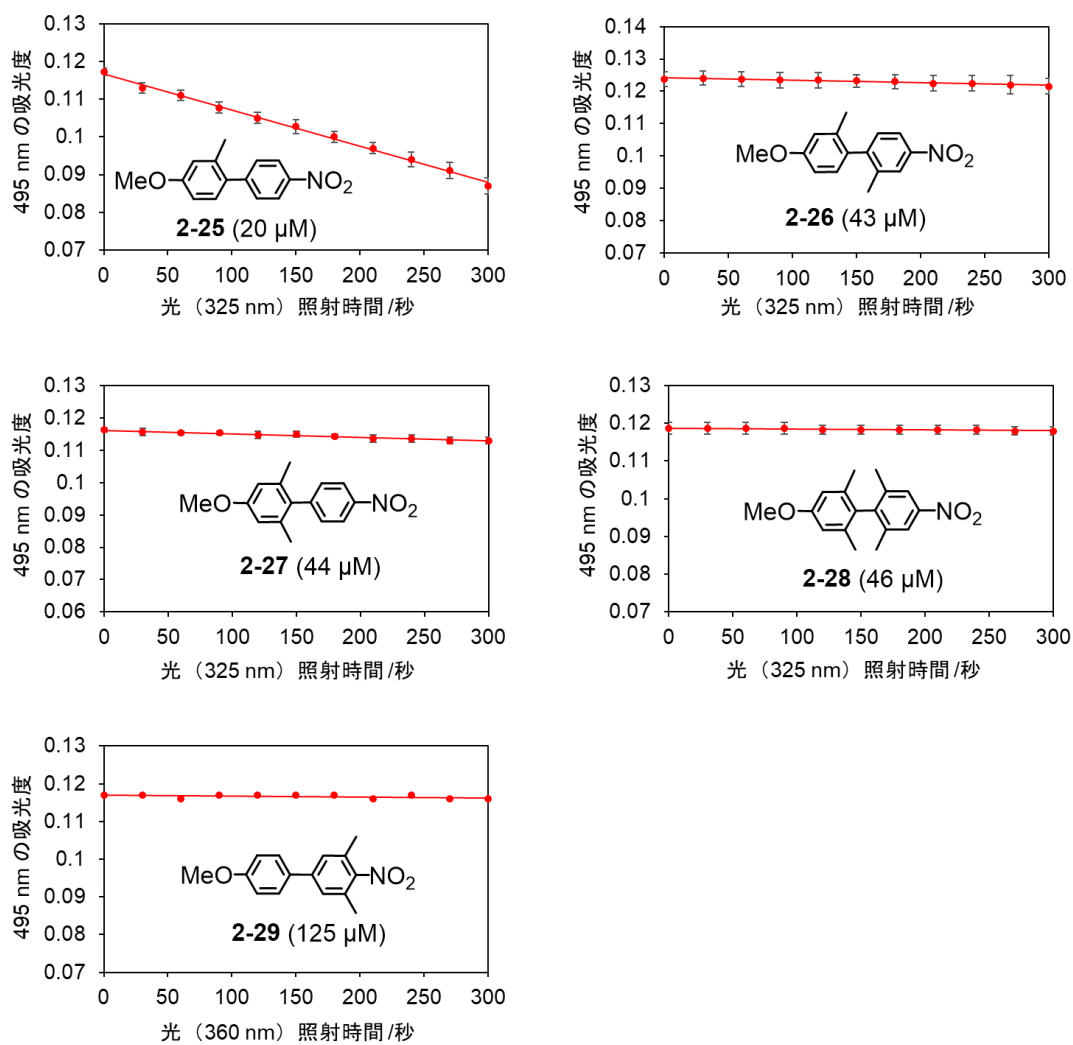


図 2-14. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の $^1\text{O}_2$ 生成能 (TPCPD の 495 nm の吸光度の減少)。ビフェニル誘導体の濃度は励起波長における吸光度が約 0.2 になるように調整した。TPCPD の濃度は 100 μM (2-19 測定時のみ 500 μM)。

表 2-2. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の吸収ピーク波長 (λ_{Abs})、吸光係数 (ϵ)、 $^1\text{O}_2$ 生成量子収率 (Φ_{Δ})。

| Compd. (θ of Ph-Ph) | $\lambda(\text{LE})_{\text{Abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) | $\lambda(\text{CT})_{\text{Abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon'/\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) | $\Phi_{\Delta}(\text{LE}_{\text{ex}})$ | $\Phi_{\Delta}(\text{CT}_{\text{ex}})$ |
|--------------------------------|---|--|--|--|
| 2-1 | 248 (23500) | ND | ND | NA ^a |
| 2-2 | 231 (15600) | 300 (1800) | ND | ND ^b |
| 2-3 | 248 (25200) | 330 (1100) | ND | ND |
| 2-4 | 222 (11600) | 307 (15700) | ND | 0.06 |
| 2-5 | 246 (8900) | 284 (3500) | ND | 0.22 |
| 2-6 | 240 (11900) | 271 (5500) | ND | ND |
| 2-7 | 250 (16700) | 276 (8600) | ND | ND |
| 2-8 (46°) | 257 (7100) | 324 (9600) | ND | 0.13 |
| 2-9 | 250 (13600) | 290 (3000) | ND | ND |
| 2-10 | 244 (9900) | 276 (4200) | ND | ND |
| 2-11 | 250 (19900) | 330 (<1000) | ND | NA |
| 2-12 | 260 (5700) | 307 (12300) | ND | 0.24 |
| 2-13 | 261 (20700) | ND | ND | NA |
| 2-14 (49°) | 249 (17300) | 330 (1800) | ND | ND |
| 2-15 | 263 (26700) | 330 (1200) | ND | 0.38 |
| 2-16 (37°) | 231 (15200) | 337 (16900) | ND | 0.88 0.17 ^c 0.93 ^d |
| 2-17 | 233 (10600) | 338 (13600) | ND | 0.59 |
| 2-18 | 252 (13100) | 344 (16700) | ND | 0.43 |
| 2-19 | 266 (16800) | 404 (18500) | ND | ND |
| 2-20 | 220 (17800) | 292 (26400) | ND | ND |
| 2-21 | 220 (18300) | 315 (21300) | ND | ND |
| 2-22 | 221 (7400) | 308 (11000) | ND | ND |
| 2-23 (0°) | 243 (13200) | 360 (21700) | ND | 0.47 |
| 2-24 (21°) | 240 (12000) | 360 (21400) | ND | 0.56 |
| 2-25 (51°) | 230 (13100) | 325 (9300) | ND | 0.31 |
| 2-26 (87°) | 275 (5600) | 325 (3800) | ND | ND |
| 2-27 (90°) | 268 (8500) | 325 (3600) | ND | ND |
| 2-28 (90°) | 280 (13500) | 325 (3600) | ND | ND |
| 2-29 | 265 (17200) | 360 (1600) | ND | ND |

a: Not applicable. b: TPCPD の吸光度減少が 0.05 未満の場合を ND とした。c: 水中、 $^1\text{O}_2$ の燐光から求めた値 (図 2-16 参照)。d: 405 nm の光で励起した場合の値。

2-1~2-29 による効率的な $^1\text{O}_2$ 生成は CT 励起の場合に観測され、LE 励起では観測されなかった。**2-1~2-16** は、電子供与性基のメトキシ基と電子吸引性基のニトロ基の置換位置を変えた誘導体群であるが、最も高い Φ_{Δ} を示したのは置換基を 4,4' 位に持つ **2-16** ($\Phi_{\Delta}=0.88$) であった。前節の吸収スペクトルと分子軌道計算から **2-16** は **2-1~2-16** の中で最も顕著な CT 吸収バンドを持つことが分かっている。以上の結果から、CT 性が Φ_{Δ} に影響を及ぼすことが示唆された。しかし、例えば 4' 位にのみ置換基 (ニトロ基) を持つ **2-4** と 2 位にのみ置換基 (メトキシ基) を持つ **2-5** を比較すると CT 吸光係数は **2-4** の方が大きい、 Φ_{Δ} は **2-5** の方が大きく、CT 性のみが Φ_{Δ} を決めるわけではない。最も高い Φ_{Δ} を示した **2-16** の比較として電子供与性基をヒドロキシ基またはメチルチオ基にした **2-17**、**2-18** の Φ_{Δ} はそれぞれ 0.59、0.43 であり、**2-16** には劣るものの比較的高い $^1\text{O}_2$ 生成能を示した。4 位にジメチルアミノ基を持つ **2-19**、4' 位にシアノ基を持つ **2-20**、電子吸引側にピリジン-*N*-オキソドを持つ **2-21** は顕著な CT 吸収バンドを示し、 $^1\text{O}_2$ を生成すると予想したが、結果として $^1\text{O}_2$ の生成は確認されなかった。Hammett 則¹¹²によればメトキシ基 ($\sigma_{\text{R}}: -0.42$) よりもジメチルアミノ基 ($\sigma_{\text{R}}: -0.64$) の方が電子供与性は大きく、また一般的な置換基の中でシアノ基 ($\sigma_{\text{R}}: 0.10$) はニトロ基 ($\sigma_{\text{R}}: 0.18$) に次ぐ電子吸引性を持つなど **2-19**、**2-20** の CT 性は十分高いと考えられたが、 $^1\text{O}_2$ を生成しなかった。窒素原子は光誘起電子移動 (PET) により励起状態から電子の授受を起こしやすくクエンチ源になる場合が多いことが原因かもしれないが、これらの結果に関しては更なる検討が必要である。ベンゼン誘導体である **2-22** では $^1\text{O}_2$ の生成は観測されなかった。この原因の一つとしてはベンゼン環が 1 個だと励起状態における電荷分離が充分でないことが考えられる。Ph-Ph 結合のねじれ角を変えた **2-16**、**2-23~2-28** においては、ビフェニルの平面性を保ち比較的大きな CT 吸収バンドを持つ **2-16**、**2-23~2-25** が $^1\text{O}_2$ を生成した。一方で Ph-Ph 結合がほぼ直交する **2-26~2-28** は CT 吸収バンドが小さいためか $^1\text{O}_2$ の生成は観測されなかった。また、Ph-NO₂ 結合をねじれさせた **2-29** は $^1\text{O}_2$ を生成しなかった。以上の構造活性相関の結果から効率的な $^1\text{O}_2$ 生成に必要な分子構造をまとめた。

- i) ビフェニル骨格であること。
- ii) ジメチルアミノ基以外の電子供与性基を 4 位に持つこと。
- iii) ニトロ基を 4' 位に持つこと。
- iv) 基底状態の分子骨格について、Ph-Ph 結合および Ph-NO₂ 結合の二面角が 0° (平面) に近いこと。

最も高い Φ_{Δ} を示した **2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成能について更なる検討を行った。表 2-2 に示した通り CT 吸収極大波長 (337 nm) で励起した場合の Φ_{Δ} (0.88) に比べ、CT 吸収の長波長側の裾にあたる 405 nm で励起した方が、 Φ_{Δ} (0.93) が高かった。紫外光は細胞毒性を

持つため、可視光でより高い Φ_{Δ} を示す**2-16**の特徴は PDT 応用に望ましい。

前節で述べたように ICT による電荷分離状態は高極性溶媒中で安定化されるため、**2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成能も溶媒効果を受けると予想された。そこで **2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成能を種々溶媒中、TPCPD で評価した (図 2-15、表 2-3)。TPCPD は水への溶解性が低いため、水中の $^1\text{O}_2$ 生成能は $^1\text{O}_2$ の燐光 (1275 nm) 強度から直接求めた (図 2-16)。**2-16** の Φ_{Δ} は非プロトン性で比較的極性の大きい溶媒であるクロロホルムとアセトニトリル中でそれぞれ 0.85、0.88 であった。いっぽう、低極性溶媒のヘキサン中では Φ_{Δ} は 0.09 と低かった。極性溶媒中では電荷分離状態が安定化されたため、**2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成能が高くなったと考えられる。またプロトン性溶媒のメタノール、水中では Φ_{Δ} がそれぞれ 0.35、0.17 と比較的 low かった。この原因としては、溶媒の O-H 振動共鳴エネルギーが比較的大きいことが原因で起こる、**2-16** の励起状態の非輻射遷移によるクエンチが考えられる。

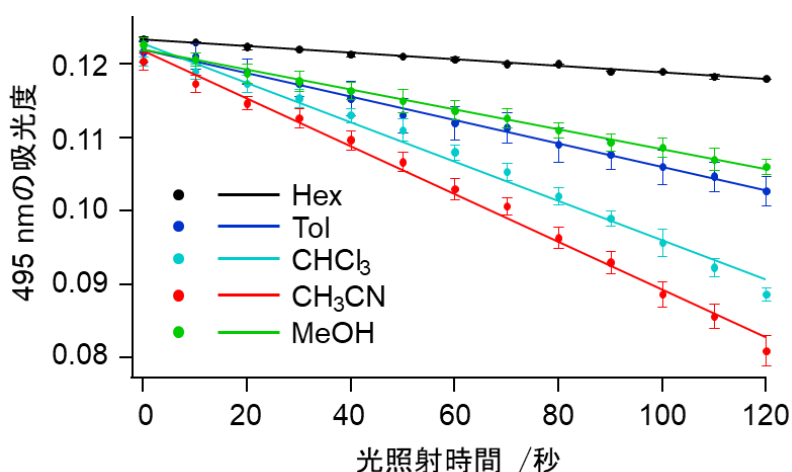


図 2-15. **2-16** (11 μM) の種々溶媒中での $^1\text{O}_2$ 生成能 (TPCPD の 495 nm の吸光度の減少)。励起波長 λ_{ex} : 322 nm (Hex); 337 nm (Tol); 339 nm (CHCl_3); 337 nm (CH_3CN); 335 nm (MeOH)。

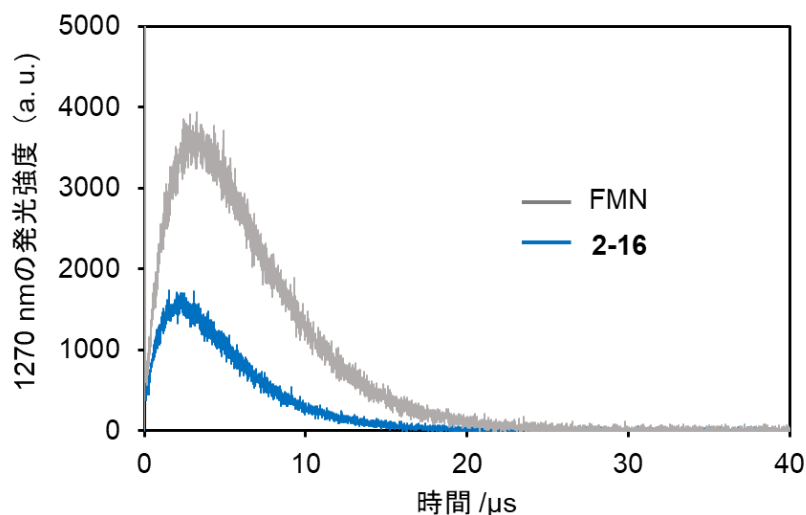


図 2-16. 光増感剤 (10 μM in H_2O (1% DMSO)) により生成した $^1\text{O}_2$ の燐光の減衰曲線。
 $\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$ 。2-16 の Φ_{Δ} を求めるための基準として光増感剤フラビンモノヌクレオチド
(flavin mononucleotide, FMN, $\Phi_{\Delta} = 0.51^{113}$) を用いた。

表 2-3. 2-16 の種々溶媒中での $^1\text{O}_2$ 生成量子収率 Φ_{Δ}

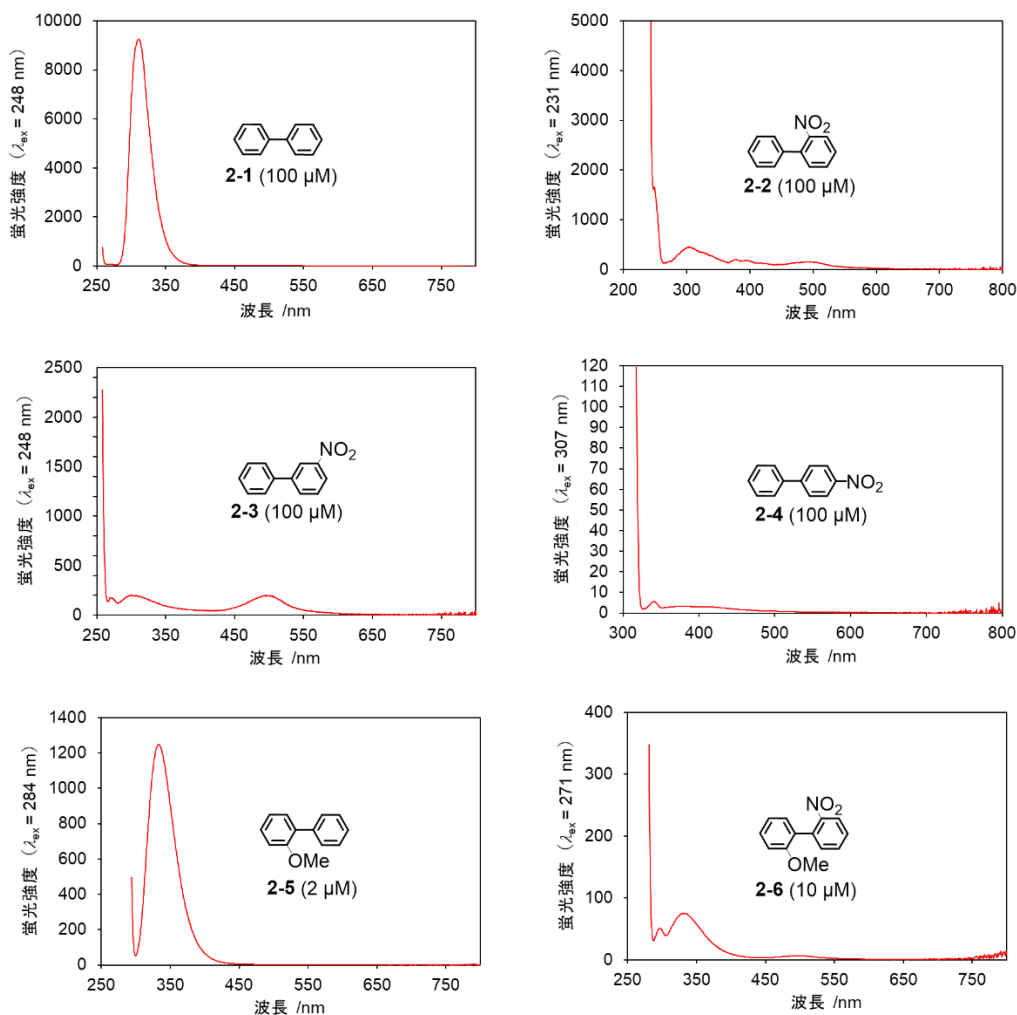
| 溶媒 | $\lambda_{\text{ex}} / \text{nm}$ | Φ_{Δ} |
|------------------------|-----------------------------------|-----------------|
| Hexane | 322 | 0.09 |
| Toluene | 337 | 0.46 |
| CHCl_3 | 339 | 0.85 |
| CH_3CN | 337 | 0.88 |
| MeOH | 335 | 0.35 |
| H_2O | 355 | 0.17 |

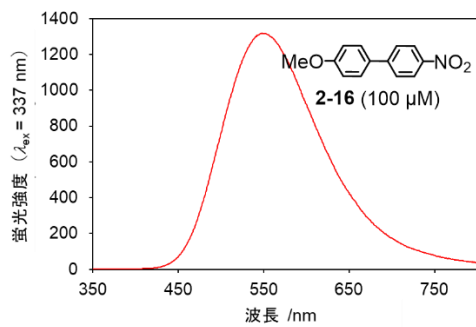
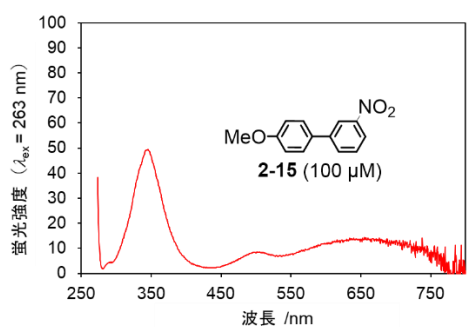
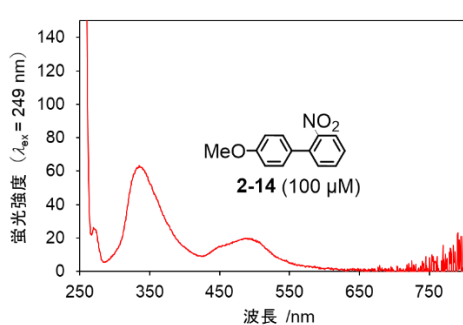
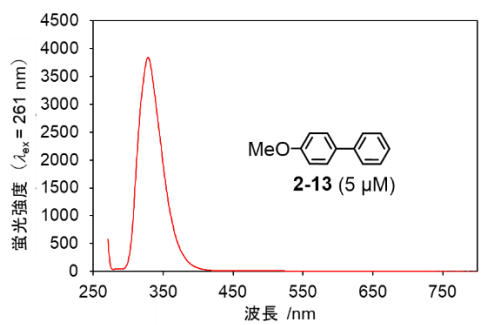
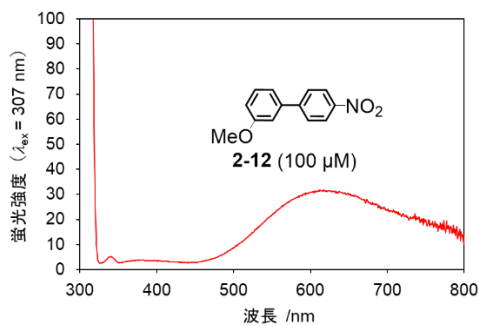
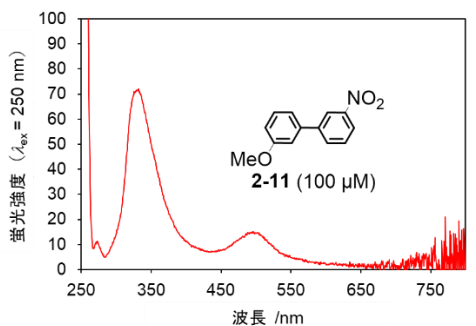
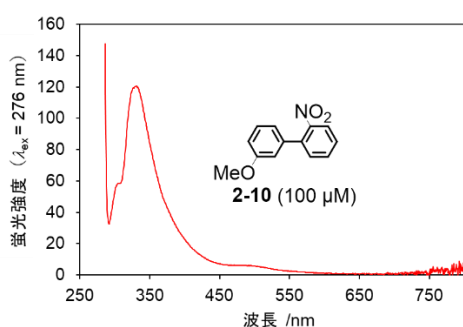
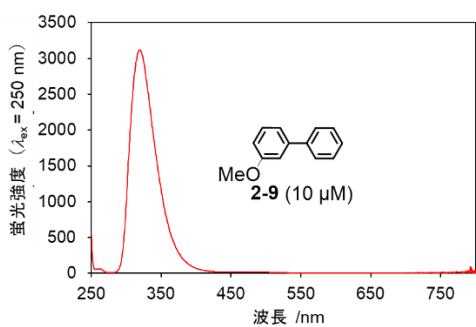
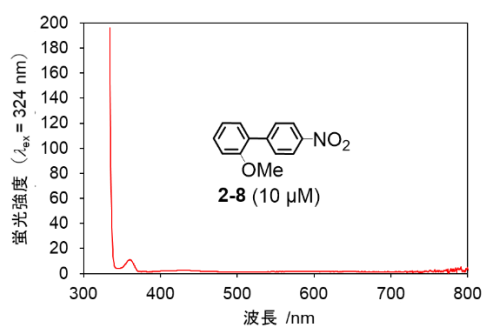
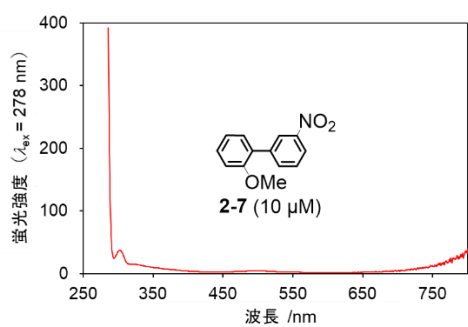
以上、第二章第四節ではビフェニル誘導体 (ベンゼン誘導体一種含む) の $^1\text{O}_2$ 生成能評価の結果を述べた。顕著な CT 吸収を示した 2-16~2-18, 2-23, 2-24 が効率的に $^1\text{O}_2$ を生成し、CT 性が $^1\text{O}_2$ 生成能に影響を与えることが示唆された。評価化合物中で 4 位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル 2-16 がアセトニトリル中で最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能 ($\Phi_{\Delta} = 0.88$) を示した。2-16 の $^1\text{O}_2$ 生成能には比較的大きな溶媒効果が確認された。また、2-16 は水中でも $^1\text{O}_2$ を生成し ($\Phi_{\Delta} = 0.17$)、生体中でも増感能を示す可能性が高く、PDT への応用可能性が示された。

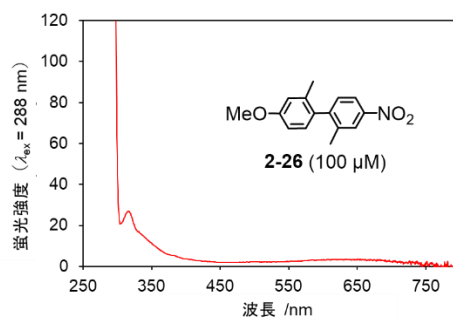
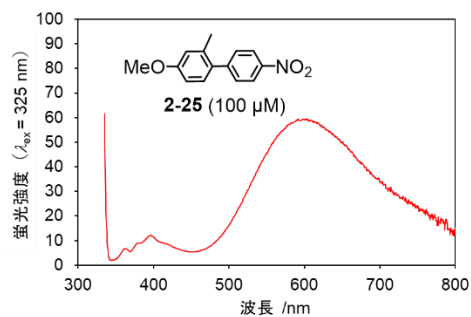
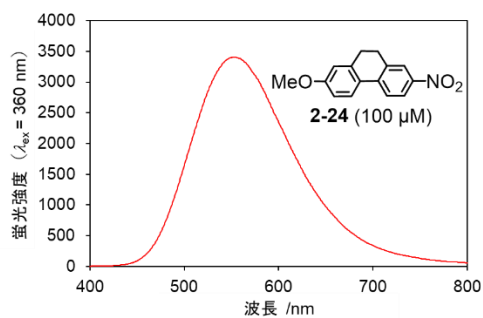
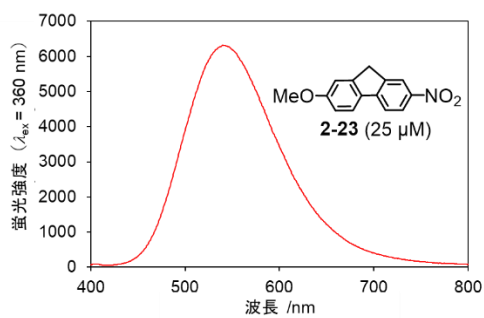
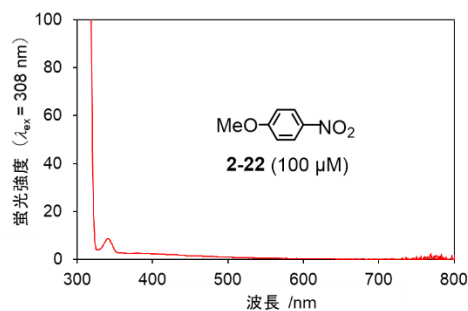
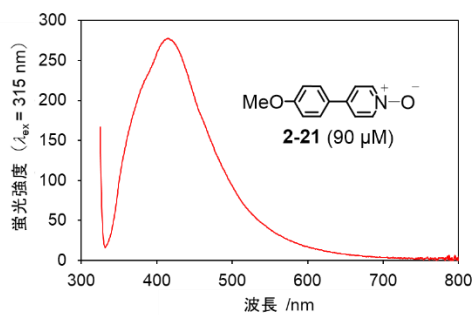
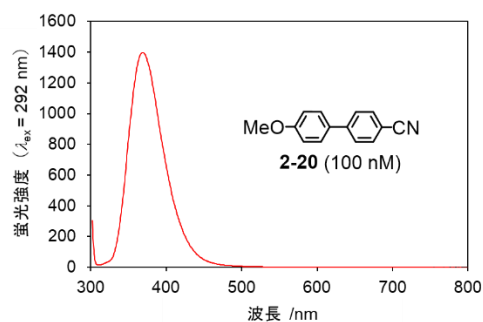
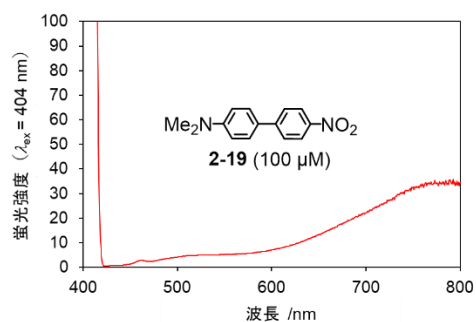
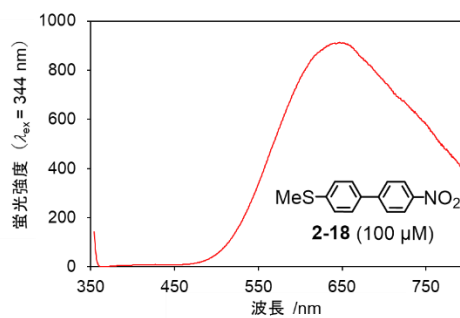
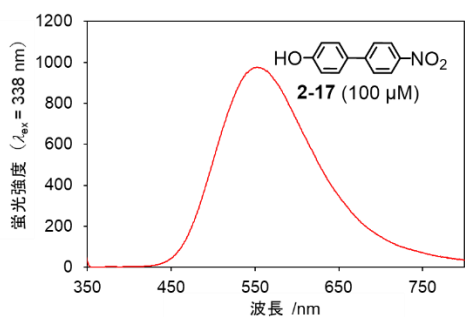
第五節 蛍光

本節では **2-1~2-29** の蛍光特性について述べる。蛍光波長や蛍光量子収率 Φ_f から化合物の励起状態の挙動について考察する。

2-1~2-29 のアセトニトリル中の蛍光スペクトルを図 **2-17** に、蛍光波長や蛍光量子収率 Φ_f を表 **2-4** に示す。 Φ_f は積分球を使って求めた。**2-2~2-4**, **2-7**, **2-8**, **2-22**, **2-26**, **2-27** のスペクトルからは顕著な蛍光ピークは観察されなかった。**2-1**, **2-5**, **2-6**, **2-9**, **2-10**, **2-11**, **2-13**, **2-14**, **2-20**, **2-28**, **2-29** の蛍光バンドは 300~400 nm 付近に表れた。それ以外の化合物の蛍光バンドは 400 nm よりも長波長側にブロードに表れた。**2-1**, **2-5**, **2-9**, **2-13**, **2-20**, **2-29** の Φ_f は 0.04~0.61 の値を示した。一方でそれ以外の化合物の Φ_f は 0.01 以下の値で、励起種の大部分がなんらかの非輻射遷移でエネルギーを放出することがわかった。







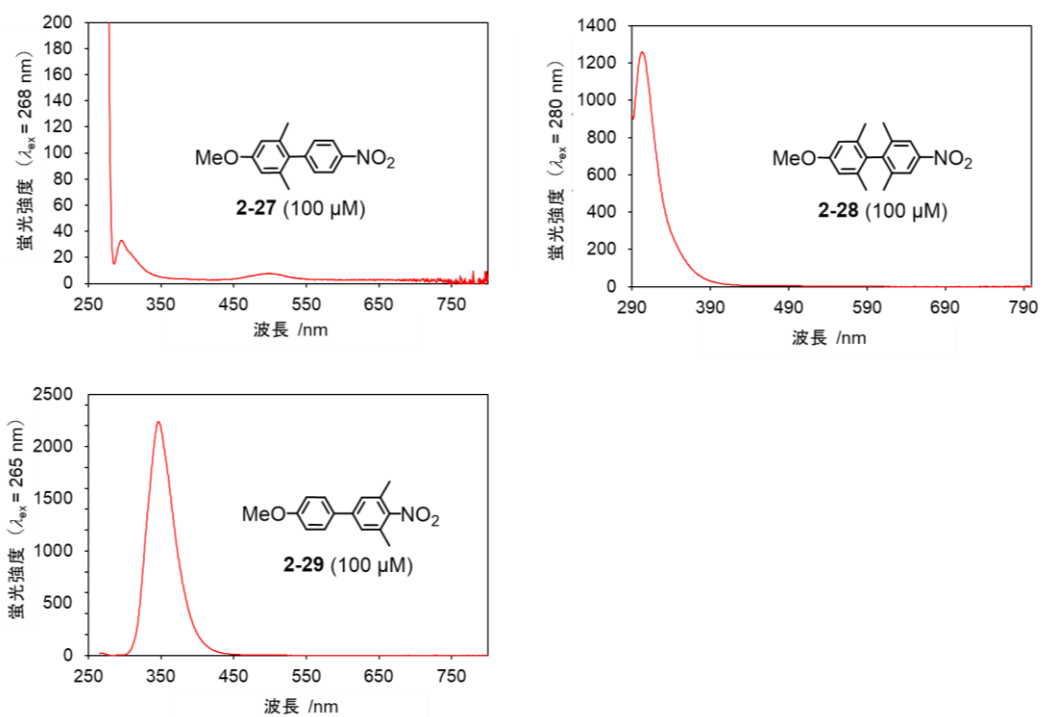


図 2-17. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の蛍光スペクトル。

表 2-4. 2-1~2-29 のアセトニトリル中の蛍光波長 (λ_{em}) と蛍光量子収率 (Φ_F)。

| Compd. | λ_{em} /nm (λ_{ex} /nm) | Φ_F |
|-------------|--|-----------------|
| 2-1 | 311 (248) | 0.07 |
| 2-2 | ND | NA ^a |
| 2-3 | ND | NA |
| 2-4 | ND | NA |
| 2-5 | 333 (246, 284) | 0.21 |
| 2-6 | 331 (240, 271) | <0.01 |
| 2-7 | ND | NA |
| 2-8 | ND | NA |
| 2-9 | 329 (250, 290) | 0.23 |
| 2-10 | 331 (244, 276) | <0.01 |
| 2-11 | 332 (250) | <0.01 |
| 2-12 | 611 (260, 307) | <0.01 |
| 2-13 | 328 (261) | 0.13 |
| 2-14 | 335 (249) | <0.01 |
| 2-15 | 345 (263) | <0.01 |
| 2-16 | 551 (231, 337) | <0.01 |
| 2-17 | 552 (233, 338) | <0.01 |
| 2-18 | 645 (252, 344) | <0.01 |
| 2-19 | 789 (266, 404) | <0.01 |
| 2-20 | 369 (220, 292) | 0.61 |
| 2-21 | 415 (315) | <0.01 |
| 2-22 | ND | NA |
| 2-23 | 540 (243, 360) | <0.01 |
| 2-24 | 555 (240, 360) | 0.01 |
| 2-25 | 600 (230, 325) | <0.01 |
| 2-26 | ND | NA |
| 2-27 | ND | NA |
| 2-28 | 303 (280) | <0.01 |
| 2-29 | 350 (265) | 0.04 |

a: Not applicable.

顕著な CT 吸収を示した **2-16** の蛍光スペクトルに関しては、337 nm での励起により、551 nm を中心とするブロードな発光バンドが得られた。この発光の寿命は 100 ps 以下であった (図 2-18)。一般的に蛍光寿命はピコ~ナノ秒であり、この発光が燐光ではなく

蛍光であることがわかった。**2-16**の吸収ピークと蛍光ピークの波長差、すなわち Stokes シフト (214 nm) は一般的な蛍光色素、例えばフルオレセインのもの (25 nm)¹¹⁴ に比べて 8.5 倍も大きかった。この比較的大きな Stokes シフトは PICT から TICT へのプロセスにおけるエネルギー緩和によって説明できる (図 2-19)。電子ドナーD と電子アクセプターA の結合が回転可能な場合、平面に近い構造の S_0 が光を吸収して PICT になった後に、 π 共役平面上のビラジカル軌道同士が反発し、TICT へと回転して軌道が直交することにより反発が緩和される^{32, 75}。TICT から蛍光を発する場合、蛍光を発してねじれた S_0' に遷移してから最安定の平面型の S_0 に緩和される。この回転によるエネルギー緩和のために TICT 化合物は比較的大きな Stokes シフトを示す¹¹⁵。**2-16** は Ph-Ph 結合の回転により PICT から TICT へエネルギー緩和すると考えられる⁷⁶。

ICT 化合物は蛍光発光においても溶媒効果が観察されることが知られている^{32, 52}。これは TICT の安定化によると考えられる。そこで、**2-16** の蛍光に対する溶媒効果を調べるため、種々溶媒中で蛍光スペクトルを測定した (図 2-20)。蛍光は非プロトン性極性溶媒 (DMSO, DMF, CH_3CN) 中でははっきりと観察されたが、クロロホルムとエタノール中では非常に弱く、低極性溶媒のヘキサン、トルエン中では観察されなかった。溶媒の極性が高くなるにつれ、蛍光ピーク波長が長波長シフトした (クロロホルム : 509 nm、DMF : 540 nm、 CH_3CN : 550 nm、DMSO : 563 nm)。この顕著な溶媒効果は **2-16** の蛍光が 1CT (TICT) から生成されたことを示唆している。

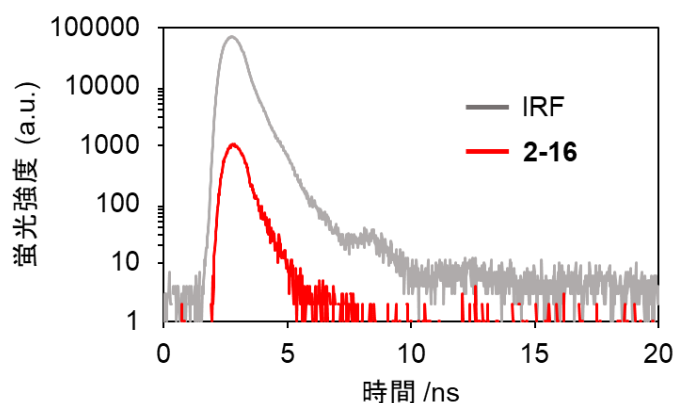


図 2-18. **2-16** (50 μM)のエタノール中の蛍光強度の時間変化。 $\lambda_{ex} = 365$ nm, $\lambda_{em} = 568$ nm。測定は蛍光寿命測定装置 (浜松ホトニクス C113678) で行った。減衰曲線は繰り返し 1 MHz で 6 分間積算した。減衰曲線の寿命は装置付属のソフトウェアを用いて単一指数関数で解析した。解析した寿命は装置の励起光の減衰 (装置応答関数、IRF) 寿命 (100 ps) よりも短く、正確な寿命は求めることができなかった。

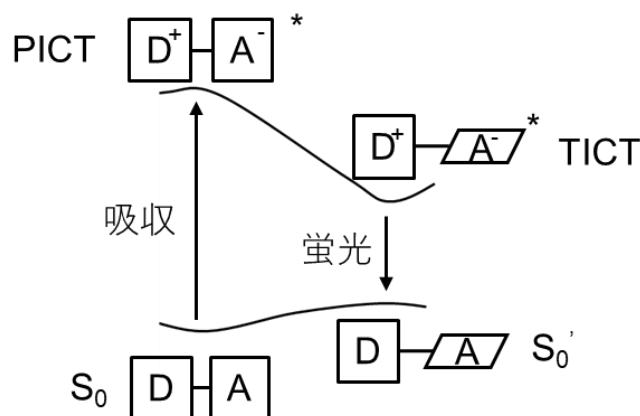


図 2-19. TICT 機構の模式図。

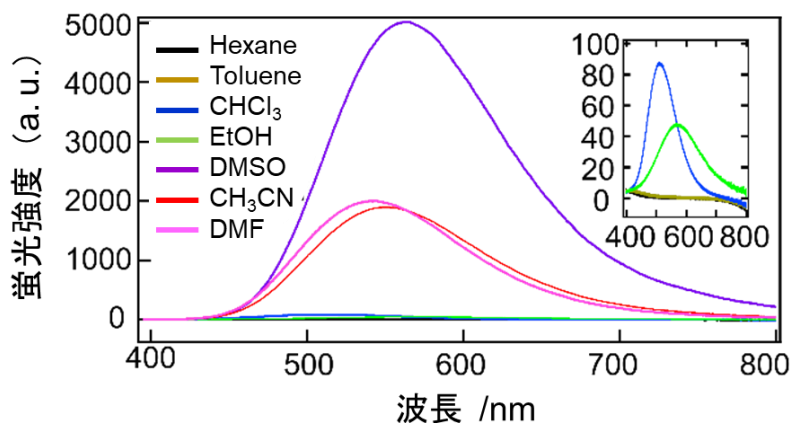


図 2-20. **2-16** (100 μ M)の種々溶媒中の蛍光スペクトル。励起波長 λ_{ex} : 322 nm (Hexane); 337 nm (Toluene); 339 nm (CHCl₃); 337 nm (CH₃CN); 335 nm (EtOH); 345 nm (DMF); 349 nm (DMSO)。挿入図は低強度領域の拡大スペクトル。

以上、第二章第五節ではビフェニル誘導体の蛍光特性を述べた。**2-1**, **2-5**, **2-9**, **2-13**, **2-20**, **2-28** 以外の化合物は ϕ_F が1%未満であった。第四節で比較的高い¹O₂生成能($\phi_A = 47\% \sim 88\%$)を示した**2-16**~**2-18**, **2-23**, **2-24**の ϕ_F が1%未満であることは理に適っている。また、**2-16**は大きいStokesシフトや溶媒効果を示し、CT励起によって $S_0 \rightarrow$ PICT \rightarrow TICTのプロセスを経ることが示唆された。

第六節 過渡吸収

序論で述べたように一般的な光増感剤は光励起後、長寿命の T_1 に遷移し、この T_1 が 3O_2 と電子交換することで 1O_2 が生成する^{116, 117}。4 位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持ち、 1O_2 生成能を示した **2-16** や Ph-Ph 結合を固定した平面誘導体 **2-23** は CT 励起により T_1 に遷移すると予想されるので、 T_1 生成を確かめるために過渡吸収測定を行うこととした。過渡吸収測定では、パルスレーザーによって分子を過渡的に励起し、励起された分子にプローブ光を照射することで T_1 を含む励起種の光吸収を測定することができる。 T_1 に遷移する分子の過渡吸収測定を行うと、 $T_n \leftarrow T_1$ 吸収を観測でき、その吸収強度から T_1 生成量を見積もることができる。

まず、**2-16** が CT 励起により T_1 生成するかを確かめるため、YAG レーザーを用いて 266 nm または 355 nm の光で励起して過渡吸収スペクトルと過渡吸収減衰曲線を測定した (図 2-21)。**2-16** の基底状態の吸収スペクトル (図 2-4) から、266 nm は LE 波長、355 nm は CT 波長に相当することがわかる。それぞれの励起波長における測定試料の吸光度を約 0.6 に揃え、二つの条件を比較できるようにした。過渡吸収スペクトルにおいて CT 波長 (355 nm) で励起した場合、660 nm をピークとする過渡吸収バンドがはっきりと観察できる一方で、LE 波長 (266 nm) で励起しても過渡吸収バンドはほとんど観察されなかった (図 2-21a)。これは、 T_1 が 1CT からの遷移で優先的に生成することを示唆している。500~730 nm の過渡吸収種の寿命は図 2-21b の減衰曲線から 362 ns (Ex. 355 nm) と求められた (装置付属のソフトウェアを用いて単一指数関数解析で寿命を求めた)。この比較的長い過渡吸収種の寿命は T_1 由来と思われるが、非常に寿命の長い S_1 など T_1 以外の励起種である可能性を排除するため、酸素バブリングもしくは窒素バブリング (脱気) したアセトニトリル中で **2-16** の過渡吸収測定を行った (図 2-22)。過渡吸収種が T_1 であれば、窒素バブリング溶液に比べ、酸素バブリング溶液では酸素と反応して寿命が短くなるはずである¹¹⁸。CT 波長 (355 nm) で励起した際の 625 nm の過渡吸収種の寿命は窒素バブリング溶液中で 431 ns であるのに対し、酸素バブリング溶液中では 234 ns と短くなり、過渡吸収種が T_1 であることが示された (T_1 寿命は単一指数関数解析で求めた)。

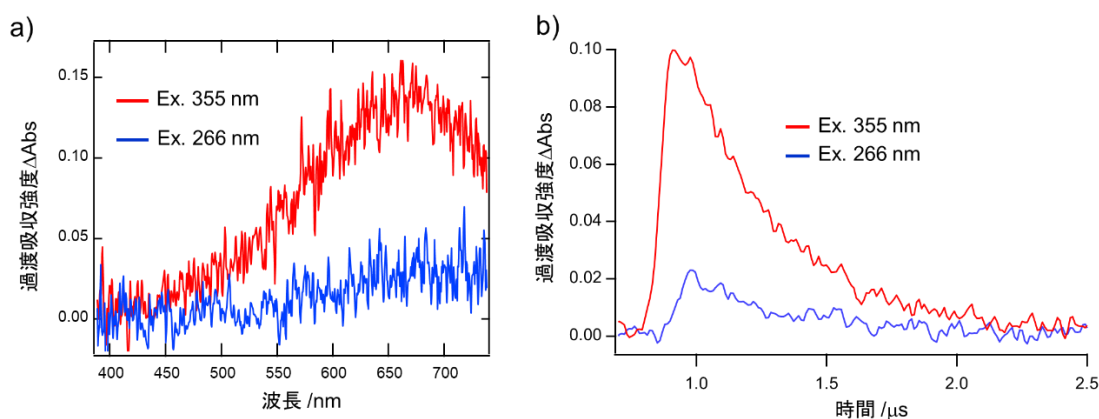


図 2-21. a) **2-16** (250 μM for Ex.266 nm, 50 μM for Ex. 355 nm) のアセトニトリル中の過渡吸収スペクトル ($\lambda_{\text{ex}} = 266 \text{ nm}$ or 355 nm)。b) **2-16** のアセトニトリル中の過渡吸収の時間変化 ($\lambda_{\text{obs}} = 500\sim 730 \text{ nm}$)。

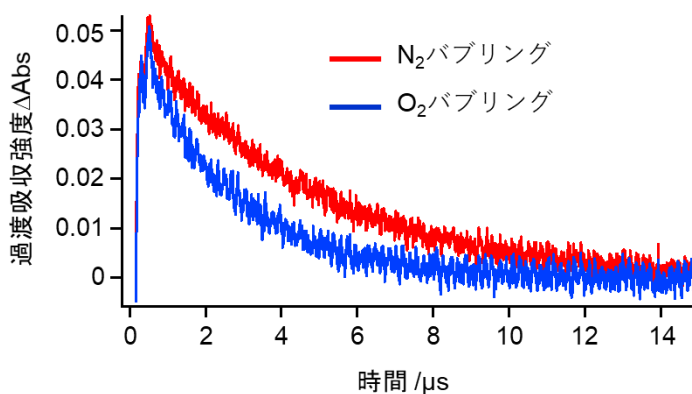


図 2-22. **2-16** (40 μM)の酸素または窒素バブリングしたアセトニトリル中の過渡吸収の時間変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 625 \text{ nm}$)。

続いて、Ph-Ph 結合の回転が T_1 生成に与える影響を調べるため、**2-16** と **2-23** の過渡吸収スペクトルを比較した (図 2-23)。**2-16** と **2-23** のエタノール溶液を 355 nm で励起した際の過渡吸収スペクトルは互いに形状が異なった。Gaussian フィッティングにより、**2-16** の過渡吸収スペクトルは 667 nm のメインバンドと 613 nm のサイドバンドを持つことがわかった (図 2-24a-c)。一方、**2-23** の過渡吸収スペクトルは 596 nm のメインバンドと 456, 730 nm のサイドバンドに分解できた (図 2-24d-f)。このような過渡吸収スペクトルのピーク波長や形状の違いは、二つの化合物の T_1 の三次元構造が異なることを示唆している。**2-16** は励起状態で Ph-Ph 結合が回転できるのに対し、**2-23** では Ph-Ph

結合が固定されており回転できないため、Ph-NO₂ 結合が回転すると予想される。この回転軸の違いが **2-16** と **2-23** の T₁ の三次元構造の違いを生じていると考えられる。また、**2-16** の過渡吸収ピークの強度は **2-23** のピーク強度の約二倍であり、これは Φ_A の比率 (0.88/0.47) に一致した。つまり **2-16** と **2-23** では、それぞれの化合物の T₁ 生成量が直接¹O₂ 生成量を決めることを示唆している。

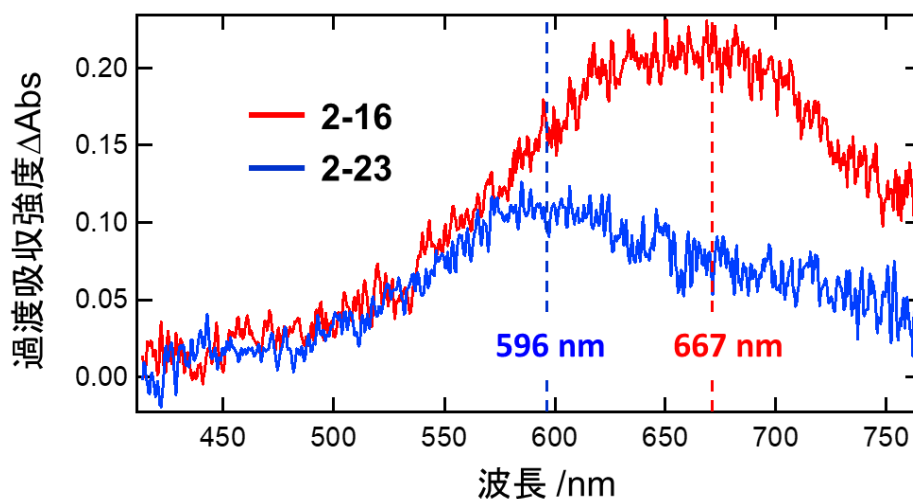


図 2-23. **2-16** (50 μ M, $A_{355} = 0.587$) と **2-23** (25 μ M, $A_{355} = 0.629$) のエタノール中の過渡吸収スペクトル ($\lambda_{\text{ex}} = 355$ nm)。過渡吸収強度を比較するために両化合物の励起波長における吸光度を約 0.6 に調整した。

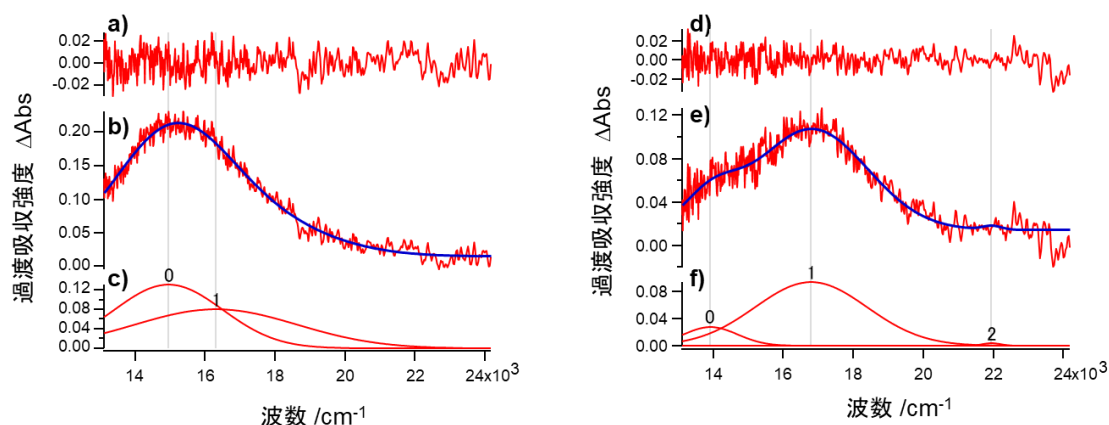


図 2-24. **2-16** と **2-23** の過渡吸収スペクトル (図 2-23) の Gaussian フィッティングシミュレーション。a) **2-16** の過渡吸収スペクトルのシミュレーション値と実測値の残差。b) **2-16** のシミュレーション (青線) と実測 (赤線) の過渡吸収スペクトル。c) **2-16** のシミュレーション曲線の Gaussian 関数。ピーク 0 の波数は 14955 cm^{-1} (667 nm)、ピーク 1 の波数は 16310 cm^{-1} (613 nm)。d) **2-23** の過渡吸収スペクトルのシミュレーション値と実測値の残差。e) **2-23** のシミュレーション (青線) と実測 (赤線) の過渡吸収スペクトル。f) **2-23** のシミュレーション曲線の Gaussian 関数。ピーク 0 の波数は 13693 cm^{-1} (730 nm)、ピーク 1 の波数は 16791 cm^{-1} (596 nm)、ピーク 2 の波数は 21919 cm^{-1} (456 nm)。フィッティングは Igor Pro 6.3.6.0 (WaveMetrics, Inc.) で式 4 に従い行った。

$$f(x) = \sum A \exp \left[-4 \ln 2 \frac{(x - x_0)^2}{\omega^2} \right] \dots (4)$$

x は波数、 x_0 はピーク中心の波数、 ω は半値幅、 A は高さを表す。

電子供与性基としてジメチルアミノ基を導入し、顕著な CT 吸収を示した **2-19** は効率的な $^1\text{O}_2$ 生成能を持つと予想されたが、結果として **2-19** による $^1\text{O}_2$ の生成は観察されなかった (図 2-14)。 **2-19** が $^1\text{O}_2$ を生成しない要因には、例えば **2-19** のアミノ基が PET により T_1 との間で電子授受を起こし、励起状態がクエンチすることなどが考えられる。そこで、この要因を調べるため **2-19** のアセトニトリル中での過渡吸収測定を行った (図 2-25)。 **2-19** を CT 吸収バンド内の 355 nm のレーザーで励起すると、 $527, 574, 625 \text{ nm}$ に比較的小さいが過渡吸収が見られ、減衰曲線が観察された。これらの過渡吸収種の寿命を単一指数関数解析で求めたところ、それぞれの波長において次に示したような値が得られた、 $\tau = 1.82 \mu\text{s}$ (527 nm); $1.18 \mu\text{s}$ (574 nm); $1.38 \mu\text{s}$ (625 nm)。 $1 \mu\text{s}$ 以上の寿命を持つこの **2-19** の過渡吸収種は T_1 であると考えられる。この結果から、 **2-19** は CT 励起により T_1 を生成するが、その T_1 が $^3\text{O}_2$ と反応する前にクエンチしてしまうため $^1\text{O}_2$ を生成しないと考えられるが、この点を明らかにするには更なる検討が必要である。

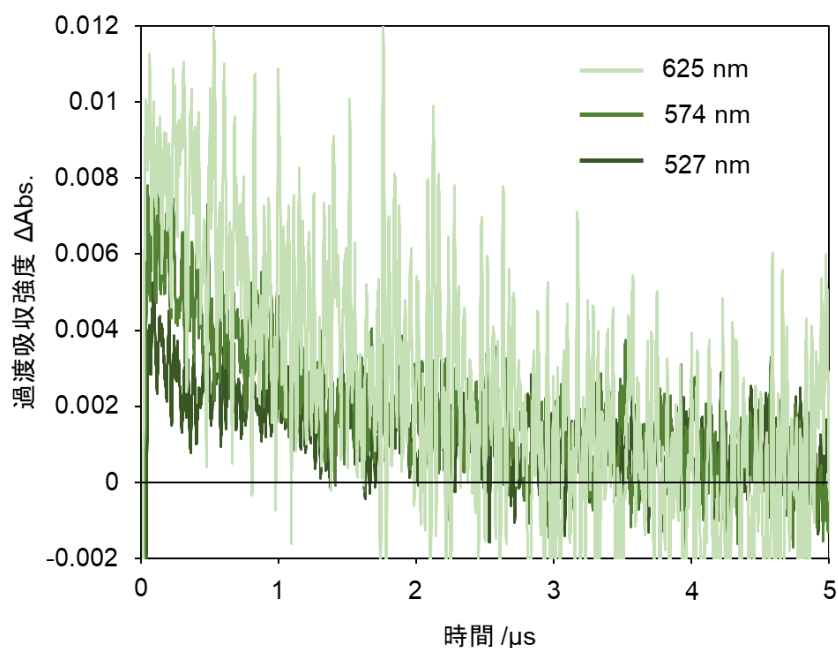


図 2-25. **2-19** (70 μM)のアセトニトリル中の過渡吸収の時間変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$)。

以上、第二章第六節ではビフェニル誘導体の中で最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能を持つ **2-16** と Ph-Ph 結合を平面固定した誘導体 **2-23** の過渡吸収測定の結果を述べた。**2-16** は CT 波長で励起した方が LE 波長で励起した場合よりも T_1 生成量が大きく、 T_1 が ^1CT からの遷移で優先的に生成することが示された。ここまでの CT 吸収や大きな Stokes シフト、溶媒効果、 T_1 生成から、**2-16** が CT 励起によって $S_0 \rightarrow \text{PICT} \rightarrow \text{TICT} \rightarrow T_1$ という T_1 生成プロセス経ることが推定された。**2-19** も T_1 生成までは同様のプロセスを経ると考えられる。 $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構を含む詳細な光増感機構の検討については第三章で述べる。また、**2-16** と **2-23** の過渡吸収スペクトルの違いから T_1 の三次元構造が化合物間で異なることが示唆された。**2-16** では Ph-Ph 結合の回転が、**2-23** では Ph- NO_2 結合の回転が T_1 生成に寄与する可能性が考えられる。

第七節 二光子励起による一重項酸素生成

PDT で組織深部の癌を治療するには近赤外光 (800~1100 nm) で $^1\text{O}_2$ 生成できる光増感剤が必要である (図 1-12)。近赤外光で化合物を励起する方法の一つに二光子励起がある⁷⁷⁻⁸²。序論でも簡単に触れたが、二光子励起では、光源としてフェムト秒パルスレーザーを用いることにより高密度の励起光子クラスターを形成し、仮想励起状態を経由して励起光エネルギーの2倍以上のエネルギー準位へ2段階以上の励起を可能にする (図 2-26a)。仮想励起状態に電子が留まっている時間はピコ秒以下といわれており、この電子をさらに励起するためには励起光のパルス幅はピコ秒よりも短く、光子の密度は極めて高くなければならない。そのため、上述のように二光子励起には光源としてフェムト秒パルスレーザーを用い、レンズで光子を集光する。フェムト秒近赤外レーザー光の高い組織深達性と高い空間分解能 (焦点でのみ励起が起こるため) から、二光子励起は生体試料のイメージングに応用されている¹¹⁹⁻¹²²。また、図 2-26b に示すようなイリジウム増感剤が二光子励起により癌細胞に対して PDT 効果を示したという報告もある¹²³。二光子吸収断面積 (二光子吸収効率を表す値) は遷移双極子モーメントの二乗に比例するため、分子内の CT 性を大きくすることは二光子励起の効率を上げる方法の一つである。図 2-26c に示した電子ドナー D と電子アクセプター A を持つ化合物は ICT を設計指針として開発された二光子励起で蛍光を発する化合物である^{124, 125}。以上の知見から、本研究の ICT 型ビフェニル増感剤 **2-16** が近赤外レーザーを用いた二光子励起で $^1\text{O}_2$ を生成するか評価した。近赤外フェムト秒レーザー (800 nm, パルス幅 120 fs) をアセトニトリル中の **2-16** に照射すると、1275 nm に $^1\text{O}_2$ の燐光減衰曲線 ($\tau = 49 \mu\text{s}$) が観察された (図 2-27)。 $^1\text{O}_2$ の燐光波長ではない 1225 nm と 1325 nm には発光は見られず、1275 nm の減衰曲線がノイズではないことがわかる。つまり、**2-16** が二光子励起により $^1\text{O}_2$ 生成できることが示され、組織深部癌の PDT 治療への応用が期待できる。

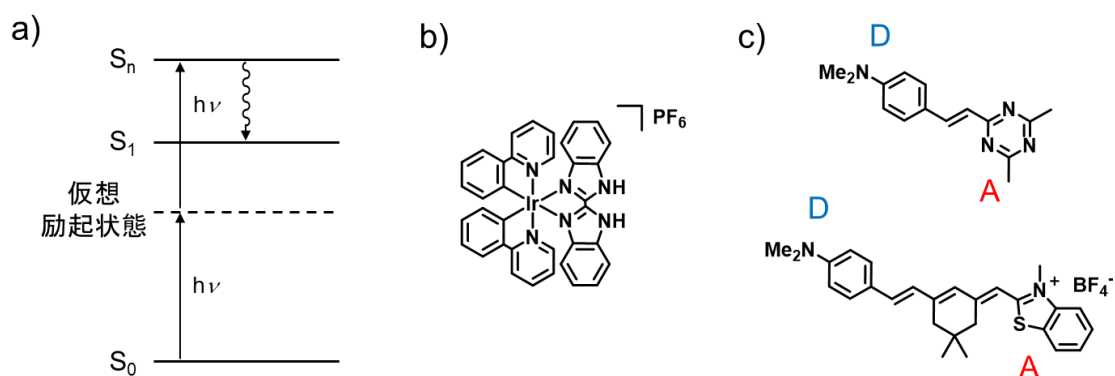


図 2-26. a) 二光子励起のエネルギー準位図、b) 二光子励起により癌細胞に PDT 効果を示すイリジウム増感剤の構造、c) 二光子励起により蛍光を発する ICT 化合物の例。

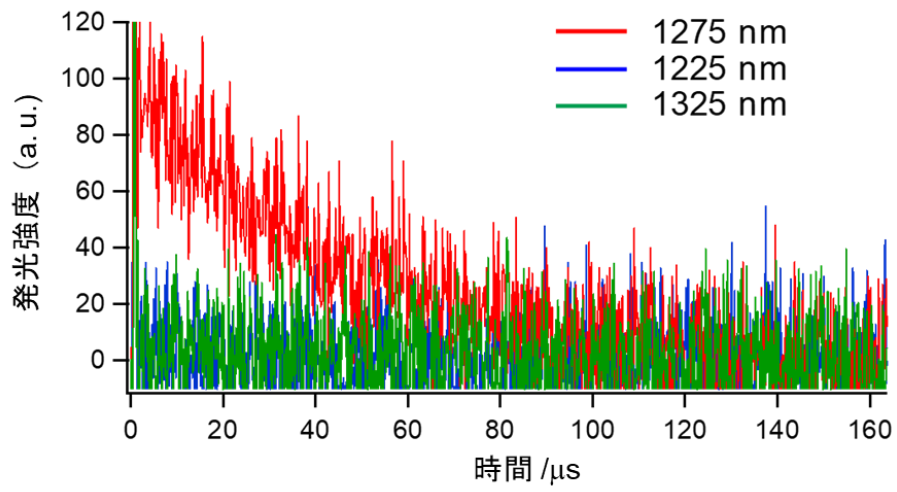


図 2-27. **2-16** (19 mM、アセトニトリル中)の二光子励起により生成した $^1\text{O}_2$ 燐光 (1275 nm) の減衰曲線。光源は近赤外フェムト秒レーザー (800 nm, パルス幅 120 fs)。

第八節 光安定性

PDT を指向する際、光増感剤が光照射により分解したり、 $^1\text{O}_2$ 生成能が低下したりするようでは実用に適さない。そこで、本研究で最も高い Φ_{Δ} を示した **2-16** の光照射に対する構造と機能の光安定性を調べた。**2-16** にレーザー光 (405 nm, 18 mW/cm²) を一時間照射し、照射前後の ^1H NMR と $^1\text{O}_2$ 生成能 (TPCPD で評価) を比較した (図 2-28)。その結果、照射前後で ^1H NMR (構造) と $^1\text{O}_2$ 生成能 (機能) に顕著な変化は見られず、**2-16** の光安定性が示された。

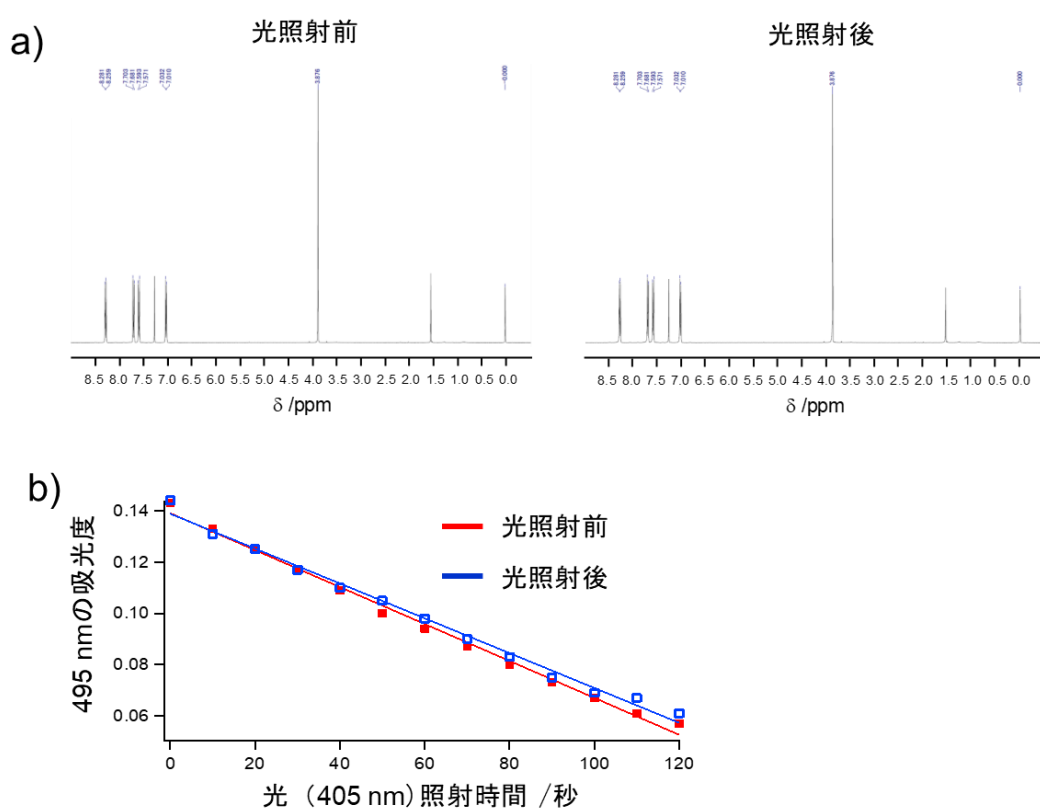


図 2-28. a) **2-16** (25 mM) の CDCl_3 溶液の光照射前後の ^1H NMR。b) **2-16** (250 μM) のアセトニトリル溶液 (1% CDCl_3) の光照射前後の $^1\text{O}_2$ 生成能。光照射にはレーザー (405 nm, 18 mW/cm²) を用いた。

第九節 まとめ








本章では小さい光増感剤の開発のための、ICT型ビフェニル誘導体の合成と光物性評価について述べた。第一節では緒言として、光増感剤候補としてのビフェニル誘導体の分子設計、合成法である鈴木宮浦カップリングの概要、光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能の評価方法について述べた。第二節ではビフェニル誘導体の合成について述べた。第三節では吸収スペクトル測定と分子軌道計算により、ビフェニル誘導体のCT性を評価した結果を述べた。電子供与性基と電子吸引性基の導入によりビフェニルがCT性を持つようになることがわかり、特に4,4'位に電子供与性基と電子吸引性基を持つビフェニル誘導体(2-16~2-21)が顕著なCT吸収を起こすことが示された。また、ビフェニルの平面性が高いほどCT性が高いことが示された。4位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つ2-16はCTに特徴的な溶媒効果を示した。第四節ではビフェニル誘導体の $^1\text{O}_2$ 生成能について述べた。顕著なCT吸収を示した2-16~2-18, 2-23, 2-24が効率的な $^1\text{O}_2$ 生成能を示し、CTが $^1\text{O}_2$ 生成能に影響を与えることが示唆された。全誘導体の中で2-16が最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能($\Phi_A=0.88$)を示した。2-16は非プロトン性高極性溶媒中で効率的な $^1\text{O}_2$ 生成能を示し、 ^1CT の安定化が $^1\text{O}_2$ 生成能を向上させることが示唆された。また、2-16は水中でも $^1\text{O}_2$ を生成し、PDTへの応用可能性が示された。第五節ではビフェニル誘導体の蛍光特性について述べた。調べたほとんどの誘導体の Φ_F は1%未満であった。第四節で比較的高い $^1\text{O}_2$ 生成能($\Phi_A=47\%\sim 88\%$)を示した2-16~2-18, 2-23, 2-24の Φ_F が1%未満であることは理に適っている。また、2-16は比較的大きなStokesシフトや溶媒効果を示し、CT励起によって $S_0\rightarrow\text{PICT}\rightarrow\text{TICT}$ のプロセスを経ることが示唆された。第六節ではビフェニル誘導体の中で最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能を持つ2-16とPh-Ph結合を平面固定した誘導体2-23が T_1 生成するかを確かめるため行った過渡吸収測定について述べた。2-16はCT波長で励起した方がLE波長で励起した場合よりも T_1 生成量が大きく、 T_1 が ^1CT からの遷移で優先的に生成することが示された。ここまでのCT吸収や大きなStokesシフト、溶媒効果、 T_1 生成から2-16がCT励起によって $S_0\rightarrow\text{PICT}\rightarrow\text{TICT}\rightarrow T_1$ という T_1 生成プロセスを経ることが推定された。電子供与性基としてジメチルアミノ基を持ち、顕著なCT吸収を示したが、 $^1\text{O}_2$ 生成能を示さなかった2-19も T_1 生成までは同様のプロセスを経ると考えられる。 $\text{TICT}\rightarrow T_1$ の項間交差機構を含む詳細な光増感機構については第三章で述べる。また、2-16と2-23の過渡吸収スペクトルの違いから T_1 の三次元構造が化合物間で異なることが示唆された。2-16は励起状態でPh-Ph結合が回転できるのに対し、2-23ではPh-Ph結合が固定されており回転できないため、Ph-NO₂結合が回転すると予想され、この回転軸の違いが2-16と2-23の T_1 の三次元構造の違いを生じていると考えられる。第七節では2-16が組織深達性の高い近赤外光フェムト秒レーザーによって二光子励起で $^1\text{O}_2$ を生成できることを述べた。第八節では2-16の光安定性について述べた。以上、第二章の結果により、本研究の目的1: GLUTを通過

できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証の「小さい光増感剤の開発」、目的 2 : 組織深達性の高い近赤外光励起による $^1\text{O}_2$ 生成を達成した。光増感機構の検証は第三章で、GLUT を通過できるかどうかの検証は第四章で述べる。

第三章 ビフェニル光増感剤の光増感機構の検討

第一節 緒言

本章では、ビフェニル光増感剤の種々の光物性に対する外部磁場効果や溶媒粘度効果を探る実験に基づく、光増感機構の検証について述べる。

第二章では、新たな光増感剤候補化合物として種々のビフェニル誘導体を合成・光物性評価し、 $\Phi_{\Delta} = 93\%$ と優れた $^1\text{O}_2$ 生成能（増感能）を持つ分子内電荷移動（ICT）型ビフェニル光増感剤 **2-16**（ **3-1a**）を見出したことを述べた。また種々の光物性評価から4位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** およびその平面固定誘導体 **2-23**（ **3-1b**）はCT励起によりPh-Ph結合およびPh-NO₂結合の回転を伴いS₀→平面型分子内電荷移動状態（PICT）→ねじれ型電荷移動状態（TICT）を経た後（ **3-1c**、 中はPh-Phの回転についてのみ示した）、項間交差（TICT→T₁）を起しT₁を生成すると推定された。そこで本章では**2-16**とその平面固定誘導体**2-23**の項間交差（TICT→T₁）機構を含む光増感機構の検討結果について述べる。第一章で述べたように**2-16** および **2-23** の項間交差機構として考えられるのはラジカルペア（RP）機構かスピン軌道電荷移動（SOCT）である（ **3-1d, e**）。本研究室で発見されたイソフタル酸結晶の室温燐光現象は、RP機構で電荷が分離した状態でスピン反転（¹CT→³CT）を起こした後にT₁に遷移することが原因と推定された¹⁷。**2-16**（および**2-23**）の項間交差機構がRP機構であれば、TICT（¹CT）から³CTに遷移し、その後T₁になる経路が考えられる（ **3-1d**）。この場合、第二節で詳説するように、項間交差が原因で生じる光物性変化が外部磁場に強く依存する可能性が大きい。一方、項間交差機構がSOCTであればTICTからスピン反転を伴う電荷再結合により直接T₁になる経路が考えられる（ **3-1e**）³⁷。この場合は、項間交差に分子内ねじれ回転の度合いが光物性に強く影響する可能性が高い。そこで、冒頭で述べたように外部磁場と粘度の光物性への影響を調べる。

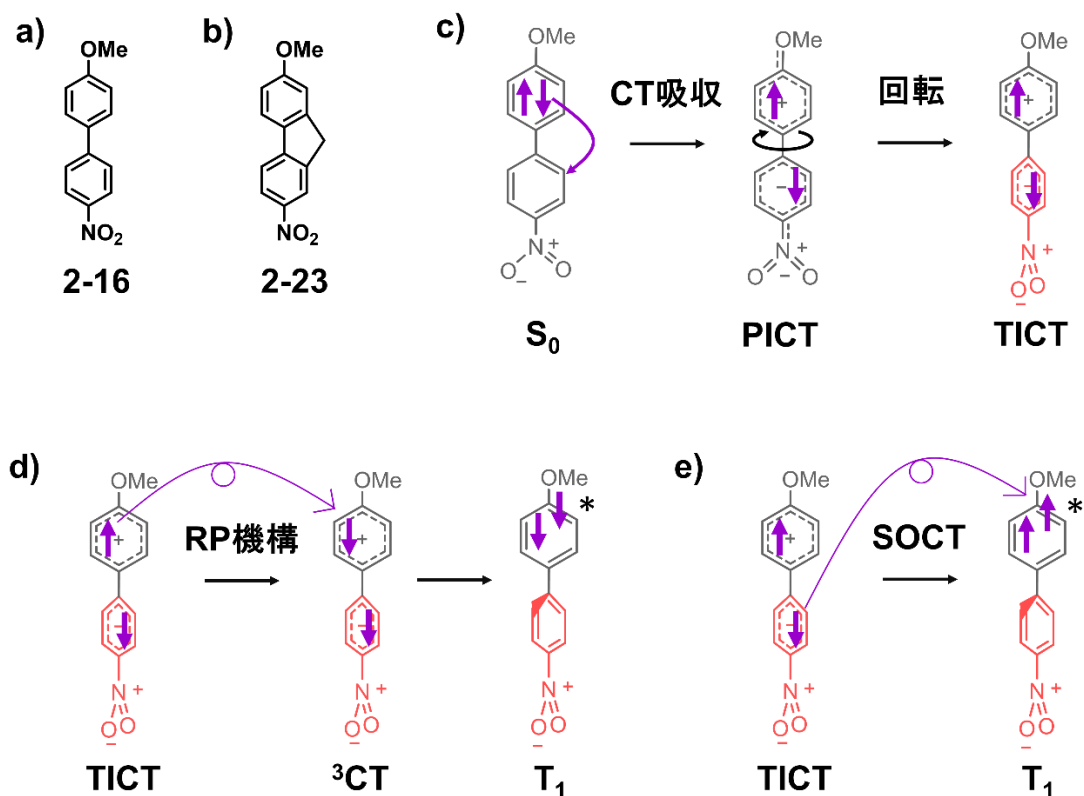


図 3-1. a) **2-16** の構造。b) **2-23** の構造。c) **2-16** の光励起による CT 吸収と回転を経る $S_0 \rightarrow PICT \rightarrow TICT$ の推定プロセス。d) RP 機構による $TICT \rightarrow ^3CT \rightarrow T_1$ の予想図。e) SOCT による $TICT \rightarrow T_1$ の予想図。

第二節では、ビフェニル化合物の光物性に対する外部磁場効果を調べ、項間交差機構が RP 機構であるかの検証について述べる。結果として外部磁場効果は観察されず、項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆された。そこで第三節では、ビフェニル化合物の光物性に対する溶媒の粘度の効果について調べ、項間交差機構が SOCT であるか検証した結果を述べる。結果としてビフェニル化合物の蛍光スペクトルと過渡吸収において強く粘度の影響が観測された。この結果を基に、DFT 計算による Ph-Ph 結合および Ph-NO₂ 結合の回転障壁エネルギーの計算と合わせ、結合の回転を伴う SOCT を経るビフェニル光増感剤の独自の光増感機構を提唱した。

第二節 ラジカルペア機構の検討

本節では4位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** およびその平面固定誘導体 **2-23** の光物性（蛍光、過渡吸収、 $^1\text{O}_2$ 生成）に対する外部磁場効果を測定し、項間交差（TICT \rightarrow T₁）機構がラジカルペア（RP）機構かどうかを検証した研究について述べる。

2-16 および **2-23** が RP 機構で項間交差を起こしているのであれば、T₁ 生成に対する磁場効果が確認できるはずである。RP は、ビラジカルのそれぞれの電子スピンの独立したラーモア歳差運動をしており、核スピンのによる内部磁場や外部から印可される磁場の影響を受け、項間交差の効率が変化する。ここで、外部磁場効果の代表例である HFC- Δg 機構について説明する¹²⁶。電子スピンの歳差運動の回転の速さ（ラーモア周波数）は $\omega = g\beta B$ （ β は物理定数で一定）で表され、 g 値と呼ばれる物質ごとの定数と磁場の強さ B に依存する。 g 値はラジカルカチオンとラジカルアニオンで違う値をとり、 B は外部磁場に関しては自由に変えられる。つまり、ラジカルカチオン（c）とラジカルアニオン（a）のラーモア歳差運動の速さの差は $\Delta\omega = |g_c\beta(B_c+B_{ex}) - g_a\beta(B_a+B_{ex})|$ と書くことができる。ここで B_c および B_a は核スピンの由来する内部磁場の大きさ、 B_{ex} は外部磁場の大きさを表すベクトル量とする。外部磁場 B_{ex} を大きくすることで、角運動量の差 $\Delta\omega$ は大きくなり RP それぞれの電子スピンの向きが横磁化方向に揃う瞬間が多くなるため、項間交差の効率が上がる。一方、外部磁場 B_{ex} が強くなるに従い縮重している3つの三重項状態 T₊、T₀、T₋ のエネルギー準位差がゼーマン分裂によって大きくなる。その結果 S-T₊、S-T₋ のエネルギー差が大きくなり、内部磁場由来の超微細相互作用（HFC）による項間交差の効率が下がる（**図 3-2a**）。以上のことから外部磁場 B_{ex} の大きさを横軸に、項間交差の効率（T₁ の収量）を縦軸にとったグラフは**図 3-2b** のような曲線になる。当研究室の久野らは、イソフタル酸結晶の室温燐光強度が外部磁場（0 ~ 80 mT）依存的に**図 3-2b** と同じように変化することを見出し、これを上記 HFC 機構と Δg 機構により説明している¹⁷。本論文では Δg 機構による磁場効果を RP 機構と呼ぶ。

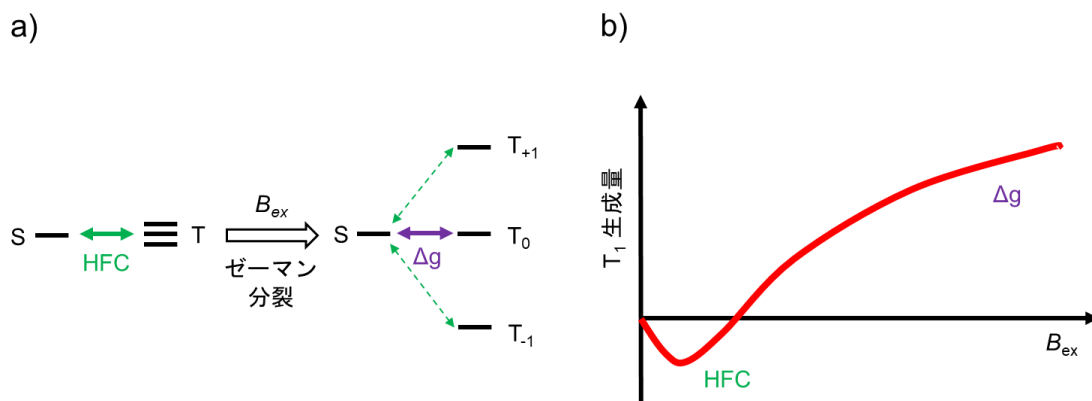


図 3-2. a) 外部磁場が HFC と Δg 機構に与える影響。b) HFC- Δg 機構で項間交差が起きる場合に外部磁場が T_1 生成量に与える影響。

まず、**2-16** の過渡吸収測定 (T_1 生成) における外部磁場効果検証実験を行った。第二章第六節と同様の方法でアセトニトリル中の **2-16** の過渡吸収減衰曲線を測定する際に、測定試料を二つの電磁石で挟み込み、外部磁場の大きさを変えた (図 3-3)。外部磁場を 5 mT から 204 mT へと変えたが **2-16** の過渡吸収強度や寿命に変化は見られず、明らかな外部磁場効果は観測されなかった。イソフタル酸結晶の室温燐光は 100 mT 以下の外部磁場でも 2%程度発光強度が増加する明らかな磁場効果が観測されており、RP 機構による T_1 生成機構が提唱されている¹⁷。したがって、**2-16** の T_1 生成に対して 204 mT で磁場効果が観測されないことは、イソフタル酸結晶の室温燐光における RP 機構とは違う機構であることが示唆される。

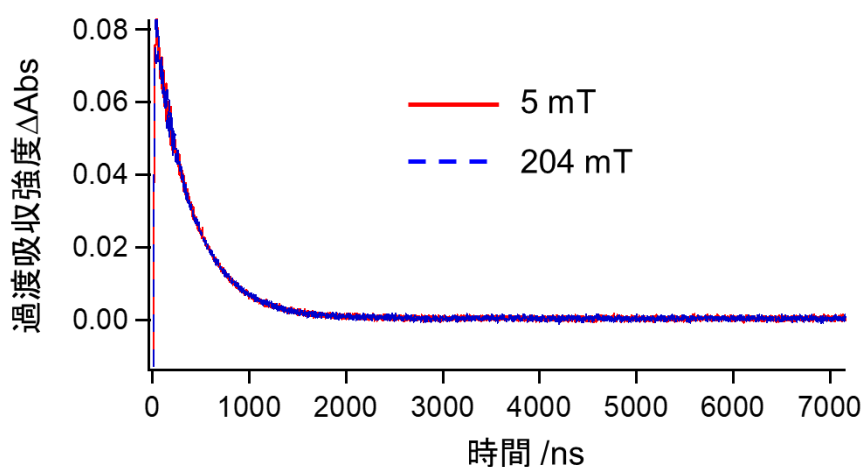


図 3-3. **2-16** (200 μM) のアセトニトリル中の異なる外部磁場環境下における過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 550 \text{ nm}$)。

更なる検証として **2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成、蛍光に対する外部磁場効果実験を行った (図 3-4)。

外部磁場の大きさを 40 mT、295 mT と変えて、アセトニトリル中の **2-16** の $^1\text{O}_2$ 生成能を TPCPD で測定したが、プロットの傾き ($^1\text{O}_2$ 生成能) に変化は見られなかった (図 3-4a)。

また、外部磁場を 1.5, 3.4, 5.2, 7.1, 8.9, 10.8, 12.8, 16.6, 20.6, 24.5 mT の 10 通りに変えて、DMSO 中の **2-16** の蛍光強度を測定した (図 3-4b)。**2-16** (63 μM) の DMSO 溶液に上記のそれぞれの大きさの磁場を印加して 349 nm の光で励起した際の 560 nm の蛍光強度を 30 秒間積算した値を磁場の大きさに対してプロットした (1.5 mT の時の蛍光強度積算値を基準として相対強度として示した)。長時間の励起光照射による蛍光の退色を考慮するため、外部磁場を印加せずに、印加した場合と同じ時間 (30 秒間 \times 10 回)、**2-16** (63 μM) の DMSO 溶液に 349 nm の光を照射した場合の 560 nm の蛍光強度の積算値もプロットした。しかし、外部磁場の大きさの違いによる明らかな蛍光強度の変化は見られず、1%程度の不規則変化のみが観察された。以上、**2-16** の光物性 (蛍光・過渡吸収・ $^1\text{O}_2$ 生成) に対する外部磁場効果は外部磁場 1.5~295 mT の範囲においては観察されなかった。

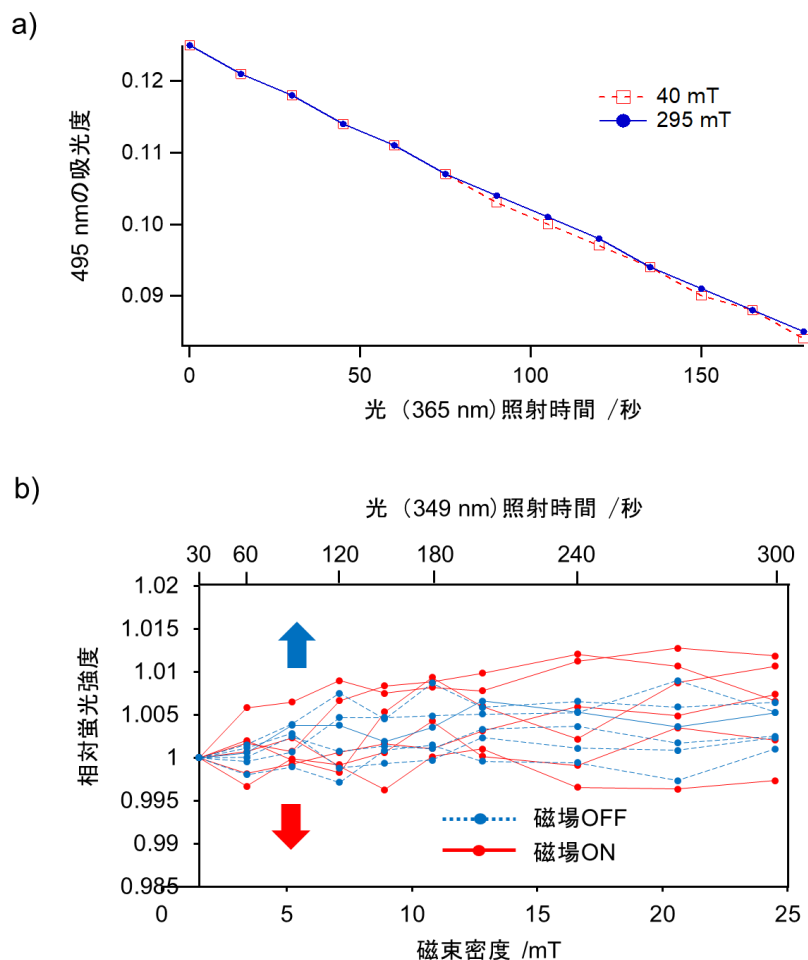


図 3-4. a) **2-16** ($46 \mu\text{M}$)のアセトニトリル中の異なる外部磁場環境下における $^1\text{O}_2$ 生成能 ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$)。b) **2-16** ($63 \mu\text{M}$)の DMSO 中の 1.5, 3.4, 5.2, 7.1, 8.9, 10.8, 12.8, 16.6, 20.6, 24.5 mT の外部磁場環境下における相対蛍光強度積算値の変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 349 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 560 \text{ nm}$)。実線 (赤) は外部磁場を印加した際のグラフ。点線 (青) は蛍光の退色を考慮するために外部磁場は印加せず実線 (赤) と同じ時間 (30 秒間 $\times 10$ 回) 励起光を照射し蛍光測定したグラフ。実線 (赤) と点線 (青) それぞれ 6 回ずつ測定し、それぞれの測定において都度新しい **2-16** ($63 \mu\text{M}$)の DMSO 溶液を用いた。

続いて、**2-16** の平面固定誘導体 **2-23** の蛍光に対する外部磁場効果検証実験を行った。アセトニトリル中の **2-23** の蛍光強度を経時的に測定しながら、外部磁場の大きさを 1.3 mT と 52 mT に繰り返し切り替えたが、外部磁場の大きさに対する明らかな蛍光強度の変化は観察されなかった (図 3-5)。

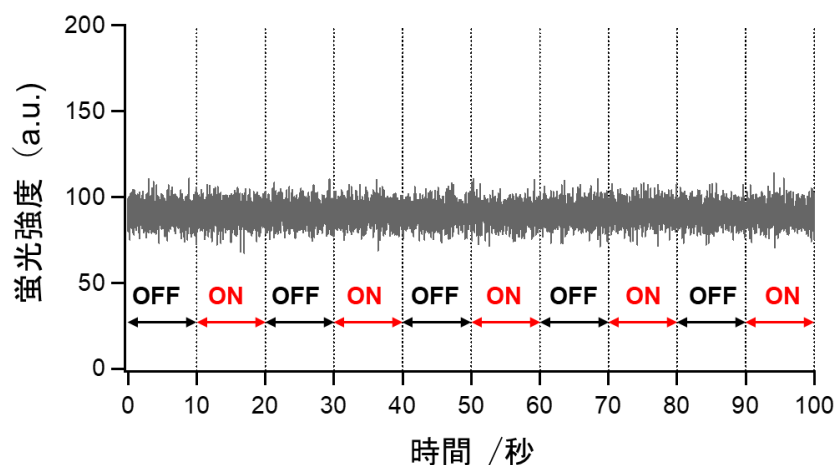


図 3-5. **2-23** (100 μM)のアセトニトリル中の異なる外部磁場環境下における蛍光強度変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 540 \text{ nm}$)。外部磁場 off: 1.3 mT; on: 52 mT。

以上、第三章第二節ではビフェニル増感剤の項間交差機構として RP 機構を検証するために行った光物性に対する外部磁場効果実験について述べた。**2-16** および **2-23** の光物性（蛍光・過渡吸収・ $^1\text{O}_2$ 生成）に対する外部磁場効果は外部磁場 1.3~295 mT の範囲において観察されず、項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆された。序論で述べたように RP 機構により項間交差を起こすには RP（ラジカルカチオン $\text{D}^{\cdot+}$ とラジカルアニオン $\text{A}^{\cdot-}$ ）が空間的に十分に離れていることが必要である。本研究のビフェニル増感剤においては、RP を収容する二つの π 軌道が隣接しており、RP 間の距離が近いことため RP 機構による項間交差を起こしにくいと考えられる。

第三節 結合の回転を伴うスピン軌道電荷移動の検討

前節の外部磁場効果検証の結果から、4位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** とその平面固定誘導体 **2-23** の TICT \rightarrow T₁ の項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆された。**2-16** と **2-23** は Ph-Ph または Ph-NO₂ 結合のねじれによる TICT 状態で直交する二つの π 軌道を持ち、スピン軌道電荷移動 (SOCT) で T₁ を生成する可能性が高い。つまり TICT 状態でアクセプター側のベンゼン環またはニトロ基に局在する電子が直交するドナー側のベンゼン環に戻る際に全角運動量保存のために容易にスピン反転すると考えられる。これらを踏まえ、**2-16** の Ph-Ph 結合の回転に着目して図 3-6a のような光増感機構を推定した。ここで、Ph-Ph 結合のねじれ角 θ の S₀、¹CT、および T₁ はそれぞれ S₀(θ)、¹CT(θ)、および T₁(θ) で表し、励起状態における直交に近い θ を \perp 、平行に近い θ を \parallel で表した。S₀(37°) に光照射すると CT 吸収を起こし、P₁CT (¹CT(37°)) に遷移する。¹CT(37°) はそのままでは電子間反発が大きく、Ph-Ph 結合の回転により電子間反発が比較的小さい TICT (¹CT(\perp)) に緩和される。ここで得られる直交に近い二つの π 軌道間の SOCT により ¹CT(\perp) から T₁(\perp) になる。T₁(\perp) は電氣的に中性であるため電子間反発が小さいので、即座に共鳴度合いのより大きい T₁(\parallel) に緩和される。この T₁(\parallel) が ³O₂ と反応し ¹O₂ を生成するものと考えられる。

上記光増感機構を結合の回転や光吸収などに関する全体のエネルギー図として理解するために、まず、基底状態での結合回転エネルギーを DFT 計算によって求めた (図 3-6b)。**2-16** の Ph-Ph 結合に関しては二面角が 37° のとき、エネルギーが最小であった。これを基準 (0 eV) にすると、二面角が 0° のときにエネルギーが極大になり 0.08 eV であった。また 90° のときにもエネルギーが極大になり 0.12 eV であった。**2-23** の Ph-NO₂ 結合に関しては二面角が 0° のときエネルギーが最小で、二面角が 90° のときにエネルギーが極大となり 0.36 eV であった。また、**2-16** に関しては吸収スペクトルのピーク波長 337 nm から励起エネルギーが 3.68 eV、蛍光スペクトルのピーク波長 551 nm から蛍光エネルギーが 2.25 eV と推定され、**2-23** に関しては吸収スペクトルのピーク波長 360 nm から励起エネルギーが 3.44 eV、蛍光スペクトルのピーク波長 540 nm から蛍光エネルギーが 2.30 eV と推定される。これらの計算結果と **2-16** と **2-23** の励起および蛍光エネルギーから図 3-6c のような光増感プロセスのエネルギー図が描ける。**2-16** では、光照射により S₀(37°) で CT 吸収が起こり ¹CT(37°) になり、これがより安定した ¹CT(\perp) にねじれる。**2-16** が比較的大きな Stokes シフト (1.43 eV) を示したのは、¹CT(37°) と ¹CT(\perp) 間のエネルギーギャップが大きいためである。**2-16** の $\Phi_F < 1\%$ から ¹CT(\perp) の一部 (1% 未満) は蛍光を放出しながら S₀(\perp) に変換され、すぐに S₀(37°) に緩和される。**2-16** の $\Phi_A = 88\%$ から ¹CT(\perp) の大部分 (88% 以上) は、SOCT により容易に T₁(\perp) に変換されるが、¹CT(\perp) と T₁(\perp) はエネルギー準位が近く、この逆変換も可能と考えられる。T₁(\perp) は T₁(\parallel) にねじれ、³O₂ と反応して ¹O₂ を生成する。

平面固定誘導体 **2-23** では、Ph-NO₂ 結合の回転¹²⁷を伴う光増感プロセスが推定される。すなわち、光照射により S₀'(0°)で CT 吸収が起こり ¹CT'(0°)になり、これがより安定した ¹CT'(⊥)にねじれる。**2-23** の $\phi_f < 1\%$ から ¹CT'(⊥) の一部 (1%未満) は蛍光を放出しながら S₀'(⊥)に変換され、すぐに S₀'(0°)に緩和される。**2-23** の $\phi_A = 47\%$ から ¹CT'(⊥) の 47%以上は、SOCTにより容易に T₁'(⊥)に変換される (逆変換も可能)。T₁'(⊥)は T₁'(//)にねじれ、³O₂と反応して ¹O₂を生成する。

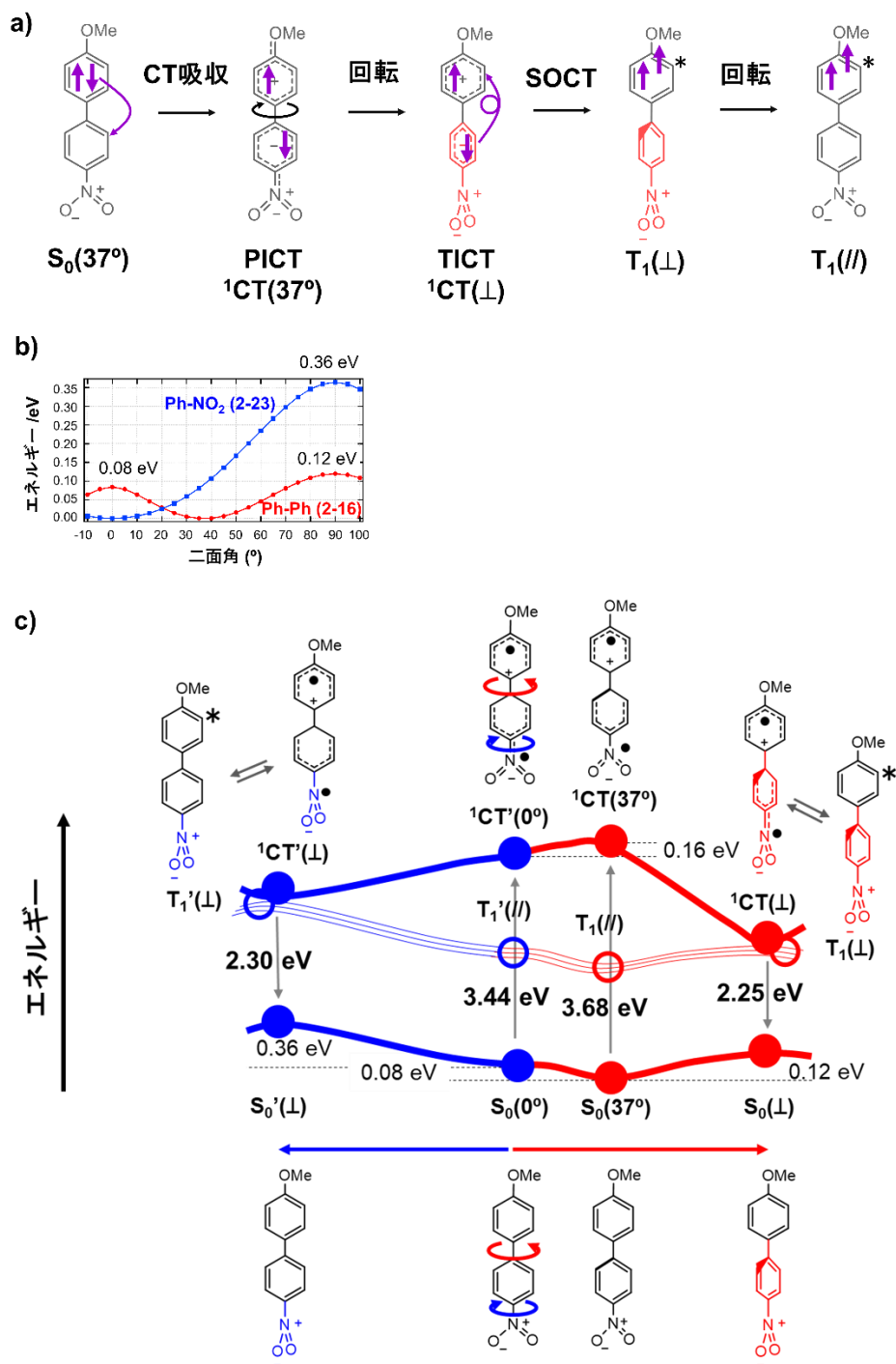


図 3-6. a) **2-16** の光増感プロセスにおける電子（直線の矢印）の遷移（曲がった矢印）と Ph-Ph 結合の回転。b) DFT 計算により求めた基底状態における **2-16** の Ph-Ph 結合の結合回転エネルギー（赤）と **2-23** の Ph-NO₂ 結合の結合回転エネルギー（青）（Gaussian 09, CAM-B3LYP/6-31+G (d)）。c) **2-16** および **2-23** の光増感プロセス全体のエネルギー図。**2-16** の Ph-Ph 結合および **2-23** の Ph-NO₂ 結合の回転によるエネルギー変化をそれぞれ赤と青のラインで示した。一重項状態は一重線、三重項状態は三重線で示した。

ビフェニル光増感剤 **2-16**、**2-23** の光増感プロセスが図 3-6 で提唱したように Ph-Ph または Ph-NO₂ 結合の回転に依存する場合、化合物の光物性は溶媒の粘度の影響を受けるはずである。そこで **2-16** および **2-23** の吸収、蛍光、過渡吸収 (T₁ 生成) をエタノールとグリセロールの比を変えて粘度を変えた混合溶媒中で測定し、粘度効果を調べることにした。混合溶媒中のエタノールの比率 100%, 80%, 60%, 40%, 20% での粘度 (η) の計算値はそれぞれ 1.16, 4.13, 15.8, 67.8, 288 mPa·s である¹²⁸。初めに **2-16** および **2-23** の吸収スペクトルへの粘度効果を調べた (図 3-7)。どちらの化合物でも、粘度の違いによる吸収スペクトルの顕著な変化は観察されなかった。この結果は、光吸収の前後において顕著なコンフォメーション変化が起こっていないことを示している。

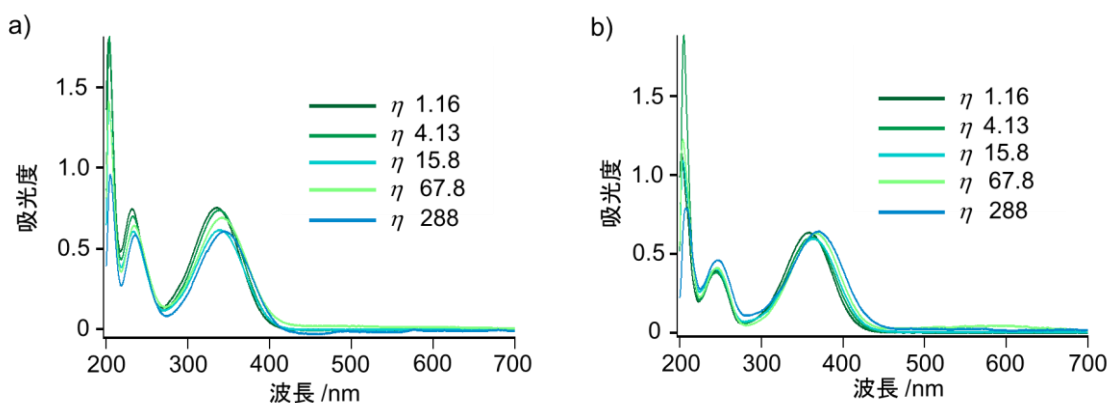


図 3-7. a) **2-16** (50 μ M)、b) **2-23** (25 μ M)のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での吸収スペクトル。凡例は粘度の大きさ (mPa·s)。

続いて、蛍光スペクトルに対する粘度効果を調べた (図 3-8)。**2-16** と **2-23** どちらにおいても溶媒の粘度が大きくなるにつれ蛍光強度が増大した。**2-16** の高粘度 (288 mPa·s) 下での蛍光強度は低粘度 (1.16 mPa·s) 下に比べ、約 10 倍大きくなっている。**2-16** の蛍光のピーク波長は、粘度の違いによりほとんど変化していない。一方で、**2-23** の蛍光のピーク波長は粘度が 15.8 mPa·s から 67.8 mPa·s に上がるときに顕著に変化している。粘度が 15.8 mPa·s 以下の時は、**2-23** の蛍光のピーク波長は 544~562 nm であるが、粘度が 67.8 mPa·s 以上になるとピークは 521 nm よりも短波長側に表れている。このような粘度の大きさによる蛍光波長の変化は励起状態 ¹CT'(θ)のコンフォメーションの違いを示唆しており、高粘度下で蛍光波長がブルーシフトしているのは ¹CT'(0°)から ¹CT'(⊥)への Ph-NO₂ 結合の回転の途中で蛍光を発するためと考えられる。すなわち、粘度が小さい場合には回転しやすいので ¹CT'(⊥)の近くのより低いエネルギー準位から比較的長波長の蛍光を発し、粘度が大きい場合には回転しにくく ¹CT'(0°)の近くのより高いエネルギー準位から比較的短波長蛍光を発するようになるものと考えられる。**2-16** の Ph-Ph 結合回転で同様の短波長シフトが起こらないのは、¹CT'(//)-¹CT'(⊥)間のエネルギー差が

比較的大きく、粘度変化に関わらず全ての蛍光が ${}^1\text{CT}(\perp)$ 由来だからだと考えられる。

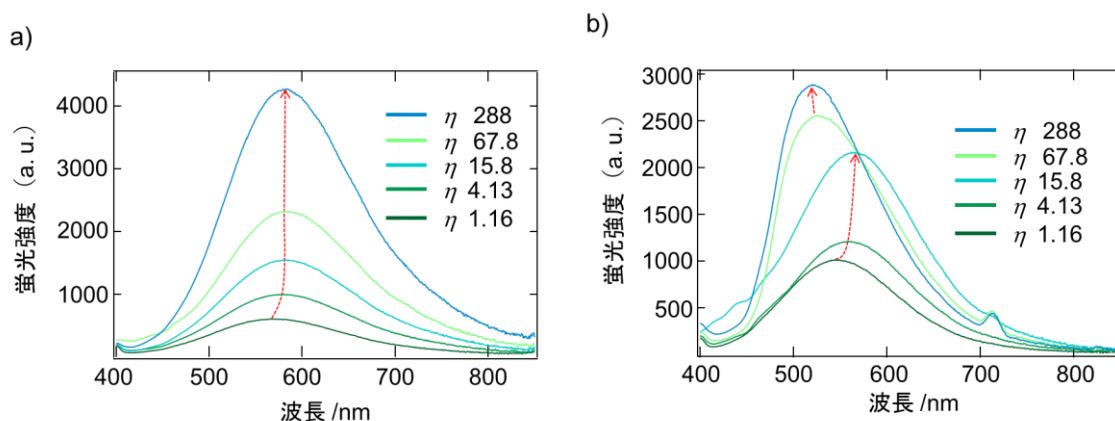


図 3-8. a) **2-16** (50 μM)、b) **2-23** (25 μM)のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での蛍光スペクトル。 $\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$ 。赤矢印は粘度の違いによるピークトップの変化を指している。凡例は粘度の大きさ (mPa·s)。

続いて、過渡吸収測定 (T_1 生成) に対する粘度効果を検証した (図 3-9)。**2-16** の過渡吸収スペクトル (図 3-9a) で、粘度が 15.8 mPa·s 以上になると 650 nm 付近をピークとする過渡吸収強度は急激に小さくなった。**2-23** の過渡吸収スペクトル (図 3-9b) では粘度 67.8 mPa·s まで、600 nm 付近をピークとする過渡吸収強度は保たれ、288 mPa·s で急激に小さくなった。分子のコンフォメーション変化を伴わない電子遷移は粘度の影響を受けないので¹²⁹、粘度増大による **2-16** と **2-23** の過渡吸収強度の変化は T_1 生成が Ph-Ph、Ph-NO₂ 結合の回転に依存することを示唆する。**2-16** と **2-23** の過渡吸収強度が急激に小さくなる粘度の大きさの違いは、それぞれの化合物の主な回転軸が Ph-Ph、Ph-NO₂ と異なり、回転する部分のサイズがより大きい (Ph-Ph) ほど粘度の影響を強く受けるためと考えられる。図 3-9c,d は **2-16** と **2-23** のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収の減衰曲線で、図 3-9e はその減衰曲線から求めた過渡吸収寿命を粘度の大きさに対しプロットしたグラフである。**2-16** と **2-23** どちらの化合物でも、粘度が大きくなるにつれて過渡吸収寿命は指数関数的に長くなった。つまり T_1 の寿命は粘度の影響を強く受け、粘度の増大とともに寿命が増えているが、**2-16** と **2-23** の両方で粘度の影響の度合いは同程度であった。

以上、**2-16** の光物性に対する粘度効果を図 3-6c のエネルギー図と共に説明する。吸収スペクトルでは明確な粘度効果は観察されなかったが、これは吸収が垂直遷移、つまり分子のコンフォメーション変化を伴わない電子遷移であるためと考えられる。蛍光スペクトルでは粘度効果が観察され、粘度が大きくなるにつれ蛍光強度も増大した。 ${}^1\text{CT}(\theta)$ ではピラジカルの電子反発による回転トルクが十分に大きいため ${}^1\text{CT}(37^\circ)$ から

${}^1\text{CT}(\perp)$ へは高粘度下でも回転できると考えられる。一方、 T_1 分子はCT状態とは違い中性で電子反発が少なく十分な回転トルクを持たないため $T_1(\perp)$ から $T_1(\parallel)$ の回転が高粘度下では抑制され $T_1(\parallel)$ 濃度が増加し、 $T_1(\perp)$ の平衡の相手である ${}^1\text{CT}(\perp)$ の濃度も増加すると考えられる。つまり、高粘度下では ${}^1\text{CT}(\perp)$ の量が相対的に増えるため、蛍光強度が増大すると考えられる。過渡吸収スペクトルでも粘度効果が観察され、高粘度下で過渡吸収強度は減少した。これは上述のように高粘度下では $T_1(\perp)$ から $T_1(\parallel)$ の回転が抑制されるためと考えられる。一方、過渡吸収寿命は粘度が大きくなるにつれ指数関数的に長くなった。高粘度下では、 $T_1(\parallel)$ 生成量は減少するものの、生成した $T_1(\parallel)$ は溶媒分子や自己分子との衝突回数が減少するためその寿命は延びると考えられる。以上の溶媒粘度効果から、**2-16**の光物性の回転依存性が示され、**図 3-6**で提唱した回転を伴う光増感機構を支持する結果が得られた。

第二章第四節で述べたように**2-16**はCT吸収の裾の波長(405 nm)で励起した方が、CT吸収極大波長(337 nm)で励起した場合よりも Φ_A が高かった(0.93 > 0.88)が、これも**図 3-6c**の機構を支持する。405 nmのエネルギーは3.06 eVであり、このエネルギーに相当するねじれ角は約45°と推定される。405 nmで**2-16**を励起すると垂直遷移により S_0 (約45°)から ${}^1\text{CT}$ (約45°)に遷移するはずである。 ${}^1\text{CT}$ (約45°)と ${}^1\text{CT}(37^\circ)$ では、 ${}^1\text{CT}$ (約45°)の方が ${}^1\text{CT}(\perp)$ にエネルギー準位が近いいため、より容易に ${}^1\text{CT}(\perp)$ に緩和されると考えられる。337 nmに比べて405 nm励起では $T_1(\perp)$ の平衡相手である ${}^1\text{CT}(\perp)$ が生成しやすいため、 Φ_A が向上したと考えられる。

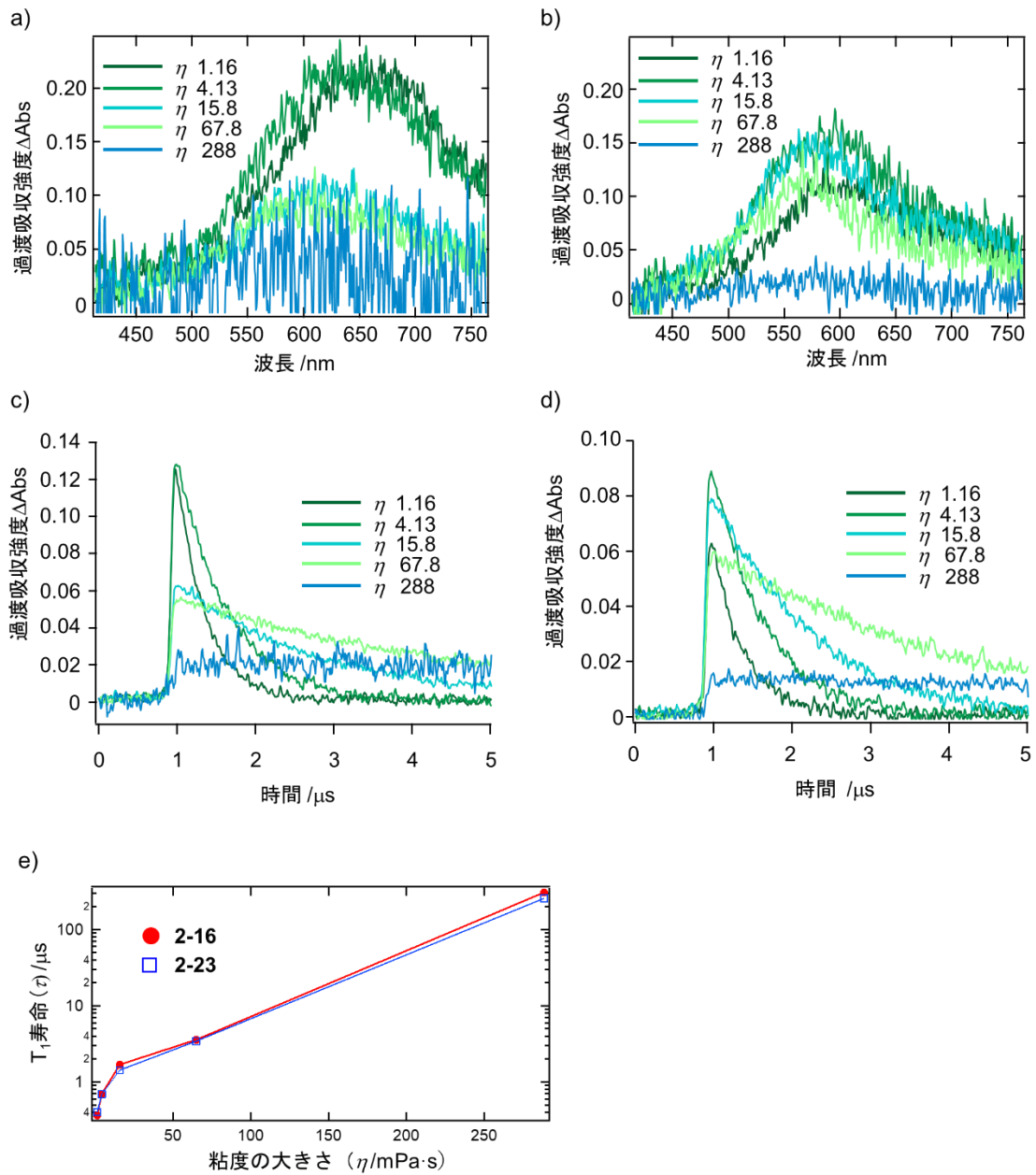


図 3-9. a) 2-16 (50 μM)、b) 2-23 (25 μM)のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収スペクトル。 $\lambda_{ex} = 355$ nm。 T_1 吸光度は 0.95 μs から 1.05 μs の吸光度を平均化した。c) 2-16 (50 μM)、d) 2-23 (25 μM)のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収減衰曲線。観測波長は $\lambda_{obs} = 414-763$ nm。凡例は粘度の大きさ (mPa·s)。e) 2-16 と 2-23 の粘度の大きさに対する T_1 寿命 (τ)。

第四節 まとめ

本章ではビフェニル光増感剤の光増感機構の検討結果を述べた。第一節では緒言として、第二章までの検討で推定されたビフェニル光増感剤の光増感プロセス ($S_0 \rightarrow \text{PICT} \rightarrow \text{TICT} \rightarrow T_1$) を整理し、 $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構として RP 機構または SOCT が推定されることを述べた。第二節では 4 位にメトキシ基、4' 位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** とその平面固定誘導体 **2-23** の $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構が RP 機構であるかを検証するために行った外部磁場効果実験について述べた。**2-16** と **2-23** の光物性に対する外部磁場効果は観察されず、項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆された。そこで、第三節ではここまでの検討結果と DFT 計算による Ph-Ph および Ph-NO₂ 結合の回転エネルギーから、項間交差を含む全体の T_1 生成機構として、結合の回転を伴う SOCT 機構 (図 3-6) を提唱した。光物性に対する粘度効果実験から、**2-16** と **2-23** の T_1 生成効率が結合の回転に依存することが示され、提唱した機構が支持された。以上、第三章では本研究の目的である GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証の「光増感機構の検証」を行い、独自の光増感機構を提唱するに至った。

第四章 糖修飾ビフェニル光増感剤による光線力学治療を 指向した細胞実験

第一節 緒言

本章では、グルコース輸送体（GLUT）を通過することを利用した、ビフェニル光増感剤の癌選択的 PDT への応用を指向した研究について述べる。癌の PDT においては、治療効果の向上や副作用の軽減のために光増感剤を癌細胞選択的にデリバリーすることが望まれる。そこで一般的な抗癌剤について、これまでに知られている癌細胞標的法を以下に挙げる。

1) EPR (Enhanced permeability and retention) 効果¹³⁰：癌組織周辺の新生血管では、通常の血管に比べ内皮細胞の構築が不完全で高分子の透過性が亢進し、さらにリンパ毛細管による異物の排泄機能も未発達なため、100~400 nm程度のサイズを持つナノ粒子が癌組織に集積する傾向にあり、これはEPR効果と呼ばれている¹³¹ (図4-1)。EPR効果をドラッグデリバリーに利用した抗癌剤はいくつか知られており、例えばリュープリン[®]はホルモン分泌を抑えることで前立腺癌細胞の増殖を抑えるペプチド誘導体リュープロレリン¹³²をPGLA (乳酸・グリコール酸共重合体) ナノ粒子に封入した薬剤で、ナノ粒子を癌組織に集積させて薬剤を徐放することで癌選択的な治療が可能となる。

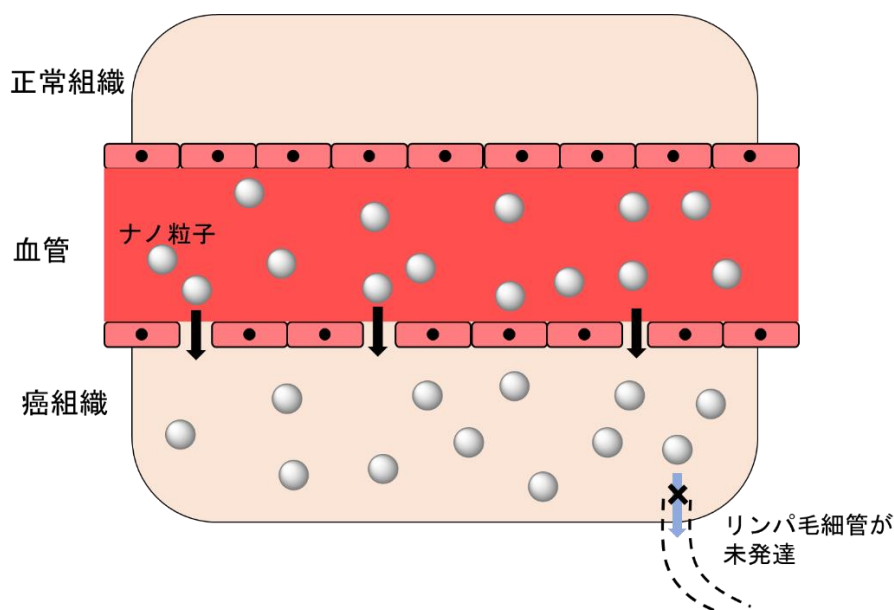


図 4-1. EPR 効果によるナノ粒子の癌組織への集積の概念図。

2) 癌選択的プロトポルフィリン IX (Protoporphyrin IX, PPIX) の集積：5-アミノレブリン酸 (ALA) は動物に内在性のアミノ酸であり、細胞内で PPIX、次いでヘムに代謝される (図 4-2)。しかし癌細胞に対して過剰の ALA が投与されるとヘムの前段階の PPIX が蓄積する。癌細胞では ALA を取り込むペプチドトランスポーター1 (peptide transporter 1, PEPT1) が過剰発現しており、正常細胞よりも多量の ALA が取り込まれる。

また癌細胞では PPIX をへムに代謝する酵素フェロキターゼの活性と、PPIX をミトコンドリアおよび細胞の外に排出する ABC トランスポーター (ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2) の発現が抑制されている^{30,31}。その結果、癌細胞には PPIX が選択的に蓄積する。PPIX は光増感能を持つため、ALA を使うことで癌選択的な PDT が可能である。ALA 自体は光増感能を持たず、細胞に取り込まれなかった ALA は 24 時間以内に腎排泄されるため、PDT の副作用である光線過敏症はほとんど問題にならないとされる²⁷。ただし、投与する物質と光増感剤はそれぞれ種類ずつ (つまり、ALA と PPIX) 以外に拮がりを持たせることができないため、応用の幅 (選択性、光照射波長など) を狭める可能性がある。

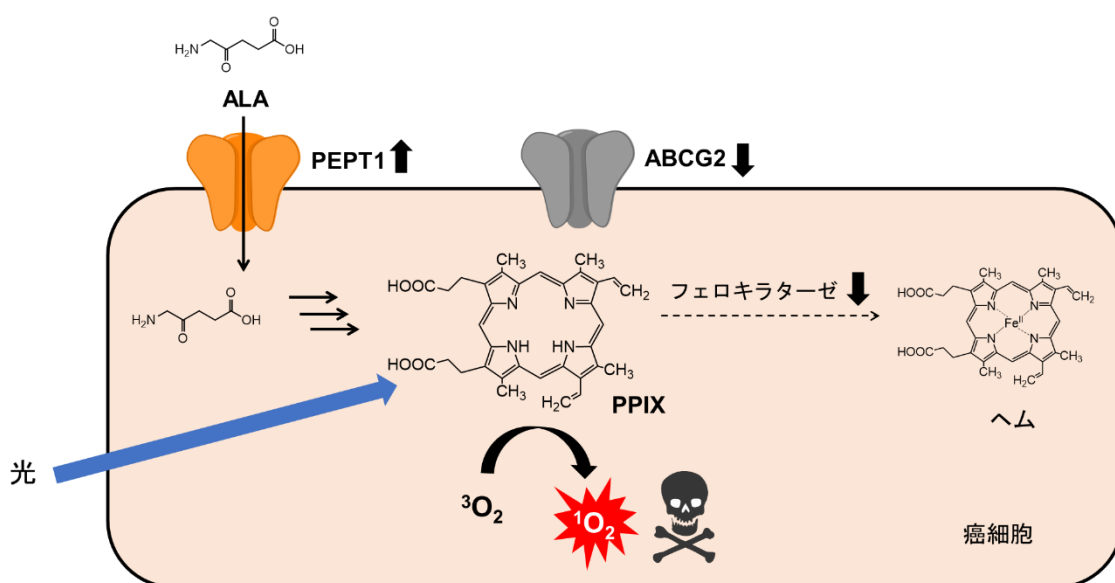


図 4-2. ALA を用いた癌選択的 PDT の概要。

3) 抗体-薬物複合体 (Antibody-drug conjugate, ADC)¹³³: 癌細胞表面には、癌特有の抗原や受容体が過剰発現している場合があります¹³⁴、これらは癌細胞のマーカーとなる。癌マーカーに結合する抗体に殺細胞効果を持つ低分子薬剤などを結合させた複合体が ADC で、抗体の抗原特異性を利用して癌選択的に細胞内にエンドサイトーシスで侵入した後、細胞内で薬剤を放出して癌細胞を死滅させる (図 4-3a)。乳癌細胞に過剰発現する糖タンパク HER2 に結合するモノクローナル抗体トラツズマブと、細胞内でチューブリンに結合して重合を阻害して細胞毒性を示す化合物エムタンシンとを結合させたカドサイラ® (図 4-3b) など、4 種類の ADC が現在承認されている^{135, 136}。また、小林らが報告した光線免疫療法^{137, 138}も ADC と同様のストラテジーで癌選択的な薬剤のデリバリーを行うものである。光線免疫療法では、Silica-Phthalocyanine 骨格を持つ色素 IRDye700DX とモノクローナル抗体トラツズマブなどとの複合体 (図 4-3c) を癌細胞表面の特異抗原に結合させた後に、近赤外光で IRDye700DX を励起する。すると、色素中

心の Si に結合していた親水性の配位子が遊離し、疎水性の色素が露出するため、疎水性相互作用により色素-抗体-抗原複合体の構造が変化する。この構造変化が細胞膜の保全性を乱し、細胞内に水が流入し癌細胞が膨張して破壊される。破壊された癌細胞からは種々の癌抗原が放出され、その癌抗原を近くにある樹状細胞が貪食する。成熟した樹状細胞は抗原情報を T 細胞に伝達し、T 細胞がその抗原を持つ癌細胞を攻撃する。以上のようなメカニズムで光線免疫療法では癌細胞を選択的かつ完璧に死滅させると言われている^{139, 140}。抗体の利点は、抗体の抗原に対する高い特異性で、効率的な薬剤の癌選択的デリバリーによる効率的な癌治療と副作用の低減が可能となる。一方、抗体の欠点としては、1) 分子量が大きいため、経口投与が不可であり、かつ低分子に比べて細胞膜透過性が低い点、2) 抗体の作製には、マウスへの癌抗原注射、マウスからの B 細胞の採取、B 細胞とミエローマ細胞の融合細胞の培養などが必要で、化学合成できる低分子に比べて高いコストがかかる点、3) 抗体は低分子に比べ構造が複雑で、品質の均一化や安定な保管が難しい点、などが挙げられる。

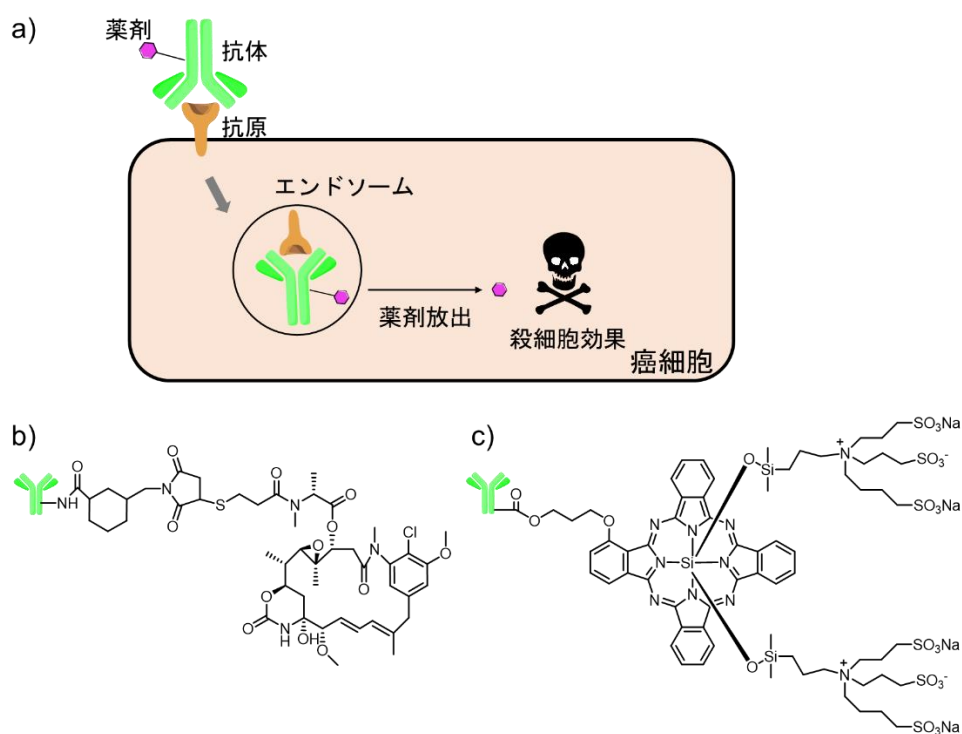


図 4-3. a) ADC を用いた薬剤の癌選択的デリバリーの概念図。b) ADC であるカドサイラ®の構造。c) 光線免疫療法に用いられる抗体-光増感剤複合体の構造 (この抗体-光増感剤複合体は a) で示したように癌細胞に取り込まれるのではなく、膜上で抗原に結合した状態で光照射されて癌細胞を破壊する。)

4) 癌細胞特異的受容体のリガンド分子: このターゲティングのストラテジーは、上

記の ADC を用いた場合と同様だが、ADC と異なる点は、癌細胞特異的に結合する分子として抗体ではなく、比較的低分子のリガンドを用いる点である。いくつかの癌幹細胞の表面にはヒアルロン酸をはじめとする細胞外マトリックスと結合する糖タンパク質 Cluster of differentiation-44 (CD44)が過剰発現している¹⁴¹。CD44 を標的とした癌選択的な薬剤のデリバリーに関する研究としては、ヒアルロン酸と抗癌剤パクリセタル®を結合させた複合体 (図 4-4a) が開発され臨床試験に進んでいる¹⁴²。また、ヒアルロン酸と光増感剤を結合させた複合体 (図 4-4b) が癌選択的な PDT 効果を示したという研究報告もされている¹⁴³。一方、葉酸受容体 α (Folate receptor α , FR α) も多くの癌細胞で過剰発現していることが知られており¹⁴⁴、癌選択的デリバリーの標的として研究されている。ビンタフォリドは、葉酸とビンカアルカロイド desacetylvinblastine hydrazide (抗癌性腫瘍薬) を結合させた複合体¹⁴⁵ (図 4-4c) で、抗癌剤としての臨床試験が行われている¹⁴⁶。リガンド分子は、抗体に比べ分子量が小さい、化学合成が可能でコストを抑えられる、などの利点がある。一方で、上述の CD44 に関しては、ターゲティング方法としてヒアルロン酸ではなく抗 CD44 抗体を用いる場合もあるが、癌選択性はヒアルロン酸よりも抗 CD44 抗体の方が高いとされており¹⁴⁷、状況に応じて抗体とリガンド分子どちらを癌ターゲティング方法に用いるかを選択する必要がある。

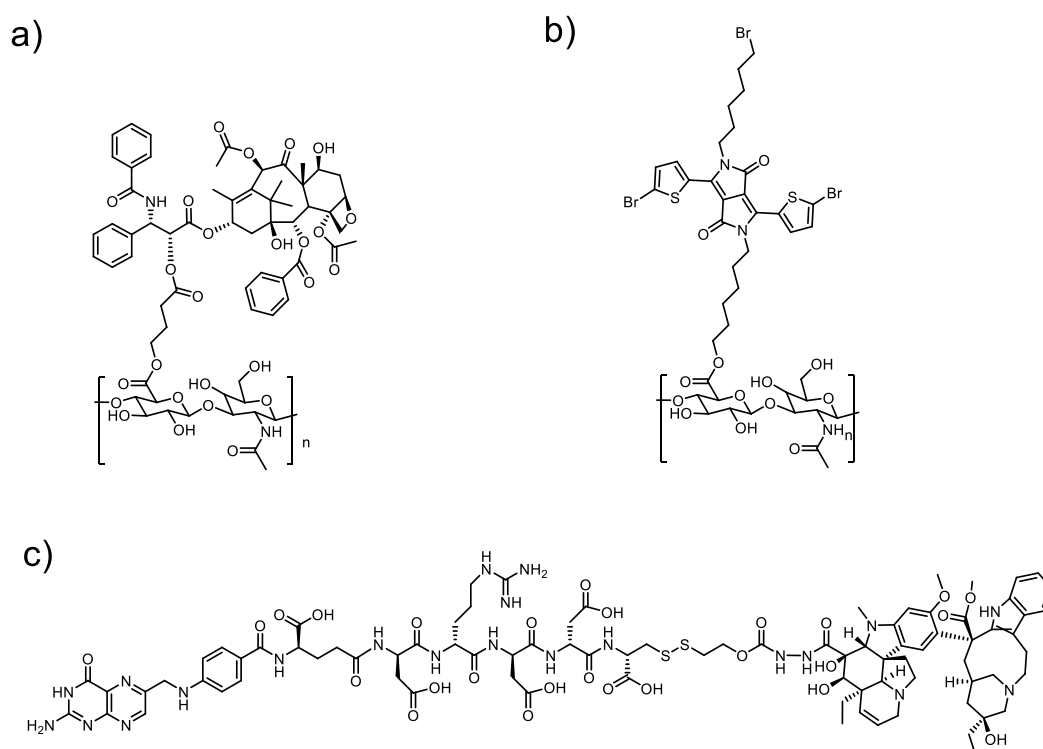


図 4-4. 癌細胞に過剰発現する受容体を標的としたリガンド修飾分子の例。a) ヒアルロン酸-パクリセタル複合体の構造。b) ヒアルロン酸-光増感剤複合体の構造。c) 葉酸-アルカロイド複合体の構造。

癌細胞には上記のような受容体だけでなく、グルコース輸送体（GLUT）が過剰発現している。序論でも触れたが、GLUT のリガンドとなるグルコースを用いて、抗癌剤、蛍光色素や光増感剤の癌細胞への選択的デリバリーの研究が行われている^{22, 65-67}（**図 4-5**）。グルコースは抗体に比べ分子量が非常に小さく、安価・安定であり、癌細胞標的リガンドとしての利用価値は高い。GLUT の孔径は 0.4~0.8 nm であり²³、本研究のビフェニル増感剤は棒状で短径が約 0.5 nm なので GLUT を通過できる可能性が高い。以上の知見から、本研究ではビフェニル増感剤にグルコースを修飾した複合体を用いて、GLUT を介した細胞取り込みによる癌選択的な PDT を目指した（**図 4-6**）。

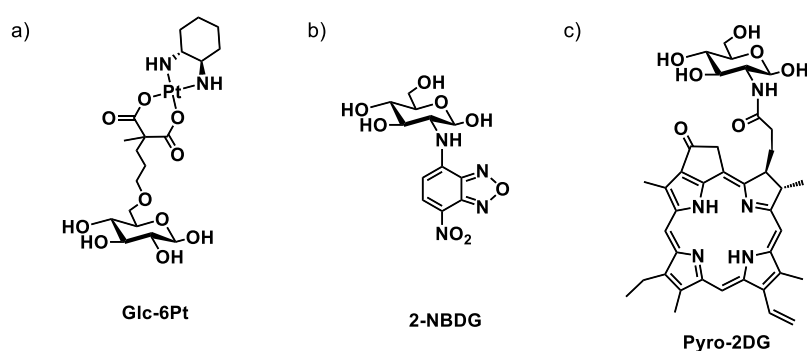


図 4-5. GLUT を標的としたグルコース修飾分子の例。a) グルコース修飾プラチナ抗癌剤（Glc-6Pt）の構造、b) グルコース修飾蛍光色素（2-NBDG）の構造。c) グルコース修飾ポルフィリン系光増感剤（Pyro-2DG）の構造。

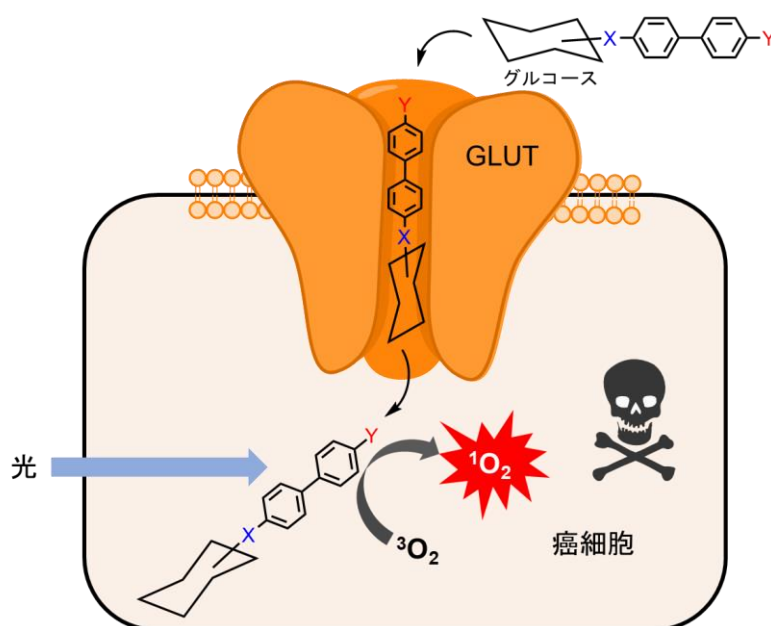


図 4-6. 糖修飾光増感剤の GLUT を通過する細胞取り込みと癌選択的 PDT の概要（X: 電子供与性基、Y: 電子吸引性基）。

本章第二節では糖修飾光増感剤の分子設計と合成について、第三節では糖修飾光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能を含む光物性評価について、第四節では糖修飾光増感剤の前立腺癌細胞への取り込みを共焦点顕微鏡で評価した結果について、第五節では糖修飾光増感剤の光照射による前立腺癌細胞へのダメージ、すなわち PDT 効果の評価について述べる。第六節では本章のまとめを述べる。

第二節 糖修飾ビフェニル光増感剤の設計・合成

グルコース修飾光増感剤の設計について考慮した点は大きく以下の二つである。

i) グルコースの何位に光増感剤を修飾するか。

ii) グルコースの水酸基に光増感剤を直接修飾するか、もしくはスペーサーを付加して修飾するか。

まず、i) について、Petra らはグルコピラノースの全ての水酸基（1, 2, 3, 4, 6 位）それぞれにプラチナ抗癌剤を修飾した位置異性体を合成し、癌細胞親和性・毒性を比較して、相対的に 3 位修飾体が劣る結果を示したという報告をしている⁶⁵。この報告を参考に 1, 2, 4, 6 位修飾体の合成を検討した。グルコピラノースの反応点となる水酸基 5 個の中で最も修飾しやすいのが 1 位である。1 位（アノマー位）水酸基は、適切な脱離基を導入しグリコシド化¹⁴⁸することによって様々な官能基を導入することができる。一方、グルコースの 2, 4 位の水酸基は、1 位のような特徴がなく、Petra らの報告では 2, 4 位修飾体合成に 10 ステップ以上要している。6 位水酸基はグルコピラノース唯一の一級水酸基という特徴を持つが、それでも 6 位修飾体合成のステップ数は 1 位修飾体よりも 2~3 ステップ多くなる。そこで、本研究ではまず最も合成が容易な 1 位修飾体を合成することに決定した。

また、考慮点 ii) については、グルコース修飾光増感剤が GLUT1 に認識されるようにドッキングシミュレーションを行った結果を参考に、合成する化合物の構造を決定することにした。ドッキングシミュレーションにおいて、タンパク質の結晶構造として GLUT1 のホモログタンパク質であるキシロース輸送体 (XylE)¹⁴⁹ のものを用いた。GLUT1 は細胞外側に向けた開口部でグルコースを補足した後、外側開口部が閉じ、細胞の内側が開口して細胞内にグルコースを輸送すると提唱されているが²⁰、現在解かれている GLUT1 の X 線結晶構造では、GLUT1 の開口部が細胞の内側に向いているため、外側から認識するリガンドのドッキングには適していない。一方、XylE の X 線結晶構造では開口部が細胞の外側に向いており、本シミュレーションの目的に適っている²²。糖の 1 位と光増感剤の間は、直接繋げた構造、およびプロピルスペーサーを介して繋げた構造の 2 種類 (**4-1**, **4-2**) を検討した (図 4-7)。図 4-8 にドッキングの結果を示す。a) は XylE とグルコース (オレンジ色) の x 線共結晶構造の全体図で b) がグルコース結合部位の拡大図である。c) が **4-1**、d) が **4-2** を XylE に対してドッキングを行った結果である。b)、c) から、グルコースに直接ビフェニルを修飾した構造 (ピンク色) は、XylE のグルコース結合部位に到達しておらず、親和性は低いと予想された。b)、d) から、グルコースにプロピルスペーサーを介してビフェニルを修飾した構造 (ピンク色) は、XylE のグルコース結合部位に到達しており、親和性が高いことが予想された。以上のことから、プロピルスペーサーを介してグルコースの 1 位にビフェニル光増感剤を修飾した **4-2** を合成することとした。

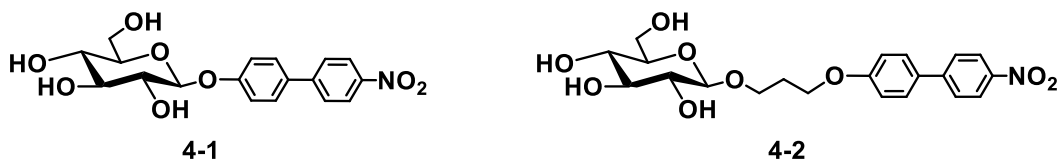


図 4-7. グルコース修飾ビフェニル光増感剤の分子設計案。

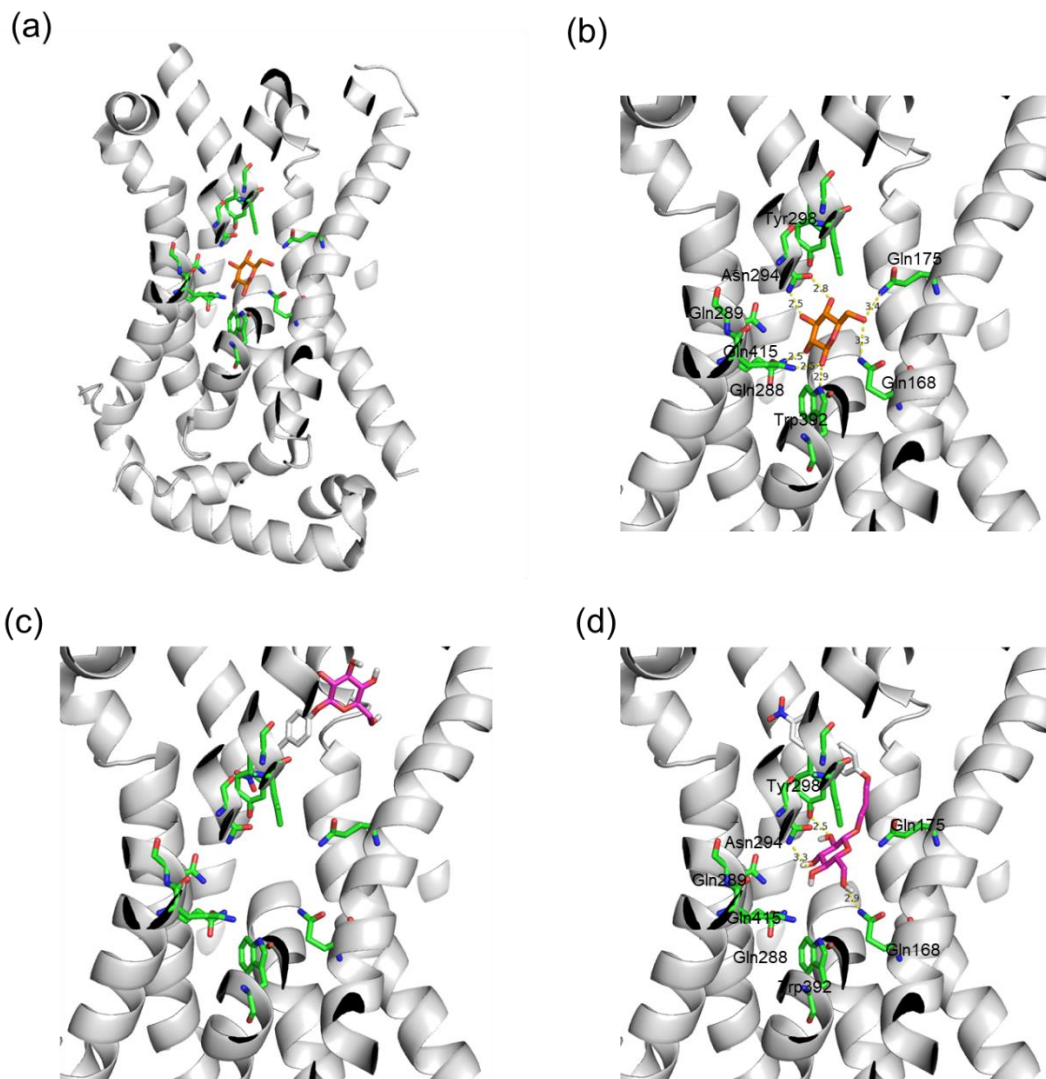
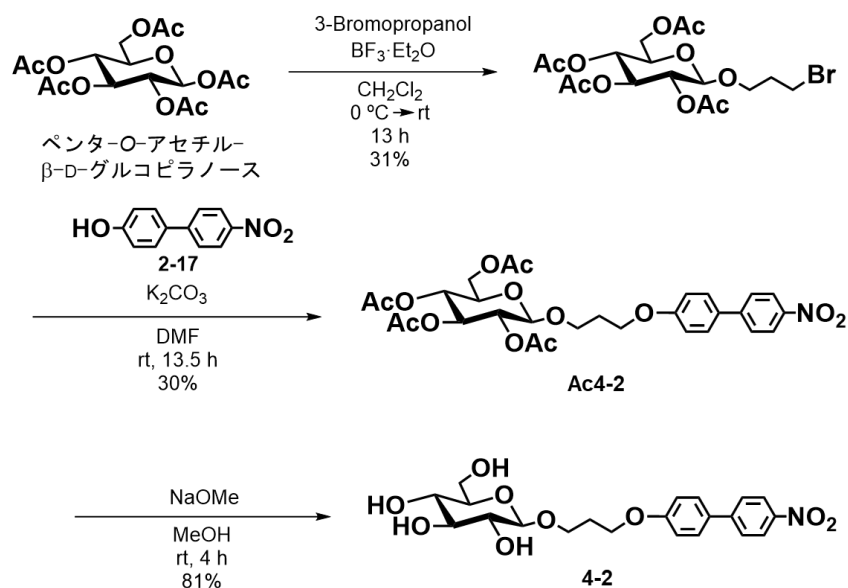
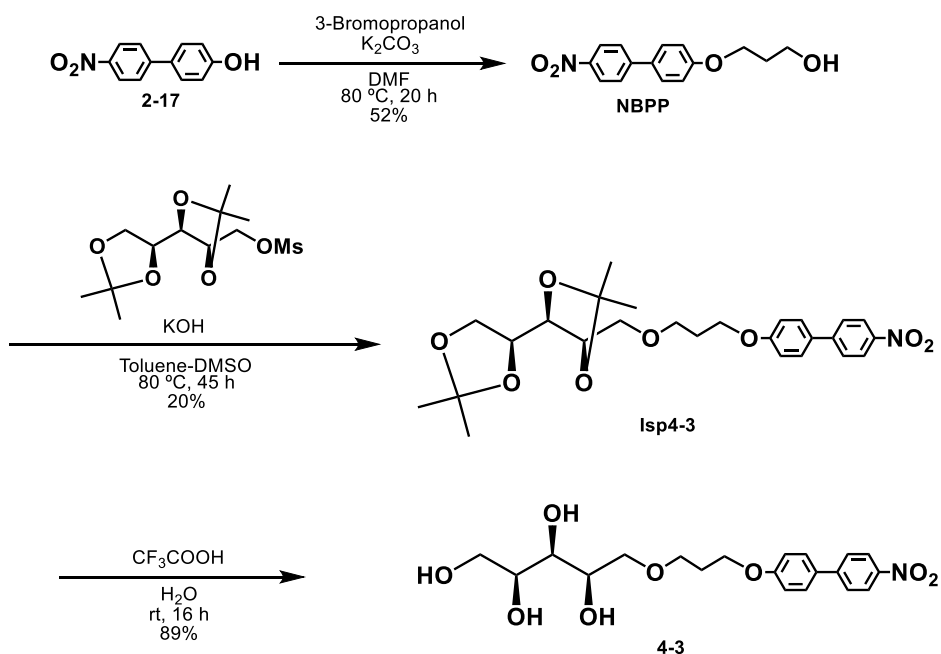


図 4-8. ドッキングシミュレーションの結果。a) XylE とグルコース（オレンジ色）の共結晶構造（全体図）。b) XylE とグルコースの共結晶構造（拡大図）。c) 4-1、d) 4-2 と XylE のドッキング結果。リガンドはピンク色で示した。タンパク質構造は XylE (PDB, 4GBZ) を用いた。リガンドの構造最適化には Gaussian09、ドッキングには Autodock Vina、ドッキング結果の描出には PyMol を用いた。リガンドの周囲 3.5 Å 以内にあるアミノ酸残基を抽出して示した。

4-2 はスキーム 4-1 のように合成した。すなわち、ペンタ-*O*-アセチル-β-D-グルコピラノースを原料として、グリコシド化によって1位にブロモプロピルスペーサーを導入した後、4位にヒドロキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-17** のフェノール性水酸基とブロモプロピル部分との求核置換反応によってビフェニル部分を導入し、最後にアセチル基を脱保護することで、目的物 **4-2** を合成した。



スキーム 4-1. グルコース修飾ビフェニル光増感剤 **4-2** の合成。



スキーム 4-2. キシリトール修飾ビフェニル光増感剤 **4-3** の合成。

GLUT を標的とするグルコース修飾体 **4-2** の比較化合物として、キシリトール修飾体 **4-3** を合成した (スキーム **4-2**)。非環状の糖アルコールであるキシリトールは、水酸基の数が同じグルコースと同程度の水溶性を持つと考えられるが、直鎖状のため GLUT には強く認識されないと推定される。そこで、**4-2** の GLUT 選択性を評価するため **4-3** を設計した。**4-2** とスペーサーの長さを揃えるため、まず **2-17** に求核置換反応でプロピルアルコールを導入し **NBPP** を合成した。末端水酸基を脱離能のあるメシル基に変換したキシリトールのイソプロピリデン保護体と **NBPP** との求核置換反応により **Isp4-3** を合成した後、トリフルオロ酢酸でイソプロピリデン基を脱保護して **4-3** を得た。

第三節 糖修飾ビフェニル光増感剤の光物性評価

本節では糖修飾ビフェニル誘導体 **4-2** と **4-3** の光物性評価について述べる。

初めに、**4-2** と **4-3** が分子内電荷移動 (ICT) を起こすか評価するため、アセトニトリル中の吸収スペクトルを測定した (図 4-9)。どちらの化合物のスペクトルも、第二章第三節で述べた、4-メトキシ-4'-ニトロビフェニル **2-16** と同様の顕著な ICT 吸収バンドが観察された。

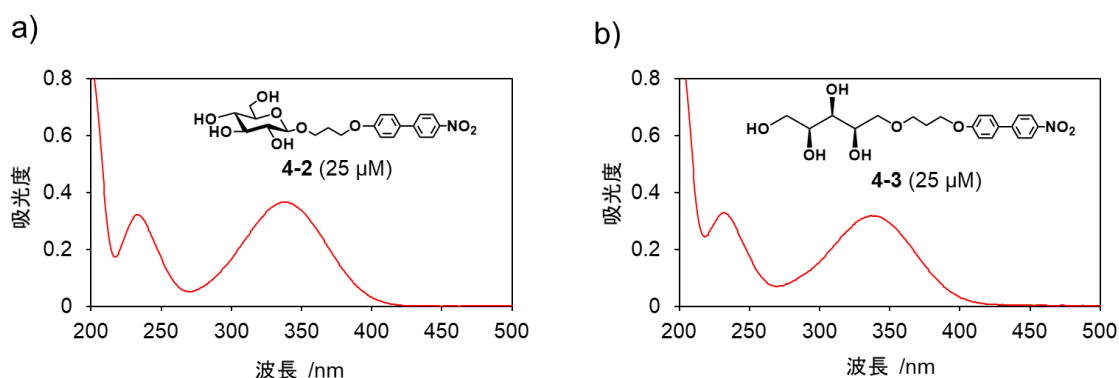


図 4-9. a) **4-2** (25 μM)、b) **4-3** (25 μM) のアセトニトリル中の吸収スペクトル。

続いて、**4-2** と **4-3** のアセトニトリル中の蛍光スペクトルを測定した (図 4-10)。CT 吸収波長で **4-2** と **4-3** を励起したところ、**2-16** と同様の蛍光スペクトルが得られた。すなわち、ビフェニル光増感剤に糖を修飾した化合物 **4-2** と **4-3** でも、ビフェニル部分が $S_0 \rightarrow$ 平面型分子内電荷移動状態 (PICT) \rightarrow ねじれ型電荷移動状態 (TICT) のプロセスを経ることが示唆された。

次に、**4-2** と **4-3** のアセトニトリル中の $^1\text{O}_2$ 生成能を、TPCPD を用いて評価した (図 4-11)。CT 吸収極大波長 (337 nm) で **4-2** と **4-3** を励起したところ、 $^1\text{O}_2$ 生成の量子収率 (Φ_{Δ}) はそれぞれ 0.65 と 0.58 であった。これらの値は本研究で最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能を持つ **2-16** の Φ_{Δ} (0.88) より低い。これは OH 基に特有の強い振動共鳴により T_1 の無輻射遷移によるクエンチが起こったためと考えられる。**4-2** と **4-3** を CT 吸収の長波長側の裾である 405 nm で励起すると、 Φ_{Δ} はそれぞれ 0.83 と 0.82 が得られ、337 nm 励起の場合よりも改善した。これも **2-16** の特徴と一致する。以上の結果からビフェニル増感剤 **2-16** に糖を修飾しても光物性に大きな影響は与えず、**4-2** と **4-3** が光増感剤としての機能を保つことがわかった。さらに **4-2** は水中でも $^1\text{O}_2$ を生成し (図 4-12, $\Phi_{\Delta} = 0.17$)、生体に用いる PDT への応用可能性が示された。

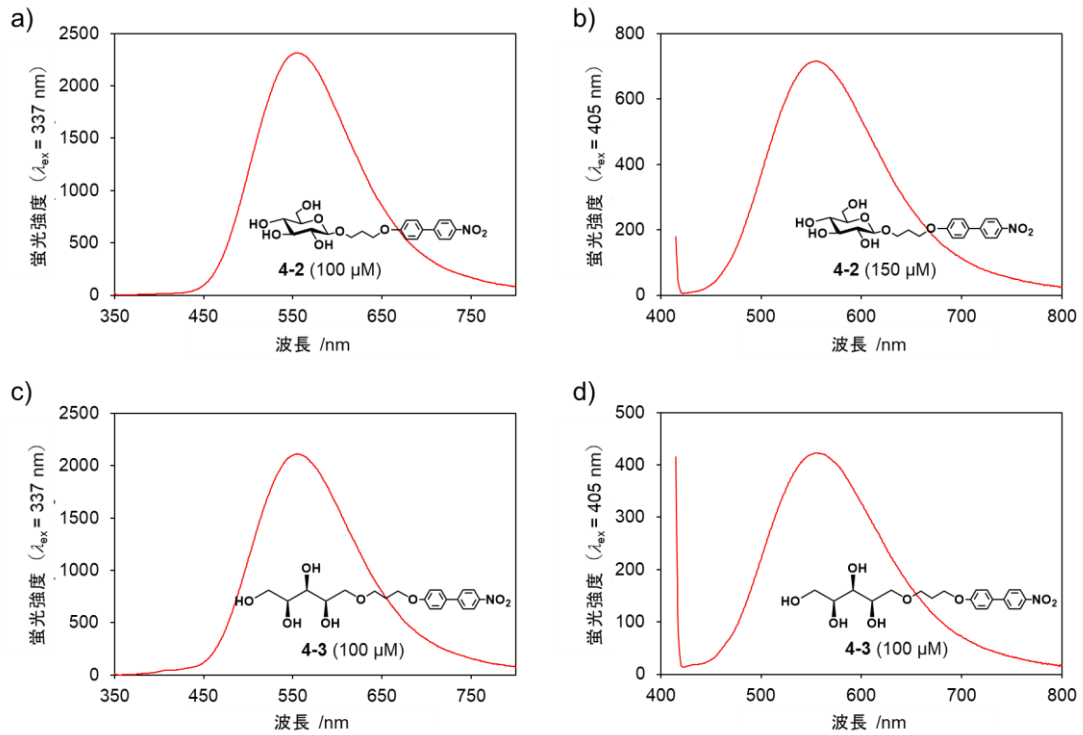


図 4-10. a, b) **4-2**、c, d) **4-3** のアセトニトリル中の蛍光スペクトル。 $\lambda_{\text{ex}} = 337$ or 405 nm。

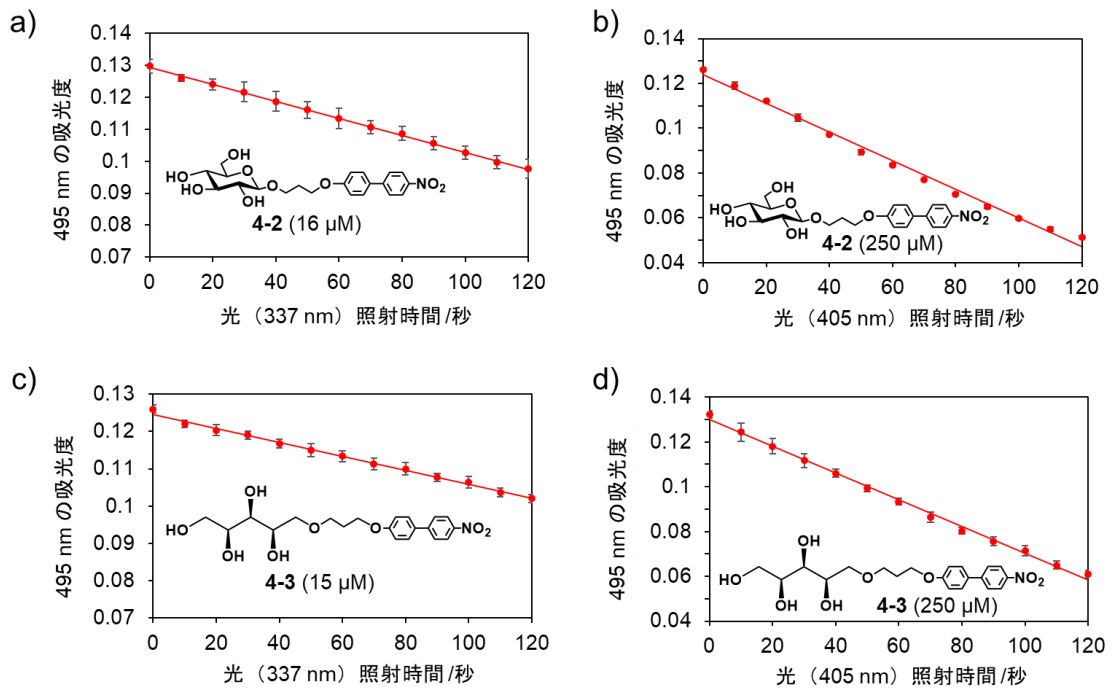


図 4-11. a, b) **4-2**、c, d) **4-3** のアセトニトリル中の $^1\text{O}_2$ 生成能 (TPCPD の 495 nm の吸光度変化)。 $\lambda_{\text{ex}} = 337$ or 405 nm。

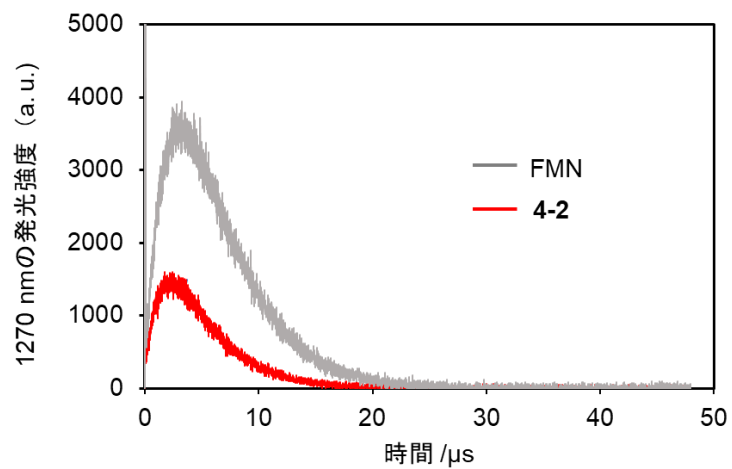


図 4-12. 光増感剤 (10 μM 、 H_2O 中(1%DMSO)) により生成した $^1\text{O}_2$ の燐光の減衰曲線。
 $\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$ 。 **4-2** の Φ_{Δ} を求めるための基準として光増感剤フラビンモノヌクレオチド
 (flavin mononucleotide, FMN, $\Phi_{\Delta} = 0.51^{113}$) を用いた。

第四節 糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞取り込み実験

癌を PDT で効率良く治療するためには癌細胞内に光増感剤が取り込まれる必要がある。そこで、グルコース修飾光増感剤 **4-2** およびキシリトール修飾光増感剤 **4-3** が前立腺癌細胞 DU145 に取り込まれるかどうかを共焦点顕微鏡観察により評価することとした。DU145 細胞は GLUT を発現しており、GLUT を標的とする研究で用いられている^{65,150}。DU145 細胞と **4-2** および **4-3** を 1 時間培養した後、バッファー (PBS) により細胞を洗浄して過剰の化合物を除いてから共焦点顕微鏡により細胞の明視野画像と蛍光画像を撮影した (図 4-13)。励起光源は 405 nm レーザーであるが、前節の結果から **4-2** および **4-3** が 405 nm 励起で蛍光を発することはわかっている (図 4-10)。図 4-13a において、細胞のみのコントロール画像に比べ、**4-2** および **4-3** を加えた細胞の画像からは細胞内から相対的に強い蛍光シグナルが観察され、**4-2** および **4-3** が細胞に取り込まれたことが示唆された。化合物の細胞取り込み量を定量的に評価するため、画像解析ソフト ImageJ を用いて細胞あたりの蛍光強度を求めた (図 4-13b)。定量化はそれぞれの条件において 3 枚分の蛍光画像の蛍光強度を平均して求めた (実験項図 s-12 参照)。細胞のみの画像の蛍光強度を基準とすると、**4-3** を加えた細胞画像の蛍光強度は約 1.4 倍、**4-2** では約 2 倍になっており、**4-2** および **4-3** が細胞に取り込まれたことが定量的に示された。また、グルコース修飾体 **4-2** の方がキシリトール修飾体 **4-3** よりも効率的に細胞に取り込まれており、ビフェニル光増感剤にグルコースを修飾することで狙い通り取り込み効率を向上させることができた。

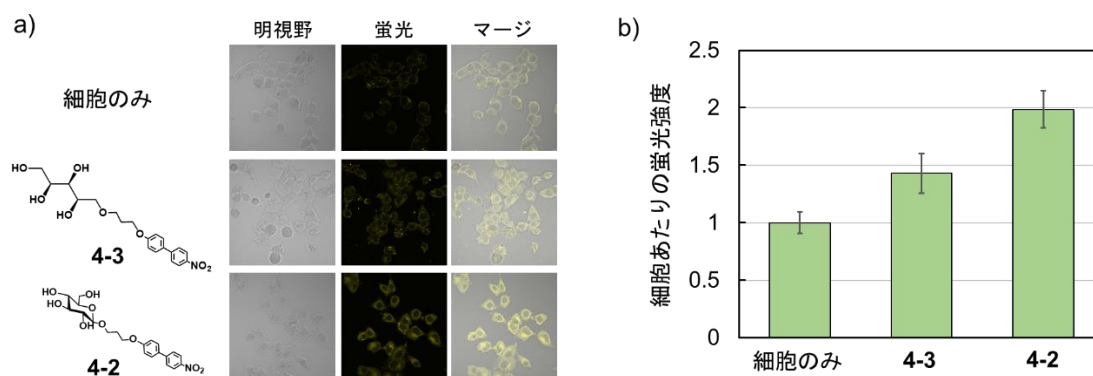


図 4-13. a) 糖修飾光増感剤を DU145 細胞に加えた後の細胞の共焦点顕微鏡画像。細胞に加えた **4-2** および **4-3** の終濃度は 150 μM (培地中、1%DMSO 含む)。細胞のみのコントロールでは 1%DMSO を含む培地を細胞に加えた。 $\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 415\sim 735 \text{ nm}$ 。b) a)の蛍光画像を含む 3 枚分の蛍光画像から細胞辺りの蛍光強度 (実験項図 s-12 参照) を定量化したグラフ。

続いて、グルコース修飾光増感剤 **4-2** が本研究の構想通り GLUT を通過できるかを評価するため、GLUT 阻害剤サイトカラシン B (CytoB)^{151, 152} を用いた阻害実験を行った。DU145 細胞に CytoB を加えた 5 分後に **4-2** を加えて 1 時間培養し、上記と同様に共焦点顕微鏡で細胞を撮影し、蛍光強度を定量化した (図 4-14a, b)。CytoB を加えない場合を **4-2** の細胞取り込み率 100% とすると、CytoB の濃度が大きくなるにつれて取り込み率は減少し、CytoB が 150 μM のときには **4-2** の取り込み率は約 20% 減少した。つまり、GLUT 阻害剤により **4-2** の細胞取り込み量が減少したことから、**4-2** が少なくとも一部は GLUT を通過して細胞に取り込まれることが示された。

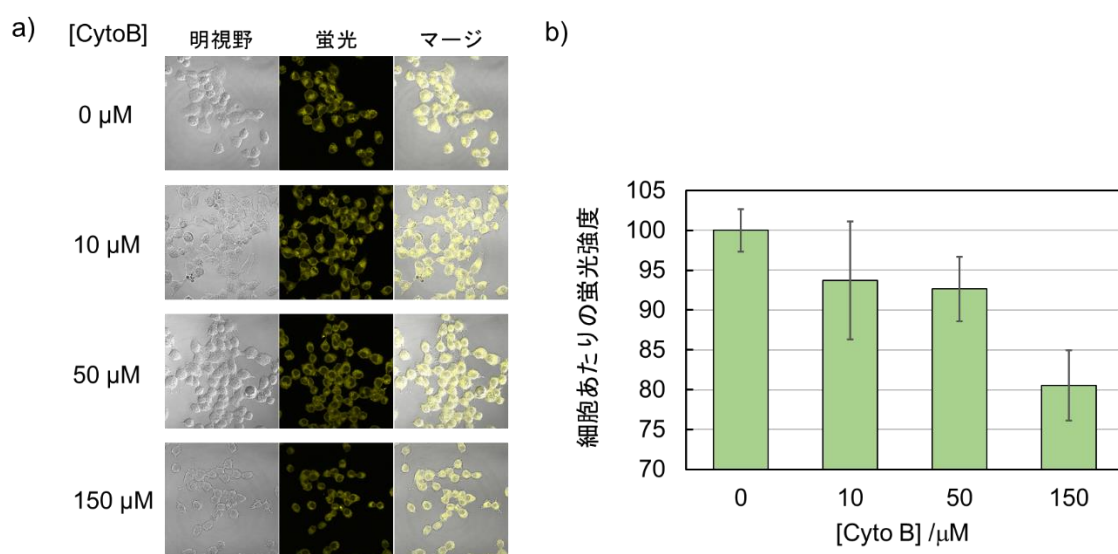


図 4-14. CytoB による **4-2** の細胞取り込み阻害。a) DU145 細胞に CytoB を加えた後に **4-2** を加えて培養した細胞の共焦点顕微鏡画像。 **4-2** の終濃度は 150 μM (培地中、1%DMSO 含む)。 $\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 415\sim 735 \text{ nm}$ 。b) a)の蛍光画像を含む 3 枚分の蛍光画像 (実験項図 s-13 参照) から細胞辺りの蛍光強度を定量化したグラフ。

第五節 糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞への光線力学治療効果検証

本節では糖修飾ビフェニル光増感剤 **4-2** および **4-3** の癌細胞に対する PDT 効果検証について述べる。

DU145 細胞と **4-2** および **4-3** を 1 時間培養して細胞に化合物を取り込ませた後、PBS により細胞を洗浄して過剰の化合物を除いてから 405 nm ダイオードレーザー (14 mW/cm²) の光を 25 分間照射した。そして細胞生存率を MTT アッセイ¹⁵³ によって評価することで、**4-2** および **4-3** の PDT 効果を検証した (図 4-15)。**4-2** もしくは **4-3** のみを加えた場合と光のみを照射した場合では細胞毒性は見られない。一方で **4-3** を加えて光を照射すると細胞生存率が約 60%まで減少し、**4-2** を加えて光を照射すると細胞生存率が約 40%まで減少した。この結果から **4-2** および **4-3** が DU145 に対して PDT 効果を持ち、さらに **4-3** に比べて細胞取り込み効率の高かった **4-2** の方が高い PDT 効果を示すことがわかった。前節の細胞取り込みの結果と PDT の結果を併せて、グルコース修飾ビフェニル光増感剤 **4-2** が GLUT を通過する癌選択的 PDT に応用できる可能性が示された。

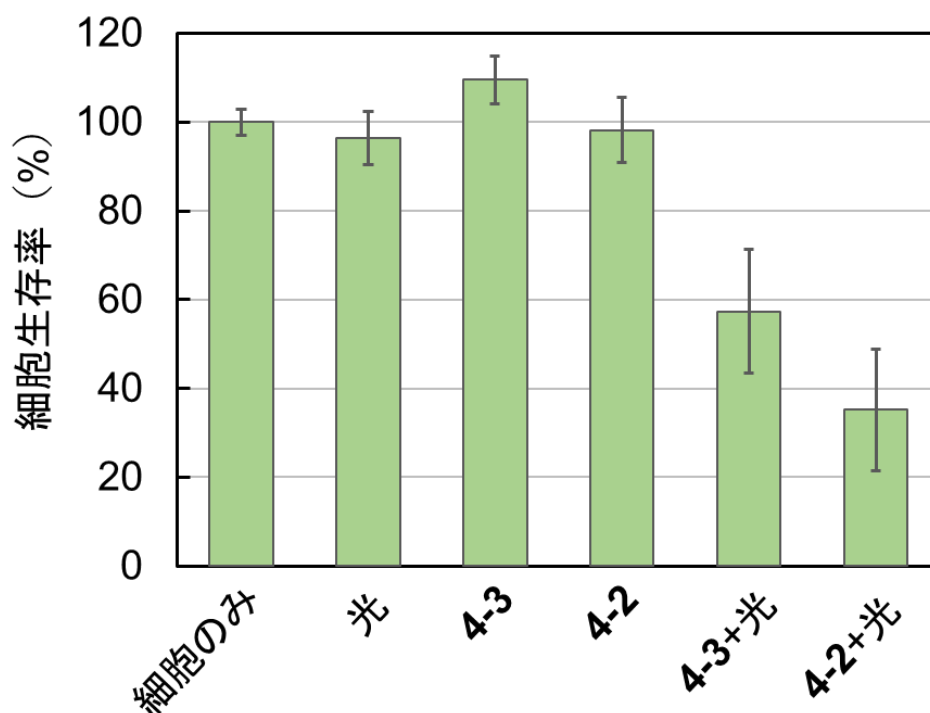


図 4-15. 糖修飾光増感剤 **4-2** および **4-3** の DU145 細胞に対する PDT 効果 (MTT アッセイにより求めた DU145 細胞の細胞生存率 (n=4))。 **4-2**, **4-3** の終濃度は 150 μ M (培地中、1%DMSO 含む)。光照射ありの条件では、細胞に 405 nm ダイオードレーザー (14 mW/cm²) の光を 25 分間照射した。

第六節 まとめ

本章ではビフェニル光増感剤を PDT に応用するために行った細胞実験について述べた。第一節では緒言として、これまで知られている薬剤の癌選択的デリバリーについて概説し、グルコースの癌標的リガンドとしての有用性と本研究が目的とする GLUT を標的とした癌選択的 PDT の概要を述べた。第二節では癌細胞に過剰発現する GLUT を標的とするグルコース修飾ビフェニル光増感剤 **4-2** の設計・合成について述べた。**4-2** の比較としてキシリトール修飾体 **4-3** の合成についても述べた。第三節では **4-2** と **4-3** の光物性（光吸収、蛍光、 $^1\text{O}_2$ 生成）評価の結果を述べた。**4-2** と **4-3** どちらも糖修飾なしの **2-16** とほぼ同等な光物性を示し、ビフェニル光増感剤に糖を修飾しても光増感剤としての機能は保たれることについて述べた。第四節では、**4-2** と **4-3** が癌細胞に取り込まれるかを調べるための共焦点顕微鏡観察について述べた。その結果、**4-2** と **4-3** は前立腺癌細胞に取り込まれ、またグルコース修飾体 **4-2** の方がキシリトール修飾体 **4-3** よりも取り込み効率が高かったことからビフェニル光増感剤をグルコース修飾することで取り込み能が向上することが示されたことを述べた。さらに、GLUT 阻害剤により **4-2** の細胞取り込みが阻害されたことから **4-2** が GLUT を通過できることを述べた。第五節では **4-2** と **4-3** の前立腺癌細胞に対する PDT 効果検証について述べた。**4-2** と **4-3** どちらも PDT 効果を示したが、**4-2** の方が高い PDT 効果を示した結果について述べた。これは細胞取り込みの結果とも一致しており、グルコース修飾によるビフェニル光増感剤の癌細胞親和性の向上が示されたことを述べた。以上、本章では、細胞実験の結果より、本研究の目的の一つである、GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発の達成について述べた。

第五章 総括

本博士論文は、「光線力学治療を指向したスピン軌道電荷移動型光増感剤の開発」と題し、光線力学治療 (PDT) に関連した次の2つを研究目的とし、ビフェニル誘導体を用いてこれらを達成した過程について述べ、以下に挙げる五章から構成される。目的1: グルコース輸送体 (GLUT) を通過できる小さい光増感剤の開発とその光増感機構の検証。目的2: 組織深達性の高い近赤外光による一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) 生成法の開発。

第一章「序論」では本研究の概要、背景、目的について述べた。第一節「緒言」では本研究の概要を述べた。第二節「癌の光線力学治療と光増感剤」では PDT の概要とこれまでに開発されてきたポルフィリン系の光増感剤について解説を行った。第三節「光増感機構」では一般的な光増感剤の光増感機構を Jablonski 図で説明し、光増感剤開発において禁制遷移である項間交差をどう効率良く起こさせるかが重要であることを述べた。第四節「項間交差機構」ではその項間交差を促進する機構として、第一項で重原子効果、第二項で El-sayed 則、第三項でスピン軌道電荷移動、第四項でラジカルペア (RP) 機構について述べた。第五節「既存の光増感剤の課題」では既存の光増感剤の課題を挙げた。本研究が解決を目指す光増感剤の課題として、1) 分子サイズが大きく癌細胞に過剰発現するチャンネルタンパク質の通過が困難な点と、2) 組織深達性の高い近赤外光で光増感できない点に言及した。第六節「本博士論文における研究の構想」では1)、2) の課題を解決するための本研究の構想を述べた。1) に対して、当研究室が明らかにしたイソフタル酸の電荷移動 (CT) を経る項間交差機構 (RP 機構) を小さい分子サイズの光増感剤の分子設計指針とした。さらに癌細胞に過剰発現するチャンネルタンパク質で GLUT を通過できるような、グルコース修飾光増感剤の開発について述べた。2) に対しては二光子励起を用いて光増感剤を近赤外光励起して $^1\text{O}_2$ 生成させる戦略を述べた。

第二章では「ビフェニル光増感剤の合成と光物性評価」について述べた。第一節「緒言」では、光増感剤候補化合物としてのビフェニル誘導体の分子設計、合成法である鈴木宮浦カップリングの概要、光増感剤の $^1\text{O}_2$ 生成能の評価方法について述べた。第二節「ビフェニル光増感剤の合成」では、序論で述べた CT を光増感剤設計指針として、ビフェニル骨格に種々の電子供与性基と電子吸引性基を導入した ICT 化合物の合成について述べた。第三節「光吸収特性」では合成した化合物が CT を起こすかどうか調べるために行った CT 吸収測定と分子軌道計算について述べた。その結果、電子供与性基と電子吸引性基の導入によりビフェニルが CT 性を持つようになることがわかり、特に4,4'位に電子供与性基と電子吸引性基を持つビフェニル誘導体 (**2-16**~**2-21**) が顕著な CT 吸収を起こすことが示されたことを述べた。また、Ph-Ph 結合のねじれ角を変えた誘導体 **2-16**, **2-23**~**2-28** の CT 吸収と時間依存密度汎関数法 (TDDFT) 計算の結果からビフェニルの平面性が高いほど CT 性が高いことを述べた。4位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つ **2-16** は CT に特徴的な溶媒効果 (吸収ピークの長波長シフト) を示したことを述べた。第四節「一重項酸素生成能」ではビフェニル誘導体の $^1\text{O}_2$ 生成能評価につ

いて述べた。顕著な CT 吸収を示した **2-16~2-18, 2-23, 2-24** が効率的な $^1\text{O}_2$ 生成能を示し、CT の $^1\text{O}_2$ 生成能への影響が示唆されたことを述べた。全誘導体の中で **2-16** が最も高い $^1\text{O}_2$ 生成量子収率 ($\Phi_A = 0.93$) を示したことを述べた。**2-16** は非プロトン性高極性溶媒中で効率的な $^1\text{O}_2$ 生成能を示し、一重項 CT 状態 (^1CT) の安定化による $^1\text{O}_2$ 生成能の向上が示唆されたことを述べた。また、**2-16** は水中でも $^1\text{O}_2$ を生成し、PDT への応用可能性が示されたことを述べた。第五節「蛍光」ではビフェニル誘導体の蛍光特性を述べた。調べたほとんどの誘導体の蛍光量子収率 (Φ_F) は 1%未満であったことを述べた。第四節で比較的高い $^1\text{O}_2$ 生成能 ($\Phi_A = 47\% \sim 93\%$) を示した **2-16~2-18, 2-23, 2-24** の Φ_F が 1%未満であることの妥当性について論じた。また、**2-16** は比較的大きい Stokes シフトや溶媒効果を示し、CT 励起による $S_0 \rightarrow$ 平面型分子内電荷移動状態 (PICT) \rightarrow ねじれ型分子内電荷移動状態 (TICT) のプロセスが示唆されたことを述べた。第六節「過渡吸収」ではビフェニル誘導体の中で最も高い $^1\text{O}_2$ 生成能を持つ **2-16** と Ph-Ph 結合を平面固定した誘導体 **2-23** が励起三重項 (T_1) を生成するかを確かめるため行った過渡吸収測定について述べた。**2-16** は CT 波長で励起した方が局所励起 (LE) 波長で励起した場合よりも T_1 生成量が大きく、 T_1 が ^1CT からの遷移で優先的に生成することを述べた。ここまでの CT 吸収や大きな Stokes シフト、溶媒効果、 T_1 生成から **2-16** が CT 励起によって $S_0 \rightarrow \text{PICT} \rightarrow \text{TICT} \rightarrow T_1$ という T_1 生成プロセスが推定されたことを述べた。電子供与性基としてジメチルアミノ基を持ち、顕著な CT 吸収を示したが $^1\text{O}_2$ 生成能を示さなかった **2-19** も T_1 生成までは同様のプロセスを経る可能性を論じた。また、**2-16** と **2-23** の過渡吸収スペクトルの違いから T_1 の三次元構造が化合物間で異なることが示唆されたことを述べた。**2-16** は励起状態で Ph-Ph 結合が回転できるのに対し、**2-23** では Ph-Ph 結合が固定されており回転できないため、Ph- NO_2 結合が回転すると予想され、この回転軸の違いが **2-16** と **2-23** の T_1 の三次元構造の違いを生じていることを議論した。第七節「二光子励起による一重項酸素生成」では **2-16** が組織深達性の高い近赤外光フェムト秒レーザーによって二光子励起で $^1\text{O}_2$ を生成できることを述べた。第八節「光安定性」では **2-16** の光安定性について述べた。以上、第二章では、本研究の目的 1 : GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証の「小さい光増感剤の開発」、目的 2 : 組織深達性の高い近赤外光励起による $^1\text{O}_2$ 生成の達成について述べた。

第三章では「ビフェニル光増感剤の光増感機構の検討」について述べた。第一節「緒言」では、第二章までの検討で推定されたビフェニル光増感剤の光増感プロセス ($S_0 \rightarrow \text{PICT} \rightarrow \text{TICT} \rightarrow T_1$) を整理し、 $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構として RP 機構または SOCT が推定されることを論じた。第二節「ラジカルペア機構の検討」では 4 位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** とその平面固定誘導体 **2-23** の $\text{TICT} \rightarrow T_1$ の項間交差機構が RP 機構であるかを検証するために行った外部磁場効果実験について述べた。そして、**2-16** と **2-23** の光物性に対する外部磁場効果は観察されず、項間交差機構が RP 機構ではないことが示唆されたことを述べた。そこで、第三節「結

合の回転を伴うスピン軌道電荷移動の検討」ではここまでの検討結果と DFT 計算による Ph-Ph および Ph-NO₂ 結合の回転エネルギーから、項間交差を含む全体の T₁ 生成機構として、結合の回転を伴う SOCT 機構 (図 5-1、図中は Ph-Ph の回転についてのみ示した) を提唱した。光物性に対する粘度効果実験から、**2-16** と **2-23** の T₁ 生成効率が結合の回転に依存することが示され、提唱した機構が支持されたことを述べた。以上、第三章では本研究の目的である GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証の「光増感機構の検証」を行い、独自の光増感機構を提唱した。

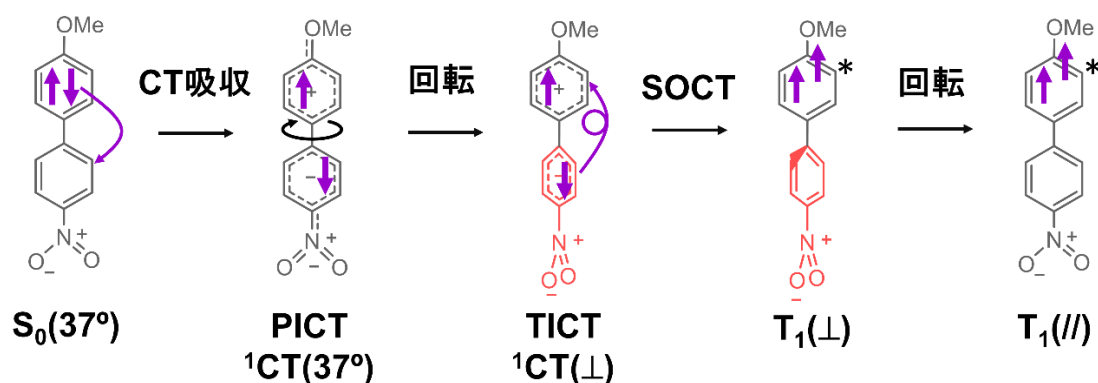


図 5-1. 本研究が提唱する、4 位にメトキシ基、4'位にニトロ基を持つビフェニル誘導体 **2-16** の CT 吸収、Ph-Ph 結合の回転、SOCT を経る光増感プロセス。電子スピンは直線の矢印で、電子遷移は曲がった矢印で示した。

第四章では「糖修飾ビフェニル光増感剤による光線力学治療を指向した細胞実験」について述べた。第一節「緒言」では、これまで知られている薬剤の癌選択的デリバリーについて概説し、グルコースの癌標的リガンドとしての有用性と本研究が目的とする GLUT を標的とした癌選択的 PDT の概要を述べた。第二節「糖修飾ビフェニル光増感剤の設計・合成」では癌細胞に過剰発現する GLUT を標的とするグルコース修飾ビフェニル光増感剤 **4-2** の設計・合成について述べた。**4-2** の比較としてキシリトール修飾体 **4-3** の合成についても述べた。第三節「糖修飾ビフェニル光増感剤の光物性評価」では **4-2** と **4-3** の光物性 (光吸収、蛍光、¹O₂ 生成) 評価の結果を述べた。**4-2** と **4-3** どちらも糖修飾なしの **2-16** とほぼ同等な光物性を示し、ビフェニル光増感剤に糖を修飾しても光増感剤としての機能は保たれることについて述べた。第四節「糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞取り込み実験」では、**4-2** と **4-3** が癌細胞に取り込まれるかを調べるための共焦点顕微鏡観察について述べた。その結果、**4-2** と **4-3** は前立腺癌細胞に取り込まれ、またグルコース修飾体 **4-2** の方がキシリトール修飾体 **4-3** よりも取り込み効率が高かったことからビフェニル光増感剤をグルコース修飾することで取り込み能が向上することが示されたことを述べた。さらに、GLUT 阻害剤により **4-2** の細胞取り込み

が阻害されたことから **4-2** が GLUT を通過できることを述べた。第五節「糖修飾ビフェニル光増感剤の癌細胞への光線力学治療効果検証」では **4-2** と **4-3** の前立腺癌細胞に対する PDT 効果検証について述べた。**4-2** と **4-3** どちらも PDT 効果を示したが、**4-2** の方が高い PDT 効果を示した結果について述べた。これは細胞取り込みの結果とも一致しており、グルコース修飾によるビフェニル光増感剤の癌細胞親和性の向上が示されたことを述べた。以上、第四章では細胞実験の結果より、本研究の目的の一つである、GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発の達成について述べた。

以上の構成からなる本博士論文で述べた研究では、冒頭で述べた当初の 2 つの目的（目的 1：GLUT を通過できる小さい光増感剤の開発と光増感機構の検証、目的 2：組織深達性の高い近赤外光で $^1\text{O}_2$ 生成できる光増感剤開発）を達成することに成功している。

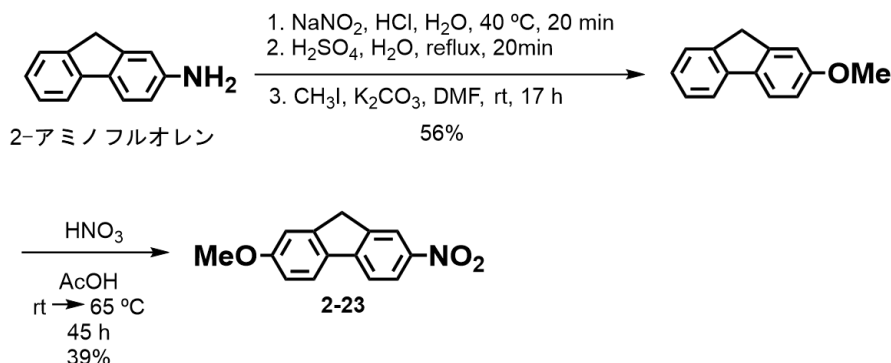
本博士論文で述べた研究のさらなる展望として、グルコース修飾ビフェニル光増感剤は GLUT を介した癌選択的デリバリーと近赤外光励起による $^1\text{O}_2$ 生成で、生体深部の癌を選択的に治療できるような PDT への応用が期待される。さらにグルコース修飾光増感剤は分子量が 500 以下であることから経口投与が可能で、かつ迅速な体外排泄による光線過敏症を引き起こさない PDT への応用が期待される。本研究の小さい光増感剤は、従来の大きい光増感剤よりも低侵襲な PDT 実現の可能性を秘めている。

実験項 (第二章)

一般的事項：試薬は富士フィルム和光純薬株式会社、東京化成工業株式会社、Sigma-Aldrich 社、関東化学株式会社、ナカライテスク株式会社より購入した。水は Merck Millipore 社の Milli-Di を用いて水道水を蒸留して使用した。分光測定には富士フィルム和光純薬株式会社の分光分析用溶媒を用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) には Silica Gel 60 F254 (Merck) を用いた。TLC による反応の追跡はハンディ UV ランプ (アズワン株式会社、SLUV-6) による UV (254 nm or 365 nm) 照射、または発色試薬として 1%Ce(SO₄)₂-1.5%(NH₄)₆Mo₇O₂₄/4H₂O-10%H₂SO₄ 水溶液、もしくは p-アニスアルデヒド、酢酸、濃硫酸のエタノール溶液に浸し、ホットプレートで熱して発色させることで行った。カラムクロマトグラフィーはシリカゲル C-60 (Merck) または和光ゲル C-300、関東シリカゲル 60N (球状、中性)と種々の展開溶媒系で行った。¹H NMR は 400 MHz (Bruker Biospin AvanceIII)または、500 MHz (Varian Unity INOVA 500 or Bruker AVNCEIII HD 500)で測定した。化学シフトは、CDCl₃ 中ではテトラメチルシラン ($\delta = 0.00$ ppm) または溶媒ピーク ($\delta = 7.26$ ppm) を、CD₃OD および(CD₃)₂SO 中では溶媒ピーク ($\delta = 3.31, 2.50$ ppm) を内部標準として示した。シグナルの分裂は次のような表記法を用いた、s = singlet, d = doublet, dd = doublet of doublets, t = triplet, br. = broad signal, and m = multiplet。¹³C NMR は 126 MHz (Varian Unity INOVA 500 or Bruker AVNCEIII HD 500) で測定した。化学シフトは、CDCl₃ 中では溶媒ピーク ($\delta = 77.16$ ppm) を、CD₃OD 中では溶媒ピーク ($\delta = 49.00$ ppm) を内部標準として示した。高分解能質量分析スペクトル(High-resolution mass spectra, HRMS) は質量分析計 (Bruker micrOTOF II ESI-TOF MS or JEOL JMS-700 Double Focusing Mass spectrometer (EI mode)) で測定した。旋光度は旋光度計 (Horiba SEPA-200) で光路長 1 dm の石英セルにサンプル溶液を入れて室温で測定した。吸収スペクトルは分光光度計 (SHIMAZU UV-2600) で 光路長 1 cm の石英セルにサンプル溶液を入れて測定した。蛍光スペクトルは蛍光光度計 (JASCO FP-8500) を用いて、通常のスเปクトル測定ではマイクロ石英セル (SANSYO 83-2013) にサンプル溶液をいれて測定した。スペクトル補正は、30-W 重水素ランプ (JASCO ESC-843, 200~400 nm) および 20-W ハロゲンランプ (JASCO ESC-842, 350~850 nm) を副標準光源として補正データを作成し、このデータで化合物の蛍光スペクトルを補正した。

合成：化合物 **2-1** と **2-2** は富士フィルム和光純薬株式会社、**2-3** と **2-5**, **2-16**, **2-22** は東京化成工業株式会社から購入し、常温で液体の **2-5** 以外の化合物はリグロインから再結晶させた。**2-4**⁹⁵, **2-6**⁹⁶, **2-7**⁹⁷, **2-8**⁹⁸, **2-9**⁹⁹, **2-10**¹⁰⁰, **2-11**¹⁰¹, **2-12**¹⁰², **2-13**¹⁰³, **2-14**¹⁰⁴, **2-15**¹⁰⁵, **2-17**⁹⁷, **2-18**¹⁰⁶, **2-19**¹⁰⁷, **2-20**¹⁰⁸, **2-21**¹⁰⁹ は過去の文献に従い合成した。

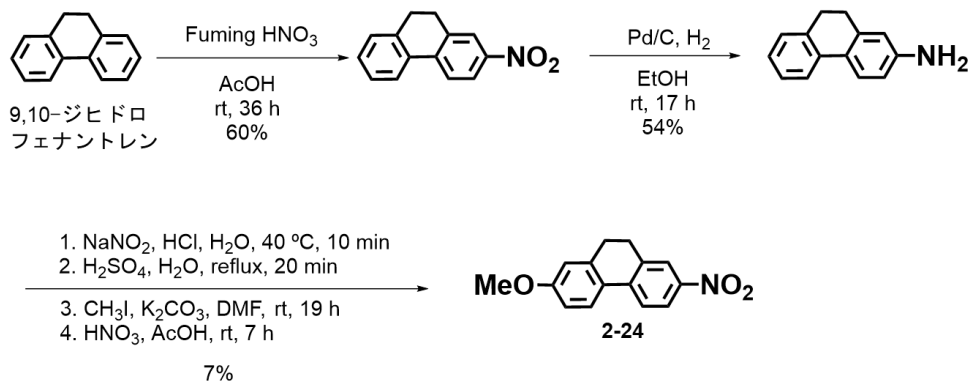
2-Methoxy-7-nitro-fluorene (**2-23**):



2-アミノフルオレン(1.04 g, 5.74 mmol)に希塩酸(濃塩酸 1.5 mL/水 60 mL)を加え、混合物を 25 分間加熱還流した。反応溶液を 40 °C に冷やした後、亜硝酸ナトリウム(553 mg, 7.72 mmol)の水溶液(3 mL)を加え、40 °C で 20 分間攪拌した。反応溶液を、濃硫酸(1.6 mL)を含む沸騰水(100 mL)に滴下し、混合溶液を 20 分間加熱還流した。室温に冷やした後、沈殿をろ過で回収した。残渣に沸騰した 10%水酸化ナトリウム水溶液(50 mL)を加え、溶けない固体をろ過で除いた。ろ液に塩酸を加え酸性にした後、析出した固体をろ過で回収しフェノール誘導体を粗生成物として得た。フェノール誘導体の粗生成物を DMF(30 mL)に溶かし、炭酸カリウム(1.82 g, 13.2 mmol)を加え 5 分間室温で攪拌した。ヨードメタン(430 μL , 6.89 mmol)を加え、混合溶液を室温で 16.5 時間攪拌した。混合溶液をジエチルエーテルで希釈し、水で洗浄した。水層はジエチルエーテルで 2 回抽出した。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 30:1)とメタノールからの再結晶で精製し、白色結晶の 2-メトキシフルオレン¹⁵⁴(633 mg, 56%, 2 工程)を得た。¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 3.87 (s, 3H, -OCH₃), 3.87 (s, 2H, Ar-CH₂-Ar), 6.93 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 7.10 (s, 1H, Ar-*H*), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-*H*), 7.34 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-*H*), 7.50 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-*H*).

酢酸(2 mL)中の 2-メトキシフルオレン(103 mg, 0.525 mmol)に、酢酸(1 mL)に溶かした 60%硝酸(0.1 mL)を加え、50 °C で 20.5 時間、60 °C で 7 時間、65 °C で 17 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻した後、水で希釈した。固体が析出したのでろ過して、水で洗浄した。粗生成物をトルエンから再結晶し、黄色結晶の **2-23**(49.1 mg, 39%)を得た。mp 170–171 °C; ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 3.90 (s, 3H, -OCH₃), 3.97 (s, 2H, Ar-CH₂-Ar), 7.01 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 7.15 (s, 1H, Ar-*H*), 7.75 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 7.77 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 8.27 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 8.36 (s, 1H, Ar-*H*); ¹³C NMR(126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 37.13, 55.75, 110.64, 114.27, 118.95, 120.45, 122.42, 123.49, 132.63, 143.40, 146.02, 147.17, 148.38, 161.04; HRMS(EI): *m/z* calcd for C₁₄H₁₁NO₃⁺: 241.0734, [M]⁺; found: 241.0738.

9,10-Dihydro-2-methoxy-7-nitrophenanthrene (2-24):



酢酸(15 mL)中の9,10-ジヒドロフェナントレン(1.01 g, 5.60 mmol)に発煙硝酸(1.4 mL)を加え、混合溶液を室温で36時間攪拌させた。混合溶液を氷水(100 mL)に注ぎ、析出した固体をろ過で回収した。回収した固体を少量のアセトンに溶かしメタノールを加えて析出した固体を目的物の2-ニトロ-9,10-ジヒドロフェナントレン¹⁵⁵(671 mg, 60%)を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.92–2.94 (m, 2H, Ar-(CH₂)₂-Ar), 2.97–3.00 (m, 2H, Ar-(CH₂)₂-Ar), 7.30 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz, Ar-*H*), 7.33–7.38 (m 2H, Ar-*H*), 7.80 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-*H*), 7.86 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 8.12 (s, 1H, Ar-*H*), 8.16 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, 6.0 Hz, Ar-*H*).

2-ニトロ-9,10-ジヒドロフェナントレン(301 mg, 1.51 mmol)を100 mLナスフラスコに入れ、ナスフラスコ内を窒素パージした。2-ニトロ-9,10-ジヒドロフェナントレンをエタノール(13 mL)に溶かし、10% Pd/C (28.7 mg)を加え、反応容器をダイヤフラムで減圧した後、水素ガスを含む風船で常圧に戻して、反応溶液を水素雰囲気下室温で15.5時間攪拌させた。10% Pd/Cをセライトろ過で除き、ろ液を濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 8:1)で精製し、黄色シラップの2-アミノ-9,10-ジヒドロフェナントレン¹⁵⁵(159 mg, 54%)を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.76–2.78 (m, 2H, Ar-(CH₂)₂-Ar), 2.82–2.85 (m, 2H, Ar-(CH₂)₂-Ar), 3.70 (br, 2H, NH₂), 6.56 (s, 1H, Ar-*H*), 6.63 (dd, 1H, *J* = 2.5 Hz, 6.0 Hz, Ar-*H*), 7.13 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, Ar-*H*), 7.18 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz, Ar-*H*), 7.26 (t, 2H, *J* = 4.5, 10 Hz, Ar-*H*), 7.56 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 7.63 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, Ar-*H*).

2-アミノ-9,10-ジヒドロフェナントレン(139 mg, 0.711 mmol)に希塩酸(濃塩酸0.2 mL/水10 mL)を加え、混合物を30分間加熱還流した。反応溶液を40 °Cに冷やした後、亜硝酸ナトリウム(91.4 mg, 1.32 mmol)の水溶液(1 mL)を加え、40 °Cで10分間攪拌した。反応溶液を、濃硫酸(0.4 mL)を含む沸騰水(10 mL)に滴下し、混合溶液を20分間加熱還流した。室温に冷やした後、混合溶液を酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣に沸騰した10%水酸化ナトリウム水溶液(20 mL)を加え、溶けない固体をろ過で除いた。ろ液に塩酸を加え酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。粗

生成物をシリカゲルカラム（ヘキサン–酢酸エチル, 10:1）で分離し、フェノール誘導体（55.1 mg）を粗生成物として得た。粗生成物を DMF（3 mL）に溶かし、炭酸カリウム（254 mg, 1.84 mmol）を加え 5 分間室温で攪拌した。ヨードメタン（200 μ L, 3.20 mmol）を加え、混合溶液を室温で 19 時間攪拌した。混合溶液を濃縮し、残渣をシリカゲルカラム（ヘキサンのみ）で粗精製し、メトキシ誘導体（62.6 mg）を粗生成物として得た。粗生成物を酢酸（2 mL）に溶かし、そこに酢酸（1 mL）中の 60%硝酸（0.13 mL）を加え、混合溶液を室温で 7 時間攪拌した。混合溶液を水で希釈した。析出した固体をろ過で得た。ろ液は濃縮し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄して酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過、濃縮した。この残渣とろ過で得た固体を合わせてシリカゲルカラム（ヘキサン–酢酸エチル, 100:1）とエタノールからの再結晶で精製し、黄色結晶の **2-24**（18.1 mg, 7% in 3 steps）を得た。mp 105–107 °C; ^1H NMR（500 MHz, CDCl_3 , 298K） δ （ppm）2.88–2.91（m, 2H, Ar- $(\text{CH}_2)_2$ -Ar），2.94–2.97（m, 2H, Ar- $(\text{CH}_2)_2$ -Ar），3.87（s, 3H, $-\text{OCH}_3$ ），6.82（d, 1H, $J = 2.5$ Hz, Ar- H ），6.89（dd, 1H, $J = 2.5$ Hz, 8.5 Hz, Ar- H ），7.73（d, 1H, $J = 8.5$ Hz, Ar- H ），7.76（d, 1H, $J = 8.5$ Hz, Ar- H ），8.09（d, 1H, $J = 2.5$ Hz, Ar- H ），8.13（dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, 8.5 Hz, Ar- H ）; ^{13}C NMR（126 Hz, CDCl_3 , 298K） δ （ppm）29.03, 29.06, 55.53, 113.14, 113.86, 122.56, 123.35, 123.58, 125.62, 126.41, 137.59, 140.10, 141.20, 146.07, 160.74; HRMS（EI）: m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_3^+$: 255.0890, $[\text{M}]^+$; found: 255.0899.

2-Methyl-4-methoxy-4'-nitro-1,1'-biphenyl (2-25):

2-メチル-4-メトキシフェニルボロン酸（61.9 mg, 0.373 mmol）、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ （4.4 mg, 0.0048 mmol）、2-ジシクロヘキシルホスフィン-2',6'-ジメトキシビフェニル（7.9 mg, 0.019 mmol）、およびリン酸三カリウム（221 mg, 1.02 mmol）の混合物を真空乾燥した。この混合物の脱水トルエン（2.5 mL）溶液に 1-ブロモ-4-ニトロベンゼン（53.5 mg, 0.265 mmol）を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 16 時間加熱還流した。室温に戻した後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。水層は酢酸エチルで 4 回抽出した。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム（ヘキサン–酢酸エチル, 100:1）で精製し、黄色固体の **2-25**（34.1 mg, 54%）を得た。**2-25** はリグロインから再結晶させた。mp 118–119 °C; ^1H NMR（500 MHz, CDCl_3 , 298K） δ （ppm）2.28（s, 3H, Ar- CH_3 ），3.85（s, 3H, $-\text{OCH}_3$ ），6.82–6.85（m, 2H, Ar- H ），7.16（d, 1H, $J = 8.5$ Hz, Ar- H ），7.47（d, 2H, $J = 8.5$ Hz, Ar- H ），8.26（d, 2H, $J = 8.5$ Hz, Ar- H ）; ^{13}C NMR（126 MHz, CDCl_3 , 298K） δ （ppm）20.84, 55.46, 111.69, 116.28, 123.53, 130.36, 130.85, 132.34, 136.78, 146.72, 148.77, 159.79; HRMS（EI）: m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_3^+$: 243.0890 $[\text{M}]^+$; found: 243.0890.

2,2'-Dimethyl-4-methoxy-4'-nitro-1,1'-biphenyl (2-26):

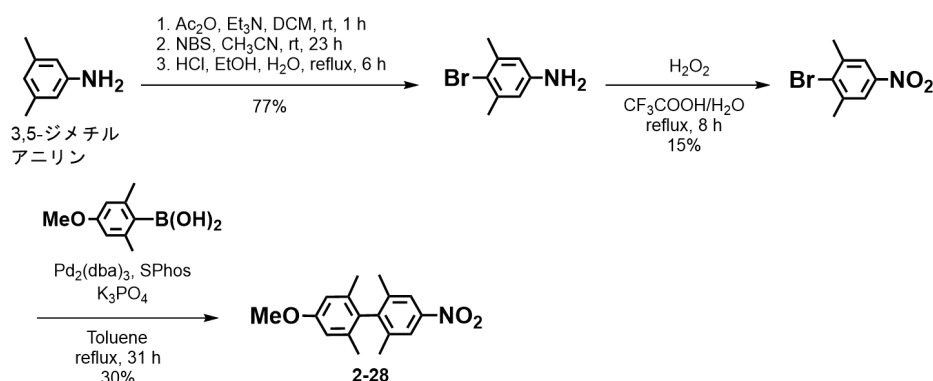
2-メチル-4-メトキシフェニルボロン酸（57.9 mg, 0.349 mmol）、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ （4.6 mg,

0.0050 mmol)、2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'-ジメトキシビフェニル (7.8 mg, 0.019 mmol)、およびリン酸三カリウム (201 mg, 0.945 mmol)の混合物を真空乾燥した。この混合物の脱水トルエン (2.5 mL) 溶液に 1-ブロモ-2-メチル-4-ニトロベンゼン(53.9 mg, 0.250 mmol)を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 21 時間加熱還流した。室温に戻した後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。水層は酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム (ヘキサン-酢酸エチル, 60:1)で精製し、白色固体の **2-26** (44.7 mg, 70%)を得た。**2-26** はリグロインから再結晶させた。mp 95–97 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.03 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.16 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.85 (s, 3H, -OCH₃), 6.81 (dd, 1H, *J* = 2.5 Hz, 8.0 Hz, Ar-*H*), 6.84 (d, 1H, *J* = 2.5 Hz, Ar-*H*), 6.98 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, Ar-*H*), 7.26 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 8.07 (dd, 1H, *J* = 2.5 Hz, 8.0 Hz, Ar-*H*), 8.14 (d, 1H, *J* = 2.5 Hz, Ar-*H*); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 20.14, 20.19, 55.40, 111.38, 115.71, 120.88, 124.80, 129.74, 130.96, 132.00, 136.79, 138.57, 147.19, 148.62, 159.45; HRMS (EI): *m/z* calcd for C₁₅H₁₅NO₃⁺: 257.1047 [M]⁺; found: 257.1050.

2,6-Dimethyl-4-methoxy-4'-nitro-1,1'-biphenyl (2-27):

2,6-ジメチル-4-メトキシフェニルボロン酸 (70.7 mg, 0.393 mmol)、Pd₂(dba)₃ (5.1 mg, 0.0056 mmol)、2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'-ジメトキシビフェニル (8.3 mg, 0.020 mmol)、およびリン酸三カリウム (218 mg, 1.03 mmol)の混合物を真空乾燥した。この混合物の脱水トルエン (2.5 mL) 溶液に 1-ブロモ-4-ニトロベンゼン(52.4 mg, 0.259 mmol)を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 18 時間加熱還流した。室温に戻した後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。水層は酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 200:1)とリグロインからの再結晶で精製し、白色結晶の **2-27** (31.1 mg, 47%)を得た。mp 151–152 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.00 (s, 6H, Ar-CH₃), 3.83 (s, 3H, -OCH₃), 6.69 (s, 2H, Ar-*H*), 7.33 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*), 8.29 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-*H*); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 21.16, 55.35, 113.14, 123.85, 130.97, 132.35, 137.01, 146.98, 148.54, 159.15; HRMS (EI): *m/z* calcd for C₁₅H₁₅NO₃⁺: 257.1047 [M]⁺; found: 257.1051.

4-Methoxy-2,2',6,6'-tetramethyl-4'-nitro-1,1'-biphenyl (2-28):



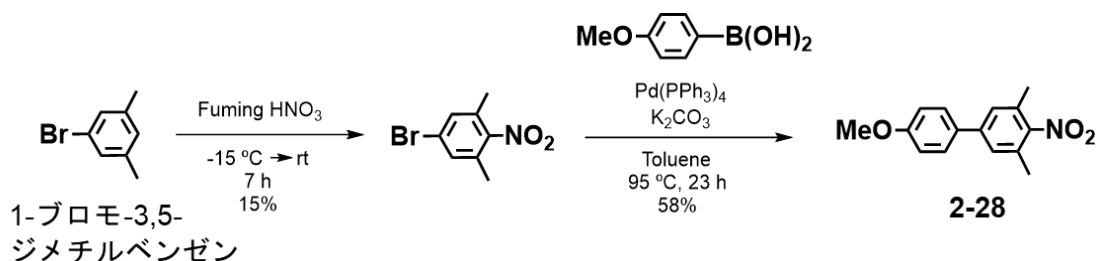
3,5-ジメチルアニリン (1.04g, 8.58 mmol) とトリエチルアミン (2 mL) のジクロロメタン (5 mL) の溶液に 0 °C で無水酢酸 (1.2 mL) 加え、混合溶液を室温に戻して 1 時間攪拌させた。混合溶液を 1 M 塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水の順で洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をアセトニトリル (60 mL) に溶かし、NBS (1.42 g, 7.98 mmol) を加え、混合溶液を室温で 23 時間攪拌させた。溶媒のアセトニトリルを減圧留去し、残渣にエタノール (10 mL) と水 (12 mL) と濃塩酸 (2.5 mL) の混合溶液を加え、反応混合溶液を 6 時間加熱還流した。室温に戻した後、反応溶液に 10% (w/w) 水酸化ナトリウム水溶液を加え、析出した固体をろ過で回収し、水で洗浄した。固体を酢酸エチルに溶かし、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。濃縮後得られた固体をリグロインから再結晶で精製し、茶色結晶の 4-ブロモ-3,5-ジメチルアニリン¹⁵⁶ (1.33 g, 77%) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.31 (s, 6H, Ar-CH₃), 3.54 (br, 2H, NH₂), 6.44 (s, 2H, Ar-H).

トリフルオロ酢酸 (20 mL) 中の 4-ブロモ-3,5-ジメチルアニリン (656 mg, 3.26 mmol) に 30% 過酸化水素水 (1.69 mL, 16.5 mmol) を滴下し、反応混合溶液を 8 時間加熱還流させた。室温に戻した後、反応混合溶液を氷水に注ぎ、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で三回、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液で一回洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 40:1) とリグロインからの再結晶で精製し、茶褐色結晶の 1-ブロモ-2,6-ジメチル-4-ニトロベンゼン¹⁵⁷ (115 mg, 15%) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.52 (s, 6H, Ar-CH₃), 7.95 (s, 2H, Ar-H).

2,6-ジメチル-4-メトキシフェニルボロン酸 (70.7 mg, 0.393 mmol)、Pd₂(dba)₃ (5.8 mg, 0.0063 mmol)、2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'-ジメトキシビフェニル (10.6 mg, 0.0258 mmol)、およびリン酸三カリウム (221 mg, 1.04 mmol) の混合物を真空乾燥した。この混合物の脱水トルエン (3.2 mL) 溶液に 1-ブロモ-2,6-ジメチル-4-ニトロベンゼン (61.0 mg, 0.265 mmol) を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 22 時間加熱還流した。2,6-ジ

メチル-4-メトキシフェニルボロン酸 (24.1 mg, 0.134 mmol)を追加し、反応溶液をさらに9時間加熱還流した。室温に戻した後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 15:1)とリグロインからの再結晶で精製し、白色結晶の **2-28** (22.6 mg, 30%)を得た。mp 238–240 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 1.85 (s, 6H, Ar-CH₃), 2.01 (s, 6H, Ar-CH₃), 3.84 (s, 3H, -OCH₃), 6.71 (s, 2H, Ar-H), 8.00 (s, 2H, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 20.04, 20.19, 55.22, 113.34, 122.45, 130.42, 136.06, 138.51, 146.94, 147.51, 158.98; HRMS (EI): m/z calcd for C₁₇H₁₉NO₃⁺: 285.1360 [M]⁺; found: 285.1364.

3',5'-Dimethyl-4-methoxy-4'-nitro-1,1'-biphenyl (**2-29**):



5-ブロモ-*m*-キシレン (1.5 mL, 11.0 mmol) に発煙硝酸 (0.45 mL, 10.8 mmol) を-15 °Cで滴下し、反応溶液を室温に戻して室温で6.5時間攪拌させた。反応溶液を水に注ぎ、ジクロロメタンで抽出した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 200:1)で精製し、5-ブロモ-2-ニトロ-*m*-キシレン¹⁵⁸ (338 mg, 15%)を得た。¹H NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO, 298K) δ (ppm) 2.24 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃), 7.28 (s, 1H, Ar-H) 7.52 (s, 1H, Ar-H).

5-ブロモ-2-ニトロ-*m*-キシレン (99.4 mg, 0.432 mmol)、4-メトキシフェニルボロン酸 (107 mg, 0.704 mmol)、および炭酸カリウム(128 mg, 0.926 mmol)の混合物を真空乾燥した。この混合物の脱水トルエン (2.0 mL) 溶液に Pd(PPh₃)₄ (47.0 mg, 0.0407 mmol) を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 95 °C で6時間攪拌した。4-メトキシフェニルボロン酸 (58.4 mg, 0.384 mmol)を追加し、反応溶液を95 °Cでさらに17時間攪拌した。反応溶液をジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。水層は酢酸エチルで一回抽出した。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 100:1)とリグロインからの再結晶で精製し、白色結晶の **2-29** (62.8 mg, 58%)を得た。mp 126–128 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 2.38 (s, 6H, Ar-CH₃), 3.85 (d, 3H, *J* = 8.0 Hz, -OCH₃), 6.97 (dd, 2.3H, *J* = 4.0, 8.5 Hz, Ar-H), 7.28 (s, 2H, Ar-H) 7.49 (t, 2.3H, *J* = 9.0, 10.0 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 18.02, 55.53, 114.31, 114.52, 127.23, 127.25, 127.27, 127.88, 128.46, 130.36, 131.97, 133.63, 142.83, 158.83, 159.97; HRMS (EI): m/z calcd for C₁₅H₁₅NO₃⁺: 257.1047 [M]⁺; found: 257.1054. ¹³C NMR に

において、 ^{13}C のピーク本数は 15 本で、**2-29** の構造から推定される ^{13}C のピーク本数 (10 本) より多い。これはニトロ基がオルト位の二つのメチル基の立体障害により、ベンゼン環平面からずれて、アニソール側が非対称化しているためと考えられる。

吸光係数 (ϵ) : 測定対象となる化合物に関し、濃度の異なるアセトニトリル溶液を吸光度の最大値が 1 を超えないように 5 種類調製した。これらの溶液の吸収スペクトルを分光光度計 (SHIMAZU UV-2600) で測定した。吸収極大波長または吸収ショルダー波長における吸光度を濃度に対してプロットし、この傾きを吸光係数 ($\epsilon/\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) とした。

分子軌道計算 (構造最適化とエネルギー計算) : 化合物の 3D 構造は描画ソフト Avogadro¹⁵⁹ で描画し、Avogadro 上で、分子力学法 (力場 : GAFF) で構造最適化した。分子力学法で最適化した構造を初期構造として、Gaussian09¹⁶⁰ を用いて DFT 計算 (汎関数 : CAMB3LYP、基底関数 : 6-31G(d)) で構造最適化した。最適化した構造を用いて TDDFT 計算 (汎関数 : CAMB3LYP¹⁶¹、基底関数 : 6-31G(d)) でエネルギー計算を行った。

アセトニトリル中の一重項酸素生成量子収率 (Φ_{Δ}) : テトラフェニルシクロペンタジエノン (tetraphenylcyclopentadienone, TPCPD)^{88, 89} を $^1\text{O}_2$ 検出試薬として用いた。TPCPD (**2-19** 測定時は 1 mM、他の化合物測定時は 200 μM) のアセトニトリル溶液とビフェニル化合物 (励起波長における吸光度が約 0.4 になるような濃度) のアセトニトリル溶液をそれぞれ 1 mL ずつ測りとり、光路長 1 cm の石英セル中で混合した。混合溶液に光増感剤候補化合物の LE および CT 吸収極大波長の光を照射した。励起光源には蛍光光度計 (JASCO FP-8500) に装備されている 150-W キセノンランプを用いた (励起バンド幅は 20 nm に設定した)。標準装備のセルフホルダに蛍光測定時と同様にサンプル溶液入りの石英セルをセットして励起光を照射した (石英セルをフォルダへセットした際の光源と石英セル照射面の間の距離は 5.7 cm)。光源のそれぞれの波長における光強度はパワーメーター (THORLABS PM100A) に接続した光検出器 (THORLABS S120VC F = 9.5 mm、**図 s-1a**) で、**図 s-1b** に示すように測定した。FP8500 標準装備のセルフホルダを本体から外し、ジャッキに固定した光検出器を光源から 5.7 cm 離れた位置に置いた。適当な波長の光を光源から射出し、その光強度が最大値になるように光検出器の上下左右の位置を調整した。パワーメーターに表示される値の単位は mW であり、光検出器の検出部分の面積 0.71 cm^2 で得られた値を割って光強度 (mW/cm^2) とした (**表 s-1**)。光照射の一定時間毎に TPCPD の 495 nm の吸収度を測定した。ビフェニル誘導体の Φ_{Δ} は式 s1⁹³ で計算した。

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Std}} \times \frac{m \times F^{\text{Std}} \times n'^{\text{Std}}}{m^{\text{Std}} \times F \times n'} \dots (s1)$$

Std : 基準化合物、m : TPCPD の 495 nm の吸光度変化の傾き、F : 吸光度補正因子 (F = 1-10^{-Abs}, Abs:励起波長における光増感剤の吸光度)、n' : 励起光の光強度から求めた相対的な光子数。光のエネルギーの式である E = nhν = nhc/λ (n は光子数、h はプランク定数、ν は振動数、c は光の速さ、λ は波長) において λ に励起波長、E に励起波長における光強度を代入しこれを n' として式 s1 に代入した。ベンゾフェノン (Φ_Δ^{Std} = 0.37⁴⁷) を基準化合物とした。

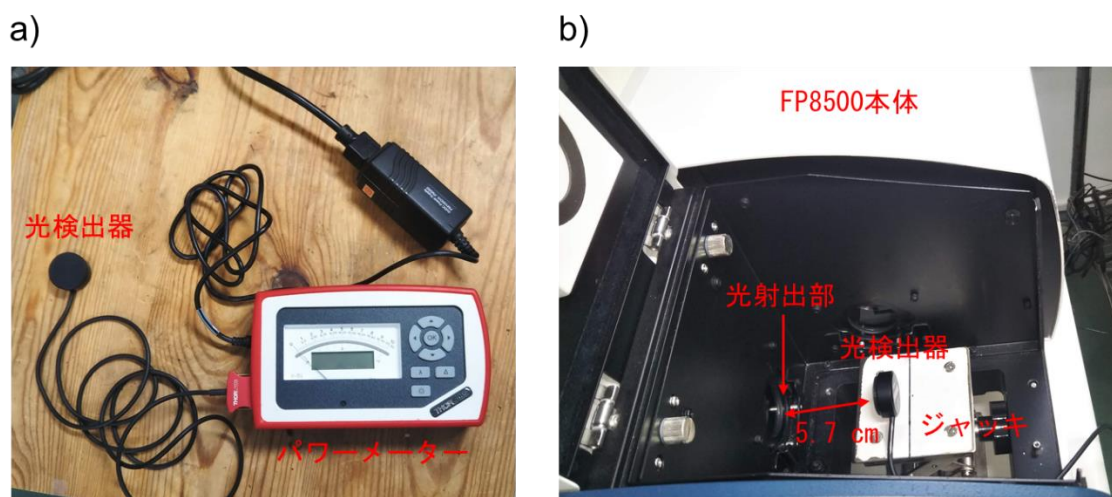


図 s-1. a) パワーメーターと光検出器の写真。b) FP8500 光源の光強度測定時の光検出器のセッティング。

表 s-1. 蛍光光度計 (FP8500) 内蔵の 150-W キセノンランプの波長毎の光強度。

| 波長 /nm | 光強度 /mW/cm ² | 波長 /nm | 光強度 /mW/cm ² | 波長 /nm | 光強度 /mW/cm ² | 波長 /nm | 光強度 /mW/cm ² |
|-----------|----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|----------------------------|
| 200 | 0.07 | 253 | 1.30 | 306 | 5.67 | 359 | 8.86 |
| 201 | 0.08 | 254 | 1.36 | 307 | 5.74 | 360 | 8.72 |
| 202 | 0.08 | 255 | 1.43 | 308 | 5.82 | 361 | 8.84 |
| 203 | 0.08 | 256 | 1.50 | 309 | 5.87 | 362 | 8.92 |
| 204 | 0.10 | 257 | 1.57 | 310 | 5.91 | 363 | 9.03 |
| 205 | 0.10 | 258 | 1.65 | 311 | 5.97 | 364 | 9.13 |
| 206 | 0.10 | 259 | 1.72 | 312 | 6.04 | 365 | 9.23 |
| 207 | 0.08 | 260 | 1.82 | 313 | 6.10 | 366 | 9.34 |

| | | | | | | | |
|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-------|
| 208 | 0.11 | 261 | 1.91 | 314 | 6.17 | 367 | 9.43 |
| 209 | 0.13 | 262 | 1.99 | 315 | 6.21 | 368 | 9.50 |
| 210 | 0.13 | 263 | 2.09 | 316 | 6.25 | 369 | 9.51 |
| 211 | 0.13 | 264 | 2.20 | 317 | 6.32 | 370 | 9.70 |
| 212 | 0.14 | 265 | 2.31 | 318 | 6.39 | 371 | 9.74 |
| 213 | 0.16 | 266 | 2.43 | 319 | 6.45 | 372 | 9.80 |
| 214 | 0.16 | 267 | 2.54 | 320 | 6.51 | 373 | 9.84 |
| 215 | 0.17 | 268 | 2.65 | 321 | 6.56 | 374 | 9.89 |
| 216 | 0.18 | 269 | 2.78 | 322 | 6.62 | 375 | 9.95 |
| 217 | 0.20 | 270 | 2.92 | 323 | 6.68 | 376 | 9.98 |
| 218 | 0.21 | 271 | 3.02 | 324 | 6.73 | 377 | 10.02 |
| 219 | 0.23 | 272 | 3.13 | 325 | 6.79 | 378 | 10.08 |
| 220 | 0.24 | 273 | 3.25 | 326 | 6.85 | 379 | 10.12 |
| 221 | 0.25 | 274 | 3.36 | 327 | 6.90 | 380 | 10.15 |
| 222 | 0.27 | 275 | 3.49 | 328 | 6.96 | 381 | 10.22 |
| 223 | 0.30 | 276 | 3.59 | 329 | 7.00 | 382 | 10.28 |
| 224 | 0.31 | 277 | 3.68 | 330 | 7.06 | 383 | 10.35 |
| 225 | 0.34 | 278 | 3.78 | 331 | 7.11 | 384 | 10.40 |
| 226 | 0.35 | 279 | 3.90 | 332 | 7.17 | 385 | 10.49 |
| 227 | 0.38 | 280 | 4.02 | 333 | 7.24 | 386 | 10.57 |
| 228 | 0.40 | 281 | 4.09 | 334 | 7.27 | 387 | 10.64 |
| 229 | 0.42 | 282 | 4.18 | 335 | 7.34 | 388 | 10.73 |
| 230 | 0.45 | 283 | 4.26 | 336 | 7.40 | 389 | 10.81 |
| 231 | 0.47 | 284 | 4.36 | 337 | 7.47 | 390 | 10.87 |
| 232 | 0.49 | 285 | 4.45 | 338 | 7.54 | 391 | 10.93 |
| 233 | 0.52 | 286 | 4.52 | 339 | 7.59 | 392 | 11.00 |
| 234 | 0.54 | 287 | 4.59 | 340 | 7.64 | 393 | 11.05 |
| 235 | 0.56 | 288 | 4.67 | 341 | 7.71 | 394 | 11.11 |
| 236 | 0.59 | 289 | 4.74 | 342 | 7.76 | 395 | 11.15 |
| 237 | 0.62 | 290 | 4.81 | 343 | 7.85 | 396 | 11.22 |
| 238 | 0.65 | 291 | 4.87 | 344 | 7.90 | 397 | 11.25 |
| 239 | 0.68 | 292 | 4.91 | 345 | 7.95 | 398 | 11.31 |
| 240 | 0.72 | 293 | 4.97 | 346 | 7.98 | 399 | 11.35 |
| 241 | 0.75 | 294 | 5.00 | 347 | 8.00 | 400 | 11.39 |
| 242 | 0.78 | 295 | 5.05 | 348 | 8.02 | 401 | 11.46 |
| 243 | 0.82 | 296 | 5.11 | 349 | 8.05 | 402 | 11.48 |

| | | | | | | | |
|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-------|
| 244 | 0.85 | 297 | 5.17 | 350 | 8.07 | 403 | 11.52 |
| 245 | 0.89 | 298 | 5.24 | 351 | 8.16 | 404 | 11.55 |
| 246 | 0.93 | 299 | 5.28 | 352 | 8.23 | 405 | 11.57 |
| 247 | 0.97 | 300 | 5.34 | 353 | 8.33 | 406 | 11.60 |
| 248 | 1.03 | 301 | 5.41 | 354 | 8.43 | 407 | 11.63 |
| 249 | 1.07 | 302 | 5.46 | 355 | 8.50 | 408 | 11.62 |
| 250 | 1.13 | 303 | 5.52 | 356 | 8.60 | 409 | 11.66 |
| 251 | 1.17 | 304 | 5.56 | 357 | 8.68 | 410 | 11.67 |
| 252 | 1.23 | 305 | 5.60 | 358 | 8.77 | | |

水中の一重項酸素生成量子収率 (Φ_{Δ}) : 浜松医科大学、光先端医学教育研究センターフ
 オトニクス医学研究部、医学分光応用寄附研究室にて、岡崎茂利特任教授のご指導の下、
 実験を行った。水中の $^1\text{O}_2$ 生成は $^1\text{O}_2$ の発光 (1270 nm) 測定により評価した。 $^1\text{O}_2$ の発
 光は高感度検出器 (Hamamatsu Photonics K. K. NIR-PII System) で測定した。励起光源に
 は Nd:YAG レーザー (Ekspla NL204/TH) の第3高調波 (355 nm, 500 Hz) を用いた。レ
 ーザーのパルス幅は約 5 ns、パワーは約 30 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ である。 $^1\text{O}_2$ の発光スペクトルは分
 光器 (Chromex 250is) を通して赤外領域のイメージ増倍管 (Hamamatsu Photonics K. K.
 NIR-PII) で測定した。発光シグナルは 25,000 パルス分積算した。 $^1\text{O}_2$ の発光の減衰曲線
 は近赤外光用の光電子増倍管 (Hamamatsu Photonics K.K. H10330-45) で検出した。 O_2
 の発光強度はサンプル毎の減衰曲線の 400 ns から 100 μs の領域を積算した値を、サン
 プルの励起波長における吸光度で補正して算出した。サンプル濃度はどの光増感剤にお
 いても 10 μM in H_2O (1%DMSO) とした。 Φ_{Δ} 既知の光増感剤フラビンモノヌクレオチド
 (FMN) を基準物質とした。以上から求めた **2-16** と **4-2** の Φ_{Δ} はどちらも 0.17 と求めら
 れた。

蛍光量子収率 (Φ_{F}) : ビフェニル誘導体の蛍光量子収率 (Φ_{F}) は積分球 (JASCO IRF-835)
 を装備した蛍光光度計 (JASCO FP-8500) で測定した。サンプル溶液は石英セル (3 \times 10
 \times 23 mm) に入れて測定した。励起、蛍光バンド幅は 10 nm に設定した。励起光のピー
 ク強度が 4000 から 8000 au に収まるように光電子増倍管の電圧を設定した。蛍光量子
 収率 Φ_{F} と吸光度 A は式 s2 および式 s3 で計算した :

$$\Phi_{\text{F}} = \frac{N_{\text{em}}}{N_{\text{abs}}} = \frac{E_1 - E_2 \times L_2/L_3}{L_1 \times A} \dots (s2), \quad A = \frac{L_3 - L_2}{L_3} \dots (s3),$$

$N_{\text{abs}}, N_{\text{em}}$: サンプルが吸収または蛍光として放出した光子数、 L_1 : 励起光のスペクトル

の面積、 L_2 ：サンプルによって散乱された励起光スペクトルの面積、 L_3 ：サンプルに励起光を間接的に照射して散乱された励起光スペクトルの面積、 E_1 ：サンプルの蛍光スペクトルの面積、 E_2 ：励起光を間接的に照射されたサンプルの蛍光スペクトルの面積。実際には FP8500 のソフトウェアの量子収率計算プログラムで計算した。

2-16 と 2-23 のアセトニトリルまたはエタノール中の 266 nm および 355 nm 励起による過渡吸収測定：東京工業大学、技術部、すずかけ台分析支援センターにて、鈴木元也氏のご指導の下、実験を行った。化合物の濃度は励起波長における基底状態の吸光度が約 0.6 になるように調整した。アセトニトリルおよびエタノールは化合物を溶かす前に 30 分間窒素バブリングにより脱気した。試料溶液は窒素パージした蓋つき石英セル (GL Sciences Inc. GLF15-UV-10) に入れた。励起光源には Q スイッチ Nd: YAG レーザー (Continuum Surelite) の、第四高調波 (266 nm, 1.8 mJ/pulse) および第三高調波 (355 nm, 6.1 mJ/pulse) を用いた。パルス幅は 5 ns で繰り返し周波数は 10 Hz である。レーザーの光強度はパワーメーター (Gentec-EO UNO) に接続した光検出器 (Gentec-EO HLP12-3S-H2) で測定した。検索光源には 150 W キセノンランプ (Hamamatsu Photonics L100092S) を用いた。試料セルを透過した検索光の波長分解には分光器 (Hamamatsu photonics C11119) を用い、検索光の検出には CCD カメラ (Hamamatsu photonics C4742-95-12ER) を接続したストリークカメラ (Hamamatsu photonics C7700-01) を用いた。ストリークカメラに入る励起光をカットするために UV カットフィルター (HOYA L37) を、光路系の光強度調節のためニュートラルデンシティフィルター (HOYA ND-1) を用いた。検索光の近赤外線をカットするため熱吸収フィルター (HOYA HA-30) を用いた。過渡吸収減衰曲線および過渡吸収スペクトルは 20 秒積算して測定した。測定は暗室で行った。ストリークカメラで検出した光子は装置付属のソフトウェア (Hamamatsu photonics HPD-TA9) で出力、解析した。図 s-2 に過渡吸収測定システムの模式図を記す。過渡吸収スペクトルを抽出する際には、過渡吸収減衰曲線における 0.95 μ s から 1.05 μ s の過渡吸収強度を平均した。装置付属のソフトウェアを用いて、得られた減衰曲線を単一指数関数解析して寿命を求めた。操作としては、ソフトウェア上で寿命解析したいファイルを開き、縦軸の過渡吸収強度を対数表示する。Analysis のタブから Fitting の項目を選択し、No. of components を 1 にして、減衰曲線の片対数グラフ上で直線となる範囲を指定し、Do fitting というボタンをクリックすると寿命が計算される。図 s-3 に 2-16 のアセトニトリル溶液の 266 nm および 355 nm 励起の際の過渡吸収減衰曲線 (図 s-3a、図 2-21b と同じグラフ) とフィッティング結果 (図 s-3b) を示した。

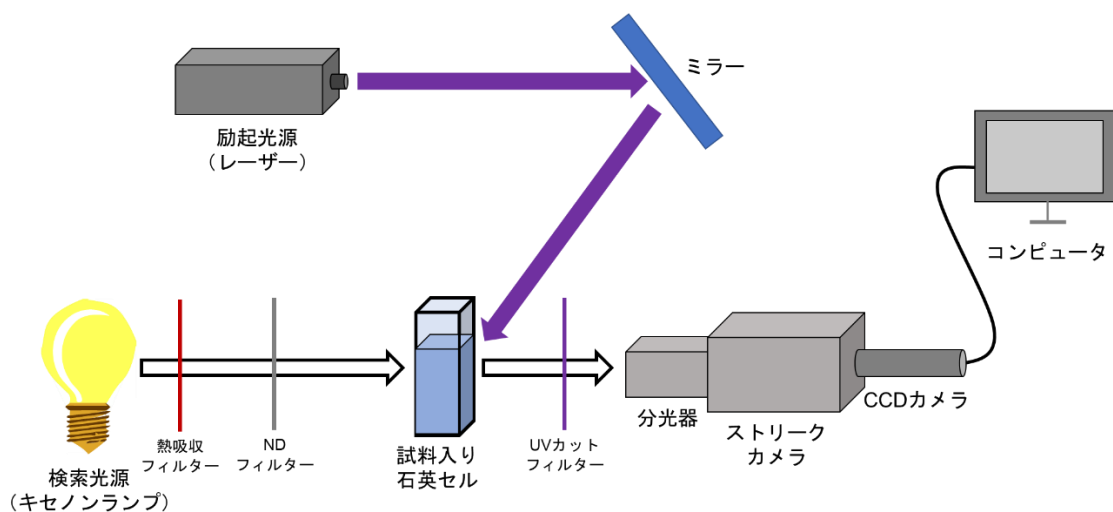


図 s-2. ストリークカメラを検出器とする過渡吸収測定システムの模式図。

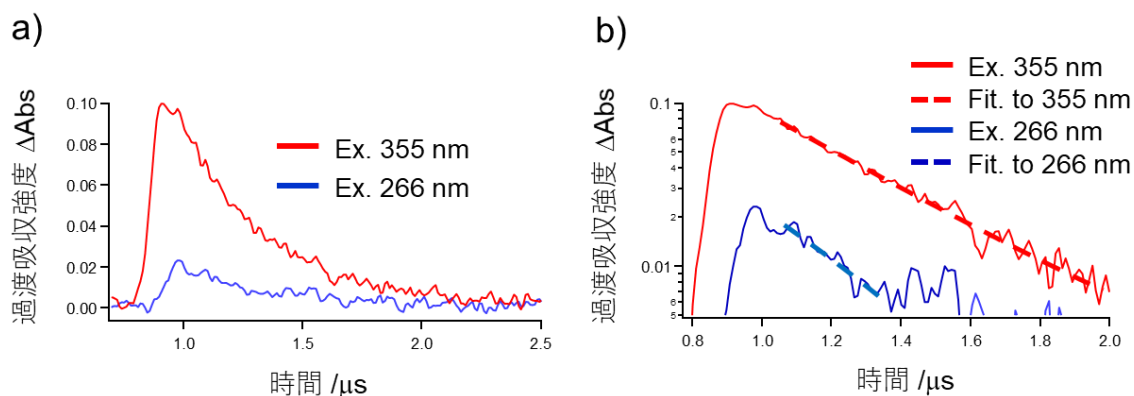


図 s-3. a) 2-16 (250 μM for Ex.266 nm, 50 μM for Ex. 355 nm)のアセトニトリル中の過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{obs}} = 500\sim 730 \text{ nm}$)。b) a)の片対数グラフ (実線) とフィッティング結果 (点線)。フィッティングは装置付属のソフトウェア (Hamamatsu photonics HPD-TA9) を用いて単一指数関数解析で行い、寿命を求めた ($\tau = 317 \text{ ns}$ at Ex. 266 nm; 362 ns at 355 nm)。

2-16の窒素バブリングまたは酸素バブリングしたアセトニトリル中の355 nm励起による過渡吸収測定：東京工業大学大学院、生命理工学研究科、大谷研究室にて、大谷弘之元准教授のご指導の下、実験を行った。化合物の濃度は励起波長における吸光度が約0.6になるように調整した。アセトニトリルは化合物を溶かす前に15分間窒素または酸素バブリングした。試料溶液は蓋つき石英セル (GL Sciences Inc. GLF15-UV-10) に入れた。励起光源にはQスイッチNd:YAGレーザー (Continuum Surelite) の、第三高調波 (355 nm, 400 $\mu\text{J}/\text{pulse}$) を用いた。パルス幅は5 nsで繰り返し周波数は10 Hzである。レーザーの光強度はパワーメーター (OPHIR NOVA II) に接続した光検出器 (OPHIR

10A-P-SH) で測定した。検索光源には 150 W キセノンランプ (Hamamatsu Photonics K. K. L2274) を用いた。試料セルを透過した検索光の波長分解には分光器 (JASCO CT-10, $f = 100$ mm, 600 grooves/mm) を用い、検索光の検出には光電子増倍管 (Hamamatsu Photonics K. K. R3825) を用いた。光電子増倍管に入る励起光をカットするために UV カットフィルター (HOYA L37) を、光路系の光強度調節のためニュートラルデンシティーフィルター (HOYA ND-1) を用いた。検索光の近赤外線をカットするため熱吸収フィルター (HOYA HA-30) を用いた。光電子増倍管によって得られた検索光の電気信号をオシロスコープ (Tektronix DPO-3054) を用いて観測した。図 s-4 に過渡吸収測定システムの模式図を記す。測定は暗室で行った。電気信号 $I(t)$ は式 s4 により過渡吸収強度 $\Delta Abs(t)$ に変換した：

$$\Delta Abs(t) = \log \frac{\overline{I(t < 0)}}{I(t)} \dots (s4)$$

$I(t) = I'(t) - d(t)$ 、 $I'(t)$ ：励起光と検索光を試料に照射し、オシロスコープで得られる電気信号、 $d(t)$ ：励起光のみを試料に照射し、オシロスコープで得られる電気信号、

$\overline{I(t < 0)}$ ： $t < 0$ の範囲の $I(t)$ の平均値、 $t = 0$ は $d(t)$ のグラフから得られる試料の蛍光のピークから決定した。減衰曲線は 512 パルスショット分すなわち 51.2 秒間積算して 1 回測定とし、これを 2 回測定して平均化した。得られた過渡吸収減衰曲線は Igor Pro で単一指数関数解析して寿命を求めた¹⁶²。図 s-5 に 2-16 の窒素バブリングおよび酸素バブリングしたアセトニトリル中の 355 nm 励起の際の過渡吸収減衰曲線 (図 s-5a、図 2-22 と同じグラフ) とフィッティング結果 (図 s-5b) を示した。

2-19 の窒素バブリングしたアセトニトリル中の 355 nm 励起による過渡吸収測定も上記と同様に測定した。寿命は Excel を用いて単一指数関数解析で求めた。図 s-6 に 2-19 の窒素バブリングしたアセトニトリル中の 355 nm 励起の際の過渡吸収減衰曲線 (図 s-6a、図 2-25 と同じグラフ) を示す。Excel での単一指数関数について、単一指数関数による減衰は式 s5 のように書ける。両辺の自然対数をとると減衰速度定数 k を傾きとする 1 次関数となる (式 s6)。

$$\Delta Abs(t) = \Delta Abs(0) \cdot e^{-kt} \dots (s5)$$

$$\ln \Delta Abs(t) = \ln \Delta Abs(0) - kt \dots (s6)$$

k の逆数が寿命 τ である。操作としては Excel 上で横軸時間に対して縦軸に $\Delta Abs(t)$ の自然対数をとったグラフを描いた (図 s-6b)。そのグラフ上の直線範囲 (表 s-3) を抜き出して、新しいグラフを描き (図 s-6c)、線形近似してその傾きを減衰速度定数 k と

して求め、 k の逆数を寿命 τ とした。

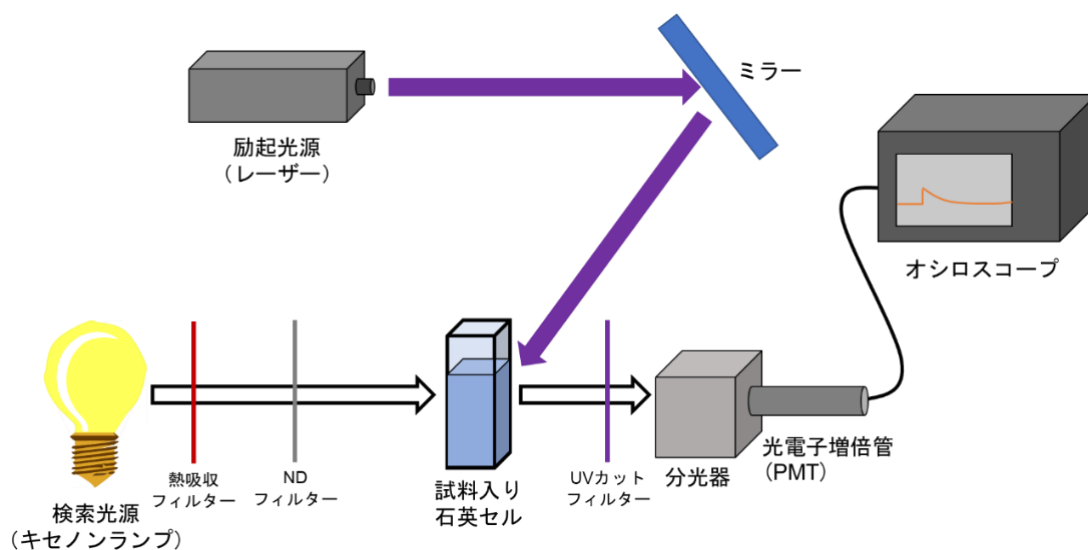


図 s-4. 光電子増倍管を検出器とする過渡吸収測定システムの模式図。

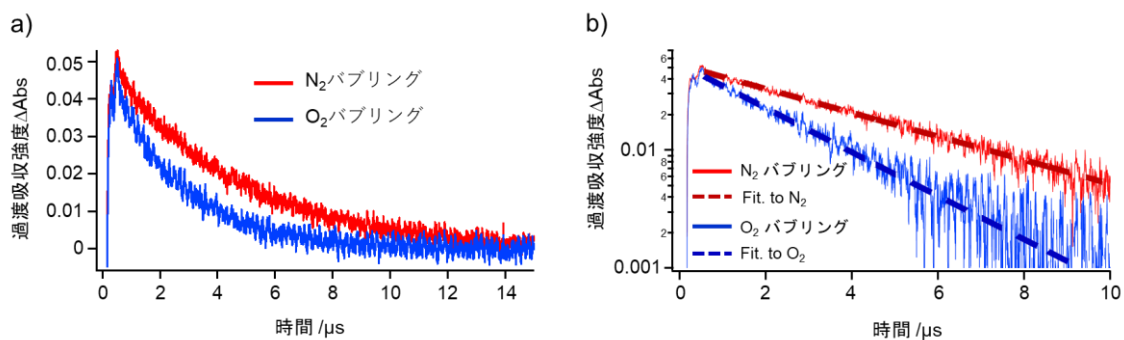


図 s-5. a) **2-16** ($40 \mu\text{M}$)のアセトニトリル中の過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 625 \text{ nm}$)。b) a)の片対数グラフ (実線) とフィッティング結果 (点線)。フィッティングは Igor Pro を用いて単一指数関数解析で行い過渡吸収減衰速度定数 (傾き) k を求め、その逆数として寿命 τ を得た (表 s-2)。

表 s-2. **2-16** のアセトニトリル中の過渡吸収減衰速度定数 k と寿命 τ 。

| | k / s^{-1} | τ / ns |
|---------|---------------------|--------------------|
| 窒素バブリング | 2.32×10^6 | 431 |
| 酸素バブリング | 4.27×10^6 | 234 |

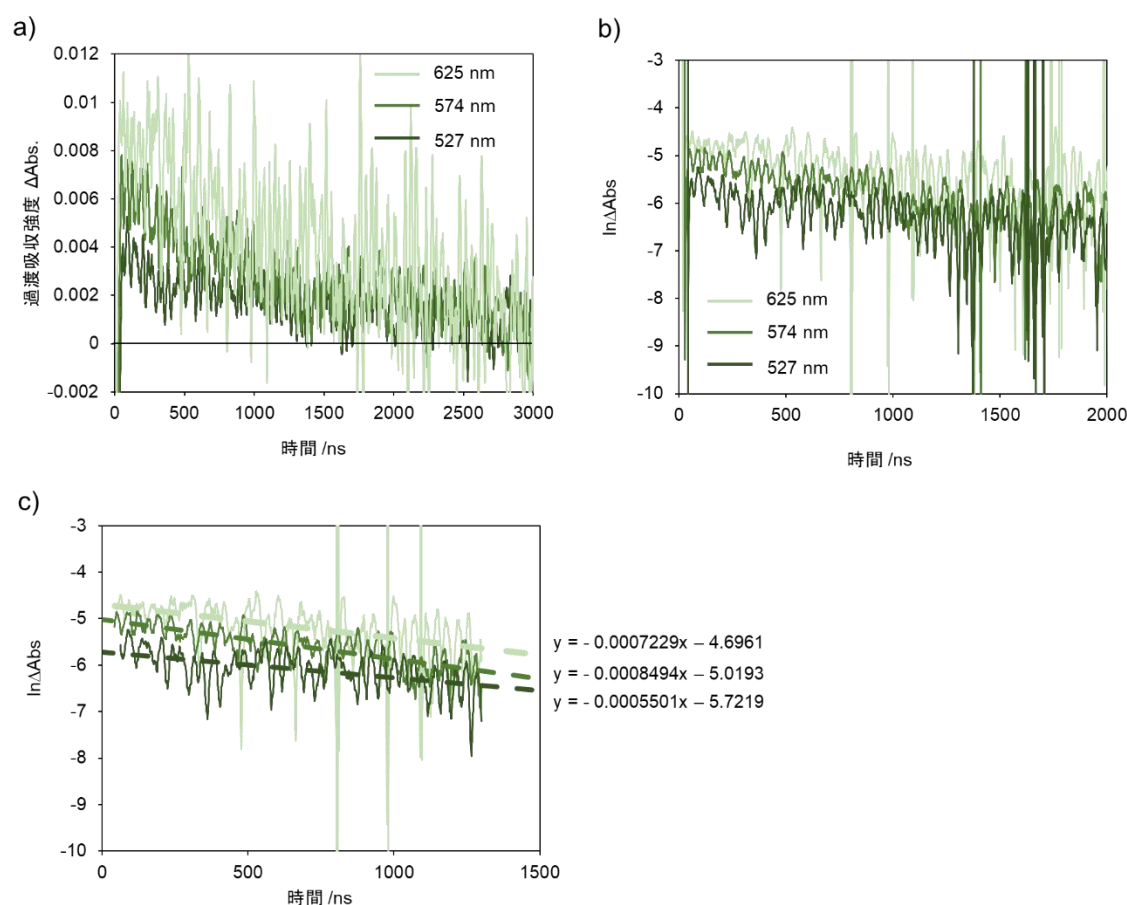


図 s-6. a) 2-19 (70 μM)のアセトニトリル中の過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 527, 574, 625 \text{ nm}$)。b) 縦軸を ΔAbs (t)の自然対数にしたグラフ。c) b)のグラフから直線範囲を抜き出したグラフ (実線) と線形近似曲線 (点線)。線形近似曲線の傾きを過渡吸収減衰速度定数 k とし、その逆数として寿命 τ を得た (表 s-3)。

表 s-3. 2-19 のアセトニトリル中の過渡吸収減衰速度定数 k と寿命 τ 。

| $\lambda_{\text{obs}} / \text{nm}$ | 解析範囲 | k / s^{-1} | $\tau / \mu\text{s}$ |
|------------------------------------|-------------|---------------------|----------------------|
| 527 | 61.6~1300 s | 5.50×10^5 | 1.82 |
| 574 | 41.6~1300 s | 8.49×10^5 | 1.18 |
| 625 | 43.2~1300 s | 7.23×10^5 | 1.38 |

2-16 の二光子励起による $^1\text{O}_2$ 生成: 浜松医科大学、光先端医学教育研究センターフォトニクス医学研究部、医学分光応用寄付研究室にて、岡崎茂利特任教授にご測定頂いた。励起光源としてフェムト秒 Ti:サファイアレーザー (Coherent, Inc. Cameleon Vision II) を使い、パルス光 (波長: 800 nm、パルス幅: 120 fs、繰り返し周波数: 80 MHz) をパルスジェネレーター (スタンフォードリサーチシステム DG535) で制御した音響光変調

器で 1 kHz の繰り返しで切り出して使用した。励起光の平均強度は 10 mW であった。パルス光をビームエクステンダーで 8 倍に拡大し、f100mm のレンズで絞り、その焦点に試料を置いた。試料 **2-16** (19 mM in CH₃CN) は光路長 1 cm の蓋つき石英セルに入れた。試料から発せられた ¹O₂ 発光はバンドルファイバーで採光し、1225 nm、1275 nm、1325 nm のバンドパスフィルターで分光後、近赤外光電子増倍管ユニットで検出した。検出したシグナルはプリアンプで増幅後、マルチチャンネルスケーラー (スタンフォードリサーチシステム SR430) で減衰曲線として記録した。記録した減衰曲線はダークノイズを差し引いた後、シグナル強度および減衰時間を求めた。

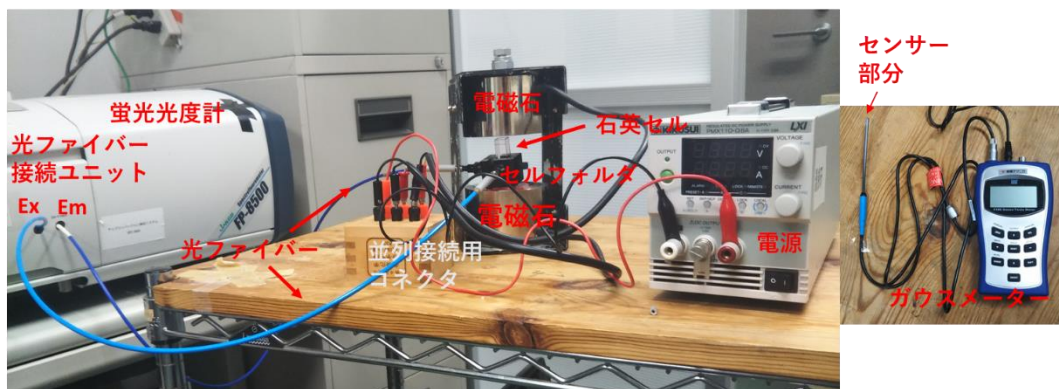
2-16 の光安定性 : **2-16** (25 mM in CDCl₃) の溶液を NMR チューブ (直径 5 mm) に入れ、405 nm ダイオードレーザー (World Star Tech. COMPACT-35G-405-SMA) で 1 時間光を照射した。光照射前後で ¹H NMR を測定した。レーザー光は NMR チューブから 3.8 cm 離れた場所から照射した。レーザー射出部から 3.8 cm 離れた位置の光強度をパワーメーター (THORLABS PM100A) に接続した光検出器 (THORLABS S120VC F = 9.5 mm) で測定した (18 mW/cm²)。光は NMR チューブ中の溶液の約 50% の面積に当たっていた。また、光照射前後の **2-16** の CDCl₃ 溶液を 60 μL とってアセトニトリル 2940 μL で希釈した溶液を 1 mL 用いて TPCPD による ¹O₂ 生成能評価実験を行った。

実験項（第三章）

蛍光に対する外部磁場効果検証実験：2-16 の蛍光強度の経時変化を蛍光光度計（JASCO FP8500）で測定した。励起波長は 349 nm に固定し、励起バンド幅 20 nm に設定した。蛍光波長は 560 nm に固定し、蛍光バンド幅 20 nm に設定した。光電子増倍管の電圧（PMT 電圧）は 700 V に設定した。図 s-7a に本実験の装置セッティングを記す。励起と蛍光検出は光ファイバー接続ユニット（JASCO OBF-832）に接続した光ファイバー（Ocean Optics P600-1-SR）を通して行った。外部磁場源として、2 個の電磁石（Fujita FSGP-90）を用い、5 cm の間を開けて向かい合わせて固定した。この 5 cm の間に光ファイバー接続可能なセルフホルダに固定したサンプル溶液入り石英セルを置いた。電磁石の磁場は直流安定化電源（A&D AD-8724）で調整した。電源 1 個で 2 個の電磁石に並列に電圧を供給した。サンプル設置場所の磁場の大きさはガウスメーター（F. W. Bell 5180）で測定した。図 s-7b に電源の設定電圧に対する磁束密度の検量線を示す。石英セルに入れた **2-16** (63 μM) の DMSO 溶液の異なる外部磁場下 (1.5, 3.4, 5.2, 7.1, 8.9, 10.8, 12.8, 16.6, 20.6, 24.5 mT) での蛍光強度を FP8500 の「時間変化測定」モードで 0.01 秒毎に 30 秒間測定した。それぞれの外部磁場下で 30 秒間の蛍光強度を積算し、1.5 mT の磁場での積算値を基準にそれぞれの磁場下の強度を標準化した。この操作を都度新しい溶液を用いて 6 回繰り返した。比較として、外部磁場を与えずに上記操作と同じ時間 (30 秒間 \times 10 回) 蛍光強度を測定した積算値も求めた。

2-23 (100 μM) のアセトニトリル溶液を上記と同様のセッティング (直流安定化電源は A&D AD-8724 でなく、Kikusui PMX116-0.6 A を用いた) で電磁石間に設置して、外部磁場の大きさを 10 秒間毎に 1.3 mT と 52 mT の間で繰り返し変えながら「時間変化測定」モードで蛍光強度を 100 秒間測定した。この操作を 4 回繰り返し、平均化した。測定中は部屋の蛍光灯を消し、黒い布で実験系を覆った。

a)



b)

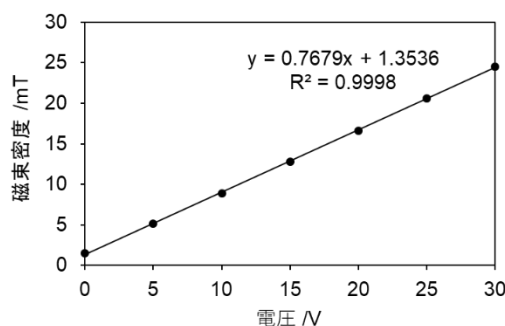


図 s-7. a) 蛍光への外部磁場効果検証実験の装置セッティング。b) 電源 (A&D AD-8724) の電圧と二個の電磁石の間の磁束密度の検量線。

過渡吸収減衰曲線に対する外部磁場効果検証実験：東京工業大学大学院、生命理工学研究科、大谷研究室にて、大谷弘之元准教授のご指導の下、実験を行った。外部磁場源としては二個の電磁石 (Fujita FSGP-90) を用い、2 cm の間を開けて向かい合わせて固定した (図 s-8a)。それぞれの電磁石に一個ずつ異なる電源 (Kikusui PMX110-0.6A および Kikusui Model 7354) を接続した。それぞれの電源から同じ大きさの電圧を二個の電磁石に与え、電磁石の間の磁束密度をガウスマーター (F. W. Bell 5180) で測定した (図 s-8b)。**2-16** (201 μM) のアセトニトリル溶液入りの石英セルを電磁石間にセットし、過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{obs}} = 550 \text{ nm}$) を異なる磁場下 (5 or 204 mT) で測定した (過渡吸収装置は上記の **2-16** の窒素および酸素バブリング溶液の過渡吸収比較の際と同様)。減衰曲線は 512 パルスショット分、すなわち 51.2 秒間積算して 1 回測定とし、これを 10 回測定して平均化した。測定中は部屋の蛍光灯を消した。

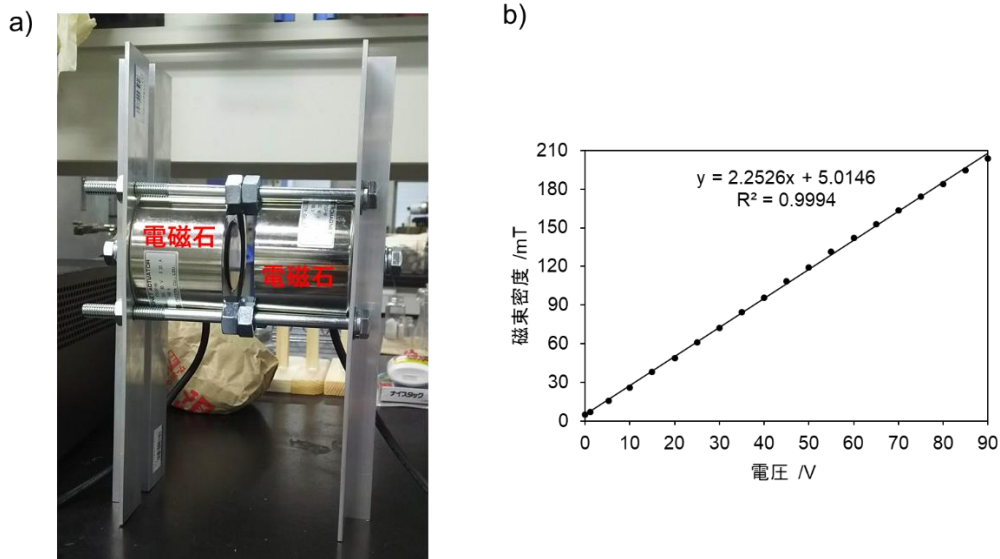


図 s-8. a) 二個の電磁石を固定したセッティング。b) 電源の電圧と二個の電磁石の間の磁束密度の検量線。

$^1\text{O}_2$ 生成に対する外部磁場効果検証実験：異なる磁場下、**2-16** ($46 \mu\text{M}$)のアセトニトリル溶液の $^1\text{O}_2$ 生成能を上述の TPCPD を用いて測定した。励起光源には UV ハンディランプ (ASONE, SLUV-6, 365 nm mode) を用いた。**2-16** と TPCPD の混合溶液を入れた石英セルから 5 cm の距離に UV ハンディランプを置いた (図 s-9)。外部磁場源にはネオジム磁石 (円柱形、直径 5 cm × 高さ 2 cm) を用いた。磁石とサンプルの距離をジャッキによって変えることで、サンプルにかかる磁場を変えた (1.2 cm: 295 mT; 3.4 cm: 40 mT)。サンプルをセットした場所の光強度 ($1274 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) はパワーメーター (THORLABS PM100A) に接続した光検出器 (THORLABS S120VC F = 9.5 mm) で、磁束密度はガウスメーター (F. W. Bell 5180) で測定した。測定中は部屋の蛍光灯を消し、黒い布で実験系を覆った。



図 s-9. ネオジム磁石とジャッキと UV ハンディランプを用いた $^1\text{O}_2$ 生成への外部磁場効果実験のセッティング。

分子軌道計算 (回転障壁エネルギー) : Ph-Ph 結合の回転障壁エネルギー計算では、**2-16** の DFT 計算で最適化した構造を初期構造として、Gaussian09 の DFT 計算 (汎関数 : CAMB3LYP、基底関数 : 6-31G(d)) で Ph-Ph の二面角を 5 度ずつ回転させて、それぞれの二面角における **2-16** のポテンシャルエネルギーをスキャンした。Ph-NO₂ 結合に関しては **2-23** の構造を用いて Ph-Ph 結合の回転と同様に計算した。

過渡吸収測定に対する粘度効果検証実験 : 過渡吸収測定は上記 (**2-16** と **2-23** のアセトニトリルまたはエタノール中の 266 nm および 355 nm 励起による過渡吸収測定) と同じ装置を用いた。約 80 mL のエタノールおよびグリセロールは化合物を溶解する前にそれぞれをスクリー管内で 30 分間窒素バブリングして脱気した。脱気後のエタノールとグリセロールの酸素濃度 (7.9% および 8.5%) は酸素検出器 (ASR Model FO-960) で測定した。**2-16** と **2-23** のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収測定はマグネチックスターラー (EYELA RCH-3) で攪拌しながら行った。装置付属のソフトウェアを用いて、得られた減衰曲線を単一指数関数解析して寿命を求めた。図 s-10 に **2-16**

および**2-23**のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での355 nm励起の際の過渡吸収減衰曲線（**図 s-10a, b**、**図 3-9c,d**と同じグラフ）とフィッティング結果（**図 s-10c, d**）を示した。

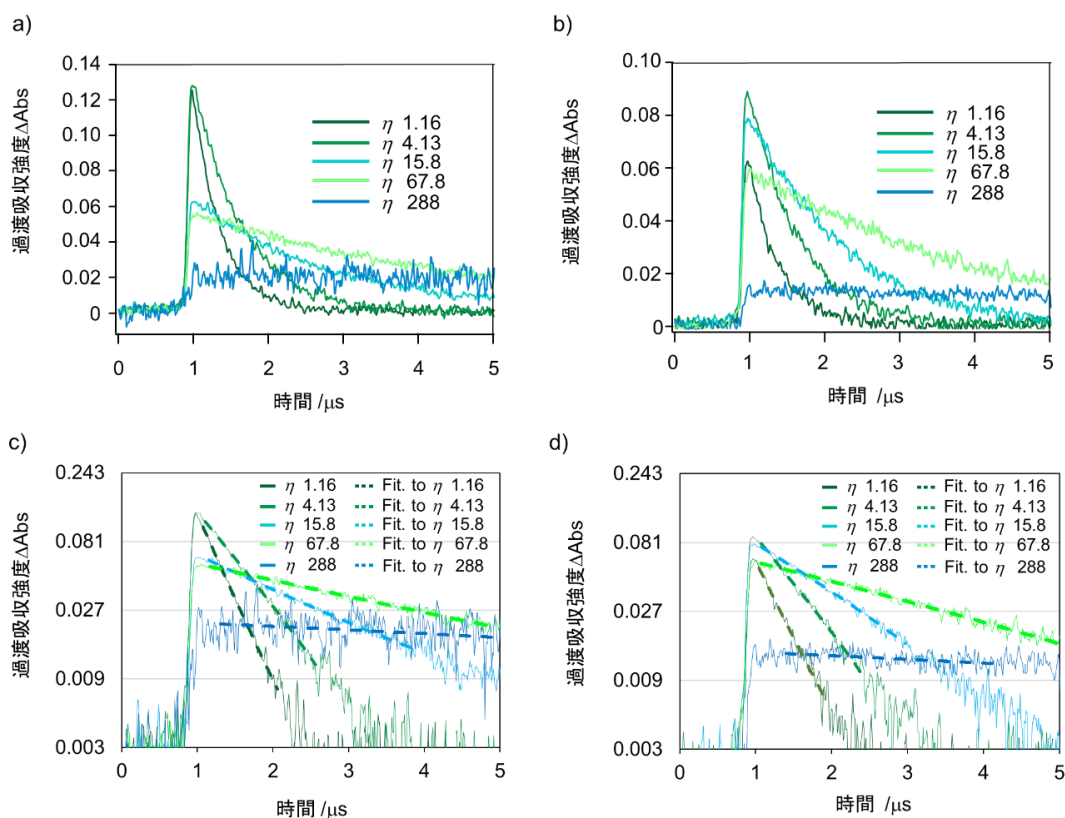


図 s-10. a) **2-16** (50 μM)、b) **2-23** (25 μM)のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収減衰曲線 ($\lambda_{\text{obs}} = 414\sim 763$ nm)。凡例は粘度の大きさ ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)。c) a)の、d) b)の片対数グラフ (実線) とフィッティング結果 (点線)。フィッティングは装置付属のソフトウェア (Hamamatsu photonics HPD-TA9) を用いて単一指数関数解析で行い、寿命を求めた (表 s-4)。

表 s-4. **2-16** と **2-23** のエタノールとグリセロールの混合溶媒中での過渡吸収寿命 τ 。

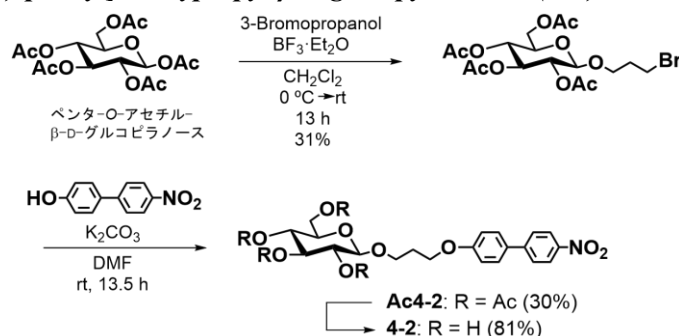
| $\eta/\text{mPa}\cdot\text{s}$ | 2-16 の $\tau/\mu\text{s}$ | 2-23 の $\tau/\mu\text{s}$ |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1.16 | 0.364 | 0.400 |
| 4.13 | 0.697 | 0.692 |
| 15.8 | 1.69 | 1.43 |
| 67.8 | 3.58 | 3.44 |
| 288 | 308 | 258 |

実験項 (第四章)

ドッキングシミュレーション：タンパク質の構造には、グルコース輸送体 GLUT1 のホモログタンパク質である XylE (PDB, 4GBZ) の結晶構造を用いた。リガンドの構造は Gaussian09 で構造最適化 (HF/6-31G (d)) を行った。タンパク質とリガンドのドッキングはフリーのドッキングソフト AutoDock Vina¹⁶³ (The scripps research institute)を用いて行った。タンパク質とリガンドの PDB ファイルを Autodock Tools¹⁶⁴ で AutoDock Vina 用のインプットファイルに変換した。ドッキングはデフォルト設定で行った (ドッキング時、リガンドである **4-2** の Ph-Ph の二面角は固定した)。ドッキング結果はフリーの 3D 描画ソフト PyMol (Schrodinger)¹⁶⁵ で描出した (ドッキング構造の角度や色、アミノ酸残基の表示などを行った)。

合成：

[4-(4-Nitrophenyl)-phenyl]-3-oxypropyl β -D-glucopyranoside (**4-2**):

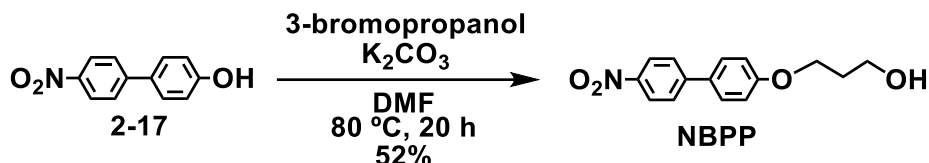


ペンタ-O-アセチル- β -D-グルコピラノース (496 mg, 1.27 mmol) を脱水トルエンで 3 回共沸した。ペンタ-O-アセチル- β -D-グルコピラノースの脱水ジクロロメタン (5 mL) 溶液に 3-ブロモプロパノール (370 μ L, 4.29 mmol) を加え氷浴上で 0 °C に冷やした後、三フッ化ホウ素エチルエーテル錯体 (800 μ L, 6.50 mmol) をシリンジで滴加し、室温に戻して、窒素雰囲気下 13 時間攪拌した。炭酸水素ナトリウム飽和水溶液でクエンチした後、ジクロロメタンで抽出した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 5:2)で粗生成して目的物を含むシラップを得た。シラップを少量のトルエンに溶かし、ヘキサンを加えてシラップを結晶化させ、白色結晶の 3-ブロモプロピル 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシド⁶⁵ (187 mg, 31%) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K): δ (ppm) 2.01–2.10 (s, 12H, OCOCH₃), 2.14–2.20 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂Br), 3.46–3.49 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂Br), 3.67–3.72 (m, 1H, H5'), 3.67–3.72 (m, 1H, OCH₂CH₂CH₂Br), 3.98–4.02 (m, 1H, OCH₂CH₂CH₂Br), 4.15 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz, H6'a), 4.27 (dd, 1H, *J* = 4.5 Hz, 5.0 Hz, H6'b), 4.52 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H1'), 4.99 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, 9.0 Hz, H2'), 5.09 (t, 1H, *J* = 9.5 Hz, 10 Hz, H4'), 5.22 (t, 1H, *J* = 9.5 Hz, H3').

4-ヒドロキシ-4'-ニトロビフェニル (53.6 mg, 0.249 mmol) の DMF (2 mL) 溶液に炭酸カリウム (65.3 mg, 0.472 mmol) を加え、窒素雰囲気下室温で 5 分間攪拌した。その後、反応溶液に 3-ブロモプロピル 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピラノシド (135 mg, 0.288 mmol) を加え、反応溶液を窒素雰囲気下室温で 13.5 時間攪拌した。DMF を減圧留去し、残渣をジクロロメタンに溶解して水で洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 2:1)で精製し、黄色シラップの **Ac4-2** (42.4 mg, 30%)を得た。 $[\alpha]_D^{25} = +43.6^\circ$ (c = 0.22 in CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 1.92–2.08 (s, 12H, -OCOCH₃), 2.06–2.10 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.68–3.77 (m, 1H, H5'), 3.68–3.77 (m, 1H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.04–4.07 (m, 1H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.07–4.10 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.10–4.13 (m, 1H, H6'a), 4.26 (dd, 1H, J = 4.5 Hz, 5.0 Hz, H6'b), 4.53 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H1'), 5.00 (t, 1H, J = 8.5 Hz, 9.0 Hz, H2'), 5.09 (t, 1H, J = 9.5 Hz, 10 Hz, H4'), 5.20 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H3'), 7.00 (d, 2H, J = 8.5 Hz, Ar-H), 7.57 (d, 2H, J = 8.5 Hz, Ar-H), 7.68 (d, 2H, J = 9.0 Hz, Ar-H), 8.27 (d, 2H, J = 8.5 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 20.67, 20.75, 20.77, 20.89, 29.47, 62.05, 64.39, 66.58, 68.49, 71.42, 71.93, 72.87, 101.10, 115.20, 124.29, 127.19, 128.72, 131.24, 146.66, 147.27, 159.87, 169.45, 169.55, 170.43, 170.81; HRMS (ESI): m/z calcd for C₂₉H₃₃NO₁₃Na⁺: 626.1845 [M+Na]⁺; found: 626.1844.

Ac4-2 (31.2 mg, 0.0517 mmol)を脱水トルエンと脱水メタノールで 3 回ずつ共沸した。**Ac4-2** の脱水メタノール (2 mL) 溶液に 1.5 M NaOMe メタノール溶液 (5 μ L, 7.5 μ mol) を加え、窒素雰囲気下室温で 4 時間攪拌した。反応溶液を Dowex 50w \times 8 (H⁺)で中和し、濃縮して黄色固体の **4-2** (18.3 mg, 81%)を得た。mp 159–160 °C; $[\alpha]_D^{30} = -24.1^\circ$ (c = 0.37, メタノール中); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, 298K) δ (ppm) 2.09–2.10 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.20 (t, 1H, J = 8.0 Hz, 8.5 Hz, H2'), 3.27–3.30 (m, 1H, H5'), 3.30–3.33 (m, 1H, H4'), 3.33–3.37 (m, 1H, H3'), 3.67 (dd, 1H, J = 5.0 Hz, 5.5 Hz, H6'a), 3.75–3.80 (m, 1H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.86 (dd, 1H, J = 1.5 Hz, 2.0 Hz, H6'b), 4.07–4.12 (m, 1H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.17–4.20 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.29 (d, 1H, J = 7.5 Hz, H1), 7.06 (d, 2H, J = 9.0 Hz, Ar-H), 7.66 (d, 2H, J = 8.5 Hz, Ar-H), 7.81 (d, 2H, J = 9.0 Hz, Ar-H), 8.27 (d, 2H, J = 8.5 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CD₃OD, 298K) δ (ppm) 30.81, 62.73, 66.13, 67.41, 71.62, 75.13, 77.96, 78.07, 104.53, 116.26, 125.05, 128.12, 129.60, 132.12, 147.86, 148.56, 161.41; HRMS (ESI): m/z calcd for C₂₁H₂₅NO₉Na⁺: 458.1422 [M+Na]⁺; found: 458.1422. 水への溶解度 : 88 μ g/mL. **4-2** (6.8 mg) の固体に水 (2 mL) を加え、15 分間ソニケーター (BRANSON 3510) で超音波をかけた。懸濁液 1 mL をチューブに移して 14,000 rpm、室温で 10 分間遠心分離した。上清 500 μ L を取り、水を減圧留去し、残渣を 500 μ L の DMSO に溶かした。この DMSO 溶液を DMSO で 6 倍希釈した溶液の吸収スペクトルを測定し、A₃₅₀ = 0.507 を得た。**NBPP** の DMSO 中の $\epsilon_{350} = 15,000$ L/mol \cdot cm から 6 倍希釈溶液の濃度 (14.7 μ g/mL) を求め、これを 6 倍した値を溶解度とした⁶⁸。

[4-(4-Nitrophenyl)-phenyl]-3-oxypropan-1-ol (NBPP):



4-ヒドロキシ-4'-ニトロビフェニル **2-17** (205 mg, 0.954 mmol) の DMF (10 mL) 溶液に炭酸カリウム (270 mg, 1.95 mmol) を加え、窒素雰囲気下室温で 5 分間攪拌した。その後、反応溶液に 3-ブロモプロパノール (160 μL , 1.85 mmol) を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 80 $^\circ\text{C}$ で 20 時間攪拌した。DMF を減圧留去し、残渣をジクロロメタンに溶解して水で洗浄した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 2:1)で精製し、黄色固体の **NBPP** (137 mg, 52%)を得た。mp 99–100 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 298K) δ (ppm) 1.70 (br, 1H, OH), 2.07–2.12 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.90 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz, 6.0 Hz, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.20 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 7.03 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, Ar-H), 7.57 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, Ar-H), 7.69 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 8.27 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, Ar-H); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 , 298K) δ (ppm) 32.16, 60.37, 65.90, 115.33, 124.29, 127.23, 128.74, 131.41, 146.78, 147.32, 159.86; HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_4\text{Na}^+$: 296.0894 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; found: 296.0893.

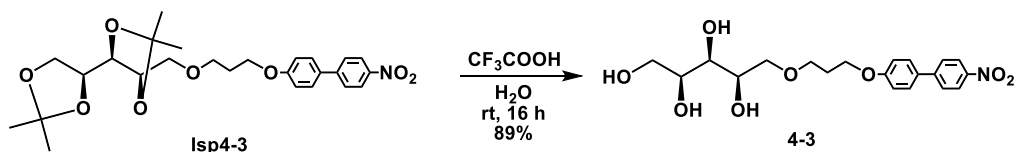
4-Nitro-1-[3-(2,3:4,5-di-O-isopropylidene-D,L-xylitol-1-O-yl)propyl-1-oxyphen-4-yl]-benzene (Isp4-3):



NBPP (29.8 mg, 0.109 mmol) と 86%水酸化カリウム (25.9 mg, 0.398 mmol) のトルエン (1 mL) と DMSO (0.25 mL) の混合溶液に 1-O-メタンスルホニル-2,3:4,5-ジ-O-イソプロピリデン-D,L-キシリトール¹⁶⁶ (58.8 mg, 0.189 mmol) を加え、反応溶液を窒素雰囲気下 80 $^\circ\text{C}$ で 45 時間攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、混合物を酢酸エチルで抽出した。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。残渣をシリカゲルカラム(ヘキサン-酢酸エチル, 6:1)で精製し、黄色シラップの **Isp4-3** (10.4 mg, 20%)を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +101.4^\circ$ ($c = 0.21$ in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 298K) δ (ppm) 1.37 (s, 3H, isopropylidene CH_3), 1.42–1.44 (s, 9H, isopropylidene CH_3), 2.08–2.13 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.60–3.61 (m, 2H, H1'), 3.70 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.85 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz, H4'), 3.91 (dd, 1H, $J = 3.5$ Hz, 6.0 Hz, H3'), 4.01 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz, H5'a), 4.08–4.10 (m, 1H, H2'), 4.13 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, 6.5 Hz,

-O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 4.18 (dd, 1H, *J* = 6.0 Hz, 6.5 Hz, H5'b), 7.01 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 7.57 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, Ar-H), 7.68 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 8.26 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 298K) δ (ppm) 25.60, 26.35, 27.11, 27.20, 29.62, 65.00, 65.78, 68.28, 71.80, 75.74, 76.60, 78.44, 109.82, 109.93, 115.23, 124.24, 127.15, 128.66, 131.12, 146.62, 147.31, 159.94; HRMS (ESI): *m/z* calcd for C₂₆H₃₃NO₈Na⁺: 510.2100 [M+Na]⁺; found: 510.2097.

4-Nitro-1-(3-D,L-xylitol-1-O-ylpropyl-1-oxyphen-4-yl)-benzene (4-3):



Isp4-3 (20.4 mg, 0.0418 mmol) の 70% CF₃COOH 水溶液 (1 mL) を室温で 16 時間攪拌した。反応溶液を濃縮し、残渣をトルエンで 2 回共沸した。残渣をシリカゲルカラム (ジクロロメタン–メタノール, 20:1) で精製し、黄色固体の **4-3** (15.2 mg, 89%) を得た。mp 99–102 °C; [α]_D²² = +172.4° (c = 0.12、メタノール中); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, 298K) δ (ppm) 2.05–2.10 -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.54–3.59 (m, 1H, H3'), 3.60–3.66 (m, 4H, H1'a, H4', H5'), 3.67–3.70 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 3.74 (dd, 1H, *J* = 4.5 Hz, 5.0 Hz, 5.5 Hz, H1'b), 4.15 (t, 2H, *J* = 6.0 Hz, 6.5 Hz, -O-CH₂-CH₂-CH₂-O-Ar), 7.06 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, Ar-H), 7.66 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 7.81 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 8.27 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (126 MHz, CD₃OD, 298K) δ (ppm) 30.68, 64.30, 66.18, 68.92, 72.20, 72.34, 73.42, 73.90, 116.23, 125.04, 128.11, 129.61, 132.13, 147.85, 148.54, 161.39; HRMS (ESI): *m/z* calcd for C₂₀H₂₅NO₈Na⁺: 430.1473 [M+Na]⁺; found: 430.1475.

細胞培養：東京工業大学、生命理工学院生命理工学系、小倉研究室にて、小倉俊一郎准教授のご指導の下、実験した。DU145 細胞は 10 cm ディッシュ (Thermo Scientific Nunclon™ Delta Surface Dish) 上で、L-グルタミン (584 mg/L)、1%の抗生物質–抗真菌剤 (Nacalai Tesque, Inc. ABAM) と 10%のウシ胎児血清 (Equitech Bio Inc. FBS) を含む培地 DMEM (4.5 g/L glucose) (Nacalai Tesque, Inc., 08458-45) 中で CO₂ インキュベーター (37 °C, 5% CO₂) 内で培養した。培地をアスピレーターで除き、細胞を PBS (-) バッファー (3 mL) で洗浄し、トリプシン溶液 (1 mL, 2.5 g/L in PBS (-) (1 mmol/L EDTA と 10%の FBS、少量のフェノールレッド含む)) を加えて 5 分間培養して細胞をディッシュから剥離した。トリプシンの酵素反応を止めるため培地を 3 mL 加えた。細胞懸濁液を遠沈管に移して 1200 rpm で 5 分間遠心し、上清をアスピレーターで除いて、細胞を新しい培地 (2 mL) に懸濁させた。細胞懸濁液を 10 μL とり、トリパンブルー染色して血球計算盤または自動細胞数計測器 (Thermo Scientific Countless II FL) で細胞数を計

測した。細胞は、細胞取り込み実験に使う際は 3.5 cm ディッシュに PDT 実験に使う際には 96 ウェルプレートに播種した。

細胞取り込み実験：DU145 細胞を 5.0×10^5 cells/mL の濃度で上記と同じ通常の培地 DMEM に懸濁させ、3.5 cm ディッシュに細胞懸濁液を 1 mL 播種し、一晚培養 (37 °C, 5% CO₂) した。培養後、アスピレーターで培地を除き、細胞を PBS (1 mL) で洗浄した。ビフェニル増感剤の DMSO 溶液 (15 mM) を化合物の終濃度が 150 μM になるようにグルコースと FBS を含まない DMEM (Nacalai Tesque, Inc., 09891-25) で希釈した (市販のグルコースと FBS を含まない DMEM には L-グルタミン (584 mg/L) とピルビン酸ナトリウム (Nacalai Tesque, Inc. 06977-34, 110 mg/L) を加えた)。150 μM 溶液を細胞に加え、1 時間培養 (37 °C, 5% CO₂) した。その後、化合物を含む培地をアスピレーターで除き、細胞を PBS (1 mL) で三回洗浄した。細胞は 3 mL の PBS に浸した状態で共焦点顕微鏡 (Carl Zeiss LSM780) により観察した。接眼レンズは W plan-Apochromat 40 ×/1.0 DIC M27 を用いた。明視野は T-PMT モードで撮影した。蛍光画像撮影時の励起光源は顕微鏡内蔵の 405 nm ダイオードレーザーを使用した。蛍光シグナルは 415~735 nm の範囲を GaAsP により検出した。撮影した画像は Carl Zeiss が提供するソフトウェア (Carl Zeiss ZEN 2.3 lite) で描画・解析した。撮影した蛍光画像のオリジナル画像の諧調は 0~65535 であったが、蛍光シグナルが分布していたのは 2600~15000 の範囲だったので、処理後の画像ではこの範囲を拡大して表示した (図 s-11)。それぞれの細胞ディッシュにつき 3 枚の画像を撮影した (図 s-12)。蛍光画像の細胞あたりの蛍光強度を画像解析ソフト ImageJ (NIH) を用いて定量化した。細胞のみのコントロールのグレースケール画像を ImageJ で開き、タブから Image→Adjust→Threshold をクリックした。ここで細胞由来の蛍光シグナルが存在する閾値のグレースケール値 (14) を自動的に求めた。グレースケール値 14 以上を持つピクセルを細胞が存在する領域とし、その総ピクセル数を画像の細胞面積とした (細胞面積を求めた際の実際操作：Threshold のウィンドウで Apply をクリックした後、タブから Process→Binary→Watershed をクリックした。さらにタブから Analyze→Analyze particles をクリックし、Analyze particles のウィンドウで show のプルダウンから Outlines を選び、チェックボックスを Summarize のみにして OK をクリックして得られた計算結果のテーブルの Total area を細胞面積とした)。画像の蛍光強度を求める際には、グレースケール値 14 以上を持つピクセルのグレースケール値から 14 を引き、14 を引いた後のグレースケール値とその値に相当するピクセル数をかけ算し、得られた値を積算した。積算値を細胞面積で割った値を蛍光画像の細胞あたりの蛍光強度とした。細胞のみのコントロールの画像の蛍光強度を 1 として、それぞれの画像の相対蛍光強度を求めた。

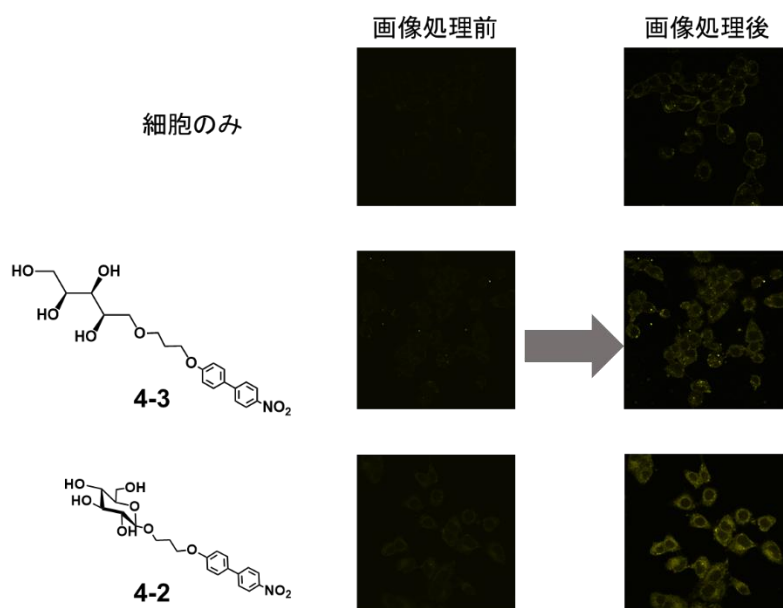


図 s-11. 画像処理前後の化合物を加えた後の DU145 細胞の蛍光画像。オリジナル画像の諧調は 0~65535 であったが、蛍光シグナルが分布していたのは 2600~15000 の範囲だったので、処理後の画像ではこの範囲を拡大して表示した。

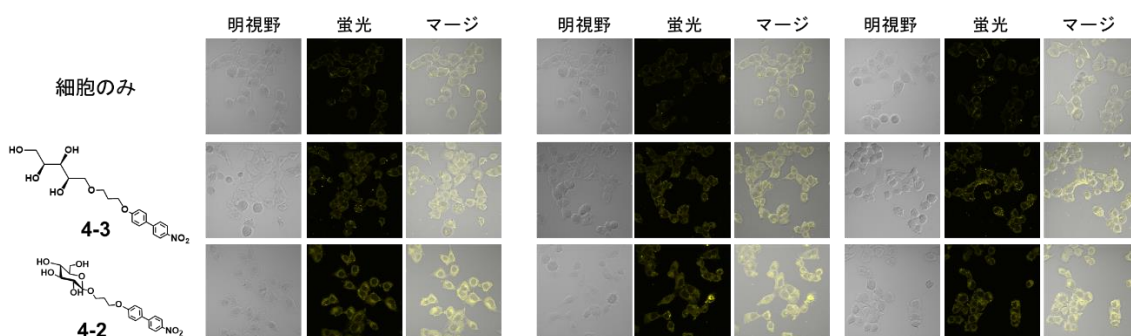


図 s-12. 図 4-13b の棒グラフで蛍光強度を定量化した際に用いた 3 枚分の細胞画像。

GLUT 阻害実験 : DU145 細胞を 5.0×10^5 cells/mL の濃度で通常の培地 DMEM に懸濁させ、3.5 cm ディッシュに細胞懸濁液を 1 mL 播種し、一晚培養 (37 °C, 5% CO₂) した。培養後、アスピレーターで培地を除き、細胞を PBS (1 mL) で洗浄した。異なる濃度のサイトカラシン B の DMSO 溶液を含む培地溶液 (グルコースと FBS を含まない DMEM に L-グルタミン (584 mg/L) とピルビン酸ナトリウム (Nacalai Tesque, Inc. 06977-34, 110 mg/L) を加えた溶液) を 1 mL、細胞に加えて 5 分間培養 (37 °C, 5% CO₂) した。その後、10 μL の 4-2 (15 mM) の DMSO 溶液を細胞に加えて 1 時間培養 (37 °C, 5% CO₂) した。その後、化合物を含む培地をアスピレーターで除き、細胞を PBS (1 mL) で三回洗浄した。細胞は 3 mL の PBS に浸した状態で共焦点顕微鏡 (Carl Zeiss LSM780) により観

察した。接眼レンズは W plan-Apochromat 40×/1.0 DIC M27 を用いた。明視野は T-PMT モードで撮影した。蛍光画像撮影時の励起光源は顕微鏡内蔵の 405 nm ダイオードレーザーを使用した。蛍光シグナルは 415~735 nm の範囲を GaAsP により検出した。撮影した画像は Carl Zeiss が提供するソフトウェア (Carl Zeiss ZEN 2.3 lite) で描画・解析した。それぞれの細胞ディッシュにつき 3 枚の画像を撮影した (図 s-13)。撮影した蛍光画像のオリジナル画像の諧調は 0~65535 であったが、蛍光シグナルが分布していたのは 2600~15000 の範囲だったので、処理後の画像ではこの範囲を拡大して表示した。蛍光画像の細胞あたりの蛍光強度を画像解析ソフト ImageJ (NIH) を用いて上記と同様に定量化した。グレースケール値 45 以上を持つピクセルを細胞が存在する領域とし、その総ピクセル数を画像の細胞面積とした。グレースケール値 45 以上を持つピクセルのグレースケール値から 45 を引き、45 を引いた後のグレースケール値とその値に相当するピクセル数をかけ算し、得られた値を積算した。積算値を細胞面積で割った値を蛍光画像の蛍光強度とした。サイトカラシン B を加えなかった場合の画像の蛍光強度を 100% として、それぞれの画像の相対蛍光強度を求めた。

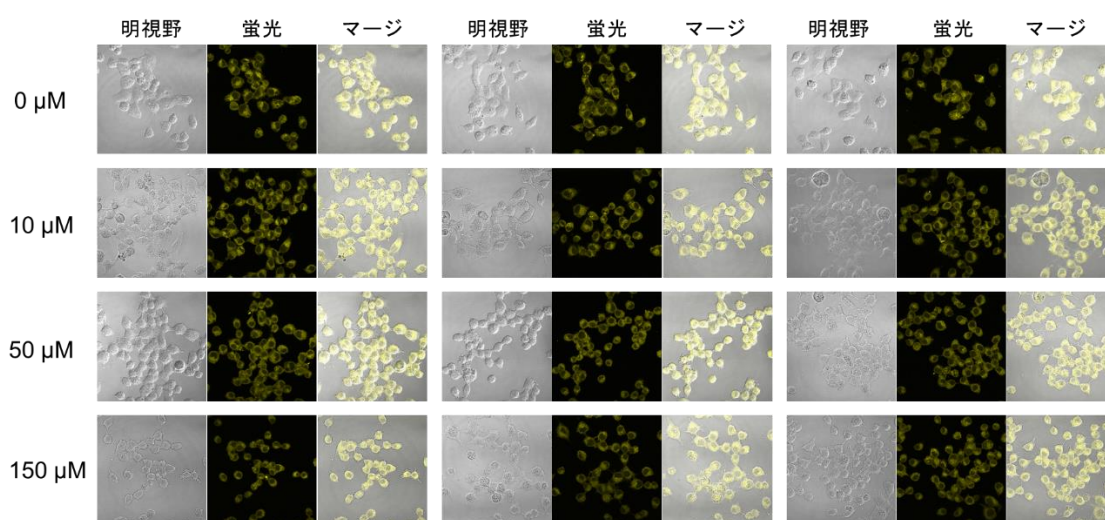


図 s-13. 図 4-14b の棒グラフで蛍光強度を定量化した際に用いた 3 枚分の細胞画像。

PDT 実験: DU145 細胞を 1.0×10^4 cells/mL の濃度で通常の培地 DMEM に懸濁させ、100 μ L の細胞懸濁液を 96 ウェルプレートに播種し、一晚培養 (37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2) した。培養後、培地をデカンテーションで除いた。ビフェニル増感剤の DMSO 溶液 (15 mM) を化合物の終濃度が 150 μ M になるようにグルコースと FBS を含まない DMEM (Nacalai Tesque, Inc., 09891-25) (上記同様、グルコースと FBS を含まない DMEM には L-グルタミン (584 mg/L) とピルビン酸ナトリウム (Nacalai Tesque, Inc. 06977-34, 110 mg/L) を加えた) で希釈した 150 μ M 溶液 (100 μ L) を細胞があるウェルに加え 1 時間培養 (37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2) した。その後、化合物を含む培地をデカンテーションで除き、細胞を PBS (100

μL)で2回洗浄した。細胞を通常の DMEM 培地 (100 μL) に浸し、405 nm ダイオードレーザー (World Star Tech. COMPACT-35G-405-SMA, 67.15 mA, 14 mW/cm²) のパルス光 (パルス幅 : 0.5 秒、Duty: 50%) を総照射時間が 25 分になるよう照射した。レーザー光は光ファイバー (Ocean optics P600-1-SR) を通して照射し、光射出部分は 96 ウェルプレートの蓋から 3.8 cm 上に離れた場所にセットした (図 s-14)。レーザーの光強度はパワーメーター (OPHIR NOVA II) に接続した光検出器 (OPHIR 10A-P-SH) で測定した。光照射後、細胞を一晩培養 (37 °C, 5% CO₂) し、細胞生存率を MTT アッセイにより求めた。MTT (50 mg/mL) のメタノール溶液を PBS で 10 倍希釈し、希釈溶液 (10 μL) を細胞に加えた。4 時間培養後、10% SDS 水溶液 (100 μL) を細胞に加えてさらに一晩培養した。その後、ウェルの 570 nm の吸光度をプレートリーダー (Multiskan FC, Thermo Scientific) により測定した (650 nm の吸光度をベースラインとした)。得られた吸光度から細胞生存率 (%) を式 s7 に従い計算した。

$$\text{細胞生存率(\%)} = \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{brank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{brank}}} \times 100 \dots (\text{s7})$$

A : それぞれのウェルの吸光度 (A₅₇₀ - A₆₅₀)、sample : 化合物のみを加えた細胞、光のみを照射した細胞、または化合物を加えて光を照射した細胞のウェル、brank : 培地のみのウェル、control : 細胞と培地のみのウェル。

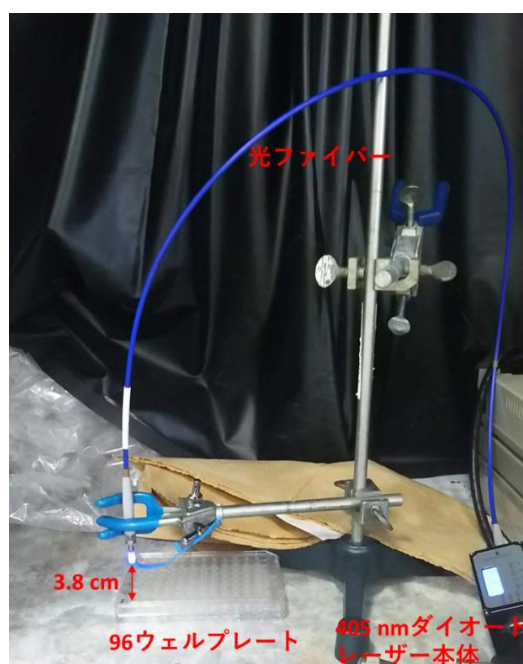


図 s-14. PDT 実験におけるレーザー、光ファイバー、96 ウェルプレートのセッティング。

参考文献

1. D. E. Dolmans, D. Fukumura and R. K. Jain, *Nature Rev. Cancer*, 2003, **3**, 380–387.
2. A. P. Castano, P. Mroz and M. R. Hamblin, *Nature Rev. Cancer*, 2006, **6**, 535–545.
3. P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson and J. Golab, *CA Cancer J. Clin.*, 2011, **61**, 250–281.
4. R. R. Allison and K. Moghissi, *Clin. Endosc.*, 2013, **46**, 24–29.
5. A. B. Ormond and H. S. Freeman, *Materials*, 2013, **6**, 817–840.
6. G. M. F. Calixto, J. Bernegossi, L. M. de Freitas, C. R. Fontana and M. Chorilli, *Molecules*, 2016, **21**, 342.
7. G. Shafirstein, D. Bellnier, E. Oakley, S. Hamilton, M. Potasek, K. Beeson and E. Parilov, *Cancers*, 2017, **9**, 12.
8. X. Li, S. Lee and J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 1174–1188.
9. M. C. DeRosa and R. J. Crutchley, *Coord. Chem. Rev.*, 2002, **233–234**, 351–371.
10. J. F. Lovell, T. W. B. Liu, J. Chen and G. Zheng, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 2839–2857.
11. N. Mehraban and H. S. Freeman, *Materials*, 2015, **8**, 4421–4456.
12. H. Abrahamse and M. R. Hamblin, *Biochem. J.*, 2016, **473**, 347–364.
13. A. E. O'Connor, W. M. Gallagher and A. T. Byrne, *Photochem. Photobiol.*, 2009, **85**, 1053–1074.
14. T. M. Baran, *Lasers Surg. Med.*, 2018, **50**, 476–482.
15. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy and P. Feeney, *J. Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, **46**, 3–26.
16. C. A. Lipinski, *Drug Discovery Today: Technologies*, 2004, **1**, 337–341.
17. S. Kuno, H. Akeno, H. Ohtani and H. Yuasa, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 15989–15995.
18. S. Kuno, T. Kanamori, Z. Yijing, H. Ohtani and H. Yuasa, *ChemPhotoChem*, 2017, **1**, 102–106.
19. H. Yuasa, S. Kuno, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2018, **91**, 223–229.
20. D. Deng, C. Xu, P. Sun, J. Wu, C. Yan, M. Hu and N. Yan, *Nature*, 2014, **510**, 121–125.
21. P. Cunningham, I. Afzal-Ahmed and R. J. Naftalin, *J. Biol. Chem.*, 2006, **281**, 5797–5803.
22. M. Patra, T. C. Johnstone, K. Suntharalingam and S. J. Lippard, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 2550–2554.
23. D. Deng, P. Sun, C. Yan, M. Ke, X. Jiang, L. Xiong, W. Ren, K. Hirata, M. Yamamoto, S. Fan and N. Yan, *Nature*, 2015, **526**, 391–396.
24. 厚生労働省、2017「人口動態統計の年間推計」
25. T. J. Dougherty, G. Lawrence, J. H. Kaufman, D. Boyle and K. R. Weishaupt, A. Goldfarb, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1979, **62**, 231–237.
26. 白田実男、加藤治文、「癌治療における光線力学的治療の現況」
27. B. Krammer and K. Plaetzer, *Photochem. Photobiol. Sci.* 2008, **7**, 283–289.

28. M. Wachowska, A. Muchowicz, M. Firczuk, M. Gabrysiak, M. Winiarska, M. Wanczyk, K. Bojarczuk and J. Golab, *J. Molecules*. 2011, **16**, 4140–4164.
29. M-C. Tetard, M. Vermandel, S. Mordon, J-P. Lejeune and N. Reyns, *Photodiag. Photodyn. Ther.* 2014, **11**, 319–330.
30. G. Bhasin, H. Kausar and M. Athar, *Oncol. Rep.* 1999, **6**, 1439–1481.
31. Y. Hagiya, Y. Endo, Y. Yonemura, K. Takahashi, M. Ishizuka, F. Abe, T. Tanaka, I. Okura, M. Nakajima, T. Ishikawa and S-I. Ogura, *Photodiag. Photodyn. Ther.* 2012, **9**, 204–214.
32. N. J. Turro, V. Ramamurthy and J. C. Scaiano 著、井上晴夫、伊藤攻監訳、2013、「分子光化学の原理」、丸善出版
33. G. P. Wiederrecht, W. A. Svec, M. R. Wasielewski, T. Galili and H. Levanon, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 9715–9722.
34. O. Mermut, K. R. Diamond, J.-F. Cormier, P. Gallant, N. Hô, S. Leclair, J.-S. Marois, I. Noiseux, J.-F. Morin, M. S. Patterson and M. L. Vernon, *Phys. Med. Biol.*, 2009, **54**, 1.
35. M. T. Colvin, A. B. Ricks, A. M. Scott, A. L. Smeigh, R. Carmieli, T. Miura and M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 1240–1243.
36. P. Spenst, R. M. Young, M. R. Wasielewski and F. Würthner, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 5428–5434.
37. Z. E. X. Dance, S. M. Mickley, T. M. Wilson, A. B. Ricks, A. M. Scott, M. A. Ratner and M. R. Wasielewski, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 4194–4201.
38. S. M. King, R. Matheson, F. B. Dias and A. P. Monkman, *J. Phys. Chem. B*, 2008, **112**, 8010–8016.
39. K. M. Lefler, K. E. Brown, W. A. Salamant, S. M. Dyar, K. E. Knowles and M. R. Wasielewski, *J. Phys. Chem. A*, 2013, **117**, 10333–10345.
40. J. Zhao, K. Chen, Y. Hou, Y. Che, L. Liu and D. Jia, *Org. Biomol. Chem.*, 2018, **16**, 3692–3701.
41. M. A. Filatov, S. Karuthedath, P. M. Polestshuk, S. Callaghan, K. J. Flanagan, M. Telitchko, T. Wiesner, F. Laquai and M. O. Senge, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2018, **20**, 8016–8031.
42. Y. Hou, T. Biskup, S. Rein, Z. Wang, L. Bussotti, N. Russo, P. Foggi, J. Zhao, M. Di Donato, G. Mazzone and S. Weber, *Phys. Chem. C*, 2018, **122**, 27850–27865.
43. S. Miiller, V. Mantareva, N. Stoichkova, H. Kliesch, A. Sobbi, D. Wohrle and M. Shopova, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 1996, **35**, 167–174.
44. U. Michelsen, H. Kliesch, G. Schnurpfeil, A. K. Sobbi and D. Wohrle, *Photochem. Photobiol.*, 1996, **64**, 694–701.
45. T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa and T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 12162–12163.
46. A. A. Lamola and G. S. Hammond, *J. Chem. Phys.*, 1965, **43**, 2129–2135.
47. S. K. Chattopadhyay, C. V. Kumar and P. K. Das, *J. Photochem.*, 1985, **30**, 81–91.
48. H. Murai, M. Jinguji and K. Obi, *J. Phys. Chem.*, 1978, **82**, 38–40.
49. P. J. Wagner, R. J. Truman and J. C. Scaiano, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 7093–7097.
50. J. Wu, W. Liu, J. Ge, H. Zhang and P. Wang, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 3483–3495.

51. T. Miura, Y. Urano, K. Tanaka, T. Nagano, K. Ohkubo and S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 8666–8671.
52. Z. R. Grabowski and K. Rotkiewicz, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 3899–4032.
53. A. C. Benniston and A. Harriman, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 169–179.
54. S. Sasaki, G. P. C. Drummen and G.-I. Konishi, *J. Mater. Chem. C*, 2016, **4**, 2731–2743.
55. A. Harriman, L. J. Mallon, G. Ulrich and R. Ziessel, *ChemPhysChem.*, 2007, **8**, 1207–1214.
56. M. A. Filatov, S. Karuthedath, P. M. Polestshuk, H. Savoie, K. J. Flanagan, C. Sy, E. Sitte, M. Telitchko, F. Laquai, R. W. Boyle and M. O. Senge, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 6282–6285.
57. M. Imran, A. A. Sukhanov, Z. Wang, A. Karatay, J. Zhao, Z. Mahmood, A. Elmali, V. K. Voronkova, M. Hayvali, Y. H. Xing and S. Weber, *J. Phys. Chem. C* 2019, **123**, 7010–7024.
58. S. Sasaki, Y. Niko, A. S. Klymchenko and G.-I. Konishi, *Tetrahedron*, 2014, **70**, 7551–7559.
59. M. Maus, W. Rettig, D. Bonafoux and R. Lapouyade, *J. Phys. Chem. A*, 1999, **103**, 3388–3401.
60. J. Zhao, W. Wu, J. Sun and S. Guo, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 5323–5351.
61. O. Warburg, *Science*, 1956, **123**, 309–314.
62. J. R. Cantor and D. M. Sabatini, *Cancer Discovery*, 2012, **2**, 881–898.
63. Y. Bronstein, S. Tummla and E. Rohren, *Clin. Nucl. Med.*, 2011, **36**, 96.
64. M. G. Vander Heiden, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2011, **10**, 671.
65. M. Patra, S. G. Awuah and S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**, 12541–12551.
66. M. Hassanein, B. Weidow, E. Koehler, N. Bakane, S. Garbett, Y. Shyr and V. Quaranta, *Mol. Imaging Biol.* 2011, **13**, 840–852.
67. M. Zhang, Z. Zhang, D. Blessington, H. Li, T. M. Busch, V. Madrak, J. Miles, B. Chance, J. D. Glickson and G. Zheng, *Bioconjugate Chem.* 2003, **14**, 709–714.
68. T. Kanamori, A. Matsuyama, H. Naito, Y. Tsuga, Y. Ozako, S.-i. Ogura, S. Okazaki and H. Yuasa, *J. Org. Chem.* 2018, **83**, 13765–13775.
69. A. Yamamoto, R. Honma and M. Sumita, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, **39**, 331–340.
70. K. Kim, H. Park and K.-M. Lim, *Toxicol. Res.*, 2015, **31**, 97–104.
71. S. Kimel, B. J. Tromberg, W. G. Roberts and M. W. Berns, *Photochem. Photobiol.* 1989, **50**, 175–183.
72. J. D. Spikes and J. C. Bommer, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 1993, **17**, 135–143.
73. J. M. Fernandez, M. D. Biligin and L. I. Grossweiner, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 1997, **37**, 131–140.
74. J-P. Ritz, A. Roggan, C. Isbert, G. Muller, H. J. Buhr and C-T. Germer, *Lasers in Surgery and Medicine*, 2001, **29**, 205-212.
75. C. Zhong, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 9248–9257.
76. R. Ghosh, A. Nandi and D. K. Palit, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2016, **18**, 7661–7671.
77. R. P. Drucker and W. M. McClain, *J. Chem. Phys.*, 1974, **61**, 2609–2615.
78. K. D. Belfield, K. J. Schafer, W. Mourad and B. A. Reinhardt, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 4475–4481.

79. Y. Morel, O. Stephan, C. Andraud and P. L. Baldeck, *Synthetic Metals*, 2001, **124**, 237–239.
80. M. Charlot, L. Porrès, C. D. Entwistle, A. Beeby, T. B. Marder and M. Blanchard-Desce, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 600–606.
81. M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning and H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 3244–3266.
82. 渡辺敏行、色材、2003, **76**, 511–518.
83. N. Miyaoura and A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1979, **19**, 866–867.
84. M. Tamura and J. K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, **93**, 1487–1489.
85. A. Furstner and A. Leitner *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 609–612.
86. D. Milstein and J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 3636–3638.
87. 鈴木章、TCI メール、2009, **142**.
88. C. S. Foote and S. Wexler, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 3879–3880.
89. C. S. Foote, S. Wexler, W. Ando and R. Higgins, *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 975–981.
90. M. R. Detty and P. B. Merkel *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 3845–3855.
91. M. A. Caine, R. W. McCabe, L. Wang, R. G. Brown and J. D. Hepworth, *Dyes and Pigments*, 2002, **52**, 55–65.
92. W. Spiller, H. Kliesch, D. Wohrle, S. Hackbarth, B. Order and G. Schnurpfeil, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 1998, **2**, 145–158.
93. H. S. Jung, J. Han, H. Shi, S. Koo, H. Singh, H. J. Kim, J. L. Sessler, J. Y. Lee, J. H. Kim and J. S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 7595–7602.
94. 長村利彦、川井秀記、2014、「光化学」、講談社
95. N. R. Guha, C. B. Reddy, N. Aggarwal, D. Sharma, A. K. Shil, Bandna and P. Das, *Adv. Synth. Catal.*, 2012, **354**, 2911–2915.
96. V. Elumalai, A. H. Sandtorv and H.-R. Bjørsvik, *Eur. J. Org. Chem.*, 2016, **2016**, 1344–1354.
97. B. O. Ashburn and R. G. Carter, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 255–257.
98. T. Blumke, Y. H. Chen, Z. H. Peng and P. Knochel, *Nat. Chem.*, 2010, **2**, 313–318.
99. S. Shi, G. Meng and M. Szostak, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2016, **55**, 6959–6963.
100. B. Song, T. Knauber and L. J. Goossen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2013, **52**, 2954–2958.
101. L. J. Goossen, C. Linder, N. Rodriguez and P. Lange, *Chem. - Eur. J.*, 2009, **15**, 9336–9349.
102. B. Cornelio, A. R. Saunders, W. A. Solomonsz, M. Laronze-Cochard, A. Fontana, J. Sapi, A. N. Khlobystov and G. A. Rance, *J. Mater. Chem. A*, 2015, **3**, 3918–3927.
103. V. Pascanu, Q. Yao, A. B. Gomez, M. Gustafsson, Y. Yun, W. Wan, L. Samain, X. Zou and B. Martín-Matute, *Chem. - Eur. J.*, 2013, **19**, 17483–17493.
104. V. Arun, P. O. V. Reddy, M. Pilania and D. Kumar, *Eur. J. Org. Chem.*, 2016, **2016**, 2096–2100.
105. Y. Li, W. Liu, Q. Tian, Q. Yang and C. Kuang, *Eur. J. Org. Chem.*, 2014, **2014**, 3307–3312.

106. A. R. Siamaki, Y. Lin, K. Woodberry, J. W. Connell and B. F. Gupton, *J. Mater. Chem. A*, 2013, **1**, 12909–12915.
107. P. P. Roy, K. D'Souza, M. Cuperlovic-Culf, P. C. Kienesberger and M. Touaibia, *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **118**, 290–298.
108. M.-H. Hsu, C.-M. Hsu, J.-C. Wang and C.-H. Sun, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 290–298.
109. A. Galan, E. C. Escudero-Adan, A. Frontera and P. Ballester, *J. Org. Chem.*, 2014, **79**, 5545–5557.
110. N. Miyaura, T. Yanagi and A. Suzuki, *A. Synth. Commun.*, 1981, **11**, 513–519.
111. T. E. Barder, S. D. Walker, J. R. Martinelli and S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 4685–4696.
112. C. Hansch, A. Leo and R. W. Taft, *Chem. Rev.*, 1991, **91**, 165–195.
113. J. Baler, T. Maisch, M. Maier, E. Engel, M. Landthaler and W. Baumler, *Biophys. J.* 2006, **91**, 1452–1459.
114. Z. Gao, Y. Hao, M. Zheng and Y. Chen, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 7604–7609.
115. K. A. Zachariasse, A. Demeter and S. I. Druzhinin, *J. Phys. Chem. A*, 2017, **121**, 1223–1232.
116. S. K. Lower and M. A. El-sayed, *Chem. Rev.*, 1966, **66**, 199–241.
117. T. N. Singh-Rachford and F. N. Castellano, *Coordination Chemistry Reviews*, 2010, **254**, 2560–2573.
118. C. Grever and H-D. Brauer, *J. Phys. Chem.*, 1994, **98**, 4230–4235.
119. M. J. Miller, S. H. Wei, I. Parker and M. D. Cahalan, *Science*, 2002, **296**, 1869–1873.
120. W. Denk, J. H. Strickler and W. W. Webb, *Science*, 1990, **248**, 73–76.
121. M. Oheim, E. Beaurepaire, E. Chaigneau, J. Mertz and S. Charpak, *J. Neurosci. Methods*, 2001, **111**, 29–37.
122. D. Kobat, M. E. Durst, N. Nishimura, A. W. Wong, C. B. Schaffer and C. Xu, *Opt. Express*, 2009, **17**, 13354–13364.
123. L. K. McKenzie, I. V. Sazanovich, E. Baggaley, M. Bonneau, V. Guerchais, J. A. G. Williams, J. A. Weinstein and H. E. Bryant, *Chem. Eur. J.* 2017, **23**, 234–238.
124. Y-Z. Cui, Q. Fang, G. Xue, G-B. Xu, L. Yin and W-T. Yu, *Chem. Lett.*, 2005, **34**, 644–645.
125. N. S. Makarov, M. Drobizhev and A. Rebane, *Opt. Express*, 2008, **16**, 4029–4047.
126. 坂口喜生、「スピソ化学」、2005、裳華房
127. S. Rafiq, R. Yadav and P. Sen, *J. Phys. Chem. A*, 2011, **115**, 8335–8343.
128. A. S. Alkindi, Y. M. Al-Wahaibi and A. H. Muggerridge, *J. Chem. Eng. Data*, 2008, **53**, 2793–2796.
129. C. Feng, R. V. Kedia, J. T. Hazzard, J. K. Hurley, G. Tollin and J. H. Enemark, *Biochemistry*, 2002, **41**, 5816–5821.
130. Y. Matsumura and H. Maeda, *Cancer Res.*, 1986, **46**, 6387–6392.
131. Y. Nakamura, A. Mochida, P. L. Choyke and H. Kobayashi, *Bioconjugate Chem.*, 2016, **27**, 2225–2238.
132. G. L. Plosker and R. N. Brogden, *Drugs*, 1994, **48**, 930–967.

133. M-R. Nejadmoghaddam, A. Minai-Tehrani, R. Ghahremanzadeh, M. Mahmoudi, R. Dinarvand and A-H. Zarnani, *Avicenna J. Med. Biotechnol.*, 2019, **11**, 3–23.
134. F. Kratz, P. Senter and H. Steinhagen, *Drug Delivery in Oncology*, 2012.
135. S. Manabe, *Drug Delivery System*, 2019, **34-1**, 10–21.
136. P. M. LoRusso, D. Weiss, E. Guardino, S. Girish and M. X. Sliwkowski, *Clin. Cancer Res.*, 2011, **17**, 6437–6447.
137. M. Mitsunaga, M. Ogawa, N. Kosaka, L. T. Rosenblum, P. L. Choyke and H. Kobayashi, *Nature Medicine*, 2011, **17**, 1685–1691.
138. M. Mitsunaga, T. Nakajima, K. Sano, G. Kramer-Marek, P. L. Choyke and H. Kobayashi, *BMC Cancer*, 2012, **12**, 345.
139. K. Sato, K. Ando, S. Okuyama, S. Moriguchi, T. Ogura, S. Totoki, H. Hanaoka, T. Nagaya, R. Kokawa, H. Takakura, M. Nishimura, Y. Hasegawa, P. L. Choyke, M. Ogawa and H. Kobayashi, *ACS Cent. Sci.*, 2018, **4**, 1559–1569.
140. H. Kobayashi and P. L. Choyke, *Acc. Chem. Res.*, 2019, **52**, 2332–2339.
141. A. Jaggupilli and E. Elkord, *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, **2012**, 708036.
142. S. Arpicco, P. Milla, B. Stella and F. Dosio, *Molecules*, 2014, **19**, 3193–3230.
143. Y. Cai, Q. Tang, X. Wu, W. Si, Q. Zhang, W. Huang and X. Dong, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**, 10737–10742.
144. D. Rosenblum, N. Joshi, W. Tao, J. M. Karp and D. Peer, *Nat. Commun.*, 2018, **9**, 1410.
145. M. Luyckx, R. Votino, J-L. Squifflet and J-F. Baurain, *Int. J. Womens Health*, 2014, **6**, 351–358.
146. J. A. Ledermann, S. Canevari and T. Thigpen, *Ann. Oncol.*, 2015, **26**, 2034–2043.
147. T. Yamanouchi and H. Kanazawa, *Drug Delivery System*, 2019, **34-1**, 38–45.
148. S. Hanessian and J. Banoub, *J. Methods Carbohydr. Chem.*, 1980, **8**, 243–245.
149. E. M. Quistgaard, C. Low, P. Moberg, L. Tresaugues and P. Nordlund, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2019, **26**, 1158–1166.
150. P. Effet, A. J. Beniers, Y. Tamimi, S. Handt and G. Jakse, *Anticancer Res.*, 2004, **24**, 3057–3064.
151. L. F. Barros, C. X. Bittner, A. Loaiza, I. Ruminot, V. Larenas, H. Moldenhauer, C. Oyarzun and M. Alvarez, *J. Neurochem.*, 2009, **109**, 94–100.
152. K. Kapoor, J. S. Finer-Moore, B. P. Pdersen, L. Caboni, A. Waight, R. C. Hillig, P. Bringmann, I. Heisler, T. Muller, H. Siebeneicher and R. M. Stroud, *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*, 2016, **113**, 4711–4716.
153. T. Mosmann, *J. Immunol. Methods*, 1983, **65**, 55–63.
154. S. J. Hwang, H. J. Kim and S. Chang, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 4588–4591.
155. J. W. Krueger and E. J. Mosettig, Studies in the phenanthrene series XX nitration of 9,10-dihydrophenanthrene. *J. Org. Chem.*, 1938, **3**, 340–346.
156. E. Zysman-Colman, K. Arias and J. S. Siegel, *Can. J. Chem.*, 2009, **87**, 440–447.
157. J.-H. Chun, C. L. Morse, F. T. Chin and V. W. Pike, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 2151–2153.

158. N.-H. You, T. Higashihara, S. Ando and M. Ueda, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2009, **47**, 4428–4434.
159. M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek and G. R. Hutchison, *J. Cheminf.*, 2012, **4**, 17.
160. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Men-nucci, G. A. Petersson, *et al.*, Gaussian 09, revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2009.
161. T. Yanai, D. P. Tew and N. C. Handy, *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **393**, 51–57.
162. 久野信一、博士論文、「ベンゼン誘導体結晶の長残光性室温燐光の発見と発光機構の解明」、2017
163. O. Trott and A. J. Olson, *J. Comput. Chem.*, 2010, **31**, 455–461.
164. M. F. Sanner, *J. Mol. Graphics Mod.*, 1999, **17**, 57–61.
165. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrodinger, LLC.
166. A. Fernandez, C. Scorzza, A. Usubillaga and J.-L. Salager, *J. Surfactants Deterg.*, 2005, **8**, 187–191.

論文および学会発表目録

論文発表

Y. Tsuga, M. Katou, S. Kuwabara, T. Kanamori, S.-i. Ogura, S. Okazaki, H. Ohtani and H. Yuasa, A Twist-Assisted Biphenyl Photosensitizer Passable through Glucose Channel. *Chem. Asian J.* 2019, **14**, 2067–2071.

総説（光化学協会誌）

湯浅英哉、津賀雄輝、「重原子不要な励起三重項生成法：スピン軌道電荷移動」、光化学、2019, 50, 185–188.

参考論文

T. Kanamori, A. Matsuyama, H. Naito, Y. Tsuga, Y. Ozako, S.-i. Ogura, S. Okazaki and H. Yuasa, Water-Soluble Glucosyl Pyrene Photosensitizers: An Intramolecularly Synthesized 2-C-Glucoside and an O-Glucoside. *J. Org. Chem.* 2018, **83**, 13765–13775.

学会発表

Y. Tsuga, Z. Yijing, T. Kanamori, S.-I. Ogura, H. Ohtani and H. Yuasa, Development of low molecular weight photosensitizer by intramolecular charge transfer. 2017 年光化学討論会、宮城、2017 年 9 月。

Y. Tsuga, S. Okazaki, H. Ohtani and H. Yuasa, Development of a small photosensitizer for photodynamic therapy using biphenyl derivatives with an intramolecular charge transfer character. 10th Asian Photochemistry Conference, Taiwan, December 2018.

謝辞

本研究を行うにあたり、終始貴重な御指導、御鞭撻を賜りました本学教授、湯浅英哉先生に深く感謝致します。

過渡吸収測定や磁場効果検証実験など本研究の光化学に関し、多くの御指導、御鞭撻を賜りました本学元准教授、大谷弘之先生に深く感謝いたします。

細胞実験に関して、有益な御指導、御助言を賜りました本学准教授、小倉俊一郎先生に深く感謝致します。また多大な御協力を賜りました小倉研究室の皆様にも深く感謝致します。

NMR などの研究機器を貸与していただくとともに、有益な御指導、御助言を賜りました本学准教授、大窪章寛先生、本学准教授、清尾康志先生、本学元教授、関根光雄先生に深く感謝致します。また、大窪、清尾研究室の皆様にも深く感謝致します。

二光子励起による $^1\text{O}_2$ 生成などの測定をして頂いた浜松医科大学教授、岡崎茂俊先生に深く感謝いたします。

半年間のカナダ留学を受け入れて下さり、糖合成のご指導を頂いたアルバータ大学、Dr. Todd L. Lowary 教授に深く感謝いたします。また、慣れない海外生活にご助力頂きました Dr. Lowary 研究室および、アルバータ大学に在籍されていた日本人学生の皆さまにも深く感謝いたします。

質量分析をしていただいたすずかけ台分析支援部門、小泉公人氏に深く感謝いたします。過渡吸収測定にご協力頂いたすずかけ台分析支援部門、鈴木元也氏に深く感謝いたします。

奨励金給付や留学費の援助をしてくださった情報生命博士教育院に深く感謝いたします。

有機合成実験の基礎技術や計算化学に関して多くの有益な御指導・御助言を賜りました本学助教、金森功吏先生に深く感謝いたします。

分光測定や有機合成において、多くの御指導・御助言を賜りました元本研究室久野信一氏に深く感謝いたします。また、湯浅研究室の皆さまにも深く感謝いたします。

最後に、博士課程進学を許して下さり、生活面、精神面を支えて下さった両親、津賀弘人、裕子夫妻に深く感謝致します。