九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

糖質インターフェイスを有する色素化合物の分子設計と機能化に関する研究

新森, 英之
九州大学工学応化分子分子システム工学

https://doi.org/10.11501/3147878

出版情報：九州大学, 1998, 博士（工学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：

糖質インターフェイスを有する色素化合物の分子設計と機能化に関する研究

新　藤　英　之

九州大学大学院工学研究科
分子システム工学専攻

博士論文

糖質インターフェイスを有する色素化合物の分子設計と機能化に関する研究

平成１０年９月

新森英之

目次

第1章　緒言　-1-

1－1　序論　-1-

1－2　原子・分子認識能を有する人工レセプターの開発と現状　-2-

1－2－1　イオンを認識する人工レセプター　-2-

1－2－2　有機分子を認識する人工レセプター　-6-

1－2－3　多重認識を行う人工レセプター　-9-

1－3　問題提起と本論文の構成　-15-

参考文献　-17-

第2章　蛍光性分子を用いた選択的な糖質レセプターの設計と機能　-21-

2－1　序論　-21-

2－2　測定および結果　-28-

2－2－1　吸収スペクトルによるpH依存性の検討　-28-

2－2－2　蛍光スペクトルによるpH依存性の検討　-31-

2－2－3　蛍光スペクトルによる様々な糖類との錯化挙動の検討とその会合定数の評価　-34-

2－2－4　蛍光スペクトルによる化合物**2.13**の錯化挙動との比較検討　-39-

2－2－5　CDスペクトルによるD-およびL-ソルビトールとの錯化挙動の検討　-42-

2－2－6　CDスペクトルによるD-ソルビトールに対する会合定数の評価　-44-

2－3　考察　-46-

2－4　結論　-51-

参考文献　-52-

第3章　フェニルボロン酸修飾スピロベンゾピランを用いる糖質レセプターの設計と機能　-54-

3－1　序論　-54-

3－2　スピロベンゾピラン誘導体の合成　-62-

3－2－1　2-メチルフェニルボロン酸（**3.6**）の合成　-63-

3－2－2　2-(2-メチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.8**）の合成　-63-

３－２－３　2-(2-ブロモメチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.10**）の合成　-63-
３－２－４　3,3-ジメチル-1-(2-ボロニルベンジル)-2-メチレンインドリン（**3.12**）の合成　-64-
３－２－５　3',3'-ジメチル-1'-(2-ボロニルベンジル)-6-ニトロスピロ(2H-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.1**）の合成　-65-
３－２－６　4-メチルフェニルボロン酸（**3.7**）の合成　-65-
３－２－７　2-(4-メチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.9**）の合成　-66-
３－２－８　2-(4-ブロモメチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.11**）の合成　-66-
３－２－９　3,3-ジメチル-1-(4-ボロニルベンジル)-2-メチレンインドリン（**3.13**）の合成　-66-
３－２－１０　3',3'-ジメチル-1'-(4-ボロニルベンジル)-6-ニトロスピロ(2H-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.2**）の合成　-67-
３－２－１１　3,3-ジメチル-1-ベンジル-2-メチレンインドリン（**3.14**）の合成　-68-
３－２－１２　3',3'-ジメチル-1'-ベンジル-6-ニトロスピロ(2H-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.3**）の合成　-68-
３－３　測定および結果　-69-
３－３－１　吸収スペクトルによる溶媒変化の検討　-69-
３－３－２　吸収スペクトルによる糖質あるいはポリオール類との錯化挙動の検討　-71-
３－３－３　吸収スペクトルによる光異性化反応の検討　-78-
３－３－４　吸収スペクトルによる光照射後の熱異性化反応の検討　-80-
３－３－５　光照射後の熱異性化反応における糖質あるいはポリオール類錯化の影響と速度論的検討　-82-
３－４　考察　-86-
３－５　結論　-90-
参考文献　-90-

第４章　光応答機能を有する選択的糖質レセプターの設計と機能 -94-
４－１　序論 -94-
４－２　フェニルボロン酸修飾アゾベンゼンの合成 -99-
４－２－１　4,4'-ビス(ヒドロキシメチル)アゾベンゼン(**4.3**)の合成 -100-
４－２－２　4,4'-ビス(クロロメチル)アゾベンゼン（**4.4**）の合成 -101-
４－２－３　4,4'-ビス[(*N*-メチル)アミノメチル]アゾベンゼン（**4.5**）の合成 -101-
４－２－４　4-カルボキシフェニルボロン酸（**4.7**）の合成 -101-
４－２－５　4,4'-ビス[4-ボロニルベンゾイル-(*N*-メチル)アミノメチル]アゾベンゼン（**4.1**）の合成 -102-
４－３　測定および結果 -102-
４－３－１　計算化学によるボロン酸基間距離に関する検討 -102-
４－３－２　吸収スペクトルによる溶媒組成変化の検討 -105-
４－３－３　吸収スペクトルによるモル吸光係数の測定 -107-
４－３－４　吸収スペクトルによる光異性化反応の検討 -109-
４－３－５　吸収スペクトルによる熱異性化反応の検討 -112-
４－３－６　吸収スペクトルによる糖質との錯化挙動の検討 -114-
４－３－７　CDスペクトルによる様々な糖質との錯化挙動の検討とその会合定数の評価 -116-
４－３－８　糖質との錯化挙動と熱異性化反応における速度論的評価の相関関係に関する検討 -126-
４－４　考察 -132-
４－５　結論 -137-
参考文献 -137-

第５章　結言 -141-

謝辞 -144-

第１章　緒言

１－１　序論

生体内には、酵素反応や抗原－抗体反応にみられるような高効率・高選択的化学反応メカニズムや、特定の物質を精密に認識・識別するメカニズムが存在する。生体系はそれ自体一つの自律的な組織として働いているが、そのような自律的な機能を実現するためには外界の状況に対応して常に生体系自身の化学反応を制御する必要がある。例えば、細菌類の多くは外界の栄養物質を常にモニターし、栄養物質の豊富な場所に移動するように運動する必要があり、さらに周囲の状況に応じて、特定の酵素を活性化したり、不活性化したりする必要もある。どの細胞がどのような速度で分裂するかを制御し、全体として調和のとれた増殖を行う必要がある。また、高等動物では甘いものを食べれば甘く、苦いものを食べれば苦く感じたり、物を見たり、音を聞いたりするいわゆる五感による高度な外界のモニターを行うこともできる。

これらいずれの機能も、外界からの、または生体内で発生するシグナルを受けて、これを分子レベルでの生体機能発現現象である化学反応に翻訳する機能ということができる。ここでシグナルを受ける実体は「分子」であり、多種多様なシグナルを混同することなく翻訳するためにはシグナルを受ける分子に厳密な認識機能が要求されることは容易に想像できる。一方、シグナルとなるものの実体も分子やイオンであることが多く、生体の認識機能の多くは分子－分子間（あるいは分子－原子間）の認識であると言える。しかし、視覚機能にみられるように光のようなエネルギーもまた重要なシグナルであり、生体系の多くはこれに対する特別なシグナル受容分子を用意している。

このような生体系で生起している反応は整然とした秩序を保って行われているが、この秩序を保っているのは生体系に含まれる分子自身がもつ分子の選別機能である。特定の機能をもつ分子が特定の目的分子とのみ相互作用を行うこの機能こそが、生物をランダムな外界と区別された自律的な組織にしているのである。今日この機能は「分子認識」と呼ばれ、生体機能分子の最小必要機能であるとみなされている。

生体分子のもつ分子認識機能の例として、生体系の防御機構に含まれる抗

原－抗体反応では、自分の生存にとって都合の悪い異物（抗原）を抗体と呼ばれるタンパク質が認識することによって始まり、その認識能力は極めて高いことがよく知られている[1)]。このことは何十万，何百万といった多種多様な分子の混合物の中から、必要なものを必要なときに必要なだけ生産し利用するという生体の驚くべき能力を表わしており、この能力は分子レベルでの分子認識機能によって支えられている。すなわち、シグナル受容分子であるレセプターが特定の物質を高度に認識する機能である。またこのような認識過程を生体内では多段階で行っており、レセプター分子によるシグナル受容から機能発現に至るプロセスは高度に洗練された分子認識機能の組み合わせによって実現されている。

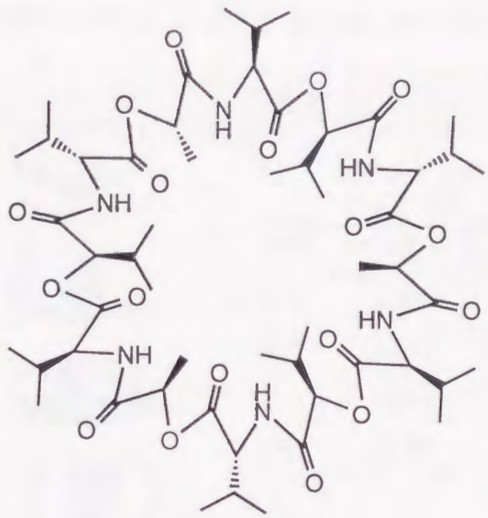
以上のように常に変化する外界から様々な物質を取り込み利用して生きている生体系にとって、分子認識はその適応性，自律性を確保するために必須の分子レベルの機構であると言える。従って、分子認識を可能とする人工レセプター分子を設計・合成し、その機能を明らかにすることが近年非常に重要視され、その研究分野はバイオミメティクス[2)]と呼ばれて著しく発展してきている。これまで生体系が示す高精度の原子・分子認識能を人工系で再現することは困難であると考えられていたが、最近の有機合成技術およびコンピューターに支援された分子設計技術等の進歩、さらには分析機器の進歩による微量検出などを組み合わせることにより、生体系の認識メカニズムに匹敵し得る人工認識システムの構築が可能になりつつある。

1－2　原子・分子認識能を有する人工レセプターの開発と現状

1－2－1　イオンを認識する人工レセプター

最も単純な認識過程は正電荷をもつ金属イオンなどの球形基質の認識過程である。天然にはバリノマイシン（**1.1**）のようなレセプター分子が存在し、これは金属イオンを内部に取り込む。そのために生体内では生体膜を通して金属イオンを輸送することができることが発見されている[3)]。一方、これまで活発に研究がなされてきた金属イオンに対する人工レセプター分子として、クラウンエーテルとその類縁体、スフェランド、カリックスアレーンなどが

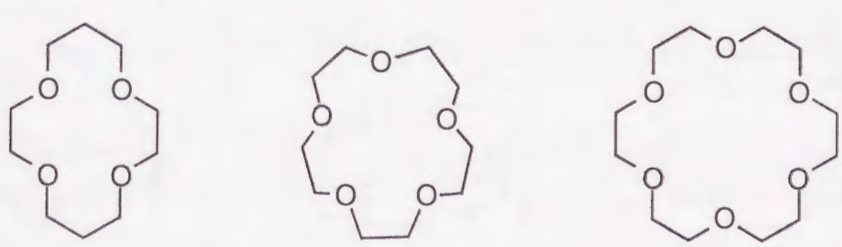
ある。



1.1

図1-1　バリノマイシンの構造

クラウンエーテルはエチレンオキシドの環状オリゴマーであり、その空孔の中心方向に集中した非共有電子対によるイオン－双極子相互作用によりアルカリおよびアルカリ土類金属イオンを捕捉することができる[4)]。クラウンエーテルの一般的な特徴として、1）金属塩を有機溶媒に可溶化する、2）アニオンを裸にして活性化する、3）相間移動触媒として働く、4）イオン輸送体として働くことなどがあげられるが、中でも注目すべき点はアルカリ金属イオンと錯形成するときに顕著なイオン選択性を示すことである[5)]。これはアルカリ金属イオンの大きさとクラウンエーテルの内孔の大きさとの関係によるものと考えられている（表1-1）[6)]。例えば、14-クラウン-4（**1.2**）はLi^+を、15-クラウン-5（**1.3**）はNa^+を、18-クラウン-6（**1.4**）はK^+を選択的に捕捉する[5),6)]。



1.2　　**1.3**　　**1.4**

図1-2　クラウンエーテルの構造

しかし、イオンの大きさがクラウンエーテルの内孔の大きさと一致しない場合には図1-3に模式的に示すようにその錯体は様々な形態を取り得る[7]。

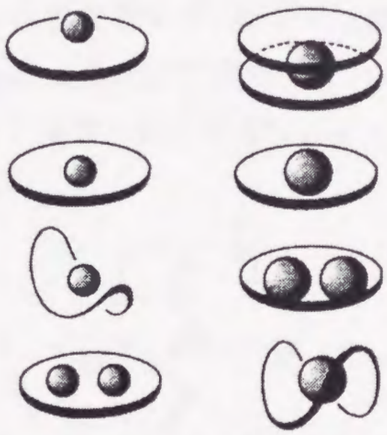
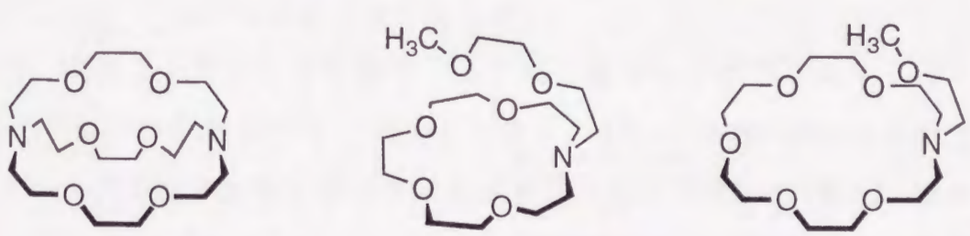


図1-3　クラウンエーテルの錯体構造の模式図

表1-1　アルカリ金属イオン直径とクラウンエーテル内孔径

イオン	イオン直径/Å	クラウンエーテル	内孔径/Å
Li^+	1.36	**1.2**	1.2～1.5
Na^+	1.94	**1.3**	1.7～2.2
K^+	2.66	**1.4**	2.6～3.2
Cs^+	3.34		

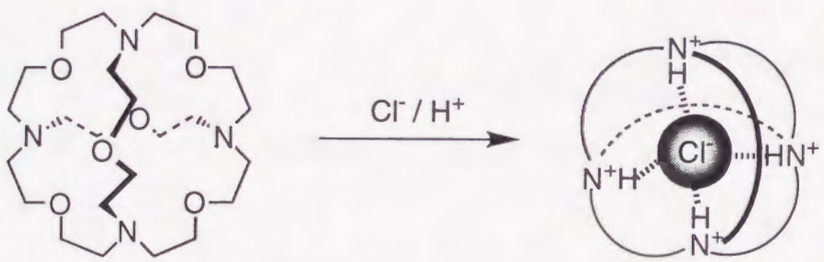
図1-3に示す2：1（クラウンエーテル：イオン）錯体や1：2錯体はクラウンエーテルの内孔に一致しないイオンを弱いながらも包接することになり、しばしばイオン選択性の低下を招く。その問題点の解決策として、三次元的にイオンを包み込んでしまう方法論が取り入れられ、Lehnら[8]によりクリプタンドと呼ばれる二環性の化合物**1.5**が報告された。この化合物**1.5**は内孔の大きさに一致するK^+を三次元的に包接し、極めて高い錯形成能を示した（$\log K = 9.75$）。また配位性の側鎖を有する化合物**1.6**，**1.7**もGokelら[9]によって合成され、単環式のクラウンエーテルと比較して高い錯形成能を示すことが報告された。これらのような分子骨格の多環化はホスト分子がとり得るコンフォメーションの数を減少させ、エントロピーを低下させることを意味している。



1.5　　**1.6**　　**1.7**

図1-4　クリプタンドとその非環状類縁体の構造

このようにゲスト分子の形に合わせてホスト分子を組織化することで、錯形成の強化効果を得ることができる。例えば、図1-5に示すようなより高度な組織的構造をもつクリプタンドを用いたアニオン認識が報告されている[10]。これは三環性のクリプタンドである化合物**1.8**へ酸性条件下でプロトンを付加させることによって強力なカチオン性雰囲気を作り出すことに起因するものであり、静電的相互作用によるアニオン性ゲストの認識であった。

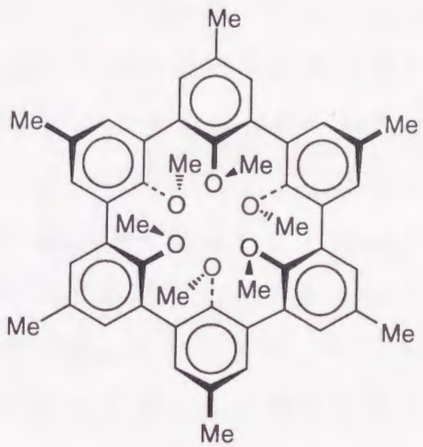


1.8

図1-5　より高度な組織的構造をもつクリプタンドによるアニオン認識

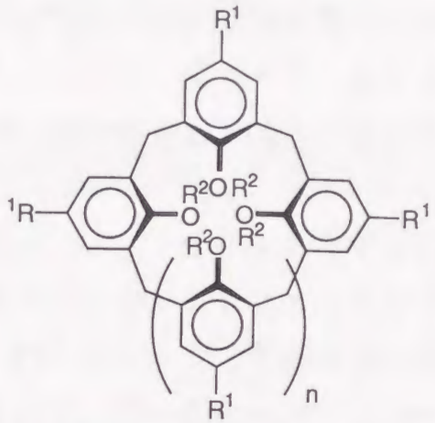
クラウンエーテルのようにホスト分子が柔軟な構造であれば様々な様式でイオンを捕捉し、結果としてイオン選択性が低下する。従って、ホスト分子全体を剛直な構造にしてコンフォメーションの自由度を少なくすれば、内孔の大きさに合致するゲストのみを認識するはずである。事前組織化と呼ばれるこの方法論はCramら[11]によって精力的に研究されている。その代表例が化合物**1.9**であり、6個のアニソール単位を環状に結合させたスフェランドと呼ばれる化合物である[12]。中央に突き出した6個のエーテル酸素は交互上下に位置し、分子中央に空間を形成している。化合物**1.9**は空間内に入ることのできるLi^+およびNa^+と極めて安定な錯体を形成するが、それらより大きなイオンK^+, Rb^+, Cs^+とは全く錯形成しない。

また、剛直なホスト分子を構築するために選ばれた別のユニットはカリックス[n]アレーンである[13]。このカリックスアレーンの固い構造を土台として、フェノール部位の水酸基に配位性の側鎖を導入した化合物**1.10**, **1.11**が合成され、それぞれNa^+, Cs^+に対して高い錯形成能と選択性を示すことが報告されている[14),15]。



1.9

図1-6　スフェランドの構造



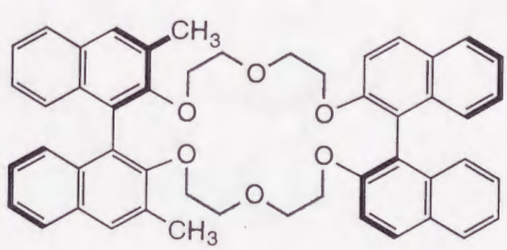
1.10: n=1, R^1=*t*-Bu, R^2=CH_2COOEt
1.11: n=3, R^1=*t*-Bu, R^2=CH_2COOEt

図1-7　カリックス[n]アレーンの構造

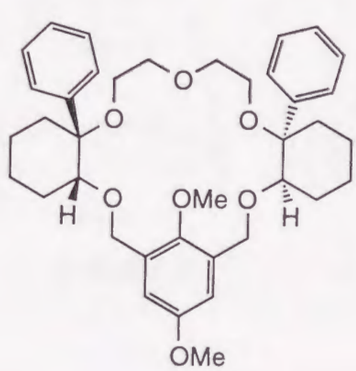
1－2－2　有機分子を認識する人工レセプター

生体内における酵素反応に代表されるように、天然のレセプター分子は厳密な分子認識により特定の基質に対して優れた選択性を示す[1),2)]（基質特異性）。そこで、人工系においてこのような酵素類似の選択的な基質分子の取り込みを可能にする人工レセプターが分子設計されてきた。

Cramら[16)]は一級アンモニウム塩が18-クラウン-6と錯体を形成することに着目し、不斉を有するクラウンエーテルを用いて一級アンモニウム塩やアミノ酸塩の対掌体の識別を報告している。ここでホスト分子へ導入された不斉源はビナフチル基であった。化合物**1.12**はゲスト分子の一方の鏡像体でそ



1.12

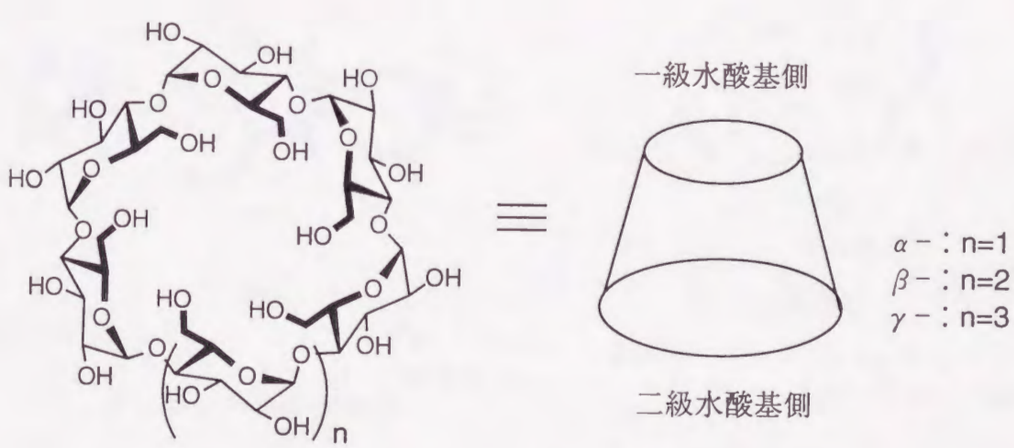


1.13

図1-8　鏡像体識別能を示すクラウンエーテル

の置換基とクラウンエーテルのナフタレン環との間に立体的障害が生じることに由来して優れた鏡像体識別能を示した。また、この考えに基づき最近では苗村ら[17]により合成された不斉クラウンエーテル**1.13**などが報告されている。

また、疎水場を構築し、その疎水的空孔へゲスト分子を包接することができるホスト化合物として、シクロデキストリンやシクロファンなどがよく用いられている。シクロデキストリン（**1.14**）はデンプンを酵母で加水分解することによって得られる環状オリゴ糖であり、その構造はグルコピラノース単位がα-1,4位で結合している[18]。グルコピラノース単位の数により、α-（六量体），β-（七量体），γ-（八量体）シクロデキストリンと呼ばれる。図1-9に示すようにシクロデキストリンは筒型をしており、筒の内側は水素原子で覆われているため疎水的であるが、親水性の水酸基が筒の上下に突き出しているためシクロデキストリン自体は水溶性である。従って、シクロデキストリンは酵素の疎水ポケットに似て、空孔に芳香族や脂肪族などの様々な有機分子を主に疎水的相互作用により取り込む[18),19]。例えば、α-シクロデキストリンはニトロベンゼンを強く包接する[20]。しかし、ニトロ基のオルト，メタ，パラ位に置換基を導入することで、α-シクロデキストリンのゲスト包接能は低下する[21]。これはシクロデキストリンがゲスト分子の大きさに応じた分子認識を行っていることを表わしている。



1.14

図1-9　シクロデキストリンの構造

疎水場を構築できる別のホスト化合物にシクロファンがある。これは芳香環を環状に結合させた化合物である。小さなシクロファンは有機分子を包接するような空孔をもたないが、複数の芳香環を結合させてできる大きなシクロファンには有機分子を包接できる空孔が存在する。この空孔は芳香環で構成されているため、糖質からなるシクロデキストリンよりさらに空孔内が疎水的である。親水性のアンモニウムイオンなどを組み込みホスト分子を水溶性とすれば、疎水的相互作用により空孔の大きさに一致する様々な有機分子を捕捉する[22]。実際、1980年にテトラアザシクロファンである化合物**1.15**の四塩酸塩とデュレンとの1：1錯体のX線結晶構造解析により、シクロファンがその疎水的空孔にゲスト分子を取り込み、包接錯体を形成することが証明された[23]。さらに長鎖アルキル基の導入やシクロファンの多環化（かご型シクロファン）により、分子骨格中に形成される疎水的空孔の拡張や剛直化も可能である[24]。また、シクロファンの一種であるカリックス[n]アレーンも同様な空孔を有し、様々な有機分子を包接する[25]。例えば、ヘキサスルホン化されたカリックス[6]アレーン**1.16**はピレン，2-アミノナフタレン，フェノールブルーなどを包接することが報告されている[26]。

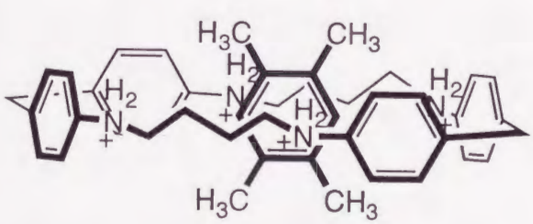
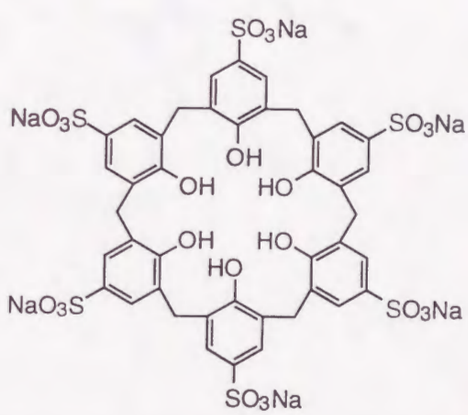


図1-10　1,6,20,25-テトラアザ[6,1,6,1]パラシクロファン**1.15**四塩酸塩とデュレンとの錯体構造



1.16

図1-11　ヘキサスルホン化されたカリックス[6]アレーンの構造

これらの疎水場を構築し、空孔の大きさに応じて有機分子を包接するホスト化合物を用いた分子認識に関する興味ある最近の話題としては、フラーレ

ン（C_{60}）の包接をあげることができる。C_{60}は1985年に発見[27]されて以来、分子の形状の美しさや超伝導性のために注目を集めている分子である。C_{60}は大きな空孔をもつγ-シクロデキストリンやカリックスアレーンと錯体を形成することが報告されている[28)~32)]。γ-シクロデキストリンの場合、2分子のγ-シクロデキストリンがC_{60}をはさみ込んだ構造をしており、シクロデキストリンの水溶性のためにC_{60}を水に可溶化している[28)]。また、カリックス[8]アレーンの場合、錯体形成によりC_{60}をカリックス[8]アレーンが包み込み、本来C_{60}が不溶な有機溶媒（クロロホルム）に可溶化させる。これを応用して、C_{60}および高次フラーレンを含む炭素ススよりC_{60}が精製可能である[29)]。

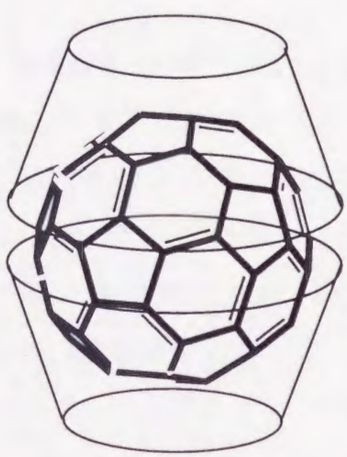


図1-12　γ-シクロデキストリンとC_{60}との錯体

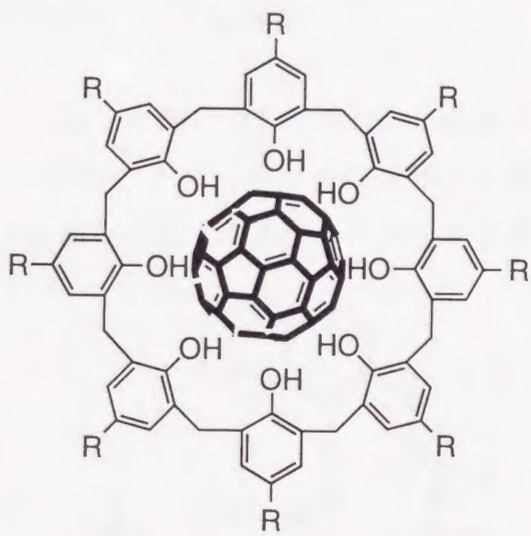


図1-13　カリックス[n]アレーンとC_{60}との錯体

1－2－3　多重認識を行う人工レセプター

生体系にみられる分子認識はただゲスト分子とホスト分子の間に錯体形成平衡が存在するというだけでなく、このような相互の空間的な性質をも識別していることにその特徴があり、本質的に複数個の相互作用点をもつ多重認識系を形成している。例えば精密な認識を行う分子の代表格である酵素は基質特異性・高選択性を実現するために、疎水的相互作用，静電的相互作用，配位結合，イオン－双極子相互作用，水素結合など様々な相互作用を複数し

かも同時に利用する多重認識を行っている。これに習い、人工系でもゲスト分子の大きさ，官能基の種類，数，空間的配列に応じたミクロ環境をもつホスト化合物が分子設計されている（図1-14）。

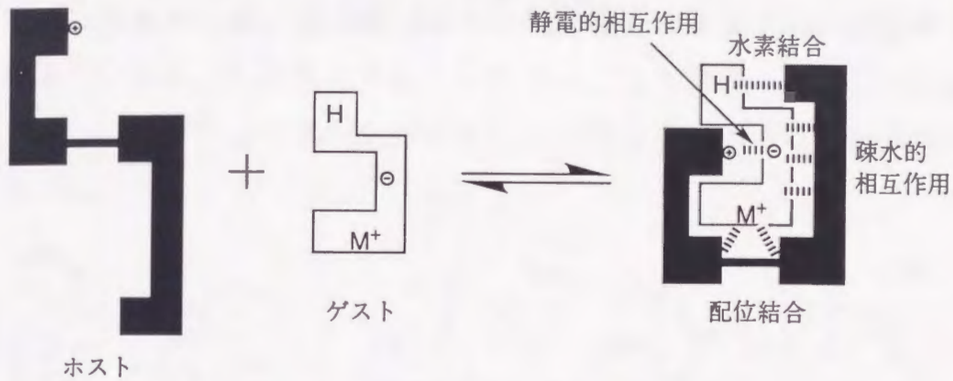


図1-14　多点相互作用に基づく分子認識

de Mendozaら[33]は、カルボン酸アニオンと強く相互作用し、しかも不斉を識別し得る不斉グアニジニウムイオン部位、スタッキング相互作用の期待できるナフタレン部位、一級アンモニウム塩を捕捉するクラウンエーテル部位を同時に有する化合物**1.17**を合成し、アミノ酸の抽出を行っている。(S,S)-**1.17**を用いると、アミノ酸水溶液からL-トリプトファンやL-フェニルアラニンのようなπ-スタッキング可能な芳香環を有するアミノ酸は抽出されるが、芳香環をもたないL-バリンは全く抽出されない。また、これらのアミノ酸のD-異性体は全く抽出されない。さらに鏡像体の(R,R)-**1.17**を用いると、D-トリプトファンは抽出されるが、L-トリプトファンは抽出されない。これらにより、不斉な化合物**1.17**は不斉識別能を示すことが証明されている。

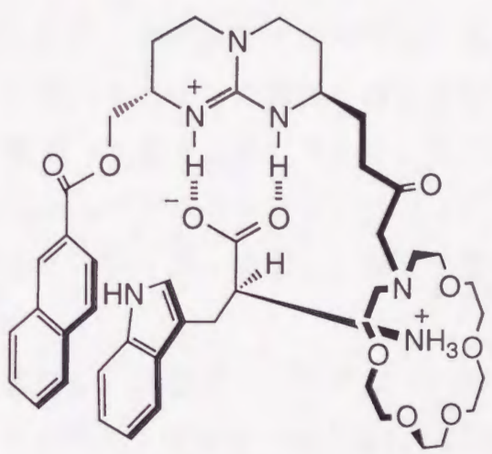
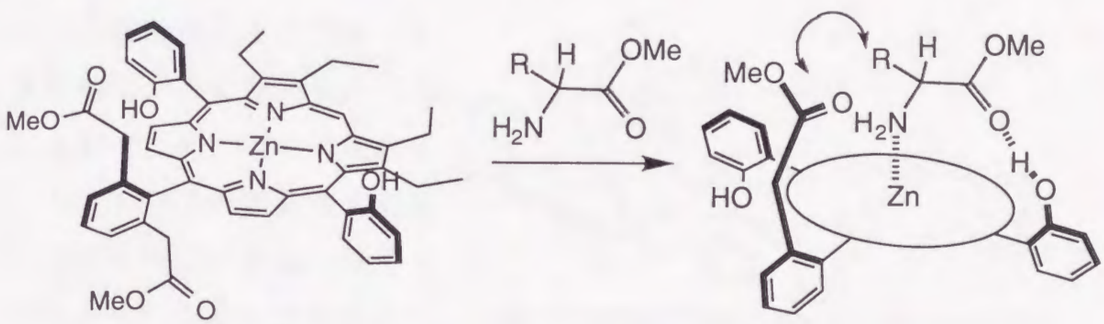


図1-15　(S,S)-**1.17**とL-トリプトファンとの錯体構造

生越ら[34]は不斉ポルフィリンをホスト分子として用い、アミノ酸エステルの不斉認識の研究を行った。図1-16に不斉ポルフィリン**1.18**の構造を示す。

化合物**1.18**は導入された置換基がポルフィリンの対称性を制御しているのみならず、ゲスト分子の認識部位としても働くように設計されている。この不斉認識ではまず亜鉛イオンとアミノ酸エステルのアミノ基との配位結合によりゲスト分子が捕捉され、次いでフェノール水酸基とカルボニル基との水素結合でゲスト分子の回転が束縛され、その結果、アミノ酸エステルの側鎖とカルボメトキシ基との立体反発などが生じ、三重認識による不斉認識が可能となっている。

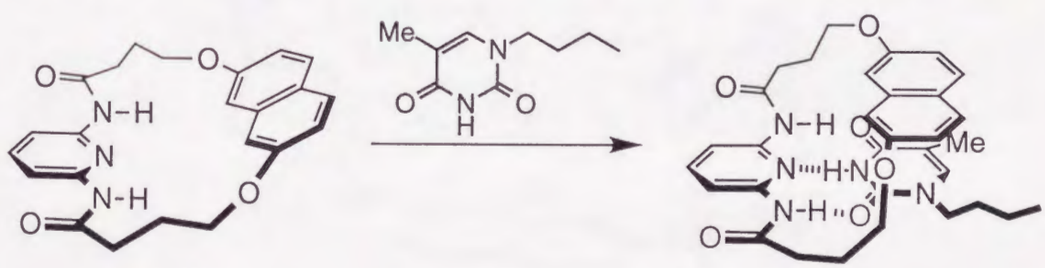


1.18

図1-16　不斉ポルフィリン**1.18**の構造と錯体の模式図

また生体機能を担う核酸塩基やヌクレオシド，ヌクレオチドを認識する人工レセプターも開発されている。生体内におけるこれらの認識には水素結合と芳香環π-スタッキングの組み合わせが重要な役割を果たしている。例えば、DNAの二重らせん構造は相補性水素結合によるアデニン－チミン間およびグアニン－シトシン間の塩基対とプリン塩基とピリミジン塩基との間の芳香環π-スタッキングにより安定化している。

Hamiltonら[35]はチミンと相補的に水素結合し得るジアミノピリジン部位と芳香環π-スタッキングに関わるナフタレン環とを併せもつ化合物**1.19**を合



1.19

図1-17　Hamiltonらの核酸塩基レセプターによる1-ブチルチミンと錯形成

成し、核酸塩基の認識を行っている。NMR滴定やX線構造解析の結果、化合物**1.19**は1-ブチルチミンと錯体を形成し、錯形成の前後でナフタレン環は回転してチミン環とほぼ平行になるまで近づくことが確かめられている。このように化合物**1.19**は酵素が基質を取り込むときにみられる構造変化を伴いながらゲスト分子を捕捉する誘導適合の挙動を示している。

生越ら[36]はポルフィリン面上に分子認識のポケットを作ることができる化合物**1.20**を用い、ヌクレオシドの認識を検討している。このヌクレオシド認識では核酸塩基と水酸基との水素結合が重要な役割を果たしており、同一方向に配向したホスト分子の認識基が相補的かつ協同的にゲスト分子を捕捉していることが確かめられている。

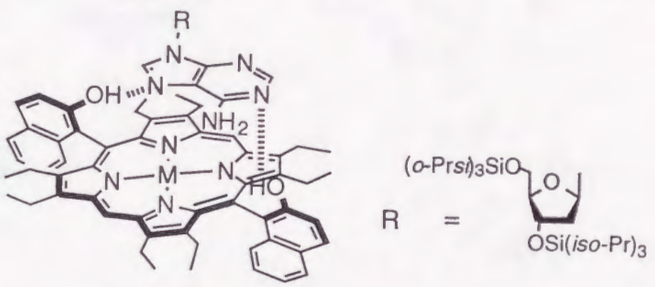


図1-18　生越ら核酸塩基レセプター**1.20**とアデノシン誘導体との錯体構造

核酸塩基捕捉部位としてケンプ酸を利用したホスト化合物も報告されている[37),38)]。2個のケンプ酸イミドをアミド結合でナフタレンスペーサーに結合させた化合物**1.21**では、分子中央に集中した二箇所のイミド部分による相補的水素結合とナフタレン環のπ-スタッキングによりアデニン誘導体を認識している[37)]。また、ヌクレオチドの一種であるAMP誘導体を認識するために、アデニン部位と水素結合できる2個のケンプ酸イミドをカルバゾールスペーサーの両端に固定し、さらにリン酸エステルを強く捕捉するグアニジニウム誘導体をカルバゾールに結合させた化合物**1.22**が合成されている[38)]。実際に、

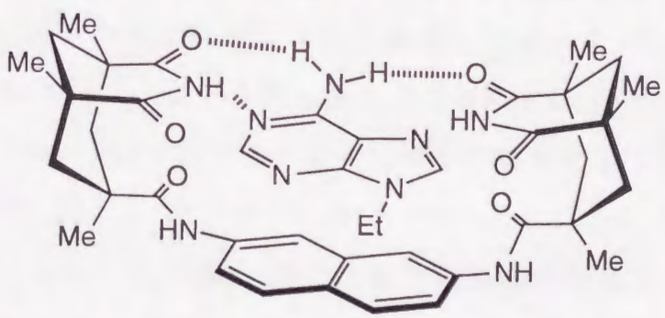
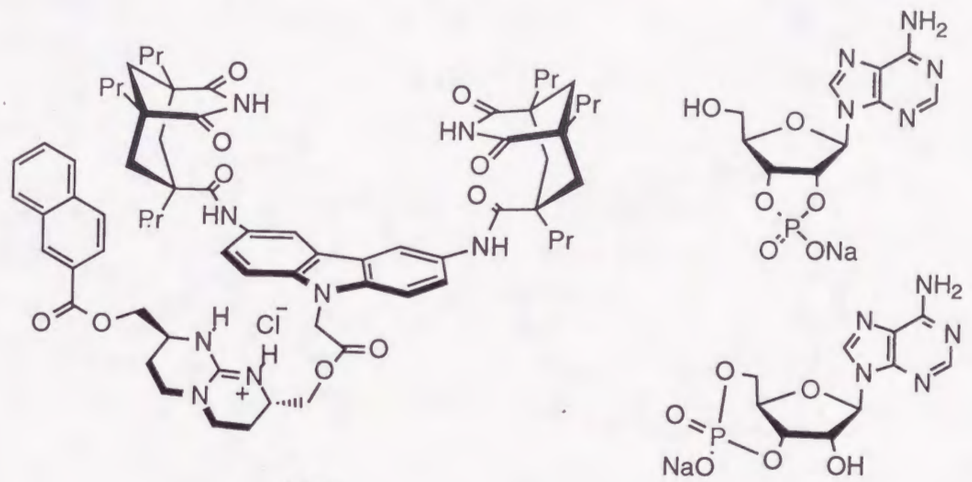


図1-19　ケンプ酸を用いた人工レセプター**1.21**による核酸塩基の認識

化合物**1.22**は図1-20中に示すAMP誘導体を選択的に抽出している。このときには、アデニン捕捉部位（ケンプ酸イミド）とリン酸エステル捕捉部位(グアニジニウム）の両方がAMP誘導体の認識に関与していることが示されている。

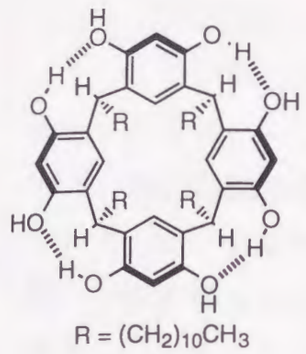


1.22

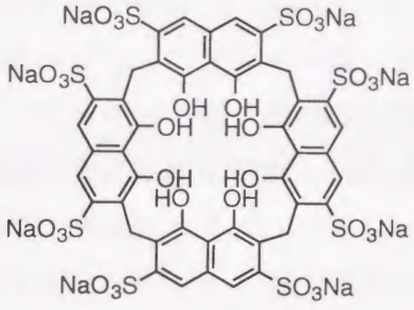
図1-20　ケンプ酸を用いたヌクレオチドレセプターとゲスト分子

最近では、アミノ酸や核酸の他の生体関連物質である糖質に対する人工レセプターの研究が数多くなされている。糖質は生物にとって重要なエネルギー源として欠くことのできないものであるばかりでなく、細胞－細胞間の情報伝達，血液型の支配など生体内で重要な役割を演じている。従って、糖質がいかに生体内で認識されているかを明らかにすることは、生体機能を知るうえでも、またこれを応用するうえでも重大な課題である。

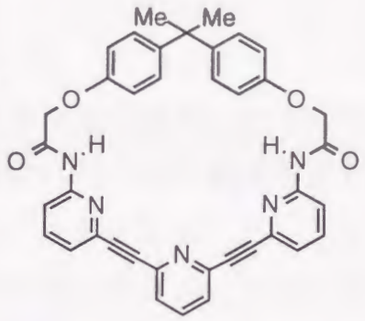
図1-21に糖質に対する様々な人工レセプターの構造を示す。これらのレセプターは主に協同的な水素結合によって糖質を捕捉している。すなわち、化合物**1.23**，**1.24**ではフェノール性水酸基による水素結合[39),40)]によって、化合物**1.25**，**1.26**，**1.32**ではアミド基やピリジン窒素による水素結合[41)~43)]よって、化合物**1.27**，**1.28**ではステロイド由来の水酸基やアミド基による水素結合[44),45)]よって、化合物**1.29**では糖質由来の水酸基による水素結合[46)]よって、化合物**1.30**，**1.31**ではリン酸エステル基による水素結合[47),48)]よって様々な糖質を捕捉していると報告されている。



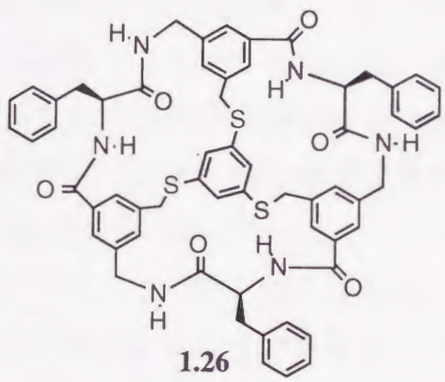
1.23



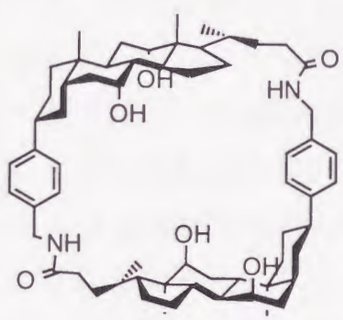
1.24



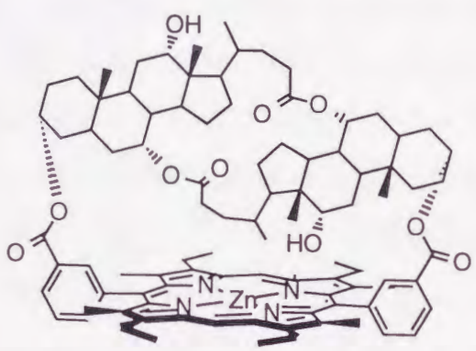
1.25



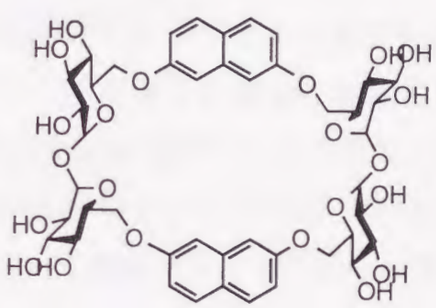
1.26



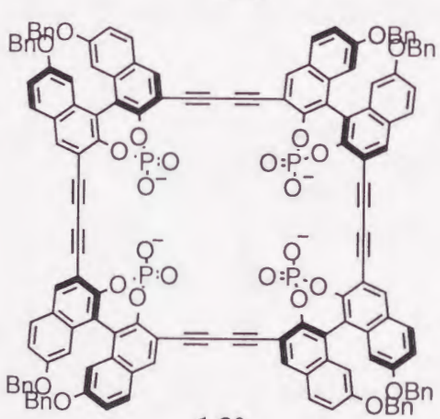
1.27



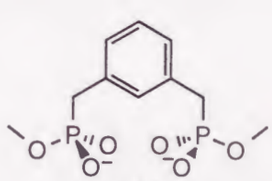
1.28



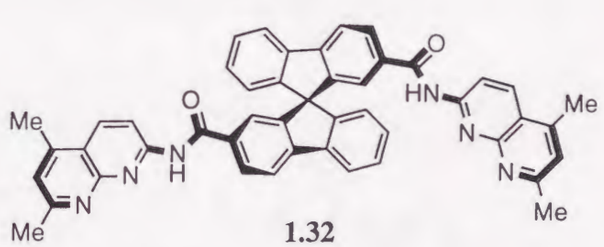
1.29



1.30



1.31



1.32

図1-21　糖質に対する様々な人工レセプター

1－3　問題提起と本論文の構成

1－2項で述べてきたように、生体系類似の高効率・高選択的な分子認識能を有する人工レセプターの分子設計に関する研究が近年活発に行われている。この高精度認識素子を人工的に設計・製作するには、まず認識対象となるゲスト分子を選択的に結合する「インターフェイス」が必要となる。また、高い選択性と高い会合性を実現するためには相互作用点を多点にすることが望ましい。すなわち、多点で相互作用することにより、正確な分子認識が行え、かつ相互作用点が多いことでエンタルピー的に有利となり大きな会合能力を実現することが可能である。前述した人工レセプターにおける分子認識では、主に水素結合が中心的な役割を果たしており、水素結合性官能基を二次元あるいは三次元的に空間配置させることで、高精度なゲスト分子の認識が行われている[33)～48)]。しかし、水のような高誘電率でしかもプロトン性の溶媒中では、この種の相互作用はほとんど減殺されてしまうため、水以外のほとんどの溶媒に不溶である生体関連物質に適用することはたいへん困難である。実際に、生体系では極性溶媒である水中で分子認識が高効率・高選択的に行われている。従って、生体系と同様な条件、すなわち水中において溶媒の影響を受けることなくゲスト分子の空間配置を高精度に認識するためには、共有結合による錯体形成を利用した認識系が有効であると考えられる。

ボロン酸はシス-ジオール構造を有する化合物と図1-22に示すように速やかに反応して、環状エステルを生成するという事実は古くから知られている[49)]。この反応は水中においても容易かつ速やかに進行する。このことより、ボロン酸は水溶液中における分子認識サイトとして利用可能であると期待される。

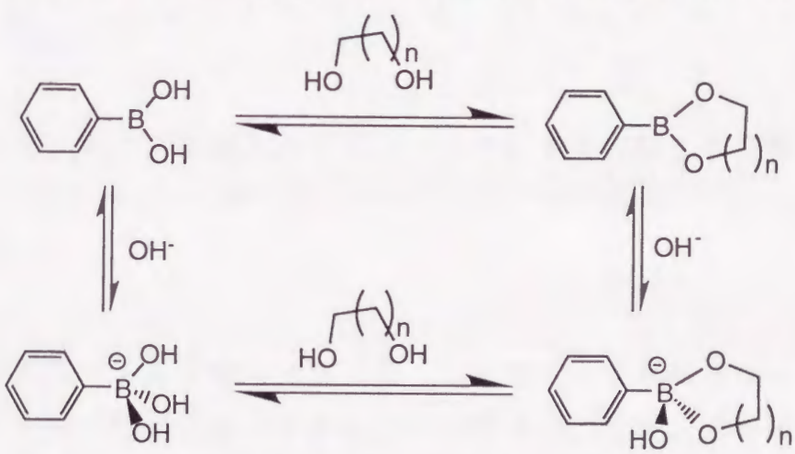


図1-22　フェニルボロン酸とジオールとの錯化過程

生体関連物質の中で、タンパク質や脂質とならんで生体を構成する主要な物質の一つとして糖質が存在している。糖質は、エネルギー源，キチンやセルロースのような骨格の構成材料，自己・非自己の認識，細胞間の情報伝達など生物学的過程における中心的な役割を果たしている。糖質の大きな特徴はその構造の多様性にあり、基本骨格は同一で水酸基の配向のみが異なる多くの異性体が存在する[50]。このように糖質の構造中には多くの水酸基が存在し、先に述べたボロン酸と共有結合を形成し得るシス-ジオール構造をも有する。実際、図1-22に示すような反応は糖質分子中のシス-ジオール部位についても同様に起こり、これを利用して糖質の水酸基の保護基として用いられた例も報告されている[51]。

これらの事実より、糖質を分子認識の対象とする場合、ボロン酸が有効な「インターフェイス」となり得ると考えられる。

一方、分子が認識素子に結合した場合、この変化を物理シグナルに情報変換し、簡便な方法で読み出すことが重要である。ボロン酸は糖質と錯化すると、1）親水性が向上する，2）糖質由来の不斉が導入される，3）ホウ素原子の酸性度が上昇する，4）その結果ボロン酸が解離し、負電荷が生じるなどの特徴が付与された糖質誘導体となる。従って、これらの化学的な変化を物理シグナルに変換できるようにボロン酸誘導体を分子設計すれば、糖質との錯化過程をスペクトル的方法で読み出すことが可能となる。

そこで本研究では糖質を分子認識の対象とし、分子認識サイトであるインターフェイスとしてフェニルボロン酸を、一方、情報伝達素子として様々な色素化合物を用い、色素のスペクトル特性を利用した糖質情報の読み出しの検討を行った。

本論文は全5章より構成されている。以下に本章（第1章）を除いた各章の概要を述べる。

第2章

ジオール基を有する糖類に対して相互作用部位となり得るフェニルボロン酸を蛍光性の化合物であるナフタレン一分子中に二箇所しかも短距離に導入

した化合物を用いて、選択的に糖類を認識するホスト分子の構築を行った。その糖類認識過程を主に蛍光スペクトル，CDスペクトルにより検討することで、二箇所のボロン酸部位が協同的に作用し、糖類検知における選択性が生じることが明らかとなった。また、ボロン酸基間距離と糖類認識の選択性との関係を議論した。

第3章

フォトクロミズムを示すスピロベンゾピランにフェニルボロン酸を導入した化合物を用いて、ボロン酸部位による糖質あるいはポリオール類の認識を行い、この認識情報をピラン環の開閉裂に伴う異性化反応の制御により色の変化として読み出すホスト分子の構築を行った。その結果、スペクトル的に感知できる官能基を有していない糖質やポリオール類の認識過程が視覚的にも識別できるほどの色の変化として読み出せることを示した。

第4章

二箇所のボロン酸基を協同的に作用させることで選択的な糖質の検知が行えるという第2章の結果を踏まえ、光異性化可能なアゾベンゼンの二箇所にフェニルボロン酸を導入し、光という外部刺激によりボロン酸基間距離を変化させることで選択的な糖質の認識に光応答機能を持たせたホスト分子の構築を行った。その糖質認識過程をCDスペクトルにより検討することで、アゾベンゼン部位の光異性化により糖質の選択的認識をコントロールできることを明らかにした。また、糖質との錯化挙動とアゾベンゼン部位の熱異性化反応における速度論的評価との関係を吸収スペクトルにより検討し議論した。

第5章

本研究で得られた成果を総括し、全般にわたる考察を行った。

参考文献

1) 米田文郎, 小倉治夫, 富士　薫, 生命有機化学, 講談社, 東京 (1993).
2) a) 小宮山真, 荒木孝二, 分子認識と生体機能, 朝倉書店, 東京 (1989);

b) 黒田裕久, 西谷孝子, バイオミメティクス概論, コロナ社, 東京 (1994).
3) 上野昭彦, 超分子の科学, 産業図書, 東京 (1993).
4) C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 7017 (1967).
5) 小田良平, 庄野利之, 田伏岩夫, クラウンエーテルの化学, 化学同人, 京都 (1978).
6) H. K. Frendorff, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 600 (1971).
7) N. S. Poonia, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 1012 (1974).
8) a) J. -M. Lehn, J. P. Sauvage, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 6700 (1975); b) J. -M. Lehn, *pure Appl. Chem.*, **50**, 871 (1978).
9) R. A. Schultz, D. M. Dishong, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 625 (1982).
10) E. Graf, J. -M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 6403 (1976).
11) D. J. Cram, K. N. Trueblood, *Top. Curr. Chem.*, **98**, 43 (1981).
12) a) D. J. Cram, T. Kaneda, R. C. Helgeson, G. M. Lein, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6752 (1979); b) D. J. Cram, T. Kaneda, R. C. Helgeson, S. B. Brown, C. B. Knobler, E. Maverick, K. N. Trueblood, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3645 (1985); c) G. M. Lein, D. J. Cram, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1982**, 301.
13) C. D. Gutsche, *Acc. Chem. Res.*, **16**, 161 (1983).
14) S. -K. Chang, I. Cho, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1986**, 211.
15) S. Shinkai, H. Koreishi, K. Ueda, T. Arimura, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 6371 (1987).
16) S. C. Peacock, D. J. Cram, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1976**, 282.
17) M. Sawada, Y. Takai. H. Yamada, S. Hirayama, T. Kaneda, T. Tanaka, K. Kumada, T. Mizooku, S. Takeuchi, K. Ueno, K. Horose, Y. Tobe, K. Naemura, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7726 (1995).
18) 戸田不二緒, 上野昭彦, シクロデキストリン, 産業図書, 東京 (1995).
19) a) A. Harada, M. Kamachi, *Macromolecules*, **23**, 2821 (1990); b) A. Harada, J. Li, M. Kamachi, *Nature*, **356**, 325 (1992).
20) K. Harata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 1416 (1977).
21) K. Harata, H. Uedaira, J. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 1627 (1978).
22) a) I. Tabushi, K. Yamamura, *Top. Curr. Chem.*, **113**, 145 (1983); b) Y. Murakami, *Top. Curr. Chem.*, **115**, 107 (1983).

23) K. Odashima, A. Itai, Y. Iitaka, K. Koga, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 2504 (1980).
24) 村上幸人, 菊地純一, 有合化, **47**, 484 (1989).
25) S. Shinkai, *Tetrahedron*, **49**, 8933 (1993).
26) S. Shinkai, S. Mori, H. Koreishi, T. Tsubaki, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2409 (1986).
27) H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Cual, R. E. Smalley, *Nature*, **318**, 162 (1985).
28) a) T. Andersson, K. Nilsson, M. Sundahl, G. Westman, O. Wennerström, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 604; b) Á. B. Barcza, T. Braun, L. Barcza, *Supramol. Chem.*, **4**, 131 (1994); c) Z. Yoshida, H. Takekuma, S. Takekuma, Y. Matsubara, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **33**, 1597 (1994).
29) a) T. Suzuki, K. Nakashima, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **1994**, 699; b) J. L. Atwood, G. A. Koutsantonis, C. L. Raston, *Nature*, **368**, 229 (1994).
30) C. L. Raston, J. L. Atwood, P. J. Nichols, I. B. N. Sudria, *Chem. Commun.*, **1996**, 2615.
31) a) K. Araki, K. Akao, A. Ikeda, T. Suzuki, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 73 (1996); b) A. Ikeda, M. Yoshimura, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 2107 (1997).
32) T. Haino, M. Yanase, Y. Fukazawa, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **36**, 259 (1997).
33) A. Galán, D. Andreu, A. M. Echavarren, P. Prados, J. de Mendoza, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1511 (1992).
34) a) T. Mizutani, T. Ema, T. Tomita, Y. Kurode, H. Ogoshi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 520; b) T. Mizutani, T. Ema, T. Tomita, Y. Kurode, H. Ogoshi, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 4240 (1994).
35) A. D. Hamilton, D. V. Engen, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5035 (1987).
36) H. Ogoshi, H. Hatakeyama, J. Kotani, A. Kawashima, Y. Kuroda, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 8181 (1991).
37) a) J. Rebek, Jr., B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, S. Jones, D. Nemeth, K. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5033 (1987); b) T. Benzing, T. Tjivikua, J. Wolfe, J. Rebek, Jr., *Science*, **242**, 266 (1988); c) B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, K. S. Jeong, S. Jones, K. Parris, K. Williams, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1082 (1989); d) K. S. Jeong, T.

Tjivikua, A. Muehldorf, G. Deslongchamps, M. Famulok, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 201 (1991).

38) G. Deslongchamps, A. Galán, J. de Mendoza, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **31**, 61 (1992).

39) a) Y. Aoyama, Y. Tanaka, S. Sugahara, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 5397 (1989); b) Y. Kikuchi, Y. Tanaka, S. Sutarto, K. Kobayashi, H. Toi, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 10302 (1992); c) K. Kobayashi, Y. Asakawa, Y. Kato, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 10307 (1992); d) Y. Kikuchi, H. Toi, Y. Aoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 1856 (1993).

40) B. -L. Poh, C. M. Tan, *Tetrahedron*, **49**, 9581 (1993).

41) M. Inouye, T. Miyake, M. Furusyo, H. Nakazumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 12416 (1995).

42) R. Liu, W. C. Still, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 2573 (1993).

43) J. Cuntze, L. Owens, V. Alcázar, P. Seiler, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta*, **78**, 367 (1995).

44) a) R. P. Bonar-Law, A. P. Davis, B. A. Murray, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **29**, 1407 (1990); b) K. M. Bhattarai, R. P. Bonar-Law, A. P. Davis, B. A. Murray, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 752.

45) R. P. Bonar-Law, J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 259 (1995).

46) a) J. M. Coterón, C. Vicent, C. Bosso, S. Penadés, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 10066 (1993); b) J. Jiménez-Barbero, E. Junquera, M. Martín-Pastor, S. Sharma, C. Vicent, S. Penadés, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 11198 (1995).

47) a) S. Anderson, U. Neidlein, V. Gramlich, F. Diederich, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **34**, 1596 (1995); b) U. Neidlein, F. Diederich, *Chem. Commun.*, **1996**, 1493.

48) G. Das, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 11139 (1994).

49) a) J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.*, **24**, 796 (1959); b) G. Wulff, *pure Appl. Chem.*, **54**, 2093 (1982); c) G. Wulff, H. -G. Poll, *Makromol. Chem.*, **188**, 741 (1987).

50) 阿武喜美子, 瀬野信子, 糖化学の基礎, 講談社, 東京 (1994).

51) a) W. V. Dahlhoff, A. Geisheimer, R. Köster, *Synthesis*, **1980**, 935; b) W. V. Dahlhoff, R. Köster, *Synthesis*, **1980**, 936.

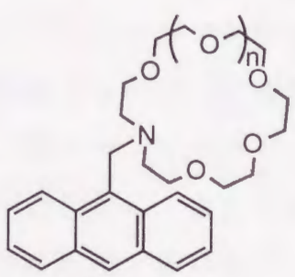
第２章　蛍光性分子を用いた選択的な糖質レセプターの設計と機能

２－１　序論

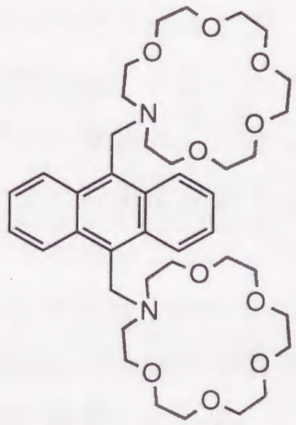
一般に、物質を分析するには、その物質あるいはプローブとなる化合物の様々なスペクトル変化をとらえることが多く、特に分光光度法を用いた認識情報の読み出しは迅速で簡便な手段として重要かつ有用である。この分光光度法の中でも蛍光スペクトルを用いるセンシングシステムは非常に高感度であるため、化学微量分析において広く利用されており、近年、イオンや中性分子についての蛍光センサーのデザインに関心が集まっている。

先に蛍光強度変化を誘起させるのにしばしば用いられるシステムとして、光誘起電子移動機構（photoinduced electron transfer：PET）を利用した金属イオンや有機分子を検出するPETセンサーが多く報告されている[1),2)]。例えば、de Silvaら[3)]は、アザクラウンエーテルを蛍光発色団であるアントラセンに共有結合させた化合物**2.1**を用いてアルカリ金属のアザクラウンエーテル部位への錯化に伴う蛍光強度の増大を報告している。また彼らは二つのアザクラウンエーテル部位を併せもつ化合物**2.2**を合成し、蛍光強度変化によるジアンモニウムカチオンの選択的検知に成功している[4)]。

またCzarnikらはポリカチオン部位をもつアントラセン誘導体を用いて、リン酸類の検知を検討している。化合物**2.3**はオルトリン酸と、化合物**2.4**はピロリン酸と１：1錯体を形成し、それに伴う蛍光強度の増大を起こすことが報告されている[5),6)]。

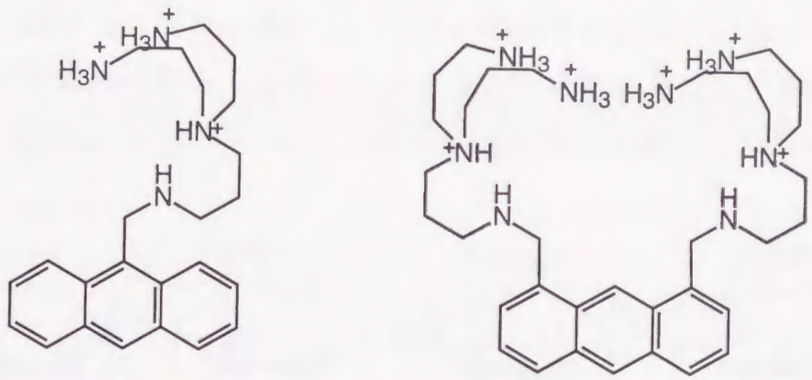


2.1



2.2

図2-1　アザクラウンエーテル部位をもつアントラセン誘導体



2.3　　2.4

図2-2　ポリカチオン部位をもつアントラセン誘導体

これらのレセプター分子は、蛍光発色団とレセプター部位が短いスペーサー（この場合メチレン）で結ばれた構造を有しており、ゲスト分子を認識する前後でレセプター分子の酸化還元電位が変化する。その結果、PET過程が変化することを利用してゲスト分子認識過程を蛍光強度変化として高感度で検知できる。

一方、近年では人工レセプター分子を用いて、生物学的に重要な物質を認識する試みが多くなされている。生体系においては、高精度の原子・分子認識が行われている[7)]。従って生理活性物質を認識するシステムの構築は生体内で進行する物質・エネルギー・情報の変換や伝達・貯蔵など生命活動を支える機能の解明につながると考えられる。

糖質はタンパク質、脂質と並んで生命体を構成する「三質」の一つであるが、後二者については詳細な研究が活発に行われてきたのに対して、糖質に関しては依然分子レベルでの研究がほとんど行われていないのが現状である。この生体を構成するのに主要な物質の一つである糖質は、エネルギー源としての、あるいはキチンやセルロースのような骨格の構成材料としての古くから知られた役割の他に、微量生理活性物質の構成成分として、生体の秩序維持という重要な役割を果たしていることが最近の研究で明らかにされてきた。これらの物質の多くは、糖タンパク質、糖脂質などの複合糖質であり、その中にあって糖鎖は各種生体情報の担い手として機能している。ヒトのＡＢＯ式血液型が赤血球表面に存在する糖脂質の糖鎖末端の化学構造に直接対応し

ているというのは、その最もよく知られた例であろう。その他、自己・非自己の認識、細胞間の情報伝達など、枚挙に暇がないほどその関与は多岐にわたり、免疫や個体の発生・分化などの生物学的過程における中心的な役割を果たしている[8]。

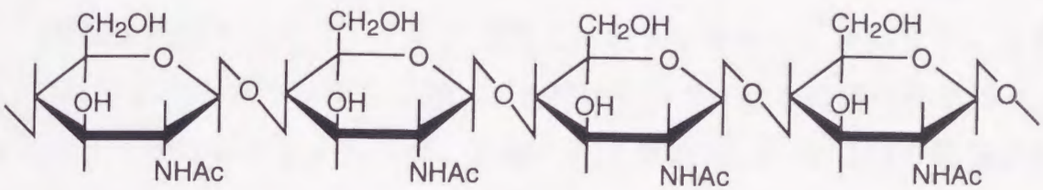


図2-3　キチンの構造

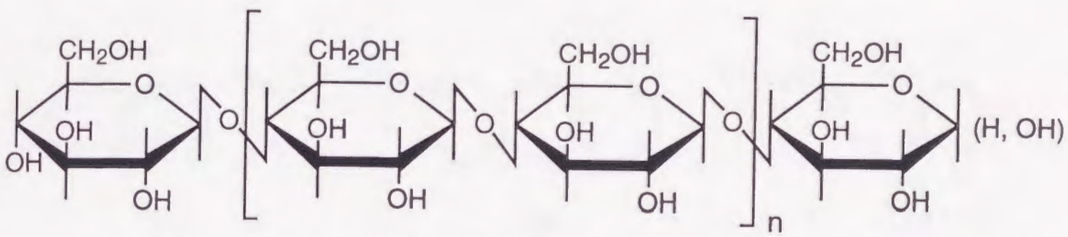


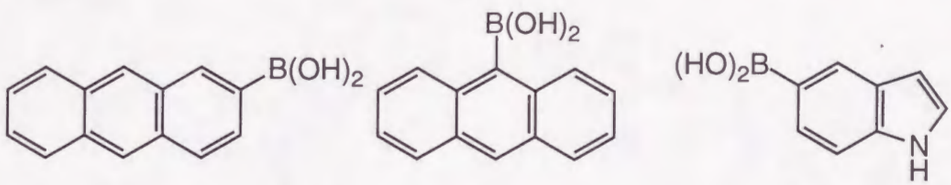
図2-4　セルロースの構造

ホウ酸や、そのヒドロキシル基の一つを炭化水素またはアリール基で置換したボロン酸は、シス-1,2-ジオール構造を有する化合物と図2-5に示すように速やかに反応し、環状エステルを生成するという事実が古くから知られている[9]。

図2-5　ホウ酸とジオールとの反応

事実、ボロン酸は糖質分子中の特定の配置をとる水酸基と特異的に結合を形成し、環状エステルを生じることができる[9),10]。この化学的な変化を物理シグナルに変換できるようなボロン酸誘導体を分子設計すれば糖質との錯化過程をスペクトル的方法で読み出すことが可能となる。

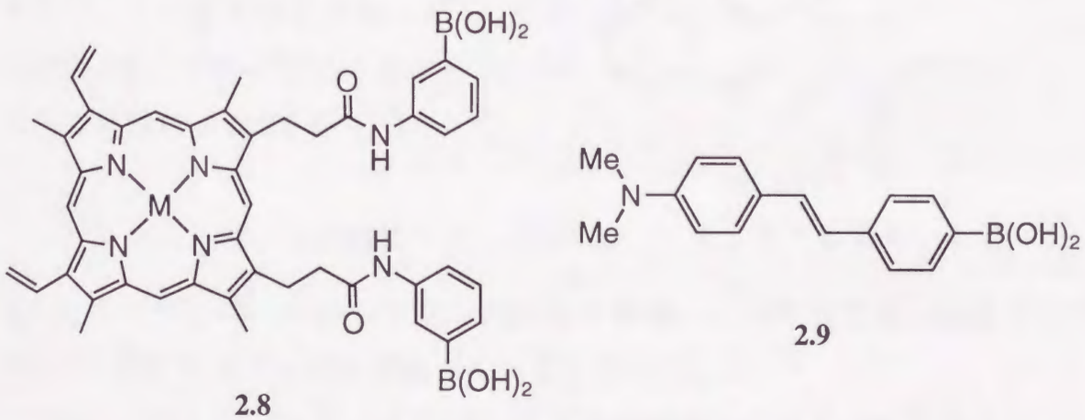
Czarnikら[11]により、化合物**2.5**や**2.6**は糖質の錯化でホウ素原子の酸性度が増加し、生じたボロネートアニオンによって蛍光強度が減少することが示された。しかし、この蛍光強度の変化は最大30%程度（$I/I_0 \approx 0.7$; I：糖質存在下，I_0：糖質非存在下）であり、糖質との錯体形成に有利なアルカリ条件下では水酸化物イオンとの反応によっても蛍光強度の低下が起こるため、高感度な糖質の検出法としては、十分なものとはいえなかった。同様なことを青山ら[12]は、5-インドリルボロン酸**2.7**を用いてオリゴ糖との錯体形成によって蛍光消光が生じることを示した。これら化合物**2.5**，**2.6**，**2.7**の糖質に対する会合定数はフェニルボロン酸の糖質に対する会合定数[9a]と同様な順序となった。



2.5 **2.6** **2.7**

図2-6　モノボロン酸誘導体

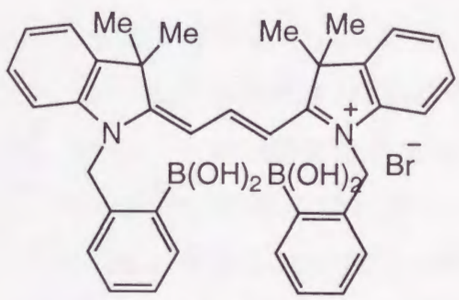
また、蛍光発色団の会合-非会合平衡による蛍光強度の変化を利用した糖質のセンシングシステムがポルフィリン部位を有する化合物**2.8**やスチルベン部位を有する化合物**2.9**を用いて示されている[13),14)]。これは水中で分子間会合体を形成している化合物**2.8**や化合物**2.9**がボロン酸部位へ糖質が錯化することによる親水性の上昇で、その分子間会合体が解離し濃度消光効果が減少するために、蛍光強度が増大することによるものであった。



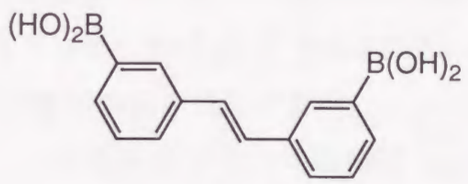
2.8 **2.9**

図2-7　会合-非会合平衡を利用した糖質レセプター

シアニン色素あるいは、スチルベンを蛍光発色団として有する化合物**2.10**、および**2.11**は、蛍光スペクトルの強度変化から糖質分子を読み出すことができる[15),16)]。いずれもそれぞれの発色団が二重結合で結ばれており、糖質と分子内の二箇所のボロン酸との1：1架橋錯体を形成すると励起状態での二重結合まわりの回転が阻害されるため、すなわち"rigidification"効果のため糖質の錯化過程を蛍光強度の増大として検知できる。**2.10**および**2.11**は、二箇所のボロン酸部位の距離の違いによって、それぞれ**2.10**は単糖類、**2.11**は二糖類に対する選択的レセプター分子であることが蛍光スペクトル測定によって明かとなった。



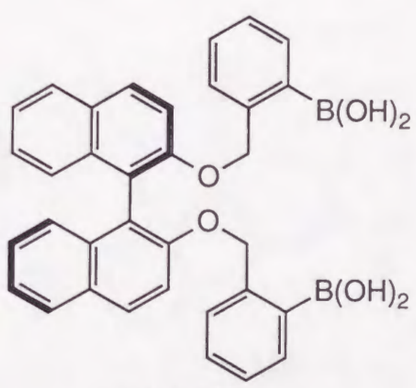
2.10



2.11

図2-8　単糖類，二糖類に対する選択的レセプター分子

さらにこのような知見に加えて、(R)-**2.12**のようなキラリティーをもつ発色団を用いることで糖質の鏡像異性体の一方を選択的に検出できることも明らかにされた[17)]。(R)-**2.12**における糖質に対するキラル識別能は最大8.7倍（L/D）であった。



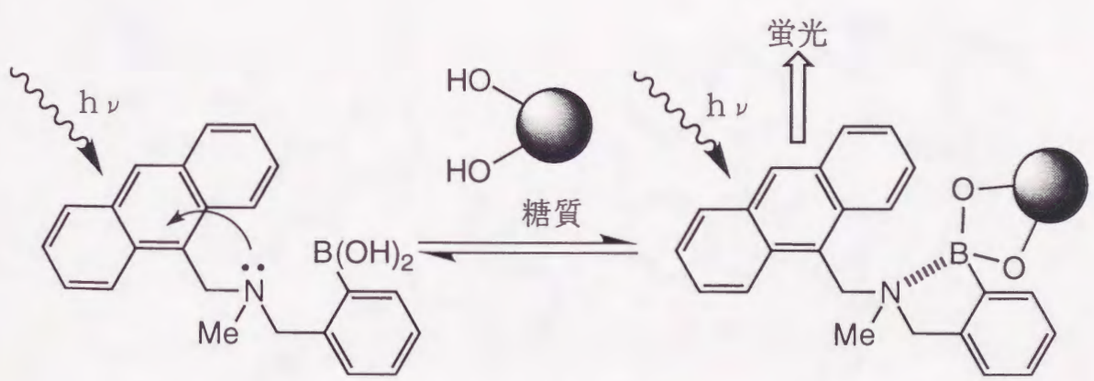
(R)-**2.12**

図2-9　不斉を有する糖質レセプター

このように、選択的な糖質の認識を行うためには二箇所のボロン酸部位を利用し、それらの間の距離がその選択性に対して非常に重要であることを示している。

これらの他にPETの概念を利用した蛍光性糖質レセプターが開発されてい

る[18)~20)]。この概念を利用して分子設計された化合物**2.13**はアントラセンの9位にアミノメチル基を介してフェニルボロン酸が結合した構造をしている[21)]。アミノ基の窒素原子は中性条件下ルイス塩基として働き、ルイス酸であるボロン酸のホウ素原子と安定なB-N結合を生じることが知られている[9b)]。また、この構造の中で9-アミノメチルアントラセン部はPETセンサーとして機能する。つまり、中性条件下かつ糖質不在下では窒素原子上の非共有電子対から励起状態のアントラセン部位の空軌道へ電子が移動することにより分子内消光が起こるために非蛍光性を示す。しかし、酸性条件下におけるアミノ基のプロトン化あるいは糖質がボロン酸部位に錯化し、その結果酸性度が増加したボロン酸基とアミノ基とのより強固なB-N相互作用が起こる条件下においては窒素原子上の非共有電子対が消費され、もはや消光過程が働かなくなる。実際に化合物**2.13**は弱酸性からアルカリ性条件下（pH3以上）で非蛍光性である。しかし糖質分子を加えると蛍光強度が顕著に変化し、pH 11程度まで蛍光強度が20倍以上に増大した。これは糖質がボロン酸部位と錯体を形成するとホウ素原子上の電子密度が減少し（つまり、ホウ素原子のルイス酸性が増し）、B-N相互作用が促進されるため、pH4～11の広いpH範囲で安定な錯体を生じ、中性条件下（pH7.77）でさえ蛍光強度変化として糖質の錯化を読み出すことができる利点がある（図2-10）。



2.13

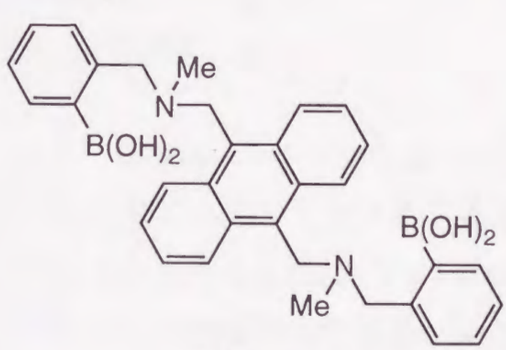
非蛍光性

蛍光性

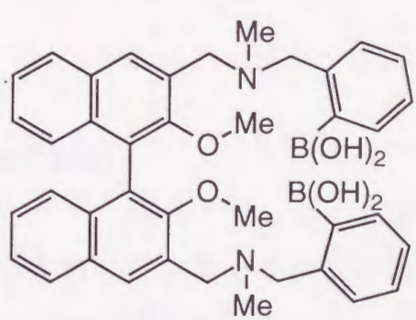
図2-10　糖質PETセンサーの概念図

通常、ボロン酸は糖質分子とアルカリ条件下で速やかに錯体を形成するため、化合物**2.5**～**2.12**の場合pH10以上の条件が必要であった[10)~17)]。しかし、化合物**2.13**のようにフェニルボロン酸のオルト位にアミノメチル基を有する誘導体は糖質存在下で分子内B-N結合を生じるために、センシングシステムが中性pHの領域で可能となった。

化合物**2.13**はモノボロン酸誘導体であるため、糖質の選択性は通常のモノボロン酸と糖質との親和性の序列[9a),12)]と同一である。そこでボロン酸をアントラセンの9,10位の二箇所にアミノメチル基を介して結合させた化合物**2.14**が選択的な糖質レセプターとして報告された[22)]。この化合物では、二箇所のボロン酸が両者ともに糖質と錯体（環状1（**2.14**）：1（糖質）錯体あるいは非環状1：2錯体）を形成すれば、B-N結合の生成に伴う分子内消光作用の消失による蛍光強度変化で糖質検知が容易に行える。ここで二箇所のボロン酸基が一分子の糖質へ2個のジオール部位の方向の違いを反映して協同的に作用（環状1：1錯体の形成）すれば、糖質センシングに選択性が生じる。実際に、化合物**2.14**はグルコース選択性を示した。また、このような概念を用いて光学活性体であるビナフチル基へフェニルボロン酸を導入した化合物**2.15**は、R体がD-単糖、S体がL-単糖に対して選択性を有し、その差は蛍光強度の差として読み出すことができる[23)]。



2.14



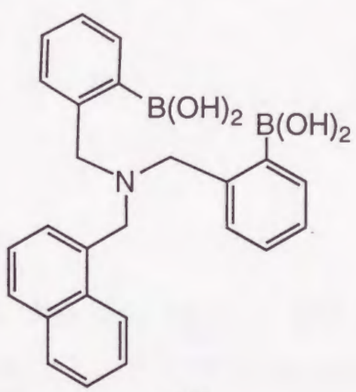
2.15

図2-11　選択的糖質PETセンサー

以上のように、二箇所のボロン酸部位を協同的に一分子の糖質へ作用させると立体配置を反映した糖質検知における選択性が生じる。このことより二

箇所のボロン酸部位間の距離や方向性を微妙に変化させることで、この選択性がコントロールできると期待される。

そこで本章では、蛍光性の化合物であるナフタレンに一つのアミノメチル基を介して二箇所にフェニルボロン酸を導入した化合物**2.16**を用いて、PET機能を利用した選択的な糖質の検出を目的とした。化合物**2.16**では糖質の結合部位である二箇所のフェニルボロン酸基が非常に近距離に存在する（スペーサーの原子数３個）ために、二箇所のジオール部位がより近い糖類に対して選択性を示すと期待できる。ここではジオール部位間の距離が異なる様々な糖類の選択的認識能に対する検討を行った。



2.16

２－２　測定および結果

化合物**2.16**はBirmingham大学のT. D. James博士により合成され、その構造が確認された。

２－２－１　吸収スペクトルによるpH依存性の検討

化合物**2.16**は一つのアミノメチル基を介して、二箇所にフェニルボロン酸部位が導入されているために、PETの概念を利用した糖質センシングの重要な過程であるB-N相互作用の促進がひとつのボロン酸基で生じた場合、もうひとつのボロン酸基は、もはや分子内で相互作用できるルイス塩基として働く窒素原子が存在しない。すなわち、化合物**2.16**の場合、分子内でルイス酸ールイス塩基として相互作用するホウ素原子と窒素原子は一対と、B-N相互作用できないホウ素原子が存在する。通常ボロン酸基はアルカリ条件下すなわちボロネートアニオンを生成する条件下で速やかに錯体を形成する[10)~17)]

ことを考慮すると、ひとつのボロン酸はアニオン性を帯び、もうひとつのボロン酸は中性である条件において二箇所のボロン酸部位が協同的に糖類を認識し、かつPET機能によるスペクトル的検知が高効率になると考えられる。そこで、pH変化に伴うボロン酸部位の解離平衡に関する知見を得るために吸収スペクトルによるpH依存性の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = 1.0×10^{-5}M

pH 1.7～11.8

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

0.01N水酸化ナトリウム水溶液100mlに化合物**2.16**のメタノール貯蔵液（3.0×10^{-3}M）333μlを入れ、これに2Nあるいは1N塩酸を加えてそれぞれのpHを調節し、一部を光学セルに移し、これを測定した。

（2）結果

図2-12にpH変化に伴う化合物**2.16**の吸収スペクトル変化を示す。化合物**2.16**の吸収スペクトルにはナフタレン部位の$\pi - \pi^*$遷移に帰属される282nmに極大吸収波長を持つ吸収帯が存在する。しかし、この吸収スペクトルにおいてpH変化に対する極大吸収波長や吸光度の変化はほとんど観測されていない。測定したpH範囲中にはボロン酸部位が$-B(OH)_2$の形でsp^2混成軌道をとるpH領域と$-B^-(OH)_3$の形でsp^3混成軌道をとるpH領域（フェニルボロン酸の場合には約pH8.8以上[24]）とが明らかに含まれている。このことを考慮すると、ボロン酸基がsp^2混成軌道をとる状態あるいはsp^3混成軌道をとる状態ともに発色団であるナフタレン部位の電子状態への影響はほとんど等しいものであると考えられる。

図2-13には、それぞれのpHに対する図2-12より求めた化合物**2.16**の吸収

帯の極大吸収波長である282nmの吸光度変化を示す。広範囲のpH領域で化合物**2.16**は、明らかに極大吸収波長の吸光度変化を生じない。水中における化合物**2.16**のモル吸光係数は、$\varepsilon_{282} = 6.8 \times 10^3 M^{-1}\ cm^{-1}$である。このことは、前で述べたようなナフタレン部位への電子状態へのボロン酸部位の解離平衡に伴う影響がほとんどないことを支持する。

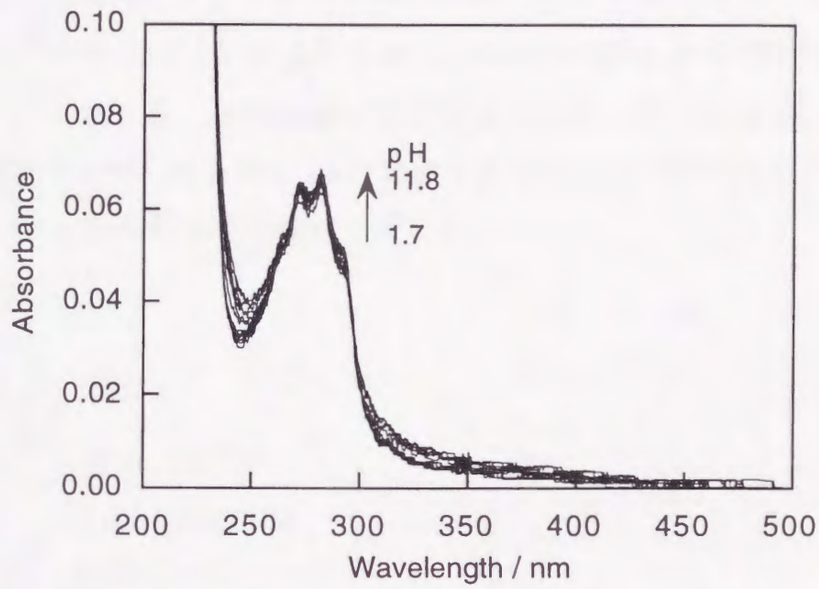


図2-12　化合物**2.16**のpH変化に伴う吸収スペクトル変化

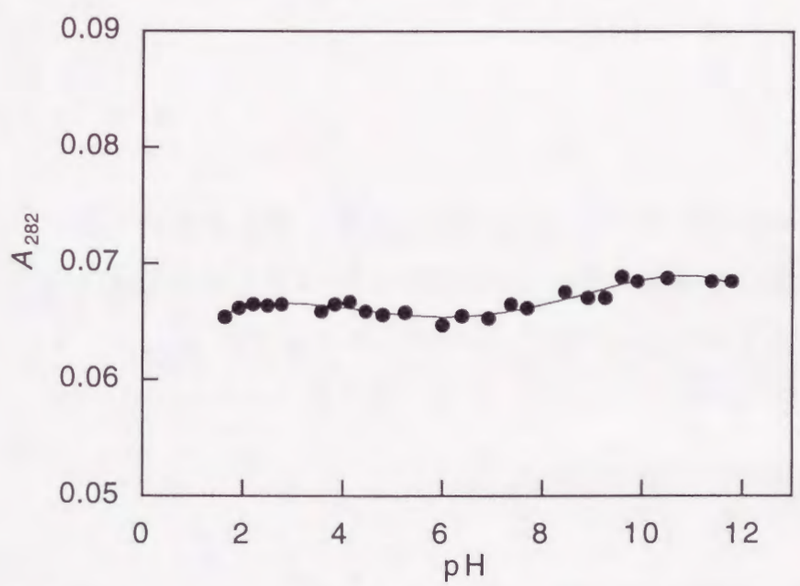


図2-13　pHに対する化合物**2.16**の282nmの吸光度変化

2－2－2　蛍光スペクトルによるpH依存性の検討

前項で吸収スペクトルによりボロン酸基の解離する様子の検討を行ったが、ボロン酸の解離平衡を吸収スペクトルの変化によって検討することは困難であった。化合物**2.16**はPET機能を利用した選択的な糖質の検出を目的として用いている。ナフタレン類は300～400nmの間に蛍光を有する[25]。PETの機構より、糖質と化合物**2.16**が錯体を形成し、B-N相互作用が強められた場合のみ蛍光強度が増大すると期待される[18),19)]。しかし、ボロン酸部位がボロネートアニオン（$-B^{-}(OH)_3$）となっている状態では、もはやB-N相互作用は生じない。すなわち、蛍光強度増加が観測されないことになる。以上のようなことを踏まえて、化合物**2.16**の解離平衡に関する知見を得るために蛍光スペクトルによるpH依存性の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = 1.0×10^{-5}M

[糖質] = 0あるいは0.10M

pH 1.5～12.0

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

励起波長　296nm

【操作】

2－2－1項と同様な操作によりpHを調節し、一部を蛍光セルに移し、これを測定した。糖類存在下における測定では、pHを調整する前の溶液に糖類（D-フルクトース，D-グルコース，D-スレイトール，ペンタエリスリトール，グリセリン；構造は48ページを参照）を0.10Mとなるように加えて、上述した操作を行った。

（2）結果

図2-14に糖類非存在下におけるpH変化に伴う化合物**2.16**の蛍光スペクト

ル変化を、また５種類の糖類の代表例としてペンタエリスリトール存在下におけるpH変化に伴う化合物**2.16**の蛍光スペクトル変化を図2-15に示す。糖類非存在下およびすべての糖類存在下において、測定したpH範囲において化合物**2.16**の蛍光スペクトルは347nmに極大波長をもつ発光帯を示している。つまり、フェニルボロン酸と糖質とが明らかに錯体を形成するアルカリ条件においても、発光帯の極大波長は変化しない。このことより、PET概念の中に含まれる強固なB-N相互作用の形成によって発光帯の極大波長は変化しないことが理解できる。ここでは５種類の糖類を用いて蛍光スペクトルによるpH依存性測定を行ったが、糖類の構造の違いによっても化合物**2.16**の発光帯の極大波長に差は生じていない。

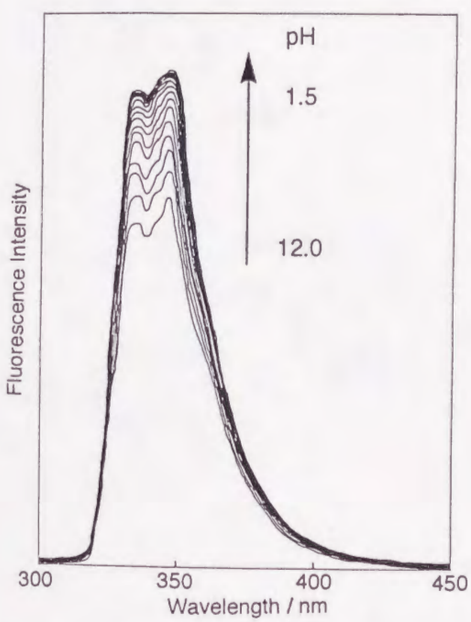


図2-14　糖類非存在下における化合物**2.16**のpH変化に伴う蛍光スペクトル変化

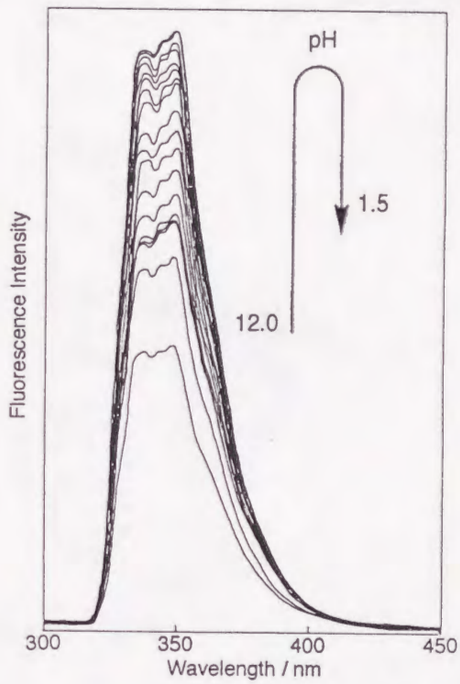
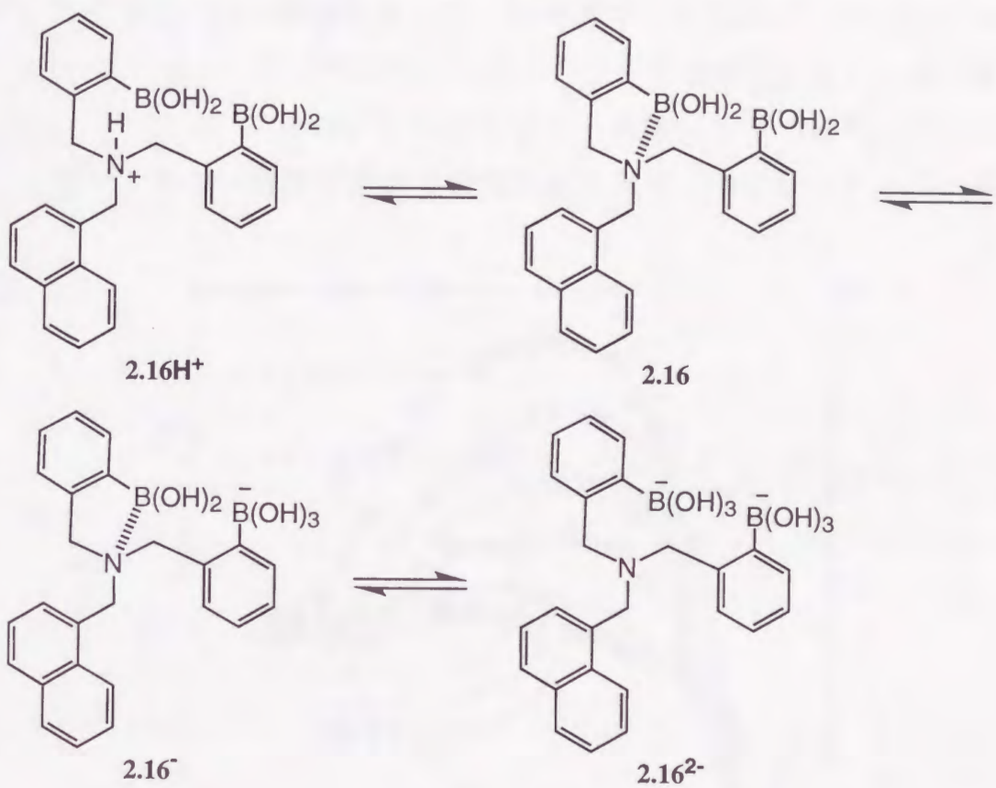


図2-15　ペンタエリスリトール存在下における化合物**2.16**のpH変化に伴う蛍光スペクトル変化

pH変化に伴う蛍光スペクトル変化の結果を基に、それぞれのpHに対して化合物**2.16**の蛍光強度の極大波長である347nmの相対蛍光強度変化を求め、図2-16に示す。図2-16の中で、糖類非存在下におけるpH変化に伴う相対蛍光強度変化の挙動に着目すると、pH1.5からpH8.0までほぼ一定の値（I/I_0 ＝

約1.0）を取っている。PETの機構を考えると、酸性領域で存在することのできる**2.16H$^+$**から**2.16**への変化で、大きな相対蛍光強度の減少が観測されるはずである。従って、化合物**2.16**のプロトン化は、測定pH領域より酸性側で生じることが示唆される（スキーム2-1）。また、pH8.0以上の測定条件において、相対蛍光強度は徐々に減少している。この変化は、スキーム2-1において、**2.16**から**2.16**$^-$あるいは**2.16**$^{2-}$へのボロン酸基の解離を反映した結果であると考えられる。



2.16H$^+$ **2.16** **2.16**$^-$ **2.16**$^{2-}$

スキーム2-1

次に糖類存在下におけるpH変化に伴う相対蛍光強度変化の挙動に着目すると、用いたすべての糖類存在下において、pH4.0付近から相対蛍光強度の増加が観測され、pH8.0付近で最大の蛍光強度を示している。すなわち、糖類非存在下の場合と比べると、糖類存在下でpH8.0付近において相対蛍光強度の変化量が最も大きいことを表わす。このような変化は、フェニルボロン酸部位への糖類の錯化に伴うより強固なB-N相互作用の形成に由来すると考えられる。

測定に用いた糖類の中で、二箇所のジオール部位が存在しないものはグリセリンのみであり、他の糖類はすべて二箇所のボロン酸基が協同的に作用し得る二箇所のジオール部位を有する。グリセリンを添加した場合と他の糖類を添加した場合との相対蛍光強度の増加の程度を比べると、明らかにグリセリン以外の糖類を添加した場合の方が相対蛍光強度はより増加している。このことより、ボロン酸基との錯化により効果的に化合物**2.16**の蛍光強度を増加させる糖類は、二箇所のジオール部位を有することがわかる。また、二箇所のジオール部位をもつ糖類において、D-グルコースの添加よりもD-フルクトース，D-スレイトール，ペンタエリスリトールを添加した場合に相対蛍光強度が増大している。これは、二箇所のジオール部位をもつ糖類の中でもその間の距離がより短い糖類の添加で蛍光強度の増加の効果が大きいことを示している。

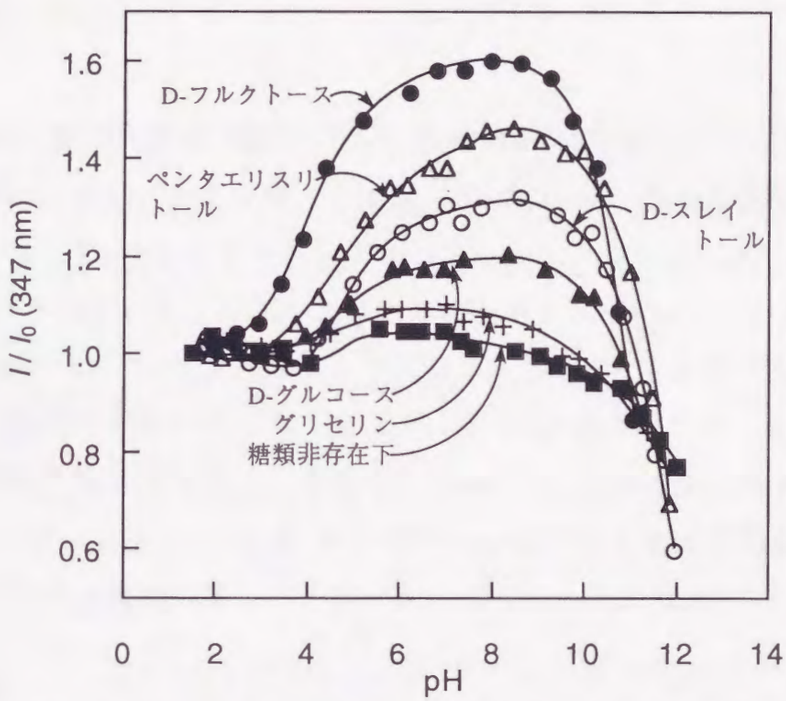


図2-16　化合物**2.16**のpHに対する347nmの相対蛍光強度変化

2－2－3　蛍光スペクトルによる様々な糖類との錯化挙動の検討とその会合定数の評価

前項の結果より、糖類の非存在下と存在下を比較すると最大の蛍光強度の

増加はpH8.0の条件で観測されている。そこで蛍光スペクトルによる糖類濃度依存性の測定を顕著に蛍光強度の増大が現われる上述の条件で様々な糖類を用いて検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = 1.0 × 10^{-5}M

[糖類] = 0～0.10M

pH 8.0（50mMリン酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

励起波長　296nm

【操作】

50mMリン酸緩衝溶液（pH8.0）に化合物**2.16**のメタノール貯蔵液（3.0 × 10^{-3}M）10μl、および様々な濃度（0～0.10M）となるように糖類（D-ソルビトール，D-フルクトース，ズルシトール，キシリトール，D-マンニトール，D-アラビトール，ペンタエリスリトール，D-スレイトール，リビトール，D-リボース，D-フコース，エリスリトール，D-グルコース，D-マンニトール-3,4-カーボネート，グリセリン，1,3-プロパンジオール；構造は48ページを参照）水溶液を加え、全量を3.0mlとし、これを蛍光セルに入れて測定した。D-マンニトール-3,4-カーボネートを用いる測定の際には、水に対する溶解性が低いために水：メタノール = 2：1 *v/v*で行った。

（2）結果

ここでは16種類の糖類を用いたがそれらの代表例として、図2-17にD-ソルビトールの添加に伴う化合物**2.16**の蛍光スペクトル変化を示す。化合物**2.16**の蛍光スペクトルでは、糖類の添加に伴い、蛍光強度が増加する傾向があり、その発光帯の極大波長は変化しない。この際、糖類添加に伴う吸収スペクトル変化の測定も行ったが、変化はまったく観測できなかった。このような極

大波長の変化を伴わない蛍光強度の増大は化合物**2.13**を用いた場合の糖質添加による蛍光スペクトル挙動[21]と一致している。

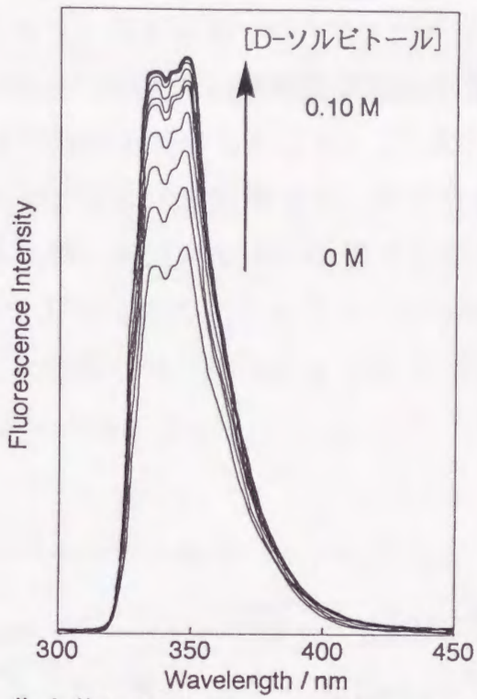


図2-17　化合物**2.16**のD-ソルビトールの添加に伴う蛍光スペクトル変化

これら16種類の糖類を用いて測定した蛍光スペクトル変化の結果を基に、それぞれの糖類濃度に対する化合物**2.16**の蛍光強度の極大波長347nmの相対蛍光強度変化を求め、図2-18に示す。フェニルボロン酸部位へ錯化可能なジオール部位を二箇所またはそれ以上有する糖類の添加による相対蛍光強度の変化は、D-ソルビトール添加に代表されるように明らかに増加している。しかし、1,3-プロパンジオールやグリセリンのように水酸基を2個あるいは3個のみ有するジオール，トリオール類は相対蛍光強度の増加を誘起させることができない。すなわち、化合物**2.16**の蛍光強度を増大させるためには、糖類構造中に4個以上の水酸基を持つことが必要不可欠である（フェニルボロン酸部位が錯化可能なジオール部位を二箇所以上持つ）。このことより、化合物**2.16**の構造の中に含まれる二箇所のフェニルボロン酸部位は、糖類一分子に対して協同的に作用し、つまり、糖類の二箇所のジオール部位を化合物**2.16**の二箇所のボロン酸基で協同的に認識し、その結果蛍光強度を増大させることが示唆されている。

また、D-マンニトール-3,4-カーボネートの添加における相対蛍光強度変化に着目してみると、その構造の中に4個の水酸基を有するにもかかわらず、蛍光強度の増加は測定されていない。D-マンニトール-3,4-カーボネートの構造より明白なように、フェニルボロン酸部位が錯化可能なジオール部位は3,4位を環状カーボネートで保護しているために、1,2位と5,6位の二箇所のジオールのみであり、これらの間には炭素原子が2個存在しているので比較的離れた部位にボロン酸基の錯化部位がある。このことを考慮すると、糖類構造中に4個以上の水酸基をもつ化合物であっても、化合物**2.16**の蛍光強度を増大させるためにはボロン酸基の錯化部位となり得る二箇所のジオール部位間の距離に依存すると考えられる。

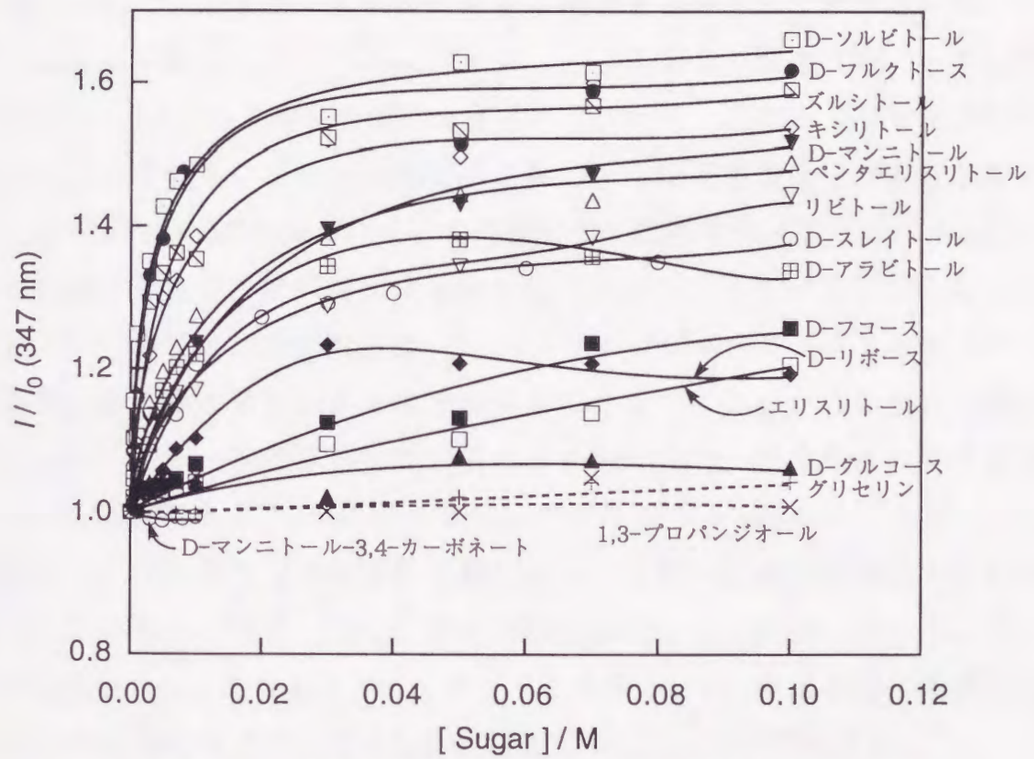


図2-18　糖類の濃度に対する化合物**2.16**の347nmの相対蛍光強度変化

前述のように化合物**2.16**の二箇所のフェニルボロン酸部位が一分子の糖類へ協同的に作用した結果、蛍光強度を増大させることを考えると図2-18のような相対蛍光強度の変化は化合物**2.16**：糖類が1：1の錯体を形成する過程を

反映していることになる。このような[G] >> [H] (G：ゲスト，H：ホスト)の条件下においてはBenesi-Hildebrandの関係式を解くことによって会合定数の算出が可能である[26),27)]。そこで化合物**2.16**の発光帯の極大波長347nmの相対蛍光強度変化を基にBenesi-Hildebrandプロット[26),27)]を行い、それぞれの糖類の化合物**2.16**に対する会合定数の算出を行った。その結果、それぞれの糖類の化合物**2.16**に対する会合定数は表2-1に示すとおりとなった。水酸基を4個以上もたない1,3-プロパンジオール，グリセリンおよび二箇所のボロン酸基錯化部位が2個あるいは1個の炭素原子で隔てられた、比較的遠距離に存在するD-マンニトール-3,4-カーボネート，D-グルコースは相対蛍光強度変化がほとんど観測されず、会合定数の算出は行えなかった。また表2-1には、フェニルボロン酸に対して二箇所以上の錯化可能部位をもつ糖類において、ジオール部位間の距離を評価するために、それらの間に存在する炭素原子数をΔnとして示している。用いた糖類の構造 (48ページ参照)と化合物**2.16**に対する会合定数を併せて考えると、二箇所のジオール部位をもち、かつそれらのジオール部位間に隔たりとなる炭素原子が存在しない、すなわち$\Delta n = 0$の糖類が高い会合定数を示す結果となっている。さらに、それらの糖類は蛍光強度の増加率も相対的に大きくなっている。もちろん一箇所のジオール部位しか所有しない1,3-プロパンジオールとグリセリンは、蛍光強度をそれらの添加により増加させることはできない。この他に二箇所の錯化可能なジオール部位を所有するにもかかわらず、蛍光強度の変化を誘起できない糖類であるD-グルコースやD-マンニトール-3,4-カーボネートは二箇所のジオール部位がそれぞれ1個あるいは2個の炭素原子で隔てられた構造をしている。このように、二箇所の錯化部位をもつ糖類において、その間の距離が小さい、すなわち$\Delta n = 0$と示すことができる糖類のみが化合物**2.16**の蛍光強度を増大させることが可能であることが理解できる。

表2-1　化合物**2.16**に対する糖類の会合定数K (M^{-1})

糖類	log K	錯化部位数	Δn^b
D-ソルビトール	2.54	≧2	0～2
D-フルクトース	2.52	2	0～1
ズルシトール	2.40	≧2	0～2
キシリトール	2.23	2	0～1
D-マンニトール	2.15	≧2	0～2
D-アラビトール	2.13	2	0～1
ペンタエリスリトール	2.11	2	0
D-スレイトール	2.03	2	0
リビトール	1.97	2	0～1
D-リボース	1.91	2	0
D-フコース	1.50	2	0
エリスリトール	1.45	2	0
D-グルコース	a	2	1
グリセリン	a	1	-
1,3-プロパンジオール	a	1	-
D-マンニトール-3,4-カーボネート[c]	a	2	2

[a]相対蛍光強度変化がほとんどなく算出できない
[b]二箇所の錯化部位間の炭素数
[c]D-マンニトール-3,4-カーボネートの場合のみ溶媒H_2O:MeOH = 2:1 *v*/*v*

2－2－4　蛍光スペクトルによる化合物**2.13**の錯化挙動との比較検討

化合物**2.16**のようなジボロン酸レセプターを用いた糖類の選択的認識を検討するには、モノボロン酸レセプターを用いた系との比較実験により、その選択性を顕著に評価できると考えられる[18),28)]。そこで、ここまでこの章において蛍光スペクトルによる糖類認識の検討を中心的に行ってきたので、これまでに報告された数多くのモノボロン酸化合物の中で、蛍光性分子を用いた糖類レセプターである化合物**2.13**[21)]を比較レセプター分子として選択した。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = [**2.13**] = 1.0 × 10^{-5}M

[D-ソルビトール] = [D-グルコース] = 0～0.10M

pH 8.0（50mMリン酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

励起波長　296nm，375nm（それぞれ**2.16**，**2.13**を用いた場合）

【操作】

化合物**2.16**，**2.13**を用いた場合ともに2－2－3項と同様な操作を行った。ただし、ここでは糖類としてD-ソルビトール，D-グルコース（構造は48ページを参照）を用いた。

（2）結果

前項で示したとおり、化合物**2.16**は347nmにその蛍光スペクトルの極大波長を示す。一方、アントラセンを蛍光発色団として有する化合物**2.13**は、427nmに発光帯の極大波長を示した。化合物**2.13**あるいは**2.16**を用いてD-ソルビトール，D-グルコース添加に伴う蛍光スペクトル変化を測定し、その結果を基にそれぞれの糖類濃度に対する化合物**2.13**あるいは**2.16**の蛍光強度のそれぞれの極大波長427nmあるいは347nmの相対蛍光強度変化を求め、図2-19に示す。化合物**2.13**は、そのフェニルボロン酸部位と糖類との錯体形成により、蛍光強度を増大させることが図2-19よりわかる。これは、2－1項でも述べたように、ホウ素原子の酸性度上昇により、より強固なB-N相互作用が生じ、窒素原子上の非共有電子対による消光過程が消失したことに起因する[21)～23)]。図2-19より明らかなように、化合物**2.16**へD-ソルビトールあるいはD-グルコースを添加した場合は、化合物**2.13**を用いた場合と比較して相対蛍光強度の増加量は少なく、相対蛍光強度が飽和するために必要な糖類濃度が高い。これは、化合物**2.16**では二箇所のボロン酸基が近距離に存在しているために、それらが立体的障害として働いていることに起因すると考え

られる。

化合物**2.13**のD-グルコース添加による相対蛍光強度変化の挙動に着目すると、高濃度領域において明確に相対蛍光強度が増大している。しかし、化合物**2.16**の場合においては、D-グルコースが高濃度で存在している領域においても相対蛍光強度はほとんど変化していない。すなわち、二箇所のジオール部位間が近距離（$\Delta n = 0$）で二箇所のボロン酸基へ錯化可能なD-ソルビトールは、化合物**2.13**および**2.16**両者の蛍光強度を増大させることができるが、二箇所のジオール部位間が相対的に遠距離（$\Delta n = 1$）に存在するD-グルコースはモノボロン酸誘導体である化合物**2.13**の蛍光強度のみを増大させる。このことは化合物**2.16**においては二箇所の錯化可能なジオール部位間の距離を厳密に認識していることを意味する。

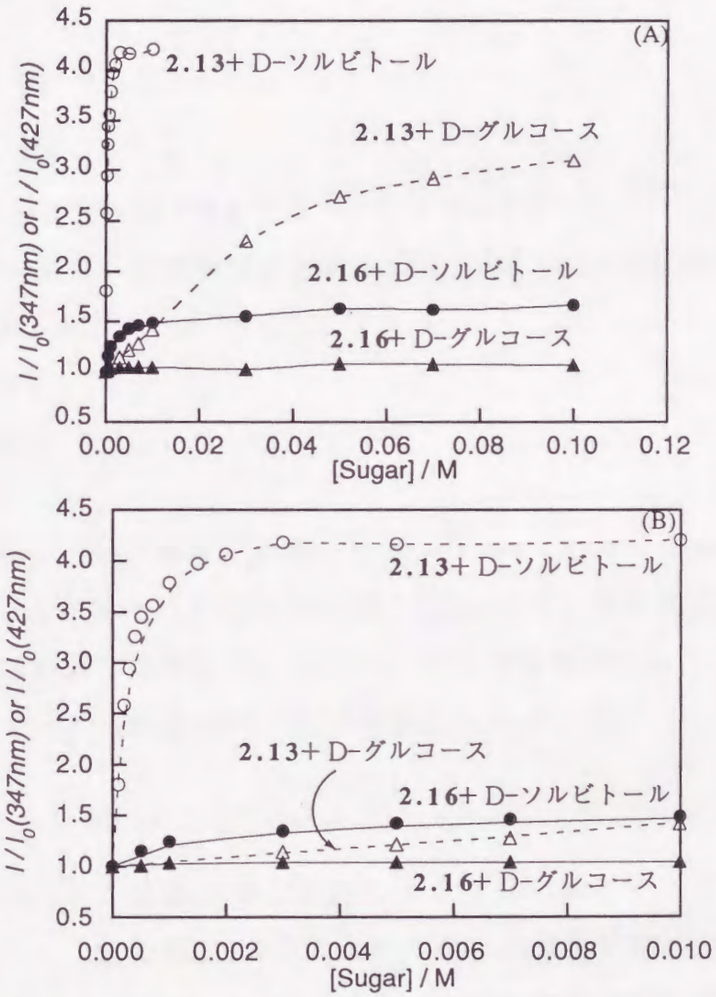


図2-19　糖類濃度に対する化合物**2.13**あるいは**2.16**の蛍光強度のそれぞれ427nmあるいは347nmにおける相対蛍光強度変化
((B)は(A)の拡大図)

2－2－5　CDスペクトルによるD-およびL-ソルビトールとの錯化挙動の検討

発色団を有する化合物に共有結合、あるいは非共有結合など何らかの結合により不斉が導入された場合、その効果を観測するスペクトル的手段としてCDスペクトル測定が有用である。この場合、発色団の吸収波長領域に特徴的なCDを与えることが多い[29]。ここで対象としているゲスト分子は糖質であり、これらは光学活性物質である[30]。そこで前項までより得られた知見により、代表的な糖質として挙動するD-およびL-ソルビトールに対して化合物**2.16**との錯化によるナフタレン部位への不斉誘起をCDスペクトルにより観測することにした。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = 1.0×10^{-5}M

[D-ソルビトール] = [L-ソルビトール] = 0.10M

pH 8.0（50mMリン酸緩衝溶液）あるいは10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

2－2－3項と同様な操作で調整したサンプルをCDセルに移し、これを測定した。pH10.5の条件における測定は、50mMリン酸緩衝溶液の代わりに50mM炭酸緩衝溶液を使用した。ただし、ここでは糖類としてD-ソルビトールとL-ソルビトール（構造は48ページを参照）を用いた。

（2）結果

前項までに得られた糖類の錯化挙動による知見を基にすると、以下の予測が可能である。1）化合物**2.16**の二箇所のボロン酸基が協同的に作用できる糖類であるD-ソルビトール，L-ソルビトールはその構造中に不斉を持ち、これらが化合物**2.16**と形成する錯体は、分子内二点相互作用によるために環状

構造をとり、効率よく発色団であるナフタレン部位に不斉が誘起される。その結果、化合物**2.16**＋ソルビトール錯体はCD活性となる。2）D-ソルビトール，L-ソルビトール錯体のCDスペクトルは対称型となる。3）CDスペクトルは化合物**2.16**が吸収帯を有する波長領域に現われる。

実際に測定したCDスペクトルの結果を図2-20に示す。得られた結果は予測したとおり、化合物**2.16**へD-ソルビトール，L-ソルビトールを添加するとCD活性種を与える。ジボロン酸誘導体が糖質と1：1錯体を形成した場合、その糖質とジボロン酸誘導体が環状構造になったときにCD活性種となるという結果が新海らにより報告されている[10),15),20)]。ここではD-ソルビトール添加時には負の値のCDが、L-ソルビトール添加時には正の値のCDが観測された。今回の結果は、二箇所のボロン酸基と協同的に錯化可能であるソルビトールと化合物**2.16**とが二点で相互作用し、固定化されることでCD活性となると考えられる。また、pH8.0の条件におけるCDスペクトルにより、D-ソルビトールを添加した場合とL-ソルビトールを添加した場合のスペクトルは、対称型となっている。従って、化合物**2.16**は糖類の不斉構造に依存して誘起CD

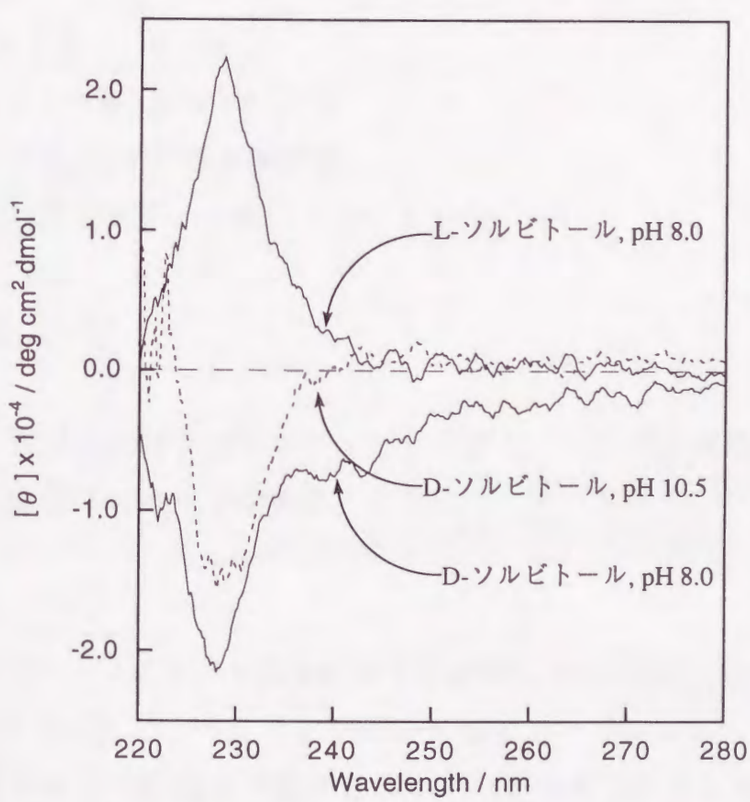


図2-20　化合物**2.16**へソルビトールを添加した際のCDスペクトル

が生じることがわかる。さらに、pH10.5の条件においても、D-ソルビトールを添加した場合はCD活性となり、そのCDスペクトルは負の値をとる。しかし、そのCD強度は低下している。これによってボロン酸基がアニオン性となることでB-N相互作用による固定化が消失し、発色団への糖類の不斉の影響が弱くなることが示唆される。

2－2－6　CDスペクトルによるD-ソルビトールに対する会合定数の評価

前項の結果より、化合物**2.16**は糖類と1：1錯体を形成し、その錯体が二点で相互作用した環状構造である場合、CD活性となることを確認できた。そこで、ここでは糖類として化合物**2.16**と環状1：1錯体を形成することができるD-ソルビトールを用いて、CDスペクトルにより糖類濃度依存性の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**2.16**] = 1.0×10^{-5}M

[D-ソルビトール] = 0～0.15M

pH 8.0（50mMリン酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：メタノール = 300：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

2－2－5項と同様な操作を行った。ただし、ここでは糖類としてD-ソルビトール（構造は48ページを参照）を用いた。

（2）結果

図2-21にD-ソルビトール添加に伴う化合物**2.16**のCDスペクトル変化を示す。化合物**2.16**のCDスペクトルではD-ソルビトールの添加に伴い、CD強度の明らかな負の値への増加が観測されるが、その極大波長は変化しない。こ

のCD強度の増加率は分子内二点相互作用により生じる環状構造の錯体の濃度を反映しているものと考えられる。

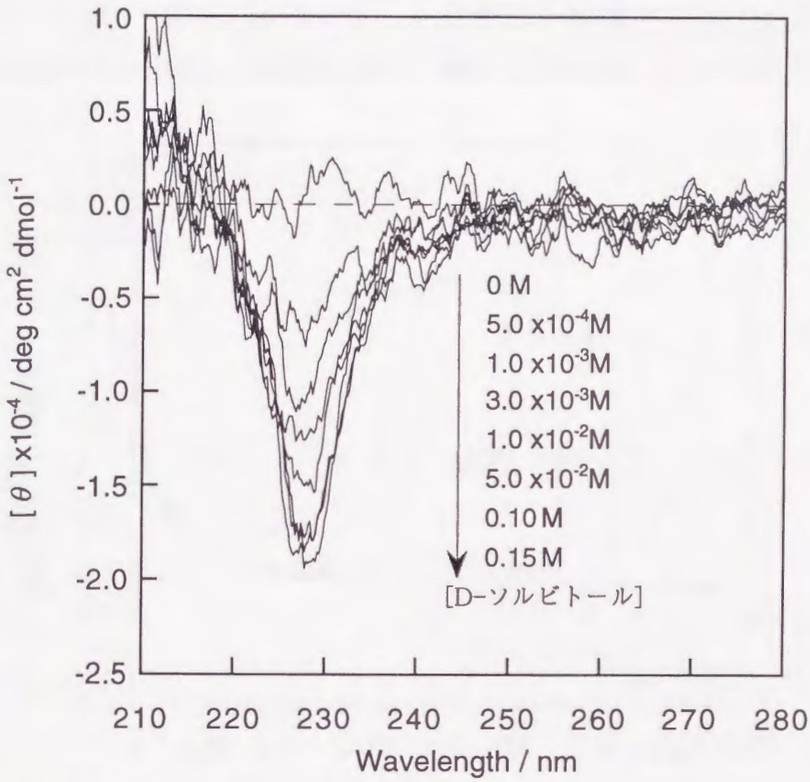


図2-21　D-ソルビトール濃度変化に伴う化合物**2.16**のCDスペクトル変化

また、図2-21のCDスペクトルの結果を基に、それぞれのD-ソルビトール濃度に対する化合物**2.16**のCDの極大波長である227nmのCD強度を求め、図2-22に示す。ここでD-ソルビトール濃度変化に伴うθ_{227}値の変化の挙動をみると、その変化が飽和するのに要するD-ソルビトール濃度は図2-22の結果より5.0 × 10^{-2}Mであることがわかる。これは、２－２－３項における蛍光スペクトルによる糖類との錯化挙動の検討の結果である図2-18の中のD-ソルビトールを用いた測定結果と等しい値であり、蛍光スペクトルおよびCDスペクトルによる検討が相関関係にあることが伺える。すなわち、蛍光スペクトルでもCDスペクトルでもD-ソルビトール濃度に対してそれらの変化をプロットすれば、類似した飽和曲線を描くことができる。従って、蛍光強度の増大が化合物**2.16**と糖類との１：1錯体の形成過程を反映していることを考えると、ここでのCDスペクトル変化もこの１：1錯体の形成により生じると示唆される。

このことを踏まえてBenesi-Hildebrand法[26),27)]を用い、化合物**2.16**に対するD-ソルビトールの会合定数をCDスペクトルによる結果（図2-22）より算出すると、log$K$ ＝ 2.53となる。この値は、蛍光スペクトル変化より求めた結果（log$K$ = 2.54）と非常によく一致している。

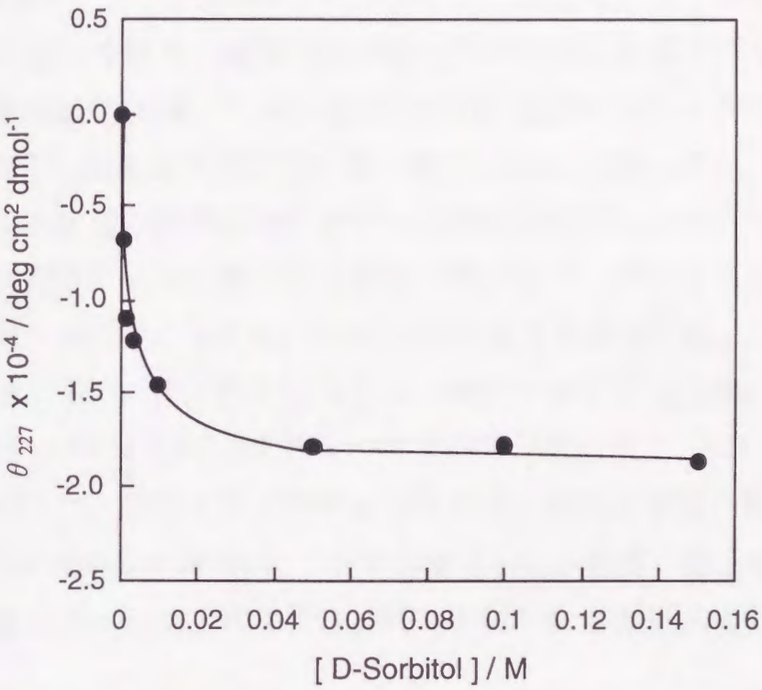


図2-22　D-ソルビトール濃度に対する化合物**2.16**の227nmのCD強度変化

2－3　考察

フェニルボロン酸修飾蛍光性分子によるPETの概念を利用した糖類の検知を目的とした場合、測定媒体のpHが非常に重要になってくる。この理由としては、酸性pH領域では蛍光の消光過程に関与する窒素原子上の非共有電子対がプロトンによって消費され、また塩基性pH領域ではホウ素原子の空軌道が水酸化物イオンによって満たされるために糖類のボロン酸基への錯化に伴うシグナルを観測するのに不可欠なB-N相互作用が生じなくなること[18)～23)]にある。

そこでまず、化合物**2.16**のpH変化に伴う吸収スペクトルおよび蛍光スペクトル変化を測定した。吸収スペクトルによる検討の場合、pH変化に伴うスペ

クトル変化はほとんど観測できなかったが、蛍光スペクトルによる検討の場合、意味のあるスペクトル変化が観測できた。しかも、ここでの結果は糖類を添加した際に相対的に大きな蛍光スペクトル変化を生じるというものであった。そのpH変化による挙動を詳しくみると、糖類存在下での化合物**2.16**のpH依存性において、pH12以上の領域では二箇所のボロン酸基は両方ともアニオン性となっており、pH8付近では一方のボロン酸基のみアニオン性となり、またそのpH領域以下（pH4以下）では二箇所のボロン酸部位は両方とも中性で存在し、糖類は解離していると考えられる（図2-23）。これはpH8付近において、窒素の非共有電子対が一対のみ存在するために一箇所のボロン酸部位と糖類との錯化に伴いB-N相互作用が生じ、相対蛍光強度が増加することによるものと考えられる。またこのpH以上の領域では、二箇所のボロン酸基は両方ともアニオン性となるため、糖質の錯化でB-N相互作用が形成が誘起されないので、相対蛍光強度の増加現象が消失する。pH8以下の領域では二箇所のボロン酸基ともに中性となるので、ボロン酸類の特徴であるアルカリ条件での速やかな錯化[10)~17)]を考慮すると、糖類との会合定数が低下し、糖質が解離してB-N相互作用の消滅により相対蛍光強度が減少していると考えられる。

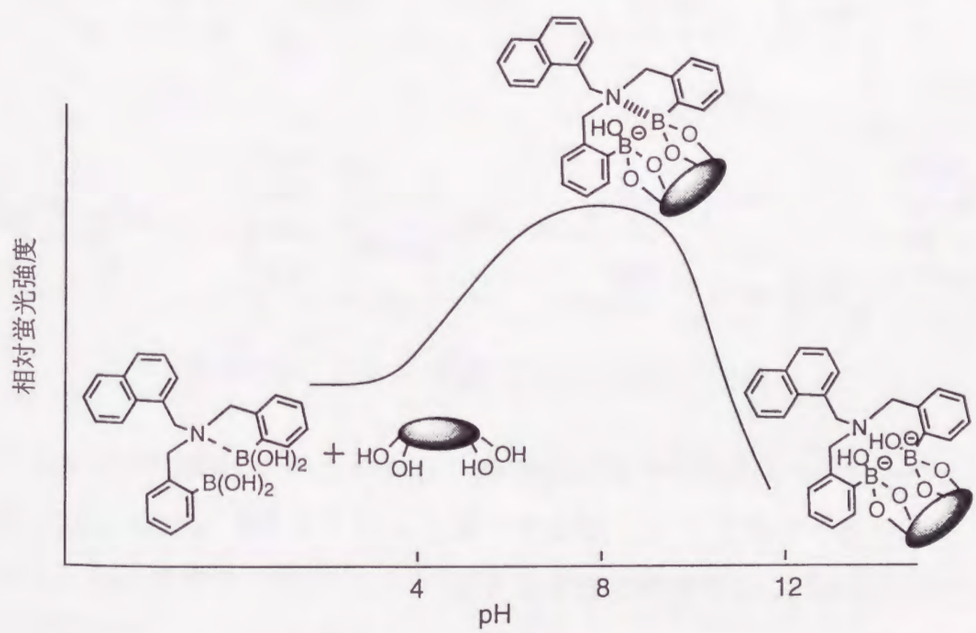
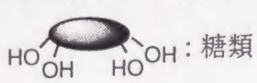


図2-23　糖類存在下でのpH依存性における化合物**2.16**の化学種変化の予想図



このような結果は、糖類が化合物**2.16**と錯化することによって強固なB-N相互作用が生じ、化合物**2.13**[21]や化合物**2.14**[22]の場合と同様なPET機能による蛍光強度の増大が化合物**2.16**においても観測されると言える。またここで、明らかな蛍光強度の増大を誘起できる糖類（D-フルクトース，D-グルコース，D-スレイトール，ペンタエリスリトール）にはフェニルボロン酸に錯化可能なジオール部位が必ず二箇所存在するが、これを誘起できない糖類(グリセリン）には一箇所しか存在しない。これより、化合物**2.16**の二箇所のフェニルボロン酸部位は糖類と協同的に作用していることが示唆される。

ここで、本章で測定に用いた糖類の構造を図2-24に示す。

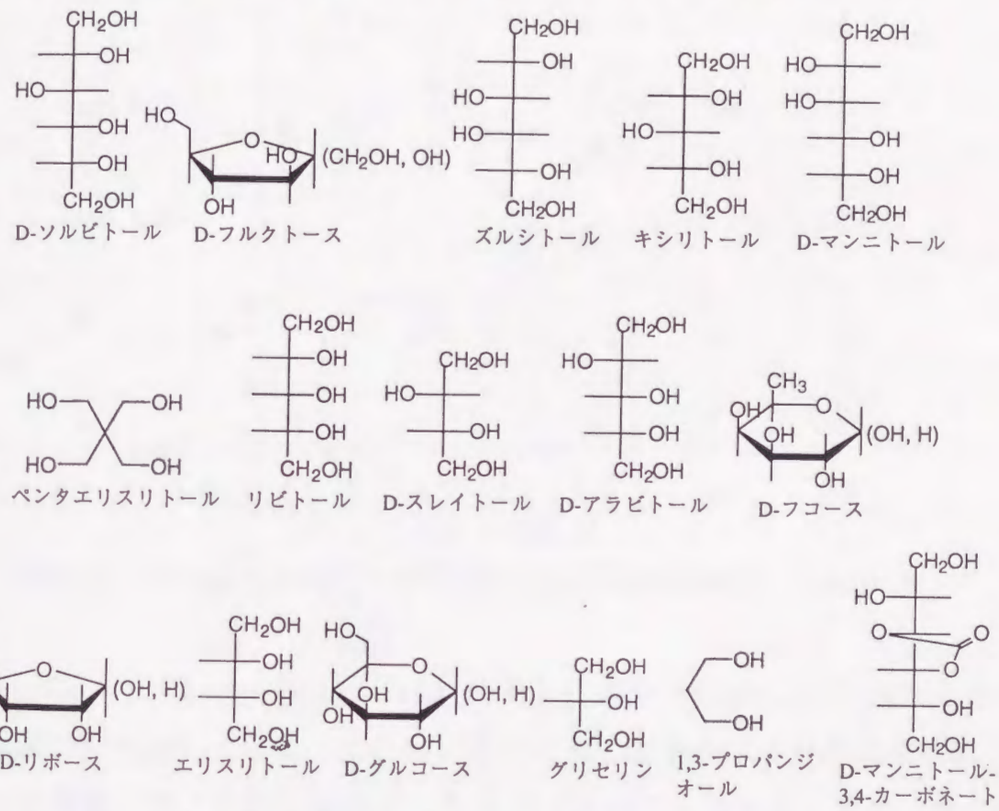


図2-24　本章で測定に用いた糖類の構造

このような二箇所のフェニルボロン酸の協同的な作用は、pH8.0における化合物**2.16**の蛍光スペクトルによる様々な糖類との錯化挙動の検討からも支持できる。その結果では糖類添加に伴う蛍光強度の変化は二箇所のジオール部位を有する糖類が蛍光強度の増加率が大きいというものであった。これらのことより、二箇所のフェニルボロン酸部位で一分子の糖類が錯化した化学

種（１：１錯体）が蛍光強度の増加に関与していることが示唆される。さらに、測定に用いた糖類の構造に着目すると、糖類添加に伴う蛍光強度がより増大しているのは非常に接近した場所（結合部位となるジオール間の炭素原子数がゼロ；Δn ＝ 0）に二箇所のジオール部位を持つ糖類であった。従って、二箇所のボロン酸部位間の距離によりフィットする二箇所のジオール部位を持つ糖類が会合定数が大きくなると考えられる。そこで会合定数log$K$に対する飽和の相対蛍光強度（347nm）をプロットし、図2-25に示す。図2-25には二箇所のジオール部位間の炭素原子数をΔnとして併せて示した。

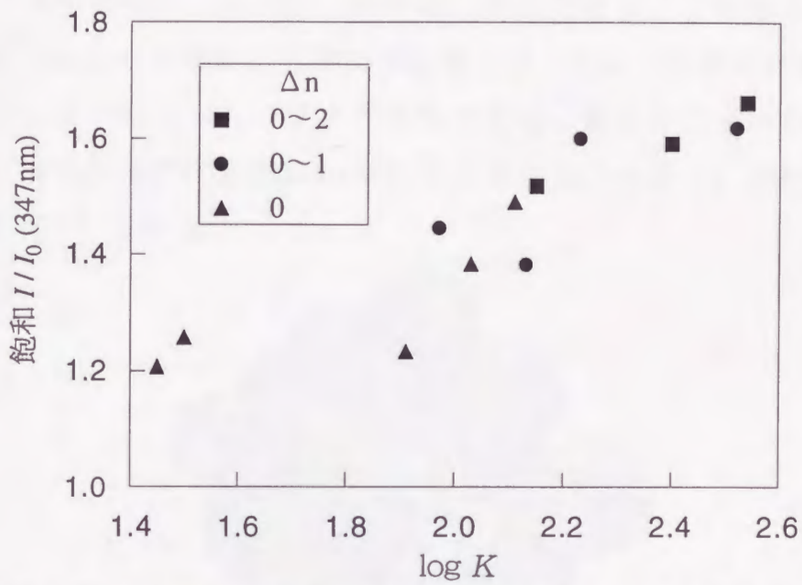


図2-25　会合定数log$K$に対する飽和の相対蛍光強度変化（347nm）

図2-25より、347nmの飽和の相対蛍光強度は会合定数log$K$の増加に伴いほぼ直線的に増加している。これは、糖類の会合定数の大きさが化合物**2.16**の蛍光強度増加度に密接に関係していることを表わしている。また、会合定数log$K$は距離の短い二箇所のジオール部位を多くもつ糖類に対して大きいことがわかる。従って、フェニルボロン酸に対する錯化部位であるジオール部位の数とそれらの間の距離が化合物**2.16**との錯化に関与していると考えられる。

以上のように、化合物**2.16**と効率よく錯化可能な糖類は二箇所以上のジオール部位を持ち、それらの間の距離が短いという構造をとっている。このことはジボロン酸誘導体である化合物**2.16**とモノボロン酸誘導体である化合物

2.13との蛍光スペクトルによる比較実験からも確認できる。つまり、二箇所のジオール部位が近距離に存在できる糖類（D-ソルビトール；$\Delta n = 0 \sim 2$）と相対的に遠距離に存在する糖類（D-グルコース；$\Delta n = 1$）は両者とも化合物**2.13**の蛍光強度を増大させるが、重要なことは化合物**2.16**においてはD-ソルビトールの添加でのみその蛍光強度を増大させることである。このように化合物**2.16**を用いることで、ある特定の糖類（二箇所のジオール部位が近距離に存在できる糖類）を選択的に検知する系が設計できる。

CPK分子モデルの考察より、化合物**2.16**は図2-26に示すような構造を取り得る。二箇所のフェニルボロン酸部位に着目すると、それらは3個の原子を介して結合しているために非常に短距離（ホウ素原子間距離が約3Å）に存在している。このことは、いままで述べてきた二箇所のジオール部位が短距離に存在する糖類ほど化合物**2.16**に対して会合定数が高く、錯化しやすいという事実を支持している。

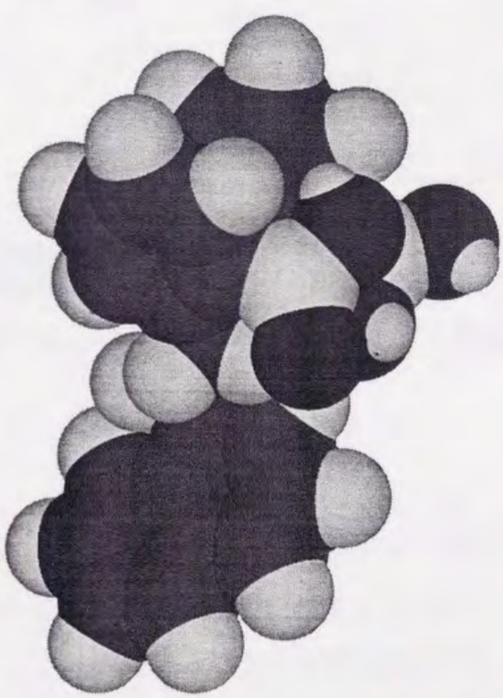


図2-26　化合物**2.16**の取り得る構造

二箇所のフェニルボロン酸部位が協同的に働き一分子の糖類と錯化した化学種、いわゆる1：1錯体における情報を得るためにCDスペクトルによる錯体構造の検討を行い、化合物**2.16**とのCD活性種を与える糖類（ソル

ビトール）が存在することがわかった。このCD活性種は、二箇所のボロン酸基と協同的に錯化可能であるソルビトールと化合物**2.16**とが二点で相互作用し、固定化されることで比較的堅い構造となって糖類の不斉によりCD活性となった化合物**2.16**とソルビトールとの1：1錯体であると予測できる。

以上の検討により、二箇所のボロン酸基を短距離に固定したボロン酸誘導体である化合物**2.16**を糖質レセプターとして用いることで、スペクトル的手法、特に蛍光スペクトル法によって選択的な糖類の検知が行えることが明らかとなった。この選択性とは、二箇所のジオール部位を有し、かつそれらが近距離に存在する糖類に対して特異的に錯化するというものであった（図2-27）。

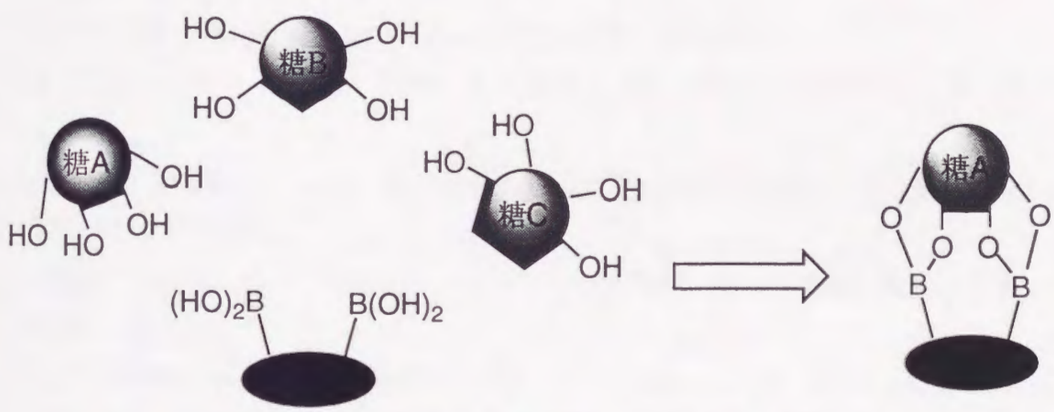


図2-27　二箇所のボロン酸基の固定化による糖質の選択的認識

2－4　結論

ジボロン酸誘導体による糖質の選択的認識では二箇所のボロン酸基の一分子の糖質への協同的な錯化が利用されている。今までに蛍光分子上に二つのボロン酸基の距離を一定に固定し、PETの機能を利用したグルコースレセプターが報告されている[22]が、これらの距離を変化させることでどの様に糖質認識の選択性が変わるかは明白にわかっていなかった。しかし、本章での結果より、二箇所のボロン酸基の距離を蛍光分子上で短くすることでそれに対応できる糖質、すなわちジオール部位が短距離に二箇所存在する糖質に対する選択性が現われたことが実証できた。このことにより、様々な糖質に対す

る選択的認識には二箇所のボロン酸基を分子内で様々な距離に固定化することが有効であると結論づけられる。

参考文献

1) a) R. A. Bissell, A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, P. L. M. Lynch, G. E. M. Maguire, K. R. A. S. Sandanayake, *Chem. Soc. Rev.*, **1992**, 187; b) R. A. Bissell, A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, P. L. M. Lynch, G. E. M. Maguire, C. P. McCoy, K. R. A. S. Sandanayake, *Top. Curr. Chem.*, **168**, 223 (1993); c) A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, C. P. McCoy, P. R. S. Maxwell, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *pure Appl. Chem.*, **68**, 1443 (1996).

2) A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.*, **27**, 302 (1994).

3) A. P. de Silva, S. A. de Silva, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1986**, 1709.

4) A. P. de Silva, K. R. A. S. Sandanayake, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **29**, 1173 (1990).

5) M. E. Huston, E. U. Akkaya, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8735 (1989).

6) D. H. Vance, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 9397 (1994).

7) 小宮山真, 荒木孝二, 分子認識と生体機能, 朝倉書店, 東京 (1989).

8) 小川智也, 楠本正一, 糖－その多様性を探る, 化学同人, 京都 (1992).

9) a) J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.*, **24**, 796 (1959); b) G. Wulff, *pure Appl. Chem.*, **54**, 2093 (1982); c) G. Wulff, H. -G. Poll, *Makromol. Chem.*, **188**, 741 (1987).

10) a) K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Org. Chem.*, **56**, 4089 (1991); b) S. Shinkai, K. Tsukagoshi, Y. Ishikawa, T. Kunitake, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1991**, 1039; c) K. Kondo, Y. Shiomi, M. Saisho, T. Harada, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **48**, 8239 (1992); d) Y. Shiomi, M. Saisho, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 2111; e) Y. Shiomi, K. Kondo, M. Saisho, T. Harada, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *Supramol. Chem.*, **2**, 11 (1993); f) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Supramol. Chem.*, **6**, 141 (1995).

11) J. Yoon, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 5874 (1992).

12) Y. Nagai, K. Kobayashi, H. Toi, Y. Aoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 2965 (1993).

13) a) H. Murakami, T. Nagasaki, I, Hamachi, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 6273 (1993); b) H. Murakami, T. Nagasaki, I, Hamachi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1994**, 975.

14) H. Shinmori, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **51**, 1893 (1995).

15) M. Takeuchi, T. Mizuno, H. Shinmori, M. Nakashima, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **52**, 1195 (1996).

16) K. R. A. S. Sandanayake, K. Nakashima, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 1621.

17) M. Takeuchi, S. Yoda, T. Imada, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **53**, 8335 (1997).

18) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8982 (1995).

19) T. D. James, P. Linnane, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1996**, 281.

20) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **35**, 1911 (1996).

21) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 477.

22) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **33**, 2207 (1994).

23) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Nature*, **374**, 345 (1995).

24) H. Nakatani, T. Morita, K. Hiromi, *Biochim. Biophys. Acta*, **525**, 423 (1978).

25) 西川泰治, 平木敬三, 蛍光・りん光分析法, 共立出版, 東京 (1984).

26) H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).

27) S. Fery-Forgues, M. -T. Le Bris, J. -P. Guetté, B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, **92**, 6233 (1988).

28) T. D. James, H. Shinmori, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1996**, 705.

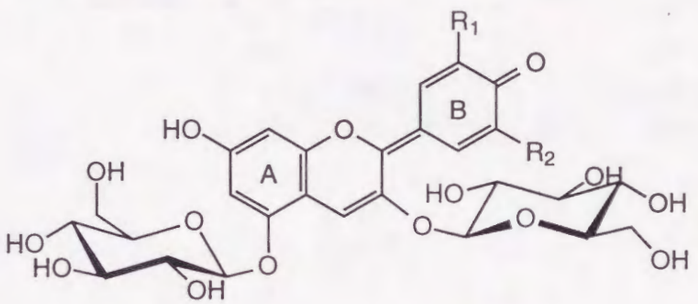
29) K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody, *Circular Dichroism*, VCH, New York (1994).

30) 阿武喜美子, 瀬野信子, 糖化学の基礎, 講談社, 東京 (1994).

第3章　フェニルボロン酸修飾スピロベンゾピランを用いる糖質レセプターの設計と機能

3－1　序論

花の色は多種多様であり、同じ花が青色から紫色に変化したり、株を移植しただけでも色が変化する[1)]。自然界が使用している花色素の基本構造は少数であるにもかかわらず、異なる色が現われる現象は不思議なことである。この花色素の代表的なものが図3-1に示すようなアントシアニン類である。アントシアニンとはフラボノイド系の植物色素の一種で、植物では配糖体として存在する[2),3)]。アントシアニン類は全部で六種類の基本構造しか自然界に存在しておらず、自然界に存在する非常に多様性に豊んだ花の色の種類を考えるとその数の少なさは驚くべきことである。



R_1	R_2	アントシアニン*)	アントシアニジン*)
H	H	ペラルゴニン	ペラルゴニジン
OH	H	シアニン	シアニジン
OCH_3	H	ペオニン	ペオニジン
OH	OH	デルフィン	デルフィニジン
OCH_3	OH	ペツニン	ペツニジン
OCH_3	OCH_3	マルビン	マルビジン

*) アントシアニンはアントシアンのうちの配糖体に、アントシアニジンはアントシアンのアグリコンに対して用いられる呼び名

図3-1　自然界に存在するアントシアニンの基本構造

この花色素であるアントシアニンは母核上の水酸基に各種の糖質が結合したものであり、色素によってはさらに糖質あるいは芳香族、非芳香族の有機酸が結合する[3]。図3-1から明らかなように、その構造の違いは母核B環上の置換基の差に過ぎない。水酸基が増えれば若干の青色化（深色化）が認められ、水酸基がメチル化されると赤色化（浅色化）が起こる。しかし、この影響はわずかなもので現実の広い範囲の花色発現を説明できるものではない。

アントシアニンの色は、溶液のpHにきわめて鋭敏に反応する。水溶液中で図3-2に示すような構造変化を起こし、強酸性の赤色から中性の紫色、アルカリ性の青色へと連続的に幅広く色が変化する[4]。

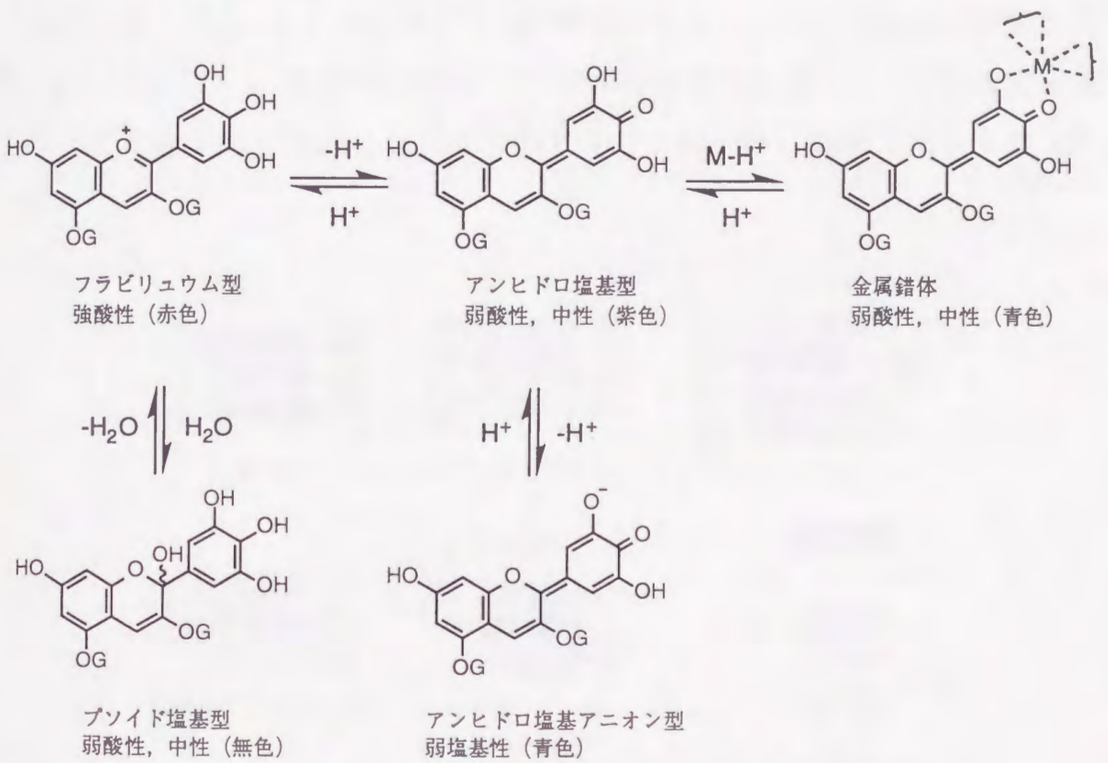


図3-2　pHによるアントシアニンの構造変化と色の変化
M：金属イオン，G：D-β-グルコシル基

このようにリトマスと同じようにpHによって色調が変化する現象より、1913年にWillstätterら[5]は花色発現に対してpH説を提唱した。また1919年には柴田ら[6]によって青色発現が金属錯体によるとする金属錯体説が提出された。一方、1931年にRobinsonら[7]は花弁には色素分子以外に多数の無色の物質（フラボンや芳香族酸など）が含まれ、これらとの共存によりアントシアニ

ンが色を変化させるとして助色素説（コピグメント説）を提出した。

アントシアニンの大きな謎の一つにその安定性がある。アントシアニン類は花弁の微酸性水溶液中では安定であるのに、抽出して水溶液にすると速やかに退色する。この原因はpH4～7ではアントシアニジン骨格のアンヒドロ塩基型が容易に水和反応を受け、無色のプソイド塩基型になるためである（図3-2）。これに対して、後藤ら[8]はアントシアニンが芳香環どうしの疎水的相互作用により分子間会合してその安定性と多彩な色調を獲得する機構を1980年代前半に提唱した。これはアントシアニジン母核が他の色素分子やフラボン分子とπ－π相互作用によって分子間会合し、水和反応が抑えられるとするものである（図3-3）。Asenら[9]の高濃度のアントシアニン溶液の安定化現象（自己会合説）、Robinsonら[7]のフラボンなどの助色素による色素安定化（コピグメント説）など、主だった説をすべて統一的に説明できるものであった。

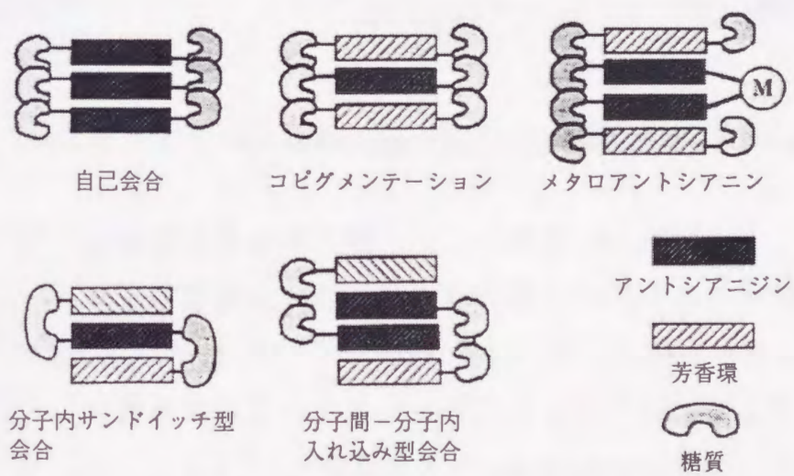


図3-3　アントシアニンの分子会合モデル

実際に彼らはツユクサ青色色素コンメリニンのX線結晶構造解析によって、錯体の形成による青色発現機構、さらにアントシアニンの分子会合の実体、自己組織化超分子色素の形成も詳細に検討している[10]。図3-4に示すように、コンメリニン分子は左旋的に自己会合したアントシアニンの単位（MM）とフラボンの単位（FF）がマグネシウムイオンのつくるC軸の回りに交互にプロペラ状に配位した構造をとり、超分子内部は芳香環が会合して疎水的に、超

分子表面では糖質やマロニル基により親水的になっていた。マグネシウムイオンへの配位により弱酸性から中性の領域でアントシアニンB環の4'-ケト，3'-アニオン型が安定化され、青色を保っている。これによって、金属錯体の形成による青色発現機構と、疎水的相互作用に基づく分子間会合による母核アントシアニジンの安定化機構が実証された。このような分子間会合した自己組織化超分子の構造に着目してみると、その左旋的な自己会合など糖質分子が非常に重要な役割を果たしていることがわかる。つまり、糖質によって超分子色素の構造が制御され、その結果として意図する色調へ変化させることができるということである。

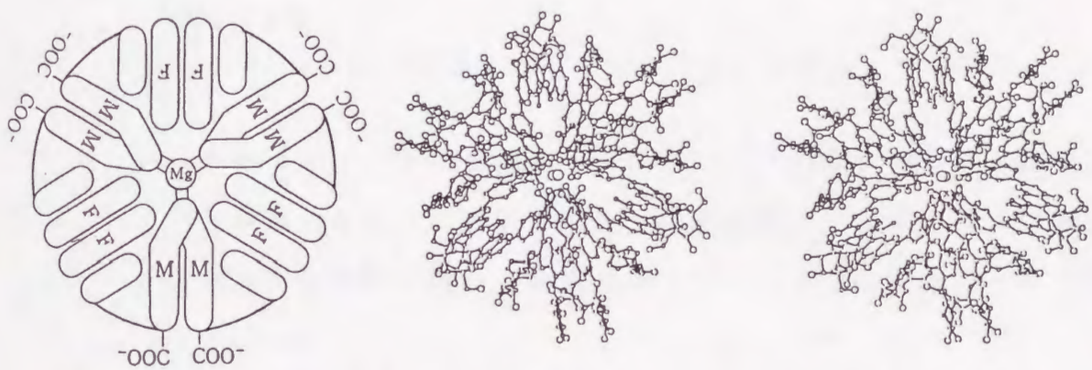


図3-4　コンメリニンの会合模式図（左）とX線結晶構造（中央，右）

一方、近年では金属イオンや有機分子との錯形成に起因して、配位子の構造変化あるいは電子状態変化を起し、それに伴う色の変化を利用した比色定量法に関心が集まっている[11)~16)]。特に金属イオンと錯体を形成し発色する機能性大環状化合物を総称してクロモイオノフォアと呼び、より高性能なイオン認識素子（イオノフォア）が開発されるに伴い新しい型の比色試薬が次々と登場している[15)]。

例えば、図3-5に示すような中性型クロモイオノフォアがVögtleら[17),18)]によって報告されている。発色団のドナー部位がイオノフォア部位に連結された構造であり、イオノフォア部位の取り込まれた金属イオンと発色団のドナー部位が直接相互作用できる。この金属錯体は錯体を形成していない状態と比較すると、基底状態を安定化し、励起状態を不安定化するため、吸収波長は大きなエネルギー吸収を必要とする短波長側へシフトする（浅色移動）[17)]。

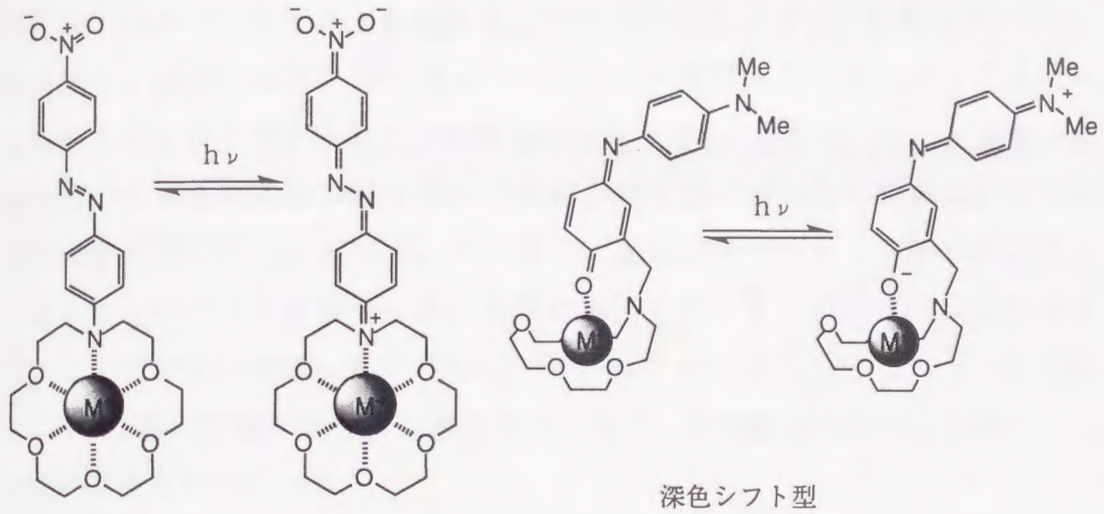


図3-5　Vögtleらの中性型クロモイオノフォア金属錯体の光吸収

同様に発色団のアクセプター部位が、イオノフォア部位に取り込まれた金属イオンと相互作用するように設計されたクロモイオノフォアでは、錯形成に基づく励起状態の安定化が起り、長波長側へのシフト（深色移動）が見られている（図3-5）[18]。

金属イオンとの錯形成により、イオノフォア部位の両端に結合させたドナー部位とアクセプター部位の分子間電荷移動相互作用を誘起するクロモイオノフォアも開発されている（図3-6）[19]。これは電荷移動吸収帯の発現により色の変化を誘起する系である。

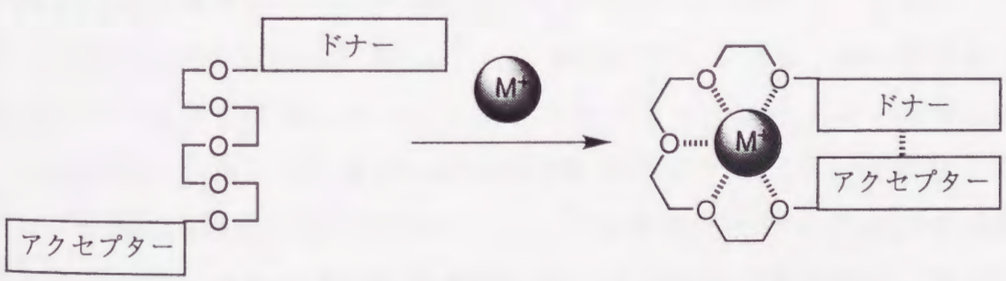
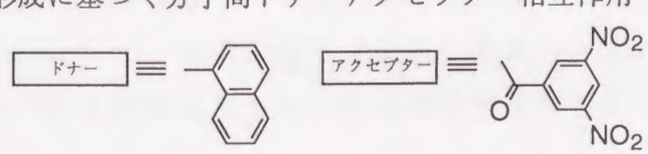


図3-6　錯形成に基づく分子間ドナーアクセプター相互作用



また、図3-7に示すような酸解離型のクロモイオノフォアも報告[20),21)]されている。これらは発色団となるフェノール性水酸基がイオノフォア部位に直接組み込まれた構造を有し、有機塩基存在下でLi^+塩を加えると、溶液の色が黄色から紫色に深色移動する。この応答は金属イオンとの錯形成による水酸基の酸解離に基づいている。有機塩基は発色団のプロトン解離を促進するとともに、プロトン受容体の役割を果たしている。また同様な概念を利用して、イオノフォア部位にクリプタンド[22)]、スフェランド[23)]、カリックスアレーン[24)]などの大環状化合物を導入することで、選択性の向上や水溶液中への展開が可能となっている。

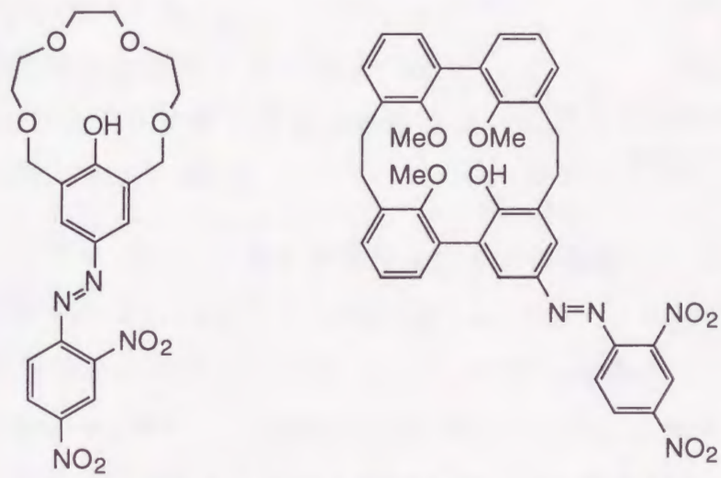


図3-7　酸解離型クロモイオノフォアの構造

上述したようなプロトンの解離に伴う色の変化を利用して、有機分子であるアミン類の選択的認識は三角ら[25)]により報告されている。彼らが設計した色素化ホスト分子もアゾフェノール基を含むクラウンエーテルであり、次の三つの特徴を示した。1）クラウンエーテル環内にフェノール酸性基をもち、アミンとの酸塩基反応で生成するアンモニウム分子をイオン-双極子相互作用で捕捉する。2）ホスト分子の黄色溶液がアミン捕捉により濃色（赤紫～青紫色）変化する。3）立体障害などでクラウンエーテル環内に捕捉されないアミンは酸塩基反応が起こらず、ホスト溶液は黄色のままである。これらの特徴からアミンの視覚的識別は容易であり、定量的な測定も可能であることが示されている。

また、久保ら[26]は図3-8に示すようなカリックスアレーンを基体にして、これに発色団としてインドフェノールを、不斉源としてビナフチル基を導入した化合物を設計し、色の違いを伴う不斉認識が可能なことを報告した。これはキラルなアミノアルコール（フェニルグリシノール）やアミノ酸（フェニルグリシン）の添加により、それらのエナンチオマー対において異なる溶液の色を示すというものであった。ゲストのエナンチオマー対同士の差異は肉眼でも識別可能であることから、このホスト分子は比色不斉認識応答を発現することが明らかとなった。

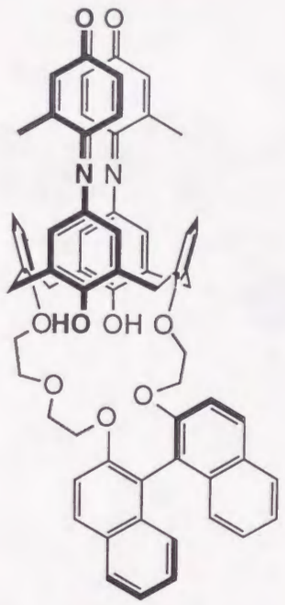
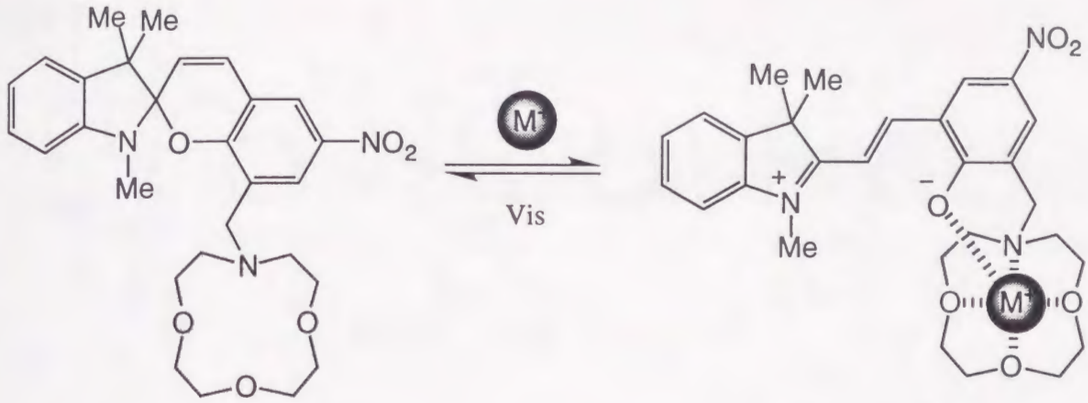


図3-8　久保らが設計した不斉認識レセプター

ところで、スピロベンゾピラン誘導体は無色の閉環体（スピロピラン構造）のピラン環の開裂によって発色した開環体（メロシアニン構造）を生成し、それぞれの吸収波長の光で励起することにより相互変換を行える（フォトクロミズム）分子である[27]。この開環反応はエネルギーに非常に敏感で酸，光，熱，圧力などによって生じる。このスピロピランの性質を利用し、現在までに分子認識部位を有するスピロベンゾピラン誘導体が合成され、分子認識に基づく情報が発色あるいは消色という形で議論されている[28),29]。例えば、図3-9に示すようなスピロベンゾピランにクラウンエーテル骨格を導入したクラウン化スピロベンゾピランが報告されている[29]。この溶液はリチウムイオンの添加により色変化を伴い、新しい吸収帯が現われる。これは図3-9に示すようにLi^+錯体の生成により、閉環型スピロピラン構造から開環型メロシアニン構造への互変異性に基づくものである。この原因は、開環反応によって生じるフェノレートアニオンがクラウン環に錯形成した金属イオンへ配位し、メロシアニン構造をより安定化するためである。



スピロピラン構造　　メロシアニン構造

無色　　発色

図3-9　スピロベンゾピラン誘導体の可逆的互変異性

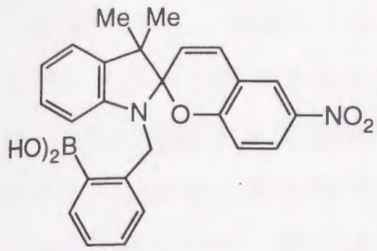
以上のことより、糖質のジオール部位とフェニルボロン酸とが自己縮合的に反応して共有結合を形成すること[30),31)]を利用し、フェニルボロン酸を修飾した分子を糖質の錯化により化学構造を変化させ、それに伴い色調を制御すれば糖質の視覚的認識が可能となる。

前章で述べたように糖質あるいはポリオール類と結合するボロン酸基のホウ素原子がアミン類の非共有電子対と相互作用（B-N相互作用）できる[32)]ので、スピロベンゾピラン誘導体を用いれば、三級アミンを有するスピロピラン構造と四級アミンを有するメロシアニン構造との平衡において錯化に伴う影響が生じ、糖質あるいはポリオール類の認識過程の検討が可能となる。

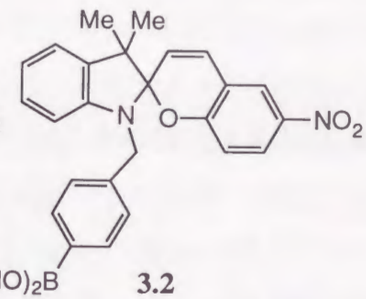
そこで本章では、フォトクロミズムを示すスピロベンゾピランにフェニルボロン酸を導入し、ボロン酸部位を用いて、糖質あるいはポリオール類の共有結合に基づく認識を行い、認識情報をピラン環の開閉裂により生じるメロシアニン色素の発色系の変化として読み出すことを目的とした。

具体的にはスピロピラン構造において、分子内でB-N相互作用できる距離にボロン酸基が存在するフェニルボロン酸修飾スピロベンゾピラン誘導体**3.1**、および分子内でB-N相互作用が不可能な位置にボロン酸基が存在するフェニルボロン酸修飾スピロベンゾピラン誘導体**3.2**、また参照化合物としてスピロベンゾピラン誘導体**3.3**を用いて、それらのピラン環の開閉裂により生じるメロシアニン色素生成による発色系の挙動に及ぼす糖質，ポリオール類添加の

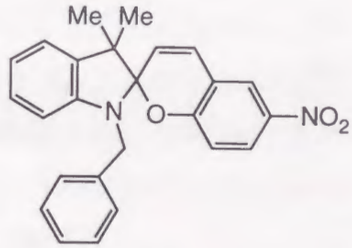
影響を検討した。



3.1



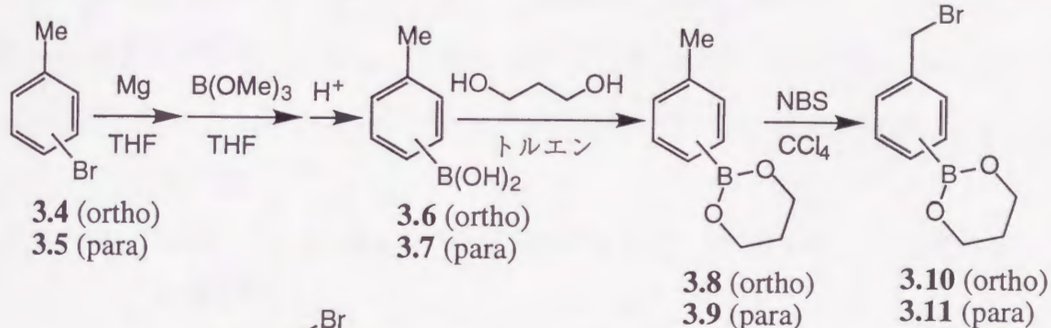
3.2



3.3

3－2　スピロベンゾピラン誘導体の合成

合成は以下のスキームに従って行った。

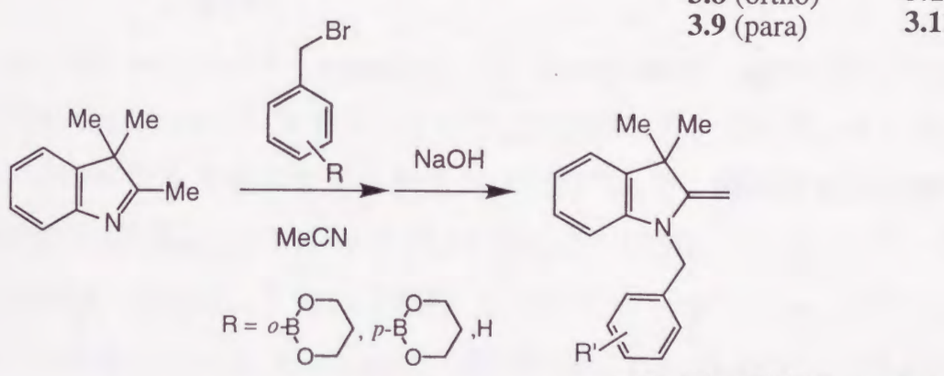


3.4 (ortho)
3.5 (para)

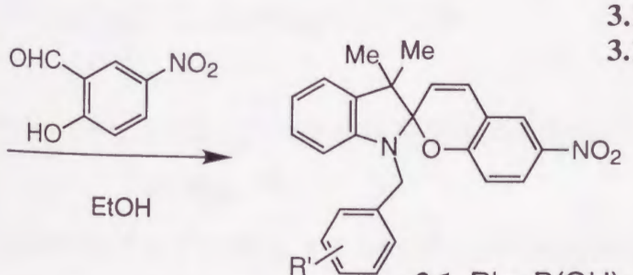
3.6 (ortho)
3.7 (para)

3.8 (ortho)
3.9 (para)

3.10 (ortho)
3.11 (para)



3.12 R' = $B(OH)_2$ (ortho)
3.13 R' = $B(OH)_2$ (para)
3.14 R' = H



3.1 R' = $B(OH)_2$ (ortho)
3.2 R' = $B(OH)_2$ (para)
3.3 R' = H

3－2－1　2-メチルフェニルボロン酸（**3.6**）の合成[33]

窒素気流下、金属マグネシウム4.35g(180mmol)に乾燥THF80ml、1,2-ジブロモエタン数滴を加え、2-ブロモトルエン(**3.4**)25.6g(150mmol)の乾燥THF60ml溶液を室温で滴下し、その後、1時間加熱還流した。放冷後、この溶液をトリメチルホウ酸18.6g(180mmol)の乾燥THF80ml溶液に窒素気流中-78℃で滴下した。滴下後、徐々に室温に戻して8時間撹拌した。これに10%硫酸80mlを加え、加水分解を行った。その後、不溶物をろ別し、ろ液より溶媒を減圧留去した。残渣にエーテルを加え抽出を行い、有機層を水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧留去した。析出した固体をエーテルと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、白色粉末（16.5g, 81%）を得た。融点151.2～152.5℃；IR(KBr) 3570~3100, 1340cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 2.81(3H, s, CH_3), 7.20~7.55(5H, m, ArHと$B(OH)_2$), 8.21(1H, d(*J*=7.2Hz), ArH).

3－2－2　2-(2-メチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.8**）の合成[33]

化合物**3.6**5.00g(36.8mmol)にトルエン150ml、1,3-プロパンジオール4.20g（55.2mmol）を加え、2時間加熱還流した。放冷後、水を加えて洗浄し、この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、黄色油状成分（6.43g, 99%）を得た。IR(neat) 1330, 1150cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 2.03(2H, m, $CH_2C\underline{H}_2CH_2$), 2.50(3H, s, CH_3), 4.15(4H, t(*J*=5.0Hz), $2OCH_2$), 7.11~7.30(3H, m, ArH), 7.71(1H, d(*J*=7.1Hz), ArH).

3－2－3　2-(2-ブロモメチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン(**3.10**)の合成[34]

窒素気流下、化合物**3.8**2.28g(13.0mmol)に四塩化炭素100ml、N-ブロモスクシンイミド(NBS)2.78g(15.6mmol)、過酸化ベンゾイル280mg(1.12mmol)を加え、2時間加熱還流を行った。反応混合物より沈澱物をろ別

し、それを四塩化炭素で洗浄し、ろ液に加えた。このろ液を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、黄色油状成分（2.65g, 80%）を得た。IR(neat) 1310, 1150cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 2 ℃) δ/ppm 2.09(2H, m, $CH_2C\underline{H}_2CH_2$), 4.19(4H, t(J=5.1Hz), $2OCH_2$), 4.91(2H, s, CH_2Br), 7.25~7.35(3H, m, ArH), 7.76(1H, d(J=7.2Hz), ArH)；元素分析（$C_{10}H_{12}BBrO_2$として）計算値：C, 47.12; H, 4.75%. 測定値：C, 47.34; H, 4.81%.

3－2－4　3,3-ジメチル-1-(2-ボロニルベンジル)-2-メチレンインドリン（**3.12**）の合成[28)]

化合物**3.10**2.38g(9.32mmol)を乾燥アセトニトリル40mlに溶解させ、これに2,3,3-トリメチルインドリン1.35g(8.48mmol)の乾燥アセトニトリル40ml溶液を加熱還流しながら滴下した。１５時間加熱還流後、反応混合物を室温まで放冷し、溶媒を減圧留去して赤色油状成分を得た。これに水100mlを加えて水に不溶な未反応物をエーテルにより抽出し、除去した。この水層に1N水酸化ナトリウム水溶液を加えて、pH10に調節し、室温で１時間撹拌した。その後、この反応混合物にエーテルを加えて抽出を行い、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して、黄色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、淡黄色粉末（1.18g, 48%）を得た。融点172.1～173.8℃；IR(KBr)3650~3100, 1600, 1340cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 1.13, 1.49(各々3H, 各々s, $2CH_3$), 4.55, 4.94(各々1H, 各々d(J=17.5Hz), $ArCH_2$), 6.14, 6.67(各々1H, 各々d(J=7.6Hz), $=CH_2$), 6.84~7.93(10H, m, ArHと$B(OH)_2$)；元素分析（$C_{18}H_{20}BNO_2 \cdot 0.2C_6H_{14}$として）計算値：C, 74.81; H, 6.93; N, 4.52%. 測定値：C, 74.30; H, 7.41; N, 4.51%.

3－2－5　3',3'-ジメチル-1'-(2-ボロニルベンジル)-6-ニトロスピロ(2*H*-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.1**）の合成[28)]

化合物**3.12**500mg(1.71mmol)を乾燥エタノール10mlに溶解させ、これに5-ニトロサリチルアルデヒド320mg(1.88mmol)を加えて、2時間加熱還流を行った。その後、反応混合物を室温まで放冷後、不溶物をろ別し、そのろ液より溶媒を減圧留去して褐色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、褐色粉末（670mg，89%）を得た。融点192.6～194.2℃；IR(KBr)　3650~3150，　1510，　1340cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz，DMSO-d_6，TMS，27℃) δ/ppm 1.24(6H，s，2CH_3)，4.41，4.53(各々1H，　各々d(*J*=16.4Hz)，　ArCH_2)，　6.03，　6.24(各々1H，　各々d(*J*=10.4Hz)，CH=CH)，6.76~7.26(8H，m，ArH)，7.48(1H，d(*J*=7.2Hz)，ArH)，8.02(1H，d(*J*=8.9Hz)，ArH)，8.11(2H，bs，B$(OH)_2$)，8.18(1H，s，ArH)；元素分析（$C_{25}H_{23}BN_2O_5$として）計算値：C，67.88; H，5.24; N，6.33%. 測定値：C，68.00; H，5.00; N，6.40%.

3－2－6　4-メチルフェニルボロン酸（**3.7**）の合成[33)]

窒素気流下、金属マグネシウム1.74g(70mmol)に乾燥THF40ml、1,2-ジブロモエタン数滴を加え、4-ブロモトルエン(**3.5**)11.2g(65.5mmol)の乾燥THF30ml溶液を室温で滴下し、その後、1時間加熱還流した。放冷後、この溶液をトリメチルホウ酸10.2g(95mmol)の乾燥THF40ml溶液に窒素気流中-78℃で滴下した。滴下後、徐々に室温に戻して8時間撹拌した。これに10%硫酸35mlを加え、加水分解を行った。その後、不溶物をろ別し、ろ液より溶媒を減圧留去した。残渣にエーテルを加え抽出を行い、有機層を水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧留去した。析出した固体をTHFと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、白色粉末（7.15g，80%）を得た。融点246.7～248.2℃；IR(KBr)　3650，　1350cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz，DMSO-d_6，TMS，27℃) δ/ppm 2.30(3H，s，CH_3)，7.15，7.64(各々2H，各々d(*J*=7.6Hz)，ArH)，7.90(2H，s，B$(OH)_2$).

3－2－7　2-(4-メチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン（**3.9**）の合成[33)]

化合物**3.7**4.00g(29.4mmol)にトルエン100ml、1,3-プロパンジオール3.36g（44.1mmol）を加え、2時間加熱還流した。放冷後、水を加えて洗浄し、この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、黄色油状成分（5.05g，95%）を得た。IR(neat)　1340，　1150cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz，$CDCl_3$，TMS，27℃)　δ/ppm　2.04(2H，m，$CH_2C\underline{H}_2CH_2$)，2.35(3H，s，CH_3)，4.15(4H，t(*J*=5.0Hz)，$2OCH_2$)，7.15，7.65(各々2H，各々d(*J*=7.5Hz)，ArH).

3－2－8　2-(4-ブロモメチルフェニル)-1,3-ジオキサ-2-ボリナン(**3.11**)の合成[34)]

窒素気流下、化合物**3.9**2.50g(14.2mmol)に四塩化炭素100ml、N-ブロモスクシンイミド(NBS)2.78g(15.6mmol)、過酸化ベンゾイル280mg(1.12mmol)を加え、2時間加熱還流を行った。反応混合物より沈澱物をろ別し、それを四塩化炭素で洗浄し、ろ液に加えた。このろ液を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、白色粉末を得た。これをエーテルと石油エーテルによって再結晶し、白色結晶（2.57g，71%）を得た。融点232.7～234.3℃；IR(KBr)　1340，　1160cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz，$CDCl_3$，TMS，27℃)　δ/ppm　2.05(2H，m，$CH_2C\underline{H}_2CH_2$)，4.15(4H，t(*J*=5.0Hz)，$2OCH_2$)，4.49(2H，s，CH_2Br)，7.35，7.73(各々2H，各々d(*J*=7.5Hz)，ArH)；元素分析（$C_{10}H_{12}BBrO_2 \cdot 0.07C_6H_{14}$として）計算値：C，47.91; H，5.01%. 測定値：C，48.22; H，4.48%.

3－2－9　3,3-ジメチル-1-(4-ボロニルベンジル)-2-メチレンインドリン（**3.13**）の合成[28)]

化合物**3.11**1.50g(5.88mmol)を乾燥アセトニトリル25mlに溶解させ、これに2,3,3-トリメチルインドリン0.85g(5.33mmol)の乾燥アセトニトリル25ml溶液を加熱還流しながら滴下した。5時間加熱還流後、反応混合物を室

温まで放冷し、溶媒を減圧留去して赤色油状成分を得た。これに水50mlを加えて水に不溶な未反応物をエーテルにより抽出し、除去した。この水層に1N水酸化ナトリウム水溶液を加えて、pH10に調節し、室温で1時間撹拌した。その後、この反応混合物にエーテルを加えて抽出を行い、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して、黄色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、淡黄色粉末（0.88g, 56%）を得た。融点192.9～195.4℃；IR(KBr)3650~3100, 1600, 1340cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, DMSO-d_6, TMS, 27℃) δ/ppm 1.32(6H, s, 2CH_3), 3.88(2H, d(*J*=6.5Hz), =CH_2), 4.76(2H, s, ArCH_2), 6.60~7.72(8H, m, ArH), 8.00(2H, s, B(OH)$_2$)；元素分析（$C_{18}H_{20}BNO_2$として）計算値：C, 73.74; H, 6.88; N, 4.78%. 測定値：C, 73.91; H, 7.01; N, 4.53%.

3－2－10　3',3'-ジメチル-1'-(4-ボロニルベンジル)-6-ニトロスピロ(2*H*-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.2**）の合成[28]

化合物**3.13**500mg(1.71mmol)を乾燥エタノール10mlに溶解させ、これに5-ニトロサリチルアルデヒド320mg(1.88mmol)を加えて、2時間加熱還流を行った。その後、反応混合物を室温まで放冷後、不溶物をろ別し、そのろ液より溶媒を減圧留去して黄色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、黄色粉末（470mg, 62%）を得た。融点280℃（分解）；IR(KBr) 3650~3150, 1510, 1330cm^{-1}；^{1}H-NMR (250MHz, DMSO-d_6, TMS, 27℃) δ/ppm 1.24, 1.26(各々3H, 各々s, 2CH_3), 4.17, 4.44(各々1H, 各々d(*J*=16.5Hz), ArCH_2), 6.10, 7.21(各々1H, 各々d(*J*=10.4Hz), CH=CH), 6.25(1H, d(*J*=7.7Hz), ArH), 6.76~7.18(4H, m, ArH), 7.30, 7.73(各々2H, 各々d(*J*=7.8Hz), ArH), 7.95(1H, s, ArH), 8.01(2H, bs, B(OH)$_2$), 8.21(1H, d(*J*=2.7Hz), ArH)；元素分析（$C_{25}H_{23}BN_2O_5 \cdot 0.1C_6H_{14}$として）計算値：C, 68.18; H, 5.52; N, 6.21%. 測定値：C, 68.40; H, 5.30; N, 6.10%.

3－2－11　3,3-ジメチル-1-ベンジル-2-メチレンインドリン（**3.14**）の合成[28)]

ベンジルブロミド2.00g(11.7mmol)を乾燥アセトニトリル50mlに溶解させ、これに2,3,3-トリメチルインドリン1.55g(9.73mmol)の乾燥アセトニトリル50ml溶液を加熱還流しながら滴下した。１５時間加熱還流後、反応混合物を室温まで放冷し、溶媒を減圧留去して赤色油状成分を得た。これに水50mlを加えて水に不溶な未反応物をエーテルにより抽出し、除去した。この水層に1N水酸化ナトリウム水溶液を加えて、pH10に調節し、室温で１時間撹拌した。その後、この反応混合物にエーテルを加えて抽出を行い、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して、黄色油状成分（1.55g，53%）を得た。IR(neat)3100~2800, 1600cm^{-1}；^{1}H-NMR(250 MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 1.40(6H, s, $2CH_3$), 4.72(2H, s, $ArCH_2$), 6.50, 6.72(各々1H, 各々d(J=7.8Hz), $=CH_2$), 7.02~7.32(9H, m, ArH)；元素分析（$C_{18}H_{19}N$として）計算値：C, 86.70; H, 7.68; N, 5.62%. 測定値：C, 87.01; H, 7.51; N, 5.73%.

3－2－12　3',3'-ジメチル-1'-ベンジル-6-ニトロスピロ(2*H*-1-ベンゾピラン-2,2'-インドリン)（**3.3**）の合成[28)]

化合物**3.14**700mg(2.81mmol)を乾燥エタノール20mlに溶解させ、これに5-ニトロサリチルアルデヒド520mg(3.09mmol)を加えて、２時間加熱還流を行った。その後、反応混合物を室温まで放冷後、不溶物をろ別し、そのろ液より溶媒を減圧留去して赤色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、黄色粉末（750mg，67%）を得た。融点156.0～157.6℃；IR(KBr) 3100~2800, 1600, 1510cm^{-1}；^{1}H-NMR (250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 1.30, 1.34(各々3H, 各々s, $2CH_3$), 4.21, 4.48(各々1H, 各々d(J=16.5Hz), $ArCH_2$), 2.95, 6.35(各々1H, 各々d(J=10.3Hz), CH=CH), 6.76~7.14(5H, m, ArH), 7.25~7.28(5H, m, ArH), 7.98(1H, s, ArH), 8.03(1H, d(J=8.9Hz), ArH)；元素分析（$C_{25}H_{23}BN_2O_5 \cdot 0.2C_6H_{14}$として）計算値：C, 74.67; H, 5.63;

N, 6.97%. 測定値：C, 74.73; H, 5.60; N, 6.93%.

3－3　測定および結果

3－3－1　吸収スペクトルによる溶媒変化の検討

化合物の電子スペクトルが溶媒の種類によって変わる現象はよく知られている[35]。これは溶媒分子が当該化合物のn−π*あるいはπ−π*遷移の難易に影響し、吸収スペクトルが変化する現象である。スピロピラン系色素の場合、スピロピラン構造と比較して、メロシアニン構造において電荷分離状態にある（図3-10）ため極性溶媒により安定化される。そこで、溶媒変化に伴う色の変化に関する知見を得るために吸収スペクトルによる溶媒変化の検討を行った。

スピロピラン構造　　メロシアニン構造

図3-10　スピロピラン系色素の可逆的な異性化反応

（1）測定

【測定条件】

[**3.1**] = [**3.3**] = 5.0×10^{-4}M

溶媒種 ベンゼン，クロロホルム，アセトン，ジメチルスルホキシド(DMSO)
アセトニトリル，*i*-プロパノール，エタノール，メタノール

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルに測定条件に示す様々な溶媒3.0ml、および化合物**3.1**あるいは化合物**3.3**のDMSO貯蔵液（3.1×10^{-2}M）50μlを入れ、これを測定した。

（2）結果

図3-11に溶媒変化に伴う化合物**3.1**の吸収スペクトル変化を示す。ここで用いたすべての溶媒中において、化合物**3.1**の吸収スペクトルは500～600nmの間に吸収帯を有している。この550nm付近に極大吸収波長をもつ吸収帯は、化合物**3.1**の開環型メロシアニン構造の化学種による吸収帯に帰属できる。またここでは、参照化合物となるボロン酸基を有しない化合物**3.3**を用

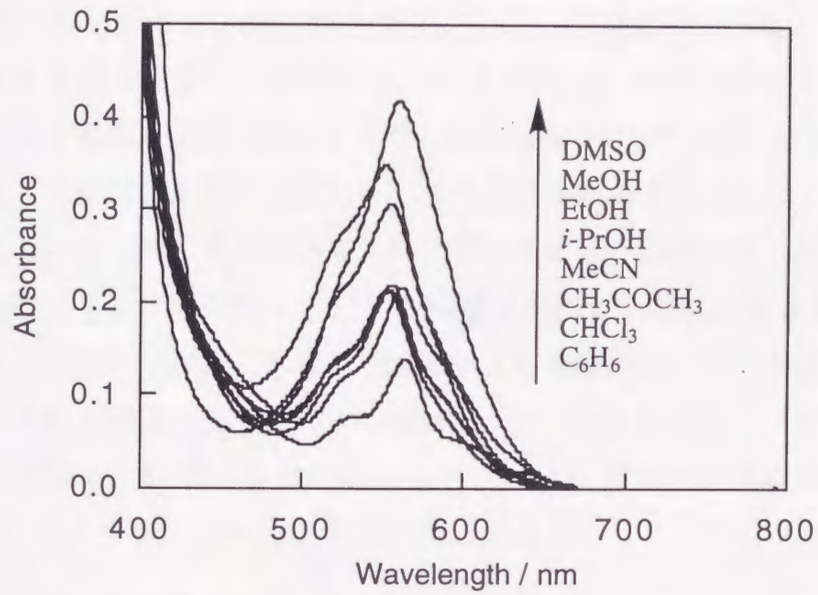


図3-11　化合物**3.1**の溶媒変化に伴う吸収スペクトル変化

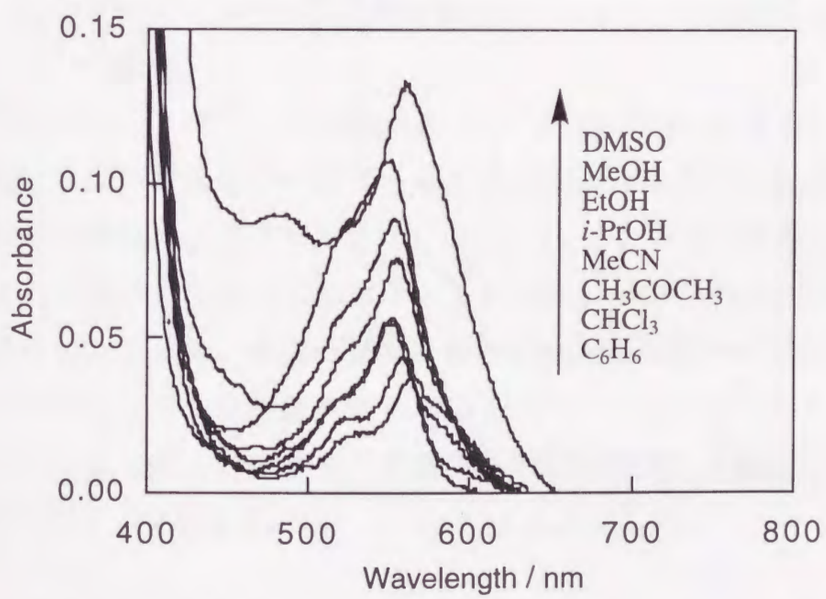


図3-12　化合物**3.3**の溶媒変化に伴う吸収スペクトル変化

いても吸収スペクトルによる溶媒変化の検討を同様に行った。図3-12に溶媒変化に伴う化合物**3.3**の吸収スペクトル変化を示す。化合物**3.1**の場合と同じように、化合物**3.3**の吸収スペクトルも、用いたすべての溶媒中で500～600nmの間に吸収帯を示している。これら化合物**3.1**，化合物**3.3**の吸収スペクトル変化の結果より明らかなように、両者の場合ともに溶媒の極性が増加するに従ってその吸光度は増大している。このことにより、溶媒の極性をコントロールすることで、スピロベンゾピラン誘導体はメロシアニン構造由来の可視部の吸収帯による溶液の色の変化をある程度制御できることがわかる。また両者の吸収スペクトル変化を比較してみると、溶媒の極性による吸光度変化の度合は明らかに化合物**3.1**を用いた測定結果のほうが大きくなっている。すなわち、化合物**3.1**は化合物**3.3**と比べて溶媒の極性により依存し、その色が変化する。ここで、化合物**3.1**と化合物**3.3**を用いた時のある同一溶媒中での吸収スペクトルに着目すると、どの溶媒を使用した場合も化合物**3.1**の吸光度が大きくなっている。これは、化合物**3.1**の構造中にはボロン酸基が存在するため、その水酸基とメロシアニン構造によって生じるフェノレートアニオンとの水素結合に起因するものか、あるいはそれぞれの溶媒中でのモル吸光係数（ε）の違いによるものであると考えられる。

3－3－2　吸収スペクトルによる糖質あるいはポリオール類との錯化挙動の検討

前項でも示したように、スピロベンゾピラン誘導体は閉環型スピロピラン構造においては可視領域に吸収帯を有しないが、開環型メロシアニン構造においては可視領域に吸収帯を有する。また、スピロピラン構造中にはボロン酸基とB-N相互作用可能な三級アミンを含むが、メロシアニン構造中にはこれを含まない。従って、糖質の添加に伴うB-N相互作用の変化によってスピロピラン－メロシアニン平衡状態に影響を与え、これを色の変化として読み出すことが可能である。そこで、糖質あるいはポリオール類のフェニルボロン酸部位への錯化挙動を吸収スペクトルにより検討した。

（1）測定

【測定条件】

[**3.1**] = [**3.2**] = [**3.3**] = 5.0×10^{-4}M

[モノオール類] = [ジオール類] = 0～0.10M

溶媒　アセトニトリル

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルにアセトニトリル2.0ml、および化合物**3.1**、化合物**3.2**または化合物**3.3**のDMSO貯蔵液（3.1×10^{-2}M）50μl、および適当な濃度のモノオール類（メタノール，エタノール，*i*-プロパノール；構造は89ページを参照）あるいはジオール類（2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，シス-1,2-シクロペンタンジオール，カテコール，1-*O*-オクチル-β-D-グルコピラノシド；構造は89ページを参照）のアセトニトリル溶液1.0mlを入れ、これを測定した。

（2）結果

まず、様々なモノオール類あるいはジオール類を一定濃度（0.10M）添加した場合の化合物**3.1**の吸収スペクトル変化を図3-13に示す。このモノオール類，ジオール類によるアセトニトリル中における吸収スペクトル変化の結果より、化合物**3.1**へモノオール類を添加しても、552nmに極大吸収波長をもつメロシアニン構造によるものと帰属できる吸収帯はほとんど変化していないことがわかる（わずかな吸光度の増加は、添加したモノオール類によって溶媒の極性が上昇し、メロシアニン構造が相対的に若干安定化されたものであると考えられる）。これはモノオール類が化合物**3.1**のフェニルボロン酸基に錯化しても環状ボロン酸エステル結合を形成せず、そのホウ素原子の酸性度の上昇が起こらないために、三級アミンを有するスピロピラン構造の安定化が生じないことに起因する。それに対して化合物**3.1**へジオール類を添加した場合、552nmに極大吸収波長をもつメロシアニン構造によるものと帰属できる吸収帯は明らかに減少している。この際、溶液の色が赤紫色から黄色

へ変化し、視覚的に色の変化を確認できる。これは、フェニルボロン酸基がジオール類と環状ボロン酸エステル結合を形成した際に、第２章でも述べたように、ホウ素原子の酸性度が上昇し、より強固な分子内B-N相互作用が生じ[32]、図3-14に示すように化合物**3.1**のスピロピラン構造が相対的に安定化されたためであると考えられる。

これらの結果から、化合物**3.1**はモノオール類の錯化ではその吸収スペクトルに影響を与えないが、糖質を含むジオール類の錯化で明らかにその吸収スペクトルに影響を及ぼす傾向があるということがわかる。

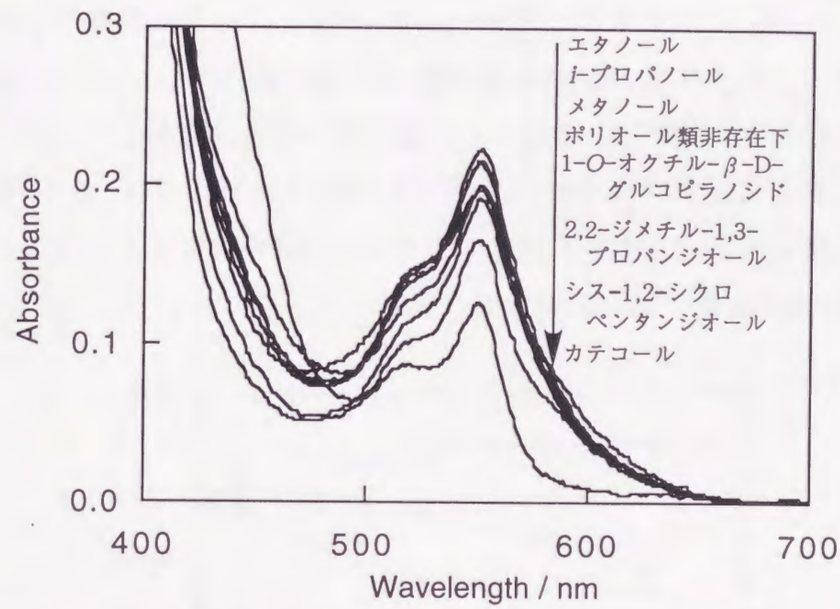


図3-13　様々なモノオール類，ジオール類を0.10M添加した場合の化合物**3.1**の吸収スペクトル変化

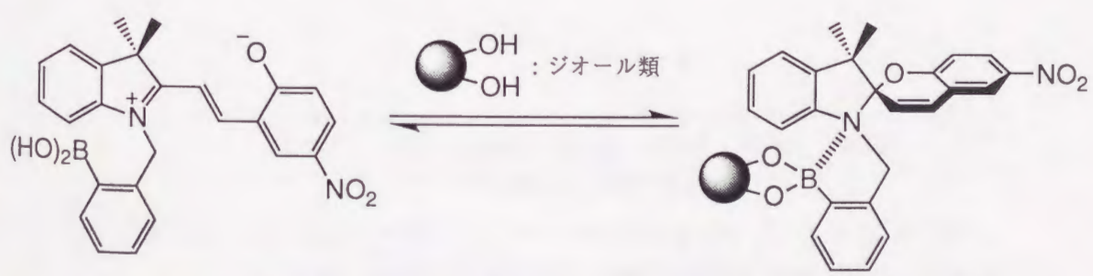


図3-14　ジオール類錯化に伴う化合物**3.1**の化学構造変化

そこで次に、モノオール類としてエタノール、糖質を含むジオール類として2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，シス-1,2-シクロペンタンジオール，カテコール，1-O-オクチル-β-D-グルコピラノシドを用いて測定を行い、その吸収スペクトルの結果より、モノオール類あるいはジオール類の濃度に対する化合物**3.1**，**3.2**，**3.3**のメロシアニン構造の吸収帯の極大吸収波長（化合物**3.1**では552nm，化合物**3.2**では570nm，化合物**3.3**では552nm）における吸光度変化を求めた。その結果をそれぞれ図3-15，図3-16，図3-17に示す。これらの結果より、モノオール類であるエタノールを様々な濃度で添加した際には、化合物**3.1**，**3.2**，**3.3**のすべての場合において、その吸収スペクトルにはほとんど変化がないことがわかる。図3-15に示す化合物**3.1**を用いた測定結果において、若干の吸光度の増加がみられるのみである。これは３－３－１項で示したような化合物**3.1**の場合のみ溶媒の極性に大きく依存することを考慮すると、エタノール添加により溶媒の極性が増大したことによるものと考えられる。ここで化合物**3.1**へジオール類を添加した場合に着目すると、図3-15に示すようにメロシアニン構造の極大吸収波長である552nmの吸光度

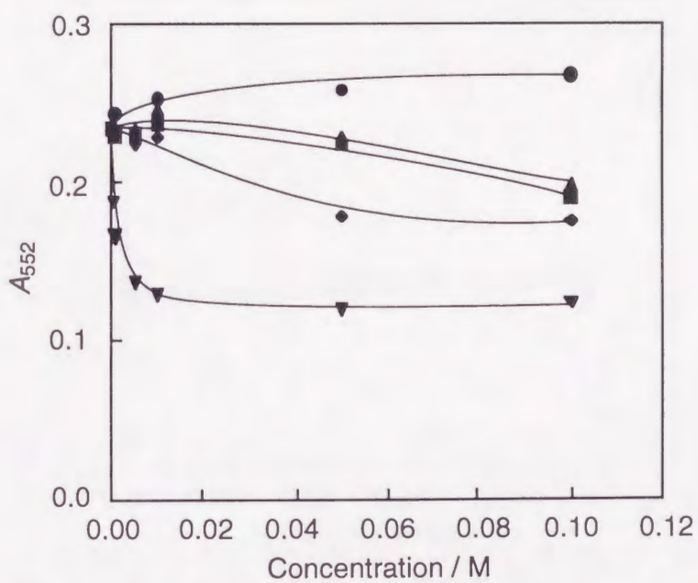


図3-15　モノオール類，ジオール類の濃度に対する化合物**3.1**の552nmの吸光度変化；●：エタノール，▲：1-O-オクチル-β-D-グルコピラノシド，■：2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，◆：シス-1,2-シクロペンタンジオール，▼：カテコール

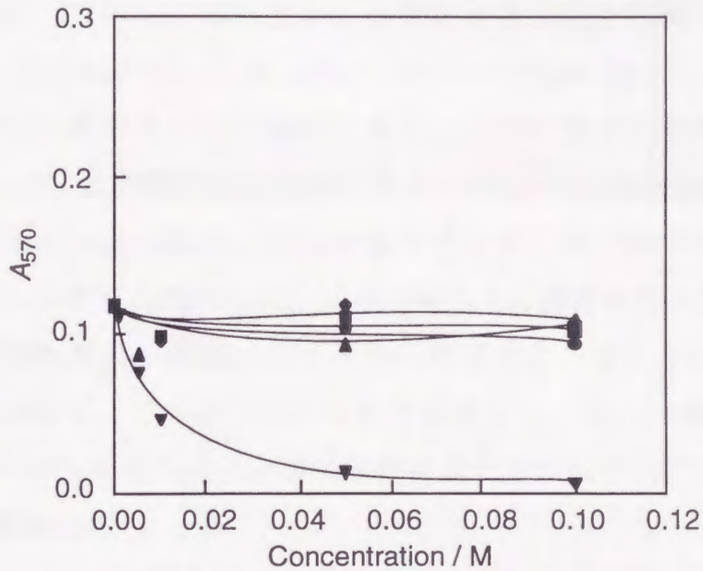


図3-16　モノオール類，ジオール類の濃度に対する化合物**3.2**の570nmの吸光度変化；●：エタノール，▲：1-*O*-オクチル-β-D-グルコピラノシド，■：2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，◆：シス-1,2-シクロペンタンジオール，▼：カテコール

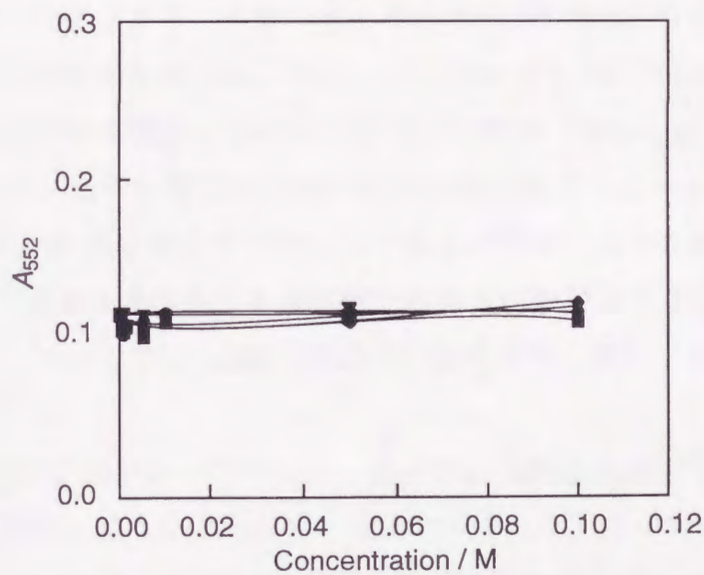


図3-17　モノオール類，ジオール類の濃度に対する化合物**3.3**の552nmの吸光度変化；●：エタノール，▲：1-*O*-オクチル-β-D-グルコピラノシド，■：2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，◆：シス-1,2-シクロペンタンジオール，▼：カテコール

は明らかに減少している。このとき、赤紫色から黄色へ視覚的に色の変化が確認できる。先にも述べたようにフェニルボロン酸部位へジオール類が環状ボロン酸エステル結合を介して錯化すると、そのホウ素原子の酸性度は上昇する[32]。従って、この酸性度が増加したホウ素原子は相互作用できる距離にある塩基、すなわちこの場合、非共有電子対を有する三級アミンと酸塩基反応を起こす（B-N相互作用の形成）。化合物**3.1**の構造を見ると、ボロン酸基と窒素原子は比較的近い距離（オルト位）に存在し、明らかに分子内B-N相互作用が可能である。このようなことを考慮すると、図3-15のような吸光度変化は化合物**3.1**のスピロピラン構造の相対的安定化に起因するものであると示唆される（図3-14）。

化合物**3.2**へジオール類を様々な濃度で添加したときの極大吸収波長の吸光度変化の結果（図3-16）においては、カテコールの場合を除き、用いたすべてのジオール類で吸光度の変化は観測できなかった。これは化合物**3.1**と比較すると化合物**3.2**はボロン酸基が窒素原子と分子内B-N相互作用が可能な距離に存在しない（パラ位）ため、ジオール類の錯化により吸収スペクトルに影響を及ぼさないためである。すなわち、化合物**3.2**の場合、B-N相互作用は分子内では不可能であると言える。また、化合物**3.3**へジオール類を様々な濃度で添加したときの極大吸収波長の吸光度変化の結果（図3-17）においても、用いたすべてのジオール類で吸光度の変化は観測できなかった。これは化合物**3.3**にはジオール類と結合すべきボロン酸基が存在しないためである。これらの結果は、化合物**3.1**のみジオール類との錯体形成で分子内B-N相互作用が可能なために、メロシアニン構造由来の吸収帯が減少することを支持する結果である。

ここで図3-16を振り返ってみると、分子内B-N相互作用できない位置にボロン酸基が存在するにもかかわらず、化合物**3.2**へカテコールを添加した場合にのみメロシアニン構造の吸収帯が例外的に減少している。この減少の原因を検討するために上述した測定条件の1/10の化合物**3.2**の濃度で10cm光学セルを用いて測定を行った。これにより、化合物**3.2**とカテコールの錯体の分子間でのB-N相互作用の有無を確認できると期待される。

実際に[化合物**3.2**] ＝ 5.0 × 10^{-5}Mで10cm光学セルを用いて吸収スペク

トルによるカテコール濃度依存性を行った結果より、カテコールの濃度に対する化合物**3.2**のメロシアニン構造の吸収帯の極大吸収波長（570nm）における吸光度変化を求め、[化合物**3.2**] = 5.0 × 10^{-4}Mで1cm光学セルを用いて同様な測定を行った結果と併せて、図3-18に示す。化合物**3.2**の濃度に伴い5.0 × 10^{-4}Mでは1cm光学セル，5.0 × 10^{-5}Mでは10cm光学セルを使用しているにもかかわらずメロシアニン構造に由来する極大吸収波長である570nmの吸光度変化の飽和値が異なる。これより、この挙動が化合物**3.2**の濃度に起因することがわかる。つまり、化合物**3.2**の濃度が高いほど、カテコールとの錯化でよりメロシアニン構造の割合を減少させていることになる。従って、分子内B-N相互作用できない位置にボロン酸基を有する化合物**3.2**を用いてカテコールを添加した場合のみメロシアニン構造の吸収帯が減少する原因は、ボロン酸基に対する親和性がカテコールでは非常に高いために、カテコールがボロン酸基と環状ボロン酸エステル結合を形成した酸性度の高いホウ素原子が比較的多く存在し、分子間B-N相互作用が生じたためであると示唆される。

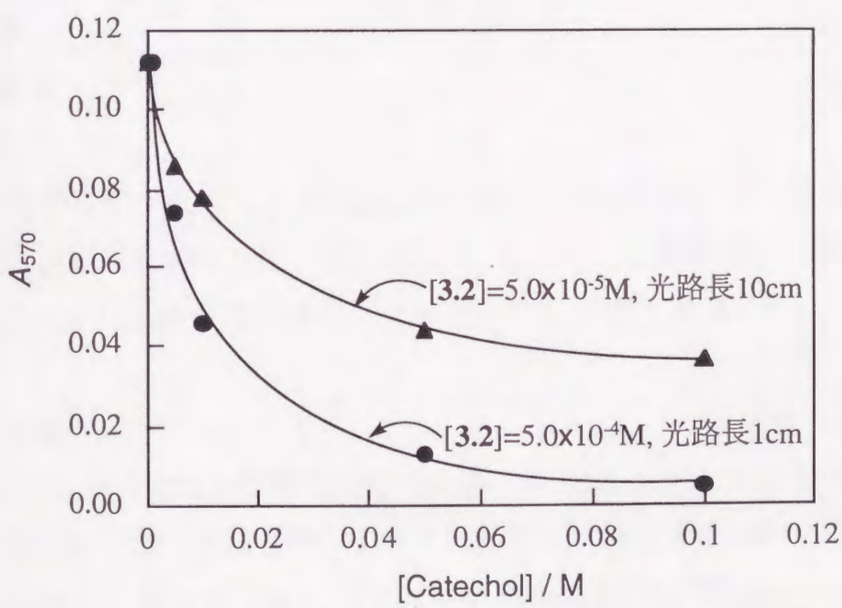


図3-18　カテコールの濃度に対する２種類の化合物**3.2**の濃度での570nmの吸光度変化

3－3－3　吸収スペクトルによる光異性化反応の検討

フォトクロミズムとは、物質が光照射によって可逆的な色の変化を引き起こす現象をいう[35]。この現象は古くから多くの化合物について知られており、それらの結果は集大成されている。このフォトクロミック色素の代表がスピロベンゾピラン誘導体であり、この色素は紫外光照射により発色し、その応答は良好である。そこで、この章で用いているスピロベンゾピラン誘導体の光異性化反応の知見を得るために、光照射による吸収スペクトル変化の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**3.1**] = [**3.3**] = 5.0×10^{-4}M

溶媒　アセトニトリル

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35（300＜λ / nm＜400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルにアセトニトリル3.0ml、および化合物**3.1**または化合物**3.3**のDMSO貯蔵液（3.1×10^{-2} M）50μl、を入れ、この試料を25℃に保ちながら、光源から5cmの位置に置き、光照射して、これを測定した。

（2）結果

図3-19に化合物**3.1**の光照射時間に伴う吸収スペクトル変化を示す。紫外光を照射するに従って化合物**3.1**のメロシアニン構造由来の吸収帯は明らかに増加している。つまり、メロシアニン構造体の割合が増加していることを表わす。この事実は化合物**3.1**がフォトクロミック分子であることを証明している。このように、紫外光照射によって化合物**3.1**のスピロピラン構造－メロシアニン構造平衡をメロシアニン構造の方へ容易に偏らせることができる。ま

た参照化合物なり得るボロン酸基を持たない化合物**3.3**においても同様な測定を行い、その光照射に伴う吸収スペクトルの時間に対する変化を図3-20に示す。この場合も化合物**3.1**の場合と全く同様な吸収スペクトル変化の挙動を示し、メロシアニン構造体の割合を紫外光照射によって容易に増加させることができる。また、両者の光照射による吸収スペクトル変化が飽和するまでの時間は20分間であることがわかる。

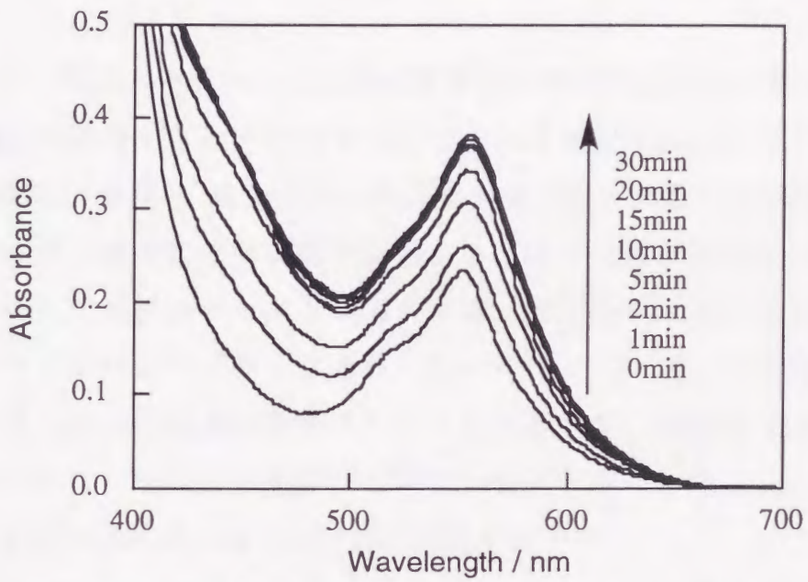


図3-19　化合物**3.1**の光照射の吸収スペクトル経時変化

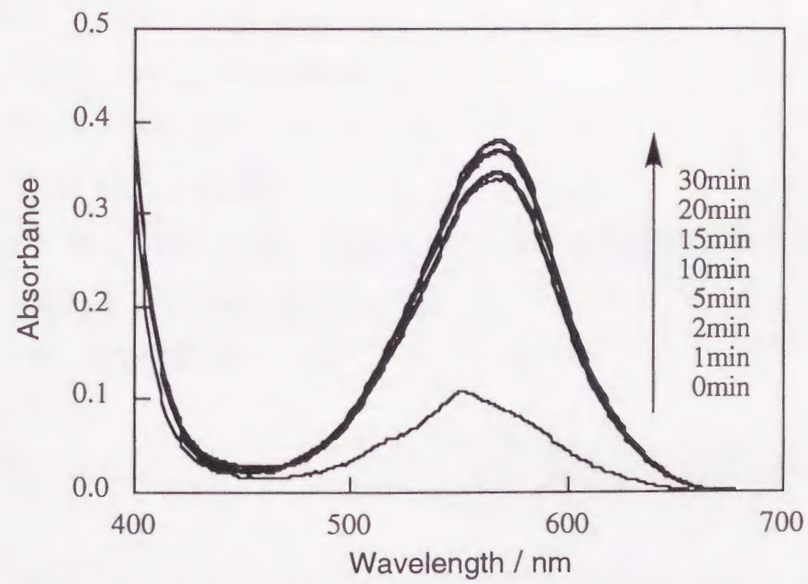


図3-20　化合物**3.3**の光照射の吸収スペクトル経時変化

この章では、メロシアニン構造体への糖質錯化に伴うスピロピラン構造への変化に関する検討を行っているために、糖質添加前にはメロシアニン構造体が多く存在する状態が好ましい。従って、化合物**3.1**, **3.3**がフォトクロミズムを示し、光照射によってより多くの対応するメロシアニン構造体を存在させることができることは、光照射を組み込んだ測定が非常に有効な手段であることを示している。

3－3－4　吸収スペクトルによる光照射後の熱異性化反応の検討

ある特定の温度で可逆的な構造変化を伴って変色するものをサーモクロミック化合物という[35]。熱力学的な構造変化は光化学的な構造変化とは本質的には異なるが、構造変化の機構を解明するうえで密接に関係している。一般にフォトクロミズムとサーモクロミズムは一部平行して起こることが知られており、スピロベンゾピラン誘導体においてはメロシアニン構造体からスピロピラン構造体へ熱的な閉環反応を生じる。そこで、この章で用いているスピロベンゾピラン誘導体の熱異性化反応の知見を得るために、一定温度における光照射後の吸収スペクトル変化の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**3.1**] = [**3.3**] = 5.0×10^{-4}M

溶媒　アセトニトリル

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35（300＜λ / nm＜400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　20分間

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルにアセトニトリル3.0ml、および化合物**3.1**または化合物**3.3**の

DMSO貯蔵液（3.1 × 10^{-2}M）50μl、を入れ、この試料を25℃に保ちながら、光源から5cmの位置に置き、20分間光照射した後、これを測定した。

（2）結果

図3-21に化合物**3.1**および化合物**3.3**の光照射20分後のそれぞれのメロシアニン吸収帯の極大吸収波長（化合物**3.1**の場合552nm，化合物**3.3**の場合568nm）の吸光度の時間変化を示す。化合物**3.3**より化合物**3.1**のほうが25℃におけるメロシアニン吸収帯の極大吸収波長の吸光度の減少速度が遅く、飽和状態における極大吸収波長の吸光度が大きい。また、この吸光度時間変化において、変化量が飽和するために要する時間は化合物**3.1**の場合が1200秒程度であるのに対して、化合物**3.3**の場合は200秒程度と非常に速いメロシアニン構造からスピロピラン構造への平衡過程である。これは、３－３－１項で先に述べたボロン酸基の水酸基とメロシアニン構造によって生じるフェノレートアニオンとの水素結合により、メロシアニン構造が相対的に安定化されることを支持できる結果である。さらに、表5-1に図3-21の結果より式3-1を用いて求めた化合物**3.1**および化合物**3.3**のメロシアニン構造からスピロピラン構造への熱異性化の1次速度定数（k_0）を示す。

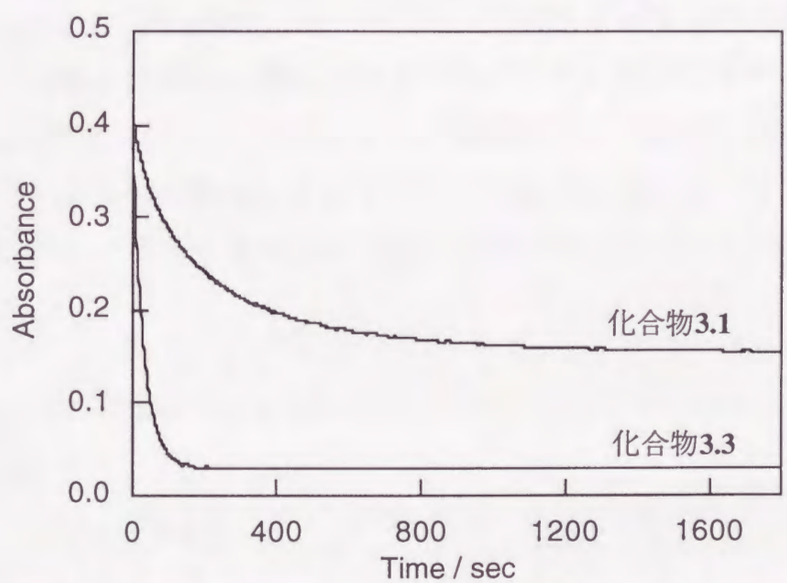


図3-21　光照射後の552nm（化合物**3.1**）あるいは568nm（化合物**3.3**）の吸光度の時間変化

$$ln \frac{A_0 - A_e}{A - A_e} = k_0 t \qquad 式3\text{-}1$$

A_0：初期の吸光度値
A ：時間tの吸光度値
A_e：飽和の吸光度値
k_0：熱異性化の1次速度定数(s^{-1})
t ：時間(s)

表5-1　化合物**3.1**および化合物**3.3**の熱異性化における1次速度定数（k_0）

	k_0 / s^{-1}
化合物**3.1**	6.8×10^{-3}
化合物**3.3**	3.1×10^{-2}

3－3－5　光照射後の熱異性化反応における糖質あるいはポリオール類錯化の影響と速度論的検討

前項までにより、化合物**3.1**においてポリオール類の錯化に伴い、強固なB-N相互作用の形成によって、そのスピロピラン構造が相対的に安定化することが示された。また、化合物**3.1**はフォトクロミズムを示し、紫外光照射によりメロシアニン構造の割合を増加させることができ、同時にサーモクロミズムも示し、熱異性化によってメロシアニン構造からスピロピラン構造へ変化する。そこで、紫外光照射後のメロシアニン構造からスピロピラン構造への熱異性化反応におけるポリオール類錯化の影響を吸収スペクトル的手法により検討した。

（1）測定

【測定条件】

[**3.1**] = 5.0×10^{-4}M

[ジオール類] = 0～0.10M

溶媒　アセトニトリル

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35（300＜λ／nm＜400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　20分間

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルにアセトニトリル3.0ml、および化合物**3.1**のDMSO貯蔵液（3.1 × 10^{-2}M）50μlを入れ、この試料を25℃に保ちながら、光源から5cmの位置に置き、20分間光照射した後、ジオール類（ピナコール，1,3-プロパンジオール，2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール，シス-1,2-シクロペンタンジオール，カテコール，1-O-オクチル-β-D-グルコピラノシド；構造は89ページを参照）が測定条件に示すようなそれぞれの濃度になるように加えて、これを測定した。

（2）結果

図3-22に、化合物**3.1**へ紫外光を20分間照射し、その後にジオール類を0.05Mとなるように添加した際のメロシアニン吸収帯の極大吸収波長（552nm）の吸光度の時間変化を示す。この結果より、化合物**3.1**へ紫外光を照射した後に、どのジオール類を添加しても、552nmの吸光度の減少速度は増加していることがわかる。また、552nmの吸光度の変化が飽和した吸光度値はジオール類の非存在下と存在下を比べると異なっており、存在するジオール類の種類によっても若干異なる。これらは、先に図3-14に示したような分子内B-N相互作用によってスピロピラン構造が相対的に安定化されたことに起因すると考えることにより、合理的に説明できる。吸光度の変化の飽和値が異なることは熱異性化反応の定常状態が異なることを表わしている。

また、前述したような化合物**3.1**の光照射後のジオール類添加による552nmの吸光度の時間変化測定を、様々なジオール類を用いて様々な濃度で行い、それらの結果より、ジオール類の濃度に対する見かけの1次速度定数（k）の変化を求めて図3-23に示す。化合物**3.1**へ紫外光を照射した後に、どのジ

オール類を添加しても、メロシアニン構造からスピロピラン構造へ変化する見かけの1次速度定数は増加している。これも、ジオール類のフェニルボロン酸部位への錯化に伴うより強固な分子内B-N相互作用の形成によって、スピロピラン構造の相対的安定化が生じることに起因する。

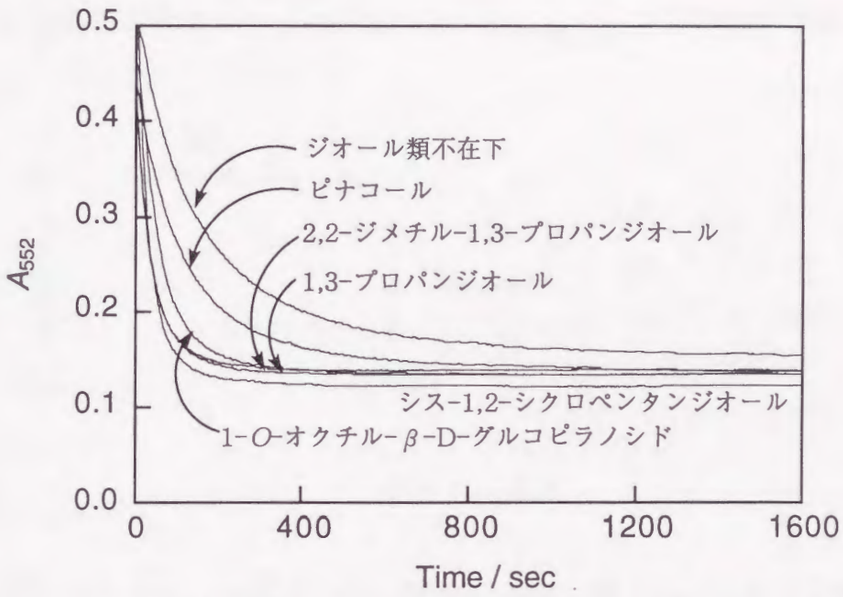


図3-22　化合物**3.1**の光照射後の0.05Mジオール類添加による552nmの吸光度の時間変化

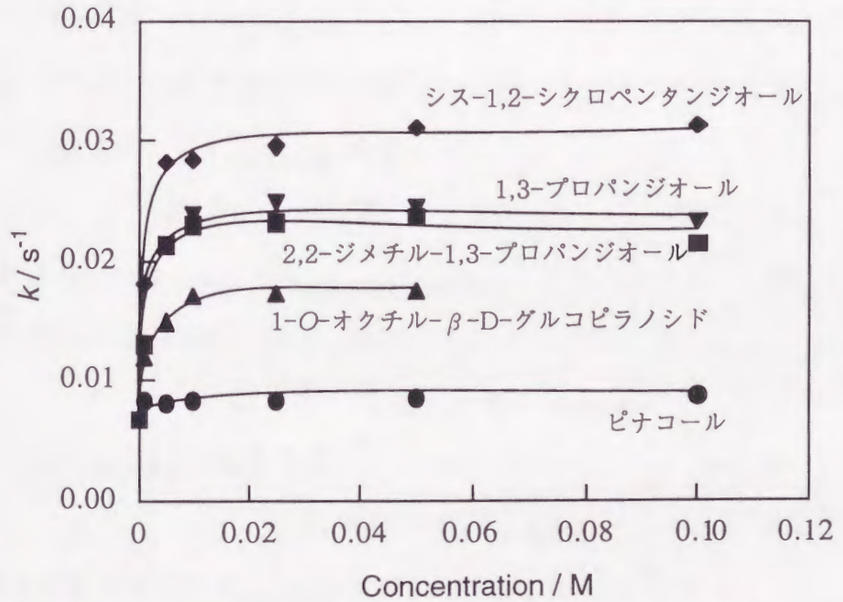
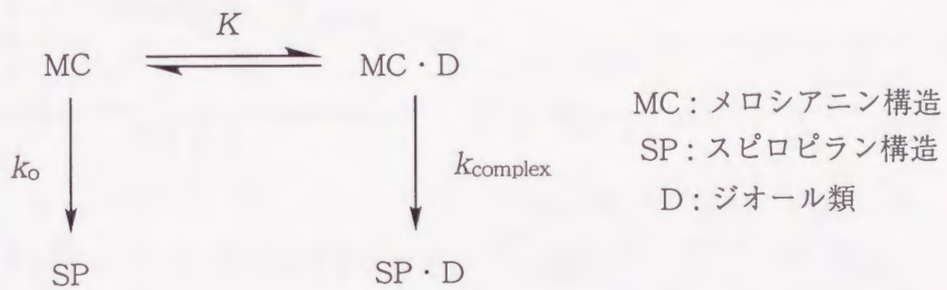


図3-23　光照射後のジオール類濃度に対する化合物**3.1**の見かけの1次速度定数（k）の変化

また、この結果を基に、スキーム3-1のような反応系に従って速度論[36]的取り扱いを以下に示す式3-2を用いて行い、ジオール類の化合物**3.1**のメロシアニン構造体に対する会合定数（K）とMC・DからSP・Dへ変化する1次速度定数（$k_{complex}$）を見積もり、表5-2に示す。表5-2の結果より、ジオール類の化合物**3.1**のメロシアニン構造体に対する会合定数（K）が増加するに従って錯体の熱異性化反応の1次速度定数（$k_{complex}$）も増加していることがわかる。



スキーム 3-1

ジオール類（D）を加えていない時の1次速度定数をk_0、ジオール類（D）を加えた時の見かけの1次速度定数をkとすると

$$k[SP]_t = k_0[SP] + k_{complex}[SP \cdot D]$$

ここで$[SP]_t = [SP] + [SP \cdot D]$

錯化していないSPの割合をf、錯化したSP（SP・D）の割合を$f_{complex}$とすると(ただし　$f + f_{complex} = 1$ ・・・・・・・・・・・・・・・・・(1))

$$k[SP]_t = k_0 f[SP]_t + k_{complex} f_{complex}[SP]_t$$

これより、　$k = k_0 f + k_{complex} f_{complex}$ ・・・・・・・・・(2)となる。

(1)を用いて(2)を変形すると

$$k_0 - k = f_{complex}(k_0 - k_{complex})$$

$q = 1 - k_{complex} / k_0$とすると

$$k_0 - k = q k_0 f_{complex}$$

$f = 1 / (1 + K[D])$, $f_{complex} = K[D] / (1 + K[D])$なので

$$k_0 - k = q k_0 K[D] / (1 + K[D])$$

従って

$$\frac{k_0}{k_0 - k} = \frac{1}{qK[\mathrm{D}]} + \frac{1}{q} \qquad \text{式 3-2}$$

$$q = 1 - (k_{\mathrm{complex}} / k_0)$$

表5-2　ジオール類の化合物**3.1**のメロシアニン構造体に対する会合定数（K）と1次速度定数（k_{complex}）

ジオール類	K / M^{-1}	$10^2 \cdot k_{\mathrm{complex}}$ / s^{-1}
非存在下	−	($k_0 = 0.68$)
ピナコール	ca. 50[a]	ca. 0.7[a]
1-*O*-オクチル-β-D-グルコピラノシド	470	1.84
1,3-プロパンジオール	520	2.59
2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール	510	2.44
シス-1,2-シクロペンタンジオール	850	3.16
カテコール	ca. 8×10^3 [b]	ca. 7.0[b]

[a] 吸光度変化が小さいために正確に求めることができない。

[b] 平衡過程が非常に速いために正確に求めることができない。

3－4　考察

一般にスピロベンゾピラン誘導体において、閉環型のスピロピラン構造では両端の2個のベンゼン環が共役していないために可視領域に吸収帯を有しないが、開環型のメロシアニン構造ではこれらが共役できるために可視領域に吸収帯を示す[35]。このことにより、化合物**3.1**の吸収スペクトルにおける552nmに極大吸収波長を持つ吸収帯は化合物**3.1**のメロシアニン構造の化学種による吸収帯と帰属できる。また、ポリオール類の錯化部位であるボロン酸基がパラ位に存在する化合物**3.2**やボロン酸基が存在しない参照化合物**3.3**の場合も同様に、550nm付近に極大吸収波長を持つ吸収帯はそれぞれのメロ

シアニン構造の化学種による吸収帯と帰属できる。

化合物**3.1**と化合物**3.3**を用いた吸収スペクトルによる溶媒変化測定において、化合物**3.1**および化合物**3.3**ともに溶媒極性の増加に伴い552nmの吸光度（メロシアニン構造の吸収帯）が増加していた。これによって、化合物**3.1**および化合物**3.3**は、極性の高い溶媒中ほど相対的にメロシアニン構造が安定化されることがわかる。溶媒の極性パラメーターであるE_T値に対する552nmの吸光度変化をプロットし、図3-24に示す。この溶媒極性に伴う吸光度の直線的な増加傾向は、ピラン環の開裂反応によって生じるメロシアニン構造では電荷分離状態にあるために分子自体の極性が増加することを考えると妥当な結果である。また、化合物**3.3**の552nmの吸光度に比べて、化合物**3.1**の552nmの吸光度は用いたすべての溶媒中で大きく、E_T値の増加に伴う552nmの吸光度の増加率も化合物**3.1**のほうが高い（図3-24で直線の傾きが大きい）。これは図3-25に示すような化合物**3.1**のボロン酸基の水酸基とメロシアニン構造のフェノレートアニオンとの水素結合に起因する可能性があることを表わす。光照射後のメロシアニン構造からスピロピラン構造への熱異性化測定において化合物**3.3**に比べて、化合物**3.1**がこの速度が遅くなっていることより、この水素結合の可能性が支持できる。

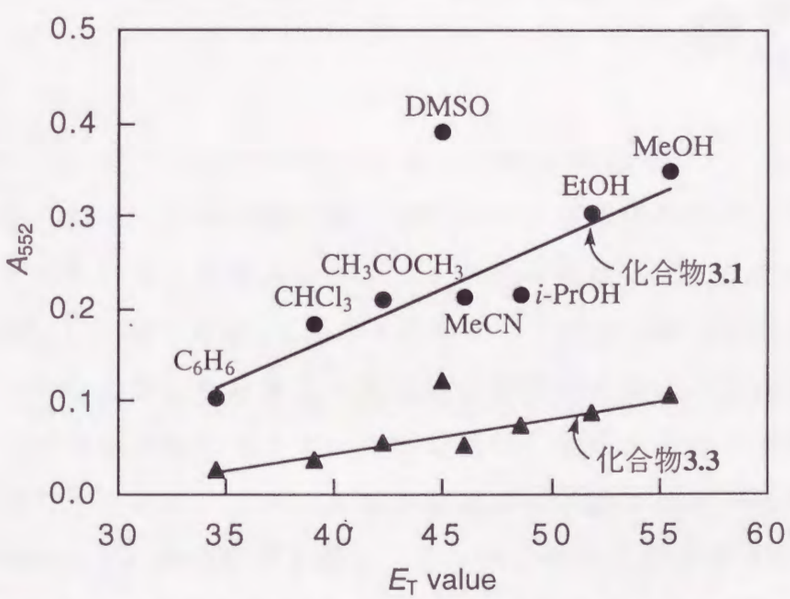


図3-24　様々な溶媒のE_T値と化合物**3.1**および化合物**3.3**の552nmの吸光度変化関係

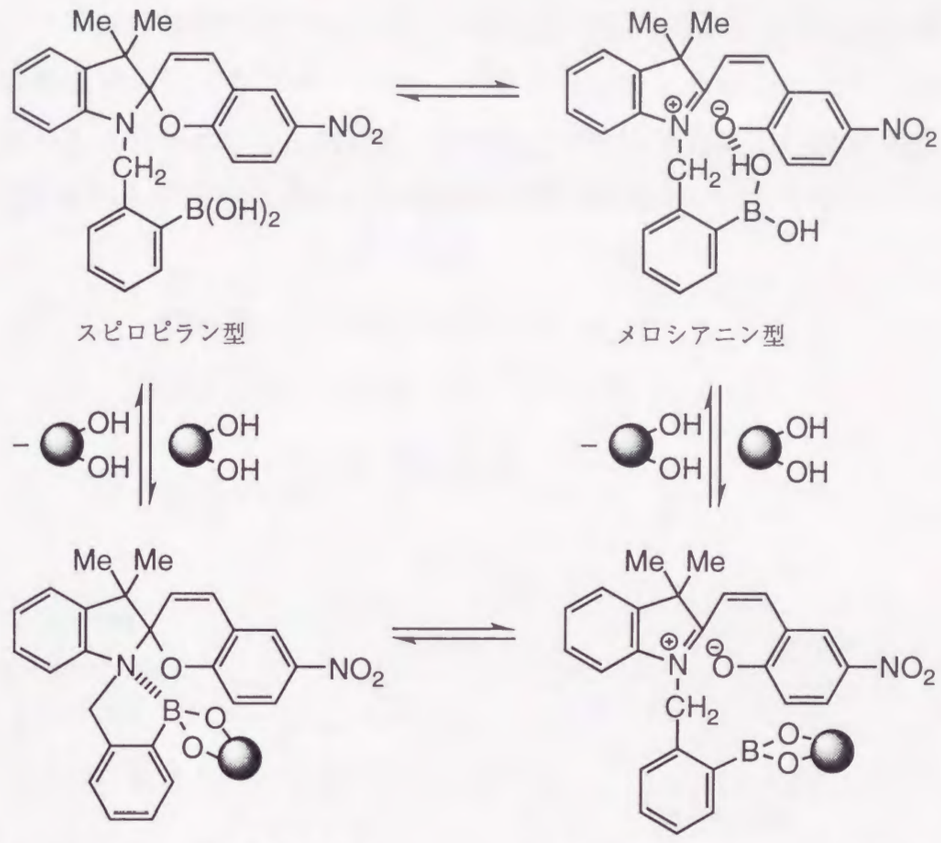


図3-25　化合物**3.1**とジオール類との錯化反応

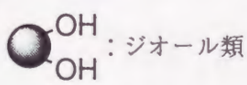
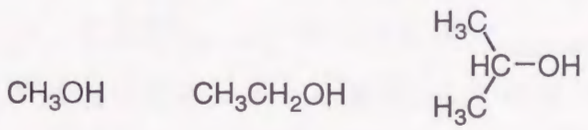


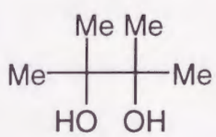
図3-26に用いたモノオール類，ジオール類の構造を示す。化合物**3.1**のモノオール類，ジオール類添加による吸収スペクトル変化では、モノオール類を添加した場合はほとんどメロシアニンの吸収帯は変化しなかったが、ジオール類を添加した場合は552nmのメロシアニンの吸収帯が明らかに減少し、その溶液の色は赤紫色から黄色へ視覚的に確認できるほど変化した。このことにより、ボロン酸基へモノオール類が錯化した際にはホウ素原子は酸性度の上昇を起こさないが、ジオール類と環状ボロン酸エステル結合を形成した際にはホウ素原子の酸性度が上昇し、分子内B-N相互作用がより強くなり[32]、化合物**3.1**のスピロピラン構造の相対的安定化を生じることがわかる。この理由は、ボロン酸基が分子内B-N相互作用できない位置にある化合物**3.2**、およ

びジオール類の結合部位であるボロン酸基が存在しない化合物**3.3**においてジオール類を添加してもメロシアニンの吸収帯は変化しなかったことによって支持される（例外として、化合物**3.2**へカテコールを添加した場合は分子間B-N相互作用によりメロシアニンの吸収帯が減少した）。

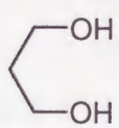


メタノール　エタノール　*i*-プロパノール

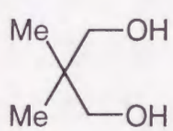
モノオール類



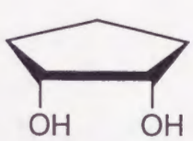
ピナコール



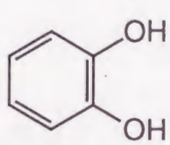
1,3-プロパンジール



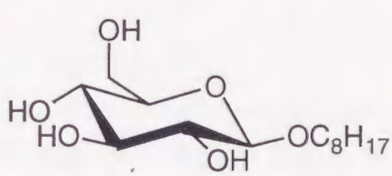
2,2-ジメチル1,3-プロパンジール



シス-1,2-シクロペンタンジオール



カテコール



1-*O*-オクチル-β-D-グルコピラノシド

ジオール類

図3-26　本章で測定に用いたポリオール類の構造

また、化合物**3.1**の紫外光照射後の吸収スペクトル経時変化のジオール類の影響において、用いたジオール類すべての場合で、メロシアニン構造からスピロピラン構造へ変化する見かけの1次速度定数はそれぞれのジオール類の濃度の増加に伴って増大している。これも、ボロン酸基へのジオール類の錯化に伴う強固な分子内B-N相互作用の形成で、化合物**3.1**のスピロピラン構造が相対的に安定化されたためであると考えられる。つまり、図3-25に示す4個の化学種の中、ジオール類の錯化したスピロピラン構造が相対的に安定構造

であることを表わす。

速度論的検討により求めた会合定数Kと1次速度定数$k_{complex}$の順序は、光照射していない化合物**3.1**のジオール類添加によるメロシアニン構造の吸収帯の減少率とよく対応している。このKと$k_{complex}$との間には例外なく相関関係が存在している。すなわち、Kが高くなれば$k_{complex}$も大きくなる。これはボロン酸基に親和性の高いジオール類が錯化すれば、より速い速度でメロシアニン構造からスピロピラン構造へ構造変化させることができることを示す。このボロン酸基に対して親和性の高いジオール類とは2個の水酸基が同一方向により堅く存在している化合物であると考えることができる。

以上のことより、スピロピラン誘導体である化合物**3.1**を用いることで、ジオール類錯化によるボロン酸部位の酸性度変化に誘起された分子内B-N相互作用変化を利用して、スピロピラン構造－メロシアニン構造の平衡をコントロールし、ジオール類の認識過程を視覚的にも識別できるほどの色の変化(消色）として読み出せることが明かとなった。

3－5　結論

自然界において、多彩な色調変化を見せる花色の発現で糖質が重要な役割を果たしている事実に習い、認識ターゲット分子を糖質を含むポリオール類として色の変化による検知を本章では目的とした。実際にここでは、異性化反応により明らかな色変化を生じるスピロピラン誘導体を用いて、ポリオール類認識過程を視覚的に確認できることを実証した。従って、ポリオール類などの視覚的認識の困難なものであっても、その錯化（刺激）に共役して発色団の化学構造を変化させることができれば容易に色変化を引き起こすことが可能であることが言える。このことにより、認識情報を視覚的に捕えるには発色団への共役的情報伝達が有効であると結論づけられる。

参考文献

1）安田　齋, 花色の生理・生化学, 内田老鶴圃, 東京 (1973).

2) a) 吉田久美, 近藤俊夫, 化学と工業, **45**, 1676 (1992); b) 近藤俊夫, 吉田久美, 化学, **49**, 620 (1994); c) 吉田久美, 近藤俊夫, 化学と生物, **33**, 91 (1995); d) 近藤俊夫, 上田　実, 吉田久美, 有合化, **54**, 42 (1996).
3) T. Goto, T. Kondo, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **30**, 17 (1991).
4) a) R. Brouillard, J. E. Dubois, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 1359 (1977); b) R. Brouillard, B. Delaporte, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 8461 (1977).
5) a) R. Willstätter, A. E. Everest, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **401**, 189 (1913); b) R. Willstätter, W. Mieg, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **408**, 61 (1915); c) R. Willstätter, H. Mallison, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **408**, 117 (1915).
6) K. Shibata, Y. Shibata, I. Kashiwagi, *J. Am. Chem. Soc.*, **41**, 208 (1919).
7) G. M. Robinson, R. Robinson, *Biochem. J.*, **25**, 1687 (1931).
8) a) T. Hoshino, U. Matsumoto, N. Harada, T. Goto, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 3621 (1981); b) T. Hoshino, U. Matsumoto, T. Goto, *Phytochemistry*, **20**, 1971 (1981).
9) a) S. Asen, R. N. Stewart, K. H. Norris, *Phytochemistry*, **11**, 1139 (1972) ; b) S. Asen, R. N. Stewart, K. H. Norris, *Phytochemistry*, **14**, 2677 (1975).
10) a) H. Tamura, T. Kondo, T. Goto, *Tetrahedron Lett.*, **27**, 1801 (1986); b) T. Kondo, K. Yoshida, A. Nakagawa, T. Kawai, H. Tamura, T. Goto, *Nature*, **358**, 515 (1992).
11) M. Takagi, K. Ueno, *Top. Curr. Chem.*, **121**, 39 (1984).
12) 阪本英文, ぶんせき, **1993**, 650.
13) S. Misumi, *Pure Appl. Chem.*, **62**, 493 (1990).
14) T. W. Bell, Z. Hou, Y. Luo, M. G. B. Drew, E. Chapoteau, B. P. Czech, A. Kumar, *Science*, **269**, 671 (1995).
15) 早下隆士, 化学, **48**, 210 (1993).
16) H. -G. Löhr, F. Vögtle, *Acc. Chem. Res.*, **18**, 65 (1985).
17) J. P. Dix, F. Vögtle, *Chem. Ber.*, **113**, 457 (1980).
18) J. P. Dix, F. Vögtle, *Chem. Ber.*, **114**, 638 (1981).
19) H. -G. Löhr, F. Vögtle, *Chem. Ber.*, **118**, 914 (1985).
20) K. Nakashima, S. Nakatsuji, S. Akiyama, T. Kaneda, S. Misumi, *Chem. Lett.*, **1982**, 1781.
21) T. Kaneda, S. Umeda, H. Tanigawa, S. Misumi, Y. Kai, H. Morii, K. Miki, N. Kasai, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 4802 (1985).

22) E. Chapoteau, B. P. Czech, C. R. Gebaver, A. Kumar, K. Leong, D. T. Mytych, W. Zazulak, D. H. Desai, E. Luboch, J. Krzykawski, R. A. Bartsch, *J. Org. Chem.*, **56**, 2575 (1991).

23) D. J. Cram, R. A. Carmack, R. C. Helgeson, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 571 (1988).

24) A. M. King, C. P. Moore, K. R. A. S. Sandanayake, I. O. Sutherland, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 582.

25) 三角荘一, 化学と工業, **46**, 756 (1993).

26) Y. Kubo, S. Maeda, S. Tokita, M. Kubo, *Nature*, **382**, 522 (1996).

27) E. Fisher, Y. Hirshberg, *J. Chem. Soc.*, **1952**, 4522.

28) a) M. Inouye, M. Ueno, T. Kitao, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 8977 (1990); b) M. Inouye, M. Ueno, T. Kitao, *J. Org. Chem.*, **57**, 1639 (1992); c) M. Inouye, M. Ueno, K. Tsuchiya, N. Nakashima, T. Konishi, T. Kitao, *J. Org. Chem.*, **57**, 5377 (1992); d) M. Inouye, K. Kim, T. Kitao, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 778 (1992); e) M. Inouye, Y. Noguchi, K. Isagawa, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **33**, 1163 (1994); f) M. Inouye, K. Akamatsu, H. Nakazumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 9160 (1997).

29) a) K. Kimura, T. Yamashita, M. Yokoyama, *Chem. Lett.*, **1991**, 965; b) K. Kimura, T. Yamashita, M. Yokoyama, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1991**, 147; c) K. Kimura, T. Yamashita, M. Yokoyama, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1992**, 613; d) K. Kimura, T. Teranishi, M. Yokoyama, *Supramol. Chem.*, **7**, 11 (1996).

30) a) J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.*, **24**, 796 (1959); b) G. Wulff, *pure Appl. Chem.*, **54**, 2093 (1982); c) G. Wulff, H. -G. Poll, *Makromol. Chem.*, **188**, 741 (1987).

31) a) K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Org. Chem.*, **56**, 4089 (1991); b) S. Shinkai, K. Tsukagoshi, Y. Ishikawa, T. Kunitake, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1991**, 1039; c) K. Kondo, Y. Shiomi, M. Saisho, T. Harada, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **48**, 8239 (1992); d) Y. Shiomi, M. Saisho, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 2111; e) Y. Shiomi, K. Kondo, M. Saisho, T. Harada, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *Supramol. Chem.*, **2**, 11 (1993); f) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Supramol. Chem.*, **6**, 141 (1995).

32) a) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8982 (1995); b) T. D. James, P. Linnane, S. Shinkai,

Chem. Commun., **1996**, 281.

33) H. Matsubara, K. Seto, T. Tahara, S. Takahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 3896 (1989).

34) H. Shinmori, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **51**, 1893 (1995).

35) 大河原信, 松岡　賢, 平嶋恒亮, 北尾悌次郎, 機能性色素, 講談社, 東京 (1992).

36) S. Shinkai, T. Minami, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 1851 (1983).

第４章　光応答機能を有する選択的糖質レセプターの設計と機能

４－１　序論

初期のホスト-ゲスト化学の研究では、与えられたゲストに対して、高い親和性または著しい選択性を示すホストを、いかにして合成するかが重要であった。しかし、近年では認識作用やその選択性を外部から可逆的に制御できるスイッチ機能をもつホスト化合物の合成に目が向けられている[1),2)]。

例えば、相補的な核酸塩基を側鎖に有するシクロデキストリンは、pHを変化させることで、その複合体形成能が劇的に変化すると報告された[3)]。この原因は、図4-1に示すように高pH領域においてチミンのエノレート化が生じ、核酸塩基間の水素結合が壊れ、その結果アデニンがシクロデキストリン空孔に包接されて入口をふさぐことによるものであった。

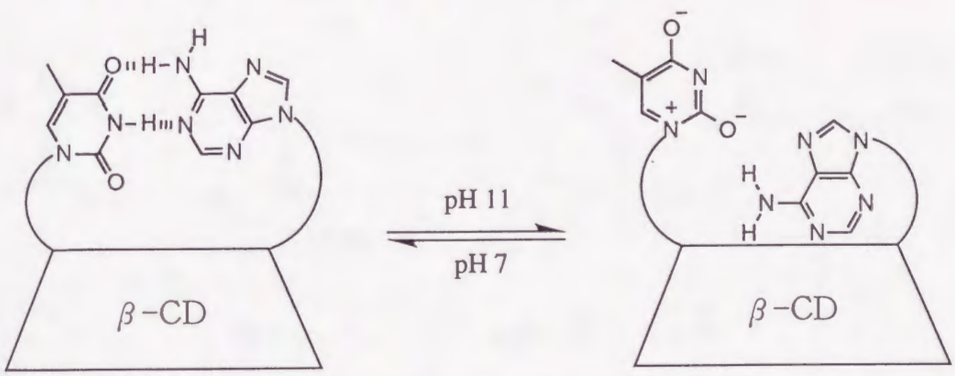


図4-1　核酸塩基修飾シクロデキストリンのpHに伴う変化

また、生化学的に重要なチオールとジスルフィドの間の酸化還元を利用したスイッチ機能も知られている[4)]。これは図4-2のように酸化還元反応によって空洞の開閉を行い、クラウン環への錯化を制御するものであった。

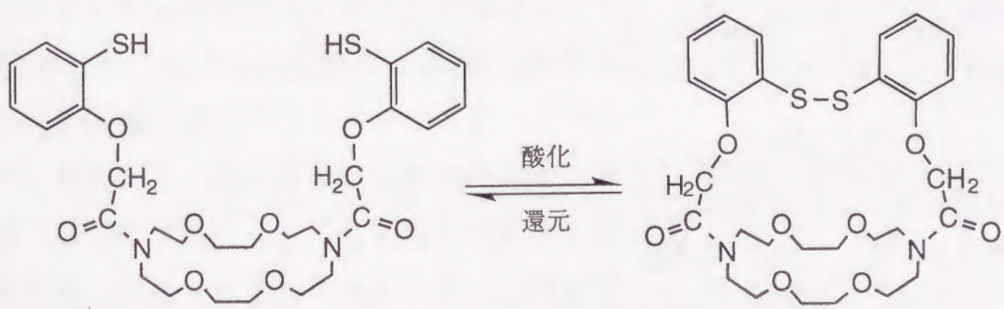
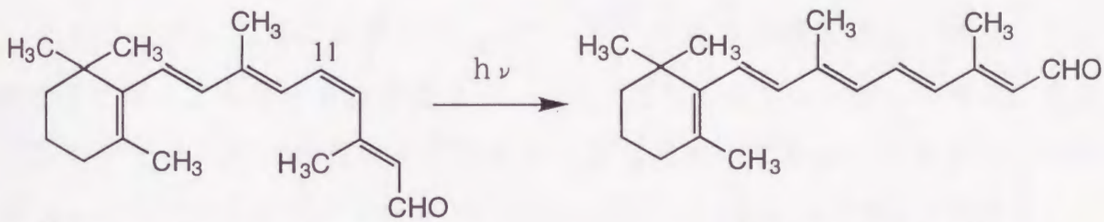


図4-2　チオール修飾クラウンエーテルの酸化還元反応に伴う変化

しかし、これらのホスト分子では外部刺激としてpH変化や酸化還元といった大きな環境変化を必要とした。これに対して、比較的穏やかな外部刺激として光が存在する。

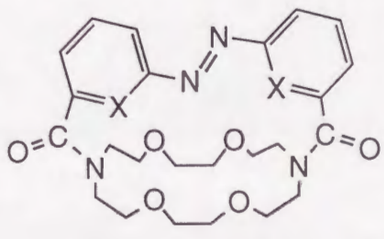
光は昔から生命現象と深いかかわりを保ってきており、これをエネルギー源として利用する植物の光合成はその代表的な系である[5),6)]。また、視覚に代表される系のように、光は生体系の機能を誘起するトリガー（刺激）としても作用している。実際に、眼の網膜中には視物質としてロドプシンと呼ばれるタンパク質が存在し、それには光感応性分子11-シス-レチナールが含まれている[7)]。これは図4-3に示すように、光によってトランス-レチナールに異性化し、それに伴いロドプシンのコンホメーション変化が誘起され、ひとつの光応答機能を発現している。このように、自然界には光の効率の良い刺激伝達方式が存在している。



11-シス-レチナール　　トランス-レチナール

図4-3　レチナールの光異性化反応

近年までに、前述したような自然界における光の高効率な刺激伝達を人工系で模倣した光応答系が数多く報告されている[2),8)]。例えば、ジアザ-18-クラウン-6を2,2'-アゾピリジンで分子内架橋した光応答分子(図4-4）が合成され、そのイオン選択性が調べられている[9)]。アゾベンゼン類は図4-5に示すように光によりその構造がトランス-シス間で可逆的に異性化（紫外光照射によりトランス体からシス体へ、可視光照射あるいは熱によりシス体からトランス体へ異性化する）し、この異性化が非常に可逆性が良く、繰り返し行うことができ、幾何学



X = CH, N

図4-4　アゾベンゼン分子内架橋型クラウンエーテル

的な変化量もかなり大きいことが知られている[10]。従って、これはアゾ架橋部のトランス-シス光異性化と共役してクラウン環のコンホメーションが変化することが期待された。実際にトランス体ではNa^+選択性、シス体ではK^+選択性を示した。

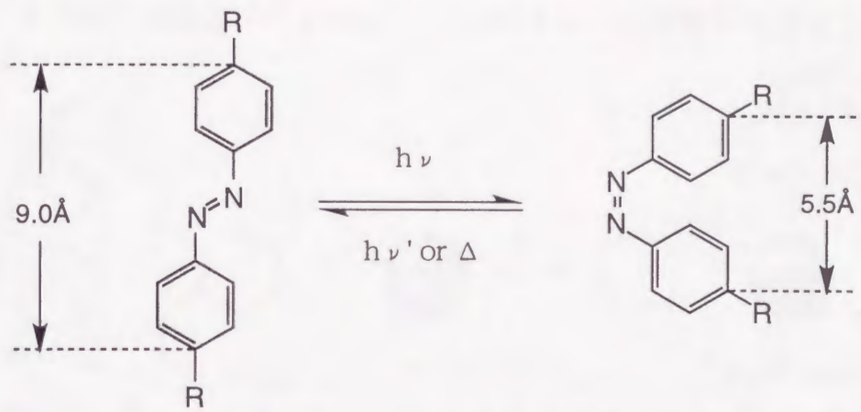


図4-5　アゾベンゼン類の異性化反応

またこの他に、光によりクラウンエーテルに歪みが誘起される例としては図4-6に示すような化合物がある[11)~13)]。これらはアントラセンの光二量化反応やアゾベンゼンの光異性化反応を利用したものである。すなわち、光照射によってクラウン環のコンホメーション変化を引き起こさせ、15-クラウン-5類似の環を形成することに伴って、初めてイオン結合力が発現できる。

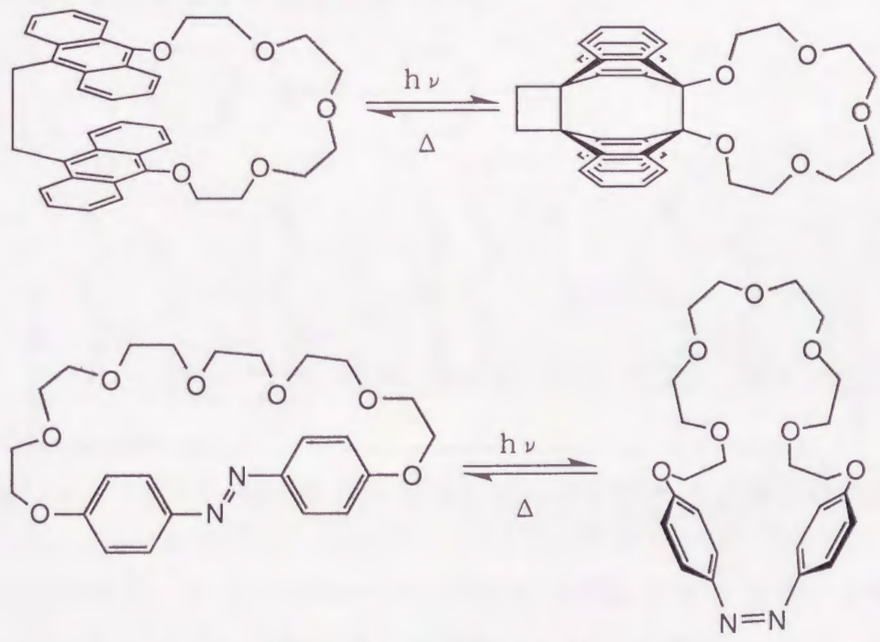


図4-6　光応答性クラウンエーテル

クラウン環の歪みの誘起ではなく、空洞の開閉をアゾベンゼンの光異性化を利用して行う例も報告されている[14]。図4-7に示すように、この化合物はトランス体ではアゾ基がクラウン環内部に入り込んでいるため金属イオンの結合は不可能である。しかし、光異性化したシス体ではアゾ基が除去されるために、クラウン環類似の孔が生成し、金属イオンの結合が可能となる。

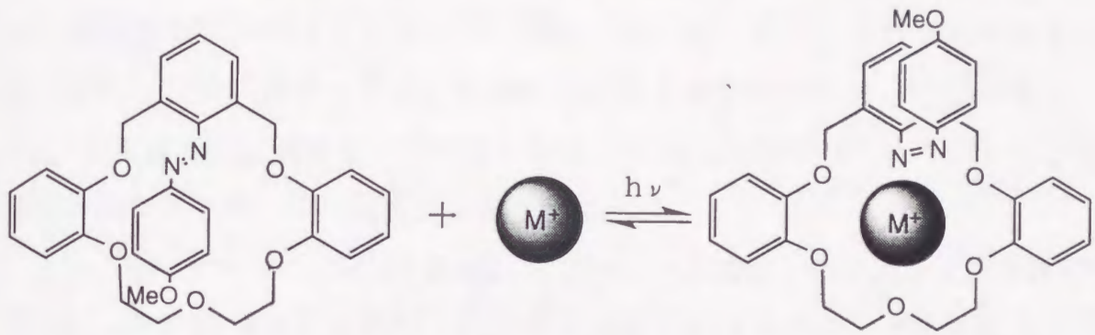


図4-7　クラウン環の空洞の開閉を行えるアゾベンゼン誘導体

このようなゲスト分子の包接部位に、シクロデキストリンを利用したものもある。これは図4-8に示すようにシクロデキストリンの一級水酸基側をアゾベンゼンでキャップした形をとっている[15]。このアゾベンゼンキャップシクロデキストリンは光照射によりトランス体がシス体へ異性化し、アゾベンゼンキャップが空孔の外に突き出すように折れ曲がり、疎水的空間の拡大でゲスト捕捉能が増大することが示されている。

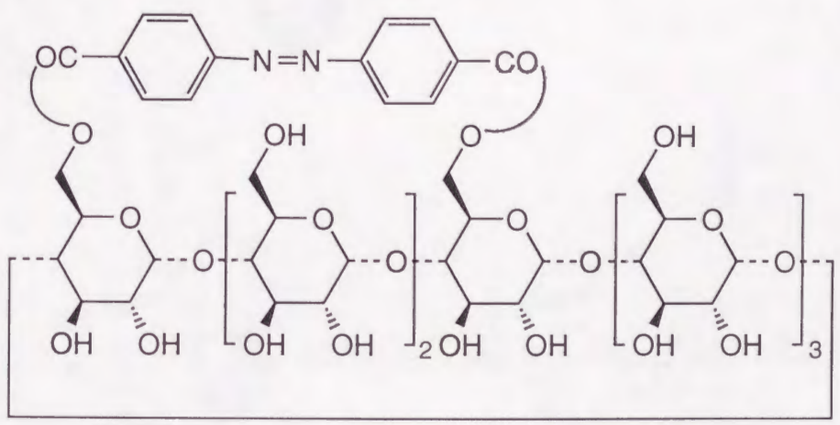


図4-8　アゾベンゼンでキャップしたシクロデキストリンの構造

これらとは別に、クラウンエーテルがその空孔より大きなイオン径の金属イオンに対してサンドイッチ錯体を形成するという特徴[16]を基に、アゾベン

ゼンの光異性化を利用して二箇所のクラウン環の空間的位置を変化させ、金属イオンとの結合能を制御する手法が報告されている[17)~19)]。典型的な例が図4-9に示すようなアゾビス(モノベンゾ-15-クラウン-5)である[17)]。このトランス体は2個のクラウン環が独立に作用するため、本質的にはモノクラウンエーテルとして挙動し、15-クラウン-5と同様なNa^+選択性を示す。一方、光異性化したシス体はクラウン環が接近するため、ビスクラウンエーテルとして挙動し、分子内サンドイッチ錯体を形成する。そのため、Na^+よりむしろK^+およびRb^+選択性を示すようになる。この可逆的変化により、イオン親和性の光コントロールの実現が確認された。

また、18-クラウン-6がK^+の他にアンモニウム塩とも強く錯化する特徴[20)]を基に、光異性化現象を利用したイオン会合性のコントロールを目指して図4-10に示す化合物が分子設計、合成されている[21)]。この化合物においては、アゾ基がトランス体の時にはクラウン環は通常どおりK^+を結合するが、紫外光の照射で生成するシス体ではクラウン環は分子内の‘尾’であるアンモニウム基と優先的に結合し、K^+親和性を喪失するという結果が得られている。

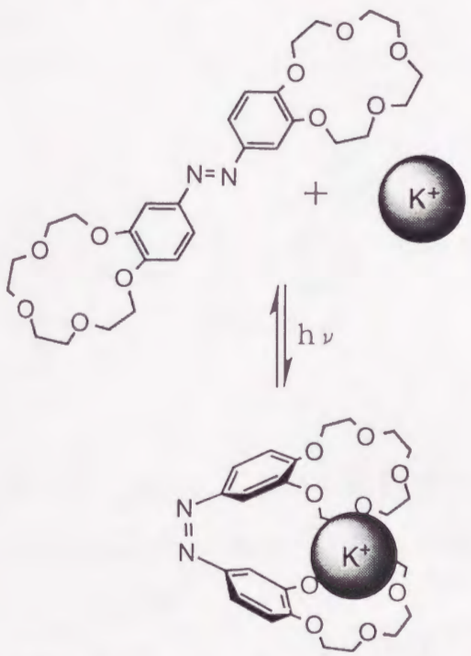


図4-9　アゾベンゼン誘導体によるK^+のサンドイッチ的捕捉

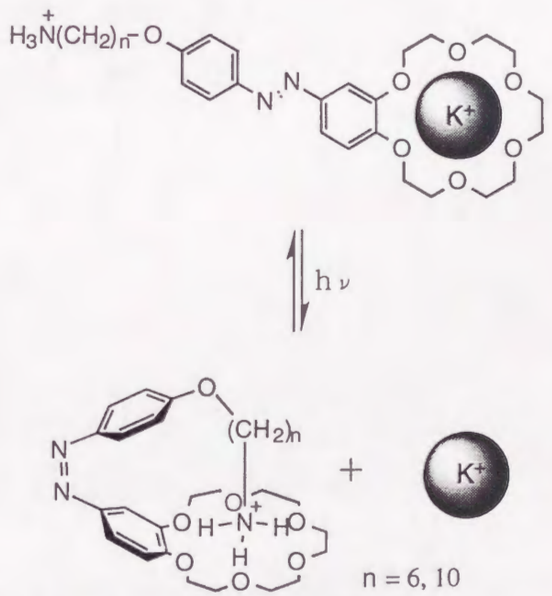
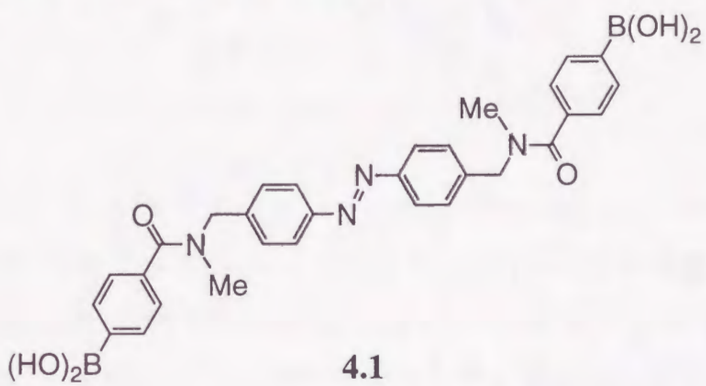


図4-10　アゾベンゼン誘導体の光異性化によるK^+の放出

以上のように、（1）クラウン環に歪みを誘起する，（2）ゲスト分子結合部位の空孔を開閉する，（3）クラウン環の空間的位置を変える，という三つの方法により、ゲスト分子（主に金属イオン）の会合力および選択性を光によりコントロール可能であることが示された。

第2章でも述べたように、糖質の結合部位であるフェニルボロン酸部位をある特定の距離の二箇所に固定してやれば、選択的な糖質の認識が行えることが明らかとなっている[22),23)]。従って、先に述べた方法論を踏まえると、光によって二箇所のフェニルボロン酸部位の空間的位置を変化させることができれば、糖質応答機能の選択性をコントロールできると期待される。

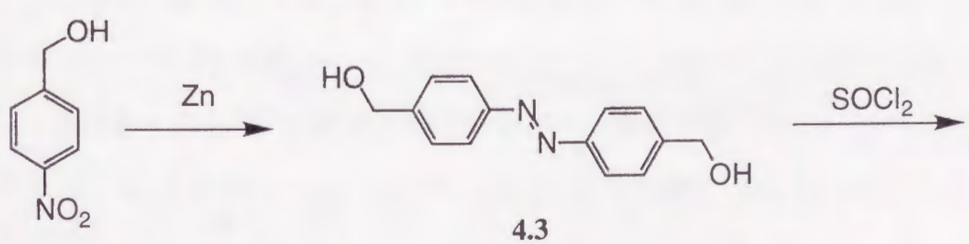
そこで本章では、光異性化可能なアゾベンゼンの二箇所にフェニルボロン酸部位を導入し、光により二箇所のフェニルボロン酸部位間の距離を変化させ、選択的な糖質応答機能の光制御を行うことを目的とした。具体的にはアゾベンゼンの4,4'位にアミド結合を介して2個のフェニルボロン酸を導入した化合物**4.1**を用いて、光応答機能を有する選択的な糖質レセプターを目指し、光異性化による糖質認識の挙動変化を検討した。



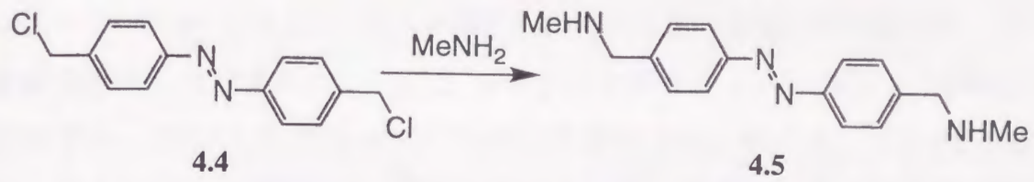
4.1

4－2　フェニルボロン酸修飾アゾベンゼンの合成

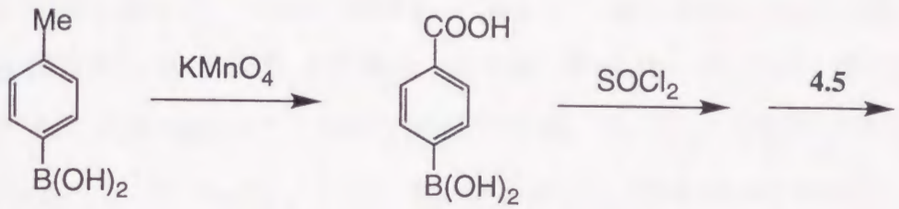
合成は以下のスキーム従って行った。



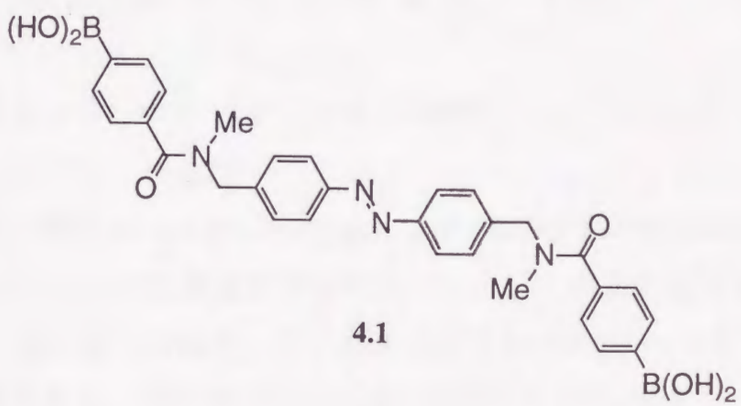
4.2　　**4.3**



4.4　　4.5



4.6　　4.7



4.1

4－2－1　4,4'-ビス(ヒドロキシメチル)アゾベンゼン(**4.3**)の合成[17c),24)]

4-ニトロベンジルアルコール(**4.3**)12.0g(80mmol)を水酸化ナトリウム10.0g(260mmol)の水70ml溶液に加えて溶解させ、これに亜鉛粉末14.0g(220mmol)を加え、5時間加熱還流した。放冷後、反応混合物より沈殿をろ取し、これをメタノールに加えて熱時ろ過した。ろ液に2時間空気をバブリングした後、溶媒を減圧留去し、得られた固体をエタノールによって再結晶し、橙色結晶を（4.60g，51%）を得た。融点223.4～224.0℃；IR(KBr) 3600~3000, 1580cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, DMSO-d_6, TMS, 27℃) δ/ppm 4.61(4H, d(J=5.2Hz), 2CH_2), 5.34(2H, t(J=5.2Hz), OH), 7.53, 7.86(各々4H, 各々d(J=8.1Hz), ArH)；元素分析（$C_{14}H_{14}N_2O_2$として）計算値：C, 69.41; H, 5.82; N, 11.50%. 測定値：C, 69.17; H, 5.97; N, 11.47%.

4－2－2　4,4'-ビス(クロロメチル)アゾベンゼン（**4.4**）の合成[18a)]

窒素気流下、化合物**4.3**3.0g(12.4mmol)を塩化チオニル60ml（過剰量）に溶解させ、DMFを数滴加え、4時間加熱還流した。放冷後、この反応混合物にトルエン60mlを加えて、塩化チオニルを常圧留去し、不溶物を熱時ろ過により取り除いた。ろ液に活性炭を加えて、再び熱時ろ過した後、放冷して結晶化させ、赤色結晶（2.67g，77%）を得た。融点171.9～173.7℃；IR(KBr) 1580cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 4.66(4H, s, $2CH_2Cl$), 7.54, 7.91(各々4H, 各々d(*J*=8.3Hz), ArH)；元素分析（$C_{14}H_{14}N_2O_2 \cdot 0.03C_7H_8$として）計算値：C, 60.53; H, 4.38; N, 9.94%. 測定値：C, 60.59; H, 4.40; N, 10.02%.

4－2－3　4,4'-ビス[(*N*-メチル)アミノメチル]アゾベンゼン（**4.5**）の合成[25)]

化合物**4.4**1.80g(6.45mmol)を乾燥DMF100mlに溶解させ、メチルアミンガスを10時間室温でバブリングした。この反応混合物より溶媒を減圧留去し、橙色粉末を得た。これをクロロホルムと*n*-ヘキサンによる再沈澱操作により精製し、橙色粉末（1.02g，59%）を得た。融点78.1～81.1℃；IR(KBr) 3600~3000, 1590cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, $CDCl_3$, TMS, 27℃) δ/ppm 2.48(6H, s, $2NCH_3$), 3.83(4H, s, $2CH_2N$), 7.46, 7.88(各々4H, 各々d(*J*=8.3Hz), ArH)；元素分析（$C_{16}H_{20}N_4 \cdot 0.1H_2O$として）計算値：C, 71.12; H, 7.55; N, 20.74%. 測定値：C, 71.40; H, 7.26; N, 20.15%.

4－2－4　4-カルボキシフェニルボロン酸（**4.7**）の合成[26)]

4-メチルフェニルボロン酸(**4.6**)12.0g(80mmol)を2.5N水酸化ナトリウム水溶液40mlに溶解させ、さらに水290mlを加えた。これを55℃に保ちながら、過マンガン酸カリウム16.6g(105mmol)を水500mlに溶解させた溶液を8等分し、1時間ごとに加えた。一晩撹拌後、エタノールを加えて熱時ろ過し、ろ液を減圧濃縮した。その後、残渣に1N塩酸を加えてpH3に調節し、白色粉末を得た。これを*n*-ヘキサンによって再結晶し、白色結晶（3.04g，37%）

を得た。融点231.8～233.5℃；IR(KBr) 3650~2810, 1680, 1330cm^{-1}；^{1}H-NMR(250MHz, DMSO-d_6, TMS, 100℃) δ/ppm 7.89(4H, s, ArH), 8.26(2H, s, $B(OH)_2$), 12.93(1H, bs, CO_2H)；元素分析（$C_7H_7BO_4 \cdot 0.03C_6H_{14}$として）計算値：C, 51.17; H, 4.45%. 測定値：C, 51.15; H, 4.58%.

4－2－5　4,4'-ビス[4-ボロニルベンゾイル-(*N*-メチル)アミノメチル]アゾベンゼン（**4.1**）の合成[27]

化合物**4.7**445mg(2.68mmol)を塩化チオニル20mlに懸濁させ、これに乾燥DMFを数滴加えて、2時間加熱還流を行った。その後、反応混合物より常圧および減圧で過剰の塩化チオニルを留去して白色固体を得た。

次に、上の操作で得られた白色固体を乾燥THF20mlに溶解させ、化合物**4.5**300mg(1.12mmol)の乾燥THF20ml溶液に乾燥ピリジン0.26ml(3.22mmol)を加えた溶液へ氷浴中で滴下し、室温で17時間撹拌した。反応混合物をろ別し、ろ液より溶媒を減圧留去して橙色固体を得た。これをメタノールと水により再結晶し、橙色結晶を（200mg, 32%）を得た。融点241.1～243.3℃；IR(KBr) 3650~3000, 1620, 1580, 1340cm^{-1}；^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6, TMS, 100℃) δ/ppm 2.97(6H, s, $2NCH_3$), 4.69(4H, s, $2CH_2N$), 7.39, 7.86(各々4H, 各々d(J=8.4Hz), ArH), 7.48, 7.83(各々4H, 各々d(J=8.1Hz), ArH), 7.68(4H, bs, $2B(OH)_2$)；元素分析（$C_{30}H_{30}B_2N_4O_6 \cdot 0.5H_2O$として）計算値：C, 62.85; H, 5.46; N, 9.78%. 測定値：C, 62.85; H, 5.50; N, 9.70%.

4－3　測定および結果

4－3－1　計算化学によるボロン酸基間距離に関する検討

選択的な糖質の認識を行う場合、二箇所のボロン酸基による一分子の糖質への協同的作用が有効であることがわかっている[22),23)]。その選択性は二箇所のボロン酸基間の距離に依存する。そこで図4-5に示すような光応答機能を

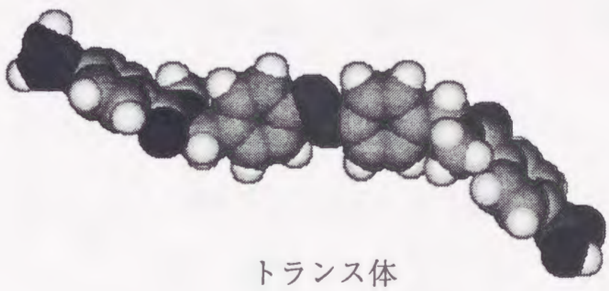
有する糖質レセプターである化合物**4.1**の分子力学計算[28]によりボロン酸基間の距離を検討した。

（1）MM3計算

化合物**4.1**の構造を基に、そのトランス体および3種のシス体（*syn-syn*型, *syn-anti*型, *anti-anti*型）それぞれについてMM3計算（Macintosh, AccuModel version1.0）を行った。

（2）結果

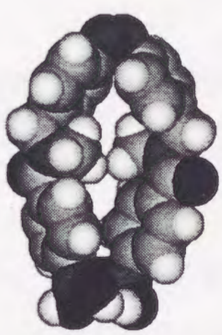
図4-11に化合物**4.1**のトランス体およびシス体それぞれについてMM3計算を行った結果の最適構造と生成熱を示す。化合物**4.1**の構造をみると、光異性化部位であるアゾベンゼンと糖質結合部位であるフェニルボロン酸との間のスペーサー部に自由回転可能なメチレン基が存在している。このことにより、図4-11に示すような3種のシス体構造（*syn-syn*型, *syn-anti*型, *anti-anti*型）についてMM3計算を行っている。これらの最適構造における生成熱の差は非常に小さく（1kcal mol^{-1}以下）、室温においてこれらの構造間で相互変換可能であることを示している。また、図4-11に示す結果より、シス体におけるそれぞれ3種の最適構造のホウ素原子間距離を求め、図4-12に示す。図4-12より、化合物**4.1**のシス体において、*syn-syn*型の場合には糖質結合部位であるボロン酸基のホウ素原子間距離が4.3Åであった。これは単糖類の二箇所のジオール部位間距離（約4Å）とほぼ一致する。また化合物**4.1**のトランス体ではこのホウ素原子間距離は26.0Åであった。従って、化合物**4.1**のトランス体では、二箇所のボロン酸基の協同的作用による単糖類との分子内1：1錯体の形成は不可能であるが、シス体の*syn-syn*型ではこれが可能であるために、単糖類を選択的に認識できると期待される。



生成熱

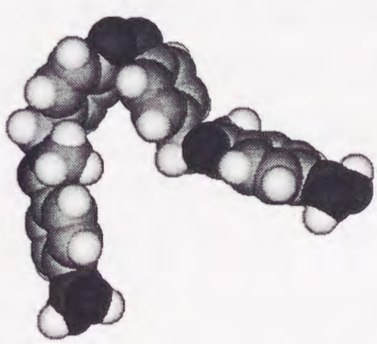
33.6kcal mol^{-1}

トランス体



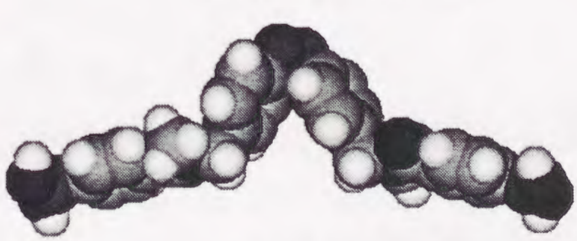
83.0kcal mol^{-1}

シス体（*syn-syn*型）



82.6kcal mol^{-1}

シス体（*syn-anti*型）



82.2kcal mol^{-1}

シス体（*anti-anti*型）

図4-11　MM3を用いて計算した化合物**4.1**の構造と生成熱

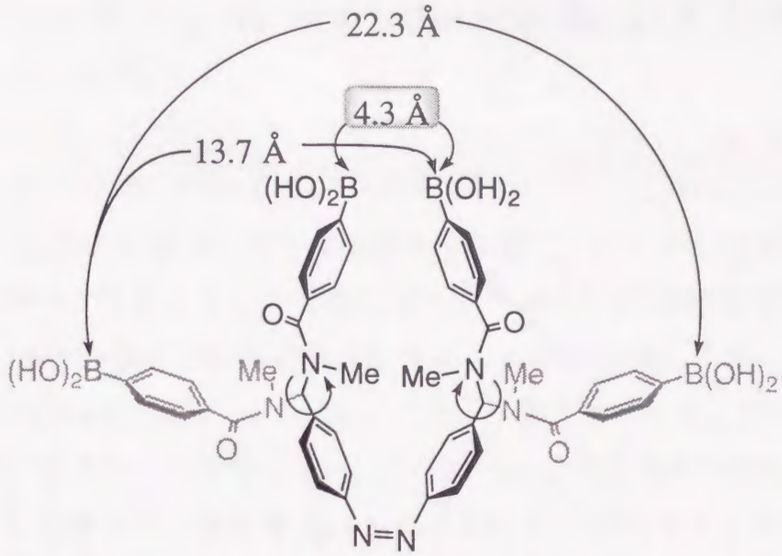


図4-12　MM3計算結果より求めた化合物**4.1**のシス体における
ホウ素原子間距離

4－3－2　吸収スペクトルによる溶媒組成変化の検討

一般的に、糖質分子は水に対して非常に高い溶解度を示し、低級アルコール以外の有機溶媒にほとんど不溶である[29]。しかし、糖質を捕捉できるボロン酸誘導体はそのほとんどが中性有機分子であり、水に対する溶解度が低い場合が多い[22),23),30]。この場合、その認識媒体をある組成の有機溶媒と水の混合溶媒にすることで問題を解決できる。そこで、溶媒組成変化に伴う吸収スペクトル変化の挙動を検討した。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5×10^{-5}M

溶媒組成　水：DMSO = 0：1, 1：1, 3：1, 9：1, 30：1, 120：1 *v/v*

ただし、水には50mM炭酸緩衝溶液（pH10.5）を用いた

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルに水-DMSOの各組成の溶媒3.0ml（水には50mM炭酸緩衝液

(pH10.5)を使用）、および化合物**4.1**のDMSO貯蔵液（3.0 × 10^{-3}M）25 μlを入れ、これを測定した。

（2）結果

図4-13に溶媒組成変化に伴う化合物**4.1**の吸収スペクトル変化を示す。これらの吸収スペクトルより、化合物**4.1**のトランス体は335nm付近にアゾベンゼンの$\pi-\pi^*$遷移由来の吸収帯を有することがわかる。また、これより溶媒組成を水：DMSO ＝ 0：1～120：1 *v/v*へ変化させても、化合物**4.1**の吸収スペクトルはほとんど変化しないことがわかる。化合物**4.1**の極大吸収波長はここで用いたすべての溶媒組成において335±1nmである。分子間会合しないと思われるDMSO中での吸収スペクトルと水の割合を増加させた吸収スペクトルとがほとんど変化していないことを考慮すると、化合物**4.1**は上記の測定条件で水の割合を増加させても分子間会合しないものと考えて良い。

従って、以後の測定は水：DMSO ＝ 100：1 *v/v*の測定条件で行うことにした。

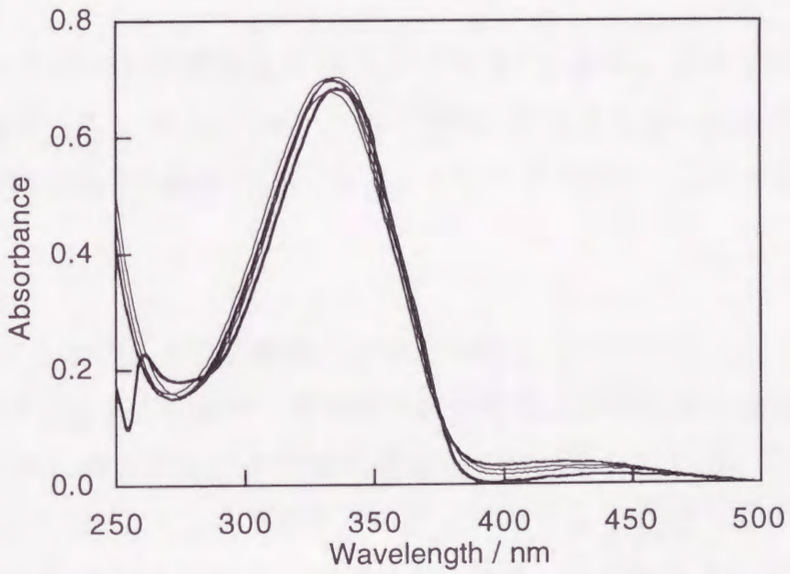


図4-13　化合物**4.1**の水-DMSO系での溶媒組成変化に伴うの吸収スペクトル変化

4－3－3　吸収スペクトルによるモル吸光係数の測定

アゾベンゼン類はトランス体において平面性の高い化合物群であるために、溶液中でその濃度に依存して分子間会合を生じる[31]。糖質との錯化の挙動を検討する上で、アゾベンゼン誘導体**4.1**と糖質とが1：1の錯化を行うことが重要な要素となり得る。このために、化合物**4.1**は測定条件下において単量体(モノマー）の状態で存在することが必要条件となる。そこで、溶液中での分子状態の知見を得るために、吸収スペクトルによる化合物**4.1**の濃度依存性を行い、そのモル吸光係数を測定した。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 1.0×10^{-6}～3.0×10^{-5}M

pH 10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：DMSO = 100：1 *v/v*

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

光学セルに50mM炭酸緩衝溶液（pH10.5）3.0ml、および化合物**4.1**のDMSO貯蔵液（3.0×10^{-3}M）を測定条件に示すそれぞれの濃度になるように入れ、溶媒組成をDMSOを加えることによって調節し、これを測定した。

（2）結果

図4-14に化合物**4.1**の濃度変化に伴う吸収スペクトル変化を示す。化合物**4.1**の濃度が上昇するに従い、その吸収帯の吸光度は明らかに増加している。このときには、極大吸収波長は全く変化していない。そこで、これらの吸収スペクトルの結果より、化合物**4.1**の濃度に対するその極大吸収波長である334nmの吸光度変化を求め、図4-15に示す。化合物**4.1**の濃度に対する334nmの吸光度変化は上述した測定条件の濃度範囲（1.0×10^{-6}～3.0×10^{-5}M）で良好な直線関係が得られおり、Lambert-Beerの法則における加成性は成り立っている。この結果より、この測定条件における化合物**4.1**のモ

ル吸光係数は $\varepsilon_{334} = 2.6 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ であり、前項で示した吸収スペクトルより求めたDMSO中のモル吸光係数とほぼ同様の値（$\varepsilon_{334} = 2.7 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$）を示す。これらの結果から、化合物**4.1**は≦3.0×10^{-5} Mの濃度領域において、分子間会合せず、モノマー状態で存在すると判断できる。

従って、以後の測定は[**4.1**] = 2.5×10^{-5}Mの測定条件で行うことにした。

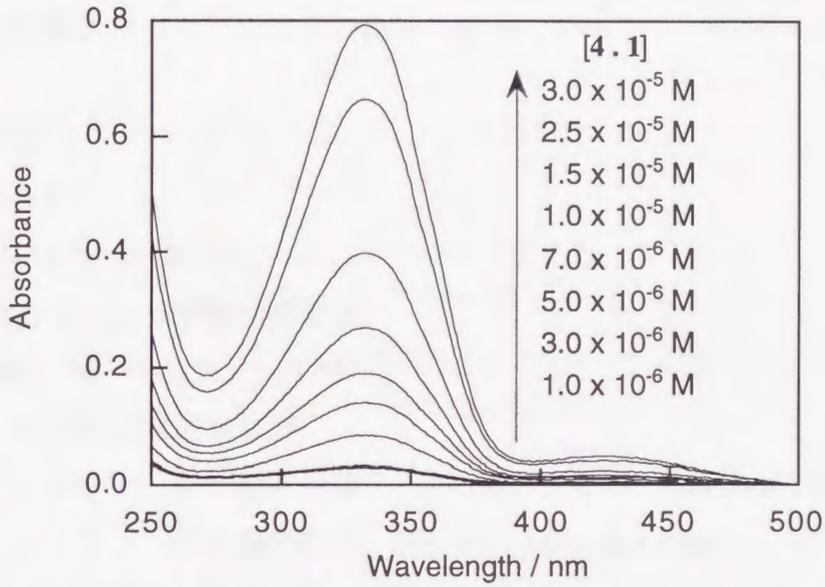


図4-14　化合物**4.1**の濃度変化に伴うの吸収スペクトル変化

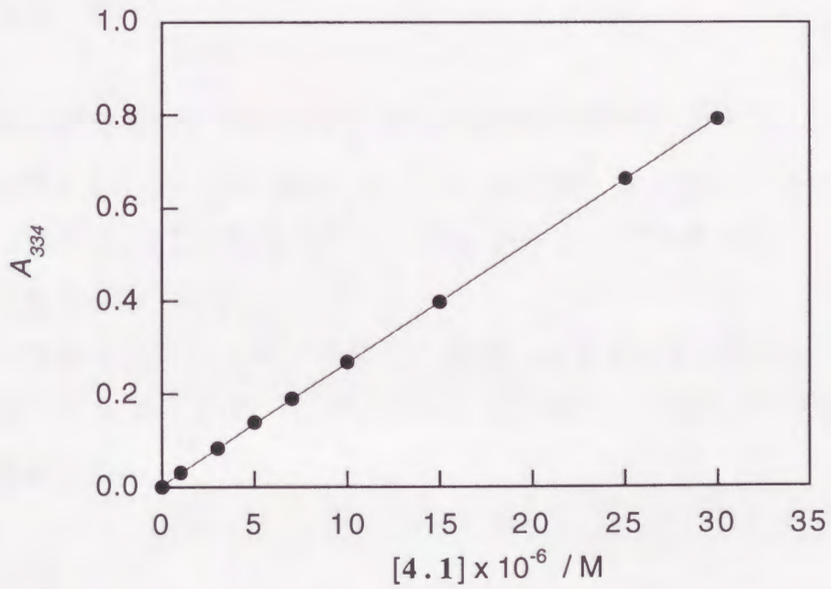


図4-15　化合物**4.1**の濃度変化に伴う334nmの吸光度変化

4－3－4　吸収スペクトルによる光異性化反応の検討

先の4－1項でも述べたように、アゾベンゼン類は図4-5に示すように、紫外光照射によりトランス体からシス体へ、可視光照射よりシス体からトランス体へ異性化し、この異性化反応は非常に可逆性が良く、繰り返し行うことができる[10]。本章での目的は光異性化反応を利用する糖質認識の光制御である。そこで、まず化合物**4.1**の可逆的な光異性化反応の知見を得るために、光照射による吸収スペクトル変化の検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5×10^{-5}M

pH 10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：DMSO = 100：1 *v/v*

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　紫外光照射時　UV-D35（300< λ / nm<400以外の光をカット）

可視光照射時　No.45（450nm以下の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

（紫外光照射の場合）光学セルに50mM炭酸緩衝溶液（pH10.5）3.0ml、および化合物**4.1**のDMSO貯蔵液（3.0×10^{-3}M）を25μl、DMSO 5μlを入れ、この試料を25℃に保ちながら、光源から5cmの位置に置き、紫外光照射して、これを測定した。

（可視光照射の場合）上のようにして調整した試料に紫外光を3分間照射した後、光源フィルターをUV-D35からNo.45へ変え、同様に可視光照射して、これを測定した。

（2）結果

図4-16に化合物**4.1**の紫外光照射時間に伴う吸収スペクトル変化を示す。

紫外光を照射するに従って、等吸収点（281nm，399nm）を通りながら334nmに極大吸収波長をもつ化合物**4.1**のトランス体由来の吸収帯は明らかに減少している。つまり、紫外光照射によって、化合物**4.1**のトランス体の割合が減少していることを表わす。この吸収スペクトル変化の際には、紫外光照射に伴って、吸収帯の極大吸収波長が334nmから300nmへ移動するという短波長シフトが観測され、アゾベンゼンのn-π^*遷移由来の吸収帯の極大吸収波長427nmの吸光度は増大している。これは紫外光照射によって、化合物**4.1**のトランス体が対応するシス体へ異性化したことに起因する。従って、化合物**4.1**のトランス体の極大吸収波長は334nmであり、そのシス体の極大吸収波長は300nmということになる。また、化合物**4.1**の紫外光照射時間に伴う吸収スペクトル変化より、トランス体の極大吸収波長である334nmの吸光度変化を求め、図4-17に示す。これより明らかなように、紫外光照射によって化合物**4.1**の吸収スペクトル変化が飽和する時間、すなわち334nmの吸光度変化が飽和する紫外光照射時間は3分間である。この化合物**4.1**のトランス体の極大吸収波長である334nmの吸光度の変化量より、紫外光照射3分後にはトランス体が17%以下（シス体は83%以上）になっていることが求まる。従って、化合物**4.1**をトランス体からシス体へ異性化させる際には紫外光を3分間照射すれば光定常状態に達することになる。

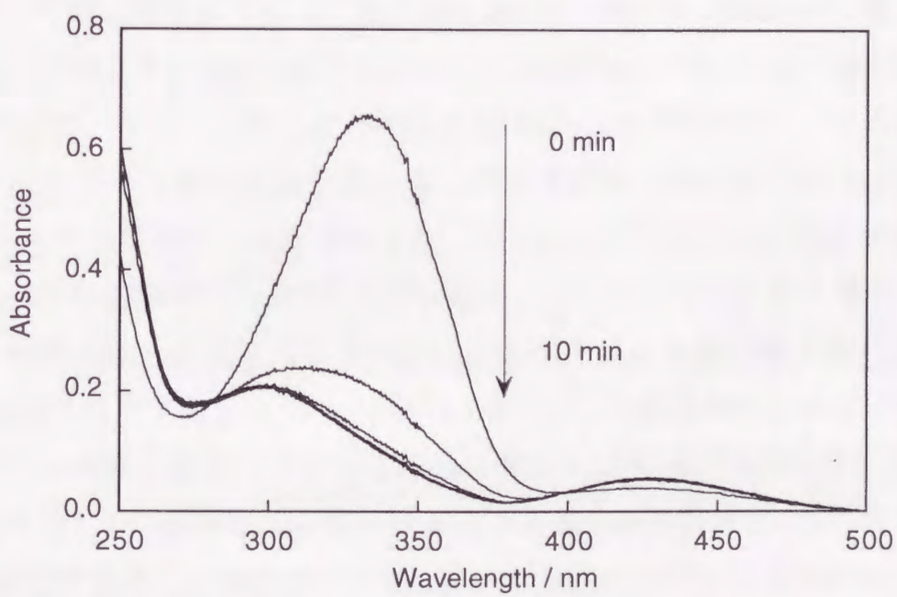


図4-16　化合物**4.1**の紫外光照射の吸収スペクトル経時変化

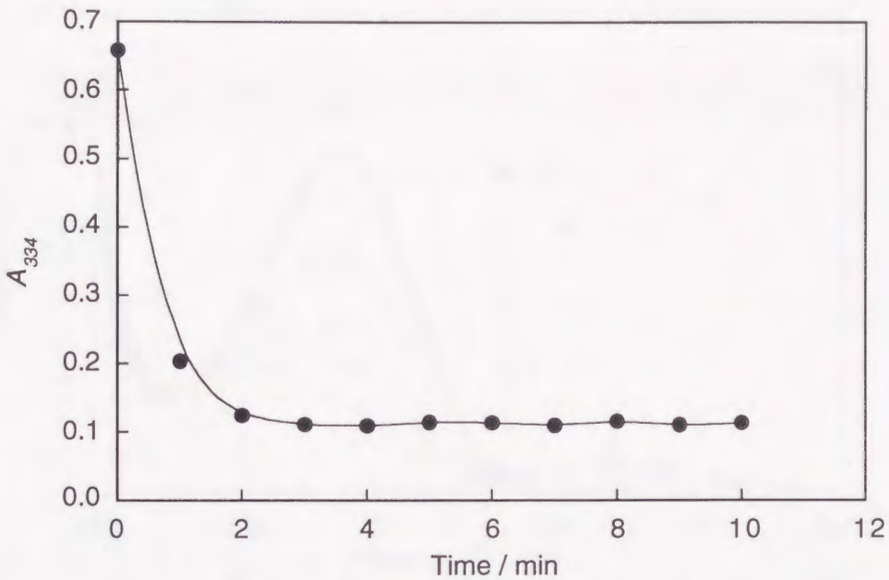


図4-17　化合物**4.1**の紫外光照射に伴う344nmの吸光度変化

次に、可逆的な光異性化の検討を行うために、化合物**4.1**へ紫外光を3分間照射し、トランス体からシス体へ異性化させた後、可視光照射を行った。その可視光照射時間に伴う吸収スペクトル変化を図4-18に示す。可視光を照射するに従って、等吸収点（281nm, 399nm）を通りながら334nmに極大吸収波長をもつ化合物**4.1**のトランス体由来の吸収帯は明らかに増大している。つまり、可視光照射によって、化合物**4.1**のシス体がトランス体へ異性化していることを表わす。当然、前述したように化合物**4.1**のシス体の極大吸収波長は300nmで、トランス体の極大吸収波長は334nmであるので、この吸収スペクトル変化では可視光照射に伴って、吸収帯の極大吸収波長が300nmから334nmへの長波長シフトが観測され、アゾベンゼンのn-π*遷移由来の吸収帯の極大吸収波長427nmの吸光度は減少している。また、化合物**4.1**の可視光照射時間に伴う吸収スペクトル変化より、トランス体の極大吸収波長である334nmの吸光度変化を求め、図4-19に示す。可視光照射によってこの吸収スペクトル変化が飽和する可視光照射時間は30分程度である。この結果を基に、化合物**4.1**におけるシス体からトランス体への光異性化反応の1次速度定数kを算出すると、本測定条件下では$k = 2.67 \times 10^{-3}s^{-1}$（半減期 4.3min）となる。

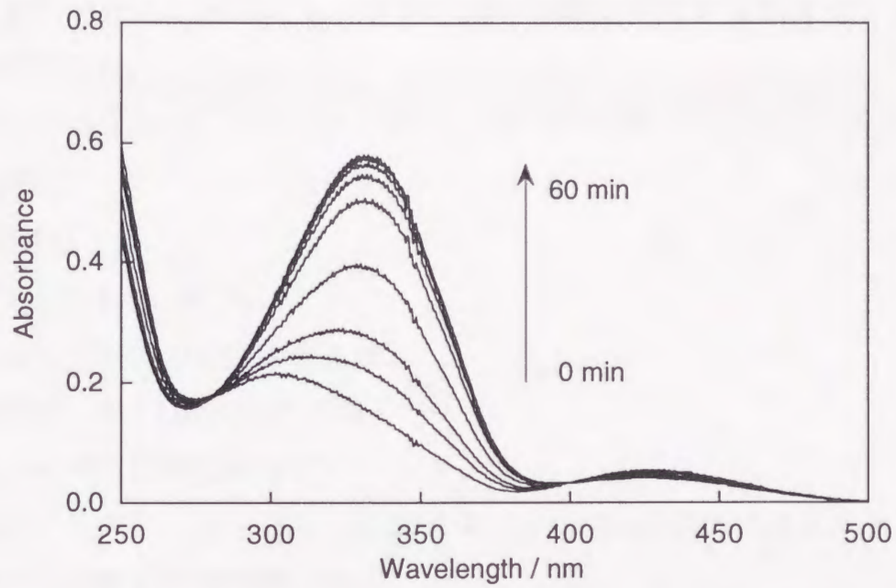


図4-18　化合物**4.1**の可視光照射の吸収スペクトル経時変化

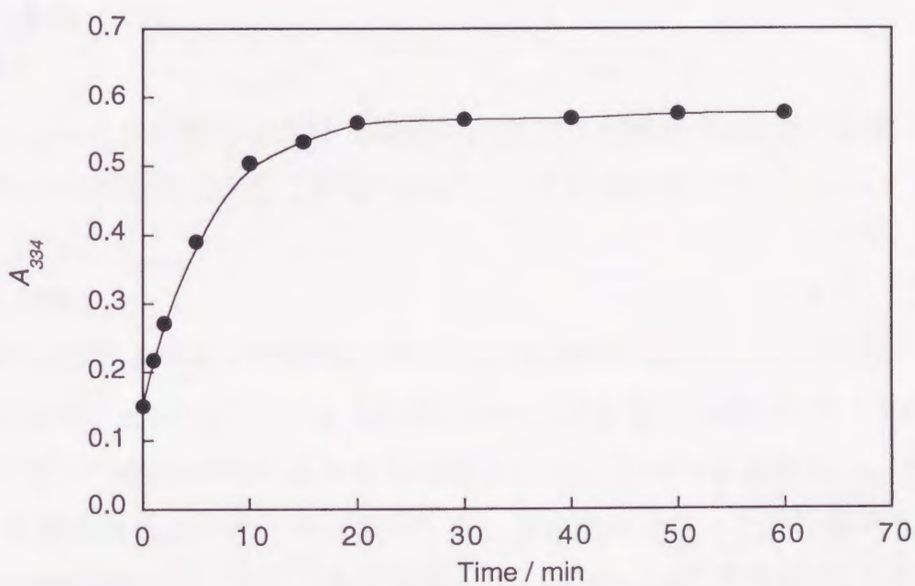


図4-19　化合物**4.1**の可視光照射に伴う344nmの吸光度変化

4－3－5　吸収スペクトルによる熱異性化反応の検討

アゾベンゼン類は図4-5に示すように、紫外光照射によりトランス体からシス体へ異性化させた後、熱的な反応によりこのシス体はトランス体へ再び異

性化する[31]。そこで、化合物**4.1**のこの熱異性化反応の知見を得るために、一定温度におけるシス体からトランス体への熱異性化を吸収スペクトル変化として検討した。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5 × 10^{-5}M

pH 10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：DMSO = 100：1 *v/v*

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35（300< λ / nm<400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　3分間

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

4－3－4項と同様な方法で調整した試料に紫外光を3分間照射した後、この試料を一定温度（25℃）に保ちながら、これを測定した。

（2）結果

図4-20に化合物**4.1**の25℃においての熱異性化反応に伴う吸収スペクトル変化を示す。前項で示したように化合物**4.1**は紫外光照射3分間で光定常状態なるので、その後の25℃における吸収スペクトル変化を追跡した。その結果、1020分後の吸収スペクトルにおいても、化合物**4.1**のトランス体の吸収帯（極大吸収波長344nm）はほとんど回復していない。ここで図4-20の334nmの吸光度の変化より、化合物**4.1**の熱的異性化における1次速度定数*k*を求めると、k = 9.27 × $10^{-7}s^{-1}$となり、その半減期は8.7日であった。これは化合物**4.1**のシス体が用いた媒体中で熱的に比較的安定に存在できるためであると考えられる。つまり、化合物**4.1**において熱的なシス体からトランス体への異性化は非常に遅く、熱異性化反応は実質的には生じないとみなすことができる。

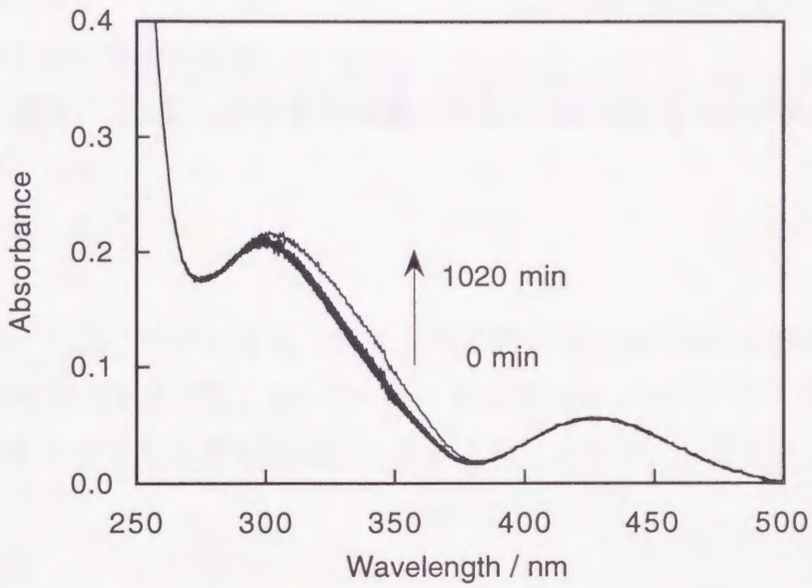


図4-20　化合物**4.1**の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化

4－3－6　吸収スペクトルによる糖質との錯化挙動の検討

前項までにより、化合物**4.1**は紫外光照射でトランス体からシス体へ、可視光照射でシス体からトランス体へ、相互変換可能であることが示された。また、化合物**4.1**のシス体は比較的安定に存在させることができ、事実上熱異性化反応を起こさない測定条件が設定できることも実証できた。これらのことは化合物**4.1**のシス体およびトランス体をそれぞれ個別に存在させることができることを表わす。そこで、糖質との錯化挙動をシス体，トランス体それぞれについて吸収スペクトルにより検討した。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5 × 10^{-5}M

[糖質] = 0～0.10M

pH 10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：DMSO = 100：1 *v/v*

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35 （300＜λ / nm＜400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　3分間（シス体の場合）あるいは0分間（トランス体の場合）

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

４－３－４項と同様な方法で調整した試料に紫外光を3分間照射した後あるいは紫外光を照射せずに、D-グルコース（構造は134ページを参照）が測定条件に示すようなそれぞれの濃度になるように加えて、これを測定した。

（２）結果

図4-21に化合物**4.1**の紫外光照射3分後のD-グルコース添加による吸収スペクトル変化を、また図4-22には紫外光照射前（紫外光照射0分間）のD-グルコース添加による吸収スペクトル変化を示す。すなわち図4-21はD-グルコ

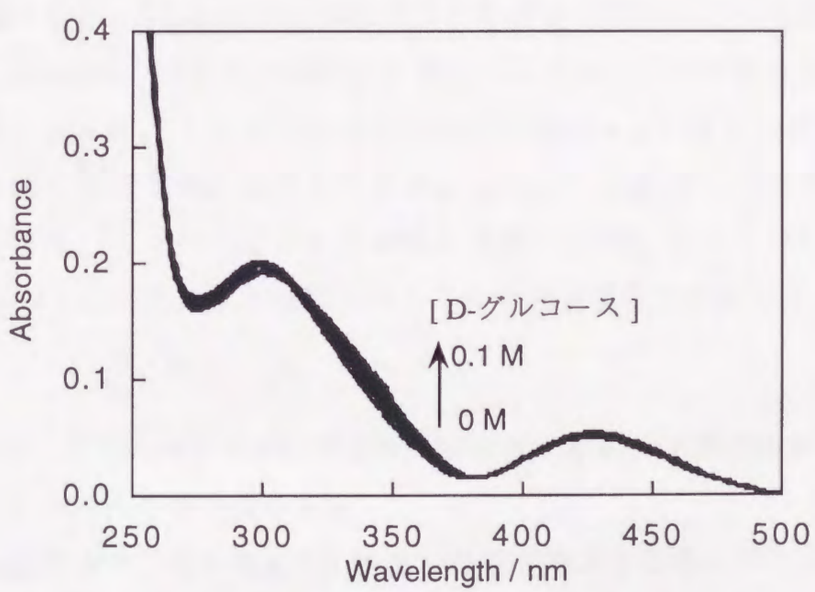


図4-21　化合物**4.1**の紫外光照射後（シス体）のD-グルコース添加による吸収スペクトル変化

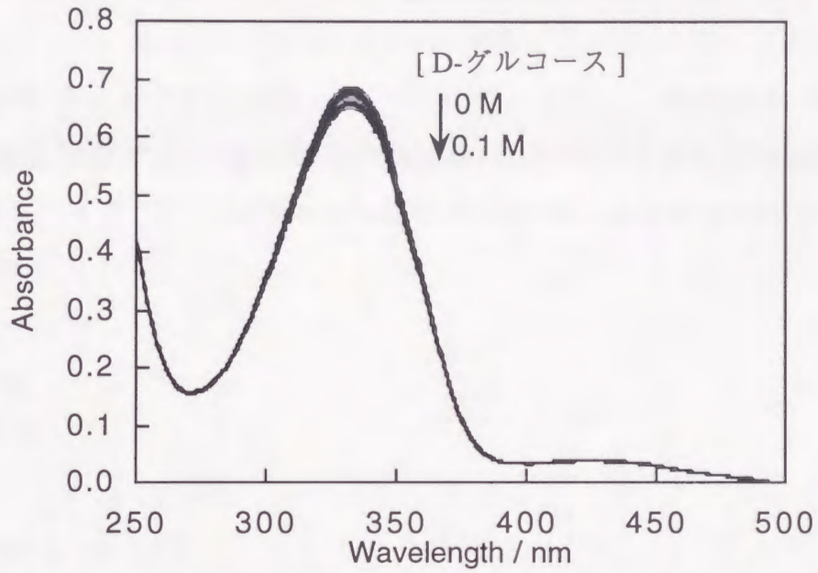


図4-22　化合物**4.1**の紫外光照射前（トランス体）のD-グルコース添加による吸収スペクトル変化

ースによる化合物**4.1**のシス体の吸収スペクトル変化、図4-22はD-グルコースによる化合物**4.1**のトランス体の吸収スペクトル変化を表わす。化合物**4.1**へD-グルコースを添加すると、紫外光照射後（シス体），紫外光照射前（トランス体）ともに吸収スペクトル変化が観測されている。この変化は、紫外光照射後の場合、345nm付近の吸光度がわずかに増加し、また紫外光照射前の場合、334nmの吸光度がわずかに減少するというものであった。これらの結果より、シス体，トランス体それぞれで化合物**4.1**のボロン酸基にD-グルコースは錯化可能であると考えられる。しかし、糖質錯化部位であるボロン酸基は発色団（アゾベンゼン）と離れた距離（共役していない）にあるためにD-グルコース添加による吸収スペクトルの変化量はわずかであった。

4－3－7　CDスペクトルによる様々な糖質との錯化挙動の検討とその会合定数の評価

前項の結果より、化合物**4.1**と糖質との錯化挙動を吸収スペクトルによって検討することはその変化量がわずかであるために困難であると考えられる。第2章で、発色団を有する化合物に不斉が導入される効果を観測するのにCD

スペクトル測定が有用であることを述べた。実際に第２章で用いたボロン酸修飾ナフタレンへ糖質が二箇所のボロン酸基と協同的作用により錯化すれば、CD活性種を与えることを実証した。従って、ジボロン酸誘導体である化合物**4.1**でも糖質錯化による不斉導入の効果をCDスペクトルにより観測できると期待される。そこで、化合物**4.1**と様々な単糖類との錯化挙動をCDスペクトルにより検討した。

（１）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5×10^{-5}M

[糖質] = 0～0.10M

pH 10.5（50mM炭酸緩衝溶液）

溶媒組成　水：DMSO = 100：1 *v/v*

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35（300< λ / nm<400以外の光をカット）

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　3分間（シス体の場合）あるいは0分間（トランス体の場合）

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

４－３－４項と同様な方法で調整した試料に紫外光を3分間照射した後あるいは紫外光を照射せずに、測定条件に示すようなそれぞれの濃度になるように糖質（D-グルコース，L-グルコース，1-O-メチル-α-D-グルコピラノシド，D-キシロース，D-フルクトース，D-フコース，D-マンノース，D-アロース，D-ガラクトース；構造は134ページを参照）の0.30Mあるいは3.0M水溶液を加えて、これを測定した。

（２）結果

図4-23に化合物**4.1**へ紫外光を照射し、シス化した後にグルコースを1.0×10^{-2}Mとなるように添加した際のCDスペクトルを示す。D-グルコースを

添加した場合とL-グルコースを添加した場合の化合物**4.1**の光定常状態（化合物**4.1**において紫外光照射3分後にはシス体は83%以上となっている）におけるCDスペクトルは対称型となっている。それらのCDスペクトルは249nmと427nmにCD強度の極大波長を有している。4－3－4項の図4-16で示したように化合物**4.1**へ紫外光を照射すると427nmに極大吸収波長をもつ吸収帯が増大することを考慮すると、この極大波長が427nmであるCD帯は化合物**4.1**のシス体のn-π*遷移に由来するものであると帰属できる。従って、化合物**4.1**のシス体は糖質の不斉に依存して誘起CDが生じることがわかる。

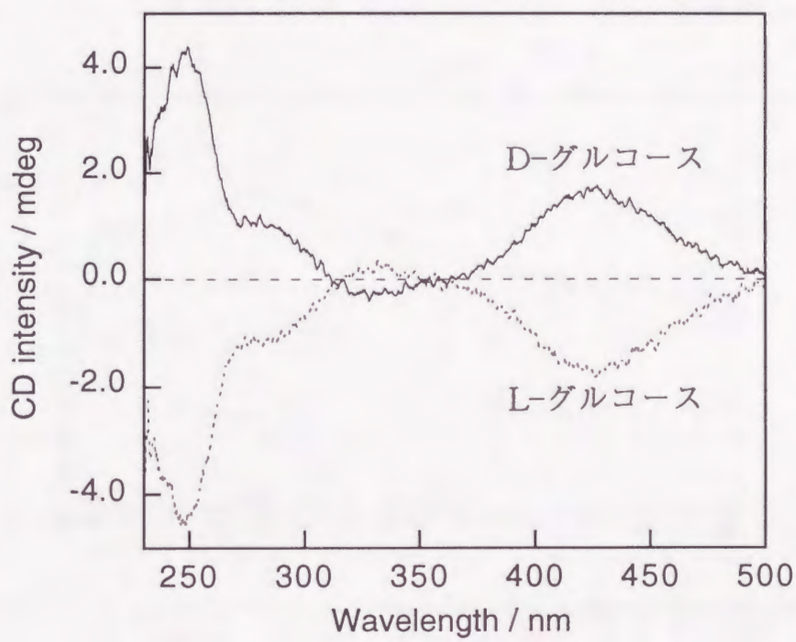


図4-23　化合物**4.1**のシス体へグルコース（1.0×10^{-2} M）を添加した場合のCDスペクトル

次に、化合物**4.1**への糖質錯化の選択性に関する知見を得るために、様々な単糖類との錯化挙動のCDスペクトルによる検討を行った。それぞれの単糖類濃度変化でのCDスペクトルの結果より、それぞれの単糖類濃度に対するCD帯の極大波長427nmのCD強度変化を求め、図4-24に示す。化合物**4.1**へ紫外光を照射し、シス化した後にD-グルコースを添加すると、その濃度に伴って化合物**4.1**のシス体のn-π*遷移に由来するCD帯の極大波長427nmのCD強度は増大している。しかし、D-グルコースの1位や6位の水酸基がメチル化

あるいは欠落した単糖類である1-O-メチル-α-D-グルコピラノシドやD-キシロースを添加した場合は前述した測定条件のすべての濃度範囲内でCD不活性であった。従って、CD活性種の構造は化合物**4.1**のシス体とD-グルコースとの環状1：1錯体（化合物**4.1**のシス体の二箇所のボロン酸基とD-グルコースの1,2位および4,6位で形成される分子内架橋錯体）であると予測できる。なぜならD-グルコースにはフェニルボロン酸の錯化可能なジオール部位は1,2位と4,6位の二箇所存在するが、これらのどちらか一方が錯化不可能となる1-O-メチル-α-D-グルコピラノシドやD-キシロースでCD不活性となるからである。また、フェニルボロン酸に対して二箇所の錯化可能部位をもつ単糖類であるD-フルクトースやD-フコースを添加してもCD不活性である。

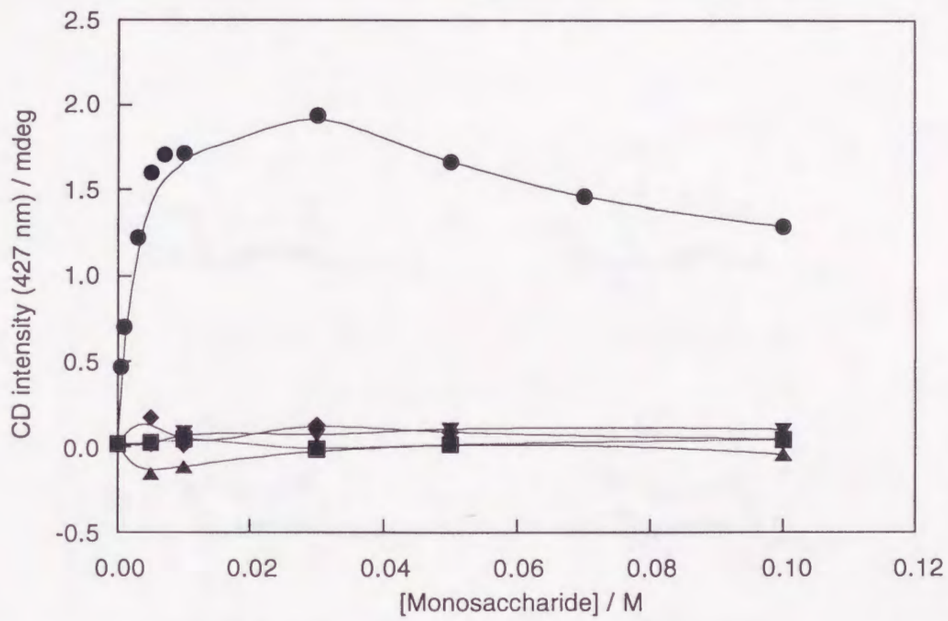


図4-24　単糖類の濃度に対する化合物**4.1**のシス体の427nmのCD強度変化
●：D-グルコース，▲：D-キシロース，■：1-O-メチル-α-D-グルコピラノシド，◆：D-フルクトース，▼：D-フコース

このように化合物**4.1**はD-グルコースに対して高い選択性を示している。そこで図4-25に示すようなD-グルコースと構造が非常に良く似た単糖類（D-マンノース，D-アロース，D-ガラクトース）であるD-グルコースのエピマー（一箇所の水酸基の向きが異なるもの）を用いて、化合物**4.1**の選択性を評価した。D-グルコースのエピマーの濃度変化に伴う化合物**4.1**のCDスペ

クトル変化を図4-26～図4-29に示す。ここで用いた糖質の中でCD活性種を与える単糖類はD-グルコースとD-アロースであった。それらの濃度に伴って化合物**4.1**のシス体のn-π*遷移に由来するCD帯の極大波長427nmのCD強度は明らかに増大している。この二つの単糖類では1,2位と4,6位の水酸基の方向は同一で、3位のみの水酸基の方向が異なる。従って、このことはCD活性種である化合物**4.1**のシス体と単糖類との分子内1：1架橋錯体がその単糖類の1,2位と4,6位で錯化していることを支持する。また、D-グルコースと2位や4位の水酸基の方向が異なるD-マンノースやD-ガラクトースは化合物**4.1**のCD活性種を誘起できない。つまり、427nmに極大波長をもつCD帯を与えない。これらのことより、化合物**4.1**のシス体と分子内1：1架橋錯体を形成するのに単糖類の1,2位および4,6位の水酸基の方向性が重要であることがわかる。

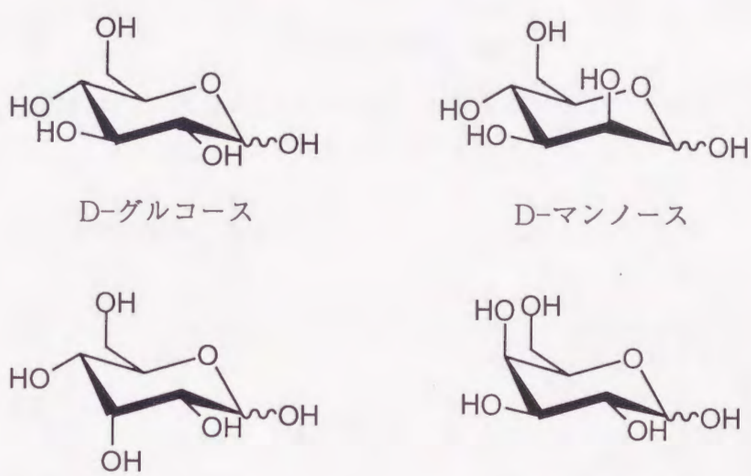


図4-25　D-グルコースおよびそのエピマーの構造

また、これらD-グルコースのエピマー濃度変化に伴うCDスペクトル変化より、それぞれの単糖類濃度に対するCD帯の極大波長427nmのCD強度変化を求め、図4-30に示す。化合物**4.1**にCD活性種を与えることのできるD-グルコースとD-アロースの濃度に対する427nmのCD強度変化の挙動に着目すると、ともに一旦CD強度が増加するが、単糖類の高濃度領域では減少している。すなわちCD強度変化の挙動でこれらの単糖類の添加は極大値を与え、それらの

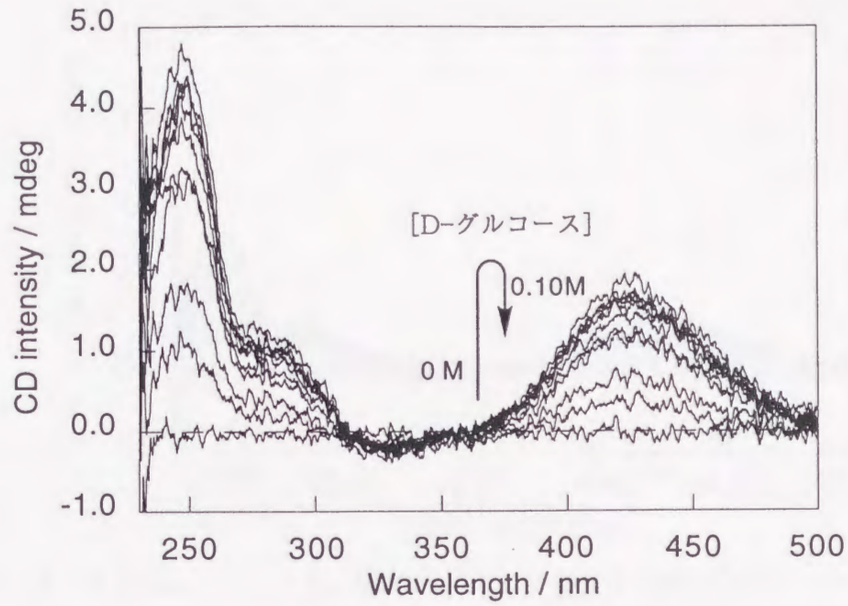


図4-26　化合物**4.1**のシス体のD-グルコース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

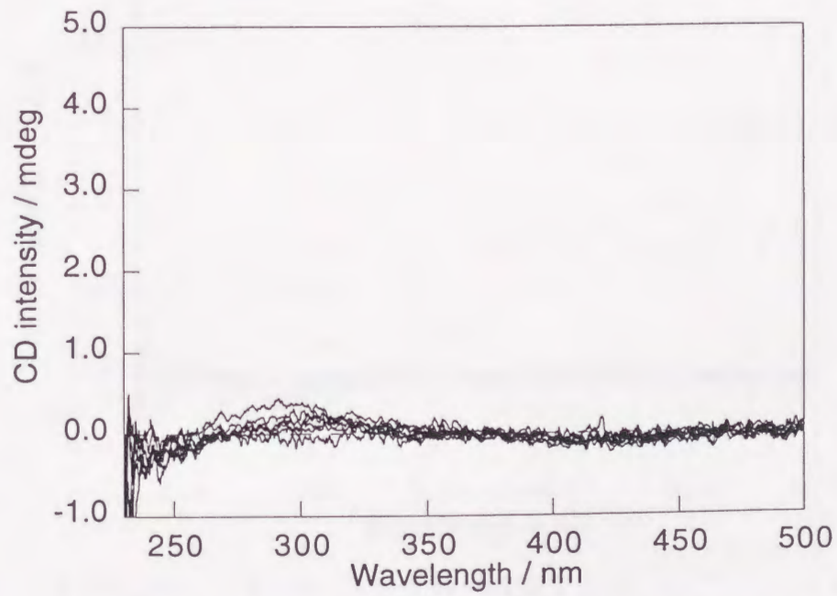


図4-27　化合物**4.1**のシス体のD-マンノース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

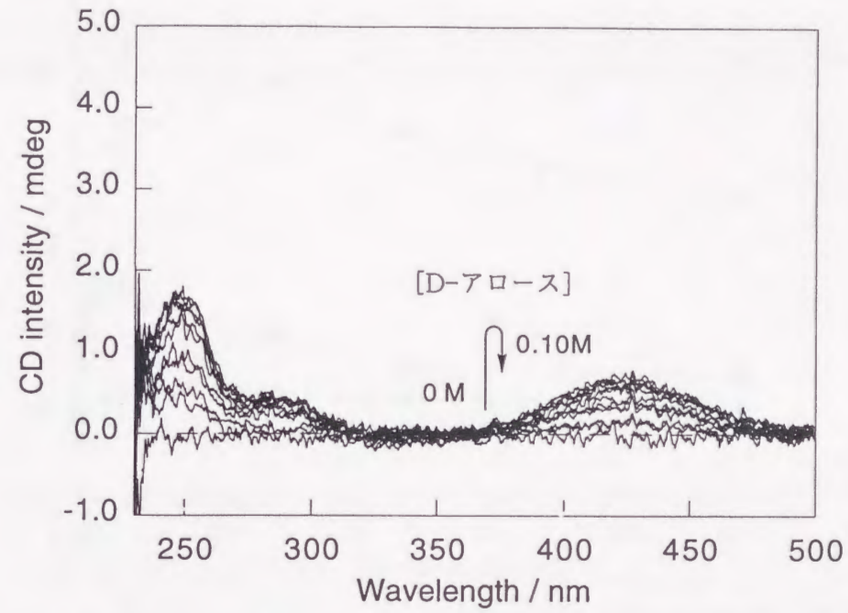


図4-28　化合物**4.1**のシス体のD-アロース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

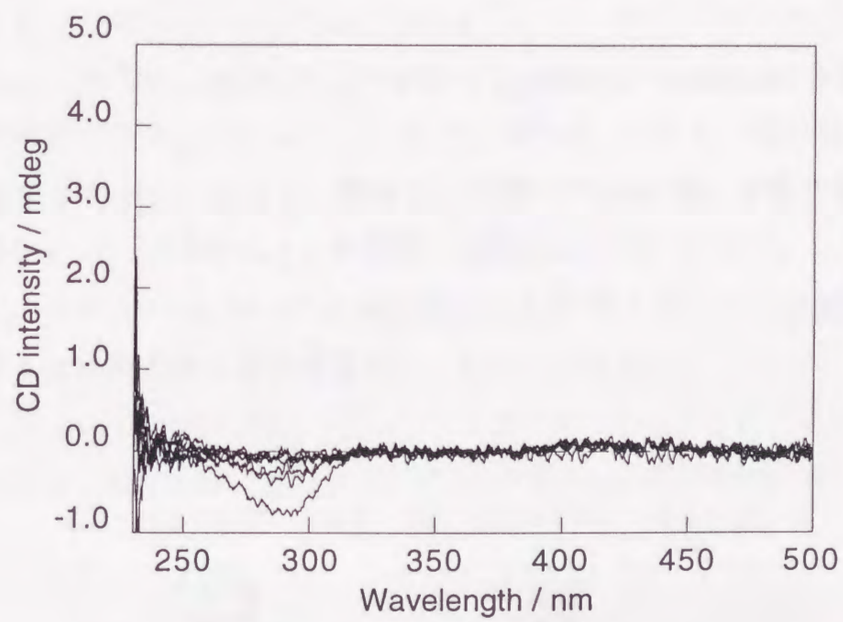


図4-29　化合物**4.1**のシス体のD-ガラクトース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

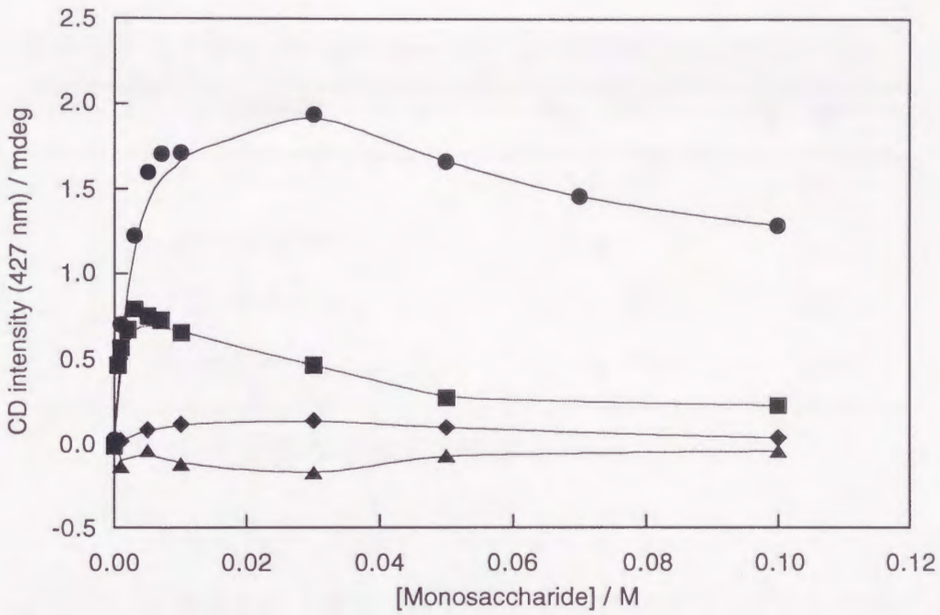


図4-30　D-グルコースのエピマーの濃度に対する化合物**4.1**のシス体の427nmのCD強度変化
●：D-グルコース，▲：D-マンノース，■：D-アロース，
◆：D-ガラクトース

値はそれぞれD-グルコースでは3.0×10^{-2}M、D-アロースでは4.0×10^{-3}Mであった。これらのCD強度変化の挙動は化合物**4.1**への単糖類の錯化で二種類の平衡状態が存在していることを表わしている。つまり、化合物**4.1**のシス体と単糖類との錯化において、環状1：1錯体の形成の後に単糖類高濃度領域では非環状1：2（化合物**4.1**：単糖類）錯体が生じる。そこで、これらの結果を基に、スキーム4-1に従って非線形最小二乗法[32)]を用いて化合物**4.1**のシス体に対する単糖類の会合定数を算出し、表4-1に示す。

$$\mathbf{4.1} \underset{K_1}{\overset{S}{\rightleftharpoons}} \mathbf{4.1}\cdot S \underset{K_2}{\overset{S}{\rightleftharpoons}} \mathbf{4.1}\cdot S_2$$

S：単糖類

スキーム4-1

表4-1　化合物**4.1**のシス体に対する単糖類の会合定数K (M^{-1})

単糖類	K_1 / M^{-1}	K_2 / M^{-1}
D-グルコース	4.6×10^2	10
D-マンノース	a	a
D-アロース	2.0×10^3	48
D-ガラクトース	a	a

[a]CD不活性のため算出できない

上のように、化合物**4.1**へ誘起CDを与える単糖類はD-グルコースとD-アロースのみでった。そこで、これらの単糖類を用いて、化合物**4.1**のトランス体のCDスペクトル変化を検討し、図4-31，図4-32に示す。化合物**4.1**へ紫外光を照射してシス化した後にD-グルコースやD-アロースを添加したときはCD活性種が存在したのに対して、化合物**4.1**へ紫外光を照射せずに、つまりトランス体に同様な単糖類を添加したときはCD活性種が存在せず、CD不活性であった。このことは化合物**4.1**のシス体とトランス体それぞれの単糖類（D-グルコース，D-アロース）濃度変化に伴うCDスペクトル変化より、それぞれの単糖類濃度に対するCD帯の極大波長427nmのCD強度変化を求め、図4-33に示す結果でも表わされている。これは、化合物**4.1**のシス体では形成できる単糖類との分子内1：1架橋錯体が、化合物**4.1**のトランス体では二箇所のボロン酸基が相対的に遠距離に存在するために形成できないことに起因する。この紫外光照射前の場合と紫外光照射後の場合の化合物**4.1**のCDスペクトルの差は、化合物**4.1**のシス体が明らかに関与していることを意味する。

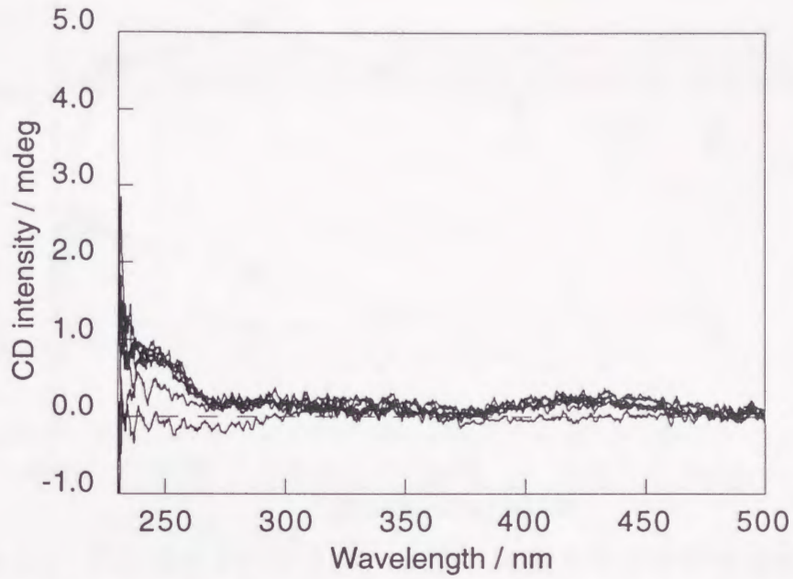


図4-31　化合物**4.1**のトランス体のD-グルコース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

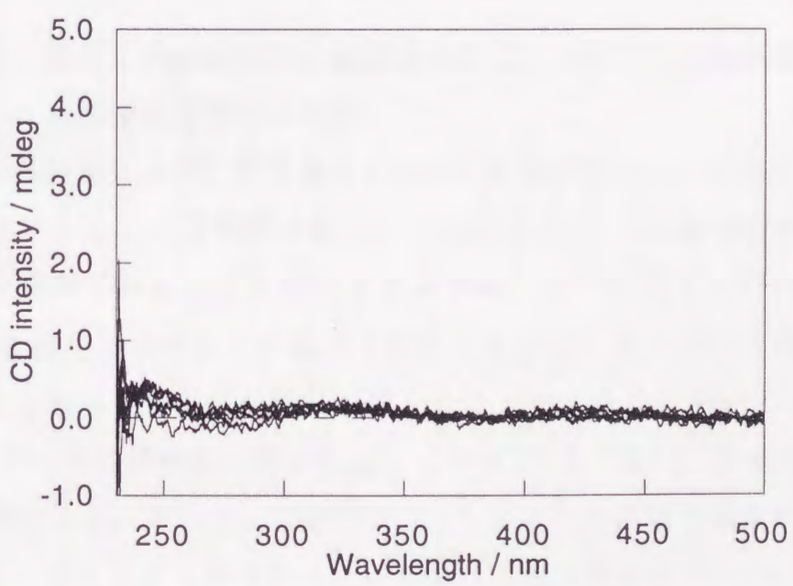


図4-32　化合物**4.1**のトランス体のD-アロース濃度変化に伴うCDスペクトル変化

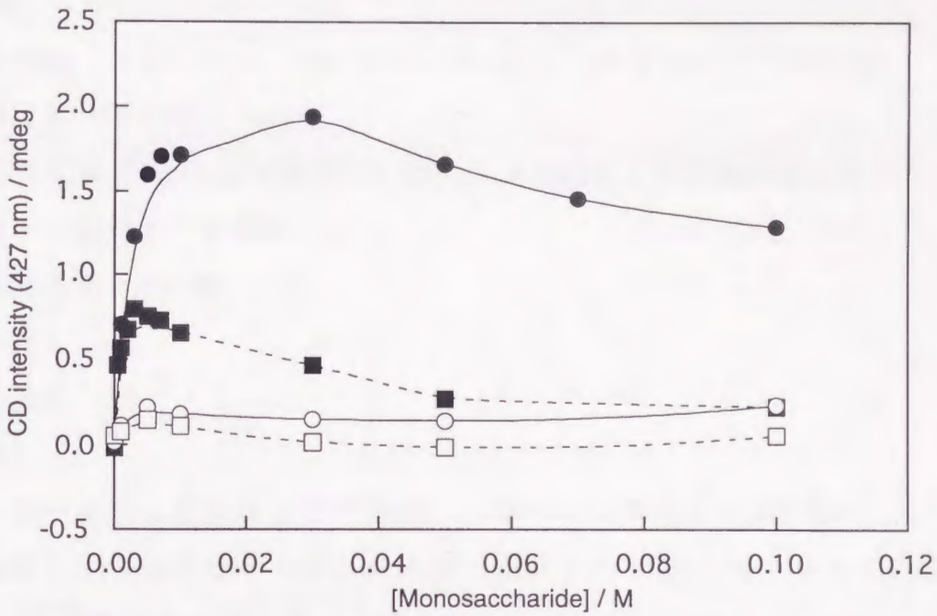


図4-33　化合物**4.1**のシス体，トランス体それぞれの単糖類濃度に対するの427nmのCD強度変化
●：シス体のD-グルコース添加，○：トランス体のD-グルコース添加，
■：シス体のD-アロース添加，□：トランス体のD-アロース添加

4－3－8　糖質との錯化挙動と熱異性化反応における速度論的評価の相関関係に関する検討

前項までの結果により、化合物**4.1**のシス体は単糖類と分子内1：1架橋錯体を形成可能であることが示唆された。この分子内1：1架橋錯体の形成はアゾベンゼンの特徴であるシス体からトランス体への一定温度における熱異性化反応[31)]に影響を及ぼすことが期待される。しかし、4－3－5項の吸収スペクトルによる熱異性化反応の検討で示したように、水中においては化合物**4.1**のシス-トランス熱異性化は非常に遅く（半減期　8.7日）、水中での速度論的検討は困難である。そこで、比較的シス-トランス熱異性化の速いメタノール中で糖質との錯化挙動と熱異性化反応における速度論的検討を行った。

（1）測定

【測定条件】

[**4.1**] = 2.5 × 10^{-5}M

[糖質] = 0～0.10M

溶媒組成　メタノール：DMSO = 100：1 v/v (3vol%水を含む)

光源　400W 超高圧水銀灯

光源フィルター　UV-D35 (300＜λ / nm＜400以外の光をカット)

光源から試料までの距離　5cm

光照射時間　4分間

セル長　1cm

測定温度　25℃

【操作】

4－3－4項と同様な方法で調整した試料に紫外光を4分間照射した後に、測定条件に示すようなそれぞれの濃度になるようにD-グルコースの0.30Mあるいは3.0M水溶液を加えて、これを測定した。

（2）結果

まず最初に、メタノール中で化合物**4.1**へ紫外光を照射する際に吸収スペクトル変化が飽和する時間（光定常状態に達する時間）を確認するために、糖質非存在下における光異性化反応を吸収スペクトルによりの検討した。図4-34にメタノール中における化合物**4.1**の紫外光照射時間に伴う吸収スペクトル変化を示す。化合物**4.1**の吸収スペクトルでは水中の場合と同様に、紫外光照射に伴いその極大吸収波長である328nmの吸光度が等吸収点（279nm, 388nm）を通りながら減少する挙動を示している。従って、これは化合物**4.1**のトランス体がシス体へ光異性化する変化に対応している。紫外光照射によって化合物**4.1**の吸収スペクトル変化が飽和する時間、すなわち328nmの吸光度変化が飽和する紫外光照射時間は4分間であった。また、化合物**4.1**のトランス体の極大吸収波長である328nmの吸光度より、紫外光照射4分後にはトランス体が14%以下（シス体は86%以上）になっていると考えられる。これらのことより、化合物**4.1**のメタノール中における糖質との錯化挙動や熱異性化反応における速度論的評価の検討を行う際の光照射時間は4分間とした。

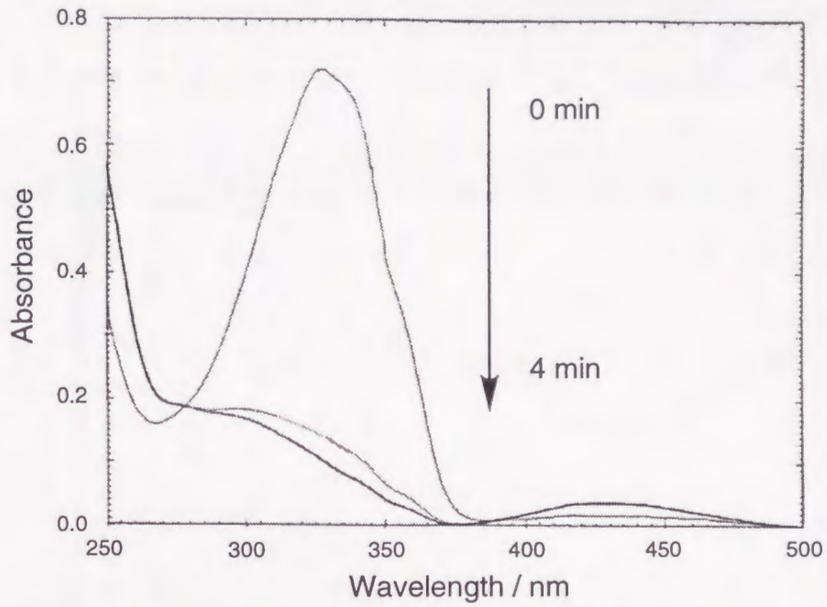


図4-34　化合物**4.1**のメタノール中における紫外光照射の吸収スペクトル経時変化

次にCDスペクトルによる糖質との錯化挙動の検討を行った。図4-35に化合物**4.1**へ紫外光を照射し、シス化した後にD-グルコースを1.0 × 10^{-2}Mとなるように添加した際のCDスペクトルを示す。化合物**4.1**はD-グルコースと錯化することで明らかに誘起CDを与える。そのCDスペクトルは278nmと424nmにCD強度の極大波長を有しており、これらは水中におけるD-グルコース添加の時に現われるCDスペクトルとほぼ等しい波長領域である。この極大波長が424nmであるCD帯は水中での結果（4－3－7項）と同様に化合物**4.1**のシス体のn-π^*遷移に由来するものであると帰属できる。従って、メタノール中においても水中の場合と同様なD-グルコースとの分子内1：1架橋錯体が形成されているものと考えられる。

また、様々なD-グルコース濃度でのCDスペクトルを測定し、その結果よりそれぞれのD-グルコース濃度に対するCD帯の極大波長424nmのCD強度変化を求め、図4-36に示す。化合物**4.1**にCD活性種を与えることのできるD-グルコース濃度に対する424nmのCD強度変化の挙動は一旦CD強度が増加するが、D-グルコースの高濃度領域では減少し、水中における挙動と類似している。このCD強度変化の挙動は化合物**4.1**のシス体とD-グルコースとの錯化において、環状1：1錯体の形成の後にD-グルコース高濃度領域では非環状1：2（化

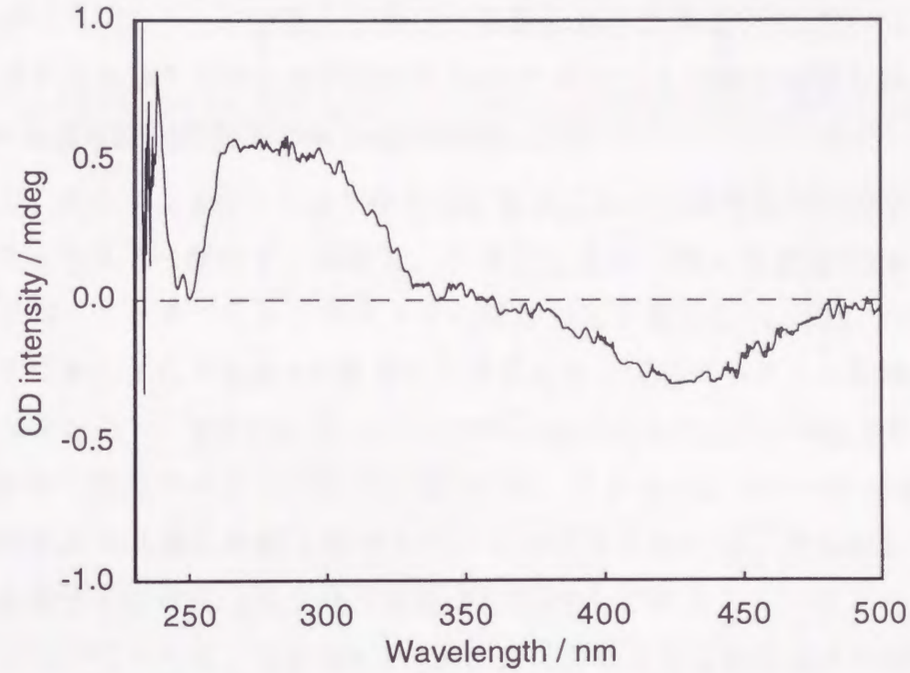


図4-35　メタノール中において化合物**4.1**のシス体へD-グルコース（1.0×10^{-2}M）を添加した場合のCDスペクトル

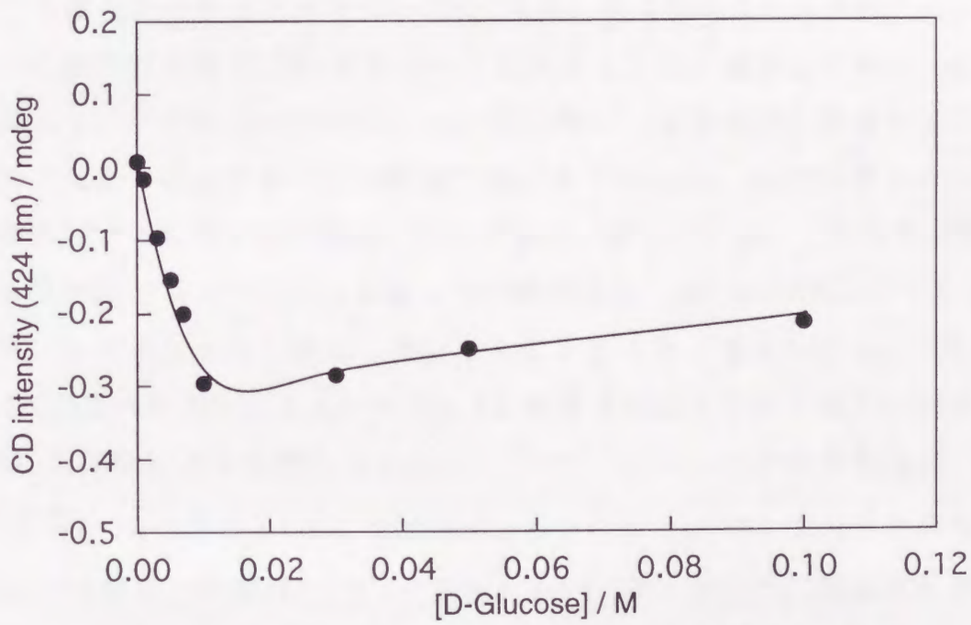


図4-36　メタノール中におけるD-グルコース濃度に対する化合物**4.1**のシス体の424nmのCD強度変化

合物**4.1**：単糖類）錯体が生じることを表わす。図4-36の結果を基に、スキーム4-1（123ページ参照）に従って非線形最小二乗法[32)]を用いてメタノール中での化合物**4.1**のシス体に対するD-グルコースの会合定数を算出すると、$K_1 = 1.2\times10^2M^{-1}$, $K_2 = 14M^{-1}$であった。

また、化合物**4.1**のシス体の熱異性化反応における速度論的検討を行うために、化合物**4.1**へ紫外光を照射し、シス化した後に様々な濃度でD-グルコースを添加して、その吸収スペクトルの経時変化を測定した。図4-37に糖質非存在下における化合物**4.1**の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化を、図4-38に1.0×10^{-2}M D-グルコース存在下における化合物**4.1**の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化を示す。メタノール中での化合物**4.1**のシス体の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル変化において、明らかにトランス体に由来する吸収帯（極大吸収波長は328nm）が増大していることがわかる。この結果を用いれば、化合物**4.1**の異性化反応における速度論的評価は可能である。そこで、これと同様な熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化測定を様々なD-グルコース濃度で行い、トランス体由来の極大吸収波長である328nmの吸光度変化より、式4-1を用いて1次速度定数を求めて、このD-グルコース濃度に対する変化を図4-39に示す。化合物**4.1**のシス体からトランス体への熱異性化速度はD-グルコースの濃度とともに減少している。これは化合物**4.1**のシス体がD-グルコースと分子内1：1架橋錯体を形成することで熱異性化反応を抑制することに起因すると考えられる。またD-グルコースが高濃度存在する領域では熱異性化速度が若干上昇している。これは化合物**4.1**のシス体とD-グルコースとが形成していた環状1：1錯体が非環状1：2（化合物**4.1**：D-グルコース）錯体へ移行したことによると考えられる。これらの結果はCDスペクトルによる化合物**4.1**と糖質との錯化挙動の検討の結果（図4-36）と非常によく相関している。ここでD-グルコースの会合定数（K_1, K_2）と図4-39の結果を基に、化合物**4.1**のシス体とD-グルコースとが形成する環状1：1錯体と非環状1：2（化合物**4.1**：D-グルコース）錯体それぞれの対応するトランス体への熱異性化の1次速度定数（それぞれk_1, k_2）を非線形最小二乗法[32)]を用いて求めると$k_1 = 6.7\times10^{-8}s^{-1}$, $k_2 = 2.8\times10^{-6}s^{-1}$と

なり、明らかに環状1：1錯体の形成によって熱異性化反応が抑制されていることがわかる。

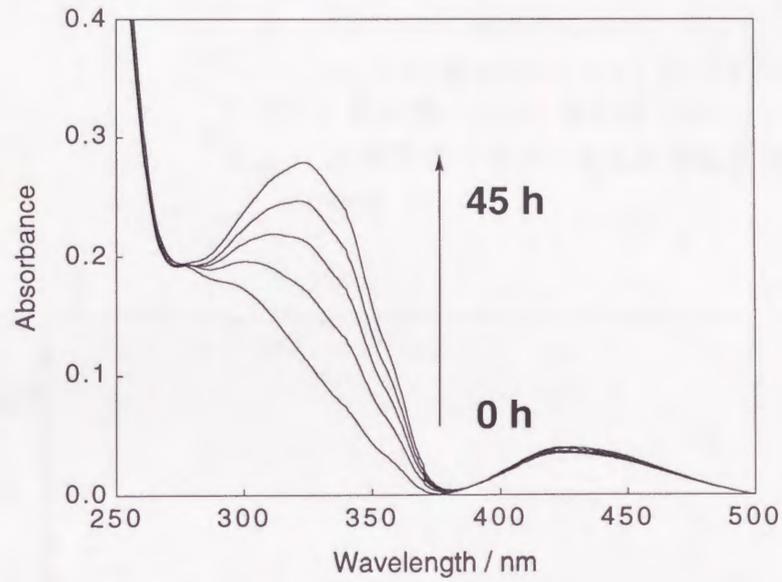


図4-37　糖質非存在下における化合物**4.1**の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化（メタノール中）

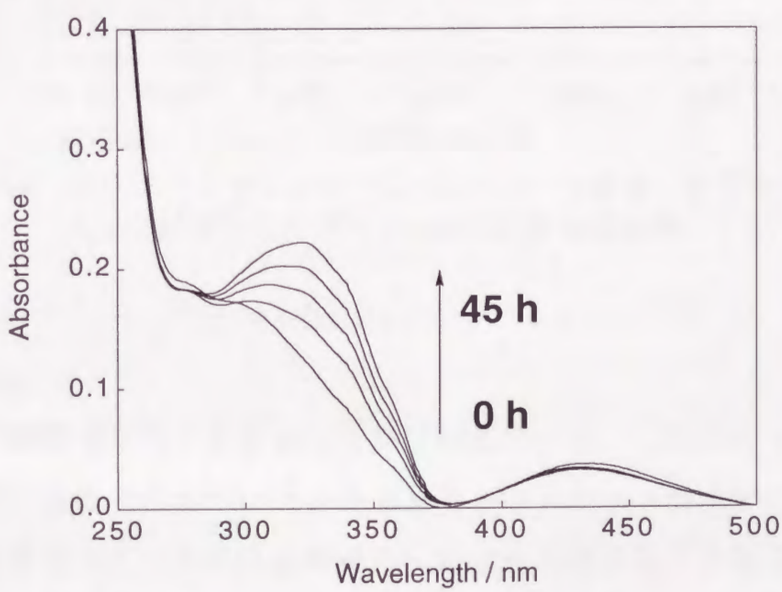


図4-38　D-グルコース存在下（1.0×10^{-2}M）における化合物**4.1**の熱異性化反応に伴う吸収スペクトル経時変化（メタノール中）

$$ln \frac{A_0 - A_e}{A - A_e} = k_{obs}t \qquad 式4-1$$

A_0：0秒の時の328nmの吸光度

A_e：328nmの飽和吸光度

（それぞれの測定条件におけるトランス体の328nmの吸光度）

A：t 秒の時の328nmの吸光度

k_{obs}：熱異性化の見かけの1次速度定数（s^{-1}）

t：時間（s）

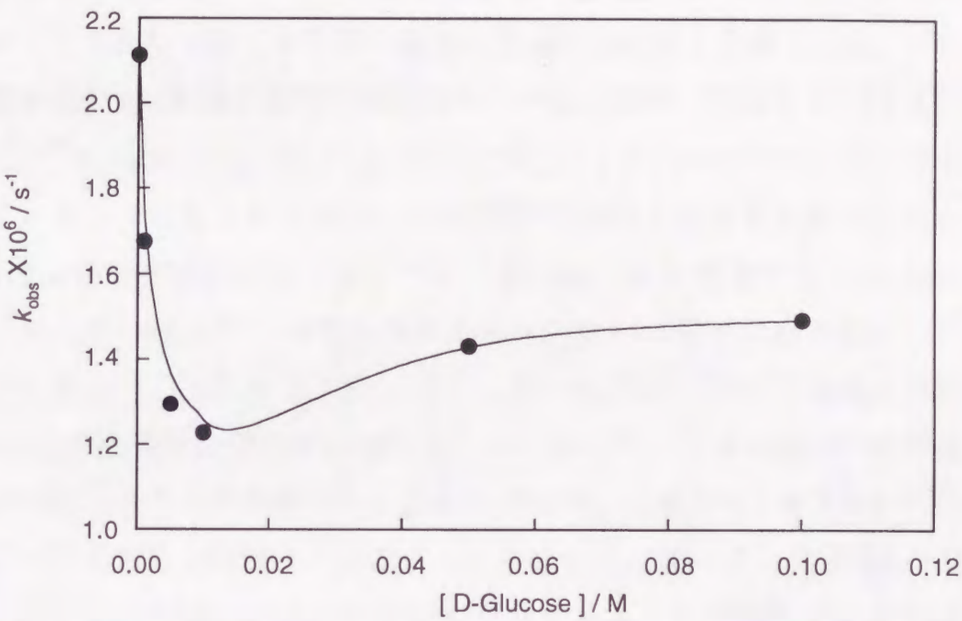


図4-39　メタノール中におけるD-グルコース濃度に対する化合物**4.1**の熱異性化の見かけの1次速度定数変化

4－4　考察

ジボロン酸誘導体による選択的な糖質の認識では、二箇所のボロン酸基の距離が非常に重要である[22),23)]。ある糖質をターゲット分子とした時、その糖質の二箇所のジオール部位と相補的に錯化可能な位置に2個のボロン酸基をレセプター分子内に導入することが必要であった。しかし、外部刺激により二箇所のボロン酸基間距離を自由に変えることができれば、この二箇所の

ボロン酸基を一定距離に固定化する必要性はなくなり、しかも必要な時だけ糖質の選択的認識を行うことができる。

そこでまず、二箇所のボロン酸基間の距離を変えるための外部刺激として光を選択し、ボロン酸基間のスペーサーとしてフォトクロミズムを示すアゾベンゼン[10]を用い、化合物**4.1**を分子設計した。これは光によってボロン酸基間距離を変化させ、選択的糖質の認識の光コントロールが可能であると考えられる。実際に、化合物**4.1**のシス体とトランス体でそれぞれ二箇所のボロン酸基間距離を求めるために、MM3計算を行った。その結果、化合物**4.1**のシス体の*syn-syn*型において二箇所のボロン酸基間距離が4.3Åとなり、これが単糖類の二箇所のジオール部位間距離（約4Å[29]）と非常によく一致するため、シス体における単糖類の選択的認識が行えると期待される。

化合物**4.1**の溶媒組成変化の検討やモル吸光係数の測定より、[**4.1**] = 2.5×10^{-5}M, pH10.5, 水：DMSO = 100：1 *v/v*の条件では分子間会合していないことが実証されたので、光異性化実験はこの測定条件で行った。化合物**4.1**は紫外光照射によってトランス体の極大吸収波長である334nmの吸光度が明らかに減少し、トランス体からシス体への非常に効率のよい光異性化（シス体83%以上）を生じた。また、紫外光照射の後に可視光を照射すれば334nmの吸光度が明らかに増大し、シス体からトランス体への光異性化も効率よく起こることがわかった。これらにより、化合物**4.1**は光という外部刺激によって可逆的に異性化できることが示された。従って、化合物**4.1**を用いれば、選択的な糖質の認識の光制御が可能であることが伺える。さらに、この紫外光照射で生じた化合物**4.1**のシス体は半減期 8.7日と比較的安定に存在させることができる。従って事実上熱異性化反応を生じないために、シス体とトランス体のそれぞれの糖質添加効果が測定できる。

このような事実を踏まえて、化合物**4.1**のシス体とトランス体それぞれの糖質との錯化挙動の検討を吸収スペクトルによって行ったが、有意な吸収スペクトル変化は得られなかった。これは糖質結合部位であるフェニルボロン酸部位が発色団であるアゾベンゼンと共役していないことに原因があると考えられる。

そこで、糖質分子には不斉が存在する点[29]を考えて、CDスペクトルによ

る糖質との錯化挙動の検討を行った。化合物**4.1**へ紫外光を照射した後に様々な糖質を添加し、CDスペクトルを測定した結果、CD活性種を与える糖質はD-グルコースとD-アロースのみであった。この二つの糖質の共通点は、ボロン酸基が錯化可能な1,2位および4,6位の水酸基の方向性が等しいことである。つまり、3位の水酸基の方向のみが異なるということである。また、1位や6位の水酸基が存在しない1-*O*-メチル-α-D-グルコピラノシドやD-キシロースの添加で化合物**4.1**のシス体がCD活性種を与えないことを考慮すると、糖質の1,2位と4,6位とで化合物**4.1**のシス体が二箇所のボロン酸基により協同的に錯化した分子内1：1架橋錯体がCD活性種であると考えられる。このことは、MM3計算を用いたボロン酸部位間距離に関する検討においても裏付けられる。このときに、D-グルコースやD-アロースが高濃度存在すると、CD強度が減少するという現象が観測されている。このことも、分子内1：1架橋錯体の形成が支持できる。つまり、この現象は化合物**4.1**のシス体と糖質との錯化に二

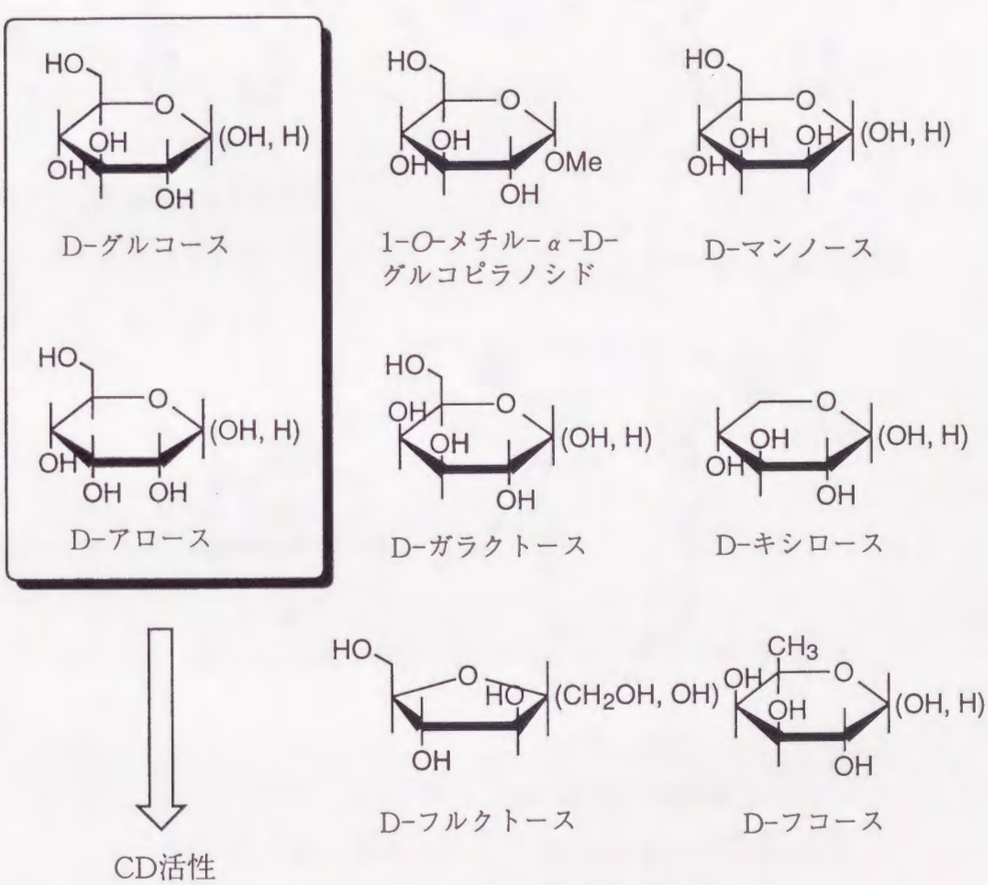
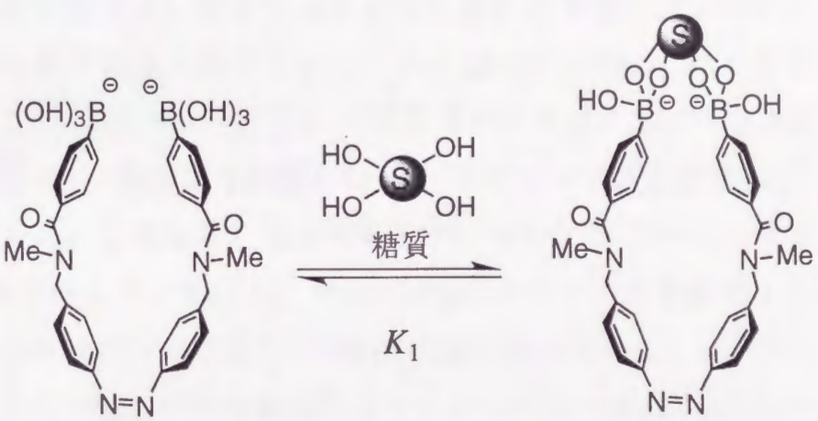


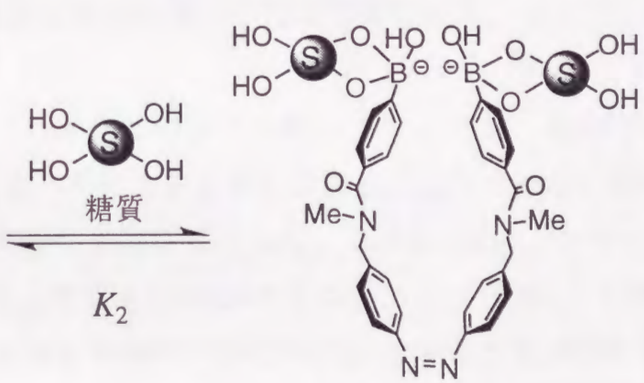
図4-40　本章で測定に用いた糖質の構造

種類の平衡状態が存在することを示し、それは図4-41に示すような環状1：1錯体から非環状1：2錯体への移行に対応して、糖質高濃度領域でCD強度の減少挙動が観測されるというものであると考えられる。また、ここでD-グルコースとD-アロースの化合物**4.1**に対する会合定数を求めると、K_1, K_2ともにD-アロースの方が大きくなっている。K_2についてはフェニルボロン酸の会合定数を単に反映しているためであるが、K_1については三点架橋型錯体の存在が示唆される結果である。一方、化合物**4.1**のトランス体ではこれらシス体においてCD活性種を与えることのできる糖質（D-グルコース，D-アロース）を添加しても、まったくCD活性種を与えることはできていない。これは、ト



化合物**4.1**のシス体　　CD活性

分子内1：1架橋錯体



CD不活性

非環状1：2錯体

図4-41　化合物**4.1**のシス体の糖質との錯化過程

ランス体では二箇所のボロン酸基間距離が遠距離であるために、分子内1：1架橋錯体を形成できないことを反映している。従って、化合物**4.1**のシス体は1,2位および4,6位の水酸基の方向性を厳密に識別していると示唆される。これらの結果は、MM3計算を用いたボロン酸部位間距離に関する検討で得られて知見を基に期待したものと一致している。

以上のようにアゾベンゼン部位の光異性化反応を利用することで、二箇所のボロン酸基間距離の変化による糖質の選択的検知の光制御が行え、それをスペクトル的手法により読み出せることが明らかとなった。

また、糖質の錯化挙動と速度論的評価の相関を検討するためにメタノール中での検討を行った。水中では熱異性化反応が非常に遅いため、速度論的検討が困難なので測定溶媒をメタノールへ変えている。。ここでは、まずメタノール中でもCD活性な分子内1：1架橋錯体を形成できることを確認するために、化合物**4.1**へ紫外光を照射した後にD-グルコースを添加してCDスペクトルを測定した。その結果、化合物**4.1**のシス体とD-グルコースは錯化によりCD活性種を与えた。しかし、水中でのCDスペクトルの結果と比較すると、メタノール中においてはそのCD強度は弱くなっている。これは化合物**4.1**のシス体のボロン酸基のホウ素原子がメタノール中ではsp^2混成軌道をとるために糖質との分子内1：1架橋錯体構造が水中の場合（ボロン酸基のホウ素原子はsp^3混成軌道をとる）とは異なることに起因すると考えられる。しかし、CD強度変化の挙動は水中の場合とほぼ同様であり、分子内1：1架橋錯体の存在は示唆された。

そこで、メタノール中でのシス体からトランス体への25℃における熱異性化反応のD-グルコースによる影響を測定した。その結果、明らかにD-グルコースの添加で熱異性化速度は低下した。これは上のCDスペクトルの結果を考えると、化合物**4.1**のシス体がD-グルコースと分子内1：1架橋錯体を形成することで熱異性化反応を抑制することに起因することがわかる。また、D-グルコース高濃度領域での熱異性化速度の増大は、D-グルコース濃度とともに環状1：1錯体から非環状1：2錯体（化合物**4.1**：D-グルコース）へ変化したことによると示唆される。このような結果はCDスペクトルによる糖質の錯化挙動の検討結果と非常によく相関している。

以上のように糖質応答機能をもつアゾベンゼン誘導体である化合物**4.1**は糖質添加に伴い、分子内1：1架橋錯体を形成することでシス体の相対的安定化が特定の糖質によって行えることが明らかとなった。

4－5　結論

いままでボロン酸誘導体を用いた糖質の選択的認識は、あるスペーサーを介して、二箇所のボロン酸基を固定化することで成し遂げられていた。そこで本章ではこのスペーサー部位に外部刺激に応答する機能を持たせ、糖質の選択的認識の外部刺激によるコントロールを目的とした。ここではスペーサー部位にアゾベンゼンを用いて、光という外部刺激により両端に存在する二箇所のボロン酸基間距離をシス-トランス異性化反応を利用して変化させ、糖質認識の選択性の光制御を実証できた。これはボロン酸誘導体の分子構造を外部刺激により変化させることで、それに依存して糖質の選択的認識がコントロール可能であることを示す。このことより、外部刺激に応答する機能性分子を用いることが選択的認識過程の制御に有効であると結論づけられる。

参考文献

1) J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.*, **17**, 258 (1984).
2) S. Shinkai, O. Manabe, *Top. Curr. Chem.*, **121**, 67 (1984).
3) K. Nagai, S. Ukai, K. Hayakawa, K. Kanematsu, *Tetrahedron Lett.*, **26**, 1735 (1985).
4) a) S. Shinkai, K. Inuzuka, O. Manabe, *Chem. Lett.*, **1983**, 747; b) S. Shinkai, K. Inuzuka, K. Hara, T. Stone, O. Manabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 2150 (1984).
5) G. J. Kavarnos著, 小林　宏訳, 光電子移動, 丸善, 東京 (1997).
6) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, H. Michel, *Nature*, **318**, 618 (1985).
7) 垣谷俊昭, 光・物質・生命と反応, 丸善, 東京 (1998).
8) a) 新海征治, 現代化学, **1981**, 22; b) 新海征治, 真鍋　修, 有合化, **40**, 92 (1982).

9) a) S. Shinkai, T. Ogawa, T. Nakaji, Y. Kusano, O. Manabe, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4569; b) S. Shinkai, T. Nakaji, Y. Nishida, T. Ogawa, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5860 (1980); c) S. Shinkai, K. Miyazaki, M. Nakashima, O. Manabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 1059 (1985).

10) G. S. Hartley, *Nature*, **140**, 281 (1937).

11) I. Yamashita, M. Fujii, T. Kaneda, S. Misumi, T. Otubo, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 541.

12) M. Shiga, M. Takagi, K. Ueno, *Chem. Lett.*, **1980**, 1021.

13) a) S. Shinkai, T. Minami, Y. Kusano, O. Manabe, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 2581 (1982); b) S. Shinkai, T. Minami, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 1851 (1983).

14) a) S. Shinkai, K. Miyazaki, O. Manabe, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **24**, 866 (1985); b) S. Shinkai, K. Miyazaki, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 449.

15) a) A. Ueno, R. Saka, T. Osa, *Chem. Lett.*, **1979**, 841; b) A. Ueno, R. Saka, T. Osa, *Chem. Lett.*, **1979**, 1007; c) A. Ueno, H. Yoshimura, R. Saka, T. Osa, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 2779 (1979); d) A. Ueno, R. Saka, K. Takahashi, T. Osa, *Heterocycles*, **15**, 671 (1981).

16) N. S. Poonia, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 1012 (1974).

17) a) S. Shinkai, T. Ogawa, Y. Kusano, O. Manabe, *Chem. Lett.*, **1980**, 283 ; b) S. Shinkai, T. Ogawa, T. Nakaji, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1980**, 375; c) S. Shinkai, T. Nakaji, T. Ogawa, K. Shigematsu, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 111 (1981); d) S. Shinkai, K. Shigematsu, M. Sato, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 2735.

18) a) S. Shinkai, K. Shigematsu, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1981**, 3279; b) S. Shinkai, T. Ogawa, Y. Kusano, O. Manabe, K. Kikukawa, T. Goto, T. Matsuda, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 1960 (1982); c) S. Shinkai, K. Shigematsu, Y. Honda, O. Manabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 2879 (1984).

19) a) S. Shinkai, Y. Honda, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1982**, 848; b) S. Shinkai, Y. Honda, T. Minami, K. Ueda, O. Manabe, M. Tashiro, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 1700 (1983); c) S. Shinkai, Y. Honda, K. Ueda, O. Manabe, *Isr. J. Chem.*, **24**, 302 (1984).

20) S. C. Peacock, D. J. Cram, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1976**, 282.
21) a) S. Shinkai, M. Ishihara, K. Ueda, O. Manabe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1985**, 511; b) S. Shinkai, T. Yoshida, K. Miyazaki, O. Manabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 1819 (1987).
22) a) K. Kondo, Y. Shiomi, M. Saisho, T. Harada, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **48**, 8239 (1992); b) G. Deng, T. D. James, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 4567 (1994); c) K. R. A. S. Sandanayake, K. Nakashima, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 1621; d) M. Takeuchi, T. Mizuno, H. Shinmori, M. Nakashima, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **52**, 1195 (1996); e) M. Takeuchi, T. Imada, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10658 (1996); f) M. Takeuchi, S. Yoda, T. Imada, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **53**, 8335 (1997).
23) a) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **33**, 2207 (1994); b) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8982 (1995); c) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Nature*, **374**, 345 (1995); d) P. Linnane, T. D. James, S. Imazu, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 8833 (1995); e) K. R. A. S. Sandanayake, T. D. James, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **1995**, 503; f) T. D. James, P. Linnane, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1996**, 281; g) .T. D. James, H. Shinmori, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1997**, 71.
24) G. S. Kumar, C. Savariar, M. Saffran, D. C. Neckers, *Macromolecules*, **18**, 1525 (1985).
25) M. Yamamoto, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **54**, 3125 (1998).
26) H. Matsubara, K. Seto, T. Tahara, S. Takahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 3896 (1989).
27) T. Kimura, S. Arimori, M. Takeuchi, T. Nagasaki, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1995**, 1889.
28) 大澤映二, 平野恒夫, 本多一彦, 計算化学入門, 講談社, 東京 (1994).
29) 阿武喜美子, 瀬野信子, 糖化学の基礎, 講談社, 東京 (1994).
30) a) H. Murakami, T. Nagasaki, I, Hamachi, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 6273 (1993); b) H. Murakami, T. Nagasaki, I, Hamachi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1994**, 975; c) T. Imada, H. Murakami, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 1557; d) T. Nagasaki, H. Shinmori, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 2201 (1994);

e) H. Shinmori, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **51**, 1893 (1995).
31) 松岡　賢, 色素の化学と応用, 大日本図書, 東京 (1994).
32) a) J. A. Nelder, R. Mead, *Comput. J.*, **7**, 308 (1965); b) S. L. Morgan, S. N. Deming, *Anal. Chem.*, **46**, 1170 (1974).

第５章　結言

本論文では、生体機能の中で特に分子認識という観点に着目し、そのモデルとなる人工レセプター分子の設計と開発を目的とした。この人工レセプターの分子設計においては、認識対象分子として生体内で重要な役割を果たしている糖質に焦点を絞り、分子認識に伴う化学的変化を物理シグナルに情報変換して簡便な方法で読み出すことができる糖質レセプター分子の設計と機能化を目指した。そこで本研究では、糖質インターフェイスとしてフェニルボロン酸を、一方、情報伝達素子として様々な色素化合物を用いることを基本理念として、電子状態の変化や異性化反応による分子構造の変化という色素特性を利用した糖質情報の読み出しの検討を行った。以下それぞれのテーマについて得られた成果をまとめる。

第２章では、分光光度法の中で特に高感度な読み出しが行える蛍光スペクトル法に着目し、光誘起電子移動（PET）機構を利用したジボロン酸誘導体の二点相互作用による選択的な糖質レセプターの構築を行うために、蛍光性分子であるナフタレンの二箇所にフェニルボロン酸を導入した化合物を用い、糖類の認識の検討を行った。ここでは二箇所のフェニルボロン酸を一つのアミノメチル基を介して短距離に固定化することで、それらを協同的に相互作用させ、糖類の選択的認識を期待した。様々な糖類との相互作用を蛍光スペクトルで検討し、ある特定の条件を満たした構造を有する糖類に対して選択性を示すことが見い出された。すなわち、フェニルボロン酸に対する錯化部位であるジオール部位を二箇所有し、かつそれらが短距離に存在する糖類が選択的に認識できるというものである。また、この錯化種の構造をCDスペクトルによって検討したところ、このフェニルボロン酸は一分子の糖質に二箇所で協同的に相互作用していることがわかった。従って、糖質に対して選択的認識を行うホスト分子の構築は二箇所のボロン酸基を分子内で一定距離に固定化することで成し遂げられることを表わし、選択的な人工レセプターの開発に対する重要な知見を得た。

第３章では、異性化反応により分子構造を変化させることのできる色素化合物にフェニルボロン酸を導入し、糖質あるいはポリオール類の認識過程を分子構造変化に伴う色の変化として読み出すことを目指した。劇的な色の変

化を異性化反応によって生じるスピロピラン誘導体を用い、糖質を含むポリオール類の錯化過程を吸収スペクトルで検討し、フェニルボロン酸が錯化可能なジオール部位を有する糖質やポリオール類を色変化として読み出せることを見い出した。ジオール部位の錯化によるボロン酸基の酸性度の変化に誘起された分子内B-N相互作用の変化を異性化反応に共役させることで、スピロピラン構造－メロシアニン構造の平衡を糖質やポリオール類の錯化でコントロールし、認識過程において視覚的に識別できるほどの色変化を生じることに成功した。また、メロシアニン構造からスピロピラン構造への熱異性化反応の糖質やポリオール類錯化による影響を速度論的検討により評価し、糖質やポリオール類の錯化はその異性化速度を増加させることがわかった。従って、認識情報を視覚的に捕えるには発色団への共役的情報伝達が有効であり、色の変化により識別可能な人工レセプターを分子設計するうえで重要な知見を得た。

第４章では、糖質の錯化部位であるボロン酸基の距離に依存して糖質認識の選択性を制御できるという第２章の知見を基に、二箇所のボロン酸基の間のスペーサー部位に外部刺激に応答する機能を持たせ、糖質の選択的認識の外部刺激によるコントロールを行うことにした。外部刺激として光を選択し、光異性化可能なアゾベンゼンをスペーサー部位としたジボロン酸誘導体を合成し、光異性化による糖質認識の挙動変化の検討を行った。アゾベンゼン部位をシス体へ光異性化させることで、二箇所のボロン酸基の距離を単糖類の二箇所のジオール部位間距離とほぼ等しくでき、特定の糖質（グルコース，アロース）に対してのみ選択的な認識作用を示すことが、CDスペクトルによる検討で見い出された。この選択性は糖質とホスト分子との分子内1：1架橋錯体の形成で成し遂げられていた。糖質の錯化挙動と速度論的評価との相関関係を熱異性化によって検討すると、D-グルコースの錯化でホスト分子のシス体の相対的な安定化が生じた。このことは、分子内1：1架橋錯体が選択的な糖質の認識に関与していることを支持した。従って、光という外部刺激により異性化反応を利用した糖質認識の選択性の制御が行え、しかも必要な時だけ糖質認識が行えることがわかった。このことより、外部刺激に応答する機能性分子をホスト化合物として用いることが選択的認識過程の制御に有効

であり、分子認識のコントロール可能な人工レセプターを構築するための重要な知見を得た。

以上のように、本研究では生体系でみられる分子認識機能のモデルとなる機能性レセプターを分子設計し、分子認識機能の発現およびその認識過程の読み出しを可能にすることができた。また、より高精度・高機能な機能性レセプターを開発するうえでの基礎的な知見を得た。本研究の成果が今後の人工レセプターの構築に関する研究の基礎となり、さらに発展することを期待したい。

謝辞

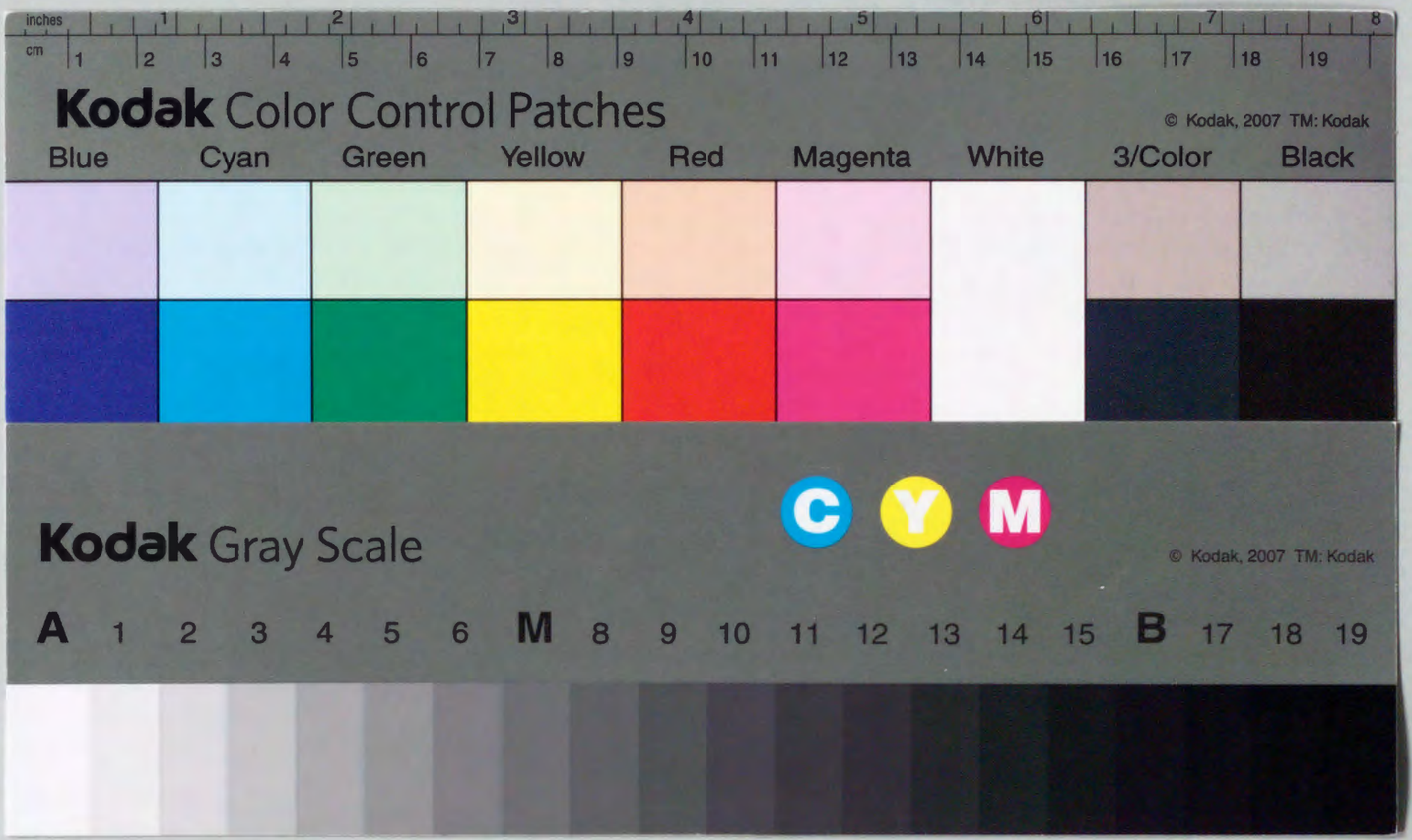
本研究を行うにあたり、終始懇切なる御指導、御鞭撻を賜りました九州大学大学院工学研究科　新海征治教授に心より感謝の意を表します。

本論文の執筆にあたり、有益な御教示、御助言を頂きました九州大学大学院工学研究科　前田瑞夫教授、藤原祐三教授に深く感謝致します。

九州大学大学院在学中に御指導くださいました九州大学大学院工学研究科浜地　格助教授、長崎　健助手（現大阪市立大学助教授）、荒木孝司助手(現九州工業大学助教授）、竹内正之助手、池田篤志助手に感謝致します。

本研究において特殊ガラス器具を製作して頂いた堀内秀毅技官に厚く感謝致します。また、^{1}H-NMRスペクトルの測定において特別な便宜を図って頂いた九州大学中央分析センター　渡辺美登里博士、柴田佐和子女史に心より感謝を致します。CDスペクトルの測定において特別な便宜を図って頂いた新技術事業団　新海包接認識プロジェクトの皆さんに感謝致します。

最後に新海研究室において終始丁寧な御指導および暖かく励ましてくださいました諸先輩方、後藤利香補佐員、安武孝子補佐員、武部智子補佐員、ならびに新海研究室学生諸君一同に感謝致します。さらに、研究遂行に多大な便宜を図ってくださいました田中禎次郎事務主任ならびに事務職員の方々に深い感謝の意を表します。


inches
cm
Kodak Color Control Patches
© Kodak, 2007 TM: Kodak
Blue
Cyan
Green
Yellow
Red
Magenta
White
3/Color
Black
Kodak Gray Scale
C
Y
M
© Kodak, 2007 TM: Kodak
A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19