

博士論文

π 共役系分子の動的な電子構造制御を鍵とした
反応開発と光機能性材料の創出

2022年1月17日

徳島大学大学院 先端技術科学教育部

物質生命システム工学専攻 化学機能創生コース

博士後期課程3年 物質合成化学講座 A-3

星 恵太

目次

略語一覧	2
序論	3
第一章 テトラアリアルクムレン類の電子構造を鑑みた反応開拓	
1. 緒言	6
1.1. テトラアリアル[3]クムレンの光二量化反応	15
1.2. テトラアリアル[3]クムレンのヨード環化反応	49
1.3. テトラアリアル[3]クムレンのヨード環化反応	67
第二章 多光子吸収能を示すピリジン誘導体の生物活性評価	
2. 緒言	89
2.1. D- π -A 型ベンゾチアゾール誘導体によるアミロイド繊維の分解	97
2.2. A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩の発光特性評価とバイオイメージング	113
2.3. イミダゾ[1,5-a]ピリジン配位子を持つ三座ホウ素錯体の合成	132
結言	153
謝辞	154

略語一覽

A β	Amyloid beta
BLA	Bond length alternation
CD	Circular dichroism
CIEE	Crystallization-induced emission enhancement
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamide
DNA	Deoxyribonucleic acid
ECD	Electronic circular dichroism
HOMO	Highest occupied molecular orbital
ICT	Intramolecular charge transfer
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimide
NMR	Nuclear magnetic resonance
PDT	Photodynamic therapy
PL	Photoluminescence
ROS	Reactive oxygen species
TBAA	Tetrabutylammonium acetate
TCNE	Tetracyanoethylene
TDDFT	Time-dependent density functional theory
THAM	Tris(hydroxymethyl)aminomethane
THF	Tetrahydrofuran
TMEDA	Tetramethylethylenediamine
TMSA	Trimethylsilylacetylene
XRD	X-Ray diffraction

序論

化学反応において本質的に重要なことは電子に関しての理解である。電子はその存在が 19 世紀末に発見され、原子から電子が飛び出したり原子が崩壊することが明らかになり原子に構造があることが認識されるようになった。1911 年に E. Rutherford は原子核の存在を実証した後、ラザフォードの原子模型を提案した。これは実際には正確なモデルではないが、一般によく知られる原子模型であり、惑星モデルと呼ばれるものである。1913 年に N. Bohr はいわゆるボーアの原子模型を提案した。これはラザフォードの原子模型の矛盾を解消するために考案された原子模型であり、電子殻の存在を示したものである。1916 年には G. N. Lewis が最外殻の電子を「価電子」と呼び、点で表示するルイスの構造式として知られる共有結合の理論を発表した。

19 世紀末の電子の発見によって原子の構造の理解が深まるにつれ、原子や分子構造ばかりでなく有機化学反応を電子の動きで解釈しようとする理論が 1930 年代に始まった「有機電子論 (electronic theory)」である。この理論では、反応の起点を静電的引力に置き、反応分子内の電荷分布の違いに着目して、分子のどの部分とどの部分が結びついていくかを電子の流れとして矢印で表すのが特徴であり、R. Robinson と C. K. Ingold らを中心に研究が行われた。

この考え方は明快であり有機化学反応機構を理解するのに非常に有用であるが、有機電子論のみでは説明不可能な現象も存在する。なぜならオクテット則に立脚する有機電子論では、電子の波動性を全く考慮していないからである。有機電子論的考察では説明できない実験事実（ペリ環状反応等）について、量子力学（分子軌道）を用いることにより理論化された例が、福井謙一によって発表されたフロンティア軌道論あるいは R. B. Woodward と R. Hoffmann によって発表されたウッドワード・ホフマン則である。

近年、分子系における「動的」揺らぎや振動などが励起状態生成、電荷分離効率、電荷分離などに関与することが見出されてきている。例えば動的共有結合 (dynamic covalent chemistry) は超分子形成^[1]や高分子構築^[2]において注目されている概念である。動的共有結合に基づいて形成される構造体は熱力学的に安定な構造をもつ一方で、温度や光などの外部刺激によりその構造を変化させることができる。また、光機能性材料開発においても有機発光ダイオードへの応用^[3]が期待される熱活性化遅延蛍光 (thermally activated delayed fluorescence: TADF) で動的な電子構造変化が重要な役割を果たしているとの報告がある^[4]。TADF は従来、電気励起により得られる 75% の三重項励起子を熱エネルギーによって一重項

励起子へと一段階の逆項間交差により与えるものであると考えられていた。しかしながら、TADF は動的な電子構造変化によって生じる中性励起種の存在が鍵となる発光現象であり、三重項励起子が中性励起種の段階を経たのちに一重項励起子となる二段階のプロセスによる逆項間交差であると示唆された。これらのように電子構造を「動的に」とらえることで精密な反応開発や詳細な光学特性評価を行うことが可能になる。

第一章のテトラアリアルクムレン類の反応開拓では、テトラアリアル[3]クムレンの光二量化反応とテトラアリアル[3]及び[5]クムレンのヨード環化反応を行った。光二量化反応ではクムレンの二量体が動的な電子構造変化により特異な発光特性を示すことが明らかになった。ヨード環化反応では、クムレンと溶媒との相互作用により累積二重結合部位の Bond Length Alternation (BLA) が動的な変化し、位置選択的なヨードカチオン付加に続く電子豊富な環からの選択的な環化反応が起こることでフルベン誘導体が見出された。

第二章の多光子吸収能を示すピリジン誘導体の生物活性評価では、ドナー (D)・アクセプター (A) 構造を持つピリジニウム塩の合成とイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン配位子を持つ三座ホウ素錯体の合成を行った。ピリジニウム塩は D- π -A 型と A- π -D- π -A 型の二種類を設計、合成を行った。二種類のピリジニウム塩は設計通り CT 性を有する構造であり、二光子吸収特性を示した。三座配位子-ホウ素錯体も同様に二光子吸収特性を示した。また、三座配位子-ホウ素錯体は過渡吸収スペクトル測定から励起状態ダイナミクスを観測することができ、励起三重項の生成を光線力学療法 (photo dynamic therapy: PDT) への応用可能性を見出した。

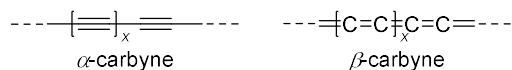
参考文献

- [1] T. Takata, *Polym. J.* **2006**, *38*, 1–20.
- [2] F. García and M. M. J. Smulders, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2016**, *54*, 3551–3577.
- [3] H. Nakanotani, T. Higuchi, T. Furukawa, K. Masui, K. Morimoto, M. Numata, H. Tanaka, Y. Sagara, T. Yasuda, and C. Adachi, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 1–7.
- [4] T. Hosokai, H. Matsuzaki, H. Nakanotani, K. Tokumaru, T. Tsutsui, A. Furube, K. Nasu, H. Nomura, M. Yahiro, and C. Adachi, *Sci. Adv.* **2017**, *3*, e1603282

第一章 テトラアリアルクムレン類の反応開拓と機能化

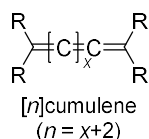
1. 緒言

sp 混成炭素から形成される一次元炭素鎖はカルビンと呼ばれる。^[1] カルビンは2つの形式の構造が考えられ一つはポリイン型の α -カルビン, もう一つはクムレン型の β -カルビンである (Scheme 1)。実際にはどのような構造をしているのか等, 未だ議論が行われている。^[2]



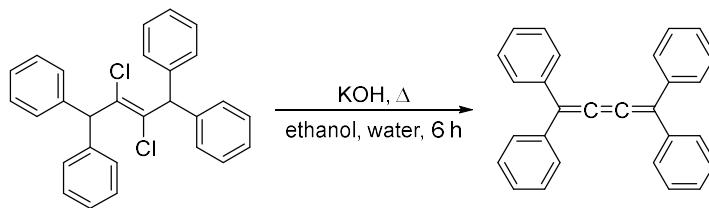
Scheme 1. Structure of carbynes

カルビンの一次元鎖を合成, 単離することは困難であるため, モデル化合物としてポリインとクムレンの研究が行われてきた。^[3-5] ポリインは単結合と三重結合が交互に結合した構造を持っており 1869 年に Glaser らによって初めて合成され^[4], 以来多くの研究が報告されている。クムレンは 3 つ以上二重結合が連続した直線状の炭素鎖構造を持つ分子の総称であり, その連続する二重結合の数によって $[n]$ クムレンと呼ばれる ($n \geq 3$, Scheme 2)。



Scheme 2. Structure of cumulene

クムレンも古くから知られている化合物で, 1921 年 K. Brand によってエタノール中, 2,3-dichloro-1,1,4,4-tetraphenylbut-2-ene と水酸化カリウムの脱離反応により 1,1,4,4-tetraphenylbuta-1,2,3-triene が初めて合成された。^[6]

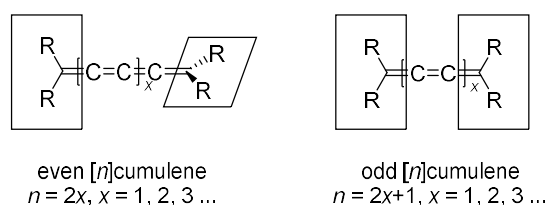


Scheme 3. First synthesis of cumulene

しかしながら, 年数の割にクムレンに関しての研究は行われていない。^[7] 同じ sp 混成炭素のみから形成されるにも関わらずクムレンはポリインと比較すると安定性が低いためである。^[3] クムレンの安定性に係わる重要な要因は 3 つあり, 1 つ目は累積二重結合部位を形成する二重結合数が偶数か奇数か, 2 つ目はクムレン鎖の長さ, 3 つ目はクムレン鎖周り

のかさ高さである。

1つ目に関しては **Scheme 4** に示す。累積二重結合部位が偶数個のクムレン（以下、偶数クムレン）は π 軌道が直交していることにより伴い両端の置換基が直交しているが、奇数個のクムレン（以下、奇数クムレン）は同一平面上に両端の置換基が位置する。これらの構造は π 共役系の広さの違いより安定性に大きな差を与え、偶数クムレンでは[4]クムレンは固体として単離できるものの、[6]クムレンは溶液中でしか観測することができない。^[8] 一方、奇数クムレンでは[3]、[5]及び[7]クムレンを固体として単離することができる上に[9]クムレンも希薄溶液として短時間ながら得ることが可能である。^[9]



Scheme 4. Difference of even [n]cumulene and odd [n]cumulene

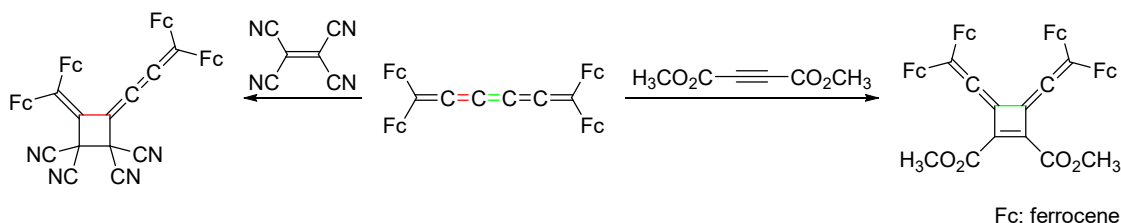
2つ目のクムレン鎖の長さに関して、奇数クムレンの[3]、[5]及び[7]クムレンを固体として単離できると述べたが、実は安定に存在する時間に差がある。[3]及び[5]クムレンは室温、大気下でも安定に存在する^[10]が[7]クムレンは結晶として単離した後、無酸素雰囲気下、遮光した条件で数日から数週間しか存在することはできない。^[11]さらにクムレン鎖が伸びた[9]クムレンは溶液中、大気下で数分から数時間しか存在することはできない。^[11]これらの事実からもクムレン鎖が伸びると反応点が増えることで安定性が低下することがわかる。

3つ目は長鎖クムレンを合成するにあたりロタキサン構造にしてクムレン鎖を守るようにすること^[12]や置換基をかさ高くすることで安定性が向上すること^[13]が報告されていることなどから、反応点の多いクムレン鎖をなんらかの形のかさ高いもので覆うことにより安定性が増す。

以上のことより、クムレンの安定性を向上させるには累積二重結合部位が奇数個であること、クムレン鎖はなるべく短くすること、クムレン鎖を立体的に保護することの3点が重要である。

クムレンは安定性に優れない一方、反応性に富んだ化合物群であると認識されている。最も単純なクムレンである1,2,3-Butatrieneは不安定な無色のガスとして存在し、^[14]自発的に重合や環状二量化することが報告されている。^[15] また、環化付加反応は[n]クムレンの反応

性として最も研究されているテーマである。^[3] [5]クムレンに関する研究で、二種類のアルケンとそれぞれ反応させると同じ[2+2]環化付加反応ではあるが生成物は異なるシクロブタンを与えるとの報告がある (**Scheme 5**)。^[16] 異なるシクロブタンが得られる原因はアルケンがクムレン鎖の異なる位置で反応するからである。



Scheme 5. Cycloaddition of tetraferrocenyl[5]cumulene

報告の中では用いるアルケンの置換基の立体障害により反応位置が異なるとされていたが、反応性の違いとして原因は試薬のアルケンではなくクムレン側であるとの考え方があられる。それが BLA (bond length alternation) という性質であり、最も中心の2つの二重結合の長さの差を表したものである (**Figure 1**)。クムレンは二重結合が連続した形で描かれるが、実際には各々の累積二重結合部位の長さは均一ではないことが単結晶 X 線構造解析から分かっている。^[11] 結合長が異なるということはそれぞれの二重結合で電子密度に差があるということである。クムレンの長さや置換基によって値が異なることが報告されている。^[9]

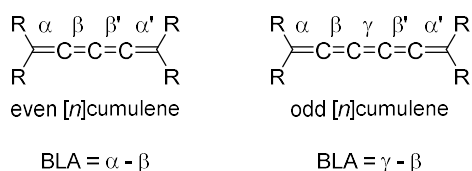
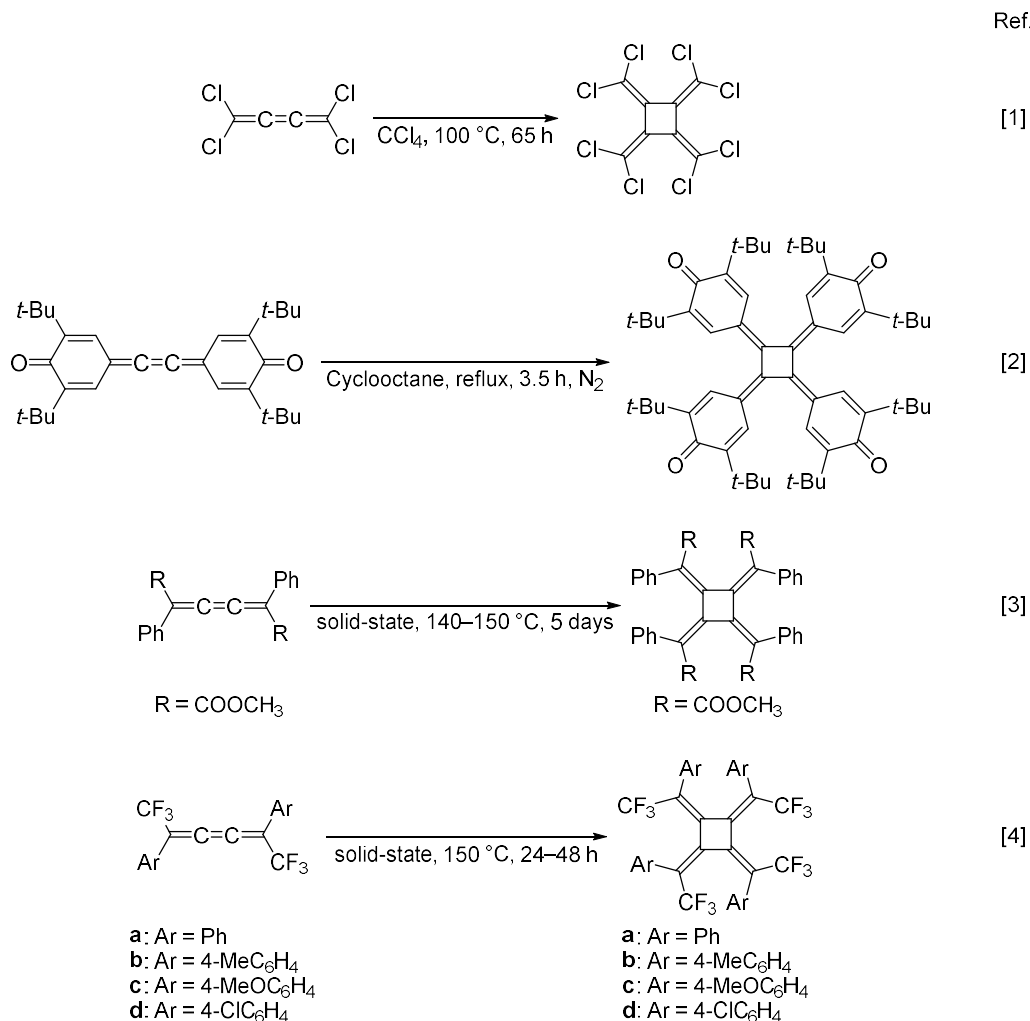


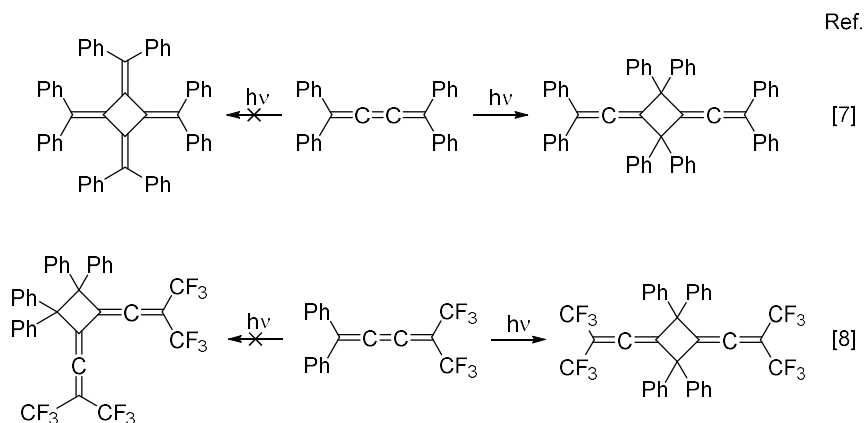
Figure 1. Example for calculation of BLA; [4]cumulene as even cumulene, [5]cumulene as odd cumulene

BLA が関わっていると明記されている反応はないが、環化付加反応は BLA が関わっていることが示唆される反応である。最も短いクムレンである[3]クムレンの環化付加反応に関する研究を示す。特に[3]クムレンのみが関与した反応は、熱だけを加えることにより起こる二量化反応が4例、光二量化が2例報告されている。報告のある[3]クムレンの熱二量化は以下に示すものであり、得られる二量体は[3]クムレンの累積二重結合部位の中央同士が[2+2]環化付加反応した[4]ラジアレ構造である (**Scheme 6**)。^[17-20]



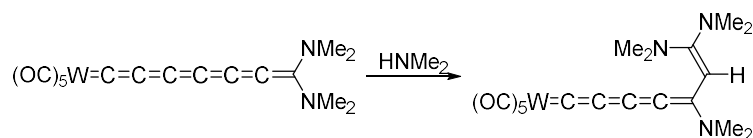
Scheme 6. Thermal dimerization of [3]cumulene

[3]クムレンの光二量化に関しては数例知られている。光二量化の先駆けとして 1921 年に K. Brand は固体状態のテトラフェニル[3]クムレンに日光を当てると色が変わることを見出した。^[6] その後、1962 年に R. O. Uhler らは固体状態のテトラフェニル[3]クムレンに 4–5 日間、sun lamp による光照射を行うことで中心二重結合同士が反応した[4]ラジアレनを得たと報告している。^[21] しかしながら 1974 年に Z. B. Yellin らは Uhler らが発表した内容は誤りであり、端の二重結合同士が反応したアレン構造を有するシクロブタン化合物であるということをも単結晶 X 線構造解析の結果より明らかにした (**Scheme 7**)。^[22] 1988 年には J. Buddrus らが[3]クムレンに光照射を行うことで同様のシクロブタン化合物を得たことを ¹³C NMR やラマン分光法、IR スペクトル測定から推定している。^[23] [5], [7]及び[9]クムレンでも環状二量化反応や熱三量化などの環化付加反応の研究が行われている。^[9]



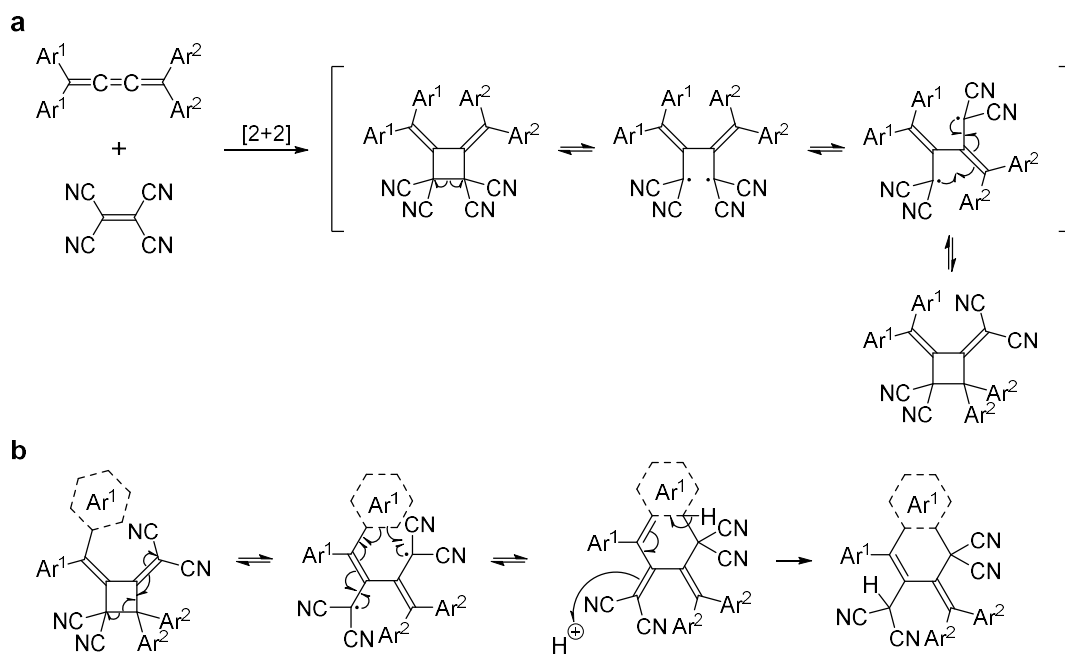
Scheme 7. Reported photodimerization of [3]cumulenes

環化付加反応以外の反応性は特に[3]クムレンで研究が進んでおり、ハロゲン化、^[24]エポキシ化、^[25]ロジウム錯体配位子^[26]など様々な報告がある。[5]クムレンの反応性に関してはRh/アルミナを用いた水素化^[27]やエポキシ化^[25]などが報告されているが[3]クムレンと比べると著しく報告数が減る。さらに長いクムレン鎖を持つ[6]クムレン以上のクムレンの反応性はそれ自体の不安定性から[7]クムレンとジメチルアミンの付加反応 (**Scheme 8**) ^[28]以外報告がない。

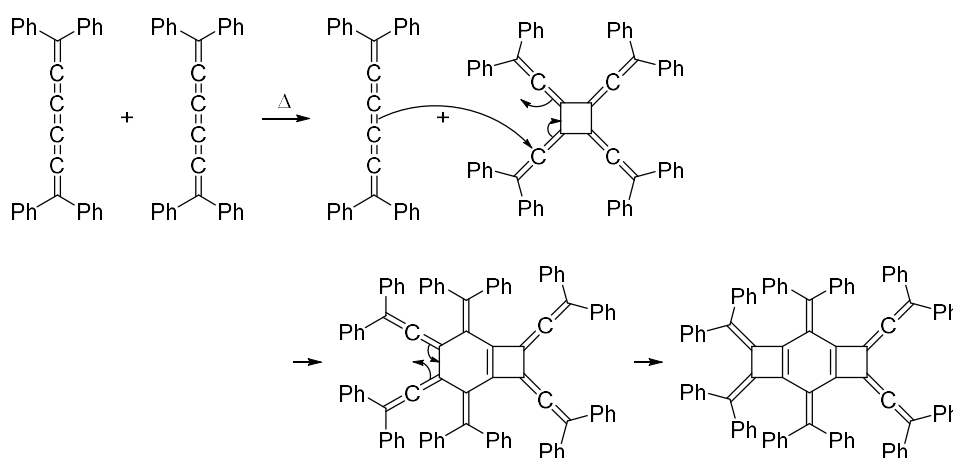


Scheme 8. Reactivity of [7]cumulene

我々のグループでもクムレン類の反応性に着目した研究を行っており、これまでに 3 つ報告した。2つは[3]クムレンに関するもので、[3]クムレンと TCNE の反応によるシクロブタン形成^[29]、得たシクロブタンとプロトン性溶媒によるジヒドロナフタレンの合成^[30] (**Scheme 9**) である。あと1つは[5]クムレンに関するもので、tetraphenyl[5]cumulene の熱三量化反応^[31]である (**Scheme 10**)。

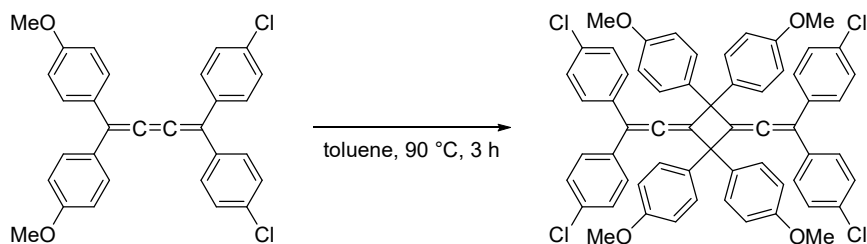


Scheme 9. Reactivity of [3]cumulene reported by our laboratory; a) synthesis of cyclobutene by reaction of [3]cumulene with TCNE, b) synthesis of dihydronaphthalene by reaction of product “a” in protic solvent



Scheme 10. Thermal trimerization of tetraphenyl[5]cumulene reported by our laboratory

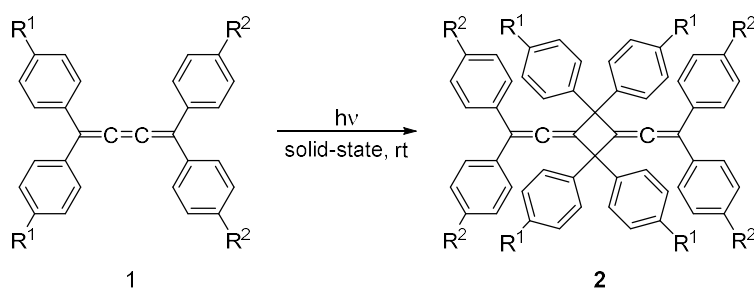
Scheme 9a に示す報告の中で基質の非対称なテトラアリアル[3]クムレンが熱二量化することを見出した (**Scheme 11**)。クムレンは置換基が大きいほど熱反応が進行しにくくなることが報告されている。^[20] しかしながら、テトラアリアル[3]クムレンは以前に報告されたいずれの反応基質と比較しても最もかさ高い構造の一つであるにもかかわらず熱二量化する。更に、累積二重結合部位の中央ではなく端が[2+2]環化付加反応を起こし、シクロブタンとなる点も興味深い反応である。



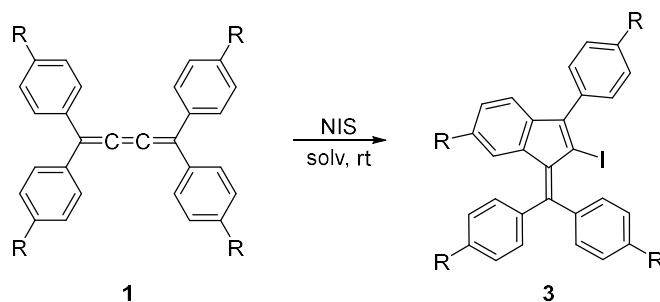
Scheme 11. Reported thermal dimerization of tetraaryl[3]cumulene in our laboratory

本章では安定性向上の面から置換基にアリール基を用いたテトラアリール[3]及び[5]クムレンを用い、**1.1** ではテトラアリール[3]クムレン **1** の光二量化反応の詳細な反応挙動の評価と得た二量体 **2** の発光特性評価を行った。**1.2** では反応開拓としてテトラアリール[3]クムレン **1** のヨード環化反応、**1.3** では tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene **4** のヨード環化反応を行い、生成物の単結晶 X 線構造解析等の測定により反応機構を検討した (**Scheme 12**)。

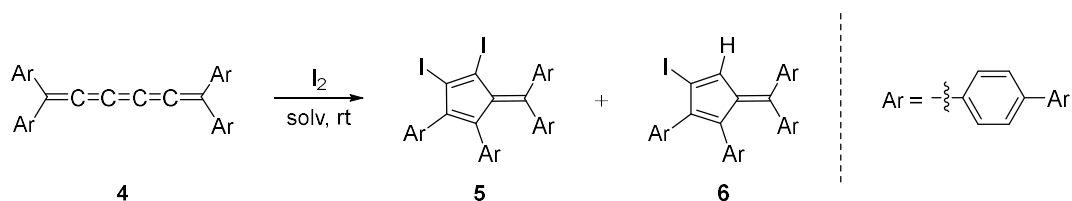
Photodimerization of tetraaryl[3]cumulenes



Iodocyclization of tetraaryl[3]cumulenes



Iodocyclization of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene



Scheme 12. Reaction of cumulenes in this chapter

Reference

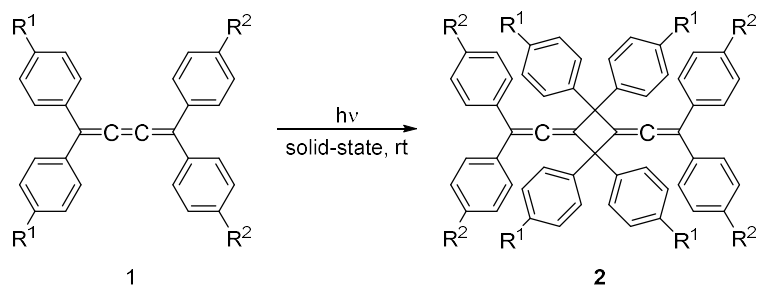
- [1] L. Shi, P. Rohringer, K. Suenaga, Y. Niimi, J. Kotakoski, J. C. Meyer, H. Peterlik, M. Wanko, S. Cahangirov, A. Rubio, Z. J. Lapin, L. Novotny, P. Ayala, and T. Pichler, *Nat. Mater.* **2016**, *15*, 634–639.
- [2] C. S. Casari, M. Tommasini, R. R. Tykwinski, and A. Milani, *Nanoscale* **2016**, *8*, 4414–4435.
- [3] J. A. Januszewski and R. R. Tykwinski, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3184–3203.
- [4] W. A. Chalifoux, R. R. Tykwinski, and *C. R. Chim.* **2009**, *12*, 341–358.
- [5] W. A. Chalifoux and R. R. Tykwinski, *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 967–971.
- [6] K. Brand, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1921**, *54*, 1987–2006.
- [7] S. N. Spisak, M. U. Bühringer, Z. Wei, Z. Zhou, R. R. Tykwinski, and M. A. Petrukhina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2023–2028.
- [8] W. Skibar, H. Kopacka, K. Wurst, C. Salzmann, K. H. Ongania, F. F. De Biani, P. Zanello, and B. Bildstein, *Organometallics* **2004**, *23*, 1024–1041.
- [9] D. Wendinger and R. R. Tykwinski, *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 1468–1479.
- [10] H. D. Hartzler, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *93*, 4527–4531.
- [11] D. Wendinger and R. R. Tykwinski, *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 1468–1479.
- [12] M. Franz, J. A. Januszewski, D. Wendinger, C. Hristian Neiss, L. D. Movsisyan, F. Hampel, H. L. Anderson, A. Gçrling, R. R. Tykwinski,] M Franz, J. A. Januszewski, D. Wendinger, D. R. F. Hampel, R. R. T. Ykwinski, C. N. Eiss, A. Gçrling, L. D. Movsisyan, and H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6645–6649.
- [13] J. A. Januszewski and R. R. Tykwinski, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 3184–3203.
- [14] A. Almenningen, O. Bastiansen, M. Trættemberg, G. E. Olsen, C. Pedersen, and J. Toft, *Acta Chem. Scand.* **1961**, *15*, 1557–1562.
- [15] W. M. Schubert, T. H. Liddicoet, and W. A. Lanka, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *76*, 1929–1932.
- [16] B. Bildstein, M. Schweiger, H. Angleitner, H. Kopacka, K. Wurst, K. H. Ongania, M. Fontani, and P. Zanello, *Organometallics* **1999**, *18*, 4286–4295.
- [17] B. Heinrich and A. Roedig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1968**, *7*, 375–376.
- [18] S. K. Koster and R. West, *J. Org. Chem.* **2002**, *40*, 2300–2304.
- [19] F. W. Nader, C.-D. Wacker, H. Irngartinger, U. Huber-Patz, R. Jahn, and H. Rodewald, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1985**, *24*, 852–853.

- [20] H. Uno, N. Nibu, Y. Yamaoka, and N. Mizobe, *Chem. Lett.* **1998**, *27*, 105–106.
- [21] R. O. Uhler, H. Shechter, and G. V. D. Tiers, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *84*, 3397–3398.
- [22] Z. Berkovitch-Yellin, M. Lahav, and L. Leiserowitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 918–920.
- [23] J. Buddrus, H. Bauer, and H. Herzog, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 295–297.
- [24] A. Roedig, G. Zaby, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 3342–3351.
- [25] J. K. Crandall, D. M. Coppert, T. Schuster, and F. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5998–6002.
- [26] N. Suzuki, Y. Fukuda, C. E. Kim, H. Takahara, M. Iwasaki, M. Saburi, M. Nishiura, and Y. Wakatsuki, *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 16–17.
- [27] G. J. DeCicco and L. T. Scott, *J. Org. Chem.* **2002**, *45*, 4055–4056.
- [28] M. Dede, M. Drexler and H. Fischer, *Organometallics* **2007**, *26*, 4294–4299.
- [29] S. Ueta, K. Hida, M. Nishiuchi, and Y. Kawamura, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2784.
- [30] N. Islam, M. Tsukayama, and Y. Kawamura, *Int. J. Mod. Pys. B* **2006**, *20*, 4619–4624.
- [31] N. Islam, T. Ooi, T. Iwasawa, M. Nishiuchi, and Y. Kawamura, *Chem. Commun.* **2009**, 574–576.

1.1. テトラアリール[3]クムレンの光二量化反応

1.1.1. 緒言

“1. 緒言”で述べたように、当研究室が報告した非対称テトラアリール[3]クムレンの熱二量化と[3]クムレンの光二量化2例で得られるシクロブタンは NMR, HRMS, 単結晶 X 線構造解析などを用いた分子構造に関する記載はあるがその反応メカニズムや生成物の発光特性に関しては研究が行われていない。本項では更なる[3]クムレンの光反応や光安定性などの光に関する評価を行い、得た生成物の発光特性も評価した。光反応に関しては、これまで2種類の[3]クムレンでしか行われていなかったが今回9種類のテトラアリール[3]クムレンを用いて反応を検討、さらにその[3]クムレンの単結晶 X 線構造解析を行うことで詳細な光反応挙動を評価した。得た二量体の発光特性についても評価し、量子収率に関して興味深い現象が確認できたと共に、過渡吸収スペクトル測定を行うことで発光に関わる励起子の遷移を観測した (Scheme 13)。



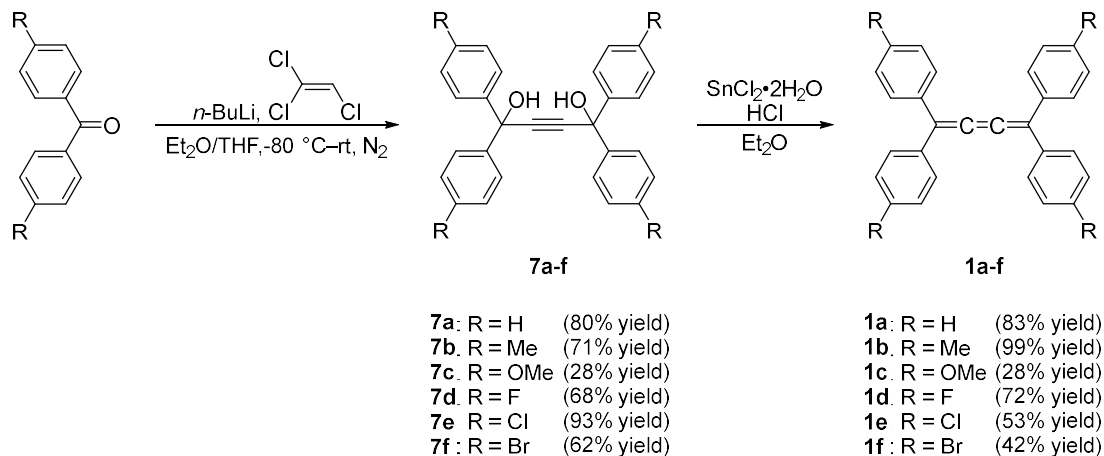
Scheme 13. Photodimerization of tetraaryl[3]cumulene **1** in the solid state

1.1.2. 結果と考察

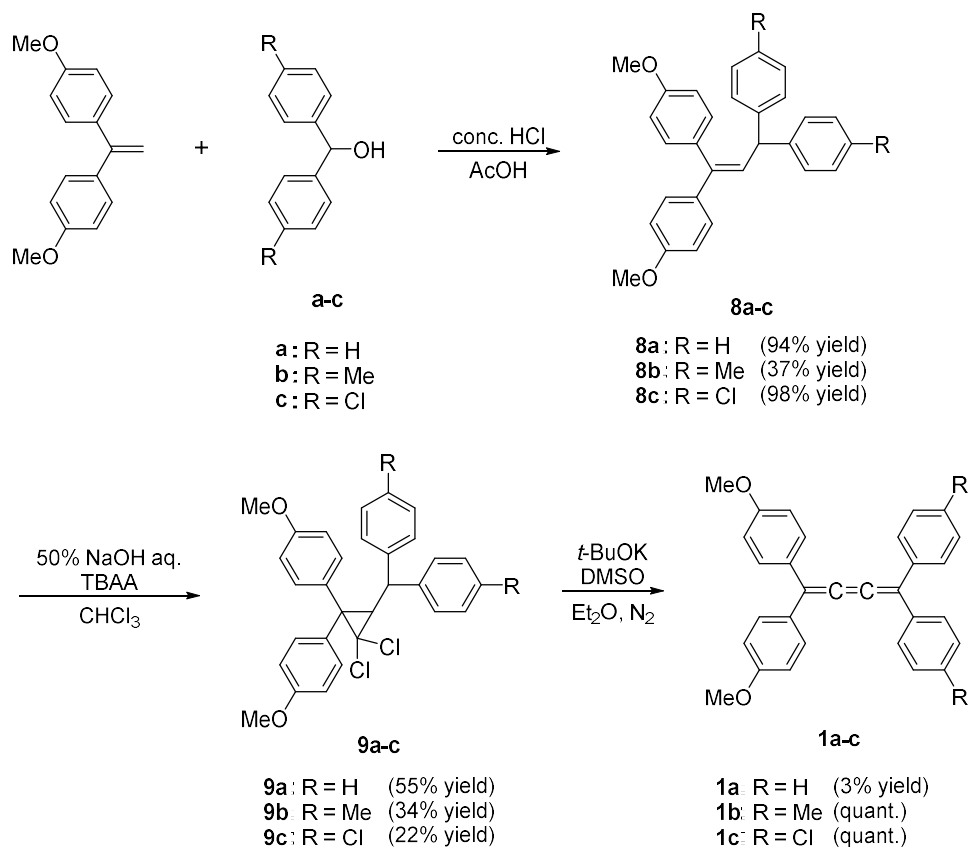
1.1.2.1. 原料合成

テトラアリール[3]クムレンは文献^[1,2]に従って合成した (Scheme 14)。

Path A^[1]



Path B^[2]



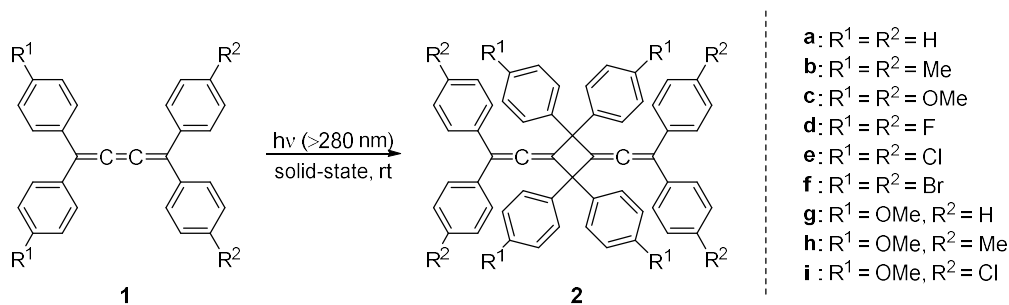
Scheme 14. Synthesis of tetraaryl[3]cumulene 1

Path A ではまず *n*-BuLi による trichloroethylene のリチオ化によりジリチオアセチレンを生成，その後ベンゾフェノン類を添加することで S_N2 反応によりジオール **7** を対応する収率で合成した。その後，塩化スズと塩酸からなる H₂SnCl₄ の還元的脱離^[3]によりテトラアリーール[3]クムレン **1** を対応する収率で合成した。Path B では末端アルケンとアルコールの脱水縮合によりアルケン **8** を対応する収率で得た後，クロロホルムと水酸化ナトリウムとの反応により生じたジクロロカルベンとの反応によりシクロプロパン **9** を対応する収率で合成，最後に塩基による脱塩化水素によりテトラアリーール[3]クムレン **1** を対応する収率で合成した。

1.1.2.2. 光二量化反応の条件検討

まず固相光二量化反応を検討した (Table 1)。反応は[3]クムレン **1** の粉末を 76x52 mm スライドガラスに挟み、光源として 400 W 高圧水銀灯を選択、パイレックスフィルターを通した条件での光照射を行った。

Table 1. Photodimerization of tetraaryl[3]cumulene **1** in the solid state



entry	compound	time (h)			yield (%)
		1	3	10	
1	1a	trace	trace	7	trace
2	1b	12	15	87	87
3	1c	2	6	27	
4	1d	quant.	quant.	quant.	100
5	1e	33	60	63	
6	1f	28	43	quant.	100
7	1g	trace	trace	trace	—
8	1h	quant.	quant.	quant.	—
9	1i	76	82	quant.	—

Entry 1,7 のフェニル基を有する[3]クムレンは反応性が低く、10 時間反応後も収率は最大で 7%であった。Entry 2,3 はドナー性置換基を有する対称テトラアリアル[3]クムレンの反応であり、ドナー性のより大きい entry 3 よりも entry 2 の方が高収率で二量体を得た。Entry 4–6 はアクセプター性置換基を有する対称テトラアリアル[3]クムレンの反応であり、最もアクセプター性の小さいもの (entry 4) と大きいもの (entry 6) では 10 時間の反応で定量的に反応が進行するものの、その間の性質の entry 5 では定量的に反応は進行しなかった。また、entry 4–6 は置換基の大きさが順に大きくなるが収率は一様に変化するわけではないことが分かった。Entry 7–9 の非対称テトラアリアル[3]クムレンの反応では前述した Entry 7 以外は効率よく反応が進行することが分かった。

光反応で得た二量体の再結晶を行い、単結晶が得られたものは単結晶 X 線構造解析を行った (**Figure 2**)。二量体はいずれも [3]クムレンの端の二重結合同士が [2+2]環化付加反応することで生成したシクロブタンであることが明らかとなった。更に、非対称テトラアリアル [3]クムレンは累積二重結合部位の中でもメトキシフェニル基側の二重結合が環化した head-to-head 型の二量体であった。二量体はアリアル基がいずれも中心のシクロブタン環に対してねじれるプロペラ型であることが分かった。また、アレン部位はシクロブタン側の二重結合の長さが約 1.29 Å, 反対側の二重結合の長さが約 1.32 Å と約 0.03 Å の差があった。

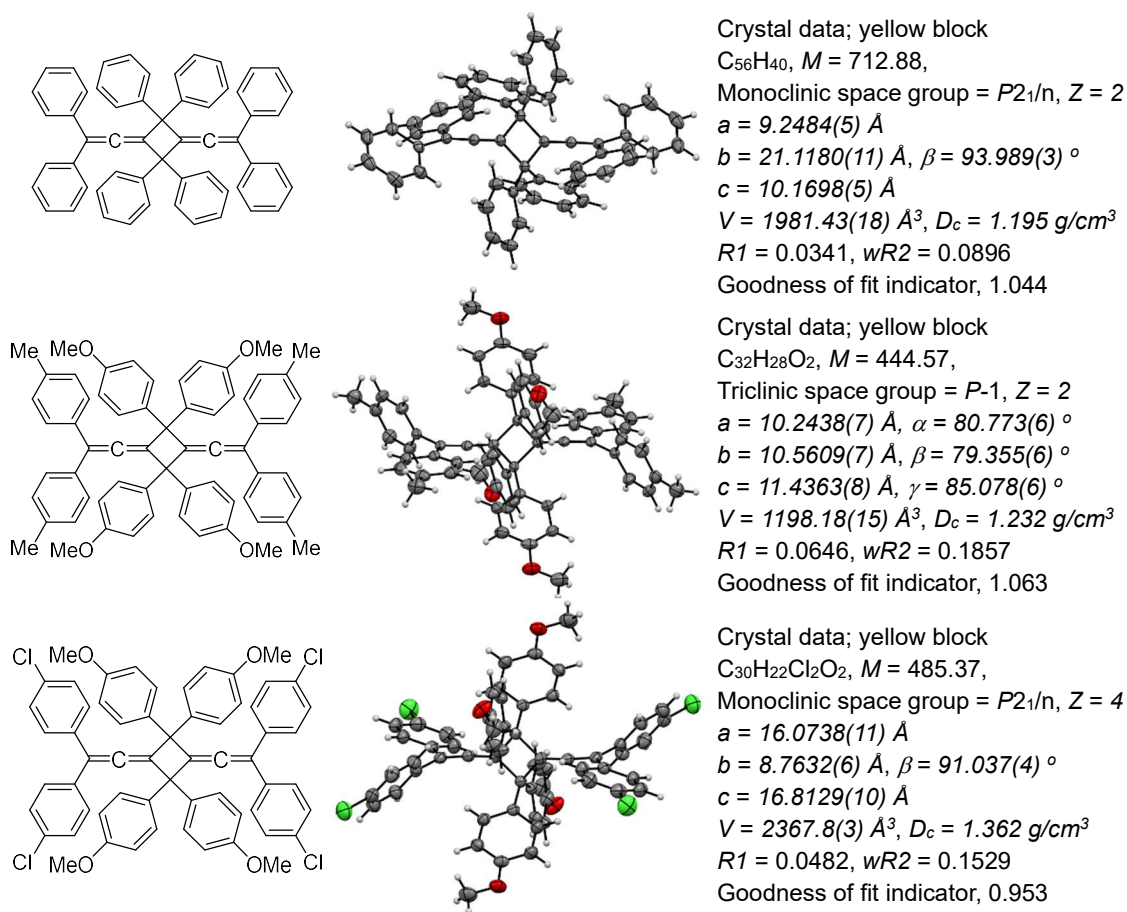
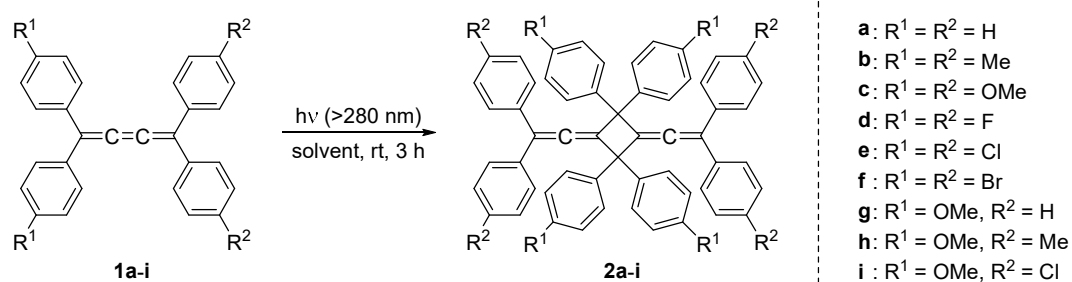


Figure 2. Crystal data of photodimer 2

次に、溶液中での光二量化反応を検討した。反応はテトラアリアル [3]クムレン **1** の透明溶液に、400 W 高圧水銀灯を光源としてパイレックスフィルターを通した光照射を行った。その結果、いずれのテトラアリアル [3]クムレンも溶液中では光反応が進行しないことが分かった (**Table 2**)。

Table 2. Photochemical reaction of tetraaryl[3]cumulene **1** in solvent

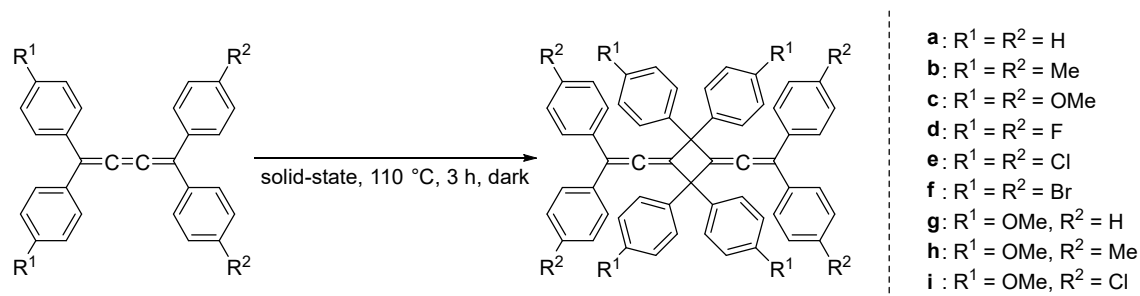


entry	compound	solvent	concentration (M)	conversion
1	1a	toluene	5.0x10 ⁻³	0%
2	1b	toluene	5.0x10 ⁻³	0%
3	1c	benzene- <i>d</i> ₆	— ^a	0%
4	1d	benzene- <i>d</i> ₆	— ^a	0%
5	1e	toluene	5.0x10 ⁻³	0%
6	1f	benzene- <i>d</i> ₆	— ^a	0%
7	1g	toluene	5.0x10 ⁻³	0%
8	1h	toluene	5.0x10 ⁻³	0%
9	1i	benzene- <i>d</i> ₆	— ^a	0%

1.1.2.3. 熱反応の検証

固体状態での光二量化反応によりテトラアリアル[3]クムレン **1** からアレン部位を持つシクロブタン誘導体を得たが熱反応でも二量化等の反応が起こるのか検証した。光二量化反応を起こした条件である固体状態での熱反応から検証した。実験は試験管に[3]クムレン **1** とスターラーピースを入れた状態で 110 °C のオイルバスにつけ、遮光した状態で 3 時間攪拌した。反応終了後 ¹H NMR にて転化率を検証したが、いずれの[3]クムレン **1** も変化がないことがわかった (Table 3)。

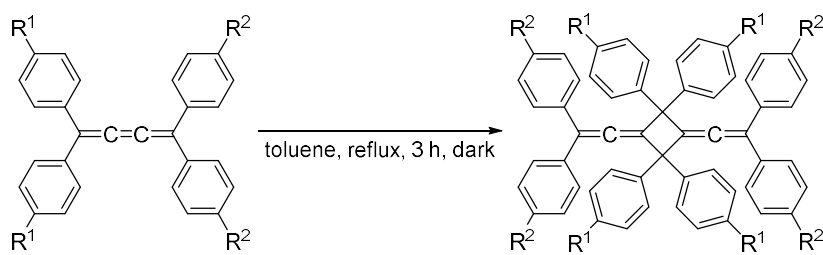
Table 3. Thermal reaction of tetraaryl[3]cumulene **1** in the solid state



Entry	compound	yield
1	1a	0%
2	1b	0%
3	1c	0%
4	1d	0%
5	1e	0%
6	1f	0%
7	1g	0%
8	1h	0%
9	1i	0%

次に溶液状態での熱反応を行った。その結果、電子供与基と電子求引基を有する[3]クムレン **1i** のみが反応することが分かり (Table 3)、これは以前当研究室が報告した結果と一致する。^[2]

Table 4. Thermal reaction of tetraaryl[3]cumulene **1** in toluene



- a:** R¹ = R² = H
b: R¹ = R² = Me
c: R¹ = R² = OMe
d: R¹ = R² = F
e: R¹ = R² = Cl
f: R¹ = R² = Br
g: R¹ = OMe, R² = H
h: R¹ = OMe, R² = Me
i: R¹ = OMe, R² = Cl

entry	compound	yield
1	1a	0%
2	1b	0%
3	1c	0%
4	1d	0%
5	1e	0%
6	1f	0%
7	1g	0%
8	1h	0%
9	1i	22%

以上よりテトラアリアル[3]クムレン **1** の二量化は、固体状態での光反応以外では **i** だけではあるものの溶液中での熱反応でも進行することがわかった。

1.1.2.4. 単結晶 X 線構造解析による Schmidt 則の検証

テトラアリール[3]クムレンの光二量化反応は固体状態でのみ起こったため、テトラアリール[3]クムレン **1** の結晶中での分子配列を単結晶 X 線構造解析により明らかにした (Figure 3, Figure 4)。

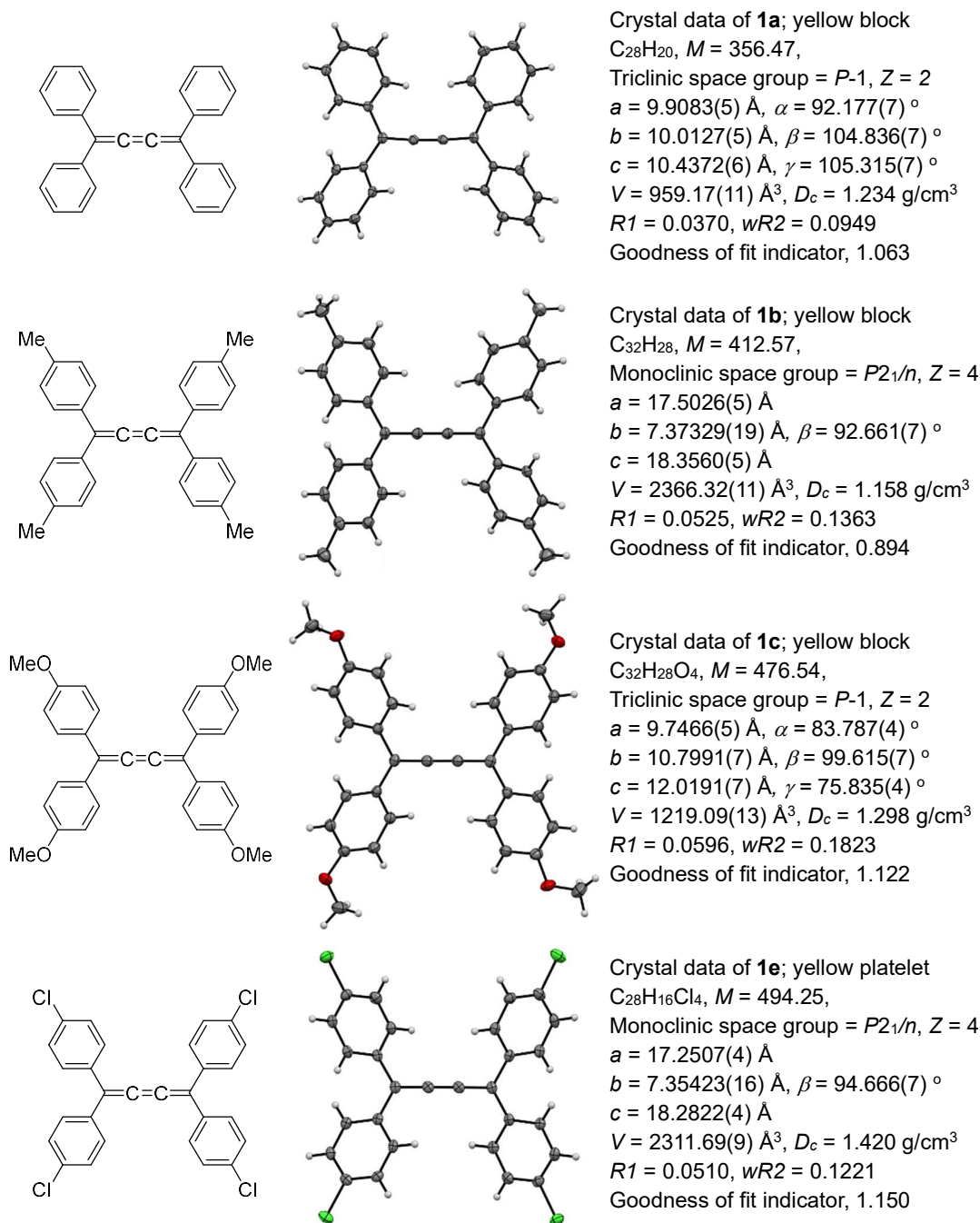
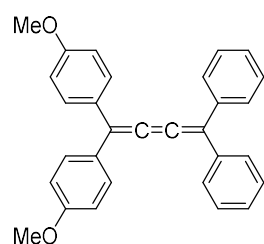
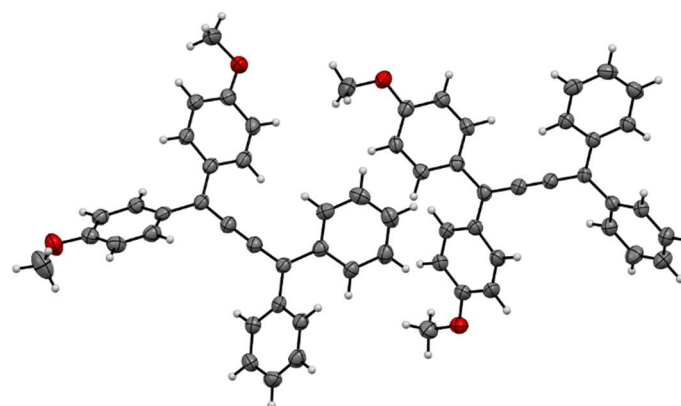


Figure 3. Crystal data of symmetric tetraaryl[3]cumulene



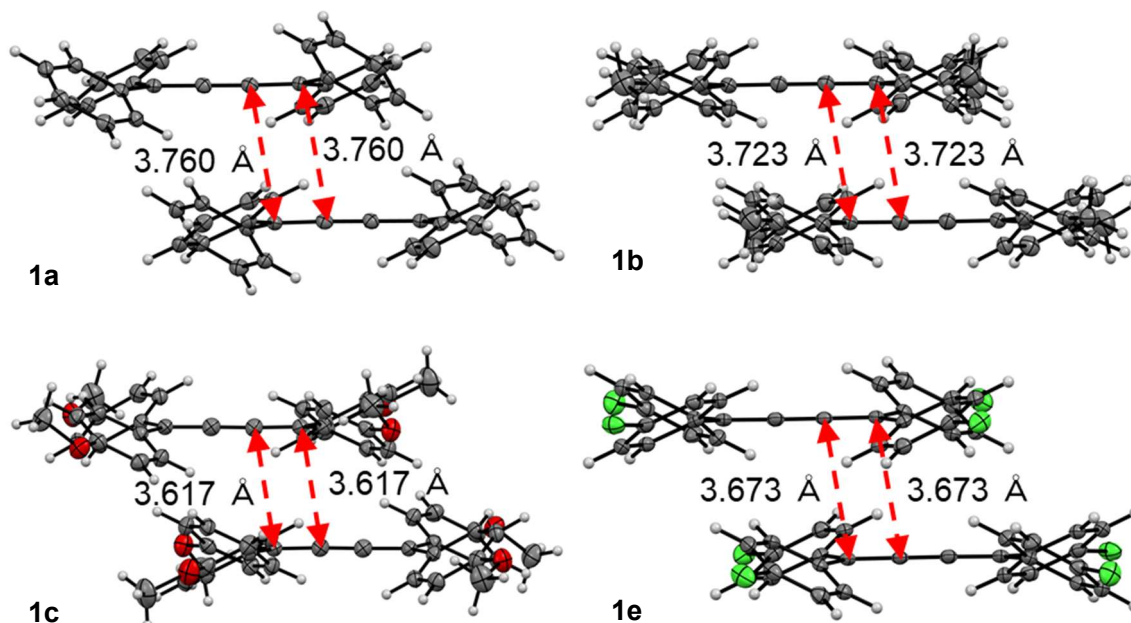
Crystal data of **1g**; colorless block
 $C_{30}H_{24}O_2$, $M = 416.49$,
 Monoclinic space group = $P2_1/n$, $Z = 8$
 $a = 9.9150(8) \text{ \AA}$
 $b = 22.7177(16) \text{ \AA}$, $\beta = 103.138(6)^\circ$
 $c = 20.3601(14) \text{ \AA}$
 $V = 4466.0(6) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.239 \text{ g/cm}^3$
 $R1 = 0.0533$, $wR2 = 0.1711$
 Goodness of fit indicator, 0.900

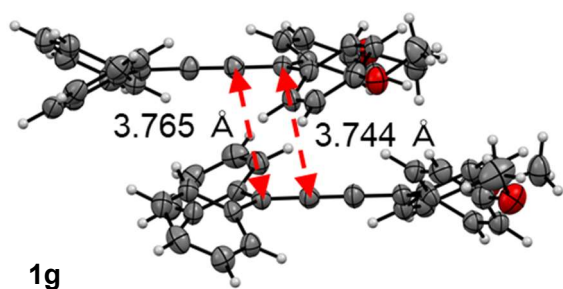
Figure 4. Crystal data of asymmetric tetraaryl[3]cumulene

Schmidt 則は次の 2 つの条件を満たすことにより固体（結晶）状態で光二量化反応によりオレフィンが環形成するとした経験則である。

- 近接する 2 つの二重結合が平行もしくは反平行である
- その 2 つの二重結合同士の距離 d が $3.5 < d < 4.2 \text{ \AA}$

テトラアリアル[3]クムレン類が上記条件を満たすかどうか算出したところ、単結晶データが得られた[3]クムレン類はすべて Schmidt 則を満たすことが分かった (**Figure 5**)。



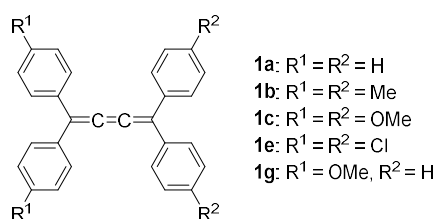


[3]cumulene	1a	1b	1c	1e	1g
d (Å)	3.760	3.723	3.617	3.673	3.744, 3.765

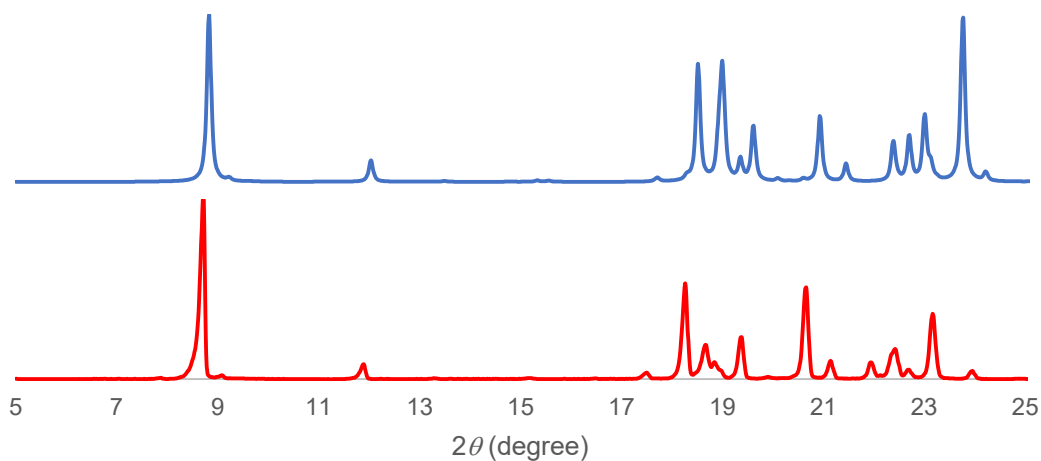
Figure 5. Distance for double bonds of [3]cumulene

1.1.2.5. 粉末での結晶構造についての検討

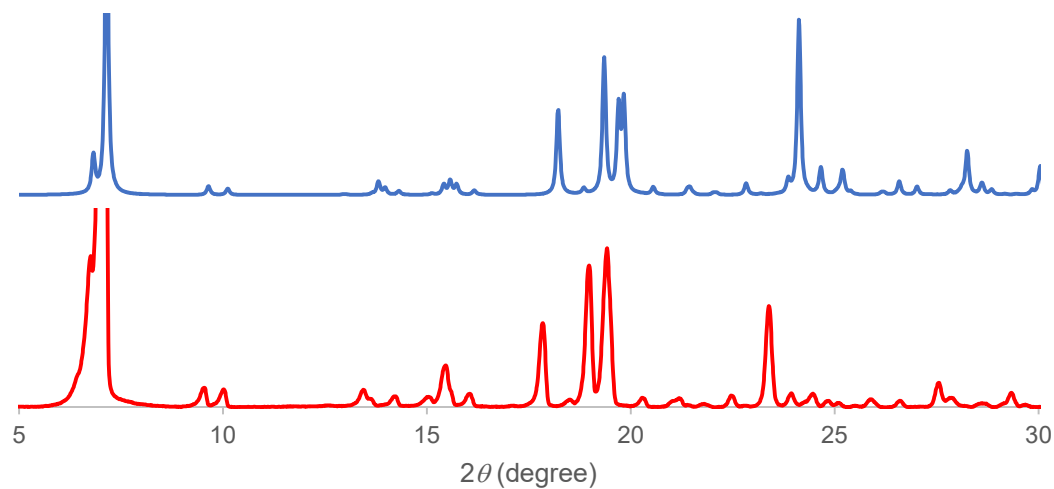
テトラアリール[3]クムレンの光二量化反応の位置選択性分子配列に依存することを単結晶 X 線構造解析より明らかにした。しかしながら実際の反応では[3]クムレン類の粉末を用いたため、その結晶構造を保っているかを検討するため粉末 X 線回折 (XRD: X-ray diffraction) を行った。得た XRD のスペクトルデータと単結晶データから推定した powder pattern を比較することで反応条件においても結晶構造が保持されているのかを評価することとした。以下に単結晶データから推定した powder pattern (青) と XRD の結果 (赤) を対比して示す (Figure 6)。



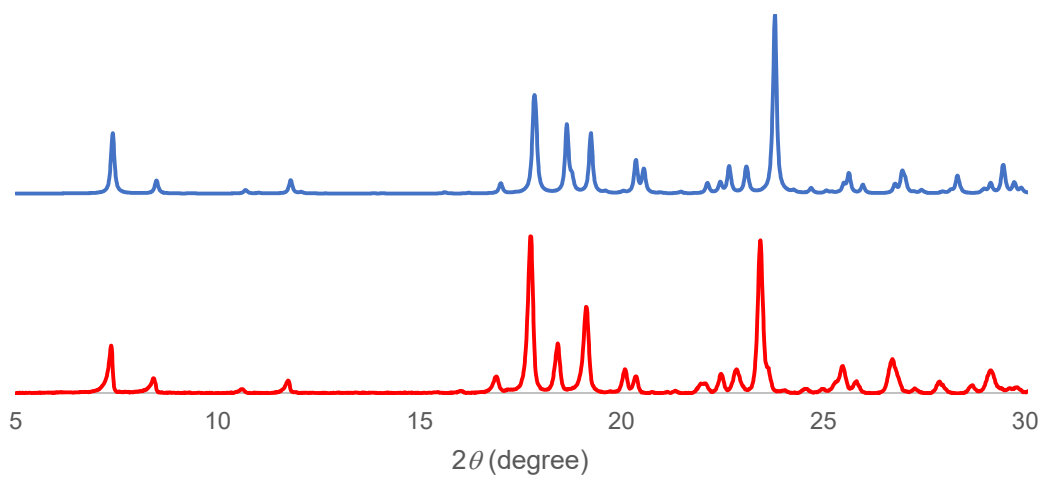
1a



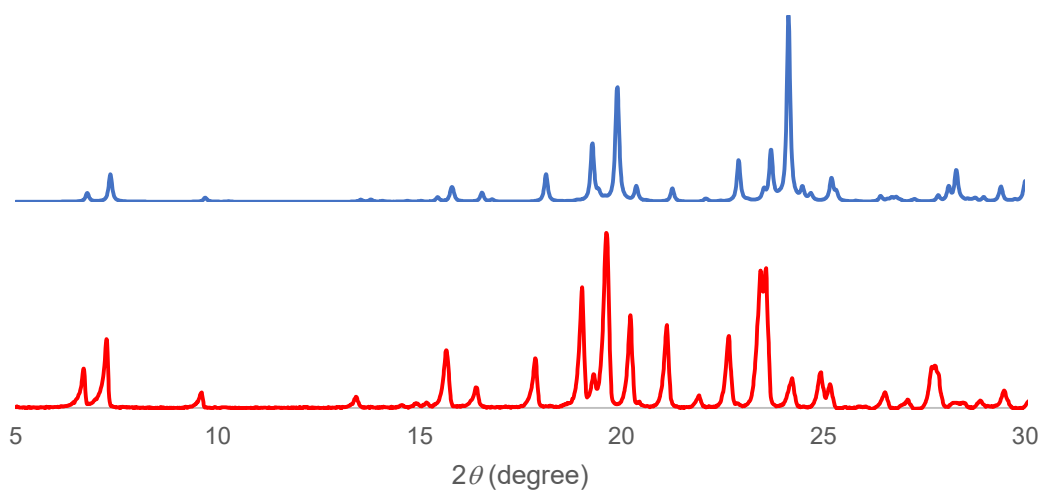
1b



1c



1e



1g

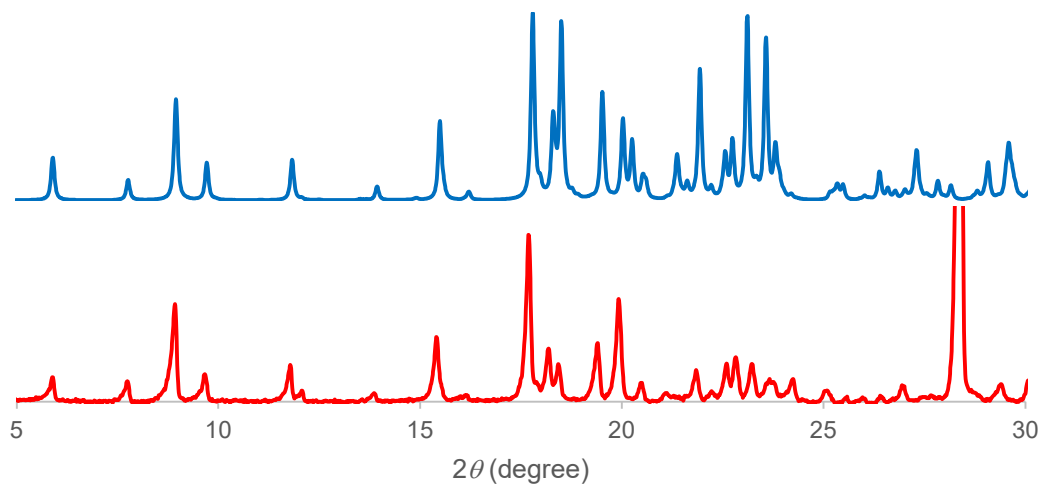


Figure 6. Spectra of powdered tetraaryl[3]cumulene **1**; (blue) Powder pattern simulated by crystal data, (red) XRD spectra

[3]クムレン類の単結晶データから推定した powder pattern と XRD の測定結果を比べたところ、得たスペクトルのピークの位置は一致しており、本実験においても[3]クムレン類の結晶構造は維持していることが明らかになった。

1.1.2.6. 発光特性評価

合成した二量体 **2** は発光性を示したことから光物性評価を行った。原料のテトラアリール[3]クムレンも固体状態で発光性を示すため、まずテトラアリール[3]クムレン **1** の吸収スペクトル、蛍光スペクトル、蛍光量子収率及び蛍光寿命の測定を行った (Figure 7 and Table 5)。

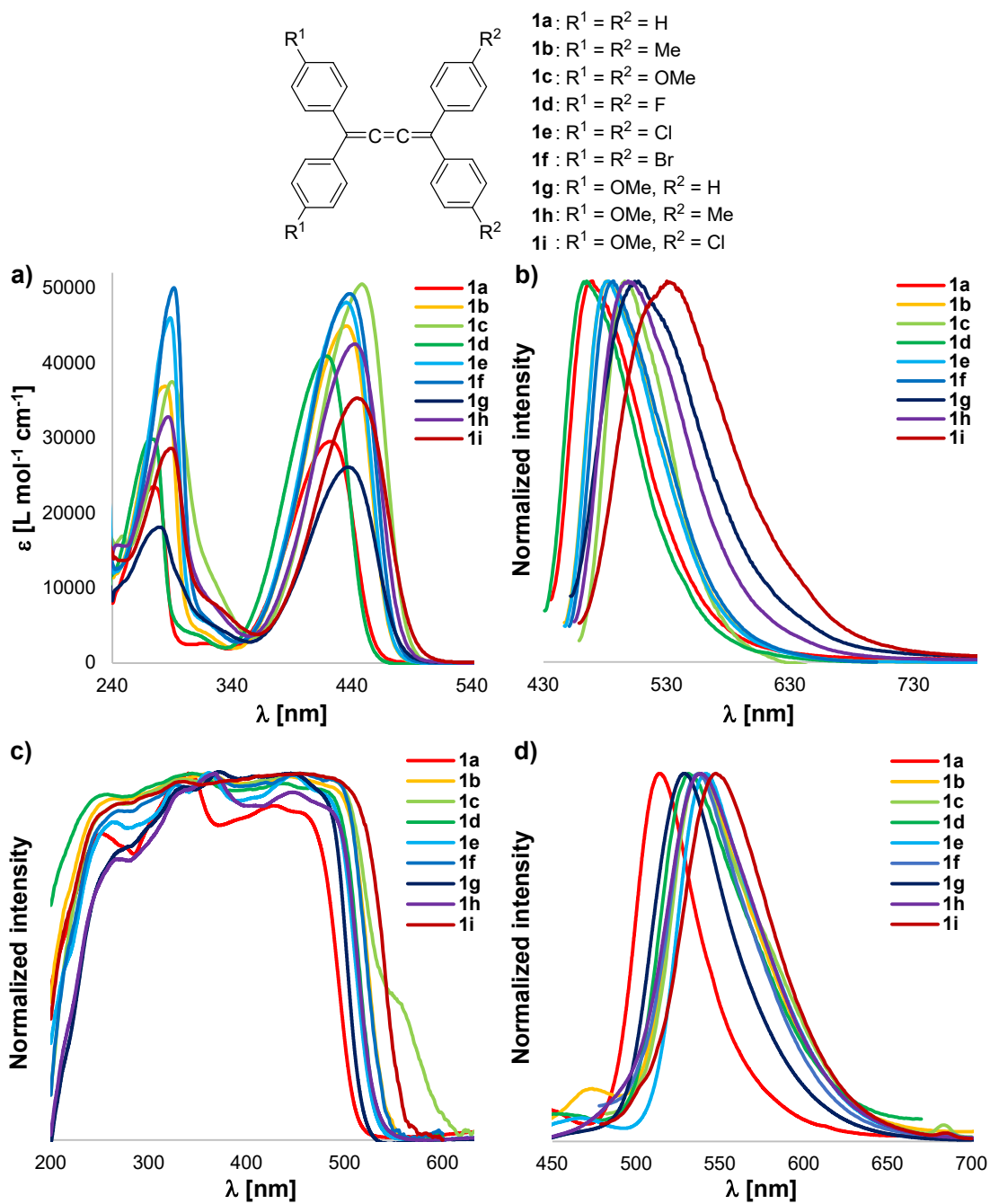


Figure 7. Absorption spectra of **1** in CHCl₃ (a) and in the solid state (c), and fluorescence spectra of **1** in CHCl₃ (b) and in the solid state (d)

Table 5. Photophysical properties of tetraaryl[3]cumulene **1** in CHCl₃

compound	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	SS (nm)	Φ	τ (ns)
1a	275, 422	470 (422) ^a	48	0.01	0.03
1b	284, 435	481 (435) ^a	46	0.01	0.01
1c	290, 448	496 (448) ^a	48	0.01	0.04
1d	272, 418	463 (418) ^a	45	0.02	0.01 (98%), 2.7 (2%)
1e	288, 435	483 (435) ^a	48	0.02	0.5 (83%), 1.3 (17%)
1f	291, 438	487 (438) ^a	49	0.02	0.04
1g	280, 437	507 (437) ^a	70	0.01	0.04 (98%), 3.0 (2%)
1h	287, 442	499 (442) ^a	57	0.01	0.03
1i	289, 444	530 (444) ^a	86	0.01	0.02

^aThe values in parentheses are excitation wavelengths.

Table 6. Photophysical properties of tetraaryl[3]cumulene **1** in the solid state

compound	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	SS (nm)	Φ	τ (ns)
1a	252, 340, 426	514 (340)	88	0.02	1.4 (46%), 8.8 (39%), 88 (14%)
1b	266, 363, 444	539 (363)	98	0.04	0.06 (67%), 6.3 (17%), 35 (16%)
1c	269, 329, 367, 452	538 (453)	86	0.10	0.07 (31%), 5.3 (26%), 19.7 (34%), 108.9 (9%)
1d	269, 329, 367, 452	531 (350)	79	0.03	0.04 (79%), 3.9 (11%), 19 (10%)
1e	258, 344, 434	541 (361)	107	0.05	0.3 (35%), 7.5 (36%), 56 (29%)
1f	266, 328, 361, 449	537 (455)	88	0.05	0.12 (25%), 5.4 (48%), 25 (28%)
1g	270, 327, 364, 454	528 (371)	74	0.05	1.8 (33%), 7.4 (50%), 27 (17%)
1h	267, 368, 448	538 (368)	90	0.05	1.7 (24%), 7.5 (62%), 26 (13%)
1i	276, 335, 452	548 (454)	96	0.04	0.5 (54%), 2.5 (34%), 9.7 (12%)

^aThe values in parentheses are excitation wavelengths.

電子供与基を導入した **1b,1c** はテトラフェニル[3]クムレン(**1a**)と比較し、クロロホルム中における **1** の吸収、蛍光波長は電子供与能が増すに従って長波長化した。同様に電子求引基を導入した **1d-f** も電子求引能が増すに従って吸収、蛍光波長が長波長化した。また、蛍光量子収率は最大でも 0.02 であり、**1** はほとんど発光性を示さなかった。

[3]クムレン **1** の固体状態での光学特性は、クロロホルム中のものと比較して吸収波長はあまり変化がなく、蛍光波長は約 40 nm の長波長化した。蛍光量子収率は最大で 0.10 とわずかに増大した。

続いて二量体の吸収スペクトル、蛍光スペクトル、蛍光量子収率および蛍光寿命の測定を行った。

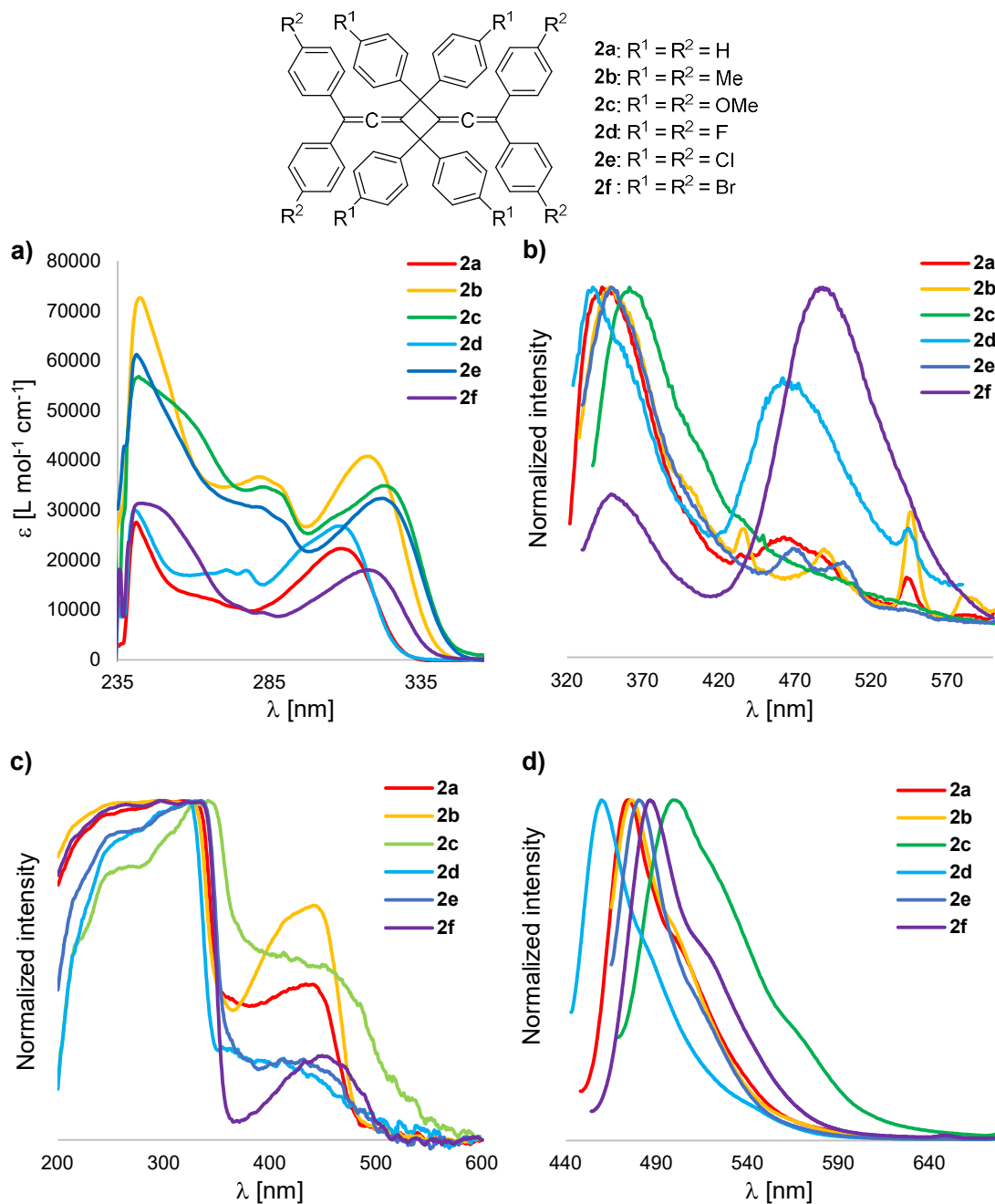


Figure 8. Absorption spectra of **1** in CHCl₃ (a) and in the solid state (c), and fluorescence spectra of **1** in CHCl₃ (b) and in the solid state (d)

Table 7. Photophysical properties of dimer **2** in CHCl₃

compound	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	SS (nm)	Φ	τ (ns)
2a	240, 309	343	34	0.02	0.02
2b	241, 315	348	33	0.02	0.13
2c	242, 323	361	38	0.02	0.13
2d	241, 308	337	29	0.02	0.000713
2e	242, 315	343	28	0.01	0.14
2f	243, 317	349	32	0.09	2.28 (71%), 5.19 (29%)

Table 8. Photophysical properties of dimer **2** in the solid state

compound	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	SS (nm)	Φ	τ (ns)
2a	300, 434	474	40	0.22	0.82 (88%), 53.0 (12%)
2b	293, 442	476	34	0.04	0.17 (89%), 1.83 (11%)
2c	342, 460 ^a	499	39	0.06	0.25 (34%), 1.72 (54%), 5.2 (12%)
2d	323, 437 ^a	460	23	0.34	1.57 (89%), 83.0 (11%)
2e	335, 432	480	48	0.56	1.08 (15%), 2.09 (85%)
2f	297, 449	488	39	0.16	0.2

^a Shoulder peak

フェニル基を有する二量体 **2a** と比較し、電子供与基を導入した **2b,2c** の吸収、蛍光波長は電子供与能が増すに従って長波長化した。同様に電子求引基を導入した **2d-f** も電子求引能が増すに従って吸収、蛍光波長が長波長化した。また、蛍光量子収率は最大で 0.09 であり、**2** は溶液中では発光性に乏しいことが明らかになった。

二量体 **2** は固体状態において、クロロホルム中の吸収、発光スペクトルと比較し、共に約 100 nm 長波長化した。蛍光量子収率は最大で 0.56 と大きな値を示したが、一方で最小は 0.04 と大きく差があり、置換基に依存して異なる発光挙動を示した。

特に **2e** は溶液状態では発光量子収率が 0.01 と低い値を示す一方、固体状態では 0.56 と高効率発光を示した。このように溶液中では低い発光効率であるが、固体状態では高い発光効率を示す現象は結晶化誘起発光増強 (crystallization-induced emission enhancement: CIEE) と呼ばれ、アレン構造を有する化合物では初めての例を見出した。

1.1.2.7. 二量体の発光メカニズム評価

二量体 **2** のクロロホルム中と固体状態との発光メカニズムを解明するため、フェムト秒過渡吸収スペクトル測定を行った (Figure 9)。

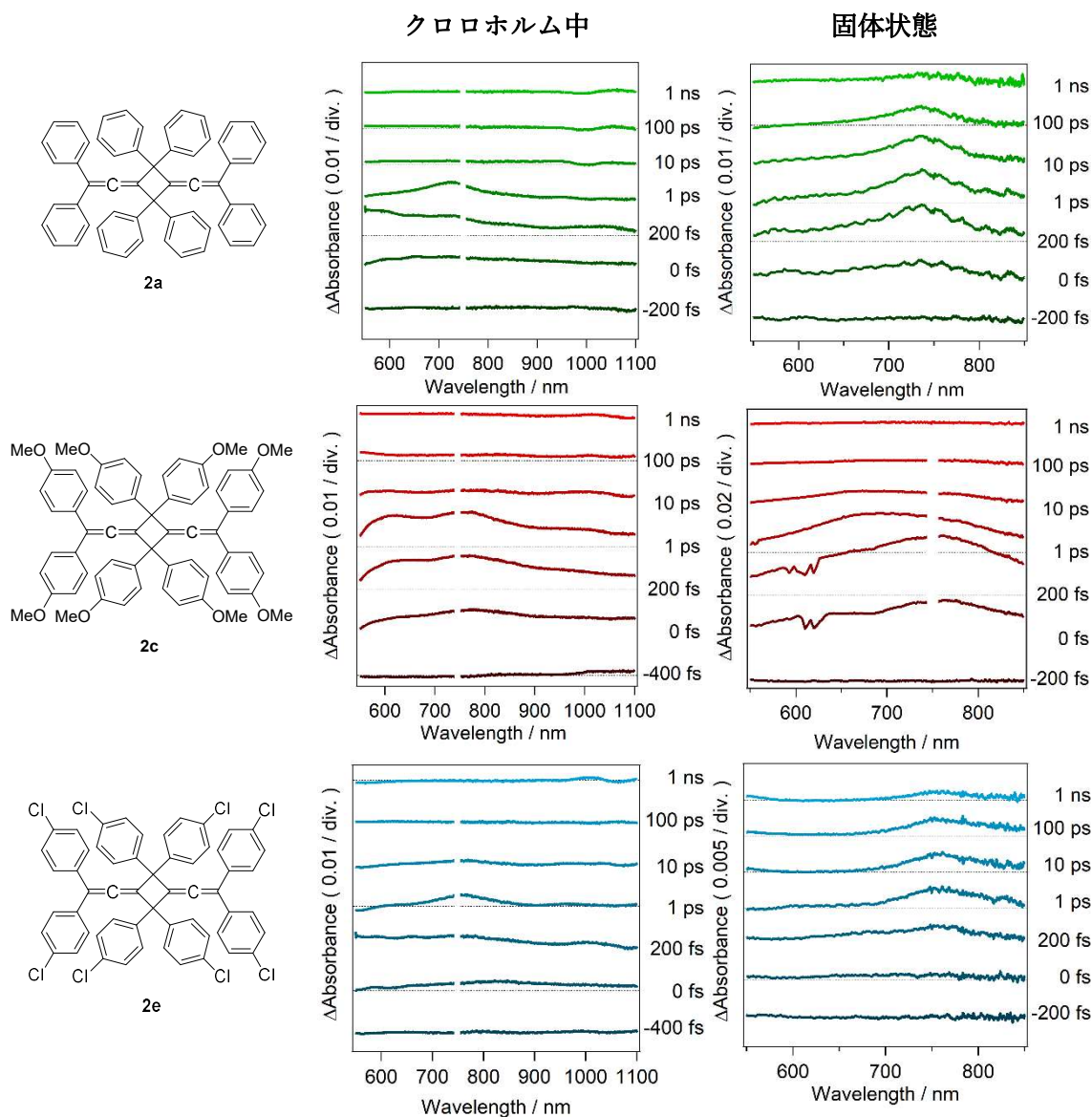


Figure 9. Transient absorption spectra of dimer **2**

横軸は波長，縦軸は励起何秒後のスペクトルであることを示している。測定の結果，いずれの二量体もクロロホルム中では 740 nm 付近にピークが現れ，100 ps では観測できなくなった。クロロホルム中ではいずれの二量体 **2** も発光量子収率は低いいため，このピークは無輻射失活過程に関する励起種であると考えられる。**2a**, **2e** は固体状態において 740 nm 付近のピークが 1 ns 後も観測できるが，**2c** では 200 fs で 760 nm 付近に存在するピークが 1 ps では

680 nm 付近へと遷移し、100 ps ではピークが観測できなかった。**2a, 2e** は **2c** と比較し、固体状態で高い発光量子収率を示すため、740 nm のピークは発光に関与する励起種であり、680 nm のピークは無輻射失活過程に関与するピークであることが示唆された。

1.1.3. 結論

種々のテトラアリアル[3]クムレンの光二量化反応を検討した。固体状態の光反応では種々のテトラアリアル[3]クムレンが光二量化反応し、1時間で定量的に反応が進行した。テトラアリアル[3]クムレンの二量化反応の条件検討のため他の条件（溶液中での光反応、固体状態での熱反応、溶液中での光反応）での反応性を検証したところ、MeO-Clの[3]クムレンのみが溶液中での熱反応により二量体を形成することが分かった。

二量体形成の反応メカニズムを解明するために出発物であるテトラアリアル[3]クムレンの単結晶 X 線構造解析を行った。テトラアリアル[3]クムレン類は固相状態での光二量化反応条件である Schmidt 則を満たすことが明らかとなった。続いて単結晶 X 線構造解析の際の結晶構造が反応条件においても維持されているかを XRD データとの比較により明らかにした。単結晶データより計算した powder pattern と実測の XRD データを比べた結果ピーク位置は一致しており、反応条件においても結晶構造は維持していると Schmidt 則を満たした条件でテトラアリアル[3]クムレンは光二量化反応していることが明らかとなった。

合成した二量体の発光特性を測定したところ、溶液中では低い発光量子収率ながら、固体状態では高い発光量子収率を示すものが存在することがわかった。これは結晶化誘起発光増強 (CIEE) と呼ばれる現象であり、アレン構造を有する化合物としては初めての例である。

二量体 **2** の詳細な発光メカニズムを解明するため過渡吸収スペクトル測定を行った。CIEE を示した **2e** はクロロホルム中では無輻射失活過程に関するピーク、固体状態では蛍光発光に関するピークを観測した。どちらの状態でも量子収率の低い **2c** はクロロホルム中では **2e** 同様の無輻射失活過程に関するピークを観測したが、固体状態では蛍光発光に関するピークが無輻射失活過程に遷移していく様子が確認でき、発光挙動が異なる 2 つの二量体の違いを過渡吸収スペクトル測定から明らかにした。

1.1.4. Experimental section

1.1.4.1. Experiment equipments

^1H NMR, ^{13}C NMR : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis spectrophotometer : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectrophotometer : RF-1500 (SHIMADZU)

PL quantum yield spectrometer : Quantaaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime spectrometer : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Transient absorption spectra : homemade

Single crystal X-ray diffractometer : R-AXIS RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

X-ray Diffractometer (XRD) : SmartLab/RA/DX (Rigaku)

High-pressure mercury lamp : UVL-400HA (RIKO)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Low temperature baths : PSL-1820 (EYELA)

Automated flash chromatography : Isolera One (Biotage)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

Silica gel column chromatography

Silica gel : Silica Gel 60 N (spherical, neutral) 63-210 mm (KANTO CHEMICAL)

TLC plate : TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

● Transient absorption spectra measuring system

Transient absorption spectra were measured by means of femtosecond pump-probe experiments (Figure 10). Light source was an amplified mode-locked Ti:sapphire laser (Solstice, Spectra-Physics). The second harmonic was used for excitation pulse. Transient absorption spectra were probed by delayed pulses of a femtosecond white-light continuum generated by focusing a signal light (at 1.3 mm) generated by an optical parametric amplifier (OPA) (TOPAS, Light Conversion Ltd.) into a CaF₂ plate. Probe light was detected by a C-MOS detector (Hamamatsu, PMA-20). The temporal resolution was ca. 150 fs.

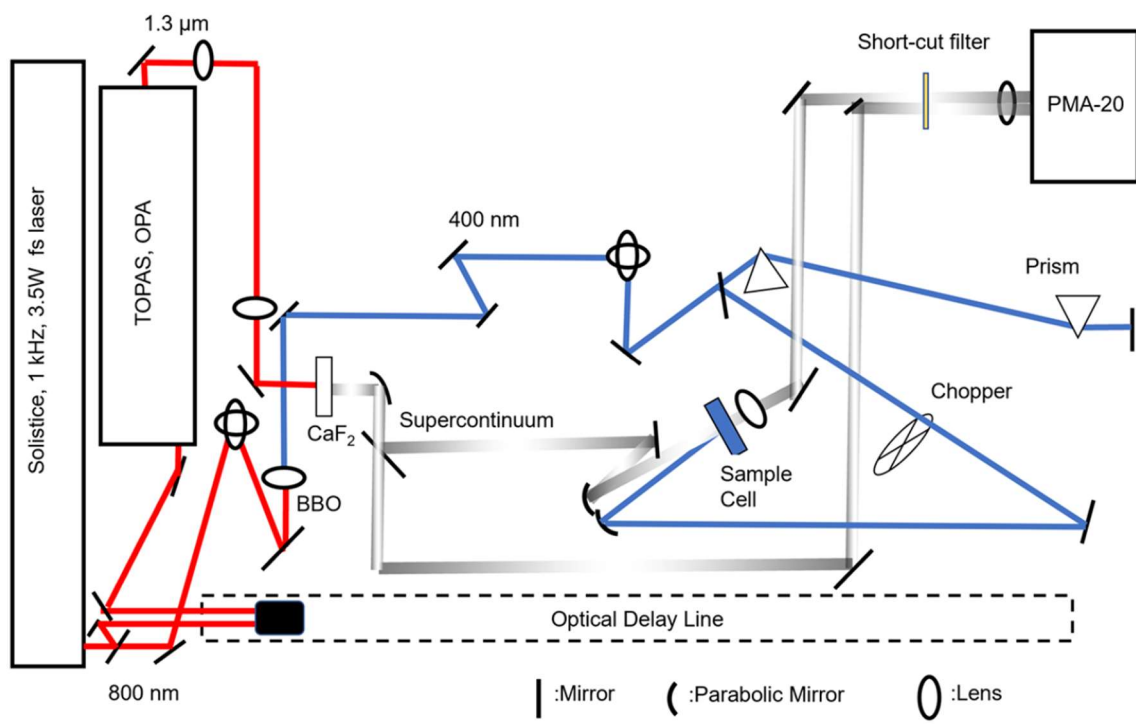


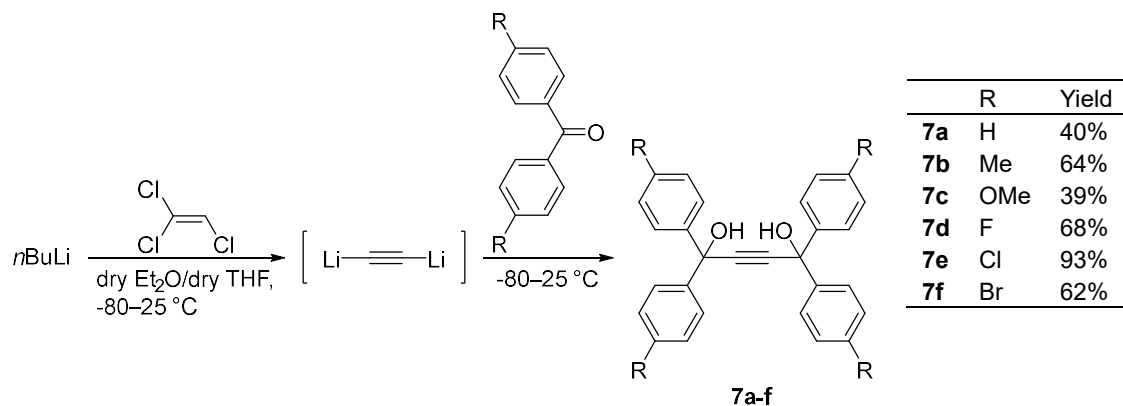
Figure 10. Setup of transient absorption spectra measuring system

1.1.4.2. Synthesis

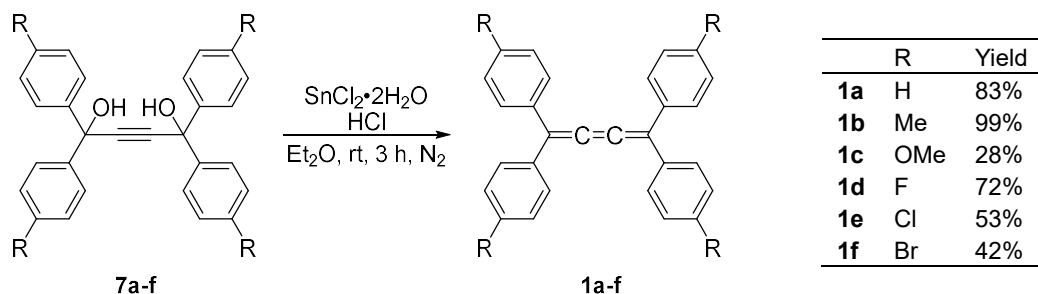
Symmetrical tetraaryl[3]cumulenes and unsymmetrical tetraaryl[3]cumulenes were prepared according to the reported procedures.

1.1.4.2.1. Tetraaryl[3]cumulene

Path A



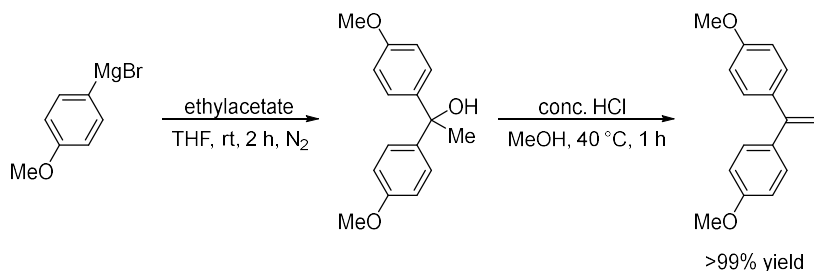
To a 5.3 mL of mixed solution (dry Et₂O/dry THF = 1/1; v/v%) was added *n*BuLi (24 mmol of a 1.6 M solution in *n*-hexane) at –80 °C under nitrogen atmosphere. Then, trichloroethylene (8 mmol) was added to the mixture, and the mixture was stirred for 5 minutes at –80 °C. The mixture was stirred at room temperature for 2 hours, cooled to –80 °C, and treated with the **benzophenone derivative** (8 mmol). The resulting mixture was stirred for 15 minutes at –80 °C and for 24 hours at room temperature and diluted with ethyl acetate and a saturated NH₄Cl aqueous. The mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed with brain, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired diol **7** was separated in the given yield.



To a diethyl ether was added SnCl₂·2H₂O (1.1 equiv) and 2 M HCl in Et₂O (2.2 equiv) under nitrogen atmosphere, then diol **7** (1 equiv) was added to the mixture. The mixture was stirred at

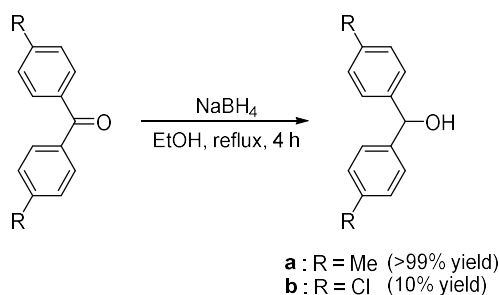
room temperature under nitrogen atmosphere. The resulting mixture was filtered under reduced pressure with minimum of Et₂O, affording the desired [3]cumulene **1** in the given yield.

Path B



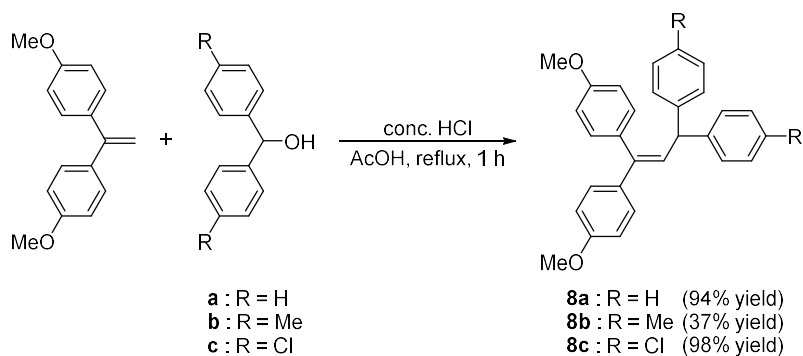
To magnesium (2.6736 g, 110 mmol) with a small amount of iodine in THF (50 mL) was slowly added *p*-bromoanisole (13.7 mL, 110 mmol) in THF (30 mL) at room temperature under nitrogen atmosphere with dropping funnel. After disappearing of magnesium, ethyl acetate (4.9 mL, 50 mmol) in THF (30 mL) was slowly added for 30 minutes with dropping funnel. The mixture was stirred at room temperature for 2 hours, quenched by a saturated NH₄Cl. The mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed with brain, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*.

The residual in methanol (80 mL) was warmed at 40 °C. Concentrated HCl (2.5 mL) was added to the mixture, and the resulting white suspension was stirred for 1 hour. The suspension was filtered under reduced pressure with water and methanol. The desired 1,1-bis(4-methoxyphenyl)ethene (51.4 mmol) was obtained in >99% yield.

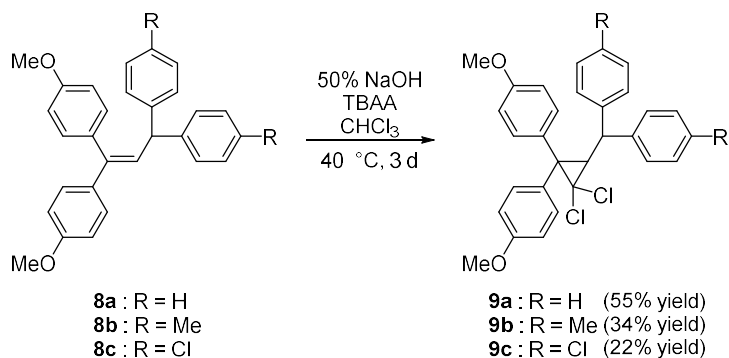


NaBH₄ (1.0 equiv) was slowly added to benzophenone derivative (1.0 equiv) in ethanol (0.4 mol/L), and the mixture was stirred for 4 hours under reflux. After completion of the reaction according to TLC analysis, the resulting mixture was quenched by saturated NH₄Cl. The combined organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was

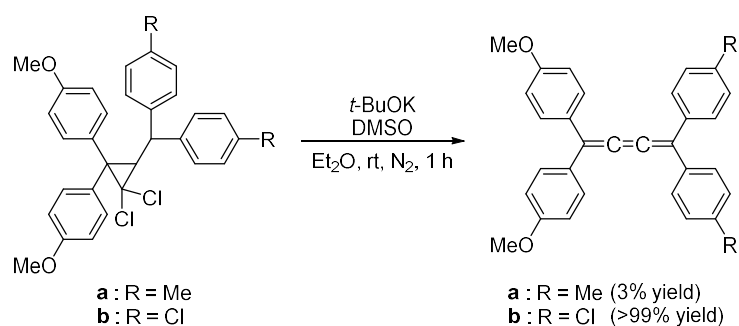
recrystallized by hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired alcohol derivative was obtained in the given yield.



Concentrated HCl (3.0 equiv) was added to 1,1-bis(4-methoxyphenyl)ethene (1.0 equiv) and alcohol (1.0 equiv) in acetic acid (0.6 mol/L), and the mixture was stirred for 1 hour under reflux. The resulting mixture was neutralized by 10% NaOH. The mixture was extracted with dichloromethane. The combined organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The desired alkene **8** was obtained in given yield.



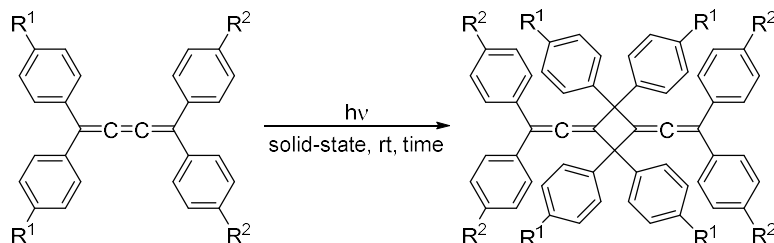
To chloroform (0.35 mol/L) was added ethene **8** (1.0 equiv), 50% NaOH (25.0 equiv), and tetrabutylammonium acetate (0.07 equiv), and the mixture was stirred for 3 days at 40 °C. The mixture was extracted with dichloromethane. The combined organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired cyclopropane **9** was separated in the given yield.



Cyclopropane **9** (1.0 equiv) in diethyl ether (0.3 mol/L with respect to cyclopropane) was added to *t*-BuOK (3.0 equiv) in diethyl ether (0.8 mol/L with respect to *t*-BuOK) under nitrogen atmosphere. Then dimethyl sulfoxide (19.0 equiv) was added to the mixture. The mixture was suddenly turned yellow suspension and stirred for 1 hour at room temperature. The suspension was filtered under reduced pressure with a minimum of diethyl ether, the desired [3]cumulene **1** was obtained in given yield.

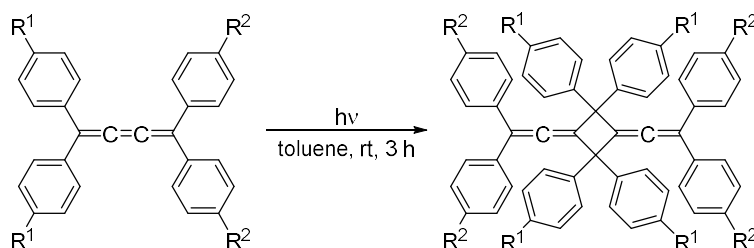
1.1.4.2.2. Photoreaction

- In the solid-state

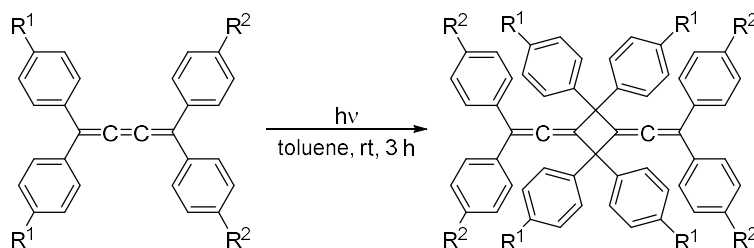


[3]cumulene **1** (0.1 mmol) was spread with glass slide (76x52 mm) and irradiated by 400 W high-pressure mercury lamp. The resulting mixture was collected with chloroform and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and CHCl₃ as eluents, and the desired dimer **2** was separated in the given yield (**Table 1**).

- In toluene



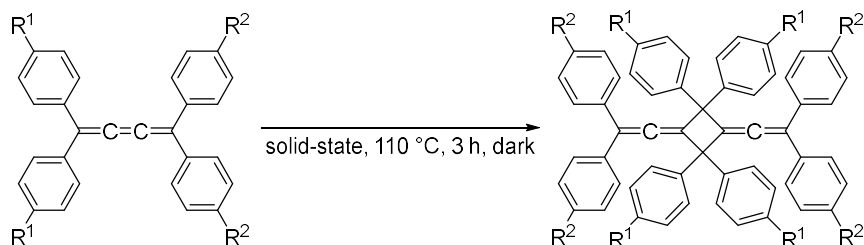
To a PIREX® test tube for photochemical reaction was added [3]cumulene **1** (0.1 mmol) and toluene (20 mL) under nitrogen atmosphere, and the mixture was irradiated for 3 hours by 400 W high-pressure mercury lamp at room temperature. The resulting mixture was collected with chloroform and concentrated *in vacuo*. The results are shown in **Table 2**.



[3]Cumulene **1** in benzene-*d*₆ (0.5 mL) was filtered with membrane filter. The transparent solution was added to a NMR tube, and the solution was irradiated for 3 hours by 400 W high-pressure mercury lamp at room temperature. The resulting mixture was collected with chloroform and concentrated *in vacuo*. The results are shown in **Table 2**.

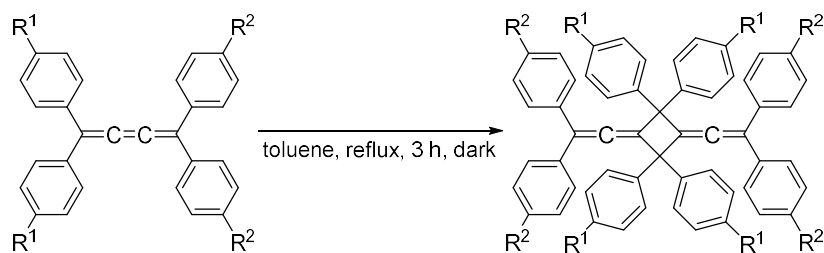
1.1.4.2.3. Thermal reaction

- In the solid-state



[3]Cumulene **1** (0.1 mmol) was added to a test tube and stirred for 3 hours at 110 °C under dark. The resulting mixture was collected with chloroform and concentrated *in vacuo*. The results are shown in **Table 3**.

- In toluene



To a test tube was added [3]cumulene **1** (0.1 mmol) in toluene (1 mL), and the mixture was stirred for 3 hours under reflux and dark. The resulting mixture was collected with chloroform and concentrated *in vacuo*. The results are shown in **Table 4**.

1.1.5. Spectral data

● Diols

1,1,4,4-Tetraphenylbut-2-yne-1,4-diol (**7a**):

Colorless solid; mp 195–196 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.87(s, 2H), 7.27–7.35(m, 12H), 7.58–7.61(m, 8H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-methylphenyl)but-2-yne-1,4-diol (**7b**):

Colorless solid; mp 156–157 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.36(s, 12H), 3.06(s, 2H), 7.14(d, *J* = 8.2 Hz, 8H), 7.51(d, *J* = 8.2 Hz, 8H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-methoxyphenyl)but-2-yne-1,4-diol (**7c**):

Colorless solid; mp 142–143 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.94(s, 2H), 3.77(s, 12H), 6.82(d, *J* = 9.1 Hz, 8H), 7.47(d, *J* = 9.1 Hz, 8H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-fluorophenyl)but-2-yne-1,4-diol (**7d**):

Colorless solid; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.92 (s, 2H), 6.97–7.06 (m, 8H), 7.45–7.54 (m, 8H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-chlorophenyl)but-2-yne-1,4-diol (**7e**):

Colorless solid; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.96–2.98 (s, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.8 Hz, 8H), 7.46 (d, *J* = 8.8 Hz, 8H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-bromophenyl)but-2-yne-1,4-diol (**7f**):

Colorless solid; mp 149–150 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.98 (s, 2H), 7.38 (d, *J* = 8.9 Hz, 8H), 7.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 8H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 73.9, 89.6, 122.5, 127.7, 131.8, 143.1.

● Precursors of asymmetry tetraaryl[3]cumulene

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)ethene:

Colorless solid; mp 139–140 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.83(s, 6H), 5.29(s, 2H), 6.86(d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 7.28(d, *J* = 8.8 Hz, 4H).

Bis(4-methylphenyl)methanol:

Colorless solid; mp 58–59 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.14(s, 1H), 2.32(s, 6H), 5.78(d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.12(d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.25(d, *J* = 8.2 Hz, 4H).

Bis(4-chlorophenyl)methanol:

Colorless solid; mp 90–91 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.21(s, 1H), 5.79(s, 1H), 7.27–7.33(m, 8H).

1,1-bis(4-methoxyphenyl)-3,3-bis(4-methylphenyl)prop-1-ene (**8b**):

Colorless oil; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.31(s, 6H), 3.78(s, 3H), 3.83(s, 3H), 4.75(d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.37(d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.79(d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.88(d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.03–7.10(m, 10H), 7.17(d, J = 8.9 Hz, 2H).

3,3-bis(4-chlorophenyl)-1,1-bis(4-methoxyphenyl)prop-1-ene (**8c**):

Yellow oil; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 3.79(s, 3H), 3.84(s, 3H), 4.75(d, J = 10.2 Hz, 1H), 6.26(d, J = 10.4 Hz, 1H), 6.80(d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.89(d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.03(d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.06(d, J = 8.5 Hz, 4H), 7.16(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.26(d, J = 8.5 Hz, 4H).

1,1-[bis(4-methoxyphenyl)methyl]-3,3-bis(4-methylphenyl)cyclopropane (**9b**):

Colorless solid; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.26(s, 3H), 2.36(s, 3H), 3.26(d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.64(d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.72(s, 3H), 3.75(s, 3H), 6.74(d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.78(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.07(d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.14(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.20(d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.24(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.27(d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.32(d, J = 8.1 Hz, 2H).

3,3-[bis(4-chlorophenyl)methyl]-1,1-bis(4-methoxyphenyl)cyclopropane (**9c**):

Colorless solid; mp 190–191 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 3.17(d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.66(d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.74(s, 3H), 3.76(s, 3H), 6.75(d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.78(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.10(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.19(d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.26(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.28(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.35(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.41(d, J = 8.6 Hz, 2H).

● Tetraaryl[3]cumulenes

1,1,4,4-Tetraphenylbuta-1,2,3-triene (**1a**):

Yellow solid; mp 239–240 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 7.32–7.42(m, 12 H), 7.56–7.59(m, 8 H)

1,1,4,4-Tetrakis(4-methylphenyl)buta-1,2,3-triene (**1b**):

Yellow solid; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.41(s, 12 H), 7.20(d, J = 8.0 Hz, 8 H), 7.47(d, J = 8.2 Hz, 8 H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-methoxyphenyl)buta-1,2,3-triene (**1c**):

Yellow solid; mp 256–257 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 3.86 (s, 12 H), 6.92 (d, J = 8.9 Hz, 8 H), 7.49(d, J = 8.9 Hz, 8 H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-fluorophenyl)buta-1,2,3-triene (**1d**):

Yellow solid; mp 259–260 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 7.07–7.11 (m, 4H), 7.46–7.50 (m, 4H).

1,1,4,4-Tetrakis(4-chlorophenyl)buta-1,2,3-triene (**1e**):

Yellow solid; mp 297–298 °C (decomp.); ¹H NMR (CDCl₃): d = 7.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H)

1,1,4,4-Tetrakis(4-bromophenyl)buta-1,2,3-triene (**1f**):

Yellow solid; mp 294–295 °C (decomp.); ¹H NMR (CDCl₃): d = 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H)

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)-4,4-diphenylbuta-1,2,3-triene (**1g**):

Yellow solid; mp 249–250 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.40(s, 6H), 3.86(s, 6H), 6.92(d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 7.18(d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 7.46(d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 7.51(d, *J* = 8.8 Hz, 4H).

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)-4,4-bis(4-methylphenyl)buta-1,2,3-triene (**1h**):

Yellow solid; mp 285–288 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.87(s, 6H), 6.93(d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 7.34(d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 7.44(d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 7.48(d, *J* = 8.6 Hz, 4H).

1,1-Bis(4-chlorophenyl)-4,4-bis(4-methoxyphenyl)buta-1,2,3-triene (**1i**):

Yellow solid; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.87(s, 6H), 6.93(d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 7.34(d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 7.44(d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 7.48(d, *J* = 8.8 Hz, 4H).

● Dimers of tetraaryl[3]cumulene

1,3-Bis(diphenylethenylidene)-2,2,4,4-tetraphenylcyclobutane (**2a**):

Pale yellow solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 7.02–7.09 (m, 16H), 7.14–7.27 (m, 24H); HRMS (ESI-MS) *m/z* calcd for C₅₆H₄₁ 713.3203, found 713.3219.

1,3-Bis[(bis(4-methylphenyl)ethenylidene)]-2,2,4,4-tetrakis(4-methylphenyl)cyclobutene (**2b**):

Pale yellow solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.28 (s, 12H), 2.35 (s, 12H), 6.88 (d, *J* = 7.9 Hz, 8H), 6.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 8H), 7.00 (d, *J* = 7.7 Hz, 8H), 7.04 (d, *J* = 8.2 Hz, 8H); HRMS (ESI-MS) *m/z* calcd for C₆₄H₅₇ 825.4455, found 825.4457.

1,3-Bis[(bis(4-methoxyphenyl)ethenylidene)]-2,2,4,4-tetrakis(4-methoxyphenyl)cyclobutene (**2c**):

Pale yellow solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.75 (s, 12H), 3.82 (s, 12H), 6.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H), 6.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H), 7.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H); HRMS (ESI-MS) *m/z* calcd for C₆₄H₅₇ 953.4048, found 953.4044.

1,3-Bis[bis(4-fluorophenyl)ethenylidene]-2,2,4,4-tetrakis(4-fluorophenyl)cyclobutene (**2d**):

Pale yellow solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 6.82–6.86 (m, 8H), 6.92–6.98 (m, 16H), 7.02–7.06 (m, 8H).

1,3-Bis[bis(4-chlorophenyl)ethenylidene]-2,2,4,4-tetrakis(4-chlorophenyl)cyclobutene (**2e**):

Pale green solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 6.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 8H), 6.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 8H), 7.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 8H), 7.24–7.26 (m, 8H).

1,3-Bis[bis(4-bromophenyl)ethenylidene]-2,2,4,4-tetrakis(4-bromophenyl)cyclobutene (**2f**):

Pale yellow solid; mp >300 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 6.79 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H), 7.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 8H).

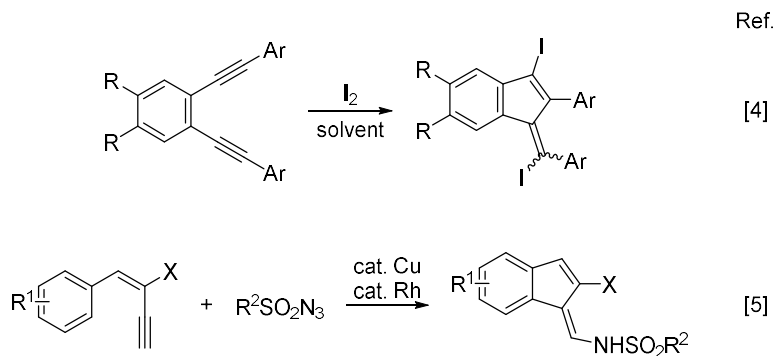
1.1.6. Reference

- [1] N. Kerisit, P. Gawel, B. Levandowski, Y. F. Yang, V. García-López, N. Trapp, L. Ruhlmann, C. Boudon, K. N. Houk, and F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 159–168.
- [2] S. Ueta, K. Hida, M. Nishiuchi, and Y. Kawamura, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2784–2791.
- [3] J. L. Marshall, D. Lehnerr, B. D. Lindner, and R. R. Tykwinski, *Chempluschem* **2017**, *82*, 967–1001.
- [4] G. M. J. Schmidt, *Pure Appl. Chem.* **1971**, *27*, 647–678.

1.2. テトラアリール[3]クムレンのヨード環化反応

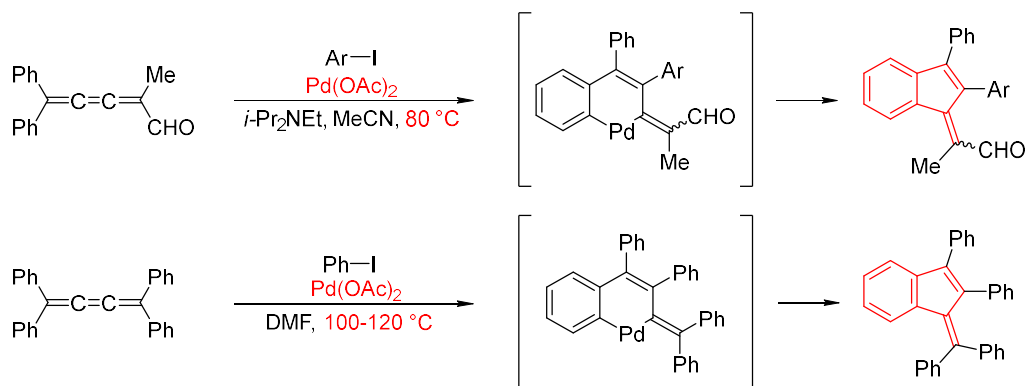
1.2.1. 緒言

ベンゾフルベン類は生理活性分子^[1], 機能性材料^[2], メタロセン触媒^[3]など様々な分野で研究されている分子骨格である。その合成法はヨウ素を用いたエンジンの環化^[4]や、ロジウム触媒を用いたエチニルテトラゾールの環化^[5]などが報告されている (Scheme 15)。

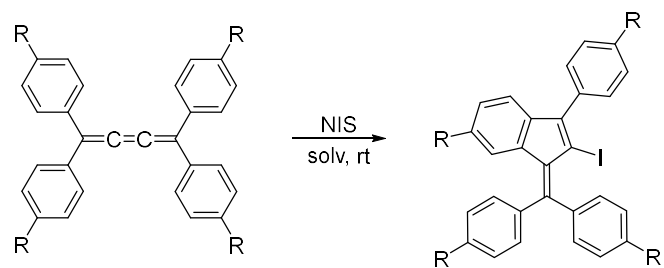


Scheme 15. Synthesis of benzofulvene

[3]クムレンから合成する手法も 2 例報告されているが、いずれも高温下、パラジウム触媒を用い、パラダサイクルを経由する反応様式である (Scheme 16)。^[6,7]



本項では、テトラアリール[3]クムレンと NIS のヨード環化反応により室温、メタルフリーの温和な条件でのベンゾフルベン骨格構築法を見出した (Scheme 17)。



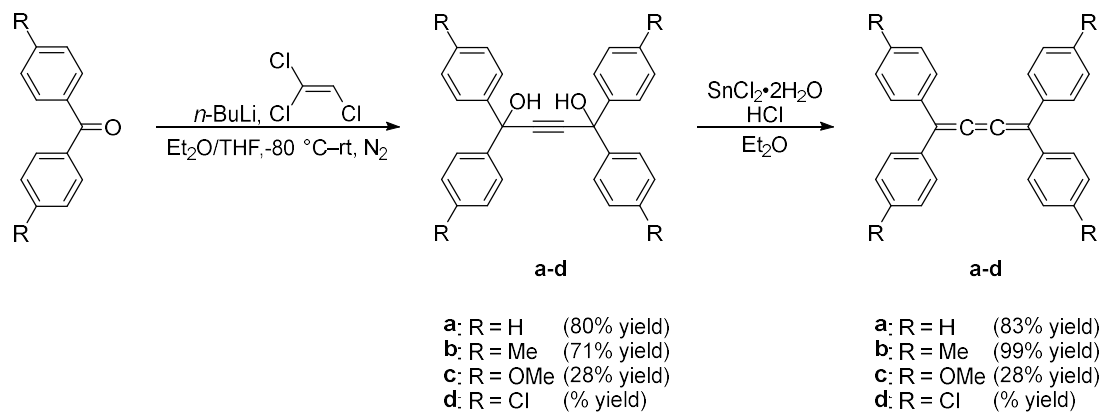
Scheme 17. Construction of benzofulvene scaffold from [3]cumulene **1** with NIS

1.2.2. 結果と考察

1.2.2.1. 原料合成

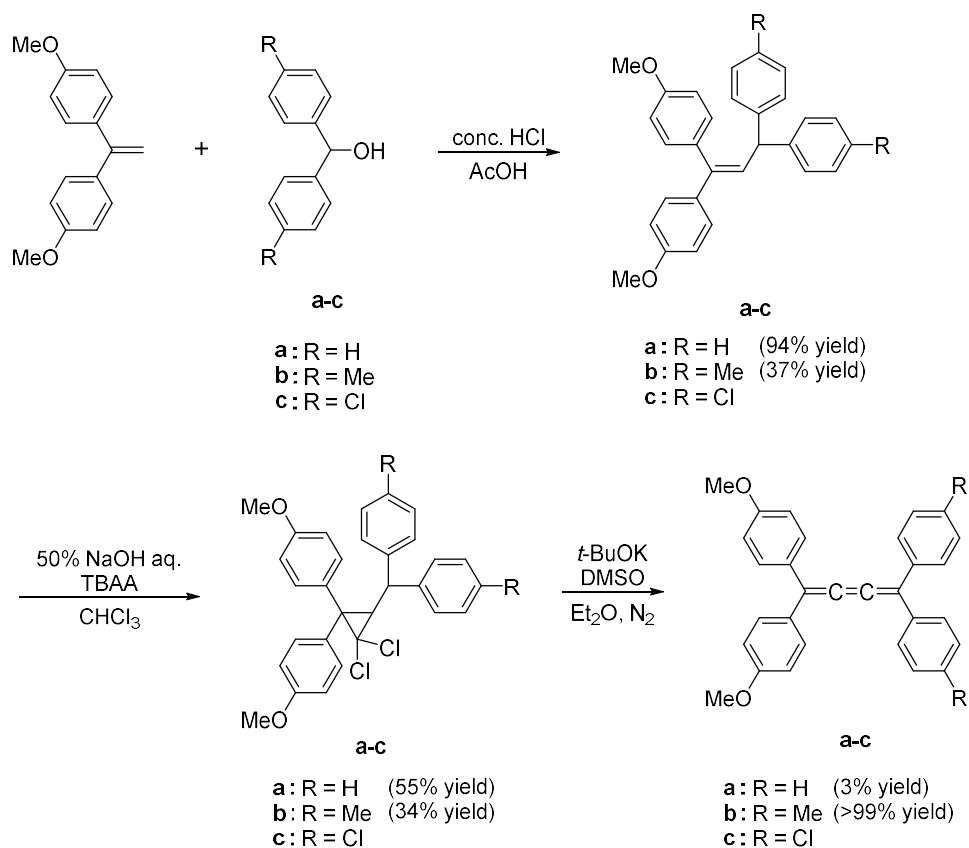
テトラアリアル[3]クムレンは以下の手順で文献に従って合成した (Scheme 18, Scheme 19)。^[8,9]

Path A^[8]



Scheme 18. Syntheses of symmetrical tetraaryl[3]cumulenes

Path B^[9]



Scheme 19. Syntheses of asymmetrical tetraaryl[3]cumulene

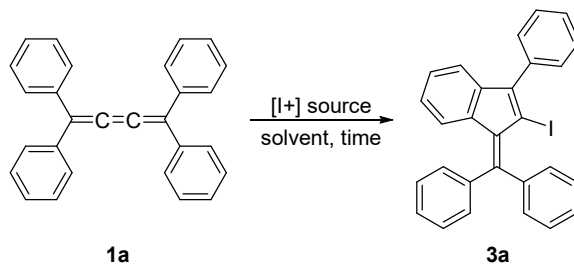
Path A ではベンゾフェノン類とジリチオアセチレンの S_N2 反応によりジオールを合成した後、塩化スズと塩酸からなる H_2SnCl_4 の還元的脱離^[10]によりテトラアリアル[3]クムレン **1** を合成した。Path B では末端アルケンとアルコールの脱水縮合の後、ジクロロカルベンとの反応によりシクロプロパンを合成、最後に塩基による脱塩化水素によりテトラアリアル[3]クムレン **1** を合成した。

1.2.2.2. 反応条件検討

テトラアリール[3]クムレンのヨード環化反応を行うにあたりまず条件検討を行った。モデル基質にテトラフェニル[3]クムレン **1a** を用い反応条件の最適化を行った (Table 9)。

Entry 1-4 の反応時間の検討から時間の増加に従って収率の向上がみられ、本反応は2時間でも十分に進行し、3時間で収率は96%にまで達した。Entry 3, 5 のヨウ素源の検討ではNISとヨウ素を比較したところ、より求電子性に優れるヨードカチオンを生成するNISの方が反応性に富んでいることが明らかとなった。Entry 3, 6-9 の溶媒検討の結果、反応はニトロメタン中でのみ極めて効率よく反応が進行することが明らかとなった。以上の結果より最適条件はNISを用い、ニトロメタン中、3時間反応を行ったものとした。得たベンゾフルベン **2a** は、NMR, HRMS, 及び単結晶 X 線構造解析から構造を確認した (Figure 11)。

Table 9. Optimization for iodocyclization of tetraphenyl[3]cumulene



entry	[I ⁺] source	solvent	time	yield (%) ^b
1	NIS	MeNO ₂	0.5 h	36
2	NIS	MeNO ₂	1 h	52
3	NIS	MeNO ₂	2 h	86
4	NIS	MeNO ₂	3 h	96

5	I ₂	MeNO ₂	2 h	24

6	NIS	MeCN	2 h	7
7	NIS	DCM	2 h	8
8	NIS	Benzene	2 h	trace
9	NIS	Toluene	2 h	trace

^aAll reactions were conducted using 0.1 mmol of [3]cumulene, 0.12 mmol of the [I⁺] source, and 1 mL of solvent at room temperature. ^bIsolated yields. ^c0.06 mmol of I₂.

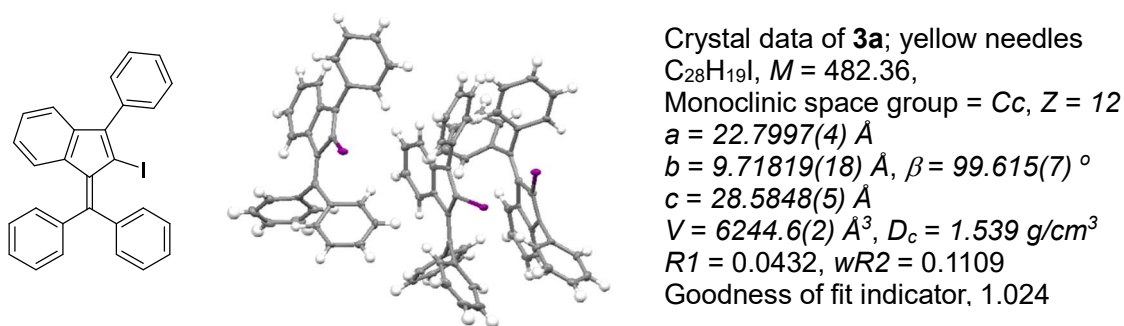


Figure 11. Crystal data of benzofulvene **3a**

反応機構を **Figure 12** のように推定した。まず， [3]クムレンの中心二重結合がヨードカチオンと反応しヨードニウムイオン中間体が生成，その後芳香環からの攻撃を受け環化する。最後にスクシンイミドアニオンが水素を引き抜くことでベンゾフルベン誘導体を形成すると考えられる。

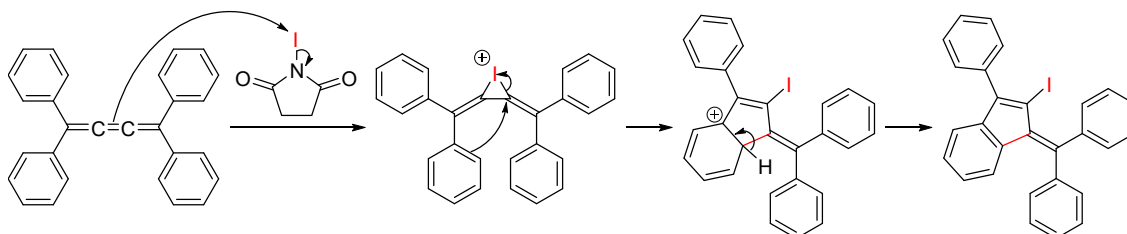


Figure 12. Estimated reaction mechanism of tetraphenyl[3]cumulene with NIS

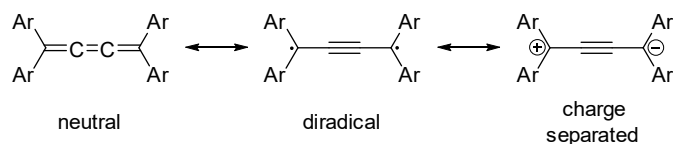


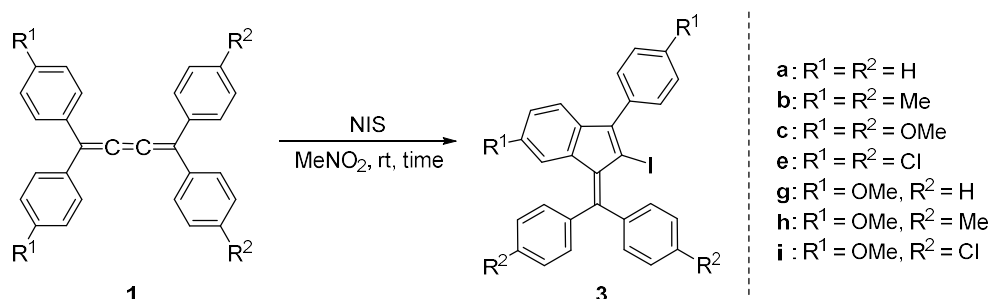
Figure 13. Proposed electronic state of tetraaryl[3]cumulene in solvent

テトラアリアル[3]クムレンは溶液中で上記の様な異なる電子状態であることが提案されている (**Figure 13**)。[11] 本反応ではニトロメタンのニトロ基が[3]クムレンの電荷分離構造を安定化し中心二重結合の三重結合性が強くなると考えられる。このことから、本反応はニトロメタン中でのみ高効率で反応が進行し， [3]クムレンの中心二重結合で選択的に反応していると考えられる。

1.2.2.3. 基質検討

次に基質検討を行った (Table 10)。

Table 10. Optimization for iodocyclization of [3]cumulene **1** with NIS



entry	compound	product	time (h)	yield (%)
1	1a	3a	3	96
2	1b	3b	3	>99
3	1c	3c	2	>99
4	1e	3e	3	trace
5	1g	3g	3	81
6	1h	3h	2	88
7	1i	3i	3	38

Entry 1-4 の置換基が左右対称な[3]クムレンを用いた反応では entry 4 の電子求引性置換基であるクロロ基を有する[3]クムレン **1e** のみが低収率でベンゾフルベン **3e** を与えた。Entry 5-7 の左右非対称な置換基を有する[3]クムレンを用いた反応でも同様に entry 7 のクロロ基を有する[3]クムレン **1i** から得られるベンゾフルベン **3i** の収率は低下した。これらのことから電子求引性置換基を有する[3]クムレンはヨード環化反応が進行しづらいことが分かった。更に興味深いことに、非対称な[3]クムレン **1g**, **1i** の反応で得たベンゾフルベン誘導体 **3g**, **3i** はメトキシフェニル基側からのみ環化していることが単結晶 X 線構造解析の結果から明らかとなった (Figure 14)。

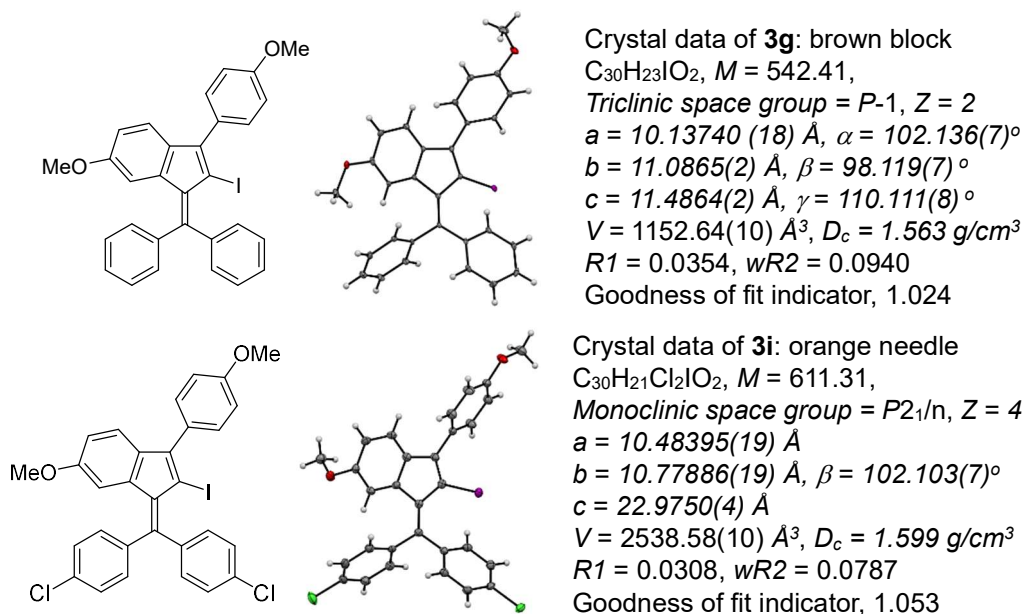
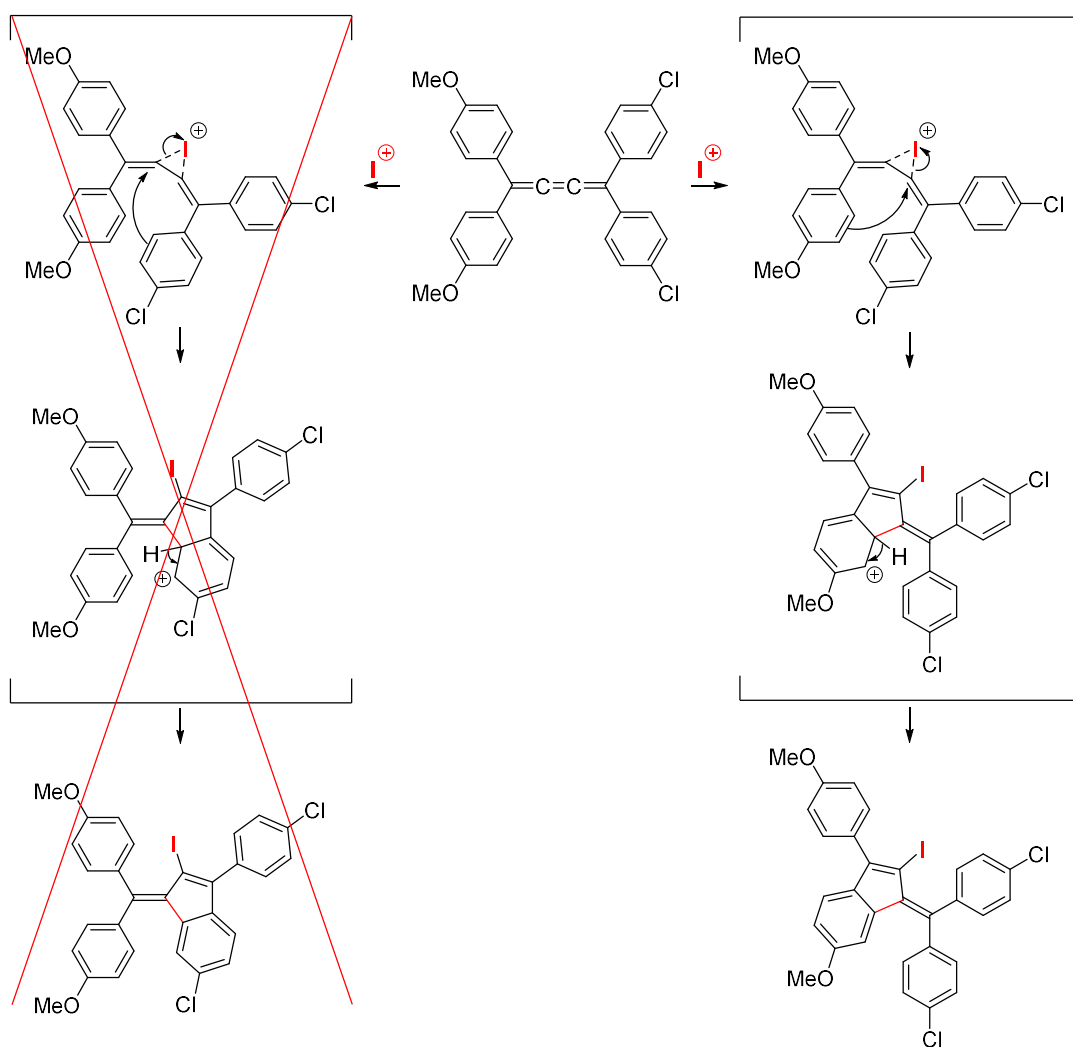


Figure 14. Crystal data of benzofulvene **3g** and **3i**

メトキシフェニル基側からのみ環化する理由として[3]クムレンの置換基効果が関わっていることを推定した。非対称な[3]クムレンは二種類の置換基を有し、一つはメトキシ基、もう一つはメトキシ基に比べると電子供与能の低い置換基がついている。メトキシ基側からのみ選択的に環化していることや、*p*-クロロフェニル基を有した[3]クムレン **1e**, **1i** の反応性が低いことから電子豊富な環から選択的に環化していると考え、本反応はアリール基の電子の豊富さが選択的に影響を与えていると考察した。NIS との反応によりヨードニウム中間体となった後、アリール基からの攻撃を受け環化する際に、電子豊富なメトキシ基側からのみ選択的に反応しているということである (Scheme 20)。

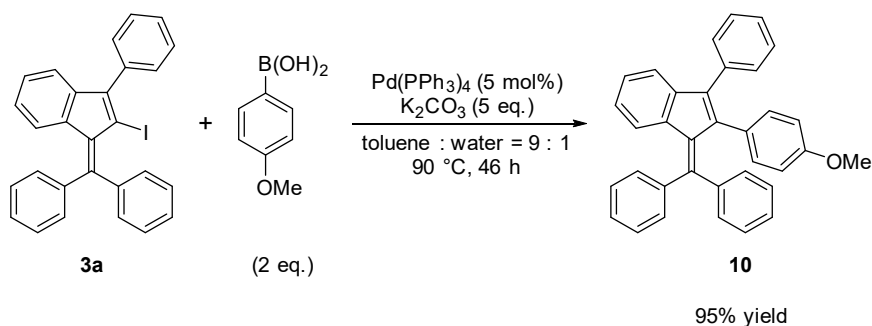


Scheme 20. Reaction mechanism of asymmetric [3]cumulene considering with substituent effects

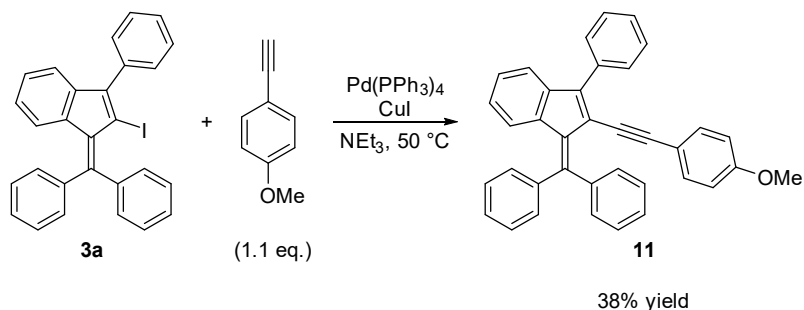
1.2.2.4. ベンゾフルベンのクロスカップリング反応検討

最後に、本反応で得たベンゾフルベン誘導体にはヨウ素部位があるため、クロスカップリング反応におけるハロゲン化アリールとして利用可能か検討した。モデル基質として選んだベンゾフルベン **3a** の Suzuki–Miyaura, Sonogashira クロスカップリング反応を行った。その結果、それぞれベンゾフルベン **10** を収率 95%、ベンゾフルベン **11** を収率 38% で得た (Scheme 21)。得たベンゾフルベン **10** は単結晶 X 線構造解析からもその構造を確認している。ベンゾフルベン **10** のそれぞれのアリール基は立体障害を避けるため、ベンゾフルベン骨格に対し約 60° ずつプロペラ型にねじれていることが明らかになった (Figure 15)。

a) Suzuki–Miyaura cross-coupling

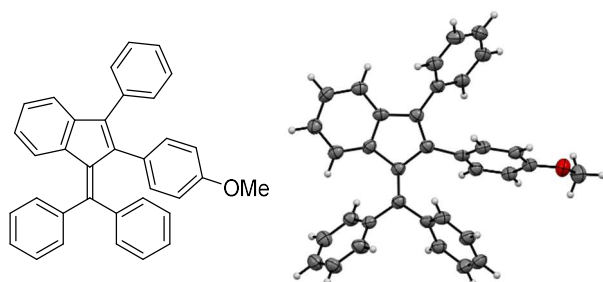


b) Sonogashira cross-coupling



Scheme 21. a) Suzuki–Miyaura and b) Sonogashira cross-coupling reaction of benzofulvene

3a



Crystal data of **10**: yellow needle
C₃₅H₂₆O, *M* = 462.59,
Monoclinic space group = C2/c, *Z* = 8
a = 42.3412(14) Å
b = 6.2944(2) Å, β = 113.051(8)°
c = 20.1580(7) Å
V = 4943.4(4) Å³, *D_c* = 1.243 g/cm³
*R*1 = 0.0774, *wR*2 = 0.1410
Goodness of fit indicator, 0.976

Figure 15. Crystal data of tetraarylbenzofulvene **10**

1.2.3. 結論

本項ではテトラアリアル[3]クムレンの NIS を用いたヨード環化反応を検討した。テトラフェニル[3]クムレンをモデル反応として行った条件最適化では反応時間、ヨウ素源、溶媒の検討を行ったところ、反応時間の増加に伴い収率が向上し 3 時間後にはほぼ定量的に反応が進行した。ヨウ素源には求電子性に劣る I_2 よりも求電子性に優れる NIS の方が反応性に富んでいることが明らかとなった。また、溶媒検討からはニトロメタンのニトロ基が[3]クムレンの電荷分離の状態を安定化することで[3]クムレンの中心二重結合の三重結合性が強くなることが示唆された。

基質検討からは非対称テトラアリアル[3]クムレンを用いた反応において、電子供与基を有するアリアル基からの環化反応が進行することが明らかとなった。これは反応により生成したヨードニウム中間体において、求電子的な環化が電子豊富なアリアル基側から優先的に起こることが理由であると考えている。

本反応により得られるベンゾフルベン誘導体にはヨウ素部位があるため、クロスカップリングのハロゲン化アリアルとして利用可能か検討した。カップリング反応には Suzuki—Miyaura, Sonogashira クロスカップリング反応を選択したところ、反応は効率よく進行し、対応するベンゾフルベンを与えた。

本反応はテトラアリアル[3]クムレンを原料とし、メタルフリー、室温、短時間という温和な条件かつ一段階でベンゾフルベン骨格を形成することができる。ベンゾフルベン骨格は生理活性分子の研究にも用いられることからメタルフリーであることは有用であり、温和な条件であることは環境への負荷が低いサステナブルな反応であるといえる。

1.2.4. Experimental section

1.2.4.1. Experiment equipments

¹H NMR, ¹³C NMR : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis spectrophotometer : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectrophotometer : RF-1500 (SHIMADZU)

PL quantum yield spectrometer : Quantaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime spectrometer : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Single crystal X-ray diffractometer : R-AXIS RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Low temperature baths : PSL-1820 (EYELA)

Automated flash chromatography : Isolera One (Biotage)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

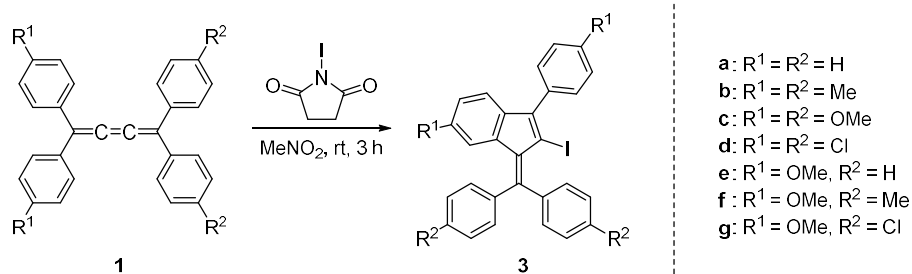
Silica gel column chromatography

Silica gel : Silica Gel 60 N (spherical, neutral) 63-210 mm (KANTO CHEMICAL)

TLC plate : TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

1.2.4.2. Synthesis

General procedure for reaction of tetraaryl[3]cumulene **1** with NIS

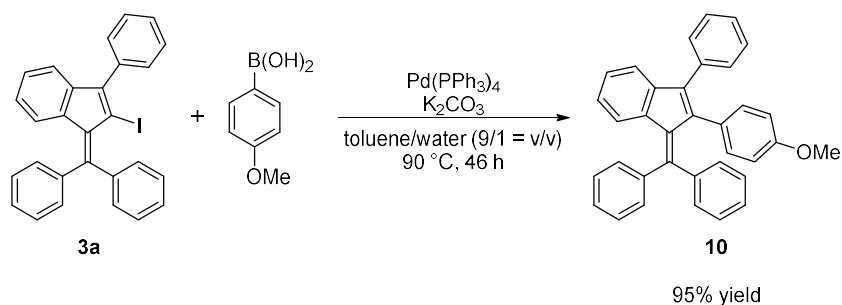


NIS (0.12 mmol) was added to a 1 mL of MeNO₂ solution containing tetraaryl[3]cumulene **1** (0.1 mmol), and the mixture was stirred for 3 hours at room temperature. The resulting mixture was quenched by saturated Na₂S₂O₃. The mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed by brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired benzofulvene **3** was separated (Table 10).

Cross-coupling reaction of benzofulvene **3a**

Suzuki–Miyaura cross-coupling

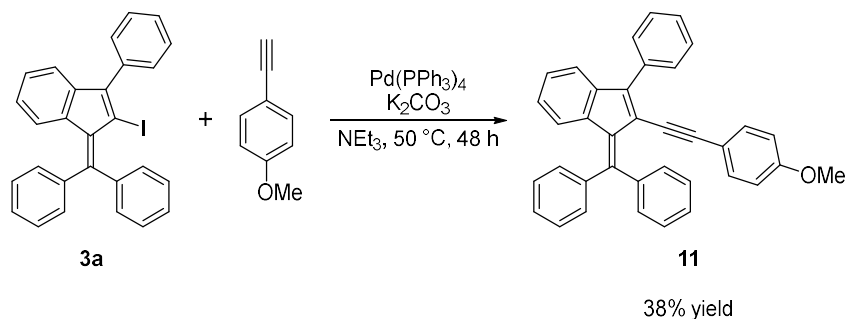
1-(Diphenylmethylene)-2-(4-methoxyphenyl)-3-phenyl-1*H*-indene (**10**)



To a 5 ml of mixed solution (toluene/H₂O = 9/1) containing benzofulvene **3a** (0.1 mmol) and of 4-methoxyphenylboronic acid (0.20 mmol) were added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.005 mmol) and K₂CO₃ (0.50 mmol), and the mixture was stirred for 46 hours at 90 °C. The resulting mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed by water and brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired tetraarylbenzofulvene **10** was separated in 95% yield.

Sonogashira cross-coupling

1-(Diphenylmethylene)-2-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]-3-phenyl-1*H*-indene (**11**)



To a 1.0 ml of triethylamine were added benzofulvene **3a** (0.1 mmol), *p*-methoxyphenylacetylene (0.11 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.01 mmol), and CuI (0.005 mmol), the mixture was stirred for 48 hours at 50 °C under nitrogen atmosphere. The resulting mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed by water and brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired benzofulvene **11** was separated in 38% yield.

1.2.5. Spectral data

- Tetraaryl[3]cumulenes

See “1.1. テトラアリール[3]クムレンの光二量化反応”.

- Benzofulvenes

1-(Diphenylmethylene)-2-iodo-3-phenyl-1*H*-indene (**3a**):

Orange solid; mp 146.0–147.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 6.46 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.82 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.03–7.11 (m, 2H), 7.28–7.30 (m, 2H), 7.36–7.50 (m, 13H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 89.5, 119.9, 123.1, 125.2, 126.8, 127.9, 128.2, 128.3, 128.6, 129.0, 129.2, 129.6, 131.2, 133.3, 136.6, 138.4, 138.5, 141.1, 142.8, 143.0, 151.3, 153.2; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₂₈H₁₉I 482.0526, found 482.0522.

1-[Bis(4-methylphenyl)methylene]-2-iodo-6-methyl-3-(4-methylphenyl)-1*H*-indene (**3b**):

Orange solid; mp 99.0–100.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.07 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 6.32 (s, 1H), 6.86 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.16–7.28 (m, 10H), 7.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 21.47 (2C), 21.53, 21.6, 88.4, 119.6, 123.8, 127.1, 128.6, 128.9, 129.1, 129.5, 131.5, 133.5, 133.8, 134.6, 137.9, 138.1, 138.6, 139.0, 139.1, 139.3, 140.1, 140.4, 151.0, 152.4; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₃₂H₂₇I 538.1152, found 538.1147.

1-[Bis(4-methoxyphenyl)methylene]-2-iodo-6-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indene (**3c**):

Orange solid; mp 165.0–166.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.49 (s, 3H), 3.87 (s, 6H), 3.88 (s, 3H), 6.17 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 8.0, 2.3 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.95 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.05 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 54.9, 55.1, 55.2, 55.3, 86.1, 108.3, 112.2, 113.2, 113.4, 113.8, 120.2, 128.9, 130.8, 133.3, 133.7, 135.0, 135.3, 136.2, 137.3, 140.2, 150.1, 151.1, 157.6, 159.2, 160.6, 160.7; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₃₂H₂₇IO₄+H 603.1027, found 603.1006.

1-(Bis(4-chlorophenyl)methylene)-2-iodo-6-chloro-3-(4-chlorophenyl)-1*H*-indene (**3d**):

1-Diphenylmethylene-2-iodo-6-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indene (**3e**):

Orange solid; mp 180.0–181.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.42 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 6.00 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 1H) 6.99–7.03 (m, 3H), 7.29–7.31 (m, 2H), 7.39–7.47 (m, 10H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 54.9, 55.2, 85.5, 109.0, 112.9, 113.6, 120.5, 127.9, 128.7, 128.8, 129.1, 130.89, 130.92, 131.09, 133.2, 136.4, 138.5, 140.0, 141.0, 142.7, 150.2, 152.8, 157.9, 159.4; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₃₀H₂₃IO₂+H 543.0815, found 543.0809.

1-[Bis(4-methylphenyl)methylene]-2-iodo-6-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indene (**3f**):

Orange solid; mp 79.0–80.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 2.40 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 6.06 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.60 (dd, *J* = 8.3, 2.4 Hz, 1H) 6.98–7.03 (m, 3H), 7.16–7.28 (m, 8H), 7.46 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 21.4, 21.5, 54.9, 55.2, 86.0, 108.9, 112.6, 113.6, 120.4, 128.6, 128.9, 129.3, 130.9, 131.3, 133.5, 136.4, 138.0, 138.3, 139.1, 139.3, 140.0, 140.2, 150.7, 152.1, 157.8, 159.4; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₃₂H₂₇IO₂+H 571.1128, found 571.1115.

1-[Bis(4-chlorophenyl)methylene]-2-iodo-6-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indene (**3g**):

1-(Diphenylmethylene)-2-(4-methoxyphenyl)-3-phenyl-1*H*-indene (**10**):

Orange solid; mp 148.0–149.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.62 (s, 3H), 6.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.39 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.81–6.90 (m, 6H), 7.12 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.17–7.25 (m, 4H), 7.27–7.29 (m, 2H), 7.39–7.47 (m, 5H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 55.1, 112.6, 119.6, 123.5, 124.9, 126.76, 128.81, 127.4, 127.9, 128.58, 128.60, 128.8, 129.8, 130.7, 131.9, 132.0, 135.3, 135.5, 137.5, 138.3, 138.5, 141.3, 142.96, 142.98, 143.6, 149.3, 157.1; HRMS (APCI) *m/z* calcd for C₃₅H₂₆O+H 463.2056, found 463.2043.

1-(Diphenylmethylene)-2-[(4-methoxyphenyl)ethynyl]-3-phenyl-1*H*-indene (**11**):

Orange solid; mp 149.0–150.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃): d = 3.74 (s, 3H), 6.50 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.646.69 (m, 4H), 6.90 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.15 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.35–7.51 (m, 14H), 7.81 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): d = 55.2, 85.8, 97.5, 113.4, 115.8, 119.3, 120.4, 123.7, 125.9, 127.1 (2C), 127.5, 127.97, 128.03, 128.6, 128.8, 129.5, 130.8, 132.4, 132.9, 134.5, 137.18, 137.23, 141.9,

142.0, 142.8, 149.4, 149.5, 159.0; HRMS (APCI) m/z calcd for C₃₇H₂₆O 486.1978, found 486.2002.

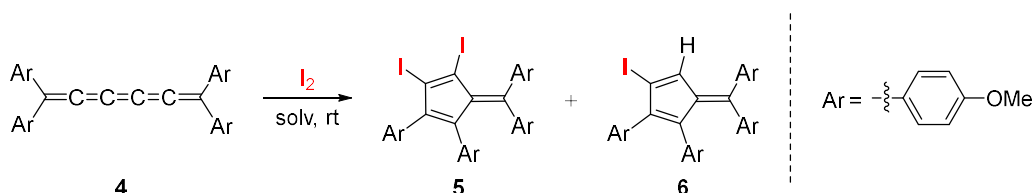
1.2.6. Reference

- [1] A. S. Felts, B. S. Siegel, S. M. Young, C. W. Moth, T. P. Lybrand, A. J. Dannenberg, L. J. Marnett, and K. Subbaramaiah, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4911–4919.
- [2] A. Cappelli, G. P. Mohr, M. Anzini, S. Vomero, A. Donati, M. Casolaro, R. Mendichi, G. Giorgi, and F. Makovec, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9473–9476.
- [3] J. S. Rogers, R. J. Lachicotte, and G. C. Bazan, *Organometallics* **1999**, *18*, 3976–3980.
- [4] C. Martinelli, A. Cardone, V. Pinto, M. M. Talamo, M. L. D’ariento, E. Mesto, E. Schingaro, F. Scordari, F. Naso, R. Musio, and G. M. Farinola, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3424–3427.
- [5] S. Shin, J.-Y. Son, C. Choi, S. Kim, and P. H. Lee, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 11706–11715.
- [6] T. Furuta, T. Asakawa, M. Iinuma, S. Fujii, K. Tanaka, and T. Kan, *Chem. Commun.* **2006**, 3648–3650.
- [7] G. Dyker, S. Borowski, G. Henkel, A. Kellner, I. Dix, and P. G. Jones, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8259–8262.
- [8] N. Kerisit, P. Gawel, B. Levandowski, Y. F. Yang, V. García-López, N. Trapp, L. Ruhlmann, C. Boudon, K. N. Houk, and F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 159–168.
- [9] S. Ueta, K. Hida, M. Nishiuchi, and Y. Kawamura, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2784.
- [10] J. L. Marshall, D. Lehnerr, B. D. Lindner, and R. R. Tykwinski, *Chempluschem* **2017**, *82*, 967–1001.
- [11] S. N. Spisak, M. U. Bühringer, Z. Wei, Z. Zhou, R. R. Tykwinski, and M. A. Petrukhina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2023–2028.
- [12] I. Garkusha, J. Fulara, A. Nagy, and J. P. Maier, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14979–14985.
- [13] S. Haberland, A. D. Finke, N. Kerisit, C. Katan, Y. Trolez, P. Gawel, I. Leito, M. Lõkov, R. Järviste, K. Kaupmees, N. Trapp, L. Ruhlmann, C. Boudon, D. Himmel, and F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 739–749.

1.3. テトラアリール [5]クムレンのヨード環化反応

1.3.1. 緒言

前項のテトラアリール[3]クムレンのヨード環化反応との比較のため、クムレン鎖を延ばした[5]クムレン **4** を用いヨード環化反応を行った(Scheme 22)。



Scheme 22. Iodocyclization of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

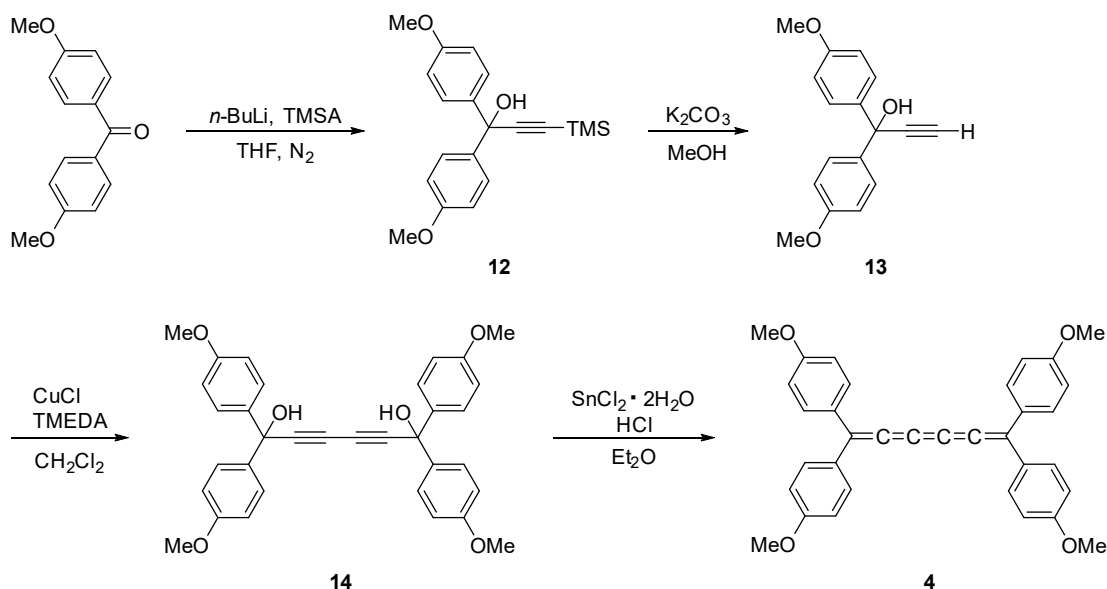
フルベンが高い機能性触媒作用を有するシクロペンタジエニル基の前駆体であると同時に、フルベン自体が配位子として有機金属錯体の合成に広く利用されている。^[1,2] 一般に、フルベンシクロペンタジエンとカルボニル化合物の縮合もしくは付加環化反応により合成されるが、どちらも置換基の種類は限られているため多置換フルベンは有機合成において価値のある化合物である。^[1] 特に多アリール置換フルベンは有機エレクトロニクス材料の n 型半導体として使われるため近年注目を集めており、合成手法や光吸収特性、酸化還元電位など広範囲にわたり研究が行われている。^[3] ペンタアリールフルベンは、テトラフェニルシクロペンタジエノンからの合成が知られており、^[4] ヘキサアリールフルベンは 1,1-ジブromoエチレンと金属ニッケルをジアリールアセチレンの存在下で反応させて合成できることが報告されている。^[5] 一方、[5]クムレンからフルベンへの変換手法は報告例が無い。本反応により得られるフルベンはヨウ素部位を有しているため、クロスカップリング反応におけるハロゲン化アリールとして用いることで多様な多置換フルベンの合成が可能になると考えている。

ここでは、ヨウ素を用いた環化反応によりアリール基の転位を伴うフルベン骨格構築法を見出し、その反応最適化及び応用に取り組んだ。

1.3.2. 結果と考察

1.3.2.1. 原料合成

[5]クムレン **4** は以下の手順で文献に従って合成した (Scheme 23)。^[6]



Scheme 23. Synthesis of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

4,4'-Dimethylbenzophenone と $n\text{-BuLi}$ によりリチオ化した TMSA (trimethylsilylacetylene) との $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応により定量的にアルコール **12** を得た。続く炭酸カリウムによる TMS (trimethylsilyl) 基の脱保護により収率 97% でアルコール **13** を合成, それを用いた Hay coupling により収率 53% でジオール **14** を合成した。最後に還元的脱離を行うことにより収率 77% で [5]クムレン **4** を合成した。[5]クムレン **4** は ^1H NMR, HRMS, 単結晶 X 線構造解析より構造を決定した。

単結晶 X 線構造解析の結果を以下に示す (Figure 16)。

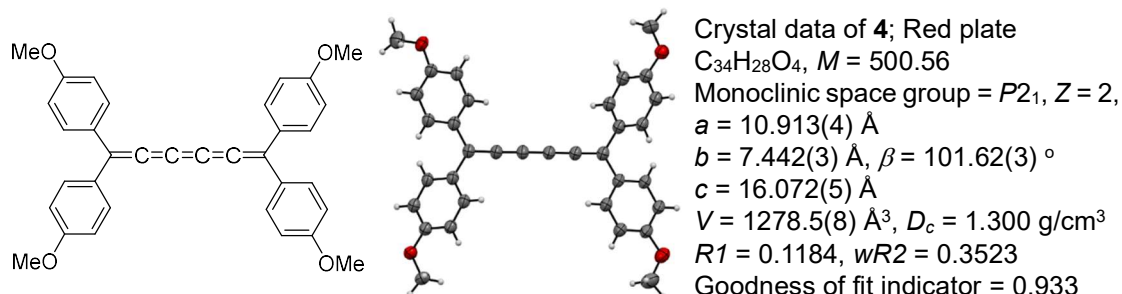
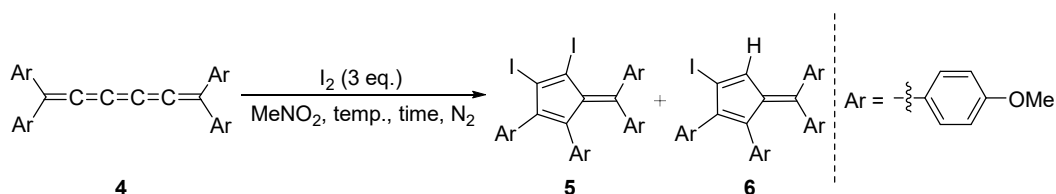


Figure 16. Crystal data of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

1.3.2.2. 反応条件最適化

[5]クムレン **4** とヨウ素源の反応について検討した。まず、反応条件の最適化を行った (Table 11)。

Table 11. Optimization for iodocyclization of [5]cumulene **4**



entry	4 (mmol)	temp.	time (min)	isolated yield	
				diiodo	monoiodo
1	0.21	rt	5	12	10
2	0.21	rt	30	31	23
3	0.15	rt	40	8	37
4	0.15	rt	60	4	38
5	0.15	-25 °C	30	N.D.	N.D.
6	0.15	-25 °C	480	9	27

まずヨウ素源の検討を行ったが、NIS を用いた反応では単離精製が困難な複雑化した反応混合物を得た。そこで前項での[3]クムレンのヨード環化反応で用いた NIS よりカチオン性の低いヨードカチオン源であるヨウ素を用いたところ上記 2 つの生成物を確認した。Entry 2 の反応時間の検討からは 30 分で最もジヨード **5** が生成し、その後 entry 2-4 に示す様にジヨード **5** の収率は低下するものの、モノヨード **6** の収率は増加することが分かった。また、¹H NMR より原料の[5]クムレン **4** の熱二量化により精製する[4]ラジアレン (Figure 17) を副生成物として確認したため反応温度の検討を行った。Entry 5,6 に示す、-25 °C の低温条件での反応も試みたがジヨード **5**、モノヨード **6** 共に低収率にとどまった。以上の結果よりヨウ素源にはヨウ素、温度は室温が最適であると判断した。

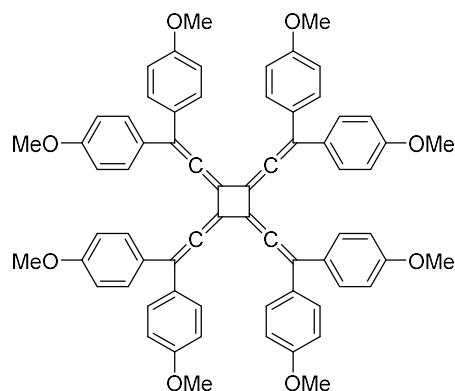
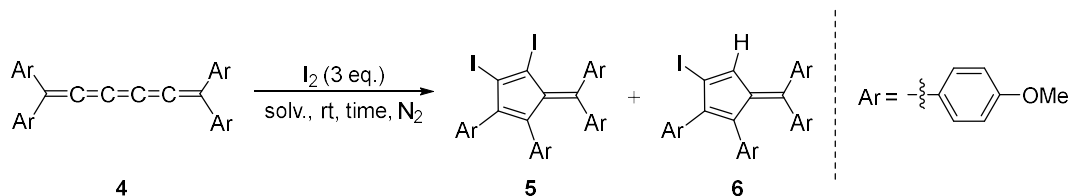


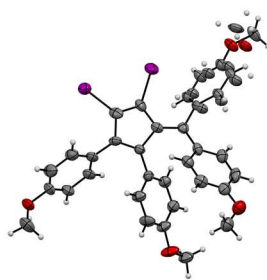
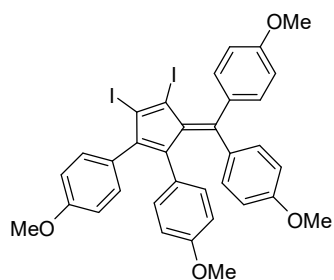
Figure 17. A by-product for iodocyclization of [5]cumulene **4**

次に反応溶媒の検討を行った。溶媒検討では、前項の[3]クムレンのヨード環化反応で最適溶媒であったニトロメタンを用いた場合、収率は中程度に留まることが分かった (entry 1)。高極性溶媒を用いたでは entry 1-3 では、アセトニトリルで中程度の収率、メタノールでは反応が進行しなかった。低極性溶媒を用いた entry 4-7 ではベンゼンを溶媒としたときにジヨード **5** とモノヨード **6** を共に高い収率 (entry 4,5) で得ることが出来た (Table 12)。また、得たジヨード **5**, モノヨード **6** は単結晶 X 線構造解析からもその構造を確認している (Figure 18)。

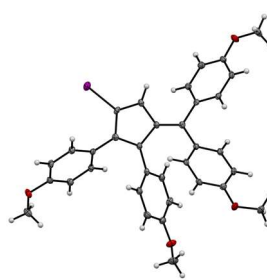
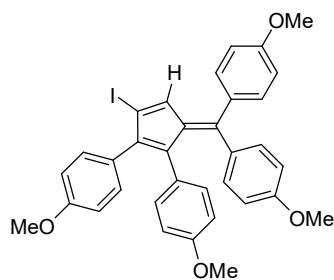
Table 12. Optimization of solvent for iodocyclization of [5]cumulene **4**



entry	solvent	time (min)	isolated yield	
			diiodo	monoiodo
1	MeNO ₂	30	31	23
2	MeCN	30	16	28
3	MeOH	30	N.D.	N.D.
4	benzene	30	56	27
5	benzene	600	50	33
6	toluene	30	32	18
7	toluene	60	6	38



Crystal data of **5**: black platelet
 $C_{34}H_{28}I_2O_4$, $M = 754.40$,
Monoclinic space group = $P2_1/n$, $Z = 4$
 $a = 12.4916(3) \text{ \AA}$
 $b = 14.1803(3) \text{ \AA}$, $\beta = 103.830(7)^\circ$
 $c = 18.3463(5) \text{ \AA}$
 $V = 3155.55(17) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.588 \text{ g/cm}^3$
 $R1 = 0.0705$, $wR2 = 0.1979$
 Goodness of fit indicator, 1.128

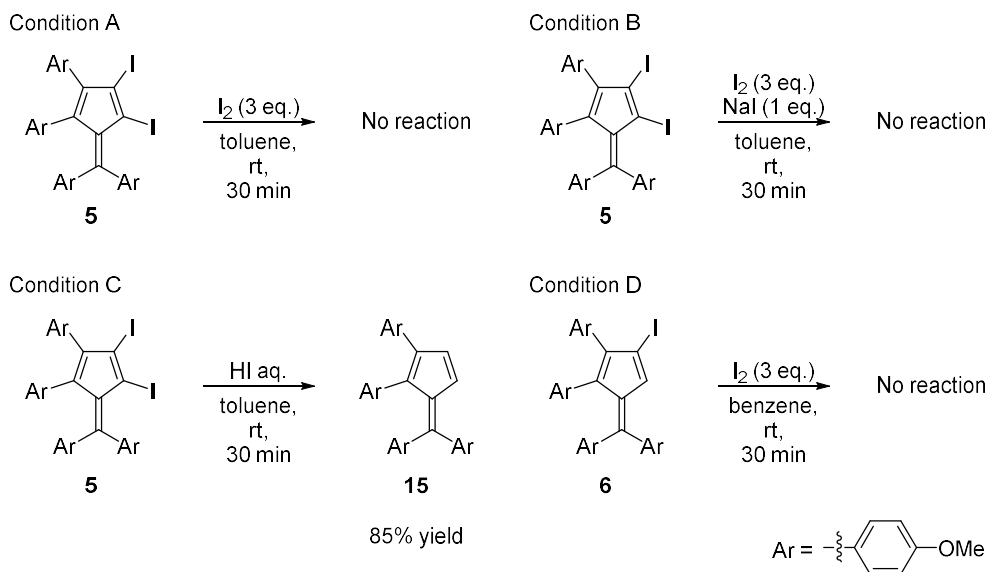


Crystal data **6**: black needle
 $C_{34}H_{29}IO_4$, $M = 628.51$,
Triclinic space group = $P-1$, $Z = 2$
 $a = 10.24137(19) \text{ \AA}$, $\alpha = 113.529(8)^\circ$
 $b = 11.9283(2) \text{ \AA}$, $\beta = 109.913(8)^\circ$
 $c = 13.3381(2) \text{ \AA}$, $\gamma = 93.193(7)^\circ$
 $V = 1369.46(15) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.524 \text{ g/cm}^3$
 $R1 = 0.0357$, $wR2 = 0.0915$
 Goodness of fit indicator, 1.077

Figure 18. Crystal data of fulvene **5** and fulvene **6**

1.3.2.3. 反応メカニズム

条件最適化の際、時間を長くなるに従い生成するジヨード **5** の収率が減り、モノヨード **6** の収率が増えた (Table 11, entry 1–4)。この結果から [5] クムレン **4** からまずジヨード **5** が生成し、その後モノヨード **6** を与えると推定した。この仮説を検証するために 4 つの対照実験を行った (Scheme 24)。



Scheme 24. Control experiments to elucidate the reaction mechanism

Condition A ではジヨード **5** に更なるヨウ素の添加を行ったが反応は進行しなかった。また、Condition B ではジヨード **5** にヨードアニオン源としてヨウ化ナトリウムを添加したが反応は進行しなかった。一方、Condition C ではフルベン骨格は 2 位に比べて 1 位の方がプロトネーションされやすいことが報告されている^[9,10]ことからモノヨード **6** はジヨード **5** の 1 位がプロトネーションされたものではないかとの推定の元反応を行った。その結果、ジヨード **5** に brønsted 酸としてヨウ化水素を添加したところジプロトン **15** を収率 95% で得た。これより系中で発生したと考えられるヨウ化水素によりジヨード **5** のプロトネーションが起きていることが明らかとなった。系中で発生した少量のヨウ化水素はフルベン骨格の 1 位をプロトネーションすることでモノヨード **6** を与えたと考えている。Condition D ではモノヨード **6** からジヨード **5** への反応が進行するのか検討したが、反応は進行しなかった。

フルベン骨格の 1 位に選択的にプロトネーションが起こるかどうかが DFT 計算 (B3LYP/6-31G+) を行った。計算の結果、ジヨード **5** の HOMO ではフルベン環の 1 位の炭素に付くヨウ素より 1 位の炭素に付くヨウ素に電子密度が偏っていることから、ヨウ化水素によるプロトネーションは 1 位の炭素へ選択的に起きていることが考えられる (Figure 19)。

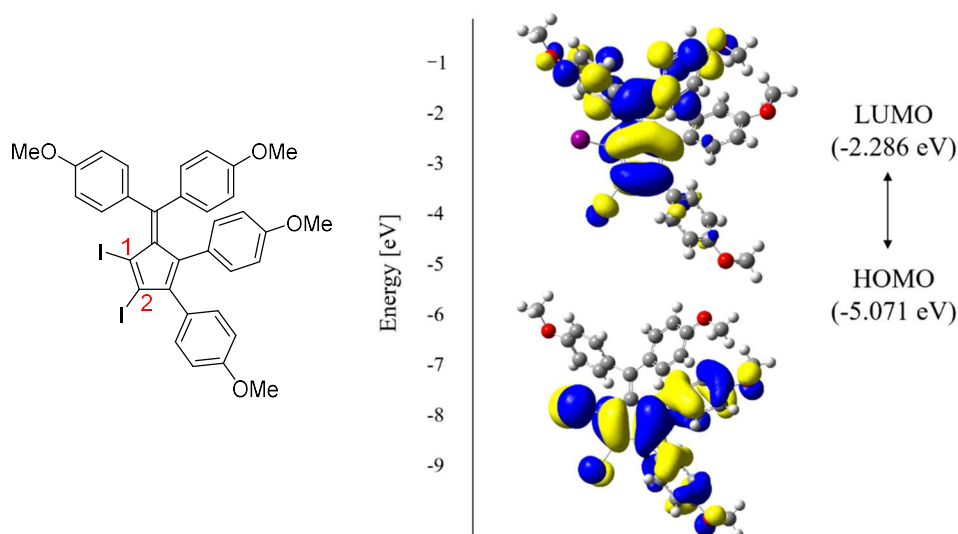
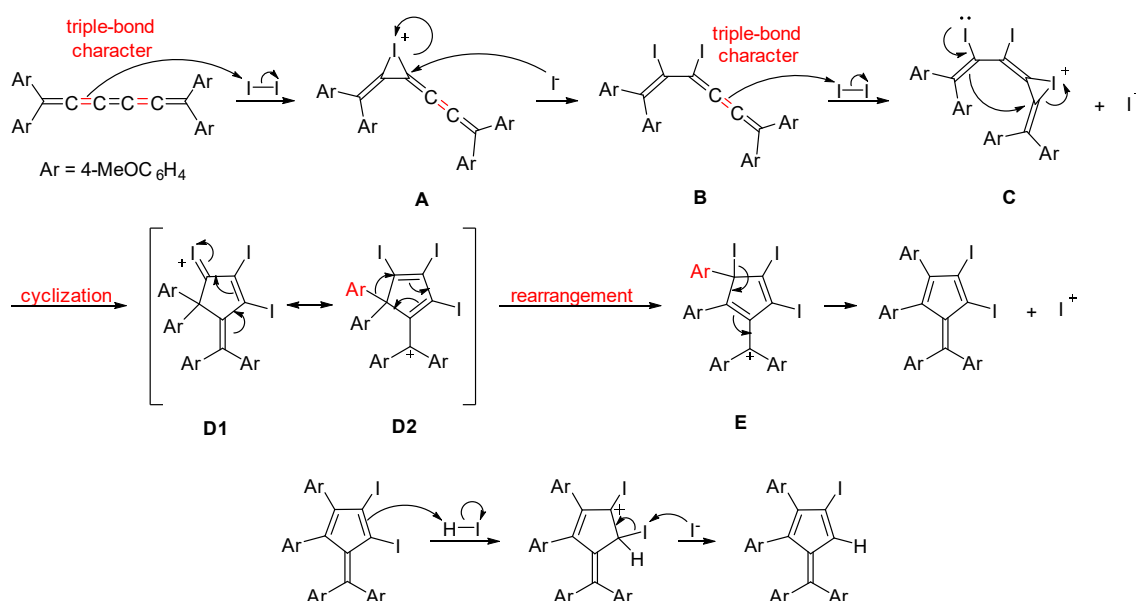


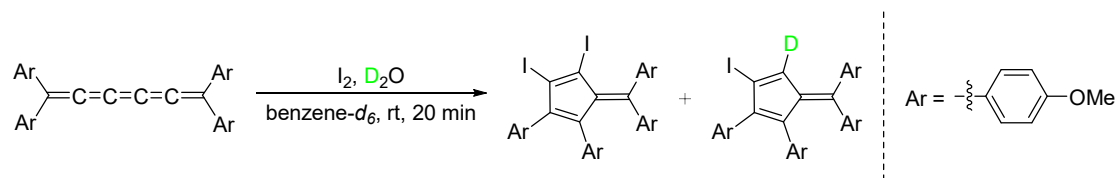
Figure 19. Results of DFT calculation of diiodide **5**

以上の結果より次のような[5]クムレン **4** の反応メカニズムを提案する (**Scheme 25**)。[5]クムレン **4** は BLA により、赤色で示した二重結合は三重結合性を帯びている。その二重結合にヨウ素が求電子付加を繰り返すことで **C** が生成、続く環化反応により **D1** へ、共鳴構造の **D2** でアリール基の転位が起こることによってジヨード **5** になると推定した。モノヨード **6** が生成する反応機構としては反応時間の増加とともにモノヨード **6** の割合が増加したことから、系中で発生したヨウ化水素によって反応が進行したと考えている。



Scheme 25. Reaction mechanism for iodocyclization of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

また、系中で生じるヨウ化水素の水素源は系中に存在する水由来であると推定した。そこで、系中に重水を入れた状態で[5]クムレン **4** のヨード環化反応を行った (Scheme 26)。



Scheme 26. Control experiment for iodocyclization of [5]cumulene **4** with D₂O as hydrogen source

反応は NMR チューブ中、溶媒に重ベンゼンを用い反応が終了次第 ¹H NMR 測定を行った。得た混合物のジヨード **5** 及びモノヨード **6** の ¹H NMR スペクトルを Figure 20 に示す。

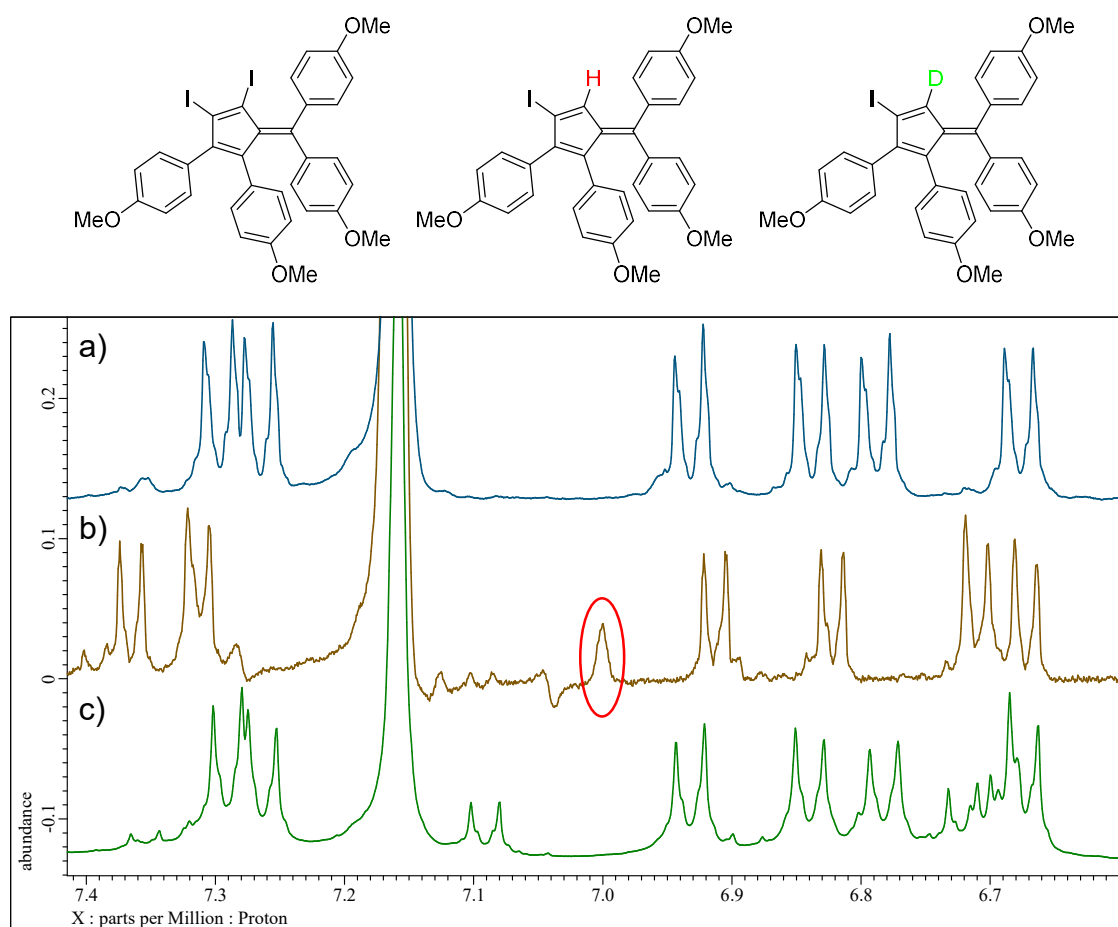


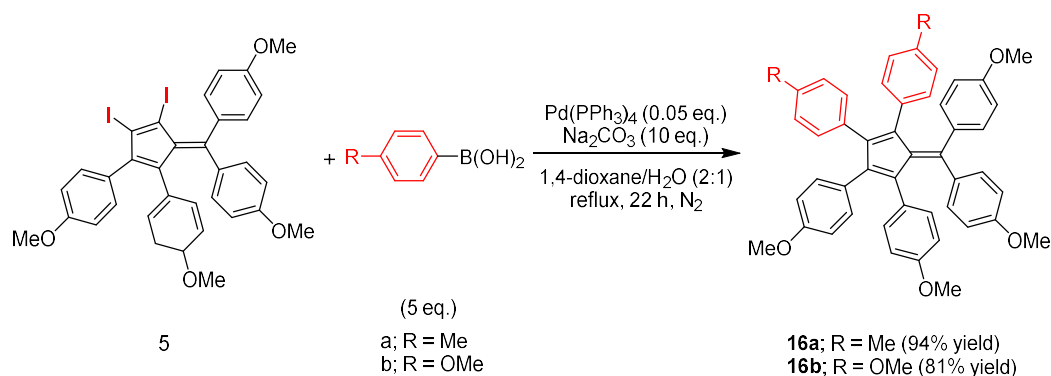
Figure 20. Comparison of ¹H NMR; a) product of Scheme 26, b) diiodo **5**, c) monoiodo **6**

Figure 20b ではフルベン環の 1 位に結合するプロトン由来の 7.0 ppm 付近にあるピークが観測できるものの Figure 20a では観測できない。この結果から、[5]クムレン **4** のヨード環化反応はジヨード **5** が生成した後系中のヨウ化水素によりモノヨード **6** へと変換し、そのヨウ化水素の水素源は系中水由来であることが明らかとなった。

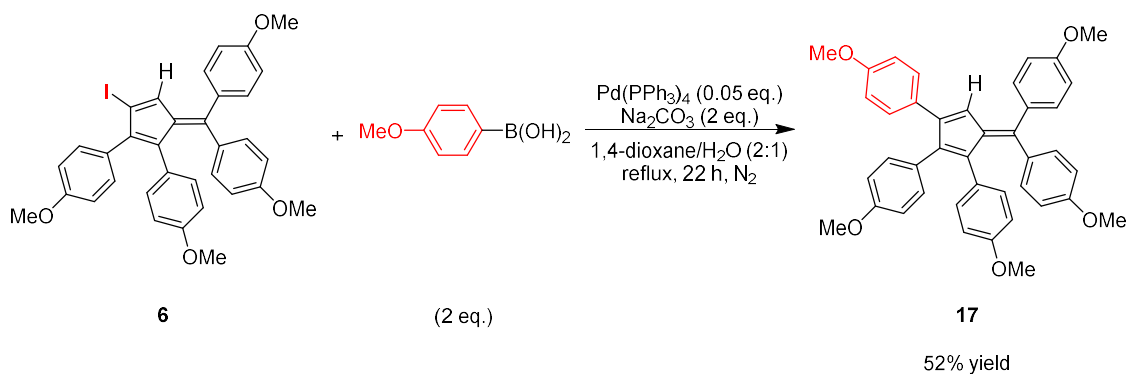
1.3.2.4. ヨード環化体のクロスカップリング反応検討

ジヨード **5** 及びモノヨード **6** はヨウ素部位を有しているためクロスカップリングのハロゲン化アリールとして利用可能か検討し、反応には Suzuki–Miyaura クロスカップリング反応を選択した (Scheme 27)。ジヨード **5** に対し 5 当量の対応するアリールボロン酸、触媒として 5 mol% の Pd(PPh₃)₄、塩基に炭酸ナトリウムを用い、1,4-ジオキサン:水=2:1 で 100 °C、窒素雰囲気下で 22 時間攪拌した。その結果、フルベン **16a** を 94%、フルベン **16b** を 81% の収率で得た (Scheme 27a)。またモノヨード **6** に対しても同様の実験を行い、フルベン **17** を 52% の収率で得た (Scheme 27b)。以上の結果よりヨード環化体はヨウ化アリールとして利用することが可能であり、多様な多置換フルベン類を合成可能であることが明らかになった。

a) Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction of diiodo **5**



b) Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction of monoiodo **6**



Scheme 27. Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction of fulvene **5** and fulvene **6**

合成したフルベン **16b**, **17** は再結晶により単結晶が得られたため、単結晶 X 線構造解析を行った (Figure 21)。いずれのフルベンもすべてのアリール基はフルベン骨格に対して立体障害を避けるようにねじれていることがわかった。

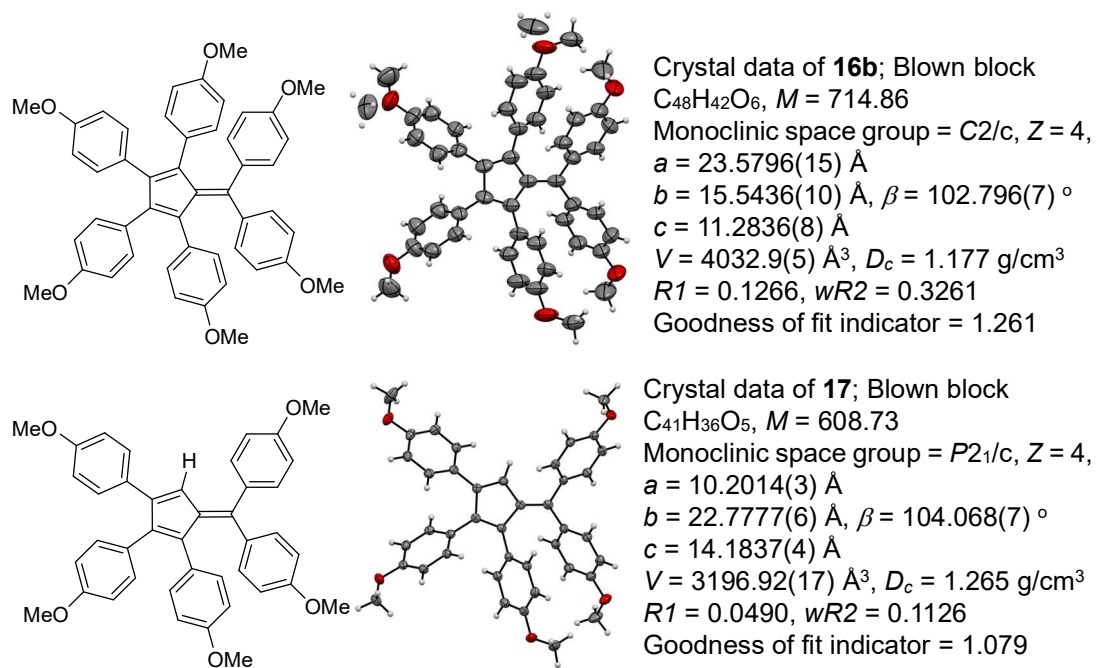


Figure 21. Crystal data of fulvene **16a** and fulvene **17**

1.3.3. 結論

本項では[5]クムレン **4** と I_2 または NIS を用いたヨード環化反応を検討した。NIS ではジヨード **5** のみが得られ、ヨウ素ではジヨード **5** とモノヨード **6** の混合物を得た。条件最適化では反応時間と溶媒、温度の検討を行った。反応時間の検討では、時間の増加に伴い収率が向上し 30 分以降全体の収率が下がると同時にジヨード **5** が減り、モノヨード **6** が増えた。溶媒の検討では、高極性溶媒より低極性溶媒の方が高収率となることが明らかとなり、温度は室温が最適であった。

フルベン骨格構築の反応機構解明のため対照実験を行った。その結果、ブレンステッド酸としてヨウ化水素を加えるとヨウ素部位がプロトネーションされることが分かった。そのため、本反応はヨウ素源によるヨード環化によりジヨード **5** が生成、系中で発生したヨウ化水素によりジヨード **5** がプロトネーションされモノヨード **6** となると考えている。

本反応により得られるフルベン誘導体にはヨウ素部位があるため、クロスカップリングのハロゲン化アリアルとして利用可能か検討した。カップリング反応には Suzuki-Miyaura クロスカップリング反応を選択したところ、反応は効率よく進行し、対応するペンタ及びヘキサアリアルフルベンが得られた。

[5]クムレン **4** を原料としメタルフリー、室温、短時間という温和な条件かつ一段階でフルベン骨格を形成した。現在までフルベン骨格形成には高温や金属といった条件が必要不可欠であったため、本反応はフルベン骨格を有する化合物への研究を促進するものであると考えている。

1.3.4. Experimental section

1.3.4.1. Experiment equipments

¹H NMR, ¹³C NMR : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis spectrophotometer : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectrophotometer : RF-1500 (SHIMADZU)

PL quantum yield spectrometer : Quantaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime spectrometer : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Single crystal X-ray diffractometer : R-AXIS RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Low temperature baths : PSL-1820 (EYELA)

Automated flash chromatography : Isolera One (Biotage)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

Silica gel column chromatography

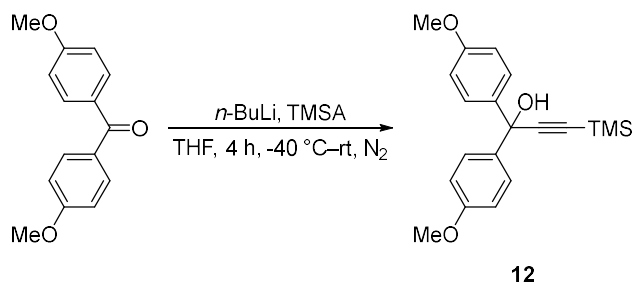
Silica gel : Silica Gel 60 N (spherical, neutral) 63-210 mm (KANTO CHEMICAL)

TLC plate : TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

1.3.4.2. Synthesis

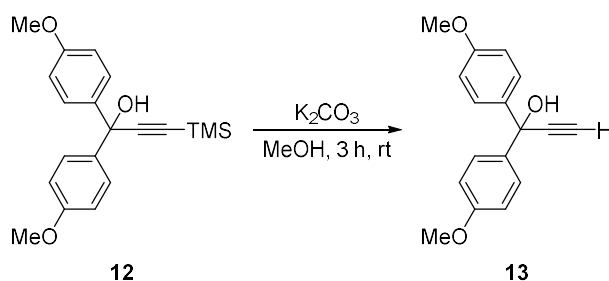
1.3.4.2.1. Iodocyclization of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-ol (**12**)



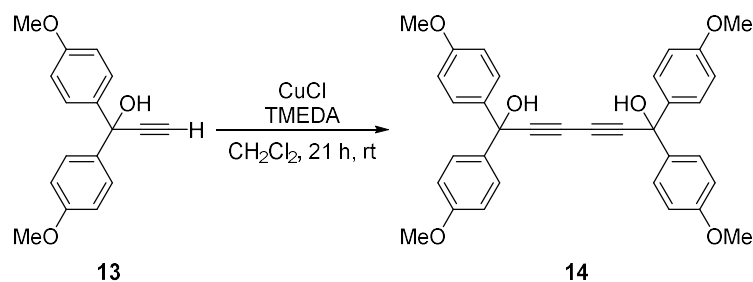
Trimethylsilylacetylene (47 mmol) in THF (30 mL) was cooled at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ under nitrogen atmosphere, and *n*-BuLi (17 mmol of a 1.55 M solution in *n*-hexane) was slowly added to the mixture. After 4,4'-dimethoxybenzophenone (10 mmol) was added to the mixture, the mixture was stirred for 3 hours at room temperature. The reaction mixture was quenched by saturated NH_4Cl aq. and extracted with diethyl ether. The combined organic layer was washed by brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The desired alcohol **12** was separated quantitative.

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)prop-2-yn-1-ol (**13**)



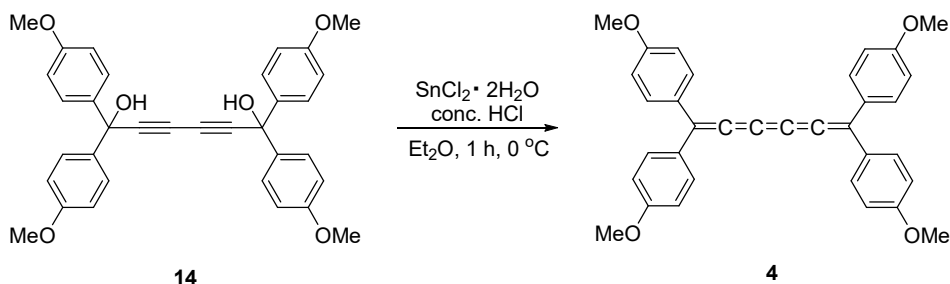
To a methanol (38 mL) containing alcohol **12** (15 mmol) was added and K_2CO_3 (15 mmol), and the mixture was stirred for 3 hours at room temperature. The reaction mixture was quenched by saturated NH_4Cl aq. and extracted with dichloromethane. The combined organic layer was washed by brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The desired alcohol **13** was separated in 97% yield.

1,1,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)hexa-2,4-diyne-1,6-diol (**13**)



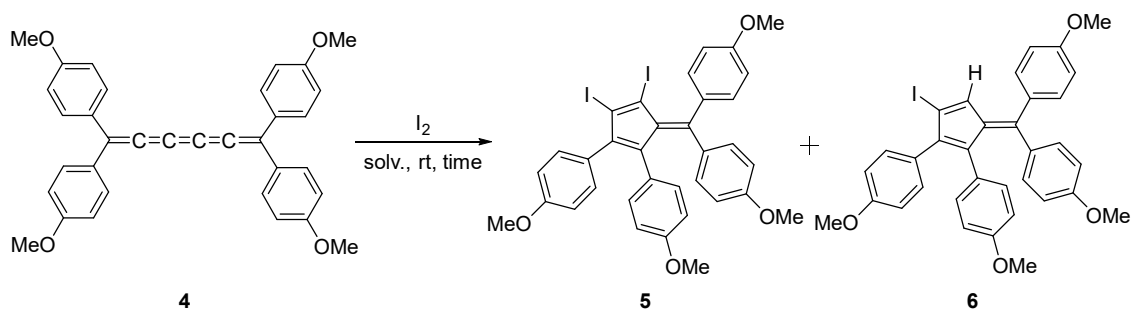
To a 40 mL of dichloromethane solution containing alcohol **13** (8.82 mmol) were added CuCl (8.82 mmol) and tetramethylethylenediamine (17.64 mmol), and the mixture was stirred for 21 hours at room temperature. The resulting mixture was quenched by saturated NH_4Cl and extracted with dichloromethane. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane as eluents, and diol **14** (4.68 mmol) was isolated in 53% yield.

1,1,6,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)hexa-1,2,3,4,5-pentaene (**4**)



To a 11 mL diethyl ether containing diol **14** (1.20 mmol) were added $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.60 mmol) and conc. HCl (3.4 mL), and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. The resulting red suspension was filtered under reduced pressure with water and ethanol. [5]Cumulene **4** (0.92 mmol) was obtained in 77% yield without further purification.

General procedure for reaction of [5]cumulene with iodine

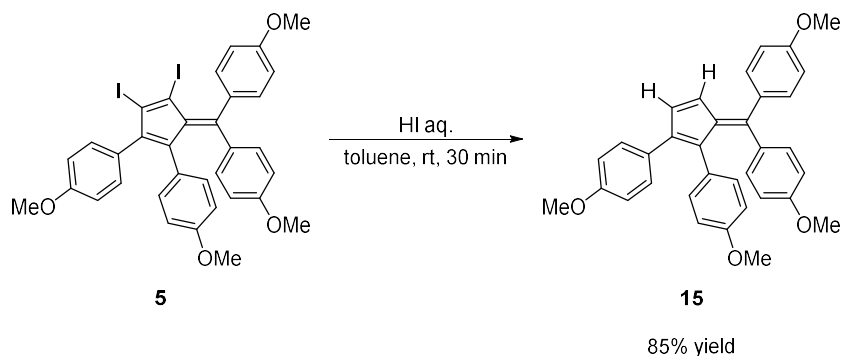


To a 5 mL solution containing [5]cumulene **4** (0.15 mmol) was added iodine (0.45 mmol), and the mixture was stirred for 30 minutes at room temperature. The resulting mixture was quenched by saturated Na₂S₂O₃ and extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed by brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane as eluents, and 3,4-diiodo-1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**5**) and 3-iodo-1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**6**) were separated. These results are shown in **Table 12**.

1.3.4.2.2. Control experiment

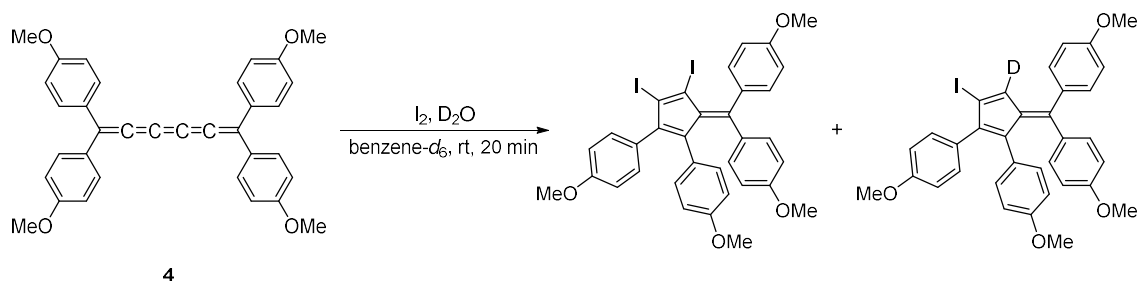
Control experiment using diiodo (Condition C)

1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**15**)



To a 6 mL toluene solution containing fulvene **5** (0.03 mmol) was added hydroiodic acid (0.6 mmol), and the mixture was stirred for 30 min at room temperature. The resulting mixture was quenched by saturated $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using chloroform as an eluent, and fulvene **15** was separated in 85% yield.

Control experiment using D_2O

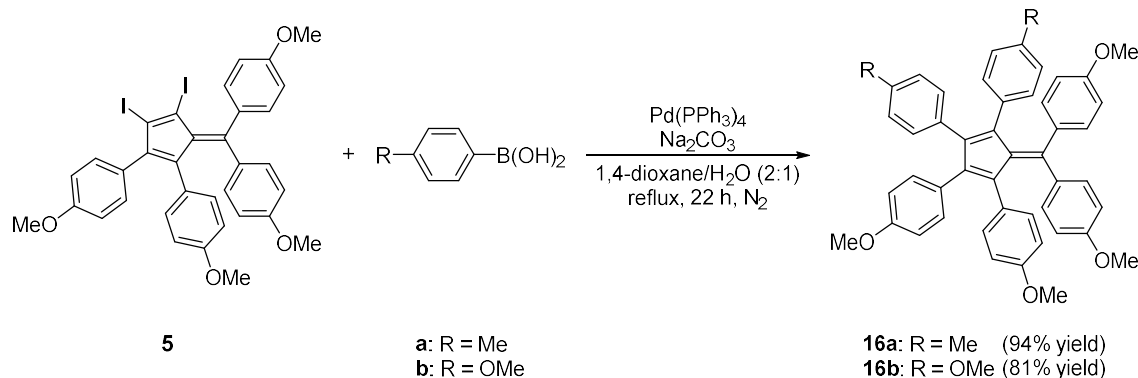


To a benzene- d_6 (0.5 mL) was added [5]cumulene **4** (0.015 g, 0.03 mmol), iodine (0.012 g, 0.09 mmol), and D_2O (0.013 g, 0.66 mmol) in NMR tube, the mixture was stirred for 20 minutes at room temperature. Then, the resulting mixture was measured by ^1H NMR. The result was shown in **Figure 20**.

1.3.4.2.3. Suzuki–Miyaura cross-coupling of fulvenes

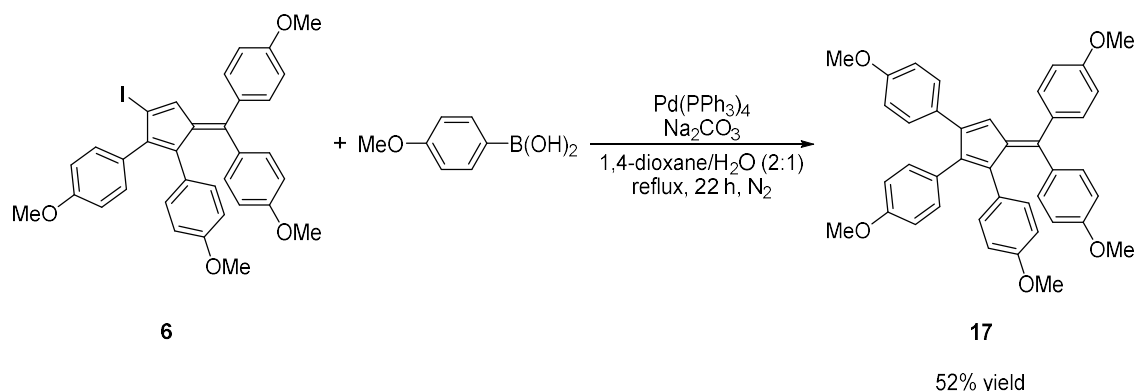
1,2,3,4,6,6-hexakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**16a**)

1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)-3,4-bis(4-methylphenyl)fulvene (**16b**)



To a 21 mL mixed solution (1,4-dioxane/ H_2O = 2/1) containing fulvene **5** (0.04 mmol) and 4-methoxyphenylboronic acid (0.20 mmol) were added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (5 mol%) and Na_2CO_3 (0.5 mmol), and the mixture was stirred for 22 hours under reflux. The resulting mixture was poured into water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane as eluents, and the fulvene **16** was separated in given yield.

1,2,3,6,6-pentakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**17**)



To a 21 mL mixed solution (1,4-dioxane/ H_2O = 2/1) containing fulvene **6** (0.04 mmol) and 4-methoxyphenylboronic acid (0.20 mmol) were added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (5 mol%) and Na_2CO_3 (0.4 mmol), and the mixture was stirred for 22 hours under reflux. The resulting mixture was poured into water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over $MgSO_4$,

filtered, and concentrated *in vacuo*. Then, the residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane as eluents, and the fulvene **17** was separated in 52% yield.

1.3.5. Spectral data

1.3.5.1. Iodocyclization of tetrakis(4-methoxyphenyl)[5]cumulene

[5]cumulene **4** and its precursors

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-ol (**12**):

Colorless solid; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.22$ (s, 9H), 2.68 (s, 1H), 3.79 (s, 6H), 6.84 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 7.49 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H).

1,1-Bis(4-methoxyphenyl)prop-2-yn-1-ol (**13**):

Colorless solid; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.70$ (s, 1H), 2.86 (s, 1H), 3.79 (s, 6H), 6.86 (d, $J = 15$ Hz, 4H), 7.50 (d, $J = 15$ Hz, 4H).

1,1,6,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)hexa-2,4-diyne-1,6-diol (**14**):

Yellow oil; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.86$ (s, 2H), 3.78 (s, 12H), 6.84 (d, $J = 9.1$ Hz, 8H), 7.44 (d, $J = 9.1$ Hz, 8H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 55.3, 70.9, 74.2, 83.0, 113.6, 127.4, 136.4, 159.2$; HRMS (APCI) m/z calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{-OH}$ 517.2010, found 517.1998.

1,1,6,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)hexa-1,2,3,4,5-pentaene (**4**):

Red solid; mp 260.0–262.0 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 3.86$ (s, 12H), 6.92 (d, $J = 9.2$ Hz, 8H), 7.51 (d, $J = 9.2$ Hz, 8H); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_4$ 500.1982, found 500.1974.

Fulvenes

3,4-Diiodo-1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**5**):

Red solid; mp 100.0–101.0 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 3.57$ (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 6.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.41 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.52 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 55.00, 55.01, 55.2, 55.5, 93.2, 112.5, 112.6, 112.8, 113.8, 115.8, 128.9, 129.8, 131.6, 132.0, 133.4, 134.2, 136.1, 136.2, 136.5, 143.1, 144.9, 156.7, 158.4, 158.5, 161.3, 162.2$; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{I}_2\text{+H}$ 755.0150, found 755.0134.

3-Iodo-1,2,6,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (**6**):

Red solid; mp 135.0–136.0 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 3.61$ (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.89

(s, 3H), 6.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.38 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.54 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.70 (s, 1H), 6.77 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.93 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta = 55.00, 55.04, 55.1, 55.4, 95.1, 112.5, 112.6, 112.8, 113.2, 128.66, 128.74, 131.78, 131.84, 131.9, 132.3, 134.4, 134.5, 135.01, 135.05, 141.6, 143.3, 154.2, 156.8, 158.3, 160.3, 160.8$; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{O}_4\text{I}+\text{H}$ 629.1183, found 629.1170.

1,2,6,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)fulvene (15):

brown solid; mp 175.0–176.0 °C; ^1H NMR (CDCl_3): $\delta = 3.667$ (s, 3H), 3.670 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 6.31 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.34–6.41 (m, 4H), 6.68 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.71–6.73 (m, 3H), 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta = 55.07, 55.09, 55.3, 112.3, 112.97, 113.03, 113.2, 127.5, 129.5, 129.9, 129.95, 129.98, 130.7, 131.9, 132.3, 134.0, 134.2, 135.6, 142.3, 142.9, 153.7, 156.9, 158.1, 159.7, 160.4$; HRMS (ECI) m/z calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{O}_4+\text{Na}$ 525.2036, found 525.2037.

1,2,6,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)-3,4-bis(4-methylphenyl)fulvene (16a):

Black solid; ^1H NMR (CDCl_3): $\delta = 2.09$ (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.66–3.66 (m, 6H), 3.70 (s, 3H), 6.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.36 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.53–6.62 (m, 12H), 6.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.93–6.96 (m, 4H).

TOF-MS (ESI) m/z Calcd M^+ for $\text{C}_{48}\text{H}_{36}\text{O}_5$ 683.3161, Found 683.3180.

1,2,3,4,6,6-Hexakis(4-methoxyphenyl)fulvene (16b):

Brown solid; mp 224.0–225.0 °C; ^1H NMR (CDCl_3): $\delta = 3.63$ (s, 6H), 3.66 (s, 6H), 3.71 (s, 6H), 6.30 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 6.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H), 6.53–6.63 (m, 12H), 6.94 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta = 54.9, 55.0, 55.1, 112.29, 112.34, 112.6, 128.7, 130.5, 132.1, 132.3, 133.6, 134.6, 135.2, 141.9, 142.1, 154.8, 156.2, 157.3, 160.1$; HRMS (APCI) m/z calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{O}_6+\text{H}$ 715.3054, found 715.3040.

1,2,3,6,6-Pentakis(4-methoxyphenyl)fulvene (17):

Brown solid; mp 223.0–224.0 °C; ^1H NMR (CDCl_3): $\delta = 3.63$ (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 6.32 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.36 (s, 1H), 6.38 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.59 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.65 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.72 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.85 (d, J

= 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.02 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta = 54.986, 54.990, 55.09, 55.13, 55.3, 112.2, 112.5, 112.7, 113.0, 113.1, 123.4, 128.8, 129.3, 129.5, 129.7, 131.8, 132.0, 132.6, 133.4, 134.0, 134.2, 135.7, 141.0, 143.1, 143.3, 152.9, 156.5, 157.8, 158.3, 159.7, 160.3$; HRMS (APCI) m/z calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{36}\text{O}_5 + \text{H}$ 609.2636, found 609.2617.

1.3.6. Reference

- [1] S. Yoshizaki, Y. Shibata, and K. Tanaka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 3590–3593.
- [2] Y. B. Dong, Y. Geng, J. P. Ma, and R. Q. Huang, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 1693–1703.
- [3] S. Schraff, Y. Sun, and F. Pammer, *Macromolecules* **2018**, *51*, 5323–5335.
- [4] A. D. Finke and F. Diederich, *Chem. Rec.* **2015**, *15*, 19–30.
- [5] M. Iyoda, A. Mizusuna, and M. Oda, *Chem. Lett.* **1988**, *17*, 149–152.
- [6] K. Hoshi, M. Yasuda, T. Nakamura, Y. Yoshida, S. Ueta, K. Minagawa, Y. Kawamura, Y. Imada, and F. Yagishita, *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 7594–7597.
- [7] J. L. Marshall, D. Lehnerr, B. D. Lindner, and R. R. Tykwinski, *Chempluschem* **2017**, *82*, 967–1001.
- [8] S. N. Spisak, M. U. Bühringer, Z. Wei, Z. Zhou, and R. R. Tykwinski, M. A. Petrukhina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2023–2028.
- [9] I. Garkusha, J. Fulara, A. Nagy, and J. P. Maier, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14979–14985.
- [10] S. Haberland, A. D. Finke, N. Kerisit, C. Katan, Y. Trolez, P. Gawel, I. Leito, M. Lökov, R. Järviste, K. Kaupmees, N. Trapp, L. Ruhlmann, C. Boudon, D. Himmel, and F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 739–749.

第二章 多光子吸収能を示すピリジン誘導体の生物活性評価

2. 緒言

含窒素芳香族複素環は DNA などの生体分子にも遍在しており、医薬品や農薬合成においても重要な役割を持つ。その中でもピリジンは多くの生物活性分子に含まれる骨格であり、ビタミン B₃ として知られる nicotinic acid^[1] や除草剤として知られる paraquat^[2], 生体分子として知られる NAD (nicotinamide adenine dinucleotide)^[3] はいずれも分子内にピリジン骨格を持つ (Figure 22)。

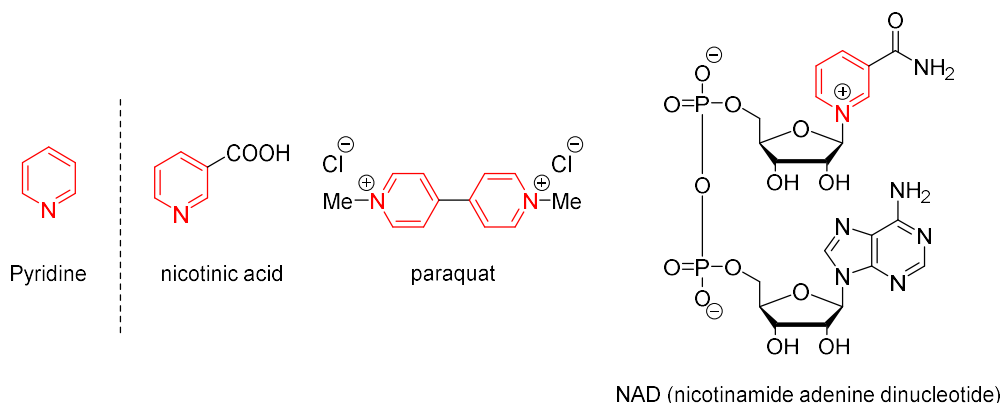


Figure 22. Examples of nitrogen-containing heterocyclic aromatic compounds

ピリジン骨格は paraquat や NAD のように第四級アンモニウム塩 (ピリジニウム塩) の形で用いられることもあり、塩にすることで水溶性が大幅に向上する。ピリジニウム塩は Menshutkin 反応などにより合成され、有用性は現在までに数多く報告されてきた。^[4-6] 当研究室でも以前より含窒素芳香族複素環の研究を行っており、イミダゾ[1,5-*a*]ピリジン誘導体が HeLa 細胞のエンドサイトーシスマーカーや光線力学療法薬剤候補として応用可能であることを報告している (Figure 23a, Figure 24)。^[7,8] 二量体構造を有する 1,1'-diphenyl-3,3'-bisimidazo[1,5-*a*]pyridine はバイオイメージングに用いる蛍光発光性物質として有用であることに加え DNA 損傷活性も有していた (Figure 24)。さらに、HeLa 細胞 (ヒト子宮頸がん細胞) を用いた細胞傷害性試験では光照射の有無により細胞生存率に有意な差を確認し光線力学療法 (PDT: Photodynamic therapy) 薬剤としての応用が期待できることを報告している (Figure 24)。^[8] また、構造異性体であるイミダゾ[1,2-*a*]ピリジン誘導体が多光子励起により HeLa 細胞のミトコンドリアイメージング剤として機能することも報告している (Figure 23b)。^[9] これらの結果は当研究室で取り扱う含窒素芳香族複素環化合物が医療応用を志向した光機能性分子として有用性があることを示唆している。

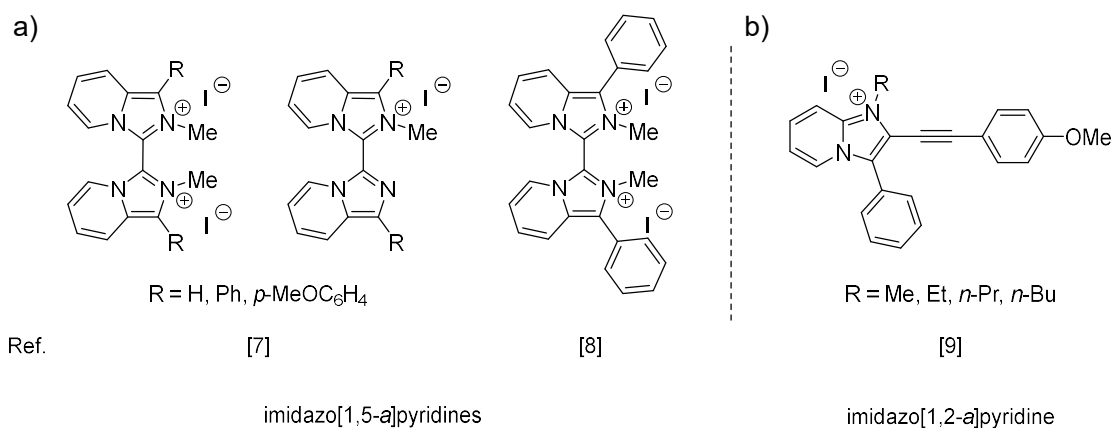


Figure 23. Reported nitrogen-containing heterocyclic aromatic compounds in our laboratory

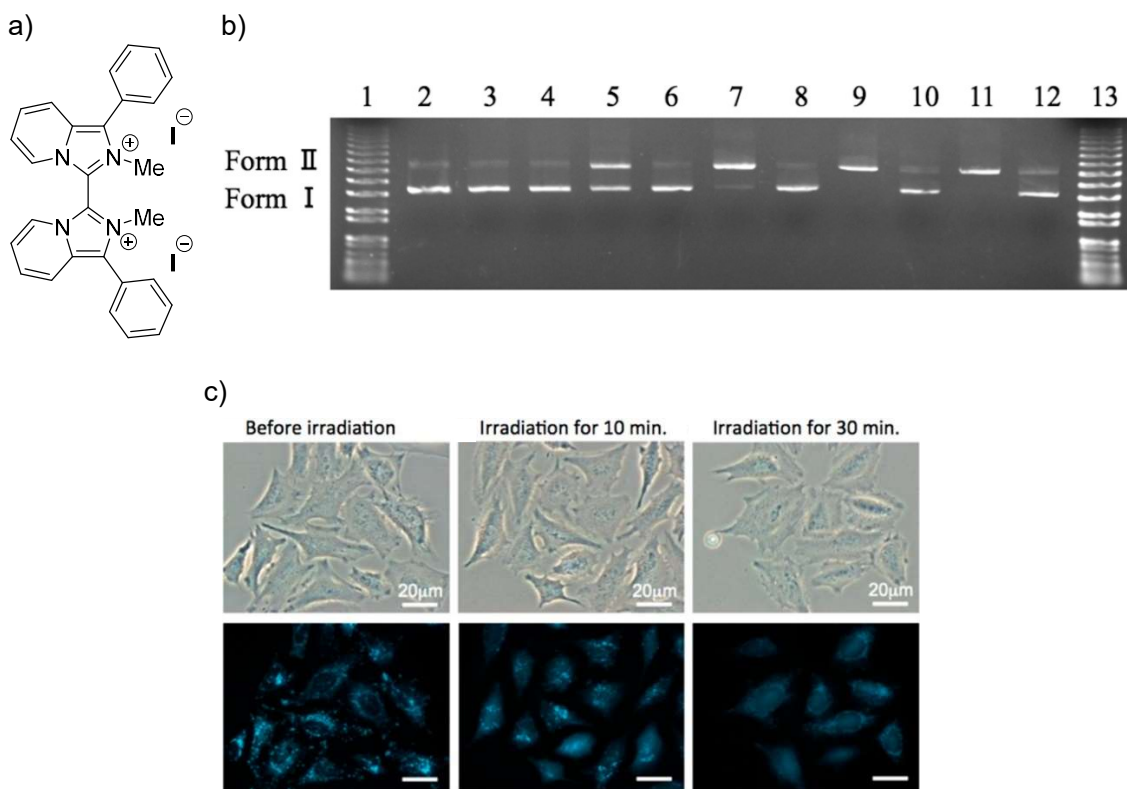


Figure 24. a) 1,1'-Diphenyl-3,3'-bisimidazo[1,5-*a*]pyridine, b) DNA photocleaving ability of the compound, and c) observation of cell damage depending on the UVA-LED irradiation time

近年、PDTが注目されている。これは腫瘍に集積した光増感剤にレーザー光を照射し、発生した活性酸素種（ROS: reactive oxygen species）によって腫瘍細胞を死滅させ、体を傷つけることなく病巣を取り除く非侵襲的腫瘍治療法である。PDTに向けた増感剤の設計指針としては高いROS生成効率の実現と目的腫瘍組織への集積があり、高いROS生成効率の実現に向けては重原子を導入するという方法がある。重原子を導入することでスピン-軌道相互

作用により一重項と三重項の mixing が起こり、励起一重項状態から励起三重項状態への遷移の項間交差が起こりやすくなるからである。しかしながら、重原子を含む分子はしばしば暗毒性を引き起こすことから、光増感剤に重原子を導入することは生体利用を目指す分子としては好ましい方法であるとはいえない。重原子を含まないが効率よく項間交差する分子として、カルボニル基をチオカルボニル基にすることで最低励起一重項状態と最低励起三重項状態のエネルギーギャップを減少させ、効率よく項間交差を行う分子が設計、合成されている (Figure 25a)。^[13]また、重原子フリーでの高い ROS 生成効率を示す化合物の一つとして BODIPY の研究が行われている。BODIPY 誘導体内にドナー・アクセプター構造を内包させることで励起一重項と励起三重項のエネルギーギャップを減少、一重項酸素を効率よく生成しようというものである。この研究では重原子を含まない条件で一重項酸素生成効率が最大 0.872 と報告されており、ドナー・アクセプター構造が ROS 生成に有効な分子設計であることが考えられる (Figure 25b)。^[14]

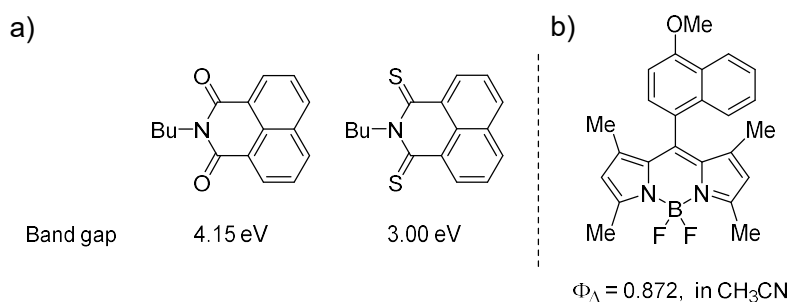


Figure 25. Heavy-atom-free compounds showing high generation efficiency of ROS

また、PDT で問題となるのは光増感剤を励起する光の細胞透過性である。通常の光増感剤は 700 nm 以下の紫外可視領域での励起であるが、その波長の光は細胞透過性に優れず、治療は表面的な腫瘍に限定されてしまう。^[11] 紫外可視光領域の光の損失は主に短波長ほど強い光散乱と、2000 nm 以上の波長域にピークを持つ分子振動による赤外吸収の裾によってもたらされ、1000–1700 nm の近赤外波長域で谷を形成する。この光透過性の高い波長域は古くから「生体の窓」として知られている。「生体の窓」は細胞透過性が高いため、開腹や内視鏡などにより患部近くに光源を用意する必要が低下、生体応用を考えた際に患者への負担が少ない治療法となる事が考えられる。この「生体の窓」を利用すべく注目されているのが多光子励起である。

多光子励起とは通常の一光子励起ではなく、同じ励起状態に到達するために複数の光子を吸収して励起する現象である。例えば、通常の一光子吸収では 1 つの分子が 1 つの光子を

吸収して励起状態に至るが、二光子吸収する分子は1つの分子が2つの光子を吸収して励起状態に至る。同じ励起状態に上がるとすると、一光子吸収する分子に比べ二光子吸収する分子は半分のエネルギーの光で励起することができる (Figure 26)。

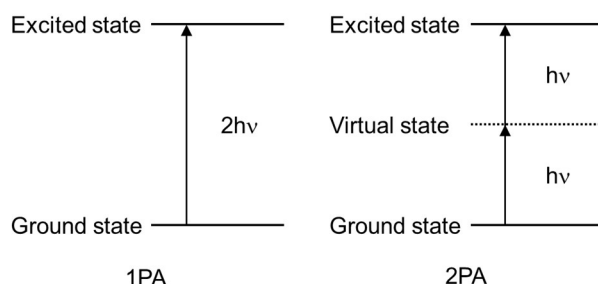


Figure 26. Schematic description of an elementary multiphoton-induced molecular transition process. Solid lines represent real eigen states; dashed lines represent intermediate states.

しかし、通常は二光子吸収による励起は一光子吸収に比べほとんど起こらない。この理由は、Figure 26 に示す二光子吸収において1つの光子を吸収した段階で経由する仮想状態 (Virtual state) と呼ばれる状態の寿命が極めて短いことが原因である。励起状態 (Excited state) に至るには仮想状態から基底状態 (Ground state) に緩和される前にもう一つの光子を吸収する必要があるため、仮想状態の寿命が短いと効率的に二光子目を吸収することが難しい。このプロセスを効率よく進めるために現在用いられている手法は、パルス幅の短いフェムト秒レーザーを光源とすることである。光源にフェムト秒レーザーを用いることで焦点部分の光子密度が高くなり、仮想状態から基底状態に緩和する前に二光子目を吸収できる。

二光子吸収断面積 (δ) は二光子吸収能の高さを表すもので、単位は $\text{GM} (1 \text{ GM} = 10^{-50} \text{ cm}^4 \text{ s photons}^{-1})$ である。二光子吸収効率は分子の構造にも左右され、これまでの研究により高い二光子吸収能を備えた分子の持ついくつかの特徴が報告されている。^[12,13] その特徴としては対称性や平面性を持つことが挙げられるが、特に重要となるのが (I) ドナー・アクセプターによる Push-Pull 効果及び (II) 拡張した π 共役系を兼ね備えた構造を持つことである。

(I) ドナー・アクセプターによる Push-Pull 効果：二光子吸収能は電子構造および光物理過程の観点から分子内電荷移動 (ICT: intramolecular charge transfer) 過程と密接に関係している。^[13] ICT はドナー (D)・アクセプター (A) となる置換基導入に基づく Push-Pull 効果により起こりやすくなることが知られている。ICT する分子とその δ の大きさの関係は様々な化合物で検証されており、Figure 27 に示すように *trans*-スチルベンにドナー・アクセプター

置換基を導入した化合物は δ が大幅に増加していることが報告されている。^[14]

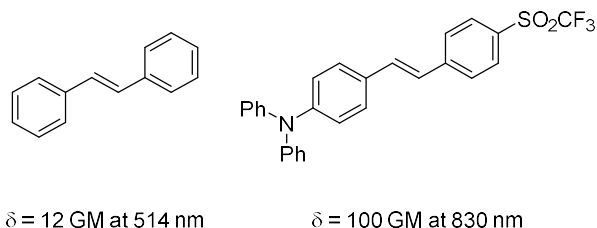


Figure 27. Difference in δ of *trans*-stilbene introducing D, A substituents

(II) π 共役系の拡張： π 共役系が拡張した形も分子内電荷移動を補助することで二光子吸収能を増加させる。**Figure 28** に示すように、ベンゼンは二光子吸収能を示さず、 $\delta = 0 \text{ GM}$ となっている。2つのベンゼン環が縮環したナフタレンは $\delta = 0.9 \text{ GM}$ であり、^[15] π 共役系の拡張によりわずかに二光子吸収能を示すようになる。さらに拡張された *trans*-スチルベンでは $\delta = 12 \text{ GM}$ と増大する。^[12]

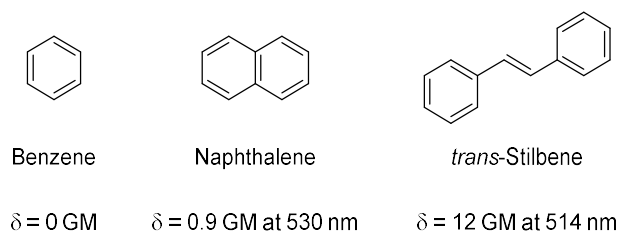


Figure 28. Increasing of δ by expanding π -conjugation

多光子励起可能な分子にはドナー部位とアクセプター部位に加え、その間を π ブリッジで繋ぐ必要があるとされている。^[10] 実際、D- π -A型^[16-18]やD- π -A- π -D型^[19-21]、A- π -D- π -A型^[22-24]分子が設計、合成され、その光物理的特性が報告されている。多光子吸収能を有する分子が発光性を示すとき Stokes シフトが大きくなる。Stokes シフトが小さいと励起光と観測光が被り、得られる画像の解像度が下がるが、Stokes シフトを大きくすることでその問題を解決し明瞭な画像が得られる。それ故、Stokes シフトが大きな蛍光色素はバイオイメージング剤として最適であると考えられている。

本章では、これまでに報告されてきた多光子吸収能を有する分子の特徴から新たな分子を設計した (**Figure 29**)。設計の詳細は各項で述べるが、ベンゾチアゾール部位をドナー、ピリジニウム部位をアクセプターとした D- π -A 型ピリジニウム塩 (**Figure 29a**)、ジエトキシフェニル部位をドナー、ピリジニウム部位をアクセプターとした A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩 (**Figure 29b**) を、イミダゾ[1,5-*a*]ピリジンをドナー、結合しているフェニル部位をアクセプターとした A-D-A 型ホウ素錯体 (**Figure 29c**) の合成、発光特性評価及び医療

応用の可能性について検討を行った。

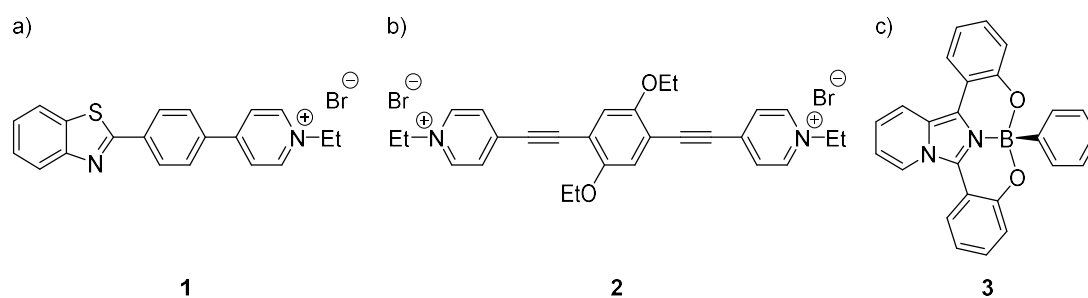


Figure 29. Designed compounds; a) D- π -A type benzothiazole **1**, b) A- π -D- π -A type pyridinium salt **2**, c) A-D-A type tridentate boron complex **3**

Reference

- [1] W. Gehring, *J. Cosmet. Dermatol.* **2004**, *3*, 88–93.
- [2] E. A. Lock and M. F. Wilks, *Hayes' Handb. Pestic. Toxicol.* **2010**, 1771–1827.
- [3] S. J. Lin and L. Guarente, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2003**, *15*, 241–246.
- [4] B. D. Fritz Kröhnke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 225–238.
- [5] P. Madaan and V. K. Tiyagi, *J. Oleo Sci.* **2008**, *57*, 197–215.
- [6] S. Sowmiah, J. M. S. S. Esperança, L. P. N. Rebelo, and C. A. M. Afonso, *Org. Chem. Front.* **2018**, *5*, 453–493.
- [7] F. Yagishita, C. Nii, Y. Tezuka, A. Tabata, H. Nagamune, N. Uemura, Y. Yoshida, T. Mino, M. Sakamoto, and Y. Kawamura, *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 1614–1619.
- [8] F. Yagishita, J. Tanigawa, C. Nii, A. Tabata, H. Nagamune, H. Takanari, Y. Imada, and Y. Kawamura, *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 1110–1114.
- [9] E. Hase, H. Takanari, K. Hoshi, M. Okamoto, A. Tabata, H. Nagamune, T. Minamikawa, T. Yasui, Y. Yoshida, K. Minagawa, Y. Kawamura, Y. Imada, and F. Yagishita, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 7571–7576.
- [10] G. S. He, L. S. Tan, Q. Zheng, and P. N. Prasad, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1245–1330.
- [11] J. Schmitt, V. Heitz, A. Sour, F. Bolze, H. Ftouni, J. F. Nicoud, L. Flamigni, and B. Ventura, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 171–175.
- [12] G. S. He, L. S. Tan, Q. Zheng, and P. N. Prasad, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1245–1330.
- [13] G. Bort, T. Gallavardin, D. Ogden, and P. I. Dalko, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4526–4537.
- [14] F. Terenziani, C. Sissa, and A. Painelli, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 5079–5087.
- [15] S. Z. Weisz, A. B. Zahlan, J. Gileath, R. C. Jarnagin, and M. Silver, *J. Chem. Phys.* **1964**, *41*, 3491.
- [16] Z. Liu, Q. Fang, D. Wang, G. Xue, W. Yu, Z. Shao, and M. Jiang, *Chem. Commun.* **2002**, *2*, 2900–2901.
- [17] S. Yao, K. J. Schafer-Hales, and K. D. Belfield, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5645–5648.
- [18] Y. Niko, Y. Cho, S. Kawauchi, and G. Konishi, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 36480–36484.
- [19] S. Kato, T. Matsumoto, T. Ishi-i, T. Thiemann, M. Shigeiwa, H. Gorohmaru, S. Maeda, Y. Yamashita, and S. Mataka, *Chem. Commun.* **2004**, 2342–2343.
- [20] E. Q. Guo, P. H. Ren, Y. L. Zhang, H. C. Zhang, and W. J. Yang, *Chem. Commun.* **2009**, 5859–5861.

- [21] V. Hrobáriková, P. Hrobárik, P. Gajdoš, I. Ftilis, M. Fakis, P. Persephonis, and P. Zahradník, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3053–3068.
- [22] P. Shao, B. Huang, L. Chen, Z. Liu, J. Qin, H. Gong, S. Ding, and Q. Wang, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 4502–4506.
- [23] Y. Wang, G. Lai, Z. Li, Y. Ma, Y. Shen, and C. Wang, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 2761–2767.
- [24] M. Santra, Y. W. Jun, J. Bae, S. Sarkar, W. Choi, D. T. Gryko, and K. H. Ahn, *Asian J. Org. Chem.* **2017**, *6*, 278–281.

2.1. 二光子及び三光子励起可能な D- π -A 型ベンゾチアゾール 1 によるアミロイド繊維の分解

2.1.1. 緒言

アルツハイマー病は認知機能障害と記憶力の低下を伴う進行性中枢神経変性疾患であり、予防法や根本的な治療法の開発が強く望まれており、その原因物質としてアミロイド β ($A\beta$) が知られている。 $A\beta$ は約 40 のアミノ酸残基からなるペプチドであり、分子間会合することで線維状凝集体 (アミロイド線維) となる。凝集した $A\beta$ は神経細胞に対して毒性を持ち、細胞死を引き起こすため、脳内で凝集することにより記憶や思考能力に障害を及ぼす。

アルツハイマー病は脳内での $A\beta$ の凝集・蓄積が発症の原因であることから、 $A\beta$ 凝集の抑制、または凝集した $A\beta$ を効率よく除去することがアルツハイマー病の根本治療戦略として考えられている。しかしながら生体内にはアミロイド型以外にも数多くの機能性タンパク質が存在し、アミロイドのみを選択的に分解することができなければオフターゲット効果による思わぬ副反応が起こることが考えられる。2016 年、Taniguchi らは含窒素芳香族複素環であるベンゾチアゾール骨格を有するチオフラビン系光増感剤 (Figure 30a) を用い、光照射によって $A\beta$ 病原性を弱めることを報告している。^[1] この増感剤は $A\beta$ 凝集体と選択的に反応する光プローブとして知られるチオフラビン T から着想を得ており (Figure 30b), target-sensing catalyst activation (TaSCAc) アプローチを用いて $A\beta$ 凝集体を選択的に分解している。

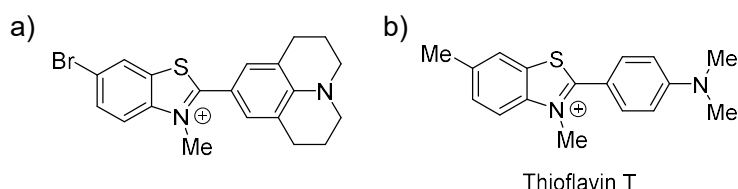


Figure 30. Benzothiazole derivatives behave to $A\beta$ fibrils

この報告で $A\beta$ 凝集体を分解する活性種は活性酸素種 (ROS) の一つである一重項酸素である。ベンゾチアゾール 1 は、単体では光照射により励起した後、分子回転や分子内電荷移動、無輻射失活などにより基底状態に戻る。しかしながら、 $A\beta$ のクロス β 構造の中に入ることによって軸回転が妨げられ、分子運動が抑制される。その結果、エネルギーの損失が抑えられ、励起一重項状態から励起三重項状態へ項間交差が促進される。その後の励起三重項状態から基底一重項状態への緩和プロセスの際に酸素分子 (三重項酸素) を一重項酸素へと変換する。このベンゾチアゾリウム塩の研究により、ROS が $A\beta$ 凝集体を分解することが示された。これはベンゾチアゾール骨格の持つアルツハイマー病治療薬としての有用性を示唆し

ている。

しかしながらベンゾチアゾールとピリジン、いずれの光照射反応も可視光域での検討であり臨床への応用の際には生体透過性の低さが懸念され、生体組織に適応するには近赤外光励起可能な薬剤候補物質の設計が必要である。

以上のことから、分子骨格に A β 凝集体への指向性が期待できるベンゾチアゾール骨格、生体組織応用を志向した近赤外光励起（二光子励起）可能な分子構造（D- π -A 型）及び水溶性とアクセプター性の向上を目的とした *N*-アルキル化ピリジニウム塩を組み合わせたベンゾチアゾール **1** を設計した（**Figure 31**）。

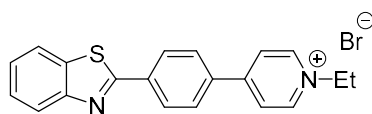


Figure 31. Designed benzothiazole **1** to degrade A β fibrils

2.1.2. 結果と考察

2.1.2.1. TDDFT 計算による ICT 性評価

D- π -A 型ベンゾチアゾール 1 の合成にあたり, DFT 計算を行い分子の電子状態を推定することで ICT を誘起可能か評価した。また, 時間依存密度汎関数理論 (TDDFT, Time-Dependent Density Functional Theory) 計算結果から励起過程での挙動を評価した。尚, すべての計算において基底関数/汎関数に B3LYP/6-31G (d,p)を用いた。

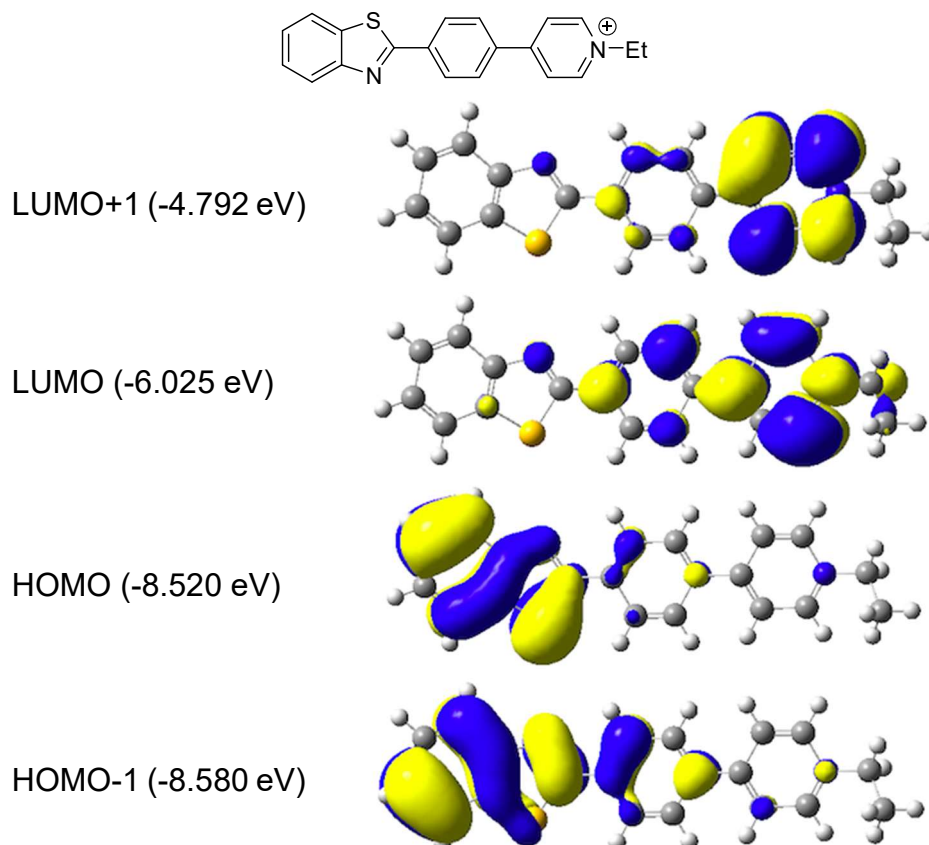


Figure 32. TDDFT calculation of D- π -A type benzothiazole 1

Table 13. Transition probability of benzothiazole 1 by TDDFT calculation

Transition	Oscillator strength (f)	E_g^a (eV)
HOMO \rightarrow LUMO	0.0270	2.50
HOMO-1 \rightarrow LUMO	0.3032	2.56
HOMO \rightarrow LUMO+1	0.0328	3.73

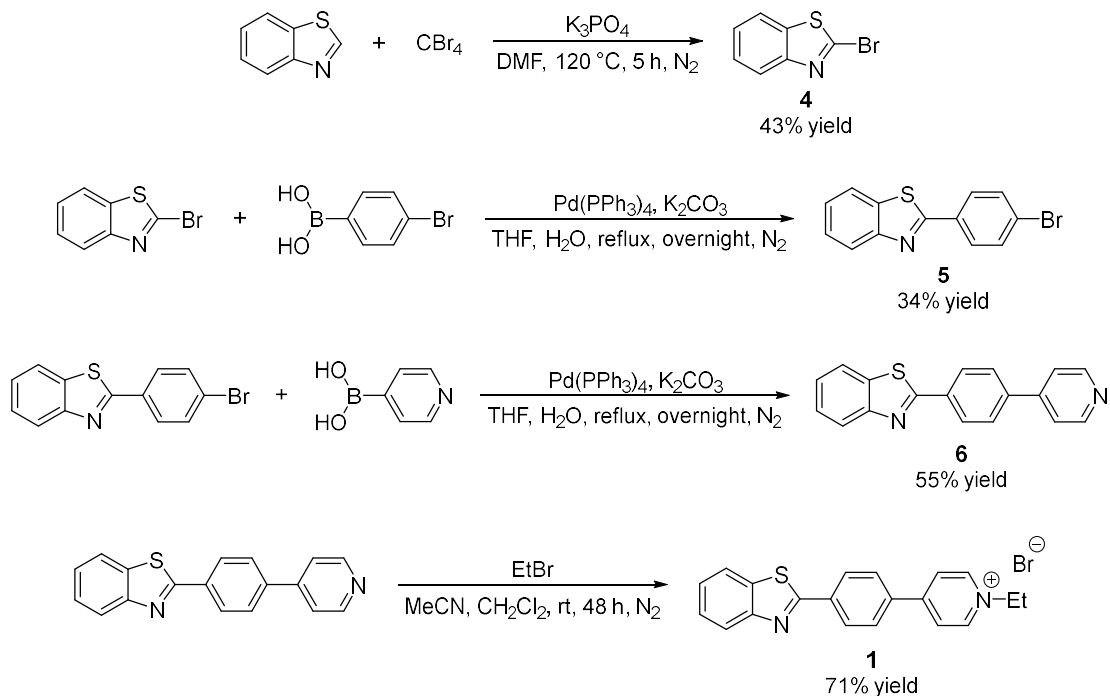
^aCalculated energy bandgap

計算の結果, LUMO+1 及び LUMO はピリジニウム部位に局在しており, HOMO 及び HOMO-1 はベンゾチアゾール部位に局在していた (Figure 32)。遷移の起こりやすさを示す

値である振動子強度 (Oscillator strength : f) とエネルギーギャップ (E_g) を **Table 13** に示す。**Figure 32** と **Table 13** より, 3つの遷移はいずれもドナー部位であるベンゾチアゾールからアクセプター部位であるピリジニウムへの電荷移動を伴い, 目的のベンゾチアゾール 1 は励起状態において ICT が誘起できることが示唆された。また, 高い ICT 性は多光子吸収能を示す分子にみられることから, 多光子吸収による励起も期待できる。

2.1.2.2. 合成

目的の D- π -A 型ベンゾチアゾール **1** を以下の経路で合成した。



Scheme 28. Synthesis of D- π -A type benzothiazole **1**

市販のベンゾチアゾールを DMF 中, CBr₄ により臭素化することでベンゾチアゾール **4** を収率 43% で得た。ベンゾチアゾール **4** と 4-bromophenylboronic acid を Suzuki-Miyaura クロスカップリング反応により収率 34% でベンゾチアゾール **5** を得た。ベンゾチアゾール **5** と 4-pyridylboronic acid を Suzuki-Miyaura クロスカップリング反応により収率 55% でベンゾチアゾール **6** を得た。最後にベンゾチアゾール **6** を EtBr によりエチル化することで目的のベンゾチアゾール **1** を収率 71% で得た。

2.1.2.3. 光学特性評価

- 吸収及び蛍光スペクトル

合成したベンゾチアゾール **1** 及び前駆体 **6** の吸収及び蛍光スペクトル測定を行い (Figure 33, Table 14) にまとめた。

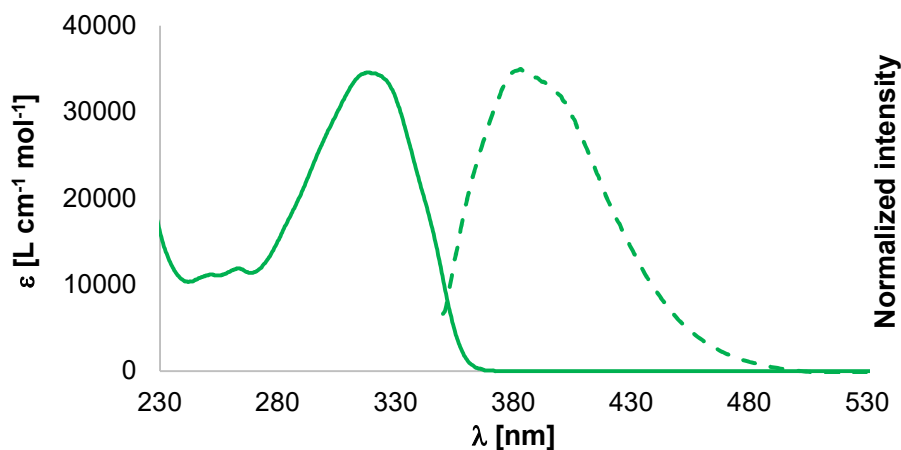


Figure 33. (solid) Absorption and (dashed) fluorescence spectra of precursor **6** in MeOH

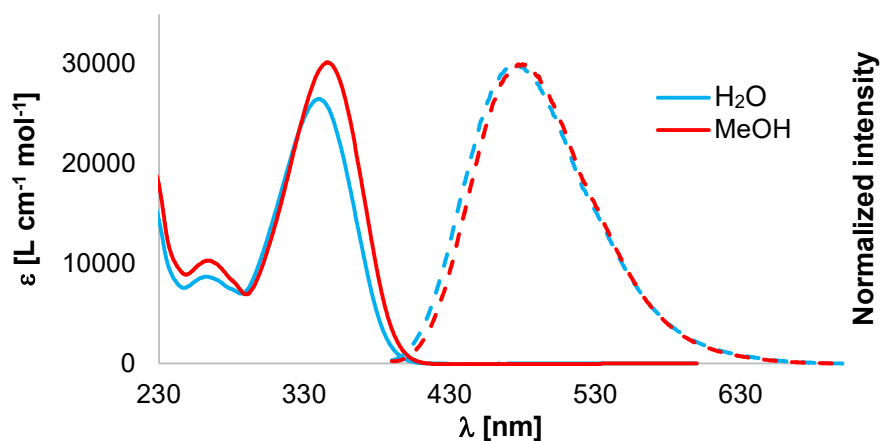


Figure 34. (solid) Absorption and (dashed) fluorescence spectra of benzothiazole **1**; (blue) in water, (red) in MeOH

Table 14. Data of spectra for precursor **6** and benzothiazole **1**

Compound	solvent	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	SS [nm]	Φ_{em}
6	MeOH	319	382	63	—
1	MeOH	346	480	134	0.41 (330) ^a
	H ₂ O	341	478	137	0.28 (330) ^a

^aExcitation wavelength.

両者のメタノール中でのスペクトルを比較すると、ベンゾチアゾール **1** は前駆体 **6** に対して吸収スペクトル、蛍光スペクトルともにレッドシフトが確認された。特に蛍光スペクトル

のレッドシフトが顕著に現れ、水中では吸収極大が 341 nm, 蛍光極大が 478 nm であったことから、ストークスシフトは 137 nm にまで達した。このことから、ピリジニウム塩へと変換することで ICT が効果的に誘起されたと考えられる。

次にベンゾチアゾール **1** の二光子吸収及び三光子吸収能を評価した。二光子吸収及び三光子吸収能はベンゾチアゾール **1** の水溶液 (1.0×10^{-3} mol/L) に 680 nm 及び 1023 nm のフェムト秒レーザー光を照射した後、蛍光顕微鏡を用いてベンゾチアゾール **1** の蛍光波長付近 (490 ± 30 nm) の蛍光シグナルを測定した。横軸にレーザー光源出力、縦軸に蛍光強度の両対数をとったグラフを **Figure 35** に示す。それぞれ傾きが 1.97 及び 2.87 であったことから化合物 **1** の蛍光シグナルは出力二乗依存性、三乗依存性を示し、二光子及び三光子吸収による蛍光発光が起こっていることが明らかとなった。

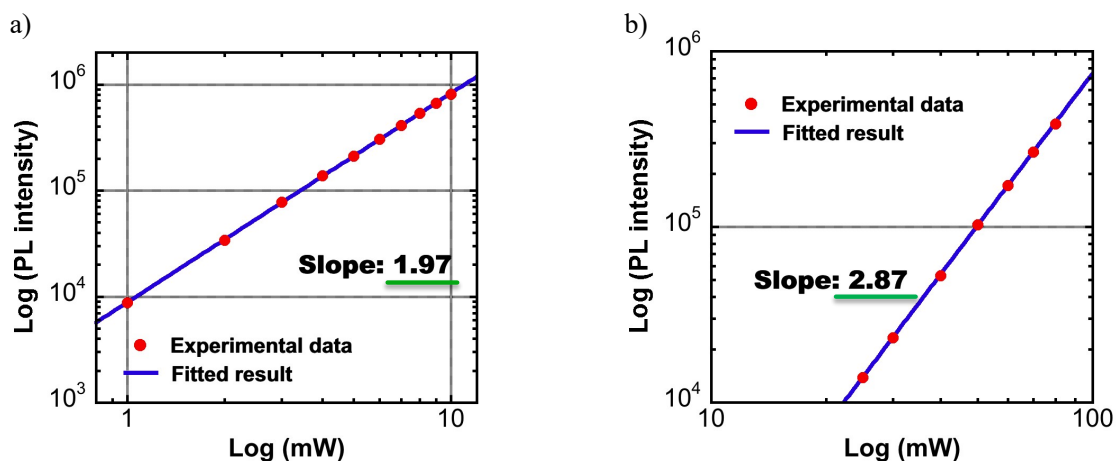


Figure 35. Log-log plot of fluorescence intensity of benzothiazole **1** vs. input laser power (a) at 800 nm, (b) at 1023 nm

2.1.2.4. A β 凝集体の分解効果検証

前述の DFT 計算及び吸収・発光スペクトルのレッドシフトよりベンゾチアゾール **1** は ICT しやすいことが示唆された。ICT しやすい分子は励起一重項と励起三重項のエネルギーの差が小さくなることで項間交差が促進され、一重項酸素を生成しやすいとの報告がある。^[2,3] 以上のことより、光増感剤となることを期待し A β 凝集体の光分解剤としての評価を行った。まず使用する A β 凝集体を調製した。40 μ M の A β_{42} ペプチド (Peptide Institute, Inc., Osaka, Japan) と THAM (tris(hydroxymethyl)aminomethane) を Tris-HCl バッファー (pH 8.0) 中、37 °C、5% の CO₂ 条件下で 1-2 日間培養して A β_{42} を凝集させ、使用するまでは 4 °C で保管した。終濃度 13.3 μ M の A β 凝集体と終濃度 66.7 μ M のベンゾチアゾール **1** 水溶液を混ぜ、UVA-LED を室温で 1 時間照射した。対照実験としてベンゾチアゾール **1** を含まない溶液へ光照射したサンプル、及び UVA-LED 非照射下でのサンプルも調製した。サンプルをバッファー [0.2 mg/mL bromophenol blue, 80 mg/mL sodium dodecyl sulfate (SDS), 0.2 g/mL sucrose, 250 mM Tris-HCl (pH6.8), 10%(v/v) ethanol, 20%(v/v) 2-mercaptoethanol] を用いて終濃度にし、バッファー [25 mM Tris, 1.44%(w/v) glycine, 0.1%(w/v) SDS] で調製した 1.5% (w/v) アガロースゲルを用いて電気泳動を行った。電気泳動後、ブロッキングバッファー [5% (w/v) of skim milk in 0.1%(v/v), Tween 20 containing Tris-buffered saline (TBS), pH 7.5 (T-TBS)] 中、1 時間、室温で培養した A β 凝集体を用い、PVDF (PVDF : Poly Vinylidene Di-Fluoride) 薄膜上でウェスタンブロットを行った。イムノブロッティングには、A β_{42} の抗体 (clone 6E10, Mouse IgG1, Biologend; 5,000-fold diluted in blocking buffer) と室温下 1 時間の後、4 °C で一晩反応させた。次に二次抗体 [peroxidase-labeled affinity purified antibody to mouse IgA + IgG + IgM(H + L), Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD, USA; 5,000-fold diluted in blocking buffer] と室温下で 1 時間反応させた。A β_{42} の検出は化学発光キット (Immobilon western chemiluminescent HRP substrate, Merck Millipore) と LAS-UV4000 mini (Fujifilm, Tokyo, Japan) を用いてイムノブロッティング画像を生成した。その結果、ベンゾチアゾール **1** を用いて UVA-LED 照射 (波長 365nm、1.1 W) を行ったサンプルで A β 凝集体の消失を確認した (**Figure 36**)。これはベンゾチアゾール **1** が UVA-LED 照射条件下で A β 凝集体を分解したことを示している。さらに、時間変化におけるベンゾチアゾール **1** と ThT との A β 凝集体分解能を評価した。ThT を用いたサンプルでは 30 分間の光照射ではまだ A β 凝集体の分解を確認できないのに対し、ベンゾチアゾール **1** を用いたサンプルでは 5 分間の光照射で A β 凝集体をほぼ

分解していることがあきらかになった (Figure 37)。それ故、ベンゾチアゾール **1** は A β 凝集体を分解する能力が ThT に比べて優れていることが示唆された。

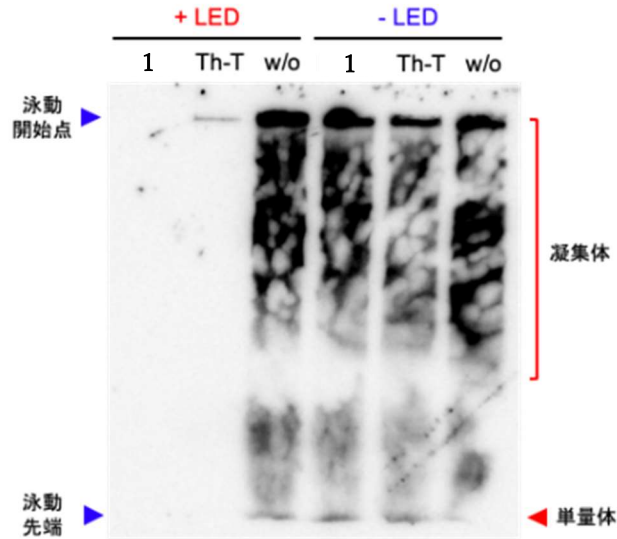


Figure 36. The immunoblotting detection for A β_{42} aggregates. The A β_{42} aggregates after 1-hour irradiation using UVA-LED in the absence of benzothiazole **1** as negative control (Lane 1), in the presence of benzothiazole **1** (Lane 2), and in the presence of ThT as a positive control (Lane 3), respectively. And the A β_{42} aggregates without irradiation in the absence of benzothiazole **1** (Lane 4), in the presence of benzothiazole **1** (Lane 5), and in the presence of ThT (Lane 6), respectively.

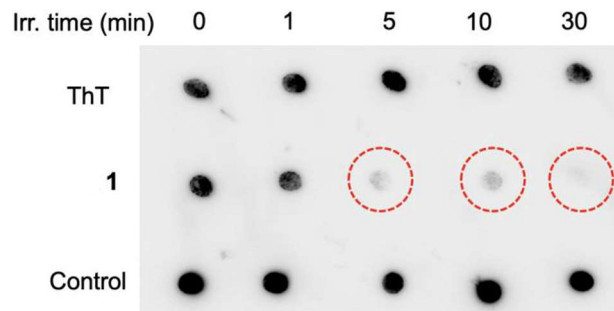


Figure 37. Time-dependent photo-degradation capacity of benzothiazole **1**.

2.1.3. 結論

本項では、A β の光分解を目的として多光子吸収性分子の特徴を組み込んだD- π -A型ベンゾチアゾール**1**を設計、合成を行った。合成したベンゾチアゾール**1**及びその前駆体**6**について吸収及び蛍光スペクトルを測定した結果、ベンゾチアゾール**1**は大きなStokesシフトを示し、ICTの誘起が示唆されたTDDFTの結果と一致した。多光子励起測定の結果からは、ベンゾチアゾール**1**は二光子のみならず三光子励起することが明らかとなった。また、ベンゾチアゾール**1**存在下でA β 凝集体へ光照射したところ、凝集体の分解を確認した。以上より、ベンゾチアゾール**1**は多光子吸収能とA β 凝集体の分解の性質を兼ね備えることから、生体組織に適応する近赤外光励起可能な薬剤候補物質になると期待できる。

2.1.4. Experimental section

2.1.4.1. Experiment equipments

^1H NMR, ^{13}C NMR spectroscopy : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis absorption spectroscopy : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectroscopy : RF-1500 (SHIMADZU)

Absolute PL quantum yield : Quantaaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Single crystal X-ray diffractometer : R-Axis RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

X-ray Diffractometer (XRD) : SmartLab/RA/DX (Rigaku)

High-pressure mercury lamp : UVL-400HA (RIKO)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

● Two-photon excitation experiment

To perform two-photon excitation experiment, we used a home-built multi-photon microscope, as shown in **Figure 38**. A wavelength-tunable femtosecond optical parametric oscillator (Spectra-Physics, Inc., InSight DeepSee; tuning range, 680–1300 nm; pulse duration, \approx 110 fs; repetition rate, 80 MHz) was used for the light source of multiphoton microscopy. The central wavelength was set to be 680 nm for two-photon excitation experiment, whereas it was 1023 nm for three-photon excitation experiment. The output laser power was controlled by the combination of the half-wave plate and polarizer. The focal spot is two-dimensionally scanned onto a sample by use of a pair of GMs, a pair of relay lenses, and an objective lens (Nikon, Inc., CFI Plan 50X; magnification, 50; NA, 0.9; working distance, 350 μm ; oil-immersion type). Forward-propagated fluorescence light was collected via the condenser lens and then was separated from the excitation laser light by a dichroic mirror (Semrock, Inc., FF640-FDi01-25x36; reflection band ($R_{\text{avg}} > 95\%$), 350–629.5 nm; the transmission band ($T_{\text{avg}} > 93\%$), and an optical band-pass filter (Semrock, Inc., FF01-490/60-25; the transmission band ($T_{\text{avg}} > 90\%$), 460–520 nm). Finally, the fluorescence signal was detected using a photon-counting photomultiplier (Hamamatsu Photonics, K.K., H8259-01) connected with a pulse counter.

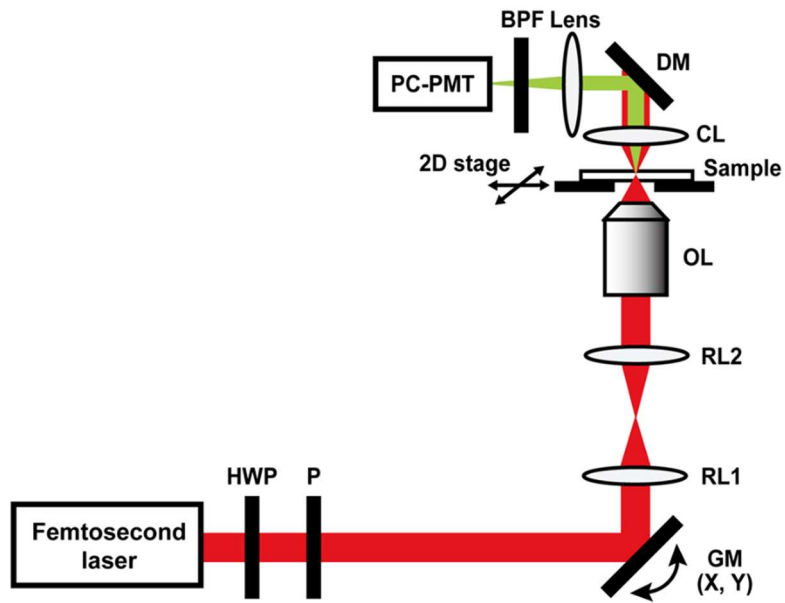
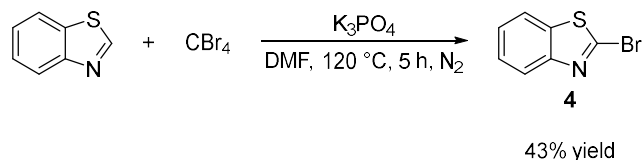


Figure 38. Experimental setup for multi-photon microscopy. HWP: half-wave plate; P: polarizer; GM: galvanometer mirror; RL1 and RL2: relay lenses; OL: objective lens; CL: condenser lens; DM: dichroic mirror; BPF: optical bandpass filter; PC-PMT: photon-counting photomultiplier.

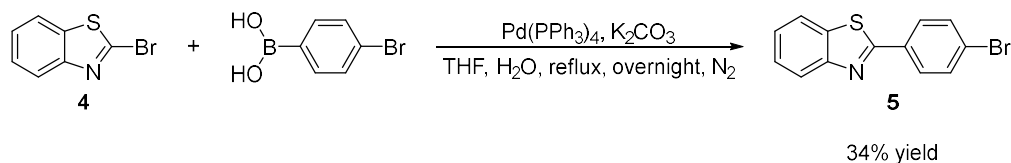
2.1.4.2. Synthesis

2-bromobenzothiazole (**4**)



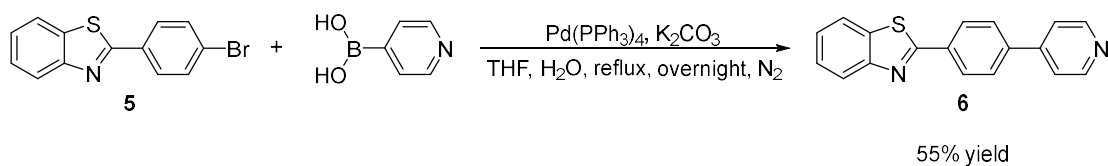
To DMF (2 mL) were added carbon tetrabromide (0.525 g, 1.58 mmol), potassium phosphate (0.645 g, 3.03 mmol), and benzothiazole (0.11 mL, 1.01 mmol) at room temperature under nitrogen atmosphere, and the mixture was stirred for 5 hours at 120 °C. The reaction mixture was extracted with CH₂Cl₂ (100 mL×3). The combined organic layer was washed with water, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexanes and ethyl acetate as eluents, and the desired benzothiazol **4** (0.0939 g, 0.439 mmol) was separated in 43% yield.

2-(4-bromophenyl)benzothiazole (**5**)



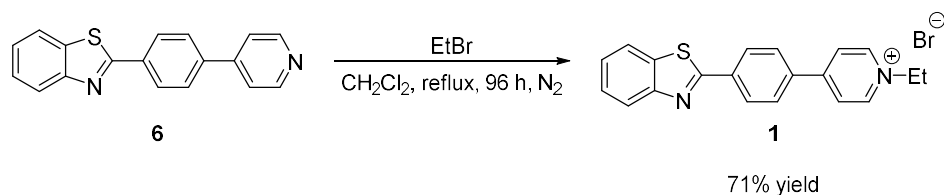
To a two-necked 100 mL round bottom flask were added benzothiazol **4** (0.089 g, 0.401 mmol), 4-bromophenylboronic acid (0.040 g, 0.201 mmol), potassium carbonate (0.070 g, 0.504 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5 mol%) under nitrogen atmosphere. Then THF (10 mL) and H₂O (5 mL) were added sequentially. The mixture was stirred for 5 hours under reflux, the reaction mixture was extracted with diethyl ether (100 mL×3). The combined organic layer was washed with water, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired benzothiazol **5** (0.0196 g, 0.0675 mmol) was separated in 34% yield.

2-(4-(4-pyridyl)phenyl)benzothiazole (**6**)



To a 15 mL of mixed solution (THF/H₂O = 2/1; v/v%) were added benzothiazol **5** (0.049 g, 0.167 mmol), 4-pyridylboronic acid (0.029 g, 0.236 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.010 g, 0.0085 mmol), and potassium carbonate (0.046 g, 0.334 mmol) at room temperature under nitrogen atmosphere, and the reaction mixture was stirred for 18 hours at 70 °C. The reaction mixture was extracted with diethyl ether (100 mL×3). The combined organic layer was washed with water, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of dichloromethane and ethyl acetate as eluents, and the desired benzothiazole **6** (0.092 mmol) was separated in 55% yield.

4-(4-(benzothiazol-2-yl)phenyl)-1-ethylpyridinium bromide (**1**)



To a 10 mL of dichloromethane solution were added benzothiazole **6** (0.031 g, 0.329 mmol) and ethyl bromide (0.39 mL, 19.8 mmol) under nitrogen atmosphere, and the mixture was stirred for 96 hours under reflux. After the ethyl bromide was evaporated *in vacuo*, the residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixed solutions (ethyl acetate/dichloromethane = 1/1; v/v% and methanol/dichloromethane = 1/10; v/v%) as eluents. As a result, the desired pyridinium salt **1** (0.235 mmol) was separated in 71% yield.

2.1.5. Spectral data

2-bromobenzothiazole (**4**)^[4]

Yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃): δ = 7.42 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H).

2-(4-bromophenyl)benzothiazole (**5**)^[5]

White solid; ¹H NMR (CDCl₃): δ = 7.40 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H).

2-[4-(4-pyridyl)phenyl]benzothiazole (**6**)

White solid; mp 238–239 °C; ¹H NMR (CDCl₃): δ = 7.42 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.51–7.57 (m, 3H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 8.71 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ = 121.5, 121.7, 123.3, 125.4, 126.5, 127.6, 128.2, 134.2, 135.1, 140.4, 147.1, 150.4, 154.1, 167.0; HRMS (ESI-MS) *m/z* calcd for C₁₈H₁₂N₂S+H 289.0794, found 289.0789.

4-[4-(benzothiazol-2-yl)phenyl]-1-ethylpyridinium bromide (**1**)

Pale yellow crystals; mp 286–287 °C; ¹H NMR (methanol-d₄): δ = 1.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 4.67 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.87 (H₂O), 7.46 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.00–8.03 (m, 2H), 8.10 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 8.24 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 8.40 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 8.98 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ = 16.7, 57.7, 123.2, 124.3, 126.1, 127.2, 128.0, 129.5, 130.0, 136.4, 137.2, 137.6, 145.6, 155.1, 156.2, 167.8; HRMS (ESI-MS) *m/z* calcd for C₂₀H₁₇BrN₂S-Br 317.1107, found 317.1101.

2.1.6. Reference

- [1] A. Taniguchi, Y. Shimizu, K. Oisaki, Y. Sohma, and M. Kanai, *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 974–982.
- [2] Y. F. Xiao, J. X. Chen, S. Li, W. W. Tao, S. Tian, K. Wang, X. Cui, Z. Huang, X. H. Zhang, and C. S. Lee, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 888–895.
- [3] V. Nguyen, Y. Yim, S. Kim, B. Ryu, K. M. K. Swamy, G. Kim, N. Kwon, C. Kim, S. Park, and J. Yoon, *Angew. Chemie* **2020**, *132*, 9042–9047.
- [4] I. Popov, H. Q. Do, and O. Daugulis, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8309–8313.
- [5] S. Billeau, F. Chatel, M. Robin, R. Faure, and J. P. Galy, *Magn. Reson. Chem.* **2006**, *44*, 102–105.

2.2. A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩の発光特性評価とバイオイメージング

2.2.1. 緒言

本研究では、中心にドナー部位として電子豊富な芳香環、両端にアクセプター部位となる *N*-アルキルピリジニウムを π リンカーとなるアルキンを組み込んだ。“1. 緒言”で CT 性を強めると二光子吸収能が上昇すると述べたが、分子内電荷移動性を高めすぎると蛍光量子収率が著しく低下することが知られている。本項で設計した化合物は発光性も期待しているため、ドナー部位には弱い電子供与性を持つジエトキシベンゼンを用いた。上記のことより下図の A- π -D- π -A 型対称分子を設計、合成し、その光物性を評価した (Figure 39)。

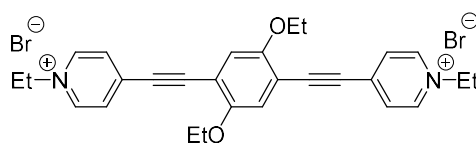


Figure 39. Designed A- π -D- π -A type pyridinium salt 2

A- π -D- π -A 型の利点として、二光子吸収能を高める対称性の高いデザインであることに加え、D- π -A 型と比較して π 共役系が広がっていることが挙げられる。有機化合物は π 共役系を拡張することで吸収・蛍光波長の長波長化が期待できる一方、適切な置換基が存在しなければ水溶性の低下が懸念される。そこで、*N*-アルキルピリジニウム塩を2つ組み込むことで高い水溶性を獲得できると考えた。また、強いアクセプターとなるカチオン性 *N*-ヘテロアレーンを導入することによって効率的な ICT の誘起が期待できる。

2.2.2. 結果と考察

2.2.2.1. 分子軌道計算

A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩 **2** の合成にあたり, DFT 計算を行い分子の電子状態を推定することで ICT を誘起可能か評価した。また, TDDFT から励起過程での挙動を評価した (Figure 40, Table 15)。尚, すべての計算において基底関数/汎関数に B3LYP/6-31G (d,p) を用いた。

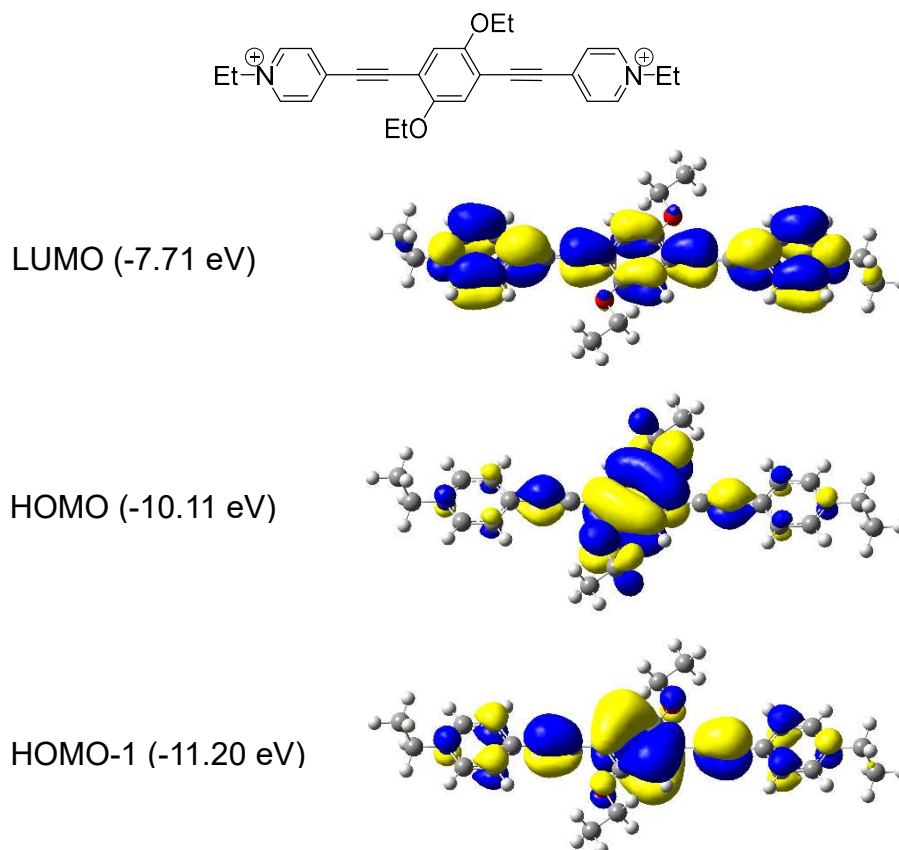


Figure 40. TDDFT calculation of pyridinium **2**

Table 15. Transition probability of pyridinium salt **2** by TDDFT calculation

Transition	Oscillator strength (<i>f</i>)	E_g^a (eV)
HOMO \rightarrow LUMO	0.4885	2.40
HOMO-1 \rightarrow LUMO	1.3025	3.49

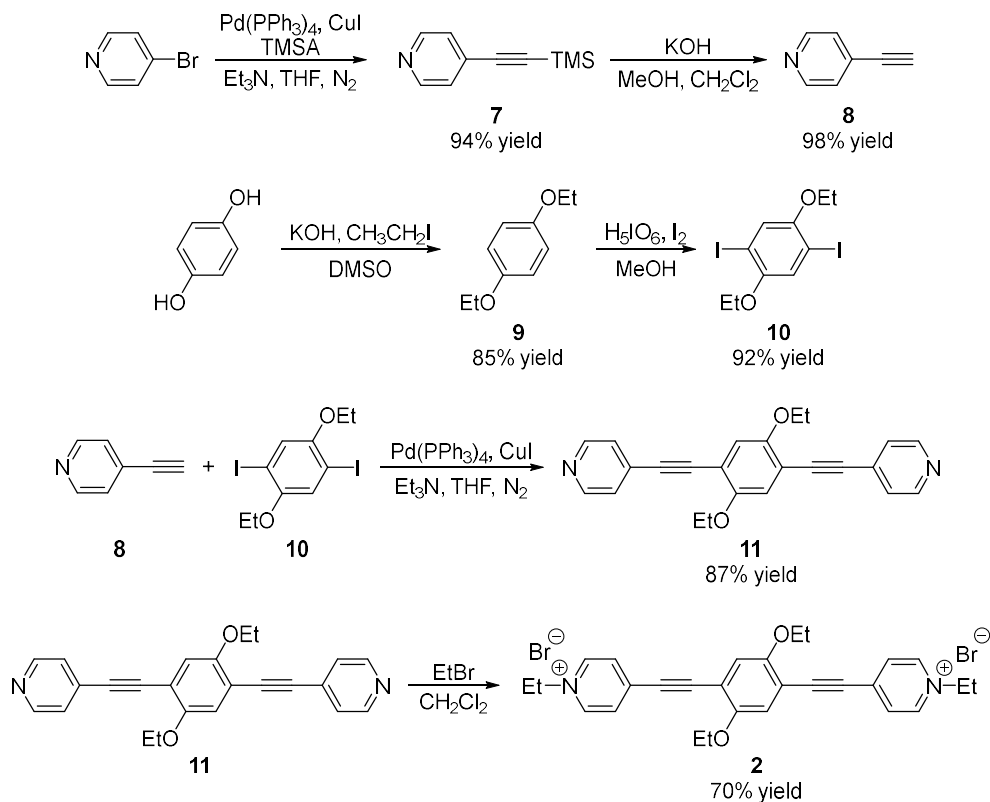
^aCalculated energy bandgap

ピリジニウム塩 **2** の HOMO は中心のジエトキシベンゼン部位に局在しており, LUMO は分子全体に非局在化していたが, ピリジニウム部位の軌道が大きくなっていた (Figure 40)。ピリジニウム塩 **2** の HOMO と LUMO は完全に分離してはいないものの, 電荷移動性が期

待できる。また TDDFT 計算を行い、遷移確率の高さを示す値である振動子強度 (Oscillator strength) の大きな遷移は HOMO→LUMO 及び HOMO-1→LUMO であった。いずれの遷移も中心ドナー部位から両端のアクセプター部位への電荷移動を伴うことから、ICT 性の高い励起状態が生成すると示唆された。

2.2.2.2. 合成

ピリジニウム塩 **2** を下記経路で合成した (Scheme 29)。



Scheme 29. Synthesis of pyridinium salt **2**

まず、 p -bromopyridine と trimethylsilylacetylene (TMSA) の Sonogashira カップリングによりピリジン **7** を収率 94% で合成し、続く脱保護により ethynyl pyridine を収率 98% で合成した。また、hydroquinone と iodoethane の $\text{S}_{\text{N}}1$ 反応によりジエトキシ **9** を収率 85% で合成、続くヨウ素化によりジエトキシ **10** を収率 92% で合成した。次に $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ を用いたピリジン **8** とジエトキシ **10** の Sonogashira カップリングによりジエトキシ **11** を収率 87% で合成した。最後にジエトキシ **11** と ethyl bromide によるアルキル化によりピリジニウム塩 **2** を収率 70% で合成した。

2.2.2.3. 発光特性評価

合成したピリジニウム塩 **2** の UV-vis 及び蛍光スペクトル測定を行った (Figure 41, Table 16)。

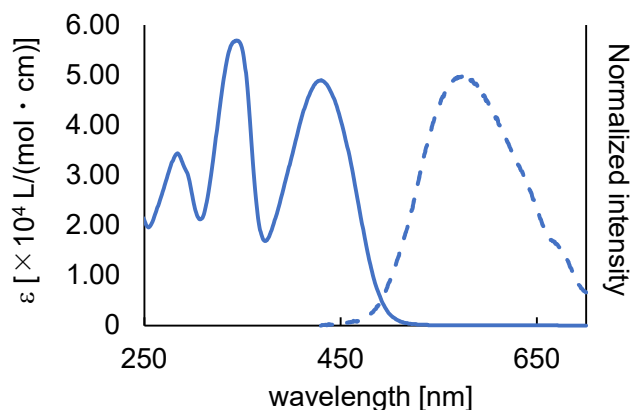


Figure 41. (solid) UV-vis and (dashed) fluorescence spectrum of pyridinium salt **2**

Table 16. Photophysical properties of pyridinium salt **2**

λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	SS (nm)	$\Phi_{\text{em}}^{\text{a}}$	τ_{s} (ns)	k_{f} ($\times 10^6 \text{ s}^{-1}$)	k_{nr} ($\times 10^8 \text{ s}^{-1}$)
284, 344, 430	577 (337) ^b	147	0.01 (430)	2.72 ^c	3.68	3.64

^aAbsolute PL quantum yield. ^bExcitation wavelength. ^cIn MeOH.

ピリジニウム塩は、284, 344, 430 nm に吸収が観測された。DFT 計算の結果より HOMO-1 → LUMO 及び HOMO → LUMO に相当する電子遷移は 335 nm 及び 517 nm でありいずれも許容遷移であった。よって、344 nm の吸収は HOMO-1 → LUMO に対応し、430 nm の吸収は HOMO → LUMO に対応すると考えられる。また、577 nm で発光が観測され、147 nm の大きなストークスシフトを示した。これはピリジニウム塩 **2** の ICT が誘起されたことを支持している。蛍光量子収率が低い理由として下式より蛍光速度定数 (k_{f}) および無放射失活速度定数 (k_{nr}) を求めた (Table 16)。

$$\Phi_{\text{em}} = \frac{k_{\text{f}}}{k_{\text{f}} + k_{\text{nr}}} \tau_{\text{s}} = \frac{1}{k_{\text{f}} + k_{\text{nr}}}$$

計算結果より $k_{\text{f}} = 3.68 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$, $k_{\text{nr}} = 3.64 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ であった。このことから無放射失活過程が支配的であることが蛍光量子収率の低下につながっていることがわかった。

2.2.2.4. 二光子吸収能評価

次にピリジニウム塩 **2** の二光子吸収能を評価した。二光子吸収能はピリジニウム塩 **2** の DMSO 溶液 (1.0×10^{-3} mol/L) に 800 nm のフェムト秒レーザー光を照射した後、蛍光顕微鏡を用いてピリジニウム塩 **2** の蛍光波長付近 (565 ± 66.5 nm) の蛍光シグナルを測定した。横軸にレーザー光源出力、縦軸に蛍光強度の両対数をとったグラフを **Figure 42** に示す。傾きが 1.96 であったことから、ピリジニウム塩 **2** の蛍光シグナルは出力二乗依存性を示し、二光子吸収による蛍光発光が起こっていることが明らかになった。

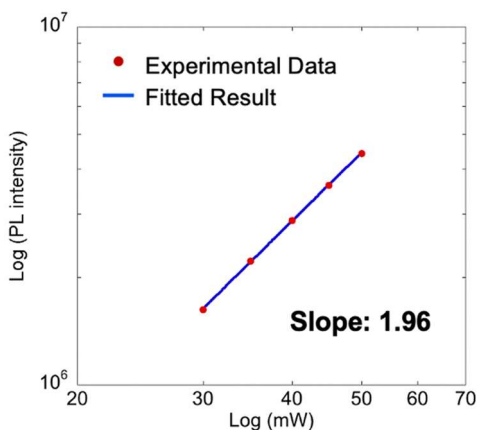


Figure 42. Log-log plot of fluorescence intensity of pyridinium salt **2** vs. input laser power at 800 nm.

2.2.2.5. 細胞傷害性の検討

ピリジニウム塩 **2** は大きい Stokes シフトと二光子吸収能。水溶性を示したため、バイオイメージング剤として利用が期待できる。まず傷害性の評価として HeLa 細胞をピリジニウム塩 **2** と共に 37 °C, 1 時間, 5% の二酸化炭素雰囲気下で培養することにより WST-1 を用いた細胞酵素活性測定を行った。Figure 43a の縦軸に生存率, 横軸にピリジニウム塩 **2** の濃度を示している。検討した濃度範囲内(0.16×10^{-4} – 5.0×10^{-4} mol/L) において HeLa 細胞に対する急性毒性は認められなかった。次にピリジニウム塩 **2** の亜急性毒性を評価するため HeLa 細胞をピリジニウム塩 **2** と共に 37 °C, 24 時間, 5% の二酸化炭素雰囲気下で培養した。Figure 43b の縦軸に生存率, 横軸にピリジニウム塩 **2** の濃度を示している。グラフに示すように, 1.25×10^{-4} mol/L よりも高濃度域において HeLa 細胞に対する亜急性毒性を確認した。

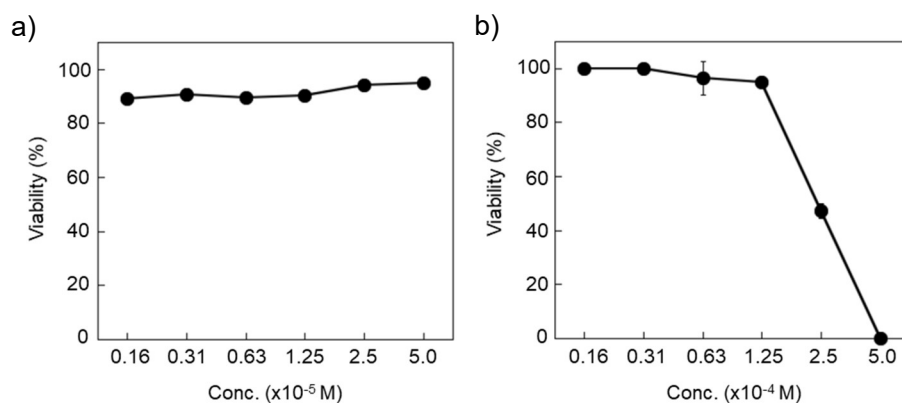


Figure 43. The viabilities of HeLa cells incubated with various concentrations of pyridinium salt **2** after a) 1 hour for acute toxicity assay and b) 24 hours for subacute toxicity assay.

2.2.2.6. 細胞染色実験

ピリジニウム塩 **2** を用いた HeLa 細胞の蛍光バイオイメージングを試みた。まず、HeLa 細胞を高濃度条件 (5.0×10^{-4} M) のピリジニウム塩 **2** と共に 37°C , 1 時間, 5% の二酸化炭素雰囲気下で培養した結果、発光は観察できなかった (**Figure 44a and b**)。しかしながら、HeLa 細胞を 24 時間で培養したところ、UV 光照射下で黄色の発光が観測された (**Figure 44c and d**)。

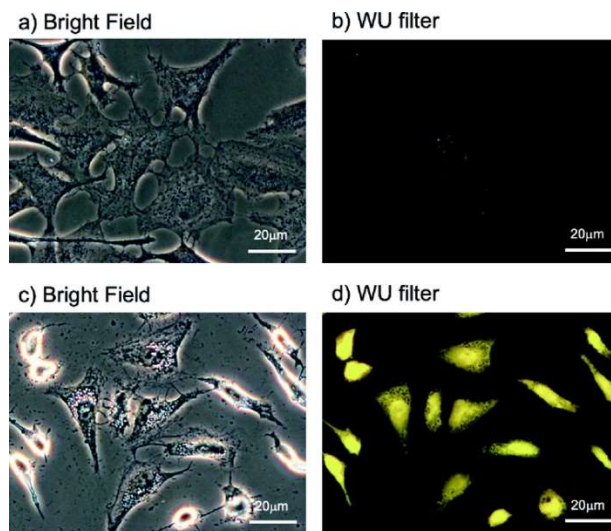


Figure 44. Photographs of HeLa cells incubated with pyridinium salt **2** for 1 hour (upper images) and for 24 hours (lower images); a) and c) are bright fields, and b) and d) are observed fluorescence images through WU filter.

先の細胞毒性実験の結果よりピリジニウム塩 **2** は亜急性毒性を示すことが明らかになっている。それ故、黄色蛍光を示した条件においてピリジニウム塩 **2** は亜急性毒性を示していると考えられるため、ピリジニウム塩 **2** は死細胞を染色していると考えた。

そこで次にピリジニウム塩 **2** が死細胞を染色しているか対照実験を行った。その結果、HCl で HeLa 細胞を処理することにより生細胞を死細胞にした後、ピリジニウム塩 **2** と 1 時間培養した時、同様の蛍光像が観測された。また、死細胞を赤色蛍光で染色することが知られているヨウ化プロピジウムとの共染色実験も行った (**Figure 45**)。結果、ピリジニウム塩 **2** は死細胞を染色していることが明らかとなった。

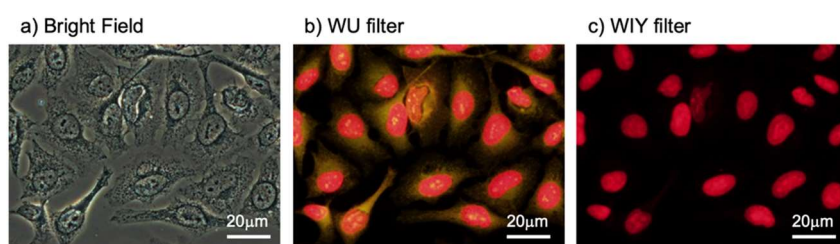


Figure 45. Photographs of HeLa cells incubated with pyridinium salt **2** and propidium iodide; a) bright field, b) observed fluorescence image through WU filter, and c) observed fluorescence image through WIY filter

続いて、HCl 処理の死細胞に加えて、アポトーシスを誘導した細胞にも適用できるか検討した (**Figure 46**)。1 mg/mL の Mitomycin C (アポトーシス誘導試薬) 存在下で一晩培養した HeLa 細胞に 5% の CO₂ 存在下、37 °C でピリジニウム塩 (0.5×10^{-3} mol/L) を 2 時間作用させた結果、アポトーシスが誘導されたと形態的に推測される細胞において黄色蛍光が観察された。このことから、アポトーシスを誘導した細胞の染色に適用可能であることを確認した。アポトーシス誘導細胞の観察は、一般的にはアポトーシス初期に細胞外に排出されるフォスファチジルセリンと呼ばれる物質を蛍光標識化して観察し、アポトーシス後期となり細胞膜の漏出する細胞をヨウ化プロピジウムなどの核と結合することにより蛍光を発する色素を用いて観察している。それに対してピリジニウム塩は単独でアポトーシス誘導細胞をまとめて染色することが出来るため、2 つの蛍光マーカを用いる必要はない。また、フォスファチジルセリンの観察は細胞外のみ、ヨウ化プロピジウムは核のみの染色である一方、ピリジニウム塩は細胞全体を染色可能であるという、既存のアポトーシス誘導細胞染色試薬に無い特徴を有していた。また、Stokes シフトが大きくバックグラウンドの影響が少ない点も細胞染色に適している。

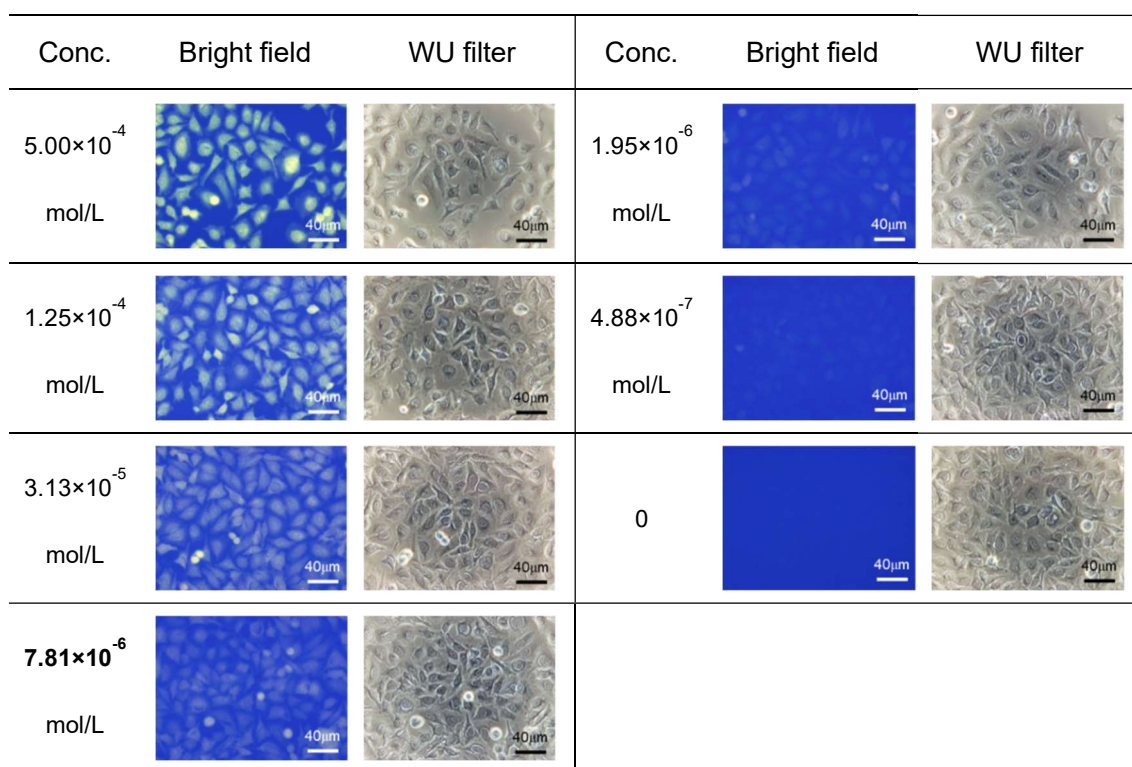


Figure 46. Photograph of HeLa cells incubated with various concentrations with pyridinium salt **2** and Mitomycin C

単一の波長で複数の蛍光色素を励起するマルチカラーバイオイメージングは蛍光画像を重ね合わせることなく画像を観察することができるため有用な手段である。^[1] 今回合成したピリジニウム塩は Stokes シフトが大きいいため、市販の蛍光色素とのマルチカラーバイオイメージングが可能であると考えた。ここでは、市販の生細胞染色試薬である Calcein-AM を選択した。実験方法は 0.1N HCl 処理により HeLa 細胞の死細胞を調製した後、HeLa 細胞の生細胞を播種後さらに一晩培養したものに 37 °C, 1 時間, 5%の CO₂ 存在下でピリジニウム塩及び Calcein-AM をそれぞれ 5.0×10^{-3} mol/L, 1.0×10^{-3} mol/L で作用させ、蛍光像を観察した (**Figure 47**)。その結果ピリジニウム塩由来の黄色発光と Calcein-AM 由来の緑色発光が同一の青色光励起で観察することが出来た。生細胞の検出にピリジニウム塩と市販の緑色蛍光色素を組み合わせて使用することで、単一の励起光を用いた HeLa 細胞の生細胞及び死細胞のワンショット蛍光イメージングを実現した。

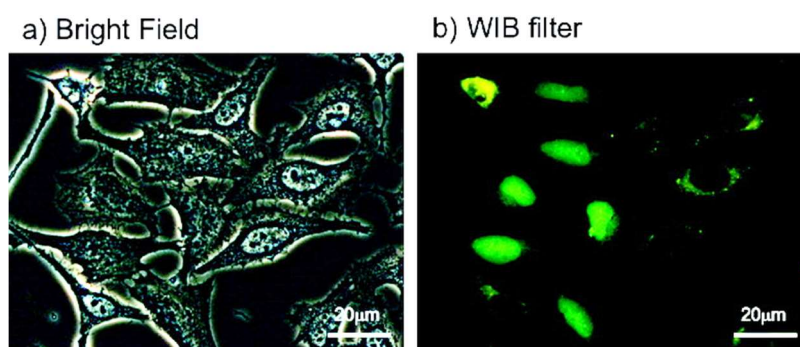


Figure 47. Photographs of HeLa cells incubated with pyridinium salt **2** and Calcein-AM; a) bright field and b) observed fluorescence image through WIB filter

2.2.3. 結論

本項では、近赤外光励起を可能とする光機能性分子の創製を目的として ICT と二光子吸収に着目し、それらを分子デザインに取り入れたピリジニウム塩 **2** を設計、合成を行った。合成したピリジニウム塩 **2** について吸収及び蛍光スペクトルを測定した結果、147 nm の大きなストークスシフトを示し、ICT の誘起が示唆された TDDFT の結果と一致した。これはドナー部位およびアクセプター部位を組み込んだ事に加え、アルキンを π リンカーとして用いて架橋することで分子の分極が促進され、ICT が誘起された結果であると考えられる。また、ピリジニウム塩 **2** を 800 nm のフェムト秒レーザー光源を用いた二光子吸収能測定を行ったところ二光子吸収の特徴である蛍光シグナルの出力二乗依存性を確認した。高い水溶性も備えていることから HeLa 細胞を用いたバイオイメージングへの応用を試みた結果、死細胞を特異的に染色していることを見出した。さらに、アポトーシスを誘導した細胞の染色も可能であることを確認した。このことから、細胞膜機能が残存しているアポトーシス初期細胞では機能しない PI などの死細胞染色試薬と使い分け可能であることが明らかになった。さらに、生細胞と死細胞の共存下においては、市販の生細胞染色試薬との共染色により単一波長励起によるワンショットマルチカラーイメージングによる生死判定が可能であった。

2.2.4. Experimental section

2.2.4.1. Experiment equipments

^1H NMR, ^{13}C NMR spectroscopy : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis absorption spectroscopy : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectroscopy : RF-1500 (SHIMADZU)

Absolute PL quantum yield : Quantaaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Single crystal X-ray diffractometer : R-AXIS RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

X-ray Diffractometer (XRD) : SmartLab/RA/DX (Rigaku)

High-pressure mercury lamp : UVL-400HA (RIKO)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

- Two-photon excitation experiment

To perform two-photon excitation experiment, we used a home-built multi-photon microscope, as shown in **Figure 38**. A wavelength-tunable femtosecond optical parametric oscillator (Spectra-Physics, Inc., InSight DeepSee; tuning range, 680–1300 nm; pulse duration, \approx 110 fs; repetition rate, 80 MHz) was used for the light source of multiphoton microscopy. The central wavelength was set to be 740 nm for two-photon excitation experiment. The output laser power was controlled by the combination of the half-wave plate and polarizer. The focal spot is two-dimensionally scanned onto a sample by use of a pair of GMs, a pair of relay lenses, and an objective lens (Nikon, Inc., CFI Plan 50X; magnification, 50; NA, 0.9; working distance, 350 μm ; oil-immersion type). To further expand the lateral imaging region, we scanned the sample position using a stepping-motor-driven translation stage every time an image was obtained by the GM optics. Forward-propagated fluorescent light was collected via the condenser lens and then was separated from the excitation laser light by a dichroic mirror (Semrock, Inc., FF640-FDi01-25x36; reflection band ($R_{\text{avg}} > 95\%$), 350–629.5 nm; transmission band ($T_{\text{avg}} > 93\%$), 652–950 nm) and an optical band-pass filter (Semrock, Inc., FF01-490/60-25; the transmission band ($T_{\text{avg}} > 93\%$), 460–520 nm). Finally, the fluorescent signal was detected by a photon-counting photomultiplier (Hamamatsu Photonics, K.K., H8259-01) connected with a pulse counter. Using the above setup, two-photon image of a 280 μm by 280 μm region,

composed of 256 pixels by 256 pixels, was also acquired at a rate of 0.25 image/s.

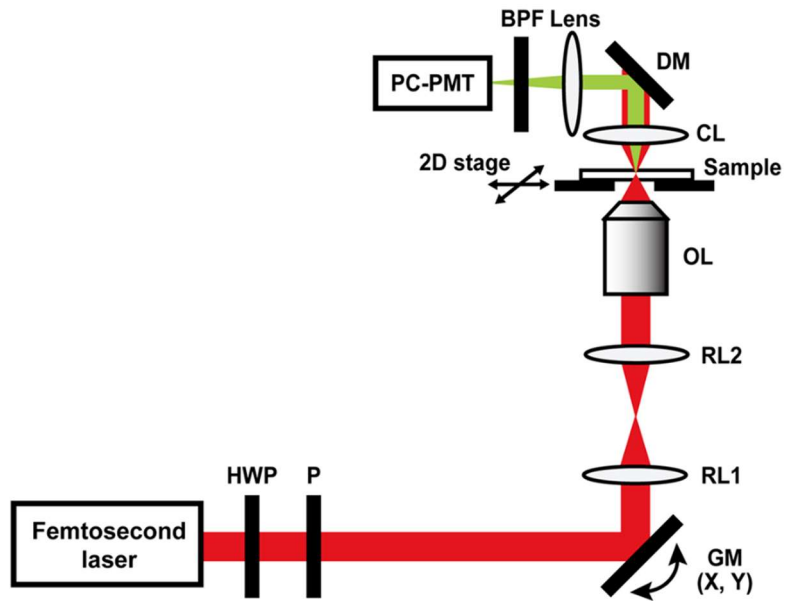
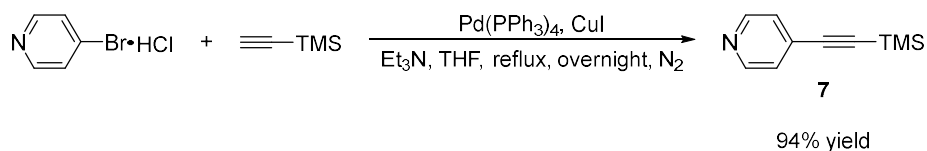


Figure 48. Experimental setup for multi-photon microscopy. HWP: half-wave plate; P: polarizer; GM: galvanometer mirror; RL1 and RL2: relay lenses; OL: objective lens; CL: condenser lens; DM: dichroic mirror; BPF: optical bandpass filter; PC-PMT: photon-counting photomultiplier.

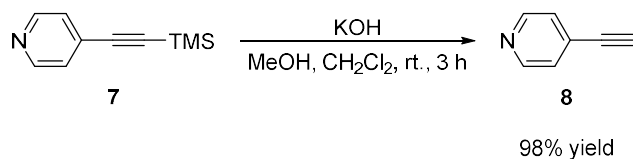
2.2.4.2. Synthesis

4-[2-(Trimethylsilyl)ethynyl]pyridine (**7**)



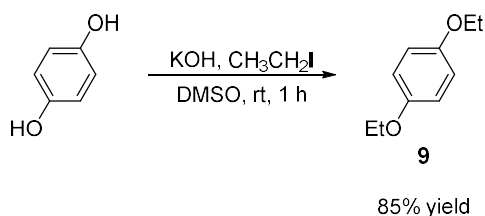
To two-necked 100 mL round bottom flask was added 4-bromopyridine hydrochloride (2.50 g, 12.9 mmol), trimethylsilylacetylene (2.00 mL, 14.2 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.372 g, 0.323 mmol), and copper iodide (0.0630 g, 0.323 mmol, 2.5 mol%) under nitrogen atmosphere, then triethylamine (20 mL) and THF (10 mL) at room temperature. The mixture was stirred for 22 hours under reflux. The reaction mixture was filtered through Celite, the filtrate was concentrated in vacuo. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired pyridine **7** (2.12g, 12.11 mmol) was separated in 94% yield.

4-Ethynylpyridine (**8**)



To a methanol (15 mL) and dichloromethane (10 mL) were added pyridine **7** (2.12 g, 12.1 mmol) and potassium hydroxide (1.37 g, 24.2 mmol), and the mixture was stirred for 3 hours at room temperature. The reaction mixture was extracted with dichloromethane. The combined organic layer was dried over MgSO₄ and concentrated in vacuo. The desired ethynylpyridine **8** (1.23 g, 11.9 mmol) was obtained in 98% yield.

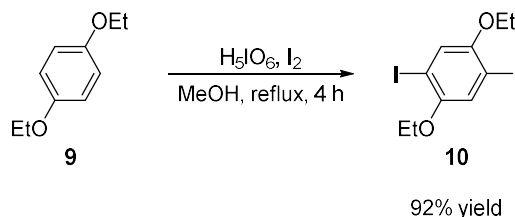
1,4-Diethoxybenzene (**9**)



To a DMSO (45 mL) were added hydroquinone (2.40 g, 21.8 mmol), potassium hydroxide (5.01 g, 89.3 mmol), and the mixture was stirred for 10 minutes at room temperature. The reaction mixture

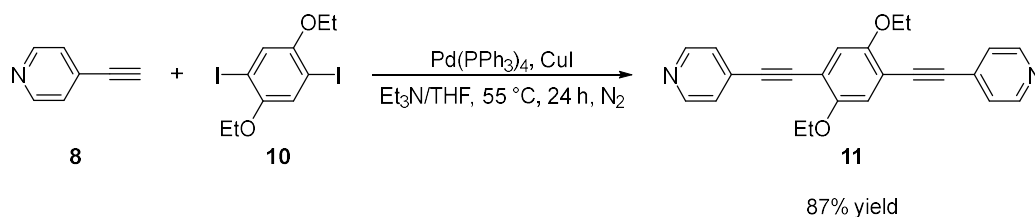
was extracted with dichloromethane. The combined organic layer was washed by water, dried over MgSO_4 , and concentrated in vacuo. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of hexane and ethyl acetate as eluents, and the desired diethoxy **9** (3.09 g, 18.6 mmol) was separated in 85% yield.

1,4-Diethoxy-2,5-diiodobenzene (**10**)



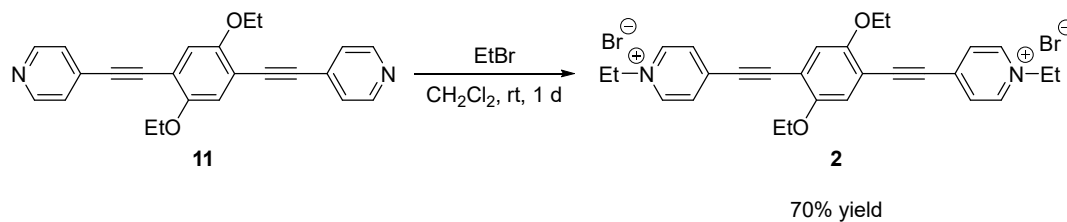
To a methanol (10 mL) was added orthoperiodic acid (1.31 g, 5.76 mmol) at room temperature, and the mixture was stirred for 10 minutes. The reaction mixture was added iodine (2.74 g, 10.8 mmol) at room temperature, and the mixture was stirred for 10 minutes. Finally, the reaction mixture was added diethoxy (1.496 g, 9.0 mmol) and stirred for 4 hours under reflux. The reaction mixture was quenched by saturated sodium thiosulfate aqueous. The solid was collected by filtration under reduced pressure. The desired diiodo **10** (2.12g, 12.11 mmol) was separated in 92% yield.

4,4'-[(2,5-Diethoxy-1,4-phenylene)bis(ethyne-2,1-diyl)]dipyridine (**11**)



To a solution of diiodo **10** (0.97 mmol) in a THF (20 mL) was added ethynylpyridine (0.97 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.025 mmol), copper iodide (0.029 mmol), and triethylamine (20 mL) at room temperature, and the reaction mixture was stirred for 24 hours at 55 °C. After the reaction mixture was filtered through Celite, the filtrate was concentrated in vacuo. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of dichloromethane and acetone as eluents, and the desired diethoxy **2** (0.425 mmol) was separated in 87% yield.

4,4'-[(2,5-Diethoxy-1,4-phenylene)bis(ethyne-2,1-diyl)]bis(1-ethylpyridin1-ium) dibromide (**2**)



To a 5 ml of dichloromethane solution containing 0.813 mmol of diethoxy **11** was added 0.5 ml of bromoethane at room temperature, and the reaction mixture was stirred for 24 hours at room temperature. Then, the precipitate was collected and washed with dichloromethane. As a result, a 0.659 mmol of pyridinium salt **2** was obtained in 70% yield without further purification.

2.2.5. Spectral data

4-[2-(Trimethylsilyl)ethynyl]pyridine (**7**)

Yellow oil; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.27$ (s, 9H), 7.31 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 8.56 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H).

4-Ethynylpyridine (**8**)

Colorless solid; mp 96-97 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 3.30$ (s, 1H), 7.35 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 8.60 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H).

1,4-Diethoxybenzene (**9**)

Colorless solid; mp 70-71 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.39$ (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), 3.99 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 6.82 (s, 4H).

1,4-Diethoxy-2,5-diiodobenzene (**10**)

colorless solid, mp 148-149 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.45$ (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), 4.01 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 7.19 (s, 2H).

4,4'-[(2,5-Diethoxy-1,4-phenylene)bis(ethyne-2,1-diyl)]dipyridine (**11**)

Yellow solid; mp 202–203 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.50$ (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), 2.18 (acetone), 4.12 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 7.05 (s, 2H), 7.40 (d, $J = 6.0$ Hz, 4H), 8.62 (d, $J = 6.0$ Hz, 4H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 14.8, 65.1, 90.2, 92.3, 113.6, 116.9, 125.4, 131.3, 149.7, 153.6; HRMS (ESI-MS) m/z calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_2 + \text{H}$ 369.1598, found 369.1590.

4,4'-[(2,5-Diethoxy-1,4-phenylene)bis(ethyne-2,1-diyl)]bis(1-ethylpyridin-1-ium)dibromide (**2**)

Yellow solid; mp >300 °C; $^1\text{H NMR}$ (methanol- d_4): $\delta = 1.49$ (t, $J = 7.2$ Hz, 6H), 1.68 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H), 4.19 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H), 4.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 4H), 4.88 (H_2O), 7.36 (s, 2H), 8.12 (d, $J = 6.6$ Hz, 4H), 8.97 (d, $J = 6.3$ Hz, 4H); $^{13}\text{C NMR}$ (methanol- d_4): $\delta = 15.1, 16.7, 58.3, 66.5, 92.0, 100.9, 114.9, 118.5, 130.7, 141.5, 145.5, 155.7$; HRMS (ESI-MS) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{N}_2\text{Br}_2 - \text{Br}$ 505.1485, found 505.1475.

2.2.6. Reference

- [1] T. Kogure, S. Karasawa, T. Araki, K. Saito, M. Kinjo, and A. Miyawaki, *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 577–581.

2.3. イミダゾ[1,5-*a*]ピリジン配位子を持つホウ素錯体の合成

2.3.1. 緒言

発光性有機小分子は材料化学や生物化学への応用が期待されており，中でも π 共役系にホウ素原子を導入することで光物理的特性が向上することが多く報告されている。^[1-3] 代表的な有機ホウ素錯体の一つとして BODIPY が知られている (**Figure 50a**)。BODIPY はジピロメテンを基本骨格とした配位子を用いたホウ素錯体であり，その優れた発光量子収率や光安定性から様々な誘導体が設計され，有機発光ダイオード^[4]や医療診断薬^[5]，光線力学療法^[6]への研究が行われている。BODIPY 誘導体の中でも三座配位子を用いた化合物もあり，自己組織化^[7]や凝集誘起発光^[8,9]，キロプティカル特性^[10-12]などを示すとの報告がある。

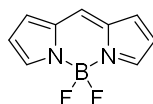


Figure 49. Basic scaffold of BODIPY

当研究室ではこれまでに二座のホウ素錯体を合成，その発光特性評価を報告している ()。本項ではそのホウ素錯体より剛直な分子となるようなホウ素錯体 **3** を設計，合成した。ホウ素錯体 **3** はイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン部位をドナー，ホウ素部位をアクセプターであることからドナー・アクセプター構造に由来する二光子励起を期待した。カチオン性を有する化合物がミトコンドリアに集積することはよく知られていることであり，BODIPY 誘導体に関しても多く報告がある。^[13-15] そこで，三座にすることでホウ素がカチオン性となりミトコンドリアに集積すると考えた (**Figure 50a, b**)。

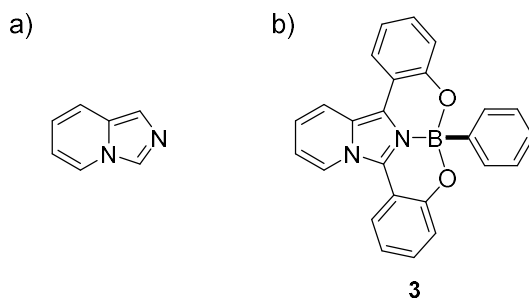
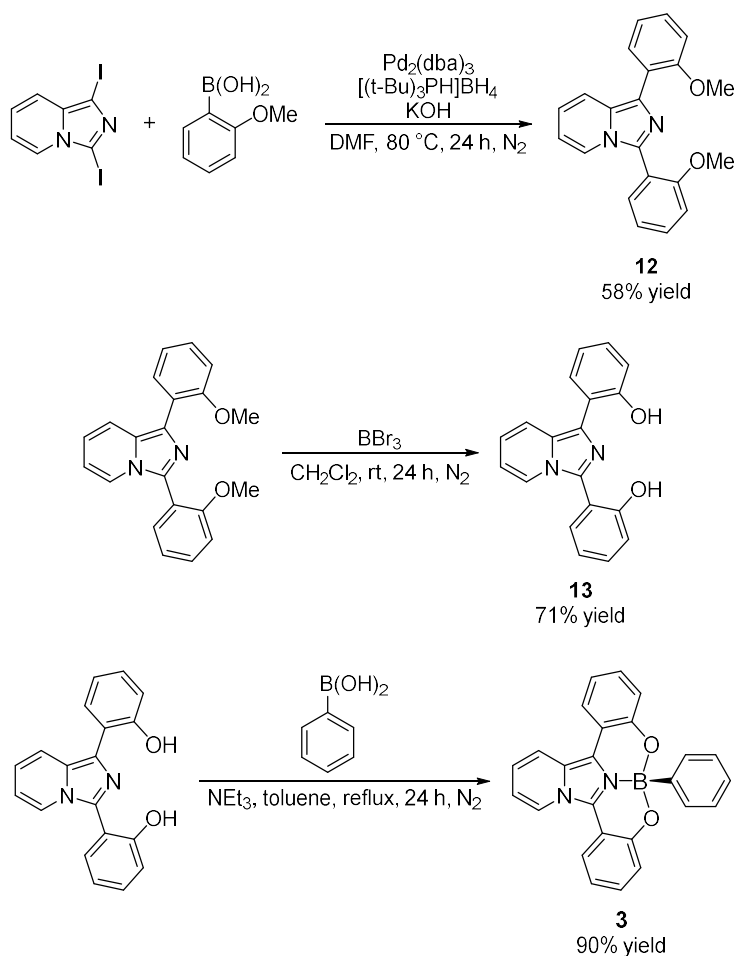


Figure 50. a) Imidazo[1,5-*a*]pyridine, b) designed tridentate boron complex **3**

2.3.2. 結果と考察

2.3.2.1. 合成

ホウ素錯体 **3** は 1,3-diiodoimidazo[1,5-*a*]pyridine から 3 段階で合成した (Scheme 30)。1,3-diiodoimidazo[1,5-*a*]pyridine は文献^[6]を参考に合成した。1,3-Diiodoimidazo[1,5-*a*]pyridine と *o*-methoxyphenylboronic acid の Suzuki–Miyaura クロスカップリング反応によりジメトキシ体 **12** を収率 61%で合成した。次に三臭化ホウ素をルイス酸として用いた脱メチル化によりジヒドロキシ体 **13** を収率 70%で得た。最後にフェニルボロン酸との環状エステル形成により、目的のホウ素錯体 **3** を収率 90%で得た。



Scheme 30. Synthesis of boron complex **3**

2.3.2.2. 単結晶 X 線構造解析

合成したホウ素錯体 **3** をジクロロメタン–ヘキサン混合溶液から再結晶することで良好な単結晶を調製し、単結晶 X 線構造解析からその構造を確認した (**Figure 51**)。フェニルボロン酸のホウ素原子はイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン配位子の sp^2 窒素原子と 2 つの *o*-ヒドロキシフェニル基の酸素原子と 4 配位していることがわかった。N–B 結合の長さは 1.547Å であり、1.475Å と 1.463Å の O–B 結合よりもわずかに長くなっていた。また、イミダゾ[1,5-*a*]ピリジン配位子の平面に対してホウ素原子上のフェニル基は垂直に位置しており、このホウ素錯体はホウ素原子を不斉中心とするキラリティを有していることが明らかとなった。

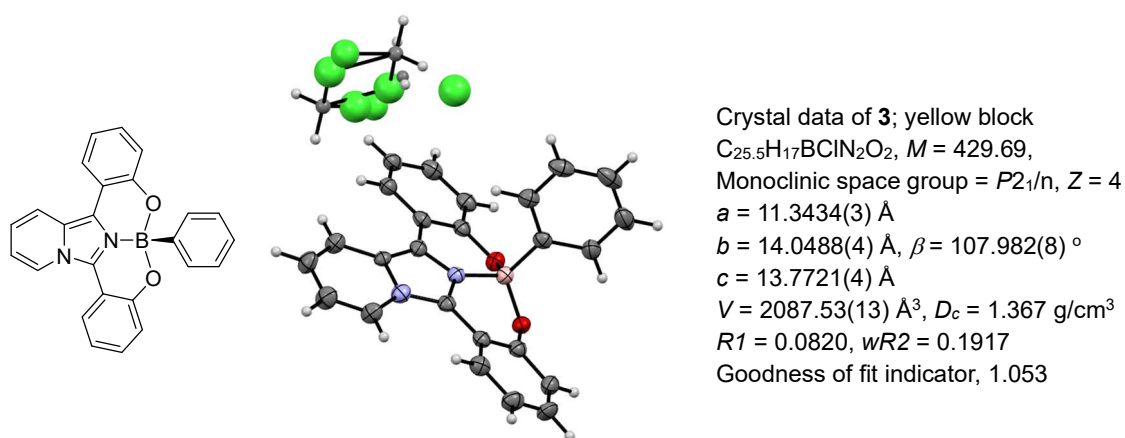


Figure 51. Crystal data of boron complex **3**

2.3.2.3. 吸収及び蛍光スペクトル測定

まず合成したホウ素錯体 **3** の吸収及び蛍光スペクトルを測定した (Figure 52, Table 17)。

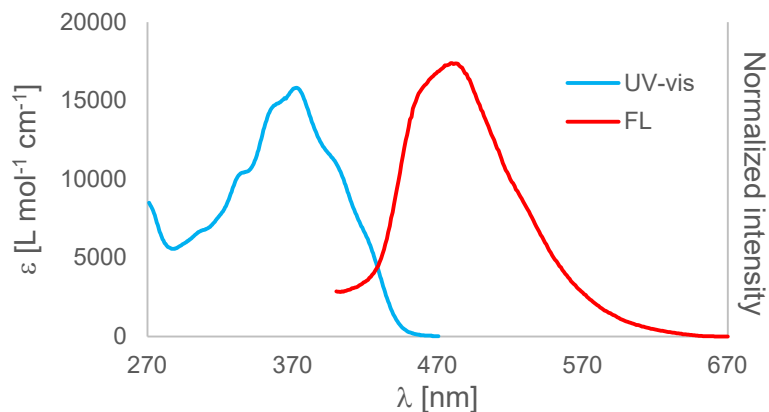


Figure 52. (blue) UV-vis and (red) fluorescence spectrum of boron complex **3** in DMSO

Table 17. Photophysical properties of boron complex **3** in DMSO

Compound	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	SS [nm]	Φ_{em}	τ_{s} [ns]	K_r [$\times 10^7 \text{ s}^{-1}$]	K_{nr} [$\times 10^7 \text{ s}^{-1}$]
3	373	479 (350) ^a	106	0.34 (360) ^a	5.01	6.78	13.1

^aExcitation wavelength

合成したホウ素錯体 **3** の吸収極大は 373 nm, 発光極大は 479 nm であり, Stokes シフトが 106 nm と大きく, 発光量子収率が 0.34 と比較的高い値であった。以前合成したイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン含有ホウ素錯体である 1-(*o*-hydroxyphenyl)imidazo[1,5-*a*]pyridine は溶液中で $F_{\text{EM}} = 0.71$ の高い発光量子収率を示したのに比べ, 今回合成したホウ素錯体は溶液中で $F_{\text{EM}} = 0.34$ と低いものであった。

2.3.2.4. フェムト秒過渡吸収スペクトル測定

より詳細な励起状態のダイナミクスを明らかにするため、フェムト秒過渡吸収スペクトル測定を行った。(Figure 53a)。励起直後 690 nm 付近に吸収帯が観測され、その時定数は 480 ps であった (Figure 53b)。これは通常の分子内振動エネルギー再配分 (intramolecular vibrational redistribution: IVR) よりも遅く、ICT によるものであることを示唆している。^[18] また、690 nm 付近の吸収帯が減少するにつれ 545 nm に新たに吸収帯が表れた。545 nm の吸収帯は蛍光寿命よりも長く存在するためこの過渡吸収スペクトルは項間交差した励起三重項状態に起因するものであると考えられる (Figure 53c)。項間交差は CT 性の増加によって誘発される可能性があるため^[19]、今回設計した三座のホウ素錯体は PDT のための光増感剤として期待できる。

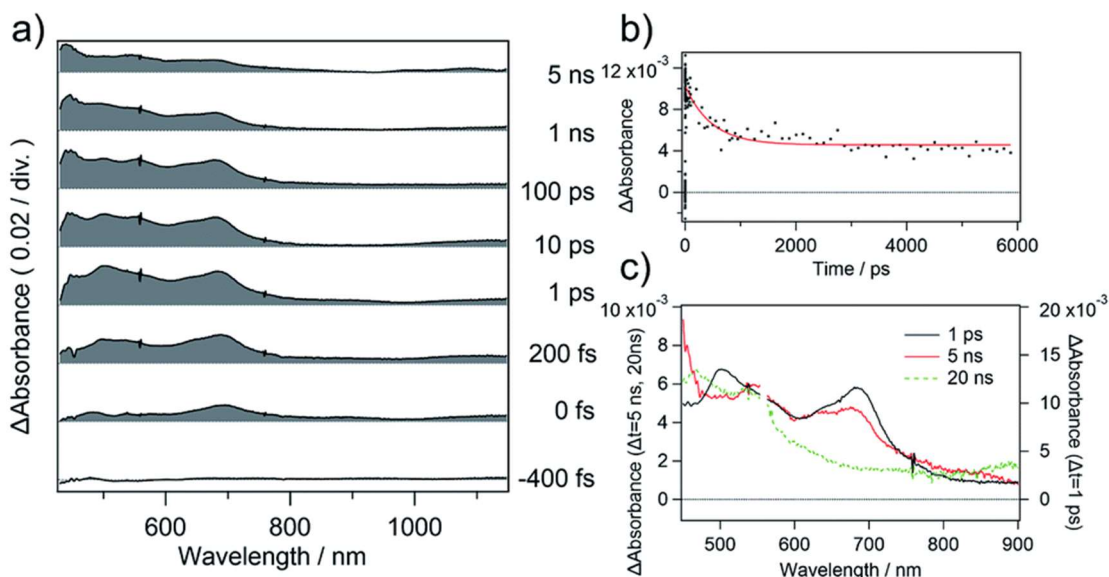


Figure 53. (a) and (c) Femtosecond transient absorption spectra of boron complex **3** in DMSO after excitation at 400 nm. (b) Transient absorption decay profile (scattered points) at 693 nm and fit (solid line) with an exponential function with a time constant 480 ps

2.3.2.5. 光学活性評価

単結晶 X 線構造解析の結果から、ホウ素錯体はキラル構造を有していることが分かった。そこで、キラルカラムを用いて光学分割を行い(CHIRALPAK IB; hexane/chloroform = 3/1 (v/v), flow 0.5 mL/min) それぞれのエナンチオマーを単離した。分割したエナンチオマーを用い測定した CD スペクトルは約 320, 370 nm で正負のコットン効果を示した (Figure 54, 右上)。単離したエナンチオマーは単結晶を得ることができていないため、単結晶 X 線構造解析による絶対構造は未決定である。そこで TDDFT 計算によるエナンチオマーのキラリティの推定を行うこととした。TDDFT 計算は Gaussian 09 プログラムを用い、構造最適化の後に B3LYP/6-31G(d)レベルで行った。計算により得られる ECD スペクトルと実測の CD スペクトルを比較し、スペクトル形状が一致するものを同じエナンチオマーであると判断した。まず計算結果の評価についてであるが、実測と計算より求めた吸収スペクトルはいずれも 350 nm 付近に極大を持ち、同様の形状であることから計算結果は確からしいと考えている。実測の CD スペクトルと計算より求めた ECD スペクトルは相対的な形が一致していることから、光学分割で保持時間の短いエナンチオマー (Former) は R 体、保持時間の長いエナンチオマー (Latter) は S 体であると考えている (Figure 54)。

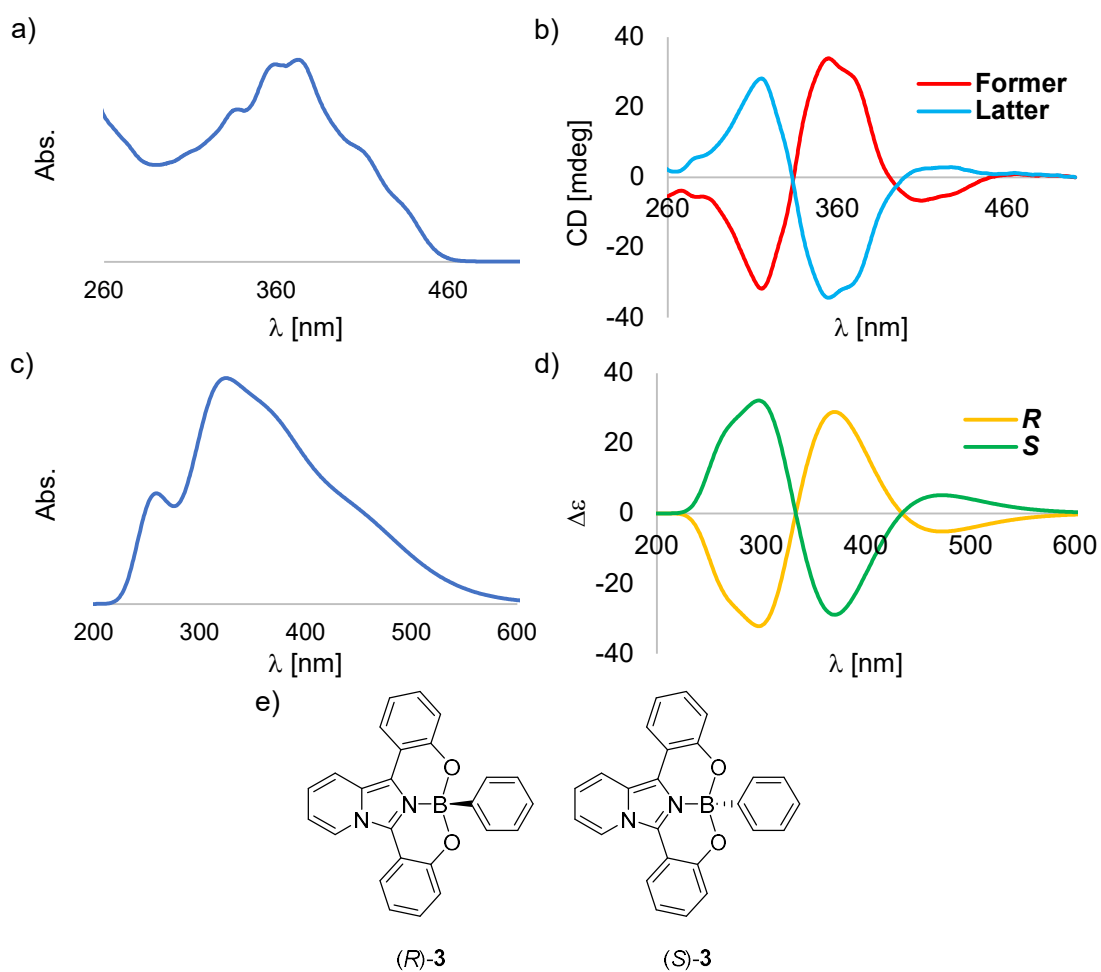


Figure 54. a) Measured absorption spectrum of boron complex **3** and b) its CD spectra, c) calculated absorption spectrum of boron complex **3** and d) its ECD spectra, and e) these boron complex **3**

また、TDDFT 計算により得たホウ素錯体 **3** の HOMO 及び LUMO を **Figure 55** に示す。HOMO は全体に非局在化しているが、LUMO はイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン部位に局在化している。このことから、ホウ素錯体は HOMO–LUMO 遷移でイミダゾ[1,5-*a*]ピリジン部位をアクセプターとした ICT をすることが示唆される。

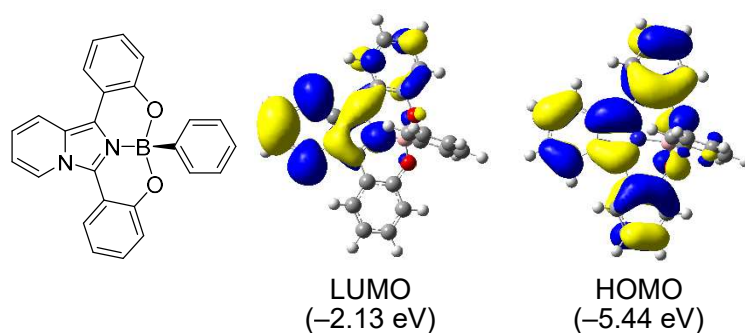


Figure 55. HOMO and LUMO of boron complex **3** by TDDFT calculation

Table 18. Transition probability of boron complex **3** by TDDFT calculation

Transition	Oscillator strength (f)	E_g^a (eV)
HOMO \rightarrow LUMO	0.1155	2.76

^aCalculated energy bandgap

2.3.2.6. 生物活性評価

暗毒性は生体利用を考える際に好ましい性質ではない。そこで、ホウ素錯体 **3** の HeLa 細胞に対する暗所での急性毒性及び亜急性毒性の評価を行った。HeLa 細胞はホウ素錯体 **3** と 10% ウシ胎児血清 (FBS), 抗生物質 (penicillin G and streptomycin) の存在下 Eagle's minimal essential medium (EMEM) 中, 37°C, 5% CO₂ 雰囲気下で培養した。一晚培養した後、HeLa 細胞を希釈したホウ素錯体 **3** を用い 1 時間 (急性毒性) または 24 時間 (亜急性毒性) インキュベートした。生存率は CCK-8 (Dojindo) を用いて評価した。まず, 急性毒性を評価したところホウ素錯体 **3** の検討した最高濃度 (終濃度 50 mM) においても細胞障害性は確認できなかった (Figure 56a)。また, 亜急性毒性についてもホウ素錯体 **3** の検討した最高濃度 (終濃度 50 mM) においても細胞障害性は確認できなかった (Figure 56b)。以上より, HeLa 細胞に対して毒性を示さないことがわかった。

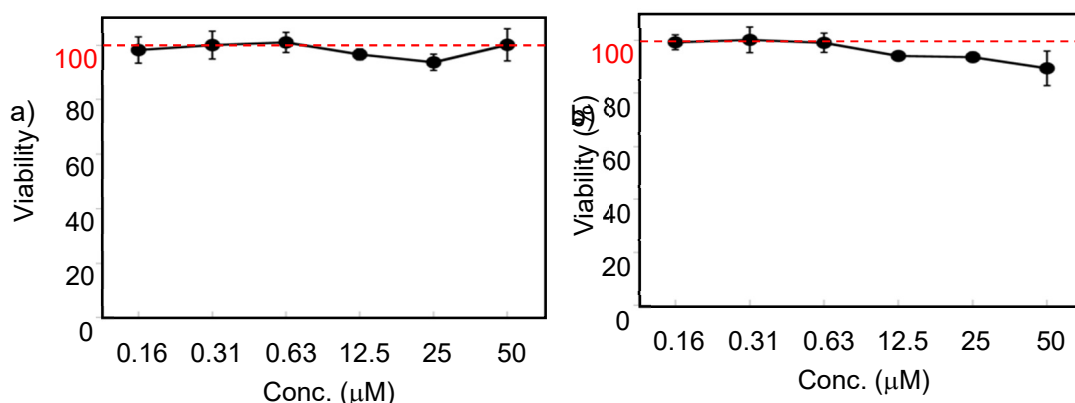


Figure 56. The viabilities of HeLa cells incubated with various concentrations of boron complex **3** after a) 1 hour for acute toxicity assay and b) 24 hours for subacute toxicity assay.

次にホウ素錯体 **3** は発光性を示すため, バイオイメージング剤として利用可能か HeLa 細胞を用いて細胞染色実験を行った。HeLa 細胞をホウ素錯体 **3** の存在下 37 °C, 5%の二酸化炭素雰囲気下で 1 時間培養したところ, シアン色の蛍光を観測した (Figure 57)。

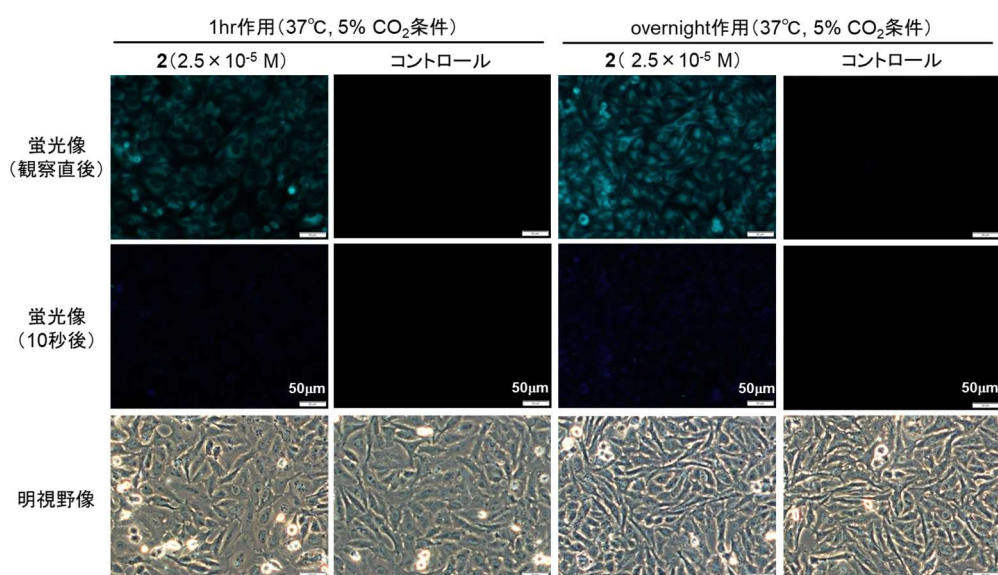


Figure 57. Photographs of bioimaging with boron complex **3**

そこでホウ素錯体 **3** の細胞内での局在を明らかにするため、オルガネラマーカを用いた共染色実験を行った。中性の BODIPY 色素は電子密度が低いためミトコンドリアに局在する傾向があると報告されているため共染色実験のオルガネラマーカとしてミトコンドリアマーカ (MitoTracker Red, ThermoFisher Scientific) を選択した。^[20] HeLa 細胞をホウ素錯体 **3** とミトコンドリアマーカの存在下 37 °C, 1 時間, 5% CO₂ 条件下で培養したところ、ホウ素錯体 **3** 由来のシアン色蛍光とミトコンドリアマーカ由来の赤色蛍光の共局在を確認した (**Figure 58**)。このことからホウ素錯体 **3** はミトコンドリアを選択的に染色していることが明らかとなった。

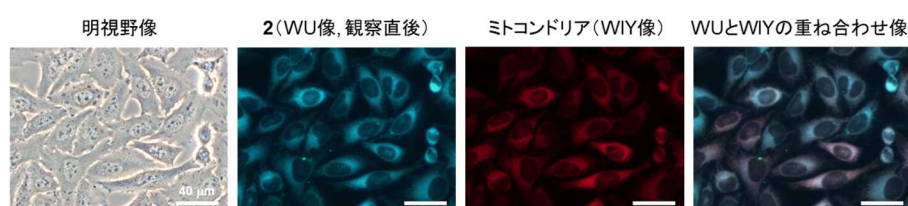


Figure 58. Double staining of boron complex **3** and MitoTrackerRed

細胞小器官 (オルガネラ) の中でアポトーシスの活性化に重要な役割を果たすミトコンドリアは、PDT 剤を設計するための有望な標的として認識されている。^[21-23] そこで、ホウ素錯体 **3** の UV 光照射下での HeLa 細胞に対する細胞傷害性を評価した。HeLa 細胞をホウ素錯体 **3** ($5.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) の存在下, 37 °C, 1 時間, 5% CO₂ 条件下で培養した後、細胞を洗浄、染色した HeLa 細胞に対して 37 °C の CO₂ 条件下で UVA-LED (365 nm, 1.1 W) を照

射した。ホウ素錯体 **3** で未染色の HeLa 細胞へ UV 光を照射した時、細胞生存率の低下は確認できなかったが、ホウ素錯体 **3** で染色した HeLa 細胞に対して UV 光を照射したところ照射時間に伴い細胞生存率は低下していき、60 分後には有意な細胞毒性を観測した (Figure 59)。

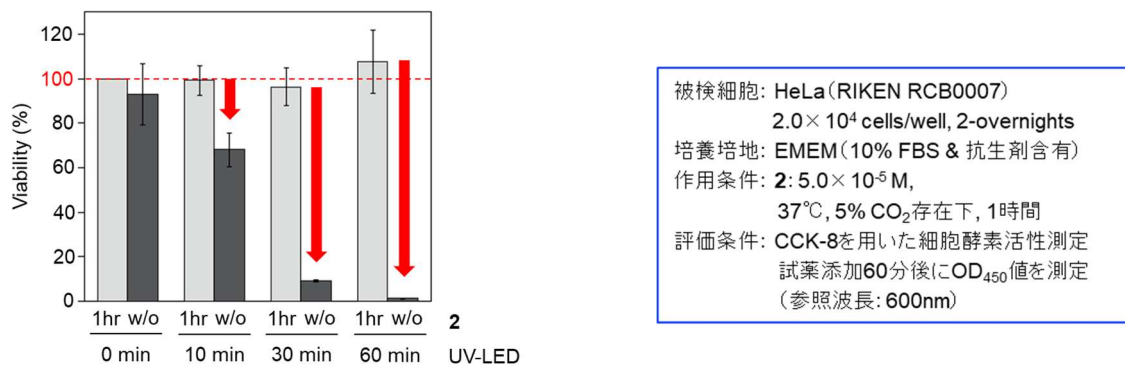


Figure 59. Cell viabilities of HeLa cells after UVA-LED irradiation with (+) or without (-) staining by boron complex **3**.

ホウ素錯体 **3** の二光子吸収能を評価することで二光子励起 PDT 分子としての利用の可能性を検証した。ホウ素錯体 **3** を DMSO 溶液中、フェムト秒パルスレーザーを用い 740 nm で励起したところ、その蛍光強度とレーザー出力の両対数プロットは 1.92 の傾きの直線であった。このことはホウ素錯体 **3** が二光子吸収能を有していることを示している (Figure 60)。

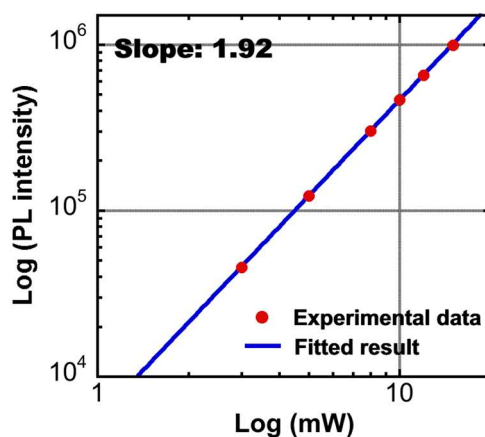


Figure 60. Log-log plots of fluorescence intensity of boron complex **3** vs. input laser power at 740 nm. Fluorescence emission was observed at 490 ± 30 nm.

そこでホウ素錯体 **3** と HeLa 細胞の二光子イメージングを行ったところ、HeLa 細胞の蛍光像を観測することができた (Figure 61)。それ故、ホウ素錯体 **3** は二光子励起過程を活用することで近赤外光を用いた PDT 応用も期待できる。

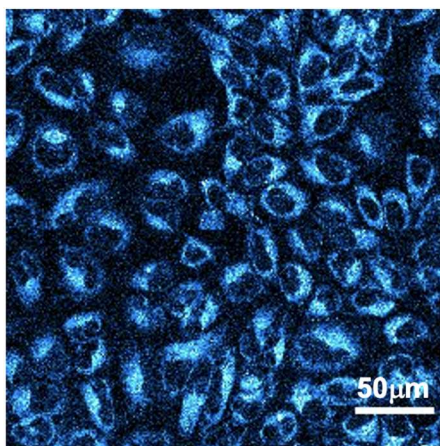


Figure 61. Two-photon imaging of HeLa cells stained by boron complex **3** excited at 740 nm. Fluorescence emission was observed at 490 ± 30 nm.

2.3.3. 結論

本項では、三座のイミダゾ[1,5-a]ピリジン配位子のホウ素錯体 **3** を設計、合成した。ホウ素錯体 **3** は Stokes シフトが 106 nm と大きく、発光量子収率も 0.34 と比較的高い値であった。DFT 計算の結果から比較的大きな Stokes シフトは ICT に起因するものと考えた。また、ホウ素錯体 **3** はホウ素原子周りでキラルな環境を有していたため、光学分割を行ったところ対称の CD スペクトルが観測された。また、ホウ素錯体 **3** はミトコンドリアへの集積と光照射に伴う細胞生存率の低下を確認し、重原子フリーな光増感剤として機能することがわかった。細胞傷害性は ROS によるものと考えており、過渡吸収スペクトル測定よりホウ素錯体 **3** が重原子を含まないにもかかわらず CT 性によって項間交差していることが示唆された。それ故、PDT 応用を試みたミトコンドリアを標的とする PDT 候補物質としての可能性を見出した。また、二光子による励起を行うことも可能であったため、より生体深部へ到達しやすい長波長域での励起も期待できる。

2.3.4. Experimental section

2.3.4.1. Experiment equipments

^1H NMR, ^{13}C NMR spectroscopy : JNM-ECZ400S/L1, JNM-ECA500WB (JEOL RESONANCE)

UV/Vis absorption spectroscopy : UV-1600 (SHIMADZU)

Fluorescence spectroscopy : RF-1500 (SHIMADZU)

Circular dichroism spectrometer : J-820 (JASCO)

Absolute PL quantum yield : Quantaaurus-QY Plus, C13534-02 (HAMAMATSU)

Fluorescence lifetime : DeltaFlex TypeT (HORIBA)

Single crystal X-ray diffractometer : R-AXIS RAPID II (Rigaku) , SMART APEX II (BRUKER AXS)

X-ray Diffractometer (XRD) : SmartLab/RA/DX (Rigaku)

High-pressure mercury lamp : UVL-400HA (RIKO)

Mass spectrometer : GCMS-QP5050A (SHIMADZU), Exactive (Thermo Fisher)

Melting point apparatus : MP-J3 (Yanako)

● Transient absorption experiment

Transient absorption spectra were measured by means of femtosecond pump-probe experiments. Light source was an amplified mode-locked Ti:sapphire laser (Solistice, Spectra-Physics). The second harmonic was used for excitation pulse. Transient absorption spectra were probed by delayed pulses of a femtosecond white-light continuum generated by focusing a signal light (at 1.3 mm) generated by an optical parametric amplifier (OPA) (TOPAS, Light Conversion Ltd.) into a CaF_2 plate. Probe light was detected by a C-MOS detector (Hamamatsu, PMA-20). The temporal resolution was ca. 150 fs. This experimental setup is shown in **Figure 62**.

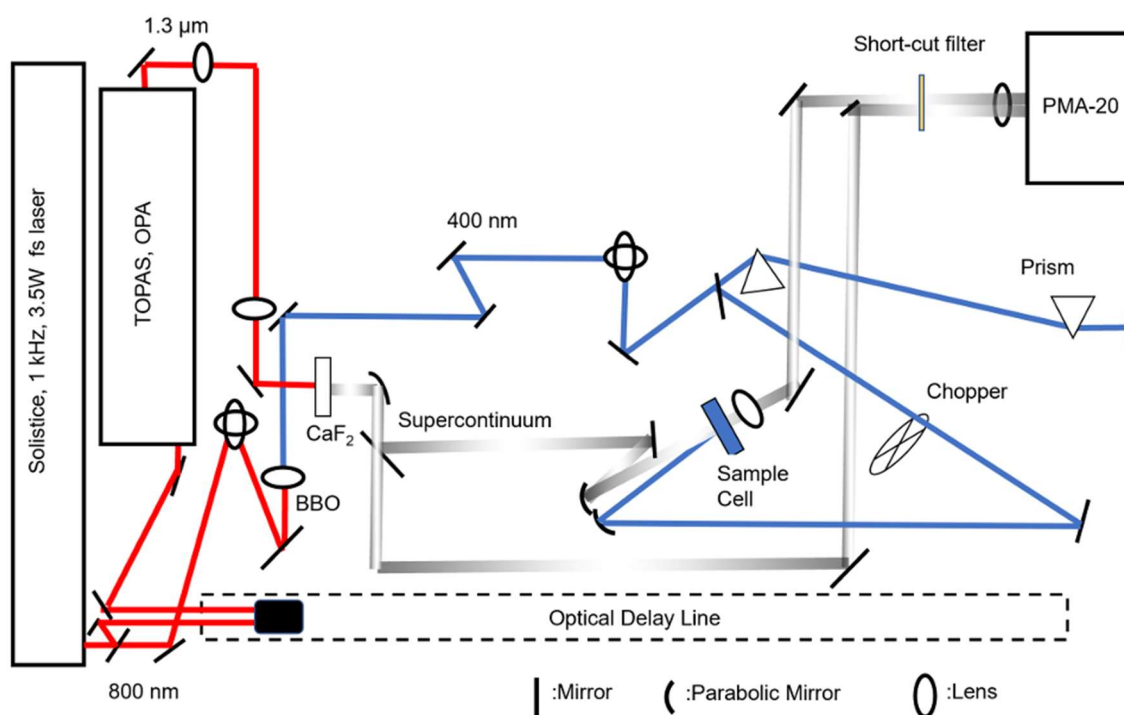


Figure 62. Experimental setup for femtosecond transient absorption spectra

- Two-photon excitation experiment

To perform two-photon excitation experiment, we used a home-built multi-photon microscope, as shown in **Figure 63**. A wavelength-tunable femtosecond optical parametric oscillator (Spectra-Physics, Inc., InSight DeepSee; tuning range, 680–1300 nm; pulse duration, ≈ 110 fs; repetition rate, 80 MHz) was used for the light source of multiphoton microscopy. The central wavelength was set to be 740 nm for two-photon excitation experiment. The output laser power was controlled by the combination of the half-wave plate and polarizer. The focal spot is two-dimensionally scanned onto a sample by use of a pair of GMs, a pair of relay lenses, and an objective lens (Nikon, Inc., CFI Plan 50X; magnification, 50; NA, 0.9; working distance, 350 mm; oil-immersion type). To further expand the lateral imaging region, we scanned the sample position using a stepping-motor-driven translation stage every time an image was obtained by the GM optics. Forward-propagated fluorescent light was collected via the condenser lens and then was separated from the excitation laser light by a dichroic mirror (Semrock, Inc., FF640-FDi01-25x36; reflection band ($R_{\text{avg}} > 95\%$), 350–629.5 nm; transmission band ($T_{\text{avg}} > 93\%$), 652–950 nm) and an optical band-pass filter (Semrock, Inc., FF01-490/60-25; the transmission band ($T_{\text{avg}} > 93\%$), 460–520 nm). Finally, the fluorescent signal was detected by a photon-counting photomultiplier (Hamamatsu Photonics, K.K., H8259-01) connected

with a pulse counter. Using the above setup, two-photon image of a 280 μm by 280 μm region, composed of 256 pixels by 256 pixels, was also acquired at a rate of 0.25 image/s.

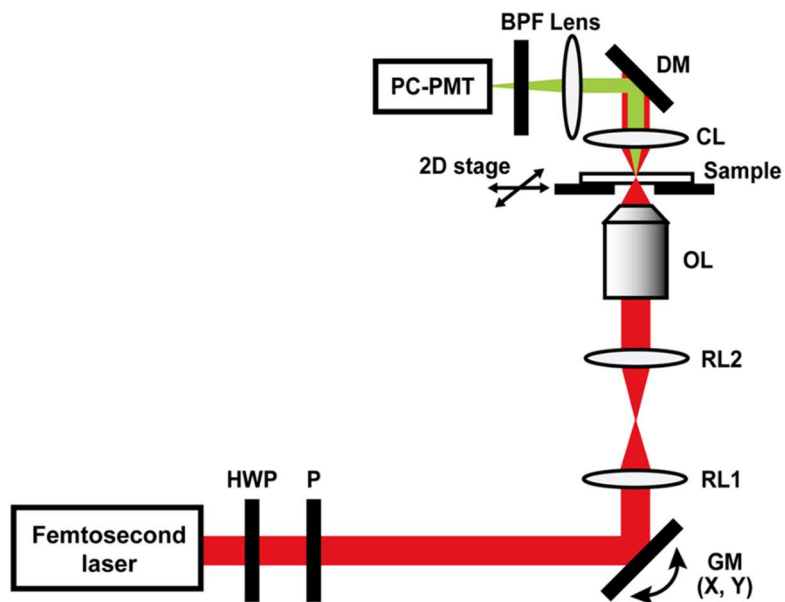
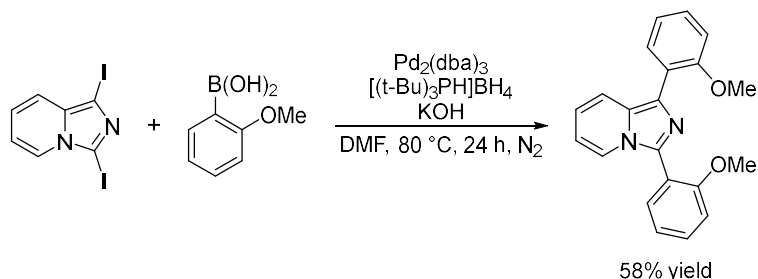


Figure 63. Experimental setup for multi-photon microscopy. HWP: half-wave plate; P: polarizer; GM: galvanometer mirror; RL1 and RL2: relay lenses; OL: objective lens; CL: condenser lens; DM: dichroic mirror; BPF: optical bandpass filter; PC-PMT: photon-counting photomultiplier.

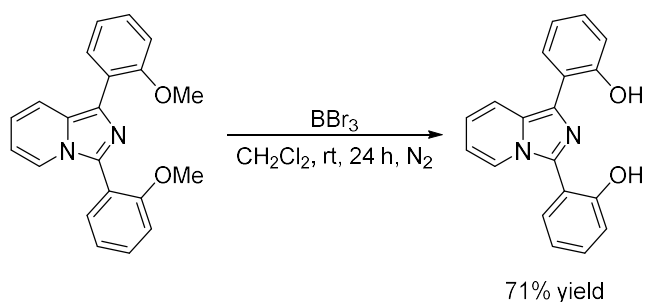
2.3.4.2. Synthesis

1,3-Bis(2-methoxyphenyl)imidazo[1,5-*a*]pyridine (**12**)



To a 30 mL of DMF solution containing 1,3-diiidoimidazo[1,5-*a*]pyridine (1.1108 g, 3.0 mmol), which was prepared according to the literature,^{ref} were added *o*-methoxyphenylboronic (1.0107 g, 6.6 mmol), Pd₂(dba)₃ (0.1385 g, 0.15 mmol), tri-*tert*-butylphosphonium tetrafluoroborate (0.0884 g, 0.3 mmol), and potassium hydroxide (1.1211 g, 19.8 mmol) at room temperature, and the mixture was stirred for 24 hours at 80 °C under nitrogen atmosphere. After the reaction mixture was poured into water and extracted with ethyl acetate, the organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane (1 : 2) as eluents, and 1.74 mmol (0.5736 g) of dimethoxy **12** was separated in 58% yield.

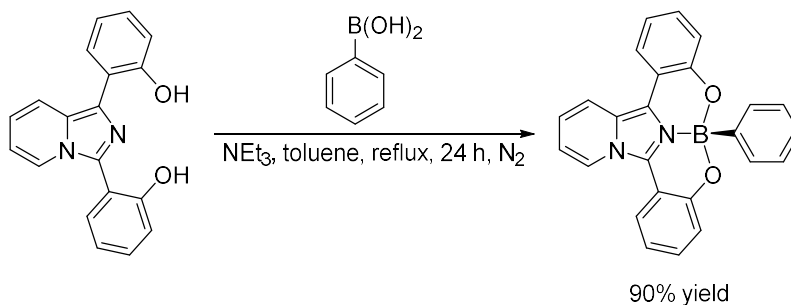
1,3-Bis(2-hydroxyphenyl)imidazo[1,5-*a*]pyridine (**13**)



To a 8 mL of dichloromethane solution containing dimethoxy (0.2624 g, 0.79 mmol) was added boron tribromide (1 mol/L solution in dichloromethane, 2.4 mL, 2.4 mmol) at 0 °C under nitrogen atmosphere, and the mixture was stirred for 24 hours at room temperature. After the reaction mixture was poured into water and extracted with dichloromethane, the organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of ethyl acetate and hexane (1 : 2) as eluents, and 0.56 mmol (0.1685 g)

of diol **13** was separated in 71% yield.

9,10-dioxa-9a-phenyl-14c,15l⁴-diaz-9a⁴-boraindeno[1,2,3-*fg*]tetracene (**3**)



To a 5 mL of toluene solution containing diol **13** (0.0911 g, 0.3 mmol) were added phenylboronic acid (0.0466 g, 0.36 mmol) and triethylamine (0.14 mL, 0.9 mmol) at room temperature, and the mixture was stirred for 24 hours at room temperature under reflux and nitrogen atmosphere. After the reaction mixture was concentrated *in vacuo*, the residual mixture was subjected to chromatography on silica gel using mixtures of dichloromethane and hexane (2 : 1) as eluents. As a result, 0.27 mmol (0.1067 g) of tridentate **3** was separated in 90% yield.

2.3.5. Spectral data

1,3-Bis(2-methoxyphenyl)imidazo[1,5-*a*]pyridine (**12**):

Brown solid; mp 151.0–152.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃) d: 3.82 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 6.52 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J* = 9.3, 6.6 Hz, 1H), 7.01–7.12 (m, 4H), 7.31 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.57–7.61 (m, 2H), 7.69 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃) d: 55.4, 55.5, 110.96, 111.03, 111.8, 118.2, 119.2, 120.3, 120.9, 121.1, 123.1, 124.1, 128.0, 128.36, 128.40, 130.6, 131.6, 132.9, 136.1, 156.2, 157.3; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₁H₁₈O₂N₂+H 331.1441, found 331.1433.

1,3-Bis(2-hydroxyphenyl)imidazo[1,5-*a*]pyridine (**13**):

Brown solid; mp 152.0–153.0 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) d: 6.83–6.87 (m, 1H), 6.93–6.97 (m, 2H), 7.01–7.05 (m, 2H), 7.10 (dd, *J* = 8.2, 0.9 Hz, 1H), 7.16 (ddd, *J* = 8.3, 7.2, 1.6 Hz, 1H), 7.42 (ddd, *J* = 8.3, 7.4, 1.7 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.87–7.90 (m, 2H), 8.12 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 10.40 (br, 1H), 12.11 (br, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) d: 113.4, 115.7, 116.3, 116.7, 118.6, 119.0, 119.3, 119.6, 120.8, 124.2, 126.0, 126.5, 127.6, 128.2, 131.1, 131.5, 134.2, 155.3, 155.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₉H₁₄O₂N₂+H 303.1128, found 303.1122.

9,10-dioxa-9a-phenyl-14a,15l⁴-diazabenzoboraindeno[1,2,3-*fg*]tetracene (**3**):

Yellow solid; mp 281.0–282.0 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) d: 6.93–7.04 (m, 6H), 7.08–7.14 (m, 3H), 7.18–7.25 (m, 2H), 7.30 (dd, *J* = 9.5, 6.6 Hz, 1H), 7.36–7.40 (m, 1H), 7.96 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J* = 7.9, 1.1 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 9.01 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) d: 112.8, 116.3, 117.5, 118.2, 119.5, 119.6, 119.67, S4 119.73, 120.1, 123.7, 124.27, 124.33, 124.4, 125.6, 126.6, 127.1, 127.7, 130.0, 130.5, 132.1, 154.6, 156.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₅H₁₇O₂N₂B+H 389.1456, found 389.1452.

2.3.6. Reference

- [1] J. C. Doty, B. Babb, P. J. Gridale, M. Glogowski, and J. L. R. Williams, *J. Organomet. Chem.* **1972**, *38*, 229–236.
- [2] Z. Q. Liu, Q. Fang, D. X. Cao, D. Wang, and G. B. Xu, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2933–2936.
- [3] D. X. Cao, Z. Q. Liu, Q. Fang, G. B. Xu, G. Xue, G. Q. Liu, and W. T. Yu, *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689*, 2201–2206.
- [4] M. Chapran, E. Angioni, N. J. Findlay, B. Breig, V. Cherpak, P. Stakhira, T. Tuttle, D. Volyniuk, J. V. Grazulevicius, Y. A. Nastishin, O. D. Lavrentovich, and P. J. Skabara, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 4750–4757.
- [5] T. Kowada, H. Maeda, and K. Kikuchi, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 4953–4972.
- [6] A. Kamkaew, S. H. Lim, H. B. Lee, L. V. Kiew, L. Y. Chung, and K. Burgess, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *42*, 77–88.
- [7] C. Glotzbach, U. Kauscher, J. Voskuhl, N. S. Kehr, M. C. A. Stuart, R. Fröhlich, H. J. Galla, B. J. Ravoo, K. Nagura, S. Saito, S. Yamaguchi, and E. U. Würthwein, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4410–4418.
- [8] M. Gon, K. Tanaka, and Y. Chujo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 6546–6551.
- [9] S. Ohtani, M. Gon, K. Tanaka, and Y. Chujo, *Crystals* **2020**, *10*, 615.
- [10] R. Clarke, K. L. Ho, A. A. Alsimaree, O. J. Woodford, P. G. Waddell, J. Bogaerts, W. Herrebout, J. G. Knight, R. Pal, T. J. Penfold, and M. J. Hall, *ChemPhotoChem* **2017**, *1*, 513–517.
- [11] Y. Gobo, R. Matsuoka, Y. Chiba, T. Nakamura, and T. Nabeshima, *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 4149–4152.
- [12] V. G. Jiménez, F. M. F. Santos, S. Castro-Fernández, J. M. Cuerva, P. M. P. Gois, U. Pischel, and A. G. Campaña, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 14057–14062.
- [13] N. Jiang, J. Fan, T. Liu, J. Cao, B. Qiao, J. Wang, P. Gao, and X. Peng, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10620–10622.
- [14] G. Cheng, J. Fan, W. Sun, K. Sui, X. Jin, J. Wang, and X. Peng, *Analyst* **2013**, *138*, 6091–6096.
- [15] S. Zhang, T. Wu, J. Fan, Z. Li, N. Jiang, J. Wang, B. Dou, S. Sun, F. Song, and X. Peng, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *11*, 555–558.
- [16] F. Padilla, N. Bhagirath, S. Chen, E. Chiao, D. M. Goldstein, J. C. Hermann, J. Hsu, J. J. Kennedy-Smith, A. Kuglstatter, C. Liao, W. Liu, L. E. Lowrie, K. C. Luk, S. M. Lynch, J.

- Menke, L. Niu, T. D. Owens, C. O-Yang, A. Railkar, R. C. Schoenfeld, M. Slade, S. Steiner, Y. C. Tan, A. G. Villaseñor, C. Wang, J. Wanner, W. Xie, D. Xu, X. Zhang, M. Zhou, and M. C. Lucas, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1677–1692.
- [17] S. Fuse, T. Ohuchi, Y. Asawa, S. Sato, and H. Nakamura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 5887–5890.
- [18] T. Kushida, C. Camacho, A. Shuto, S. Irle, M. Muramatsu, T. Katayama, S. Ito, Y. Nagasawa, H. Miyasaka, E. Sakuda, N. Kitamura, Z. Zhou, A. Wakamiya, and S. Yamaguchi, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1296–1304.
- [19] Z. Wang, M. Ivanov, Y. Gao, L. Bussotti, P. Foggi, H. Zhang, N. Russo, B. Dick, J. Zhao, M. Di Donato, G. Mazzone, L. Luo, and M. Fedin, *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 1091–1102.
- [20] T. Gayathri, S. Karnewar, S. Kotamraju, and S. P. Singh, *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 618–622.
- [21] W. Lv, Z. Zhang, K. Y. Zhang, H. Yang, S. Liu, A. Xu, S. Guo, Q. Zhao, and W. Huang, *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 10101–10105.
- [22] W. Zhuang, L. Yang, B. Ma, Q. Kong, G. Li, Y. Wang, and B. Z. Tang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 20715–20724.
- [23] S. Qi, N. Kwon, Y. Yim, V. N. Nguyen, and J. Yoon, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 6479–6484.

3. 結言

第一章ではテトラアリアルクムレン類の電子構造に着目した反応開拓と光機能評価を行った。

テトラアリアル[3]クムレンの光二量化反応では、その[3]クムレンの結晶構造が Schmidt 則を満たし、固相光二量化反応を満たす条件であることが明らかとなった。さらに、得た二量体は結晶化誘起発光増強 (CIEE) を示すことを見出した。テトラアリアル[3]クムレンのヨード環化反応では、[3]クムレンの最も電子豊富な二重結合とヨードカチオンが反応することが起点となり、続く環化反応によってベンゾフルベン誘導体を得られることを見出した。さらに、電子が豊富なアリアル基から選択的に環化にすることも明らかになった。テトラアリアル[5]クムレンのヨード環化反応ではヨード環化反応に続くアリアル基の転移を伴い、フルベン誘導体を与えることを見出した。

第二章では励起状態における電子構造変化を鍵とした含窒素芳香族複素環化合物群の光機能開拓に取り組んだ。

D- π -A 型ベンゾチアゾール誘導体によるアミロイド繊維の分解では、アミロイド β 凝集体の光分解を目的として設計、合成した D- π -A 型ベンゾチアゾール誘導体は二光子及び三光子吸収能を有するだけでなく、光照射下でアミロイド β 凝集体を分解できることを見出した。A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩の発光特性評価とバイオイメージングでは、ピリジニウム塩も大きい Stokes シフトと二光子吸収能、水溶性を示し、死細胞染色試薬として利用可能であることを見出した。イミダゾ[1,5-*a*]ピリジン配位子を持つ三座ホウ素錯体の合成では、項間交差により励起三重項状態が生成し光増感剤として機能することを見出した。Hela 細胞の染色実験及び光細胞傷害性実験の結果、ミトコンドリアを標的としたセラノステック分子としての応用が期待できることを見出した。

以上より、動的な電子構造制御に着目することで、クムレン類の新たな反応設計指針や、医療応用に資する含窒素芳香族複素環化合物群の分子設計指針を示すことに成功した。

謝辞

本研究は、徳島大学大学院 先端技術科学教育部 物質生命システム工学専攻 化学機能創生コース 物質合成化学 A1, A3 講座にて行われたものです。本研究を行うにあたり、多くの方々にご協力頂きました。

本研究を進めるにあたり A1 講座と A3 講座、2つの講座で研究を行い、数多くの先生方にご指導いただきましたこと感謝申し上げます。学部4年生から博士前期課程は A1 講座にて徳島大学大学院社会産業理工学研究部(理工学域)教授 河村 保彦先生、同研究部講師 西内 優騎先生、同研究部助教(当時) 八木下 史敏先生、博士後期課程では A3 講座にて同研究部教授 今田 泰嗣先生、同研究部教授 南川 慶二先生、同研究部准教授 荒川 幸弘先生、同研究部准教授 八木下 史敏先生にお世話になりました。

A1 講座の際の主旨導教員として河村先生にはクムレンの面白さを通して研究の初歩から修士論文までご指導いただきました。A3 講座の際の主旨導教員として今田先生には正確な実験の手法、考察を通しそれまでの研究から博士論文までご指導いただきました。A1, A3 両講座において、副指導教員として八木下先生には研究に関する困難克服のための具体的な方策をいただくなど多方面にわたり5年間ご指導いただきました。A3 講座の際のアドバイザー教員として荒川先生には雑誌会や報告会での助言等を通じご指導いただきました。南川先生、西内先生にも大学での研究生活をサポートしていただきました。上記6名の先生方に心より感謝申し上げます。

本研究は同講座の先輩、同僚、後輩の協力が必要不可欠でした。特に第一章のテトラアリアル[5]クムレンのヨード環化反応では安田 雅氏、第二章の D- π -A 型ベンゾフルベン誘導体研究では楠本 一真氏、A- π -D- π -A 型ピリジニウム塩研究では佐名川 洋平氏、イミダゾ[1,5-a]ピリジン配位子を持つ三座ホウ素錯体研究では板家 将海氏に多大なご協力をいただきましたこと心より感謝申し上げます。他にも研究室生活等でサポートしていただいた大学院生、学部生の皆様に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたりコース外の数多くの方々にもご協力いただきました。千葉大学大学院工学研究院大学院総合理工学府共生応用化学コース教授 坂本 昌巳先生、同コース教

授 三野 孝先生, 同コース助教 吉田 泰志先生には単結晶 X 線構造解析, 質量分析でお世話になりました。徳島大学大学院社会産業理工学研究部(理工学域)教授 古部 昭広先生, 同研究部助教 片山 哲郎先生には過渡吸収スペクトル測定でお世話になりました。徳島大学大学院社会産業理工学研究部(生物資源産業学域)教授 長宗 秀明先生, 同研究部准教授 田端 厚之先生には細胞毒性評価, バイオイメーキング実験でお世話になりました。徳島大学大ポストLED フォトニクス研究所特任助教 長谷 栄治先生には多光子励起実験でお世話になりました。以上の先生方にこの場を借りて心より感謝申し上げます。

最後に, これまで私を多方面から応援してくれた家族に心から感謝します。

2022 年 1 月