

アニオン類の高感度検出を目指したキラルビスウレア型レセプターの創製

伊藤 傑

横浜国立大学大学院工学研究院機能の創生部門

概要 現在上市されている医薬品の多くは、右手型分子と左手型分子のうちの片方のみからなるキラル医薬品であり、溶解性・安定性向上のため塩として製剤化されている。このようなイオン性化合物の検出法の中でも、有機分子を利用した人工イオンレセプターは、無機化合物を使用するよりも安価で毒性が低い点が利点である。しかし、有機人工イオンレセプターは、カチオンに対しては優れた例が知られているものの、アニオンに対するレセプターの開発は発展途上であり、アニオンとキラリティの同時検出はさらに難易度の高い課題である。一方、最近我々は、独自に合成したキラルビスウレア型有機分子が、優れたアニオン認識能を示すことを見出している。本研究では、キラルビスウレア型分子によるアニオンとキラリティの同時検出を目的として検討を行った。

まず、既に合成法を確立しているキラルジアミンと各種イソシアナートとの反応により、ビス(フェニルウレア)、ビス(フェニルチオウレア)、ビス(トシルウレア)の三種類のキラルビスウレア型分子を合成した。合成したキラルビスウレア型分子を用い、ラセミ体のマンデル酸テトラブチルアンモニウム(DL-TBAM)をモデル基質として、NMR法による両エナンチオマーの識別を試みたところ、ビス(フェニルウレア)を d_8 -アセトン中、0.5当量のみ加えるだけで、TBAMの両エナンチオマーのシグナルが良好に分離することを見出した。三種類のキラルビスウレア型分子と(R)-および(S)-TBAMとの間の1:1会合体、1:2会合体形成における会合定数をNMR滴定実験により求めたところ、ビス(フェニルウレア)では1:2会合体形成時に両エナンチオマーが良好に識別されることが分かった。また、(R)-TBAMが優先的に1:2会合体を形成することも、両エナンチオマーのシグナルが効率良く分離する要因であることが示唆された。

一方、高感度検出可能な蛍光法の利用を目的として、蛍光性のピレニル基を有するイソシアナートとキラルジアミンとの反応により、ピレニル基を有するキラルビスウレア型分子を合成した。蛍光性キラルビスウレア型分子にキラルアニオンを添加すると、蛍光強度が大きく低下した。

以上、本研究では、キラルビスウレア型レセプターによるアニオンとキラリティの同時検出を実現するとともに、蛍光性キラルアニオンレセプターを創製することに成功した。

1. 研究目的

アニオンは、海水を始めとする環境中や生体内において重要な役割を果たしており、特定のアニオンを高感度に検出する手法の開発は重要な研究課題である。有機分子からなる人工イオンレセプターは、無機化合物より安価で低毒性といった利点があるため積極的に研究されているが、クラウンエーテルに代表されるカチオン認識と比較してアニオンを高感度検出できるレセプターの開発は発展途上である。一方、アミノ酸や糖などの生体分子が、右

手型と左手型のうち一方のみからなるキラル分子であることから、現在上市されている医薬品の大部分はキラル医薬品である。医薬品は、溶解性や安定性向上のためナトリウムイオンや塩化物イオンを含む塩として製剤化されており、アニオンとキラリティを高感度同時検出可能なレセプターを開発すれば、薬物代謝解析の研究を迅速化できる。

最近我々は、所属研究室で独自に開発した触媒^(1,2)を用いて合成したキラルビスウレア型有機分子が、優れたアニオンレセプターとして機能することを見出した。この分子

は、アニオン添加時に NMR シグナルが変化するだけでなく、比旋光度の値が増大したことから、キラル認識に有効な環境が構築されることが示唆された。そこで本助成研究では、NMR 法によるアニオンとキラリティの同時検出を目的として各種キラルビスウレア型分子を合成し、そのキラルアニオン認識能を評価した。また、高感度検出可能な「蛍光」の変化を利用したアニオンとキラリティの高感度同時検出を目的として、蛍光性置換基を導入したキラルビスウレア型アニオンレセプターの合成とそのアニオン応答性についても検討した。

2. 研究方法

2.1 装置・試薬

核磁気共鳴 (NMR) スペクトルの測定には、Bruker 社製 DRX-500 (^1H NMR 500 MHz) を用いた。測定の溶媒としては、重クロロホルム、アセトン- d_6 、またはジメチルスルホキシド- d_6 を用いた。 ^1H NMR における内部標準は、重クロロホルムを用いた場合はテトラメチルシラン (0.00 ppm)、アセトン- d_6 とジメチルスルホキシド- d_6 を用いた場合はアセトン (2.05 ppm) とジメチルスルホキシド (2.50 ppm) とした。蛍光スペクトルの測定には、JASCO 社製 FP-8500 分光蛍光光度計および Ocean Optics 社製 FLAME-S-XR1-ES ファイバー式小型分光光度計を用いた。絶対蛍光量子収率の測定は、JASCO 社製 ILF-835 積分球 (100 mm ϕ) を用いて行い、FWQE-880 量子収率計算プログラムにより解析した。カラムクロマトグラフィーの充填剤には、関東化学社製シリカゲル 60 N (球状、中性、63~210 μm) を用いた。市販の試薬はそのまま用いるか常法に従い蒸留した後に用いた。(R,R)-4,6-ビス(1-アミノプロピル)ジベンゾ[b,d]フラン(1)は本助成研究開始以前に確立した手法⁽³⁾に従って合成した。

2.2 合成

2.2.1 (R,R)-4,6-ビス[1-(3-フェニルウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2a)の合成

アルゴン雰囲気下、30 mL ニロナスフラスコに (R,R)-1 (0.29 mmol, 0.080 g) とジクロロメタン (2.0 mL) を加え均一な溶液とした後、フェニルイソシアナート (0.70 mmol, 0.080 mL) のジクロロメタン溶液 (4.0 mL) を滴下し、室温で 17 時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー

(ジクロロメタン/酢酸エチル= 10:1) で精製することにより、(R,R)-4,6-ビス[1-(3-フェニルウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2a: 0.120 g, 78%) を白色固体として得た。

2.2.2 (R,R)-4,6-ビス[1-(3-フェニルチオウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2b)の合成

ビス(フェニルウレア)2a の合成と同様に、(R,R)-1 (0.32 mmol, 0.090 g) のジクロロメタン溶液 (2.0 mL) に、フェニルチオイソシアナート (0.77 mmol, 0.090 mL) のジクロロメタン溶液 (4.0 mL) を滴下し、室温で 17 時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/ジクロロメタン/酢酸エチル= 3:1:1) で精製することにより、(R,R)-4,6-ビス[1-(3-フェニルチオウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2b: 0.150 g, 86%) を白色固体として得た。

2.2.3 (R,R)-4,6-ビス[1-(3-トシルウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2c)の合成

ビス(フェニルウレア)2a の合成と同様に、(R,R)-1 (0.33 mmol, 0.092 g) のジクロロメタン溶液 (2.0 mL) に、0°C で *p*-トルエンスルホニルイソシアナート (0.78 mmol, 0.12 mL) のジクロロメタン溶液 (4.0 mL) を滴下し、室温で 17 時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/酢酸エチル= 10:1) で精製することにより、(R,R)-4,6-ビス[1-(3-トシルウレイド)プロピル]ジベンゾ[b,d]フラン(2c: 0.180 g, 82%) を白色固体として得た。

2.2.4 (R,R)-4,6-ビス(1-{3-[3-(ピレン-1-イル)プロピル]ウレイド}プロピル)ジベンゾ[b,d]フラン(3)の合成

アルゴン雰囲気下、50 mL ニロナスフラスコに 4-(1-ピレン-1-イル)酪酸 (0.91 mmol, 0.260 g)、ジオキサソ (10.0 mL)、トリエチルアミン (1.1 mmol, 0.23 mL)、ジフェニルリン酸アジド (dppa: 1.1 mmol, 0.15 mL) を順次加えて 90°C で 1 時間攪拌した後、(R,R)-1 (0.38 mmol, 0.110 g) のジオキサソ溶液 (2.0 mL) を加えて 80°C で 6 時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去して得られた粗生成物に水、ジクロロメタンを加え、有機層と水層を分離した。水層をジクロロメタンで 3 回抽出し、有機層を合わせて水、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過により乾燥剤を取り除き、ろ液を減圧下溶媒留去して得られた粗生成物をジクロロメタン/ヘキサソで再結晶することにより、

(*R,R*)-4,6-ビス(1-{3-[3-(ピレン-1-イル)プロピル]ウレイド}プロピル)ジベンゾ[*b,d*]フラン(**3**:0.017 g, 6%)を淡褐色固体として得た。

2. 3 NMR 実験

¹H NMR を用いたキラルビスウレア誘導体によるキラルアニオンの認識実験について、代表的な実験例を以下に記す。(*R,R*)-ビス(フェニルウレア) **2a** (0.060 mmol, 31.2 mg) を 10 mL メスフラスコに入れ、アセトンを標線まで加えることで 6 mM の (*R,R*)-**2a** アセトン溶液(溶液 A)を調製した。また、マンデル酸テトラブチルアンモニウム(TBAM: 0.060 mmol, 23.6 mg)を 10 mL メスフラスコに入れ、アセトンを標線まで加えることで 6 mM の TBAM アセトン溶液(溶液 B)を調製した。次に、3 mL サンプル瓶に溶液 A (0.25 mL)と溶液 B(0.50 mL)をメスピペットで量って加えた。アセトンを減圧下留去した後、アセトン-*d*₆(0.60 mL)をメスピペットで量って加えた。サンプル瓶中の(*R,R*)-**2a** と TBAM が完全に溶解した後、溶液を 5 mmφNMR 試料管に移し替え、¹H NMR スペクトルを測定した。

2. 4 NMR 法による会合定数の測定

NMR 滴定によりキラルビスウレア誘導体と TBAM との会合定数を求める手法について、代表的な実験例を以下に記す。(*R,R*)-ビス(フェニルウレア) **2a** (0.030 mmol, 15.6 mg) を 5 mL メスフラスコに入れ、アセトン-*d*₆を標線まで加えることで 6 mM の (*R,R*)-**2a** アセトン-*d*₆溶液(溶液 A)を調製した。また、TBAM(0.36 mmol, 141.7 mg)を 1.5 mL メスフラスコに入れ、溶液 A(1.25 mL)をメスピペットで量って加えた後、アセトン-*d*₆を標線まで加えることで、5 mM の (*R,R*)-**2a** と 250 mM の TBAM とのアセトン *d*₆-溶液(溶液 B)を調製した。次に、溶液 A(0.50 mL)とアセトン-*d*₆(0.10 mL)を 5 mmφ NMR 試料管中で混合し、5 mM の (*R,R*)-**2a** アセトン-*d*₆溶液(溶液 C)を調製した。溶液 C の ¹H NMR スペクトルを測定した後、溶液 B を 1.2 μL 加えて均一な溶液として、¹H NMR スペクトルを測定した。さらに、溶液 B を 1.3 μL, 1.2 μL, 1.3 μL, 1.2 μL, 1.3 μL×8, 2.8 μL, 3.3 μL, 3.4 μL×3, 3.5 μL, 3.6 μL, 15 μL×2, 88 μL, 120 μL, 151 μL, 200 μL ずつ加えて ¹H NMR スペクトルを測定し、それぞれの測定における(*R,R*)-**2a** に由来するシグナルの化学シフト値の変化(Δδ)を求めた。得られた測定データに対し、Matlab を用いて非線形回帰分析を行うことで、(*R,R*)-**2a** と TBAM から 1:1 会合体が生成する際

の会合定数 K_1 および 1:2 会合体が生成する際の会合定数 K_2 を求めた。

2. 5 蛍光性キラルビスウレアに対するアニオン添加実験

(*R,R*)-ビス(ピレニルプロピルウレア) **3** (0.010 mmol, 11.6 mg) を 10 mL メスフラスコに入れ、クロロホルムを標線まで加えることで 1 mM の (*R,R*)-**3** クロロホルム溶液(溶液 A)を調製した。また、10 mL メスフラスコに溶液 A(0.10 mL)をメスピペットで量って加えた後、クロロホルムを標線まで加えることで、10 μM の (*R,R*)-**3** クロロホルム溶液(溶液 B)を調製した。次に、(*S*)-TBAM(0.50 mmol, 196 mg)を 10 mL メスフラスコに入れ、溶液 A(0.10 mL)をメスピペットで量って加えた後、クロロホルムを標線まで加えることで、10 μM の (*R,R*)-**3** と 50 mM の TBAM とのクロロホルム溶液(溶液 C)を調製した。

2. 5. 1 蛍光分光光度計を用いたアニオン当量の検討

10 mm 石英セルに溶液 B(2.0 mL)をメスピペットで量って加え、蛍光スペクトルを測定した。さらに、溶液 C を 0.4μL, 2.0μL, 40μL, 200μL, 400μL, 600μL, 1,200μL, 1,400μL, 1,600μL, 2,000μL, 2,400μL, 2,800μL ずつ加えて蛍光スペクトルを測定した。

2. 5. 2 ファイバー式小型分光光度計を用いた経時変化の測定

10 mm 石英セルに溶液 B(2.0 mL)をメスピペットで量って加え、溶液 C(1.0 mL)をメスピペットで量って加えた直後から 2 秒ごとに 20 秒後までの蛍光スペクトルを測定した。

3. 研究結果

3. 1 キラルビスウレア誘導体(*R,R*)-**2a-c**によるTBAMのキラル認識

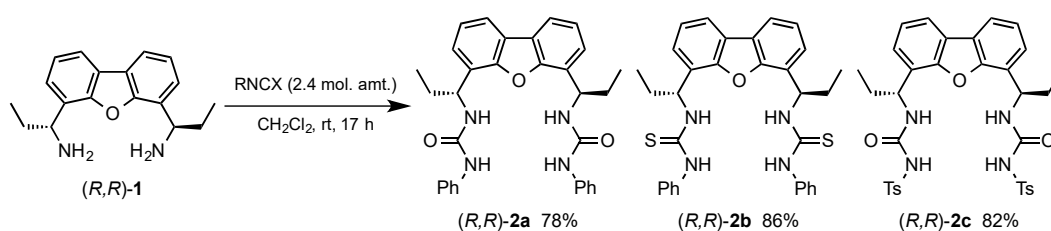
既に合成法を確立しているキラルジアミン(*R,R*)-**1** に対し、フェニルイソシアナート、フェニルチオイソシアナート、またはトシルイソシアナートをジクロロメタン中、室温で 17 時間反応させることで、(*R,R*)-ビス(フェニルウレア) **2a**、(*R,R*)-ビス(フェニルチオウレア) **2b**、(*R,R*)-ビス(トシルウレア) **2c** をそれぞれ収率 78%、86%、82%で得た(Scheme 1)。

得られたキラルビスウレア誘導体を用い、アニオンとキラリティの同時認識について検討を行った。まず、(*R,R*)-

ビス(フェニルウレア)**2a**を用い、ラセミ体のマンデル酸テトラブチルアンモニウム(DL-TBAM)をモデル基質として、NMR法による両エナンチオマーの識別を試みた。重クロロホルム、ジメチルスルホキシド-*d*₆、またはアセトン-*d*₆中、TBAMに対して(*R,R*)-**2a**を0.25~2.0当量加え、TBAMのベンジル位プロトンに由来するシグナルの両エナンチオマー間の化学シフト値の差($\Delta\Delta\delta$)を測定した(**Table 1**)。溶媒に重クロロホルムとジメチルスルホキシド-*d*₆を用いた場合は、(*R,R*)-**2a**の当量を増加させるに従って $\Delta\Delta\delta$ 値が

増大した。一方、興味深いことに、アセトン-*d*₆中では、0.5当量の(*R,R*)-**2a**を用いた場合に両エナンチオマーのシグナルが大きく分離($\Delta\Delta\delta = 0.063$ ppm)し、(*R,R*)-**2a**の当量をさらに増加させた場合には $\Delta\Delta\delta$ が小さくなった。

アセトン-*d*₆を用いた場合に $\Delta\Delta\delta$ 値が最も大きくなったことから、次に、アセトン-*d*₆中で(*R,R*)-ビス(フェニルチオウレア)**2b**と(*R,R*)-ビス(トシルウレア)**2c**を用いた場合のDL-TBAMのキラル認識について検討を行った(**Table 2**)。ビス(フェニルチオウレア)**2b**を用いた場合は、(*R,R*)-**2a**



Scheme 1. Synthesis of chiral bisureas (*R,R*)-**2a-c**.

Table 1. Effect of solvents for ¹H NMR chemical shift differences ($\Delta\Delta\delta$)

between the benzylic C–H protons of DL-TBAM in the presence of chiral bisurea (*R,R*)-**2a**.^a

<i>(R,R)</i> - 2a (equiv)	CDCl ₃	<i>d</i> ₆ -DMSO	<i>d</i> ₆ -acetone
	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)
0.25	0.019 ^b	0.007 ^d	0.042 ^b
0.50	0.033 ^b	0.012 ^d	0.063 ^b
0.75	0.040 ^b	0.015 ^d	0.062 ^c
1.0	0.045 ^b	0.018 ^b	0.050 ^c
2.0	0.051 ^b	0.026 ^b	0.042 ^b

^a 500 MHz ¹H NMR at 25 °C. [TBAM] = 5 mM. ^b Clear separation of enantiomeric signals.

^c Overlapped with the signals of (*R,R*)-**2a**. ^d Insufficient separation of the enantiomeric signals.

Table 2. ¹H NMR chemical shift differences ($\Delta\Delta\delta$) between the benzylic C–H protons of DL-TBAM in the presence of chiral bisurea (*R,R*)-**2a-c**.^a

Chiral bisurea (equiv)	<i>(R,R)</i> - 2a	<i>(R,R)</i> - 2b	<i>(R,R)</i> - 2c
	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)
0.25	0.042 ^b	0.033 ^b	0.006 ^d
0.50	0.063 ^b	0.038 ^b	0.024 ^d
0.75	0.062 ^c	0.034 ^b	0.044 ^b
1.0	0.050 ^c	0.020 ^d	0.053 ^b
2.0	0.042 ^b	0.011 ^d	0.053 ^b

^a 500 MHz ¹H NMR at 25 °C. [TBAM] = 5 mM in CDCl₃. ^b Clear separation of enantiomeric signals.

^c Overlapped with the signals of (*R,R*)-**2a**. ^d Insufficient separation of the enantiomeric signals.

の時と同様に 0.5 当量の **2b** 存在下で $\Delta\Delta\delta$ 値が最大 (0.038 ppm) となったが, **2a** と比べるとその値は小さかった。一方, ビス(トシルウレア) **2c** を用いた場合は, **2c** の当量を増加させるに従って $\Delta\Delta\delta$ 値が増大し, **2c** と DL-TBAM の比率が 1:1 の時に $\Delta\Delta\delta$ 値は 0.053 ppm となった。以上のように, キラルジアミン誘導体 (*R,R*)-**2a–c** はいずれも NMR 法によるキラルアニオンの認識に効果的に働き, 特に, (*R,R*)-**2a** では当モル量以下の **2a** を加えるのみで DL-TBAM の両エナンチオマーのシグナルが大きく分離することが明らかとなった。

次に, キラルビス(フェニルウレア) **2a** が高いキラル認識能を発現した要因を明らかとするため, キラルビスウレア誘導体 **2a–c** と (*R*)-および (*S*)-TBAM との間の 1:1 会合体, 1:2 会合体形成時における会合定数 K_1 , K_2 を NMR 滴定実験により求めた (Table 3)。まず, 1:1 会合体形成における会合定数 K_1 は, (*R,R*)-**2a** を用いた場合が $4,000\text{ M}^{-1}$ 程度であったのに対し, (*R,R*)-**2b** と **2c** では, $12,000\text{ M}^{-1}$ 前後と, 約 2~3 倍の値となった。これは, フェニルウレア **2a** に比べて, フェニルチオウレア **2b** とトシルウレア **2c** の方がウレア部位の N-H プロトンの酸性度が高いためだと考えられる。これらの会合定数の値に基づくと, 最も K_1 の小さい (*R,R*)-**2a** を用いた場合でも, キラル識別の NMR 実験においてキラルビスウレアが 2 当量存在する条件では, マンデル酸は 99% 以上が 1:1 会合体として存在すると計算される。従って, 2 当量のキラルビスウレア **2a–c** が存在する条件での $\Delta\Delta\delta$ (0.042, 0.011, 0.053 ppm) は, 1:1 会合体形成時にジアステレオマーの関係となる TBAM の両エナンチオマーのシグナルが, 異なる化学シフト値に観測されることに由来することが分かる。ここで, ウレア **2a, c** に比べてチオウレア **2b** の $\Delta\Delta\delta$ 値が小さかった原因としては,

TBAM の両エナンチオマーがチオカルボニル基からの強い遮蔽効果を受けることで化学シフト値に大きな差が生じなかったことが挙げられる。次に, 1:2 会合体形成における会合定数 K_2 に着目すると, K_2 は $33\sim 410\text{ M}^{-1}$ の範囲にあり, いずれも (*R*)-TBAM の方が (*S*)-TBAM よりも K_2 の値が大きかった。(*R,R*)-**2a** と **2b** を用いた際に $\Delta\Delta\delta$ 値が最大となった, ビスウレア誘導体が TBAM に対して 0.5 当量存在する条件において TBAM は, ビスウレアと相互作用していないフリーの状態と, 1:1 会合体, 1:2 会合体の平衡混合物として存在する。会合定数の値から計算すると, ビス(トシルウレア) **2c** を用いた場合には 1:2 会合体として存在する TBAM の割合が 30~40% となるが, $\Delta\Delta\delta$ 値は **2c** を 2 当量用いた場合よりも低下したため, **2c** は 1:2 会合体形成時の方が, $\Delta\Delta\delta$ 値が小さいことが分かる。一方, **2a** と **2b** を 0.5 当量用いた条件では, 45% 前後の TBAM が, シグナル分離の起こらないフリーの状態として存在するにも関わらず, 10% 前後の TBAM が 1:2 会合体として存在することで $\Delta\Delta\delta$ 値が大きくなった。従って, **2a** と **2b** では 1:2 会合体形成時の方が, $\Delta\Delta\delta$ 値が大きい。

また, (*R,R*)-**2a** を 0.5 当量用いる条件において, (*R,R*)-**2a** の濃度についても検討を行った (Figure 1)。濃度を 5 mM から 2.5 mM に低下させた場合, $\Delta\Delta\delta$ 値が 0.068 ppm に増大したが, 濃度を 20 mM まで徐々に増加させると $\Delta\Delta\delta$ 値は 0.053 ppm へと徐々に減少した。すなわち, 高濃度条件では 1:2 会合体の生成割合が増加するにも関わらず, 低濃度条件の $\Delta\Delta\delta$ 値の方が大きかった。このことから, (*R,R*)-**2a** を 0.5 当量用いる条件では, K_2 の大きな (*R*)-TBAM が優先的に 1:2 会合体を形成することも, 両エナンチオマーのシグナルが効率良く分離する要因であることが示唆された。

Table 3. Association constants (K) obtained from NMR titration of (*R,R*)-**2a–c** with (*R*)- and (*S*)-TBAM in d_6 -acetone.

Host	Guest	K_1 (M^{-1})	K_2 (M^{-1})
(<i>R,R</i>)- 2a	(<i>R</i>)-TBAM	$3.9\times 10^4\pm 1.4\times 10^4$	$5.3\times 10^1\pm 9\times 10^0$
	(<i>S</i>)-TBAM	$4.7\times 10^4\pm 1.4\times 10^4$	$3.3\times 10^1\pm 2\times 10^0$
(<i>R,R</i>)- 2b	(<i>R</i>)-TBAM	$1.1\times 10^5\pm 3.5\times 10^4$	$7.8\times 10^1\pm 5\times 10^0$
	(<i>S</i>)-TBAM	$1.1\times 10^5\pm 4.0\times 10^4$	$5.4\times 10^1\pm 5\times 10^0$
(<i>R,R</i>)- 2c	(<i>R</i>)-TBAM	$1.3\times 10^5\pm 7.2\times 10^4$	$4.1\times 10^2\pm 8\times 10^1$
	(<i>S</i>)-TBAM	$1.2\times 10^5\pm 9.1\times 10^4$	$2.9\times 10^2\pm 5\times 10^1$

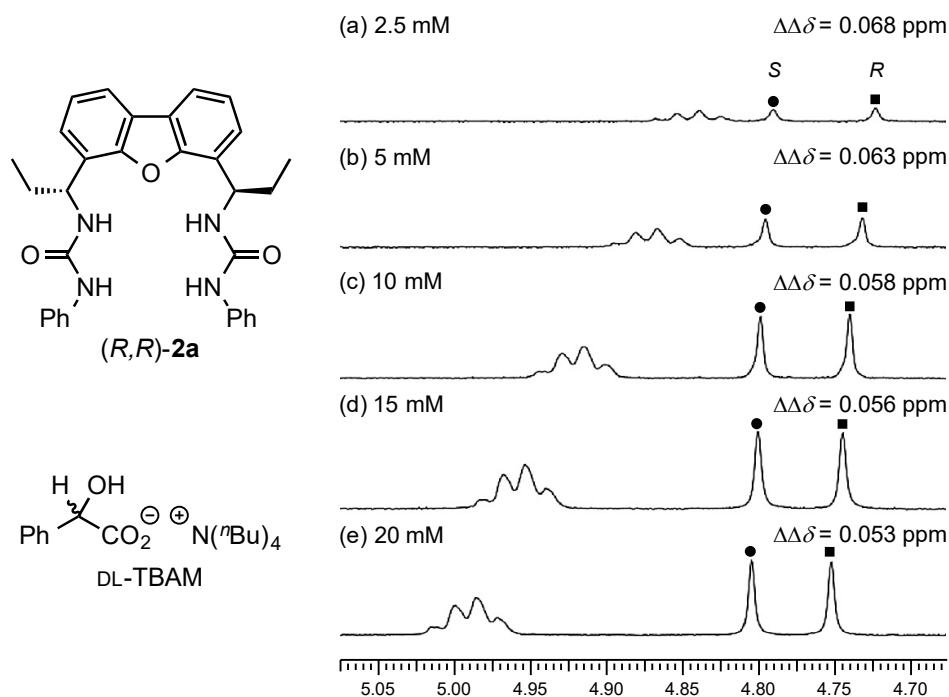


Figure 1. Partial ^1H NMR spectra (d_6 -acetone, 298 K) of the mixture of (R,R) -**2a** (2.5–20 mM) and DL-TBAM [(R,R)-**2a**/DL-TBAM = 0.5:1].

3. 2 キラルビスウレア誘導体 (R,R) -**2a** による各種キラルアニオンの認識

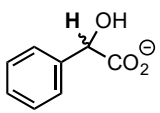
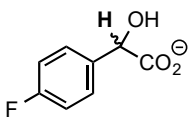
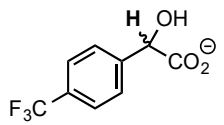
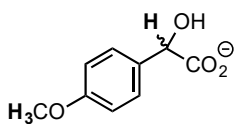
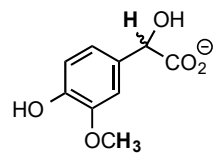
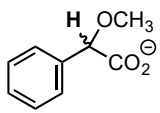
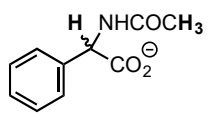
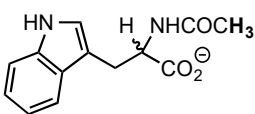
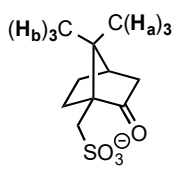
ラセミ体のマンデル酸テトラブチルアンモニウム (DL-TBAM) のシグナル分離に最も効果的であった (R,R) -ビス(フェニルウレア)**2a** を用い、他のキラルアニオンに対する識別能を評価した (Table 4)。マンデル酸のフェニル基上に電子求引基や供与基を有する場合も、両エナンチオマーのベンジル位プロトンは良好な $\Delta\Delta\delta$ 値で分離した (entries 2–5)。ベンゼン環上にメキシ基を有する場合は、メキシ基のシグナルについても両エナンチオマー間での分離が確認された (entries 4 and 5)。 α -メキシフェニル酢酸や *N*-アセチル-2-フェニルグリシンから調製したキラルアニオンを用いた場合も、ベンジル位のプロトンは両エナンチオマー間で十分に分離した (entries 6 and 7)。*N*-アセチルトリプトファンのアニオンを用いた際には、アセチル基上のメチル基が $\Delta\Delta\delta = 0.052$ ppm と良好に分離した (entry 8)。カルボン酸塩だけでなく、カンファースルホン酸から調製したアニオンを用いた場合にも、橋頭位のメチル基が両エナンチオマー間で $\Delta\Delta\delta = 0.012$ ppm で分離した (entry 9)。

3. 3 キラルビスウレア誘導体 (R,R) -**3** の合成と蛍光法によるキラルアニオンの認識

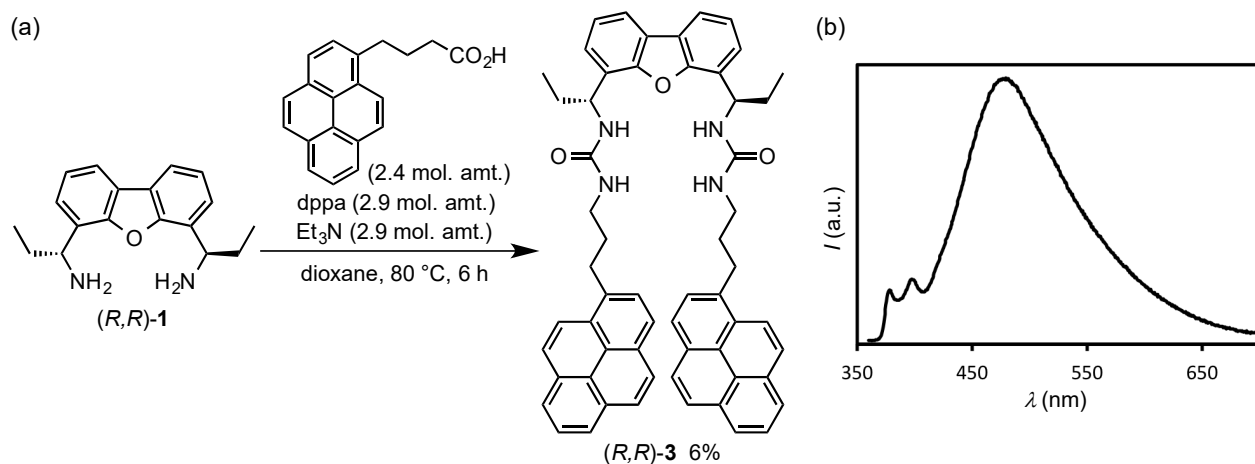
キラルジアミン (R,R) -**1** に対し、トリエチルアミン存在下で 4-(1-ピレニル)酪酸とジフェニルホスホリルアジド (dppa) から発生させたイソシアナートをジオキサン中、80°C で 6 時間反応させることで、 (R,R) -ビス(ピレニルプロピルウレア)**3** を収率 6% で得た (Scheme 2a)。得られた (R,R) -**3** のトルエン溶液 (10^{-5} M) の蛍光スペクトルを測定したところ、ピレン環の分子内エキシマー発光に帰属される 480 nm を極大とするスペクトルが主として観測されるとともに、375–400 nm 付近にモノマー発光に由来するスペクトルが観測された (Scheme 2b)。また、蛍光量子収率は 0.23 であり、一般的なピレン環のエキシマー発光と同程度であった。

キラルジアミン (R,R) -**3** に対し、(*S*)-TBAM の量を徐々に添加して蛍光スペクトルを測定したところ、キラルアニオンの添加にตอบสนองして (R,R) -**3** からのエキシマー発光の強度が低下することが分かった (Figure 2a)。また、 (R,R) -**3** に対し過剰量 (1,667 当量) の (*S*)-TBAM を添加した直後から蛍光スペクトルの経時変化を測定したところ、約 14 秒後に発光強度の変化が収束した (Figure 2b)。

Table 4. ^1H NMR chemical shift differences ($\Delta\Delta\delta$) between the probe signals of various chiral anions in the presence of chiral diamine (*R,R*)-**2a** (5 mM in d_6 -acetone)^a

Entry	Chiral anion	Probe signal	$\Delta\Delta\delta$ (ppm)
1		C_αH	0.063
2		C_αH	0.049
3		C_αH	0.059
4		C_αH CH_3	0.047 0.017
5		C_αH CH_3	0.047 0.017
6		C_αH	0.022
7		C_αH CH_3	0.027 0.016
8		CH_3	0.052
9		$\text{C}(\text{H}_a)_3$ $\text{C}(\text{H}_b)_3$	0.012 0.012

^a 500 MHz ^1H NMR at 25 °C. The ratio of (*R,R*)-**2a**/chiral anion was 0.5:1.



Scheme 2. (a) Synthesis and (b) fluorescence spectrum of chiral bisurea (*R,R*)-3.

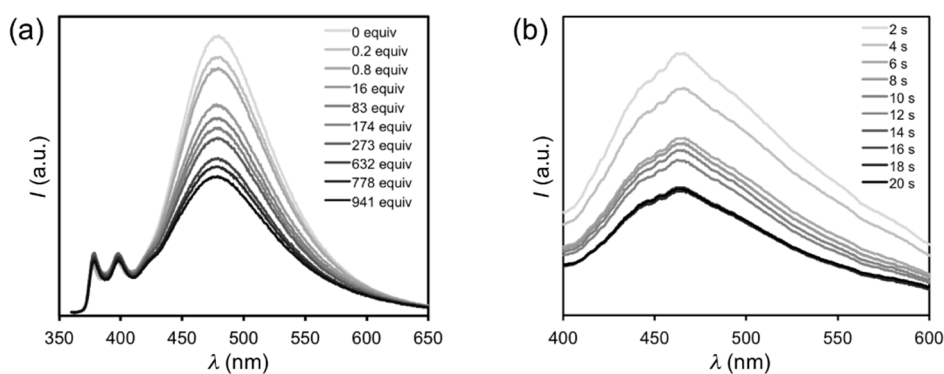


Figure 2. (a) Fluorescence spectra of (*R,R*)-3 in the presence of variable amounts of (*S*)-TBAM. (b) Time-dependent fluorescence spectra of (*R,R*)-3 after the addition of (*S*)-TBAM.

4. 今後の課題

本研究では、ジベンゾフラン骨格を有するキラルジアミン(*R,R*)-1 から合成したキラルビスウレア型レセプターによって、NMR 法によるキラルアニオンの識別を行うことに成功した。また、蛍光性部位としてピレン環を有するキラルビスウレア(*R,R*)-3 を合成し、キラルアニオンに応答した蛍光強度の変化を観測した。しかし、ビス(ピレニルプロピルウレア)**3** は有機溶媒への溶解性が極めて低く、精製が困難である点が問題となっている。今後、(*R,R*)-3 に可溶性置換基を導入した新たな誘導体を合成し、蛍光法による

アニオンとキラリティの高感度同時検出の実現に向けてさらなる検討を続ける。

5. 文献

- (1) Asami, M.; Miyairi, N.; Sasahara, Y.; Ichikawa, K.; Hosoda, N.; Ito, S. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 6796–6802.
- (2) Asami, M.; Nagai, A.; Sasahara, Y.; Ichikawa, K.; Ito, S.; Hosoda, N. *Chem. Lett.* **2015**, *44*, 345–347.
- (3) Ito, S.; Ikeda, K.; Asami, M. *Chem. Lett.* **2016**, *45*, 1379–1381.

Development of Chiral Bis-Urea Receptors for Use in the Highly Sensitive Detection of Anions

Suguru Ito

Department of Advanced Materials Chemistry, Graduate School of Engineering,
YOKOHAMA National University

Summary

Many of currently marketed pharmaceuticals are chiral drugs that consist of one isomer of right- or left-handed molecules. These are formulated as salts to improve the solubility and stability. For the detection of such ionic compounds, organic molecules have advantages as artificial ion receptors over inorganic compounds in terms of their low cost and toxicity. Although excellent organic artificial ion receptors have been developed for cations, anion receptors are under development and hence the simultaneous detection of anions and chirality still remains a challenging task. On the other hand, we have recently developed a chiral bisurea-type organic receptor that exhibits remarkable anion recognition ability. In this study, the simultaneous detection of anion and chirality was investigated by using chiral bisurea-type receptors.

Initially, three chiral bisureas, i.e., bis(phenylurea), bis(phenylthiourea), and bis(tosylurea), were synthesized by the reaction of isocyanates with a chiral diamine previously reported by us. The enantiomeric NMR signals of racemic tetrabutylammonium mandelate (DL-TBAM) were efficiently separated by the addition of 0.5 molar amounts of bis(phenylurea) in *d*₈-acetone. Based on the association constants for the 1:1 and 1:2 complexes of three chiral bisureas and (*R*)- and (*S*)-TBAM, the formation of 1:2 complexes was found to play an important role for the effective enantiomeric signal separation by bis(phenylurea). In addition, it was suggested that the preferential formation of a 1:2 complex with (*R*)-TBAM should also be a key factor for the separation of both enantiomers. Meanwhile, aiming at the application to highly sensitive detection of chiral anions by the fluorescence method, a chiral bisurea with pyrenyl groups was synthesized from the chiral diamine and an isocyanate with a fluorescent pyrenyl group. A significant decrease in fluorescence intensity was observed by the addition of a chiral anion to a solution of the fluorescent chiral bisurea.

In summary, we achieved the simultaneous detection of the anion and chirality by the chiral bisurea-based receptor and created the fluorescent chiral anion receptor.