

高溶解性キラルビスウレア型レセプターによるアニオン類の高感度検出

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、平成28年度助成研究で我々は、独自のキラルビスウレア型有機分子を創製し、NMR法によるアニオンとキラリティの同時検出を実現した。本研究では、本手法について詳細な解析を行うとともに、可溶性置換基を導入したキラルビスウレア型レセプターの合成、蛍光法によるアニオンとキラリティの同時検出についても検討した。

まず、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用い、マンデル酸テトラブチルアンモニウム(TBAM)をモデル基質としたNMR法による両エナンチオマーの識別について、会合体濃度の影響の評価、会合体形成により分離したシグナルの帰属、会合定数の測定を行った。その結果、ビスウレア型分子と(R)-および(S)-TBAMとの間の1:2会合体形成時に(R)-TBAMと(S)-TBAMの会合定数の差が大きいため、ビス(フェニルウレア)をアセトン- d_6 中、0.5当量のみ加える条件において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が明らかとなった。一方、有機溶媒への溶解性が高く、高感度な蛍光法を利用可能なレセプターの創製を目的として、可溶性置換基としてヘキシル基、蛍光性部位としてピレニル基を有するキラルビスウレア型レセプターを合成した。また、ピレニルプロピル基を有する蛍光性キラルビスウレア型分子を用いることで、キラルアニオンとの1:1会合体形成時に蛍光発光強度が低下し、1:2会合体形成時に蛍光発光強度が増大することを見出すとともに、蛍光法によるキラルアニオンのキラリティ識別を実現した。

以上、本研究では、キラルビスウレア型レセプターを用いたNMR法によるアニオンとキラリティの同時検出についてその機構を解明するとともに、蛍光性キラルアニオンレセプターを用いた蛍光法によりアニオンのキラリティを識別することに成功した。

1. 研究目的

有機分子からなる人工イオンレセプターは、無機化合物を用いたレセプターよりも安価で低毒性である。有機人工イオンレセプターによるカチオンの検出に関しては、クラウンエーテルに代表される優れた例が多数存在するが、海水中や生体内で重要な役割を担うアニオンの高感度検出が可能なレセプターは限られる。一方、生体分子が右手型と左手型のうちの片方のみから構成されるキラル分

子であることから、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、体内における溶解性や安定性向上のため塩化物イオン等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できる人工レセプターを開発すれば、医薬品の代謝解析研究を迅速化できる。

最近我々は、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レセプターが高いアニオン認識能を

示すことを見出した。平成 28 年度の助成研究では、蛍光性置換基導入によるアニオンとキラリティの同時検出を検討した。蛍光性置換基を有するレセプターでは、有機溶媒への溶解性が極めて低い点が問題となったが、無蛍光のフェニル基を有するレセプターを合成し、NMR 法によるアニオンとキラリティの同時検出を実現した。平成 29 年度の研究では、NMR 法によるアニオンとキラリティの同時検出について詳細な解析を行うとともに、可溶性置換基を導入したキラルビスウレア型レセプターの合成、蛍光法によるアニオンとキラリティの同時検出について検討した。

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-8300 分光蛍光光度計を用いた。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。キラルビスウレア誘導体 (R,R)-**1**–**3** は平成 28 年度の助成研究で確立した方法に従い合成した。

2.2 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) **1** (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)-**1** 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 (1.0 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)-**1** と TBAM が完

全に溶解した後、溶液を 5 mm ϕ NMR 試料管に移し替え、 ^1H NMR スペクトルを測定した。

2.3 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) **1** (0.030 mmol, 15.6 mg) を 5 mL メスフラスコに入れ、クロロホルム- d を標線まで加えることで 6 mM の (R,R)-**1** クロロホルム- d 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、クロロホルム- d を標線まで加えることで、5 mM の (R,R)-**1** と 250 mM の TBAM とのクロロホルム- d 溶液 (溶液 B) を調製した。次に、溶液 A (0.50 mL) とクロロホルム- d (0.10 mL) を 5 mm ϕ NMR 試料管中で混合し、5 mM の (R,R)-**1** クロロホルム- d 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 $\mu\text{L} \times 8$, 2.8 μL , 3.3 μL , 3.4 $\mu\text{L} \times 3$, 3.5 μL , 3.6 μL , 15 $\mu\text{L} \times 2$, 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)-**1** に由来するシグナルの化学シフト値の変化 ($\Delta\delta$) 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)-**1** 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。

2.4 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) **4** (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)-**4** 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)-**4** クロロホルム溶液 (溶液 B) を調製した。次に、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)-**4** と 50 mM の TBAM とのクロロホルム溶液 (溶液 C) を調製した。

10 mm 石英セルに溶液 B (2.0 mL) をメスピペットで量つ

て加え、蛍光スペクトルを測定した。さらに、溶液 C を 0.4 μL , 2.0 μL , 40 μL , 200 μL , 400 μL , 600 μL , 1,200 μL , 1,400 μL , 1,600 μL , 2,000 μL , 2,400 μL , 2,800 μL ずつ加えて蛍光スペクトルを測定した。

3. 結果と考察

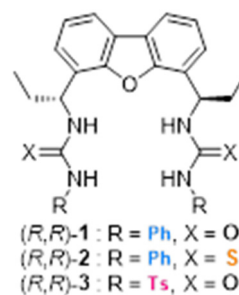
3. 1 NMR 法によるアニオンとキラリティの同時検出

3. 1. 1 会合体濃度がシグナル分離に与える影響

平成 28 年度助成研究では、キラルなビス(フェニルウレア) (*R,R*)-**1** とラセミ体のマンデル酸テトラブチルアンモニウム(DL-TBAM)をモル比 0.5 : 1 で混合し、両者の 1:2 会合体が多く存在する条件において、低濃度条件の方が TBAM のベンジル位プロトンの両エナンチオマー間での化学シフト値の差($\Delta\delta$ 値)が大きいことを明らかとしている。そこで、(*R,R*)-**1** と TBAM がモル比 2 : 1 で存在し、1 : 1 会合体が主となる条件での濃度検討を行った。マンデル酸の濃度が 2.5 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM の各種溶液を調製し、 ^1H NMR スペクトルを測定したところ、 $\Delta\delta$ はそれぞれ、0.042 ppm, 0.041 ppm, 0.039 ppm, 0.040 ppm, 0.039 ppm となり、ほとんど差が見られなかった(**Figure 1**)。このことから、1:2会合体の形成が両エナンチオマーのシグナル分離に効果的に働いていることが支持された。

3. 1. 2 会合体形成により分離したシグナルの帰属

平成 28 年度助成研究では、ビス(フェニルウレア) (*R,R*)-**1**, ビス(フェニルチオウレア) (*R,R*)-**2**, ビス(トシルウレア) (*R,R*)-**3**を用い、TBAM のモル比が 0.5 : 1, 溶媒をアセトン- d_6 とした場合について、会合体形成時に低磁場側に観測されるマンデル酸ベンジル位のシグナルが *S* 体であると帰属した。



平成 29 年度は、(*R,R*)-**1-3** と TBAM のモル比が 2 : 1 の条件および(*R,R*)-**1** と TBAM のモル比が 0.5 : 1 で溶媒がクロロホルム-*d*, DMSO- d_6 の場合について、分離したシグナルの帰属を行った。

まず、ビスウレア (*R,R*)-**1-3** をホスト分子とし、エナンチオマー過剰率が 30% ee(*R*)と 30% ee(*S*)の TBAM と 2:1 のモル比で混合し、TBAM のベンジル位プロトンの ^1H NMR シグナル検出位置を確認したところ、いずれの場合も両者のモル比が 0.5 : 1 の場合と同様に、*S* 体が低磁場側に観測されることが分かった(**Table 1**)。同様にして、ビス(フェニルウレア) (*R,R*)-**1**を用い、30% ee(*R*)と 30% ee(*S*)の TBAM と 0.5 : 1 のモル比でクロロホルム-*d*, DMSO- d_6 中で混合し、 ^1H NMR スペクトルを測定したところ、これらの場合にも *S* 体の TBAM が低磁場側に観測された(**Table 2**)。

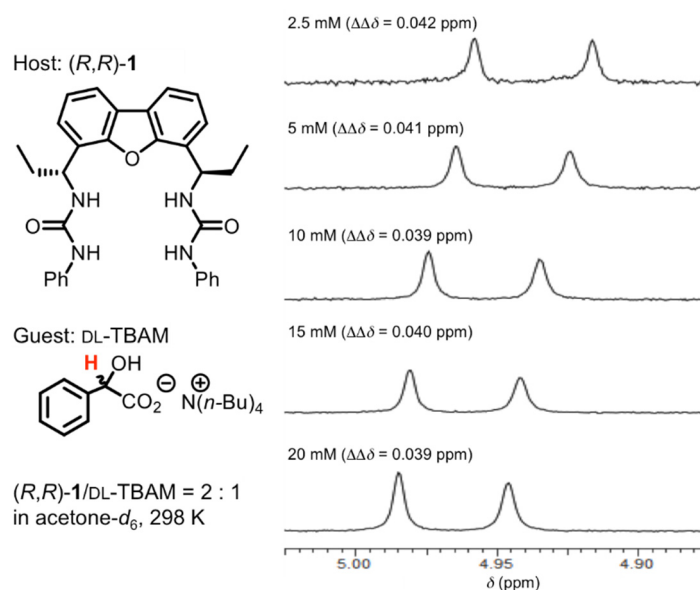


Figure 1. Partial ^1H NMR spectra (acetone- d_6 , 298 K) of the mixture of (*R,R*)-**1** (2.5–20 mM) and DL-TBAM [(*R,R*)-**1**/DL-TBAM = 2:1]

Table 1. Determination of the absolute configurations for the separated ^1H NMR signals of TBAM using (*R,R*)-**1–3** in acetone- d_6

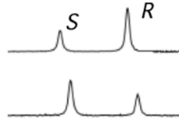
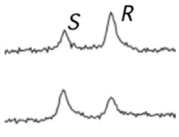
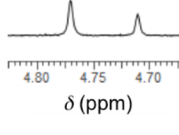
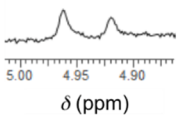
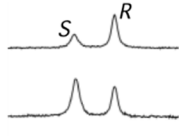
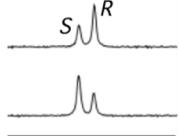
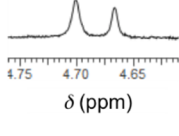
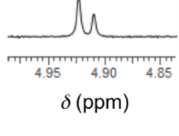
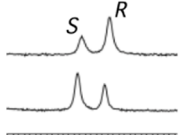
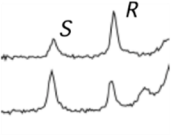
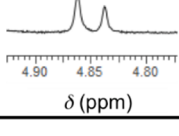
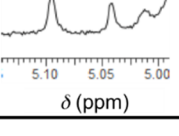
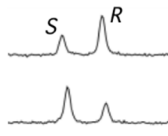
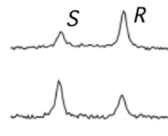
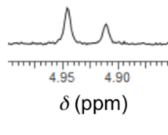
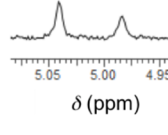
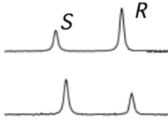
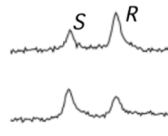
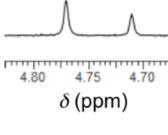
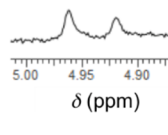
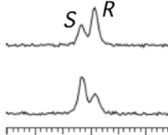
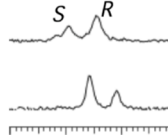
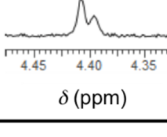
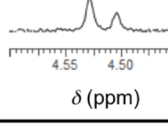
Host	ee	H / G = 0.5:1		H / G = 2:1	
		$\Delta\Delta\delta$ (ppm)		$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	
<i>(R,R)</i> - 1	30% (<i>R</i>)		0.061		0.041
	30% (<i>S</i>)		0.056		0.042
<i>(R,R)</i> - 2	30% (<i>R</i>)		0.035		0.014
	30% (<i>S</i>)		0.034		0.014
<i>(R,R)</i> - 3	30% (<i>R</i>)		0.024		0.054
	30% (<i>S</i>)		0.024		0.054

Table 2. Determination of the absolute configurations for the separated ^1H NMR signals of TBAM using (*R,R*)-**1** in different solvents

solvent	ee	H / G = 0.5:1		H / G = 2:1	
		$\Delta\Delta\delta$ (ppm)		$\Delta\Delta\delta$ (ppm)	
CDCl_3	30% (<i>R</i>)		0.036		0.057
	30% (<i>S</i>)		0.035		0.057
acetone- d_6	30% (<i>R</i>)		0.061		0.041
	30% (<i>S</i>)		0.056		0.042
$\text{DMSO}-d_6$	30% (<i>R</i>)		0.013		0.025
	30% (<i>S</i>)		0.012		0.025

3. 1. 3 会合定数の測定

平成28年度助成研究において、アセトン- d_6 中におけるキラルビスウレア誘導体 (R,R)-**1-3** 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ところ、いずれも (R)-TBAM の方が (S)-TBAM よりも K_2 の値が大きく、 K_{2R}/K_{2S} は 1.30~1.81 であった。平成 29 年度の研究では、クロロホルム- d 中および DMSO- d_6 中におけるビス(フェニルウレア) (R,R)-**1** と (R)-および (S)-TBAM との会合定数を NMR 滴定実験により求めた (Table 3)。

ホスト分子 (R,R)-**1** のクロロホルム- d または DMSO- d_6 溶液 (5 mM) に対し、同濃度のホストを含むゲスト分子 TBAM の溶液を滴下し、(R,R)-**1** の ^1H NMR シグナルの化学シフト値変化をもとにカーブフィッティング解析を行ったところ、 K_1 は、クロロホルム- d と DMSO- d_6 のどちらの場合もアセトン- d_6 を用いた場合より小さな値となった (CDCl_3 : $K_{1R}=5.7\times 10^3$, $K_{2R}=6.5\times 10^1$, $K_{1S}=9.8\times 10^3$, $K_{2S}=5.9\times 10^1$, DMSO- d_6 : $K_{1R}=9.7\times 10^1$, $K_{2R}=1.2\times 10^1$,

$K_{1S}=1.0\times 10^2$, $K_{2S}=0.8\times 10^1$)。また、アセトン- d_6 中と同様に、 K_1 の値は (S)-体、 K_2 の値は (R)-体の方が大きかった。従って、クロロホルム- d 中では K_{2R}/K_{2S} が 1.10 と小さいことがアセトン- d_6 中よりも $\Delta\Delta\delta$ 値が小さかった要因の一つと考えられる。また、DMSO- d_6 中で $\Delta\Delta\delta$ 値が小さかったのは、 K_1 の値がアセトン- d_6 中よりも著しく小さかったためと考えられる。










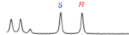
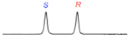

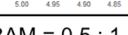


3. 1. 4 会合体濃度がシグナル分離に与える影響

平成 28 年度助成研究では、アセトン- d_6 中、ビス(フェニルウレア) (R,R)-**1** と TBAM をモル比 0.5 : 1 で混合した条件において、TBAM の濃度を 2.5~20 mM に上昇させると両エナンチオマー間のシグナル分離 $\Delta\Delta\delta$ が小さくなることが明らかとなった。平成 29 年度は、(R,R)-**1** / TBAM = 0.5 : 1 の条件のもと、溶媒をクロロホルム- d および DMSO- d_6 とした場合 (Table 4) と、ホスト分子をビス(フェニルチオウレア) (R,R)-**2** およびビス(トシルウレア) (R,R)-**3** とした場合 (Table 5) について検討を行った。

Table 3. Association constants (K) obtained from NMR titration of (R,R)-**1** with (R)- and (S)-TBAM in acetone- d_6 , CDCl_3 , and DMSO- d_6 .

Solvent	Guest	K_1 (M^{-1})	K_2 (M^{-1})
acetone- d_6	(R)-TBAM	$(3.9\pm 1.4)\times 10^4$	$(5.8\pm 0.9)\times 10^1$
	(S)-TBAM	$(4.7\pm 1.3)\times 10^4$	$(3.2\pm 0.2)\times 10^1$
CDCl_3	(R)-TBAM	5.7×10^3	6.5×10^1
	(S)-TBAM	9.8×10^3	5.9×10^1
DMSO- d_6	(R)-TBAM	9.7×10^1	1.2×10^1
	(S)-TBAM	1.0×10^2	0.8×10^1

Table 4. Partial ^1H NMR spectra (298 K) of the mixture of (R,R)-**1** (2.5–20 mM) and DL-TBAM [(R,R)-**1**/DL-TBAM = 0.5:1].

[TBAM]	CDCl_3 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)	acetone- d_6 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)	DMSO- d_6 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)
2.5mM	0.031 	0.068 	0.008 
5mM	0.033 	0.063 	0.012 
10mM	0.034 	0.058 	0.016 
15mM	0.034 	0.056 	0.018 
20mM	0.034 	0.053 	0.019 

^1H NMR at 298 K. (R,R)-**1**/DL-TBAM = 0.5 : 1

Table 5. Partial ^1H NMR spectra (298 K) of the mixture of (*R,R*)-**1-3** (2.5–20 mM) and DL-TBAM in acetone- d_6 [(*R,R*)-**1**/DL-TBAM = 0.5:1].

[TBAM]	(<i>R,R</i>)- 1 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)	(<i>R,R</i>)- 2 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)	(<i>R,R</i>)- 3 $\Delta\Delta\delta$ (ppm)
2.5mM	0.068	0.037	0.023
5mM	0.063	0.036	0.023
10mM	0.058	0.034	0.023
15mM	0.056	0.031	0.021
20mM	0.053	0.028	0.020

^1H NMR at 298 K in acetone- d_6 . (*R,R*)-**1-3**/DL-TBAM = 0.5 : 1

まず、クロロホルム- d 中および DMSO- d_6 中における $\Delta\Delta\delta$ 値は、濃度を 2.5~20 mM に上昇させると、0.031~0.034 ppm, 0.008~0.019 ppm とどちらも増大した。このことから、アセトン- d_6 中の場合のみ低濃度条件で(*R*)-TBAM と(*S*)-TBAM との会合定数の差がシグナル分離に効果的に働くことが示唆される (Table 4)。

一方、ビス(フェニルチオウレア) (*R,R*)-**2** とビス(トシルウレア) (*R,R*)-**3** を用いた場合の $\Delta\Delta\delta$ は 0.037~0.028 ppm, 0.023~0.020 ppm となり、アセトン- d_6 中であればウレアの種類に依らず低濃度条件において $\Delta\Delta\delta$ 値が大きくなることが分かった (Table 5)。

以上のように、本研究ではキラルビスウレア誘導体を用いた NMR 法によるアニオンとキラリティの同時検出について詳細な解析を行い、アセトン- d_6 中でビス(フェニルウレア) (*R,R*)-**1** が TBAM と 1:2 会合体を形成する際に、両エナンチオマー間で会合定数に差があることが、 ^1H NMR シグナルの効率の良い分離に繋がったことを支持する結果を得た。

3. 2 可溶性置換基を導入したキラルビスウレア型レセプターの合成

平成 28 年度助成研究では、蛍光発光部位としてピレン環を導入したキラルビスウレア誘導体 (*R,R*)-**4** を合成したが、低溶解性のため単離精製が困難なことが問題となった。そこで、平成 29 年度助成研究では、ジベンゾフラン環の 2 位と 8 位に可溶性置換基としてヘキシル基を導入したキラルビスウレア誘導体 (*R,R*)-**5** の合成を試みた (Figure 2)。

3. 2. 1 2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン(7)の合成

2,8-ジブロモジベンゾ[*b,d*]フラン(6)と 1 mol% PdCl₂(dppf)₂•CH₂Cl₂ の THF 溶液に、0 °C で 4.8 倍モル量

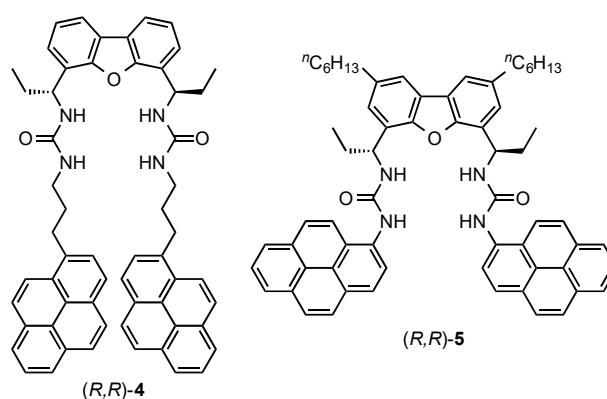


Figure 2. Emissive bisurea derivatives (*R,R*)-**4,5**

の臭化ウンデシルマグネシウム ($n\text{-C}_6\text{H}_{13}\text{MgBr}$) を加え、室温で一晩攪拌した。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(ヘキサン)で精製することにより、2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン(7)を収率 71% で得た (Scheme 1)。

3. 2. 2 2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン-4,6-ジカルバルデヒド(8)の合成

2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン(7)をヘキサン中、3 倍モル量の *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミンとブチルリチウム存在下、40 分間加熱還流した後に、*N,N*-ジメチルホルムアミドを 0 °C で滴下して室温で一晩攪拌した。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)で精製することにより、2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン-4,6-ジカルバルデヒド(8)を収率 47% で得た (Scheme 2)。

3. 2. 3 ジベンゾフラン型キラルジオール(*S,S*)-**9** の不斉合成

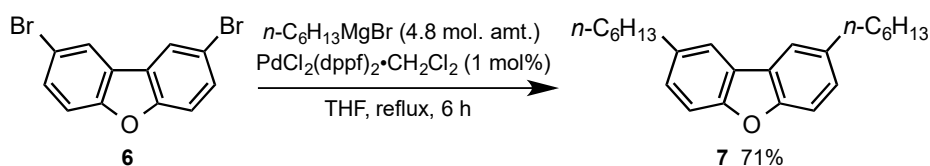
2,8-ジヘキシルジベンゾ[*b,d*]フラン-4,6-ジカルバルデヒド(8)をキラルな 1,4-アミノアルコールの存在下、ジエチル

亜鉛とトルエン中室温で一晩攪拌した。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（ヘキサン／酢酸エチル／ジクロロメタン=2:1:1）で精製することで、ジベンゾフラン型キラルジオール (*S,S*)-**9** を収率 46%で得た (Scheme 3)。

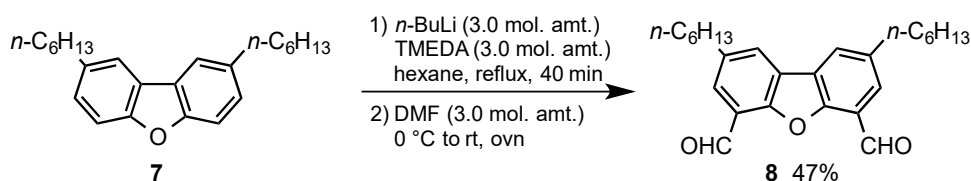
3. 2. 4 ジピレニル基を有するキラルビスウレア (*R,R*)-**5** の合成

ジベンゾフラン型キラルジオール (*S,S*)-**9** とトリフェニルホスフィン の THF 溶液に、 -20°C でアゾジカルボン酸ジイソプロピル (DIAD), ジフェニルリン酸アジド (dppa) を順次

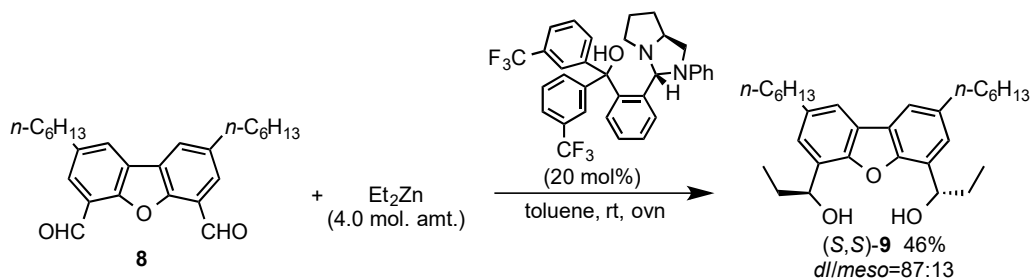
加えて -20°C で 24 時間攪拌した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル／ジクロロメタン=5:1:1）で精製することにより、ジベンゾフラン型キラルジアジド (*R,R*)-**10** を得た。得られた (*R,R*)-**10** の酢酸エチル溶液に 5%パラジウム炭素を加え、水素置換を行った後、室温で攪拌した。薄層クロマトグラフィー上で (*R,R*)-**10** が消失したことを確認した後、反応混合物をセライトろ過してろ液の溶媒を減圧下留去することで、ジベンゾフラン型キラルジアミン (*R,R*)-**11** を得た (Scheme 4)。



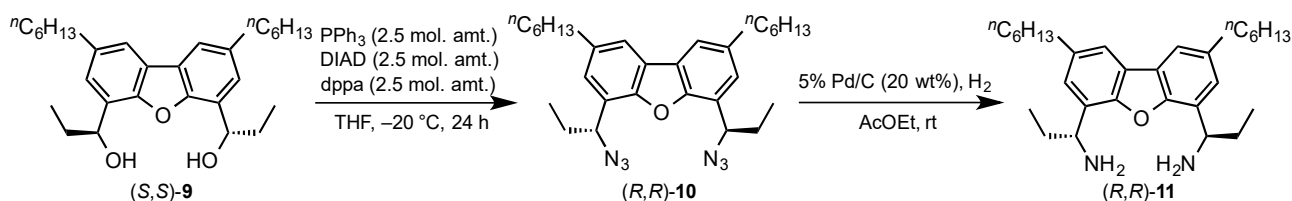
Scheme 1. Synthesis of 2,8-dihexyldibenzo[*b,d*]furan (**7**)



Scheme 2. Synthesis of 2,8-dihexyldibenzo[*b,d*]furan-4,6-dicarbaldehyde (**8**)



Scheme 3. Enantioselective synthesis of dibenzofuran-based chiral diol (*S,S*)-**9**



Scheme 4. Synthesis of chiral diamine (*R,R*)-**11**

ピレン-1-カルボン酸(**12**), トリエチルアミン, ジフェニルリン酸アジド(dppa)をジオキサン中で混合し, 90 °Cで2時間加熱した後, ジアミン(*R,R*)-**11**のジオキサン溶液を加えて80 °Cで6時間加熱した。得られた組成生物をジクロロメタンで洗浄することにより, キラルビスウレア(*R,R*)-**5**を白色固体として収率77%で得た(Scheme 5)。しかし, キラルビスウレア(*R,R*)-**5**は有機溶媒に対する溶解性が低く, 蛍光法によるアニオンとキラリティの同時検出に用いるのは困難であった。

3.3 蛍光法によるアニオンとキラリティの同時検出

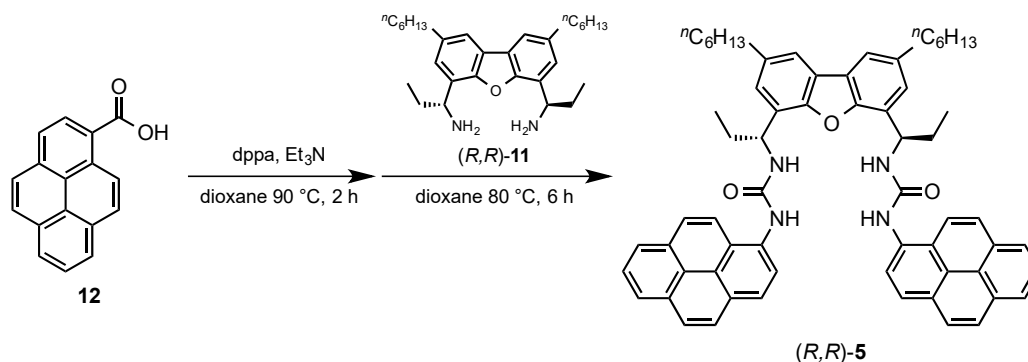
3.3.1 ビス{3-(ピレン-1-イル)プロピル}ウレア(*R,R*)-**4**の合成

平成28年度助成研究では, 蛍光法によるアニオンとキラリティの同時検出に用いることを目的としてビス{3-(ピレン-1-イル)プロピル}ウレア(*R,R*)-**4**の合成を行ったが, (*R,R*)-**4**の精製が困難であったことから単離収率は6%と低かった。平成29年度助成研究では, (*R,R*)-**4**の収率向

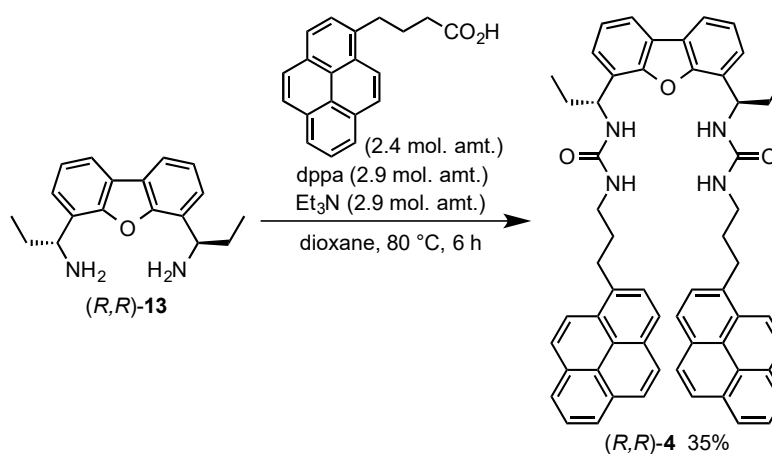
上を目指して検討した。4-(1-ピレン-1-イル)酪酸, トリエチルアミン, ジフェニルリン酸アジドをジオキサン中90 °Cで1時間加熱した後, キラルジアミン(*R,R*)-**11**のジオキサン溶液を加えて80 °Cで6時間加熱した。減圧下溶媒留去して得られた粗生成物にジクロロメタンと水を加えて抽出した後, 有機層を減圧下溶媒留去して得られた粗生成物を, ジクロロメタンとメタノールで洗浄することでほぼ純粋な(*R,R*)-**4**を薄褐色固体として収率56%で得た。さらに, クロロホルム/ヘキサンを用いて再沈殿することで, 単離収率35%で(*R,R*)-**4**を得た(Scheme 6)。

3.3.2 キラルビスウレア(*R,R*)-**4**を用いた蛍光法によるキラルアニオンの認識

キラルビスウレア(*R,R*)-**4**のキラルアニオン認識能を評価するため, ゲスト分子としてTBAMを用い, ジクロロメタン中およびクロロホルム中で(*R*)-TBAMと(*S*)-TBAMを滴定した際の蛍光スペクトル変化を測定した(Figures 3 and 4)。



Scheme 5. Synthesis of chiral bisurea (*R,R*)-**5**



Scheme 6. Synthesis of bis[3-(pyren-1-yl)propyl]urea (*R,R*)-**4**

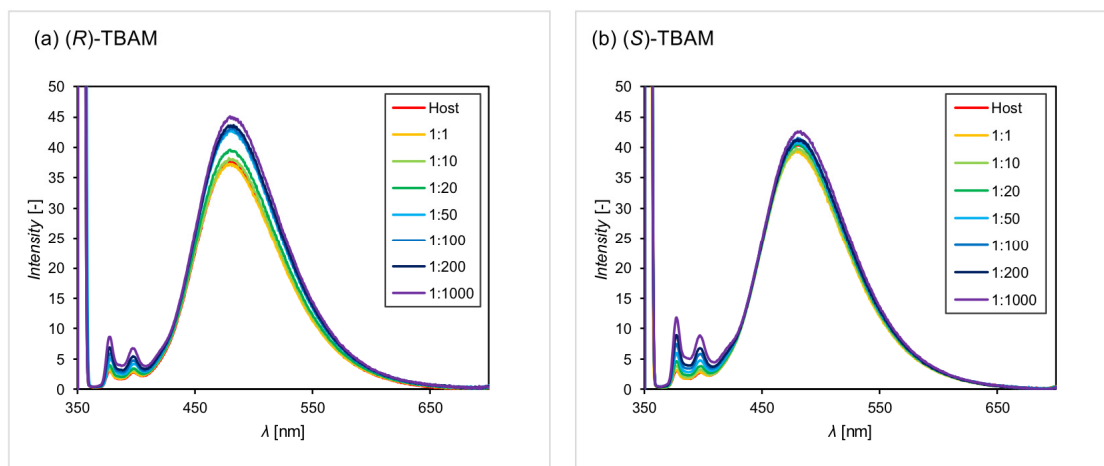


Figure 3. Fluorescence spectra of (R,R) -4 in the presence of variable amounts of (R) - and (S) -TBAM in CH_2Cl_2

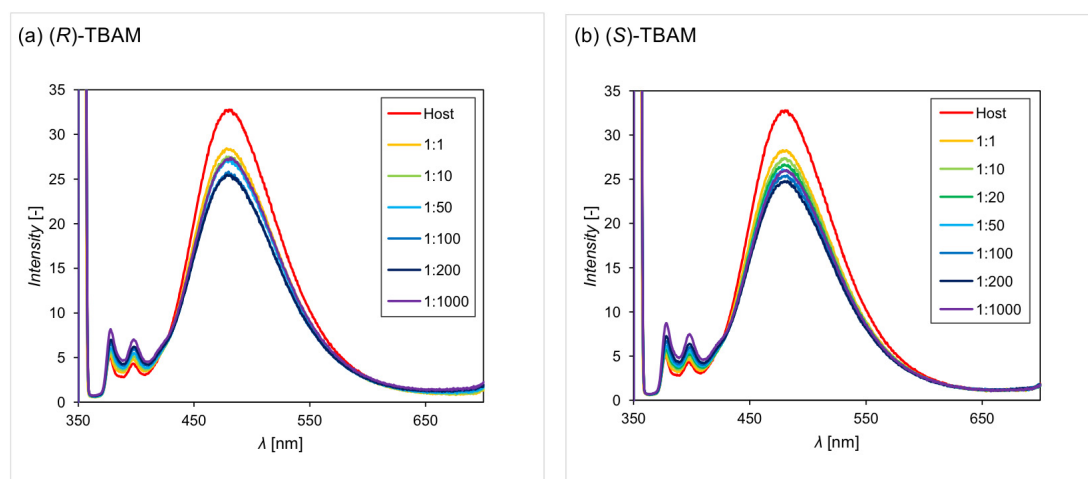


Figure 4. Fluorescence spectra of (R,R) -4 in the presence of variable amounts of (R) - and (S) -TBAM in CHCl_3

キラルビスウレア (R,R) -4 の発光はどちらの溶媒でも、エキシマー発光極大が 480 nm 付近、モノマー発光極大が 377~397 nm 付近に観測された。 (R) -TBAM と (S) -TBAM を添加していくと、エキシマー発光に由来する 480 nm 付近の蛍光強度は一旦減少した後、増加に転じた。一方、モノマー発光に由来する 377~397 nm 付近の蛍光強度は常に増加し続けた。どちらの溶媒中においても (R) -TBAM を添加した方が (S) -TBAM を添加した場合よりも蛍光強度の変化量が大きく、キラルビスウレア (R,R) -4 が両エナンチオマーを識別していることが分かった。しかし、エナンチオマー間の蛍光強度差は小さく、より識別能の高いキラルレセプターを得るためにはさらなる検討が必要である。

4. 今後の課題

本研究では、NMR 法によりジベンゾフラン骨格を有するキラルビス(フェニルウレア) (R,R) -1 がキラルアニオンの高い識別能を示す機構について重要な知見を得た。可溶性置換基としてヘキシル基を有するキラルビスウレア誘導体の合成については、 (R,R) -5 では低溶解性であったため、溶解度向上に向けて分子構造のさらなる検討が必要である。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誘導体 (R,R) -4 により、キラルアニオンの両エナンチオマーを蛍光法により識別することに成功したが、現状の識別能は実用的な観点からは不十分であり、最適なゲスト分子の探索とホスト分子の構造開拓を続けることが今後の課題である。

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.; Okuno, M.; Asami, M. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 213–222.

Highly Sensitive Detection of Anions by Soluble Chiral Bis-Urea Receptors

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, in 2016 fiscal year, we have created an original chiral bisurea-type organic receptor that could realize the simultaneous detection of anion and chirality. In this study, we analyzed this method in detail, synthesized a chiral bisurea type receptor with soluble substituents, and examined the simultaneous detection of anion and chirality by fluorescence method.

Initially, the evaluation of the effect of complex concentration, the determination of separated signals by complexation, and the measurement of association constants were carried out by using three chiral bisureas, i.e., bis(phenylurea), bis(phenylthiourea), and bis(tosylurea), and tetrabutylammonium mandelate (TBAM) as a model substrate. As a result, it was revealed that the difference between the association constants of (*R*)-TBAM and (*S*)-TBAM during the formation of 1:2 complexes should account for the reason why the signals of both enantiomers of TBAM are well separated under the condition using 0.5 equivalents of bis(phenylurea) in acetone-*d*₆. On the other hand, chiral bisurea-based receptor with hexyl and pyrenyl groups as soluble and fluorescent substituents, respectively, was synthesized to create a receptor that has high solubility in organic solvents and can utilize highly sensitive fluorescence method. In addition, the chiral recognition of chiral anions by fluorescence method was realized by using a chiral bisurea type fluorescent molecule having a pyrenylpropyl group.

In summary, we revealed the mechanism of the simultaneous detection of anion and chirality by NMR method using the chiral bisurea-based receptors, and achieved the recognition of chirality of anions by fluorescent method using the fluorescent chiral anion receptor.