

研究報告集

第 27 集

2016 年 3 月

公益財団法人 松籟科学技術振興財団

SHORAI FOUNDATION FOR SCIENCE AND TECHNOLOGY

研究報告集第27集発刊によせて

公益財団法人 ^{しょうらい}松籟科学技術振興財団
理事長 長谷川 吉弘

第30回（2012年度）研究助成金を贈呈した研究者の方々による研究成果を収録した「研究報告集第27集」をお手許にお届けします。1983年3月の財団設立以来、科学技術に関する調査・研究・国際交流に対する助成・奨励を行うことを目的として活動を続けてまいりました。これも、ひとえに皆様方のご理解とご協力の賜物と厚くお礼申しあげます。

さて、昨年、2人の日本人科学者がノーベル賞を受賞いたしました。

物理学賞に東京大学宇宙線研究所の梶田隆章所長が、物質の最小単位である素粒子の1種、ニュートリノに質量があることを裏付けるニュートリノ振動という現象を世界で初めて捉えた業績で受賞されました。

物理学賞は日本人科学者が2年連続して受賞するという快挙を成し遂げています。

また、生理学・医学賞では、北里大学の太田智特別栄誉教授が、熱帯に広く分布する寄生虫に対する有効な薬剤開発を高く評価されて受賞されました。

技術開発の視点を宇宙に向けてみますと、宇宙航空研究開発機構（JAXA）が2010年に打ち上げた金星探査機「あかつき」が、5年前の軌道投入失敗を乗り越え、再度の挑戦で軌道投入に成功し、今後約2年間にわたって金星大気の挙動を継続的に観測します。

また、2010年には、小惑星探査機「はやぶさ」が、様々な困難を乗り越えて「イトカワ」から微粒子を持ち帰ったのも記憶に新しいところです。

ノーベル賞の受賞とともに、数々の問題に直面したことに対し、1つ1つ解決していくことができる、科学技術立国としての日本の技術力の高さを物語っています。

当財団では、現在、「植物有用成分およびバイオマス資源の高度利用に関わる研究」、「エレクトロニクス複合材料および次世代実装に関わる研究」、「持続可能な社会を実現する有機系新素材およびその機能化に関わる研究」の3課題を対象に研究助成事業を行っており、これまでに603件の研究を支援してきました。当財団が助成金を贈呈した研究者のうち、2001年に野依良治先生（現・科学技術振興機構研究開発戦略センター長）が、2010年には鈴木章先生（現・北海道大学名誉教授）が、それぞれノーベル化学賞を受賞されています。

これからも科学技術の発展に寄与する研究開発への支援活動を行っていく所存です。皆様の一層のご指導とご支援をお願い申しあげます。

2016年3月

松籟（しょうらい）：「松の梢に吹く風」の意味

設立の趣意

戦後、焦土と化した国土から立ち上がった我が国は、国民の勤勉さと旺盛な技術革新とを結合させ、驚異的な復興と成長を実現し、その国民総生産は今や全世界の1割を占めるまでに至りました。

この間、我が国の科学技術は、導入技術に依存しつつも逐次自主技術開発への努力を積み重ね、世界に誇り得る数多くの技術を創出し、先進国としての確実な地歩を固めてまいりました。

しかしながら科学技術全般に視点を移しますと、我が国は、とかく成果を期待する余り、応用技術に直接結びつかない研究を軽視する傾向があり、基礎科学の立ち遅れが内外より指摘されております。このことは他国の基礎研究成果への我が国の只乗り論を招くなど、国際摩擦の一因となっております。

今や我が国は、世界の経済大国として創造的な科学技術を広範に創出し、地球上のエネルギー開発利用、科学技術の恩恵に十分浴さなかつた国々への援助、生命科学の人間生活への応用などを進め、世界経済の活力強化と社会の発展に貢献していく責務を負っています。

このような時代の要請を踏まえ、松籟科学技術振興財団は、科学技術に関し、調査・研究およびこれらに対する助成などを行い、全地球的な科学技術の振興に貢献しようとするものであります。

設立の経緯と財団の概況

設立の経緯

ハリマ化成グループ株式会社創業者の長谷川末吉は、はやくからトール油をさまざまな用途に適応可能な素材として着目していました。そして、かねてからの考えを行動に移し、1952年にはトール油の試験生産を開始しました。以来、トール油に対する研究開発を通じて、トール油の持つ素晴らしさを全国に紹介し、その可能性を拓いていきました。その長年にわたる功績が認められ、1982年に長谷川末吉は科学技術庁（現文部科学省）より“科学技術功労者賞”を受賞しました。

ハリマ化成グループは、この榮譽を機に、さらなる科学技術の振興と世界文化の発展を願って、科学技術に関する調査・研究・国際交流に対する助成・奨励を行うことを目的として、1983年3月“財団法人松籟科学技術振興財団”を設立しました。

設立より30年を迎えた2013年4月1日をもって、公益法人の認定を受け「公益財団法人 松籟科学技術振興財団」となりました。引き続き、科学技術の発展に寄与する研究開発への支援事業活動を行ってまいります。

事業の概要

当財団では、科学技術の振興と世界文化の発展に寄与することを願い、以下の事業を行っております。

- (1) 科学技術に関する調査・研究およびこれらに対する助成（研究助成事業）
- (2) 科学技術に関する国際交流に対する援助（国際交流派遣事業）
- (3) その他、当財団の目的を達成するために必要な事業

財団の概要

名 称：公益財団法人松籟科学技術振興財団

設 立：1983年3月12日

移行登記：2013年4月1日

行 政 庁：内閣府

財務状況（2015年3月31日現在）

正味財産 884,794,114円

目 次

第30回 (2012年度)助成金受領研究報告

- クロスカップリングを利用した共重合による有機薄膜太陽電池用素子の創製
岡山大学 大学院自然科学研究科 西原 康師 ……3
- コンビナトリアルバイオケミストリー手法を用いた新奇ジテルペン化合物の創製
静岡大学 学術院 農学領域 大西 利幸 ……14
- 植物内生糸状菌ゲノムに基づいたリコポジウムアルカロイド生合成遺伝子の探索および
アルカロイド高生産系の構築
東京大学 大学院薬学系研究科 淡川 孝義 ……25
- π 共役を拡張した有機ラジカルによる高温分子磁石の開発
大阪府立大学 大学院理学系研究科 細越 裕子 ……33
- 有機薄膜ナノエレクトロメカニカルシステムの開発
物質・材料研究機構 池田 太一・Yijun Zheng・板倉 明子 ……36
- 青ジソ由来カルコンの皮膚老化抑制作用に基づく高度利用に関する研究
京都大学 大学院薬学研究科 久米 利明 ……43
- 海洋生物資源の高度利用を目指したカロテノイドによる血管新生制御と機構解明
京都大学 大学院農学研究科 菅原 達也 ……48
- エピタキシャル薄膜化技術による新しい熱電変換物質の創製
物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 大久保 勇男 ……55
- Dye-sensitized solar cells based on a functionally separated
D- π -A fluorescent dye with an aldehyde as an electron-accepting group
広島大学 大学院工学研究院 大山 陽介 ……63
- マイクロ波照射によるエマルション化プロセスの構築～均一乳化理論の新展開～
兵庫県立大学 大学院工学研究科 朝熊 裕介 ……70
- π 骨格を金属周辺に配置した環境負荷低減型触媒の光機能化
大阪大学 大学院工学研究科 安田 誠 ……75
- 骨格変換型N-フェーズドペンタフィリンによる三次元 π 拡張構造の創製
島根大学 大学院総合理工学研究科・千葉大学 大学院薬学研究院 鈴木 優章 ……80
- 金属ナノ粒子の物性評価と熱伝導メカニズムの解明
豊田工業大学 大学院工学研究科 吉村 雅満 ……85
- 高性能・低価格な無機-有機ナノハイブリッドフェライトマグネットの開発
兵庫県立大学 大学院工学研究科 菊池 丈幸 ……89

第30回(2012年度)

助成金受領研究報告

クロスカップリングを利用した共重合による 有機薄膜太陽電池用素子の創製

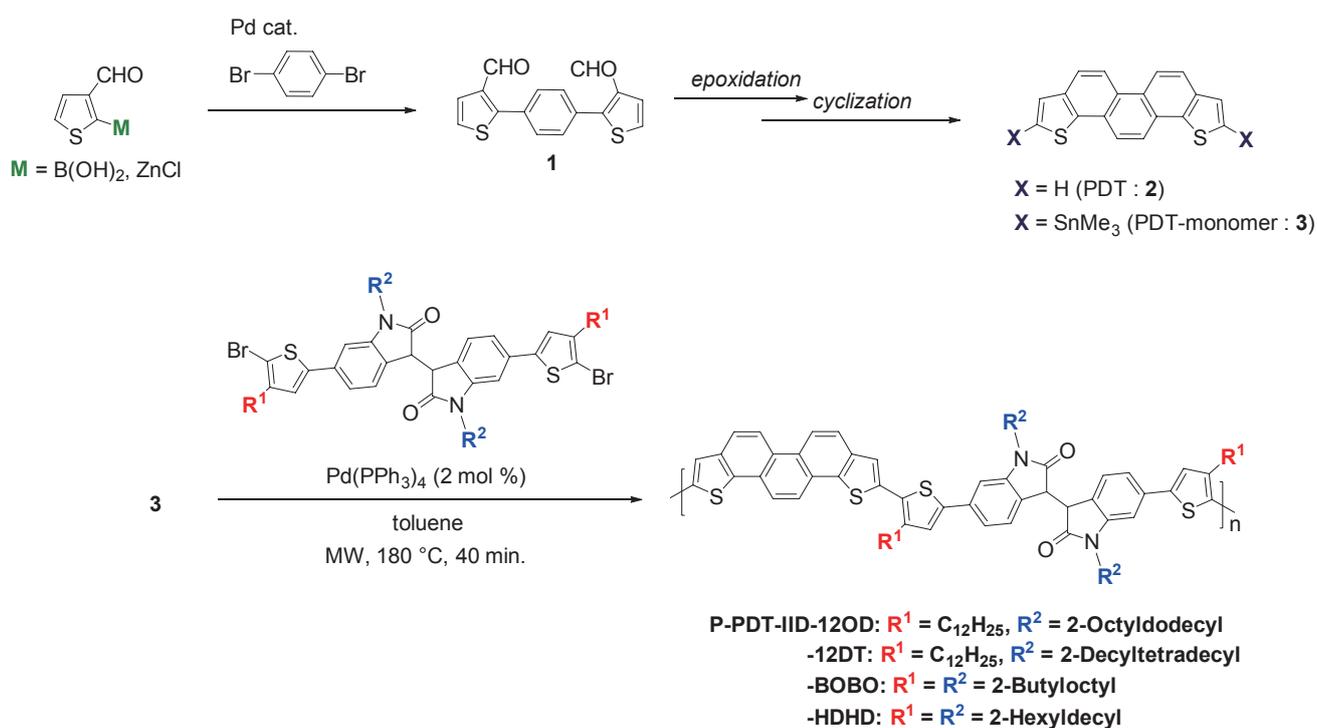
岡山大学 大学院自然科学研究科
西原 康師

1. はじめに

半導体ポリマーを用いた有機薄膜太陽電池(OPV)や有機電界効果トランジスタ(OFET)などの有機デバイスは、溶液プロセスによるデバイス作製が可能であるうえ、その高い伸縮性が注目されており、今後のエレクトロニクス産業を担うと期待されている。しかしながら、未だその特性はいずれも実用化レベルには至っておらず、より優れた特性を示す新たな高性能ポリマー材料を開発する必要がある。

高性能化を達成するためには、発生したキャリアをいかに効果的に輸送できるかが重要な鍵である。そのためこれまでに、ドナー・アクセプター(D-A)型ポリ

マーの主鎖内に、高次に拡張した π 電子系化合物を導入する手法が報告されており、これによりポリマーの分子間相互作用が著しく向上するため、OPVとOFETのいずれにおいても高性能化が達成されている^[1]。しかしながら、拡張 π 電子系化合物をポリマー主鎖に導入することは、高分子化により、効果的な軌道の重なりが実現する一方で、ポリマーの溶解性が著しく低下する。そのため、ポリマー主鎖内に長鎖の可溶性側鎖を複数導入する必要がある。さらに、導入する可溶性側鎖は形状や長さ、置換位置によりポリマーの薄膜構造に大きな影響を及ぼすため、適切な可溶性側鎖の導入が特性の向上に極めて重要である^[2]。そこでわれわれは、高次に拡張



Scheme 1. Synthesis of PDT and target polymers(P-PDT-IID- R^1R^2).

張した新たなフェナセン型化合物であるフェナントロ [1,2-*b*:8,7-*b'*]ジチオフェン(以下、PDTと略記する)に着目した。PDTは、薄膜中で高い結晶性を持つ骨格であるうえ、強い分子間相互作用を持つことから、D-A型ポリマーのドナーユニットとして主鎖に組み込むことで、優れたデバイス特性を示すことが期待できる。そこで本研究では、このPDTと優れたアクセプターユニットの一つであるイソインジゴ(IID)を組み合わせた新規D-A型ポリマーP-PDT-IID-R¹R²を合成し、OPVおよびOFETへ応用した。さらに、高い溶解性と強い分子間相互作用、適切な薄膜構造の構築を目的に、側鎖の最適化をおこなうことでデバイス特性の向上を目指した。

2. 実験

まず、われわれが開発した手法を基にPDTを合成した。安価に入手可能な3-ホルミルチオフェンの2位を亜鉛またはホウ素で官能基化した出発物を用いて、1,4-ジブロモベンゼンとパラジウム触媒による鈴木-宮浦カップリングもしくは根岸カップリングにより、対応するジアルデヒド1を合成した。さらに、続くエポキシ化、ルイス酸触媒を用いた分子内環化反応をおこなうことで、PDT(2)を合成した^[3]。最後に、PDTの2,9位をスタニル化することで、目的のPDTモノマー(3)を4工程40%と良好な収率で得た(Scheme 1)^[4]。

続いて、合成したイソインジゴモノマーおよび3を用いて、右田-小杉-Stilleカップリングによる共重合反応により、目的ポリマーP-PDT-IID-R¹R²を合成した。

いずれのポリマーも、チオフェン環上および窒素原子上に長鎖のアルキル側鎖を導入したため、高い溶解性を有しており、可溶性ポリマーを50-90%と良好な収率で得ることに成功した。

3. 結果と考察

まず始めに、ポリマーの基礎物性を調査した。その結果をTable 1に示す。まず、高温GPC測定によりポリマーの分子量を測定した。その結果、比較的側鎖の短い12ODおよびBOBOが高分子量体として得られた。また興味深いことに、より長鎖の側鎖を有する12DTおよびHDHDは、12ODおよびBOBOと比較して、高い溶解性を有するにも関わらず、高分子量体が得られなかった。また、重合反応条件を種々検討したが、高分子量体が得られなかったため、高分子量体を得るためには、ポリマーに最適な長さのアルキル側鎖を導入する必要があるという、重要な知見が得られた。

続いて、ポリマーのクロロベンゼン溶液中および薄膜中における紫外-可視吸収スペクトルを測定することで、その光学特性を調査した(Figure 1)。いずれのポリマーも、780nmまでの可視光領域に幅広い吸収を持ち、吸収端から見積もったエネルギーギャップは1.6-1.7eV程度と大きな差は見られなかった。一方で、600~700nm付近の、分子内電荷(ICT)遷移に由来する吸収ピークに大きな違いが見られた。まず、室温溶液中および薄膜中でのスペクトルに着目すると、12ODおよび12DTはいずれも620および680nmに二つの明確なピーク

Table 1. Molecular weight and physicochemical properties of P-PDT-IID-R¹R²

Polymer	M_n /kDa ^a	PDI ^a	λ_{max} /nm ^b	E_g^{opt} /eV ^c	E_{HOMO} /eV ^d	IP /eV ^e	E_{LUMO} /eV ^f
12OD	26.8	1.39	621, 671	1.60	-5.45	5.25	-3.85
12DT	13.5	1.52	621, 674	1.60	-5.45	5.41	-3.85
BOBO	56.9	1.87	623, 675	1.69	-5.50	5.49	-3.81
HDHD	19.0	1.51	618	1.65	-5.51	5.47	-3.86

^aDetermined by GPC measurement using polystyrene standards and *o*-dichlorobenzene (*o*-DCB) as the eluent at 140 °C. ^bAbsorption maxima in thin film. ^cOptical energy gap estimated from absorption edge (λ_{edge}). ^dEstimated with the oxidation onset vs Fc/Fc⁺; $E_{HOMO} = -4.72 - E_{onset}^{ox}$. ^eIonization potential was determined by photo-electron yield spectroscopy (PYS) in air. ^fEstimated with the following equation; $E_{LUMO} = E_{HOMO} - E_g^{opt}$.

を持つことがわかる。この溶液を80℃付近まで加熱したところ、12ODは、680nm付近のピークが観測できたのに対し、12DTは、10nm程度のブルーシフトと680nm付近ピークが消失したことがわかる。このことから、加熱溶液中でも12ODは、室温溶液中および薄膜中同様の凝集形態を維持していることが分かり、非常に強い分子間相互作用を有するといえる。また、BOBOとHDHDのスペクトルを比較したところ、先程と同様の傾向が見られた。BOBOは、620nmおよび675nmに肩をもつスペクトルが得られ、加熱溶液中と薄膜中ではほぼ同様のスペクトルが得られた。一方で、HDHDは室温溶液で一つのブロードなピークが得られ、また加熱溶液中では、ブルーシフトが観測できたことから、凝集が緩和しているといえる。これらの結果から、BOBOはHDHDよりも溶液中で凝集しており、より強い分子間相互作用をもつことが示唆される。つまり、特に側鎖が短く、高分子量体であった12ODおよびBOBOは、加熱溶液中と薄膜中での

スペクトル形状に大きな差が見られなかったことから、いずれも非常に強い分子間相互作用を持つことが分かった。

次に、電気化学的手法によりポリマーのHOMOレベルを見積もったところ、 $-5.4\sim-5.5\text{eV}$ 程度とほぼ同程度であり、ポリマーは太陽電池において十分に深いHOMOレベルを持つことが分かった。一般的に、HOMOレベルは、ポリマーのドナーユニットに大きく依存する傾向にあるため、PDTをポリマー主鎖内に導入することは、深いHOMOレベルを与えるという優れた特徴を示した。さらに、吸収端から見積もったエネルギーギャップを用いてポリマーのLUMOレベルを見積もったところ、いずれも -3.8eV 程度であった。フラーレン誘導体のLUMOレベルとの差が 0.3eV 以上であることから、いずれのポリマーも十分に電荷分離が可能なエネルギーレベルであるといえる。これらの結果から、導入したアルキル側鎖は、ポリマーのフロンティア軌道や

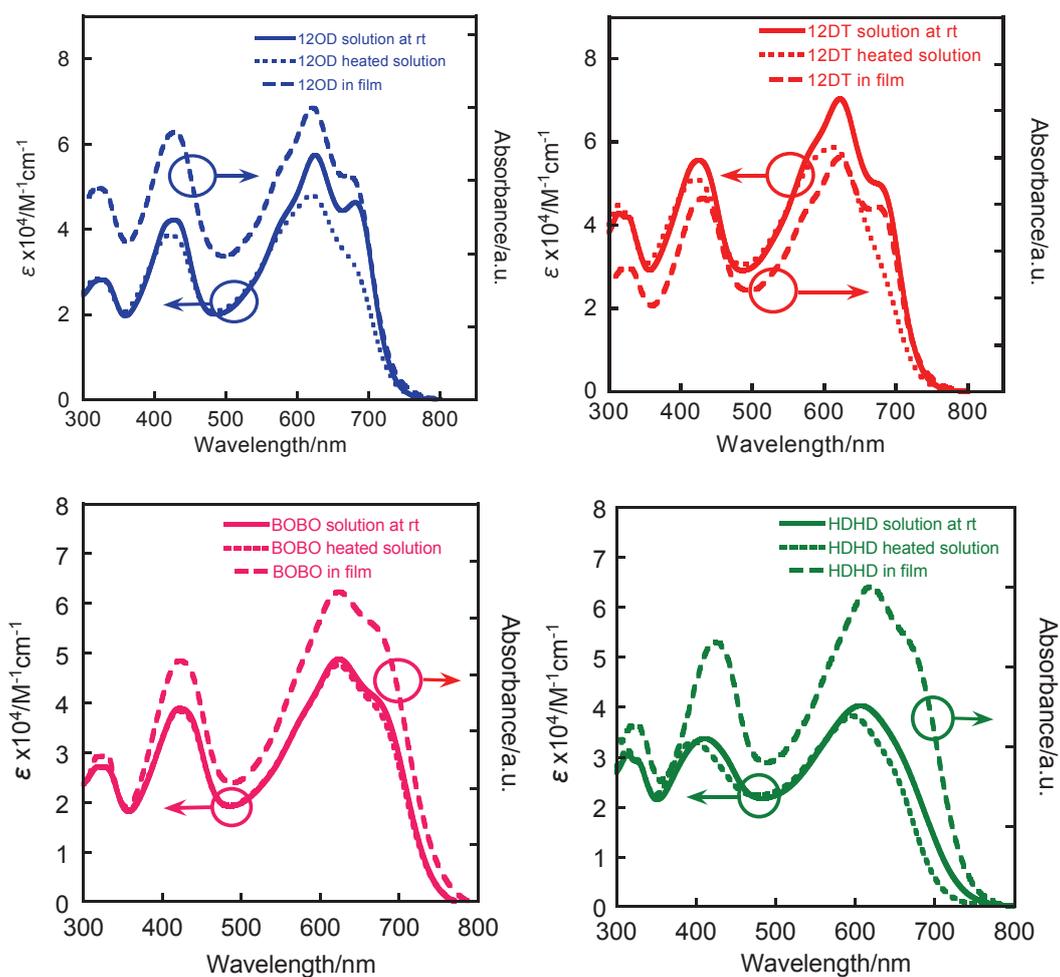


Figure 1. UV-Vis absorption spectra of P-PDT-IID-R¹R².

電子状態には大きく影響しない一方で、ポリマーの凝集形態や薄膜構造には大きな影響を及ぼすことが分かった。

次に、ポリマー熱的安定性を調査するため、示差走査熱量測定(DSC:Differential Scanning Calorimetry)による測定をおこなったところ、いずれのポリマーも250℃までに熱量変化は全く観測されなかったことから、融点およびガラス転移点は存在せず、長鎖のアルキル側鎖を複数ヶ所に導入しているにも関わらず、P-PDT-IID-R¹R²は高い熱的安定性を有していることがわかった。

続いて、P-PDT-IID-R¹R²の太陽電池材料としてのポテンシャルを調査するために、ITO/(PEDOT:PSS)/(P-PDT-IID-R¹R²:PC₆₁BM)/Ca(10nm)/Al(80nm)からなる典型的な通常型バルクヘテロ接合型太陽電池素子を作製し、その特性を調査した(Figure 2およびTable

2)。まず、12ODおよび12DTを用いて素子を作製し、その調査したところ、高分子量体である12ODを用いて作製した素子が変換効率2.54%と、12DTよりも高い値を示した。中でも特に、短絡電流密度の値に大きな差が見られ、これは12ODがより適切な相分離構造を形成したことに起因すると考えられる。また、ポリマーのHOMOレベルとフラレン誘導体のLUMOレベルの差に相関があるとされる開放電圧の値も、約0.8V程度と高い値を示し、当初の予想通り、高い値を示した。しかし、一方でフィルファクター(*FF*)の値は約0.4-0.5程度にとどまり、*J-V*曲線に着目すると、やや湾曲した曲線であることがわかる。これは、得られた太陽電池特性の直列抵抗が大きいことに起因する。

次に、BOBOおよびHDHDを用いて太陽電池素子を作製し、その特性を調査したところ、先程と同様の傾向が

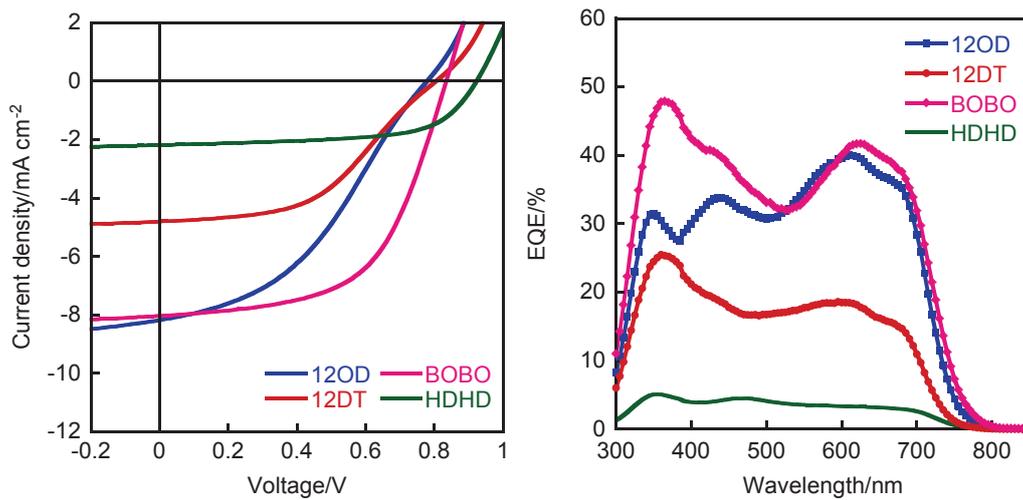


Figure 2. *J-V* curves and EQE spectra of conventional OPVs.

Table 2. Device performances of P-PDT-IID-R¹R²

Polymer	p/n ^a	Thickness /nm ^b	<i>J</i> _{sc} /mA cm ⁻²	<i>V</i> _{oc} /V	<i>FF</i>	PCE _{max} /%	<i>μ</i> _h /cm ² V ⁻¹ s ^{-1c}
12OD	1:1	124	8.18	0.78	0.40	2.54	2.7 × 10 ⁻⁴
12DT	1:1	119	4.80	0.80	0.47	1.82	2.4 × 10 ⁻⁴
BOBO	1:3	125	8.03	0.84	0.57	3.83	2.0 × 10 ⁻⁴
HDHD	1:1	119	2.19	0.92	0.63	1.26	3.1 × 10 ⁻⁵

^aWeight ratio of polymers and PC₆₁BM. ^bAverage thickness of active layer. ^cSCLC hole mobility estimated using hole-only devices with the device configuration of ITO/(PEDOT:PSS)/polymer:PC₆₁BM/MoO₃ (6 nm)/Al (80 nm).

見られ、高分子量体であるBOBOを用いて作製した素子が最も高い変換効率3.83%を示した。特に、フィルファクターの値に向上が見られ、これは直列抵抗が小さくなったことで、より効果的なキャリア輸送可能となったためであるといえる。一方でHDHDは、短絡電流密度の値が著しく低いことが分かる。これは、不適切な相分離構造のため、効果的な電荷分離を促進できなかったことに起因するといえる。これらの結果から、太陽電池特性を向上させるためには、より適切な相分離構造を形成することが重要であり、このためには、まず高分子量体を得ることが必須であるといえる。

続いて、さらなる太陽電池特性の向上を目的にP-PDT-IID-R²を用いて逆型太陽電池素子を作製し、その特性を調査した (Figure 3, Table 3, Device structure: ITO/ZnO/(P-PDT-IID-R²:PC_{xx}BM)/MoO_x(6nm)/Ag(50nm))。通常型太陽電池素子と比

較して、この逆型太陽電池は、比較的安定な金属電極を用いるほか、腐食により性能低下を招く酸性の(PEDOT:PSS)を使用しないため、高い大気安定性をもつ。さらに優れた点は、近年逆型太陽電池を用いることで、太陽電池特性が向上する傾向があるという点である。これはまず、一般的な低バンドギャップポリマーとフラーレン誘導体を用いて作製した活性層内部に生じる濃度勾配に大きく起因する。これまでに、活性層上部には半導体ポリマーが、一方活性層下部にはフラーレン誘導体の存在比が大きくなっていることが既に明らかにされている。すなわち、逆型太陽電池においては、それぞれの電極に適したキャリア種を輸送する成分が電極付近で多くなるため、より効果的なキャリア輸送が実現する。逆型太陽電池ではより効果的なキャリア輸送が実現するため、短絡電流密度や曲線因子 (*FF*) が向上し、結果として光電変換効率が向上することが知られている^[5]。

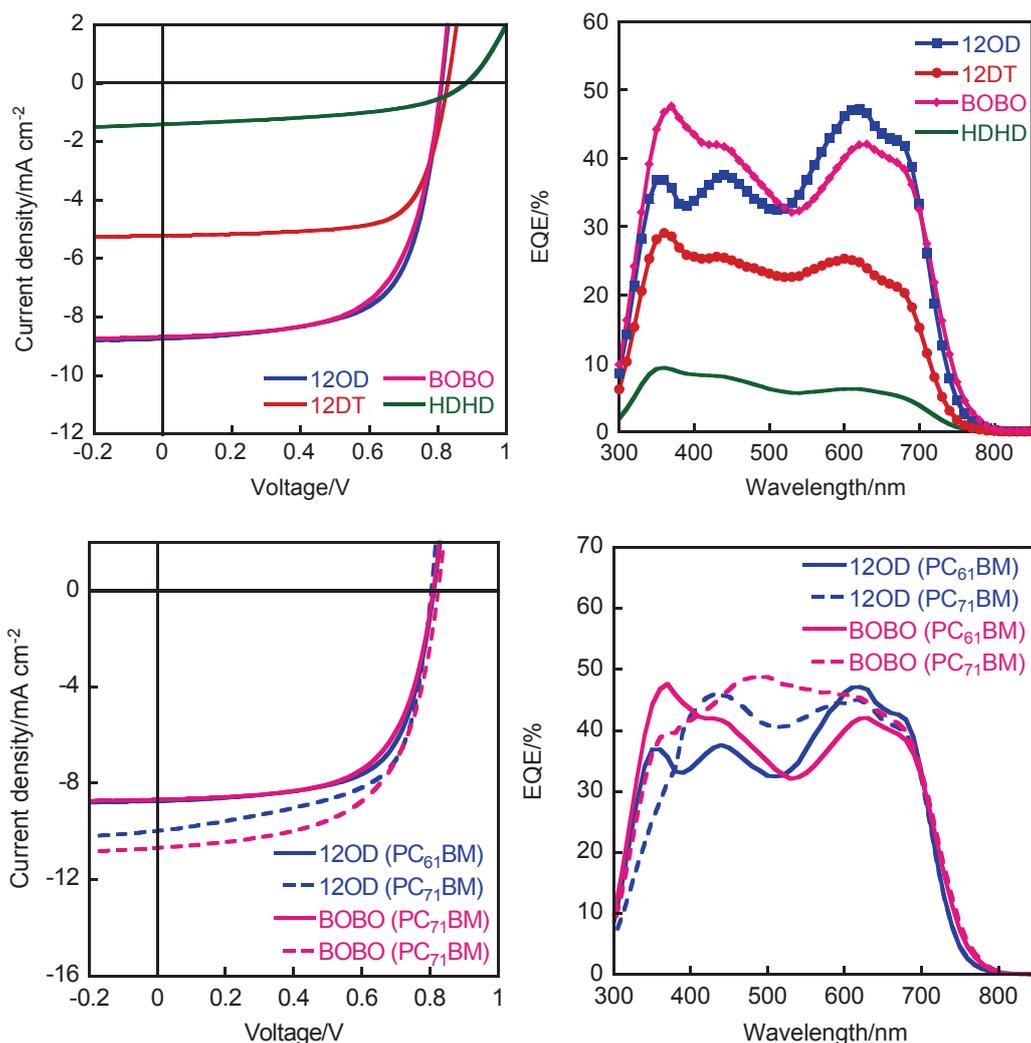


Figure 3. J-V curves and EQE spectra of inverted OPVs.

Table 3. Solar cell performances of P-PDT-IID-R¹R²/PC_xBM-based devices

Polymers	Acceptor	p/n ^a	Solvent ^b	Thickness /nm ^c	$J_{sc}/\text{mA cm}^{-2}$	V_{oc}/V	FF	$\text{PCE}_{\text{max}}/\%$
12OD	PC ₆₁ BM	1:1	CB	121	8.74	0.81	0.66	4.66
	PC ₇₁ BM	1:1	DCB	120	9.99	0.80	0.63	5.06
12DT	PC ₆₁ BM	1:1	CB	114	5.22	0.83	0.71	3.07
	PC ₇₁ BM	1:1	DCB	108	6.63	0.82	0.57	3.10
BOBO	PC ₆₁ BM	1:3	CB	116	8.93	0.81	0.63	4.53
	PC ₇₁ BM	1:2	DCB	126	10.70	0.82	0.60	5.28
HDHD	PC ₆₁ BM	1:1	CB	100	1.41	0.88	0.48	0.60
	PC ₇₁ BM	1:1	DCB	115	2.05	0.90	0.59	1.09

^aWeight ratio of polymers and PC_xBM. ^bSpin-coating solvent of active layer. ^cAverage thickness of active layer.

作製した逆型太陽電池素子の特性を調査したところ、いずれのポリマーを用いた場合においても、特に、フィルファクターの値に大幅な向上が見られ、12ODおよびBOBOを用いて作製した素子がいずれも4%を超える変換効率を示した。この要因は明らかになっていないが、逆型素子にすることで、発生したキャリアがより効果的に対応する電極まで輸送することが可能となったためであると考えている。

続いて、さらに太陽電池特性を向上させるため、フラーレン誘導体であるPC₆₁BMをPC₇₁BMに変更した逆型素子を作製し、その特性を調査した。その結果、目的通り短絡電流密度の値が向上し、12ODおよびBOBOを用いて作製した素子がいずれも5%を超える変換効率を示し、中でもBOBOを用いて作製した素子が最も高い変換効率5.3%を示した。対応するEQEスペクトルに着目すると、PC₇₁BMに変更することで、400-600nm付近の光をより効果的に吸収および変換することができたため、短絡電流密度の値が向上した。続いて、太陽電池特性に差が生じた要因を調査するため、微小角入射広角X線散乱(GIWAXS)測定により、ポリマーとフラーレン誘導体との混合薄膜中における、ポリマーの分子配向を調査した(Figure 4)。まず、12ODおよび12DT薄膜のGIWAXS像に着目すると、いずれも面外方向にラメラ構造に由来する($h00$)回折が、さらに面内方向に π - π スタッキングに由来する(010)回折が観測できたため、いずれのポリマーも有機太陽電池のキャリア輸送に不利

なedge-on配向を形成していることが分かった。また、12DTは12ODよりもより高次かつ明確にピークが観測できたことから、より規則的なedge-on配向を形成しているといえ、この不利な配向成分が多いことが、低い特性を示した要因の一つであるといえる。

次に、BOBOおよびHDHD薄膜のGIWAXS像に着目すると、いずれも面内方向にラメラ構造に由来する($h00$)回折が、さらに面外方向に π - π スタッキングに由来する(010)回折が観測できたため、いずれのポリマーも有機太陽電池のキャリア輸送に有利なface-on配向を形成していることが分かった。しかしながら、12ODや12DTと同様に面外方向に($h00$)回折、さらに面内方向に(010)回折がいずれも観測できたため、太陽電池に不利なedge-on配向成分も混在しているといえる。このedge-on配向成分が混在していることが、これが高性能化を妨げた要因の一つであるといえる。またBOBOおよびHDHDは、全体的に回折強度が弱いといえ、これは、嵩高い分岐アルキル側鎖を4ヶ所に導入したことで、ポリマーの結晶性が低下したことに起因する。これらの結果から、直鎖アルキル側鎖の導入は、ポリマーの結晶性を向上させる一方で、有機太陽電池のキャリア輸送に不利なedge-on配向成分を増加させる傾向にあり、また一方で、分岐側鎖の導入は、有機太陽電池に有利なface-on配向成分を増加させる傾向にあるが、一方でポリマーの結晶性を低下させるといった欠点もあった。そのため、さらなる高性能化を達成するためには、より適

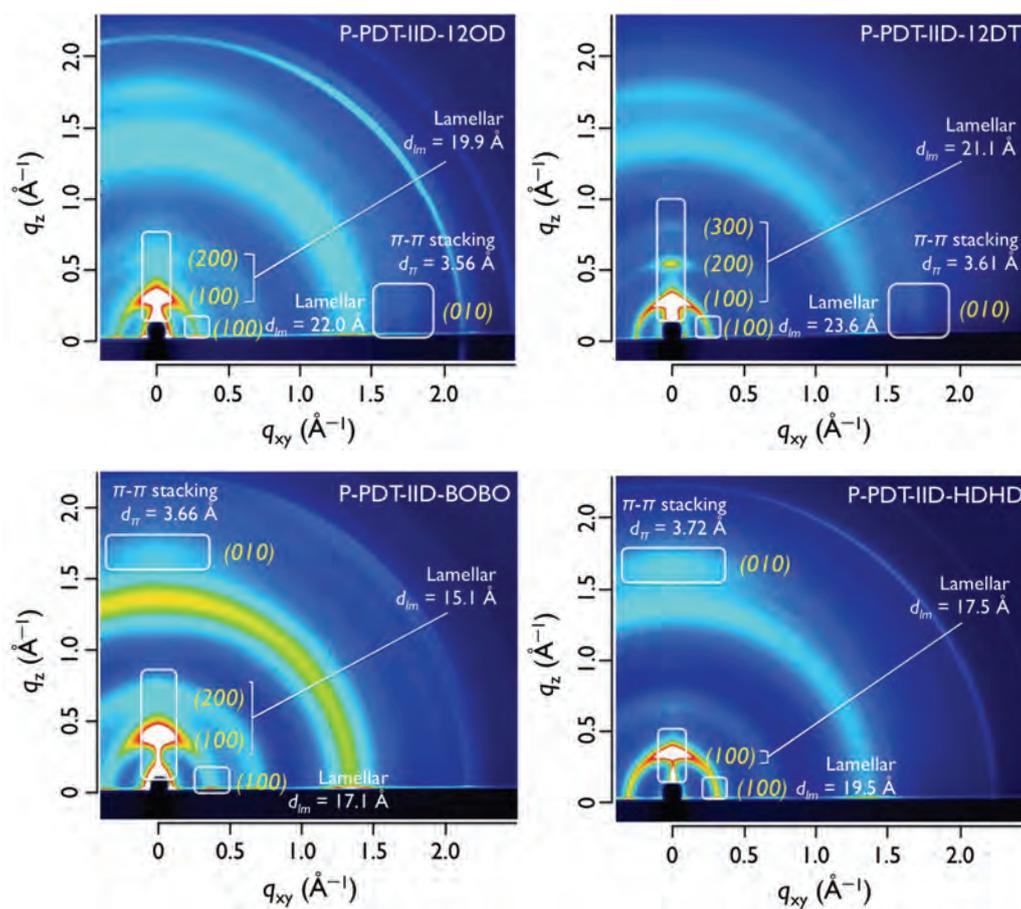


Figure 4. GIWAXS profiles of blended films.

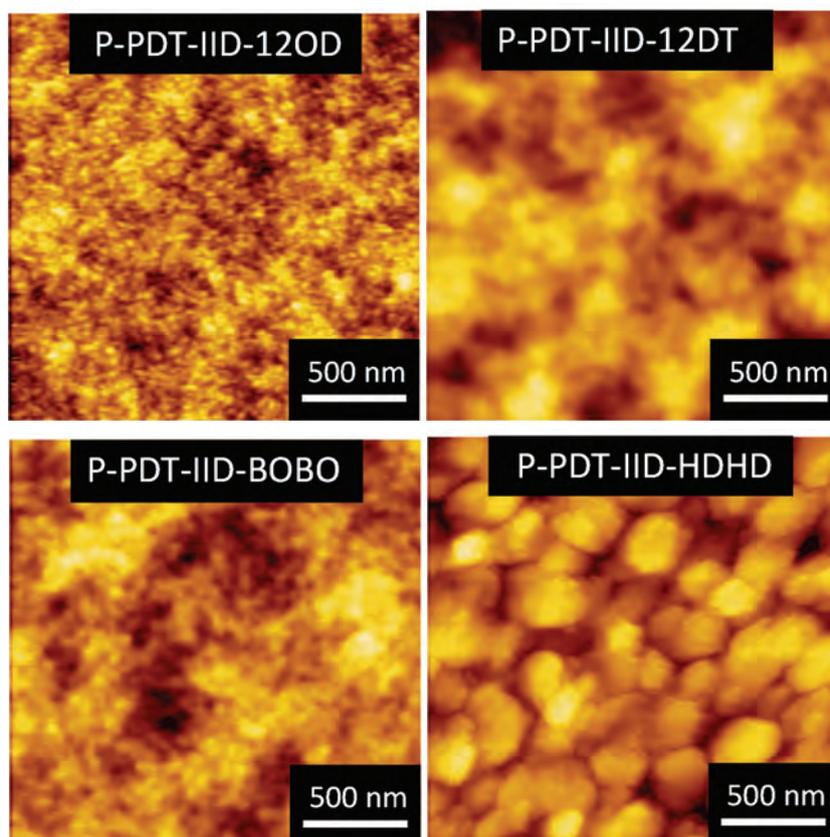


Figure 5. AFM images of OPV devices.

切な位置への側鎖の導入が必要であるといえる。

さらに、より詳細な薄膜構造を調査するため、原子間力顕微鏡 (AFM) による素子表面のモルフォロジーを観察した (Figure 5)。その結果、高分子量体かつ側鎖の短い 12OD および BOBO は、二乗平均面粗さ (RMS) が約 1nm 程度であり、いずれも良好な相分離構造を形成して

いるといえる。そのため、効果的な電荷分離を促進したことで、高い短絡電流密度および光電変換効率を示したといえる。一方で、低分子量体かつ側鎖の長い 12DT および HDHD は、二乗平均面粗さ (RMS) が約 3-4nm 程度と、大きな相分離構造を形成していた。この不適切な相分離構造は、効果的な電荷分離を妨げるうえ、発生した

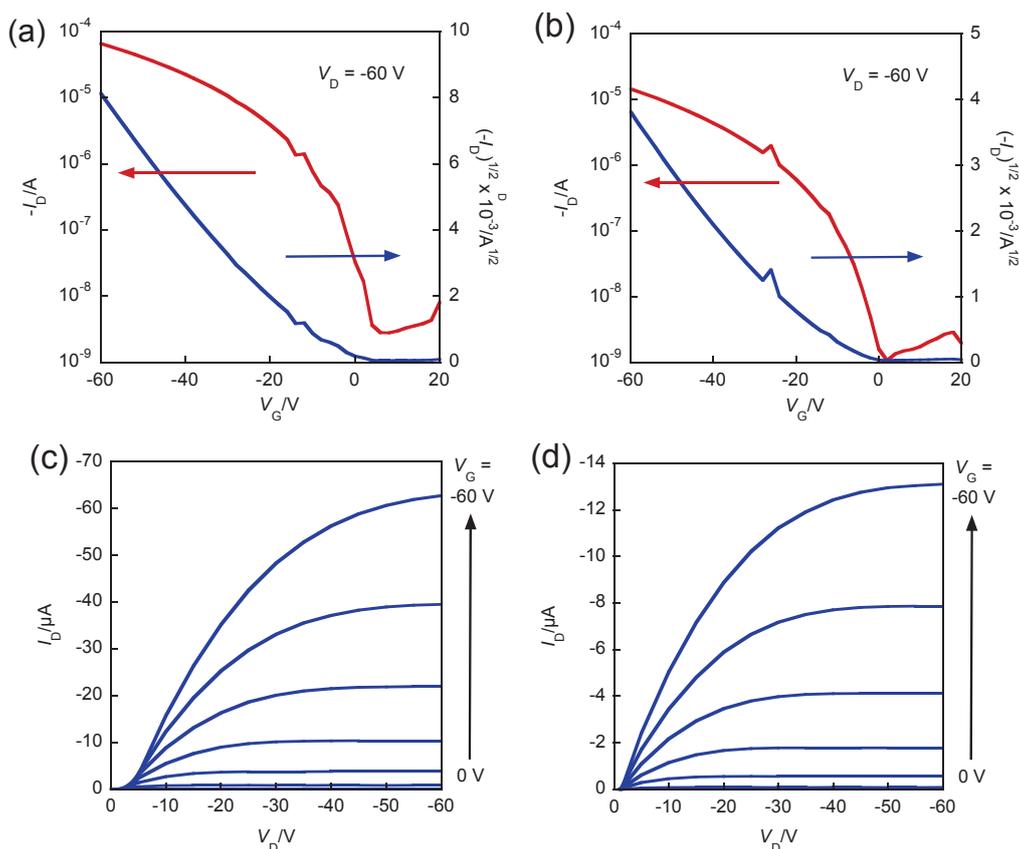


Figure 6. (a,b) Output and (c,d) transfer curves of OFET devices based on (a,c) 12OD, (b,d) BOBO.

Table 4. OFET characteristics of polymers

condition		OFET properties			
Polymer	SAM	T_a [°C] ^a	μ_{max} (μ_{ave}) [$cm^2 V^{-1} s^{-1}$] ^b	V_{th} [V] ^c	I_{on}/I_{off} ^c
12OD	FOTS	—	0.018 (0.016)	-16	$10^3 \sim 10^6$
		250	0.11 (0.089)	-15	$10^3 \sim 10^6$
		ODTS	250	0.16 (0.15)	-11
BOBO	FOTS	—	5.9×10^{-3} (5.8×10^{-3})	-13	$10^1 \sim 10^5$
		250	0.052 (0.032)	-12	$10^3 \sim 10^6$
		ODTS	250	0.041 (0.028)	-15

Average values shown in parenthesis. ^aTemperature of thermal annealing. ^bEstimated from transfer curves in saturation regime. ^cAverage values of each OFET devices.

キャリアを効果的に輸送できないことが予想でき、これが低い短絡電流密度および光電変換効率を示した要因であるといえる。これらの結果から、ポリマーの分子量は作製した活性層の薄膜構造に大きく影響することがわかる。ポリマーの分子量が増加するにつれて、より適切な相分離構造を形成することから、太陽電池の高性能化を達成する上では、高分子量体を用いることが重要であるといえる。

これまでP-PDT-IID-R¹R²の太陽電池特性および活性層の薄膜構造を詳細に調査してきた。P-PDT-IID-R¹R²を用いて作製した太陽電池素子は、5%を超える良好な変換効率を示した一方で、ポリマーの分子配向は、フラーレン誘導体との混合薄膜中で、主に有機太陽電池のキャリア輸送に不利なedge-on配向を形成していた。しかし一方で、このedge-on配向は、有機電界効果トランジスタに有利な分子配向である。さらにP-PDT-IID-R¹R²は非常に強い分子間相互作用を持つことから、有機太陽電池のみならず、有機トランジスタ材料として

も高いポテンシャルを持つといえる。そこで続いて、P-PDT-IID-R¹R²の中でも、特に高分子量体である12ODおよびBOBOをそれぞれ有機トランジスタへ応用することとした。

まず12ODおよびBOBOのトランジスタ特性を調査するため、典型的なボトムゲートトップコンタクト型OFET素子を作製し、その特性を評価した(Figure 6およびTable 4)。また今回、自己組織化単分子膜(SAM)として、オクタデシルトリエトキシシラン(ODTS)またはパーフルオロオクチルトリエトキシシラン(FOTS)を用いた。

いずれの素子も、約-10Vのしきい電圧(V_{th})および 10^5 程度のオンオフ比(I_{on}/I_{off})を示した。しきい電圧がやや大きな値となってしまった要因は、ポリマーのHOMOレベルがやや深いことに起因しており、電極として用いる金の仕事関数(-5.0eV)とP-PDT-IID-R¹R²のHOMOレベルの差が、やや大きいためである。一方で、ホール移動度の値には大きな差が生じていた。分岐-分岐のアル

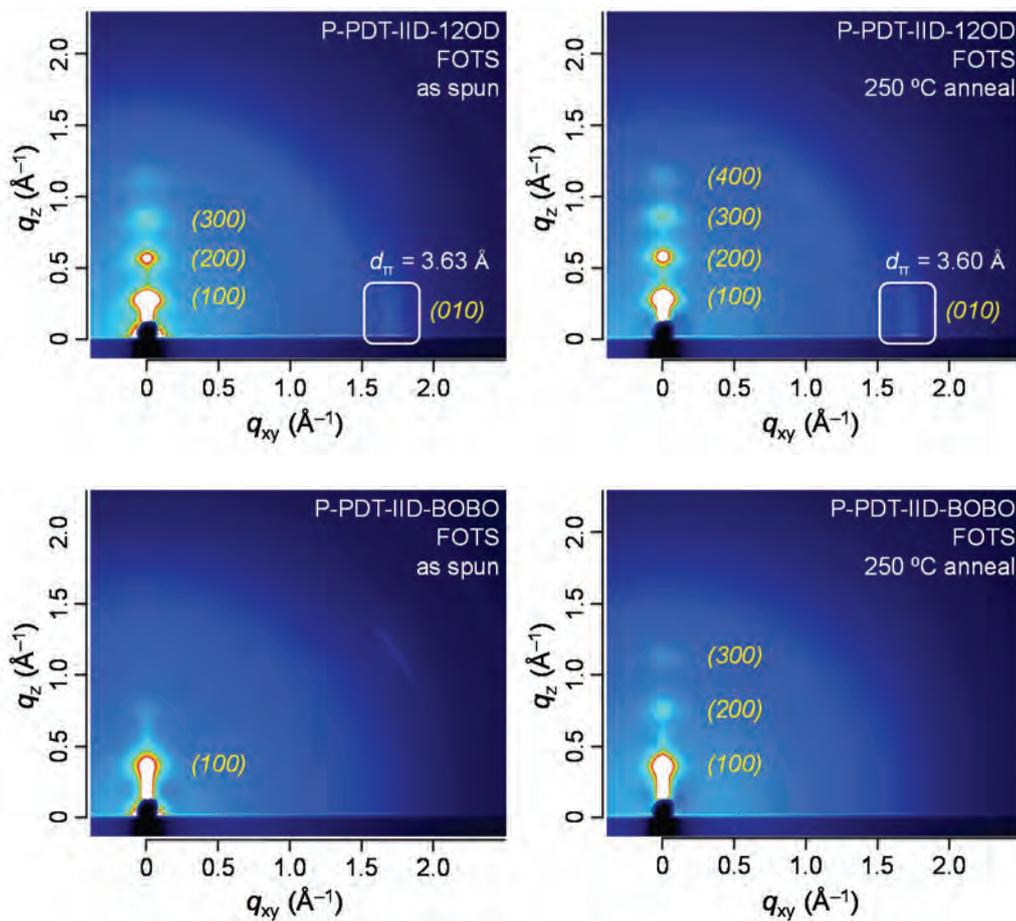


Figure 7. GIWAXS profiles of polymer only thin films.

キル側鎖を導入したBOBOを用いて作製した素子は、熱アニールをおこなわない場合、ホール移動度 $5.9 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を示した。また、熱アニール処理を施すことにより、ホール移動度に向上が見られ、 250°C で熱アニール処理をおこなうことで、最大でホール移動度 $0.052 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を示した。これに対し、直鎖-分岐のアルキル側鎖を導入した12ODを用いて作製した素子は、熱アニールをおこなわない場合、ホール移動度 $0.018 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ とBOBOよりも高い値を示した。また、熱アニール処理を施すことにより、BOBOと同様にホール移動度に向上が見られ、 250°C で熱アニール処理をおこなうことで、ホール移動度 $0.11 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を示した。さらにSAMとしてODTSを用いて素子を作製したところ、最大でホール移動度 $0.16 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を示し、BOBOの約3倍の移動度であった。ホール移動度に大きな差が生じた要因を調査するため、まず微小角入射広角X線散乱(GIWAXS)測定をおこない、 n^+ -Si/SiO₂基板上でのポリマーの薄膜構造を調査した(Figure 7)。まず12ODのGIWAXS像に着目すると、熱アニール処理を施さない場合、面外方向にラメラ

構造に対応する($h00$)の回折が3次まで観測でき、また π - π スタッキングに対応する(010)の回折が面内方向に観測できた。またいずれの回折もスポット状であるため、12ODは基板上で高規則的なedge-on配向を形成していることがわかった。さらに、熱アニール処理を施すことで、面外方向にラメラ構造に対応する($h00$)の回折が4次まで観測できたほか、 π - π スタッキングに対応する(010)の回折もより明確に観測できた。このことから、熱アニール処理を施すことで、ポリマーの結晶性が向上したのみならず、より高規則的なedge-on配向を形成したといえる。そのため熱アニール処理により、ホール移動度が大幅に向上したといえる。またこれとは対照的に、BOBOは、面外方向に($h00$)の回折が観測されたものの、その強度は非常に低いことに加え、 π - π スタッキングに対応する(010)の回折は全く観測できなかった。また、熱アニール処理後も(010)回折は全く観測できなかったため、BOBOは基板上で、アモルファス様の構造を形成していることがわかった。この結果は、フラーレン誘導体と混合した薄膜中と同様の傾向にあ

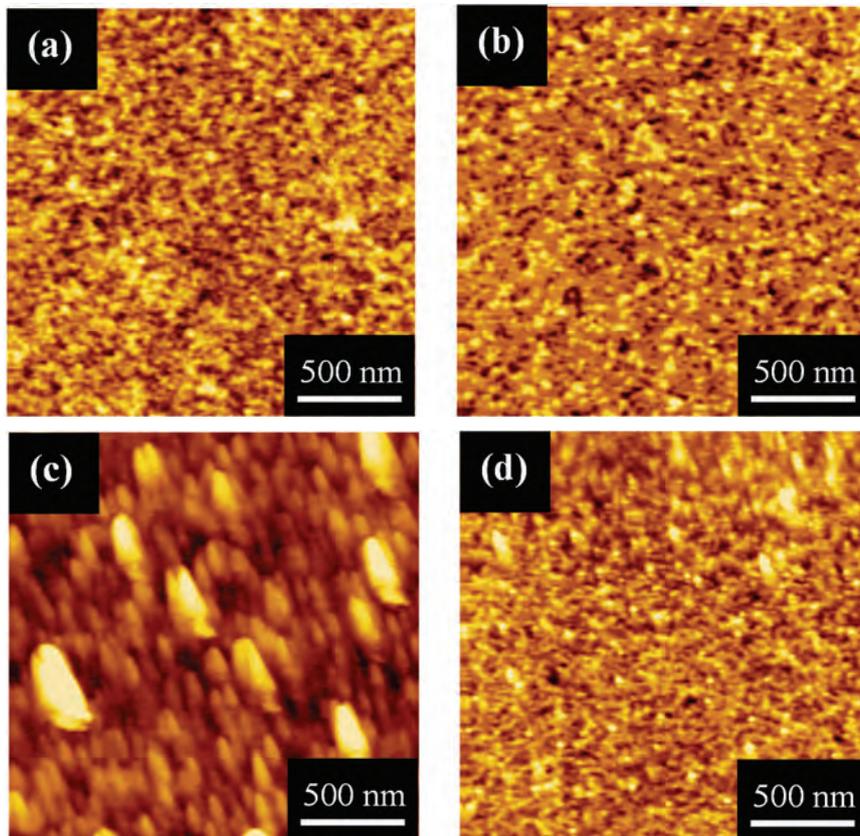


Figure 8. AFM images of FOTS modified OFET devices; (a) 12OD as-spun, (b) 12OD 250°C anneal, (c) BOBO as-spun and (d) BOBO 250°C anneal.

り、ポリマー単膜中においても、直鎖アルキル側鎖の導入が、結晶性の向上および有機トランジスタに有利な edge-on 配向の形成を促進するということがわかった。

次に、AFM 測定を用いてトランジスタ素子の表面観察をおこなった (Figure 8)。その結果、12OD、BOBO いずれの素子も、熱アニール処理の有無、用いる自己組織化単分子膜に依らず、ほぼ同一の表面モルフォロジーが観測できた。この結果から、ホール移動度に大きな差が生じた要因は、ポリマーの分子配向が大きく影響しているといえる。このように、アルキル側鎖によりポリマーの分子配向が大きく異なった要因を調査するため、理論計算を用いて、 π 平面に対するアルキル側鎖の二面角を算出したところ、わずかながら差がみられた。特にチオフェン環と直鎖アルキル側鎖との間の二面角は、 71° であったのに対し、チオフェン環と分岐アルキル側鎖との二面角は 91° と π 平面に対し、より垂直方向に位置していた。これによりチオフェン環上に分岐アルキル側鎖を有する BOBO は、より π スタック構造を形成しにくいことが予想でき、そのため、薄膜中でアモルファス様の構造を形成したと予想できる。しかしながら一方で、12OD は有機トランジスタに有利な edge-on 配向を高規則的に形成したにもかかわらず、ホール移動度は約 $0.16 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ にとどまった。この要因は、薄膜構造解析の結果から明らかであり、いずれの表面モルフォロジーは、比較的平坦であるうえ、RMS の値も約 0.5 nm 程度であった。さらに得られた GIWAXS 像も全体的に回折強度が弱いといえる。つまり、これらの結果はポリマーの低い結晶性に起因しており、この低い結晶性が、トランジスタ特性を制限したもっとも大きな要因であるといえる。

4. おわりに

今回われわれは、高次に拡張した新たなフェナセン型化合物であるフェナントロ [1,2-*b*:8,7-*b'*]ジチオフェン (PDT) に着目し、この PDT を D-A 型ポリマーのドナーユニットとして主鎖に組み込んだ新規 D-A 型ポリマー P-PDT-IID- R^1R^2 を合成し、有機デバイスへ展開した。

様々な長さ・種類のアルキル側鎖を有する 4 種の P-PDT-IID- R^1R^2 を合成したところ、比較的側鎖の短い 12OD および BOBO が高分子量体として得られ、いずれ

も強い分子間相互作用をもつことがわかった。また、有機デバイスへの応用をおこなったところ、高分子量体である 12OD および BOBO を用いて作製したデバイスが高い特性を示した。有機太陽電池においては、分岐-分岐アルキル側鎖を導入した BOBO を用いて作製した素子が最大で光電変換効率 5.3% を示した。一方で有機トランジスタにおいては、直鎖-分岐アルキル側鎖を導入した 12OD を用いて作製した素子が最大でホール移動度 $0.16 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を示した。これらの結果から、より最適な種類および長さのアルキル側鎖を導入することが、高分子量体を得ることに必須であるうえ、高性能化において非常に重要であるといえる。これらの結果から、PDT をポリマー主鎖へ導入したポリマーが、有機太陽電池と有機トランジスタのいずれにおいても高い特性を示すことが予想でき、PDT が新たな半導体骨格として高いポテンシャルをもつことの裏付けであると考えている。

謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人松籟科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Zhong, H.; Li, Z.; Deledalle, F.; Elisa Fregoso, C.; Shahid, M.; Fei, Z.; Nielsen, C. B. Yaacobi-Gross, N.; Rossbauer, S.; Anthopoulos, T. D.; Durrant, J. R.; Heeney, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2040–2043.
- [2] Osaka, I.; Takimiya, K. *Polymer* **2015**, *59*, A1–A15
- [3] Hyodo, K.; Nonobe, H.; Nishinaga, S.; Nishihara, Y. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 4002–4005.
- [4] Mori, H.; Suetsugu, M.; Nishinaga, S.; Chang, N.-H.; Nonobe, H.; Okuda, Y.; Nishihara, Y. *J. Polym. Sci. Part A: Pol. Chem.* **2015**, *53*, 709–718.
- [5] Guo, X.; Zhou, N.; Lou, S. J.; Smith, J.; Tice, D. B.; Hennek, J. W.; Ortiz, R. P.; Navarrete, J. T. L.; Li, S.; Strzalka, J.; Chen, L. X.; Chang, R. P. H.; Facchetti, A.; Marks, T. J. *Nat. Photon.* **2013**, *7*, 825–833.

コンビナトリアルバイオケミストリー手法を用いた 新奇ジテルペン化合物の創製

静岡大学 学術院 農学領域
大西 利幸

本研究課題の目的は、ジテルペンを生合成するシトクロムP450酵素(P450)に相互ドメインスワッピングを施すことで触媒反応を改変した非天然型P450遺伝子を作製し、様々なジテルペン代謝改変酵母に導入して培養することにより、基質を与えることなくin vivo反応系で新奇ジテルペンを創製することである。

近年、“Specialized metabolites”と呼ばれるようになった植物の二次代謝産物には数多くの生理活性物質が存在し、植物が環境ストレスなどから身を守るために生合成される化学防御物質と考えられ、植物種の生存・繁栄のための鍵物質である。ジテルペン化合物はゲラニルゲラニル二リン酸(GGPP)を出発物質として、まず環化されて化合物骨格が形成され、次に酸化や還元、配糖体

化、アシル化など修飾されることにより生合成される。ジテルペンは約600種類以上が報告されており、高い生物活性を有する物質が多く、有用な医薬品原料や工業資源物質である(momilactone A: ファイトアレキシン, steviol: 甘味料原料, gibberellin: 植物ホルモン, abietic acid: インク顔料)。ジテルペンが多様な化学構造を有する理由の一つにジテルペン環化酵素(di-TPS)と一原子酸素添加酵素であるシトクロムP450酵素(P450)が挙げられる(図1)(Keeling et al, 2006)。Di-TPSは環化メカニズムの違いにより11種類のジテルペン骨格を生成し、P450はジテルペン骨格の様々な部位に酸素原子を次々と導入する。このようにdi-TPSとP450の絶妙なコンビネーションによりジテルペンの構造多様性が生み出され

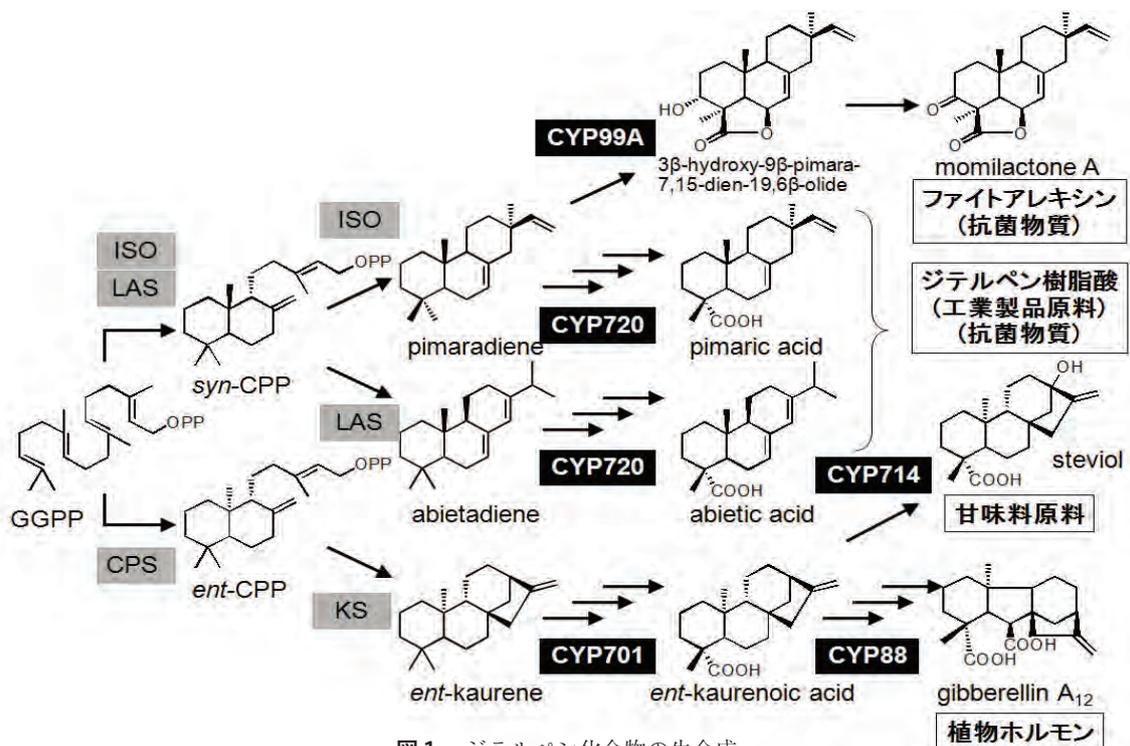


図1 ジテルペン化合物の生合成

る。特にジテルペンの構造多様性に対するP450の寄与度は高い。CYP88とCYP714は共に*ent*-kaurenoic acidを基質とするが、CYP88はgibberellinA₁₂を生成する三段階酸化酵素であり、CYP714はC-13位の水酸化反応を触媒する。基質が同じにも関わらず異なる代謝産物が生成される原因は、それぞれのP450の基質結合ポケットの立体構造が異なり、基質との結合パターンに差異が生じたためである。P450は基質と結合する基質結合ドメイン(SRS)が6つ存在することが知られており、これらSRSが基質認識および基質の酸化部位を制御している重要な領域であることが報告されている(Hlavica, 2012)。そこで申請者は、P450のSRSを改変させることで、新たな基質認識および新たな基質の酸化部位を付加した新たな機能をもつP450を作製し、この非天然型P450を用いて新奇ジテルペンを創製できると考えた。そこで本研究はCYP714に注目し、アミノ酸変異を与えることでジベレリン型ジテルペン化合物の創成を試みた。

【研究背景】

ジベレリン(GA)は種子の発芽誘導、細胞の伸長促進、花芽形成の誘導、花粉の発達制御、果実の肥大促進などの生理現象に関わる植物ホルモンである。これまでに136種類が報告されており、今もなお新しいGA類縁体が発見されている(Hedden, P et al. 2012)。これらの中で主として植物に内生し、GA応答に直接関係している活性型GAはGA₁とGA₄である。GA₃とGA₇も活性型GAとして機能するが、植物中にはそれほど多く存在しない。

真菌類ではGA₃とGA₇はGA₄の代謝物であるが、植物

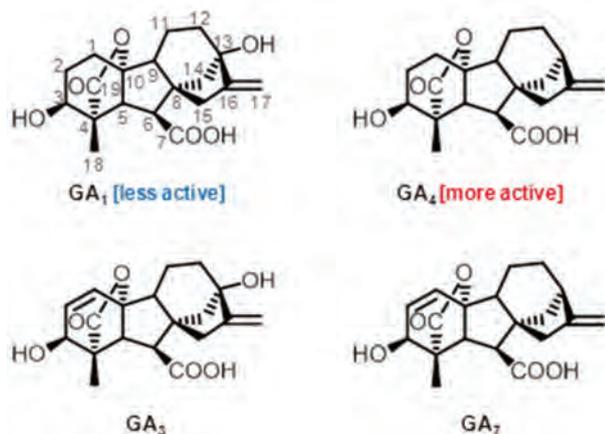


図2 活性型GA

ではGA₂₀からGA₅を経てGA₃が、GA₉から2,3-dehydro-GA₉を経てGA₇がそれぞれ合成される(Albone, KS et al. 1990)。GA₁とGA₄の構造の違いは13位水酸基の有無のみであり、GA₁が13位水酸基を有する(GA₃とGA₇の関係も同様である)。イネでもシロイヌナズナでも、GAの核内受容体GID1に対するGA₁の親和性は、GA₄のそれと比べて1/100から1/20程度である(図2)(Nakajima, M et al. 2006. Ueguchi-Tanaka, M et al. 2008)。GA₁の13位水酸基を介したGID1-GA₁間の水素結合は、GID1-GA₁間の相互作用に対してエンタルピー的には有利に働くが、エントロピー的には不利に働き、GID1-GA₁複合体形成におけるトータルの自由エネルギー変化はGID1-GA₄複合体形成のそれに及ばない(Xiang, H et al. 2011)。GA₁とGA₄の内生量比は植物種および組織によって異なる。シロイヌナズナの栄養組織にはGA₄が多く存在しGA₁はほとんど検出されないが、長角果では非常に少ないながらもGA₁が存在する(Nomura, T et al. 2013)。一方、イネの栄養組織に主に存在するのはGA₁であり、GA₄は葯に多く存在する(Zhu, Y et al. 2006)。これらの知見は、植物が生育ステージや器官によってGA₁とGA₄を作り分けているか、あるいは輸送や代謝等によって両者の局所的濃度を制御していることを示している。

シロイヌナズナのCYP714AサブファミリーにはA1とA2の2つのアイソザイムがある。以下に示す逆遺伝学的研究から、これらはいずれも活性型GAもしくはその前駆体の代謝不活性化に関与することが示唆されている。①CYP714A1過剰発現体は重篤な矮性を示して花芽形成能を失い、CYP714A2過剰発現体も半矮性を示して開花が遅れるが、これらの表現型はGA₄の投与により回復する(Nomura, T et al. 2013)。②CYP714A1とCYP714A2の2つの遺伝子をノックダウンすると内生の活性型GA₄量が増加し、植物体重量の増加や早期開花の表現型を示す(Zhang, Y et al. 2011)。③CYP714A1のみを欠損させたシロイヌナズナ種子は、GA合成のより上流で機能するCYP701Aの阻害剤であるpaclobutrazolに対して弱いながら耐性を示す(Nomura, T et al. 2013)。

さらに、酵母異種発現系にて調製したCYP714A1とCYP714A2を用いて、これら酵素の基質と生成物を特定する研究が行われている(Nomura, T et al. 2013)。CYP714A1の基質は、13位に水酸基を持たないGA₁₂と

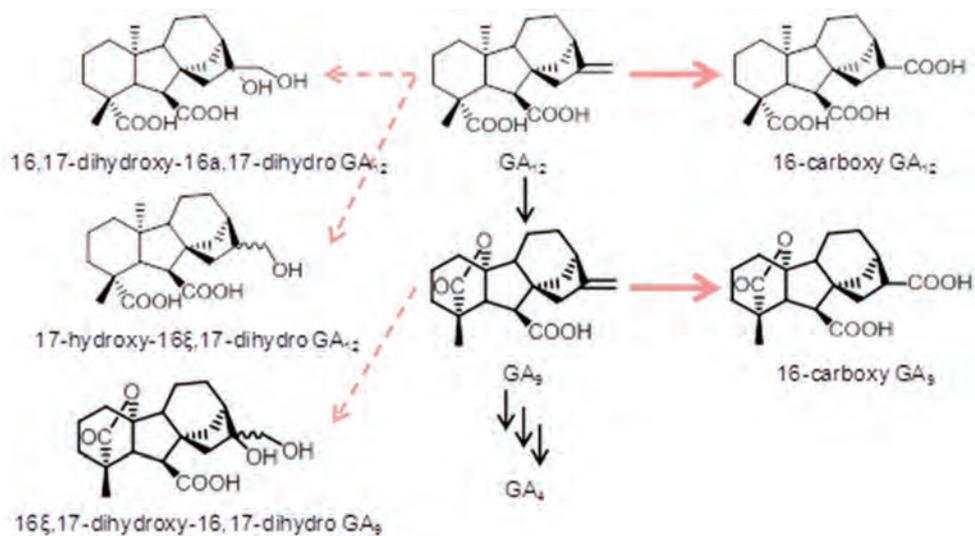


図3 CYP714A1の酵素活性

GA₉であり、これらの16位エキシメチレンを酸化して16-carboxy-GA₁₂と16-carboxy-GA₉をそれぞれ与える。また少量だが、16位と17位が水酸化された化合物も検出されている(図3)。

一方、CYP714A2の基質は、KA、*ent*-7*a*-hydroxy-KA、GA₁₂-7-aldehyde、およびGA₁₂の4つであり、前者2つの13位を水酸化してsteviolと*ent*-7*a*,13-dihydroxy-KAを、後者2つの12位を水酸化して12*a*-hydroxy-GA₁₂-7-aldehydeと12*a*-hydroxy-GA₁₂(GA₁₁₁)をそれぞれ与える。後者2つに関しては、13位水酸化体もわずかに検出されている。異種発現系で得られた酵素を用いたインビトロ酵素反応系は、生体内の実際の酵素反応を忠実に再現しているわけでは必ずしもないため、これらの結果から真の内生基質と主生成物を特定する際には注意を要する。その上で、CYP714A2の13位水酸化反応に着目すると、この酵素は、GA₄生合成前駆体からGA₁生合成前駆体を生成することでGA生合成経路を分岐させる役割を担っているかのように見える。しかしながら、CYP714A2の生成物をシロイヌナズナ*gal*-3変異体(CPS欠損体で、発芽・生育にGA投与が必要)に投与しても、発芽も生育もレスキューされなかったことから、生体内でCYP714A2はGA₁の生合成酵素としては機能していないと考えられる。仮に生体内で、CYP714A2によってsteviolや*ent*-7*a*,13-dihydroxy-KAが生成したとしても、KAや*ent*-7*a*-hydroxy-KAがCYP88Aによる7位酸化を受けてGA₁₂に変換されるように、これらがGA₁前駆

体であるGA₅₃に変換されなければ、GA₁は生成しない。シロイヌナズナのCYP88A(CYP88A3およびCYP88A4)がこの反応を触媒できるかどうかについてはまだ調べられていないが、*gal*-3変異体を用いた実験の結果から推測すると、シロイヌナズナのCYP88Aにはそのような触媒活性はなく、またこうした反応を触媒できる酵素をシロイヌナズナは持っていない可能性が高い。

ent-カウレン骨格の13位水酸化は、GA₁が主要活性型GAであるイネにとって、シロイヌナズナの場合よりもはるかに重要な反応である。GA₁₂の13位水酸化体であるGA₅₃が、GA生合成における早期13位水酸化経路の起点となってGA₁に変換されることから、イネにはGA₁₂→GA₅₃を触媒する酵素が存在すると考えるのは極めて妥当である。CYP714ファミリーについては、まずイネのCYP714D1の機能が明らかになったが、後述のようにこの酵素はGA₄とその前駆体であるGA₉およびGA₁₂の16位エキシメチレンをエポキシ化するGA不活性化酵素である。その後、上述のようにシロイヌナズナのCYP714A2に13位水酸化活性があることがわかったことで、同じCYP714ファミリーに属するイネの酵素の中に13位水酸化活性を有するものが存在する可能性が浮上した。

イネ(日本晴)のCYP714ファミリーに分類されるP450酵素は、B1、B2、C1、C2、C3およびD1の6種類である。13位水酸化酵素ではないことがすでに明らかになっているCYP714D1以外の遺伝子をシロイヌナズナで過

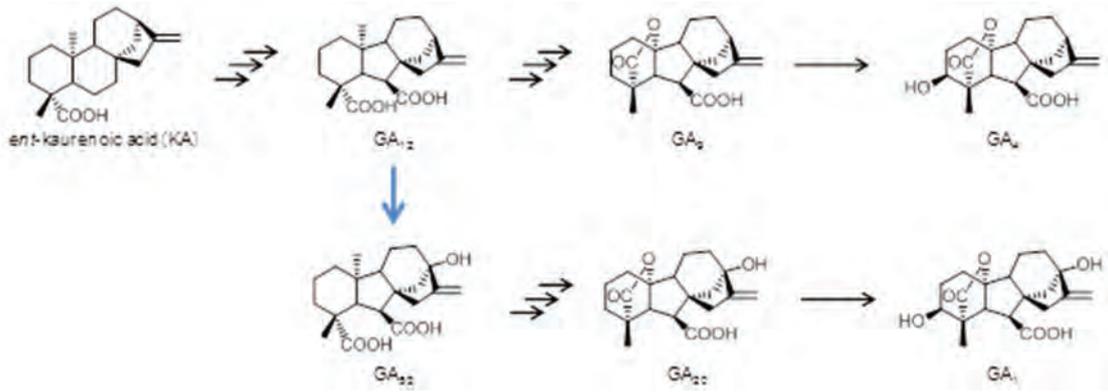


図4 CYP714B1, B2の酵素活性

剰発現させたところ、CYP714B1とCYP714B2をそれぞれ過剰発現したシロイヌナズナだけが半矮性の表現型を示した(Magome, H et al. 2013)。この表現型はGA₃投与によってレスキューされたことから、CYP714B1とCYP714B2はCYP714A1やCYP714A2、CYP714D1と同様にGA不活性化に関わる可能性が高いことが示唆された。さらに詳しく調べてみると、これら過剰発現体では、13位に水酸基を持たないGAの内生量が減少または検出されず、13位に水酸基を持つGAの内生量が増加していることがわかった。一方、*cyp714b1 cyp714b2*二重変異体は、種子発芽と分けつに関して目立った表現型を示さず、出穂ステージにおいて最上節間部が異常に伸

長するという*cyp714d1*変異体と同様の表現型を示した上、13位に水酸基を持たないGA内生量が増加し、13位に水酸基を持つGA内生量が減少していることが明らかになった。次にCYP714B1とCYP714B2の内生基質を調べるために、それぞれの組換え酵素を酵母と昆虫細胞を使って作成し、KA、GA₁₂、GA₉、およびGA₄を与えて酵素反応を行ったところ、いずれの酵素もGA₁₂だけを基質として、これをGA₅₃に変換した(図4)(Magome, H et al. 2013)。以上より、CYP714B1とCYP714B2はGA₄合成前駆体であるGA₁₂の13位水酸化を触媒し、GA₁合成前駆体であるGA₅₃を生成する酵素であることが明らかになった。

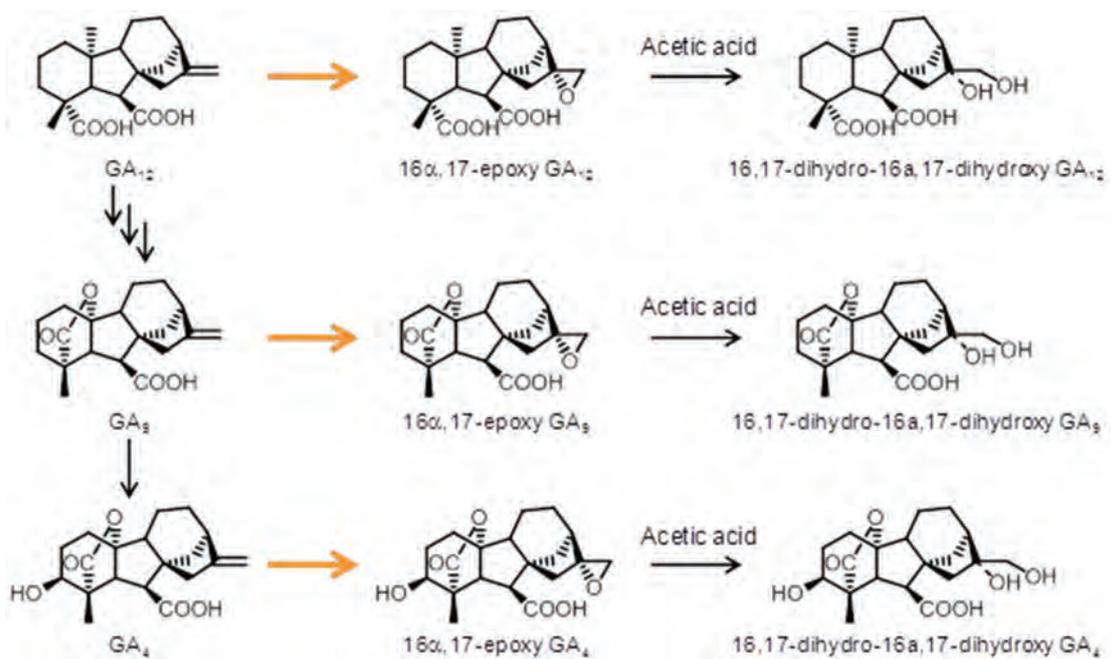


図5 CYP714Dの酵素活性

CYP714ファミリーの中で最初に発見されたのがイネ CYP714D1である。1980年代に見出されたイネ *elongated uppermost internode (eui)* 変異体は、イネの出穂ステージにおいて最上節間部が異常に伸長する。この変異体のGA内生量を調べると、出穂ステージの最上節間部にGA₁とGA₄を大量に蓄積しており、野生株のイネにはほとんど存在しないGA₄の蓄積量が特に異常に多いことがわかった(Zhu, Y et al. 2006)。Zhuらは、*Eui*遺伝子を *CYP714D1* と同定し、組換え酵素を用いた実験によって、GA₄とその前駆体であるGA₉およびGA₁₂の16 α ,17-エポキシ化反応を触媒する酵素であることを明らかにした(図5)。酵素反応生成物のエポキシ体にはGA活性はなかったため、CYP714D1はGA不活性化酵素と考えられる。*CYP714D1*過剰発現体(イネ)は矮性を示して種子形成能をもたず、野生株と比べてGA₁₂とGA₉の内生量が少なく、逆にそれぞれのエポキシ体量は多い。また、*CYP714D1*過剰発現体の表現型はGA₄よりもGA₁によって、より効果的にレスキューされる。これは、過剰に生成したCYP714D1によってGA₄が急速に不活性化されてしまうためである。CYP714D1は13位に水酸基をもつGAを基質にしないので、イネの主要活性型GAであるGA₁の直接的な代謝不活性化酵素ではないが、GA₁とGA₄の共通の生合成前駆体であるGA₁₂をエポキシ化してGA生合成経路から排除する。その結果、*eui*変異体ではGA₄に加えてGA₁の内生量も多い。野生株のイネではGA₄とそのエポキシ体の内生量はどちらも非常に少ないので、イネのCYP714D1の本来の役割は、GA₄の代謝不活性化というよりも、GA₁₂を生合成経路から排除することによるGA₁内生量の調節を担う。13位に水酸基を有しないGAのエポキシ化機構は、イネ以外の植物にも存在しているようだ。遺伝子の同定には至っていないが、エンドウマメの実、シロバナハウチワマメの種子、およびリンゴの種子などから、GAの16 α ,17-エポキシ体の

加水分解物(diol)が検出されている(植物体から16 α ,17-エポキシ体を検出する場合、夾雑物を除くために抽出時に酸を添加する必要があるため、エポキシ体は加水分解されてdiol体になってしまう。したがって、これら植物体内ではエポキシ体が内生している可能性がある)。一方で、GA₄が内生の主要活性型GAであるシロイヌナズナにはCYP714Dは存在せず、一次配列相同性が高いCYP714A1の酵素反応物からもエポキシ体は検出されていないので、16位エキソメチレンのエポキシ化はすべての植物に共通するGA不活性化機構ではない。イネもエンドウマメもGA₁を主とする植物なので、植物が活性型GAとしてGA₁を用いることと、CYP714Dによるエポキシ化反応機構を持っていることには関連があるかもしれない。GA₅₃からGA₁に至る経路上の生合成中間体はすべて13位に水酸基を有している。したがって、早期13位水酸化経路を主とする植物の場合、CYP714Dの基質はGA₁₂に限定される。一方、非13位水酸化経路を主とする植物の場合、GA₁₂からGA₄に至る生合成経路上の生合成中間体はすべて13位水酸基をもたないので、これらはいずれもCYP714Dの基質になり得る。

【研究結果】

1. CYP714点変異体のデザイン

CYP714A2はKAとGA₁₂の13位、およびGA₁₂の12 α 位を水酸化する。CYP714B2はKAを基質とせず、GA₁₂の13位を水酸化する。CYP714D1もKAを基質とせず、GA₁₂、GA₉およびGA₄の16 α ,17位をエポキシ化する。基質の構造と酸化部位を相互に比較すると、基質認識と酸化部位の鍵を握るのは、B環7位カルボキシ基と13位水酸基の有無であることがわかる(図6)。

P450の3次構造は、1次配列の相同性に関わらず互いに似通っており、補因子ヘム上の基質結合部位を取り囲む領域SRS(substrate recognition sites)もよく保存さ

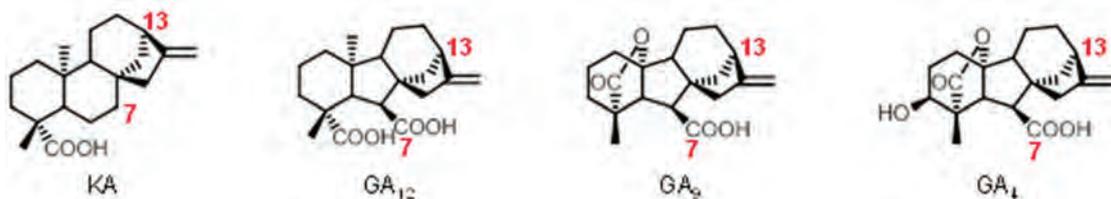


図6 CYP714ファミリーの基質

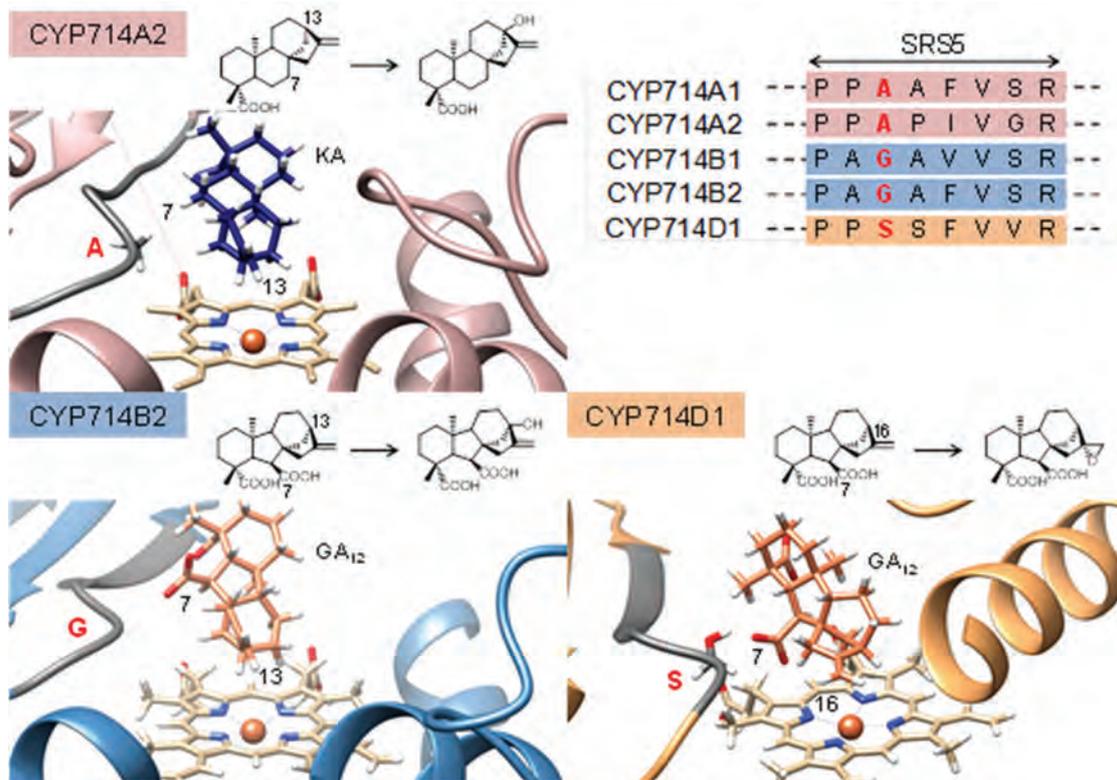


図7 CYP714ファミリーと基質のモデリング図

れている (Gotoh, O. 1992)。6つのSRSの中で構造保存性が比較的高いのは、SRS1のヘムに近い部分、SRS4、およびSRS5であり、配列相同性が低い鋳型から作成したホモロジーモデルであっても、これらの部位については構造的な示唆を与えてくれる。CYP714A2と一次配列相同性が高いCYP3A4(PDB:1TQN_A)を鋳型として

Modellerによって作成したCYP714A2ホモロジーモデル中に、13位水素がヘム鉄上に位置するようにKAを配置すると、B環7位カルボキシ基はSRS5に相対する(図7)。CYP714B2およびCYP714D1のホモロジーモデルを同様に作成して互いに構造を比較すると、B環7位に相対するSRS5のアミノ酸残基が、CYP714AではAla、

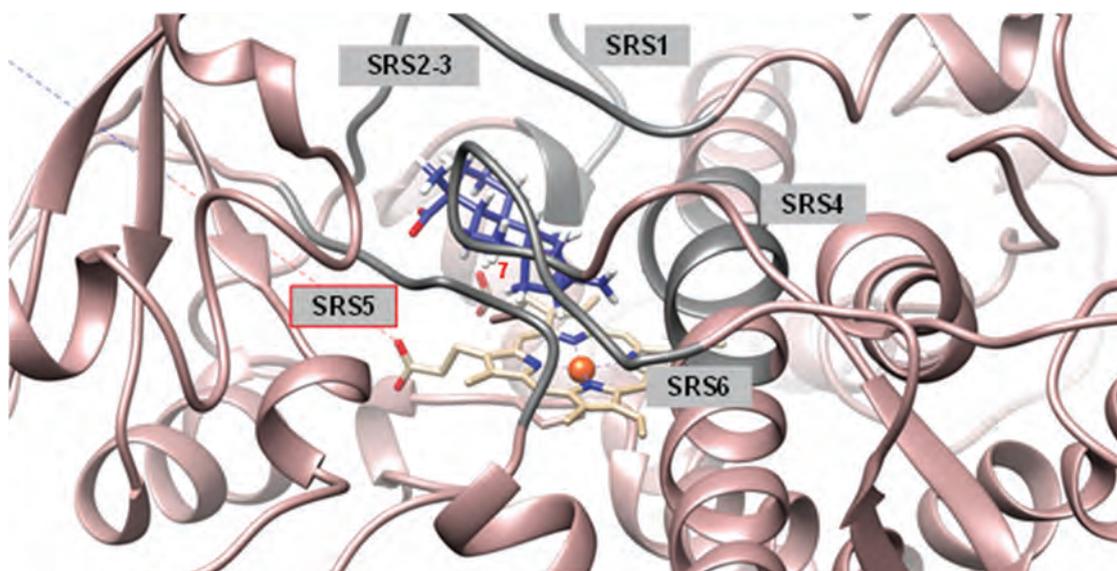


図8 CYP714A2とKAのモデリング図

CYP714BではGly、そしてCYP714DではSerと、サブファミリーごとに異なっている(図7)。これまでに解明されたP450結晶構造のSRS5構造保存性から考えて、これら残基の側鎖はモデルで示したように基質側に向いている可能性が高い。GA₁₂の13位水素をヘム鉄上に配置したときに、CYP714BのGlyはB環から突出したカルボキシ基と干渉しないが、CYP714AのAlaとCYP714DのSerは7位カルボキシ基と干渉してしまう。したがって、CYP714AとCYP714Dが7位カルボキシ基をもつ基質を受け入れる場合、基質の結合位置を回転等によってずらして7位カルボキシ基との干渉を避ける必要がある。このとき、13位水素はヘム鉄上から離れてしまい、近くの別の水素がヘム鉄上に配置することになる。これが、CYP714A2はGA₁₂の12 α 位を水酸化し、CYP714D1は16<,17位をエポキシ化することを示唆した。そこで次にSRS5に焦点を当て、互いにアミノ酸残基を入れ換えた変異体を作成し、その機能(基質認識と酸化部位)の変化を調べることで、基質認識と酸化部位に重要な役割を果たしているアミノ酸残基の特定を試みた。

2. CYP714点変異体の作製

1点および2点変異体は2ステップPCR法で目的の変異を導入した。3点以上の変異体は変異を入れる部分が離れている為(SRS1とSRS5)、変異部位から変異部位までを1ステップで増幅し目的の変異を入れた。その詳細は

下記のとおりである。

①1点および2点変異体

目的の変異を含む約20塩基がオーバーラップしたF(forward)primerとR(reverse)primerを作製した。1ステップ目は鋳型となる遺伝子(CYP714A2、CYP714B2)を遺伝子由来のF primerと変異を含むR primerを用いて5'末端から変異部位までを増幅し、変異を含むF primerと遺伝子由来のR primerを用いて変異部位から3'末端までを増幅した。2ステップ目は5'末端から変異部位までおよび変異部位から3'末端までのDNA断片と遺伝子由来のFおよびR primerを用いて、目的の変異を含む遺伝子を得た。pESC(Leu)ベクター側もそれ由来のF primerとR primerで変異遺伝子挿入部位以外を線状化し、この変異遺伝子と線状化ベクターの末端は15塩基がオーバーラップしており、これをin-fusion酵素が認識し環状につなげることで発現用のプラスミドを作製した。

②3点以上の変異体

目的の変異を含むF primerとR primerを用いてSRS1の変異部位からSRS5の変異部位までを増幅した。続いてSRS1とSRS5の変異部位から残りの遺伝子とpESC(Leu)ベクターを含む遺伝子断片を同様の方法で増幅した。以降の操作は1点および2点変異体と同様にin-fusion反応により環状化し発現用のプラスミドを作製した。

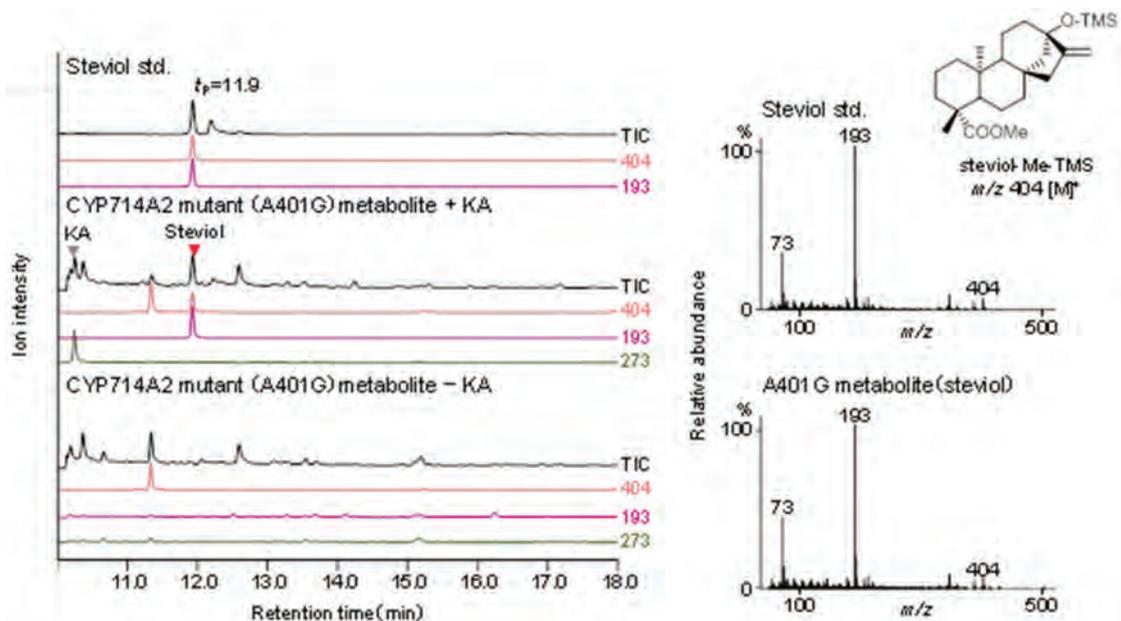


図9 A401GのKA代謝物のGC-MS分析

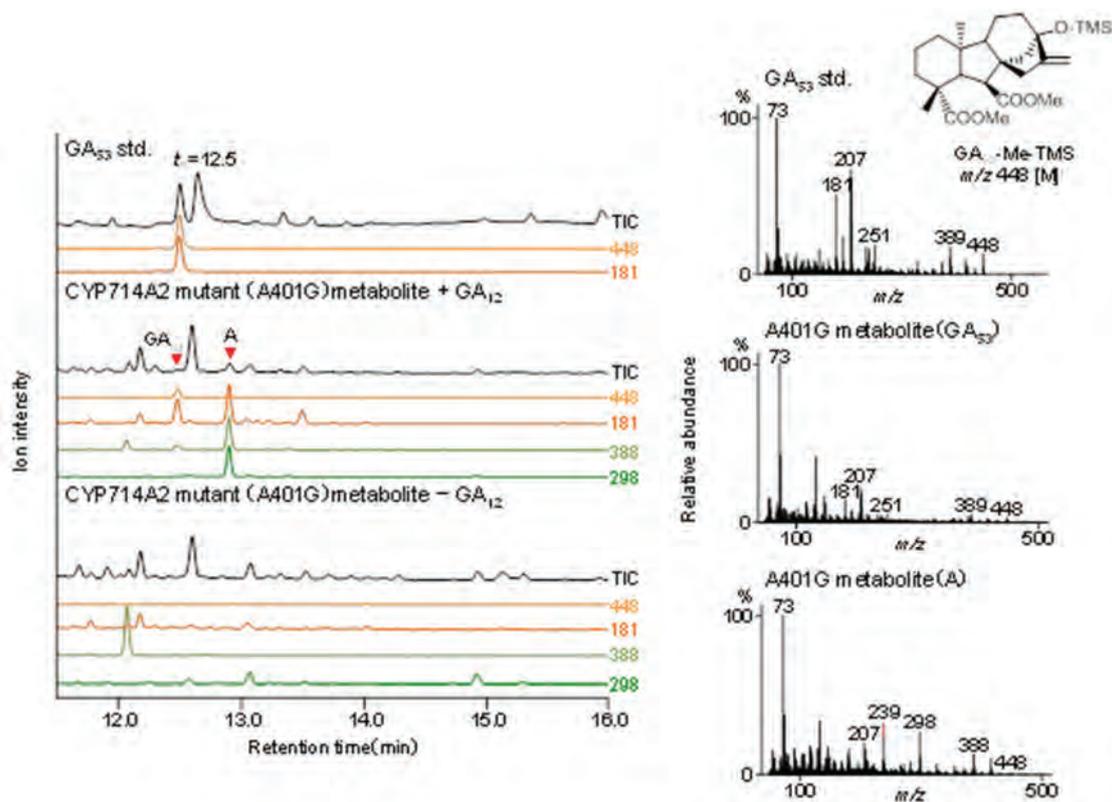


図10 A401GのGA12代謝物のGC-MS分析

3. CYP714点変異体の触媒活性

3-1. CYP714A2の点変異体①A401G : CYP714B型への変換

CYP714A2 A401G変異体はKAをsteviolに変換し(図9)、GA₁₂をGA₅₃と12 α -hydroxy-GA₁₂に変換し、12 α ,13-dihydroxy-GA₁₂は検出されなかった(図10)。わずかにCYP714B型に機能がシフトしたのかもしれないが、1点変異だけでは完全な機能変換は難しいこと明らかにした。

3-2. CYP714A2の点変異体②A401S、A401V、A401I、A401L、A401T、A401S/P402S、I149L/T150K/A401S、I149L/T150K/P400A/A401G、I149L/T150K/A401S/P402S : CYP714D型への変換

A401S KAをsteviolに変換し、GA₁₂をGA₅₃と12 α -hydroxy-GA₁₂に変換し、12 α ,13-dihydroxy-GA₁₂には変換しなかったのはA401Gと同様であったが、KAを基質としたときに、steviol以外にもう1つピークが検出された点が異なっていた(図11, 12)。このピーク成分Dのマスフラグメントパターンはsteviolのそれと非常に類似し

ていたが、メチル化およびTMS化されたsteviolの分子イオン m/z 404ではなく、 m/z 406が検出された。もしKAの16位エキソメチレンが酸化されてエポキシ体が生成し、これが抽出過程で加水分解されてジオール体になったとすると、それがメチル化およびTMS化された時の分子量は494である。 m/z 494にはイオンが検出されていないが、 m/z 406が m/z 494のフラグメントイオンだと仮定すると、その差は88となる。ピシナルシリルエーテルは[M-88]⁺というフラグメントイオンを与えることが知られているので(Zhu, Y et al. 2006)、今回検出されたピーク成分Dは16 α ,17-epoxy-KAの加水分解物である可能性が高く、1点変異だけで、基質が異なるものの、16位エキソメチレンの酸化能を獲得した。Ser残基の嵩高さあるいは水酸基の影響で、KAの結合位置が少しくずれて、13位と16位のどちらも酸化可能になったのかもしれない。そこで、嵩高さと16位酸化の関係を調べるため、Val、Thr、Ile、およびLeuへの置換体を作製して代謝実験を行った。なお、側鎖の嵩高さは、Val<Thr<Ile<Leuの順である。

A401I A401Gと同様の結果となり、16位エキソメチレンの酸化体は認められなかった。またA401L KAも

GA₁₂もまったく酸化できなくなった(図13, 14)。Ile側鎖よりもさらに嵩高いLeu側鎖のために、KAもGA₁₂も結合できなくなったと考えられる。以上、7位に相対するSRS5アミノ酸残基をAlaよりも少しだけ嵩高くすることで、酸化部位が13位から16位にシフトすることがわかった。

以上、各サブファミリーの内生基質と酸化部位は、CYP714A2が*ent*-カウレン酸(KA)の13位とGA₁₂の12位、CYP714B1、B2がGA₁₂の13位、そしてCYP714D1がGA₁₂、GA₉およびGA₄の16位エキソメチレンである。KAとGA₁₂の違いはB環の構造だけであるので、選択性の要因はGA₁₂の7位カルボキシル基を受容できるかどうか、あるいはB環の構造的差異に伴う分子全体の形状の

違いを認識できるかどうかだと予想される。酸化部位である12位、13位および16位は隣接していることから、サブファミリー間で基質認識部位の形状がわずかに異なることで、ヘム鉄上における基質の配置が少しズレるのであろう。サブファミリー間の基質認識部位の構造のわずかな違いがこのようなりガンド選択性を生んでいると思われる。そこで*Saccharomyces cerevisiae*のCEN.PK2株を用いて、CYP714ファミリーの基質認識に関与する6つの領域(SRS1-6)のアミノ酸を相互に交換した変異酵素を発現し、その機能を解析することでリガンド選択性の原因となるアミノ酸の特定を試みた。SRS5の1アミノ酸を変異したCYP714A2変異体A401S(CYP714D1型)はKAをsteviolと16 α ,17-epoxy KAに変換した。基

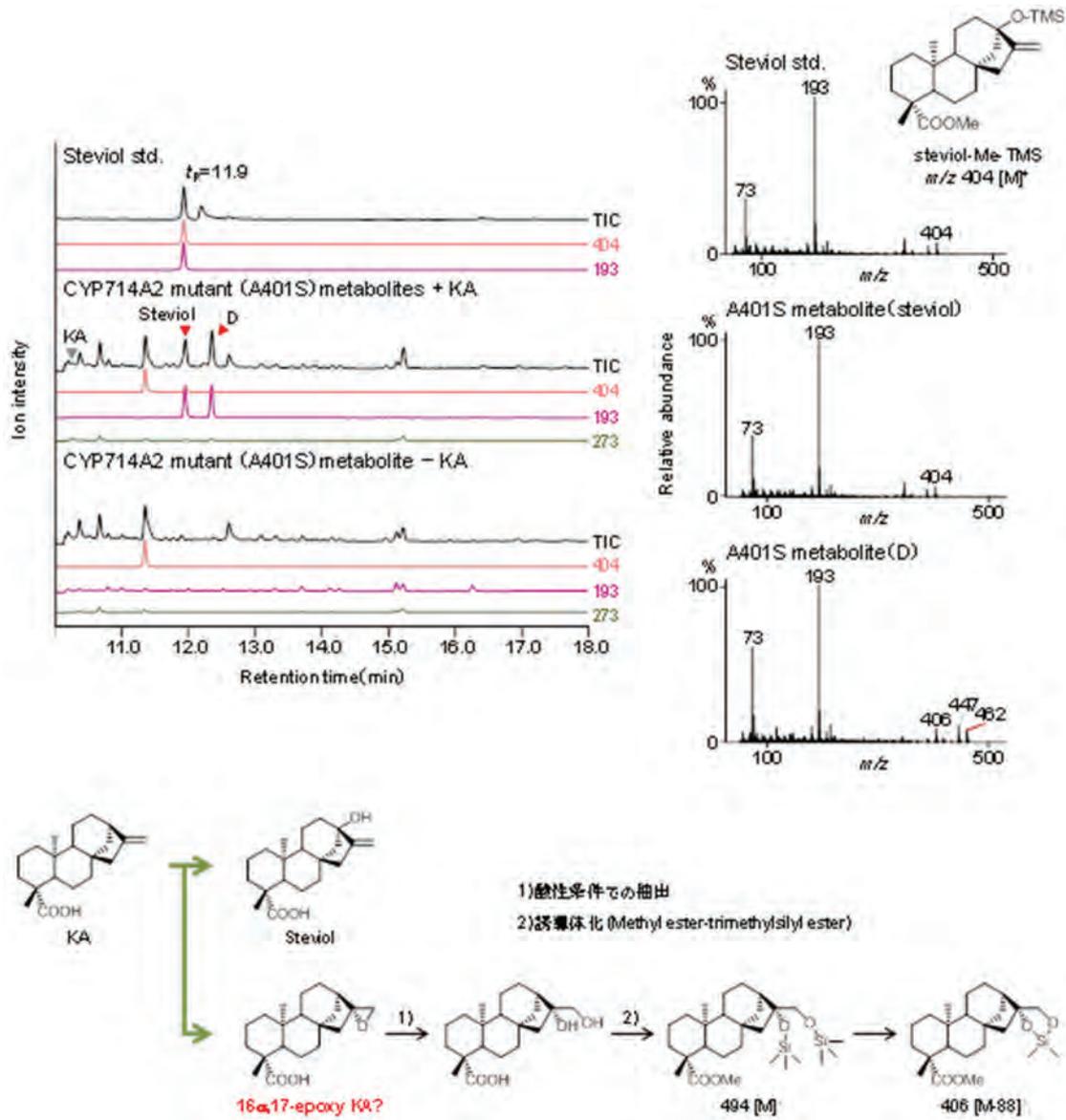


図11 A401SのKA代謝物のGC-MS分析とピーク成分Dの生成過程

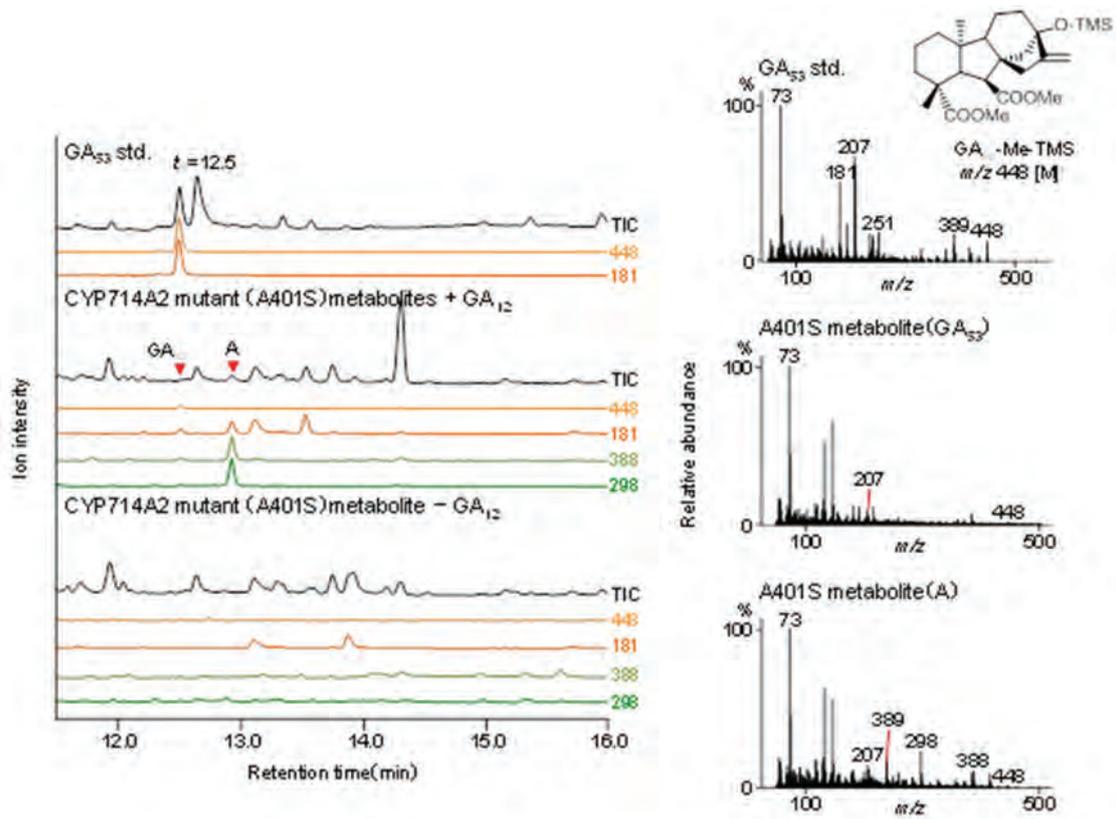


図12 A401SのGA12代謝物のGC-MS分析

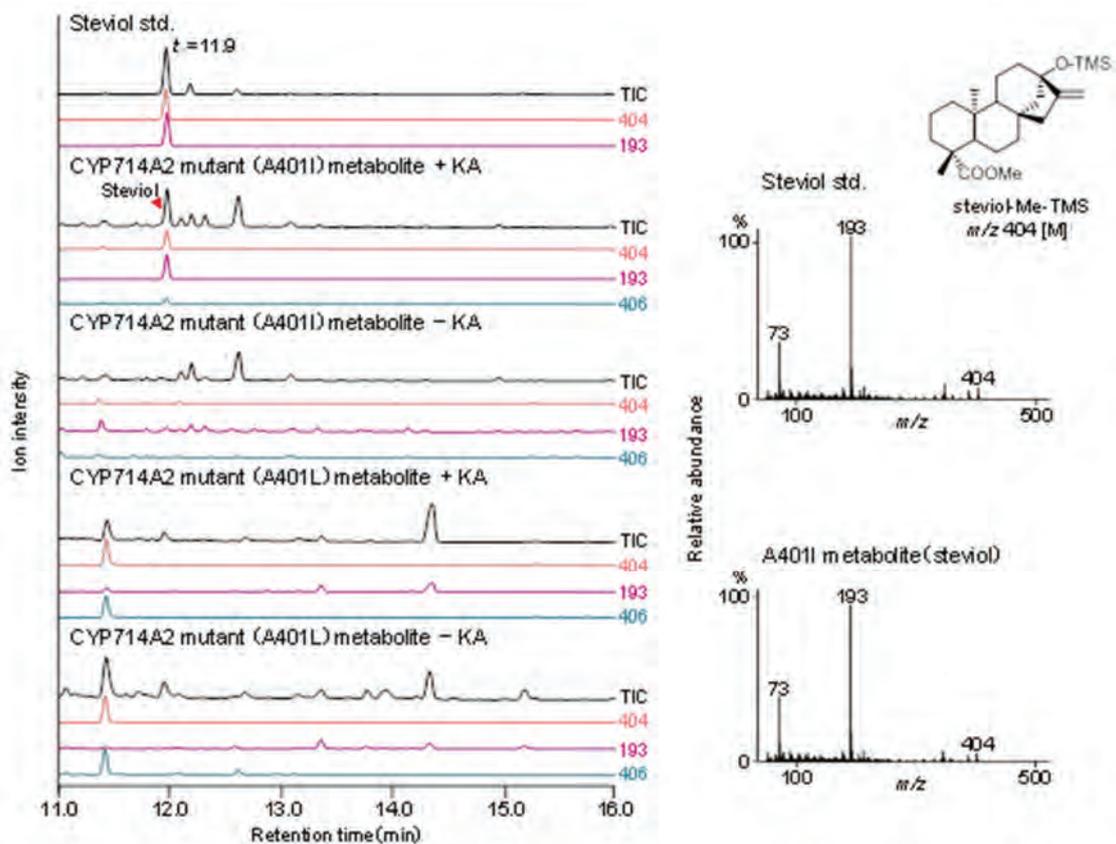


図13 A401SのGA12代謝物のGC-MS分析

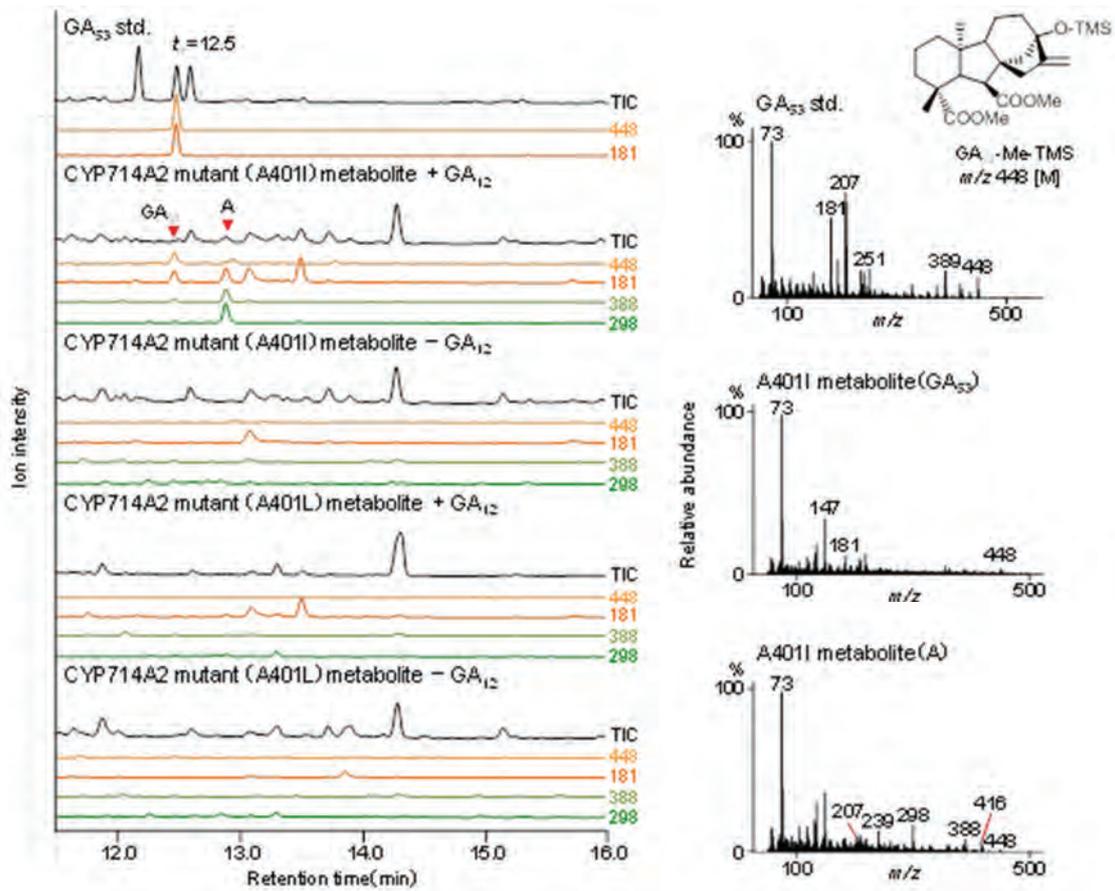


図14 A401I, A401LのGA12代謝物のGC-MS分析

質は異なるものの1点変異だけで16位エキソメチレンの酸化能を獲得したことになる。次に16位酸化活性とSer残基(高高さあるいは水酸基)の関係を調べる為、Val、Thr、Ile、およびLeuへの置換体を作製して代謝実験を行った。A401V、A401TはA401Sと同様の結果であったが、A401Iでは16位酸化活性がなくなり、A401LではKAを基質にしなくなった。これにより16位酸化活性は

SRS5のアミノ酸をAlaから少し高高くすることによって獲得されることを明らかにした。

本研究は、公益財団法人 松籟科学技術振興財団 研究助成によって遂行することができた。心より感謝申し上げます。

植物内生糸状菌ゲノムに基づいたリコポジウムアルカロイド 生合成遺伝子の探索およびアルカロイド高生産系の構築

東京大学 大学院薬学系研究科
淡川 孝義

1. 酵素法を用いたアルカロイド合成法の確立

1-1. はじめに

植物内生糸状菌は、植物の生体内より単離される糸状菌のことを指すが、これらの菌は土壌微生物とは異なる代謝経路を獲得していることが知られている。植物内生菌は宿主植物と類似した化合物を合成することが知られており、その成分および生合成研究は興味深い。実際に、taxolやcamptothecin等、これまで植物固有の成分であると思われていたいくつかの化合物が内生菌から単離されている。微生物は培養、遺伝子操作が容易であるため、植物では困難な遺伝子操作や人工基質の投与等による生合成経路の改変を行うことができる点で物質生産の宿主として適している。また、植物由来微量成分の高生産系を構築できれば、医薬品シード化合物等の有用成分を大量供給することで、医薬品としての利用につなげることができる。本研究では、植物内生菌の単離、生合成反応の再構成、二次代謝産物高生産菌の作製を行い、新規物質生産系構築の足がかりを築くことを目指して、研究を行った。

本研究では、二次代謝産物のターゲットとして、ヒカゲノカズラ属植物から単離されるリコポジウムアルカロイド、ならびに構造類似のトロパンアルカロイドに注目する。これらのアルカロイド群はアルツハイマー治療薬としての活性を持つhuperzin Aや、アセチルコリンエステラーゼ阻害活性を持つhyoscyamineなど医薬品として重要な活性を持つ化合物を多く含む。これらの化合物群の生合成には、malonyl-CoAが脱炭酸をして生じたアニオンがアミンを攻撃するMannich反応が含まれる(図1)。

この反応は、トロパンアルカロイド、ペペリジナルカロイド等、広範囲のアルカロイド化合物の生合成に含

まれているが、その生合成酵素は同定されていない。そこで、本研究で生合成酵素を利用してMannich反応を含む生合成経路の再構成ができれば、他のアルカロイドの生合成酵素探索研究にも大いに有用である。微生物生体内で化合物の生合成経路の再構築が達成されれば、醗酵法による微量成分の安定供給、ならびに非天然型基質の投与によるprecursor-directed biosynthesis法を用いた非天然型化合物の生産につなげることができる。

トロパンアルカロイド化合物は2位置換ピロリジン骨格を元に合成されると考えられるが、この骨格はmalonyl-CoAの脱炭酸によって生じるエノラートアニオンが*N*-methylpyrrolinium cationへと攻撃するMannich反応によって合成されるものと予想されている。この置換ピロリジン骨格の2位がS配座のものからヒヨスチアミンが、R配座のものからはコカインが合成される。多くの植物アルカロイド生合成において、このMannich反応は保存されており、鍵反応といえる。また、この生合成酵素によるMannich反応の立体配座の制御機構は酵素学的観点からも非常に興味深い。しかしながら、これまでトロパンアルカロイドの生合成鍵中間体への変換を触媒する生合成酵素については全く報告がなされていない。そのため、植物からリコポジウム、トロパンアルカロイドの生合成鍵中間体への変換を触媒する生合成酵素の取得は極めて困難である。また、我々の研究において、リコポジウム、トロパンアルカロイドを合成する植物内生糸状菌の単離は困難であることが判明した。そこで我々は、そのモデルとなり得る微生物由来のMannich反応触媒酵素を探索し、トロパンアルカロイド生合成鍵中間体の生成を確認した上で、これを鋳型としてトロパンアルカロイド生合成鍵酵素の探索を行う手法が近道であると考え、微生物由来CarB(Sleeman, M.C. &

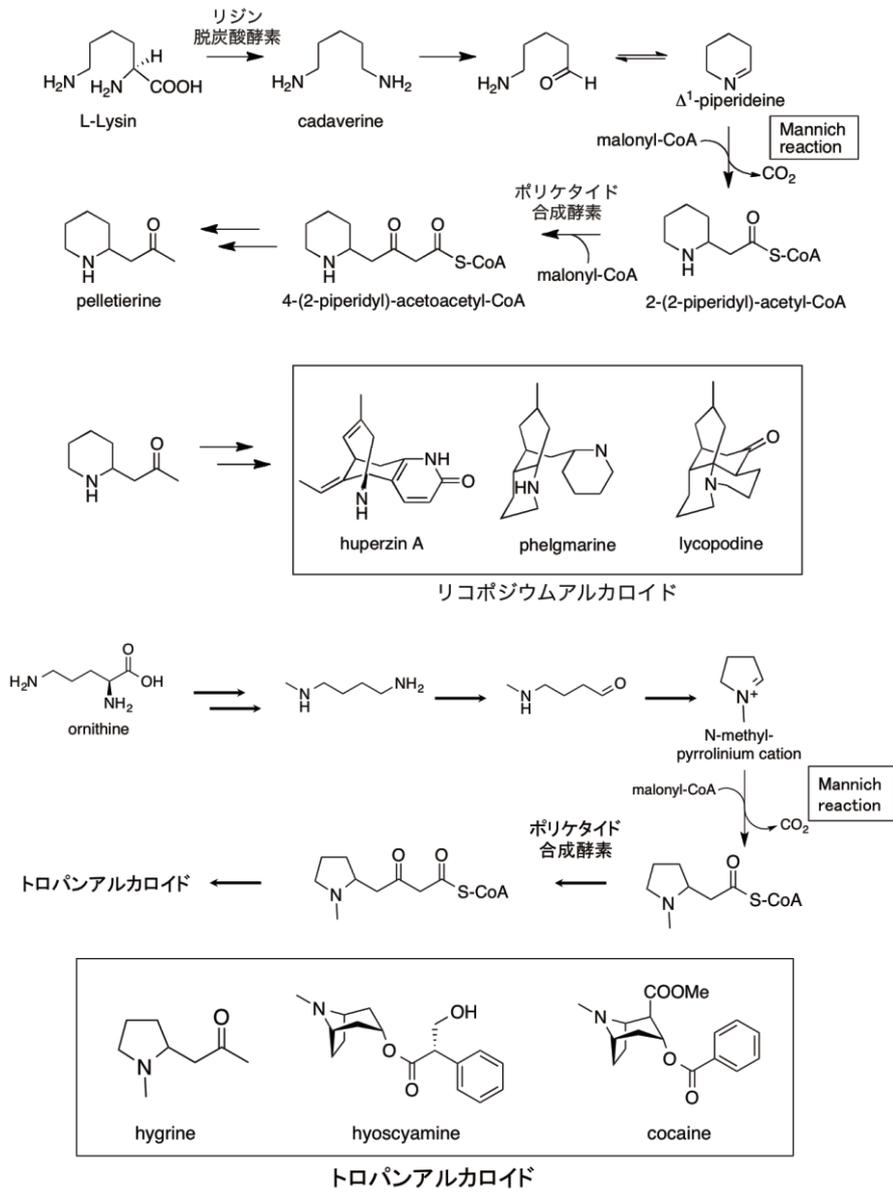


図1 リコポジウムアルカロイド、トロパンアルカロイドの生合成

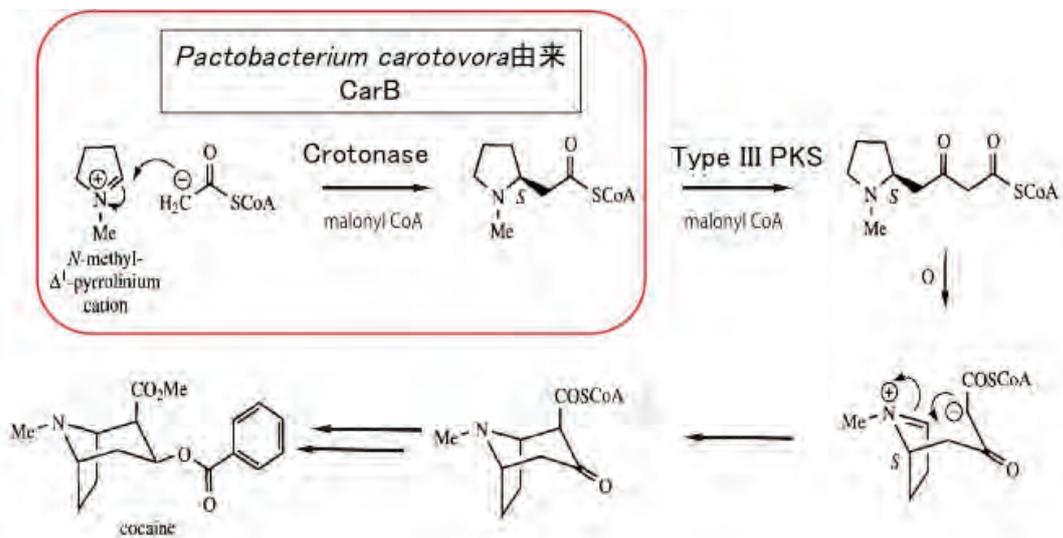


図2 CarB反応のアルカロイド合成への利用

Schofield, C. J. *J. Biol. Chem.* (2003) 279, 6730-6736.)に着目し、その機能解析と物質生産への応用を試みた(図2)。CarBは結晶構造も報告されているため(Sleeman, M. C. *et. al. J. Biol. Chem.* (2005) 280, 34956-34965.)、その反応改変による物質生産へも利用が容易であると考えられた。

1-2. 結果・考察

まず、CarB酵素を調製し、その本来の基質であるpyrroline-5-carboxylateを与えることによって活性型の酵素が単離されていることの確認を試みた。pyrroline-5-carboxylateの供給のために、prolineを脱水素し、pyrroline-5-carboxylateを与える活性が同定されている*Bacillus subtilis*由来のproline dehydrogenase (PDH) (Huang, T. C. *et. al. J. Agric. Food. Chem.* (2007) 55, 5097-5102.)を調製した。生成物を*O*-aminobenzaldehydeと反応させることにより、誘導体化し、MSとUVが検出できる状態に変換して、活性試験を行った。Ni-affinity精製した組替え型PDHをprolineとFADと共にインキュベートし、生じた生成物を誘導体化することで反応を検出した。その結果、ネガティブコントロールでは検出されない*m/z* 217の化合

物が検出されたことにより、PDH反応を再構成し、その生成物を検出することに成功したことが分かった(図3)。

また、植物アルカロイド前駆体に構造が類似したmethyl prolineも脱水素反応に供したが、この場合negative control、反応生成物間に差異が生まれず、PDHはこの基質を受け入れないことが明らかとなった。

以上より基質を供給する系の構築を達成したため、次にCarB酵素の反応を試験することにした。CarB遺伝子をOperone社の人工DNA合成によって取得し、pET22aのT7 promoter下にクローニングすることで発現プラスミドを得た。これを大腸菌に導入、IPTG誘導による発現後、Ni-affinity精製することによってCarBの精製酵素を取得した。得られたCarB酵素を、prolineを基質としたPDH反応生成物とともにインキュベートすることにより反応を試験した。この結果、保持時間17分付近に反応特異的な生成物ピークを検出した。このピークの*m/z*が生成物であるcarboxymethylprolineの*m/z*と一致したため、活性型のCarBが得られたことを確認することに成功した。

CarBはmalonyl-CoAをMannich反応にて縮合した直

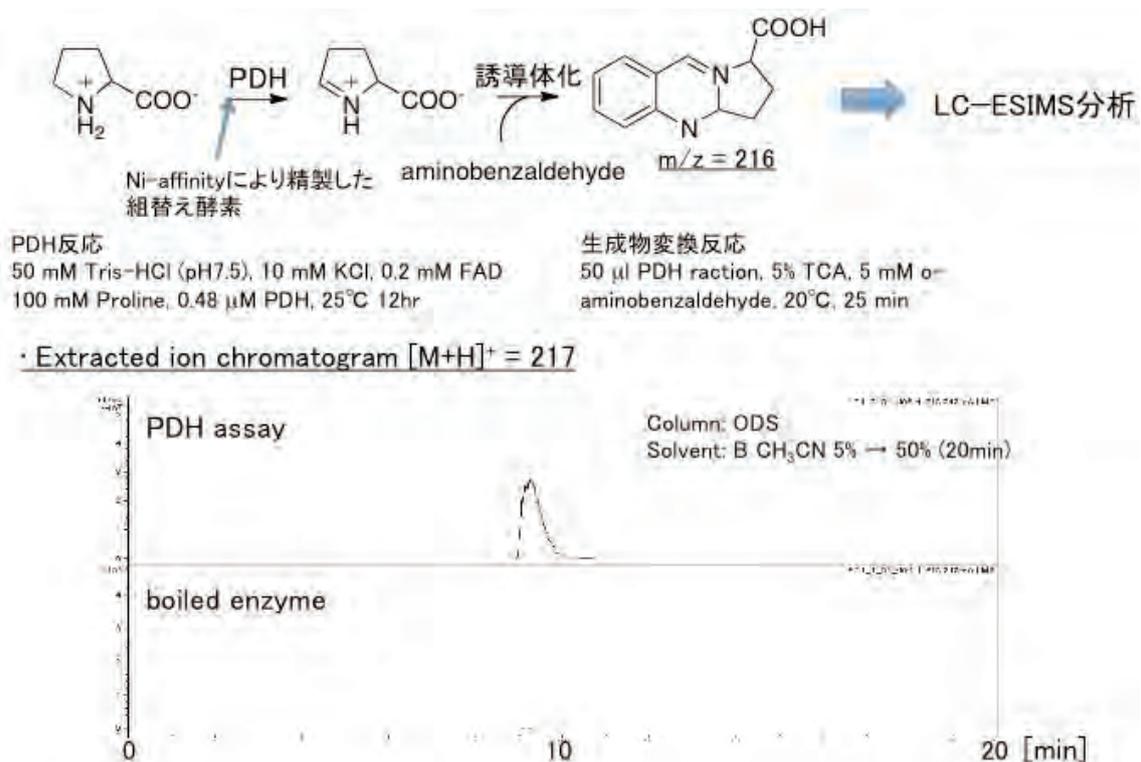


図3 PDH反応の検出

後、CoAに結合した中間体を加水分解することによって carboxymethylproline を与えると考えられている (Sleeman, M. C. *et. al. J. Biol. Chem.*(2005)280, 34956-34965.)。一方、アルカロイド合成系を考えた際に、放出された中間体がPKSに受け入れられ、アルカロイド生産に供されるためには、CarB生成物はCoAエステルである必要がある。そこで、この反応をアルカロイド合成に応用するために、CoAエステルの加水分解を抑えたCarB変異酵素の調製を試みた。CarBと同様の crotonaseファミリーに属する酵素3-hydroxyisobutyl-CoA hydrolaseの反応では、E143がチオエステルの炭素原子を求核攻撃し、その後生じたE143とのエステル結合を加水分解することによって生成物を与えることが知られている (Sleeman, M. C. *et. al. J. Biol. Chem.*(2005)280, 34956-34965.)。そこでチオエステルを加水分解せず、生成物をCoAとして与える酵素の取得を目指し、CarB E131A, E131C, E131Qの変異酵素を調製した。これらのCarB変異酵素をpyrroline-5-carboxylateを基質として反応を行った所、CarB変異体はいずれも carboxymethylproline生成能が大きく減少していることが明らかとなった。一方、CarB野生株の反応において、CoAエステルが生成物として与えられることも確認

されたが、CarB変異体の反応ではCoAエステルの生成量が増大することは確認されなかった(図4)。この結果より、E131は基質の認識に重要な残基であり、この変異体によるCoAエステル合成能は期待できないことがわかった。一方、野生型CarB反応ではCoAエステル体に相当する分子量ピークが検出されることが分かった。

以上のCarB反応において検出されたCoAエステルが、III型PKSのポリケタイド伸長反応に基質として用いられることが期待された。そこで、CarBの生成物である methylcarboxyl pyrroline-5-carboxylate CoA ester がPKSによって受け入れられ、炭素数が2増えた化合物が生成することを期待して、数種のIII型PKSとCarBのカップリング反応を計画した。本研究では、当研究室で保有する植物由来のIII型PKSのうち、1回縮合型のもの、あるいは、かさ高い基質を受けいれることが知られているDCS(Katsuyama, Y. *et. al. J. Biol. Chem.*(2009)284, 11160-11170)、HsPKS1(Morita, H. *et. al. PNAS*(2011)108, 13504-13509)、ACS、QS(Mori, T. *et. al. J. Biol. Chem.*(2013)288, 28845-28858)を選び、カップリング反応に用いた。CarB反応に、malonyl-CoAとIII型PKSを新たに追加して、そのカップリング反応を試験した。生成物をLC-ESIMSで検出した所、HsPKS

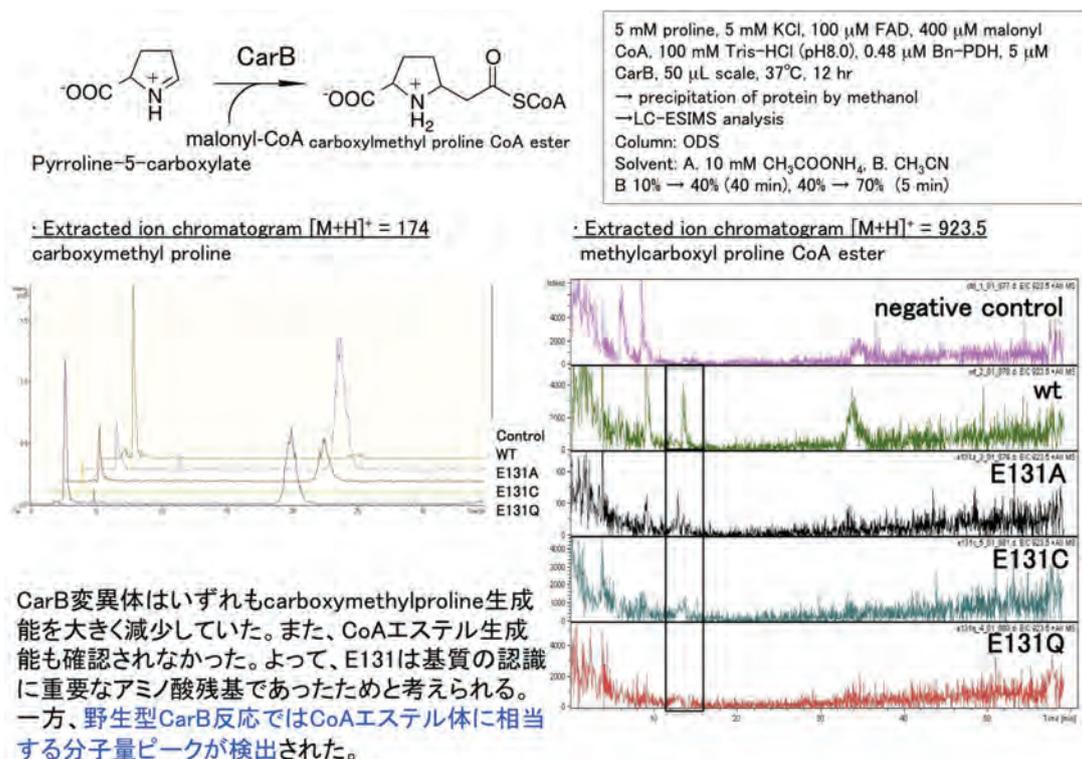


図4 CarBまたはその変異体反応の検出

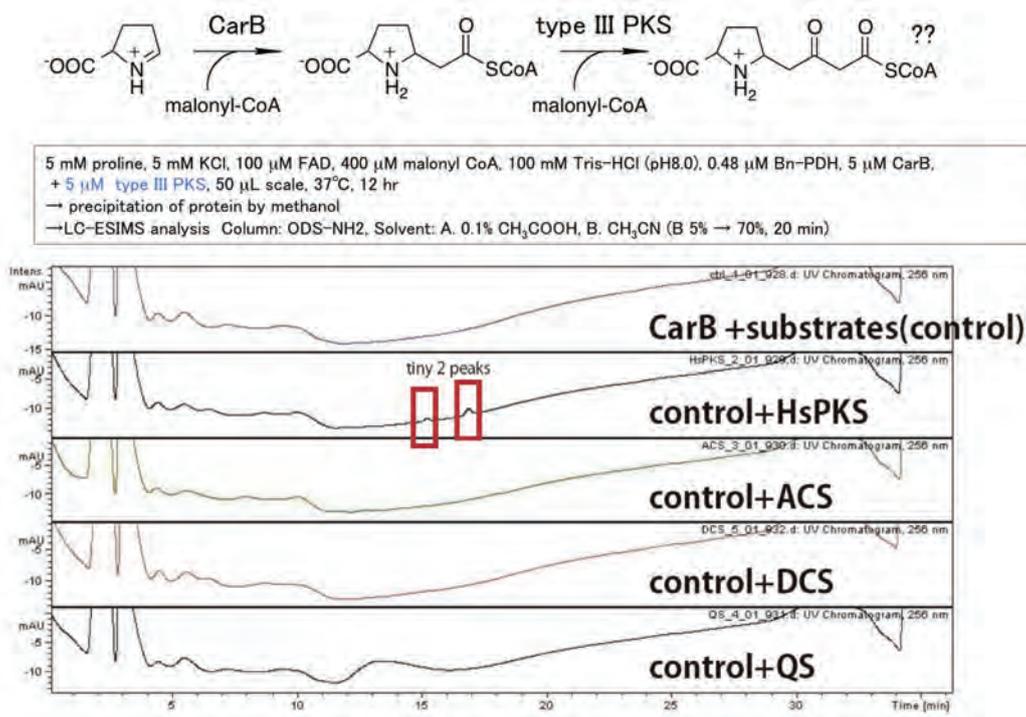


図5 CarBとIII型PKSのカップリング反応の検出

とCarBのカップリング反応において、ネガティブコントロールにない化合物がごく少量生成することが判明した(図5)。現在、酵素反応の改変を行い生成物の収量を上げることによる生成物の構造解析を試みている。

最後に、植物アルカロイドの基質である*N*-methyl pyrrolinium cationを有機合成により調製し、CarBの反応に供することでCarBが基質として受け入れるかどうか試験した。*N*-methyl prolineと塩化ホスホリルを反応させ、酸クロリドを合成し、それを高温でインキュベートすることによって*N*-methyl pyrrolinium cationを調製した。その¹H NMRスペクトルを測定し、期待した化合物が得られたことを確認した。このようにして得られた*N*-methyl pyrrolinium cationをmalonyl-CoAと共にCarBをインキュベートした。しかし、反応液とネガティブコントロール間の差異が見られないことより、LC-ESIMSではCarB反応生成物が検出できないことが明らかとなった。そこで、より高い検出感度を期待して¹⁴Cラベルのmalonyl-CoAを用いてCarB反応を行った。その結果、やはりネガティブコントロールと違いが見られなかったことより、やはり反応は進行しないことが明らかとなった。

1-3. まとめ

PDHを用いた微生物由来CarB酵素への基質供給を行い、CarBのアッセイ系を確立した。これによって、酵素を用いた化合物生産、または醗酵法によるアルカロイド生産の足がかりを築くことに成功した。また、CarBのE131変異体を作製し、それらがMannich反応を触媒しないことを明らかにした。これにより、今後のCarB酵素反応の物質生産への利用に有益な知見を得たこととなる。次に、CarB酵素が生成物をCoA体として放出することを示し、それが植物由来III型PKSへ受け入れられることを示した。この結果を通して、植物アルカロイド合成にIII型PKSが関わる可能性を初めて生化学的に立証した。今後、アルカロイド生産植物あるいは微生物よりアルカロイド合成に関わる、CarB様酵素またはIII型PKSの発見が期待される。

2. 休眠遺伝子の覚醒を手段とした糸状菌における新規化合物生産

2-1. はじめに

近年、ゲノムシーケンス技術の進歩により、糸状菌のゲノム中には通常培養条件では発現しない、休眠遺

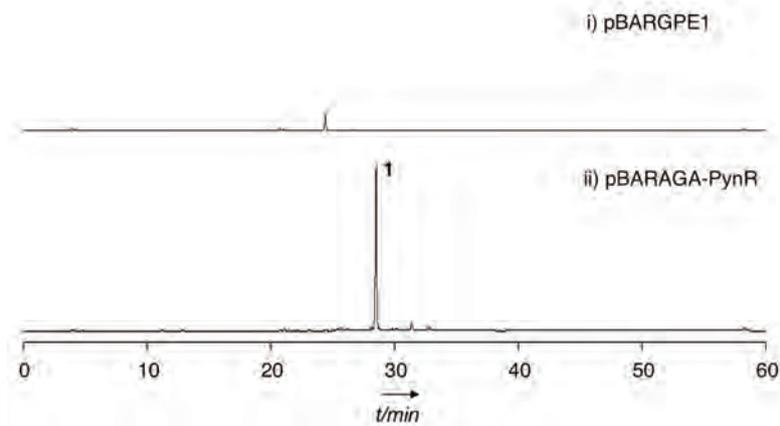


図6 PynRの発現によるアルカロイド生産
iが野生株、iiがPynR発現株の代謝物HPLC UVクロマトグラムを示す。

伝子が数多く含まれることが明らかとなっている。これらを発現することで、新規化合物を取得する研究がいくつか報告されており、新規化合物の取得を行う上で、休眠遺伝子の利用は非常に有用であると考えられる(Corre, C. & Challis, G. L. *Nat. Prod. Rep.*(2009)26, 977-986; Scherlach K. & Hertweck, C. *Org. Biomol. Chem.*(2009)7, 1753-1760; Gross, H. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*(2007)75, 267-277; Zerikly, M. & Challis, G. L. *ChemBioChem*(2009)10, 625-633.)。本研究では、遺伝子操作の簡便な糸状菌*Aspergillus niger*に注目して、転写因子の発現により、遺伝子クラスターに存在する複数遺伝子を同時に発現する手法を用いて、新規化合物の取得を目指した。本研究は、植物内生菌の二次代謝産物合成遺伝子を発現し、アルカロイドを生産するための、モデルケースとなる。

ターゲット遺伝子として、ポリケタイドとペプチドの融合した構造のアルカロイドを合成するpolyketide-nonribosomal peptide synthetase(PKS-NRPS)に注目した。*A. niger*には9つのPKS-NRPS遺伝子が存在するが、いずれも生成物が知られておらず、休眠遺伝子であると考えられる。これらのうち、遺伝子クラスター内にZn₂Cys₆ファミリー転写因子を含むPKS-NRPS遺伝子(*AspniI1:179585*, *ASPNIIDRAFT_176722*)に注目して実験を行った。

2-2. 結果・考察

1) *pynA(AspniI1:179585)*含有遺伝子クラスターの発現による新規化合物生産

(Awakawa, T. *et al. ChemBioChem*(2013)14, 2095-2099.)

PKS-NRPS遺伝子、*pynA(AspniI1:179585)*は遺伝子クラスター内に、FAD依存性酸化酵素(PynB)、メチル化酵素(PynC)、P450酸化酵素(PynD)、Zn₂Cys₆ファミリー転写因子(PynR)を含む。このような修飾酵素を含むPKS-NRPS遺伝子クラスターの生成物は報告されておらず、その生成物は新規であると考えられた。

PynRをグルコース依存性の*gpd*プロモーターに連結したプラスミドをプロトプラストPEG法によって、*A. niger*に導入し、その培養液の酢酸エチル抽出液をHPLC分析することによってその代謝物プロファイルを野生型と比較したが、違いは見られなかった。ここで、グルコースによる転写抑制が考えられたため、発現プロモーターをあるギナーゼのプロモーターである、*aga*プロモーターに変更し、グルコースを含まない培地で培養した所、野生型に見られないUVピーク1が検出された(図6)。

化合物1を大量調製し、NMR、MSによる構造解析を行った所、化合物1はpyrano[2,3-c]pyrrole-4,5-dione構造を持つ新規アルカロイド化合物pyranonigrin Eであると判明した(図7)。RT-PCRによってPynABCDのPynRによる転写誘導を確認し、PynAによるポリケタイド-ペプチド融合構造の生成、PynBによる脱水素、PynCによるメチル化、PynDによる水酸化を経てpyranonigrin Eが生産される新規生合成経路を提唱した。

2) *caaA(ASPNIIDRAFT_176722)*含有遺伝子クラスターの発現による新規化合物生産

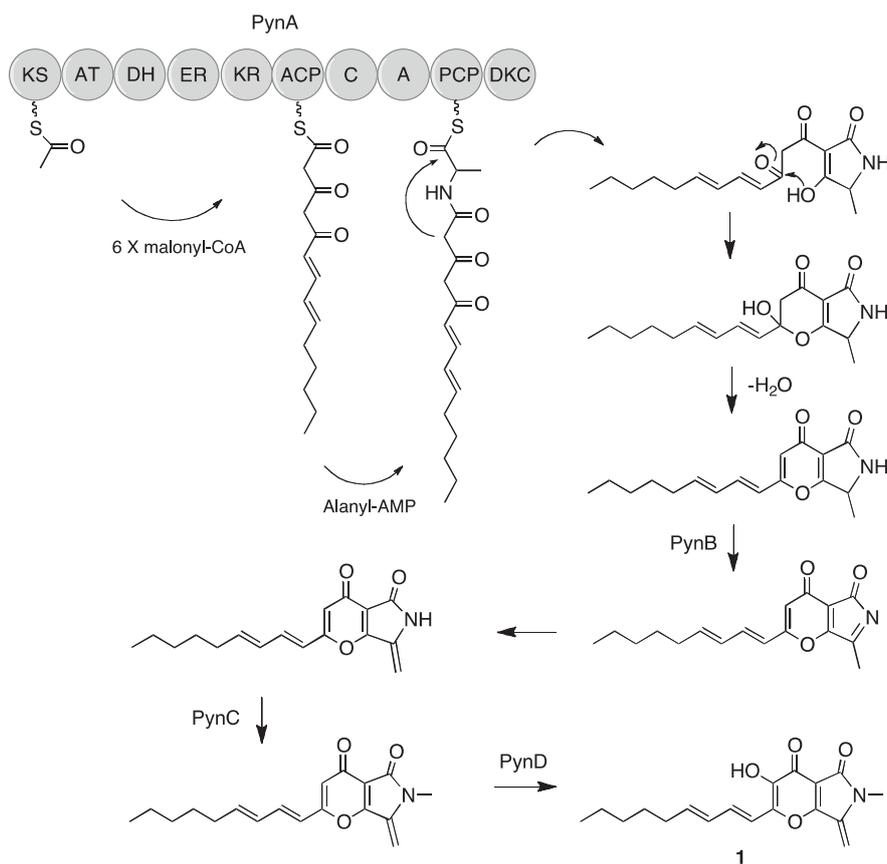


図7 Pyranonigrin Eの推定生成経路

(Yang, X. L., Awakawa, T. *et al. hemBioChem* (2014) 15, 1578-1583.)

PKS-NRPS遺伝子、*caaA* (ASP_{NIDRAFT_176722}) は遺伝子クラスター内に、P450酸化酵素 (CaaC)、 α -ケトグルタル酸依存性酸化酵素 (CaaD)、Zn₂Cys₆ファミリー転写因子 (CaaR) を含む。このような修飾酵素の組み合わせを含むPKS-NRPS遺伝子クラスターの生成物は報告されておらず、その生成物は新規であると考えられた。

PynRをグルコース依存性の*gpd*プロモーターに連結したプラスミドをプロトプラストPEG法によって、*A. niger*に導入し、その代謝産物をHPLC分析することによってその代謝物プロファイルを野生型と比較した。その結果、野生型に見られないUVピーク1-3が検出された(図8)。

化合物1-3を大量調製し、NMR、MSによる構造解析を行った所、化合物1-3はそれぞれ、carlosic acid、agglomerin F、carlosic acid methyl esterであると判

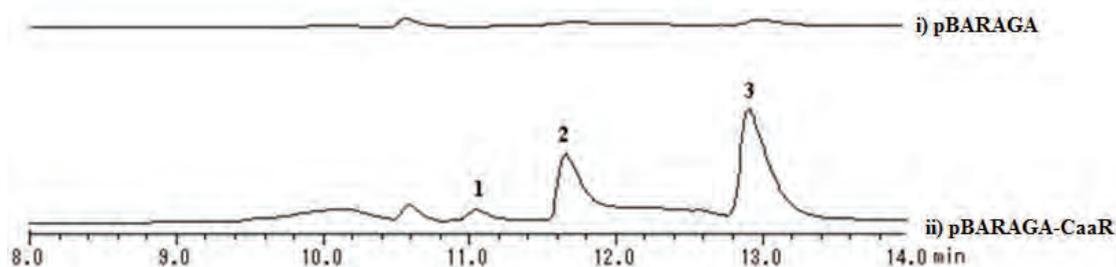


図8 CaaRの発現による新規化合物生産
iが野生株、iiがCaaR発現株の代謝物HPLC UVクロマトグラムを示す。

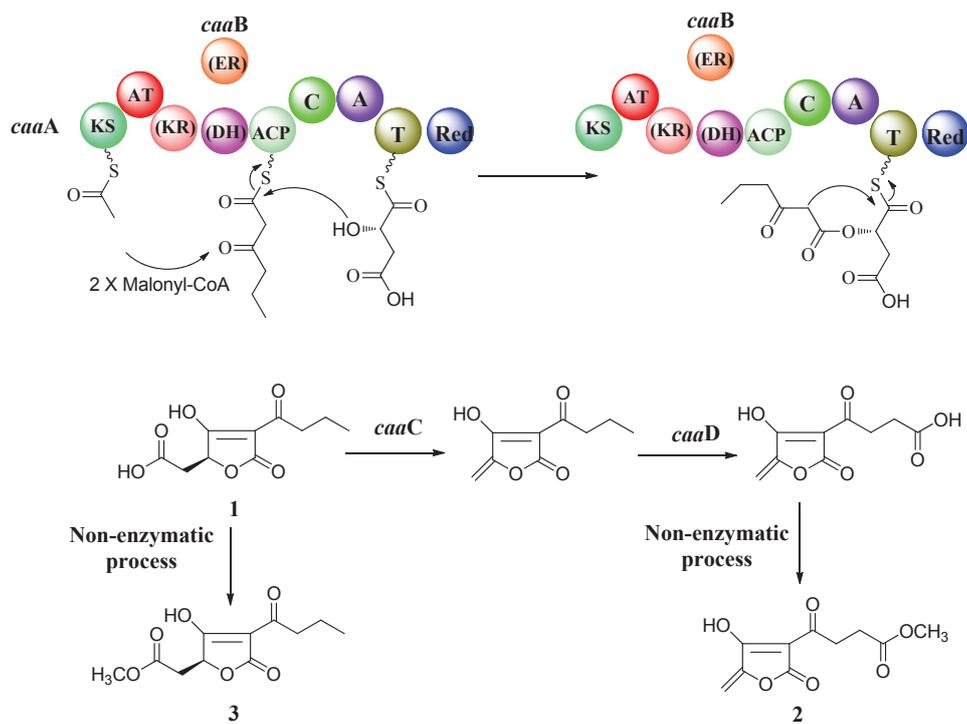


図9 化合物1-3の推定生合成経路

明した(図9)。agglomerin F は新規化合物であった。RT-PCRによってCaaACDのCaaRによる転写誘導を確認し、CaaAによるポリケタイド-ペプチド融合構造の生成、CaaCによる脱炭酸、PynCによるメチル化、PynDによる水酸化を経てpyranonigrin Eが生産される新規生合成経路を提唱した(図9)。本研究は、本来アルカロイド生産に関わる糸状菌由来PKS-NRPSがアミノ酸以外の基質であるリンゴ酸を受け入れることを示した初めての例となった。

2-3. まとめ

Zn₂Cys₆ファミリー糸状菌転写因子を発現することによって、休眠遺伝子を発現し、新規化合物を取得する手

法を確立することに成功した。植物内生菌の多くは代謝産物生産能が不安定であるものが多く、本手法によって、植物内生菌におけるアルカロイド化合物の安定生産、あるいは新規アルカロイド化合物の発掘を行うことができる。Zn₂Cys₆ファミリータンパク質は広く糸状菌二次代謝産物遺伝子クラスターに含まれるため、本手法の普遍性は高い。

3. 謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人松籟科学技術振興財団に厚く御礼申し上げます。

π 共役を拡張した有機ラジカルによる高温分子磁石の開発

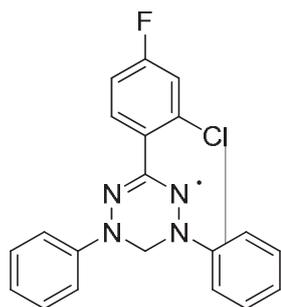
大阪府立大学 大学院理学系研究科
細越 裕子

1. はじめに

π 系を拡張したフェルダジルラジカルの合成による強い分子相関の実現と高温分子磁石開発の基礎研究を目指して、(1)分子間強磁性相互作用発現に有利な分子積層様式を抽出するためのハロゲン置換フェルダジ尔蒙ラジカルの合成、および(2)多次元磁気ネットワーク形成の方法論の確立するための、ラジカルを連結する π 共役部位を変化させたビラジカルの合成を行った。

2. 非平面型フェルダジ尔蒙ラジカル3-(2-クロロ-4-フルオロフェニル)-1,5-ジフェニルフェルダジルの強磁性

多次元磁気構造の実現には、非平面型の分子骨格が有効である。フェルダジルラジカルが連結するフェニル基のオルト位にハロゲン原子を置換することで、ラジカル平面とフェニル基平面との間の大きな二面角を実現した。具体的には、1,3,5-トリフェニルフェルダジルの3位のフェニル基のオルト位に塩素原子を置換した。さらに4位にフッ素原子を置換した2-クロロ-4-フルオロ誘導体は多形を示した。そのうち、空間群 $Pna2_1$ に属する β 相結晶において、三次元的な磁気ネットワーク形成と、強磁性相転移を観測した。



3-(2-クロロ-4-フルオロフェニル)
-1,5-ジフェニルフェルダジル

フェルダジ尔蒙ラジカルの特徴は、ラジカル窒素原子に直接連結する1,5位のフェニル基上に大きなスピン密度が分布することである。結晶構造解析で得られた分子座標を用いて分子軌道計算を行った。Gaussian09プログラムのUB3LYP法で基底関数6-31Gを用いた。計算の結果、スピン密度は分子全体に分布するが、その内訳は、フェルダジル環上に65%、1位と5位のフェニル基上にそれぞれ17%、15%、3位の2-クロロ-4-フルオロフェニル基上に3%であった。1位と5位のフェニル基上のスピン密度の差は、フェルダジル環に対する二面角がそれぞれ25°、35°であることと対応づけられる。2-クロロ-4-フルオロフェニル基は、フェルダジル環に対して二面角56°で大きく捻じれていた。なお、分子軌道計算で得られるスピン密度分布が、電子スピン共鳴等の実験で得られる結果とよく一致することは、以前、類縁化合物について確かめている。

結晶構造から、複数の隣接分子間に、1,5-位のフェニル基同士の接近がみられた。3.4~3.7Åの原子間距離を含む分子間接近が4種類見られた。この隣接二分子ペアについて、Gaussianを用いた分子軌道計算を行い、一重項状態と三重項状態のエネルギー差から、分子間磁気相互作用を評価した。その結果、いずれも1K程度の大きさの磁気相互作用の存在が認められ、3つは強磁性的相互作用であった。これまでのフェルダジ尔蒙ラジカル類縁体結晶における研究では、磁気測定から得られる磁気相互作用と、結晶構造に基づく分子軌道計算で得られる磁気相互作用との間には、良い相関があることを明らかにしている。

磁化率 χ と温度 T の積 χT は有効磁気モーメントの二乗に比例する量であり、室温の値は $S=1/2$ スピンの1mol存在することを示し、ラジカルの純度が十分高いことが分かった。温度依存性から分子間に働く磁気相互作用が分

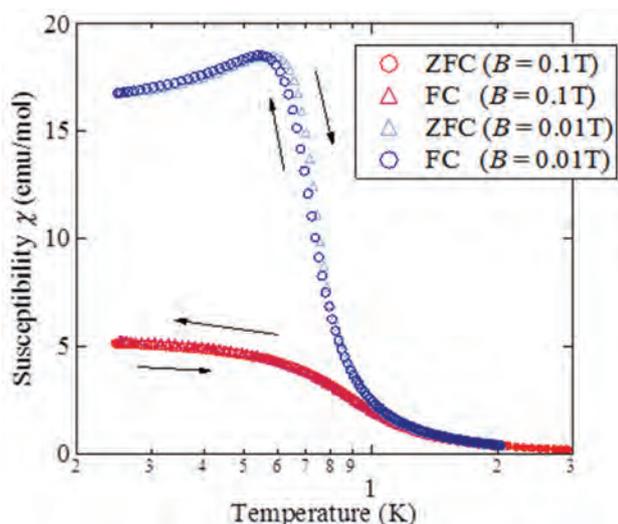


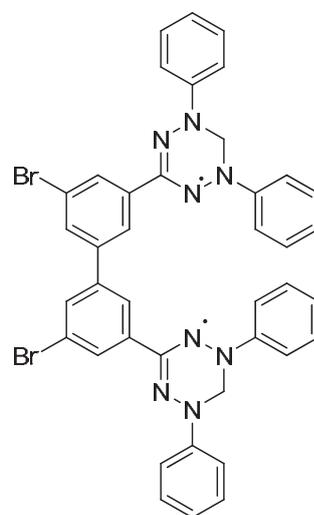
図1 磁化率 χ の温度依存性。0.01T(青)および0.1T(赤)における零磁場冷却(ZFC)および磁場中冷却(FC)

かるが、 χT の値は温度低下に伴い増大し、分子間に強磁性相互作用が働くことが明らかになった。0.01Tの弱磁場における磁化率の温度依存性は、1K以下で発散的に増大した。零磁場冷却後に磁場を印加した昇温過程(ゼロ磁場冷却)、およびその磁場を印加したまま冷却する降温過程(磁場中冷却)を比較したところ、差はほとんど見られなかった。0.1Tの磁場中でも磁化率は1K以下で増大するものの、その磁化の値は著しく抑制されており、これは磁化の飽和に起因する。1K以下の低温において磁化の磁場依存性を測定すると、磁化は磁場の印加に対して急激に増大し0.05Tで $1m_B$ に飽和した。磁化曲線のヒステリシスは極めて小さいものであった。この物質の保持力が極めて小さいことを表している。これらの挙動から、この物質はキュリー温度1Kの強磁性体(軟磁性体)と結論した。

3. ラジカルを連結する π 共役系の拡張による多次元磁気格子形成

分子内に複数のフェルダジルラジカルを含むビラジカルにおいては、スピン密度が多く分布するフェニル基が分子外側に張り出すため、強い磁気相関が期待できる。実際、ビフェニルの4,4'位に1,5-ジフェニルフェルダジルを3位で置換した p -BIP-V₂において、50Kにおよぶ強い磁気相関を二次元的に実現している。本研究では、ビフェニルの3,3'位への1,5-ジフェニルフェルダジルの置換を行い、三次元磁気ネットワークの形成に成功した。

単結晶構造解析の結果、空間群 $C2/c$ に属し、分子内に2回軸が存在し、2つのラジカルサイトは等価であることが明らかになった。ビフェニル骨格は 44° の捻じれをもち、フェルダジル環は、これとほぼ平面を形成した一方で、フェルダジル環と1,5位のフェニル基との二面角は 35° 前後であった。隣接分子間の接近が複数見られ、1,5-位のフェニル基を介した分子間接近、および中央の平面分子部分の接近により、蜂の巣様の配位数3の三次元磁気格子の形成が示唆された。結晶の磁気測定の結果、 cT の値は温度低下に伴い増大し、分子間で支配的な相互作用は強磁性的であるものの、10K以下で cT の値は減少に転じ、弱い反強磁性相互作用の存在も示唆された。単結晶を育成する際の溶媒の種類によって、格子定数が2%ほど異なる結晶が得られたが、その両者について磁気測定を行った結果、50K以下の磁気挙動に差異が認められた。飽和磁化は4Tあるいは4.3Tであり、それぞれの三次元磁気相転移温度は、1.8K, 2.5Kであった。再結晶溶媒の種類によって磁気相転移温度が異なることは、有機ラジカル結晶の構造柔軟性を反映している。量子モンテカルロ法を用いた解析により、分子間には20Kにおよぶ強磁性相互作用の存在が示唆された。分子間相互作用のもう一方は、再結晶溶媒によって5K程度の強磁性相互作用から反強磁性相互作用に転じる結果を得た。



3,3'-ビス(1,5-ジフェニルフェルダジル-3-イル)-5,5'-ジブロモフェニルビフェニル

4. まとめ

π 共役系によって安定化されたフェルダジラジカルを用いた磁気格子設計を行った。分子平面のねじれ、およびポリラジカル化が多次元磁気格子形成に有利であることを明らかにした。 π 共役の広がるポリラジカル化によって分子間に20Kにおよぶ強磁性相互作用の発現に成功した。格子定数が2%ずれるだけで、分子間強磁性相互作用が反強磁性相互作用に転じ、分子間磁気相互作用が分子積層様式のわずかなずれに敏感であることが明らかとなった。今後、有機ラジカル間に強い強磁性相互作用を三次元的に発現させる恒温分子磁石の実現に向けて、分子設計に関する知見を得ることができた。

5. 謝辞

本研究を遂行するに当たり、ご支援いただいた公益財団法人松籟科学技術振興財団に感謝いたします。

6. 成果発表

[1] Y. Hosokoshi, H. Yamaguchi, K. Iwase, T. Ono, "Organic Radical Approach to Quantum Spin System", APES-IES-SEST 2014 Joint Conference

of 9th Asia-Pacific EPR/ESR Society Symposium
1st International EPR(ESR)Society Symposium
53rd SEST Annual Meeting,12-16 November 2014,
Todaiji Culture Center, Nara, IL-6(Invited).

- [2] 細越裕子、「有機磁性体による磁気格子設計と量子物性」、東北大学金属材料研究所共同利用・共同研究ワークショップ「多自由度が協奏する分子システムの科学」、2014年7月18日-20日、東北大学金属材料研究所、仙台、招待講演。
- [3] H. Yamaguchi, R. Hamada, K. Iwase, T. Ono, T. Okubo, Y. Hosokoshi, "Crystal structure and magnetic properties of a new organic radical β -2-Cl-4-F-V", International Conference on Strongly Correlated Electron Systems, 7-11 July, 2014, Grenoble, France, We-212.
- [4] 細越裕子、岩賢賢治、山口博則、多田昌美、小野俊雄、下川統久朗、川上貴資、中野博生、松尾晶、金道浩一、「フェルダジラジカルによる二次元磁気格子形成」、第7回 分子科学討論会、2013年9月24日-27日、京都テルサ、京都、1B01.

有機薄膜ナノエレクトロメカニカルシステムの開発

物質・材料研究機構

池田 太一・Yijun Zheng・板倉 明子

Abstract

We immobilized tetra(ethylene glycol)-substituted phenyl-capped bithiophene with alkyne terminals (**Ph2TPH-alkyne**) on azide-terminated self-assembled monolayers(N_3 -SAMs) by Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. Ph2TPH-functionalized SAMs on a gold substrate showed reversible electrochemical response. The surface densities of the azide groups in N_3 -SAMs and Ph2TPH units in Ph2TPH-functionalized SAMs were estimated to be $7.3 \pm 0.3 \times 10^{-10}$ mol cm^{-2} and $4.6 \pm 0.3 \times 10^{-10}$ mol cm^{-2} , respectively, by quartz crystal microbalance(QCM). Most of **Ph2TPH-alkynes** are considered to be anchored on N_3 -SAMs via both terminal groups. Ph2TPH-functionalized SAMs exhibited reversible redox peaks in cyclic voltammetry(CV). In redox reaction, reversible catch and release of the counter anion could be monitored by electrochemical QCM(E-QCM).

1. Introduction

Electrochemically-active self-assembled monolayers (E-SAMs) have attracted much attention because of their potential applications in the fields of nano-electromechanical systems (NEMS), charge/ion storage devices, and biosensors.¹⁻⁴ In order to control the surface properties by electrical stimuli, the redox-active unit must be immobilized on the surface. The representative redox-active units are ferrocene,^{1,2,5-9} metal complex,¹⁰⁻¹³ viologen,^{14,15} tetrathiafulvalene,^{16,17} quinone,¹⁸⁻²¹ *etc.* The thiophene derivative, one of the most popular materials in the field of organic electronics, is a promising candidate for the redox-active unit.²² However, conventional thiophene SAMs have some problems on electrochemical reversibility and durability.²³⁻²⁸ Phenyl-capped thiophene derivative is a useful building block because of electrochemical stability and accessibility to various kinds of substituted compounds.²⁹⁻³² In our previous study, we succeeded to prepare phenyl-capped thiophene alkanethiol SAMs with 3,4-ethylenedioxythiophene unit (Fig. 1a, 1b) and confirmed their electrochemical durability.³³ However, we failed to synthesize the phenyl-capped thiophene

alkanethiol derivative with longer thiophene unit because of its poor solubility. In order to overcome the solubility issue, we decided to utilize the post-functionalization method of SAMs. J. P. Callman *et al.* reported efficient surface functionalization using azide-terminated SAMs (N_3 -SAMs) by Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (Cu-CAAC) reaction.³⁴ We selected tetra(ethylene glycol)-substituted phenyl-

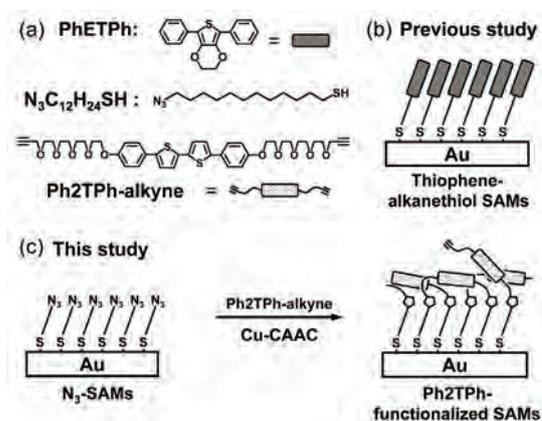


Figure 1. (a) Chemical structures and short names of compounds. (b) Thiophene-alkanethiol SAMs prepared in our previous study. (c) Preparation scheme of Ph2TPH-functionalized SAMs in this study.

capped bithiophene with alkyne terminals (**Ph2TPh-alkyne**, Fig. 1a) as a model compound for surface functionalization because of its well-established synthetic protocol.³² In this study, we demonstrated to prepare E-SAMs with the Ph2TPh electrochemically-active unit which was anchored on N₃-SAMs by Cu-CAAC reaction (Fig. 1c). We characterized SAMs by reflective IR spectroscopy and quartz crystal microbalance (QCM). The electrochemical property of SAMs was characterized by cyclic voltammetry (CV), and electrochemical QCM (E-QCM).

2. Material and methods

2. 1. Materials

All of the chemicals and solvents were purchased from commercial source and used without further purification. The compounds N₃C₁₂H₂₄SH³⁴ and **Ph2TPh-alkyne**³² were synthesized according to the literatures. Gold substrates were prepared on a polished silicon wafer with (100) surface termination (Si-Mat) by Ar plasma sputtering of a 5 nm titanium adhesion layer followed by 50 nm of gold using a MED 020 coating system (BALTEC).

2. 2. Preparation of E-SAMs

N₃-SAMs were prepared according to the literature.³⁴ In briefly, the freshly prepared gold substrate was immersed in a 1 mM N₃C₁₂H₂₄SH solution in ethanol for 24 h. The functionalized gold substrate was rinsed with ethanol and water. Then it was dried in a stream of N₂ gas. The **Ph2TPh-alkyne** functionalization on N₃-SAMs has done as follows. An azide-functionalized substrate was immersed in a 1 mM **Ph2TPh-alkyne** solution in tetrahydrofuran (THF) under Ar atmosphere. 2.5 mol% Copper (II) sulfate pentahydrate and 5 mol % sodium ascorbate were added as catalysts. The sample solution was stirred at 35 ° C for 2 h. The functionalized gold substrate was rinsed with THF and distilled water. Then it was dried in a stream of N₂ gas.

2. 3. Instrumental analysis

Reflective IR spectra of SAMs on Au were recorded in grazing incidence reflection mode at a fixed angle of 84° relative to the surface normal using *p*-polarized light with a Nicolet Magna Fourier transform infrared spectrometer (Thermo Scientific). The reflected light was detected by a liquid-nitrogen-cooled MCT (mercury-cadmium-telluride) narrow band detector with a resolution of 2 cm⁻¹. A clean gold substrate was used as a reference. Electrochemical measurements were carried out at room temperature with a potentiostat, PGSTAT12 (Metrohm Autolab). A plate material evaluating cell (ALS Co.) was utilized for the characterization of SAMs. Tetrabutylammonium hexafluorophosphate (TBA·PF₆) (electrochemistry glade) was used as a supporting electrolyte (Concentration: 0.1 M). Pt wire and saturated calomel electrode (SCE) were used as the counter, and reference electrodes, respectively. All electrochemical measurements have done after nitrogen purging for 15 min. QCM measurements were conducted with a Q-Sense E4 system (Biolin Scientific) to monitor the mass variation on the surface.³⁵ AT-cut quartz crystals (5 MHz resonant frequency) with an active surface of sputtered gold were utilized for the analysis. The mass variation was calculated based on the Sauerbrey model.³⁶

$$m = C F_n / n \quad (1)$$

where *m* is the adsorbed mass per area (mg m⁻²), *C* is the sensitivity constant, -0.177 (mg m⁻² Hz⁻¹), *F_n* is the change in resonant frequency (Hz), and *n* is the overtone number.³⁷ E-QCM was performed using the E-QCM module (Q-Sense) connected to a CHI 440 potentiostat (CH-Instruments, Inc.). The counter and reference electrodes were a platinum wire and Ag/AgCl/KCl electrode (Q-Sense, Sweden), respectively.

3. Results and discussion

3. 1. Characterization of adsorption process by QCM

We utilized QCM to monitor the formation of N₃-SAMs and Ph2TPh-functionalized SAMs. Fig. 2a

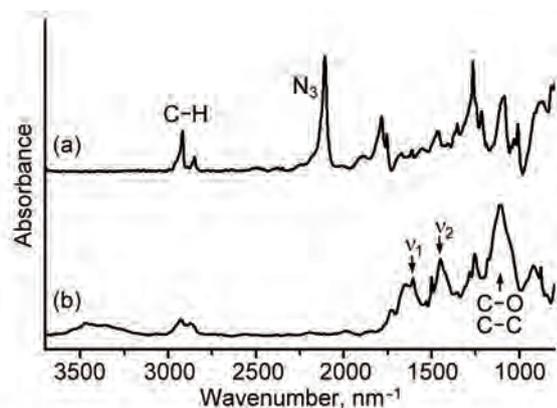


Figure 2. QCM profiles: (a) Adsorption process of N_3 -SAMs in ethanol at room temperature. Data at the middle part in (a) is omitted for clarity. (b) Ph2TPh functionalization on N_3 -SAMs by Cu-ACCA reaction in THF at 35°C. Down and up arrows indicate an injection of the reaction solution and a rinse of the substrate after the reaction, respectively.

presents the QCM profile in the adsorption process of $N_3C_{12}H_{24}SH$ on the gold sensor. F_n value from the fundamental was discarded because they were usually noise due to insufficient energy trapping.³⁸ In Fig. 2, the data recorded at 3rd overtone ($n = 3$, 15 MHz) is plotted. A rapid decrease of $F_3/3$ value was observed in the first 5 min after the injection of a $N_3C_{12}H_{24}SH$ solution. This response originates from the adsorption of $N_3C_{12}H_{24}SH$ on the gold surface. Gradual frequency decrease was observed over 20 h. In this period, the rearrangement of the monolayers into highly ordered structures takes place.³⁹ After rinsing with pure ethanol, a neat frequency change of 10 Hz was obtained. Assuming that the contribution of the solvent acoustically coupled to the monolayer is negligible, a surface acoustic mass of N_3 -SAMs was estimated to be 177 ng cm^{-2} (Eq. 1). The surface density of $N_3C_{12}H_{24}SH$ was calculated to be $7.3 \pm 0.3 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$, which is a little less than that of closely-packed *n*-alkanethiol SAMs ($7.8 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$).⁴⁰

Cu-CAAC reaction was performed on the QCM chip covered with N_3 -SAMs. The THF solution containing **Ph2TPh-alkyne**, copper (II) sulfate pentahydrate and sodium ascorbate was injected into the QCM chip

chamber and incubated for 100 min. The resonant frequency decreased immediately after the injection of the reaction solution, indicating high efficiency of interfacial Cu-CAAC reaction. Based on the frequency change, the surface density of the Ph2TPh units was estimated to be $4.6 \pm 0.3 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ (Eq. 1). The surface density of the Ph2TPh units was much less than that of $N_3C_{12}H_{24}SH$. This result will discuss in the next section with the result of reflective IR measurement.

3. 2. Characterization by reflective IR

N_3 -SAMs and Ph2TPh-functionalized SAMs were characterized by reflective IR spectroscopy. In the spectrum of N_3 -SAMs (Fig. 3a), strong peak of the azide bond was observed at 2106 cm^{-1} .³⁴ The peaks at 2850 and 2919 cm^{-1} were assigned to the symmetric (ν_s) and asymmetric (ν_{as}) C-H stretching modes of the alkyl chains, respectively.^{24,33,41,42} These are between the expected frequencies in the crystalline state (2846 and 2915 cm^{-1}) and the liquid state (2856 and 2928 cm^{-1}).^{43,44} Therefore, the alkyl chain conformation in N_3 -SAMs is considered to be partially disordered. The disorder of

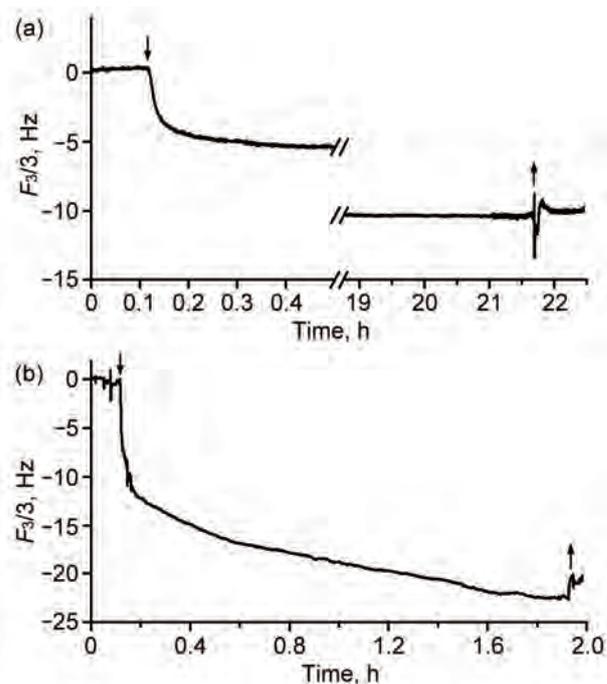


Figure 3. FT-IR spectra of (a) N_3 -SAMs and (b) Ph2TPh-functionalized SAMs.

Table 1. Assignment of FT-IR peaks for N₃-SAMs and Ph2TPh-functionalized SAMs.

Assignment	N ₃ -SAM (cm ⁻¹)	Ph2TPh-SAMs (cm ⁻¹)
$\nu_a(\text{C-H})$	2919	broad
$\nu_{as}(\text{C-H})$	2850	broad
$\nu(\text{N}_3)$	2106	–
ν_1	–	1606
ν_2	–	1500
$\nu(\text{C-O}), \nu(\text{C-C})$	–	1114

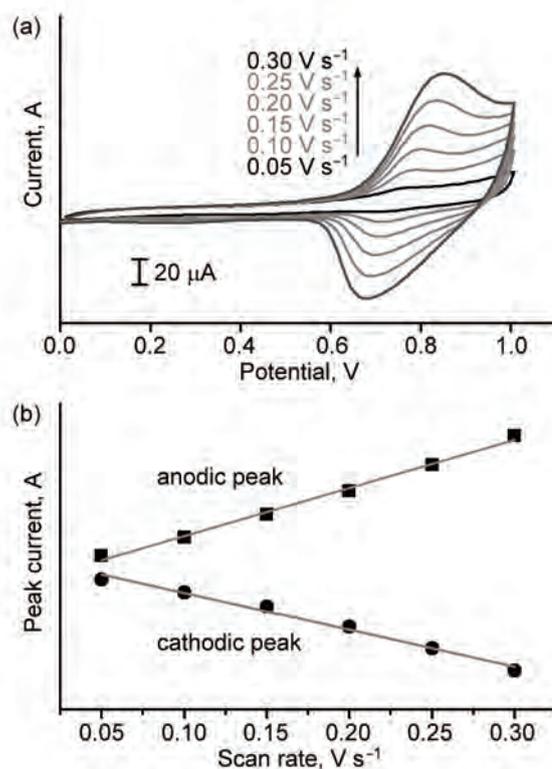
the alky chain is attributable to lower surface density of N₃-SAMs than closely-packed *n*-alkanethiol SAMs as discussed in the previous section. After Ph2TPh functionalization, the peaks of C–H stretching modes were broadened due to additional peaks arising from ethylene glycol (EG) chains (Fig. 3b). The characteristic strong peak at 1114 cm⁻¹ is assignable to the C–O and C–C stretching mode of EG chains.⁴⁵ The aromatic peaks of Ph2TPh unit were also detectable (ν_1 and ν_2).³³ In Ph2TPh functionalized SAMs, the azide peak at 2106 cm⁻¹ disappeared completely, indicating no azide remains after Ph2TPh functionalization. As discussed in the previous section, the surface density of Ph2TPh unit ($4.6 \pm 0.3 \times 10^{-10}$ mol cm⁻²) is much less than that of N₃C₁₂H₂₄SH ($7.3 \pm 0.3 \times 10^{-10}$ mol cm⁻²). These results suggest that most of **Ph2TPh-alkyne** would be anchored on the N₃-SAMs via both terminal groups (Fig. 1c). The assignment of the reflective IR peaks is summarized in Table 1.

3. 3. CV Characterization of Ph2TPh-functionalized SAMs

Fig. 4a shows CV traces of Ph2TPh-functionalized SAMs on gold in CH₂Cl₂ at different scan rates. The peak currents increased linearly with the scan rate (Fig. 4b), indicating that Ph2TPh unit is immobilized on the surface.⁴⁶ The redox peak was broad and the full width at half-maximum exceeds the ideal value (90.6 mV).^{46,47}

This result suggests that the redox reaction of the Ph2TPh unit is affected by the electrostatic effect of the surrounding Ph2TPh units.⁴⁷

The oxidation peak potential of the Ph2TPh unit on gold (0.75 V) is lowered compared to that of **Ph2TPh-alkyne** in the solution (0.90 V). The reason for lower oxidation potential in SAMs is attributable to faster electron transfer rate between the tethered Ph2TPh unit and the electrode.⁴⁶ In addition, the effective conjugation length is considered to increase in SAMs because free rotation between the aromatic units should be suppressed on the surface.^{26,33} From an anodic peak area in cyclic voltammogram, the surface density of the Ph2TPh units was estimated to be $4.5 \pm 0.5 \times 10^{-10}$ mol cm⁻². This value is consistent to that obtained from QCM ($4.6 \pm 0.3 \times 10^{-10}$ mol cm⁻²).

**Figure 4.** (a) Scan rate dependency of cyclic voltammogram for Ph2TPh-functionalized SAMs on gold in CH₂Cl₂ with 0.1 M TBA·PF₆. (b) Relationship between the peak current and scan rate. The solid lines represent the linear fittings.

3. 4. E-QCM Characterization of Ph2TPh-functionalized SAMs

The mass change of Ph2TPh-functionalized SAMs in response to the redox reaction was monitored by E-QCM. Fig. 5a shows the current and frequency changes of Ph2TPh-functionalized SAMs against applied potential in CH_2Cl_2 with $\text{TBA}\cdot\text{PF}_6$ as a supporting electrolyte. The decrease of $F_3/3$ value, which indicates a mass increase, was detectable in response to the oxidation of Ph2TPh-functionalized SAMs. The $F_3/3$ value returned to its original value after a redox cycle. The frequency deflection was reversible over at least four successive redox cycles (Figure 5b). After the oxidation, a neat frequency change of ca. 3.5 Hz was obtained, indicating a surface acoustic mass increase of 619 ng cm^{-2} . It is considered that the counter anion migration into SAMs is the course of mass increase.^{2,48-50} By assuming that the contribution of the solvent acoustically coupled to the monolayer was negligible, the amount of the migrated PF_6^- was estimated to be $4.3 \pm 0.5 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$, which is comparable to the surface density of Ph2TPh unit ($4.6 \pm 0.3 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$).

4. Conclusions

Ph2TPh-functionalized SAMs were prepared by Cu-CAAC reaction on azide-terminated SAMs. QCM and reflective IR measurements suggest that most of **Ph2TPh-alkyne** would be anchored on N_3 -SAMs via both terminal groups. The surface density of Ph2TPh units was estimated by QCM measurement to be $4.5 \pm 0.5 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$, which was also checked by CV measurement. Reversible electrochemical activity of Ph2TPh-functionalized SAMs in CH_2Cl_2 solution was confirmed. Ph2TPh-functionalized SAMs was able to catch and release the counter anion in response to electrochemical stimuli, which was detectable by E-QCM. E-SAMs with the phenyl-capped thiophene derivative will be potentially utilized as the NEMS device, materials that can storage and release the anions. In addition, unreacted terminal alkyne at the

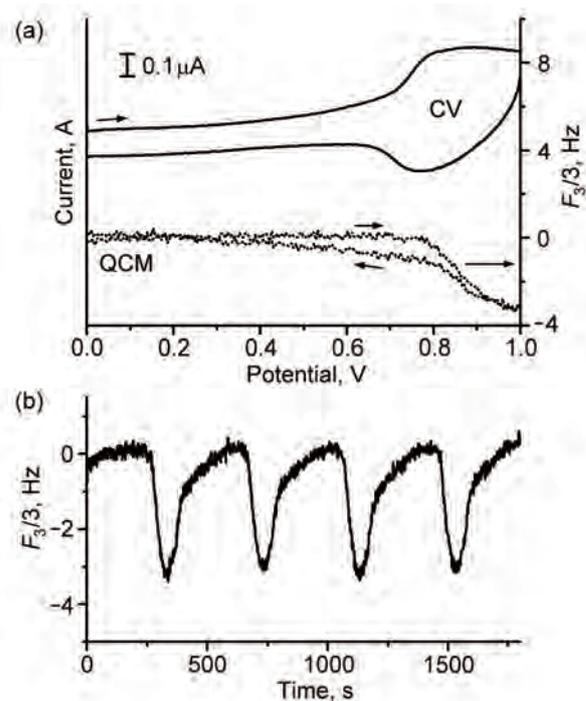


Figure 5. E-QCM measurement for Ph2TPh-functionalized SAMs. (a) Cyclic voltammogram (solid curve) and QCM frequency change (dot curve). (b) Frequency changes in four successive redox cycles. Scan rate: 0.005 Vs^{-1} .

end of the ethylene glycol chain will be useful for biosensor application.

Acknowledgement

This work was financially supported by Shorai Foundation for Science and Technology.

References

1. B. Fabre *Acc. Chem. Res.* 43 (2010) 1509-1518.
2. L. L. Norman, A. Badia *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 2328-2337.
3. I. Willner, E. Katz *Angew. Chem. Int. Ed.* 39 (2000) 1180-1218.
4. M. Frascioni, F. Mazzei, T. Ferri *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010) 1545-1564.
5. J. R. Lenhard, R. W. Murray *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 7870-7875.
6. K. Uosaki, Y. Sato, H. Kita *Langmuir* 7 (1991) 1510-1514.
7. J. Hu, D.L. Mattern *J. Org. Chem.* 65 (2000) 2277-

- 2281.
8. E. R. Dionne, T. Sultana, L. L. Norman, V. Toader, A. Badia, *J. Am. Chem. Soc.* 135 (2013) 17457–17468.
 9. B. Fabre, S. P. Pujari, L. Scheres, H. Zuilhof *Langmuir* 30 (2014) 7235–7243.
 10. H. O. Finklea, D. D. Hanshew *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 3173–3181.
 11. I. Szymanska, M. Stobiecka, C. Orlewska, T. Rohand, D. Janssen, W. Dehaen, H. Radecka *Langmuir* 24 (2008) 11239–11245.
 12. S. Liatard, J. Chauvin, F. Balestro, D. Jouvenot, F. Loiseau, A. Deronzier *Langmuir* 28 (2012) 10916–10924.
 13. H. Maeda, R. Sakamoto, H. Nishihara *Polymer* 54 (2013) 4383–4403.
 14. B. Han, Z. Li, T. Wandlowski, A. Blaszczyk, M. Mayor *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 13855–13863.
 15. Q. An, J. Brinkmann, J. Huskens, S. Krabbenborg, J. de Boer, P. Jonkheijm *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 12233–12237.
 16. S. Campuzano, M. Pedrero, C. Montemayor, E. Fatás, J. M. Pingarrón *Electrochem. Commun.* 8 (2006) 299–304.
 17. G. Yzambart, B. Fabre, F. Camerel, T. Roisnel, D. Lorcy *J. Phys. Chem. C* 116 (2012) 12093–12102.
 18. C. D. Hodneland, M. Mrksich *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 4235–4236.
 19. H. G. Hong, W. Park, *Electrochim. Acta* 51 (2005) 579–587.
 20. G. March, S. Reisberg, B. Piro, M. C. Pham, M. Delamar, V. Noel, K. Odenthal, D. B. Hibbert, J. J. Gooding *J. Electroanal. Chem.* 622 (2008) 37–43.
 21. E. W. L. Chan, S. Park, M. N. Yousaf *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 6267–6271.
 22. F. P. Igor, F. P. Dmitrii, *Handbook of Thiophene-Based Materials Applications in Organic Electronics and Photonics*, John Wiley & Sons, Chichester, 2009.
 23. J. M. Tour, L. Jones, D. L. Pearson, J. J. S. Lamba, T. P. Burgin, G. M. Whitesides, D. L. Allara, A. N. Parikh, S. V. Atre *J. Am. Chem. Soc.* 117 (1995) 9529–9534.
 24. B. Liedberg, Z. Yang, I. Engquist, M. Wirde, U. Gelius, G. Götz, P. Bäuerle, R.M. Rummel, C. Ziegler, W. Göpel *J. Phys. Chem. B* 101 (1997) 5951–5962.
 25. R. Michalitsch, P. Lang, A. Yassar, G. Nauer, F. Garnier *Adv. Mater.* 9 (1997) 321–326.
 26. R. Michalitsch, A. El Kassmi, A. Yassar, P. Lang, F. Garnier *J. Electroanal. Chem.* 457 (1998) 129–139.
 27. L. H. Zhu, H. Q. Tang, Y. Harima, K. Yamashita, D. Hirayama, Y. Aso, T. Otsubo, *Chem. Commun.* (2001) 1830–1831.
 28. H. Ahn, M. Kim, D. J. Sandman, J. E. Whitten *Langmuir* 19 (2003) 5303–5310.
 29. S. Hotta, S. A. Lee, T. Tamaki *J. Heterocycl. Chem.* 37 (2000) 25–29.
 30. J. J. Apperloo, L. Groenendaal, H. Verheyen, M. Jayakannan, R. A. J. Janssen, A. Dkhissi, D. Beljonne, R. Lazzaroni, J. L. Bredas *Chem.–Eur. J.* 8 (2002) 2384–2396.
 31. C. Song, T. M. Swager *Org. Lett.* 10 (2008) 3575–3578.
 32. Y. Zheng, H. Zhou, D. Liu, G. Floudas, M. Wagner, K. Koynov, M. Mezger, H.-J. Butt, T. Ikeda *Angew. Chem. Int. Ed.* 52 (2013) 4845–4848.
 33. T. Ikeda, Y. Nagata, Y.J. Zheng, D. Liu, H.-J. Butt, M. Shimoda *Langmuir* 30 (2014) 1536–1543.
 34. J. P. Collman, N. K. Devaraj, C. E. D. Chidsey *Langmuir* 20 (2004) 1051–1053.
 35. J. X. Cui, T. H. Nguyen, M. Ceolin, R. Berger, O. Azzaroni, A. del Campo *Macromolecules* 45 (2012) 3213–3220.
 36. G. Z. Sauerbrey *Phys.* 155 (1959) 206–222.
 37. F. Höök, B. Kasemo, T. Nylander, C. Fant, K. Sott, H. Elwing *Anal. Chem.* 73 (2001) 5796–5804.
 38. V. E. Bottom *Introduction to Quartz Crystal Unit Design* Van Nostrand Reinhold Co., New York, 1982.
 39. C. D. Bain, E. B. Troughton, Y. T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 321–335.

40. L. Strong, G. M. Whitesides *Langmuir* 4 (1988) 546–558.
41. R. G. Nuzzo, L. H. Dubois, D. L. Allara *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 558–569.
42. P. E. Laibinis, G. M. Whitesides, D. L. Allara, Y. T. Tao, A. N. Parikh, R. G. Nuzzo *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 7152–7167.
43. R. G. Snyder, H. L. Strauss, C. A. Elliger *J. Phys. Chem.* 86 (1982) 5145–5150.
44. R. A. Macphail, H. L. Strauss, R. G. Snyder, C. A. Elliger *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 334–341.
45. R. Valiokas, S. Svedhem, S. C. T. Svensson, B. Liedberg *Langmuir* 15 (1999) 3390–3394.
46. A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*, 2nd ed. Wiley, New York, 2002.
47. A. L. Eckermann, D. J. Feld, J. A. Shaw, T. J. Meade *Coord. Chem. Rev.* 254 (2009) 1769–1802.
48. K. Shimazu, I. Yagi, Y. Sato, K. Uosaki *J. Electroanal. Chem.* 372 (1994) 117–124.
49. A. S. Viana, M. Kalaji, L. M. Abrantes *Langmuir* 19 (2003) 9542–9544.
50. G. Valincius, G. Niaura, B. Kazakevičienė, Z. Talaikytė, M. Kažemėkaitė, E. Butkus, V. Razumas *Langmuir* 20 (2004) 6631–6638.

青ジソ由来カルコンの皮膚老化抑制作用に基づく 高度利用に関する研究

京都大学 大学院薬学研究科
久米 利明

1. はじめに

我々、ヒトのような酸素からエネルギーを得ている生物においては、体内に取り込まれた酸素のうちおよそ1%が活性酸素種に変化する。そのために体内において活性酸素を消去・減少させるメカニズムを有しているが、ヒトにおいては、紫外線への暴露、喫煙、大気汚染やストレスなどにさらされることにより、体内の活性酸素が大量になると酸化ストレスが生じる。活性酸素種により攻撃された生体内機能分子は酸化を受け、その機能が損なわれる。したがって、過剰な酸化ストレスを抑制することは、健康を維持するために重要であると考えられる。近年の研究から、発がん、心筋梗塞、神経疾患など様々な疾患の病態形成の一因として酸化ストレスの関与を示唆するデータは蓄積されてきており(1-6)、皮膚の老化においても酸化ストレスが重要な役割を果たすことが明らかにされてきている。実際、スキンケア製品の

中には抗酸化物質を含むものが多く開発され、注目されている。

生体を酸化ストレスから防御するには、活性酸素種と直接反応し除去できるビタミンC・Eやポリフェノールなどといった抗酸化物質を大量に摂取する方法と生体内の抗酸化酵素の発現を上昇させる方法が挙げられる。しかしながら、前者の抗酸化物質の生体内濃度を高く維持することは困難である。後者の抗酸化酵素を発現誘導する生体内抗酸化システムの一つとしてNF-E2 related factor 2-antioxidant response element(Nrf2-ARE)経路が知られている(図1)。転写因子であるNrf2は通常Kelch-like ECH-associated protein 1(Keap1)と結合し細胞質に留められているが、生体が酸化ストレスに晒されると核内に移行し遺伝子上流に存在するARE配列に結合することで、グルタチオンペルオキシダーゼ、ヘムオキシゲナーゼ1(HO-1)、カタラーゼなどの抗酸化

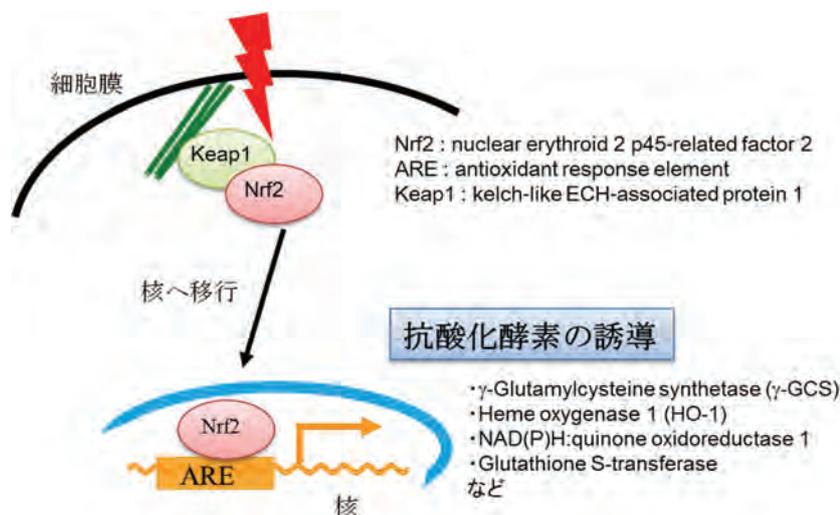


図1 Nrf-ARE経路



図2 2,3-dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone (DDC) の化学構造式

酵素やNAD(P)Hキノンオキシドレダクターゼ1(NQO1)などの第二相薬物代謝酵素の発現を誘導する(7)。このNrf2-ARE経路を低分子量化合物で活性化できれば、生体は酸化ストレスに対して抵抗性を獲得した状態を維持できると考えられる。

我々はこれまでにNrf2-ARE経路を活性化する化合物の探索を行い、青じそより2',3'-dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone(DDC、図2)という活性成分の単離・同定に成功した(8)。DDCは、これまでに神経系株化細胞であるPC12細胞をもちいて、酸化ストレスによる細胞死に対して、細胞保護作用を有することが明らかとなっている(8)。DDCの作用メカニズムとしては、活性酸素と直接反応するのではなく、細胞に備わっている抗酸化システムを賦活化することによって抗酸化酵素の誘導を亢進するため、既存の抗酸化物質とは異なったメカニズムにより酸化ストレスを抑制することが期待される。しかしながら、これまでに皮膚細胞を用いたDDCの作用は検討されていない。

そこで本研究では、培養ヒト表皮細胞であるHaCaT細胞を用いて、過酸化水素によって惹起される酸化ストレスに対するDDCの細胞保護作用を検討し、その作用

機序の解明を目指した検討を行った(図3)。

2. 実験方法

細胞培養

ヒトケラチノサイト株化細胞であるHaCaT細胞は $2.2-4.4 \times 10^4$ cells/cm²の密度で96 well plateまたは60 mm dishに播種した。細胞培養培地は、10%ウシ胎仔血清、100 units/ml ペニシリン、100 µg/mlストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地を用いた。

薬物処置

H₂O₂は細胞播種後4日目から24時間処置した。また、DDCおよびbutionine sulfoximine(BSO)は播種後3日目から48時間処置した。

細胞生存率の評価

細胞の生存率は、MTT assayにより評価した。

Heme oxygenase-1(HO-1)、γ-glutamylcystine synthetase(γ-GCS)の発現変化

HO-1、γ-GCSの発現量はDDC処置24時間後にウエスタンブロット法により測定した。

Western blotting

DDCを処置24時間後に細胞を回収し、lysis bufferにて細胞を破碎しタンパク質を回収した。細胞ライセートをSDS化し、SDS-PAGEによりタンパクを分離した。PVDF膜に転写した後、各抗体と反応させECLにより検出した。

ヒト培養ケラチノサイトを用いたDDCによる抗酸化酵素誘導メカニズムの解析

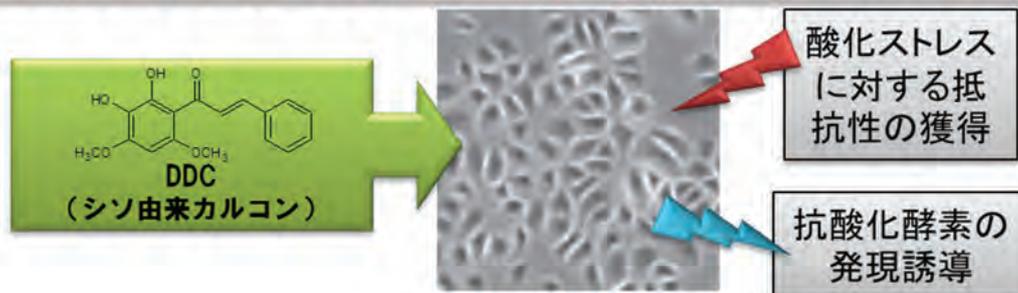


図3 本研究の目的の概念図

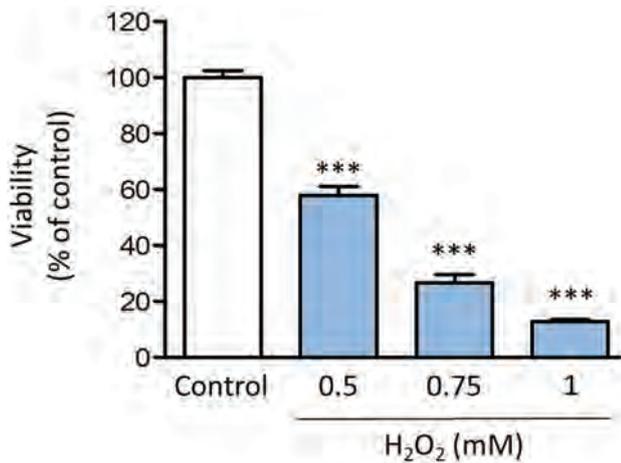


図4 ヒト培養ケラチノサイト株化細胞、HaCaT細胞における過酸化水素による細胞障害。過酸化水素はHaCaT細胞に24時間処置された。細胞生存率は、MTT assayにより評価された。***P<0.001、controlとの比較。

3. 結果と考察

酸化ストレスに対するケラチノサイトへの作用を検討する目的で、我々はヒト由来ケラチノサイト株化細胞であるHaCaT細胞を用いた。まずHaCaT細胞に酸化ストレスとして過酸化水素(H₂O₂)を処置後の細胞生存率をMTT assayを用いて測定することによって、ケラチノサイトに対する酸化ストレスによる影響を検討した。H₂O₂は、24時間処置することによって、0.5-1mMの濃度範囲で濃度依存的に細胞死を惹起した(図4)。次に、HaCaT細胞におけるDDCの単独作用を検討する目的で、DDCを処置し細胞生存率の変化について検討した。1~100μMのDDCをHaCaT細胞に処置したところ、100μMのDDC処置においては細胞毒性が観察された(図5)ので、細胞毒性がみられない30μM以下の濃度で以下の実験を行った。次に、H₂O₂による酸化ストレスに対するDDCの細胞保護作用について検討した。HaCaT細胞にDDCを24時間処置した後、H₂O₂を処置し24時間後に細胞生存率を評価した。図3に示すように、10~30μMのDDCによってH₂O₂毒性が有意に抑制された。このことよりHaCaT細胞においてDDCは酸化ストレスによる細胞死を抑制することが明らかになった。

続いて、DDCの保護作用機序の解明を目指し、Nrf2-ARE経路の活性化により誘導され、抗酸化作用に関与するHO-1およびγ-GCSの発現量の変化を検討した。HaCaT細胞にDDCを24時間処置したのちにタンパク回

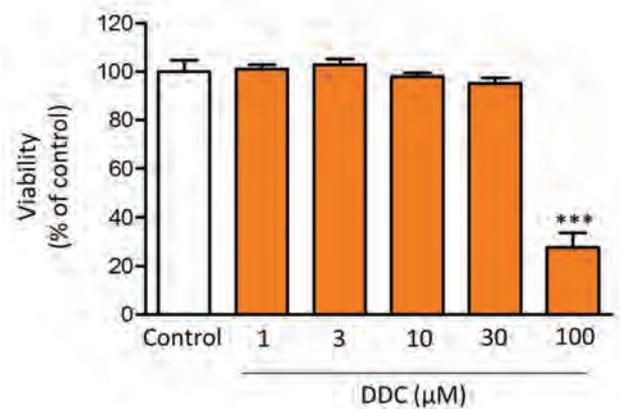


図5 HaCaT細胞におけるDDCによる細胞障害。DDCはHaCaT細胞に48時間処置された。細胞生存率は、MTT assayにより評価された。***P<0.001、controlとの比較。

収を行い、ウエスタンブロット法によって評価した。DDCは、濃度依存的にHO-1およびγ-GCSの発現量を増大させた。これらの結果よりDDCはNrf2-ARE経路を活性化することで、HO-1やγ-GCSといった抗酸化酵素を誘導し、これらによる酸化ストレスの軽減がDDCの細胞保護作用に関与している可能性が考えられた。

最後に、HaCaT細胞におけるDDCの細胞保護作用へのγ-GCSの関与について検討した。HaCaT細胞にDDCと同時にγ-GCSの阻害薬であるBSOを24時間処置した後、H₂O₂を処置し24時間後にMTT assayにより細胞生存率を評価しました。図5に示すように、BSOによ

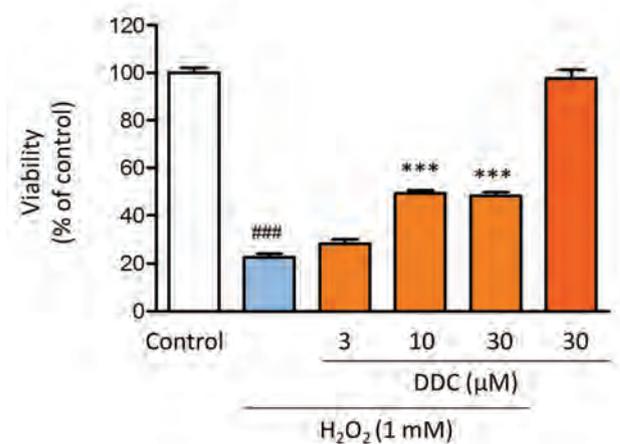


図6 HaCaT細胞における過酸化水素毒性に対するDDCの細胞保護作用。DDCは過酸化水素処置の24時間前に処置し、その後過酸化水素を処置24時間後に細胞生存率を測定した。細胞生存率は、MTT assayにより評価された。***P<0.001、controlとの比較。***P<0.001、過酸化水素単独との比較。

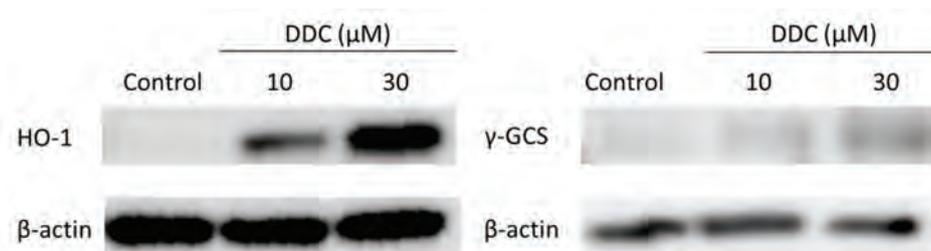


図7 HaCaT細胞におけるDDCによるheme oxygenase-1 (HO-1)およびγ-glutamylcystein synthetase(γ-GCS)の発現上昇。DDCはHaCaT細胞に24時間処置された。HO-1およびγ-GCSの発現量はウエスタンブロットにより測定された。

てDDCの保護作用が有意に抑制された。このことからHaCaT細胞におけるDDCの細胞保護作用にγ-GCSが関与していることが示唆された。これらの結果より、ヒト表皮細胞においてDDCは酸化ストレスに対して保護作用を発現すること、さらにNrf2-ARE経路の活性化によりHO-1およびγ-GCSを含む抗酸化酵素の発現量が増加すること、さらに細胞保護作用にはγ-GCSが重要な役割が示唆された。

4. まとめと今後の展開

青ジソより見出したDDCは、生体内抗酸化システムであるNrf2-ARE経路を活性化することにより抗酸化酵素の誘導を引き起こし、生体内で生じる酸化ストレスに対し皮膚細胞において細胞保護作用を示すことが示唆された。Nrf2ノックアウトマウスがwild-typeと比較して

酸化ストレスに対し脆弱であるという報告(9,10)や、ガン細胞においてNrf2の発現が低下しているという報告(11,12)があることから、Nrf2-ARE経路を介する抗酸化酵素の誘導が障害されることが、様々な疾患の増悪因子となり得ることが示唆されている。今後、in vivo動物モデルを用いた研究を進める必要はあるが、DDCのような生体内抗酸化システムを活性化するフィトケミカルの摂取は、生体内の抗酸化力を高めることで、皮膚を含めた多くの臓器においてアンチエイジング効果に加えて酸化ストレスが関与する疾患の予防や進行の緩徐化につながることを期待される。

5. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご支援を賜りました公益財団法人松籟科学技術振興財団に心より御礼申し上げます。

6. 参考文献

- 1) Diaz M.N., Frei B., Vita J.A., Keaney J.F. Jr., Antioxidants and atherosclerotic heart disease, *N. Engl.J.Med.*, 337, 408-416 (1997)
- 2) Giasson B.L., Ischiropoulos H., Lee V.M., Trojanowski J.Q., The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases., *Free Radic.Biol.Med* 32, 1264-1275 (2002)
- 3) Klaunig J.E., Kamendulis L.M., The role of oxidative stress in carcinogenesis., *Annu. Rev. Pharmacol.Toxicol.* 44, 239-267 (2004)
- 4) Olinski R., Siomek A., Rozalski R., Gackowski D., Foksinski M., Guz J., Dziaman T., Szpila A., Tudek B., Oxidative damage to DNA and antioxidant

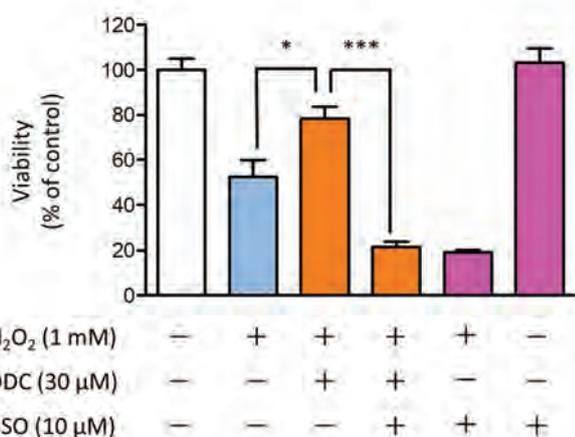


図8 HaCaT細胞におけるDDCの細胞保護作用機序へのγ-GCSの関与。DDCは過酸化水素処置の24時間前に処置し、その後過酸化水素を処置24時間後に細胞生存率を測定した。BSOはDDCと同時に処置した。細胞生存率は、MTT assayにより評価された。*P<0.05、***P<0.001。

- status in aging and age-related diseases., *Acta Biochim.Pol* 54, 11–26 (2007)
- 5) Massy Z.A., Stenvinkel P., Drueke T.B., The role of oxidative stress in chronic kidney disease., *Semin. Dial* 22, 405–408 (2009)
 - 6) Roberts C.K., Sindhu K.K., Oxidative stress and metabolic syndrome., *Life Sci.* 84, 705–712 (2009)
 - 7) Motohashi H., Yamamoto M., Nrf2–Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism., *Trends Mol.Med* 10, 549–557 (2004)
 - 8) Izumi Y., Matsumura A., Wakita S., Akagi K., Fukuda H., Kume T., Irie K., Takada-Takatori Y., Sugimoto H., Hashimoto T., Akaike A., Isolation, identification, and biological evaluation of Nrf2–ARE activator from the leaves of green perilla (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*)., *Free Radic.Biol.Med* 53, 669–379 (2012)
 - 9) Jakel R.J., Townsend J.A., Kraft A.D., Johnson J.A., Nrf2-mediated protection against 6-hydroxydopamine., *Brain Res.* 1144, 192–201 (2007)
 - 10) Chen P.C., Vargas M.R., Pani A.K., Smeyne R.J., Johnson D.A., Kan Y.W., Johnson J.A., Nrf2-mediated neuroprotection in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: Critical role for the astrocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106, 2933–2938 (2009)
 - 11) Xu C., Huang M.T., Shen G., Yuan X., Lin W., Khor T.O., Conney A.H., Kong A.N., Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced skin tumorigenesis in C57BL/6 mice by sulforaphane is mediated by nuclear factor E2-related factor 2., *Cancer Res.* 66, 8293–8296 (2006)
 - 12) Frohlich D.A., McCabe M.T., Arnold R.S., Day M.L., The role of Nrf2 in increased reactive oxygen species and DNA damage in prostate tumorigenesis. *Oncogene.* 27, 4353–4562 (2008)

海洋生物資源の高度利用を目指したカロテノイドによる 血管新生制御と機構解明

京都大学 大学院農学研究科
菅原 達也

細胞にとって、血液によって運ばれる酸素や栄養素は必須である。さらに老廃物も血液を通して除去されている。したがって、血管を介した血液循環は生命維持に不可欠といえる。一方で、血管は病気の進行にも重要な役割を担っており、血管が新しく形成する現象である血管新生や脈管形成と疾病の関わりに注目が集まっている。例えば、ガン細胞が増殖することで形成された悪性腫瘍は、周囲に血管を新生して、自らに栄養素や酸素を取り込むことで増殖する。さらに糖尿病性網膜症、老人性黄斑、リウマチ、動脈硬化症、肥満症などの社会問題となっている様々な病態に血管新生が深く関わることも明らかにされてきており(1)、皮膚の光老化によるシワ形成にも重要であることが示されてきている(2, 3)。

カロテノイドは自然界に広く分布している脂溶性色素であり、赤から橙色を呈し、強力な抗酸化作用を有する。近年、カロテノイドの健康機能が注目されており、その作用機序の解明も進められている。なかでも海洋生物には、陸上生物にはない独特な構造を持つカロテノイドが存在し、その機能性が注目されてきている。我々はこれまでに、海洋生物由来カロテノイドのライブラリー化を試みており、藻類や海産無脊椎動物などに含まれる特有のカロテノイドを精製、収集し、その機能評価を進めている。その過程で、褐藻由来フコキサンチンや緑藻由来シフォナキサンチンが強力な血管新生抑制作用を示すことを明らかにした(4, 5)。さらに、その作用メカニズムを知るために、血管内皮細胞に着目して細胞内シグナル伝達および遺伝子発現の変動を解析し、FGF-2を介したシグナル伝達に影響を与えることを見出した(6)。しかしながら、海洋生物に存在する様々な特有のカロテノイドについて、それらが血管新生にどのように影響を与えるのか、網羅的には解析されていない。

そこで本研究では、未利用海洋資源の有効活用に結び付けることを目標とし、海洋生物に特有のカロテノイドを中心に血管新生に与える影響を評価した。

2. 実験方法

2.1 試料

供試したカロテノイドの構造をFig.1に示した。リコペン、3-ヒドロキシエキネノン、フェニコキサンチン、アスタキサンチン、カンタキサンチン、 β -クリプトキサンチンは市販の試薬を用いた。フコキサンチンは乾燥ワカメ、エキネノンはムラサキウニ卵巣、9-シス-ネオキサンチンはハウレンソウ、ペクテノロンはホタテ卵巣、アロキサンチン、ハロシンチアキサンチンはホヤの外殻より抽出精製したものをそれぞれ用いた(7)。

2.2 バクテリオルベリンの調製

バクテリオルベリンは高度好塩菌 *Haloccus thailandensis* (JCM 13552) から抽出精製した。専用の培地(乾燥酵母エキス2.0g、カザミノ酸2.0g、L-グルタミン酸ナトリウム1.0g、クエン酸三ナトリウム二水和物3.0g、硫酸マンガン4.9g、塩化カルシウム二水和物1.0g、塩化カリウム1.0g、塩化ナトリウム200.0g、硫化鉄七水和物0.36mg、塩化マンガン四水和物0.36mgに水を加え1Lとした後、オートクレーブ滅菌したもの)を用いて *H. thailandensis* を振盪培養した(37°C、160rpm)。コンフルエントになった後、1400×g、5分間遠心分離し、得られた沈殿5gに対し10N水酸化ナトリウム溶液10mLを加え、室温で一晩放置した。濃塩酸で中和後、2倍量のアセトンとよく混和し、1000×g、10分間遠心分離した。上清を回収し、残った沈殿に対して同様の操作を赤色が抜けるまで繰り返した。得られた抽出液を集め

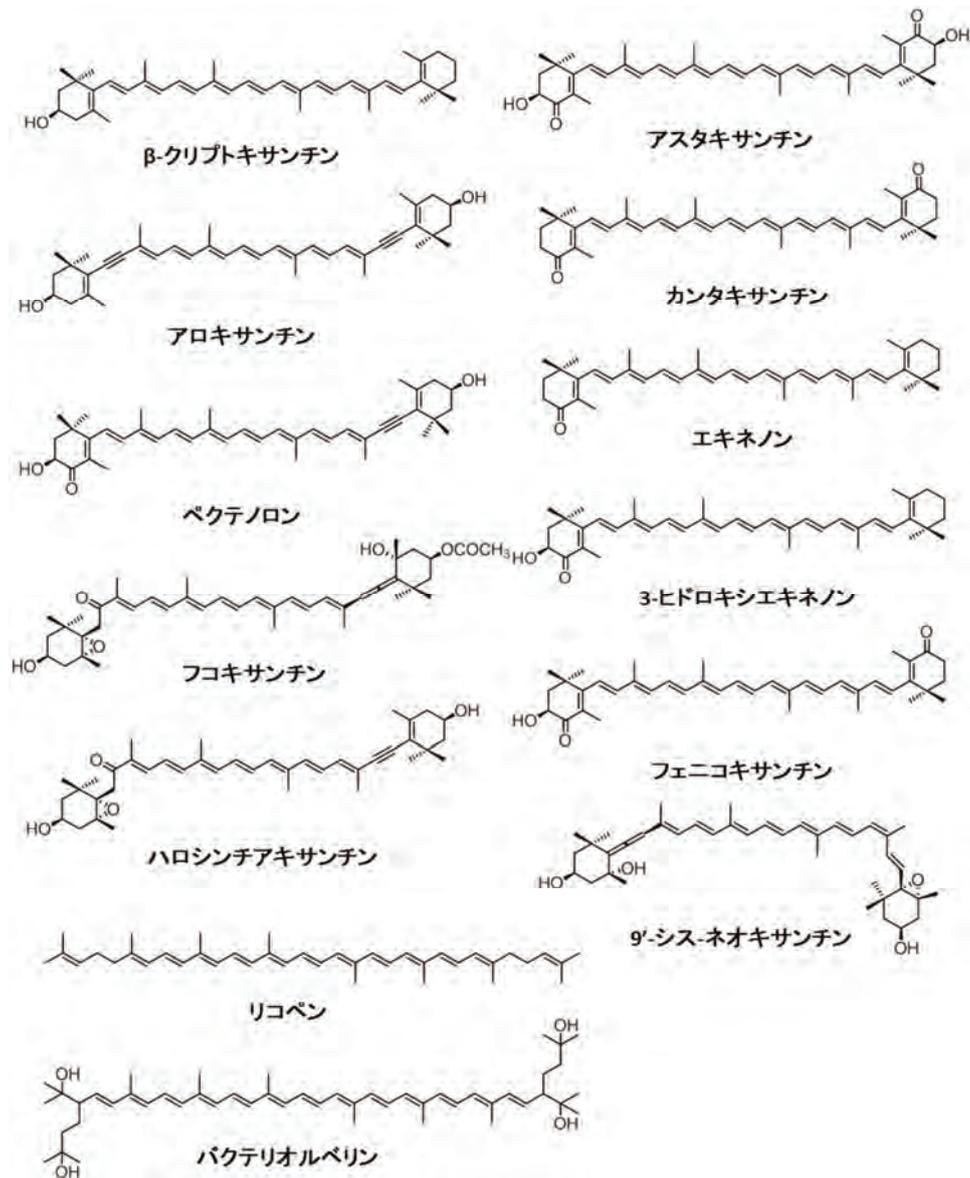


Fig. 1 供試したカロテノイドの化学構造

て、同量のジエチルエーテルと分配した後、上清を回収し、ロータリーエバポレーターを用いて乾固した。得られた抽出物について、分取用TLCプレートに供して、石油エーテル/アセトン=70:30を用いて展開し、赤色のバンドを掻き取った。シリカゲルから抽出して得られた粗カロテノイド画分をHPLCに供し、バクテリオルベリンを精製した(7)。

2.3 血管新生の評価

2%FBS、10ng/mL hEGF、1μg/mLヒドロコチゾン、50μg/mLゲンタマイシン、50ng/mLアンフォテリシンB、5ng/mL hFGF-B、10μg/mLヘパリンを

それぞれ含む血管内皮細胞基礎培地(Humedia EG-2)を用いて、5%CO₂、37℃でヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)を培養した。80%コンフルエントになった後、0.025%トリプシン/0.01%EDTA溶液処理で細胞を剥離し、1.0×10⁵cells/mLに調整して継代培養を行った。

96穴プレートにBDマトリゲル基底膜マトリックス30μLを加え、37℃30分間インキュベートすることで、ウェル底部にマトリゲルをコーティングした。カロテノイドはテトラヒドロフラン(終濃度0.2%)を用いて培地中に溶解した。HUVEC(終濃度1×10⁵cells/mL)とカロテノイド(終濃度5μMまたは10μM)を含む培地100μLをマ

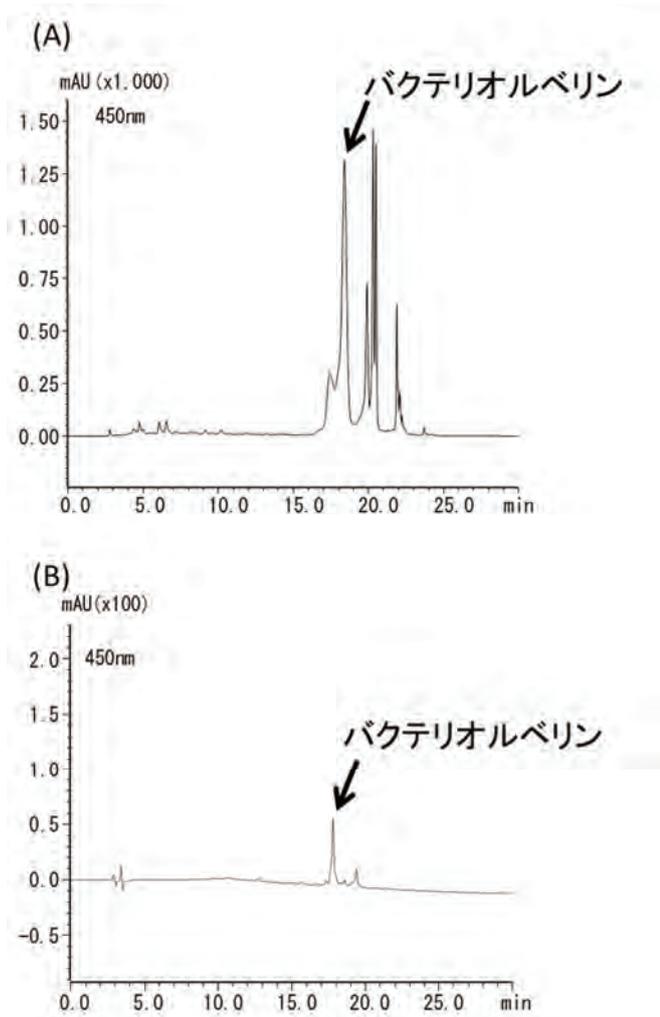


Fig. 2 高度好塩菌由来粗カロテノイド画分 (A)および精製後(B)のHPLCクロマトグラム

トリゲルでコートしたウェルに加えた。12時間培養後、蛍光顕微鏡を用いて写真を撮影し、形成された管腔構造の長さを定量化した。

2.4 細胞増殖の評価

HUVEC懸濁液(1.5×10^4 cells/mL) 100 μ Lを96ウェルプレートに播種した。24時間後、カロテノイドを含む試験培地(5 μ Mまたは10 μ M、テトラヒドロフラン終濃度0.2%)に交換した。12~48時間後、MTT試薬溶液(5 mg/mL in PBS) 20 μ Lを加え、3時間インキュベートした。上清を取り除き、DMSO 100 μ Lを加え、遮光下にて10分間振盪した。570nmと650nmの吸光度を測定し、細胞の生存率を求めた。

2.5 遊走能の評価

HUVEC懸濁液(2×10^5 cells/mL) 1mLを12ウェルプレートに播種し、8時間後、20 μ Lピペットチップを用いて細胞をスクラッチ処理した。カロテノイドを含む試験培地(5 μ M、テトラヒドロフラン終濃度0.2%)に交換し、12~24時間培養した。蛍光顕微鏡にて写真を撮影し、スクラッチ部位に遊走した細胞の割合を定量化した。

3. 結果

3.1 バクテリオルベリンの単離精製

*H. thailandensis*の培養液からバクテリオルベリンを単離精製した。TLCによる分取後の粗カロテノイド画分をHPLCに供したところ、得られたクロマトグラムには様々な夾雑物が確認されたため(Fig. 2A)、保持時間約18分のピークを分取することでバクテリオルベリンを精製した(Fig. 2B)。得られたピークの吸収極大波長は496nmであった(Fig. 3)。

3.2 血管新生の評価

血管新生の評価法として、HUVECの管腔形成に与える影響を調べた。非環式カロテノイドであるリコペン及び高度好塩菌由来バクテリオルベリンはHUVECの管腔形成を有意に促進した。一方、柑橘類に多く含まれる β -クリプトキサンチン、エビヤカニなどの甲殻類やサケなどに含まれるフェニコキサンチンとアスタキサンチンは有意に抑制した。ホタテ由来ペクテノロンやマボヤ由来ハロシンチアキサンチンなどは、管腔形成に影響を与

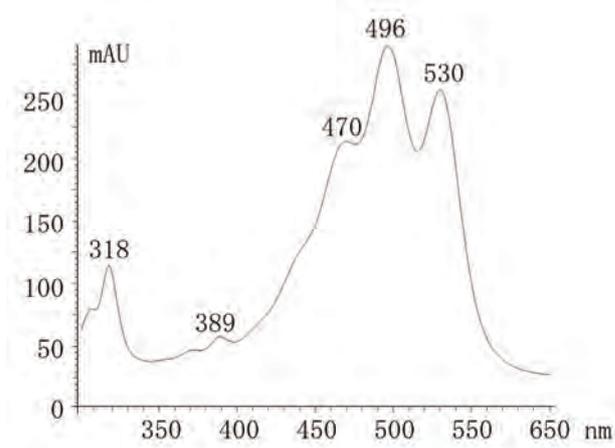


Fig. 3 バクテリオルベリンの吸収スペクトル

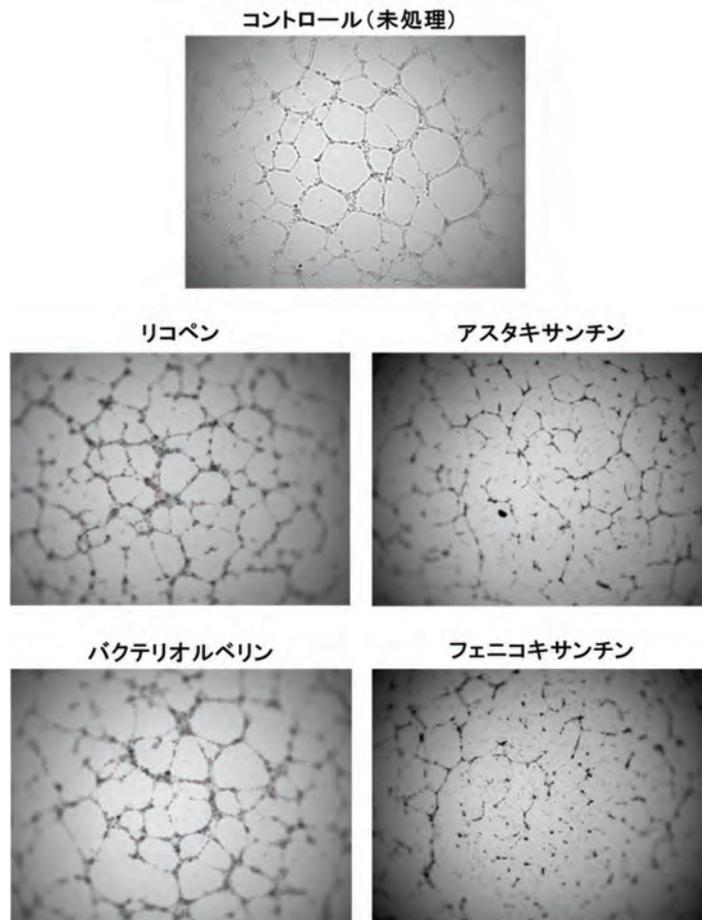


Fig. 4 カロテノイドがHUVECの管腔形成に与える影響 (5 μ M)

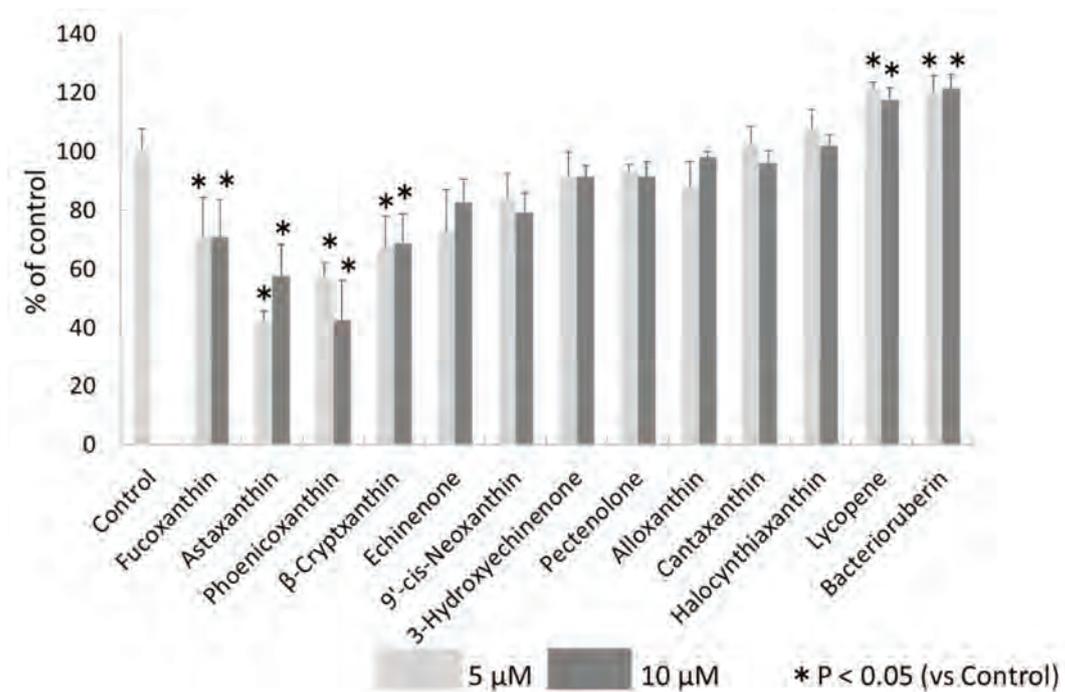


Fig. 5 カロテノイドがHUVECの管腔形成に与える影響

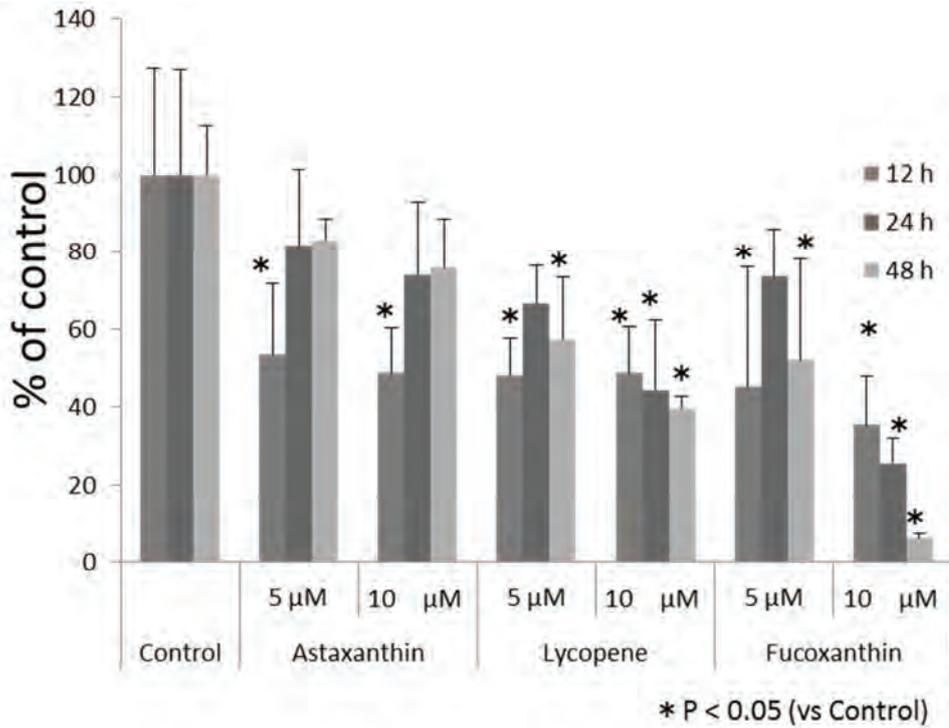


Fig. 6 カロテノイドがHUVECの増殖に与える影響

えなかった (Fig. 4, 5)。

3.3 細胞増殖能の評価

5 μM または 10 μM アスタキサンチンの 12 時間処理によって、コントロールに比べて、50% 程度の有意な抑制

効果を示した。24 時間または 48 時間処理では有意な変化は認められなかった。リコペンは 5 μM または 10 μM で 12 ~ 48 時間処理することにより、有意な細胞増殖抑制効果を示した (Fig. 6)。

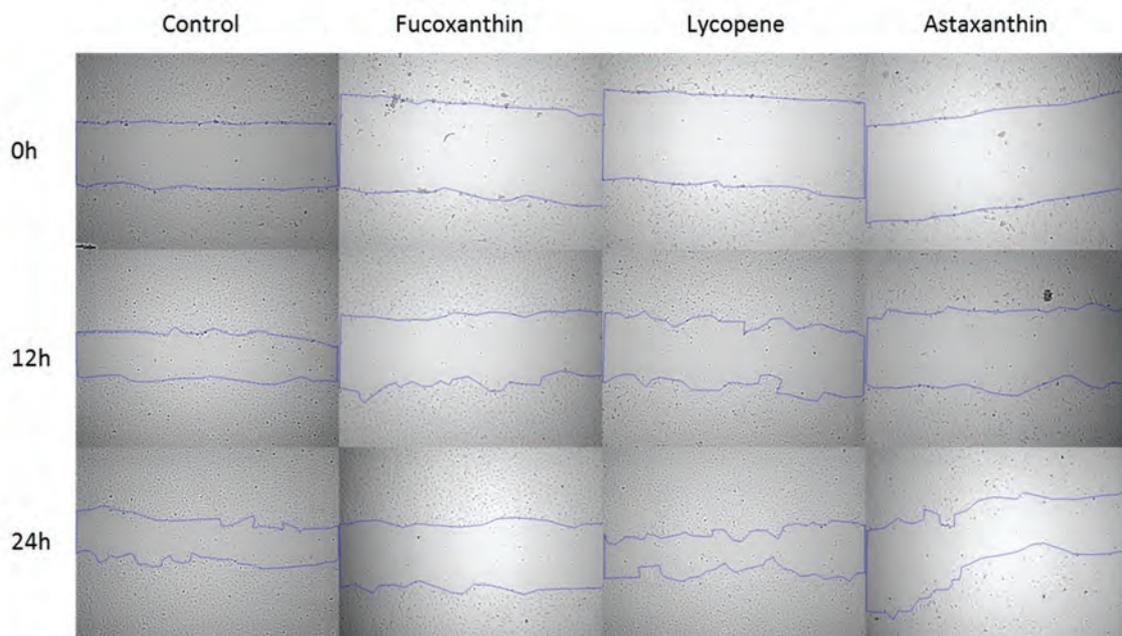


Fig. 7 カロテノイドが遊走に与える影響 (5 μM)

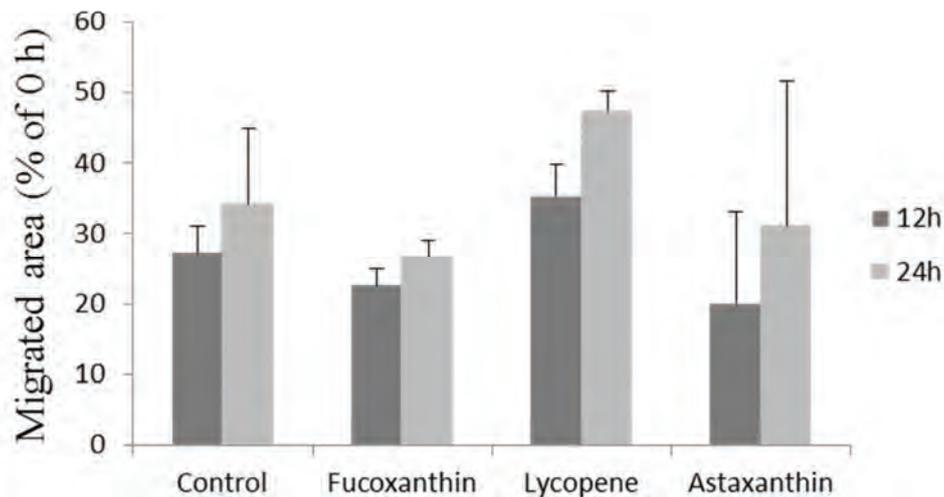


Fig. 8 カロテノイド (5 μ M) がHUVECの遊走に与える影響

3.4 遊走能の評価

リコペンには有意な差は認められなかったものの、12時間または24時間処理で遊走を促進する傾向が認められた。一方、アスタキサンチンは細胞の遊走に影響を与えなかった(Fig. 7)。

4. 考察

リコペンとバクテリオルベリンが血管新生を促進したことから、非環式カロテノイドが血管新生促進作用を示す可能性が考えられた。しかしながら一方で、リコペンの酸化生成物として知られている非環式レチノイドが血管新生を阻害することも報告されている(8)。したがって生体レベルでの作用には、リコペンの酸化変性や代謝動態を理解することが重要と考えられた。リコペンのみならず、高度好塩菌由来バクテリオルベリンも光増感酸化によって生じる一重項酸素に対する防御物質と考えられており、 β -カロテンより強いフリーラジカル消去能が報告されている(10)。活性酸素種は血管新生を抑制することが報告されていることから(11)、活性酸素種を効率的に除去することで、血管新生を促進する可能性も考えられた。

一方、今回血管新生抑制効果を示したフェニコキサンチン、アスタキサンチン、 β -クリプトキサンチンは、すべて3位にヒドロキシ基を有している。しかしながら、同様に3位にヒドロキシ基をもつ9'-シスネオキサンチンや3-ヒドロキシエキネノンには抑制効果は認められず、3位のヒドロキシ基が必須であるか否かは不明であ

る。今回、三重結合をもつハロシンチアキサンチン、ペクテノロン、アロキサンチンは血管新生に対して影響を与えなかった。以上の結果から、カロテノイドの血管新生に対する影響は、少なくともその化学構造に依存することが示された。

アスタキサンチンは血管内皮細胞の増殖に対して抑制作用を示した。VEGF受容体を介して促進される内皮細胞の増殖は、細胞外シグナル調節キナーゼ経路(ERK経路)の活性化を介する(12)。VEGFとの結合によりVEGF受容体はホスホリパーゼC- γ (PLC- γ)を直接活性化し、PLC- γ により小胞体からカルシウムイオンが放出されることで、プロテインキナーゼC(PKC)が活性化され、ERK経路が進行する。また、別の主要な血管新生促進因子であるFGF2もFGF受容体と結合することでERK経路を活性化させる。以前の報告により、フコキサンチンとシフォナキサンチンはFGF2によって促進されるERKのリン酸化を抑制することが見出されおり(6)、アスタキサンチンも同様に、ERKのリン酸化を抑制することで細胞増殖と血管新生を阻害する可能性が考えられた。

一方、リコペンは増殖に対しては抑制作用を示したものの、遊走に対しては促進傾向を示した。細胞の遊走にはインテグリン結合タンパク質として知られるFAKが深く関わっており(12)、VEGF受容体によりFAKが刺激され、AktやERK、P38MAPKなどのリン酸化シグナルが進行することで遊走を促進することが報告されている(13)。リコペンがFAKの活性化を促進することで血

管内皮細胞の遊走を促進し、血管新生を促進することも推測されるため、その確認が必要と考えられた。本研究の結果より、血管新生を促進するカロテノイドとしてバクテリオルベリンとリコペンが初めて見出されたが、他の非環式カロテノイドが血管新生に対して与える影響にも興味もたれる。

5. 謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なご支援を頂きました松籟科学技術振興財団に心より感謝いたします。

参考文献

1. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med.* 1995 1: 27-31.
2. Yano K, Oura H, Detmar M. Targeted overexpression of the angiogenesis inhibitor thrombospondin-1 in the epidermis of transgenic mice prevents ultraviolet-B-induced angiogenesis and cutaneous photo-damage. *J Invest Dermatol.* 2002 118: 800-805.
3. Yano K, Kajiya K, Ishiwata M, Hong YK, Miyakawa T, Detmar M. Ultraviolet B-induced skin angiogenesis is associated with a switch in the balance of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 expression. *J Invest Dermatol.* 2004 122: 201-208.
4. Sugawara T, Matsubara K, Akagi R, Mori M, Hirata T. Antiangiogenic activity of brown algae fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol. *J Agric Food Chem.* 2006 54: 9805-9810.
5. Ganesan P, Matsubara K, Ohkubo T, Tanaka Y, Noda K, Sugawara T, Hirata T. Anti-angiogenic effect of siphonaxanthin from green alga, *Codium fragile*. *Phytomedicine.* 2010 17:1140-1144.
6. Ganesan P, Matsubara K, Sugawara T, Hirata, T. Marine algal carotenoids inhibit angiogenesis by down-regulating the FGF-2-mediated intracellular signals in vascular endothelial cells. *Mol Cell Biochem.* 2013 380: 1-9.
7. Ganesan P, Noda K, Manabe Y, Ohkubo T, Tanaka Y, Maoka T, Sugawara T, Hirata T. Siphonaxanthin, a marine carotenoid from green algae, effectively induces apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. *Biochim Biophys Acta.* 2011 1810: 497-503.
8. Komi Y, Sogabe Y, Ishibashi N, Sato Y, Moriwaki H, Shimokado K, Kojima S. Acyclic retinoid inhibits angiogenesis by suppressing the MAPK pathway. *Lab Invest.* 2010 90: 52-60.
9. Kim SJ, Nara E, Kobayashi H, Terao J, Nagao A. Formation of cleavage products by autoxidation of lycopene. *Lipids.* 2001 36: 191-199.
10. Cantrell A, McGarvey DJ, Truscott TG, Rancan F, Bohm F. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. *Arch Biochem Biophys.* 2003 412: 47-54.
11. Kerr AB, Byzova VT. The dark side of the oxidative force in angiogenesis. *Nat Med.* 2012 18: 1184-1185.
12. Muñoz-Chápulia R, Quesada AR, Ángel Medina M. Angiogenesis and signal transduction in endothelial cells. *Cell Mol Life Sci.* 2004 61: 2224-2243.
13. Abedi H, Zachary I. Vascular endothelial growth factor stimulates tyrosine phosphorylation and recruitment to new focal adhesions of focal adhesion kinase and paxillin in endothelial cells. *J Biol Chem.* 1997 272: 15442-15451.

エピタキシャル薄膜化技術による新しい熱電変換物質の創製

物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点
大久保 勇男

1. はじめに

2009年9月の鳩山元首相の国連でのCO₂ 25%削減発言や、2011年3月の東日本大震災時に発生した福島第一原子力発電所の事故等が引き金となり、未来のエネルギーと人類の文化的生活をどのように確保・両立するかが、課題となっている。再生可能エネルギーの積極的な活用と、社会的リスクの少ない「創エネルギー」の手法の開拓が望まれている。我々の生活において必要不可欠な電気エネルギーを得る「創エネルギー」源として、太陽光発電や燃料電池などに加え、身の回りに存在するさまざまな排熱(廃熱)を利用した発電である「熱電変換」が注目されている。高い変換効率の実現のためには、高い熱電変換特性を示す物質の開発が必要である。物質の熱電変換効率を示す、無次元性能指数 ZT は、

$$ZT = \frac{S^2 \sigma}{K_e + K_l} T \quad (1)$$

で示される[1]。ここで、 Z は性能指数、 T は温度、 S は熱起電力(ゼーベック係数)、 σ は電気伝導度、 K_e と K_l はそれぞれ電子の熱伝導率と格子熱伝導率である。高い無次元性能指数(ZT)を得るためには、大きな熱起電力と電気伝導度、小さな熱伝導率が必要であることがわかる。現在、大きな ZT を示す物質の探索的研究が盛んに行われている。

大きな無次元性能指数を示す物質群の一つに、役割の異なる複数種の原子層・分子層で構成される「層状物質」がある[1, 2]。「層状物質」には、超伝導や顕著なイオン伝導を示す物質も存在し、さまざまな機能を発現する機能性化合物群の一つである。「層状物質」はその構造に起因して、大きな熱起電力の原因となる低次元電子状態やフラットバンドを形成する傾向があり、さらに、結晶構造の大きな異方性と層に平行方向と垂直方向の化学

結合の違いに起因した格子熱伝導率の大きな異方性を発現する傾向がある。この大きな異方性に伴う格子熱伝導率の低減化が期待される。熱電変換物質として研究が活発な層状物質は、酸化物や硫化物、カルコゲナイド化合物などである。我々は、新たな可能性を求めて、これまで開拓されていない「未開拓物質群」に着目し、新しい熱電変換物質の探索を行っている。特に、「未開拓物質群」の一つである「層状金属窒化物」に着目している。

無機化合物の中で、最も多く物質が報告されている金属酸化物は、ほとんどすべての物性を発現する「機能の宝庫」である。この酸化物の主な構成元素である「酸素」よりもやや大きなイオン半径とやや小さな電気陰性度を示す「窒素」を主成分とする金属窒化物は、他の化合物に比べて金属酸化物と類似点が多い一方で、わずかな違いにより生じる相違点も多く存在し、新しい物性・機能の発現や、巨大物性の発現が期待される。しかし、その合成が困難であることから、金属窒化物(特に多成分系金属窒化物と等電荷金属窒化物)の合成と物性・機能開拓は、金属酸化物をはじめとする他の無機化合物に比べて著しく遅れている。そこで我々は、第一原理計算による物性・機能予測と、層状物質の合成手法として多くの利点を備えたエピタキシャル薄膜作製技術を組み合わせ、未開拓物質群である「層状金属窒化物」の新物質開拓を目指している。本研究では、この「層状金属窒化物」の熱電変換特性に着目した。

2. 第一原理計算による層状金属窒化物の熱電変換特性の予測

2-1: d⁰電子系層状金属窒化物の電子状態

第一原理計算による物性・機能予測は、近年その発達が著しく、さまざまな物性・機能の予測が行われている。この物性・機能予測は、合成が困難な「未開拓物

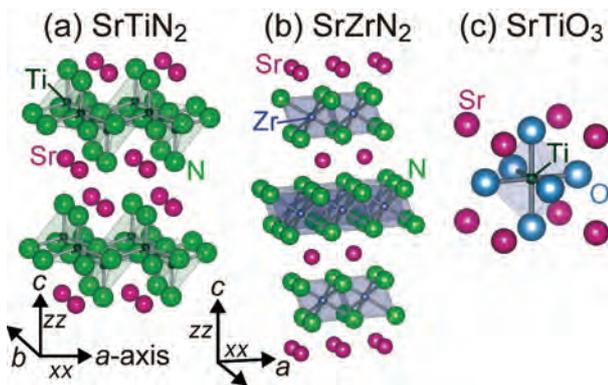


図1：層状金属窒化物と3次元構造ペロブスカイト酸化物の結晶構造。(a)KCoO₂型層状金属窒化物(SrTiN₂, BaZrN₂, BaHfN₂)、(b) α -NaFeO₂型層状金属窒化物(SrZrN₂, SrHfN₂)、(c)3次元構造ペロブスカイト酸化物(SrTiO₃)。

質群」の実験的な研究に対して、大きなモチベーションを与えてくれる。特に、合成候補物質の選定には効果的であると考えられる。本研究では、Mサイトにd電子が0個の遷移金属イオン(d⁰)が占有するKCoO₂型結晶構造の層状金属窒化物AMN₂と、 α -NaFeO₂型のAMN₂(A = Sr²⁺, Ba²⁺, M = Ti⁴⁺(d⁰), Zr⁴⁺(d⁰), Hf⁴⁺(d⁰))に着目した[3-7](図1)。KCoO₂型AMN₂は、5つの窒素原子が配位した遷移金属イオン(M)を含んだMN層と、アルカリ土類金属イオン(A)を含むAN層がc軸方向に積層した層状構造を有する。 α -NaFeO₂型AMN₂は、遷移金属イオン(M)に6つの窒素イオンが配位した8面体が面共有して層を形成しているMN₂層と、アルカリ土類金属イオン(A)層で構成されている。小椎八重・前川らは、Na_xCoO₂(Co³⁺(d⁶)とCo⁴⁺(d⁵)の混合価数状態)等の異なる価数状態の遷移金属イオンを含むイオン性遷移金属化合物でみられる巨大熱起電力を、電子状態の縮重に起因するエントロピーを伴うキャリア移動により説明した[8, 9]。この小椎八重・前川理論は、d⁵-d⁶電子系に加え、キャリアドープしたd⁰電子系においても巨大熱起電力が発現することを示している。実際、d⁰電子系3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃(Ti⁴⁺, d⁰)において、大きな熱起電力が多数報告されており、熱電変換物質として研究が盛んに行われている[10, 11]。このため層状構造を有するd⁰電子系層状金属窒化物は、優れた熱電変換特性を発現することが期待される。この研究では第一原理計算を用いて、熱電変換特性を含むほとんどすべての物性が未解明であるd⁰電子系層状金属窒化

物AMN₂の電子状態と熱電輸送特性を計算し、既知物質である同じd⁰電子系3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃と比較し議論した[12-14]。

電子状態計算は、密度汎関数法を用いた第一原理計算コード・WIEN2k[15]を用いて計算した。電子の交換・相関ポテンシャルには、バンドギャップの値の再現に優れたTB-mBJポテンシャルを用いた[16, 17]。この計算では、結晶構造の入力パラメーターとして、実験により得られた値を使用した[3-7]。計算に用いたK点数は、バンド分散の計算で、1000(SrTiO₃), 100(SrTiN₂, BaZrN₂, BaHfN₂, SrZrN₂, SrHfN₂)、電子輸送特性計算用に、100,000(SrTiO₃), 20,000(SrTiN₂, BaZrN₂, BaHfN₂), 40,000(SrZrN₂, SrHfN₂)を用いた。得られた電子状態の計算結果を使用して、ボルツマン理論を用いた電子輸送係数の計算コード・BoltzTraP[18]を用いて、リジッドバンド近似と緩和時間近似(緩和時間 τ が一定)の条件の下で、電気伝導度(σ/τ)、電子の熱伝導度(K_e/τ)、熱起電力(ゼーベック係数, S)を計算した。

図2に、KCoO₂型層状金属窒化物・SrTiN₂と3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃のバンド構造を示す[12, 13]。SrTiN₂もSrTiO₃同様、半導体で、TB-mBJ交換相関ポテンシャルを用いた計算では、バンドギャップ(E_g)は1.55eVであった。SrTiO₃のバンドギャップの計算値が2.75eVで、実験値の3.2eVに比べて小さいことから、SrTiN₂の本当のバンドギャップは、2eV前後であると推測される。窒化物が酸化物に比べて、バンド

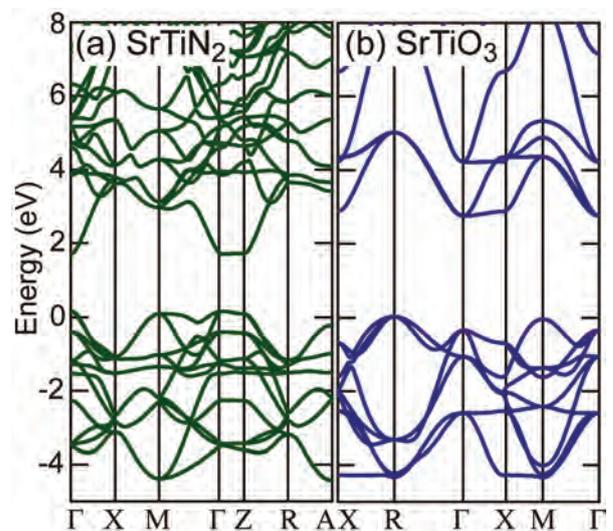


図2：(a)KCoO₂型層状金属窒化物・SrTiN₂と(b)3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃のバンド構造。

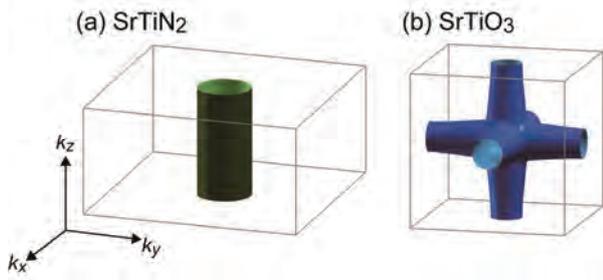


図3：(a) KCoO₂型層状金属窒化物・SrTiN₂と(b)3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃の価電子帯下端の等エネルギー面。

ギャップが小さい傾向にあるのは、酸素に比べてイオン半径が大きく、電気陰性度の小さい窒素イオンが主成分であることに由来している。SrTiO₃の伝導帯下端はTi 3d t_{2g}軌道、価電子帯上端はO 2p軌道で主に構成されている。SrTiN₂も同様に、伝導帯下端はTi 3d_{xy}軌道、価電子帯上端はN 2p軌道で主に構成されている。両者共に、イオン性の絶縁体(半導体)である。SrTiO₃の電子状態が3次元的であるのに対し、SrTiN₂は、層に垂直な方向のバンド分散(Γ-Z方向)が他の方向のバンド分散に比べ小さいことから、2次元性の強い電子状態であることが明らかになった。SrTiO₃は、伝導帯下端付近にフェルミ準位が存在するn型半導体であることがよく知られている[10, 11]。ほとんどのTi⁴⁺を含んだイオン性化合物がn型半導体であることから、SrTiN₂もn型半導体であると考えられる[19]。図3に示すように、伝導帯下端の等エネルギー面(フェルミ面)をプロットすると、SrTiN₂はシリンダー状の等エネルギー面を形成し、2次元性の強い電子状態を形成することが明らかになった。同じKCoO₂型結晶構造のd⁰電子系層状金属窒化物・BaZrN₂とBaHfN₂の電子状態も、2次元性の強い電子状態を示し、SrTiN₂と同様の傾向であった[12, 13]。

一方、α-NaFeO₂型結晶構造のd⁰電子系層状金属窒化物・SrZrN₂の電子状態は、層状構造であるにも関わらず、3次元性であった[14]。図4にSrZrN₂のバンド構造を示す。SrZrN₂とSrHfN₂は、バンドギャップがそれぞれ1.29eVと1.37eVの半導体であることが示された。KCoO₂型d⁰電子系層状金属窒化物・AMN₂のバンドギャップが1.5~1.7eV(SrTiN₂:1.55eV, BaZrN₂:1.59eV, BaHfN₂:1.68eV)であることから、α-NaFeO₂型d⁰電子系層状金属窒化物のバンドギャップは、KCoO₂型AMN₂に

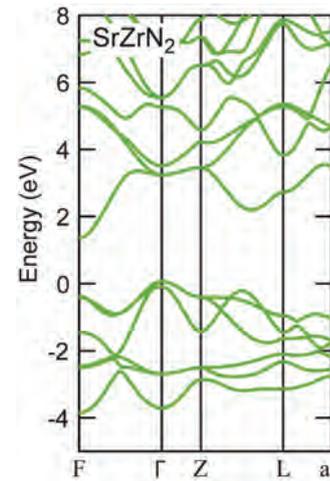


図4：α-NaFeO₂型層状金属窒化物・SrZrN₂のバンド構造。

比べ、やや小さい値を示すことが明らかになった。これは、α-NaFeO₂型AMN₂のM-N原子間距離が、KCoO₂型AMN₂のM-N原子間距離に比べて長いことに起因している。SrZrN₂の価電子帯上端と伝導帯下端は、それぞれΓ点とF点に存在し、3次元的な電子状態を形成している。SrZrN₂の価電子帯上端は、SrTiN₂同様、N 2p軌道により構成されているが、伝導帯下端の構成軌道成分はSrTiN₂とは大きく異なる。SrZrN₂の伝導帯の最低エネルギー準位に存在するバンドの軌道成分を図5に示す。伝導帯下端であるF点において、Zr 4d軌道に加えて、ZrN₂層の層間に存在するSr層のSr 4d軌道の成分も

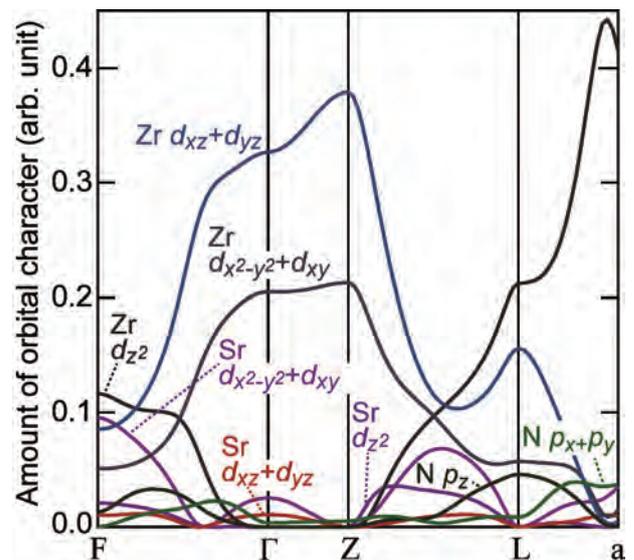


図5：α-NaFeO₂型層状金属窒化物・SrZrN₂の伝導帯最低エネルギー準位のバンドの軌道成分。

色濃く存在し、これが3次元的な電子状態の一因となっている。同じ α - NaFeO_2 型結晶構造の d^0 電子系層状金属窒化物・ SrHfN_2 の電子状態も、3次元的な電子状態を示し、 SrZrN_2 と同様な傾向であった[13, 14]。

2-2 : d^0 電子系層状金属窒化物の熱電輸送特性

密度汎関数法を用いた計算により得られた d^0 電子系層状金属窒化物と3次元構造ペロブスカイト酸化物・ SrTiO_3 の電子状態を使用し、ボルツマン理論を用いて熱電輸送特性を計算した。 KCoO_2 型層状金属窒化物・ SrTiN_2 と3次元構造ペロブスカイト酸化物・ SrTiO_3 の熱電輸送係数の温度依存の計算結果を図6に示す。伝導帯下端付近で電力因子($S^2\sigma/\tau$)が最大になるキャリア濃度(SrTiO_3 $n = 6.7 \times 10^{20} \text{cm}^{-3}$, SrTiN_2 $n = 5.2 \times 10^{19} \text{cm}^{-3}$)を用いて熱電輸送係数を計算した。ボルツマン理論を用いた輸送係数の計算では、化学ポテンシャル(μ)の温度変化は考慮されていない。このため、下記(2)式を用いて、化学ポテンシャルをキャリア濃度の関数として取り入れて、温度変化の影響を導入した[20]。

$$n = \int D_e(E) \frac{1}{e^{(\mu-E)/k_B T} + 1} dE \quad (2)$$

ここで、 n はキャリア濃度、 $D_e(E)$ は電子状態計算で得られる状態密度、 E はエネルギー単位、 k_B はボルツマン定数、 T は温度である。図6・図7の熱電輸送係数の温度変化は、この化学ポテンシャルの温度依存の影響を考慮して計算した結果である。層状金属窒化物・ SrTiN_2 のすべての熱電輸送係数が、層に平行な方向(図1の結晶構造において xx 方向)と層に垂直な方向(zz 方向)の値が大きく異なり、異方性の大きな電子輸送特性が示された。この異方性の大きな電子輸送は、2次元性の強い電子状態に由来している。3次元的な電子状態を示す3次元構造ペロブスカイト酸化物・ SrTiO_3 では、このような異方性は見られない。層状金属窒化物・ SrTiN_2 の層に平行な方向の電気伝導度(σ_{xx})は、層に垂直な方向の電気伝導度(σ_{zz})に比べ、10Kで約7,300倍高い値が得られている($\sigma_{xx}/\sigma_{zz} \sim 7,300$)。層状金属酸化物である銅酸化物超伝導体・ $\text{La}_{2-x}\text{Sr}_x\text{CuO}_4$ や熱電変換物質・ Na_xCoO_2 の σ_{xx}/σ_{zz} は、4Kで約100~200[21-23]であることから、 SrTiN_2 の電気伝導の異方性が非常に大きいことがわかる。面内方向の高い電気伝導は、伝導帯下端を構成するTiN層

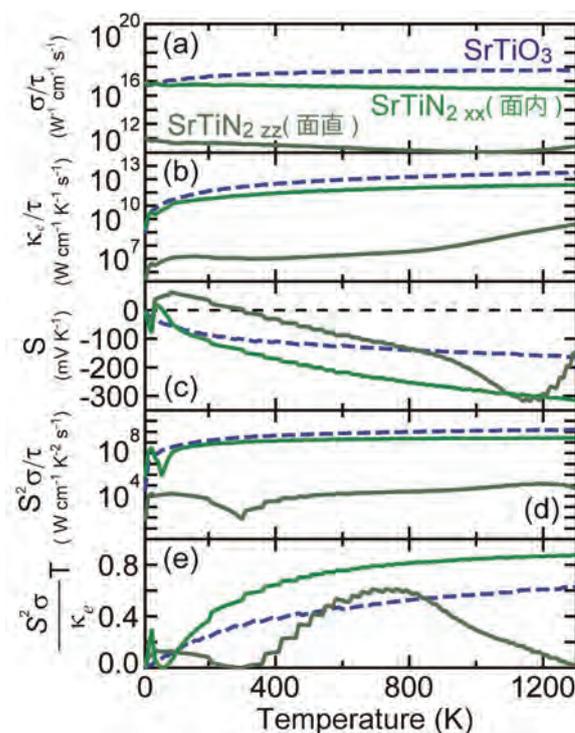


図6 : KCoO_2 型層状金属窒化物・ SrTiN_2 (緑)と3次元構造ペロブスカイト酸化物・ SrTiO_3 (青の破線)の熱電輸送係数の温度依存。(a) 電気伝導度(σ/τ)、(b) 電子の熱伝導率(K_e/τ)、(c) 熱起電力(S)、(d) 電力因子($S^2\sigma/\tau$)、(e) 電子の性能指数($Z_e T$)。

で発現しており、 SrN 層により面直方向の電気伝導がブロックされている。層状金属窒化物・ SrTiN_2 の面内方向の電気伝導度は、3次元構造ペロブスカイト酸化物・ SrTiO_3 よりも低い値が得られた。 SrTiN_2 の伝導帯下端は、ほぼTi $3d_{xy}$ 軌道のみによるシングルバンドで構成されている。 SrTiO_3 の伝導帯下端は、3つ d 軌道が縮退したTi $3d_{t_{2g}}$ 軌道の寄与による2つのバンドで構成されているため、大きな状態密度を形成しており、高い電気伝導度が示されている。一方、2次元的な電子状態が形成されている SrTiN_2 では、大きな面内(xx 方向)の熱起電力が得られており、 SrTiO_3 よりも大きな値であること示されている。電力因子(パワーファクター)は電気伝導率が高い SrTiO_3 の方が SrTiN_2 より大きな値が得られているが、電子の性能指数($Z_e T$)は、 SrTiN_2 が SrTiO_3 に勝っている。このことから、 d^0 電子系層状金属窒化物・ SrTiN_2 が優れた熱電変換物質であることが明らかになった。同じ KCoO_2 型結晶構造の d^0 電子系層状金属窒化物・ BaZrN_2 と BaHfN_2 の熱電輸送特性も、 SrTiN_2 同様、異方性の大きな熱電輸特性を示し、同様の傾向が計算結果として得られた[12, 13]。

α -NaFeO₂型結晶構造のd⁰電子系層状金属窒化物・SrZrN₂の熱電輸送特性は、KCoO₂型結晶構造のSrTiN₂等と大きく異なる結果が得られた。図7にSrZrN₂の熱電輸送係数の温度依存を示す。SrTiN₂とSrTiO₃同様、伝導帯下端付近で電力因子($S^2\sigma/\tau$)が最大になるキャリア濃度(SrZrN₂ $n = 2.3 \times 10^{19} \text{cm}^{-3}$)を用いて熱電輸送係数を計算した。SrTiN₂等のd⁰電子系KCoO₂型層状金属窒化物と異なり、面内方向の熱電輸送係数と面直方向の熱電輸送係数の差がほとんど無い、異方性の無い熱電輸送特性であることが示された。これは、SrZrN₂の3次元的な電子状態に由来している。面内方向の電気伝導はZrN₂層が担っているが、伝導帯下端はZr 4d軌道に加え、ZrN₂層間に存在するSr層のSr 4d軌道の成分も含んでいるため、Sr層を介した面直方向の電気伝導も同時に発生する。このため、異方性の無い電気伝導が示されている。

SrZrN₂の伝導帯下端もSrTiN₂同様、シングルバンドで構成されているため、SrZrN₂の電気伝導は、SrTiO₃よりも低い値を示している。熱起電力は、SrTiO₃よりも大きな値が得られている。電力因子は電気伝導率が高いSrTiO₃の方がSrZrN₂より大きな値が得られている

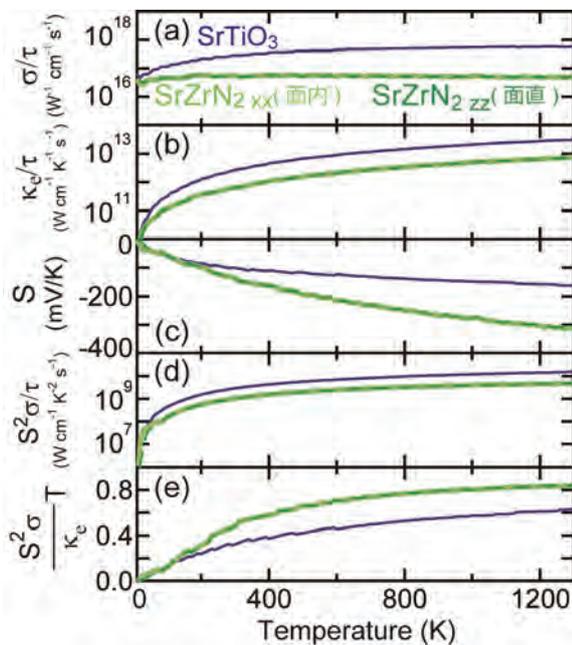


図7： α -NaFeO₂型層状金属窒化物・SrZrN₂(緑)と3次元構造ペロブスカイト酸化物・SrTiO₃(青)の熱電輸送係数の温度依存。(a)電気伝導率(σ/τ)、(b)電子の熱伝導率(K_e/τ)、(c)熱起電力(S)、(d)電力因子($S^2\sigma/\tau$)、(e)電子の性能指数($Z_e T$)。

が、電子の性能指数は、SrZrN₂がSrTiO₃に勝っており、SrZrN₂等の α -NaFeO₂型結晶構造のd⁰電子系層状金属窒化物も、熱電変換物質として有望であると考えられる。同じ α -NaFeO₂型結晶構造のd⁰電子系層状金属窒化物・SrHfN₂の熱電輸送特性も、SrZrN₂と同様な傾向であった[13, 14]。

3. エピタキシャル薄膜化技術を用いた金属窒化物の合成：層状金属窒化物の合成を目指して

本研究で行った第一原理計算の結果は、「未開拓物質群」であるAMN₂層状金属窒化物が、熱電変換物質として有望であることを明確に示している。熱電変換特性以外でも、超伝導体やLiイオン伝導体、太陽電池材料としてもAMN₂層状金属窒化物が有望であることが、これまでに行われた第一原理計算により示されている [24-26]。しかし、冒頭で述べたように、多成分系金属窒化物の合成においては、さまざまな困難が存在する [28-31]。特に、intrinsicな物性の評価を行うためには、不純物や異相を含まない、単相の試料が必要である。AMN₂層状金属窒化物の異相のほとんどは金属的伝導性を示す単純窒化物であり、電子輸送特性評価や磁気特性評価の妨げとなっている。このため、魅力的な物質群であるにも関わらず、AMN₂層状金属窒化物のintrinsicな物性は明らかになっていない。この異相の発生を回避する合成手法として、Homogeneousな反応を用いたエピタキシャル薄膜化手法が有効であることが報告されている [32, 33]。エピタキシャル薄膜合成では、結晶性(単結晶)基板を薄膜結晶成長のテンプレートとして用いるため、異相の発生を抑制できる利点を備えている。これらの論文では、Polymer assisted deposition法を用いて多成分系金属窒化物の単相エピタキシャル薄膜の作製に成功しているが、原料として高分子を使用しているため膜中に多量の不純物が存在し、物質本来の物性評価ができていない。本研究では異相の発生と不純物の混入を避けるため、真空中でのHomogeneousな反応プロセスで結晶成長が進行する分子線エピタキシーを用いて試料の合成を行っている。現在までに、d⁰電子系層状金属窒化物AMN₂の単相エピタキシャル薄膜の合成研究の前段階として、SrTiN₂の構成成分の一つである、TiNエピタキシャル薄膜の合成を行ってきた(図8)。岩塩型結晶構造のTiNのエピタキシャル薄膜の合成のために、同じ結

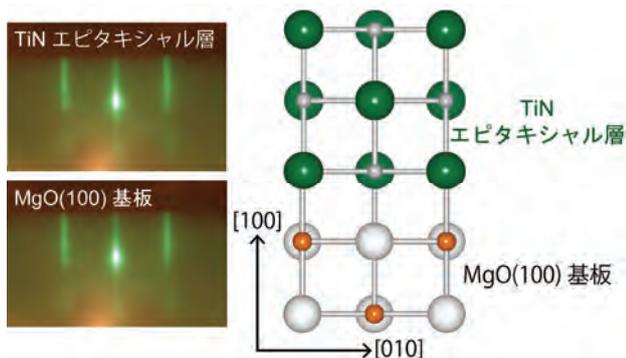


図8：分子線エピタキシー法によるMgO(100)単結晶基板上でのTiNエピタキシャル薄膜合成。左の写真は、薄膜成長中の反射高速電子線回折(RHEED)パターン。左下：MgO(100)基板のRHEEDパターン。左上：TiNエピタキシャル薄膜のRHEEDパターン。右図はTiNとMgOのエピタキシャル関係。

晶構造で、格子不整合の小さい(0.1 %程度)MgO(100)単結晶基板を使用した。超高真空中でMgO(100)基板を1000℃で加熱することで、ストリークな反射高速電子線回折(RHEED)パターンが得られ、原子レベルで平坦な清浄表面であることが確認されている。TiN成長中は、終始、基板であるMgOと同じストリークなRHEEDパターンが確認され、TiNの良好なエピタキシャル薄膜の形成が確認された。今後は、装置を多成分系金属窒化物に対応するように改良し、第一原理計算により優れた熱電輸送特性の発現が予測された $AMN_2 \cdot d^0$ 電子系層状金属窒化物の単相エピタキシャル薄膜の合成を目指す。

4. まとめと今後の展望

本研究では、「未開拓物質群」の物性・機能の開拓(特に熱電変換特性)を最終目的とした、第一原理計算による物性・機能予測と、エピタキシャル薄膜合成を組み合わせ合わせた研究について報告した。既知物質の形状やサイズ、組成を工夫し特性の向上をめざす研究ではなく、化学や物質・材料研究の進展が目覚ましい現在においても、数多く存在する「未開拓物質群」や「未合成・未知物質」の合成と物性・機能開拓の研究は、チャレンジングではあるが、新しい物性・機能の発現や、巨大物性の実現が期待できる研究である。このような研究は、合成等々において、多くの困難が存在する。本研究で紹介した第一原理計算を用いた物性・機能予測は、合成候補物質のスクリーニングと選定に威力を発揮し、また、エピタキシャル薄膜合成などの新しい合成技術を用いること

で、その困難を克服することが可能であると考え。今後は、さらに研究を進め、 $AMN_2 \cdot d^0$ 電子系層状金属窒化物の合成と熱電変換特性等の物性・機能開拓を目指す。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、ご支援を賜りました公益財団法人 松籟科学技術振興財団に心より御礼申し上げます。

【発表論文】

1. **I. Ohkubo** and T. Mori, "Origin of projected excellent thermoelectric transport properties in d^0 -electron AMN_2 (A = Sr or Ba; M = Ti, Zr, Hf) layered complex metal nitrides" *European Journal of Inorganic Chemistry in press*.
2. **I. Ohkubo** and T. Mori, "Three-dimensionality of electronic structures and thermoelectric transport in $SrZrN_2$ and $SrHfN_2$ layered complex metal nitrides" *Inorganic Chemistry* **53**, 8979–8984 (2014).
3. **I. Ohkubo** and T. Mori, "Two-dimensional layered complex nitrides AMN_2 as a new class of thermoelectric materials" *Chemistry of Materials* **26**, 2532–2536 (2014).

【参考文献】

- [1] 例えば、日本セラミック協会・日本熱電学会 編, 熱電変換材料 日刊工業新聞社, 2005.
- [2] K. Koumoto, T. Mori, *Thermoelectric Nanomaterials*; Springer: New York, 2013.
- [3] D. H. Gregory, M. G. Barker, P. P. Edwards, and D. J. Siddons, "Synthesis and Structure of the New Ternary Nitride $SrTiN_2$ " *Inorg. Chem.* **37**, 3775–3778 (1998)
- [4] G. Farault, R. Gautier, C. F. Baker, A. Bowman, and D. H. Gregory, "Crystal Chemistry and Electronic Structure of the Metallic Ternary Nitride, $SrTiN_2$ " *Chem. Mater.* **15**, 3922–3929 (2003).
- [5] O. Seeger, M. Hofmann, J. Striuhle, J. P. Lava, B. Frit, "Synthesis and Structure of $Ba[ZrN_2]$ and

- [Ba₂NbN₃]" *Z. Anorg. Allg. Chem.* **620**, 2008–2013 (1994).
- [6] D. H. Gregory, M. G. Barker, P. P. Edwards, M. Slaski, D. J. Siddons, "Synthesis, Structure, and Magnetic Properties of the New Ternary Nitride BaHfN₂ and of the BaHf_{1-x}Zr_xN₂ Solid Solution" *J. Solid State Chem.* **137**, 62–70 (1998).
- [7] D. H. Gregory, M. G. Barker, P. P. Edwards, D. J. Siddons, "Synthesis and Structure of Two New Layered Ternary Nitrides, SrZrN₂ and SrHfN₂" *Inorg. Chem.* **35**, 7608–7613 (1996).
- [8] W. Koshibae, K. Tsutsui, S. Maekawa, "Thermopower in Cobalt Oxides" *Phys. Rev. B* **62**, 6869–6872 (2000).
- [9] W. Koshibae, S. Maekawa, "Effects of Spin and Orbital Degeneracy on the Thermopower of Strongly Correlated Systems" *Phys. Rev. Lett.* **87**, 236603 (2001).
- [10] T. Okuda, K. Nakanishi, S. Miyasaka, Y. Tokura, "Large Thermoelectric Response of Metallic Perovskites: Sr_{1-x}La_xTiO₃ (0 ≤ x ≤ 0.1)" *Phys. Rev. B* **63**, 113104 (2001).
- [11] S. Ohta, T. Nomura, H. Ohta, K. Koumoto, "High-Temperature Carrier Transport and Thermoelectric Properties of Heavily La- or Nb-Doped SrTiO₃ Single Crystals" *J. Appl. Phys.* **97**, 034106 (2005).
- [12] I. Ohkubo and T. Mori, "Two-dimensional layered complex nitrides AMN₂ as a new class of thermoelectric materials" *Chem. Mater.* **26**, 2532–2536 (2014)
- [13] I. Ohkubo and T. Mori, "Origin of projected excellent thermoelectric transport properties in d⁰-electron AMN₂ (A = Sr or Ba; M = Ti, Zr, Hf) layered complex metal nitrides" *Eur. J. Inorg. Chem.* *in press*.
- [14] I. Ohkubo and T. Mori, "Three-dimensionality of electronic structures and thermoelectric transport in SrZrN₂ and SrHfN₂ layered complex metal nitrides" *Inorg. Chem.* **53**, 8979–8984 (2014).
- [15] P. Blaha, K. Schwarz, G. Madsen, D. Kvasicka, J. Luitz, *WIEN2k, An Augmented Plane Wave + Local Orbitals Program for Calculating Crystal Properties*; TU Vienna: Vienna, Austria, 2001.
- [16] F. Tran, P. Blaha, "Accurate Band Gaps of Semiconductors and Insulators with a Semilocal Exchange-Correlation Potential" *Phys. Rev. Lett.* **102**, 226401 (2009).
- [17] D. Koller, F. Tran, P. Blaha, "Merits and Limits of the Modified Becke-Johnson Exchange Potential" *Phys. Rev. B* **83**, 195134 (2011).
- [18] G. K. H. Madsen, D. J. Singh, "BoltzTraP. A Code for Calculating Band-Structure Dependent Quantities" *Comput. Phys. Commun.* **175**, 67–71 (2006).
- [19] J. Robertson, "Band Offsets of Wide-Band-Gap Oxides and Implications for Future Electronic Devices" *J. Vac. Sci. Technol. B* **18**, 1785–1791 (2000).
- [20] G. Grosso, G. P. Parravicini, *Solid State Physics*, Second Edition Academic Press: Waltham, MA, 2013.
- [21] Y. Nakamura, S. Uchida, "Anisotropic Transport Properties of Single-Crystal La_{2-x}Sr_xCuO₄: Evidence for the Dimensional Crossover" *Phys. Rev. B* **47**, 8369–8372 (1993).
- [22] I. Terasaki, Y. Sasago, K. Uchinokura, "Large Thermoelectric Power in NaCo₂O₄ Single Crystals" *Phys. Rev. B* **56**, R12685–R12687 (1997).
- [23] K. Sugiura, H. Ohta, S. Nakagawa, R. Huang, Y. Ikuhara, K. Nomura, H. Hosono, K. Koumoto, "Anisotropic Carrier Transport Properties in Layered Cobaltate Epitaxial Films Grown by Reactive Solid-Phase Epitaxy" *Appl. Phys. Lett.* **94**, 152105 (2009).
- [24] A. Kaur, E. R. Ylvisaker, Y. Li, G. Galli, and W. E. Pickett, "First-Principles Study of Electronic and Vibrational Properties of BaHfN₂" *Phys. Rev. B* **82**, 155125 (2010).
- [25] S. H. Elder, L. H. Doerr, F. J. DiSalvo, J. B. Parise, D. Guyomard and J. M. Tarascon, "LiMoN₂: The First Metallic Layered Nitride" *Chem. Mater.*

- 4**, 928–937 (1992).
- [26] M. Yang, A. Zakutayev, J. Vidal, X. Hang, D. S. Ginley, F. J. DiSalvo, "Strong Optical Absorption in CuTaN₂ Nitride Delafossite" *Energy Environ. Sci.* **6**, 2994–2999 (2013).
- [27] A. Zakutayev, A.J. Allen, X. Zhang, J. Vidal, Z. Cui, S. Lany, M. Yang, F. J. DiSalvo, D. S. Ginley, "Experimental Synthesis and Properties of Metastable CuNbN₂ and Theoretical Extension to Other Ternary Copper Nitrides" *Chem. Mater.* **26**, 4970–4977 (2014).
- [28] R. Niewa and H. Jacobs, "Group V and VI Alkali Nitridometalates: A Growing Class of Compounds with Structures Related to Silicate Chemistry" *Chem. Rev.* **96**, 2053–2062 (1996).
- [29] R. Niewa and F. J. DiSalvo, "Recent Developments in Nitride Chemistry" *Chem. Mater.* **10**, 2733–2752 (1998).
- [30] D. H. Gregory, "Structural Families in Nitride Chemistry" *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 259–270 (1999).
- [31] D. H. Gregory, "Nitride Chemistry of the S-Block Elements" *Coord. Chem. Rev.* **215**, 301–345 (2001).
- [32] H. Luo, H. Wang, Z. Bi, D. M. Feldmann, Y. Wang, A. K. Burrell, T. M. McCleskey, E. Bauer, M. E. Hawley, Q. Jia, "Epitaxial Ternary Nitride Thin Films Prepared by a Chemical Solution Method" *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 15224–15225 (2008).
- [33] (a) H. Luo, H. Wang, Z. Bi, G. Zou, T. M. McCleskey, A. K. Burrell, E. Bauer, M. E. Hawley, Y. Wang, Q. Jia, "Highly Conductive Films of Layered Ternary Transition-Metal Nitrides" *Angew. Chem.* **121**, 1518–1521 (2009). (b) H. Luo, H. Wang, Z. Bi, G. Zou, T. M. McCleskey, A. K. Burrell, E. Bauer, M. E. Hawley, Y. Wang, Q. Jia, "Highly Conductive Films of Layered Ternary Transition-Metal Nitrides" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **48**, 1490–1493 (2009).

Dye-sensitized solar cells based on a functionally separated D- π -A fluorescent dye with an aldehyde as an electron-accepting group

Yousuke Ooyama, Yuta Hagiwara, Yuichiro Oda, Tomonobu Mizumo,
Yutaka Harima and Joji Ohshita

Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Hiroshima University

Abstract

As a new class of D- π -A dye sensitizer for dye-sensitized solar cells (DSSCs), we have designed and synthesized the functionally separated D- π -A fluorescent dye **YJY-1** with an aldehyde as an electron-accepting group and a carboxyl group as an anchoring group. Furthermore, not only to evaluate the usefulness of D- π -A dye sensitizers functionally separated into an electron acceptor moiety and an anchoring group, but also to gain insight into the influences of interaction between the aldehyde of the dyes and the TiO₂ surface on the photovoltaic performances of DSSCs, the D- π -A fluorescent dye **YJY-2** with an aldehyde as an electron-accepting group, but without a carboxyl group, was also synthesized. It was found that the functionally separated D- π -A dye **YJY-1** exhibits not only high adsorption ability onto TiO₂ film through the carboxyl group, but also efficient electron injection from the dye into the CB of TiO₂ through the aldehyde which is located close to the TiO₂ surface. This work demonstrates that the functionally separated D- π -A dyes would be expected to be one of the most promising classes of organic dye sensitizers for DSSCs.

Introduction

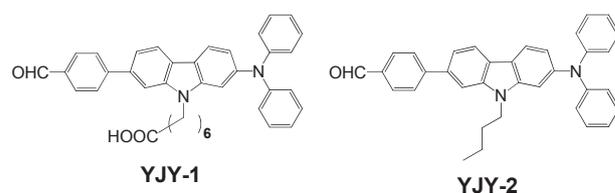
Dye-sensitized solar cells (DSSCs) based on dye sensitizers adsorbed on nanocrystalline TiO₂ electrodes are of considerable practical concern because of their colorful and decorative nature and low cost of production.¹⁻⁸ To develop high-performance DSSCs, it is essential to create efficient dye sensitizers. Among dye sensitizers used so far in DSSCs, donor-acceptor π -conjugated (D- π -A) dyes possessing both electron-donating (D) and -accepting (A) groups linked by π -conjugated bridges, displaying broad and intense absorption spectral features, would be especially expected to be one of the most promising classes of organic dye sensitizers that meet the above requirements.³⁻⁸ Most of the D- π -A dye sensitizers have the carboxylic acid, cyanoacrylic acid or

rhodanine-3-acetic acid moiety which acts as an electron acceptor as well as an anchoring group for attachment on a TiO₂ surface. The carboxyl group enables a good electron communication between the dye and TiO₂ by forming a strong bidentate bridging linkage with Brønsted acid sites (surface-bound hydroxyl groups, Ti-OH) on the TiO₂ surface.

Recently, to seek more effective D- π -A dye sensitizers, the nitro group,⁹ aldehyde,¹⁰ and 2-(1,1-dicyanomethylene)rhodanine,¹¹ pyridine,¹²⁻¹⁴ and 8-hydroxylquinoline¹⁵ have been used as electron-withdrawing anchoring groups. It was reported that these new types of D- π -A dye sensitizers can inject electrons efficiently from the dyes into the conduction band (CB) of TiO₂, compared to conventional D- π -A dye sensitizers with carboxyl groups. These

anchoring groups can form coordinate bonding or bidentate bridging linkage with TiO_2 . However, when these new types of D- π -A dyes with strong electron acceptors such as the nitro group, aldehyde, and 2-(1,1-dicyanomethylene)rhodanine are adsorbed on TiO_2 film, the absorption peak wavelengths of the dyes adsorbed on the TiO_2 surface are blue-shifted compared with that in solution, resulting in a reduction of the lightharvesting efficiency (LHE). The blue-shift of the absorption peak wavelength may be attributed to changes in C=O or NO_2 stretching mode for the anchoring group adsorbed on the TiO_2 surface.⁹⁻¹¹ Recently, Sun *et al.* developed the functionally separated D- π -A dye sensitizer with a nitro group as an electron-accepting group and a carboxyl group as an anchoring group. They demonstrated the effects of the interaction between the nitro group of the dye and the TiO_2 surface on the photovoltaic performances and UV-Vis absorption properties.⁹ On the other hand, we have reported the photovoltaic performances of DSSCs based on functionally separated D- π -A fluorescent dyes with a cyano group as the electron-accepting group and a carboxyl group as the anchoring group.¹⁶ However, for the D- π -A dye sensitizers with an aldehyde as an electron acceptor, there is little knowledge about not only the binding modes of the aldehyde on the TiO_2 surface but also the influences of the binding modes on the photovoltaic performances of DSSCs.¹⁰

In this work, to gain insight into the influences of interaction between the aldehyde of the dyes and the TiO_2 surface on the photovoltaic performances of DSSCs, functionally separated D- π -A fluorescent dye **YJY-1** with an aldehyde as the electron-accepting group and a carboxyl group as the anchoring group has been developed and its photovoltaic performances in dye-sensitized DSSCs were investigated (Scheme 1; see ESI† for the detailed synthetic procedures). Furthermore, in order to evaluate the usefulness of D- π -A dye sensitizers functionally separated into an electron acceptor moiety and an anchoring group, the D- π -A fluorescent dye **YJY-2** with an aldehyde as the



Scheme 1. Chemical structures of dye sensitizers **YJY-1** and **YJY-2**.

electron-accepting group, but without a carboxyl group, was also synthesized. Here we reveal the influences of interaction between the aldehyde of the dyes and the TiO_2 surface on the photovoltaic performances of **YJY-1** and **YJY-2**, and demonstrate that the functionally separated D- π -A dye **YJY-1** exhibits not only high adsorption ability onto TiO_2 film, but also efficient electron injection from the dye into the CB of TiO_2 , compared to the dye **YJY-2**.

Results and discussion

Optical properties of YJY-1 and YJY-2

The absorption and fluorescence spectra of **YJY-1** and **YJY-2** in 1,4-dioxane are shown in Fig. 1a and their spectral data are summarized in Table 1. The two dyes show a strong absorption band at 384 nm, which is assigned to the intramolecular charge-transfer (ICT) excitation from the electron donor moiety (diphenylamino group) to the electron acceptor moiety (aldehyde). The corresponding fluorescence maxima ($\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$) for the two dyes occur at around 475 nm, and the fluorescence quantum yields (Φ_{fl}) of **YJY-1** and

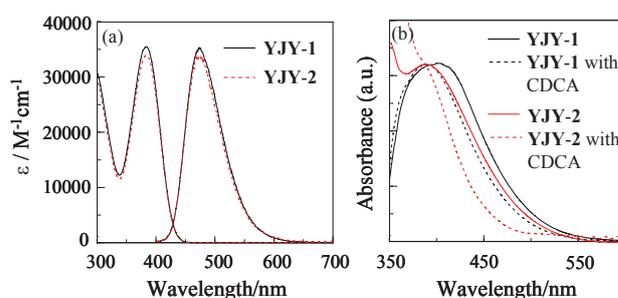


Fig. 1 (a) Absorption and fluorescence spectra of **YJY-1** and **YJY-2** ($\lambda_{\text{ex}}=384\text{nm}$) in 1,4-dioxane and (b) absorption spectra of **YJY-1** and **YJY-2** adsorbed on TiO_2 film ($9\ \mu\text{m}$) with and without CDCA as a coadsorbent.

Table 1. Optical and electrochemical data, HOMO and LUMO energy levels, and DSSC performance parameters of **YJY-1** and **YJY-2**

Dye	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ^a	$\lambda_{\max}^{\text{fl}}/\text{nm}$ (Φ_{f}) ^b	$E_{1/2}^{\text{ox}}/\text{V}$ ^c	HOMO/V ^d	LUMO/V ^d	Molecules cm^{-2e}	$J_{\text{sc}}/\text{mA cm}^{-2f}$	$V_{\text{oc}}/\text{mV}^f$	ff^f	η (%) ^f
YJY-1	384 (35500)	474 (0.89)	0.40	1.03	-1.86	1.3×10^{17}	7.56	597	0.65	2.95
YJY-2	384 (33900)	473 (0.84)	0.40	1.03	-1.86	1.6×10^{16}	2.78	587	0.67	1.09
YJY-2	384 (33900)	473 (0.84)	0.40	1.03	-1.86	1.6×10^{16}	0.40	391	0.61	0.09

^a In 1,4-dioxane. Fluorescence quantum yields (Φ_{f}) were determined by using a calibrated integrating sphere system ($\lambda_{\text{ex}} = 384 \text{ nm}$ for both **YJY-1** and **YJY-2**). ^b In 1,4-dioxane. Fluorescence quantum yields (Φ_{f}) were determined by using a calibrated integrating sphere system ($\lambda_{\text{ex}} = 384 \text{ nm}$ for both **YJY-1** and **YJY-2**). ^c Half-wave potentials for oxidation ($E_{1/2}^{\text{ox}}$) vs. Fc/Fc⁺ were recorded in acetonitrile/ Bu_4NClO_4 (0.1M) solution. ^d vs. Normal hydrogen electrode (NHE). ^e The adsorption amount per unit area of TiO_2 film was controlled by the immersion time of the TiO_2 electrode in the dye solution. ^f Under a simulated solar light (AM 1.5, 100 mW cm^{-2}).

YJY-2 are 0.89 and 0.84, respectively. Accordingly, the absorption and fluorescence spectra of **YJY-1** and **YJY-2** resemble each other very closely, showing that the effect of *N*-alkylation of the carbazole ring on the photophysical properties is negligible.

The optical properties of **YJY-1** and **YJY-2** were analyzed using semi-empirical molecular orbital (MO) calculations. The molecular structures were optimized by using the MOPAC/AM1 method, and then the INDO/S method. The MO calculations indicate that the longest excitation bands are mainly attributable to the transition from the HOMO to the LUMO, where for both **YJY-1** and **YJY-2** the HOMOs are mostly localized on the (diphenylamino)-carbazole moiety, and the LUMOs are mostly localized on the benzaldehyde moiety (Fig. 2a and b). The changes in the calculated

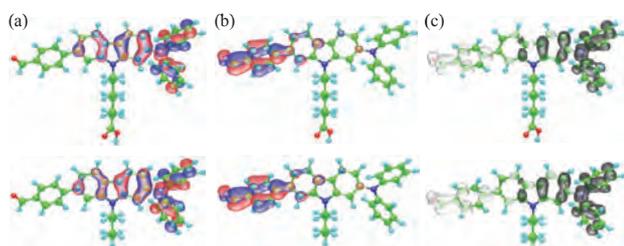


Fig. 2 (a) HOMO and (b) LUMO of **YJY-1** (above) and **YJY-2** (below). The red and blue lobes denote the positive and negative phases, respectively, of the coefficients of the MOs. The size of each lobe is proportional to the MO coefficient. (c) Calculated electron density changes accompanying the first electronic excitation of **YJY-1** (above) and **YJY-2** (below). The black and white lobes signify the decrease and increase in electron density accompanying the electronic transition, respectively. Their areas indicate the magnitude of the electron density change. (Light blue, green, blue, and red balls correspond to hydrogen, carbon, nitrogen, and oxygen atoms, respectively.)

electron density accompanied by the first electron excitations for the two dyes reveal a strong ICT nature from the (diphenylamino)-carbazole moiety to the benzaldehyde moiety upon photoexcitation (Fig. 2c).

The absorption spectra of the dyes adsorbed on TiO_2 film are shown in Fig. 1b. The absorption peak wavelengths of **YJY-1** and **YJY-2** are red-shifted by 10nm and 26nm, respectively, compared with those in 1,4-dioxane. When chenodeoxycholic acid (CDCA) was employed as a coadsorbent to prevent dye aggregation on the TiO_2 surface, the absorption peak wavelengths of both **YJY-1** and **YJY-2** are similar to those in 1,4-dioxane.

Electrochemical properties of **YJY-1** and **YJY-2**

The electrochemical properties of **YJY-1** and **YJY-2** were determined by cyclic voltammetry (CV) in acetonitrile containing 0.1M tetrabutylammonium perchlorate (Bu_4NClO_4). The potentials were referenced to ferrocene/ferrocenium (Fc/Fc^+) as the internal reference. The CV curves of **YJY-1** and **YJY-2** are shown in Fig. 3. The electrochemical properties of the two dyes are summarized in Table 1. The reversible oxidation peaks for both **YJY-1** and **YJY-2** were observed at 0.44V vs. ferrocene/ferrocenium (Fc/Fc^+). The corresponding reduction peak for both **YJY-1** and **YJY-2** appeared at 0.37V, thus showing that the oxidized states of the two dyes are stable. The HOMO energy levels of the two dyes were evaluated from the half-wave potential for oxidation ($E_{1/2}^{\text{ox}} = 0.40\text{V}$, Table 1). The HOMO energy level for the two dyes was 1.03V vs. the normal hydrogen electrode (NHE),

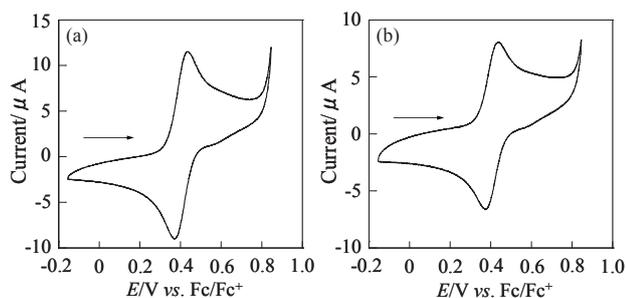


Fig. 3 Cyclic voltammograms of (a) **YJY-1** and (b) **YJY-2** in acetonitrile containing 0.1 M Bu_4NClO_4 at a scan rate of 100 mV s^{-1} . The arrow denotes the direction of the potential scan.

thus indicating that the HOMO energy levels are more positive than the I_3^-/I^- redox potential (0.4V). This assures efficient regeneration of the oxidized dyes by electron transfer from the I_3^-/I^- redox couple in the electrolyte. The LUMO energy levels of the two dyes were estimated from the $E_{1/2}^{\text{ox}}$ and an intersection of absorption and fluorescence spectra (429nm; 2.89eV). The LUMO energy level for the two dyes was -1.86V. Evidently, the LUMO energy level is higher than the energy level of the CB of TiO_2 (-0.5V), suggesting that electron injection into the CB of TiO_2 is thermodynamically feasible.

FTIR spectra of **YJY-1** and **YJY-2**

To elucidate the adsorption states of dyes **YJY-1** and **YJY-2** on TiO_2 nanoparticles, we measured the FTIR spectra of the dye powders and the dyes adsorbed on TiO_2 nanoparticles (Fig. 4). For the powders of the two dyes, the C=O stretching band of the aldehyde was observed at 1698 cm^{-1} for **YJY-1** and 1694 cm^{-1} for **YJY-2**, respectively. In addition, the C-H stretching bands of the aldehyde were observed at around 2810 cm^{-1} and 2715 cm^{-1} (Fig. 5). For the powders of the dye **YJY-1**, the C=O stretching band of the carboxyl group was also observed at 1715 cm^{-1} . When the dye **YJY-1** was adsorbed on the TiO_2 surface, the C=O stretching bands of the carboxyl group disappeared completely; this indicates the formation of bidentate bridging linkage between the carboxyl group of the dye and

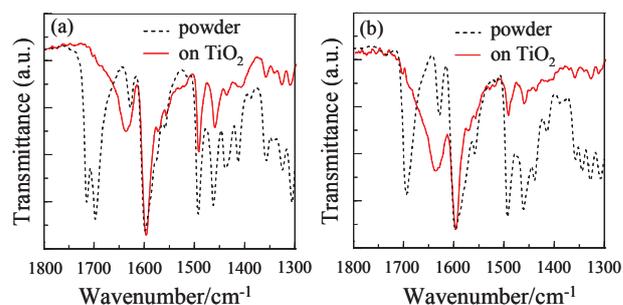


Fig. 4 FTIR spectra ($1300\text{--}1800 \text{ cm}^{-1}$) of the dye powders and dyes adsorbed on TiO_2 nanoparticles for (a) **YJY-1** and (b) **YJY-2**.

the Brønsted acid site on the TiO_2 surface. Moreover, for both the dyes **YJY-1** and **YJY-2**, the FTIR spectra of the dyes adsorbed on TiO_2 nanoparticles show that both the C=O and C-H stretching bands of the aldehyde disappeared completely (Fig. 5) and a new and broad band appeared at around 1640 cm^{-1} (Fig. 4); this indicates the formation of acetal-like bidentate bridging linkage (Ti-O-CH-O-Ti) between the aldehyde group of the dye and Brønsted acid site on the TiO_2 surface. Interestingly, the new band at around 1640 cm^{-1} for **YJY-2** is stronger than that of **YJY-1**. This observation may suggest the presence of aldehyde hydrogen-bonded (the formation of $\text{CHO}\cdots\text{HO-Ti}$ interaction) to the Brønsted acid sites on the TiO_2 surface. Thus, this result indicates that the dye **YJY-1** adsorbed on the TiO_2 surface through both the types of bidentate bridging linkages at Brønsted acid sites on the TiO_2 surface, whereas the dye **YJY-2** predominantly adsorbed on the TiO_2 surface through

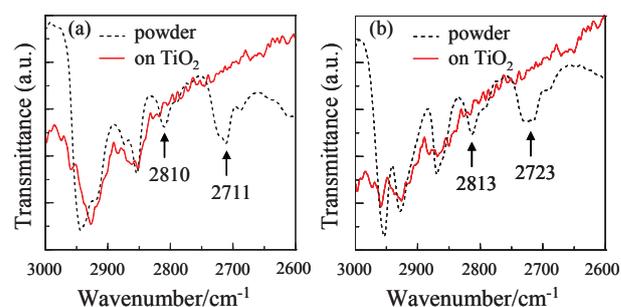


Fig. 5 FTIR spectra ($2600\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$) of the dye powders and dyes adsorbed on TiO_2 nanoparticles for (a) **YJY-1** and (b) **YJY-2**.

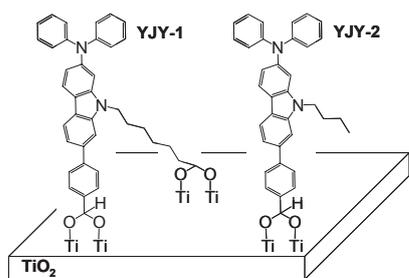


Fig. 6 Configurations of **YJY-1** and **YJY-2** on the TiO_2 surface in air.

acetal-like bidentate bridging linkage at Brønsted acid sites on the TiO_2 surface. The schematic representation of **YJY-1** and **YJY-2** on the TiO_2 surface in air is shown in Fig. 6. These results reveal that the absorption peak wavelengths of **YJY-1** and **YJY-2** adsorbed on TiO_2 nanoparticles are little affected by the formation of acetal-like bidentate bridging linkage between the aldehyde of the dye and Brønsted acid sites on the TiO_2 surface (Fig. 1).

Photovoltaic performances of DSSCs based on **YJY-1** and **YJY-2**

The DSSCs were prepared using the dye-adsorbed TiO_2 electrode, Pt-coated glass as a counter electrode, and an acetonitrile solution with iodine (0.05M), lithium iodide (0.1M), and 1,2-dimethyl-3-propylimidazolium iodide (0.6M) as an electrolyte. The photocurrent-voltage (I - V) characteristics were measured under simulated solar light (AM 1.5, 100mW cm^{-2}). The incident photon-to-current conversion efficiency (IPCE) spectra and the I - V curves are shown in Fig. 7. The photovoltaic performance parameters are collected in Table 1. It is worth mentioning here that the maximum adsorption amount of dyes adsorbed on TiO_2 for **YJY-1** is 8 times as much as that of **YJY-2** (1.3×10^{17} and 1.6×10^{16} molecules per cm^2 for **YJY-1** and **YJY-2** respectively). The high adsorption ability of **YJY-1** relative to **YJY-2** is attributed to the formation of bidentate bridging linkage between the carboxyl group of **YJY-1** and the Brønsted acid site on the TiO_2 surface. The short-circuit photocurrent density (J_{sc})

and solar energy-to-electricity conversion yield (η) for **YJY-1** (7.56 mA cm^{-2} and 2.95%) are much higher than those for **YJY-2** (0.40 mA cm^{-2} and 0.09%). The IPCE value of **YJY-1** reaches ca. 80% in the range of 400 to 500 nm, which is much higher than that of **YJY-2** (5% at 386 nm). The IPCE spectrum of **YJY-1** is red-shifted compared with the absorption spectrum of the dyes adsorbed on TiO_2 film (Fig. 1b). This red-shift may be associated with the light absorption of TiO_2 film and/or the interaction between the adsorbed dyes and the electrolyte. Here we found the occurrence of an important event to understand the considerably low photovoltaic performances of **YJY-2**; when the dye-adsorbed TiO_2 film for **YJY-2** is immersed in the electrolyte solution for DSSCs, the dye **YJY-2** is almost desorbed from the TiO_2 film. On the other hand, such desorption was not observed in the dye-adsorbed TiO_2 film for **YJY-1**. Accordingly, this result reveals that for both **YJY-1** and **YJY-2** the acetal-like bidentate bridging linkage decomposes to regenerate the aldehyde in electrolyte solution. As the other evidence, when comparisons are made for similar adsorption amounts of dyes (2.1×10^{16} and 1.6×10^{16} molecules per cm^2 for **YJY-1** and **YJY-2** respectively), the maximum IPCE and η values for **YJY-1** were 28% at 430 nm and 1.09% (Table 1), respectively, which are still higher than those for **YJY-2**. Consequently, the higher photovoltaic performance of **YJY-1** is attributed to not only the high

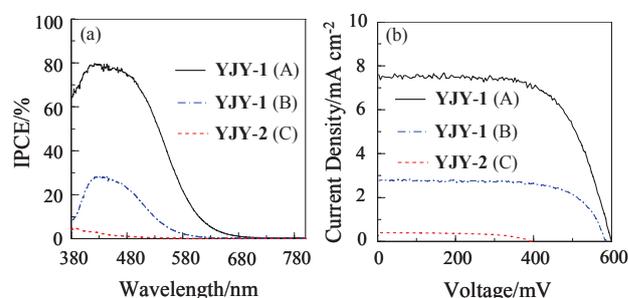


Fig. 7 (a) IPCE spectra and (b) I - V curves of DSSCs based on **YJY-1** and **YJY-2**. The amounts of adsorbed dyes on TiO_2 film are 1.3×10^{17} , 2.1×10^{16} , and 1.6×10^{16} molecules cm^{-2} for **YJY-1** (A), **YJY-1** (B) and **YJY-2** (C), respectively. TiO_2 electrodes of thickness $9\ \mu\text{m}$ were used. CDCA was not employed.

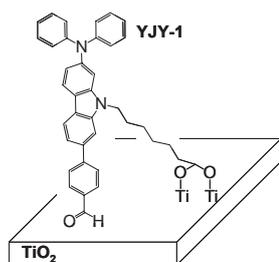


Fig. 8 Configuration of **YJY-1** on the TiO_2 surface in electrolyte solution for DSSCs.

dye loading, but also efficient electron injection from the dye into the CB of TiO_2 through the aldehyde, which is located close to the TiO_2 surface, as shown in the schematic representation of **YJY-1** on the TiO_2 surface in electrolyte solution in Fig. 8.

Conclusions

As a new class of D- π -A dye sensitizer for DSSCs, we have designed and synthesized the functionally separated D- π -A fluorescent dye **YJY-1** with an aldehyde as an electron-accepting group and a carboxyl group as an anchoring group. It was found that the functionally separated D- π -A dye **YJY-1** exhibits not only high adsorption ability onto TiO_2 film through the carboxyl group, but also efficient electron injection from the dye into the CB of TiO_2 through the aldehyde which is located close to the TiO_2 surface. This work demonstrates that the functionally separated D- π -A dyes would be expected to be one of the most promising classes of organic dye sensitizers for DSSCs.

Experimental section

IR spectra were recorded on a Perkin Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer by the ATR method. Absorption spectra were observed using a Hitachi U-2910 spectrophotometer and fluorescence spectra were measured using a HORIBA FluoroMax-4 spectrofluorometer. The fluorescence quantum yields in solution were determined using a Hamamatsu C9920-01 equipped with a CCD and using a calibrated integrating sphere system ($\lambda_{\text{ex}} = 384\text{nm}$ for both **YJY-1** and **YJY-2**).

Cyclic voltammetry (CV) curves were recorded in acetonitrile- Bu_4NClO_4 (0.1M) solution with a three-electrode system consisting of Ag/Ag^+ as a reference electrode, the Pt plate as a working electrode, and the Pt wire as a counter electrode using an AMETEK Versa STAT 4 potentiostat. The highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) energy levels of **YJY-1** and **YJY-2** were evaluated from the spectral analyses and the CV data. The HOMO energy level was evaluated from the $E_{1/2}^{\text{ox}}$. The LUMO energy level was estimated from the $E_{1/2}^{\text{ox}}$ and an intersection of absorption and fluorescence spectra (429nm; 2.89eV for both **YJY-1** and **YJY-2**), which correspond to the energy gap between the HOMO and the LUMO.

Computational methods

The semi-empirical calculations were carried out using the WinMOPAC Ver. 3.9 package (Fujitsu, Chiba, Japan). Geometry calculations in the ground state were made using the AM1 method. All geometries were completely optimized (keyword PRECISE) by the eigenvector following routine (keyword EF). Experimental absorption spectra of the compounds were compared with their absorption data by the semi-empirical method INDO/S (intermediate neglect of differential overlap/spectroscopic). Dipole moments of the compounds were also evaluated from INDO/S calculations. All INDO/S calculations were performed using single excitation full SCF/CI (self-consistent field/configuration interaction), which included the configuration with one electron excited from any occupied orbital to any unoccupied orbital, where 225 configurations were considered [keyword CI (15 15)].

Fabrication of the dye-sensitized solar cells based on dyes **YJY-1** and **YJY-2**

The TiO_2 paste (JGC Catalysts and Chemicals Ltd., PST-18NR) was deposited on a fluorine-doped-tin-oxide (FTO) substrate by doctor-blading, and sintered for 50 min at 450°C . The $9\ \mu\text{m}$ thick TiO_2 electrode

($0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ in a photoactive area) was immersed into a 0.1 mM dye solution in acetonitrile to adsorb the photosensitizer. The DSSCs were fabricated using the TiO_2 electrode thus prepared, Pt-coated glass as a counter electrode, and a solution of 0.05 M iodine, 0.1 M lithium iodide, and 0.6 M 1,2-dimethyl-3-propylimidazolium iodide in acetonitrile as the electrolyte. The photocurrent–voltage characteristics were measured using a potentiostat under a simulated solar light (AM 1.5, 100 mW cm^{-2}). IPCE spectra were measured under monochromatic irradiation using a tungsten–halogen lamp and a monochromator. The amount of adsorbed dye on TiO_2 nanoparticles was determined by absorption spectral measurement of the concentration change of the dye solution before and after adsorption. Absorption spectra of the dyes adsorbed on TiO_2 nanoparticles were recorded on the dye-adsorbed TiO_2 film in the transmission mode with a calibrated integrating sphere system.

Acknowledgements

This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research (B) (23350097) and (C) (24550225) from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS), and by a research grant from Shorai Foundation for Science and Technology.

† Electronic supplementary information (ESI) available: Details of synthesis and characterization of compounds. See DOI: 10.1039/c3nj00430a

Notes and references

1. B. O'Regan and M. Grätzel, *Nature*, 1991, **353**, 737.
2. A. Yella, H.-W. Lee, H. N. Tsao, C. Yi, A. K. Chandiran, M. K. Nazeeruddin, E. W.-G. Diao, C.-Y. Yeh, S. M. Zakeeruddin and M. Grätzel, *Science*, 2011, **334**, 629.
3. Z. Ning and H. Tian, *Chem. Commun.*, 2009, 5483.
4. A. Mishra, M. K. R. Fischer and P. Bäuerle, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 2474.

5. (a) Y. Ooyama and Y. Harima, *Eur. J. Org. Chem.*, 2009, 2903; (b) Y. Ooyama and Y. Harima, *ChemPhysChem*, 2012, **13**, 4032.
6. A. Hagfeldt, G. Boschloo, L. Sun, L. Kloo and H. Pettersson, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 6595.
7. T. Bessho, S. M. Zakeeruddin, C.-Y. Yeh, E. W.-G. Diao and M. Grätzel, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 6646.
8. Z. Ning, Y. Fu and H. Tian, *Energy Environ. Sci.*, 2010, **3**, 1170.
9. J. Cong, X. Yang, J. Liu, J. Zhao, Y. Hao, Y. Wang and L. Sun, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 6663.
10. J. Tang, S. Qu, J. Hu, W. Wu and J. Hua, *Sol. Energy*, 2012, **86**, 2306.
11. J. Mao, N. He, Z. Ning, Q. Zhang, F. Guo, L. Chen, W. Wu, J. Hua and H. Tian, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 9873.
12. (a) Y. Ooyama, S. Inoue, T. Nagano, K. Kushimoto, J. Ohshita, I. Imae, K. Komaguchi and Y. Harima, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 7429; (b) Y. Ooyama, T. Nagano, S. Inoue, I. Imae, K. Komaguchi, J. Ohshita and Y. Harima, *Chem.–Eur. J.*, 2011, **17**, 14837.
13. D. Daphnomili, G. Landrou, P. Singh, A. Thomas, K. Yesudas, B. K. G. D. Sharma and A. G. Goutsoulelos, *RSC Adv.*, 2012, **2**, 12899.
14. M.-D. Zhang, H.-X. Xie, X.-H. Ju, L. Qin, Q.-X. Yang, H.-G. Zheng and X.-F. Zhou, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 634.
15. H. He, A. Gurung and L. Si, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 5910.
16. (a) Y. Ooyama, Y. Shimada, Y. Kagawa, I. Imae and Y. Harima, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 2046; (b) Y. Ooyama, Y. Shimada, Y. Kagawa, Y. Yamada, I. Imae, K. Komaguchi and Y. Harima, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 9167; (c) Y. Ooyama, Y. Shimada, S. Inoue, T. Nagano, Y. Fujikawa, K. Komaguchi, I. Imae and Y. Harima, *New J. Chem.*, 2011, **35**, 111.

マイクロ波照射によるエマルジョン化プロセスの構築 ～均一乳化理論の新展開～

兵庫県立大学 大学院工学研究科
朝熊 裕介

1. はじめに

現在、特定の物質のみを選択的かつ急速・均一に加熱することができるマイクロ波照射は、有機化合物や高分子材料の合成、バイオディーゼル(BDF)の生成にむけた分離・分解プロセスで注目を浴びている。例えば、油脂成分とアルコールによるBDFの生成に代表されるように、これらの多くの合成の場合、多成分系で行われ、極性分子リッチ相と非極性分子リッチ相からなる液液界面が必ず存在し、その界面近傍の現象は重要である。一方、マイクロ波の吸収特性は、主に分子の極性と関係した誘電性によって決定され、各液体は固有の誘電率を持っている。このマイクロ波を利用したプロセスではその誘電特性が異なる液液界面(分裂・合体)の現象が重要であるものの、そのマイクロ波の漏洩や炉の形状の制限によって、マイクロ波照射中に炉の内部を観察した例は皆無である。そこで、各種光学測定を用い、マイクロ波照射が液液界面の挙動に及ぼす影響を考察し、その理論の構築から多成分系の反応促進や解乳促進等のマイクロ波を用いた新規プロセスの構築に役立てる。

本研究では、まず、マイクロ波照射中、照射後の相分離観察実験を行った(2章)。その結果から、マイクロ波が

液液界面に及ぼす影響を静的な状態で測定することが必要と考え、お互いに相溶しない液液界面観察実験をマイクロ波照射中で行った(3章)。

2. 乳化観察実験

2-1 実験装置

本研究では、マイクロ波によって温度上昇が起こるため、Fig.1のような、下部臨界温度(lower critical solution temperature)を示す2成分(2-ブトキシエタノール(BE; 2-Butoxyethanol)-水系)系の相分離開始プロセスに着目した。ある組成 x_0 の時、低温の状態では一相であり、加熱とともに、2相になり、 x_1 の組成が相分離する。その後、加熱を続けると1相に戻る。マイクロ波照射によって最初に2相になる温度を T_1 、高温側で1相になる温度を T_2 とする。照射停止後冷却過程で、2相に戻る温度を T_3 、さらに温度が低下し1相になる温度を T_4 とする(図中矢印)。Fig.2に内部観察型マイクロ波照射炉を示す。炉の内部に20mLのガラスセルを置き、このBE水溶液の照射中での相分離の様子を、動的光散乱法

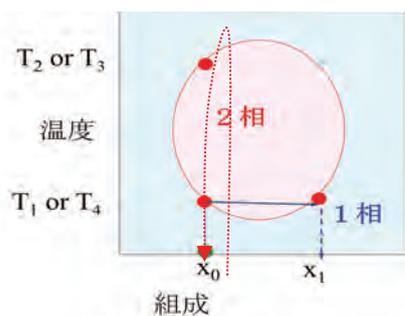


Fig. 1 Phase diagram of water and BE system

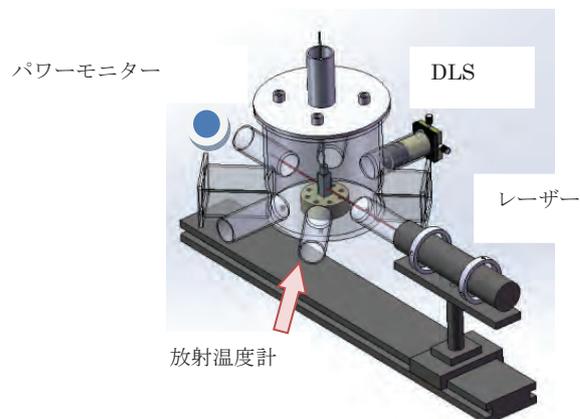


Fig. 2 microwave apparatus for emulsification process

(DLS: Dynamic Light Scattering)やパワーモニターにより観察する。例えば、透明な1相の溶液の場合、レーザーはほぼ透過する。一方、相分離し分散相ができることによって、レーザー光はその微粒子で散乱し、対角のパワーモニターで測定される透過のレーザー強度は急激に低下する。この時の温度を相分離開始温度とする。また、冷却時に1相に戻るときは、散乱光が小さくなり、透過するレーザー強度は急激に回復していく。これによって、溶液の相分離過程がマイクロ波照射中や照射直後から測定できる。一方、相分離の初期過程を分散相の生成時の液滴の散乱光を測定することによって、その相分離相の成長、合体過程の定量化を試みた。今回の実験では、マイクロ波の出力や液組成を変更し、マイクロ波照射が相分離に及ぼす影響の考察を行う。なお、外部よりガラスセル壁面の温度を輻射温度計により照射炉外部から非接触で測定する。

2-2 結果

下部臨界温度を示すような液液平衡図の場合、1相領域の低温溶液を加熱していくと、相分離を開始する。Fig.3に、この温度 T_1 をマイクロ波出力に対してプロットする。各組成に対して。低出力で文献値[1]と一致したものの、高出力では、温度上昇が速く差異がみられた。温度はガラス壁面を測定しており、高出力の場合、溶液温度と壁温度との誤差が大きくなると考えられる。次に、マイクロ波加熱より相分離した溶液が1相に戻る温度 T_4 を、Fig.4にプロットする。冷却過程では、温度分布が生じ、分離の状態が異なるため、正確な温度が

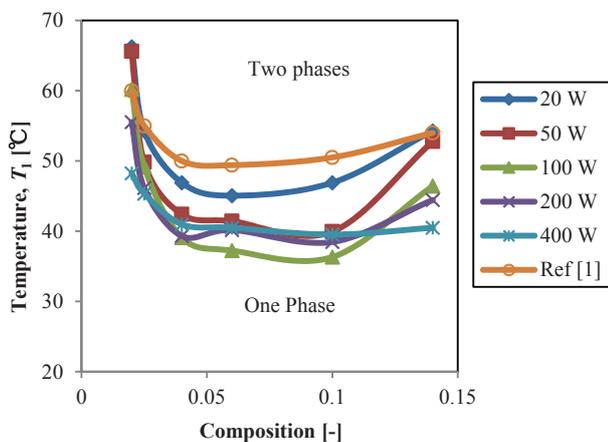


Fig. 3 Phase diagram for BE-water while heating

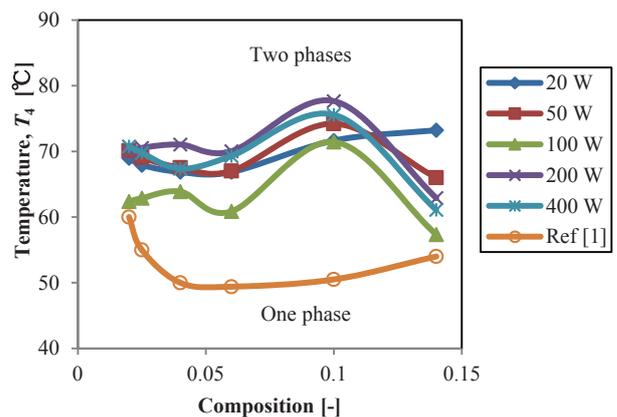


Fig. 4 Phase diagram for BE-water while cooling

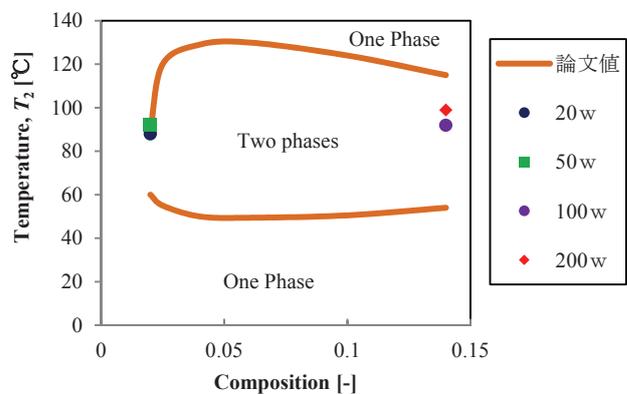


Fig. 5 Phase diagram for BE-water of upper side

測定できなかった。また、文献値との違いは、相分離の量が多く、再溶解に時間がかかることが誤差の原因であると考え、相分離量が少ない相図の両側を初期組成($x_0=0.02, 0.14$)として、相分離上部側の T_2, T_3 を算出した。Fig.5にその結果を示す。相分離量の小さい時、比較的文献値との一致がみられた。

2-3 考察

従来の伝導伝熱よりもマイクロ波の誘導加熱は均一で加熱でき、相分離が測定されたものの、その相分離過程が瞬時におこり、その分離した量も多いためDLSによる相分離初期のナノレベルの粒度測定にはいたらなかった。一方で、輝度の測定による相分離温度を、低濃度かつマイクロ波低出力条件下では測定可能であった。マイクロ波強度により温度上昇速度が速い場合、それにとまなう分離の加速や分散相の合体の区別が困難であった。また、分離後冷却によって1相に戻る過程も、比重の違

いから上下相にすばやく分離するため、文献値[1]との誤差がみられた。今後、小さい容器を用いることや充填層を用いるなど、正確な相分離過程の観察には対策が必要である。

3. 液液界面観察実験

前章の相分離の実験では、マイクロ波が相分離もしくは液液界面に及ぼす影響が不明瞭であったため、液液界面を静的な状態で照射中の観察する必要があると考えた。

3-1 実験装置および実験手順

Fig.6にマイクロ波照射中の液液界面の観察装置を、Fig.7にその観察セルを示す。

本実験では、Fig.7光学石英セル(20×20×20mm)に水(もしくはNaCl水溶液)とn-デカンを4:3の体積比で入れ、Fig.7のように1/4インチのテフロンボールを上から挿入し、湾曲した液液界面を作る。この状態にしたセルをマイクロ波照射炉の中心に静置する。その後、マイクロ波を所定の出力で照射し、テフロンボール付近の界面の形状をマイクロ波照射炉側部に取り付けたカメラより

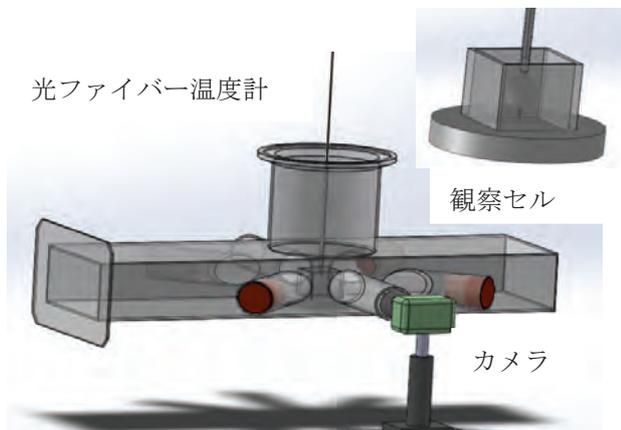


Fig. 6 Microwave apparatus for interfacial tension

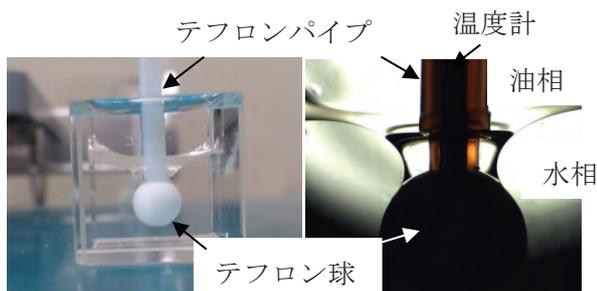


Fig. 7 Quartz cell for interface observation

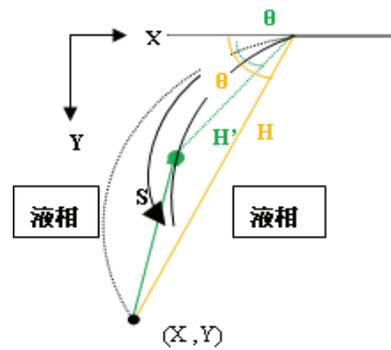


Fig. 8 Calculation method of interfacial tension

撮影する。そのメニスカス形状から界面張力を以下に示す式[2]で算出する。また、内径2mmのテフロンパイプおよびテフロンボールを貫通した光ファイバー温度計を用いてセル内の溶液の温度を測定する。本実験では、照射中の界面張力の変化や温度の変化を測定することでマイクロ波が液液系の界面に影響があるかを考察した。本実験では、マイクロ波は、60Wの出力で60秒間照射した。

3-2 解析方法

Fig.8に、界面張力算出に必要な座標系を示す。このメニスカス形状の変形による曲率半径が界面張力のパラメータとなっている。撮影した動画から画像を抽出し、一定時間ごとに、照射中および照射後の界面張力を算出した。

$$\frac{d\theta}{dS} + \frac{\sin\theta}{X} = 2(\lambda H - Y) \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dS} = \cos\theta \quad (2)$$

$$\frac{dY}{dS} = \sin\theta \quad (3)$$

$$H^2 = 2Bo \quad (4)$$

$$Bo = \frac{\Delta\rho g R^2}{\gamma} \quad (5)$$

θ : 水平面からの角度

λ : 液滴の形状によって異なるパラメータ

H : 曲率半径

S : 液滴に沿っての無次元長

X : 無次元半径の水平方向

Y : 無次元半径の鉛直方向

Bo : ボンド数

$\Delta\rho$: 2つの流体間の密度差

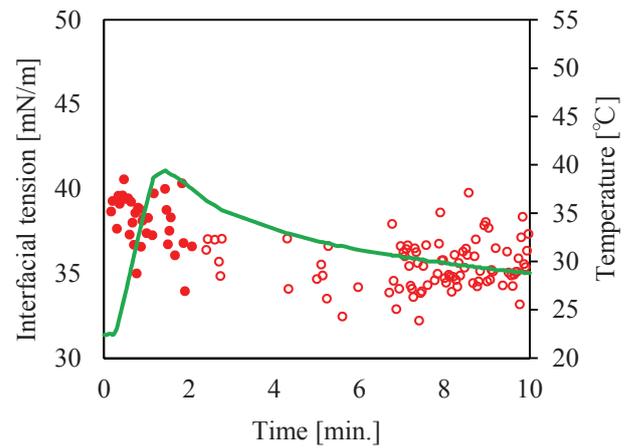
R :長さに関するパラメータ

Γ :界面張力

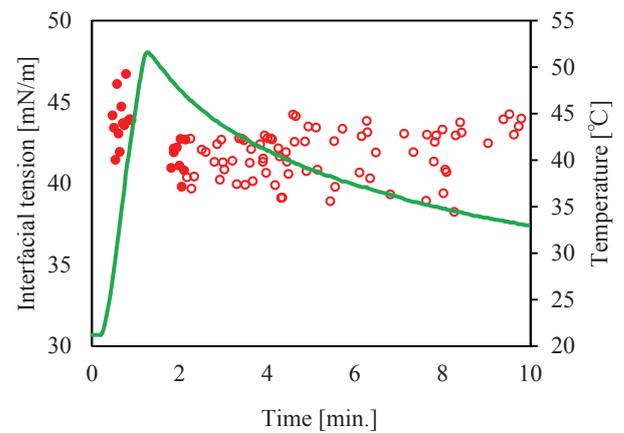
3-3 結果と考察

Fig.9に、水—デカン系およびNaCl水溶液(0.1 mol/L)—デカン系において、マイクロ波照射中の界面張力と温度の変化を示す。実線は右軸の温度、プロットは左軸の界面張力を示す。この時、照射中は塗りつぶし、照射停止後は白抜きのプロットを示す。水もしくはNaCl水溶液の場合の場合でもマイクロ波照射によって、温度上昇し界面張力が下がる傾向が確認できた。NaCl水溶液では、マイクロ波吸収特性が高く、温度が上昇して、界面張力が水の場合と比べて低くなった。また、どちらの場合も界面張力は完全には元の値に戻らない傾向がみられ、NaCl水溶液の場合、その効果が大きかった。さらに、同じ液に対して、照射停止一定時間後、さらに2回照射を繰り返したことによって同じ温度の場合でも界面張力が下がる傾向が確認できた。この結果の考察として、以下のような可能性が考えられる。

1つ目は、マイクロ波照射によって界面近傍にナノバブルが発生した可能性が考えられる[3]。2つ目はマイクロ波照射によって温度上昇による水相のn-デカンの溶解度が上昇し、界面近傍に存在するn-デカンが水相に溶ける。その後、マイクロ波照射後は温度が低下することで溶解度が下がり、水相に溶けていたn-デカンが発生するという可能性が考えられる。現在、どちらの影響が大きいのか、マイクロ波照射炉にとりつけたDLS装置によって、確認している。いずれにおいても、液液界面近傍に、マイクロ波照射の履歴として、ナノバブルもしくはナノエマルションがその影響が残ることとなった。これは、液液界面では、一方が油相であることから分子間力が他と比べて弱く、水相の水分子の振動がより激しくなったことも影響すると考えられる。油相が上部にあったとしても、油相においてはマイクロ波の吸収がほとんどないため、油相を透過し液液界面にマイクロ波が高出力であたることになる。同様の研究例として、当研究グループでは、マイクロ波照射によって、気液界面において表面張力が低下、維持する現象を発見しており[4]、マイクロ波の照射履歴が残るような類似性が今回の液液界面においても示された。



(a) 水—デカン系



(b) 0.1mol/L NaCl 水溶液—デカン系

Fig. 9 Interfacial tension and temperature profiles

4. まとめ

マイクロ波照射中の相分離および液液界面現象の観察を行い、特異現象を観察した。現在、マイクロ波照射中のこれらの現象をマイクロレベルでその場観察した例は、そのマイクロ波加熱炉内部の観察が困難であることから、エマルションや界面の挙動にとどまらず、申請者以外に報告例はなく、新たな現象の解明に挑戦できたこと大変意義深い。本研究で、マイクロ波照射による均一乳化理論、分散相の合体理論の確立にはいたらなかったものの、新たな液液界面現象の特異性が発見され、他の類似した現象(ナノ粒子や分解挙動)に関しても応用できると考えられる。特に、マイクロ波は急速に特定の相だけを加熱できるため、測定装置の開発分野や新規反応プロセスにも一石を投じる技術として応用が期待される。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、松籟科学技術振興財団の研究援助をいただきました。心より感謝の意を表します。

6. 参考文献

- [1] N.Ito et al., A Study of Local Structure Formation in Binary Solutions of 2-Butoxyethanol and Water by Rayleigh Scattering and Raman Spectra, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56, 379-385(1983)
- [2] A.Hyde, C.Phan, G.Ngram, Determining liquid-liquid interfacial tension from a submerged meniscus, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 459, 267-273(2014)
- [3] T.Munenaga, Y.Maeda, Y.Asakuma, Bubble formation around nanoparticle during microwave irradiation by DLS OPC2014, 10th International Conference on Optical Particle Characterizations (Tokyo, 2014) ss3-1-1
- [4] H.Parmar, Y.Kanazawa, M.Asada, Y.Asakuma, C.Phan, V.Pareek, G.Evans, Microwave-induced memory of water, *Langmuir*, 30, 9875 – 9879 (2014)
- [5] Y.Maeda, Y.Kanazwa, Y.Asakuma, Behavior of oscillatory reaction in liquid-liquid system under microwave irradiation, The 7th International Symposium on Surface Science (Shimane, 2014) 6PN-157

π 骨格を金属周辺に配置した環境負荷低減型触媒の光機能化

大阪大学 大学院工学研究科
安田 誠

1. 緒言

ルイス酸は有機合成において重要な役割を果たしている。そのルイス酸性を緻密に制御することは重要な課題である。また、ルイス酸の触媒利用の観点から、その適切な修飾による新しい選択性の付与が可能となるテンプレートが強く求められている。我々はこれまで等モルのルイス酸試剤として広く用いられてきたホウ素化合物に、カゴ型の構造規制を施すことで触媒能が発現することを見いだしてきた(図1)¹⁾。一般的な平面型ホウ素化合物**1**とは異なり、かご型**2**、**3**の骨格を設計することで大きく性状が変化する。また、カゴ型の有機骨格への制御因子導入による、ルイス酸性精密制御も達成している(化合物**4**、**5**)。ごく最近、カゴ型ホウ素錯体の新たな性状制御手法として、錯体内部でのスルースペース相互作用によるルイス酸性制御、そしてホウ素周囲への π ポケット型反応場構築を行っているが(化合物**6**)²⁾、その作用の詳細な解明は不十分であった。本研究では、この修飾の効果を分析し、触媒への応用の可能性を探った。

このかご型ホウ素錯体の新しい性状制御として、図2にしめすように、新たな、1)ホウ素-Z間のスルースペース相互作用によるルイス酸性の精密制御、2)ホウ素

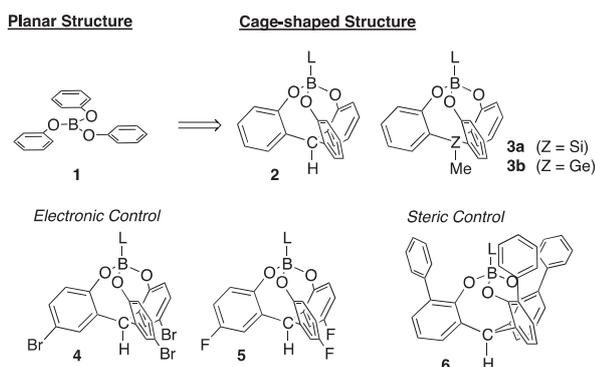


図1 カゴ型骨格によるルイス酸性の制御

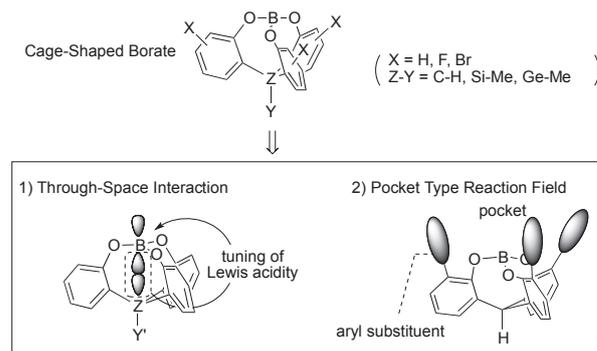


図2 カゴ型骨格によるルイス酸性の制御

周囲へのポケット型反応場構築による基質選択性能の付与の検討を行った。また光応答可能な骨格を配し、その触媒能を詳細に検討した。

2. スルースペース相互作用による性状制御

カゴ型ホウ素錯体のルイス酸性の新たな制御方法として、ホウ素原子のp軌道と、その真下に位置する元素

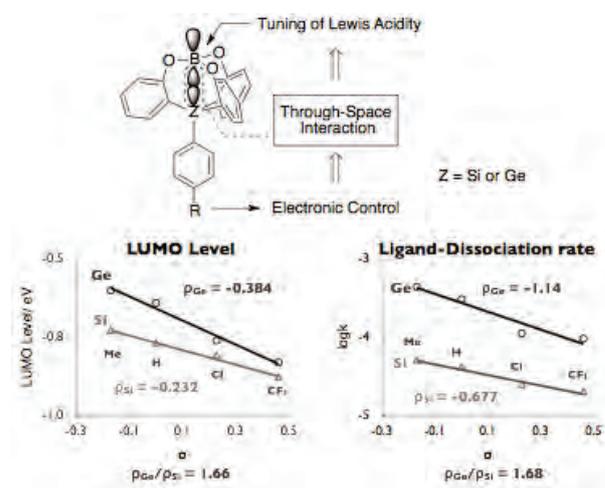


図3 カゴ型ホウ素錯体の基幹部位元素Z (= Si, or Ge) による性状変化

Zの σ^* 軌道との相互作用を利用することを想起した(図3)。連結元素Zの電子状態の変化が、ホウ素上のルイス酸性に与える影響を観察するために、電子制御を目的とした置換基Rおよび連結元素ZとしてSi、Geを導入したカゴ型錯体を新たに合成した。理論計算から得られたLUMO Levelの値と配位子解離速度のHammett Plotを図3に示す。どちらのグラフにおいても反応定数 ρ は、SiよりもGe連結型の方が1.7倍程大きい結果となり、ルイス酸性への置換基の影響はGe連結型の方が大きいことがわかった。すなわち、スルースペース相互作用はGe連結型の方が大きく影響する。これは σ^* 軌道のエネルギー準位とBのp軌道のエネルギー準位の差が、Geの方がSiよりも小さいためであると考えら、緻密なルイス酸性制御を行う新しい指針となる。

3. π ポケット型反応場による芳香族選択的反応

かご型ホウ素錯体の金属周辺に、ベンゼン環を配することで、 π ポケットを構築した。このタイプの触媒は、芳香族アルデヒド/脂肪族アルデヒドの競争反応において、芳香族アルデヒドを選択的に取り込むことが最近判明したが²⁾、その詳細は不明であった。そこで、芳香族アルデヒドと脂肪族アルデヒドのそれぞれ単独での反応速度を求め、比較した(図4)。速度定数は π ポケットを持たない錯体**7**を用いた場合、ベンズアルデヒドとブタナールでほとんど差が見られなかった(1.4倍)。一方、 π

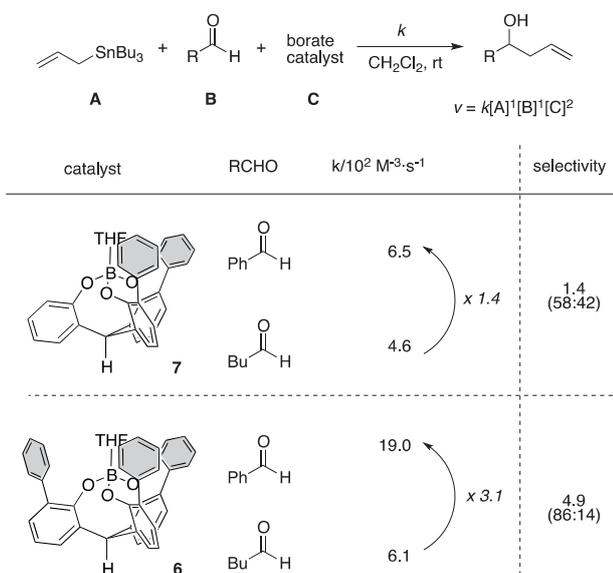


図4 ホウ素触媒による芳香族アルデヒドと脂肪族アルデヒドとの反応速度の差異

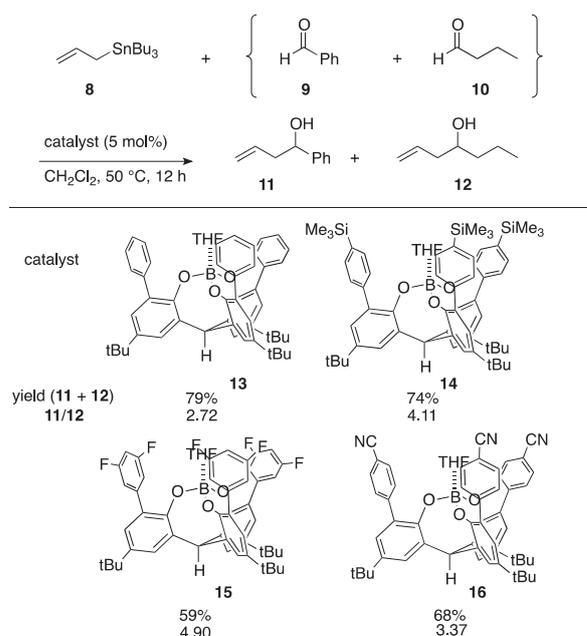


図5 π 骨格を有するかご型ホウ素触媒による芳香族アルデヒドと脂肪族アルデヒドとの反応速度の差異における、 π ポケットの置換基効果

ポケット錯体**6**ではベンズアルデヒドでの速度定数がブタナールの場合よりも3倍程度大きくなった。このことより、 π ポケットがベンズアルデヒドを優先的に活性化していることが明確となった。また、これらの速度定数の比は競争反応における芳香族選択性の結果と良い一致を示しており、選択性が各アルデヒドの本質的な反応速度の差に起因していることが明確となった。

4. π ポケットへの置換基の導入

かご型ホウ素錯体の π -pocketの芳香環上に置換基を導入した錯体**13-16**を合成した(図5)。これらの錯体を触媒として、アリルスズ**8**、芳香族アルデヒド**9**、脂肪族アルデヒド**10**の等量混合物を反応させ、芳香族選択性を比較した(図5)。無置換の錯体**13**での生成物比**11/12** = 2.72に対し、置換基を導入した錯体**14,15,16**では生成物比は**11/12** = 4.11, 4.90, 3.37となり、芳香族選択性の向上が見られた。これらは、置換基の導入によって、基質の芳香族アルデヒドとの相互作用の増大が原因と考えられる。

5. 置換基によるルイス酸性制御

ホウ素化合物にカルボニル基質**17**を配位させ、カルボニル基の伸縮振動の差からルイス酸性を評価した(表

表1 π 骨格を有するかご型ホウ素触媒のルイス酸性の評価と比較

B compound	$\Delta\nu/\text{cm}^{-1}$	Lewis Acidity
16 BBr ₃	25.1	↑ High ↓ Low
15	15.4	
13	14.9	
14	13.0	
1 B(OPh) ₃	2.9	

1)。無置換の錯体**13**に比べて($\Delta\nu/\text{cm}^{-1} = 13.0$)、フッ素を導入した錯体**15**、シアノ基を導入した錯体**16**ではルイス酸性が向上し($\Delta\nu/\text{cm}^{-1} = 14.9, 15.4$)、トリメチルシリル基を導入した錯体**14**ではルイス酸性は低下した($\Delta\nu/\text{cm}^{-1} = 12.1$)。 π -pocketに置換基を導入することでルイス酸性の精密制御が可能となった。

6. かご型アルミニウム錯体の合成と触媒利用

ホウ素錯体に代えて同族元素であるアルミニウム錯体の合成を検討した。ホウ素錯体と同様の手法を用いた場合、配位子の中心炭素に結合した水素が錯体の内側に入り込んだ三核錯体**18**を与えることがすでに報告されている(式1)³⁾。中心部分をSi-Meとした配位子**19**を用い、立体障害を大きくすることで外側にMe基が配置した錯

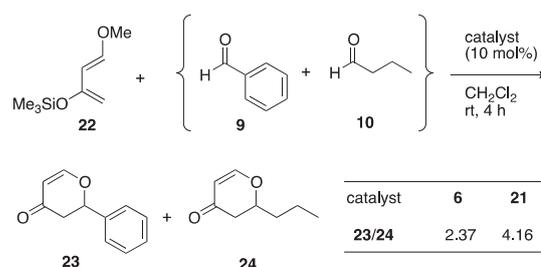
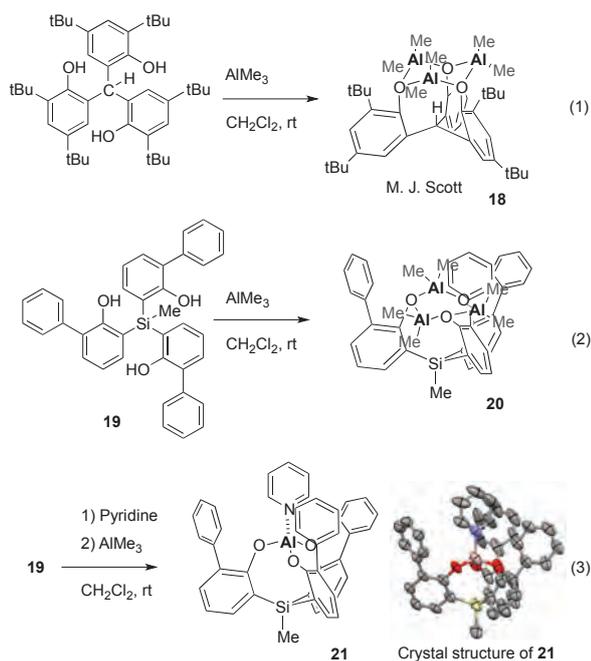


図6 π ポケットを有するかご型アルミニウム錯体の芳香族選択的反応

体が得られたが、この場合も三核錯体**20**となり、目的の単核錯体は得られなかった(式2)。ところが、ピリジンと配位子**19**をあらかじめ混合した後にAlMe₃を添加すると、単核錯体**21**が効率よく生成した(式3)。錯体**21**の構造はX線結晶構造解析により決定した。

ホウ素錯体**6**とアルミニウム錯体**21**を触媒として、ヘテロDiels-Alder反応において競争反応を行った(図6)。ホウ素錯体**6**に比べ(**23/24** = 2.37)、アルミニウム錯体**21**では大きな芳香族選択性の向上が見られた(**23/24** = 4.16)。アルミニウムのルイス酸性や π ポケットの形状が選択性の向上に寄与したと考えられる。

7. 不斉ポケット反応場の構築

軸不斉を有するビナフチル骨格で構成されたかご型ホウ素錯体**25**を合成した。X線結晶構造解析により、錯体**25**はC₃対称のS, P型のキラリティーを有し、ホウ素周囲

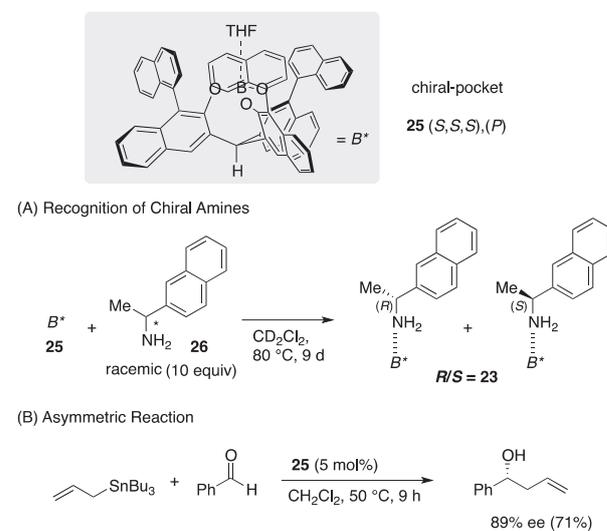


図7 π ポケットを有するかご型アルミニウム錯体の芳香族選択的反応

に不斉反応場が構築されていることがわかった。この錯体**25**にラセミ体のアミン**26**を混合し加熱したところ、選択的な錯形成が起こり ($R/S = 23$)、不斉ポケット反応場の高いキラル認識能が示された(図7-A)³⁾。アミン以外にメチルフェニルスルホキシドの不斉認識にも成功した。また、錯体**25**をベンズアルデヒドのアリル化反応の触媒として用いたところ、高いエナンチオ選択性が得られた(図7-B)。

8. 光応答性ルイス酸の合成と触媒利用

先にも述べたように、第13族元素の錯体 ML_3 はルイス酸として広く用いられている。新しい反応制御の手法を見出すことはたいへん重要であり、新規反応展開の制御手法として興味もたれる。様々な反応においてそれぞれに適したルイス酸性があり、反応にあわせてルイス酸性を制御することは非常に重要な課題である。当研究室ではルイス酸性制御法として電子的に制御する手法と構造変化により制御する手法を報告している。そこで、新たなルイス酸性の制御法として、骨格に複素環を導入し光照射により錯体のルイス酸性を変えることを想起した。光照射によりルイス酸性を制御する前例はほとんどなく、全く新しい手法となる。ベンゾフランを導入したカゴ型ホウ素錯体**27**の理論計算でのルイス酸性はフェニル骨格**2**のものと同程度だったが、他の錯体よりもLUMOが深く、高い反応性が予想された。そこで実験的にも、ベンゾフランをかご骨格に有する錯体**27**の合成を試みたところ、その合成に成功し、またX線結晶

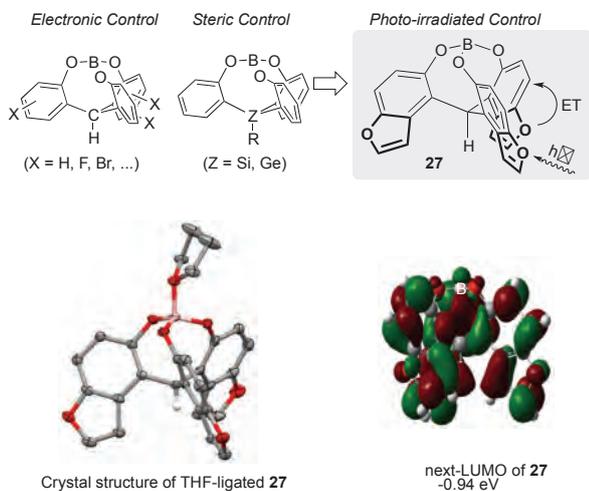
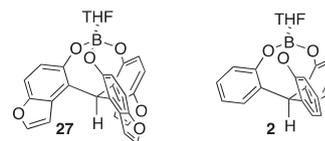


図8 ベンゾフランを骨格に有するかご型ホウ素錯体

表2 ベンゾフランを骨格に有するかご型ホウ素錯体の触媒利用における光応答性

Light	yield (cat. 27) (%)	yield (cat. 2) (%)
UV	63	37
No UV	44	30

Black Light	56	37
No Black Light	34	35



構造解析による詳細な構造を明らかにすることができた(図8)。

この錯体の光照射時における活性を確認するため、向山アルドール反応の触媒として用いた(表2)。従来のフェニル骨格の錯体**2**と比較して、ベンゾフラン骨格の錯体**27**はUV(300W高圧水銀灯)・ブラックライト(365 nm)のどちらを光照射したときでも、収率の向上が見られた。これは錯体のルイス酸性が光照射により変化していることを示しており、新たなルイス酸性制御の手法とみなすことができる。

9. 他のルイス酸を用いた触媒的炭素炭素結合形成

かご型ルイス酸触媒の研究を行う中で、ルイス酸性と触媒のターンオーバーに相關の知見を得た。我々がかご型ルイス酸と同様の中程度のルイス酸としてインジウムを用いる研究を以前から行ってきたが、亜鉛ハライドが同様に中程度の触媒として機能することを見いだした。図9に示す様に、アセタールと末端アルキンが、脱アル

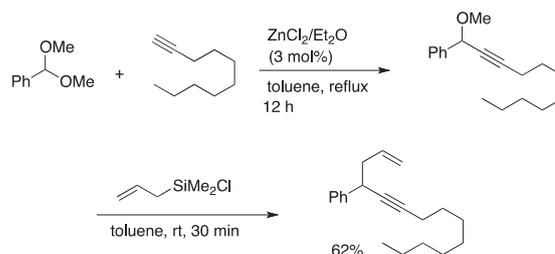


図9 アセタールと末端アルキンの触媒的カップリング反応と官能基化への応用

コールしつつ炭素-炭素結合形成を形成し、きわめてシンプルな分子活性化を経る触媒反応を進行させた⁴⁾。また、得られた生成物はワンポットで引き続く触媒的アリル化反応に用いることができた。このタイプの反応をかご型ホウ素錯体でも有望な結果が得られている。

さらに、ガリウムおよびスズのルイス酸性を置換基により制御した新反応開発も同時に行った。金属自身が有する性状を利用し、特有の分子の活性化を経る反応系を開発した⁵⁻⁷⁾。従来得ることの難しかったエステルのも二種の同時官能基化と、アリルスズの不斉転写の詳細な機構解明等を行い、ルイス酸と基質の相互作用を明らかにした。

今後、さらに多様な金属種と有機骨格を駆使した化合物を鍵として、多くの錯体の合成と触媒反応への展開を行っていきたい。

10. 謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援を賜りました、公益財団法人松籟科学技術振興財団に深く感謝申し上げます。

す。

11. 参考文献

- 1) M. Yasuda, H. Nakajima, R. Takeda, S. Yoshioka, S. Yamasaki, K. Chiba, A. Baba, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 3856–3867.
- 2) H. Nakajima, M. Yasuda, R. Takeda, A. Baba, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3867–3870.
- 3) Cottone, D. Morales, J. L. Lecuivre, M. J. Scott, *Organometallics* **2002**, *21*, 418–428.
- 4) I. Suzuki, M. Yasuda, A. Baba, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11620–11622.
- 5) Y. Inamoto, Y. Kaga, Y. Nishimoto, M. Yasuda, A. Baba, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 11664–11668.
- 6) M. Yasuda, Y. Nagano, H. Yunoki, K. Tsuruwa, A. Baba, *Organometallics* **2014**, *33*, 3924–3927.
- 7) I. Suzuki, N. Esumi, M. Yasuda, A. Baba, *Chem. Lett.* **2015**, *44*, 38–40.

骨格変換型N-フェーズドペンタフィリンによる 三次元 π 拡張構造の創製

島根大学 大学院総合理工学研究科
千葉大学 大学院薬学研究院
鈴木 優章

Skeletal Recombination Reaction of *N*-Fused Pentaphyrin(1.1.1.1.1) *via* Bromination

Masaaki Suzuki^{a,b}, Tyuji Hoshino^b, and Saburo Neya^b

^a*Interdisciplinary Graduate School of Science and Engineering, Shimane University*

^b*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University*

Abstract

N-Fused [22] pentaphyrin (1.1.1.1.1) transformed into recombined *N*-fused pentaphyrin bromide after treatment with *N*-bromosuccinimide. This bromide was highly reactive to nucleophiles to give the corresponding substituted products including aminated, oxidized, and unsubstituted derivatives.



Bromination reaction is one of the most effective gambits to functionalize aromatic compounds. Porphyrinoids, a representative family of aromatic compounds, have attracted much attention in light of their optical and electrochemical properties, which are potentially applicable for artificial photosynthesis, organic solar cells, photodynamic therapy, and so on. Among them, expanded porphyrins that have larger macrocyclic rings than porphyrins¹ are a fascinating class of porphyrin higher analogs on the grounds that

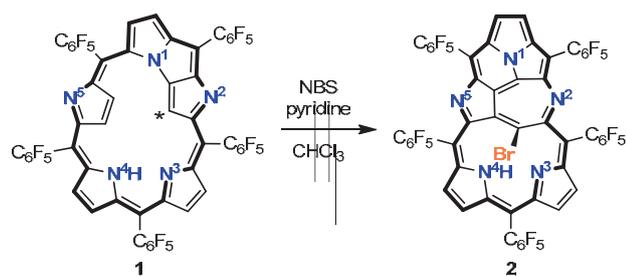
the mechanically flexible and chemically sensitive skeletons often cause unparalleled metamorphoses.^{1g, 2}

In this regard, brominated expanded porphyrins can be promising scaffolds for applications mentioned above. However, the reported examples of bromination reactions of expanded porphyrins are still limited probably because the strongly electron-withdrawing *meso*-substituents make all the β -positions less reactive.³

In the case of hexaphyrin, for example, extremely severe reaction conditions such as refluxing of bromine

solution of a robust hexaphyrin-bisgold complex are required^{3a} and they make it difficult to control regio-selective and stoichiometric introduction. Herein, we report the bromination reaction of *N*-fused pentaphyrin (**NFP**₅) under the mild conditions and the resulting unprecedented skeletally recombined products including subsequent nucleophilic substitution reactions.

A solution of *meso*-pentakis(pentafluorophenyl)-substituted *N*-fused [22]pentaphyrin(1.1.1.1.1) (**[22]NFP**₅, **1**)⁴ and *N*-bromosuccinimide (NBS, totally 4.0 eq.) in chloroform (8.2 mM) was refluxed for 4 hours in the presence of pyridine (totally 16 eq.). After removal of the solvent, silica-gel column chromatography gave a major product **2** as an olive-green fraction along with recovery of **1** (Scheme 1). **[24]NFP**₅ (a reduced form of **1**)^{4a} was quickly oxidized by NBS, thus it resulted in obtainment of the same product. High-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HR-ESI-MS) displayed a parent molecular ion peak at $m/z = 1293.9563$ (calculated for C₅₅H₈Br₁F₂₅N₅, Figure S9, *supporting information*), which was 2H mass unit less than that of simply mono-brominated **[22]NFP**₅ (C₅₅H₁₀Br₁F₂₅N₅, [M+H]⁺). The ¹H NMR spectrum exhibited six doublets around an aromatic region probably due to the outer β-protons along with a singlet assigned to the NH proton that was disappeared by addition of D₂O (Figure 1). Unlike **1**, signals due to the inner β-protons around a high-field region were absent, indicating that some serious transformation occurred on the inward side of the macrocycle. The final structure determination was



Scheme 1. Skeletal recombination reaction (The bold lines mean the conjugation circuit.)

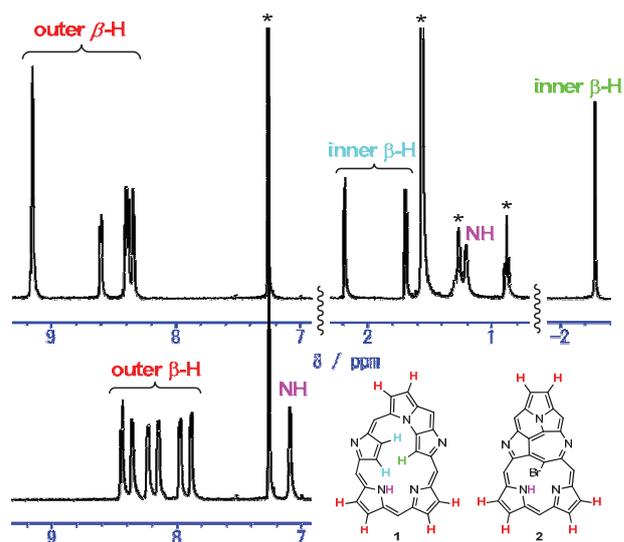
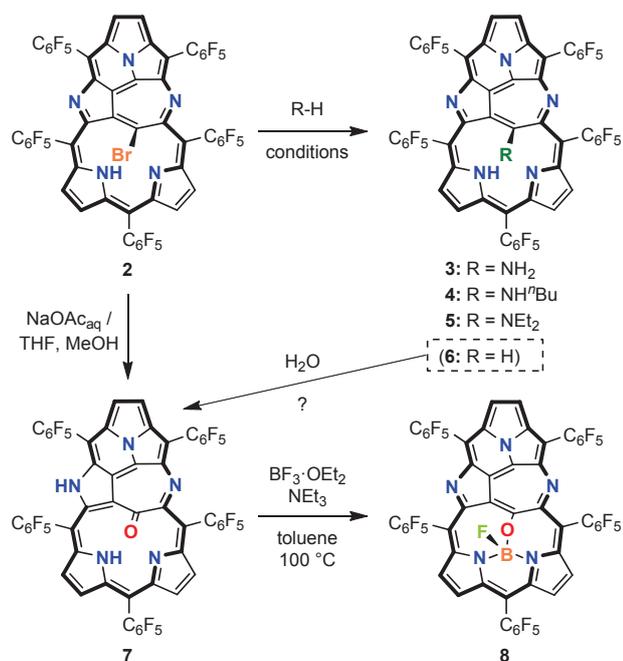


Figure 1. ¹H NMR spectra of **1** (upper) and **2** (lower) in CDCl₃. (* = solvent or impurity)

carried out by X-ray diffraction analysis for a single crystal of **2** provided by a vapor diffusion method of methanol into a CHCl₃ solution of **2**. Successive ring-opening and -closing recombination occurred to form multiply fused pentacyclic rings (Scheme 1, Figure 2). The bromine atom was positioned three-bonds away from the pyrrolic nitrogen (N², scheme 1), hence the first bromination was probably took place at the inner position (marked with *) of fused tricyclic ring of **1**. The entire π-plane was slightly bent at the middle of the molecule and the mean-plane-deviation (MPD) values of the core 30 atoms, the upper 17 atoms (pentacyclic part, MPD_p), and lower 13 atoms (dipyrin part, MPD_d) were 0.350, 0.083, and 0.162 Å, respectively (Figure S8), while the bromine substituent was tilted by 32.8° against the pentacyclic plane. The harmonic oscillator model of aromaticity (HOMA) value, a measure of bond-length alternation and therefore of aromaticity,⁵ has been calculated to be 0.632, thus indicating that it possesses a well delocalized macrocycle. For the sake of convenience, we call this product **RNFP**₅-Br (**R**ecombined **N**-**F**used **P**entaphyrin-**B**romide).

Since **2** was quite electron-deficient because of a well-conjugated π-network bearing several electron-withdrawing groups, we tried nucleophilic substitution



Scheme 2. Nucleophilic substitution reactions and coordination reaction. (The bold lines mean the conjugation circuit.)

reactions onto the brominated position.⁶ When **2** was treated with primary or secondary amines, the corresponding mono or dialkylamino groups, respectively, were smoothly introduced under ambient or moderate heating conditions (**3-5**, Scheme 2). Surprisingly, using NH₄OAc as an ammonia source allowed direct amination without any metal catalysts. Tertiary amine did not afford any substituted product probably owing to the steric hindrance. In addition, oxygen-adduct **7** that gave the HR-ESI-MS: 1230.0401 (Figure S14) was occasionally obtained during these reactions. In the ¹H NMR spectrum of **7**, six doublets due to the outer β-protons appeared within slightly upfield region (7.17-7.63 ppm) compared to those of compound **2-5** along with the singlets assigned to the NH protons 9.61 and 10.87 ppm, which disappeared by addition of D₂O (Figure S6). The crystal structure of **7** (Figure 2) revealed that the length of the C–O bond was 1.22 Å comparable to that of a carbonyl group (keto form). These results show loss of the aromatic nature of **7** (HOMA: 0.531) and agree with the structure in which the peripheral conjugation pathway is interrupted by the cross conjugation as illustrated in

Scheme 2, while **7** has a similar planarity to that of **2** (MPD: 0.348 Å, MPD_p: 0.057 Å, MPD_d: 0.157 Å).

In the next step, metallation of the **RNFP₅** series was investigated. Unfortunately, most of our attempts did not work and led to recovery of the starting materials or formation of complicated mixtures even in the case of using [RhCl(CO)₂]₂ salt, which effectively form dipyrin-Rh(CO)₂ complex with many common porphyrinoids.^{4b, 4c, 7} The narrow cavity and the stiff skeleton of **RNFP₅** framework accepted only boron atom to form complex **8** during the reaction of oxygen-adduct **7** with triethylamine and the subsequent treatment with BF₃·OEt₂. ¹H NMR spectrum of **8** displayed clear downfield-shifted signals due to the outer β-protons, suggesting the aromaticity of **8** (Figure S7). According to the X-ray crystal structure shown in Figure 2, **8** adopted a slightly waving structure in contrast to the other derivatives and the length of the C–O bond was 1.37 Å that was comparable to a single bond, indicating that **8** employed the aromatic tautomer (enol form) as illustrated in Scheme 2. The boron atom was coordinated by NNO core together with the axial fluorine atom in a tetrahedral fashion, but couldn't

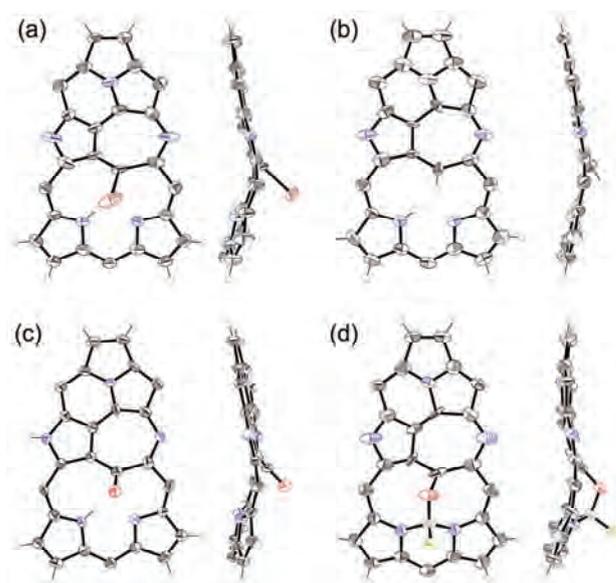


Figure 2. Crystal structure of (a) **2**, (b) **6**, (c) **7**, and (d) **8**. Right; top view; left: side view. Thermal ellipsoids are set at the 50% probability level. *meso*-Substituents are omitted for clarity.

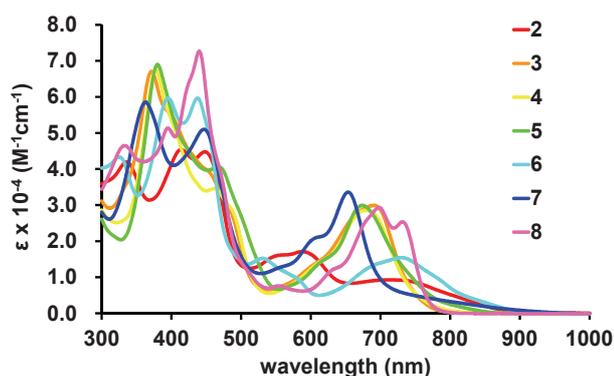


Figure 3. UV-visible absorption spectra in CH_2Cl_2 .

stay in the inner cavity and was displaced from the entire mean plane by 1.218\AA . In order to obtain a planar coordination, removal of the inner substituent (bromine for **2**, oxygen for **7**, and so on) seems to be necessary. Luckily, we accidentally obtained an inner unsubstituted derivative **6** as a byproduct of **7**. Since **6** was gradually changed into **7** in a hydrophilic solvent such as methanol, the oxygen source of **7** was likely to be water. In the ^1H NMR of **6** (Figure S5), a signal due to the inner C-H proton appeared at 0.70 ppm, revealing the influence of a clear aromatic ring current effect (HOMA: 0.640). The absence of the bromine atom moderated the steric strain of the framework, therefore **6** approximated the flatter structure than that of **2** (MPD: 0.279\AA). However, the reproducibility of this reaction was quite poor, so we have too little amount of **6** in hand to explore in detail.

UV/visible/near-IR absorption spectra are shown in Figure 3. Most compounds exhibit ill-defined Soret-band-like bands and Q-band-like bands around 300-500 nm and 600-800 nm, respectively. The overall wave shapes and the λ_{max} were significantly differed by the functionalities, suggesting smooth electronic interaction between the macrocyclic plane and the substituents. In the cases of reported nucleophilic substitution reactions of hexaphyrins,⁵ no remarkable spectral changes were recognized through the introduction of substituents because the perpendicular geometry of *meso*-aryl linkers to the macrocyclic plane suppressed the electronic communication between them. In this

work, the absorption property of each compound was distinctive depending on the substituent. Besides, the conditions of the reactions were relatively milder and no tedious separation processes were required.

In summary, we developed a regioselective mono-bromination of **NFP**₅ followed by a skeletal recombination reaction giving an **RNFP**₅ framework under mild and common conditions. **RNFP**₅-Br showed an aromatic nature derived from the 22 π conjugation network and was quite reactive to several functionalizations. The derivatives exhibit distinctive absorption spectra depending on the substituents so that they can potentially attain various electronic interactions between the core and side chains. Although the detail reaction mechanism is still unclear, further investigation is ongoing in our laboratory.

Acknowledgment. This work was supported by the Special Funds for Education and Research (Development of SPECT Probes for Pharmaceutical Innovation) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan and by Grant-in-Aid for Young Scientists (B) (No. 24750034) from JSPS. M.S. thanks Kurata Grant from the Kurata Memorial Hitachi Science and Technology Foundation, and Shorai Foundation for Science and Technology.

Supporting Information Available. Synthetic procedures, spectral data for compounds, ^1H NMR and ESI-mass spectra. CIF file for **2**, **6**, **7**, and **8**. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

References.

- (1) (a) Jasat, A.; Dolphin, D. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2267. (b) Lash, T. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1763. (c) Furuta, H.; Maeda, H.; Osuka, A. *Chem. Commun.* **2002**, 1795. (d) Sessler, J. L.; Siedel, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5134. (e) Chandrashekar, T. K.; Venkatraman, S. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 676. (f) Stepień, M.; Sprutta, N.;

- Latos-Grażyński, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4288. (g) Saito, S.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4342. (h) Saito, S.; Osuka, A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4330.
- (2) (a) Suzuki, M.; Taniguchi, R.; Osuka, A. *Chem. Commun.* **2004**, 2682. (b) Suzuki, M.; Yoon, M.-C.; Kim, D. Y.; Kwon, J. H.; Furuta, H.; Kim, D.; Osuka, A. *Chem.-Eur. J.* **2006**, *12*, 1754. (c) Suzuki, M.; Osuka, A. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 196. (d) Suzuki, M.; Osuka, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 464. (e) Suzuki, M.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5171. (f) Saito, S.; Kim, K. S.; Yoon, Z. S.; Kim, D.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5591. (g) Moriya, K.; Saito, S.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4297. (h) Tanaka, Y.; Mori, H.; Koide, T.; Yorimitsu, H.; Aratani, N.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11460. (i) Tanaka, Y.; Hoshino, W.; Shimizu, S.; Youfu, K.; Aratani, N.; Maruyama, N.; Fujita, S.; Osuka, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3046.
- (3) (a) Mori, S.; Kim, K. S.; Yoon, Z. S.; Noh, S. B.; Kim, D.; Osuka, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11344. (b) Yoneda, T.; Aratani, N.; Osuka, A.; *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2013**, *17*, 665. (c) K. Youfu and A. Osuka *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1381.
- (4) (a) Shin, J.-Y.; Furuta, H.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 619. (b) Mori, S.; Shin, J.-Y.; Shimizu, S.; Ishikawa, F.; Furuta, H.; Osuka, A. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2417. (c) Yoneda, T.; Mori, H.; Lee, B. S.; Yoon, M.-C.; Kim, D.; Osuka, A. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6785.
- (5) (a) Kruszewski, J. Krygowski, T. M. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3839. (b) Krygowski, T. M. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1993**, *33*, 70.
- (6) Suzuki, M.; Shimizu, S.; Shin, J.-Y.; Osuka, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4597-4601.
- (7) (a) Burrell, A. K.; Sessler, J. L.; Cyr, M. J.; McGhee, E.; Ibers, J. A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 91. (b) Sessler, J. L.; Gebauer, A.; Guba, A.; Scherer, M.; Lynch, V. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 2073. (c) Sridevi, B.; Narayanan, S. J.; Rao, R.; Chadrashekar, T. K.; English, U.; Ruhlandt-Senge, K. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 3669. (d) Srinivasan, A.; Toganoh, M.; Niino, T.; Osuka, A.; Furuta, H. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 11305. (e) Tanaka, T.; Aratani, N.; Osuka, A. *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 889. (f) Rath, H.; Aratani, N.; Lim, J. M.; Lee, J. S.; Kim, D.; Shinokubo, H.; Osuka, A. *Chem. Commun.* **2009**, 3762.

金属ナノ粒子の物性評価と熱伝導メカニズムの解明

豊田工業大学 大学院工学研究科
吉村 雅満

1. 緒言

ラマン分光法は、入射光と散乱光の振動数の差が物質固有の値をもつことを利用し、分子構造や結晶構造を非破壊分析する振動分光法である。しかし、通常可視のレーザー光を用いるため空間分解能がサブミクロンに制限される。近年、高空間分解能実現に向けて探針増強ラマン散乱(Tip-Enhanced Raman Scattering: TERS)が注目されている[1]。これは、金属ナノ粒子による局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)と原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscopy: AFM)技術を組み合わせた手法である[2]。TERSでは金属探針または金属をコーティングしたAFM探針を用いる。これにより、金属探針先端径に相当する高い分解能を達成できることから、グラフェンなどのナノ材料の評価技術として期待されている。しかしながら、市販の探針がないため、TERS探針の開発は喫緊の課題である。

本研究では、金属ナノ粒子を用いた増強ラマン用AFM探針として独自にカンチレバーを開発し、ナノ材料を試料としてTERS特性を詳細に調べた。

2. 実験方法

Bruker社製、原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscopy: AFM)装置(Innova)及びRenishaw社製ラマン装置(inVia Raman Microscope)を用いた。また、Olympus社製AFMカンチレバー(OMCL-AC160TN-R3)に酸化膜を形成し、さらにAgを30nm、Alを2nmスパッタ蒸着し増強探針を作製した(Fig. 1(a))。AlはAgの耐酸化保護膜として使用した。まず試料としてマラカイトグリーンを用い、カンチレバー表面の酸化膜依存性とTERSの探針位置依存性を測定した。前者は計算と比較し、後者では探針先端にラマンレーザー(波長532

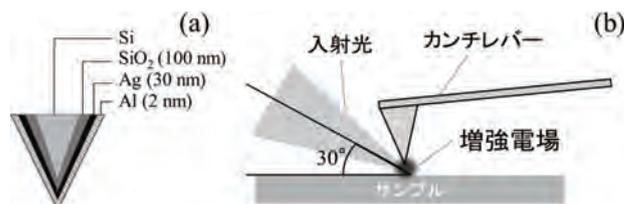


Fig. 1 (a)増強ラマン用探針, (b)TERS測定図

nm、露光時間3s、強度1%、入射角60°)を照射した状態でAFMフィードバックを切ってレーザー及び試料位置を固定した後、探針のみを移動させ探針位置を変化させた。Fig. 1(b)に測定時の位置関係を示す。入射光を斜めから照射することにより探針先端に十分に光が到達可能である。

次に試料として独自に合成したCVDグラフェン(エッジ部付近)を用いてTERSラマンマッピングを行った。探針先端にレーザー(波長532nm、露光時間1s、強度5%、入射角60°)を照射し、マッピング像を取得した。

3. 実験結果および考察

3.1 酸化膜厚依存性

金属ナノ粒子によるプラズモン共鳴においては、ナノ粒子周辺の環境(誘電率など)が大きく左右する。今回シリコン製カンチレバー上に形成した酸化膜厚を変化さ

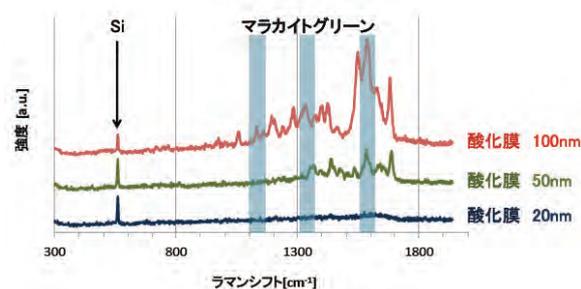


Fig. 2 種々の酸化膜厚でのTERSスペクトル

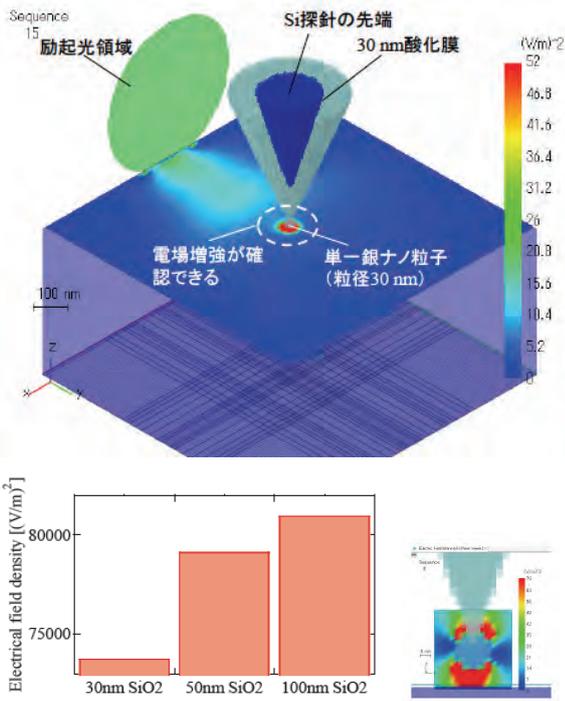


Fig. 3 FDTD 計算モデル(上)、電場計算結果(下左)、電場増強の様子(下右)

せ、TERS特性がどのように変化するかを調べた。

Fig. 2は、酸化膜20nm、50nm、100nmの探針を用いて得られたTERSスペクトルである。試料は金上のマラカイトグリーンである。酸化膜が厚くなるとピーク強度も大きくなっているのがわかる。

Fig. 3は、FDTD(Finite-difference time-domain method)による計算モデル及び結果を示す。モデルにおいては、励起光532nm、円錐型の探針先端に酸化膜を一樣に所定の膜厚形成し、さらにその上にAg単一微粒子(直径30nm)を配置した。実験で用いたAl膜は考慮していない。Fig. 3上図及び下右図で微粒子近辺の増強電場

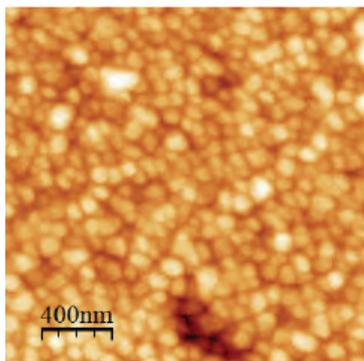


Fig. 4 マラカイトグリーンのAFM像

が明瞭に観察できる。さらに下左図から、酸化膜厚が大きくなると電場強度も増加することがわかり、実験とよく一致した傾向となっている。このように考えると酸化膜厚が大きいほど良いことになるが、計算結果からも電場増強効果はほぼ同程度となっていること、及びAFMとしての分解能を考えると、100nmが妥当と考えられる。実際に100nmの場合に取得したAFM像をFig. 4に示す。マラカイトグリーン分子が明瞭に観察されている。

3.2 TERS信号の探針位置依存性

TERSが生じているかどうかを判断する方法としては、探針を試料表面から離すことにより信号の減衰を見るのが簡便である。但し装置として探針試料間距離を系統的に変化させてスペクトルを取得する機能は持ち得ていないので、今回は piezo素子とステッピングモータを駆使して依存性実験を行った。Fig. 5に異なる探針試料間距離でのTERSスペクトルを示す。TERSスペクトルではマラカイトグリーンからの特徴的な 1295cm^{-1} 、 1366cm^{-1} 、 1615cm^{-1} 付近のピークが確認できる。しかし、 $0.4\mu\text{m}$ (Offset)、 $50\mu\text{m}$ (Withdraw)離れた位置でのスペクトルでは確認できず、この位置では電場増強されていないことがわかる。しかし、Offsetのスペクトルにおいて $1100\text{cm}^{-1} \sim 1600\text{cm}^{-1}$ 付近にかけてブロードなピークが存在する。これは、探針材料であるシリコンの横光学モード、あるいはカーボンコンタミに由来するピークであり、探針先端がレーザー焦点($1\mu\text{m}$)内に存在することを示している。このコンタミネーションはAgの反応性の高さによるものと思われるが、今後探針開発において、このコンタミをどのように防ぐかが重要なポイントになる。

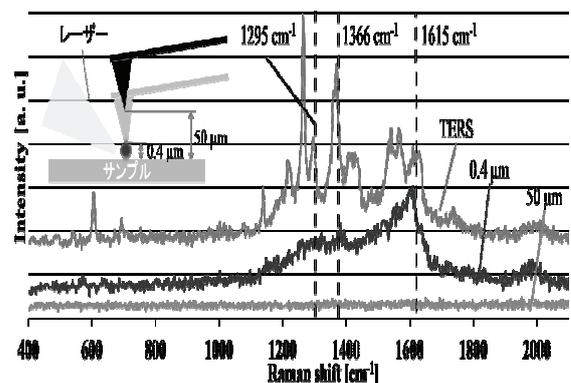


Fig. 5 異なる位置でのラマンスペクトル

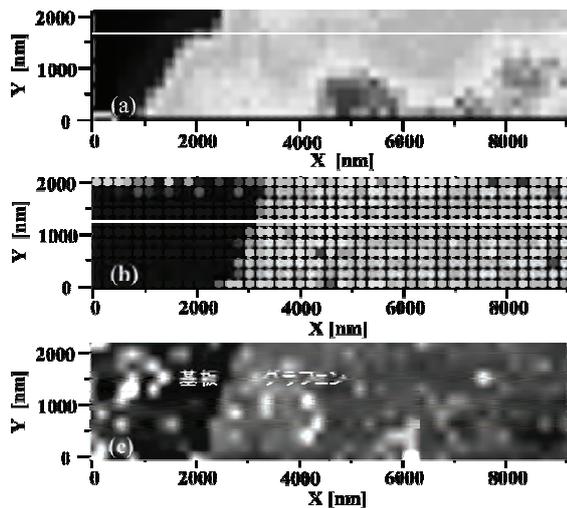


Fig. 6 (a)顕微ラマン像(グラフェン2Dピーク)
 (b)TERS像(グラフェン2Dピーク)
 (c)AFM像(TERS時)

3.3 グラフェンのTERSラマンマッピング

Fig. 6(a), (b), (c)に顕微ラマン像、TERS像、AFM像を示す。(a), (b)の白線位置での規格化プロファイルを図. 7に示す。顕微ラマンでは距離が1400~3000nmの間でIntensityは緩やかに変化している。一方TERSでは、2900~3300nmの間に急激な変化が確認できる。ナイフエッジ法を用いてIntensityが16~84%まで上昇する間の距離からスポット径を求めると、顕微では約2500nm、TERSでは約1100nmで約1.5倍の差があり、TERSにより分解能が向上したことがわかる。次に、TERS増強の指標となるNE(Net enhancement) [3]を評価したところ、顕微ラマン分光と比べ約200倍となった。これはスポット径を考慮した電場増強評価法である。また、TERSプロファイルの細かい変動が激しいが、これは、局所的な試料構造(恐らく転写の際に用

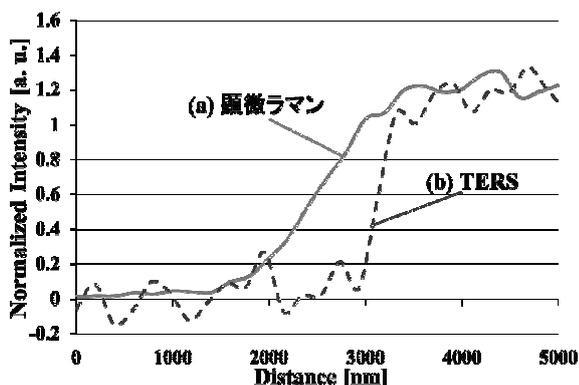


Fig. 7 規格化したFig.3 (a), (b)のラインプロファイル

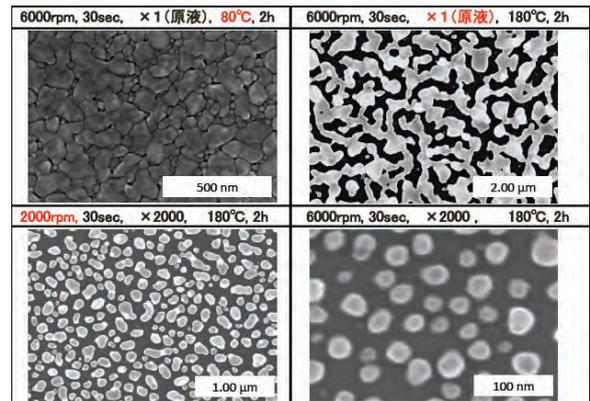


Fig. 8 銀微粒子分散条件の探索

いたPMMA残渣)を反映していると考えられる。以上から、TERSは顕微ラマン分光に比べスポット径が小さく、空間分解能が高いことが実証できた。さらに、TERSマッピングにより、ラマンマッピング像とAFM像の同時取得に成功した。

4. まとめ

本研究で、先端に銀ナノ粒子が存在する独自開発の探針を用いてTERS測定に成功した。シリコンカンチレバーの酸化は必須であり、100nmでAFMとしての空間分解能に影響を与えることもなく、電場増強効果を得ることができた。さらに、グラフェンエッジ部のTERS

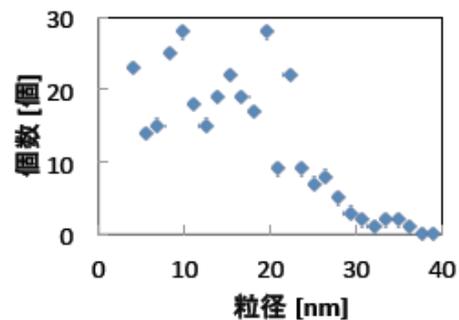
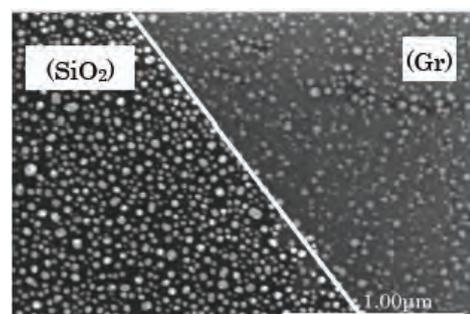


Fig. 9 銀微粒子分散表面と粒径分布

マッピング、顕微ラマン像の比較により、TERSの高い空間分解能を実証した。

次に「金属ナノ粒子の伝導メカニズム」に関しては、適度なスピードと溶液濃度で、銀微粒子をスピニングした後(Fig. 8)、大気中で180°Cで2時間焼成することにより、グラフェン/SiO₂基板上に適度な距離で配置した分散膜をつくることに成功した。Fig. 9にその表面のSEM像を示す。SiO₂上とグラファイト上で微粒子の密度が違うなど興味深い結果が得られている。この表面に対して微粒子有り無しの条件で、サーマルイメージング(AppNano)を実験したが、現時点でははっきりとした伝導性の違いが出ていない。今後、さらなる実験研究を継続する予定である。

5. 参考文献

- [1] B. Pettinger et al., *J. Phys.* **36**(2005)541.
- [2] X. Cui et al., *Chem. Phys. Lett.* **453**(2008)5262.
- [3] K-D. Park et al., *J. Raman Spectrosc.* **43**(2012)1931.

6. 関連成果

A. 原著論文

- (1) Focused Ion Beam as a Tool for Graphene Technology: Structural Study of Processing Sequence by Electron Microscopy
Gemma Rius, Amir H. Tavabi, Narcis Mestres, Osamu Eryu, Takayoshi Tanji, Masamichi Yoshimura, *Jpn. J. Appl. Phys.* 53(2014)02BC22.
- (2) Threefold atmospheric-pressure annealing for suppressing graphene nucleation on copper in chemical vapor deposition
Seiya Suzuki, Takashi Nagamori, Yuki Matsuoka and Masamichi Yoshimura
Jpn. J. Appl. Phys. 53 095101 (2014).
- (3) Raman spectral mapping of self-aligned carbon nanowalls
Toshio Kawahara, Satarou Yamaguchi, Yasuhide Ohno, Kenzo Maehashi, Kazuhiko Matsumoto, Kazumasa Okamoto, Risa Utsunomiya, Teruaki Matsuba, Yuki Matsuoka and Masamichi Yoshimura, *Jpn. J. Appl. Phys.* 53(2014)05FD10.
- (4) Robust operation and performance of integrated

carbon

nanotubes atomic force microscopy probes

G. Rius, I. T. Clark and M. Yoshimura

Journal of Physics: Conference Series 417(2013) 012072.

- (5) Nondegradative Dielectric Coating on Graphene by Thermal Evaporation of SiO
Seiya Suzuki, Chien-Chung Lee, Takashi Nagamori, Thomas R. Schibli and Masamichi Yoshimura
Jpn. J. Appl. Phys. 52 125102(2013).

B. 学会発表等

- (1) Tip-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy of Graphene/SiO₂: Tip Preparation and Evaluation of Spatial Resolution
M. Yoshimura, R. Uehara, T. Kozu, M. Misawa, and M. Suzuki
8th INTERNATIONAL CONFERENCE ON ADVANCED VIBRATIONAL SPECTROSCOPY, Vienna, Austria(2015.7).
- (2) Tip-enhanced Raman scattering (TERS) spectroscopy measurements with AFM contact mode low force constant cantilever
Tomomi Kozu, Mayumi Misawa, Ryo Uehara, Masamichi Yoshimura, and Ken Nishida
8th INTERNATIONAL CONFERENCE ON ADVANCED VIBRATIONAL SPECTROSCOPY, Vienna, Austria(2015.7).
- (3) 「ナノスケールラマン分光測定技術～チップ増強ラマン分光(TERS)の可能性」
光の回折限界を超える空間分解能でのナノカーボン評価
吉村雅満
RamanFest Workshop 2015, Horiba(2015.5)
- (4) "タッピングAFM-チップ増強ラマン分光測定の最適化"
福原陽亮, 吉村雅満, 小瀬村大亮, 小椋厚志, 神津知己, 後藤千絵, 川口哲成
2014年第61回応用物理学会春季学術講演会、青山学院大学、神奈川(2014/3/18)

高性能・低価格な無機-有機ナノハイブリッド フェライトマグネットの開発

兵庫県立大学 大学院工学研究科
菊池 丈幸

1. 緒言

鉄を主成分とする酸化物であるフェライトは、原料が安価であること、化学的に安定であること、合成が容易であることから、永久磁石、磁気記録媒体、電子部品などに用いられ、広範な工業分野で応用されている⁽¹⁾。特にマグネトプランバイト型とよばれる結晶構造(図1)をとるM型バリウムフェライトやM型ストロンチウムフェライトは、高い一軸の結晶磁気異方性を示し、磁化の反転が容易には起こらない硬質磁性体に分類され、主として永久磁石(フェライトマグネット)として広く利用されている⁽²⁾。フェライトマグネットの性能を向上させるために様々な工夫がなされているが、その一つとして磁性

体の粒子を微細化することで磁石内に異なる方向の磁区をもたない単磁区構造を実現しようとする試みが挙げられる。一般的に強磁性体に磁場を印加すると、磁区の成長と回転が生じ磁気モーメントの磁場方向成分の総和である磁化は増加しやがて飽和するが、この飽和磁化は磁場が十分に強い場合に限られ、外部磁場が無くなれば磁性体内部に生じる反磁場の効果によって逆方向の磁区が成長し、磁性体のもつ正味の磁化(残留磁化)は飽和磁化より小さくなる。また、磁化方向の異なる磁区同士の境界には磁壁が生成し、この磁壁の移動により磁性体全体の磁化反転が容易に起こり、磁化をゼロにするために必要な磁場の大きさ(保磁力)が小さくなる。これらのことから、優れた永久磁石材料として大きな残留磁化と保磁力を併せ持つ磁性体を得るには、逆磁区の発生や安易な磁化反転の原因となる磁壁の発生を抑制し、一つの磁性体粒子が一つの磁石で形成されている単磁区構造を実現すればよいといえる。逆磁区生成の駆動力となる反磁場の静磁エネルギーは磁性粒子の体積に比例することから、定性的には磁性体粒子のサイズをある限界以下にすることができれば磁壁が形成されることはなく単磁区構造が実現できる。M型フェライトの場合、この臨界粒子径は約900nmと計算されているが⁽³⁾、一般的なセラミックス合成法である固相反応法による合成ではM型フェライト単相を得るのに必要とする熱処理温度が最低でも1273Kと高いため、得られるフェライト粒子のサイズは数マイクロメートル~数十マイクロメートルとなり、単磁区臨界粒子径以下の微粒子を得ることは難しい。そこで本研究では、M型フェライト微粒子の合成法として、溶液プロセスの一つである錯体重合法⁽⁴⁾を適用した。錯体重合法の特徴は、複数の元素を原子スケールで均一に混合できることや低結晶性で反応性の高い前駆体粉末が

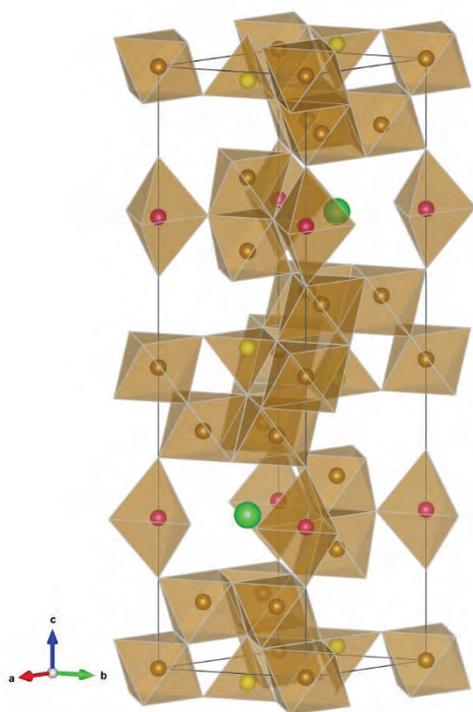


図1 M型フェライトの結晶構造

得られることであり、複雑な化学組成をもつ多元系酸化物の低温合成に適した合成法である。我々はこれまでに、この錯体重合法を用いて種々のフェライトの低温合成や高純度合成に取り組んできた。その結果、M型バリウムフェライトやM型ストロンチウムフェライトの単相合成温度を200K以上低下させることに成功し、低温で合成したフェライト粒子は結晶成長が抑制されるため微粒子化(100nm以下)することを報告した⁽⁵⁾。また高い結晶磁気異方性をもつことで知られるLa-Co置換型Sr系M型フェライト⁽⁶⁻⁸⁾やLa-Co置換型Ca系M型フェライト⁽⁹⁾の低温合成にも成功し、高い保磁力を示すフェライト微粒子が得られることを明らかにした⁽¹⁰⁻¹²⁾。さらにマルチフェロイクスを示すSr-Co系Z型フェライトやSr-Co系U型フェライトの高純度合成にも、錯体重合法が有効であることを明らかにした⁽¹³⁻¹⁷⁾。

しかしながら、錯体重合法により低温合成したフェライト微粒子を永久磁石として使用するには、何らかの方法で固化成型をする必要が生じる。最も簡単な固化成型の手法は高温で焼き固める「焼結」であるが、安易に高温で熱処理をしてしまうとフェライトの微粒子は容易に結晶成長し、磁石としての性能は一気に低下することになる。この望ましくない結晶成長を抑制することを目的として、放電プラズマ焼結法(Spark Plasma Sintering)を用いた低温・短時間焼結による固化成型を試みた結果、通常の焼結法と比較すれば格段に結晶成長を抑制することができ、磁石性能を飛躍的に向上させることが可能であったが、一定以上の高密度を得ようとすると、熱処理による結晶成長とフェライト相の分解が不可避であり、磁石性能が一気に劣化することを報告した⁽¹⁸⁾。

一方、熱処理をせずに強磁性体粉末を固化し実用に耐える形態に加工する技術として、高分子材料と複合化する手法が知られている。これはボンド磁石やラバー磁石と呼ばれ広範に実用されている技術である。本研究ではこのボンド磁石に倣って、錯体重合法により低温合成した高保磁力M型フェライト微粒子をエポキシ樹脂と複合化することで、熱処理を伴わない固化成型を試み、その永久磁石特性を評価することを研究目的とした。

2. 実験方法

2.1 高保磁力フェライト微粒子の作製

出発原料として、 SrCO_3 、 La_2O_3 、 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、

$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (全て特級試薬)を用いた。仕込み組成を $\text{Sr} : \text{La} : \text{Fe} : \text{Co} = 0.65 : 0.4 : 11.6 : 0.4$ として、各々の原料を精秤したのち蒸留水に溶解して水溶液とした。これに全金属イオンの物質量の約5倍等量のクエン酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)を添加して金属-クエン酸錯体を形成させたのち、約393Kまで加熱することでエステル化による脱水重縮合反応を起こさせることで高粘度のゲルとした。このゲルを623Kで数時間、大気中にて熱処理することで熱分解を行い、反応前駆体粉末を作製した。得られた前駆体粉末をアルミナ坩堝に入れ、1123Kで24時間、大気中で熱処理することでM型フェライト微粒子を作製した。試料の評価として、粉末X線回折(Rigaku, RINT-2200PC)による結晶相の同定、走査型電子顕微鏡(JEOL, JSM-7001FA)による微細構造観察、試料振動型磁束計(東英工業、VSM-5-15)による磁化測定(M-Hヒステリシス測定)を行った。

2.2 M型フェライト微粒子-エポキシ樹脂複合体の作製と磁気特性評価

作製した高保磁力M型フェライト微粒子は凝集を解くために遊星式ボールミル(Fritsch, P-7)を用いて湿式粉碎したのち、種々の体積率にて、エポキシ樹脂(ビスフェノールAジグリシジルエーテル：DGEBA)および硬化剤(ポリプロピレングリコールジアミン)と混合したのち、超伝導マグネットを用いて磁場印加(約5T)による磁場配向処理を行った。その後、120℃で約12時間加熱することでM型フェライト微粒子-エポキシ樹脂複合体を作製した。得られた複合体について、粉末X線回折による配向度の評価およびフラックスメータ(Lakeshore, Model 480)とヘルムホルツコイル(Lakeshore, FH-6)を用いた磁気モーメント測定による永久磁石特性の評価を行った。

3. 結果と考察

3.1 錯体重合法を用いて合成した高保磁力M型フェライト微粒子

図2に、錯体重合法を用いて1123Kで24時間、大気中にて合成したM型フェライト($\text{Sr}_{0.65}\text{La}_{0.4}\text{Fe}_{11.6}\text{Co}_{0.4}\text{O}_{19}$)のX線回折パターンを示す。観測された全ての回折ピークはマグネットプランバイト型の結晶構造(六方晶系、空間群: $P6_3/mmc(194)$ 、格子定数: $a = 0.5926 \text{ nm}$, $c = 2.317$

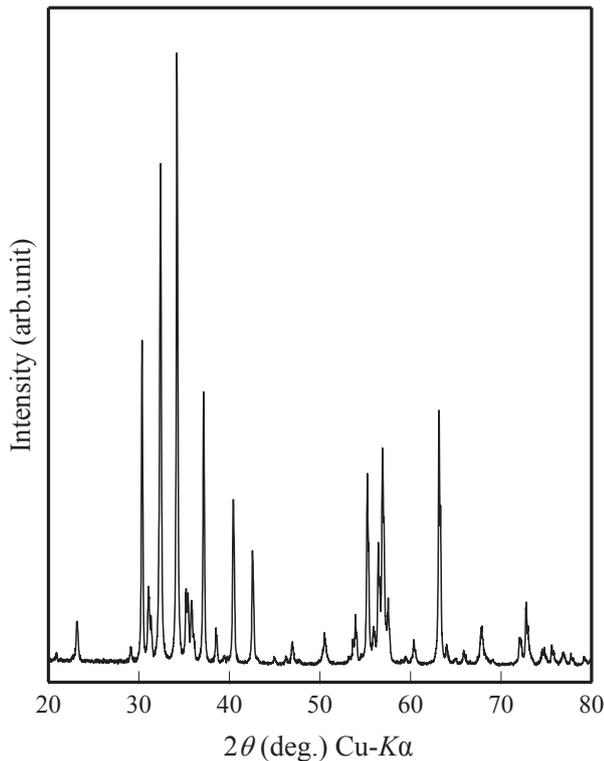


図2 錯体重合法で合成したLa-Co置換M型フェライト (Sr_{0.65}La_{0.4}Fe_{11.6}Co_{0.4}O₁₉)のX線回折パターン

nm)で指数付けが可能であり、第2相の共存しない単相試料として得られていることがわかった。このM型フェライト微粒子のSEM観察写真を図3に示す。一次粒子径が数十ナノメートルから数百ナノメートルの板状の微粒子が得られており、単磁区構造をとる臨界粒子径(約900nm)と比較しても十分に小さい粒子径であることがわかった。次にVSMを用いて測定したM型フェライト

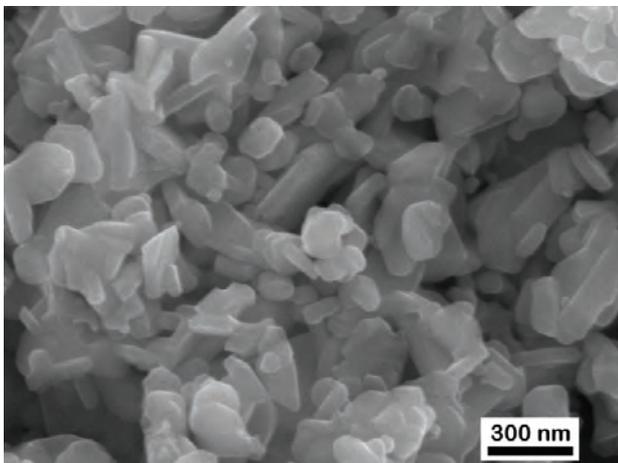


図3 錯体重合法で合成したLa-Co置換M型フェライト (Sr_{0.65}La_{0.4}Fe_{11.6}Co_{0.4}O₁₉)微粒子のSEM観察写真

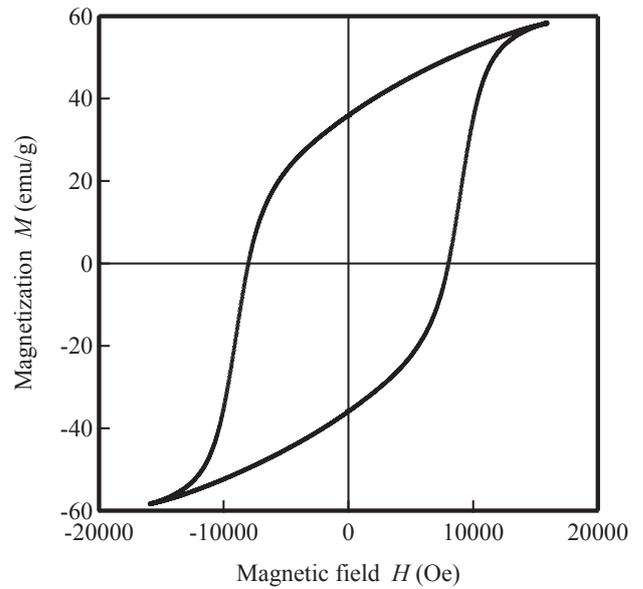


図4 錯体重合法で合成したLa-Co置換M型フェライト (Sr_{0.65}La_{0.4}Fe_{11.6}Co_{0.4}O₁₉)のM-H曲線

微粒子のM-Hヒステリシス曲線を図4に示す。測定は長さ7.5mm、直径2.5mmの円筒状試料容器に詰めた微粒子(ランダム配向)について行い、反磁場係数を最小化するために磁場は円筒の軸方向に印加して行った。本研究で作製したM型フェライト微粒子は強い一軸異方性を示し、測定時に印加した最大磁場(1.6T)でも磁化の飽和には至っていない。磁化飽和曲線に対して、以下に示すような飽和漸近則に基づいた関係式を用いてカーブフィッティングを行い飽和磁化 M_s と異方性磁界 H_a を見積もった。

$$M = M_s \left(1 - \frac{B}{H^2} \right)$$

ここでBは異方性パラメータとよばれる定数であり、M型フェライトの場合は以下に示す式で異方性磁界 H_a と関係付けられる。

$$B = \frac{H_a^2}{15}$$

上述の方法でM-Hカーブから読み取った磁気特性に関する物性値は、飽和磁化 $M_s = 63$ emu/g、残留磁化 $M_r = 32$ emu/g、保磁力 $H_c = 8000$ Oe、異方性磁界 $H_a = 18$ kOeであった。本研究で得られたM型フェライト微粒子の保磁力は、これまでに報告された実用的な磁化をもつフェライト材料の中では最大のものであり、エポキシ樹脂との複合化により高性能な磁石を作製する材料

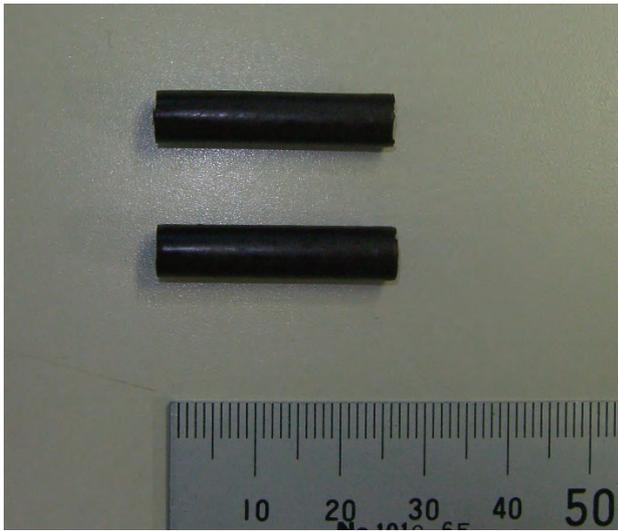


図5 静磁場(5T)印加下にて作製したM型フェライト-エポキシ樹脂複合材の外観

として適したものであると考えられる。

3.2 高保磁力M型フェライト-エポキシ樹脂複合材の作製と磁石特性の評価

図5に本研究で作製したM型フェライト-エポキシ樹脂複合材の外観写真を示す。複合材は長さ30mm、直径6.25 mmの円筒状に成型し、約5Tの磁場を円筒の軸方向に、長さ方向の中心部分が磁場中心となるよう印加して磁場配向処理を行った。硬化熱処理後の複合材試料は、着磁処理を行わなくても磁石化していた。図6に磁場中心からの距離が0mm(a)、5mm(b)、および10mm(c)の各位置の断面のX線回折パターンを示す。この測定からわかったことは、磁場中心からの距離に関係なくM型フェライトの優先配向が起こっていないという点である。十分に大きな磁場を印加したにもかかわらず、M型フェライト微粒子は回転することが出来ずに、ほぼランダム配向のままエポキシ樹脂が硬化したと見なされる。この原因についての詳細は明らかに出来ていないが、本研究で合成したM型フェライト微粒子が単磁区構造をもつために個々の粒子が磁石化しており、遊星式ボールミルにより凝集を解いた後に個々の粒子がもつ磁気力による再凝集が生じたと考えられる。次に、磁場中心部分を長さ10.2mmに切り出した試料について、フラックスメータとヘルムホルツコイルを用いた永久磁石特性の評価を行った。この測定で得られるのは試料の磁気モーメント m (Wb·cm)であり、以下に示す関係式を用いて

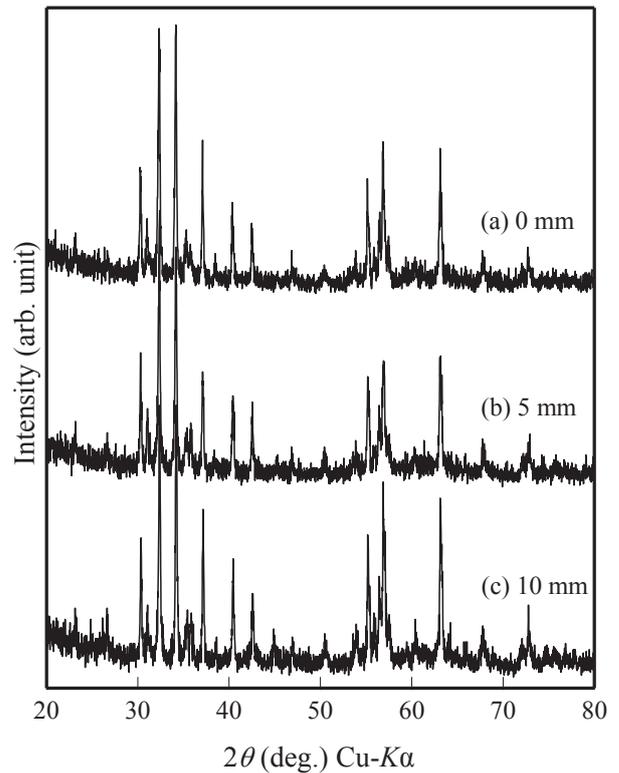


図6 静磁場(5T)印加下にて作製したM型フェライト-エポキシ樹脂複合材の磁場中心位置から種々の距離の断面におけるX線回折パターン

磁石特性を算出した。まず測定された磁気モーメント M と試料体積 V から実効磁束密度 B_{di} が以下の様に計算される。

$$B_{di} = \frac{M}{V} \text{ (Wb/cm}^2\text{)} = \frac{M}{V} \times 10^8 \text{ (G)}$$

ここから磁石材料中の磁場(反磁場)の大きさ H_d は以下の式で計算できる。

$$H_d = \frac{B_{di}}{(P_c + 1)} \text{ (Oe)}$$

ここで P_c はパーミアンス係数とよばれ、磁石の形状で決まる反磁場係数 N を用いて以下のように定義されている。

$$P_c = \frac{1 - N}{N}$$

また、磁石材料中の磁束密度を B_d とすると、実効磁束密度と反磁場の大きさから、

$$B_d = B_{di} - H_d \text{ (G)}$$

となる。さらに、残留磁束密度 B_r は実効磁束密度から以下の式で計算できる。

$$B_r = \frac{B_{di}(\mu_r + P_c)}{P_c + 1} \quad (\text{G})$$

ここで μ_r はリコイル透磁率とよばれる無次元数でフェライト磁石では約1.1である。この残留磁束密度から保磁力 H_c と最大エネルギー積 $(BH)_{\max}$ はそれぞれ次のように見積もることが出来る。

$$H_c \cong \frac{B_r}{\mu_r} \quad (\text{Oe})$$

および、

$$(BH)_{\max} = \frac{B_r^2}{4\mu_r} \quad (\text{G} \cdot \text{Oe})$$

この最大エネルギー積は、永久磁石の性能を表す指数として広く用いられている値である。本研究で作製したM型フェライト微粒子-エポキシ樹脂複合材の磁気モーメントの実測値は $M = 8.5 \times 10^{-10} \text{ Wb} \cdot \text{cm}$ 、試料形状(長さ/直径 = 1.632)から算出した反磁場係数は $N = 0.1229$ となり、上述の各式に代入した結果、残留磁束密度、保磁力、最大エネルギー積はそれぞれ、 $B_r = 2.75 \times 10^3 \text{ G}$ 、 $H_c = 2.50 \times 10^3 \text{ Oe}$ 、 $(BH)_{\max} = 1.72 \times 10^6 \text{ G} \cdot \text{Oe}$ 、が得られた。これらの値を一般的な種々のフェライト磁石と比

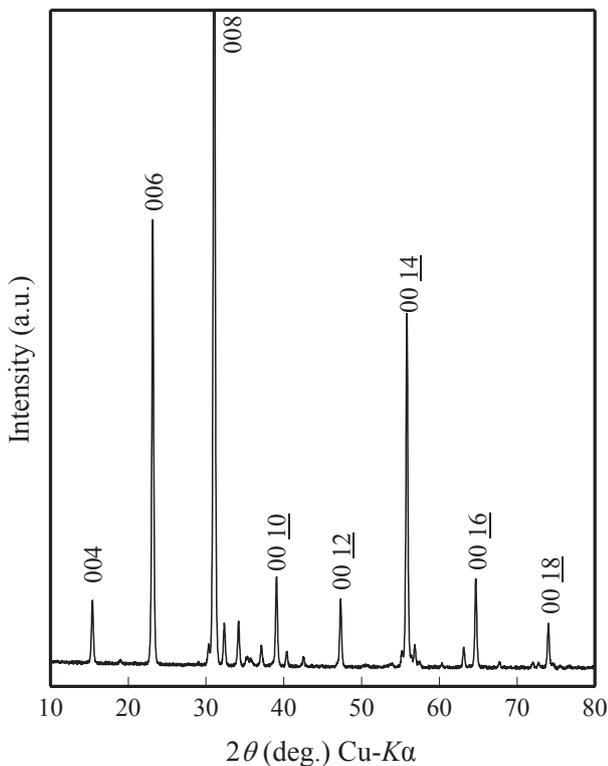


図7 磁場配向と機械的配向処理を併用して作製したM型フェライト-エポキシ樹脂複合材表面のX線回折パターン

較してみると、磁場による配向処理を施していない等方性Ba系M型フェライト焼結磁石の1.3倍程度の性能とみなせる。複合材の質量は焼結磁石と比較して数倍軽量であることを考慮すれば、以上の結果はフェライト微粒子が無配向状態として考察すると矛盾が生じる。X線回折によって明らかになった平均構造では無配向状態と判断されるが、局所的には磁気力による再凝集を免れたフェライト微粒子が磁場印加により回転して配向しているものと推測される。これらの結果から、複合材作製において重要となるのはフェライト微粒子自身の磁気力による再凝集の抑制、または再分散手法の確立であると考えられる。そこで、磁場印加と同時にフェライト-エポキシ混合体にせん断力を加えながら硬化させる実験を行った。図7に得られた試料表面のX線回折パターンを示す。|00l|面の回折ピーク強度が、強く観測されておりフェライト微粒子が選択的にc軸配向していることがわかった。X線回折のピーク強度からLotgering配向度 F を以下の式に基づいて算出した⁽¹⁹⁾。

$$F = \frac{p - p_0}{1 - p_0}$$

ここで、 p は対象試料、 p_0 は参照試料(無配向試料)の|00l|面の回折強度の総和を hkl 面の回折強度の総和で除した値である。単結晶なら $F = 1$ 、無配向試料なら $F = 0$ となる。図7のX線回折パターンから算出した|00l|配向度 F は約0.86であり、湿式磁場プレスにより作製される異方性フェライト磁石と比較すれば低い配向度ではあるが、磁石特性の向上が期待できる。しかしながら、本実験で得られた試料は微小片であり永久磁石特性を評価するには至っていない。今後の方針として、磁場印加下におけるロール成形・押出成形や交流磁場印加下での複合化など、静磁場のみならず機械的な配向処理を併用することで高配向・高密度なM型フェライト-エポキシ樹脂複合材の作製を試みる予定である。

結言

錯体重合法を用いた低温合成により、高保磁力なLa-Co置換M型Srフェライトの微粒子を作製した。得られたフェライト微粒子は数十～数百ナノメートルの一次粒子径をもつ板状粒子であり、ランダム配向の粉末状態です約8 kOeの保磁力をもつ。このM型フェライト微粒子とエポキシ樹脂を混合し、静磁場印加による配向処理を

施して複合材を作製したが、X線回折により観測された平均構造では磁場によるフェライト粉末の優先配向は認められなかった。複合材の永久磁石特性を評価した結果、配向処理を施していない等方的なフェライト焼結磁石より高い最大エネルギー積(約1.7 MG·Oe)を示したことから、磁場印加によるフェライトの配向が局部的に起こっていることが示唆される。静磁場と機械的なせん断を同時に与えることで、フェライト微粒子の選択配向が認められたことから、M型フェライト微粒子-エポキシ樹脂複合材の作製においてはフェライトの磁気力による再凝集抑制や混合時・成型時の再分散処理が重要になると考えられる。

謝辞

本研究の遂行にあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人 松籟科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。

参考文献

- (1) J. Smit and H. P. J. Wijn, *FERRITES Physical properties of ferrimagnetic oxides in relation to their technical applications*, Philips Technical Library(1959).
- (2) H. Kojima, *Fundamental Properties of Hexagonal Ferrites with Magnetoplumbite Structure*, Ferromagnetic materials Vol. 3 Chapter 5, Ed. by E. P. Wohlfarth, North-Holland Publishing(1982).
- (3) 平賀貞太郎, 奥谷克伸, 尾島輝彦, フェライト, 丸善出版.
- (4) M. Kakihana, *J. Ceram. Soc. Jpn.* **117**(8) (2009) 857-862.
- (5) T. Kikuchi, T. Nakamura, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada, Y. Ikeda, M. Nakamura, M. Miki, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.* **29**(5) (2004) 2305-2308.
- (6) K. Iida, Y. Minachi, K. Masuzawa, M. Kawakami, H. Nishio, H. Taguchi, *J. Magn. Soc. Jpn.* **23**(1999) 1093-1096.
- (7) Y. Ogata, Y. Kubota, T. Takemi, *IEEE Trans. Magn.* **35**(1999) 3334-3336.
- (8) R. Grössinger, J. C. T  llez blanco, F. Kools, A. Morel, M. Rossignol, Ph. Tenaud, *Proceedings of the 8th International Conference on Ferrites*, 2000, pp. 428-430.
- (9) Y. Kobayashi, S. Hosokawa, E. Oda and S. Toyota, *J. Jpn. Soc. Powder Powder Metallurgy* **55**(2008) 541.
- (10) T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada, Y. Ikeda, *J. Magn. Mater.* **322**(2010) 2381-2385.
- (11) T. Kikuchi, T. Nakamura, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada, Y. Ikeda, M. Miki, *Advances in Science and Technology*, **45**(2006), pp. 697-700.
- (12) T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Materials Science and Engineering*, **18**(2011), 092040(4pp).
- (13) T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Materials Research Bulletin*, **46**(2011), pp. 1085-1087.
- (14) T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Proc. 12th Conference of the European Ceramic Society*(2011), 1095(4pp).
- (15) T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Advances in Science and Technology*, **67**(2010), pp. 104-107.
- (16) T. Kikuchi, S. Yoshida, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Key Engineering Materials*, **566**(2013), pp. 227-230.
- (17) T. Tainaka, T. Kikuchi, T. Nakamura, T. Yamasaki, M. Nakanishi, T. Fujii, J. Takada and Y. Ikeda, *Key Engineering Materials*, **566**(2013), pp. 231-234.
- (18) 菊池, 中村, 山崎, 小林, 中西, 藤井, 高田, 池田, 第5回日本セラミックス協会関西支部学術講演会講演予稿集(2010), O-05 p.5.
- (19) F. K. Lotgering, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **9**(1959), 113.

研究報告集 第27集 (非売品)

2016年3月1日発行

発行所 公益財団法人松籟科学技術振興財団
〒541-0042 大阪府中央区今橋4丁目4-7
(淀屋橋ビル)

ハリマ化成グループ株式会社内

TEL 06-6229-0966
