研究報告集

第 34 集

2019年度助成研究

2023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34集発刊によせて

公益財団法人 松籟科学技術振興財団

理事長 長谷川 吉弘

第37回(2019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 34集をお手許にお届けします。1983年3月の財団創立以来、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事業を継続してまいりました。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、2020年初頭より始まったコロナウイルスの感染拡大は収束の気配が見えず、ロシアによる ウクライナへの侵攻も終わりが見えないなか、世界経済に大きな影響を与えています。特に日本の 現状を見ると、国内経済はかつての勢いがないところに上記の事変による影響で記録的な円安と なっています。

天然資源を持たない我が国においては、日本人特有の感性により科学技術を発展させ、かつての 半導体産業のように他国の追随を許さない産業分野の確立を目指すことが重要課題と思われます。

そのためには我が国が得意としている化学の力で、SDGsを意識した新素材の開発、既存品の新 製造法/合成システムの改良・開発による省エネ・省資源に向けた研究への注力が必要と考えます。

しかしながら、自然科学分野における引用論文数で我が国は過去最低の12位に後退したとの報道 があり、世界の趨勢から立ち遅れが危惧されます。

当財団では、SDGsにも関連する研究テーマである「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」を対象に科研費ではサポートされにく いといわれている基礎研究および先進的で独創的な研究に対する研究助成事業を継続してまいりま す。

今年度で創立40周年を迎える当財団では、これまでに766件の研究を支援し、助成金を贈呈した 研究者として、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。

これからも研究助成および国際交流支援事業を通じ、研究者の皆さんへの支援活動を続けていく 所存ですので、皆様の一層のご指導とご支援をお願い申しあげます。

2023年1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った国々への援助、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、この栄誉を機に、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(2022年3月31日現在)

正味財產 11億22百万円

第37回(2019年度)助成金受領研究報告

抗がん剤耐性克服を目指した未利用資源からの新規機能性分子の探索

岐阜薬科大学 生命薬学大講座 遠藤 智史…… 3

人工生体モデル膜の動的構造変化および相分離ドメイン構造の観察を利用したリンゴ等に含まれる プロシアニジン等機能性物質の簡易検出法開発と新規機能探索

青森県産業技術センター 八戸工業研究所 依田 毅…… 8 植物および微生物資源から関節リウマチ滑膜細胞のアポトーシスシグナル経路を 選択的に活性化する天然物の探索

千葉大学 大学院薬学研究院 原 康雅…… 15

ゼロ・エミッション型直接的フルバイオベースポリマー合成法の開発

金沢大学 理工研究域物質化学系 廣瀬 大祐…… 20

昆虫の蛹室作りに学ぶ植物由来接着剤の開発と3次元造形への応用 岡山大学 資源植物科学研究所 新屋 友規…… 26

リングサイズ発散合成を応用した植物天然物の量的供給と構造活性相関研究への展開

大阪公立大学 大学院理学研究科 西川 慶祐…… 30

高性能エステル交換触媒を用いるバイオディーゼル合成

神戸薬科大学 薬学部 波多野 学…… 36

生薬由来化合物をリードにしたアミロイドβオリゴマー特異的な核磁気共鳴イメージングプローブの開発 京都大学 大学院農学研究科 村上 一馬…… 40

沖縄産植物由来エキスを活用した新規神経炎症治療薬の創製

日本大学 薬学部 小菅 康弘…… 44

皮膚ケアへの多機能を指向した植物由来長鎖塩基含有新規アシルセラミド(植物性ハイブリッド脂質)の創製 北海道大学 大学院先端生命科学研究院 村井 勇太…… 49

光応答性蛍光スイッチング分子を用いた分布帰還型レーザの創製

横浜国立大学 大学院工学研究院 生方 俊

理化学研究所 開拓研究本部 礒島 隆史…… 54

Cuナノ粒子インクを用いたフレキシブル基板上への大気中Cu配線技術の開発 長岡技術科学大学 技学研究院 溝尻 瑞枝、成島 淳也…… 59

ヘテロ元素ナノチューブの同心複合化による機能材料の開発

大阪大学 大学院工学研究科 井ノ上 泰輝…… 67

ダブル(5+1)環化反応を基盤とした新規ホール輸送材料の創出

学習院大学 理学部 諸藤 達也…… 71

室温有機磁石の実現に向けた拡張π共役ラジカルによる磁気相関の設計

大阪府立大学 大学院理学系研究科 山口 博則…… 75

エネルギー移動機構を組み込んだ超分子メカノフォアの開発 東京工業大学 物質理工学院材料系 相良 剛光…… 79

iv

有機系新素材の開発:芳香環直接構築法の利用

千葉大学 大学院理学研究院 吉田 和弘…… 83

糖鎖高分子のワンポット化学-酵素合成法の開発

京都工芸繊維大学 繊維学系 田中 知成…… 88

ヘテロ縮環芳香族を基盤とした非フラーレンアクセプターによる高効率有機薄膜太陽電池の実現 兵庫県立大学 大学院工学研究科 梅山 有和…… 94

新規縮環ホスホール誘導体の合成法開発と物性解明 京都大学 大学院工学研究科 東野 智洋…… 99

発光性ポリカテナンの創出と革新的機能の探求

千葉大学 大学院工学研究院 矢貝 史樹……102

フローフォーカシングデバイスを用いた有機無機複合型球状液晶エラストマーの創出 立命館大学 生命科学部 金子 光佑……107

耐湿性と耐クリープ性を有する自己修復性イオン伝導ソフトマテリアル 物質・材料研究機構 エネルギー・環境材料研究拠点 玉手 亮多……113

異種金属結合による第一遷移金属の一次元配列化と磁気物性評価 岐阜大学 工学部 植村 一広……117

超巨大高分子による透明性と強靭性を両立したナノ相分離プラスチックの開発 物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 山内 祥弘……122

可視光を用いた選択的脱芳香族化による交差共役および拡張キノイド型機能性分子の創製 東北大学 大学院理学研究科 石田 真太郎……125

第37回(2019年度)

助成金受領研究報告

抗がん剤耐性克服を目指した未利用資源からの 新規機能性分子の探索

岐阜薬科大学 生命薬学大講座 遠藤 智史

1.研究の背景と目的

世界規模での抗がん剤市場はおよそ10兆円/年であり、 今後5年間でさらに1.5倍以上に拡大されると予想され ている。世界の高齢化の急速な進展に伴い抗がん剤の市 場が伸びている一方で、がん罹患者数は増加している。 このことは、がんの進展スピードや多様化に抗がん剤の 開発が追い付いていないことを示唆する。近年、がん細 胞の特徴を標的とした分子標的薬や抗体医薬、さらには ゲノム医薬が開発され、優れた臨床成績が報告されてい る。しかし、特徴が細分化されたことにより効果が望ま れる一方、新薬が有効な症例は限定的であり、治療の改 善が望まれている。すべての抗がん剤は耐性化の問題を 擁しており、抗がん剤耐性化の克服は非常に重要な課題 である。抗がん剤耐性化機序の解明やその克服に関する 研究は国内外間わず多くの研究者によって進められてい る。その機序としては、細胞から抗がん剤を排出する機 構(薬剤排出トランスポーター)の活性化、細胞内代謝 系の変動、増殖因子の異常活性化など多くの機序の関与 がこれまでに示唆されており、多くの製薬企業が開発に 参画しているが、現時点で成功例はない。

前立腺がんは進行が比較的遅く、10年相対生存率が 98.8%を超える予後の良いがんである。現在では、約6 人に1人の男性が生涯に前立腺がんと診断されるが、前 立腺がん診断時の平均年齢範囲は60歳から70歳であり、 その約3分の2が65歳以上であるなど、主に年配の男性 の罹患リスクが高い。前立腺がんの治療にはホルモン療 法が用いられるが、ほとんどの症例において半年から数 年、平均19ヶ月で耐性を獲得し、去勢抵抗性前立腺がん (castration-resistant prostate cancer; CRPC) へと移 行する。CRPC治療薬としてcytochrome P450 (CYP) 17A1阻害剤であるabiraterone (Abi)、ARアンタゴニス トであるenzalutamide (Enz)、apalutamide (Apa)と darolutamide (Dar)とタキサン系抗悪性腫瘍薬である cabazitaxelが承認され、臨床現場で有用性が示されてき た。しかし、これら薬剤についても同様にアンドロゲン シグナルを阻害するため耐性獲得が懸念される。

そこで、本研究では、既存抗がん剤をより効果的に使 用することを目指し、抗がん剤感受性増強効果や抗がん 剤耐性克服効果を有する天然由来化合物を探索した。

2. 結果と考察

2.1. 桂皮酸誘導体による前立腺がん細胞の増殖抑制 効果と抗がん剤耐性克服効果

プロポリスから調製したエキスやプロポリス含有化合 物が、種々のがん細胞に対して細胞死を誘導することは 過去に報告されている [1,2]。しかし、アンドロゲンシ グナルに対する影響はほとんど明らかにされていない。 強力なアンドロゲンであるtestosteroneと5a-dihvdrotestosterone (5*a*-DHT) は、それぞれ 4-androstene-3,17-dione(A4) と5*a* -androstenedione (Adione) \mathcal{O} 17位が17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 (HSD17B3)、AKR1C3 (HSD17B5) やDHRS11 をはじめとするHSD17Bsによって還元されることで主 に生成される。筆者らは、ブラジル産グリーンプロポリ スに特徴的に含有される3種の桂皮酸誘導体、 baccharin (Bac), artepillin C (ArtC), drupanin (Dru) の中で、BacのAKR1C3に対するIC50値が0.11 μMであ り、ArtC(IC50 = 1.0 μM)と比べて約10倍強い阻害活 性を示すことを明らかにしている [3]。そこで、A4誘 導性細胞増殖に及ぼす3種の桂皮酸誘導体の効果を検討 した。3種の桂皮酸誘導体の中で、ArtCとBacが有意な 細胞増殖抑制効果を示し、その効果はArtCがより強力



であった (図1A)。

次に、AR下流で発現誘導されるPSAとTMPRSS2の 発現に及ぼす桂皮酸誘導体の効果を検討した。3種の桂 皮酸誘導体の中でArtCのみが既存のARアンタゴニスト flutamide (Flu)と同様にA4によって誘導されたPSAと TMPRSS2発現レベルを顕著に低下させた (図1B)。一 方、BacとDruはPSAとTMPRSS2の発現レベルに影響 しなかった。BacはArtCよりも高いAKR1C3阻害活性を 示すにもかかわらず、AR下流シグナルの抑制効果は ArtCのみで認められたことから、ArtCの作用点は AKR1C3よりも下流に存在すると考えられた。アンドロ ゲンは細胞質に存在するアンドロゲン受容体 (AR) に 結合し、ARを核内移行させることで、PSAやTMPRSS2 の転写を誘導する。

そこで、ArtCがARアンタゴニスト作用を示すかどう かAR-EcoScreen GR KO M1細胞を用いたレポーター アッセイ法にて評価した(図2A)。A4や5*a*-DHT、合成 アンドロゲンR1881によって増加したルシフェラーゼの 蛍光はArtCによって抑制された。ARのLBDとARアン タゴニストcompound 6[4]の複合体の結晶構造



 図2. ArtCによるARアンタゴニスト作用

 (A) AR-EcoScreen GR KO M1細胞を用いたレポー ターアッセイ. **p < 0.01 vs control, **p < 0.01, NS p
 > 0.05 vs A4 alone、(B) AR LBD-ArtC結合モデルの全 体像、(C) 想定されるArtCによるAR結合様式

(PDB: 5CJ6) を鋳型とし、シミュレーションソフト MF myPrestoを用いてArtC-AR複合体モデルを作製し た(図2B-C)。現在臨床で使用されている前立腺がん治 療薬を含め、ほとんどのARアンタゴニストはリガンド 結合ドメインに結合することで阻害活性を発揮する。ア ンドロゲン (testosterone、5*a*-DHT) と合成アンドロ ゲンR1881のAR LBDへの結合にはAsn705、Gln711、 Arg752、Thr877の4残基が重要であることが知られる [5]。これらの残基の中でArtCはArg752とその近傍に 位置するGln711と水素結合可能な位置に存在した。一方 で、Thr877との相互作用は確認されなかった。LNCaP 細胞ではThr877Ala変異、22Rv1細胞ではHis874Tyr変 異が知られるが、ドッキングモデルからはArtCは Thr877やHis874のいずれとも相互作用が確認されな かったことから、これら残基との相互作用が重要になる とは考えにくく、両細胞でアンドロゲンシグナルを阻害 した前述の結果と矛盾しない。

CRPCへの進展にはARの発現や機能の異常が関わる ことが知られる。最近、150人のCRPC患者から採取し た骨または軟部組織腫瘍生検の全ゲノムおよび全トラン スクリプトーム解析において、AR遺伝子の異常の頻度



図3. ArtCによる核内AR発現 (A)定量PCR法、(B)ウエスタンブロット解析. **p < 0.01 vs control, NS p > 0.05 vs R1881 alone、(C) 免疫 蛍光染色法. 青:DAPI、緑: AR. Bar=20 µ m.

が62.7%で見られ、原発性前立腺がん患者と比較して高 いことが報告された[6]。また、CRPC治療薬に対する 耐性化が高頻度で起こることから、CRPC治療薬耐性前 立腺細胞株が樹立され、Enz [7] やAbi [8] に対する 耐性細胞株においてARの発現亢進が見られることも報 告された。そこで、前立腺がん22Rv1細胞にApaを処理 濃度を増加させながら継続的に添加することで、100 µ M Apaで維持培養が可能なApa耐性22Rv1 (22Rv1/ Apa)細胞を樹立した。22Rv1/Apa細胞では、22Rv1細 胞と比べて明らかなAR発現量の増加が認められた。ま た、合成アンドロゲンR1881によって誘導されるPSA発 現レベルも高かったことから、基底レベルでアンドロゲ ンシグナルが亢進していることが考えられた。ArtCが 22Rv1/Apa細胞のアンドロゲンシグナルを抑制するか どうか検討したところ、3種の桂皮酸誘導体の中で ArtCのみがFluと同様に有意にアンドロゲンシグナルを 抑制した。また、R1881によって上昇したARのmRNA 発現量とタンパク質発現量をArtCはほとんど変化させ





なかった (図3AB)。一方で、免疫蛍光染色法によって、 R1881で処理した22Rv1/Apa細胞における核内でのAR の蛍光強度の増大をArtCは有意に低下させることが示 された (図3C)。

次に、22Rv1/Apa細胞におけるApa感受性に及ぼす ArtCの効果を検証した。Apa感受性が低下した22Rv1/ Apa細胞において、100 μM Apaと50 μM ArtCを単独 処理したところ、アポトーシスの指標となる切断型カス パーゼ-3の発現はほとんど変化しなかったが、Apaと ArtCの併用によって有意に増大し、アポトーシス誘導 が確認された(図4A)。また、ウエスタンブロットにお いても、PARPの切断型の割合やミトコンドリア機能障 害の指標となるBax/Bcl-2比は単独処理群では増加しな かったが、併用時には有意な切断型PARP発現とBax/ Bcl-2比の増加が認められた(図4B)。抗がん剤によるア ポトーシス誘導には、多くの場合、ミトコンドリア障害 に伴う活性酸素種の産生が関与する。そこで、蛍光プロー ブJC-1を用いて、ミトコンドリア膜電位差の評価を行っ た。ApaやArtCの単独処理群では、JC-1の赤色/緑色蛍 光比がわずかに低下したものの有意な低下は認められな かった(図4C)。一方で、ApaとArtCの併用時には、赤 色蛍光はほぼ完全に消失し、ミトコンドリア機能障害が 生じていることが明らかとなった。これらの結果は、 22Rv1/Apa細胞で低下したApa感受性に対するArtCの 回復効果を示唆するものである。

2.2. Carex kobomugi花部由来新規ポリフェノール による抗アンドロゲン作用

Carex kobomugi (コウボウムギ) はカヤツリグサ科ス ゲ属の多年草で、砂浜に生育する海浜植物である。救荒 植物として知られるが、現在は食利用されることもなく、 大阪府など一部地域ではレッドリスト入りしている。過 去に食利用された経験があり安全性が保証されているた め、その含有成分を探索し、8種のポリフェノール(化合 物1-8)を単離、同定した。近年、8種のポリフェノールの 中で、化合物2は最も強力にDHRS11を阻害した $(IC_{50} = 0.35 \mu M)$ 。最近、11-ketotestosteroneと 11-ketodihydrotestosterone (11KDHT)が 11-testosteroneやDHTと同程度のアンドロゲン作用を 示すことが明らかにされた。また、CRPC患者において 11-ketotestosteroneの血漿中濃度はtestosteroneよりも 高いことも報告されている。そこで、強力なアンドロゲ ンであるDHTと11KDHT の前駆体であるAdioneと11keto-5 a -androstenedione (11KAdione) によって誘導さ れるアンドロゲンシグナルへの化合物2の効果について 検討した。C4-2細胞において化合物2はAR下流で発現 誘導されるPSAとTMPRSS2発現量を有意に低下させた (図5)。一方で、予想に反して、化合物2はDHRS11に よって生成されるDHTと11KDHT誘導性アンドロゲン も抑制した。同様の結果は、LNCaP細胞、22Rv1細胞を 用いた場合にも得られた。このことは、より下流に作用 点があることを示唆する。

そこで、AR発現に及ぼす影響について検討した。化 合物2は前立腺がんC42、LNCaP、22Rv1細胞における AR mRNA発現量とタンパク質発現量をいずれも有意に 低下させた。22Rv1細胞には、リガンド非存在下でもシ グナルを活性化させるAR V7を含めたスプライシング バリアントが発現することが知られるが、化合物2は ARスプライシングバリアントについても発現抑制した。



物 2 の影響 (A-D)定量PCR法. **p < 0.01, NS p > 0.05 vs control, **p < 0.01 vs DHT, 11KDHT, Adione or 11KAdione alone.

C4-2細胞において、化合物2と構造が類似する化合物1 と化合物3-5についても有意なAR発現抑制が認められ た。また、ウエスタンブロット法と免疫蛍光染色法によっ て、化合物2が核内AR発現を顕著に抑制することが示 された。ARタンパク質の核/細胞質量比も減少させたこ とから、化合物2はDHRS11の阻害による活性アンドロ ゲン量の低下とAR発現抑制のデュアル作用によってア ンドロゲンシグナルを制御することが示唆された。前述 の通り、CRPCにおいてARの高発現が認められること から、化合物2はCRPCに耐性獲得した前立腺がん細胞 においても有効であると考えられる。

3. 結論

今回、前立腺がんを対象とし、抗がん剤耐性克服を目 指した新規機能性化合物の探索を行い、プロポリスに含 有するArtCとCarex kobomugiに含有する化合物2が、 作用機序はそれぞれ異なるものの、アンドロゲンシグナ ルを抑制することを見出した。これらの化合物は前立腺 がん細胞のアンドロゲン依存性細胞増殖を抑制した。ま た、ArtCについてはApa耐性細胞のApa感受性を回復 させ、耐性克服効果が期待された。前立腺がんは比較的 予後が良いものの罹患者数が多く、治療期間も長期に亘 ることから、 抗がん剤に加えて、患者の生活の質の改 善を目指した補完療法の開発も望まれている。アンドロ ゲンシグナルを制御するこれらの天然化合物の機能性の 解明は、前立腺がんを含めたアンドロゲンが関わる疾患 の治療薬やサプリメントの開発に繋がると考える。

4. 謝辞

本研究の遂行にあたり、研究助成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。

5. 参考文献

- [1] M.R. Ahn, K. Kunimasa, T. Ohta et al., Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis : major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation, *Cancer Lett* 252 (2007) 235-43.
- [2] F. Li, S. Awale, Y. Tezuka, S. et al., Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure-activity relationship, *Bioorg Med Chem* 16 (2008) 5434-40.
- [3] S. Endo, T. Matsunaga, A. Kanamori, Y. et al., Selective inhibition of human type-5 17betahydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) by baccharin, a component of Brazilian propolis, *Journal of natural products* 75 (2012) 716-21.

- [4] A. Saeed, G.M. Vaught, K. Gavardinas, D. et al.,
 2-Chloro-4- [[(1R,2R)-2-hydroxy-2-methylcyclopentyl] amino] -3-methyl-benzonitrile : A Transdermal Selective Androgen Receptor Modulator (SARM) for Muscle Atrophy, J Med Chem 59 (2016) 750-5.
- [5] K. Ohta, T. Goto, S. Fujii, M. et al, Crystal structure, docking study and structure-activity relationship of carborane-containing androgen receptor antagonist 3-(12-hydroxymethyl-1,12dicarba-closo-dodecaboran-1-yl) benzonitrile, *Bioorg Med Chem* 19 (2011) 3540-8.
- [6] D. Robinson, E.M. Van Allen, Y.M. Wu, et al., Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer, *Cell* 161 (2015) 1215-1228.
- [7] K.E. Ware, J.A. Somarelli, D. Schaeffer, J. Li, et al., Armstrong, Snail promotes resistance to enzalutamide through regulation of androgen receptor activity in prostate cancer, *Oncotarget* 7 (2016) 50507-50521.
- [8] C. Liu, C.M. Armstrong, W. Lou, et al., Inhibition of AKR1C3 Activation Overcomes Resistance to Abiraterone in Advanced Prostate Cancer, *Mol Cancer Ther* 16 (2017) 35-44.

人工生体モデル膜の動的構造変化および相分離ドメイン構造の 観察を利用したリンゴ等に含まれるプロシアニジン等 機能性物質の簡易検出法開発と新規機能探索

青森県産業技術センター 八戸工業研究所 依田 毅

1. 研究の背景と目的

細胞膜の構造は、脂質二重膜中を脂質やタンパク質分 子が自由に動き回れる流動モザイクモデルが提唱されて いた。流動モザイクモデルを発展させ、より細胞膜の特 徴を捉えたモデルとして、ラフトモデルが提唱されてい た[1]。タンパク質分子等が脂質二重膜中をある程度 制限されたラフト(イカダ)ドメインと呼ばれる範囲内で 動き、ラフトドメインは細胞間の信号伝達等に伴って、 くっついたり離れたりしながら動いているとされてい る。実際の細胞上で観察されるドメイン構造は提唱され たラフトモデルを証明するのではないかと言われていた。

生体モデル膜およびヒト由来細胞を用いたこれらの研 究は、膜の三次元ダイナミクス、二次元(ドメイン構造) の集積ダイナミクスと細胞内カルシウムイオンを指標と した信号伝達が関わっていること[2]や、脂質やステ ロール類の構造を変化させるとラフトを模倣した相分離 ドメイン構造の温度応答が変化することなどの研究成果 が得られていた[3]。

申請者は酸化ストレスに対する生体モデル膜のダイナ ミクスにおいて、不飽和脂質よりもコレステロールが重 要な役割を持つことを発見した[4]。酸化ストレスの 結果、生成した酸化コレステロールの検出に成功した。 酸化コレステロールを含む生体モデル膜は温度応答性が 著しいことを生体モデル膜小胞の顕微鏡観察により発見 した。また、抗酸化物質を含む膜が酸化ストレスを受け ると相分離ドメイン構造が生じることを明らかにした [5]。

さて、りんご栽培は青森県の主要産業である。 2018 年の統計によると、青森県におけるりんごの栽培面積は 20,800 ヘクタールであり、全国の半分を占めている。し かしながら、直近で最大であった 1988 年の栽培面積 25,600 ヘクタールから18.75%減少している。りんご産業 は、地域の産業経済上のみならず、文化・観光面におい ても重要な役割を果たしている。主産地としての地位を 維持、確保することは重要な課題である。

「りんご一日一個で医者いらず」ということわざがあ る。申請者の地域では、りんごに含まれる機能性成分が 健康維持や病気の予防に効果があるという研究が蓄積さ れており、果実としてプロシアニジンが有する内臓脂肪 を減らす機能を表示できる「プライムアップル!(ふじ)」 が機能性表示食品として登録された。

免疫を活性化させる成分として、刀豆に含まれるコン カナバリンAは、細胞膜上のドメイン構造の集積を引き 起こすことや細胞内信号伝達を活性化することが蛍光顕 微鏡観察から分かっていた[2]。また、抗酸化機能性 成分として知られるレスベラトロールやテアフラビンと いったポリフェノール類が、膜の収縮や揺動などの膜ダ イナミクスを引き起こし、膜のドメイン形成を起こすこ となどが分かっていた[5]。

これらのことから人の健康に役立つ機能性成分と膜と の相互作用を観察により明らかにすることで、信号伝達 等に関わる新たな機能の発見が期待された。

2.研究の方法

2.1 均一な人工生体モデル膜に与えるプロシアニジン等の影響

一般的に人工生体モデル膜の実験で用いられる不飽和 脂質(Dioleoylphosphocholine以下DOPCと略)からなる 膜にプロシアニジンをあらかじめ加えて静置水和法によ り調製した人工生体モデル膜小胞を位相差顕微鏡により 観察した。

2.2 相分離構造に与えるプロシアニジン等の影響

一般に相分離ドメイン観察実験で用いられるDOPC、 飽和脂質(Dipalmitoylphosphatidylcholine以下DPPCと 略)、コレステロール(Cholesterol以下Cholと略)の三成 分 と 蛍 光 色 素Lissamine[™] Rhodamine B 1,2-Dihexadecanoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine (以下Rhodamine DHPEと略)からなる人工生体モデル 膜小胞を対照実験として静置水和法により作製した。液 体秩序相(Liquid ordered、以下Loと略す)からなる相分 離ドメインはRhodamine DHPEで染まらない部分とし て観察した。その人工生体モデル膜小胞中にプロシアニ ジンの濃度基準物質として用いられるプロシアニジン B2(以下PB2と略)を加えた時の相分離ドメイン構造の変 化を蛍光顕微鏡により明らかにした。

2.3 ドメイン構造変化を指標にした簡単で迅速なプ ロシアニジン濃度推定法への応用

相分離ドメイン観察実験で用いたDOPC、DPPC、 Chol、Rhodamine DHPEとPB2のからなる人工生体モデ ル膜を対照実験として作製した。既存の方法である HPLCによって濃度測定をする際の方法を参考にして [6-8]、市販のリンゴジュースから、プロシアニジンを アセトンと水、フィルターを用いて抽出した。この抽出 液とDOPC、DPPC、Chol、Rhodamine DHPEからなる 人工生体モデル膜を作製し相分離ドメイン構造に注目し て観察し、PB2標品を用いた観察結果と比較し濃度推定 に使用できるかどうか検討した。

3. 結果と考察

3.1 均一な人工生体モデル膜に与えるプロシアニジン等の影響について

以前の研究では、50%コレステロールが細胞サイズの 人工生体モデル膜小胞を形成するためのほぼ最大の含有 量であるため、50%DOPC /50%コレステロールの膜ダ イナミクスを研究することで、コレステロール含有の効 果に対する酸化ストレスの影響を研究していた [4]。 この報告に基づいて、50%は生理学的機能への影響を実 証するためのより良い濃度であると考えられた。した がって、in vitro実験として成分の濃度は生理学的条件



 図1 典型的な人工生体モデル膜小胞の顕微鏡写真(A、(i) DOPC、(ii)DOPCとPB2を50 mol%ずつ含むもの)と平 均サイズ(B)[9]

下ではありえないが、10~50%の比較的濃い濃度に設定 し、PB2の生理学的機能としての膜への影響を調査する ことを意図し実験を行った。 DOPCとPB2を含む人工生 体モデル膜小胞は、膜にDOPCのみを含むものよりも有 意に大きくなった(図1)[9]。

次に、人工生体モデル膜小胞の直径に対するPB2濃度 の影響を研究した。最大の平均直径は50%PB2の時に観 察された。平均直径はPB2濃度に依存して増加したが、 PB2濃度が10%、20%、30%、40%の場合、人工生体モ デル膜小胞はPB2を含まない人工生体モデル膜小胞との 有意差はなかった(図2)[9]。申請者の知る限り、これ はPB2を含む細胞サイズ人工生体モデル膜小胞のサイズ 変化に対するPB2濃度の影響に対しての最初の報告で あった。

人工生体モデル膜小胞のサイズ変化は、浸透圧耐性や 内包したDNAの局在形態などの物理化学的特性と生理 学的機能を変化させる可能性があった[10,11]。実際の 酵母細胞では、特定の香り成分を高生産する株の細胞サ イズが増殖ステージによって、大きいもしくは小さいこ とも明らかにしてきた[12,13]。この結果よりPB2はリ ン脂質と相互作用し、人工生体モデル膜小胞のサイズ変 化を引き起こしたと考えた。この現象はPB2添加膜が、



受容体活性化に関連する私たちの体の脂質代謝など、細 胞の生理学的機能を変化させるように影響を与える可能 性がある。

本研究では、さらにPB2を含む人工生体モデル膜小胞 のサイズ決定のメカニズムをより深く明らかにすること を目指した。以前の研究では実際のヒト細胞にプロシア ニジンが添加され、膜の流動性が増加した報告が有った [14]。あるグループは、膜の流動性が単層リン脂質液滴 のサイズに影響を与えたと報告した [15]。私たちのグ ループはまた、カプロン酸エチルや酢酸イソアミルなど の日本酒特有の香り化合物が膜の流動性に影響を及ぼ し、人工生体モデル膜小胞のサイズを変化させることを 報告した [12,13]。そこで、PB2を含む人工生体モデル 膜小胞の膜流動性の調査を行うことにした。

膜流動性の指標であるgeneralized polarization 値(以 下GP値と略す)について、蛍光色素ラウルダンおよび蛍 光顕微鏡を用いて膜流動性を調べた。対照実験として、 DOPCのみから作製された細胞サイズ人工生体モデル膜 小胞を観察しGP値を測定した。この値は以前の研究と よく一致しており [16]、PB2を含む人工生体モデル膜 小胞についてもGP値の測定し比較した。PB2を含むラ ウルダンの蛍光画像を図3Aに示し、PB2を含むDOPCを 含む膜のGP値を図3Bに示す。結果では、人工生体モデ ル膜小胞の流動性に対するPB2の濃度依存性は観察され なかった(図3B)。以前の研究では、PB2が15 nmol の DPH(1.6-ジフェニル-1.3.5-ヘキサトリエン)とJurkat T細 胞(※注:ヒト白血病由来の球状浮遊細胞でこの種の実 験でよく用いられる。)を用いた蛍光偏光観察を使用した 実験により、膜流動性を増加させたことが報告されてい た [12]。彼らは、0~1 µg / mlの濃度のプロシアニジ



図3 プロシアニジンを含む細胞サイズの人工生体モデル膜 小胞の流動性[9]

ンを使用した。本研究では、0~1 µg / mlのプロシア ニジンが0~10%の濃度に相当するため、細胞実験では 脂質相互作用だけでなく、代謝経路などの多くの複雑な 条件も考慮する必要があるが、これらの結果とよく一致 していると言える。 PB2を10%含む人工生体モデル膜 小胞は、サイズに関してPB2を含まない人工生体モデル 膜小胞とそれほど違いはないが、流動性は増加した(GP 値が低いほど流動性が高いことに注意が必要)。

本研究は、プロシアニジンを含む細胞サイズの人工生 体モデル膜小胞の流動性について初めて報告するもので ある。プロシアニジン含有人工生体モデル膜小胞の濃度 が0~50%の場合、流動性はその濃度に依存しなかった。 以前、私たちがリンゴ由来のプロシアニジンの含有量を 測定するための標準として同じPB2を使用した。プロシ アニジンの多量体化は膜の特性と効果を変化させること が報告されているが、本研究での実験の場合、PB2を含 む細胞サイズ人工生体モデル膜小胞はサイズ増加が濃度 依存性を持っていたため、膜の流動性を変化させる可能 性はないかもしれないが、PB2濃度に依存した(図2)。 サイズ増加のこれらの結果およびPB2を含む人工生体モ デル膜小胞の流動性の傾向に基づいて、PB2含有細胞サ イズ人工生体モデル膜小胞の場合、サイズ増加メカニズ ムはおそらく膜の流動性に依存していない。私たちのグ ループは、従来の研究とは異なり、別の香り化合物であ るイソバレルアルデヒド(以下IVAと略す)を含む人工生 体モデル膜小胞の場合、サイズがIVA濃度に依存して増 加していることを発見した [17]。その研究によると、 人工生体モデル膜小胞がより高い濃度のIVAを含む際に は、より高い温度で膜が揺らぎ始める割合が高くなった ことから、物質が人工生体モデル膜小胞のサイズへ影響 を与える場合、サイズのみならず物理化学的性質へも影 響を与えるのではないかと考察した。

3.2 相分離構造に与えるプロシアニジン等の影響の 解明について

PB2を含まないDOPC、DPPC、Cholをモル濃度比 40/40/20含む対照実験では、90%のLo/液体無秩序相 (Liquid disordered,以下 Ldと略す)相分離構造が観察 された。結果は以前の研究と一致していることを確認で きた(図4および図5)。

PB2を10%添加することで、人工生体モデル膜小胞の 半数以上が相分離構造を示したが、Lo/Ld相分離の比率 は減少し、均一相の比率は増加した。DOPC/DPPC相分 離構造の割合(固体秩序相(Solid ordered、以下Soと略 す)/LdとLo/Ldの合計)は15%(PB2 20%)、15%(PB2 30%)、5%(PB2 40%)、21%(PB2 50)であるため、こ れらの結果は、PB2がLo/Ld相分離構造の存在を不安







 図5 細胞サイズ人工生体モデル膜小胞の液体秩序相/液体 無秩序相(Lo/Ld)相分離構造に対するPB2濃度の影響 [18,19]

定化し、脂質の混合を強化したことを示した。PB2を 50%含む人工生体モデル膜小胞は、相分離構造の比率が わずかに大きかった。PB2による相分離構造の増加は、 PB2自体が蛍光観察でいくつかのドメインを作ることに つながるようであった。これは、以前の研究で、PB2と 同様の構造を持つテアフラビンを含む膜でドメイン構造 が見つかった[5]こととよく似ていた。

PB2を含まないDOPC / DPPCをモル濃度比50/50含 む対照実験では、45%の固体秩序(So)/液体無秩序(Ld) 相分離人工生体モデル膜小胞が観察された。以前の研究 と比較して、相分離した人工生体モデル膜小胞の比率は わずかに小さいが、確実に観察された。図6に示すよう に、濃度が10%から50%のPB2を添加しても、相分離構 造の割合に大きな変化は見られなかった。PB2 40%と 50%の濃度でLo/Ld相分離が観察された。Loを不安定化 するような影響を与えたPB2(図5)は、Soに大きな影響 を与えなかったため、興味深い結果であった。そして もう1つ興味深いことに、比較的高濃度のPB2が、Chol の存在なしに膜上にLoを作るように誘導されることが わかった(図6)。

次に、相分離した膜に対するPB2の効果の詳細を調べ るため、人工生体モデル膜小胞の流動性をGP値として 調査した。GP値は図7にまとめた。LoドメインとLdド メインはどちらも、PB2濃度の増加においてほぼ同じ傾 向であった。

PB2の濃度が10%、20%、50%の場合、GP値に有意 差はなかった。PB2の濃度が30%と40%の場合、値は大 幅に異なった。Lo/Ld相分離人工生体モデル膜小胞は PB2 10%から20%で劇的に減少したが(図5)、GP値は PB2濃度20%から30%に変化する際に大幅に変化した。 LoとLdの流動性の違いは、膜上の相分離の重要な要因 のようだと考えられた。結果や以前の研究に基づくと、









約10%から30%の濃度のPB2が膜の流動性に影響を与 え、相分離を引き起こしたと考えられた[16,20]。

LdでPB2濃度を増加させて変化するGP値の変動は、 1.2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DMPC)から作られた脂質二重層からなる人工生体モ デル膜小胞の結果の研究とよく一致した[21]。この DMPCを使用した実験ではプロシアニジンは三量体 (PB3)を使用し、人工生体モデル膜小胞のサイズはnm スケールであった。その研究では、PB3は脂質の約10~ 20%に相当するモル濃度範囲にあったが、三量体と二量 体が使用されたため、この濃度範囲はこの研究の濃度範 囲に相当すると見なすことができると考えられる。

対照的に、Lo / Ld相分離構造を持つ生体モデル膜小 胞の比率およびPB2含有人工生体モデル膜小胞の流動性 の観察された減少に基づくと、So / Ld相分離人工生体 モデル膜小胞において安定性のメカニズムは膜流動性に 依存しない可能性がある。これは興味深い発見がなされ たといえる。したがって、プロシアニジンを含む人工生 体モデル膜小胞の相分離メカニズムをより詳細に考察す ることができた。

本研究では、プロシアニジンが膜流動性を変化させ、 いくつかの濃度でLo / Ld相分離構造を減少させるよう に働くことを発見した。プロシアニジンは、受容体また はそれらのチャネル関連活性、あるいはその両方の変換 を通じて脂質代謝を変化させる可能性があると考えてい る。本研究の結果では、プロシアニジンはSo/Ld相分離 構造に大きな変化をもたらさない。いくつかの研究では、 Lo / Ld相分離とSo / Ld相分離の特性が異なることが報 告されている [22,23]。

これらの以前の報告に基づいて、私はプロシアニジン が以下のようにSo / Ld相分離ではなくLo / Ld相分離を 減少させると仮定した。プロシアニジンはLo / Ld膜に 影響を与えるが、So / Ld膜は影響を与えない。プロシ アニジンは炭素環とヒドロキシ基を持っているため、 Loドメインに移動しているようである(図1)。Loドメ インの流動性はSoドメインよりも大きいため、プロシ アニジンがLoドメインに挿入される可能性がある。Lo ドメインにDPPCとCholが豊富に存在し、そこにプロシ アニジンが挿入されると流動性が高まる。すると、Lo ドメインの流動性が増し、LoドメインとLdドメイン (DOPCリッチドメイン)の流動性の差が小さくなり、混 合して均一な人工生体モデル膜小胞が増加する。 So / Ld相分離人工生体モデル膜小胞では、Soドメインは飽 和炭素鎖と固体のような状態を持つDPPCを豊富に持っ ているが、プロシアニジンは炭素環を持つ一方でヒドロ キシ基も構造内に有するため、それほど頻繁にそのドメ インに移動しない可能性が高い。次に、プロシアニジン は、しばしばSo / Ld相分離構造を持つ人工生体モデル 膜小胞上でDOPCリッチドメインを含むLdドメインに 移動する。SoドメインとLdドメインの流動性の違いは 大きく変化しなかったため、人工生体モデル膜小胞の So / Ld相分離比は大きく変化しなかったのだろうと考 えられた。比較的高濃度の場合、プロシアニジンの一部 はDPPCが豊富な領域に移動する。次に、DPPCとLoド メインを形成するために、Cholのように作用するプロシ アニジンがわずかにあり、Lo / Ld相分離人工生体モデ ル膜小胞は少ない割合で観察されたのではないだろうか (図6)。

関連する現象が報告されている。村岡らの報告による と、DOPCから作られた細胞サイズの人工生体モデル膜 小胞を使用して、イオンチャネルとして合成された膜貫 通型マルチブロック両親媒性物質を含有させることでの 機能的活性化を膜圧の変化として誘発する可能性がある ことが報告されていた [24]。また、Wangらによって PB2およびその関連化合物が脂質代謝に関連する酵素の 活性を低下させたことが報告されていた [25]。これは、 プロシアニジン誘導体と脂質分子との相互作用による脂 質ラフトの摂動により、そのような酵素の遺伝子の発現 が少なくなり、受容体の活性化が少ないために引き起こ されたものと考察されていた。この研究においてWang らは、生細胞とコンピューターシミュレーションを使用 していた。彼らの発見が、代謝活動のないモデル膜シス テムを使用した我々の研究によっても裏付けられたこと は重要であったと考えられた。

生物物理学的および生物学的意味については上記で説 明したが、結果の応用についても説明する。人工生体モ デル膜小胞を作るための脂質に対する比率としてPB2ま たはプロシアニジン濃度を検出するために使用するため に、Lo/Ld相分離構造を持つ人工生体モデル膜小胞の割 合が減少する結果(図5)を適用した。私たちの研究所は 濃縮リンゴジュースの開発など、リンゴに含まれるプロ シアニジンが効果的に私たちの体に受け入れられるよう に努めていた [8,26]。これらの研究では、HPLCを使用 したプロシアニジン濃度の測定が必須であった。HPLC は、初期コストと実行コストの両方で比較的高価な機器 であり、時間(最低でも数時間)が必要だった。そのため、 研究開発と品質保証においては、より経済的に検出する ことが求められており、脂質に混合するだけで作製でき る人工生体モデル膜小胞を観察すれば十分に濃度を推定 することができるので、本研究の結果は迅速で低コスト な検出方法の候補となり得る。そこで次に、抽出した PB2をリンゴジュースに使用して、相分離した人工生体 モデル膜小胞に適用して観察した。 結果の要約を図8 に示す。

観察では、純粋なリンゴジュース、2倍に希釈した ジュース、および純粋な水(ネガティブコントロールと して)を対象とした。推定された各PB2濃度は、純粋な リンゴジュース、2倍に希釈されたリンゴジュース、お よび純粋な水で50%、33%、および0%であった。それ らのPB2濃度と相分離人工生体モデル膜小胞の比率の関 係は図3と一致していた。現時点で未だ3種類の状況し か実行しなかったため、データはまだ予備的なものでは ある。しかし、相分離人工生体モデル膜小胞を用いた観 察システムを用いて、プロシアニジン含有量の測定への



図8 リンゴジュース抽出物を含む細胞サイズ人工生体モデ ル膜小胞の相分離構造[18,19]

応用の可能性を示すことができたと考えている。

4. 謝辞

本研究に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。また、研究遂行に あたりまして実験計画や手順、結果の考察に対して暖か く、時には厳しく御指導くださいました弘前工業研究所 前所長齋藤知明氏、同発酵食品部長宮木博氏、同主任研 究員小倉亮氏に深く感謝いたします。

最後に、主研究対象とは異なる部署に異動になったも のの、研究遂行に配慮していただきました現所属、八戸 工業研究所の佐々木正司氏に感謝いたします。

5. 参考文献

- Simons, K., and Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes *Nature* 1997, *387*, 569–572
- Yabuuchi, S., Endo, S., Baek, K., Hoshino, K., Tsujino, Y., Mun'delanji, C. V., and Takagi, M. Raft-dependent endocytic movement and intracellular cluster formation during T cell activation triggered by concanavalin A *Journal of bioscience and bioengineering*, 2017, 124, 685-693.
- Beattie, M. E., Veatch, S. L., Stottrup, B. L., and Keller, S. L., Sterol structure determines miscibility versus melting transitions in lipid vesicles. *Biophys. J.*, 2005, *89*, 1760–1768.
- Yoda, T., Vestergaard, M. C., Akazawa-Ogawa, Y., Yoshida, Y., Hamada, T., and M., Takagi M., Dynamic response of a cholesterol-containing model membrane to oxidative stress, *Chem. Lett.* 2010, *39*, 12731274
- Phan, H.T.T., Yoda, T., Chahal, B., Morita, M., Takagi, M., and Vestergaard M. C., Structuredependent interactions of polyphenols with a biomimetic membrane system, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 2014, 1383, 2670-2677
- 6. 庄司 俊彦,リンゴのプロシアニジン分http://fmric. or.jp/ffd/ffmanual/manual40107.pdf, Accessed May 23, 2022
- Shoji, T., Masumoto, S., Moriichi, N., Kanda, T., and Ohtake, Y. Apple (Malus pumila) procyanidins

fraction-ated according to the degree of polymerization using normal-phase chromatography and characterized by HPLC-ESI/ MS and MALDI-TOF/MS. J. Chromatogr. A. 2006, 1102, 206-213.

- Yoda, T., Miyaki, H., and Saito, T. Effect of container shape on freeze concentration of apple juice. *PLoS One.* 2021, *16*, 0245606.
- Yoda, T., Direct observation of cell-sized liposomes containing a functional polyphenol procyanidin B2 from apple, *submitted*
- Ohno, M., Hamada, T., Takiguchi, K., and Homma, M., Dynamic Behavior of Giant Liposomes at Desired Osmotic Pressures, *Langmuir* 2009, 25, 11680– 11685.
- Hamada, T., Fujimoto, R., Shimobayashi, S.F., Ichikawa, M., Takagi, M., Molecular behavior of DNA in a cell-sized compartment coated by lipids, *Phys. Rev. E.* 2015, *91*, 062717.
- Yoda, T., Ogura, A. and Saito, T., Influence of Ethyl Caproate on the Size of Lipid Vesicles and Yeast Cells, *Biomimetics* 2020, *5*, 16
- Yoda, T., and Saito, T., Size of Cells and Physicochemical Properties of Membranes are Related to Flavor Production during Sake Brewing in the Yeast Saccharomyces cerevisiae, Membranes, 2020, 10, 440.
- Verstraeten, S.V., Oteiza P.I., and Fraga, C.G., Membrane effects of cocoa procyanidins in liposomes and Jurkat T cells, *Biol. Res.* 2004, *37*, 293-300.
- Arisawa, K., Mitsudome, H., Yoshida, K., Sugimoto, S., Ishikawa, T., Fujiwara Y., and I. Ichi, Saturated fatty acid in the phospholipid monolayer contributes to the formation of large lipid droplets, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016, 480, 641-647.
- Sugahara, K., Shimokawa N., and Takagi, M., Destabilization of phase-separated structures in local anesthetic-containing model biomembranes, *Chem. Lett.* 2015, 44, 1604–1606.
- 17. Yoda, T., Yamada, Y., and Chounan, Y., Effects of

isovaleraldehyde on cell-sized lipid bilayer vesicles, *Biophys. Chem.* **2021**, *279*, 106698

- Yoda, T., Flavonoid molecule procyanidin reduces phase separation in model membranes, *submitted*
- 19. 依田 毅、細胞サイズリポソーム、プロシアニジン 濃度推定方法、およびプロシアニジン濃度測定方法、 特願2022-026340
- Hanzal-Bayer, M. F., and Hancock, J. F., Lipid rafts and membrane traffic. *FEBS Lett.* 2007, 581, 2098-2104.
- Cyboran-Mikołajczyk, S., Żyłka, R., Jurkiewicz, P., Pruchnik, H., Oszmiański, J., Hof, M., and Kleszczyńska, H., Interaction of procyanidin B3 with membrane lipids-fluorescence, DSC and FTIR studies. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2017, 1859, 1362–1371.
- Hamada, T., Morita, M., Miyakawa, M., Sugimoto, R., Hatanaka, A., Vestergaard, M.C., and Takagi, M. Size-dependent partitioning of nano/microparticles mediated by membrane lateral heterogeneity. J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 19788-19794.
- Morita, M., Hamada, T., Tendo, Y., Hata, T., Vestergaard, M. C., and Takagi, M., Selective localization of Alzheimer's amyloid beta in membrane lateral compartments. *Soft Matter*. 2012, *8*, 2816-2819.
- Muraoka, T., Umetsu, K., Tabata, K., Hamada, T., Noji, H., Yamashita, T., and Kinbara, K., Mechano-Sensitive Synthetic Ion Channels, J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 18016–18023.
- Wang, R., Dang, M., Zhu, W., and Li, C., Galloyl Group in B-type proanthocyanidin dimers was responsible for its differential inhibitory activity on 3T3-L1 preadipocytes due to the strong lipid raft-perturbing potency., J. Agric. Food Chem. 2021, 69, 5216-5225.
- Yoda, T., Miyaki, H., and Saito, T., Freeze concentrated apple juice maintains its flavor, *Sci. Rep.* 2021, *11*, 12679

植物および微生物資源から関節リウマチ滑膜細胞の アポトーシスシグナル経路を選択的に活性化する天然物の探索

千葉大学 大学院薬学研究院 原 康雅

1.背景と目的

関節リウマチは、主に関節における慢性炎症疾患であ り、自己免疫疾患の1つである。日本の患者数はおよそ 60~100万人と推定され、男性よりも女性が多く発症す る。関節リウマチ患者の滑膜では炎症性免疫細胞の浸潤 と滑膜組織中の滑膜線維芽細胞の過増殖により炎症が慢 性化し、やがて骨や軟骨が蝕まれ関節破壊がもたらされ る。現在の関節リウマチ治療は、メトトレキサートを第 一選択とした抗リウマチ薬(disease modified anti rheumatic drugs, DMARDs)を用いる治療法や、 DMARDsとTNF-a阻害薬やIL-6阻害薬などの生物学的 製剤を併用する治療法が推奨され、炎症反応の抑制が行 われているが、半数以上の患者が十分な治療効果を得ら れておらず、また治療薬による易感染性などの副作用が 報告されている。そのため、関節リウマチの治療には抗 炎症療法とは異なる別のアプローチが求められている。

関節リウマチにおいて、滑膜線維芽細胞は、疾患初期 から関節内で異常増殖し、免疫細胞とのサイトカインを 介した相互作用による炎症発生や関節破壊などに重要な 役割を担っている。近年、関節リウマチの病態に関して、 滑膜線維芽細胞が産生するGM-CSF が関節炎の炎症に 重要であること¹や、アポトーシスを誘導するデスレセ プター経路に関与するdeath receptor (DR) 5に対して 抗DR5抗体投与により関節リウマチ患者由来の滑膜線維 芽細胞は特異的にアポトーシスが誘導されること²、な ど様々な滑膜線維芽細胞に関する知見が報告されてい る。これらの知見をもとに、我々は関節リウマチの滑膜 線維芽細胞の異常増殖抑制やアポトーシス等の細胞死を 誘導する化合物が関節リウマチ治療に有効ではないかと 考え、研究に着手した。

当研究グループは、400種を超える熱帯植物の抽出物

や1500種を超える土壌や河川、海砂から分離した微生物 1株の単独培養(単培養)抽出物を独自に保有しており、 目標とする生物活性を持つ天然物を単離できる可能性が ある。しかし、更なる天然物探索資源の拡充のために、 今回、微生物の「共培養」にも着目した。これまでの研 究成果3-5より、通常微生物1種では産生しない天然物を、 微生物が他生物との相互作用を経て産生していたことか ら、微生物と他生物が直接的な相互作用や分泌分子など を介した間接的な相互作用を行うことで、微生物は新た な天然物を産生すると考えた。自然界にて同一環境に存 在する微生物と他生物間でも直接的、あるいは間接的な 相互作用が行われていることから、微生物の生育環境を 模倣した共培養が未知の天然物探索に有効であると考 え、生育環境が近い微生物同士を組み合わせた微生物2 株の共培養抽出物を得ることで、天然物探索資源の拡充 が図れるのではないかと考えた。

そこで、今回、微生物の共培養による天然物探索資源 の拡充をしつつ、独自に保有する天然資源である熱帯植 物や微生物の抽出物から、関節リウマチ滑膜線維芽細胞 のアポトーシスシグナル経路を選択的に活性化する天然 物を探索することとした。

2. 方法

1)使用細胞株

関節リウマチ滑膜細胞のアポトーシスシグナル経路を 選択的に活性化する天然物を探索するため、各細胞株で の細胞生存率に着目した。細胞生存率の評価には、関節 リウマチ患者由来滑膜線維芽細胞株MH7A (RCB1512)、 ヒト胎児腎由来細胞株HEK293および正常ヒト由来肺線 維芽細胞株WI-38 VA13 sub 2 RA (JCRB9057)を用い た。MH7A⁶は文部科学省/国立研究開発法人日本医療 開発機構ナショナルバイオリソースプロジェクトを介し て、理研BRCより購入した。WI-38 VA13 sub 2 RA⁷は JCRB細 胞 バ ン ク よ り 購 入 し た。MH7A は RPMI1640+10%FBS培 地、HEK293はDMEM+10%FBS 培地、WI-38 VA13 sub 2 RAはEMEM(非必須アミノ 酸、1.5 g/L NaHCO₃含 有)+10%FBS培 地 で、37℃、 5%CO₂下で培養した。

2) 生物活性試験

細胞生存率は、Fluorometric Microculture Cytotoxicity Assay (FMCA法)⁸により測定した。96 ウェル黒色マイクロプレートに、細胞を各ウェルに2× 10^3 cells/200 mLで播種し、24時間後にサンプルを添加 した。72時間後に培地を除去後、3.5 mg/mL fluorescein diacetate (FDA) 含有PBS溶液を各ウェルに200 mL添 加し、1時間、37℃、5%CO₂下で培養した。培養後、 生体内酵素によりFDAから生じるfluoresceinの蛍光量 を、マイクロプレートリーダー Fluoroskan Ascentにて 測定した (Ex:485 nm、Em:538 nm)。ネガティブコ ントロールには0.1%DMSOを用い、ポジティブコント ロールにはactinomycin Dを用いた。1次スクリーニン グには、MH7Aを用い、2次スクリーニングには、 HEK293またはWI-38 VA13 sub 2 RAを用いた。

各細胞株に対する細胞毒性評価は、n = 3で行った。

細胞生存率は、次の式で求めた。細胞生存率(%)=100×[サンプルの蛍光量]/[ネガティブコントロールの蛍光量]。

3)植物

植物は、当研究グループがこれまでに共同研究者と採 取し保管していたタイ産植物(KKP)を用いた。各植物 をメタノールで抽出した後、得られたメタノール抽出物 を50 mg/mL DMSO溶液として調整した。これをタイ 産植物コレクションとし、スクリーニングの際には、50 μg/mLに調整し用いた。

4) 微生物単培養

微生物は、当研究グループがこれまでに日本国内で採 取した土壌、河川サンプルより単離した微生物(CKK) を用いた。微生物1株をWaksman液体培地にて培養し て得られた培養液を酢酸エチルで液液分配し、得られた 酢酸エチル層を乾固した後、50 mg/mL DMSO溶液と して調整した。これを微生物単培養抽出物コレクション とし、スクリーニングの際には、50 µg/mLに調整し用 いた。

5) 微生物共培養

単培養にて生物活性を示さなかった微生物でも、生物 活性を示す天然物の遺伝子等が発現していない可能性が ある。そこで、微生物を用いた共培養を行い、生物活性 を示す天然物の遺伝子や他の微生物の産生した天然物を 修飾する遺伝子が発現すれば、新規骨格構造や生物活性 を有する天然物を産生する可能性が期待できる。そのた め、共培養には、生物活性を示さなかった微生物の組み 合わせを選択した。また、共培養には、同一日、同一環 境より単離された2種の微生物の組み合わせを用いた。 Waksman液体培地2 mLを各ウェルに加えた24ウェル透 明マイクロプレートに微生物を播種し、28℃、160 rpm の往復振盪培養により5日間前培養した。培養後、前培 養液のOD₆₂₀値を測定した。Waksman液体培地2 mLを 各ウェルに入れた別の24ウェル透明マイクロプレートを 用いて、各微生物前培養液をOD620 0.01となるように各 ウェルに添加し、2株の微生物による共培養を開始した。 このプレートは、28℃、160 rpmの往復振盪培養により 5日間共培養を行った。同時に共培養に用いた微生物の 単培養を実施した。培養後、2000 rpmで30分間遠心分 離し、得られた培養上清100 µLを凍結乾燥により乾固 後、50 mg/mL DMSO溶液として調整した。スクリー ニングの際には、50 µg/mLに調整し用いた。

3. 結果

1)植物資源のスクリーニングと成分探索

タイ産植物抽出物コレクション内の724種について、 MH7Aを用いた一次スクリーニングを実施した。MH7A の細胞生存率が30%以下を示したサンプルをヒットサン プルとしたところ、211種がヒットサンプルとして得ら れた。次に、正常ヒト由来細胞株に対して細胞毒性の低 いヒットサンプルを見出すために、HEK293とWI-38 VA13 sub 2 RAを用いた二次スクリーニングをそれぞ れ実施した。このスクリーニングではMH7Aの細胞生存 率と比較して各細胞株の細胞生存率が30%以上高いもの をヒットサンプルとしたところ、211種のうち、 HEK293を用いた場合では85種が、WI-38 VA13 sub 2 RAを用いた場合では38種がヒットサンプルとして得ら れた。また、これらのうち12種は両細胞で生存率が MH7Aよりも高いサンプルであった。

まず、分画対象として、HEK293と比較してMH7Aの 細胞生存率が低い、タイ産オオホザキアヤメ科植物 *Cheilocostus speciosus*の根茎を選択した。本植物根茎40 gをメタノールで抽出した。得られたメタノール抽出物 3.2 gをシリカゲル、ODSを担体としたカラムクロマト グラフィー及びHPLCにより分画することで、化合物1-3 を得た。化合物1-3のNMRおよびMSなどの各種スペク トルデータを解析した結果、化合物1をdioscin、化合 物2をprotodioscin、化合物3をgracillinと同定した(図 1)。いずれも本植物より単離報告のある既知サポニン であった。

MH7Aに対する化合物1-3のIC₅₀はそれぞれ、2.9 μM、
10.0 μM、3.5 μMであった。また、HEK293に対する
化合物1-3のIC₅₀はそれぞれ、4.4 μM、7.0 μM、4.7 μ
Mであった(図1)。

次に、HEK293およびWI-38 VA13 sub 2 RAと比較し てMH7Aに細胞毒性を示したタイ産ウルシ科植物 *Spondias mangifera*の葉部を選択した。本植物葉部131 gをメタノールで抽出し、得られたメタノール抽出物 20.1 gを、Daiaion HP-20カラムクロマトグラフィーで分



図1 タイ産植物*Cheilocostus speciosus*より単離された天然 物1-3の構造とその細胞毒性

画し、メタノールとアセトン画分に分画した。メタノー ル画分を10%メタノールで再溶解し、ヘキサン、酢酸エ チル、n-ブタノールで順次液液分配した。液液分配後の 4 画分に関して、MH7AおよびWI-38 VA13 sub 2 RA に対する細胞毒性評価を行ったところ、酢酸エチル画分 は、WI-38 VA13 sub 2 RAと比較してMH7Aに強い細 胞毒性を示した。酢酸エチル画分をシリカゲルおよび ODSカラムクロマトグラフィー、HPLCにて分画し、化合 物4-8を得た。化合物4-8のNMRおよびMSなどの各種ス ペクトルデータを解析した結果、化合物4をquercetin、 化合物 5 をquercetin 3-O-β-D-glucopyranoside、化合物 6 をrhamnetin 4-O-rutinoside、化合物 7 をeschweilenol C、化合物8 をellagic acid 4-O-a-xylopyranosideと同定 した(図2a)。化合物4-7はいずれも本植物より単離報告 のある天然物であったが、化合物8は本植物より初めて の単離報告であった。

化合物4-8のうち、化合物7は濃度依存的にMH7Aに 対する細胞毒性を有し、そのIC₅₀は51.8 μ Mであった。 また、WI-38 VA13 sub 2 RAに対する化合物7のIC₅₀は 38.1 μ Mであった(図2b)。化合物4はいずれにも濃度 依存的な細胞毒性を示し、細胞間のIC₅₀に差は見られな かった。化合物4は3位に単糖が結合している化合物5、 二糖が結合している化合物6よりもMH7Aに対して強 い細胞毒性を示した。また、化合物7、8は糖の種類に より、MH7Aに対する細胞毒性が異なっていた。

さらに、WI-38 VA13 sub 2 RAと比較してMH7Aに 細胞毒性を示したタイ産マメ科植物*Xylia kerrii*の葉部



図2 タイ産植物*Spondias mangifera*より単離された天然物 4-8の構造(a)と化合物4、7の細胞毒性(b)

を選択した。本植物葉部113 gをメタノールで抽出し、 得られたメタノール抽出物20.1 gを10%メタノールで再 溶解し、ヘキサン、酢酸エチル、n-ブタノールで順次液 液分配した。液液分配後の4画分のうち、酢酸エチル画 分は、WI-38 VA13 sub 2 RAと比較してMH7Aに強い 細胞毒性を示した。酢酸エチル画分をシリカゲルおよび ODSカラムクロマトグラフィー、HPLCにて分画し、化 合物9-12を得た。化合物9-12のNMRおよびMSなどの各 種スペクトルデータを解析した結果、化合物9を新規ビ フラボノイド、化合物10を(+)-catechin、化合物11を myricitrin、化合物12をmyricetin-3-β-xylosideと決定し た(図3)。既知化合物12は本植物より初めての単離報 告であった。化合物9-12のうち、化合物9、11、12は MH7Aに対する細胞毒性を有し、そのIC₅₀は100 μM未 満であった。一方で、WI-38 VA13 sub 2 RAに対して、 化合物9、11、12はいずれも100 μMで細胞毒性を示さ なかった。

3) 微生物資源のスクリーニングと成分探索

微生物単培養抽出物コレクション内の772種の抽出物 について、MH7A細胞毒性を指標とした1次スクリーニ ングを実施した。細胞生存率が30%以下を示したサンプ ルをヒットサンプルとしたところ、76種がヒットサンプ ルとして得られた。次に、WI-38 VA13 sub 2 RAを用 いた2次スクリーニングを実施し、MH7Aの細胞生存率 よりWI-38 VA13 sub 2 RAの細胞生存率が高いものを ヒットサンプルとしたところ、51種のうち、17種がヒッ トサンプルとして得られた。

また、MH7Aの細胞生存率が95%以上を示した抽出物



図3 タイ産植物Xylia kerriiより単離された天然物10-12の 構造 を産生する微生物12種を用いて15種の組み合わせで共培 養を実施し、培養抽出物を作成した。共培養抽出物のう ち、4種の共培養抽出物は単培養抽出物と比較して、 MH7Aに対する細胞毒性を有していたが、その細胞生存 率の差は大きくなかった。

そこで、分画対象として、WI-38 VA13 sub 2 RAと 比較してMH7Aの細胞生存率が低いCKK1305を選択し た。本菌株は2014年3月に千葉大学亥鼻キャンパスにて 採取した土壌より分離した微生物で、16S rRNA遺伝子 の解析によりMycolicibacterium septicum IFM12283と 同定した。本菌株をWaksman液体培地24 Lで、28℃、 160 rpmの往復振盪培養により5日間培養した。酢酸エ チルにて液液分配し、得られた酢酸エチル抽出物6.6 g をシリカゲルおよびODSカラムクロマトグラフィー、 HPLCにて分画することで、化合物13-18を得た。13は mycobactin H、15、17はmycobactin Hの脂肪鎖の長さ が異なる新規類縁体であり、化合物14、16、18は13、 15、18の鉄複合体であることが明らかとなった(図4)。 化合物13、15、17は鉄複合体である14、16、18と比較し て、MH7Aに対して強い細胞毒性を示した。

4. 結論

本研究にて、MH7Aに対する選択的な細胞毒性を有し たタイ産植物3種(Cheilocostus speciosus、Spondias mangifera、Xylia kerrii)より化合物12種を単離した。 また、土壤由来微生物Mycolicibacterium septicum IFM12283より化合物6種を単離した。そのうち、 MH7Aに選択的な細胞毒性を有する天然物として、 myricitrinやmycobactin H等を見出した。今後、単離し た化合物による細胞死が、アポトーシス誘導によるもの か否かの検討を進めるともに、さらなる生物活性天然物 の単離を通して、関節リウマチ滑膜線維芽細胞の細胞死 を誘導する創薬シードを見出したいと考える。



図4 Mycolicibacterium septicum IFM12283より単離され た天然物13および14の構造

5. 謝辞

本研究に対して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、心より御礼申し上げます。 また、菌株同定にご協力いただいた千葉大学真菌医学研 究センター 矢口 貴志 博士に御礼申し上げます。

6. 参考文献

- Hirota K, Hashimoto M, Ito Y, Matsuura M, Ito H, Tanaka M, Watanabe H, Kondoh G, Tanaka A, Yasuda K, Kopf M, Potocnik A J, Stockinger B, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune Th17 cells induced synovial stromal and innate lymphoid cell secretion of the cytokine GM-CSF to initiate and augment autoimmune arthritis. *Immunity* 2018, 48, 1220-1232.
- Ichikawa K, Liu W, Fleck M, Zhang H, Zhao L, Ohtsuka T, Wang Z, Liu D, Mountz J D, Ohtsuki M, Koopman W J, Kimberly R, Zhou T. TRAIL-R2 (DR5) mediates apoptosis of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *J. Immunol.* 2003, 171, 1061–1069.
- 3. Hara Y, Arai MA, Sakai K, Ishikawa N, Gonoi T, Yaguchi T, Ishibashi, M. Dehydropropylpantothenamide isolated by a co-culture of *Nocardia tenerifensis* IFM 10554^T in the presence of animal

cells. J. Nat. Med. 2018, 72, 280-189.

- 4. Hara Y, Arai MA, Toume K, Masu H, Sato T, Komatsu K, Yaguchi T, Ishibashi M. Coculture of a pathogenic actinomycete and animal cells to produce nocarjamide, a cyclic nonapeptide with Wnt signal-activating effect. Org. Lett. 2018, 20, 5831-5834.
- 5. Jomori T, Hara Y, Sasaoka M, Harada K, Setiawan A, Hirata K, Kimishima A, Arai M. Mycobacterium smegmatis alters the production of secondary metabolites by marine-derived Aspergillus niger. J. Nat. Med. 2020, 74, 76–82.
- Miyazawa K, Mori A, Okudaira H. Establishment and characterization of a novel human rheumatoid fibroblast-like synoviocyte line, MH7A, immortalized with SV40 T antigen. *J. Biochem.* 1998, 124, 1153-1162.
- Girardi AJ, Weinstein D, Moorhead PS. SV40 transformation of human diploid cells. A parallel study of viral and karyologic parameters. Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 1966, 44, 242-254.
- Lindhagen E, Nygren P, Larsson R. The fluorometric microculture cytotoxicity assay. *Nat. Protoc.* 2008, 3, 1364–1369.

ゼロ・エミッション型直接的フルバイオベースポリマー合成法 の開発

金沢大学 理工研究域物質化学系 廣瀬 大祐

はじめに

プラスチック製造を始めとした化学工業は二酸化炭素 の発生源となる有限な石油資源に依存しており、再生利 用可能資源であるバイオマス資源への転換が求められて いる¹。リグノセルロース系バイオマスは二酸化炭素と 水から太陽光による光合成によって生成するが、このよ うなバイオマス資源のみで合成されたフルバイオベース ポリマーは燃焼廃棄しても地表における正味の二酸化炭 素存在量が変化しないため、これらの製造および利用は カーボンニュートラルに大きく貢献する²。

しかし、従来のポリ乳酸などのバイオベースプラス チックは多工程を経て合成されるものが殆どであり、モ ノマーの合成や精製などの余分なプロセスを必要とする ことから、実際には色々な試薬の利用や廃棄物の発生、 そしてそれらを輸送するための燃料消費などの観点から 果たして環境と調和できているのかなどの疑問が生じ る^{3.4}。

極力廃棄物を出さないように天然から得られるものを できる限り直接反応させて一工程で目的のポリマーを合 成すること、すなわちゼロ・エミッション型直接的フル バイオベースポリマーの合成法は、カーボンニュートラ ルの観点から非常に重要である¹。

リグノセルロース系バイオマスの一つであるセルロー スはグルコースユニットを繰り返し構造として有する地 球上に最も豊富に存在するとされる天然高分子である。 繰り返しユニットに対して3つの水酸基を有しており、 これら水酸基間の水素結合形成により高い結晶性を示 す。そのため、高分子であるにも関わらず分解温度以下 では熱可塑性などの一般的な高分子らしさを示さない。 さらには湿式加工を施すにも水素結合を切断できる特殊 な溶媒系にしか溶解しないため、プラスチックとして扱 うためにはエステル化やエーテル化などの高分子反応に よる修飾が必要である⁵。

しかし、一般的なエステル化やエーテル化のための溶 媒として使われる非水系の有機溶媒には一切溶解しない ことから、非常に効率の悪い不均一懸濁状態での高分子 反応を行う必要があった。そのため大過剰の試薬が必要 となるだけでなく対応する廃棄物も同時に大量に発生 し、さらには従来のエステル化やエーテル化反応に直接 用いることができる天然由来化学物質は殆ど存在しな かったことから石油資源由来の原料を使用する必要が あった。すなわち、環境に良いバイオベース材料を環境 に悪い手法で合成しなければならない状況にあった⁶。

そのため、セルロースなどの広範なバイオマスを溶解 させることができる非水系溶媒としてイオン液体に注目 が集まっており、実際にイオン液体中で均一に溶けた状 態で化学修飾を行うことで反応効率が大幅に改善される ことが報告されているが、用いることができる反応や試 薬が相変わらず環境不調和であり、真に環境調和型のバ イオマス修飾法が求められていた^{7,12}。

このような状況下において、筆者は最近、イオン液体 中にわずかに発生するN-ヘテロサイクリックカルベン (NHC)種が触媒する酸化的エステル化反応に着目し、 樹皮由来の天然精油に含まれるシナモン由来の不飽和ア ルデヒドであるシンナムアルデヒドとセルロースをイオ ン液体に溶かすだけでフルバイオベースプラスチックが 生成することを見出した(Figure 1A)¹³⁻¹⁵。水素原子一つ も損失しない原子効率(アトムエコノミー)100%の理想 的な反応形式であり、ゼロ・エミッションの前提条件を 初めて満たす可能性を持つ次世代のセルロースエステル 化手法として注目されている³。

天然にはシンナムアルデヒド以外にもシトラールやへ



Figure 1:本申請内容

キセナール、ペリルアルデヒドなどの様々な不飽和アル デヒドが存在するが¹⁶²⁷、触媒かつ溶媒として機能する 市販のカルボキシレート型イオン液体1-エチル-3-メチル イミダゾリウムアセテート(EmimOAc)では、反応時に アセテートアニオンが混合酸無水物を経由してエステル 基としてセルロース上に導入される副反応が生じること が確認されていた^{28,29}。すなわち、真にフルバイオベー スプラスチックを合成するには、この副反応を抑える必 要があった。

そこで、真のゼロ・エミッション型直接的フルバイオ ベースポリマー合成法を開発するために、反応機構的に 混合酸無水物を形成しないと予想される非カルボキシ レート型イオン液体に着目し、セルロースの酸化的エス テル化反応への適用性について検討を行った(Figure 1B)³⁰。

1. 実験

1-1. 非カルボキシレート型イオン液体合成

事前に市販の1-エチル-3-メチルイミダゾリウムクロラ イド(EmimCl)をアセトニトリル中で再結晶することで 精製した。EmimClを水酸化カリウムと低温でイオン交 換することで1-エチル-3-メチルイミダゾリウムヒドロキ シドを合成した(EmimOH)。EmimOHを各種酸性物質 と反応させることで、対応する非カルボキシレート型イ オン液体をそれぞれ合成した。各種NMR、IR測定およ び質量分析によりそれぞれの構造を定性した。

1-2. セルロースの酸化的エステル化

セルロースを非カルボキシレート型イオン液体と混合 し、真空条件下80℃で3時間加熱することで乾燥した。 ジメチルスルホキシド(DMSO)を添加した後、不飽和ア



Figure 2:イオン液体の構造

ルデヒドを滴下し、反応混合物を60℃で24時間撹拌した。 反応後、混合物をメタノールに加えることで目的ポリ マーが析出した。メタノールで洗浄した後、真空乾燥す ることで対応するセルロースエステルを得た。プロトン NMRおよびIR測定によりそれぞれの構造を定性した。

2. 実験結果

条件検討を行うにあたり、モデル天然不飽和アルデヒ ドとしてシンナムアルデヒド(1)を用いた。はじめに、 非カルボキシレート型イオン液体としてEmim構造を持 つEmimヘキサフルオロホスフェート(PF₆)、テトラフ ルオロボレート(BF_4)を用いた(Figure 2)。これらにセ ルロースは一切溶解せず、得られたポリマーにはエステ ルの形成を示唆する1730cm⁻¹付近のカルボニル基に由来 するIR吸収が確認されなかったことから、一切反応が 進行していないと判断した(Table 1)¹⁰。次にセルロース を溶解することが知られているEmimClを用いたとこ ろ、セルロースは明確に溶解していることが確認された ものの、反応の進行は一切確認されなかった。酸化的エ ステル化を触媒するNHCの発生にはイミダゾリウムC2 位のプロトンを引き抜くための塩基性がアニオンに求め られるが、クロライドの塩基性では不十分であったと考 えられる。次に、NHCの発生が確認されているEmimジ シアナミド(N(CN)₂)を用いたところセルロースは溶解 せず、得られた回収物からはエステルに由来するIR吸 収を観測できなかった。

Table 1:本反応におけるイオン液体の影響

aldehvde (1)

CHO CH	HO COH ILLE BILLIOSE	DMSO h, 60 °C C Cellulose est	OR OR OR OR n
Entry	IL	Solution state	\mathbf{DS}_{main}
1	EmimPF ₆	heterogenous	n.d.
2	EmimBF ₄	heterogenous	n.d.
3	EmimCl	heterogenous	n.d.
4	EmimN(CN)2	heterogenous	n.d.
5	EmimOPy	homogenous	1.36
6	EmimOAc	homogenous	1.04 (0.14)
7	EmpimOPy	homogenous	n.d.

塩基性のEmimフェノキシド(OPh)を用いたところ、 アニオンの熱安定性の低さに由来する反応条件における イオン液体の分解が確認されたため、反応に利用するこ とが困難であった³¹。そこで、アニオンを安定に非局在 化させるために芳香環の2位に窒素原子を有するEmim 2-ピリジノレート(OPy)を設計し反応に用いたところ、 セルロースは容易に完全に溶解し、得られた生成物から は1730cm⁻¹付近のエステル基に由来するIR吸収が明確に 確認された³²。

プロトンNMRは、セルロースには見られない7 ppm 付近のシンナムアルデヒド(1)の芳香環に由来するブ ロードしたピークや、酸化的エステル化によって二重結 合が還元されたシンナムアルデヒドのメチレン基水素に 由来するブロードした2 ppm付近のピークが観測された ことから、目的のセルロースの酸化的エステル化が進行 していると判断した。

一方で、OPyが導入した場合に観測されると予想され る8 ppm以上の低磁場領域のピークは一切観測されな かったことから、懸念された副反応によるアニオン構造 の導入は生じていないことが確認された。同じOPyアニ オン有する1-エチル-2-フェニル3-メチルイミダゾリウム OPy (EmpimOPy)を用いたところ、セルロースは溶解 するものの反応は一切進行しなかったことから、C2位 にプロトンを有するイミダゾリウム塩を用いる必要性が あることが明らかとなった。

EmimOPyを最適イオン液体として種々条件の最適化 を行った結果、シンナムアルデヒドを滴下により加える ことで反応効率が向上し、セルロース上の置換反応の進 行度合いを示す置換度(DS)は最大値である3に達した。 置換度3であるセルロースエステルは、水酸基に由来す るIR吸収が完全に消失している様子が確認された。さ らに、反応の進行速度を追跡したところ、およそ1時間 後には置換度の増加は飽和に達していることが確認され た。

最適条件下、セルロースの酸化的エステル化における 天然精油由来不飽和アルデヒドの適用範囲を調べた (Table 2)。青葉に含まれるヘキセナール(2)や、そばの 成分などとして知られるノネナール(3)などの脂肪族系 の不飽和アルデヒドを用いた場合にも同様に目的のセル ロースエステルを高置換度(DS = 2.8~3.0)で与えた。さ らなる高分子反応の足がかりとなるアルケン構造を有す

Table 2:本反応における基質適用性

	Cellulose OH Bio-bass OH OH OH / Bio-bass aldehyd EmimOPy/C 60 °C, Ar, 1	ed le DMSO 24 h	Cellulose ester	R = H or OR R = H or OR R = H or OR
Entry	Bio-based aldehyde		Cellulose ester	DS _{main}
1 2 3		R' =	$\sim \bigcirc$	3.0 3.0 3.0
4		R' =	$\sim\sim\sim$	3.0
5	о н з	R' =		2.82
6	→→→→→ H	R' =	\sim	2.68
7	John Starton	R' =	why	0.90
8		R'=		1.06
9 10	СТ ^І н 7 ()	R' =	50	2.36 1.15 (1.15) [by EmimOAc]
11	H 8			trace

るキュウリ由来のノナジエナール(4)を用いた場合にも 高置換度(DS = 2.7)の対応するセルロースエステルが得 られた。一方で、アルデヒドのβ位に置換基を有するレ モングラス由来のシトラール(5)を用いた際には立体障 害の影響によると思われる置換度の低下が見られたもの の(DS = 0.9)、目的の生成物が得られることが確認され た。a位に置換基を有するシソ由来のペリルアルデヒド (6)を用いた際にも反応は進行し(DS = 1.1)、特に、芳 香環を有するカモミール由来のヘキシルシンナムアルデ ヒド(7)を用いた場合には比較的高い置換度を示した (DS = 2.4)³³。EmimOAcを用いて**7**によるセルロース 修飾を行ったところ、エステル化反応は進行するものの その半分がイオン液体のアニオン由来であったことから も、真にフルバイオベースのセルロースエステルを合成 するためには適切なイオン液体を選択する必要があるこ とが示された。

対照実験として、飽和アルデヒドであるシトロネラー ル(8)を用いた際にはセルロースが回収されるのみだっ たことからも、酸化的エステル化経由で本修飾反応が進 行していることが支持された。

3. 結言

様々なイオン液体を用いた系統的な調査により、セル ロースの酸化的エステル化反応において、非カルボキシ レート型イオン液体 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム 2-ピリジノレート(EmimOPy)が高置換度のフルバイオ ベースセルロースエステルの直接合成に必要であること が明らかとなった。種々の比較検討から、イオン液体が 触媒かつ溶媒として機能することの重要性が確認され た。イミダゾリウム環のC2プロトンの脱プロトン化に 基づき発生するNHCが本酸化的エステル化の触媒活性 種であることが支持された。

最適条件下において、EmimOPyは多種多様な不飽和 アルデヒドとセルロース間の酸化的エステル化反応を進 行させ、いずれの場合においても従来EmimOAcを用い た場合に確認されていたイオン液体のアニオン成分が導 入される副反応は一切確認されなかったことから、得ら れたセルロースエステルは全てフルバイオベースである と判断した。

以上のように、100%アトムエコノミーで進行する酸 化的エステル化によるセルロースの直接変換、すなわち ゼロ・エミッション型直接的フルバイオベースポリマー 合成法が確立された。

4. 謝辞

本研究に遂行に際して、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深く感謝御礼申し上 げます。

5. 参考文献

- Dube, M. A.; Salehpour, S., Applying the Principles of Green Chemistry to Polymer Production Technology. *Macromol React Eng* 2014, 8, 7-28.
- (2). Iwata, T., Biodegradable and Bio-Based Polymers : Future Prospects of Eco-Friendly Plastics. Angew Chem Int Edit 2015, 54, 3210-3215.
- (3). Constable, D. J. C. ; Curzons, A. D. ; Cunningham,
 V. L., Metrics to 'green' chemistry—which are the best? *Green Chemistry* 2002, *4*, 521–527.
- (4). Nakajima, H.; Dijkstra, P.; Loos, K., The Recent

Developments in Biobased Polymers toward General and Engineering Applications : Polymers that Are Upgraded from Biodegradable Polymers, Analogous to Petroleum-Derived Polymers, and Newly Developed. *Polymers-Basel* **2017**, *9*.

- (5). Kostag, M.; Gericke, M.; Heinze, T.; El Seoud, O. A., Twenty-five years of cellulose chemistry : innovations in the dissolution of the biopolymer and its transformation into esters and ethers. *Cellulose* 2019, 26, 139–184.
- (6). Onwukamike, K. N.; Grelier, S.; Grau, E.; Cramail, H.; Meier, M. A. R., Critical Review on Sustainable Homogeneous Cellulose Modification: Why Renewability Is Not Enough. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 2019, 7, 1826-1840.
- (7). Chen, J. Q.; Tang, C. Q.; Yue, Y. Y.; Qiao, W. C.; Hong, J. G.; Kitaoka, T.; Yang, Z., Highly translucent all wood plastics via heterogeneous esterification in ionic liquid/dimethyl sulfoxide. *Ind Crop Prod* 2017, 108, 286-294.
- (8). Kakuchi, R.; Yamaguchi, M.; Endo, T.; Shibata, Y.; Ninomiya, K.; Ikai, T.; Maeda, K.; Takahashi, K., Efficient and rapid direct transesterification reactions of cellulose with isopropenyl acetate in ionic liquids. *Rsc Adv* 2015, 5, 72071-72074.
- (9). Farran, A.; Cai, C.; Sandoval, M.; Xu, Y. M.; Liu, J.; Hernaiz, M. J.; Linhardt, R. J., Green Solvents in Carbohydrate Chemistry : From Raw Materials to Fine Chemicals. *Chemical Reviews* 2015, *115*, 6811–6853.
- (10). Wang, H.; Gurau, G.; Rogers, R. D., Ionic liquid processing of cellulose. *Chem Soc Rev* 2012, 41, 1519–1537.
- (11). Barthel, S.; Heinze, T., Acylation and carbanilation of cellulose in ionic liquids. Green Chemistry 2006, 8, 301-306.
- (12). Wu, J.; Zhang, J.; Zhang, H.; He, J. S.; Ren, Q.;
 Guo, M., Homogeneous acetylation of cellulose in a new ionic liquid. *Biomacromolecules* 2004, 5,

266 - 268.

- (13). Hirose, D.; Kusuma, S. B. W.; Ina, D.; Wada, N.; Takahashi, K., Direct one-step synthesis of a formally fully bio-based polymer from cellulose and cinnamon flavor. *Green Chemistry* 2019, 21, 4927-4931.
- (14). Knappke, C. E. I.; Imami, A.; Jacobi von Wangelin, A., Oxidative N-Heterocyclic Carbene Catalysis. *Chemcatchem* 2012, 4, 937-941.
- (15). Sohn, S. S. ; Bode, J. W., Catalytic generation of activated carboxylates from enals : A productdetermining role for the base. Org Lett 2005, 7, 3873–3876.
- (16). Tisserand, R.; Young, R., 13 Essential oil profiles. In *Essential Oil Safety (Second Edition)*, Tisserand, R.; Young, R., Eds. Churchill Livingstone : St. Louis, 2014 ; pp 187-482.
- (17). Degenhardt, A.; Liebig, M.; Kohlenberg, B.; Hartmann, B.; Brennecke, S.; Schäfer, U.; Schrader, D.; Kindel, G.; Trautzsch, S.; Krammer, G. E., Chapter 45 - Studies on Stability of Citrus Flavors and Insights into Degradation Pathways of Key Aroma Compounds. In *Flavour Science*, Ferreira, V.; Lopez, R., Eds. Academic Press : San Diego, 2014 ; pp 237-240.
- (18). Chang, X. L.; Zhao, Z. L.; Li, X. L.; Xu, H.; Sun, Y.; Wang, W. H., Extraction and Advanced Adsorbents for the Separation of Perillaldehyde from Perilla frutescens (L.) Britton var. crispa f. viridis Leaves. *Food Sci Technol Res* 2014, 20, 189–199.
- (19). Janes, D.; Kantar, D.; Kreft, S.; Prosen, H., Identification of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) aroma compounds with GC-MS. Food Chem 2009, 112, 120-124.
- (20). Clarke, S., Chapter 3 Families of compounds that occur in essential oils. In *Essential Chemistry for Aromatherapy (Second Edition)*, Clarke, S., Ed. Churchill Livingstone : Edinburgh, 2008 ; pp 41-77.
- (21). Singh, G.; Maurya, S.; deLampasona, M. P.;

Catalan, C. A. N., A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol* **2007**, *45*, 1650–1661.

- (22). Zachariah, T. J.; Leela, N. K., 11 Volatiles from herbs and spices. In *Handbook of Herbs and Spices*, Peter, K. V., Ed. Woodhead Publishing : 2006 ; pp 177-218.
- (23). Lee, S. J.; Umano, K.; Shibamoto, T.; Lee, K. G., Identification of volatile components in basil (Ocimum basilicum L.) and thyme leaves (Thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties. *Food Chem* 2005, *91*, 131–137.
- (24). Santos, J. R.; Carneiro, J. R.; Guido, L. F.; Almeida, P. J.; Rodrigues, J. A.; Barros, A. A., Determination of E-2-nonenal by highperformance liquid chromatography with UV detection - Assay for the evaluation of beer ageing. J Chromatogr A 2003, 985, 395-402.
- (25). Haze, S.; Gozu, Y.; Nakamura, S.; Kohno, Y.; Sawano, K.; Ohta, H.; Yamazaki, K., 2-Nonenal newly found in human body odor tends to increase with aging. *J Invest Dermatol* 2001, *116*, 520–524.
- (26). Schieberle, P.; Ofner, S.; Grosch, W., Evaluation of Potent Odorants in Cucumbers (Cucumis-Sativus) and Muskmelons (Cucumis-Melo) by Aroma Extract Dilution Analysis. J Food Sci 1990, 55, 193-195.
- (27). Morris, J. A.; Khettry, A.; Seitz, E. W., Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1979, 56, 595-603.
- (28). Hirose, D.; Kusuma, S. B. W.; Nomura, S.; Yamaguchi, M.; Yasaka, Y.; Kakuchi, R.; Takahashi, K., Effect of anion in carboxylatebased ionic liquids on catalytic activity of transesterification with vinyl esters and the solubility of cellulose. *Rsc Adv* 2019, *9*, 4048-4053.

- (29). Kohler, S.; Liebert, T.; Schobitz, M.; Schaller, J.; Meister, F.; Gunther, W.; Heinze, T., Interactions of ionic liquids with polysaccharides
 1. Unexpected acetylation of cellulose with
 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Macromol Rapid Comm* 2007, 28, 2311–2317.
- (30). Kusuma, S. B. W. ; Hirose, D. ; Yoshizawa, A. ; Szabó, L. ; Ina, D. ; Wada, N. ; Takahashi, K., Direct Synthesis of Full-Biobased Cellulose Esters from Essential Oil Component a, β
 -Unsaturated Aldehydes. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 2021, 9, 8450-8457.
- (31). Gimeno, M. P.; Mayoral, M. C.; Andres, J. M., Influence of Temperature on CO2 Absorption

Rate and Capacity in Ionic Liquids. *Energ Fuel* **2013**, *27*, 3928–3935.

- (32). Fischer, C. B.; Steininger, H.; Stephenson, D. S.;
 Zipse, H., Catalysis of aminolysis of p-nitrophenyl acetate by 2-pyridones. *J Phys Org Chem* 2005, *18*, 901–907.
- (33). Yatham, V. R. ; Harrying, W. ; Kootz, D. ; Neudorfl, J. M. ; Schlorer, N. E. ; Berkessel, A., 1,4-Bis-Dipp/Mes-1,2,4-Triazolylidenes : Carbene Catalysts That Efficiently Overcome Steric Hindrance in the Redox Esterification of alphaand beta-Substituted alpha,beta-Enals. *Journal of the American Chemical Society* 2016, *138*, 2670– 2677.

昆虫の蛹室作りに学ぶ植物由来接着剤の開発と 3次元造形への応用

岡山大学 資源植物科学研究所 新屋 友規

1.研究背景と目的

植物を摂食する植食性昆虫の幼虫のなかには、体液や 腸管液を吐き戻す生理現象を示すものが知られてい る¹²。昆虫の生存戦略における吐き戻しの役割を研究し た例はいくつか知られており¹³、その一つがマツノキハ バチの天敵昆虫から身を守る戦略である。マツノキハバ チの幼虫は松のロジンを摂食した後、天敵忌避作用を持 つテルペン分子群を体内の小袋状の器官に集積し、天敵 昆虫に襲われた際に吐き戻すことで身を守ることが報告 されている⁴。このように植食性昆虫の一部は、餌とな る植物の様々な有用成分を集積した後、吐き戻して利用 することが知られている。したがって、新規な植物由来 機能性分子を探索するうえで、吐き戻し液は有用なシー ズを含んでいると期待できる。

我々は、イネを食害する植食性昆虫であるクサシロキ ヨトウ(*Mythimna loreyi、*ヤガ科、図1a-c)を用いて、 イネとクサシロキヨトウの攻防を分子レベルで研究を進 めてきた。クサシロキヨトウの幼虫がイネを摂食する際



図1. クサシロキヨトウと蛹室 クサシロキヨトウの(a)成虫、(b)幼虫、(c)蛹。(d)土の 中の蛹室中で蛹化したクサシロヨトウの蛹を掘り出し た。

に、幼虫の吐き戻し液に含まれている植物細胞断片の糖 鎖をイネが感知し、イネの防御システムを駆動すること を見出している。この糖鎖断片はクサシロキヨトウによ り濃縮されており、「なぜクサシロキヨトウは、植物の 害虫監視システムの標的糖鎖をわざわざ集積しているの か?」という疑問が生じた。この研究を進めるなかで、 当該糖鎖が植物において細胞接着に関わる糖鎖であるこ とをヒントに「植物の粘性多糖を昆虫体内で精製/濃縮 し、なんらかの接着剤として転用しているのではない か?」というユニークな昆虫の植物分子利用戦略を推察 した。一部の昆虫では、蛹化直前に粘性体液を吐き戻す ことで周囲の植物組織や土を固め、蛹室(図1d)と呼ば れる部屋構造を作り、その中で蛹化するという行動が知 られていた5。そこでクサシロキヨトウの蛹室作りにお いて、植物由来の粘性多糖を接着剤として利用している のはないかと考えた。我々は、この粘性吐き戻し液を「蛹 室接着剤」と名付け、本研究では蛹室接着剤の接着特性 や分子組成の検証を行った。

2. 実験方法

2-1 クサシロキヨトウの飼育と蛹室作りの観察

クサシロキヨトウは岡山県倉敷市に所在する岡山大学 資源植物科学研究所の圃場で採集した。クサシロキヨト ウは人工飼料またはイネ幼植物体を用いて実験室で継続 的に飼育し、実験に用いた⁶。クサシロキヨトウの蛹室 作りを撮影するために、ガラス板とシリコンスペーサー で観察ケージを作製し、ガラスビーズでケージの半分を 満たした(図2a)。このケージに蛹化直前のクサシロキヨ トウ終齢幼虫を入れ、タイムラプス撮影を行った。



図2. 蛹室作製観察に用いたケージ(a)と接着力測定に用いた治具(b,c)

2-2 吐き戻し液の回収

吐き戻し液はイネ幼植物体を3日以上与えたクサシロ キヨトウの幼虫より回収した。蛹化直前の吐き戻し液の 回収は、ナイロンメッシュを入れたプラスチックシャー レを用いて行った。クサシロキヨトウ終齢幼虫をプラス チックシャーレに入れ、蛹室接着剤が吐き戻されたメッ シュ部分を切断し回収した。水抽出によりメッシュから 回収した蛹室接着剤は凍結乾燥機で乾固した後、乾燥重 量を測定した。あわせて、蛹化直前でない吐き戻し液を 4齢~6齢のクサシロキヨトウ幼虫より回収した。吐き 戻し液の回収は細いプラスチック管を用いて、吐き戻し 液を回収するトラップをつけたポンプにより吸引しなが ら行った。

2-3 糖組成の解析

回収した吐き戻し液は、フェノール硫酸法に従って糖 の含有量を測定した。濃度決定にはグルコースを標品と した検量線を用いた。吐き戻し液に含まれる糖鎖の構成 単糖の解析のため、吐き戻し液を4Nトリフルオロ酢酸 で加水分解した。得られた単糖は、高速液体クロマトグ ラフィー(DX-500シリーズ、サーモフィッシャーサイエ ンティフック)により分析した。

2-4 接着特性の解析

接着特性の測定は引張試験機(FGS-50E+FGP-0.5、 日本電産シンポ)により行った。吐き戻し液の接着性を 測定するための治具を作製した。接着面に用いるスライ ドグラス(松浪No.1)を円形(内径14 mm)にカットして 作製し、アクリルとフックを取り付けた(図2b,c)。2個 の治具の間に20 mgの吐き戻し液を加え、50℃で1時間 以上乾燥後、引張り試験によって剝離荷重を測定した。 取得したデータの最大荷重をもとに接着力を計算した。

3. 結果と考察

クサシロキヨトウの終齢幼虫は蛹化する前に、蛹室と よばれる区画を作製し、蛹室の中で蛹化する(図1d)。 野外では土壌や作物の中に蛹室を作るが、その際にクサ シロキヨトウは蛹室接着剤を吐き戻し、土や植物組織断 片を固めることで蛹室を作製していると考えられる。そ こで、クサシロキヨトウが蛹室を作る過程で蛹室接着剤 を吐き戻し、利用する過程を実際に観察するために、土 の代わりにガラスビーズを敷き詰めた観察用ケージを準 備した。タイムラプス撮影を行ったところ、クサシロキ ヨトウ幼虫が粘性のある蛹室接着剤を吐き戻し、接着剤 あるいは漆喰のように利用してガラスビーズを固めて立 体的な蛹室を作製している行動が観察された(図3a-i)。 クサシロキヨトウが蛹室を作製後、蛹室内での蛹化もあ わせて観察できた(図3i,j)。

蛹室接着剤の構成成分や接着特性を解析するために蛹 化直前のクサシロキヨトウ幼虫から蛹室接着剤を採取し た。蛹室接着剤の分子組成解析として、接着性がクサシ ロキヨトウの餌であるイネの粘性多糖に起因する可能性 が考えられため、構成単糖の分析を行った。その結果、 蛹室接着剤ではガラクトースやアラビノースが主要な構 成単糖として検出された(表1)。ガラクトースやアラビ ノースは、植物細胞壁マトリックスに存在するペクチン やアラビノガラクタンを構成する単糖でもある。ペクチ ンやアラビノガラクタンは粘性多糖であり、これらが蛹 室接着剤の接着性に寄与する可能性が示唆された。また、 クサシロキヨトウの餌となるイネでは、セルロースやへ ミセルロースの構成単糖であるグルコースが主要単糖で あるが、蛹室接着剤ではグルコースは検出されず、一方 でガラクトースやアラビノースは吐き戻し液での存在比 がイネサンプルと比較して増加していた。この結果から、 クサシロキヨトウが植物細胞接着糖鎖を昆虫体内で精製 /濃縮して蛹室接着剤を作製している可能性が考えられ た。

続いて蛹室接着剤の接着特性の測定を試みた。5 mg/ μLに溶解した4 μLの蛹室接着剤(乾燥重量20 mg)を用 いて接着力の測定を引張り試験で測定したところ、10.1-



図3. クサシロキヨトウによる蛹室作製の観察。幼虫が粘性のある蛹室接着材を吐き戻している(f,g 矢印)。作製した蛹室の中で 蛹化したクサシロキヨトウ(i,j)。

表1	뽸至	接着剤の権	 	
		構成単糖比(%)		
		平均值	±SE	
Fuc		2.5	0.2	
Ara		30.3	1.0	
Gal		43.4	2.2	
Man	Ê.	15.5	1.9	
Xyl		8.3	3.0	

고고 근구 그는 그는 그는 그는 것 같은 !!

表2 蛹室接着剤の接着力の解析

	接着力 (kPa)		
	平均值	±SE	
蛹室接着剤 #1	11.7	3.5	
蛹室接着剤 #2	10.8	1.0	
吐き戻し液(4-6齢幼虫) #1	9.1	1.2	
吐き戻し液(4-6齢幼虫) #2	14.3	2.9	

11.7 kPaの接着力があった(表2)。さらに蛹室作製時に 加えて、蛹室作製時より若齢の幼虫から回収した吐き戻 し液(4 µL、推定乾燥重量100 mg)についても接着力を 測定したところ、9.1-14.3 kPaの接着力が観察された(表 2)。この結果より、クサシロキヨトウが蛹室接着剤を 調製する過程で、より接着力が高まっていることが明ら かになった。また、吐き戻し液を回収した若齢の幼虫が 粘性のある吐き戻し液を自身の外敵からの防御に使用す るという報告もある。オオモンシロチョウの幼虫は、自 身を攻撃する天敵昆虫に向けて吐き戻し液を吹き付ける ことが知られている⁷。粘性のある吐き戻し液を天敵昆 虫の羽に付着させることで、天敵昆虫の飛翔行動を抑え ると考えられている。クサシロキヨトウの幼虫も物理的 な刺激に応じて吐き戻し液を勢いよく噴射することがあ り、オオモンシロチョウと同様の防御戦略に粘性吐き戻 し液を利用している可能性も考えられた。

本研究では、クサシロキヨトウが蛹室作製時に吐き戻 す蛹室接着剤に注目して、その接着特性と分子組成に初 めて迫った。糖組成の解析から、餌となるイネの粘性多 糖が接着力に寄与する可能性が示された。今回、定量的 な接着力測定法を確立したことから、蛹室接着剤の接着 性が植物細胞壁糖鎖に由来するのかどうか、糖加水分解 酵素と組み合わせた実験を行うことで明らかにしていき たい。また今後、蛹室接着剤を用いた3次元造形を行う とともに、さらなる接着特性の解析を行うことで蛹化す る環境に適した接着特性を有しているのか調べていきた い。接着成分の候補糖鎖は、植物の防御機構を活性化す るため昆虫にとって不利な分子であるにもかかわらず、 植物と昆虫の共進化を経てもなお維持・利用されている。 このことは、蛹室接着剤は他には代えがたい独特な機能 や機能性分子を含んでいる可能性を示唆している。蛹室 接着剤のユニークな特性を探ることで、植物素材による 天然接着剤創出の手がかりが得られることを期待してい る。

4. 謝辞

本研究の遂行に際して、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深く感謝申し上げま す。また、大阪公立大学大学院理学研究科の森英樹准教 授、信州大学繊維学部の秋山佳丈教授、埼玉大学大学院 理工学研究科の小竹敬久教授、岡山大学資源植物科学研 究所のGalis Ivan教授、北條優子氏、藤原由佳氏をはじ
めとする共同研究者の皆様に心より感謝申し上げます。

5. 参考文献

- Grant JB. Diversification of gut morphology in caterpillars is associated with defensive behavior. *J Exp Biol* 209 : 3018–3024 (2006).
- Peiffer M, Felton GW. Do Caterpillars Secrete "Oral Secretions" ? J Chem Ecol 35 : 326-335 (2009).
- Gross P. Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. Annu Rev Entomol 38: 251-273 (1993).
- Eisner T, Johnessee JS, Carrel J, Hendry LB, Meinwald J. Defensive use by an insect of a plant resin. *Science* 184 : 996-999 (1974).
- 5. Zheng XL, Cong XP, Wang XP, Lei CL. Pupation

behaviour, depth, and site of *Spodoptera exigua*. *Bull Insectol* **64** : 209–214 (2011).

- 6. Shinya T, Hojo Y, Desaki Y, Christeller JT, Okada K, Shibuya N, Galis I. Modulation of plant defense responses to herbivores by simultaneous recognition of different herbivore-associated elicitors in rice. *Sci Rep.* 26: 32537 (2016).
- Desurmont GA, Köhler A, Maag D, Laplanche D, Xu H, Baumann J, Demairé C, Devenoges D, Glavan M, Mann L, Turlings TCJ. The spitting image of plant defenses : Effects of plant secondary chemistry on the efficacy of caterpillar regurgitant as an anti-predator defense. *Ecol Evol.* 7: 6304-6313 (2017).

リングサイズ発散合成を応用した植物天然物の量的供給と 構造活性相関研究への展開

大阪公立大学大学院理学研究科西川 慶祐

1. はじめに

中国の森林土壌南由来のネロリドール型セスキテルペ ノイド類と、タイの果樹由来であるフェロニエリン類は、 各々類縁体間で異なるリングサイズのエーテル環をもち (『リングサイズ発散』型植物天然物と呼ぶ)、有用な生 物活性が期待できることから効率的な量的供給法が望ま れる。Huangらによって、2016年、二種の新規ネロリドー ル型セスキテルペノイド類が中国東北部の土壌菌 *Streptomyces scopuliridis*から単離された(図1(A)) [1]。提出された構造式は、テトラヒドロフラン(THF) 環タイプのものが1、テトロヒドロピラン(THP) 環 のものが2である。しかしながら、これら天然物の相対 配置は二次元NMRで推定されているものの、絶対配置 は未決定であり、かつ詳細な生物活性に関する報告例は 特にない。また、フェロニエリン類は、2006年タイの果 樹Feroniella lucidaより単離されたフラノクマリンが連 結したモノテルペノイドであり、フェロニエリンA、B、 そしてCは、フラノクマリン骨格とTHF環、THP環、そ してオキセパン環(七員環エーテル)が各々連結した化学 構造をもつ(図1(B)、提出構造式は各々3、4、そし て5)[2]。フェロニエリンAが引き起こすオートファ ジーは多剤耐性のヒト肺癌A549細胞のアポトーシスを 引き起こすこと、またフェロニエリンBは強力な血小板 凝集阻害活性を示すことが報告されている。また同じ果 樹よりフェロニエリンBのジアステレオマーである、 フェロニエラミン(提出構造式は6)も後に単離されてお り、脂質過酸化反応を阻害することが報告されている [2b]。フェロニエリン類の相対配置も、同じく二次元 NMRで推定されており、フェロニエリンAのみが新モッ シャー法によりC2"位がS配置であることが報告されて いるが、それ以外の類縁体の絶対配置は未決定である。



これら天然物群の全立体構造を明らかにすること、そし て生物機能の詳細な分析のためにも、短工程かつ量的供 給法の開発は必要である。我々は、まだ合成例がない、 これら『リングサイズ発散』型植物天然物について、共 通原料からの発散的かつ網羅的な合成法の確立を目指し た。

申請者の研究室では、テトラエポキシド分子を原料に、 一般的に酸性水媒体中でTHF環を与える環化反応について、中性水中下に条件を切り替えることでTHP環を 立体特異的に与えることを見出している[3]。今回新 たに、Lewis酸を用いる低温下の条件でオキセパン環を



図2. 『リングサイズ発散』合成戦略の概要

選択的に構築することにも成功した。そして、量的供給 可能なジエン分子7より誘導できる、同一のジエポキシ ド分子8から、5、6、および7員環エーテル9、10、 そして11を発散的に供給できる"リングサイズ発散"合 成戦略に発展させた(図2)[4]。本戦略を応用して、上 記『リングサイズ発散』型植物天然物群の短工程供給法 を確立することに成功した。また、特にフェロニエリン 類の合成サンプルを用いて、マウスマクロファージ様細 胞株RAW264細胞を用いて抗炎症活性および細胞毒性を 幅広く評価したので報告する。

2. 『リングサイズ発散』合成法の確立

申請者は過去に、直鎖のテトラエポキシド分子を原料 に、一般的に酸性水媒体中でTHF環を与える環化反応 について、中性水中下[5]に条件を切り替えることで THP環を立体特異的に与えることを見出した[3]。例 えば、直鎖状のテトラエポキシド12を原料として、水存 在下の酸条件で処理すると、酸を触媒とする末端エポキ シドの加水分解を引き金に、5-exo環化を三度経てトリ スTHF環13を得た(図3(A))。続いて、中性水中下で12 を処理すると、その環化モードが大きく変化し予期せぬ ビスTHP環14が得られた。

またMcDonaldらによると、テトラエポキシド15を -40°CにてLewis酸で処理すると、酸で活性化された末端 エポキシドのより置換基の多い炭素に、隣接エポキシド の酸素原子がendo選択的に攻撃し、エポキソニウムイ オンIやII等を経て梯子状ポリエーテル16を与える(図3 (B))[6]。この環化反応では、最後に末端のtert-ブトキ シカルボニル(Boc)基のカルボニル部位が分子内で求核 攻撃することでエポキソニウムイオンを開環させ、縮環



図3.(A)テトラエポキシド12を原料とした、THF環とTHP 環のスイッチング、(B)McDonaldらが報告したendo選 択的エポキシド開環カスケード環化反応、そして(C) ジエポキシド分子8を原料とした、縮環していないオ キセパン環形成反応の構想

したオキセパン環が構築している。今回、図3(C)に示 すように、反応系中に水を共存させておくことで、ジエ ポキシド間のendo環化の後、水の分子間求核攻撃によっ てエポキソニウムイオンIIIが開環すれば、ジエポキシド 8を原料として、縮環していないオキセパン環11が得ら れると考えた。

最初に(E)-オレフィンをもつゲラニオール(17)由来の ジエポキシド18および19を調製し、各『リングサイズ発 散』合成の条件を検討した(図4(A))。まず18を原料と した際、水存在下Brønsted酸を用いると、末端エポキ シドの置換基が多い方の炭素に対する水の求核攻撃を引 き金として、内部エポキシドに対するexo環化により THF環20を得た。また18を中性水中下で加熱すると、 80%に近い良い収率でTHP環21を構築できた。本中性水 中反応の反応機構は、まず水によって弱く活性化された 末端エポキシドに対し、もう一方のエポキシドの酸素原



図4.(A) ゲラニオール(17)由来のジエポキシド分子18および19を原料とした『リングサイズ発散』合成と、(B)ネロール(26)由 来のジエポキシド分子27からの3&ジオキサビシクロ[3.2.1]オクタン骨格28の一挙構築反応

子がexo環化し、エポキソニウムイオンVIIを形成する [3]。次に水の求核攻撃によって開環し、21を与えたと 考察する。次に、ジエポキシドからのオキセパン環形成 反応について検討した[4]。結果として、水存在下嵩 高いLewis酸としてトリスペンタフルオロフェニルボラ ン(B(C₆F₅)₃)を用い-40℃で処理すると、予想通りendo 環化が進行しエポキソニウムイオンIXを形成し、水の求 核攻撃からオキセパン環22を得ることが出来た。syn体 のジエポキシド19を原料として各『リングサイズ発散』 合成の条件を検討したところ、THF環23、THP環24、 そしてオキセパン環25を、立体特異的に各々構築できた。 またZ体のネロール(26)由来のジエポキシド27を原料と して同様に検討したところ、Lewis酸を用いる水を添加 しない条件下で、複数の天然物骨格に見られる3.8-ジオ キサビシクロ [3.2.1] オクタン骨格28を84%の高収率で 一挙構築できることを見出した(図4(B))。

3. ネロリドール型セスキテルペノイド類の発散合成

次に、本戦略をネロリドール型セスキテルペノイド類 の合成に応用した。図5(A)に示す通り、もし天然物の THFおよびTHP環が、位置および立体選択的エポキシ 化と、それに続くジエポキシドの環化によって生合成さ れていると仮定する。その仮定では、提出構造1および 2はどちらも、C6と7位間がthreo配置なので、2-trans-6-cis-ファルネソール(29)が想定される生合成前駆体と なる。しかし、29由来のセスキテルペノイドは天然では 非常にまれであり、trans,trans-ファルネソール(30)由来



図 5.(A) ネロリドール型セスキテルペノイド類の提出構造 式1および2の推定生合成と、(B) trans, trans-ファルネ ソール(30) から生合成されていると推定した際の、妥 当な推定構造式6-エピマー31および7-エピマー32

のセスキテルペノイドが多く報告されており、30を生合 成前駆体とする提出構造式1の6-エピマ-31(C6と7位 間が*erythro*配置)および2の7-エピマ-32が天然物とし て妥当な構造式であると考察し、これらを合成すること とした(図5(B))。

市販のtrans,trans-ファルネシルアセタート(33)から出 発し、エポキシ化に続く脱アセチル化により、ジエポキ シドrac-34とrac-35の分離不能なジアステレオマー混合 物を得た(図6(A))。その混合物を酸処理したところ、 6-エピマーrac-31とそのジアステレオマーrac-36を、水 中反応に付したところ、7-エピマーrac-32とそのジアス テレオマーrac-37を得た。天然物のNMRデータと比較し たところ、各々6-エピマーおよび7-エピマーが、天然物 のTHFおよびTHPタイプのものと非常に良い一致を示 し、天然物の相対配置を修正できた[3]。また天然物 の絶対配置を決定するため、各ネロリドールセスキテル



図6.(A)ネロリドールセスキテルペノイド類の発散的ラセミ体合成と、(B)それらの発散的不斉合成

ペノイド類の不斉合成を実施した。既知の光学活性体38 より、D-ケトン39を用いるShiエポキシ化を含む僅か三 工程でジエポキシド34を合成し、ent-31および32を各々 合成した(図6(B))[3]。またent-38を原料としてL-ケ トンent-39を用いる以外は同様の合成経路で、31および ent-32を得た。両鏡像異性体の比旋光度の天然物との比 較により、天然物の未決定の絶対配置は、図6(B)に示 す通り31および32であると決定した。

4. フェロニエリン類の発散合成

5~7員環エーテルを全て類縁体にもつ、フェロニエ リン類の発散合成法を確立した(図7(A))。グレープフ ルーツ成分の一つであるベルガモチン(40)からエポキシ 化によりジエポキシドrac-41とrac-42のジアステレオ混 合物を得た後、混合物のままp-トルエンスルホン酸で処 理することで、フェロニエリンAの提出構造rac-3とその 7"-エピ体rac-43を各々合成した。ジエポキシド混合物 の水中環化により、フェロニエリンBの提出構造の3"- エピマーrac-44とフェロニエラミン(rac-6)を各々得た。 提出構造式の3"-エピマーrac-44が天然物のNMRデー タと非常に良い一致を示し、フェロニエリンBの相対配 置も訂正した。さらに混合物を-40℃下Lewis酸で処理す ることで、フェロニエリンC(rac-5)とそのジアステレオ マーrac-45を各々得た。本戦略を用いてリングサイズ発 散的に全てのフェロニエリン類を僅か二工程で供給し、 フェロニエリンAおよびBについては、それらの相対配 置を修正した [4]。さらに全てのフェロニエリン類の 絶対配置を決定するため、Shi不斉エポキシ化を駆使し て対応するジエポキシド41および42と、そのエナンチオ マーent-41およびent-42を全て不斉合成し、『リングサイ ズ発散』合成戦略に従い、全フェロニエリン類の両エナ ンチオマーを供給した(図7(B))[4]。各合成品と天然 物の比旋光度を比較することで、全てのフェロニエリン 類の絶対配置を図7(B)に示すように決定した。フェロ ニエリンAの2"位の絶対配置はSではなく、正しくは R配置であり、単離者の解析ミスであることも判明した。



図7.(A)フェロニエリン類の発散的ラセミ体合成と、(B)それらの発散的不斉合成

5.構造活性相関の解明を目指した、フェロニエリン類 の抗炎症活性の評価

フラノクマリン含有化合物は抗炎症活性を示す報告例 がある[7]。そこで、同じくフラノクマリン骨格をも つフェロニエリン類について、合成した全ての天然物と 各鏡像異性体を対象に、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264細胞を用いて抗炎症活性および細胞毒性を評価 した。抗炎症活性の有無は、リポ多糖で刺激した RAW264細胞における一酸化窒素(NO)産生の抑制の程 度で評価した。陽性対照としてケルセチンを用いた。そ の結果、フェロニエリン類全てにNO産生抑制効果が認 められた。またリングサイズが大きくなるにつれ、NO 産生抑制効果が強くなる傾向があることを見出した。特 にフェロニエリンC(5)とその鏡像異性体ent-5は、ケル セチンと同程度の強い活性を示した。細胞毒性について は、全てのフェロニエリン類で100 µ Mにおいて有意な 細胞毒性は確認されず、抗炎症剤としての応用の可能性 が示唆された。

6. 結論

申請者は、容易に供給可能なジエポキシド分子より、 酸性および中性等の簡単な条件の違いで5、6、および 7員環エーテルを発散的に供給できる『リングサイズ発 散』合成戦略を確立した。その戦略を天然物合成に応用 し、ネロリドール型セスキテルペノイド類とフェロニエ リン類の発散的合成法を確立し、いくつかの天然物につ いて相対配置を修正し、全ての天然物の絶対配置を決定 した。最後に、フラノクマリン骨格をもつフェロニエリ ン類の抗炎症活性を評価し、フェロニエリンCおよびそ の鏡像異性体が特に強力な活性をもつことを見出した。

7. 謝辞

本研究を実施するにあたり多大な御支援を賜りまし た、公益財団法人松籟科学技術振興財団に深く感謝致し ます。本研究は大阪市立大学(現大阪公立大学)大学院理 学研究科物質分子系専攻(現化学専攻)合成有機化学研究 室内で実施されたものであり、御指導頂きました森本善 樹教授をはじめ、昼夜問わず共に合成実験に取り組んで くれた学生諸君(星野晃大君、橋本統星君、森田健吾君、 池内拓海君、丹羽俊揮君、松浦晃久君、寺西智徳君、林 幹史郎君、そして鶴田智暉君)に深く感謝致します。また、 合成品の生物活性試験について御協力頂きました、鹿児 島大学水産学部の熊谷百慶博士に感謝致します。さらに、 合成した化合物のNMR測定および単結晶X線構造解析 等でお世話になりました、大阪公立大学大学院理学研究 科分析室の土江松美博士、田中里佳博士、そして林剛史 博士に深く感謝申し上げます。

8. 参考文献

- 1. X. Huang et al. Magn. Reson. Chem. 2016, 54, 606.
- 2. a) P. Phuwapraisirisan, S. Tip-pyang et al. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 3685; b) P. Phuwapraisirisan, S. Tip-pyang et al. *Phytother. Res.* 2006, 20, 708; c) P. Phuwapraisirisan et al. *Phytother. Res.* 2007, 21, 485; d) W. Assavalapsakul, Y.-H. Chung et al. *Int. J. Oncol.* 2014, 44, 1233.
- a) K. Nishikawa, Y. Morimoto et al. "Critical Switching of Cyclization Modes of Polyepoxides in Acidic Aqueous Media and Neutral Water: Synthesis and Revised Structure of a Nerolidol-Type Sesquiterpenoid" Angew. Chem., Int. Ed. 2019, 58, 10168; 表紙絵にセレクトされた; b) K. Nishikawa, Y. Morimoto et al. "Natural Product Synthesis Strategy Based on the Concept of Directly Constructing the Ring Skeletons from Linear Substrates" J. Synth. Org. Chem., Jpn. 2021, 79, 197.
- 4. K. Nishikawa, Y. Morimoto et al. "Establishing a "Ring-Size-Divergent" Synthetic Strategy: Synthesis, Structural Revision, and Absolute Configuration of Feroniellins" *Chem. Eur. J.* 2021, 27, 11045; Hot Paper にセレクトされた.
- 5. a) T. F. Jamison et al. *Science* 2007, *317*, 1189;
 For reviews, see : b) T. F. Jamison et al. *Chem. Soc. Rev.* 2009, *38*, 3175.
- 6. a) F. E. McDonald et al. J. Org. Chem. 2002, 67, 2515; b) F. E. McDonald et al. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 4586.
- 7. G. Kirsch et al. Molecules 2016, 21, 1322.

-35-

高性能エステル交換触媒を用いるバイオディーゼル合成

神戸薬科大学 薬学部 波多野 学

1. はじめに

カルボン酸エステルは基本的かつ重要な有機化合物で あり、合成中間体の保護基としての役割から医薬品、化 粧品、香料、脂質、ボリエステルに至るまで、その用途 は幅広い¹。特に工業的には、グリーンケミストリーや 原子効率の観点から、化学量論量の活性化剤や縮合剤を 用いることなく、安価で毒性の低い高活性触媒を用いる 脱水縮合法やエステル交換法による合成が求められてい る。既に数多くの触媒的エステル合成法に関する論文が 報告されているが、バイオディーゼル合成、アクリル酸 エステルの合成、フェニルエステルの合成、第3級アル キルエステルの合成、官能基選択性の問題、位置選択性 の問題、光学活性エステルにおけるラセミ化の抑制など、 実験室規模でも工業的規模でも、未だ解決すべき課題は 多い。

カルボン酸とアルコールの触媒的脱水縮合法は原子高 率の最も高いエステル合成法であるが、エステル交換法 の方が適しているケースも多い(図1)²。例えば、一般 に脱水縮合反応は酸触媒を用いるため低極性溶媒が適し ているが、カルボン酸は極性が高く、低極性溶媒への溶 解度が低い。また、エステルのC-OR結合はカルボン酸 のC-OH結合よりも解離エネルギーが小さく、穏やかな 反応条件下で切断できる。さらに、エステルの方が入手 しやすい場合もある。また、脱水縮合は酸性条件下で促 進されるのに対し、エステル交換反応は酸性・塩基性の



両条件下で促進されるため、酸に不安定な基質にはエス テル交換反応が適していることもある。

そもそも、エステルの合成法は古くから研究されてお り、やり尽くされたほどの研究成果があるように錯覚さ れがちである。しかし、冒頭でも述べたとおり、GSCの 観点から研究すると、未だ発展途上の研究分野であり、 低コストで安定した、持続的に供給可能な環境低負荷型 のエステル合成法の開発は工業的に見て急務である。こ うした観点から、我々は問題が生じうる従来の触媒とは 一線を画す革新的なエステル合成触媒の開発に取り組ん だ。触媒による着色や残留の問題がなく、取扱が容易で、 低コストかつ、安全で堅牢性の高いクリーンな信頼性の 高い次世代のエステル製造法を目指した。

アンモニウム塩触媒の創製とエステル交換反応への 適用

上述の問題を一挙に解決する一つの方法は、金属触媒 からの脱却であると考えた。そこで、メタルフリーの有 機触媒 [Me₄N]⁺ [OCO₂Me]⁻を開発した(図2)³。本触 媒は、取扱いが容易で回収・再利用ができ、高い反応再 現性を示すほか、スケールアップにも対応できた。従来 の金属触媒法に比べ、適用可能な溶媒の種類が多く、合 成可能なエステルの種類が広いこともわかった。

例えば、トロロックスメチルエステルと*trans, trans-*ファルネソールとの反応において、6 mol%の



図2. 高活性アンモニウム塩触媒の調製



図3. 触媒的エステル交換反応によるビタミンE類縁体のグ ラムスケール合成

[Me₄N]⁺ [OCO₂Me]⁻触媒存在下、トルエン中で3時間 加熱還流することにより、ビタミンE類縁体⁴の一つであ る目的の生成物を91%収率(10.6グラム)で合成できた(図 3)。

3. バイオディーゼル合成への展開

エステル交換反応の応用の一つとして、バイオディー ゼル合成がある5。トリグリセリド由来のメチルエステ ルは、エステル交換反応(メタノリシス)を施すことによ り、環境低負荷で安価なバイオディーゼル燃料となる。 バイオディーゼルはバイオマスエネルギーの一つであ り、工業的には脂肪酸メチルエステルが唯一規格化され ており、グリセリンなどの製造不純物を取り除き、化学 処理や改質処理を施して、その名の通りディーゼルエン ジンに使用されている。従来は一般的に、トリグリセリ ドに多量のアルカリ金属塩を加え、メタノリシスして合 成される。しかし、多量のアルカリ金属イオンの除去と 精製にコストがかかるという問題があり、実用化は簡単 ではない。そこで本研究では、ひきつづき上記のアンモ ニウム塩触媒を用い、天然植物油脂であるトリグリセリ ドを原料とする高効率バイオディーゼル製造法の開発へ と展開した。

検討の結果、0.23wt%の本アンモニウム塩触媒を用い て、グリセリドのひとつであるパーム油(ヤシ油)の主成 分であるトリラウリンから99%以上の収率で100グラム の高純度バイオディーゼルを合成できた(図4)。副生す るグリセリンは分液抽出操作のみで容易に水層へと除去 でき、精製にかかるコストは低いことが特筆される。

さらに、他のグリセリドからのバイオディーゼル合成 へ展開した(図5)。その結果、トリアラキジンも問題な く適用できた(図5a)。トリエライジンやトリリノレイン





図4. トリラウリンからのバイオディーゼル合成

は不飽和脂肪酸エステルであるが、本法は問題なく適用 でき、アルケン部位の損壊を伴うことなく、定量的に対 応するバイオディーゼルが得られた(図5b,c)。ジアセチ ルラウロイルグリセロールは、様々な脂肪酸エステルに 由来する混合グリセリドである。ジアセチルラウロイル グリセロールの場合も、1wt%の本アンモニウム塩触媒 存在下、1時間で対応する混合バイオディーゼルを定量 的に得ることができた(図5d)。一般に、植物油のグリ セリドの成分は均一ではなく、いくつかの脂肪酸が混合 されている。たとえば、大豆油、菜種油、ひまわり油、 コーン油、パーム油、ヤシ油、綿実油などのグリセリド はオレイン酸、ステアリン酸、パルミトレイン酸、パル チミン酸、ミリスチン酸、ラウリン酸などから構成され る。こうした観点から、ジアセチルラウロイルグリセロー ルのバイオディーゼルの合成の結果は、さらにブラッ シュアップする必要があるものの、工業的な堅牢なバイ オディーゼル合成への第一歩と言える。

本研究と並行して行っていた別のエステル合成プロ ジェクトでは、嵩高いナトリウムフェノキシド触媒が有 効であった⁶。そこで、取扱が容易で着色もないナトリ ウムフェノキシド触媒を用いて、トリラウリンを用いる バイオディーゼル合成で評価した(図6)。その結果、





図6. 新触媒による室温下でのバイオディーゼル合成

1.8wt%の触媒量が必要であるものの、室温下で反応が 円滑に進行し、97%収率で対応するバイオディーゼルを 得ることができた。工業的なバイオディーゼル合成には 1wt%以下の触媒量が最低条件だと言われており、今後 のさらなる検討で改善を図りたい。

4. おわりに

エステルは人類の生活に必要不可欠で、できる限りク リーンに効率よく、大量かつ恒久的に合成するための技 術開発が強く求められている。中でも、グリセリドの触 媒的エステル交換反応(メタノリシス)は、グリセリンし か廃棄物を出さないため、製造コストの低い最も理想的 なバイオディーゼルの合成法の一つである。本研究では、 一般エステル類のエステル交換反応に有効なメタルフ リーのアンモニウム塩触媒 [Me4N]⁺ [OCO2Me]⁻を創 製し、その堅牢性とパワフルな触媒効果をバイオディー ゼル合成で実証した。今後、さらなる検討を重ね、世界 人類の恒久の益となるべく、真に実用的な環境調和型の バイオディーゼル合成につなげたい。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、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深く感謝申し上 げます。本研究は名古屋大学大学院工学研究科石原研究 室との共同研究で行われたものです。石原一彰教授なら びに本研究に関わる全ての皆さまに感謝申し上げます。 とりわけ献身的に研究に励んでくれた多畑勇志氏、Jie Qi Ng氏のたゆまぬ努力に心より謝意を表します。

6. 参考文献

- (a) Otera, J. "Esterification", 1st. Wiley-VCH, Weinheim, 2003. (b) Otera, J. "Esterification", 2nd. Wiley-VCH, Weinheim, 2010.
- (a) Otera, J. Chem. Rev. 1993, 93, 1449–1470. (b) Grasa, G. A.; Singh, R.; Nolan, S. P. Synthesis
 2004, 2004, 971–985. (c) Hoydonckx, H. E.; De Vos, D. E.; Chavan, S. A.; Jacobs, P. A. Top. Catal. 2004, 27, 83–96. (d) Ishihara, K. Tetrahedron 2009, 65, 1085–1109.
- Hatano, M.; Tabata, Y.; Yoshida, Y.; Toh, K.; Yamashita, K.; Ogura, Y.; Ishihara, K. *Green Chem.* 2018, 20, 1193–1198.
- 4. Naumann, E. C. ; Göring, S. ; Ogorek, I. ; Weggen,
 S. ; Schmidt, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 3852–3856.
- 5. (a) Ma, F.; Hanna, M. A. Bioresour. Technol. 1999, 70, 1-15. (b) Fukuda, H.; Kondo, A.; Noda, H. J. Biosci. Bioeng. 2001, 92, 405-416. (c) Demirbas, A. Energy Convers. Manage. 2009, 50, 14-34. (d) Singh, S. P.; Singh, D. Renewable Sustainable Energy Rev. 2010, 14, 200-216. (e) Leung, D. Y. C.; Wu, X.; Leung, M. K. H. Appl.

Energy 2010, 87, 1083-1095. (f) Lourinho, G.;
Brito, P. Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 2015, 14, 287-316. (g) Chuah, L. F.; Klemeš, J. J.; Yusup, S.;
Bokhari, A.; Akbar, M. M. J. Cleaner Prod. 2017, 146, 181-193.

 Ng, J. Q.; Arima, H.; Mochizuki, T.; Toh, K.; Matsui, K.; Ratanasak, M.; Hasegawa, J.-Y.; Hatano, M.; Ishihara, K. ACS Catal. 2021, 11, 199 -207.

生薬由来化合物をリードにしたアミロイドβオリゴマー 特異的な核磁気共鳴イメージングプローブの開発

京都大学 大学院農学研究科 村上 一馬

1. はじめに

アルツハイマー病 (AD)の原因物質の一つであるア ミロイド β (A β 42) は、凝集 (オリゴマー化)するこ とで神経細胞毒性を示す (図1A)。これより、A β 42オ リゴマーを標的とした創薬戦略は、ADの治療および予 防に有効である。これまでにA β 42の凝集を阻害する天 然物が、植物由来の生薬中や機能性食品から多数報告さ れているが、凝集阻害に必要な3つの構造要因として、 ①カテコール構造(マイケル付加を介した阻害)、②平面 構造(π - π 相互作用を介した阻害)、③カルボキシ基(イ オン結合を介した阻害)が、所属研究室において明らか にされている¹⁾。A β 42の凝集過程は、凝集核が連鎖 的に伸長する「線維(フィブリル)伸長過程」の大きく2 つに分けられる (図1B:凝集核存在下ではただちに線維 伸長が始まる)。

所属研究室において、生薬の釣藤鈎(チョウトウコウ) から活性成分の一つとして同定されたウンカリン酸C は、A β 42の神経細胞毒性を抑制するとともに、オリゴ マー形成と関わりが深い核形成過程を選択的に抑制する こと、28位のカルボキシ基と27位のフェルラ酸部分が本 活性に不可欠であることが明らかになった²³⁾。さらに、 「核形成過程」と「線維伸長過程」への影響に基づいて、 天然物を9つのグループに分類する方法を提唱し、化合 物の凝集阻害様式をただちに判定することが可能になっ た(図1C)¹⁾。これらの知見に基づいて、AD創薬にはA β 42のオリゴマー化を早期かつ正確に検出できる化合物 の開発が不可欠と考え、本研究ではA β 42オリゴマー特 異的な核磁気共鳴イメージング (MRI) プローブを開発 することを目的とした。



図1.(A) A β42の凝集機構(B) 天然物における凝集阻害の 3つの構造要因(C)凝集阻害剤の9種の分類法(点線 は化合物添加群) 核形成が遅延するc,f,iのパターンは 抗AD薬として有望である。

2. MRIプローブの母核構造の再検討

¹H MRIは水由来のシグナルと重なるため、生体内の A β イメージングには不向きである。一方、¹⁹Fは¹Hと 近いファンデルワールス半径をもちながら、ポジトロン 断層法(PET)イメージングのように、測定時間が放射 性同位元素の半減期に影響を受けない。これまでのAβ イメージング研究では、MRIおよびPETいずれの手法 を用いた場合も、発症後診断を主目的としており、その 多くはフィブリル結合薬であるCongo redをリードにし たものが多い⁴⁾。そこで、オリゴマー特異性を高めた幅 広い母核構造を検討するために、¹⁹F MRIに用いるプ ローブの母核構造を探索する必要があると考えた。

最近、申請者らは生薬ライブラリー(アルプス薬品工 業から供与を受けた400種)および天然物ライブラリー (理研天然化合物バンクNPDepoから供与を受けた化合 物480種)のスクリーニングを行い、天然物の9分類(図 1C)に基づいて、オリゴマー化阻害活性をもつ3つのグ ループ(c,f,i)を得た⁵⁾。またウンカリン酸Cと同じくトリ テルペン骨格やアントラキノン骨格などの母核構造に よって,標的とする凝集過程(核形成過程および線維伸 長過程)が異なることを明らかにした。これらの化合物 の中から、オリゴマー化を抑制かつフィブリル化を促進 し(グループc)、カルボキシ基を有するベツリン酸(図 2:1,ナツメ果実に含まれ、大棗という生薬の成分とし て知られる)に着目し、¹⁹F標識することにした。

3. ベツリン酸の¹⁹F標識プローブの合成

1におけるフッ素導入位置は、ウンカリン酸Cの構造 活性相関研究³⁾に基づいて、オリゴマー化阻害活性に関 与が小さい3位水酸基を選んだ。フッ素標識化合物には、 2,2,3,3,4,4-ヘキサフルオロペンタン二酸無水物(2、フッ



図2. 1の¹⁹F標識プローブの合成

素数が3より多い)および3-(トリフルオロメトキシ)桂 皮酸(3、フェルラ酸の部分構造を含む)を検討した(図 2)。2をDMAPを触媒として導入しようとしたが、フッ 素部分の分解が認められたため、3を塩化チオニルおよ びトリエチルアミンを用いて縮合することによって¹⁹F 標識プローブ(5)を得た。

4. ベツリン酸の¹⁹F標識プローブを用いたMRI測定

5 を共同研究者の遠山育夫教授(滋賀医科大学)に送付 し、溶解試験および画像化条件の検討を行っていただい た。まず遠山らが開発したクルクミンを母核構造とした プローブ(図3B:Shiga-Y5)⁶⁾を、MRIプローブ用の溶 剤である10% Cremophor ELの生理食塩水溶液に溶か し、¹Hおよび¹⁹F MRIを観測した。その結果、画像およ びシングルパルスにおいて強力なシグナルを検出した (図3A, B)。次に、Shiga-Y5を5.5ヶ月齢の野生型マウス に静脈注射し(32 mg/kg)、¹H MRI測定(図4A)と摘 出脳の¹⁹F MRIの経時的(50~800分)画像解析において、 シグナルを確認した(図4B)。

続いて、5の溶解試験を行った結果、MRIプローブ用 の溶剤である10% Cremophor ELの生理食塩水溶液への 溶解性が悪かった(80% Cremophor EL溶液には溶解し たが、生理食塩水を加えると白濁した)。図5Aのように 画像検出はできたが、¹⁹F MRIのシングルパルスでは微



 図3. Shiga-Y5の(A)¹Hと¹⁹F MRIの画像化ならびに(B)
 ¹⁹F MRIスペクトル 画像輝度のコントラストを最大 にした。



 図4.(A) Shiga-Y5を投与したマウスの¹H MRI画像(B) 摘 出脳(線で囲った部分)の¹⁹F MRI画像 50分後には観 測できたが、その後、減衰し、800分後には特異的な信 号は得られなくなった。



図5.5の(A)¹Hと¹⁹F MRIの画像化ならびに(B)¹⁹F MRI スペクトル 画像輝度のコントラストを最大にした。

弱な信号しか観測されなかった(図5B)。

5. まとめ

本研究では、Aβ42オリゴマー特異的なMRIプローブ の開発を目的として、1を母核化合物としたフッ素標識 を行った。しかしながら、¹⁹F化した5はMRI測定用溶 媒に対する溶解性が低かったことから、オリゴマー形成 阻害に影響を与えない範囲内で、カルボン酸をナトリウ ム塩にするなど、水溶性を改善する必要がある。最近、オ リゴマー形成阻害能をもつことが明らかになったカルコ ン骨格を有する2',3'-dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone (DDC)は、生理食塩水に対する溶解性は高かった(投稿 準備中)。さらに、図1Cのスクリーニングでは4-pyrone (フラボノイド)や2-pyrone等のマイケル受容構造をもつ 化合物がオリゴマー形成阻害能をもつことが見いだされ ている^{5,7)}。今後、これらを母核とした¹⁹F標識化合物の 開発が期待される。

6.謝辞

本研究を遂行するにあたり、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深く感謝申し上 げます。本研究は、京都大学大学院農学研究科で行われ たものであり、共同研究者の入江一浩教授、滋賀医科大 学の遠山育夫教授、柳沢大治郎准教授に心より御礼申し 上げます。

7. 参考文献

- Murakami, K. : Irie, K. Three structural features of functional food components and herbal medicine with amyloid β42 anti-aggregation properties. *Molecules* 2019, 24, 2125.
- 2) Yoshioka, T. : Murakami, K. : Ido, K. : Hanaki, M.
 : Yamaguchi, K. : Midorikawa, S. : Taniwaki, S. : Gunji, H. : Irie, K. Semisynthesis and structureactivity studies of uncarinic acid C isolated from Uncaria rhynchophylla as a specific inhibitor of the nucleation phase in amyloid β 42 aggregation. J. Nat. Prod. 2016, 79, 2521–2529.
- 3) Murakami, K. : Yoshioka, T. : Horii, S. : Hanaki, M.
 : Midorikawa, S. : Taniwaki, S. : Gunji, H. : Akagi, K.-I. : Kawase, T. : Hirose, K. : Irie, K. Role of the carboxy groups of triterpenoids in their inhibition of the nucleation of amyloid β42 required for forming toxic oligomers. *Chem. Commun.* 2018, 54, 6272-6275.
- 4) Su, D. : Diao, W. : Li, J. : Pan, L. : Zhang, X. : Wu, X. : Mao, W. Strategic design of amyloid-β

species fluorescent probes for Alzheimer's disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2022**, *13*, 540–551.

- 5) Murakami, K. : Horii, S. : Hanaki, M. : Irie, K. Searching for natural products that delay nucleation phase and promote elongation phase of amyloid β 42 toward Alzheimer's disease therapeutics. *ACS Chem. Neurosci.* 2021, *12*, 3467– 3476.
- 6) Yanagisawa, D. : Shirai, N. : Amatsubo, T. : Taguchi, H. : Hirao, K. : Urushitani, M. : Morikawa, S. : Inubushi, T. : Kato, M. : Kato, F. : Morino, K. : Kimura, H. : Nakano, I. : Yoshida,

C. : Okada, T. : Sano, M. : Wada, Y. : Wada, K. : Yamamoto, A. : Tooyama, I. Relationship between the tautomeric structures of curcumin derivatives and their A β -binding activities in the context of therapies for Alzheimer's disease. *Biomaterials* **2010**, *31*, 4179–4185.

7) Hanaki, M. : Murakami, K. : Gunji, H. : Irie, K. Activity-differential search for amyloid- β aggregation inhibitors using LC-MS combined with principal component analysis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2022**, 128613.

沖縄産植物由来エキスを活用した新規神経炎症治療薬の創製

日本大学 薬学部 小菅 康弘

1. 研究背景

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)は、上位および下位運動 ニューロンが徐々に障害されることによって生じる進行 性の神経変性疾患である。運動機能障害や嚥下障害など が生じ、最後には呼吸不全が導かれる壊滅的で致死的な 疾患である。ALSは、家族性ALS患者で認められる copper/zinc superoxide dismutase (Cu/Zn SOD, SOD1)をコードする遺伝子の突然変異が原因であるこ とが報告され、SOD1の93 番目のコドンがグリシンから アラニンへ変異したG93A SOD 1 (SOD1^{G93A})トランス ジェニックマウス (G93Aマウス)が、ALSモデルマウス として病態メカニズムの検討や治療薬の開発研究に広く 用いられている(1)。これまでに、G93Aマウスを用い た研究によりALSには、酸化的ストレスの亢進、ミトコ ンドリア機能障害、小胞体ストレスの亢進興奮毒性、タ ンパク質凝集、そしてグリアの活性化を介した神経炎症 などが関与することが報告されている(2)。これらの原 因仮説をもとにリルゾールやエダラボンが開発され、 ALS治療薬として認可されているものの、顕著な改善効 果は望めないのが現状である。そのため、ALSに対する 効果的な治療法の確立は今日でも重要な課題のひとつで ある。

伝統的な薬として知られている生薬は、相補的で代替 の薬として一般に用いられるだけでなく、医療用医薬品 としても使用されている。近年、生薬の安全性及び有効 性が、パーキンソン病(3)やアルツハイマー病(4)など の疾患でも次々に評価され、神経変性疾患の治療に対し ても有益であることが明らかにされている。これまでに、 申請者の研究室においても、沖縄県宮古島で栽培された キク科の植物*Bidens pilosa L .var .radiata Scherffを*加 工した宮古ビデンス・ピローサエキス末(MBP)の経口 投与が、G93Aマウスの生存期間を延長し、運動機能の 低下や運動ニューロンの変性を抑制することを報告して いる(5)。また、MBPには、G93Aマウスで生じるアス トロサイトやミクログリアの増加を顕著に抑制すること を見出している(5)。そこで、本研究では、MBPの ALS治療メカニズムの解明を目的として、MBPがグリ ア増加やサイトカインの発現に及ぼす影響について検討 した。

2. 方法

2.1. 実験動物

B6SJLマウス(WTマウス)および、B6SJL-TgN (SODG93A)1Gurマウス(G93Aマウス)はJackson Laboratoryより購入し、日本大学薬学部動物実験セン ターで飼育、繁殖を行ったものを用いた。また、本研究 は、動物実験委員会の承認(AP13P001-2)および遺伝子 組換え実験安全委員会の承認(2004薬003-3)を受け、日 本大学動物実験運営内規に基づいて行った。なお、遺伝 子型の判別は、全血または尾部より抽出したゲノム DNAを使用し、polymerase chain reaction (PCR)法に より行った。

神経障害性モデルマウスには、麻酔下の6週齢ICRマ ウスの坐骨神経をネスコスチャーで結紮して作製した坐 骨神経部分損傷 (PSL)マウスを用いた。なお、本研究は、 動物実験委員会の承認 (AP20PHA004-1)を受け、日本 大学動物実験運営内規に基づいて行った。

2.2. 培養細胞

BV2細胞は、Prof. Eui-Ju Choi (Department of Life Science, Korea University,)より供与された。実験には、 1.2×10⁴個/cm²の密度で播種し、10% Fetal Bovine Serumを含むDulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)で24時間培養したものを使用した。

2.3. 細胞増殖能及び生存率の評価法

細胞増殖は、MTT法およびBrd-U法により評価した (6)。試薬処置終了後、MTTを含む培地で3時間インキュ ベート後、MTT溶解液(50% N, N-dimethylformamide、 20% sodium dodecyl sulfate (SDS)、pH 4.7)を加え生 成したホルマザン色素を可溶化させた後、マイクロプ レートリーダー (SH-1000Lab, Corona Electric)により 吸光度(測定波長570 nm、参照波長655 nm)を測定した。 同様に、Brd-Uを含む培地で24時間インキュベート後、 特異的抗体を用いて比色検出後、マイクロプレートリー ダー (Corona Electric)により吸光度(測定波長450 nm、 参照波長690 nm)を測定した。

また、細胞障害性の評価には、LIVE/DEAD[®] Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular Probes)を使用し た(6)。試薬処置終了30分前に染色後、共焦点レーザー 顕微鏡 (LSM710, ZEISS)を用いて撮影した。細胞傷害 率は、calcein陽性細胞とEthD-1陽性細胞の和に対する EthD-1陽性細胞の割合で示した。

2.4. mRNAの発現解析

WTおよびG93Aマウスより摘出した腰髄またはLPS を添加したBV-2細胞をサンプルとし、High Pure RNA Isolation Kit (Roche)を用いて抽出したtotal RNA (0.5 μ g)を鋳型とし、Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kit (Roche)によりcDNA を合成した。その 後の、Real time PCR法はTHUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO)を用いて行った。全てのデータ は、ハウスキーピング遺伝子としてGAPDHを用い て、^{ΔΔ}CT法により解析した。

2.5. 疼痛試験

Von Frey 試験により疼痛閾値を測定した。具体的に は、Von Frey式感覚測定キットのフィラメント(0.008、 0.02、0.04、0.07、0.16、0.4、0.6、1.0 g)を用いて、後肢 を持ち上げたり舐めたりする逃避反応を観察した。逃避 反応が認められた最小のフィラメントのg数の3回の結 果の平均を後肢逃避反応閾値とした。各刺激の間隔は10 秒とした。

2.6. 統計解析

データは、平均値 ± SEで示した。検定には、Twoway ANOVA後、Bonferroni's multiple comparisons testまたはTukey's testを用いた。

3. 結果・考察

3.1. MBPがALSモデルマウスのサイトカインの産生 に及ぼす影響

はじめに、G93Aマウスの腰髄におけるサイトカイン mRNAの発現変化にMBPが及ぼす影響を検討した。 ALS発症直後の15週齢よりMBPを2 mg/g/dayで1 週間 経口投与したマウスの腰髄を回収し、各種のmRNAの 発現解析を行った。炎症促進性サイトカインである TNF-a およびIL-1bの発現レベルは、水投与のG93Aマ ウスでは、水投与のWTマウスより有意に増加したが、 MBP投与は、G93Aにおけるこれらの産生増大を有意に 抑制した (Fig. 1)。同様に、炎症抑制性のサイトカイン であるTGF-BおよびIL-10の発現変化についても検討し た。水投与のG93AマウスにおけるTGF-BおよびIL-10 の発現は、水投与のWTマウスと比較して、有意に増加 したが、MBP投与は、G93Aにおけるこれらの増加に対 して影響を及ぼさなかった(Fig. 1)。以上の結果より、 MBPには炎症促進性サイトカインを選択的に抑制する 作用があることが明らかとなった。





MBPまたは精製水を1週間投与したマウスの腰髄における 炎症促進性サイトカイン (TNF-*a*, IL-1 β) および抗炎症抑 制性サイトカイン (TGF- β , IL-10) mRNAの発現レベルを定 量化した。データは、平均値±SEで示した (n=5-6)。検定は One-way ANOVA後, Tukey's multiple comparisons testを 用いた。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。

3.2. MBPがALSモデルマウスのミクログリアの活性 化状態 (M1/M2極性)に及ぼす影響

中枢神経系における免疫担当細胞であるミクログリア の活性型には、マクロファージと同様、神経傷害性の M1型および神経保護性のM2型の存在が明らかにされつ つあり、ALSおいてもこれらの活性型の転換(M2型か らM1型への増加)が疾患の進行を加速することが示唆さ れている(7)。そこで、G93Aマウスの腰髄におけるミ クログリアマーカーのmRNA変化をリアルタイムPCR 法により検討した。水投与のG93Aマウスにおける M1 型ミクログリアマーカー(CD11cおよびIFN-1 gR)の発 現レベルは、水投与のWTマウスより有意に増加した (Fig. 2)。また、MBP投与は、G93Aマウスで認められ たCD11cびIFN-1 gRのmRNA発現レベルの増加を有意 に抑制した(Fig. 2)。

また、水投与のG93AマウスにおけるM2型ミクログリ アマーカー (IL-13R, Ym1)の発現レベルは、水投与の WTマウスと比較して有意に増加したが、ここでもMBP 投与による影響は認められなかった (Fig. 2)。

以上の結果より、MBPは細胞障害性のM1型ミクログ リアの増加を選択的に抑制する作用を有することが明ら



Fig. 2 MBP投与がALSモデルマウスのミクログリアの活性 化に及ぼす影響

MBPまたは精製水を1週間投与したマウスの腰髄における M1型ミクログリアマーカー (CD11c, IFN-1gR) およびM2 型ミクログリアマーカー (IL-13R, Ym1) mRNAの発現レベ ルを定量化した。データは、平均値±SEで示した (n=5-6)。 検定はOne-way ANOVA後, Tukey's multiple comparisons testを用いた。**p<0.01, ***p<0.001。 かとなった。またこのM1型ミクログリアの抑制が炎症 促進性サイトカインを選択的な抑制に関与することが示 唆された。

3.3. BV2細胞にMBPが及ぼす影響

次に、ミクログリアのモデル細胞であるBV2細胞を用 いてMBPの及ぼす影響を検証した。MTTの還元能およ びBrd-Uの取り込みを指標にBV2細胞の増殖活性を測定 したところ、MBPは濃度依存的にBV2細胞の増殖を抑 制した。MTT値の減少は、細胞増殖能の低下による細 胞数の減少だけでなく、細胞死による生細胞数の減少も 反映する可能性がある。そこで、MBP曝露による細胞 死の誘発の有無をLIVE/DEAD染色法により検討した。 その結果、MBP曝露群における死細胞を示すEthD-1陽 性細胞の割合は、最大で4.8 %であったVehicle投与群と 同程度であった(Data not shown)。以上より、MBPは BV2の細胞増殖抑制作用を有することが示唆された。

次に、Lipopolysaccharide (LPS)がBV2において誘発 するサイトカインの発現亢進に対してMBPが及ぼす影 響を検討した。BV2細胞に1 μ g/mL LPSを4時間曝露 したところ、炎症促進性サイトカインであるTNF-aお よびIL-1bの発現レベルは、Vehicle曝露群の細胞と比較 して、100倍または1700倍程度増加した(Fig. 3)。MBP は、このLPSが誘発するこれらのサイトカインの産生増 大を有意に抑制した(Fig. 3)。一方で、MBP単独処置 群でも、非常にわずかではあるものの、TNF-aおよび



Fig. 3 BV2細胞においてMBPがLPS誘発炎症性サイトカインの産生増大に及ぼす影響

表記濃度のMBPをLPS (1 μ g/mL)を4時間曝露したBV2 細胞の炎症促進性サイトカイン (TNF-a, IL-1 β) mRNA の発現レベルを定量化した。平均値±SEで示した (n=6)。 検定はOne-way ANOVA後, Tukey's multiple comparisons testを用いた。****p < 0.001. IL-1bの発現が増加した(Fig. 3)。以上のように、MBP はBV2の作用増殖を抑制するとともに、炎症促進性サイ トカインの産生も減少効果があることが明らかになった。

3.4. PSLマウスに対するMBPの鎮痛作用

最後に、脊髄においてミクログリアの活性化やサイト カインの産生増大が生じることが報告されている(8) 神経障害性疼痛モデルマウスを用いてMBPが及ぼす影 響を検討した。結紮側後肢(右肢)では、PSL-Water群は Sham-Water群と比較して疼痛閾値が時間依存的に低 下、その低下は7日目以降も維持された(Fig. 4)。この ように、PSL-Water群では、通常では痛みを感じない触 刺激においてアロディニア反応を示した。一方、MBP を投与したPSL-MBP群では、PSL-Water群と比較して、 疼痛閾値の低下が、神経結紮7日後より抑制され(Fig. 4)、PSL-MBP群ではPSL-Water群と比較してアロディ ニア反応が改善した。

これに対して、非結紮側後肢(左肢)では、Sham-Water群、PSL-Water群、PSL-MBP群のいずれの群に





坐骨神経半結紮直後よりMBPまたは精製水を投与した時の 右後肢の逃避反応閾値の経時変化を表した。データは、平均 値 ±SEで示した (n=10-11)。検定はTwo-way ANOVA後, Tukey's multiple comparisons testを 用 い た。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs Sham-Water, #p<0.05, #p<0.01, ###p<0.001 vs PSL-Water。 おいても疼痛閾値に差は認められなかった(Data not shown)。以上のように、MBPは神経障害性疼痛の疼痛 維持期において、一部ではあるもののアロディニア改善 作用または悪化抑制作用を有することが明らかとなっ た。また、MBPは、反対側肢での正常な痛覚閾値に対 しては影響をあたえないため、急性侵害性刺激などによ る生理的な疼痛は阻害しないことが示唆された。

4. 結論

沖縄県宮古島で栽培されたキク科の植物Bidens pilosa L.var.radiata Scherffを加工した宮古ビデンス・ピロー サエキス末 (MBP)は、ALSモデルマウスにおいて生じ る細胞障害性のM1型ミクログリアの活性化の抑制を介 した炎症性サイトカインの産生抑制によりALS治療効 果を発揮することが明らかになった。さらに、MBPは ALSモデルマウスだけでなく、神経障害性疼痛モデルマ ウスにおいても治療効果を有することが明らかになっ た。本研究では、活性本体の同定には至らなかったが、 今後はBV2細胞などを利用したスクリーニング系によ り、化合物レベルでの検証が必要であろう。以上のよう に、ミクログリアの活性化を制御する天然化合物に対す る薬理学的アプローチは、ALSや神経障害性疼痛のよう なアンメット・メディカル・ニーズのある疾患に対する 医薬品開発にも有用であると考えられる。

5. 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。また、本研究は日本大学薬学部薬理学研究室で行わ れたものであり、宮岸寛子専任講師(薬理学研究室)、 矢作忠弘助教(生薬学研究室)をはじめとする共同研究 者の皆様に深謝いたします。とりわけ、日夜研究に励ん でくれた設楽尊人氏、高橋愛氏、および鶴田こむぎ氏の 努力に心よりの謝意を表します。

6. 参考文献

 Gurney ME, Pu H, Chiu AY, Dal Canto MC, Polchow CY, Alexander DD, Caliendo J, Hentati A, Kwon YW, Deng HX, Chen W, Zhai P, Sufit RL, Siddique T. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. Science 264 1772-1775 (1994)

- Geevasinga N, Menon P, Ozdinler PH, Kiernan MC, Vucic S. Pathophysiological and diagnostic implications of cortical dysfunction in ALS. *Nat Rev Neurol* 12 651–661 (2016)
- 3. Shi J, Tian J, Li T, Qin B, Fan D, Ni J, Wei M, Zhang X, Liu N, Liu J, Li Y, Liu W, Wang Y. Efficacy and safety of SQJZ herbal mixtures on nonmotor symptoms in Parkinson disease patients : Protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicine* (*Baltimore*) 96 e8824 (2017)
- Lin SK, Yan SH, Lai JN, Tsai TH. Patterns of Chinese medicine use in prescriptions for treating Alzheimer's disease in Taiwan. *Chin Med.* 11 12 (2016)
- Kosuge Y, Kaneko E, Nango H, Miyagishi H, Ishige K, Ito Y. Bidens pilosa Extract Administered after Symptom Onset Attenuates Glial Activation,

Improves Motor Performance, and Prolongs Survival in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 1020673 (2020)

- 6. Kosuge Y, Nango H, Kasai H, Yanagi T, Mawatari T, Nishiyama K, Miyagishi H, Ishige K, Ito Y. Generation of Cellular Reactive Oxygen Species by Activation of the EP2 Receptor Contributes to Prostaglandin E2-Induced Cytotoxicity in Motor Neuron-Like NSC-34 Cells. Oxid Med Cell Longev. 2020 6101838 (2020)
- Guo S, Wang H, Yin Y. Microglia Polarization from M1 to M2 in Neurodegenerative Diseases. *Front Aging Neurosci.* 14 815347 (2022)
- Austin PJ, Moalem-Taylor G. The neuro-immune balance in neuropathic pain : involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. *J Neuroimmunol.* 229 26–50 (2010).

皮膚ケアへの多機能を指向した植物由来長鎖塩基含有 新規アシルセラミド(植物性ハイブリッド脂質)の創製

北海道大学 大学院先端生命科学研究院 村井 勇太

1. はじめに

ヒトを含めた陸上生物の体表面を形成する皮膚はバリ アにより保護されている。そのため、バリア異常は皮膚 病、乾燥肌、感染症の発症の原因となる。皮膚バリアの 本体は脂質であり、その中でもスフィンゴ脂質群は皮膚 バリア機能において重要な役割を担っている。特にアシ ルセラミドは皮膚特有に存在し、皮膚バリアの最も重要 な基盤構造である角質細胞脂質エンベロープ (CLE層) の原料でもある。従って、アシルセラミドの合成不全・ 低下はアトピー性皮膚炎や魚鱗癬などを引き起こすこと が知られている。そして皮膚トラブルによる障害(かぶ れ、掻き毟り、ストレスによる不眠、不快な体臭等)は 日常生活に支障をきたす問題でもある。また昨今、女性 に限らず男性のスキンケアに対する関心も増加傾向にあ り、さらに幼少期の皮膚トラブルへのケアが将来の皮膚 疾患予防にも大きく影響を与えることも報告されてい る。現状、アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患の治療はス テロイド外用薬による対症療法が一般的である。しかし ステロイド外用薬は副作用の懸念から乳児への使用を躊 躇うことや患者自身で使用を中止してしまうことが多 い。このことから誰にでも使用可能な『皮膚バリア補強 剤』の開発は、老若男女問わず、全員のQOL向上に十分 貢献可能な対象課題である。皮膚バリア形成分子機構に ついては大部分が明らかになってきているが、創薬への 展開にはまだまだ時間を必要とする。そこで、医薬品の 代替となる『日常で安全に使用できるような形態として の皮膚バリア補強剤』を提案する事により、速やかな社 会への還元が可能と期待できる。いっぽうで、食品中に 含まれるスフィンゴ脂質(セラミド)はユニークな機能性 を保持しており、ヘルスケア機能性素材の製品開発が盛 んに行われている。特に、皮膚に対しては、哺乳型とは 長鎖塩基構造が異なる植物型のセラミド(図1)が水分の 蒸発を防ぐ効果や痒みを抑える効果を示し[1-4]、保湿 柔軟性を維持する食品素材としても注目を浴びている。 そこで本研究の提案内容は『日常で安全に使用できる皮 膚バリア補強剤』を指向し、ヒトの生体内に本来存在す るアシルセラミド骨格を基盤とし、長鎖塩基は植物由来 であるスフィンガジエニンを導入した、植物性ハイブ リッド脂質を開発することとした。

2. 不飽和超長鎖脂肪酸の合成プロセス開発

アシルセラミドの骨格は大きく1.長鎖塩基、2.w-ヒド ロキシ超長鎖脂肪酸、3.リノール酸の三つのグループに 分類することができる(図2)。

特にw-ヒドロキシ超長鎖脂肪酸の溶解性や反応性の 乏しさからその大量合成がボトルネックとなり、実際ほ





図2.皮膚バリア機能とアシルセラミドの構造

しい長さ、不飽和数の分子種を入手することが困難で あった。そこでWittig反応を基軸とした炭素鎖延長反応 により、皮膚バリアでも最も多く存在するw-9位にシス 型不飽和を持つ炭素鎖34のw-ヒドロキシ不飽和超長鎖 脂肪酸(C34:1)[5-6]を安価な原料かつ短ステップで グラムスケール程度の収量可能な合成プロセスを開発す ることとした。原料は10g、数千円程度の1,9-ノナンジ オール(1)を原料とし、モノ臭素化(2)、tert-ブチルジ メチルシリル(TBS)保護の後、ホスホニウム塩(4)を 効率的に調製した。いっぽうでWittig反応の相手型とな るアルデヒド(7)は16-ヘキサデカノライド(5)よりメタ ノリシス(6)の後、2-ヨードキシ安息香酸(IBX)による アルコールの酸化を行い調製した(図3)。

化合物(4)と(7)によるWittig反応においては化合物 (4)に対して一般的に用いられるテトラヒドロフラン (THF)溶媒への溶解難から反応収率が著しく乏しかっ た。そこでWittig反応における溶媒や塩基を検討するこ ととした。溶媒にCH₂Cl₂を用いることで、0.5-1 Mの反 応系でも十分に基質を溶解させることが可能になり、ナ トリウムビス(トリメチルシリル)アミド(NaHMDS)を 塩基として用いることで効率良く反応を進行させること に成功した(図4)。

	47% HBr		TBSCI, imidazole		K ₂ CO ₃ PPh ₃	⊕ ^{Br} €
но~ () 7^он = (1)	tolene reflux, 6 h 62%	HO 7 Br	CH ₂ Cl ₂ rt, 3 h 97%	(3)	CH ₃ CN reflux, o.n. 78%	· TBSO (4) (4)
	47% HBr tolene reflux, 6 h 5) 62%	но (6)	IBX THF/DMSi 40 °C, 3 h quant.	н (7)	0	

図3. Wittig反応の用いるホスホニウム塩とアルデヒドの合成

твѕо~	λ ^{⊕ Br^Θ} +	н Ц О О О О О О О О О О О О О О О О О О	TBSO	- M ₇ − M ₁₄ OMe
(4)	(7)		(8)
Entry	Base	solvent	temp	Vield
1	Mali	THE	Temp.	traca
1	MeLi		-78°C→rt	trace
2	MeLi	THE	-78°C	trace
3	MeLi	dioxane	rt	trace
4	tBuOK	dioxane	rt	-
5	NaH	toluene	0°C→rt	trace
6	NaH	DMF	0°C→rt	trace
7	NaH	CH ₃ CN	0°C→rt	trace
8	NaH	THF	0°C→rt	50%
9	NaH	dioxane	rt	57%
10	NaH	dioxane/CH ₂ Cl ₂ 1:1	0°C→rt	63%
12	NaHMDS	THF	-78°C→rt	-
13	NaHMDS	dioxane/CH ₂ Cl ₂ 1:1	-78°C→rt	69%
14	NaHMDS	CH ₂ Cl ₂	-78°C→rt	86%

図4. 長鎖脂肪酸を基質とするWittig反応の条件検討

さらに化合物(8)をメタノール中、トシル酸(TsOH) 触媒でTBS基を除去し(9)、Pd/C触媒による水添反応 によって化合物(10)を得た後、IBX酸化によってアル デヒド(11)を調製した。続いて、化合物(11)を化合物 (4)と再度、同条件にてWittig反応を実施したところ、 問題なく反応が進行し、高収率で化合物(11)を得た。 その後、メチルエステルは加水分解によってカルボキシ ル基へと変換し、炭素鎖34のw-9位にシス型二重結合を 持つ超長鎖脂肪酸(12)の構築に初めて成功した(図5)。 現在、国内企業から飽和型の炭素鎖30のヒドロキシ超長 鎖脂肪酸が100 mg、90,000円程度で市販されている。 本法はグラムスケールでの合成に成功しており、非常に 有用な合成プロセスと評価できる。今後は、産業レベル での合成展開も期待される。

3. 4E,8Z(E)-スフィンガジエニンの合成

スフィンガジエニンは長鎖塩基の8位にシスまたはト ランスの二重結合(幾何異性体)が存在する。分子の立体 構造は生体分子への生理活性に大きく影響することは周 知の事実である。従ってスフィンガジエニンの幾何異性 体の作り分けが重要である。今回は同一の原料を用いて 合成段階の途中で、シス型、トランス型の作り分けが可 能な反応スキームを検討した。原料には安価な10g、 15,000円程度の4-ペンチン1-オール (14)を使用し、水酸 基をテトラヒドロピラニル基 (THP)で保護し (15)、続 いてブロモノナンとカップリングすることで化合物 (16)を調製した。化合物 (16)のTHP基は酸触媒によっ て脱保護し、シスまたはトランス型二重結合を構築する ためのアルキン化合物 (17)を調製した。アルキンに対 してパラジウム-ポリエチレンイミン (Pd/PEI)触媒を用 いた水添反応ではシス型二重結合(18)を、一方で、Na 金属とクラウンエーテルを組み合わせたバーチ還元[7] ではトランス型二重結合(19)を選択的に同一原料から 高収率で調製することに成功した。続いて、化合物(18)



図5. 炭素鎖34のw-9位にシス型二重結合を持つ超長鎖脂肪酸のグラムスケールでの合成法



図6. 幾何異性体を試行したスフィンガジエニンのグラムス ケール合成法

あるいは(19)の水酸基をIBXで酸化することでアルデ ヒド(20)へと変換後、b-ケトホスホネート(21)とホー ナーエモンズ反応によってケトスフィンガジエニン誘導 体(22)を構築した。さらに化合物(22)のケトンは(D)-エリトロ型になるよう、水素化ホウ素亜鉛を用いたキ レーションモデルによって水酸基(23)へと還元した。 最後に1M塩酸によってアセトニドを脱保護すること で、目的とするシス型(4E,8Z)あるいはトランス型 (4E,8E)-スフィンガジエニン(24)をグラムスケールで の調製に成功し、効率的な合成プロセスを開発すること ができた(図6)。現在、市販のスフィンガジエニンの価 格は1 mg, 40,000-50,000円程度であることから、本全合 成プロセスも大変価値のある開発成果と評価できる。

また、この成果を基盤とした合成技術を活かし、重水 素導入型スフィンガジエニンを初めて構築した。これは 外因性スフィンガジエニンの生体内代謝をリピドミクス 解析によって追跡可能なプローブである。ヒト生体内に はスフィンガジエニンと同分子量の長鎖塩基(4E,14Z-ス フィンガジエニン)があり、簡便なリピドミクス解析が 困難であったが、重水素による分子量の差を活かし、迅 速にリピドミクス解析が可能になった。この重水素導入 型スフィンガジエニンはヒト細胞内(HEK293)で脂質 代謝酵素によって天然と同程度の代謝効率をもつことも 証明することができた(図7)[8]。現在、スフィンガ ジエニンよる皮膚バリア改善機構はほとんど未解明であ り、本研究で開発する植物性ハイブリッド脂質にも天然



図7. 重水素導入した植物型スフィンガジエニンによる迅速 スフィンゴ脂質リピドミクスの確立

型のスフィンガジエニンに代わって重水素導入型スフィ ンガジエニンを構築することで、バリア改善機構解明の 手助けになるものと期待している。

4. 植物性ハイブリッド脂質の合成

植物性ハイブリッド脂質の骨格となる1.スフィンガジ エニン、2.不飽和超長鎖脂肪酸、3.リノール酸(市販)を 調製できたことから、これらのカップリングを行って、 目的とする植物性ハイブリッド脂質(アシルセラミド 群)の構築を行なった。超長鎖脂肪酸(12)については、 カルボキシル基をN-ヒドロキシスクシンイミド、1-(3-ジ メチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC)と反応させ活性エステル (25)に変換の後、酸触 媒によってTBS基を脱保護(26)した。この際、溶媒に メタノールを用いたが、スクシンイミドエステルの分解 は確認されなかった。これは超長鎖脂肪酸の脂溶性の高 さから、系中でミセルのような構造をとり、スクシンイ ミドエステルがメタノールと相互作用しなかったのでは ないかと推測している。いっぽう、スフィンガジエニン については今回シス型を用いて実験を行なった。シス型 スフィンガジエニンの二つの水酸基をtert-ブチルジメチ ルシリルトリフルオロメタンスルホネート (TBSOTf) を用いて、TBS保護した化合物(27)を調製した(図8)。

調製した化合物(26)と(27)は塩基条件下で、一晩反 応させることでw-ヒドロキシ超長鎖脂肪酸含有セラミ ド(28)を高収率で構築した。さらに化合物(28)の超長 鎖脂肪酸のw位水酸基とリノール酸を縮合する反応につ いては既知方法[9]に従って、2,4,6-トリクロロベン ゾイルクロライド(山口試薬)を用いることで、アシルセ



図8. 植物性ハイブリッド脂質合成に向けた骨格形成



図9. 新規植物性ハイブリッド脂質の合成

ラミド誘導体(29)の調製を問題なく行うことができた。 最後にTBS基はテトラブチルアンモニウムフルオリド (TBAF)を用いて脱保護することで目的としていた最終 目標とした植物性ハイブリッド脂質(30)を構築させる ことに成功した(図9)。

現在、飽和型の炭素鎖長30のw-ヒドロキシ超長鎖脂 肪酸(C30)を含有したヒト型のアシルセラミドは外国 企業から 1mg、約120,000円で販売されている。従って、 本手法で合成された新規植物性ハイブリッド脂質(30) はそれ以上の価値を有すると期待される。またそのグラ ムスケールでの提供は、将来的な産業創出への期待も示 唆される。

5. まとめ

本研究では医薬品の代替となる『日常で安全に使用で きるような形態としての皮膚バリア補強剤』候補の開発 を目標とし、新規植物性ハイブリッド脂質の調製プロセ スの開拓を行なった。また本研究で見出したスフィンガ ジエニン合成プロセスは重水素含有スフィンガジエニン の調製にも応用が可能となり、植物由来のスフィンゴ脂 質がヒト細胞内でも代謝されることを初めて明らかにす ることもできた。そして目標とした植物性ハイブリッド 脂質についてもグラムスケールに近いレベルで調製する ことにも成功した。現在は、魚鱗癬モデルマウスにこの 植物性ハイブリッド脂質を塗布し、皮膚バリア改善への 影響を検討しており、改善効果について期待を抱いてい る。また人工皮膚などの機能性材料への研究展開などに も大きく期待が寄せられている。

6. 謝辞

本研究は、北海道大学 大学院先端生命科学研究 院 化学生物学研究室にて行ったものであり、研究室の スタッフ、学生の皆様に感謝申し上げます。また公益財 団法人松籟科学技術振興財団に多大なご支援を賜り、論 文発表並びに学会発表できましたことに深く感謝申し上 げます。

7. 参考論文

- Tsuji, K., Mitsutake, S., Ishikawa, J., Takagi, Y., Akiyama, M., Shimizu, H., Tomiyama, T., and Igarashi, Y. Dietary glucosylceramide improves skin barrier function in hairless mice. *J. Dermatol. Sci.* 44, 101–107, 2006.
- Uchiyama, T., Nakano, Y., Ueda, O., Mori, H., Nakashima, M., Noda, A., Ishizaki, C., and Mizoguchi, M. Oral intake of glucosylceramide improves relatively higher level of transepidermal water loss in mice and healthy human subjects. *J. Health Sci.* 54, 559–566, 2008.
- Ishikawa, J., Takada, S., Hashizume, K., Takagi, Y., Hotta, M., Masukawa, Y., Kitahara, T., Mizutani, Y., and Igarashi, Y. Dietary glucosylceramide is absorbed into the lymph and increases levels of epidermal sphingolipids. *J. Dermatol. Sci.* 56, 220– 222, 2009.
- 4. Usuki, S., Tamura, N., Tamura, T., Higashiyama, S., Tanji, K., Mitsutake, S., Inoue, A., Aoki, J., Mukai, K., and Igarashi, Y. Konjac ceramide (kCer) regulates keratinocyte migration by Sema3A-like repulsion mechanism. *Biochem. Biophys. Rep.* 17, 132–138, 2019.
- 5. Morifuji, M., Oba, C., Ichikawa, S., Ito, K.,

Kawahata, K., Asami, Y., Ikegami, S., Itoh, H., and Sugawara, T. A novel mechanism for improvement of dry skin by dietary milk phospholipids : Effect on epidermal covalently bound ceramides and skin inflammation in hairless mice. *J. Dermatol. Sci.* 78, 224–231, 2015.

- Kawana, M., Miyamoto, M., Ohno, Y., and Kihara, A. Comparative profiling and comprehensive quantification of stratum corneum ceramides in humans and mice by LC/MS/MS. *J. Lipid. Res.* 61, 884–895, 2020.
- 7. Lei, P., Ding, Y., Zhang, X., Adijiang, A., Li, H.,

Ling, Y., and An, J. A Practical and chemoselective ammonia-Free Birch reduction. *Org. Lett.* 20, 3439–3442, 2018.

- Murai, Y., Yuyama, K., Mikami, D., Igarashi, Y., and Monde, K. Penta-deuterium-labeled 4*E*,8*Z*sphingadienine for rapid analysis in sphingolipidomics study. *Chem. Phys. Lipids* 245, 105202, 2022
- Opálka, L., Kováčik, A., Sochorová, M., Roh, J., Kuneš, J., Lenčo, J., and Vávrová, K. Scalable synthesis of human ultralong chain ceramides. *Org. Lett.* 17, 5456–5459, 2015.

光応答性蛍光スイッチング分子を用いた 分布帰還型レーザの創製

横浜国立大学 大学院工学研究院 生方 俊

理化学研究所 開拓研究本部 礒島 隆史

1. 緒言

近年、情報・通信の分野だけでなく医療や環境分野に おいても、小型・安価で高性能な導波路型レーザの開発 が望まれている。分布帰還型(Distributed feedback: DFB)レーザはレーザ媒質が発した蛍光を回折格子に よってレーザ媒質に帰還すると同時に定在波を立てて レーザ光を得る仕組みのレーザであり、その回折格子の 周期によって、発振波長が制御される[1]。

これまで我々は、アゾベンゼン高分子への干渉露光に よる光誘起物質移動現象に基づいた回折格子形成を利用 して、単一波長発振するDFBレーザの創製に成功して いる[2]。しかし、アゾベンゼン化合物は紫外域から 可視域全般に大きな吸収帯があるため、レーザ発振波長 は赤外域に限られること、また、回折格子形成に物質移 動を用いているため応答性に難があるという問題点が あった。

本研究においては、光に応答して可逆的に蛍光性のオ ン・オフを切り替えることのできる光応答性蛍光スイッ チ分子を創製し、光応答性蛍光スイッチ分子からなる有 機薄膜への、干渉露光により形成した蛍光回折格子によ り、簡便で低コストかつ環境負荷の小さい作製プロセス で単一波長発振する高性能なDFBレーザを創製するこ とを目的とした。そのために光応答性蛍光スイッチ分子 を開発し、溶液および薄膜中における光応答性蛍光ス イッチ特性の評価を行った。光応答性蛍光スイッチ分子 として、ジアリールエテン誘導体に着目した。

ジアリールエテンは紫外光照射により開環体(O体)から閉環体(C体)へと異性化し、可視光照射により元の開

環体(O体)へと可逆的に異性化する化合物であり、両異 性体の高い熱安定性、繰り返し耐久性、および高い光変 換効率を有するといった特徴を持つ[3]。異なる物性 を示すO体とC体の間を光で可逆的にスイッチできるた め、光記録材料など様々な用途への応用が期待されてい る[4]。近年、アリール部位のベンゾチオフェンの硫 黄部分をスルホンに導いた硫黄酸化ビスベンゾチエルエ テンはO体では蛍光をほとんど示さないが、C体におい て蛍光を示すターンオン型の蛍光スイッチ特性を示すこ とが見いだされた[5]。また、ベンゾチオフェンの6.6'位 にアリール基を導入し [6]、反応炭素にメチル基の代 わりにエチル基を導入した[7]ジアリールエテン誘導 体1 (Figure 1) においてはC体における蛍光量子収率が 大幅に向上することが報告された [8]。しかし、これ らの化合物を光記録材料などの光学デバイスへの応用を 考えた場合、蛍光の非破壊読み出しが重要となる。一般 に蛍光読み出しに必要となる励起光照射が光異性化反応 も誘発する。よって、光スイッチングと読み出しプロセ スを分離し、独立して制御することが望まれる。その一 つに熱によって光反応性を制御する熱ゲーティングの方 法があり、ジアリールエテン化合物において検討された [9]。しかし、蛍光スイッチング可能なジアリールエテ ン誘導体については、著者の知る限り報告例はない。

本研究ではDFBレーザへの応用を念頭において、固 体薄膜中において光応答性蛍光スイッチングを示す分子 を探索した。そのような分子として、高コントラストの 蛍光オン・オフが可能であるターンオン型の蛍光スイッ チ特性を示す硫黄酸化ビスベンゾチエニルエテンに着目



Figure 1 Photoisomerization of diarylethene derivatives 1 and 2.

した。本研究ではベンゾチオフェンジオキシドを有する ジアリールエテン誘導体1の熱ゲーティング特性を明ら かにするために光反応の温度依存性を調査した。また、 高分子薄膜中における高い製膜性を期待して、ベンゾチ オフェンジオキシドの6.6'位にフェニル基を導入した1 の代わりに2-ビフェニル基を導入した2を合成し、高分 子薄膜中における光応答特性について検討した(Figure 1)。

2. 溶液中の光反応

Figure 1に示した10を文献 [6, 10] にしたがって、ベ ンゾチオフェンより6段階で合成した。1cの各温度に おけるモル吸光係数を算出するために、10を酢酸エチ ル / ヘキサン = 4 / 96 [v/v] の混合溶媒に溶解させた 溶液に対して温度制御下、適宜紫外光を照射し1cを生 成させ、紫外可視吸収スペクトルを測定した。また、各 溶液について紫外可視吸収スペクトルの等吸収点の波長 を検出波長に設定して高速液体クロマトグラフィー (HPLC)を測定した。HPLCにおいて観察される10、1c に起因する二つのピークの面積比より1cへの変換率を 算出し、紫外可視吸収スペクトルの可視域に出現した 1cに帰属される吸収帯の極大吸収波長における吸光度 を1cの濃度に対してプロットし、最小二乗法による近 似直線の傾きより極大吸収波長λmaxにおけるモル吸光係 数eを算出した。同様の操作を異なる6点の温度で実施 した。Table 1に各温度における1cの極大吸収波長λ_{c-max} とモル吸光係数 ε_{c-max} の結果を10の極大吸収波長 λ_{o-max} と モル吸光係数 ε_{o-max} の結果と併せて示す。

10に比べて1cにおいて、温度上昇に伴う極大吸収波 長の短波長化、およびモル吸光係数の減少が明確に観察

 Table 1
 UV-vis absorption properties of 1 at each temperature

Temperature [K]	λ_{c-max} in visible light	$\overset{\epsilon_{e\text{-max}}}{[\times 10^4]}$	λ _{o-max}	ϵ_{o-max} [×10 ⁴]
284.0	449 nm	4.02	296 nm, 333 nm	1.76, 1.30
293.1	449 nm	3.97	296 nm, 333 nm	1.73, 1.27
302.3	448 nm	3.96	296 nm, 333 nm	1.72, 1.25
311.5	448 nm	3.92	296 nm, 332 nm	1.71, 1.23
321.5	447 nm	3.82	296 nm, 332 nm	1.67, 1.20
330.6	447 nm	3.84	296 nm, 332 nm	1.69, 1.20



Figure 2 Change in conversion ratio of 1 upon irradiation with (a) 313-nm light and (b) subsequent 436nm light.

された。1cにおいて温度上昇に伴う6,6⁶位のフェニル基 の回転による実効的な共役長の減少が顕在化していると 考えられる。

次に、同様に1の溶液を温度一定に保ちながら、紫外 光(313 nm)照射により閉環反応を、可視光(436 nm)照 射により開環反応を誘起し、紫外可視吸収スペクトル変 化の追跡を行った。同様の測定を異なる6点の温度にお いて実施し、Table 1において求めた各温度におけるモ ル吸光係数の値を用いて1cへの変換率を算出し、露光 エネルギー量に対する変換率の推移をプロットした (Figure 2)。

紫外光(313 nm)照射による閉環反応における各温度 での変換率の推移(Figure 2(a))に示される通り、変換 速度が温度にほとんど影響を受けないのに対して、可視 光(436 nm)光照射による開環反応における各温度での 変換率の推移(Figure 2(b))に示される通り、温度上昇 に伴い変換速度が大きく増加することがわかった。これ は、ジアリールエテンの光開環反応と同様に、光励起状 態における開環への経路にエネルギー障壁が存在し、温 度が高いとそのエネルギー障壁を超えやすくなるためだ と考えられる [11]。

Figure 2の変換率の推移のデータを用いて、閉環量子 収率 F_{oc} および開環量子収率 F_{co} を算出した(Table 2)。 また、それぞれの量子収率の自然対数を1/Tに対して プロットした(Figure 3)。

Figure 3に示すように開環反応においては大きな温度 依存性が見られ、近似直線の負の傾きから開環反応の励 起状態におけるエネルギー障壁の大きさは45.7 kJ mol⁻¹ であることがわかった。この大きさは、これまでに報告 されているジアリールエテンの開環反応の励起状態にお けるエネルギー障壁の大きさよりも大きい [9,11,12]。 つまり、ベンゾチオフェンジオキシドを有するジアリー

 Table 2
 Photocyclization and photocycloreversion

 quantum yields of 1 at each temperature

Temperature [K]	Φ _{oc} (313 nm)	$\Phi_{\rm co}(436 \text{ nm})$
284.0	0.74	1.5×10^{-4}
293.1	0.72	2.6×10^{-4}
302.3	0.71	4.6×10^{-4}
311.5	0.69	$7.8 imes 10^{-4}$
321.5	0.65	1.4×10^{-3}
330.6	0.63	2.1×10^{-3}



Figure 3 Dependence of $\ln \Phi$ as a function of 1/T.

ルエテン誘導体1は、熱ゲーティング特性に優れ、わず かに温度を低下させることにより、大幅に光開環反応を 抑制できることが明らかになった。

3. 薄膜中の光反応

Figure 1に示した2oを文献 [6, 10] を参考にして、ベ ンゾチオフェンより6段階で合成した。2oの酢酸エチ ル溶液について、紫外光(365 nm)および引き続きの可 視光(436 nm)に対する光反応性を紫外可視分光光度計、 HPLCを用いて調査し、2についても1と同様な温度依 存の光反応性を示すことを確認した。次に、2とポリメ タクリル酸メチル樹脂(PMMA)が質量比1/10のクロロ ホルム溶液を調製し、石英基板にスピンコートすること で、厚さ約0.8 mmの2/PMMA(1/10)の混合薄膜を作 製した。混合薄膜における紫外光(365 nm)および可視 光(436 nm)に対する光応答特性を、紫外可視分光光度 計、蛍光分光光度計を用いて調査した(Figure 4)。

Figure 4に示すように2を混合したPMMA薄膜中に おいても紫外光照射を行うと、20から2cへの変換に伴 い蛍光強度が増加した。その後可視光照射を行うと2c から2oへの変換に伴い、蛍光強度が減少した。また、 2cに起因する可視域の吸光度の変化量と蛍光強度の変



Figure 4 Change in absorption and fluorescence spectra of 2-doped PMMA film upon irradiation with (a) 365-nm light and (b) subsequent 436-nm light.



Figure 5 Fluorescence microscope images (excited at 440 nm) of 2-doped PMMA film after 365-nm irradiation through a photomask. Observation conditions: (a) 25 °C, 0 min, (b) 25 °C, 4 min, (c) 5 °C, 0 min, (d) 5 °C, 4 min.

化量の間には線形性が認められ、2cへの変化に対応して、蛍光強度が変化することが確認された。

2を混合したPMMA薄膜中において5 ℃、25 ℃、60 ℃における光反応性を調査した。可視光照射時に低温に なるほど開環反応速度が小さくなることが観察された。 よって、PMMA薄膜中においても溶液中の挙動と同様 に、低温ほど開環量子収率が減少することが示唆された。 この結果は、蛍光を読み出す条件として重要であり、低 温であるほど蛍光を読み出すための励起光による開環反 応が抑制されることが期待される。

このことを実証するためにフォトマスクを介して2を 混合したPMMA薄膜に紫外光(365 nm)を照射し、局所 的に閉環反応を誘起した後、温度制御下、蛍光顕微鏡を 用いて観察した(Figure 5)。

Figure 5(a)に示す通り、蛍光顕微鏡観察直後では、 フォトマスクの周期と一致した12 µm周期の明暗の格子 が観察され、露光部における2cの生成による蛍光強度 の増加に基づく蛍光のコントラストが生じていることが わかる。一方で、25 ℃において、この条件で励起光(440 nm)を照射し続けることで、蛍光のコントラストは徐々 に減少し、4分間後においては消失した(Figure 5(b))。 一方、5 ℃においては、4分間後においても蛍光のコン トラストは維持され(Figure 5(c, d))、低温において蛍 光信号の非破壊的な読み出しが可能になるという知見が 得られた。

4. 結言

ジアリールエテン誘導体1の酢酸エチル/ヘキサン溶 液中における光閉環反応および光開環反応を詳細に検討 し、1の光開環反応において大きな温度依存性が存在し、 光励起状態の開環への経路において45.7 kJ mol⁻¹のエネ ルギー障壁が存在することが示された。ジアリールエテ ン誘導体2のPMMA薄膜における光閉環反応および光 開環反応に伴う蛍光強度変化を確認し、光開環反応の温 度依存性を利用した蛍光信号の非破壊的な読み出しが可 能であることが明らかになった。この知見は本原理を用 いたDFBレーザの創製に貢献することが期待される。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、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深く感謝申し上 げます。また、本研究の遂行に貢献してくれました大林 礼奈氏、長谷川翼氏に心より感謝いたします。

6. 参考文献

- [1] A. J. C. Kuehne, M. C. Gather, Chem. Rev., 2016, 116, 12823-12864.
- [2] T. Ubukata, T. Isoshima, M. Hara, Adv. Mater., 2005, 18, 1630-1633.
- [3] M. Irie, Chem. Rev., 2000, 100, 1685-1716.
- [4] M. Irie, T. Fukaminato, K. Matsuda, S. Kobatake., *Chem. Rev.*, 2014, 114, 12174–12277.
- [5] Y.-C. Jeong, S. I. Yang, K.-H. Ahn, E. Kim, Chem. Commun., 2005, 2503–2505.
- [6] K. Uno, H. Niikura, M. Morimoto, Y. Ishibashi, H. Miyasaka, M. Irie, J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 13558-13564.
- Y. Takagi, T. Kunishi, T. Katayama, Y. Ishibashi, H.
 Miyasaka, M. Morimoto, M. Irie, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, *11*, 1661–1665.
- [8] M. Irie, M. Morimoto., Bull. Chem. Soc. Jpn., 2018, 91, 237–250.
- [9] D. Dulić, T. Kudernac, A. Pužys, B. L. Feringa, B. J. van Wees, Adv. Mater., 2007, 19, 2898–2902.
- [10] T. Yamaguchi, M. Irie, J. Photochem. Photobiol. A: Chem., 2006, 178, 162–169.
- [11] Y. Ishibashi, T. Umesato, S. Kobatake, M. Irie, H.

Miyasaka, J. Phys. Chem. C, **2012**, 116, 4862-4869.

Trommsdorff, A.T. Bens, C. Kryschi, *Syn. Met.*, **2000**, *115*, 163–166.

[12] K. Kuldová, K. Tsyganenko, A. Corval, H.P.

Cuナノ粒子インクを用いたフレキシブル基板上への 大気中Cu配線技術の開発

長岡技術科学大学 技学研究院 溝尻 瑞枝、成島 淳也

1. 緒言

1.1 金属プリンティング技術

金属プリンティング技術は、プリンタブルエレクトロ ニクスの実現に不可欠であり、インクやそのプリンティ ング方法、金属化技術など様々な研究が活発に行われて いる。通常、エレクトロニクスデバイスは、リソグラフィ と真空成膜法からなる半導体製造技術により作製され る。そのなかで、プリンタブルエレクトロニクスは、簡 便なデバイスを比較的安価な設備と少ない工程数で製造 する技術として利用されている。

特に金属プリンティングは、AuやAgなどの貴金属ナ ノ粒子を分散したナノ粒子インクを用い、インクジェッ ト印刷⁽¹⁾、スクリーン印刷⁽²⁾、グラビア印刷⁽³⁾、フレキ ソ印刷⁽⁴⁾、レーザ印刷⁽⁵⁾などの報告がある。次世代配線 材料として、Cuのプリンティングが期待されているが、 貴金属ナノ粒子インクと比較して酸化しやすいことが問 題である。これまでに酸化防止方法として、Cu@Agコ アシェルナノ粒子や乳酸安定化方法などが報告されてい る⁽⁶⁾。また、1-アミノ-2プロパノールで保護したCuナノ 粒子/Cuマイクロ粒子の混合インクを用い、低温・大気 雰囲気下でCuパターンを作製できる⁽⁷⁾。一方、Cu酸化 物ナノ粒子ではなく、酸化しにくい材料インクとして、 Cu酸化物ナノ粒子⁽⁸⁾やCuイオン⁽⁹⁾、Cu有機インク分解 インク⁽¹⁰⁾を利用した報告も多い。Cu酸化物ナノ粒子イ ンクでは、還元性溶媒を用いることでプリント後、Cu を熱還元析出する。また、Cuイオンインクでは、イン クジェット印刷への利用が可能である。Cu有機分解イ ンクはCuの前駆体がCuナノ粒子の焼結温度よりも低い 温度で分解されるため、低温でCuパターニングが可能 である。Cuの含有量増加のため、Cu粒子をCu有機分解 インクに混合したインクも利用されている。

1.2 金属のレーザ還元直接描画技術

1.1節に示したように、金属パターンの印刷は、原 料インクの印刷と金属化の2段階プロセスからなる。例 えば、Cuナノ粒子インクを印刷し、その後、ランプやレー ザを用いて焼結する。一方、レーザ還元直接描画法は、 印刷と金属化を同時に行える。連続波発振レーザやナノ 秒・フェムト秒などパルスレーザを用いることで、大気 中で自由な形状に焼結できる。Cuナノ粒子と比較して、 CuOナノ粒子は、近赤外光や可視光のレーザに対して大 きな吸収を有する。また、Cu₂Oナノ粒子は近赤外光や 可視光で高い透過率を有し、その半波長で大きな吸収を 示す。そのため、近赤外やグリーンフェムト秒レーザパ ルスを透明なCu₂Oナノ粒子インク内部へ集光したとき、 焦点近傍のみで生じる多光子吸収誘起熱還元が生じ、イ ンク内部へのCu析出できる⁽¹¹⁻¹²⁾。

また、グリオキシル酸Cu錯体溶液インクを用いた多 光子吸収誘起熱還元についても報告されている⁽¹³⁾。グ リオキシル酸は、アルデヒド基とカルボキシル基を配位 子としてもつ。そのため、還元性の高いアルデヒド基を 有し、H₂O、CO、CO₂に容易に熱分解される。グリオキ シル酸Cu錯体の調製は、NaOHでグリオキシル酸を中和 後、硫酸Cu五水和物との合成により、Cu²⁺に対してグ リオキシル酸とH₂Oが配位し、5員環のキレート錯体を 形成する。グリオキシル酸Cu錯体は溶解性が高く、特 にアミノ基を配位してインク化することができる。

これまでに、グリオキシル酸Cu錯体の配位子の吸収 を利用したCu熱還元では、波長10.6 µmのCO₂レーザが 用いられてきた。更に、近赤外波長(780 nm)やグリー ン波長(515 nm)の高い透過性を利用し、近赤外やグリー ンフェムト秒レーザパルスの多光子励起を用いた、グリ オキシル酸Cu錯体溶液内部へのCu還元析出も報告され ている⁽¹⁴⁾。このように、ナノ粒子インクや錯体インク を用いたレーザ直接描画が実現されている。しかしなが ら、金属ナノ粒子では高い反射率により焼結が困難であ り、金属酸化物ナノ粒子ではレーザ還元焼結による還元 度不足、金属錯体溶液インクでは金属析出前後での体積 変化が大きく厚膜化が困難など、各インクにおいてメ リット、デメリットがある。

1.3 研究目的

本申請研究では、厚膜・高密度・高い導電性を有する Cuのレーザプリンティング技術の創成を目的とした。 具体的には、Cuナノ粒子インクを用いた厚膜化のメリッ トと低密度化のデメリットと、Cu錯体インク溶液を用 いた高い密度と厚膜化が困難であるデメリットを相補 し、Cuナノ粒子とCu錯体溶液を混合したインクを用い て、インク調製、レーザ描画条件の探索を行い、Cuパター ンの導電性を評価した。

2. 実験方法

2.1 フェムト秒レーザ描画プロセス

Fig. 1に、フェムト秒レーザパルスによるグリオキシ ル酸Cu錯体/Cuナノ粒子インク膜を用いたCuパターニ ングプロセスを示す。はじめに、グリオキシル酸Cu錯 体/Cuナノ粒子インクをガラス基板やフレキシブルなポ リエチレンナフタレート(PEN)基板上に膜状に塗布す る。混合膜はグリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合イ ンクを塗布して形成する方法と、Cuナノ粒子塗布後に グリオキシル酸Cu錯体溶液インクを塗布するCuナノ粒



Fig. 1 Femtosecond laser direct writing process of Cu pattern.

子/グリオキシル酸Cu錯体溶液インク2段階塗布方法の 2種類の方法を用いた。

次に、グリーンフェムト秒レーザパルスをインク膜表 面に大気中で集光描画した。フェムト秒レーザは波長 515 nm、パルス幅100 fs、繰返し周波数40 MHzのパル スを利用し、対物レンズ開口数0.45を用いて集光した。 このとき、最小スポット径は1.4 µmと算出できる。描画 は、サンプル基板をレーザ走査することにより、描画速 度10 mm/sとし、パルスエネルギーを0.43-1.29 nJとし て描画特性を評価した。レーザ描画後、未照射部をエタ ノールと超純水の混合溶液によってリンス除去した。

2.2 グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子インク膜の 作製

グリオキシル酸Cu錯体とCuナノ粒子をそれぞれ調製 し、グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク膜と Cuナノ粒子/グリオキシル酸Cu錯体インク2段階塗布 膜をそれぞれ形成した。

グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク膜の 形成方法をFig. 2に示す。グリオキシル酸Cu錯体とCu ナノ粒子を2-プロパノール/PVP混合溶媒、もしくは2-ア ミノエタノール/エタノール混合溶媒へ混合した。次に、 スピンコートを行い、最後にホットプレートを用いてベ イク乾燥した。ベイク条件は、50°C20分とした。グリ オキシル酸Cu錯体とCuナノ粒子のモル比は1:2とし た。この時、Cuナノ粒子はそれぞれTable 1となる。

Cuナノ粒子/グリオキシル酸Cu錯体インク2段階塗 布膜の形成方法をFig. 3に示す。はじめに、Cuナノ粒子 を2-プロパノールとポリビニルアルコール(PVA)やポリ ビニルピロリドン(PVP)に分散し、スピンコート後30°C



3. Heating

Fig. 2 Preparation of glyoxylic acid Cu complex/Cu nanoparticle mixed ink film.



Fig. 3 Two-step preparation of glyoxylic acid Cu complex/ Cu nanoparticle mixed ink film.

 Table 2
 Composition ratio of inks

Agent	Dispersant	Cu NPs(wt.%)	
	PVA500 0.01 g	7.2	
0	PVA1500 0.01 g	7.2	
2-propanol	PVA3500 0.01 g	7.2	
	PVP 0.01 g	7.2	

で5分ベイクした。その後、グリオキシル酸Cu錯体を2-アミノエタノール/エタノールに溶解させ、Cuナノ粒子 膜にスピンコートした。最後に、50°Cで20分ベイクした。 Cuナノ粒子と2-プロパノール、PVAやPVPの混合比は Table 2、グリオキシル酸Cu錯体は2-アミノエタノール/ エタノールに混合した。混合比は、グリオキシル酸Cu 錯体3 mmolに対し、2-アミノエタノール:エタノール が1 mL:2 mLとした。

2.3 評価方法

グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子のインクの吸収 特性評価は、紫外可視分光光度計を用いて行った。描画 パターンの結晶構造解析は、エックス線回折(XRD)装



Fig. 4 Absorption spectra of (a) the mixed ink and (b) two-step coated mixed ink.

置を用いた。表面観察は走査型電子顕微鏡(SEM)を、 導電性評価は2端子法を用いて測定した。

3. 実験結果

3.1 吸収特性評価

グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インクの2 種類の塗布方法による吸収特性の比較を行った。Fig. 4 (a)に混合インク、Fig. 4(b)に2段階塗布膜の吸収スペ クトルを示す。混合インクの塗布では、2-プロパノール /PVP分散溶液を用いた場合、Cuナノ粒子のプラズモン 吸収に起因した吸収ピークが波長580 nm近傍で見られ たが、2-アミノエタノール/エタノール分散の場合には 見られなかった。これは、2-アミノエタノールにCuナノ 粒子が溶解しているためと考えられる。このことから、 2-プロパノール/PVP分散溶液を用いた場合、Cuナノ粒 子を溶解させることなく、分散できた。

一方、2段階塗布膜の吸収スペクトルでは波長580 nmの近傍でわずかに高い吸収が見られた。これらの結



Fig. 5 Absorption spectra of the mixed inks with various composition ratio of glyoxylic acid Cu complex and Cu nanoparticles.

果から、PVAによりCuナノ粒子をキャッピングされて いることを示唆している。

次に、グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク 膜において、2-プロパノール/PVP分散溶液を用いた場 合、グリオキシル酸Cu錯体とCuナノ粒子の混合比によ る吸収特性をFig. 5を示す。いずれの場合においてもCu ナノ粒子のプラズモン吸収に起因するピークが現れたこ とから、Cuナノ粒子が凝集することなく溶液に分散さ れていることを示唆している。

一方、Cuナノ粒子/グリオキシル酸Cu錯体インク2段 階塗布膜において、分散溶液にPVA、PVPの混合比に よる吸収特性をFig. 6に示す。Fig. 6(a)にCuナノ粒子を PVAやPVPに混合したインクの吸収スペクトルを、Fig. 6(b)にCuナノ粒子インク膜にグリオキシル酸Cu錯体イ ンクを滴下した2段階塗布後のインク膜の吸収スペクト ルを示す。Cuナノ粒子をPVPに分散したインクを塗布 したところ、Cuナノ粒子のプラズモン吸収に起因した 吸収が見られたが、続いてグリオキシル酸Cu錯体イン クを2段階塗布すると、このピークは消失した。この結 果からPVPはCuナノ粒子のキャッピングに不十分であ り、PVA分散溶液を用いたCuナノ粒子インク塗布と、 グリオキシル酸Cu錯体インクの2段階塗布が有用であ ることが明らかとなった。

3.2 グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク 膜を用いた描画特性

グリオキシル酸Cu/Cuナノ粒子混合インク膜を用い たレーザ描画特性を評価した。Fig. 7(a)に、異なるグリ オキシル酸Cu錯体とCuナノ粒子の混合比のインクを用



Fig. 6 Absorption spectra of (a) only Cu nanoparticle inks and (b) glyoxylic acid Cu complex mixed inks with various degree of polymerization of PVA.



Fig. 7 (a) Relationship between pulse energy and line width. (b) Optical microscope images of Cu lines with various compositions.

いた場合の、パルスエネルギーと線幅の関係を示す。線 幅は、グリオキシル酸Cu錯体とCuナノ粒子の混合比が 1:2のとき、最小となった。これは、グリオキシル酸 Cu錯体の濃度低下による析出量の抑制と、Cuナノ粒子 増加により熱伝導率が向上したため熱拡散領域が縮小 し、グリオキシル酸Cu錯体インクからのCu生成量の減 少が理由と考えられる。Fig.7(b)に各混合比インクを 用いた場合、パルスエネルギー0.86 nJで描画したライン パターンの光学顕微鏡像を示す。Cuナノ粒子の混合割 合の高いラインほど、緻密なラインパターンが形成され ていることが明らかとなった。

Fig. 8に各混合比インクを用いた場合のCuパターンの 結晶構造解析を示す。このとき、線幅が最大となるパル スエネルギー1.29 nJを用いてパターンを形成した。すべ ての混合比のインクにおいて、顕著な不純物の析出なく 高純度なCuパターニングに成功した。

3.3 Cuナノ粒子/グリオキシル酸Cu錯体インク2段 階塗布膜を用いた描画特性

2段階塗布膜を用いたレーザ描画特性を調査した。 Fig. 9(a)に異なる重合度のPVA分散溶液を用いたCuナ ノ粒子インクとグリオキシル酸Cu錯体インクの2段階 塗布膜を用いたとき、パルスエネルギーと線幅の関係を 示す。パルスエネルギーの増大によって線幅も増加した。 これは、単位面積あたりへの照射エネルギーの増加によ るものと考えられる。Fig. 9(b)に各PVA重合度におけ るラインパターンの光学顕微鏡像を示す。その結果、 PVAの重合度が低いとき、線幅の均一性が低下した。 これは、膜中の材料が不均質で線幅が変化した可能性が



Fig. 8 XRD spectra of Cu patterns fabricated by using various composition inks of glyoxylic acid copper complex and Cu nanoparticles.

考えられる。

異なるPVA重合度の分散溶液からなるインクを用い たときの結晶構造解析をFig. 10に示す。パルスエネル ギー1.29 nJとしたとき、すべてのパターンにおいてCu パターンが描画形成されたことが明らかとなった。一方、 Cu₂O由来のピークも現れた。これは、重合度の高い PVA分散液の場合、熱蓄積が容易であり、析出したCu



Fig. 9 (a)Relationship between pulse energy and line width. (b)Optical microscope images of Cu lines with various compositions.



Fig. 10 XRD spectra of the Cu patterns fabricated by using various inks with degree of polymerization of PVA.



Fig. 11 Relationship between height of Cu patterns and resistance.

が高温になり再酸化された可能性がある。

3.4 各種グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インクを用いた導電性評価

Fig. 11に各種グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混 合インクを用いて形成したCuパターンのパターン高さ と抵抗率の関係を示す。比較として、真空成膜法やスク リーン印刷、インクジェット印刷により形成したCuパ ターンのデータも併記した⁽¹⁵²²⁾。その結果、本研究で得 られたCuパターンは、膜厚はスクリーン印刷と同程度 の厚膜化が可能であり、抵抗値はインクジェット印刷と 同等であった。この結果から、本研究で提案したインク を用いたフェムト秒レーザ直接描画法は、真空フリーの 厚膜Cuパターン形成を実現する有望なプロセスである ことを示唆している。

4. 結言

グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク膜を 用いたフェムト秒レーザ直接描画法において、混合イン クの塗布法と、Cuナノ粒子/グリオキシル酸Cu錯体イン クの2段階塗布法により塗布した2種類の方法で形成し た塗布膜を用いた。

(1)グリオキシル酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インク膜インクを用いた場合、分散溶液に2-プロパノール/PVPを適用するとCuナノ粒子の溶解を抑制した混合インクの調製が可能であった。一方、2段階塗布法では、分散剤に2-プロパノール/PVAを用いることでCuナノ粒子の溶解を抑制した混合膜の塗布に成功した。

(2)いずれの混合インクを用いた場合においても、大気

中のフェムト秒レーザ描画によりCuパターンが形成 された。高重合度のPVAを用いた場合、Cu₂O由来の ピークが現れたが、これは熱蓄積による再酸化によ るものと考えられる。

(3)Cuパターンの導電性を従来法と比較した。膜厚はス クリーン印刷と同程度の厚膜化が可能であり、抵抗 値はインクジェット印刷と同等を実現できた。

本手法は、厚膜Cuパターンを大気中で簡便に描画形 成できるプロセスとして、マイクロデバイスの配線やフ レキシブルデバイスへの応用が期待できる。

謝辞

本研究は、松籟科学技術振興財団研究助成の支援をい ただき遂行いたしました。ご支援に心より感謝申し上げ ます。本研究は、本学修士課程学生、成島淳也君の令和 3年度修士論文研究にて得られた成果の一部になります。

参考文献

- A. Kamyshny, M. Ben-Moshe, S. Aviezer, S. Magdassi, "Ink-jet printing of metallic nanoparticles and microemulsions", Macromolecular Rapid Communications, 26 (2005) 281-288.
- (2) W. Y. Liao, T. C. Chou, "Fabrication of a planarform screen-printed solid electrolyte modified Ag/ AgCl reference electrode for application in a potentiometric biosensor", Analytical Chemistry, 78 (2006) 4219-4223.
- (3) W. J. Scheideler, J. Jang, M. A. U. Karim, R. Kitsomboonloha, A. Zeumault, V. Subramanian, "Gravure-Printed Sol-Gels on Flexible Glass: A Scalable Route to Additively Patterned Transparent Conductors", ACS Applied Materials and Interfaces, 7 (2015) 12679-12687.
- (4) S. Kim, H. Sojoudi, H. Zhao, D. Mariappan, G. H. McKinley, K. K. Gleason, A. J. Hart, "Ultrathin high-resolution flexographic printing using nanoporous stamps", Sci. Adv., 2 (2016) e1601660.
- (5) J. Bohandy, B. F. Kim, F. J. Adrian, "Metal deposition from a supported metal film using an excimer laser", Journal of Applied Physics, 60
(1986) 1538-1539.

- (6) C. K. Kim, G. J. Lee, M. K. Lee, C. K. Rhee, "A novel method to prepare Cu@Ag core-shell nanoparticles for printed flexible electronics", Powder Technol., 263 (2014) 1.
- (7) M. Kanzaki, Y. Kawaguchi, H. Kawasaki, "Fabrication of Conductive Copper Films on Flexible Polymer Substrates by Low-Temperature Sintering of Composite Cu Ink in Air", ACS Applied Materials and Interfaces, 9 (2017) 20852-20858.
- (8) B. Kang, S. Han, J. Kim, S. Ko, M. Yang, "One-step fabrication of copper electrode by laser-induced direct local reduction and agglomeration of copper oxide nanoparticle", Journal of Physical Chemistry C, 115 (2011) 23664–23670.
- (9) B. Y. Wang, T. H. Yoo, Y. W. Song, D. S. Lim, Y. J. Oh, "Cu ion ink for a flexible substrate and highly conductive patterning by intensive pulsed light sintering", ACS Applied Materials and Interfaces, 5 (2013) 4113-4119.
- (10) A. Yabuki, S. Tanaka, "Electrically conductive copper film prepared at low temperature by thermal decomposition of copper amine complexes with various amines", Materials Research Bulletin, 47 (2012) 4107-4111.
- (11) M. Mizoshiri, Y. Kondo, "Direct writing of twoand three-dimensional Cu-based microstructures by femtosecond laser reductive sintering of the Cu₂O nanospheres", Optical Materials Express, 9 (2019) 2828–2837.
- (12) M. Mizoshiri, A. Tanokuchi, "M. Mizoshiri, Y. Kondo, "Direct writing of Cu-based micropatterns inside Cu₂O nanosphere films using green femtosecond laser reductive sintering", Optical Materials Express, 10 (2020) 2533-2541.
- (13) T. Ohishi, R. Kimura, "Fabrication of Copper Wire Using Glyoxylic Acid Copper Complex and Laser Irradiation in Air", Materials Sciences and Applications, 06 (2015) 799-808.
- (14) M. Mizoshiri, K. Aoyama, A. Uetsuki, T. Ohishi,

"Direct Writing of Copper Micropatterns Using Near-Infrared Femtosecond Laser-Pulse-Induced Reduction of Glyoxylic Acid Copper Complex", Micromachines, 10 (2019) 401.

- (15) R. Dharmadasa, M. Jha, D. A. Amos, T. Druffel, "Room Temperature Synthesis of a Copper Ink for the Intense Pulsed Light Sintering of Conductive Copper Films", ACS Appl. Mater. Interfaces, 5 (2013) 13227.
- (16) K. S. Kim, J. -O. Bang, Y. -H. Cho, S. -B. Jung, "The characteristics of Cu nanopaste sintered by atmospheric-pressure plasma", Microelectron. Eng., 107 (2013) 121.
- (17) D. Deng, T. Qi, Y. Cheng, Y. Jin, F. Xiao, "Copper carboxylate with different carbon chain lengths as metal-organic decomposition ink", J. Mater. Sci. Mater. Electron., 25 (2014) 390.
- (18) Y. Zhang, Q. Lin, H. Wang, L. Quan, Y Yang, A. Titov, J. Hyvonen, Y. Zheng, and L. S. Li, "Efficient and Bright Colloidal Quantum Dot Light-Emitting Diodes via Controlling the Shell Thickness of Quantum Dots", ACS Appl. Mater. Interfaces, 6 (2013) 560.
- (19) G. L. Draper, R. Dharmadasa, M. E. Staats, B. W. Lavery, and T. Druffel, "Fabrication of Elemental Copper by Intense Pulsed Light Processing of a Copper Nitrate Hydroxide Ink", ACS Appl. Mater. Interfaces, 5 (2013) 16478.
- (20) Y. T. Kwon, Y. -I. Lee, S. Kim, K. -J. Lee, Y. -H. Cho, "Full densification of inkjet-printed copper conductive tracks on a flexible substrate utilizing a hydrogen plasma sintering", Appl. Surf. Sci., 396 (2017) 1239.
- (21) M. Joo, B. Lee, S. Jeong, M. Lee, "Laser sintering of Cu paste film printed on polyimide substrate", Appl. Surf. Sci., 258 (2011) 521.
- (22) Y. Farraj, A. Smooha, A. Kamyshny, and S. Magdassi, "Plasma-Induced Decomposition of Copper Complex Ink for the Formation of Highly Conductive Copper Tracks on Heat-Sensitive Substrates", ACS Appl. Mater. Interfaces, 9

成果報告実績

《学会発表》

- J. Narushima, M. Todai, and M. Mizoshiri, "Reductive sintering of Cu nanoparticles mixed with glyoxylic acid Cu complex ink using green femtosecond laser pulses", 5th STI-Gigaku 2020, 10/30/2020.
- 2. 成島淳也、大石知司、溝尻瑞枝、"グリオキシル酸 Cu錯体/Cuナノ粒子混合インクのフェムト秒レー ザCuパターニング"、IIP2022 情報・知能・精密機 器部門(IIP部門)講演会、3/7/2022
- 満尻 瑞枝、成島 淳也、大石 知司、"グリオキシル 酸Cu錯体/Cuナノ粒子混合インクを用いたフェム ト秒レーザ直接描画特性", OQD-22-013, 宇都宮大 学+オンライン,電気学会「光・量子デバイス研究会」、 3/28/2022.

ヘテロ元素ナノチューブの同心複合化による機能材料の開発

大阪大学 大学院工学研究科 井ノ上 泰輝

1. 研究の背景と目的

単層カーボンナノチューブ(SWCNT)[1] は炭素原 子から成る原子層(グラフェン)を円筒状に丸めた構造の ナノ材料である。高いキャリア移動度、電気・熱伝導率、 機械的強度、および、構造に依存してバンドギャップを 持つことなど、SWCNTは様々な優れた性質を持つ。ま た、炭素以外の元素による類似のナノチューブ物質とし て、窒化ホウ素ナノチューブ(BNNT)[2] や遷移金属 ダイカルコゲナイドナノチューブ(TMDNT)[3] など が知られている。これらのナノチューブ物質は表面にダ ングリングボンドを持たず、円筒面内で結合が閉じてい ることから、異なるナノチューブを入れ子状にしたヘテ ロ構造の構築が可能だと考えられる。グラフェンなどの 異なる2次元物質を積層したファンデルワールスヘテロ 構造の研究は盛んであったが、擬1次元的なナノチュー ブにおけるヘテロ構造の構築は難しかった。我々は最近、 SWCNT、BNNT、TMDNTを同心状に複合化した新た な物質群の合成を実現した [4]。ここでは、SWCNT をテンプレートとして、化学気相成長(CVD)法により 異種ナノチューブを同心状に被覆合成した。このような 異なる元素から成るナノチューブの同心複合構造をヘテ ロナノチューブと呼ぶ。異なる電子・光学・熱・機械特 性を持つナノチューブ物質を自在に一体化できることか ら、新たなナノ材料の物質設計の可能性を持つ。構造制 御・高効率合成の確立、物性の理解を行うことで、様々 な機能を持つヘテロナノチューブを構築し、応用するこ とが期待されている [5]。

本研究では、ヘテロナノチューブの工学的応用の実現 に向けて、高効率なヘテロナノチューブ合成方法および 溶液プロセスへの適用方法を確立すること、また、ヘテ ロナノチューブの熱伝導特性に関する基礎的機構を解明 することを目的とする。内層がSWCNT、外層がBNNT



図1. SWCNT-BNNTヘテロナノチューブの模式図。緑色が 炭素原子、青色がホウ素原子、赤色が窒素原子。

であるヘテロナノチューブ(図1)を対象として、多孔質 担持材を用いた高効率合成法の開発を行った[6]。また、 ヘテロナノチューブの熱伝導測定およびモデル化を実施 した[7]。

2. 結果と考察

2.1 多孔質担持材を用いたSWCNT-BNNTへテロナノ チューブの高効率合成と溶液プロセスへの適用

我々はこれまで、CVD法によりSWCNTをテンプレー トとしてヘテロナノチューブを合成してきたが、テンプ レートのSWCNTは孤立架橋構造または薄膜構造を取っ ていた [4,8]。テンプレートとなるSWCNTの合成とヘ テロ構造化を独立して行っていたほか、テンプレートの SWCNT数密度が低く、サンプル面積によりSWCNT量 が決まるため、ヘテロナノチューブの合成量が制限され ていた。より効率的な合成を行うためには、高密度かつ 基板面積に制限されないSWCNTをテンプレートに用い ることが有効である。そこで本研究では、多孔質のゼオ ライトを触媒粒子担持材としたSWCNT合成手法[9] に基づき、SWCNTの合成およびBNNTの被覆合成を逐 次的に行った。

ゼオライトにFe/Coナノ粒子を担持して、エタノール





図2. ゼオライト上に合成したSWCNTおよびSWCNT-BNNTのSEM像(左)。SWCNTおよびSWCNT-BNNT 分散液の光学像(右)。

を原料としたCVDにより800°CにおいてSWCNTを合成 した。さらに、このサンプルをテンプレートとして、ア ンモニアボランを原料としたCVDにより1075°Cにおい てBNNTの被覆合成を行った。SWCNTおよびSWCNT-BNNTサンプルについて走査型電子顕微鏡(SEM)によ り観察した像を図2左に示す。SWCNTと同様に、 SWCNT-BNNTサンプルからもゼオライトの上に細線状 の構造が観察された。また、BNNTは電気的に絶縁性で あるため、SEM像においてコントラストが弱まった。 多孔質ゼオライトの大きな表面積により、ヘテロナノ チューブを高収率に得ることに成功した。従来のヘテロ ナノチューブ合成法が基板面積に制限されていたことと 比べて、大幅な収量の向上となっている。

さらに、このヘテロナノチューブの液体への分散を実施した。合成されたヘテロナノチューブ粉末と界面活性 剤を重水に混合し、バスソニケーション、チップソニケー ション、および遠心処理を行った。分散液の写真を図2 右に示す。SWCNT-BNNTヘテロナノチューブについて も均一な分散液が得られた。ヘテロナノチューブの溶液 分散は本研究により初めて実現した。SWCNTにおける 溶液プロセスは、ろ過による薄膜形成や、紡績糸の形成 など、様々な構造の形成を可能としてきた。ヘテロナノ チューブにおいても同様のプロセスを適用することで、多 様なヘテロナノチューブ集合構造を作る道筋が拓かれた。

SWCNT-BNNT分散液の光吸収スペクトルを測定した ところ、SWCNTに由来する可視域のピークに加えて、 紫外域における強い吸収ピークを確認した。後者のピー



図3. SWCNTおよびSWCNT-BNNTの光吸収スペクトル。 (a)合成直後(空気中加熱なし)、(b)空気中500°C 加熱 後。

クはBNNTのバンドギャップに対応したものであると考 えられ、BNNTの合成を示している。また、可視域の光 吸収スペクトルを図3(a)に示す。グラフ中の(8,3)など の表記は、そのピークに対応するSWCNT構造のカイラ ル指数を表す。SWCNTと比べて、SWCNT-BNNTのス ペクトルにおける強度やピーク位置には大きな変化がな いことが分かった。これは、BNNTの被覆がSWCNTの 電子構造に対して大きな影響を与えていないことを示し ている。各ナノチューブ表面にダングリングボンドがな く、BNNTが大きなバンドギャップを持つために、 BNNTとSWCNTとの間の電荷移動が起こっていないと 考えられる。

我々の先行研究では、SWCNT薄膜などをテンプレー トに用いたヘテロナノチューブにおいてSWCNTと BNNTが同心構造となっていることを透過型電子顕微鏡 (TEM)により確認してきた。ここでは空気中における 加熱処理によりSWCNTとBNNTが同心構造であること の間接的な証拠を得ることを試みた。空気中において SWCNTを500°C程度に加熱すると酸化により構造が失 われるが、BNNTはより高温まで安定であることが知ら れている。そこで、SWCNTおよびSWCNT-BNNTにつ いて、空気中500°Cで加熱した後に分散処理と光吸収ス ペクトルの測定を行った。得られたスペクトルを図3 (b)に示す。加熱処理前の図3(a)のスペクトルと比べ て、SWCNTでは加熱によりピーク強度が著しく減衰し ていることが分かる。これは、SWCNTの大部分が酸化 により失われたことを意味する。一方で、SWCNT-BNNTサンプルにおいては、加熱処理後も元のSWCNT 由来のピークが維持されていた。これは、空気中で高温 安定なBNNTがSWCNTを覆い、内部のSWCNTが酸化 から保護されていることを示している。以上より、ゼオ ライトを担持材に用いた合成により同心状のSWCNT-BNNTへテロナノチューブを効率的に得られることを確 認した[6]。

2.2 SWCNT-BNNTヘテロナノチューブ薄膜におけ る熱伝導度向上のモデル化

SWCNTは電気的にも熱的にも良導体であるのに対し て、BNNTは電気的には絶縁性だが熱伝導性は高いこと が知られている。我々は過去の研究において、SWCNT-BNNTヘテロナノチューブ薄膜は、SWCNTに由来する 高い電気伝導度を保ちながら、BNNTの被覆により熱伝 導度が向上することを報告してきた[8]。本研究では、 この熱伝導度の向上を示すモデルを構築した。

SWCNT-BNNTヘテロナノチューブ薄膜のTEM像を 図4に示す。テンプレートとなるSWCNTが構築する ネットワーク構造の周りを囲むようにBNNTの層が形成 されることが分かる。



図4. SWCNT-BNNTへテロナノチューブ薄膜のTEM像

モデル化にあたり、薄膜のネットワーク構造を形成す る多数のナノチューブによるパスの構造を考える。ここ で、薄膜の片側からもう片側へと、多数のナノチューブ を介して熱が流れるため、ナノチューブ自体の熱伝導度 およびナノチューブ間の接合部熱伝導度が薄膜全体の熱 伝導度に影響を与える。また、接合部熱伝導度は低い(ナ ノチューブ間接触熱抵抗は大きい)ため、ランダムに配 置されたナノチューブにおいて、最短経路となるような、 接合部の数が少ない伝導パスの全体への寄与が支配的と なる。ここで、BNNTによる被覆を行った場合は、高熱 伝導の層の断面積が増えることから、ナノチューブパス の熱伝導度が向上すると仮定した。以上の点を考慮して、 SWCNTおよびへテロナノチューブ薄膜における熱伝導 モデルを構築した。

熱伝導度測定の実験においては、光透過率(密度、厚さ) の異なる複数の種類のSWCNT薄膜、およびそれらをテ ンプレートとしたSWCNT-BNNT薄膜を測定した[8]。 測定方法は、赤外線カメラを用いた定常法である。得ら れた実験結果に対して、構築したモデルによる計算値を 図5に示す。SWCNT自体の熱伝導率をパラメータとし



図5. 透過率の異なるSWCNT薄膜およびSWCNT-BNNTへ テロナノチューブ薄膜の熱伝導度および被覆合成によ る熱伝導度増加率。プロットは実験値、線はモデルに よる計算値を示す。

て、密度の異なるナノチューブ薄膜における熱伝導度の 変化を精度良く再現することに成功した[7]。

3. まとめ

本研究では、SWCNTをテンプレートとしたSWCNT-BNNTへテロナノチューブの合成において、ゼオライト を触媒担持材に用いることで高収率な合成法を開発した [6]。また、SWCNT-BNNTへテロナノチューブの溶液 への分散を実現し、光吸収スペクトルによる構造の分析 と空気中酸化耐性の評価を行った。さらに、SWCNT-BNNTへテロナノチューブ薄膜における熱伝導度向上の モデルを構築し、実験値をよく説明できることを示した [7]。以上の成果は、工学的応用に向けたヘテロナノ チューブの大量合成実現に向けて重要な進歩であると同 時に、ヘテロナノチューブの高温安定性、光学特性、熱 伝導特性に関する基礎的知見を深めるものである。

4. 謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援下さいました公益財 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。また、本研究は東京大学大学院工学系研究科丸山・ 千足研究室および大阪大学大学院工学研究科ナノマテ リアル領域(小林研究室)にて実施したものです。馮雅博 士および王彭穎愷博士をはじめとする共同研究者の方々 に感謝申し上げます。

5. 参考文献

- [1] S. Iijima and T. Ichihashi, "Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter," *Nature* 363, 603 (1993).
- [2] N. G. Chopra, R. J. Luyken, K. Cherrey, V. H. Crespi, M. L. Cohen, S. G. Louie, and A. Zettl, "Boron Nitride Nanotubes," *Science* 269, 966 (1995).

- [3] R. Tenne, L. Margulis, M. Genut, and G. Hodes,
 "Polyhedral and cylindrical structures of tungsten disulphide," *Nature* 360, 444 (1992).
- [4] R. Xiang, T. Inoue, Y. Zheng, A. Kumamoto, Y. Qian, Y. Sato, M. Liu, D. Tang, D. Gokhale, et al., "One-dimensional van der Waals heterostructures," *Science* 367, 537 (2020).
- [5] 井ノ上泰輝, 項栄, 千足昇平, 丸山茂夫, "ヘテロナ ノチューブの創造と機能開拓,"応用物理 91, 351 (2022).
- [6] Y. Feng, H. Li, B. Hou, H. Kataura, T. Inoue, S. Chiashi, R. Xiang, and S. Maruyama, "Zeolitesupported synthesis, solution dispersion, and optical characterizations of single-walled carbon nanotubes wrapped by boron nitride nanotubes," J. Appl. Phys. 129, 015101 (2021).
- [7] P. Wang, Y. Feng, R. Xiang, T. Inoue, A. Anisimov, E. I. Kauppinen, S. Chiashi, and S. Maruyama, "Phenomenological model of thermal transport in carbon nanotube and heteronanotube films," *Nanotechnology* **32**, 205708 (2021).
- [8] P. Wang, Y. Zheng, T. Inoue, R. Xiang, A. Shawky, M. Watanabe, A. Anisimov, E. I. Kauppinen, S. Chiashi, and S. Maruyama, "Enhanced In-Plane Thermal Conductance of Thin Films Composed of Coaxially Combined Single-Walled Carbon Nanotubes and Boron Nitride Nanotubes," ACS Nano 14, 4298 (2020).
- [9] S. Maruyama, R. Kojima, Y. Miyauchi, S. Chiashi, and M. Kohno, "Low-temperature synthesis of high-purity single-walled carbon nanotubes from alcohol," *Chem. Phys. Lett.* 360, 229 (2002).

ダブル(5+1)環化反応を基盤とした新規ホール輸送材料の創出

学習院大学 理学部 諸藤 達也

1. 研究の背景および目的

エネルギー問題解決のために、優れたエネルギー効率 と低コストが期待される有機無機ハイブリット型ペロブ スカイト太陽電池が注目を集めている。鉛を用いたペロ ブスカイト太陽電池は22.1%のエネルギー効率が実現さ れ、商用化への期待も大きいが、鉛の毒性を懸念してス ズを用いたペロブスカイト太陽電池の開発も求められて いる。このような背景の中、Marks, Chen, Kanatzidisら は、図1に示したベンゾフェノン誘導体を二量化して合 成したテトラアリールエテンがドーパントなしでホール 輸送材料として働くことを明らかにし、高い安定性と作 成容易性を兼ね揃えたスズペロブスカイト太陽電池デバ イスを報告した¹。しかしながら優れたホール輸送材料 の設計指針を明確に定めることはいまだ難しい。 HOMO/LUMOのエネルギー準位や疎水性など、いくつ かの満たすべき条件はあるものの、固体状態の構造など、 予測困難な要素が多く、より性能の高いホール輸送材料 を見出すにはスクリーニングをせざるを得ない。そのた め、ホール輸送材料を効率的にスクリーニングするため に、テトラアリールエテン類縁体およびその前駆体であ るベンゾフェノン誘導体の簡便かつ網羅的な合成法が求



図1. テトラアリールエテン類の合成



図2. 本研究者が以前見出した(5+1)環化反応

められる。

-71 -

一方で、申請者は図2に示したように、これまでに (5+1)環化反応によってベンゼン環を形成しつつ、カ ルボニル-*p*-フェニレン-π分子を合成する新たな手法を 開発している²。

本研究におけるベンゾフェノン誘導体の合成戦略を図 3に示す。アセトンと共役イミニウムイオンを反応させ、 一度目の(5+1)環化反応によりアセトフェノン誘導体 を合成する。合成したアセトフェノン誘導体は、別の共 役イミニウムイオンと二度目の(5+1)環化反応するこ とで、非対称なベンゾフェノン誘導体が得られる。

合成した非対称ベンゾフェノンは既知の二量化反応に よって、合成した非対称ベンゾフェノン誘導体からテト ラアリールエテン類を合成する。この時、図4のように 2種類のテトラアリールエテンが得られるが、カラムク ロマトグラフィーまたはゲル濾過によって分離すること ができる。すなわち、1つのベンゾフェノン誘導体から 2種類のテトラアリールエテン類を得ることができる。



非対称ベンゾフェノン誘導体

図3. 本研究で取り組む非対称なベンゾフェノン誘導体の新 規合成戦略



図4. テトラアリールエテンの合成



2. 実験結果

①ダブル(5+1)環化反応によるアセトンの対称ベンゾ フェノンへの変換

まず非対称ベンゾフェノン誘導体の合成に先立ち、ア セトンのダブル(5+1)環化反応による対称ベンゾフェ ノンの合成が可能か、予備検討を行った。アセトンに対 し3当量のフェニル基を有するストレプトシアニンを THF中、耐圧チューブを用いて120℃、終夜撹拌したと ころ、対称なベンゾフェノンが71%で得られた(図5)。

②(5+1)環化反応によるアセトンのアセトフェノンへの変換

①の結果より、アセトンに(5+1)環化反応を適用す ることが可能であることが分かったので、二回の (5+1)環化を段階的に行うことで、非対称ベンゾフェ ノンの合成法確立を試みた。より具体的には、過剰量の アセトンと一当量のストレプトシアニンを反応させるこ とで、アセトフェノン誘導体の合成を検討した(図6)。

しかしながら、溶媒や塩基などの反応条件を種々検討 したものの、目的とするアセトフェノン誘導体は得られ なかった。

③トリメチルスルホニウムを用いた(5+1)環化反応によるm-置換アニリンの変換

②の検討中、(5+1)環化反応がうまく進行しない理 由を解明するために、様々な酸性度のメチル基を持つ化



not obtained

図6. アセトフェノン誘導体の合成



図7. 偶然見出したm-置換アニリンの新輝合成法の開発

合物とストレプトシアニンを反応させたところ、トリメ チルスルホニウムを反応させた場合、図7のように化合 物Aが生成すると予想したが、実際には*m*-置換アニリン Bが得られることが分かった。

m-置換アニリン類は有機太陽電池に用いられる有機 分子もみられる重要な骨格であることから、この反応に 興味を持ち、さらなる検討を行った。その結果、図8に 示すように様々な*m*-置換アニリン類を合成することが できた。



図8. m-置換アニリンの合成例



observed by HRMS and ¹H NMR

図9. m-反応機構の解明

-73-

ストレプトシアニンはピリジンから合成していること を考えると、本反応はp-置換ピリジンを*m*-置換アニリン に変換する手法といえる。さらに反応形式としては、 C-H官能基化と骨格変換が組み合わさった全く新しい反 応である。

続いてこの反応の反応機構を明らかにするべく実験を 行った。重水素化されたトリメチルスルホニウムを用い ると重水素化された生成物を得ることができた(図9a)。 これは生成物におけるPh基に対してパラ位の炭素がト リメチルスルホニウムのメチル基由来であることがわ かった(図9b)。

さらに本反応を室温で検討したところ、中間体のトリ エンをHRMSおよび¹H NMRで観測することができた。

以上の結果から、トリメチルスルホニウムとストレプ トシアニンが反応して生じたトリエン中間体が電子環状 反応を起こすことで*m*-置換アニリンが生じている、と いう反応機構が明らかになった。

以上の成果は論文として発表した^a。

3.結論

以上、(5+1)環化反応を用いたホール輸送材料の創 出を目指した研究を検討した。当初予定していたダブル (5+1)環化によるベンゾフェノン誘導体合成は種々の 検討にもかかわらず、効率よく反応はしなかった。しか しながら、本研究検討中にp-置換ピリジンをm-置換アニ リンに変換する新しい分子変換を見出した。この反応は C-H官能基化と骨格変換が組み合わさった全く新しい形 式の反応である。今後、このm-置換アニリン合成法を 利用し、有機太陽電池などで使用可能なホール輸送材料 創出を目指す。

4. 参考文献

- Ke, W., Priyanka, P., Vegiraju, S., Stoumpos, C. C., et al. (2018). Dopant-Free Tetrakis-Triphenylamine Hole Transporting Material for Efficient Tin-Based Perovskite Solar Cells. J. Am. Chem. Soc. 140, 388-393.
- Morofuji, T., Kinoshita, H., Kano, N., (2019). Connecting a carbonyl and a π-conjugated group through a p-phenylene linker by (5+1) benzene ring formation. *Chem. Commun.* 55, 8575-8578.

5. 研究成果発表

 a) Morofuji, T., Inagawa, K., Kano, N., (2021).
 Sequential Ring-Opening and Ring-Closing Reactions for Converting para-Substituted Pyridines into meta-Substituted Anilines. *Org. Lett.* 23, 6126-6130.

室温有機磁石の実現に向けた拡張π共役ラジカルによる 磁気相関の設計

大阪府立大学 大学院理学系研究科山口 博則

1. はじめに

有機物の多様性により、今日までに数100万種類にも 及ぶ膨大な数の人工的な有機分子の合成が報告されてい る。それらを利用することで、100種類程度の元素をユ ニットとする無機物を遥かに凌ぐ凄まじい数の磁性体を 作り出すことができると期待されてきた。しかし一方で、 有機ラジカルの局在性と平面構造により、磁気相関が抑 制されてしまうという問題がある。その結果、1次元的 な磁気モデルの形成には有利であるが、有機磁石を実現 するような3次元的な磁気相関の構築には展開できてい ない。

本研究の先行的な取り組みとして、従来のラジカルに おいて弊害となってきた分子特性を抑制するために、分 構構造の柔軟性と分子軌道の拡張性が顕著になるフェル ダジルラジカルに着目し、分子間の磁気相関の制御を試 みてきた。水素原子位置にハロゲン原子を中心とした 様々な置換を行うことで、分子軌道の形状とその重なり を制御し、従来の磁性体合成の常識を覆すペースで、多 彩な新規磁性体の実現に成功してきた。それらの取り組 みを通して、フェルダジルラジカルを活用した磁性体デ ザインでは、室温有機磁石を実現するための必須条件と なる強磁性相関の発現と3次元的な磁気モデルの形成に おいて、非常に有利であることが明らかになってきた。 本研究では、これまでの分子設計と磁気モデルの相関に 関する知見を基に、磁石の形成に有効と考えられる物質 設計に取り組んだ。

2. フェルダジルモノラジカル系

フェルダジルモノラジカル系の新規磁性体の合成を試 みた。水素元素をハロゲン元素で置換することによって、 分子内外の静電反発を利用して分子にねじれを誘発する



図1:フェルダジルモノラジカル系(a)2-Cl-4-F-Vと(b)2-Br-4-Cl-Vの分子構造.

ことができる。ねじれのパターンによって、分子配列が 決まり、分子間の磁気相関を通してスピン配列が構築さ れる。それらを通して、新たな磁気モデルの設計が可能 になる。これまでの取り組みから、図1(a)に示す分子 構造を持つ2-Cl-4-F-Vにおいては、分子内の静電反発が 作り出す分子の立体障害により、2次元強磁性シートの 積層が形成されることが明らかになった。そこで本研究 では、3次元性をより高めるための磁気モデルの変調を 目指して、同様な2位と4位へのハロゲン原子置換を 様々な組み合わせで行うことにより、その影響を調べた。

図1(b)は、今回新たに構造と物性の詳細な知見を得 ることに成功した2-Br-4-Cl-Vの分子構造となっている¹⁾。 単結晶試料を用いたX線構造解析の結果から、結晶構造 は2-Cl-4-F-Vと同晶系であることが明らかになった。一 方で、ハロゲン元素のイオン半径の違いから分子間接近 には僅かな違いが生じており、磁気相関の変調が予想さ れた。実際に分子軌道計算により磁気相関を見積もった ところ、4種類の支配的な磁気相関J₁-J₄の存在が予想さ れた。J₁が反強磁性的、J₂-J₃が強磁性的となっている。 2-Cl-4-F-Vとの大きな違いはJ₂の存在であり、これに関 わる分子軌道の重なりが増強された分子配列を形成して いる。結果として、図2に示すようなJ₁、J₂、J₄から成る 2次元三角格子が、面間相互作用J₃により積層した磁気 モデルを形成している。三角格子内においては、強磁性 と反強磁性の相関の競合(フラストレーション)が生じて おり、基礎学術的な量子物性研究において高い関心が寄 せられている特異なモデルとなっている。磁気モデル設 計としては、2-Cl-4-F-Vのケースにもう1種類の磁気相 関が加わることで、本来配位数4の正方格子であった部 分が、配位数6の三角格子へと変化している。配位数の 増加は磁気相転移温度を増加させる効果があるため、高 温強磁性秩序(磁石)の形成に向けて有効な設計知見を得 ることができた。

図3は2-Br-4-Cl-Vの磁化率の測定結果になっている。



図2:フェルダジルモノラジカル2-Br-4-Cl-Vの結晶構造。実線は磁気相関に対応。



図3:フェルダジルモノラジカル2-Br-4-Cl-Vの0.1 Tにおけ る磁化率χ。

温度低下に伴って単調に増加していく常磁性的な振る舞 いが観測された。一方で、3 K以下の低温では増加が緩 やかになる傾向がみられており、予想された磁気相関の 寄与であると考えられた。より低温での磁化および比熱 測定を行うことで、磁気相転移の有無や磁気状態の検証 を行い、磁気モデル変調効果を今後より詳細に明らかに していく。

3. フェルダジル系塩

分子軌道の重なりをより高めるために、フェルダジル ラジカルをカチオン化してラジカル塩へと展開すること にも試みてきた。カチオン化のパターンを設計パラメー タとして導入することで、より多様なスピン配列の形成 を可能にしている。特に、磁性アニオンの特性を利用す ることで、有効スピン配列の磁場変化や内部磁場の変調 など、これまでにない特異な磁気モデルを実現すること ができている。そこで本研究では、純有機に限定しない 有機 - 無機ハイブリッド型磁石への展開も視野に入れ、 磁性アニオンとフェルダジルラジカルを組み合わせたラ ジカル塩による磁気モデル設計に取り組んだ。

合成および単結晶獲得に成功したフェルダル系塩 (4-Br-o-MePy-V)FeCl4では、フェルダジルラジカル 4-Br-o-MePy-Vがスピン1/2、FeCl4アニオンがスピン 5/2を担っている^{4,5)}。単結晶X線構造解析の結果から、 図4(a)のように、ラジカルとアニオンによって、c軸方 向に1次元構造を構築していることが明らかになった。 分子接近に着目すると、ラジカルとアニオン間に2種類 の近い接近が見られ、分子軌道計算によって反強磁性的



図4:フェルダジル系塩(4-Br-o-MePy-V)FeCl₄の(a)結晶構 造と(b)対応する磁気モデル。

であると見積もられた。従って、図4 (b)のように、ス ピン1/2とスピン5/2が反強磁性相関J、Jでつながっ たミックス型スピン-(1/2,5/2)鎖を形成していると考 えられた。

ミックス型スピン鎖は、大きさの異なる2種類のスピンが交互に並んだ1次元鎖である。基礎的な1次元モデルとして磁性の専門書などでも数多く取り上げられている。Lieb-Mattisの定理²⁾によって、その基底状態はフェリ磁性状態となることが予想されている。さらに、Oshikawa-Yamanaka-Affleckのルール³⁾として定式化されたトポロジカルな議論から、磁化の量子化(Lieb-Mattisプラトー)の発現が予想されている。一方で、現実の系では20年以上前にいくつかのモデル物質が報告されたが、それ以降の報告例はなかった。

図5は1.5 Kにおける磁化曲線となっており、2/3プ ラトーを含めた飽和に及ぶ全磁化過程を観測することが できた。これは、ミックス型スピン鎖において予想され ているLieb-Mattisプラトーの初めての観測例となった。 インセットは磁化の磁場微分*dM/dB*となっており、プ ラトーからの立ち上がり部分の特徴が反映されている。

基底状態はフェリ磁性状態であるが、1次元性が反映 されるために、量子物性として考える必要がある。分子 軌道計算の結果が示すように、結晶構造の対称性を考慮 すると、実際のスピン鎖は磁気相関が交替(ボンド交替) していると考えられる。そこで、均一型(*J* = *J*)と交替 型(*J* > *J*)の2つのタイプに分けて考える。それぞれの プラトー領域での模式的な量子状態(いわゆるvalence-



図5:フェルダジル系塩(4-Br-o-MePy-V)FeCl4の磁化曲線。 インセットはその磁場微分。破線は量子モンテカルロ 法による計算値。

bond-picture)は、図6のようになっている。均一型の 場合は、いわゆるLieb-Mattisフェリ磁性状態となって いる。一方、交替型では、Jよりも強いJの結合でシング レットダイマーが形成されている。ただし、実際の波動 関数は完全なダイマーの直積とはなっていない。また、 Lieb-Mattisの定理はボンド交替があっても適用可能で あることから、これらの2つの型の基底状態間に相転移 はなく、交替型も同様にLieb-Mattisフェリ磁性状態で あると考えられた。

図7は0.1 T での磁化率となっている。測定には無配 向の微結晶試料を用いた。約4.8 Kで不連続的な変化が 見られており、長距離磁気秩序への相転移を示唆してい ると考えられた。転移温度以下では発散的な傾向はなく、 反強磁性的な振る舞いを示していると考えられた。これ は1次元鎖内のフェリ磁性状態が鎖間の反強磁性相関に



図6:フェルダジル系塩(4-Br-o-MePy-V)FeCl₄が形成する磁 気モデルのLieb-Mattisフェリ磁性状態の概略図



図7:フェルダジル系塩(4Br-o-MePy-V)FeCl₄の0.1 Tにお ける磁化率χ。インセットは磁化率と温度の積χT。 実線は量子モンテカルロ法による計算値。

よって結合することで、系全体として反強磁性状態に なっていることを意味している。図7のインセットは対 応する磁化率と温度の積となっている。25 K付近に極 小値が観測されており、これはフェリ磁性鎖で予想され る特徴となっている。高温側からの減少は反強磁性相関 による合成スピンの形成に起因した振る舞いで、極小値 からの増加は1次元鎖内のフェリ的な状態の形成による 増加として理解することができる。実際に、磁化曲線の 場合と同様な量子モンテカルロ法による計算結果は、極 小値をよく再現している。温度低下に伴う実験結果との 違いは、鎖間磁気相関の影響を示唆している。

4. まとめ

本研究では、室温有機磁石の実現に向けたフェルダジ ルラジカルによる磁気相関の設計に取り組んだ。フェル ダジルモノラジカル系としては、新しいパターンのハロ ゲン元素置換に取り組み、合成スキーム最適化および単 結晶獲得に成功した。2-Br-4-Cl-Vにおいては、詳細な構 造および物性の知見を得ることができ、2次元三角格子 が積層した磁気モデルであることを明らかにした¹⁾。 フェルダジルラジカルをカチオン化したラジカル塩にお いては、磁性アニオンと組み合わせた(4-Br-o-MePy-V) FeCl₄において、1次元フェリ磁性状態を実現すること に成功した⁴⁵⁾。Lieb-Mattisプラトーの初めての観測例 となり、量子物性研究としても重要な研究成果となった。

5. 謝辞

本研究は、公益財団法人松籟科学技術振興財団のご支 援を賜り進めることができました。深く感謝申し上げま す。

6. 参考文献

- 1)仲野希一 大阪府立大学2020年度卒業論文
- 2) E. Lieb, D. Mattis, J. Math. Phys. 3 (1962) 749-751.
- 3) M. Oshikawa, M. Yamamoto, I. Affleck, *Phys. Rev. Lett.* **78** (1997) 1984–1987.
- H. Yamaguchi, T. Okita, Y. Iwasaki, Y. Kono, N. Uemoto, Y. Hosokoshi, T. Kida, T. Kawakami, A. Matsuo, M. Hagiwara, *Sci. Rep.* 10 (2020) 9193.
- 5) H. Yamaguchi, Y. Iwasaki, Y. Kono, T. Okita, A. Matsuo, M. Hagiwara, Y. Hosokoshi, *Phys. Rev. B* 102 (2020) 060408(R)

エネルギー移動機構を組み込んだ超分子メカノフォアの開発

東京工業大学 物質理工学院材料系 相良 剛光

1. はじめに

近年、機械的刺激に応じて小分子の放出、触媒作用、 吸収・発光特性変化等のアウトプットを示すメカノフォ アと呼ばれる分子骨格が盛んに研究されている¹²⁾。特に 蛍光特性が変化するメカノフォアは、蛍光特性変化が鋭 敏に検出できるため、ポリマーなどに導入すれば、ポリ マーが受けたダメージや力を可視化・定量評価できると 考えられる。これまでに報告されてきたメカノフォアの 大半は、吸収・発光特性変化を引き起こすために共有結 合を切断する必要があった。一方で、共有結合を切断す る必要のないメカノフォアも複数例報告され始めてお り、弱い力でactivationでき、良好な可逆性があり、比 較的分子設計指針が立てやすいといった利点が存在し、 アプリケーションによってはこのタイプのメカノフォア が有利である。

我々の研究グループは、超分子化学の分野で長年研究 されてきたロタキサンのインターロック構造に着目し、 ロタキサン型超分子メカノフォアを開発した³⁾。このロ タキサンは蛍光団を持つ環状分子と、消光団と嵩高いス トッパー部位を持つ軸分子で構成される(図1)。初期状 態では消光団近傍に蛍光団が存在し、蛍光が効率よく消



図1. 先行研究のロタキサン型メカノフォアの動作機構

光される。しかし、力が印加されて環状分子が軸分子上 をスライドすると、蛍光団が消光団から離れ、蛍光On 状態となる。この蛍光強度変化は瞬時かつ可逆であり、 このロタキサン型超分子メカノフォアを導入したポリウ レタンは、溶媒キャスト法により製膜した後にdog-bone 型に切り抜いて伸縮すると、蛍光色のOn/Offスイッチ が観察される。さらに、ロタキサンの環状分子に導入し た蛍光団を別の蛍光団に変更するだけで、多様な蛍光色 のOn/Offスイッチが達成できることも明らかとした⁴⁾。 しかし、π共役部位を拡張したBODIPY誘導体を赤色蛍 光団として導入した超分子メカノフォアでは、導入した ポリウレタンエラストマーから力を印加していない状態 でも無視できない強度の赤色蛍光が観察された⁵⁾。これ は、用いた蛍光団と消光団の間の会合定数が低いためで ある。

2. 研究の目的

そこで本研究では、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET) 機構を導入したロタキサン型超分子メカノフォアを創製 し、明らかに赤色蛍光の強度が変化するロタキサン型超 分子メカノフォアの開発を目指した。本研究で開発する FRET機構を導入したロタキサン型超分子メカノフォア の動作原理を図2に示す。ロタキサンを形成する環状分 子に電子豊富な緑色蛍光団を導入し、さらにリンカーを 介して赤色蛍光団が導入されている。初期状態では図1 と同様に、電子不足な消光団が環状分子に包接され、緑 色蛍光を励起光により選択的に励起しても、赤色蛍光団 へのFRETが起きる前に消光団と電荷移動錯体の形成が 起き、蛍光は観察されない。しかし、いったん機械的刺 激が導入されたポリマーを介してメカノフォアに伝達さ れると、環状分子がスライドして緑色蛍光団が消光団か ら離れる。この場合、電荷移動錯体は形成されない。そ



図2. FRET機構を組み込んだロタキサン型超分子メカノ フォアの動作機構

のため、励起された緑色蛍光団から赤色蛍光団に効率の 良いFRETが起き、赤色の蛍光が観察されるようになる。

3. 実験結果・考察

まず、ドナー、およびアクセプターとなる分子骨格 の選定、およびプロトタイプのロタキサンの合成と機能 評価を行った。FRETを誘起するためのドナーとアクセ プターのペアとしては、緑色蛍光団である9,10-bis (phenylethynyl)anthraceneをドナー、赤色蛍光団とし てπ共役を拡張したBODIPY誘導体をアクセプターとし て選定した。この蛍光団の組み合わせでは、励起光とし て480 nm の励起光を用いれば、π共役を拡張した BODIPY誘導体がほぼ吸収をその波長に持たないため、 ある程度選択的に緑色蛍光団のみを励起できる。まずは 図3に示す二つの蛍光団を短いアルキル鎖で連結した構 造を環状構造に導入した分子を合成したところ、予想通 り、溶液中において緑色蛍光団から赤色蛍光団への効率 のよいFRETが観察された。



図3. 二つの蛍光団を導入した環状分子

そこで、図2に示した動作機構に基づいて設計したロ タキサンAnt-BProt(図4)を設計・合成した。このロタ キサンでは、消光団としてナフタレンジイミドを用い、 ストッパー部位として、ロタキサンの研究分野で汎用さ れているテトラフェニルメタン骨格を用いた。さらに、 ポリマーに共有結合を介して導入するために、赤色蛍光 同と一つのストッパー部位に水酸基を一つずつ導入し た。溶液中で、このロタキサンからは、480 nm の励起 光を照射しても赤色蛍光がほぼ観察されなかった。これ は、図2に示した機械的刺激を印加しない前の消光機構 がきちんと働いていることを意味している。その後、こ れまでに報告したロタキサン型超分子メカノフォア同 様、その刺激応答特性をポリウレタンに導入して評価し た。ロタキサンAnt-BProtを導入したポリウレタンAnt-BProt-PUは、ポリテトラヒドロフラン(Mn=約2,000)、 1.4-ブタンジオール, 4.4 ′-メチレンビス(フェニルイソ シアナート)(MDI)との重付加反応によって得られた。 得られたポリウレタンを溶媒キャスト法により製膜する と、得られたフィルムは初期状態において緑色蛍光は観 察されず赤色蛍光のみが観察され、フィルム中でも効率



図4. FRET機構を導入したロタキサン型超分子メカノフォア(左)と導入したポリウレタンフィルムが示す蛍光特性変化(右)

の良いエネルギー移動が緑色蛍光団と赤色蛍光団の間で 起きていることがわかった。その一方で、残念ながら力 を印加していない初期状態でも強い赤色蛍光が観察さ れ、延伸による大きな赤色蛍光強度変化が達成できない という知見が得られた(図4右)。これは、初期状態にお いて環状分子が蛍光団から離れてしまったロタキサンの 量が多く、その蛍光強度が強すぎるためである。これは、 ポリマー中で赤色蛍光団と緑色蛍光団がπスタックなど により相互作用することで、環状構造と消光団の会合定 数が低下したことが原因である。

そこで、上述した実験結果を踏まえ、分子構造を変更 した様々なロタキサン型超分子メカノフォアを設計・合 成した。分子構造改変の例としては、二つの蛍光団間の リンカーの長さ・柔軟性・極性を変更したり、ポリウレ タン主鎖の構造を導入したり、赤色蛍光団をストッパー に導入したり等、様々なアプローチを試みた(図5)。そ して、得られた各種ロタキサンをポリウレタンに共有結 合を介して導入してその評価を行った。しかし、これら のロタキサンが導入されたポリウレタンを製膜したとこ ろ、多少の蛍光強度変化はあったものの、いずれの場合 においても図4で観察されたように初期状態から強い赤 色蛍光が観察された。これらの結果から、ロタキサンを ポリウレタンに導入すると、ポリマー鎖とのナノ相分離 が起きてしまい、ロタキサンのπ共役部位が分子構造に よらず互いにスタックした構造を形成し、その結果、環 状分子と消光団の会合定数が低下し、初期状態で赤色蛍 光が観察されたと考察した。

そこで、ロタキサン型超分子メカノフォアを導入する ポリマーをポリウレタンではなく、ポリウレタンウレア に変更した。ポリウレタンウレアは親水性モノマーを用



図5. 分子構造を改変したFRET機構を導入したロタキサン型超分子メカノフォアの例

いると、水に浸漬することで膨潤し、数百%の延伸率ま で延伸できるヒドロゲルとなることが報告されてい る^{6,7)}。

まず、最初に設計・合成したAnt-BProtを共有結合を 介してポリウレタンウレアに導入した。このポリウレタ ンウレアはメタノールに溶解し、そのメタノール溶液を 用いて溶媒キャスト法により製膜すると、初期状態では ポリウレタンと同様、ある程度の赤色蛍光強度が観察さ れた(図6上)。しかし、50%程度の水を吸収し、ヒドロ ゲルとなると、初期状態での蛍光強度を大幅に抑えるこ とができ、伸縮に応じて大きくその蛍光強度を変化させ ることが分かった(図6下)。これは、より親水的な環境 となることで、緑色蛍光団が導入された環状分子と消光



図6. Ant-BProtを導入したポリウレタンウレアフィルムが 含水前(上)、含水後(下)に示す蛍光強度変化

団の会合定数が上昇し、FRETが抑えられたことが原因 であると考えられる。

4. まとめ

以上本研究では、FRET機構を導入したロタキサン型 超分子メカノフォアを開発することに成功した。さらに、 ポリウレタンウレアの主鎖に共有結合を介して導入し、 得られたフィルムをハイドロゲルとすることで、伸縮に 応じて赤色蛍光強度が大きく変化することが明らかに なった。FRET機構が活用できることが明らかとなった ことにより、今後、ロタキサンに導入できる蛍光団の選 択肢が増えることになる。また、水が多く含まれるヒド ロゲル中においてもロタキサン型超分子メカノフォアが 機能することを確認できた意義は大きく、今後生体材料 などへの適用を考えた際には非常に重要なマイルストー ンとなる。また、本研究課題で得られた研究成果に関す る投稿論文を現在作成中である。

5. 謝辞

本研究は、公益財団法人松籟科学技術振興財団からの 助成金の支援を得て行われた。財団関係者、並びに選考 委員の先生方に篤く御礼申し上げる。

6. 参考文献

- Y. Chen, G. Mellot, D. van Luijk, C. Creton, R. P. Sijbesma, *Chem. Soc. Rev.* 2021, *50*, 4100 4140.
- 2) H. Traeger, D. J. Kiebala, C. Weder, S. Schrettl, Macromol. Rapid Commun. 2021, 2000573
- 3) Y. Sagara, M. Karman, E. Verde-Sesto, K. Matsuo, Y. Kim, N. Tamaoki, C. Weder, *J. Am. Chem. Soc.* 2018, *140*, 1584-1587.
- 4) Y. Sagara, M. Karman, A. Seki, M. Pannipara, N. Tamaoki, C. Weder, ACS Cent. Sci. 2019, 5, 874–881.
- 5) T. Muramatsu, Y. Sagara, H. Traeger, N. Tamaoki,
 C. Weder, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2019, *11*, 24571-24576.
- N. Yang, H. Yang, Z. Shao, M. Guo, *Macromol. Rapid Commun.* 2017, 38, 1700275.
- 7) B.-H. Cao, W. Chen, W.-Y. Wei, Y.-L. Chen, Y. Yuan, *Chin. J. Polym. Sci.* 2021, 39, 1403-1411.

有機系新素材の開発:芳香環直接構築法の利用

千葉大学 大学院理学研究院 吉田 和弘

1. 緒言

チオフェン環を含む縮合多環芳香族化合物には、優れ た半導体特性を持つものが多い。そのため、この種の化 合物の効率的な合成法が求められている。半世紀以上前 に、Dayagiらによって、1,1-ジフェニルエチレン1aに対 してSs硫黄を反応させることで隣接するベンゼン環と二 重結合を硫黄で繋いだ四環性化合物2aが合成できるこ とが報告されている¹⁾。本反応は、4箇所ものC-H結合 を一挙にC-S結合に置き換えることで、[1] ベンゾチオ フェノ [2,3-b] [1] ベンゾチオフェン(BTBT)誘導体 を得るという大変ポテンシャルの高い反応であるが、無 溶媒、240度というかなり過酷な条件下で実施されてい るためか、報告後、これまで特に注目されることはなかっ た。我々は、本反応をより魅力的なものにすべく、新た な反応条件を探索した。結果的には、単体ヨウ素を添加 剤として加えることで反応をより温和な条件下で実施で きることを明らかにすることができたので、以下、その 成果を報告する。

2. 結果と考察

まずはじめに、トルエン溶媒中、1aと4当量のS₈を還 流条件下、4 h反応させてみた。しかしながら、期待し ていた2aは全く生成しなかった(表1, entry 1)。そこで 次に、いくつかの添加剤の効果を確認してみた(entries 2-4)。結果、1 等量のヨウ素を添加剤として用いた際に、 効果が認められ、2aの前駆体であるフェニルベンゾチ オフェン3aが高い収率で生成してくることが分かった (entry 4)。ここで、他の溶媒をいくつか検討してみたが、 トルエンを溶媒として用いた場合を上回る成果は得られ なかった(entries 4 vs. 5-7)。次に、トルエンを溶媒と して、ヨウ素の添加量を2等量に増やしてみた。その結 果、3aと共に、目的としていた2aが11%収率で得られて きた(entry 8)。次に、反応時間を4 hから24 h、48 hと 延ばしてみたところ、中間体である3aの収率が徐々に 低下し、2aの収率が22%、49%と次第に向上してくるこ とが分かった(entries 9-10)。ここで、反応をさらに加 速する目的で、ヨウ素の添加量をさらに4 等量に増やし て、24 hで反応を行ったところ、36%収率の3aと共に、 2aが52%収率で得られてきた(entry 11)。なお、この条 件下での副生成物に関してであるが、1aの還元生成物 である4aと二量化生成物である5aが、それぞれ6%収率、 3%収率で副生してきた。2aの収率をさらに向上させよ うとして、反応時間をさらに増やしたり(entry 12)、ヨウ素の添加量をさらに増やしたり(entry 15)、帰属困難な化合物の副生が深刻となった。複雑な 分子間反応が進行したことによるものと考えている。

次に、3aが最高の収率で得られた表1のentry 4の条 件をconditions A、2aが最高の収率で得られたentry 11 の条件をconditions Bとして、2aと3aの誘導体の合成を 試みた(表2)。まず、4位にメチル基を導入した基質1b に対して、conditions Aで反応を行ったところ、35%収 率の3bと共に、6%の2bが得られた(entry 3)。また、 conditions Bで反応を行ったところ、3bは生成せず、2b が28%の収率で生成してきた(entry 4)。4位にt-ブチル 基を導入した基質1cを用いた場合にも同様の結果が得 られた(entries 5-6)。一方、4位にメトキシ基を導入し た基質1dでは、副生成物の生成が深刻化し、目的物の 収率が低下した(entries 7-8)。また、4位に電子吸引性 置換基であるフルオロ基を導入した基質1eの場合は、 比較的良好な収率で目的物を得ることができた(entries 9-10)²⁰。

以上のように、我々はヨウ素を利用することで1から 2を得る反応がトルエン溶媒中、還流下で実施できるこ

表1. 反応条件の最適化。 Ph S₈, additive solvent, reflux /le time Ph 2a 3a 4a 5a 1a yield of **3a** $(\%)^{b}$ S₈ (equiv) time (h) additive (equiv) yield of 2a (%)^b entry solvent 0 1 4 toluene 4 0 none $\mathbf{2}$ CuI (1) toluene 4 0 0 4 $AlCl_3$ (1) 3 4 toluene 4 0 0 $I_2(1)$ 82 4^c 4 toluene 4 0 THF 5 4 $I_2(1)$ 4 0 0 6 $I_2(1)$ $CHCl_3$ 0 37 4 4 7 4 $I_2(1)$ DMF 4 0 40 $I_2(2)$ 8 4 toluene 4 11 66 $I_2(2)$ 22 9 24 53 4 toluene $I_2 \ (2)$ 1710 toluene 48 49 4 11^d 4 I_2 (4) 2452 36 toluene 12 4 $I_2 \ (4)$ toluene 48 22 0 0 13 4 I_2 (5) 2435 toluene 1433 0 4 I_2 (6) toluene 2415 8 I_2 (4) toluene 2441 0

^{*a*} The reaction was carried out with **1a**, S_8 (4 or 8 equiv), and additive (1-6 equiv) in solvent at refluxing temperature for 4-48 h under nitrogen. ^{*b*} The yield was determined by ¹H NMR analysis of the crude mixture using 1,4-bis(trimethylsilyl) benzene as the internal standard. ^{*c*} **4a** (13% yield) was formed as the side product. ^{*d*} **4a** (6% yield) and **5a** (3% yield) were formed as the side products.

表2. 基質適用範囲^a



entry	substrate	R	conditions	yield of $2 (\%)^b$	yield of 3 $(\%)^{b}$
1	1a	Н	А	0 82	
2			В	52 36	
3	1b	4-Me	А	6 35	
4			В	28 0	
5	1c	4- ^{<i>t</i>} Bu	А	3 70	
6			В	24 0	
7	1d	4-MeO	А	9 20	
8			В	17	0
9	1e	4-F	А	0	58
10			В	38	33

^{*a*} The reaction was carried out with 1, S_8 (4 equiv), and I_2 (1 or 4 equiv) in toluene at refluxing temperature for 4 or 24 h under nitrogen. ^{*b*} The yield was determined by ¹H NMR analysis of the crude mixture using 1,4-bis(trimethylsilyl)benzene as the internal standard.





entry	S ₈ (equiv)	I ₂ (equiv)	additive	time (h)	yield of 2a (%)
1	4	4		24	46
2	0.3	4		24	40
3	0.2	4		24	53
4	0.125	4		24	44
5	0.2	1		24	2
6	0.2	7		24	74
7	0.2	10		24	50
8	0.2	7		6	32
9	0.2	7		48	<u>79</u>
10	0.2	7		72	67
11	0.2	7	K_2CO_3	24	59
12	0.2	7	Et ₃ N	24	58
13	0.2	7	<i>p</i> -TsOH	24	67

^{*a*} The reaction was carried out with 3-phenylbenzo [*b*] thiophene (**3a**), S_8 (0.125–4 equiv), I_2 (1–10 equiv), and additive (1 equiv) in toluene at 110 °C for 6–72 h. ^{*b*} The yield was determined by ¹H NMR analysis of the crude mixture using 1,4-bis (trimethylsilyl) benzene as the internal standard.

とを見出した。しかし、この反応では、目的物である2 の他に中間体と考えられるフェニルベンゾチオフェン3 や還元生成物4、二量化生成物5の副生も無視できない ことが分かった。そして、これらの副生成物を含む混合 物から極性の似通った目的のBTBT 2をシリカゲルクロ マトグラフィーによって分離する作業は困難であった。 そこで次に我々は、3-ブロモベンゾ [b] チオフェン誘 導体とアリールボロン酸のクロスカップリン反応によっ て別途調製した3-アリールベンゾチオフェン誘導体3を 出発原料にすることで、この手の分離の煩わしい副生成 物が生じない新たなBTBT 2の合成法を開発することに した。

まずはじめに、以前に我々が見出した1aから2aを得 る反応条件下で、3aから2aへの変換を実施してみた(表3, entry 1)。結果は、46%の収率で2aが得られ、この際、 当然ではあるが、4aや5aの副生は観察されなかった。 次に、分子硫黄の添加量を低減する試みを行った (entries 2-4)。その結果、硫黄の添加量は4当量から0.2 当量まで低減しても全く問題ないことが分かった。一方、 ヨウ素の添加量は反応の成否にとても重要な影響を与え ることが分かった。ヨウ素の添加量を4等量から1等量 に低減してみたところ、2aの収率はわずか2%となった (entry 5)。一方、ヨウ素の添加量を7等量まで増やすと、 2aの収率は74%に向上した(entry 6)。さらに、ヨウ素 の添加量を10等量まで増やしたところ、BTBTの収率は 若干低下した(entry 7)。次に、分子硫黄の量を0.2等量、 ヨウ素の量を7等量に固定して、反応時間の検討を行っ た(entries 6 vs.8-10)。反応時間が24 時間よりも短いと、 コンバージョンが悪く(entry 8)、一方で、72 時間のよ うに長時間になると、クルードのNMRでブロードニン グした帰属できない化合物の副生が深刻になる様子が観 察された(entry 10)。結果として、48 時間程度が好ま しい反応時間ということが分かった (entry 9)。最後に、 副生するヨウ化水素の捕捉を意図して炭酸カリウムやト リエチルアミンの添加を行ってみたが、特に有意義な データは得られなかった(entries 11-12)。また、逆に、 反応の加速効果を期待して、パラトルエンスルホン酸の 添加も実施してみたが、こちらも特に有意義な結果には 結びつかなかった(entry 13)

次に、表1のentry 9の反応条件をベースにして、様々 なアリールベンゾチオフェン誘導体3に対して同反応を 適用した(表4)。



a The reaction was carried out with 3-phenylbenzo [b] thiophene (**3a**), S₈, and I₂ in toluene at 110 °C. ^{*b*} The yield was determined by ¹H NMR analysis of the crude mixture using 1,4-bis(trimethylsilyl)benzene as the internal standard.

3の3位にパラトリル基、パラエチルフェニル基、ビ フェニル基を導入してみたところ、問題なく対応する目 的物2b-dが得られてくることが分かった。またアリール 基として電子リッチなキシリル基を導入した際も、良好 な収率で目的物2fが得られてくることが分かった。一方、 電子不足なパラクロロフェニル基をもつ基質の反応性は 低く、目的物2eの収率は低調であった。また、分子内 で立体障害の問題が生じてしまう生成物 2gの収率も低 調であった。一方、ベンゾチオフェン骨格の5位にメチ ル基、クロロ基、4フルオロフェニル基なども導入して みたが、この場合は問題なく反応が進行し、目的物2h-k がいずれも良好な収率で得られてきた。

3. まとめ

以上、我々は1,1-ジアリールエテンと分子硫黄を反応 させてBTBT誘導体を得る反応に関する研究を行った。 半世紀前に報告されている本反応は、無溶媒、240度と いう過酷な条件下で実施されていたが、今回我々は単体 ヨウ素を添加することによって本反応をトルエン溶媒 中、還流温度条件下で実施することに成功した。また、 我々はさらに本反応を改良し、分離困難な副生成物を伴 わないより実用的な合成法を開発することにも成功し た。現在、本反応をさらに改良した一般性の高い合成法 の開発研究に取り組んでいる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、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御礼申し 上げます。また、本研究の共同研究者の皆様に心より感 謝申し上げます。

参考文献

- S. Dayagi, I. Goldberg, U. Shmueli, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 411–419, and references cited therein.
- 2) S. Sakai, K. Sato, K. Yoshida, *Tetrahedron Letters* 2020, 61, 151476.

糖鎖高分子のワンポット化学-酵素合成法の開発

京都工芸繊維大学 繊維学系 田中 知成

1. 緒言

糖鎖高分子は、合成高分子を主鎖とし、その側鎖に複数の糖分子を結合した構造の機能性高分子として、バイ オマテリアルやメディカル材料などさまざまな分野での 利用が期待され、研究開発が進められている。糖鎖高分 子では、高分子主鎖の周りに多数の糖分子が高密度に集 まることで多価(クラスター)となり、糖一分子の場合に 比べて糖結合性タンパク質(レクチン)やウイルス、毒素 などとの結合が強くなることが特徴である。これは"糖 クラスター効果"と呼ばれている。

糖鎖高分子の典型的な合成経路は、糖担持モノマーを 重合する方法(糖担持モノマー重合法)と、あらかじめ合 成した高分子主鎖に別途合成した糖誘導体を付加する方 法(重合後修飾法)の2通りに大別される。いずれの方法 においても、糖担持モノマーおよび糖誘導体の合成は、 糖のヒドロキシ基の保護・脱保護を含む多段階の反応が 必要となることが一般的であり、簡便な糖鎖子分子合成 法は少ないのが現状である。これまで重合後修飾法では、 アミノ基を有するグルコサミンの利用や糖ラクトン誘導 体を用いる方法などによる糖鎖高分子のワンポット合成 がいくつか報告されているが、糖担持モノマー合成法に よって無保護糖から糖鎖高分子をワンポット合成した例 は、筆者らの知る限り報告されていなかった。

糖加水分解酵素を触媒とするグリコシル化反応は、酵素と基質が比較的安定で取り扱いが容易なため、さまざまなオリゴ糖や糖誘導体の合成で工業的にも利用されている。糖加水分解酵素を触媒とするグリコシル化反応では、反応を効率的に進行させるため、p-ニトロフェニルグリコシド(pNP糖)などの活性化された糖供与体基質を利用する場合が多い。フッ化糖や糖オキサゾリン誘導体も同様に有効な活性化基質として知られているが、いずれの基質もヒドロキシ基の保護・脱保護を含む多段階の

有機合成法によって合成することが必要である。筆者ら は以前、水溶性脱水縮合剤4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリ アジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド(DMT-MM)を用いることで、無保護糖から新規な糖誘導体4,6-ジメトキシ-1.3.5-トリアジン-2-イルグリコシド(DMT糖) を水中で一段階合成し、得られるDMT糖が糖加水分解 酵素を触媒とするグリコシル化反応の糖供与体基質に適 していることを見い出した。本研究では、DMT糖の合 成およびDMT糖を基質とした糖加水分解酵素によるグ リコシル化反応を基盤として、糖鎖高分子を無保護糖か ら水中かつワンポットで合成することを目指した(図 1)。具体的には、無保護糖を原料にDMT糖を合成した 後、糖加水分解酵素を用いたグリコシル化反応によって 糖担持モノマーを合成、得られた糖担持モノマーをラジ カル重合することで、目的の糖鎖高分子を合成する。こ れら3つの反応はいずれも水溶液中での反応であるた め、各生成物を単離精製することなくワンポットで行う



図1. 糖鎖高分子の水中ワンポット合成.

ことが可能と考えた。糖加水分解酵素を用いたグリコシ ル化反応に利用される一般的な糖供与体であるpNP糖や フッ化糖は、有機溶媒中での多段階の化学合成が必要で あるため、上記のような本研究で行うワンポット合成は 不可能である。

2. 実験と結果

D-ガラクトース(Gal)を原料とする糖鎖高分子のワン ポット合成スキームを図2に示した。2.6-ルチジン存在 下、GalとDMT-MMを水中で反応することで4.6-ジメト キシ-1,3.5-トリアジン-2-イル- β -D-ガラクトピラノシド (DMT-Gal)を合成した。ワンポット合成を行う前に、 単離したDMT-Galを用いて、糖担持モノマーの酵素合 成条件の最適化を行った。*Aspergillus oryzae*由来 β -ガ ラクトシダーゼを触媒に用いて、30[°]Cの緩衝液中で DMT-Galと*N*-(2-ヒドロキシエチル)アクリルアミド (HEAAm)を反応し、糖担持モノマー1aの合成を行った。 HPLC分析の結果、DMT-Galの減少に伴い、目的化合物 1aの増加を確認した(図3a)。酢酸緩衝液(pH 5.0)中で 10vol%または20vol%のアセトニトリル(MeCN)を添加 し、5 当量のHEAAmを用いて反応を行った場合、1aの 最大収率はそれぞれ11%および10%となった(図4a, b)。 DMT-Galの消失後、1aは酵素加水分解によって加水分 解され、徐々に減少した。リン酸緩衝液(pH 6.0)中で MeCN未添加または10vol% MeCNを添加して反応を 行った場合、1aの最大収率はいずれの場合も最大19%と なった(図4c, d)。10vol%のMeCNを添加した場合には、 MeCNの添加により酵素活性が低下し、1aの加水分解が 抑えられたと考えられる20vol%のMeCNを添加した場 合には反応の進行が遅くなり、24時間で収率17%となっ た(図4e)。HEAAmを3当量に減らして反応すると、1a の収率は8%となった(図4f)。これらの結果より、 DMT-Galを基質とした β-ガラクトシダーゼによる糖担 持モノマー合成は、pHを酵素の至適4.5から少しずらし たpH 6で10vol%のMeCNを添加する条件が最適である と判断した。生成物1aを分取HPLCで単離し、NMRで 分析したところ、ビニル基とGalに由来するシグナルが 各々、6.2~5.7ppmおよび4.3~3.4ppmに確認できたこと などから、目的の生成物であることを確認した(図5a)。 同様に、N-(2-ヒドロキシエチル)メタクリルアミド (HEMAAm)、2-ヒドロキシエチルアクリレート(HEA)、 2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)を5当量用



図2. 無保護ガラクトースを原料とする糖鎖高分子のワンポット合成







図4. DMT-Galおよびβ-ガラクトシダーゼによる糖担持モノマー1a合成の経時変化. ●収率、▲ DMT-Gal濃度.
(a) pH 5.0, MeCN 10%, (b) pH 5.0, MeCN 20%, (c) pH 6.0, MeCN 0%, (d) pH 6.0, MeCN 10%, (e) pH 6.0, MeCN 20%, (f) pH 6.0, MeCN 10%. (a-e) HEAAm: 5当量, (f) HEAAm: 3当量.

いて、pH 6、10vol%のMeCN添加の条件で酵素反応を 行った場合、各々、25%、11%、11%の収率で対応する 糖担持モノマー1b-dが合成できることを確認した(図 3b)。

これらβ-ガラクトシダーゼを用いる酵素反応による 糖担持モノマー1aおよび1b合成の良好な結果を基に、 無保護Galからの糖鎖高分子のワンポット合成を試みた。 すなわち3つの反応、DMT-Gal合成、酵素触媒糖担持 モノマー合成、ラジカル重合を、各反応で生じる生成物 を単離することなく次の反応に供することで、無保護糖 からワンポットでの糖鎖高分子合成を行った(図2)。

Galを 原料 にDMT-MMを 使用 して、 室温、 水中 で DMT-Galを合成した。DMT-Gal は60%の収率で生成し た。続いて、DMT-Galを含む反応溶液をリン酸緩衝液(pH 6) で所定濃度になるよう希釈し、β-ガラクトシダーゼ と5当量のHEAAm、10vol%となるようにMeCNを加え た後、30℃で16時間インキュベートした。この時、1aが 収率13% (DMT-Gal基準) で得られた。DMT-Gal合成に 使用する2.6-ルチジンや過剰に使用するDMT-MMから の副生成物が酵素反応溶液に含まれるため、ワンポット プロセスでの1aの収率は、単離したDMT-Galを用いた 酵素反応時の収率19%に対してやや低下した。次に、以 降の工程中で酵素が働いてGalが加水分解されないよう、 糖担持モノマー1aを含む酵素反応溶液を85℃で5分加熱 処理して酵素を失活させた後、水溶性ラジカル開始剤 2,2'-アゾビス [2-(2-イミダゾリン-2-イル) プロパン]二 塩酸塩(VA-044)を添加し、減圧下、44℃で2時間、ラ ジカル重合を行った。反応系中に存在する1aおよび酵 素反応時に過剰に加えたため残存しているHEAAmのラ ンダム共重合体生成物として、目的の糖鎖高分子2aが 生成し、透析により精製した。¹H NMR分析によって、 高分子主鎖骨格とGalのシグナルを各々、2.2~1.3 ppm と4.3~3.4 ppmに確認した(図5b)。同様に、無保護の Galを出発物質として糖担持モノマー1bを経由する糖鎖 高分子2bのワンポット合成にも成功した。ワンポット 合成により得られた糖鎖高分子2aおよび2bの解析結果 を表1に示した。糖鎖高分子2aおよび2bの総収率は 各々、41%および49%となり、糖鎖高分子中の糖担持ユ



図5. (a)糖担持モノマー1a、(b)糖鎖高分子2aの¹H NMRスペクトル in D₂O

表1. ワンポット合成した糖鎖高分子

糖鎖 高分子	収率 / %"	$M_{ m n}$ / g mol ^{-1 b}	$M_{ m w}/M_{ m n}{}^b$	糖導入率 / %	
2a	41	85600	5.3	6.4	
2b	49	25600	2.2	4.1	
4	60	71500	4.9	2.2	
a 塘端古八子の人田友 b CDCは田ふと啓山					

^{*} 糖鎖局分子の全収率 [®] GPC結果から算出 ^c¹H NMR結果から算出した糖ユニット割合

ニット含有率は、6.4%および4.1%であった。

このワンポット合成法が他の無保護糖にも適用可能で あることを示すため、ラクトース(Lac)への適用を試み た(図6)。 Galの場合と同様に、DMT-MMとの反応に よるDMT-Lac合成、続いて*Trichoderma reesei*由来セ ルラーゼを触媒とする糖担持モノマー**3**の合成、最後に ラジカル重合をワンポットで連続的に行い、Lacが側鎖 に担持された糖鎖高分子**4**を合成することに成功した

(表1)。

最後に、ワンポット合成した糖鎖高分子2aおよび2b のレクチン結合試験を行った。Galに特異的に結合する Arachis hypogaea由来レクチン(PNA)を用いてリン酸生 理食塩緩衝液中で評価した。糖鎖高分子溶液にフルオレ セインイソチオシアネート(FITC)標識PNAを添加する と、糖鎖高分子とレクチンの結合によって凝集沈殿が生 成し、溶液中の蛍光強度が大きく変化した(図7)。一方、 FITC標識ウシ血清アルブミン(BSA)を添加した場合に は、蛍光強度の変化はわずかであった。また、糖鎖高分 子中のGal濃度と同濃度となるよう無保護Galを調製して FITC標識PNAと混合しても、蛍光強度の変化はわずか であった。さらに、糖鎖高分子と無保護Galの両方を FITC標識PNA溶液に添加した場合には、糖鎖高分子の みを添加した場合と同様に、蛍光強度の変化が確認でき



図6. 無保護ラクトースを原料とする糖鎖高分子のワンポット合成



図7. 糖鎖高分子(a) 2a、(b) 2bのレクチン結合評価

た。これらの結果より、本研究にて無保護糖からワンポッ ト合成した糖鎖高分子は、糖鎖高分子中で複数の糖分子 による多価効果によって、レクチンと強く特異的に結合 する糖クラスター効果を有することが示された。

3. 結言

本研究では、化学-酵素プロセスによって糖鎖高分子 を無保護糖からワンポットで合成することに成功した。 無保護糖のGalおよびLacから合成したDMT糖を酵素反 応の基質として用い、糖加水分解酵素によって合成され た糖担持モノマーを単離することなく重合反応に供する ことで、目的の糖鎖高分子をワンポット合成することが できた。このワンポット合成は、中間化合物を一切、単 離することなく実施でき、さらに全工程を水溶液中で行 うことが特徴である。また、このワンポット合成により 得られた糖鎖高分子は、対応するレクチンと強く特異的 に結合する糖クラスター効果を有することを確認した。 今後、この糖鎖高分子のワンポット合成法が、より多く の種類の糖に適用され、簡便に糖鎖高分子を合成するた めのツールとして、糖質マテリアル分野の発展に貢献す ることを期待する。 謝辞

本研究は、公益財団法人松籟科学技術振興財団の支援 を受けて行った。ここに感謝の意を表します。

研究成果発表

論文

- Tomonari Tanaka*, Ayane Matsuura, Yuji Aso, Hitomi Ohara, One-pot chemoenzymatic synthesis of glycopolymers from unprotected sugars via glycosidase-catalysed glycosylation using triazinyl glycosides, *Chemical Communications*, 2020, 56, 10321-10324.
- Tomonari Tanaka*, Ayane Matsuura, Yuji Aso, Hitomi Ohara, Aqueous One-pot Synthesis of Glycopolymers by Glycosidase-catalyzed Glycomonomer Synthesis Using 4,6-Dimetoxy Triazinyl Glycoside Followed by Radical Polymerization, *Journal of Applied Glycoscience*, 2020, 67, 119-127.

学会発表

- ○松浦彩音,田中知成,糖トリアジン誘導体を糖供与 体とした糖担持モノマーの酵素合成,第68回高分子 討論会,福井大学文京キャンパス,2019/9/25-27.
- OAyane Matsuura, Tomonari Tanaka, One-pot chemo-enzymatic synthesis of glycopolymers via a dimethoxy triazinyl glycoside, 5th International Symposium on Advances in Sustainable Polymers (ASP-19), Kyoto, Japan, 2019/10/15-18.
- ○田中知成,松浦彩音,糖トリアジン誘導体を用いた 糖鎖高分子の保護基フリーワンポット化学-酵素合 成,日本化学会第100春季年会(2020),2020/3/22-25.
- ○田中知成, 松浦彩音, 無保護糖を原料とした水中での糖鎖高分子のワンポット化学酵素合成, 第70回高分子学会年次大会, オンライン開催, 2021/5/26-28, 広報委員会パブリシティ賞受賞.
- 5. OTomonari Tanaka, Ayane Matsuura, Aqueous one-pot and chemo-enzymatic synthesis of glycopolymers from unprotected sugars via triazinyl glycosides, 30th International Carbohydrate Symposium (ICS2022), Brazil (online), 2022/7/10-15.

ヘテロ縮環芳香族を基盤とした非フラーレンアクセプターによる 高効率有機薄膜太陽電池の実現

兵庫県立大学 大学院工学研究科 梅山 有和

1.研究背景と目的

有機薄膜太陽電池(organic photovoltaic, OPV)は、 塗って作製できる取り扱いの容易さや、軽量性・柔軟性 に富むことなどから、次世代の太陽電池として期待され ている。OPVの光活性層では有機半導体材料が用いら れるため、シリコンなどの無機太陽電池とは様々な点で 異なる。OPVの光電流発生機構は、1)太陽光吸収によ る励起子の形成、2)励起子のドナー・アクセプター界 面への拡散(exciton diffusion, ED)、3) 界面での電荷 移動状態の形成(charge transfer, CT)、4) 電荷解離に よる自由電荷(独立に動くことができる電子と正孔)の形 成(charge dissociation, CD)、5) 電極での電子・正孔 の収集、の5段階に分類できる¹⁾。OPVにおいては、無 機太陽電池とは異なり、光吸収により生成する励起子は、 室温で自由電荷を自発的に生じることができない。その ため、電子ドナー性と電子アクセプター性の二種類の有 機半導体からなる複合膜を光活性層に用い、そのエネル ギー準位差を利用して、ドナー・アクセプター界面にて 自由電荷を生じさせている。

OPVの光活性層に用いられる有機半導体には、以下 の2つの特性が求められる。

- i)可視から近赤外に及ぶ太陽光を効率よく吸収するため、1.4から1.5 eV程度の小さなバンドギャップを有する。
- ii) 生じた一重項励起子が、効率よくドナー・アクセプター界面に到達できるように、長い寿命を有する。

しかしながら、バンドギャップが小さい有機半導体は、 一般的に一重項励起子の寿命が短く(「エネルギーギャッ プ則」として知られている)、そのために励起子拡散長 も数nm程度に限られる。一方、太陽光を十分に吸収す るためには、光活性層は100 nm程度以上の膜厚を要す



図1. ベルクヘテロ接合構造のイメージ。濃色部:電子アクセプター、淡色部:電子ドナー、BE:背面電極、 TE:透明電極。

る。そのため、現在報告されている高効率なOPV素子 の光活性層では、ドナーとアクセプターが十から数ナノ メートルのドメインサイズで相分離した、バルクヘテロ 接合構造(図1)を取らせている。これにより、ドナー・ アクセプター界面の面積を増やし、生じた一重項励起子 が素早く(数十ピコ秒(ps)以下で)界面に到達するよう にしている。しかしながら、このような複雑な構造を、 再現性よく大面積に形成することは困難である。さらに、 光照射時間が長くなるにつれて相分離が進み、ドメイン サイズが大きくなってしまうことが、素子の耐久性低下 につながる。これらの点がOPVの実用化を妨げる大き な要因となっている。

このような背景の中、本研究では、エネルギーギャッ プ則から生じるジレンマを克服するような、つまり、小 さなバンドギャップと長寿命な一重項励起子を両立する 非フラーレンアクセプター(non-fullerene acceptor, NFA)の開発に取り組んだ。

2. 結果と考察

2-1. TACICの設計と光物性

OPVのアクセプター材料として、5年ほど前までは フラーレン誘導体が主に用いられていた^{1,2)}。しかしなが ら最近では、ITIC(図2)³⁾に代表されるような、中央に



図2. TACIC、ITIC、PBDB-T、NTTICの化学構造。

電子豊富ユニットを、両末端に電子不足ユニットを有す るNFAが大きな注目を集めている。NFAは、フラーレ ン誘導体とは異なり、紫外-可視領域に幅広く強い吸収 を持ち、合成が比較的容易で、かつエネルギー準位を調 節しやすい。そのため、フラーレン誘導体を用いた OPVの変換効率(power conversion efficiency, PCE)は 10%程度にとどまっていた一方で¹⁾、NFAを用いたOPV は10-18%の高いPCEが近年報告されている4)。筆者ら は、電子豊富部位としてナノグラフェン構造の一種であ るチエノアザコロネンを、電子不足部位としてITICと 同様1.1-ジシアノメチレン-3-インダノンを有するNFAで あるTACIC-BO(図2)を開発した⁵⁾。チエノアザコロネ ンをNFA構造に組み込んだのは、チエノアザコロネン が薄膜において特異な分子間相互作用を示すことが知ら れており⁶⁾、NFAの励起子ダイナミクスに影響を与える のではと期待したためである。

TACIC-BOのクロロホルム溶液に対して、過渡吸収ス ペクトル測定を行ったところ、1080 nm付近に極大を持 つ一重項励起子に由来する吸収が観測された⁵⁾。その減 衰挙動の解析により(図3a)、溶液中でのTACIC-BOの一 重項励起子寿命は220 psであり、ITIC(176 ps)と比較し て僅かながら長いことがわかった。一方、TACIC薄膜 の時間相関単一光子計数法による蛍光寿命測定(図3b) から、その一重項励起子寿命は1.59 nsであり、溶液と比 較して大きく長寿命化していた。これは、ITIC(薄膜で の一重項励起子寿命:29.2 ps)を含む一般的な有機半導 体が、薄膜中で一重項励起子が短寿命化することと対照



図3. (a) TACIC-BO溶液の過渡吸収プロファイル。検出波長:1050 nm、励起波長:650 nm、溶媒:クロロホルム。(b) TACIC-BO薄膜の蛍光減衰(ドット)、減衰フィッティング(太線)、装置応答関数(細線)。検出波長:781 nm、励起波長:636 nm。

的である。薄膜中では、チエノアザコロネン間の特異な π - π 相互作用がTACIC-BOの無輻射失活を抑制したと 考えられる。このような特性を凝集誘起発光 (aggregation induced emission、AIE)として発光材料 に応用する研究が近年注目を集めているが⁷⁾、OPVに適 用された例はこれが初めてである。一方、吸収スペクト ルから見積もったTACIC-BOおよびITIC薄膜の光学バ ンドギャップは、それぞれ1.59 eV および1.65 eVであっ た。TACIC-BO薄膜では、小さなバンドギャップと長寿 命一重項励起子の両立が達成されたと言える。

2-2. PBDB-T: TACIC複合膜の光物性

TACIC-BOと共役系ポリマードナーであるPBDB-T (図 2)の複合薄膜を作製した⁵⁾。それを光活性層に用い、 ITO/ZnO/PBDB-T:TACIC-BO/MoO₃/Agの構造を有 するOPV素子を作製し、その性能評価を行ったところ、 PCEは9.92%(短絡電流密度 $J_{SC} = 16.59 \text{ mA cm}^{-2}$ 、開放 電圧 $V_{OC} = 0.982 \text{ V}$ 、曲線因子FF = 0.609)であった。一 方、PBDB-T:ITIC複合膜を光活性層とした素子のPCE は9.71%($J_{SC} = 16.02 \text{ mA cm}^{-2}$ 、 $V_{OC} = 0.885 \text{ V}$ 、FF = 0.609)であった。TACICとITICの素子で J_{SC} は同程度で あったが、TACIC-BOはITICよりも高いLUMO準位を 有するために V_{OC} が高くなった。またTACIC-BOにおい ては電子移動度が正孔移動度と比較して低いために、電 荷移動度バランスが悪くなり、FFが低くなった。結果 としてTACIC-BOとITICのPCEは同程度になったと言 える。

PBDB-T:TACIC-BO複合膜の光ダイナミクスを詳細 に調べるため、その過渡吸収スペクトルを、主に TACIC-BOが吸収する700 nmの励起光を用いて測定し



図4. (a) PBDB-T:TACIC-BOの過渡吸収スペクトル。励 起波長:650 nm。(b) PBDB-T:TACIC-BOの過渡吸 収プロファイル。検出波長:550 nm。(c) TACIC-BO を励起した際のPBDB-T:TACIC-BO中でのEDとCT の様子。

た(図4a)⁵⁾。TACICの一重項励起子に由来する吸収極大 が550 nmと1080 nmに観察されたが、その寿命は60 ps であり(図4b)、その後に電荷分離状態の形成を示すシ グナルが観察された。このTACIC-BOの一重項励起子寿 命は、PBDB-T:ITIC複合膜において、ITICの一重項 励起子寿命が100 fs以下であることと比べると極めて長 い。PBDB-T: TACIC-BO複合膜中で、TACIC-BOが比 較的大きなドメインを形成しており、TACIC-BOドメイ ン中で生じた励起子が、PBDB-TとTACIC-BOの界面ま で到達するのに長い時間がかかったためと考えられる。 しかしながら、PBDB-T:TACIC-BOの蛍光消光実験か ら、TACIC-BOドメインでのED効率は96%以上である ことがわかった。一般に、高いED効率を実現するには、 10 ps以内に励起子が界面に辿り着く必要があるが、 TACIC-BOは薄膜中で長い一重項励起子寿命を有する ため、高いED効率が達成されたと考えられる(図4c)。

また、主にPBDB-Tが吸収する580 nmの励起光を用 いてPBDB-T:TACIC-BOの過渡吸収スペクトル測定を 行ったところ(図5a)⁵⁾、PBDB-T励起状態からTACIC-BOへの直接的な電子移動に加え、TACIC-BOへのエネ ルギー移動が起こった後に電荷分離状態を形成する経路 が確認された(図5b)。これまでに様々な組み合わせの 共役系ポリマーとNFAの複合膜の過渡吸収スペクトル が報告されてきたが、NFAからポリマーへのエネルギー 移動は観測されず、CTが見られるのみであった。 PBDB-T:TACIC-BOではエネルギー移動を促進するよ



図5. (a) PBDB-T:TACIC-BOの過渡吸収スペクトル。励 起波長:580 nm。(b) TACIC-BOを励起した際の PBDB-T:TACIC-BO中でのエネルギー移動(EnT)お よびED、CTの様子。

うな分子配置をとっている可能性が示唆される⁸⁾。

2-3. TACICの側鎖長効果

TACIC-BOのチエノアザコロネン骨格の2,8-位には2-ブチルオクチロキシ基を導入している。これは、チエノ アザコロネンの強い凝集性を抑制し、有機溶媒への溶解 性を高めるためである。そこで筆者らは、2.8-位のアル コキシ基の長さを変化させたTACIC-EHおよびTACIC-HD(図2)を合成した⁹⁾。TACIC-EH, -BO, -HDの光学的・ 電気化学的物性は類似していたが、そのクロロホルムへ の溶解性は、それぞれ6.0.16.60 mg mL⁻¹であり、2.8-位のアルコキシ鎖長が大きく影響することがわかった。 次に、上記と同様に、PBDB-Tを電子ドナー、TACIC-EH, -BO, -HDを電子アクセプターとしたOPV素子を作 製した。まず、光活性層の複合膜構造を調べるため、原 子間力顕微鏡測定を行ったところ、TACIC-BOや TACIC-HDでは比較的滑らかな構造が見られたが、 TACIC-EHではマイクロメートルサイズの凝集体がで きていることがわかった(図6)。通常、このような大き な凝集体が複合膜中に形成すると、ED効率が小さくな るため、PCE値が大幅に低くなる場合が多い¹⁰⁾。そこで OPV性能評価を行ったところ、TACIC-EH, -BO, -HDを 用いた素子で、PCEはそれぞれ7.10%、9.92%、8.21%で あった。大きな凝集体を形成したTACIC-EHを用いた場 合でも、比較的高いPCEが達成されている。これは、 TACIC-EHの一重項励起子の寿命が長く、励起子拡散長



図6. (a) PBDB-T: TACIC-EH、(b) PBDB-T: TACIC-BO、(c) PBDB-T: TACIC-HDの原子間力顕微鏡図(2 μm×2μm)。

が長くなったために、大きな凝集体においても励起子が 効率よくドナー・アクセプター界面まで到達したことに 起因する。

2-4. NTTICの光物性および太陽電池特性

ITICの中心ベンゼン骨格を、二次元的に π 共役拡張 したTACICにより、長寿命励起一重項状態を実現でき たが、TACICの合成には多段階が必要という欠点があ る。そこで筆者らは、ITICの中心ベンゼンをナフタレ ンに拡張したNTTIC(図2)を合成した^{11,12)}。TACICと 比較すると、NTTICの中心電子豊富ユニットの π 共役 系 は 小 さ い が、ITICより 大 き い。またNTTICは、 TACICと比べて容易に合成が可能である。

NTTIC薄膜の蛍光寿命測定から、その一重項励起子 寿命は270 psと見積もられ、TACIC-BO薄膜(1.59 ns)よ り短いが、ITIC薄膜(29.2 ps)より長くなっていた。中 心電子豊富ユニットをベンゼンからナフタレンにすると いう小さな変化でも、薄膜状態の励起子寿命に大きな変 化をもたらすことがわかった。ドナーとしてPBDB-T、 アクセプターとしてNTTICを用いてOPV素子を作製し たところ、PCEは9.95%であり、ITICを用いた場合 (9.71%)よりも僅かながら向上した。原子間力顕微鏡測 定から、PBDB-T:NTTIC薄膜はPBDB-T:ITIC薄膜 よりも凹凸が激しく、ドメインサイズが大きいことが示 唆された。しかしながら、NTTICのより長い一重項励 起子寿命のため、高いED効率が実現でき、PCEが高く なったと考えられる。

3. まとめ

TACIC薄膜において、小さなバンドギャップと極め て長い一重項励起子寿命の両立を達成した。それにより、 マイクロメートルサイズのドメインを有するような複合 膜を用いたOPV素子においても、比較的高いPCEを実

現した。OPVのPCEが光活性層の相分離構造に大きな 影響を受けない、つまり、バルクヘテロ接合構造のドメ インサイズに鈍感である、ということから、作りやすく 安定なOPV素子を実現するための材料設計指針が得ら れたと言える。しかしながら、そのPCEには向上の余地 が大きく残されている。一方で最近大北らにより、 NFAと電子ドナーとのエネルギー準位差を小さくする ことで、OPV素子の電圧損失を抑制できるという報告 がなされた13)。しかしエネルギー差の小さいドナー・ア クセプターの組み合わせでは、CT形成に要する時間が 長くなる。そのため、CT形成効率が低くなり、光電流 発生効率が低下することが課題となっていた。そこで、 TACICのような一重項励起子寿命の長いNFAを活用す ることで、電圧損失の低減(高い電圧値)と高効率CT状 態形成(高い電流値)が可能となると期待される。 NTTICにおいても一重項励起子が長寿命化することか ら、比較的合成が容易なNFAにおいても、同様な効果 が期待できる。今後、さらなるNFA分子構造の最適化 を行うことで、高効率、高安定性、高再現性を併せ持つ 素子を開発することにより、OPVの本格的な実用化に 大きく貢献できると考えている。

4. 謝辞

本研究は、公益社団法人松籟科学技術振興財団からの 研究助成を受けて行われたものであり、ここに厚く御礼 申し上げます。

5. 参考文献

- T. Umeyama and H. Imahori, Acc. Chem. Res., 52, 2046 (2019).
- T. Umeyama, T. Miyata, A. C. Jakowetz, S. Shibata,
 K. Kurotobi, T. Higashino, T. Koganezawa, M. Tsujimoto, S. Gélinas, W. Matsuda, S. Seki, R. H. Friend, and H. Imahori, *Chem. Sci.*, 8, 181 (2017).
- 3) W. Zhao, D. Qian, S. Zhang, S. Li, O. Inganäs, F. Gao, and J. Hou, *Adv. Mater.*, 28, 4734 (2016).
- 4) D. Meng, R. Zheng, Y. Zhao, E. Zhang, L. Dou, and Y. Yang, Adv. Mater., 34, 2107330 (2022).
- T. Umeyama, K. Igarashi, D. Sasada, Y. Tamai, K. Ishida, T. Koganezawa, S. Ohtani, K. Tanaka, H. Ohkita, and H. Imahori, *Chem. Sci.*, 11, 3250

(2020).

- 6) B. He, A. B. Pun, L. M. Klivansky, A. M. McGough,
 Y. Ye, J. Zhu, J. Guo, S. J. Teat, and Y. Liu, *Chem. Mater.*, **26**, 3920 (2014).
- 7) J. Ochi, K. Tanaka, and Y. Chujo, Angew. Chem. Int. Ed., 59, 9841 (2020).
- 8) T. Umeyama, T. Hanaoka, H. Yamada, Y. Namura, S. Mizuno, T. Ohara, J. Baek, J. Park, Y. Takano, K. Stranius, N. V. Tkachenko, and H. Imahori, *Chem. Sci.*, **10**, 6642 (2019).
- 9) T. Umeyama, K. Igarashi, D. Sasada, K. Ishida, T. Koganezawa, S. Ohtani, K. Tanaka, and H. Imahori, ACS Appl. Mater. Interfaces, 12, 39236 (2020).
- 10) T. Umeyama, S. Takahara, S. Shibata, K. Igarashi, T.

Higashino, K. Mishima, K. Yamashita, and H. Imahori, *RSC Adv.*, **8**, 18316 (2018).

- T. Umeyama, K. Igarashi, Y. Tamai, T. Wada, T. Takeyama, D. Sasada, K. Ishida, T. Koganezawa, S. Ohtani, K. Tanaka, H. Ohkita, and H. Imahori, *Sustain. Energy Fuels*, 5, 2028 (2021).
- 12) T. Umeyama, T. Wada, K. Igarashi, K. Kato, A. Yamakata, T. Takeyama, Y. Sakamoto, Y. Tamai, H. Ohkita, K. Ishida, T. Koganezawa, S. Ohtani, K. Tanaka, and H. Imahori, ACS Appl. Energy Mater., 4, 14022 (2021).
- 13) T. Saito, S. Natsuda, K. Imakita, Y. Tamai, and H. Ohkita, Sol. RRL, 4, 2000255 (2020).

新規縮環ホスホール誘導体の合成法開発と物性解明

京都大学 大学院工学研究科 東野 智洋

1. 緒言

π共役分子は、そのπ電子系に由来する光吸収・発光 特性や磁性、刺激に応答して色が変化する各種クロミズ ムなど、多様な性質を発現しうるため、新規π共役分子 の開発が精力的に進められている。近年ではπ電子系に 硫黄(S)やリン(P)といった典型元素を導入することに より、典型元素同士の相互作用や構造の柔軟性、電荷の 分極などの構造的・電子的特徴を活用し、多様なπ共役 機能性分子が実現されてきた。その中でもリン原子を含 むホスホールを活用した分子は高い電子受容性や発光性 を有するため、電子輸送材料や発光材料として期待され ている。さらに、ホスホールに他の芳香環を直接縮環し た化合物は数多く報告されており、縮環させる芳香環の 種類によって様々な性質を発現可能である(Figure 1) [1-3]。特に、ホスホール骨格に対してメチレン架橋して 芳香環を縮環させた分子1 (Figure 1)は、高い光安定性 を持つことが知られており、蛍光イメージング色素とし ての活用が期待されている^[4-6]。

一方、最近我々はメチレン架橋して芳香環を縮環させ た分子が、有機太陽電池の一種である色素増感太陽電池 における高性能色素として利用可能であることを報告し た^[7]。同様に、メチレン架橋して芳香環を縮環させたホ スホール誘導体も、色素増感太陽電池における高性能色 素となることを期待したが、メチレン架橋して芳香環を 縮環させたホスホール誘導体はベンゼン環が直接縮環し たベンゾホスホール骨格を有するものに限られており、 色素増感太陽電池の増感色素に適した分子を合成するこ とが困難であった。そのため、芳香環が直接縮環してい ないホスホール誘導体に対してメチレン架橋して芳香環 を縮環させた分子の汎用的な合成法が確立できれば、新 規縮環ホスホール誘導体、さらには色素増感太陽電池の 新規増感色素の設計・開発につながると期待される。そ a) aromatic-fused phosphole



b) methylene-bridged fused phosphole



Figure 1. Representative examples of fused phospholes (E = lone pair, O, S, BH₃, metal, etc.)

こで本研究では、ホスホールに対してメチレン鎖を介し てベンゼン環を縮環させた分子2 (Figure 1)の合成法開 発に取り組むこととした。

2. メチレン架橋縮環ホスホールの合成検討

代表的なホスホールの合成法として、アルキンに対す るジルコニウム反応剤や低原子価チタン反応剤^[7]を用い た手法が挙げられるが、これらの手法ではアルキンにも ともと結合しているアルキル基やアリール基がβ位の置 換基として導入される (Scheme 1a)^[89]。そのため、メ チレン架橋縮環ホスホールを得る前駆体として考えられ る、ヒドロキシメチル基をβ位に導入することが難しい。 一方で、ジフェニルブタジインに対し1等量の*n*-BuLiと フェニルホスフィンを用い、さらにトリメチルシリルク ロリドと反応させることでβ位にトリメチルシリル基が 導入されたホスホール誘導体3が得られることが報告さ れている (Scheme 1b)^[10,11]。そこで、求電子剤として 用いられているトリメチルシリルクロリドをベンゾフェ ノンに置き換えることで、β位にヒドロキシメチル基を 導入した化合物4の合成を試みた (Scheme 1c)。種々



Scheme 1. Synthesis of phospholes.



Scheme 2. Synthesis of fused phosphole 6.

反応条件の検討を行った結果、目的とする化合物4を収率22%で得ることに成功した。

次に、得られた化合物4に対しBF3:Et2O、CF3COOH を用いた分子内フリーデルクラフツ反応を試みたが、複 雑な混合物を与えるのみであり、メチレン架橋してベン ゼン環が縮環した化合物は得られなかった。一方、化合 物4に対してH2O2を作用させてオキシド体5へと変換 したのち、BF3:Et2Oを用いた反応を行うと、脱水反応が 進行した化合物が収率44%で得られた (Scheme 2)。得 られた化合物のNMRスペクトルや質量分析の結果から、 標的化合物である2であると同定していたが、単結晶を 用いたX線構造解析の結果、メチレン架橋縮環ホスホー ル誘導体2ではなく、2つの5員環をもつジヒドロホス ファペンタレン構造をもつ化合物6であることが明らか となった (Figure 2)。ルイス酸により生じたカチオン 中間体に対し、ホスホールの a 位のベンゼン環での求電 子置換反応が進行すればメチレン架橋縮環ホスホールを 与えるのに対し、ベータ位の置換基として存在するベン ゼン環での求電子置換反応が進行したものと考えられる (Scheme 3)。現在のところ、この反応の選択性につい てはよくわかっていないが、今後DFT計算等を行うこ



Figure 2. X-Ray crystal structure of 6: a) top view and b) side view. Thermal ellipsoids represent 50% probability.



Scheme 3. Possible reaction mechanism.



Figure 3. Fused phospholes with substituents.

とで検討を進めていく予定である。

また、求電子剤として置換基をもつベンゾフェノンを 用いることで、置換基を導入したジヒドロホスファペン タレン骨格をもつ化合物7,8の合成にも成功した (Figure 3)。

3. ジヒドロホスファペンタレンの光学特性

ジクロロメタン中における吸収・発光スペクトルを Figure 4に示す。化合物6と7では吸収に大きな違いが 見られなかったが、化合物8では明確な長波長シフトが 見られた。このことから、ジヒドロホスファペンタレン 骨格はアクセプター性を有しており、メトキシ基の導入 によって分子内CT性の寄与が現れていると考えられる。


Figure 4. a) UV-vis absorption and b) fluorescence spectra of 6 (black), 7 (red), and 8 (blue) in CH₂Cl₂. For fluorescence measurements, the samples were excited at 373 nm where the absorbances were adjusted to be identical for comparison.

また、同一条件下において蛍光強度を測定したところ、 6に比べて7では蛍光強度の増強が見られたが、8では 蛍光強度が大きく減少することが分かった。光学特性に おける置換基効果についても、今後さらに検討を進めて いく予定である。

4. まとめ

メチレン架橋してベンゼン環を縮環させた新規ホス ホール誘導体の合成検討を行っていたところ、予期して いなかったジヒドロホスファペンタレン誘導体が得られ ることを見出した。また、導入する置換基によって蛍光 強度が大きく変化することも明らかにした。ジヒドロホ スファペンタレン骨格をもつ分子の基礎物性の解明をさ らに進めるとともに、機能性分子として活用することを 検討していきたい。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、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深く感謝申し上 げます。本研究は京都大学大学院工学研究科分子工学専 攻 今堀研究室で行われたものです。今堀教授ならびに 本研究に関わる全ての皆さまに感謝申し上げます。

6. 参考文献

- Y. Matano, H. Imahori, Org. Biomol. Chem. 2009, 7, 1258–1271.
- [2] T. Baumgartner, Acc. Chem. Res. 2014, 47, 1613– 1622.
- [3] M. P. Duffy, W. Delaunay, P.-A. Bouit, M. Hissler, Chem. Soc. Rev. 2016, 45, 5296–5310.
- [4] A. Fukazawa, Y. Ichihashi, Y. Kosaka, S. Yamaguchi, *Chem. Asian J.* 2009, 4, 1729–1740.
- [5] E. Yamaguchi, C. Wang, A. Fukazawa, M. Taki, Y. Sato, T. Sasaki, M. Ueda, N. Sasaki, T. Higashiyama, S. Yamaguchi, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 4539-4543.
- [6] C. Wang, M. Taki, Y. Sato, A. Fukazawa, T. Higashiyama, S. Yamaguchi, J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 10374–10381.
- [7] Y. Kurumisawa, T. Higashino, S. Nimura, Y. Tsuji,
 H. Iiyama, H. Imahori, J. Am. Chem. Soc. 2019, 141, 9910–9919.
- [8] P. Fagan, W. Nugent, J. Calabrese, J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 1880–1889.
- [9] Y. Matano, T. Miyajima, T. Nakabuchi, Y. Matsutani, H. Imahori, J. Org. Chem. 2006, 71, 5792–5795.
- [10] G. Märkl, R. Potthast, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1967, 6, 86.
- [11] D. Klintuch, K. Krekić, C. Bruhn, Z. Benkő, R. Pietschnig, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2016, 2016, 718– 725.

発光性ポリカテナンの創出と革新的機能の探求

千葉大学 大学院工学研究院 矢貝 史樹

1. 研究の背景と目的

ポリマーをはじめとするソフトマターの研究領域にお いては、「形(トポロジー)」、すなわち高分子鎖のとりう る「高次構造」や「幾何学的絡み合い」の制御が極めて 重要である¹⁾。これらは、高分子鎖そのものの性質のみ ならず、材料としてのマクロな性質や機能に大きな影響 を与える。

現在、ベンゼンやナフタレンなどの π 電子系有機化合物を π 電子間の相互作用(π - π 相互作用)によって一次元状に積み重ね、ワイヤー状に構造化した材料である**超分子ポリマー**が注目を集めている²⁾。超分子ポリマーの特徴は、重合に化学反応を用いないため、あらゆる機能

性分子をモノマーとして、光吸収・発光・化学反応・励 起子輸送・電荷輸送などの機能を持ったポリマー材料を 簡便に合成できる点にある。その一方で、π-π相互作 用の指向性の高さに由来する剛直性のためにポリマー鎖 の高次構造制御は極めて困難であり、これが機能材料と してのさらなる発展の妨げとなっている(図1A)。

上記の機能と構造のジレンマを打破する革新的分子集 合体として当該研究グループがこの10年をかけてその開 発に成功した材料が、トポロジカル超分子ポリマーであ る^{3,4)}。トポロジカル超分子ポリマーの特徴は、モノマー となるπ電子系分子を直接積層させるのではなく、 DNA塩基に類似した分子(バルビツール酸)の水素結合



図1. 従来の超分子ポリマー(A)とトポロジカル超分子ポリマー(B,C)の比較

によって風車状に6量化する点にある(図1B)。風車状 6量体は特異な幾何学構造を反映し、π-π相互作用に よって積層することで内在性の曲率を生み出す。

我々は まず、バルビツール酸を有するナフタレン化合物が、直 径15 nm程度のリング構造を定量的に形成することを見 出した(図1C-i)⁵⁾。その後、放射光X線ならびに中性子を 用いた構造解析により、風車状6量体の形成によって内 在性曲率が発現することを見出した⁶⁾。この知見を元に、 内在性曲率を失うことなくポリマー鎖がさらに伸長する π電子系分子の分子構造を追求し、ランダムコイル構造 (図1C-ii)⁷⁾ やヘリカルコイル構造(図1C-iii)⁸⁹⁾、さらにヘ リカルコイル構造とリニア構造が融合したキメラ構造 (図1C-iv)¹⁰⁾等、前例のないトポロジーを有する超分子 ポリマーの創製に至った。さらに、光応答性分子を組み 込むことで、トロイド構造を光開環や、ヘリカルコイル -ランダムコイル構造を光により構造変化させることに も成功した11-13)。

我々はさらに、様々なπ電子系分子に対し、加熱モノ マー溶液の冷却速度を制御することで、異なったトポロ ジーを選択的に得る手法も確立した4)。そこで、超分子 ポリマーの新たな重合法として、加熱したモノマー溶液 の冷却ではなく、良溶媒(モノマーがよく溶ける溶媒)の モノマー溶液を貧溶媒(モノマーが溶けない溶媒)にイン ジェクションする手法を図2Aの化合物1に対して適用 した。すると驚いたことに、複数のリングが連結された 「カテナン(鎖状の分子)」が効率よく得られた。さらに、 オリンピックのロゴマークのような、連結数5のカテナ ンも見出された(図2B)。環状分子をいかなる結合をも 用いずにメカニカルに重合させることで得られるカテナ ンは、伸長させてポリカテナンとすることで、従来の高 分子よりもはるかにダイナミックな動きを実現すること ができ、剛直さとしなやかさを兼ね備えた次世代のトポ ロジカル高分子材料として期待される。このようなエキ ゾチックなナノ構造体がAFMで可視化された例はこれ までにない。そこで本研究では、この形成メカニズムな らびに、機能性材料への応用を見据えたカテナンのさら なる伸長、さらに強い発光を示すリングを用いたカテナ ン形成等に取り組んだ。





図2. インジェクション法による超分子重合と、5輪カテナンのAFM像

2. 結果と考察

良溶媒にクロロホルムを、貧溶媒にメチルシクロヘキ サンを用いてインジェクション法により超分子重合し た。溶液をスピンコートしてAFM像100枚を取得し、 5000個リングを数えたところ(リング以外の開いた超分 子ポリマーも得られるため)、150個のリングがナノ[2] カテナン([n]内の数字nは連結したリングの数を指す) を形成していることが明らかになった(図3)。モノマー 基準で算出した収率は1.6%であり、この値は統計的な事 象では到底説明ができないことが判明した¹⁴⁾。さらに、 貧溶媒をメチルシクロヘキサンからより低極性のn-ヘキ サンやn-オクタンなどの直鎖アルカンに変えると、ナノ カテナンの収率は約5~7%まで上昇し、それに対応し て[n]も上昇した。

この異常なカテナン収率を説明しうるメカニズムとし て、我々は2次核形成という、現象に注目した。ある種 の分子集合体は、結晶形成と同様に、「核」となる不安 定な集合体を形成し、それを鋳型として成長することが 知られている。我々の湾曲した超分子ポリマーも核形成 を伴って形成されることがわかっている。ここで、もし



図3. AFM像を利用したカテナン率の算出
 BはAを異なる構造ごとに色付けしたもの。青:開いた超分子ポリマー;緑:単独リング;赤:[2]カテナン

あらかじめ形成されたリングの表面で新たな核形成が起 こりやすければ、カテナンになる確率は格段に上がるは ずである。特にリングの内部で核形成が起これば、高い 確率でカテナンを与える。この、「すでに形成された分 子集合体の表面で核形成が起きやすくなる現象」が二次 核形成である。結晶の核形成においてもよく知られた現 象である。あるいは、アルツハイマー病やパーキンソン 病などの原因であるアミロイド繊維の形成を引き起こす タンパク質の凝集においても極めて重要なプロセスとさ れている¹⁵⁾。

「リング表面における二次核形成」という仮説を証明 するために、我々は様々な実験を行なった。まずはタン パク質の凝集現象における素過程(一次核形成、伸長反 応、二次核形成、断片化など)の寄与を調査する手法で ある"スケーリング法"を検討した¹⁶⁾。様々なモノマー 濃度に対して、超分子重合によりモノマーが半分消費さ れる時間をプロットし、スケーリング則法を適用したと ころ、貧溶媒によって二次核形成の起こりやすさに違い が見られ、環式アルカンより直鎖アルカンの方が二次核 形成が起こりやすいことが分かった。これは、環式アル カンよりも直鎖アルカン中でカテナン率が高くなること と一致する。

さらに、シード(タネ)実験を実施した。超分子ポリマー の形成過程において、伸長プロセスの反応速度は、核形 成過程の反応速度より圧倒的に早い。したがって、核形 成が起こりにくい条件にあるモノマーに超分子ポリマー の鋳型となるタネを加えると、タネの末端から即座に伸 長プロセスが開始される¹⁷⁾。通常超分子ポリマーのタネ は、超音波処理などで細かく砕いた超分子ポリマーの断 片をシードとして用いるが、末端がないリングをタネと



図4. インジェクション法による超分子重合と、5輪カテナンのAFM像

して用いたらどうなるであろうか?末端がないにも関わ らず、核形成プロセスの促進が観察されたとしたら、こ れは二次核形成の証明になるはずである。そこで我々は、 これまでに開発した知見^{18,19)}を駆使してリングを精製・ 単離し、この純粋なリングの溶液(カテナンや他の超分 子ポリマーを含まない)を用いてシード実験を行なった。 1の高温モノマー溶液を冷却していき、核形成温度より 少し低い温度で一定に保った。このまま放置しておくと 約5分の遅延時間を経て核形成が始まることが吸収スペ クトル変化から示された(図4青線)。次に、温度を一定 に保ってすぐにリング溶液をモノマー溶液に加えた。す ると、核形成を示すスペクトル変化が3分程度で始まり (図4赤線)、加えられたリングの表面でモノマーが活性 化され、核形成を引き起こしやすくなることが実験的に 示された。

我々はさらに、カテナンの更なる伸長、すなわちポリ カテナンの創成に取り組んだ。1回のインジェクション のようにモノマーを一気に加えるのではなく、複数回に 分けてインジェクションすることで、カテナンの末端か ら次々と2次核形成が起こるのではないかと考えた(図 5)。そこで、インジェクションの速度・回数・間隔等 を試行し、最終的にモノマー溶液を1秒おきに10回貧溶 媒にインジェクションすると、確実にポリカテナンが得 られるようになった。

図6はこの方法で得ることができた最長のポリ[17] カテナンおよびポリ[22]カテナンのAFM像である。 直鎖状に20個程度のリングが連結しているためこれらの 長さは約500 nmを超え、まさにメゾスケールのトポロ ジカル超分子ポリマーと言える。途中には分岐構造も見



図5. 分割インジェクション法によるポリカテナン形成の模式図



図6. ポリカテナンのAFM

えるため、1つのリングに3つの超分子ポリマー鎖が貫 通できることを示している。

3. まとめ

「一定の曲率を保って超分子重合するモノマー」に「二 次核形成」という新たなエッセンスを加えることで、溶 媒にモノマーを注入するだけで自発的に組み上がる自己 集合性ポリカテナンを創成することができた。²⁰⁾この自 己集合現象は、「核形成→伸長→環化→二次核形成→伸 長→環化→二次核形成→伸長→環化→・・・」という素 過程の繰り返しによることが判明した。現在、ナノリン グを形成することで高発光を示すモノマー分子の開発に 成功している。今後、この高発光リングを利用してポリ カテナンを作成することで、延伸等で発光が変化する高 機能材料の創成が可能になると期待している。さらに、 今後の分子集合体材料開発において、二次核形成は従来 の手法では得られないような構造や物性を導き出すため の新たなツールになると期待できる。

4. 謝辞

本研究の遂行にあたり、研究助成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。 また、参考文献20("Self-Assembled Poly-Catenanes from Supramolecular Toroidal Building Blocks", *Nature* 2020, *583*, 400-405)の共著者として共同研究に 携わってくださった多くの研究者の方に深く感謝申し上 げます。

5. 参考文献

- (1) 手塚育志, 現代化学, 2018, 5, 59.
- (2) Aida, T. ; Meijer, E. W. ; Stupp, S. I. Nature 2012, 335, 813-817.
- (3) Yagai, S.; Kitamoto, Y.; Datta, S.; Adhikari, B.
 Acc. Chem. Res. 2019, 52, 1325 1335.
- (4) Datta, S.; Takahashi, S.; Yagai, S. Acc. Mater. Res., 2022, 3, 259-271
- (5) Yagai, S.; Goto, Y.; Lin, X.; Karatsu, T.;
 Kitamura, A.; Kuzuhara, D.; Yamada, H.;
 Kikkawa, Y.; Saeki, A.; Seki, S. Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 6643-6647.
- (6) Hollamby, M. J. ; Aratsu, K. ; Pauw, B. R. ; Rogers, S. E. ; Smith, A. J. ; Yamauchi, M. ; Lin, X. ; Yagai, S. Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 9890-9893.
- (7) Adhikari, B.; Yamada, Y.; Yamauchi, M.;
 Wakita, K.; Lin, X.; Aratsu, K.; Ohba, T.;
 Karatsu, T.; Hollamby, M. J.; Shimizu, N.;
 Takagi, H.; Haruki, R.; Adachi, S.-i.; Yagai, S. *Nat. Commun.* 2017, 8, 15254.
- (8) Prabhu, D. D.; Aratsu, K.; Kitamoto, Y.; Ouchi, H.;Ohba, T.; Hollamby, M. J.; Shimizu, N.; Takagi,

H. ; Haruki, R. ; Adachi, S. ; Yagai, S. *Sci. Adv.* **2018**, *4*, eaat8466.

- (9) Aratsu, K.; Takeya, R.; Pauw, B. R.; Hollamby, M. J.; Kitamoto, Y.; Shimizu, N.; Takagi, H.; Haruki, R.; Adachi, S.; Yagai, S. *Nat. Commun.* 2020, *11*, 1623.
- (10) Kitamoto, Y.; Pan, Z.; Prabhu, D. D.; Isobe, A.;
 Ohba, T.; Shimizu, N.; Takagi, H.; Haruki, R.;
 Adachi, S.-i.; Yagai, S. *Nat. Commun.* 2019, 10, 4578.
- (11) Adhikari, B.; Aratsu, K.; Davis, J.; Yagai, S.
 Angew. Chem. Int. Ed. 2019, 58, 3764-3768.
- (12) Fukushima, T.; Tamaki, K.; Isobe, A.; Hirose, T.;
 Shimizu, N.; Takagi, H.; Haruki, R.; Adachi, S.-i.;
 Hollamby, M. J.; Yagai, S. J. Am. Chem. Soc.
 2020, 143, 5845-8854.
- (13) Tashiro, K.; Katayama, K.; Tamaki, K.; Pesce, L.; Shimizu, N.; Takagi, H.; Haruki, R.; Hollamby, M. J.; Pavan, G. M.; Yagai, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, *60*, 26986 – 26993.
- (14) Wasserman, E. J. Am. Chem. Soc. 1960, 82, 4433

- 4434.

- (15) Cohen, S. I. A. ; Vendruscolo, M. ; Dobson, C. M. ;
 Knowles, T. P. J. J. Mol. Biol. 2012, 421, 160 171.
- (16) Meisl, G.; Kirkegaard, J. B.; Arosio, P.; Michaels, T.C.; Vendruscolo M.; Dobson, C.M.; Linse, S.; Knowles, T. P. Nat Protoc. 2016, 11, 252 - 272.
- (17) Ogi, S.; Sugiyasu, K.; Manna, S.; Samitsu, S.; Takeuchi, M. Nat. Chem. 2014, 6, 188 – 195.
- (18) Isobe, A.; Prabhu, D. D.; Datta, S.; Aizawa, T.;
 Yagai, S. *Chem. Eur. J.* 2020, *26*, 8997 9004.
- (19) Suzuki, A.; Aratsu, K.; Datta, S.; Shimizu, N.; Takagi, H.; Haruki, R.; Adachi, S.-i.; Hollamby, M.; Silly, F.; Yagai, S. J. Am. Chem. Soc. 2019, 141, 13196-13202.
- (20) Datta, S.; Kato, Y.; Higashiharaguchi, S.; Aratsu, K.; Isobe, A.; Saito, T.; Prabhu, D. D.; Kitamoto, Y.; Hollamby, M. J.; Smith, A. J.; Dalgliesh, R.; Mahmoudi, N.; Pesce, L.; Perego, C.; Pavan, G. M.; Yagai, S. *Nature* 2020, *583*, 400 - 405.

フローフォーカシングデバイスを用いた 有機無機複合型球状液晶エラストマーの創出

立命館大学 生命科学部 金子 光佑

1. 研究概要

本研究では、液晶材料の新産業分野創出の可能性を追 求するために、電場印加による液晶材料の粘度変化(電 気粘性効果)に注目し、「液晶ブレーキ」への応用を視野 に入れている。また最終的には、人間との協調活動が必 要とされる医療・リハビリテーション分野でのロボット システムの研究基盤を構築する。

液晶エラストマーは「ポリマーネットワークの力学的 性質」と「液晶相の異方性(液晶分子の配向秩序など)」 とのカップリングによる新たな物質系の可能性を秘めた 機能性材料であり、人工筋肉やソフトアクチュエータへ の応用が提案されている。本研究では報告例の極めて少 ない「球状」の液晶エラストマーを開発し、微小サイズ アクチュエータへの応用を図る。また、電場に対して応 答性のよい形状変化が期待できる二周波駆動液晶を用い た球状液晶エラストマーの創製に加え、印加交流電場の 周波数に対するエラストマーの変形量や変形に伴う応答 時間に及ぼす材料構成成分の影響を検討し、どのような 重合性液晶モノマーと架橋剤の成分比が適切かを明らか にする。さらに、球状液晶エラストマーの作製後、電場 刺激により可逆的に粘度を変化させることができる電気 粘性流体(ER流体)へ応用することによってアクチュ エータへの実装を図る。

2. 研究目的

大型機械やモーターによる機械的な駆動とは異なっ た、液晶駆動によるしなやかなマイクロアクチュエータ の実現は、超精密化・超小型化が要求されている次世代 マイクロロボットや先端医療機器の開発を大幅に加速す るとともに、新たな市場の創出を可能にし、社会的・経 済的波及効果は極めて高いと考えられる。以上の背景の 下、低電圧で大きな粘度増加を示す液晶材料の開発とい う化学的な面に加え、駆動方式の工夫などの工学的な面 の両者からアプローチする。そこで、電場印加のための 複雑な大型装置の設計や、均一に分子を並ばせる配向膜 などを必要とせず、固体的な硬さと液体の流動性を簡便 に調節することができる二周波駆動液晶を本研究の対象 物質とし、スマートなブレーキ装置の作製を目指す。

電気粘性(ER)効果とは、電場の印加により流体の粘 度が増加し、電場を除去すると元の粘度に戻る現象であ り、このような現象を示す流体はER流体と呼ばれてい る。その効果の発現機構は、液晶材料にせん断ひずみを 与えて一方向に配向した棒状の分子構造を持つ液晶分子 に対して垂直に電場を印加し、液晶分子が電場方向に配 向することにより流動抵抗が増大し、その結果として粘 度増加が発生する。電場を除去すると液晶分子の配向は せん断ひずみにより崩され、流動抵抗が小さくなり粘度 は減少する。理想的なER効果は電場のON・OFFで応答 性の良い粘度変化が得られることであるが、電場除去後 の液晶分子の配向(せん断方向への配向)に対し基本的に 駆動力は働いておらず、せん断ひずみの大きさによりそ の応答性が異なるので、応答時間に問題が発生する。そ こで本研究では、印加電圧の周波数の違いによって異な る誘電率異方性を示す二周波駆動液晶を用い、周波数の 変化により液晶分子の配向を制御して粘度の増加・減少 のスイッチングを起こす、これまでに報告例のない二周 波駆動型液晶アクチュエータの開発を行う(図1)。

3. 研究内容および結果

研究内容

エラストマーはゴム状の弾力性を有する高分子材料の 総称であり、近年発展している新たな分子設計によって、

さらなる新機能を備えた高分子材料の開発を進めること が可能となっている。その一つの機能が液晶性である。 液晶材料が示す最も魅力的な特性は、その分子配向を電 場・磁場・光・温度などにより制御できることである。 このような液晶モノマーをエラストマー中に組み込むこ とにより、高分子材料に外部刺激応答性をもたせること ができる。この様な液晶エラストマーに電圧を加えると 内部の液晶分子の電場配向により形状が変形し、電圧を 取り除くと元の形に戻る。このように、液晶エラストマー は①ゴム状の弾力性をもつ高分子材料なので繰り返し使 用に強く、②液晶分子の一斉回転により応答速度が速く、 ③様々なサイズのものを合成できる、という優れた特性 を有する。本研究では報告例の少ない「球状」の液晶エ ラストマーを開発し、極小サイズアクチュエータへの応 用を図る。また、電場に対して応答性のよい形状変化が 期待できる二周波駆動液晶を用いた球状液晶エラスト マーの創製に加え、印加交流電場の周波数に対するエラ ストマーの変形量や変形に伴う応答時間に及ぼす材料構 成成分の影響を検討し、どのような重合性液晶モノマー と架橋剤の成分比が適切かを明らかにする。

棒状の形状をしている液晶分子は極性基の結合位置に よって、分子全体の双極子モーメントの向きと大きさを 調整することができる。液晶分子に電圧を印加すると、 その電場方向に液晶分子が揃うように配向しようとす る。しかし、ある種の液晶分子に対して印加する交流電 場の周波数を数へルツ~数メガヘルツまで変化させる と、電場方向に平行に配向していた分子が、ある周波数 を境に垂直に配向するようになる。このようにみかけの



誘電率異方性が正から負に変化する現象を示す液晶材料 を二周波駆動液晶という。液晶相には配向様式の違いに より数種類に分類でき、その中でも最も配向秩序度の低 いものはネマチック相という。ネマチック液晶は配向秩 序度が小さいことから粘度が低く、電場に対する応答性 が良いため、一般に使用されているディスプレイの液晶 材料として広く活用されている。そこで本実験では、こ のような低粘度で応答性がよく、印加電圧の周波数に対 する配向様式の違いを示すネマチック二周波駆動液晶の 合成を第一の目的とした。

二周波駆動液晶をエラストマーに導入することで、各 周波数において分子の配向変化に駆動力を付与すること ができるため、応答性の改善が期待される。そこで本研 究では、二周波駆動性を持つ液晶分子(以下5D-Cl-5と略 記)を用いたエラストマーを作製した。球状液晶エラス トマーの二周波駆動方式による変形様式(予想図)を図2 に示す。図に示されるように、低周波数領域ではエラス トマーを電場に対して平行に伸長させ、高周波数領域で は電場に対して垂直に伸長させることを第二の目的とし た。

液晶エラストマーの高分子ネットワークを形成する方 法の代表例として、チオール-エン反応が挙げられる。 チオール-エン反応はチオール基(-SH)とアルケン (-CH=CH₂)の間で起こる結合形成反応であり、開始剤 によって生じたチイルラジカルが付加する連鎖機構で進 行する。この反応は化学選択性が高く、副反応を生じに くいことから、クリックケミストリーを体現する反応の 一つと捉えられている。本研究では、二周波駆動性ネマ チック液晶として既知である化合物の構造の一部を変更 させ、ビニル基(-CH=CH₂)を結合させた5D-Cl-5を母液 晶とし、4つのチオール基を持つペンタエリトリトール





図3 二周波駆動型液晶エラストマーの構成成分の構造式

テトラキスメルカプトアセテート(架橋分子A)および両 末端に二重結合を持つ1,9-デカジエン(架橋分子B)を架 橋剤として用いた(図3)。

5D-Cl-5の相転移挙動は示差走査熱量(DSC)測定およ び偏光顕微鏡(POM)観察により決定し、その際の走査 速度は5.0 °C/minとした。誘電率の測定には、ポリイミ ドによる配向処理(ラビング方向:垂直配向および水平 配向、セル厚:10±0.5 μ m)が施された市販品の電極付 ガラスセル(EHC KSHH-10/B311P6NSS05およびEHC KSRO-10/B311P6NSS05)を使用した。温度制御装置 (Linkam L-600A)を取り付けた誘電体解析装置(東陽テ クニカDielectric Interface 1296)を用いて、対象試料の 各配向状態における誘電率(ε //および ε_{\perp})を求め、そ の値から誘電率異方性($\Delta \varepsilon = \varepsilon$ // - ε_{\perp})を算出した。 得られたエラストマーの形状は走査電子顕微鏡 (HITACHI Miniscope TM-1000)(以下、SEMと略記) を用いて確認した。

結果

●5D-CI-5の相転移挙動および誘電特性

5D-Cl-5のDSC測定およびPOM観察の結果を図4およ び図5にそれぞれ示す。DSC測定の結果から昇温過程で は72 °C(①)および138 °C(②)で吸熱ピークが確認され た。POM観察により、72 °C~138 °Cの温度範囲におい てシュリーレン組織が確認されたことからピーク①は結 晶からネマチック(N)相への転移に伴うピークであると 判断した。138 °C以上の温度範囲では観察像が暗視野と なったことからピーク②はN相から等方相(Iso.)への転 移に伴うピークであると判断した。また、降温過程では 137 °C(③)および11 °C(④)で発熱ピークがそれぞれ確





図5 5D-Cl-5のシュリーレン組織(降温過程90°C)

認された。POM観察より、11°C~137°Cの温度範囲に おいて再びシュリーレン組織が確認されたことからピー ク③はIso.-N相転移に伴うピークであると判断した。11 °C以下の温度範囲では結晶組織が確認されたことから ピーク④はN相から結晶相への転移に伴うピークである と判断した。

5D-Cl-5のネマチック相における誘電率異方性の周波 数依存性測定の結果を図6に示す。80 °C~120 °Cの温 度範囲内において誘電緩和が認められた。測定周波数範 囲内である1,000~100,000 Hzにおいて誘電率異方性が正 から負に変化するクロスオーバー周波数(以下、fc)は80 °Cのみで見られ、 $\Delta \varepsilon$ の符号が切り替わるクロスオー バー周波数は4.32×10⁵ Hz、 $\Delta \varepsilon$ は0.96 (10 kHz)および -0.30 (1000 kHz)であった。また、100 °C以上の高温領 域では、測定周波数範囲内においてfcは観測されなかっ



図7 球状エラストマーの作製セットアップ

た。以上の結果より、5D-Cl-5は低温において二周波駆 動性を示すことが明らかとなり、エラストマーの構成要 素として用いることとした。

●球状エラストマーの合成および物性評価

球状エラストマーの作製においては、図7に示すフ ローフォーカシングデバイスを用い、有機相と連続相(水 系)をそれぞれ異なる流速で押し出すことにより粒径が 数百µmの液晶ドロップレットを作製し、連続相を流れ る液晶ドロップレットに紫外線を照射することによりチ オール-エン反応を行うシステムを利用した。未反応の 低分子材料を有機溶媒で数回洗浄し、遠心分離により合 成したエラストマーの精製および分離を行った。

チオール基とビニル基の官能基をそれぞれ持つ架橋剤 と、二周波駆動性液晶分子および光開始剤を混合し、エ ラストマーの作製に用いた。その際、液晶モノマー(5D-Cl-5):架橋分子A:架橋分子B=8:2:1(mol%)とな るように試料を調製した。しかし、この条件下において 非常に粘性のある液体に近い物質が得られた。この原因



 TM-1000
 D2.2 x60 1 mm

 図8 球状エラストマーのSEM画像

として、架橋分子の割合が少なく、高分子ネットワーク が形成されなかったと判断した。そこで、高分子ネット ワークの形成を優先させるために、液晶モノマー(5D-Cl-5):架橋分子A:架橋分子B = 4:2:2(mol%)に 再調製し、エラストマーの作製を行った。その後、 FT-IRスペクトルを用いてエラストマーの重合が進行し たかを確認した。

エラストマーのIRスペクトルの結果を見てみると、 1740 cm⁻¹にエステル結合由来のC=O伸縮振動、1580 cm⁻¹および1490 cm⁻¹にベンゼン環由来の伸縮振動、810 cm⁻¹にハロゲン由来のC-Cl伸縮振動、560 cm⁻¹にS-C伸縮 振動がそれぞれ観測された。架橋分子AのみのIRスペク トルを比較すると、架橋分子Aのスペクトルの2570 cm⁻¹ で確認されたS-H伸縮振動がエラストマーのスペクトル では確認できず、560 cm⁻¹にS-C伸縮振動によるスペク トルが確認されたため、チオール-エン反応による重合 が行われ、エラストマーが作製できたと判断した。

図8に得られた球状エラストマーのSEM画像を示す。 図からわかるように、大きさは若干不均一であるが直径 数百µmのきれいな球状エラストマーが得られているこ とが確認された。今回の実験では、有機相と連続相の流 速の相対比を有機相:連続相=1:10で行った。本セッ トアップで作製するエラストマーの形状や粒径、粒径分 布は、有機相と連続相の流速や照射UV強度などに大き く影響されると考えられる。今後、これらの条件を最適 化することにより、粒径が均一な球状のエラストマーの 作製か可能になると考えられる。

エラストマーのDSC測定の結果、昇温過程において



図9 球状エラストマーのPOM画像





-12 °Cでベースラインシフトが確認された。また60 °C付 近で非常にブロードなピークが確認された。POM観察 では、球状のエラストマー内部に複屈折が観察され、60 °C以上の温度で徐々に暗視野に変化した(図9)。これ らの結果から、60 °C付近に液晶相から等方相(Iso.)への 転移点を持つエラストマーが得られたと判断した。また、 小角エックス線回折(XRD)実験において、低角側(2-3°) にブロードなピークが観察された(図10)。温度変化に対 して強度の違いが見られたことから、POM観察で複屈 折が見られた温度範囲においてネマチック相を発現して いると判断した。

球状の液晶エラストマーの電場応答性については、シ リコンオイルに分散させたエラストマーをセル厚10 μ mのITO表面電極付きガラスセルに充填し、電場による エラストマーの形状変化をPOM観察により確認する予 定であったが、粒径の制御ができず(10 μm以下になら ず)、このセルを用いた実験には至っていない。そこで、 得られた球状液晶エラストマーをエタノールで洗浄した 後に室温で乾燥させ、シリコンオイル中に分散させたも のを自作の電極セル(電極間2 mm)に滴下し、横電界を 印加できるセル内で球状液晶エラストマーの変形の様子 を観察した。100 ℃および50 ℃における電場印加時の



図11 電場印加時の球状エラストマーのPOM画像

POM画像を図11に示す。ネマチック相を発現している 50°Cにおいて、電場強度・印加交流電場の周波数・交 流電場の波形(矩形波、サイン波)など様々な条件の交流 電場を印加したが、球状液晶エラストマーの形状におい て大きな変化は見られなかった。また、球状液晶エラス トマー内部の液晶分子が電場方向に対して平行に配列し た場合、通常暗視野組織となるが、複屈折性は維持され たままであった。以上のことから、球状液晶エラストマー 内部の液晶分子の配向も起きておらず、その結果、高分 子ネットワーク全体の形状変化に繋がらなかったと考え られる。

4. 今後の取り組み・まとめ

我々は液晶の新規産業分野の開拓を目標とし、介護ロ ボットなどの分野での応用に貢献すべく、新規液晶性 ER流体の開発に取り組んでいる。要介護者が歩くのを 支えたり、高齢者を抱える介護職員の負担を軽くしたり するなど、機能を絞った比較的安価なロボットの開発は 今後の高齢化社会において重要な検討事項となる。高速 応答性を有する液晶性ER流体が開発されれば、電極間 など狭い隙間への適応性を兼ね備えたER流体をブレー キとして実用化できる。その結果、モーターや大きな金 属部品を使わないコンパクトな設計が可能となり、ス マートな機器の開発につながると考えている。

本研究では、片末端にビニル基を持つ液晶モノマー (5D-Cl-5)を用いて側鎖型の球状液晶エラストマーを合 成し、交流電場を印加することによって形状変化させよ うと試みたが、大きな形状変化は得られなかった。この 理由として、エラストマー内部に密な高分子ネットワー クが形成され、電場に対する液晶分子の配向が抑制され たことが考えられる。したがって、高分子ネットワーク 内にも二周波駆動液晶分子を導入することで液晶分子の 配向が高分子ネットワーク全体に伝搬し、形状エラスト マーが変形しやすくなるのではないかと予想している。 そこで、両末端にビニル基を持つ液晶モノマーを合成し、 5D-Cl-5と組み合わせて複合型の球状液晶エラストマー を現在検討している。

また、フローフォーカシングデバイスを用いる際の有 機相および水相の流速と得られる球状エラストマーの粒 径との関係を明らかにし、作製条件を適正化する必要も ある。有機相の流速に対して水相の流速を20倍、40倍、 80倍と速くすることによって球状エラストマーの粒径は 小さくなっていくことが考えられる。さらに、水相に添 加する界面活性剤の種類や濃度などの条件を詳細に検討 し、より粒径の小さい球状エラストマーを得ることも今 後の目標としている。その結果、球状エラストマーに対 して印加電場強度を大きくすることが可能となり、液晶 分子の配向を促すことで大きな形状変化に繋がると考え ている。

謝辞

本研究を遂行するための資金を援助していただいた公 益財団法人松籟科学技術振興財団に深く感謝いたしま す。また有益な御助言を頂きました立命館大学生命科学 部の花崎知則教授、藤岡大毅初任助教、ならびに渕上清 実博士、具足毅氏、金子喜三好博士に深甚なる謝意を表 します。

発表論文・発表等

- (1)金子光佑、藤岡大毅、金子喜三好、渕上清実、花崎 知則、"二周波駆動液晶を用いたソフトアクチュエー タ材料の開発と展望"、BIO Clinica, 36, 709-713 (2021).
- (2) Takayuki Menjo, Yushi Inaba, Kimiyoshi Kaneko, Kiyomi Fuchigami, Daiki Fujioka, Kosuke Kaneko, and Tomonori Hanasaki, "Preparation of spherical liquid crystalline elastomers and observation of shape change under electric field", The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, USA, 2021年12月.
- (3)金子光佑、校條貴之、永田一馬、藤岡大毅、渕上清 実、花崎知則、"球状液晶エラストマーの合成と電 場印加下における形状の観察"、化学工学会第53回 秋季大会、信州大学長野(工学)キャンパス、2022 年9月.

耐湿性と耐クリープ性を有する自己修復性イオン伝導 ソフトマテリアル

物質・材料研究機構 エネルギー・環境材料研究拠点 玉手 亮多

1. はじめに

自己修復材料は自発的に損傷を修復できる革新的な材 料であり、従来の材料設計の概念を覆す長期利用可能 性・安全性を持った新素材として、実用化されれば持続 可能な社会の実現に大きく貢献すると期待される。特に 自己修復高分子・ゲル材料は生体親和性・柔軟性などの 観点からウェアラブル機器やソフトロボティクスなど多 分野への応用が想定される。

イオン液体はアニオン・カチオンのみからなる常温溶 融塩であり、高イオン伝導性・不揮発性・難燃性など通 常の分子性液体にない優れた特性を示す。イオン液体を 高分子網目に閉じ込めた「イオンゲル」は揮発に伴う物 性変化がない安全・安定性の高いイオン伝導材料である。 このため、イオンゲルは来るべきIoT (Internet of Things)社会におけるフレキシブル・ウェアラブルデバ イスの電解質材料としての応用などが期待されている (1-5)。

我々はこれまでに、イオン液体中におけるブロック共 重合体のナノ相分離構造と高分子間の水素結合を利用す ることで、イオン液体を用いた自己修復材料「自己修復 イオンゲル」を報告した(6-8)。本研究は室温で迅速 に自己修復する高強度イオンゲルに関する初めての報告 として注目を集めている。

しかしながら、現状の自己修復イオンゲルの問題とし て、大気中の水分が水素結合を阻害するため高湿下で力 学特性が劣化するという現象が存在する。また、高荷重 下においてクリープ変形が発生する問題がある。この2 点はMacromolecules誌50周年記念の高分子ネットワー クに関する総説でも言及されており、近年活発に研究さ れている、可逆結合を用いた高分子材料に共通で存在す る課題である(9)。 そこで本研究課題では、「自己修復性とクリープ耐性」、 「自己修復性と耐湿性」のトレードオフを克服した新規 自己修復性イオンゲルの創製を目的として研究を実施し た。その結果、イオン液体中のラジカル重合に特有なビ ニルモノマーの高分子量化を利用することで、超高分子 量ポリマーの物理的絡み合いから形成される、全く新し いコンセプトによる自己修復イオンゲルを精製不要かつ ワンポットで合成する手法を確立した(10)。本報告で は、超高分子量ポリマーの物理的絡み合いからなる自己 修復イオンゲルの重合特性や粘弾性、機械的強度、自己 修復性に関して述べる。また、イオンゲルの自己修復挙 動に及ぼすイオン液体とポリマー構造の効果やイオン液 体中におけるポリマーのミクロな溶存構造を調べた結果 を基に、自己修復メカニズムを議論する。

2. イオン液体中の物理的絡み合いを利用したイオンゲ ルの創製

Fig. 1aに疎水性イオン液体 [C₂mIm] [TFSI] およ び汎用有機溶媒であるトルエン中のMMAのラジカル重 合における、分子量・モノマー転化率と熱開始剤濃度の 関係を示す。[C₂mIm] [TFSI] 中におけるラジカル重 合で得られたPMMAの数平均分子量(*M_n*)は、開始剤濃 度(*c*AIBN)の低下に伴い増加し、極低濃度(<1 mM)にお いて分子量100万を超える超高分子量PMMAが得られ た。このとき開始剤濃度が非常に低いにもかかわらず、 モノマー転化率はほぼ100%を維持した。その結果、超 高分子量PMMAの物理的絡み合いにより、架橋剤フリー であるにもかかわらず透明で自立したイオンゲルが得ら れた(Fig. 1b)。一方重合溶媒として汎用有機溶媒であ るトルエンを用いた場合には、開始剤濃度を低減しても 分子量は最大で10万程度であり、モノマー転化率は40%



Fig. 1. (a) [C₂mIm] [TFSI] およびトルエン中のMMAのラジカル重合における開始剤濃度と分子量、モノマー転化率の関係。(b) [C₂mIm] [TFSI] 中の超高分子量PMMAの絡み合いにより形成されたイオンゲルの写真および概念図。(c) イオンゲルの 自己修復挙動。ダンベル状に成型した 2 つのゲルを切断し、切断面を接触させると自発的な修復が発現する。(d) 異なる自 己修復時間におけるイオンゲルの応力-歪み曲線および破断強度。[C₂mIm] [TFSI]: 1-ethyl-3-methylimidazolium bis (trifluoromethanesulfonyl) imide, MMA: methyl methacrylate, AIBN: 2,2'-azobis (isobutylonitrile).

程度と著しく低下した。これらの結果から、トルエンの ような分子性液体中でのMMAのラジカル重合と比較し て、イオン液体中では特異的な重合反応の進行により超 高分子量体が得られることが示唆された。

3. 物理的絡み合いを利用したイオンゲルの力学特性

超高分子量ポリマーの物理的な絡み合いにより形成さ れたイオンゲルの力学特性を評価した結果、幅広い温 度・周波数範囲における優れた機械的安定性を示した。 また引張試験から、500%以上の延伸に耐え得る伸長性、 および熱成形によるリサイクル性を示すことが分かっ た。更に特筆すべきことに、このイオンゲルは室温にお ける迅速な自己修復性を示した(Fig. 1c, d)。一般的に 高分子の分子量が高くなるに従い高分子のレプテーショ ン運動の緩和時間は長くなる。このため直感的には高分 子の分子量が高くなるほど破断面の絡み合いは起こりに くくなる。しかし、創製したイオンゲルは百万を超える 超高分子量体の絡み合いからなるゲルであるにもかかわ らず、室温での迅速な自己修復挙動を発現した。

物理的絡み合いによって形成されるイオンゲルの自 己修復メカニズム

イオンゲルの自己修復メカニズムを検討するため、超 高分子量ゲルを切断してから切断面を接触させるまでに 待機時間を設けてから切断面を接触させた場合の自己修 復特性を検討した。その結果、待機時間を延ばすと修復 効率が減少していくことが判明した(Fig. 2a)。これは、 水素結合などの超分子結合を利用した自己修復材料にお いてもみられる現象である(11, 12)。超分子結合を利用 した自己修復材料においては、切断直後は開裂したフ リーの結合点が界面に多量に存在するが、切断面を接触 させるまでの待機時間を延ばすと界面近傍のフリーな結 合性官能基が徐々に減少するため、自己修復効率が減少 する。このアナロジーから、物理的絡み合いからなるイ オンゲルの自己修復現象においても、切断直後の界面に おける高分子鎖は非平衡で絡み合いの少ない状態にあ り、高分子鎖同士による素早い絡み合いの再構築が起こ り迅速な自己修復性を発現していると推測される(Fig. 2b)。

また、モノマー種依存性の検討から、poly(ethyl methacrylate) (PEMA, $T_g \sim 65$ °C)を用いた超高分子



Fig. 2. (a) 異なる待機時間を設けた後に切断面を接触し6時間自己修復させた後のPMMA/ [C₂mIm] [TFSI] イオンゲルの応 力-歪み曲線。 (b) 待機時間の有無による修復過程の模式図。(c) PMMA/ [C₂mIm] [TFSI] およびPEMA/ [C₂mIm] [TFSI] イオンゲルの自己修復前後の応力-歪み曲線。(d, e) (d) PMMA/ [C₂mIm] [TFSI] および (e) PEMA/ [C₂mIm] [TFSI] におけるメタクリレートポリマーの酸素原子とC₂mImカチオンのプロトン原子間の対相関関数、およびPMMAとPEMA の慣性半径(*R_g*)。

ゲルはPMMA ($T_g \sim 105$ °C)と比較して、ガラス転移温 度が低くミクロな分子運動性が高いと推測されるにもか かわらず自己修復効率が低い(Fig. 2c)。このことから、 超高分子量ゲルの切断面において物理的絡み合いが再形 成される過程には、高分子とイオン液体の相互作用など の複雑なミクロスケールの現象が関与していると考えら れる。分子動力学計算から、PMMAはPEMAと比較し てよりイオン液体 [C_{2m} Im] [TFSI] のカチオンにより 溶媒和されており、イオン液体中で拡がった形態をとっ ていることが示唆された(Fig. 2d, e)。このため、切断 界面においても拡がった高分子鎖が存在して絡み合いの 再形成が起こり易く、PMMA/ [C_{2m} Im] [TFSI] イオ ンゲルは高い自己修復性を示したと考えられる。

5.まとめ

本研究では、イオン液体中における高分子鎖の物理的 な絡み合いという非常にシンプルで新しいアプローチに よる自己修復イオンゲルの創製を行った。この自己修復 イオンゲルは、疎水性高分子であるPMMAと疎水性イ オン液体である [C₂mIm] [TFSI] から形成されるため、 耐湿性が高く、我々が以前に開発した水素結合を利用し た自己修復イオンゲルと異なり、湿度による影響が小さ い。しかしながら、クリープ変形に関しては依然として 存在するため、今後は耐湿性に加えて耐クリープ性を向 上させる試みが必要である。

6. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を頂きまし 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。

7. 参考文献

- T. Ueki, M. Watanabe, Macromolecules in Ionic Liquids : Progress, Challenges, and Opportunities. *Macromolecules.* 41, 3739–3749 (2008).
- R. Tamate, K. Hashimoto, T. Ueki, M. Watanabe, Block Copolymer Self-Assembly in Ionic Liquids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 20, 25123–25139 (2018).

- R. Tamate, M. Watanabe, Recent Progress in Self-Healable Ion Gels. Sci. Technol. Adv. Mater. 21, 388-401 (2020).
- Y. Kitazawa, K. Ueno, M. Watanabe, Advanced Materials Based on Polymers and Ionic Liquids. *Chem. Rec.* 18, 391–409 (2018).
- J. Le Bideau, L. Viau, A. Vioux, Ionogels, Ionic Liquid Based Hybrid Materials. *Chem. Soc. Rev.* 40, 907–925 (2011).
- R. Tamate, K. Hashimoto, T. Horii, M. Hirasawa, X. Li, M. Shibayama, M. Watanabe, Self-Healing Micellar Ion Gels Based on Multiple Hydrogen Bonding. *Adv. Mater.* **30**, 1802792 (2018).
- R. Tamate, K. Hashimoto, X. Li, M. Shibayama, M. Watanabe, Effect of Ionic Liquid Structure on Viscoelastic Behavior of Hydrogen-Bonded Micellar Ion Gels. *Polymer* 178, 121694 (2019).
- 8. R. Tamate, Healable Soft Materials Based on Ionic

Liquids and Block Copolymer Self-Assembly. Polym. J. 53, 789-798 (2021).

- C. Creton, 50th Anniversary Perspective : Networks and Gels: Soft but Dynamic and Tough. Macromolecules. 50, 8297–8316 (2017).
- Y. Kamiyama, R. Tamate, T. Hiroi, S. Samitsu, K. Fujii, T. Ueki, Highly Stretchable and Self-Healable Polymer Gels from Physical Entanglements of Ultrahigh Molecular Weight Polymer. submitted.
- P. Cordier, F. Tournilhac, C. Soulié-Ziakovic, L. Leibler, Self-Healing and Thermoreversible Rubber from Supramolecular Assembly. *Nature*. 451, 977– 980 (2008).
- E. B. Stukalin, L.-H. Cai, N. A. Kumar, L. Leibler, M. Rubinstein, Self-Healing of Unentangled Polymer Networks with Reversible Bonds. *Macromolecules*. 46, 7525–7541 (2013).

異種金属結合による第一遷移金属の一次元配列化と磁気物性評価

岐阜大学 工学部 植村 一広

1. 背景と目的

金属錯体は電子状態の多様な金属イオンと、設計性に 富んだ有機配位子で構成され、それらをうまく組み合わ せ、規則的に配列した集積型金属錯体は、有機物や無機 物を超える物性や機能性が期待される。z方向へd-バン ドを形成し、直接の金属-金属結合を有する一次元鎖錯 体は、興味深い導電/磁気物性が見出されてきた物質群 であり、dz²軌道にHOMOをもつd8金属種の部分的に酸 化することで合成することができ、ロジウム、パラジウ ム、イリジウム、白金の4種類の金属が扱われてきた。 第一遷移金属は、一般に、第二周期、第三周期の金属に 比べ配位子場分裂が小さく、酸化還元活性、様々なスピ ン状態、光や温度等の外場応答性など、電子柔軟性を持 ちあわせている。もし、第一遷移金属を金属結合で一次 元状に並べれば、異方的な導電/磁気物性が期待できる が、現在の合成化学では、第一遷移金属を単独で一次元 状に並べることは難しい。

このような中、我々は、白金四核錯体とロジウム複核 錯体から、2種類の金属が規則的に並んだ一次元鎖錯体 の合成に成功している¹。この一次元鎖錯体は白金とロ ジウムが、-Rh-Rh-Pt-Pt-Pt-Pt-と、金属-金属結合に よって一次元状に規則的に並び、2種類の金属錯体間の dz²軌道間でのHOMO-LUMO相互作用で合理的に得られ ている²。有機配位子を替えて一次元鎖全体のバンド構 造を制御したり、金属の組み合わせを変えて常磁性化す ることも可能であり、ロジウム複核錯体をルテニウム複 核錯体にすると-Ru-Ru-Pt-Pt-Pt-と³、白金四核錯 体を白金-銅三核錯体にすると-Rh-Rh-Pt-Cu-Pt-と並 び⁴、不対電子が局在化した異種金属一次元鎖錯体が得 られる⁵。本研究では、第一遷移金属を規則的に組み込 んだ一次元鎖錯体の合成と導電/磁気物性を評価するこ とを目的とする。3種類の金属が規則的に並んだ異種金 属一次元鎖錯体を合成し、異方的に配置された第一遷移 金属の磁気物性、異種金属を介した磁気相互作用の強さ を評価した。

2. 結果と考察

2-1. 白金に第一遷移金属がサンドイッチされた三核錯体

異種金属一次元鎖錯体の前駆体となるPt-M-Pt(M: 第一遷移金属)と並んだ三核錯体の合成と物性評価をし た。既報を参考に、アミダート配位子が2つぶらさがっ た 白 金 単 核 錯 体 のcis- [Pt(NH₃)₂(piam)₂](piam = pivalamidate)を合成した。同様に、トランス配位でぶ らさがったtrans- [Pt(NH₃)₂(piam)₂]の合成に成功した。 これらと、2価の第一遷移金属の塩化物MCl₂(M = Mn、Co、Ni、Cu)および過剰量のNaX(X = ClO₄⁻、 PF₆⁻)を混合して、cis- [Pt₂M(piam)₄(NH₃)₄] X₂(c-M) およびtrans- [Pt₂M(piam)₄(NH₃)₄] X₂(c-M) およびtrans- [Pt₂M(piam)₄(NH₃)₄] X₂(t-Fe) (piam)₄(NH₃)₄] X₃(c-Fe) およびtrans- [Pt₂Fe(piam)₄ (NH₃)₄] X₃(t-Fe)となる傾向があることがわかった。

未だ報告していない*c*-Mnに対し、単結晶X線構造解 析で結晶構造を明らかにし、各諸物性測定をした。 *c*-Mnには2種類の三核構造が存在し、1つは、マンガ ンに白金2つとpiamの酸素原子4つが八面体配位した もの、もう1つは、マンガンにpiamの酸素原子4つが 四面体配位し、白金2つと非常に近い距離にあるもので あった(図1a)⁶。*c*-MnのMeCN中でのサイクリックボル タンメトリーの結果、0.06 V(vs. Fc/Fc+)に可逆な酸化 還元波が確認できた。さらに、MeOH、EtOH、 Me₂CO、THF、MeCN中での77 KでのESR測定したと ころ、MeOHでは $g_{MeOH,1} = 1.98$ 、 $A_{MeOH,1} = 89 \times 10^4$ cm⁻¹; $g_{MeOH,2} = 2.00$ 、 $A_{MeOH,2} = 89 \times 10^4$ cm⁻¹; $g_{MeCN,1} = 1.98$ 、 $A_{MeCN,1} = 89 \times 10^4$ cm⁻¹; $g_{MeCN,1} = 2.00$, $A_{MeCN2} = 89 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} の シグナルを示した。一方、$ EtOH、Me₂CO、THFのスペクトルは、<math>g = 6付近にシ グナルが観測された。大きなg値は,ゼロ磁場分裂(= ZFS)によるためで、S = 5/2に特徴的で、マンガンが ハイスピン状態であることがわかる。THFでは、 $g_{THF} =$ 4.16、 $A_{THF} = 165 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ にマンガンによる超微細構 造の6つ分裂したシグナルがみられた。みかけ上、g値 が大きくなるのは、ZFSの影響によってMn周りの対称 性が低下しているためで、アキシャルZFSパラメータD が0.25 cm⁻¹以上、かつ、面内ZFSパラメータをEとする と、 $E/D = \lambda = 0$ のとき、g = 6付近に観測される。ま た、大きなDと $\lambda \approx 1/3$ では、g = 4付近に観測される。 つまり、EtOH、Me₂CO、THF中の [Pt₂Mn(piam)₄(NH₃) ₄] (PF₆)₂では、Mnまわりのd軌道は立方対称からかけ離 れ、異方的な広がりをもつことが考えられる。

一方、*t*-MのMとPtは、2つのpiamがトランス配位で 架橋した三核構造であった(図1b)⁷。Pt-M間距離は*c*-M と同様であったが、*t*-Mは二量化しPt-M-Pt--Pt-M-Pt 六核構造を形成していた。Pt--Ptは約3.9 Åの距離にあっ た。*t*-MのMeCN中でのサイクリックボルタンメトリー の結果、*t*-Cu以外で、2段階の酸化還元波が観測され、 溶液中でも二量体を維持していることがわかった。



図1. (a) c-Mnと(b) t-Mnの三核構造.

2-2. 酢酸ルテニウムおよび酢酸ロジウムとの多核集積化

c-Mとt-Mともに、両白金の形式的酸化数はPt(+2)で、 dz²軌道がHOMOとなり、dz²軌道にLUMOをもつ酢酸ル テニウムおよび酢酸ロジウムと異種金属結合を形成する はずで、多核集積化を試みた。別途合成した常磁性複核 錯体の [Ru₂(O₂CCH₃)₄] Xおよび [Ru₂(O₂CCH₃)₄] と、 不対電子のない複核錯体の [Rh₂(O₂CCH₃)₄] を、**c-M** および**t-M**と混合した。

 $[Ru_2(O_2CCH_3)_4]$ Xおよび $[Ru_2(O_2CCH_3)_4]$ と、**c-M**を、 溶媒をMeOH、EtOH、Me₂CO、THF、MeCNとかえ、 アニオンとして、NO₃⁻、ClO₄⁻、CF₃SO₃⁻、CF₃CO₂⁻を添 加して会合を狙ったが、現在のところ、希望の結晶構造 をもつ単結晶を得るに至っていない。しかし、[Ru2 (O₂CCH₃)₄Cl]と**c-Mn**をMeOH中で混合し、ゆっくり蒸 発させて、茶色結晶を得た。単結晶X線構造解析の結果、 $[{Ru_2(O_2CCH_3)_4Cl_2}]{Pt_2Mn(piam)_4(NH_3)_4}_3] n(ClO_4)_6n$ (1)であり、ルテニウム複核錯体と白金-マンガン三核錯 体は、金属結合を形成せず、白金-マンガン三核錯体が ルテニウム複核錯体のアキシャル位に配位したCl⁻を介 し、ジグザグとした一次元鎖を形成していた(図2a)。ま た、別の白金-マンガン三核錯体が一次元鎖間に存在し、 パッキングしていた。金属間距離は、Ru1-Rul' = 2.2828 (13) Å, Pt1-Mn1 = 2.6404(4) Å, Pt2-Mn2 = 2.9507(14) Å、Pt3-Mn2 = 3.0136(15) Åであった。また、白 金-マンガン三核錯体は、マンガン周りの配位環境が、 一次元鎖中ではオクタヘドラル(Oh)配位、一次元鎖間 ではテトラヘドラル(Td)配位であった。配位結合距離 $k \pm Mn1-O = 1.906(6)$ Å, 1.913(7) Å, Mn2-O = 2.060(7)Å、2.074(8) Å、2.077(7) Å、2.087(7) Åであった。 BVS法から結合原子価は、Oh配位で2.86、Td配位で1.85 であり、一次元鎖中Oh配位のマンガンは一電子酸化さ れ、3価になっていると考えられる。

次に、[Rh₂(O₂CCH₃)₄] との会合を試みた。[Rh₂ (O₂CCH₃)₄] と、*c*-Coもしくは*c*-Cuとの異種金属一次 元鎖錯体については既に論文公表済である^{4,8}。一方、[Rh₂ (O₂CCH₃)₄] と*c*-MnをEtOH中で混合し、ヘキサンをゆっ くり拡散すると、オレンジ-黄色の偏光を示す単結晶が 析出した。単結晶X線構造解析の結果、[{Rh₂(O₂CCH₃)₄} {Pt₂Mn(piam)₄(NH₃)₄] *n* (PF₆)₂*n*·1.5*n*EtOH(2) で、-Rh₂-Pt-Mn-Pt-と並んだ一次元鎖錯体であった(図 2b)。白金-マンガン三核錯体中のマンガンはpiamの酸素



図2. (a) 1と(b) 2の一次元構造と(c) 3のハニカム構造.

原子4つがTd配位し、ジグザグした一次元骨格を形成 していた。金属間距離は、Pt(2)---Mn(1) = 3.2927(11) Å、Mn(1)-Pt(1) = 3.0099(12) Å、Pt(1)-Rh(1) = 2.8108(6) Å、Rh(2)-Rh(2) = 2.7752(6) Åであった。 Mn周りは、Mn-O = 2.040(7) Å、2.058(7) Å、2.066(6) Å、2.035(6) Åであった。また、[Rh₂(O₂CCH₃)₄] と *c*-Ni、もしくは*t*-Cuからも良好な単結晶が得られ、現在、 追跡中である。

次に、 [Rh₂(O₂CCH₃)₄Cl₂] と**t-Fe**をMeOH中で混合す ると、黒色単結晶を得た。単結晶X線構造解析の結果、 [{Rh₂(O₂CCH₃)₄Cl₂}{Pt₂Fe(piam)₄(NH₃)₄]₂] *n* (ClO₄)₄*n* (**3**) であり、 [Rh₂(O₂CCH₃)₄] と**t-Fe**が1:2で含まれ ていた。三核錯体の両白金は、Pt(1)-Cl(1) = 2.8121(14) Å、Cl(1)-Pt(2')=2.926(1) Åの距離でブリッジされ、 ジグザグ鎖を形成し、さらにCl⁻が [Rh₂(O₂CCH₃)₄] に 配位することで、ハニカム状の二次元構造を形成してい た(図2c)。

2-3. 磁化率測定

図3aに、*c*-Mnと2の磁化率測定の結果を示す。*c*-Mn の300 Kでの χ T値は4.41 cm³ K mol⁻¹で不対電子5つ分 に相当することを確認した。また、 χ T値は10 Kまで一 定で、10 K以下で減少し、3.86 cm³ K mol⁻¹となった。 この減少はZFSのためで、フィッティングの結果、ESR の結果と同じで、D = 1.21 cm⁻¹となった。一方、2の 磁化率測定の結果、300 Kでの χ T値は5.33 cm³ K mol⁻¹



図3. (a) c-Mnと2、(b)(c) t-M、(d) 3の磁化率測定の結果. 実線はフィッティングの結果.

であり、不対電子5つがマンガン上に局在化していると 考えられる。 χ T値は、40 K以下で減少し、2 Kで1.65 cm³ K mol⁻¹となった。ZFSを考慮した分子場近似で フィッティングしたところ、zJ = -0.43 cm⁻¹の反強磁性 的相互作用が働くことがわかった。2中のマンガンは、 -Pt-Rh-Rh-Pt-を介し、約14 Åの距離で隔てられてお り、長距離にも関わらず相互作用が働くのは、金属結合 に由来するためと考えている。

図3bに、*t*-Mの磁化率測定の結果、300 Kの χ T値は3.90 (Mn)、2.51 (Co)、1.05 (Ni)、0.43 (Cu) cm³ K mol⁻¹で、 不対電子がそれぞれ5、3、2、1 個あり、第一遷移金 属は高スピン状態であることがわかった。Mn、Co、Ni を含む三核錯体では、低温域で反強磁性体への転移が確 認され(図3c)、ネール温度はMn:9 K、Co:13 K、 Ni:24 Kであった。この転移は二量化によるためだが、 Cuの場合は、dx²-y²スピンであるため、相互作用が弱く 転移が観測されないと考えらえる。白金間距離は、 Mn:3.81 Å、Co:3.87 Å、Ni:3.96 Åであり、比較的 長い距離にも関わらず相互作用が発現するのは、金属結 合の強さのためと考えられる。 図3dに、 $3 \circ 2$ –300 Kでの磁化率測定の結果を示す。 300 Kで、 χ T値は4.35 cm³ K mol⁻¹であり、Fe上の不 対電子 5 個分に相当することがわかった。40 Kまでゆ るやかに減少し、それ以下で急に減少し、2 Kで χ T値 は2.24 cm³ K mol⁻¹となった。ZFSを考慮した分子場近 似の結果、zJ = -0.12 cm⁻¹と弱いながらも反強磁性的相 互作用を示すことがわかった。

3. まとめ

以上、当初目的としていた-Ru₂-Pt-Mn-Pt-と並んだ 一次元鎖錯体の合成は達成できていないが、幾つかの新 しい常磁性異種金属一次元鎖錯体の合成に成功し、その 磁化率測定をし、知見を得ることができた。過去の有機 物およびハライドイオンで架橋された同様の一次元鎖錯 体と磁気的相互作用の強さを比較すると、異種金属結合 の方が強いことがわかりつつある⁵。例えば、t-Mの場合、 末端白金間距離が3.8~4.0 Åとファンデルワールス半径 より長いにも関わらず、明確なネール温度を示すことが わかった。希望の合成が達成できない原因に、異種金属 結合間の配位子同士の反発が考えられる。具体的には、 異種金属結合を形成してる場合は、カルボニル酸素とア ンモニアとのように相補的な水素結合が働いている場合 が多い。今後は、dz²軌道のHOMO-LUMO相互作用だけ でなく、配位子間の相互作用も考慮していく予定である。

4. 謝辞

本研究は、公益財団法人松籟科学技術振興財団からの 研究助成を受けて行われたものであり、ここに厚くお礼 申し上げます。本研究の一部は文部科学省ナノテクノロ ジープラットフォーム事業 分子・物質合成 (JPMXP09S21MS1025)の支援により自然科学研究機構 分子科学研究所で実施されました。また、実験をサポー トしてくれた岐阜大学大学院卒業生の青木友佑君と、博 士後期課程3年生の高森敦志君に感謝します。

5. 参考文献

- K. Uemura, M. Ebihara, *Inorg. Chem.* 2011, 50, 7919–7921.
- 2. K. Uemura, Dalton Trans. 2017, 46, 5474-5492.
- K.Uemura, N. Uesugi, A. Matsuyama, M. Ebihara, H. Yoshikawa, K. Awaga, *Inorg. Chem.* 2016, 55, 7003–7011.
- 4. K. Uemura, M. Ebihara, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 5535–5550.
- 5. K. Uemura, A. Takamori, *Coord. Chem. Rev.* 2022, in press.
- K. Uemura, Y. Aoki, A. Takamori, *Dalton Trans.* 2022, 51, 946–957.
- A. Takamori, K. Uemura, *Inorg. Chem.* 2022, 61, 5762–5778.
- K. Uemura, R. Miyake, *Inorg. Chem.* 2020, 59, 1692–1701.

超巨大高分子による透明性と強靭性を両立した ナノ相分離プラスチックの開発

物質·材料研究機構 機能性材料研究拠点 山内 祥弘

1. はじめに

リビング重合法の発展により、近年精密かつ複雑な高 分子の合成がより一層可能になってきた。中でも、ボト ルブラシポリマーは1本の主鎖とそれからグラフトされ た複数の側鎖から構成されたユニークな高分子である。 側鎖間の排除体積効果により、主鎖が伸びた形態をとる ため、シリンダー型の構造をとる。主鎖と側鎖の重合度 を制御することによって、このシリンダー構造の長さと 直径を制御することができる。加えて、リビング重合す るモノマーの選択によって、化学的性質の制御も可能で ある。このため、ボトルブラシポリマーは、長さ・直径・ 化学的性質・分子量分布をそれぞれ独立に自在制御可能 な1次元ナノマテリアルとして捉えられるという特徴を 有する。

本研究では、多様なボトルブラシポリマーを精密合成 するための要素技術の確立、および、それをフィラーと して応用した相分離プラスチックの開発について報告す る。前者と後者、ともに論文として国際誌^{(1) (2)}に掲載済 みである。本稿では、これらの重要な点に焦点を当て結 果報告する。

2. ボトルブラシポリマーの精密合成⁽¹⁾

高分子の鎖長は、高分子材料のバルク特性に影響を与 える重要な因子である。しかしながら、最新の高分子合 成技術を駆使しても、マイクロメートルを超える鎖長を 有する高分子の精密合成は容易ではなく、開始速度と伝 搬速度を制御しながら、素反応を高効率で繰り返す分子 設計が必要である。また、ボトルブラシポリマー合成の 基点となるモノマーには主鎖方向と側鎖方向への高分子 鎖を伸長するために異なる反応性のユニットを組み込む という制約がかかる。 本研究では、2-ブロモイソブチリル基をメチレンオキ シドスペーサーを介して、ノルボルネン骨格に連結した 誘導体(NB)が上述した条件を満たす極めて有効なモノ マーであることを見出した。このモノマーを出発原料と して、まず主鎖合成を開環オレフィンメタセシス重合 (ROMP)で、続いて側鎖合成をPNBから原子移動ラジ カル重合(ATRP)により行いボトルブラシポリマーを合 成した(図1b)。NBの重合は、NBと開始剤のRu錯体(第 3世代Grubbs触媒)比率によって、30から10,000まで狭 い分子量分布を維持しつつ進行した(図1c, d)。この時、 NBの単結晶を利用した。NBは酢酸エチルに溶かして室 温で蒸発濃縮することにより、針状の単結晶を析出する。 この結晶は、水や溶媒分子を含んでおらず、NB同士が



 図1. (a) ボトルブラシポリマーの長さ:本研究と過去の文 献値との比較, (b) ボトルブラシポリマーの合成ス キーム.主鎖の構築にROMP, 側鎖の重合にATRPを利 用, (c) PNBのサイズ除去クロマトグラフィーのプロ ファイルとその(d) M_n および M_w/M_nプロット.

互いに密に充填された構造をとっていることを単結晶X 線構造解析により明らかにした。この単結晶をROMPに 直接利用することによって、系内の純度を向上させると いう戦略である。結果、コンバージョンはいずれの比率 でも99%以上。反応速度は極めて速く10,000量体の反応 もわずか15分で完結した。10,000量体という重合度の極 めて大きな高分子にもかかわらず、分子量分布 Mn/ Mw = 1.17という優れた値を示した。PNBからスチレン やアクリル酸、メタクリル酸系のモノマーを重合し、化 学的性質の異なる側鎖を有するボトルブラシポリマーを 合成した。これにより、ボトルブラシポリマーの親水性、 疎水性、ガラス転移温度などの性質を制御できた。合成 したボトルブラシポリマーの側鎖を主鎖から切り離し、 分子量分布を求めた結果、Mn/Mw = 1.12-1.24という値 であった。以上より、主鎖と側鎖の両方が精密に合成さ れていることが確かめられた。また、原子間力顕微鏡に よる直接観察からも、ボトルブラシポリマーがサイズ除 去クロマトグラフィーのデータから予測される精度で合 成されていることを確認した(図2a-d)。この合成法は、 主鎖長が7µmのボトルブラシポリマーの合成をも可能 にした(図1a, 図2d)。これは、これまでに合成された精 密ボトルブラシポリマーの中で「史上最長」である。こ の合成法を基盤として、ボトルブラシポリマーを自在合 成可能な1次元ナノマテリアルとした、様々な研究の展



図2. 原子力顕微鏡によるボトルブラシポリマーの直接観察. (a) 33 nm, (b) 100 nm, (c) 1 mm and (d) 7 mm (史 上最長).

開が期待できる。

3. ボトルブラシポリマー複合プラスチックの開発⁽²⁾

プラスチック材料を強化するために、マトリックスに フィラーを充填する戦略は広く採用されている。しかし ながら、設計性に欠ける既存のフィラーはマトリックス との屈折率差に基づく相界面での光散乱により、材料の 透明性を低下させるという問題を抱える。本研究では、 ボトルブラシポリマーが(1)形状、(2)ガラス転移温度、 (3)屈折率を調整可能なフィラーとなる可能性に着目し、 ボトルブラシポリマーを複合したプラスチックを合成し た。

透明性と強靭性を両立するために、マトリックスを poly(*t*-butyl methacrylate)、ボトルブラシポリマーの 側鎖をpoly(*n*-butyl acrylate)に選定した。これらは両 者の屈折率のマッチングとガラス転移温度 (T_g)が室温 を基準として上か下かという観点によるものである。材 料の透明度の低下を防ぐために、ボトルブラシポリマー とマトリックスの屈折率を揃え(nD = 1.46)、ガラス性 マトリックス($T_g = 89.1$ °C)を高靭化するためのフィ ラーとして、ゴム状の性質($T_g = -48.1$ °C)を示すボト ルブラシポリマーを用いた。

前項の合成法に基づき、主鎖がpolynorbornene(DP = 600)、側鎖がpoly(*n*-butyl acrylate)(DP = 88)のボト ルブラシポリマーPNB₆₀₀-*b*-PBA₈₈ ($Mn = 1.1 \times 10^6, Mw/$ *Mn* = 1.21)を合成し、これをマトリックスの前駆体であ る*t*-butyl methacrylateに10 wt%加え溶解させた後、光 重 合 開 始 剤2-hydroxy-2-methylpropiophenone を0.8 mol%加えた。得られた溶液をUVランプ(500 W)により 1時間光照射して重合固化し、ボトルブラシポリマーが 埋め込まれたプラスチックを得た(図3a.b)。このプラス チックは、マトリックス単独と比べて透明性を大きく損 なうことがない上に、強靱化されていることを、 Vickers硬度試験(図3c,d)、衝突試験(図3e)より明らか にした。これに加えて、ボトルブラシポリマーが優れた フィラーである点として、ボトルブラシポリマーをマト リックスに埋め込むと、得られた材料の破壊靭性が増加 させることに加えて、耐熱性も向上させる効果があるこ とである(図3e下段Tg)。示差走査熱量計により、ボト ルブラシポリマー10 wt%を複合したプラスチックのT_g は、99.1℃まで向上することがわかった。マトリックス



 図3. (a) ボトルブラシポリマーを複合したプラスチックの 合成とその(b) 写真. (c) 破壊靱性値 と(d) ビッ カース硬さ,(e) 落球衝撃試験 と ガラス転移温度.
 (i) マトリックスのみ,(ii) 鎖状高分子(LP) 10wt%複 合したプラスチック,(iii) ボトルブラシポリマー(BP) 10 wt%複合したプラスチック.

単体の T_g は89.1°C、ボトルブラシポリマーの T_g は – 48.1°Cであることを考慮すると、 T_g の上昇は予期せぬ結 果であった。一方で、対照実験として行なった市販のリ ニアポリマーpoly(*n*-butyl acrylate)($Mn = 2.0 \times 10^4$, Mw/Mn = 3.0)を10 wt%埋め込んだプラスチックは、破 壊靭性は増加するが、ガラス転移温度が下降してしまう (*T*_g = 82.6 ℃)という結果であった。

この結果は、化学的性質が同じ高分子鎖でも高分子鎖 の連結方法を変えることで、材料特性を反対方向へ転換 できるということを示唆するものである。他の高分子鎖 の組み合わせでも同様の現象が普遍的に観測されるか、 今後の更なる検討が必要である。

4. 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厚く御礼を申し上げま す。また、本成果を発表した論文の共著者である物質・ 材料研究機構および理化学研究所の皆様に心より感謝を 申し上げます。

5. 発表論文

 Yoshihiro Yamauchi,* Noriko Nishizawa Horimoto, Kuniyo Yamada, Yoshitaka Matsushita, Masayuki Takeuchi, Yasuhiro Ishida*

"Two - Step Divergent Synthesis of Monodisperse and Ultra - Long Bottlebrush Polymers from an Easily Purifiable ROMP Monomer"

Angew. Chem. Int. Ed., **2021**, 60, 1528–1534. Selected as "Hot paper" and "Front cover picture".

2) Yoshihiro Yamauchi,* Sadaki Samitsu, Kenta Goto, Masayuki Takeuchi

"Bottlebrush polymer-reinforced transparent multiphase plastics with enhanced thermal stability"

Chem. Commun., 2020, 56, 14641-14644.

可視光を用いた選択的脱芳香族化による交差共役および 拡張キノイド型機能性分子の創製

東北大学 大学院理学研究科 石田 真太郎

1. 背景

π共役系化合物の周辺にケイ素原子を導入するとSi-C結合の $\sigma(\sigma^*)$ 軌道が共役系の $\pi(\pi^*)$ 軌道と相互作用 し(σ - π 共役)、酸化還元的性質や光物性が変化する¹。 この性質を利用した様々な含ケイ素環状 π 電子系化合物 が合成されている。例えば、図1に示すようなケイ素置 換を持つアントラセンA²やピレンB³は無置換のものに比 べ吸収の長波長シフトや蛍光量子収率の向上が見られ る。これはSi-C結合の σ *軌道と共役系の π *軌道間の相 互作用により、LUMOのエネルギー準位が低下すると ともに、共役の伸長によりπ-π*遷移の振動子強度が増 大し、一重項励起状態からの放射過程が促進されたため と説明されている¹。含ケイ素五員環化合物であるシロー ルCはピロールやチオフェンなどの他の複素五員環に比 べ低いエネルギー準位のLUMOを持ち、その誘導体は 有機ELの電子輸送材料として実用化された。これは環 外Si-C結合の σ *軌道とブタジエン部位の π *軌道との σ *-π*共役が有効に作用することに起因する45。

含ケイ素七員環化合物であるシラシクロヘプタトリエ SiR₃ SiMe₃ Me₃S Me₃Si SiMe₃ ŚiR₃ Α B C D

図1. 含ケイ素 π 電子系化合物の例

ン(以下シレピン)の吸収および発光波長はシクロヘプタ トリエンのものよりも長波長シフトする⁶。これまでに、 ジベンゾシレピンの周辺置換基がシレピンの物性に与え る影響や^{6a}、ケイ素中心が5配位であるジベンゾシレピ ンをモノマー単位に持つポリマーDの性質が明らかと なっている^{6b.c}。しかし、これまで報告されているシレピ ンのほとんどはジベンゾまたはトリベンゾシレピンのよ うなπ電子系が縮環したものに限られており、ベンゾ縮 環の無いシレピンについては合成上の制約により性質は 未解明な部分が多い^{6d}。特にシレピンが直接連結したオ リゴシレピンはこれまで合成例が無く、シレピン環を連 結させることによって得られる構造や物性に興味が持た れる。

これに対して先に我々は、単離可能なジアルキルシリ レン17(カルベンのケイ素類縁体)が可視光照射によりベ ンゼンなどの芳香族化合物と反応してシレピンを与える ことを報告している(スキーム1)⁸⁹。これはBuchner環 拡大反応のケイ素版に相当し、最初に脱芳香族化型の



(1+2)環化付加反応が進行し、続く環拡大によりシレ ピンを与える。脱芳香族化反応は、容易に得られる芳香 族化合物を脂環式化合物に変換できるため、合成化学的 利点が大きい。そのため近年反応開発のトピックスの一 つとして注目されている¹⁰。

そこで今回、スキーム1の反応を利用して入手容易な 芳香族化合物から交差共役系分子¹¹であるビシレピンお よびπ拡張されたシレピンの合成を検討した。

2. 結果と考察

ビシレピンの合成

初めにビシレピンの合成を検討した。脱芳香族化型環 化付加の位置選択性制御と、ビシレピンの官能基化のた めに、フェノール部位をトリメチルシリル基で保護した ビフェニル誘導体3aを基質として用いた。スキーム2a に示すように、3aと2当量の1のヘキサン溶液に対し て室温で青色LED光(発光波長448 nm)を照射したとこ ろ溶液の色は2時間で退色した。生成物解析から未反応 の3aとともに目的のビシレピン4aおよび3aの片方のア リール基のみ反応したシレピン5を含む複雑な混合物の 生成が確認された。しかしこの混合物の中から目的のシ レピンを単離することはできなかった。

量論反応では望みの反応の効率および選択性が悪いた め、段階的に脱芳香族化反応を行うことにした(スキー ム2b)。シリレン1に対して5当量の3aを用いて光反応 を行うことで、シレピン5を収率74%で単離した。得ら れた5に対して同様の反応を行うことで、ビシレピン



4aを収率38%で得ることに成功した。化合物4aの同定 は各種NMRスペクトル、高分解能質量分析およびX線 結晶構造解析(図2)により行った。これはビシレピンの 合成および単離の初めての例である。いずれの七員環も ボート型配座を取っており、置換基間の立体反発を避け る形となっていた。

期待したように、ビシレピン4aはシリルエノールエー テル部位を持つために、クロロホルム中の水分により容 易に加水分解してジケトン4bを収率72%で与えることが 分かった(スキーム3・図3)。この一連の反応はシリレ



図2. ビシレピン4aの分子構造.







図3. ジケトン4bの分子構造.

ンを用いた脱芳香族化反応により、フェノール誘導体か ら交差共役系ジケトン誘導体への変換反応ととらえるこ とができる。

ターシレピンの合成検討

b-ターフェニルからターシレピンの合成を試みた(ス キーム4)。まず、ターシレピン合成が可能であるかど うかを確かめるために、*p*-ターフェニル3bに過剰量の1 を作用させることによるターシレピンへの直接誘導を試 みた。光反応を効率よく進行させるため、1は都度追加 する方法を取った。すなわち、3bに対して3当量のシ リレン1を加え、ヘキサン中で448 nmのLED光を照射 した。¹H NMRスペクトルにより反応追跡を行い、原料 が消失してスペクトルに変化が見られなくなるまで3当 量の1を合計4回加えた(合計12当量)。生成物は複雑な 混合物であったが、ターシレピン6が含まれていること を高分解能質量分析から確認した。しかし、分離法を種々 検討したが6の単離には至らなかった。これは生成する シレピン類の種類が多いことに加え、6を含む反応生成 物の溶解性が低いことが理由の一つである。以上の結果 より、1を用いた3bからターシレピンへの選択的誘導 は困難であると判断した。反応の選択性および基質の溶 解性の向上が課題である。

π拡張シレピンの合成

次にπ拡張シレピンの合成を検討した。あらかじめ カップリング反応に適応可能な置換基を持つシレピンを



合成し、その後、カップリング反応によるπ拡張シレピ ンへと誘導するという合成戦略を立てた。この目的のた めには、ホウ素置換およびハロゲン置換シレピンが必要 であるため、まずこれらの合成を行った。

初めに、ピナコールボリル基を持つシレピン7の合成 を検討した(スキーム5)。シリレン1と5当量の1,4ジ ピナコールボリルベンゼン3cのヘキサン溶液に対し、 448 nmの青色LED光を照射したところ1時間で反応溶 液は無色に変化して反応が完結した。最終的に目的物7 を白色固体として単離収率45%で得た。しかしその後の 調査により7は溶液中徐々に熱分解することが判明し、 これを用いるカップリング反応のルートは断念した。

ハロゲン置換シレピンの合成を検討した。臭素置換シ レピンは光反応時の副反応により単離できなかったもの の、種々の反応条件の精査の結果、*p*-ジクロロベンゼン 3dを用いて反応を行うことで、ジクロロシレピン8を 単離収率34%で得ることに成功した。化合物8の熱安定 性は7より格段に高く、70°C程度の温度では分解しな いことが分かった。

ジクロロシレピン8を用いたカップリング反応を検討 した。ジクロロシピレン8の塩化アルケニル部位の低い 反応性が予想されたため、カップリング反応には不活性 な基質でも有効な熊田・玉尾・Corriuクロスカップリン グ反応を採用した。結果を表1に示す。ニッケル触媒は 今回の反応には適していないことがわかった。一方で Pd(PPh₃)₄を触媒として用いた場合は8にPh基が一つ導 入されたシレピン9-Phが主生成物として得られた (Entry 2)。より高活性なPd(PtBu₃)₂を触媒として用い た場合では目的物である9-Ph₂のNMR収率は65%にまで 向上し、反応時間も3時間と短いことがわかった(Entry 4)。

続いてジクロロシレピン8に対してアリール基の導入







を試みた(スキーム6)。チエニル基、4メトキシフェニ ル基を持つシレピン9-Th₂および9-Ani₂をそれぞれ単離 収率43%および19%で得た。また、Pd触媒としてPd (PPh₃)₄を用いることで、Ph基を一つ導入した9-Phを収 率62%で単離することも可能であった。構造の決定は各 種分光学的測定によって行い、9-Phについては図4に示 したように単結晶エックス線構造解析によって分子構造 を明らかにした。9-Phは様々な官能基にシレピンを導入 できるユニットとして有望である。

置換シレピン類の吸収スペクトル

合成したアリール置換シレピンの紫外可視吸収スペク トルを測定し(図5)、結果を表3にまとめた。9-Ph₂, 9-Ani₂, 9-Th₂, 9-Phおよび無置換体である2aのヘキサン 中における紫外可視吸収スペクトルを示した。電子豊富



図4. 9-Phの分子構造.



図5. 化合物9-Ph₂, 9-Ani₂, 9-Th₂, 9-Phおよび2aの紫外可視吸 収スペクトル(ヘキサン中、室温).

表3. 化合物9-Ph₂, 9-Ani₂, 9-Th₂, 9-Ph, 2aおよび関連化合物 の極大吸収波長およびモル吸光系数

Compound		λ _{max} / nm (ε)	Compound	λ _{max} / nm (ε)
Ar Ar	9- Ph ₂	257 (6800) 234 (4900)	R ^H 2 Si	300 (400)
	9-Ani ₂	274 (8100) 224 (5100)		212 (3900)
	9 -Th ₂	291 (6600) 244 (3000)	6d	261 (2800)
Ph CI	9 -Ph	254 (4700) 226 (4000)	14	290 (540) 281 (780) 247 (14400)

な(ヘテロ)アリール基が導入されるにつれて、吸収帯の 長波長シフトが観測された。一方同じアリール基を持つ 9-Phと9-Ph2の吸収極大波長はそれぞれ254 nm, 257 nm とほとんど変化していない。これはπ拡張シレピンの持 つ交差共役系の特徴と考えられる。今回合成したシレピ ン類は室温溶液中では蛍光が観測されなかった。励起状 態からの無輻射失活が優先されているためだと考えられ る。

拡張キノイド型シレピン

シリレン1とコランニュレンとの光反応においても、 対応するシレピン誘導体10が濃紺色粉末として得られた (スキーム7)。この化合物はキノジメタン構造10aと、 芳香族性の獲得に伴うビラジカル構造10b双方の電子状 態の寄与が考えられる特異な分子であり、それを反映し た高い反応性を示した。

10のサイクリックボルタンメトリーを測定すると、 THF中で-1.47 Vに可逆な還元波が観測された。この結 果は10が容易に一電子還元され安定なアニオンラジカル が発生することを示している。実際に10に対して金属カ リウムを作用させると10のアニオンラジカルが生成する ことをEPRスペクトルなどから確認した(スキーム8)。







また、本研究で得られた他のシレピン類が空気に対して 安定であるのに対して、10のヘキサン溶液に空気を通ず ると10分間で完全に分解し、Si-C結合が酸化的に切断 された化合物11が得られた。これは10の持つビラジカル 性の寄与を反映しているものと考えられる。

同様の光反応をコロネンに対しても行ったところ、溶 液の色は薄い青色に変化し目的の反応が進んでいる可能 性を示唆していたが、コロネンのヘキサンへの溶解性が 低く反応がほとんど進行しないため、分析可能な量の目 的物を取り出すことができなかった。今後10の詳細な性 質の解明、ならびに他の拡張キノイド型分子の合成と機 能性について引き続き検討を続ける。

3. まとめ

シリレン1と可視光を用いた脱芳香族型環化反応を利 用して様々なタイプのシレピン、特に交差共役系である ビシレピン4aやその加水分解によるジケトン4b、並び にπ拡張シレピン9の合成が可能であることを実験的に 明らかにした。得られたπ拡張シレピン9は置換基の電 子供与性に応じた吸収帯の長波長シフトが観測された。 拡張キノイド構造を持つシレピン10について、ビラジカ ル電子状態の寄与が反応性に関わっていることを明確に することができた。

4. 謝辞

本研究課題を遂行するにあたり公益財団法人松籟科学 技術振興財団からの研究助成を賜りました。財団および 関係者の皆様に深く御礼申し上げます。

5. 参考文献

- 1. 現代ケイ素化学,吉良満夫・玉尾皓平編, 2013, 化学 同人.
- 2. a) Kyushin, S.; Ikarugi, M.; Goto, M.; Hiratsuka, H.; Matsumoto, H. Organometallics 1996, 15, 1067. b) Karatsu, T.; Hazuku, R.; Asuke, M.; Nishigaki, A.; Yagai, S.; Suzuri, Y.; Kita, H.; Kitamura, A. Org. Electronics 2007, 357, 366.
- 3. Maeda, H.; Suzuki, T.; Segi, M. Photochem. Photobiol. Sci. 2018, 17, 781.
- 4. a) Yamaguchi, S.; Tamao, K. Chem. Lett. 2005, 34, 2. b) Yamaguchi, S.; Tamao, K. Bull. Chem.

Soc. Jpn. 1996, 69, 2327.

- 5. a) Tamao, K.; Uchida, M.; Izumizawa, T.;
 Furukawa, K.; Yamaguchi, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11974. b) Uchida, M.; Izumizawa, T.;
 Nakano, T.; Yamaguchi, S.; Tamao, K.;
 Furukawa, K. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 2680.
- 6. a) Mercier, L. G.; Furukawa, S.; Piers, W. E.; Wakamiya, A.; Yamaguchi, S.; Parvez, M.; Harrington, R. O.; Clegg, W. Organometallics 2011, 30, 1719. b) Tokoro, Y.; Tanaka, K.; Chujo, Y. RSC Adv. 2015, 5, 23331. c) Tokoro, Y.; Tanaka, K.; ChujoY. Bull. Chem. Soc. Jpn. 2015, 88, 1350. d) Nakadaira, Y.; Sato, R.; Sakurai, H. Organometallics 1991, 10, 435. e) Inai, N.; Yokogawa, D.; Yanai, T. J. Phys. Chem. A. 2021, 125, 559.
- Kira, M.; Ishida, S.; Iwamoto, T.; Kabuto, C. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 9722.
- シリレンの脱芳香族化型環化付加の例: Suzuki, H.; Tokitoh, N.; Okazaki, R. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 11572.
- 9. a) Kira, M.; Ishida, S.; Iwamoto, T.; Kabuto, C. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 3830. b) Kira, M.; Ishida, S.; Iwamoto, T.; de Meijere, A.; Fujitsuka, M.; Ito, O. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2004, 43, 4510. c) Kosai, T.; Ishida, S.; Iwamoto, T. Chem. Commun. 2015, 51, 10707.
- a) Kuwajima, I.; Nakamura, E. Acc. Chem. Res.
 1985, 18, 181–187. b) Wertjes, W. C.; Southgate, E. H.; Sarlah, D. Chem. Soc. Rev. 2018, 47, 7996.
- Gholami M.; Tykwinski, R. R. Chem. Rev. 2006, 106, 4997.

研究報告集 第34集 (非売品)

2023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 大阪市中央区今橋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