# 緒言

	発光の概要	1
	ヤブロンスキーダイアグラム	2
	蛍光発光強度を決める因子	3
	拡張 π 共役系分子	3
	Push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ分子	4
	小分子蛍光性有機化合物における TFPE 基	5
	発蛍光性における 3,3,3-trifluoroprop-1-enyl (TFPE) 基の有用性	6
	TFPE 基の構築方法	7
第一章	TFPE-aniline	
	TFPE-aniline の合成および蛍光特性の測定	13
	第一章のまとめ	16
第二章	Ortho-TFPE-aniline	
	位置異性体 2e および 2f の蛍光性の違い	18
	トリフルオロメチル基とアミノ基の蛍光性への影響	19
	<i>Ortho</i> -TFPE-aniline の合成および蛍光特性の測定	20
	第二章のまとめ	27
第三章	TFPE-aniline 以外に TFPE 基を有する蛍光性有機化合物	
	7-Amino-4-methylcoumarin (AMC)	28
	TFPE-AMC の合成	29
	TFPE-AMC の蛍光特性の測定	32
	第三章のまとめ	33
第四章	TFPE-aniline を用いた酵素活性測定	
	生体成分の蛍光センシング	34
	蛍光プローブのデザイン	36
	DPP-4 に関する発蛍光性基質の合成	38
	DPP-4 活性測定	38
	第四章のまとめ	42

結語

43

謝辞	45
実験の部	46
参考文献	84

諸言

古来より、人々は松明や石油ランプ、ガス灯、蛍光灯などの発光現象を利用してき た。しかし、近年、発光現象の利用は、このような生活の場における照明に使われる だけではなく、さまざまな分野においても利用され続けている。その中でも、医療分 野における発展は目覚しく、基礎研究から臨床まで幅広く利用されている。 緒言で は、はじめに励起法による発光現象を分類し、その具体例を挙げる。次に、分子が励 起されてから発光するまでの過程についてを、ヤブロンスキーダイアグラムや HOMO-LUMO の遷移から、蛍光発光の強さをモル吸光係数や蛍光量子収率からそれ ぞれ説明する。続いて、現在報告されている蛍光性有機化合物である拡張 π 共役系分 子の多環芳香族化合物と push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ単環芳 香族化合物について紹介する。最後に、発蛍光性における TFPE 基の有用性およびそ の構築方法を挙げる。

#### 発光の概要

発光現象は、光や電流、化学反応、その他の形で分子に投入されたエネルギーが緩和して元の状態に戻る際、一部のエネルギーが可視領域の電磁波として放出される現象である。また、分子を励起する方法により、発光現象は、光の励起によるフォトルミネッセンス、電流の励起によるエレクトロルミネッセンス、化学反応の励起による 化学ルミネッセンスなど、様々に分類される(Fig. 1)。



Fig.1 発光の概要

### フォトルミネッセンス

光によって励起され、別の光を発生することを一般にフォトルミネッセンスといい、 フォトルミネッセンスには蛍光と燐光が含まれる。<sup>13</sup> 蛍光を発するような媒体として、 一般に蛍光性有機化合物や緑色蛍光タンパク質などが知られている。<sup>45</sup> 生体機能を解 析するためのさまざまな分光学的方法の中で、蛍光は生体成分や生命現象の検出にも っとも頻繁に利用されている方法である。蛍光強度や蛍光波長は、蛍光団の構造や周 辺環境の変化に応じて変化する。この現象を検出の基本原理として、生体成分をセン シングする蛍光プローブ分子や、酵素反応に応用した蛍光分析法が数多く開発されて いる。

### ヤブロンスキーダイアグラム

分子の励起状態緩和過程および発光過程は、ヤブロンスキーダイアグラムを用いて 一般に説明される。<sup>6</sup>

つまり、基底状態(S<sub>0</sub>)にある分子は第二励起一重項状態(S<sub>2</sub>)の高い振動準位に 励起され、続いて振動緩和および内部変換によって第一励起一重項状態(S<sub>1</sub>)まで緩 和される。Si状態から反応が起こらない分子では、蛍光発光を伴いながらエネルギー 緩和が起こる放射遷移過程(k/)と、蛍光発光せずに振動などによるエネルギー緩和 が起こる無放射遷移過程(km)によって So 状態へと緩和する (Fig. 2)。また、フロン ティア軌道理論による HOMO、LUMO の観点から基底状態および励起状態をみてみ ると、So状態では HOMO に2個の電子が収められており、LUMO は空である。一方、 S1 状態では HOMO および LUMO のそれぞれに、S2 状態では HOMO および LUMO あ るいは LUMO+1 のそれぞれに電子が 1 個ずつ収められていることがわかる。このこ とから、Soから S2へと励起される際には、HOMO と LUMO あるいは LUMO+1 のエ ネルギーギャップに相当するエネルギーを So の分子が受け取って HOMO にある一つ の電子が昇位した不安定な S2 へと変化する。続いて、S2 状態から S1 状態への緩和過 程においては、S1は S2よりも安定構造であることから、降位するためにエネルギー ギャップが小さくなる。最後に、S1から Soへの緩和過程においては、LUMO にある 電子が HOMO へと降位しており、この HOMO-LUMO のエネルギーギャップに相当 するエネルギーが放射遷移過程あるいは無放射遷移過程によって放出され、S<sub>1</sub>から Soへと変化する。この放出過程において蛍光発光が起こる(Fig.3)。



Fig.2 ヤブロンスキーダイアグラム



Fig. 3 S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>の状態における電子配置とスピン

### 蛍光発光強度を決める因子

ヤブロンスキーダイアグラムから、蛍光発光強度は基底状態分子がどのくらいの効率で光を吸収して励起状態分子を生成するかという因子と、生成した励起状態分子が どのくらいの効率で蛍光を発して基底状態に戻るかという因子の、二つの因子に比例 することがわかっている。前者の因子、すなわち HOMO-LUMO ギャップに相当する 光子をどの程度効率的に吸収するかを表すパラメーターをモル吸光係数(ε)とよび、 HOMO から LUMO への電子が移動する確率を決定する要因の一つに、HOMO と LUMO のエネルギー的な近さが挙げられる。また、後者の因子である、励起状態から の蛍光発光確率を決定する要因の一つに蛍光量子収率(φ)があり、これは励起によ って分子に吸収された光子数と、蛍光によって放出された光子数の比のことである。 蛍光量子収率は式(1)のように定義されるため、蛍光発光には krat kr が重要と なる。ここで、kr はモル吸光係数 ε とほぼ比例関係にあることが半経験的に明らかと なっているため、km の値および kr ok km の比が重要なものとなる。以上のことから、 蛍光発光強度は式(2)のように考えることができる。よって、蛍光発光強度には、 モル吸光係数と蛍光量子収率のそれぞれが優れた値を持つことが重要である

$\phi = k_f / k_f + k_{nr}$	$F = \varepsilon \times \phi$
式(1) 蛍光量子収率	式 (2) 蛍光発光強度

### <u> 拡張 π 共役系分子</u>

生物化学研究において、特定の生命分子の挙動を動的かつ定量的にモニタリングし、 可視化するための核心的技術として蛍光性有機化合物による蛍光標識が用いられて いる。生細胞系などでの研究を考える場合、水系環境下で機能することが重要ではあ るが、一般に蛍光性有機化合物は脂溶性が高く、有機溶媒に良く溶け、低極性環境下 では大きな蛍光量子収率を持つ。これに反し、水溶性が高く、水中などの高極性環境 下においても大きな蛍光量子収率を持つ蛍光性有機化合物は少ない。そのため、生体 系での解析を行うためには、波長、蛍光強度の観点から、実験目的に応じた蛍光性有 機化合物を選択することが重要であり、観察のしやすさ、蛍光性有機化合物の安定性、 レーザーの種類などから、一般的に可視光領域(400~700 nm)での励起・蛍光が用い られる。<sup>27</sup>また、近赤外領域(700~1000 nm)は、生体内のヘムや水の吸収を避ける ことができる波長領域であり、細胞の吸収や散乱を回避した生体イメージングが可能 であるために注目されているが、この領域で励起・蛍光する蛍光性有機化合物の種類 はまだ限定的である。一方、紫外領域(~400 nm)での励起を用いる蛍光標識は解像 度が上がるため、より詳細な識別が期待される。

これまでに開発されている蛍光分子の基本骨格の多くは、キサンテン骨格を有する フルオレセインやピレンのような多環芳香族炭化水素骨格、クマリン骨格、シアニン 骨格などの拡張  $\pi$  共役系分子である。<sup>7-11</sup> これらの化合物は、単純なベンゼンに比べ て HOMO-LUMO のエネルギーギャップが小さく、吸収はより長波長側に現れ、 $\pi$ - $\pi$ \* 遷移に基づくモル吸光係数の大きな吸収帯を示す。さらに、共役系が長く分子が回転 しにくい構造であるため、光励起状態からのエネルギー緩和過程において無放射失活 によるエネルギー緩和が起こりにくいことから、優れた蛍光性を持つ(Fig. 4)。



7-Amino-4-methylcoumarin  $\lambda_{abs, peak}$  346 nm,  $\lambda_{fl, peak}$  442 nm



Alexa Fluor<sup>®</sup> 405 λ<sub>abs. peak</sub> 401 nm, λ<sub>fl. peak</sub> 421 nm



Fluorescein  $\lambda_{abs, peak}$  492 nm,  $\lambda_{fl, peak}$  510 nm

CHa

Cy7  $\lambda_{abs, peak}$  743 nm,  $\lambda_{fl, peak}$  767 nm

Fig. 4 拡張 π 共役系分子

## Push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ分子

近年、小さな π 共役系分子にもかかわらず、蛍光性を示す蛍光分子が報告されている。それらは、芳香環上に電子供与性置換基と電子求引性置換基を持つことから、

"push-pull system"と呼ばれる donor-π-acceptor 構造を持つ蛍光性分子である。電子供与 性官能基には強い電子供与能を持つアミノ基が使われており、一方で、電子求引性官 能基には様々なものが使われている。これらの中でも、bis(alkenyl)benzene は、官能 基の位置や種類によってフルカラー発光を実現している。<sup>12,13</sup>また、 2.5-bis-(methylsulfony)-1.4-diaminobenzene は励起状態における構造変化が大きいため、 極めて大きなストークスシフトを示す。<sup>14,15</sup>さらに、溶媒、pH または濃度に依存しな い吸収・蛍光特性をもち、耐光性にも優れているため、発光素子・バイオマーカー・ 光学センサーなどへの応用が期待されている強蛍光性小分子である(Fig. 5)。これら push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ蛍光性有機化合物は、拡張 π 共 役系分子とは異なる蛍光メカニズムを有する化合物であり、更なる発展が期待されて いる。



 $R = H, CF_3, COOEt$ bis(alkenyl)benzene



2,5-bis(methylsulfonyl)-1,4-diaminobenzene

Fig. 5 push-pull system に基づく donor-π-acceptor構造をもつ分子

### 小分子蛍光性有機化合物における TFPE 基

2009 年、清水らにより、1,4-bis(alkenyl)-2,5-dipiperidinobenzene が溶液状態だけでは なく、固体状態においても良好な蛍光発光を示すこと、さらに alkenyl 部分の官能基 を変更することで蛍光色を容易に調節できることが報告されている(Fig. 6)。<sup>13</sup>



1,1'-(2,5-divinvl-1,4phenylene)dipiperidine

in cyclohexane λ<sub>fl. peak</sub> 469 nm,  $\varepsilon$  4900 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>,  $\phi$  0.53



1,1'-(2,5-bis((*E*)-3,3,3-trifluoro-prop-1-en-1-yl)-1,4-phenylene)dipiperidine

in cyclohexane λ<sub>fl. peak</sub> 523 nm, ε 3500 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, φ 0.49

λ<sub>fl. peak</sub> 523 nm, φ 0.98

in crystals

in cvclohexane  $\lambda_{fl, peak}$  566 nm,  $\varepsilon$  6300 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>,  $\phi$  0.66

(2E,2'E)-diethyl 3,3'-(2,5-di(piperidin-

1-yl)-1,4-phenylene)diacrylate

COOCH2CH2

in crystals λ<sub>fl. peak</sub> 486 nm, φ 0.94 in crystals  $\lambda_{fl, peak}$  596 nm,  $\phi$  0.89



5

また、清水らは、dimethoxybis(3,3,3-trifluoropropen-1-yl)benzene が官能基の位置ある いは、二重結合の *E/Z* によっても蛍光性が大きく異なることを報告している(Fig. 7)。







1,2-dimethoxy-4,5-bis(3,3,3-1,5-dimethoxy-2,4-bis(3,3,3-1,4-dimethoxy-2,5-bis[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)benzenetrifluoroprop-1-en-1-yl)benzenetrifluoroprop-1-en-1-yl]benzene

in cyclohexane	in cyclohexane	in cyclohexane
( <i>E</i> ) λ <sub>fl, peak</sub> 362 nm ε 10500, φ 0.22	( <i>E</i> ) λ <sub>fl, peak</sub> 366 nm, ε 5800, φ 0.44	( <i>E</i> ) $\lambda_{fl,  peak}$ 407 nm, $arepsilon$ 9900, $\phi$ 0.34
(Ζ) λ <sub>fl, peek</sub> 373 nm, ε 9000, φ 0.10	(Ζ) λ <sub>fl, peak</sub> 364 nm, ε 5600, φ 0.15	

Fig. 7 Dimethoxybis(3,3,3-trifluoropropen-1-yl)benzen類の構造

清水らの報告によると、TFPE 基を持つ化合物は C-F 結合の  $\sigma^*$ 軌道とエチニル部分 の  $\pi$ 軌道間の相互作用により HOMO のエネルギーレベルを下げ、C-F 結合の  $\sigma^*$ 軌道 とエチニル部分の  $\pi^*$ 軌道間の相互作用により LUMO のエネルギーレベルを下げるこ とが DFT 計算により推測されている。DFT 計算による HOMO-LUMO の狭いエネル ギーギャップが蛍光性に有利に働くことは多くの研究により明らかとなっている。

清水らの報告から、ベンゼン環上に電子供与性基とTFPE 基が共存することで、ベンゼン環を一つしかもたないような小分子でも蛍光性を示すことが明らかとなった。 さらに、TFPE 基のアルケニル部位は Z 体よりも E 体のほうが良好な蛍光性を示すことも明らかとなった。

#### <u>発蛍光性における 3,3,3-trifluoroprop-1-envl (TFPE)</u> 基の有用性

これらの背景から、著者は、push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を構築 する際、電子求引性官能基としての有用性の高い(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl (TFPE) 基に着目した。TFPE 基は単純で剛直な構造であるため回転しにくく、光励起状態か らのエネルギー緩和過程において蛍光発光を伴わない無放射失活によるエネルギー 緩和が起こりにくいと考えられる。さらに、酸素原子や窒素原子のようなルイス塩基 性の原子をもたないことから、プロトン性溶媒が配位せず、水系溶媒中に多くみられ るような水素結合を介する溶媒和による蛍光消光も起こりにくいと考えられた (Fig. 8)。

CF<sub>3</sub>

Fig. 8 (E)-3,3,3-Trifluoroprop-1-enyl (TFPE) 基

### TFPE 基の構築方法

TFPE 基は、これまで述べてきたように小分子化合物を蛍光性にする上で、魅力的 な官能基である。しかし、TFPE 基の構築方法としては、1)末端炭素のフッ素化、2)オ レフィンへの CF3 基の導入、3)Wittig 反応、4)3,3,3-トリフルオロプロペニル化などが 多数報告されているが、それらすべては多段階反応を要し、*E/Z* 選択性が乏しく、マ イクロウェーブなどの特殊な装置を用いる必要があるなど、その構築方法が十分に確 立されているとは言い難い(Fig. 9)。以下に、各構築法の詳細について述べる。



Fig. 9 TFPE基の構築方法

1) 末端炭素のフッ素化:末端炭素のフッ素化による TFPE 基の構築は、2010 年に 梅本らにより報告されている。<sup>16</sup>本方法では、桂皮酸を原料に用い、カルボキシ基を 直接フッ素化することで TFPE 基の構築が達成されている (Scheme 1)。しかしながら、 本方法で用いるフッ素化剤は、水分に不安定で取り扱いには注意を必要とする。



Scheme 1 末端炭素のフッ素化

2) オレフィンへの CF3 基の挿入: オレフィンへの CF3 基の挿入を行うためのトリフ ルオロメチル化剤は、求核的トリフルオロメチル化剤、求電子的トリフルオロメチル 化剤およびラジカル的トリフルオロメチル化剤に大別される。

求核的トリフルオロメチル化反応に最も幅広く用いられている試薬のひとつとして、trimethyl(trifluoromethyl)silane (TMSCF<sub>3</sub>)が挙げられる。<sup>17</sup> TMSCF<sub>3</sub> は基質適用範囲が広く、様々な化合物の合成に利用されている(Scheme 2)。<sup>18</sup>



Scheme 2 Ruppert-Prakash試薬を用いたオレフィンへのCF3基挿入

一方、代表的な求電子性トリフルオロメチル化剤として、トグニ試薬および梅本試 薬が挙げられる。

トグニ試薬は、超原子価ヨウ素を用いた求電子性トリフルオロプロペニル化剤である。<sup>19</sup>トグニ試薬を用いたトリフルオロプロペニル化反応は、様々な官能基および骨格に対する許容性が極めて高く、溶媒依存性を示さないために有用性の高いものであるが、爆発性を有するために極めて慎重な取り扱いが必要とされる。本試薬を用いた TFPE 基の構築反応がいくつか報告されている(Scheme 3)。<sup>20-22</sup>



Scheme 3 トグニ試薬を用いたオレフィンへのCF3基挿入

一方、梅本試薬 I および II は爆発性もなく、水中でも分解しにくい求電子性トリフ ルオロメチル化剤である(Fig. 10)。<sup>23,24</sup> これらの梅本試薬を利用した TFPE 基の構築 反応も多数報告されている(Scheme 4)。<sup>25</sup>







Scheme 4 梅本試薬を用いたオレフィンへのCF3基挿入

ラジカル的トリフルオロメチル化として、CF<sub>3</sub>I や Langlois 試薬が多用される。CF<sub>3</sub>I は Fentone ラジカル型反応により、ヘテロ芳香族に対して CF<sub>3</sub>基を挿入することがで きるが、常温で気体であるために取り扱いが困難である (Scheme 5)。<sup>26</sup> 一方、Langlois 試薬は、固体であるため取り扱いやすく、温和な条件下で CF<sub>3</sub> 化が行える。<sup>27</sup>



3)Wittig 反応: 2002 年、小林らにより、Wittig 反応を用いた TFPE 基の構築方法が 報告された。本方法は操作が簡潔であり、生成物の収率が比較的良好であるが、適応 基質が制限されており、アルケニル部位の *E/Z* 性の制御などが課題として挙げられて いる (Scheme 6)。<sup>28</sup>



Scheme 6 Wittig反応によるTFPE基の構築

4) 3,3,3-トリフルオロプロペニル化反応: ヨードベンゼンからの直接的 3,3,3-トリフ ルオロプロペニル化反応も報告されている。しかし、これらの反応で用いるトリフル オロプロペニル化剤は常温で気体であり、取り扱いづらく、マイクロウェーブなど特 殊な装置を必要とする(Scheme 7,8)。<sup>29,30</sup>また、2015年に Kathiravan らによって報告 されたトリフルオロプロペニル化反応は、安価な試薬を用い、官能基許容性が高く操 作方法も単純ではあったが、完全な *E/Z* 選択性を達成するものではなかった(Scheme 9)。<sup>31</sup>



Scheme 7 気体のトリフルオロプロペニル化剤を用いるトリフルオロプロペニル化反応



Scheme 8 マイクロウェーブを用いるトリフルオロプロペニル化反応



Scheme 9 TFMAAを用いるトリフルオロプロペニル化反応

これらの背景のもと、清水らは、クロスカップリング反応で CF<sub>3</sub> 基を持つアルキン を 導入した後に、そのアルキン部位を還元することで TFPE 基を持つ bis(alkenyl)benzene を合成している。しかし、この方法においても TFPE 基の E/Z 選択 的な合成は困難であった (Scheme 10)。<sup>12</sup>



Scheme 10 Bis(alkenyl)benzenの合成

一方、表らが開発した(*E*)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)silane を用いたヨウ化ア リールのトリフルオロプロペニル化反応は、一段階かつ特殊な装置を必要とせず、さ らにトリフルオロプロペニル化剤も常温で液体であるために取り扱いやすく市販化 されている。そのため、本方法は、これまでに報告されている TFPE 基の構築方法と 比べて非常に温和かつ簡便な方法であると言える。<sup>32</sup> さらに、構築される TFPE 基は、 蛍光性に関して有利な *E* 体選択的であることも TFPE-aniline を合成する上で非常に魅 力的である (Scheme 11)。



Scheme 11 クロスカップリング反応によるTFPE-benzene類の合成

このように、緒言では、ヤブロンスキーダイアグラムに基づく蛍光発光の原理について説明し、蛍光の種類や蛍光性化合物、続いて、著者が注目する TFPE 基の蛍光性における利点や構築方法について述べてきた。現在、蛍光性有機化合物は、主として多環芳香族化合物の拡張 π 共役系分子であり、生体内分子の検出や酵素活性測定など

の生化学的なアプローチに利用されている。これらは優れた蛍光性をもち、目的に応 じて数多くの誘導体が開発され汎用されている。一方、比較的分子サイズが小さな push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ分子の報告例は少なく、さらに 生化学的なアプローチに利用されている例は少ない。そこで、著者は、push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ新たな小分子蛍光性有機化合物の合成を企図し た。小分子蛍光性有機化合物をデザインするにあたり、無放射失活によるエネルギー 緩和が起こりにくく、プロトン性溶媒中でも蛍光消光が起こりにくいと考えられる TFPE 基に着目した。本研究は、TFPE 基を利用した小分子蛍光性有機化合物を種々合 成し、それぞれの蛍光特性を見極めること、さらに、合成した化合物を用いて *in vitro* で酵素活性測定を行うことを目的とするものである。

.

## 第一章 TFPE-aniline

本研究の目的である TFPE 基を利用した蛍光性有機化合物を開発するために、著者 は、単純な aniline に TFPE 基が置換した TFPE-aniline に着目した。TFPE-aniline は、 ベンゼン環上に強い電子供与性のアミノ基と電子求引性の TFPE 基を持つ。ゆえに、 push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ分子であるため、小分子であり ながら蛍光性を示す。さらに TFPE 基は、酸素原子や窒素原子のようなルイス塩基性 の原子を構造中に含まないことから、水系溶媒中において水素結合を形成せず、その ため、溶媒和による蛍光消光が起こりにくく、水系溶媒中でも蛍光性を保持すること が考えられる。本章では、いくつかの TFPE-aniline を実際に合成し、それぞれの蛍光 特性について議論を進める。



### TFPE-aniline の合成および蛍光特性の測定

表らが開発したトリフルオロプロペニル化剤(E)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1enyl)silane を用い、種々の iodoaniline および iodophenylenediamine に対し、トリフルオ ロプロペニル化反応を試みたところ、期待通り反応は進行した。種々検討を行ったと ころ、パラジウム触媒には(2-methylallyl)palladium(II) chloride dimer を用い、さらに、 触媒量を 5 mol% から 10 mol% へと増量することで、反応時間を 20 時間から 4 時間 へと大幅に短縮することに成功した。さらに、分子内のヨウ素の数に応じてトリフル オロプロペニル化反応は進行し、iodoaniline および iodophenylenediamine それぞれー 置換体、二置換体および三置換体を一段階の反応で得ることができた(Table 1)。こ の多置換体の合成は、(E)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)silane、2,2'-bipyridyl、無水 copper(II) fluoride の当量を、導入する TFPE 基の数に応じて、一置換体では 2 当量、 二置換体では 5 当量、三置換体では 7 当量と当量数を増やしていくことで達成された。 また遊離のアミノ基を保護することなく反応が進行することも本反応の大きな利点 である。

H <sub>2</sub> N	TMS CF3	[PdCl(2-Me-allyl)] <sub>2</sub> CuF <sub>2</sub> , 2,2'-Bipyridyl DMF, 80 °C, 4 h	-CF3
entry	Ar-I (1)	product (2)	yield (%)
1	H <sub>2</sub> N I I 1a	$H_2N$ $NH_2$ $F_3C$ $CF_3$ 2a	62
2	$H_2N$ $NH_2$ I $Ib$	$F_3C$ $F_3C$ $CF_3$ $NH_2$ $CF_3$ $CF_3$ $CF_3$	20
3	NH <sub>2</sub> 1 1c	$F_3C$ $F_3C$ $CF_3$ $CF_3$ $CF_3$ $CF_3$	54
4	NH <sub>2</sub> I Id	F <sub>3</sub> C CF <sub>3</sub>	89
5	NH <sub>2</sub> I 1e	CF <sub>3</sub>	70
6	I If	F <sub>3</sub> C NH <sub>2</sub> 2f	68

Table 1 (E)-trimethyl(3,3,3-trifluoro-1-propenyl)silaneを用いるクロスカップリング反応による TFPE-aniline **2a-f**の合成

ī.

14

次に、得られた TFPE-aniline の蛍光特性を測定した (Fig. 11, 12, Table 2)。その結果、 TFPE 基の数と位置によって吸収・蛍光性が大きく変化することが分かった。2 つの TFPE 基を持つ *m*-フェニレンジアミン (2a) の極大励起波長 ( $\lambda_{abs, peak}$ ) は 373 nm、極 大蛍光波長は ( $\lambda_{I, peak}$ ) 433 nm、蛍光量子収率 ( $\phi$ ) は 0.25 であった。2a から TFPE 基を1 つ増やした 2b では、極大励起・蛍光波長は長波長化したが、 $\phi$ は 0.03 と大き く減少した。2b からアミノ基を1 つ取り除いた 2c は、極大励起・蛍光波長に大きな 変化はなかったが、 $\phi$ が 0.31 と大きく増加した。また、2c から TFPE 基を1 つ取り 除いた 2d は、極大励起・蛍光波長は短波長化したが、 $\phi$ は変わらなかった。驚くべ きことに、単純な TFPE-aniline である 2e は  $\phi$  = 0.77 と優れた蛍光性を示したものの、 位置異性体である 2f では蛍光性を示さなかった。

また、DMSO:H<sub>2</sub>O = 1:9 の水系溶媒中で蛍光測定を行った結果、TFPE-aniline の蛍光 波長は長波長化し、蛍光量子収率は減少したものの蛍光性を示すことが分かった。

有機溶媒および水系溶媒中での蛍光測定の結果から、TFPE-aniline は小分子であり ながら、測定溶媒の極性に関わらず蛍光性を示す蛍光性有機化合物であることが分か った。このことは、当初の予測通り、TFPE 基は酸素原子や窒素原子のようなルイス 塩基性の原子をもたないことから、水などのプロトン性溶媒が配位せず、水素結合が 介する溶媒和による蛍光消光が起こりにくいという構造的特徴を示唆するものであ る。



Fig. 11 THF中における2a-fの吸収スペクトル



Fig. 12 THF中における2a-fの蛍光スペクトル

Table 2 THFおよびDMSO:H2O = 1:9における2a-fの吸収および蛍光データ

	λ <sub>abs, peak</sub> [nm] <sup>a</sup>	ε [M⁻¹cm⁻¹]ª	λ <sub>fl, peak</sub> [nm] <sup>a</sup>	$\phi^{a}$	λ <sub>fl, peak</sub> [nm] <sup>b</sup>	$\phi^{b}$
2a	373	7913	433	0.25	447	0.20
2b	385	7004	455	0.03	_c	_c
2c	388	5763	460	0.31	_c	_c
2d	359	4371	436	0.31	461	0.27
2e	347	5154	423	0.77	452	0.32
2f	337	6999	374	0.01	396	0.01

a.  $1.0 \times 10^{-5}$  M in THF, exicitation at  $\lambda$  = 370 nm for **2a**,**d**, 400 nm for **2b**,**c**,380 nm for **2e**, 340 nm for **2f** b.  $1.0 \times 10^{-5}$  M in DMSO:H<sub>2</sub>O = 1:9, exicitation at  $\lambda$  = 330 nm.

c. Insoluble in DMSO: $H_2O = 1:9$ 

### 第一章のまとめ

TFPE 基の構築方法は、現在までに様々な手法で多くの反応が報告されているが、 今回、著者が用いた表らによるトリフルオロプロペニル化反応は、温和かつ簡便な一 段階反応で、分子内のヨウ素の数に応じた複数の TFPE 基の導入を行うことができた。 さらに、構築される TFPE 基のアルケニル部位は発蛍光性に有利な E 体選択的であり、 これらの利点については、既存の方法とは一線を画すことも強調したい。

合成した TFPE-aniline の蛍光特性を測定したところ、分子内の官能基の数や位置に より、それぞれの蛍光特性が大きく変化した。つまり、導入する官能基を適切に選択 することで TFPE-aniline の蛍光特性を意図的に調節できることが分かった。さらに、 TFPE-aniline の蛍光強度が有機溶媒だけでなく、水系溶媒でも十分な蛍光性を保った ことから、水系溶媒の溶媒和による消光現象を受けにくいことがわかった。また、位 置異性体である 2e および 2f の蛍光特性が、それぞれ官能基の位置の違いにより大き く異なること、さらに、2e は非常に単純な構造ながらも優れた蛍光特性を示すこと は非常に興味深い結果であると言える。

## 第二章 Ortho-TFPE-aniline

第一章では、種々の TFPE-aniline の合成および蛍光特性の評価を行った。そこで得られた結果から、著者は、2e が極めて短い共役系にもかかわらず優れた蛍光性ならびに高い化学的安定性を示すことに着目した。

第二章では、ortho 位と para 位の位置異性体による違い、トリフルオロメチル基と メチル基あるいはアミノ基とジメチルアミノ基の官能基の違いによる蛍光性の影響 を検討することで、2e の優れた蛍光性を実験的に検証した。次に 2e をカギ化合物と し、2e の4 位あるいは5 位に種々官能基を導入した ortho-TFPE-aniline を合成するこ とで、更なる蛍光量子収率の向上および波長の異なる極大蛍光波長を持つ蛍光性有機 化合物の合成を試みた。



### 位置異性体 2e および 2f の蛍光性の違い

単純な位置異性体の関係にある 2e および 2f による蛍光性の違いは大変興味深い。 2e は優れた蛍光特性を持つが ( $\phi$ = 0.77)、一方で、2f は無蛍光性である ( $\phi$ = 0.01)。 この蛍光性の違いを明らかにするため、B3LYP/6-31G(d,p)法を基底関数として用いた TD-DFT 計算による HOMO-LUMO エネルギーの計算および蛍光寿命 ( $\tau$ )を測定し、 続いて、放射失活速度定数 ( $k_r$ ) および無放射失活速度定数 ( $k_{nr}$ )の計算を行った。 2e および 2f に対して B3LYP/6-31G(d,p)法を用いた TD-DFT 計算を行った結果、 HOMO,LUMO のエネルギーレベルおよびエネルギーギャップが明らかとなったが、 大きな違いを見つけることはできなかった (Fig. 13)。





一方で、蛍光寿命(r)を測定した後、放射失活速度定数(k)および無放射失活速度定数(km)の計算を行った結果、2eおよび2fの蛍光性に関与する大きな違いを見出すことができた。つまり、蛍光性の2eに関してはkfとkmの比がほぼ1:1の割合であるのに対し、位置異性体である無蛍光性の2fに関してはkfとkmの比がほぼ1:100であることが分かった(Table 3,式 3)。すなわち、エネルギー緩和過程において2eは約半分の分子が蛍光を放出して基底状態へと緩和しており、一方、2fはほとんどの分子が蛍光を放出せずに基底状態へと緩和している。これらkfおよびkmの結果から、2eの高効率的な蛍光発光の過程を明らかにした。

Table 3 1	ΓHF中におけ	る2eおよび2fのτ	. Kf .	. Kni
-----------	---------	------------	--------	-------

	τ [ns]	k <sub>f</sub> [10 <sup>9</sup> s⁻¹]	k <sub>nr</sub> [10 <sup>9</sup> s <sup>-1</sup> ]
2e	7.32	0.077	0.060
2f	0.23	0.043	4.304
		- 4 4 0-5 14	

Measured in THF (1 x  $10^{-5}$  M).

 $k_f = \phi_f / \tau_{s}$ ,  $k_{nr} = 1 - \phi_f / \tau_s$ 式(3)  $k_f$ ,  $k_{nr}$ の計算式

### トリフルオロメチル基とアミノ基の蛍光性への影響

2e のトリフルオロメチル基およびアミノ基がどの程度蛍光性に影響を与えている かを調べるため、2e のトリフルオロメチル基をメチル基に変更した 2g、アミノ基を ジメチルアミノ基に変更した 2h をそれぞれ合成し、蛍光特性を比較した。

その結果、2e と比べて 2g の極大蛍光波長は短波長化し、 ø も小さくなった。しか し、2f と比べると ø が増加したことから、優れた蛍光性を示すためには、アミノ基が 分子内相互作用できる位置にアルケンが置換していること、さらにそのアルケンには 電子求引性のトリフルオロメチル基が置換する必要があることなどが分かった。また、 2h は、2e と比べると、蛍光極大波長が長波長化し、 ø もほぼ変わらなかったことか ら、蛍光性に関しては窒素からの電子供与が重要であり、アミノ基の水素が水素結合 のプロトンドナーとして蛍光性に関与していないことを明らかとした(Table 4)。



## Ortho-TFPE-anilineの合成および蛍光特性の測定

さらなる蛍光量子収率の向上を目指し、極大蛍光波長の異なる蛍光性有機化合物を 得るために、2eの4位あるいは5位に種々官能基を導入した *ortho*-TFPE-aniline **4a-f**, **6a-f**の合成を行った(Table 5, 6)。

Table 5 (E)-trimethyl(3,3,3-trifluoro-1-propenyl)silaneを用いたクロスカップリング反応による ortho-TFPE-aniline **4a-f** (1,2,4-三置換化合物)の合成





Table 6 (E)-trimethyl(3,3,3-trifluoro-1-propenyl)silaneを用いたクロスカップリング反応による ortho-TFPE-aniline 6a-f (1,2,5-三置換化合物)の合成

種々の置換基を持つ ortho-TFPE-aniline **4a-f**, **6a-f**の合成において、4 位あるいは 5 位にメチル基やメトキシ基のような電子供与性官能基を持つ基質より、シアノ基やメトキシカルボニル基、TFPE 基のような電子求引性官能基を持つ基質の方がトリフルオロプロペニル化反応の収率は向上した。一般的に、パラジウム触媒を用いる檜山ク

ロスカップリング反応では、電子求引性基が置換すると反応速度が減少し、シアノ基 などは反応に悪影響を与える場合が多い。一方、ここに示した結果から、本反応は官 能基の電子的性質に関係なく進行し、かつ官能基許容性が高いものであると言える。 また、反応時間も官能基に関わらず4時間で終結することも分かった。これらのこと から、本反応は、*ortho*-TFPE-aniline **4a-f**, **6a-f** を合成する上で優れた方法であると言 える。

得られた 4a-f, 6a-f の蛍光特性を測定した結果、4 位あるいは 5 位にある官能基の 電子的性質によって蛍光特性が大きく異なることが分かった(Fig. 14,15, Table 7, 8)。 4 位に官能基を持つ 4a-f の吸収スペクトルおよびモル吸光係数に着目すると、電子供 与性基を持つ 4a-c は吸収極大波長の長波長化がみられた。一方、電子求引性基をも つ 4d および 4e は吸収極大波長の変化は少なかった。また、4a-e のモル吸光係数は、 シアノ基を持つ 4d では  $\varepsilon$  = 7520 と大きく増加したが、他の官能基をもつものでは大 きな変化はみられなかった。しかし、二重結合を増やし、共役系を伸ばした 4f にお いては、吸収極大波長は 10 nm 以上短波長にシフトし、さらにモル吸光係数は  $\varepsilon$  = 28350 と 2a-f および 4a-e と比べてもかなりの増加を示した。

また、蛍光スペクトルおよび φに着目すると、4a-c は蛍光極大波長の長波長化や φ の増加などがみられた。一方、4d および 4e については、蛍光極大波長の短波長化や φの減少がみられた。共役系が伸びた 4f においては、蛍光極大波長の長波長化がみ られたものの、 φは大きく減少した。

さらに、水系溶媒での蛍光特性に着目すると、4a-f は蛍光極大波長の長波長化がみ られた。また、電子供与性基を持つ 4a-c のøは減少した。一方、電子求引性基を持 つ 4d および 4e のøはほぼ変化がなかったか、若干の増加がみられた。4f のøは 0.018 と極めて大きな減少がみられた。

4d および 4e でみられた水系溶媒中での蛍光性の維持あるいは向上は、非常に興味 深い。一般的に、分子内に電子供与性官能基と電子求引性官能基をともにもつ蛍光性 有機化合物では、基底状態から励起状態へと遷移する際に大きな電荷移動を伴う。こ の電荷移動型の励起状態を持つ蛍光性有機化合物では、蛍光スペクトル、蛍光量子収 率、蛍光寿命に大きな溶媒極性効果がみられる。そのため、水のような高極性溶媒中 における蛍光特性は不利に働くことが一般的である。これは、測定溶媒の極性の増加 に伴い、 Øや蛍光寿命少が減少するためである。この溶媒の極性の増加に伴う Øおよ び蛍光寿命の減少には、放射失活速度定数および無放射失活速度定数が関与している。 すなわち、測定溶媒の極性の増加に伴い、放射失活速度定数は大きく変化しないが、 一方、無放射失活速度定数は大きく増加する。結果として、エネルギー緩和過程にお いて高極性溶媒中では放射失活過程より無放射失活過程を優先するために、低極性溶 媒中と比べて蛍光性は失われる。



Fig. 14 THF中における4a-fの吸収スペクトル



Fig. 15 THF中における4a-fの蛍光スペクトル

Table 7 THFおよびDMSO:H<sub>2</sub>O = 1:9中における4a-fの吸収および蛍光データ

	λ <sub>abs, peak</sub> [nm] <sup>a</sup>	ε [M⁻¹cm⁻¹]ª	λ <sub>fl, peak</sub> [nm] <sup>a</sup>	$\phi^{a}$	λ <sub>fl, peak</sub> [nm] <sup>b</sup>	$\phi^{b}$
4a	355	5613	439	0.80	465	0.31
4b	371	5246	468	0.75	494	0.15
4c	362	4892	442	0.52	469	0.18
4d	348	7520	409	0.47	429	0.53
4e	343	4828	408	0.42	430	0.41
4f	334	28350	442	0.31	466	0.018

a.  $1.0 \times 10^{-5}$  M in THF, exicitation at  $\lambda = 330$  nm for **4a**, **4c-e**, 340 nm for **4f**, 370 nm for **4b** 

b.  $1.0 \times 10^{-5}$  M in DMSO:H<sub>2</sub>O = 1:9, exicitation at  $\lambda$  = 330 nm.

次に、5位に官能基を持つ ortho-TFPE-aniline の蛍光スペクトルおよび  $\phi$ に着目する と、6a および 6b は蛍光極大波長の短波長化や $\phi$ の減少などがみられた。一方、6c-e では、蛍光極大波長の長波長化や $\phi$ の増加がみられた。共役系が伸びた 6f において は、蛍光極大波長の長波長化が起こり、 $\phi$ も増加した。TFPE 基を持つ 6c や共役系の 伸びた 6f においては、4位よりも5位にある方が蛍光極大波長は長波長化し、さらに  $\phi$ が増加した (Fig. 16, Table 8)。



Fig. 16 THF中における6a-fの蛍光スペクトル

Table 8 THF中における6a-fの蛍光データ

	λ <sub>fl, peak</sub> [nm] <sup>a</sup>	$\phi^{a}$
6a	423	0.62
6b	410	0.32
6c	454	0.46
6d	438	0.82
6e	447	0.74
6f	478	0.47

a.  $1.0 \times 10^{-5}$  M in THF, exicitation at  $\lambda = 345$  nm for **6a**,**b**, 360 nm for **6d**, 370 nm for **6e**, 380 nm for **6c**,**f** 

得られた ortho-TFPE-aniline 4a-f、6a-f のうち、同じ官能基を持つ位置異性体を比較 すると、吸収・蛍光極大波長においては、電子供与性官能基が4位にあるとき長波長 化を示し、5位にあるときには短波長化を示すことが分かった。一方、電子求引性官 能基が4位にあるときは吸収・蛍光極大波長は短波長化を示し、5位にあるときには 長波長化を示すことが分かった。

官能基の位置による吸収・蛍光極大波長の違いについては、B3LYP/6-31G(d.p)法を 用いた TD-DFT 計算の結果により説明できる(Fig. 17,18, Table 9)。すなわち、 HOMO-LUMO 間のエネルギーギャップが狭くなると吸収・蛍光極大波長は長波長化 を示し、一方、エネルギーギャップが広くなると吸収・蛍光極大波長は短波長化を示 す。たとえば、電子供与性官能基のメトキシ基を持つ4bおよび6bでは、HOMO-LUMO 間のエネルギーギャップは、4bでは0.14251eVであり、6bでは0.15675eVである。 また、電子求引性官能基のシアノ基を持つ4dおよび6dでは、HOMO-LUMO間のエ ネルギーギャップは、4dでは0.16038eVであり、6dでは0.14413eVである。これら 以外の他の官能基を持つ*ortho*-TFPE-anilineにおいても、同様の結果が得られている。

この4位置換体の電子効果と、5位置換体の電子効果は極大波長の変化とは相関しなかったが、この極大波長の変化とHOMO-LUMOのエネルギーギャップの間には相関が見られ、置換基の置換位置による極大波長の変化の傾向が予測できる。



Fig. 17 4b,6bのHOMO-LUMOエネルギーの計算結果



Fig. 18 4d,6dのHOMO-LUMOエネルギーの計算結果

	4a	4b	4d	4e	4f	2d
R <sup>1</sup>	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CN	COOCH <sub>3</sub>	CH=CHCOOCH <sub>3</sub>	TFPE
LUMO	-0.06303	-0.06478	-0.07213	-0.06726	-0.07551	-0.07027
НОМО	-0.21494	-0.20729	-0.23251	-0.22846	-0.21803	-0.22016
gap	0.15191	0.14251	0.16038	0.16120	0.14252	0.14989
	6a	6b	6d	6e	6f	6c
R <sup>2</sup>	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CN	COOCH <sub>3</sub>	CH=CHCOOCH <sub>3</sub>	TFPE
R <sup>2</sup>	CH <sub>3</sub> -0.06105	OCH <sub>3</sub>	CN -0.08634	COOCH <sub>3</sub>	CH=CHCOOCH <sub>3</sub>	TFPE -0.08541
R <sup>2</sup> LUMO HOMO	CH <sub>3</sub> -0.06105 -0.21770	OCH <sub>3</sub> -0.05774 -0.21449	CN -0.08634 -0.23408	COOCH <sub>3</sub> -0.08344 -0.22757	CH=CHCOOCH <sub>3</sub> -0.09230 -0.22411	TFPE -0.08541 -0.22518

## Table 9 Ortho-TFPE-aniline 2d, 4a, b, d-f, 6a-fのHOMO-LUMOエネルギーの計算結果

### <u>第二章のまとめ</u>

本章では、2e の優れた蛍光性について、位置異性体や官能基の異なる化合物との 比較を蛍光量子収率や放射失活速度定数、無放射失活速度定数などについて実験的に 検証した。その結果、2e のような小分子が優れた蛍光性を示すためには、アミノ基 と TFPE 基が ortho の位置関係にあり、かつトリフルオロメチル基のような電子求引 性基が必須であることを明らかにした。

次に、2eをカギ化合物とし、その4位あるいは5位に種々官能基を持たせることで、蛍光量子収率の向上や蛍光極大波長の変化などを試みた。4位あるいは5位に種々 官能基を持つ3a-f,5a-fにおいては、その官能基の電子供与性あるいは電子求引性に かかわらず、TFPE 基を導入するクロスカップリング反応は進行し、目的とする ortho-TFPE-aniline 4a-f,6a-f を一段階反応で得ることができた。得られた4a-f,6a-f は、THF中で408~478 nmと幅広い様々な蛍光極大波長を持つことがわかった。さら に、2eの蛍光量子収率(Ø=0.77)を超える非常に優れた蛍光量子収率を持つ4a(Ø = 0.80)を得ることにも成功した。また、官能基の位置の違いによる蛍光性の違いを TD-DFT 計算による HOMO-LUMO のエネルギーギャップから検証した結果、置換パ ターンによる吸収・蛍光極大波長の変化についてはある程度予測できることが分かっ た。

また、一章で述べた TFPE-aniline 2a-f の挙動と同様に、ortho-TFPE-aniline 4a-f, 6a-f についても水系溶媒中での蛍光極大波長が長波長化することが分かった。さらに、多くの化合物においては水系溶媒中の蛍光量子収率は減少したが、一部の化合物においては有機溶媒中よりも高い蛍光量子収率を示した。分子内に電子供与性基と電子求引性基を共に持ち、励起状態へと遷移する際に大きな電荷移動を伴う蛍光性有機化合物では、一般的に高極性環境下で蛍光性が大きく減衰あるいは消光するような溶媒極性効果を示す。この効果は、蛍光性有機化合物を用いて生化学的なアプローチを行う上で非常に不利な効果である。しかしながら、ortho-TFPE-aniline は水系溶媒という高極性環境下においても蛍光性を保ち、さらに一部の化合物においては蛍光性を向上させるという特筆すべき性質を持つものであった。

第三章 TFPE-aniline 以外に TFPE 基を有する蛍光性有機化合物

これまでに著者は、単純なアニリンに TFPE 基を導入した TFPE-aniline および ortho-TFPE-aniline についてその合成および蛍光特性の評価を行ってきた。その結果、 それらの化合物は小分子でありながら良好な蛍光性を示した。さらに、いくつかの ortho-TFPE-aniline は水系溶媒中においても蛍光性を保つことがわかり、その優れた蛍 光性には TFPE 基が大きく貢献していた。

本章では、既存の蛍光性有機化合物に TFPE 基を導入し、TFPE 基が親化合物の蛍 光性に及ぼす効果を実験的に調べる。具体的には、クマリン系蛍光性有機化合物に TFPE 基を導入し、励起・蛍光極大波長の大幅な長波長化を目指す。

### 7-Amino-4-methylcoumarin (AMC)

AMC は酵素活性測定を行う際の蛍光性ペプチド基質として汎用される蛍光性有機 化合物として知られている。AMC のアミノ基とペプチド鎖がアミド結合で連結され ている蛍光性ペプチド基質は消光状態にあるが、酵素によりアミド結合が加水分解さ れ、AMC が遊離することで強い蛍光を発する。この検出法を応用して、特定酵素に 対する活性測定法の開発、あるいは酵素の基質となるペプチド配列特異性の探索が行 われている(Scheme 12)。<sup>33-35</sup>



Scheme 12 酵素反応の蛍光アッセイ法

しかしながら、AMC が持つクマリン骨格は、酵素活性測定やペプチド配列特異性の探索などには利用されているものの、自家蛍光の強い紫外光領域による励起を用いるためか蛍光イメージングに利用されている例は少ない。<sup>36</sup> そこで、これまでに得られた知見から、AMC のアミノ基に隣接する6位あるいは8位に TFPE 基を導入することで、励起極大波長を紫外光領域による励起から可視光領域による励起へと長波長化し、蛍光イメージングへの展開が期待できる TFPE-AMC の合成を目指した(Fig. 19)。



Fig. 19 AMCのトリフルオロプロペニル化

## TFPE-AMC の合成

AMC の6位に TFPE 基を導入すべく、原料となる6位にヨウ素が置換した AMC の 合成を試みた。はじめに、4-amino-3-nitrophenolのアミノ基をヨウ素に置換した後に、 ニトロ基の還元反応により8を得た。続いて、8から9への閉環反応を行ったところ 反応は進行しなかった。そこで、8のアミノ基を保護した10からの閉環反応を検討 したが、こちらにおいてもクマリン骨格を形成する閉環反応は進行しなかった。また、 4-amino-3-nitorophenolのアミノ基を保護した12からの閉環反応も検討をしたが、目 的物を得ることはできなかった (Scheme 13-1,2)。このような結果から、6位にヨウ素 が置換した AMC を合成することは困難であると判断した。



Scheme 13-1 6位にヨウ素をもつAMCの合成



Scheme 13-2 6位にヨウ素をもつAMCの合成

そこで、合成計画を変更し、AMC を合成した後にヨウ素化を行うことで AMC の ヨウ素化体を得ることとした。*m*-アミノフェノールを出発原料とし、アミノ基の保護 を行った後にクマリン骨格への閉環反応を行ったところ、目的とする化合物 **15** を得 ることができた。その後、アミノ基を脱保護し、AMC を 3 段階反応全収率 23%で得 ることができた(Scheme 14)。



Scheme 14 AMCの合成

次に、AMC のヨウ素化に関して種々反応条件を検討したが、6 位のヨウ素化体は得られなかった。しかしながら、3 位あるいは 8 位がそれぞれヨウ素化された **17** および **18** を低収率で得ることができた(Table 10)。

Table 10 AMC	のヨウ素化反応			CH <sub>3</sub>	
H <sub>2</sub> N		CH <sub>3</sub>	1	7 H <sub>2</sub> N	CH3
		16			18
Entry	conditions		Yi	eld (%)	
		16	17	18	<b>15</b> (S.M.)
1	KI, 30% H₂O₂, H₂SO₄, CH₃OH, 60 °C, 5 h	-	13	8	-
2	NIS, CH₃CN, 0 °C, 20 min	-	36	-	-
3	I <sub>2</sub> , NaHCO <sub>3</sub> , toluene, H <sub>2</sub> O, r.t., 5 h	-	-	-	18
4	l <sub>2</sub> , Kl, 10% HCl, r.t., 2 h	-	-	-	-
5	I <sub>2</sub> , Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , EtOH, r.t., 1 h	-	-	-	90

得られた **17** および **18** を同様の方法でトリフルオロプロペニル化を行ったところ、 低収率ながら目的とする TFPE-AMC **19** および **20** を得ることができた(Scheme 15)。



Scheme 15 17,18のトリフルオロプロペニル化反応

#### TFPE-AMC の蛍光特性の測定

得られた TFPE-AMC **19** および **20** について、それぞれの蛍光特性を THF 中で測定 した。結果として、3 位のアルケニル部位に TFPE 基を持つ **19** は、吸収・蛍光極大波 長共に AMC に比べて 40 nm 以上の長波長化を示し、モル吸光係数についても  $\varepsilon$  = 28564 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> と大きな増加がみられた。また、蛍光量子収率は 0.82 とわずかに減少 したものの、**19** の蛍光強度は AMC と比べて大きくなることが分かった。一方、アミ ノ基に隣接する 8 位に TFPE 基を持つ **20** については、AMC に比べ、吸収・蛍光極大 波長はほぼ変化しなかった。しかしながら、モル吸光係数および蛍光量子収率はそれ ぞれ  $\varepsilon$  = 18764 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> および  $\phi$  = 0.11 と大きく減少することが分かった (Fig. 20, Table 11)。この結果から、TFPE 基の置換による蛍光特性への影響は、TFPE 基の位置によ り大きく異なることが明らかになった。



Fig. 20 THF中におけるAMC, 19, 20の吸収および蛍光スペクトル

Table 11 THF中におけるAMC,	<b>19,20</b> の吸収および蛍光データ
-----------------------	--------------------------

	$\lambda_{abs, \ peak} \ [nm]$	ε [M⁻¹cm⁻¹]ª	$\lambda_{fl,\ peak}$ [nm]	$\phi$
AMC	343	22045	401	0.96
19	385	28564	444	0.82
20	349	18764	405	0.11
a. 1.(	0×10 <sup>-5</sup> M in THF			

TFPE 基の置換位置により蛍光特性が大きく変化する一因として、次のことが考えられる。7-Dimethylaminocoumarin は、光エネルギーを吸収して励起状態に昇位するとき、Fig. 21 に示すような分子内電荷移動を起こすことが知られている。これは、7 位に電子供与性基を持つか、3 位あるいは4 位に電子求引性基を持つことで共鳴および誘起効果が促進され、分子内電荷移動が一層起こりやすくなる。<sup>37</sup>



Fig. 21 7-dimethylaminocoumarinにおける分子内電荷移動

そこで、TFPE-AMC **19** および **20** の結果をみると、**19** においては 3 位に電子求引 性基の TFPE 基を持つことから誘起効果が促進され、基底状態から励起状態へと昇位 させる分子内電荷移動が起こりやすくなり、モル吸光係数の増加などに由来する蛍光 性の増大がみられる。一方、**20** においては、8 位に電子求引性基の TFPE 基を持つこ とから、分子内電荷移動を促進する誘起効果が相殺され、、結果としてモル吸光係数 および蛍光量子収率の大幅な減少が起こり、蛍光性の減弱がみられたと考えられる (Fig. 22)。



Fig. 22 19,20の分子内電荷移動

### 第三章のまとめ

AMC の 3 位に TFPE 基を導入した **19** は、AMC に比べ、励起・蛍光極大波長が長 波長化し、さらに蛍光強度も増加することが分かった。これは、TFPE 基の誘起効果 によるものである。つまり、クマリン骨格が励起状態へと遷移する際の分子内電荷移 動に着目すると、**19** では TFPE 基の誘起効果が促進的に作用すると考えられる。この ことから、6 位に TFPE 基を有する AMC を合成することができれば、励起・蛍光極 大波長の長波長化や蛍光強度の増加が一層促進される可能性がある。これに成功すれ ば、クマリン関連化合物の励起・蛍光極大波長の大幅な長波長化が実現し、より詳細 な解像度が得られる紫外領域での蛍光イメージングに適用可能な新規蛍光プローブ 分子が創生できると考える。

## 第四章 TFPE-aniline を用いた酵素活性測定

TFPE-aniline および ortho-TFPE-aniline は有機溶媒だけでなく水系溶媒においても蛍 光性を示す小分子蛍光性有機化合物である。また、TFPE-aniline のアミノ基は化学修 飾しやすく、同アミノ基をペプチド修飾することでアミノ基の電子供与性を劇的に減 弱できる。つまり、TFPE-aniline のペプチド修飾は蛍光特性に由来する push-pull system を崩し、本来の蛍光性を消失できると推測され、OFF-ON 型の蛍光スイッチングが可 能となる。これを実験的に検証するため、本章では、TFPE-aniline のアミノ基をペプ チド修飾した酵素基質の合成を行い、酵素反応によりペプチド結合を加水分解させ、 遊離する蛍光性 TFPE-aniline を蛍光測定する。これにより、TFPE-aniline を利用する 酵素活性を測定した。

### 生体成分の蛍光センシング

生体成分の検出を目的とした蛍光プローブ分子はこれまでに数多く開発されてい る。このような蛍光プローブ分子は、生体成分の高感度検出や微量分析が可能である こと、*in vitro*における実験から細胞、動物個体における *in vivo*バイオイメージング まで幅広く利用できること、使用が簡便で安価であることなどの利点がある。また、 分子設計に基づいてプローブ分子の構造を修飾することで、検出対象となる生体分子 に対する親和性、励起・蛍光波長、プローブ分子の親疎水性などを自由にコントロー ルできることも、蛍光プローブ分子の大きな利点の一つである。

例えば、グルコースをはじめとする糖類は、さまざまな生体機能において重要な役割を果たす生体成分である。ボロン酸型蛍光プローブ分子は、グルコースがキレート結合することで蛍光強度が増強するため、水溶液中のグルコースをセンシングできる (Scheme 16)。<sup>38</sup>



弱蛍光性

強蛍光性

Scheme 16 糖を検出するボロン酸型蛍光プローブ分子
金属イオンもまた重要な役割を果たす生体成分であり、金属イオン特異的に検出す る蛍光プローブ分子の開発が盛んに行われている。目的に応じて、生細胞内の微小領 域から実験動物を用いた *in vitro* まで、幅広い生物試料での金属イオンイメージング も実現されている (Scheme 17)。



Scheme 17 Caイオン検出蛍光プローブ分子

様々な生体成分の中でも、蛍光プローブ分子を利用して酵素反応を検出する蛍光ア ッセイ法は数多く開発されている。<sup>39-41</sup>

多くの酵素反応の中で、タンパク質やペプチドの加水分解を触媒するプロテアーゼ、 あるいはタンパク質をリン酸化するキナーゼを標的とした蛍光検出システムの開発 は特に盛んに行われている。プロテアーゼに対する蛍光アッセイ法の多くは、プロテ アーゼの基質となるペプチドあるいはタンパク質に蛍光性有機化合物を導入し、ペプ チド鎖の切断に伴い蛍光強度が増加するセンシング機構を持つ。トリプシン、サーモ シリン、エステラーゼなど一般的なプロテアーゼ活性を蛍光により検出する場合には、 カゼインなどに蛍光性有機化合物を複数標識したタンパク質を基質として利用する ことができる。<sup>42</sup> 蛍光団としての蛍光性有機化合物は修飾したタンパク質中ではお互 いに近接しあい、自己消光状態にあるが、プロテアーゼによる加水分解をうけること で分散し、蛍光強度を回復する。この時の蛍光強度の増加は直接プロテーゼ活性に比 例している(Scheme 18)。



Scheme 18 一般的なプロテアーゼ活性の検出

一方、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、シクロオキシゲナーゼ、シトクロム P450 など他にも 多くの酵素活性を選択的に検出するアッセイ法も数多く開発されている。<sup>43-52</sup> たとえ ば、ここに示す HMDER- $\beta$ Gal は、 $\beta$ -ガラクトシダーゼによって強蛍光性の HMDER を生成することで酵素の活性を測定している(Scheme 19)。



Scheme 19 β-ガラクトシダーゼ活性の検出

# <u>蛍光プローブのデザイン</u>

酵素活性測定を行うための発蛍光性の OFF-ON 型の蛍光プローブは、酵素反応の前 後で無蛍光性から蛍光性へと蛍光を発するようデザインすることが重要である。 TFPE-aniline の構造的特徴に基づき、ペプチド修飾によるアミノ基の電子供与能の減 衰は、push-pull system を崩壊させるため、本来の蛍光性が消光すると考えられる。こ れを確認するため、TFPE-aniline が酵素に関する蛍光性基質となるよう、ペプチド修 飾を行った。標的酵素として Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)を選択した。セリンプロ テアーゼである DPP-4 は、ペプチドの N 末端側から 2 残基目に位置するプロリンあ るいはアラニンを特異的に認識し、その C 末端側を基質特異的に加水分解する。<sup>53</sup>ま た、DPP-4 は糖尿病の進展に関する重要なバイオマーカーであり、既にいくつかの発 色性あるいは発蛍光性の酵素基質が開発されている。<sup>54-56</sup>

*p*-nitroaniline を基質に含む発色基質では、DPP-4 の加水分解反応によって発色基質 のアミド結合が切断され、発生する *p*-nitroaniline を 450 nm における吸光度の増加に よって検出することで、DPP-4 活性が測定される(Scheme 20)。



Scheme 20 p-ニトロアニリンを用いたDPP-4活性測定

また、7-amino-4-methylcoumarin (AMC)を基質に含む蛍光基質では、DPP-4 の加水 分解反応によって蛍光基質のアミド結合が切断され、発生する AMC を 460 nm にお ける蛍光強度の増加を検出することによって DPP-4 活性が測定される (Scheme 21)。



Scheme 21 AMCを用いたDPP-4活性測定

吸光度測定法に比べ、蛍光測定法による酵素活性測定は、蛍光を発する分子が少な いためにバックグラウンドへの影響が少なく、高感度で測定できるという利点がある。

著者は、新規蛍光性有機化合物の TFPE-aniline を蛍光測定法による酵素活性測定に 利用することとした。そこで、標的酵素となる DPP-4 に関する蛍光基質 H-Gly-Pro-TFPE-aniline の合成を行った。ペプチド修飾された H-Gly-Pro-TFPE-aniline が無蛍光性であれば、DPP-4 により特異的に加水分解され、系中に蛍光性の TFPE-aniline を発生することができ、これにより蛍光定量的な酵素活性測定が可能に なる (Scheme 22)。TFPE-aniline には、水系溶媒で蛍光性を示し、さらに、最も反応 収率が優れていた 2d を用いることにした。



Scheme 22 2dを用いたDPP-4活性測定

#### DPP-4 に関する発蛍光性基質の合成

初めに、アミノ基を保護した glycine と L-proline methyl ester hydrochloride をマイク ロウェーブ照射下でペプチド縮合した。引き続き、縮合したエステルの加水分解反応 によりアミノ基を保護した glycine-proline のジペプチドを得た。得られたジペプチド を oxalyl chloride により酸塩化物とした後に、2d と縮合反応させることで 23 を得た。 23 のアミノ基の脱保護は hydrazine monohydrate を用いて行い、H-Gly-Pro-2d を得た (Scheme 23)。



3 steps 31 %

Scheme 23 発蛍光性プローブH-Gly-Pro-2dの合成

#### DPP-4 活性測定

合成した H-Gly-Pro-2d および 2d の蛍光スペクトルを測定し、それぞれの蛍光特性 を評価した。その結果、当初の予測通り、アミノ基をアミド基に修飾した H-Gly-Pro-2d は無蛍光性であった(Fig. 23)。その蛍光性の消失は、ベンゼン環に対するアミノ基 の電子供与能の減衰の結果である。特に、460 nm における 2d と H-Gly-Pro-2d の蛍光 強度は大きく異なっていた。したがって、H-Gly-Pro-2d は DPP-4 による加水分解反応 を起点とする OFF-ON 型の蛍光プローブとして使用できると考えた。



Fig. 23 H-Gly-Pro-2dと2dの蛍光スペクトル

次に、H-Gly-Pro-2d が DPP-4 により加水分解されるかを実験的に検証した。加水分 解実験は、蛍光性基質 H-Gly-Pro-2d、0.07 および 7.00 µg/mL の DPP-4、コントロール を用いて行った。その結果、DPP-4 存在下においてのみ、蛍光強度の増加がみられた。 しかし、DPP-4 の濃度が高濃度の 7.00 µg/mL においては蛍光強度の顕著な増加がみえ たが、DPP-4 の濃度が低濃度の 0.07 µg/mL においては蛍光強度のわずかな増加しかみ られなかった。また、DPP-4 非存在下では、蛍光強度は終始増加しなかった (Fig. 24)。 この蛍光強度の増加は、H-Gly-Pro-2d が加水分解され、系中に 2d を発生したことを 示している。また、DPP-4 非存在下では、蛍光強度の増加がみえなかったことから、 H-Gly-Pro-2d は自発的にに加水分解されないことも分かった。これらのことから、 H-Gly-Pro-2d は DPP-4 に関する OFF-ON 型の蛍光性基質として利用できることが明 らかになった。





前述の加水分解反応の結果から、H-Gly-Pro-2d は蛍光基質として DPP-4 の活性測定 に利用できることがわかった。そこで、H-Gly-Pro-2d の蛍光基質としての有用性を確 かめるために、活性測定に必要な基質濃度、酵素との親和性(Km)および代謝回転数 を既存の蛍光基質 H-Gly-Pro-AMC と比較した。

蛍光強度および検量線の結果から、活性測定に必要な AMC の濃度は、5 nM – 1  $\mu$  M であり、2d では 50 nM – 10  $\mu$ M であった。すなわち、活性測定に用いる 2d は AMC の 10 倍の濃度が必要であることがわかった(Fig. 25,26)。



測定可能濃度 5 nM - 1 μM



Fig. 26 2dの蛍光強度及び検量線

Fig. 25 AMCの蛍光強度及び検量線

次に、速度論的解析の結果から、H-Gly-Pro-**2d**の $K_m$ は H-Gly-Pro-AMCの約2倍高い値、 $V_{max}$ は約1/100倍低い値を示し、酵素の親和性および代謝回転数が低いことがわかった。(Fig. 27,28, Table 12)。

H-Gly-Pro-2d の反応速度および代謝回転数の低さの原因として、ortho 位の TFPE 基の存在が考えられる。すなわち、H-Gly-Pro-2d の幅は TFPE 基の分 H-Gly-Pro-AMC に比べて大きいために、DPP-4 の活性中心へと向かう際に、その進入を妨害してしまっていることが考えられる。



Fig. 27 ラインウェーバー・バークプロット (AMC)



Table 12 速度論的解析

	<i>K<sub>m</sub></i> [μM]	V <sub>max</sub> [µmol/min/mg]	k <sub>cat</sub> [min⁻¹]	k <sub>cat</sub> /K <sub>m</sub> [min <sup>-1</sup> /μM]
H-Gly-Pro-AMC	29.2	9.4	770.5	26.4
H-Gly-Pro-2d	57.4	0.087	7.19	0.125

DPP-4 活性測定に用いた H-Gly-Pro-2d は、既存の DPP-4 活性測定の蛍光基質と比 べると、酵素との反応速度の低さや蛍光団の蛍光強度の弱さなど改善の余地を持つも のの、蛍光測定に用いる励起・蛍光波長では、蛍光基質の蛍光および励起光などのバ ックグラウンドの影響をほぼ完璧に避けることができた。さらに、測定を行う励起・ 蛍光波長が AMC とは異なる点から、多波長での測定が行えることも利点と言える。

#### 第四章のまとめ

本章では、TFPE-aniline が水系溶媒でも蛍光性を保つこと、また、TFPE-anilineのア ミノ基が化学修飾しやすいことに着目し、DPP-4の蛍光基質 H-Gly-Pro-2d を合成した。 H-Gly-Pro-2d は、2d とは蛍光特性が全く異なる無蛍光性の蛍光プローブ分子であっ た。これを用いることで、DPP-4 による加水分解反応の進行とともに蛍光性の 2d が 系中に遊離し、蛍光強度の増加が明確に観測でき、これにより DPP-4 活性を正しく測 定することに成功した。TFPE-aniline を蛍光団とする蛍光プローブ分子は、蛍光測定 のバックグラウンドの影響をほぼ完璧に回避できることから、酵素反応の進行度を容 易に測定できるという有用性を示すことができた。しかし、同時に、既存の DPP-4 活性測定の蛍光基質と比較すると、酵素との反応速度の遅さや蛍光団自身の蛍光強度 が弱いなど、いくつかの課題も見つかった。今後は、更なる構造修飾による蛍光強度 および酵素との反応速度の改善、また、DPP-4 以外の酵素も視野に入れ、標的酵素に 対して適切な酵素基質を合成し、新たな酵素阻害剤を開発する際の酵素活性測定にお ける蛍光プローブ分子としての利用法など追求していきたい。 ~ · · · ..

蛍光性有機化合物は様々な分野で利用されているが、特に生化学的な分野では、こ れまで困難であった生体成分のセンシングを行う上で、革新的な技術とされるまでに 発展している。また、医薬品開発分野では、酵素阻害剤などのリード化合物の有効性 を判定するためのスクリーニングなどにも多用されている。このような目的で利用さ れている蛍光性有機化合物は優れた蛍光性が必要とされるため、拡張π共役系分子の 多環芳香族化合物が主に使われてきた。しかし、その分子サイズの大きさゆえに標的 自身の生理作用を阻害してしまうなど、同時に課題も見受けられる。一方で、近年、 多環芳香族化合物とは異なり、芳香環が一つしかないような小分子でも push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つことで優れた蛍光性を示す小分子蛍光性 有機化合物になることが報告されている。そこで、筆者は電子求引性の TFPE 基に着 目し、push-pull system に基づく donor-π-acceptor 構造を持つ新たな TFPE 基含有小分子 蛍光性有機化合物の合成を行い、その蛍光特性を見極めた。続いて、合成した化合物 を利用して酵素活性測定を行った。

TFPE 基は、剛直で回転しにくく、さらに水素結合しにくい構造であるために蛍光 性に関して魅力的な官能基である。いくつかの TFPE-aniline の合成を行い、その蛍光 特性を測定したところ、分子内の官能基の数や位置によりその蛍光特性が大きく変化 することが分かった。そのうち、アミノ基と TFPE 基が ortho の位置関係にある TFPE-aniline は有機溶媒中で優れた蛍光性を示し、水系溶媒中においても蛍光性を維 持できる小分子蛍光性有機化合物であることを放射失活および無放射失活速度定数 の計算から明らかにした。次に、蛍光特性の向上を目指し、TFPE-aniline の4 位ある いは 5 位に、種々官能基を導入した ortho-TFPE-aniline の合成を行い、それぞれの蛍 光特性を測定したところ、官能基の電子的性質および位置によって蛍光特性が大きく 変化することが分かった。

一方で、既存の蛍光性有機化合物である AMC に TFPE 基を導入することで TFPE 基が親化合物の蛍光性に及ぼす効果を調べた。3 位および 8 位にそれぞれ TFPE 基を 導入した TFPE-AMC の蛍光特性を測定したところ、3 位に TFPE 基を導入した TFPE-AMC においては分子内電荷移動を促進し、AMC に比べて吸収・蛍光極大波長 の長波長化が行え、さらに蛍光強度も増加した。

続いて、合成した TFPE-aniline が蛍光プローブ分子として利用できるかを検証すべ く、DPP-4 活性測定への応用を検討した。合成した蛍光基質を用いて DPP-4 活性を測 定したところ、DPP-4 の酵素反応により蛍光基質が TFPE-aniline を遊離することを蛍 光強度の増加から確認できた。本蛍光基質はバックグラウンドの影響をほぼ完璧に回 避できるなどの有用性を示したが、一方で、反応速度の遅さや蛍光強度の弱さなど課 題も見つかった。

本研究を通し、著者が開発した TFPE-aniline および ortho-TFPE-aniline は、強力な電 子求引性の TFPE 基をもつ小分子蛍光性化合物である。極めて興味深いことに、これ らの化合物は、芳香環上の官能基の位置および種類を変更することで、様々に励起・ 蛍光波長および蛍光強度を変化させることができ、有機溶媒だけではなく水系溶媒に おいても蛍光性を示すことがわかった。さらに、これらの化合物を蛍光団とする蛍光 基質を用いた酵素活性測定にも成功した。以上、ここで述べてきた研究成果が、新た な小分子蛍光性有機化合物の創生に繋がり、さらには、酵素阻害剤などをはじめとす る医薬品開発の一助になることを願い、結語とする。

.

#### 謝辞

本研究に際し、終始御厚情なる御指導御鞭撻を賜りました恩師 表 雅章 教授に 衷心より感謝いたします。

本研究に際し、有益な御助言を賜りました摂南大学薬学部 佐藤 和之 助教に衷 心より感謝いたします。

本研究に際し、有益な御助言を賜りました摂南大学薬学部 樽井 敦 講師に衷心 より感謝いたします。

本研究に際し、実験技術に始まり理論の細部まで御指導御鞭撻を賜り、筆者が研究 活動を始めるきっかけをくださった 安藤 章 博士に衷心より感謝いたします。

研究活動を続けるにあたり、有益なご助言を賜りました 熊懐 稜丸 博士に衷心 より感謝いたします。

本研究の一部に御協力いただいた摂南大学薬学部薬化学研究室卒業生 葉山 健 太 学士および 武田 全功,山川 蛍,中治 智愛子,高村 千咲,松本 一世 各 氏に深く感謝いたします。

本研究を行うに当たり、各種スペクトルの測定を行っていただきました摂南大学薬 学部共同利用機器室 山口 昌之 博士に衷心より感謝いたします。

本研究を行うに当たり、吸収・蛍光波長およびモル吸光係数、蛍光量子収率の測定 を行っていただきました大阪教育大学教育学部理数情報講座 谷 敬太 教授,大阪 教育大学大学院教育学研究科総合基礎科学専攻自然研究コース 宮永 佳苗 学士 に衷心より感謝いたします。

本研究を行うに当たり、TD-DFT 計算に協力していただきました京都府立大学大学 院生命環境科学研究科 椿 一典 教授に衷心より感謝いたします。

本研究を行うに当たり、蛍光寿命の測定、放射失活速度定数および無放射失活速度 定数の計算を行っていただきました岐阜大学工学部化学・生命工学科 船曳 一正 教授に衷心より感謝いたします。

本研究を行うに当たり、DPP-4 活性測定を行っていただきました摂南大学薬学部 伊藤 潔 教授,山澤 龍治 助教に衷心より感謝いたします。

最後に、本研究を始めるに当たり、経済的な面より支援していただきました両親に 衷心より感謝いたします。

# 実験の部

反応溶媒として用いた Et<sub>2</sub>O, トルエンは使用する前にアルゴン雰囲気下 Na-benzophenone ketyl より蒸留したものを用いた。DMFは CaH<sub>2</sub>より、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>は P<sub>2</sub>Os より蒸留したものを用いた。THFは無水かつ安定剤無添加の市販品を用いた。基質は 特に断りがない限り市販品を精製することなくそのまま用いた。また、合成反応は特 に断りのない限り、アルゴン雰囲気下で行い、用いたガラス器具は flame-dry したも のを使用した。

本研究では、化合物の分析および蛍光測定に以下の機器を用いた。

<sup>1</sup>H-NMR Spectra (400 MHz): 内部標準物質 TMS (tetramethylsilane) JEOL-ECZ-400 spectrometer

<sup>13</sup>C-NMR Spectra (100 MHz): 内部標準物質 TMS (tetramethylsilane) JEOL-ECZ-400 spectrometer

19F-NMR Spectra (376 MHz): 内部標準物質 ETFA (ethyltrifluoroacetate) JEOL-ECZ-400 spectrometer

NMR による測定は、内部標準物質を 0 ppm として低磁場側を (+), 高磁場側を (-) とした。

NMR Spectra 中の記載は以下の略語に従った。

s : singlet, d : doublet, t : triplet, q : quartet, m : multiplet, br : broad, dd : doubledoublet, dq : doublequartet

Mass Spectra (MS) JEOL JMS-700T spectrometer

Melting Point(未補正) 柳本製作所 MICRO MELTING POINT APPARATUS MP-53

励起・蛍光スペクトル 日立 F-7000

# 蛍光寿命

浜松ホトニクス Quantaurus-Tau

4,6-Bis[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]-1,3-diaminobenzene (2a)



フラスコに **1a** (1.0 mmol) と 2,2'-bipyridyl (5.0 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下 のグローブボックス内で(2-methylallyl)palladium(II) chloride dimer (10 mol%) と 2,2'-bipyridyl、無水 copper(II) fluoride (5.0 mmol) を加えた。続いて、DMF (6.0 mL) および(*E*)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)silane (5.0 mmol) を加えた後、80°Cで 4 時間反応させた。この反応溶液を氷水に注ぎ、セライトろ過を行った。その混合物を ジクロロメタンで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を蒸 留し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>) で精製し、**2a** を 62% (183.7 mg) で 得た。A light brown solid: mp 165-167 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.95 (4H, s), 6.00 (1H, s), 6.01 (2H, dq, J = 16.0, 6.6 Hz), 7.09 (2H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz), 7.27 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 102.3, 111.4, 113.9 (q, J = 33.4 Hz), 123.8 (q, J = 268.8 Hz), 128.6, 132.4 (q, J = 6.7 Hz), 147.5. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.83 (3F, dd, J = 6.5, 2.2Hz), 12.47 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 296 (M+), 277, 257, 226, 187, HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> 296.2116 (M+), found 296.0749.

2,4,6-Tris[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]-1,3-diaminobenzene (2b)



フラスコに **1b** (1.0 mmol) と 2,2'-bipyridyl (7.0 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下 のグローブボックス内で(2-methylallyl)palladium(II) chloride dimer (10 mol%) と無水 copper(II) fluoride (7.0 mmol) を加えた。続いて、DMF (6.0 mL) および (*E*)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)silane (7.0 mmol) を加えた後、80°Cで4時間反 応させた。その後、**2a** と同様の方法により単離、精製を行い、**2b** を 20% (78.0 mg) で得た。A orange solid: mp 196 °C (recrystallized from AcOEt and hexane);<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.12 (4H, s), 6.04 (2H, dq, *J* = 16.1, 6.4 Hz), 6.21 (1H, dq, *J* = 16.1, 6.1 Hz), 7.02

第一章

(1H, dq, J = 16.1, 2.0 Hz), 7.11 (2H, dq, J = 16.1, 2.0 Hz), 7.28 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 105.7, 111.1, 115.4 (q, J = 33.7 Hz), 122.6 (q, J = 270.3 Hz), 123.6 (q, J = 269.0 Hz), 124.9 (q, J = 33.7 Hz), 128.6, 131.0 (q, J = 6.7 Hz), 132.3 (q, J = 6.7 Hz), 144.5. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 11.18 (3F, dd, J = 6.2, 1.9 Hz), 12.40 (6F, dd, J = 6.5, 1.9 Hz). MS m/z 390 (M+), 321 HRMS calcd for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>F<sub>9</sub>N<sub>3</sub> 390.0779 (M+), found 390.0783.

2,4,6-Tris[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]-aniline (2c)



**2b** と同様の方法により **1b** の代わりに **1c** を用いて反応および単離、精製を行い、 **2c** を 54% (203.0 mg) で得た。A light yellow solid: mp 119-120 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.20 (2H, s), 6.11 (1H, dq, J = 16.0, 6.5 Hz), 6.20 (2H, dq, J = 16.0, 6.4 Hz), 7.05 (1H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz), 7.21 (2H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz), 7.40 (2H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 114.1 (q, J = 34.0 Hz), 119.8 (q, J = 33.6 Hz), 121.1, 123.0 (q, J = 269.4 Hz), 124.3, 124.7 (q, J = 269.2 Hz), 128.7, 132.3 (q, J = 6.8 Hz), 136.2 (q, J = 6.7 Hz), 143.9. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.59 (6F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz), 12.24 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 375 (M+), 316, 266 HRMS calcd for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>F<sub>9</sub>N<sub>3</sub> 375.0670 (M+), found 375.0668.

2,4-Bis[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl]aniline (2d)



**2a** と同様の方法により **1a** の代わりに **1d** を用いて反応および単離、精製を行い、 **2d** を 89% (250.9 mg) で得た。A light yellow solid: mp 106-107 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.05 (2H, s), 6.04 (1H, dq, J = 16.2, 6.6 Hz), 6.19 (1H, dq, J = 15.8, 6.5 Hz), 6.72 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.03 (1H, dq, J = 16.2, 2.1 Hz), 7.20 (1H, dq, J = 15.8, 2.1 Hz), 7.30 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz), 7.36 (1H, d, J = 1.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 112.9 (q, J = 33.7 Hz), 116.8, 117.9 (q, J = 33.7 Hz), 119.2, 123.3 (q, J = 269.4 Hz), 123.9 (q, J = 269.4 Hz), 124.4, 127.9, 132.7 (q, J = 6.7 Hz), 136.8 (q, J = 6.7 Hz), 146.3. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 11.84 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz), 12.47 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 281 (M+), 242, 211, HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>F<sub>6</sub>N 281.0639 (M+), found 281.0634.

(E)-2-(3,3,3-Trifluoroprop-1-enyl)aniline (2e)



フラスコに **1e** (1.0 mmol) と 2,2'-bipyridyl (2.0 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下 のグローブボックス内で(2-methylallyl)palladium(II) chloride dimer (10 mol%) と無水 copper(II) fluoride (2.0 mmol) を加えた。続いて、DMF (6.0 mL) および (*E*)-trimethyl(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)silane (2.0 mmol) を加えた後、80°Cで4時間反 応させた。その後、**2a** と同様の方法により単離、精製を行い、**2e** を 68% (127.2 mg) で得た。A colorless solid: mp 48-49 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.81 (2H, s), 6.13 (1H, dq, J = 15.9, 6.5 Hz), 6.72 (1H, dd, J = 8.0, 0.9 Hz), 6.80 (1H, ddd, J = 7.8, 7.8, 0.9 Hz), 7.18 (1H, ddd, J = 7.8, 7.8, 1.5 Hz), 7.24 (1H, dq, J = 15.9, 2.1 Hz), 7.29 (1H, dd, J = 7.8, 1.4 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 116.6 (q, J = 33.4 Hz), 116.8, 119.2, 119.4, 123.6 (q, J = 269.0 Hz), 127.9, 130.9, 133.3 (q, J = 6.8 Hz), 144.8. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.07 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 187 (M<sup>+</sup>), 148, 118, 91, HRMS calcd for C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N 187.1617 (M<sup>+</sup>), found 187.0603.

(E)-4-(3,3,3-Trifluoroprop-1-enyl)aniline (2f)



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **1f** を用いて反応および単離、精製を行い、 **2f** を 54% (101.0 mg) で得た。A colorless solid: mp 53-54 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (2H, s), 5.98 (1H, dq, J = 16.0, 6.7 Hz), 6.66 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.02 (1H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz), 7.26 (2H, d, J = 8.5 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 111.52 (q, J = 33.4 Hz), 114.90, 123.65, 124.21 (q, J = 268.0 Hz), 129.08, 137.42 (q, J = 6.7 Hz), 148.19. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.74 (3F, d, J = 6.6, 2.1 Hz). MS *m/z* 187 (M<sup>+</sup>), 168, 118, HRMS calcd for C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N 187.1617 (M<sup>+</sup>), found 187.0603.



# (E)-2-(Prop-1-enyl)aniline (2g)の合成



# (E)-2-(Prop-1-enyl)aniline (2g)<sup>57</sup>

アルゴン雰囲気下、0℃において ethyltriphenylphosphonium bromide (11.7 mmol)の THF 懸濁液 (29.4 mL) に、*n*-butyllithium (14.9 mmol, 1.55M in hexane) をゆっくり 滴下し、2 時間反応させた。反応溶液に対し、2-nitrobenzaldehyde (6.5 mmol)の THF 溶液 (9.8 mL)を滴下し、引き続き 0℃で 2 時間反応させた後、室温で 16 時間反応さ せた。この反応溶液に飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液を加え、Et<sub>2</sub>O で抽出した。有機層を無水硫 酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで 精製し、**24** を得た。**24** (5.0 mmol)の EtOH/AcOH (1:1, 19.4 mL)溶液に、iron powder (20 mmol)を加え 100℃で 3 時間反応させた。この反応溶液を酢酸エチルで希釈し た。、有機層を飽和 NaHCO3 水溶液で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減 圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**2g** を 8.6% (57.0 mg) で得た。A colorless liquid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.89 (3H, dd, *J* = 1.8, 6.6 Hz), 3.56 (2H, s), 6.07 (1H, qd, *J* = 6.6, 15.5 Hz), 6.40 (1H, qd, *J* = 1.8, 15.5 Hz), 6.64 (1H, dd, *J* = 0.9, 7.9 Hz), 6.73 (1H, dt, *J* = 1.3, 7.4 Hz), 7.03 (1H, dt, *J* = 1.3, 7.6 Hz), 7.20 (1H, dd, *J* = 1.4, 7.5 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 18.8, 115.8, 118.9, 124.5, 126.6, 127.3, 127.7, 127.8, 143.2.

#### (E)-N,N,-Dimethyl-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (2h)の合成



#### 2-Iodo-N,N-dimethylaniline (25)58

アルゴン雰囲気下、室温において 2-iodoaniline (5.0 mmol), potassium carbonate (8.0 mmol) の DMF (20 mL) 懸濁液に、iodomethane (12 mmol) を滴下し、一晩反応させた。この反応液を水に注ぎ、AcOEt で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、25 を 49% (484.6 mg) で得た。A yellow oil; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:

2.76 (6H, s), 6.76 (1H, td, *J* = 7.6, 1.8 Hz), 7.09 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz), 7.30 (1H, td, *J* = 7.6, 1.4 Hz), 7.84 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.4 Hz)

## (E)-N,N,-Dimethyl-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (2h)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **25** を用いて反応および単離、精製を行い、 **2h** を 49% (157.5 mg) で得た。A colorless liquid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) & 2.73 (6H, s), 6.18 (1H, dq, J = 6.6, 15.8 Hz), 7.02 (1H, dt, J = 0.9, 7.6 Hz), 7.06 (1H, dd, J = 0.9, 7.8 Hz), 7.32 (1H, dd, J = 1.9, 7.6 Hz), 7.42 (1H, dt, J = 1.5, 7.8 Hz), 7.51 (1H, dq, J = 2.1, 16.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) & 44.7, 115.1 (q, J = 33.3 Hz), 118.5, 122.4, 123.9 (q, J = 268.6 Hz), 127.4, 127.8, 130.4, 135.9 (q, J = 6.9 Hz), 153.2. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) & 12.25 (3F, dd, J = 2.2 6.5 Hz). MS m/z 215 (M<sup>+</sup>), 200, 144, 132, HRMS calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N 215.0922 (M<sup>+</sup>), found 215.0925.

#### (E)-4-Methyl-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (4a)



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに 2-iodo-4-methylaniline を用いて反応および単 離、精製を行い、**4a** を 54% (108.5 mg) で得た。A colorless solid; mp 66-67 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.25 (3H, s), 3.69 (2H, s), 6.12 (1H, dq, J = 15.9, 6.6 Hz), 6.64 (1H, d, J = 7.8 Hz), 7.00 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz), 7.11 (1H, d, J = 1.8 Hz), 7.24 (1H, dq, J = 15.9, 2.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 20.4, 116.2 (q, J = 33.4 Hz), 117.0, 119.4, 123.7 (q, J = 268.7 Hz), 128.1, 128.5, 131.7, 133.4 (q, J = 6.8 Hz), 142.4. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.11 (3F, dd, J = 6.6, 2.2 Hz). MS *m/z* 201 (M<sup>+</sup>), 180, 162, 132, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>N 201.1883 (M<sup>+</sup>), found 201.0768.

#### (E)-4-Methoxy-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (4b)の合成



#### tert-Butyl (4-methoxyphenyl)carbamate (26)

フラスコに *p*-anisidine (10 mmol)、di-*tert*-butyl dicarbonate (12 mmol) を加え、methanol (30 mL) を加えた。その混合溶液を 100℃で 6 時間反応させた。この反応溶液を室 温まで戻した後、減圧下で溶媒を留去した。残渣を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液に注ぎ、AcOEt で抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣を カラムクロマトグラフィーで精製し、**26** を 96% (2.141 g) で得た。A colorless solid; mp 95-96 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.50 (9H, s), 3.78 (3H, s), 6.35 (1H, br), 6.83 (2H, m), 7.26 (2H, d, *J* = 8.7 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 28.3, 55.7, 80.7, 114.9, 122.0, 132.8, 153.0, 155.9. MS *m/z* 223 (M<sup>+</sup>), HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub> 233.1208 (M<sup>+</sup>), found 217.1201.

## tert-Butyl (2-iodo-4-methoxyphenyl)carbamate (27)

-78℃において、**26** (5.0 mmol)の Et<sub>2</sub>O 溶液 (7.6 mL)に、*tert*-butyllithium (6.6 mL, 1.6 M in pentane)を滴下し、3 時間反応させた。この反応溶液に、1,2-diiodoethane (7.51 mmol)の Et<sub>2</sub>O 溶液 (16.8 mL)を滴下した後、室温で 16 時間反応させた。この反応溶液を Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 水溶液へ注ぎ、Et<sub>2</sub>O で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**27**を 32% (565.5 mg)で得た。A colorless solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.52 (9H, s), 3.76 (3H, s), 6.53 (1H, br), 6.89 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.7 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 7.81 (1H, d, *J* = 8.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 28.3, 55.7, 80.7, 114.9, 122.0, 123.6, 132.8, 153.0, 155.9. MS *m/z* 349 (M<sup>+</sup>), HRMS calcd for C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>INO<sub>3</sub> 349.0175 (M<sup>+</sup>), found 349.0182.

#### 2-Iodo-4-methoxyaniline (3b)

**27** (1.6 mmol) の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (7.9 mL) に、trifluoroacetic acid (19.2 mmol) を加え、 室温で 2 時間反応させた。この反応溶液に NaOH 水溶液を pH が 7 になるまで加え、 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、 残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**3b** を 92% (364.6 mg) で得た。Yellow oil, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.71 (3H, s), 3.78 (2H, s), 6.68 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 6.76 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.7 Hz), 7.19 (1H, d, *J* = 2.7 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 56.0. 84.3, 115.5, 116.2, 123.5, 140.8, 152.8. MS *m/z* 248 (M<sup>+</sup>), HRMS calcd for C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>INO 248.9651 (M<sup>+</sup>), found 248.9655.

## (E)-4-Methoxy-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (4b)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **3b** を用いて反応および単離、精製を行い、 **4b** を 58%(125.9 mg) で得た。A colorless solid; mp 38-39 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.55 (2H, s), 3.77 (3H, s), 6.13 (1H, dqd, *J* = 16.0, 6.6 Hz), 6.68 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.76-6.89 (2H, m), 7.26 (1H, dq, *J* = 16.0, 2.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.8, 111.9, 116.7 (q, *J* = 33.8 Hz), 117.7, 118.5, 120.5, 123.6 (q, *J* = 269.2 Hz), 133.3 (q, J = 6.7 Hz), 138.7, 153.0. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 12.08 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 217 (M<sup>+</sup>), 182, 134, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO 217.1877 (M<sup>+</sup>), found 217.0718.

# (E)-3-(3,3,3-Trifluoroprop-1-enyl)biphenyl-4-amine (4c)の合成



## (1,1'-biphenyl)-4-amine (28)

フラスコに、4-bromoaniline (5.0 mmol)、phenylboronic acid (5.0 mmol)、potassium carbonate (50 mmol) を加え、続いて、水 (15 mL)、ethanol (15 mL)、benzene (50 mL) を加えた。この反応溶液に tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (1.0 mol%) 加え、80℃で一晩反応させた。この反応溶液を室温に戻した後、減圧下で溶媒を留去し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、28 を 59% (503 mg) で得た。Brown solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.69 (2H, s), 6.73 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.24 (1H, m), 7.39 (4H, m), 7.52 (2H, m). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 115.4, 126.2, 126.3, 127.9, 128.6, 131.5, 141.1, 145.7.

# 3-iodo-(1,1'-biphenyl)-4-amine (3c)

フラスコに、28 (2.0 mmol)、iodine (2.0 mmol)、sodium hydrogen carbonate (6.0 mmol) を加え、続いて、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL)、水(4 mL)を加え、室温で一晩反応させた。この 反応溶液を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄後、無水硫酸マグネ シウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、 3c を 62% (368.8 mg)で得た。Brown liquid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.14 (2H, s), 6.80 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.28 (1H, m), 7.39 (3H, m), 7.49 (2H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.89 (1H, d, *J* = 1.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 114.7, 126.3, 126.7, 128.1, 128.7, 133.2, 137.3, 139.6, 146.0.

# (E)-3-(3,3,3-Trifluoroprop-1-enyl)biphenyl-4-amine (4c)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **3c** を用いて反応および単離、精製を行い、 **4c** を 55% (144.8 mg) で得た。A colorless solid; mp 66-67 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.89 (2H, s), 6.21 (1H, dq, J = 16.0, 6.6 Hz), 6.80 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.26-7.34 (2H, m), 7.38-7.46 (3H, m), 7.49-7.57 (3H, m). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 117.0 (q, J = 33.7 Hz), 117.2, 119.6, 123.6 (q, J = 269.4 Hz), 126.4, 126.5, 126.8, 128.8, 129.7, 132.4, 133.4 (q, J = 6.7 Hz), 140.4, 144.1. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.05 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS m/z 263 (M<sup>+</sup>), 224, 193, HRMS calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N 263.2577 (M<sup>+</sup>), found 263.0924.

(E)-4-Amino-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)benzonitrile (4d)



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **3d** を用いて反応および単離、精製を行い、 **4d** を 77% (163.3 mg) で得た。A colorless solid; mp 105-106 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.35 (2H, s), 6.17 (1H, dq, J = 16.0, 6.3 Hz), 6.73 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.13 (1H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz), 7.42 (1H, dd, J = 8.3, 1.8 Hz), 7.55 (1H, d, J = 1.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 101.4, 116.3, 119.2, 119.4 (q, J = 34.2 Hz), 123.0 (q, J = 269.5 Hz), 131.5 (q, J = 6.8 Hz), 132.4, 134.2, 148.3. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.55 (3F, dd, J = 6.4, 2.2 Hz). MS *m*/*z* 212 (M<sup>+</sup>), 173, 143, 116, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub> 212.1712 (M<sup>+</sup>), found 212.0556.

(E)-Methyl 4-amino-3-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)benzoate (4e)



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **3e** を用いて反応および単離、精製を行い、 **4e** を 73% (178.9 mg) で得た。A colorless solid; mp 112-113 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (3H, s), 4.25 (2H, s), 6.22 (1H, dq, J = 16.0, 6.4 Hz), 6.70 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.19(1H, dq, J = 16.0, 2.1), 7.85 (1H, dd, J = 8.6, 2.0 Hz), 7.99 (1H, d, J = 2.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.9, 115.7, 118.1 (q, J = 33.6 Hz), 118.6, 120.5, 123.4 (q, J = 269.3 Hz), 130.2, 132.2 (q, J = 6.7 Hz), 132.3, 148.7, 166.7. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.82 (3F, dd, J = 6.1, 2.4 Hz). MS *m/z* 245 (M<sup>+</sup>), 214, HRMS calcd for C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 245.1978 (M<sup>+</sup>), found 245.0658.



(E)-Methyl 3-(4-amino-3-[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]phenyl)acrylate (4f)

# (E)-Methyl 3-(4-nitrophenyl)acrylate (29)

Trimethyl phosphonoacetate (12 mmol)の THF 溶液(83 mL)に、sodium hydride (13 mmol)を加え、0℃で 30 分反応させた後に、*p*-nitrobenzaldehyde (10 mmol)の THF 溶液(7.5 mL)を滴下し、室温で4時間反応させた。この反応溶液を AcOEt で希釈 し、10%HCl 水溶液、飽和 NaHCO3 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄後、無水硫酸マ グネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、得られた結晶を AcOEt/hexane の混合溶 媒で再結晶し、29 を 96% (1.97 g)で得た。A colorless solid; mp 133-134 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.84 (3H, s), 6.56 (1H, d, *J* = 15.9 Hz), 7.68 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.72 (1H, d, *J* = 15.9 Hz), 8.25 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 52.0, 122.0, 124.2, 128.6, 140.4, 141.9, 148.5, 166.4. MS *m/z* 207 (M<sup>+</sup>), 176, 130, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub> 207.1828 (M<sup>+</sup>), found 207.0536.

#### (E)-Methyl 3-(4-aminophenyl)acrylate (30)

フラスコに、29 (9.0 mmol)、iron powder (36.9 mmol)、ammonium chloride (4.5 mmol) を加え、ethanol (32 mL)、水 (8.55 mL) を加え、85℃で1時間反応させた。この反 応溶液をセライトろ過し、減圧下で溶媒を留去し、残渣に CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> を加え抽出した。 飽和 NaCl 水溶液で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、 得られた粗結晶を AcOEt/hexane の混合溶媒で再結晶し、30 を 97% (1.55 g) で得た。 A colorless solid; mp 133-134 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.77 (3H, s), 3.95 (2H, s), 6.23 (1H, d, *J* = 6.5, 15.9 Hz), 6.64 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 15.9 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.4, 113.2, 114.8, 124.6, 129.9, 145.1, 148.7, 168.1. MS *m/z* 177 (M<sup>+</sup>), 146, 118, 91, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> 177.1998 (M<sup>+</sup>), found 177.0785.

## (E)-Methyl 3-(4-amino-3-iodophenyl)acrylate (3f)

フラスコに、30 (2.0 mmol)、methanol (10 mL)、conc. sulfuric acid (3.0 mmol)、potassium iodide (2.0 mmol)、30% hydrogen peroxide (4.0 mmol) を加え、80℃で5時間反応させた。この反応溶液に CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>を加え、0.1M 亜硫酸水素ナトリウム水溶液、水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、得られた残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、3f を 30% (181.8 mg) で得た。Orange solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.85 (3H, s), 4.15 (2H, s), 6.25 (1H, d, *J*= 16.0 Hz), 6.68 (1H, d, *J*= 8.4 Hz), 7.42 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 1.8 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 16.0 Hz) <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.7, 86.2, 114.8, 118.9, 119.5, 128.8, 130.8, 144.5, 146.7, 167.1. MS *m/z* 303 (M<sup>+</sup>), 272, 243, 145, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>INO<sub>2</sub> 302.9756 (M<sup>+</sup>), found 302.9757.

#### (E)-Methyl 3-(4-amino-3-[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]phenyl)acrylate (4f)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **3f** を用いて反応および単離、精製を行い、 **4f** を 55%(149.2 mg)で得た。A light yellow solid; mp 127-128 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.79 (3H, s), 4.11 (2H, s), 6.16 (1H, dq, J = 15.8, 6.5 Hz), 6.28 (1H, d, J = 16.0 Hz), 6.70 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.20 (1H, dq, J = 15.9, 2.0 Hz), 7.38 (1H, dd, J = 8.5, 1.8 Hz), 7.43 (1H, d, J = 1.8 Hz), 7.60 (1H, d, J = 16.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.59, 114.62, 116.74, (q, J = 34.1 Hz), 117.9, 119.1, 123.3 (q, J = 268.9 Hz), 125.4, 128.6, 130.5, 132.7 (q, J = 6.8 Hz), 144.2, 146.7, 167.8. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.86 (3F, dd, J = 6.2, 2.2 Hz). MS *m/z* 271 (M<sup>+</sup>), 240, 212, 172, HRMS calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 271.2351 (M<sup>+</sup>), found 271.0816.

### (E)-5-Methyl-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (6a)



## 1-Iodo-4-Methyl-2-nitrobenzene (31)

フラスコに、4-methyl-2-nitrobenzene (6.0 mmol)、conc. hydrochloric acid (1.5 mL) を加え、100℃で10分反応させた。0℃に冷却した後、sodiumu nitrite (7.2 mmol)の 水溶液 (1.5 mL)を滴下し、30分反応させ、potassium iodide (9.0 mmol)の水溶液 (1.5 mL を滴下し、70℃で2時間反応させた。この反応溶液を水へ注ぎ、AcOEt で抽出した。有機層を 10%HCl 水溶液、10%NaOH 水溶液、飽和 NaHSO3 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**31** を 79% (1.25 g) で得た。A yellow solid; mp 53-54 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.40 (3H, s), 7.09 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz), 7.68 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.89 (1H, d, *J* = 7.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 20.8, 82.1, 126.8, 134.4, 139.8, 141.4, 152.8. MS *m/z* 263 (M<sup>+</sup>), 217, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>INO<sub>2</sub> 263.0325 (M<sup>+</sup>), found 262.9445.

#### 2-Iodo-5-methylaniline (5a)

**3f** と同様の方法で、反応時間を2時間にし**30**の代わりに**31**を用いて反応および 単離、精製を行い、**5a**を88%(409.4 mg)で得た。A colorless solid; mp 34-35 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.22 (3H, s), 4.00 (2H, s), 6.30-6.33 (1H, m), 6.58 (1H, dd, *J* = 0.7, 2.0 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 21.0, 80.2, 115.5, 121.2, 138.5, 139.4, 146.4. MS *m/z* 233 (M<sup>+</sup>), 106, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>IN 233.0496 (M<sup>+</sup>), found 233.9704.

## (E)-5-Methyl-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (6a)

2e と同様の方法により 1e の代わりに 5a を用いて反応および単離、精製を行い、 6a を 42% (84.4 mg) で得た。A colorless solid; mp 70-71 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.27 (3H, s), 3.77 (2H, s), 6.12 (1H, dq, J = 16.0, 6.6 Hz), 6.54 (1H, s), 6.61 (1H, d, J = 7.8 Hz), 7.18 (1H, d, J = 7.8 Hz), 7.20 (1H, dq, J = 16.0, 2.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 21.3, 115.4 (q, J = 33.1 Hz), 117.4, 1120.4, 123.8 (q, J = 268.7 Hz), 127.8, 133.2 (q, J = 7.1 Hz), 141.3, 144.7. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.29 (3F, dd, J = 6.6, 2.2Hz). MS *m*/*z* 201 (M<sup>+</sup>), 180, 162, 132, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>N 201.1883 (M<sup>+</sup>), found 201.0768.





#### 4-Iodo-3-nitrophenol (7)

**31** と同様の方法で、4-methyl-2-nitrobenzene の代わりに、4-amino-3-nitrophenol を用いて反応および単離、精製を行い、**7** を 73%(967.5 mg)で得た。A yellow solid; mp 156-157 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.87 (1H, dd, J = 2.7, 8.6 Hz), 7.31 (1H, d, J = 2.7 Hz), 7.84 (1H, d, J = 8.6 Hz), 10.64 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 73.4, 112.1, 121.6, 141.5, 153.8, 158.2. MS *m*/*z* 265 (M<sup>+</sup>), 219, HRMS calcd for C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>INO<sub>3</sub> 265.0053 (M<sup>+</sup>), found 264.9242.

## 1-Iodo-4-methoxy-2-nitrobenzene (32)

**7** (3.6 mmol)、potassium carbonate (7.2 mmol) の acetone (4 mL) の懸濁液に、 iodomethane (7.5 mmol) を滴下し、室温で 5 時間反応させた。この反応溶液をセライ トろ過し、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**32** を 98% (988.4 mg) で得た。A yellow solid; mp 61-62 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.86 (3H, s), 6.86 (1H, dd, *J* = 8.9, 3.2 Hz), 7.41 (1H, d, *J* = 3.2 Hz), 7.87 (1H, d, *J* = 8.9 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.9, 74.5, 110.9, 120.4, 142.1, 153.4, 160.1. MS *m/z* 279 (M<sup>+</sup>), 233, 218, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>INO<sub>3</sub> 279.0319 (M<sup>+</sup>), found 278.9395.

#### 2-Iodo-5-methoxyaniline (5b)

**5a** と同様の方法で、**31** の代わりに **32** を用いて反応および単離、精製を行い、**5b** を 93%(811.5 mg)で得た。A light yellow solid; mp 32-33 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.74 (3H, s), 4.07 (2H, s), 6.13 (1H, dd, J = 8.7, 2.7 Hz), 6.33 (1H, d, J = 2.7 Hz), 7.48 (1H, d, J = 8.7 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.2, 73.4, 100.4, 106.5, 139.1, 147.5, 161.0. MS *m/z* 249 (M<sup>+</sup>), 122, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>INO 248.9651 (M<sup>+</sup>), found 248.9649.

## (E)-5-Methoxy-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)aniline (6b)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **5b** を用いて反応および単離、精製を行い、 **6b** を 44% (96.1 mg) で得た。A colorless solid; mp 70-71 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.78 (3H, s), 3.85 (3H, s), 6.02 (1H, dq, J = 16.0, 6.5 Hz), 6.23 (1H, d, J = 2.2 Hz), 6.37 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz), 7.16 (1H, dq, J = 16.0, 2.2 Hz), 7.23(1H, d, J = 8.3 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.2, 101.5, 105.7, 112.5, 113.9 (q, J = 32.8 Hz), 123.9 (q, J = 268.2 Hz), 129.4, 132.7 (q, J = 6.7 Hz), 146.5, 161.9. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.70 (3F, dd, J = 6.3, 2.1 Hz). MS *m/z* 217 (M<sup>+</sup>), 182, 134, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO 217.1877 (M<sup>+</sup>), found 217.0716.

#### 2,5-Bis[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl]aniline (6c)の合成



# 4-Iodo-2-nitroaniline (33)

フラスコに、iodine (10 mmol)、silver (I) sulfate (10 mmol)、*o*-nitroaniline (10 mmol)、 ethanol (50 mL) を加え、室温で1時間反応させた。その反応溶液をセライトろ過し、 減圧下で溶媒を留去し、残渣を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で希釈した後、10% NaOH 水溶液で洗浄し、 無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフ ィーで精製し、**33** を 96% (2.53 g) で得た。A orange solid; mp 122-123 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.12 (2H, s), 6.61 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.56 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz), 8.43 (1H, *J* = 2.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 75.9, 120.5, 133.0, 134.2, 143.7, 144.0. MS *m*/*z* 264 (M<sup>+</sup>), 218, HRMS calcd for C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 264.0206 (M<sup>+</sup>), found 263.9398.

## 1,4-Diiodo-2-nitrobenzene (34)

0℃において、**33** (5.0 mmol)の水 (3.8 mL)、conc. sulfuric acid (3.5 mL)、glacial acetic acid (3.5 mL)の混合溶液に、sodiumu nitrite (5.5 mmol)の水 (1.5 mL)を1時間か けて滴下し、室温で 30 分反応させ、potassium iodide (6.0 mmol)の水溶液 (1.5 mL) を滴下し、60℃で1時間反応させた。その反応溶液を 0℃まで冷却し、Et<sub>2</sub>O を系中 の固体が溶解するまで加えた後、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液へ注ぎ、有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカ ラムクロマトグラフィーで精製し、**34** を 73% (1.37 g)で得た。A orange solid; mp 109-111 ℃ (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.56 (1H, dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz), 7.73 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 8.14 (1H, d, *J* = 2.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 85.5, 92.8, 134.0, 142.3, 142.9, 153.3. MS *m/z* 375 (M<sup>+</sup>), 329, 202, HRMS calcd for C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>I<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> 374.9025 (M<sup>+</sup>), found 374.8257.

(5) sailinnoboiid-2,2

2,5-Bis[(E)-3,3,3-trifluoroproprop-1-enyl]aniline (6c)

2a と同様の方法により 1a の代わりに 5c を用いて反応および単離、精製を行い、 bc を 81% (228.4 mg) で得た。A colorless solid: mp 110-111 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 3.89 (2H, s), 6.17 (2H, m), 6.78 (1H, s), 6.89 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.04 (1H, dq, J = 16.0, 2.3 Hz), 7.21 (1H, dq, J = 16.0, 2.3 Hz), 7.31 (1H, d, J = 8.0 Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 115.6, 116.7 (q, J = 33.7 Hz), 117.5 (q, J = 5.8, Hz), 135.7, 136.9 (q, 123.4 (q, J = 269.5 Hz), 123.5 (q, J = 269.5 Hz), 128.5, 132.4 (q, J = 6.8 Hz), 135.7, 136.9 (q, Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 11.57 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz), 11.91 (3F, dd, J = 6.5, 123.4 (q, J = 269.5 Hz), 123.5 (q, J = 269.5 Hz), 128.5, 132.4 (q, J = 6.8 Hz), 135.7, 136.9 (q, Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 115.6, 116.7 (q, J = 33.7 Hz), 117.5 (q, J = 6.8 Hz), 135.7, 136.9 (q, Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 115.6, 116.7 (q, J = 5.5, 2.2 Hz), 11.91 (3F, dd, J = 6.5, 123.4 (q, J = 269.5 Hz), 123.5 (q, J = 269.5 Hz), 128.5, 132.4 (q, J = 6.8 Hz), 135.7, 136.9 (q, Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 115.6, 116.7 (q, J = 5.6, 2.2 Hz), 118.1, 120.8, 123.4 (q, J = 269.5 Hz), 123.5 (q, J = 5.6, 2.5 Hz), 117.5 (q, J = 6.5, 2.2 Hz), 118.1, 120.8, 123.4 (q, J = 269.5 Hz), 123.5 (q, J = 269.5 Hz), 128.5, 132.4 (q, J = 6.5, 136.7 Hz), 136.9 (q, Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 5: 11.77 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz), 11.91 (3F, dd, J = 6.5, 130.4 (q, J = 5.6, 2.8 Hz), 128.5 (J, J = 5.6, 2.8 Hz), 130.4 (q, J = 6.5, 2.2 Hz), 100.10,





# 4-Iodo-3-nitrobenzonitrile (35)

**31** と同様の方法で、4-methyl-2-nitrobenzene の代わりに、4-amino-3-nitrobenzonitrile を用いて反応および単離、精製を行い、**35** を 40%(546.2 mg)で得た。A yellow solid: mp 132-133 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.52 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.2 Hz), 8.13 (1H, dd, *J* = 1.8 Hz), 8.23 (1H, d, *J* = 8.2 Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 92.7, 113.5, 116.0, 128.4, 135.4, 143.3, 153.2. MS m/z 274 (M<sup>+</sup>), 228, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>3</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 274.0154 (M+), found 273.9237.

#### 3-Amino-4-iodobenzonitrile (5d)

**5a** と同様の方法で、**31** の代わりに **35** を用いて反応および単離、精製を行い、**5d** を 80% (389.0 mg) で得た。A colorless solid: mp 113-114 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.34 (2H, s), 6.71 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.8 Hz), 6.94 (1H, d, *J* = 1.8 Hz), 7.74 (1H, d, *J* = 8.3 Hz).<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 89.4, 112.3, 116.4, 118.5, 122.2, 139.9, 147.3. MS m/z 244 (M<sup>+</sup>), 117, HRMS calcd for C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>IN<sub>2</sub> 244.0325 (M+), found 243.9488.

#### (E)-3-Amino-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)benzonitrile (6d)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **5d** を用いて反応および単離、精製を行い、 **6d** を 63% (133.6 mg) で得た。A colorless solid; mp 108-109 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.02 (2H, s), 6.21 (1H, dq, J = 15.8, 6.4 Hz), 6.97 (1H, d, J = 1.4 Hz), 7.05 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz), 7.19 (1H, dq, J = 15.8, 2.1 Hz), 7.34 (1H, d, J = 8.0Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 114.0, 118.4, 119.4, 119.9 (q, J = 33.9 Hz), 122.1, 123.0 (q, J = 269.0 Hz), 123.4, 128.6, 131.9 (q, J = 6.7 Hz), 144.9. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.49 (3F, dd, J = 6.4, 2.2 Hz). MS *m*/*z* 212 (M<sup>+</sup>), 173, 143, 116, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub> 212.1712 (M<sup>+</sup>), found 212.0564.

# (E)-Methyl 3-amino-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)benzoate (6e)の合成



#### Methyl 4-iodo-3-nitrobenzoate (37)

**31** と同様の方法で、4-methyl-2-nitrobenzene の代わりに、4-amino-3-nitrobenzoicacid を用いて反応を行い、残渣 36 を得た。その 36 に、methanol (11 mL)、conc. sulfuric acid (2.1 mL) を加え、室温で一晩反応させた。その反応溶液に pH が中性を示すまで、 飽和 NaHCO3 水溶液を加え、AcOEt で抽出した。 有機層を水、 飽和 NaCl 水溶液で洗 浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマト グラフィーで精製し、37 を 58% (1.77 g) で得た。A light yellow solid; mp 104-105 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.97 (3H, s), 7.88 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.2), 8.15 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 8.45 (1H, d, *J* = 1.8 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 52.9, 92.2, 126.1, 131.5, 133.4, 142.3, 153.1, 164.5. MS *m/z* 307 (M<sup>+</sup>), 291, 276, 246, 229, 201, HRMS calcd for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>INO<sub>4</sub> 307.0420 (M<sup>+</sup>), found 306.9343.

#### Methyl 3-amino-4-iodobenzoate (5e)

**5a** と同様の方法で、**31** の代わりに **37** を用いて反応および単離、精製を行い、**5e** を 82% (1.13 g) で得た。Orange yellow solid; mp 137-138 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (3H, s), 4.23 (2H, s), 7.10 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.3), 7.39 (1H, d, *J* = 2.3 Hz), 7.70 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 52.2, 89.8, 115.0, 115.3, 120.3, 131.2, 139.1, 146.8, 166.8. MS *m/z* 277 (M<sup>+</sup>), 246, 218, HRMS calcd for C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>INO<sub>2</sub> 277.0591 (M<sup>+</sup>), found 276.9605.

## (E)-Methyl 3-amino-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)benzoate (6e)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **5e** を用いて反応および単離、精製を行い、 **6e** を 65% (158.9 mg) で得た。A colorless solid; mp 109-110 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.90 (3H, s), 3.93 (2H, s), 6.21 (1H, dq, *J* = 16.0, 6.4 Hz), 7.24 (1H, dq, *J* = 16.0, 2.1 Hz), 7.33 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.42 (2H, m). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.2, 101.5, 105.8, 112.5, 113.9 (q, *J* = 33.5 Hz), 123.9 (q, *J* = 268.7 Hz), 128.4, 129.4, 132.8 (q, *J* = 6.8 Hz), 146.4, 161.9. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.70 (3F, dd, *J* = 6.6, 2.2 Hz). MS *m/z* 245 (M<sup>+</sup>), 214, 186, 117, HRMS calcd for C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 245.1978 (M<sup>+</sup>), found 245.0662.



(E)-Methyl 3-(3-amino-4-((E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)phenyl)acrylate (6f)の合成

# (E)-Methyl 3-(3-nitrophenyl)acrylate (38)

**29** と同様の方法で、*p*-nitrobenzaldehyde の代わりに*m*-nitrobenzaldehyde を用いて反応および単離、精製を行い、**38** を 90% (1.48 g) で得た。A colorless solid; mp 123-124 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.84 (3H, s), 6.56 (1H, d, *J*= 15.9 Hz), 7.59 (1H, dd, *J* = 8.0, 7.9 Hz), 7.73 (1H, d, *J* = 15.9 Hz), 7.81 – 7.83 (1H, m), 8.23 (1H, ddd, *J* = 8.1, 2.2, 1.0 Hz), 8.38 (1H, dd, *J* = 2.4, 2.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 52.0. 120.9, 122.4, 124.5, 129.9, 133.6, 136.1, 141.9, 148.7, 166.5. MS *m/z* 207 (M<sup>+</sup>), 176, 148, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO4 207.1828 (M<sup>+</sup>), found 207.0536.

# (E)-Methyl 3-(3-aminophenyl)acrylate (39)

**30** と同様の方法で、**29** の代わりに **38** を用いて反応および単離、精製を行い、**39** を 64%(664.0 mg)で得た。A beige solid; mp 78-79 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.73 (2H, s), 3.79 (3H, s), 6.37 (1H, d, *J*= 15.9 Hz), 6.70 (1H, ddd, *J* = 7.8, 2.3, 0.9 Hz), 6.82 (1H, dd, *J* = 2.3, 2.1 Hz), 6.91-6.93 (1H, m), 7.16 (1H, dd, *J* = 7.7, 7.8 Hz), 8.38 (1H, d, *J* = 15.9 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.6, 114.0, 117.1, 117.5, 118.6, 129.7, 135.4, 145.1, 146.7, 167.5. MS *m*/*z* 177 (M<sup>+</sup>), 146, 118, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> 177.1998 (M<sup>+</sup>), found 177.0785.

#### (E)-Methyl 3-(3-amino-4-iodophenyl)acrylate (5f)

**3f** と同様の方法で、**30** の代わりに **39** を用いて反応および単離、精製を行い、**5f** を 9% (85.8 mg) で得た。A yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.79 (2H, s), 4.16 (3H, s), 6.39 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 6.64 (1H, dd, *J* = 7.9, 2.4 Hz), 6.82 (1H, dd, *J* = 2.3, 2.1 Hz), 6.85 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.53 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 8.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.6, 86.1, 113.5, 118.3, 119.2, 135.6, 139.4, 144.1, 147.1, 167.3. MS *m/z* 303 (M<sup>+</sup>), 272, 243, 145, HRMS calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>INO<sub>2</sub> 302.9756 (M<sup>+</sup>), found 302.9757.

# (E)-Methyl 3-(3-amino-4-((E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)phenyl)acrylate (3f)

**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **5f** を用いて反応および単離、精製を行い、 **6f** を 59% (160.0 mg) で得た。A colorless solid; mp 130-131 °C (recrystallized from AcOEt and hexane); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.81 (3H, s), 3.90 (2H, s), 6.17 (1H, dq, J = 15.8, 6.5 Hz), 6.40 (1H, d, J = 15.9 Hz), 6.85 (1H, s), 6.97 (1H, d, J = 8.6 Hz), 7.25 (1H, dq, J = 16.0, 1.8 Hz), 7.31 (1H, d, J = 8.6 Hz), 7.58 (1H, d, J = 16.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 51.8, 116.1, 117.5, (q, J = 34.0 Hz), 118.6, 118.7, 121.1, 123.5 (q, J = 269.6 Hz), 128.4, 132.5 (q, J = 6.7 Hz), 136.8, 144.0, 145.0, 167.2. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.96 (3F, dd, J = 6.5, 2.2 Hz). MS *m/z* 271 (M<sup>+</sup>), 240, 212, 172, HRMS calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 271.2351 (M<sup>+</sup>), found 271.0813. 第三章

3-Amino-4-iodophenol (8)



**5a** と同様の方法で、**31** の代わりに**7** を用いて反応および単離、精製を行い、**8** を 77% (545.8 mg) で得た。A yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 5.02 (2H, s), 5.84 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.8 Hz), 6.21 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 7.23 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 9.20 (1H, s).

Ethyl (5-hydroxy-2-iodophenyl)carbamate (10)



10

8 (3.96 mmol)の Et<sub>2</sub>O (20 mL)、THF (4.0 mL) 混合溶液に、ethyl chloroformate (7.92 mmol)の Et<sub>2</sub>O 溶液 (4.0 mL) を滴下し、室温で 2 時間反応させた。その反応溶液を ろ過し、10%HCl 水溶液、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、**10** を 47 % (566.7 mg)で得た。A solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.35 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 4.26 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 6.41 (1H, dd, *J* = 8.7, 3.0 Hz), 6.75 (1H, s), 7.03 (1H, s), 7.561 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.82 (1H, d, *J* = 3.0 Hz).

Ethyl (4-hydroxy-2-nitrophenyl)carbamate (12)



**10**と同様の方法で、**8**の代わりに 4-amino-3-nitrophenol(5 mmol)を用いて反応および単離、精製を行い、**12**を 21 %(233.2 mg)で得た。A solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.34 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 4.25 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 5.72 (1H, s), 7.16 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.8 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 8.35 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 9.48 (1H, s).



**10** と同様の方法で、**8** の代わりに *m*-aminophenol (40 mmol) を用いて反応および処 理を行い、**13** を 47% (3.39 g) で得た。A colorless solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.31 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 4.23 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 6.64 (4H, m), 7.13 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 7.38 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 14.44, 61.7, 105.8, 110.3, 110.7, 129.9, 138.8, 154.0, 156.9.

Ethyl (4-methyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl)carbamate (14)59



フラスコに、**13** (18.6 mmol)、ethyl acetoacetate (22.32 mmol)、70% sulfuric acid (31.24 mL)、ethanol (13.4 mL)を加え、室温で4時間反応させた。この反応溶液を水へ注ぎ、 析出した固体をろ取し、**14** を 54% (2.49 g)で得た。A colorless solid; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d6) δ: 1.27 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.38 (3H, s), 4.17 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 6.23 (1H, s), 7.40 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz), 7.54 (1H, d, *J* = 1.6 Hz), 7.68 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 10.1 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d6) δ: 14.3, 17.9, 60.6, 104.2, 111.7, 114.1, 114.2, 125.9, 142.7, 153.0, 153.2, 153.7, 159.9.

7-Amino-4-methylcoumarin (15)59



フラスコに、**14**(8.86 mmol)、conc. sulfuric acid (13.6 mL)、glacial acetic acid (13.6 mL) を加え、120℃で4時間反応させた後に、水(343.3 mL)を加え、一晩反応させた。この反応溶液を50%NaOH水溶液で塩基性にし、氷水下で析出した固体をろ取後、

得られた粗結晶を再結晶で精製し、**15** を 95.3%(1.48 g)で得た。A colorless solid; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.30 (3H, s), 5.90 (1H, s), 6.10 (2H, s), 6.40 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.56 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz), 7.40 (1H, *J* = 2.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 18.5, 99.0, 107.9, 109.3, 111.6, 126.7, 153.6, 154.2, 155.9, 161.2.

7-Amino-3-iodo-4-methylcoumarin (17)



17

フラスコに、**15** (0.3 mmol)、acetonitrile (1.5 mL) を加え、0℃で*N*-iodosuccinimide (0.3 mmol) を加え、20 分反応させた。この反応溶液の溶媒を減圧下で留去し、カラ ムクロマトグラフィーで精製し、**17** を 36% (32.8 mg) で得た。A light yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.54 (3H, s), 6.25 (2H, s), 6.41 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.56 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz), 7.53 (1H, *J* = 2.1 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 24.8, 83.3, 97.8, 108.6, 111.6, 127.1, 153.5, 154.4, 157.2, 157.8.

7-Amino-8-iodo-4-methylcoumarin (18)



3f と同様の反応で、30 の代わりに、15 (4.0 mmol) 用いて、60℃で反応および単離、精製を行い、18 を 8% (101.7 mg) で得た。A light yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.33 (3H, s), 5.99 (1H, s), 6.22 (2H, s), 6.74 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.45 (1H, *J* = 8.6 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 18.0, 70.5, 108.0, 109.6, 110.6, 125.8, 153.0, 153.8, 154.3, 160.2.



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **17** (0.3 mmol) を用いて反応および単離、精 製を行い、**19** を 23% (20.6 mg) で得た。A light yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, DMSO) δ: 2.50 (3H, s), 5.94 (2H,s), 6.49 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.65 (1H, dd, J = 9.1, 2.3 Hz), 6.98 (1H, dq, J = 16.1, 7.0 Hz), 7.21 (1H, dq, J = 15.9, 2.0 Hz), 7.49 (1H, d, J = 8.6 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, DMSO) δ: 14.6, 98.7, 109.4, 110.4, 112.3, 118.0 (q, J = 32.5 Hz), 124.1 (q, J = 271.3Hz), 127.0, 129.4 (q, J = 7.3 Hz), 153.0, 153.8, 154.9, 159.6. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>, DMSO) δ: 12.63 (3F, dd, J = 7.0, 2.1 Hz). MS *m/z* 269 (M<sup>+</sup>), 241, 200, 172, HRMS calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 269.0664 (M<sup>+</sup>), found 269.0668.

(E)-7-Amino-4-methyl-8-(3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-coumarin (20)



**2e** と同様の方法により **1e** の代わりに **18** (0.03 mmol) を用いて反応および単離、 精製を行い、**20** を 27% (22.5 mg) で得た。A light yellow solid; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.36 (3H, s), 4.43 (2H, s), 6.06 (1H, s), 6.64 (1H, dq, *J* = 16.5, 6.3 Hz), 6.66 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.32 (1H, dq, *J* = 16.5, 2.3 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 8.6 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 18.8, 105.9, 110.5, 111.6, 112.5, 121.3 (q, *J* = 35.0 Hz), 123.4 (q, *J* = 271.0 Hz), 126.2, 128.0 (q, *J* = 7.1 Hz), 148.3, 152.9, 153.3, 160.6. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl) δ: 11.54 (3F, dd, *J* = 6.5, 2.1 Hz). MS *m/z* 269 (M<sup>+</sup>), 241, 200, 172, HRMS calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 269.0664 (M<sup>+</sup>), found 269.0661. 第四章

1-[2-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)acetyl]-L-proline, methyl ester (21)



マイクロウェーブ用のバイアルに *N*-pthaloylglycine (4.0 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (4.4 mmol) と 1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (10 mmol) を加え、DMF (8 mL)、*N*,*N*-diisopropylethylamine (20 mmol) を加え、室温で5分反応させた後、L-proline methyl ester hydrochloride (4.8 mmol) を 加え、マイクロウェーブ照射下 120°Cで 20 分反応させた。この反応溶液を水へ注ぎ、 AcOEt で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾 燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィーで精製し、21 を 86% (1.09 g) で得た。A white solid: mp 166-167 °C; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.90-2.36 (m, 4H), 3.60-3.83 (m, 5H), 4.40(d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 4.51-4.61 (m, 2H), 7.70-7.73 (m, 2H), 7.85-7.88 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 24.8, 28.9, 39.7, 46.2, 52.3, 59.1, 123.5, 132.2, 134.0, 164.4, 167.8, 172.1. MS m/z 316 (M<sup>+</sup>), 284, 257, 188, 160, 128 HRMS calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>Os 316.3086 (M<sup>+</sup>), found 316.1051.

(S)-N-(2,4-Bis((E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)phenyl)-1-(2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acet yl)pyrrolidine-2-carboxamide (23)



23

フラスコに、**21**(2.0 mmol)、lithium hydroxide(12 mmol)を加え、THF (4.8 mL)、 methanol(1.5 mL)、水(1.5 mL)を加え、室温で一晩反応させた。この反応溶液の溶 媒を減圧下で留去し塩酸水溶液で希釈した後、CHCl<sub>3</sub>:EtOH(2:1)で抽出した。有機 層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去
し、**22** を得た。0℃において、**22**(1.0 mmol)の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液に oxalyl chloride (2.0 mmol)、 DMF (1 滴)加え、室温で2時間反応させた。反応溶液の溶媒を減圧下で留去し、**2d** (0.3 mmol)、1,4-dioxane (3 mL)、pyridine (0.45 mmol)加え、室温で2時間反応さ せた。この反応溶液を飽和 NaHCO<sub>3</sub>水溶液へ注ぎ、CHCl<sub>3</sub>で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下で溶媒を留去し、残渣 をカラムクロマトグラフィーで精製し、**23** を 28% (71.9 mg)で得た。A white solid: mp 181-182 °C; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.87-1.97 (1H, m), 2.14-2.28 (2H, m), 2.63-2.67 (2H, m), 3.58-3.77 (2H, m), 4.51(2H, d, *J* = 3.9 Hz), 4.82 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.11 (2H, dq, *J* = 16.0, 6.4 Hz), 7.08 (1H, dq, *J* = 16.0, 2.2 Hz), 7.28 (1H, dq, *J* = 16.0, 2.1 Hz), 7.44 (2H, d, *J* = 6.6 Hz), 7.73-7.90 (4H, m), 8.08 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 9.46 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 26.3, 29.7, 39.7, 46.9, 61.2, 115.8 (q, *J* = 33.9 Hz), 119.4 (q, *J* = 34.0 Hz), 122.7 (q, *J* = 270.0 Hz), 122.8, 123.5 (q, *J* = 269.0 Hz), 123.8, 125.8, 126.4, 129.9, 132.0, 132.7 (q, *J* = 6.7 Hz), 136.4, 137.6 (q, *J* = 6.8 Hz), 137.6, 167.2, 167.8, 168.5. <sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.32 (3F, dd, *J* = 6.6, 2.2 Hz), 11.54 (3F, dd, *J* = 6.4, 2.2 Hz). MS m/z 565 (M<sup>+</sup>), 468, 285, 257, 188, 160 HRMS calcd for C<sub>27</sub>H<sub>21</sub>F<sub>6</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 565.1436 (M<sup>+</sup>), found 595.1437.

N-(S)-1-(2-Aminoacetyl)-N-(2,4-bis[(E)-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl]phenyl)pyrrolidine-2carboxamide (H-Gly-Pro-2d)



#### H-Gly-Pro-2d

**23** (0.05 mmol) の ethanol 溶液に、hydrazine monohydrate (0.05 mmol) を加え、室 温で 24 時間反応させた。この反応溶液をろ過し、減圧下で溶媒を留去し、残渣をカ ラムクロマトグラフィーで精製し、**H-Gly-Pro-2d** を 72% (15.7 mg) で得た。. A light yellow solid: mp 129-130°C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.90-2.25 (4H, m), 3.51-3.80 (2H, m), 4.56 (d, *J* = 8.3 Hz), 6.75-6.95 (2H, m), 7.21-7.53 (4H, m), 7.75 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 8.20 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 24.8, 26.7, 46.2, 60.6, 70.3, 116.2 (q, *J* = 33.6 Hz), 117.2 (q, *J* = 33.3 Hz), 124.3 (q, *J* = 269.0 Hz), 124.6 (q, *J* = 269.0 Hz), 126.6, 127.2, 128.7, 130.4, 131.2, 134.1 (q, *J* = 7.0 Hz), 137.6 (q, *J* = 7.0 Hz), 138.4, 171.4. <sup>19</sup>F-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12.80 (3F, dd, *J* = 7.2, 2.2 Hz), 12.91 (dd, *J* = 2.2, 7.2 Hz). MS m/z 435 (M+), 281, 242, 174, 155, 127 HRMS calcd for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>F<sub>6</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 435.3635 (M+), found 435,1382.

#### H-Gly-Pro-1d を酵素基質として用いた DPP-4 活性測定

.

Dipeptidyl aminopeptida-se IV (DPP-4) は、*Stenotrophomonas maltophilia* の精製酵素を 本学部生物学研究室の伊藤教授より提供されたものを使用した。*S. maltophilia* よりク ローン化した遺伝子を含む発現プラスミド pUC19-SDP4 を用いて形質転換した *E. coli* DH5a を培養後、既報に従って精製した組換え酵素である。<sup>60</sup> 酵素活性は 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0)、10-50  $\mu$ M 基質、10-400 ng DPP-4 を含む反応液 0.1 mL を、マイク ロプレートリーダーSH-9000 (Corona electric, Japan) を用いて 37°C、5 分間インキュベ ートすることにより行い、酵素反応で得られた 1d を励起波長 300 nm、蛍光波長 460 nm で蛍光定量した。<sup>61</sup> 軌道計算

励起状態の幾何学 62

Gaussian 16, Revision A.03 を用いた B3LYP/6-31G(d.p)法により、溶媒を THF に設定し、 TD-DFT 計算を行った。

#### 2d

Symbol	Х	Y	Z
С	0.087169	0.200694	-0.05975
С	1.238003	1.003715	-0.06261
С	1.083089	2.415949	0.002839
С	-0.22343	2.954432	0.039709
С	-1.33796	2.13615	0.036504
С	-1.20926	0.729143	-0.00747
С	2.577504	0.416938	-0.17811
С	2.939161	-0.80735	0.238043
С	4.303991	-1.36276	0.029473
F	5.159488	-0.50723	-0.58299
F	4.890047	-1.72217	1.210322
F	4.281135	-2.5003	-0.72812
N	2.172398	3.26472	-0.00361
С	-2.34677	-0.18895	-0.01954
С	-3.652	0.133217	0.015919
С	-4.73375	-0.88393	0.003416
F	-4.28937	-2.16497	-0.04167
F	-5.53799	-0.79121	1.107525
F	-5.57405	-0.72741	-1.06599
Н	0.207583	-0.87615	-0.13637
Н	-0.3462	4.03301	0.085155
Н	-2.32021	2.596638	0.071003
H	3.334473	1.030823	-0.66205
Н	2.265934	-1.48102	0.759076
Н	1.991442	4.236033	0.20899
Н	3.045212	2.933622	0.381041
Н	-2.08605	-1.24436	-0.06014
Н	-4.01679	1.154335	0.056312

2e			
Symbol	Х	Y	Ζ
С	3.830368	-0.74485	0.029249
С	2.871551	-1.76748	-0.0005
С	1.523377	-1.42835	-0.04231
С	1.094816	-0.08598	-0.05033
С	2.073911	0.943387	0.00275
С	3.436803	0.589293	0.032017
N	1.707967	2.288796	-0.01643
С	-0.32432	0.262421	-0.16213
С	-1.35949	-0.4991	0.23056
С	-2.77828	-0.10525	0.024318
F	-3.46919	-0.05392	1.203513
F	-2.93577	1.10493	-0.56767
F	-3.45286	-1.00797	-0.75148
Н	4.888532	-0.98888	0.053536
Н	3.174592	-2.80943	-0.00944
Н	0.777848	-2.21505	-0.10789
Н	4.184816	1.37702	0.06873
Н	2.455713	2.937383	0.193134
Н	0.85747	2.538883	0.469578
Н	-0.54882	1.222371	-0.62266
Н	-1.23797	-1.45577	0.729037

## **2f**

•

Symbol	Х	Y	Ζ
С	-3.58889	-0.11318	0.003672
С	-3.02107	1.17651	0.002694
С	-1.64053	1.336639	0.001817
С	-0.76354	0.233163	0.002529
С	-1.3434	-1.05379	0.00316
C .	-2.71914	-1.22739	0.004638
N	-4.96046	-0.28918	0.057422
С	0.676012	0.474222	-0.0004
С	1.661248	-0.44353	0.00213
С	3.099438	-0.08121	-0.00137
F	3.762199	-0.58372	1.087895
F	3.759774	-0.5962	-1.08637

F	3.335979	1.255326	-0.00929
Н	-3.66852	2.049127	0.003283
Н	-1.22759	2.342253	-0.00122
Н	-0.71161	-1.93687	0.001017
Н	-3.13713	-2.23043	0.007632
Н	-5.32375	-1.18646	-0.23325
Н	-5.53875	0.49	-0.22546
H	0.965242	1.523246	-0.00471
Н	1.482927	-1.5139	0.00732

#### 4a

Symbol	Х	Y	Z
С	3.009811	1.31622	0.02815
С	3.593324	0.055289	0.026815
С	2.811281	-1.11532	0.00146
С	1.427733	-0.95853	-0.03765
С	0.801609	0.306086	-0.04811
С	1.610479	1.469829	0.001776
Ν	1. <b>048416</b>	2.749207	-0.01827
С	-0.65347	0.435749	-0.15576
С	-1.56303	-0.47883	0.222693
С	-3.0246	-0.29778	0.022813
F	-3.3627	0.884288	-0.55033
F	-3.56017	-1.27912	-0.76655
F	-3.71338	-0.36816	1.202821
С	3.457044	-2.48226	-0.0016
Н	3.638089	2.202807	0.061446
Η	4.677659	-0.02404	0.048702
Н	0.801857	-1.84463	-0.0998
Н	1. <b>696588</b>	3.497296	0.192442
Н	0.181261	2.86876	0.488231
Н	-1.02073	1.358467	-0.60033
Н	-1.29935	-1.4148	0.704989
Н	4.057977	-2.64155	0.90164
Η	2.705638	-3.27575	-0.04619
Н	4.127178	-2.60682	-0.86021

4b			
Symbol	Х	Y	Ζ
С	1.213439	1.867155	-0.00028
С	0.554095	0.616053	-0.04471
С	1.317171	-0.575	-0.02839
С	2.70703	-0.5362	0.008747
С	3.358965	0.709634	0.027699
С	2.622258	1.883928	0.026912
N	0.498363	3.073373	-0.02889
С	-0.9059	0.572784	-0.14993
С	-1.70161	-0.44701	0.215901
С	-3.1753	-0.43277	0.022144
F	-3.64997	0.712298	-0.5283
F	-3.59653	-1.45507	-0.78431
F	-3.8459	-0.60407	1.202064
0	3.523296	-1.63916	0.011311
С	2.914644	-2.92919	-0.01569
Н	0.796346	-1.52233	-0.08786
Н	4.443929	0.736844	0.046418
H	3.140104	2.838929	0.057199
Н	-0.34573	3.101828	0.528581
Η	1.065822	3.892545	0.14948
Н	-1.37714	1.453786	-0.57997
Н	-1.33105	-1.35323	0.684726
Н	3.73548	-3.64648	-0.0003
Н	2.27655	-3.08574	0.862381
Н	2.323609	-3.07118	-0.9284

### **4d**

Symbol	Х	Y	Ζ
С	-3.42217	0.546735	0.056074
С	-2.73797	-0.68677	0.002261
С	-1.33779	-0.69092	-0.06744
С	· -0.6021	0.499089	-0.07356
С	-1.29949	1.740951	0.001941
С	-2.71189	1.732968	0.053571
N	-0.62596	2.939149	-0.00558
С	0.860691	0.484454	-0.20409

.

С	1.674232	-0.47914	0.253159
С	3.147442	-0.46813	0.032774
F	3.833331	-0.50466	1.212665
F	3.562986	-1.56305	-0.66939
F	3.593472	0.61924	-0.64272
С	-3.46329	-1.91787	-0.00357
N	-4.05806	-2.92097	-0.00528
Н	-4.50581	0.563167	0.101441
Н	-0.81515	-1.63738	-0.15349
Н	-3.24281	2.678868	0.105632
Н	-1.1581	3.773387	0.197812
Н	0.326739	2.973881	0.325381
Н	1.308973	1.323181	-0.73293
Н	1.320258	-1.33445	0.820365

### **4e**

Symbol	Х	Y	Z
С	-0.17872	2.215521	-3.3E-05
С	0.24554	0.855637	-0.06361
С	-0.72688	-0.15181	-0.05947
С	-2.09435	0.133628	-0.00512
С	-2.50171	1.481948	0.034762
C	-1.56201	2.498451	0.035562
N	0.728647	3.252789	-0.00663
С	1.67307	0.535198	-0.17936
С	2.258997	-0.59731	0.240224
С	3.704254	-0.88589	0.032748
F	4.38203	0.112469	-0.58646
F	4.348449	-1.11949	1.21487
F	3.896698	-2.01165	-0.71753
С	-3.05448	-0.99317	-0.01346
0	-2.73962	<b>-2.1760</b> 1	-0.05211
0	-4.3414	-0.58433	0.02869
С	-5.345	-1.62051	0.026274
Н	-0.42123	-1.18977	-0.13324
H	-3.55715	1.726135	0.068185
Н	-1.88528	3.534671	0.077192
Н	0.371318	4.174524	0.202968

Η	1.657209	3.092492	0.355032
Н	2.300223	1.279459	-0.66594
Н	1.723488	-1.38436	0.762034
Η	-5.22579	-2.26768	0.897937
Н	-6.29923	-1.09696	0.066
Н	-5.27268	-2.21754	-0.88539

## 4f

Symbol	Х	Y	Z
С	-1.24564	2.153854	0.026876
С	-1.1387	0.743351	-0.01809
С	0.151907	0.195897	-0.06851
С	1.313798	0.981132	-0.06662
С	1.179225	2.396154	0.000873
°C	-0.11966	2.954831	0.0335
С	-2.28686	-0.15211	-0.03194
N	2.279464	3.228055	0.001752
С	2.645301	0.375371	-0.17904
С	2.988787	-0.85282	0.240791
С	4.345995	-1.42802	0.035633
F	4.925766	-1.79123	1.218437
F	4.30823	-2.56766	-0.71791
F	5.214081	-0.58657	-0.57876
С	-3.59676	0.180556	0.009627
С	-4.63674	- <b>0.8564</b> 1	-0.00722
0	-5.87402	-0.30307	0.043278
0	-4.45726	-2.06796	-0.0587
С	-6.9883	-1.21732	0.034034
Н	-2.2219	2.626822	0.058684
Н	0.255225	-0.8826	-0.14679
Н	-0.22519	4.035231	0.078662
Н	-2.05415	-1.21504	-0.07906
Н	2.114905	4.202376	0.213649
Н	3.150776	2.881978	0.376215
Н	3.41168	0.97696	-0.66368
Н	2.305121	-1.5153	0.762556
Н	-3.94146	1.207755	0.057861
Н	-7.87766	-0.59035	0.082924

Н	-6.98817	-1.80994	-0.8837
Н	-6.94207	-1.88389	0.898304

#### 6a

•

Symbol	Х	Y	Z
С	-2.96663	0.851236	0.018292
С	-3.46173	-0.45186	0.011611
С	-2.54316	-1.5205	-0.01244
С	<b>-1.1797</b> 4	-1.26563	-0.04359
С	-0.66399	0.04707	-0.04847
С	-1.58504	1.126615	-0.00243
С	-4.9479	-0.71901	0.028091
С	0.772087	0.308706	-0.14649
С	1.760872	-0.52788	0.216057
С	3.199491	-0.2108	0.024173
F	3.429792	1.009315	-0.52273
F	3.891965	-0.24361	1.204135
F	3.823998	-1.122	-0.78449
N	-1.14977	2.451509	-0.01804
Н	-3.66198	1.686997	0.052578
Н	-2.90346	-2.54532	-0.02447
Н	<b>-0.487</b> 14	-2.10003	-0.10147
Н	-5.22291	-1.36428	0.870084
Η	-5.52242	0.207651	0.107716
Н	-5.26286	-1.23426	-0.887
Η	1. <b>057959</b>	1.268544	-0.57169
Η	1.583446	<b>-1.49</b> 415	0.677691
Н	-0.28714	2.655699	0.467935
Η	-1.8626	3.137587	0.193831

## 6b

Symbol	Х	Y	Z
С	3.034156	-0.54067	0.006525
С	2.107639	-1.60263	-0.00474
С	0.755593	-1.31275	-0.02444
С	0.262683	0.011168	-0.03232
С	1.208741	1.070415	0.000856

С	2.587966	0.780587	0.012801
N	0.803121	2.402627	-0.01703
С	-1.16544	0.299367	-0.12161
С	-2.17548	-0.52962	0.203832
С	-3.60387	-0.17161	0.018288
F	-4.24673	-1.03025	-0.83402
F	-4.30702	-0.24099	1.191364
F	-3.80351	1.077236	-0.47474
0	4.347094	-0.90233	0.016013
С	5.346915	0.120118	-0.00129
Η	2.469244	-2.62489	-0.01901
Η	0.048401	-2.13502	-0.07064
Н	3.290259	1.605204 <sup>-</sup>	0.042839
Н	-0.05888	2.627037	0.460318
Н	1.527573	3.077977	0.18835
Н	-1.43433	1.278846	-0.5111
H	-2.02432	-1.51787	0.62635
Η	6.303097	-0.40274	-0.00739
Н	5.261445	0.739545	-0.90093
Н	5.280897	0.751875	0.891452

# 6c

Symbol	Х	Y	Z
С	1.485175	0.339204	-0.01999
С	0.771314	-0.87806	-0.05768
С	-0.61352	-0.85984	-0.08324
С	-1.35106	0.342359	-0.06767
С	-0.63871	1.569642	-0.00748
С	0.767396	1.540294	0.004983
Ν	-1.30132	2.792614	-0.00307
С	-2.81234	0.346975	-0.15885
С	-3.63026	-0.65143	0.215065
С	-5.10635	-0.59761	0.03693
F	-5.56002	-1.60467	-0.76887
F	-5.76599	-0.75529	1.223528
F	-5.55483	0.562132	-0.50402
С	2.95139	0.413296	-0.001
С	3.805623	-0.62177	-0.00348

С	5.283715	-0.44767	0.01667
F	5.686742	0.846401	0.037207
F	5.849776	-1.05032	1.10472
F	5.876687	-1.02433	-1.07093
Н	1.291969	-1.82855	-0.0867
Н	-1.15025	-1.80067	-0.15302
Н	1.308119	2.482489	0.046426
Н	-0.72612	<b>3.59646</b> 1	0.211859
Н	-2.19243	2.833795	0.471948
н	-3.26555	1.239634	-0.58438
Н	-3.27783	-1.56801	0.677588
Н	3.365468	1.418684	0.017051
Н	3.490343	-1.6599	-0.01952

# 6d

Symbol	Х	Y	Z
$\mathbf{C}$	-3.20678	-0.33325	0.005861
С	-2.34071	-1.44202	-0.0412
С	-0.97247	-1.21207	-0.08743
С	-0.43298	<b>0.08691</b> 1	-0.08236
С	-1.31563	1.200898	-0.0101
С	-2.70163	0.971524	0.023161
N	-0.83129	2.500991	-0.01351
С	1.012372	0.311897	-0.19891
С	1.969036	-0.52051	0.23953
С	3.422412	-0.26099	0.039193
F	4.092167	-0.20326	1.227489
F	4.020423	-1.26058	-0.6733
F	3.688863	0. <b>896</b> 11	-0.6139
С	-4.62639	-0.53845	<b>0.0</b> 41079
Ν	-5.77797	-0.70961	0.070729
Н	-2.73743	-2.45018	-0.06038
Н	-0.2995	-2.05931	-0.16754
Н	-3.38416	1.813733	0.073346
Н	-1.50523	3.223684	0.201338
Н	0.058675	2.667644	0.435339
Н	1.319453	1.229337	-0.6966
Н	1.756489	-1.43867	0.778381

.

6e			
Symbol	Х	Y	Z
С	-2.39175	0.071436	-0.01322
С	-1.62188	-1.10431	-0.05555
С	-0.23746	-1.00179	-0.0918
С	0.418723	0.243722	-0.08097
С	-0.36473	1.428451	-0.01412
С	-1.76462	1.317905	0.007588
N	0.231089	2.686288	-0.01313
С	1.878307	0.34075	-0.18476
С	2.75675	- <b>0.5860</b> 1	0.229891
С	4.227235	-0.45026	0.040728
F	4.896627	-0.49983	1.230575
F	4.738602	-1.47096	-0.71025
F	4.60036	0.702786	-0.56648
С	-3.88348	0.043755	0.017225
0	-4.3806	-1.20703	0.008702
0	-4.5907	1.040182	0.048315
С	-5.81918	-1.32819	0.037627
Н	-2.10245	-2.07426	-0.07797
Н	0.357309	-1.90647	-0.1678
Н	-2.3756	2.213823	0.052324
Н	-0.38844	3.456271	0.203196
Н	1.1161 <b>76</b>	2.77465	0.467077
Н	2.269365	1.241914	-0.65253
Н	2.461675	-1.49889	0.737831
Н	-6.25695	-0.84579	-0.83874
Н	-6.01737	-2.3988	0.025897
Н	-6.21885	-0.87242	0.945911
6f			

U1			
Symbol	Х	Y	Ζ
С	-1.43805	0.442774	-0.01045
С	-0.75895	-0.79599	-0.04047
С	0.625222	-0.81901	-0.0684
С	1.398024	0.361533	-0.06387
С	0.722604	1.610188	-0.01118
С	-0.6832	1.622815	0.00562

Ν	1.422722	2.812682	-0.01855
С	2.858218	0.32195	-0.15905
С	3.647167	-0.69803	0.219337
С	5.123591	-0.68981	0.036365
F	5.782415	-0.85432	1.222554
F	5.544542	-1.71846	-0.7599
F	5.604409	0.450272	-0.51836
С	-2.89708	0.557306	0.009561
С	-3.79455	-0.44898	-0.00627
С	-5.24161	-0.16769	0.017289
0	-5.95625	-1.31588	-0.00947
0	-5.76222	0.939514	0.055867
С	-7.39255	-1.18078	0.008782
Н	-1.30905	-1.7299	-0.05986
Н	1.134143	-1.77566	-0.13156
Н	-1.1967	2.580359	0.042712
Η	2.313377	2.831277	0.458844
Н	0.871675	3.635364	0.188301
Н	3.336584	1.197809	-0.59188
Н	3.268973	-1.60018	0.689767
Н	-3.29279	1.571037	0.039145
Н	-3.50763	-1.49437	-0.03737
Н	-7.77888	-2.19857	-0.01919
Н	-7.71444	-0.67291	0.920611
Н	-7.73195	-0.61717	-0.86307

#### 参考文献

- 1) G. G. Stokes, M. A., F. R. S., Phil. Trans. R. Soc. Lond., 1852, 142, 463.
- 2) F. Perrin, Ann. Phys., 1929, 10, 169.
- 3) G. N. Lewis, M. Kasha, J. Am. Chem. Soc., 1943, 66, 2100.
- 4) O. Shimomura, F. H. Johnson, Y. Saiga, J. Cell Comp. Physiol., 1962, 59, 223.
- 5) R. Y. Tsien, Annu. Rev. Biochem., 1998, 67, 509.
- 6) A. Jablonski, Z. Physik., 1935, 94, 38.
- J. M. Paredes, A. I. Idilli, L. Mariotti, G. Losi, L. R. Arslanbaeve, S. S. Sato, P. Artoni, J. Szczurkowaka, L. Cancedda, G. M. Ratto, G. Carmignoto, D. Arosio, ACS Chem. Biol., 2016, 11, 1652.
- H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano, Chem. Rev., 2010, 110, 2620.
- 9) X. Li, X. Gao, W. shi, H. Ma, Chem. Rev., 2014, 114, 590.
- 10) A. Loudet, K. Burgess, Chem. Rev., 2007. 107. 4891.
- 11) Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 4888.
- 12) M. Shimizu, Y. Takeda, M. Higashi, T. Hiyama, Chem. Asian J., 2011, 6, 2536.
- 13) M.Shimizu, Y, Takeda, M. Higashi, T. Hiyama, Angew. Chem. Int. Ed., 2009, 48, 3653.
- 14) T. Beppu, S. Kawata, N. Aizawa, Y. J. Pu, Y. Abe, Y. Ohba, H. Katagiri, *ChemPlusChem.*, 2014, 79, 536.
- 15) T. Beppu, K. Tomoguchi, A. Masuhara, Y. J. Pu, H. Katagiri, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 7352.
- 16) T. Umemoto, R. P. Singh, Y. Xu, N. Saito, J. Am. Chem. Soc., 2010, 132, 18199.
- 17) 玉尾 皓平, 有機金属反応剤ハンドブック-3Li から 83Bi まで, 化学同人, 2003
- 18) A. Hafner, S. Bnaese, Adv. Synth. Catal., 2011, 353, 3044.
- 19) P. Eisenberger, S. Gisching, A. Togni, Chem. Eur. J., 2006, 12, 2579.
- 20) T. Liu, Q. Shen, Org. Lett., 2011, 13, 2342.
- 21) A. T. Parsons, D. T. Senecal, S. L. Buchwald, Angew. Chem. Int. Ed., 2012, 51, 2947.
- 22) Z. He, T. Luo, M. Hu, Y. Cao, J. Hu, Angew. Chem. Int. Ed., 2012, 51, 3944.
- 23) T. Umemoto, Chem. Rev., 1996, 96, 1757.
- 24) T. Umemoto, S. Ishihara, J. Am. Chem. Soc., 1993, 115, 2156.
- 25) C. -P. Zheng, J. Cai, C. -B. Zhou, X. -P. Wang, X. Zheng, Y. -C. Gu, J. -C. Xiao, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 9516.
- 26) T. Kino, Y. Nagase, Y. Ohtsuka, K. Yamamoto, D. Uraguchi, K. Tokuhisa, T. Yamakawa, J. Fluor. Chem., 2010, 131, 98.

- 27) B. R. Langlois, E. Laurent, N. Roidot, Tetrahedron Lett., 1991, 32, 7525.
- 28) T. Kobayashi, T. Eda, O. Tamura, H. Ishibashi, J. Org. Chem., 2002, 67, 3156.
- 29) T. Fuchikami, M. Tanabe, I. Ojima, Synthesis, 1981, 5, 365.
- 30) G. K. S. Prakash, H. S. Krishnan, R. V. Jog, A. P. lyer, G. A. Olah, Org. Chem., 2012, 14, 1146.
- 31) S. Kathiravan, I. A. Nicholls, Org. Lett., 2015, 17, 1874.
- 32) M. Omote, M. Tanaka, M. Tanaka, A. Ikeda, A. Tarui, K. Sato, A. Ando, J. Org. Chem., 2013, 78, 6196.
- 33) ApoAlert <sup>®</sup> Caspase fluorescent Assay Kits, *Clontech Laboratories, Inc.*
- 34) J. L. Harris, B. J. Backes, F. Leonetti, S. Mahrus, J. A. Ellman, C. S. Craik, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 2000, 197, 7754.
- 35) Y. Kanaoka, T. Takahashi, H. Nakayama, K. Takada, T. Kimura, S. Sakakibara, *Chem. Pharm. Bull.*, **1977**, *25*, 3126.
- 36)山田 勝也、豊島 正、山本 敏弘, クマリン誘導体が結合した蛍光標識糖誘導 体を用いた細胞イメージング方法及びイメージング剤, WO2014054601 A1, 2014-04-10.
- 37) X. Liu, J. M. Cole, P. G. Waddell, T. –C. Lin, J. Radia, A. Zeidler, J. Phys. Chem. A., 2012, 116, 727.
- 38) T. D. James, S. Shinkai, Topics in Fluorescence Spectroscopy, 2005, 10, 41.
- 39) Y. Yang, Q. Zhao, W. Feng, F. Li, Chem. Rev., 2013, 113, 192.
- 40) M. H. Lee, Z. Yang, C. W. Lim, Y. H. Lee, S. Dongbang, C. Kang, J. S. Kim, *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 5071.
- 41) L. Yuan, W. Lin, K. Zheng, S. Zhu, Acc. Chem. Res., 2013, 46, 1462.
- 42) SensoLyte<sup>TM</sup> Green Protease Assay Kits, AnaSpecm, Inc.
- 43) D. Asanuma, M. Sakabe, M. Kamiya, K. Yamamoto, H. Kobayashi, Y. Urano, *Nat. Commun.*, 2015, 6, 6463.
- 44) M. Kamiya, D. Asanuma, E. Kuranaga, A. Takeishi, M. Sakabe, M. Miura, T. Nagano, Y. Urano, J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 12960.
- 45) K. Gu, Y. Xu, H. Li, Z. Guo, S. Zhu, S. Zhu, P. Shi, T. D. James, H. Tian, W. –H. Zhu, J. Am. Chem. Soc., 2016, 138, 5334.
- 46) S. Cecioni, D. J. Vocadlo, J. Am. Chem. Soc., 2017, 139, 8392.
- 47) H. Zhang, J. Fan, J. Wang, S. Zhang, B. Dou, X. Peng, J. Am. Chem. Soc., 2013, 135, 11663.
- 48) Y. Jia, P. Li, W. Song, G. Zhao, D. Zheng, D. Li, Y. Wang, J. Wang, C. Li, K. Han, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2016, 8, 25818.
- 49) N. Shin, K. Hanaoka, W. Piao, T. Miyakawa, TT. Fujisawa, S. Takeuchi, S. Takahashi, T. Komatsu, T. Ueno, T. Terai, T. Tahara, M. Tanokura, T. Nagano, Y. Urano, ACS Chem. Biol., 2017, 12, 558.

- 50) Y. Wang, J. Li, L. Feng, J. Yu, Y. Zhang, D. Ye, H. –Y. Chen, Anal. Chem., 2016, 88, 12403.
- 51) Z. Luo, L. Feng, R. An, G. Duan, R. Yan, H. Shi, J. He, Z. Zhou, C. Ji, H. –Y. Chen, D. Ye, *Chem. – Eur. J.*, **2017**, *23*, 14778.
- 52) D. Arian, J. Harenberg, R. Krämer, J. Med. Chem., 2016, 59, 7576.
- 53) V. K. Hopsu-Have, G. G. Glenner, Histochemie, 1966, 7, 197.
- 54) D. Röhrborn, N. Wronkowitz, J. Eckel, Front. Immunol., 2015, 6, 386.
- 55) E. Boonacker, S. Elferink, A. Bardai, B. Fleischer, C. J. F. Van Noorden, J. Histochem. Cytochem., 2003, 51, 959.
- 56) N. -H. Ho, R. Weissleder, C. -H. Tung, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006, 16, 2599.
- 57) S. Ortgies, A. Breder, Org. Lett., 2015, 17, 2748.
- 58) H. Song, Y. Liu, Q. Wang, Org. Lett., 2013, 15, 3274.
- 59) Parmar; WO 2009157020 A1 2009.
- 60) Y. Nakajima, K. Ito, T. Toshima, T. Egawa, H. Zheng, H. Oyama, Y. -F. Wu, E. Takahashi, K. Kyono, T. Yoshimoto, J. Bacteriol., 2008, 190, 7819
- 61) M. S. M. Mustafa, Y. Nakajima, H. Oyama, N. Iwata, K. Ito, *Biol. Pharm. Bull.*, **2012**, *35*, 2010.
- 62) Gaussian 16, Revision A.03, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.