

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/042087

発行日 平成28年8月18日 (2016.8.18)

(43) 国際公開日 平成26年3月20日 (2014.3.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07D 333/38</b> (2006.01)	C07D 333/38	CSP
<b>C07H 15/26</b> (2006.01)	C07H 15/26	4C023
<b>C09K 9/02</b> (2006.01)	C09K 9/02	B
<b>C07D 333/54</b> (2006.01)	C07D 333/54	4C057

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁)

出願番号 特願2014-535526 (P2014-535526)	(71) 出願人 300071579
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/074052	学校法人立教学院
(22) 国際出願日 平成25年9月6日 (2013.9.6)	東京都豊島区西池袋3丁目34番1号
(31) 優先権主張番号 特願2012-199292 (P2012-199292)	(71) 出願人 503420833
(32) 優先日 平成24年9月11日 (2012.9.11)	学校法人常翔学園
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	大阪府大阪市旭区大宮五丁目16番1号
	(74) 代理人 100140109
	弁理士 小野 新次郎
	(74) 代理人 100075270
	弁理士 小林 泰
	(74) 代理人 100101373
	弁理士 竹内 茂雄
	(74) 代理人 100118902
	弁理士 山本 修

最終頁に続く

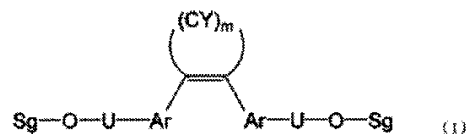
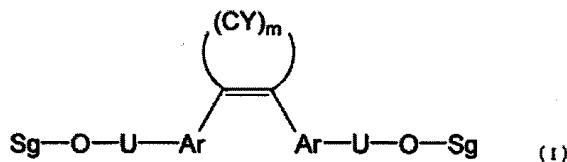
(54) 【発明の名称】 水溶性フォトクロミック分子

(57) 【要約】

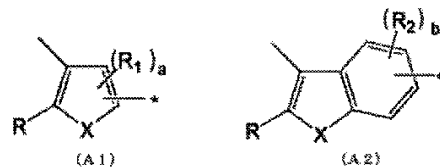
水溶性に優れたジアリールエテン化合物を提供する。

式 (I) :

【化1】



【式 (I) 中、Sgは、6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物から水酸基を除いた1価の糖系残基であり；Arは、下記式 (A1) または (A2) で表される基であり

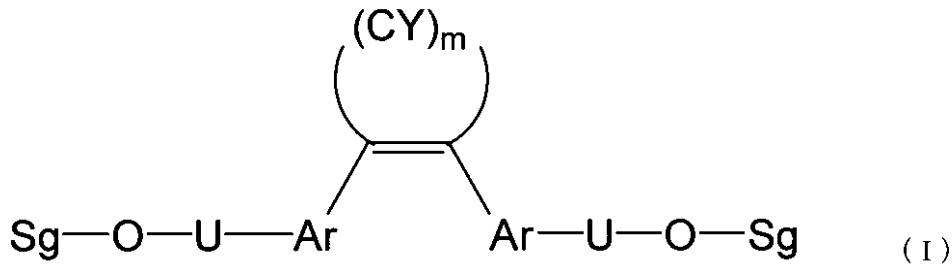


## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 (I) :

## 【化 1】



10

[ 式 (I) 中、

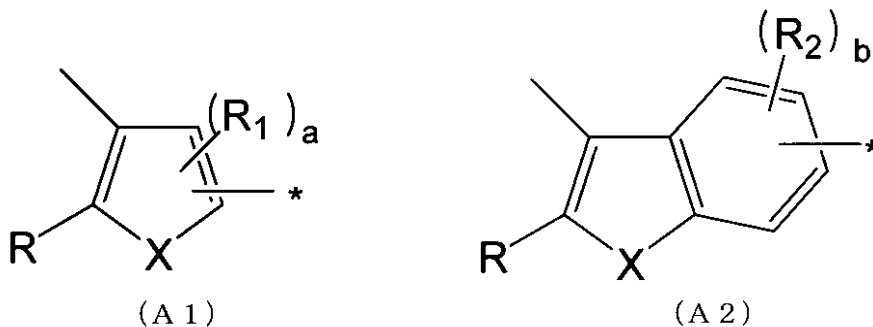
Sg は、6 員環糖、5 員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物（ただし一部の水酸基が保護されていてもよい）から水酸基を除いた 1 価の糖系残基であり；

U は、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-CH_2-U'-$ 、または  $-C(=O)-$  であり（ただし、n は 1 ~ 5 の整数であり、U' は Ar と結合する炭素数 1 ~ 10 のアルキル基である）；

20

Ar は、下記式 (A1) または (A2) で表される基であり

## 【化 2】



30

〔 式 (A1) および (A2) 中、

X は S、 $SO_2$ 、 $NR_3$  ( $R_3$  は炭素数 1 ~ 3 のアルキル基)、または O であり、

R は炭素数 1 ~ 4 のアルキル基であり、

$R_1$  および  $R_2$  は、独立に炭素数 1 ~ 3 のアルキル基であり、

a は 0 または 1、b は 0 ~ 3 の整数であり、

\* は U と結合していることを示す）；

Y は水素原子またはハロゲン原子であり；

m は 5 ~ 7 の整数である ]

40

で表される、ジアリールエテン化合物。

## 【請求項 2】

前記 Sg がピラノースの水酸基を除いた 1 価の糖系残基である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3】

前記 Sg がピラノースの 1 位炭素原子上の水酸基を除いた 1 価の糖系残基である、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

## 【請求項 4】

前記 Sg がシクリトールの水酸基を除いた 1 価の糖系残基である、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

50

## 【請求項 5】

前記 X が S または S O<sub>2</sub> である、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の化合物。

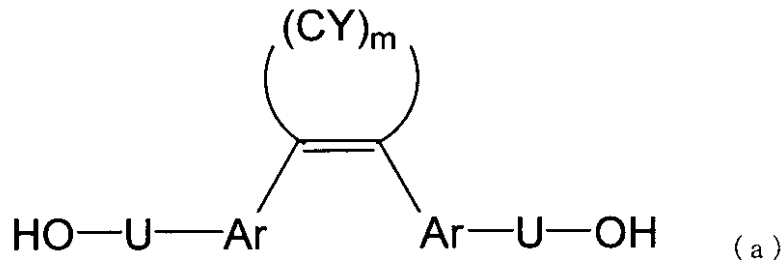
## 【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載のジアリールエテン化合物の製造方法であって、

(1) 6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物から誘導され、1つの水酸基がハロゲン原子に置換され、かつ他の総ての水酸基が保護基によって保護されたハロゲン化糖誘導体を準備する工程、

(2) 前記ハロゲン化糖誘導体と式 (a) で表される化合物とを反応させて、

## 【化 3】



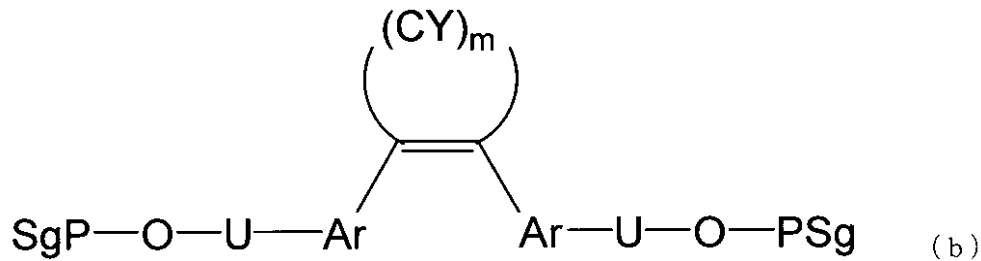
10

[式 (a) 中、U、Ar、Y、および m は前記のとおり定義される]

20

式 (b) で表される化合物を生成するエーテル化工程、

## 【化 4】



30

[式 (b) 中、U、Ar、Y、および m は前記のとおり定義され、PSg は、前記 Sg の総ての水酸基が保護されている基を示す]、ならびに

(3) 前記式 (b) で表される化合物の保護基を除去する脱保護工程、を含む、前記製造方法。

## 【請求項 7】

前記工程 (1) を、A g<sub>2</sub>O 存在下で実施する、請求項 6 に記載の製造方法。

## 【請求項 8】

前記ハロゲン化糖誘導体におけるハロゲン原子が臭素原子である、請求項 6 または 7 に記載の製造方法。

40

## 【請求項 9】

前記ハロゲン化糖誘導体における保護基がアシル基である、請求項 6 ~ 8 のいずれかに記載の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は水溶性フォトクロミック分子に関し、より詳しくは水溶性ジアリールエテン化合物に関する。

## 【背景技術】

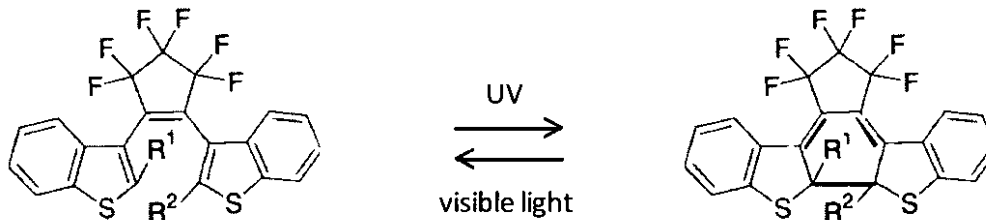
50

## 【 0 0 0 2 】

フォトクロミック分子とは、特定の波長の光照射により、その分子量を変化させることなく吸収スペクトルの異なる異性体へ変換される分子である。中でもジアリールエテン化合物は、優れたフォトクロミック特性を有することが知られている（非特許文献 1）。例えばジアリールエテンは下記の構造を有しており、下記スキームに示すように光照射により閉環開環反応を行なう。

## 【 0 0 0 3 】

## 【 化 1 】



10

## 【 0 0 0 4 】

従来、フォトクロミック分子は光学的情報記録が可能な光機能素子等としての研究が盛んに行なわれてきた（特許文献 1 等）。このような用途では、フォトクロミック分子を有機溶剤に溶解し基材の上に塗布すること等により素子を製造する。

20

ところで、近年、生体分子に蛍光色素分子を結合させて蛍光顕微鏡で観察することで像を得るバイオイメージングが盛んに研究されている。従来、緑色蛍光たんぱく（GFP）を用いたバイオイメージングが知られているが（非特許文献 2）、標識となる分子が大きくタンパク質 - タンパク質間の相互作用によりターゲットとしている生体分子に与える影響が問題となっている。ジアリールエテン化合物は低分子量であるため、高精度のバイオイメージングを達成できる化合物として期待される。しかしながら、当該化合物を生体試料へ導入するためには当該分子の水溶化が必要不可欠である。

## 【 0 0 0 5 】

前述のように主として研究されていた光機能素子等の用途においてはジアリールエテン化合物を水溶化するという必要がなかったため、特許文献 1 には水溶化ジアリールエテン化合物に関する記載は一切ない。水溶化に関し、非特許文献 3、4 にはイオン性基や両親媒性基を導入したジアリールエテン化合物が記載されている。しかし、これらの化合物は、水中で会合しやすいことや、強いイオン性相互作用のためにターゲット分子への影響が過大になること等から、バイオイメージングへの適用は困難と考えられる。このような状況から、他の手段により得られる優れた水溶性を有するジアリールエテン化合物が望まれていた。

30

## 【 先行技術文献 】

## 【 特許文献 】

## 【 0 0 0 6 】

【 特許文献 1 】 特開 2 0 0 5 - 3 2 5 0 8 7 号公報

40

## 【 非特許文献 】

## 【 0 0 0 7 】

【 非特許文献 1 】 M. Irie et al., Nature, 420, 759 (2002)

【 非特許文献 2 】 K. H. Jones and J. A. Senft, J. Histochem. Cytochem., 33, 77 (1985)

【 非特許文献 3 】 M. Takeshita, et al., J. Org. Chem., 63, 9306 (1998)

【 非特許文献 4 】 M. Matsuda, et al., Chem. Lett. 32, 1178 (2003)

【 非特許文献 5 】 S. Kobatake, et al., J. Am. Chem. Soc. 121, 2380 (1999)

【 非特許文献 6 】 T. Yamaguchi, et al., J. Photochem. Photobio. A, 178, 162 (2006)

## 【 発明の概要 】

50

## 【発明が解決しようとする課題】

【0008】

上記事情を鑑み、本発明は水溶性に優れたジアリールエテン化合物を提供することを課題とする。

## 【課題を解決するための手段】

【0009】

発明者らは、糖骨格を有するジアリールエテン化合物が水溶性に優れたことを見出し、本発明を完成した。すなわち、前記課題は以下の本発明により解決される。

[1] 下記式(I)で表されるジアリールエテン化合物。

[2] 前記[1]に記載のジアリールエテン化合物の製造方法であって、

10

(1) 6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物から誘導され、1つの水酸基がハロゲン原子に置換され、かつ他の総ての水酸基が保護基によって保護されたハロゲン化糖誘導体を準備する工程、

(2) 前記ハロゲン化糖誘導体と下記式(a)で表される化合物とを反応させて、下記式(b)で表される化合物を生成するエーテル化工程、ならびに

(3) 式(b)で表される化合物の保護基を除去する脱保護工程、を含む、前記製造方法。

## 【発明の効果】

【0010】

本発明により水溶性に優れたジアリールエテン化合物を提供できる。

20

## 【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】実施例1で得た化合物の水溶液のフォトクロミック特性を示す図

【図2】実施例2で得た化合物の水溶液のフォトクロミック特性を示す図

【図3】実施例3で得た化合物の水溶液のフォトクロミック特性を示す図

【図4】実施例4で得た化合物の水溶液のフォトクロミック特性を示す図

【図5】実施例4で得た化合物の水溶液のフォトクロミック特性を示す図

【図6】生体組織の蛍光標識特性を示す図

【図7】生体組織の蛍光標識特性を示す図

## 【発明を実施するための形態】

30

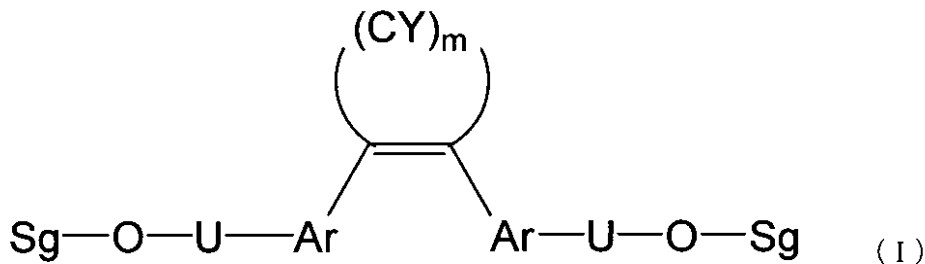
【0012】

1. ジアリールエテン化合物

本発明のジアリールエテン化合物は式(I)で表される。

【0013】

【化2】



40

【0014】

(1) 糖系残基 S g

当該化合物は糖系残基 S g を有する。糖系残基とは、糖およびこれに類似する化合物に由来する基である。S g は 6 員環糖、5 員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物から水酸基を除いた 1 価の糖系残基である。ただし糖系残基は、一部の水酸基が保護基により保護されていてもよい。以下、便宜上、糖系

50

化合物を単に「糖」と、糖系残基を単に「糖残基」とも称する。

【0015】

6員環糖は6員環骨格を有する糖であり、その例にはグルコピラノース、アラビノピラノース、キシロピラノース、リキソピラノース、アロピラノース、アルトロピラノース、マンノピラノース、グロピラノース、イドピラノース、ガラクトピラノース、タロピラノース、およびグルクロン酸等が含まれるが、これらに限定されない。

5員環糖は5員環骨格を有する糖であり、その例にはリボフラノース、アラビノフラノース、キシロフラノース、エリトロフラノース、トレオフラノース、およびリキソフラノースが含まれるが、これらに限定されない。

シクリトールとはシクロアルカンポリオール（ポリヒドロキシシクロアルカン）すなわち環状糖アルコールであり、その例にはイノシトール等が含まれる。

【0016】

オリゴ糖とは6員環糖、5員環糖、およびシクリトール糖の化合物同士がグリコシド結合等によって2～15個程度結合した化合物である。オリゴ糖の例には、スクロース、ラフィノース、スタキオース、トレハロース、ラクトース等が含まれるが、これらに限定されない。

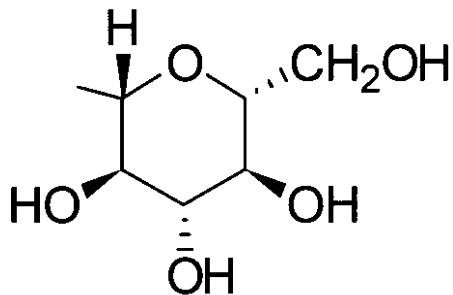
入手が容易であること等を考慮すると、本発明における糖としてはグルコピラノースが好ましい。

【0017】

Sgはこれらの糖から水酸基を除いた1価の糖残基である。除かれる水酸基は任意であるが、合成が容易である等の観点から、環上の炭素原子に結合している水酸基が好ましく、1位炭素原子上の水酸基（ヘミアセタール水酸基）であることがより好ましい。例えばグルコピラノースのヘミアセタール水酸基を除いた糖残基は、グルコシル基であり、以下の化学式で表される。

【0018】

【化3】



【0019】

グルコシル基は、 $\alpha$ -グルコシル基、 $\beta$ -グルコシル基のいずれであってもよいが、立体障害を低減させる観点から $\beta$ -グルコシル基が好ましい。

また前述のとおり、糖残基は水酸基の一部が保護されていてもよい。保護基については後で詳しく説明するが、アセチル基等のアシル基が好ましい。保護基が存在する場合、その数は糖残基1個当たり、1～2個が好ましく、1個がより好ましい。

【0020】

(2) 芳香族基 Ar

Arは、下記式(A1)または(A2)で表される芳香族基である。

【0021】

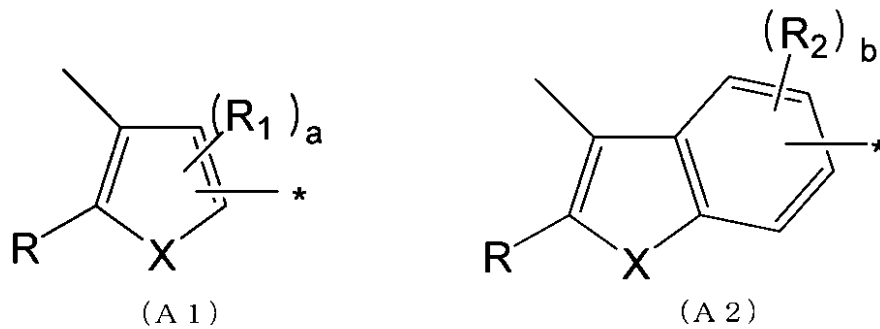
10

20

30

40

## 【化4】



10

## 【0022】

XはS、SO<sub>2</sub>、NR<sub>3</sub>（R<sub>3</sub>は炭素数1～3のアルキル基）、またはOであるが、優れたフォトクロミック特性を得るために、SまたはSO<sub>2</sub>が好ましい。特に、式(A1)においてXはSが好ましく、式(A2)においてXはSまたはSO<sub>2</sub>が好ましい。

Rは炭素数1～4のアルキル基である。本発明において、アルキル基とは鎖状および分岐状の基を含む。よって、炭素数1～4のアルキル基は、具体的にメチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、およびt-ブチル基である。

## 【0023】

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は独立に炭素数1～3のアルキル基である。独立にとは、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は同じであってもよいし、異なってもよいことを意味する。R<sub>1</sub>は式(A1)中の5員環における4位または5位の置換基である。aはR<sub>1</sub>の数を示し0または1である。R<sub>1</sub>が存在するとフォトクロミック特性が低下することがあるので、R<sub>1</sub>は存在しないこと(aが0)が好ましいが、R<sub>1</sub>が存在する場合は、嵩高くない方がフォトクロミック特性に優れるのでR<sub>1</sub>はメチル基が好ましい。

20

## 【0024】

R<sub>2</sub>は炭素数1～3のアルキル基であり、式(A2)中の複素環における4～7位の置換基である。bはR<sub>2</sub>の数を示し0～3の整数である。R<sub>2</sub>が存在するとフォトクロミック特性が低下することがあるので、R<sub>2</sub>は存在しないこと(bが0)が好ましいが、存在する場合、bは1または2が好ましく、1がより好ましい。R<sub>2</sub>が存在する場合、前述の理由からR<sub>2</sub>はメチル基が好ましい。

30

## 【0025】

式(A1)において\*は5員環が連結基Uと結合することを意味する。立体障害を低減させる観点から、5員環の5位の炭素原子がUと結合することが好ましい。このときR<sub>1</sub>が存在する場合は、R<sub>1</sub>は4位に結合する。同様に式(A2)において\*はベンゼン環が連結基Uと結合することを意味する。立体障害を低減させる観点から、6位の炭素原子がUと結合することが好ましい。

## 【0026】

## (3) 連結基U

UはSgとArをつなぐ連結基であり、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-、-CH<sub>2</sub>-U'-、または-C(=O)-である。nは1～5の整数である。nが大きいと得られるジアリールエテン化合物の水溶性が低下する場合があるので、nは1～3が好ましく1がより好ましい。

U'はArと結合する炭素数1～10のアルキル基である。炭素数が多いと得られるジアリールエテン化合物の水溶性が低下する場合があるので、炭素数は1または2が好ましく1がより好ましい。前述のとおりアルキル基は直鎖状および分岐状の基を含む。

40

## 【0027】

## (4) エテン骨格

式(I)における-(CY)<sub>m</sub>-は、当該化合物が脂環骨格を有することを示す。Yは水素原子またはハロゲン原子である。優れたフォトクロミック特性を得るために、Yは八

50

ロゲン原子が好ましく、フッ素原子がより好ましい。mは5～7の整数であるが、同様の理由から5であることが好ましい。

【0028】

2. 製造方法

本発明のジアリールエテン化合物は任意の方法で製造されるが、以下、好ましい製造方法を説明する。

【0029】

2-1. 第一の製造方法

(1) 6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖系化合物から誘導され、1つの水酸基がハロゲン原子に置換され、かつ他の総ての水酸基が保護基によって保護されたハロゲン化糖誘導体を準備する工程、

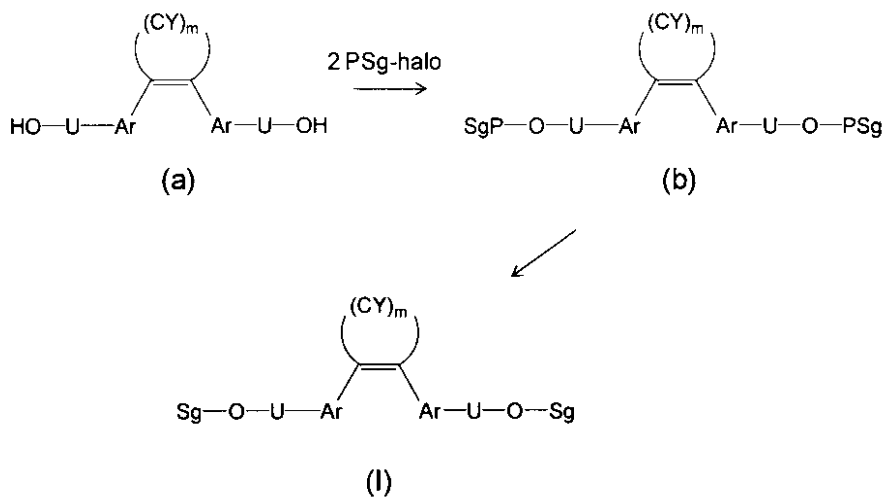
(2) 前記ハロゲン化糖誘導体と式(a)で表される化合物とを反応させて、式(b)で表される化合物を製造するエーテル化工程、

(3) 式(b)で表される化合物の保護基を除去する脱保護工程、を含む。

当該方法のスキームを以下に示す。

【0030】

【化5】



【0031】

以下に詳細を説明するが、説明を簡便にするため、ハロゲン化糖誘導体がアシルハロゲン化糖であり、エーテル化工程にてグリコシル化反応を行なう場合を例にして説明する。

【0032】

(1) アシルハロゲン化糖の準備工程 (ハロゲン化糖誘導体の準備工程)

本発明で用いるアシルハロゲン化糖は、6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択される糖から誘導され、1つの水酸基がハロゲン原子に置換され、かつ他の総ての水酸基が保護基によって保護されたアシルハロゲン化糖である。上記スキームにおいて、アシルハロゲン化糖は P S g - h a l o と示されている。ハロゲン原子に置換される水酸基はアノマー位の水酸基が好ましい。

保護基とは糖中の水酸基が副反応を起こさないように、水酸基を保護するための基である。本発明においては、水酸基の保護に通常使用される基を用いることができる。このような保護基の例には、アシル基、アセタール基、およびシリルエーテル基が含まれる。中でも、脱保護しやすいため、アシル基が好ましく、アセチル基がより好ましい。

【0033】

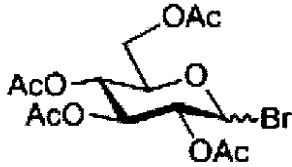
アシルハロゲン化糖は公知の方法で調製できる。例えば、ペンタアセチルグルコピラノ



ースを  $\text{HOAc} - \text{HBr}$  (臭化水素 - 酢酸溶液) と反応させることで製造できる。通常はアノマー位の水酸基 (1位炭素原子上の水酸基) がハロゲン化される。前記の工程は保護された糖を臭化水素 - 酢酸溶液に溶解させ、密栓して一昼夜反応させることで実施できる。好ましいアシルハロゲン化糖は下記式 (s1) で表される。

【0034】

【化6】



(s1)

10

【0035】

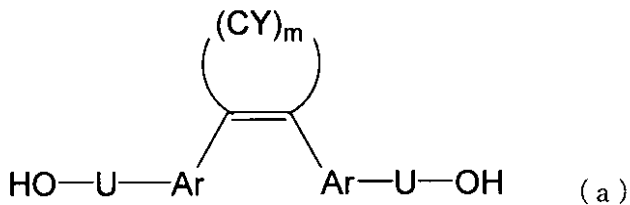
(2) グリコシル化工程 (エーテル化工程)

1) 式 (a) で表されるジオール体

本工程ではアシルハロゲン化糖と式 (a) で表されるジオール体とを反応させる。

【0036】

【化7】



(a)

30

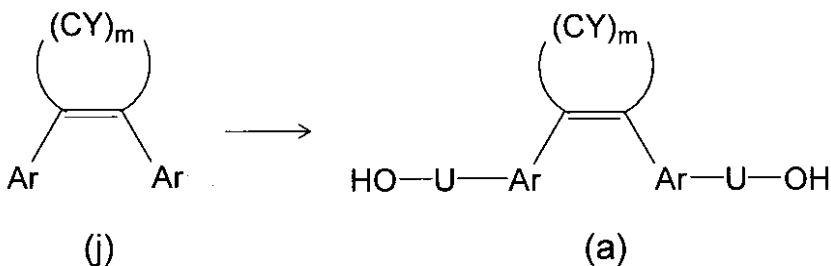
【0037】

式 (a) 中、 $U$ 、 $Ar$ 、 $Y$ 、および  $m$  は前記のとおり定義される。しかしながら、本製造方法において  $U$  は、 $-(\text{CH}_2)_n-$  または  $-\text{CH}_2-U'-$  が好ましい。

当該ジオール体は公知の方法で調製できる。例えば、下記スキームに示すように、式 (j) のジアリールエテン化合物の芳香族基  $Ar$  に  $-U-OH$  基を導入すればよい。

【0038】

【化8】



(j)

(a)

40

【0039】

50

具体的には式 ( j ) のジアリールエテン化合物とジクロロメチルメチルエーテルとを  $AlCl_3$  等の存在下で反応して Ar 基にホルミル基を導入し、さらに当該ホルミル基を還元すれば、-U-OH 基として  $-CH_2-OH$  が導入されたジオール体を得られる。

式 ( j ) のジアリールエテン化合物であって、Ar がチオフェン骨格である化合物は、非特許文献 5、6 に記載の方法で合成できる。また、Ar がチオフェン骨格である化合物の S を酸化すると、Ar がチオフェンスルホン骨格である化合物を得られる。

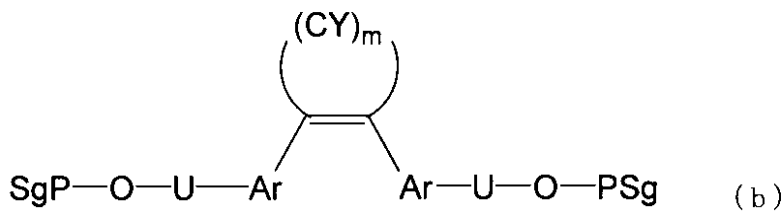
【0040】

2) 式 ( b ) で表される中間体

式 ( a ) のジオール体とアシルハロゲン化糖を反応させることでグリコシル化反応が生じ、式 ( b ) で表される中間体が生成する。

【0041】

【化9】



10

20

【0042】

式 ( b ) 中、U、Ar、Y、および m は前記のとおり定義される。PSg は、前記 Sg の総ての水酸基が保護されている糖残基である。

この反応は、式 ( a ) の化合物の水素原子とアシルハロゲン化糖のアノマー位のハロゲンが脱離することで生じるため、水素原子とハロゲンの脱離を促進する反応促進剤の存在下で実施することが好ましい。当該反応促進剤の例には、 $Ag_2O$  等の酸化銀、および  $HgBr_2$ 、 $Hg(CN)_2$  等の水銀塩が含まれる。本発明においては反応をより促進しやすいという理由から  $Ag_2O$  を用いることが好ましい。 $Ag_2O$  の使用量は、式 ( a ) の化合物 1 mol に対して 5 ~ 10 mol が好ましい。

30

【0043】

さらに、脱水剤を併用することでより反応を促進できる。公知の脱水剤を使用できるが、除去が容易なモレキュラーシーブ等の脱水剤が好ましい。モレキュラーシーブ 4 の使用量は、0.10 g / 溶媒 2 mL 程度が好ましい。

本工程で使用する溶媒は限定されないが、前述のとおり系中から水を除去すると反応がより促進されるので、水の溶解度が低い溶媒が好ましい。好ましい溶媒の例には、塩化メチレン等の塩素系炭化水素およびトルエン等の芳香族炭化水素等が含まれる。中でも塩素系炭化水素がより好ましい。

反応温度は、反応促進と副反応抑制の観点から適宜決定される。本発明においては 10 ~ 40 が好ましい。

40

【0044】

合成が容易である等の理由から、1 位炭素原子上の水酸基がハロゲン化され、かつ他の水酸基が保護されたアシルハロゲン化糖を用いることが好ましいことは既に述べたが、このようなアシルハロゲン化糖には、体および体の異性体が存在する。当該アシルハロゲン化糖は隣接する 2 位の水酸基がアシル基で保護されているため隣接基関与により、-グリコシル体を優先的に与える。よって、例えば、前述の式 ( s 1 ) のアシルハロゲン化糖を用いた場合、得られる式 ( a ) の化合物における PSg 基は、-グリコシル基に由来する基である。

【0045】

(3) 脱保護工程

50

本工程では式 (b) で表される中間体の保護基を除去する。保護基の除去は公知の方法で行なうことができる。例えば、アセチル基等のアシル基で水酸基が保護されている場合は、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、炭酸カリウム等のアルカリと反応させることで容易に保護基を除去できる。本発明においては水酸化リチウムを使用することが好ましく、その使用料は式 (b) で表される中間体 1 mol に対して 5 ~ 10 mol がより好ましい。

本反応に使用する溶媒も限定されないがメタノール等のアルコールが好ましい。反応温度も限定されないが、10 ~ 30 が好ましい。

【0046】

2 - 2 . 第二の製造方法

(1) 6員環糖、5員環糖、シクリトールおよびこれらを含むオリゴ糖からなる群より選択され、1つの水酸基を除く他の総ての水酸基が保護基によって保護された保護糖化合物を準備する工程、

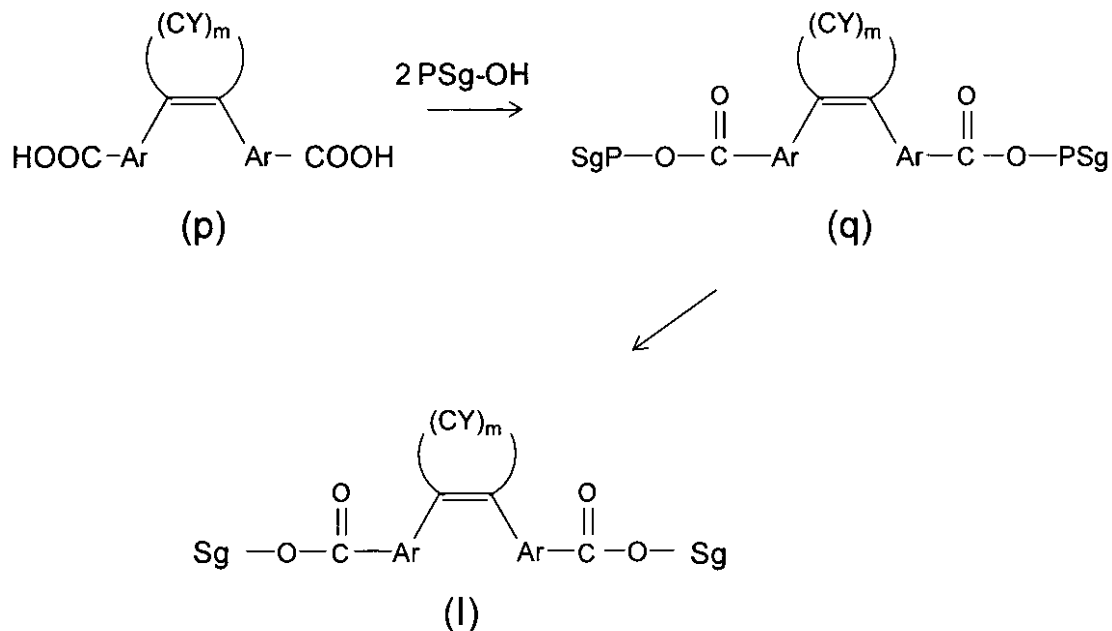
(2) 前記保護糖化合物と式 (p) で表される化合物とを反応させて、式 (q) で表される化合物を製造するエステル化工程、

(3) 式 (p) で表される化合物の保護基を除去する脱保護工程、を含む。

前述の理由から、以下、保護糖化合物を単に「保護糖」とも称する。当該方法のスキームを以下に示す。

【0047】

【化10】



【0048】

(1) 保護糖の準備工程

保護糖は、スキームにおいて P S g - O H と示してある。保護糖は、1つの水酸基を除いた他の総ての水酸基が保護基で保護されている糖である。保護基としては前述のものを使用できるが、本製造方法においてはアセチル基が好ましく、メトキシメチル基がより好ましい。

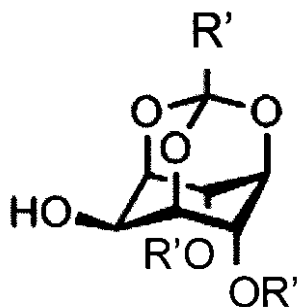
保護糖は公知の方法で調製できる。例えば、フラノース等の糖に保護基を導入することで製造できる。アノマー位の水酸基 (1位炭素原子上の水酸基) 以外の総ての水酸基が保護されることが好ましい。

本発明で用いる好ましい保護糖としては下記式 (s 2) で表される化合物が挙げられ

る。式 ( s 2 ) において、 R ' はメチル基またはエチル基であるが、脱保護しやすいためメチル基が好ましい。

【 0 0 4 9 】

【 化 1 1 】



( s 2 )

10

【 0 0 5 0 】

( 2 ) エステル化工程

20

1 ) 式 ( p ) で表されるジカルボン酸体

本工程では保護化糖と式 ( p ) で表されるジカルボン酸体とを反応させる。式 ( p ) 中、 A r 、 Y 、 および m は前記のとおり定義される。式 ( p ) のジカルボン酸体は公知の方法で調製できる。例えば、第一の製造方法で述べたように、式 ( j ) のジアリールエテン化合物の芳香族基 A r にホルミル基を導入したジホルミル体を得て、当該ホルミル基を酸化することで、式 ( p ) のジカルボン酸体を製造できる。

【 0 0 5 1 】

2 ) 式 ( q ) で表される中間体

式 ( p ) のジカルボン酸体と保護化糖との反応により式 ( q ) で表される中間体が生成する。式 ( q ) 中、 A r 、 Y 、 m 、 および P S g は前記のとおり定義される。この反応は、エステル化反応であるので、公知の反応促進剤の存在下で実施することが好ましい。当該反応促進剤の例には、 D C C 等の脱水剤が挙げられる。 D C C の使用量は、式 ( p ) の化合物 1 m o l に対して 2 ~ 5 m o l が好ましい。

30

本工程で使用する溶媒は限定されないが、前述のとおり系中から水を除去すると反応がより促進されるので、水の溶解度が低い溶媒が好ましい。好ましい溶媒は既に述べたとおりである。

反応温度は、反応促進と副反応抑制の観点から適宜決定される。本発明においては 1 0 ~ 4 0 が好ましい。

【 0 0 5 2 】

( 3 ) 脱保護工程

40

本工程では式 ( q ) の中間体の保護基を除去する。保護基の除去は公知の方法で行なうことができる。例えば、保護基がアセタール基である場合は、過剰量の塩酸等の酸により脱保護することができる。本反応に使用する溶媒も限定されないがメタノール等のアルコールが好ましい。反応温度も限定されないが、 1 0 ~ 3 0 が好ましい。

この結果、目的化合物を得ることができる。当該化合物は式 ( I ) で表され、かつ連結基 U が - C ( = O ) - である化合物である。

【 0 0 5 3 】

3 . 用途等

本発明のジアリールエテン化合物は水または水系溶媒に可溶である。すなわち、本発明では、水、または水の濃度が 7 0 重量 % 以上、好ましくは 8 0 重量 % 以上、より好ましく

50

は90重量%以上の水/有機溶媒（混合溶媒）に溶解することを水溶性であるという。

また、本発明のジアリールエテン化合物は糖残基を有するので、糖残基をさらに修飾して標識性や生体親和性を高めることも可能である。よって本発明のジアリールエテン化合物は生体試料に容易に導入が可能であり、高精度のバイオイメージングを達成しうる。

【0054】

さらに本発明のジアリールエテン化合物は、超解像顕微鏡（PALM/STORM）との組合せにおいてより高精度のバイオイメージングを達成しうる。具体的には、ジアリールエテン化合物を導入した生体試料について、ON状態（開環）の分子を別の光によりOFF状態（閉環）にし、再び、少数の分子のみをON状態として観察を行なうことを繰り返すことで、個々の分子の位置を把握でき、より精密な像を取得できる。

10

【実施例】

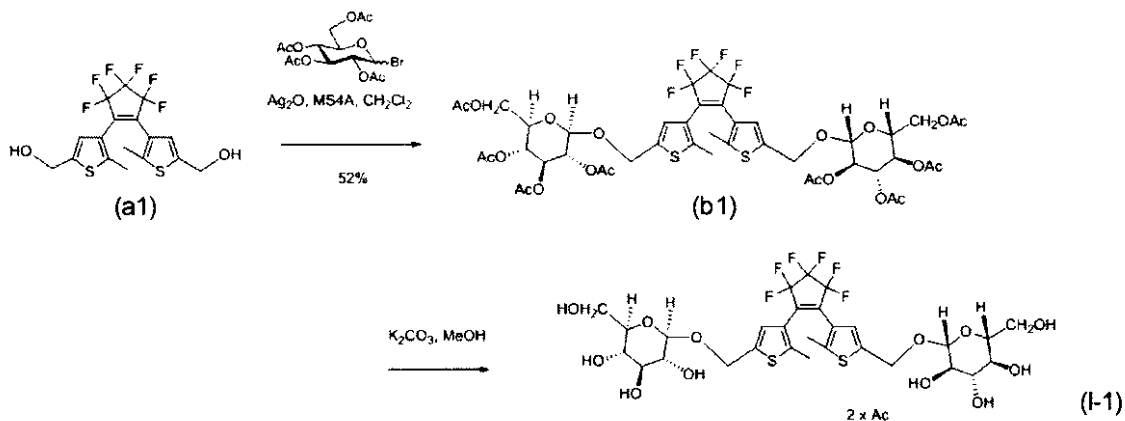
【0055】

[実施例1-1] チオフェン型化合物の合成

反応スキームを以下に示す。

【0056】

【化12】



20

30

【0057】

1) アシルハロゲン化糖の合成

アシルハロゲン化糖としてグルコピラノースの1位の炭素原子上の水酸基をBrに置換し、他の総ての水酸基をアセチル基で保護した化合物（プロモテトラアセトグルコース）を準備した。具体的に、当該化合物は次のようにして合成した。ペンタアセチルグルコピラノース（TCI社製）を過剰量の臭化水素-酢酸溶液（臭化水素：酢酸 = 1：1（mol比））に溶解し、密栓して室温にて一昼夜反応させることにより定量的にプロモテトラアセトグルコースを得た。

【0058】

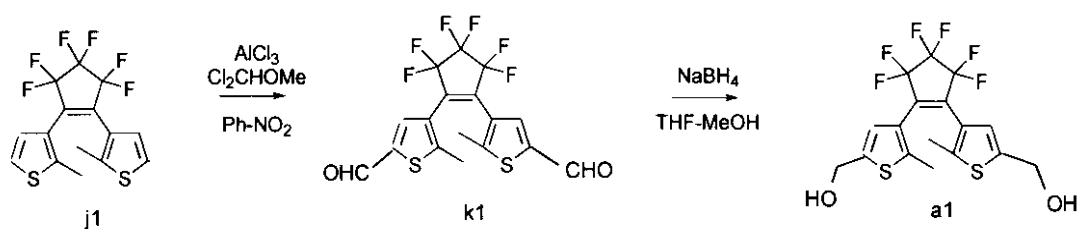
2) 式(a1)のジオール体の合成

当該化合物はチオフェン環の5位に連結基U（メチレン基）が結合しているジオール体である。当該ジオール体は以下の反応により調製した。

【0059】

40

## 【化 1 3】



10

非特許文献 5 に記載の方法で準備した式 ( j 1 ) の化合物から、式 ( k 1 ) のジホルミル体を得た。当該ジホルミル体 ( 6 6 7  $\mu\text{mol}$  ) の THF - MeOH ( 3 mL / 3 mL ) 溶液に、0 で  $\text{NaBH}_4$  ( 5 1 mg、2 eq. ) を 2 回に分けて加え、0 で 4 時間撹拌した。反応液を酢酸エチルで希釈し、有機層を水 ( 3 回 )、飽和食塩水 ( 1 回 ) で順次洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤をろ別して溶媒を減圧留去し、残渣をカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1 ) で精製し、式 ( a 1 ) のジオール体を得た。

## 【 0 0 6 0 】

## 3 ) 式 ( b 1 ) で表される中間体の合成

式 ( a 1 ) のジオール体 ( 6 9 mg、0 . 1 6 mmol ) とプロモテトラアセトグルコース ( 1 9 7 mg、0 . 4 8 mmol ) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 3 mL ) に溶かし、さらにモレキュラーシーブス 4 ( ナカライテスク株式会社製 ) 0 . 2 g を加えて室温で 1 時間撹拌した。さらにアルゴン気流下、室温で遮光して  $\text{Ag}_2\text{O}$  ( 1 1 1 mg、0 . 4 8 mmol ) を加え 2 4 時間撹拌した。反応終了後、不溶物を吸引ろ過して除き、ろ液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1 ~ 1 : 1 ) で分離精製し、式 ( b 1 ) で表される中間体 ( 9 6 mg、収率 5 2 % ) を得た。

20

当該中間体を、質量分析装置 ( 型番 JMS - T 1 0 0 LC、日本電子社製 ) を用いて分析したところ  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 1 1 1 1$  というピークを得た。当該分析は ESI ポジティブモードで測定したため、目的物に溶媒またはガラス由来の Na ( 原子量 2 3 ) 付加物として得られる。よって、このピークは目的物の質量 1 0 8 8 に起因するので、得られた化合物が式 ( b 1 ) の化合物であることを確認した。

30

## 【 0 0 6 1 】

ESI-MS  $m/z$ : 1111  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ .

HR-ESI-MS  $m/z$ : 1111.21787  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  ( Calcd for  $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{F}_6\text{NaO}_{20}\text{S}_2$ , 1111.21387 ).

## 【 0 0 6 2 】

## 4 ) 式 ( I - 1 ) の化合物 ( 目的化合物 ) の合成

三口フラスコに、3 8 mg ( 0 . 0 3 mmol ) の式 ( b 1 ) で表される化合物、および 2 mL のメタノールを装入し撹拌して均一な溶液とした。フラスコ内に 1 3 mg の炭酸カリウム ( 0 . 3 mmol ) を装入し、室温で 1 5 時間反応を行なった。反応混合物を Bio - Gel P - 2 Gel ( Bio - Rad 社製 ) でゲル濾過精製し、式 ( I - 1 ) の化合物であって、2 つの水酸基がアセチル基で保護された化合物を得た。脱保護反応における収率は 5 6 % であった。

40

## 【 0 0 6 3 】

## 5 ) 水溶性の評価

少量 ( 5 0  $\mu\text{L}$  ) のメタノールを混合した水溶液を準備し、当該溶液に 2 . 5 mg の式 ( I - 1 ) の化合物を加えたところ、赤紫色の溶液が得られ、溶解することを確認した。同様にして、メタノールを含まない水に式 ( I - 1 ) の化合物を溶解したところ、赤紫色の溶液が得られ、溶解することを確認した。さらに、メタノール少量 ( 0 . 2 mL ) に化合物 ( I - 1 ) を溶解し、蒸留水 ( 4 mL ) を加えて 9 5 % 水溶液を調製し、図 1 の吸収スペクトル ( 株式会社日立製作所製、U - 4 1 0 0 を使用 ) を得た。開環体のスペクトル

50

を破線 10 で示した。紫外光 (313 nm) を照射すると溶液は紫色に着色し、実線 20 で表わされるスペクトルを観察した。

【0064】

[実施例 1 - 2] チオフェン型化合物の合成

脱保護工程において、炭酸カリウム (0.3 mmol) の代わりに水酸化リチウム (ジアリールエテン 1 モルに対して 5 モル当量) を使用した以外は、実施例 1 - 1 と同様にして式 (I - 1) の化合物を製造した。その結果、式 (I - 1) の化合物であって、2 つの水酸基がアセチル基で保護された化合物を得た。2 つのアセチル基を含む化合物を得た。脱保護反応における収率は 56% であった。

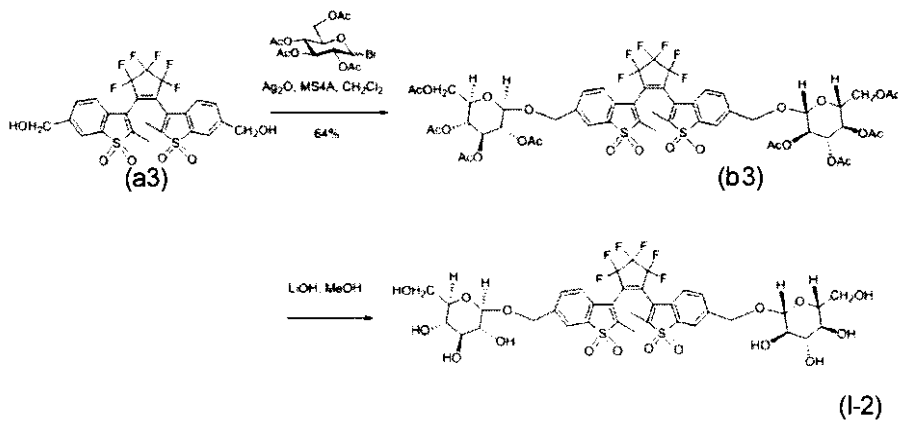
【0065】

[実施例 2] ベンゾチオフェンスルホン型化合物の合成

反応スキームを以下に示す。

【0066】

【化 14】



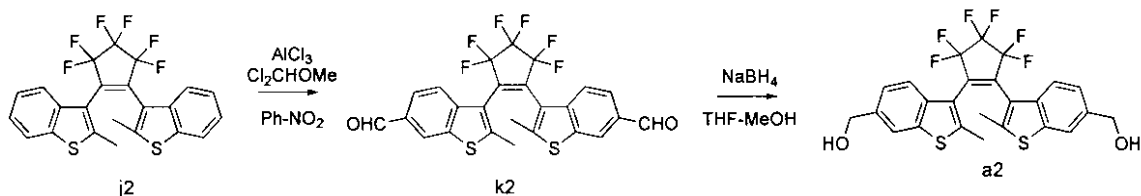
【0067】

1) 式 (a2) のジオール体の合成

当該化合物はベンゾチオフェン環の 6 位に連結基 U (メチレン基) が結合しているジオール体である。当該ジオール体は以下の反応により調製した。

【0068】

【化 15】



【0069】

非特許文献 6 に記載の方法で準備した式 (j2) の化合物をホルミル化して式 (k2) のジホルミル体を得た。

当該ジホルミル体 (350 mg、667 μmol) の THF - MeOH (3 mL / 3 mL) 溶液に、0 で NaBH<sub>4</sub> (51 mg、2 eq.) を 2 回に分けて加え、0 で 4 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈し、有機層を水 (3 回)、飽和食塩水 (1 回) で順次洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤をろ別して溶媒を減圧留去し、残渣をカ

10

20

30

40

50

ラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル = 2 : 1）で精製し、式（a2）のジオール体（220 mg、62% 収率）を淡赤色アモルファスとして得た。当該化合物の質量分析結果は次のとおりであった。

【0070】

ESI-MS m/z: 551 [M + Na]<sup>+</sup>.

HR-ESI-MS m/z: 551.05427 [M + Na]<sup>+</sup> (Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>NaO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, 551.05501).

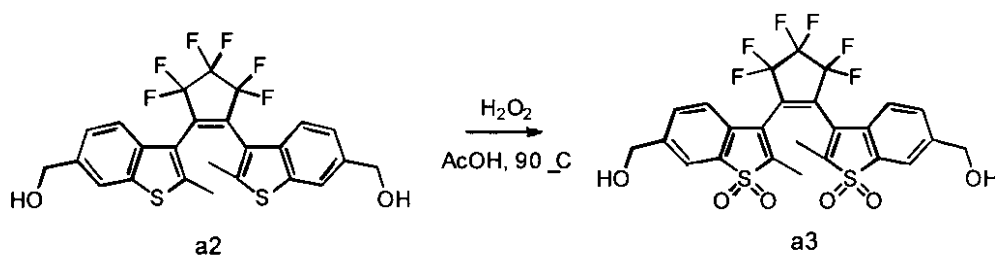
【0071】

2) 式（a3）のジオール体の合成

当該化合物は以下の反応により調製した。

【0072】

【化16】



10

20

【0073】

a2のジオール体（50 mg、95 μmol）に酢酸（2.5 mL）を加え、加温して溶解させた。反応溶液に過酸化水素水（35%、370 μL）を加え、90 で2時間撹拌した。放冷後、反応液を酢酸エチルで希釈し、有機層を希重曹水（3回）、飽和食塩水（1回）で順次洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤をろ別して溶媒を減圧留去し、残渣をカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル = 2 : 1 ~ 1 : 1）で精製し、式（a3）のジオール体（39 mg、70% 収率）とモノアセチル体（6.9 mg、12% 収率）をそれぞれ淡黄色アモルファスとして得た。式（a3）のジオール体の質量分析結果は以下のとおりである。

30

【0074】

ESI-MS m/z: 615 [M + Na]<sup>+</sup>.

HR-ESI-MS m/z: 615.03291 [M + Na]<sup>+</sup> (Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>, 615.03467).

【0075】

3) 式（b3）で表される中間体の合成

式（a3）のジオール体（14 mg、0.024 mmol）とプロモテトラアセトグルコース（97 mg、0.24 mmol）をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>（2 mL）に溶かし、さらにモレキュラーシーブス4（0.1 g）を加えて室温で1時間撹拌した。さらにアルゴン気流下、室温で遮光してAg<sub>2</sub>O（56 mg、0.24 mmol）を加え24時間撹拌した。反応終了後、不溶物を吸引ろ過して除き、ろ液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル = 2 : 1 ~ 1 : 1）で分離精製し、淡緑色アモルファスとして式（b3）で表される中間体（16 mg、64% 収率）を得た。

40

当該化合物について実施例1と同様にして質量分析したところ [M + Na]<sup>+</sup> = 1275 というピークを得た。このピークは目的物の質量1252に由来するので、得られた化合物が式（b3）で表される中間体であることを確認した。

【0076】

ESI-MS m/z: 1275 [M + Na]<sup>+</sup>.

HR-ESI-MS m/z: 1275.22742 [M + Na]<sup>+</sup> (Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>, 1275.22483).

【0077】

4) 式（I-2）の化合物（目的化合物）の合成

50



式 ( b 3 ) で表される中間体 ( 10 mg、0.008 mmol ) をメタノール ( 2 mL ) に溶かし、室温で水酸化リチウム ( 3 mg、0.08 mmol ) を加え 24 時間撈拌した。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、残渣を Bio - Gel P - 2 ( H<sub>2</sub>O ) で分離精製し、反応混合物を得た。反応混合物を質量分析したところ、917 というピークを得た。このピークは目的化合物の質量 916 に由来するので、得られた化合物が式 ( I - 2 ) の化合物であることを確認した。

ESI-MS m/z: 917 [M + H]<sup>+</sup>.

【 0078 】

5) 水溶性の評価

実施例 1 と同様にして式 ( I - 2 ) の化合物の水溶性を評価し、水溶性であることを確認した。具体的に、メタノール少量 ( 0.2 mL ) に ( I - 2 ) の化合物を溶解し、蒸留水 ( 4 mL ) を加えて 95% 水溶液を調製し、図 2 の吸収スペクトル ( 株式会社日立製作所製、U - 4100 を使用 ) を得た。破線 10 で示す開環体のスペクトルが得られた。紫外光 ( 313 nm ) を照射すると溶液は黄色に着色し、実線 20 で示すスペクトルが得られた。また、当該化合物は紫外光の照射で蛍光を示し、実線 30 で示すスペクトルが得られた。

10

【 0079 】

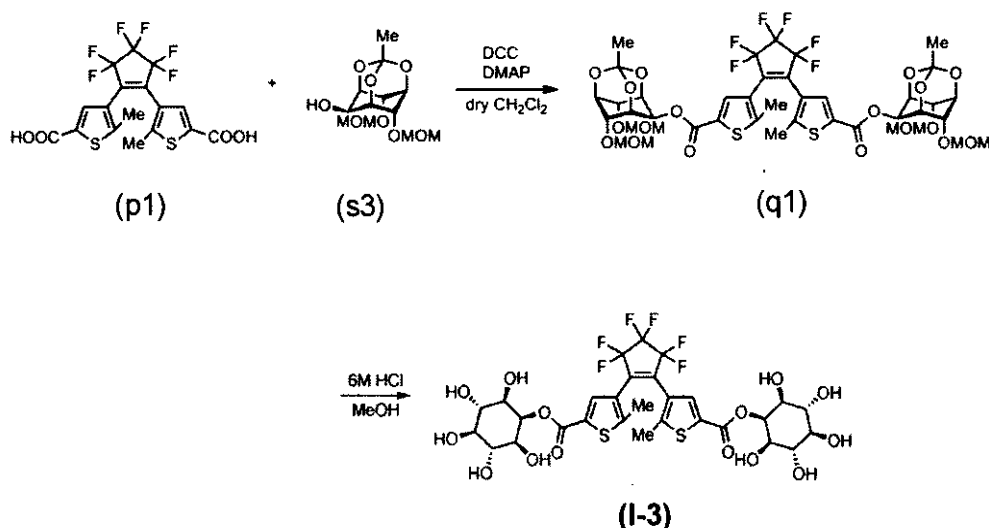
[ 実施例 3 ] ベンゾチオフェン型化合物 ( 第二の製造方法 )

反応スキームを以下に示す。

【 0080 】

20

【 化 17 】



30

【 0081 】

1) 保護化糖の合成

2, 4, 6 - トリ - O - ベンゾイル - ミオイノシトール 1, 3, 5 - オルトアセテート ( 2,4,6-Tri-O-benzoyl-myo-inositol 1,3,5-orthoacetate ) ( r 1 ) の合成

40

【 0082 】



とおりであった。

【 0 0 8 8 】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 1.36 (s, 3H), 4.07-4.09 (m, 4H), 4.36-4.38 (m, 2H)

MS (FAB)  $m/z = 204$  [M+]

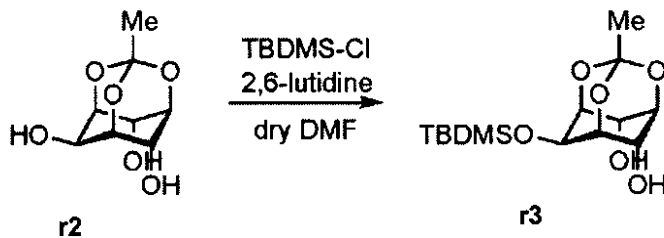
【 0 0 8 9 】

2 - O - tert - ブチルジメチルシリル - ミオイノシトール - 1 , 3 , 5 - オルトアセテート (2-O-tert-Butyldimethylsilyl-myo-inositol-1,3,5-orthoacetate) ( r 3 ) の合成

【 0 0 9 0 】

【 化 2 0 】

10



【 0 0 9 1 】

20

窒素雰囲気下で式 ( r 2 ) の化合物 ( 3 . 2 6 g 、 1 6 . 0 m m o l ) 、 tert - ブチルジメチルクロロシラン ( 東京化成工業株式会社製、 2 . 3 9 g 、 1 5 . 9 m m o l ) 、 2 , 6 - ルチジン ( 東京化成工業株式会社製、 5 . 0 m L 、 4 2 . 9 m m o l ) をフラスコ内の乾燥 DMF ( 3 0 m L ) に溶かした。内容物を 3 6 時間室温で撹拌した。溶媒を減圧除去し、水 ( 3 0 m L ) を加えた。氷水で冷却し、生じた沈殿をろ過し、化合物 r 3 ( 2 . 9 2 g 、 9 . 1 7 m m o l 、 5 7 . 8 % ) を得た。分析結果は以下のとおりであった。

【 0 0 9 2 】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ); 0.15 (s, 6H), 0.95 (s, 9H), 1.45 (s, 3H), 4.14-4.16 (m, 2H), 4.18-4.20 (m, 1H), 4.21-4.23 (m, 1H), 4.52-4.54 (m, 2H)

30

MS (FAB)  $m/z = 319$  [M+1]+

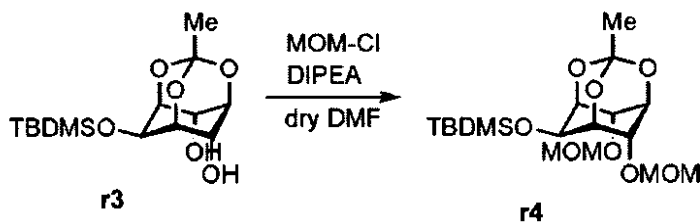
【 0 0 9 3 】

2 - O - tert - ブチルジメチルシリル - 4 , 6 - ビス ( O - メトキシメチル ) - ミオイノシトール - 1 , 3 , 5 - オルトアセテート (2-O-tert-Butyldimethylsilyl-4,6-bis(O-methoxymethyl)-myo-inositol-1,3,5-orthoacetate) ( r 4 ) の合成

【 0 0 9 4 】

【 化 2 1 】

40



【 0 0 9 5 】

窒素雰囲気下で式 ( r 3 ) の化合物 ( 1 . 7 7 g 、 5 . 5 6 m m o l ) をフラスコ中の乾燥 DMF ( 3 0 m L ) に溶かした。そこに N , N - ジイソプロピルエチルアミン ( 東京化成工業株式会社製、 4 . 0 m L 、 4 0 . 7 m m o l ) を加え、メトキシメチルクロライ

50

ド（東京化成工業株式会社製、2.5 mL、33.2 mmol）を滴下した。内容物を65 で36時間還流した。溶媒を減圧除去し、酢酸エチルで抽出した。硫酸マグネシウムで乾燥させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒；クロロホルム：メタノール = 8 : 1）で精製し、化合物 r 4（1.69 g、4.16 mmol、74.8%）を得た。分析結果は以下のとおりであった。

【0096】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ); 0.13 (s, 6H), 0.94 (s, 9H), 1.45 (s, 3H), 3.34 (s, 6H), 4.11-4.13 (m, 2H), 4.16-4.17 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 4.27-4.29 (m, 1H), 4.35-4.37 (m, 2H), 4.40-4.42 (m, 4H)

MS (FAB)  $m/z = 407$  [M+1]<sup>+</sup>

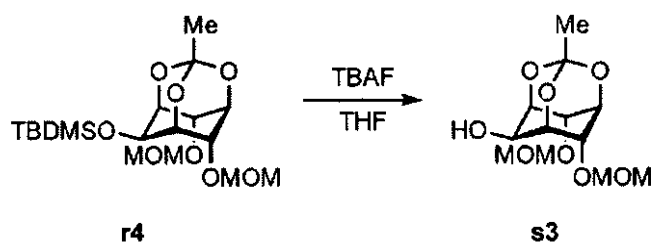
10

【0097】

4,6-ビス(オ-メトキシメチル)-ミオイノシトール-1,3,5-オルトアセテート(4,6-Bis(O-Mehoxymethyl)-myo-inositol-1,3,5-orthoacetate) (s 3) の合成

【0098】

【化22】



20

【0099】

式(r 4)の化合物(1.59 g、3.91 mmol)をフラスコ中のTHF(15 mL)に溶かした。そこに1.0 mol/Lのテトラブチルアンモニウムフロライド(東京化成工業株式会社製)-THF溶液(5.1 mL、5.1 mmol)を加え、16時間攪拌した。水(10 mL)で反応を止め、ジエチルエーテルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。シリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒；ヘキサン：酢酸エチル = 6 : 1 ~ 4 : 1）により精製し、化合物 s 3（0.82 g、2.81 mmol、71.8%）を得た。分析結果は以下のとおりであった。

30

【0100】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ); 1.45 (s, 3H), 2.99 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 3.39 (s, 6H), 4.01-4.05 (m, 1H), 4.21-4.23 (m, 2H), 4.26-4.29 (m, 1H), 4.43 (t,  $J = 3.8$  Hz, 2H), 4.67-4.74 (m, 4H)

MS (FAB)  $m/z = 293$  [M+1]<sup>+</sup>

【0101】

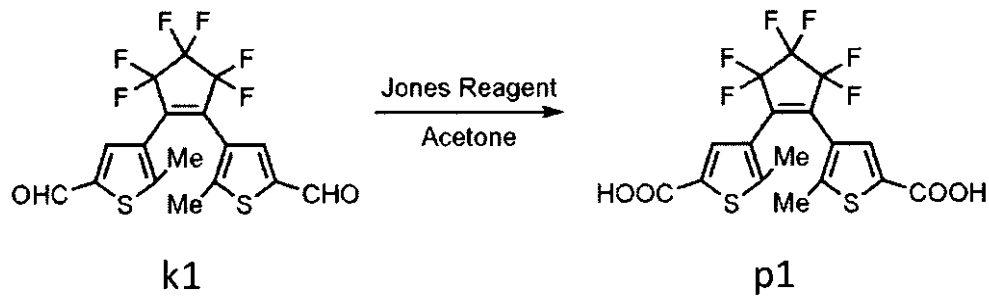
2) 式(p 1)のジカルボン酸体の合成

式(k 1)のジホルミル体より、以下の手順にて式(p 1)のジカルボン酸体を得た。

40

【0102】

## 【化23】



10

## 【0103】

$\text{CrO}_3$  (3.19 g、31.9 mmol) を水 (4.5 mL) に溶かし、氷浴で冷却しながら濃硫酸 (3.0 mL) と水 (9.0 mL) を加え Jones 試薬を調製した。次に式 (k1) の化合物 (3.22 g、7.59 mmol) をフラスコ中のアセトン (80 mL) に溶かした。前記 Jones 試薬をフラスコ内にゆっくり滴下し、内容物を 17 時間攪拌した。2-プロパノール (20 mL) で反応を止めた。ジエチルエーテルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。溶媒を減圧除去し、酢酸エチル/ヘキサンからの再結晶し、白色粉末として p1 (3.07 g、6.73 mmol、86.7%) を得た。分析結果は以下のとおりであった。

20

## 【0104】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 1.99 (s, 3H, Me), 7.72 (s, 1H, thienyl)

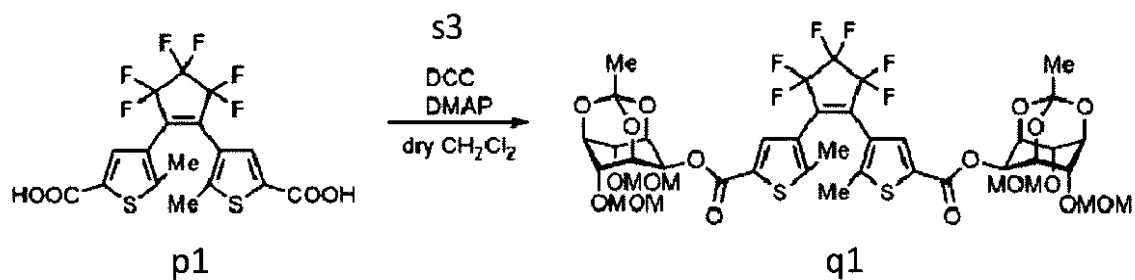
MS (EI)  $m/z$  = 456 [M]<sup>+</sup>

## 【0105】

3) 式 (q1) で表される中間体の合成

## 【0106】

## 【化24】



30

## 【0107】

窒素雰囲気下で、式 (p1) のジカルボン酸体 (320 mg、0.701 mmol)、 $N,N'$ -ジシクロヘキシルカルボジイミド (0.415 mg、2.01 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (30 mg、0.246 mmol) を乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6 mL) に溶かし、室温で 30 分攪拌した。

40

そこに式 (s3) の保護化糖 (480 mg、1.64 mmol) を乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) に溶かして加え、室温にて終夜攪拌した。生じた固体を吸引ろ過し、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  で洗浄した。溶媒を減圧除去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒; ジクロロメタン: 酢酸エチル = 4:1) で精製し、式 (q1) の中間体 (405 mg、0.403 mmol、58% 収率) を淡黄色粉末として得た。NMR (日本電子株式会社製、GSX400) および質量分析 (株式会社島津製作所製 GCMS-QP2010) の結果は以下のとおりであった。分析結果は以下のとおりであった。

## 【0108】

50

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): d 1.48 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 3.43 (s, 6H), 4.33 (sep,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 4.42-4.43 (m, 2H), 4.46 (t,  $J = 3.8$  Hz, 2H), 4.71-4.78 (m, 4H), 5.43 (t,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 7.83 (s, 1H)

MS (FAB)  $m/z = 1004$  [ $\text{M}^+$ ]

【 0 1 0 9 】

4) 式 ( I - 3 ) の化合物 ( 目的化合物 ) の合成

式 ( q 1 ) で表される中間体 ( 290 mg、0.289 mmol ) をメタノール ( 5 mL ) に溶解した。そこに 6 mol/L の塩酸 ( 25 mL ) を加え、55 で 6 時間還流した。その後、炭酸ナトリウムで塩化水素をトラップしながら溶媒を減圧除去した。逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー ( 展開溶媒 ; メタノール : 水 = 4 : 1 ) で精製し目的とする式 ( I - 3 ) の化合物 ( 210 mg、0.269 mmol、93% 収率 ) を得た。分析結果は以下のとおりであった。

【 0 1 1 0 】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): d 2.07 (s, 3H), 3.60-3.62 (m, 5H), 5.56 (s, 1H), 7.73 (s, 1H)

MS (FAB)  $m/z = 780$  [ $\text{M}$ ] $^+$

【 0 1 1 1 】

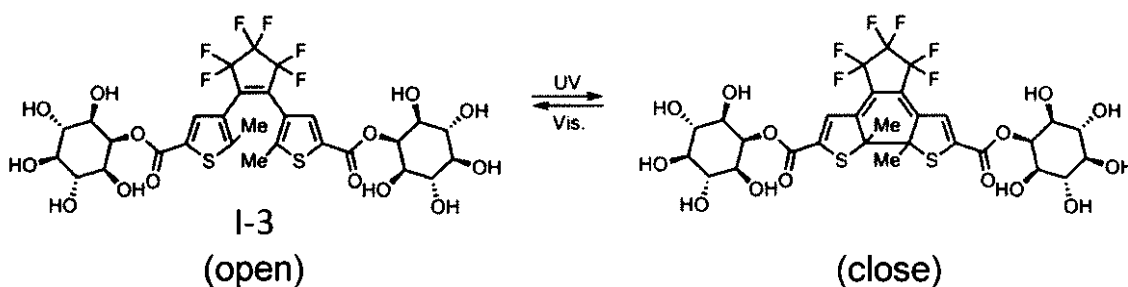
5) 水溶性の評価

実施例 1 と同様にして式 ( I - 3 ) の化合物の水溶性を評価し、水溶性であることを確認した。

このようにして得た水溶液の吸収スペクトル ( 株式会社日立製作所製、U - 4100 を使用 ) を図 3 に示す。曲線 10 は式 ( I - 3 ) の化合物 ( 開環体 ) のスペクトルであり、極大吸収波長は 254 nm であった。次いで、式 ( I - 3 ) の化合物の水溶液に 254 nm の光を照射し、それ以上閉環反応が進行しない状態の光定常状態 ( PSS ) とした。この状態でのスペクトルを曲線 20 として示す。閉環体の極大吸収波長は 595 nm であった。600 nm 以上の可視光を照射することにより元のスペクトルに戻ったことから、可逆的なフォトクロミズム ( 下記スキーム ) を確認した。

【 0 1 1 2 】

【 化 2 5 】



【 0 1 1 3 】

[ 実施例 4 ] ベンゾチオフェンスルホン型化合物  
反応スキームを以下に示す。

【 0 1 1 4 】

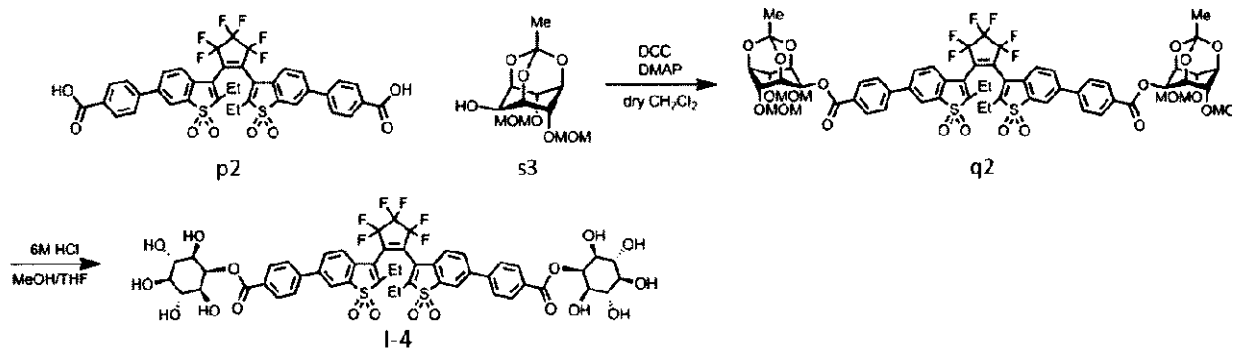
10

20

30

40

## 【化 2 6】



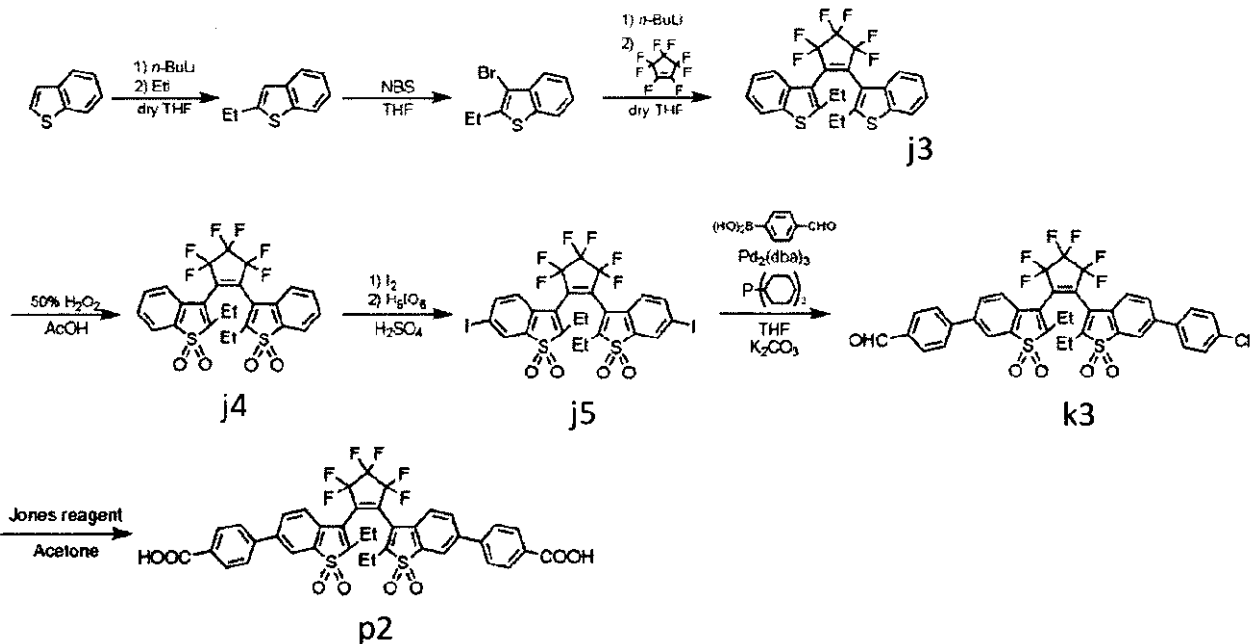
10

## 【 0 1 1 5】

1) 式 ( p 2 ) のジカルボン酸体の合成  
反応スキームを以下に示す。

## 【 0 1 1 6】

## 【化 2 7】



20

30

## 【 0 1 1 7】

式 ( j 3 ) の化合物は、非特許文献 6 に準じて合成した。式 ( j 4 ) の化合物は、実施例 2 の 2 ) に記載の合成方法に準じて合成した。式 ( j 5 ) の化合物は、ヨウ素と  $\text{H}_5\text{IO}_6$  を用いて定法により式 ( j 4 ) の化合物にヨウ素を導入して合成した。

40

## 【 0 1 1 8】

式 ( j 5 ) の化合物 ( 450 mg、0.450 mmol ) と 4-ホルミルフェニルボロン酸 ( 199 mg、1.33 mmol ) を THF ( 10 mL ) に溶かした。これにトリス (ジベンジリデンアセトン) ジパラジウム ( 0 ) ( 95 mg、0.104 mmol )、炭酸カリウム水溶液 ( 10 mL )、トリシクロヘキシルホニンの 18% トルエン溶液 ( 0.1 mL ) を加え、室温で 20 分撹拌した。反応生成物を塩酸で処理した後、クロロホルムで抽出した。抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を除去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ( 展開溶媒 : ヘキサン / 酢酸エチル = 4 / 1、2 / 1 ) で精製し、式 ( k 3 ) の化合物を得た。収量は 353 mg ( 0.459 mmol )、収率は 82 .

50

9%であった。分析結果は以下のとおりであった。

MS (EI)  $m/z = 768 [M^+]$

【0119】

式(k3)の化合物(200 mg、0.260 mmol)をアセトン(10 mL)に溶かし、調整したJones試薬(0.6 mL、1.17 mmol)をゆっくり滴下し、一晚撹拌した。2?プロパノール(2 mL)で反応を止め、溶媒を減圧除去した。反応生成物を酢酸エチルで抽出し、抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を除去した。酢酸エチルとヘキサンにより再結晶を行い、式(p2)の化合物を得た。収量は122 mg(0.152 mmol)、収率は73.3%であった。分析結果は以下のとおりであった。

MS (ESI)  $m/z = 823.0865 [M+Na]^+$

10

【0120】

2) 式(q2)の中間体の合成

式(p2)の化合物(366 mg、0.457 mmol)、N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド(283 mg、1.37 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン(19 mg、0.152 mmol)を窒素雰囲気下にし、乾燥ジクロロメタン(DCM)(12 mL)に溶かし、室温で30分撹拌した。前述のとおり準備した式(s3)の化合物(401 mg、1.37 mmol)を乾燥ジクロロメタン(1 mL)に溶かした溶液を調製し、前記式(p2)の化合物を含む混合物に添加し、一晚撹拌した。沈殿を吸引ろ過で取り除き、溶媒を減圧除去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン：酢酸エチル = 4 : 1)で精製し、式(q2)の化合物を得た。収量は65 mg(0.048 mmol)、収率は11%であった。分析結果は以下のとおりであった。

20

MS (ESI)  $m/z = 1371.2971 [M+Na]^+$

【0121】

3) 式(I-4)の化合物(目的化合物)の合成

式(q2)の化合物(50 mg、0.037 mmol)をTHF(1 mL)に溶かし、メタノール(1 mL)、6 MのHCl(5 mL)を加えた。60 で6時間還流し、トルエン(10 mL)を加え、溶媒を減圧除去した。逆相カラムクロマトグラフィー(メタノール：水 = 4 : 1)で精製し、目的化合物を得た。分析結果は以下のとおりであった。

MS (ESI)  $m/z = 1147.1922 [M+Na]^+$

30

【0122】

4) 評価

この化合物約0.5 mgを、0.5 mLの水/メタノール(90/10重量比)、および0.5 mLのメタノール単独に溶解し溶液を調製した。便宜上、前者を水溶液、後者をメタノール溶液とも称する。溶液の吸収スペクトルを図4、5に示す。曲線10は式(I-4)の化合物(開環体)のスペクトルである。メタノール溶液では、極大吸収波長は450 nmで、モル吸光係数は39000であった。この吸収は可視光照射により消失し、元の無色の溶液に戻った。曲線20は閉環体のスペクトルである。閉環体は黄緑色の蛍光(曲線30)を示し、発光極大は520 nm、蛍光量子収率は0.71であった。また、開環体に戻すと蛍光は消光した。以上より式(I-4)の化合物は、メタノール中で可逆的なフォトクロミズムと蛍光のスイッチングを示すことが明らかとなった。

40

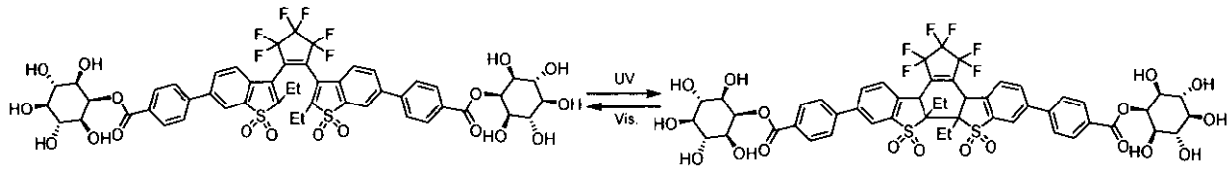
【0123】

水溶液では、閉環体の極大吸収波長は458 nmで、モル吸光係数は36000であった。この吸収は可視光照射により消失し、元の無色の溶液に戻った。閉環体では黄色の蛍光(曲線30)を示し、発光極大は540 nm、蛍光量子収率は0.44であった。また、開環体に戻すと蛍光は消光した。以上より式(I-4)の化合物は、水/メタノール(90/10重量比)混合溶媒中においても以下に示す可逆的なフォトクロミズムと蛍光のスイッチングを示すことが明らかとなった。

【0124】



## 【化 2 8】



## 【 0 1 2 5】

## [ 実施例 5 ]

10

式 ( I - 4 ) のジアリールエテン約 0 . 5 m g を、 0 . 5 m L のメタノールに溶解し、それに水を加えて水/メタノール ( 5 / 1 重量比 ) 混合液を調製した。この溶液をアフリカツメガエルの 4 細胞期胚に注入した。注入直後の様子を図 6 ( a ) に示す。左上の割球の黒い点が注入部位である。注入後、約 1 時間放置して細胞分裂させた ( 3 2 細胞期 ) 。当該細胞に 4 7 0 ~ 4 9 5 n m の波長の UV を照射した。その後、蛍光の有無を調べたところ、注入部位周辺に蛍光が確認された ( 図 6 ( b ) ) 。

## 【 0 1 2 6】

## [ 実施例 6 ]

20

実施例 5 で調製した溶液を、 1 0 μ m にスライスしたアフリカツメガエルの尾芽胚頭部載せ、室温で 3 0 分間放置した。その後、尾芽胚頭部を 1 0 % メタノール水溶液で洗浄し、 4 7 0 ~ 4 9 5 n m の波長を照射した。明視野下を図 7 ( a ) に示す。このとき、暗視野下にて、 5 1 5 ~ 5 5 0 n m の波長を検出したところ図 7 ( b ) のようにほとんど発光はみられなかった。続いて 3 6 0 ~ 3 7 0 n m の波長の UV を 3 0 秒間照射した後、再度 5 1 5 ~ 5 5 0 n m の波長を検出した ( 図 7 ( c ) ) 。図 7 ( c ) に示すとおり、蛍光シグナルは特に胚の表皮の外層に観察された。

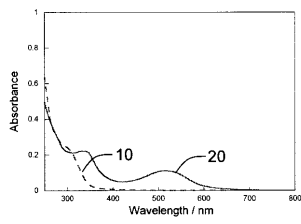
## 【符号の説明】

## 【 0 1 2 7】

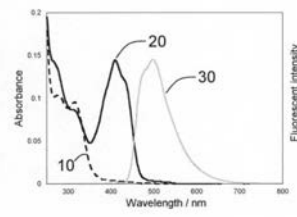
- 1 0 開環体のスペクトル
- 2 0 閉環体のスペクトル
- 3 0 蛍光スペクトル

30

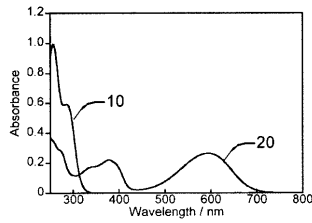
【 図 1 】



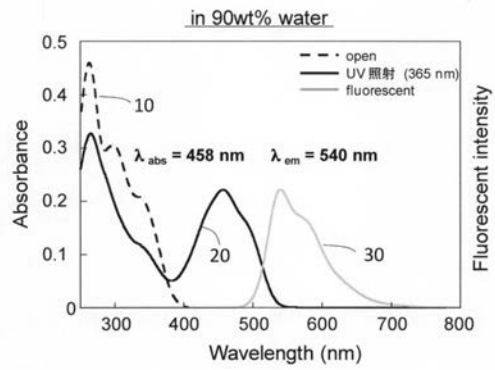
【 図 2 】



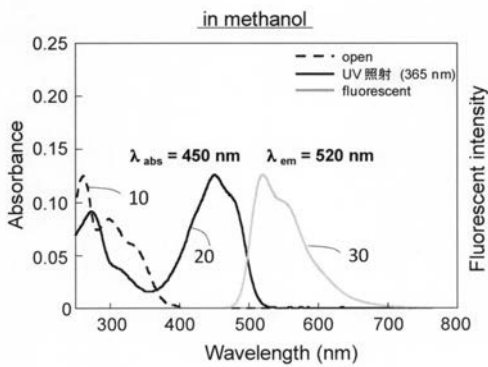
【 図 3 】



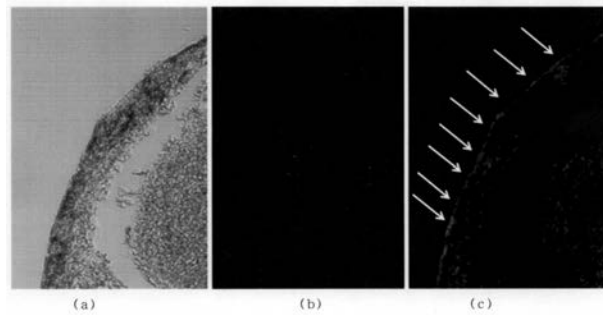
【 図 4 】



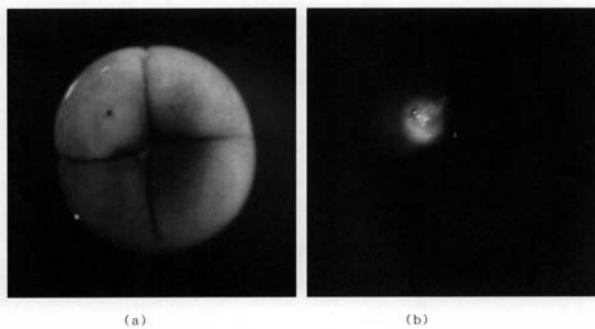
【 図 5 】



【 図 7 】



【 図 6 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2013/074052
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07H15/26(2006.01) i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07H15/26		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2013 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAplus/REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	POLYAKOVA, S. M. et al., Synthesis of photochromic compounds for aqueous solutions and focusable light, Eur J Org Chem. 2011, v.2011, p.3301-3312, entire text	1-9
A	AYT, A. et al., Masking photochromic films for nanolithography technology, Phys Status Solidi C. 2011, v.8, p.2866-2869, entire text	1-9
A	COHEN, N. et al., Synthesis and characterization of light-driven dithienylcyclopentene switches with axial chirality, J Org Chem. 2011, v.76, p.7148-7156, entire text	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 November, 2013 (13.11.13)		Date of mailing of the international search report 26 November, 2013 (26.11.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/074052

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2006/080647 A1 (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.), 03 August 2006 (03.08.2006), entire text & US 2006/0079653 A1 & CN 101027308 A & KR 10-2006-0051627 A	1-9
A	JP 2005-082507 A (Mitsubishi Chemical Corp.), 31 March 2005 (31.03.2005), entire text (Family: none)	1-9
A	KAWAI, S. H., Photochromic bis(monoaza-crown ether)s. Alkali-metal cation complexing properties of novel diarylethenes, Tetrahedron Lett. 1998, v.39, p.4445-4448, entire text	1-9

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2013/074052

Subject to be covered by this search:

Since claims 1-9 of the present application are not clearly set forth, the technical range of the inventions set forth in said claims cannot be objectively and clearly understood. In addition to this, it is also not considered that the inventions of claims 1-9 are set forth with substantiality in the description, and the inventions are lack in clarity and full support by the description within the meaning of PCT Article 5 and Article 6 respectively, and therefore, a full and meaningful prior-art search cannot be carried out.

Therefore, with respect to the invention in claims 1-9 of this application, a search report was made only on the part disclosed in and supported by the description, that is, the compound in which the cyclic ethene moiety containing the group "(CY)m" is a "five-membered ring" (namely, m is an integer of 3) and in which the remaining one substituent bonded to each carbon atom "C" contained in the "(CY)m" is "F (fluorine atom)".

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 7 4 0 5 2									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07H15/26(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07H15/26											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2013年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2013年	日本国実用新案登録公報	1996-2013年	日本国登録実用新案公報	1994-2013年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2013年										
日本国実用新案登録公報	1996-2013年										
日本国登録実用新案公報	1994-2013年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus/REGISTRY (STN)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
A	POLYAKOVA, S. M. et al., Synthesis of photochromic compounds for aqueous solutions and focusable light, Eur J Org Chem. 2011, v.2011, p.3301-3312, 全文	1-9									
A	AYT, A. et al., Masking photochromic films for nanolithography technology, Phys Status Solidi C. 2011, v.8, p.2866-2869, 全文	1-9									
A	COHEN, N. et al., Synthesis and characterization of light-driven	1-9									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 13.11.2013		国際調査報告の発送日 26.11.2013									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 早川 裕之	4 P 4500								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3492									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 7 4 0 5 2
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
	dithienylcyclopentene switches with axial chirality, J Org Chem. 2011, v. 76, p. 7148-7156, 全文	
A	WO 2006/080647 A1 (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 2006.08.03, 全文 & US 2006/0079653 A1 & CN 101027308 A & KR 10-2006-0051627 A	1-9
A	JP 2005-082507 A (三菱化学株式会社) 2005.03.31, 全文 (ファミリーなし)	1-9
A	KAWAI, S. H., Photochromic bis(monoaza-crown ether)s. Alkali-metal cation complexing properties of novel diarylethenes, Tetrahedron Lett. 1998, v. 39, p. 4445-4448, 全文	1-9

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2013/074052

<調査の対象について>

本願請求項1-9は明確に記載されていないから、当該請求項に記載された発明の技術的範囲が客観的且つ明確に理解できないうえ、本願請求項1-9に記載の発明は、明細書に実体をもって記載されているともいえず、PCT第5条、第6条の意味において明確性、明細書による十分な裏付けを欠いたものであるから、十分且つ有意義な先行技術調査をすることができない。したがって、本願請求項1-9に係る発明については、本願明細書に開示され裏付けられている部分、すなわち、基「(CY) m」を含む環状エテン部が「5員環」である化合物（すなわち、mが3の整数）であって、且つ、「(CY) m」中の炭素原子「C」に結合する残余の1つの置換基が「F（フッ素原子）」である化合物に限定して調査報告を作成した。



## フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

(74) 代理人 100129311

弁理士 新井 規之

(72) 発明者 常盤 広明

東京都豊島区西池袋3丁目3番1号 学校法人立教学院内

(72) 発明者 入江 正浩

東京都豊島区西池袋3丁目3番1号 学校法人立教学院内

(72) 発明者 池田 潔

広島県呉市広古新開五丁目1番1号 広島国際大学内

(72) 発明者 大坪 忠宗

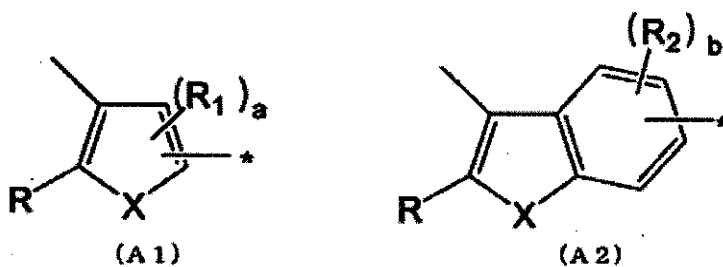
広島県呉市広古新開五丁目1番1号 広島国際大学内

Fターム(参考) 4C023 HA02

4C057 AA17 AA19 BB02 DD01 JJ55

## 【要約の続き】

## 【化2】



(式(A1)および(A2)中、XはS、SO<sub>2</sub>、NR<sub>3</sub>、またはOであり) ; Yは、水素原子またはハロゲン原子である]で表される、ジアリールエテン化合物。

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。