

# 新規ポリ(アミドアミン)デンドリックフタロシアニンの合成と その生物学的特性に関する研究

日大生産工(院) 金澤 誠子

化技教研 奥村 映子

日大生産工 坂本 恵一

## 1. 緒言

利用範囲の広い機能性色素として知られているフタロシアニン(Pc)は、ガン光線力学療法(PDT)やDNAベクターなど、生命工学の分野においての利用も注目されている。

その分野の中でも特に、Pcは次世代PDT用光増感色素として開発されている<sup>1-5)</sup>。

実用化されているPDT用光増感色素はポルフィリン類であり、吸収極大を450 nm 付近に有している。しかし、皮膚浸透性の高い600 nm から800 nm の範囲に吸収極大が無いため、体内の深部のガンへの有効性が低いことが報告されている。そのため、650 nm 付近に吸収極大を有するPcはPDT増感剤として脚光をあびている。Pcを光増感色素として用いるためには、Pcの機能の発現を阻害しないような分子構造を取らなければならない。Pcの機能はポルフィラジン環と中心金属が担っているため、ドーナツ状構造で、光捕集能力または生体親和性を有するポリ(アミドアミン)をデンドロン部位とした新規ポリ(アミドアミン)デンドリックPcを合成した<sup>6)</sup>。また、この新規ポリ(アミドアミン)デンドリックPcの生物学的特性をガン細胞を用いて検討した。

## 2. 実験

### 2.1 合成

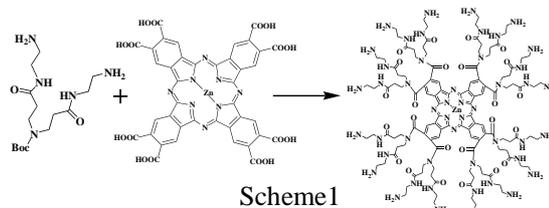
新規ポリ(アミドアミン)デンドリックPcはポリアミドアミンのデンドロン部位の合成と核部位の亜鉛ポリ(カルボン酸)Pcの合成を個別に行い、それらを結合することによった。

デンドロン部位は3,3'-イミノジプロピオン酸を出発原料としてアミド合成の手法を用いて3,3'-イミノジプロピオン酸、*N*-(*t*-Boc)イミノジプロピオン酸を経て、エチレンジアミンおよびアクリル酸メチルとを繰り返して反応させることで1.0世代デンドロン(G-1.0)、1.5世代デンドロン(G-1.5)、2.0世代デンドロン

(G-2.0)および2.5世代(G-2.5)とした。

核部位は、無水トリメリット酸と無水フタル酸混合原料からのType1とピロメリット酸二無水物と無水フタル酸との混合原料からのType2を合成した。なおType1、Type2Pcはそれぞれ、分子中に有するカルボン酸数によってT1、T2、T3、T4あるいはP2、P4、P6、P8と略称する。

デンドリックPcは、Type1またはType2のそれぞれの核にG-1.0からG-2.5までのデンドロンを結合させることで合成した(Scheme1)。



### 2.2 IU-002細胞のデンドリックPcの注入および細胞染色

まず、アフリカミドリザル腎臓由来のウシ胎児血清を5%含むE-MEM培地にてIU-002細胞を37℃、CO<sub>2</sub>5%条件下で80%コンフルエント細胞状態まで培養後、培地を取り除いた。次いで、その細胞にデンドリックPcを注入して3時間培養し、ハロゲン光を照射後、培地を取り除いた。残った細胞をCell Viability kitを用いて細胞染色色素により核、生細胞および死細胞を染色した。

### 2.3 測定

紫外可視吸収(UV-Vis)スペクトルは島津UV-2400PC型紫外-可視分光光度計を用い、ジメチルスルホキシド(DMSO)溶媒にて $1.0 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup>で測定した。

PDT特性はArray scan Cy5を用いて測定した。IU-002細胞中のデンドリックPcの濃度は $4.10 \times 10^{-10}$  mg ml<sup>-1</sup>から $4.00 \times 10^{-3}$  mg ml<sup>-1</sup>で測定した。

A Study on Synthesis of Novel Poly(amidoamine) Dendritic Phthalocyanines and  
Their Biochemical Properties

Seiko KANAZAWA, Eiko OKUMURA and Keiichi SAKAMOTO

### 3. 結果および考察

#### 3.1 デンドリックフタロシアニンの合成

デンドロン部位は、G-1.0では収率72%の淡黄色粘性液体、G-1.5では63%の無色粘性液体、G-2.0では113%の淡黄色粘性液体およびG-2.5では86%の無色粘性液体として得た。一方、核部位はType1、Type2とも濃緑色固体として得た。

デンドリックPcはT1核のモノG-1.0デンドリックPc(T1G1.0)、T4核のテトラT4G-1.0デンドリックPc(T4G1.0)、P8核のオクタP8G-1.0デンドリックPc(P8G1.0)とオクタP8G-1.5デンドリックPc(P8G1.5)を合成した。

得られたデンドリックPcは収率と吸収極大がそれぞれ、T1G1.0では63%、679.5 nm、T4G1.0では21%、686.5 nm、P8G1.0では18%、696.0 nm、P8G1.5では5%、694.0 nmであった(Table 1、Fig.1)。合成したデンドリックPcは、680 nmから695 nm付近にHOMO-LUMO間の  $\pi$ - $\pi^*$ 遷移に基づくQ帯の吸収がPcにデンドロン部位に結合したことによって、無置換亜鉛Pcよりも長波長側に移動していた。デンドリックPcの蛍光は700 nmから750 nmに現れており(Fig.2)、Storksシフトが小さいことがわかった。UV-Visと蛍光スペクトルから、デンドリックPcは剛直な分子構造と考えられる。

#### 3.2 PDT特性

皮膚浸透性の高い680 nm付近に吸収極大を、深部のガンにも有効であり、生体親和性を持つと考えられるデンドリックPcについて蛍光およびPDT特性を検討した。

デンドリックPcを光増感色素として使用するためには、ガン細胞中での低濃度において高い死細胞割合を示すことが望ましい。そこでデンドリックPcを注入したIU-002細胞に、ハロゲン光を照射することにより死滅したガン細胞の死細胞の割合を測定した。

死細胞率は $6.4 \times 10^{-6}$ から $3.2 \times 10^{-5}$  mg ml<sup>-1</sup>の低濃度域における合成したデンドリックPcでは2%から4%程度であった。このことから、デンドリックPcはガン細胞に対して光線力学的ダメージを与えることが確認された。

一方、T1G1.0、T4G1.0およびP8G1.0は、高濃度域における死細胞率が20%から25%であるのに対し、P8G1.5は1.4%であった。高濃度域において確認された死細胞は光線力学的ダメージ以外にデンドリックPc自体による細胞毒性が考えられる。したがって、他の測定法による細胞毒性の確認が必要であることが示唆された。また、デンドリックPcの末端基が

G-1.0のような-NH<sub>2</sub>のとき死細胞率は高く、G-1.5のような-COOHのときは低いとも考えられるため、他の種類のデンドリックPcとの比較が必要であることが示唆された。

Table 1 UV-Vis spectral data of dendritic Zn-Pc.

Compound	$\lambda_{\max}$	log	$F_{\max}$
T1G1.0	679.5	4.594	690.0
T4G1.0	686.5	5.339	705.0
P8G1.0	696.0	4.207	710.0
P8G1.5	694.0	4.664	710.0

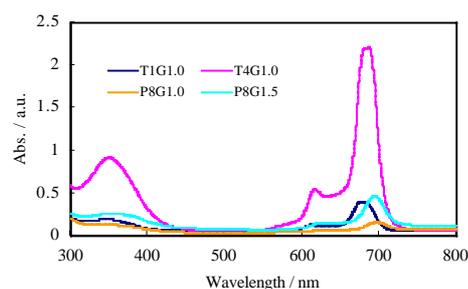


Fig.1 UV-Vis spectra of dendritic Zn-Pc.

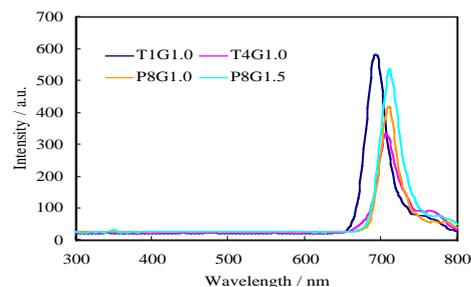


Fig.2 Fluorescence spectra of dendritic Zn-Pc.

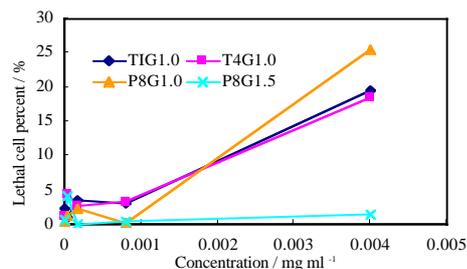


Fig.3 Photocytotoxicity of dendritic Zn-Pc.

#### 参考文献

- 1) D.Robson, J.C.Bailar, Jr, *Inorganic Chemistry*, **11**, 1578 (1972).
- 2) K.Sakamoto, E.ohno-Okumura, *Current Topics Electrochem.*, **9**, 117 (2003).
- 3) 廣橋亮, 坂本恵一, 奥村映子, “機能性色素としてのフタロシアニン”, アイピーシー, 東京 (2004).
- 4) K.E.Uhrich, J.M.J Frechet, *J.Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1623 (1992).
- 5) Dennis K.P.Ng, *C.R.Chimie*, **6**, 903 (2003).
- 6) 金澤誠子, 坂本恵一, 特願2006-302304 (2007)