

## フェニレンジアミンをリンカーとするローダミン系色素合成と光学特性

日大生産工(院) ○平田 康輔 日大生産工 市川 隼人

## 1. 緒言

がんの早期発見や早期切除はがん治療の最も重要な方法である。がんの検出にはがん細胞に多く発現するマーカーと呼ばれるタンパク質を標的とする抗体を有機蛍光色素により蛍光標識したものをを用いてイメージングする方法や、アクティブイタブル蛍光プローブを用いることで病変部位を可視化する方法が検討されている。また、生体内で標的とする分子を選択的に化学修飾する「生体直交型反応」が注目されている。2022年にノーベル化学賞を受賞したBertozziはアジド及びアルキニル化合物を用いたクリック反応の生体内での応用を成功させた。環状化合物にアルキニル基を組み込み歪ませ、不安定化することで、生体毒性のある銅触媒を用いず反応が進行する<sup>2)</sup>。

当研究室ではこれまでアルギン酸とローダミンBをエチレンジアミンをリンカーとして化学修飾させた蛍光プローブを合成した。しかし、蛍光強度や吸光度が低く置換度も正確に求められなかった。そこで、エチレンジアミンをリンカーとしたローダミンBの蛍光特性を調査した。

Scheme 1.

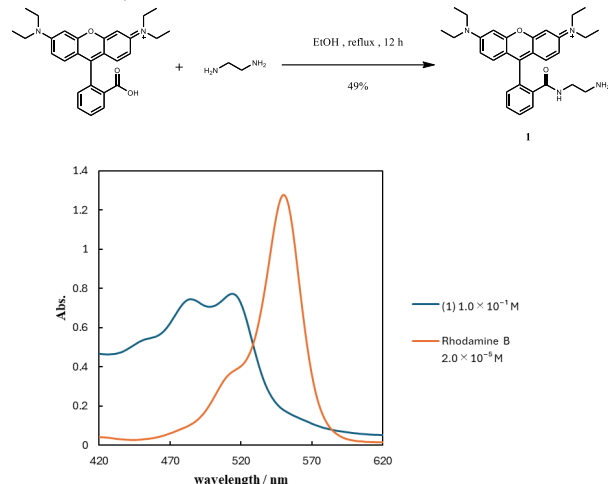


Figure 1. ローダミンBと化合物1の吸光度

ローダミンBと化合物1は同じキサンテン系骨格を持っているはずであるが全く異なる吸収波形を示した(Figure 1)。また、化合物1はローダミンBの約1/10,000の吸光度しか示さない。この吸収波形や吸光度の違いは化合物1の互変異体によるものだと考えられる(Figure 2)。

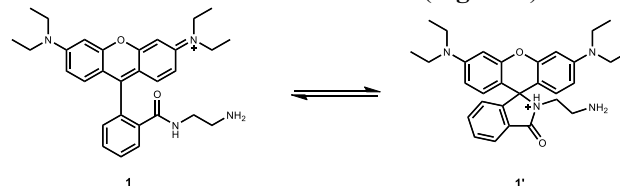


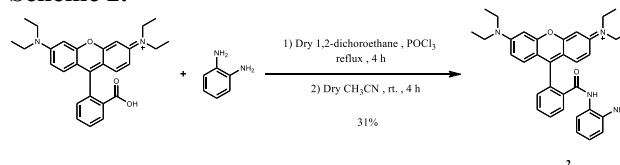
Figure 2. 化合物1の互変異性体

化合物1の互変異性体である1'はスピロラクタム構造になることを受けて蛍光強度や吸収波形が影響すると考えられる。よって、本研究ではリンカーをフェニレンジアミンに変えることで蛍光強度を維持したローダミンBの合成を行う。またシクロオクチンをリンカーに持つローダミンBの合成も行うことで生体内でのクリック反応に応用できる色素の合成が期待される。

## 2. 実験

## 2-1-1 フェニレンジアミンをリンカーとしたローダミンBの合成

Scheme 2.



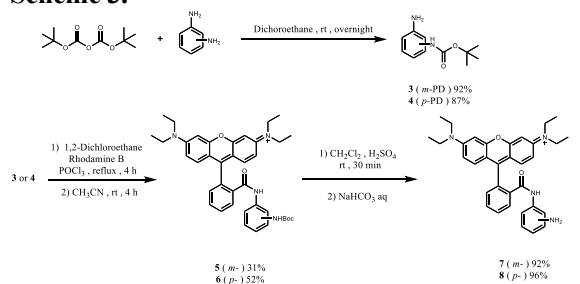
ローダミンBと塩化ホスホリルを窒素雰囲気下、1,2-ジクロロエタン中で4時間還流し塩化アシルを経由させた後、*o*-フェニレンジアミンを加え窒素雰囲気下、アセトニトリル中で4時間攪拌した(Scheme 2)<sup>3)</sup>。

2-1-2 *m*-及び、*p*-フェニレンジアミンをリンカーとしたローダミンBの合成

## Synthesis and Optical Properties of Rhodamine Dyes Utilizing Phenylenediamine as a Linker

Kosuke HIRATA, Hayato ICHIKAWA

### Scheme 3.



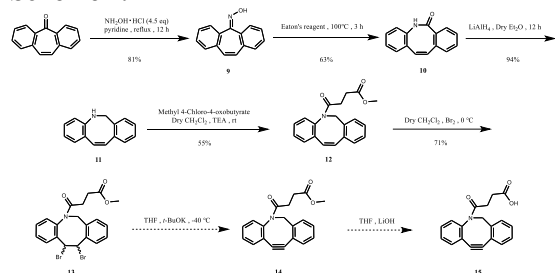
*m*-及び、*p*-フェニレンジアミンをBoc保護し、これをリンカーとしたローダミンBを合成し、硫酸酸性化で脱保護した(Scheme 3)<sup>4)</sup>。

#### 2-1-3 吸光度及び蛍光測定

クロロホルムを溶媒とし、合成したフェニレンジアミンをリンカーとするローダミンBについて吸光度及び蛍光測定を行った。

#### 2-2 シクロオクチン構造を持つリンカーの合成

### Scheme 4.



ジベンゾスベレノンからオキシム9を合成し、ベックマン転位によりラクタム10を得た。これを、LAHを用い還元しアミン11を得た後、4-クロロ-4-オキシ酪酸メチルを結合させ化合物12を得た。続けて臭素付加を行い化合物13を得た。(Scheme 4)<sup>5,6)</sup>。

### 3. 結果及び考察

#### 3-1 フェニレンジアミンをリンカーとしたローダミンBの合成と光学特性評価

*o*-フェニレンジアミンをリンカーとした場合はScheme 2で示した方法で化合物2を得ることができた。しかし、*m*-フェニレンジアミンをリンカーとした場合は反対側にローダミンBが結合した化合物しか単離できなかったため、Boc保護を経由することで化合物7,8を得た。吸光度及び蛍光測定結果より化合物2はローダミンBとほとんど同じ濃度より共役構造を維持した状態であると考えられる。また、化合物7の場合は化合物1に比べ吸光度が若干改善されたが、多くはスピロラクタム構造となっていることが示唆される。また、化合物8は濃度を高くしても吸光度がLambert-Beerの法則に従わないことから、ほとんどがスピロラクタム構造となっていることが考えられる。このような光学

特性の違いは位置異性体による立体障害が影響していることが示唆される。

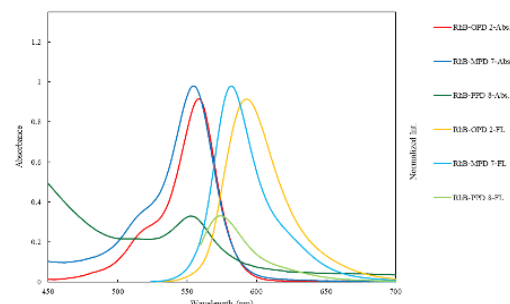


Figure 3. フェニレンジアミンをリンカーとするローダミンBの吸光度及び蛍光の違い

Table 1. フェニレンジアミンをリンカーとするローダミンBの吸光度及び蛍光測定結果

Dye	Concentration (M)	$\lambda$ max (=Ex) (nm)	Abs.	Em (nm)
Rhodamine B	$2.00 \times 10^{-5}$	550	1.28	580
2( <i>o</i> -)	$1.90 \times 10^{-5}$	558	0.92	593
7( <i>m</i> -)	$1.69 \times 10^{-5}$	554	0.98	582
8( <i>p</i> -)	$4.89 \times 10^{-2}$	553	0.33	574

#### 3-2 シクロオクチン構造を持つリンカーの合成

ベックマン転位の際、シアヌル酸クロリドでは反応が進行しなかったため、イートン試薬を用いた方法でラクタム10を得た。

### 4. 今後の展望

#### 4-1 フェニレンジアミンをリンカーとしたローダミンBの酸性条件下での光学特性評価

#### 4-2 *t*-BuOKを用いた臭素の脱離反応によるシクロオクチン14の合成を目指す。

### 「参考文献」

- 浦逸史, 鈴木悠記. “アクティベータブル蛍光プローブの研究開発から、がん診断への応用まで”, 化学同人, 京都, 2021, 40, p. 116~121.
- Agard, N. J.; Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15046.
- Hu, Y.; Chen, L.; Jung, H.; Zeng, Y.; Lee, S.; Swamy, K. M. K.; Zhou, X.; Kim, M. H.; Yoon, J. *ACS Appl.* **2016**, 8, 22246-22252.
- Chu-Farseeva, Y. Y.; Mustafa, N.; Poulsen, A.; Tan, E. C.; Yen, J. J. Y.; Chng, W. J.; Dymock, B. W. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 158, 593-619.
- Campbell-Verduyn, L. S.; Mirfeizi, L.; Schoonen, A. K.; Dierckx, R. A.; Elsinga, P. H.; Feringa, B. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 11117-11120.
- Murrell, E.; Kovacs, M. S.; Luyt, L. G. *ChemMedChem.* **2018**, 13, 1625-1628.