# アザアントラセンの特性を活かした有機小分子蛍光プローブ開発

就実大学薬学部　講師　山本 浩司

## 1. はじめに

細胞内における生体分子の挙動や機能を直接可視化する蛍光プローブが注目を集めている．これまでのプローブ群の検出原理として，エネルギー移動や蛍光消光がよく利用されている．これらと異なる検出原理を用いた蛍光色素には，「これまで見えなかった生体現象を可視化できる」可能性があり，新現象の発見が期待される．また，近赤外光（650-900 nm）は生体透過率が高いことから，近赤外蛍光色素は，生体組織を非浸潤的にリアルタイムで観察できる生体プローブに適する．したがって，これらの要請を満たす蛍光色素の開発は，生命現象の解析や病態要因の解明に貢献する．

蛍光色素として，BODIPY などに代表されるホウ素錯体に着目した[1][2][3][4][5]．ホウ素錯体は，高い蛍光量子収率を示し，代表的な蛍光色素として注目を集めている．カルバゾールの 1 位にピリジンが置換したホウ素錯体 **1a** は高い蛍光量子収率と大きなストークスシフトを示すことから，新たな蛍光色素として関心がもたれている[6]．**1a** が 2 つ連結したような錯体の合成と物性の報告もされているが，これまでに **1a** のカルバゾール部位やピリジン部位を種々の芳香環で置き換えた $BF_2$ 錯体を合成し，各部位の構造が物性に与える効果を系統的に検討した例はない．

カルバゾールはアザアントラセン，ピリジンはアジンの一種であることから，**1a** はアザアントラセン-アジン $BF_2$ 錯体の一種とみなすことができる．本研究の目的は，新たな蛍光色素群であるアザアントラセン-アジン $BF_2$ 錯体の構造化学を解明するとともに，酸化イベントや粘度変化などに応答する近赤外蛍光色素を開発することである（Fig. 1）．

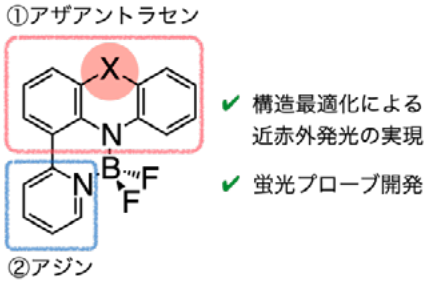


**Fig. 1**　アザアントラセン-アジン $BF_2$ 錯体の構造

アザアントラセンとアジンの組み合わせにより色素の電子状態を制御し，各誘導体の UV-vis，蛍光，蛍光量子収率，Stokes シフトの大小といった光学特性を評価し，アザアントラセン-アジン $BF_2$ 錯体の構造と物性の相関を解明することを目指した．また，アザアントラセンの中央六員環の反応性および動的挙動を検出原理とするプローブ分子を探索した．

## 2. 結果と考察

### 2.1. 化合物の合成

まず，**1a** のカルバゾール部位を種々のアザアントラセン，すなわち，フェノチアジン，ジヒドロアクリジン，アクリドンに置き換えた $BF_2$ 錯体 **2a**, **3**, **4** に加えて，**2a** の硫黄原子を酸化したモノオキシド **2b**，ジオキシド **2c** を合成した（Fig. 2）．

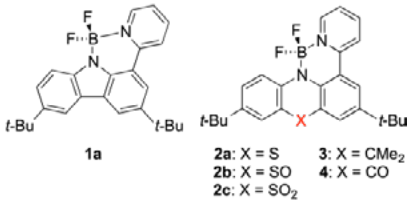


**Fig. 2**　$BF_2$ 錯体 **1**－**4** の構造

錯体 **2**－**4** の合成を以下に示す（Fig. 3）.

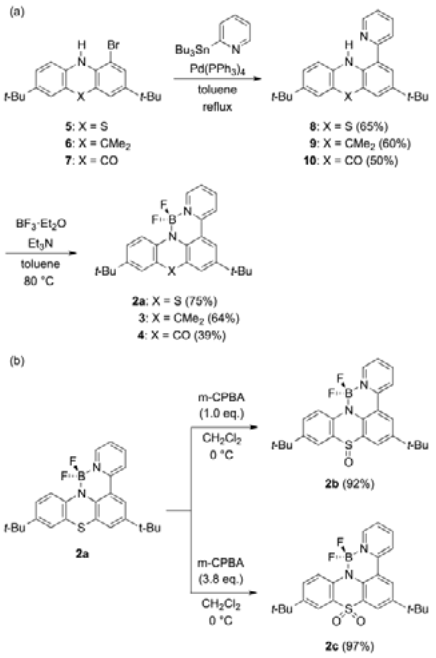


**Fig. 3**　$BF_2$ 錯体 **2**－**4** の合成

モノブロモ体 **5**－**7** に 2-（トリブチルスタニル）ピリジンを 0 価パラジウム触媒存在下作用させることで対応する配位子 **8**－**10** を合成し，さらにホウ素化することで $BF_2$ 錯体 **2a**, **3**, **4** を得た．さらに，**2a** に対して 1.0 当量の *m*-CPBA を作用させることで，**2b** を得た．また，**2a** に対して過剰量の *m*-CPBA を作用させることで，**2c** を得た．

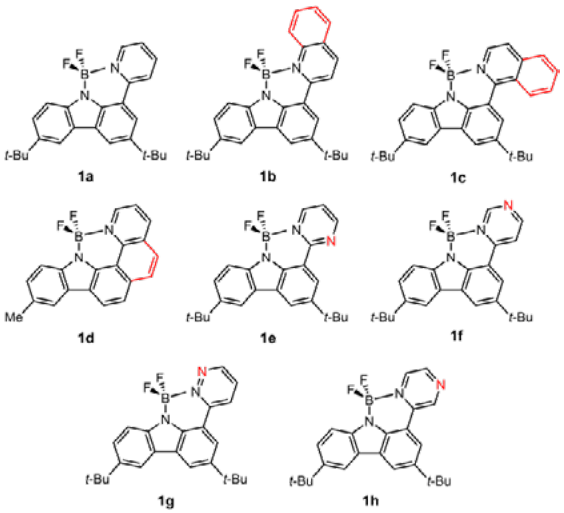


**Fig. 4**　$BF_2$ 錯体 **1a**－**1h** の構造

次に，**1a** のピリジン部位を種々のアジン環に置き換えた錯体，すなわち，**1a** のピリジン環にベンゼン環が縮環した **1b**（キノリン），**1c**（イソキノンリン），ピリジン環とカルバゾールとの間にベンゼン環が縮環した **1d**，また，ピリジン環をピリミジン環に置き換えた **1e**, **1f**，ピリダジン環に置き換えた **1g**，ピラジン環に置き換えた **1h** を合成した（Fig. 4）.

錯体 **1b**, **1c** および **1e**－**1h** は共通の中間体であるボロン酸エステル **11** から合成した（Fig. 5）.

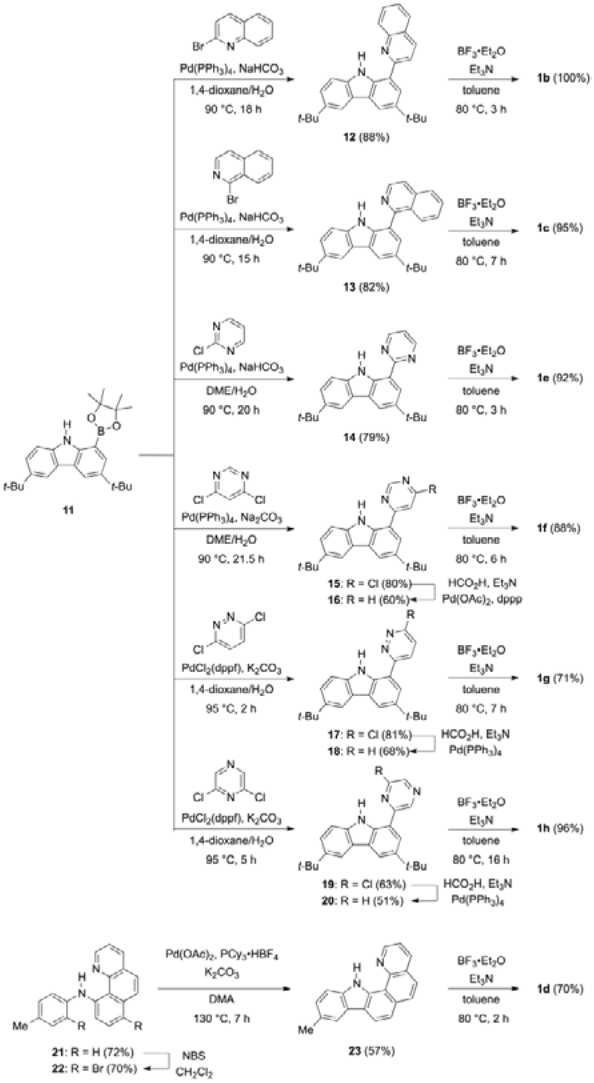


**Fig. 5**　$BF_2$ 錯体 **1b**－**1h** の合成

**2** と 2-ブロモキノリン，1-ブロモイソキノリン，2-クロロピリミジン，4,6-ジクロロピリミジン，

3,6-ジクロロピリダジン，2,6-ジクロロピラジンとの鈴木宮浦反応により，化合物 **12**, **13**, **14**, **15**, **17**, **19** を得た．得られた **15**, **17**, **19** を水素化することで脱塩素化し，**16**, **18**, **20** に導いた．配位子 **12**, **13**, **14**, **16**, **18**, **20** を $BF_3$•$Et_2O$ で処理することで錯体 **1b**, **1c** および **1e**－**1h** を得た．完全に縮環した **1d** は **21** のジブロモ化，分子内環化および脱ブロモ化，錯形成により合成した．

得られた錯体の構造は各種スペクトル測定により確認した．**2a**, **2b**, **2c**, **3**, **4**, **1b**－**1d**, **1f**, **1g** については良質な単結晶が得られ，X 線構造解析にも成功した．

## 2.2. 錯体 2–4 の光物理的性質

得られた $BF_2$ 錯体 **2a**, **3**, **4** の紫外可視吸収および蛍光スペクトルをジクロロメタン中で測定した．これらのスペクトルを Fig. 6 に **1a** の結果とともに示す．

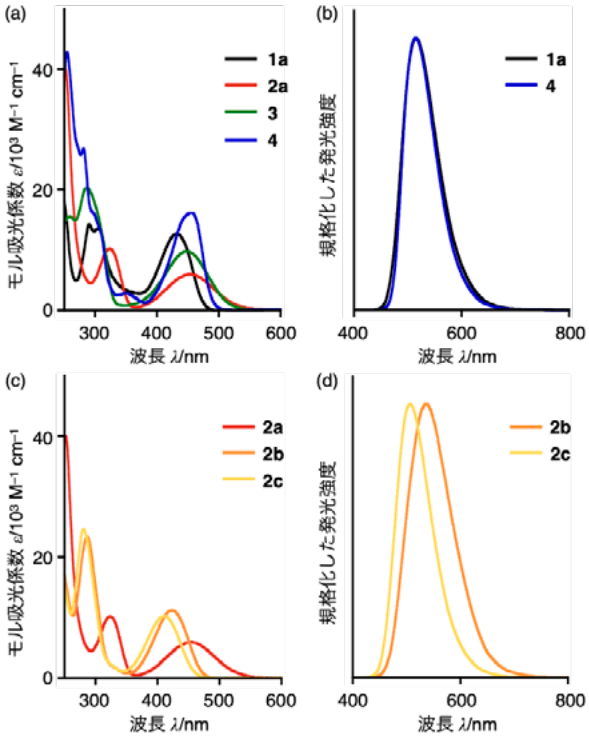


**Fig. 6**　$BF_2$ 錯体 **2**－**4** の吸収（a, c）および蛍光スペクトル（b, d）（ジクロロメタン中）

これらの比較により，アザアントラセン部位の構造が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした．

吸収スペクトルにおいて，フェノチアジンを有する **2a**，ジヒドロアクリジンを有する **3**，アクリドンを有する **4** の最長極大吸収波長 $\lambda_{max}$ はいずれもカルバゾールを有する **1a** と比較して長波長シフトし，**1a** < **3** < **2a** < **4** の順に長波長側に観測された（**1a**: 433 nm, **2a**: 454 nm, **3**: 448 nm, **4**: 456 nm）．蛍光について，**2a** と **3** の蛍光量子収率 $\Phi_f$ は約 0.01 でほぼ消光したのに対し，**4** では **1** と比較して増加した（**1a**: 0.52, **4**: 0.64）．**4** の蛍光波長 $\lambda_{em}$ は **1a** と同程度であり（**1a**: 517 nm, **4**: 516 nm），**4** のストークスシフト $\Delta\nu$ は **1a** と比較して減少した（**1a**: 3750 $cm^{-1}$, **4**: 2550 $cm^{-1}$）．

次に，**2a** のフェノチアジン硫黄原子を酸化したモノオキシド **2b** およびジオキシド **2c** を比較し，フェノチアジン硫黄原子の酸化が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした．

吸収スペクトルにおいて，**2b** の $\lambda_{max}$ は酸化前の **2a** と比較して大きく短波長シフトし，**2c** ではさらに短波長シフトした（**2a**: 454 nm, **2b**: 423 nm, **2c**: 411 nm）．蛍光について，酸化前の **2a** の蛍光はほぼ消光したのに対して，**2b** の $\Phi_f$ は 0.35 に増加し，**2c** では，さらに増加し 0.76 となった．**2c** の $\Phi_f$ が **2b** より増加したのは，**2c** の無放射速度定数 $k_{nr}$ が **2b** の約 1/5 であることに起因する．**2c** の $\lambda_{em}$ は **2b** に比べて短波長シフトした（**2b**: 535 nm, **2c**: 507 nm）．なお，**2b** および **2c** の $\Delta\nu$ は大きい（**2b**: 4950 $cm^{-1}$, **2c**: 4610 $cm^{-1}$）．これは，フェノチアジン骨格が柔軟であり，励起状態において容易に構造変化するためと考えられる．さらに，酸化により $\Phi_f$ が向上することから，酸化プローブとしての応用が期待できる．

固体状態の蛍光発光についても検討した（Fig.

7）．溶液中とは異なり，**2a** および **3** を含むすべての錯体が蛍光を示した．固体状態における **2b**, **2c**, **4** の$\lambda_{em}$は溶液中に比べて短波長シフトした．これは，固体状態では励起状態の構造緩和が制限されているためと考えられる．**2a**, **2b**, **3** の$\Phi_f$が固体状態で高くなった．特にジヒドロアクリジンを有する **3** では 0.61 にも達した．

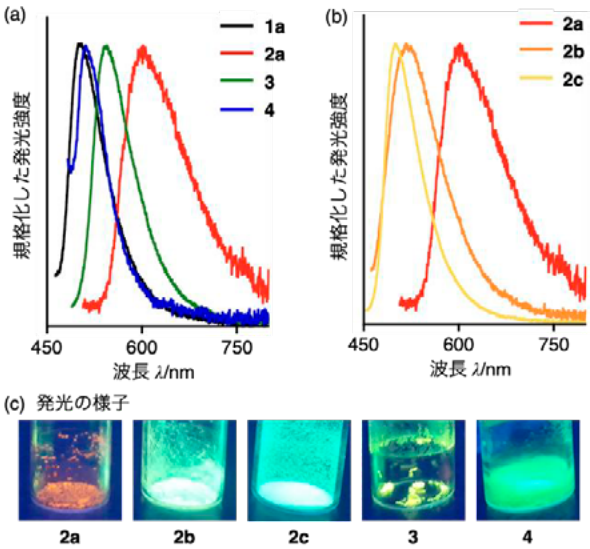


**Fig. 7**　$BF_2$錯体 **2**－**4** の固体発光スペクトル（a, b）および発光の写真（c）

## 2.3. 錯体 1b–1h の光物理的性質

次に，アジン部位の構造が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした．**1b**－**1h** の紫外可視吸収および蛍光スペクトル（ジクロロメタン中）を Fig. 8 に **1a** の結果とともに示す．

**1b**－**1d** と **1a** の比較より，**1a** のピリジン環におけるベンゼン環の縮環位置と縮環様式の違いが，光物理的性質に与える効果を明らかにした．吸収スペクトルにおいて，**1b**－**1d** の$\lambda_{max}$はいずれも **1a** と比較して長波長側に観測された．これは，ベンゼン環の縮環による π 共役系の拡張を示している．$\lambda_{max}$は **1d** < **1c** < **1b** の順に長波長側に観測された．蛍光スペクトルにおいて，$\lambda_{em}$は **1d** < **1c** < **1b** の順に長波長側に観測され，$\lambda_{max}$の順序と一致した．**1b**－**1d** のストークスシフトはいずれも **1a** と同程度であった．**1b**－**1d** の$\Phi_f$は **1a** と比較して低下した．

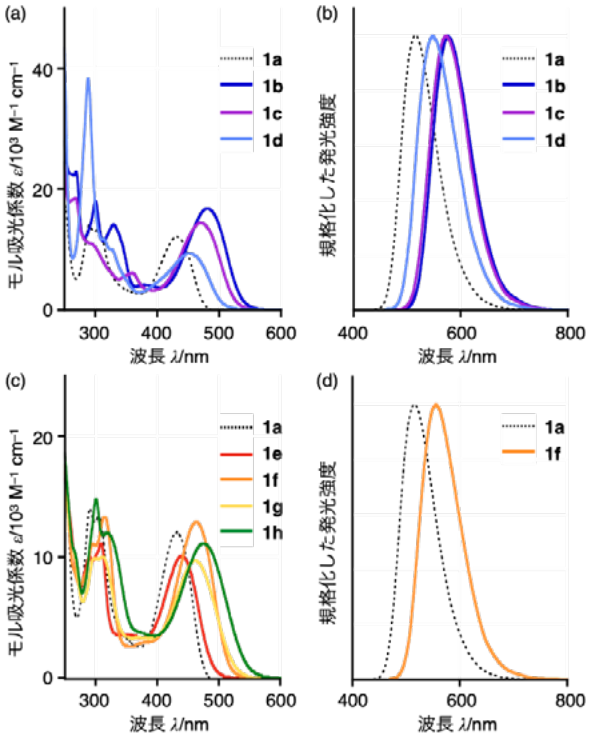


**Fig. 8**　$BF_2$錯体 **1b**－**1h** の吸収（a, c）および蛍光スペクトル（b, d）（ジクロロメタン中）

**1e**－**1h** と **1a** の比較より，**1a** のピリジン環における窒素原子の数および置換位置の違いが，光物理的性質に与える効果を明らかにした．吸収スペクトルにおいて，**1e**－**1h** の$\lambda_{max}$はいずれも **1a** より長波長側に観測され，ピラジン環を有する **1h** で最も長波長側となった．蛍光について，**1e**－**1h** の$\Phi_f$は 1a に比べて低下し，特に **1e**, **1g**, **1h** での低下が顕著であり，約 0.01 でほぼ消光した．**1f** について，$\lambda_{em}$は$\lambda_{max}$と同様に **1a** に比べて長波長側に観測され，ストークスシフトは **1a** と同程度であった．

錯体 **2**－**4** と同様に，固体状態の蛍光発光についても興味がもたれた（Fig. 9）．

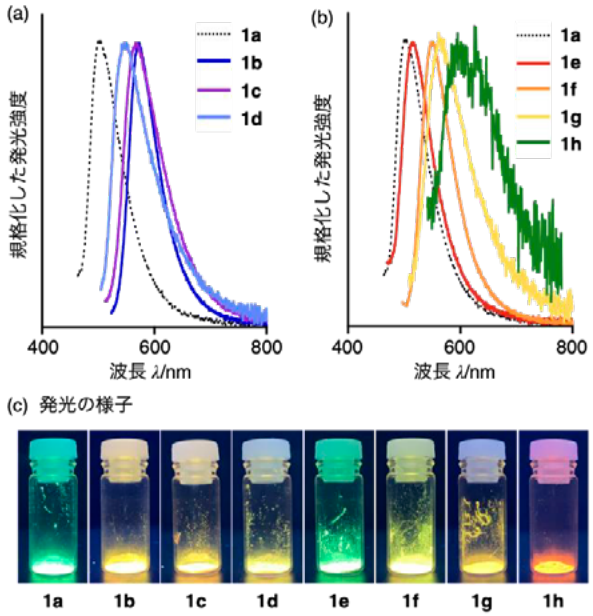


**Fig. 9**　$BF_2$錯体 **2**－**4** の固体発光スペクトル（a, b）および発光の写真（c）

この場合も，溶液中とは異なり，**1e**, **1g** および **1h** を含むすべての錯体が蛍光を示した．**1a** の固体状態における $\Phi_f$ は，溶液中と比較して低下した．これは，分子同士の凝集による消光と考えられる．一方，**1b**, **1d**－**1h** の固体状態の $\Phi_f$ は溶液中よりも向上した．これは分子同士の凝集において，分子内振動が抑制され，無放射失活が起こりにくくなったためと考えられる．固体状態における $\lambda_{em}$ は，いずれも溶液中に比べて短波長シフトした．このように，固体状態で $\Phi_f$ が向上する凝集誘起発光は環境変化の検出に有用な性質である．

## 3. 結論

本研究では，錯体 **2**－**4** および **1b**－**1h** を系統的に合成し，新たな蛍光色素群であるアザアントラセン-アジン $BF_2$ 錯体の構造が光物理的性質に及ぼす効果を解明した．また，**2a** の硫黄原子を酸化し，**2b** または **2c** とすることで光学特性が大きく変化すること，また，上記の化合物群では多くの場合に固体状態で蛍光量子収率が向上することから，アザアントラセンの中央六員環の反応性および錯体の動的挙動を検出原理とするプローブ分子の開発のための萌芽的知見を得ることができた．

## 4. 参考文献

[1] Loudet A.; Burgess K.; BODIPY Dyes and Their Derivatives: Synthesis and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **107**, (2007), 4891-4932.

[2] Boens N.; Leen V.; Dehaen W.; Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chem. Soc. Rev.* **41**, (2012), 1130-1172.

[3] Kamkaew A.; Lim S. H.; Lee H. B.; Kiew L. V.; Chung, L. Y.; Burgess, K.; BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **42**, (2013), 77-88.

[4] Lu H.; Mack J.; Yang Y.; Shen Z.; Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs. *Chem. Soc. Rev.* **43**, (2014), 4778-4823.

[5] Kowada T.; Maeda H.; Kikuchi K.; BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells. *Chem. Soc. Rev.* **44**, (2015), 4953-4972.

[6] Araneda J. F.; Piers W. E.; Heyne B.; Parvez M.; McDonald R.; High Stokes Shift Anilido-Pyridine Boron Difluoride Dyes. *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, (2011), 12214-12217.

## 5. その他成果発表等

・ Yamamoto K.;* Imai W.; Kanamori S.; Yamamoto K.; Nakamura Y.;* Phenothiazine-, Dihydroacridine-, and Acridone-Based Boron Difluoride Complexes: Synthesis and Structure–

Property Relationships, *J. Org. Chem.* **88**, (2023), 4003-4007.

- Yamamoto K.;* Matsui S.; Kato S.-i.; Nakamura Y.;* A Series of Boron Difluoride Complexes of Azinylcarbazoles: Synthesis and Structure–Property Relationships, *Org. Biomol. Chem.* **21**, (2023), 5398-5405.

## 6. 謝辞

本研究は，島津科学技術振興財団の助成金により，行われたものです．研究室の立ち上げ，特に合成実験設備の整備に大いに役立てさせていただきました．本研究を遂行し，今後の研究展開に重要な基礎的知見を得ることができました．心より感謝申し上げます．