

**ポルフィリノイドの光線力学的活性
と光細胞毒性**

**The photodynamic activity and
photocytotoxicity of porphyrinoids**

2019 年 3 月

藤城 零

島根大学大学院 総合理工学研究科

目次

緒言	p 1
1 カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性	p 11
2 Subphthalocyanine 多量体の合成と一重項酸素発生能	p 44
3 長方形の分子構造を有する Porphyrinoid 誘導体の 合成と一重項酸素発生能	p 71
4 Phenyl carboxyl 基の導入された Phthalocyanine の 結晶構造の解析	p 92
本研究のまとめ	p 103
実験項	p 106
研究業績	p 114
謝辞	p 121

緒言

Porphyrinoid とは

Porphyrinoid とは、20 個の C 原子と 4 個の N 原子で構成される Porphyrin 環や Porphyrin 環に類似した分子骨格を有する化合物群を示す名称であり、Porphyrinoid に関する研究を専門的に扱った学術誌の発刊や、学会の開催も行われており、非常に活発に研究が行われている分野である。^[1-3] **Figure 1** に、Porphyrinoid に属する化合物の一部を示す。

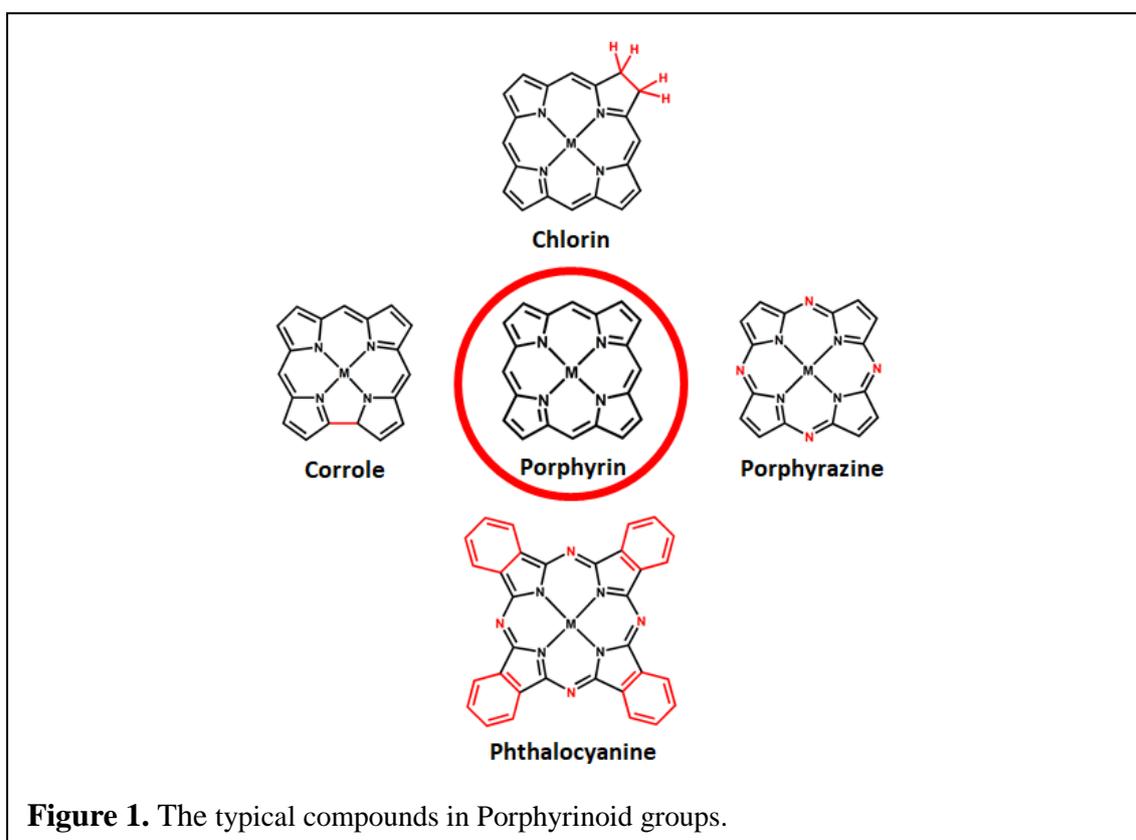


Figure 1. The typical compounds in Porphyrinoid groups.

Porphyrinoid の中心化合物である Porphyrin は、4 つの Pyrrole ユニットと 4 つの Aldehyde ユニットからなる環状化合物である。我々にとって、最も身近な Porphyrinoid は、赤血球の中に存在する Hemoglobin や、筋肉中に存在する Myoglobin である。Hemoglobin と Myoglobin は、Fe イオンが挿入された Porphyrin 誘導体で、酸素輸送や酸素貯蔵の機能を有する Heme タンパク質である。^[4, 5] また、Porphyrin の meso 位が 1 か

所、縮環し、19 個の C 原子と 4 個の N 原子で構成される中心骨格を有する Corrole は、ビタミン B₁₂ として知られる Cobalamin 化合物の基礎骨格内に還元体の形で存在している。^[6,7] Porphyrin の β -Pyrrole が還元された Chlorin の Mg 錯体は、Chlorophyll と呼ばれ、植物の葉緑体内に存在し、光合成における光捕集アンテナとしての役割を有している。^[8,9] Porphyrinoid は、天然物に由来するものも多いが、人工的な化合物もあり、Porphyrin の meso 位が、N 原子に置換され、 β 位に 4 つの Benzene 環が縮環している Tetrabenzotetraazaporphyrin は、Phthalocyanine の名称で広く知られた人工化合物であり、青色の色素材料として、伝統的に使用されてきた。^[10,11] また、Porphyrin の meso 位が、N 原子に置換された Porphyrazine は、Porphyrin と Phthalocyanine の両方の光学特性を併せ持ったような性質を示す。^[12, 13] 紹介した化合物以外にも、Porphyrinoid に属する化合物は、数多く存在し、現在でも、多くの科学者によって、研究され続けている。^[14-18]

その中でも、Porphyrin と Phthalocyanine は、同じ 18 π 電子系を有しているにも関わらず、分光学的性質に大きな違いを持つことから、たびたび比較される化合物である。Porphyrin は、Soret band と呼ばれる吸収帯を、350 - 400 nm 付近に持ち、赤～紫色を示す。一方で、Phthalocyanine は、Q-band と呼ばれる、モル吸光係数 ($\epsilon=10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) の大きな吸収帯を、近赤外領域である 670 - 700 nm 付近に有しており、青～緑色を呈色する。^[1,2] 両者の分光学的性質の差は、フロンティア軌道の違いによるものであるとされており、Porphyrin は、Gouterman の 4 軌道モデルを満たし、縮退した 2 つの LUMO と縮退した 2 つの HOMO (a_{1u} , a_{2u}) を有するのに対して、Phthalocyanine の HOMO は、meso 位への N 原子の導入のために、 a_{2u} 軌道が安定化し、HOMO の縮退が解け、HOMO (a_{1u}) と縮退した 2 つの LUMO によって、フロンティア軌道が形成されている。^[2, 19]

また、Porphyrin と Phthalocyanine は、分光学的性質のみならず、立体構造やその溶解性においても、非常に大きな違いを有している。Phthalocyanine は、環構造の歪みが小さな平面性の高い中心環を有しているため、溶液への溶解度が低く、溶解しても、容易

に会合体を形成することが知られている。一方で、Porphyrin 環は、置換基の導入により、meso 位が大きく歪んだ ruffle 構造、 β 位が大きく歪んだ saddle 構造を取ることが知られており、Porphyrin 環の柔軟さは、Porphyrin の溶解性の向上、溶液状態での会合体の形成の阻害に大きな影響を有している。[1, 2, 20]

本研究では、Phthalocyanine やその類縁体である Subphthalocyanine をはじめとする魅力的な吸収特性を有する Porphyrinoid を、光線力学治療用の光増感剤へと応用することを目的として実験を行い、その結果をまとめた。

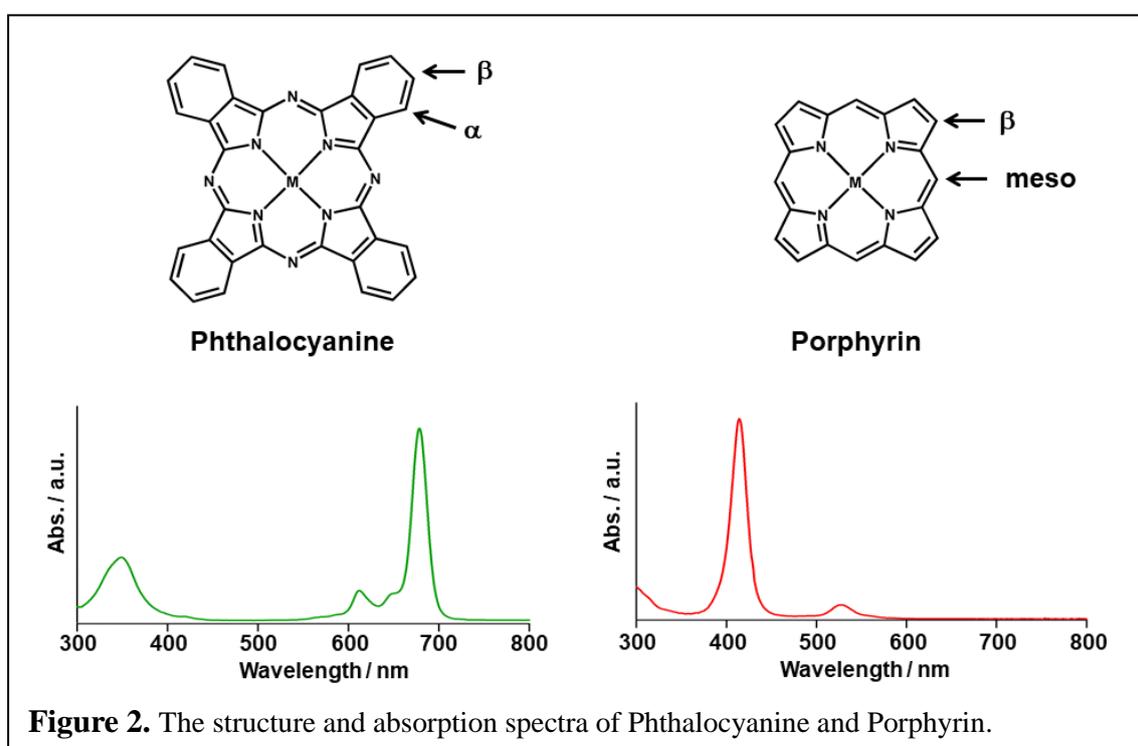
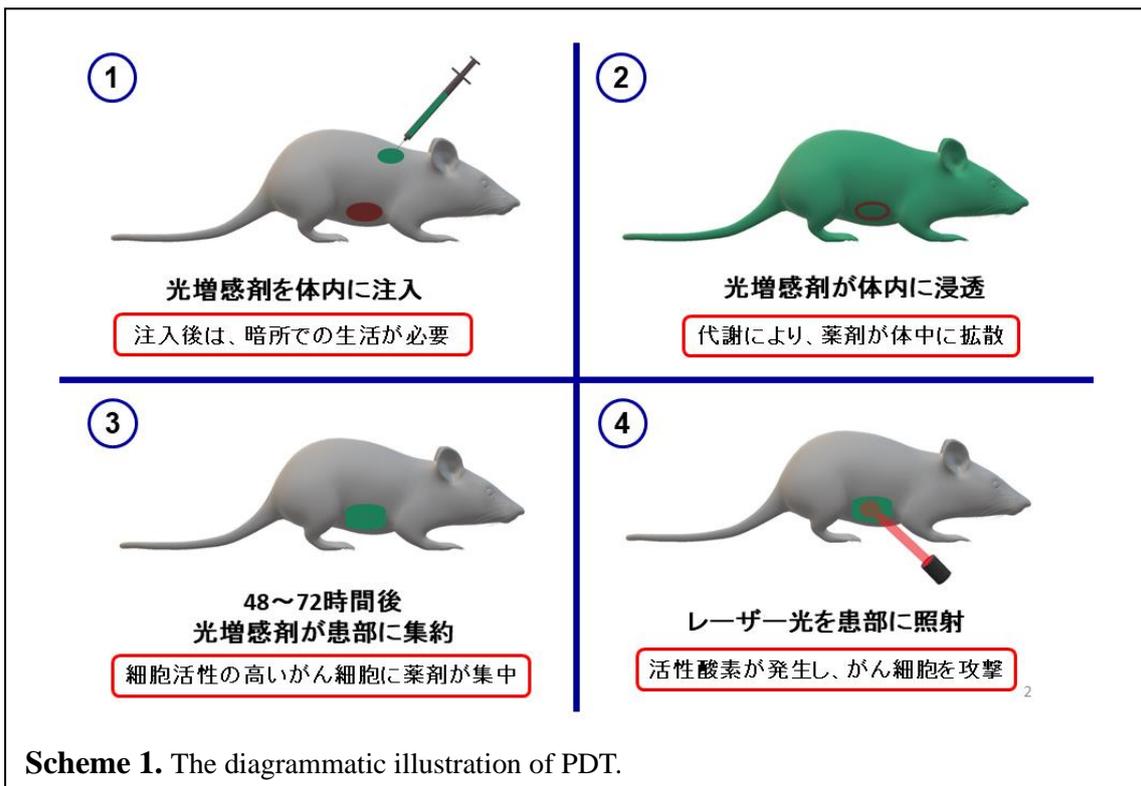


Figure 2. The structure and absorption spectra of Phthalocyanine and Porphyrin.

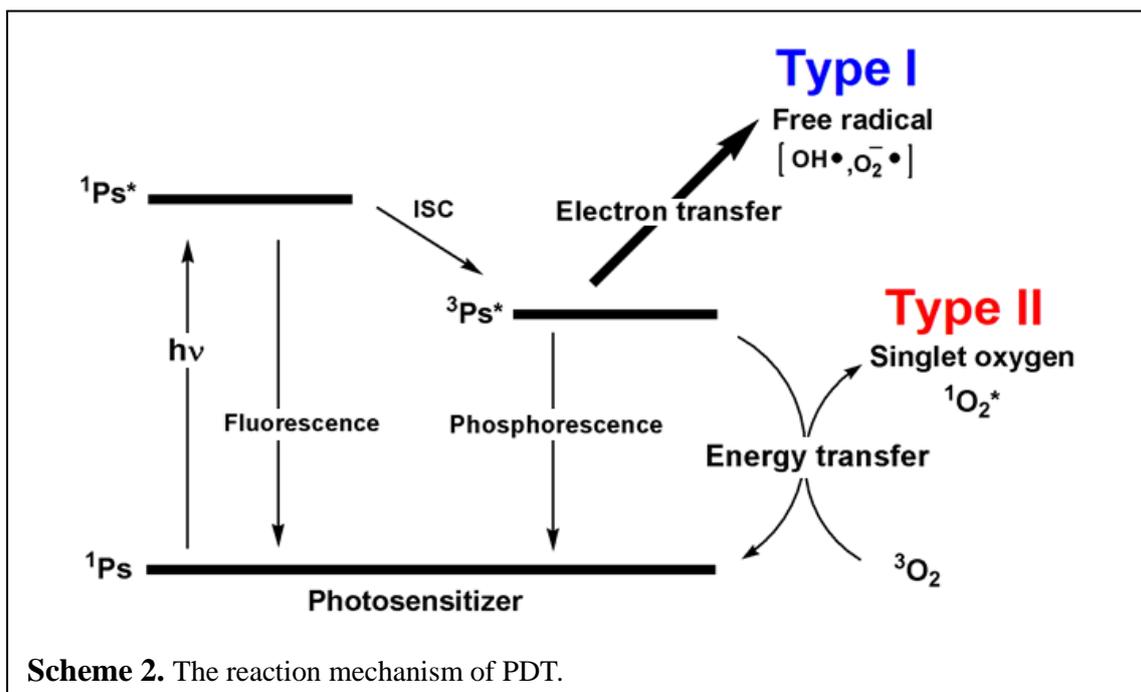
Photodynamic therapy とは

光線力学的治療 (photodynamic therapy, PDT) の歴史は、1900 年に、O. Raab's が、Aridine と光の組み合わせが、ゾウリムシに対して、毒性を持つことを発見したことから始まったとされる。[21] PDT の手順を簡単に記載すると、腫瘍組織や新生血管へ選択的に堆積する性質を持った光増感剤 (Photosensitizer) が患者の静脈から投与され、代謝によって

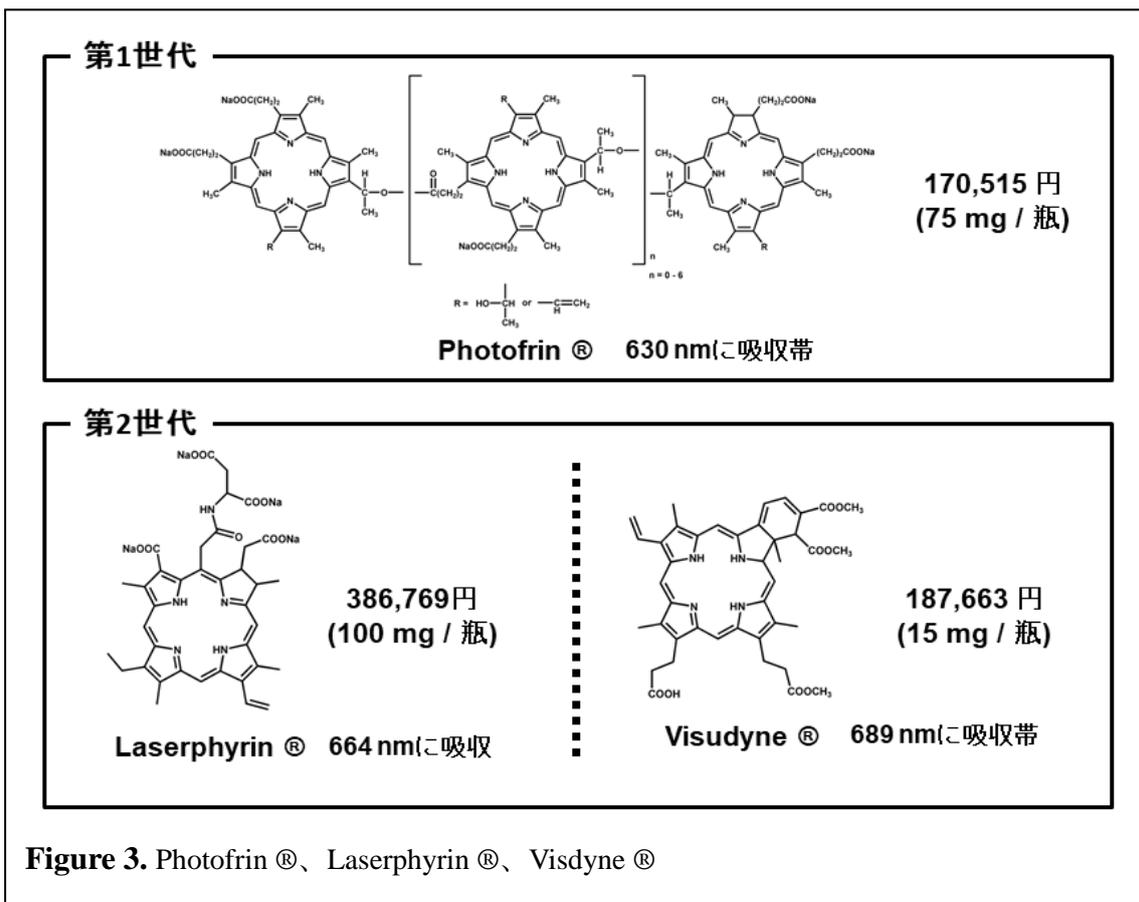
全身へと循環し、腫瘍組織に堆積するまで待つ。その後、光増感剤の堆積した腫瘍組織へレーザー光を照射する。レーザー光の照射を受けると、光増感剤の光励起を起点とする一連の光化学反応が生じ、高い酸化力を持った活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) が腫瘍細胞内で発生する。発生した活性酸素種の細胞への酸化的なダメージによって、腫瘍組織を変性・壊死させ、がんを治療する。Scheme 1に、PDTの概略図を示す。PDTでは、これまでのがん治療で行われてきた切開や臓器の摘出といった外科的手術や、正常細胞をも死滅させてしまうような強力な抗がん剤を用いた投薬治療を必要とせず、光増感剤の事前投与とレーザー光の局所照射によって、がん病巣を選択的に治療することができるため、患者の負担の小さな治療（低侵襲治療）であるとされ、現在でも熱心に研究され続けている分野であり、更なる発展を期待される分野でもある。^[22-25]



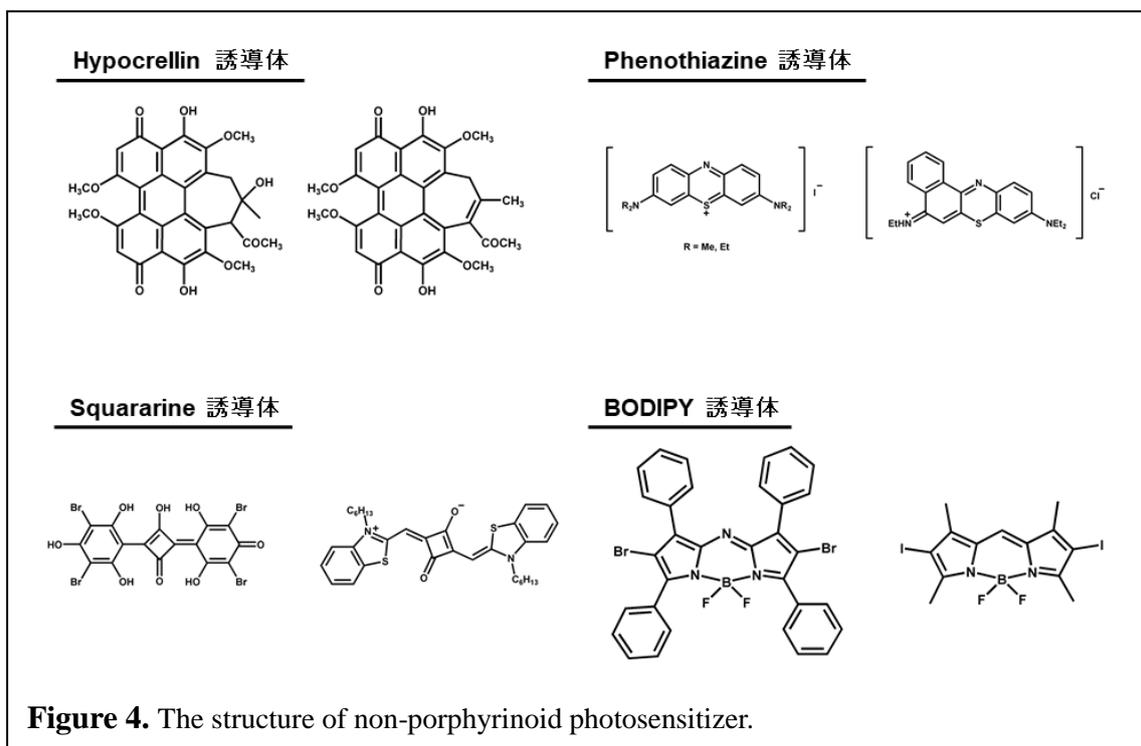
PDT で生じる一連の光反応の経路を **Scheme 2** に示す。PDT の光反応経路では、光の照射によって、光増感剤が一重項励起状態 (S_1) へと励起される。 S_1 状態の光増感剤は、項間交差 (Inter system crossing, ISC) により、三重項励起状態 (T_1) へと遷移する。 T_1 状態の光増感剤と系内の O_2 分子の衝突を伴った電子交換やエネルギー交換により、細胞毒性の高い活性酸素種が生成される。PDT の光反応の結果として生成された活性酸素種による腫瘍細胞の DNA への酸化的ダメージは、腫瘍細胞をアポトーシス (apoptosis) に導き、死滅させる。また、反応系中で、 T_1 状態へと遷移しなかった S_1 状態の光増感剤は、蛍光を発する放射過程、または、分子の運動エネルギー等を経由して、光の放射を伴わずに消光する無輻射過程を経て、急速に失活するため、PDT 反応に関与することはないとされている。そのため、PDT では、 T_1 状態の光増感剤が、非常に大きな役割を担っている。また、PDT の光反応経路は、一連の光反応の結果として生じる活性酸素種の種類によって、2 つのタイプに大別される。Type I の反応経路では、Hydroxyl radical ($OH\cdot$) や Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) といったフリーラジカルを生成し、Type II の反応経路では、一重項酸素 (singlet oxygen, 1O_2) を生成する。[22, 26, 27]



現在、臨床治療の現場では、Porphyrin 誘導体由来の光増感剤が主に使用されており、その中でも、**Figure 3** に示される Photofrin[®]、Laserphyrin[®]、Visdyne[®]は、日本でも販売されており、広く知られた Porphyrin 誘導体由来の光増感剤である。しかしながら、Porphyrin 誘導体由来の光増感剤は、生体透過率の高い近赤外領域（650 - 900 nm）の吸光度が本質的に小さいため、生体の奥深くに位置する腫瘍細胞内では、光増感剤の励起に必要となる光を十分に吸収できない。^[28-33] また、Photofrin[®]、Laserphyrin[®]、Visdyne[®]は、対称性の高い構造を持たないため、比較的、簡便に合成可能な対称性の高い誘導体と比べると、合成に伴うコストが上がり、結果として、治療費の高騰に繋がってしまう。



そのため、現在では、生体の奥深くでも効果的に機能することができるように、近赤外領域に大きな吸収帯を持った光増感剤の開発を目指し、**Figure 4** に示されるような Porphyrin 誘導体以外の化合物による光増感剤の合成も盛んに行われている。しかしながら、Hypocrellin 誘導体は、吸収帯の極大波長が近赤外領域まで達していないことや、Phenothiazine 誘導体は、光細胞毒性だけでなく暗所細胞毒性も同時に有するなど、臨床的に使用されるには、いくつかの課題が残されている。[34-51]



また、新規な光増感剤の開発には、以下に示す4つの要素が必要である。(1) 水溶性：成人男性の体重の約60%は、水を主成分とする体液であり、絶えず循環している。静脈から注入された光増感剤が運搬され、がん細胞へ集積するためには、体液とともに循環できる水溶性物質である必要がある。(2) 近赤外領域（生体の窓）の吸収：臨床現場で使用されている Porphyrin 誘導体由来の光増感剤は、生体透過率の高い近赤外領域の吸光度が小さいため、生体の奥深くでは光を十分に吸収できない。そのため、新規な光

増感剤には、生体透過率の高い領域に大きな吸光度を持った化合物の応用が期待される。

(3) 細胞毒性の光応答性：PDTの光増感剤には、正常細胞への毒性を持たず、がん細胞に対しても、暗条件では毒性を示さず、光を当てたときのみ、毒性が発揮されるような、光応答を有する細胞毒性が求められる。(4) 安価で簡便な合成：高価な試薬や複雑な合成を用いて、最高の性能を持つ光増感剤を得ることは、学術的には非常に意味のあることである。しかしながら、安価で簡便な合成による新規な光増感の開発は、「病気の治療薬」として広く使われるために、非常に重要な側面であるといえる。

そこで、本研究では、近赤外領域に吸収を持った Phthalocyanine や Subphthalocyanine 多量体、Porphyrinoid を連結した共役二量体を新規な光増感剤として応用することを目的とし、それらの合成を行い、得られた化合物の PDT 活性についての調査を行った。

References

- [1] The porphyrin hand book (Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard), Academic Press, San Diego, 2000.
- [2] Hand book of porphyrin science (Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard), World Scientific, Singapore, 2010.
- [3] B. Szyszko, M. J. Białek, E. Pacholska-Dudziak, and L. Latos-Grażyński, Chem. Rev., 117 (2017) 2839–2909.
- [4] B.D. Sidell, and K. M. O'Brien, J. Exp. Biol., 209 (2006) 1791-1802
- [5] G. A. Ordway, and D. J. Garry, J. Exp. Biol., 207 (2004) 3441-3446
- [6] B. Koszarna, and D. T. Gryko, J. Org. Chem. 71 (2006), 10, 3707-3717
- [7] S. J. Moore, and M. J. Warren, Biochem. Soc. Trans., 40 (2012), 3, 581-586.
- [8] J. Juselius, and D. Sundholm, Phys. Chem. Chem. Phys., 2 (2000) 2145-2151.
- [9] J. D. Spikes, J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 6 (1990), 3, 259–274.
- [10] H. J. Wagner, R. O. Loutfy, and C. Hsiao, J. Mater. Sci., 17 (1982), 10, 2781–2791.
- [11] V. N. Nemykin, and E. A. Lukyanets, Arkivoc., 1 (2010) 136-208.
- [12] A. Ghosh, J. Fitzgerald, P. G. Gassman, and J. Almlöf, Inorg. Chem., 33 (1994), 26, 6057-6060.
- [13] H. Miwa, K. Ishii, and N. Kobayashi, Chem. Eur. J., 10 (2004), 18, 4422–4435.
- [14] H. Furuta, H. Maeda, and A. Osuka, Chem. Commun., 2002 1795-1804.
- [15] P. A. Gale, P. Anzenbacher, and J. L. Sessler, Coord. Chem. Rev., 222 (2001) 57-102.

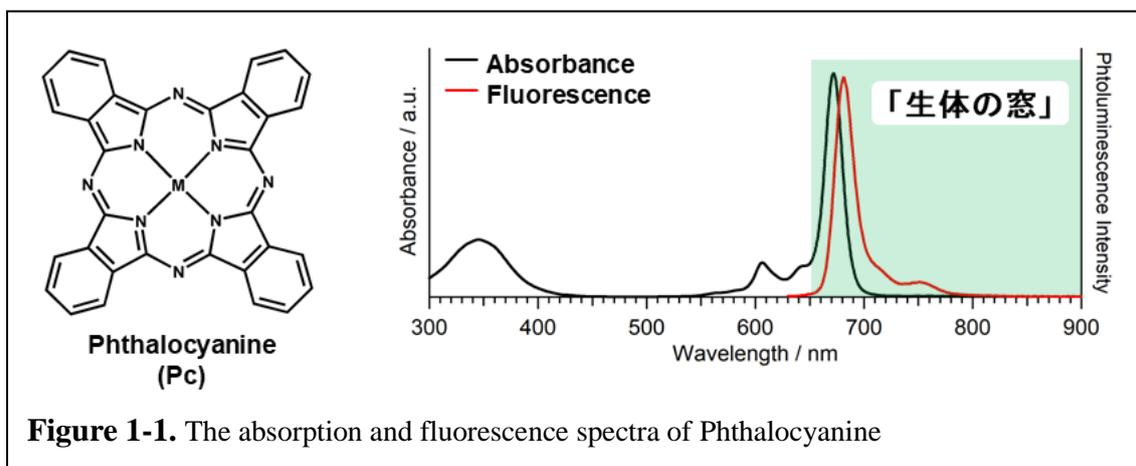
- [16] Y. Matano, *Coord. Chem. Rev.*, 117 (2017) 3138 - 3191.
- [17] Soji Shimizu, *Chem. Rev.*, 117 (2017) 2730–2784.
- [18] T. Tanaka, and A. Osuka, *Chem. Rev.*, 117 (2017) 2584–2640.
- [19] J. Mack, and N. Kobayashi, *Chem. Rev.*, 111 (2011) 281-321.
- [20] F. Ghani, J. Kristen, and H. Riegler, *J. Chem. Eng. Data*, 57 (2012), 2, 439-449.
- [21] O. Raab, *Z. Biol.* 39 (1900) 524–546.
- [22] S. Yano, S. Hirohara, M. Obata, Y. Hagiya, S. Ogura, A. Ikeda, H. Kataoka, M. Tanaka, T. Joh, *J. Photochem. Photobiol.C: Photochemistry Reviews*, 12 (2012) 46– 67.
- [23] D. E.J.G.J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nature Reviews Cancer*, 3(2003) 380-387.
- [24] J. Zhao, W. Wu, J. Sun, S. Guo, *Chem. Soc. Rev.*, 42 (2013) 5323-5351.
- [25] W. Hu, M. Xie, H. Zhao, Y. Tang, S. Yao, T. He, C. Ye, Q. Wang, X. Lu, W. Huang, Q. Fan, *Chem. Sci.*, 9 (2018) 999-1005.
- [26] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.*, 90 (1998) 889-905.
- [27] R. Gerdes, D. Wohrle, W. Spiller, G. Schneider, G. Schnurpfeil, G. Schulz-Ekloff, J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry, 111 (1997) 65-74.
- [28] T. J. Dougherty, *Photochem. Photobiol.*, 38 (1983) 377–379.
- [29] R. Bonnett, Gordon and Breach Science Publishers, London, 2000 186–187.
- [30] J. D. Spikes, J. C. Bommer, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 17 (1993) 135–143.
- [31] T. L. C. Figueiredo, D. Dolphin, *Org. Chem.*, 11 (1998) 297–300.
- [32] S. A. Blant, J. P. Ballini, H. van den Bergh, C. Fontollet, G. Wagnières, P. Monnier, *Photochem. Photobiol.*, 71 (2000) 333–340.
- [33] E.D. Sternberg, D. Dolphin, *Tetrahedron*, 54 (1998) 4151–4202
- [34] J. Zhang, E. H. Cao, J. F. Li, T. C. Zhang, W. J. Ma, *J. Photochem. Photobiol. B*, 43 (1998) 106–111.
- [35] G. G. Miller, K. Brown, A. M. Ballangrud, O. Barajas, Z. Xiao, J. Tulip, J. W. Lown, J. M. Leithoff, M. J. Allalunis-Turner, R. D. Mehta, R. B. Moore, *Photochem. Photobiol.*, 65 (1997) 714–722.
- [36] S. Chio-Srichan, N. Oudrhiri, A. Bennaceur-Griscelli, A. G. Turhan, P. Dumas, M. Refregiers, *J. Photochem. Photobiol. B*, 99 (2010), 100–104.
- [37] Y. Y. He, H. Y. Liu, J. Y. An, R. Han, L. J. Jiang, *Dyes Pigments*, 44 (2000) 63–67.
- [38] H. Y. Lee, S. Chen, M. H. Zhang, T. Shen, *J. Photochem. Photobiol. B*, 71 (2003) 43–50.
- [39] J. P. Tardivo, A. D. Giglio, C.S. de Oliveira, D.S. Gabrielli, H.C. Junqueira, D.B. Tada, D. Severino, R. de Fatima Turchiello, M. S. Baptista, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2 (2005) 175–191.

- [40] K. J. Mellish, R. D. Cox, D. I. Vernon, J. Griffiths, S. B. Brown, *Photochem. Photobiol.*, 75 (2002) 392–397.
- [41] J. W. Foley, X. Song, T. N. Demidova, F. Jilal, M. R. Hamblin, *J. Med. Chem.*, 49 (2006) 5291–5299.
- [42] K. A. Leonard, J. P. Hall, M. I. Nelen, S. R. Davies, S. O. Gollnick, S. Camacho, A. R. Oseroff, S. L. Gibson, R. Hilf, M. R. Detty, *J. Med. Chem.*, 43 (2000) 4488–4498.
- [43] N. K. Brennan, J. P. Hall, S. R. Davies, S. O. Gollnick, A. R. Oseroff, S. L. Gibson, R. Hilf, M. R. Detty, *J. Med. Chem.*, 45 (2002) 5123–5135.
- [44] K. T. Arun, B. Epe, D. Ramaiah, *J. Phys. Chem., B*, 106 (2002) 11622–11627.
- [45] K. Jyothish, K. T. Arun, D. Ramaiah, *Org. Lett.*, 6 (2004) 3965–3968.
- [46] K. Jyothish, R. R. Avirah, D. Ramaiah, *Org. Lett.*, 8 (2006) 111–114.
- [47] L. Beverina, M. Crippa, M. Landenna, R. Ruffo, P. Salice, F. Silvestri, S. Versari, A. Villa, L. Ciaffoni, E. Collini, C. Ferrante, S. Bradamante, C. M. Mari, R. Bozio, G. A. Pagani, *J. Am. Chem. Soc.*, 130 (2008) 1894–1902.
- [48] V. Rapozzi, L. Beverina, P. Salice, G. A. Pagani, M. Camerin, L.E. Xedo, *J. Med. Chem.*, 53 (2010) 2188–2196.
- [49] A. Gorman, J. Killoran, C. O’Shea, T. Kenna, W. M. Gallagher, D. F. O’Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 10619–10631.
- [50] T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, 127 (2005) 12162–12163.
- [51] S. H. Lim, C. Thivierge, P. Nowak-Sliwinska, J. Han, H. van der Bergh, G. Wagnières, K. Burgess, H. B. Lee, *J. Med. Chem.*, 53 (2010) 2865–2874.

1. カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性

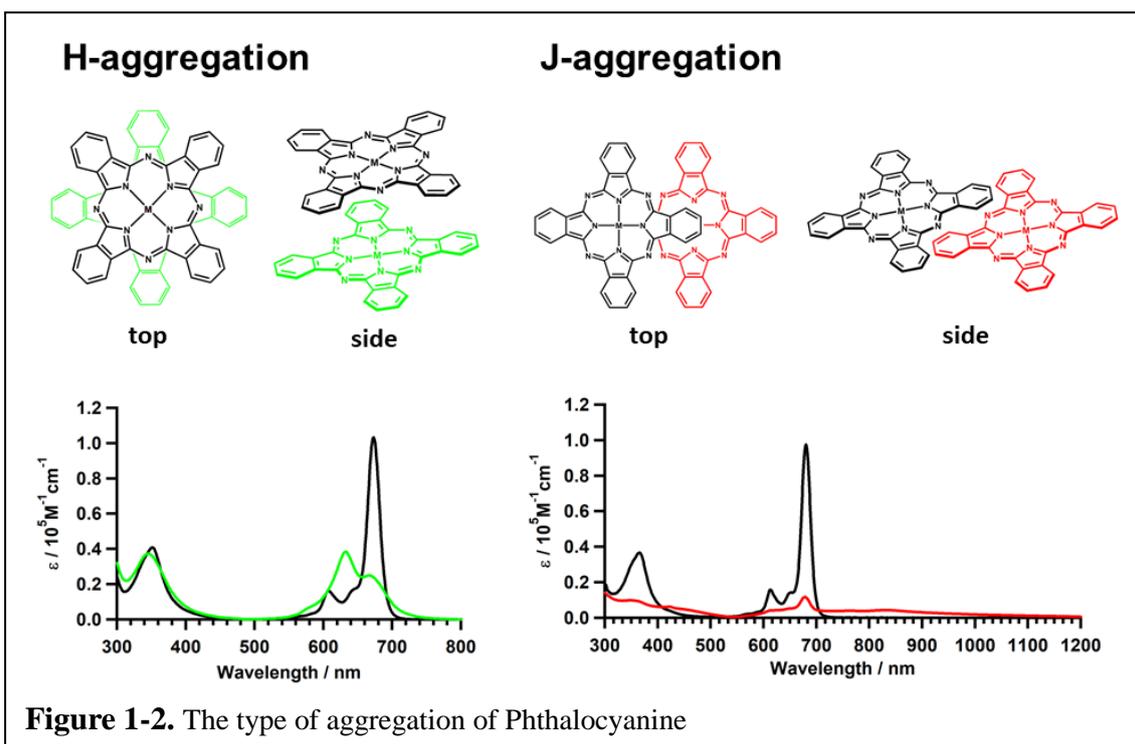
1-1. 緒言

Phthalocyanine とその金属錯体は、Phthalocyanine 環全体に非局在化した 18π 電子共役系に起因する特徴的な物理化学的性質のため、多くの興味を集め、色素増感型太陽電池の吸光色素や、有機 EL や有機トランジスタなどの有機半導体デバイスといった幅広い分野で応用されている。^[1-3] Phthalocyanine の持つ最も興味深い特徴の 1 つは、Q-band と呼ばれる吸収帯である。Q-band は、670 nm 付近の生体透過率の高い近赤外領域に位置し、大きなモル吸光係数 ($\epsilon = 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) を有する吸収帯であり、この Q-band の吸収帯を利用することによって、Phthalocyanine 誘導体由来の光増感剤は、皮膚がんだけでなく、内臓に発現したがん細胞に対しても、肌の上からの照射による治療が可能になるため、Phthalocyanine 誘導体由来の光増感剤の合成は、非常に大きな意味を持つといえる。^[4-10]



しかしながら、無置換の Phthalocyanine の有機溶媒への溶解度は低く、水系溶媒に対しては溶解性を示さない。また、Phthalocyanine は、高い平面性を持った環構造を有しているため、溶液中で、**Figure 1-2** に示されるような会合体を形成しやすく、会合体の形成は、Q-band の吸収帯のブロードニングや、蛍光の自己消光を引き起こし、

Phthalocyanine の持つ魅力的な光学特性を低下させてしまう。また、溶液中での会合体の形成は、吸収帯のブロードニングのみならず、PDT の Type II の反応経路で重要な役目を有する活性酸素種の生成効率も低下させてしまう。そのため、Phthalocyanine 誘導体が、PDT の光増感剤としての十分な機能を発揮するためには、「水溶性の付加」と「溶液中での会合体形成の抑制」が絶対条件となる。



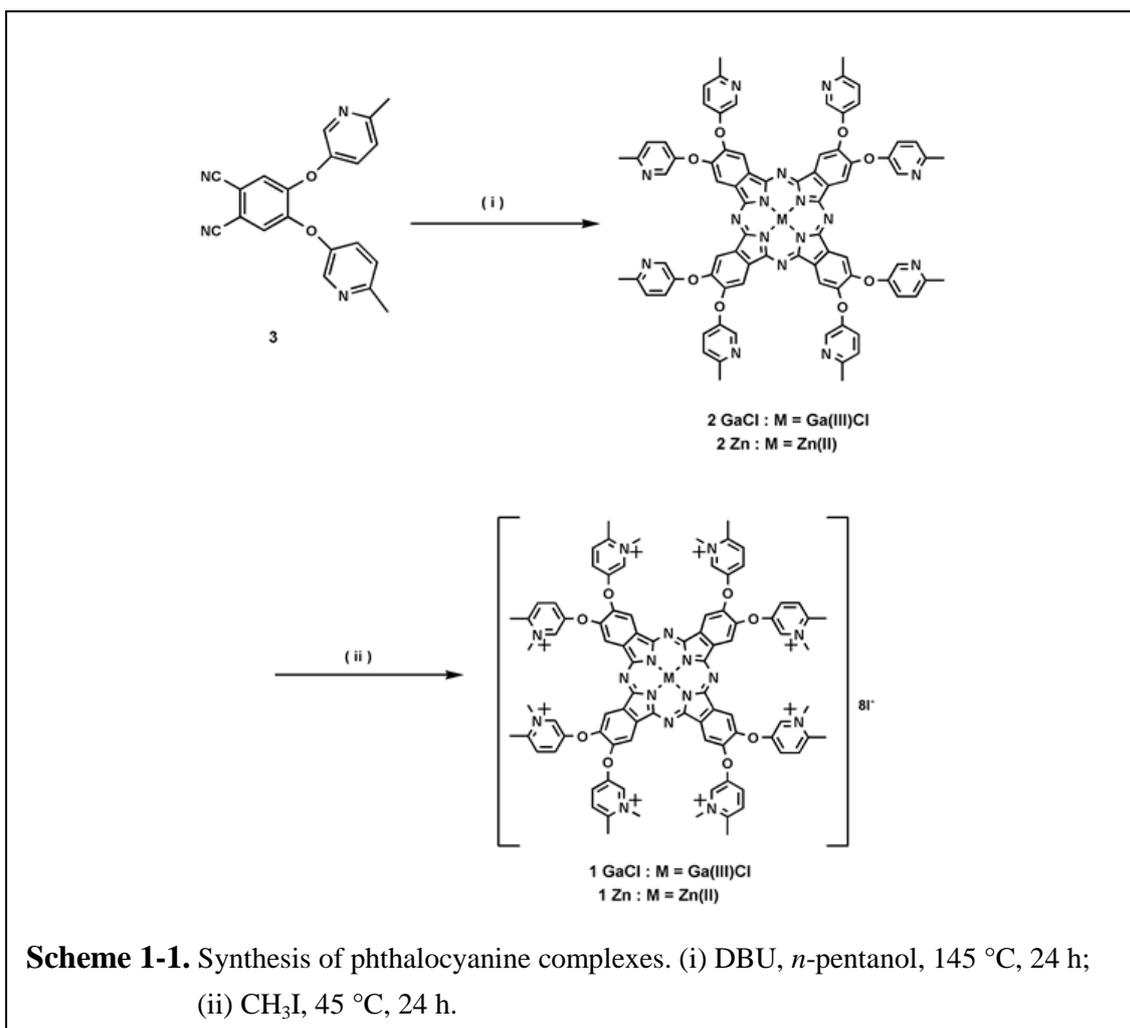
そこで、Phthalocyanine の水溶性化、水系溶媒中での会合体の形成の抑制、活性酸素種の発生効率の増加を目的とした様々な Phthalocyanine 誘導体の合成が、多くの科学者によって試みられてきたが、これまでに報告されてきた水溶性 Phthalocyanine 誘導体の多くは、水系溶媒中で、強い会合挙動を示すことが知られている。 [11-13]

Phthalocyanine 誘導体を水溶性化する主な手段として、イオン性置換基の導入と、非イオン性置換基の導入が存在する。イオン性置換基の導入は、カルボキシル基 (-COOH) やスルホン基 (-SO₃H) といったアニオン性置換基の導入と、4級化されたアミノ基や

4級化されたピリジル基といったカチオン性置換基の導入に分類することができ、カチオン性置換基を有する Phthalocyanine 誘導体は、がん細胞への PDT 活性だけでなく、Gram-negative 細菌・Gram-positive 細菌の光不活性化にも、高い効果を持つことが知られている。^[14-19] カチオン性 Phthalocyanine 誘導体の中でも、4級化された Pyridyl 基の導入されたカチオン性 Phthalocyanine 誘導体は、Pyridyl 基の N 原子の 4級化が、比較的容易に行えるため、現在でも、盛んに合成されている。^[20-22]

2008 年、M. G. Vicente らは、8か所の β 位に、4級化された Pyridyl 基が導入され、8 価の電荷を有するカチオン性 Phthalocyanine Zn (II) 錯体と、同一の周辺置換基を有し、さらに、軸位に嵩高い置換基の導入されたカチオン性 Phthalocyanine Si (IV) 錯体の合成を報告している。これらのカチオン性 Phthalocyanine 錯体は、水やリン酸緩衝液 (PBS) といった水系溶媒中においても、会合体の形成が少なく、 $^1\text{O}_2$ の発生も確認されている。^[23]

そこで、本研究では、水系溶媒中で、会合体を形成しないカチオン性 Phthalocyanine 誘導体の合成を目的とし、中心金属に Ga (III) と Zn (II) の導入されたカチオン性 Phthalocyanine 錯体 (**1GaCl** と **1Zn**) の合成を Scheme 1-1 に示される合成経路に従って行い、**1GaCl** と **1Zn** の分光学的性質、吸収スペクトルを用いた水系溶媒中での **1GaCl** と **1Zn** の会合挙動について報告する。**1GaCl** と **1Zn** が PDT の光増感剤としての機能を有しているかを調査した結果、**1GaCl** と **1Zn** への光照射が $^1\text{O}_2$ を発生することを確認した。また、 $^1\text{O}_2$ と選択的に反応する基質物質由来の吸収スペクトルの減衰から、**1GaCl** と **1Zn** の $^1\text{O}_2$ 発生効率の評価も行った。また、**1GaCl** と **1Zn** は、Human HEP2 細胞に対する暗所細胞毒性と光細胞毒性の測定も行ったので、その結果についても、あわせて報告を行う。



1-2. 結果と考察

1-2.1. Synthesis and characterization

合成された各化合物の帰属データは、後述の実験項に記載した。目的物合成の出発物である 4,5-bis(4'-methylpyridin-3'-yloxy)phthalonitrile (**3**) は、Wöhrle らの文献を参考に、市販の 4,5-dichlorophthalonitrile と 5-hydroxy-2-methylpyridine から、97% の収率で合成を行った。^[24] また、Phthalocyanine の環化反応と周辺置換基であるピリジル基の 4 級化反応は、次に示される文献に従って行った。^[23-26] 8 か所のβ位に 4-methylpyridyl 基を有する中性の Phthalocyanine 錯体 (**2GaCl** と **2Zn**) の環化反応は、

1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) 存在下の *n*-propanol 中で、Phthalonitrile **3** と対応する金属塩による鑄型反応によって行われ、**2GaCl** と **2Zn** は、それぞれ、83 % と 58 % の収率で単離された。**2GaCl** と **2Zn** が目的とする構造を有しているかは、元素分析、¹H NMR スペクトルと MALDI-TOF mass スペクトルによって確認を行った。

2Zn の 3-methylpyridine 溶液への hexane の添加による再結晶によって、単結晶が得られたので、X 線結晶構造解析の結果を **Figure 1-3** に示す。また、この結晶に対する結晶データ、結合長、結合角を **Table 1-1** と **1-2** に記載する。

X 線結晶構造解析の結果、得られた結晶は、**2Zn** の中心の Zn 原子に軸配位した 1 分子の 3-methylpyridine と、共結晶化した 2 分子の 3-methylpyridine から構成されていることが明らかとなった。また、周辺置換基として導入された 4-methylpyridyl 基による中心の Zn 原子への軸配位は、観測されなかった。**2Zn** の中心金属である Zn 原子は、これまでに報告されている axial 位に pyridine 分子の配位した Zn (II) Phthalocyanine 誘導体と同様に、5 配位構造を有している。^[27-30] また、Phthalocyanine 環の 4 つの N 原子 (N1, 3, 5, 7) と軸配位した 3-methylpyridine の N 原子 (N17) の 5 つの N 原子は、Zn 原子に対して、ピラミッド型に配位し、N17 と Zn 原子間の結合距離は、2.108 (4) Å であり、Zn 原子は、N1, 3, 5, 7 によって形成される平面から、0.453 Å、浮き上がって存在していることも明らかとなった。

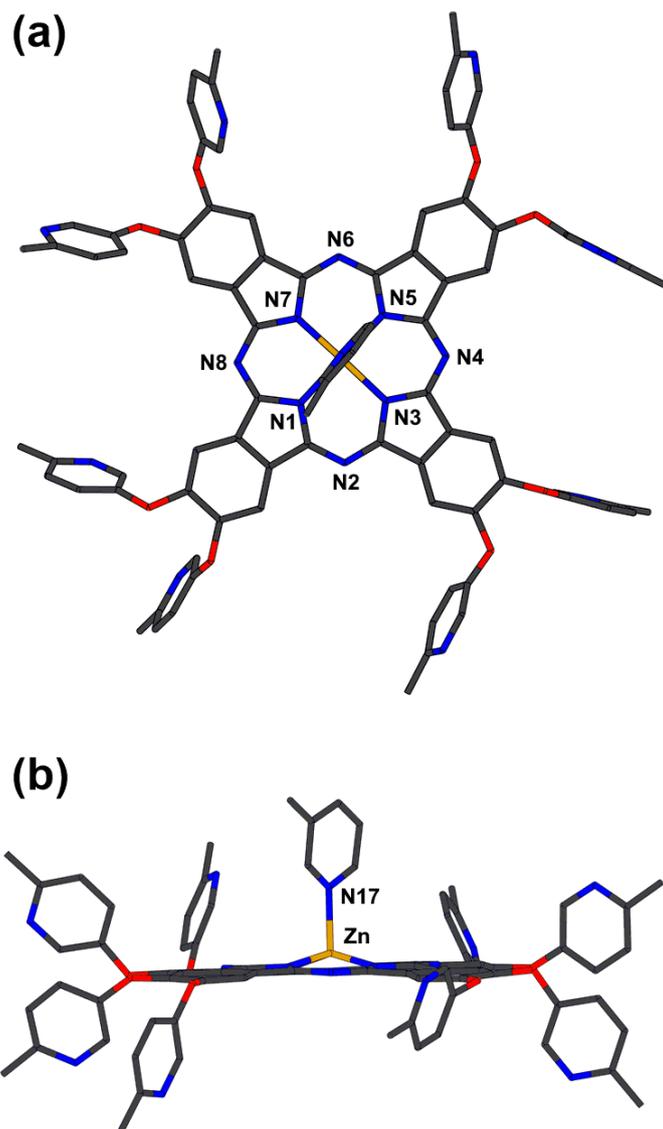


Figure 1-2. Crystal structure of $2\text{Zn}\cdot(3\text{-Me-Py})_2$ (a: top view, b: side view). Hydrogen and solvents atoms are omitted for clarity. CCDC number : 1869572.

Table 1-1. Crystal data and data collection details of **2Zn•(3-Me-Py)₂**

Empirical formula	C ₉₈ H ₇₇ N ₁₉ O ₈ Zn
Formula weight	1714.15
Temperature (K)	100(2)
Wave length (Å)	0.71073
Crystal system	Triclinic
Space group	<i>P</i> $\bar{1}$
a (Å)	16.9285(8)
b (Å)	17.2187(9)
c (Å)	18.0941(6)
α (°)	111.436(4)
β (°)	95.187(3)
γ (°)	116.632(5)
Volume (Å ³)	4178.6(4)
Z	2
Density (Calculated) (Mg m ⁻³)	1.362
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.367
F (000)	1784.0
Crystal size (mm)	0.100 x 0.040 x 0.010
θ Range for data collection (°)	1.585 to 28.000
Index ranges	-22 ≤ h ≤ 22, -22 ≤ k ≤ 22, -23 ≤ l ≤ 23
Reflections collected	71461
Independent reflections	20160 [<i>R</i> _{int} = 0.0838]
Maximum and minimum transmission	0.996 and 0.788
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Data/restraints/parameters	20160 / 622 / 1280
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.015
Final <i>R</i> indices (<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>))	<i>R</i> ₁ = 0.0838, w <i>R</i> ₂ = 0.1815
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> ₁ = 0.1677, w <i>R</i> ₂ = 0.2228
Largest peak and hole (e Å ⁻³)	+1.347 and -0.581

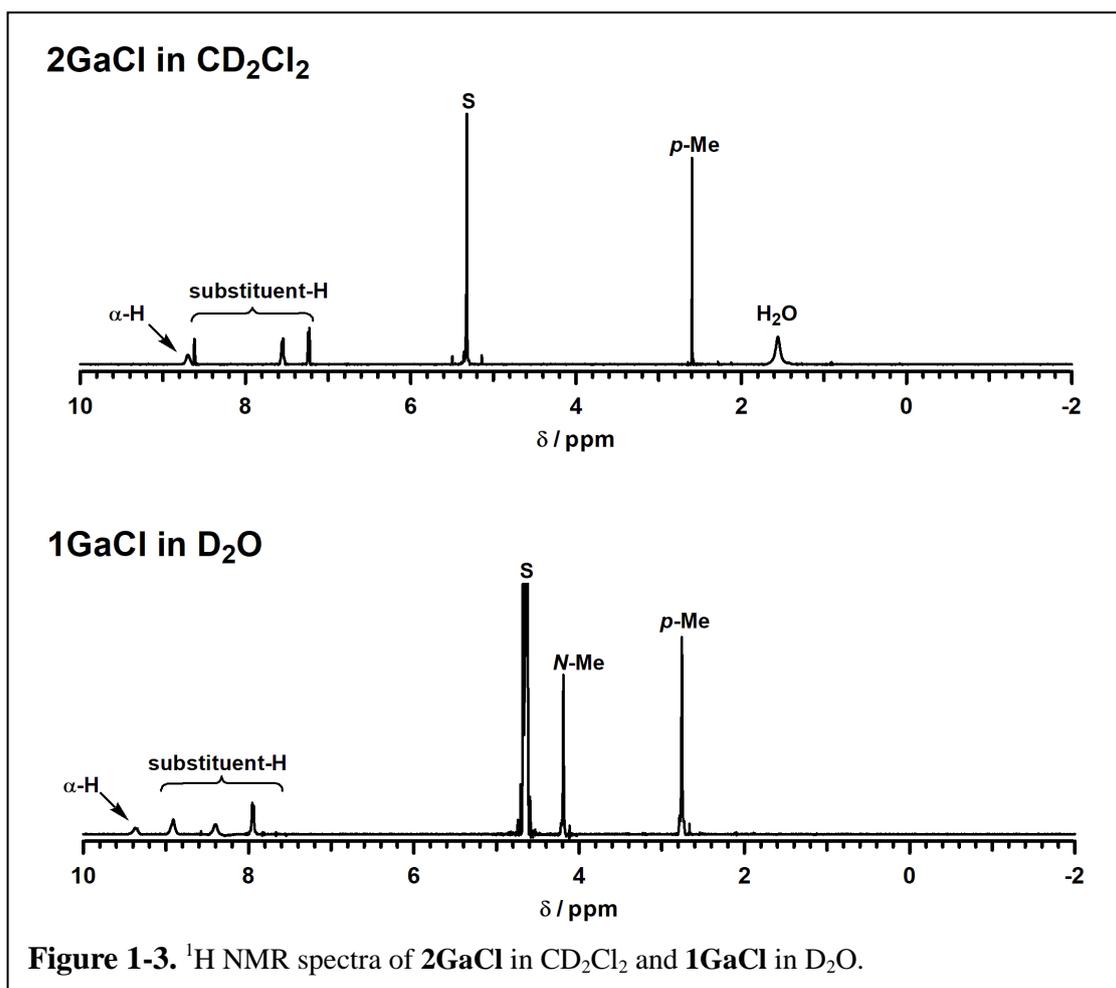
Table 1-2. The data of selected bond distances and bond angles of crystal of **2Zn·(3-Me-Py)₂**

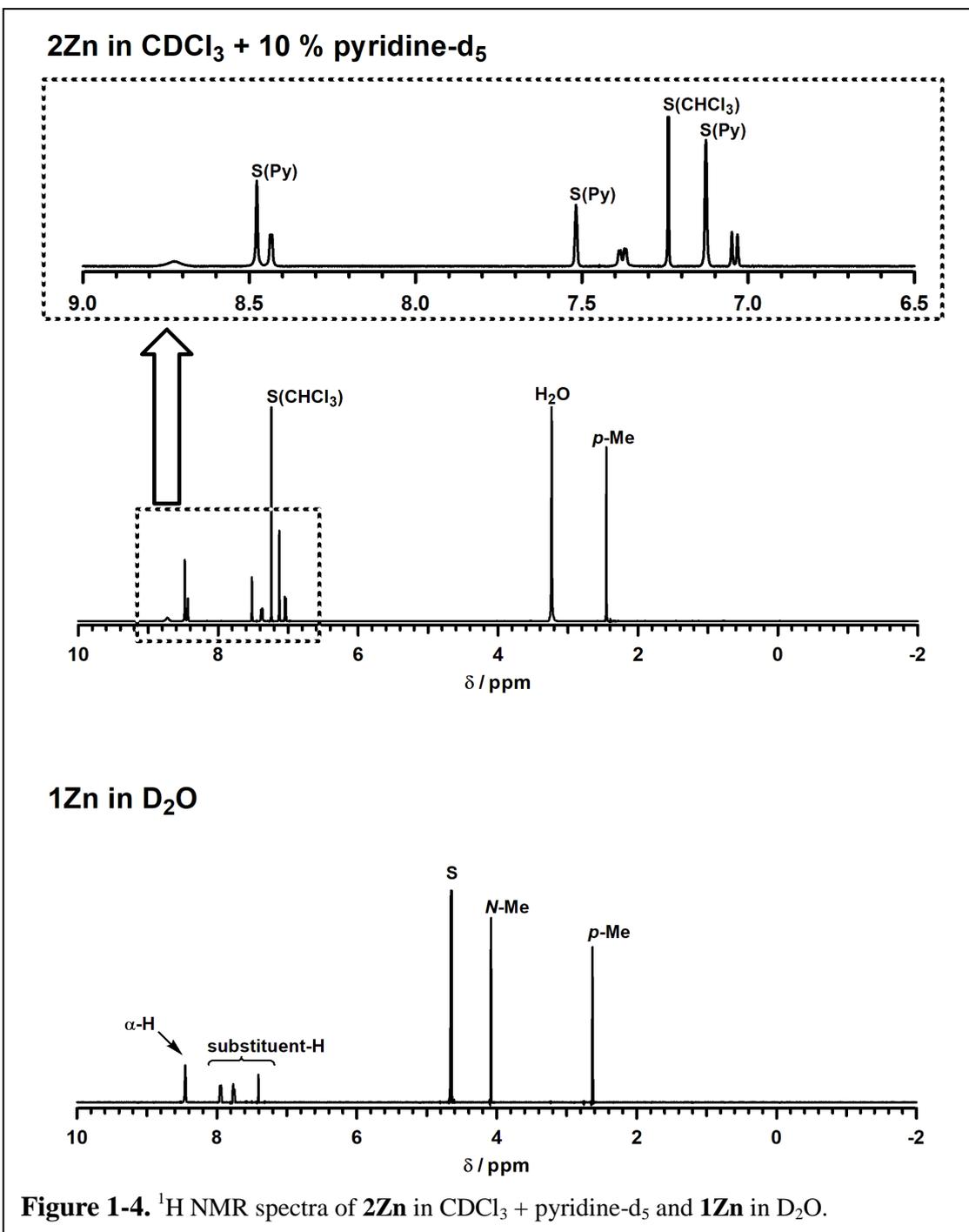
Zn(1)-N _{eq} (1)	2.022(3)		
Zn(1)-N _{eq} (3)	2.025(3)		
Zn(1)-N _{eq} (5)	2.025(3)		
Zn(1)-N _{eq} (7)	2.036(3)		
Zn-N _{eq} (avg.)	2.027		
Zn(1)-N _{ax} (17)	2.108(4)		
Zn(1)-8N least square plane	0.453		
N(1)-Zn(1)-N _{eq} (3)	87.27(13)	C(4)-O(1)-C(33)	117.1(3)
N(1)-Zn(1)-N _{eq} (5)	155.13(14)	C(5)-O(2)-C(39)	119.2(3)
N(1)-Zn(1)-N _{eq} (7)	87.22(13)	C(12)-O(3)-C(45)	119.2(3)
N(3)-Zn(1)-N _{eq} (5)	87.13(13)	C(13)-O(4)-C(51)	118.5(3)
N(3)-Zn(1)-N _{eq} (7)	153.28(14)	C(20)-O(5)-C(57)	122.2(3)
N(5)-Zn(1)-N _{eq} (7)	86.97(13)	C(21)-O(6)-C(63)	118.9(3)
N(1)-Zn(1)-N _{ax} (17)	103.17(15)	C(28)-O(7)-C(69)	118.6(3)
N(3)-Zn(1)-N _{ax} (17)	103.01(13)	C(29)-O(8)-C(75)	120.4(3)
N(5)-Zn(1)-N _{ax} (17)	101.70(15)	C-O-C (avg.)	119.29
N(7)-Zn(1)-N _{ax} (17)	103.71(13)		

2GaCl と **2Zn** の周辺置換基として導入した 4-methylpyridyl 基の 4 級化反応は、40 °C で、過剰量のヨウ化メチル (CH₃I) との反応によって行った。カチオン性 Phthalocyanine 錯体 (**1GaCl** と **1Zn**) は、それぞれ 90 % と 65 % の収率で得られた。4 級化の後、**1GaCl** と **1Zn** は、Dimethyl sulfoxide (DMSO)、水、リン酸緩衝液 (PBS) に溶け、Dichloromethane (CH₂Cl₂) や Chloroform (CH₃Cl) のような有機溶媒には、溶解性を示さなくなった。**1GaCl** と **1Zn** は、¹H NMR スペクトルや mass スペクトル、元素分析によって、その合成が確認された。

1GaCl と **1Zn** の ¹H NMR スペクトルは、室温下で、D₂O 中において測定を行った。得られた環状化合物の ¹H NMR スペクトルを **Figure 1-3** と **Figure 1-4** に示す。**1GaCl** の ¹H NMR スペクトルでは、Phthalocyanine 環の α-H が、δ = 9.37 ppm に、8H の積分

値を持った鋭い singlet なシグナルとして観測された。また、*N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) の pyridine 環の H 由来のシグナルは、 $\delta = 8.91, 8.40, 7.95$ ppm に、それぞれ、8H の積分値を持った 3 本のシグナルとして、*N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) の methyl 基は、 $\delta = 4.19, 2.76$ ppm に、24H の積分値を持った 2 本のシグナルとして観測された。一方、**1Zn** の ^1H NMR スペクトルは、 $\alpha\text{-H}$ が、 $\delta = 8.45$ ppm に、8H の鋭い singlet なシグナルとして、*N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) の pyridine 環の H 由来のシグナルは、 $\delta = 7.94, 7.77, 7.40$ ppm に、8H の積分値を持った 3 本のシグナルとして、*N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) の methyl 基は、 $\delta = 4.10, 2.63$ ppm に、それぞれ、24H の積分値を持った 2 本のシグナルとして観測された。





1-2.2. Absorption and Florescence spectra

1GaCl と **1Zn** の吸収スペクトルと蛍光スペクトルを **Figure 1-5** に示す。**1GaCl** と **1Zn** の吸収スペクトルと蛍光スペクトルの数値を、**Table 1-3** にまとめた。**1GaCl** と **1Zn** の吸収スペクトルと蛍光スペクトルは、DMSO、水、PBS 中で測定を行った。 1.5×10^{-5} M において、**1GaCl** の Q-band は、DMSO 中で 681 nm に、水中で 679 nm に、鋭い吸収として観測された。**1GaCl** の蛍光スペクトルは、DMSO 中で 684 nm に、水中で 685 nm に観測され、その絶対蛍光量子収率 (ΦF) は、DMSO 中で 0.12、水中で 0.17 であった。また、 1.5×10^{-5} M において、**1Zn** は、DMSO 中で 678 nm に、水中で 673 nm に、鋭い吸収として、Q-band がそれぞれ観測された。**1Zn** の蛍光スペクトルは、DMSO と水中で、ともに 684 nm に現れ、 ΦF の値は、DMSO 中で 0.15、水中で 0.17 であった。DMSO と水中で得られた **1GaCl** と **1Zn** の分光学的特性は、溶液中で、会合体を形成していない単量体の Phthalocyanine 誘導体に特徴と一致している。 [1, 26, 31-36]

PBS 中、 1.5×10^{-5} M では、**1GaCl** の Q-band は、679 nm に鋭い吸収として観測された。また、**1GaCl** の蛍光は、PBS 中で 686 nm に観測され、その ΦF は、0.14 であった。PBS 中で得られた **1GaCl** の分光学的データは、溶液中で、単量体として存在する Phthalocyanine の値と同様な数値であった。 [37-42] しかしながら、**1Zn** の Q-band は、631 nm と 666 nm に、2つのピークを持った幅広い吸収帯として観測された。**1Zn** に対して観測された幅広い Q-band は、**1Zn** が PBS 中で、会合体を形成していることを示唆する。

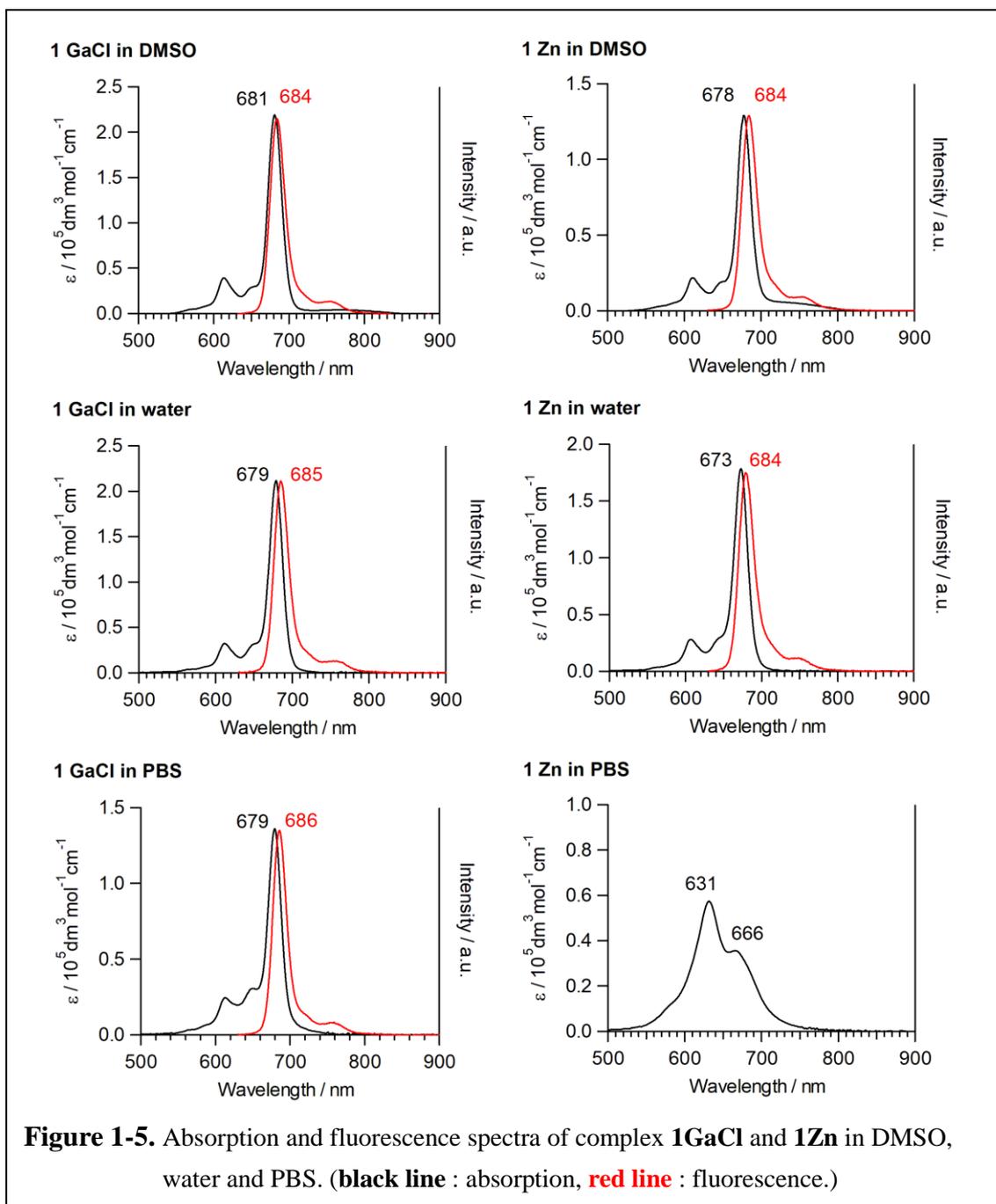


Table 1-3. Photophysical and photochemical parameters of complex **1GaCl** and **1Zn**.

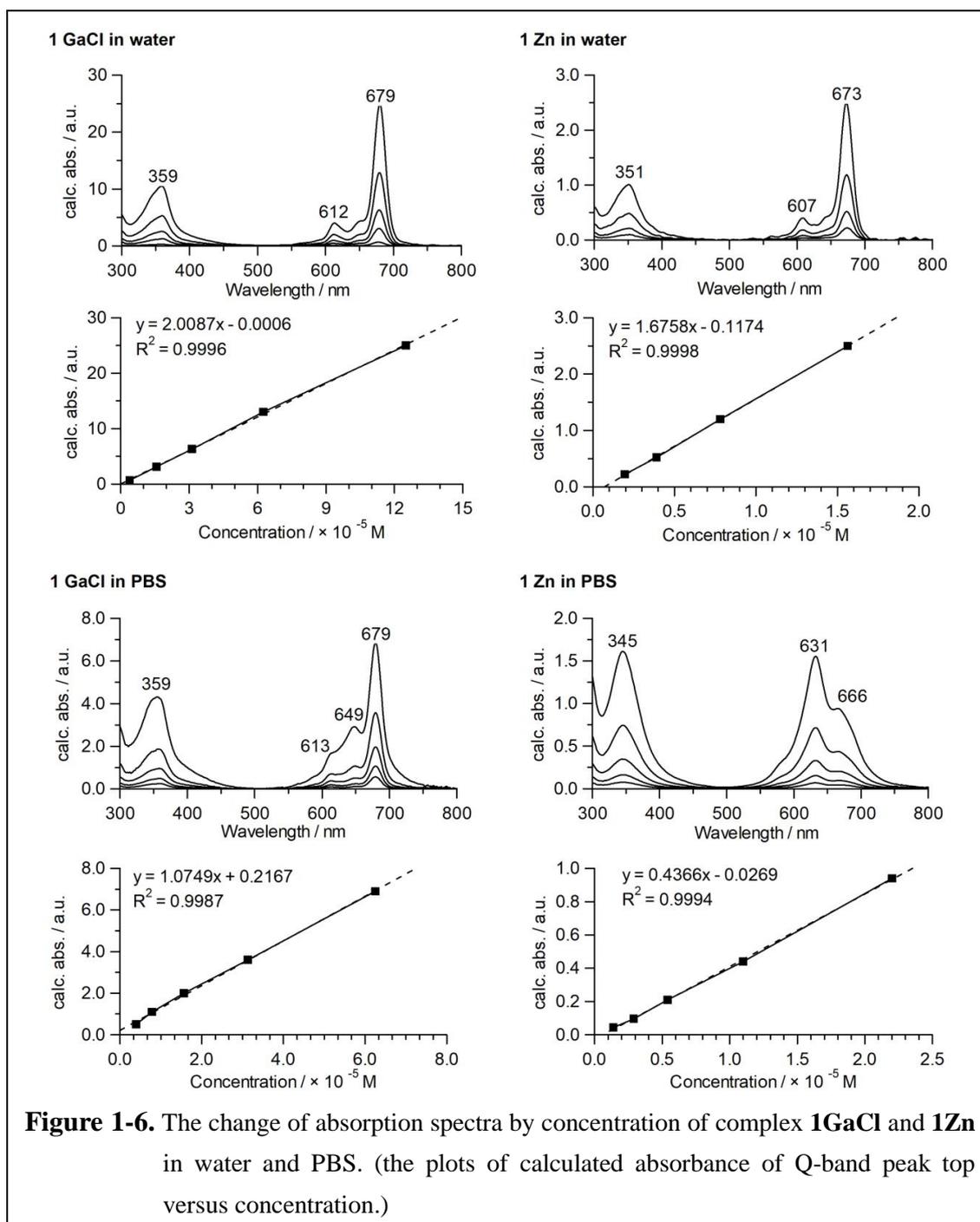
Pc	Solvent	λ_{Max} (nm)	λ_{Em} (nm)	SS (nm)	Φ_{F} ^a
1GaCl	DMSO	681	684	3	0.12
	water	679	685	6	0.17
	PBS	679	686	7	0.14
1Zn	DMSO	678	684	6	0.15
	water	673	684	11	0.17
	PBS	631, 666	-	-	-

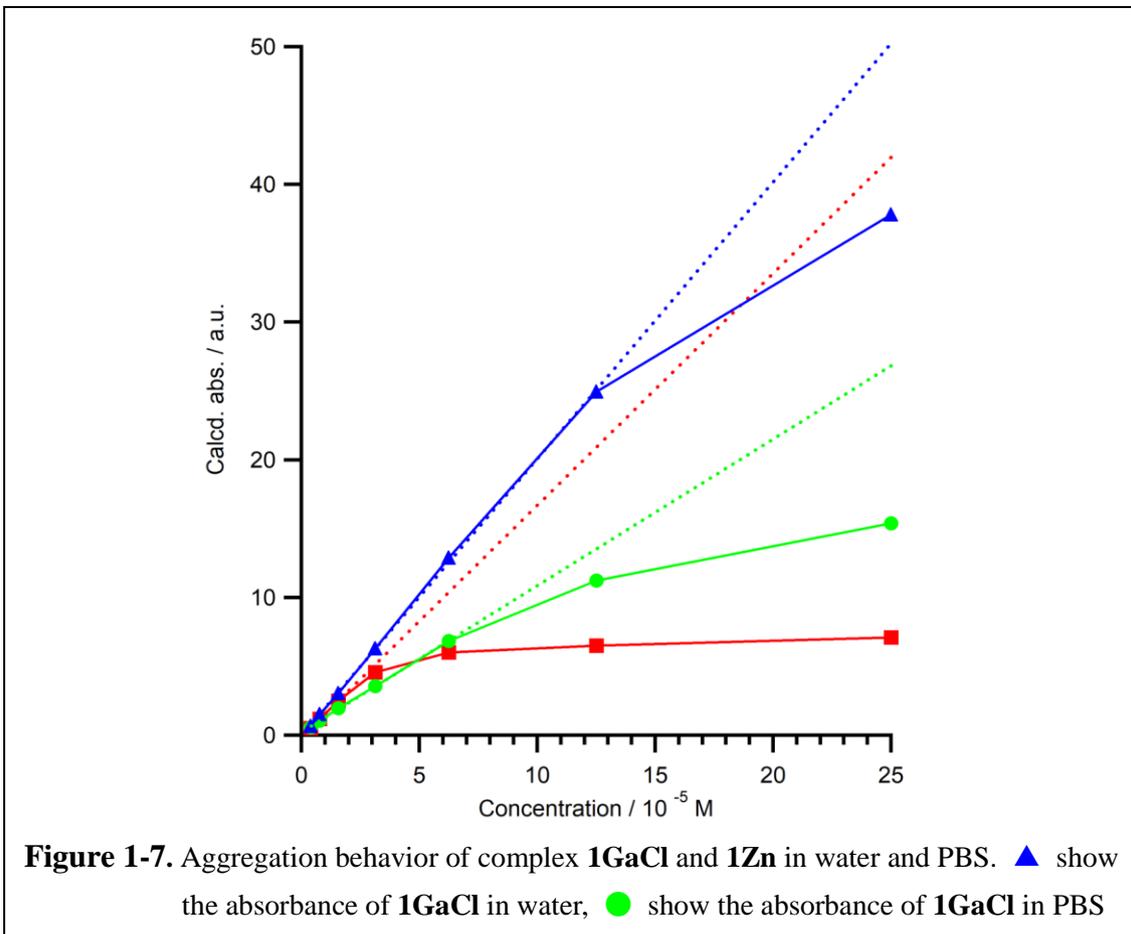
^a Φ_{F} were evaluated using an absolute PL quantum yield measurement apparatus described in the literature [43].

溶液中での会合体の形成は、励起エネルギーを振動エネルギーへと変換し、励起寿命を減少させ、PDTの光増増感剤としての重要な能力である¹O₂の発生能を低下させてしまうことが知られている。^[44,45] そのため、水系溶媒中で、**1GaCl**と**1Zn**が会合体を形成し始める濃度を調査することは、非常に重要である。本研究では、水系溶媒における**1GaCl**と**1Zn**の濃度依存による会合挙動の調査を行った。濃度依存による会合挙動の調査では、10 mm, 1 mm 0,1 mmのセル長を有する石英セルを使用し、10 mmのセルを使用したときに得られた吸光度を基準に、1 mm 0,1 mmセルを使用したときの吸光度の換算を行った。会合挙動の調査における**1GaCl**と**1Zn**の吸収帯スペクトルの変化を**Figure 1-6**に示す。また、会合挙動の調査によって得られた**1GaCl**と**1Zn**のLambert-Beerプロットを**Figure 1-7**に示す。

濃度依存による会合挙動の調査の結果、**1GaCl**は、水中では、 1.2×10^{-4} Mまで、PBS中では、 6.0×10^{-5} Mまで、Lambert-Beer則に従い、単量体として存在していることが判明した。一方で、**1Zn**は、水中では、 1.5×10^{-5} Mまで Lambert-Beer 則に従うが、PBS中では、測定を行った下限である 1.2×10^{-6} Mにおいても、会合体が形成されたままであった。同一な置換基を有する**1GaCl**と**1Zn**の会合挙動に大きな差は、**1GaCl**の軸配位

子である Cl 原子の持つ立体障害に起因するものであることが示唆され、M. G. Vicente らの報告と同様に、Phthalocyanine 環に対して鉛直方向である中心金属の軸位への置換基の導入は、Phthalocyanine 誘導体の会合体の形成の抑制に非常に大きな効果を有することを明らかにした。^[23] また、PBS に可溶性のカチオン性 Phthalocyanine 誘導体は数多く報告されているが、これまでに報告されたカチオン性 Phthalocyanine 誘導体には、 1.5×10^{-5} M または、それ以上の濃い濃度において、PBS 中で単量体として存在する例はなく、本実験で合成された **1GaCl** は、PBS 中において、 6.0×10^{-5} M という高濃度でも、会合体を形成しない初めてのカチオン性 Phthalocyanine であるといえる。^[46-52]



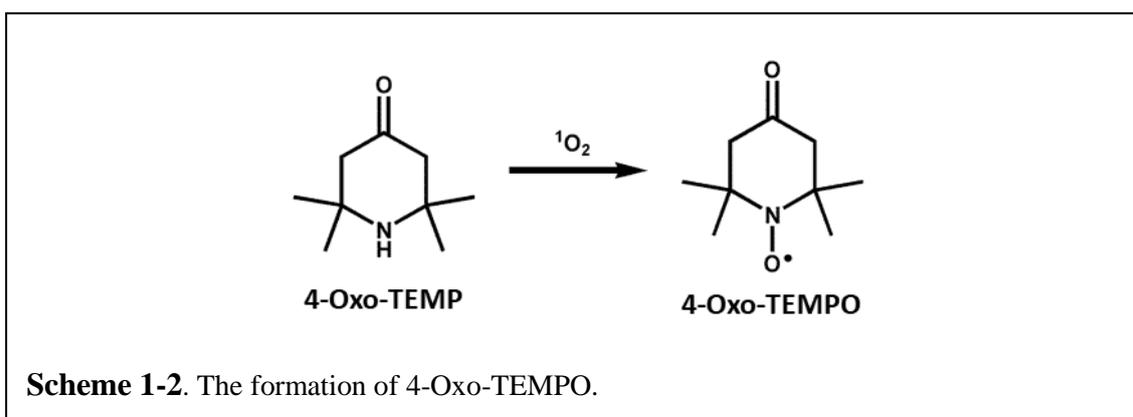


1-2.3. ESR measurement

前章の **Scheme 2** に示されるように、PDT 反応機構は、活性酸素種の種類によって、2つの経路に区別されている。Type I の経路では、 $O_2\cdot$ と $OH\cdot$ といったフリーラジカル種を生成し、Type II の経路では、 1O_2 を生成する。発生した活性酸素種は、いずれも、がん組織に酸化的なダメージを与えることができる。^[8,9,53] PDT 用の光増感剤の能力や性を評価するという点において、発生した活性酸素種の特定は、非常に重要である。しかしながら、発生した活性酸素種は、酸化力が高く、別の物質と直ちに反応し、消光してしまうため、直接的な観測が難しい。そこで、活性酸素種と選択的に反応するスピントラップ剤によって、発生した活性酸素種を捕捉・安定化させた後に、スピントラップ

剤由来の ESR スペクトルを測定することで、発生した活性酸素種を間接的に特定した。

Scheme 1-2 に示される 2,2,6,6-Tetraethyl-4-piperidone (4-Oxo-TEMP) は $^1\text{O}_2$ と選択的に反応し、2,2,6,6-tetraethyl-4-piperidone- *N*-oxy-radical (4-Oxo-TEMPO) を生成するスピントラップ剤である。4-Oxo-TEMPO は、nitroxide radical ($-\text{NO}\cdot$) を有しているため、nitroxide radical 由来の ESR スペクトルの観測が可能であるため、4-Oxo-TEMPO の ESR スペクトルの観測は、 $^1\text{O}_2$ 発生の証拠となる。

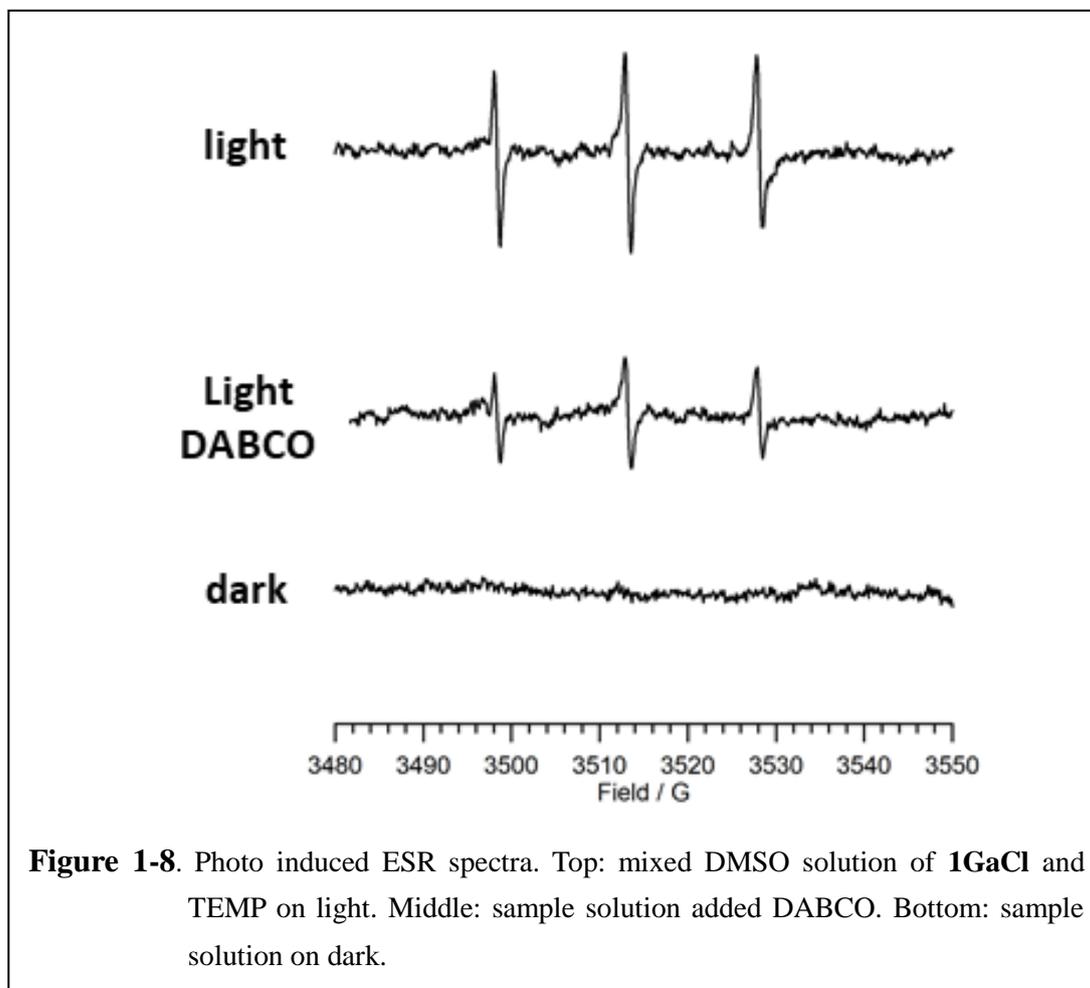


1GaCl と 4-Oxo-TEMP の混合液への光照射によって得られた ESR スペクトルを **Figure 1-8** に示す。**1GaCl** と 4-Oxo-TEMP の DMSO 混合溶液に光照射を行うと、nitroxide radical に、特徴的な triplet に分裂した ESR スペクトルが観測され、その *g* 値は、2.014, 2.006, 1.997 であり、得られた ESR スペクトルは、これまでに報告されている nitroxide radical 由来の ESR スペクトルと一致している。^[54-57] $^1\text{O}_2$ 発生の更なる証拠を得るため、**1GaCl** と 4-Oxo-TEMP の DMSO 混合溶液に、 $^1\text{O}_2$ と選択的に反応することが知られている 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane (DABCO) を加えて、同様の光照射を行った。^[58]

DABCO の添加された **1GaCl** と 4-Oxo-TEMP の DMSO 混合溶液への光照射は、4-Oxo-TEMPO 由来の ESR スペクトルの強度の減少を引き起こした。

同様の実験条件において、**1Zn** もまた、4-Oxo-TEMPO 由来の ESR スペクトルを観測し、**1GaCl** と **1Zn** は、光照射によって、 $^1\text{O}_2$ を発生させることが明らかとなり、**1GaCl**

と **1Zn** は、ともに、PDT の Type II 反応機構における光増感剤としてのポテンシャルを有していることを示唆する結果が得られた。



1-2.4. Singlet oxygen generation properties

1GaCl と **1Zn** は、PDT の Type II 反応機構における光増感剤としてのポテンシャルを有していることを示唆できる結果が、ESR スペクトル測定によって得られたため、次に、**1GaCl** および **1Zn** の $^1\text{O}_2$ 発生能の評価を行った。PDT の反応機構では、光増感剤の三重項寿命や、置換基または溶媒による $^1\text{O}_2$ の消光、光増感剤と酸素分子間のエネルギー移動効率、光増感剤と酸素の衝突確率を含む多くの要因が、PDT の反応機構に影響を与

えてしまう。^[8-10] そこで、本研究では、光増感剤への光の照射を伴って発生した $^1\text{O}_2$ による捕捉剤分子の酸化分解反応の絶対量子収率($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$)を $^1\text{O}_2$ 発生量の指標として使用する。 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、 $^1\text{O}_2$ 捕捉剤である 1,3-Diphenylisobenzofuran (DPBF) と 9,10-Antracenediyl-bis(methylene) dimalononic acid (ADMA) を用いた化学的手法によって決定した。**1GaCl** および **1Zn** への光照射には、**1GaCl** および **1Zn** の Q-band に対応する 670 nm の光を利用した。 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、 $^1\text{O}_2$ によって分解された捕捉剤分子の分子数と、光増感剤の吸収した光子数から、後述の実験項に記載されている式 (1) を用いて計算を行った。

1GaCl および **1Zn** と捕捉剤の混合溶液への光の照射の間に観測された吸収スペクトルの変化を、**Figure 1-9** および **Figure 1-10** に示す。**Table 1-4** には、 $^1\text{O}_2$ によって分解された捕捉剤分子の分子数と光増感剤の吸収した光子数を示す。また、光照射実験で得られた $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の数値を **Table 1-5** に示す。**1GaCl** と DPBF の DMSO 混合溶液への光照射実験では、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯の大きな減少が観測された。これは、**1GaCl** への光の照射によって発生した $^1\text{O}_2$ によって、DPBF が酸化され、分解が生じたことを意味し、DMSO 中の **1GaCl** への光照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、4.4 % であると計算された。同様の吸収スペクトルの変化が、**1Zn** と DPBF の DMSO 混合溶液への光照射においても観測され、**1Zn** への光の照射もまた、 $^1\text{O}_2$ の発生に伴う DPBF の分解を生じることが明らかとなった。DMSO 中の **1Zn** の光照射で得られた DPBF に対する $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、5.3 % であり、**1GaCl** よりもわずかに高い数値が得られた。また、同じ反応条件下での無置換の Zinc Phthalocyanine (ZnPc) および Gallium chloride Phthalocyanine (GaClPc) の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、10.3 % と 6.5 % であった。無置換の Phthalocyanine 金属錯体と **1GaCl** および **1Zn** の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値を比較すると、**1GaCl** と **1Zn** の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、無置換の ZnPc と GaClPc の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値よりも小さく、これは、導入された周辺置換基の振動による励起エネルギーの損失が原因であると

と考えられる。

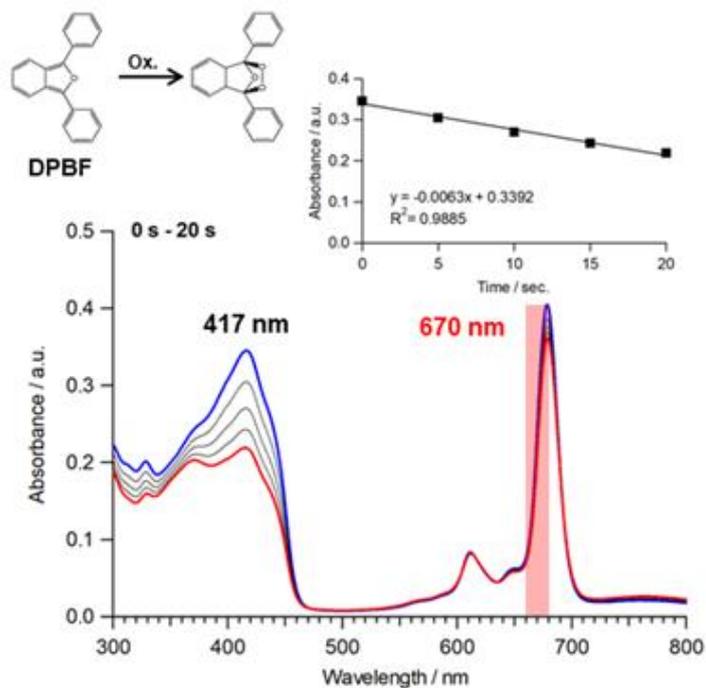
また、**1GaCl** および **1Zn** の DMSO 中の DPBF の分解効率に対して、文献値を使用した相対量子収率($\Phi\Delta_{\text{relative}}$)の算出も行った。文献値は、無置換の ZnPc への光照射によって生じた DPBF の酸化分解効率の値 ($\Phi\Delta_{\text{std.}} = 67\%$) を使用した。^[47] $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ の算出方法は、M. Camur らの文献に記載される方法を使用し、DMSO 中での DPBF の酸化分解に対する **1GaCl** と **1Zn** の $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ は、29% と 34% であると計算された。^[26] **1GaCl** と **1Zn** の $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ の値は、これまでに報告された DMSO 中で会合体を形成していないカチオン性の Phthalocyanine 誘導体の $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ の値と同程度であった。^[23, 31, 32, 49, 59]

DMSO 中で $^1\text{O}_2$ を発生し、光増感剤としてのポテンシャルを有しているであろうことを示した **1GaCl** と **1Zn** に対して、生体に近い環境でも光増感剤としてのポテンシャルを発揮することができるのかを確かめるため、同様の光照射実験を PBS 中でも行った。

1GaCl と ADMA の PBS 混合溶液への光照射実験では、ADMA に由来する 380 nm 付近の吸収帯の減少が観測され、**1GaCl** は、PBS 中においても、ADMA を酸化分解させるのに、十分な量の $^1\text{O}_2$ を発生させることができることが確認された。PBS 中の **1GaCl** への光照射による ADMA の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、0.029% であった。一方で、**1Zn** と ADMA の PBS 混合溶液では、ADMA に由来する吸収帯の減少は、非常にわずかで、PBS 中の **1Zn** のへの光照射で得られた ADMA の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、0.009% であった。また、ADMA 存在下の **1Zn** の Q-band は、PBS 中で観測された **1Zn** のみの Q-band とは異なる形状を示した。これは、**1Zn** の中心の Zn 原子への ADMA の配位によるものであると示唆され、ADMA の配位によって、**1Zn** の会合挙動が弱まり、**1Zn** は、Phthalocyanine 誘導体が単量体として存在するときに観測されるスペクトルと近い形状を有するスペクトルを示したと考えられる。しかしながら、ADMA の配位が生じて、**1Zn** の会合挙動は、完全には抑制されず、会合体が形成されたままであったため、 $^1\text{O}_2$ の発生効率が大きく減少したと考えられる。

1GaCl および **1Zn** の $^1\text{O}_2$ 発生能の評価の結果、**1GaCl** は、DMSO 中のみならず、より生体に近い環境を有する PBS 中においても、捕捉剤を酸化分解させるのに十分な量の $^1\text{O}_2$ を発生することが可能であることを示し、生体内でも機能できる PDT の光増感剤としてのポテンシャルを有していることが示唆された。

1GaCl with DPBF in DMSO



1GaCl with ADMA in PBS

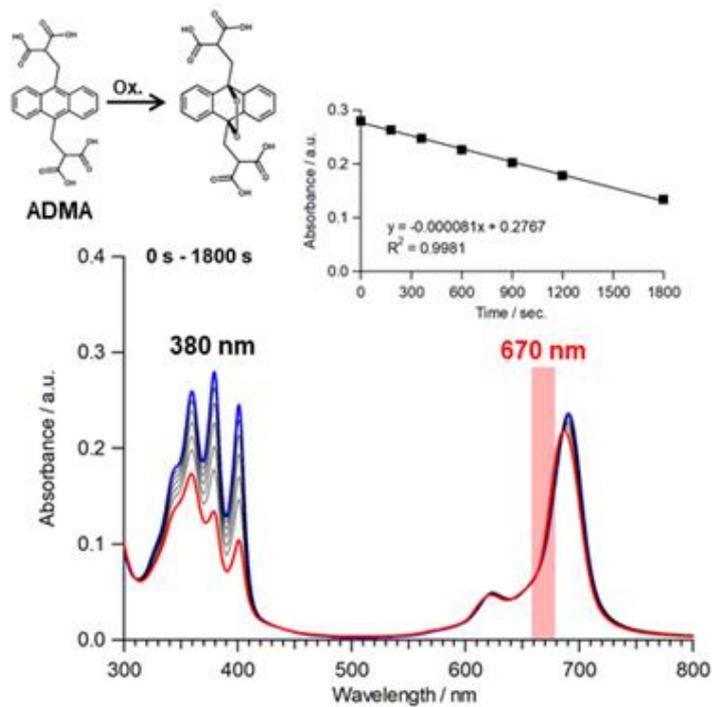
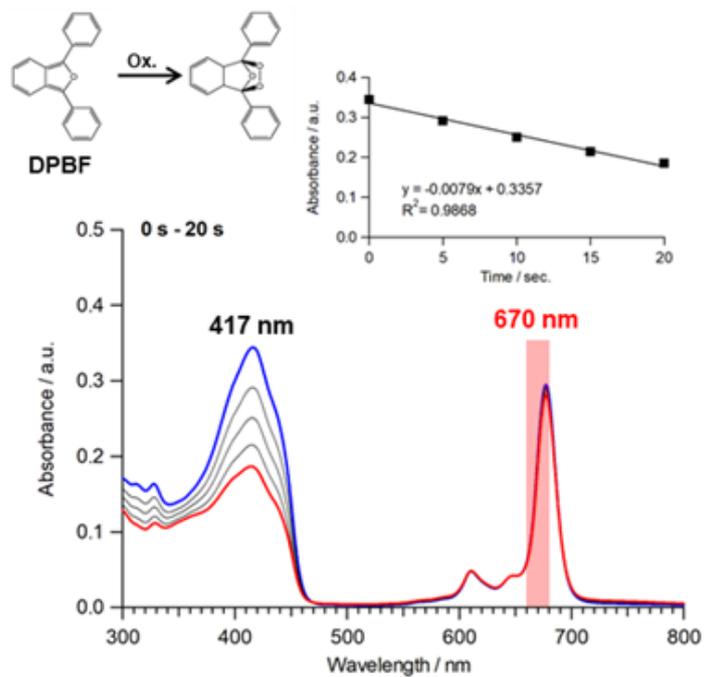


Figure 1-9. The absorption spectral changes during photo reactions of **1GaCl**. (inset : the plots of absorbance of DPBF at 417 nm or ADMA at 380 nm versus time.)

1Zn with DPBF in DMSO



1Zn with ADMA in PBS

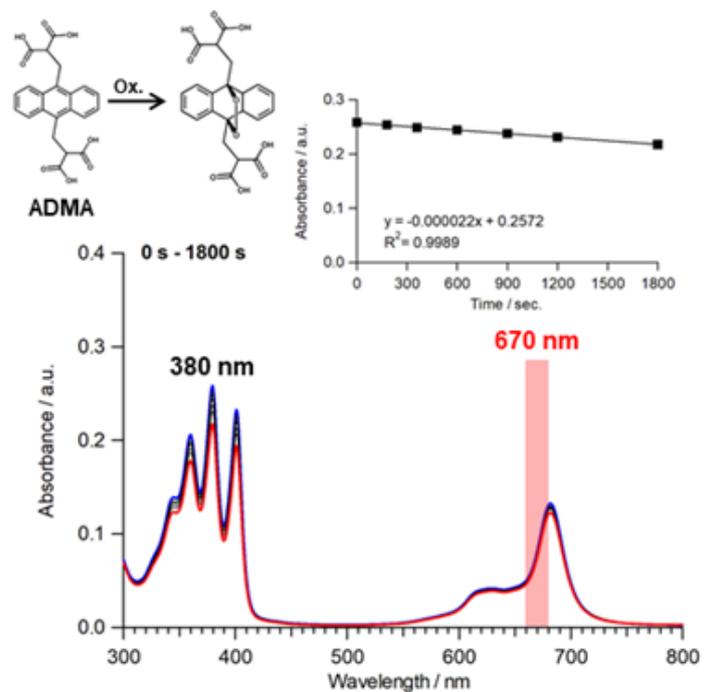


Figure 1-10. The absorption spectral changes during photo reactions of **1Zn**. (inset : the plots of absorbance of DPBF at 417 nm or ADMA at 380 nm versus time.)

Table 1-4. The values used for the calculations of the quantum yields.

Pc	scavenger	solvent	number of molecule	number of photons
1GaCl	DPBF	DMSO	5.13×10^{14}	1.17×10^{16}
	ADMA	PBS	1.34×10^{13}	4.61×10^{16}
1Zn	DPBF	DMSO	6.44×10^{14}	1.21×10^{16}
	ADMA	PBS	3.65×10^{12}	4.07×10^{16}
ZnPc	DPBF	DMSO	1.22×10^{15}	1.19×10^{16}
GaClPc	DPBF	DMSO	5.79×10^{14}	8.89×10^{15}

Table 1-5. The values of the absolute quantum yields ($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$).

Pc	scavenger	solvent	$\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ [%]	$\Phi\Delta_{\text{relative}}$ [%]
1GaCl	DPBF	DMSO	4.4	29
	ADMA	PBS	0.029	-
1Zn	DPBF	DMSO	5.3	34
	ADMA	PBS	0.0090	-
ZnPc	DPBF	DMSO	10.3	67 ^a
GaClPc	DPBF	DMSO	6.5	42

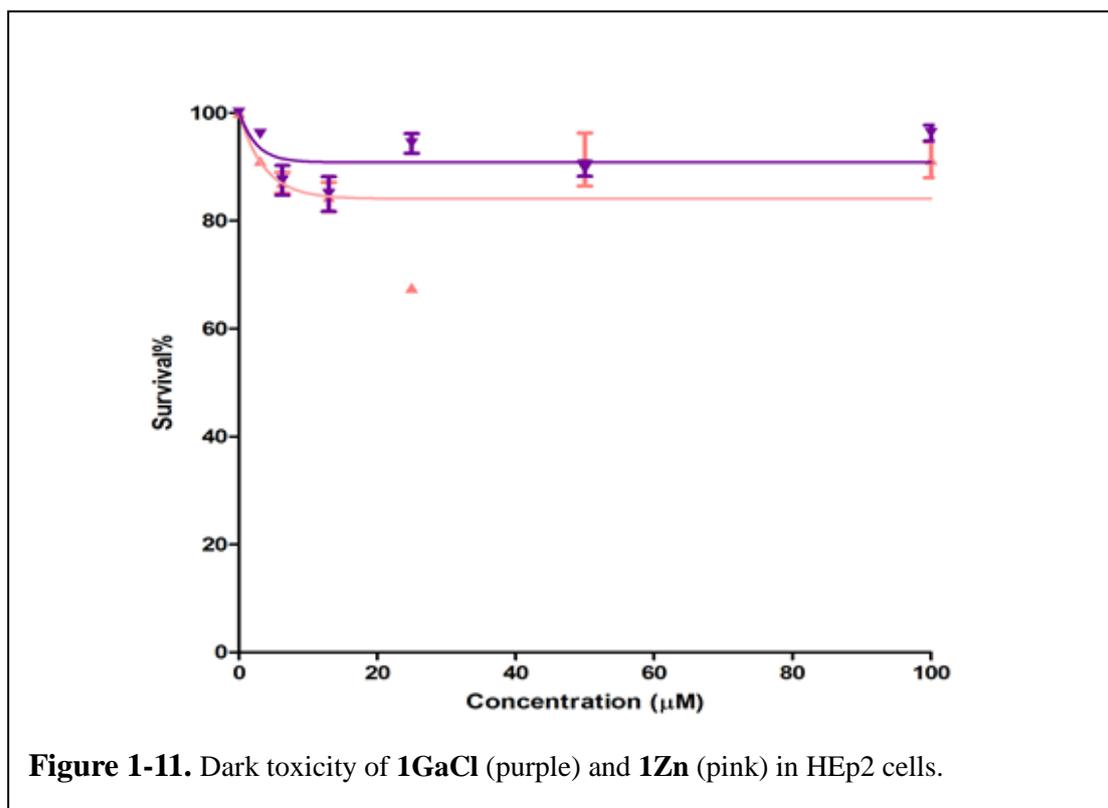
^a Data from reference [47]

1-3.5. Cell study

生体に近い環境においても、PDTの光増感剤としての機能するポテンシャルを有していることが示唆された **1GaCl** と **1Zn** に対して、ヒト喉頭癌のがん細胞である human HEP2 細胞への暗所細胞毒性と光細胞毒性の評価を行った。細胞毒性の評価には、Cell Titer Blue® を使用した蛍光観察を用いた。**1GaCl** および **1Zn** の細胞毒性調査の結果を、**Figure 1-11**、**Figure 1-12** と **Table 1-6** にまとめた。**Figure 1-11** に示される暗所細胞毒性の調査の結果、**1GaCl** と **1Zn** は、human HEP2 細胞に対して、**1GaCl** と **1Zn** の添加量

が 100 μM に達しても、暗所細胞毒性を示さないことが明らかとなった。

しかしながら、約 1.5 J/cm^2 の弱い光量の光を照射して行われた光細胞毒性の調査の結果、**1GaCl** と **1Zn** は、human HEp2 細胞に対して、全く異なった挙動を示すことが明らかとなった。**1GaCl** は、human HEp2 細胞に対して、添加量が 100 μM に達しても、光細胞毒性が発揮されなかったのに対し、**1Zn** は、添加量の増加に伴い、細胞の生存率が大きく低下し、human HEp2 細胞に対する高い光細胞毒性を有していることが明らかとなった。対象の細胞の生存率が 50 % に達したときの光増感剤の添加量を示す IC_{50} の値が、用量応答曲線から求められ、**1Zn** の human HEp2 細胞に対する IC_{50} の値は、5.3 μM であると決定された。得られた $\text{IC}_{50} = 5.3 \mu\text{M}$ という数値は、以前に報告された *N*-methyl-pyridinium-3-yloxy 基を有するカチオン性 Phthalocyanine 錯体の IC_{50} 値と同程度であった。[23]



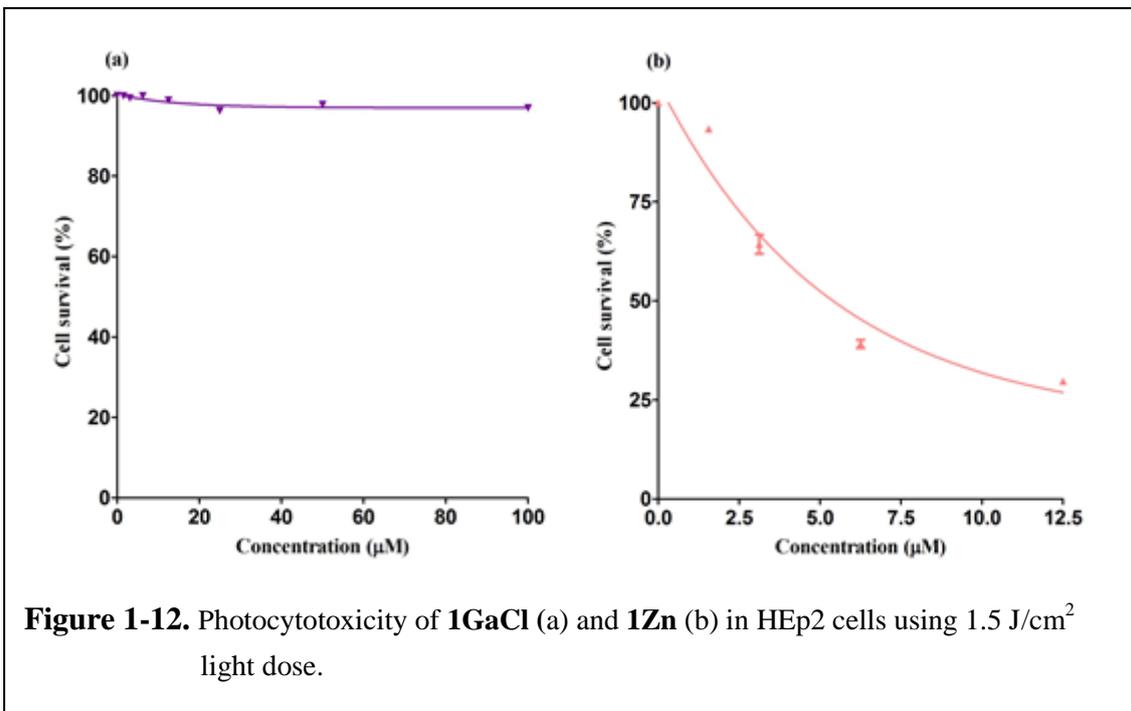


Table 1-6. Cytotoxicity IC₅₀ values for **1GaCl** and **1Zn**. (CellTiter Blue assay, 1.5 J/cm²)

Pc	Dark toxicity	Photocytotoxicity
	(IC ₅₀ , µM)	(IC ₅₀ , µM)
1GaCl	> 100	>100
1Zn	> 100	5.3

同一の置換基を有し、生体に近い環境を持った PBS 中において **1Zn** よりも高い ¹O₂ 発生能を有する **1GaCl** に光細胞毒性が発現しなかった原因を解明するため、human HEp2 細胞内の **1GaCl** と **1Zn** が優先的に局在化する細胞小器官 (organelle) を特定する調査を行った。この調査では、各 organelle に対して、選択的に集積するプローブ化合物を用いた蛍光顕微鏡検査法によって、**1GaCl** と **1Zn** の局在化した部位を特定した。

各 organelle に対するプローブとして、ER Tracker Blue/White (小胞体 (endoplasmic reticulum, ER))、BODIPY Ceramide (ゴルジ体 (Golgi apparatus, Golgi))、MitoTracker Green (ミトコンドリア (mitochondria))、LysoTracker Green (水解小体 (Lysosomes)) が使用された。蛍光顕微鏡検査法では、プローブ化合物由来の蛍光と **1GaCl** および **1Zn** 由来の蛍光を重ね合わせることで、**1GaCl** および **1Zn** が優先的に局在化する organelle を特定することができる。蛍光顕微鏡検査法の結果を、**Figure 1-13**、**Figure 1-14** と **Table 1-7** にまとめた。

Figure 1-13 と **Figure 1-14** に示されるように、**1GaCl** および **1Zn** は、ER、Golgi、mitochondria、Lysosomes を含む複数の organelle に集積し、ER、Golgi、Lysosomes に多く局在化していることが明らかとなり、イオン性分子である **1GaCl** と **1Zn** は、エンドサイトーシス機構を経由して、細胞内に取り込まれたことを示唆する結果が得られた。また、**1GaCl** と **1Zn** の主な局在化部位である ER、Golgi、Lysosomes の 3 種類の organelle における **1GaCl** と **1Zn** 由来の蛍光の強度を比較すると、**1Zn** の蛍光の強度は、**1GaCl** のよりも大きく、多量の **1Zn** が、細胞内に取り込まれたことを意味する。**1Zn** は、**1GaCl** に比べて、効率よく、細胞に取り込まれ、PDT 効果による細胞死を導くために重要なターゲットとなる ER、Golgi、Lysosomes に対して局在化したため、**1Zn** のみに光細胞毒性が発現したと考えられる。暗所細胞毒性がほぼなく、大きな光細胞毒性も同時に有している **1Zn** は、PDT の光増感剤として、十分な能力を有していることが明らかとなった。

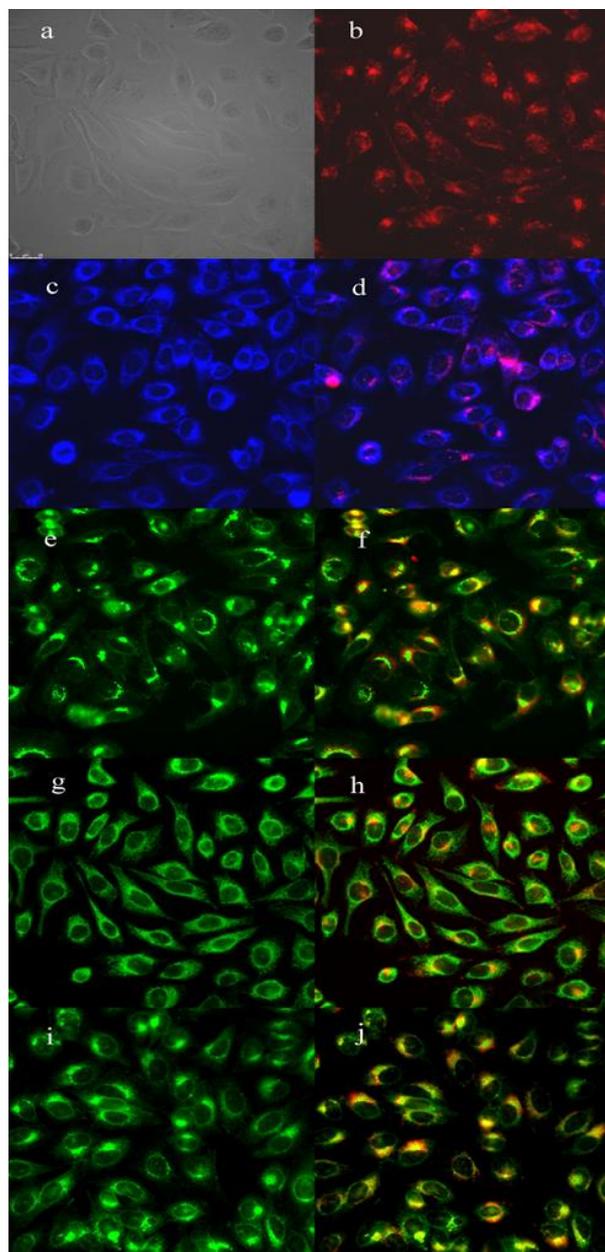


Figure 1-13. Subcellular localization of **1GaCl** in HEp2 cells at 10 μM for 6 h. (a) Phase contrast, (b) the fluorescence of **1GaCl**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) overlay of **1GaCl** and ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) overlay of **1GaCl** and BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) overlay of **1GaCl** and MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) overlay of **1GaCl** and LysoSensor Green. Scale bar: 0 - 25 μm .

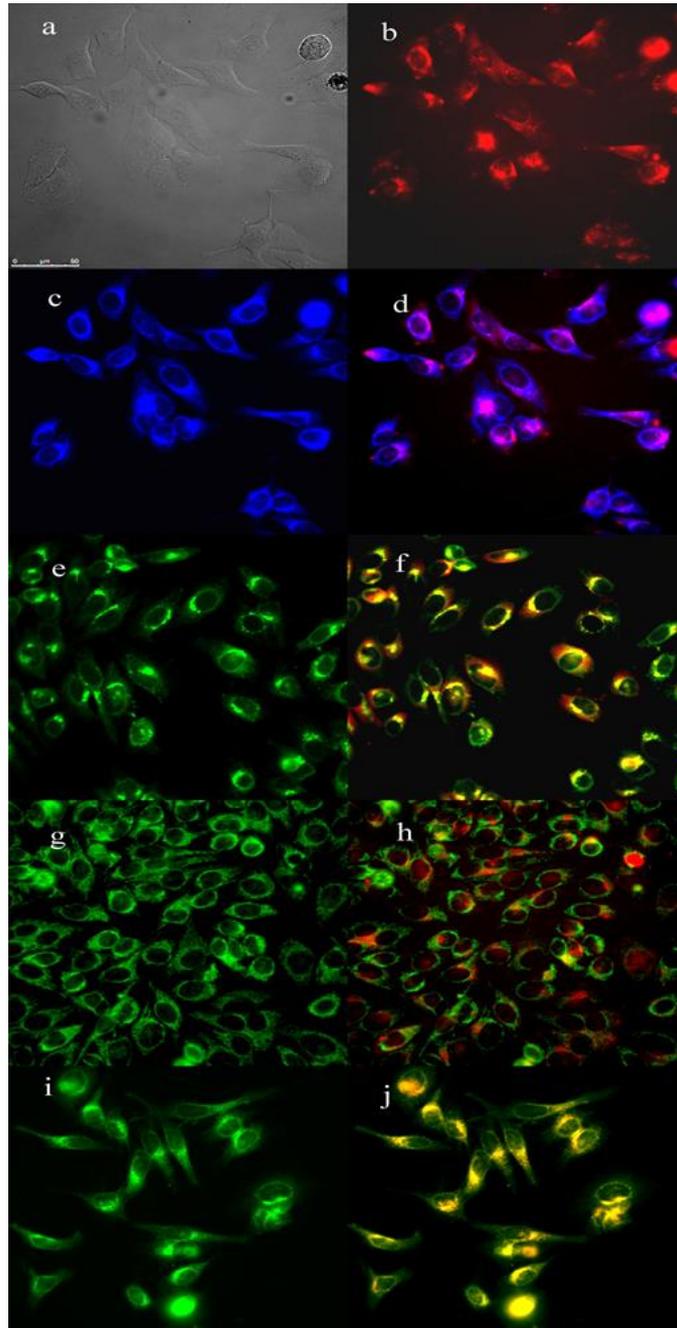


Figure 1-14. Subcellular localization of **1Zn** in HEp2 cells at 10 μ M for 6 h. (a) Phase contrast, (b) the fluorescence of **1Zn**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) overlay of **1Zn** and ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) overlay of **1Zn** and BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) overlay of **1Zn** and MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) overlay of **1Zn** and LysoSensor Green. Scale bar: 0 - 50 μ m.

Pc	ER	Golgi	Mitochondria	Lysosomes
1GaCl	++	++	+	++
1Zn	+++	+++	+	+++

1-3. 結論

8 か所の β 位に *N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) 基を有するカチオン性 Phthalocyanine (**1GaCl** および **1Zn**) の合成を行った。得られた **1GaCl** と **1Zn** は、DMSO のみならず、水や PBS といった水系溶媒にも溶解性を示した。**1GaCl** は、軸配位子である Cl 原子の立体反発のため、PBS 中において、 6.0×10^{-5} M まで、会合体を形成せずに、単量体として存在することができ、PBS 中で会合体を形成しない初めてのカチオン性 Phthalocyanine 錯体であるといえる。また、**1GaCl** と **1Zn** は、光の照射を受けると、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認され、DMSO 中だけでなく、生体に近い環境を持った PBS 中においても、 $^1\text{O}_2$ の発生能を有することが明らかとなった。

1GaCl および **1Zn** の human HEp2 細胞に対する細胞毒性の結果、**1GaCl** と **1Zn** は、ともに、暗所細胞毒性を持たず、ER、Golgi、Lysosomes といった複数の organelle に選択的に集積することが明らかとなった。また、 1.5 J/cm^2 の光に曝すと、**1Zn** のみが、光細胞毒性を発現することも明らかとなった。本研究の結果、**1Zn** は、生体内で機能する PDT の光増感剤として、大いに期待できる性能を有していると考えられる。

References

- [1] J. Mack, N. Kobayashi, *Chem. Rev.* 111(2011) 281-321.
- [2] G. Torre, P. Va'zquez, F. Agullo'-Lo'pez, T. Torres, *Chem. Rev.* 104(2004) 3723-3750.
- [3] G. Bottari, G. Torre, D. M. Guldi, T. Torres, *Chem. Rev.* 110(2010) 6768-6816.
- [4] D. E.J.G.J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nature Reviews Cancer* 3(2003) 380-387.
- [5] J. Zhao, W. Wu, J. Sun, S. Guo, *Chem. Soc. Rev.*, 42(2013), 5323-5351.
- [6] R. A. Weersink, A. Bogaards, M. Gertner, S. R.H. Davidson, K. Zhang, G. Natchev, J. Trachtenberg, B. C. Wilson, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 79 (2005) 211-222.
- [7] W. Hu, M. Xie, H. Zhao, Y. Tang, S. Yao, T. He, C. Ye, Q. Wang, X. Lu, W. Huang, Q. Fan, *Chem. Sci.*, 9(2018), 999-1005.
- [8] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.* 90(1998) 889-905.
- [9] S. Yano, S. Hirohara, M. Obata, Y. Hagiya, S. Ogura, A. Ikeda, H. Kataoka, M. Tanaka, T. Joh, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 12(2011) 46-67.
- [10] S. B. Brown, E. A. Brown, I. Walker, *Lancet Oncol.* 5(2004) 497-508.
- [11] F. Dumoulin, M. Durmus, V. Ahsen, T. Nyokong, *Coord. Chem. Rev.* 254(2010) 2792-2847.
- [12] N. B. McKeown, *Phthalocyanine materials : synthesis, structure, and function*, Cambridge University Press, Cambridge, 1998.
- [13] M. C. Derosa, R. J. Crutchley, *Coord. Chem. Rev.* 233-244(2002) 351-371.
- [14] M. Sonoda, C. M. Krishna, P. Riesz, *Photochem. Photobiol.* 46(1987) 625-631.
- [15] D. J. Ball, S. R. Wood, D. I. Vernon, J. Griffiths, T. M.A. R. Dubbelman, S. B. Brown, J. *Photochem. Photobiol. B: Biology* 45(1998) 28-35.
- [16] D. J. Ball, S. Mayhew, S. R. Wood, J. Griffiths, D. I. Vernon, S. B. Brown, *Photochem. Photobiol.* 69(1999) 390-396.
- [17] A. Minnock, D. I. Vernon, J. Schofield, J. Griffiths, J. H. Parish, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 32(19968) 159-164.
- [18] A. Minnock, D. I. Vernon, J. Schofield, J. Griffiths, J. H. Parish, S. B. Brown, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 44(2000) 522-527.
- [19] I. Scalise, E. N. Durantini, *Bioorg. Med. Chem.* 13(2005) 3037-3045.
- [20] B. Mızrak, E. B. Orman, S. Abdurrahmanoglu, A. R. Ozkaya, J. Porphyr. Phthalocyanines, iss.1-3, 22(2018), 243-249.
- [21] L. George, A. Hiltunen, V. Santala, A. Efimov, *J. Inorg. Biochem.* 183(2018) 94-100.
- [22] L. George, A. Muller, B. Roder, V. Santala, A. Efimov, *Dyes and Pigments* 147(2017) 334-342.
- [23] H. Li, T. J. Jensen, F. R. Fronczek, M. G. H. Vicente, *J. Med. Chem.* 51(2008) 502-511.

- [24] D. Wöhrle, M. Eskes, K. Shigehara, A. Yamada, *Synthesis* 1993 194-196.
- [25] M. Durmus, A. Erdogmus, A. Ogunsipe, T. Nyokong, *Dyes and Pigments* 82(2009) 244-250.
- [26] M. Camur, V. Ahsena, M. Durmus, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 219(2011) 217-227.
- [27] M. Haas, S. Liu, A. Neels, S. Decurtins, *Eur. J. Org. Chem.* 2006, 5467-5478.
- [28] R. Kubiak, J. Janczak, M. Śledź, E. Bukowska, *Polyhedron* 26(2007) 4179-4186.
- [29] R. Fujishiro, H. Sonoyama, Y. Ide, S. Mori, T. Sugimori, A. Nagai, K. Yoshino, M. Nakamura, T. Ikeue, *Heterocycles*. 94(2017) 131-139.
- [30] F. Yang, X. Fang, H. Yu, J. Wang, *Acta Cryst. C*64(2008) m375-m377.
- [31] M. Durmus, V. Ahsen, *J. Inorg. Biochem.* 104(2010) 297-309.
- [32] M. Durmus, T. Nyokong, *Inorg. Chem. Commun.* 10(2007) 332-338.
- [33] X. Li, J. Guo, J. Zhuang, B. Zheng, M. Ke, J. Huang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25(2015) 2386-2389.
- [34] S. Makhseed, M. Machacek, W. Alfadly, A. Tuhl, M. Vinodh, T. Simunek, V. Novakova, P. Kubat, E. Rudolf, P. Zimcik, *Chem. Commun.* 49(2013) 11149-11151.
- [35] A. Atsay, A. Gül, M. B. Koçak, *Dyes and Pigments* 100(2014) 177-183.
- [36] P. Zimcik, M. Miletin, H. Radilova, V. Novakova, K. Kopecky, J. Svec1, E. Rudolf, *Photochem. Photobiol.* 86(2010) 168-175.
- [37] S. Moeno, T. Nyokong, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 215(2010) 196-204.
- [38] H. Yanık, D. Aydın, M. Durmus, V. Ahsen, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 206(2009) 18-26.
- [39] N. Masilela, T. Nyokong, *Dyes and Pigments* 84(2010) 242-248.
- [40] S. Moeno, T. Nyokong, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 203(2009) 204-210.
- [41] J. Chen, Q. Gan, S. Li, F. Gong, Q. Wang, Z. Yang, S. Wang, H. Xu, J. S. Ma, G. Yang, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 207 (2009) 58-65.
- [42] A. T. Bilgiçli, M. Durdasoglu, E. Kırbaç, M. N. Yarasir, M. Kandaz, *Polyhedron* 100(2015) 1-9.
- [43] R. Sasai, N. Iyi, H. Kusumoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 84(2011) 562-568.
- [44] J. Liua, J. Li, X. Yuan, W. Wang, J. Xue, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 13(2016) 341-343.
- [45] V. Çakır, D. Çakır, M. Göksel, M. Durmuş, Z. Bıyıklıoğlu, H. Kantekin, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 299(2015) 138-151.
- [46] B. Zheng, M. Ke, W. Lan, L. Hou, J. Guo, D. Wan, L. Cheong, J. Huang, *Eur. J. Med. Chem.* 114(2016) 380-389.

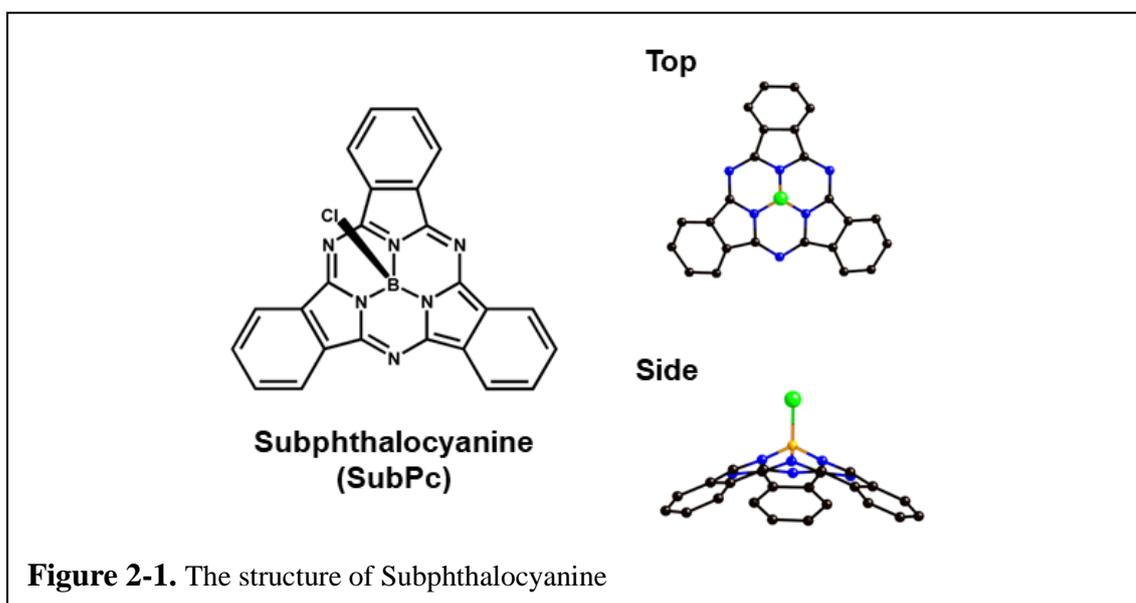
- [47] D. Çakır, V. Çakır, Z. Bıyıklıođlu, M. Durmus, H. Kantekin, *J. Organomet. Chem.* 745-746(2013) 423-431.
- [48] V. Çakır, D. Çakır, M. Piskin, M. Durmus, Z. Bıyıklıođlu, *J. Organomet. Chem.* 783(2015) 120-129.
- [49] V. Çakır, D. Çakır, M. Pişkin, M. Durmuş, Z. Bıyıklıođlu, *J. Lumin.* 154(2014) 274-284.
- [50] M. Çamur, M. Durmus, M. Bulut, *Polyhedron* 41(2012) 92-103.
- [51] A. A. Esenpinar, M. Durmus, M. Bulut, *Spectrochim. Acta A* 79(2011) 608-617.
- [52] J. B. Pereira, E. F. A. Carvalho, M. A. F. Faustino, R. Fernandes, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, N. C. M. Gomes, A. Cunha, A. Almeida, J. P. C. Tome, *Photochemistry and Photobiology*, 88(2012), 537-547.
- [53] R. Gerdes, D. Wo'hrle, W. Spiller, G. Schneider, G. Schnurpfeil, G. Schulz-Ekloff, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* 111(1997) 65-74.
- [54] Y. Lion, M. Delmelle, A. V. VORST, *Nature* 263(1976) 442-443.
- [55] G. Nardia, I. Manet, S. Monti, M. A. Miranda, V. Lhiaubet-Vallet, *Free Radic. Biol. Med.* 77(2014) 64-70.
- [56] P. Niedbalski, C. Parish, A. Kiswandhi, L. Lumata, *Magn. Reson. Chem.* 54(2016) 962-967.
- [57] J. M. Buffa, M. A. Grela, M. I. Aranguren, V. Mucci, *Carbohydrate Polymers* 136(2016) 744-749.
- [58] S. Wei, J. Zhou, D. Huang, X. Wang, B. Zhang, J. Shen, *Dyes and Pigments* 71(2006) 61-67.
- [59] D. O. Oluwole, F. A. Sarı, E. Prinsloo, E. Dube, A. Yuzer, T. Nyokong, M. Ince, *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 203(2018) 236-243.

2. Subphthalocyanine 多量体の合成と一重項酸素発生成能

2-1. 緒言

Subphthalocyanine は、Phthalocyanine よりも isoindole ユニットが 1 つ少ない、3 つの isoindole ユニットによって環構造を形成された Phthalocyanine 環縮小体である。18 π 電子共役系を有する Phthalocyanine に対して、 π 電子共役系を形成する中心環の縮小した Subphthalocyanine は、14 π 電子共役系を有していることが知られている。^[1-5]

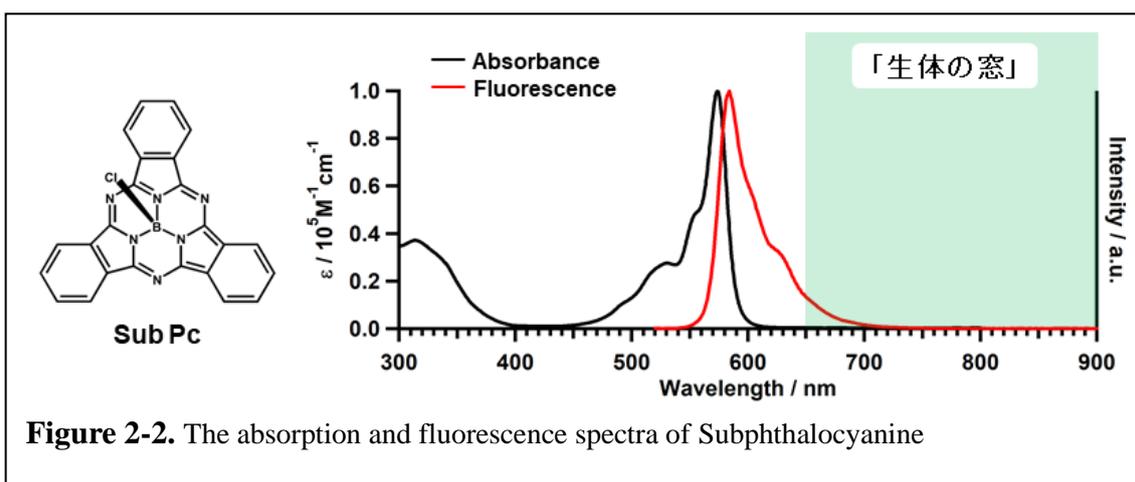
Phthalocyanine は、環中心の空孔に様々な金属イオンの挿入された錯体の報告例が数多くあるのに対して、Subphthalocyanine は、1972 年に、Meller と Ossko による Subphthalocyanine の発見以来、ホウ素錯体しか報告されていない。^[6] また、Subphthalocyanine は、高い平面を有していることで有名な Phthalocyanine の類縁体であるにも関わらず、Phthalocyanine とは大きく異なって、円錐型の構造を有している。^[3, 7-10]



Subphthalocyanine は、14 π 電子共役系に起因する特徴的な分光的性質や電気化学的特性を持つため、色素増感型太陽電池や有機 LED の色素として応用されるだけでなく、構造的な特徴を利用した非線形光学材料や分子捕捉による化学センサーなど、幅広

い分野における分子材料として応用されている。^[4, 11-16] Subphthalocyanine の吸収スペクトルは、Phthalocyanine と同様に、Soret band と Q-band と呼ばれる 2 つの吸収帯から成り、Subphthalocyanine の Soret band と Q-band は、 π 電子共役系の縮小に起因して、Phthalocyanine のものと比べて、短波長シフトした 300 nm と 560 nm 付近にそれぞれ存在する。また、Subphthalocyanine のモル吸光係数 (ϵ) の値も、Phthalocyanine と比べて小さく、Subphthalocyanine の Q-band は、 $\epsilon = 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 程度である。^[1, 3]

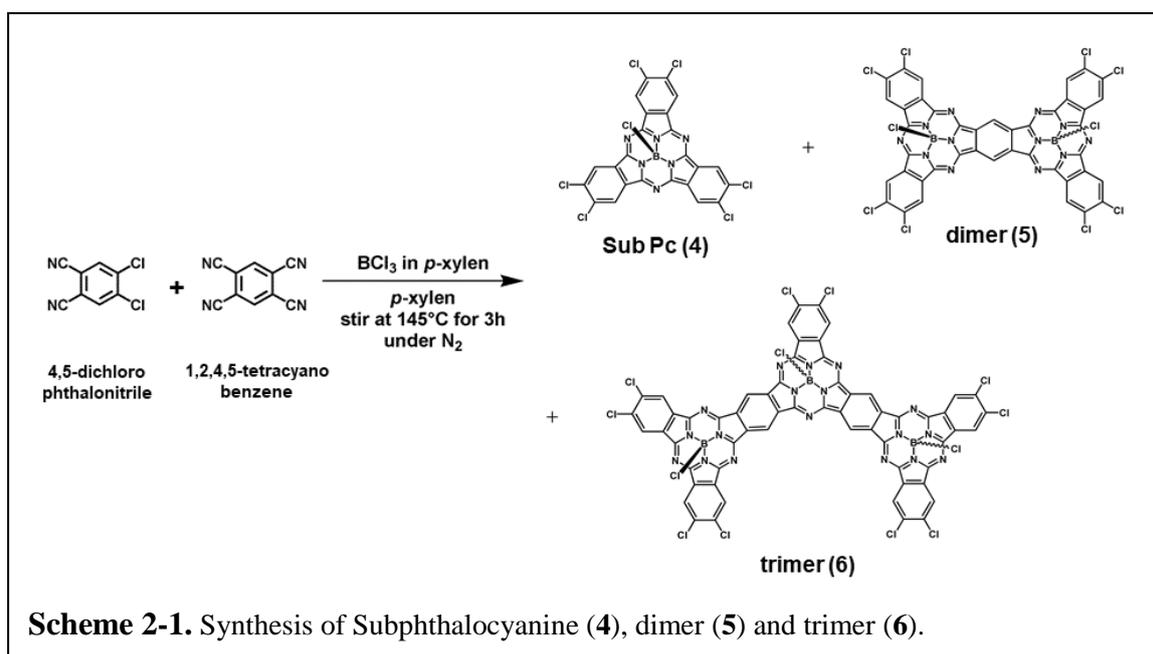
1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」の中で記載したように、近赤外領域に吸収帯を持った水溶性 Phthalocyanine 誘導体は、PDT の光増感剤として応用可能であることが知られているが、本質的に、高い平面性を有する Phthalocyanine 誘導体は、溶液中で会合体を形成しやすく、PDT の光増感剤としての機能を損なうことも同時に知られている。^[17-19] 一方、**Figure 2-2** に示されるように、Subphthalocyanine 誘導体の吸収スペクトルは、近赤外領域まで到達しておらず、生体内で効率的に光を吸収することができないため、Subphthalocyanine 誘導体の PDT の光増感剤への応用についての研究は、Phthalocyanine 誘導体に比べて、進んでいない。^[4, 20-22]



しかし、Subphthalocyanine 誘導体は、円錐型に大きく歪んだ構造を有しているため、Phthalocyanine 誘導体と比べて、溶液中で会合体を形成しにくく、Phthalocyanine 誘導体

由来の光増感剤の持つ「溶液中での会合体の形成」という課題を克服した新たな PDT の光増感剤になりうることが考えられる。

そこで、Subphthalocyanine の共役系を拡張し、近赤外領域に吸収帯を有する Subphthalocyanine 誘導体の合成を目的とし、Subphthalocyanine 環同士を共通のベンゼン環によって連結した Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) を、Scheme 2-1 に示されるルートに従って合成した。本章では、Subphthalocyanine 環のβ位に Cl が置換された Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) の分光学的性質の調査、Subphthalocyanine 誘導体への照射による¹O₂ の発生の確認および¹O₂ 発生効率の評価を行った。また、Subphthalocyanine 誘導体の Human HEp2 細胞に対する暗所細胞毒性と光細胞毒性の調査も行い、その結果について報告を行う。



2-2. 結果と考察

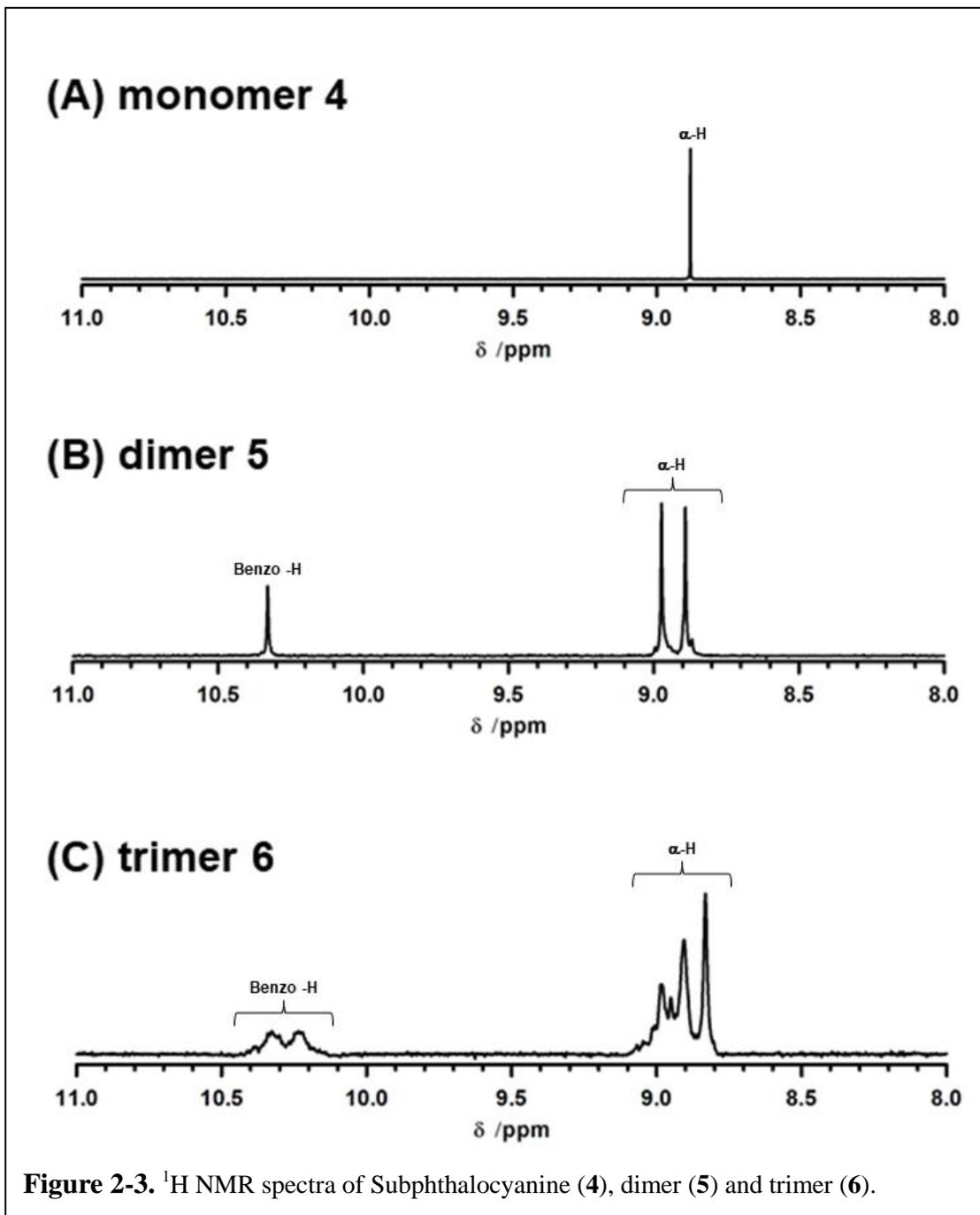
2-2.1. Synthesis and characterization

合成された各化合物の帰属データは、後述の実験項に記載した。Subphthalocyanine 共

役多量体の合成は、市販の 4,5-dichlorophthalonitrile と 1,2,4,5,-tetracyanobenzene、 BCl_3 の *p*-xylene 溶液から、論文の方法を参考に行った。^[23-26]

Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) の環化反応は、*p*-xylene 中で行われ、得られた粗生成物をシリカゲルカラムによって精製し、目的化合物の最終的な精製と単離は、 CHCl_3 を溶離剤として用いたリサイクル HPLC によって行った。元素分析、 ^1H NMR スペクトル、質量分析により、Scheme 2-1 に示される Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) の合成がなされたことを確認した。Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) は、それぞれ、2.8 %、0.30 %、0.053 % の収率で単離された。合成された Subphthalocyanine 共役多量体は、 CHCl_3 や CH_2Cl_2 、toluene といった一般的な有機溶媒に溶解するだけでなく、極性溶媒である MeOH や DMSO に対しても溶解性を示した。

Figure 2-3 に、室温下、 CDCl_3 中で測定された Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) の ^1H NMR スペクトルを示す。Subphthalocyanine (4) では、Subphthalocyanine 環の α 位の ^1H に由来する鋭い singlet なシグナルのみが、 $\delta = 8.93$ ppm に観測された。Subphthalocyanine dimer (5) では、Subphthalocyanine 環の α 位の ^1H に由来するシグナルが、 $\delta = 8.99$ ppm と 8.91 ppm に、それぞれ 4H の積分値を有する 2 本の singlet なシグナルとして観測され、さらに、2 つの Subphthalocyanine 環同士を連結する benzo 環由来のシグナルが、 $\delta = 10.35$ ppm に、2H の積分値を有する singlet なシグナルとして観測された。また、Subphthalocyanine trimer (6) では、Subphthalocyanine 環の α 位の ^1H に由来するシグナルが、 $\delta = 8.93$ ppm 付近に、合計 10H の積分値を有する複雑に分裂したシグナルとして観測され、さらに、Subphthalocyanine 環同士を連結する benzo 環由来のシグナルが、 $\delta = 10.26$ ppm と 10.35 ppm に、それぞれ 2H の積分値を有する 2 本の singlet なシグナルとして観測された。



また、Subphthalocyanine (4) の CHCl_3 溶液のスローエバポレーションによって、単結晶が得られ、X 線結晶構造解析の結果を **Figure 2-4** に示す。この結晶に対する結晶データを **Table 2-1** にまとめた。X 線結晶構造解析の結果、得られた結晶は、Subphthalocyanine 環の特徴である大きく歪んだ円錐型の構造を有している。結晶格子内では、Subphthalocyanine (4) 分子同士が互いに重なり合い、カラム構造を形成していた。また、隣り合うカラム同士は、逆方向に向かって、積み重なっていることが明らかとなった。Subphthalocyanine (4) の Subphthalocyanine 環の末端に位置する 6 個の C 原子からなる平面と環中心のホウ素原子との距離は、 2.795 \AA であり、これまでに報告された Subphthalocyanine 単量体の構造とも一致している。 [7-10, 27-29]

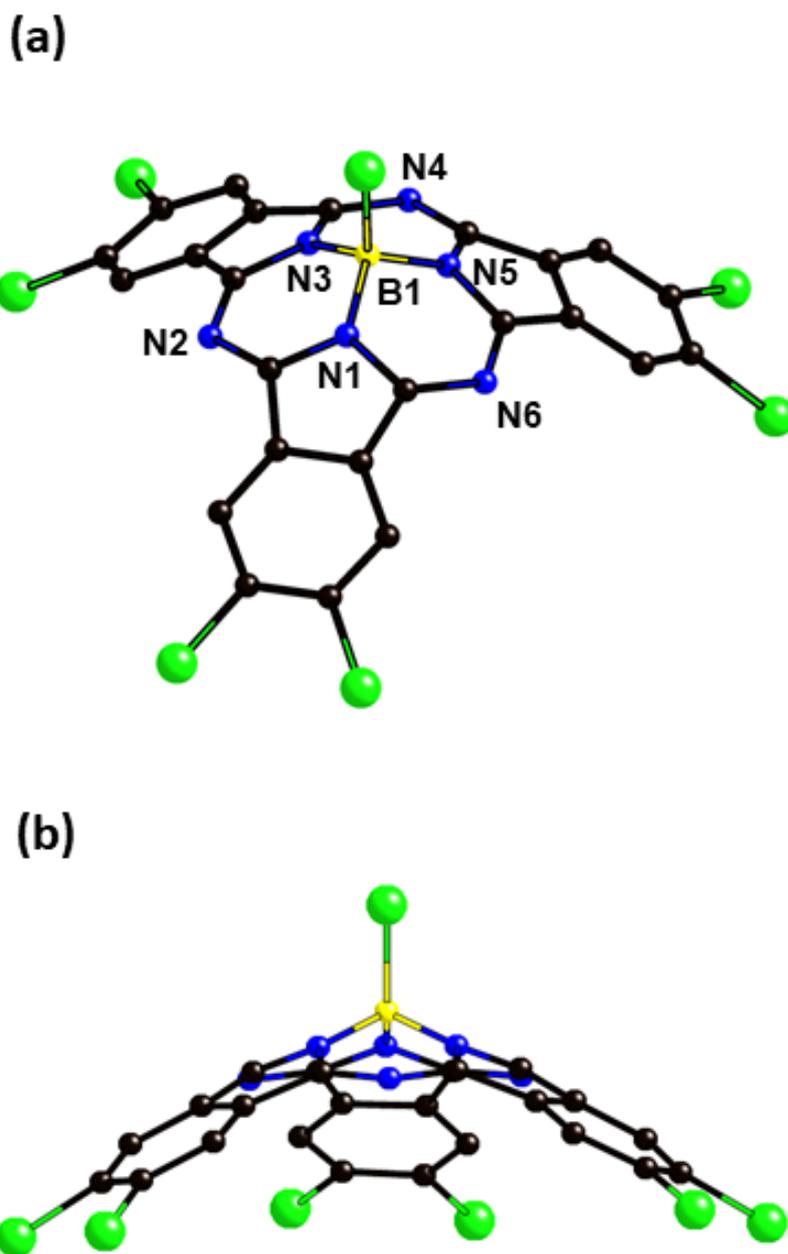


Figure 2-4. Crystal structure of Subphthalocyanine (**4**). (a: top view, b: side view). Hydrogen and solvents atoms are omitted for clarity.

Table 2-1. Crystal data and data collection details of Subphthalocyanine (4)

Empirical formula	C ₂₄ H ₆ BCl ₇ N ₆
Formula weight	637.33
Temperature (K)	100(2)
Wave length (Å)	0.71075
Crystal system	monoclinic
Space group	P2 ₁ /n
a (Å)	13.0608(4)
b (Å)	7.3803(3)
c (Å)	25.4400(10)
α (°)	90
β (°)	99.599(3)
γ (°)	90
Volume (Å ³)	2417.89(16)
Z	4
Density (Calculated) (g cm ⁻³)	1.751
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.852
F (000)	1264.00
Crystal size (mm)	0.160 X 0.020 X 0.010
θ Range for data collection	1.894 to 28.000
Index ranges	-17<=h<=17, -9<=k<=9, -33<=l<=33
Reflections collected	40151
Independent reflections	5829 [R _{int} = 0.0700]
Max. and Min. transmission	0.992 and 0.895
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data/restraints/parameters	5829 / 0 / 343
Goodness-of-fit on F ²	1.018
Final R indices (>2σ(I))	R ₁ = 0.0388, wR ₂ = 0.0770
R indices (all data)	R ₁ = 0.0572, wR ₂ = 0.0834
Largest peak and hole (eÅ ⁻³)	+ 0.503 and - 0.341

2-2.2. Absorption and Florescence spectra

Figure 2-5 に、 1.5×10^{-5} M において、toluene 中で測定された Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine dimer (5) と Subphthalocyanine trimer (6) の吸収スペクトルと蛍光スペクトルを示す。また、Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の吸収スペクトルと蛍光スペクトルの数値は、Table 2-2 にまとめた。

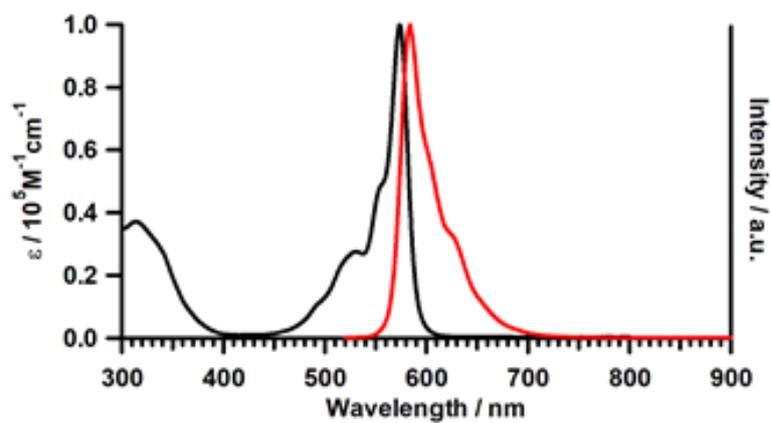
Subphthalocyanine (4) の Q-band は、574 nm に極大吸収波長を有する吸収帯として観測され、蛍光スペクトルは、584 nm に観測された。Subphthalocyanine dimer (5) では、Subphthalocyanine (4) の Q-band の極大吸収波長から 135 nm ほど長波長シフトした 709

nmに極大吸収波長を有する吸収帯として Q-band が観測された。dimer (5) の蛍光スペクトルは、712 nm に観測された。また、Subphthalocyanine trimer (6) の Q-band は、Subphthalocyanine (4) の Q-band の極大吸収波長から 203 nm ほど長波長シフトした 777 nm に極大吸収波長を有する吸収帯として観測され、蛍光スペクトルは、784 nm に観測された。Subphthalocyanine 共役多量体 5, 6 の吸収スペクトルにおいて確認された Q-band の長波長シフトは、Subphthalocyanine ユニットを連結したことによる π 共役系の拡張によるものである。

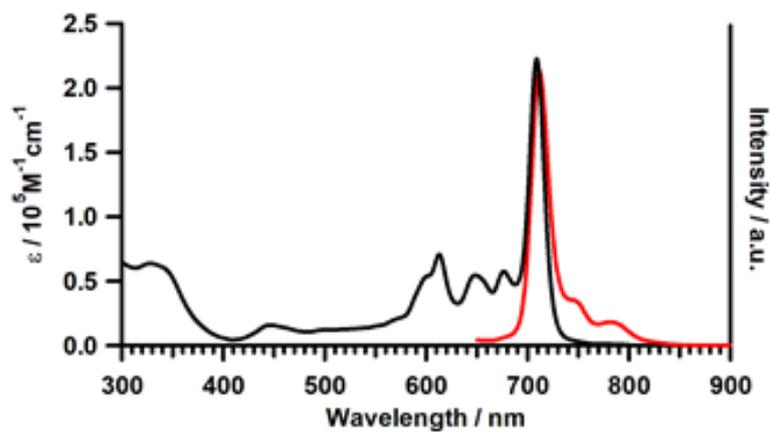
また、toluene 中で Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の絶対蛍光量子収率 (Φ_F) の測定も行い、Subphthalocyanine (4) の Φ_F は 0.39、Subphthalocyanine dimer (5) の Φ_F は 0.26、Subphthalocyanine trimer (6) の Φ_F は 0.19 であった。今回、toluene 中で得られた Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の分光学的特性は、これまでに報告されている Subphthalocyanine 共役多量体の特徴と一致している。^[23-26]

Subphthalocyanine ユニットの連結により、Subphthalocyanine 共役多量体 5, 6 は、PDT の光増感剤に必要とされる「生体の窓」と呼ばれる近赤外領域の光を吸収し、高い蛍光発光特性を有することも明らかとなった。

(A) monomer 4



(B) dimer 5



(C) trimer 6

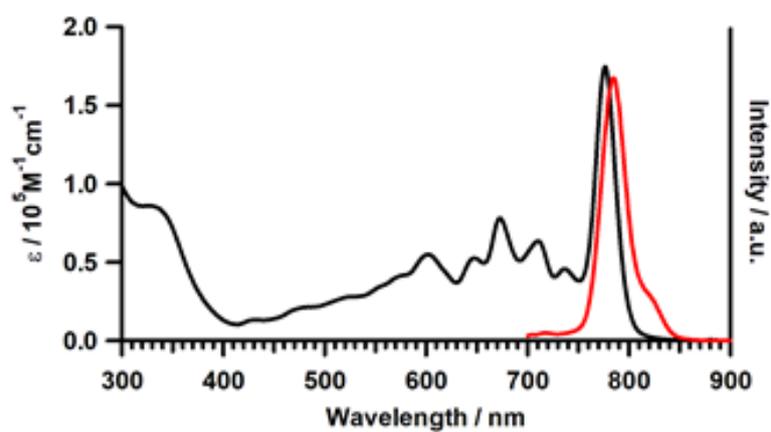


Figure 2-5. Absorption and fluorescence spectra of SubPcs 4-6 in toluene. (black line : absorption, red line : fluorescence.)

Table 2-2. Photophysical and photochemical parameters of SubPcs **4-6** in toluene at 1.5×10^{-5} M.

Comp.	λ_{Max} (nm)	λ_{Em} (nm)	SS (nm)	ΦF (%)
Monomer 1	574	584	10	39.0
Dimer 2	709	712	3	25.9
Trimer 3	777	784	7	18.9

^a ΦF were evaluated using an absolute PL quantum yield measurement apparatus described in the literature [30].

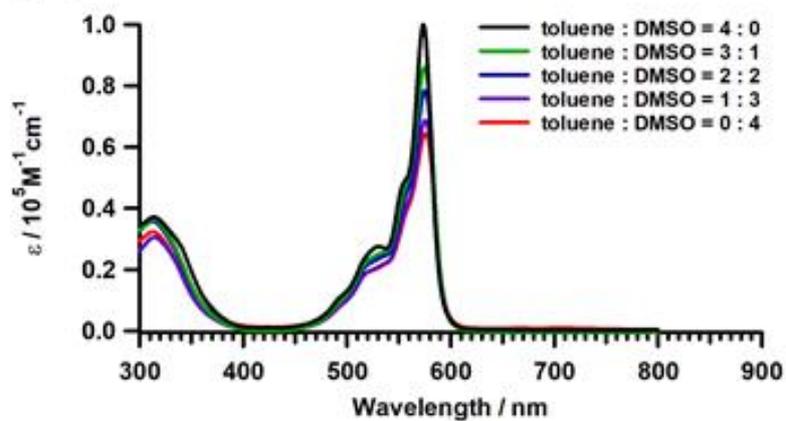
2-2.3. Solvent effects

DMSO 中、 1.5×10^{-5} M において観測された Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の吸収スペクトルは、toluene 中で測定されたそれらの吸収スペクトルと比較して、スペクトル強度に大きな減衰を示した。このような吸光度の減衰は、平面性の高い Phthalocyanine 誘導体であれば、溶液中での会合体の形成に起因している。^[17-19] しかしながら、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の DMSO 中で観測された吸収スペクトルでは、Phthalocyanine 誘導体が溶液中で会合体を形成した際に観測されるような会合体由来の新たな吸収帯の発現が確認されていない。さらに、Subphthalocyanine 環の立体構造的な性質から溶液中の会合体の形成は生じにくいことや、配位性溶媒である DMSO 中では、DMAO の B 原子への配位委により、化合物全体としての嵩が増すため、会合体の形成は、より生じにくくなるであろうことを踏まえると、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の DMSO 中での吸収スペクトルの減衰が、会合体形成に起因するものであると結論付けることは難しい。

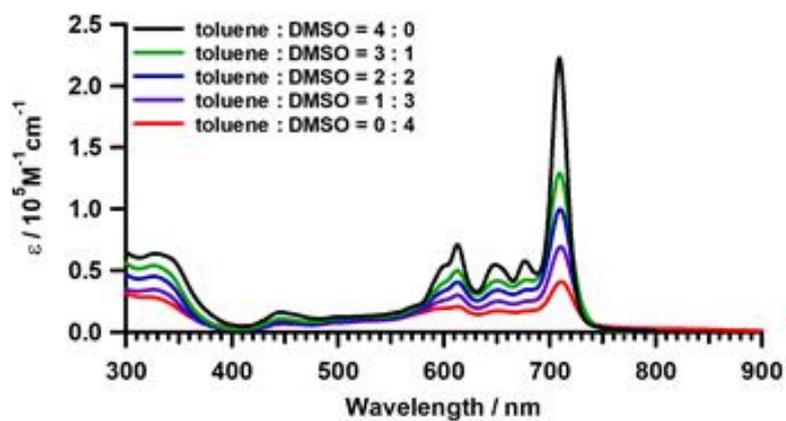
そこで、toluene と DMSO の体積比率の変化を伴う Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の

toluene / DMSO 混合溶液中での吸収スペクトルの測定を行い、その結果を **Figure 2-6** に示す。**Figure 2-6** に示される結果は、試料濃度を 1.5×10^{-5} M に調整した toluene 溶液と同濃度の DMSO 溶液の混合比率を変更して測定した際の結果である。Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** は、いずれも、混合溶媒中の DMSO の体積比率が増加するにつれて、スペクトル強度が減少していることが明らかとなった。また、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の toluene 溶液への DMSO の添加、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の DMSO 溶液への toluene の添加についても、混合溶媒中の DMSO の体積比率が増加するにつれて、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** のスペクトル強度が減少するという同様な変化が観測された。toluene と DMSO の体積比率の変化に伴って、吸収スペクトルの変化が生じたことや、会合体由来の新たな吸収帯の発現も見られなかったことから、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の DMSO 中での吸収スペクトルの減衰は、DMSO の溶媒効果によるものであると示唆した。

(A) monomer 4



(B) dimer 5



(C) trimer 6

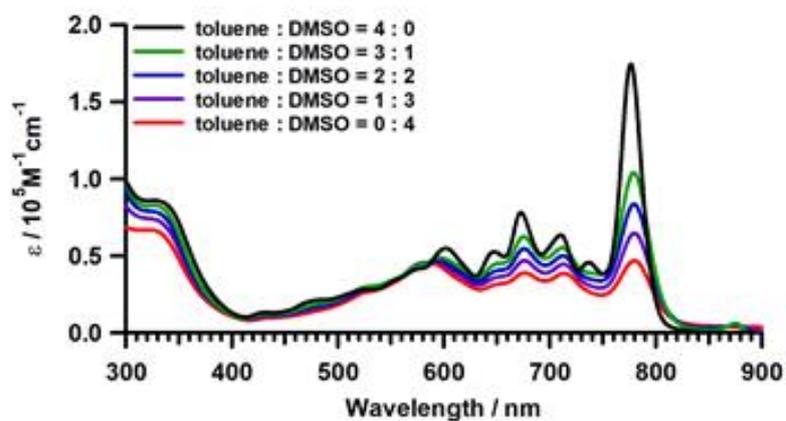


Figure 2-6. The spectral changes of UV-vis spectra of SubPcs 4-6 in toluene / DMSO mixed solutions.

2-2.4. Singlet oxygen generation properties

Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** が、PDT の光増感剤としてのポテンシャルを有しているのかを確認するため、Subphthalocyanine (**4**)、Subphthalocyanine dimer (**5**)、Subphthalocyanine trimer (**6**) の光照射に伴う $^1\text{O}_2$ 発生能の評価を行った。1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」と同様に、光増感剤への光照射を伴って発生した $^1\text{O}_2$ による捕捉剤分子の酸化分解反応の絶対量子収率 ($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$) を $^1\text{O}_2$ 発生量の指標として使用した。Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、 $^1\text{O}_2$ の捕捉剤として 1,3-Diphenylisobenzofuran (DPBF) を使用し、式 (1) を用いて計算した。Subphthalocyanine (**4**)、Subphthalocyanine dimer (**5**)、Subphthalocyanine trimer (**6**) の光反応は、それぞれの Q-band に対応する 570 nm、700 nm、770 nm の光を照射して行った。

Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** と DPBF の混合溶液への光照射の間に、観測された吸収スペクトルの変化を **Figure 2-7, 2-8, 2-9** に示し、各反応中で得られた DPBF の吸光度の減衰曲線を **Figure 2-10** に示す。DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出には、DPBF の吸光度の減衰曲線の傾きが、直線性を保持している区間の値を使用して計算を行った。**Table 2-3** には、 $^1\text{O}_2$ によって分解した DPBF の分子数と光増感剤の吸収した光子数を示す。また、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** に対して得られた $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の数値を **Table 2-4** に示す。

Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験では、いずれの実験においても、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯が大きく減少し、光照射によって発生した $^1\text{O}_2$ による DPBF の酸化分解が生じたことが確認された。toluene 中の Subphthalocyanine (**4**) への光照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、20.4 % であると計算された。また、toluene 中の Subphthalocyanine dimer (**5**) および Subphthalocyanine trimer (**6**) への光照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、それぞれ 15.8 % と 14.6 % であると計算された。

次に、同様の実験条件下で、Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** と DPBF の DMSO 混合溶液への光照射実験も行った。DMSO 中の反応では、Subphthalocyanine (**4**) および Subphthalocyanine dimer (**5**) に対しては、DPBF 由来の 417 nm 付近の吸収帯のみの減衰が観測されたが、Subphthalocyanine trimer (**6**) では、DPBF 由来の吸収帯の減衰だけでなく、777 nm 付近の Subphthalocyanine trimer (**6**) 由来の吸収帯の減衰も同時に確認された。DPBF 由来の 417 nm の吸収度の減衰から計算された Subphthalocyanine (**4**)、Subphthalocyanine dimer (**5**) および Subphthalocyanine trimer (**6**) への光の照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、それぞれ、8.65 %、7.75 %、2.38 %であった。

これまで算出してきた $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、捕捉剤分子の分解のみが生じるものと仮定し、捕捉剤由来の吸収帯の吸光度の減衰曲線の傾きの数値を直接使用し、計算してきた。しかし、DMSO 中の Subphthalocyanine trimer (**6**) と DPBF のように、417 nm で捕捉剤分子由来の吸収帯と光増感剤由来の吸収帯が重なりを持ち、なおかつ、発生した $^1\text{O}_2$ によって、捕捉剤分子の分解だけでなく、光増感剤の分解も同時に生じる場合には、417 nm の吸光度の減衰の傾きを、捕捉剤由来の吸光度の減衰として、直接、使用することは出来ない。

そこで、本実験では、以下に示す方法により、DPBF のみの分解率を求め、その値を使用して、真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出を行った。DMSO 中で観測されたの Subphthalocyanine trimer (**6**) と DPBF の吸収スペクトルの任意の波長における吸光度 (obs. [abs. x]) は、その波長における DPBF の吸光度 ([abs. DPBF x]) と光増感剤である Subphthalocyanine trimer (**6**) の吸光度 ([Abs. Ps x]) の和であるため、417 nm の吸光度は、次式を用いて表すことができる。

$$\text{obs. [abs.}_{417}] = [\text{abs. DPBF}_{417}] + [\text{abs. Ps}_{417}] \quad \dots \text{(a)}$$

そのため、417 nm において観測された減衰曲線の傾き ($\Delta \text{ obs. [abs.}_{417}]$) は、

$$\Delta \text{ obs. [abs.}_{417}] = \Delta [\text{abs. DPBF}_{417}] + \Delta [\text{abs. Ps}_{417}] \quad \dots \text{(b)}$$

また、417 nm における光増感剤のみの吸光度の減衰の傾き ($\Delta [\text{abs. Ps}_{417}]$) は、光増感剤のみの吸光帯からなる別の波長の吸光度の減衰の傾き ($\Delta [\text{abs. Ps}_{x2}]$) を利用し、(c) 式によって見積もった。この時、光増感剤の分解によって新たな吸収帯が発現しないことを前提とした。

$$\Delta [\text{abs. Ps}_{417}] = [\text{abs. Ps}_{417}] \times \Delta [\text{abs. Ps}_{x2}] \quad \dots \text{(c)}$$

本実験では、Subphthalocyanine trimer (6) のみの吸光帯からなる 777 nm の吸光度の減衰曲線の傾きを $\Delta [\text{abs. Ps}_{x2}]$ とした。(b) 式および、(c) 式を用いて、DPBF のみの減衰曲線の傾きを算出し、真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出を行った。真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出には、光反応中に実際に観測された 417 nm の減衰曲線の傾きの直線性が高い区間のデータを使用した。

Figure 2-11 に、実際に観測された 417 nm の吸光度の減衰曲線、777 nm の吸光度の減衰から見積もられた Subphthalocyanine trimer (6) の 417 nm の吸光度の減衰曲線、算出された DPBF のみの 417 nm の吸光度の減衰曲線を示す。 $\Delta \text{obs.} [\text{abs.}_{417}] = -0.000967$ 、 $\Delta [\text{abs. trimer}_{417}] = -0.0000225$ であるため、DPBF のみの減衰曲線の傾きは、 $\Delta [\text{abs. DPBF}_{417}] = -0.000945$ となり、Subphthalocyanine trimer (6) と DPBF の DMSO 混合溶液への光照射実験における真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、2.25 % となった。

toluene 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値では、Subphthalocyanine dimer (5) ($\Phi\Delta_{\text{absolute}} = 15.8\%$) と Subphthalocyanine trimer (6) ($\Phi\Delta_{\text{absolute}} = 14.6\%$) に大きな差はなかったが、DMSO 中の両者の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値の間に大きな差が生じたのは、trimer (6) の光反応中では、生じた $^1\text{O}_2$ が DPBF の分解だけでなく、trimer (6) の分解にも使用されたため、 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値が小さくなったことが示唆される。

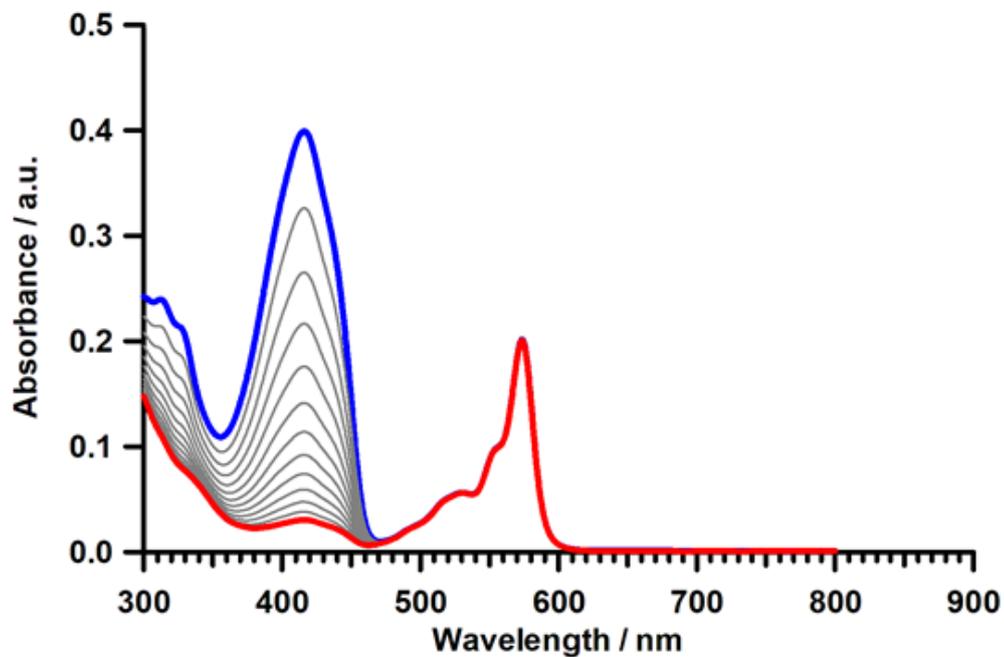
また、Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の全ての化合物において、toluene 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ と DMSO 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の間の生じた大きな差は、溶媒中での $^1\text{O}_2$ の失活速度に起因するものであると考えられる。T. Linker らは、溶媒による $^1\text{O}_2$ の失活速度が速いほど、拡散に

よる $^1\text{O}_2$ の自然減衰よりも、 $^1\text{O}_2$ が周辺分子との酸化反応を起こす確率が増加することを報告しており、toluene の $^1\text{O}_2$ の失活速度 (k_d) は、 $k_d = 5.0 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ であるのに対して、DMSO の $^1\text{O}_2$ の失活速度 (k_d) は、 $k_d = 3.3 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ と toluene 中の失活速度よりも小さな値を持つ。より大きな $^1\text{O}_2$ の失活速度を有する toluene 中では、発生した $^1\text{O}_2$ と周辺分子との反応確率が増加し、DPBF の酸化分解反応が活発に生じたため、toluene 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ と DMSO 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ に大きな差が生じたものと考えられる。[31, 32]

Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の DMSO 中の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ に対して、文献値と実験項の計算法を使用して、相対量子収率($\Phi\Delta_{\text{relative}}$)の算出を行った。DMSO 中での DPBF の酸化分解に対する Subphthalocyanine (**4**)、Subphthalocyanine dimer (**5**) および Subphthalocyanine trimer (**6**) の $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ は、それぞれ、56 %、50 %、14 %であった。Subphthalocyanine (**4**) と Subphthalocyanine dimer (**5**) に対して得られた $\Phi\Delta_{\text{relative}}$ の値は、これまでに報告された DMSO 中で会合体を形成していないカチオン性の Phthalocyanine 誘導体の値よりも大きな値であった。[33-37]

Subphthalocyanine 誘導体 **4-6** の $^1\text{O}_2$ 発生能の評価の結果、Subphthalocyanine 共役多量体 **5, 6** は、「生体の窓」と呼ばれる近赤外領域の光を照射することによって、toluene 中のみならず、極性溶媒である DMSO 中においても、 $^1\text{O}_2$ を発生することが可能であり、PDT の光増感剤として応用することに期待の持てる結果が得られた。

4 with DPBF in toluene.



4 with DPBF in DMSO.

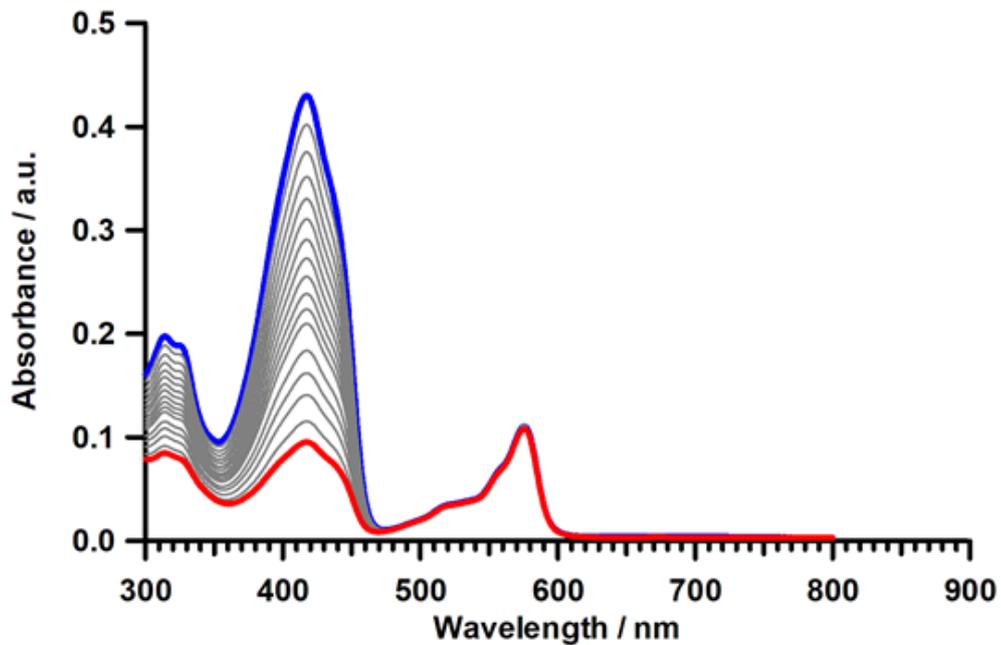
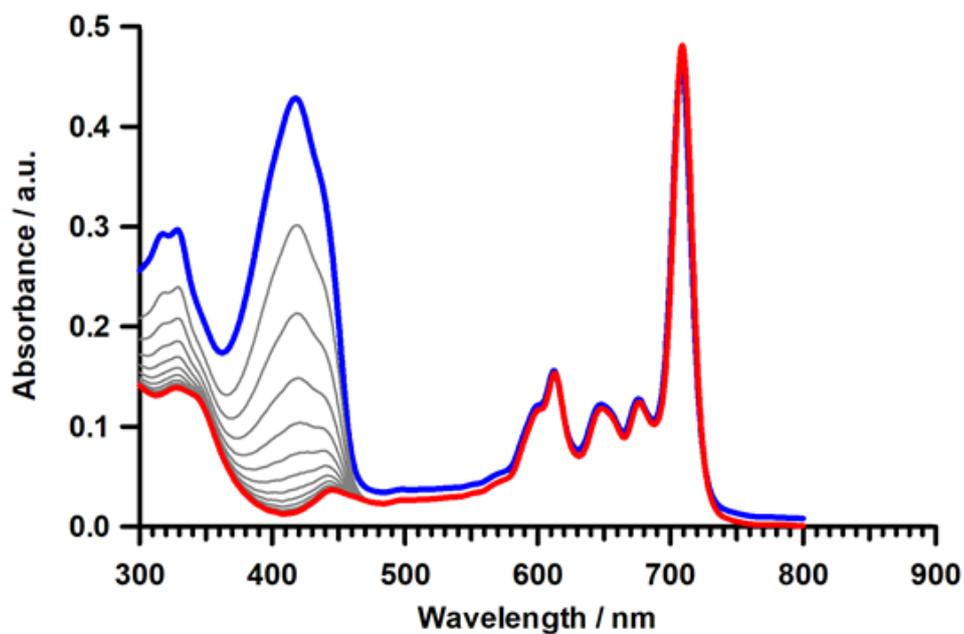


Figure 2-7. The absorption spectral changes during photo reactions of 4.

5 with DPBF in toluene.



5 with DPBF in DMSO.

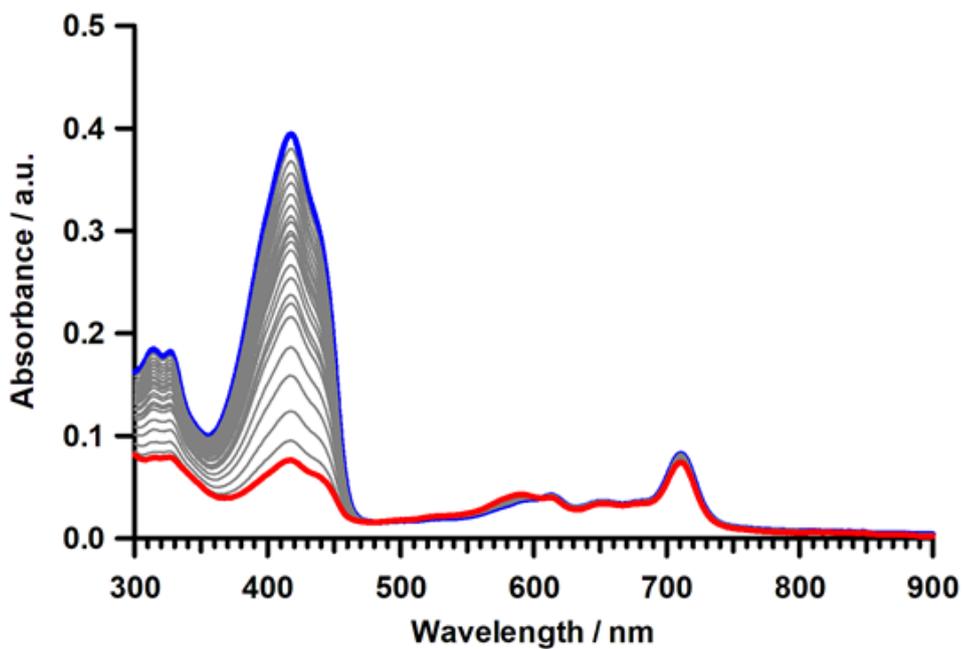
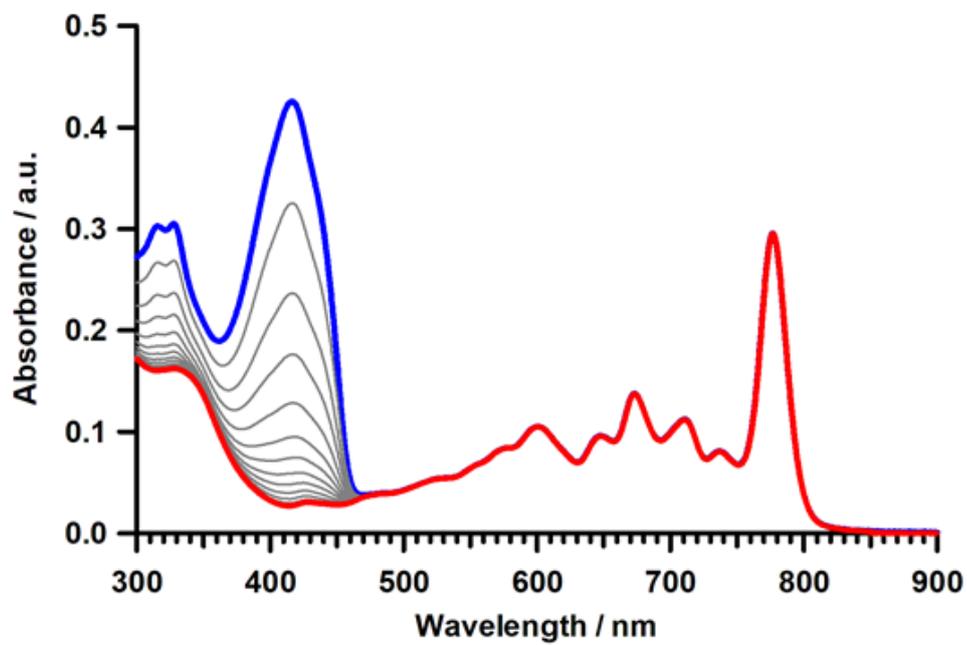


Figure 2-8. The absorption spectral changes during photo reactions of **5**.

6 with DPBF in toluene.



6 with DPBF in DMSO.

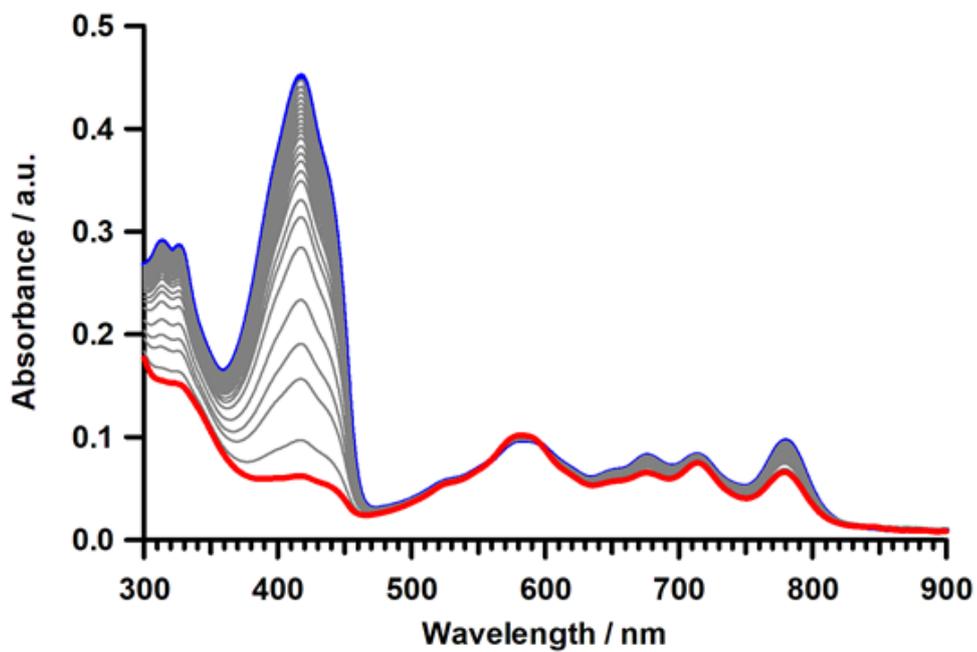
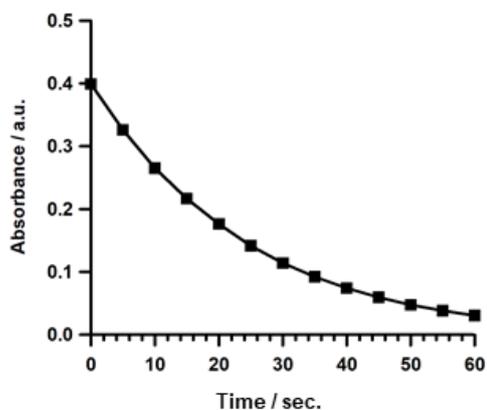
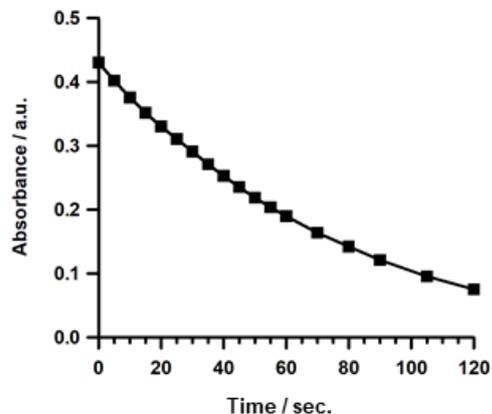


Figure 2-9. The absorption spectral changes during photo reactions of **6**.

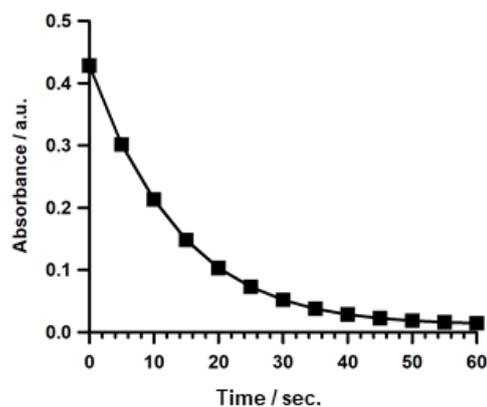
4 with DPBF in toluene.



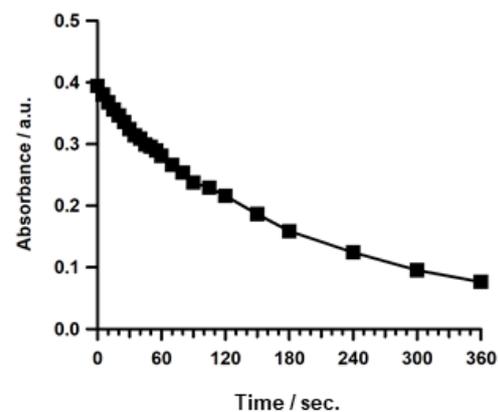
4 with DPBF in DMSO.



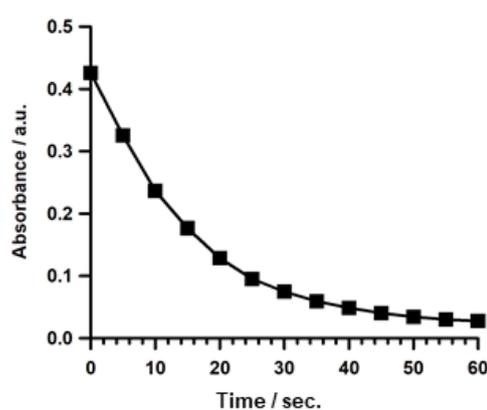
5 with DPBF in toluene.



5 with DPBF in DMSO.



6 with DPBF in toluene.



6 with DPBF in DMSO.

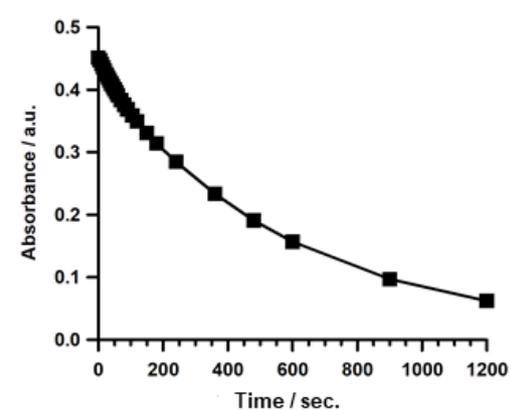


Figure 2-10. The decay curve of absorbance at 417 nm during photo reactions of SubPcs

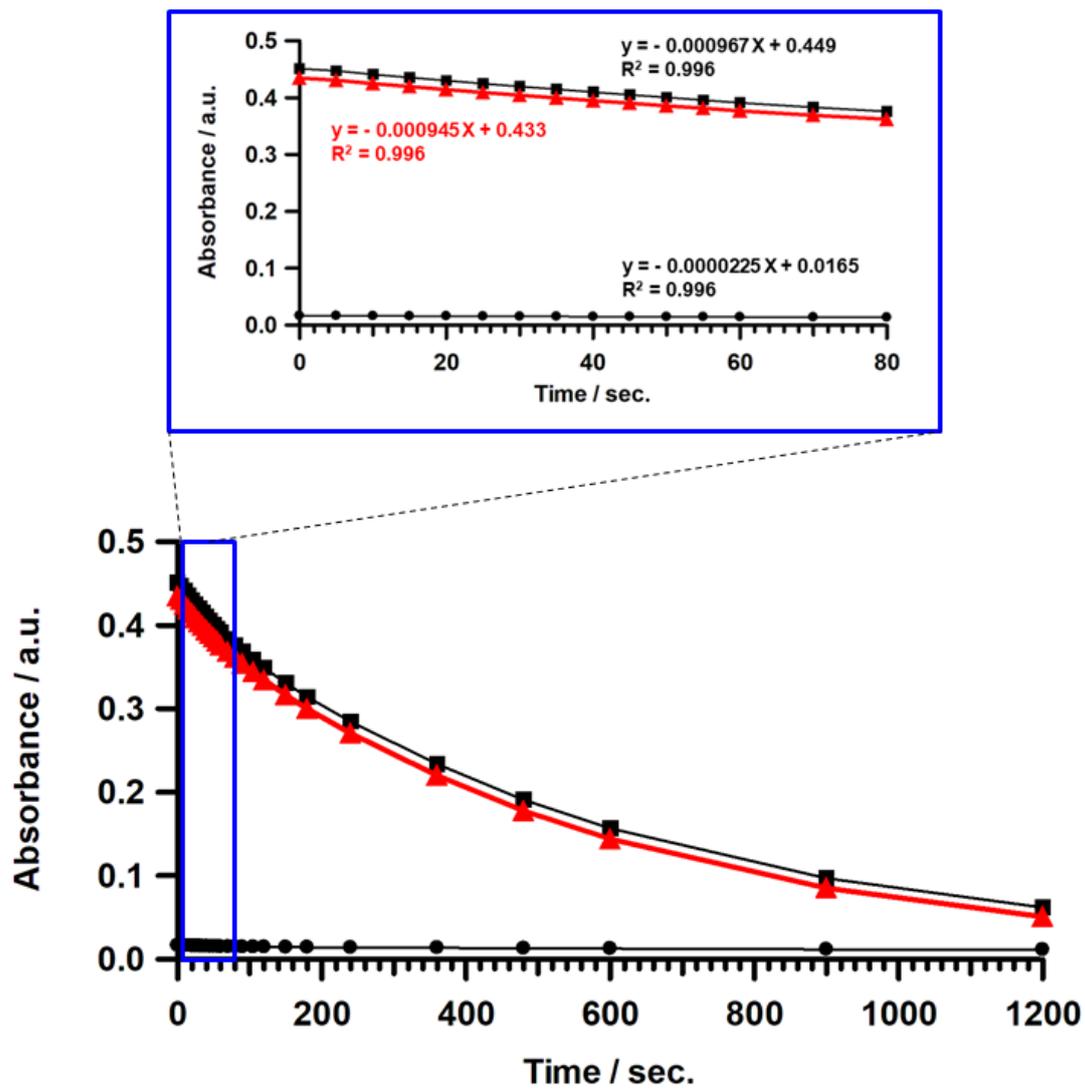


Figure 2-11. The decay curves of absorbance at 417 nm in Subphthalocyanine trimer 6.

■: obs. [abs. ₄₁₇], ●: abs. trimer ₄₁₇, and ▲: abs. DPBF ₄₁₇.

Table 2-3. The values used for the calculations of the quantum yields.

SubPc	solvent	number of molecules	number of photons
monomer 4	toluene	1.17×10^{15}	5.75×10^{15}
	DMSO	3.91×10^{14}	4.52×10^{15}
dimer 5	toluene	1.88×10^{15}	1.20×10^{16}
	DMSO	2.12×10^{14}	2.73×10^{15}
trimer 6	toluene	1.66×10^{15}	1.13×10^{16}
	DMSO	7.70×10^{13}	3.42×10^{15}

Table 2-4. The values of the absolute quantum yields ($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$) of SubPcs 4-6.

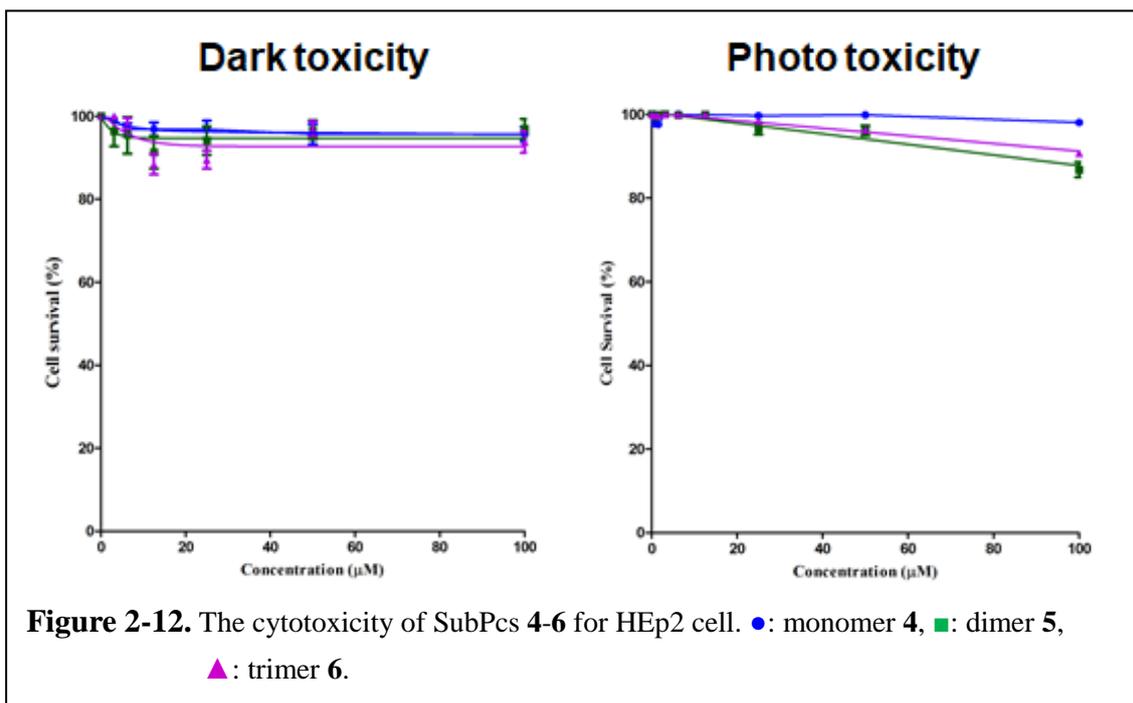
SubPc	solvent	$\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ [%]	$\Phi\Delta_{\text{relative}}$ [%]
monomer 4	toluene	20.4	-
	DMSO	8.65	56
dimer 5	toluene	15.8	-
	DMSO	7.75	50
trimer 6	toluene	14.6	-
	DMSO	2.25	14
ZnPc	DMSO	10.3	67 ^a

^a Data from reference [38].

2-2.5. Darktoxicity and photocytotoxicity

光の照射によって、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認された Subphthalocyanine (4)、Subphthalocyanine dimer (5) および Subphthalocyanine trimer (6) に対して、ヒト喉頭癌

のがん細胞である human HEP2 細胞に対する暗所細胞毒性と光細胞毒性の評価を行った。Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の細胞毒性の評価は、1 章と同様の手順で行い、Subphthalocyanine 誘導体 4-6 の細胞毒性の結果を、**Figure 2-12** に示す。Subphthalocyanine 誘導体 4-6 は、human HEP2 細胞に対して、添加量が 100 μM に達しても暗所細胞毒性を示さないことを示した。また、約 1.5 J/cm^2 の光の照射を行っても、細胞の生存率の大きな変化は見られず、Subphthalocyanine 誘導体 4-6 は、光細胞毒性を有していないことも明らかとなった。Subphthalocyanine 誘導体 4-6 が光細胞毒性を発揮しなかったことは、細胞に取り込まれるに十分な親水性を有していなかったことが原因であると考えられる。



2-3. 結論

Subphthalocyanine 環の β 位に Cl 基を有する Subphthalocyanine (4) と Subphthalocyanine 環同士を共通のベンゼン環によって連結し、共役系の拡張された Subphthalocyanine

dimer (5) および Subphthalocyanine trimer (6) を合成した。得られた Subphthalocyanine 誘導体 4-6 は、 CHCl_3 や CH_2Cl_2 、toluene といった一般的な有機溶媒に溶解するだけでなく、極性溶媒である MeOH や DMSO に対しても溶解性を示した。また、共役系の拡張された Subphthalocyanine dimer (5) および Subphthalocyanine trimer (6) は、吸収帯の極大波長を、「生体の窓」と呼ばれる生体透過率の高い近赤外領域まで伸長することができた。Subphthalocyanine 誘導体 4-6 は、toluene 中だけでなく、極性溶媒である DMSO 中においても、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認された。

しかしながら、human HEp2 細胞に対する細胞毒性の調査の結果、Subphthalocyanine 誘導体 4-6 は、暗所細胞毒性だけでなく、光細胞毒性も有していないことが明らかとなり、合成した Subphthalocyanine 誘導体 4-6 では、現段階では、PDT の光増感剤としての応用は難しい。しかしながら、Subphthalocyanine 誘導体は、PDT の光増感剤として望ましい近赤外光領域に吸収帯を持たないため、光増感剤への応用に関する研究があまりされていない。そのため、本実験で使用した Subphthalocyanine 誘導体 4-6 が、toluene 中ではあるが、非常に大きな $^1\text{O}_2$ 発生量を有しているという結果は、新規な PDT 用の光増感剤を開発するという点において、非常に意味のある結果であるといえる。また、細胞に取り込まれるに十分な親水性を得た Subphthalocyanine 誘導体は、Phthalocyanine 誘導体よりも、高い PDT 効果を有していることが期待できるため、更なる研究が求められる。

References

- [1] Hand book of porphyrin science (Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard), World Scientific, Singapore, 2010.
- [2] G. Bottari, G. de la Torre, D. M. Guldi, and T. Torres, *Chem. Rev.*, 110 (2000) 6768–6816.
- [3] C. G. Claessens, D. Gonzalez-Rodriguez, M. Salome Rodriguez-Morgade, A. Medina, and T. Torres, *Chem. Rev.*, 114 (2014) 2192–2277
- [4] C. G. Claessens, D. Gonzalez-Rodriguez, and T. Torres, *Chem. Rev.*, 102 (2002) 835-853
- [5] J. Mack, N. Kobayashi, *Chem. Rev.* 111(2011) 281-321.
- [6] A. Meller, A. Ossko, *Monatsh. Chem.*, 103 (1972)150-155.
- [7] H. Kietabl. *Monatsh. Chem.*,105(1974) 405-418.
- [8] M. Hanack, J. Rauschnabel, *Tetrahedron Lett.*, 36(1995) 1629-1632.
- [9] K. Kasuga, T. Idehara, M. Handa, Y. Ueda, T. Fujiwara, K. Isa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 69(1996) 2559-2563.
- [10] J. R. Stork, R. J. Potucek, W. S. Durfee, B. C. Noll, *Tetrahedron Lett.*, 40(1999) 8055-8058.
- [11] D. Gonzalez-Rodriguez, T. Torres, D. M. Guldi, J. Rivera, and L. Echegoyen, *Organic Letters*, 4 (2002), 3, 335-338
- [12] S. Xu, K. Chen, and H. Tian, *J. Mater. Chem.*, 15 (2005) 2676-2680.
- [13] D. D. Díaz, H. J. Bolink, L. Cappelli, C. G. Claessens, E. Coronado, and T. Torres, *Tetrahedron Lett.*, 48 (2007) 4657-4660.
- [14] T. Yasuda, T. and Tsutsui, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 462 (2007) 3-9.
- [15] C. G. Claessens, and T. Torres, *J. Am. Chem. Soc.*, 124 (2002) 14522-14523.
- [16] H. Gommans, D. Cheyns, T. Aernouts, C. Girotto, J. Poortmans, and P. Heremans, *Adv. Funct. Mater.*, 17 (2007) 2653-2658.
- [17] F. Dumoulin, M. Durmus, V. Ahsen, and T. Nyokong, *Coord. Chem. Rev.* 254 (2010) 2792-2847.
- [18] N. B. McKeown, *Phthalocyanine materials : synthesis, structure, and function*, Cambridge University Press, Cambridge, 1998.
- [19] M. C. Derosa, and R. J. Crutchley, *Coord. Chem. Rev.* 233-244(2002) 351-371.
- [20] S. Nonell, N. Rubio, B. del Rey, and T. Torres, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2 (2000) 1091-1094.
- [21] E. van de Winckel, M. Mascaraque, A. Zamarron, A. J. de la Fuente, T. Torres, and A. de la Escosura, *Adv. Funct. Mater.* 2018, 28 (2018) 1705938
- [22] M. M. Necedova, P. Magdolen, A. Fulopova, M. Cigan, P. Zahradnik, J. Filo, *Dyes and Pigments*, 130 (2016) 24-36.
- [23] C. G. Claessens and T. Torres, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41(2002), 14, 2561-2565.
- [24] T. Fukuda, J. R. Stork, R. J. Potucek, M. M. Olmstead, B. C. Noll, N. Kobayashi, and W. S.

- Durfee, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41(2002), 14, 2565-2568.
- [25] N. Shibata, S. Mori, M. Hayashi, M. Umeda, E. Tokunaga, M. Shiro, H. Sato, T. Hoshi and N. Kobayashi, *Chem. Commun.*, 50 (2014), 3040-3043.
- [26] R. S. Iglesias, C. G. Claessens, T. Torres, M. A. Herranz, V. R. Ferro, and J. M. G. de la Vega, *J. Org. Chem.* 72 (2007) 2967-2977.
- [27] E. Caballero, J. Fernandez-Ariza, V. M. Lynch, C. Romero-Nieto, M. S. Rodriguez-Morgade, J. L. Sessler, D. M. Guldi, and T. Torres, *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 11337–11342
- [28] S. Shimizu, A. Miura, S. Khene, T. Nyokong, and N. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, 133 (2011) 17322–17328.
- [29] Hu Xu and Dennis K. P. Ng, *Inorg. Chem.*, 47 (2008) 7921-7927.
- [30] R. Sasai, N. Iyi, H. Kusumoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 84(2011) 562-568.
- [31] M. Klaper, W. Fudickar, and T. Linker, *J. Am. Chem. Soc.*, 138 (2016) 7024–7029
- [32] F. Wilkinson, W. P. Helman, and A. B. Rose, *J.phys.chem.ref.data.*, 24 (1995) 663
- [33] H. Li, T. J. Jensen, F. R. Fronczek, M. G. H. Vicente, *J. Med. Chem.* 51(2008) 502-511.
- [34] M. Durmus, V. Ahsen, *J. Inorg. Biochem.* 104(2010) 297-309.
- [35] M. Durmus, T. Nyokong, *Inorg. Chem. Commun.* 10(2007) 332-338.
- [36] V. Çakır, D. Çakır, M. Pişkin, M. Durmuş, Z. Bıyıklıoğlu, *J. Lumin.* 154(2014) 274-284.
- [37] D. O. Oluwole, F. A. Sarı, E. Prinsloo, E. Dube, A. Yuzer, T. Nyokong, M. Ince, *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 203(2018) 236-243.
- [38] D. Çakır, V. Çakır, Z. Bıyıklıoğlu, M. Durmuş, H. Kantekin, *J. Organomet. Chem.* 745-746(2013) 423-431.

3. 長方形の分子構造を有する Porphyrinoid 誘導体の 合成と一重項酸素発生能

3-1. 緒言

前章でも説明したように、がんやその他の病気に対する PDT 治療において、細胞へ酸化的なダメージを与える活性酸素種の生成には、光増感剤による光の捕集が必要となる。光増感剤分子による効率的な光の捕集は、PDT 治療効果を左右する非常に重要な側面である。1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」と 2 章の「Subphthalocyanine 多量体の合成と PDT 活性」では、光増感剤が実際に機能する生体内での効率的な光の捕集を目的として、「生体の窓」と呼ばれる生体透過率の高い近赤外領域 (650 ~ 900 nm) に吸収帯を有する分子を用いた PDT 活性について検討を行ってきた。本章では、光増感剤の効率的な光の捕集方法として、二光子吸収現象を利用することに着目した。

二光子吸収現象とは、2 個の光子を同時に吸収する励起過程であり、1930 年代に Maria Goppert-Mayer により、その理論が初めて提唱された現象である。^[1] 二光子吸収による励起状態への遷移確率は、励起光強度の二乗に比例するため、二光子吸収現象の引き起こすためには、集光レーザーによる光の照射が必要となる。二光子吸収現象は、集光レーザーの焦点付近でしか生じないため、二光子吸収現象を利用することにより、**Figure 3-1** に示されるような空間選択的な励起が可能となる。また、二光子吸収現象では、対象分子の励起に必要な遷移エネルギーの半分のエネルギーを持った光子を 2 光子吸収することで対象分子を励起できる。^[2] そのため、生体透過率の高い「生体の窓」領域の光を用いた二光子吸収現象を利用することで、300 ~ 450 nm 付近に吸収帯を持ち、これまで PDT 用の光増感剤として応用することが難しいとされてきた分子も使用可能となり、分子設計の幅を広げることが可能となる。「生体の窓」領域の光による二光子吸収特性を有する光増感剤を利用した PDT 治療は、空間選択的に治療することが可能な

ため、がん細胞付近の正常細胞へのダメージを減らし、PDT の治療効果を高めることや、生体深部のがん組織の治療も効率的に行えるため、PDT 治療の適応する幅を広めることも可能となる。 [3-6]

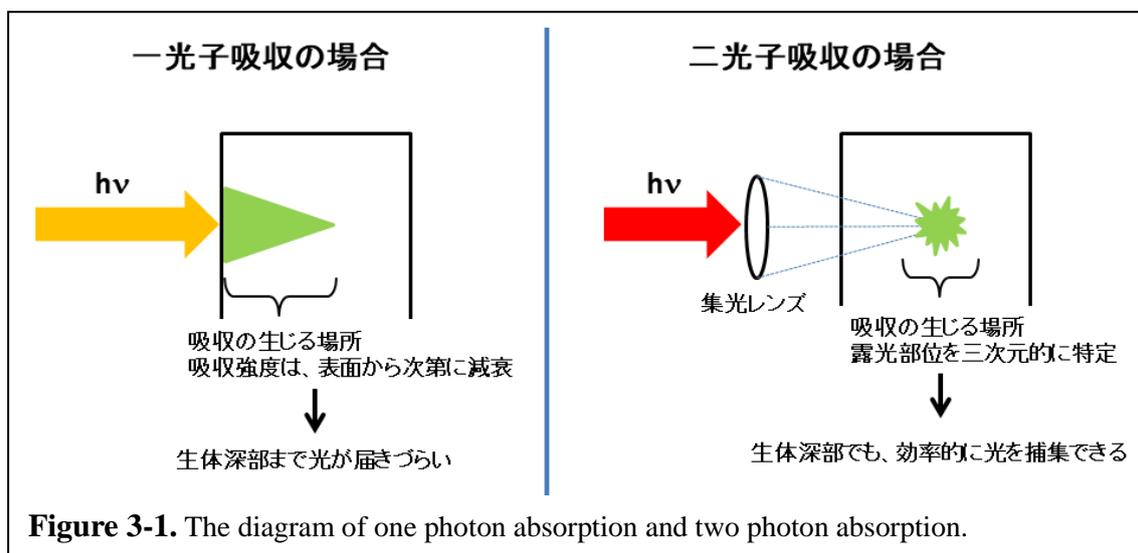


Figure 3-1. The diagram of one photon absorption and two photon absorption.

二光子吸収特性を有する分子の特徴として、長い π 共役系を有すること、中心対称性を有すること、中心骨格となる部分の π 共役系がリジットな構造を有していることが知られており、これまでに報告されている二光子吸収特性を有する色素材料の多くは、分子全体として、長方形の分子構造を有している。 [2, 7-10] また、D. Kim らは、共役系を保持したまま、複数個の porphyrin 環を連結させ、長い π 共役系と長方形の分子構造を持った porphyrin 共役多量体が、二光子吸収特性を有することを数多く報告している。 [2, 11-15]

そこで、本研究では、二光子吸収特性を有していることが報告されている porphyrin 共役二量体と同じ分子骨格を持った二重縮環 porphyrin dimer (7) と三重縮環 porphyrin dimer (8)、および、二光子吸収特性を持つことが期待される化合物として、2 つの phthalocyanine 環が縮環し、長方形の中心骨格を有する環拡張型 phthalocyanine (9) と 2 つの corrole 環が cyclooctatetraene を介して連結された corrole dimer の (10) の合成を行い、得られた化合物が PDT の光増感剤としての機能を有するか評価するために、一重項酸素発生効率の検討を行った。目的とする化合物の構造は、**Figure 3-2** に示す。

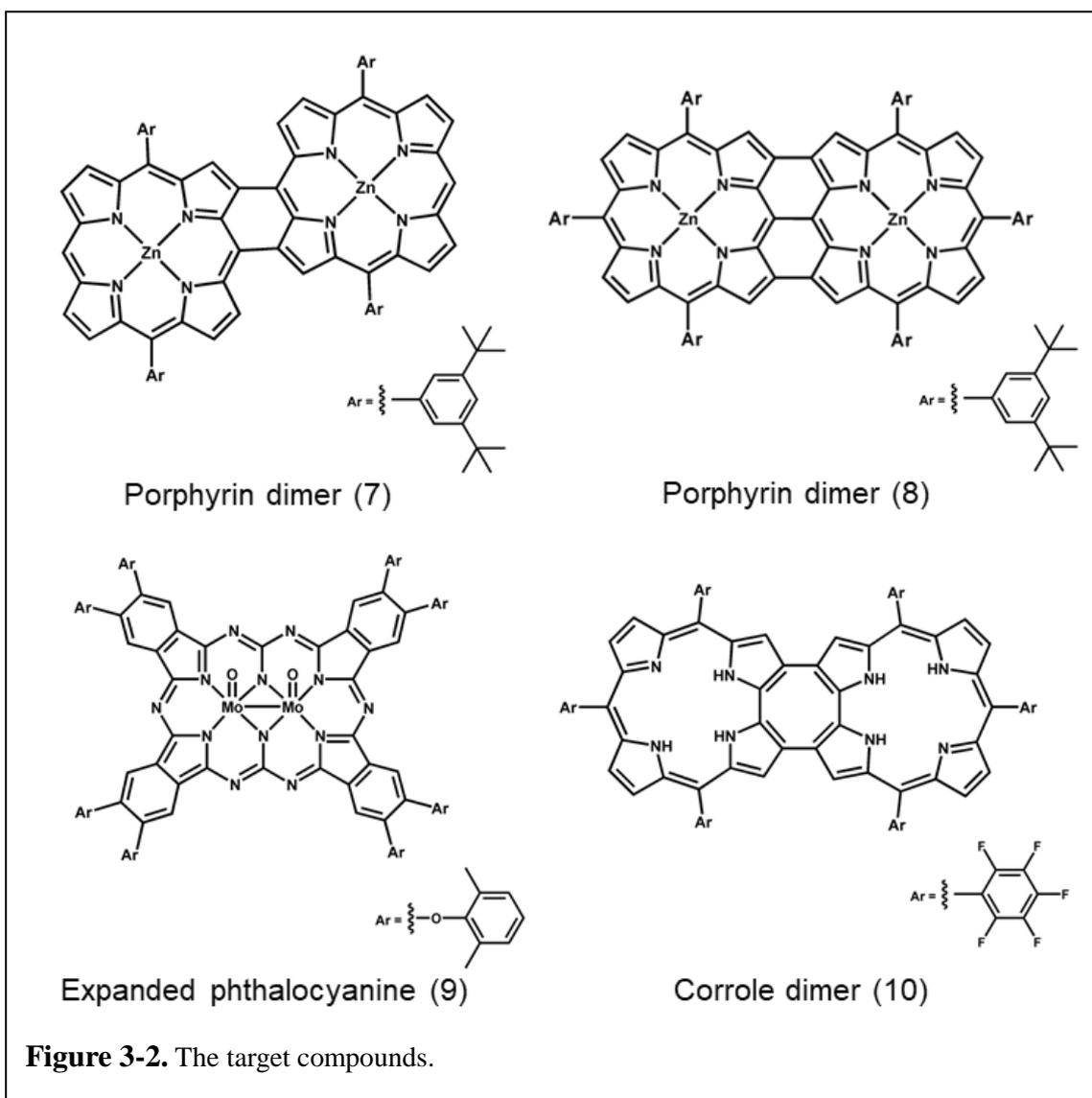


Figure 3-2. The target compounds.

3-2. 結果と考察

3-2.1. Synthesis and characterization

合成された各化合物の帰属データの詳細は、後述の実験項に記載した。二重縮環 porphyrin dimer (7) と三重縮環 porphyrin dimer (8) の合成は、A. Osuka らの文献を参考に行った。^[16] また、環拡張型 phthalocyanine (9) と cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer の (10) の合成についても、文献^[17,18] を参考に行った。合成された化合物は、¹H NMR spectrum、Mass spectrum により、目的とする構造を有していることを確認した。

Figure 3-3 に、室温下、CDCl₃ 中で測定された二重縮環 porphyrin dimer (7) と三重縮環 porphyrin dimer (8) の ¹H NMR spectrum の結果を示す。二重縮環 porphyrin dimer (7) では、porphyrin 環の *meso* 位の ¹H に由来する singlet なシグナルが、 $\delta = 9.82$ ppm に観測され、porphyrin 環の β -pyrrole 環の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 8.7 - 9.7$ ppm 間に合計 14 H の積分値を有する 6 本のシグナルとして観測された。また、周辺置換基として導入された 3,5-di-tert-butylphenyl 基の benzene 環の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 7.7 - 8.3$ ppm 間に合計 12 H の積分値を有する 4 本の singlet なシグナルとして観測され、3,5-di-tert-butylphenyl 基の butyl の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 1.5 - 1.7$ ppm 間に合計 72 H の積分値を有する 2 本の singlet なシグナルとして観測された。三重縮環 porphyrin dimer (8) では、porphyrin 環の β -pyrrole 環の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 7.69 - 7.76$ ppm 間に合計 8 H の積分値を有する 2 本の doublet なシグナルと、 $\delta = 7.35$ ppm に 4 H の積分値を有する singlet なシグナルとして観測された。周辺置換基の 3,5-di-tert-butylphenyl 基の benzene 環の *o* 位の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 7.63$ ppm と 7.67 ppm に、4 H の積分値を有する singlet なシグナルと 8 H の積分値を有する singlet なシグナルとしてそれぞれ観測された。また、3,5-di-tert-butylphenyl 基の benzene 環の *p* 位の ¹H に由来するシグナルが、 $\delta = 7.58$ ppm と 7.61 ppm に、2 H の積分値を有する

singlet なシグナルと 4 H の積分値を有する singlet なシグナルとしてそれぞれ観測された。3,5-di-tert-butylphenyl 基の butyl の ^1H に由来するシグナルは、 $\delta = 1.41 \text{ ppm}$ と 1.45 ppm に、36 H の積分値を有する singlet なシグナルと 72 H の積分値を有する singlet なシグナルとしてそれぞれ観測された。

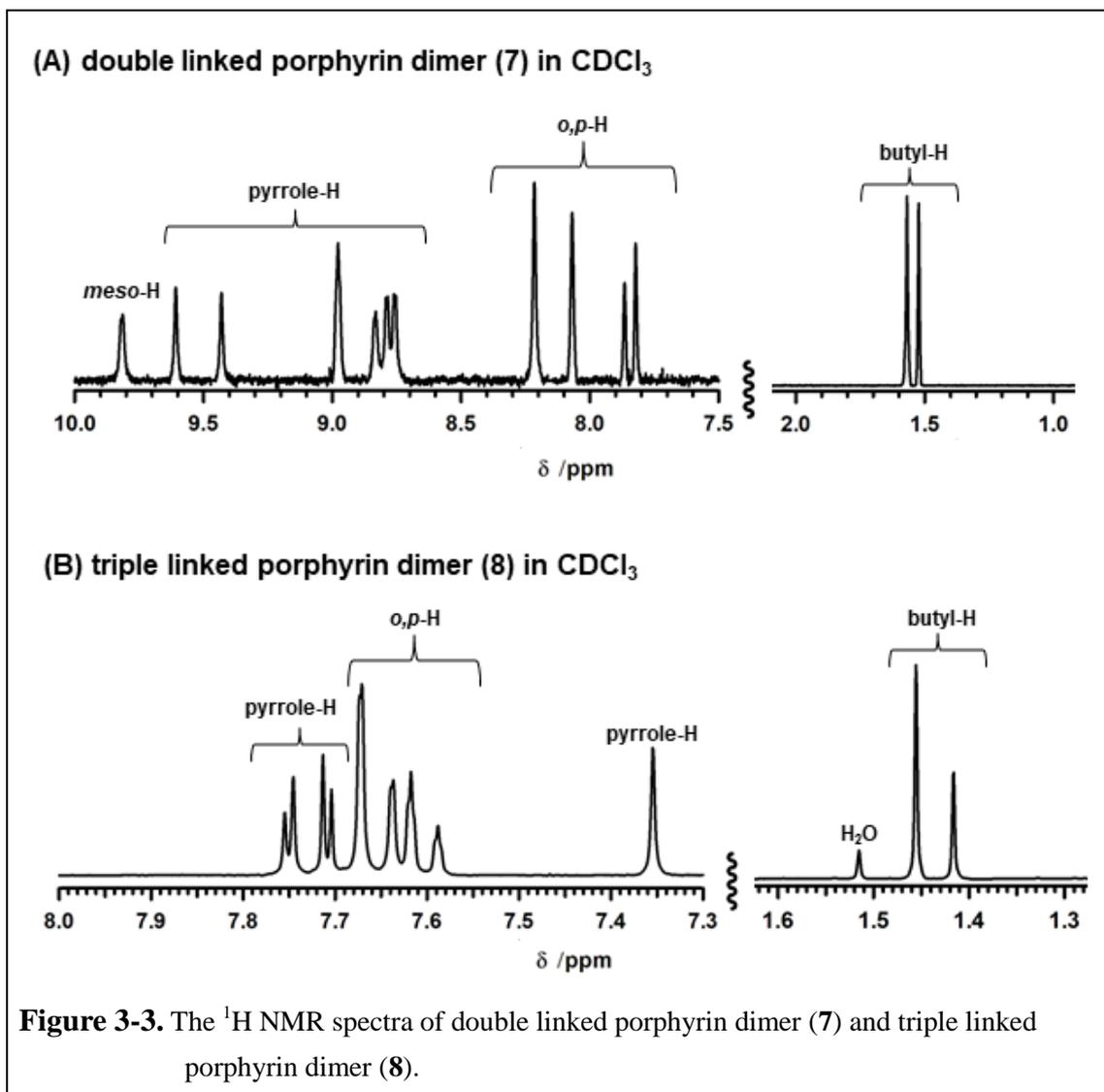
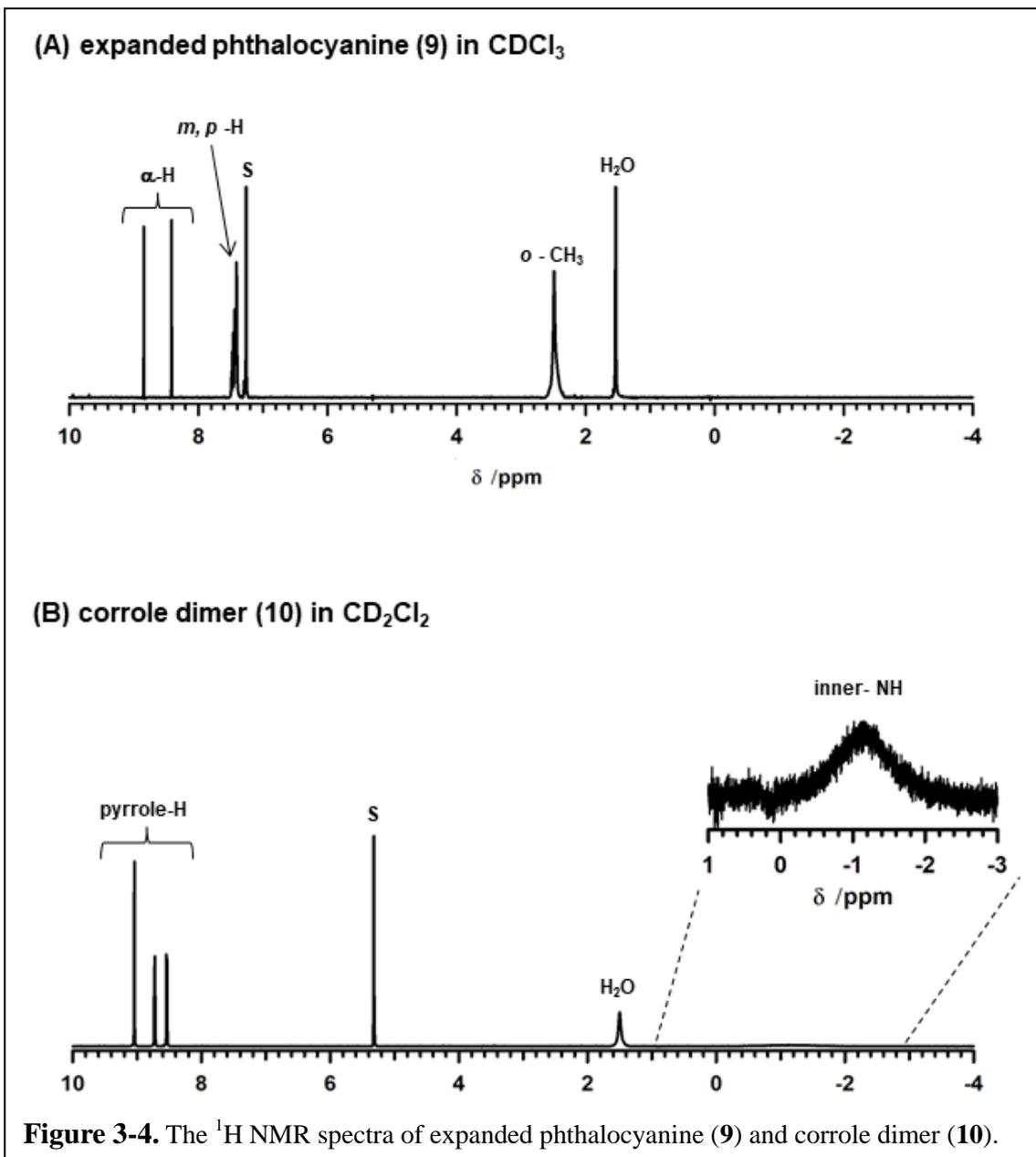


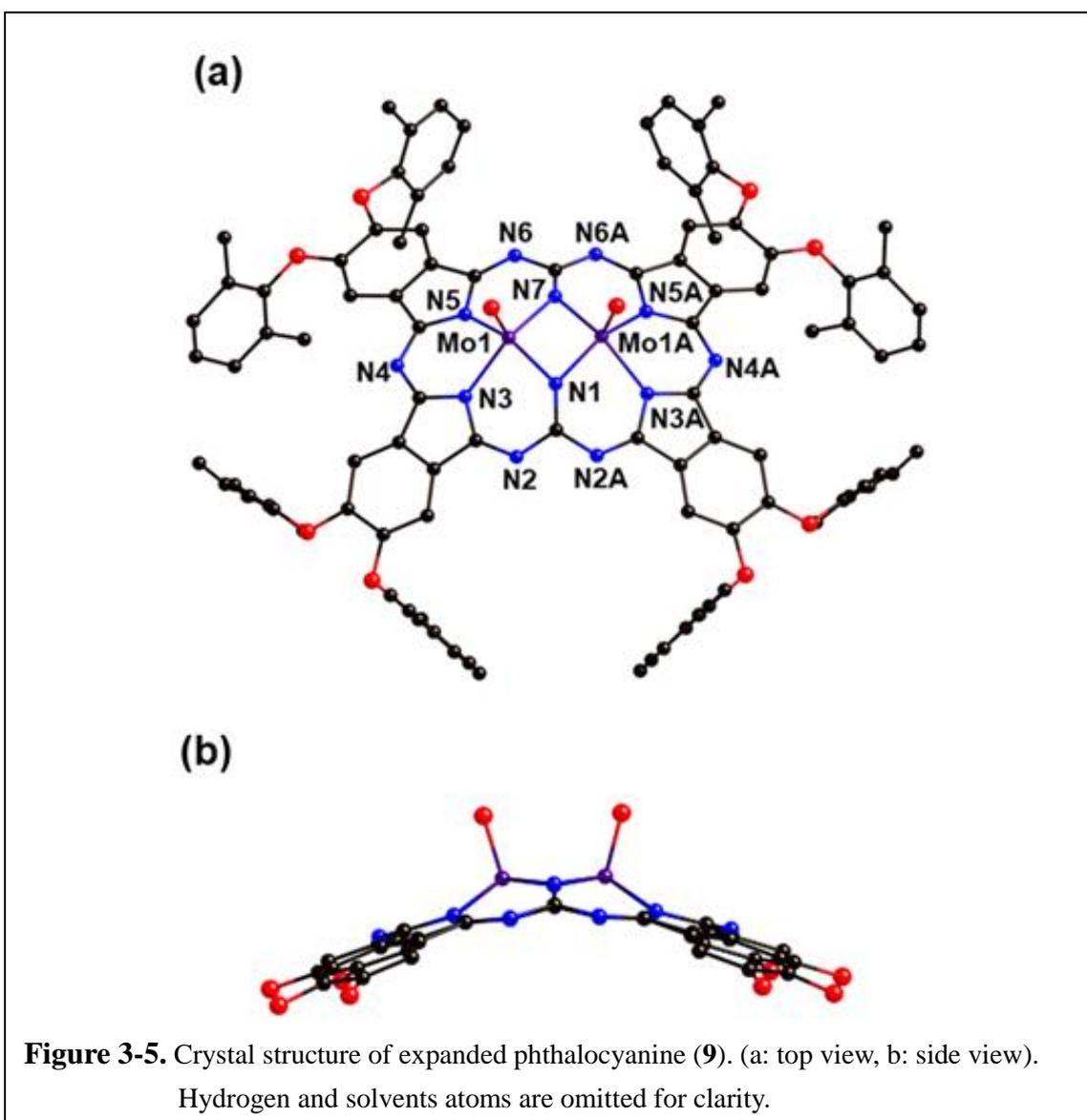
Figure 3-3. The ^1H NMR spectra of double linked porphyrin dimer (7) and triple linked porphyrin dimer (8).

Figure 3-4 に、室温下で測定された環拡張型 phthalocyanine (9) と cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer の (10) の ^1H NMR spectrum の結果を示す。環拡張型 phthalocyanine (9) では、拡張された phthalocyanine 環の α 位の ^1H に由来する singlet な

シグナルが、 $\delta = 8.42$ ppm と 8.85 ppm に観測された。また、周辺置換基として導入された 2,6-dimethylphenyl 基の benzene 環の *m, p* 位の ^1H に由来するシグナルが、 $\delta = 7.4 - 7.5$ ppm 間に、24 H の積分値を有する複雑に分裂したシグナルとしてそれぞれ観測され、2,6-dimethylphenyl 基の methyl 基の ^1H に由来するシグナルは、 $\delta = 2.49$ ppm に、48 H の積分値を有する singlet なシグナルとして観測された。cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer の (10) は、 CD_2Cl_2 中で測定され、corrole 環の β -pyrrole 環の ^1H に由来するシグナルが、 $\delta = 8.52$ ppm と 8.71 ppm に、それぞれ 4 H の積分値を有する 2 本の doublet なシグナルと、 $\delta = 9.02$ ppm に 4 H の積分値を有する singlet なシグナルとして観測された。また、corrole 環の inner-NH の ^1H に由来するシグナルは、 $\delta = -1.15$ ppm に、非常に幅広いブロードなシグナルとして観測された。



環拡張型 phthalocyanine (9) の溶液への MeOH の添加による再結晶によって、単結晶が得られ、X 線結晶構造解析の結果を **Figure 3-5** に示す。また、この結晶は、周辺置換基として導入された 2,6-dimethylphenyl 基の disorder があり、完全な構造は決定できなかった。しかしながら、X 線結晶構造解析の結果、環拡張型 phthalocyanine (9) の中心骨格の構造は、これまでに報告された環拡張型 phthalocyanine の中心骨格と同様な構造を有していることが明らかとなった。^[17] また、環拡張型 phthalocyanine 環の末端の 8 個の C 原子からなる平面と中心金属である Mo 原子の距離は、2.406 Å であり、大きく歪んだ構造を有していることも明らかとなった。



3-2.2. Absorption spectra

Figure 3-6 に、toluene 中で測定された二重縮環 porphyrin dimer (7) と三重縮環 porphyrin dimer (8)、環拡張型 phthalocyanine (9) の吸収スペクトルを示し、**Figure 3-7** に、2 章で扱った Subphthalocyanine dimer (5)、Subphthalocyanine trimer (6) および cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer (10) の吸収スペクトルを示す。また、長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 5 - 10 の吸収スペクトルの数値を、**Table 3-1** にまとめた。

二重縮環 porphyrin dimer (7) では、porphyrin 誘導体に特徴的な強度の強い Soret-band が 417 nm 付近に観測され、さらに、Q-band が 778 nm にピークトップを有する吸収帯と 962 nm にピークトップを有する小さな吸収帯として観測された。一方、三重縮環 porphyrin dimer (8) では、Soret-band は、421 nm 付近に観測されたが、Q-band の吸収帯は、大きく長波長シフトした 1060 nm 付近に観測された。また、環拡張型 phthalocyanine (9) では、phthalocyanine 誘導体の特徴である Q-band は分裂し、940 nm、1025 nm、1161 nm にピークトップの波長を有する幅広い吸収帯として観測された。cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer (10) の吸収帯は、corrole 単量体の吸収帯から大きく形が変化し、727 nm にピークトップの波長を有する強度の強い鋭い吸収帯が観測された。長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 7 - 10 の吸収スペクトルは、これまでに報告されている同じ中心骨格を有する化合物に対する吸収スペクトルと一致した結果が得られた。^[16-18]

長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 7 - 10 は、生体透過率の高い近赤外領域に吸収帯を有しているため、単光子吸収を利用した PDT の光増感剤として応用することが可能であることが示唆される。また、2 章で扱った Subphthalocyanine dimer (5) および Subphthalocyanine trimer (6) を含む長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 5 - 10 は、「生体の窓」領域の光子のエネルギーの 2 倍のエネルギーを持つ 300 ~ 450

nm 付近にも吸収帯を持つため、「生体の窓」領域の光を用いた二光子吸収現象を使用した PDT の光増感剤として応用することも可能であると示唆される結果が得られた。

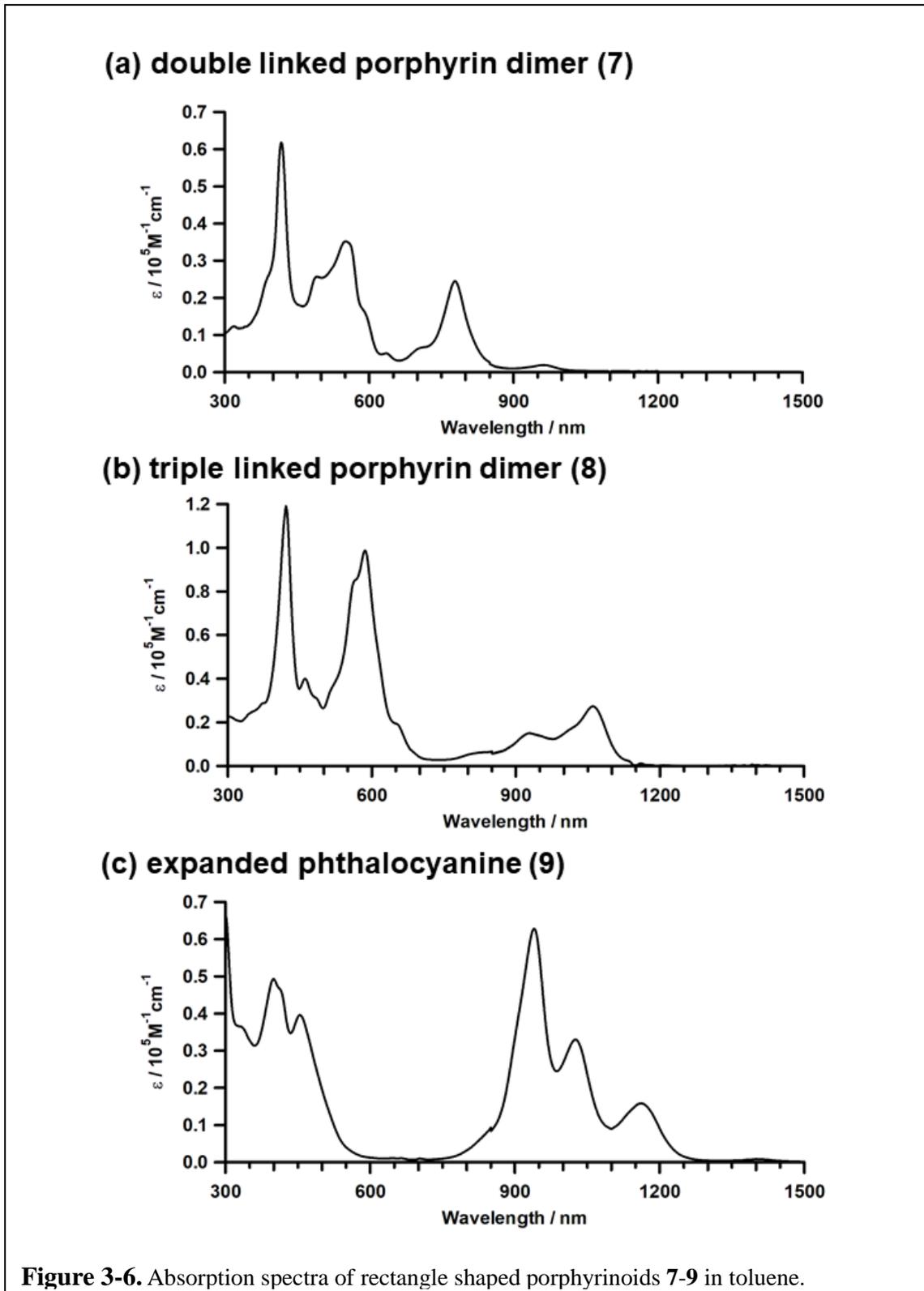
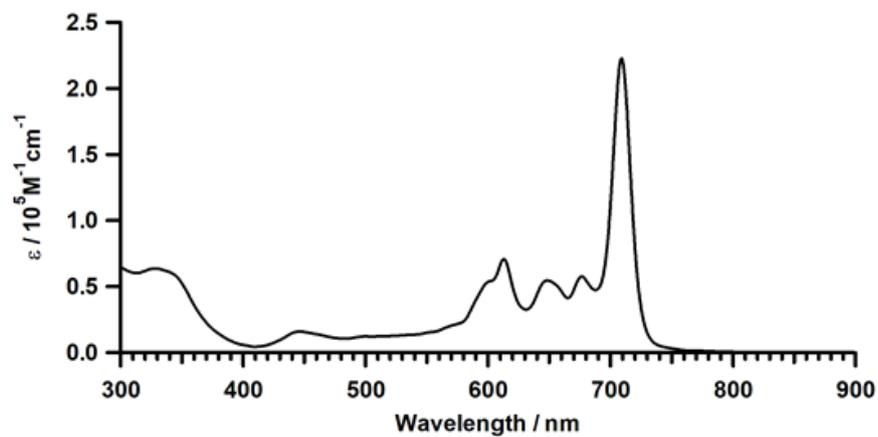
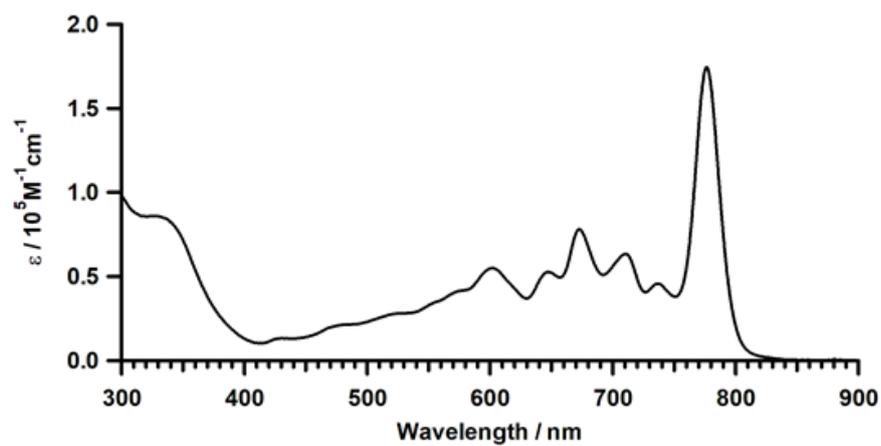


Figure 3-6. Absorption spectra of rectangle shaped porphyrinoids 7-9 in toluene.

(a) subphthalocyanine dimer (5)



(b) subphthalocyanine trimer (6)



(c) corrole dimer (10)

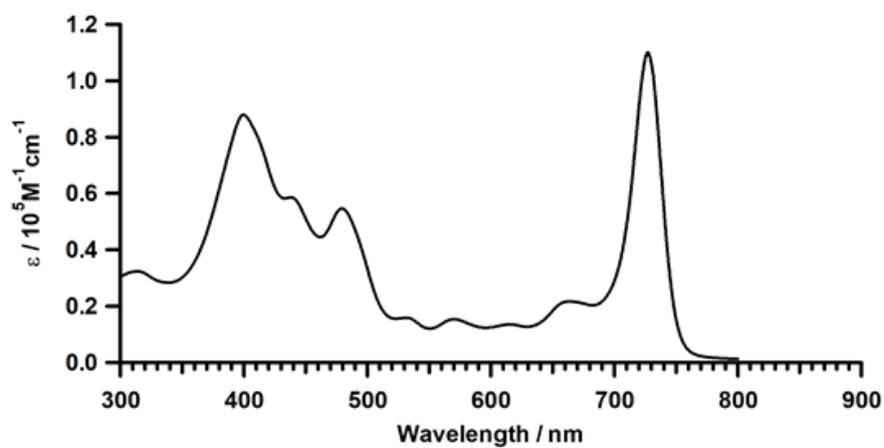


Figure 3-7. Absorption spectra of rectangle shaped porphyrinoids **5**, **6** and **10** in toluene.

Table 3-1. Absorption spectra parameters of rectangle shaped porphyrinoids 5-10.

Comp.	Wavelength / nm ($\epsilon / 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
Subpc dimer 5	327 (0.64), 613 (0.71), 648 (0.55), 677 (0.58) , 709 (2.2)
Subpc trimer 6	329 (0.86), 602 (0.55), 673 (0.78), 710 (0.64), 776 (1.7)
Double linked por dimer 7	417 (0.62), 551 (0.35), 778 (0.24), 962 (0.019)
Triple linked por dimer 8	421 (1.2), 586 (0.99), 930 (0.15), 1060 (0.27)
Expanded pc 9	400 (0.49), 454 (0.40), 940 (0.63), 1025 (0.33), 1161 (0.16)
Corrole dimer 10	399 (0.88), 479 (0.55), 727 (1.1)

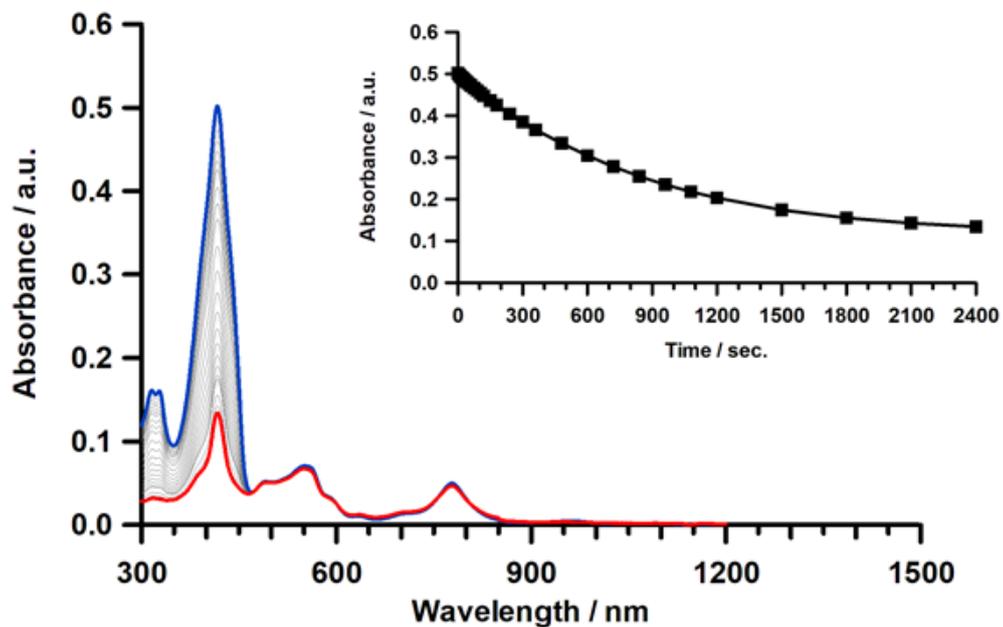
3-2.3. Singlet oxygen generation properties⁴

生体透過率の高い近赤外領域に吸収帯を有しているため、単光子吸収を利用した PDT の光増感剤として応用することが可能であることが示唆された長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 **7–10** の $^1\text{O}_2$ 発生能の評価を行った。 $^1\text{O}_2$ 発生能の評価は、前章までで使用した評価法と同様の手法を用いた。1,3-Diphenylisobenzofuran (DPBF) を、発生した $^1\text{O}_2$ の捕捉剤分子として使用し、toluene 中の DPBF の酸化分解反応の絶対量子収率($\Phi_{\Delta_{\text{absolute}}}$)は、式 (1) を用いて計算された。 $\Phi_{\Delta_{\text{absolute}}}$ の計算には、DPBF の減衰曲線の傾きが、直線性を保持している区間の値を使用して計算を行った。長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 **7–10** では、各化合物の吸収帯に対応する波長の光が照射され、二重縮環 porphyrin dimer (**7**) では 770 nm の光、三重縮環 porphyrin dimer (**8**) では 570 nm の光、環拡張型 phthalocyanine (**9**) では 860 nm の光、cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer (**10**) では 700 nm の光を照射した。

二重縮環 porphyrin dimer (**7**) および三重縮環 porphyrin dimer (**8**) と DPBF の混合溶液への光照射の間に、観測された UV-Vis スペクトルの変化と DPBF の吸光度の減衰

曲線を **Figure 3-8** に示す。二重縮環 porphyrin dimer (7) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験では、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯が大きく減少し、光照射によって発生した $^1\text{O}_2$ による DPBF の酸化分解が生じたことが確認された。toluene 中の二重縮環 porphyrin dimer (7) への光照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、0.26 % であると計算された。一方、三重縮環 porphyrin dimer (8) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験では、二重縮環 porphyrin dimer (7) と同じ時間、光を照射したが、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯の減少は、二重縮環 porphyrin dimer (7) へ光を照射したときに観測された減衰幅よりも小さく、580 nm 付近の三重縮環 porphyrin dimer (8) 由来の吸収帯の減衰も同時に観測された。三重縮環 porphyrin dimer (8) に対して、2 章で行った手順を利用して、真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出を行った。**Figure 3-9** に、実際に観測された 417 nm の吸光度の減衰曲線、585 nm の吸光度の減衰から見積もられた三重縮環 porphyrin dimer (8) の 417 nm の吸光度の減衰曲線、算出された DPBF のみの 417 nm の吸光度の減衰曲線を示す。 $\Delta \text{ obs. [abs.}_{417}] = -0.000516$ 、 $\Delta [\text{abs. por dimer } 8_{417}] = -0.0000726$ であるため、DPBF のみの減衰曲線の傾きは、 $\Delta [\text{abs. DPBF }_{417}] = -0.000443$ となり、三重縮環 porphyrin dimer (8) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験における真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、0.11 % となった。三重縮環 porphyrin dimer (8) への光の照射を通して発生した $^1\text{O}_2$ は、DPBF の酸化分解だけでなく、光増感剤である三重縮環 porphyrin dimer (8) の分解にも使用され、三重縮環 porphyrin dimer (8) の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の減少が生じたと考えられる。

7 with DPBF in toluene.



8 with DPBF in toluene.

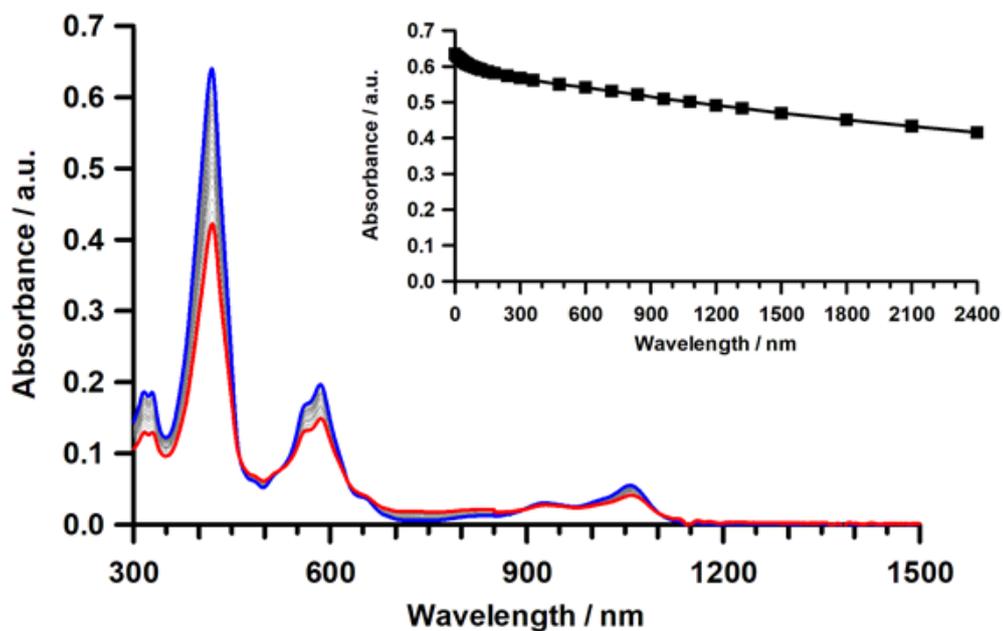
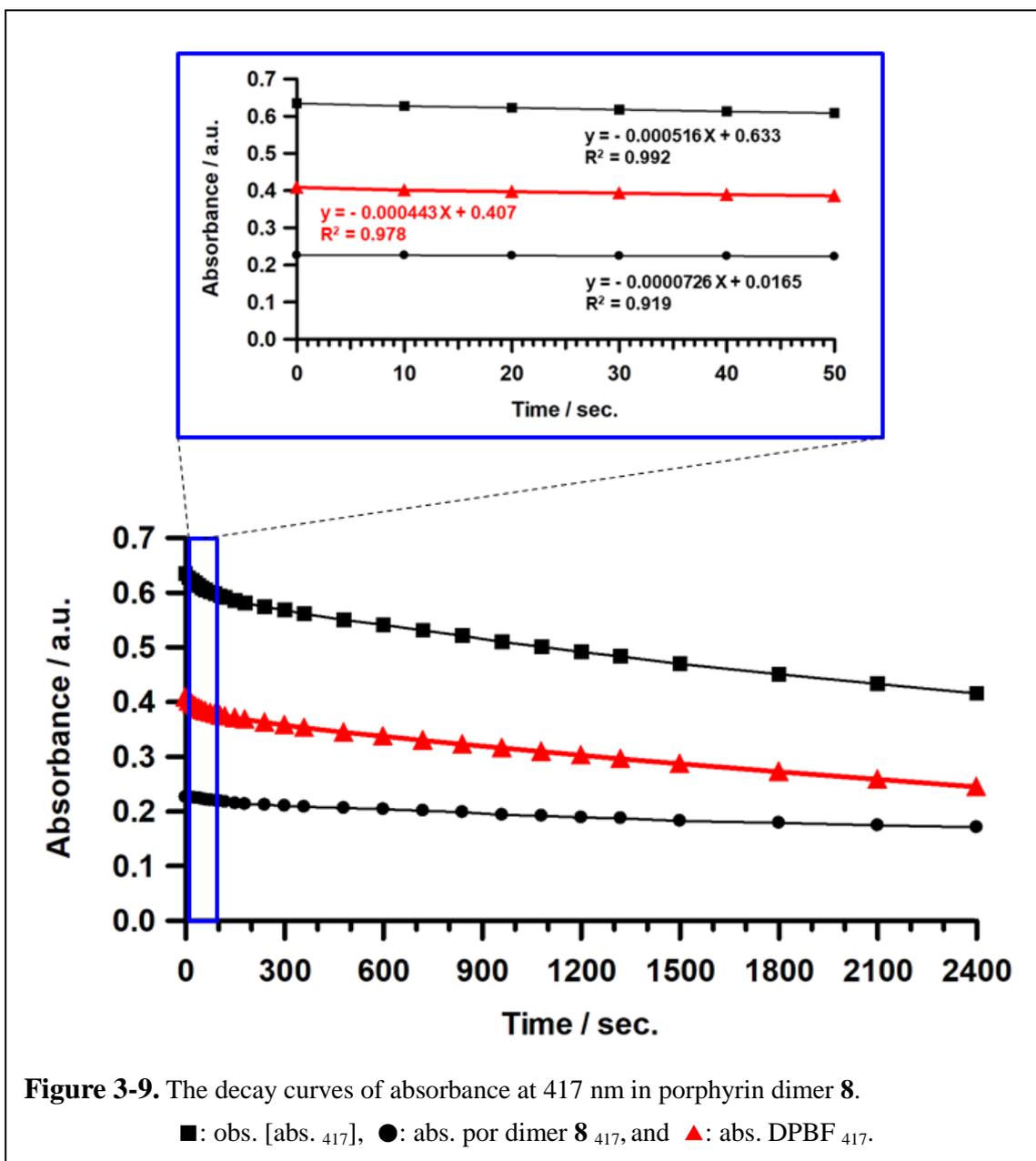


Figure 3-8. The absorption spectral changes of porphyrin dimer 7, 8 during photo irradiations. (insets : decay curve of absorbance at 417 nm in photo irradiation)



環拡張型 phthalocyanine (**9**) および cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer (**10**) と DPBF の混合溶液への光照射の間に、観測された UV-Vis スペクトルの変化と DPBF の吸光度の減衰曲線を **Figure 3-10** に示す。

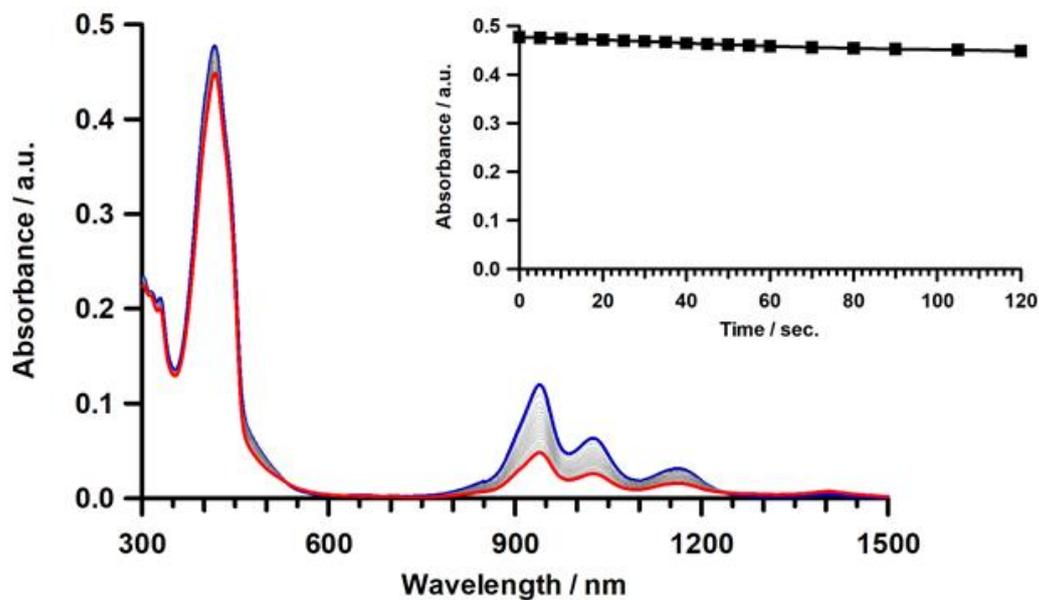
環拡張型 phthalocyanine (**9**) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験では、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯の減少はほぼなく、900 nm 以降の環拡張型

phthalocyanine (9) 由来の吸収帯の大きな減衰が観測された。Figure 3-11 に、環拡張型 phthalocyanine (9) の光反応中に、実際に観測された 417 nm の吸光度の減衰曲線、940 nm の吸光度の減衰から見積もられた環拡張型 phthalocyanine (9) の 417 nm の吸光度の減衰曲線、算出された DPBF のみの 417 nm の吸光度の減衰曲線を示す。他の吸収帯の減衰率を使用して算出したため、多少の誤差を有しているが、環拡張型 phthalocyanine (9) の光反応中に得られた DPBF のみの 417 nm の吸光度は、Absorbance / a.u. = 0.4 に一定であり、吸光度の減衰は確認されなかった。そのため、環拡張型 phthalocyanine (9) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験における真の $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ は、0 % で、環拡張型 phthalocyanine (9) への光照射は、 $^1\text{O}_2$ を発生しないことが明らかとなった。

環拡張型 phthalocyanine (9) への光照射において、 $^1\text{O}_2$ が発生しなかった原因として、環拡張型 phthalocyanine (9) の励起三重項状態の持つエネルギーが、酸素分子の励起に必要なエネルギーよりも小さかったことが原因であると考えられる。 $^1\text{O}_2$ は、1267 nm に燐光を発することが知られており、 $^1\text{O}_2$ への励起には、1267 nm の波長の持つエネルギーよりも大きなエネルギーが必要となる。^[19, 20] しかしながら、環拡張型 phthalocyanine (9) は、1161 nm にピークトップを持った吸収帯を有しているため、励起三重項状態へと遷移した環拡張型 phthalocyanine (9) のエネルギーは、1267 nm の波長の持つエネルギーよりも小さく、 $^1\text{O}_2$ を生成することができなかったと考えられる。

また、cyclooctatetraene によって架橋された corrole dimer (10) と DPBF の toluene 混合溶液への光照射実験では、corrole dimer (10) 由来の吸収帯に変化はなく、DPBF に由来する 417 nm 付近の吸収帯のみが大きく減少し、光照射によって発生した $^1\text{O}_2$ による DPBF の酸化分解のみが生じたことが確認された。toluene 中の corrole dimer (10) への光照射による DPBF の酸化分解効率 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の値は、6.38 % であると計算された。

9 with DPBF in toluene.



10 with DPBF in toluene.

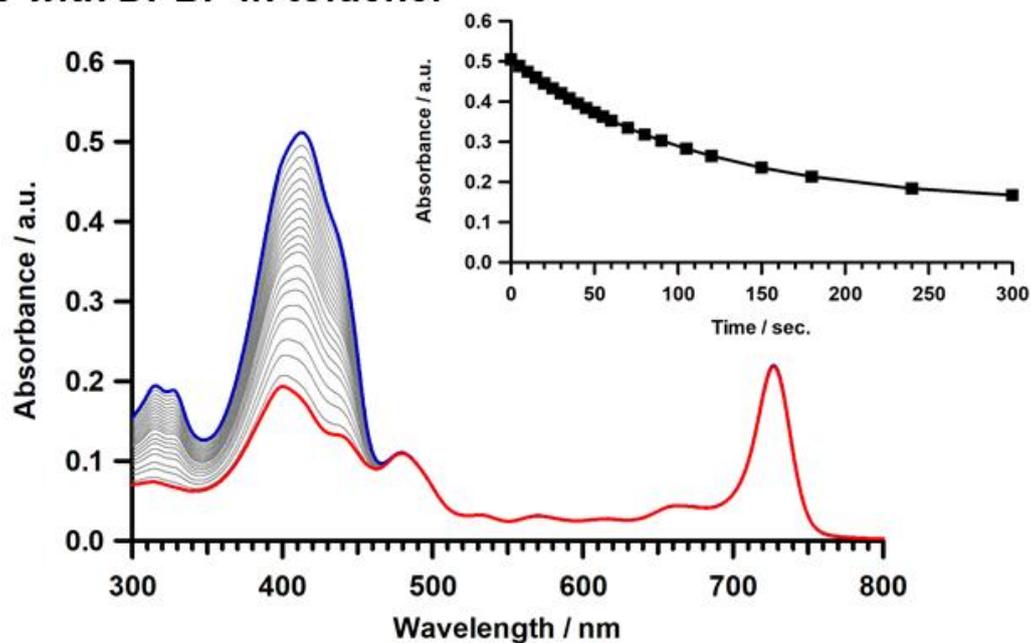


Figure 3-10. The absorption spectral changes of rectangle shaped porphyrinoids **9**, **10** during photo irradiations. (insets : decay curve of absorbance at 417 nm in photo irradiation)

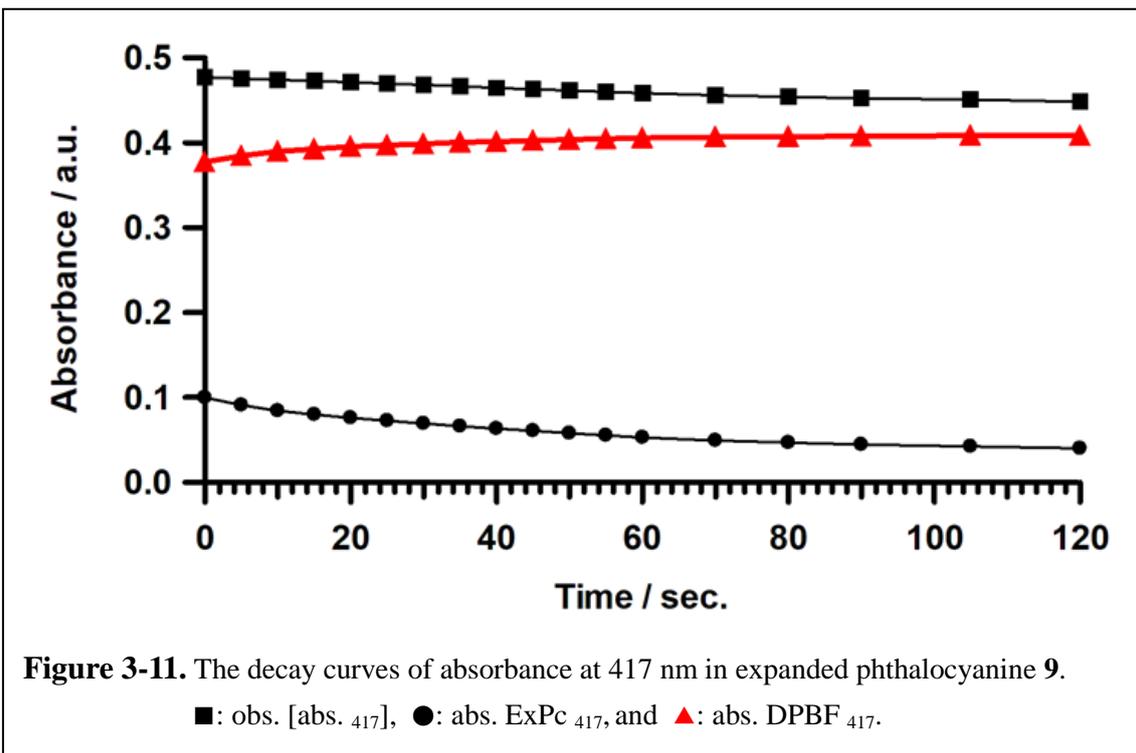


Table 3-2. The values used for the calculations of the quantum yields.

Comp.	number of molecules	number of photons
7	3.42×10^{13}	1.33×10^{16}
8	3.88×10^{13}	3.58×10^{16}
10	2.19×10^{14}	3.43×10^{15}

Table 3-3. The values of the absolute quantum yields ($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$) of rectangle shaped porphyrinoids **5-10**.

Comp.	solvent	$\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ [%]
Subphthalocyniane dimer 5	toluene	15.8
Subphthalocyniane trimer 6	toluene	14.6
Double linked porphyrin dimer 7	toluene	0.26
Triple linked porphyrin dimer 8	toluene	0.11
Expanded phthalocyanine 9	toluene	-
Corrole dimer 10	toluene	6.38

3-3. 結論

二光子吸収特性を有していることが報告されている porphyrin 共役二量体と同じ分子骨格を持った二重縮環 porphyrin dimer (**7**) と三重縮環 porphyrin dimer (**8**) の合成を行った。また、長方形の分子骨格を有しているため、二光子吸収特性を持つことが予想される化合物として、2 つの phthalocyanine 環が縮環した環拡張型 phthalocyanine (**9**) と 2 つの corrole 環が cyclooctatetraene を介して連結された corrole dimer (**10**) の合成を行った。長方形の分子骨格を有する porphyrinod 誘導体 **7-10** は、 ^1H NMR spectrum、Mass spectrum により、目的とする構造を有していることが確認された。これらの化合物の吸収スペクトルを測定した結果、長方形の分子骨格を有する porphyrinoid 誘導体 **7 - 10** は、生体透過率の高い近赤外領域に吸収帯を有し、また、「生体の窓」領域の光のエネルギーの 2 倍のエネルギーを持つ 300 ~ 450 nm 付近にも吸収帯を持つことが確認された。

しかしながら、本研究では、二光子吸収現象に関する測定を行うことができず、環拡張型 phthalocyanine (9) と corrole dimer (10) が、二光子吸収特性を有しているかを明らかにすることは出来なかった。

toluene 中において、porphyrinoid 誘導体 7-9 は、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認された。二光子吸収特性と $^1\text{O}_2$ 発生能を有する porphyrinoid 誘導体 7, 8 は、水溶性置換基が導入され、生体への応用が可能になれば、二光子吸収現象を利用した PDT の光増感剤として機能することができるであろう。

References

- [1] M. G. Mayer, *Ann. Phys.*, 401 (1931), 273-294.
- [2] M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning, and H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009), 3244 – 3266.
- [3] S. B. Brown, E. A. Brown, and I. Walker, *Lancet Oncol.*, 5 (2004) 497–508
- [4] R. Marchesini, E. Melloni, G. Pezzoni, G. Savi, F. Zunino, F. Docchio, G. Fava, *Lasers Surg. Med.*, 6 (1986) 323–327.
- [5] P. Lenz, *Photochem. Photobiol.*, 62 (1995) 333–338.
- [6] J. D. Bhawalkar, N. D. Kumar, C.F. Zhao, P. N. Prasad, *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 15 (1997) 201–204.
- [7] W. L. Peticolas, J. P. Goldsborough, K. E. Rieckhoff, *Phys. Rev. Lett.*, 10 (1963), 43–45.
- [8] L. Porres, O. Mongin, C. Katan, M. Charlot, T. Pons, J. Mertz, M. Blanchard - Desce, *Org. Lett.*, 6 (2004) , 47-50.
- [9] G. S. He, T.C. Lin, J. Dai, P. N. Prasad, R. Kannan, A. G. Dombroskie, R. A. Vaia, L.S. Tan, *J. Phys. Chem.*, 120 (2004) 5275–5284.
- [10] S. K. Lee, W. J. Yang, J. J. Choi, C. H. Kim, S. J. Jeon, B. R. Cho, *Org. Lett.*, 7(2005) 323–326.
- [11] Y. Nakamura, S. Y. Jang, T. Tanaka, N. Aratani, J. M. Lim, K. S. Kim, D. Kim, A. Osuka, *Chem. Eur. J.*, 14 (2008) 8279–8289.
- [12] D. Y. Kim, T. K. Ahn, J. H. Kwon, D. Kim, T. Ikeue, N. Aratani, A. Osuka, M. Shigeiwa, and S. Maeda, *J. Phys. Chem. A.* 109 (2005), 13, 2996-2999
- [13] J. Luo, S. Lee, M. Son, B. Zheng, K. W. Huang, Q. Qi, W. Zeng, G. Li, D. Kim, and J. Wu, *Chem. Eur. J.*, 21 (2015) 3708 – 3715
- [14] W. Zeng, B. S. Lee, Y. M. Sung, K. Huang, Y. Li, D. Kim and J. Wu, *Chem. Commun.*, 48

(2012) 7684–7686

- [15] T. K. Ahn, K. S. Kim, D. Y. Kim, S. B. Noh, N. Aratani, C. Ikeda, A. Osuka and D. Kim, J. AM. CHEM. SOC. 2006, 128, 1700-1704
- [16] M. Kamo, A. Tsuda, Y. Nakamura, N. Aratani, K. Furukawa, T. Kato, and A. Osuka, Org. Lett., 12 (2003), 5, 2079-2082
- [17] O. Matsushita, V. M. Derkacheva, A. Muranaka, S. Shimizu, M. Uchiyama, E. A. Lukyanets, and N. Kobayashi, J. Am. Chem. Soc., 134 (2012) 3411–3418
- [18] S. Bhowmik, M. Kosa, A. Mizrahi, N. Fridman, M. Saphier, A. Stanger, and Z. Gross, Inorg. Chem., 56 (2017) 2287–2296
- [19] M. C. DeRosa, and R. J. Crutchley, Coord. Chem. Rev. 233 (2002) 351-371
- [20] A. Kikuchi, K. Shibata, R. Kumasaka, and M. Yagi, J. Phys. Chem. A, 117 (2013) 1413–1419

4. Phenyl carboxyl 基の導入された Phthalocyanine の 結晶構造の解析

4-1. 緒言

前章でも記述したように、Phthalocyanine とその金属錯体は、拡張した π 共役系に由来する特徴的な物理化学的性質のため、多くの注目を集めている。Phthalocyanine の魅力の 1 つは、Q-band と呼ばれる近赤外領域に位置した吸収帯である。^[1]

Phthalocyanine 金属錯体は、染料、コピー機の光伝導素子の光増感剤などといった産業的な分野において、非常に重要な役割を有しており、有機薄膜、または、無機半導体上に吸着された Phthalocyanine は、有機光電材料や、色素増感型の太陽電池の色素としての潜在的な用途を持つことが知られている。^[2-4]

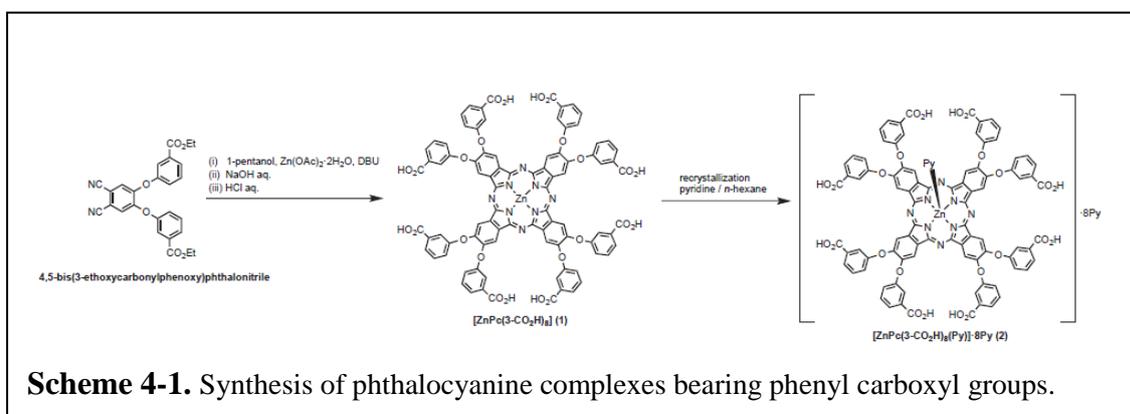
また、親水性の置換基を有する Phthalocyanine は、光線力学的治療 (Photo dynamic therapy; PDT) の光増感剤として、非常に有利な特性を本質的に有しているため、Vicente らは、Phthalocyanine の β 位に、8 個の Phenyl dicarboxyl 基を導入され、16 個のカルボン酸イオンを有する Zn(II) 錯体を合成し、分光学的性質と PDT の光増感剤としての活性について報告している。^[5, 6] Carboxyl 基や Sulfo 基を有する水溶性 Phthalocyanine の報告例は、数多く存在するが、X 線結晶構造解析に適した単結晶が得ることが困難であるため、それらの結晶構造は、ほとんど報告されていない。

本研究では、8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された Zn(II) Phthalocyanine $\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8$ (**11**) の合成と、**11** の Pyridine 溶液の再結晶によって、Pyridine が中心金属である Zn への軸配位とともに、周辺置換基へも溶媒和した $[\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8(\text{Py})] \cdot 8(\text{Py})$ (**12**) の結晶構造について、得られた結果をまとめた。また、**11** の溶液中での性質について、¹H NMR スペクトル、UV-Vis スペクトル、蛍光スペクトルを用いて調べたので、それについても併せて報告を行う。

4-2. 結果と考察

4-2.1. Synthesis and characterization

Scheme 4-1 は、8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された Zn(II) Phthalocyanine $\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8$ (**11**) と、Pyridine 分子が中心金属への軸配位と、周辺置換基への溶媒和によって得られた化合物 $[\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8(\text{Py})] \cdot 8(\text{Py})$ (**12**) の合成経路を示す。環周辺に、8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された化合物 (**11**, **12**) の合成は、文献に従って行った。[5, 6]



^1H NMR スペクトル、UV-Vis スペクトル、MALDI-TOF-Mass スペクトル、元素分析によって、目的化合物の合成を確認した。8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された **11** は、 CHCl_3 や CH_2Cl_2 、 C_6H_6 といった非極性の有機溶媒への溶媒性をほぼ持たないが、Pyridine や Acetone、DMSO といった極性溶媒には、高い溶解性を示す。また、Pyridine- d_5 中で測定された ^1H NMR スペクトルの結果から、Phenyl carboxyl 基由来のシグナルが、 $\delta = 7.48$ (5^{H})、 7.56 (4^{H})、 8.20 (6^{H})、 8.40 (2^{H}) ppm に観測され、Phthalocyanine 環の $\alpha\text{-H}$ のシグナルは、鋭い singlet なシグナルとして、 $\delta = 9.49$ ppm に観測された。

11 の Pyridine / *n*-hexane 溶液の再結晶を経由して、**12** が、紫の結晶として得られた。**12** の X 線単結晶構造の結果、得られた ORTEP 図を Figure 4-1 に示す。結晶データ、結合長と結合角のリストは、Table 4-1 と 4-2 に記載した。**12** は、中心金属である Zn に軸配位した Pyridine 分子だけではなく、周辺置換基である Phenyl carboxyl 基に溶媒和した Pyridine 分子とともに、結晶化していることが明らかとなった。

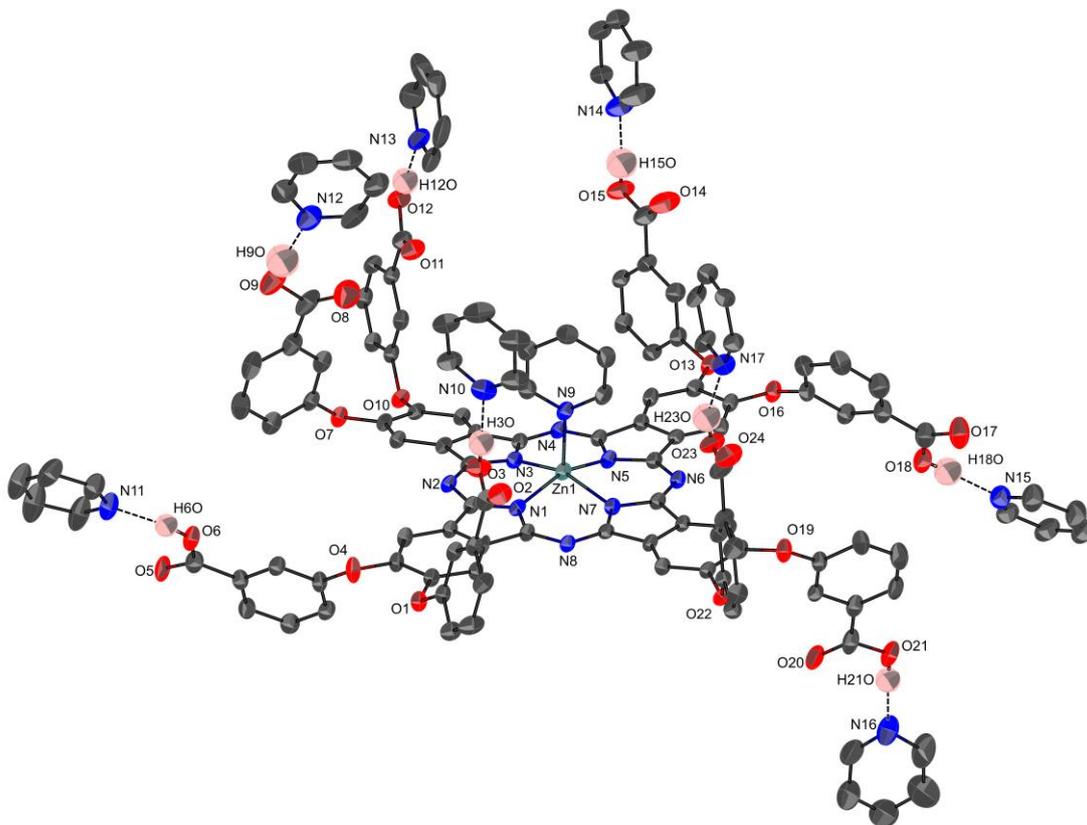


Figure 4-1. ORTEP view of **12**. Hydrogen atoms except for the carboxylic protons are omitted for clarity. The thermal ellipsoids are shown at the 30 % probably level. CCDC number : 1509837.

溶媒和した Pyridine 分子は、周辺置換基である Phenyl carboxyl 基と水素結合を介して、結合しており、Phenyl carboxyl 基の O 原子と Pyridine 分子の N 原子の平均距離は、Ave. O-N=2.66 Å であった。

また、軸配位した Pyridine の N 原子と Zn 原子の距離は、Zn(1)-N_{ax}(9)=2.121 Å であり、Phthalocyanine の 4 つの N 原子と Zn 原子との平均距離は、Zn(1)-N_{eq}(ave.)=2.027 Å であった。Phthalocyanine 環の 4 つの N 原子 (N1, 3, 5, 7) と軸配位した Pyridine の N 原子 (N9) の 5 つの N 原子は、Zn 原子に対して、5 配位でピラミッド型に配位し、Zn 原子は、N1, 3, 5, 7 によって形成される平面から軸配位した Pyridine の N 原子 (N9) 側へ、0.417 Å 浮き上がって存在していた。

Phthalocyanine の N 原子と Zn 原子の平均距離や、Phthalocyanine と Pyridine の N 原子によって形成される平面からの Zn 原子の逸脱の程度は、これまでに報告されている axial 位に Pyridine が配位した Zn (II) Phthalocyanine 誘導体と同程度である。^[11] また、Phthalocyanine の 4 つの N 原子が形成する平面と軸配位した Pyridine の Pyridine 環からなる二面角は、85.92°で、Pyridine 分子は、Phthalocyanine 環平面に対して、ほぼ直交して、配位していることも明らかとなった。

Table 4-1. Crystal data and data collection details of **12**

Empirical formula	C ₉₃ H ₅₃ N ₉ O ₂₄ Zn·8(C ₅ H ₅ N)
Formula weight	2378.61
Temperature (K)	100(2)
Wave length (Å)	1.54187
Crystal system	Triclinic
Space group	$P\bar{1}$
a (Å)	17.774(3)
b (Å)	18.358(3)
c (Å)	23.891(5)
α (°)	74.926(12)
β (°)	83.972(12)
γ (°)	70.555(12)
Volume (Å ³)	7097(2)
Z	2
Density (Calculated) (Mg m ⁻³)	1.113
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.241
F (000)	2464.00
Crystal size (mm)	0.150 x 0.120 x 0.040
θ Range for data collection (°)	3.004 to 26.000
Index ranges	-21 ≤ h ≤ 21, -22 ≤ k ≤ 22, -29 ≤ l ≤ 29
Reflections collected	103751
Independent reflections	27824 [$R_{\text{int}} = 0.0963$]
Maximum and minimum transmission	0.990 and 0.892
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Data/restraints/parameters	27824 / 178 / 1667
Goodness-of-fit on F^2	1.085
Final R indices ($I > 2 \sigma(I)$)	$R_1 = 0.0994$, $wR_2 = 0.2034$
R indices (all data)	$R_1 = 0.1528$, $wR_2 = 0.2353$
Largest peak and hole (e Å ⁻³)	+0.73 and -0.60

Table 4-2. The data of selected bond distances and bond angles of crystal of **12**

Zn(1)-N _{eq} (1)	2.033(4)	N _{eq} (1)-Zn(1)-N _{eq} (3)	87.4(2)	C(4)-O(1)-C(9)	117.9(4)
Zn(1)-N _{eq} (3)	2.024(4)	N _{eq} (1)-Zn(1)-N _{eq} (5)	156.2(2)	C(5)-O(4)-C(16)	119.3(4)
Zn(1)-N _{eq} (5)	2.018(4)	N _{eq} (1)-Zn(1)-N _{eq} (7)	88.0(1)	C(26)-O(7)-C(31)	116.9(4)
Zn(1)-N _{eq} (7)	2.034(5)	N _{eq} (3)-Zn(1)-N _{eq} (5)	87.8(2)	C(27)-O(10)-C(38)	117.6(4)
Zn(1)-N _{ax} (9)	2.121(4)	N _{eq} (3)-Zn(1)-N _{eq} (7)	156.4(2)	C(48)-O(13)-C(53)	116.8(4)
Zn-N _{eq} (ave.)	2.027(4)	N _{eq} (5)-Zn(1)-N _{eq} (7)	87.1(1)	C(49)-O(16)-C(60)	118.1(4)
$ \Delta Z_n ^a$	0.417	N _{eq} (1)-Zn(1)-N _{ax} (9)	101.7(2)	C(70)-O(19)-C(75)	120.2(4)
θ^b	85.92	N _{eq} (3)-Zn(1)-N _{eq} (9)	103.3(2)	C(71)-O(22)-C(82)	118.8(3)
d_1^c	3.376	N _{eq} (5)-Zn(1)-N _{eq} (9)	102.1(2)	C-O-C (ave.)	118.2(4)
d_2^d	4.774	N _{eq} (7)-Zn(1)-N _{eq} (9)	100.3(2)		

^a The distance between the Zn(II) atom and the least-square Pc plane defined by the four N4 atoms(N1, N3, N5, and N7) of the phthalocyanine core.

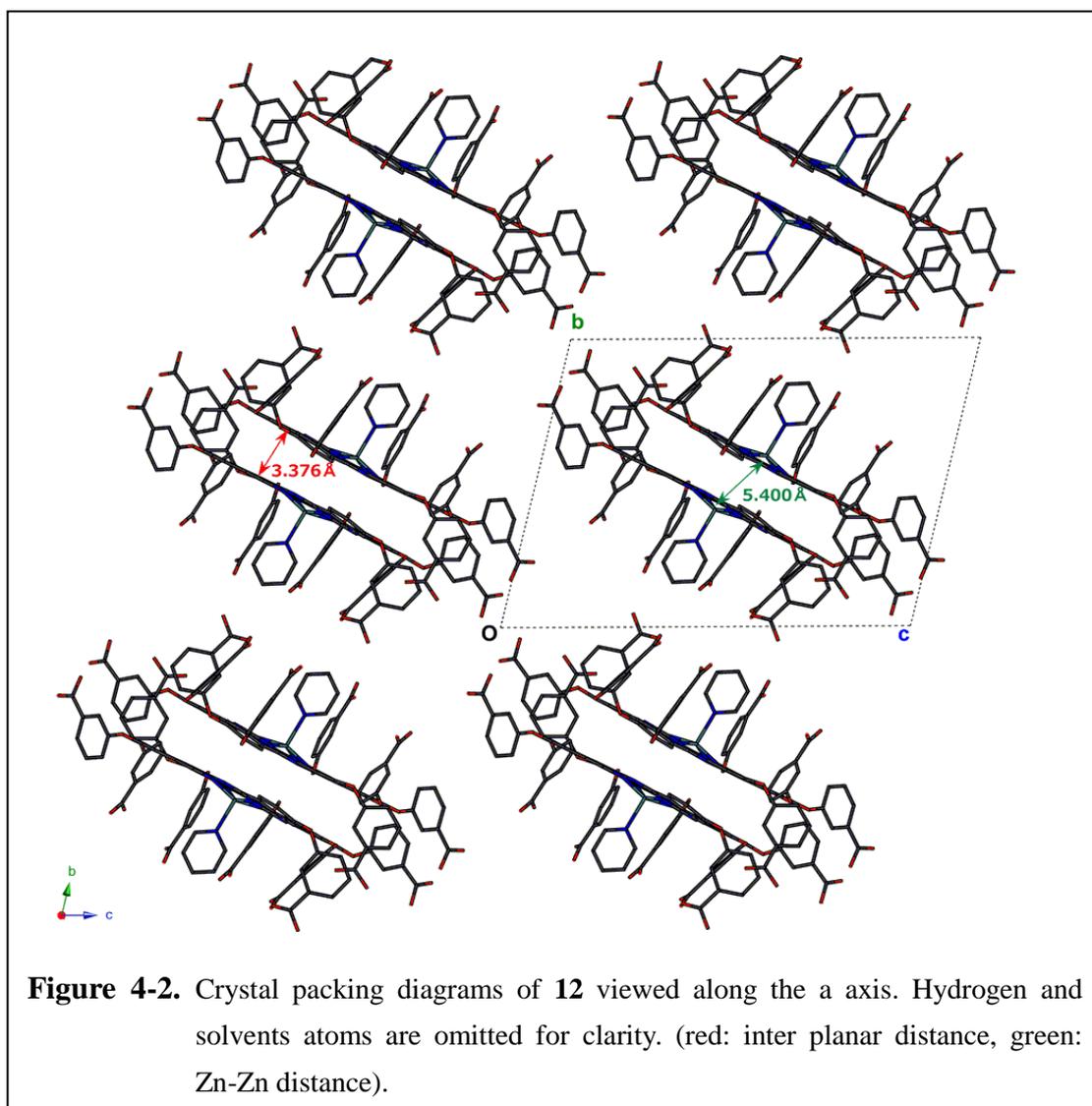
^b The dihedral angle between the least-square Pc plane and the plane of the coordinated pyridine molecule.

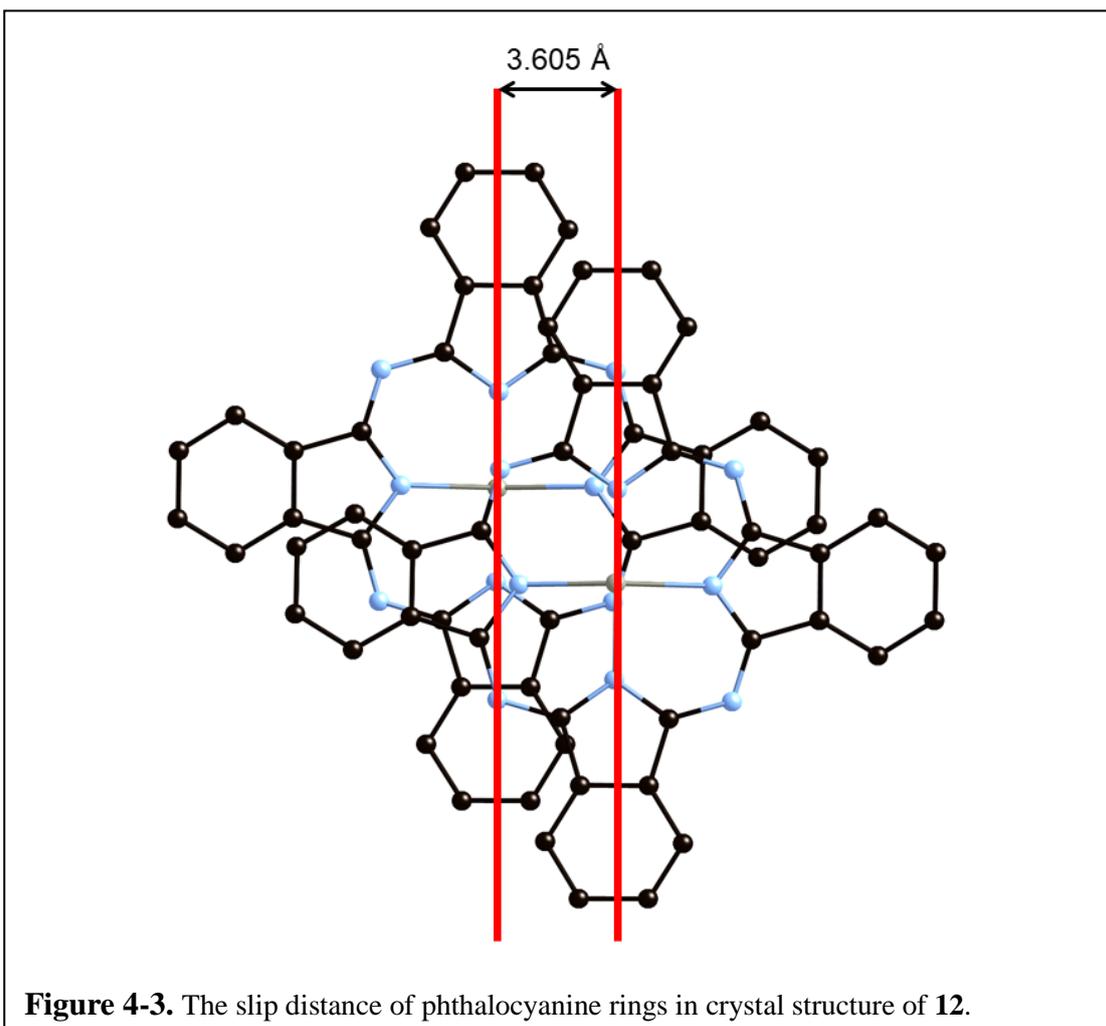
^c The interplanar distances of back-to-back fashion Pc dimer.

^d The slipped distances between the centroids of Pc plane defined by the four N4 atoms(N1, N3, N5, and N7) of the phthalocyanine core.

12 の結晶構造の packing 図を、**Figure 4-2** に示す。結晶の単位格子は、2 つの Phthalocyanine 錯体からなり、2 つの Phthalocyanine 環同士は、互いに、Pyridine の配位していない面同士で向かい合い、2 つの Phthalocyanine 環同士の距離は、3.376 Å であった。2 つの Phthalocyanine 環の面間距離から、Phthalocyanine 環同士は、結晶構造内で、 π - π スタッキングによる相互作用を有していることが示唆された。また、2 つの Phthalocyanine 環同士は、完全には、重なっておらず、3.605 Å ほど、横にずれて、結晶化していることが明らかとなった。

また、この結晶構造において、溶媒和した Pyridine 分子は、Phenyl carboxyl 基と水素結合を形成するだけでなく、隣接する Phthalocyanine の周辺置換基や軸配位した Pyridine 分子との π - π 相互作用も有していることが明らかとなり、Pyridine 分子は、構造を安定化させ、結晶構造を決定することに対して、非常に大きな役割を有していることが示唆される。また、周辺置換基として導入された Phenyl carboxyl 基と隣接する Phthalocyanine の Phenyl carboxyl 基の間の π - π 相互作用も確認され、この結晶は、複数の π - π 相互作用が、複雑に相互作用した結果、形成されたことが示唆される。



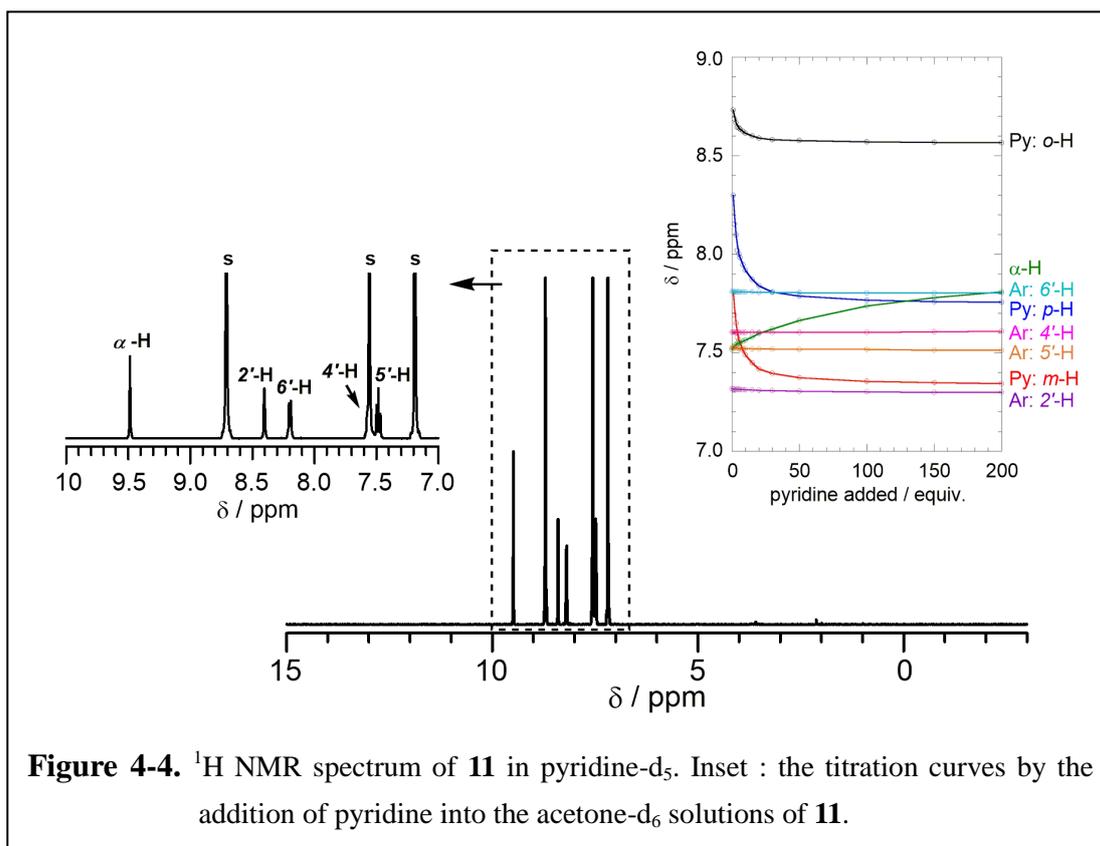


4-2.2. Interaction with pyridine

結晶構造内で、Pyridine と複雑な相互作用を有していることが確認された 8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された Zn(II) Phthalocyanine (**11**) に対して、溶媒中での Pyridine との相互作用を明らかにするために、更なる調査を行った。

Figure 4-4 に示されるように、Pyridine- d_5 中で測定された ^1H NMR スペクトルは、分解能の高いシグナルを示した。**11** は、Pyridine- d_5 溶液中では、**12** の結晶構造で明らかにされた構造と同一の構造を有していることが予期され、軸配位または、溶媒和した Pyridine 由来のシグナルは、Phthalocyanine 環の環電流効果を受け、遊離した Pyridine 分子のシグナルとは異なる位置に現れるはずである。しかしながら、Pyridine- d_5 溶液中で

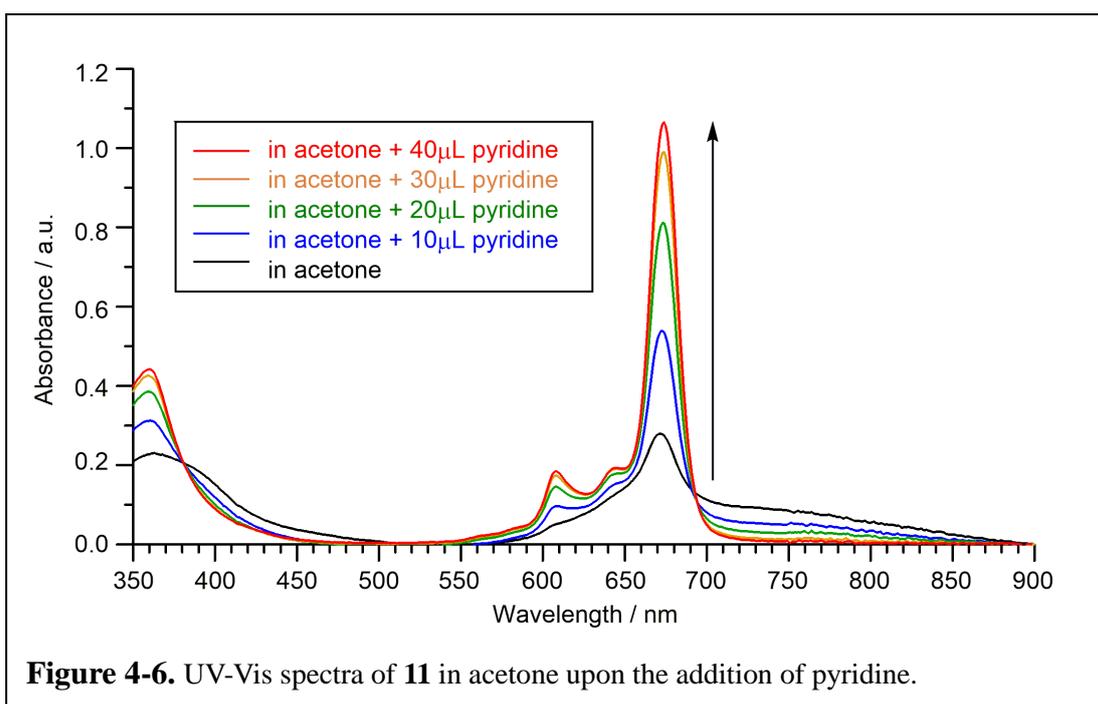
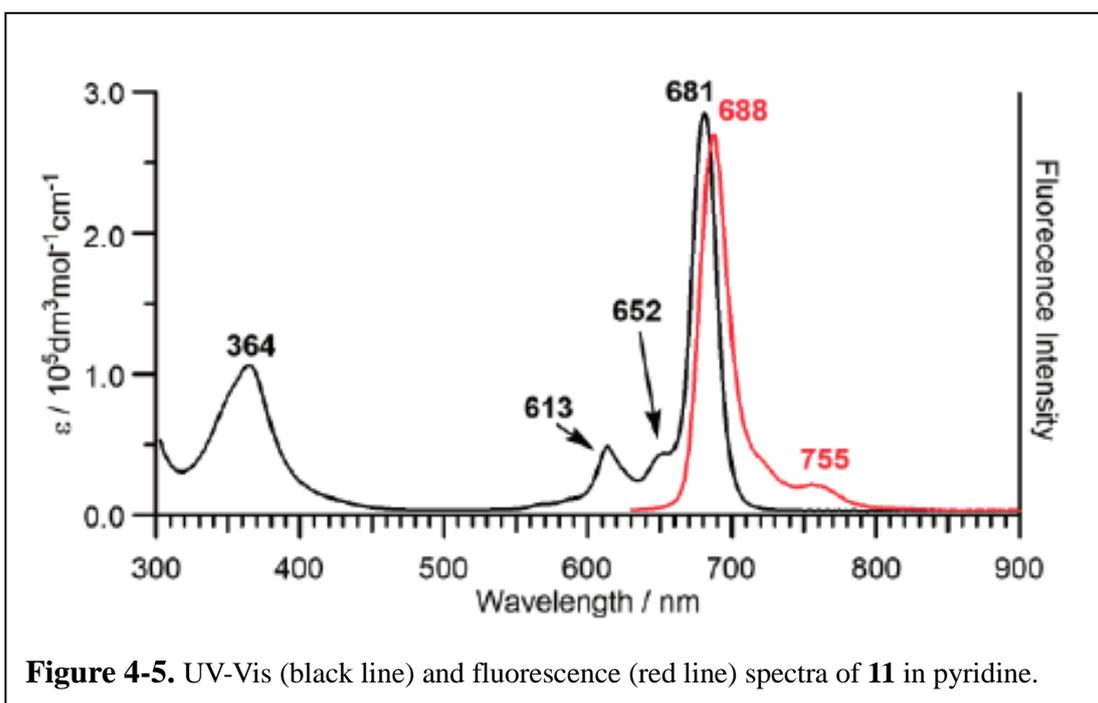
は、遊離した Pyridine 分子のシグナルとは異なる位置に化学シフトを有するシグナルは、観測されなかった。Phthalocyanine 環の環電流の効果を受けた Pyridine のシグナルを直接観測するため、**11** の Acetone-d₆ 溶液への Pyridine の滴下を伴う ¹H NMR スペクトルの測定を行った。**Figure 4-4** に、縦軸に ¹H NMR スペクトルのシグナル、横軸に滴下した Pyridine の等量をとって、プロットされた滴定曲線を示す。1.0 等量の Pyridine が加えられたとき、Pyridine 由来のシグナルは、 $\delta = 8.73(o\text{-H})$ 、 $8.30(p\text{-H})$ 、 $7.81(m\text{-H})$ ppm と、遊離した Pyridine 由来のシグナルよりも、低磁場領域に観測された。Pyridine の滴下量が増加するにつれて、それらのシグナルは、高磁場側へとシフトし、200 等量の Pyridine が滴下されると、遊離した Pyridine の化学シフトと同じ値まで達した。この結果は、滴下された Pyridine は、周辺置換基の Phenyl carboxyl 基と優先的に相互作用し、ほぼ全ての Phenyl carboxyl 基と Pyridine の溶媒和が形成された後に、Zn への軸配位が生じていることが示唆される結果となった。また、軸配位した Pyridine に由来する高磁場範囲のシグナルが観測されなかったことは、軸配位している Pyridine と遊離している Pyridine の間の交換速度が、NMR のタイムスケールよりも速かったためであると考えられる。また、高磁場側へシフトした Pyridine のシグナルとは対照的に、Acetone-d₆ 溶液中では、 $\delta = 7.52$ ppm に観測された Phthalocyanine 環の $\alpha\text{-H}$ のシグナルは、Pyridine の滴下量が増加するにつれて、低磁場側へとシフトした。この結果は、Acetone-d₆ 溶液中では、**11** は、隣接する Phthalocyanine 環同士が近接に位置する会合体を形成しており、Pyridine の滴下量が増加するにつれて、Pyridine の軸配位や周辺置換基と相互作用が生じ、会合体の割合が減少し、隣接する Phthalocyanine 環との距離が増加することで、Phthalocyanine 環が隣接する Phthalocyanine 環から受ける環電流の影響が減少したことを示唆している。



4-2.3. Aggregation behavior

Pyridine で測定された **11** の UV-Vis スペクトルを **Figure 4-5** に示す。**11** の UV-Vis スペクトルは、溶液中で、会合体を形成していない Phthalocyanine と同様な形状を有し、681 nm に Q-band ピークを示す。

一方で、Acetone 中で測定された **11** の UV-Vis スペクトルを、**Figure 4-6** に示す。Acetone 中で得られたスペクトルは、Soret 帯も Q-band はともに、ブロードニングしており、会合体の形成が示唆される。少量の Pyridine を滴下すると、ブロードニングした吸収帯は、鋭くなり、強度の増加も同時に観測され、Pyridine の軸配位や Phenyl carboxyl 基への溶媒和は、会合体の形成を効果的に抑制することを明らかにした。



4-3. Conclusion

8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された $\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8$ (**11**) を合成し、**11** の Pyridine 溶液の再結晶によって、Pyridine が中心金属へ軸配位し、周辺置換基へも溶媒和した化

合物 $[\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8(\text{Py})] \cdot 8(\text{Py})$ (**12**) を得た。**12** の X 線単結晶構造解析を行い、**11** の中心金属である Zn へ Pyridine が軸配位し、さらに、周辺置換基である Phenyl carboxyl 基へも Pyridine が溶媒和した構造を明らかにした。**12** の結晶中では、Pyridine 分子は、構造を決定することに対して、非常に大きな役割を有しており、溶媒和した Pyridine 分子は、Phenyl carboxyl 基と水素結合を形成するだけでなく、隣接する Phthalocyanine の周辺置換基である Phenyl carboxyl 基や軸配位した Pyridine 分子との π - π 相互作用も有していることが分かった。**12** の結晶は、非常に複雑な、複数の π - π 相互作用の結果、形成されたと考えられる。また、溶液中での、**11** と Pyridine の相互作用について調査したところ、Pyridine は、Zn 原子への軸配位よりも、Phenyl carboxyl 基との溶媒和を優先的に形成し、Pyridine による軸配位や溶媒和は、**11** の会合挙動を抑制することが分かった。

References

- [1] The Phthalocyanines, vols. I, II, F. H. Moser, A. L. Thomas, CRC Press, Boca Raton, FL, 1983.
- [2] The Porphyrin Handbook, vol. 19, ed. by K. M. Kadish and K. M. Smith, R. Guilard, Academic Press, San Diego, 2003.
- [3] K. Y. Law, Chem. Rev., 1993, 93, 449.
- [4] The Phthalocyanines, Properties and Applications, vol. 4, ed. by C. C. Leznoff and A. B. P. Lever, VCH, New York, 1996.
- [5] W. Liu, T. J. Jensen, F. R. Fronczek, R. P. Hammer, K. M. Smith, and M. G. H. Vicente, J. Med. Chem., 2005, 48, 1033.
- [6] C. F. Choi, P. T. Tsang, J. D. Huang, E. Y. M. Chan, W.H. Ko, W. P. Fong, and D. K. P. Ng, Chem. Commun., 2004, 2236-2237.
- [7] L. Palatinus, G. Chapuis, J. Appl. Cryst., 2007, 40, 786.
- [8] CrystalStructure Ver. 4.1: Crystal structure analysis package, Rigaku, Tokyo, Japan and Rigaku/MSC (The Woodlands, TX, USA), 2014.
- [9] G. M. Sheldrick, Acta Cryst., 2015, A71, 3.
- [10] A. L. Spek, Acta Cryst., 2015, C71, 9.
- [11] F. J. Yang, X. Fang, H. Y. Yu, and J. D. Wang, Acta Cryst., 2008, C64, m375.

本研究のまとめ

本研究では、近赤外領域に吸収を持った Phthalocyanine や Subphthalocyanine 多量体、Porphyrinoid を連結した共役二量体を新規な光増感剤として応用することを目的として研究を行った。

1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」では、水溶性 Phthalocyanine 誘導体の光学特性に制限をかけてしまう水系溶媒中での会合体の形成を抑制するため、Phthalocyanine 環の 8 か所のβ位に *N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) 基を有するカチオン性 Phthalocyanine の Ga 錯体と Zn 錯体の合成を行った。カチオン性 Ga 錯体と Zn 錯体は、DMSO のみならず、水や PBS といった水系溶媒にも溶解性し、Ga 錯体では、PBS 中において、 6.0×10^{-5} M まで、会合体の形成が確認されなかった。

Ga 錯体と Zn 錯体はともに、光の照射により $^1\text{O}_2$ を発生するため、PDT の光増感剤としての機能することが予想されたが、human HEp2 細胞に対する細胞毒性試験の結果、Zn 錯体のみが、光細胞毒性を有していることが明らかとなった。*N*-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) 基を有するカチオン性 Phthalocyanine の Zn 錯体は、PDT の光増感剤として、生体内で機能することが期待できる結果を示した。

2 章の「Subphthalocyanine 多量体の合成と一重項酸素発生能」では、生体透過率の高い近赤外領域に吸収帯を有していない Subphthalocyanine を共通のベンゼン環によって連結しすることで、 π 共役系の拡張された Subphthalocyanine dimer および Subphthalocyanine trimer を合成した。Subphthalocyanine dimer および Subphthalocyanine trimer は、有機溶媒のみだけでなく、極性溶媒である MeOH や DMSO に対しても溶解性を示した。

共役系の拡張された Subphthalocyanine dimer と Subphthalocyanine trimer の吸収帯は、近赤外領域まで達した。Subphthalocyanine dimer と Subphthalocyanine trimer は、toluene 中だけでなく、DMSO 中においても、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認さ

れが、human HEp2 細胞に対する細胞毒性の調査の結果、暗所細胞毒性だけでなく、光細胞毒性も有していないことが明らかとなり、現段階では、PDT の光増感剤としての応用は難しいという結果が得られた。

3 章の「長方形の分子構造を有する Porphyrinoid 誘導体の合成と一重項酸素発生能」では、光増感剤の生体深部での効率的な光の捕集方法として、近赤外領域の光を用いた二光子吸収現象を利用することに着目し、二光子吸収現象を有する化合物の特徴である長方形の分子骨格を有する化合物として、二重縮環 porphyrin dimer、三重縮環 porphyrin dimer、環拡張型 phthalocyanine、corrole dimer の合成を行った。吸収スペクトルを測定した結果、合成された長方形の分子骨格を有する化合物は、近赤外領域に吸収帯を有し、また、近赤外領域の光を用いた二光子吸収現象においてターゲットとなる 300 ~ 450 nm 付近にも吸収帯を持つことが確認された。しかしながら、本研究では、二光子吸収現象に関する測定を行うことは出来なかった。

toluene 中において、単光子吸収ではあるが、環拡張型 phthalocyanine を除く全ての化合物で、光の照射に伴う $^1\text{O}_2$ の発生を確認し、水溶性置換基の導入によって、生体への応用が可能になれば、二光子吸収現象を利用した PDT の実現も可能であるといえる結果を得た。

4 章の「Phenyl carboxyl 基の導入された Phthalocyanine の結晶構造の解析」では、X 線結晶構造解析に適した単結晶が得ることが困難である水溶性 Phthalocyanine の結晶構造の解明を目的に研究を行い、8 個の Phenyl carboxyl 基の導入された $\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8$ (**11**) を合成し、**11** の Pyridine 溶液の再結晶によって、Pyridine が中心金属へ軸配位し、周辺置換基へも溶媒和した化合物 $[\text{ZnPc}(3\text{-COOH})_8(\text{Py})] \cdot 8(\text{Py})$ (**12**) を得た。

12 の X 線結晶構造解析を行い、溶媒分子である Pyridine の中心金属 Zn への軸配位と周辺置換基である Phenyl carboxyl 基への溶媒和を明らかにした。**12** の結晶中では、Pyridine 分子は、構造を決定することに対して、非常に大きな役割を有しており、非常

に複雑な複数の π - π 相互作用を有している。また、溶液中では、Pyridine は、Zn 原子への軸配位よりも、Phenyl carboxyl 基との溶媒和を優先的に形成し、Pyridine による軸配位や溶媒和は、**11** の会合挙動を抑制することが分かった。

本研究全体を通して、同じ周辺置換基を有している化合物でも、中心に挿入される金属イオンやその軸配位子による溶解性の違いによって、光細胞毒性の有無に差が生じることや、in vitro な環境では、十分な $^1\text{O}_2$ の発生能を有している化合物でも、光細胞毒性を示さないこと、励起三重項状態の光増感剤が $^1\text{O}_2$ の励起に必要なエネルギーよりも小さなエネルギーを持っていると、 $^1\text{O}_2$ が発生しないことも明らかとなり、PDT の光増感剤の分子設計を行う際に、今後の指針となるデータの観測も行うことができた。

実験項

試薬と実験装置

本研究で使用したすべての溶媒と試薬は、市販のものを前処理せず、そのまま使用した。すべての合成実験は、N₂雰囲気下で行った。

以下に、実験で使用した装置を記載した。

(後述の実験方法内で記載されている機器については、ここでは記載していない)

元素分析：Yanako CHN CORDER MT-6

¹H NMR スペクトル：JEOL delta ECX-500 spectrometer

ESI-TOF-MS スペクトル：Bruker microTOF

MALDI-TOF-MS スペクトル：bioMérieux VITEK[®] MS

吸収スペクトル：Shimadzu UV-3100 spectrometer

蛍光スペクトル：Shimadzu RF-5300PC spectrofluorometer

絶対蛍光量子収率：Hamamatsu Photonics C9920-02

X線結晶構造解析：Rigaku VariMax RAPID/α

ESR スペクトル：Bruker EMX Plus

各化合物の帰属データ

本研究で使用した化合物の帰属データを以下にまとめた。

4,5-bis(4'-methylpyridin-3'-yloxy)phthalonitrile (3)

Anal. Calc. for C₂₀H₁₄N₄O₂: C; 70.17, H; 4.12, N; 16.37. Found: C; 69.93, H; 4.21, N; 16.08 %. HR-MS (ESI-TOF): Found 343.1190 m/z.[M + H]⁺ (calcd. for C₂₀H₁₄N₄O₂ 343.1191).

¹H NMR (CD₂Cl₂): δ = 8.31 (s, 2H, Ar-H), 7.34(d, 2H, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.26 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.23 (s, 2H, Ar-H), and 2.57 ppm (s, 6H, CH₃).

**2,3,6,7,10,11,14,15-Octakis-[(4-methyl-3-pyridyloxy)phthalocyaninato] chloro gallium(III)
(2GaCl)**

Anal. Calc. for $C_{80}H_{56}ClGaN_{16}O_8 \cdot H_2O$: C, 64.37; H, 3.92, N; 15.01. Found: C; 64.67, H; 4.05, N; 14.86 %. MALDI-TOF : Found 1439.367 m/z. $[M - Cl]^+$ (calcd. for $C_{80}H_{56}GaN_{16}O_8$ 1439.371). UV-vis (DMSO): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 356 (8.0 \times 10^4), 370 (9.2 \times 10^4), 617 (4.2 \times 10^4), 655 (3.7 \times 10^4, sh),$ and 685 nm (2.5×10^5). 1H NMR (CD_2Cl_2): $\delta = 8.70$ (s, 8H, Pc α -H), 8.62 (s, 8H, Py-H), 7.55 (d, $J = 8.2$ Hz, 8H, Py-H), 7.23(d, $J = 8.4$ Hz, 8H, Py-H), and 2.60 ppm (s, 24H, CH_3).

2,3,6,7,10,11,14,15-Octakis-[(4-methyl-3-pyridyloxy)phthalocyaninato] zinc(II) (2Zn)

Anal. Calc. for $C_{80}H_{56}N_{16}O_8Zn$: C, 66.97, H; 3.93, N; 15.62. Found: C; 66.88, H; 4.06, N; 15.45 %. HR-MS (ESI-TOF): Found 1433.3774 m/z. $[M + H]^+$ (calcd. for $C_{80}H_{56}N_{16}O_8Zn$ 1433.3831). UV-vis ($CHCl_3$): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 359 (5.9 \times 10^4), 611 (2.3 \times 10^4), 647 (2.1 \times 10^4, sh),$ and 677 nm (1.3×10^5). 1H NMR ($CDCl_3 + 10\%$ Pyridine- d_5): $\delta = 8.75$ (s, 8H, Ar-H), 8.45 (s, 8H, Py-H), 7.40 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H, Py-H), 7.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 8H, Py-H), and 2.47 ppm (s, 24H, CH_3).

**2,3,6,7,10,11,14,15-Octakis-[N-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy)phthalocyaninato]
chloro gallium(III) iodide (1GaCl)**

Anal. Calc. for $C_{88}H_{80}GaClI_8N_{16}O_8$: C; 40.49, H; 2.98, N; 8.27. Found: C; 39.65, H; 2.98, N; 8.27 %. UV-vis (H_2O): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 359 (8.5 \times 10^4), 612 (3.2 \times 10^4), 652 (3.2 \times 10^4, sh),$ and 679 nm (2.1×10^5). 1H NMR (D_2O): $\delta = 9.37$ (s, 8H, Pc α -H), 8.91 (br, 8H, Py-H), 8.40 (br, 8H, Py-H), 7.95 (s, 8H, Py-H), 4.19 ppm (s, 24H, Py- CH_3) and 2.76 ppm (s, 24H, Py- CH_3).

2,3,6,7,10,11,14,15-Octakis-[N-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy)phthalocyaninato]

zinc(II) iodide (1Zn)

Anal. Calc. for $C_{88}H_{80}I_8N_{16}O_8Zn \cdot 3H_2O$: C; 40.27, H; 3.30, N; 8.54. Found: C; 40.24, H; 3.12, N; 8.34 %. HR-MS (ESI-TOF): Found 729.0312 m/z. $[M - 3I]^{3+}$ (calcd. for $[C_{88}H_{80}I_8N_{16}O_8Zn - 3I]^{3+}$ 729.0281). UV-vis (H_2O): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 351 (7.1 \times 10^4)$, 607 (2.8×10^4), 645 (3.0×10^4 , sh), and 673 nm (1.8×10^5). 1H NMR (D_2O): $\delta = 8.45$ (s, 8H, Ar-H), 7.94 (br, 8H, Py-H), 7.77 (br, 8H, Py-H), 7.40 (s, 8H, Py-H), 4.10 ppm (s, 24H, *m*-CH₃) and 2.63 ppm (s, 24H, *p*-CH₃).

Subphthalocyanine monomer (4)

Anal. Calc. for $C_{24}H_6BCl_7N_6$: C; 45.23, H; 0.95, N; 13.19. Found: C; 45.26, H; 0.63, N; 12.85 %. ESI-TOF : Found 678.9143 m/z. (calcd. for $[M + 2H + CH_3CN]^+ = 678.9143$). UV-vis (toluene) : $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 314 (3.7 \times 10^4)$, 530 (2.8×10^4), 555 (4.9×10^4 , sh) and 574 nm (1.0×10^5).

Subphthalocyanine dimer (5)

Anal. Calc. for $C_{42}H_{10}B_2Cl_{10}N_{12}$: C; 47.65, H; 0.95, N; 15.88. Found: C; 47.38, H; 1.12, N; 15.49 %. MALDI-TOF : Found 1057.4 m/z. $[M]^+$ (calcd. for $C_{42}H_{10}B_2Cl_{10}N_{12}$ 1057.8). UV-vis (toluene): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 327 (6.4 \times 10^4)$, 446 (1.6×10^4), 598 (5.2×10^4 , sh), 613 (7.1×10^4), 648 (5.5×10^4), 677 (5.8×10^4) and 709 nm (2.2×10^5). 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 10.35$ (s, 2H, benzo-H), 8.99 (s, 4H, α -H) and 8.91 ppm (s, 4H, α -H).

Subphthalocyanine trimer (6)

Anal. Calc. for $C_{60}H_{14}B_3Cl_{13}N_{18}$: C; 48.69, H; 0.95, N; 17.03. Found: C; 48.42, H; 1.181, N;

16.82 %. MALDI-TOF : Found 1479.4m/z. $[M]^+$ (calcd. for $C_{60}H_{14}B_3Cl_{13}N_{18}$ 1479.8). UV-vis (toluene): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 329 (8.6 \times 10^4), 602 (5.5 \times 10^4), 647 (5.3 \times 10^4), 673 (7.8 \times 10^4), 710 (6.4 \times 10^4), 736 (4.6 \times 10^4),$ and 777 nm (1.7×10^5). 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 10.35$ (s, 2H, benzo-H), 10.26 (s, 2H, benzo-H), and 8.93 ppm (m, 10H, α -H).

Double linked porphyrin dimer (7)

UV-vis (toluene): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 417 (6.2 \times 10^4), 551 (3.5 \times 10^4), 778 (2.4 \times 10^4),$ and 962 nm (1.9×10^3). 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 9.82$ (s, 2H, meso-H), 9.60 (s, 2H, pyrrole-H), 9.43 (s, 2H, pyrrole-H), 8.97 (s, 4H, pyrrole-H), 8.83 - 8.75 (m, 6H, pyrrole-H), 8.21 (s, 4H, phenyl-H), 8.01 (s, 4H, phenyl-H), 7.86 (s, 2H, phenyl-H), 7.82 (s, 2H, phenyl-H), 1.64 (s, 36H, methyl-H), and 1.60 ppm (s, 36H, methyl-H).

Triple linked porphyrin dimer (8)

UV-vis (toluene): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 421 (1.2 \times 10^5), 586 (9.9 \times 10^4), 930 (1.5 \times 10^4),$ and 1060 nm (2.7×10^4). 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 7.74$ (d, $J = 4.6$ Hz, 4H, pyrrole-H), 7.70 (d, $J = 4.6$ Hz, 4H, pyrrole-H), 7.67 (s, 8H, phenyl-H), 7.63 (s, 4H, phenyl-H), 7.61 (s, 4H, phenyl-H), 7.58 (s, 2H, phenyl-H), 7.35 (s, 4H, pyrrole-H), 1.45 (s, 72H, methyl-H), and 1.41 ppm (s, 36H, methyl-H).

Expanded phthalocyanine (9)

ESI-TOF : Found 1778.4466 m/z. $[M]^+$ (calcd. for $[C_{98}H_{80}N_{12}O_{10}Mo_2]^+$ 1778.4260). UV-vis (toluene): $\lambda_{max}(\epsilon/mol^{-1}dm^3cm^{-1}) = 400 (4.9 \times 10^4), 454 (4.0 \times 10^4), 940 (6.3 \times 10^4), 1025 (3.3 \times 10^4),$ and 1161 nm (1.6×10^4). 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 8.85$ (s, 4H, α -H), 8.42 (s, 4H, α -H), 7.41 – 7.50 (m, 24H, benzo-H), and 2.49 ppm (s, 48H, methyl-H).

Corrole dimer (10)

ESI-TOF : Found 1587.1055 m/z.[M]⁺ (calcd. for [C₇₄H₁₈N₈F₃₀]⁺ 1587.1092). UV-vis (toluene): $\lambda_{\max}(\epsilon/\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}) = 399 (8.8 \times 10^4), 479 (5.5 \times 10^4), \text{ and } 727 \text{ nm } (1.1 \times 10^5)$. ¹H NMR (CD₂Cl₂): $\delta = 9.02 \text{ (s, 4H, phenyl-H)}, 8.71 \text{ (d, } J = 4.6 \text{ Hz, 4H, pyrrole-H)}, 8.52 \text{ (d, } J = 4.6 \text{ Hz, 4H, pyrrole-H)}, \text{ and } -1.15 \text{ ppm (br, 6H, inner NH-H)}$.

ZnPc(3-COOH)₈ (11)

Anal. for **11**. Calcd. for C₈₈H₄₈N₈O₂₄Zn: C, 63.41; H, 2.90; N, 6.72%. Found: C, 62.95; H, 3.36; N, 6.40 %. MALDI-TOF-Mass : Calcd. for [C₈₈H₄₈N₈O₂₄Zn]⁺ : 1664.21 m/z. Found: 1664.19 m/z. ¹H NMR (pyridine-d₅): $\delta = 7.48 \text{ (5'-H, 8H, t)}, 7.56 \text{ (4'-H, 8H, m)}, 8.20 \text{ (6'-H, 8H, d)}, 8.40 \text{ (2'-H, 8H, s)}, \text{ and } 9.49 \text{ (}\alpha\text{-H, 8H, s)}$ ppm. UV-vis (pyridine) : $\lambda_{\max} (\epsilon/10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}) = 364 (1.0), 613 (0.5), 652 (0.4, \text{sh}), \text{ and } 681(2.8) \text{ nm}$.

実験操作

• ¹O₂による捕捉剤分子の酸化分解反応の絶対量子収率 ($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$) の算出

本研究で行われた光増感剤への光照射を伴って発生した¹O₂による捕捉剤分子の酸化分解反応の絶対量子収率($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$)の算出は、以下の方法に従って行った。サンプル溶液の作成といった事前準備や、光照射など、 $\Phi\Delta_{\text{absolute}}$ の算出に関わる全ての操作は暗条件下で行われた。サンプル溶液は、 $2.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ に調整された光増感剤溶液 1.5 mL と光増感剤に対して10倍にあたる $2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ に調整された¹O₂の捕捉剤分子溶液 1.5 mL の混合溶液を使用した。サンプル溶液への光の照射には、Xe 光源 (Asahi Spectra, MAX-300) からの光をバンドパスフィルタ (Asahi Spectra, MX0570, MX0670, MX0700, MX0770, MX0860) を使用して、各化合物の吸収帯に対応させた単色光を使用した。¹O₂の捕捉剤として、1,3-Diphenylisobenzofuran (DPBF) と

9,10-Antracenediyl-bis(methylene) dimalonoic acid (ADMA) を使用した。DPBFの分解では410 nm、ADMAの分解では380 nmの吸光度の減衰をトレースし、吸光度の減衰曲線を作成した。¹O₂による捕捉剤分子の酸化分解反応の絶対量子収率($\Phi\Delta_{\text{absolute}}$)の算出は、(1) 式を用いて行った。

$$\Phi\Delta_{\text{absolute}} = \frac{\text{(分解した捕捉分子の分子数)}}{\text{(吸収した光子数)}} \quad (1)$$

分解した捕捉分子の分子数は、吸光度の減衰曲線の傾きが直線性を有している区間の値から算出した。また、吸収した光子数は、(2) 式から算出された。

$$\text{吸収した光子数} = \frac{\Delta E \lambda}{hc} \quad (2)$$

ΔE は、光増感剤が吸光したエネルギーで、光量センサー (ADCMT, 82311B) が付属した光量計 (ADCMT, 8230E) によって測定された照射光と透過光の吸光量の差から計算した。 λ は、照射した光の波長、 h は、プランク定数、 c は、光速を指す。

・細胞実験について

細胞実験で使用された培地や試薬、細胞は、すべて市販の物を使用した。実験前の事前準備として、Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) と、10% の fetal bovine serum (FBS) と 1% の penicillin-streptomycin を含む Minimum essential media (MEM) の比率を50 : 50にした培地内で、HEp2細胞を培養した。1% の Cremophor EL を含む DMSOを用いて、32 mM の光増感剤DMSO溶液を作成した。

暗所細胞毒性の測定

32 mM の光増感剤 DMSO 溶液を培養液によって希釈し、0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 μM の光増感剤溶液を作成した。HEp2 細胞を 96 well plate に移し、48 時間、成長させた後、各濃度の光増感剤溶液 100 μL をそれぞれ加え、37 $^{\circ}\text{C}$ で 24 時間、静置し、光増感剤を HEp2 細胞に取り込ませた。24 時間経過後、直ちに、培養液を取り除き、PBS によって、余剰な光増感剤を洗い流した。20% の CellTiter Blue を含む培養液を与え、4 時間の培養を行った後、細胞の生存率を測定した。細胞の生存率は、BMG FLUOstar OPTIMA microplate reader を用いて、615 nm の蛍光強度から計算された。

光細胞毒性の測定

光細胞毒性の測定では、暗所細胞毒性の測定の際に作成した 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μM の光増感剤溶液を使用した。暗所細胞毒性の測定と同様の手順で、HEp2 細胞に 0 - 100 μM の光増感剤溶液を加えて、光増感剤の HEp2 細胞への取り込みを行った。培養液の除去、PBS による洗浄の後、細胞に新鮮な培養液を加え、1.5 J/cm^2 の光量を発する 600 W のクオーツタングステンハロゲンランプ (Newport Corporation) の光に 20 分間、曝した。光を照射している間、細胞の入った plate は、Echotherm IC₅₀ chilling/heating plate (Torrey Pines Scientific) を使用して、室温と同じ温度を保つよう冷却された。光の照射の後、細胞を 24 時間、培養し、培養液を取り除き、20% の CellTiter Blue を含む培養液を与え、4 時間の培養を行った。細胞の生存率は、暗所細胞毒性の測定時と同様に、615 nm の蛍光観察によって決定された。

細胞小器官への局在化の調査

HEp2 細胞を 35 mm の tissue culture dish に移し、24 時間、成長させた後、10 μM の光増感剤溶液に、6 時間、曝す。その後、細胞小器官染色剤を加えた。染色された細胞

の画像は、DAPI, GFP, Texas Red filter cubes (Chroma Technologies) と Leica DM6B microscope (Leica) を使用して、撮影を行った。細胞小器官染色剤として、50 nM の LysoSensor Green、250 nM の MitoTracker Green、100 nM の ER Tracker Blue/White、1 μ M の BODIPY FL C5 Ceramide を使用した。

研究業績

これまでの研究に関する業績を以下にまとめた。

• 学術論文

- [1] **R. Fujishiro**, H. Sonoyama, Y. Ide, T. Fujimura, R. Sasai, A. Nagai, S. Mori, N. E. M. Kaufman, Z. Zhou, M. G. H. Vicente, and T. Ikeue, Synthesis, photodynamic activities, and cytotoxicity of new water-soluble cationic gallium(III) and zinc(II) phthalocyanines, *J. Inorg. Biochem.*, Elsevier, 192(2019) 7-16.
- [2] **R. Fujishiro**, H. Sonoyama, Y. Ide, S. Mori, T. Sugimori, A. Nagai, K. Yoshino, M. Nakamura, and T. Ikeue, MOLECULAR STRUCTURE AND SPECTROSCOPIC PROPERTIES OF [2,3,9,10,16,17,23,24 - OCTAKIS (3-CARBOXYPHENOXY) PHTHALOCYANINATO- κ 4N] (PYRIDINE- κ N) ZINC(II) PYRIDINE OCTASOLVATE., *Heterocycles*, The Japan Institute of Heterocyclic Chemistry, 94 (2017) 131-139.
- [3] Y. Ide, T. Kuwahara, S. Takeshita, **R. Fujishiro**, M. Suzuki, S. Mori, H. Shinokubo, M. Nakamura, K. Yoshino, and T. Ikeue, Nickel (II) pyrrocorphin: Enhanced binding ability in a highly reduced porphyrin complex, *J. Inorg. Biochem.*, Elsevier, 178(2018) 115-124.

・学会発表

国際学会

- [1] **Rei Fujishiro**, Katsumi Yoshino, Takuya Fujimura, Ryo Sasai, Takahisa Ikeue, Spectroscopic Properties and Singlet Oxygen Generation Abilities of Water-Soluble Metallophthalocyanine, 10th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-10), S31-P-004, Munich / Germany (2018 年 7 月).
- [2] S. Takeshita, Y. Ide, **R. Fujishiro**, S. Mori, M. Nakamura, T. Ikeue, Crystal structure and spectroscopic properties of nickel(II) pyrrocorphin complexes with N-methylpyrrolidine units, 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), S13-P03, Sendai / Japan (2018 年 8 月).
- [3] Ide, Y, Kuwahara, T, **Fujishiro, R**, Mori, S, Nakamura, M, Ikeue, T, Structure and Properties of Ni(II)Pyrrocorphin Complexes with azomethine ylides, 6th Asian Conference on Coordination Chemistry ACCC6, 190, Melbourne, Australia (2017 年 7 月).

国内学会

- [1] 藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 半田 真, 環周辺にカチオン基およびアニオン基を導入した水溶性フタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 2013年日本化学会中国四国支部大会, 1H02, 広島 (2013年11月).
- [2] 藤城 零, 池上 崇久, 白鳥 英雄, 杉森 保, 半田 真, 環周辺にカルボキシル基およびピリジル基を導入したフタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 日本化学会第94春季年会, 4C1-10, 愛知 (2014年3月).
- [3] 藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 片岡 祐介, 半田 真, N-メチルピリジニウムを環周辺に導入した水溶性フタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 錯体化学会第64回討論会, 1PA-060, 東京 (2014年9月).
- [4] 藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 片岡 祐介, 半田 真, カルボキシル基および N-メチルピリジニウム基を環周辺に導入した水溶性フタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 2014年日本化学会中国四国支部大会, 1P14, 山口 (2014年11月).
- [5] FUJISHIRO, Rei; WADA, Kazuki; IKEUE, Takahisa; SUGIMORI, Tamotsu; HANDA, Makoto, Synthesis and properties of water-soluble Zn (II) phthalocyanine complexes peripherally introduced with carboxyphenoxy groups, 日本化学会第95春季年会, 3F6-31, 千葉 (2015年3月).
- [6] 藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 半田 真, α 位または β 位に水溶性置換基を導入したフタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 錯体化学会第65回討論会, 2PA-81, 奈良 (2015年9月).
- [7] 藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 森 重樹, 半田 真, 水溶性置換基を導入したフタロシアニン亜鉛(II)錯体の性質と構造, 第26回基礎有機化学討論会, 2P008, 愛媛 (2015年9月).
- [8] 藤城 零, 園山 隼人, 池上 崇久, 杉森 保, 森 重樹, アニオン性またはカチオン性

- の置換基を導入したフタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 2015 年日本化学会中国四国支部大会, 14SD03, 岡山 (2015 年 11 月).
- [9] 宮崎 純花, 藤城 零, 園山 隼人, 池上 崇久, 半田 真, 杉森 保, 松村 和彦, 今若直人, 吉野 勝美, 環周辺に嵩高い置換基を有するフタロシアニンガリウム二核錯体の合成と性質, 2015 年日本化学会中国四国支部大会, 15P22, 岡山 (2015 年 11 月).
- [10] 藤城 零, 半田 真, 杉森 保, 森 重樹, 池上 崇久, ヨウ化メチルによってカチオン化した水溶性フタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 2015 ハロゲン利用ミニシンポジウム, P-24, 島根 (2015 年 11 月).
- [11] 藤城 零, 園山隼人, 長井 篤, 森 重樹, 吉野 勝美, 池上 崇久, 水溶性フタロシアニン Zn(II)錯体と Ga(III)錯体の性質と会合挙動, 第 27 回基礎有機化学討論会, 2P066, 広島 (2016 年 9 月).
- [12] 宮崎 純花, 藤城 零, 吉野 勝美, 長井 篤, 池上 崇久, 環周辺に嵩高い置換基を有するフタロシアニンガリウム二核錯体の合成と性質, 2016 年日本化学会中国四国支部大会, 2H08, 香川 (2016 年 11 月).
- [13] 園山隼人, 藤城 零, 森 重樹, 杉森 保, 長井 篤, 吉野 勝美, 池上 崇久, 環周辺に種々の置換基を有するサブフタロシアニン二核錯体の合成と性質, 日本化学会第 97 春季年会, 2PA-113, 神奈川 (2017 年 3 月).
- [14] 藤城 零, 園山隼人, 笹井 亮, 藤村 卓也, 長井 篤, 吉野 勝美, 池上 崇久, 環周辺にメチルピリジニウムを有するカチオン性サブフタロシアニンおよびフタロシアニンの合成と光化学物性, 日本化学会第 97 春季年会, 3G3-59, 神奈川 (2017 年 3 月).
- [15] 竹下 翔, 井手 雄紀, 藤城 零, 鈴木 優章, 森 重樹, 池上 崇久, ピロコルフィン金属錯体の合成および分光化学的性質の研究, 生体機能関連化学若手の会 第 29 回サマースクール, P-21, 島根 (2017 年 7 月).

- [16] 藤城 零, 園山 隼人, 笹井 亮, 藤村 卓也, 吉野 勝美, 池上 崇久, フタロシアニンへの光照射による一重項酸素の発生, 生体機能関連化学若手の会 第29回サマースクール, P-22, 島根 (2017年7月).
- [17] 園山 隼人, 藤城 零, 森 重樹, 吉野 勝美, 池上 崇久, サブフタロシアニン単核および二核錯体の合成と分光学的性質, 生体機能関連化学若手の会 第29回サマースクール, P-25, 島根 (2017年7月).
- [18] 井手 雄紀, 竹下 翔, 藤城 零, 鈴木 優章, 森 重樹, 中村 幹夫, 吉野 勝美, 池上 崇久, アゾメチンイリドを有するピロコルフイン金属錯体の合成と性質, 第28回基礎有機化学討論会, 1P013, 福岡 (2017年9月).
- [19] 藤城 零, 園山 隼人, 笹井 亮, 藤村 卓也, 杉森 保, 吉野 勝美, 池上 崇久, フタロシアニン単量体および二量体を用いた一重項酸素の発生, 第28回基礎有機化学討論会, 2P008, 福岡 (2017年9月).
- [20] 園山 隼人, 藤城 零, 藤村 卓也, 笹井 亮, 長井 篤, 吉野 勝美, 池上 崇久, 種々の置換基を有するサブフタロシアニン単核・二核錯体の合成と分光学的性質, 2017年日本化学会中国四国支部大会, OR202B, 鳥取 (2017年11月).
- [21] 藤城 零, 園山 隼人, 藤村 卓也, 笹井 亮, 吉野 勝美, 池上 崇久, 「生体の窓」に吸収を有するフタロシアニン誘導体への光照射による一重項酸素の発生, 日本化学会第98春季年会, 3B3-46, 千葉 (2018年3月).
- [22] 藤城 零, 園山 隼人, 藤村 卓也, 笹井 亮, 吉野 勝美, 池上 崇久, 「生体の窓」に吸収を有するフタロシアニン誘導体への光照射による一重項酸素の発生, 日本化学会第98春季年会, 3B3-46, 千葉 (2018年3月).
- [23] 山口 真季, 竹下 翔, 藤城 零, 藤村 卓也, 笹井 亮, 森 重樹, 池上 崇久, カチオン化されたクロリン金属錯体の合成とその性質, 2018年日本化学会中国四国支部大会, 1P-009, 愛媛 (2018年11月)

- [24] 十倉 あずさ, 細田 悠, 藤城 零, 池上 崇久, 二重縮環ポルフィリン二核金属錯体の光物性および磁気物性, 2018 年日本化学会中国四国支部大会, 1P-010, 愛媛 (2018 年 11 月)
- [25] 尾関 聖也, 藤城 零, 森 重樹, 池上 崇久, 低スピンプオルフィリン鉄(III)錯体の電子スピン密度分布, 2018 年日本化学会中国四国支部大会, 1P-011, 愛媛 (2018 年 11 月)
- [26] 定行 真穂, 藤城 零, 池上 崇久, meso-位にジアリルアミノ基を有するポルフィリン鉄(III)錯体の合成と磁氣的性質, 2018 年日本化学会中国四国支部大会, 1P-012, 愛媛 (2018 年 11 月)
- [27] 河本 真以子, 藤城 零, 鈴木 優章, 池上 崇久, 拡張された π 共役系を有する二重縮環コロール錯体の合成と新規機能材料の開発, 2018 年日本化学会中国四国支部大会, 2P-015, 愛媛 (2018 年 11 月)

・受賞歴

[1] 平成 26 年 11 月 2014 年日本化学会中四国支部大会 学生優秀発表賞 受賞

藤城 零, 池上 崇久, 杉森 保, 片岡 祐介, 半田 真, カルボキシル基および N-メチルピリジニウム基を環周辺に導入した水溶性フタロシアニン亜鉛(II)錯体の合成と性質, 2014 年日本化学会中国四国支部大会, 1P14, 山口 (2014 年 11 月).

謝辞

本論文は、筆者が島根大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻 博士後期課程に在籍中の研究成果をまとめたものである。同研究科 准教授 池上 崇久 先生には、指導教官として本研究の実施の機会を与えていただき、また、その遂行にあたって終始、ご指導をいただきましたこと、学部4年生の研究室所属から6年間、お世話いただきましたこと、心より深く感謝いたします。

また、同研究科 准教授 笹井 亮 先生、並びに、同研究科 助教 藤村 卓也 先生には、一重項酸素発生効率の測定についてのご指導・ご助言をいただきましたこと、深く感謝いたします。

細胞毒性の評価をしていただいた Louisiana State University M. Graça H. Vicente 先生、Zehua Zhou 博士、Nichole E.M. Kaufman さんに、心より感謝いたします。

X線結晶構造解析をしていただいた愛媛大学 森 重樹 先生に、心より感謝いたします。

Phthalocyanine の生体への応用に関する有益なご助言・ご討論をしてくださいました島根大学 医学部 長井 篤 先生、Phthalocyanine の水溶性化・二光子吸収能に関する有益なご助言・ご討論をしてくださいました島根産業技術センター 特別顧問 吉野 勝美 先生、Phthalocyanine の NMR 測定に関する有益なご助言・ご討論をしてくださいました東邦大学 中村 幹夫 先生、Phthalocyanine の Mass 測定をしていただいた富山大学 杉森 保 先生に感謝いたします。

また、池上研究室の現メンバー（尾関 聖也 さん、河本 真以子 さん、竹下 翔 さん、細田 悠 さん、定行 真穂 さん、十倉 あずさ さん、山口 真季 さん、入澤 教恵 さん、尾崎 俊介 さん、西口 雅俊 さん、長谷川 桜子 さん）並びに、池上研究室とともに研究を行った卒業生（井手 雄紀 博士、園山 隼人 さん、山田 祐也 さん、石前 裕樹 さん、桑原 孝光 さん、宮崎 純花 さん、村井 菜味 さん）に

は、研究遂行にあたり有益なご討論・ご助言をいただき、深く感謝いたします。特に、5年間、池上研究室でともに研究させていただき、卒業後も私の研究について有益なご助言や資料提供をしていただいた京都大学 化学研究所 井手 雄紀 博士には、心より深く感謝いたします。また、Phthalocyanine に関する研究を行うチームとして、ともに研究をしてくださった宮崎 純花 さん、園山 隼人 さん、西口 雅俊 さんには、心より感謝いたします。

支えてくれた家族、父 藤城 道也、母 藤城 保子、姉 藤城 舞にも、深く感謝いたします。

最後に、本論文は、名前を記した方以外にも、多くの方々の支えがあって完成することができました。ありがとうございました。