

## 極性有機分子と相互作用するポルフィリンの合成と配位特性

松井 栄樹\*、渡辺 絢晴、谷中 佑規

福井工業高等専門学校 物質工学科 (〒916-8507 福井県鯖江市下司町)

\*eiki@fukui-nct.ac.jp

### Synthesis and coordination properties of porphyrins that interact with polar organic molecules

Eiki MATSUI,\* Kensei WATANABE, and Yuki TANINAKA

Department of Chemistry and Biology, National Institute of Technology, Fukui College  
(Geshi, Sabae, Fukui 916-8507, Japan)

(Received January 12, 2022; Accepted February 14, 2022)

#### Abstract

The synthesis and characterization of a new functionalized porphyrin (**Mg8OHPor**) with eight directly appended phenolic hydroxyl groups are described. The synthesis of this porphyrin was carried out in three stages: first synthesizing **H28OMePor**, then converting it to **H28OHPor**, and finally complex formation into **Mg8OHPor**. The formation of porphyrins was confirmed by <sup>13</sup>C-NMR and ESI-MS measurement. Additionally, ESI-MS spectra of **Mg8OHPor** containing polar organic molecules also indicated the formation of an organic molecule–porphyrin complex coordinated from the phenolic hydroxyl groups and the metal. The design strategy of the porphyrin helped to extend the development of a porphyrin-based cancer photodynamic therapy (PDT).

**Keywords:** Porphyrin, Phenolic Hydroxyl Groups, Polar Organic Molecule, ESI-MS Spectra

#### 1. 緒論

ポルフィリンは、四つのピロール核がメチン基で結ばれたポルフィリン、メチン基が窒素原子で置換されており、高い平面性を持った大環状化合物である。この大環

状化合物に関する研究は1915年 H. Fischer によるポルフィリンの化学構造の決定に始まり、現在では様々な分野への応用が盛んに行われている[1]。ポルフィリンの特徴の一つに、ほぼ全ての金属元素と錯体を作り、多様な特性を示すという点が挙げられるが、このポルフィリ

ン錯体は、生体内において酸素運搬体（ヘモグロビン）や、光合成活性中心（クロロフィル）として生命維持に不可欠な重要な役割を担っている[2]。

例えば、ヘモグロビンにおける中心の鉄は2価のときにのみ O<sub>2</sub> と可逆的に結合が可能であり、鉄の2価から3価の酸化を防ぐために赤血球内では絶えず還元機能が働いていることが知られている。また、クロロフィルは、クロリンを基本骨格とし、中心に Mg が配位したポルフィリン類縁体である。このクロロフィルは光合成の反応中心として働くが、光合成反応は水から引き抜かれた電子がクロロフィル分子において太陽光により励起、電子移動が起こり、NADP の還元を経て CO<sub>2</sub> を還元し、炭水化物を生成している。

この様な自然界における機能の解明を目的に発展してきた合成ポルフィリン錯体であるが、ポルフィリン錯体は、電子移動を伴う酸化還元触媒をはじめとして多種多様な触媒作用が期待でき、癌のレーザー治療、太陽電池・燃料電池、エネルギー変換材料など様々な用途に用いられている[3]。

一方、極性置換基であるアミノ基、水酸基等をポルフィリン、フタロシアニンに導入し、弱い相互作用により細胞への取り込みを促進させ、細胞内にて機能させる試みが近年行われている[4]。これらの手法により、本来有機溶媒にしか溶解しないポルフィリンを水溶性へと変換させ、また極性基を有する化合物との相互作用を可能にできる。また、我々はこれまでフタロシアニンを用いた研究にて、中心に Mg を導入した場合に、極性有機分子との相互作用が強くなることを明らかにしている[5]。

そこで本研究では、まず中心に Mg を導入し、極性基と相互作用するフェノール性水酸基を導入したポルフィリンを合成することを目的とした。また、ポルフィリンへの極性基の導入により起こると考えられる、アミノ酸等の有機極性分子との相互作用について、ESI-MS 測定により検出できるかどうか検討することを目的として実験を行った。

## 2. 実験と結果

### 2.1 フェノール性水酸基を分子内に有するポルフィリン (Mg80HPor) の合成

目的とする、中心へのMgとフェノール性水酸基を導入したポルフィリンの合成は、まずフェノール性水酸基がメ

チル基で保護されたポルフィリン **H<sub>2</sub>80MePor** を合成し、続いてメチル基の脱保護を行ったポルフィリン **H<sub>2</sub>80HPor** へと変換し、最後に中心に Mg を導入した目的のポルフィリン **Mg80HPor** へと変換する方法にて行った (図1)。

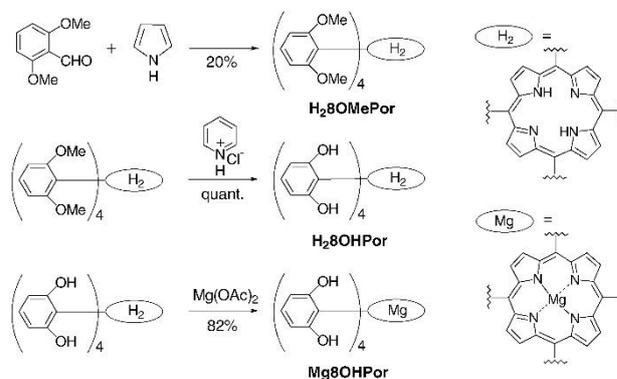


図1 **H<sub>2</sub>80MePor**, **H<sub>2</sub>80HPor**, **Mg80HPor** の合成ルート

すなわち、まず Montmorillonite K10 をナスフラスコに入れ、120℃で3時間真空乾燥後、窒素気流下で dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1.4 L、アルデヒド 11.6 g、ピロール 4.89 mL を加えた後、アルミホイルで遮光し、36時間攪拌した。続いて DDQ を 11.8 g 加え、1時間攪拌後、セライトろ過、アルミナカラム後、溶媒を留去し、得られた結晶をメタノールで洗浄し、真空乾燥後 **H<sub>2</sub>80MePor** を 20% で得た。続いて、**H<sub>2</sub>80MePor** 1.63 g、ピリジン塩酸塩 40.6 g をナスフラスコに入れ、2時間真空乾燥後、窒素気流下、240℃で3時間加熱還流した。反応終了後、飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液を加え、酢酸エチルで抽出、0.1 N HCl 水溶液、水、飽和食塩水で洗浄後、有機層に Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加えて乾燥した。溶媒を留去し、得られた結晶を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で洗浄し、真空乾燥後 **H<sub>2</sub>80HPor** を定量的に得た。最後に、**H<sub>2</sub>80HPor** 50 mg、Mg(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 29 mg をナスフラスコに入れ、dry プロパノール 15 mL を加え、12時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を留去し、得られた残渣を酢酸エチルで溶解した後にヘキサンを加えて結晶化し、得られた結晶をヘキサンで洗浄し、真空乾燥後 **Mg80HPor** を 82% で得た。

得られた目的化合物 **Mg80HPor** は重DMSOを溶媒に用いた<sup>13</sup>C-NMR測定により同定を行った (図2)。<sup>13</sup>C-NMR 測定の結果より、炭素原子のシグナルが158.9, 149.7, 131.0, 129.1, 118.8, 113.1, 106.7に7本観測され、目的とする構造と良く一致したことから生成が確認された。

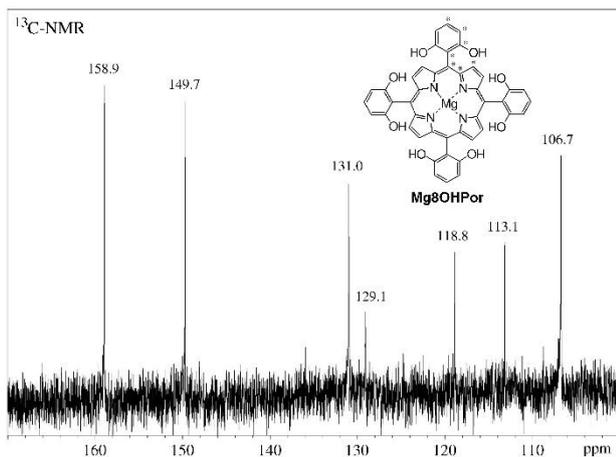


図2 Mg8OHPor の <sup>13</sup>C-NMR 測定結果

また、合成にて得られる3種のポルフィリンについて、それぞれESI-MSのポジティブモード測定にて同定を行った(図3)。実験は2.5%のCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Hを添加した、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>とCH<sub>3</sub>OHが1:1の測定溶媒にポルフィリンを5 x 10<sup>-4</sup> Mの濃度で溶解したものを用いて行った。

まずH<sub>2</sub>8OMePorを測定した結果、854.8にH<sub>2</sub>8OMePor C<sub>52</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (Exact Mass: 854.3)がプロトン化したシグナルが観測された。

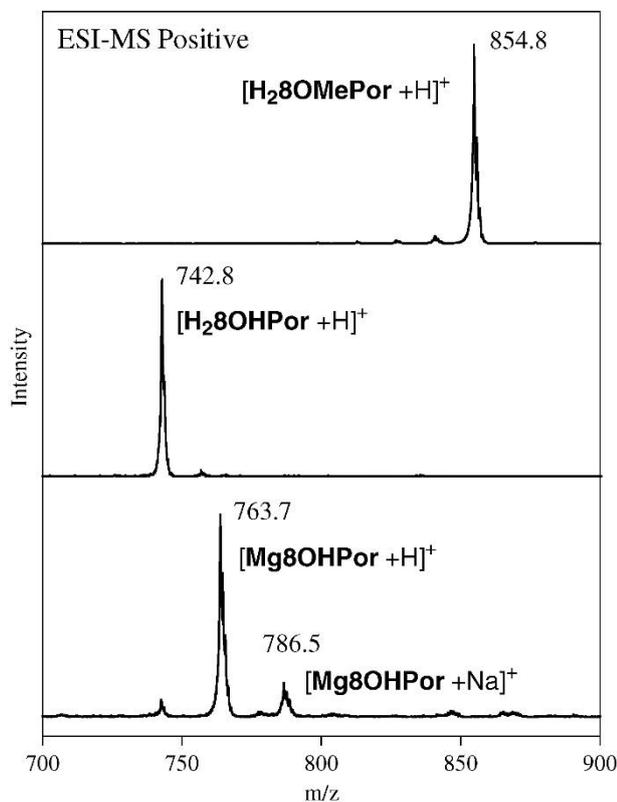


図3 各ポルフィリンのESI-MS測定結果

続いてH<sub>2</sub>8OHPorを測定した結果、742.8にH<sub>2</sub>8OHPor C<sub>44</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (Exact Mass: 742.2)がプロトン化したシグナルが観測された。目的化合物Mg8OHPorを測定した結果、763.7にMg8OHPorがプロトン化したシグナルと786.5にNa<sup>+</sup>が付加したシグナルC<sub>44</sub>H<sub>27</sub>MgN<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Na (Exact Mass: 786.2)が観測され、理論質量およびマスパターンと良好一致を示した。

また、合成したポルフィリン H<sub>2</sub>8OHPor と Mg8OHPor についてCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中、UV-vis測定を行ったところ、H<sub>2</sub>8OHPorはソーレ帯が419 nm、Q帯が513 nmに観測され、ポルフィリン環の形成が明らかとなった(図4)。また、Mgを導入したMg8OHPorについては、ソーレ帯が426 nm、Q帯が558 nmに観測され、Mgの導入に伴った、スペクトルの変化が明らかとなった。

合成したMg8OHPorはフェノール性水酸基を有するため、多くの極性有機分子と相互作用が可能になり[6]、弱塩基性で脱プロトン化されて水溶化すると考えられる。

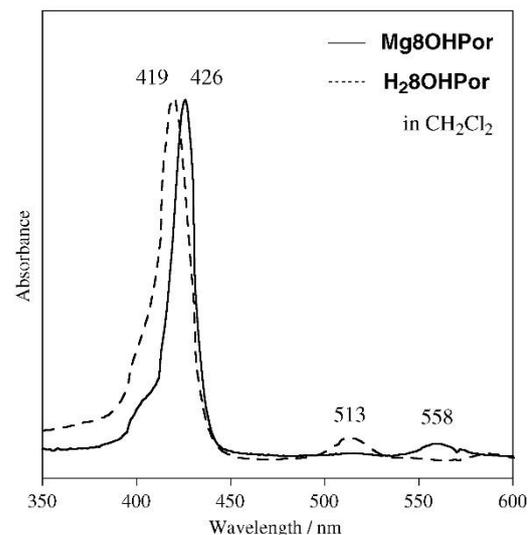


図4 H<sub>2</sub>8OHPor, Mg8OHPor のUV-vis測定結果

## 2.2 ESI-MS測定によるポルフィリン(Mg8OHPor)と糖酸類、リボヌクレオチドとの相互作用

得られたポルフィリンMg8OHPorを用いて、糖類の一種である糖酸類およびリボヌクレオチドを添加して相互作用の様子をESI-MS測定にて確認を行った(図5)。糖酸は単糖の持つ酸素官能基がカルボン酸に酸化された有機化合物であり、今回はグルコースの6位の炭素が酸化されたD-Galacturonic acidと、グルコースの1位の炭素が酸化されたGluconic acidを用いた。

また、リボヌクレオチドとしてリン酸部分と塩基にウラシルを有する、Uridine 5'-monophosphate を用いた。実験は 2.5%の CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H を添加した、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> と CH<sub>3</sub>OH が 1:1 の測定溶媒にフタロシアニンを 5 × 10<sup>-4</sup> M の濃度で溶解したものをを用いて行った。ESI-MS を Negative モードで測定したところ、Mg8OHPor に D-Galacturonic acid が一分子相互作用したイオンが 957.0 に確認され、Uridine 5'-monophosphate が一分子相互作用したイオンが 1086.7 に確認された。Gluconic acid を添加した場合には、一分子相互作用したイオンが 958.9 に、二分子相互作用したイオンが 1136.8 に確認でき、理論質量およびマスパターンと良い一致を示した。以上のことから、カルボン酸部分を有する糖類およびリン酸部分を有するヌクレオチドが Mg8OHPor と相互作用している様子が明らかとなった。

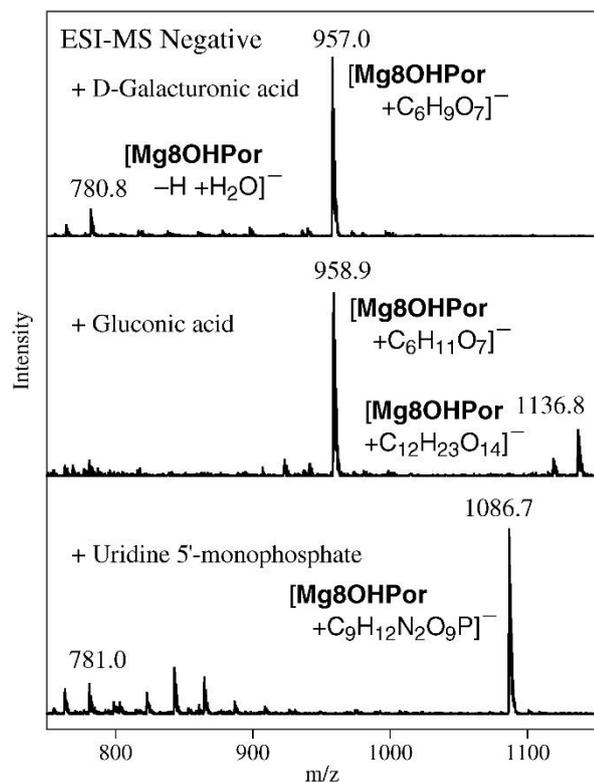


図5 Mg8OHPor と酸部分を有する有機化合物との ESI-MS 測定結果

### 2.3 ESI-MS 測定によるポルフィリン (Mg8OHPor) と各種アミノ酸との相互作用

続いて、Mg8OHPor にアミノ酸であるアルギニン(Arg)、システイン(Cys)、ヒスチジン(His)を一当量添加して測定

したところ、Negativeモードにて感度よく相互作用したイオン種が確認できることが明らかとなり、以前合成して研究に用いた、ジエチルアミノ基を有する平面的な構造のフタロシアニン(MgPc)の場合より強く相互作用した様子が確認された (図6) [5]。

すなわち、相互作用していない[Mg8OHPor -H]<sup>-</sup>や[Mg8OHPor -H+H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>等のポルフィリン単体のシグナルと[Mg8OHPor +Arg-H]<sup>-</sup>等のアミノ酸が相互作用したシグナルとの強度比較をすることで、相互作用の状態を見積もることができる。また、フタロシアニン骨格を有するMgPcよりアミノ酸がより強く相互作用した理由として、今回合成したMg8OHPorの4つの2,6-dihydroxy phenyl基はポルフィリン環平面と直交しており、アミノ酸の極性基部分为中心のMgとフェノール性水酸基との複数部分で相互作用が形成されたためと考えられる。

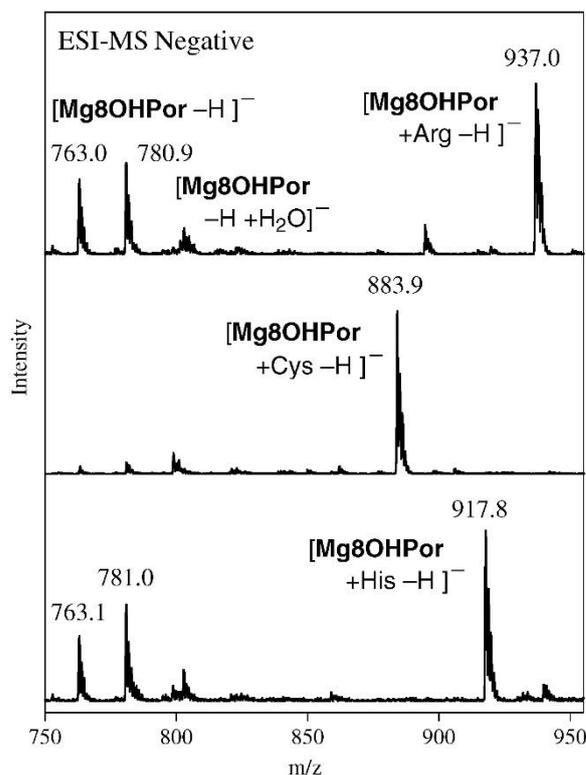


図6 Mg8OHPor とアミノ酸 (Arg, Cys, His) との ESI-MS 測定結果

続いて、Mg8OHPor と他のアミノ酸 (Tyr, Asp, Glu) との相互作用を確認するため、同様の実験を行った (図7)。その結果、同様にMg8OHPor にTyrが相互作用したイオン[Mg8OHPor +Tyr-H]<sup>-</sup>が943.8に確認されたが、アミノ酸の疎水性が高いことから、相互作用したシグナルはポルフィ

リン単体のシグナルと比較して強度が低く、他のアミノ酸と比較して相互作用が弱いことが明らかとなった。

また、酸性アミノ酸であるアスパラギン酸(Asp)、グルタミン酸(Glu)を添加した場合には、Aspが相互作用したイオン[Mg8OHPor + Asp-H]<sup>-</sup>が895.9、Gluが相互作用したイオン[Mg8OHPor + Cys-H]<sup>-</sup>が909.8に確認され、極性が高い酸性アミノ酸の場合には強く相互作用した様子が確認できた。また、これらのシグナルはいずれも理論質量およびマスパターンと良い一致を示した。

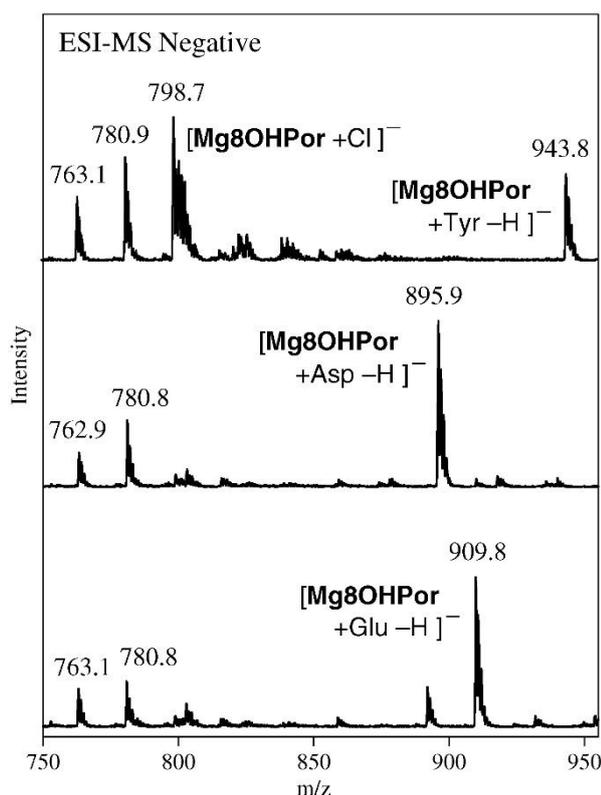


図7 Mg8OHPor とアミノ酸 (Tyr, Asp, Glu) との ESI-MS 測定結果

### 3. 結論

本研究では、中心に Mg を導入し極性基と相互作用するフェノール性水酸基を導入したポルフィリン Mg8OHPor を 3 工程にて合成し、<sup>13</sup>C-NMR、ESI-MS、

UV-vis 測定を行うことで、目的とする化合物の同定を行った。

ESI-MS 測定には Positive モードと Negative モードの 2 種類があり、プラスのイオン種とマイナスのイオン種が測定可能である。ポルフィリン合成にて生成した、3 種類のポルフィリン H<sub>2</sub>8OMePor, H<sub>2</sub>8OHPor, Mg8OHPor はいずれも Positive モードでプロトン化したシグナルが観測された。一方、酸部分を有する有機化合物や種々のアミノ酸との相互作用を測定する場合には、Negative モードにて測定することで、脱プロトン化した化合物が相互作用したシグナルが感度よく確認できることが明らかとなった。また、[Mg8OHPor -H]<sup>-</sup>等の相互作用していないポルフィリンのシグナルとの強度比較をすることで、相互作用の状態を見積もることができる。

これらの結果は、ポルフィリンと極性基を有する生体分子との相互作用、細胞への取り込みを評価するうえで基盤となるものと考えられ、今後、ポルフィリンの光機能性について検討を行っていく。

謝辞 本研究は JSPS 科研費 JP21K12741 の助成を受けたものである。

### 引用文献

- 1) J. M. Park, K-I. Hong, H. Lee, and W-D Jang, *Acc. Chem. Res.*, **54**, 2249-2260 (2021).
- 2) G. C. Ferreira, *Handbook of Porphyrin Science*, vol.26, World Scientific (2014).
- 3) 詫摩啓輔, 藤井志朗 「わかりやすい機能性色素材料」工業調査会 (1999).
- 4) J. Y. Liu, P. C. Lo, X. J. Jiang, W. P. Fong, and D. K. P. Ng, *Dalton Trans.*, 4129-4135 (2009).
- 5) E. Matsui, T. Kato, K. Watanabe, and R. Yanagida, *Journal of Technology and Education*, **28**, 59-63 (2021).
- 6) V. Novakova, P. Zimcik, K. Kopecky, M. Miletin, J. Kunes, and K. Lang, *Eur. J. Org. Chem.*, 3260-3263 (2008).