

糖鎖を有するフタロシアニンの合成と質量分析法の確立

小山 紗佳、松井 栄樹*

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 of phthalocyanines bearing sugar chains and their identification by mass spectrometry

Suzuka KOYAMA and Eiki MATSUI*

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

(Received March 15, 2025; Accepted May 1, 2025)

Abstract

The synthesis and characterization of new functionalized phthalocyanines with directly appended sugar chains are described. These phthalocyanine compounds (Pcs) contain four deprotected sugar chains, and there is no metal in the center (free base). The synthesis of Pcs was carried out in three stages, and the formation of Pcs was confirmed by MALDI–MS, IR, and UV–Vis measurements. The design strategy of the Pcs contributes to the development of phthalocyanine-based cancer photodynamic therapy (PDT) using dicyano derivatives with sugar chains synthesized by a substitution reaction. MALDI–MS spectra of Pcs measured in the negative mode also confirmed the formation of phthalocyanines with four deprotected sugar chains, and UV–Vis measurements revealed the Soret and Q bands of the phthalocyanine skeleton.

Keywords: phthalocyanine, sugar chain, oxidative coupling, MALDI–MS, negative mode, deprotection

1. 結論

フタロシアニンは、 π 電子共役系の環状構造を持つ色素で、1907 年にイギリスで発見され、1928 年に命名された有機錯体であり、代表的な金属フタロシアニンである銅フタロシアニンは、もっとも多く使用されている青色顔料で

ある。また、フタロシアニンは分子の平面性の高さを生かすことで、様々な金属や置換基を導入することができ、物性を変化させることが可能となる。そのため、従来からの染料および顔料などの色材としてばかりでなく、電子写真用電荷発生剤、電荷輸送剤および電荷調整剤、光学データ記録システム、ガス検出デバイス、太陽電池、燃料電池、

光半導体、酸化還元樹脂、触媒、エレクトロクロミックディスプレイ、カラーフィルター、増感色素などへ適用するため、基礎から応用に至るまで広範囲に研究されている[1]。なかでも近年では、光線力学的治療法 (PDT) に用いる、光感受性物質への応用が注目を集めている[2]。

PDT とは光感受性物質を投与しがん組織に集積後、特定波長の光線を照射し、一重項酸素などの活性酸素種 (ROS) の惹起によりがん細胞のみを破壊する光がん治療法で、周囲の正常組織に対するダメージが少ない低侵襲性療法である。がん細胞は、エネルギーである ATP を生成するために、ワールブルグ効果と呼ばれる糖代謝 (好気性解糖) を行う。つまり、糖を取り込んでそれを処理することで ATP を生成している。したがって、光感受性物質であるフタロシアニンの糖連結は光増感剤の大幅な性能向上に有意義であると考えられている[3]。

そこで我々は、外部に糖を有するジシアノ体を合成後、フタロシアニンへと閉環し、最後に脱保護することで、側鎖に糖鎖を有する水溶性フタロシアニン 2 種類を合成し、その構造による水溶性の差異について検討することとした。また、これまで MALDI-TOF-MS 測定にて水溶性フタロシアニンの質量分析同定が困難であったため、その質量分析法の確立も目的として研究を行った。

2. 実験と結果

2.1 側鎖に保護された糖鎖を有するフタロシアニン (Pc1-P, Pc2-P) の合成

本研究では、フタロシアニンへ糖鎖を縮合した **Pc1-P** と **Pc2-P** を合成した後、側鎖の糖を脱保護することで、水溶性フタロシアニンの合成を行った。

まず、フタロシアニン **Pc1-P** を得るために、ジシアノ体に糖鎖を置換した前駆体 **1** を合成した (図 1)。

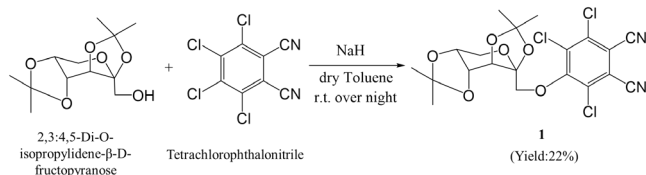


図 1 前駆体 **1** の合成

実験は、乾燥した 100 mL ナスフラスコに、2,3:4,5-Di-O-isopropylidene-β-D-fructopyranose 1 g を dry Toluene 25 mL に溶解し、NaH 0.10 g を加え、N₂気流下で 1 時間攪拌した後、Tetrachlorophthalonitrile 1.02 g を加え室温で 1 日攪拌後、後処理をし、Hexane と Ethyl acetate が 10:1 の溶媒にてカラムクロマトグラフィーで精製、真空乾燥し、前駆体 **1** を 0.41 g (白色, 収率: 22%) 得た[4]。同定は ESI-MS 測定、測定溶媒に CDCl₃を用いた ¹³C-NMR 測定により行った。各測定結果を以下に示す。

まず得られた生成物を、Negative モードの ESI-MS 測定した結果 (図 2)、理論質量 489.7 *m/z* に対して、Cl が付加した 524.9 *m/z* が得られた。

また、¹³C-NMR 測定の結果 (図 3) により、26.6, 25.9, 25.5, 23.9 ppm にアセトニドのメチル基の炭素原子が 4 本、61.3 ppm にメチレンの炭素原子、101.3, 77.0(overlapped), 73.0, 70.8, 69.7 ppm に糖骨格の炭素原子が 5 本、109.3, 109.1 ppm にシアノ基の炭素原子が 2 本、155.8, 137.2, 136.1, 132.9, 116.9, 114.5, 111.9, 111.8 ppm にベンゼン環、アセトニドの 4 級炭素原子が 8 本観測された。以上の解析結果により、目的の前駆体 **1** の生成が確認された。

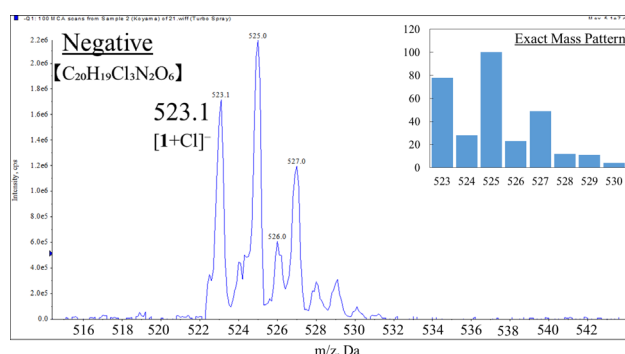


図 2 前駆体 **1** の ESI-MS 測定結果 (Negative モード) と理論マスパターン

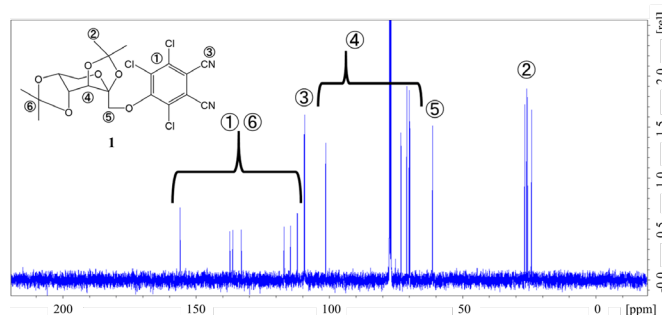
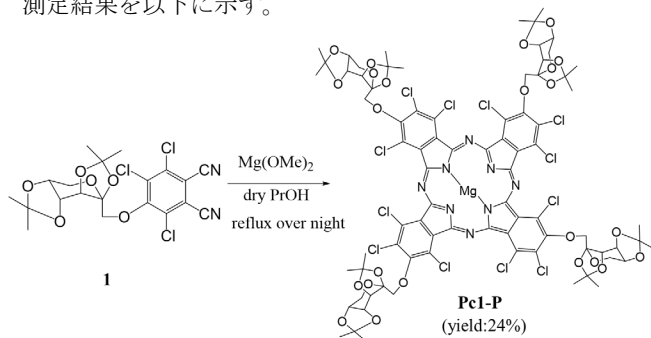


図 3 前駆体 **1** の ¹³C-NMR 測定結果

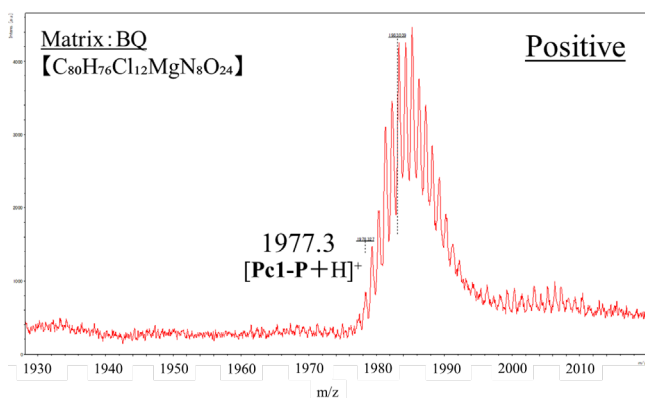
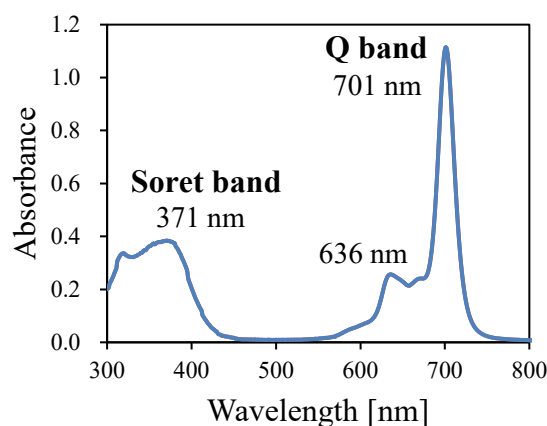
続いて、得られた前駆体 **1** を用いて **Pc1-P** の合成を行った (図 4)。実験は、乾燥した 100 mL ナスフラスコに、前駆体 **1** 0.92 g を dry PrOH 20 mL に溶かし、Mg(OMe)₂ 1.03 mL (5 eq., 8 wt% in MeOH) を加え、1 日加熱還流させた。反応後、蒸留水を加えて 30 分攪拌後、蒸留水で濾過し、生成物を 0.19 g (青色, 収率: 24%) を得た。同定は、MALDI-TOF-MS 測定、IR 測定、UV-vis スペクトル測定で行った。測定結果を以下に示す。

図 4 **Pc1-P** の合成

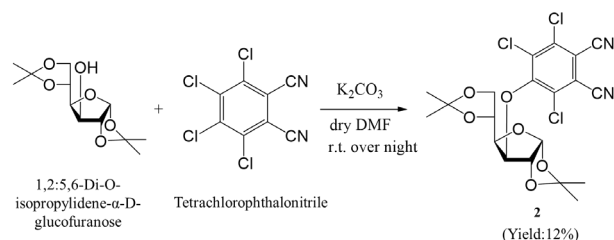
得られた生成物を、MALDI-TOF-MS 測定をした結果 (図 5)、理論質量の 1976.2 *m/z* に対して、プロトン化した 1977.3 *m/z* が得られたことから、**Pc1-P** の生成が確認された。

また IR 測定した結果、2985, 1619 *cm*⁻¹ に吸収を確認することができた。各吸収の解析を行ったところ 2973 *cm*⁻¹ の吸収は C-H 結合の伸縮振動であり、1652 *cm*⁻¹ は C=N 結合の伸縮振動である。

さらに、UV-vis 測定 (溶媒: CH₂Cl₂) をした結果 (図 6)、フタロシアニン骨格に特徴的な吸収ピークである、ソーレ帯 (400 nm 付近に現れる S₀-S₂ 遷移に起因する吸収帯) の吸収ピークが 371 nm に、Q 帯 (450 nm から 700 nm 付近に現れる S₀-S₁ 遷移に起因する吸収帯) の吸収ピークが 636 nm、701 nm に観測された。以上の解析結果により、目的の構造を有する **Pc1-P** の生成が確認された。

図 5 **Pc1-P** の MALDI-TOF-MS 測定結果図 6 **Pc1-P** の UV-vis 測定結果

また同様の手法を用いて、側鎖の糖が異なるフタロシアニンである **Pc2-P** を得るために前駆体 **2** の合成を行った (図 7)。

図 7 前駆体 **2** の合成

まず、塩基として NaH を用いて反応を行ったが、うまく反応が進行しなかったため、塩基性が異なる K₂CO₃ を用いて実験を行った。

すなわち、乾燥した 100 mL ナスフラスコに、1,2:5,6-Di-O-isopropylidene-α-D-glucofuranose 1 g を dry DMF 15 mL に溶かし、Tetrachlorophthalonitrile 1.02 g、K₂CO₃ 0.53 g を加え、N₂気流下の室温で 1 日攪拌後、蒸留水を加えてろ過し、得られた結晶を Hexane と Ethyl acetate が 20:1 の溶媒にてカラムクロマトグラフィーで精製、真空乾燥し、前駆体 **2** を 0.755 g (白色, 収率: 40%) を得た[5]。

まず得られた生成物を、ネガティブモードの ESI-MS 測定した結果、理論質量 488.0 *m/z* に対して、Cl⁻ が付加した 523.0 *m/z* が得られた。

また、¹³C-NMR 測定の結果、26.5, 26.4, 26.0, 25.2 ppm にアセトニドのメチル基の炭素原子が 4 本、66.1 ppm にメチレンの炭素原子、79.9 ppm にメチンの炭素原子、104.8, 85.4, 80.9, 71.9 ppm に糖骨格の炭素原子が 4 本、108.4, 108.3 ppm

にシアノ基の炭素原子が 2 本、153.9, 136.3, 134.4, 132.4, 116.9, 113.6, 112.9, 111.7 ppm にベンゼン環、アセトニドの 4 級炭素原子が 8 本観測された。以上の解析結果により、目的の前駆体 **2** の生成が確認された。また、 ^{13}C -NMR 測定の結果より若干の位置異性体を含むことが明らかとなり、この異性体はカラムクロマトグラフィーにて分離することが困難であった。

続いて、得られた前駆体 **2** を用いて **Pc2-P** の合成を行った。乾燥した 100 mL ナスフラスコに、前駆体 **2** 0.30 g を dry PrOH 20 mL に溶かし、 $\text{Mg}(\text{OMe})_2$ 1.62 mL (5 eq., 8 wt% in MeOH) を加え、1 日加熱還流させた。反応後、蒸留水を加えて 30 分攪拌後、蒸留水で濾過し、生成物を 0.381 g (青色, 収率: 31 %) 得た (図 8)。

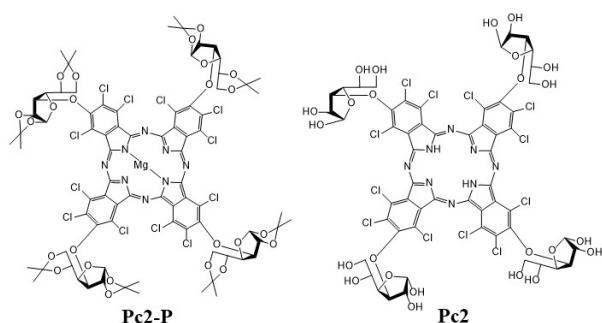


図 8 **Pc2-P** と **Pc2** の構造

得られた生成物を、MALDI-TOF-MS 測定をした結果、理論質量の 1983.2 m/z に対して、プロトン化した 1984.1 m/z が得られたことから、**Pc2-P** の生成が確認された。

また IR 測定した結果、2985 cm^{-1} に C-H 結合の伸縮振動の吸収、1619 cm^{-1} に C=N 結合の伸縮振動の吸収が確認された。さらに、UV-vis 測定 (溶媒: CH_2Cl_2) をした結果、フタロシアニン骨格に特徴的な吸収ピークである、ソーレ帯の吸収ピークが 367 nm に、Q 帯の吸収ピークが 641 nm、704 nm に観測された。以上の解析結果により、目的の構造を有する **Pc2-P** の生成が確認された。

2.2 **Pc1-P** および **Pc2-P** の脱保護による **Pc1**, **Pc2** の合成

続いて、得られた **Pc1-P** の脱保護による **Pc1** の合成を行った (図 9)。

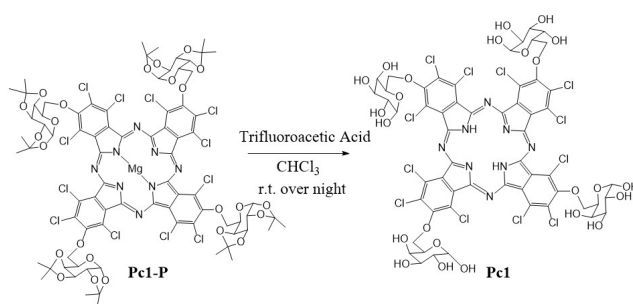


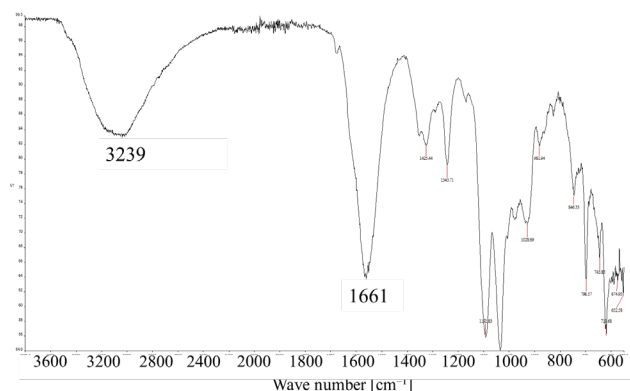
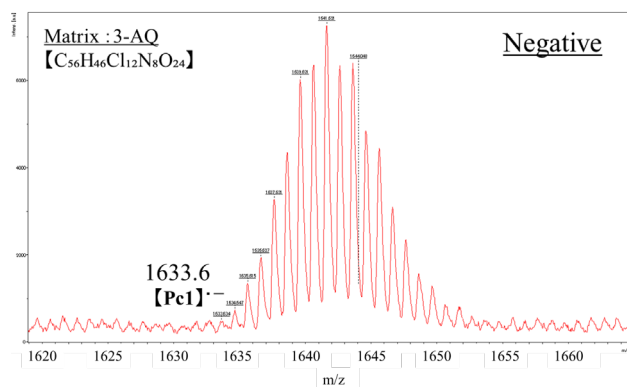
図 9 **Pc1-P** の脱保護の合成

実験は乾燥した 50 mL ナスフラスコに、**Pc1-P** 0.05 g、 CHCl_3 4 mL、Trifluoroacetic Acid 1 mL を加え、室温で 1 日攪拌後、結晶を CHCl_3 でろ過した後、真空乾燥し、脱保護した **Pc1** を得た。同定は、IR 測定、UV-vis スペクトル測定で行った。測定結果を以下に示す。

得られた生成物を IR 測定した結果 (図 10)、3239 cm^{-1} に O-H 結合の伸縮振動の吸収、1661 cm^{-1} に C=N 結合の伸縮振動の吸収が確認できた。

さらに、UV-vis 測定 (溶媒: DMSO) をした結果、明確なソーレ帯のピークは溶媒のピークと重なったために確認できなかったが、Q 帯の吸収ピークが 571 nm、659 nm に観測された。

最後に、フタロシアニンの質量分析をする条件である、各種 Matrix (CHCA, DT, BQ) を用いて Positive モードで MALDI-TOF-MS 測定を行ったが、脱保護した **Pc** のシグナルを確認することができなかった。そこで、測定条件を検討した結果、Negative モードでの測定に変更し、Matrix に 3-AQ や SA を用いて MALDI-TOF-MS 測定をしたところ、いずれの Matrix を用いた場合も脱保護した **Pc** のシグナルを確認できた。シグナルが明瞭に確認された、Matrix に 3-AQ を用いた結果を示す (図 11)。測定結果は、理論質量の 1633.9 m/z に対して、1633.6 m/z がラジカルアニオンとして得られた[7]。これから、Trifluoroacetic Acid により、アセトニド基が脱保護され、中心の Mg が外れたことがわかる。以上のことから **Pc1-P** が脱保護され、**Pc1** の生成が確認された。

図 10 脱保護した **Pc1** の IR 測定結果図 11 脱保護した **Pc1** の MALDI-TOF-MS 測定結果

また同様の手法を用いて、**Pc2-P** の脱保護による **Pc2** の合成を行った。

乾燥した 50 mL ナスフラスコに、**Pc2-P** 0.05 g、 CHCl_3 4 mL、Trifluoroacetic Acid 1 mL を加え、室温で 1 日攪拌後、結晶を CHCl_3 でろ過した後、真空乾燥し、脱保護した **Pc2** を得た (図 8)。

得られた生成物を IR 測定した結果、 3362 cm^{-1} に O-H 結合の伸縮振動の吸収、 1654 cm^{-1} に C=N 結合の伸縮振動の吸収が確認できた。

さらに、UV-vis 測定 (溶媒: DMSO) をした結果、ソーレ帯の吸収ピークが 312 nm に、Q 帯の吸収ピークが 661 nm に観測された。

最後に、Matrix に 3-AQ, SA を用いてネガティブモードで MALDI-TOF-MS 測定をした結果、理論質量の 1633.9 m/z に対して、ラジカルアニオン化した 1633.1 m/z が得られた。これから、Trifluoroacetic Acid により、アセトニド基が脱保護され、中心の Mg が外れたことがわかる。以上のことから **Pc2-P** が脱保護され、**Pc2** の生成が確認された。

2.3 合成したフタロシアニン (**Pc2**) の溶解性の確認

得られたフタロシアニン **Pc2-P**、**Pc2** を用いて各種溶媒への溶解性の確認を行った。溶媒には、蒸留水、 CH_3OH 、DMF、Acetone、 CH_2Cl_2 を用いた。それぞれ 1 mL 程度の溶媒に 3 mg 程度の **Pc2-P**、**Pc2** を溶かし、目視で溶解したかを確認した。

表 1 各種溶媒に対する溶解性

	H_2O	CH_3OH	DMF	Acetone	CH_2Cl_2
Pc2-P	△	○	○	○	○
Pc2	○	○	○	△	×

○…よく溶解した △…微量が溶解した ×…溶解しなかった

表 1 に示す結果より、**Pc2** は糖の脱保護により、水への溶解性が高くなり、Acetone や非極性溶媒である CH_2Cl_2 には溶解性が低くなることが確認できた。目的通り、保護されたフタロシアニン **Pc2-P** の脱保護により、**Pc2** は極性が非常に高くなり、水への溶解性が高くなったことが明らかとなった。また、異なる糖の構造を有するフタロシアニン **Pc1-P**、**Pc1** を用いた水への溶解性試験についても、同様の結果となり、脱保護により水への溶解性が高くなった。

3. 結論

ジシアノ体に糖鎖を置換した前駆体を合成し、フタロシアニンとして閉環させることで、目的とする側鎖に糖鎖を有するフタロシアニン **Pc1-P**、**Pc2-P** の合成を確認できた。ESI-MS では、前駆体 **1**、前駆体 **2** はそれぞれ、 Cl^- が付加した状態で検出された。また、Positive モードの MALDI-TOF-MS の測定では、**Pc1-P**、**Pc2-P** はそれぞれプロトン化した状態で検出された。また、得られたフタロシアニンを Trifluoroacetic Acid を用いて脱保護したところ、**Pc1**、**Pc2** が得られ、溶解性の検証結果から、フタロシアニンの極性が非常に高くなり、水への溶解性が高くなることが確認できた。

MALDI-TOF-MS の測定では、Positive モードでは、各種 Matrix を用いて測定を行ったが、脱保護した **Pc** のシグナルを確認できなかった。しかし、Matrix に 3-AQ や SA を用いて Negative モードで測定をした場合、いずれの Matrix を用いた場合も脱保護した **Pc** のシグナルを確認することができた。**Pc1-P**、**Pc2-P** は脱保護によりアセトニド基が外

れてヒドロキシ基になり、中心金属である Mg が外れた **Pc1**, **Pc2** のシグナルを確認することができ、質量分析での同定を行うことができた。

謝辞 本研究は JSPS 科研費 JP24K15779 の助成を受けたものである。

引用文献

- 1) 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).
- 2) 矢野重信, 片岡洋望, 田中守, 鳴海敦, 野元昭宏, 大崎智弘, 岡本芳晴, 日本レーザー医学会誌, **44**, 36-46 (2023).
- 3) 大村健二, 日本静脈経腸栄養学会雑誌, **30**, 907-910 (2015).
- 4) X. A.-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.*, **47**, 3283-8286 (2006).
- 5) B. S. Bilen, M. Özçeşmeci, N. Koçyiğit, T. Elgün, A. G. Yurttaş, E. Hamuryudan, *Journal of Molecular Structure*, **1295**, 136688 (2024).
- 6) Z. Iqbal, M. Hanack, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.*, **50**, 873-875 (2009).
- 7) D. J. Harvey, *Mass Spectrometry Reviews*, **39**, 589 -679 (2020).