

金属配位をトリガーとして着色する還元型ロイコ色素の開発

松井 栄樹*、高島 海斗、前川 純輝、山腰 未来
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

Development of reduced leuco dye coloring by metal assisted oxidative cleavage

Eiki MATSUI*, Kaito TAKASHIMA, Jyunki MAEGAWA, Miku YAMAKOSHI
Department of Chemistry and Biology, National Institute of Technology, Fukui College
(Geshi, Sabae, Fukui 916-8507, Japan)

(Received February 28, 2020; Accepted March 23, 2020)

Abstract

Coloring with metal coordination is important in constructing the metal sensors. In this study, We aimed for the synthesis of compounds that lose their protection due to metal coordination and color accordingly. The leuco compound formed by reduction of Methylene Blue is an unstable compound that is easily oxidized and colored. Therefore, we aimed to protect the reduced form of leuco, and convert the reduced form to have metal coordination moiety.

It was possible to protect and stably isolate Leucomethylene Blue **1**, and convert to Leucomethylene Blue **2** capable of metal coordination. In the process of converting Leucomethylene Blue **2** into metal coordinated leuco **2**, the color of the solution turned dark blue when iron(III) ion was added. By the measurement of ESI-MS, the appearance of metal coordination, elimination of protecting groups, and regeneration of Methylene Blue were confirmed.

Keywords: methylene blue, leuco compound, metal coordination, oxidative cleavage

1. 緒論

ファックスやレシートなどで使われている感熱紙は白色であるが、ファックスを受信すると文字や絵が出る。これはインクをつけて印刷しているのではなく、感熱紙に含まれるロイコ色素という発色剤が熱によって反応し、色素

に変わったためである。このようにロイコ色素は、分子内に有するラクトン環が酸と反応することにより、開環状態となり、共役が伸びるために発色し、開環状態となったラクトン環に塩基を接触させると閉環し、消色する。このように外部から受ける光や熱、電気、圧力などにより化学的変化や物理的変化を起こす色素を機能性色素という。機能

性色素は近年様々な分野で使われている[1].

金属配位による着色や蛍光の発生を検出手段とする試薬は金属センサーと呼ばれ、幅広く研究開発されている。着色、発色を観測する比色検出は取り扱いが容易であり、装置の小型化も可能である利点を有している。金属センサーは目的とする金属イオンを配位し錯体を形成する認識部位、配位した事を知らせる色素部位からなる。認識部位は目的とする金属イオンに応じて構造が異なるが、主に酸素分子からなるクラウンエーテル、シクロデキストリン、カリックスアレーン、窒素原子からなるピピリジンやターピリジンなどのピリジン骨格、イミダゾール骨格などが用いられている[2]。色素部位はポルフィリンやフタロシアニンに代表されるπ電子系有機分子、藍染めで知られるインジゴ系をはじめ、キノン系、シアニン系、アゾ、トリアールメタン系などがあり、特徴と機能がそれぞれ異なっている[3].

機能性色素である Methylene Blue は塩基性染料の一種で水、エタノールに溶けると青色を呈する。Methylene Blue は水溶液中では還元剤により、還元体である無色の Leucomethylene Blue を生じ、酸化剤により元の酸化体へ戻り、再発色することから、酸化還元指示薬として用いられる。Methylene Blue が還元されて生成したロイコ体は酸化されやすく不安定な化合物であるため、窒素気流下の系中で発生させる必要があり、大気中での使用は空気酸化を伴い困難である。Methylene Blue は、生物分野では光学顕微鏡で細胞の核を観察するときの染色液として用いられ、光反応により三重項酸素から活性酸素の 1 種である一重項酸素を発生させる、光増感の機能性も有している。

そこで本研究では還元型であるロイコ体を保護基を用いて保護し、さらに保護したロイコ体への金属配位部位の導入を行う。得られた化合物に金属を配位させることで、酸化的に脱保護され、呈色を引き起こすと考えられる。このような手法で、着色により比色検出可能な金属センサーの構築を目的として実験を行った。

2. 金属配位可能な還元型ロイコ体 2 の合成

まず Methylene Blue の還元型である Leucomethylene Blue を保護して安定に単離し、続いて 2,2'-dipicolylamine を置換することで金属配位部位の導入を目的として実験を行った(図 1)。Methylene Blue の還元剤として Rongalite を選択し、系中で発生させた Leucomethylene Blue と 4-chloro-2-methylbenzoyl chloride の反応により保護ロイコ体 1 を 68%の収率で合成した[4].

続いて保護ロイコ体 1 を 100 mL ナスフラスコに 0.30 g とり CH₃CN 20 mL に溶解し、2,2'-dipicolylamine を 0.15 mL, KI を 0.08 g, N,N-diisopropylethylamine を 1.15 mL を加え、窒素気流下で 11 時間加熱還流した。TLC で反応確認後、カラムクロマトグラフィーにて精製し、配位ロイコ体 2 を 30%の収率で得た。得られた生成物について NMR 測定、APCI-MS 測定により構造解析を行った。

¹H-NMR 測定の結果、配位ロイコ体 2 のメチル基の水素が 2.93 ppm, ベンジル位の水素がそれぞれ 3.65, 3.73 ppm, ピリジン環の水素が 7.23, 7.44, 7.60, 8.50 ppm, ベンゼン環の水素が 6.46, 6.79, 7.23, 7.36 ppm に確認でき、積分比も良い一致を示した(図 2)。

DEPT45 測定ではフリップ角パラメータが異なり、4 級炭素のシグナルが消失する。129.5, 130.4, 136.4, 142.0, 149.8, 160.6, 169.0 ppm のシグナルが消失したことから、図 3 に*で示す 7 種類の 4 級炭素の存在が確認できた。同様に DEPT135 測定では 2 級炭素のシグナルが負のシグナルとして現れ、58.6, 60.4 ppm のシグナルが 2 種類の 2 級炭素として確認できた。¹³C-NMR 測定ではメチル基の炭素が 40.6 ppm, 残りの 3 級炭素が 111.0, 111.4, 122.9, 123.1, 128.0, 129.3, 137.2, 149.8 ppm に 9 種類確認できた(図 3)。

APCI-MS 測定の結果、601.4, 623.3 にシグナルが得られた。601.4 は配位ロイコ体 2 に H⁺ が付加した(C₃₆H₃₆N₆OS+H⁺)の質量であり、623.3 は配位ロイコ体 2 に Na⁺ が付加した(C₃₆H₃₆N₆OS+Na⁺)の質量である。

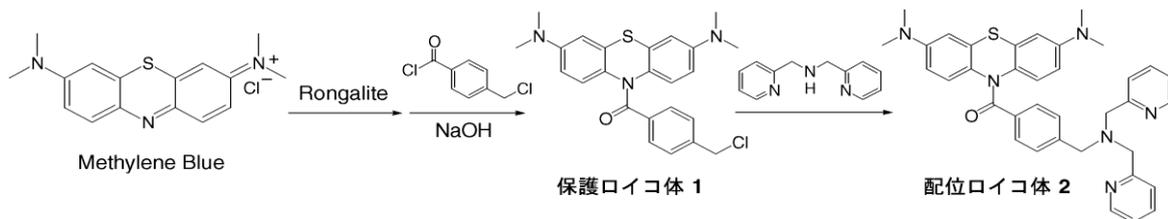


図 1 Methylene Blue から配位ロイコ体 2 への変換

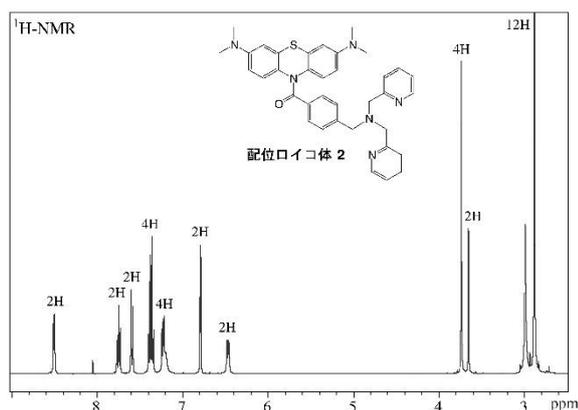


図2 配位ロイコ体2の¹H-NMR スペクトル

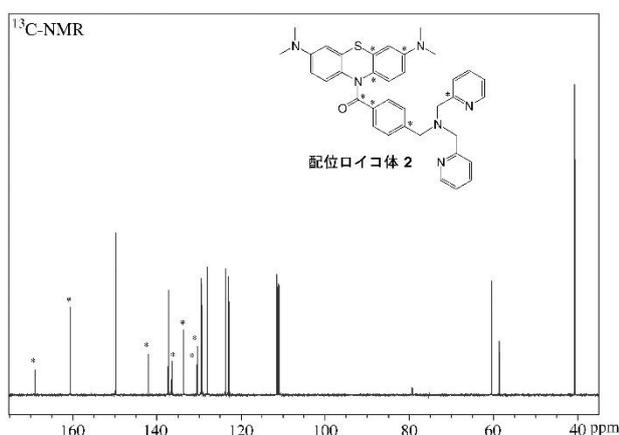


図3 配位ロイコ体2の¹³C-NMR スペクトル

3. 金属配位可能な還元型ロイコ体3の合成

続いて、2,2'-dipicolylamineの代わりに3,3'-dipicolylamineを用いて実験を行い、金属配位部位が異なる還元型ロイコ体3を25%の収率で合成した。得られた生成物についてNMR測定、APCI-MS測定により構造解析を行った。

¹H-NMR測定の結果、メチル基の水素が2.94 ppm、ベンジル位の水素が3.59, 3.66 ppmに確認できた。また、ピリジン環とベンゼン環の水素が6.48, 6.80, 7.24, 7.30, 7.38, 7.50, 7.91, 8.59, 8.67 ppmにシグナルが確認でき、積分比も良い一致を示した。

¹³C-NMRで得られたシグナルのうち、DEPT45では129.7, 133.0, 135.7, 135.8, 139.0, 148.4, 168.5 ppmのシグナルが消失し、7種類の4級炭素の存在が確認できた。2級炭素は55.1, 58.2 ppmのシグナル、メチル基の炭素は40.9 ppmのシグナルとして現れた。残りの3級炭素は111.0, 111.1, 124.7, 127.1, 128.5, 129.2, 139.8, 145.7, 146.8 ppmのシグナルとして9種類確認できた。

APCI-MS測定の結果、601.2にシグナルが得られた。

601.2のシグナルは配位ロイコ体3にH⁺が付加した(C₃₆H₃₆N₆OS+H⁺)の質量である。

以上の測定結果から、目的とする金属配位可能な還元型ロイコ体3の合成に成功し、保護ロイコ体1への各種金属配位部位の導入が可能であることが明らかとなった。

4. 配位ロイコ体2への各種金属塩の添加

続いて、得られた金属配位可能な還元型ロイコ体2を用いて、金属配位部位に各種過塩素酸金属塩(Cu²⁺, Fe³⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Co²⁺)を配位させた。

実験は配位ロイコ体2を2 mLサンプル管に3 mgとってCH₂Cl₂とCH₃OHの1:1の混合溶媒2 mLに溶解し、その後各種過塩素酸金属塩3 mgを添加してミクロスパーテルで攪拌した。その結果、Fe³⁺を添加した場合に濃い青色に呈色し、Cu²⁺, Zn²⁺, Co²⁺を添加した場合にも若干呈色することが目視にて確認できた。

続いて、配位ロイコ体2に各種過塩素酸金属塩を添加した溶液についてESI-MS測定を行った。その結果Cu²⁺を添加した場合には配位ロイコ体2が601.2(C₃₆H₃₆N₆OS+H⁺)に観測されると共に、錯形成した2-Cu²⁺が698.3(2+Cu²⁺+Cl⁻), 762.1(2+Cu²⁺+ClO₄⁻)に観測され、錯体が酸化的に分解して生成した分解物4が348.1(C₂₀H₁₇N₃O₃+H⁺)に、分解物4が錯形成した4-Cu²⁺が445.1(4+Cu²⁺+Cl⁻), 509.0(4+Cu²⁺+ClO₄⁻)に観測された。また、分解に伴い脱保護されたMethylene Blue(C₁₆H₁₈N₃S⁺)が284.2に観測され、色素骨格の再生が明らかとなった(図4)。

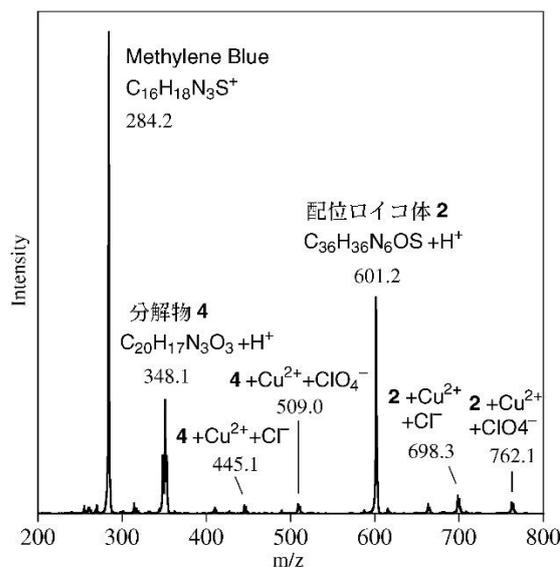


図4 配位ロイコ体2へCu(ClO₄)₂を添加したESI-MS

一方、 Fe^{3+} を添加した場合には配位ロイコ体 **2** および錯形成した **2-Fe³⁺**は観測されず、分解物 **4** ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3+\text{H}^+$) が 348.1 に、分解物 **4** が錯形成した **4-Fe³⁺**が 473.2 ($4+\text{Fe}^{3+}+2\text{Cl}^-$), 536.8 ($4+\text{Fe}^{3+}+\text{Cl}^-+\text{ClO}_4^-$)に観測された。また、脱保護された Methylene Blue が 284.2 に強い強度で観測され、濃い青色に呈色する目視の結果と一致した (図 5)。

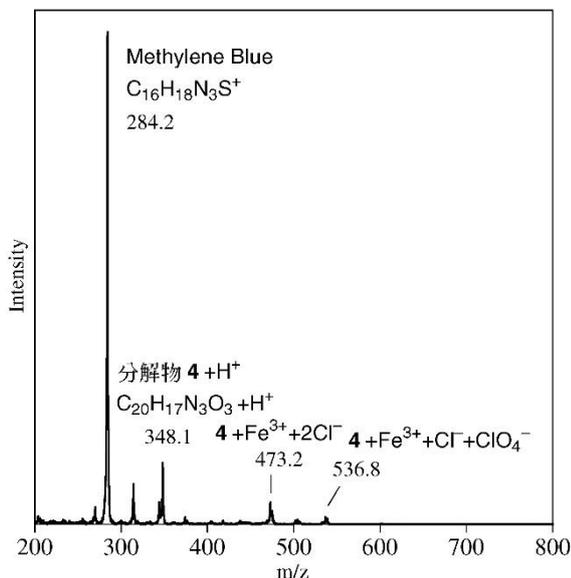


図 5 配位ロイコ体 **2** へ $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ を添加した ESI-MS

他の Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} を添加した場合については、 Cu^{2+} を添加した場合とほぼ同じ傾向が観測された。

以上の ESI-MS 測定結果より、 Cu^{2+} を添加した場合を例にして考えると、配位ロイコ体 **2** は Cu^{2+} の添加により錯形成した **2-Cu²⁺**へと変換される。続いて **2-Cu²⁺** のベンジル位の水素イオンが引き抜かれると共にベンゼン環の共役を通して脱保護され、この際にベンジル位が酸化されてアミドとなった分解物 **4** と分解物 **4** が錯形成した **4-Cu²⁺** が形成される[5]。また脱保護されることで Methylene Blue が再生され、呈色する。

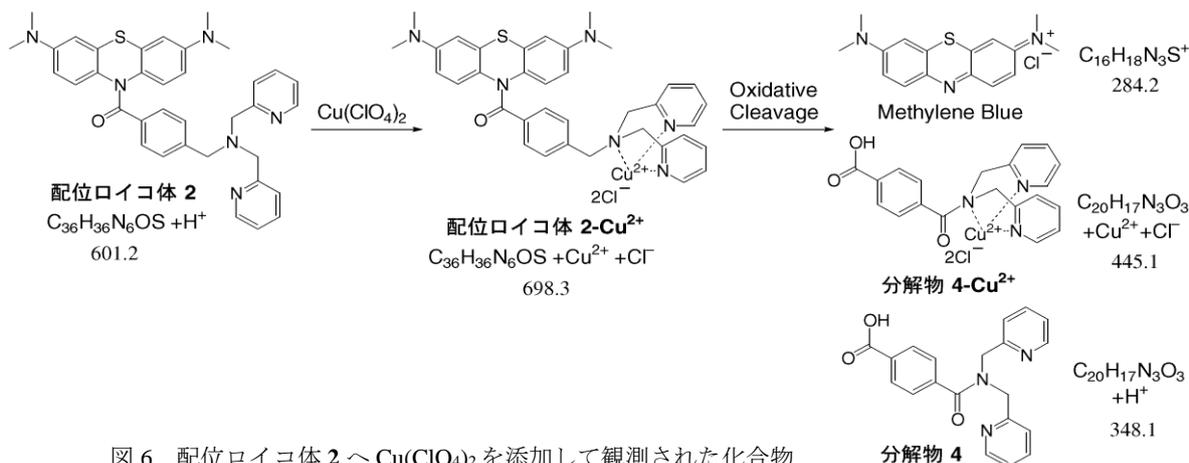


図 6 配位ロイコ体 **2** へ $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ を添加して観測された化合物

一方、 Fe^{3+} を添加した場合には、配位ロイコ体 **2** への錯形成、脱保護が速やかに進行するため[6]、分解物 **4** と **4-Fe³⁺**、Methylene Blue のみが観測され、濃い青色に呈色すると考えられる。この現象は Fe^{3+} を添加した場合にのみ特異的に見られた。

5. 結論

大気中で Methylene Blue を Rongalite により還元し、Leucomethylene Blue にしても、すぐに酸化されて青色になってしまう。しかし窒素気流下で反応を行い、ロイコ体を保護した保護ロイコ体 **1** について、配位可能なピジジル基を有する分子で置換することで配位ロイコ体 **2** および **3** を純度良く、安定に単離することができた。

さらに、還元型の配位ロイコ体 **2** へ各種過塩素酸金属塩を添加した場合、目視の結果より Fe^{3+} を添加した場合にのみ濃い青色に呈色することが明らかとなった。これは ESI-MS 測定結果からも示され、 Fe^{3+} を添加した場合にのみ配位ロイコ体 **2** および錯形成した **2** が観測されず、目的通り速やかに酸化的脱保護が進行し、Methylene Blue が再生することが明らかとなった。また、他の金属を添加した場合には ESI-MS 測定により各種化合物が観測され、配位ロイコ体 **2** への錯形成から開始される、酸化的な分解により呈色する反応機構が示された。

今後、配位部位の検討により、他の金属イオンについても特異的な呈色を実現すること、可視吸収による検出に比べ感度が高い蛍光での検出が可能な色素へ本反応を適用することが求められる。

引用文献

- 1) 入江正浩 「機能性色素の応用」 シーエムシー出版 (2002).
- 2) S. Kitagawa and M. Kondo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1998**, 71, 1739-1753.
- 3) 中澄博行 「機能性色素の科学」 化学同人 (2013).
- 4) E. Matsui and M. Yamakoshi, *J. Technology and Education*, **2019**, 26, 27-30.
- 5) G. Guillot, E. Mulliez, P. Leduc, J. C. Chottard, *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 577-579.
- 6) M-C. Rodriguez, F. Lambert, I. Morgenstern-Badarau, M. Cesario, J. Guilhem, B. Keita, L. Nadjou, *Inorg. Chem.*, **1997**, 36, 3525-3531.