

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5044779号
(P5044779)

(45) 発行日 平成24年10月10日(2012.10.10)

(24) 登録日 平成24年7月27日(2012.7.27)

(51) Int. Cl.

F I

| | | | |
|--------------------|------------------|-------------|-----|
| CO7D 407/14 | (2006.01) | CO7D 407/14 | CSP |
| GO1N 21/78 | (2006.01) | GO1N 21/78 | C |
| GO1N 31/00 | (2006.01) | GO1N 21/78 | Z |
| GO1N 31/22 | (2006.01) | GO1N 31/00 | V |
| GO1N 33/483 | (2006.01) | GO1N 31/22 | 122 |

請求項の数 8 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2006-289703 (P2006-289703)
 (22) 出願日 平成18年10月25日(2006.10.25)
 (65) 公開番号 特開2008-105993 (P2008-105993A)
 (43) 公開日 平成20年5月8日(2008.5.8)
 審査請求日 平成21年9月17日(2009.9.17)

(73) 特許権者 504132272
 国立大学法人京都大学
 京都府京都市左京区吉田本町36番地1
 (74) 代理人 100067828
 弁理士 小谷 悦司
 (74) 代理人 100111453
 弁理士 櫻井 智
 (72) 発明者 橋 一典
 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内
 (72) 発明者 谷間 大輔
 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内

最終頁に続く

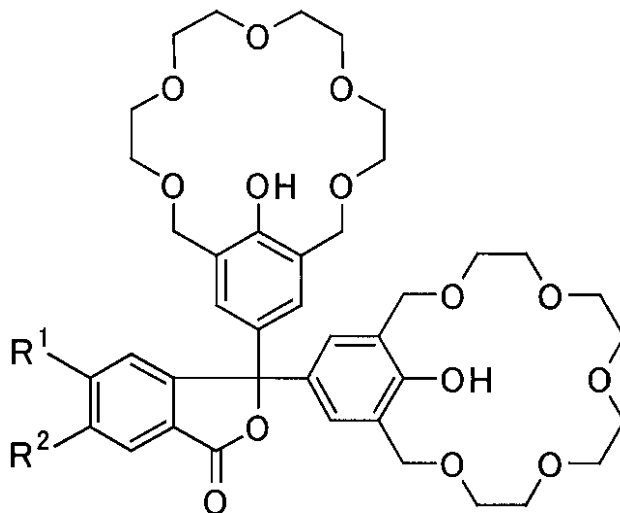
(54) 【発明の名称】 フェノールフタレイン誘導体および生体内ポリアミン検出用検査薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記一般式で示されるフェノールフタレイン誘導体。

【化1】



[式中、R¹は、H、ハロゲン原子(F、Cl、BrまたはI)で置換された炭素数1~4の直鎖

または分岐のアルキル基、ハロゲン原子 (F、Cl、BrまたはI)、ニトロ基 (NO₂)、カルボン酸基 (CO₂H) またはその誘導体 (CO₂R、CONH₂、CONHRまたはCONR₂で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、スルホン酸基 (SO₃H) またはその誘導体 (SO₃R、SO₂NH₂、SO₂NHRまたはSO₂NR₂で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、および四級アンモニウムカチオン (N⁺R₃で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基) からなる群から選ばれる何れか 1 種であり、

R²は、R¹、アミノ基 (NH₂、NHRまたはNR₂で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、エーテル基 (ORで表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、チオエーテル基 (SRで表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、OH基、SH基、および芳香族性置換基 (ベンゼン環、ヘテロ芳香族 5 員環またはヘテロ芳香族 6 員環) からなる群から選ばれる何れか 1 種である。ただし、R¹およびR²が同時にHである場合を除く。]

10

【請求項 2】

前記R¹はHであり、R²はアミノ基 (NR₂で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖アルキル基) である請求項 1 に記載のフェノールフタレイン誘導体。

【請求項 3】

前記R²はジメチルアミノ基である請求項 2 に記載のフェノールフタレイン誘導体。

【請求項 4】

前記R¹はフッ素化アルキル基 (アルキル基は炭素数 1 ~ 4 の直鎖アルキル基) であり、R²はHまたはジメチルアミノ基である請求項 1 に記載のフェノールフタレイン誘導体。

20

【請求項 5】

前記R¹はトリフルオロメチル基であり、R²はHである請求項 4 に記載のフェノールフタレイン誘導体。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 の何れかに記載のフェノールフタレイン誘導体を含む、生体内ポリアミンを検出するための検査薬。

【請求項 7】

前記生体内ポリアミンがスペルミンおよびスペルミジンの少なくとも 1 種である請求項 6 に記載の検査薬。

【請求項 8】

前記スペルミンおよびスペルミジンの少なくとも 1 種を呈色または蛍光によって検出する請求項 7 に記載の検査薬。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はフェノールフタレイン誘導体およびそれを含有する生体内ポリアミン検出用検査薬に関する。より詳しくは、クラウンエーテル構造を併せ持つフェノールフタレイン誘導体およびそれを含有する生体内のスペルミンおよびスペルミジンを検出するための検査薬に関する。

【背景技術】

40

【0002】

生体内ポリアミンは、細胞の分化や増殖にかかわっている事が知られている。特に、生体内ポリアミンの一種であるスペルミンおよびスペルミジンは細胞の分化・増殖に深くかかわっている。癌細胞においてはスペルミン・スペルミジン濃度が上昇しており、進行癌に至っては尿中スペルミン・スペルミジン濃度も上昇していることが知られている。それゆえ、尿中スペルミン・スペルミジン濃度は腫瘍マーカーの一つとして利用されている。

【0003】

また、癌の外科手術に至るケースにおいては切除不完全による再発の可能性が残される。このリスクを最小限にするため、“癌手術の際の術中迅速検査” (癌の外科手術において、切除された組織の一番外側 (断端) に癌細胞が残っているか否かを迅速 (10分程度)

50

に検査し、その結果を外科医にフィードバックするシステム)が実施され、術中にフローサイトメーターやセルソーターなどの装置を駆使し、病理医、細胞検査士が癌細胞かどうかの判断を下す。しかしながら十人の病理医が十人とも癌細胞と判断する細胞も有れば、判断が分かれる紛らわしい細胞もあるのが現状であり、また複数の病理医をもつ施設も限られている。それゆえ、より感度の高い簡便な染色方法または検査薬の開発は、外科手術の成否を決定する重要な要因となり得る。蛍光色素導入モノクローナル抗体や、様々な染色法がこの迅速検査に用いられているが、スベルミン・スベルミジン を標的にした迅速検査法はまだ無い。

【0004】

このような状況において、スベルミン・スベルミジン を標的とする迅速で高感度な検査薬を開発できれば、腫瘍マーカーとしての尿中スベルミン・スベルミジン濃度の簡便な定量法として期待できるほか、癌手術の際の迅速検査にも応用されれば、切除不完全による再発可能性を著しく低減できるものと期待される。

10

【0005】

スベルミン・スベルミジンの測定方法としては、スベルミン及びスベルミジンに対して基質特異性を有するポリアミン酸化酵素、又はスベルミンのみに対して基質特異性を有するポリアミン酸化酵素を用い、血液より分離精製した赤血球の溶出液に対してこれらの酵素を作用させ、生じた過酸化水素をジフェニルアミン系の発色試薬で定量する赤血球中ポリアミンの測定方法が提案されている(特許文献1)。しかし、これはスベルミン及びスベルミジン を直接測定する方法ではなく、過酸化水素を発生させてこれを測定するという

20

【0006】

一方、有機化学の分野において、水素結合や 相互作用などの共有結合以外の弱い分子間力を巧みに利用して、ゲスト分子を認識する新たな機能をホスト分子に付与する超分子化学・分子認識化学は、近年特に注目されている分野の一つである。この分野における手法の一つとして、ホスト分子内にクラウンエーテル環を導入して、その環構造に適合するゲスト分子を認識させるようにホスト分子の設計が行われている。

【0007】

他方、フェノールフタレインはpH指示薬として知られ、広く利用されている。本発明者等はこのフェノールフタレインに着目し、フェノールフタレインを基本骨格としてクラウンエーテル環構造を併せ持つ化合物をホスト化合物として用いることによって、特定のゲスト化合物の持つ様々な情報を読み取り、色調の変化として呈色化・可視化することを検討してきた。

30

【0008】

例えば、フェノールフタレインの2つのフェノール基のそれぞれにクラウンエーテル環を導入した構造を有するホスト化合物は、その2つのクラウンエーテル環によって、分子の両末端に離れて2つのアミノ基を持つゲスト化合物をその分子鎖の長さによって認識するとともに、そのフェノールフタレイン構造によってこのゲスト化合物を呈色識別することができることを報告している(非特許文献1)。

【0009】

さらに、本発明者等は、同じ構造を有するホスト化合物が、スベルミジンを含む特定のトリアミンをゲスト化合物として認識し、これらを呈色識別することができることを見出している(非特許文献2)。

40

【特許文献1】特開2005-348630号公報

【非特許文献1】J. Am. Chem. Soc. 1999年、121、3807-3808頁

【非特許文献2】Org. Lett. 2001年、3、4067-4069頁

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

50

しかしながら、上記のような単なるフェノールフタレイン構造そのものにクラウンエーテル環構造を併せ持つ化合物では、スペルミン及びスペルミジンを直接認識して呈色識別はすることはできるが、スペルミン及びスペルミジンのみを特異的に認識するには十分なものとはいえず、またその感度は、これらを標的とする臨床的な検査薬として利用するには極めて低いものであった。さらに、臨床検査薬とするには水溶性であることが望ましいが、上記化合物は水溶性にも乏しいことから、実用化・応用化することは困難であった。また、スペルミン及びスペルミジンを高感度に検出するためには蛍光応答性を有することが望ましいが、上記化合物は蛍光発光を示さないため、蛍光応答を利用してスペルミン及びスペルミジンを高感度に検出することも不可能であった。

【0011】

本発明は上記課題を鑑みてなされたものであり、スペルミン及びスペルミジンを高感度にかつ特異的に認識するとともに、水溶性にも優れ、呈色応答性のみならず蛍光応答性を有するフェノールフタレイン誘導体及びこれを含む検査薬を提供することを目的とする。

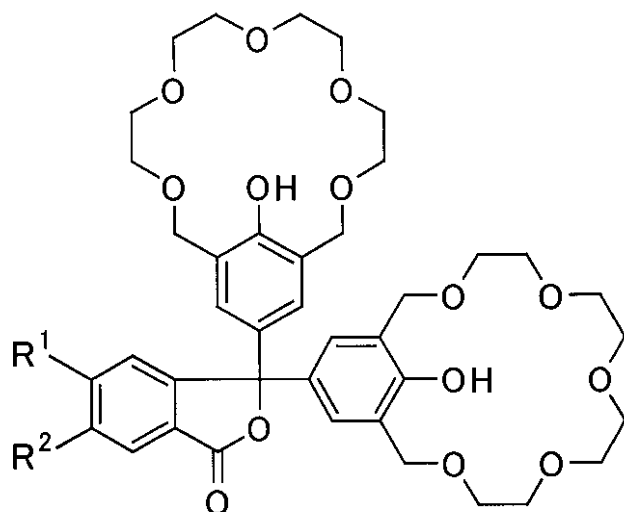
【課題を解決するための手段】

【0012】

上記課題を解決した本発明のフェノールフタレイン誘導体は、下記一般式で示される。

【0013】

【化1】



【0014】

[式中、 R^1 は、H、ハロゲン原子 (F、Cl、BrまたはI) で置換された炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基、ハロゲン原子 (F、Cl、BrまたはI)、ニトロ基 (NO_2)、カルボン酸基 (CO_2H) またはその誘導体 (CO_2R 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ または $CONR_2$ で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、スルホン酸基 (SO_3H) またはその誘導体 (SO_3R 、 SO_2NH_2 、 SO_2NHR または SO_2NR_2 で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、および四級アンモニウムカチオン (N^+R_3 で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基) からなる群から選ばれる何れか 1 種であり、 R^2 は、 R^1 、アミノ基 (NH_2 、 NHR または NR_2 で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、エーテル基 (OR で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、チオエーテル基 (SR で表され、Rは炭素数 1 ~ 4 の直鎖または分岐のアルキル基)、OH基、SH基、および芳香族性置換基 (ベンゼン環、ヘテロ芳香族 5 員環またはヘテロ芳香族 6 員環) からなる群から選ばれる何れか 1 種である。ただし、 R^1 および R^2 が同時にHである場合を除く。]

【0015】

本発明のフェノールフタレイン誘導体がスペルミン及びスペルミジンを認識して呈色を示すとき、すなわちこれらのターゲット分子の両端のアミノ基がクラウンエーテル内のフェノールと酸塩基反応を起こしてフェノールフタレイン誘導体のラクトンが開裂して橋架

10

20

30

40

50

け型の呈色錯体が形成されるとき、本発明のフェノールフタレイン誘導体のラクトンカルボニル基のパラ位に位置する電子吸引性置換基 R^1 は、その電子吸引性に基づいて、生じるカルボキシレートアニオンを安定化し、これによって呈色感度を高めることができる。

【0016】

また、ラクトンカルボニル基のメタ位に位置する置換基 R^2 は、電子供与基である場合には、イソベンゾフラノン環が励起されて置換基 R^2 からラクトンカルボニル基への1電子移動が起こることにより分子内電荷分離状態が形成され、これによって蛍光発光を示すことができる。

【0017】

上記の置換基 R^1 がHであるとき、 R^2 はアミノ基(NR_2 で表され、Rは炭素数1~4の直鎖アルキル基)であることが好ましい。アミノ基はラクトンカルボニル基への電子移動を促進し、これにより強い蛍光発光を示すことができる。さらに、本発明のフェノールフタレイン誘導体がスペルミン及びスペルミジンと橋架け型の呈色錯体を形成してカルボキシレートを生じるとき、カルボキシレートはスペルミン及びスペルミジン分子の中央部のアミノ基によって安定化されやすくなり、これによってスペルミン及びスペルミジンを特異的に認識するとともに、呈色を高感度にするすることができる。

【0018】

そして、上記置換基 R^2 がジメチルアミノ基である場合には、蛍光応答性を有し、スペルミン及びスペルミジンを高感度にかつ特異的に呈色認識するとともに、水溶性にも優れたフェノールフタレイン誘導体を得られる。

【0019】

また、上記置換基 R^2 がHまたはジメチルアミノ基であるとき、 R^1 はフッ素化アルキル基(アルキル基は炭素数1~4の直鎖アルキル基)であることが好ましい。本発明のフェノールフタレイン誘導体がスペルミン及びスペルミジンと橋架け型の呈色錯体を形成してカルボキシレートアニオンを生じるとき、そのアニオンはフッ素化アルキル基の強い電子吸引性によって安定化され、もって呈色感度を向上させることができる。特に、置換基 R^2 がジメチルアミノ基である場合には、水溶性に優れ、スペルミン及びスペルミジンをより高感度にかつ特異的に呈色認識するフェノールフタレイン誘導体を得ることができる。

【0020】

そして、上記置換基 R^1 がトリフルオロメチル基であって R^2 がHである場合には、蛍光応答性を有し、かつスペルミン及びスペルミジンに対して高感度に呈色応答できるフェノールフタレイン誘導体を得ることができる。

【0021】

上記のフェノールフタレイン誘導体を含む検査薬は、細胞増殖に深くかかわる生体内ポリアミンを検出するために用いることができる。上記フェノールフタレイン誘導体の2つのクラウンエーテル環によって特定の鎖長を有する生体内ポリアミンを選択的に認識し、上記置換基 R^1 および R^2 によってポリアミンに対する高感度の呈色応答性および蛍光応答性を検査薬に付与することができる。

【0022】

さらに、上記フェノールフタレイン誘導体を含む検査薬は、特に、腫瘍マーカーの一つであるスペルミンおよびスペルミジンの少なくとも1種を検出するために用いることができる。上記フェノールフタレイン誘導体はスペルミン及びスペルミジンに特有の化学構造を特異的に認識することができる。

【0023】

そして、上記フェノールフタレイン誘導体を含む検査薬は、スペルミンおよびスペルミジンの少なくとも1種を呈色または蛍光によって検出することができる。上記フェノールフタレイン誘導体の置換基 R^1 および R^2 によって、スペルミン及びスペルミジンに対する高感度の呈色応答性および蛍光応答性が付与された検査薬を得ることができる。

【発明の効果】

【0024】

10

20

30

40

50

本発明のフェノールフタレイン誘導体は、スペルミン及びスペルミジンのみを特異的に認識し、呈色応答性のみならず蛍光応答性を有するため、これらのターゲットを高感度に識別することができる。これを用いることにより、スペルミン及びスペルミジンのみを高感度に検出できる検査薬が得られ、もって腫瘍を簡便かつ迅速に診断し得る検査薬が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

本発明のフェノールフタレイン誘導体は上記一般式で示され、置換基 R^1 は、H、ハロゲン原子(F、Cl、BrまたはI)で置換された炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基、ハロゲン原子(F、Cl、BrまたはI)、ニトロ基(NO_2)、カルボン酸基(CO_2H)またはその誘導体(CO_2R 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ または $CONR_2$ で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)、スルホン酸基(SO_3H)またはその誘導体(SO_3R 、 SO_2NH_2 、 SO_2NHR または SO_2NR_2 で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)、および四級アンモニウムカチオン(N^+R_3 で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)からなる群から選ばれる何れか1種の置換基である。

10

【0026】

本発明者等の検討によれば、本発明のフェノールフタレイン誘導体が特定のポリアミンを特異的に認識して呈色を示すのは、これらのターゲット分子の両端のアミノ基がクラウンエーテル内のフェノールと酸塩基反応を起こしてフェノールフタレイン誘導体のラクトンが開裂して橋架け型の呈色錯体を形成することに由来する。ポリアミンが分子鎖の中央部にアミノ基を有するスペルミン及びスペルミジンであるとき、このアミノ基はラクトンが開裂して生じるカルボキシレートと相互作用できるほど近い位置に接近することができる。それゆえ、本発明のフェノールフタレイン誘導体においては、ラクトンカルボニル基のパラ位に置換基 R^1 として電子吸引基を配置することにより、その電子吸引性によってカルボキシレートアニオンを安定化することができ、これによって呈色感度を高めることができる。

20

【0027】

置換基 R^1 において、上記のハロゲン化アルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基、カルボン酸基またはその誘導体、スルホン酸基またはその誘導体および四級アンモニウムカチオンからなる群から選ばれる何れか1種の置換基は、いずれも電子吸引性置換基である。これらの電子吸引性置換基は、その電子吸引性によってカルボキシレートアニオンを安定化する。

30

【0028】

ハロゲン化アルキル基、カルボン酸誘導体基、スルホン酸誘導体基及び四級アンモニウムカチオンを構成する各アルキル基は、炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基である。そのようなアルキル基の中で、立体的にかさばらない炭素数1~4の直鎖アルキル基が好ましい。炭素数1~4の直鎖アルキル基としては、エチル基が好ましく、メチル基がさらに好ましい。ハロゲン化アルキル基及びハロゲン原子におけるハロゲンとしては、フッ素が好ましい。

【0029】

特に、置換基 R^1 がトリフルオロメチル基である場合には、蛍光応答性を有し、かつスペルミン及びスペルミジンに対して高感度に呈色応答できるフェノールフタレイン誘導体を得られる。

40

【0030】

本発明の上記一般式で示されるフェノールフタレイン誘導体において、置換基 R^2 は、H、上記電子吸引性置換基 R^1 、アミノ基(NH_2 、 NHR または NR_2 で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)、エーテル基(OR で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)、チオエーテル基(SR で表され、Rは炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基)、OH基、SH基、および芳香族性置換基(ベンゼン環、ヘテロ芳香族5員環またはヘテロ芳香族6員環)からなる群から選ばれる何れか1種の置換基である。

50

【0031】

本発明者等の検討によれば、本発明のフェノールフタレイン誘導体においては、ラクトンカルボニル基のメタ位に置換基 R^2 として電子供与基を配置することにより、イソベンゾフラノン環が励起されて電子供与基からラクトンカルボニル基への1電子移動が起こることにより分子内電荷分離状態が形成され、これによって蛍光発光を示すことができる。さらに、本発明のフェノールフタレイン誘導体がスペルミン及びスペルミジンと橋架け型の呈色錯体を形成してカルボキシレートを生じるとき、カルボキシレートは近接するスペルミン・スペルミジン分子の中央部のアミノ基によって安定化されやすくなり、これによって高感度の呈色が可能となる。

【0032】

また、本発明のフェノールフタレイン誘導体においては、ラクトンカルボニル基のメタ位に置換基 R^2 として電子吸引基を配置することにより、上記呈色錯体が形成されるときに生じるカルボキシレートアニオンを安定化し、これによって高感度の呈色が可能となる。

【0033】

置換基 R^2 において、上記のアミノ基、エーテル基、チオエーテル基、水酸基、チオール基および芳香族性置換基（ベンゼン環、ヘテロ芳香族5員環またはヘテロ芳香族6員環）からなる群から選ばれる何れか1種の置換基は、いずれも電子供与性置換基である。特に、これらの電子供与性置換基の中では、高感度の呈色応答性を示す観点からアミノ基が好ましい。アミノ基の中では、電子供与性の強さから二置換アミノ基が好ましい。

【0034】

アミノ基、エーテル基、チオエーテル基を構成する各アルキル基は、炭素数1~4の直鎖または分岐のアルキル基である。そのようなアルキル基の中では、立体的にかさばらない炭素数1~4の直鎖アルキル基が好ましく、エチル基が更に好ましく、メチル基が最も好ましい。

【0035】

特に、置換基 R^2 がジメチルアミノ基である場合には、蛍光応答性を有し、スペルミン及びスペルミジンを高感度にかつ特異的に呈色認識するとともに、水溶性にも優れたフェノールフタレイン誘導体を得られる。

【0036】

本発明のフェノールフタレイン誘導体において、置換基 R^2 は上記の電子吸引性置換基 R^1 であってもよい。置換基 R^2 が電子吸引性置換基 R^1 である場合、電子吸引性置換基としては上記の電子吸引基 R^1 と同じ置換基が適用される。これらの電子吸引性置換基は、その電子吸引性によって、カルボキシレートアニオンを安定化し、これによって高感度の呈色が可能となる。

【0037】

本発明のフェノールフタレイン誘導体は、例えば、図1および図2に示すようなスキームに従って製造することができる。この方法では、ベンゼン環の所定位置が置換基 R^1 及び/又は R^2 で置換された無水フタル酸を出発物質として用いることにより、フェノールフタレイン骨格に置換基 R^1 及び/又は R^2 を導入する。まず、フェノール性水酸基をマスクしたクラウンエーテル化合物をブチルリチウム等によりリチオ化し、これに、前記一置換または二置換無水フタル酸を反応させて、本発明のフェノールフタレイン誘導体の前駆化合物を合成する。次いで、前記前駆化合物からマスク基を取り去ると、本発明のフェノールフタレイン誘導体を得ることができる。

【0038】

本発明のフェノールフタレイン誘導体を含む検査薬は、フェノールフタレイン誘導体の2つのクラウンエーテル環によって特定の鎖長を有する生体内ポリアミンを選択的に認識するため、このような生体内ポリアミンの検出に用いることができる。

【0039】

特に、本発明のフェノールフタレイン誘導体は、上記のように、スペルミン及びスペルミジンに特有の化学構造からこれらの特異的に認識し、かつスペルミンおよびスペルミジ

10

20

30

40

50

ンに対し呈色応答性のみならず蛍光応答性を有する。このため、本発明のフェノールフタレイン誘導体を含有する検査薬は、これらのターゲットを極めて高感度に検出することができる。

【0040】

以上、本発明は詳細に説明されたが、上記した説明は全ての局面において例示であって、本発明がそれらに限定されるものではない。例示されていない無数の変形例が、この発明の範囲から外れることなく想定され得るものと解される。

【0041】

以下に、本発明に関する実施例が示されるが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【実施例】

【0042】

無水テトラヒドロフラン (THF) は金属ナトリウムで乾燥し、ベンゾフェノンケチルを指示薬として蒸留したものを使用した。無水酢酸は水素化カルシウムから蒸留し、活性化モレキュラーシーブ4 (1/16、non-indicator type) を加えて保存したものを使用した。反応はすべてアルゴン雰囲気下で行い、必要に応じてゴムのセプタムを使用した。無水溶媒は、オープン乾燥したシリンジでアルゴン雰囲気下で扱った。

【0043】

¹H NMRは、JEOL JNM-AL300 spectrometerあるいはJEOL JNM-AL400 spectrometerで測定した。化学シフト値はテトラメチルシランを内部標準物質としてppmで、カップリングコンスタントはHzで表示した。赤外吸収スペクトルはJASCO FT-IR 300 spectrometerあるいはJASCO FT-IR 4200 spectrometerで測定した。質量分析 (MS) 及び高分解能質量分析 (HRMS) はJOEL JMS-DX 300 mass spectrometerあるいはJMS 700 mass spectrometerで測定した。フラッシュカラムクロマトグラフィーには、Silica gel 60 spherical (150-230 mesh、ナカライ)あるいはUltra Pure Silica Gel (230-400 mesh、SILICYCLE)を使用した。中圧カラムクロマトグラフィーにはSilica gel 60 N (40-50 μm、関東化学)を使用した。分取用TLC (PTLC) にはSilica gel 60 F₂₅₄ (0.5 mm、Merck)を使用した。リサイクル分取用HPLCはLC-908 (日本分析化学工業)を使用し、JAIGEL-1Hカラム (20 x 600 μm) 及びJAIGEL-2Hカラム (20 x 600 mm) を連結して装着し、クロロホルム流速3.5 ml/minでUV (254 nm) 及びRI (Refractive Index) にて検出した。

【0044】

紫外 可視吸収スペクトルはJASCO V-550 UV/Vis Spectrophotometerで測定した。蛍光スペクトルはJASCO FP-750 Spectrofluorometerで測定した。各種機器測定には、分光分析用あるいは蛍光分析用の溶媒 (いずれも関東化学から購入) を使用した。

【0045】

写真は、Canon EOS KISS DIGITALを用いて撮影した。

【0046】

[実施例 1]

図1に本発明のフェノールフタレイン誘導体の製造スキームを示した。

【0047】

(実施例 1 - 1)

< 位置異性体 3 及び 4 の合成 >

4 N, N ジメチルアミノ無水フタル酸 1 は、Imperialiらの方法 (Org. Biomol. Chem. 2004, 2, 1965) に従って合成した。また、クラウンエーテル化合物 2 は、Tsubakiらの方法 (J. Org. Chem. 2005, 70, 4609) に準じて合成した。

【0048】

クラウンエーテル化合物 2 (2 g、4.64 mmol) を無水THF (30 ml) に溶解させ、-78 に冷却した。t-ブチルリチウム (1.46 Mペンタン溶液、4.57 ml、6.68 mmol) を5分間かけてゆっくり滴下した。30分間攪拌後、4 N, N ジメチルアミノ無水フタル酸 1 (355 mg、1.86 mmol) の無水THF溶液 (36 ml) を20分間かけてゆっくり滴下した。反応溶液を

10

20

30

40

50

- 78 で3時間保った後、室温まで自然に昇温させながらさらに3時間攪拌した。1M HCl水溶液で反応を停止させ、1時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した後、飽和NaHCO₃水溶液に注ぎ、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を合わせて水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧留去した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン：酢酸エチル = 1 : 1 ~ 酢酸エチル：メタノール = 10 : 1) にて精製し、目的とする位置異性体 3 及び 4 の混合物 (1.908 g) を白色泡状物として得た。位置異性体の分離は中圧カラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：エタノール = 99 : 1 ~ 50 : 1) で行い、位置異性体 3 (638 mg, 39%) 及び 4 (928 mg, 57%) をそれぞれ白色泡状物として単離した。

【 0 0 4 9 】

10

さらに、位置異性体 3 及び 4 は、それぞれの一部をメタノールに溶解させ数分から数時間静置すると白色固体が析出する。それを濾取し、冷メタノールで洗浄し減圧下乾燥した (いずれも2水和物であると同定した)。

【 0 0 5 0 】

位置異性体 3 ; IR (KBr) 3503, 2872, 1765, 1625, 1516, 1474, 1352, 1249, 1110, 1023, 947 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.37 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.23 (dd_w, J = 11.2, 2.4 Hz, 4H), 7.12 (d_w, J = 2.4 Hz, 1H), 7.08 (dd_w, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.25-6.12 (m, 2H), 5.50 (dd, J = 17.2, 2.0 Hz, 2H), 5.21 (dd, J = 10.4, 2.0 Hz, 2H), 4.91 (d, J = 5.2 Hz, 4H), 4.50 (ABq, J_{AB} = 10.4 Hz, 4H), 4.48 (ABq, J_{AB} = 10.4 Hz, 4H), 3.66-3.35 (m, 32H), 3.04 (s, 6H), 2.20 (s, 4H, H₂O x2); MS (FAB+, NBA) m/z(rel. intensity) = 916 [(M+K)⁺, 10], 900 [(M+Na)⁺, 30]; HRMS (FAB+, NBA) Calcd for C₄₈H₆₃O₁₄NNa (M+Na)⁺ 900.4146, Found 900.4128.

20

【 0 0 5 1 】

位置異性体 4 ; IR (KBr) 3502, 2872, 1749, 1604, 1523, 1477, 1352, 1295, 1252, 1110, 1025, 981, 945 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.26 (dd_w, J = 12.4, 2.4 Hz, 4H), 6.79 (dd_w, J = 8.8, 2.0 Hz, 1H), 6.57 (d_w, J = 2.0 Hz, 1H), 6.25-6.12 (m, 2H), 5.50 (dd, J = 17.6, 2.0 Hz, 2H), 5.21 (dd, J = 10.8, 2.0 Hz, 2H), 4.98-4.91 (m, 4H), 4.49 (ABq, J_{AB} = 10.4 Hz, 8H), 3.67-3.35 (m, 32H), 3.07 (s, 6H), 2.03 (s, 4H, H₂O x2); MS (FAB+, NBA) m/z (rel. intensity) = 916 [(M+K)⁺, 10], 900 [(M+Na)⁺, 100], 878 [(M+H)⁺, 15]; HRMS (FAB+, NBA) Calcd for C₄₈H₆₄O₁₄N (M+H)⁺ 878.4327, Found 878.4341.

30

【 0 0 5 2 】

(実施例 1 - 2)

< フェノールフタレイン誘導体 5 (以下、18CKRという) の合成 >

位置異性体 3 (500 mg, 570 μmol) をメタノール (10 ml) に懸濁させPd(PPh₃)₄ (21 mg, 17.1 μmol) と水素化ホウ素ナトリウム (30 mg, 854 μmol) を加えた。添加後直ぐにガスの発生を伴って、反応溶液は薄黄色から鮮やかな赤紫色に変化した。室温で2時間攪拌した後、1M HCl水溶液で反応を停止させた。反応混合物を減圧濃縮した後、水に注ぎpHを6に調整してクロロホルムで3回抽出した。有機層を合わせて水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧留去した。残渣をリサイクル分取用HPLCにて精製し、フェノールフタレイン誘導体 5 (18CKR) (354 mg, 78%) を黄色泡状物として得た。

40

【 0 0 5 3 】

IR (neat) 3344, 2872, 1757, 1686, 1619, 1514, 1485, 1356, 1248, 1107, 943, 750 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.25 (s, 2H), 7.30 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.08 (d_w, J = 2.4 Hz, 4H), 7.00 (dd_w, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 4.57 (ABq, J_{AB} = 0 Hz, 4H), 3.76-3.58 (m, 32H), 3.02 (s, 6H); MS (FAB+, Glycerol) m/z(rel. intensity) = 820 [(M+Na)⁺, 10], 798 [(M+H)⁺, 35], 737 (10), 645 (20), 553 (35), 369 (20); HRMS (FAB+, Glycerol) Calcd for C₄₂H₅₆O₁₄N (M+H)⁺ 798.3701, Found 798

50

.3696。

【0054】

[実施例2]

図2に本発明のフェノールフタレイン誘導体の製造スキームを示した。

【0055】

(実施例2-1)

<位置異性体7及び8の合成>

4 トリフルオロメチル無水フタル酸6は、Hanackの方法(Synth. Commun. 1981, 11, 351)に従って合成した。

【0056】

クラウンエーテル化合物2(600 mg、1.39 mmol)を無水THF(10 ml)に溶解させ、-78 に冷却した。t-ブチルリチウム(1.46 Mペンタン溶液; 1.37 ml、2.00 mmol)をゆっくり滴下した。30分間攪拌後、4 トリフルオロメチル無水フタル酸6(120 mg、0.56 mmol)の無水THF溶液(5 ml)をゆっくり滴下した。反応溶液を室温まで自然に昇温させながら16時間攪拌した。1M HCl水溶液で反応を停止させ、4時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した後、水に注ぎ酢酸エチルで2回抽出した。有機層を合わせて飽和NaHCO₃水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧留去した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン:酢酸エチル=1:1 ~5:1)にて精製し、目的とする位置異性体7(178 mg、36%)及び8(225 mg、45%)をそれぞれ白色泡状物として単離した。

【0057】

さらに、位置異性体7はメタノールに溶解させ一昼夜静置すると白色固体が析出する。それを濾取し(64 mg)、エーテルで洗浄して減圧下乾燥した。

【0058】

位置異性体7; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) 8.09(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.86(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.83(s, 1H), 7.20(s, 1H), 6.24-6.12(m, 2H), 5.50(dd, J = 17.6, 2.0 Hz, 2H), 5.22(dd, J = 10.4, 2.0 Hz, 2H), 4.93(d, J = 5.2 Hz, 4H), 4.492(ABq, $\nu_{AB} = 315$ Hz, $J_{AB} = 10.4$ Hz, 4H), 4.488(ABq, $\nu_{AB} = 312$ Hz, $J_{AB} = 10.4$ Hz, 4H), 3.67-3.32(m, 32H)。

【0059】

位置異性体8; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) 8.21(s, 1H), 7.97(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.20(dd_w, 1H), 6.28-6.09(m, 2H), 5.50(dd, J = 17.1, 2.1 Hz, 2H), 5.17(dd, J = 10.8, 2.1 Hz, 2H), 4.93(d, J = 5.1 Hz, 4H), 4.49(ABq, $\nu_{AB} = 226$ Hz, $J_{AB} = 10.8$ Hz, 4H), 4.47(ABq, $\nu_{AB} = 236$ Hz, $J_{AB} = 10.8$ Hz, 4H), 3.72-3.30(m, 32H)。

【0060】

(実施例2-2)

<フェノールフタレイン誘導体9(以下、pFPPという)の合成>

位置異性体7(35 mg、39 μ mol)をメタノール(4 ml)に懸濁させPd(PPh₃)₄(2.2 mg、1.9 μ mol)と水素化ホウ素ナトリウム(2.2 mg、58 μ mol)を加えた。添加後直ぐにガスの発生を伴って、反応溶液は薄黄色から青紫色に変化した。室温で30分間、さらに60 °Cで30分間攪拌した後、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応停止させた。反応混合物を減圧濃縮した後、0.01 M HCl水溶液に注ぎクロロホルムで2回抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧留去した。残渣をPTLC(酢酸エチル:メタノール=9:1)にて精製し、フェノールフタレイン誘導体9(pFPP)(15 mg、46%)を薄黄色泡状物として得た。

【0061】

¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) 8.30(br s, 1H), 8.04(d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.81(d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.73(s, 1H), 7.02(s, 4H), 4.59(ABq, $\nu_{AB} = 0$ Hz, $J_{AB} = 8.1$ Hz, 8H) 3.90-3.50(m, 32H)。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 2 】

(実施例 2 - 3)

< フェノールフタレイン誘導体 1 0 (以下、mFPP という) の合成 >

位置異性体 8 (41 mg、45 μmol) をメタノール (4 ml) に懸濁させPd(PPh₃)₄ (2.6 mg、2.3 μmol) と水素化ホウ素ナトリウム (2.6 mg、68 μmol) を加えた。添加後直ぐにガスの発生を伴って、反応溶液は薄黄色から青紫色に変化した。室温で30分間、さらに60 °Cで30分間攪拌した後、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応停止させた。反応混合物を減圧濃縮した後、0.01 M HCl水溶液に注ぎクロロホルムで2回抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧留去した。残渣をPTLC (酢酸エチル : メタノール = 9 : 1) にて精製し、フェノールフタレイン誘導体 1 0 (mFPP) (1 3 mg、35%) を薄黄色泡状物として得た。

10

【 0 0 6 3 】

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) 8.29 (br s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.90 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.02 (s, 4H), 4.58 (ABq, J_{AB} = 10.8 Hz, 8H) 3.85-3.40 (m, 32H)。

【 0 0 6 4 】

[実施例 3]

本発明のフェノールフタレイン誘導体18CKRについて、図3に示す無置換のフェノールフタレイン誘導体 (以下、18CPP という) と比較した。

【 0 0 6 5 】

(実施例 3 - 1)

< ジアミン及びトリアミンに対する呈色の強度の比較 >

メタノール中で18CKRあるいは18CPPに対して、スペルミジンを含む種々の長さのトリアミンあるいはジアミンを加え、同一条件での呈色の強度比較を行った。

20

【 0 0 6 6 】

結果を図3に示した。

【 0 0 6 7 】

その結果、いずれのゲストアミンに対しても18CKRは18CPPよりも著しく強い呈色を示し、数十倍感度が増大していることがわかる。

【 0 0 6 8 】

(実施例 3 - 2)

< UVスペクトルの比較 >

18CPP及び18CKRについてホスト : スペルミジン = 1 : 1の条件で吸収スペクトルを測定した。

30

【 0 0 6 9 】

結果を図4に示した。

【 0 0 7 0 】

その結果、18CKRは、ホストおよびスペルミジンそれぞれを18CPPの約10分の1の濃度に設定しても同程度の呈色を示すことが判った。また、その色調も異なるものであった。

【 0 0 7 1 】

(実施例 3 - 3)

< 18CKRの蛍光応答性 >

18CKRの優れた特長は蛍光発光を示すことである。これは、18CKRに導入されたジメチルアミノ基からラクトンカルボニル基への1電子移動 (ICT; Intramolecular Charge Transfer) による分子内での電荷分離状態からの発光である。

40

【 0 0 7 2 】

18CKRの蛍光発光波長を種々の溶媒について観測した。

【 0 0 7 3 】

図5に、溶媒の種類による蛍光発光波長の変化 (ソルバトクロミズム)、およびUV非照射時 (自然光) とUV照射時の実際の発光の様子を示した。青紫 ~ 青緑色の蛍光発光を

50

示した。

【 0 0 7 4 】

(実施例 3 - 4)

< p H 応答性の比較 >

本発明の18CKRについて、18CPP及び基本骨格であるフェノールフタレイン(以下、PPという)と比較して、p H指示薬としての指示領域を調べた。

【 0 0 7 5 】

結果を図 6 に示した。

【 0 0 7 6 】

その結果、18CKRは、18CPP及びPPよりも中性側 p H で呈色を検出することができ、18CP 10
P及びPPよりも大きい呈色能を有することが判った。

【 0 0 7 7 】

[実施例 4]

本発明のフェノールフタレイン誘導体18CKRを用いて、スペルミジン及びスペルミンに
対する呈色応答性および蛍光応答性を検討した。

【 0 0 7 8 】

(実施例 4 - 1)

< 蛍光スペクトル特性 >

18CKRの蛍光スペクトルデータをまとめたものを表 1 に示した。

【 0 0 7 9 】

20

【表 1】

| ホスト化合物 | 溶媒 ^{a)} | 吸光 | | 蛍光 | |
|--------|---------------------|--|--|--|-------------------------------|
| | | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ | | $\lambda_{\text{em}} / \text{nm}^{\text{d)}$ | $\Phi_{\text{fl}}^{\text{e)}$ |
| 18CKR | 1,4-ジオキサン | 274 (30500), 347 (3010) | | 414 | 0.0530 |
| | テトラヒドロフラン | 273 (27000), 347 (2150) | | 415 | 0.0419 |
| | 塩化メチレン | 279 (12000), 358 (2160) | | 421 | 0.124 |
| | アセトニトリル | 278 (20200), 358 (2030) | | 437 | 0.0408 |
| | DMSO | 282 (16300), 362 (1860) | | 450 | 0.0661 |
| | イソプロパノール | 273 (25100), 354 (2210) | | 455 | 0.0278 |
| | メタノール | 277 (23500), 360 (2330) | | 478 | 0.0217 |
| | 水 ^{b)} | 276 (16500), 349 (2630) | | 504 | 0.00175 |
| | メタノール ^{c)} | 280 (5950) | | — | ~0 |
| | 18CPP | | | | |

a) $2.0 \times 10^{-6} \text{ M}$; b) 水:メタノール = 99:1 (0.1 M HEPES, pH = 7.0); c) $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$;

d) 発光波長; e) 量子収率は硫酸キニンを基準として測定された

($\Phi_{\text{fl}} = 0.546$ in 0.5 M 硫酸, $\lambda_{\text{ex}} = 278 \text{ nm}$)

【0080】

無置換のフェノールフタレイン誘導体18CPPが無蛍光性分子であるのに対し、本発明のフェノールフタレイン誘導体18CKRの蛍光量子収率 (F_{fl}) は、溶媒によって異なるが数%から12%程度に達した。

【0081】

(実施例 4 - 2)

< 呈色と蛍光発光の相関性 >

ゲスト分子としてスペルミジンを用いた際、呈色の変化に応じて蛍光発光がどのように変化するのかを調べた。

【0082】

結果を図7に示した。

【0083】

スペルミジンを0.5当量から10当量へと増加するに従って、UVスペクトルにおいては、560 nm 付近の吸収が増大した。一方、蛍光スペクトルにおいては、スペルミジン濃度の増加に伴って480 nm 付近の蛍光強度（励起波長：276 nm）は減衰した。

【0084】

これらの結果から、18CKRはスペルミジンに対して、図8に示すような作用機作で、呈色挙動および蛍光応答するものと考えられる。

【0085】

18CKRが蛍光性を有するのは、イソベンゾフラン環が励起されるとジメチルアミノ基からラクトンカルボニル基への1電子移動が起こることにより分子内電荷分離状態となり、これが蛍光発光を示すためである(ICT機構)。

【0086】

一方、18CKRはスペルミジンを認識して呈色を示す。これはスペルミジン両端のアミノ基がクラウンエーテル内のフェノールと酸塩基反応を起こして18CKRのラクトンが開裂し、橋架け型の呈色錯体を形成することに由来する。発生するカルボキシレートはスペルミジンの中央部にあるアミノ基によって安定化される。

【0087】

スペルミジンの添加に伴って18CKRの呈色が強くなるとともに蛍光が減衰するのは、ジメチルアミノ基からカルボキシレートへの1電子移動が阻害されることによると考えられる。

【0088】

また、18CKRに対するゲスト分子としては、2つのクラウンエーテル環を橋架けするのに適した長さを持つジアミン構造であることが呈色錯体形成には必要であることがわかる。このような構造を有する最適なゲスト分子は、スペルミジンおよびスペルミンである。

【0089】

(実施例4-3)

< スペルミジンおよびスペルミンの特異的認識 >

18CKRの種々の生体内アミンに対する呈色を調べた。スペルミジン及びスペルミンとともに生体内ポリアミンと総称されるプトレッシン、カダベリン、ならびに神経伝達物質であるドパミン、ヒスタミン、トリプタミン、チラミンの計8種類の生体内アミンをスクリーニングした。

【0090】

結果を図9に示した。

【0091】

図9に示すように、18CKRはスペルミジン及びスペルミンのみを特異的に認識して呈色した。他のアミンのうち、プトレッシン、カダベリンはジアミンであり呈色する可能性はあるが、アミノ基間の距離が短いために先に述べたような構造的要件を満たさず、呈色錯体は形成できない。それゆえ、本発明の検査薬において、これらのジアミンが18CKRとスペルミジン・スペルミンの結合を阻害することは問題にならない。

【0092】

スペルミジンおよびスペルミンは、上記のように、細胞増殖に深く関わる生体内ポリアミンであり、医療現場では腫瘍マーカーの一つに挙げられている。しかし、その測定法は操作が煩雑なものが多く必ずしも実用的であるとは言えない。18CKRはスペルミジンおよびスペルミンのみを特異的に認識して呈色するため、ガンの簡便かつ迅速な検査薬として用いることができる。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0093】

【図1】本発明の実施例1のフェノールフタレイン誘導体の製造スキームを示す図である。

【図2】本発明の実施例2のフェノールフタレイン誘導体の製造スキームを示す図である。

【図3】本発明の実施例3-1のフェノールフタレイン誘導体のジアミン及びトリアミンに対する呈色の強度の比較を示す図である。

【図4】本発明の実施例3-2のフェノールフタレイン誘導体のUVスペクトルの比較を示す図である。

【図5】本発明の実施例3-3のフェノールフタレイン誘導体の蛍光応答性を示す図である。

【図6】本発明の実施例3-4のフェノールフタレイン誘導体のpH応答性の比較を示す図である。

【図7】本発明の実施例4-2のフェノールフタレイン誘導体による呈色と蛍光発光の相関性を示す図である。

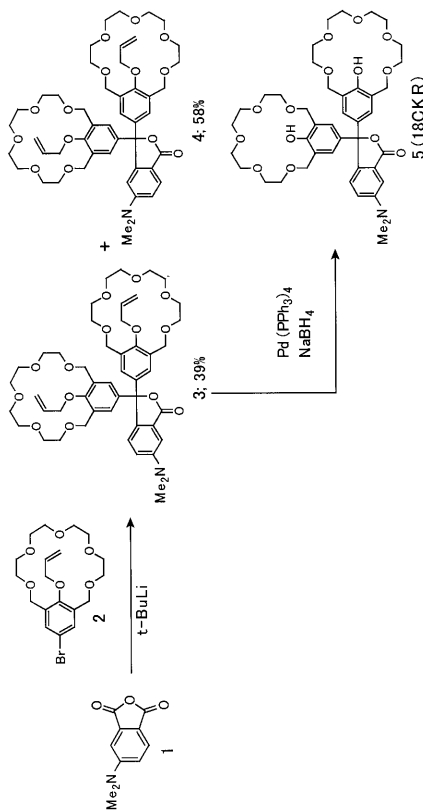
【図8】本発明の実施例4-2のフェノールフタレイン誘導体による呈色挙動および蛍光応答を説明する図である。

【図9】本発明の実施例4-3のフェノールフタレイン誘導体によるスペルミジンおよびスペルミンの特異的認識を示す図である。

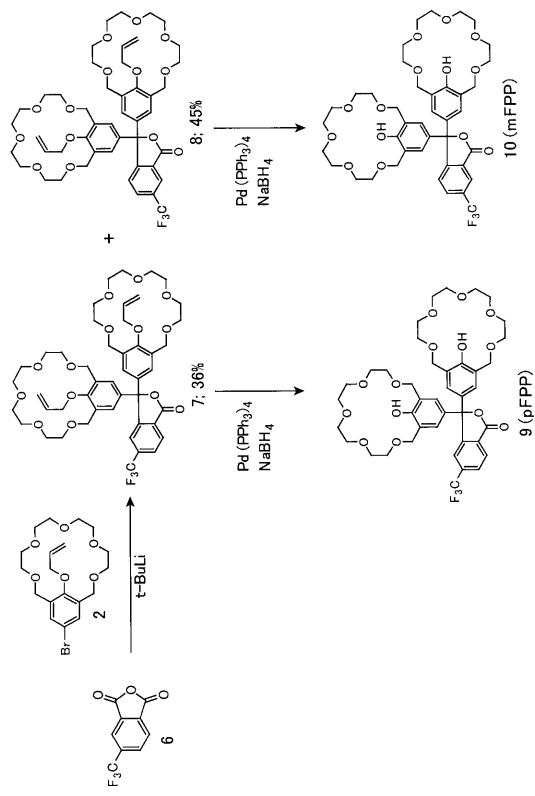
10

20

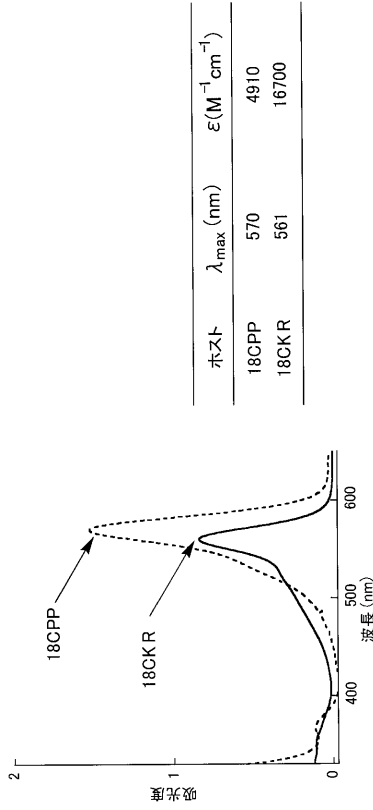
【図1】



【図2】

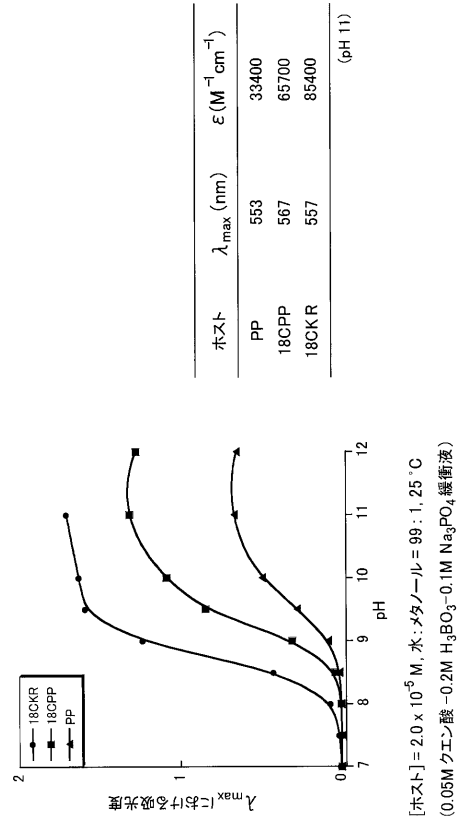


【 図 4 】



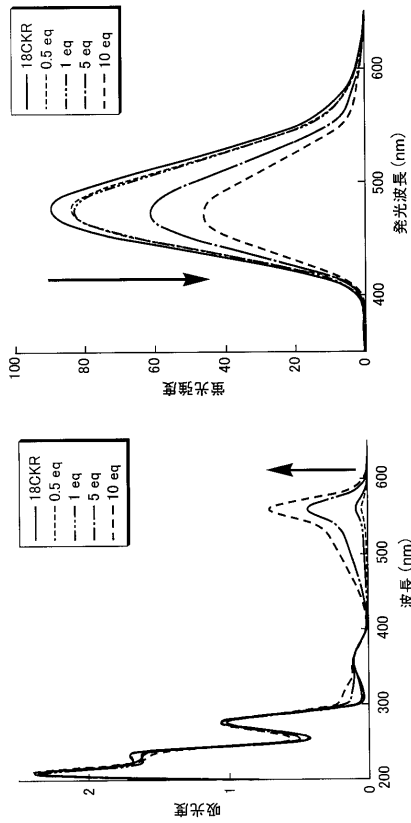
[18CPP] = [スベルミジン] = 3.1×10^{-4} M, メタノール, 0 °C;
 [18CKR] = [スベルミジン] = 5.0×10^{-5} M, メタノール, 0 °C;

【 図 6 】



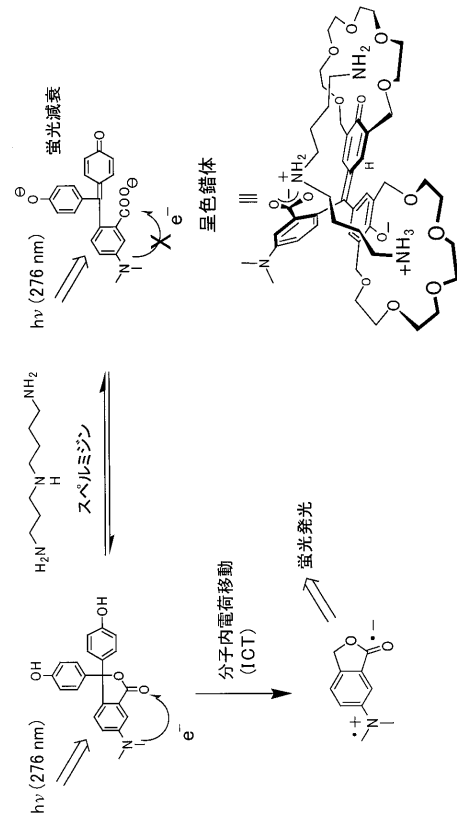
[ホスト] = 2.0×10^{-5} M, 水:メタノール = 99:1, 25 °C
 (0.05M クエン酸-0.2M H_3BO_3 -0.1M Na_3PO_4 緩衝液)

【 図 7 】

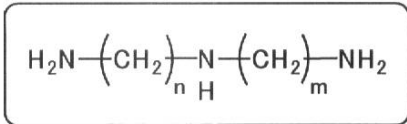
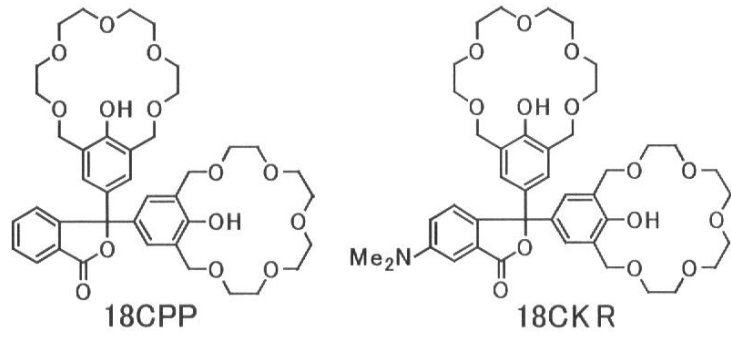


[18CKR] = 5.0×10^{-5} M, メタノール, 25 °C, λ_{ex} = 276 nm

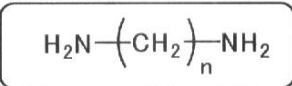
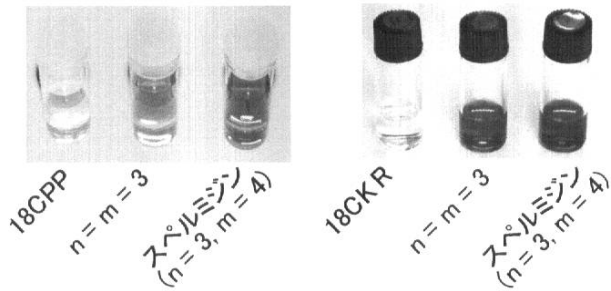
【 図 8 】



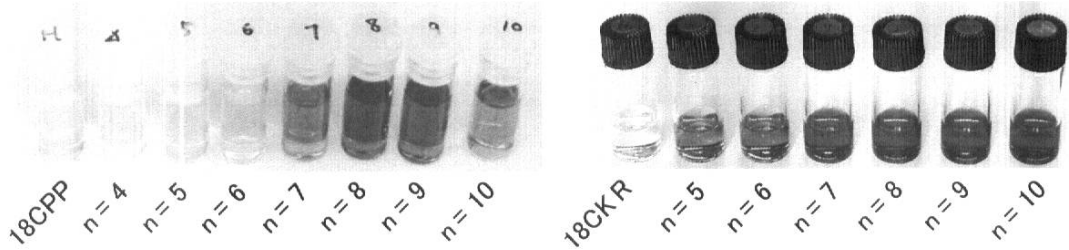
【 図 3 】



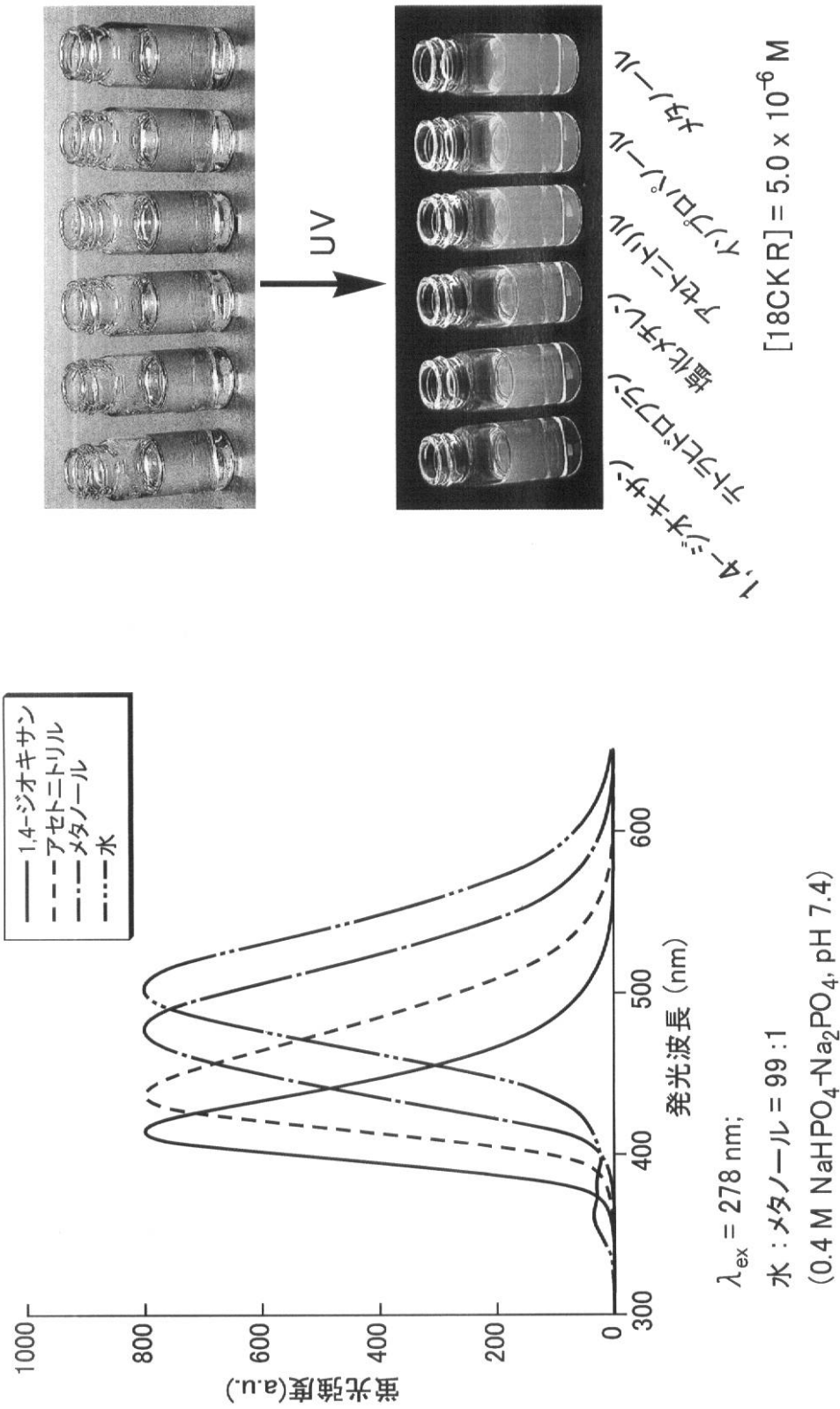
[ホスト] = 1.0×10^{-3} M,
[トリアミン] = 1.0×10^{-3} M, メタノール



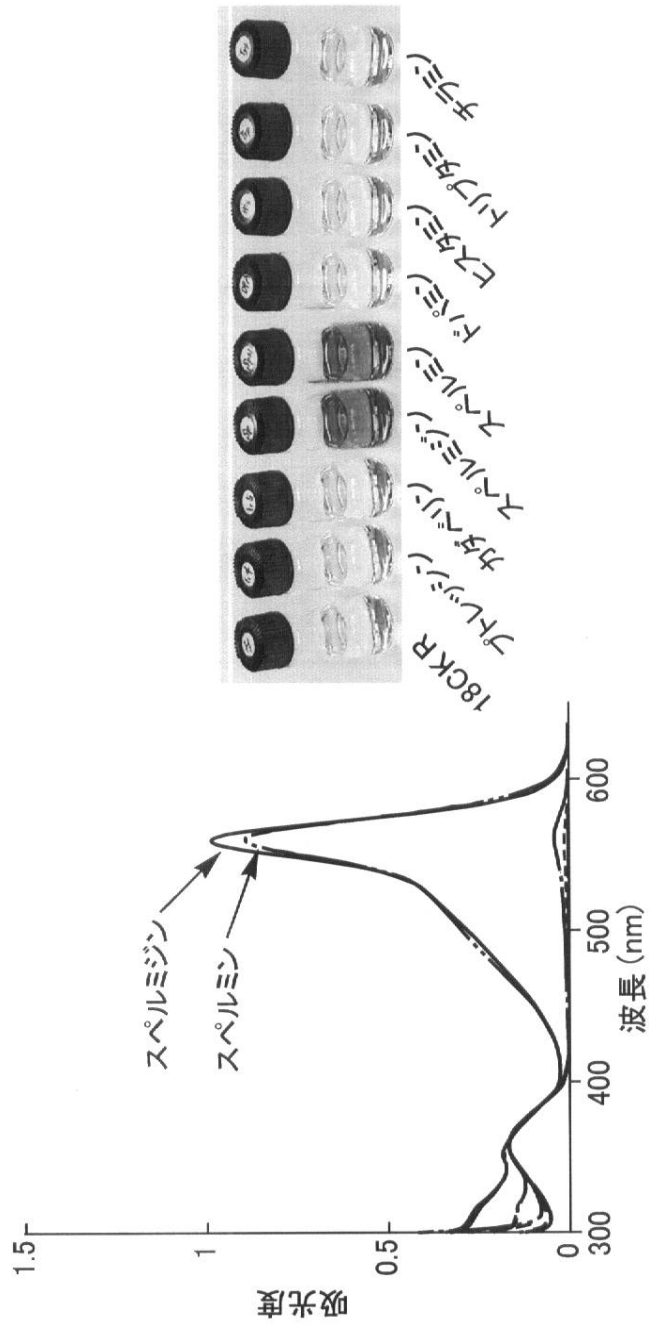
[ホスト] = 2.5×10^{-4} M,
[ジアミン] = 2.5×10^{-3} M, メタノール



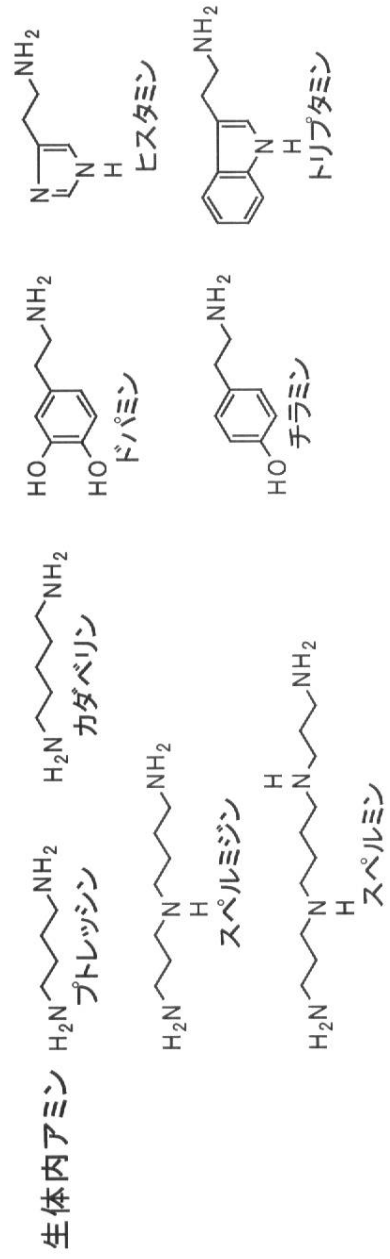
【 図 5 】



【 図 9 】



[18CKR] = 8.0×10^{-5} M, [アミン] = 4.0×10^{-4} M, メタノール, 25 °C



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/52 (2006.01) G 0 1 N 33/483 C
G 0 1 N 33/52 C

(72)発明者 川端 猛夫
京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内

審査官 深谷 良範

(56)参考文献 TSUBAKI,K. et al , Visual Recognition of Triamines by Phenolphthalein Derivatives: Consideration of the Structure of the Colored Complex , Organic Letters , 2 0 0 1年 , Vol.3, No.25 , p.4067-4069
FUJI,K. et al , Visualization of molecular length of , -diamines and temperature by a receptor based on phenolphthalein and crown ether , Journal of the American Chemical Society , 1 9 9 9年 , Vol.121, No.15 , p.3807-3808
TSUBAKI,K. et al , Visual Enantiomeric Recognition of Amino Acid Derivatives in Protic Solvents , Journal of Organic Chemistry , 2 0 0 5年 , Vol.70, No.12 , p.4609-4616
TSUBAKI,K. et al , Visual Enantiomeric Recognition Using Chiral Phenolphthalein Derivatives , Organic Letters , 2 0 0 1年 , Vol.3, No.25 , p.4071-4073
TSUBAKI,K. et al , Sequence-selective visual recognition of nonprotected dipeptides , Organic Letters , 2 0 0 2年 , Vol.4, No.14 , p.2313-2316

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)
C 0 7 D 4 0 7 /
G 0 1 N 2 1 / , 3 1 / , 3 3 /
REGISTRY/CAPLUS (STN)