(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2016-193897
(P2016-193897A)
(43)公開日　平成28年11月17日(2016.11.17)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07D 493/22	(2006.01)	C07D	493/22	CSP	4C071
C09B 11/28	(2006.01)	C09B	11/28	N	
C09K 11/06	(2006.01)	C09K	11/06		

審査請求 未請求　請求項の数 6　ＯＬ　（全 19 頁）

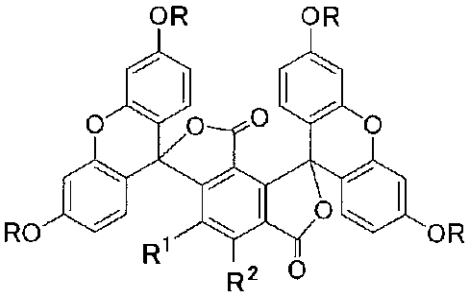
(21)出願番号　特願2016-68416(P2016-68416)
(22)出願日　平成28年3月30日(2016.3.30)
(31)優先権主張番号　特願2015-70516(P2015-70516)
(32)優先日　平成27年3月31日(2015.3.31)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(71)出願人　504205521
国立大学法人　長崎大学
長崎県長崎市文教町１－１４
(74)代理人　100080791
弁理士　高島　一
(74)代理人　100125070
弁理士　士井　京子
(74)代理人　100136629
弁理士　鎌田　光宜
(74)代理人　100121212
弁理士　田村　弥栄子
(74)代理人　100117743
弁理士　村田　美由紀
(74)代理人　100163658
弁理士　小池　順造

最終頁に続く

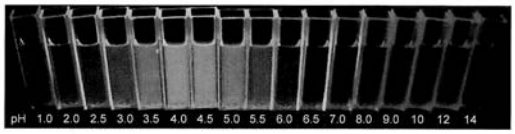
(54)【発明の名称】ｐＨ依存性蛍光化合物

(57)【要約】
【課題】特定のｐＨ領域でのみ強い蛍光を発する化合物およびその前駆体化合物を提供すること。
【解決手段】式（Ｉ’）：

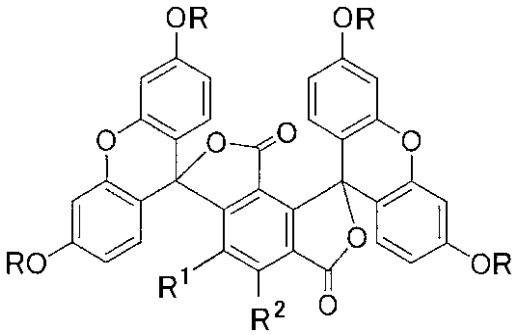


(I')

（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示し、R^1およびR^2は、それぞれ独立して、水素原子、アミノ基またはカルボキシル基を示す。）で表される化合物。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ’）：
【化１】



(I')

（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示し、Ｒ^{1}およびＲ^{2}は、それぞれ独立して、水素原子、アミノ基またはカルボキシル基を示す。）
で表される化合物。
【請求項２】
Ｒが水素原子である、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
Ｒがアセチルである、請求項１に記載の化合物。
【請求項４】
Ｒ^{1}およびＲ^{2}がともに水素原子である、請求項１～３のいずれか１項に記載の化合物。
【請求項５】
Ｒ^{1}がアミノ基であり、かつＲ^{2}が水素原子である、請求項１～３のいずれか１項に記載の化合物。
【請求項６】
Ｒ^{1}がカルボキシル基であり、かつＲ^{2}が水素原子である、請求項１～３のいずれか１項に記載の化合物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、ｐＨ依存的に蛍光を発する化合物およびその前駆体化合物に関する。
【背景技術】
【０００２】
蛍光色素は、感度が良く取り扱いが安全なことから、放射性物質を用いる従来のトレーサー技術に替わる手法として、基礎研究から臨床検査まで広く利用されている。これまでに数多くの蛍光色素が発見されてきたが、これらはその機能から「Ａｌｗａｙｓ　ＯＮ」型（特許文献１）と「ＯＮ／ＯＦＦ　Ｓｗｉｔｃｈ」型（非特許文献１）の２種に大別される。
Ａｌｗａｙｓ　ＯＮ型は、環境の変化に影響され難く常に一定の蛍光を常に発する色素で、核酸・タンパク質・抗体・低分子リガンドなどの標的分子を認識するプローブへ標識することで、標的分子の追跡を可能にする。一方、非特異的結合を起こしたプローブや標的に結合しない遊離型プローブも蛍光を発するため、バックグラウンドシグナルが高くなりやすく、大量投与が必要なｉｎ　ｖｉｖｏでの使用は制限される。
ＯＮ／ＯＦＦ　Ｓｗｉｔｃｈ型は、標的分子の濃度勾配によって発光と消光が調節される色素で、代表的なものとしてＨ$^{+}$イオン（ｐＨ）やＣａ$^{2+}$イオンなどのイオン濃度に感受性の色素が挙げられる。しかし、これらの色素は測定対象の濃度に閾値が存在し、閾値以上と以下で発光／消光が調節されるため、通常の生体成分の様に基準濃度範囲が存在する標的分子の測定はできない。β－ガラクトシダーゼをはじめとする酵素を対象とした

色素もこの型に当てはまるが、蛍光の発光／消光が非可逆性であるため利用が制限される。

【０００３】

また、最近の研究では、がん細胞は正常細胞と比較して酸性であることが分かってきている。これは、がん細胞の代謝が正常細胞より異常に速く、ＡＴＰの産生能の向上、H^+ポンプの発現量の増加と機能更新などに起因すると考えられている。すなわち、通常の細胞や血液のｐＨである７．４付近と、上半身の中心に位置し大容量を占める胃のｐＨである１．５～１．０付近で蛍光を与えず、がん細胞の弱酸性領域でのみ蛍光を発するという、極めて特異な性質を提供する蛍光色素が望まれている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００４】

【特許文献１】特開２０１２－２１９２５８号公報

【非特許文献】

【０００５】

【非特許文献１】Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．２０１４，５３，６０８５－６０８９

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００６】

本願発明は、ｐＨ依存的に蛍光を発する化合物およびその前駆体化合物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】

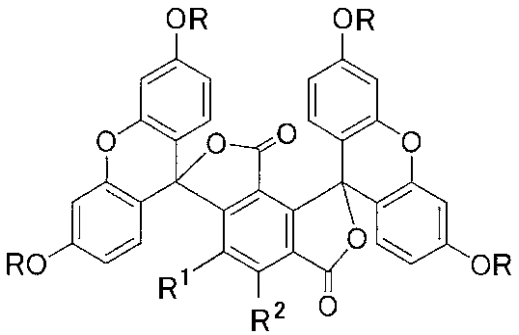
【０００７】

本発明者は上記課題を解決するために鋭意検討した結果、特定のｐＨ領域でのみ強い蛍光を発する化合物およびその前駆体化合物を発見し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は以下の通りである。

［１］式（Ｉ’）：

【０００８】

【化１】



(I')

【０００９】

（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示し、R^1およびR^2は、それぞれ独立して、水素原子、アミノ基またはカルボキシル基を示す。）

で表される化合物（以下、化合物（Ｉ’）と略記することがある。）；

［２］Ｒが水素原子である、［１］に記載の化合物；

［３］Ｒがアセチルである、［１］に記載の化合物；

［４］R^1およびR^2がともに水素原子である、［１］～［３］のいずれか１項に記載の化合物；

［５］R^1がアミノ基であり、かつR^2が水素原子である、［１］～［３］のいずれか１項に記載の化合物；

［６］R^1がカルボキシル基であり、かつR^2が水素原子である、［１］～［３］のいず

れか１項に記載の化合物。

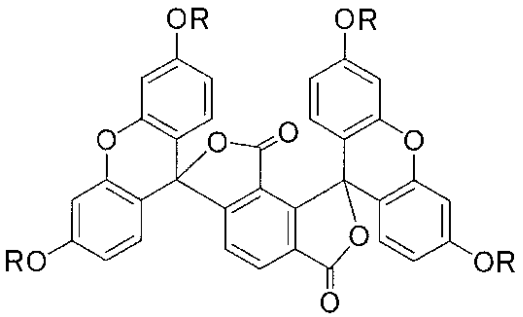
【００１０】

また、本発明は、以下に関する。

［１Ａ］式（Ｉ）：

【００１１】

【化２】



(I)

【００１２】

（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示す。）

で表される化合物（以下、化合物（Ｉ）と略記することがある。）；

［２Ａ］Ｒが水素原子である、［１Ａ］に記載の化合物；

［３Ａ］Ｒがアセチルである、［１Ａ］に記載の化合物。

【発明の効果】

【００１３】

本発明の化合物は、測定対象の濃度が特定領域内にある場合のみ蛍光を発する、第３の型と言える蛍光化合物およびその前駆体化合物として有用である。測定対象はｐＨ（H^+イオン）であり、本発明の化合物を水に溶解させると、ｐＨ　１４の強塩基性～ｐＨ　７の中性にかけて蛍光を発しないが、ｐＨを６以下に下げると徐々に蛍光を発し、ｐＨ　４前後で最大の蛍光を与える（なお、アミノ基を導入した場合、最大蛍光強度を与えるｐＨは中性領域（６．５～７．０）にシフトする。）。ｐＨを更に下げると蛍光は徐々に減少し、ｐＨが２以下になると溶液は無蛍光となる。さらに、本発明の化合物は、弱酸性領域で活性化され、細胞や組織における弱酸性領域と中性領域とを、又は弱酸性領域と強酸性領域とを区別する技術に応用が可能であると考えられる。

【図面の簡単な説明】

【００１４】

【図１】実施例１で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の２μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０～ｐＨ　１２．０までのｐＨ　０．５刻みのデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）に３１５ｎｍの励起光を照射し、発せられた蛍光をデジタルカメラで撮影した結果を示す。

【図２】実施例１で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の１μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、７．０、７．５、８．０、９．０、１０．０およびｐＨ　１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　３．０～ｐＨ　６．５のｐＨ　０．１刻みのデータは５０ｍＭフタル酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）の、励起波長４８８ｎｍおよび蛍光波長５２８ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を示す。

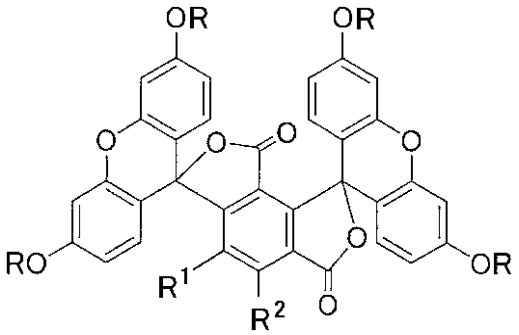
【図３】実施例１で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の１μＭ溶液（溶媒：５０ｍＭフタル酸緩衝液）のｐＨ　４．５での励起・蛍光スペクトルを示す。

【図４】実施例１で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の１μＭ溶液（溶媒：５０ｍＭフタル酸緩衝液）のｐＨと蛍光強度とのグラフを示す。

【図５】実施例２で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）の分子構造を示すＯＲＴＥＰ図である。

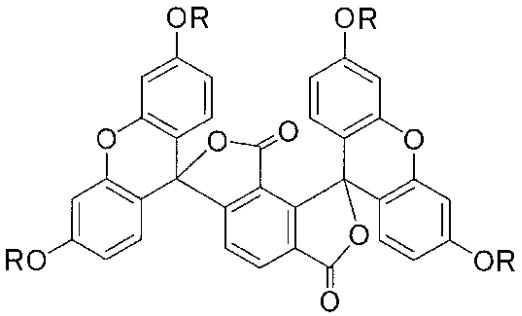
【図６】実施例２で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）を用いた細胞染色を蛍光顕微

鏡で観察した結果を示す。
【図７】実施例２で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）、Ｈｏｅｃｈｓｔ　３３３４２およびＡｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅを用いた細胞の多重染色を共焦点レーザー蛍光顕微鏡で観察した結果を示す。
【図８】実施例２で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）およびＡｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅを用いた細胞の二重染色を倒立型蛍光顕微鏡で観察した結果を示す。
【図９】実施例３で得られた化合物（Ｉ’）（Ｒ＝水素原子、R^1＝アミノ基、R^2＝水素原子）の塩酸塩の５μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、３．０、３．５、４．０、４．５、５．０、５．５、６．０、６．５、７．０、７．５、８．０、８．５、９．０、９．５および１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは０．１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）の、励起波長４８４ｎｍおよび蛍光波長５３４ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を示す。
【図１０】実施例４で得られた化合物（Ｉ’）（Ｒ＝水素原子、R^1＝カルボキシル基、R^2＝水素原子）の１μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、３．０、３．５、４．０、４．５、５．０、５．５、６．０、６．５、７．０、８．０、９．０、１０．０、１１．０および１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは０．１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）の、励起波長４８８ｎｍおよび蛍光波長５２８ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を示す。
【発明を実施するための形態】
【００１５】
以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。
本発明の化合物は、式（Ｉ’）：
【００１６】
【化３】



(I')

【００１７】
（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示し、R^1およびR^2は、それぞれ独立して、水素原子、アミノ基またはカルボキシル基を示す。）
で表される。
また、本発明の化合物は、式（Ｉ）：
【００１８】
【化４】



(I)

【００１９】

（式中、Ｒは、水素原子またはアシル基を示す。）
で表される。

Ｒで示される「アシル基」としては、C_{1-6}アルキル－カルボニル基（例、アセチル、プロパノイル、ブタノイル、２－メチルプロパノイル、ペンタノイル、３－メチルブタノイル、２－メチルブタノイル、２，２－ジメチルプロパノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル）、C_{6-14}アリール－カルボニル基（例、ベンゾイル、１－ナフトイル、２－ナフトイル）、C_{7-16}アラルキル－カルボニル基（例、フェニルアセチル、フェニルプロピオニル）などが挙げられ、C_{1-6}アルキル－カルボニル基（例、アセチル、プロパノイル、ブタノイル、２－メチルプロパノイル、ペンタノイル、３－メチルブタノイル、２－メチルブタノイル、２，２－ジメチルプロパノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル）が好ましく、アセチルがより好ましい。

Ｒとしては、水素原子またはC_{1-6}アルキル－カルボニル基（例、アセチル、プロパノイル、ブタノイル、２－メチルプロパノイル、ペンタノイル、３－メチルブタノイル、２－メチルブタノイル、２，２－ジメチルプロパノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル）が好ましく、水素原子またはアセチルがより好ましい。

R^1およびR^2としては、R^1およびR^2がともに水素原子である態様、R^1がアミノ基であり、かつR^2が水素原子である態様、およびR^1がカルボキシル基であり、かつR^2が水素原子である態様が好ましい。

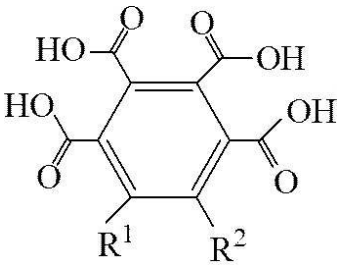
【００２０】

次に、本発明の化合物の製造方法について説明する。

本発明の化合物（Ｉ’）は、出発原料として化合物（１’）

【００２１】

【化５】



(1')

【００２２】

（式中、R^1およびR^2は上記で定義した通りである。）
を用い、以下で説明する本発明の化合物（Ｉ）の製造方法またはこれに準ずる方法と同様にして、もしくは実施例に記載の方法で製造することができる。

【００２３】

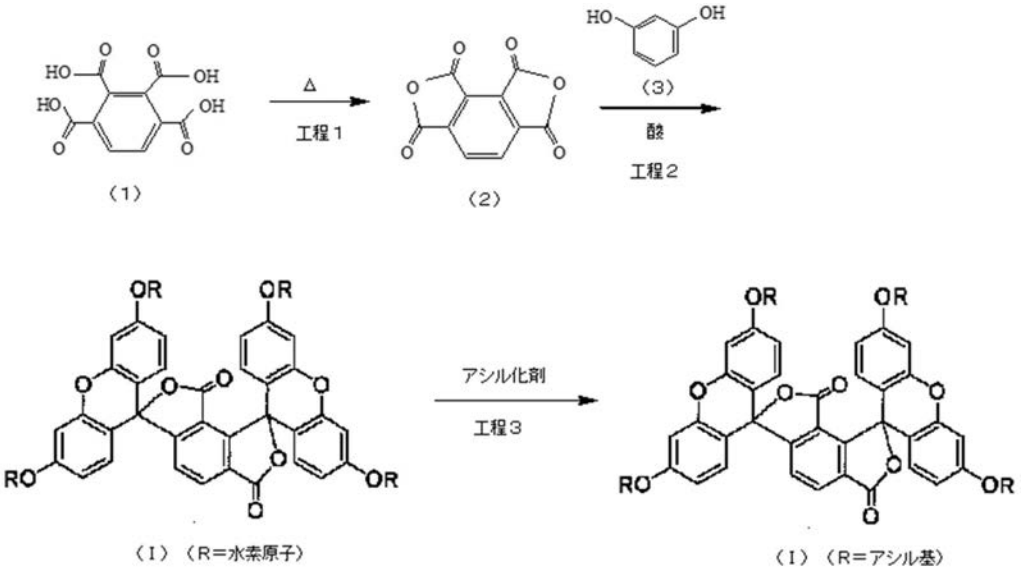
なお、R^1および／またはR^2がアミノ基である化合物（Ｉ’）は、アミノ基が当該分野で公知の保護基で保護された化合物（１’）を用い、得られたアミノ基が保護された化合物（Ｉ’）を自体公知の方法により脱保護することにより、あるいは、化合物（１’）の前駆体としてR^1および／またはR^2がニトロ基である化合物を用い、得られたR^1および／またはR^2がニトロ基である化合物（Ｉ’）を自体公知の方法により還元することにより、製造することもできる。

【００２４】

また、本発明の化合物（Ｉ）は、以下のスキームに示す方法またはこれに準ずる方法もしくは実施例に記載の方法で製造することができる。

【００２５】

【化６】



【００２６】

（工程１）

１，２，３，４－ベンゼンテトラカルボン酸（メロファン酸）（１）を、必要に応じて反応に不活性な溶媒中、あるいは粉末の状態で加熱処理し、酸無水物（２）を得る工程である。

１，２，３，４－ベンゼンテトラカルボン酸（メロファン酸）（１）は市販品にて入手でき、また、自体公知の方法またはこれらに準じた方法に従って製造することもできる。

該「溶媒」としては、例えば、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、１，２－ジメトキシエタンなどのエーテル類、ベンゼン、トルエン、シクロヘキサン、ヘキサンなどの炭化水素類、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミド、１－メチル－２－ピロリドンなどのアミド類、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、１，２－ジクロロエタンなどのハロゲン化炭化水素類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ルチジン、キノリンなどの含窒素芳香族炭化水素類、無水酢酸などの酸無水物、および水などの溶媒またはこれらの混合溶媒などが好ましい。

反応温度は、溶媒の種類によって異なるが、通常、０～１８０℃、好ましくは１４０～１５０℃であり、反応時間は、通常、１～４８時間、好ましくは６～２４時間である。

【００２７】

（工程２）

酸無水物（２）とレゾルシノール（３）とを酸存在下、必要に応じて反応に不活性な溶媒中、反応させ、化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）を得る工程である。

レゾルシノール（３）の使用量は、酸無水物（２）に対し、通常２～８当量、好ましくは３～５当量である。

該「酸」としては、例えば、鉱酸類（塩酸、臭化水素酸、硫酸など）、カルボン酸類（酢酸、トリフルオロ酢酸、トリクロロ酢酸など）、スルホン酸類（メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸など）、ルイス酸（塩化アルミニウム、塩化スズ、臭化亜鉛など）などが用いられ、必要に応じ２種類以上を混合しても良い。

該「酸」の使用量は、酸無水物（２）に対し、通常４～８００当量、好ましくは４０～８０当量であり、溶媒として用いることもできる。

該「溶媒」としては、例えば、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、１，２－ジメトキシエタンなどのエーテル類、ベンゼン、トルエン、シクロヘキサン、ヘキサンなどの炭化水素類、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミド、１－メチル－２－ピロリドンなどのアミド類、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、１，２－ジクロロエタンなどのハロゲン化炭化水素類、アセトニトリル、プロピ

オニトリルなどのニトリル類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ルチジン、キノリンなどの含窒素芳香族炭化水素類および水などの溶媒またはこれらの混合溶媒などが好ましい。

反応温度は、酸や溶媒の種類によって異なるが、通常、０～１２０℃、好ましくは８０～１００℃であり、反応時間は、通常、１～１２０時間、好ましくは２４～７２時間である。

【００２８】

（工程３）

化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の水酸基を、必要に応じて反応に不活性な溶媒中、アシル化剤を用いてアシル化し、化合物（Ｉ）（Ｒ＝アシル基）を得る工程である。

該「アシル化剤」としては、例えば、カルボン酸ハロゲン化物、カルボン酸無水物などが用いられる。

該「アシル化剤」の使用量は、化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）に対し、通常４～８００当量、好ましくは４～４０当量であり、溶媒として用いることもできる。

該「溶媒」としては、例えば、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、１，２－ジメトキシエタンなどのエーテル類、ベンゼン、トルエン、シクロヘキサン、ヘキサンなどの炭化水素類、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミド、１－メチル－２－ピロリドンなどのアミド類、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、１，２－ジクロロエタンなどのハロゲン化炭化水素類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ルチジン、キノリンなどの含窒素芳香族炭化水素類および水などの溶媒またはこれらの混合溶媒などが好ましい。

反応温度は、アシル化剤や溶媒の種類によって異なるが、通常、０～１８０℃、好ましくは２０～１４０℃であり、反応時間は、通常、１～２４時間、好ましくは１～３時間である。

【００２９】

本発明の化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）は、弱酸性領域（ｐＨ　３．０～６．５）でのみ強い蛍光を発し、強酸性領域（ｐＨ　１．０～２．５）および中性～強塩基性領域（ｐＨ　７．０～１４．０）では微弱な蛍光しか発しない。

また、本発明の化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝アシル基）は、化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の前駆体化合物であり、それ自体は蛍光を発せず、脱アシル化されて化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）に変換されることにより、上記のように弱酸性領域でのみ強い蛍光を発するようになる。

【００３０】

本発明の化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）は、その水酸基をアシル化することによって、すなわち、化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝アシル基）に変換することによって、脂溶性が向上し、細胞膜を透過して細胞内に取り込まれ易くなる。細胞内に取り込まれた化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝アシル基）は、細胞質に存在する酵素（エステラーゼ）によって脱アシル化されて化合物（Ｉ’）および（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）に変換され、弱酸性領域で強い蛍光を発する。

【実施例】

【００３１】

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

なお、各種測定には、以下の測定機器を用いた。

超伝導核磁気共鳴装置　Ｖａｒｉａｎ製　ＵＮＩＴＹｐｌｕｓ５００

質量分析装置　ＪＥＯＬ製　ＪＭＳ－７００

高輝度Ｘ線単結晶構造解析装置　ＲＩＧＡＫＵ製　Ｖａｒｉｍａｘ　Ｓａｔｕｒｎ／１２００Ｓ

紫外可視分光光度計　ＪＡＳＣＯ製　Ｖ－６３０ＢＩＯ

分光蛍光光度計　ＪＡＳＣＯ製　ＦＰ－８２００
倒立型蛍光顕微鏡　Ｌｅｉｃａ製　ＤＭ　ＩＲＢ
共焦点レーザー顕微鏡　Ｃａｒｌ　Ｚｅｉｓｓ製　ＬＳＭ７１０

【００３２】

実施例１

（１）化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の合成

メロファン酸４．２ｇをテトラヒドロフラン１００ｍＬに溶解し、氷浴につけながら減圧下溶媒を留去した。得られた粉末を１４０℃にて２４時間加熱した。減圧下室温に戻した後、レゾルシノール７．３ｇとメタンスルホン酸６６ｍＬを加え、８０℃で３日間撹拌した。反応液を室温に戻した後、氷冷した水７００ｍＬに撹拌しながら徐々に加えた。析出した固体をろ取し、水で洗浄後、凍結乾燥して濃赤色粉末１２．４ｇを得た。この粉末を少量のメタノールに懸濁させ、撹拌しながら加熱還流した。室温に戻して粉末をろ取した後、得られた粉末を更にメタノールで再結晶し、目的化合物７．２ｇ（収率７４％）を橙色粉末として得た。以下合成した化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）の分析結果を示す。

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.34 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.63 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 6.82 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 6.695 (d, 2H, J = 2.4 Hz), 6.687 (d, 2H, J = 2.4 Hz), 6.59 (dd, 2H, J = 2.4, 8.6 Hz), 6.57 (dd, 2H, J = 2.4, 8.6 Hz), 6.43 (d, 2H, J = 8.6 Hz); ^{13}C-NMR (126 MHz, DMSO-d6) δ 167.3, 164.5, 160.0, 159.7, 152.0, 151.9, 149.7, 132.0, 128.8, 128.6, 127.0, 121.2, 112.9, 112.6, 108.6, 102.5, 102.3; FAB-HRMS (m/z) calcd for $C_{34}H_{19}O_{10}$: 587.0973; found: 587.0981 $[M+H]^{+}$

【００３３】

（２）蛍光特性

上記（１）で得られた化合物（Ｉ）の蛍光特性を評価した。

化合物（Ｉ）の２μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０～ｐＨ　１２．０までのｐＨ　０．５刻みのデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）に３１５ｎｍの励起光を照射し、発せられた蛍光をデジタルカメラで撮影した。その結果を図１に示す。図１から、強酸性領域および中性～強塩基性領域では蛍光を発せず、弱酸性領域でのみ蛍光を発したことが分かる。

また、化合物（Ｉ）の１μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、７．０、７．５、８．０、９．０、１０．０およびｐＨ　１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　３．０～ｐＨ　６．５のｐＨ　０．１刻みのデータは５０ｍＭフタル酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）について、励起波長４８８ｎｍおよび蛍光波長５２８ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を図２に示す。図２から、最大蛍光強度はｐＨ　４．２～４．５で得られたことが分かる。

また、化合物（Ｉ）の１μＭ溶液（溶媒：５０ｍＭフタル酸緩衝液）のｐＨ　４．５での励起・蛍光スペクトルを図３に示す。図３から、吸収極大は４６０ｎｍおよび４８４ｎｍであることが分かる。これらの吸収極大がＡｒレーザーの励起光（４５８ｎｍおよび４８８ｎｍ）にほぼ一致することから、化合物（Ｉ）は、レーザー蛍光顕微鏡を用いた細胞・組織の蛍光観察に最適であると考えられる。

さらに、化合物（Ｉ）の１μＭ溶液（溶媒：５０ｍＭフタル酸緩衝液）のｐＨと蛍光強度とのグラフを図４に示す。図４から、ｐＨ　４．５～６．０の間で、ｐＨ変化と蛍光強度との間に良好な直線関係が得られたことが分かる。このことから、化合物（Ｉ）は、細胞内ｐＨセンサーとして応用可能であると考えられる。

【００３４】

実施例２

（１）化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）の合成

化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素）１．１７ｇと無水酢酸８ｍＬの混合物を１００℃で２０時間撹拌した。反応液を室温に戻した後、ジクロロメタン５０ｍＬと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液２００ｍＬの混合液に激しく撹拌しながら注いだ。ガスの発生が消失した時点で分液ロートに移し、水層を除去した後、有機層を水で２回、飽和食塩水で１回洗浄した。得

られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去した後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ジクロロメタン／酢酸エチル＝１９５／５～９５／５）にて精製した。目的物が含まれるフラクションを回収し、減圧下溶媒を少量まで留去し、酢酸エチルを加えて氷冷した。析出した粉末をろ取し、氷冷した酢酸エチルで洗浄し、減圧乾燥して目的化合物１．１４ｇ（収率７６％）を白色粉末として得た。以下合成した化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）の分析結果を示す。

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.48 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.91 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.32 (d, 2H, J = 2.4 Hz), 7.31 (d, 2H, J = 2.4 Hz), 7.24 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 6.99 (dd, 2H, J = 2.4, 8.7 Hz), 6.97 (dd, 2H, J = 2.4, 8.7 Hz), 6.79 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 2.29 (s, 6H), 2.28 (s, 6H); ^{13}C-NMR (126 MHz, DMSO-d6) δ 168.7, 166.8, 164.3, 158.4, 152.4, 152.2, 151.0, 150.8, 149.0, 132.9, 129.0, 128.8, 127.7, 120.7, 118.8, 118.3, 115.0, 114.8, 110.7, 110.3, 82.8, 81.1, 20.9, 20.8; FAB-HRMS (m/z) calcd for $C_{42}H_{27}O_{14}$: 755.1395; found: 755.1400 $[M+H]^{+}$

【００３５】

（２）分子構造

上記（１）で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）の分子構造を、単結晶Ｘ線構造解析により決定した。化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）・$CH_3CO_2C_2H_5$の結晶学的データ、回折Ｘ線強度測定データおよび精密構造解析データを表１～３に示す。

【００３６】

【表１】

Crystal Data		
Empirical Formula		$C_{46}H_{34}O_{16}$
Formula Weight		842.76
Crystal Color, Habit		colorless, prism
Crystal Dimensions		0.100 X 0.080 X 0.030 mm
Crystal System		monoclinic
Lattice Type		Primitive
Lattice Parameters	a	12.526(3) Å
	b	27.615(6) Å
	c	11.548(3) Å
	β	101.679(3)°
	V	3912(2) Å^3
Space Group		$P2_1/c$ (#14)
Z value		4
D_{calc}		1.431 g/cm^3
F_{000}		1752.00
μ(MoKα)		1.092 cm^{-1}

【００３７】

【表２】

Intensity Measurements		
Diffractometer		Saturn724
Radiation		MoKα (λ = 0.71075 Å) multi-layer mirror monochromated
Voltage, Current		50kV, 24mA
Temperature		−179.8°C
Detector Aperture		70 x 70 mm
Data Images		720 exposures
ω oscillation Range		−110.0 – 70.0°
Exposure Rate		16.0 sec./°
Detector Swing Angle		−20.12°
ω oscillation Range		−110.0 – 70.0°
Exposure Rate		16.0 sec./°
Detector Swing Angle		−20.12°
Detector Position		44.97 mm
Pixel Size		0.141 mm
$2\theta_{max}$		55.0°
No. of Reflections Measured	Total	32344
	Unique (R_{int})	8918 (0.0679)
Corrections (trans. factors)		Lorentz-polarization Absorption (0.899 – 0.997)

【００３８】

【表３】

Structure Solution and Refinement	
Structure Solution	Direct Methods
Refinement	Full-matrix least-squares on F^2
Function Minimized	$\Sigma w (Fo^2-Fc^2)^2$
Least Squares Weights	$w = 1/[\sigma^2(Fo^2)+(0.0923 \cdot P)^2+2.0540 \cdot P]$ where $P = (Max(Fo^2,0) + 2Fc^2)/3$
$2\theta_{max}$ cutoff	55.0°
Anomalous Dispersion	All non-hydrogen atoms
No. Observations (All reflections)	8918
No. Variables	559
Reflection/Parameter Ratio	15.95
Residuals: R1 (I>2.00σ(I))	0.0821
Residuals: R (All reflections)	0.1301
Residuals: wR2 (All reflections)	0.2138
Goodness of Fit Indicator	1.089
Max Shift/Error in Final Cycle	0.000
Maximum peak in Final Diff. Map	$0.84e^-/Å^3$
Minimum peak in Final Diff. Map	$-0.46e^-/Å^3$

【００３９】

また、化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）の分子構造を、図５のＯＲＴＥＰ図に示す。図５から、２つのキサンテン骨格の結合位置がメタ位であることが分かる。

【００４０】

（３）細胞染色

上記（１）で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）を用いて細胞染色を行った。

細胞培養用ディッシュ（直径３５ｍｍ）にＨｅＬａ細胞を播種し、８９％（ｖ／ｖ）ダルベッコ改変イーグル培地と１０％（ｖ／ｖ）ウシ胎児血清と１％（ｖ／ｖ）ペニシリン－ストレプトマイシン－アムホテリシンＢ混合溶液から構成される細胞培養用培地（以下、細胞培養液）２ｍＬ中にて、５％CO_2雰囲気下３７℃で３～４日間培養した。サブコンフレント状態のＨｅＬａ細胞をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄した後、５μＭの化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）を含む２ｍＬの細胞培養液を添加し、５％CO_2雰囲気下３７℃で２４時間培養した後、倒立型蛍光顕微鏡でブルーフィルターを用いて観察した。

染色した細胞を蛍光顕微鏡で観察した結果を図６に示す。細胞膜を透過した化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）は、細胞質に存在するエステラーゼによって脱アセチル化され、化合物（Ｉ）（Ｒ＝水素原子）に変換される。ｐＨが中性（～７．４）である細胞質中では蛍光が観察されず、酸性オルガネラであるリソソーム（ｐＨ　５前後）中でのみ、強い蛍光が観察された。

また、上記（１）で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）を用いて細胞の多重染色を行った。

ガラスボトムディッシュ（直径３５ｍｍ）にＨｅＬａ細胞を播種し、細胞培養液２ｍＬ中にて、５％CO_2雰囲気下３７℃で３～４日間培養した。サブコンフレント状態のＨｅＬａ細胞をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄した後、１μＭの化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）、１μＭのＨｏｅｃｈｓｔ　３３３４２および１μＭのＡｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅを含む２ｍＬの細胞培養液を添加し、５％CO_2雰囲気下３７℃で２４時間培養した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いてアルゴンレーザー（４０５ｎｍ、４８８ｎｍおよび５４３ｎｍ）で励起して観察した。

細胞核を青色に染色するＨｏｅｃｈｓｔ　３３３４２（１μＭジメチルスルホキシド溶液）、リソソームをオレンジ色に染色するＡｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅ（１μＭ水溶液）および化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）（１μＭジメチルスルホキシド溶液）をＨｅｌａ細胞に添加して、３７℃で２４時間培養した後、共焦点レーザー蛍光顕微鏡（波長４０５ｎｍ、４８８ｎｍおよび５４３ｎｍ）で観察した。その結果を図７に示す。図７から、化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）は、リソソーム中で強い蛍光を発し、細胞の多重染色に応用可能であることが分かる。

また、上記（１）で得られた化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）を用いて強酸性条件下での細胞染色を行った。

ガラスボトムディッシュ（直径３５ｍｍ）にＨｅＬａ細胞を播種し、細胞培養液２ｍＬ中にて、５％CO_2雰囲気下３７℃で３～４日間培養した。サブコンフレント状態のＨｅＬａ細胞をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄した後、２５μＭの化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）および５μＭのＡｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅを含む２ｍＬの細胞培養液を添加し、５％CO_2雰囲気下３７℃で２４時間培養した。倒立型蛍光顕微鏡でブルーフィルターおよびグリーンフィルターを用いて画像を取得した後、１ｍＬの０．２Ｍ塩酸をガラスボトムディッシュに添加し、直ちにブルーフィルターおよびグリーンフィルターを用いて観察した。

その結果を図８に示す。図８から、化合物（Ｉ）（Ｒ＝アセチル）は、強酸の影響でＨｅＬａ細胞がディッシュから剥離し始めているものの、細胞中のリソソーム由来の蛍光は維持されており、強酸性条件下でも細胞染色が可能であることが示された。一方、Ａｃｉｄｉｆｌｕｏｒ　Ｏｒａｎｇｅは、中性付近からｐＨ　３付近まで蛍光強度が増加しｐＨ　３以下で最大蛍光を保つという一般的な酸感受性色素としての性質を示すことから、強酸性条件下では細胞培養液に溶解した色素が発光し細胞が観察できない。

【００４１】

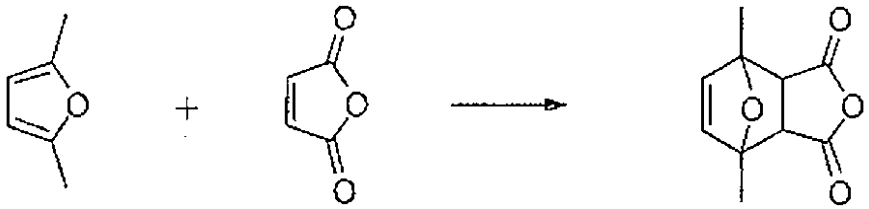
実施例３

（１）化合物（Ｉ’）（Ｒ＝水素原子、R^1＝アミノ基、R^2＝水素原子）の塩酸塩の合成

（Ａ）１，４－ジメチル－７－オキサビシクロ［２，２，１］ヘプター５－エン－２，３－ジカルボン酸無水物（１）の合成：

【００４２】

【化７】



1

【００４３】

２，５－ジメチルフラン（１２．７ｇ）のジエチルエーテル（１３ｍＬ）溶液に、攪拌しながら無水マレイン酸（１２．９ｇ）を窒素雰囲気下で加えた。無水マレイン酸が完全に溶解した後、反応液をさらに３時間攪拌した。反応液を氷浴で冷却し、析出した沈殿物をろ取し、氷冷したジエチルエーテルで洗浄し、真空乾燥して、目的化合物１を白色～薄黄色の針状結晶（１５．３ｇ、収率６６％）として得た。

【００４４】

（Ｂ）３，６－ジメチルフタル酸無水物（２）の合成：

【００４５】

【化８】

1 2

【００４６】

氷冷した濃硫酸（５６．４ｍｌ）に、濃硫酸の温度が１０℃を超えないように、化合物１（１５．３ｇ）を少量ずつ攪拌しながら溶解させた。化合物１を完全に添加し終えた後、反応液をさらに２時間氷冷下で攪拌した。反応液を３００ｇの氷に注ぎ、析出した沈殿物をろ取し、氷冷した水で洗浄し、凍結乾燥して、目的化合物２を薄黄色の粉末（７．７ｇ、収率３３％）として得た。

【００４７】

（Ｃ）３，６－ジメチル－４－ニトロフタル酸無水物（３）の合成：

【００４８】

【化９】

2 3

【００４９】

氷冷した化合物２（７．７ｇ）の濃硫酸（４０ｍＬ）溶液に、濃硫酸の温度が１０℃を超えないように、発煙硝酸（７．４ｍＬ）を滴下した。反応液を１５０ｇの氷に注ぎ、析出した沈殿物をろ取し、氷冷した水で洗浄し、凍結乾燥して、目的化合物３を薄黄色の粉末（８．６ｇ、収率８９％）として得た。

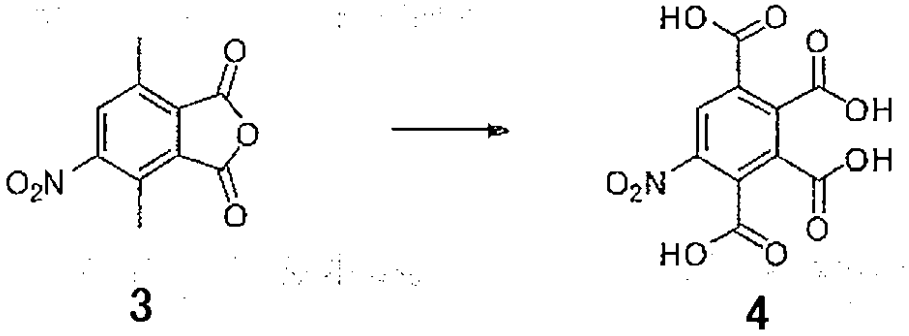
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (s, 1H), 2.85 (s, 3H), 2.79 (s, 3H)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{10}H_8NO_5$: 222.0397; found: 222.0402 $[M+H]^+$

【００５０】

（Ｄ）ニトロメロファン酸（４）の合成：

【００５１】

【化１０】



【００５２】

過マンガン酸カリウム（６６．９ｇ）の水（２５０ｍＬ）溶液を８０℃に加温し、撹拌しながら化合物３を少量ずつ添加し、８０℃にて反応を継続した。１日後、過マンガン酸カリウム（１１．２ｇ）を添加し、水を全量が４００ｍＬとなるまで追加し、８０℃にて反応を継続した。１日後、さらに過マンガン酸カリウム（１１．２ｇ）を添加し、水を全量が４００ｍＬとなるまで追加し、８０℃にて反応を継続した。反応開始から３日後、反応液を冷却し、メタノール（２０ｍＬ）を添加して３時間撹拌した。析出した黒色沈殿をろ去し、ろ液に発泡が止まるまで濃塩酸を添加し、１時間加熱還流した。水を減圧下留去した後、凍結乾燥した。残渣を１００ｍＬの酢酸と共に加熱還流し、熱いうちに上清を注意深く分離した。この抽出操作を３回繰り返した。上清を合わせて減圧下溶媒を留去し、真空乾燥した後、残渣を５０ｍＬのテトラヒドロフランで２回抽出した。抽出液を合わせて減圧下溶媒を留去し、真空乾燥した。残渣にジクロロメタンを加え、懸濁液を室温で１日撹拌し、沈殿物をろ取し、ジクロロメタンで洗浄し、真空乾燥して、目的化合物４を白色粉末（１０．２ｇ、収率４８％）として得た。

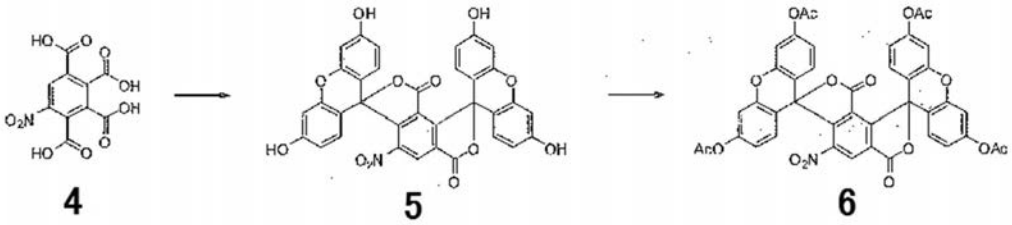
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.46 (s)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{10}H_4NO_{10}$: 297.9841; found: 297.9839 $[M-H]^-$

【００５３】

（Ｅ）化合物６の合成：

【００５４】

【化１１】



【００５５】

メタンスルホン酸（２６ｍＬ）に化合物４（３．０ｇ）とレゾルシノール（４．４ｇ）を加え、９０℃にて２日間撹拌した。反応液を２５０ｍＬの冷水に注ぎ、生じた沈殿をろ取し、冷水で洗浄し、凍結乾燥して、化合物５の粗生成物をオレンジ色粉末（１．７４ｇ）として得た。これを無水酢酸（２０ｍＬ）と共に１日加熱還流した。反応液の溶媒を減圧下留去した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて２回精製し（１回目；ジクロロメタン／酢酸エチル＝９８／２→９５／５、２回目；ジクロロメタン／酢酸エチル＝９８／２→９６／４）、目的化合物６を薄黄色の粉末（１．７１ｇ、収率２１％）として得た。

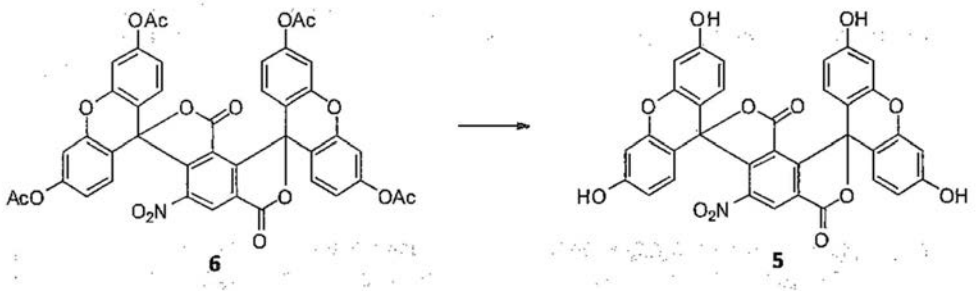
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.23 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 7.02 (dd, J = 2.4, 8.8 Hz, 2H), 6.95 (dd, J = 2.4, 8.8 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 2.29 (s, 6H), 2.27 (s, 6H)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{42}H_{26}NO_{16}$: 800.1246; found: 800.1242 $[M+H]^+$

【００５６】

（Ｆ）化合物５の合成：

【００５７】

【化１２】



【００５８】

化合物６（５６８ｍｇ）のメタノール（１４ｍＬ）懸濁液に１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液（１４ｍＬ）を添加し、５０℃にて１日撹拌した。反応液のメタノール分画のみをエバポレーターにて留去し、残りの溶液に５Ｍ塩酸を添加した。生じた沈殿物を氷冷してろ取し、氷冷した水で洗浄し、凍結乾燥して、目的化合物５をオレンジ色粉末（４４０ｍｇ、収率９８％）として得た。

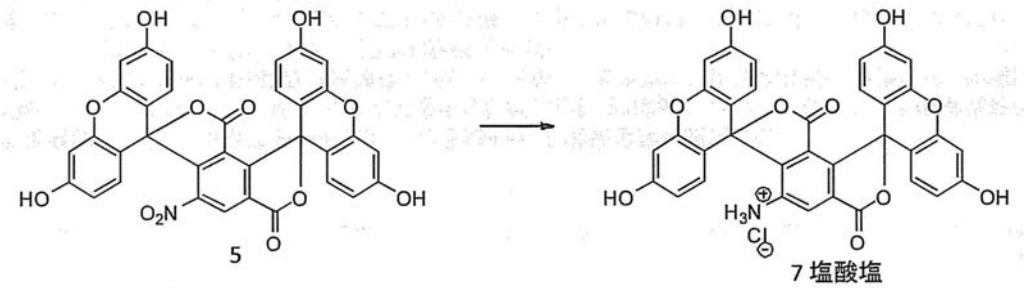
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.19 (s, 2H), 10.18 (s, 2H), 9.03 (s, 1H), 6.99 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.69 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 6.67 (s, 2H), 6.57 (dd, J = 2.4, 8.8 Hz, 2H), 6.49 (s, 4H)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{34}H_{18}NO_{12}$: 632.0824; found: 632.0814 $[M+H]^+$

【００５９】

（Ｇ）化合物７の塩酸塩の合成：

【００６０】

【化１３】

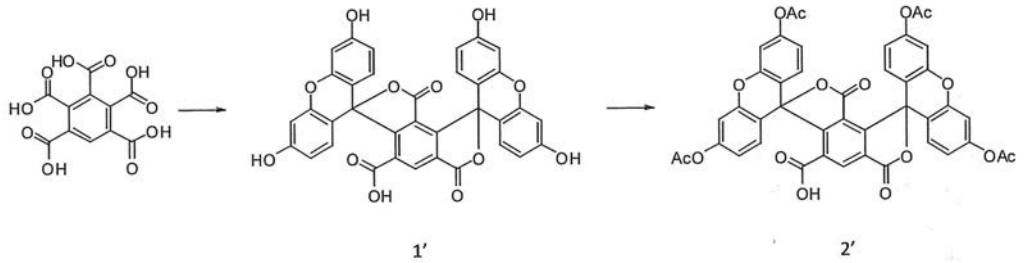


【００６１】

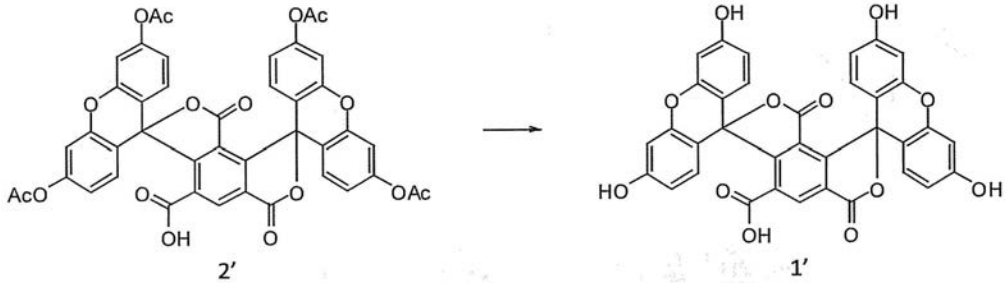
硫化ナトリウム９水和物（２．０ｇ）の水（３０ｍＬ）溶液に化合物５（９５０ｍｇ）、水硫化ナトリウム（８４１ｍｇ）を順に添加し、全ての試薬が溶解するまで室温にて撹拌し、その後１００℃にて１日撹拌した。水硫化ナトリウム（１２０ｍｇ）を追加し、１００℃にて更に１日撹拌した。反応液に５Ｍ塩酸を添加し、３時間加熱還流した。反応液の溶媒を減圧下留去し、凍結乾燥した。残渣に少量のメタノールを加え撹拌しながら氷冷し、不溶物をろ去し、更に不溶物を冷メタノールで洗浄した。ろ液を合わせ、減圧下溶媒を留去し、真空乾燥し、目的化合物７の塩酸塩を濃赤色粉末（１．０ｇ、定量的）として得た。

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.46 (s, 1H), 6.86 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.75 (bs, 2H), 6.69 (bs, 2H), 6.62 (bs, 6H)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{34}H_{20}NO_{10}$: 602.1082; found: 602.1092 $[M+H]^+$

【００６２】
（２）蛍光特性
上記（１）で得られた化合物（Ｉ’）の蛍光特性を評価した。
化合物（Ｉ’）の塩酸塩の５μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、３．０、３．５、４．０、４．５、５．０、５．５、６．０、６．５、７．０、７．５、８．０、８．５、９．０、９．５および１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは０．１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）について、励起波長４８４ｎｍおよび蛍光波長５３４ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を図９に示す。図９から、最大蛍光強度はｐＨ　６．５～７．０で得られたことが分かる。
【００６３】
実施例４
（１）化合物（Ｉ’）（Ｒ＝水素原子、R^1＝カルボキシル基、R^2＝水素原子）の合成
（Ａ）化合物２’の合成：
【００６４】
【化１４】



【００６５】
ベンゼンペンタカルボン酸（８９４ｍｇ）をテトラヒドロフランに懸濁させ、超音波にて粉末を粉砕した後に、減圧下溶媒を留去した。得られた粉末を１４０℃にて２４時間加熱した。減圧下室温に戻した後、レゾルシノール（１．３２ｇ）とメタンスルホン酸（１０ｍＬ）を加え、９０℃で２日間撹拌した。反応液を室温に戻した後、氷冷した水（１００ｍＬ）に撹拌しながら徐々に加えた。析出した固体をろ取し、水で洗浄後、凍結乾燥して濃赤色粉末（１．８８ｇ）を得た。これを無水酢酸（１４ｍＬ）と共に１日加熱還流した。反応液の溶媒を減圧下留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて３回精製し（１回目および２回目；ジクロロメタン／メタノール＝９５／５→９３／７→９０／１０、３回目；酢酸エチル／メタノール＝１００／０→９５／５→９０／１０）、目的化合物２’を薄黄色粉末（１．６ｇ、収率６７％）として得た。
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.81 (s, 1H), 7.29 (s, 2H), 7.26 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.14 (s, 2H), 6.98 (d, J=8.3 Hz, 2H), 6.81 (d, J=8.3 Hz, 2H), 6.61 (d, J=8.3 Hz, 2H), 2.29 (s, 6H), 2.26 (s, 6H)
FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{43}H_{27}O_{16}$: 799.1294; found: 799.1302 $[M+H]^+$
【００６６】
（Ｂ）化合物１’の合成：
【００６７】
【化１５】



【００６８】

化合物２’（８００ｍｇ）のメタノール（４ｍＬ）懸濁液に５Ｍ水酸化ナトリウム水溶液（４ｍＬ）を添加し、５０℃にて１日撹拌した。反応液のメタノール分画のみをエバポレーターにて留去し、残りの溶液に５Ｍ塩酸を添加した。生じた沈殿物を氷冷してろ取し、氷冷した水で洗浄し凍結乾燥した。この粉末を少量のメタノールに懸濁させ、撹拌しながら加熱還流した。室温に戻して粉末をろ取した後、得られた粉末を少量の５Ｍ水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、５Ｍ塩酸を添加した。生じた沈殿物を氷冷してろ取し、氷冷した水で洗浄し凍結乾燥して目的化合物１’を橙色粉末（５１８ｍｇ、収率７９％）として得た。

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.18 (bs, 4H), 8.66 (s, 1H), 6.62 (bs, 6H), 6.49 (bs, 6H)

FAB-HRMS (m/z): calcd for $C_{35}H_{19}O_{12}$: 631.0871; found: 631.0891 $[M+H]^{+}$

【００６９】

（２）蛍光特性

上記（１）で得られた化合物（Ｉ’）の蛍光特性を評価した。

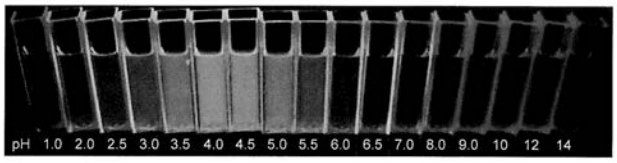
化合物（Ｉ’）の１μＭ溶液（溶媒：ｐＨ　１のデータは０．１Ｍ塩酸、ｐＨ　２．０、２．５、３．０、３．５、４．０、４．５、５．０、５．５、６．０、６．５、７．０、８．０、９．０、１０．０、１１．０および１２．０のデータは２５ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ　１４のデータは０．１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液）について、励起波長４８８ｎｍおよび蛍光波長５２８ｎｍにおける、ｐＨ変化に伴う蛍光強度を図１０に示す。図１０から、最大蛍光強度はｐＨ　４．５で得られたことが分かる。

【産業上の利用可能性】

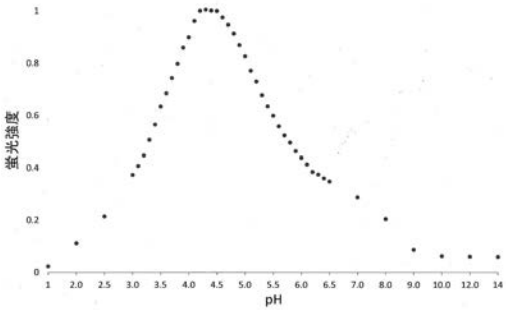
【００７０】

本発明の化合物は、特定のｐＨ領域でのみ強い蛍光を発する化合物およびその前駆体化合物として有用である。

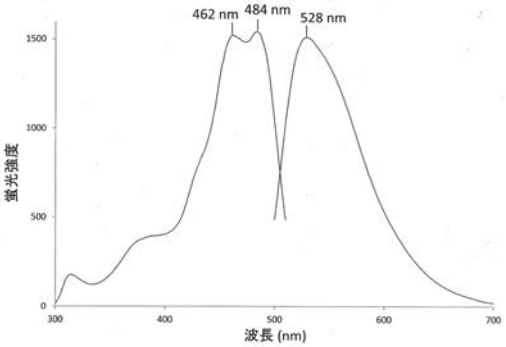
【図１】



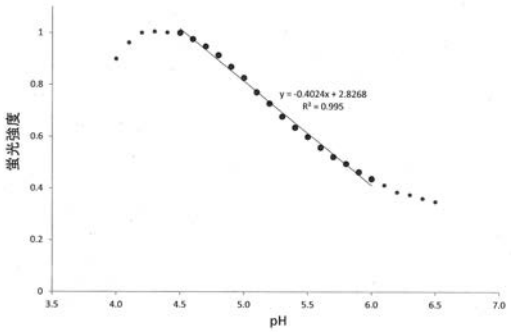
【図２】



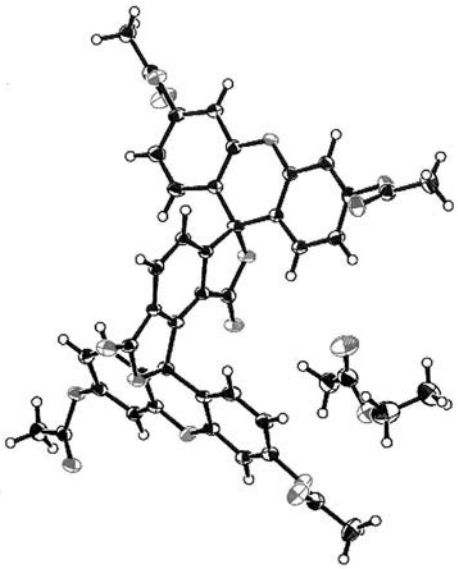
【図３】



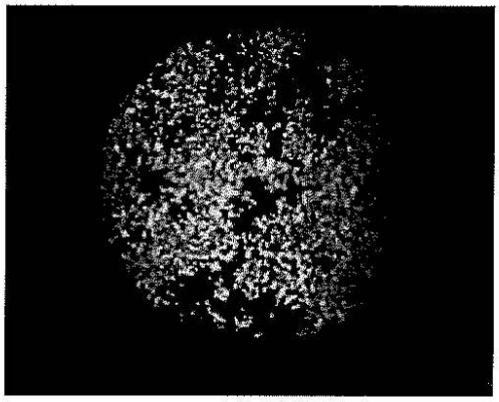
【図４】



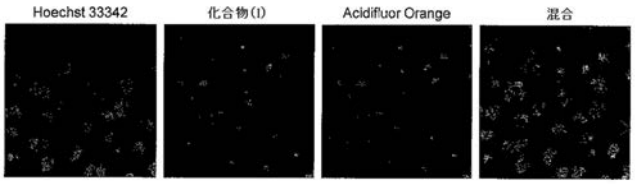
【図５】



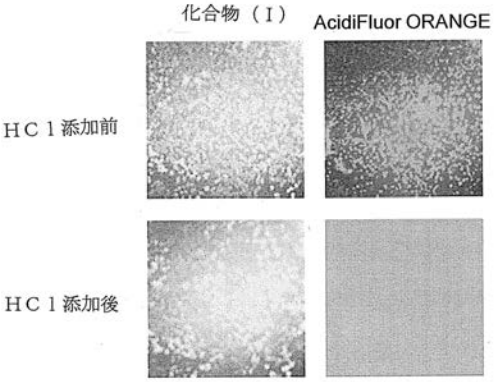
【図６】



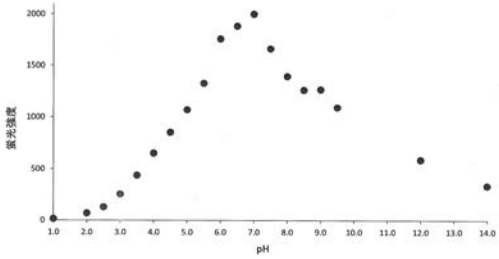
【図７】



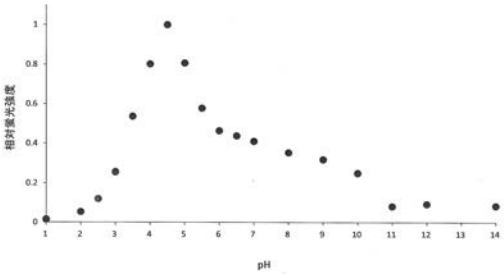
【図８】



【図９】



【図１０】



フロントページの続き

(74)代理人　100174296
弁理士　當麻　博文
(72)発明者　柴田　孝之
長崎県長崎市文教町１－１４　国立大学法人長崎大学内
Ｆターム(参考) 4C071 AA04　AA08　BB03　BB08　CC14　EE05　FF17　HH28　JJ01　LL04
LL05