

研究テーマ 「光誘起電子移動をトリガーとした可視および近赤外光作動性ケージド基の開発」

研究責任者 所属機関名 名古屋市立大学大学院薬学研究科

官職又は役職 助教

氏 名 家田 直弥 メールアドレス ieda@phar.nagoya-cu.ac.jp

共同研究者 所属機関名

官職又は役職

氏 名

《様式B》

(平成 30 年度募集) 第 31 回 助成研究 完了報告書

上記様式記載後

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要（1, 000字程度）
※産業技術として実用化の可能性や特許出願（予定も含む）の有無についてもご記載ください。

ケージド基とは、光によって生理活性分子の活性を制御することを目的とした光解除性保護基の総称であり、ケミカルバイオロジーの分野では、生体環境下における強力なツールとして用いられており、さらにその時空間特異性を活かした新たな治療法にも応用できる可能性が期待されている。しかし、現在汎用されているケージド基のほとんどは脱保護に細胞障害性が高く、光自体の組織透過性が低い紫外光を用いたものであり、500 nm 以上の可視光で制御可能なものも報告されているが、強い光増感作用を有するといった問題点があった。

申請者は、研究期間内に計画書に記載したような光誘起電子移動（PeT: photoinduced electron transfer）をトリガーとして生理活性分子を放出する、新たな光解除性保護基となり得る化合物を合成した。この化合物は、光吸収部位として 500 nm 付近に強い吸収を有することが知られている BODIPY 構造を、電子受容部位には一電子還元を受けて分解することが知られている *N*-alkylpyridinium 構造を用い、これらを連結させ、500 nm 付近の光照射によって *p*-nitroaniline、histamine を放出するような化合物群を合成した。

これらの化合物は従来の BODIPY を応用したケージド基と比べて、光増感作用の

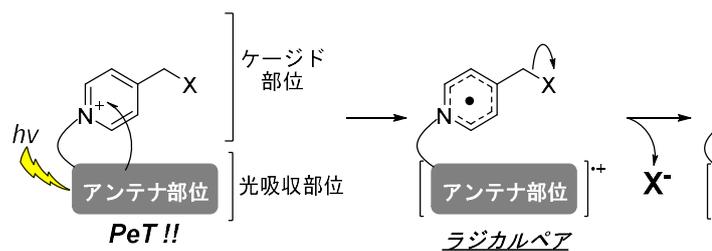
弱い誘導体で構成されているため、従来のケージド基の光増感作用によって生じる¹O₂などの毒性を回避することができると考えられる。

さらに、申請者はすでに PeT をトリガーとした一酸化窒素 (NO: nitric oxide) 放出化合物を開発しており、この化合物は光吸収部位を変化させることによって制御光の波長を制御することができることを確認しており、本研究で合成されたケージド基も、同様に構造変換を行うことによって、毒性の低いさらに長波長の光で制御できると期待できる。

2. 実施内容および成果の説明 (A 4 で、5 ページ以内)

光による生理活性分子の活性制御は、光照射によって標的分子の活性を時空間制御できることから、生物実験におけるケミカルツールとしてだけでなく、新たな光化学療法剤として期待できる。ケージド基とは、光によって脱保護される保護基の総称であり、セカンドメッセンジャーや医薬品を保護してその活性を抑え、光照射によってその活性を復活させることで時空間特異的にそれらの活性を発現させることができる。

従来の光解除性保護基は光エネルギーそのものを結合切断・脱保護に用いるものがほとんどであり、色素の吸収波長が長くなるにつれ、一光子当たりのエネルギーが小さくなり、結合切断の効率が低下するという問題があった。そこで申請者は吸収波長の長い色素でも起こりえる光誘起電子移動 (PeT: photoinduced electron transfer) をトリガーとした反応に着目した。図に示したような pyridinium cation は一電子還元を受けて C-X 結合が解離する (C⁺ + X⁻) ことが知られている。そこで、一電子還元反応として光誘起電子移動 (PeT: photoinduced electron transfer) に着目した。すなわち、色素 (アンテナ部位) と pyridinium cation を結合させた図のような分子は、アンテナ部位の光励起後にアンテナ部位から pyridinium cation 部位への PeT が起き、ラジカルペアが生じると考えられる。この後、pyridinium cation の芳香族性の回復を駆動力にして C-X 結合が開裂して生理活性分子 (X⁻) が遊離すると考えた (Fig. 1)。



XH = 保護される化合物

Fig. 1 申請者が開発したケージド基の予想される反応機

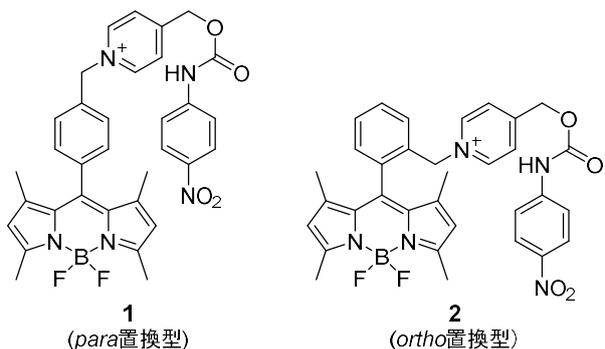


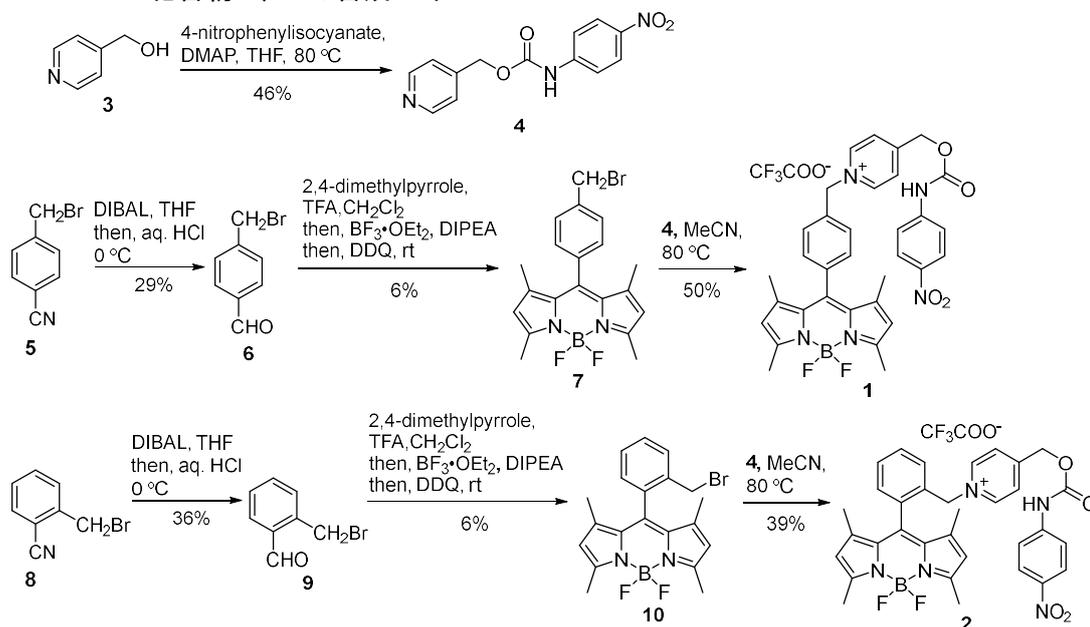
Fig. 2 *p*-Nitroaniline を保護した化合物 **1**、**2**

そこで、青色光領域 (500 nm 付近) に強い吸収を持つことが知られている BODIPY 構造をアンテナ部位に、機能評価のために HPLC で検出容易な *p*-nitroaniline のアミノ基をカルバメート保護した化合物を設計・合成した (Fig. 2)。

申請者はこれまで、PeT 駆動型 NO ドナーを開発する過程で、アンテナ部位と電子授受部位との距離が PeT 駆動型反応の効率に影響を与えることを見出していたため、その関係性を確認するために、アンテナ部位と pyridinium cation との距離が長い化合物 **1** と、距離が短い化合物 **2** を設計し、それらの光分解の効率を比べた。

3 を 4-nitrophenylisocyanate と反応させて **4** にし、これを **5** 又は **8** から得た **7** 又は **10** に反応させて **1** 及び **2** を得た。

Scheme 1 化合物 **1**、**2** の合成スキーム



合成した **1** 又は **2** を緩衝液に溶かし、その溶液に同条件で光照射を行い、それぞれの光

分解と 4-nitroaniline の生成を HPLC で調べた (Fig. 3)。同条件下で、BODIPY の吸収波長である 500 nm 付近の光照射を行ったところ、**2** の方が **1** よりも速い光分解を起こし、さらに 4-nitroaniline の生成も、それぞれの化合物の光分解の量に依存して増加することが分かった。

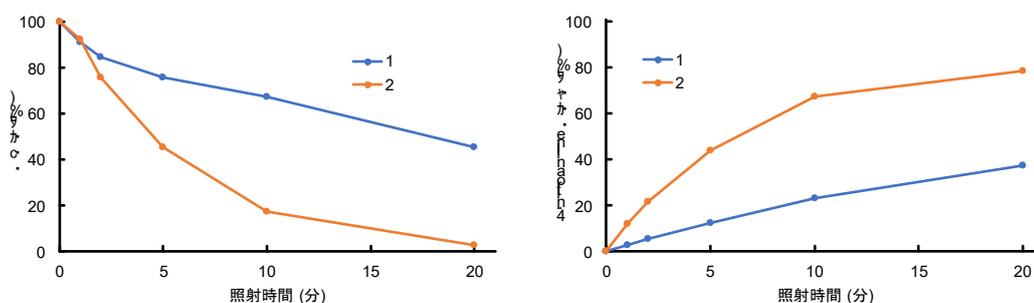


Fig. 3 化合物 **1** および **2** への光照射による分解 (左) と 4-nitroaniline の生成 (右)

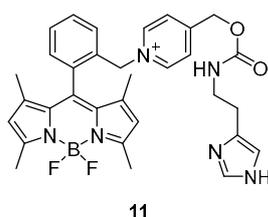


Fig. 4 新たに設計したケージドヒスタミン

このため、Fig. 1 で示したような想定された光反応が起きていることが示唆されたため、続いて生体内でシグナル伝達分子として機能していることが知られているヒスタミンを保護した化合物 **11** を設計、合成した。

11 は Scheme 2 に従って合成した。**3** に 4-nitrophenyl chloroformate を反応させて **12** にし、**12** に histamine·2HCl を反応させて得た **13** を **10** と反応させて **11** を得た。

Scheme 2 化合物 **11** の合成

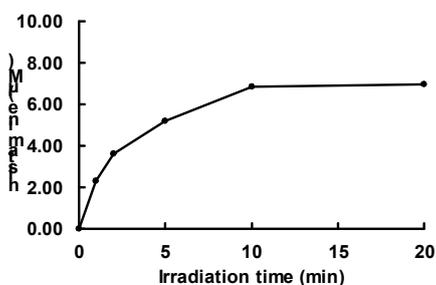
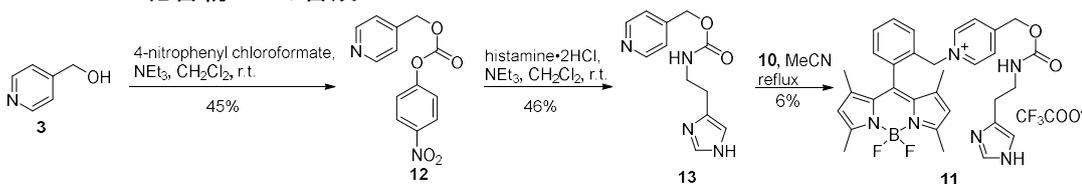


Fig. 5 **11** への光照射によって生じたヒスタミンの検出

合成した **11** の溶液 (10 μM) に 500 nm 付近の光照射を行い、ヒスタミンの放出量を蛍光法により検出したところ、最大で 7 μM ほどのヒスタミンが検出されたことから、**11** は 500 nm 付近の可視光をトリガーとしたケージドヒスタミンとして機能しうることが示唆された (Fig. 5)。

以上のように、申請者は BODIPY とピリジニウムカチオンを組み合わせた化合物が、新たな可視光制御ケージド化合物として機能しうることを確認した。今後は、**11** を用いて生

体環境下でヒスタミンの活性を光制御できるか、また、アンテナ部位を変換させるよとによってさらに長波長のケージド基の開発が可能かを検討していく。