

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32621

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07868

研究課題名(和文) 蛍光性キナゾリンをプローブとする生体内イオンの可視化

研究課題名(英文) Development of fluorescent quinazolines as ion probes

研究代表者

鈴木 由美子 (Suzuki, Yumiko)

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号：20295546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生命機能解明のツールへの展開を目指し、橙色～赤色発光するキナゾリン誘導体を合成した。UVスペクトルと酸化還元電位の実測値から換算したHOMO-LUMO間のエネルギー差と、DFTを用いた理論解析の結果に相関がみられた。金属認識部位結合キナゾリン蛍光団を合成できた。蛍光性と抗がん性を持ち合わせもつ誘導体が速やかに細胞に取り込まれ、長時間持続して標的タンパクに結合することが分かった。

研究成果の概要(英文)：Novel fluorescent quinazolines were designed and synthesized, including derivatives with high quantum yield, red-emission, and large Stokes shift. The HOMO-LUMO energy gaps calculated from the results of UV spectra and CV experiments were consistent with DFT calculation. Synthesized quinazolines with a metal-recognition moiety responded to a certain type of metal ions. An anti-cancer fluorescent quinazoline was used as a fluorescent probe in cultured cancer cells to visualize its intracellular distribution by fluorescence microscopy. It can be used as a tool for further study to elucidation of its action mechanism.

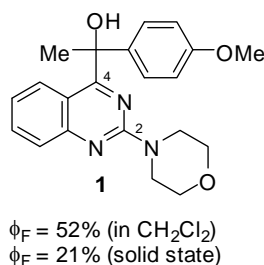
研究分野：有機化学

キーワード：蛍光団 分子プローブ キナゾリン

### 1. 研究開始当初の背景

緑色蛍光タンパク (GFP) の発見・応用に代表されるように、蛍光バイオイメージング技術の進歩は、細胞や生物個体中の分子機能の解明に革新的な発展をもたらした。蛍光プローブを用いた生細胞観測など、多くの成功例が報告されて、ケミカルバイオロジーや超分子化学分野においても、低分子蛍光化合物がイメージングツールやセンサーとして汎用されている。しかし、個々の検出対象分子の可視化・検出を実現するためには、それに応じてプローブの設計・合成が必要である。多くの場合、これらは試行錯誤を経て開発されている。もし、既存の蛍光団とは異なる化学・物理化学的特性を持ち、かつ高い蛍光量子収率の蛍光団が開発されれば、さらに多様な物質を検出するプローブ創製に大いに役立つ。

本研究代表者等は、2 位にアルキルアミノ基を有するキナゾリン誘導体が蛍光特性を示すことを見出した。例えば、右図の誘導体 **1** は、分子量が約 300 であり、塩化メチレン中での蛍光量子収率 (  $\phi_F$  ) は 52%、固体の状態では  $\phi_F = 21%$  と、低分子化合物としては大きい。



### 2. 研究の目的

生体内分子のイメージングやバイオセンサーとして利用可能な蛍光団の開発を目指し、以下 1) ~ 4) の検討を行う。

#### 1) 蛍光発光メカニズムの解明

密度汎関数理論 (DFT) を用いた理論的解析と、サイクリックボルタンメトリー (CV) による実験的な酸化-還元電位を測定する。

#### 2) 高機能性蛍光団の開発

一般に、生体内分子観察に利用する蛍光団の発光極大波長は 600 nm 以上で、蛍光寿命が長く、発光極大波長と吸収極大波長との差 (Stokes shift) は 150 nm 以上であることが望ましいと考えられている。この条件に適する蛍光団の分子構造を設計・合成を目指す。

#### 3) イオンセンサーの開発

酸の添加により 7-アミノ体の蛍光強度が増大するという特性を応用し、蛍光 pH プローブや金属イオンセンサーを開発する。

#### 4) 生体内分子検出プローブの開発

**1** が抗がん性化合物である。その標的タンパクの細胞内分布を観察する。

### 3. 研究の方法

1) 2-アミノキナゾリン骨格を基盤として様々な置換基を有する誘導体を合成し

た。

- 2) 合成した誘導体の紫外吸収および蛍光スペクトルを測定した。
- 3) 特徴的な紫外吸収-発光挙動を示した誘導体に関して、CV、X 線解析などを行った。
- 4) 液性や金属イオンに応答可能な官能基を有する誘導体を合成し、機能を確認した。
- 5) がん細胞を **1** で処理し、細胞内分布を蛍光顕微鏡にて観察した。

### 4. 研究成果

- 1) 2-メチルアミノキナゾリン骨格を最小構造単位とし、主に 4 位および 6 位に種々の置換基をもつ蛍光性化合物を合成した。
- 2) UV スペクトルと CV から換算した HOMO-LUMO エネルギーギャップと DFT 離村計算の結果に良い一致が見られた。
- 3) 高い蛍光量子収率および大きい Stokes shift を持つ誘導体を発見した。
- 4) 橙~赤色蛍光を示す新規誘導体の合成に成功した。
- 5) 金属認識部位を結合させたキナゾリン蛍光団が、金属イオンセンサーとして機能することを確認した。
- 6) ソルバトクロミズムを示す化合物を複数見出した。
- 7) 酸応答センサーとしての可能性をもつ蛍光団を言い出した。
- 8) 微小管のコルヒチン結合部位に結合し、微小管重合阻害を示す化合物の簡易的な活性評価に **1** を用いることができた。
- 9) **1** のがん細胞内分布の蛍光顕微鏡観察により、**1** が速やかに細胞に取り込まれ、長時間持続して標的タンパクに結合していることが分かった。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

Ryo Takashima, Maki Shinozaki, Kaoru Tsunekawa, Yumiko Suzuki: Selective Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted Imidazoles from alpha-Imino Ketones Prepared by N-Heterocyclic Carbene-Catalyzed Aroylation. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 2261-2267. (査読有)

Yumiko Suzuki: Asymmetric Michael Addition Mediated by Chiral Ionic Liquids. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2018**, *15*, 236-245. (査読有)

Satoshi Hirikoshi, Tomoki Watanabe, Atsushi Narita, Yumiko Suzuki, Nick Serpone: The electromagnetic wave energy effect(s) in microwave-assisted organic syntheses (MAOS). *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 5151.

(査読有)

Masashi Tachikawa, Mizuki Nakagawa, Yumiko Suzuki: Nucleophilic Aroylation on Fluoroquinazolines Catalyzed by N-Heterocyclic Carbenes. *Heterocycles* **2018**, 96, 716-732. (査読有)

Yumiko Suzuki, Naoto Iwata, Kohei Dobashi, Ryo Takashima, Sundaram Arulmozhiraja, Erika Ishitsubo, Naoya Matsuo, Hiroaki Tokiwa: Alkanoylation of quinazoline by nucleophilic aromatic substitution: Combined experimental and computational study. *Tetrahedron* **2018**, 74, 392-400. (査読有)

Yumiko Suzuki, Jun-ichi Sawada, Paulina Hibner, Hirotsuke Ishii, Kenji Matsuno, Masayuki Sato, Bernhard Witulski, Akira Asai: Fluorescent anticancer quinazolines as molecular probes for  $\beta$ -tubulin colchicine site competition assay and visualization of microtubules as intracellular targeting sites. *Dyes Pigments* **2017**, 145, 233-238. (査読有)

Satoshi Horikoshi, Tomoki Watanabe, Momoko Kamata, Yumiko Suzuki, Nick Serpone: Microwave-assisted organic syntheses: microwave effect on intramolecular reactions - the Claisen rearrangement of allylphenyl ether and 1-allyloxy-4-methoxybenzene. *RSC Adv.* **2015**, 5, 90272-90280. (査読有)

[学会発表](計 36 件)

江島優希, 北原由梨, 角井杏帆, 宇都宮 崇広, 田澤佳苗, 眞鍋敬, 鈴木由美子: Termicalcicolanone B の全合成, 日本化学会第 98 春季年会, 2018 年 3 月 23 日, 日本大学(千葉県, 船橋市)

藤巻佑規, 本山実穂, ヴィトルスキー ベルンハルト, 鈴木由美子: 2-ジメチルアミノ-4-フェニルキナゾリン誘導体の蛍光特性, 日本化学会第 98 春季年会, 2018 年 3 月 22 日, 日本大学(千葉県, 船橋市)

高島亮, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を鍵反応として利用した三置換イミダゾールの位置選択的合成法の開発, 第 112 回有機合成シンポジウム 2017 年 12 月 7 日, 早稲田大学(東京都, 新宿区)

立川将史, 中川瑞樹, 鈴木由美子: NHC 触媒を用いた芳香族求核置換反応によるアロイルキナゾリン類の合成, 第 112 回有機合成シンポジウム, 2017 年 12 月 7 日, 早稲田大学(東京都, 新宿区)

鈴木由美子, 立川将史, 黒岩建太, 澤田潤一, 石井浩介, P. Hibner, 松野研司, 佐藤雅之, B. WITULSKI, 浅井章良: 抗がん性キナゾリン誘導体の構造活性相関研究 および蛍光性誘導体の発見と利用, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月 19 日(東京都, 江戸川区)

下斗米哉子, 鈴木由美子: 抗がん活性キナゾリン PVHD121 のエナンチオ選択的合成研究, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月 19 日, (東京都, 江戸川区)

江島優希, 北原由梨, 角井杏帆, 宇都宮 崇広, 田澤佳苗, 眞鍋敬, 鈴木由美子: NHC 触媒を用いた Termicalcicolanone B の全合成, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月 19 日(東京都, 江戸川区)

高島亮, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を経由した三置換イミダゾールの合成とその誘導化の検討, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月 19 日(東京都, 江戸川区)

安藤明日香, 中川瑞樹, 鈴木由美子: NHC 触媒を用いた芳香族求核置換反応による 4-アロイルクマリンの合成, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月 19 日(東京都, 江戸川区)

鈴木由美子, 澤田潤一, Paulina Hibner, 石井浩介, 松野研司, 佐藤雅之, Bernhard Witulski, 浅井章良: 蛍光団を内蔵する抗がん活性キナゾリンの分子プローブとしての利用, 第 47 回複素環化学討論会, 2017 年 10 月 27 日(高知県, 高知市)

立川将史, 鈴木由美子: NHC 触媒を用いた新規アロイルキナゾリン類の合成, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 25 日(宮城県, 仙台市)

Kanako Shimotomai, Yumiko Suzuki: Asymmetric synthesis of anticancer quinazoline PVHD121 by enantioselective methylation of ketone. 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 18 日(神奈川県, 横浜市)

安藤明日香, 中川瑞樹, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を利用したクマリン環 4 位への直接的アロイル化反応, 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 18 日(神奈川県, 横浜市)

Yuki Fujimaki, Ryo Otake, Thu-Hong Doan, Bernhard Witulski, Yumiko Suzuki, Synthesis and fluorescence properties of 4- and 6-substituted 2-aminoquinazolines. 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 17 日(神奈川県, 横浜市)

高島亮, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を経由した 1,4,5 位 3 置換イミダゾール合成法の開発, 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 17 日(神奈川県, 横浜市)

立川将史, 中川瑞樹, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を用いた芳香族求核置換反応によるアロイルキナゾリン類の合成, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 16 日(東京都, 江戸川区)

大竹諒, Doan Thu-Hong, Witulski Bernhard, 鈴木由美子: 2-アルキルアミノキナゾリンの蛍光特性, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 16 日(東京都, 江戸川区)

- 伊藤早紀, 北村大樹, 眞鍋 敬, 鈴木由美子: キサントン骨格を有する抗がん活性天然物 termicalcicolanone A の合成研究, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 16 日 (東京都, 江戸川区)
- 竹原怜, 篠崎真紀, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を利用した 3 置換キノキサリンの位置選択的合成法の開発, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 15 日 (東京都, 江戸川区)
- 兵藤海, 竹内アイリーン, 鈴木由美子: Citreamicin  $\delta$  の EFG 環の合成研究, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 14 日 (東京都, 江戸川区)
- 21 高島亮, 竹原怜, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を経由したイミダゾールの位置選択的合成法の開発, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, 2016 年 11 月 14 日 (東京都, 江戸川区)
- 22 Yumiko Suzuki: Bioactive Heterocycles via Organocatalysis - What can a NHC do for you? Journées Scientifiques Labex SynOrg, Sep 30, 2016. (Rouen, France)
- 23 伊藤早紀, 北村太樹, 眞鍋敬, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を経由したキサントン天然物 termicalcicolanone A の合成研究, 日本化学会第 96 春季年会, 2016 年 3 月 25 日 (京都府, 京都市)
- 24 大竹諒, Thu-Hong Doan, Bernhard Wotulski, 鈴木由美子: 蛍光性キナゾリンにおける 2,6 位置換基の効果, 日本化学会第 96 春季年会, 2016 年 3 月 24 日 (京都府, 京都市)
- 25 竹原怜, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を経由した 3 置換キノキサリンの位置選択的合成法の開発研究, 日本化学会第 96 春季年会, 2016 年 3 月 25 日 (京都府, 京都市)
- 26 山岸茜, 江越由紀, 鈴木教之, 鈴木由美子, 増山芳郎, 臼杵豊展: 植物毒性天然物 foeniculoxin の全合成研究, 日本化学会第 96 春季年会, 2016 年 3 月 24 日 (京都府, 京都市)
- 27 Yumiko Suzuki: Challenges to Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Chiral Alcohols. 5th UK-Japanese Symposium on Asymmetric Catalysis, March 15, 2016. (Manchester, UK)
- 28 Ren Takehara, Maki Shinozaki, Yumiko Suzuki: Regioselective synthesis of substituted quinoxalines via iminoethanones prepared by N-heterocyclic carbene catalysis. PACIFICHEM 2015, Dec 19, 2015. (Honolulu, USA)
- 29 Mizuki Nakagawa, Yumiko Suzuki: Synthesis of 5 to 8-aryloquinazolines by NHC-catalysis. PACIFICHEM 2015, Dec 19, 2015. (Honolulu, USA)
- 30 Miho Motoyama, Malgorzata Lukarska, Thu-Hong Doan, Bernhard Wotulski, Yumiko Suzuki: Development of a new set of quinazolines: Strong fluorophores for solution and solid state. PACIFICHEM 2015, Dec 16, 2015. (Honolulu, USA)
- 31 Kohei Dobashi, Naoto Iwata, Erika Ishitsubo, Hiroaki Tokiwa, Yumiko Suzuki: N-heterocyclic carbenes for nucleophilic acylation. PACIFICHEM 2015, Dec 16, 2015. (Honolulu, USA)
- 32 Risa Sugimura, Eileen Takeuchi, Yumiko Suzuki: Synthetic study of antibacterial natural product citreamicin  $\delta$ . PACIFICHEM 2015, Dec 16, 2015. (Honolulu, USA)
- 33 Yuri Kitahara, Azuho Tsunoi, Takahiro Utsunomiya, Kanae Tazawa, Kei Manabe, Yumiko Suzuki: Synthetic study of termicarcolanone B using NHC-catalysis. PACIFICHEM 2015, Dec 16, 2015. (Honolulu, USA)
- 34 竹原怜, 篠崎真希, 鈴木由美子: NHC 触媒反応を利用した位置選択的 3 置換キノキサリン合成法の開発, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ 2015, 2015 年 10 月 13 日, (東京都, 江戸川区)
- 35 大竹諒, 本山実穂, Paulina Hibner, Thu-Hong Doan, Bernhard Wotulski, 鈴木由美子: 2-アミノキナゾリン誘導体の合成とその蛍光特性評価, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ 2015, 2015 年 10 月 13 日 (東京都, 江戸川区)
- 36 伊藤早紀, 北村太樹, 眞鍋敬, 鈴木由美子: 抗がん活性天然物 termicalcicolanone A の合成研究, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ 2015, 2015 年 10 月 13 日, (東京都, 江戸川区)

〔その他〕

ホームページ等

上智大学理工学部物質生命理工学科・鈴木由美子研究室

[http://www.mls.sophia.ac.jp/~yumiko\\_suzuki/index.html](http://www.mls.sophia.ac.jp/~yumiko_suzuki/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 由美子 (SUZUKI Yumiko)

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号: 20295546

(4) 研究協力者

本山 実穂 (MOTOYAMA Miho)

上智大学・大学院・理工学研究科

大竹 諒 (OTAKE Ryo)

上智大学・大学院・理工学研究科

藤巻 佑規 (FUJIMAKI Yuki)

上智大学・大学院・理工学研究科