

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：72690

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18915

研究課題名(和文)銅(II)イオン検出のためのシグナル増幅系<sup>11</sup>B NMR/MRIプローブの創製研究課題名(英文)Development of signal amplification probes for detection of Copper (II) ions Using <sup>11</sup>B NMR/MRI

研究代表者

田中 智博(Tanaka, Tomohiro)

公益財団法人野口研究所・研究部・研究員

研究者番号：20711667

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：生体内微量元素イオンは生体機能の維持に重要な役割を果たしており、疾患等によりその濃度は増減する事が知られている。中でも、銅(II)イオンは遺伝性疾患やがん、アルツハイマー病などの多くの疾患との関与が報告されている。そのため、銅(II)イオンの非侵襲的な検出法の開発は種々の生命現象の解析及び種々の疾患の診断において非常に有用である。そこで、本研究では銅(II)イオンによるカルボラン分解反応に基づき設計した銅(II)イオン検出のための<sup>11</sup>B NMR/MRI分子プローブの開発研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Biorelevant metals have been known to play an important role for bio-organism. Specifically, Cu<sup>2+</sup> ion is closely correlated with certain types of physiological and pathological events. Therefore, the development of a noninvasive methodology for detecting Cu<sup>2+</sup> is important for understanding its biological role and relationship with disease. Herein, we report on the development of a Cu<sup>2+</sup> specific <sup>11</sup>B NMR/MRI probe. The method is based on the rapid complete deboronation reaction of nido-o-carborane containing a chelator unit by Cu<sup>2+</sup> under physiological conditions.

研究分野：薬学

キーワード：ホウ素MRI カルボラン 銅(II)イオン

### 1. 研究開始当初の背景

生体内微量元素イオンは酵素反応やタンパク質のフォールディングなどの様々な役割を介して、生体機能の維持に重要な役割を果たしている。そのため、これらの金属イオン濃度は疾患等により増減する事が報告されている。例えば、銅(II)イオンは遺伝性疾患(ウィルソン病およびメンケス病など)、がんやアルツハイマー病などの種々の疾患との関与が報告されている。すなわち、生体内微量元素イオンを検出できれば、上述の疾患のより正確な診断が可能になる。そのため、これらの金属イオンを生体非侵襲的に検出する手法の開発は診断医学において非常に重要である。

これまでに報告者らは、非侵襲性の点から核磁気共鳴法、特に生体由来のバックグラウンドシグナルの少ない  $^{11}\text{B}$  NMR/MRI による検出法を開発を目的として研究を進めてきた。具体的には、含ホウ素プローブ分子が金属イオン存在下に反応し、異なる含ホウ素分子に変換されることで生じるケミカルシフト変化を観測する検出(ケミカルシフトイメージング)を基本戦略として開発を行っている。

金属イオンを媒介としたホウ素化合物の分解反応の探索の中で、10原子のホウ素と2原子の炭素から構成されるオルトカルボランが銅(II)イオンの存在下に水溶液中での分解反応を引き起こし、10分子の  $\text{B}(\text{OH})_3$  を放出することを見出した。更に、本反応を利用した銅(II)イオンの  $^{11}\text{B}$  NMR および MRI 検出にも成功している。

### 2. 研究の目的

上述の反応を実際に生体試料中の銅(II)イオンの検出に用いる際、その反応速度および温度が問題となる。そのため、オルトカルボランの反応性を向上させるための合成化学的チューニングを行うことで、生体試料に適用可能かつより短時間での検出が可能となる  $^{11}\text{B}$  NMR/MRI プローブに応用できると考えた。具体的には、オルトカルボランに電子供与基(カルボランの酸化還元電位に寄与)や金属配位子(近接効果による反応速度向上に寄与)を導入した誘導体を設計、合成し、より実用性の高いプローブ分子の創製を目的とした。

### 3. 研究の方法

これまでの反応機構解析研究より、銅(II)イオンによるオルトカルボラン誘導体の分解反応は2段階の反応で進行していることが示唆されている。すなわち、一段階目の加水分解による *closo* 体から *nido* 体への変換および2段階目の銅イオンによる *nido* 体の酸化反応を経由した加水分解反応により構成されている(図1)。

このうち、*nido* 体の生成は温度依存的であることが示唆されている。そのため、*nido* 体を起点として、その構造修飾により銅イオン(II)による酸化反応の速度を向上できれば、望むプローブ分子が得られると期待される。

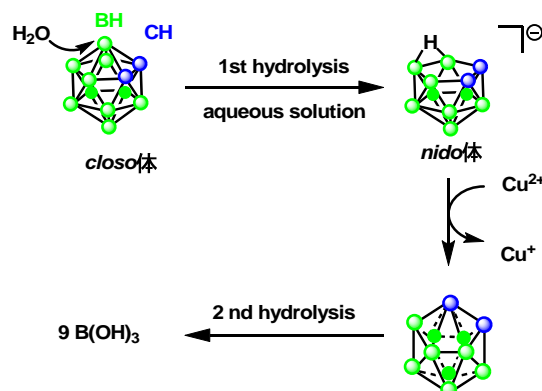


図1. 銅イオンによるオルトカルボランの分解反応の推定メカニズム

そこで、*nido*-カルボランにエチレンジアミン誘導体を配位子として導入したプローブ分子1を設計、合成した。また、比較化合物として2および3も併せて合成した。

合成した化合物群についてその反応性( $^{11}\text{B}$  NMR およびアゾメチンアッセイによるホウ酸分子の定量)および物性(酸化還元電位の測定)評価を行った。更に、1を用いて  $^{11}\text{B}$  MRI による銅イオンのイメージングを行った。

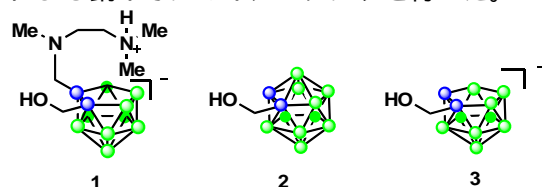


図2. 合成した化合物の構造

### 4. 研究成果

$^{11}\text{B}$  NMR およびアゾメチン H を用いたホウ酸定量の結果から、合成したプローブ分子1は37℃においても銅イオンによる分解反応を引き起こし、8時間で(1分子のプローブに対して)8分子のホウ酸を放出することが明らかになった。コントロールとして化合物2を用いて同様の実験を行ったところ、反応は全く進行しなかった。更に金属選択性を評価した結果、プローブ1は銅(II)イオン以外の金属とは反応しなかった。また、プローブ1の酸化還元電位を測定したところ、類似の構造を持つ3に比べ、酸化還元電位が負シフトしていることが明らかになった。これは、配位子中のアミノ基の正電荷が *nido*-アニオンの負電荷に干渉しているためと考えられる。更に、プローブ1を用いて銅イオンの  $^{11}\text{B}$  MRI によるイメージングを行ったところ、本プローブを用いて銅イオンを選択的に検出することに成功した。(図3)

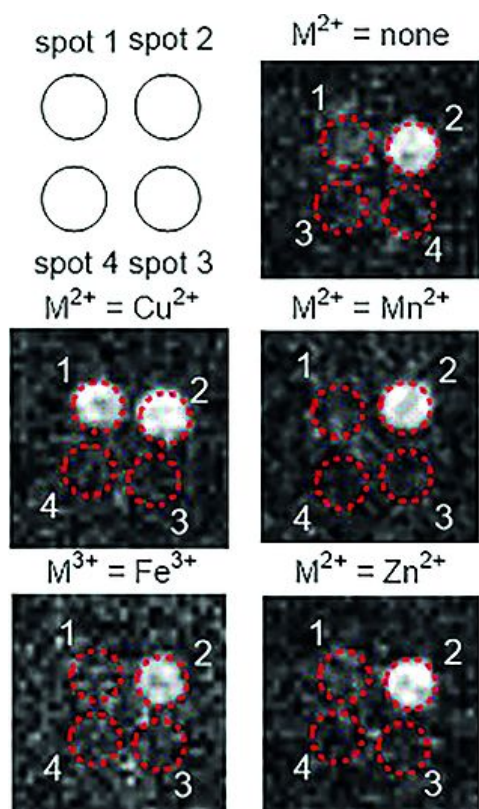


図3. プロブ1を用いた銅(II)イオンの<sup>11</sup>B MRI 検出。白く抜けているところがホウ酸の局在を示している。[スポット1: プロブ1 (1 mM) + 各金属 M<sup>2+</sup> or <sup>3+</sup> (1 mM), スポット2: 9 mM B(OH)<sub>3</sub>, スポット3: 各金属 M<sup>2+</sup> or <sup>3+</sup> (1 mM), スポット4: 緩衝液] (Tanaka et al, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *12*, 1819-1834 より抜粋)

#### 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4件)

- 1) Tanaka T, Nishiura Y, Araki R, Saido T, Abe R, Aoki S, <sup>11</sup>B NMR Probes of Copper(II): Finding and Implications of the Cu<sup>2+</sup>-Promoted Decomposition of ortho-Carborane Derivatives, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *12*, 1819-1834
- 2) Tanaka T, Araki R, Saido T, Abe R, Aoki S, <sup>11</sup>B NMR/MRI Sensing of Copper(II) Ions In Vitro by the Decomposition of a Hybrid Compound of a nido-o-Carborane and a Metal Chelator, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *20*, 3330-3337
- 3) Tanaka T, Aoki T, Nomura W, Tamamura H, Bivalent 14-mer peptide ligands of

CXCR4 with polyproline linkers with antichemotactic activity against Jurkat cells, *J. Pept. Sci.* **2017**, Jan 12. doi: 10.1002/psc.2946

- 4) Tanaka T, Sawamoto Y, Aoki S, Concise and Versatile Synthesis of Sulfoquinovosyl Acyl Glycerol Derivatives for Biological Applications, *Chem. Pharm. Bull.* **2017**, *65*, 566-572

[学会発表](計3件)

- 1) 田中智博、西浦由希子、田村佳、荒木力太、西道隆臣、安部良、青木伸、分解反応を利用した銅(II)イオン検出のための<sup>11</sup>B NMR/MRI プロブの設計と合成、反応と合成の進歩シンポジウム、2016年11月6~7日、静岡
- 2) 田中智博、杉原礼子、白石美香、松田昭生、水野真盛、Synthesis of Glycopeptide Using Boc Group For the Protection of Carbohydrate Hydroxyl Groups、第54回ペプチド討論会、大阪
- 3) 田中智博、杉原礼子、白石美香、松田昭生、水野真盛、糖水酸基をBoc基で保護した糖アミノ酸を用いた糖ペプチドの効率的合成法の開発、第36回日本糖質学会年会、旭川

[図書](計0件)

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

- (1)研究代表者  
田中 智博 (Tomohiro Tanaka)

公益財団法人野口研究所  
研究者番号：

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)研究協力者 ( )