

令和 3 年 4 月 30 日現在

機関番号：32621

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06587

研究課題名(和文)新規キナゾリン蛍光団を内蔵する金属イオンおよび生体分子認識プローブの開発

研究課題名(英文) Development of metal ion and biomolecular probes having a quinazoline fluorophore

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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究代表者が見出した、新規蛍光団・2-アミノキノゾリン誘導体の蛍光特性の解明とその応用利用を検討した。Gaussian 16を用いた理論計算による励起状態の解析を行った。ピリミジン部の2位にジピコリル基を導入した誘導体は、銅イオンに反応し、消光した。本金属錯体は、二リン酸、三リン酸類に反応し、蛍光の回復が観察されたが、モノリン酸類には反応しなかった。シクロデキストリンと組み合わせることで、ATPを選択的に多点認識することが分かった。溶液の液性に反応して、蛍光応答するキノゾリン類も発見した。キノゾリン環状の置換基の種類により、酸性で蛍光するもの、塩基性で蛍光するものを造り分けることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命現象の解明や診断医療の革新に貢献すべく、蛍光バイオイメージングに応用可能な新規蛍光分子をデザインした。生命活動に欠かせないATPを選択的に蛍光検出する分子、および、環境の液性(酸性・アルカリ性)に応じて蛍光のON-OFF制御が可能な分子を開発した。本蛍光団は、既存の蛍光団と比較して分子が小さく、合成が容易で、高輝度であることから、ライフサイエンス分野での応用利用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Fluorescence properties of 2-aminoquinazolines and the application as molecular probes were investigated. Theoretical calculations of the excited states were performed using Gaussian 16 program. The novel probes based on the quinazoline fluorophore were developed for application in ATP detection. They selectively recognized copper ions by fluorescence quenching, and their copper complexes displayed fluorescence enhancement in the presence of phosphoric acid derivatives. This fluorescence on-off system enabled the highly sensitive fluorescence detection of ATP when combined with a phenyl boronic acid-modified cyclodextrin through a plausible multipoint recognition system.

研究分野：有機化学

キーワード：蛍光プローブ 蛍光団 キナゾリン シクロデキストリン 超分子

### 1. 研究開始当初の背景

先端科学技術において、蛍光センサー・プローブはその感度の高さから近年益々重要性を増している。蛍光バイオイメージング技術は、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、現在も様々なニーズに合わせた新たなイメージング剤の開発が求められている。

一般に用いられている蛍光プローブ骨格の種類は限られており、申請者が発見した新規蛍光性 2-アルキルアミノキナゾリン類は、小分子、高量子収率、柔軟な誘導体合成が可能という優れた特徴を持つ。分子修飾による物性・機能性の調整と、適切な分子認識部位の導入により、実用的な新規蛍光分子プローブの創製が可能と考えた。

### 2. 研究の目的

本研究課題の長期的な目的は、生物学的実験のツールの提供により、生命現象の解明に貢献すること、および、医療診断に利用可能な技術を創製することである。短期的な目標は、「入手の容易さ」と「機能の高さ」とを兼ねそろえた汎用性の高い蛍光団を開発し、その応用を実例として示すことであった。そして、以下の ~ を検討した。

2-アミノキナゾリン類の蛍光メカニズムの解明と高機能蛍光色素の設計

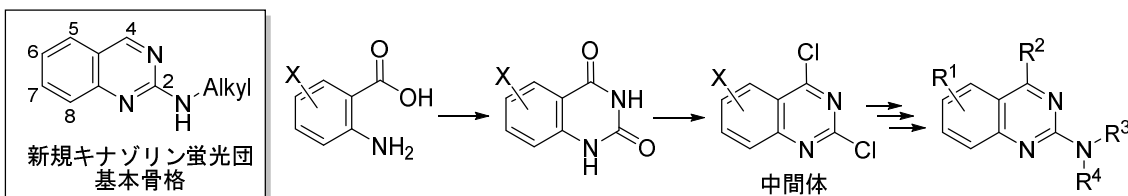
金属イオン認識能を持つ蛍光プローブの開発

リン酸基認識能を持つ蛍光プローブの開発

溶液の液性に応答する蛍光プローブの開発

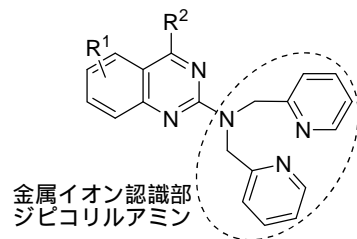
### 3. 研究の方法

蛍光性キナゾリン類の合成は、下図に示す経路にて実施した。中間体 2,4-ジクロロキナゾリンの脱離基を利用して、種々の誘導体を合成し、紫外吸収、蛍光スペクトルを測定し、光物理化学的特性を明らかとした。また、理論計算により、励起に関わる分子軌道の解析を行った。



金属イオンやリン酸基認識能を持つ蛍光プローブの開発として、キナゾリンのピリミジン部 2 位にジピコリルアミノ基を導入した誘導体を数種類合成した。このうち、強い蛍光性を有する誘導体に関して、様々な pH 条件下における蛍光特性、および金属イオンへの応答性を評価した。さらに、キナゾリン蛍光団—金属イオン錯体にリン酸誘導体を添加し、その認識能を調べた。

キナゾリンのベンゼン環部の置換基 R1 の置換位置および構造が異なる誘導体を合成し、様々な pH 条件下における蛍光特性を評価した。



### 4. 研究成果

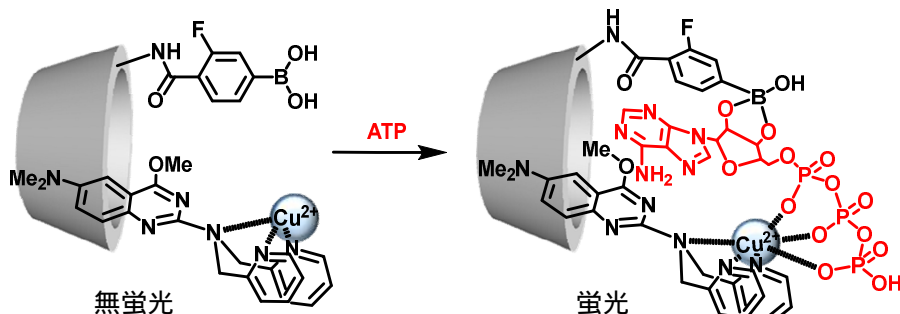
金属イオン認識能を持つ発光性および消光性蛍光プローブの開発を目指し、金属認識部であるジピコリルアミンのキナゾリン骨格への導入を試みた。金属イオン応答型・発光性蛍光プローブとして、縮合ベンゼン部にジピコリルアミンを持つ化合物の合成に取り組んだが、目的物の生成に至っていない。

金属応答により消光性を示すキナゾリン誘導体として、ピリミジン部の 2 位にジピコリル基を導入した誘導体を数種類合成した。このうち、強い蛍光性を有する誘導体に関して、液性による蛍光特性を評価し、生理条件に近い pH にて最大の蛍光強度を示すことが分かった。この誘導体は銅イオンに応答し、消光した。

本金属錯体は、二リン酸、三リン酸類に応答し、蛍光の回復が観察されたが、モノリン酸類には応答しなかった。観察された蛍光の回復は、金属イオンとリン酸基との相互作用により、ジピコリルアミンの金属イオンへの配意が弱まったことに起因すると考えた。シクロデキストリンの存在下では、発光強度が大きく、シクロデキストリンの内側疎水性部への蛍光団の取り込みが示唆された。この包接型のプローブにおいても、金属イオン添加による蛍光の消光と、二リン酸、三リン酸類との相互作用による蛍光の回復が観察された。

ピリミジン部の 2 位にジピコリル基を導入したキナゾリン蛍光団と銅イオン錯体と、3-フルオロフェニルボロン酸で修飾した  $\gamma$ -シクロデキストリンを組み合わせることで、AMP,

ADP に対し、ATP を選択的に認識して蛍光発光にて応答するプローブを開発した。キナゾリン蛍光団は、ジピコリルアミン部で銅イオンと錯体を形成すると消光する。ヌクレオチドのリン酸とこの錯体の銅イオンとの相互作用により、蛍光が回復する。このとき、ヌクレオチドの糖部分とボロン酸との相互作用、シクロデキストリンの環状構造内部とキナゾリン環との疎水性相互作用が、ATP 選択性に関わっていると考えられる。



2 位にジピコリル基、4 位にカルボキシフェニル基を導入したキナゾリン蛍光団の銅イオン錯体とシクロデキストリンを組み合わせた系の ATP 認識能を評価した。カルボキシ基を利用して、シクロデキストリンに蛍光団を直接結合させた分子も合成した。しかし、どちらも上述のプローブに比べ、感度の点で劣っていた。

また、キナゾリン環のベンゼン部 6 位にビニル基を介してエステル基を持つ蛍光性化合物を合成した。エステルの加水分解によりカルボキシ基とし、担体や包接化合物などとアミド結合にて連結させ、超分子プローブとして利用可能と考えられる。

キナゾリン蛍光団の多くは、塩基性でより蛍光強度が大きくなり、酸性で消光することを確認できた。一方、導入する置換基の種類により、酸性で蛍光し、塩基性で消光する誘導体も存在した。

Gaussian G16 プログラムにて、HF 法、MP2 法、汎関数 B3LYP または M062X を用いた DFT 法にて構造最適化および分子軌道の計算を行った。励起状態の解析では、TDDFT 計算と比較し、SAC-CI 法が実験結果を良く再現した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Aoki Kazusa, Osako Ryuji, Deng Jiahui, Hayashita Takashi, Hashimoto Takeshi, Suzuki Yumiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Phosphate-sensing with (di-(2-picolyl)amino)quinazolines based on a fluorescence on-off system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 15299 ~ 15306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0RA01455A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Yumiko, Otake Ayana, Ueno Satoshi, Hayashi Kensuke, Ishii Hirosuke, Miyoshi Nao, Kuroiwa Kenta, Tachikawa Masashi, Fujimaki Yuki, Nishiyama Kotaro, Manabe Kei, Yamazaki Ryuta, Asai Akira	4. 巻 11
2. 論文標題 Discovery of a Potent Anticancer Agent PVHD303 with in Vivo Activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1287 ~ 1291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsmchemlett.0c00119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chick Christian Nanga, Misawa-Suzuki Tomoyo, Suzuki Yumiko, Usuki Toyonobu	4. 巻 30
2. 論文標題 Preparation and antioxidant study of silver nanoparticles of Microsorium pteropus methanol extract	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 127526 ~ 127526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2020.127526	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hagiwara Kenta, Uchida Hiroshi, Suzuki Yumiko, Hayashita Takashi, Torigoe Kanjiro, Kida Tetsuya, Horikoshi Satoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Role of alkan-1-ol solvents in the synthesis of yellow luminescent carbon quantum dots (CQDs): van der Waals force-caused aggregation and agglomeration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 14396 ~ 14402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ra01349h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sawada Jun-ichi, Ishii Hirotsuke, Matsuno Kenji, Sato Masayuki, Suzuki Yumiko, Asai Akira	4. 巻 96
2. 論文標題 Selective Inhibition of Spindle Microtubules by a Tubulin-Binding Quinazoline Derivative	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pharmacology	6. 最初と最後の頁 609 ~ 618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/mol.119.116624	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Saki, Kitamura Taiki, Arulmozhiraja Sundaram, Manabe Kei, Tokiwa Hiroaki, Suzuki Yumiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Total Synthesis of Termicalcicolanone A via Organocatalysis and Regioselective Claisen Rearrangement	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 2777 ~ 2781
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b00731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Yumiko	4. 巻 15
2. 論文標題 Asymmetric Michael Addition Mediated by Chiral Ionic Liquids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mini-Reviews in Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 236 ~ 245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1570193X15666171211165344	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashima Ryo, Tsunekawa Kaoru, Shinozaki Maki, Suzuki Yumiko	4. 巻 74
2. 論文標題 Selective synthesis of 1,4,5-trisubstituted imidazoles from $\alpha$ -imino ketones prepared by N-heterocyclic-carbene-catalyzed arylation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 2261 ~ 2267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2018.03.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Yumiko, Ando Asuka, Nakagawa Mizuki	4. 巻 59
2. 論文標題 Synthesis of 4-acylcoumarins by NHC-catalyzed nucleophilic substitution	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 4276 ~ 4278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2018.10.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Horikoshi Satoshi, Watanabe Tomoki, Narita Atsushi, Suzuki Yumiko, Serpone Nick	4. 巻 8
2. 論文標題 The electromagnetic wave energy effect(s) in microwave-assisted organic syntheses (MAOS)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23465-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Yumiko, Tachikawa Masashi, Nakagawa Mizuki	4. 巻 96
2. 論文標題 Nucleophilic Aroylation on Fluoroquinazolines Catalyzed by N-Heterocyclic Carbenes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 716 ~ 716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-18-13880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Yumiko, Iwata Naoto, Dobashi Kohei, Takashima Ryo, Arulmozhiraja Sundaram, Ishitsubo Erika, Matsuo Naoya, Tokiwa Hiroaki	4. 巻 74
2. 論文標題 Alkanylation of quinazoline by nucleophilic aromatic substitution: Combined experimental and computational study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 392 ~ 400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2017.11.071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 アザクラウンエーテル結合型キナゾリンの合成とその蛍光特性評価
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 N,N'-Dipyridin-2-yl Aminals for the NHC-Catalyzed Synthesis of $\alpha$ -Amino Ketones
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 キサントン天然物Termicalcicolanone Bの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 抗がん活性キナゾリン誘導体PVHD303の改良合成とその絶対立体配置決定
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 キサントン天然物 Termicalcicolanone B の合成研究
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 抗がん活性キナゾリン誘導体PVHD303の改良合成
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 NHC触媒によるアルデヒドとアシラルルの交差ベンゾイン反応
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 N-Heterocyclic Carbene-Catalyzed Synthesis of $\alpha$ -Amino Ketones from in Situ-Produced Imines Derived from Amins
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 (Di-(2-picolyl)amino)quinazolines as Fluorescent Probes for ATP
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 Synthesis and Structure-Activity Relationship Study of 1-(4-Methoxyphenyl)-1-(quinazolin-4-yl)ethanols as Anticancer Agent
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 アルデヒドとアシラルルを用いる交差ベンゾイン反応
3. 学会等名 第36回有機合成化学セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 アルデヒドとアシラルルを用いる交差ベンゾイン反応の開発
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 抗がん活性キナゾリン誘導体PVHD303の発見とin vivo 活性評価
3. 学会等名 第37回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 チューブリン結合性キナゾリン化合物の細胞周期M期阻害活性の解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 2-(ジビコリルアミノ)キナゾリン蛍光プローブの合成とATP 認識プローブとしての応用
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 がん細胞増殖阻害活性を示す化合物PVHD121 の構造活性相関研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 ヘテロ環化学～有機触媒からケミカルバイオロジーへ～
3. 学会等名 東北大学薬学部第1回女性研究者シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 キナゾリン誘導体PVHD121によるM期進行阻害
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第13回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木由美子
2. 発表標題 2-ジピコリルアミノキナゾリン類の合成と蛍光特性
3. 学会等名 第8回CSJ化学フェスタ2018
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 化合物、造影剤、及び化合物の製造方法	発明者 松本伸行、鈴木由美子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020- 71252	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
フランス	CNRS	Normandy University	ENSICAEN & UNICAEN	