

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09629

研究課題名（和文）分子カプセルを利用したヨード造影剤の開発

研究課題名（英文）Development of iodine contrast agent using molecular capsules

研究代表者

牧田 佳真 (Makita, Yoshimasa)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：30454573

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：ヨード過敏症の患者にも扱えるヨード造影剤を開発するためには、ヨウ素結合の解離を抑えたヨード造影剤の開発が必要となります。本研究では、分子サイズのカプセルを利用してヨウ素ユニットを被覆した新しい造影剤の開発を行うことを目的としました。UV/Vis吸収スペクトルの分析から、新規三脚型配位子LとZn<sup>2+</sup>が1:1の複合体を形成していることが明らかとなりました。この結果はMALDI-TOF-MSでも確認されました。NMRスペクトルの解析により、Zn<sup>2+</sup>とLの錯体内部にコリンが内包されることが明らかとなり、Zn<sup>2+</sup>とLの錯体が分子を被覆可能な分子カプセルを形成することが見出されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、三脚型配位子にZn<sup>2+</sup>を加えることで、ワンポットで分子サイズのカプセルを形成することを明らかにしました。従来、分子カプセルは多段階の合成を必要としていましたが、この方法を大幅に簡略化することに成功しました。その結果、様々なサイズの分子カプセルの合成が可能となりました。今回合成した空孔はトリエチレングリコール鎖で被覆されており、様々な分子を内部に導入することが可能です。この被覆化手法は、造影剤だけでなく、ドラッグデリバリーなどへの応用が期待されています。

研究成果の概要（英文）：To develop an iodine contrast agent that can be used even by patients with iodine hypersensitivity, it is necessary to develop an iodine contrast agent that suppresses the dissociation of iodine bonds. In this study, we aimed to develop a new contrast agent that coats the iodine unit using molecular-sized capsules. From the analysis of the UV/Vis absorption spectrum, it was revealed that the novel tripod ligand L and Zn<sup>2+</sup> form a 1:1 complex. This result was also confirmed by MALDI-TOF-MS. Analysis of the NMR spectrum revealed that choline is encapsulated inside the complex of Zn<sup>2+</sup> and L, and it was found that the complex of Zn<sup>2+</sup> and L forms a molecular capsule that can coat molecules.

研究分野：有機合成化学

キーワード：分子カプセル ヨード造影剤

## 1. 研究開始当初の背景

X線による造影 CT は、X線を反射する原子量の大きな元素を含む造影剤を用いて、血管系、唾液腺等を造影する技術であり、昨今の口腔領域の診断を行う上で欠かせない検査技術となっています。CT 用経静脈造影剤としてヨード造影剤が臨床現場で広く用いられており、代表的なヨード造影剤としてイオパミロンやオムニパークが知られています。これらは、ベンゼン環の 2,4,6 位に炭素—ヨウ素結合を有し、1,3,5 位に水溶性置換基を有する非イオン性の比較的分子量の小さい分子です。一般に、造影剤を用いて血管造影をするためには血液中に一定のヨード濃度が必要と言われており、多量のヨード造影剤を血中に投与する必要があります。それにより、吐き気、嘔吐、かゆみ、じんましん、などの副作用が報告されています。

炭素—ヨウ素結合は他の共有結合に比べると弱い結合であるため、炭素—ヨウ素結合が解離しヨウ化物イオンを放出することが知られています。従来のヨード造影剤は、親水性の置換基をヨウ素元素のすぐ近傍に配置することで、炭素—ヨウ素結合の解離を抑制していますが、一定条件下では、環化付加体が生成しヨウ化物イオンが脱離することが報告されています。そのため、従来のヨード造影剤では、ヨード過敏症の患者に用いることは禁忌です。ヨード過敏症の患者にも扱えるヨード造影剤を開発するためには、単位分子あたりのヨウ素含有率を向上させたい一方で、炭素—ヨウ素結合の解離を極限にまで抑えたヨード造影剤の開発が必要となります。これらはトレードオフの関係にあり、それら二つの問題点を同時に解決するには学術的に新たなブレークスルーが必要となっていました。

## 2. 研究の目的

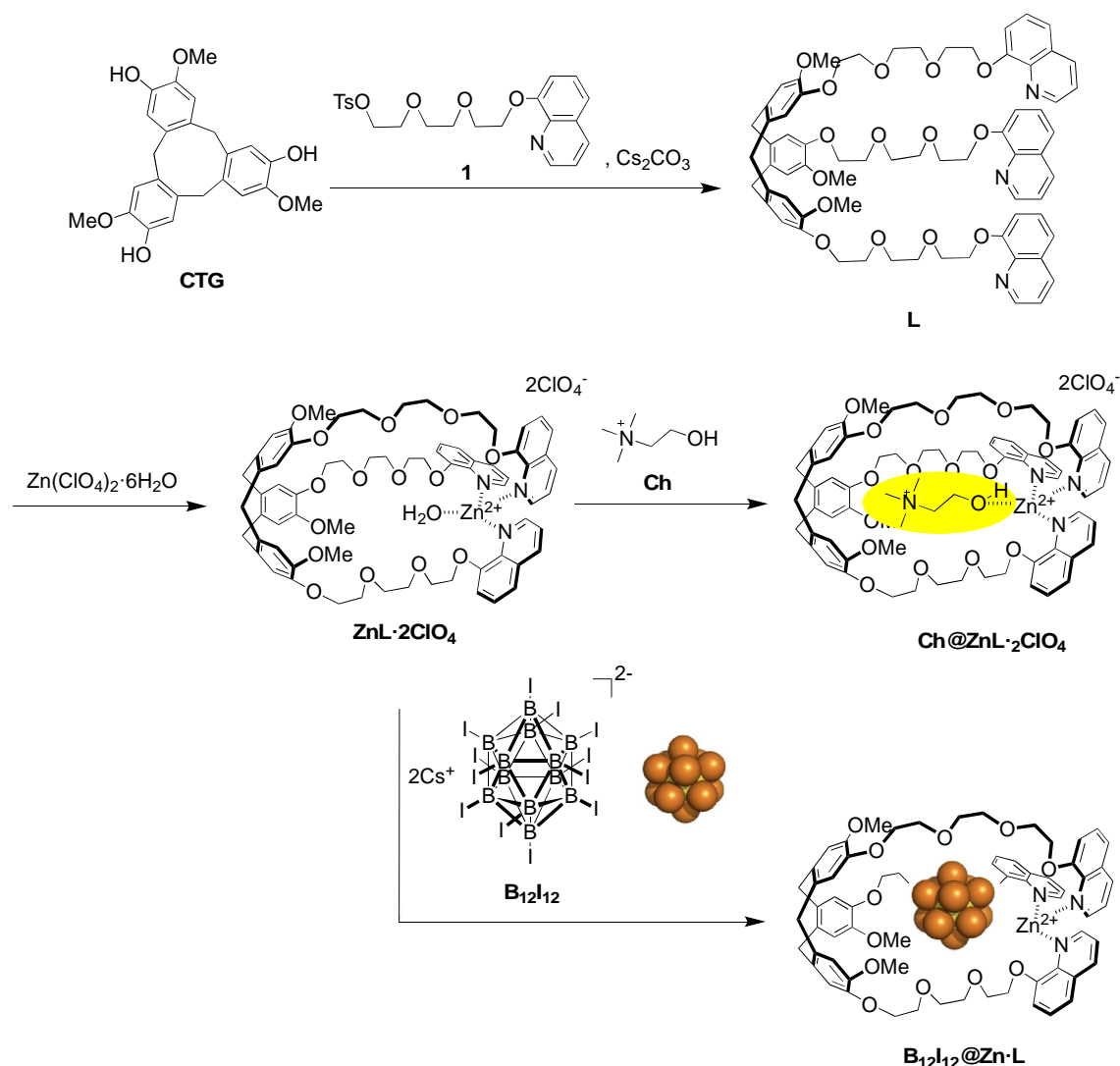
これまでに、我々は直径およそ 1 ナノメートルの空孔を有する分子サイズのカプセル(分子カプセル)を開発してきました。この分子カプセルはカプセルの内側に空孔を有しており、小分子のアセトニトリルや生体生理活性物質のひとつアセチルコリンをその内部に包接することを明らかにしてきました。また、リン原子を空孔内部に導入した分子カプセルは、リン原子が外部の溶媒や試薬と全く反応せず、極めて安定化されていることを見出しています。

本研究では、この分子カプセルの構築技術を用いて、ヨード過敏症の患者にも使用可能なヨウ素結合の解離を完全に抑制したヨード造影剤の開発を行うことを目的としています。すべてのヨウ素ユニットがカプセルの内部に位置する分子カプセルを構築することができれば、単位分子あたりのヨウ素元素の含有量を向上させることができると共に、解離する可能性のあるヨウ素の共有結合をカプセルによって保護することができると思われました。そのために、まずヨウ素ユニットを空孔内部に導入可能な大きなサイズの分子カプセルの開発を行う必要があります。しかし、これまで分子カプセル多くは共有結合の連結で合成されており、より大きな分子カプセルを得ることが大きな課題となっていました。そこで、本研究では、三脚型の配位子を新たに合成し、金属との配位結合によりカプセル化を行うことで、ドデカヨードドデカポレート( $B_{12}I_{12}^{2-}$ )を内包可能な新たな分子カプセルの開発を行いました。

## 3. 研究の方法

次のスキーム 1 に従って、分子カプセルを合成しました。得られた分子カプセルは NMR、質量分析、紫外可視吸光測定、蛍光測定により分析および構造決定を行いました。

Scheme 1



#### 4. 研究成果

まず、新規三脚型配位子 L は、シクロトリゲイアシレン(CTG)とトシル体 1 から 43% の収率で合成しました。L はクロロホルムやアセトニトリルを含むさまざまな溶媒に溶解しました。L と Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> の混合物の UV/Vis 吸収スペクトルの変化を濃度  $1.8 \times 10^2 \mu\text{M}$  で測定しました (図 1)。Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> を L に加えると、キノリノールに由来する 295 nm での吸収強度が減少し、340 nm での強度が増加しました。これらのことは Zn<sup>2+</sup> がキノリノールと配位していることを示唆しています。Zn<sup>2+</sup> を加えると吸収強度が 1.0 当量まで線形に増加し、その後は強度が変わらず、等吸収点が 317 nm に存在しました。これらの結果は、L と Zn<sup>2+</sup> が 1:1 の複合体を形成していることを示しています。1:1 の複合体のピークは MALDI-TOF-MS においても観測され

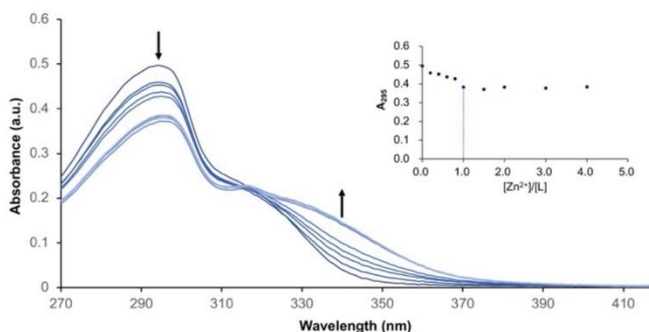


図 1 UV/Vis 吸収スペクトル L と Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (CH<sub>3</sub>CN, [L] =  $1.8 \times 10^2 \mu\text{M}$ )。挿入図は、295 nm での吸光度と [Zn<sup>2+</sup>]/[L] のモル比のプロットを示しています。

ました。1:1 の複合体の結合定数は、非線形解析により濃度  $3.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  と計算されました。リガンド **L** は 400 nm に蛍光極大を示しました(図 2)。この蛍光は  $\text{Zn}^{2+}$  の配位により消光し、濃度  $8.8 \mu\text{M}$  の時、新たな蛍光バンドが 438 nm に観測されました。

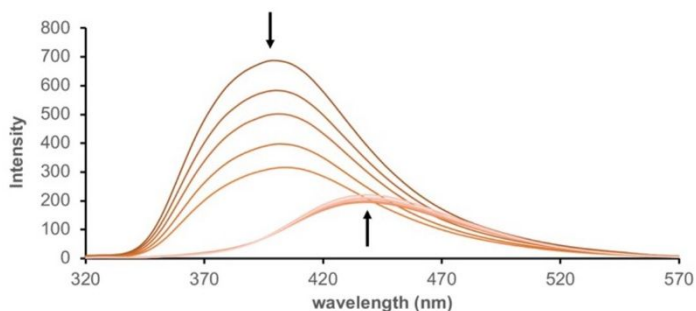


図 2 蛍光スペクトル **L** と  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$  ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $[\text{L}] = 8.8 \mu\text{M}$ ,  $\lambda_{\text{exc}} = 295 \text{ nm}$ )。

**L** の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを図 3(a) に示します。CTG のメチレン部位

の 2 つのプロトンがそれぞれダブレットとして 4.67 および 3.48 ppm、芳香族プロトンの 2 つのプロトンがシングレットとして 6.96 および 6.93 ppm、メトキシ基のシングレットが 3.70 ppm に観測されました。キノリノールの隣のメチレン基で 2 つの異なるジアステレオトピックプロトンの存在が観察されました。**L** のすべてのピークは  $C_3$  対称性を示していました。**ZnL** 錯体の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを図 3(b) に示します。1.0 当量の  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$  を **L** に加えると、トリエチレングリコール鎖およびキノリノールの NMR ピークがブロード化しました。UV データでは、3 つのキノリノールが  $\text{Zn}^{2+}$  と配位していることを示していました。さらに、 $\text{D}_2\text{O}$  を  $\text{CD}_3\text{CN}$  に加えていくと、**ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)** のピークが徐々に狭くなり、 $\text{CD}_3\text{CN}$  と  $\text{D}_2\text{O}$  (9/1) では、NMR 信号が比較的狭くなりました(図 3(c))。これは亜鉛上の配位子交換可能な部位に水の溶媒分子が配位している可能性があります。 $\text{Zn}^{2+}$  に配位していたアセトニトリルを水に置き換えると、 $\text{Zn}^{2+}$  がトリエチレングリコール鎖に配位するのを防ぎ、ピークが鋭くなりました。**ZnL·2Cl** は、 $\text{CD}_3\text{CN}$  溶媒中でも同様に鋭い NMR ピークを示しました(図 3(d))。

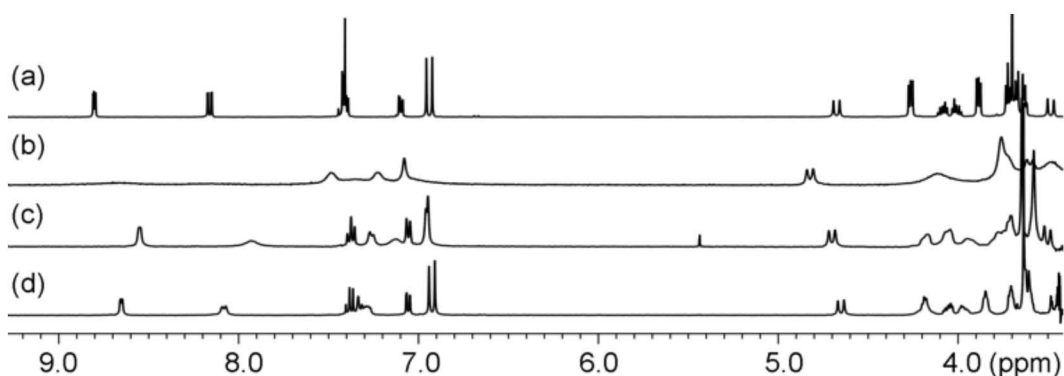


図 3 **L** および **ZnL** 複合体の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル。(a)  $\text{CD}_3\text{CN}$  中の **L**、(b)  $\text{CD}_3\text{CN}$  中の **ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)**、(c)  $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$  (9/1) 中の **ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)**、(d)  $\text{CD}_3\text{CN}$  中の **ZnL·2Cl**。(400 MHz、298 K、 $[\text{L}] = 1.1 \text{ mM}$ )。\* $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 。

**ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)** は、 $\text{CDCl}_3$  と  $\text{DMSO-}d_6$  (9/1) の溶媒中で測定され、 $\text{CD}_3\text{CN}$  の条件で得られたものと同様にブロードな NMR のピークが観察されました(図 4(a))。一方、コリン (**Ch**) が **ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)** に加えられると、**ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)** の広い NMR 信号が狭くなり、**Ch** のピークが高磁場にシフトしました(図 4(c))。NOESY 測定では、コリンと **ZnL·2(ClO<sub>4</sub>)** の間に相関は見られませんでした。しかし、これらの **Ch** のシフトしたピークは、**Ch** のテトラメチルアンモニウム部分が CTG 内部に存在することを示しています。一方、コリンが **L** に加えられたとき(図 4d)、ほとんどの **Ch** のピークはシフトしませんでした。NOESY 測定では、A のピークと水と

の間に相関が観察され、AのピークはChのヒドロキシルプロトンのピークであることを示唆しています。この高場シフトは、LとChの場合には見られませんが、ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )とChが存在するときのみ見られ、これはChとZn $^{2+}$ の配位によるものであることを示しています。これらの結果は、LはChを含まないが、ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )はChを包含できることを示しています。これらの結果は、Chのテトラメチルアンモニウム部分がCTG側に含まれ、Chのアルコール部分がZn $^{2+}$ 部分と配位していることを示しています。これらが同時に発生するという事実は、ChがZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )に入り、内側のZn $^{2+}$ と配位することを明確に示しています。コリンの代わりにブタノールがZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )に加えられたとき、ブタノールに対応するピークシフトは観察されずZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )由来のピークはブロード化しませんでした。

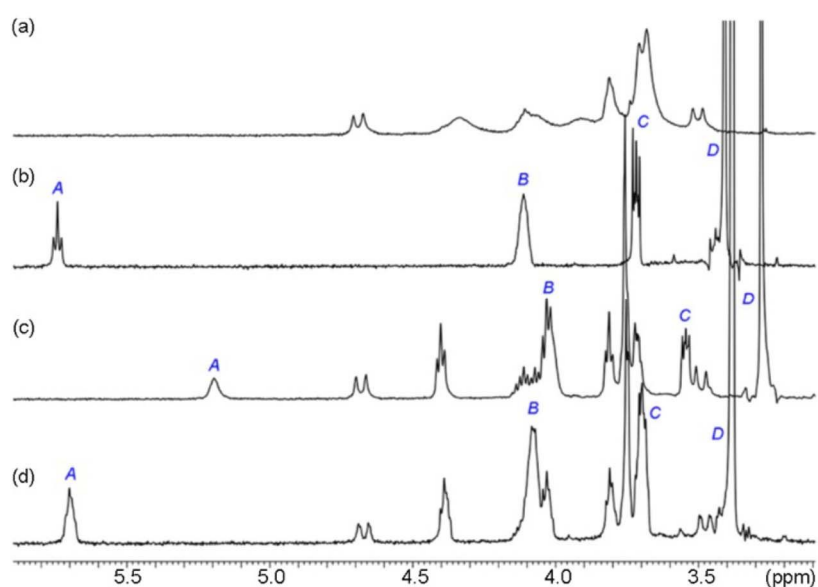


図 4 CDCl $_3$  と DMSO- $d_6$  (9/1) の溶媒中で ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )と Ch の  $^1$ H NMR スペクトル。(a) ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ ) (b) Ch (c) 3.0 当量の Ch と ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ ) (d) 6.0 当量の Ch と L。(400 MHz、CDCl $_3$ /DMSO- $d_6$  (9/1)、298 K、[L] = 1.1 mM)

以上、我々は、ZnL $\cdot$ 2(ClO $_4$ )が、Chを内包可能な分子カプセルを形成することを見出しました<sup>1</sup>。この知見を基にドデカハロドデカボレート (B $_{12}$ X $_{12}^{2-}$ ) の内包化を検討しました。しかし、様々な溶媒や条件を検討しましたが、B $_{12}$ Br $_{12}^{2-}$ や B $_{12}$ I $_{12}^{2-}$ を ZnL に内包化を観測することはできませんでした。その検討の中で、様々なカチオン性蛍光色素と水中で相互作用することを見出しました<sup>2</sup>。特に、細胞膜を透過しにくい4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール(DAPI)やヨウ化プロピジウム(PI)などの蛍光性核酸色素が、B $_{12}$ Br $_{12}^{2-}$ により細胞膜を透過することを見出しました。

#### <引用文献>

- 1) Y. Makita, Y. Akagi, K. Y. Aoyagi, G. Yakabe, Y. Hirai, A. Nomoto, S. Fujiwara, A. Ogawa: "Direct synthesis and characterization of endohedral zinc(II) hemicyrptophane complex," *Tetrahedron Lett.*, **2022**, 107, 154103.
- 2) Y. Hirai, Y. Makita, Y. J. Asaoka, Y. Aoyagi, A. Nomoto, H. Okamura, S. Fujiwara: "Boron clusters alter the membrane-permeability of dicationic fluorescent DNA staining dyes," *ACS Omega*, **2023**, 8, 35321-35327.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuya Hirai, Yoshimasa Makita, Jun Asaoka, Yuka Aoyagi, Akihiro Nomoto, Hideyuki Okamura, Shin-ichi Fujiwara	4. 巻 8
2. 論文標題 Boron clusters alter the membrane-permeability of dicationic fluorescent DNA staining dyes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 35321-35327
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.3c05156	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 Yoshimasa Makita, Yuya Akagi, Yuka Aoyagi, Genta Yakabe, Yuya Hirai, Akihiro Nomoto, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa	4. 巻 107
2. 論文標題 Direct synthesis and characterization of endohedral zinc (II) hemicryptophane complex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 154103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tetlet.2022.154103	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuya Akagi, Yoshimasa Makita, Akihiro Nomoto, Akiya Ogawa
2. 発表標題 Direct synthesis and characterization of endohedral zinc (II) hemicryptophane complex
3. 学会等名 錯体化学会 第72回討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山岡弘樹, 牧田佳真, 藤原真一, 小川昭弥
2. 発表標題 PEG官能基化ヘミクリプトファンの合成と性質
3. 学会等名 第99回日本化学会春季年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------