

機関番号：32607

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20750035

研究課題名 (和文) 芳香族ニトロ化合物を基本骨格とする新規ケージド化合物の開発と NO 発生能の解明

研究課題名 (英文) Development of new caged-NO molecules having aromatic nitro compound as a basic framework and their NO-release abilities

研究代表者

犬井 洋 (INUI HIROSHI)

北里大学・理学部・助教

研究者番号：20348600

研究成果の概要 (和文)：一酸化窒素(NO)が関与する生理機能をより詳細に研究するためには、時空間的に制御された発生を可能にする光 NO ドナーが有用である。本研究では、種々の 9-ニトロアントラセン誘導体を合成し、その光 NO 発生に関する機構や効率を調べた。極低温マトリックス単離法を用いて光反応を追跡したところ、亜硝酸エステル体を経由してオキシラジカル体と NO に分解する様子が観測された。また亜硝酸エステルとオキシラジカル+NO には光化学的な平衡反応が存在することも判明した。ジニトロアントラセンでは明確な中間体を与えずに、直ちに NO とアントラキノンを与えることも分った。一方、室温溶液中のニトロアントラセン誘導体の光反応をグリース試薬による NO 捕捉実験、絶対量子収率測定、NMR 分析によって調べたところ、NO 発生と共にビアントロン体、アントラキノンおよびオキシム体が生成され、その際の分解率は導入される置換基の電子吸引性が高くなるほど増大することが分った。これは、電子吸引性の増大によりニトロ基とアントラセン平面の二面角が増大し、亜硝酸エステルへの転位速度が増大したことによると結論された。

研究成果の概要 (英文)：

Photochemical nitric oxide (NO) donors, which make it possible to release NO at the desired time and space, are useful to study various physiological processes in detail. In this work, a variety of 9-nitroanthracene derivatives having a substituent at 10-position was designed and synthesized as NO donor candidates, and the mechanism and ability on the photochemical NO release from the compounds were investigated using matrix-isolation technique and product analyses in solutions. Upon irradiation in matrices at 10 K, it was established that most of the nitroanthracenes with visible light gives NO and the oxyradical-forms via the nitrite-forms, and that the oxyradical + NO and the nitrite can be converted photochemically each other. And also, it was found that 9,10-dinitroanthracene afford NO and anthraquinone without giving the intermediates such as the nitrite and oxyradical. While the irradiation of nitroanthracenes in solutions at room temperature afforded mainly bianthrone-forms, anthraquinone, and anthracenedione oxime accompanied with NO generation. On the basis of the results from the trapping of NO with Griess reagent and the measurements of absolute quantum yield for the photodecomposition of substrates, it was confirmed that the ability of photochemical NO generation increases according to increasing the electron-withdrawing properties of a substituent introduced to 10-position of 9-nitroanthracene. This result can be interpreted as a consequence of accelerating the transformation from nitro-forms to nitrite-forms by increasing the torsion angle between nitro group and anthracene- sp^2 plane.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			

年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：有機光化学

科研費の分科・細目：

キーワード：光化学、一酸化窒素（NO）発生剤、ニトロアントラセン、極低温マトリックス単離法、反応中間体

1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素(NO)は大気汚染の原因として知られている一方で、生理活性物質として血圧調節、神経伝達、生体防御など様々な生体反応において重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。これらの生物活性の機構的研究を行うためには、生体試料にNOを添加する必要があるが、NOはガス状分子であり直接導入する事は困難である。そこでS-ニトロソチオール(S-NO)、N-ニトロソアミン(N-NO)またはジアゾニウムジオレート(NONOate)基を有する様々なNO発生剤が開発され利用されている。NO発生のトリガーとして光を用いることができる化合物、いわゆるケージド化合物はNOの発生場所や時間を制御する上で自発的(熱的)な発生方法よりも優れており、NOが「いつ」「どこで」関与するのかをより深く理解するための助けとなるものと考えられる。市販されているジニトロソフェニレンジアミン系化合物は高効率NOドナーであることが知られているが(量子収率はほぼ2)、それらの化合物は300nm付近に吸収極大をもつことから、生体組織に影響を与えないより長波長の励起光を利用できるドナーの開発が望ましいと推測される。

2. 研究の目的

上記の研究背景を受けて、申請者は9-ニトロアントラセンや2-メチル-1-ニトロナフタレンが光化学的にNOを生成する反応に着目し、熱的には極めて安定であるが可視光照射により効率良くNOを発生し得る新しいタイプのケージドNO化合物の合成を目指した。

合成した分子については、極低温マトリックス中や溶液中で光照射し、NO発生機構および基質分解率とNO発生効率を解明することを目的とした。更にマクロファージが病原菌や腫瘍細胞への攻撃手段としてNOを利用していることを踏まえ、合成した発生剤の細胞に対する毒性試験を行うことも目的とした。

3. 研究の方法

光NO発生剤として期待される9-ニトロアントラセンや2-メチル-1-ニトロナフタレンの誘導体を設計・合成し、その光反応を極低温マトリックス中および溶液中にて調べ、NO発生に関する機構と効率を議論した。

4. 研究成果

4-1. ニトロアントラセン誘導体(1a-i)の光反応

【分子設計・合成】 まず、9-ニトロアントラセンの光NO発生機構および分解効率を知るために、各種置換基を有する誘導体(1a-g)を合成した(Figure 1)。また水溶性の獲得や細胞内滞留性の向上を期待して、N-アセチルグルコサミンやアルコキシメチルエステル(1i)を連結した分子の合成も試みた(Figure 1)。しかし、前者は様々な反応条件を試みたが合成には至らず、全ての水酸基がアセチル保護された分子(1h)を合成するにとどまった。

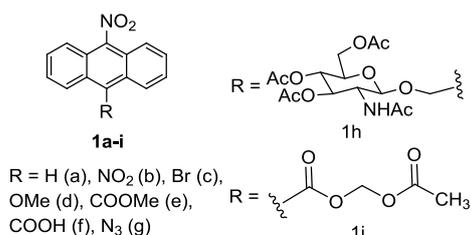


Figure 1.

9-ニトロアントラセンのニトロ基と同環境にあるニトロ基を持つ 2-メチル-1-ニトロナフタレン (**9**) およびその誘導体 (**10**, **11**) の設計と合成を試みた。この場合は *N*-アセチルグルコサミン連結体 **11** を容易に合成することができた (Figure 2)。

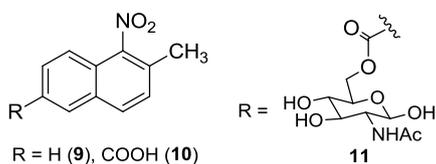
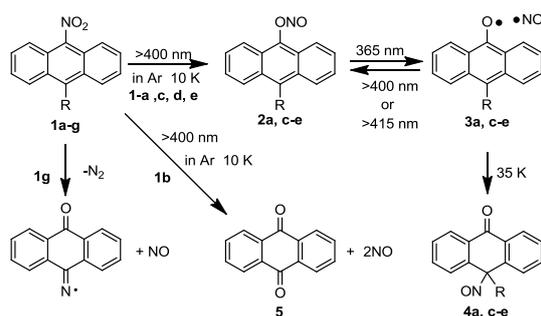


Figure 2.

【NO 発生機構】 合成したニトロアントラセン誘導体を 10 K のアルゴンマトリックス中に単離し、その光反応を IR で追跡することにより反応機構を調べた。その結果、誘導体 (**1a**, **c-f**) では可視光照射により亜硝酸エステル **2** を経由してオキシラジカル **3** と NO を生成すること、また「亜硝酸エステル **2**」と「オキシラジカル **3**+NO」には光化学的な平衡反応が存在することが判明した。またオキシラジカルと NO を含むマトリックスを 30 K に昇温したところ、ニトロソアントロン **4** を与えることも分った (Scheme 1)。ジニトロアントラセ (**1b**) とアジドニトロアントラセン (**1g**) の光反応では、両者とも明確な中間体を与えることなく、NO を発生し熱的に母体と再結合することはなかった (Scheme 1)。このことは、マトリックスのような環境では、**1b**, **g** が効率の良い NO を発生剤であることを

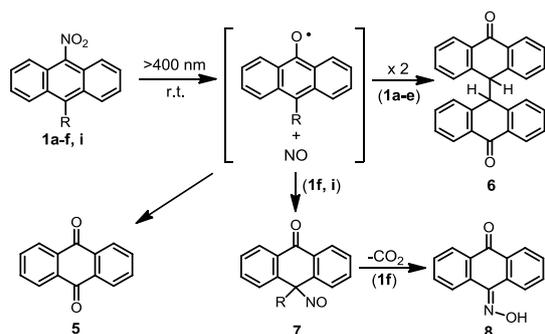
示している。



Scheme 1.

【溶液中の光反応】 合成した誘導体について、室温溶液中での光反応を行い、それらの生成物分布を調べた。その結果、誘導体 (**1a-e**) では主にビアントロン体 **6** とアントラキノン **5** が生成するのに対し、カルボキシル基を有する **1f** では主にオキシム **8** を与えることが分った (Scheme 2)。これらの結果は、光照射により NO とオキシラジカルを生成していることを示しており、**1f** から生じるオキシラジカルは立体障害により二量化 (ビアントロン生成) が抑制され、代わりに“NO との再結合-脱炭酸”が優先することによりオキシムを与えたものと推測される。この推測は、光照射後の IR にて CO_2 が検出されること、NO 捕捉剤であるテトラフェニルポルフィリンコバルトを添加するとオキシム生成が観測されないことから裏付けられた。

またアルコキシメチルエステルを有する **1i** では二量化も脱炭酸も抑えられ、ニトロソ体 **7** が単離された (Scheme 2)。



Scheme 2.

【分解効率の比較】 誘導体において、UV-Vis を用いて光分解速度 ν を比較した。得られた結果を励起波長の吸光係数 ($\epsilon_{405\text{ nm}}$) の違いから見積もられる吸収因子 I と反応の量子収率 Φ の積として解析したところ、 Φ は導入された置換基の電子吸引能が高くなるほど増大する傾向があることが判明した (Table 1)。これは、ニトロ基の対面に電子吸引性基が置換されると、ニトロ基のアントラセン sp^2 平面からのねじれ角が大きくなり (理論計算結果)、亜硝酸エステルへの転位が起こり易くなったためであると推測している。

Table 1.

1	$\nu_{\text{(rel.)}}$	$\epsilon_{405\text{ nm}}$	$I_{\text{(rel.)}}$	$\Phi_{\text{(rel.)}}$
R=H (a)	1	2152	1	1
R=NO ₂ (b)	2.903	3372	1.323	2.193
R=Br (c)	1.876	4118	1.468	1.278
R=OMe (d)	0.604	3639	1.374	0.440
R=COOMe (e)	1.661	2743	1.152	1.442

ν, I, Φ 相対値

誘導体については絶対量子収率の測定とグリース試薬を用いた NO 検出から NO の発生効率を議論した。その結果、Table 2 のようになり、カルボン酸誘導体では分解速度は速くなるものの、NO との再結合が生じる分 NO 発生収率が低下することも分った。

Table 2.

1	$\Phi_{365\text{ nm}}$	Y. NO
a	0.005	39.4%
f	0.021	17.2%
h	0.029	7.7%
i	0.024	4.9%

$\Phi_{365\text{ nm}}$: 365 nm 照射での分解の量子収率、Y. NO: NO 発生収率

より正確な NO 測定のために NO 電極を用いた測定方法も検討したが、照射時に発生するシグナルと NO によるシグナルが重なることにより正確な測定ができていない。現在、それを避けるため、器具類と測定法の改良を検討している。

また、現在、癌細胞中への導入率と NO 発生量を調べるために NO プロブ (DAF-2) と共焦点レーザー顕微鏡を用いた実験が進行中である。

4-2. ニトロナフタレン誘導体 (9-11) の光反応

上記のニトロアントラセン誘導体同様にマトリックス中での光分解機構の測定および NO 発生能に関する議論を行った。分解機構についてはニトロアントラセンと全く同様であり、亜硝酸エステルを経由して NO を発生する過程を追跡することができた。

合成できた *N*-アセチルグルコサミンを連結型の **11** については水溶液中での NO 発生能を調べた。**11** の水溶液に照射 (365 nm, 10 min) した後、NO₂⁻ の検出薬である Griess 試薬を用いて間接的に NO の発生収率を求めたところ約 20% であった。また、**11** の水に対する溶解度は 1.25 mg / ml であり、カルボキシル基を持つ **10** に対して 83.3 倍以上であることがわかった。即ち、十分な水溶性を有し、光化学的に NO 放出が可能な新規な分子を構築することができた。

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0件)

[学会発表] (計7件)

- ① 工藤 洋、犬井 洋、大石茂郎、溶液および極低温マトリックス中の9-ニトロアントラセン類からの光化学的NO発生、2008年光化学討論会
- ② 澤田和宏、犬井 洋、大石茂郎、2-MeO、2-MeSおよび2-MeSe-フェニルアジドの極低温マトリックス中の光反応、2008年光化学討論会
- ③ 森川美希、犬井 洋、大石茂郎、9-ニトロアントラセン骨格を有する新規光NO発生剤の合成と光化学、AKPS集会 第6回北里化学シンポジウム
- ④ 白井啓太、犬井 洋、大石茂郎、ケージド1,2,3-トリアゾールの合成と光化学、AKPS集会 第6回北里化学シンポジウム
- ⑤ 森川美希、犬井 洋、大石茂郎、溶液および極低温マトリックスにおける10-ニトロ-9-アントラセンカルボン酸とその誘導体の光反応、2010年光化学討論会
- ⑥ 白井啓太、犬井 洋、大石茂郎、クリックケミストリーと光化学を利用した1H-1,2,3-トリアゾールの新規な合成方法、2010年光化学討論会
- ⑦ 森川美希、犬井 洋、大石茂郎、10-ニトロ-9-アントラセンカルボン酸とその誘導体の光化学的一酸化窒素放出に関する研究、第91春季年会

[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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

<http://www.kitasato-u.ac.jp/sci/resea/kagaku/HP/kikou/indexA.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

犬井 洋 (INUI, HIROSHI)
北里大学・理学部・助教
研究者番号：20348600

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：

