

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13097

研究課題名(和文)近赤外吸収色素ライブラリーの構築および光音響イメージングへの展開

研究課題名(英文)Development of near infrared dyes for photoacoustic imaging

研究代表者

多喜 正泰 (TAKI, Masayasu)

名古屋大学・物質科学国際研究センター(WPI)・特任准教授

研究者番号：70378850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：電子受容性が高い環状チオエステル骨格の3,5位に種々のアミノフェニル基を導入した共役カチオンを合成した。これらの化合物は900 nm付近に強い吸収を有していたことから、光音響イメージングに利用可能な近赤外吸収色素として利用が示唆された。そこで、この光音響特性について評価するため、光音響シグナルを検出するための光学系を構築した。実際、金ナノ粒子を用いたところ濃度依存的にシグナル強度が変化することわかった。この光学系を用いて蛍光色素の光音響シグナルを検出したところ、アミノ基の種類によって光音響シグナルの大きさが異なり、ジュロリジニル基を導入した色素が強いシグナルを与えた。

研究成果の概要(英文)：A series of polymethine NIR dyes containing a cyclic thioester moiety as a molecular probe for photoacoustic imaging. A cationic polymethine dye with dimethylaminophenyl groups on both sides exhibited an absorption maximum at 903 nm in CH₂Cl₂, whereas a dye substituted with julolidinyl groups showed longer absorption wavelength, indicating that these are promising NIR dyes for photoacoustic imaging. In order to evaluate the photoacoustic properties of these dyes, an optical system was established. In fact, using gold nanoparticles, it was found that the photoacoustic signal intensities increased with increasing the concentration of gold nanoparticles. The comparison of photoacoustic signals between dimethylaminophenyl and julolidinyl derivatives demonstrated that the latter afforded stronger signals when dyes in CH₃CN were irradiated with a femto-second pulsed laser at 800 nm.

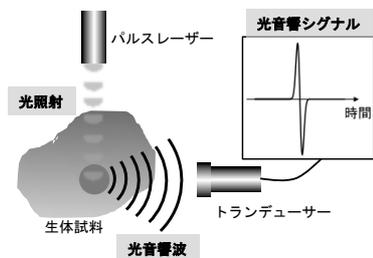
研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：近赤外色素 光音響イメージング

1. 研究開始当初の背景

生体深部観察では、近赤外光といえども強く散乱してしまい、臨床的に意義のある 3 cm 程度の深部組織を正確に画像化することは困難である。一方、CT、MRI、および超音波画像化法は深部イメージングに適しているが、ミリメートル単位の微小な病変を検出することはできない。

このような中、蛍光イメージングと超音波イメージングの利点をもつ光音響イメージング技術は、生体深部を高分解能で画像化できる新しいモダリティとして注目を集めている。実際、国内においても小動物を対象とした *in vivo* 光音響イメージング装置が市販され始め、毛細血管の高精度な画像化が可能になるなど、臨床応用の手前まで達している。しかし、現在画像化されているのは血管（ヘモグロビン）とメラニンが主であり、光音響イメージングのポテンシャルを十分に引き出しているとはいえない。望まれるのは *in vivo* で強い光音響シグナルを放出する分子プローブの開発である。



光音響イメージングの概略

2. 研究の目的

光音響イメージングが汎用性の高い技術となり、ひいては臨床応用に至るには、高コントラストの画像を与える分子プローブの開発が必要である。そのため、プローブにはターゲット選択的に近赤外領域に強い吸収を示すという極めて特異な物性が要求される。本研究では、チオラクトン骨格を中心に含むポリメチン系色素に着目し、これを近赤外吸収色素の新たな合成戦略として位置づけ、近赤外吸収色素ライブラリーを構築することを目的として定めた。

3. 研究の方法

(1) 近赤外吸収色素ライブラリーの構築
五員環複素環に種々の置換基をクロスカップリングによって導入し、近赤外吸収色素群を創出する。合成した色素に関して、構造、物性、安定性などの相関を検討し、有用な骨格を探索する。

(2) 各種溶媒中における近赤外色素の光音響測定

音響スペクトルを測定するための光学系を構築する。パルスレーザーを使用し、音響シグナル強度を観測し、種々の溶媒中における光音響効果を検証する。

(3) 安定な近赤外色素の合成と物性評価
分子内にリンオキシドを有するキサンテン色素を新たな近赤外色素として合成し、その化学的安定性、光物性、および光音響特性について評価する。

4. 研究成果

(1) 近赤外吸収色素ライブラリーの構築
光音響イメージングに利用可能な近赤外吸収色素として、電子受容性が高い環状チオエステル骨格の 3,5 位にジメチルアミノフェニル基を導入した π 共役カチオンを合成した (図 1)。ジクロロメタン中における吸収スペクトルにおいて、極大吸収波長 903 nm、モル吸光係数 $58,500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ という特異な光物性を示すことがわかった (図 2)。この結果は TD-DFT 計算 (B3LYP/6-31G*) から裏付けられ、環状チオエステル骨格を導入する効果は、主に LUMO 準位の低下への寄与にあることが判明した (図 3)。一方、メタノール中では近赤外域の強い吸収帯が消失した。これはメタノールが求核剤として機能し、チオラクトン骨格への求核付加がおこっているためであると考えられる。

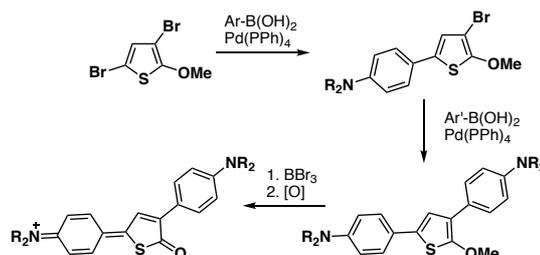


図 1. 近赤外吸収特性を有する π 共役カチオンの合成経路。

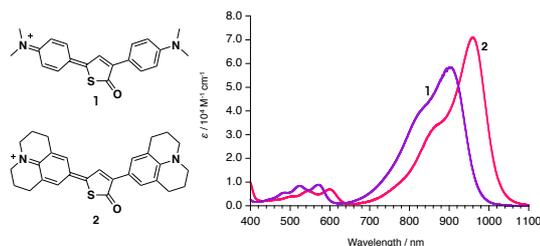


図 2. ジクロロメタン中における吸収スペクトル。

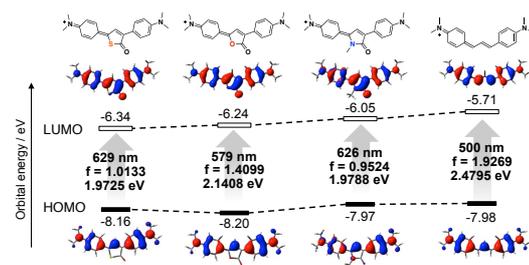


図 3. 分子軌道計算によるチオフェン導入の効果

さらに電子供与性の置換基として、ジフェニルアミノフェニル基およびジュロリジニル基を導入したものを合成した。電子供与能が高くなるほど吸収極大波長が長波長することがわかったが、これらの化合物は不安定であり、特に溶液中では数分のうちに分解生成物が認められた。分解生成物の同定には至っていないが、これらの化合物は前述のものに比べて HOMO レベルが高く、反応性が高くなったことが原因として考えられる。

(2) 各種溶媒中における近赤外色素の光音響測定

近赤外吸収色素の光音響特性について検討するために、光音響シグナルを検出するための光学系を構築した (図4)。本評価システムが有効であるのか確認するため、サンプルとして金ナノ粒子を用いた。シリコンチューブに金ナノ粒子の水溶液を封入し、これにパルスレーザーを照射することによって得られる光音響波を検出した。濃度依存性およびレーザーパワー依存性などから、得られたシグナルはサンプル由来であることを確認した (図5)。ここで得られた成果は *Angew. Chem. Int. Ed.* に投稿した。

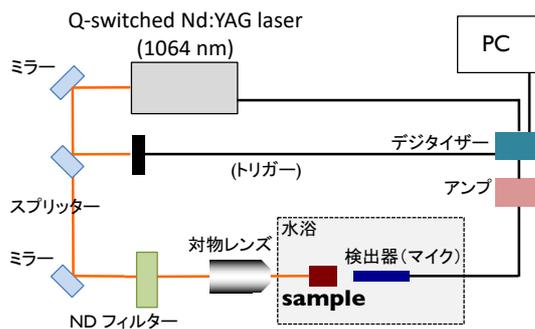


図4. 光音響シグナルの検出系

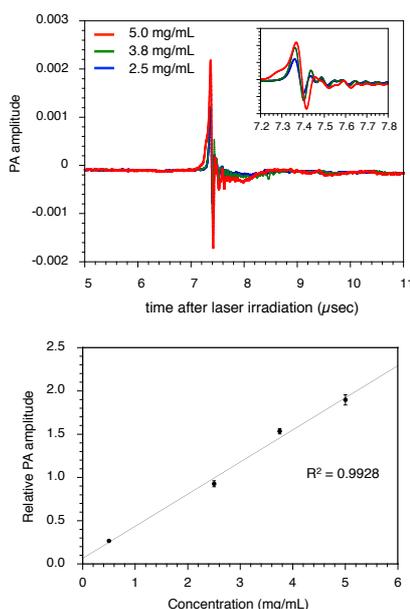


図5. 金ナノ粒子の光音響シグナル

上記 1,2 の化合物を用いて光音響シグナルの検出を行った。ここでは化合物の励起波長を考慮し、使用したレーザーをフェムト秒パルスレーザー (励起波長 800 nm) に変更した。アセトニトリル中、50 mW のレーザーを照射したところ、光音響シグナルの発生が認められた。両者の光音響シグナル強度を比較すると、ジュロリジニル化合物である **2** は、ジメチルアミノフェニルを導入した **1** に比べ約 1.3 倍高いことが示された (図6)。800 nm におけるモル吸光係数を比較すると、**2** は **1** の約 1.4 倍高い。したがって、光音響シグナル強度はサンプルの吸光度が対応することがわかった。

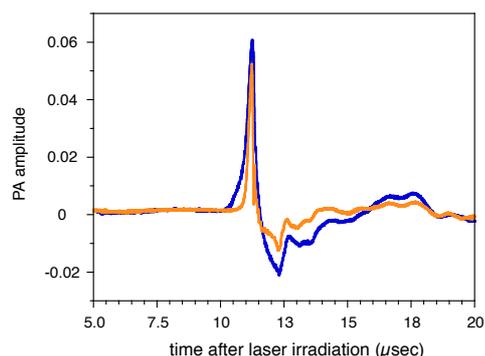


図6. 800 nm で励起したときの化合物 **1** (橙色) と **2** (青色) の光音響シグナル

(3) 安定な近赤外色素の合成と物性評価
リンオキシドを有するキサンテン色素として、ローダミン骨格の 9 位をジメトキシフェニル基で置換した PREX 710 を合成した。PREX 710 は高い化学的安定性に加え、712 nm におけるモル吸光係数は $100,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ と非常に大きな値を有する。さらに、水溶液中で 740 nm に蛍光量子収率 0.13 を示すため、蛍光イメージングと光音響イメージングのマルチモーダルイメージングが可能になるものと示唆された。実際、PREX 710 でラベル化したデキストラン (分子量 70,000) をマウス尾静脈から投与し、脳深部の蛍光イメージング画像を取得したところ、血管を三次元的に可視化することに成功した。光音響イメージングの増強剤としても十分利用できることから、新たなイメージングツールとして有用であるものと期待される。

一方、PREX 710 をナノ粒子内部に集積させることにより、より光音響効果の高い造影剤が創製できるものと考え、近赤外シリカナノ粒子の合成に着手した。ナノ粒子に内包させる PREX 710 の濃度を高くするほど、1 粒子あたりのモル吸光係数の値は大きくなり、蛍光量子収率は小さくなる。したがって、光音響イメージングの造影剤としてより優れた特性を与えることがわかった。現在、本ナノ粒子の光音響特性について評価している段階にある。

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 2 件)

- ① Salorinne, Kirsi; Man, Renee W. Y.; Li, Chien-Hung; Taki, Masayasu; Nambo, Masakazu; Crudden, Cathleen M. Water-Soluble N-Heterocyclic Carbene-Protected Gold Nanoparticles: Size-Controlled Synthesis, Stability, and Optical Properties *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 6198-6208 DOI: 10.1002/anie.201701605
- ② Grzybowski, Marek; Taki, Masayasu; Yamaguchi, Shigehiro Selective Conversion of P=O-Bridged Rhodamines into P=O-Rhodols: Solvatochromic Near-Infrared Fluorophores *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 13028-13032 DOI: 10.1002/chem.201703456

[学会発表] (計 5 件)

- ① GRZYBOWSKI Marek, 多喜正泰, 深澤愛子, 佐藤良勝, 須田真司, 山口恵理子, 山口茂弘
ホスファキサンテン系色素: バイオイメージングに向けた近赤外蛍光色素
第 27 回基礎有機化学討論会
2016 年 9 月 1-3 日, 広島国際会議
- ② 多喜正泰, GRZYBOWSKI Marek, 佐藤良勝, 深澤愛子, 須田真司, 東山哲也, 山口茂弘
生体深部イメージングに向けたリン置換キサンテン系色素の創成
第 10 回バイオ関連化学シンポジウム
2016 年 9 月 7-9 日, 金沢
- ③ 多喜正泰, Marek Grzybowski, 山口茂弘
ソルバトクロミズムを示す近赤外蛍光色素の創製
第 11 回バイオ関連化学シンポジウム
2017 年 9 月 7-9 日, 東京大学
- ④ Hiroaki Ogasawara, Masayasu Taki, Yoshikatsu Sato, Shigehiro Yamaguchi
A far-red emitting fluorescent probe for cytosolic Ca²⁺ ion based on phospho-fluorescein scaffold
2nd International Symposium on Biofunctional Chemistry
2017 年 12 月 14-16 日, 京都大学
- ⑤ Masayasu Taki
Development of small molecule based fluorescent probes using phosphorus containing fluorophore
4th CSRS-ITbM Joint Workshop with Kihara

(invited)

2018 年 1 月 15 日, 横浜理研

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: ホスファロドール化合物及びその塩、並びにそれを用いた蛍光色素
発明者: 多喜正泰, Marek Grzybowski, 山口茂弘
権利者: 同上
種類: 特許
番号: PCT/JP2018/012880
出願年月日: 2018 年 3 月 28 日
国内外の別: 外国

○取得状況 (計 1 件)

名称: ホスファロドール化合物及びその塩、並びにそれを用いた蛍光色素
発明者: 多喜正泰, Marek Grzybowski, 山口茂弘
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 2017-062190
出願年月日: 2017 年 3 月 28 日
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://orgreact.chem.nagoya-u.ac.jp/olddocs/Home.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

多喜 正泰 (TAKI, Masayasu)

名古屋大学トランスフォーメティブ生命分子研究所・特任准教授

研究者番号: 70378850