

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18750141

研究課題名(和文) 可視光で駆動する光可逆性ケージド化合物の開発

研究課題名(英文) Development of new caged compounds that can be photo-isomerized by visible light

研究代表者 百武 篤也 (MOMOTAKE ATSUYA)
筑波大学・大学院数理物質科学研究科・講師
研究者番号：70375369

研究成果の概要：

ケージド化合物は生理活性物質の活性部位を光分解性保護基で保護した化合物であるため、ケージド化合物を用いると細胞内外における活性物質の放出を光でコントロールできるようになる。本研究で開発された光分解性保護基を用いてケージドグルタミン酸を合成したところ、光でグルタミン酸を放出することが確認された。光分解の量子収率は0.04で、この値はすでにケージドグルタミン酸としての有用性が示されているMNI-Glutamateと同程度の値であった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000	0	1,400,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	330,000	3,830,000

研究分野：有機物理化学・光化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：(1)ケージド化合物 (2)ケージング基 (3)キノリン (4)ニトロキノリン (5)光分解反応 (6)回転異性体

1. 研究開始当初の背景

カルシウムイオンは、脳神経細胞を始めとするあらゆる細胞内、あるいは細胞間情報伝達に用いられている最も重要な物質の一つであり、生体細胞内のカルシウムの存在をイメージングすることに、最先端の光学、分子生物学、化学、情報処理の技術が導入され、目覚ましい発展を遂げていることは周知の事実である。特に生体膜付近で起こる情報伝達系の解明という問題に対し、細胞内、あるいは細胞の近辺で光照射によって人工的にカルシウムイオンを発生させる手段が必要とさ

れている。申請者はこれまでに行ってきた光応答性分子の反応制御技術を応用し、生体細胞内、および細胞膜近辺で人工的にカルシウムイオンを発生させる分子の開発を行う。これにより膜表面にある受容体、イオンチャネルといったタンパク質の存在地図作成などより詳細な細胞膜機能の解析への寄与が期待できる。

2. 研究の目的

(1)最も重要な情報伝達物質の一つであるカルシウムイオンを、空間的、時間的に任意の

タイミングで発生させる化合物はケージドカルシウムと呼ばれる。当研究の目的は、究極のケージドカルシウムの開発である。そのために、1. 新しい光応答色素の選択、2. 新色素を用いたケージドカルシウムの合成研究が必要となる。これらをレーザー共焦点顕微鏡などの光学技術、画像解析技術と組み合わせることにより、生体細胞内や細胞近辺で起こる情報伝達系の速度論的な評価や、情報伝達に關する新たな因子の発見、カルシウムシグナル発生以降に起こる生理的な過程を視覚的に観察し解析することができるようになる。

(2)カルシウムイオン以外にも重要な神経伝達物質としてグルタミン酸や GABA がある。光照射で効率良くグルタミン酸や GABA を放出するケージドカルシウムを開発することにより、例えば脳の高次機能解明に有用である。そのため、本研究では高性能ケージドグルタミン酸およびケージド GABA の開発を目的とした。ケージド化合物の高性能化を目指し、ケージド化合物に最適な新規色素を開発し、用いる。

3. 研究の方法

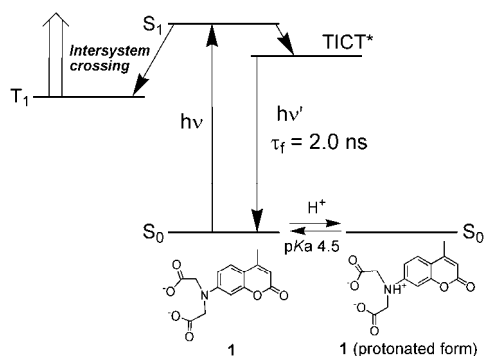
(1)本研究で合成される予定の新規ケージドカルシウム分子の合成波は出発物質のインジゴから6段階となる。出発物質であるインジゴから最終生成物まで、各ステップにおける反応は既知であり、スムーズに目的化合物が得られると考えられる。

(2) 高性能ケージドグルタミン酸およびケージド GABA はクマリンを出発原料とし、既知の反応を利用して容易に合成可能と考えられる。ここでは高性能化を目指し、新規クマリン骨格を用いたケージド色素、新規ジヒドロキノリン骨格を用いたケージド色素をそれぞれ用いる。

(3) 合成したそれぞれのケージド化合物に関して各種測定を行い、光機能に関する物性値を決定し、その後生命科学研究に応用する。

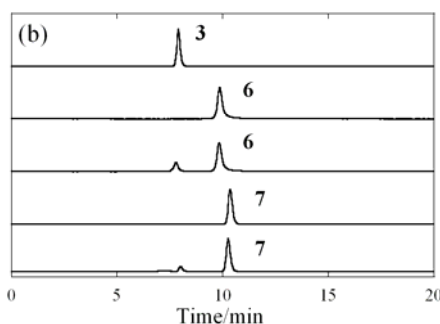
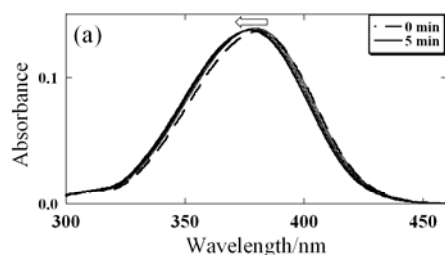
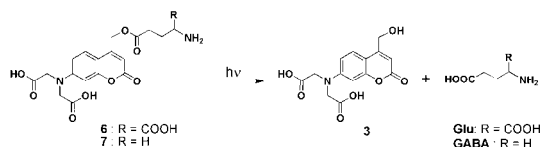
4. 研究成果

(1)クマリン1の HEPES 緩衝溶液 (pH 7.2) への溶解度は 5 mM とケージド化合物の保護基として十分に高水溶性であった。また、



HEPES 緩衝溶液中で光物性の測定を行ったところ、クマリン1は可視光での励起が可能であった。またその蛍光寿命は 2.0 ns と十分に長かったため、クマリン1を保護基に有するケージド化合物は励起状態から効率良く光分解を起こすことが期待される結果となった。

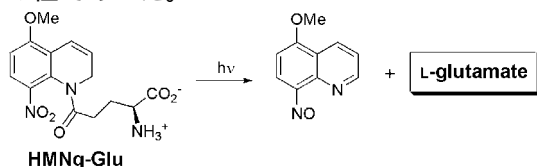
(2)次にクマリン1を用いて、重要な神経伝達物質であるグルタミン酸や GABA を光照射により放出するケージドグルタミン酸およびケージド GABA を合成し、その光物性の測定を行い、開発した保護基の性能を検証した。



ケージドグルタミン酸およびケージド GABA の光物性を HEPES 緩衝溶液中で測定したところ、2つのケージド化合物は可視光による励起が可能であり、その光分解の効率を示す量子収率 ϕ_{chem} は、ケージドグルタミン酸において $\phi_{chem} = 0.10$ 、またケージド GABA において $\phi_{chem} = 0.20$ であり、いずれも十分に実用可能な値を示した。また、高水溶性の保護基部位を有することでこれらのケージド化合物の緩衝溶液への溶解度も 1 mM 以上となった。

これらの結果から、開発したクマリン1はこれまで報告されてきた保護基の難溶性の問題を解決し、汎用性や実用性を兼ね備えた新しいケージド化合物の保護基であることが示された。

(3)本研究で新たなケージド化合物のプラットフォームとして開発されたジヒドロキノリン骨格を持つ光分解性保護基は、カルボン酸部位を有する生理活性物質を保護するのに適している。この新規光分解性保護基に関して、まず光で酢酸を放出するテスト化合物を複数合成し、置換基の導入位置の違いによる光物性の違いを検討し、構造最適化を行ってきた。その結果、最適な構造及び、ケージド化合物に必要な物性、すなわち暗所での安定性、350nm付近の紫外線の吸収効率、光分解による生理活性物質の放出効率に優れていることが示された。また実際にこの光分解性保護基を用いてケージドグルタミン酸を合成したところ、テスト化合物で見られた物性を示し、光でグルタミン酸を放出することが確認された。光分解の量子収率は0.04で、この値はすでにケージドグルタミン酸としての有用性が示されているMNI-Glutamateと同程度の値であった。



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10件)

1. T. Kanda, A. Momotake, Y. Shinohara, T. Sato, Y. Nishimura, and T. Arai, Photoinduced proton transfer in 2-(2'-Hydroxynaphthalenyl)benzoxazole: observation of fluorescence with a small Stokes shift induced by excited-state intramolecular proton transfer, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 査読有, **82**, (1), 118-120 (2009).
2. N. Yoshimura, A. Momotake, Y. Shinohara, Y. Nishimura, and T. Arai, Photochemical and photophysical characteristics in the excited state properties of methoxy-substituted enediynes, *Chem. Lett.* 査読有, **37**, (2), 174-175 (2008).
3. N. Yoshimura, A. Momotake, Y. Shinohara, Y. Nishimura, and T. Arai, Synthesis and photoisomerization of enediyne-type dendrimers with benzyl ether dendrons *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 査読有, **80**, (10), 1995-2000 (2007).
4. N. Senda, A. Momotake, and T. Arai, Synthesis and photocleavage of 7-[[Bis(carboxymethyl)amino]coumarin-4-y

l]methyl-caged neurotransmitters *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 査読有, **80**, (12), 2384-2388 (2007).

5. T. Okamoto, A. Momotake, Y. Shinohara, R. Nagahata, and T. Arai, Isomer specific solvent effect on photoisomerization of photoresponsive polyphenylene dendrimers with a stilbene core

Bull. Chem. Soc. Jpn. 査読有, **80**, (11), 2226-2228 (2007).

6. A. Ohshima, M. Ikegami, Y. Shinohara, A. Momotake, and T. Arai, The effect of meta-substitution on the photochemical properties of benzoxazole derivatives *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 査読有, **80**, (3), 561-566 (2007).

7. M. Nishida, A. Momotake, Y. Shinohara, Y. Nishimura, and T. Arai, Synthesis and photophysical properties of water-soluble dendrimers bearing a phthalocyanine core, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 査読有, **11**, (5-6), 448-454 (2007).

8. A. Momotake, Current topics of caged compounds for biological application *Seikagaku*, 査読有, **79**, (12), 1153-1158 (2007).

9. Y. Miura, A. Momotake, Y. Shinohara, M. Wahadoszamen, Y. Nishimura, and T. Arai, The first observation of the effect of dendritic structure to produce the triplet excited state of the core stilbene by dendron excitation

Tetrahedron Lett. 査読有, **48**, (4), 639-641 (2007).

10. N. Senda, A. Momotake, Y. Nishimura, and T. Arai, Synthesis and photochemical properties of a new water-soluble coumarin, designed as a chromophore for highly water-soluble and photolabile protecting group, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 査読有, **79**, (11), 1753-1757 (2006).

[学会発表](計5件)

1. 小尾 奈緒子・百武 篤也・新井 達郎
新規ケージング基ジヒドロニトロキノリンの光化学

日本化学会第89春季年会, 2009.3.28, 2PC-112, 日本大学理工学部船橋キャンパス

2. 千田 直子・三輪 佳宏・百武 篤也・新井 達郎

7-ヒドロキシキノリン類のバイオイメージング蛍光色素への応用研究

日本化学会第89春季年会, 2009.3.27, 1J3-12, 日本大学理工学部船橋キャンパス

3. 小尾 奈緒子・百武 篤也・新井 達郎

ジヒドロニトロキノリン骨格を有するケージド化合物の開発

2008年光化学討論会, 2008.9.11, 1P09, 大阪府立大学 中百舌鳥キャンパス

4. 小尾 奈緒子・百武 篤也・新井 達郎
ニトロキノリン骨格を活用したケージド化合物の合成と光化学に関する研究

日本化学会第88春季年会,
2008.3.27, 2H5-37, 立教大学池袋キャンパスおよび立教池袋中学校・高等学校

5. 千田 直子・百武 篤也・新井 達郎
クマリン骨格を保護基として有するケージド化合物の光分解反応と保護基の励起状態の特性

2007年光化学討論会 2007.9.26, 1P55, 信州大学松本キャンパス

6. 研究組織

(1) 研究代表者 百武 篤也

(MOMOTAKE ATSUYA)

筑波大学・大学院数理物質科学研究科・講師

研究者番号: 70375369

(2) 研究分担者 無し

(3) 連携研究者 無し