

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01862

研究課題名(和文)1分子ユニット内で放射線と蛍光を放出するイメージングプローブの開発

研究課題名(英文)Development of imaging probes emitting radiation and fluorescence in a single molecule unit

研究代表者

吉村 崇 (Yoshimura, Takashi)

大阪大学・放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合センター・教授

研究者番号：90323336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、放射性金属イオンが放射線放出部位となり、その放射性金属錯体ユニットが発光する錯体構築の基礎的知見を得るためのpH環境応答性のある発光性錯体の合成、放射線による励起により励起3重項状態を形成できる錯体の構築のための高いエックス線吸収能をもつレニウムイオンが集合した六核クラスター錯体による生体毒性の調査、励起3重項状態からの酸素分子へのエネルギー移動、生体内で効果的にキレートできる配位子の開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境応答性発光を示す錯体の合成に成功し、同タイプの錯体でも配位子の酸解離定数を配位子の窒素原子の数を変えることにより、幅広いpHに対応できることを明らかにした。発光性をもつレニウム金属クラスターが光照射により1重項酸素を生成し、毒性の向上することがわかった。また、安定にキレートする配位子の開発にも成功した。これらの結果は、医学利用できる蛍光と放射線を1ユニット内で示す錯体開発への指針になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, the synthesis of pH-responsive luminescent complexes to obtain fundamental knowledge on the construction of complex emitting radiation and luminescence in a metal complex unit. In addition, the biotoxicity of hexanuclear rhenium cluster complexes with high X-ray absorption capacity was investigated for the construction of complexes that can form excited triplet states upon excitation, the energy transfer from the excited triplet state to oxygen molecules. Furthermore, the ligand that can effectively chelate to a metal ion with a large ionic radius has been studied.

研究分野：無機化学、金属錯体化学

キーワード：発光 放射線 イメージングプローブ 放射性核種 RI

1. 研究開始当初の背景

放射性の金属イオンのうち、いくつかの核種は放射性画像診断薬として臨床利用されている。一方、研究では、発光を用いた生体イメージングが多用されている。ガンマ線は透過力が高いが強みであるが、周囲の環境変化に関する応答が無いことが弱みである。一方、発光の場合は、生体内でのプローブ周囲の環境や状態をスペクトル測定によって知ることができ、リアルタイムで追跡可能であることであるが、弱みとしては、透過力が低いことである。そこで、放射線と蛍光の両方の機能をもつプローブ(バイモダルプローブ)分子が開発できれば、両者の強みを活かし、弱みを抑える事ができる。そのため、最近、バイモダルプローブ分子の開発が非常に注目されている。イメージング薬剤は、体内で標的的特異的に集積させる必要があり、標的集積ユニットのもつ標的的特異性に影響を与えないようイメージング薬剤内の放射線放出部位及び蛍光放出部位はサイズが小さいことが重要である。しかしながら、現在までに研究開発されているバイモダルプローブは放射線放出部位と蛍光放出部位とが別々に存在し、それらを結合させてイメージング薬剤を合成している例がほとんどである。このような分子設計では必然的に標識分子のサイズが極めて大きくなり、生体内挙動に大きな影響を与える可能性が高いこの問題を解決するためには、放射線放出部位と蛍光放出部位が同一であればよい。このような1ユニットに多数の機能をもつ分子の設計と合成は、あまり進んでいなかった。また、励起3重項状態をとる金属錯体は、酸素分子へのエネルギー移動により1重項酸素を生成させることができるため、光照射することにより治療薬として用いることができる可能性がある。組織透過性の高い放射線を用いて励起状態にすることができれば、より広範囲で使用できる治療薬開発につながる。

2. 研究の目的

本研究では、放射性金属イオンが放射線放出部位となり、その放射性金属錯体ユニットが発光する錯体構築の基礎的知見を得るために、安定同位体を用いて pH 環境応答性のある発光性錯体の合成を行う。また放射線による励起により励起3重項状態を形成できる錯体の構築のために、高いエックス線吸収能をもつレニウムイオンが集合した六核クラスター錯体を用いて、生体毒性の調査、励起3重項状態からの酸素分子へのエネルギー移動について調べる。加えて、生体内で効果的にキレートできる配位子の開発を行う。

3. 研究の方法

研究は以下の事項について行った。

- (1) 酸解離定数が大きく異なる配位子をもつ一連のニトリドレニウム(V)錯体の合成と発光挙動の調査
- (2) 4-(pyridinetriazole)-L-phenylalanine (ptph)をもつレニウム六核クラスターの合成、細胞毒性、及び動物実験
- (3) ピリジンホスホン酸アームをもつ18員環配位子の合成と金属イオンとの安定性評価

4. 研究成果

- (1) 酸解離定数が大きく異なる配位子をもつ一連のニトリドレニウム(V)錯体の合成と発光挙動の調査

アゾールピリジンが二座配位したトリシアニドニトリドレニウム(V)錯体、 $[\text{ReN}(\text{CN})_3(\text{H-N2py})]^-$ (**1-H**, H-N2py = 2-(3-pyrazolyl)pyridine)と $[\text{ReN}(\text{CN})_3(\text{L})]^{2-}$ (**2-a**, L = 2-[1,2,3]-triazol-4-yl-pyridine anion (N3py⁻), **3-a**, L = 2-(tetrazol-5-yl)-pyridine anion (N4py⁻))を新たに合成した。アゾール環の窒素原子の数に応じて、プロトンが付加した錯体と付加していない錯体が得られることが分かった。これらの化合物についての構造は単結晶X線構造解析によって明らかにした。**1-H**では、H-N2pyのpyrazolyl (pyrz)とpyridyl (py)がそれぞれニトリドのトランス位置、エカトリアル部位に配位した化合物が94%含まれていることが分かった。一方、**2-a**及び**3-a**は、配位子のアゾール部位がエカトリアル位置、ピリジン部位がトランス位置にあることが分かった。錯体**1-H**ではH-N2pyのpyとpyrz、それぞれがニトリドのトランス位とシアニドのトランス位に二座配位する2種類の異性体(**1-H-a**, **1-H-b**)が存在することが分かった。錯体**2-a**と**3-a**では、配位子のプロトンが脱離した状態で

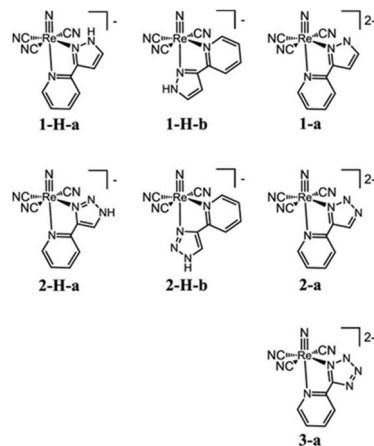


図1. 錯体の構造

錯体が生成し、N3py⁻とN4py⁻のtriazolyl (trz)とtetrazolyl (tetrz)がシアニドのトランス位に、py側はニトリドのトランス位に配位した錯体のみであることが分かった。錯体**1-H**は1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-one (DBU)または、NaOHによって脱プロトン化し、 $[\text{ReN}(\text{CN})_3(\text{N2py})]^{2-}$ (**1-a**)が生成した。プロトンが付加した状態の錯体**1-H**では、2種類の異性体が確認されたが、脱プロトン化した錯体**1-a**では、py側がニトリドのトランス位に配位した**a**の構造のみが確認された錯体**2-a**は、DMSO中で、*p*-トルエンスルホン酸 (TsOH)を加えることによってプロトン付加し、 $[\text{ReN}(\text{CN})_3(\text{H-N3py})]^-$ (**2-H**)が生成した。プロトン付加した錯体**2-H**は錯体**1-H**の場合と同様に2種類の異性体(**2-H-a**, **2-H-b**)の存在が確認できた。錯体**3-a**は、DMSO中においてTsOHに

よってプロトン付加は生じなかった。合成したすべての錯体は固体状態及び DMSO 中で発光を示した。DMSO 中の発光は³MLCT 由来であった。また、錯体 **1-H** と **2-a** は配位子のプロトン付加/脱離によって発光挙動が変化し、プロトン化で発光は短波長シフト、脱プロトン化で長波長シフトすることが明らかになった。錯体 **2** においては、酸性及び塩基性蒸気存在下においてもプロトンの付加/脱離によって発光挙動が変化することを明らかにした。

(2) 4-(pyridinetriazole)-*L*-phenylalanine (ptph)をもつレニウム六核クラスターの合成、細胞毒性、及び動物実験

アルキンを持つピリジン型配位子 *tepy* が一つ配位した錯体 $(n\text{-Bu}_4\text{N})_3[\text{Re}_6\text{S}_8\text{Cl}_5(\text{tepy})]$ $\{(n\text{-Bu}_4\text{N})_3[\text{Re-}tepy\mathbf{1}]\}$ を新しく合成し、さらにアジドを持つ *N*-Boc-4-azido-*L*-phenylalanine Methyl Ester と $(n\text{-Bu}_4\text{N})_3[\text{Re-}tepy\mathbf{1}]$ とを Cu(I)触媒下、室温で反応させた後、保護基を脱保護、対イオンを Na⁺イオンに交換し、Na₃[Re₆S₈Cl₅(ptph)] $\{\text{Na}_3[\text{Re-ptph}\mathbf{1}]\}$ を得た。Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺の IR スペクトルでは、*N*-Boc-4-azido-*L*-phenylalanine Methyl Ester の 2115 cm⁻¹ のアジド基の吸収帯が消失し、1726 cm⁻¹ に ptph の C=O 由来の吸収帯が確認された。Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺は 550 ~ 1000 nm の可視-近赤外領域にブロードな発光スペクトルを示した。Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺の発光は、試料形態により発光極大波長はほとんど変化せず、マイクロ秒の発光寿命をもつため、Re の d 軌道間の遷移である cluster-core centered 発光と帰属した。発光強度は酸素濃度に応じて大きく変化した。1 重項生成速度定数は、一般的なエネルギー移動速度定数の範囲内であることが分かった。[Re₆S₈Cl₆]⁴⁺と Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺について細胞取り込み試験、細胞毒性試験、がんモデルマウス生体分布試験を行った。細胞取り込み試験では、Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺の LAT1 に対する親和性は低いことが分かった。細胞毒性試験では、遮光条件と蛍光灯 30 分露光条件に分けて、毒性を調べた。結果として、遮光条件では、毒性が [Re₆S₈Cl₆]⁴⁺ < Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺ になった。蛍光灯下では、両錯体ともに毒性向上がみられた。がんモデルマウスによる動物実験については、[Re₆S₈Cl₆]⁴⁺、Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺ともに腫瘍に 5~10 %程度取り込まれ、肝臓による代謝と腎臓からの排出による排泄が起きることが分かった。また、Na₃[Re-ptph $\mathbf{1}$]⁺の方が正常組織からの排出が早いことが分かった。レニウム六核錯体はがん組織へ受動的に取り込まれることが判明した。

(3) ピリジンホスホン酸アームをもつ 18 員環配位子の合成と金属イオンとの安定性評価

ランタノイド、アクチノイド、及びアルカリ土類金属イオンに対する安定なキレート配位子を開発し、さらに、この配位子に発光性を付与させるために、ピリジンホスホン酸エチルエステルをペンダントアームに持つジアザ-18-クラウン-6 エーテル(**L1**)及びピリジンホスホン酸エチルエステルをペンダントアームに持つジアザ-18-クラウン-6 エーテル(**H₂L2**)²⁻を合成した。続いて、ホスホン酸エステルアームをもつ配位子 **L1**、ホスホン酸アームを持つ配位子 **L2** が結合した La(III)錯体 (**LaL1**, **LaL2**) 及び Ba(II)錯体 (**BaL1**, **BaL2**) を新たに合成した。反応は室温下で金属イオンと配位子を混合すると、直ちに進行することが分かった。La(III)においては **LaL1**, **LaL2** ともに配位子中の 10 の配位原子が全て La(III)イオンに結合し、さらに溶媒分子が配位した 11 配位構造をとっていることがわかった。一方、Ba(II)において、**BaL1** では **LaL1** と同形構造をとり 11 配位構造であったが、**BaL2** では溶媒分子が配位していない 10 配位構造をとっていた。全ての錯体について NMR スペクトルを測定したところ、11 配位の錯体では、配位子のみの NMR スペクトルとは異なり、多数のシグナルが観測された。これは配位子が金属イオンに配位することによって、対称性が低下したためである。一方、10 配位構造をもつ **BaL2** ではブロードなシグナルが観測され、Ba²⁺イオンと配位子との間の結合生成 解離が溶液中で起こっていることが示唆された。電位差滴定により酸塩基平衡反応と錯生成反応を追跡し、水溶液中での安定度定数を算出した。La(III)イオンのほうが、Ba(II)イオンに比べて安定な錯体をつくる傾向にあることが分かった。これは、中心金属イオンの酸化数が La(III)イオンのほうが大きいために配位子の非共有電子対をより強く引きつけるためと考えられる。La(III)においては、ピリジンホスホン酸エステルアームをもつ配位子に比べてピリジンホスホン酸アームをもつ配位子のほうが、安定な錯体を形成することが判明した。一方、Ba(II)においては、逆の傾向がみられ、ピリジンホスホン酸エステルアームをもつ配位子のほうが、ピリジンホスホン酸アームをもつ配位子よりも安定な錯体を形成することが分かった。Ba(II)に対する配位数の違いが錯体の安定性影響を及ぼしたためと考えられる。

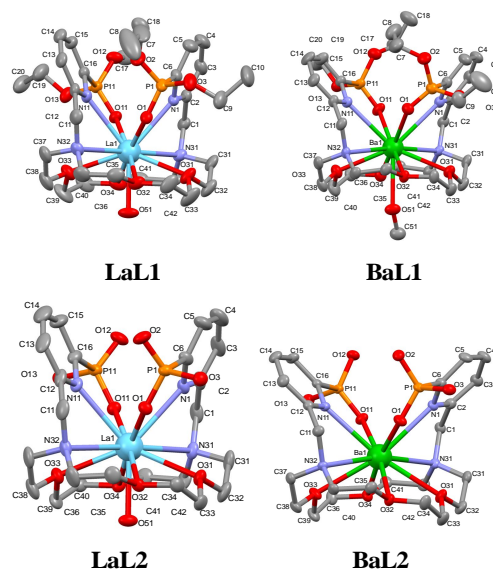


図 2.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshimura Takashi, Nishizawa Hayato, Nagata Kojiro, Ito Akitaka, Sakuda Eri, Ishizaka Shoji, Kitamura Noboru, Shinohara Atsushi	4. 巻 7
2. 論文標題 Tuning the Ground- and Excited-State Redox Potentials of Octahedral Hexanuclear Rhenium(III) Complexes by the Combination of Terminal Halide and N-Heteroaromatic Ligands	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 26965 ~ 26982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.2c03834	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 Kazuaki Baba, Kojiro Nagata, Tatsuo Yajima, Takashi Yoshimura	4. 巻 95
2. 論文標題 Synthesis, Structures, and Equilibrium Reactions of La(III) and Ba(II) Complexes with Pyridine Phosphonate Pendant Arms on a Diaza-18-crown-6 Ether	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 466-475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20210414	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 Miyamoto Sodai, Nagata Kojiro, Yoshimura Takashi	4. 巻 62
2. 論文標題 Luminescence Color and Intensity Changes of Nitridorhenium(V) Complexes Induced by Protonation/Deprotonation on the Bidentate Azolyipyridine Ligands	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 17641 ~ 17653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.3c02149	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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Takashi Yoshimura, Motohiro Nakano, Kojiro Nagata
2. 発表標題 Synthesis and Properties of Pyrazine or 4,4'-bipyridine Bridged Octahedral Hexanuclear Rhenium Cluster Dimer
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 Kojiro Nagata, Yota Ishida, Tatsuo Yajima, Takashi Yoshimura
2. 発表標題 Stability of a Series of the Rare-earth Complexes with Nonadentate Ligands Having Three Picolinic Acid Arms
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 宮本颯大、永田光知郎、吉村 崇
2. 発表標題 アゾール配位子をもつニトリドレニウム(V)錯体の合成と配位子のプロトン付加/脱離による発光の変化
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 馬場一彰、永田光知郎、矢島辰雄、吉村崇
2. 発表標題 新規ホスホン酸ピリジンアームを持つ大環状配位子とそのLa(III)、Ba(II)錯体の合成と物性
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西澤颯人、永田光知郎、吉村崇
2. 発表標題 アルキニルピリジンを持つ八面体型レニウム六核錯体の合成と発光特性
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮本 颯大、永田光知郎、吉村 崇
2. 発表標題 オキシド架橋レニウム(VII)錯体の合成と反応性
3. 学会等名 錯体化学討論会第73回討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浜崎健太、馬場一彰、永田光知郎、吉村 崇
2. 発表標題 核医学のためのホスホン酸ピリジンアームをもつ12員環配位子が配位したランタノイド錯体の合成と性質
3. 学会等名 錯体化学討論会第73回討論会
4. 発表年 2023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
研究分担者	兼田 加珠子(中島加珠子) (Kaneda Kazuko) (00533209)	大阪大学・大学院理学研究科・教授 (14401)	
研究分担者	永田 光知郎 (Nagata Kojiro) (10806871)	大阪大学・コアファシリティ機構・技術職員 (14401)	

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
---------	---------