

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32619

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05044

研究課題名(和文) Extended Pyrazinacenes as a New Class of Near-Infrared Emissive Materials for Potential Bioimaging Applications

研究課題名(英文) Extended Pyrazinacenes as a New Class of Near-Infrared Emissive Materials for Potential Bioimaging Applications

研究代表者

RICHARDS GARY (RICHARDS, GARY)

芝浦工業大学・工学部・准教授

研究者番号：00708620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：親水性のトリエチレングリコール基を付加した7個のピラジン単位が直鎖状に縮合した拡張ピラジナセンを合成した。この化合物は近赤外領域での細胞イメージング研究に使用された。この新しい蛍光色素は、励起波長と観察波長を変えるだけで、DNAとRNAの細胞構造を区別することができる。4個または5個の縮合ピラジン環に電子供与性トリフェニルアミン基を付加した酸化還元活性ピラジンアセンを合成した。これらの化合物は、可視領域と近赤外領域あるいは短波長赤外領域の間で、レドックス結合による蛍光スイッチングを示す。我々は現在、生物および細胞の酸化還元状態の新しいタイプのプローブとして、関連化合物の開発を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞イメージングは、生物学、医学、薬学研究において非常に重要な分野である。近赤外領域に活性を持つ蛍光分子を用いることで、細胞を傷つけることなく、長期間にわたって細胞のプロセスを研究することが可能になる。近赤外領域に活性を持つ蛍光色素の多くは、蛍光量子収率の低さや光退色という問題を抱えている。本研究では、これらの問題を克服する新しいタイプの近赤外蛍光分子の開発を目指す。

研究成果の概要(英文)：An extended pyrazinacenes consisting of 7 rectilinearly fused pyrazine units appended with hydrophilic triethylene glycol groups was synthesised. The synthesis of the compound and its purification was optimized. The compound was used in cellular imaging studies in the near-infrared region. Interestingly, this new fluorescent dye can distinguish DNA and RNA cellular structures by simply changing excitation and observation wavelengths. Redox-active pyrazinacenes consisting of four or five fused pyrazine rings appended with electron-donating triphenylamine groups were synthesized. These compounds exhibit redox-coupled fluorescence switching between visible and near infrared or shortwave infrared regions. We are now developing related compounds as new types of probes for biological and cellular redox states.

研究分野：Organic chemistry

キーワード：Pyrazinacenes Near Infrared Fluorescence Cellular Imaging Bioimaging Acenes

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、センサー、テレコミュニケーション、ナイトビジョンディスプレイ、バイオイメージングなど、近赤外 (NIR) 蛍光を利用した技術応用の可能性が広がったため、近赤外 (NIR) 発光材料への関心が飛躍的に高まっている。発色団に基づくバイオイメージング技術は、生体分子や水の吸収過程によって不明瞭にならない電磁スペクトルの領域で発光する色素の利用可能性に依存している。したがって、650~900nm の組織の近赤外吸収領域で発光する色素がイメージングに有用である。シアニン、スクアレイン、ポルフィリンなど、いくつかの色素がこの要件を満たしている。これらの色素が利用可能であるにもかかわらず、高い安定性と高い蛍光量子収率 (PLQY) を有する近赤外発光発色団として、合成的に柔軟な新規色素の開発は依然として重要な課題である。最近の JACS の発表では、拡張ピラジナセンの一例である、これまでにない 7 個のピラジン環が直鎖状に縮合した全く新しいタイプの近赤外発光発色団の合成について述べた。この発色団は、溶液状態で非常に効率的な近赤外発光を示し、最大 61% という極めて高い PLQY を示すことがわかった。発光波長は、化合物の両親媒性によって調整することができ、プロトン化および脱プロトン化された化学種が高い PLQY 値を維持した。さらに、この化合物は、空気酸化や日光への曝露に対する耐性など、周囲条件に対して優れた安定性を示した。

2. 研究の目的

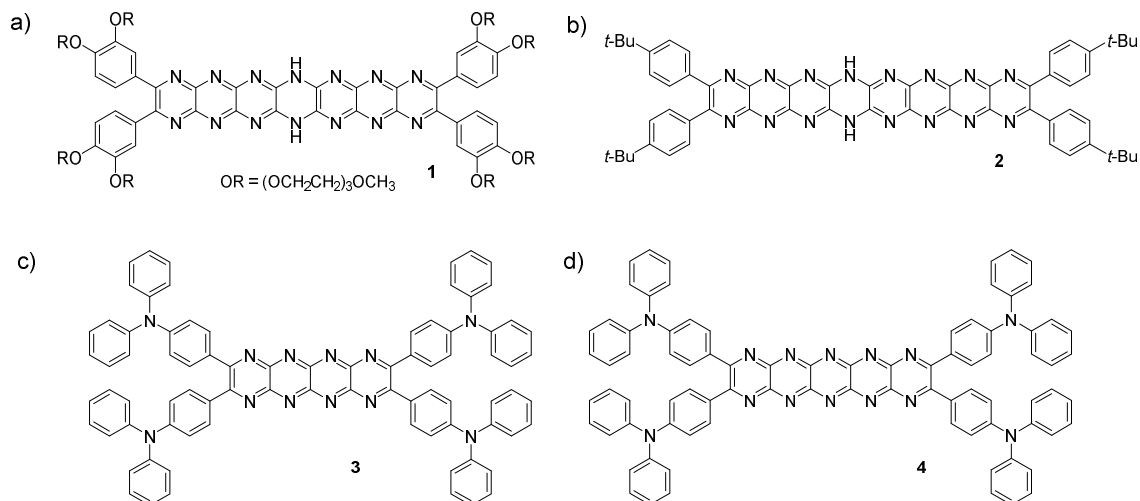
本研究の目的は、拡張ピラジナセンまたは電子供与基を付加した短鎖ピラジナセンをベースとする新種の近赤外発光材料を創製することである。これまでの研究から、これらの材料は非常に高い PLQY を示し、周囲条件下で優れた安定性を示すことが期待される。これらの化合物の両親媒性特性により、周囲の媒体の pH レベルに応じて吸収波長と発光波長の両方を調整することができ、バイオイメージングとセンシングの機能をさらに高めることが期待される。この研究は、水を含むより幅広い溶媒に溶解し、より幅広い吸収・発光波長を持つ拡張ピラジナセン NIR エミッターを創製するための、これまでの研究を基礎とするものである。この研究では、例えばピラジナセン骨格の長さ、電子供与性 / 電子吸引性の置換基、ピラジナセン骨格の還元 / 酸化などによって蛍光特性がどのように影響を受けるかなどの構造-物性相関を明らかにする。

3. 研究の方法

ピラジナセン類は、我々が以前の研究で開発した合成法を用いて調製し、NMR 分光法および可能な場合には X 線結晶構造解析を含むその他の化学分析技術によって特性評価を行った。光物理学的特性評価は、UV/Vis 吸収および蛍光分光法を使用して行われた。フォトルミネッセンス量子収率と蛍光寿命を決定するための追加の測定が実行された。一部の化合物は、細胞イメージング応用のさらなる研究のため、NIMS の共同研究者に譲渡された。密度汎関数理論 (DFT) を用いた計算科学的研究により、HOMO と LUMO のエネルギー準位や吸収スペクトルの予測など、化合物に関するさらなる知見が得られた。

4. 研究成果

水溶性を助けるために親水性のトリエチレングリコール基を付加した 7 個の直鎖状縮合ピラジン環からなる拡張ピラジナセン 1 (scheme 1) を合成した。この水溶性化合物は、我々の先行研究の化合物と比較して、発色団に付加された電子供与性酸素原子に起因するバスキロミックシフトを示す発光を示した。アセトニトリル中では、先の化合物の $\lambda_{\text{max}} = 687$ nm に対し、 $\lambda_{\text{max}} = 712$ nm の発光が観測された。脱プロトン化の結果、アセトニトリル中では蛍光 $\lambda_{\text{max}} = 757$ nm となり、さらに長波長シフトを生じた。非常に高い蛍光量子収率 (PLQY) が観測され、アセトニトリル中では中性種の PLQY は 46%、脱プロトン化種の PLQY は 61% であった。



Scheme 1: Examples of NIR fluorescent compounds synthesized through this project (a) water-soluble extended pyrazinacene consisting of 7 fused pyrazine rings, **1**; (b) extended pyrazinacene with 8 fused pyrazine rings, **2**; (c) and (d) triphenylamine-appended pyrazinacenes with a D-A-D type electronic arrangement, **3** and **4**.

水には溶けるが、凝集による蛍光の消光が観察される。しかし、界面活性剤である臭化セチルトリメチルアンモニウム (CTAB) を添加すると、凝集体が破壊され、水溶液中の $\lambda_{\text{max}} = 740$ nm、PLQY = 30% で蛍光のスイッチが入る。物質・材料研究機構 (NIMS) の共同研究者と協力して、この化合物を細胞イメージング研究に使用した。この化合物は、現在の多くの近赤外蛍光色素と比較して、高い蛍光量子収率や優れた光安定性など、いくつかの有利な特性を示している。興味深いことに、この化合物を用いると、励起波長と観察波長を変えるだけで、細胞内の DNA と RNA の構造を区別することができる。これらの研究は現在進行中であり、国際特許出願が完了した後、後日発表する予定である。

このプロジェクトの一環として、8 個の縮合ピラジン環からなるピラジナセン 2 が調製された (scheme 1 (b) 参照)。しかし、この化合物の合成、精製、特性評価が困難であったため、近赤外活性発色団への別のアプローチが考案された。電子供与性のトリフェニルアミン基を、電子不足のピラジナセンの中心にドナー・アクセプター・ドナー (D-A-D) 型に付加することで、還元状態では可視領域、完全に酸化された状態では近赤外、さらには短波長赤外 (SWIR) 領域に蛍光をスイッチできる酸化還元活性ピラジナセンを調製することができた。

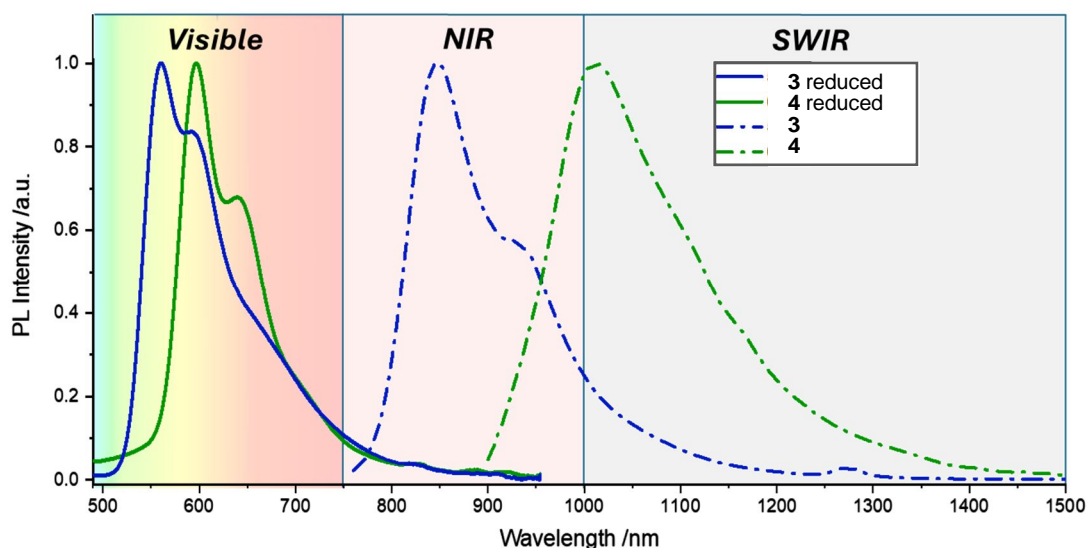


Figure 1: Fluorescence spectra of compounds **3** and **4** in CCl_4 in their oxidized and reduced states showing large redox-coupled fluorescence switching.

化合物**3**と**4** (scheme 1) は、それぞれ $\lambda_{max} = 847 \text{ nm}$ (PLQY = 16.4%) と $\lambda_{max} = 1012 \text{ nm}$ (PLQY = 1.4%) の蛍光を示した。中心ピラジン環を1,4-ジヒドロピラジン単位に還元すると、図1に示すように、生物学的還元剤である1,4-ジヒドロニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) の類似体である Hantzsch エステルを用いて達成することができ、還元された化合物**3**および**4**は、それぞれ $\lambda_{max} = 557 \text{ nm}$ (PLQY = 57%) および $\lambda_{max} = 597 \text{ nm}$ (PLQY = 42%) の可視領域に蛍光がシフトする。現在、この研究に関する原稿を出版に向けて準備中である。我々は現在、これらの化合物を生物学的および細胞内の酸化還元状態に対する新しい酸化還元活性プローブとして開発している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 1件）

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 1. 著者名 RICHARDS Gary J., AOKI Keita, AKIBAYASHI Daiki, TAMBOLI Majid, HILL Jonathan P., HORI Akiko | 4. 巻 96 |
| 2. 論文標題 Pyrazinacenes as a New Class of Highly Fluorescent REDOX Active Chromophores | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the Japan Society of Colour Material | 6. 最初と最後の頁 131 ~ 136 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4011/shikizai.96.131 | 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 Mondal Pramita, Manna Gouranga, Kamilya Tapas, Das Mrinmay, Ariga Katsuhiko, Richards Gary J., Hill Jonathan P., Acharya Somobrata | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Mechanical Manipulation of Archimedean Spirals of an Achiral Pyrazinacene for Chiral Assemblies | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Advanced Materials Interfaces | 6. 最初と最後の頁 2200209 ~ 2200209 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/admi.202200209 | 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 該当する |
| 1. 著者名 Gary J. RICHARDS, Jonathan P. HILL | 4. 巻 54 |
| 2. 論文標題 The Pyrazinacenes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research | 6. 最初と最後の頁 3228 ~ 3240 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.1c00315 | 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 該当する |
| 1. 著者名 Monika SUTEKOVA, Martinc BARLOG, Timea S. BARANYAIOVA, Robert KLEMENT, Gary J. RICHARDS, Jonathan P. HILL, Jan LABUTA, Juraj BUJDAK | 4. 巻 218 |
| 2. 論文標題 Pyrazinacene luminescence enhancement by heat-activated surface adsorption and de-aggregation in a saponite colloidal system | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Applied Clay Science | 6. 最初と最後の頁 106413 ~ 106413 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clay.2022.106413 | 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 該当する |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1. 著者名 Cador A, Kahlal Samia, Richards Gary J., Halet Jean-Francois, Hill Jonathan P. | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 Protic Processes in an Extended Pyrazinacene: The Case of Dihydropyridopyridazine | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 2407 ~ 2407 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules29102407 | 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 該当する |

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件)

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 RICHARDS Gary J. |
| 2. 発表標題 Extended Pyrazinacenes: Highly Fluorescent NIR Chromophores for Bioimaging Applications |
| 3. 学会等名 Catalysis and Sensing for Our Environment (CASE2024) (招待講演) |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 RICHARDS, Gary J.; AOKI Keita; KANEHISA Kou; NAKADA Kazushi; NAKAMURA; HILL Jonathan P.; HORI Akiko |
| 2. 発表標題 Donor-Appended Pyrazinacenes - Switching Absorption and Fluorescence from Visible to Near Infrared Region Through a Simple REDOX Process. |
| 3. 学会等名 104th Chemical Society of Japan Annual Meeting |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 SUTRISNO Linawati; RICHARDS Gary J.; MATSUMOTO Michio; UTO Koichiro; TAKI Masayasu; YAMAGUCHI Shigehiro; HILL Jonathan, P.; ARIGA Katsuhiko |
| 2. 発表標題 Revealing RNA Secrets: Extended Pyrazinacene Shines Light on Spatial Heterogeneities of Photodamaged Cells |
| 3. 学会等名 MANA International Symposium 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 RICHARDS Gary J.; AOKI Keita; AKIBAYASHI Daiki; TAMBOLI Majid; NAKADA; HILL Jonathan; HORI Akiko |
| 2. 発表標題 Pyrazinacenes - REDOX Switchable Near-Infrared Absorption and Efficient Fluorescence in Highly Nitrogenated Acene Analogues |
| 3. 学会等名 22nd European Symposium of Organic Chemistry (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 NAKADA Kazushi; AOKI Keita; HASHIMOTO K.; TAJIMA T.; HORI Akiko, RICHARDS Gary J. |
| 2. 発表標題 Triphenylamine Donor Appended Pyrazinacenes - Their Synthesis and Spectroscopic Properties |
| 3. 学会等名 22nd European Symposium of Organic Chemistry (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Gary James RICHARDS, Keita AOKI, Daiki AKIBAYASHI, Majid TAMBOLI, Akiko HORI |
| 2. 発表標題 Pyrazinacenes appended with electron-rich substituents and their REDOX dependant photophysical properties |
| 3. 学会等名 Symposium of Host Guest and Supramolecular Chemistry (SHGSC) 2022 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Gary James RICHARDS, Keita AOKI, Daiki AKIBAYASHI, Majid TAMBOLI, Jonathan HILL, Akiko HORI |
| 2. 発表標題 Pyrazinacenes as a new class of highly fluorescent REDOX active chromophores |
| 3. 学会等名 The 95th Japan Society of Colour Material Anniversary Conference (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Gary James RICHARDS |
| 2. 発表標題 Redox-Dependent Photophysical and On-Surface Self-Assembling Properties of Pyrazinacenes |
| 3. 学会等名 Division of Colloid and Interface Sciences Summer Symposium (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Gary J. RICHARDS, Jonathan P. HILL, Akiko HORI |
| 2. 発表標題 Photoredox Photophysical Properties, Liquid Crystalline Behaviour and Activity of Phenanthrene-Terminated Pyrazinacenes |
| 3. 学会等名 Pacifichem 2020 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Gary J. RICHARDS, Majid TAMBOLI, Keita AOKI, Jonathan P. HILL, Akiko HORI |
| 2. 発表標題 Decaazapentacenes appended with electron-rich triphenylamine and phenanthrene units - their redox-coupled photophysical and self-assembling properties. |
| 3. 学会等名 102nd Chemical Society of Japan Annual Meeting |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Keita AOKI, Tomoki JITSUKATA, Akiko HORI, Jonathan P. HILL, Gary J. RICHARDS |
| 2. 発表標題 Synthesis and physical properties of octaazatetracene derivatives with bulky triphenylamine |
| 3. 学会等名 102nd Chemical Society of Japan Annual Meeting |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Jonathan P. HILL, Gary J. RICHARDS, David MIKLIK |
| 2. 発表標題 The Pyrazinacenes |
| 3. 学会等名 Aromatic Heterocycles: A wonderful pool of organic materials (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|-----------------------------------------|---------------------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 リアルタイム蛍光イメージングのための新規近赤外発光材料 | 発明者 L. Sutrisno, G. J. Richards... | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、2023-144522 | 出願年 2023年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔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 | 堀 顕子 (Akiko HORI) (90433713) | 芝浦工業大学・工学部・教授 (32619) | |

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 |
|---------|---------|