

外部刺激応答性を有する複素環蛍光分子の開発とその機能評価

萩原, 隆介

<https://hdl.handle.net/2324/6787553>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (創薬科学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

外部刺激応答性を有する複素環蛍光分子の開発とその機能評価

分野：分子病態解析学分野 学籍番号：3PS18024M 氏名：萩原 隆介

【緒言】

熱や光、粉碎等の「外部刺激」に応答して発光変化する化合物はメモリデバイス、センサー、バイオイメージング等幅広い分野での応用が可能であり注目されている。本研究では抗菌剤及び抗ウイルス剤に用いられる 1,8-ナフチリジン骨格に着目し、発光性マテリアルとしての機能を見出す目的として、ドナー性置換基(D)であるアミノ基、アクセプター性置換基(A)であるトリフルオロメチル基を導入した push-pull 型分子を合成、機能評価を行った。

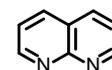


図 1. 1,8 ナフチリジン骨格

【BNA 誘導体のナノ微粒子を形成による凝集発光増強 (AIEE) 評価と蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)】

本検討では、ナフチリジン環 (Nap: π) をアミンに対して 2 つ連結させた A- π D- π -A 型ビスナフチリジン (BNA) 誘導体を合成し (図 2)、MeOH 溶液に対して水の割合 (fraction of water: fw) を変化させた際の BNA 誘導体の凝集による蛍光

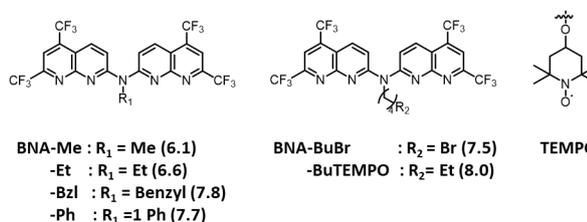


図 2. BNA 誘導体と各 ClogP 値

変化及び凝集体の観察を行った。MeOH 溶液に対し、fw = 0~90%まで変化させたところ、fw の上昇に伴い **BNA-Me**、**-Et**、**-Bzl**、**-Ph** の蛍光量子収率 (Φ_{fl}) が 4.9~25 倍の間で増大し凝集誘起発光増強 (AIEE) が観測された。また、BNA 誘導体は疎水性基から構成されているにもかかわらず、fw = 90%溶液では全ての 3 級アミン誘導体において超分子ナノ微粒子は 0.1 前後の低い PDI 値と 100~220 nm のサイズを有していた (図 3)。ピレンを用いた臨界凝集濃度を算出したところ、**BNA-Me**: 16 μ M、**BNA-Bzl**: 10 μ M、**BNA-Ph**: 9 μ M、**BNA-BuBr**: 11 μ M、**BNA-BuTEMPO**: 14 μ M と見積もられ、10 μ M 前後で安定したナノ微粒子を形成した。一方、TEMPO ラジカルを導入した **BNA-BuTEMPO** においては他の誘導体と比較して FRET 挙動を示さなかったものの、得られたナノ微粒子は 220 nm の単分散で球状の形態と回転相関時間 (1.3 ns) から、MRI 造影剤としての応用の可能性を示した。

表 1. BNA 誘導体の水の割合に伴う蛍光量子収率変化

Compound	Φ_{fl} [%] (fw = 0%) ^[a]	Φ_{fl} [%] (fw = 90%) ^[b]	Rate of the increase of Φ_{fl}
BNA-H	8.9	2.4	< 1%
BNA-Me	< 1%	9.5	15
BNA-Et	1.0	15	15
BNA-Bzl	1.3	6.5	4.9
BNA-Ph	< 1%	12	25
BNA-BuBr	1.9	8.2	4.3
BNA-BuTEMPO	< 1%	< 1%	< 1%

(a) MeOH のみ (b) MeOH / water 溶液 (90 vol% water)

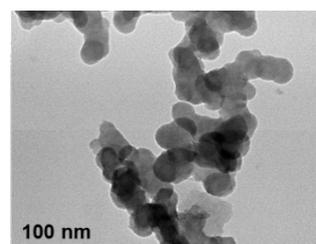


図 3. **BNA-Me** の fw = 90%時の凝集体の陰イオン染色による TEM 画像 (10 万倍)

【BNA 誘導体の溶液中における光反応挙動】

本検討では、6つのBNA誘導体 **BNA-Me**、**-Et**、**-Bzl**、**-BzlOMe**、**-BzlNO₂**、**-Ph** において「光刺激応答」を検討するため、高圧水銀ランプを用いて溶液中での光照射を追跡し、光反応物の同定、単離、物性比較、光反応量子収率の算出を行

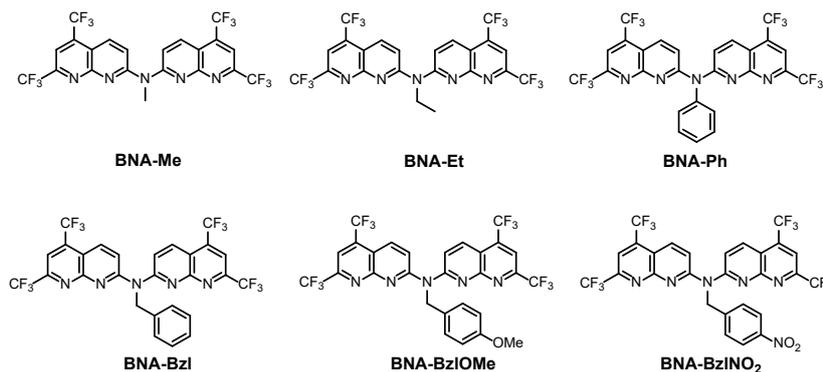


図4. BNA 誘導体の分子構造

った。これまでに報告されているジフェニルアミン誘導体やキノリン誘導体とは異なった反応挙動が観測された。**BNA-Me** はアルコール溶媒中で脱メチル化反応が起き、生成収率はアルコール溶媒の求核性と相関が見られた。MeOH 中での光反応量子収率は $\Phi_{\alpha\beta} = 0.03\%$ だった。**BNA-Et** についても同様にアルコール溶媒中で脱アルキル反応が見られたが、DMSO 溶媒ではナフチリジン環の転位反応が定量的に起きた ($\Phi_{\alpha\beta} = 1.5\%$)。 **BNA-Bzl** は各溶媒中でナフチリジン環の転移反応が見られ、その光反応量子収率は MeOH 中で $\Phi_{\alpha\beta} = 1.0\%$ 、DMSO 中で $\Phi_{\alpha\beta} = 2.4\%$ であり、転位速度は置換基により異なった。 **BNA-Ph** は低極性溶媒である *n*-hexane 中の光照射でナフチリジン環の脱離と分子内環化が起きた。先行研究によりビスキノリン誘導体は様々な置換基、溶媒において分子内光環化反応によるカルバゾール体が生成された一方、環化反応点を窒素で置換した本 BNA 誘導体は溶媒や置換基に依存した反応挙動が見られた。

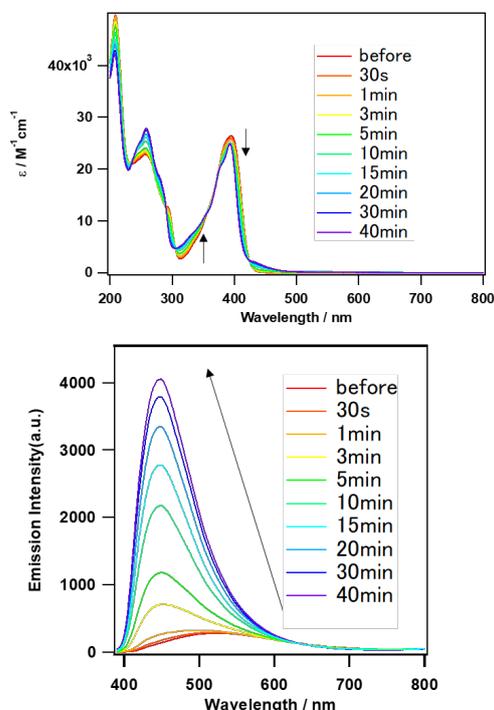


図5. BNA-Me の光照射に伴う吸収スペクトル変化 (上) 及び蛍光スペクトル変化 (下)

表2. BNA 誘導体の光反応と光反応量子収率

	MeOH	DMSO
BNA-Me		
reaction	脱アルキル	-
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	0.03	-
BNA-Et		
reaction	脱アルキル	ナフチリジン転位
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	-	1.5
BNA-Bzl		
reaction	ナフチリジン転位	ナフチリジン転位
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	0.8	2.4
BNA-BzlOMe		
reaction	ナフチリジン転位	ナフチリジン転位
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	6.5	3.0
BNA-BzlNO₂		
reaction	脱ベンジル	ナフチリジン転位
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	-	0.3
	<i>n</i> -hexane	
BNA-Ph		
reaction	脱ナフチリジン+ 分子内環化	
$\Phi_{\alpha\beta}$ (%)	-	

【モノナフチリジン環を有する Nap 誘導体の溶液中における光応答性評価と光反応生成物の機能性評価】

本検討では、4つの Nap 誘導体 (図6) の溶液中での光反応挙動、光反応生成物の同定とその物性について評価した。

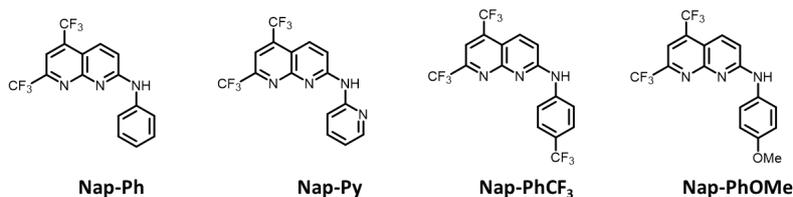


図6. Nap 誘導体の分子構造

Nap 誘導体において *n*-hexane 溶媒中

超高圧水銀ランプを用いて照射を行い吸収・蛍光スペクトルの変化挙動を追いながら追跡した。Nap 誘導体

は、これまでに報告されている中で最も単純な反応系である「ヨウ素+光」で分子内 C-N 環化反応によりベンゾイミダゾール骨格 (benzo[4,5]imidazo[1,2-

a][1,8]naphthyridine : BIN)、ピリドイミダゾール骨格

(pyrido[2',3':4,5]imidazo[1,2-a][1,8]naphthyridine :

PIN) を形成した (図7)。

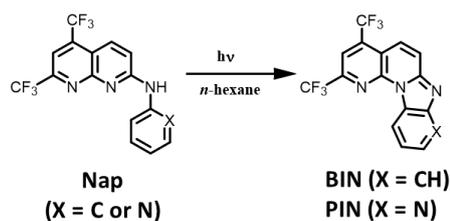


図7. Nap 誘導体の光環化反応

光反応は電子求引性基を有する誘導体ほど早く進行し、分子内環化 BIN 誘導体においても電子求引性基を有する誘導体ほど大きな蛍光量子収率を示した。

PIN を含む BIN 誘導体について照射による光増感作用を検討するために、スピントラップ剤 2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidone (TMPD) を用いて照射 BIN 誘導体の照射に伴う ESR スペクトルの時間変化を追跡した。各 BIN 誘導体において照射に伴う TEMPO に由来するシグナルが観察され (図8)、このことから BIN 誘導体は光増感剤としての可能性を示した。

Benomyl のようなベンゾイミダゾール骨格を持つ殺菌剤が存在することから、BIN 及び PIN について、シャーレを用いて植物病原菌に対する菌糸伸長抑制率を算出した。光環化前の前駆体である Nap-Ph や Nap-Py は各菌に対し、同等の阻害活性を示した。一方 PIN は環化前駆体や BIN と比較して菌糸の伸長を最も抑制し、非常に高い抗菌活性を有することが明らかとなった。特に *Gaeumannomyces graminis* (立枯病)、*Microdochium nivale* (紅色雪腐病) については他の菌と比較して低濃度においても完全に菌糸の伸長を抑制した。このことから光環化生成物 PIN は新規殺菌剤としての可能性を示した (表3)。

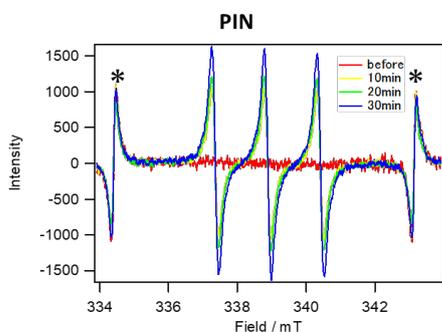


図8. PIN の照射における ESR スペクトル変化 (*は Mn ピーク)

表3. 植物病原菌に対する抗菌活性試験結果

Compounds	mg/L	Antifungal activity (%)	
		<i>Gaeumannomyces graminis</i>	<i>Microdochium nivale</i>
Nap-Ph	100	22	43
	25	19	37
BIN	100	11	9
	25	19	0
Nap-Py	100	27	30
	25	12	43
PIN	100	100	100
	25	100	100

【結言】

本研究では BNA 誘導体の環境応答及び光応答に基づく発光の変化、Nap 誘導体の光刺激における新たな分子の生成とその機能創出について検討を行った。

BNA 誘導体のナノ微粒子を形成による凝集発光増強 (AIEE) 評価と蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)

MeOH 溶液に対し添加する水の割合上昇に伴い **BNA-Me**、**-Et**、**-Bzl**、**-Ph** の蛍光量子収率 (Φ_f) が 4.9~25 倍の間で増大し凝集誘起発光増強 (AIEE) が観測され、水 90% 溶液において安定したナノ微粒子を形成した。TEMPO ラジカルを導入した **BNA-BuTEMPO** においては得られたナノ微粒子状態の回転相関時間 (1.3 ns) から、MRI 造影剤としての応用の可能性を示した。

BNA 誘導体の溶液中における光反応挙動

BNA 誘導体の溶液に光照射を行ったところ、BNA の置換基に依存した構造変化が見られ、構造変化に基づく蛍光変化が見られた。アルキル誘導体においてはアルコール溶媒中での脱アルキル、ベンジル誘導体ではナフチリジン環の転位、フェニル誘導体ではナフチリジン環の脱離と炭素-窒素結合が形成された。

モノナフチリジン環を有する Nap 誘導体の溶液中における光応答性評価と光反応生成物の機能性評価

Nap 誘導体に対し *n*-hexane 中で光照射を行ったところ、分子内炭素-窒素結合が形成された BIN 誘導体を得られた。これら BIN 誘導体は Nap 誘導体と比較して非常に高い蛍光量子収率、及び光照射に伴う一重項酸素の発生が ESR 測定によって観測された。さらに植物病原菌に対する抗菌活性試験から、**PIN** は広い抗菌スペクトラム他の誘導体と比較して高い抗菌活性が見られた。

上記 3 検討より、BNA 誘導体の、センサー、イメージング、MRI 造影剤への応用の可能性、BIN 誘導体の増感剤、**PIN** の植物病原菌に抗菌活性を示す殺菌剤としての可能性が示された。

【発表論文】

- (1) Hagihara, R.; Harada, N.; Karasawa, S.; Koga, N. Crystalline Transformations of Dinaphthyridinylamine Derivatives with Alteration of Solid-State Emission in Response to External Stimuli. *CrystEngComm* **2015**, *17* (46), 8825–8834.
- (2) Hagihara, R.; Umeno, T.; Ueki, S.; Yoshihara, D.; Fuchi, Y.; Usui, K.; Sakuma, M.; Yamada, K.; Karasawa, S. Push–Pull Bisnaphthyridylamine Supramolecular Nanoparticles: Polarity-Induced Aggregation and Crystallization-Induced Emission Enhancement and Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Chem. – A Eur. J.* **2021**, *27* (9), 3039–3046.
- (3) Hagihara, R.; Usui, K.; Karasawa, S. Two-Step Transformation of p-Anisoylaminoquinoline Derivatives Induced by Conformation- and Packing-Dominated Processes. *Dye. Pigment.* **2017**, *143*, 401–408.