

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620127

研究課題名(和文)極性応答的な着脱能をもつ分子コートを導入した発光性分子の創製

研究課題名(英文)Construction of Luminescent Molecules Bearing a Molecular Coat with On-Off Ability Responding Solvent Polarity

研究代表者

鍋島 達弥 (NABESHIMA, Tatsuya)

筑波大学・数理物質系・教授

研究者番号：80198374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：蛍光を利用したバイオイメーキングにおける発光分子の細胞への導入においては、その分子の水溶性と脂溶性という全く正反対の性質のバランスが重要となる。本研究では水中では分子がコートを着るようにシクロデキストリン(CD)に包み込まれて水溶性に、膜などの疎水的な環境ではそれを脱ぎ捨てて脂溶性となる発光分子の開発を試みた。発光性部位にBODIPYを選び、これをCDと連結させたところ、非常に幅広い極性の異なる溶媒系に対して良好な溶解性を示した。種々の検討から分子コート機構が示唆され、今後の新規な蛍光物質導入法のための有用な基礎的知見を得た。

研究成果の概要(英文)：In fluorescence bioimaging, suitable balance between hydrophilicity and hydrophobicity of a fluorescent molecule is a key to the molecular design. In this study we designed and synthesized cyclodextrin-appended BODIPYs as a fluorescent probe on the basis of concept of a molecular coat. In aqueous media, the hydrophobic BODIPY unit would be captured by the CD in the cavity and in hydrophobic media the host-guest complex would be dissociated to be dissolved. The CD-appended BODIPY is soluble in solvent systems of a wide range of polarity. Spectroscopic examination suggested that the molecular-coat concept probably worked well to provide a new way to very efficient introduction of fluorescent probes into living cells.

研究分野：超分子化学

キーワード：バイオイメーキング 発光性分子 センサー 超分子

1. 研究開始当初の背景

近年、バイオイメージングに用いるための蛍光色素分子の開発が盛んに行なわれている。蛍光色素によって細胞内器官を染色するためには、水媒体に溶解するための親水性と、細胞膜を透過するための脂溶性という、相反する性質のバランスが重要となる。しかしこれを実現するのは非常に困難で、それを解決する明確な方法論や決定的な分子設計の基本戦略は報告されていなかった。

2. 研究の目的

本研究では単一の分子でありながら、極性に応じた構造変化を起こすことで、大きく極性が異なる種々の環境中においても十分な溶解性を示す発光性分子の創出を目指した。特に本研究では、メチル化シクロデキストリン (*perMeCD*) の反転現象に着目し、発光部位を導入した *perMeCD* を用いてその実現を試みた。つまり疎水的な発光部位が水中では分子がコートを着るようにシクロデキストリン (CD) に包み込まれることで分子全体として水溶性に、膜などの疎水的な環境では CD を脱ぎ捨てて、疎水部の発光部が外に出ることで脂溶性となる「分子コート」という画期的な概念の提案とそれに基づいた方法論の開発を目指すことを目的とした (図 1)。

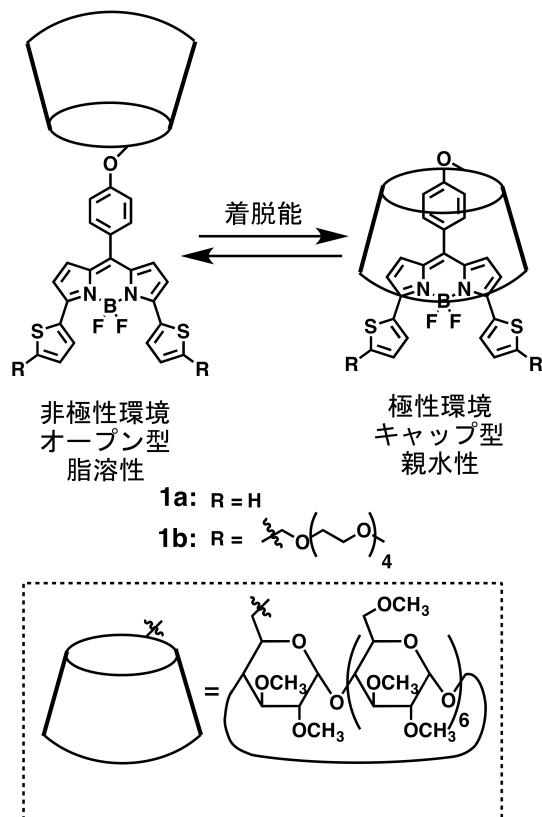


図 1: 極性応答的な着脱能をもつ分子コートを導入した発光性分子の創製

3. 研究の方法

上述の通り、脂溶性と親水性のスイッチングを行うために、優れたホストとして知られる

メチル化シクロデキストリン (*perMeCD*) に注目した。*perMeCD* を芳香環に連結したポルフィリン誘導体は、水中ではグルコース単位が反転して疎水性の芳香環部分を自己包摂することが知られている (加納ら, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 4985.)。今回この性質に着目し、*perMeCD* を連結した BODIPY 誘導体 **1a** および **1b** を設計した (図 1)。これらの分子は、水中では *perMeCD* が BODIPY 部位を覆うキャップ型を、疎水的環境下ではオープン型をとることで、優れた膜透過能を発揮すると期待される。

蛍光団としては、当研究室の研究で赤色領域に強い蛍光を示すことが明らかとなっている 8-フェニル-3,5-ジチエニル BODIPY 誘導体 (*Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 1629.) を採用した。**1b** については、十分な水溶性を付与するためにテトラエチレングリコール鎖をチエニル基に導入した。

4. 研究成果

1b の合成について図 2 に示す。

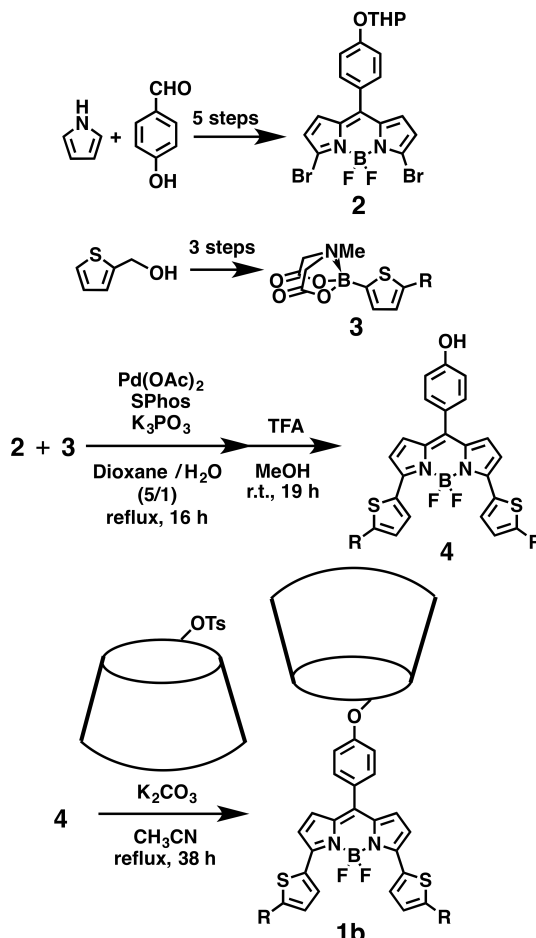


図 2: シクロデキストリン-BODIPY **1b** の合成

位にプロモ基を有する BODIPY 誘導体 **2** を、ピロールおよび *p*-ヒドロキシベンズアルデヒドを原料として 5 段階で合成した。また、ボロン酸エステルチオフェン誘導体 **3** を、チオフェンメタノールを原料として 3 段階で合成した。**2** と **3** の Pd カップリング反応と続く

THP 基の除去によりチエニル BODIPY 誘導体 **4** を得たのち、トシル化メチルシクロデキストリンと反応させることで目的のシクロデキストリン-BODIPY **1b** を得た。**1a** についても同様に、チエニル BODIPY 誘導体とトシル化メチルシクロデキストリンとの反応で合成した。

1a は十分な脂溶性を示した。**1a** のクロロホルム中での分光測定を行ったところ、620 nm に吸収極大を持ち、642 nm を極大とするシャープな発光帯を示すことが明らかとなった (図 3)。蛍光量子収率は 78% と高く、**1a** は細胞透過性の高い赤色領域に強い吸収・蛍光を示す発光色素であることが示された。

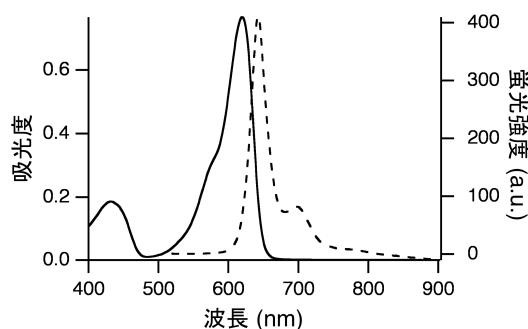


図 3: **1a** の吸収スペクトル (実線) および蛍光スペクトル (点線) (クロロホルム, 10 μ M, 298 K)

1a は DMSO などの極性溶媒にも溶解したが、水の割合が 20% 以上の DMSO/H₂O 混合溶媒には難溶であった。この問題を解決するためにテトラエチレングリコール鎖を導入した **1b** は、十分な脂溶性および水溶性を示した。**1b** のクロロホルム中での ¹H NMR スペクトルを図 4 に示す。

極性変化にตอบสนองする **1b** のコンフォメーション変化について検討するために、CD₃OD/D₂O 溶媒の混合比を変えて ¹H NMR 測定を行った。全ての混合比で **1b** は緑色の溶液であり、水に少なくとも 1 mM の濃度で溶解することが確認できた。NMR スペクトルの変化から、水の比率が高くなるにつれて、オープン型、キャップ型、そして分子間会合体の三つの状態をとる可能性が示唆された。

以上、本研究では、非常に幅広い極性の異なる溶媒に良好な溶解性を示す新規な発光性分子の創出に成功した。これは、蛍光マーカーの効率的な細胞導入に向けた有用な基礎的知見である。今後、詳細な二次元 NMR の測定を行うことで詳しい自己包接挙動の検討を行い、細胞への導入試験を行う。

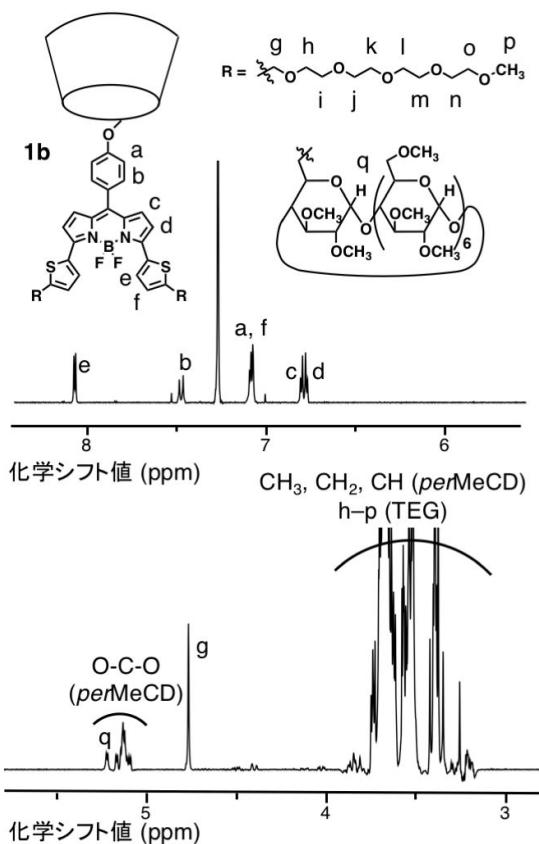


図 4: **1b** の ¹H NMR スペクトル (600 MHz, CDCl₃, 298 K)

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 14 件)

M. Yamamura, H. Takizawa, Y. Gobo, and T. Nabeshima "Stable neutral radicals of planar N₂O₂-type dipyrin platinum complexes: hybrid radicals of the delocalized organic π -orbital and platinum d-orbital" *Dalton Trans.* **45**, 6834-6838 (2016). (Inside front cover) DOI: 10.1039/C5DT05039A 査読有

S. Saino, M. Saikawa, T. Nakamura, M. Yamamura and T. Nabeshima "Remarkable red-shift in absorption and emission of Linear BODIPY oligomers containing thiophene linkers" *Tetrahedron Lett.*, **57**, 1629-1634 (2016). DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.03.003 査読有

M. Saikawa, M. Daicho, T. Nakamura, J. Uchida, M. Yamamura, and T. Nabeshima "Synthesis of a new family of ionophores based on aluminum-dipyrin complexes (ALDIPYs) and their strong recognition of alkaline earth ions" *Chem. Commun.*, **52**, 4014-4017 (2016). (Back cover) DOI: 10.1039/C6CC00250A

査読有

T. Nabeshima, M. Yamamura, G. J. Richards, and T. Nakamura "Design and Synthesis of Dipyrin Complexes Bearing Unique Structures, Properties and Functions" *J. Synth. Org. Chem., Jpn.*, **73**, 1111-1119 (2015). DOI: 10.5059/yukigoseikyokaisi.73.1111

査読有

M. Yamamura, H. Takizawa and T. Nabeshima "Zwitterionic N₂O₂-Type Protonated Dipyrin Bearing a Phosphate Anionic Moiety as a pH-Responsive Fluorescence Indicator" *Org. Lett.*, **17**, 3114-3117 (2015). DOI: 10.1021/acs.orglett.5b01414

査読有
G. J. Richards, Y. Gobo, M. Yamamura and T. Nabeshima "Biphenyl appended BODIPY derivatives showing combined environmental polarity and heavy metal cation sensing functionality" *New J. Chem.*, **39**, 5886-5889 (2015). (Inside front cover) DOI: 10.1039/C5NJ00611B

査読有
M. Yamamura, S. Yazaki, M. Seki, Y. Matsui, H. Ikeda and T. Nabeshima "A facile and high-yield formation of dipyrin-boronic acid dyads and triads: light-harvesting system in the visible region based on efficient energy transfer" *Org. Biomol. Chem.*, **13**, 2574-2581 (2015). (Front cover) DOI: 10.1039/C4OB02351J

[学会発表](計 21 件)

中村貴志、高橋正樹、齋野奏輔、鍋島達弥「環境極性に応答した構造と親媒性の変換を目指したシクロデキストリン-BODIPY 誘導体」第 14 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム、2016 年 6 月 4-5 日「高知城ホール(高知・高知)」

齊川誠、中村貴志、山村正樹、鍋島達弥「N₂O₂型ジピリン環状二量体の第 13 族元素錯体」日本化学会第 96 春季年会(2016)、2016 年 3 月 24-27 日「同志社大学京田辺キャンパス(京都・京田辺)」

Tatsuya Nabeshima "Dipyrin-typical-element complexes with unique and responding functions" *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2015)*, December 15-19, 2015 「Hawaii (USA)」(Invited)

Yuki Gobo, Gary James Richards, Masaki Yamamura, Tatsuya Nabeshima "BODIPY derivatives with fluorescence ability responding to

environmental polarity and heavy metal ions" *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2015)*, December 15-19, 2015 「Hawaii (USA)」

Makoto Saikawa, Sousuke Saino, Masaki Yamamura, Tatsuya Nabeshima "Synthesis and unique optical properties of thiophene-BODIPY oligomers" *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2015)*, December 15-19, 2015 「Hawaii (USA)」

鍋島達弥「複数の分子間相互作用を利用した応答的・協同的機能の創出」第16回リング・チューブ超分子研究会シンポジウム、2015年10月26-27日「物質・材料研究機構(茨城・つくば)」(招待講演) 牛坊勇貴、鍋島達弥「不斉骨格を有する新規キラルBODIPYの構造と光学特性」第5回CSJ化学フェスタ2015、2015年10月13-15日「タワーホール船堀(東京・江戸川区)」

齊川誠、山村正樹、鍋島達弥「ねじれた構造を有する環状ジピリン-ホウ素錯体の合成」第5回CSJ化学フェスタ2015、2015年10月13-15日「タワーホール船堀(東京・江戸川区)」

山村正樹、矢崎辰哉、石智文、松井康哲、池田浩、鍋島達弥「ジピリン-ボロン酸複合体における効率的なエネルギー移動を用いた光捕集系」2015年 光化学討論会、2015年9月9-11日「大阪市立大学杉本キャンパス(大阪・大阪)」

Yuki Gobo, Tatsuya Nabeshima, "Synthesis of Novel Chiral BODIPY Showing Unique Photophysical Properties in Red Region" *15th International Conference on Chiroptical Spectroscopy*, August 30-September 3, 2015 「Conference Hall, Hokkaido University (Hokkaido・Sapporo)」

牛坊勇貴、山村正樹、鍋島達弥「赤色領域に吸収蛍光を示す新規キラルBODIPYの合成」シンポジウム モレキュラー・キラリティー2015、2015年6月12-13日「早稲田大学西早稲田キャンパス(東京・新宿区)」

齊川誠、齋野奏輔、山村正樹、鍋島達弥「チオフェン部位を有する新規BODIPYの合成と光学特性」日本化学会第95春季年会(2015)、2015年3月26-29日「日本大学理工学部(千葉・船橋)」

Sousuke Saino and Tatsuya Nabeshima "Synthesis and Optical Properties of BODIPY Oligomers Linked by Aromatic Ring" *the 10th SPSJ International Polymer Conference (IPC2014)*, December 2-5, 2014 「International

Congress Center "EPOCAL TSUKUBA"
(Ibaraki・Tsukuba)

鍋島達弥、齋野奏輔「赤外・近赤外領域
に発光特性を有するチオフェン架橋
BODIPYオリゴマー」第1回島津新素材セ
ミナー2014(東京)「元素ブロック」新
素材シーズとニーズの出会い～有機/
無機ハイブリッドを超越した新素材の
創出～、2014年10月29日「ベルサール神
保町アネックス(東京・千代田区)」

Sousuke Saino, Masaki Yamamura,
Tatsuya Nabeshima "Synthesis and
Optical Properties of BODIPY
Derivatives Having Aromatic Units"
*International Symposium on Polymeric
Materials Based on Element-Blocks*,
May 31, 2014「60th Anniversary Hall,
Kyoto Institute of Technology(Kyoto・
Kyoto)」

〔図書〕(計1件)

T. Nabeshima (Editor) CRC Press
"Synergy in Supramolecular
Chemistry" (2014), Pages - 349

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.chem.tsukuba.ac.jp/nabesima/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

鍋島 達弥(NABESHIMA, Tatsuya)

筑波大学・数理物質系・教授

研究者番号: 80198374

(2)研究協力者

山村 正樹(YAMAMURA, Masaki)

筑波大学・数理物質系・講師

研究者番号: 40524426

中村 貴志(NAKAMURA, Takashi)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号: 90734103