

強紫外光が照射された部位選択的な治療を可能とする 分子システムの開発

大阪薬科大学

平野 智也

Methods utilizing the irradiation of light are powerful tools for various fields of scientific research, as well as in industry and in medical application, because they enable non-invasive and spatio-temporal control. In those methods, the molecules, whose functions such as emission of light and cleavage of covalent bonds have been utilized. Coumarin has been utilized as a core structure of those photofunctional molecules, such as fluorescent sensors and photoremovable protecting groups. Here, we have developed photoremovable protecting groups that could function under a specific condition, that is, a specific range of pH or the presence of hydrogen peroxide, respectively, derived from coumarin-based fluorescent sensors. Those groups could potentially be utilized in photo-releasing a drug selectively around diseased tissues.

1. 緒言

光は植物における生合成だけでなく、ヒトにおいても活性型ビタミンDの生合成などの生理機能において必須である。その一方で、過剰な光、特に紫外線の照射は活性酸素種の産生を引きおこし、皮膚への障害、シミなどだけでなく、がんなどの疾患の要因にもなる。そのため、有害な量の紫外光を防ぐ、もしくは障害を予防、治癒する機能を持つ分子は有用となる。一方、光分解性保護基とは、特定の波長の光照射により共有結合の切断がおこる分子団である。光分解性保護基をcAMP、グルタミン酸などの生理活性分子に導入した分子はCaged化合物と呼ばれる。Caged化合物は任意の部位、タイミングでの光照射によって、生理活性分子を生成させることを可能とするため、様々な生物学研究において用いられてきた。本研究では、こうした光分解性保護基の光分解反応を制御することにより、弱酸性や活性酸素種存在下などの特定の環境選択的に機能する光分解性保護基の開発を行った。開発した光分解性保護基を、生理活性、治療効果がある分子と組み合わせたCaged化合物は、疾患組織選択的に活性分子を光放出する分子システムとなる(図1)。例えば、強紫外光によって活性酸素が生成している部位選択的に機能する光分解性保護基は、光による障害がおきている部位選択的な治療、保護を可能とする分子システムになりえる。

2. 特定のpH領域で機能する光分解性保護基の開発

2.1. 方法

特定の環境選択的な光分解性保護基としてまず、特定のpH領域で機能する光分解性保護基の開発を行った。生体内におけるpHは、エンドソーム、リソソーム、ミトコンドリアなどの細胞内小器官ごとに異なるだけでなく、がん組織近傍においては弱酸性になるなど、細胞、組織の状態に応じて変化する。そのため、特定のpH選択的に機能する光分解性保護基は、生理機能解析および、図1に示す分子システムの構築に有用となる。

図2に示すBhcは、光分解性保護基として汎用されている分子団である。我々はこれまで、Bhcの母核であるクマリン骨格を持つ、様々な蛍光センサーを開発してきた¹⁾。その結果、pHの変化に伴い、蛍光強度がOFF-ON-OFFと変化する蛍光センサー $\mathbf{1}$ などを開発した^{2,3)}。pHの変化に伴い、蛍光強度がOFF-ONと変化する蛍光センサーはこれまで数多く開発され、様々な生理機能解析に応用されてきた。その一方で、OFF-ON型のセンサーは、例えばpH6以下の環境を検出することはできるものの、pHがさらに低下した環境とを識別することができない。一方、 $\mathbf{1}$ などのOFF-ON-OFF型の変化を示し、特定のpH領域を検出する蛍光センサーはこうした問題を解決した有用なセンサーとなりえる。我々は、センサーの機能を光分解性保護基に付与することができれば、特定のpH領域で機能する光分解性保護基になりえると考えた。具体的には図2に示すように、センサー $\mathbf{1}$ とBhcの構造要素を組み合わせた化合物群 $\mathbf{2}$ をデザインした。これらの化合物を合成し、pHを変化させた際の光分解反応効率をHPLCにより解析した。



Development of molecular system for the treatment of the area irradiated by strong ultraviolet light

Tomoya Hirano

Osaka University of Pharmaceutical Sciences

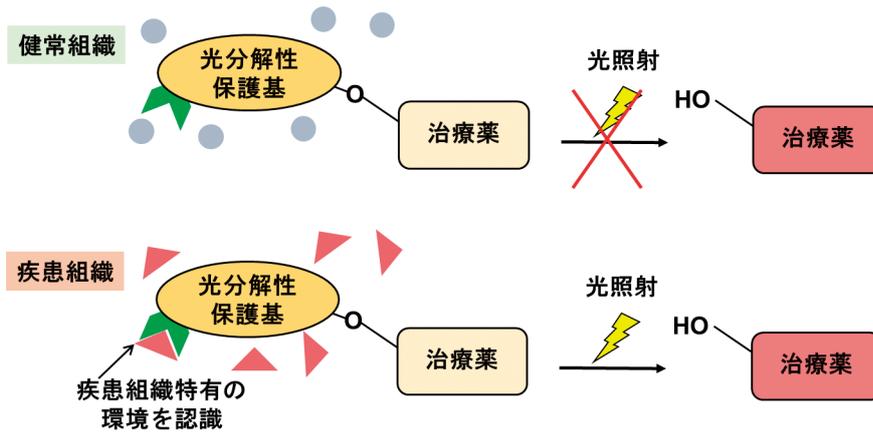


図1 本研究で開発を目指す分子システムの概要

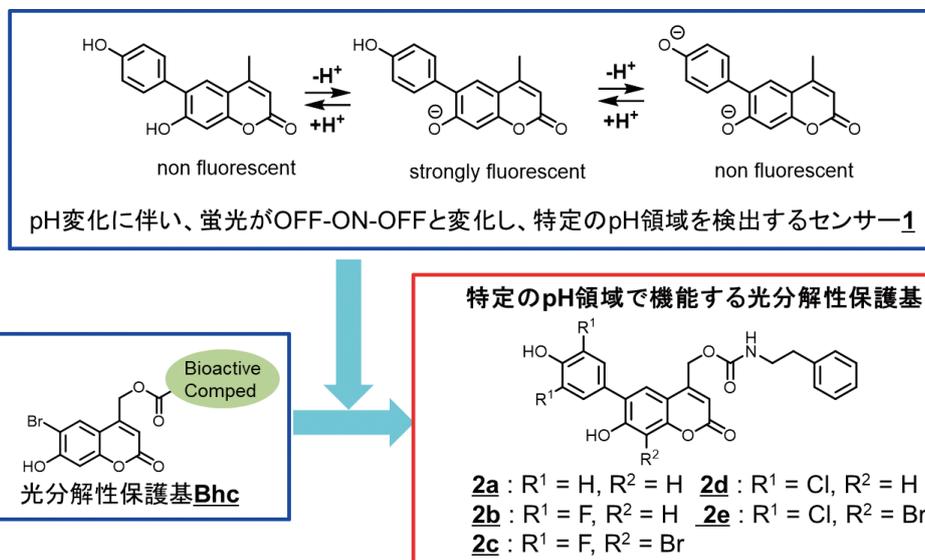


図2 特定のpH領域選択的に機能する光分解性保護基のデザイン

2. 2. 結果と考察

合成した2の機能を解析した結果、いくつかの化合物において、pHが増大するのに伴い、光分解反応効率がOFF-ON-OFFと変化することが明らかとなった⁴⁾。例えば、2aはpH3、pH6では光分解反応がおこらないが、pH9では反応が進行し、pH12では進行しない(図3)。さらに光分解反応がおこるpHは、導入したハロゲン原子の数、位置に応じて変化することも明らかとなった。すなわち、2つの塩素原子と1個の臭素原子を有する2eでは、pH3では光分解反応がおこらないが、pH6では進行し、pH9ではおこらなかった。図2に示すように蛍光センサー1の蛍光強度変化は、二つの水酸基の脱プロトン化による制御される。すなわち、7位の水酸基が脱プロトン化されたモノアニオン型で強い蛍光を持つが、6位に導入したフェノール性水酸基も脱プロトン化され、ジアニオン型となると蛍光を失う。化合物群2においても同様の脱プロトン化がおこり、モノアニオン型となったときに光分解反応

が進行すると考えられる。また、モノアニオン型が存在するpHは、二つの水酸基の pK_a を変化させるハロゲン原子によって調整される。すなわち、2aではpH9、2eではpH6と、光分解反応がおこるpHが変化したと考えられる。開発した光分解性保護基の中でも2eは、pH6というがん組織近傍で見られる環境で光分解反応がおこるため、がん選択的に治療薬を光放出する分子システムに応用できると考えられる。

3. 活性酸素種存在下で機能する光分解性保護基の開発

3. 1. 方法

活性酸素種は、生体に対して障害を与える因子としてだけでなく、生体内でのシグナル伝達分子として機能するなど多様な作用を持つ。そのため、活性酸素種存在下で機能する光分解性保護基は、生理作用解析のみならず、図1に示したような、活性酸素が関与する疾患の治療、保護に有

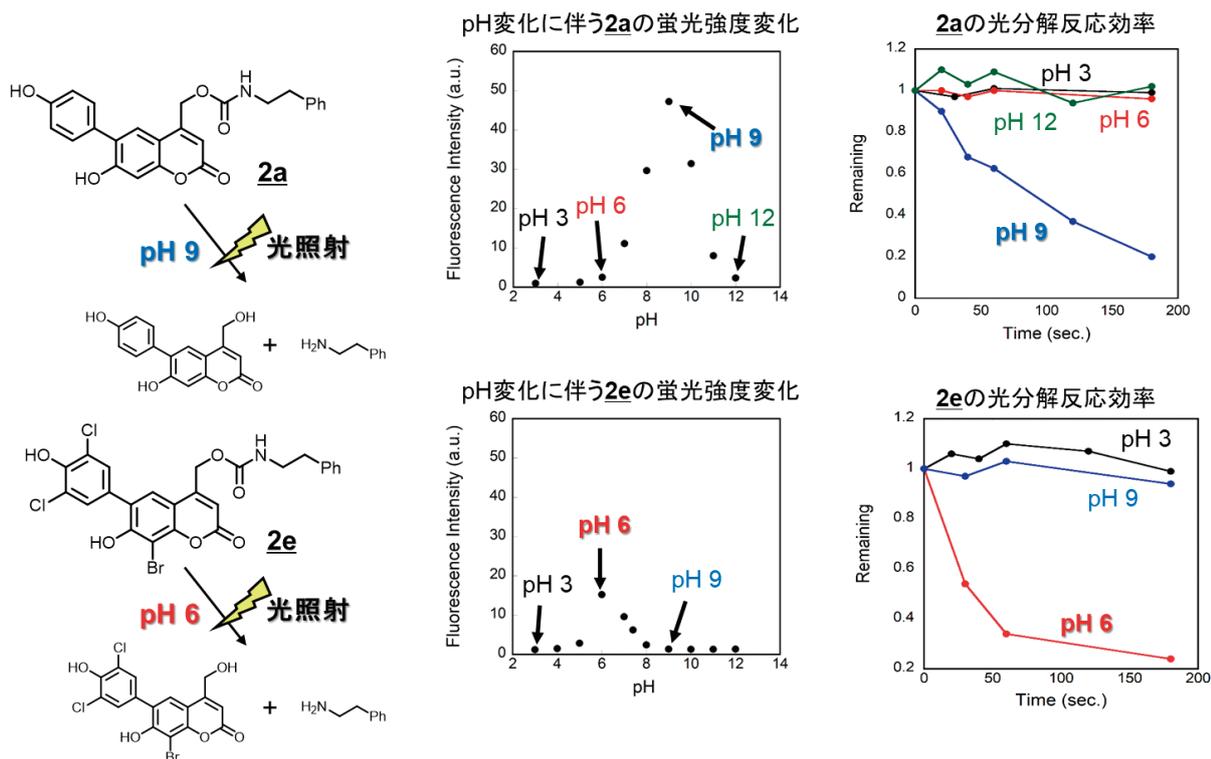


図3 化合物2の機能解析

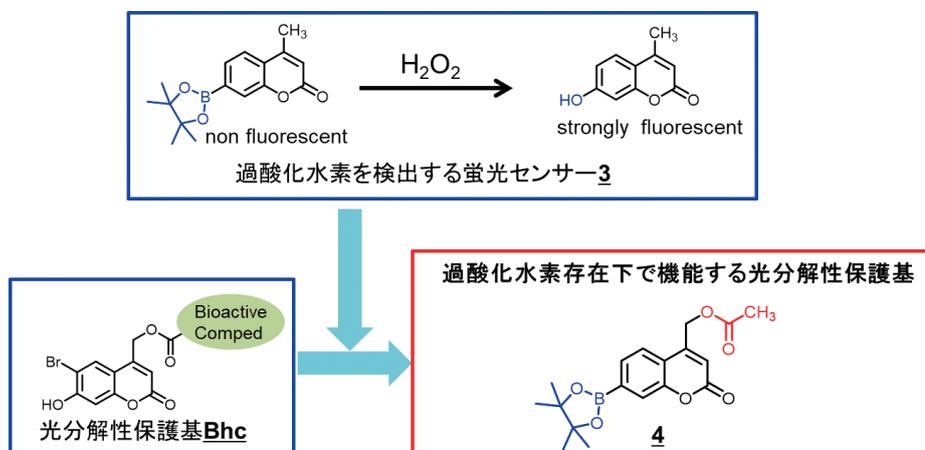


図4 過酸化水素存在下で機能する光分解性保護基のデザイン

用な分子システムに用いることができる。我々は、活性酸素種の中でも過酸化水素に着目し、2節で述べた研究と同様の戦略、すなわち蛍光センサーとBhcの構造要素を組み合わせることによって、過酸化水素存在下で機能する光分解性保護基の開発を行った。これまでに報告されている過酸化水素を検出する蛍光センサーにおいては、ボロン酸ピナコールエステルが過酸化水素により水酸基へと変換される反応が利用されている。我々は本反応をクマリン骨格に応用することにより、過酸化水素を検出する蛍光センサー3を開発していた(図4)。そこで、この蛍光センサーと光分解性保護基の構造要素を組み合わせた化合物4を合成し、

その機能を解析した。

3. 2. 結果と考察

種々の活性酸素存在下における、化合物4の光分解反応効率を解析した結果を図5に示す。検討した活性酸素種の中で、過酸化水素存在下において、水酸基への構造変化と光分解反応によって生成する化合物6が、最も高収率で得られた。選択性において改善の余地があるものの、化合物4は過酸化水素存在下で機能する光分解性保護基になりえることが明らかとなった。

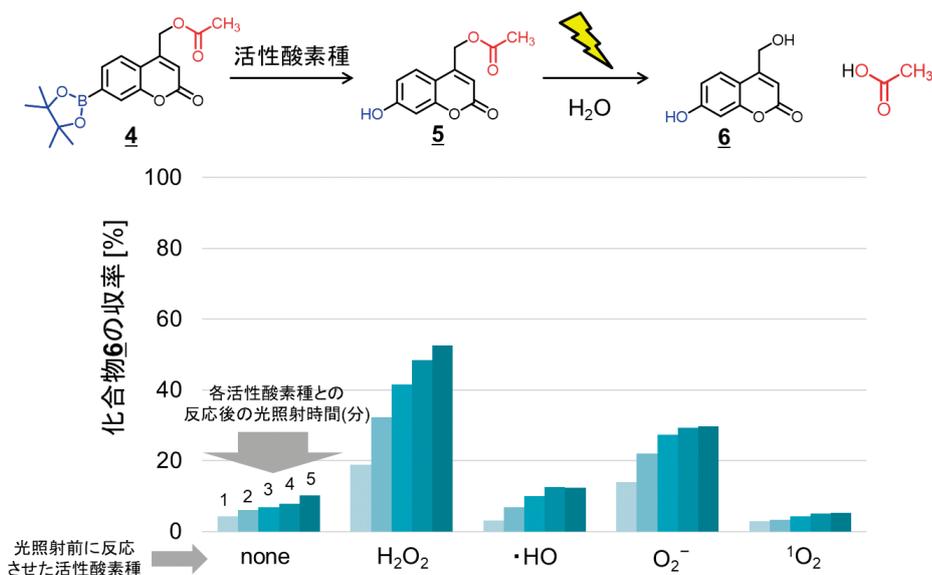


図5 化合物4の機能解析

4. 総括

本研究により我々は、蛍光センサーの構造とクマリン骨格を基に、特定のpH領域または過酸化水素存在下で機能する光分解性保護基の開発に成功した。蛍光センサーの開発は現在、世界中で爆発的に進行しており、多種、多様のセンサーが報告されている。本研究の戦略にこうしたセンサーを用いることによって、個々の疾患特有の環境選択的に機能する光分解性保護基の開発は可能になると考えられる。こうした研究成果は、光を利用した治療、予防を行うための新たな分子システム開発の基盤となる。

(引用文献)

- 1) Shiraishi T, Kagechika H, Hirano T: 6-Arylcoumarins: versatile scaffolds for fluorescent sensors. *New J Chem* 39: 8389-8396, 2015
- 2) Shiraishi T, Saito T, Kagechika H, Hirano T: Development of a novel fluorescent sensor to detect a specific range of pH. *Tetrahedron Lett* 55: 6784-6786, 2014
- 3) Hirano T, Noji Y, Shiraishi T, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H: Development of an 'OFF-ON-OFF' fluorescent pH sensor suitable for the study of intracellular pH. *Tetrahedron* 72: 4925-4930, 2016
- 4) Kato D, Shiraishi T, Kagechika H, Hirano T: 6-Arylcoumarin as a Scaffold of Photofunctional Molecules with OFF-ON-OFF Type Regulation. *J Org Chem* 86: 2264-2270, 2021