

京都大学	博士（薬学）	氏名	萩森 政頼
論文題目	ピリジンおよびキノリジンを母核とする新規蛍光性化合物の開発とその生体成分可視化への応用に関する研究		
（論文内容の要旨） 生体成分の検出・分析に、検出感度の高さや簡便さなどから蛍光性化合物の利用が注目されている。これまでに多くの蛍光性化合物が開発されているが、蛍光波長領域、蛍光量子収率、光安定性などのために、現在、蛍光団母核として利用できるものはシアニン、フルオレセインなどに限られている。さらに、シアニンにおいては親和性、フルオレセインにおいては感度などのために、測定できる生体成分には限界がある。そこで、より多様な生体成分の高感度分析を可能とするために、フルオレセイン、シアニンなどとは電子状態が異なり、多置換性により様々な機能を持たせることが期待できるピリジン、キノリジンを母核とする新規蛍光性化合物を設計、合成し、それらの有効性を評価することを計画した。 第1章 多置換ピリジン誘導体の合成と蛍光特性評価 蛍光性化合物として多置換ピリジン誘導体の創製を計画した。ケテンジチオアセタールと活性メチレン化合物との反応中、脱離したメチルスルファニル基が再付加するワンポット法を新規開発し、目的物を得ることに成功した。また、この反応は縮合ピリジン誘導体の合成にも利用できることを明らかにした。さらに、分光学的性質を調べた結果、置換基によって、これらは溶液状態で388～476 nmの領域で蛍光を認め、本誘導体が新たな蛍光団母核となり得ることを見出した。 第2章 キノリジン誘導体の合成と蛍光特性評価 単環性の多置換ピリジン誘導体での結果をもとに、高い蛍光量子収率および蛍光極大波長の長波長シフトを目指して、双環性のキノリジン誘導体の合成を計画した。合成において、分子内に非結合性S-O相互作用を持たせることによって穏やかな条件下で脱硫反応が起こることを見出し、この反応を利用することによって目的物を得ることに成功した。得られた化合物は、溶液状態において507～522 nmの領域で強い蛍光を示し、共役系の構築と適切な置換基の導入により蛍光量子収率の向上および蛍光極大波長の長波長シフト化に成功した。 第3章 縮合キノリジン誘導体の合成と蛍光特性評価 キノリジン誘導体において、蛍光極大波長の長波長シフトを目的として、三環性の縮合キノリジン誘導体を合成した。ピラノ[4,3-<i>b</i>]キノリジン誘導体では分			

子内水素結合による分子の平面性が蛍光性に強く影響すること、またピロロ [3, 4-*b*]キノリジン誘導体では置換基が蛍光性に強く影響することを認めた。特にピロロ [3, 4-*b*]キノリジン誘導体の 4 位へのイミノ基の導入は蛍光極大波長を 576~604 nm へと大きく長波長シフトさせることを見出した。さらに、ピロロ [3, 4-*b*]キノリジン誘導体を用いて、タンパク質の蛍光標識が可能であることが認められ、本骨格が新たな蛍光団母核となる可能性を見出した。

第 4 章 生体内亜鉛イオンの蛍光センサーとしてのピリジン誘導体の開発

亜鉛イオンは生命維持に重要な役割を果たしており、その動態および作用の解明のために細胞内亜鉛の検出は有効である。そこで、生体内亜鉛イオンの検出・分析を目的として、細胞膜透過性などの観点から低分子量化合物が有効と考え、ピリジン-ピリドン骨格が亜鉛イオンとの錯体形成部位と蛍光団としての機能を併せ持つことに着目して、ピリジン-ピリドン骨格を有する低分子量亜鉛蛍光センサーの開発を計画した。そこで、ピリドン環の 3 位に種々の置換基を導入した誘導体を合成し、それらの蛍光特性を調べたところ、置換基の電子供与性・求引性によって化合物の電子状態が変化し、これにより蛍光のオフオン制御が可能になることを見出した。さらに、その結果をもとに、適度な水溶性および亜鉛イオンへの高い結合選択性を示す誘導体の開発を試み、良好な細胞膜透過性を示して 生体内 亜鉛イオンの可視化に有効な化合物を得ることに成功した。この結果から、一つの分子内に錯体形成部位と蛍光団としての機能を併せ持たせることによって低分子化する分子設計が、細胞膜透過性を有する生体内亜鉛蛍光センサーの開発に有効であることを見出した。

さらに、ピリジン-ピリドン系化合物の互変異性化を抑えた 6-アミノ-2, 2' -ビピリジン誘導体が亜鉛イオンに対して高親和性、かつ、蛍光団としての機能を有することに着目し、より高感度な細胞内亜鉛センサーの開発を 計画した。その結果、亜鉛イオンに対して高親和性を示す化合物の合成に成功し、それが アミノ基の電子供与性により蛍光波長変化型センサーとしての性質を示すことを認めた。さらに、本化合物は、高い細胞膜透過性を示し、細胞内に存在する 亜鉛イオンの微小な量的変化を可視化できる可能性を見出した。

以上、本研究において、ピリジンおよびキノリジンが蛍光団母核として有効であること、さらにそれらの誘導体がタンパク質蛍光標識試薬および生体内亜鉛イオン検出用蛍光センサーとなり得ることを明らかにした。これらの知見は、今後の機能性蛍光分子の開発および生体分子の機能解明に有効な情報・手段を提供するものと考えられる。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

現在、検出感度の高さや簡便さなどからシアニン、フルオレセインなどの蛍光性化合物が生体成分の検出・分析に利用されているが、親和性や感度などのために測定できる生体成分には限界がある。そこで本論文は、より多様な生体成分の高感度分析を可能とするために、フルオレセイン、シアニンなどとは電子状態が異なり、多置換性により様々な機能を持たせることが期待できるピリジン、キノリジンを母核とする新規蛍光性化合物を設計、合成し、それらの有効性を評価することを計画したものである。

著者は、先ず、種々の単環性の多置換ピリジン誘導体を合成し、分光学的検討を行った結果、それらの誘導体に蛍光発光するものがあることを認め、多置換ピリジン誘導体が新たな蛍光団母核となり得ることを見出した。そこで、多置換ピリジン誘導体関連化合物である、双環性および三環性の縮合キノリジン誘導体を合成し、分光学的検討を行った結果、共役系の構築と適切な置換基の導入により蛍光量子収率の向上および蛍光極大波長の長波長シフト化が起こることを認めた。また、その中のピロロ[3,4-*b*]キノリジン誘導体は有効なタンパク質蛍光標識試薬と成りえることを見出した。さらに、生体で重要な役割を果たす生体内亜鉛イオンの検出・分析を目的として、多置換ピリジン誘導体関連のピリジン-ピリドン骨格が亜鉛イオンとの錯体形成部位と蛍光団としての機能を併せ持つことに着目して、ピリジン-ピリドン骨格を有する亜鉛蛍光センサーの開発を試み、6-アミノ-2,2'-ビピリジン誘導体において、良好な細胞膜透過性を持ち、従来にない高感度で生体内亜鉛イオンを可視化できる化合物を開発することに成功した。

以上、本研究において、ピリジンおよびキノリジンが蛍光団母核として有効であること、さらにそれらの誘導体がタンパク質蛍光標識試薬および生体内亜鉛イオン検出用蛍光センサーとなり得ることを明らかにしたものであり、これらの知見は、今後の機能性蛍光分子の開発および生体分子の機能解明に有効な情報・手段を提供するものと評価される。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年12月2日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降