可視光でアンケーシング可能なキノリニウム型ケージド神経伝達物質の創製と応用

鳴海 哲夫

**Novel Visible Light Photoactivatable Caged Neurotransmitters
Based on a *N*-Methyl Quinolinium Chromophore**

Tetsuo Narumi

*Graduate School of Integrated Science and Technology, Shizuoka University;
3-5-1 Johoku, Naka-ku, Hamamatsu 432-8561, Japan.*

(Received August 10, 2018)

The development of novel photolabile protecting groups with practical levels of photolytic efficiency and hydrophilicity can provide smart photochemical tools, such as caged compounds. One of the long-standing problems of most reported photolabile protecting groups is the requirement for one-photon activation, of ultraviolet light (250–400 nm), that is harmful to living cells and has low tissue penetration power. An attractive approach to overcome this would be the use of longer-wavelength light for one-photon activation; advantages would include both lower phototoxicity and higher tissue penetration power than UV irradiation. As part of our research aimed at developing new photochemical tools, we have developed the *N*-methyl-7-hydroxyquinolinium (*N*-Me-7-HQm) caging chromophore as a novel photocage, sensitive to visible light. A key to the success of the development of the *N*-Me-7-HQm photocage was simple *N*-methylation of the 7-hydroxyquinoline chromophore. This modification allows access to visible light absorbance, facile photoactivation by blue-LED light (458 nm) with high photolytic efficiency, excellent water solubility, and high resistance to spontaneous hydrolysis. The success of the late stage upgrading of a chromophore in the synthetic sequence suggests that further functionalization of the caging chromophore will be possible, and should aid in the rapid generation of structurally diverse libraries of visible light-sensitive photocages.

Key words——photolabile protecting group; caged compound; blue light photoactivation

1. はじめに

ケージド化合物は、その活性が有機化学的に付与された「カゴ (cage)」によって一時的に閉じ込められており、特定の条件によって「カゴを外す (uncage)」ことでもとの活性を発揮する機能性分子である。特に、温和な条件下、侵襲性が低く、迅速に反応が進行する光刺激を用いるケージド化合物が汎用されている。これら光刺激を用いるケージド化合物は、生物活性分子の機能発現に重要な官能基に対し、光照射で活性化 (脱保護) 可能な光感受性保護基を結合させることで、その活性のオフ/オンを保護/脱保護で制御するものであり、その特性は光

感受性保護基に大きく影響を受ける。これまでに報告されている光感受性保護基の多くが、光毒性が懸念される紫外光をケージ解除に必要とするのに対し、近年、光毒性の低い可視光を高効率で利用可能なクロモフォアが見い出され、ケージド化学が可視光照射による1光子励起反応でケージ解除する新たな時代に突入しつつある。

本稿は、筆者らが見出した可視光でケージ解除可能なキノリニウム型光感受性保護基の開発と神経伝達物質への応用について、日本薬学会第138年会シンポジウム S58 で発表した内容を骨子として、これに少し補足を加えたものである。

2. *N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム型光感受性保護基の開発

2-1. *N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム型クロモフォア的设计 これまでに多種多様な光感受性保護基が見い出されており、ニトロベンジル型やニトロアニリド型、アリールカルボニル型、クマリニ

静岡大学大学院総合科学技術研究科工学専攻化学バイオ工学コースバイオ応用工学分野 (〒432-8561 浜松市中区城北 3-5-1)

e-mail: narumi.tetsuo@shizuoka.ac.jp

本総説は、日本薬学会第138年会シンポジウム S58 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Representative Chromophore for UV-light Sensitive Caged Compounds

ルメチル型などがおもにケージド化合物に応用されている (Fig. 1).¹⁻³⁾ 筆者らは汎用されるクマリニルメチル型光感受性保護基の問題点を解決するために研究を進め、クマリン骨格の8位に窒素原子を導入したアザクマリニルメチル型光感受性保護基を開発した。⁴⁻⁶⁾ 8-アザクマリニルメチル型保護基はもとのクマリニルメチル型保護基に比べ、水溶性が大幅に向上しており、疎水性の高い生理活性分子のケージド化に有用である。⁴⁾ さらに窒素原子の誘起効果によってフェノール性水酸基の酸性度が向上することから、クマリニルメチル型保護基では利用できなかったヨウ素原子に起因する重原子効果によって極めて高い光反応性を示すことが特徴である。⁶⁾

一方で、アザクマリニルメチル型光感受性保護基の開発過程でみてきた課題として、光活性化には紫外光を必要とすることが挙げられる。紫外光はエネルギーが大きいため、結合開裂を伴う光感受性保護基の脱保護にしばしば用いられるものの、その大きなエネルギーによって細胞にダメージを与えることが懸念される。また、紫外光は組織透過性が低いことから、その利用は *in vitro* レベルに限定されることも課題となる。筆者らが光感受性保護基の開発研究に着手した当時、この紫外光を利用する光活性化の問題は、アザクマリニルメチル型保護基に限定されるものではなく、これまでに報告されているほとんどの光感受性保護基に共通した問題であった。最も直接的な解決策は、光毒性の低い長波長光を用いることであり、赤色から近赤外光による2光子励起によるケージ解除可能なクロモフォアが見い出され、ニトロベンジル型やクマリニルメチル型など、

その有用性が明らかにされている。⁷⁾ 一方で、2光子励起によるケージ解除は、高密度レーザーや特別な実験環境を必要とすることから実用性に欠けるとも言える。そこで、筆者らは高額な機器や特別な実験環境を必要とせず安価な光源としてLEDを利用可能な可視光による1光子励起反応に着目した。⁸⁾ 本稿にて紹介するキノリニウム型光感受性保護基の研究に着手した2015年当時の分子設計指針を要約すると以下の通りである。

1) 青色光によるケージ解除

可視光による1光子励起可能なクロモフォアとしてRuBi型⁹⁾を始め、BODIPY型^{10,11)}やクマリニルメチル型保護基¹²⁻¹⁴⁾が相ついで報告されたが、研究の独創性を求めて、これらとは異なる構造的な特徴を持ち、かつ安価にLED光源が入手可能な450 nm付近の青色光を吸収する骨格をクロモフォアとする。

2) 高い光反応効率

一般にケージド化合物の有用性は、光反応の量子収率と励起波長におけるモル吸光係数の積で求められるケージ解除効率(光反応効率)で評価するため、(予測は難しいものの)量子収率並びにモル吸光係数それぞれを大きな値とすることで、高い光反応効率を示す骨格をクロモフォアとする。

3) 合成後期官能基化

可視光で活性化されるケージド化合物の化学合成において、可視光を吸収する化合物から合成を開始した場合、その後のすべての実験操作を遮光条件にて行う必要があり、操作性が著しく低下する。そこで、合成後期に化学修飾又は官能基化することで吸収波長が長波長化できる拡張性のあるクロモフォアとする。

以上の設計指針に基づいて、筆者らは7-ヒドロキシキノリン(7-hydroxy-quinoline; 7-HQ)骨格と1位窒素原子をN-アルキル化したN-アルキル-7-ヒドロキシキノリニウム(7-hydroxyquinolinium; 7-HQm)骨格に着目した (Fig. 2)。

7-HQを基本骨格とする光感受性保護基として、Doreらは8位に臭素原子を導入した8-bromo-7-hydroxyquinoline-2-ylmethyl (BHQ)基¹⁵⁾や8位にシアノ基を導入した8-cyano-7-hydroxyquinoline-2-ylmethyl (CyHQ)基¹⁶⁾などを開発している。これら7-HQ型光感受性保護基は光反応の量子収率が高いものの、吸収極大波長は紫外領域であり、吸収極

Fig. 2. Design of *N*-Alkyl-7-hydroxyquinolinium Chromophore

大波長におけるモル吸光係数が小さいために、光反応効率（光反応の量子収率とモル吸光係数の積）は低下することが課題と言える。これに対し、1位窒素原子を *N*-アルキル化した 7-HQm 骨格は、光学 pH センサー¹⁷⁾や蛍光色素^{18,19)}に用いられており、青色光を吸収し、大きなモル吸光係数を持つことが報告されている。また、7-HQ 骨格は sp^2 混成軌道を形成する窒素原子が非共有電子対を有しているため、*N*-アルキル化反応によって更なる誘導体化が可能であり、合成後期官能基化を可能にすると期待された。つまり、吸収極大波長が紫外領域にある 7-HQ で合成を始め、生物活性分子とカップリングしたのち、*N*-アルキル化によって 7-HQm に誘導することで、合成の最終段階で可視光活性化能を付与できると考えた。しかも、*N*-アルキル化された 7-HQm は安定なカチオン種であり、アルキル化剤に由来するアニオン種とイオン対を形成する有機塩となるため、ケージド化合物でしばしば問題となる水溶性の問題も解決できると考えた。

2-2. *N*-アルキル-7-ヒドロキシキノリニウム化合物の合成と光学特性 まず、7-HQm 骨格の有用性を検証するために、7-ヒドロキシ-2-メチルキノリンに対し種々のアルキル化剤を作用させ、得られた *N*-アルキルキノリニウム化合物の光学特性を評価した (Table 1)。7-ヒドロキシ-2-メチルキノリン (1) の吸収極大波長が 330 nm 付近であるのに対し、*N*-アルキルキノリニウム化合物 (2-7) の吸収極大波長は 400–425 nm 付近であり、期待した通り青色光を吸収することが明らかになった。さらに、*N*-アルキル化することで 7-HQ 型光感受性保護基の課題であったモル吸光係数も増大し、*N*-メチル体 (2) のモル吸光係数は 7-ヒドロキシ-2-メチルキノリンの約 4 倍、*N*-ベンジル体 (3) では約 6 倍増

Table 1. *N*-Alkyl Effect on Photophysical Properties

compd	R	X	$\lambda_{\max}^a$ (nm)	$\epsilon_{\max}^b$ ($M^{-1} cm^{-1}$)
1	—	—	330	3200
2	CH ₃	I	425	12300
3	CH ₂ Ph	Br	410	19100
4	CH ₂ CO ₂ Et	Br	412	11000
5	CH ₂ CO ₂ H	Br	410	12200
6	CH ₂ C(O)Ph	Br	403	6600
7	CH ₂ C(O)Ph (pBr)	Br	408	4000

^a Long-wavelength of absorption maxima in PBS (0.1% DMSO),

^b molar absorptivity at absorption maxima.

大した。これらの結果より、7-HQ 骨格の *N*-アルキル化は可視光による光感受性保護基の創製において有用な分子変換であることが明らかになった。合成した *N*-アルキルキノリニウム化合物の中で最も長波長光を吸収し、7-ヒドロキシ-2-メチルキノリンよりも約 4 倍大きなモル吸光係数を持つ *N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム (*N*-Me-7-HQm) 骨格を用いてその後の研究を進めた。

2-3. *N*-Me-7-HQm 型ケージド酢酸の光化学的性質 単純な構造を有するケージド化合物として、*N*-Me-7-HQm 型ケージド酢酸 (9) を合成し、青色光照射による 1 光子励起反応条件下での光化学的性質を調べた。7-ヒドロキシ-2-メチルキノリンから 5 工程で誘導したキノリンメチルエステル (8) に対し、トリフルオロメタンスルホン酸メチルを用いて *N*-メチル化し、水中加熱条件下 TBDPS 基を脱保護した後に HPLC にて精製することで、所望の *N*-Me-7-HQm 型ケージド酢酸 (9) を合成した (Scheme 1)。得られた *N*-Me-7-HQm 型ケージド酢酸 (9) を PBS に溶解させ、青色 LED を作用させたところ、炭素-酸素結合開裂を伴う光分解反応が進行し、対応するキノリニウムメチルアルコール (10) の生成が HPLC で確認できた [Fig. 3(b)]。458 nm 光照射時の光反応の量子収率 (Φ_{chem}) は 0.045、そのときの反応効率 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458}$) は 234 であり、経験的ではあるものの、1 光子励起反応における反応効率の指標 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon > 100$)^{20,21)} を超えるケージド化合物であることが明らかになった。

さらに、キノリニウム骨格における置換基効果を

Scheme 1. Synthesis of *N*-Me-HQm-type Caged Acetate (**9**) Fig. 3. a) Photolysis of *N*-Me-7-HQm-OAc (**9**), b) HPLC Analyses for the Photolysis Reaction of **9** at 458 nm in PBS Buffer (pH 7.4, containing 0.1% DMSO), and c) Time Courses of the Photolysis Reaction of **9**

検討したところ、7位ヒドロキシ基をメトキシ基に置換した *N*-Me-7-MQm 型 (**11**) は吸収極大波長が紫外領域にあるため ($\lambda_{\max} = 357 \text{ nm}$)、458 nm 光照射では光反応が進行しなかった (Fig. 4)。また、7位ヒドロキシ基をジメチルアミノ基に置換した *N*-Me-7-DMAQm 型 (**12**) は、*N*-Me-7-HQm 型に比べ、吸収極大波長が約 30 nm 長波長化し ($\lambda_{\max} = 449 \text{ nm}$)、モル吸光係数も約 1.4 倍増大したものの ($\epsilon_{458} = 7400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)、光反応の量子収率が 0.0012 となり、光反応効率は大幅に低下した ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458} = 8.9$)。 *N*-Me-7-DMAQm 型の 4 位に電子供与性エチル基を導入することで、わずかに光反応性の改善はみられたものの、その反応効率 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458}$) は 29 であり、*N*-Me-7-MQm 型の約 1/8 程度であった。これらの結果より、7位ヒドロキシ基がキノリウム骨格の光反応性に大きく寄与していることが明らかになった。これは 7位ヒドロキシ基を有する *N*-アルキルキノリウム化合物の基底状態における pK_a は 5–6 付近であるものの、励起状態においては酸性度が大幅に向上し、²²⁾ ヒドロキシアニオン型になるため、その電子供与性により分子内電荷移動が起こり易くなったものと考えて

いる。

3. *N*-メチル-7-ヒドロキシキノリウム型ケージドアミノ酸

3-1. *N*-Me-7-HQm 型ケージドアミノ酸の合成

アミノ酸は生体の至るところに存在し、タンパク質を合成する最小単位の構成成分であることに加え、それ自体が生体のエネルギー産生を始め、筋肉の維持や増強、学習機能、生体の恒常性維持、神経伝達など、多くの生体機能に関与している。よって、アミノ酸が有するアミノ基やカルボキシ基、側鎖官能基を光感受性保護基で保護したケージドアミノ酸は、これらアミノ酸が関与する生体内反応を高い時空間分解能で制御可能な光機能性分子となる。最も広く用いられているケージドアミノ酸は、興奮性シナプス後部の主たる神経伝達物質として機能するグルタミン酸に保護基が結合したケージドグルタミン酸であり、MNI 型、²³⁾ Bhc 型、²⁴⁾ RuBi 型⁹⁾などが報告されており、神経科学分野において広く用いられている。そこで、*N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基をグルタミン酸に応用した *N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸の合成に着手した。

先述したケージド酢酸の結果を踏まえ、まずグル

Fig. 4. a) Time Courses of the Photolysis Reaction of *N*-Me-HQm-type Caged Acetates 9–13, and b) Photosensitivity of 9–13

タミン酸の α -カルボキシ基に *N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基をエステル型で導入することを検討した。*N*-Me-7-HQm 型ケージド酢酸と同様に、対応するアルコールから *N*-Me-7-HQm 型エステル化合物を合成し、*N*-Me-7-HQm 型エステル化合物を含む水溶液に青色 LED を作用させたところ、光分解反応が進行することを確認した。しかしながら、分取 HPLC にて *N*-Me-7-HQm 型エステル化合物の精製を試みたものの、予想に反して、0.1% TFA を含むアセトニトリル/水混合溶媒による通常の分取条件では速やかに自発的加水分解が起きてしまい、単離精製は困難であった。これはキノリニウムメチルアルコールの脱離能が高いため、*N*-Me-7-HQm 型エステルの反応性が高くなり、水中では容易に加水分解されるものと考察しているが、先述したケージド酢酸においては PBS 中 12 時間後でも自発的加水分解は 5% 程度に留まったことから、グルタミン酸の骨格に由来する影響の可能性も否定できない。この結果を踏まえ、*N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基をエステル型ではなく、より加水分解され難いカーバメート型で導入することを検討した (Scheme 2)。アルコール (14) に対し、カルボジイミダゾール (CDI) を作用させた後、H-Glu(^tBu)-O^tBu·HCl をトリエチルアミン存在下作用させることで、カー

バメート体 (15) へと誘導した。続いて、遮光条件下 *N*-メチル化し、TBDPS 基及び *tert*-ブチル基を脱保護した後に HPLC にて精製することで、 α -アミノ基に *N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基を導入した *N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸 (16) を合成した。本合成法を用いることで種々のケージドアミノ酸の調製が可能であり、抑制性神経伝達物質であるグリシンや γ -アミノ酪酸 (gamma-aminobutyric acid; GABA) のケージドアミノ酸 (17–18) を始め、リジン側鎖の ϵ -アミノ基に *N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基を有するケージドリジン (20) を合成した。

3-2. *N*-Me-7-HQm 型ケージドアミノ酸の光化学的性質 合成した *N*-Me-7-HQm 型ケージドアミノ酸の青色光照射による 1 光子励起反応条件下での光化学的性質を調べた (Table 2)。*N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基の導入方法をエステル型からカーバメート型に変換しても、光化学的性質に大きな影響を与えず、吸収極大波長は 415 nm 付近であり、励起波長 458 nm におけるモル吸光係数は $2500\text{--}4800\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ となった。*N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸 (16) を PBS に溶解させ、青色 LED を作用させたところ、期待した通り光分解反応が進行し、対応するキノリニウムメチルアルコー

Scheme 2. Synthesis of *N*-Me-7-HQm-caged Amino Acids **16–20**Table 2. Selected Photophysical and Photochemical Properties of Compounds **16–21**

compd	$\lambda_{\max}^a$ (nm)	ϵ_{458}^b ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	t_{90}^c (s)	Φ_{chem}^d	$\epsilon_{458} \cdot \Phi_{\text{chem}}^e$
<i>N</i> -Me-7-HQm-Glu (16)	413	4800	72	0.036	173
<i>N</i> -Me-7-HQm-Gly (17)	415	2500	85	0.044	110
<i>N</i> -Me-7-HQm-GABA (18)	416	2500	85	0.046	115
<i>N</i> -Me-7-HQm-Ala (19)	416	5400	57	0.025	135
<i>N</i> -Me-7-HQm-Lys (20)	416	2000	100	0.048	96
RuBi-Glu (21)	450	4000	22	0.068	272

^a Long-wavelength of absorption maxima, ^b molar absorptivity at 458 nm, ^c time to reach 90% conversion, ^d quantum yield for photoreaction irradiated at 458 nm, ^e photolytic efficiency.

ルの生成が確認できた。 *N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸 (**16**) では、458 nm 光照射時の光反応の量子収率 (Φ_{chem}) は 0.036, そのときの反応効率 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458}$) は 173 であり, 市販されている RuBi 型ケージドグルタミン酸 (**21**) の光反応効率 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458} = 272$) には劣るものの, 1 光子励起反応における反応効率の指標を超えるケージド化合物であることが明らかになった。グルタミン酸に加え, グリシン (**17**) や GABA (**18**), アラニン (**19**), リジンのケージド化合物 (**20**) も, 期待した通り青色 LED による 1 光子励起反応が進行し, 458 nm 光照射時の光反応の量子収率 (Φ_{chem}) は 0.025–0.048, そのときの反応効率 ($\Phi_{\text{chem}} \cdot \epsilon_{458}$) は 96–135 であり, ケージドグルタミン酸同様に少ない光量で効率よく光活性化可能なケージド化合物である

ことが明らかになった。特に, リジン側鎖の ϵ -アミノ基に *N*-Me-7-HQm 型光感受性保護基を有するケージドリジン (**20**) では, Fmoc 固相合成法に応用可能な α -アミノ基には Fmoc 基を有しており, 可視光活性化能を有するケージドペプチドの合成への応用が期待できる。

続いて, *N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸 (**16**) の有用性を検証するために, 約 1.5 mm のハムを通して, 青色光照射による 1 光子励起反応条件下での光化学的性質を調べた (Fig. 5)。 *N*-Me-7-HQm 型ケージドグルタミン酸 (**16**) の PBS 溶液を石英セルに入れ, 光が直接セルにあたらないようにセル全体をハムで覆い, これに対し青色 LED を作用させたところ, 期待した通り, 炭素-酸素結合開裂を伴う光分解反応が進行した。本系における光

Fig. 5. Time Courses of the Photolysis Reactions of *N*-Me-7-HQm-Glu (16) and RuBi-Glu (21)

分解反応はハムを用いない条件と同様に1次反応で進行し、ハムの枚数を1枚から2枚に増やしても光分解反応は進行した。このことから *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸はわずかな光量で光活性化可能なケージド化合物であることが明らかになった。

さらに、大脳皮質の神経細胞を用いて *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) の1光子励起反応を検討した。 *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸を人工脳脊髄液に溶解させ、ラット大脳皮質切片における神経回路を解析したところ、RuBi型ケージドグルタミン酸 (21) と同様に、細胞刺激後ミリ秒単位でシナプス応答が記録された [Fig. 6 (a)]。これは、 *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) のアンケーシングにより生成したグルタミン酸が、神経細胞上のグルタミン酸受容体を活性化し、陽イオンを細胞内に流入させることで、神経細胞の活動電位を誘発したことを示している。一方で、同濃度の *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) 及び RuBi型ケージドグルタミン酸 (21) に対して局所神経回路の解析を行い、各ケージドグルタミン酸に対するシナプス応答のピーク振幅をプロットした結果、120 μ M における *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) のピーク振幅が同濃

度の RuBi型ケージドグルタミン酸 (21) のピーク振幅の約1/2倍程度となった [Fig. 6 (b)]。これは *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸のアンケーシングによって生成するグルタミン酸の量が RuBi型に比べ半分程度であることを示している。以上の結果より、実用化に向けてさらに改良する必要があるものの、 *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸が神経細胞内においてもグルタミン酸の放出を制御可能であり、神経細胞レベルで機能することが示された。

3-3. *N*-Me-7-HQm型ケージドアミノ酸の加水分解耐性 ケージド化合物に求められる特性として、高い水溶性とpH 7付近の水溶液中での自発的加水分解の起こり難さが求められる。 *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) のPBS中における飽和濃度は19 mMとなり、水溶性に優れたアザクマリニルメチル型やBHQ型より高い水溶性を有することが明らかになった。さらに、 *N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸 (16) の暗所下における加水分解安定性を評価したところ、エステル型ケージド酢酸では時間経過に伴い自発的加水分解が起こり、基質の残存率が12時間で96%まで低下したのに対し、カルバメート型ケージドグルタミン酸

Fig. 6. One-photon Uncaging of *N*-Me-HQm-Glu (**16**) in Rat Cerebral Cortex Slices

(a) Evoked current responses from uncaging 60 μ M *N*-Me-HQm-Glu and 60 μ M RuBi-Glu. Vertical scale, 50 pA. Horizontal scale, 100 ms. (b) Summary of the *N*-Me-HQm-Glu and RuBi-Glu evoked peak amplitude.

は24時間経過後も自発的加水分解はみられず、非常に高い加水分解安定性を有していることが明らかになった。さらに、*N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸は、暗所・室温かつ無溶媒条件において、2週間後も分解物に相当するアルコール体が生成しない。RuBi型ケージドグルタミン酸は保存条件が -20°C であることや、Ellis-Daviesらが報告したDEAQ450型ケージドグルタミン酸は、室温で安定な時間が5時間であることを踏まえると、¹³⁾筆者らが開発した*N*-Me-7-HQm型ケージドグルタミン酸は、非常に高い加水分解安定性と操作性を備えており、光刺激によってのみグルタミン酸の放出が起こるケージド化合物であることが明らかになった。

4. おわりに

以上、本稿では筆者らが最近見出した*N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム骨格をクロモフォアとする光感受性保護基の創製と、それを応用した青色光での活性化能を有するケージドアミノ酸について概説した。*N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム型光感受性保護基の開発は、7-ヒドロキシキノリン骨格の窒素原子を*N*-メチル化する非常にシンプルな分子変換によって達成された。従来の光感受性保護基は、生物活性分子に導入し、精製後そのまま用いるために、その光活性化能は導入した光感受性保護基に依存するが、筆者らが開発した*N*-メチル-7-キノリニウム型光感受性保護基では、生物活性分子と結合したのちに、*N*-アルキル化によって可視光活性化能を付与している点が特徴である。この合

成後期における*N*-アルキル化による高度化は、目的に適したアルキル化剤を作用させることで、理論上、吸収波長の長波長化やモル吸光係数の増大など光学特性の高度化に加え、水溶性の向上や分子認識能の付与など、様々な機能を持った官能基を“後付け”することが可能である。これは反応性共通中間体から多様な機能を持った誘導体合成を可能にし、魅力的なケージド化合物ライブラリーの構築に有利な合成戦略と言える。今後は、*N*-メチル-7-ヒドロキシキノリニウム型ケージド化合物を用いたケミカルバイオロジー研究を実施するとともに、*N*-アルキルキノリニウム化合物の特性を最大限に活かした光機能性分子を開発していきたい。

これまで述べてきたように、光毒性の低減が期待できる可視光による1光子励起反応を利用するケージド化合物は、高額なレーザーや特殊な実験環境を必要とせず、入手容易なLED光源で生命機能メカニズムを制御する化学的手法を提供することから、今後もケージド化合物開発の1つの方向性となるであろう。しかし、光感受性保護基やケージド化合物の創製研究において、確立された方法論はなく（計算科学的手法が大きな助けとなるのは言うまでもないが）、その多くは研究者の経験と試行錯誤に依存するも事実である。開発の実現性の観点からは、本稿で紹介した7-ヒドロキシキノリン型を*N*-アルキル化した*N*-メチル-7-キノリニウム型や、クマリニルメチル型の π 共役系を伸長したDEAQ450型、重原子効果を巧みに利用したBODIPY型の開発に

みられるように、既存の光感受性保護基や蛍光分子の構造修飾に基づく分子設計戦略は、実現性の高いアプローチと言える。一方で、光感受性保護基を構成する有機化合物は、本来無限の構造的並びに機能的多様性を持っており、これはケージド化合物が合成化学を起点に、目的に応じてさらに進化できる可能性を明確に示している。今後、多くの研究者によって更なる工夫が重ねられ、新たな光感受性保護基やケージド化合物が見い出され、これらを起点とする光操作技術が生物活性分子の機能を自在に制御するモダリティとして確立されることを期待したい。

謝辞 本研究は静岡大学工学部ケミカルバイオロジーグループにて実施されたものであり、間瀬暢之教授、佐藤浩平助教を始め多くのメンバーに多大なご支援及びご助言を頂きました。また、紹介した一部の研究については、東邦大学理工学部の古田寿昭教授、生理学研究所の吉村由美子教授との共同研究の成果であり、多大な貢献を頂いた関連の皆様にご場を借りて深く感謝致します。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Brieke C., Rohrbach F., Gottschalk A., Mayer G., Heckel A., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **51**, 8446–8476 (2012).
- 2) Klán P., Šolomek T., Bochet C. G., Blanc A., Givens R., Rubina M., Popik V., Kostikov A., Wirz J., *Chem. Rev.*, **113**, 119–191 (2013).
- 3) Šolomek T., Wirz J., Klan P., *Acc. Chem. Res.*, **48**, 3064–3072 (2015).
- 4) Narumi T., Takano H., Ohashi N., Suzuki A., Furuta T., Tamamura H., *Org. Lett.*, **16**, 1184–1187 (2014).
- 5) Takano H., Narumi T., Ohashi N., Suzuki A., Furuta T., Nomura W., Tamamura H., *Tetrahedron*, **70**, 4400–4404 (2014).
- 6) Takano H., Narumi T., Nomura W., Furuta T., Tamamura H., *Org. Lett.*, **17**, 5372–5375 (2015).
- 7) Abe M., Chitose Y., Jakkampudi S., Thuy P. T. T., Lin Q., Van B. T., Yamada A., Oyama R., Sasaki M., Katan C., *Synthesis*, **49**, 3337–3346 (2017).
- 8) Olejniczak J., Carling C.-J., Almutairi A., *J. Control. Release*, **219**, 18–30 (2015).
- 9) Fino E., Araya R., Peterka D. S., Salierno M., Etchenique R., Yuste R., *Front. Neural Circuits*, **3**, 2 (2009).
- 10) Umeda N., Takahashi H., Ueno T., Komatsu T., Terai T., Hanaoka K., Nagano T., Urano Y., *ACS Chem. Biol.*, **9**, 2242–2246 (2014).
- 11) Slanina T., Shrestha P., Palalo E., Kand D., Peterson J. A., Dutton A. S., Rubinstein N., Weinstein R., Winter A. H., Klán P., *J. Am. Chem. Soc.*, **139**, 15168–15175 (2017).
- 12) Fournier L., Aujard I., Saux T. L., Maurin S., Beaupierre S., Baudin J.-B., Jullien L., *Chem. Eur. J.*, **19**, 17494–17507 (2013).
- 13) Olson J. P., Kwon H.-B., Takasaki K. T., Chiu C. Q., Higley M. J., Sabatini B. L., Ellis-Davies G. C. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 5954–5957 (2013).
- 14) Lin Q., Yang L., Wang Z., Hua Y., Zhang D., Bao B., Bao C., Gong X., Zhu L., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **57**, 3722–3726 (2018).
- 15) Fedoryak O. D., Dore T. M., *Org. Lett.*, **4**, 3419–3422 (2002).
- 16) Davis M. J., Kragor C. H., Reddie K. G., Wilson H. C., Zhu Y., Dore T. M., *J. Org. Chem.*, **74**, 1721–1729 (2009).
- 17) Badugu R., Kostov Y., Rao G., Tolosa L., *Biotechnol. Prog.*, **24**, 1393–1401 (2008).
- 18) Senda N., Miwa Y., Tanaka J., Momotake A., Arai T., *Chem. Lett.*, **39**, 308–310 (2010).
- 19) Senda N., Momotake A., Arai T., *Heterocycles*, **81**, 2343–2350 (2010).
- 20) Suzuki A. Z., Watanabe T., Kawamoto M., Nishiyama K., Yamashita H., Ishii M., Iwamura M., Furuta T., *Org. Lett.*, **5**, 4867–4870 (2003).
- 21) Quann E. J., Merino E., Furuta T., Huse M., *Nat. Immunol.*, **10**, 627–635 (2009).
- 22) Kim T. G., Topp M. R., *J. Phys. Chem. A*, **108**, 10060–10065 (2004).
- 23) Canepari M., Nelson L., Papageorgiou G., Corrie J. E., Ogden D., *J. Neurosci. Methods*, **112**, 29–42 (2001).
- 24) Furuta T., Wang S. S. H., Dantzker J. L., Dore T. M., Bybee W. J., Callaway E. M., Denk W., Tsien R. Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 1193–1200 (1999).