

研究終了報告書

「有機金属フタロシアニン錯体の光線力学的効果に関する研究」

研究期間：2019年10月～2023年3月

研究者：村田 慧

1. 研究のねらい

「光線力学的療法 (PDT)」は、生体内に投与した光感受性物質へのレーザー光照射により、腫瘍細胞を選択的に攻撃するがん治療法である。一般に、光感受性物質と系中酸素間の光化学反応により生成する活性酸素種が細胞攻撃に用いられている。この療法には、抗がん剤を用いる薬剤療法に比べ、治療過程における副作用を大幅に低減できるメリットがあるが、腫瘍細胞への作用機序に制約がある点、また低酸素領域における治療効果が低い点などに課題がある。一方、光感受性保護基の光分解に基づく生体機能分子の放出は「光アンケーシング」と呼ばれ、生体組織における部位特異的な機能発現に広く利用されている。この反応を PDT のシステムと組み合わせれば、多様な薬剤分子の腫瘍選択的生成を通して、細胞の位置や酸素環境に依存しない効果的な治療が可能になると考えられる。

そこで本研究では、「PDT」と「光アンケーシング」の二つのシステムを融合させ、生体組織透過性の高い赤色光を利用した活性炭素種(アルキルラジカル/末端アルデヒド)生成に基づく革新的な光がん治療システムの構築を目指す(図1)。具体的には、軸位に金属-炭素結合を介して種々の薬剤分子前駆体を有する有機金属フタロシアニン/ポルフィリンを光感受性

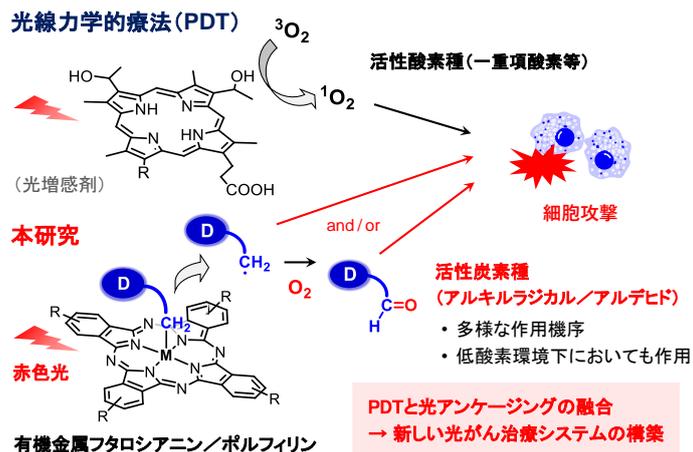


図1. 本研究の概念図

物質として採用する。これらの錯体を光励起すると、金属-炭素結合の均等開裂反応により、軸配位子に由来するアルキルラジカルがアンケーシングされ、これが酸素共存下では末端アルデヒドへと変換される。これらの活性炭素種を細胞攻撃に利用すれば、酸素環境に依らない細胞死の誘導が可能となり、従来の PDT における諸課題を克服する新しい光がん治療法を開拓できると考えた。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、(A)有機ロジウムフタロシアニンおよび(B)有機イリジウムポルフィリンの二つのプラットフォームを用いる赤色光アンケーシングについて検討を行った。

(A)では、軸位に単純アルキル、アリルあるいはベンジル配位子を有する有機ロジウムフタロシアニン錯体を新規合成し、その光物性および赤色光アンケーシング能を調べた。まず、単純アルキル配位子を有する錯体の光反応性を調べたところ、同錯体は赤色定常光照射下で安定であるのに対し、赤色ナノ秒パルスレーザー光照射下で転化し、酸素共存下で末端アルデヒドを放出することがわかった。種々の実験および理論解析より、本反応では錯体の段階的二光子励起によりアルキルラジカルのアンケーシングが進行することが示唆された。そこで、同錯体のリポソーム内包体を HeLa 細胞に導入し、その光毒性を調べたところ、特定の作用濃度において光線力学的効果が発現することが明らかとなった。一方、アリルあるいはベンジル配位子を有する錯体は、酸素共存下、赤色定常光の一光子励起により速やかに転化し、 α, β -不飽和アルデヒド/ベンズアルデヒドをそれぞれ良好な収率で与えた。理論計算による励起状態解析より、アリル基およびベンジル基の置換基効果が反応活性な高位励起三重項状態のエネルギー準位を低下させ、金属-炭素結合の活性化を一光子励起によっても可能とすることが示唆された。この結果に基づき、実際に生体内でアポトーシス誘導剤として機能する α, β -不飽和アルデヒドおよび芳香族アルデヒドの放出が赤色定常光照射によって実現することを示した。以上の結果より、有機ロジウムフタロシアニン錯体は、赤色光を利用したアルキルラジカル放出反応のプラットフォームとして有用であることが明らかとなった。

(B)では、軸位に種々のアルキル配位子を有する有機イリジウムポルフィリン錯体について、光物性および赤色光アンケーシング能を調べた。金属中心にイリジウムを導入すると、その重原子効果により S-T 吸収帯(基底状態から最低励起三重項状態への直接遷移)が赤色光領域に発現することがわかった。そこで同吸収帯に対応する赤色光を照射すると、実際に軸位の金属-炭素結合の開裂反応が進行し、アルキルラジカルが放出されることが明らかとなった。

(2) 詳細

研究テーマ A 「有機ロジウムフタロシアニンによる赤色光アンケーシング反応の開発」

(1) 単純アルキル配位子の導入

本検討では、まず軸位にメチル配位子あるいはブチル配位子を有するロジウムフタロシアニン錯体 1, 2 を新規合成し、その光物性を調べた。錯体 1, 2 の紫外可視吸収スペクトルを測定したところ、いずれの場合も赤色光領域にフタロシアニン環の $\pi-\pi^*$ 遷移に由来する強く鋭い吸収帯が観測され、両錯体は赤色光を効率よく吸収することが確かめられた。また、錯体 1 は近赤外領域にりん光を示し、その寿命 (τ) は室温下で 3.6 μs であった。また、その一重項酸素生成量子収率 (ϕ_A) は 0.43 と決定された。

次に、錯体 1, 2 の有機溶媒中・酸素共存下における光アンケーシング能を調べた。その結果、両錯体は赤色定常光下で安定であるのに対し、赤色ナノ秒パルスレーザー光照射下で速やかに転化して、それぞれホルムアルデヒドおよびブチルアルデヒドを主生成物として与えることがわかった(図 2)。この際、錯体の転化率がレーザー光強度の約二乗に比例したこと、

および反応に用いたナノ秒パルスレーザーの光束密度 ($\sim 10^{25}$ photons/cm²·s) より、本反応は錯体の段階的二光子励起過程により進行することが示唆された。

続いて、この光アンケーシングを生体環境に適用するために、錯体 1 のリポソーム内包体を作製した。同リポソーマル錯

体の水溶液に対し、赤色ナノ秒パルスレーザー光を照射したところ、有機溶媒中と同様にホルムアルデヒドが系中生成することが確かめられた。そこで、このリポソーマル錯体をヒト腫瘍細胞株である HeLa 細胞に取り込ませ、錯体の光毒性と暗所下毒性を調べた。その結果、1 μ M の作用濃度下において、光照射下と暗所下で細胞生存率に顕著な違いがみられた (図 3)。これより、錯体は有意な光線力学的効果を示すことが明らかとなった。この光毒性の誘起には、一重項酸素とメチルラジカルの両活性種が寄与することが予想される。そこで、同反応条件下で得られた死細胞のアポトーシス/ネクローシス比を調べたところ、一重項酸素のみを生成する亜鉛フタロシアニン ($\Phi_A = 0.54$) を用いた場合に比べ、アポトーシス割合が増大することがわかった。一般に、アルキルラジカルおよびホルムアルデヒドは主としてアポトーシス細胞死を引き起こすことが知られている。この結果より、メチルラジカルの光放出が細胞死の誘導に寄与することが示唆された。

(2) アリル配位子およびベンジル配位子の導入

アリル配位子およびベンジル配位子を有するロジウムフタロシアニン錯体は、酸素共存下での赤色光励起により、 α,β -不飽和アルデヒド、および芳香族アルデヒドをそれぞれ与えることが期待される。これらのアルデヒドは、種々のアポトーシス誘導剤の部分骨格として重要であることから、本検討では比較的単純なプレニル配位子および無置換ベンジル配位子を有する錯体 3, 4 の合成を行い、有機溶媒中・酸素共存下における光アンケーシング能を調べた。その結果、単純アルキル錯体 1, 2 の場合と異なり、両錯体は赤色定常光の励起により速やかに転化し、それぞれ 1-メチルクロトンアルデヒドおよびベンズアルデヒドを放出することを見出した (図 4)。また、錯体 3, 4 にラジカル捕捉剤として TEMPO を加え、窒素雰囲気下で赤色光を照射したところ、TEMPO のアル

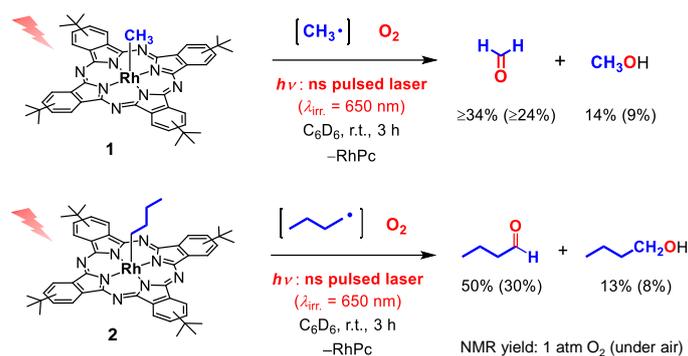


図 2. 単純アルキル配位子を有する錯体の光アンケーシング

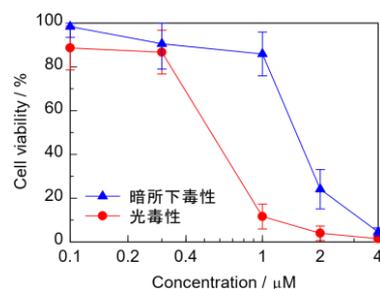


図 3. 錯体 1 の光線力学的効果

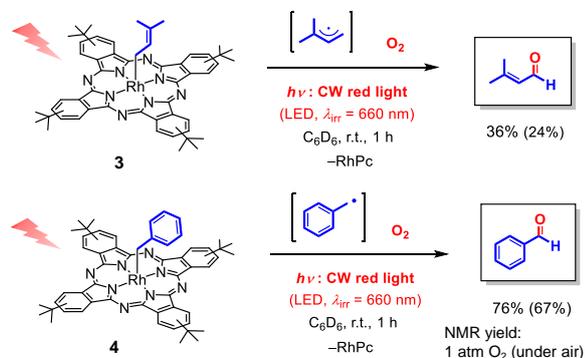


図 4. アリルおよびベンジル配位子を有する錯体の光アンケーシング

キルラジカル付加体が得られた。これらの結果より、アリル配位子およびベンジル配位子を有する錯体 **3**, **4** は、赤色定常光の一光子励起によりアルキルラジカルをアンケーシングすることが明らかとなった。さらに、この結果に基づき、実際に生体内でアポトーシス誘導剤として機能するアルデヒド類の光放出にも成功している。

(3) 有機ロジウムフタロシアニン錯体の理論的研究

前項(1), (2)に述べた検討より、有機ロジウムフタロシアニン錯体では、軸配位子の炭素骨格によってその光反応性が変化することが明らかとなった。すなわち、軸位の金属-炭素結合の活性化において、単純アルキル配位子を有する錯体 (**1**, **2**) では赤色ナノ秒パルスレーザー光による段階的二光子励起が必要であるのに対し、アリル配位子やベンジル配位子を有する錯体 (**3**, **4**) では、赤色定常光による一光子励起での誘起が可能となる。この違いについて考察するため、DFT/TD-DFT 法に基づくモデル錯体の電子状態解析を行った。金属-炭素結合の光均等開裂は、励起電子が反結合性 $\sigma^*(\text{Rh}-\text{C})$ 軌道に流れ込む高位の励起三重項状態 (T_n) において誘起されると考えられることから、本解析では特に同励起状態のエネルギー準位に焦点を当てて比較した。その結果、単純アルキル配位子を有する錯体では、 T_n が S_1 に対し 0.6 eV 以上高エネルギー側に位置するのに対し、アリルおよびベンジル配位子を有する錯体では、このエネルギー差が 0.3 eV 程度まで小さくなることがわかった。このことから、軸配位子への置換基導入は T_n のエネルギー準位に摂動を与え、結果的に光反応性を変化させることが示唆された。特にアリルおよびベンジル配位子を有する錯体では、 T_n が置換基の導入による安定化を受けるため、 S_1 からの熱的活性化で直接 T_n へとアクセス出来るようになり、一光子励起によっても反応が進行したものと考えられる。

研究テーマ B 「有機イリジウムポルフィリン錯体による赤色光アンケーシング反応の開発」

新たな赤色光アンケーシングのプラットフォーム開拓を目指し、イリジウムポルフィリンを用いる赤色光アンケーシング反応の開発に取り組んだ。一般にポルフィリン環は赤色光領域に吸収を持たないが、環中心にイリジウムを導入すれば、その重原子効果によりスピン禁制遷移が促進され、赤色光領域に存在する S_0-T_1 吸収帯(基底状態から最低励起三重項状態への直接遷移)を光反応に利用できると考えた。種々検討した結果、特にベンジル配位子を有するテトラトリルポルフィリン錯体 (**5**) が、酸素共存下での赤色光励起により良好な収率でベンズアルデヒドを放出することを見出した(図 5)。また、錯体 **5** をリポソームに内包させることにより、水中でも同様の反応が進行すること、および錯体 **5** が通常酸素下での赤色定常光照射により、HeLa 細胞に対し光線力学的効果を示すこともわかった。以上の検討結果より、有機ロジウムフタロシアニン錯体に加えて有機イリジウムポルフィリン錯体も赤色光アンケーシングに有用なプラットフォームとして利用できることが明らかとなった。

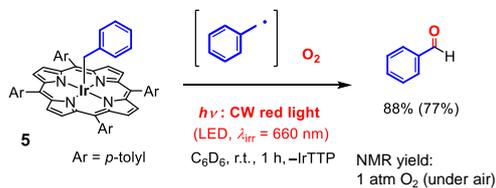


図 5. ベンジル配位子を有する錯体の S-T 吸収帯を利用した光アンケーシング

3. 今後の展開

日本人の 2 人に 1 人が生涯のうちに罹患するとされる「がん」の新規治療法開発は、健康長寿の増進に大きく貢献すると考えられる。全がんの 5 年相対生存率は、医療の進歩と共

に改善が進んでいるが、それでも最新(2021年)の統計では約69%に留まっている。また、治療過程における Quality of Life (QOL) の改善も重要な課題である。がん治療において多用される抗がん剤の多くは腫瘍部位のみならず全身に作用するため、患者は脱毛や倦怠感など様々な副作用に苦しむケースが多い。したがって、QOL を維持しながら根治的な治療を可能にする新しいがん治療法が求められている。一方、「光線力学的療法」は、腫瘍選択的な細胞攻撃に基づく低侵襲な治療を実現するが、適用可能な症例が原理的に限られている。もし、こうした「光がん治療」を、新しい生体内光反応システムの原理開拓を通して、がん治療のスタンダードとして引き上げることができれば、多くのがん患者が治療過程の身体的・精神的苦痛から解放される未来が拓かれると考えられる。

本 ACT-X 研究は、こうした背景の下、従来の光線力学的療法における諸課題を克服する革新的な光がん治療システムの開拓を目指すものである。これまでの研究期間を通じて、生体組織透過性の高い赤色光により種々の薬剤分子を放出する光アンケーシングシステムを見出し、その光線力学的効果を示すことができた。今後は、この原理を実際の医療現場で使える技術として展開することを目指し、さらなる努力を行っていきたいと考えている。

4. 自己評価

研究開始当初の目標の一つであった「生体組織透過性の高い赤色光による薬剤分子放出反応の開発」については、本 ACT-X 研究期間内に二つの反応プラットフォーム(ロジウムフタロシアニン錯体、イリジウムポルフィリン錯体)を提示できた点から概ね達成できたと考えている。特にロジウムフタロシアニン錯体については、軸位に様々な炭素骨格を有するアルキル配位子(メチル、直鎖アルキル、アリル、ベンジル)を導入し、対応するアルキルラジカルの赤色光アンケーシングが実際に可能であることを示すことができた。この過程では、アルキル配位子の構造により、金属-炭素結合の光活性化に必要な光子数が変化する(単純アルキル配位子:段階的二光子励起、アリル/ベンジル配位子:一光子励起)という想定外の現象も見出され、前者については論文発表も行っている。また、これらの原理を利用すれば、腫瘍細胞に作用し得るアポトーシス誘導剤の放出が可能となることを示し、光がん治療システムの構築に向けて建設的な成果も得ることができた。

前述の論文発表・プレスリリース時には、多方面から一定の反響があったことから、本 ACT-X 研究の成果を広く社会に示すことができたと考えている。しかし、さらに高い波及効果を与えるためには、光がん治療としての利用を想定したより踏み込んだ成果の創出が必要である。今後は、研究を通して得られた知見を実用的な治療法として発展させることを目指し、反応開発の枠を超えて幅広い研究のアプローチを実施していきたい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 6件

1. Kei Murata,* Yuki Saibe, Mayu Uchida, Mizuki Aono, Ryuji Misawa, Yoshiho Ikeuchi, Kazuyuki Ishii,* Two-photon, red light uncaging of alkyl radicals from organorhodium(III) phthalocyanine complexes, *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 11280–11283.



軸位に単純アルキル配位子を有するロジウムフタロシアニン錯体が、生体組織透過性の高い赤色ナノ秒パルスレーザー光の段階的二光子励起により、アルキルラジカルを放出することを見出した。さらに、同錯体がリポソーム内包により生体模倣環境に適用できること、また腫瘍細胞中で光アンケーシングと活性酸素種生成との協働効果により光線力学的効果を発現することを明らかにした。

2. Mengfei Wang, Kei Murata, Yosuke Koike, Gediminas Jonusauskas, Amaury Furet, Dario M. Bassani, Daisuke Saito, Masako Kato,* Yuushi Shimoda, Kiyoshi Miyata, Ken Onda,* Kazuyuki Ishii,* “A Red Light-Driven CO-releasing Complex: Photoreactivities and Excited-state Dynamics of Highly-Distorted Tricarbonyl Rhenium Phthalocyanines” *Chem. Eur. J.* **2022**, *28*, e202202281.

レニウムトリカルボニルユニットを有するフタロシアニン錯体を新規合成し、その光物性を調べた。フタロシアニン環上に電子不足なレニウムトリカルボニルユニットを導入すると、特異な環歪みが生じること、また環の $\pi-\pi^*$ 遷移に由来する吸収帯が大幅に長波長シフトすることを見出し、近赤外光吸収材料としての応用可能性を示した。

3. Kei Murata, Yosuke Koike, Kazuyuki Ishii,* “Novel Method for Preparing Stable Near-Infrared Absorbers: a New Phthalocyanine Family Based on Rhenium(I) Complexes” *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 13760–13763.

レニウムトリカルボニルユニットを有するフタロシアニン錯体が、生体組織透過性の高い赤色光励起により一酸化炭素(CO)を放出することを見出し、CO プロドラッグ(CORM; CO-Releasing Material)としての応用可能性を示した。また、種々の時間分解分光測定により、その励起ダイナミクスを明らかにし、CO放出における反応機構を調べた。

(2) 特許出願

該当する記載事項はありません。

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

- Kei Murata, Yuki Saibe, Ryuji Misawa, Yoshiho Ikeuchi, Kazuyuki Ishii (IIS, Univ. Tokyo, JST ACT-X) “Red Light Triggered Uncaging of Alkyl Radical from Organometallic Phthalocyanines and Its Photodynamic Effects” The 5th International Union of Materials Research Societies International Conference of Young Researchers on Advanced Materials (IUMRS-ICYRAM) 2022, 2022. 8. 3, Kyushu University/Online, F-03-003 (oral: **invited**)
- Kei Murata, Yuki Saibe, Ryuji Misawa, Yoshiho Ikeuchi, Kazuyuki Ishii (IIS, Univ. Tokyo, JST ACT-X) “Photochemical Reactivities and Photodynamic Effects of an Organorhodium Phthalocyanine” 239th ECS Meeting, 2021. 5. 31, Online, B08-0762 (oral: **invited**)
- Kei Murata, Yuki Saibe, Ryuji Misawa, Yoshiho Ikeuchi, Kazuyuki Ishii (IIS, Univ. Tokyo) “Photodynamic Effects on the Photochemical Formation of Formaldehyde from Organometallic Phthalocyanine Complexes” 錯体化学会第 69 回討論会, 2019. 9, 名古屋大学, 3Ca-08(口頭)

著作物

村田慧 「興味を大切に——金属錯体の光反応に魅せられて」

化学と工業, 2021 年 1 月号, 公益社団法人 日本化学会

プレスリリース

村田慧、石井和之、池内与志穂、齊部佑紀、三澤龍志 「光がん治療法の新原理を提案——必要に応じて薬剤を供給するドラッグデリバリーシステムへの発展に期待——」(東京大学生産技術研究所・JST 共同プレスリリース) 発表雑誌: *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 11280-11283. 日本経済新聞(電子版)、日刊工業新聞、科学新聞等に記事記載