

令和6年度 奈良女子大学研究推進プロジェクト経費研究報告書

奈良女子大学長 殿

研究代表者

所 属 ・ 職 自然科学系・准教授
氏 名 高島 弘

本年度の交付を受けた研究推進プロジェクト経費について、下記のとおり報告いたします。

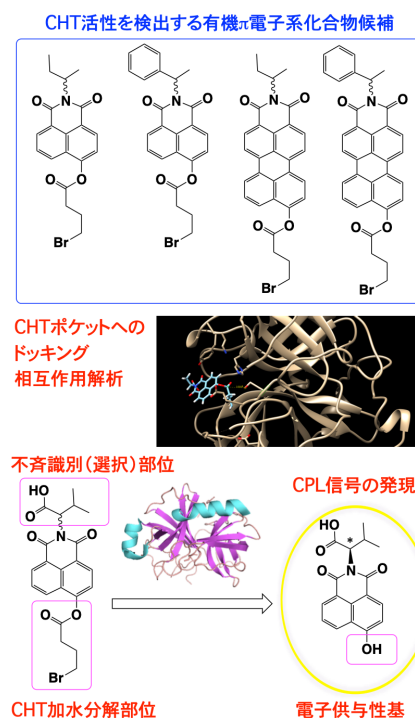
申請区分	☐ (A) 多様な人材の協働による研究
	☒ (B) 一般研究
研究課題	膵液中における活性型キモトリプシンの円偏光発光信号による検知および定量化

1. プロジェクトの成果（研究推進プロジェクト経費が交付された期間に、この研究によって得られた新たな知見等の成果を、申請書の「研究目的、研究計画・方法」に対応させて記載すること。また、支出内訳との関係についても記載すること。）
2 ページ以内で記載してください。

キモトリプシン(CHT)は膵臓から分泌されるタンパク質分解酵素の一つである。CHTはタンパク質消化、アポトーシス等といった生理学的プロセスだけでなく、炎症性関節炎や腫瘍の進行等といった障害にも関与している。これは、膵臓機能の異常により活性型CHTが多量に分泌されることがあるため、膵液中の活性型CHTを蛍光分析により検知するためのプローブ分子が開発されてきている。現在まで、CHTによる蛍光プローブ分子の加水分解反応を利用し、反応前後における蛍光強度の増大あるいは二波長での蛍光強度比の変化から検出が試みられている。しかしながら、ノイズ信号であるバックグラウンド蛍光が検知信号へ干渉するため、感度が低く定量化までには至っていないのが現状である。

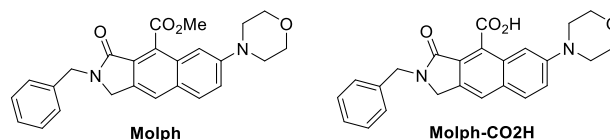
そこで、本研究計画では、プローブ分子の蛍光検出において不斉情報を含む円偏光発光(CPL)信号を用いることを新たな試みとして提案し、膵液中の活性型CHTの高感度検出および定量化を目指した。具体的に、CHTの蛍光分析におけるバックグラウンド蛍光に関する課題をできるだけ解決し得る、高感度かつ定量的な検知手法の開発を最終目的として、長波長領域での発光機構を利用する新たな蛍光色素の創製を目指した。そのための化合物として、 π 電子系有機発色団として右図のような1,8-ナフタルイミド分子骨格に着目し、不斉識別（選択）部位とCHT加水分解部位を併せ持つ1,8-ナフタルイミド分子の設計と合成を行った。

合成手順として、4-ブロモ-1,8-ナフタル酸無水物を、4-ヒドロキシ-1,8-ナフタル酸無水物へと変換した（収率86%）。次に、不斉識別部位としてブチル基を導入する反応を行った。2-ブチルアミンとの反応により、*N*-(4'-ヒドロキシ-1',8'-ナフタル酸無水物)-ブタンを収率26%で合成した。さらに、CHT加水分解部位として、水酸基をエステ



ル化する反応を行った。4-ブロモブチリクロリドとの反応により、*N*-(4'-ブロモブチル-1',8'-ナフタル酸無水物)-ブタンを収率84%で合成することに成功した。この一連の反応は、図に示したどの化合物についても適用できる合成ルートであり、今後さらに化合物群を増やし、その光吸収および発光特性について検討を進めて行く。

さらに、1,8-ナフタリイミド分子骨格と同様に、ナフタレン構造を拡張して、電子供与性基および電子求引性基を導入した新規蛍光化合物の発光特性を検討した。下図に示したいくつかの π 電子共役化合物について、その分子内電荷移動 (ICT) に基づく発光特性を調べた。各種溶媒中における電子吸収・蛍光スペクトル、蛍光寿命および絶対量子収率を測定した結果、置換基の種類やその位置によって異なるソルバトクロミズム物性を示すことが分かった。メタノール、アセトニトリル、ジクロロメタンなどの6種類の溶媒中における紫外可視吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルを



測定したところ、Molphなどのメチルエステル基を有する化合物においては、吸収極大波長の変化はあまり見られなかったが、蛍光極大は、溶媒の極性が高いほど長波長側にシフトする傾向を示した。さらに、溶媒の極性が高いほどストークスシフトも大きくなった。これは、2,6-Prodanを始めとする既報の類似化合物における傾向と一致していた。一方で、カルボキシ基を有する化合物Molph-CO2Hは、高極性であるアルコール中において、吸収極大および蛍光極大がともに著しく短波長側にシフトした。また、ストークスシフトについても、上述のメチルエステル化合物に見られたような相関は確認されなかった。さらに、アルコール中における蛍光寿命は、他の溶媒と比較して明らかに長寿命であった。このようなアルコール中における特異な物性について、アルコールのヒドロキシ基と化合物のカルボキシ基の相互作用に原因があると考え、それらの機構について、理論化学計算 (DFTおよびTD-DFT計算) からの検討も行った。いくつかの構造を仮定して計算を行った結果、「アルコール1分子が付加したカルボキシ基が、ナフタレン平面に対してほぼ垂直にねじれた構造」をとっているのではないかと現在推定している。

これらの結果について、国内学会で7件の成果発表を行った。

経費の支出については、分光測定装置のソフトウェア作動に必要なノートパソコン、および中古デスクトップパソコンを備品として購入した。さらに、合成実験に不可欠な消耗品費として、実験試薬・溶媒・液化窒素ガス・ガラス器具等を購入した。これらは年間を通じて不足する消耗品である。また、本研究に関連した内容の学会発表に必要な旅費および参加費を、旅費およびその他経費として計上した。

2. プロジェクト成果の発表

(論文名, 発表者, 発表雑誌等, 巻・号, 発表年等)

原著論文

- 1) 「Circularly polarised luminescence from intramolecular excimer emission of bis-1,8-naphthalimide derivatives」Shiori Eguchi, Mami Naoe, Asako Kageyama, Yoshitane Imai, Shoko Yamazaki, Norimitsu Tohnai, Eiji Nakata, Hiroshi Takashima, *Org. Biomol. Chem.*, **2024**, 22, 4318-4325.

国内学会発表

- 1) 「“Solvatofluorochromism Based on Intramolecular Charge Transfer of Novel Naphthalene-based π -Electron Conjugated Compounds」 Yui MANABE, Hiroshi TAKASHIMA, Shoko YAMAZAKI, 第15回エネルギー理工学研究所国際シンポジウム The 15th International Symposium of Advanced Energy Science -Toward the Realization of Advanced and Carbon Negative Energy-, 京都, 2024年12月 (ポスター/Symposium Poster Award 受賞).

ほか6件

3. 支 出 内 訳						
備 品 費		消耗品費	旅 費	謝金等	その他	計
品 名	金 額					
ノートパソコン	129,900 円	495,968円	207,880円	0円	53,692円	910,000円
デスクトップ パソコン	22,560 円					