

学位論文題名

Synthesis and Characterization of Maltohexaose-linked Porphyrins as a New Photosensitizer in Photodynamic Therapy

(マルトヘキサオース連結ポルフィリンの合成と
その PDT 光増感剤への応用)

学位論文内容の要旨

近年のレーザー機器の発展に伴い、ポルフィリンおよびその誘導体は高い腫瘍細胞集積性および可視領域に強い吸収を示すために、ガンの光線力学治療 (PDT) における光増感剤や光診断薬として注目されている。しかし、一般にポルフィリン分子は水に難溶であるため、実際に薬剤として応用することが困難である。そのため、さまざまな水溶性置換基を導入した水溶性ポルフィリンの開発が求められている。そこで本研究は、水溶性および腫瘍細胞親和性が期待できるオリゴ糖を腫瘍集積性の高いポルフィリン分子に導入した新しい水溶性糖連結ポルフィリンの合成とその PDT における光増感剤への応用を目的とした。

本研究は、オリゴ糖であるマルトヘキサオースを、PDT における光増感剤として臨床学的にも応用されているメターヒドロキシテトラフェニルポルフィリン (*m*-THPP) に導入した新しいポルフィリン糖クラスターの分子設計を行った。さらにそれらの分子の光物性、腫瘍細胞親和性および光細胞毒性を評価することにより、その PDT 光増感剤としての有用性の検討を行った。

本論文は 5 章から構成されている。

第 1 章は序論であり、本研究の背景および目的について述べた。

第 2 章では、種々のマルトヘキサオース連結ポルフィリンの合成を行い、合成した化合物の水に対する溶解性およびそれらの親・疎水性のバランスについて検討を行った。骨格である *m*-THPP は、酢酸亜鉛をテンプレートとした 3-アセトキシベンズアルデヒドとピロールの $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いた環化縮合反応により合成した。その結果、従来法に比較して、収率が著しく向上した。オリゴ糖ユニットであるヨウ化プロピロキシマルトヘキサオシドと *m*-THPP の連結は、DMF 溶媒中、炭酸カリウムを用いたカップリング反応により行った。その結果、1 本鎖から 4 本鎖までの 2 つの構造異性体を含む 5 種類のマルトヘキサオース連結テトラフェニルポルフィリンが合成できた。また、これらの亜鉛錯体に関しても同様の反応に従い、高収率で合成することができた。さらに、水溶性の糖ユニットだけでなく疎水性ユニットである長鎖アルキル基を導入した両親媒性ポルフィリンの合成も行った。これら新規ポルフィリン類の水に対する溶解性を調べた結果、マルトヘキサオース

鎖を1本導入したポルフィリンでさえも著しく高い水溶性を示し、また糖鎖の数に比例してその溶解度は増加した。また、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの1-オクタノール/水二層系における分配係数 ($\text{Log } P$) を見積もった結果、本研究で合成したポルフィリン類は $\text{Log } P = -1.99 \sim 0.34$ と広範囲な値を示した。従って、糖鎖の導入数の違いや疎水性基の導入によりポルフィリン類の親・疎水性のバランスはコントロールできることが示唆された。

第3章では、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの光物理学的特性を調べるため、水溶液中での分子の挙動を吸収および蛍光スペクトルなどの分光学的手法を用いて検討した。その結果、4本鎖連結ポルフィリンは広範囲の濃度にわたりモノマー状態で存在していることが示され、また、1本鎖連結ポルフィリンは最小濃度でさえも分子間の相互作用による消光現象が見られた。2本鎖連結ポルフィリンにおいては、糖鎖の置換された位置 (*cis* および *trans* 位) の違いにより、会合体の形成に違いが見られた。すなわち、マルトヘキサオース鎖は水溶性を向上させるだけでなく、ポルフィリン分子間の相互作用へも影響を与えることが明らかにされた。また、ジフェニルベンゾフランを補足剤とした一重項酸素の相対量子収率を見積もったところ、すべてのマルトヘキサオース連結ポルフィリンは *m*-THPP に比較して高い収率を示した。よって、糖鎖の導入により、一重項酸素の発生効率が增加することが見出された。

第4章では、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの *in vitro* での腫瘍細胞集積性および光細胞毒性について、HeLa 細胞を用いた MTT アッセイ法に基づき評価を行った。マルトヘキサオース連結ポルフィリンの暗所毒性はフリーベース体では全く見られなかったが、亜鉛錯体では若干の毒性が確認された。光照射下での細胞の生存率を見積もった結果、1本鎖および2本鎖連結ポルフィリンに関して光細胞毒性が観測された。特に1本鎖連結ポルフィリンでは、*m*-THPP に匹敵する高い殺細胞効果が見られた。また、2本鎖連結ポルフィリンにおいては、糖鎖の置換された位置 (*cis* および *trans* 位) の違いにより、その活性に違いが見られた。実際に蛍光顕微鏡を用いてポルフィリン誘導体の HeLa 細胞への集積性を観測したところ、高い光毒性を示す1本鎖連結ポルフィリンは他の化合物に比べて著しく細胞膜に集積していることが明らかになった。さらに分子の親・疎水性のバランスの物理的パラメーターである分配係数 ($\text{Log } P$) と光毒性の関係から、 $\text{Log } P = 0.4$ 付近で活性の極大点が見られた。以上のように、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの光細胞毒性はその腫瘍細胞集積性に大きく影響されることが明らかにされた。また、その細胞集積性は、化合物の適度な親・疎水性のバランスだけでなく、分子構造にも依存することが示唆された。

最後に第5章では、すべての章の総括として、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの光増感剤としての有用性についてまとめ、今後の展望について述べる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	西	則	雄
副査	教授	坂	入	信夫
副査	教授	山	崎	巖 (工学研究科)
副査	教授	矢	野	重信 (奈良女子大学人間文化研究科)
副査	助教授	覚	知	豊次
副査	助教授	野	水	基義

学位論文題名

Synthesis and Characterization of Maltohexaose-linked Porphyrins as a New Photosensitizer in Photodynamic Therapy

(マルトヘキサオース連結ポルフィリンの合成と
その PDT 光増感剤への応用)

近年のレーザー機器の発展に伴い、ポルフィリンおよびその誘導体は高い腫瘍細胞集積性および可視領域に強い吸収を示すために、ガンの光線力学治療 (PDT) における光増感剤や光診断薬として注目されている。しかし、一般にポルフィリン分子は水に難溶であるため、実際に薬剤として応用することが困難である。そのため、さまざまな水溶性置換基を導入した水溶性ポルフィリンの開発が求められている。本論文は、水溶性および腫瘍細胞親和性が期待できるオリゴ糖を、腫瘍集積性の高いポルフィリン分子に導入した新しい水溶性糖連結ポルフィリンの合成とその PDT における光増感剤への応用を目的とするものである。

本論文は 5 章から構成されている。

第 1 章は序論であり、本研究の背景および目的について述べている。

第 2 章では、種々のマルトヘキサオース連結ポルフィリンの合成を行い、合成した化合物の水に対する溶解性およびそれらの親・疎水性のバランスについて検討を行った。オリゴ糖ユニットであるヨウ化プロピロキシマルトヘキサオシドとポルフィリン骨格である *m*-ヒドロキシテトラフェニルポルフィリン (*m*-THPP) の連結は、DMF 溶媒中炭酸カリウムを用いたカップリング反応により行った。その結果、1 本鎖から 4 本鎖までの構造異性体を含む 5 種類のマルトヘキサオース連結テトラフェニルポルフィリンおよびそれらの亜鉛錯体が合成できた。これらの水に対する溶解度を調べた結果、1 本鎖の導入でさえもその

水溶性の著しい向上が見られ、また糖鎖の数に比例してその溶解度は増加した。また、水溶性の糖ユニットだけでなく疎水性ユニットである長鎖アルキル基を導入した両親媒性ポルフィリンの合成についても述べた。これらの合成したマルトヘキサオース連結ポルフィリンの1-オクタノールの水に対する分配係数を見積もった結果、糖鎖数の違いや疎水性官能基の導入により親・疎水性のバランスをコントロールできることが示唆された。

第3章では、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの水溶液中での分子の挙動を吸収および蛍光スペクトルなどの分光学的手法を用いて検討した。その結果、マルトヘキサオース鎖は水溶性を向上させるだけでなく、ポルフィリン分子間の相互作用をコントロールできることが明らかにされた。また、ジフェニルベンゾフランを補足剤とした一重項酸素の相対発生収率を見積もったところ、すべてのマルトヘキサオース連結ポルフィリンは糖鎖のない *m*-THPP に比較して高い収率を示した。よって、糖鎖の導入により、一重項酸素の発生効率が増加することが見出された。

第4章では、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの *in vitro* での腫瘍細胞集積性および光細胞毒性について、HeLa 細胞を用いた MTT アッセイ法に基づき評価を行った。マルトヘキサオース連結ポルフィリンの暗所毒性はフリーベース体では全く見られなかったが、亜鉛錯体では若干の毒性が確認された。光照射下での細胞の生存率を見積もった結果、1本鎖連結ポルフィリンにおいて著しく高い殺細胞効果が観測された。また、2本鎖連結ポルフィリンにおいては、糖鎖の置換された位置 (*cis* および *trans* 位) の違いにより、その活性に違いが見られた。これらの結果より光細胞毒性は化合物の分子構造に依存することが示された。また、実際に蛍光顕微鏡を用いてポルフィリン誘導体の HeLa 細胞への集積性を観測したところ、高い光毒性を示す 1本鎖連結ポルフィリンは他の化合物に比べて著しく腫瘍細胞に集積していることが確認された。すなわちマルトヘキサオース連結ポルフィリンの光細胞毒性は腫瘍細胞集積性に大きく影響されることが明らかにされた。さらに化合物の親・疎水性のバランスの物理的パラメーターである分配係数 ($\log P$) と光細胞毒性の関係を見積もったところ、 $\log P = 0.5$ 付近で活性の極大点が見られた。よって、高い光細胞毒性を得る上で、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの適度な親・疎水性のバランスの重要性が明らかにされた。

最後に第5章では、すべての章の総括として、各章で得られた結果を簡潔にまとめ、マルトヘキサオース連結ポルフィリンの光増感剤としての有用性について述べている。

本論文は、オリゴ糖であるマルトヘキサオースをテトラフェニルポルフィリン骨格に導入した新しいポルフィリン糖クラスターの分子設計を行い、さらにそれらの分子の光物性、腫瘍細胞親和性および光細胞毒性を評価することにより、その PDT 光増感剤としての有用性を示した。今後、組織特異性を示すオリゴ糖鎖などの導入により、より効果的な腫瘍細胞へのターゲティング素子としての応用が期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、申請者が北海道大学博士 (地球環境科学) の学位を授与される資格を有するものと判定した。