

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会他
名古屋教育医療記者会と同時発表

公立大学法人 名古屋市立大学

アスコルビン酸による光応答性ニトロソニウムイオン放出剤からの 高効率な一酸化窒素放出と光による効率的な血管弛緩制御

強力な光血管弛緩剤の開発

Chemical Communications に 2022 年 7 月 7 日(現地時間)に掲載

研究成果の概要

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 薬化学分野の家田直弥 講師、中川秀彦 教授、堀田祐志 講師、木村和哲 教授、大阪大学の久保敬 教授らの共同研究グループは、光によって効率的に血管を弛緩させることができる新たな薬剤を開発しました。一酸化窒素 (NO: nitric oxide) は排ガスなどにも含まれる窒素酸化物の一つですが、ヒトの体内でつくられ、血管弛緩の機能をもつことが知られています。ニトログリセリンのように NO を放出する薬剤は狭心症など、血流が詰まったときの治療薬として用いられています。一方で、NO を放出する分子を薬剤として用いる場合、全身性の低血圧などが問題となってしまうため、NO の活性を時空間的に制御する方法が求められています。家田講師らはこれまで、NO の制御因子として光に着目し、青、緑、赤の様々な色の光によって NO を放出する薬剤 (NO ドナー) を開発し、血管弛緩を光制御することに成功してきました。今回、これらの NO ドナーの分子構造をわずかに変化させると、光に反応してニトロソニウムイオン (NO⁺) を放出すること、さらに体内に豊富に存在するアスコルビン酸 (ビタミン C) が働くことで NO を非常に効率よく放出する性質を示すことを見出しました。この薬剤を用いると、これまで開発してきた光制御 NO ドナーよりも速やかな血管弛緩を起こすことがわかりました。これらの薬剤は、光を組み合わせた新たな血流障害治療の候補として期待できます。

本研究成果は、イギリスの王立化学会出版「*Chemical Communications*」に 2022 年 7 月 7 日(現地時間)に掲載されました。

【背景と概要】

からだじゅうを巡って養分などを届ける血液の血流量の低下は、様々な臓器不全の原因となるため、血管を弛緩させて血流量を増やす薬剤は、循環器系疾患や脳卒中の治療薬として期待されています。NO は、血管を強力に弛緩させるシグナル伝達分子であり、NO を時空間的に制御できる薬剤が注目されています。研究者らは、光を吸収する色素構造と NO を放出する *N*-ニトロソアミノフェノールという構造を結合させた分子が、光誘起電子移動と呼ばれるメカニズムで機能する可視光制御型 NO ドナーとして機能することを見出し、ラット大動脈の血管拡張やラットの海綿体の内圧の光制御を可能に

してきました。これまで、緑色光および赤色光 NO ドナー (図(a)の **1**、**3**) の-OH (水酸基) を-OMe (メトキシ基) に変換した化合物 (図(a)の **2**、**4**) は化学的な反応性が変化し、NO を放出しないことが確認されていました。本研究では、**1-4** の光に対する反応性を精査したところ、**3**、**4** は光によって速やかに光分解して、NO ではなく NO⁺を放出すること、さらに、ビタミン C としても知られているアスコルビン酸存在下では、**2** および **4** は **1** および **3** よりも効率的に NO を放出することを確認しました。また、ラット大動脈片を用いた実験において、**2** は **1** よりも速やかな血管拡張を起し、**1** よりも強力な光血管弛緩剤として機能することが示されました。

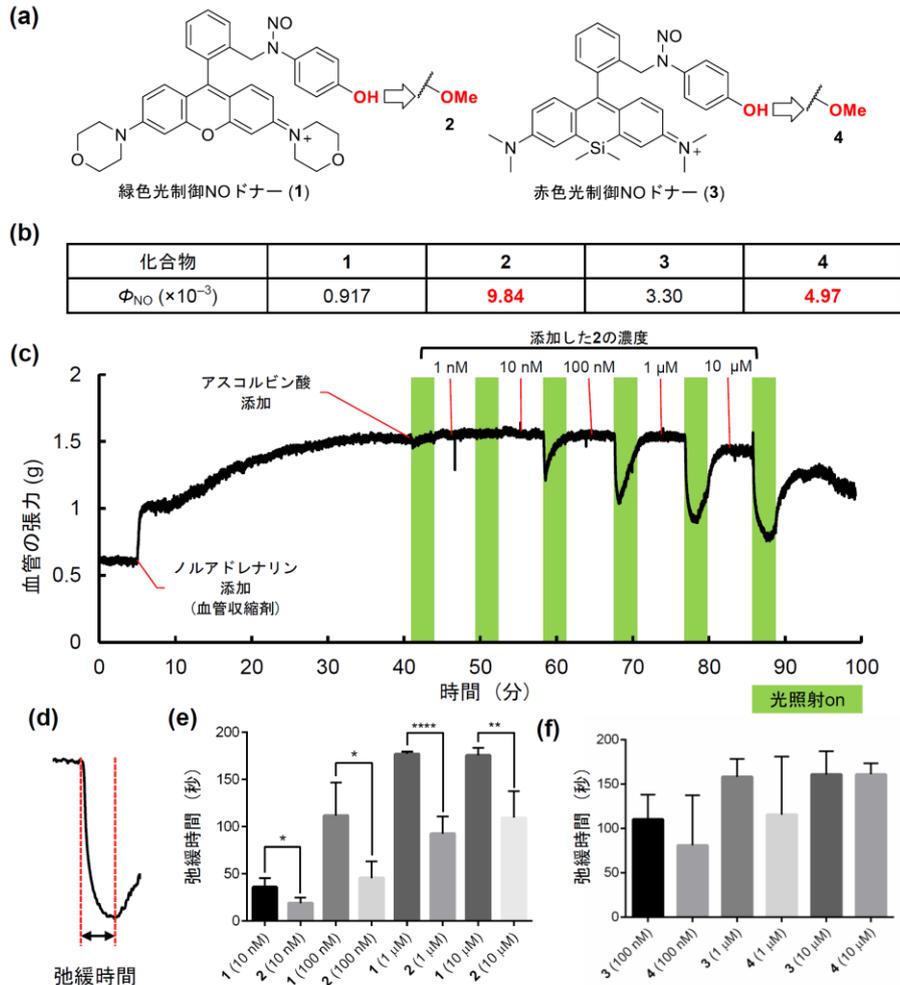
【研究の成果】

図(a)に示す化合物 **1-4** への光照射に対する NO 放出能を、NO 電極を用いて調べたところ、**1** および **3** が NO を放出するのに対して、**2** および **4** は NO が検出されませんでした。これまで **1** および **3** の光反応のメカニズムは完全には明らかにされていませんでしたが、低温下での電子スピン共鳴法を行うことによって、光反応中間体の捕捉に成功し、これまで研究者らが提唱していたとおり光誘起電子移動反応によるものであることが強く示唆されました。さらに光分解物を解析することで、**2** および **4** は **1** および **3** よりも速やかな光分解を起こしていることと、NO 以外の分子を放出していることが示唆されました。そこで、NO⁺と反応して強い蛍光を示す化合物になることが知られている 2,3-diaminonaphthalene (DAN) を加えてそれぞれ光照射を行ったところ、**2** および **4** は **1** および **3** よりも大きな蛍光上昇を示し、NO⁺を優先的に放出していることが示唆されました。

ビタミン C として知られ、非常に安価な添加剤であるアスコルビン酸は、光化学反応に影響を与える可能性が考えられたため、**1-4** の化合物にアスコルビン酸存在下で光照射を行ったところ、**1** および **3** にはほとんど影響がなかった一方で、**2** および **4** は思いがけず非常に効率的に NO を放出しました。アスコルビン酸存在下での NO 放出の効率を比較したところ、**2** は **1** の約 10 倍、**4** は **3** の約 1.5 倍の NO 放出効率を示しました (図(b))。分解物の解析より、**2** および **4** は光反応後に照射光を吸収しない構造に変化していることが確認され、光分解後の化合物がその後の光反応を阻害しないために、光反応の効率が上昇したのだと考えられました。

さらに、研究者らは **1-4** をラットの動脈片に投与し、これらのアスコルビン酸存在下での光照射に対する血管弛緩作用を調べました。**1** および **2** に対しては 568 nm の緑色 LED を、**3** および **4** に対しては 660 nm の赤色 LED を光源として光照射を行ったところ、それぞれの EC₅₀ は 10–100 nM であり、ノルアドレナリンによる収縮に対して最大で 60–80%ほどの弛緩を示しました。さらに、これらの血管弛緩にかかる時間を調べたところ、**2** は **1** よりも素早い血管弛緩を起こしましたが、**3** と **4** では弛緩時間に明確な差は見られませんでした (図(c)、(d))。これは、**1** と **2** の方が NO 放出効率の差が大きいことに起因すると考えられます。

以上の結果より、**1** の水酸基をメトキシ基に変えるというシンプルな構造変換により、**2** は NO⁺を放出すること、さらに、哺乳動物の体内に豊富に存在するアスコルビン酸存在下で NO を放出することが確認され、また、効率的な血管弛緩を起こすことが分かりました。



図(a) 今回評価した化合物 ; (b) それぞれの化合物のアスコルビン酸存在下でのNO放出量子収率 ; (c) 2と光によるラット大動脈切片の弛緩制御 ; (d) 弛緩時間の定義 ; (e-f) それぞれの化合物の光照射に対する弛緩時間の比較

【研究のポイント】

- 1-4の光反応中間体の捕捉に成功した。
- 分子構造をわずかに変化させたり、安価な添加剤を加えたりするだけで光反応性が大きく変化することを発見した。
- これまでの化合物より効率的に血管弛緩を光制御することが可能になった。

【研究の意義と今後の展開や社会的意義など】

近年、日本でも臨床応用が開始された光免疫学 (PIT: photoimmunotherapy) に代表されるように、光によって分子機能を操るツールは、大掛かりな外科手術等が必要なく、さらに副作用の少ない革新的な医療へと展開できるポテンシャルを秘めています。これまで中川教授・家田講師らのグループでは光誘起電子移動と呼ばれる光化学反応を応用し、光制御NOドナーを開発してきましたが、今回、そのメカニズムを支持する中間体の捕捉に成功しました。また、分子構造をわずかに変化させたり、安価な添加剤を加えたりするだけで、大きく光化学反応性を改善できることを発見し、さらに血管の組織切片を用いた実験でも、従来の化合物よりも優れた活性を示すことを見出しました。今回得られた知見を足掛かりとして、大掛かりな外科治療が必要なく、副作用の少ない新たな血流障害の治療方法への展開が期待されます。

【用語解説】

1. 一酸化窒素 (NO: nitric oxide)
窒素原子と酸素原子が一原子ずつ結合した非常に小さな分子であり、ヒトの体内ではアミノ酸の一種であるアルギニンからつくられる。体の中での寿命は数十秒程度と短いものの、強力かつ一過的な血管弛緩を起こし、血流を増大させる。
2. NO ドナー
NO を放出することのできる化合物でニトログリセリンや硝酸イソソルビドなどが知られている。NO は通常ガスとして存在しており、また空気中の酸素と反応してすぐに分解してしまうため、研究や治療のためにNO を投与する際にはNO ドナーが用いられる。
3. ニトロソニウムイオン
NO と同じく窒素原子と酸素原子が一原子ずつ結合した非常に小さな分子であるが、一電子少ない状態の分子であり、正電荷を持つ。水分子 (H₂O) と速やかに反応して亜硝酸になる。
4. アスコルビン酸
ビタミンCとしても知られ、還元力を持ち、食品添加物としても用いられる。生体分子を障害するラジカル種を反応性の低い分子に変換するはたらきをする。
5. 光誘起電子移動
ある色素が光を吸収した際に、近傍の分子と電子の授受を行う反応のこと。色素の発光の制御や分子変換反応として用いられる。
6. 電子スピン共鳴法
不対電子を検出するための分光法の一種で、金属種や有機化合物のフリーラジカルを検出するために用いられる。

【研究助成】

本研究は、日本学術振興会科研費 基盤研究 B (中川秀彦 : 19H03354、大久保敬 : 20H02779)、基盤研究 C (家田直弥 : 20K05752、堀田祐志 : 20K09583)、挑戦的研究 (萌芽) (木村和哲 : 21K19576) 科学技術振興機構 ACT-X (家田直弥 : JPMJAX2011) によって支援されたものです。

【論文タイトル】

Ascorbate-assisted nitric oxide release from photocontrollable nitrosonium ion releasers for potent ex vivo photovasodilation

(光制御ニトロソニウムイオン放出剤からのアスコルビン酸による一酸化窒素放出と ex vivo における強力な光血管弛緩)

【著者】

¹家田直弥*、¹吉川侑佳、¹富田なつみ、²大久保敬、¹堀田祐志、¹川口充康、¹木村和哲、¹中川秀彦
* (* corresponding author)

所属

¹名古屋市立大学 大学院薬学研究科 薬化学分野

²大阪大学 高等共創研究院

【掲載学術誌】

学術誌名 : *Chemical Communications*

DOI 番号 : <https://doi.org/10.1039/d2cc03193k>

【研究に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 講師 家田直弥

E-mail : ieda@phar.nagoya-cu.ac.jp

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 教授 中川秀彦

E-mail : deco@phar.nagoya-cu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 総務部広報室広報係

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8328 FAX : 052-853-0551

E-mail : ncu_public@sec.nagoya-cu.ac.jp