

氏名（本籍） 田村裕一（茨城県）
学位の種類 博士（薬科学）
学位記番号 乙第57号
学位授与の日付 2022年9月30日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位論文題目 **Design and Synthesis of Heteroleptic Cyclometalated Iridium(III) Complexes and Their Applications to Material and Biological Sciences**
(ヘテロレプティックなシクロメタレート型イリジウム(III)錯体の設計・合成と材料科学および生物科学への応用)

論文審査委員 (主査) 教授 青木 伸
教授 後藤 了 教授 早川 洋一
准教授 横山 英志 教授 東 達也
准教授 湯浅 順平

論文内容の要旨

Since several decades ago, significant research effort has been paid to the synthesis and photophysical characterization of octahedral $4d^6$ and $5d^6$ metal complexes. For instance, a lot of d^6 complexes have been widely used in a variety of photonic applications including photocatalytic reactions, photoelectrochemistry, biological experiments, and so on. Most of cyclometalated Ir(III) complexes are prepared from cyclometalated ligands such as 2-phenylpyridine (ppy) and 2-(4-tolyl)pyridine (tpy)), and most of them exhibit higher luminescence emission efficiencies (e.g., $\phi_{\text{phos}}(\text{fac-Ir}(\text{ppy})_3) = 0.4$) and longer excited-state lifetimes (typically in the order of microseconds) than those of Ru(II) and Os(II) complexes, because of efficient intersystem crossing between the singlet excited states and triplet excited states facilitated by the strong spin-orbit coupling of the Ir core part. Moreover, it

is possible to control emission wavelength (emission color) for the specific purposes by choosing appropriate cyclometalated ligand parts. Most of cyclometalated Ir complexes are classified into several types including tris-homoleptic complexes that have three same ligand units (depicted as IrL_3), bis-heteroleptic complexes that have two different ligands ($\text{IrL}_2\text{L}'$), and tris-heteroleptic complexes that contain three different ligands ($\text{IrLL'L}''$) (L, L', and L'' depict different cyclometalating ligands). Although a lot of efforts have been paid for the synthesis of bis-heteroleptic and tris-heteroleptic Ir complexes, the selective synthesis and photophysical properties of tris-heteroleptic Ir complexes represented by $\text{IrLL'L}''$ and IrLL'A (A: ancillary ligand) are yet to be examined. In this manuscript, we developed the selective synthesis of bis- and tris-heteroleptic Ir complexes to explore and their hybrid compounds with peptide parts for the induction of programmed cell death (PCD) in cancer cells and for its mechanistic studies.

In Chapter 2, we report on the degradation reactions of IrL_3 promoted by Brønsted acids such as $\text{HCl}/1,4$ -dioxane and Lewis acids such as ZnX_2 (X = Br or Cl), TMSCl , and AlCl_3 . Among these Lewis acids tested, ZnX_2 was found to exhibit a good reactivity in the decomposition reactions of $\text{Ir}(\text{ppy})_3$, $\text{Ir}(\text{tpy})_3$ (tpy: 2-(4'-tolyl)pyridine), and $\text{Ir}(\text{mpppy})_3$ (mpppy: 2-(4'-methoxyphenyl)pyridine) to provide the corresponding halogen-bridged Ir dimers. It was also found that the reactivity of cyclometalating ligands containing electron-withdrawing groups such as fluorine atoms, nitro or CF_3 groups on the ligands is lower than those having electron-donating groups. This reaction was applied to the selective degradation of bis-heteroleptic complexes such as $\text{Ir}(\text{tpy})_2(\text{F}_2\text{ppy})$ (F_2ppy : 2-(4',6'-difluorophenyl)pyridine) with ZnBr_2 to afford a mixture of a halogen-bridged Ir dimer $[\{\text{Ir}(\text{tpy})_2(\mu\text{-Cl})\}_2]$ and $[\{\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Cl})\}_2]$, which were reacted with acetylacetonone to afford the tris-heteroleptic Ir complex $\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\text{acac})$ (acac: acetylacetonone). Mechanistic studies suggest that the formation of different products from some Ir complexes by H^+ , TMSCl , and AlCl_3 and ZnX_2 (X = Cl or Br) is due to the hardness and softness of these Brønsted and Lewis acids used. The reactivity and selectivity in the ZnX_2 -promoted degradation can be explained by the interaction of the HOMO of Ir complexes with the LUMO of ZnX_2 and by the difference of electronegativity of iridium and carbon in the ligand part.

In Chapter 3, we report on the stereospecific synthesis of two single isomers of tris-heteroleptic tris-cyclometalated Ir(III) complexes consisting of three different nonsymmetric cyclometalating ligands via heteroleptic halogen-

bridged Ir dimers $[\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$ and $[\text{Ir}(\text{mpiq})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$ (mpiq: 1-(4'-methylphenyl)isoquinoline)) prepared by the aforementioned Zn^{2+} -promoted degradation reactions of $\text{Ir}(\text{tpy})_2(\text{F}_2\text{ppy})$ and $\text{Ir}(\text{mpiq})_2(\text{F}_2\text{ppy})$. Subsequently, $[\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$ and $[\text{Ir}(\text{mpiq})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$ were converted to the tris-heteroleptic tris-cyclometalated Ir complexes $\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\text{mpiq})$ consisting of tpy, F_2ppy , and mpiq, as confirmed by spectroscopic and X-ray crystal structure analysis. The important findings of this work are that: i) the each specific isomers can be prepared from halogen-bridged Ir dimers, $[\text{Ir}(\text{tpy})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$ and $[\text{Ir}(\text{mpiq})(\text{F}_2\text{ppy})(\mu\text{-Br})]_2$. The mechanism of the formation of only two diastereomers from the μ -complex is discussed based on the X-ray crystal structures. ii) each isomers have different stability and different emission spectra. Namely, one stereoisomer exhibits single broad emission, while another stereoisomer emits dual emission. This is the first report on the selective and efficient synthesis, different stability and different photophysical properties of tris-heteroleptic tris-cyclometalated Ir(III) complexes.

In Chapter 4, bis(peptide) and mono(peptide) hybrids of cyclometalated Ir(III) complexes (Ir complex-peptide hybrids, IPHs) are synthesized in addition to our previous tris(peptide) hybrids to examine the effect of the number of $\text{H}_2\text{N-KKKGG}$ (K: lysine, G: glycine) chains on their anticancer activity. The *in vitro* anticancer activity of mono- and bis(KKKGG) hybrids of Ir(III) complexes against a panel of three cancer cell lines (Jurkat, HeLa S3, and A549) and one non-cancerous (IMR90) cell line was evaluated. It was found that tris- and bis(KKKGG) hybrids exhibit more potential anticancer activity against Jurkat cells than that of mono(KKKGG) hybrid, indicative of a positive relationship between the number of the KKKGG peptide chains and hence net cationic charges and their anticancer activity. Mechanistic studies of cell death suggest that the IPH-tris(peptide) hybrid, the IPH-bis(peptide) hybrid, and celastrol induce paraptotic cell death in Jurkat cells with the vacuolization of the cytoplasm, mitochondria, the ER, and lysosomes, as confirmed by TEM images. The findings reported herein also strongly suggest that the direct transfer of Ca^{2+} from the ER to mitochondria is essential for the induction of cell death in Jurkat cells, as confirmed by fluorescent microscopic observations and flow cytometric analysis by using intracellular Ca^{2+} probes. The results of co-staining assays of IPHs with probes that are specific for different intracellular organelles suggest that these IPHs are localized in mitochondria for the induction of paraptosis in Jurkat cells.

In conclusion, we report on the efficient and selective synthesis and photophysical properties of tris-heteroleptic Ir complexes represented by IrLL'A or IrLL'L' and chemical structures and photophysical properties. In addition bis-heteroleptic Ir complexes IrL₂L' having one or two basic peptide units were designed and synthesized and the strong correlation between the number of peptide units and anticancer activity was observed. These information affords useful synthetic methods for preparing not only Ir complexes but also other metal complexes in medicinal chemistry, bioinorganic chemistry, bioorganometallic chemistry, biomedical science, and other related research fields.

論文審査の結果の要旨

シクロメタレート型イリジウム(Ir)錯体は優れた燐光発光材料であり、室温における高い安定性と発光寿命時間、様々な発光色を示すことから有機 EL 素子の発光材料として利用されている。先行研究では3つの配位子がすべて同じトリスホモレプティック型 Ir 錯体か2つの配位子が同じで1つのみが異なるビスヘテロレプティック型 Ir 錯体の報告が多い一方で、構造が複雑で合成が困難な3つの配位子がすべて異なるトリスヘテロレプティック型 Ir 錯体は殆ど報告例がない。また薬学部生命創薬科学科生物有機化学(青木)研究室では、抗がん活性を有する Ir 錯体-ペプチドハイブリッドの設計、合成を行っており、先行研究ではカチオン性ペプチド鎖を配位子に導入したトリスホモレプティック型のハイブリッド錯体(IPHs)がヒト白血病性がん細胞(Jurkat 細胞)のプログラム細胞死を誘導し、死細胞を錯体由来の緑色発光で検出できることを報告している。しかしながら Ir 錯体に導入されたペプチド鎖数の抗がん活性への影響は未検討であった。そこで申請者は、トリスヘテロレプティック型 Ir 錯体の選択的合成法の新規開発とこれを利用したヘテロレプティック IPHs 上のペプチドの数の抗がん活性への影響の検討を行った。

第2章では、酸による分解反応を利用した新規トリスヘテロレプティック型 Ir 錯体の立体選択的合成について検討した。まずトリスホモレプティック型 Ir 錯体を種々の酸によって分解すると、ハロゲン化亜鉛が収率よく二核 Ir 錯体を生成することが分かった。次に配位子上に種々の置換基を有するトリスホモレプティック型 Ir 錯体をハロゲン化亜鉛によって分解すると、電子求引基を有する Ir 錯体は分解反応がほとんど進行しないことが分かった。これらの結果から反応性の高い配位子を2つと反応性の低い配位子1つから構成されるビスヘテロレプティック型 Ir 錯体を出発原料として分解反応を行うと、異なる配位子からなるヘテロレプティック型2核イリジウム錯体が主生成物として得られた。この二核 Ir 錯体に対して種々の補助配位子を反応させることで新規トリスヘテロ

レプティック型 Ir 錯体を効率的に合成できることを見出した。また新規に合成したトリスヘテロレプティック型 Ir 錯体の光物理化学的特性や分解反応のメカニズムについて解析を行った。

第3章では3つの配位子がすべてシクロメタレート型であるトリスヘテロレプティック型 Ir 錯体の合成を行った。3つの配位子がすべてシクロメタレート型である Ir 錯体は8種のジアステレオマーを有するため、生成物の立体化学の制御が困難だが、申請者は第2章の知見をもとにトリスヘテロレプティックトリスシクロメタレート型 Ir 錯体を立体選択的に合成した。具体的には、目的のトリスヘテロレプティックトリスシクロメタレート型 Ir 錯体に対して3種の分解反応ルートを立案し、そのうち二つのルートで生じたヘテロレプティック型二核イリジウム錯体を経由することで、トリスヘテロレプティックトリスシクロメタレート型 Ir 錯体の立体選択合成が可能であることを見出した。また単離した2種のジアステレオマーが同じ配位子構成でありながら、異なる蛍光スペクトルを有することを見出した。また立体選択的反応のメカニズムに関する考察も行った。

第4章では、第2章、第3章にて分解原料であったビスヘテロレプティック型 Ir 錯体からカチオンペプチド鎖の導入数を変更した IPHs の設計、合成と細胞死誘導活性の評価およびそのメカニズム解析を行った。その結果、カチオンペプチド鎖の導入数を変更した IPHs はペプチドユニットの導入数の順にヒト白血病性がん細胞 (Jurkat 細胞) に対して抗がん活性を示した。またトリス体、ビス体の細胞死誘導メカニズムを検討し、IPHs が小胞体からミトコンドリアへの直接的な Ca^{2+} 輸送によって、プログラム細胞死の一種であるパラトーシスを誘導することを見出した。

本論文はヘテロレプティックなシクロメタレート型 Ir 錯体の立体選択的合成と IPHs の抗がん活性及びそのメカニズム解明に関するものであり、Ir をはじめとした複雑な立体構造を有する有機金属錯体の分子設計と機能化によって、材料科学や生物科学への応用に有用な知見を与える内容である。従って本論文は、博士 (薬科学) の学位論文として十分に価値あるものと判断した。