

## 生体直交的脱シリル化反応を用いたケミカルプローブの開発

(九大院薬) ○佐藤 大輔・内之宮 祥平・王子田 彰夫

Development of chemical probe utilizing bio-orthogonal desilylation reaction (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*) ○Daisuke Sato, Shohei Uchinomiya, Akio Ojida

Aberrant metabolic activity is associated with various diseases, and development of methods for elucidating the metabolic activity is important for understanding disease mechanisms and drug discovery. However, it is often difficult to analyze enzyme activity of metabolic enzymes in situ using chemical probes, due to high substrate specificity of the enzymes. We report herein a new strategy for fluorescence detection of metabolic enzymes exploiting bio-orthogonal desilylation reaction of chemical probe. In this strategy, we use the set of a fluorescent probe caged by silyl ether group and a fluorinated substrate of the target enzyme. When the fluorinated substrate is metabolized by the target enzyme and release fluoride ion, the desilylation of the caged probe occurs dependent on the enzyme activity. As the size of fluoride atom is almost same as hydrogen atom, we expect that the fluorinated substrates can be metabolized by enzymes as their native substrates.

In general, high concentration of the fluoride ion is needed for the desilylation due to their low affinity. Hence, we optimized the structure of the silyl ether for accelerating the desilylation reaction and found that alkoxysilyl ether showed high reaction rate while maintaining good stability in aqueous solution. As a first step, we confirmed that this system is applicable to the fluorescence detection of esterase activity.

**Keywords :** *Fluorescent Probe; Fluorinated Substrate; Desilylation; Fluorescence Detection; Metabolic Activity*

代謝経路の活性変化は様々な疾病に深く関与しているため、それを測定する手法の開発は疾病メカニズムの解明や創薬研究のために重要である。しかし、基質選択性の高い代謝酵素をケミカルプローブによって検出することはしばしば困難である。そこで本研究では、生体直交的な脱シリル化反応を利用した代謝酵素の検出法を提案する。本手法ではシリルエーテル基で保護された蛍光色素と、フッ素化された標的酵素の基質を利用する。すなわち、基質が標的酵素によって代謝される際にフッ化物イオンが放出され、続いて脱シリル化反応が起こることで蛍光変化が誘起される。フッ素原子と水素原子の大きさはほぼ同じであるため、フッ素化された基質は天然の基質と同様に酵素によって代謝されると期待される。

一般的にフッ化物イオンによるシリルエーテルの脱保護反応は遅いため、反応加速のために我々はシリル系保護基の構造を検討した。その結果、アルコキシシリルエーテル基が水中で安定かつフッ化物イオンとも効率良く反応することが分かった。また、本手法によってエステラーゼ反応が蛍光検出可能であることも確認した。

