

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15953

研究課題名(和文) シクロプロペノンの光反応を利用するカルボキシ基の自在な化学変換法の開発

研究課題名(英文) Phototriggered Transformation of Carboxylic Acids Using Cyclopropanones

研究代表者

三代 憲司 (Mishiro, Kenji)

金沢大学・新学術創成研究機構・准教授

研究者番号：60776079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：光反応は反応が起こるタイミング、空間を制御できることから、特定の条件下での生命現象の解明、高分子の精密合成に特に有用である。本研究では、独自に開発した、光触媒によりシクロプロペノンから高反応性化学種を発生させる反応の、より温和な条件下での実現に成功し、国際誌(The Journal of Organic Chemistry)で発表を行った。また、光反応基として開発したアミノシクロプロペノンに関して、これまでその生理活性に関する報告は皆無だったが、細胞を用いた生理活性試験により、特定の構造をもつアミノシクロプロペノンが、がん細胞に対して毒性を示すことを見出し、国際誌(Cells)での発表を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光触媒反応に関して、検討により通常光触媒を用いるのが困難な酸素雰囲気下でも効率よく反応を行うことに成功し、その効率化に関わるメカニズム解析を行った。本研究の成果にもとづいて、他の光触媒反応も効率を向上させ、酸素共存下で行うことができるようになれば、これまで酸素に弱く、実用化が難しかった反応を特別な装置がなくても利用可能となるため、生化学分野、高分子化学分野の発展に寄与すると期待できる。また、アミノシクロプロペノンの生理活性に関しては本研究による成果が世界初のものである。今後本成果にもとづき更に研究を進めることで、従来の医薬品では対応できなかった標的に作用する医薬品開発につながると期待できる。

研究成果の概要(英文)：Photochemical reaction is especially useful for elucidation of biomolecules' functions and fine synthesis of polymer materials because the temporal and spatial control of the reaction is possible by controlled light irradiation. In this research, we improved efficiency of a photocatalytic activation reaction of cyclopropanone derivatives by substituent modification. The result was published in an international journal, Journal of Organic Chemistry. Additionally, we explored bioactivity of aminocyclopropanone which we have used as a photoreactive group, and found some aminocyclopropanones have cytotoxicity on cancer cells by disrupting nuclear structure formation. The result was published in an international journal, Cells.

研究分野：有機化学

キーワード：光反応 光触媒 生理活性 シクロプロペノン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光によって安定な前駆体から発生させた高反応性の化学種を利用して行う光活性化型反応は、照射のタイミング、照射箇所の制御により反応の時間的、空間的制御が可能である利点を持つことから、一般的な有機合成のみならず、生体分子の化学修飾、高分子の合成、化学修飾などにも重要である。

代表者は研究開始当初において、アミノシクロプロペノン **1** の照射によって、高反応性のイナミン **6** を系中で発生させ、脱水縮合剤として利用する独自の新規反応の開発に成功していた。反応には通常紫外光を要するが、可視光応答性光触媒存在下では可視光条件で反応を行うことができる

(**図1**)。本反応は光の ON/OFF で完全に進行の制御が可能であり、生化学、材料化学分野への応用が期待できるものであった。本研究課題では独自の知見をもつシクロプロペノンを用いる光化学反応の更なる発展、及びシクロプロペノンの生物活性物質としての利用可能性開拓を目指し研究を行った。

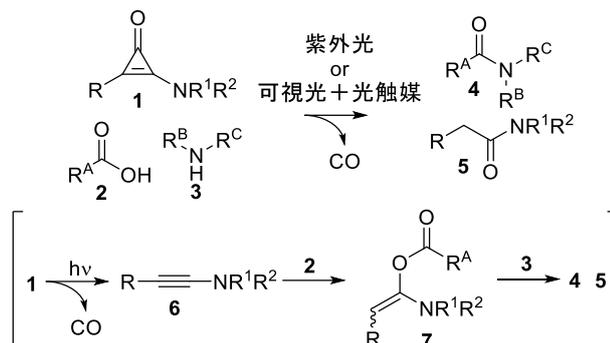


図1. 光活性化型脱水縮合反応

### 2. 研究の目的

#### (1) 光触媒を用いる可視光条件でのシクロプロペノンからの高反応性アルキン発生法開発

研究開始当初の背景に記載したように、これまでに可視光/光触媒を用いることでシクロプロペノンの活性化を行う手法の開発に成功していたが、光触媒を不活性化するアニリンや酸素等の共存下では反応効率が著しく低下するという課題があった。この課題解決のため、置換基の検討によりシクロプロペノンの触媒感受性を向上させ、光触媒を不活性化しうる物質共存下における光触媒反応の実現に取り組んだ。

#### (2) アミノシクロプロペノンの生理活性物質としての開発

代表者が光反応基として開発してきたアミノシクロプロペノンは生理活性物質に多く含まれるアミドと類似した骨格を持っており、生理活性物質骨格としての利用が可能と期待できる。しかしながらこれまでにアミノシクロプロペノンの生理活性に関する報告は皆無であった。本研究ではアミノシクロプロペノン骨格を持つ化合物の生理活性を明らかにすべく検討を行った。

### 3. 研究の方法

アミノシクロプロペノンは代表者が最適化した合成法に基づいて適宜合成し、カルボン酸、アミン、光触媒は試薬会社から購入したものをそのまま用いた。光源としては、6W ハンディ UV ランプ、80W 中圧水銀ランプ、20W 可視光蛍光灯、1.656W 青色 LED から適宜選択し反応を行った。反応の分析は TLC、NMR、MS により行った。

アミノシクロプロペノンの活性試験は HEK293T、SAS、SW480、SW620、HCT116 細胞を用いて行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 光触媒を用いる可視光条件でのシクロプロペノンからの高反応性アルキン発生法開発

シクロプロペノンの触媒反応にはシクロプロペノン骨格の酸化還元反応が関与していることがこれまでの検討から分かっていた。そこで、酸化還元電位に大きく影響すると考えられる芳香環置換基の検討を行った。表 1 に示すようにメトキシ基、アルキル基、ハロゲン等、異なる電子的性質をもつ置換基を導入したもの (entry 2-5)、フェニル基をナフタレン、チオフェン、ベンゾチオフェンに変更したもの (entry 6-10) について、照射条件及び照射時間を一定にして、光触媒として thioxanthone (**8**) を用いて、**図1** に示した光活性化型脱水縮合反応の検討を行った。殆どの置換基がフェニル基と類似した反応性を示す中で、ベンゾチオフェンの 3 位にシクロプロペノンが結合した **1j** を用いた際に比較的反応が早く進行することが分かった。一方ナフチル基をもつ **1f** や、ベンゾチオフェンの 2 位にシクロプロペノンが置換した **1i** は他のシクロプロペノンに比べ反応速度が著しく遅かった。これらのシクロプロペノンは 200-350 nm 程度の領域に吸収スペクトルを示すが、反応速度は化合物の吸収スペクトルとは全く相関が見られなかった。また、それぞれのシクロプロペノン誘導体の酸化還元電位をサイクリックボルタンメトリーで解析した結果、1 V~1.6V の領域で不可逆的な酸化を起こす様子が観測されたが、酸化電位と反応結果には特に明確な相関は観測されなかった。**1j** の反応は光触媒非共存下では全く進行しなかったことから、**1j** の反応は完全に触媒依存的に進行しており、この時点では原因は明らかではなかったが、何らかの要因で **1j** は光触媒への感受性が高いことが分かった。

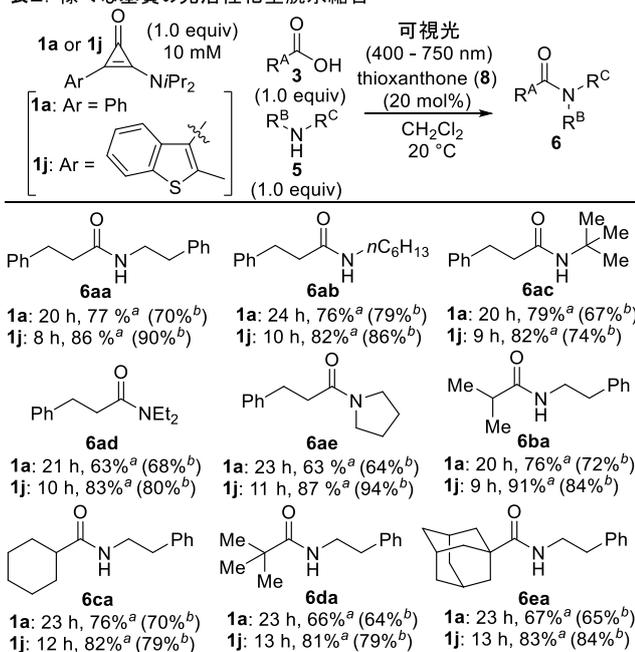
表1. シクロプロペノンの芳香環置換基の検討

Entry	Ar	6aa 収率		entry	6aa 収率		
		(%) <sup>a</sup>	(1) (%) <sup>a</sup>		(%) <sup>a</sup>	(1) (%) <sup>a</sup>	
1		28	66	1		4	90
2		32	66	2		29	70
3		43	44	3		39	50
4		39	60	4		4	97
5		34	58	5		50 (0 <sup>b</sup> )	40 (>99 <sup>b</sup> )

<sup>a</sup>NMR 収率、<sup>b</sup>光非照射条件

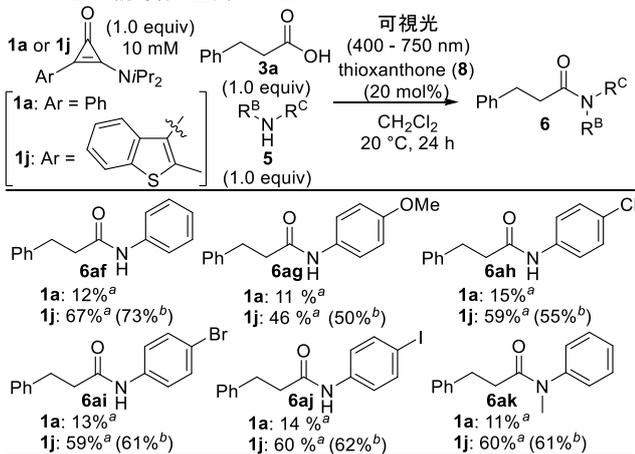
ベンゾチオフェンが置換した **1j** を最適構造として、様々なカルボン酸及びアミンの光活性化型脱水縮合を行った (表2)。フェニル基が置換した **1a** と比較すると、**1a** では20~24時間必要だった基質の反応が8~13時間と、半分程度の時間で完結し、収率も10~20%の向上が見られ、全ての基質に置いて **1j** を用いる方が良好な結果となった。以前に **1a** を用いて行った光活性化型脱水縮合反応の検討では、アルキルアミンを基質とする場合は反応が円滑に進行する一方で、アニリン等の芳香族アミンを用いた場合に、アミノシクロプロペノンの光触媒による分解が著しく遅くなる現象が観測された。シクロプロペノンの直接励起条件ではアニリンを用いる脱水縮合は可能なことから、反応が遅くなる原因は励起された光触媒へアニリンが電子移動を起こして励起状態が解消されてしまうためと考えられる。そこで、触媒感受性の高い **1j** を用いればアニリンを用いる反応も可能と予測し、様々なアニリン誘導体を基質とする反応を試みた (表3)。反応時間を固定し **1a** と **1j** の比較を行うと、**1a** を用いた反応が11~15%と低収率なのに対して **1j** を用いる系では50~73%と大幅に収率が改善された。この結果は **1j** の高い触媒感受性を端的に示している。また、**1a** を用いる反応は酸素共存下で著しく反応が遅くなるのに対して、**1j** を用いる反応は酸素共存下でも良好な収率で進行することが分かった。以上より **1j** は通常光触媒のクエンチングによる障害が起こりやすい夾雑系においても優先的に触媒と反応することが分かった。

表2. 様々な基質の光活性化型脱水縮合



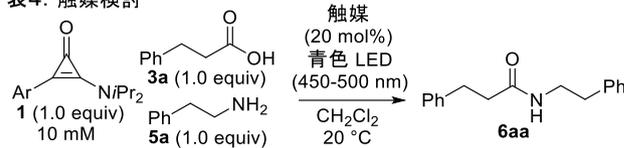
<sup>a</sup>NMR 収率、<sup>b</sup>単離収率。

表3. アニリン誘導体を基質とする反応

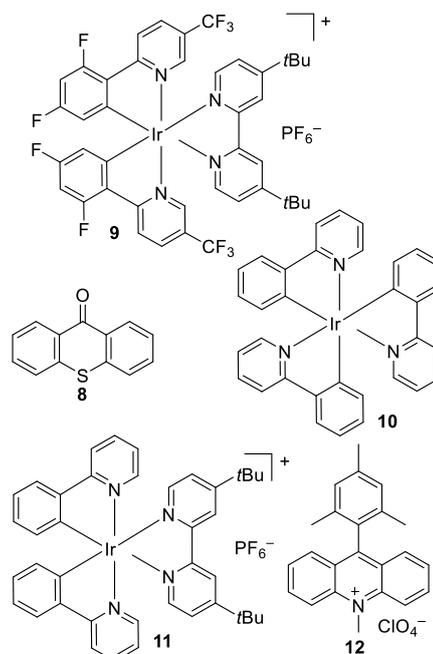


<sup>a</sup>NMR 収率、<sup>b</sup>単離収率。

表4. 触媒検討

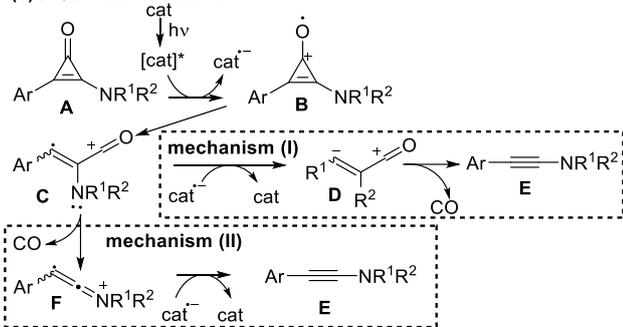


entry	1	触媒	反応時間 (h)	6aa 収率 (%) <sup>a</sup>	回収原料 (1) (%) <sup>a</sup>
1	1a	9	24	69	18
2	1a	10	24	<1	97
3	1a	11	24	<1	>99
4	1a	12	12	32	14
5	1j	9	4	84	<1
6	1j	10	24	47	42
7	1j	11	24	13	80
8	1j	12	24	<1	76



続いて異なる物性をもつ触媒に対する **1a** と **1j** の感受性の比較を行った (表4)。その結果、**1a** は触媒の酸化還元電位と反応性に高い相関を示す一方で、**1j** は触媒の三重項エネルギーと強い相関を示すことが分かった。この結果から、光触媒を用いるシクロプロペノンの脱カルボニル化反応では、酸化還元機構と三重項エネルギー移動機構が混在しており、それぞれの寄与の割合がシクロプロペノン置換基の構造に依存して変化すると考えられる。酸化還元メカニズムでは一電子酸化の後開環が起こり **C** を形成し、一電子還元の後一酸化炭素の脱離によりアルキンが生成する (mechanism I)、または **C** から一酸化炭素が脱離した後に一電子還元を受けることでアルキンが生成する (mechanism II)。

(a) 光酸化還元メカニズム



(b) 三重項エネルギー移動メカニズム

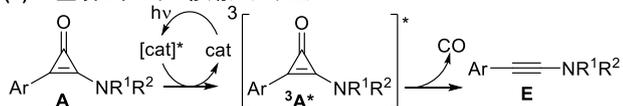


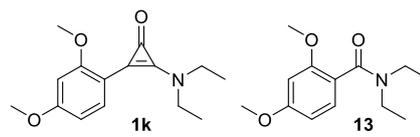
図2. 推定反応メカニズム

一方、**1j** 等のシクロプロペノンは三重項エネルギー移動機構により三重項となった後脱カルボニル化反応が起こると考えられる。このように光酸化還元機構と三重項エネルギー移動機構が混在する反応系、及び反応形式が切り替わる例はこれまで他の光反応でも殆ど報告がなく、一般に知られていないが、本知見は他の光触媒反応の効率向上にも応用可能と期待できる。これらの研究成果は国際誌 *The Journal of Organic Chemistry* **2021**, *86*(4), 3625-3636 にて論文発表を行い、また、1件学会発表を行った。

この他、シクロプロペノンをを用いる新規光反応の開発を行い、水共存下でも効率的に進行する反応開発に成功しており、1件学会発表を行った。本成果についても論文発表を次年度中に行う予定である。

## (2) アミノシクロプロペノンの生理活性物質としての開発

光反応の検討で合成した 20 種のアミノシクロプロペノンのスクリーニングを行った結果、2,4-ジメトキシフェニル基をもつシクロブテンジオン (**1k**) ががん細胞に毒性を示すことが分かった。活性をもつシクロブテンジオンを投与した細胞では核のサイズが通常より小さくなる、多核化が起こる等の核形成不全が観測された。また、RNA の解析から、核膜を形成するラミンタンパク質の核への取り込みに関わるタンパク質に異常がみられ、それにより核形成不全が起きたと考えられる。同様の置換基をもつアミド (**13**) では全く活性が見られなかったことから、**1k** 投与時に観測された生理活性はシクロプロペノン構造に依存して発現していると考えられる。本研究はアミノシクロプロペノン構造をもつ化合物が生理活性物質として利用できる可能性を示した世界初の例である。今後は代表者の開発した光反応を活用し、具体的な標的分子の同定を行うことで、より詳細なメカニズムを明らかにしていく。本成果は *Cells* **2022**, *11*(3), 317 に掲載され、1件の学会発表を行った。



がん細胞に毒性あり      がん細胞に毒性なし  
図3. 生理活性アミノシクロプロペノン

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mishiro Kenji, Nomura Mitsuki, Furuyama Taniyuki, Kunishima Munetaka	4. 巻 86
2. 論文標題 Efficiency Enhancement of a Photocatalytic Decarbonylation of an Aminocyclopropenone by Benzothiophene Substitution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 3625 ~ 3636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.0c02997	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Hiroya, Mishiro Kenji, Iwashima Yuki, Qiu Yujia, Kobayashi Akiko, Lim Keesiang, Domoto Takahiro, Minamoto Toshinari, Ogawa Kazuma, Kunishima Munetaka, Hazawa Masaharu, Wong Richard W.	4. 巻 11
2. 論文標題 Discovery of a Novel Aminocyclopropenone Compound That Inhibits BRD4-Driven Nucleoporin NUP210 Expression and Attenuates Colorectal Cancer Growth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 317 ~ 317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells11030317	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kenji Mishiro, Mitsuki Nomura, Taniyuki Furuyama, Munetaka Kunishima
2. 発表標題 Photocatalytic Alkyne Generation Reactions
3. 学会等名 第19回次世代を担う有機化学シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤寛弥, 三代憲司, 羽澤勝治, 岩嶋友紀, 小林亜紀子, 小川数馬, Richard Wong
2. 発表標題 新規アミノシクロプロペン化合物はBRD4依存的NUP210の発現を阻害し、がんの悪性を抑制する
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬場正延, 三代憲司, 国嶋崇隆
2. 発表標題 シクロプロペノンの光反応を利用するケテン生成反応の開発
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第133回例会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------