

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17749

研究課題名(和文) Staudinger反応による高歪み活性種生成を鍵とした新規クリック反応の開発

研究課題名(英文) A sequential ligation reaction via strained-ring cleavage triggered by Staudinger reaction

研究代表者

高山 亜紀 (Kohyama, Aki)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・助教

研究者番号：40778586

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今回我々は、温和な反応条件で、非常に反応性が高い化学種(オルトキノジメタン)を発生させる方法を開発した。この方法では、室温で安定な分子を分子変換反応により一度活性型に変換させることで、その分子の環構造を壊し、オルトキノジメタンを発生させる。このオルトキノジメタンは、反応性が高いので2つの分子をつなげる“糊”のような役割を果たす。我々は、この“糊”としての役割を利用して、温和な室温条件下で2つの分子を連結させる方法も見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の方法が開発されるまで、オルトキノジメタンの発生法は、加熱や強アルカリ条件が必要とされてきた。今回開発した方法は、そのような過酷な反応条件を必要としない世界で初めての方法である。今までにないオルトキノジメタン利用法の開拓に大きく貢献する方法と位置付けられる。具体的には、生体分子の修飾反応や、ステロイド等の医薬分子合成といった生命化学・創薬分野への応用展開が今後期待される。

研究成果の概要(英文)：Herein, we developed a novel method to generate highly active species, o-quinodimethanes (OQMs) at room temperature. The reaction involves ring cleavage of the intermediate after a stable substrate was converted to a reactive molecule at room temperature. The OQMs are so highly reactive that they act as “glue” to bind with partner molecules. Thus, we also developed a novel ligation reaction via OQMs at room temperature.

研究分野：化学系薬学

キーワード：ベンゾシクロブテン Staudinger反応 クリック反応 アジド オルトキノジメタン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) ベンゾシクロブテンに関する研究背景 (図1)

高度に歪んだ四員環を有するベンゾシクロブテン (BCB) は、熱または光照射によって開裂し非常に反応性の高い *o*-キノジメタン (OQM) を生成する。BCB の反応性は、ベンジル位置置換基 (R) によって大きく異なり、R が電子供与基の場合、より低温で環開裂が起きる傾向にある。しかし、OQM を発生させるには、加熱や強塩基といった激しい条件が必要であった。

### (2) クリック反応に関する研究背景、研究に着手した動機

環歪みから生まれる高い反応性は、近年、細胞内の複雑な系で特異的に反応する“クリック反応”としてケミカルバイオロジー分野での有用性が示されつつある。2004年に報告されたシクロオクテンとアジド化合物との Huisgen 環化反応をはじめとして、様々な化合物の環歪みを利用したクリック反応が開発され、有用性が証明されてきた。しかし、通常の化学反応に比べると種類が限られており、分子生物学実験等の多様性に十分応えているとはいえない。このような背景の元、既存とは異なる新規な形式でのクリック反応の開発が求められていると考えられた。

当研究室では、BCB を基軸とした連続反応を開発しており、多くの BCB 化合物を保有してきた。その中で申請者は、置換基制御が可能な「BCB→OQM」の反応が、クリック反応に活用できるのではないかと考えた。「BCB→OQM」には加熱強塩基条件を必要とするので、BCB を“室温・含水条件”を必要とするクリック反応に利用するには、温和な条件下 OQM を発生させる新たな方法を見つける必要があった。

## 2. 研究の目的

研究目的は、BCB の四員環歪みエネルギーを利用した新規クリック反応を開発することである。まずは新しい OQM 発生法を開発し、それを反応開発の基盤とすることで、独自性の高い反応が開発できると考えた。

## 3. 研究の方法

### (1) 室温条件で BCB から OQM を発生させる新しい反応系の確立 (図1)

クリック反応では、基質の反応性が高すぎる場合、生体分子などの夾雑物を含む反応条件には耐えられない。そのため、単体では不活性型で、反応相手を加えた時のみ活性型へと変化する基質の設計を目指した。加えて予備実験の結果から、室温で BCB の四員環を開裂させるのには、アミノ基より強い電子供与性を示す置換基が必要と考えられた。そこで、イミノホスホラン置換基を利用した OQM 発生法を計画した。イミノホスホランのアニオンに基づく強い電子的効果によって BCB の開裂活性が上昇し室温で開裂反応が進行すると予想した。イミノホスホラン BCB は、アジド BCB と 3 置換ホスフィンとの Staudinger 反応により容易に生成することができるので、不活性型の四員環から活性化型へ制御可能と考えた。この仮説を証明すべく、アジド BCB を市販の 3 置換ホスフィンを作用させ、四員環開裂が誘起されるかを調査した。

### (2) 室温・含水条件下における 2 分子連結反応の開発

(1) で確立した OQM 発生法を用いて、2 分子連結反応の開発を行った。方法としては、3 置換ホスフィンをスチリルホスフィンへと変更することで、OQM の分子内 Diels-Alder 反応によって基質分子を連結させることとした (次頁図4)。

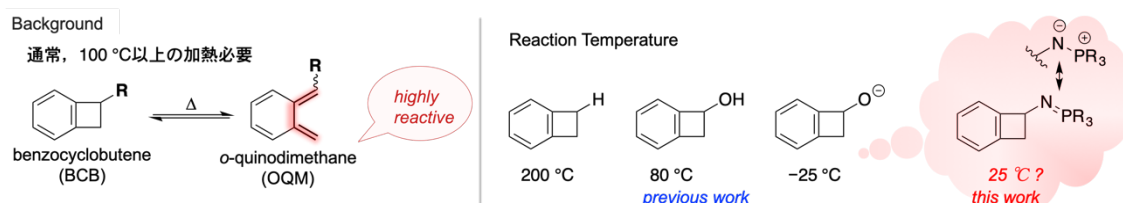


図1 BCB の四員環開裂による OQM の生成と開裂に要する反応温度

## 4. 研究成果

### (1) アジド BCB 調製法の確立 (図2)

基質となるアジド BCB の調製から着手した。まず、C-H アジド化による合成 (JACS. 2015, 5300.) を検討したが、収率と単離精製の点から基質調製法とするのは困難であると分かった。そこで、アルコール BCB のアジド化による調製法に変更した。検討の結果、適した変換法を選択することで、中程度の収率でアジド BCB を調製することができた。

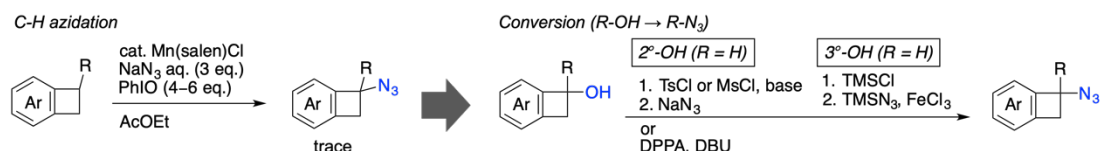


図2 アジド BCB の調製

- ・ 2級アルコール：Ms 化、Ts 化を経由したアジド化  
または DPPA を用いた直接的アジド化 (*JOC*. 1993, 5886)
- ・ 3級アルコール：シリルエーテルへ変換後、ルイス酸を用いアジド化 (*Chem. Eur. J.* 2012, 16608)

## (2) 室温条件下における BCB からの OQM 発生法の確立 (図 3)

OQM 発生後に、1,5-水素移動を起こすことで安定な中間体へと導けるような実験系を設定し、環開裂体として、アセトフェノン **3a** の収率を算出することで四員環開裂反応の評価を行った。  
【実験系の設定について】単離困難な OQM の発生を確認するには、一般的にマレイミドで捕捉する方法が選択される。しかし、今回は、3 置換ホスフィンとマレイミドが反応してしまうため、マレイミドを用いない 1,5-水素移動を利用した実験系を設定した。

検討の結果、アジド BCB **1a** に  $\text{PMe}_3$  を作用させることで、 $25^\circ\text{C}$  にて環開裂体 **3a** を与えることが分かった。対照実験として、アミン **1c** の開裂を検討したところ、**1c** は室温では安定で、 $70^\circ\text{C}$  に加熱することで環開裂を引き起こすことが分かった。反応機構についても、NMR 実験等により、予想通り Staudinger 反応、四員環開裂、1,5-水素移動、加水分解を介して進行していると証明することができた。本法は、世界初の温和な OQM 発生法であり、有機化学において新たな方法を提供できたという点でも意義深い。

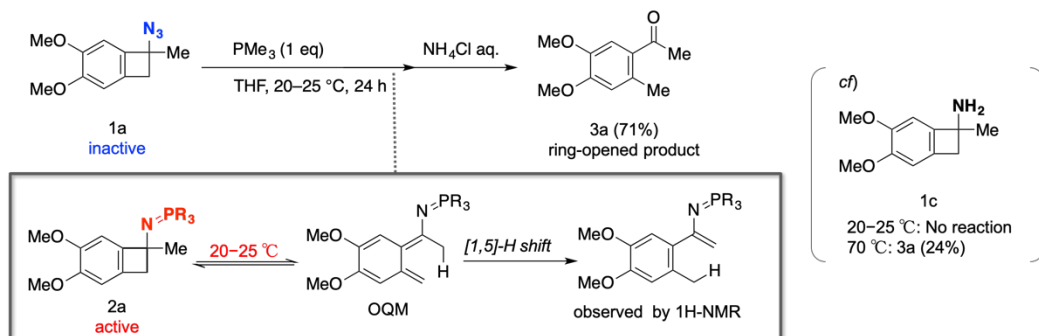


図 3 アジド BCB と  $\text{PMe}_3$  との反応による室温下での OQM 生成

## (3) 室温・含水条件下における 2 分子連結反応の開発

アジド BCB **4** とスチリルホスフィン **5** との 2 分子連結反応を検討した (図 4)。まず無水 THF 中で検討したところ、OQM 発生後の分子内 Diels-Alder 反応が首尾よく進行し、中程度の収率で連結体 **6** が得られた。しかし、水を添加量の増加に伴い、連結体 **6** の収率が低下し副生成物としてアルデヒド **3** が得られていた。この結果から、OQM と水との副反応が分子内 Diels-Alder 反応と競合していることが分かった。そこで、分子内 Diels-Alder 反応の効率化に向け、スチリルホスフィンのアルケン末端に電子求引基を導入した **5b-5d** を使い、連結反応を検討した (図 5)。しかし、いくつかの副反応が進行し反応系が複雑化することで、連結体の収率は低下した。

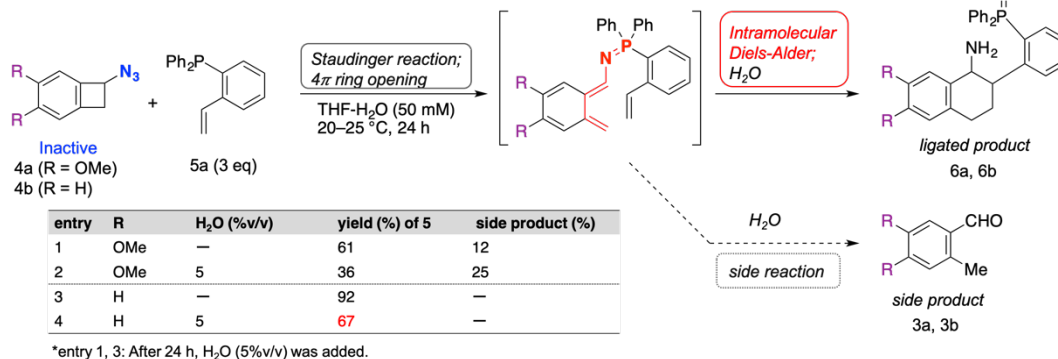


図 4 アジド BCB とスチリルホスフィンの 2 分子連結反応

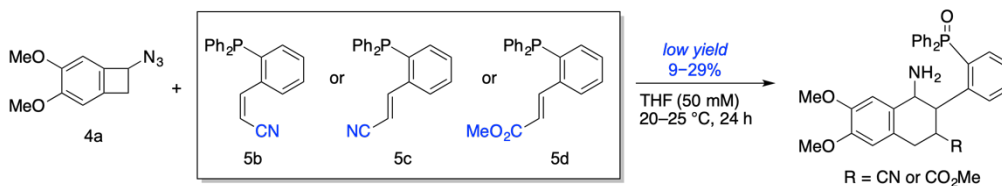


図 5 修飾スチリルホスフィンを用いた 2 分子連結反応の検討

今回開発した分子連結反応は、①不活性な基質を用いる、②“室温・含水条件”にて進行する、③独自性の高い化学反応を利用している、という 3 点から、クリック反応の有望なシーズと位置付けられる。芳香環置換基の改変などにより、反応性が調節可能と考えられるため、今後、連結体の機能性分子化、水中反応の高効率化に向け、基質官能基の改変を検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 ○高野晃成, 高山亜紀, 是澤 恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 室温下での2分子連結反応の改良 -ホスフィンの設計と合成-
3. 学会等名 2019年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 Staudinger反応が誘起する室温下でのベンゾシクロブテン四員環開裂反応とその応用
3. 学会等名 第17回次世代を担う有機化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 Staudinger反応が誘起する室温下でのオルトキノジメタン発生法とその応用
3. 学会等名 第115回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○高山亜紀, 是澤恵莉, 高野晃成, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 高歪み化合物ベンゾシクロブテンの反応性制御を鍵とした連結反応の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高山亜紀
2. 発表標題 富山での研究成果：創薬研究に役立つ反応開発と生物活性分子の合成
3. 学会等名 平成31年度トメックス第17回研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aki Kohyama, Eri Koresawa, Akinari Takano, OYuji Matsuya
2. 発表標題 Facile Ring Cleavage of Benzocyclobutenes Triggered by Staudinger Reaction and Its Application for Novel Bioorthogonal Reaction System
3. 学会等名 EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○高山亜紀, 是澤恵莉, 高野晃成, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 高反応性ジエンのin situ発生法を契機とした2分子連結反応の開発
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○高野晃成, 高山亜紀, 是澤 恵莉, 松谷裕二
2. 発表標題 高反応性ジエンのin situ 発生法を契機とした2分子連結反応の開発 -含水条件での収率改善に向けたホスフィン分子の改良-
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Eri Koresawa, Aki Kohyama, Yuji Matsuya
2. 発表標題 Accelerated 4 Ring-opening of Azide-substituted Benzocyclobutene by Staudinger Reaction
3. 学会等名 The Third International Symposium on Toyama-Asia-Africa Pharmaceutical Network (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Aki Kohyama
2. 発表標題 Development of new bioorthogonal ligation triggered by 4-membered ring opening
3. 学会等名 The Third International Symposium on Toyama-Asia-Africa Pharmaceutical Network (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 四員環の反応性制御に基づく生体直交型反応の開発
3. 学会等名 平成30年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eri Koresawa, Aki Kohyama, Yuji Matsuya
2. 発表標題 Accelerated Electrocyclic Ring Opening of Benzocyclobutene by Staudinger Reaction
3. 学会等名 XXII International Conference on Organic Synthesis (XXII ICOS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 イミノホスホラン形成による室温下でのベンゾシクロブテン開裂反応とその応用
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第130例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 Staudinger 反応が誘起する室温下でのベンゾシクロブテン四員環開裂反応とその応用
3. 学会等名 第17回次世代を担う有機化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高山亜紀, 是澤恵莉, 柘植清志, 松谷裕二
2. 発表標題 Staudinger 反応が誘起する室温下でのオルトキノジメタン発生法とその応用
3. 学会等名 第115回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 是澤恵莉, 二日市昇太, 高山亜紀, 松谷裕二
2. 発表標題 ベンゾシクロブテンを基質とした3連続ドミノ型ペリ環状反応による複素環構築法の開発
3. 学会等名 創薬懇話会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 是澤恵莉, 高山亜紀, 松谷裕二
2. 発表標題 Staudinger反応によるアジド置換型ベンゾシクロブテンの環開裂促進効果に関する研究
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山亜紀, 是澤恵莉, 松谷裕二
2. 発表標題 四員環開裂活性化を鍵とする生体直交型ライゲーション反応の開発
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>創薬への新しい切り札：温和な条件下での高反応性化学種発生法を開発．富山大学プレスリリース；2019 May 24 創薬物質 安全製造．富山新聞；2019 May 25</p>
--

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