

平成30年4月28日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18844

研究課題名(和文) 光感受性ニトリル保護基の開発とそれを用いた光応答性NOドナーフロキサンの創製

研究課題名(英文) Development of photolabile protective group for nitrile groups and its application to photoinduced NO donor furoxan

研究代表者

松原 亮介 (Matsubara, Ryosuke)

神戸大学・理学研究科・准教授

研究者番号：90401223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：光は照射後も後に残らないため有用な外部刺激であり、光により駆動する有機反応は様々なところで応用することができる。今回我々は、光を照射すると医薬品や機能性分子に多く見られるニトリル基が発現するような分子デザインを開発することができた。この技術を応用すると、例えば光照射を行わない状態では何も起こらないが、光照射を行った場合には薬効が発現する医薬品を開発することができる。

研究成果の概要(英文)：Light is a traceless external stimuli and light-driven organic reactions find a wide application in various areas. In this project we have succeeded in development of molecular design which enables photo-induced nitrile formation. This development is useful because nitrile is a common functional group in drugs and functional molecules. One potent application of this development is a prodrug which has no effect in dark but obtains a healing function upon photo-irradiation. This is so called photodynamic therapy.

研究分野：有機光化学

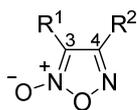
キーワード：光反応 カルバゾール 光感受性保護基 光線力学療法

1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素 (NO) は、重要な生体内シグナル伝達物質であり、血管拡張作用、血小板凝集抑制作用、神経細胞間長期増強現象の逆行性シグナルなど生体内で様々な機能を有する。そのため、医薬品のターゲット分子として活発に研究がなされている。しかしながら、常温で気体、難水溶性の NO を、場所・時間・量を制御して供給する手法の開発はいまだ発展途上である。

フロキサソ (1,2,5-oxadiazole 2-oxide) は、1990 年代に、生理条件下にて一酸化窒素を放出することが報告された。安定で扱いやすく、さらに薬剤耐性が起こらないことから、新しい分子骨格を有する一酸化窒素ドナーとして研究が活発化している。申請者は近年、強い NO 放出能を有する 3-シアノフロキサソ ($R^1 = \text{CN}$ 、以下 3CF と略す) の短段階効率的合成法を確立した。また、得られた 3CF のニトリル基を、より電子吸引性の乏しい官能基へ変換することで、NO 放出能を大きく抑制できることを明らかにした。

そこで申請者は、3CF のニトリル基を光感受性保護基で保護した 3CF 前駆体を創製すれば、光照射によって場所・時間・量を制御して 3CF を生成させることができると考えた。しかしながら、ニトリル基の光感受性保護基はこれまでに全く報告例がない。そのため、ニトリル基の光感受性保護基を有機化学的アプローチにより独自に開発し、その技術を利用した光応答性 NO ドナーを創製しようと考えたのが、本研究の着想に至った経緯である。



フロキサソ

研究計画の項で詳述するが、申請者は本研究の目的達成の手法として、光誘起電子移動に伴う塩基性点生成に着目した。これまでに申請者は、カルバゾール光触媒存在下、光照射によりエステルが還元される反応を精査し、ワンポットアルコール還元反応を開発した (*Asian J. Org. Chem.* **2014**, 3, 1054)。反応機構を詳細に解析したところ、反応の開始はカルバゾールの一重項から安息香酸エステルへの非常に早い電子移動によることを明らかにし、過渡吸収測定により安息香酸エステルのラジカルアニオンを観測することができた。さらに、サリチル酸エステルに光照射を行ったところ、分子内で脱プロトン化が起こっている実験的証拠を得、ラジカルアニオンの塩基として機能することを確認することができた。これらの知見を基として本研究の具体的手法を立案した。

2. 研究の目的

本研究では、「NO を必要な場所に必要な時、

必要な量だけ供給する手法を開発する」ことを目的として、以下に示す二段階の研究目的を定めた。

- (1) ニトリル基の光感受性保護基の開発
- (2) 3-シアノフロキサソ (3CF) の光感受性保護体の創製と光応答性 NO 放出能の獲得

以下にそれぞれの具体的な目標を記述する。

(1) 光感受性保護基として目標とする資質は、(a) 光を照射する前はニトリル基に変化することなく安定であること、具体的には光非照射下、リン酸緩衝液中で数時間分解せずに存在すること、(b) 光照射後は秒以下のオーダーで速やかにニトリル基へと変化すること、(c) 実用化に適した量子収率 (10%以上) (d) 生細胞実験への適用を考慮し、400 nm 以上の長波長での光励起が可能であること、である。種々の分子を合成し、上記の条件を満足するように分子構造の最適化を行う。

(2) 最適化した保護基を備え付けた 3CF 保護体の合成を行い、保護した状態では NO 放出能が全くないことを確認する。さらに、合成した化合物を生理条件下に置き、NO 放出量が光強度や光照射時間によりどのように変化するかを、種々の NO 検出蛍光プローブを用いて精査する。

3. 研究の方法

化合物の合成は特に指定のない限り不活性ガス雰囲気下で行った。光照射装置は、適切な光学フィルターを備えた朝日分光製 MAX303、または浜松ホトニクス製の LED 照射装置を用いた。に化合物の精製は水により洗浄 (分液操作)、シリカゲルを担持剤として用いたクロマトグラフィー、再結晶、または蒸留にて行った。化合物の同定、純度決定は、核磁気共鳴装置 (NMR)、質量分析、赤外分光測定 (IR)、ガスクロマトグラフィー (GC)、液体高速クロマトグラフィー (HPLC) にて行った。

4. 研究成果

ニトリル基の光感受性保護基はこれまでに全く知られていない。筆者らは、光誘起電子移動反応を利用して O-アシルオキシムからニトリル基を生成できないかと考えた (図 1)。O-アシルオキシムは酸化状態がニトリルと同じであり、塩基を作用させることでカルボン酸の脱離を引き起こしニトリルを生成することができる。光により増感剤を励起させ、励起した増感剤から基質のエステル部位へ電子移動が起これば、塩基性の強い酸素アニオンが生じてニトリルが生成すると仮説を立てた。

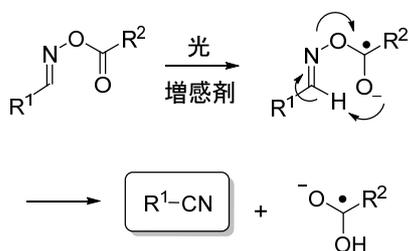


図1、O-アシルオキシムから照射によりニトリル基を生成する作業仮説

まず、O-アシルオキシムの合成を行った(図2)。O-ベンゾイルオキシム**3**の合成においてZ体のオキシムを原料として用いたところ、E体とZ体の混合物としてO-ベンゾイルオキシム**3**が得られた。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより単離を試みたところZ体のO-ベンゾイルオキシム**3-Z**はカラム精製中にニトリル**4**へと変換されE体のO-ベンゾイルオキシム**3-E**のみ単離可能であった。**3-Z**においてはC=N二重結合上の脱離する置換基がアンチペリプラナーの位置関係にあるため、脱離反応が速いと考えている。

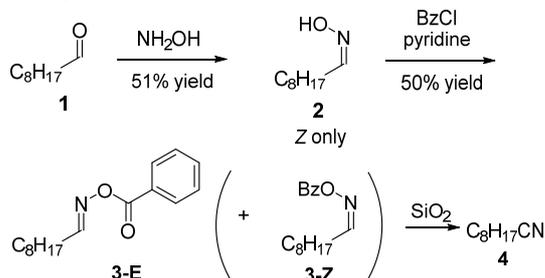
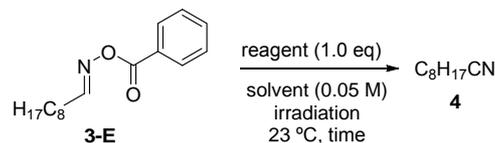


図2、ノナナル由来のO-ベンゾイルオキシムの合成

得られた**3-E**に対して光照射実験を行った。化合物**4**の生成は¹H NMRにて確認した(表1)。増感剤を添加せずにLEDランプ($\lambda = 340 - 380 \text{ nm}$)で光照射したところ、反応は全く進行せず原料回収であった(entry 1)。この結果は**3-E**の吸光スペクトルにおいて、300 nm以上の波長領域に吸収がないことと矛盾しない。次にカルバゾール**A**を増感剤として用いたところ、反応は1時間で完結し、ニトリル**4**が定量的に得られた(entry 2)。カルバゾール**A**の量を触媒量に低減化しても、反応時間は延びるものの反応は完結した(entry 3)。増感剤や共生成物である安息香酸が脱離反応を引き起こしている可能性を確認するため、光を照射しない条件で増感剤や安息香酸を作用させたり(entries 4,5)安息香酸存在下で光を照射したりしたが(entry 6)反応は全く進行しなかった。このことから、たしかにカルバゾールが光増感剤として働きニトリルを生成していることが分かった。ここで、溶媒をTHFではなく重クロロホルムを用いたところ、反応が非常に複雑化した(entries 7,8)。

表1、ベンゾイルオキシム3-E**に対する光照射実験**

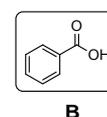
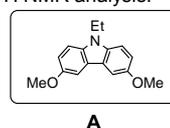


| Entry | Reagent | Irradiation | Solvent | Time /h | Yield /% ^a |
|-------|-----------------------|-------------|-------------------|---------|-----------------------|
| 1 | none | LED | THF | 1 | 0 |
| 2 | A | LED | THF | 1 | 100 |
| 3 | A ^b | LED | THF | 4.5 | 100 |
| 4 | A | none | THF | 1 | 0 |
| 5 | A+B | none | THF | 1 | 0 |
| 6 | B | LED | THF | 1 | 0 |
| 7 | A | LED | CDCl ₃ | 1 | - ^c |
| 8 | A | LED | CDCl ₃ | 0.1 | - ^c |

^a Determined by ¹H NMR analysis.

^b 10 mol% **A**.

^c Messy.



基質の適用範囲を調べたところ(図4)第一級アルキルニトリル、第二級アルキルニトリル、第三級アルキルニトリルいずれの場合も同様に反応は進行した。さらに電子状態が著しく変わる芳香族ニトリルにおいても同じ条件で生成物を与えることが分かった。

今回光増感剤としてカルバゾールを用いると、オキシムエステルが対応するニトリルへ高収率で変換することができた。これによりニトリルの光感受性保護基を確立した。現在は細胞内でも適用可能なように水溶性や最適励起波長の調整を検討している。

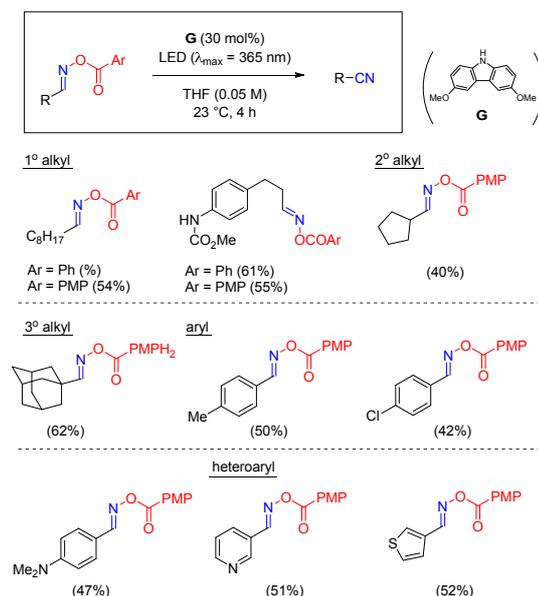


図4、基質の一般性

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. C. P. Seymour, R. Tohda, M. Tsubaki, M. Hayashi, R. Matsubara*, “Photosensitization of fluorofuroxans and its application to the development of visible light-triggered nitric oxide donor” *J. Org. Chem.* 査読あり、**86**, 9647–9654 (2017). doi: 10.1021/acs.joc.7b01709
2. R. Matsubara* A. Ando, M. Hayashi “Synthesis of cyanofuroxans from 4-nitrofuroxans via C–C bond forming reactions” *Tetrahedron Lett.* 査読あり、**58**, 3337–3340 (2017). doi: 10.1016/j.tetlet.2017.07.015
3. R. Matsubara* S. Takazawa, A. Ando, M. Hayashi, R. Tohda, M. Tsubaki “Study on the photo-induced nitric oxide-releasing ability of 4-alkoxy furoxans” *Asian J. Org. Chem.* 査読あり、**6**, 619–626 (2017). doi: 10.1002/ajoc.201700030
4. R. Matsubara* S. Eguchi, A. Ando, M. Hayashi “Synthesis of alkynyl furoxans. Rare carbon–carbon bond-forming reaction on a furoxan ring” *Org. Biomol. Chem.* 査読あり、**15**, 1965–1969 (2017). doi: 10.1039/c7ob00181a

[学会発表](計 30 件)

Ryosuke Matsubara, “Development of catalytic photochemical reactions using carbazole platform” 3rd International Symposium on Catalysis Toward Green Sustainable Chemistry (CAT-GSC-3)、2017.3.25、東京大学(東京都)

6. 研究組織

(1)研究代表者

松原 亮介 (MATSUBARA, Ryosuke)
神戸大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：90401223

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()