

27. 一酸化窒素検出のための新規生物発光基質の開発

吉田 優

Key words : セレンテラジン, 一酸化窒素, アライン,
スルフィリイミン, 転位反応

東京医科歯科大学
生体材料工学研究所
生体機能分子部門 生命有機化学分野

緒 言

活性酸素種は、半減期が数秒以下の短寿命活性種であり、多岐に渡る生命現象の発現・制御において重要な役割を担っている。なかでも、一酸化窒素 (NO) は、細胞内・細胞間情報伝達物質として利用され、炎症や癌などの疾患の発現に関わることが明らかにされてきた。これまでに、NO を効率よく検出できる分子として、DAF-2 DA^{RI}などの優れた蛍光プローブが開発され、活性酸素種が関わる生体分子機能がいくつも解明されてきた。しかし、これらのプローブに代表される蛍光発光を利用した検出系では、本質的に不可避な問題点がいくつか指摘されており、新たな手法の開発が強く求められている。これに対して、我々は、セレンテラジン類縁体の生物発光現象を活用し、NO との反応部位を有する類縁体を合成し、NO 検出用生物発光プローブの開発に取り組んでいる。セレンテラジン類の機能化のため、アライン中間体の変換により、芳香環をアミノ化する手法に関して検討したところ、予期に反して、アラインに対してスルフィニル化とアミノ化が一挙に進行し、さらに転位による結合の組み換えまで進行する変換を見いだした。

方法、結果および考察

はじめに、アミノ基を配置したセレンテラジン類の合成における利用を念頭に、アラインを効率的にアミノ化する手法の開発に取り組んだ。具体的には、スルフィリイミンに着目し、これとアラインとの反応により炭素-窒素結合と炭素-水素結合が形成し、この生成物を加水分解することで、効率よく芳香族アミン類が合成できると考えた。しかし、実際にこの変換を試みたところ、予期せぬ結果が得られた。すなわち、アライン前駆体 **1a** とスルフィリイミン **2a** のアセトニトリル溶液に対して、フッ化セシウムを作用させたところ、所望のアミノ化生成物 **3** は得られず、炭素-窒素結合と炭素-硫黄結合が形成するとともに、窒素上がフェニル化された生成物 **4a** を少量ながら得ることができた (図 1)。目的とする反応は進行しなかったものの、従来のアラインの変換とは一線を画す、新奇な変換が進行したことから、その重要性を鑑み、この変換反応に関してさらに詳しく調べることにした。

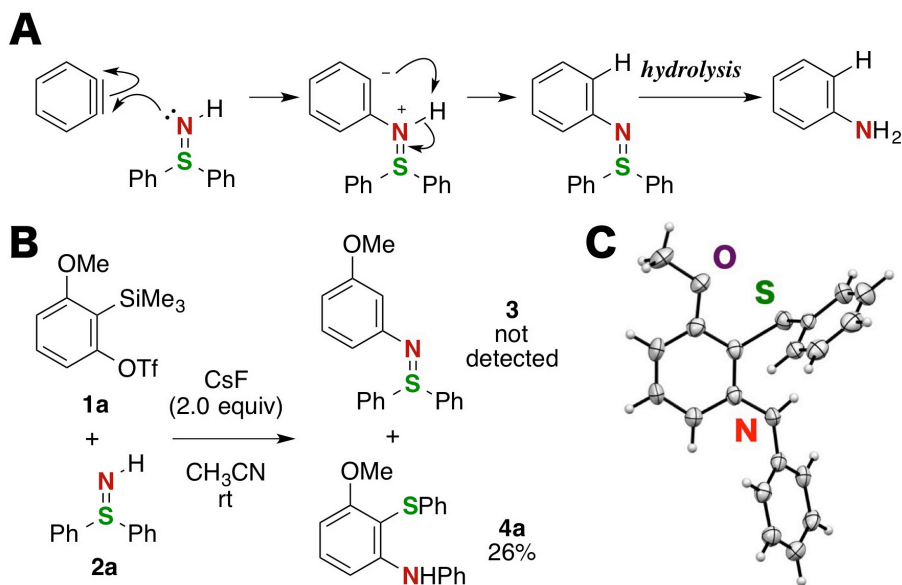


図1. アライン中間体とスルフィリイミンとの反応.

A) スルフィリイミンを用いるアラインのアミノ化の作業仮説. B) シリルアールトリフラート **1a** とスルフィリイミン **2a** との反応. C) 得られた生成物の X 線結晶構造解析.

アライン前駆体 **1a** とスルフィリイミン **2a** との混合物に対して種々の活性化剤を作用させ、チオアミノ化生成物 **4a** へと効率よく変換できる条件に関して詳しく調べたところ、テトラヒドロフラン中でクラウンエーテル存在下、フッ化カリウムを 60°C で作用させると、高収率で目的物 **4a** が得られることが明らかになった (図2). このとき、位置異性体は観測されなかった. また、最近我々が見いだした、炭酸セシウムとクラウンエーテルとをテトラヒドロフラン中、室温で作用させる反応条件²⁾においても、良好な収率かつ高い選択性で目的物 **4a** が得られることもわかった.

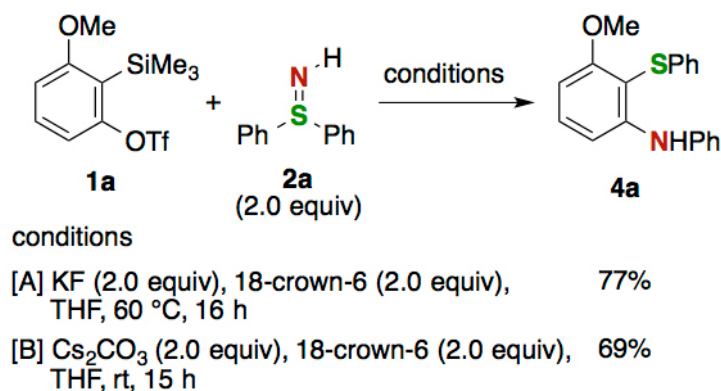


図2. アラインとスルフィリイミンとの反応.

次に、様々なアライン前駆体を用いて、本反応の基質一般性に関して精査した結果、本手法を利用することで様々な α -スルファニルアニリン類を合成できることが明らかになった (表1). 具体的には、無置換のベンザインの場合にも同様の収率で目的物を得ることができた (entry 1). また、3位あるいは4位にメチル基を有するベンザインの場合には、チオ化およびアミノ化の位置の異なる異性体も生成したことから、本反応がアライン経由で進行していることを示唆する結果が得られた (entries 2 and 3). さらに、本反応により、プロモ基やアール基などを有する多彩な四置換ベンゼン類 **4e** および **4f** を効率よく合成できることもわかった (entries 4 and 5). また、3-シリルベンザイン中間体の反応に

においては、シリル基のオルト位がアミノ化，メタ位がチオ化された生成物 **4g-i** が選択的に得られた (entries 6-8). さらに，スルフィリミンと，ナフタリンやインドリンとの反応も進行し，二官能基化した縮環型芳香族化合物 **4j** および **4k** が効率よく得られた (entries 9 and 10).

表 1. さまざまなアライン前駆体を用いるスルフィリミンとの反応

entry	product	yield/% ^a	entry	product	yield/% ^a
1		69	6		62
2	 + isomer 4c'	82 (63:37)	7 ^b		80
3	 + isomer 4d'	60 (55:45)	8 ^b		53
4		66	9	 + isomer 4j'	80 (50:50)
5		75	10 ^b	 + isomer 4k'	47 (85:15)

^a 単離収率, ^b Cs₂CO₃ (2.0 当量), 18-crown-6 (2.0 当量), THF, rt, 16 時間.

次に，種々のスルフィリミンを用いて，アライン中間体との反応を試みた (表 2). その結果，電子供与性および電子求引性の置換基を有する芳香族スルフィリミンを用いたどちらの場合にも目的生成物を得ることができた. 電子供与性の置換基を有するスルフィリミンの場合には，*p*-トリル基を有する場合には同程度の効率で目的物を得ることができた (entry 1) が，*p*-メトキシフェニル基を有する場合には，スルフィリミンの安定性が乏しくなってしまう，フッ化カリウムとクラウンエーテルを用いて反応を行ったときには目的物は全く得られなかった. 一方，炭酸セシウムとクラウンエーテルを用いて室温で反応させたところ，目的物を中程度の収率で得ることができた (entry 2). 電子求引性の置換基として，クロロ基やブロモ基を有する場合も，問題なくチオ化とアミノ化が一挙に進行し，クロスカップリング反応などに利用できるハロゲン基を損なうことなく，目的の生成物 **4n** および **4o** が得られた (entries 3 and 4). さらに，非対称なジアリールスルフィリミン **2f** および **2g** を用いると，電子豊富なアリール基が硫黄原子上に，電子不足なアリール基が窒素原子上に置換した生成物 **4p** および **4q** が選択的に得られることがわかった (entries 5 and 6). また，フェニル基とシクロプロピル基を有するスルフィリミン **2h** の場合にはフェニル基が窒素と結合した生成物 **4r**

が、フェニル基とメチル基を有するスルフィリイミン **2i** の場合には無置換のアミノ基を有する生成物 **4s** が中程度の収率で得られた (entries 7 and 8).

表2. アライン前駆体とさまざまなスルフィリイミンとの反応

entry	sulfilimine	product	yield/% ^a
1			69
2 ^b			54
3			67
4			71
5			66
6			60
7			50
8			43

^a 単離収率, ^b Cs₂CO₃ (2.0 当量), 18-crown-6 (2.0 当量), THF, rt, 16 時間.

以上の実験結果から、本研究で見いだした変換反応は、以下のような機構で進行していると考えられる。まず、アライン中間体 **A** へのスルフィリイミンの付加反応により中間体 **B** を生じ、次に環化することで四員環を形成、あるいは、アライン中間体 **A** とスルフィリイミンとの[2+2]反応によって中間体 **C** を生じると考えられる。次に、窒素-硫黄結合が開裂し、生じた双性イオン中間体 **D** における S_NAr 反応により、*o*-スルファニルアニリン **4p** が生じたと考えれば本反応が説明できる。この際、 S_NAr 反応を経ているために電子不足なアリール基がアミノ基へと転位した、と考えることができるが、硫黄原子上におけるリガンドカップリングによって生成物へと至る可能性も考えられる。

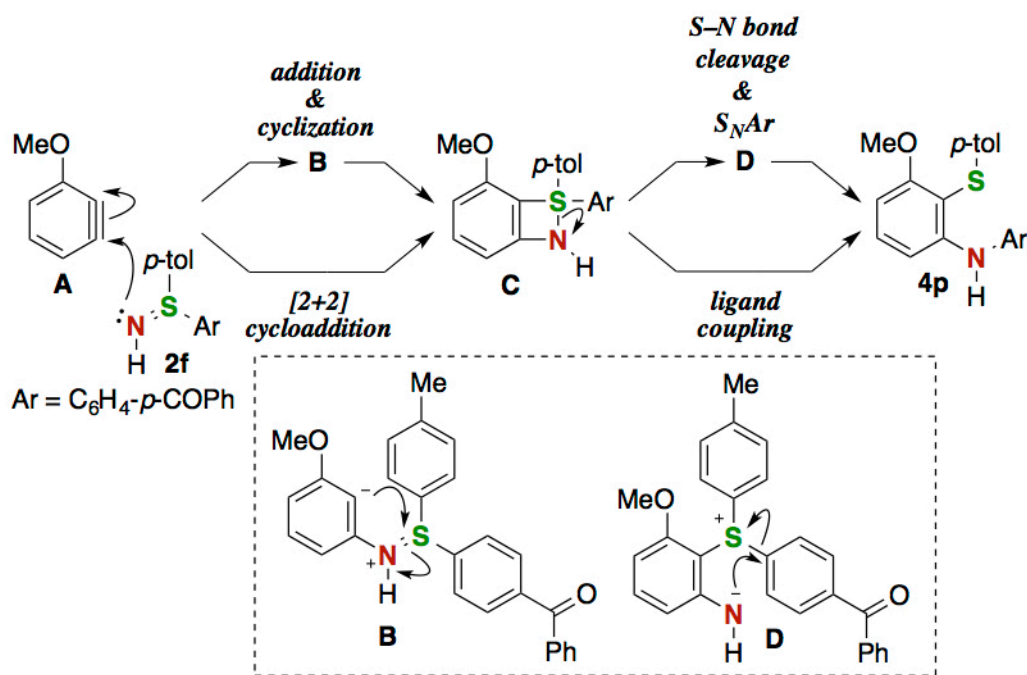


図3. アラインとスルフィリイミンとの反応の推定機構.

以上のように、今回我々は、NOを検出する生物発光基質の開発に取り組む中、偶然にも、アライン中間体のチオ化・アミノ化とアリール基の転位が一挙に進行する新たな変換反応を見いだすことができた。現在、当初の目的であるNOプローブの開発に取り組むとともに、新たに見いだしたアラインの変換反応に関して精査している。

共同研究者

本研究の共同研究者は、東京医科歯科大学生体材料工学研究所の細谷孝充教授、矢野貴久特任助教、杉村康行特任助教、三澤善大博士、および、九州大学先端物質化学研究所の友岡克彦教授、井川和宣助教である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文献

- 1) Kojima, H., Hirotsu, M., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Urano, Y., Higuchi, T., Hirata, Y. & Nagano, T. : Bioimaging of nitric oxide with fluorescent indicators based on the rhodamine chromophore. *Anal. Chem.*, **73** : 1967-1973, 2001.
- 2) Yoshida, S., Hazama, Y., Sumida, Y., Yano, T. & Hosoya, T. : An alternative method for generating arynes from ortho-silylaryl triflates: activation by cesium carbonate in the presence of a crown ether. *Molecules*, **20** : 10131-10140, 2015.