講座

ライフサイエンスのための安定同位体利用技術 (XVI)

重水素標識化合物の合成†

前 田 満 和

国立がんセンター研究所

104 東京都中央区築地5-1-1

Key Words: deuterium, hydrogen exchange, nucleophilic, electrophilic, catalytic, deuterium labeling method, organic compound

1. はじめに

生体成分を含む有機化合物の構成元素は、主として C, H, N, O, S 等であり、これらの元素はいずれも ^{13}C , ^2H , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{34}S のような安定同位体 (SI) が存在し、それを含む種々の化合物の合成法および応用に関する多数の報告がなされている。しかし、 ^2H 標識化合物を除く他の SI 標識化合物の合成は、一部の例外を除くときわめて繁雑であり、とくに炭素標識化合物合成は、全合成に匹敵する操作を必要とするのみならず、入手可能な標識出発物質に限定があり、合成経路はさらに複雑化する。本稿では比較的簡便で、特別な技術を必要としない重水素 (^2H) 標識化合物の合成法について述べる。

2. 標識法の原理

^2H 標識法は水素交換反応による方法と、それ以外の化学反応を利用する方法とに大別できる。その反応型式はつぎのように分類できよう。

- 1 水素交換反応 (hydrogen exchange reaction)
 - 1・a イオン反応 (ionic or heterolytic reaction)
 - 1・a・i 求核反応 (nucleophilic reaction)
 - 1・a・ii 求電子反応 (electrophilic reaction)
 - 1・a・iii 付加体を經由する反応
 - 1・b 接触触媒反応 (金属触媒反応) (catalytic re-

action)

- 1・c その他の反応 (熱, 電離放射線, 紫外線照射によって誘起される反応)

2 水素交換反応以外の化学反応

- 2・a 加水分解反応 (hydrolysis)
- 2・b 置換反応 (substitution)
- 2・c 付加反応 (addition)
- 2・d 水素添加反応 (hydrogenation)
- 2・e ラジカル経由の水素引き抜き反応
- 2・f その他

3 生合成反応 (酵素反応)

上記分類に従って ^2H 標識法の原理を例をあげながら概説する。

3. 標 識 法

3・1 水素交換反応による ^2H 標識法

水素交換反応は少なくとも2つの素反応, すなわち一方は水素が脱離する反応 (deprotonation), 他方は水素が添加される反応 (protonation) を含む。この脱離と添加の反応の順序は問題ではなく, また水素交換にこの2つの素反応以外の反応が関与する場合もある。そして, 上記2つの素反応を含む一連の反応がすべて完結するために必要な添加物 (試薬) の果たす役割が求核的であるか, あるいは求電子的であるかによって, 前者を求核的 (nucleophilic, base catalyzed), 後者を求電子的 (electrophilic, acid catalyzed) 水素交換 (hydrogen exchange) といい, 他方, その試薬 (光, 熱などを含む) の果たす役割が R-H 結合のラジカルの開裂 (homolytic fission) を促進する場合, たとえば接触触媒的な接触水素交換 (catalytic hydrogen ex-

† Use of the Stable Isotopes in Life Science (XVI) Synthetic Methods of Deuterium Labeled Compounds. Mitsuaki MAEDA: National Cancer Center Research Institute, 5-1-1, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104.

change) や熱による熱水素交換 (thermal hydrogen exchange) などがある。

水素交換反応を模式的に示すと下記ようになる。

1・a・i 求核的水素交換反応

1・a・ii 求電子的水素交換反応

1・a・iii 付加体を経由する水素交換反応

1・b 接触触媒などの水素交換反応

一般的にいえば、R-H とは -OH, -NH₂, -COOH, -SH など含まれるが、これらの活性水素交換反応は水溶液中で強固に水素結合を形成した高分子、たとえば DNA あるいはタンパク質などにおいては重要な意味を有する場合があるが、²H 標識法の観点からは C-H すなわち炭素酸が最も重要であり、したがって以後で取り扱うのは主として炭素酸に限る。

3・1・a イオン反応

イオン反応とは、いいかえれば nucleophile-electrophile 相互作用のことであり、分子内または分子間を問わず、求核および求電子的に働く部分がなければならない。すべての物質はより強い酸または塩基と共存させることにより塩基にも酸にもなり得るのであるが、実際には常識的な反応条件下では塩基は塩基として、酸は酸としての性質を示す（もちろん普通の条件下でも H₂O のように両方の性質をもつ両性 (amphoteric) 物質もある。塩基と水素酸との反応において、水素添加と水素脱離の2つの素反応を含む反応がイオンの水素交換反応であり、酸を出発原料とする場合を塩基触媒交換 (base-catalyzed exchange, すなわち反応基質が酸であるから試薬は塩基である) といい、塩基を出発原料とする反応を酸触媒交換 (acid-catalyzed exchange, 反応基質が塩基であるから試薬は酸) という。定義に戻ると、前者は求核反応であり、後者は求電子反応である。

3・1・a・i 求核的水素交換法

有機化合物中のすべての C-H は、いずれも炭素酸

とみなすことができる。すなわち水溶液またはプロトン溶媒中では酸の解離平衡にあると考えられる。

解離定数 $K_a = k_1/k_{-1}$

一般に C-H の解離定数が大きいほど、すなわち酸性度が高いほど求核的 (塩基触媒) 水素交換による ²H 標識は容易になる。pK_a ≤ 30 であるような C-H は重水溶液中で容易に ²H 化される。pK_a がこれより大きい場合でも強いアルカリを用いるか、または ND₃ 中 KNd₂ を触媒として反応させれば ²H 標識が可能である。したがって、アルカリや熱に安定な化合物の場合にはすべての C-H はこの求核的水素交換法によって ²H 標識が可能である。

CH ₂ (NO) ₂	4	CH ₃ COCHCl ₂	15
CH ₃ COCH ₂ NO ₂	5	CH ₃ COCH ₂ Cl	17
CH ₃ CH ₂ NO ₂	9	CH ₃ COCH ₃	20
CH ₃ COCH ₂ COCH ₃	9	CH ₃ SO ₃ H	23
CH ₃ NO ₂	11	CH ₃ CN	25
CH ₂ (CN) ₂	12	CH ₃ SOCH ₃	31
CH ₂ (COOEt) ₂	14		

本法による ²H 化の難易を決めているものは解離定数であるが、この K_a を支配している因子について考えてみよう。定性的には解離したアニオン状態、すなわち共役塩基としてのカルボアニオンの共鳴による安定化の寄与が最も重要な因子であると考えてよい。たとえば -COCH₃ が -CH₂CH₃ よりも酸性度が高く、容易に ²H 標識されるのは中間体と考えられるカルボアニオンの共鳴による安定化の寄与の有無によると考えられる。

α 位に置換基を有する >C-H の水溶液中の pK_a は上記のようであり¹⁾、これらの化合物はいずれも重水溶液中アルカリ触媒によって ²H 標識が可能である。一般に α 位置換基の ²H 化促進効果はつぎの順序で小さくなる²⁾。

しかし S 原子を含む化合物においては、異常にその α

表1 代表的化合物の酸解離定数

	pK_a		pK_a
	15.0	$CH_2=CH_2$	36.5
	18.5	$\phi-H$	37.0
	22.9		39.0
$CH_2=CH$	25.0	CH_4	40.0
ϕ_1-CH	32.5	CH_3-CH_3	42.0
$\phi-CH_3$	35.0		43.0
$CH_3-CH=CH_2$	35.5		44.0
			45.0

D. J. Cram, *Fundamentals of Carbanion Chemistry*, p. 19, Academic Press, 1965 より

図1 共役塩基の安定化する化合物

位の水素交換反応が促進される場合がある。たとえば、オルトギ酸エチルの水素交換反応速度に比べて、S誘導体のそれは 10^6 倍以上も速く交換する³⁾。これはS原子の3d軌道共鳴がカルボアニオンの安定化に大きく寄与した例である。

一方、ヘテロ原子を含まない炭化水素についても、構造の差によって²H標識の難易には大きな差がある。代表的な化合物の pK_a 値を表1に示した¹⁾。

たとえば、図1の化合物は、いずれも中間と考えられる共役塩基が π 電子系と共役することによって安定化するからである。とくに電子吸引性芳香環に直結したアルキル基から生じたカルボアニオンは負電化の非極在化による安定化がとくに大きく、²H標識はきわめて容易である。たとえば、 α 、 β および γ -メチルビリジンの四級塩を1% NaODを含む D_2O 中室温で処理すると、中間体であるカルボアニオンの安定化する α および γ 体のみが²H標識される。

β -メチル体はこの条件では反応せず、反応温度を $100^\circ C$ に上げてはじめて²H標識される(図2)。メチルビリジン、メチルキノリン、メチルイソキノリンおよびそれらのN-オキシド、N-メチオダイドについての側鎖メチル基の²H標識の難易を表2～表4にまとめた⁴⁾。

図2 安定化の有無

表2 モノメチルビリジン類のメチル水素の重水素交換

化合物	反応開始条件*	反応完結条件
2-Me-ビリジン	$180^\circ C$, 1 h	$180^\circ C$, 3 h
2-Me-ビリジン	$>200^\circ C$	**
4-Me-ビリジン	$130^\circ C$, 2 h	$180^\circ C$, 1 h
2-Me-ビリジン N-O	$100^\circ C$, 1 h	$100^\circ C$, 3 h
3-Me-ビリジン N-O	$150^\circ C$, 1 h	$180^\circ C$, 1 h
4-Me-ビリジン N-O	$100^\circ C$, 1 h	$100^\circ C$, 3 h
2-Me-ビリジン N^+-CH_3	$22^\circ C$, 0 h	$22^\circ C$, <1 h
3-Me-ビリジン N^+-CH_3	$100^\circ C$, 1 h	$150^\circ C$, 1 h
4-Me-ビリジン N^+-CH_3	$22^\circ C$, 0 h	$22^\circ C$, 1 d

* 1% NaOD- D_2O 溶液中で反応

** $200^\circ C$, 3時間でも交換は不完全

同様のことがヘテロ原子を含まないベンゼン系誘導体においてもみられる。たとえばパラ置換トルエンのメチル基²H標識速度を KND_2-ND_3 中で比較すると、

置換基X	CH_3	OCH_3	$SCCH_3$	$N(CH_3)_2$
相対速度	1	10^{-3}	10^4	10^{-4}

となり、 $p-SCCH_3$ 体のみが近接しないS原子の3d軌道の共鳴効果により異常に速く交換する⁵⁾。

一方、置換アルキル基の種類に関しては、表5に示すように $-CH_3$ のほうが $-CH_2-CH_3$ よりも容易に交換する⁴⁾。このことは一般的にいえることで、酸性度はつぎの順序で小さくなり、塩基触媒水素交換法による²H標識は困難となる⁶⁾。

一方、芳香環水素の²H標識は一般には求電子的方法(3・1・a・ii), または接触触媒の方法(3・1・b)が用いられるが、求核的方法で選択的に²H標識可能な場

表3 モノメチルキノリン類のメチル水素の重水素交換

化 合 物	反 応 溶 媒	反応開始条件	反応完結条件
2-メチルキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	100°C, 1 h	180°C, 3 h
4-メチルキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	100°C, 1 h	150°C, 8 h
6-メチルキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	200°C, 8 h	では反応せず
7-メチルキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	200°C, 8 h	では反応せず
8-メチルキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	200°C, 8 h	では反応せず
2-メチルキノリン N-オキシド	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	22°C, 1 d	50°C, 1 h
3-メチルキノリン N-オキシド	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	180°C, 1 h	>200°C
4-メチルキノリン N-オキシド	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	50°C, 1 h	50°C, 8 h
6-メチルキノリン N-オキシド	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	200°C, 1 h	>200°C
7-メチルキノリン N-オキシド	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	130°C, 1 h	>200°C
1,2-ジメチルキノリニウム塩	D ₂ O	100°C, 1 h	100°C, 1 h
1,4-ジメチルキノリニウム塩	D ₂ O	130°C, 1 h	100°C, 8 h
1,6-ジメチルキノリニウム塩	D ₂ O	200°C, 8 h	では反応せず
1,7-ジメチルキノリニウム塩	D ₂ O	200°C, 8 h	では反応せず
1,8-ジメチルキノリニウム塩	D ₂ O	分解を伴う	
2-メチルキノリン N-オキシド	D ₂ O	100°C, 8 h	では反応せず
4-メチルキノリン N-オキシド	D ₂ O	180°C, 1 h	では反応せず

* 1:1 混合溶媒 (v/v)

表4 モノメチルイソキノリン類のメチル水素の重水素化

化 合 物	反 応 溶 媒	反応開始条件	反応完結条件
1-Me-イソキノリン	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	100°C, 1 h	<200°C
1-Me-イソキノリン N-O	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	22°C, 0 h	22°C, 1 d
3-Me-イソキノリン N-O	1 % NaOD D ₂ O-ジオキサン*	180°C, 1 h	180°C, 1 h
1-Me-イソキノリン N ⁺ -CH	D ₂ O	50°C, 1 d	100°C, 1 h
3-Me-イソキノリン N ⁺ -CH	D ₂ O	150°C, 1 h	>200°C
1-Me-イソキノリン N-O	D ₂ O	100°C, 3 h	200°C, 1 h
3-Me-イソキノリン N-O	D ₂ O	200°C, 3 h	では開始せず

* 1:1 混合溶媒 (v/v)

表5 ピリジン類の α -メチル水素および α -メチレン水素の重水素交換に対する相対速度*

化 合 物	反 応 条 件		
	100°C, 1 h	100°C, 3 h	180°C, h
2-メチルピリジン N-オキシド	卅	完結	
2-エチルピリジン N-オキシド	卅	卅	
3-メチルピリジン N-オキシド	—	—	完結
3-エチルピリジン N-オキシド	—	—	卅
4-メチルピリジン N-オキシド	卅	完結	
4-エチルピリジン N-オキシド	十	卅	

* 1 % NaOD-D₂O 溶媒中

合がある。たとえばベンゼン、ナフタレンなども強いアルカリ条件 (NaOD を含む D₂O-CH₃OD あるいは

ND₃ 中 KND₂ などと200°C以上の高温で反応させる) で交換可能で、その交換速度はベンゼンを1とすれ

したがって、 σ 錯体の安定化エネルギーの大きさが重水素化の難易を定める主たる因子である。たとえば、モノ置換ベンゼンのパラ位重水素化を酸性溶液中で比較すると、だいたいにおいて置換基数(σ 値)に対応してその難易は決まる。しかし、置換基の位置および種類によって異なった反応性を示す場合がある。たとえば、チオアニソールのパラ位水素交換を $\text{CH}_3\text{COOD}-\text{D}_2\text{SO}_4$ 中で比較すると、ベンゼンあるいはアニソールの反応性に比べ、チオアニソールの反応性は異常に高い。これは σ 錯体が S 原子によって安定化されるためであろう¹⁵⁾。

一方、環に N を含むヘテロ環芳香族化合物、たとえばピリジン系化合物のように一般の求電子反応に不活性な分子は重水素化もきわめて困難で、 NH_2 , OH 基などの導入により求電子反応活性が高まり、水素交換も可能となる。ナフタレンは 5% D_2SO_4 含有 CH_3COOD 中で $70\sim 100^\circ\text{C}$ に加熱すれば、まず、 α 位水素ついで β 位水素が ^2H 標識される¹⁶⁾。一方、キノリンはこの求電子的重水素交換反応には抵抗し、90%以上の D_2SO_4 中で $200\sim 260^\circ\text{C}$ に加熱して始めて、8 位、6 位、5 位、ついで 3 位、7 位の順に ^2H 標識され、4 位は条件をさらに強めても ^2H 標識されない。イソキノリン⁸⁾の結果を合わせて反応式で図 6 に示した。

このような求電子的水素交換反応は、おそらくニトロ化反応と同様に Wheland の σ 錯体形成が律速段階であろうと推定される。したがって、各位置における σ 錯体の局在化エネルギーを計算することにより、反応位置の順序は推定できる。その 1 例として、ジチニルのブロム化反応、重水素化反応および MO 計算の結果を対比した結果¹⁷⁾、3 者は比較的良好な一致を示し、求電子的水素交換反応が σ 錯体を経由して進行することを示している。

つぎに 2 位あるいは 4 位に NH_2 , OH を有するピリジン、キノリンの例を図 7 に示した。酸濃度あるいは反応温度は化合物により異なるが、いずれの場合も 3 位および 5 位が活性化されている⁸⁾。

核酸構成成分であるウリジンあるいはシチジン誘導体の 5 位も、この求電子的水素交換法により ^2H 標識される。すなわち、ウリジンの 0.1N DCl 溶液を $50\sim 60^\circ\text{C}$ に加熱することにより $5\text{-}^2\text{H}$ 化が進行する。シチジンはさらに強い条件、たとえば 60% D_2SO_4 と加熱すると、脱アミノ化を伴って $5\text{-}^2\text{H}$ 化される。ウリジンの場合、pH 2 付近から $\text{H}_0\text{-}2$ 付近の酸濃度範囲では、速度は直線的に増大し、 $\text{p}K_{\text{a}1}$ 付近で折れ曲り、さらに酸濃度が上昇すると、その速度は減少するプロ

図 6 キノリン、イソキノリンの ^2H 標識の例

図 7 2 位あるいは 4 位に NH_2 , OH を有するピリジンの例

フィルを示す¹⁸⁾。

一般に 5 員環化合物は求電子活性が高く、たとえばピロールは pH 1 の DCl 性重水溶液中、室温で環水素

図8 ツベルシジンおよびQの例

図9 シトシンの5位²H化

表6 ウリジン類の5位水素交換速度

化 合 物	$t_{1/2}$	相対速度
2',3'-O-isopropylidene uridine	2.84	67
5'-Deoxy-2',3'-O-isopropylidene uridine	∞	0
1-Methyluracil	∞	0
Uridine	192	1
2'-Deoxyuridine	178	1.1
5'-Deoxyuridine	∞	0
Arabinosyluracil	2.58	76
1-(3-Hydroxypropyl) uracil	31.4	6.1
5'-Deoxyarabinosyluracil	1.29	125

D.V. Santi and C.F. Brewer, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6236 (1968)

図10 分子内ジヒドロ体形成

がすべて重水素に交換することが報告されている⁸⁾。ただし pH>1.5 では交換は起こらず、pH<1 以下では分解を伴う。電子吸引性ヘテロ環と縮合したピロピリミジン類においても、同様の反応が進行する。たとえば t-RNA の微量成分である Q 塩基、あるいはヌクレオシド型抗生物質であるツベルシジン等も図8に示すように、5*N* DCl 重水溶液中80°C 1時間でβ位、ついでα位が²H 化される¹⁹⁾。

チオフェンも同様に69% D₂SO₄ に溶かし、30時間40°Cに加温するか、室温で70時間放置することにより、容易に環水素の交換が起こることが報告されている⁸⁾。

一般に脂肪族化合物中の水素は求電子機構では²H 標識されない。その機構から考えても当然のことである。

3・1・a・iii 付加体を經由する反応

すでに述べたような典型的な求核的あるいは求電子的水素交換の機構では理解できない水素交換反応が知られている。これらの反応の多くのものは、いったん溶媒分子あるいは共存する試薬分子が付加した状態で水素交換を起こすか、あるいは付加した分子が脱離するさいに交換が起こるかの機構によって理解できる。

たとえばシチジンは重水中で5位が²H 化されるが、pD 4.6のときに反応速度が極大となり、これより酸性または中性に近づけば速度は減少し、しかも液性を支配する緩衝液がカルボン酸緩衝液のときにとくに速く、しかも速度はカルボン酸塩の濃度に一次に比例することなどから、図9に示すような5,6-ジヒドロ体を經由して²H 化されるものと考えられる(この反応は同時に脱アミノ化が進行する)²⁰⁾。ウリジンの5位も同様の機構で²H 標識される。表6から明らかなように、5'-OH または 2'-OH が付加体形成に関与し、分子内での R-O⁻ 攻撃であるから、普通の溶媒和と異なり活性化エントロピーの減少が非常に小さく、したがって、ジヒドロ体形成はきわめて容易になるものと考えられる²¹⁾(図10)。ウリジンと1-メチルウラシルの

pH プロファイルは図11に示したように、各 pH でウリジンの速度が1-メチルウラシルのそれより約10倍速く、5'-OH の関与の様子が明らかである。また、ウリジンの pK_a 付近に変曲点を有し、それより高い pH ではその速度が変わらないことから、非解離分子が反応に関与していることを示している²²⁾。

図11 ウリジンと1-メチルウラシルの
pH-速度プロファイルの比較

図12 DNP の ^2H 標識

その後の研究により、亜硫酸イオンのように非常に安定な付加体 (5,6-ジヒドロ-6-スルホネート体) を与えるイオンの共存により、シチジン、ウリジンなどの5位 ^2H 化が中性付近の pH で、室温程度の条件下で進行することが明らかとなり²³⁾、さらに二官能触媒、たとえばシステインメチルエステル²³⁾、ジメチルアミノエチルメルカプタン²⁴⁾などの共存でより速く5位水素が交換することが判明し、また5,6-ジヒドロウリジンの水素交換反応速度と上記反応の交換速度の比較により付加体を形成することが、この反応の不可欠条件である²²⁾。ウリジル酸は光照射により水和体を与え、この中間体を重水溶液と放置後熱処理すると5-D体を与える²⁵⁾。また、DNP (ジホスホピリジンスクレオチド) も図12に示すような付加体を経由し ^2H 標識される²⁶⁾。

3.1.b 接触水素交換反応

イオン反応は、さきに述べたようにきわめて良好な選択性を有し、その化合物の構造に由来して、求核的あるいは求電子の水素交換反応が進行する。しかし以下に述べる金属触媒を用いる水素交換反応においては、イオン反応にみられる選択性はほとんどみられない。しかし、イオン反応ではラベルすることのできない位置を、比較的穏和な条件下で ^2H 化し得る利点を有し

ている。いい換えると、一度ラベルされた水素はイオン反応の条件下では交換されない。ここで述べる金属触媒とは主として第8族遷移金属 (Pt, Ni, Pd, Co, Rh, Ruなど) (heterogeneous catalyst) およびその錯塩 (homogeneous catalyst) を示す。重水素源として一般に使用されるのは、重水素 (D_2)、重水 (D_2O) およびある種の重水素化有機化合物などである。中でも取り扱いの点などで重水が汎用される。触媒の調製法は接触水素化反応と同様に前還元後使用する方法 (pre-reduced activation method)、および触媒たとえば PtO_2 と D_2O および交換しようとする有機物を封管中 130°C 以上に加熱して、水素交換しようとする有機物による還元的活性化の方法 (self activation method) の2方法がある。一般に水素交換には分子状水素は不用であるといわれていることから²⁷⁾、高温の反応には後者が、また、低温でかなり大量の触媒を用いるような反応には、十分真空脱水素した前者が有用である。ここでは有機化合物を便宜的に、①飽和脂肪族化合物、②不飽和脂肪族および芳香族化合物、③芳香族複素環化合物に分類してその反応例をあげ説明する。

3.1.b.i 飽和脂肪族化合物

アルカン類の部分 ^2H 化体は対応するアルケン、アルキン類の水素化あるいはハロゲンアルカン類の水素化脱ハロゲンなどによって得られる。

しかしポリ ^2H 化アルカン類は、金属触媒たとえば白金触媒と D_2O を 130°C 以上に加熱することにより得られる。この反応は π アルル錯体を中間体として進行すると仮定するとよく説明できる²⁸⁾。メチル置換シクロペンタンを同様に反応すると、メチル置換基の α 位第3級炭素上の水素を除いたすべての水素が ^2H 化される²⁹⁾。このようにイオン反応にはまったく不活性なアルカン類でさえも、かなり容易に、しかもある程度の選択性をもたせて ^2H 化できる。従来アミン類、とくにアルキルアミン類は強い触媒毒とされ、触媒の水素交換の例は少ない。しかし塩の型で反応に供することにより、Pt 触媒上 D_2O 中 100°C あるいはそれ以下の温度で ^2H 化できる。しかも分子内に強い吸着中心を有するため、その選択性は増大する³⁰⁾。

脂肪族アミン類の塩酸塩を D_2O 中 Pt 触媒上 30、

表7 第一アミン類の Adams 白金による H-D 交換

化 合 物	Deuteration %*					
	30°C			100°C		
	α -H	β -H	γ -H(その他)	α -H	β -H	γ -H(その他)
Ethylamine HCl	0	40		0	40	
Propylamine HCl	0	0	0	0	20	5
Isobutylamine HCl	0	0	0	0	10	0
Isopropylamine HCl	0	10		0	60	
Cyclohexylamine HCl	0	20	0	100	100	(100)
β -Alanine HCl	0	50		0	50	
α -Methylalanine HCl		50			100	
L-Alanine	0	50		40	100	
β -Methylalanine HCl	0	0	0	0	80	90
L-Alanine HCl	0	40				
L-Alanine, sodium	0	50				
L-Alanine, N-formyl	0	0	(formyl, 0)			
L-Alanine, N-acetyl	0	10	(acetyl, 50)			
DL-Alanyllalanine	0	50		20	80	
DL-Alanyllalanine	0	0		0	40	
L-Valine	0	0	0	20	100	90
L-Leucine	0	0	0(0)	0	70	70(80)
L-Isoleucine	0	0	0(0)	0	100	100(95)

* $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}'_\alpha-\text{CH}'_\beta-\text{CH}'_\gamma-$

表8 第三アミン類の Adams 白金による H-D 交換

化 合 物*	Deuteration %**									
	30°C					100°C				
	α -H			β -H	γ -H (その他)	α -H				
	CH	CH ₂	CH ₃			CH	CH ₂	CH ₃		
EtMe ₂ N HCl		0	0	0			70	0	0	
Et ₂ MeN HCl		20	0	0			60	0	0	
Et ₃ N HCl		30		0			30		0	
Me ₂ PrN HCl		0	0	0	0		50	20	0	0
MePr ₂ N HCl		10	0	0	0		20	0	20	0
Me ₂ iPrN HCl	90		0	0		100		0	0	
MeiPr ₂ N HCl	40		0	0						
Me-cyclohexylamine HCl	80		0	0	0(0)	100		50	0	0(0)

* Et: ethyl, Me: methyl, Pr: propyl, iPr: isopropyl

** $\text{N}(-\text{CH}'_\alpha-\text{CH}'_\beta-\text{CH}'_\gamma)_3$

100°Cで反応させると、第一アミンは表7に示すように α 位水素はまったく交換せず、 β 位以遠の水素のみが交換する。一方、第三アミン類においては表8に示すように、第一アミンとは逆に α 位水素に選択的に交

換が起こり、 β, γ 位水素はまったく交換しない。また、この場合 α 位水素の交換活性は、第三水素>第二水素>第一水素の順となる。

第二アミン類においては、第一アミンと第三アミン

表9 第二アミン類の Adams 白金による H-D 交換

化 合 物*	Deuteration %**					
	30°C			100°C		
	α -H			α -H		
	CH	CH ₂	CH ₃	β -H	γ -H (その他)	
EtMeNH HCl		0	0	30		
Et ₂ NH HCl		0		80		
MePrNH HCl		0	0	0	0	
MeiPrNH HCl	0		20	20		0
iPr ₂ NH HCl	20			0	100	50
Me-cyclohexylamine HCl	0		0	0	0(0)	100

* Et: ethyl, Me: methyl, Pr: propyl, iPr: isopropyl

** $\text{NH}(-\text{CH}'_{\alpha}-\text{CH}'_{\beta}-\text{CH}'_{\gamma})_3$

の反応性に立体的な因子が加わって、反応位置は表9に示すように種々変化する。さらに複雑な分子では、アミン基の性質と周囲の立体的要素が反応性を左右するようである。同様のことが脂肪族アミノ酸においてもみられ(表7)、通常はまったくラセミ化を伴わないで(すなわち α 位はまったく ^2H 化されない) β , γ , δ 位水素のみが ^2H 化される³⁰⁾。

アルキルアルコール類は吸着中心と考えられる酸素の吸着能がNに比べ小さく、上記条件下では交換しない。しかし、脱水素により対応するアルデヒドあるいはケトン体を経由して反応が進行する場合、たとえばイソプロピルアルコールの ^2H 標識は30°Cで容易かつ選択的に2- ^2H 体を与える。

3.1.b.ii アルケンおよび芳香族化合物

この種の化合物は、水素化反応の機構および水素交換反応の機構の両面から多くの検討がなされている。詳細な機構については省略する(他の成書を参考にされたい)²⁹⁾。置換ベンゼンの環水素交換は、置換基がアルキル基の場合、そのオルト位の反応性は非常に低下し、*m*-キシレンの2位のように2個のメチル基にはさまれた位置、*tert*-ブチル基や CF_3 基のオルト位もまったく反応しない³¹⁾。ハロゲンベンゼン類においては³²⁾、そのハロゲン原子の大きさとそのオルト位の水素交換活性は逆比例関係にある。アルキル置換基の交換はベンジル位が最も活性で、ついで末端C-Hが活

性である。また-OH, -NH₂などの置換基の場合には主としてそのオルト位が ^2H 化される^{33), 34)}。

3.1.b.iii 芳香族複素環化合物

ヘテロ環化合物においては、かなり選択性がみられる場合がある。ピリジン、キノリン、イソキノリン、チオフェンなどを種々の触媒を用いて ^2H 化を行うと^{35), 36)}、ヘテロ原子の α 位に選択的に ^2H 化が起こる場合(Co)と、やや選択性を有する場合(Ni, Ptなど)および比較的均等に ^2H 化が起こる(Pd)ことから、触媒の種類により、その吸着状態が異なるようである。核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド類において、プリン核の2位あるいはピリミジン核の6位水素は先に述べたイオンの方法では交換することができない。しかし金属触媒を用いることにより、低温でしかも容易に ^2H 標識できる³⁷⁾。すなわち、ヌクレオシドを重水中Pt上30°Cあるいは100°Cで40時間反応させると、図13に示すようにプリンヌクレオシドでは2,8-dideutero体を、ピリミジンヌクレオシドでは5,6-dideutero体を与える。このようにして生成したdideutero体は、先に述べたイオンの方法により、イオン反応に不活性な ^2H 標識体へ変換できる。

以上、金属触媒による水素交換反応を簡単に述べてきたが、この反応の応用的な例として、ジメチルシクロヘキサン、あるいはジメチルピペリジン類の異性化

図13 核酸塩基類の²H標識

図14 ジメチルピペリジンの異性化

反応は、立体化学的興味に加えて触媒の水素交換反応機構の観点からも非常に興味がある。たとえば *cis*-1,2-ジメチルシクロヘキサン、*cis*-1,6-ジメチルピペリジンの Pt 上での *trans* 体への異性化など、²H 化と合わせて興味深い現象の報告がなされている³⁹⁾ (図14)。

また金属錯塩 (PtCl₆, Ni(II) など) による水素交換反応の例もかなりみられる³⁹⁾。得られた結果は不均一系とはほぼ同様であるが、機構面の検討、とくに反応速度解析を行うのにきわめて有用である。

3.2 水素交換反応以外の方法による²H標識法

一般の化学反応を組み合わせ、水素の移動を伴う適当な²H源を用いることにより²H標識できる。詳細は省略するので2で述べた分類に従った反応例は文献⁴⁰⁾を参照されたい。

適当な²H標識前駆体より出発して、適当な化学反応を組み合わせることにより、目的とする標識化合物を得ることができる。つぎのような例もある⁴¹⁾。

4. ²H標識化合物合成に関する一般的注意事項

化学反応において水素の交換、付加、脱離を伴うものはきわめて多く、何らかの型で水素の関与する化学結合の切断、結合生成を伴う反応は一般的である。したがって、²H化合物合成は目的に即した反応を広く一般の化学反応、合成化学の知識から求めて行う必要がある。つぎにいくつかの注意事項を述べる。

- ① 活性水素を含む標識化合物合成の最終段階では、活性水素を含む溶媒で置換する。
- ② 酸、アルカリで容易に交換可能な標識体はそれ以後の操作に十分な注意が必要。
- ③ 共存する塩などにより水素交換が促進される場合があるので注意を要する。
- ④ 生成物の標識位置の確認は合成経路から推定するだけでなく、得られた化合物の NMR, MS, IR などのデータを総合して確認することが望ましい。

5. おわりに

これまでに²H標識法の一般的な原理について概説したが、実際の実験法については記載できなかった。²H標識化合物を合成するさいに、ここで述べた原理をもとに、目的化合物の化学的、物理的性質を十分把握して行えば容易に得ることができるであろう。また、多くの参考書が出版されており^{7), 8), 40), 42) ~ 45)}、それらも合わせて参考にしていきたい。

また、¹³C, ¹⁵N, ¹⁸O 標識化合物合成にはまったく触れなかったが、標識化合物あるいは前駆物質をかなり安価に入手できる。しかもその数も、¹³C が約250種、¹⁵N 100種、¹⁸O 3種と豊富であり、目的とする化合物の合成法に従って標識前駆物質より合成可能である⁴⁵⁾。

文 献

- 1) D.J. Cram: "Fundamentals of Carbanion Chemistry", p. 12, Academic Press, New York (1965)
- 2) K.F. Bonhoeffer, et al.: *J. Chem. Phys.*, **7**,

- 664 (1939)
- 3) a) L.R. Slauch and E. Bergman: *J. Org. Chem.*, **26**, 3158 (1961)
b) S. Oae, et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 5036 (1961)
c) S. Oae, et al.: *Tetrahedron*, **20**, 427 (1964)
 - 4) Y. Kawazoe, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1225 (1967)
 - 5) E.A. Yakovleva, et al.: *Tetrahedron Lett.*, 4161 (1966)
 - 6) A. Streitwieser, Jr. and D.R. Talor: *Chem. Commun.*, 1248 (1970)
 - 7) A.F. Thomas: "Deuterium Labeling in Organic Chemistry", Appleton-Century-Crafts, New York (1971)
 - 8) 川添 豊, 前田満和: 異項環化合物の水素交換反応 (化学の領域増刊92号), 南江堂 (1970); 川添 豊, 前田満和: 重水素標識化合物 (同上増刊102号), 南江堂 (1975)
 - 9) P. Beak and E.M. Monroe: *J. Org. Chem.*, **34**, 589 (1969)
 - 10) R.A. Olofson and J.M. Landesberg: *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 4263 (1969)
 - 11) 大饗 茂: 「有機イオウ化合物の化学(上, 下)」, 化学同人, 京都 (1968)
 - 12) G. Guroff, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **24**, 720 (1966)
 - 13) M. Maeda, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 1641 (1971)
 - 14) V. Gold and D.P.N. Sackell: *J. Chem. Soc.*, 2743 (1954)
 - 15) S. Oae, et al.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **35**, 681 (1962)
 - 16) Y. Kawazoe, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 381 (1970)
 - 17) R.M. Kellogg, et al.: *J. Org. Chem.*, **34**, 343 (1969)
 - 18) M. Maeda, and Y. Kawazoe: Unpublished data
 - 19) M. Maeda: Unpublished data
 - 20) R. Shapiro and R.S. Klein: *Biochemistry*, **6**, 3576 (1967)
 - 21) D.V. Santi and C.F. Brewer: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6236 (1968)
 - 22) M. Maeda and Y. Kawazoe: Unpublished data
 - 23) H. Hayatsu: *Prog. Nucleic Acid Res. & Mol. Biol.*, **16**, 75 (1976)
 - 24) S.R. Heller: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **32**, 998 (1968)
 - 25) R.W. Chambers: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 2192 (1968)
 - 26) A.S. Pietro: *J. Biol. Chem.*, **217**, 579 (1955)
 - 27) a) S.D. Mellor and P.B. Wells: *Trans. Faraday Soc.*, **65**, 1873 (1969)
b) F.G. Gault, et al.: *J. Catalysis*, **1**, 255 (1963)
 - 28) 三井生喜雄: 「接触還元反応(上, 下)」, 化学同人, 京都 (1970)
 - 29) J.J. Rooney and G. Webb: *J. Catalysis*, **3**, 48 (1964)
 - 30) M. Maeda, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 3329 (1977)
 - 31) a) J.L. Garnett and W.A. Sollich-Baumgartner: *J. Catalysis*, **3**, 488 (1963)
b) J.L. Garnett and W.A. Sollich-Baumgartner: *ibid.*, **5**, 244 (1966)
 - 32) J.L. Garnett and W.A. Sollich-Baumgartner: *Aust. J. Chem.*, **14**, 441 (1961)
 - 33) W.M. Lauer and L.A. Errede: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5162 (1954)
 - 34) J.L. Garnett, et al.: *Tetrahedron Lett.*, 516 (1961)
 - 35) G.E. Calf and J.L. Garnett: *Chem. Commun.*, 306 (1967)
 - 36) W.G. Brown, et al.: *ibid.*, 1066 (1967)
 - 37) M. Maeda and Y. Kawazoe: *Tetrahedron Lett.*, 1643 (1975)
 - 38) Y. Kawazoe, et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 429 (1971)
 - 39) a) J.L. Garnett, et al.: *Aust. J. Chem.*, **27**, 1823 (1974)
b) J.L. Garnett and J.C. West: *J. Phys. Chem.*, **78**, 984 (1974)
 - 40) 麻生芳郎, 他編: 「安定同位体のライフサイエンスへの応用」, 講談社サイエンティフィク, 東京 (1981)
 - 41) T. Sugiyama and T. Hashizume: *Nucleic Acid Symposium Series*, No. 11, p. 61 (1982)
 - 42) A.I. Shatenstein: "Isotopic Exchange and Replacement of Hydrogen in Organic Compounds",

- Consultants Bureau (1962)
- 43) A. Murry and D.L. Williams: "Organic Synthesis with Isotopes, Part II", Wiley-Interscience (1958)
- 44) J.F. Thomson: "Biological Effects of Deuterium", Pergamon Press (1963)
- 45) 日本化学会編:「新実験化学講座」, 11 卷, p. 265, 丸善 (1976)
-