金属触媒を用いた細胞内有機化学反応

小 椋 章 弘

Metal-catalyzed Organic Reaction in Live Cell

Akihiro Ogura

Metal-catalyzed organic reactions in live cell have been reported over the last decade, which also enabled imaging of the cell. These examples include removal of Alloc group, reduction of azide group and intermolecular cross-coupling.

Sharpless による銅触媒 Huisgen 環化反応の開発を皮切りに、タンパク質、そして細胞表層での化学反応が多数開発され、ケミカルバイオロジーの発展に寄与してきた。細胞機能解明に向けた次なる挑戦は、細胞「内」で分子、更には官能基選択的な有機化学反応を行うことである。細胞内で金属触媒反応を行う際に克服すべき点として(1)基質及び触媒が細胞内に効率的に取り込まれる必要がある、(2)大量に存在する水や金属イオン、システイン残基等で触媒が失活してはならない、(3)基質の代謝・分解より早く触媒反応が進行する必要がある、(4)基質、触媒及び生成物が細胞本来の機能を阻害してはならない。最近になって金属触媒による細胞内有機化学反応を達成した例が報告されている¹⁾ので本稿で概説したい。

脱保護反応

初の細胞内金属触媒反応は、ルテニウム触媒によるアリルカーバマートの切断である。Meggers は、HeLa 細胞に **1** を取り込ませた後、一度緩衝液で洗浄し、続いて触媒量のルテニウムを作用させた(スキーム 1)²⁾。すると細胞内に取り込まれたルテニウム触媒が、細胞毒性を示すことなく脱保護を行い、ローダミン **2** が生じた。この際、細胞内に存在するグルタチオンがアリルカチオンを捕捉する求核剤として機能するが、生来の量では不十分であったため、チオフェノールを添加している。生成した **2** は原料と比べて非常に強い蛍光を示すため、「スイッチオン」型の蛍光イメージングが可能である。また、Meggers は光で活性化可能なルテニウム触媒 **3** を用いることで紫外線依存的に細胞内反応を行っている³⁾。

一方 Song, Peng は、塩化パラジウムと PEG400 を還

Scheme 1 Ruthenium-catalyzed removal of Alloc group.

元剤として用い、HeLa 細胞内でシアニン誘導体 **4** のアリルカーバマートの切断を行った(スキーム 2)⁴⁾。この場合は、チオフェノールを添加せずに反応が進行する。生成する **5** は近赤外領域に蛍光波長を持つことから、動物を用いたイメージングに応用することができる。マウスの皮下に基質、1 当量の触媒、PEG400 を混合し注射することにより、生きている動物内で金属触媒反応を達成している。細胞内での蛍光基の脱保護反応は、細胞内微量金属の探知を目的に特に盛んに研究されている⁵⁾。

Scheme 2 Palladium-catalyzed removal of Alloc group.

還元反応

Meggers は、鉄-ポルフィリン錯体を用いて HeLa 細胞内でアジドの還元を行った(スキーム 3)⁶⁾。アジド **6** を取り込ませた HeLa 細胞に 5 mol% の鉄触媒を作用させることで、円滑に還元反応が進行しローダミン **2** が生成した。しかし、本反応を線虫やゼブラフィッシュで試みたところ触媒を添加しなくとも還元が進行してしまい、生体への応用には課題が残った。

Scheme 3 Iron-catalyzed reduction of azide.

芳香環合成反応

Song は、**7** を取り込ませた HeLa 細胞に金触媒を作用させることで、フェナントリジン **8** の合成を行った(スキーム 4)⁷⁾。原料の **7** ではアニリン部位から下部 Bodipy ユニットへの光誘起電子移動があるため蛍光を

発しないが、金触媒の作用によりフェナントリジンへ変換されることで蛍光を発するようになる。

Scheme 4 Gold-catalyzed phenanthridine synthesis.

クロスカップリング反応

遷移金属触媒によるクロスカップリング反応は分子骨格の形成を一挙に行うことができ、細胞内で行うに魅力的な反応である。Bradley は、パラジウムナノパーティクルを取り込ませた HeLa 細胞内で、アリールトリフラート 9 とアリールボロン酸ピナコールエステル 10 の鈴木-宮浦反応を実現した(スキーム 5)⁸⁾。生成したローダミン 11 は、脂溶性でありながら正に帯電したトリフェニルホスフィニウムカチオン部位を有していることからミトコンドリアに効率的に集積し、ミトコンドリアの時空間的蛍光イメージングを行うことができた。

Scheme 5 Palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura coupling.

Lin は、大腸菌にホモプロパルギルグリシンを含むユビキチン 12 を発現させ、ヨウ化アリール 13 とパラジウム触媒により銅フリーの菌頭カップリングを行った(スキーム 6)⁹⁾。本反応は、ユビキチンに対し大過剰量の試薬と触媒を添加する必要があるものの、試薬と触媒を予め混合し酸化的付加を実施してから加えることで、細胞毒性を抑えることに成功している。未反応のパラジウムがタンパク質に非特異的に結合することで触媒能を失ったり、毒性を示したりすることが示唆される。

Scheme 6 Copper-free Sonogashira coupling.

Chen は、アルキン部位を有する GFP 15 を大腸菌に発現させ、同様に蛍光基 16 との銅フリーの菌頭カップリングを行った(スキーム 7)¹⁰⁾。この時、硝酸パラジウ

ムを触媒として用いることで、触媒の膜透過性が著しく向上し、触媒量を 2 当量まで減少させ室温で反応を行うことができた。Chen は、更に赤痢菌内でアルキン部位を組み込んだ微量タンパク質の OspF に菌頭カップリングを行い、他の多量のタンパク質のなかから標的のみを選択的に蛍光標識することに成功した。

Scheme 7 Copper-free Sonogashira coupling.

おわりに

今回紹介した反応はいずれも「検出」に主眼をおいたケミカルバイオロジー的発想によるものであったが、今後は溝呂木-Heck 反応などのモードの異なる炭素-炭素結合生成反応も細胞内に適用されていくであろう。特に、多くの生体分子に満たされた細胞内は不斉場として魅力的な環境であり、細胞を用いた不斉反応の開発が期待される。また、金属触媒と生来の酵素による多段階触媒反応も可能であると考えられ、生細胞内、更には生きている生物内での天然物合成も発展していくであろう。さらに、目的の生物活性分子を目的の細胞内でのみ合成することが可能となれば「究極のドラッグデリバリーシステム」となり得る。今後の本分野の展開に期待したい。

文 献

- 1) P. K. Sasmal, C. N. Streu, E. Meggers, *Chem. Commun.*, **49**, 1581 (2013)
- 2) C. Streu, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 5645 (2006)
- 3) P. K. Sasmal, S. Carregal-Romero, W. J. Parak, E. Meggers, *Organometallics*, **31**, 5968 (2012)
- 4) J. Wang, F. Song, J. Wang, X. Peng, *Analyst*, **138**, 3667 (2013)
- 5) for recent examples see: (a) H. Chen, W. Lin, L. Yuan, *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 1938 (2013); (b) M. Enrullahoglu, E. Karakuş, M. Üçüncü, *Analyst*, **138**, 3638 (2013)
- 6) P. K. Sasmal, S. Carregal-Romero, A. A. Han, C. N. Streu, Z. Lin, K. Namikawa, S. L. Elliott, R. W. Köster, W. J. Parak, E. Meggers, *ChemBioChem*, **13**, 1116 (2012)
- 7) J.-B. Wang, Q.-Q. Wu, Y.-Z. Min, Y.-Z. Liu, Q.-H. Song, *Chem. Commun.*, **48**, 744 (2012)
- 8) R. M. Yusop, A. Unciti-Broceta, E. M. V. Johansson, R. M. Sánchez-Martin, M. Bradley, *Nat. Chem.*, **3**, 239 (2011)
- 9) N. Li, R. K. V. Lim, S. Edwardraja, Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 15316 (2011)
- 10) J. Li, S. Lin, J. Wang, S. Jia, M. Yang, Z. Hao, X. Zhang, P. R. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 7330 (2013)

(2013 年 10 月 31 日受理)

小椋章弘 理化学研究所・特別研究員 博士(薬学)〔所属研究室長〕田中克典〔経歴〕2010 年より日本学術振興会特別研究員、2013 年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了(福山透教授)、同年より現職。〔研究テーマと抱負〕有機合成、生物有機化学、有機合成の力で生物現象を解明・制御したい。〔連絡先〕e-mail: akihiro.ogura@riken.jp