

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：13903

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22491

研究課題名(和文)フッ化硫黄テルフェニル及びフッ化硫黄BCPを基軸とする中分子不凍活性物質の設計

研究課題名(英文) Design of anti-freezing molecules based on fluoro-sulfur functionalized terphenyl and bicyclo(1.1.1)pentane skeletons

研究代表者

柴田 哲男 (Shibata, Norio)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40293302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：低分子有機分子で不凍タンパク質の不凍活性を実現させることを目的として、分子の立体障害のみでヘリックスを模倣するテルフェニルに水溶性構造を組み込んだ化合物を設計し合成を行った。2度のピアリール化によってパラ-テルフェニル骨格を合成した後、側鎖に水溶性のグアニジンを導入して設計した分子を合成した。得られた化合物を評価した結果、不凍作用を示すことがわかった。同様の概念により、フッ化硫黄官能基であるテトラフルオロスルファニル構造と芳香族とアルキンの3ユニットを組み込んだ分子を設計し、合成することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不凍分子は幅広い産業へ応用が期待されている。しかし現実にはその源を天然物に頼らざるを得ないため入手に問題であり、その利用は極めて限定されている。そのため人工不凍作用物質の開発が望まれている。本研究成果は、遅々として進まなかった人工不凍分子開発の足がかりとなるものである。小分子でもヘリックス構造と水溶性構造があれば、不凍作用を示す可能性を初めて明らかにしたことにより、今後の開発に拍車がかかると予測される。

研究成果の概要(英文)：The anti-freezing molecules have gained much attention in the fields of food, cosmetic and medical sciences. They are generally found in nature, but artificial anti-freezing molecules are scarce. We herein attempted the design and synthesized of small organic compounds having anti-freezing activity. Our idea bases on the mimics of the α -helix structure by molecular steric hindrance without hydrogen bonding. Thus two types of anti-freezing molecules having a 3D- α -helix skeleton were designed, such as terphenyl compounds and aryl-tetrafluorosulfanyl-alkenyl compounds. First, terphenyl compounds introducing water-soluble guanidine into the side chain were synthesized via multi-steps including, twice biarylation reactions. Excitingly, the compounds synthesized exhibited antifreeze activity. We also successfully synthesized molecules incorporating a tetrafluorosulfanyl structure with a sulfur fluoride functional group and three units of aromatics and alkynes.

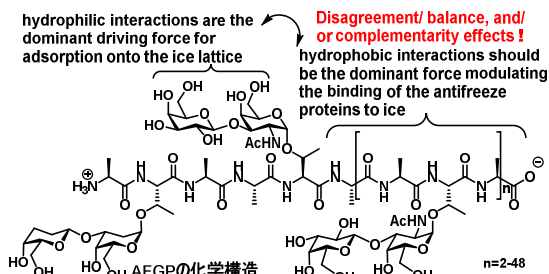
研究分野：有機フッ素化学

キーワード：ヘリックス テルフェニル 不凍活性 糖 ピアリール化 テトラフルオロスルファニル フッ素 グアニジン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

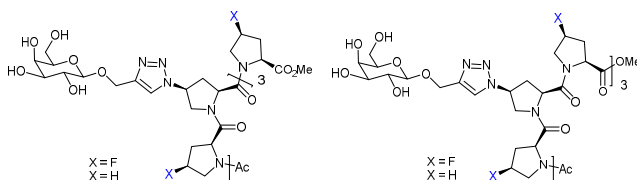
1. 研究開始当初の背景

不凍糖タンパク質 (antifreeze glycoprotein (AFGP)) とは、南極海の魚の血液中から始めて単離した特殊な糖タンパク質であり、化学構造は分子量 2.6-33kDa の糖とアミノ酸の繰り返し構造から成る複合体である。AFGP は、わずか数 mg/mL という低濃度で不凍作用を発揮する。極地の魚類に多くみられる他、昆虫や植物でも確認されるなど、数種類存在することが知られている。AFGP の不凍作用機構は、AFGP が氷結晶の特定の表面に強く吸着し、結晶の熱的安定性を下げて氷の成長を抑制するものであることが明らかにされている。しかし、最近の研究では別の作用機構も報告され、真のメカニズムは不明である。不凍タンパク質は、医療、食品、美容など幅広い分野で使用されているが、不凍タンパクの供給は魚類や植物などから抽出してくる手法しかなく効率が悪い。不凍タンパク質を有機合成する手法の開発が切望されている。AFGP の有機全合成や固相合成法も報告されているが、AFGP が巨大分子であるため、工程数や効率の面から実用的ではない。そこで、巨大構造の不凍タンパク質ではなく、低分子で不凍活性を示す物質を発見することが出来れば、当該分野の革命になると期待出来る。



2. 研究の目的

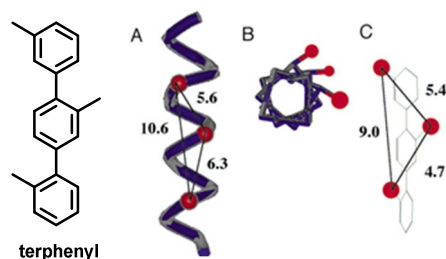
2018 年、我々は側鎖にフッ素と糖をつけたプロリンおよび含フッ素プロリンを連結させ 9 量体中分子が、不凍活性を示すことを見出した(柴田, 第 153 回自然に学ぶ研究事例, 極海に生きる魚に学ぶ不凍タンパク質の合成, 月刊ニュートン 掲載, Sumii, Shibata, et.al., Chem. Commun. 2018, 54, 9749)。そこで、今回、中分子ではなく、さらに低分子化した不凍活性物質を目指して研究課題に取り組むこととした。



3. 研究の方法

(1) テルフェニル分子

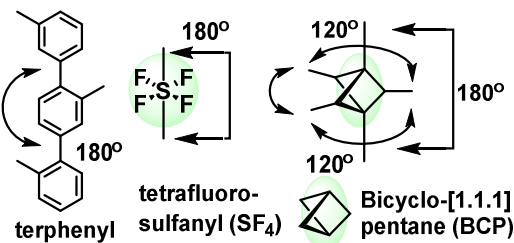
ペプチドのヘリックス形成は水素結合が駆動力であるため周囲の影響を受けやすい。ペプチドで機能を発現するためには巨大な構造が必要な要因はここにある。そこで影響を受けない、立体障害のみでヘリックスを形成するテルフェニルに着目した。この分子はベンゼン環側鎖の立体障害のみで制御出来るヘリックスである。2-3.ヘリックス構造創出には、ベンゼン環を直線で結合したテルフェニル分子やビスシクロペンタン (BCP) に、直線型のテトラフルオロスルファニル(SF₄)基を連結した構造を用いる。図はテルフェニル分子上の Me 基の位置とペプチドのヘリックスと比較したものである。3 点の Me 基の距離は実物より 10%程度短いだけで、ほぼ一致している。



この発想から、まずテルフェニル分子に水溶性構造を持つ分子の創製を行うこととした。テルフェニル分子自体が脂溶性を持つため、ペプチドヘリックスより分子長は短くなるが、疎水空間と親水空間が分散させることができると考えられる。

(2) フッ化硫黄分子および BCP 分子

テルフェニル分子のヘリックスは実際のペプチドより 10%程度短い。そこで、ベンゼン環の連結部に直軸構造のフッ化硫黄分子、即ち、テトラフルオロスルファニル基 (SF₄) を使用することで、分子の長さの微調整が可能となる。加えて SF₄ 部位の高い脂溶性と強力な電気吸引力が分子全体の双極子を大きく偏らせ、組み込んだ糖分子の水素結合能力を増大させることが可能である。

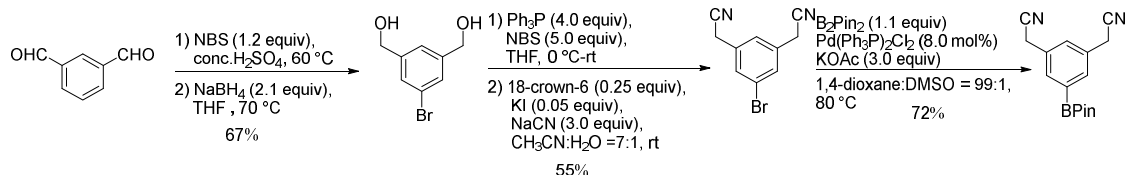


ビスシクロペンタン (BCP) 分子はパラ-フェニルの Bioisostere として研究されており、高い脂溶性に加え、側鎖を水平線上に配置出来る。SF₄ 基と同様に連結させヘリックス分子の側鎖配列制御を実現する。

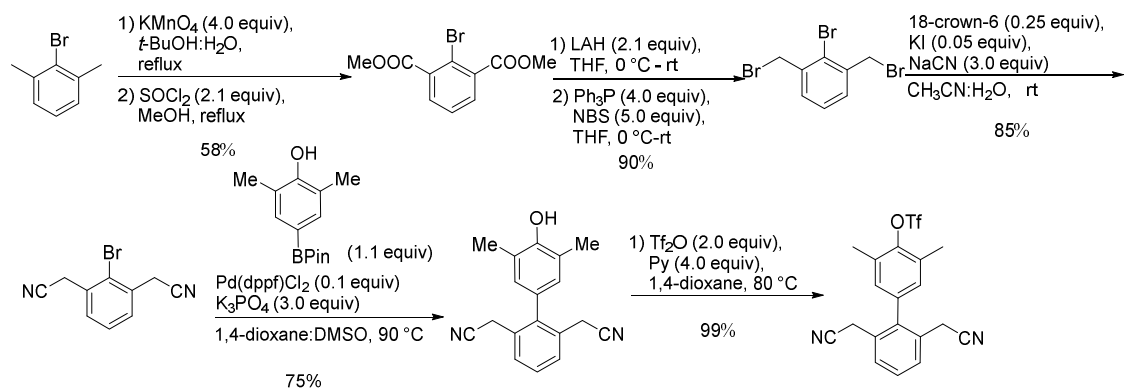
4. 研究成果

(1) テルフェニル分子の合成

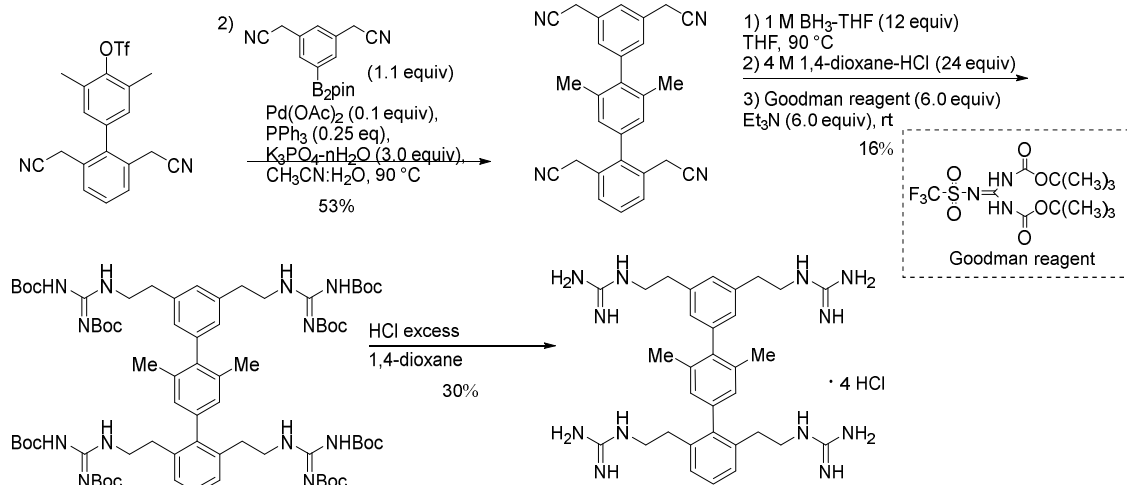
Isophthalaldehyde を加熱条件下、硫酸条件下でプロモ化後、アルデヒド部位を NaBH₄ で還元することで、2 工程収率 67% でジオールを得た。次いで、NBS を用いた Appel 反応でプロモ化した後、NaCN を用いたシアノ化を行い、2 工程収率 55% でジシアノ体を得た。最後にホウ素化を行うことで、収率 72% で BPin 体を得た。



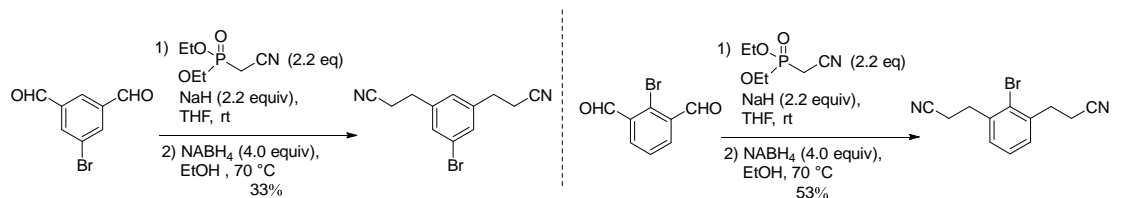
別途、2-bromo-1,3-dimethylbenzene を KMnO₄ で酸化し、得られたカルボン酸のメチルエステル化を行い 2 工程収率 58% でジエステルを得た。エステルを LiAlH₄ で還元した後、先と同様の手法でプロモ化を行い、2 工程収率 90% でトリプロモ体を得た。次いで、シアノ化を行った後、鈴木宮浦カップリングでホウ素化合物と反応させ、2 工程収率 64% でジフェニル体を得た。最後にトリフラート化することによって、収率 99% でもうひとつのユニットを合成した。



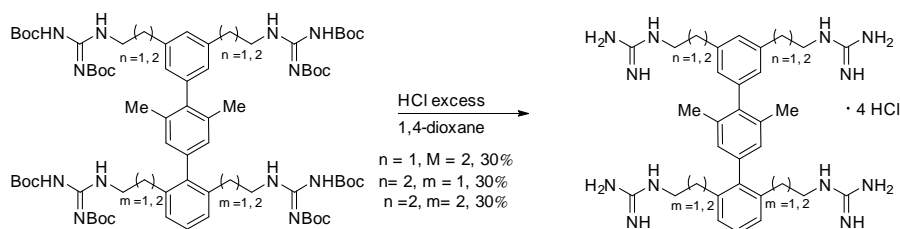
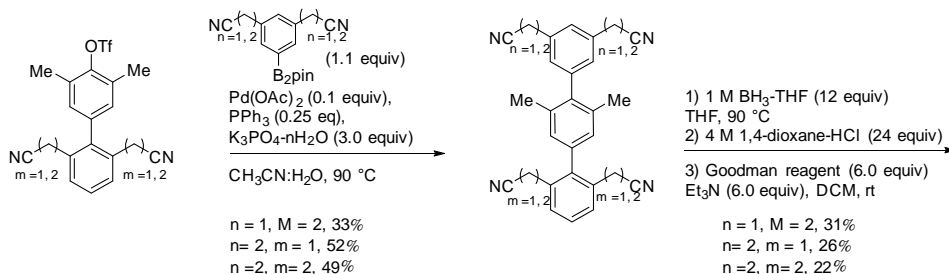
上記で合成したホウ素化合物とトリフラート体を用いて鈴木宮浦カップリングを行うことで、テルフェニル誘導体を収率 53% で得た。次いで、ニトリル基を還元しアミノ基に変換した後、Goodmans 試薬と反応させ Boc 保護されたグアニジル基を導入した化合物を収率 16% で得た。最後に、塩酸を用い Boc 基の脱保護を行うことで、目的化合物を収率 30% で合成した。



同様に炭素鎖数の異なる化合物を合成するために、炭素鎖数が異なるカップリングの原料の合成を行った。アルデヒドを Horner–Wadsworth–Emmons 反応と NaBH₄ を用いた還元を行うことで、炭素鎖が増炭された化合物を収率 33% で得た。同様の手法で、増炭された化合物を収率 53% で得た。

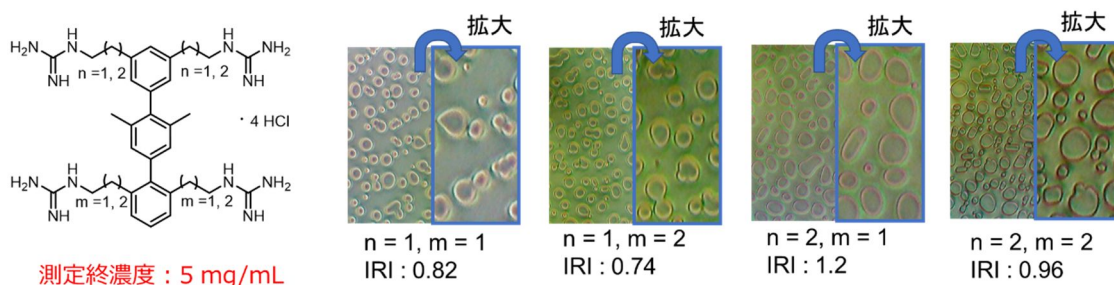


最後に上記 2 種を、鈴木宮浦カップリング、還元、グアニジル化、Boc 脱保護を行うことで炭素鎖の長さが異なる標的化合物を合成した。

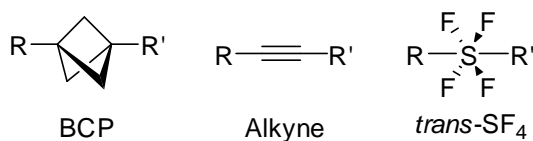


(2) テルフェニル分子の不凍活性

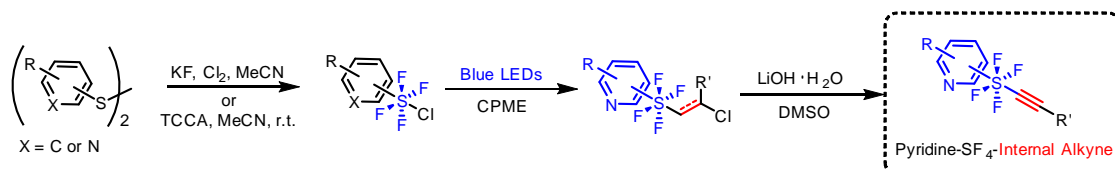
炭素鎖 ($n = 2, m = 2$) 及び ($n = 2, m = 1$) では、非添加時とほとんど差がなく、氷結晶の形に変化がほとんど観察できなかった。一方、炭素鎖 ($n = 1, m = 1$) 及び ($n = 1, m = 2$) では、それぞれ 0.82, 0.74 と、ますますの IRI 活性を示した。また、この時、長方形の氷結晶が観測されており、氷結晶の成長に影響を与えていることが示唆される。IRI の値は、炭素鎖の長さに関連があり、ヘリックス構造と IRI 活性に何らかの影響を与えているのではないかと考えている。



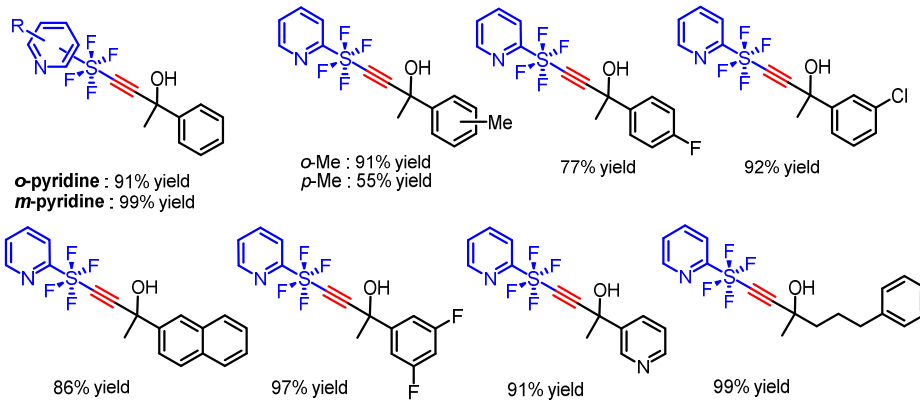
(3) フッ化硫黄分子の合成



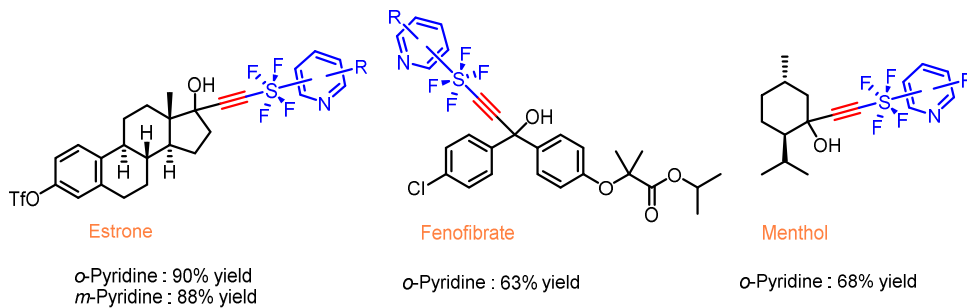
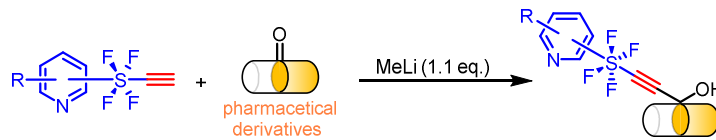
フッ化硫黄官能基 SF₄, アリキンおよび BCP はそれぞれ二つの分子を直列に連結することが出来、テルフェニル類のように摸倣ペプチドになる可能性が高い。そこでまず、SF₄-アリキン分子の合成に取りかかることとした。まず、ピリジンテトラフルオロスルファニルクロリドとアルキンの光 - カップリング反応で得た付加体を LiOH で処理し、アリール-SF₄-アルキンを合成した。



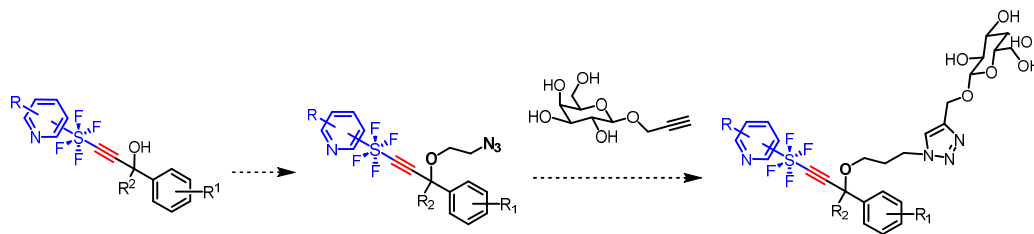
次にアリールケトンとの付加反応を検討した。種々塩基を検討した結果、リチウム塩基によってアルキン末端の脱プロトン化と付加が良好に進行することを見出し、アリール-SF₄-ヒドロキシメチル-アリール類を良好な収率で得ることに成功した。



この反応の一般性は高く、複雑な骨格を持つ医薬品分子とのカップリングも可能であることがわかった。



今後は、水酸基の箇所に糖鎖を導入し、不凍活性の測定を行っていく予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 住井裕司, 柴田哲男	4. 巻 66
2. 論文標題 フッ素化学を足がかりとする不凍作用物質の設計と合成	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 低温生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 65-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20585/cryobolcryotechnol.66.2_65	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuji Sumii, Hayata Hibino, Ibrayim Saidalimu, Norio Shibata
2. 発表標題 Design and Synthesis of the Antifreeze Glycopeptides Based on the Amphiphilicity
3. 学会等名 International Conference on Fluorine Chemistry '19 Himeji (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩澤健太, 住井裕司, 日比野隼太, 柴田哲男
2. 発表標題 不凍活性を有する含フッ素糖ペプチドの開発
3. 学会等名 第9回フッ素化学若手の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩澤健太, 住井裕司, 日比野隼太, 柴田哲男
2. 発表標題 含フッ素糖ペプチドの合成と不凍活性
3. 学会等名 日本油化学会第58回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴田哲男
2. 発表標題 フッ素化学を足がかりとする不凍活性物質の設計と合成
3. 学会等名 低温生物工学会第65回セミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩城 健太郎, 丸野 晃暉, 齋藤 記庸, 柴田哲男
2. 発表標題 ピリジントラフルオロスルファニルアルキンとカルボニル化合物との付加反応
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

柴田研究室ホームページ http://www.ach.nitech.ac.jp/~organic/shibata/index.html
--

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
研究協力者	住井 裕司 (sumii yuji) (10612848)	名古屋工業大学・大学院工学研究科・助教 (13903)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
スペイン	バレンシア大学			