

令和 4 年 5 月 14 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06980

研究課題名(和文) N-S結合及びN-N結合における立体化学の解明と機能性分子創出への応用

研究課題名(英文) Stereochemistry of N-S/N-N bond and its application to medicinal chemistry

研究代表者

高橋 秀依 (Takahashi, Hideyo)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号：10266348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：N-S結合及びN-N結合の立体化学について様々な化合物を用いて検討した。まず、スルホンアミドがアミドと同様に軸不斉を有することに着目し、この構造中のN-S結合の立体化学をX線結晶構造解析に基づいて検証し、N-S結合が二重結合性を有し、その平面性が軸不斉をもたらす原因であることを明らかにした。また、N-S結合を有する化合物としてチオセミカルバゾン構造に着目した。本化合物は、Menkes病治療薬として期待される銅錯体の配位子であり、N-N結合に平面性が生じることがX線結晶構造解析からわかった。さらに、新規な化合物として環状のS-S結合を有する環状化合物の合成にも成功しX線結晶構造解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スルホンアミドは医薬品の化学構造の中に多く含まれる。スルホンアミドはアミドと類似していると考えられるが、アミドはN-C-O結合の共鳴構造による平面性を有するのに対して、スルホンアミドにはそのような共鳴がなく、N-S結合の二重結合性が認められるのみである。アミドもスルホンアミドも平面性を持つために軸不斉が生じるが、構造上の特徴はそれぞれ異なることを明らかにした。この知見は今後の医薬品の分子設計や軸不斉研究に活用されるものである。また、Menkes病治療薬の候補化合物となる銅錯体について配位子として用いられるチオセミカルバゾンの立体構造の特徴を明らかにしたことも今後の錯体の分子設計に有用である。

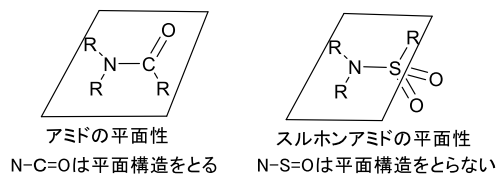
研究成果の概要(英文)：Stereochemistry of N-S/N-N bond found in various compounds was investigated. At first, sulfonamide moiety was examined based on X-ray crystal analysis. It was found that a double bond-like nature of N-S bond causes atropisomeric property. Next, planarity of semicarbazone moiety was also confirmed. Thiosemicarbazone derivatives are ligands of copper complex, which are promising drug candidate for Menkes disease. Furthermore, new cyclic compounds with S-S bond were synthesized and X-ray analysis of them was examined.

研究分野：医薬化学

キーワード：軸不斉 アミド スルホンアミド Menkes病 銅錯体

### 1. 研究開始当初の背景

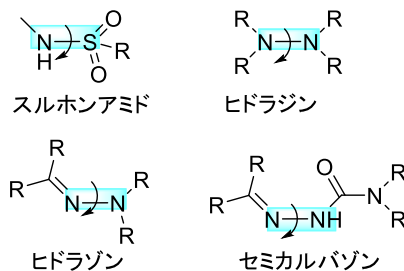
軸不斉については野依良治博士が創出した BINAP のようなビアリール構造がよく知られており、不斉触媒への応用がなされている。一方で、アミドについての軸不斉は現象としては理解されていたが、医薬品及びその候補化合物に存在するとは思われていなかった。しかし、アミドを含む生理活性物質が生体内の標的分子と相互作用する際、その C—N=O 結合が平面性を帯び、軸不斉が生じるのは事実である。私たちは、すでにアミド構造を含む多数の医薬品に軸不斉を表出させ、立体構造を制御することにより、生物活性の高い新規医薬品候補化合物を創出することに成功している。その過程でスルホンアミド構造に生じる軸不斉には、N—S=O 結合に共鳴構造が存在しないにもかかわらず、N—S 結合が二重結合性(平面性)を帯びることがわかった。スルホンアミドはアミドの類縁体とみなされており、軸不斉の存在もアミドと同様な共鳴構造に由来すると考えられていたが、そうではないことに興味を持ち、本研究に着手することにした。π電子が非局在化していない N—S 結合が平面性を示す理由は全く分からない。その他のヘテロ元素の単結合(N—N 結合)の平面性についても報告はされているが、その理由はやはり不明であり、詳細に検討する必要がある。



本研究の創薬への応用として検討するのが Menkes 病治療薬である。Menkes 病は ATP7A 遺伝子異常で、銅輸送蛋白である ATP7A が機能せず、重篤な銅欠乏障害を呈する X 染色体劣性遺伝性疾患である。日本での発症頻度調査では、約 1 人/13 万人男児出生の希少疾患である。治療法としては、脳への移行が良いとされるヒスチジン銅が皮下注射されている。しかし、本症では血液脳関門にもメンケス病態があるため、ヒスチジン銅を投与しても、血液脳関門を通過せず、中枢神経障害は改善しない。また、ヒスチジン銅は、ゴルジ体膜を通過せず、ゴルジ体内の銅欠乏も改善しないため、リシルオキシダーゼ、ドパミン-β-ヒドロキシラーゼなどの分泌銅酵素活性も改善しない。以上のように、現在、本疾患には有効な治療法がなく、メンケス病患者は難治性けいれんなどの重篤な中枢神経障害をきたし、多くは幼児期に死亡する。したがって、Menkes 病患者の治療薬となる新規銅錯体を早急に創出する必要がある。

### 2. 研究の目的

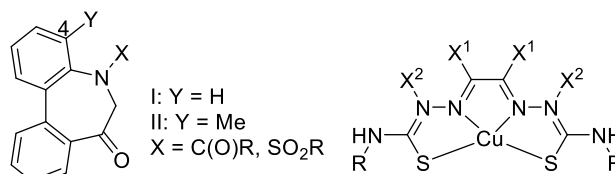
医薬品や生理活性物質の構造に含まれるスルホンアミド (N—S 結合)、ヒドラジン、ヒドラゾン、及び、セミカルバゾン (N—N 結合) などの二重結合性を明らかにする。アミドと比較することで、共通点や相違点を明らかにし、平面性が生じる理由を解明する。これらの構造的特性に由来する軸不斉や E/Z 異性を制御し、新たな医薬品候補化合物を創製する。



また、本研究を創薬へ応用すべく、Menkes 病治療薬の創出をめざす。本研究では N—S 結合及び N—N 結合を有し、本研究の検討対象であるチオセミカルバゾン誘導体を配位子として用い、銅イオンを主に脳へ送達し、脳内では銅イオンを解離する新規な銅錯体を分子設計・合成する。

### 3. 研究の方法

スルホンアミドとアミドの相違点を明らかにするために、ジベンゾアゼピノンの基本骨格とし、N-アシル化体(アミド)、N-スルホニル化体(スルホンアミド)を化学合成した。得られたアミド及びスルホンアミドについて温度可変 NMR (VT-NMR) や X 線結晶構造解析を行い、立体構造を明らかにした。軸不斉が生じた化合物についてはキラル HPLC により、エナンチオマーを分離・単離し、それぞれの軸不斉異性体の安定性を求めた。



ジベンゾアゼピノン誘導体

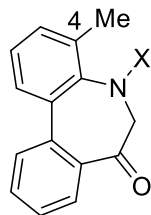
銅錯体

また、チオセミカルバゾン構造を有する化合物を化学合成し、その立体構造を NMR を用いて明らかにした。本化合物は、Menkes 病治療薬として期待される銅錯体の配位子であり、銅イオンとの錯体構造を形成した銅錯体について、X 線結晶構造解析やサイクリックボルタンメトリー測定を行い、立体構造を解析した。

#### 4. 研究成果

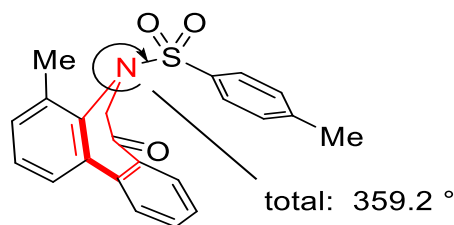
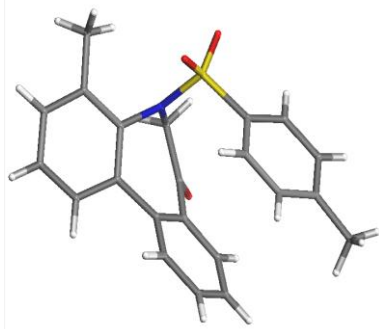
4位にメチル基を導入したジベンゾアゼ

ピノン誘導体では、アミドもスルホンアミドもエナンチオマーが単離され、安定性は116~132 kJ/molであった。室温でそれぞれのエナンチオマーが安定に存在することができることがわかった。しかし、各々の軸不斉異性体の安定性には差があり、総じてスルホンアミドの方がアミドより安定であることがわかった。



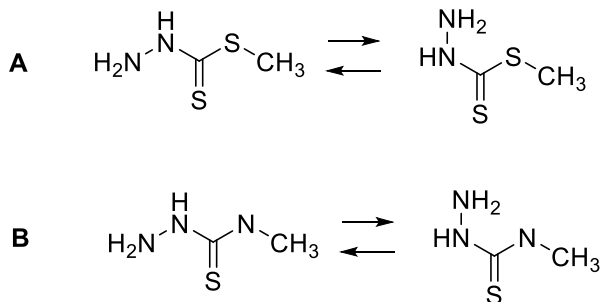
X	$\Delta G^\ddagger$ (kJ/mol)
CH <sub>3</sub> CO	—
CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO	—
CH <sub>3</sub> OCO	116.0
CF <sub>3</sub> CO	128.4
Mesyl	126.3
<i>p</i> -Tosyl	127.5
<i>o</i> -Nosyl	131.6
<i>p</i> -Nosyl	131.6

VT-NMRの結果から、アミドの*E/Z*異性体は単離されず、溶液中で平衡状態にあることがわかった。また、スルホンアミドには*E/Z*異性体は存在しないことが明らかになった。以上より、アミドと同様にスルホンアミドにも軸不斉異性体存在することがわかったが、その原因は異なることが示唆された。これに加えて、X線結晶構造解析により、スルホンアミドの立体構造を詳細に解析することができた。まず、スルホンアミドの2つのS=O結合は、どちらもN—S—Cが形成する平面とずれており、明らかに共鳴構造をとることができないことがわかった。



また、N-S結合の距離は、一般的なN-S結合よりも短く、N=S結合に近いことがわかった。さらに、スルホンアミドの窒素の結合角の合計は360°にかなり近く、窒素はsp<sup>2</sup>混成軌道に近い性質を持つことがわかった。これらの結果から、スルホンアミドはN—S結合のみが二重結合性を示し、それが平面性をもたらし、軸不斉の原因になったと考えられる。なぜ、N—S結合に二重結合性もたらされるのか、理由を今後解明する必要がある。

チオセミカルバジドの立体構造についても、NMR測定から興味深い結果が得られた。チオセミカルバジド誘導体Aでは、室温下、溶液中では*E/Z*異性体が観測された。*E/Z*異性体の安定性は低く、それぞれを単離することはできなかったが、N—C結合にはアミドと同様な共鳴構造が存在することが示唆された。これに対し、ウレア誘導体Bの場合も同様な共鳴構造が生じ、*E/Z*異性体が観測されると予測したが、全く観測されなかった。ヒドラジン構造が何らかの影響を与えるためではないかと考えているが、詳細はわからない。X線結晶構造解析の結果から、ヒドラジンのN—N結合は二重結合性が高いことがわかっており、これらの原因を明らかにすることが次の課題と考える。



以上の検討により合成されたチオセミカルバジンを配位子として二価の銅イオンと錯体構造を形成させ、銅錯体を得た。本銅錯体をMenkes病の病態マウスであるマクラマウスに反復静脈内投与し、脳内のドーパミンと代謝物ノルアドレナリンの濃度をLC-MS/MSにより比較した。本銅錯体によって脳内へ銅が送達されたなら、銅を使う酵素であるドーパミン-β-ヒドロキシラーゼの活性が高まり、ノルアドレナリンとドーパミンの濃度比が変化すると予想したが、残念ながら、対照マウスと比較して相違がなく、本銅錯体の投与によりマクラマウスのドーパミン-β-ヒドロキシラーゼの改善は認められないことが示唆された。

この他に新規な化合物として環状の S—S 結を有する環状化合物の合成にも成功し X 線結晶構造解析を行った。今後、この環状化合物の銅錯体化を試み、新たな Menkes 病治療薬を創出したいと考えている。

以上の成果は、医薬品の分子設計や軸不斉研究に活用されるものである。また、セミカルバゾンの立体構造の特徴を解明したことは、これを配位子に用いた銅錯体の分子設計への有益な情報となり、今後の Menkes 病治療薬創出へ応用されると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Otake, Chinatsu; Namba, Takuya; Tabata, Hidetsugu; Makino, Kosho; Hirano, Kiriko; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Kusumi, Takenori; Takahashi, Hideyo	4. 巻 86
2. 論文標題 Conformational Preference of 2-Fluoro-Substituted Acetophenone Derivatives Revealed by Through-Space 1H-19F and 13C-19F Spin-Spin Couplings	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 4638-4645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.joc.1c0051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tabata Hidetsugu, Funaki Kaoru, Tasaka Tomohiko, Oshitari Tetsuta, Takahashi Hideyo, Natsugari Hideaki	4. 巻 84
2. 論文標題 Elucidation of the Active Conformation of Antiproliferative Sulfonamides, 5N-Arylsulfonyl-1,5-benzodiazepin-2-ones	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 16338 ~ 16345
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.joc.9b02833	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 -
1. 著者名 Takahashi Hideyo, Araki Koji, Tabata Hidetsugu, Makino Kosho, Ujiie Ryohei, Sezaki Kohei, Nakayama Hiroshi, Oshitari Tetsuta, Natsugari Hideaki	4. 巻 98
2. 論文標題 Elucidation of The Conformational Properties of 3-Pyridinoyl Indoles as Intermediates of Cannabimimetics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 1423 ~ 1423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3987/com-19-14161	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 -
1. 著者名 Namba Takuya, Hotta Mayuno, Tabata Hidetsugu, Makino Kosho, Oshitari Tetsuta, Natsugari Hideaki, Takahashi Hideyo	4. 巻 86
2. 論文標題 Atropisomeric Properties of NAcyl/N-Sulfonyl 5H-Dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 7563 ~ 7578
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.joc.1c00594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀田まゆの、難波拓也、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 ジベンゾアゼピン誘導体の立体構造とその生物活性
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 フェンタニル誘導体の合成と構造活性相関
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中諒子、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 トリアゾロベンゾジアゼピン誘導体の合成と立体構造
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大竹千夏、難波拓也、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、楠見武徳、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 1H-19F、13C-19F through space couplingによる2'-fluoroacetophenone誘導体のコンホメーションの解明
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀田まゆの、難波拓也、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 Friedel-Craftsアシル化反応によるベンゾジアゼピン誘導体の合成と立体構造の解明
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 難波江絢奈、金瀬薫、田畑英嗣、牧野宏章、夏苺英昭、忍足鉄太、高橋秀依
2. 発表標題 4位置換5H-dibenz[b,f]azepineのN-Alkyl化体の立体構造の解明
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村悠輔、井上貴文、川上武昭、小林昌平、齋藤恭兵、合田ひとみ、児玉浩子、宗形光敏、高橋秀依、深水啓朗、山岸喜彰、工藤敏之、伊藤清美
2. 発表標題 メンケス病モデルマウスにおけるCuATSMの体内動態についての検討
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中諒子、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 1, 4-ベンゾジアゼピン誘導体の立体構造の解明
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北澤遥佳、菅野有香、明石大希、伊藤清美、高橋秀依、深水啓朗
2. 発表標題 メンケス病の治療に用いるCu-ATSM含有PLGAマイクロスフェアの調製と評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀田まゆの、難波拓也、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 ジベンゾアゼピン誘導体の合成と立体構造の解明
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 難波拓也、堀田まゆの、牧野宏章、田畑英嗣、田坂友彦、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 Friedel-Craftsアシル化反応によるジベンゾアゼピン誘導体の合成
3. 学会等名 有機合成化学協会関東支部談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中諒子、金瀬 薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 1, 4 -ベンゾジアゼピン誘導体の立体構造の解明
3. 学会等名 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 難波拓也、堀田まゆの、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 Friedel-Craftsアシル化反応によるジベンゾアゼピン誘導体の合成
3. 学会等名 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大竹千夏、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、伊藤清美、夏苺英昭、高橋秀依
2. 発表標題 ポノブラザン代謝物の合成および立体構造解析
3. 学会等名 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋秀依
2. 発表標題 埋もれたキラリティを探して
3. 学会等名 女性研究者シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 分担者	伊藤 清美  (Ito Kiyomi)  (60232435)	武蔵野大学・薬学部・教授    (32680)	

6. 研究組織（つづき）

	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 分 担 者	佐藤 恭弘  (Sato Yasuhiro)  (00750241)	帝京大学・医学部・助手    (32643)	

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