

18. 医薬品開発を目的としたラセン分子の合成・機能研究

山口 雅彦

東北大学 大学院薬学研究科 分子設計化学分野 教授

Key words : ヘリセンオリゴマー, ラセン有機分子, 逆熱応答, 二重ラセン形成

緒言

ラセンはタンパク質および核酸, 多糖などの生体分子に広く見られる基本構造であり, 右ラセンと左ラセンの鏡像体を生じる不斉構造である。アクチンやチューブリンフィラメントのように分子集合体レベルのラセン構造, 内耳の蝸牛やアサガオの蔓などの器官のラセン構造など物質階層を横断して普遍的に認められる。また, ラセン構造間の相互作用が生体機能に重要な役割を果たしている。従って, ラセン構造の化学合成分子は新規な生物活性物質あるいは医薬品として期待が持てるが, 系統的な研究が行われていない。ラセン構造の分子を精密かつ大量に合成する方法がなかったためである。我々はラセン構造の芳香族化合物であるヘリセンあるいはエクアトレンの大量合成法の開発をもとにして, 多様なキラル誘導体の合成と機能の研究を行ってきた。

ラセン不斉分子は, よく知られている中心不斉あるいは軸不斉分子と異なる性質を示す。例えば, 右ラセン二重鎖DNAは右ラセン化合物の方が左ラセン化合物よりも強く結合する(右右・左左則)。また, ヘリセンを連結したオリゴマーは外部環境によって二重ラセン・ランダムコイル間で相互変換を起こす^{1,2)}。いずれもラセン構造に特有の現象である。

これまでラセン化合物の研究は主に有機溶媒中で行ってきたが, 生物活性物質・医薬品開発のために生体物質と相互作用することを念頭において, 適度な水溶性を付与することを考案した。本研究ではラセン有機化合物に水溶性を付与することが引き起こす効果について, 化学的物物理的性質, 外部刺激応答性を検討した。具体的には水溶性ラセンオリゴマー分子を化学合成して分子機能スイッチを開発し, 新規なラセン生物活性化合物・医薬品開発の基礎を与えた。

方法および結果

1. 水溶性オリゴマーラセン化合物の合成と機能

ヘリセン小分子を連結したオリゴマーについて, 親水性基としてポリエチレングリコール部を導入した³⁾。水溶液中での二重ラセン・ランダムコイル構造変化を検討して, 溶媒と熱に対する分子応答を比較検討した。通常の有機化合物の非共有結合による会合反応では, 加熱によって解離し冷却によって会合する(順熱応答)。ところが, 今回の水溶性オリゴマーは水系溶媒中で加熱によって会合し冷却によって解離することを示した。このような化学合成分子はこれまでに知られておらず, この現象を逆熱応答と呼ぶことにした。

ポリエチレングリコール部を有するヘリセンオリゴマーの化学合成を行った(Figure 1)。これまでの方法によって合成したヘリセン4量体の両末端に3つのポリエチレングリコール置換芳香族エステルを結合した。生成物の構造はスペクトル法および元素分析によって確認した。

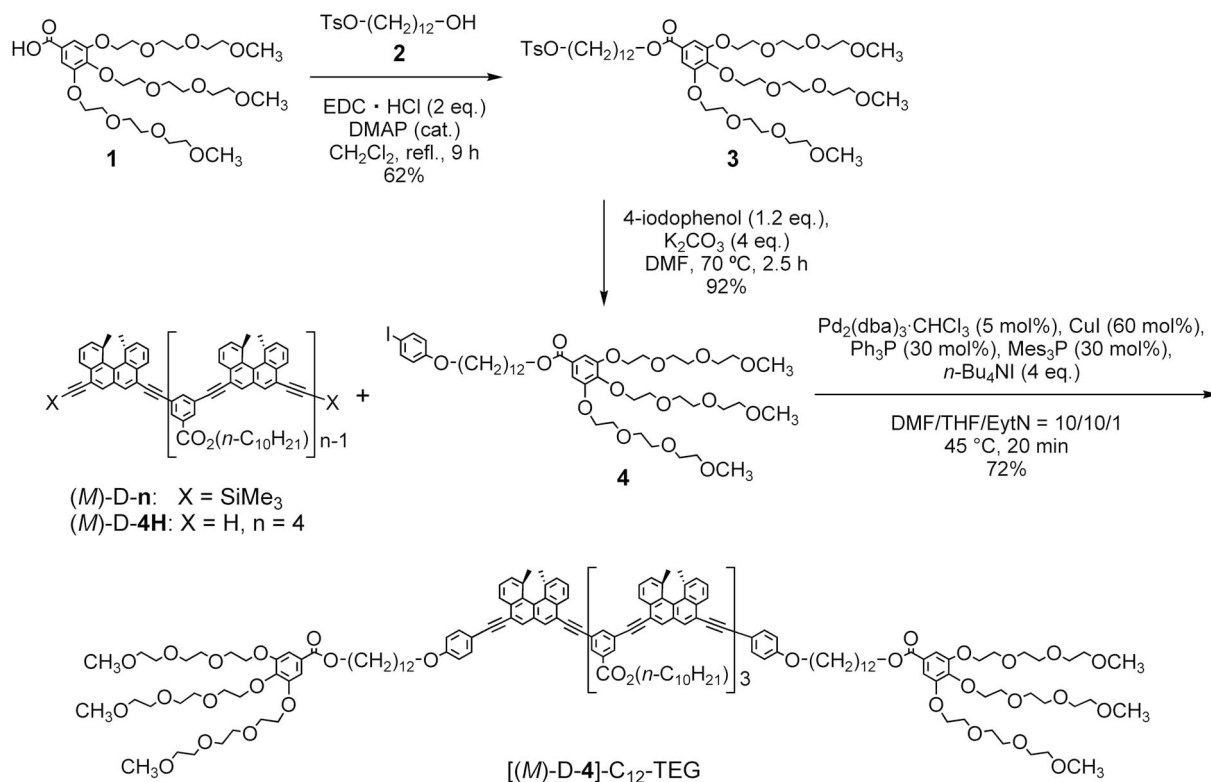


Fig. 1. Synthesis of water soluble helicene oligomer

この化合物は溶液中において二重ラセンを形成し、温度を変えることによって会合と解離を起こす。これはDNAとよく似た性質である。まず、有機溶媒中における熱応答を調べた。トリフルオロメチルベンゼン中では、加熱すると解離し冷却すると会合する順熱応答を示した (Figure 2)。これはCDで360 nmにおける強度変化を調べることで確認した。この構造変化は繰り返し起こすことができる。

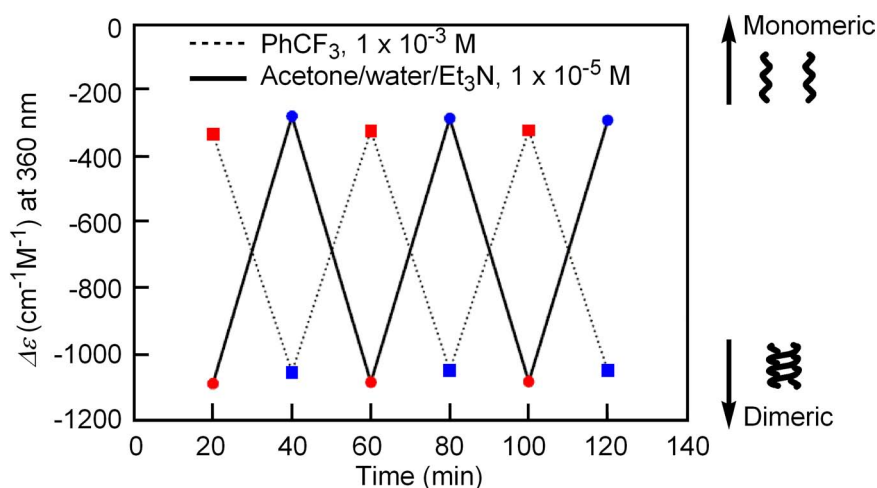


Fig. 2. Ordinary thermoresponse in trifluoromethylbenzene (dotted line) and inverse thermoresponse in acetone/water/triethylamine (solid line). Experiments conducted at low temperature (blue figure) and at high temperature (red figure).

ところで、加熱冷却実験をアセトン/水/トリエチルアミン (1:2:1) 混合溶媒中で行うと、加熱によってCD強度が増加し冷却によって減少する逆の現象、逆熱応答が見られた (Figure 2)。この条件で化合物は溶液中に分子レベルで分散しており、凝集体などを形成していないことを別途確認した。逆熱応答現象には水およびトリエチルアミンがいずれも必要で、アセトン中では順熱応答が見られる。ここで会合反応の熱力学的パラメーターについて、エンタルピー変化 ΔH とエントロピー変化 ΔS いずれも大きな正値を与えた。

分子の熱応答についての熱力学的な考察を行った (Figure 3)。会合反応についてみると、温度が低下すると分子運動が抑制されるので会合が起こりやすくなり、 ΔH は負となる。また、会合に伴って分子の自由度が低下するので、 ΔS も負となる。従って、自由エネルギー $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ と平衡定数 $\Delta G = -RT \ln K$ の関係から、 $R \ln K$ と T の関係は右下がりとなり、温度が上昇すると K が減少して解離反応が起こる。ところが逆熱応答においては ΔH と ΔS がいずれも正となり、常識と異なる結果を与えた。

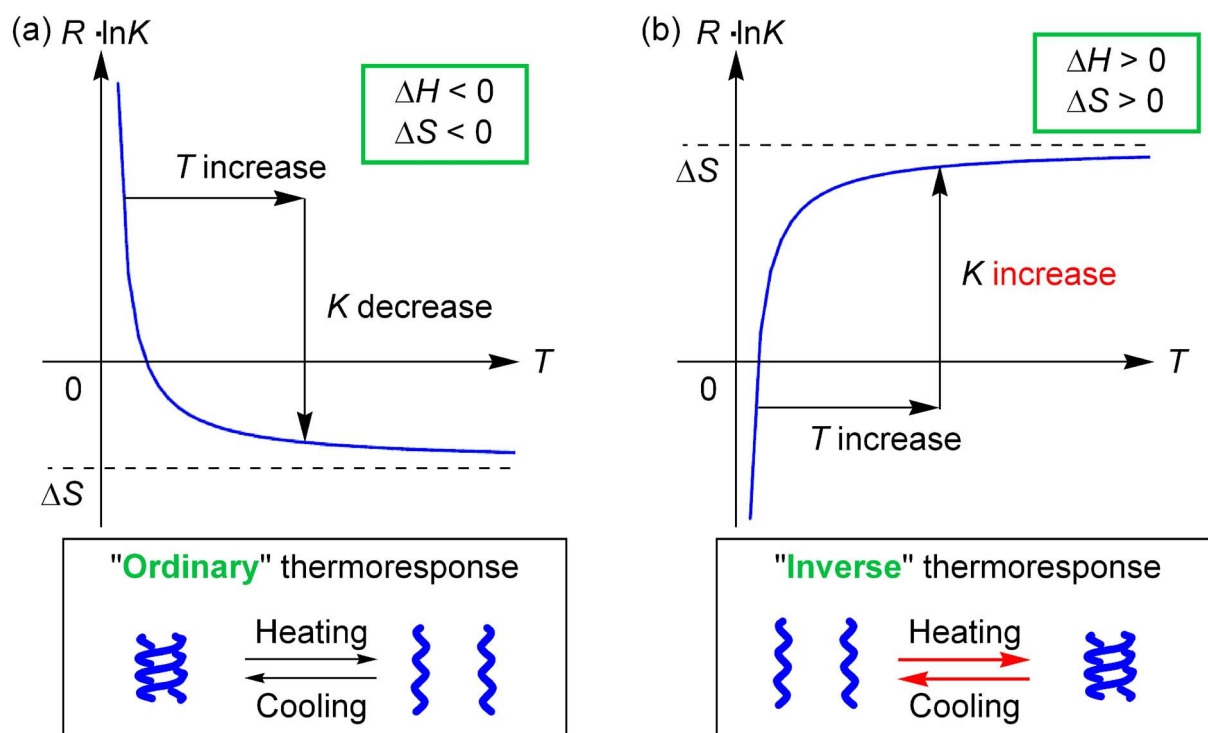


Fig. 3. Thermodynamic analysis of ordinary thermoresponse (a) and inverse thermoresponse (b).

以上を踏まえて、逆熱応答の分子機構について考察した (Figure 4)。一つの要因はポリエチレングリコール部が低温では親水性基として作用して水和しているが、高温では疎水性基として作用して水を排除する性質があるためと考えた。疎水相互作用は、疎水性基の近傍における水分子クラスター中で水分子が互いに強く結合するので、 ΔH の減少と ΔS の減少を伴う現象である。従って、上述の考察から会合に伴って負の ΔH と ΔS を与えることが説明できる。これがオリゴマー分子の会合における正の ΔH と ΔS を凌駕するわけである。しかし、ここでもう一つ問題が生じる。通常、疎水相互作用において、疎水性基は表面積をできるだけ小さくして ΔS の減少を最小限にとどめる方向に作用するので、多くの疎水性基が凝集する。ところが、これは分子レベルの現象である今回の実験結果とはあわない。トリエチルアミンと水の混合溶媒系は下限臨界溶液温度 (LCST) 現象を示し、低温では混合しているが、高温にすると二層に分離することが知られている。この境界温度領域では水中にトリエチルアミンのクラスターが生じているとされている。今回の逆熱応答においてこの疎水性クラスター領域にオリゴマーが取り込まれ、結果として π - π 相互作用による二重ラセン形成が起こると考えている。すなわち、今回の逆熱応答現象は希薄溶液中であるが、分子のみの挙動を考えるのではなく、分子と溶媒をあわせて考える必要のある化学反応系ということになる。これは水中で起こる生物現象においても重要な役割を果たしているものと考えられる。

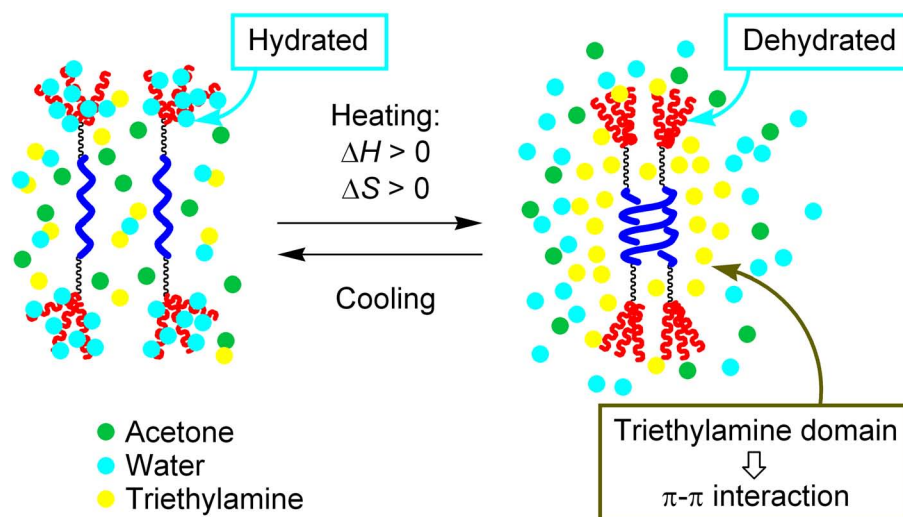


Fig. 4. Thermodynamic analysis of ordinary thermoresponse (a) and inverse thermoresponse (b).

なお、水溶性オリゴマーの研究に加えて、窒素原子を導入して水溶性を向上したヘリセン小分子の合成を検討した。

2. オリゴマーラセン化合物の合成と高次構造体形成

生体内でチューブリンタンパク質が二量化して重合し微小管を形成する反応は細胞分裂をはじめとして重要な生物機能に関わっている。これは化学的にも興味を持たれる現象で、理解して制御することによって新しい生物活性化合物の開発につながる。今回の研究の途中でヘリセンオリゴマーが溶液中で規則的に配列して液晶状態を生じること⁴⁾、容器表面で繊維状膜を形成すること⁵⁾を見出した。

共同研究者

本研究の共同研究者は、東北大学大学院薬学研究科分子変換化学分野の重野真徳講師および東北大学大学院薬学研究科分子設計化学分野の齋藤望助教である。

文献

- 1) Saito N, Shigeno M, Yamaguchi M. Structure and Property Diversity of Chiral Helicene Oligomers. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. 2015;pst 643:1-32. doi: 10.1002/0471440264.
- 2) Shigeno M, Kushida Y, Yamaguchi M. Molecular Switching involving metastable states: molecular thermal hysteresis and sensing of environmental changes by chiral helicene oligomeric foldamers. *Chem. Commun.* 2016;52:4955-70. doi: 10.1039/C5CC10379G. PubMed PMID: 26974494.
- 3) Saito N, Kobayashi H, Yamaguchi M. "Inverse" thermoresponse: heat-induced double-helix formation of an ethynylhelicene oligomer with tri(ethylene glycol) termini. *Chem. Sci.* 2016;7:3574-80. doi: 10.1039/c5sc04959h.
- 4) Saito N, Kanie K, Matsubara M, Muramatsu A, Yamaguchi M. Dynamic and Reversible Polymorphism of Self-Assembled Lyotropic Liquid Crystalline Systems Derived from Cyclic Bis(ethynylhelicene) Oligomers. *J. Am. Chem. Soc.* 2015;137:6594-01. doi: 10.1021/jacs.5b02003. PubMed PMID: 25939825.
- 5) Shigeno M, Sawato T, Yamaguchi M. Fibril Film Formation of Pseudoenantiomeric Oxymethylenehelicene Oligomers at the Liquid - Solid Interface: Structural Changes, Aggregation, and Discontinuous Heterogeneous Nucleation. *Chem. Eur. J.* 2015;21:17676-82. doi: 10.1002/chem.201503224. PubMed PMID: 26477675.