

報道関係者 各位

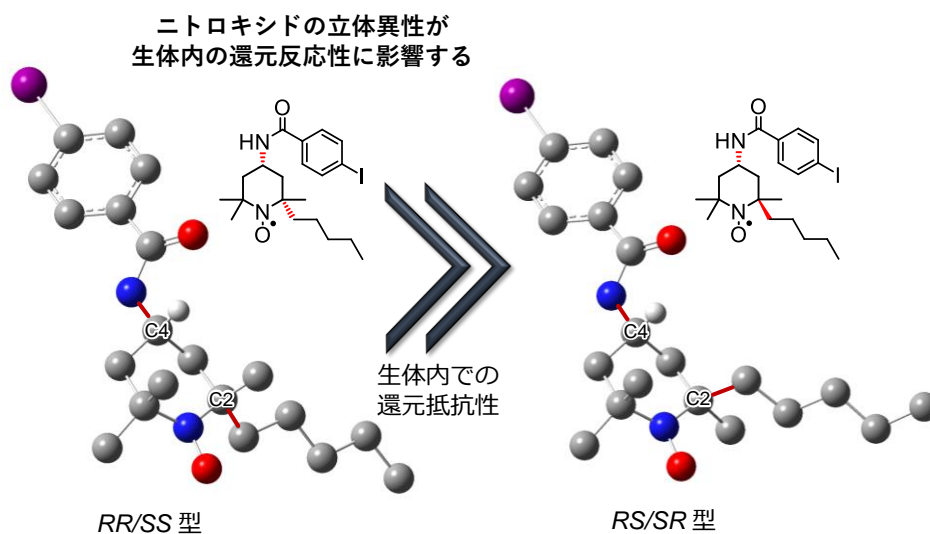
2022年12月19日

ニトロキシドの反応性に対する立体異性の影響
～生体適応性に優れた分子の設計を目指して～

神戸薬科大学 薬品物理化学研究室の東 里沙さん(博士課程学生 3 年)、山崎 俊栄 講師、佐野 紘平 准教授、宗兼 将之 特任助教(現 金沢大学 助教)、向 高弘 教授は、北海道医療大学医療技術学部の江本 美穂 講師、北海道医療大学先端研究推進センターの藤井 博匡 客員教授、大阪大学大学院基礎工学研究科 赤羽 英夫 准教授との共同研究で、2, 4 位置換 TEMPO 型ニトロキシド*1 の還元反応性に対する立体異性の影響を明らかにし、2, 4 位置換 TEMPO 型ニトロキシドの生体内での反応性は置換基と立体異性*2 によりコントロールできる可能性を示しました。

TEMPO 型ニトロキシドは酸化ストレス疾患の診断・治療への応用が期待される化合物であり、今後、ニトロキシドの立体異性や置換基を考慮することで、優れた診断薬・治療薬の設計・開発につながるものと期待されます。

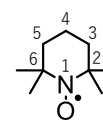
本研究成果は、2022年11月26日に、国際科学誌 *Free Radical Biology and Medicine* への掲載に先立ち WEB 上で掲載されました。



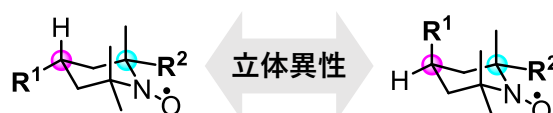


【研究の背景】

2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-*N*-oxyl (TEMPO)型ニトロキシドは、六員環構造を有するラジカル*³ 化合物であり、様々な置換基を 4 位に導入することでMRI*⁴ 造影剤や抗酸化剤として生体応用研究に利用されています。一方、ニトロキシドは生体内に投与すると、還元剤との反応によりラジカルが消失し、効果を失います。これに対する解決策として、2 位への置換基導入により反応性を制御する方法が知られています。したがって、さらなる有用なニトロキシド化合物の開発に向けて、4 位への置換基導入による機能性付与と 2 位への置換基導入によるラジカル反応性制御を同時に達成することが、今後ますます求められます。一方、炭素原子に種類の異なる置換基を導入することで、不斉炭素(不斉中心を作る炭素原子)が生じます。分子内に複数の不斉炭素が存在すると、置換基の三次元配置(相対配置)が異なり、同一の分子式をもちながらも、性質の異なる“立体異性(ジアステレオマー)”が生じます。TEMPO 型ニトロキシドにおいても、2 位と 4 位に置換基導入を行うことで、多くの場合、不斉炭素を二つ持つ立体異性が生じますが、この立体異性の違いがニトロキシドの反応性にどのように影響を及ぼすかは未だ検討されていませんでした。そこで本研究では、2, 4 位ジ置換 TEMPO 型ニトロキシドの反応性に対する立体異性の影響を明らかにすることを目的に研究を行いました。



2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-*N*-oxyl (TEMPO)



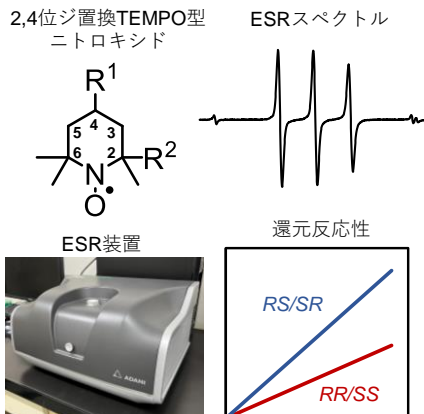
○の炭素原子まわりの三次元配置が異なる

【研究成果の概要】

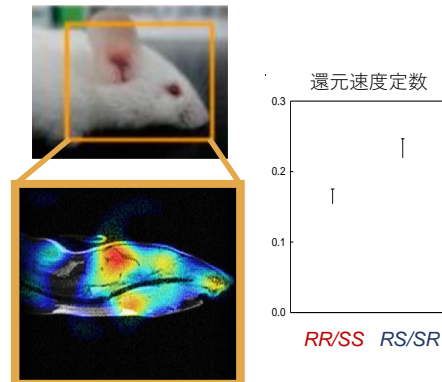
TEMPO 型ニトロキシドの 2 位、4 位あるいはその両方に、立体的大きさ(嵩高さ)の異なる置換基を導入した化合物を新たに合成し、それぞれの立体異性体(*RR/SS* 型、*RS/SR* 型)を分離し、X 線結晶構造解析*⁵ や NMR*⁶ の結果をもとに相対配置を決定しました。続いて、相対配置が反応性に与える影響を評価するため、生体内還元物質であるアスコルビン酸との反応性を評価しました。2 位と 4 位のどちらか一方に嵩高い置換基を導入した化合物では、立体異性体間でアスコルビン酸との反応性に差は見られませんでした。一方、2 位と 4 位の両方に嵩高い置換基を導入した化合物では、*RS/SR* 型の立体異性体に比べて *RR/SS* 型の方がアスコルビン酸との反応性が低いという結果が得られました。このことから、置換基の嵩高さと立体配置が還元反応性に影響を与えることが示されました。さらに、上記の 2 位と 4 位の両方に嵩高い置換基を導入した化合物において、*in vitro**⁷ の実験で得られた還元反応性の高低が生体内(*in vivo*)においても反映されるかどうかを確認するため、マウスに化合物を投与し、マウス頭部におけるラジカルの減衰速度を評価しました。その結果、*in vitro* での還元反応性の結果と同様に、*RS/SR* 型に比べて *RR/SS* 型の方がマウス頭部におけるラジカルの減衰速度が低く、還元されにくかったことから、*in vitro* と生体内での還元反応性が相関することが示されました。



In vitro



In vivo



以上のように、本研究ではこれまで明らかにされていなかった 2,4 位ジ置換 TEMPO 型ニトロキシドの反応性に対する立体異性の影響を明らかにし、その反応性は置換基と立体異性によりコントロール可能であることを示しました。本成果によって、今後生体応用に向けたニトロキシドをデザインする際、立体異性や置換基を考慮することで、優れた造影剤や抗酸化剤の開発につながることを期待されます。

本研究の一部は JSPS 科研費 (JP19K17283 (T.Y.)、JP19H03607 (T.M.)、JP22K07784 (T.Y.)) 及び、ひょうご科学技術協会(T.Y.) の助成により行われました。

<研究に関する問い合わせ>

神戸薬科大学 薬品物理化学研究室

教授 向 高弘

〒658-8558

神戸市東灘区本山北町4丁目19-1

TEL: 078-441-7539

FAX: 078-441-7541

E-mail: tmukai@kobepharmaceutical-u.ac.jp

URL: <https://www.kobepharmaceutical-u.ac.jp/biophys/>

<報道に関する問い合わせ>

神戸薬科大学 企画・広報課

〒658-8558

神戸市東灘区本山北町4丁目19-1

TEL: 078-441-7505

FAX: 078-414-8081

E-mail: kikaku@kobepharmaceutical-u.ac.jp

URL: <https://www.kobepharmaceutical-u.ac.jp>

北海道医療大学 広報部入試広報課

〒061-0293

北海道石狩郡当別町金沢1757

TEL: 0133-22-2113

FAX: 0133-22-1835

E-mail: nyushi@hoku-iryu-u.ac.jp

URL: <https://www.hoku-iryu-u.ac.jp/>



【用語説明】

- *¹ **ニトロキシド**: $R_2N-O\cdot$ で表され、分子内に不対電子を有する化合物の総称。
- *² **立体異性**: 化合物の示性式が同じでも、三次元的な空間配置が異なるために生じる異性。
- *³ **ラジカル**: 不対電子をもつ原子や分子、イオン。
- *⁴ **MRI**: 磁気共鳴画像診断 (Magnetic Resonance Imaging)。強力な磁気と電波を利用して、生体内の水素原子から信号を取り出し、画像化する手法。医療の現場では、体の中の臓器や血管を撮影することで、がんの有無や広がり、他の臓器へのがん転移の確認など幅広く用いられている。
- *⁵ **X線結晶構造解析**: 物質の三次元構造を知る手法。結晶の原子および分子構造を決定することができる。
- *⁶ **NMR**: 核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance)。構成原子の置かれた環境を区別して調べることができ、有機化合物の構造決定に欠かせない手法。
- *⁷ ***in vitro***: 試験管内での実験。

【掲載論文】

雑誌名: *Free Radical Biology and Medicine*

論文名: Effect of Relative Configuration of TEMPO-type Nitroxides on Ascorbate Reduction

著者: Risa Azuma, Toshihide Yamasaki, Miho C. Emoto, Hideo Sato-Akaba, Kohei Sano, Masayuki Munekane, Hirotada G. Fujii and Takahiro Mukai.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.033>