

神奈川工科大学

生物有機科学研究所

研究報告

第 3 号

2022 年度

研究推進機構

目次

- ・重合性部位を有するフェノール誘導体の合成
応用化学科 森川浩
- ・アクチン遺伝子を用いたアクチン可視化マーカーの開発
応用バイオ科学科 村田隆
- ・アズレンを含む新規らせん状縮環化合物の合成
応用化学科 山口淳一

重合性部位を有するフェノール誘導体の合成

応用化学科 森川浩

1. 研究の目的

熱や紫外線などの存在下で活性酸素が生成する。活性酸素は反応性の高さゆえに、食品中で腐敗・タンパク質の変性に、生体系では DNA の損傷につながるものが広く知られている。他方、フェノール類やチオール類には、これら活性酸素種に対する抗酸化作用があり、抗酸化性物質の機能発現の制御は、非常に重要である。このような背景を基に、重合性部位を有するフェノール誘導体を合成することにした。

2. 研究の必要性及び従来の研究 及び、3. 期待される効果

抗酸化機能を有する物質として、今回、フェルラ酸に着目した。フェルラ酸は、米糠などから抽出されるポリフェノールの1つで、他のフェノール誘導体同様に、紫外線吸収作用や抗酸化作用を示す。従来研究として、例えば、フェルラ酸を高分子化合物に固定した抗酸化性高分子化合物が報告され、その抗酸化能が評価されている。これらは、高分子の側鎖官能基とフェルラ酸との縮合反応によって合成されており、フェルラ酸の導入方法や導入率などの難易度が高い。そこで、我々は、重合性部位を有するフェルラ酸モノマーを分子設計した。このフェルラ酸モノマーは容易にポリマー化可能であり、さらにはブロックポリマーやグラフトポリマーなどの分子設計へと展開可能となる。すなわち、分子設計の広がり高いポリマーを合成することができ、抗酸化性のチューニングも可能な可能性を秘めている。

4. 研究の経過及び結果・評価

4-1. フェルラ酸 FA との縮合の試み

まず、無保護の FA と TME から、直接 FA-Si-diol の合成を試みた (図 1)。反応液の TLC から、原料の消失は確認できたが、多くのスポットが確認された。反応液に水を加えて沈殿を回収するという方法をとった。沈殿回収物の NMR 解析の結果、目的物質が含まれていることを示唆したが、複雑な NMR ピークを与えた。また、反応混合物の精製分離が難しい状況だったので、この反応経路は断念した。

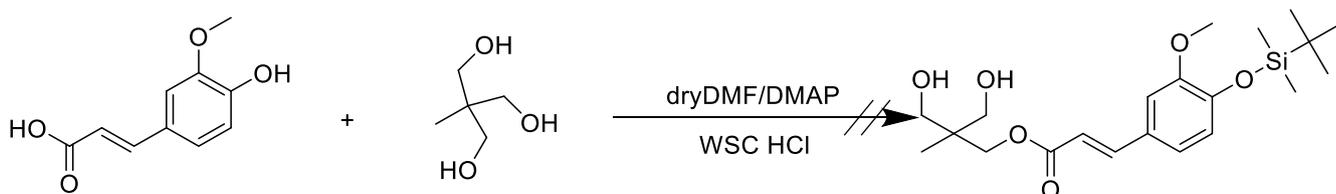


図 1. FA と TME から FA-Si-diol の合成

4-2. フェルラ酸 FA のジシリル化

次に、FA のフェノール性ヒドロキシ基をシリル保護し、その後、カルボキシ基を縮合させるルートを検討した。そこで、市販品のフェルラ酸と TBDMS-Cl を使って、ジシリル体 FA-Si₂ の合成を行った (図 2)。ヒドロキシ基に対して 3 当量の TBDMS-Cl を用い、反応はほぼ定量的に進行した。分液処理後に得られた粗生成物 (FA-Si₂) はやや不安定で、精製することなく、そのまま次の脱シリル化 (FA-Si 化反応) へ進めた。

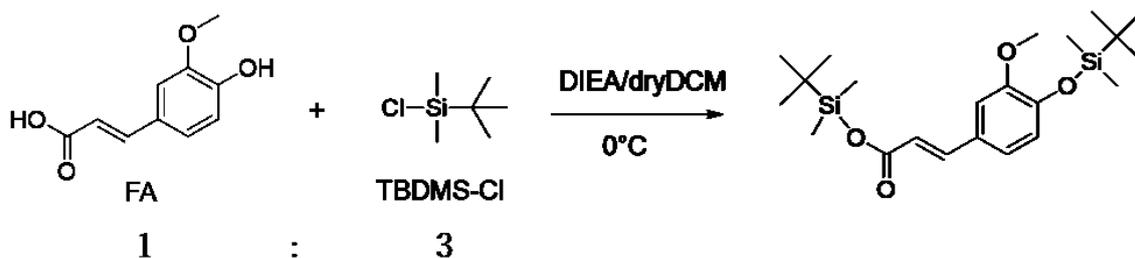


図 2. FA-Si₂ の合成

4-3. フェルラ酸のモノシリル体

FA-Si₂ を含む粗生成物と希塩酸 (0.01M) を使って、シリル基を 1 つ外した FA-Si の合成を行った (図 3)。

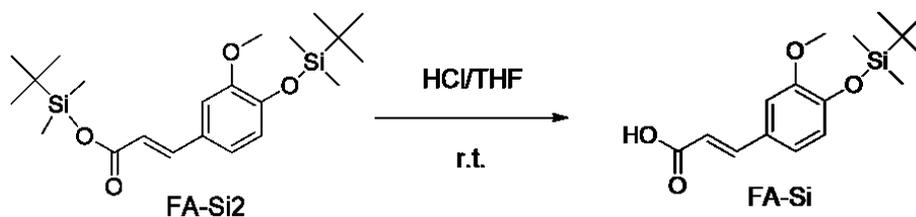


図 3. FA-Si の合成

反応の進行は TLC で確認し、分液処理後に粗生成物を得た。粗生成物であっても、¹H NMR と TLC から高い純度であることが確認できた。

表 1 NMR ピーク (ppm) の比較

化学式	NMRピーク			
FA	7.68~7.72	7.05~7.06	6.92~6.94	6.28~6.32
FA-Si	7.68~7.76	7.04~7.08	6.88~6.92	6.28~6.36
FA-Si ₂	7.50~7.58	7.00~7.02	6.81~6.86	6.23~6.30

※参考文献をもとに作成

しかし、粗生成物では、シリル系物質が不純物として混入していた。そのため、カラム精製を行ったところ、薄黄色の固体として、FA-Si を得ることができた（収率 62%）得られた物質の ^1H NMR のピークの位置は、文献値から得られた表 1 とほぼ一致するため、FA-Si の構造を支持する。

4-4. 塩素化 (FA-Si-Cl の合成)

FA-Si と SOCl_2 を使って FA-Si-Cl の合成を行った(図 4)。反応はスムーズに進行し、ほぼ定量的に酸塩化物である FA-Si-Cl を得ることが出来た。図 5 に、①原料と②生成物の ^1H NMR の結果を載せる (図 5)。①と②のピークを比較すると 6.2、7.8ppm とは異なる位置で有ることが確認できた。

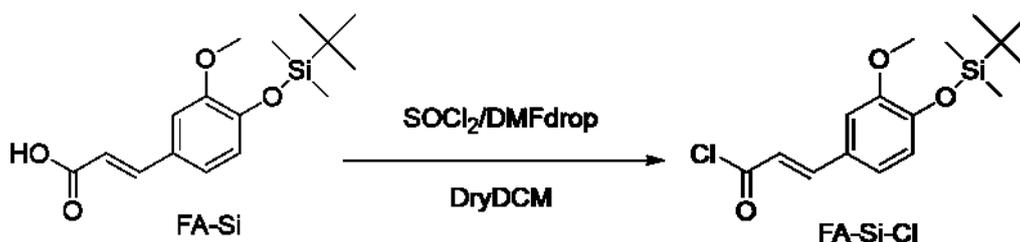


図 4. FA-Si-Cl の合成

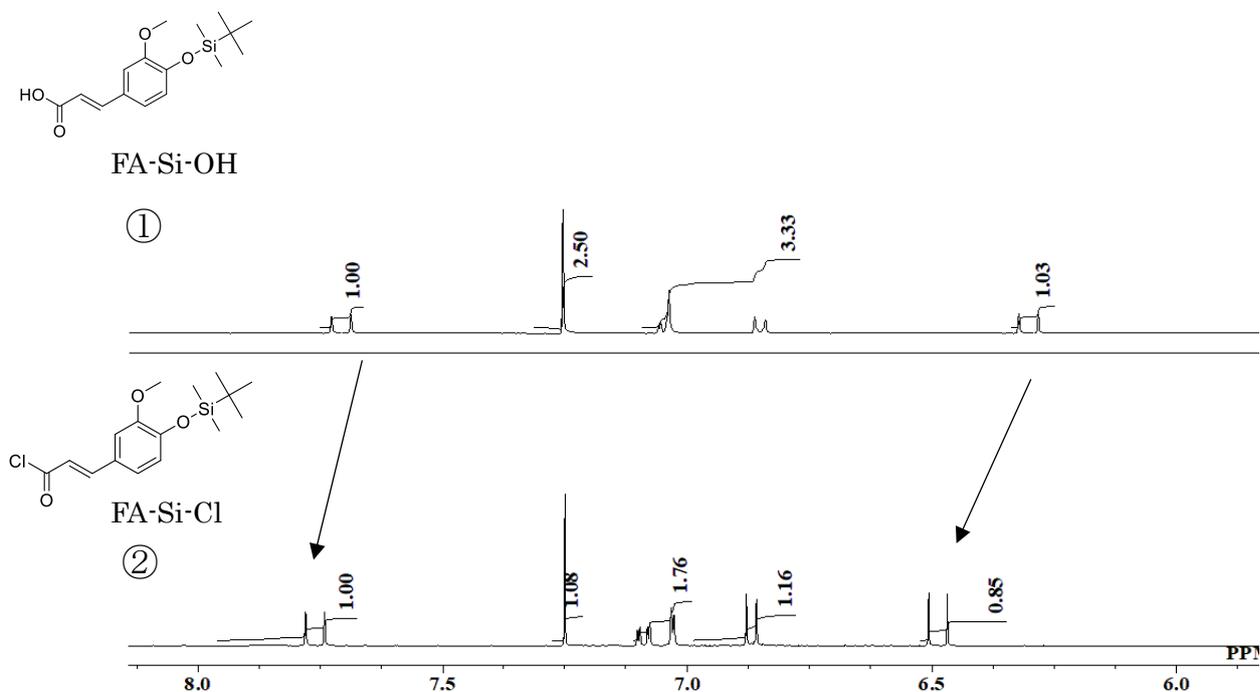


図 5 ①原料と②生成物 FA-Si-Cl の ^1H NMR スペクトル (in CDCl_3)

5. 今後の計画

上の4-4で得られた酸塩化物である FA-Si-Cl を反応させ、酸塩化物からの官能基変換を試みる。

6. 研究成果の発表

未定。まとめ次第、学会発表及び査読付き学術論文での発表を計画する。

アクチン遺伝子を用いたアクチン可視化マーカーの開発

研究者名：村田 隆

1. 研究の目的

アクチンは、細胞質で重合してアクチン繊維になり、動物での筋収縮に働くだけでなく、すべての真核生物の細胞で働く。本研究では植物細胞のアクチンを、アクチン繊維の構造特異性なく可視化し検出できるマーカーを開発することを目的とする。

2. 研究の必要性及び従来の研究

動物細胞を用いた研究で、アクチンは核内に入って線維となり遺伝子発現制御に働くことが示唆されている。しかしながら、従来用いられてきた、アクチン結合タンパク質を用いたマーカーは、細胞内のアクチン繊維の構造に依存して結合性が変わるため、一部のアクチン繊維しか可視化することができなかった。そこで、アクチン自身に蛍光タンパク質を結合させ、すべてのアクチンを可視化するマーカーを開発する。

3. 期待される効果

動物細胞を用いた研究で、アクチンは核内に入って遺伝子発現の制御に働く可能性が示唆されている。植物細胞で核内アクチンが可視化できれば、植物の遺伝子発現の研究全般に役立つことが期待される。

4. 研究の経過及び結果・評価

タバコ培養細胞のアクチン遺伝子をプラスミド pUC19 上にクローニングすることに成功した。さらに、蛍光タンパク質 mCitrine 遺伝子と融合させ、タバコ培養細胞に導入してアクチンが光ることを確認した。しかしながら、細胞内に蛍光タンパク質の凝集物が見られたり、細胞内の細かい線維が見えないなどの問題点があり、改善が必要と考えられた。

5. 今後の計画

アクチン遺伝子と蛍光タンパク質遺伝子の繋ぎ順およびリンカー長を検討して標識効率の改善を目指す。

6. 研究成果の発表

発表なし

アズレンを含む新規らせん状縮環化合物の合成

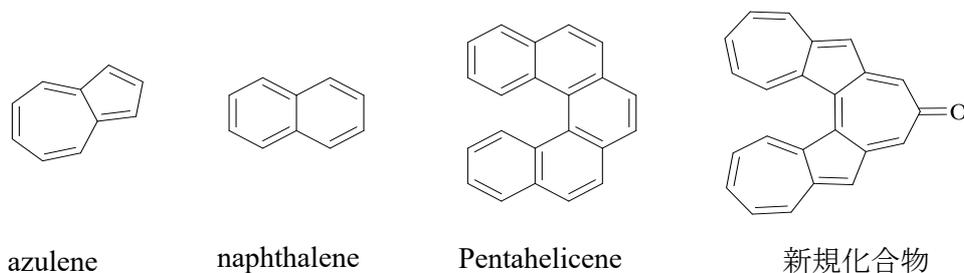
研究者名：山口 淳一

1. 研究の目的

アズレンはナフタレンの構造異性体であり七員環と五員環が縮環した化合物である。ナフタレンは白色結晶であるのに対して、アズレンは青色結晶であることなどから盛んに研究されている。

本研究ではこのアズレンを用い、新規化合物の合成を目指した。

合成を目指すうえでペンタヘリセンという化合物に注目した。この化合物は六員環が五つらせん状に縮環した化合物であり不斉炭素を持たないが光学活性を示すことで知られている。



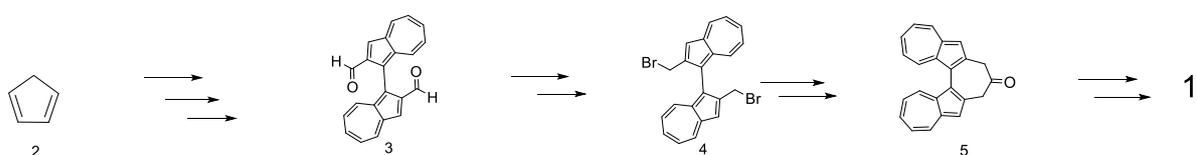
2. 期待される効果

これまでアズレンは化学的・物理的性質に興味を持たれてきた。しかし近年、有機半導体や有機 EL 材料としての可能性を秘めていることが分かり、アズレンを含む π 電子共役系の新しい有機化合物の合成が盛んに行われている。本研究で合成した化合物群は有機半導体や有機 EL に直接応用で来るものではないが、ポテンシャルを持った化合物群である事は確かであり、目的の新規化合物だけでなく過程で合成される化合物群もそれぞれの可能性を持った化合物と言える。

3. 研究の経過及び結果・評価

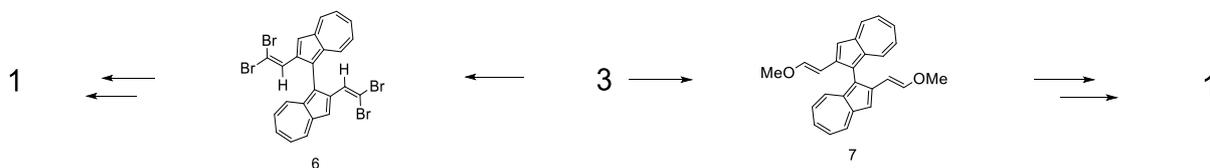
今年度以下の様な手法で合成を試みた。

これまで、2 を出発原料とし、3 を経由し 4 としている。一昨年度卒研究生櫻田はこれを 5 へ変換を試みたが、あいまいな結果となっている。

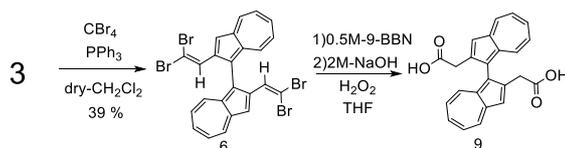


そこで新たな合成ルートを検討することにした。すなわち、3 から Wittig 反応を利用し、

6あるいは7へと導き3を1炭素増炭し、これを環化することにより1へと導くルートである(下式)。

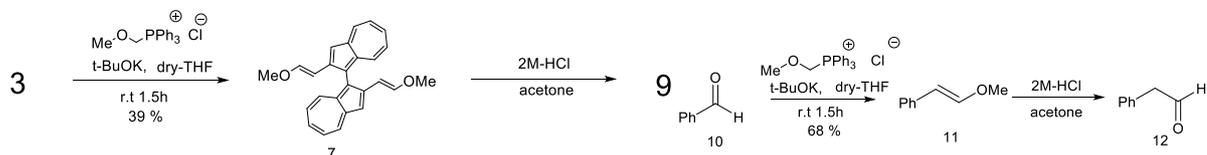


1)ホルミル体からジビニル体6の合成：新たな合成ルートとしてジビニル体6から9の合成を検討した(右式)。アルデヒドに CBr_4 及び PPh_3 を作用するとジブロモメチレン



化されることが知られている。1)本反応を適用したところ、6を得ることができた。これをhydroborationによりアルデヒドへ変換を試みたが残念ながら反応は進行せず、下記のルートへと変更することとした。

2)ホルミル体からビニルエーテル体7の合成：ビニルエーテル体は加水分解により、アルデヒドへ変換される。この反応を利用すれば、9への変換が可能であると考えた(下式)。まず、モデルとしてベンズアルデヒド10を用い本反応について検討した(下式右)。文献に基づき、変換を試みたところビニルエーテルへの変換ができた。2)さらに、加水分解によるフェニルアセトアルデヒド12への変換もできていたことからアズレンへの適用についても検討する予定である。3)



5. 今後の計画

化合物合成の最終段階に来ていると考える。加水分解、アルドール反応を応用した環化により最終目的物の骨格が完成する。これを脱水素型の酸化を行う事により最終化合物の合成が出来ると考える。その後、光学活性の有無などの性質を明らかにする。

6. 研究成果の発表

本研究は研究途中であり、外部発表の段階ではない。そのため本研究での発表はない。

ref. 1) Ito, S.; Moriyama, S.; Nakashima, M.; Watanabe, M.; Kubo, T.; Yasunami, M.; Fujimori, K.; Morita, N. *Heterocycles* **2003**, *61*, 339-348. 2) Xing, P.; Huang, Z.; Jin, Y.; Jiang, B. *Synthesis* **2013**, *45*, 596-600. 3) Huang, Y-t.; Moeller, K. D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6536-6550.