

# 関西学院大学 研究成果報告

年 月 日

関西学院大学 学長殿

所属：理工学部  
職名：教授  
氏名：山田英俊

以下のとおり、報告いたします。

研究制度	個人特別研究費
研究課題	糖立体配座の柔軟化を利用した環状オリゴ糖合成
研究実施場所	関西学院大学理工学部
研究期間	2018年 4月 1日 ~ 2019年 3月 31日 (12ヶ月)

## ◆ 研究成果概要 (2,500字程度)

上記研究課題に即して実施したことを具体的に記述してください。

**1. 背景** | シクロデキストリン(CD)は、 $\alpha$ -1-4-D-グルコピラノシドの環状多量体である。一般的には、その6~8量体(CD6~8、**1**)を指し、それぞれ $\alpha$ ~ $\gamma$ -CDと呼ばれる。形状は底がないバケツ型(**2**)で、内部が疎水性、外部が親水性である。空孔に化合物を取り込んだり(包摂)、包摂した化合物を徐々に放出(徐放)したりする性質を有する。この性質は、食品、医薬品、化粧品を初め、広範な分野で利用されている。また、樹脂の堅牢化、自己修復化など、工業部門での利用も始まった。

CDは1891年に発見され、20世紀の100年をかけて構造決定、機能の発見、諸分野での応用、量産化が進展した。2000年に、CD6~8をデンプンから高純度で作分けする酵素法のプラントが稼働し、価格が一気に下がった。また、世界食品添加物合同専門家会議が、CD6と8に対して一日許容摂取量を「特定せず」(=無毒性)と判断した(CD7は、5 mg/kg/day)。その後、すなわち21世紀になって、応用展開が爆発的に広がった。

一般的な**1**より大きなCDは、環状数百量体まで知られており、これらはデンプンの酵素分解で得られる。一方、小さい方では、既知の最小は化学合成されたCD5(**5**)である。さらに小さいCD3(**3**)とCD4(**4**)は、入手できないと考えられてきた。しかし、私たちは、**3**と**4**をどちらも化学合成し、これらの存在を実証した。「入手できない」という従来の認識を逆転させた合成の成功には、糖の立体配座を柔軟化させる独自の方法が貢献した。とはいえ、合成できた**3**と**4**は、「実証した」ことだけを主張できる数mgである。量の制約から結晶化できず、**3**と**4**の存在を報告した場合に多くの読者が興味を抱く、単結晶X線解析に基づく三次元構造を明らかにできていない状況にあった。

**2. 目的** | 本研究では、化合物**3**と**4**の三次元構造の解明と機能・特性の探索を目的としている。この内、本研究費は化合物**3**の三次元構造の解明のために用いた。

**3. 成果** | 下記4つの主な成果を得た。

**3.1. 化合物**3**を数十ミリグラム合成した** | 本研究全般では、化合物**3**の合成経路の短縮も目的としている。しかし、本個人特別研究費による研究期間である1年は、経路短縮を達成するには不十分である。そのため、化合物**3**の単結晶を得るための検討を実施する最小限の量を確保すべく、これまでに確立した経路で数十ミリグラムを合成した。

**3.2. 化合物**3**の単結晶の析出に成功した** | 研究当初は、化合物**3**が単結晶になるか否かについても未知の状態であった。化合物**3**は水、あるいはメタノールに可溶であるため、両者との溶解性の低い溶媒を組み合わせ、結晶化を検討した。その結果、アセトン、水、メタノール混合溶媒を用いたときに、良質の単結晶を得ることができた。

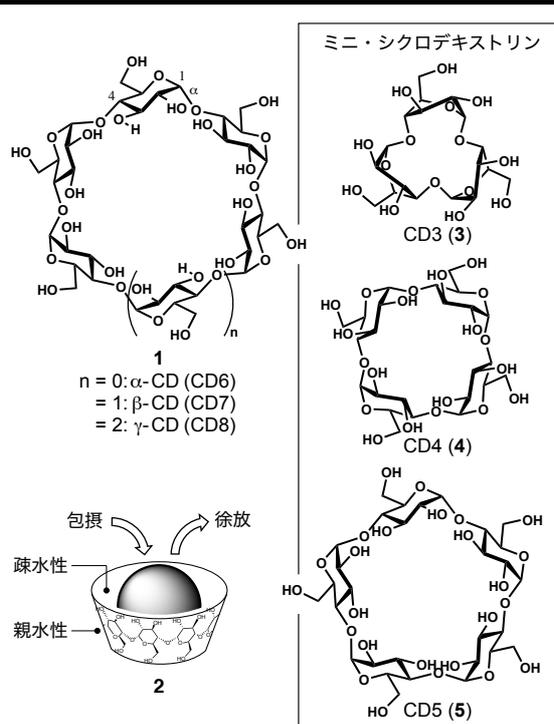
**3.3 化合物**3**の単結晶X線結晶構造解析** | 本学理工学部、田中大輔准教授が管理する単結晶X線解析装置

(SATURN724/Mo-V)を用いて、化合物**3**の三次元構造を明らかにした。解析の結果、結晶格子には4分子の化合物**3**が含まれ、一つの化合物**3**分子に対して水分子が2個存在した。空間群は $P2_12_12_1$ で、格子のサイズは $a = 7.124(2) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ;  $b = 16.121(6) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 90^\circ$ ;  $c = 18.906(7) \text{ \AA}$ ,  $\gamma = 90^\circ$ であった。化合物**3**の重水中での核磁気共鳴実験では、3個存在するグルコースの立体配座は平均化され $^5S_1$ の立体配座として観測されたが、結晶格子中では3個あるグルコース部位の立体配座は異なり、2個が $^5S_1$ で、残りの1個は $^0H_1$ と $^4C_1$ の間の形状で存在した。化合物**3**の分子内に3個存在するO-4の原子間距離は、3.504, 3.119, 3.058  $\text{ \AA}$ であり、その中心部には空孔が無いことを確認できた。は $^0H_1$ と $^4C_1$ の間の形状で存在するグルコースのH-5が分子の中心部に配向することも併せて明らかになった。

**3.4. NMR結合定数を基にした一義的立体配座決定法** |  $^1\text{H}$  NMRの結合定数を基に立体配座を決定する計算法は、1960年代に基礎が築かれた。この計算法を用いると、観測した結合定数1個に対して、解が最大4個算出される。グルコースの立体配座を決定するために必要な結合定数は4箇所であり、その測定値から算出される解の組み合わせは最大で $4^4 (= 256)$ 個となる。この中から妥当な立体配座1個に絞り込む過程は、これまで分子モデルを利用した方法が使われていた。

本研究では、この「アナログ」な手法を改善した。算出される解は、分子内の隣接した炭素に結合した水素の二面角を示している。この二面角は、分子中(この場合はグルコース)で取りうる範囲がその構造によって限られている。そのため、1箇所の結合定数に対して4個の解が出た場合でも、取りうる範囲外の値を除外できる。この方法で最大 $4^4$ 個となる組み合わせを16個以内に絞り込むことができること明らかにした。さらに、この16個の立体配座が有するポテンシャルエネルギーを、分子力場計算で見積もることで最も安定な立体配座を容易に選び出すことができることが分かった。上記、3.3の説明内で化合物**3**の水中での立体配座を述べたが、その配座は本法を用いて明らかにすることができた。

**4. 論文発表** | 上述した成果は、2019年5月にScience誌に掲載された(Ikuta, Hirata, Wakamori, Shimada, Tomabechi, Kawasaki, Ikeuchi, Hagimori, Matsumoto, Yamada, *Science* 2019, 364, 674–677)、注目を集めている。公開の際には、同誌に掲載される記事のうち特に選ばれたFirst Releaseとして、印刷版の発行を待たずにWeb発表された。



以上

提出期限：研究期間終了後2ヶ月以内

※個人特別研究費：研究費支給年度終了後2ヶ月以内 博士研究員：期間終了まで

提出先：研究推進社会連携機構（NUC）

※特別研究期間、自由研究期間の報告は所属長、博士研究員は研究科委員長を経て提出してください。

◆研究成果概要は、大学ホームページにて公開します。研究遂行上大学ホームページでの公開に支障がある場合は研究推進社会連携機構までご連絡ください。