

多点水素結合に基づく人工ヌクレオシドレセプターの開発

Development of artificial nucleoside receptors based on multipoint hydrogen bonds

代表研究者 大阪府立大学 工学部 機能物質科学科 助教授 井上 将彦

Masahiko Inouye, Associate Professor

Department of Applied Materials Science

Osaka Prefecture University

Artificial ribofuranoside receptors represent the molecular design and the synthetic strategy for our multifunctional artificial receptors. The design of the polypyridine-macrocylic ribofuranoside receptors was based on the multipoint hydrogen bond complementarity between the receptors and methyl β -(D)-ribofuranoside. The binding affinity of the receptors for the ribofuranoside in CDCl_3 was very high (up to $K_a = 5.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$), so that even native ribose was extracted by them into such nonpolar solvents. Selective extraction of ribose by the receptors was observed. The selectivity is governed by the OH direction and the whole size of the sugars as well as their shapes. Furthermore, fluorescence emission of the receptors was largely enhanced in the presence of methyl β -(D)-ribofuranoside or ribose.

研究目的

1962年のPedersenによるクラウンエーテルの発見以来、合成低分子を用いる分子間相互作用の詳細な検討が行われてきた。現在では、分子間相互作用に関わる各種半経験力場を導入した理論的な取り扱いも種々検討されている。このような状況の中、金属あるいはアンモニウムカチオン等の等方性（擬）球状分子や、核酸塩基等の二次元ベクトルのみを有する基質の認識においては、すでに種々の優れた人工レセプター骨格が準備されており、新たな報告を見ても“類似の新ホスト”の感が否めない。一方、非対称三次元方向に広がった被認識部位を有する基質を厳密に識別することは、人工レセプターの分子設計の点からも、また合成戦略を立てる上でも極めて困難である。セレンディピティーを感じさせない“狙った研究”は、現在まで限られた例しか報告

されていない。この種の代表的な生体基質分子として糖質を含むヌクレオシドやヌクレオチドがあげられる。

研究経過

既に著者らは、核酸塩基に対する情報発信型人工レセプターとして、スピロピリロピランを合成した。この研究を native ヌクレオシド・ヌクレオチドへ展開するため、 β -D-リボフラノシド認識部位を過去の研究より検索したが、当然満足のものは見つけることができなかった。そこで人工リボフラノースレセプターの合成から行うことに決定した。

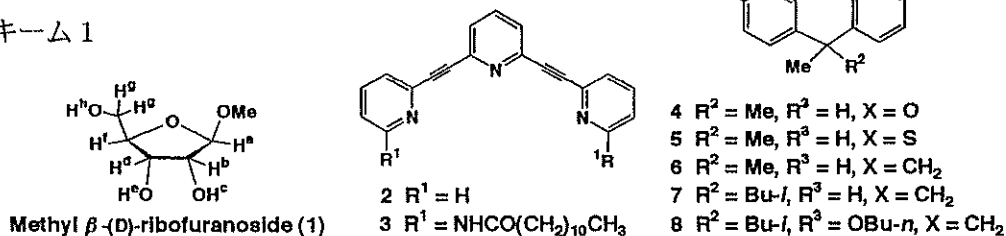
研究成果

1. 人工リボフラノースレセプターの設計と合成
リボフラノースに対する人工レセプター

を設計していくにあたり、我々は認識の主要な相互作用として方向性を持つ水素結合を選んだ。

多点水素結合による人工リボフラノースレセプターの設計は、①強いO-H...N水素結合の利用、②リボフラノース水酸基の方向性、③エントロピー損失をできるかぎり低減し、かつリボフラノースの柔軟性に適合可能な適度の rigidity、④そして将来的に必要とされる情報発信のためのπ-電子構造の組み込み、等を考慮して行った。その結果、三つのピリジン骨格を2-2',6'-2"部位で直線的に連結した2を基本骨格として選び、2に付加的な水素結合部位を組み込んだ3も合成した。これは2の両側のピリジン環の6,6"位にアミド基を組み込んだものである。このアミドプロトンは、1の水酸基との水素結合において酸素原子に対するプロトンドナーとして働くことが期待される。

スキーム1



さらに、より効率的に1と相互作用させるには、レセプターの基本骨格両端を環状につなげ、なおかつ、ある程度の柔軟性を持たせることが必要であると考えた。そこでレセプター4, 5, 6および7を設計・合成した(スキーム1)。1との会合定数を測定したところ、レセプター5においては $K_s \approx 60 \text{ M}^{-1}$ と4に比べ僅かな増加しか示さなかったものの、レセプター6および7においては $K_s \approx 2500 \text{ M}^{-1}$ と4に比べ約50倍もの増加を示した。更に我々は、レセプター7のピリジン環の窒素原子のプロト

表1 人工レセプター3~8の1に対する会合定数, NHのケミカルシフト, ならびに錯形成時の熱力学定数。

Receptor	$K_a (\text{M}^{-1})$	δNH (ppm)	ΔG (kcal/mol)	ΔH (kcal/mol)	$T\Delta S$ (kcal/mol)
3	$3.0 \pm 0.4 \times 10^1$	7.90	---	---	---
4	$5.0 \pm 0.4 \times 10^1$	9.00	-2.3	-5.7	-3.4
5	$6.0 \pm 0.4 \times 10^1$	9.53	---	---	---
6	$2.4 \pm 0.2 \times 10^3$	7.55	-4.6	-10.0	-5.4
7	$2.5 \pm 0.2 \times 10^3$	7.65	---	---	---
8	$5.2 \pm 0.3 \times 10^3$	7.74	---	---	---

ンアクセプター性を向上させるため、電子供与性基であるアルコキシ基を導入したレセプター8を合成した。このレセプター8を用いて1との会合定数を測定したところ、 $K_s \cong 5200 \text{ M}^{-1}$ と多点水素結合による人工糖レセプターとして、これまでに類をみない高い値を示した(表1)。

2. レセプターとゲストとの錯形成時における考察

図1に錯形成時の ^1H NMRチャートを示す。これによると錯形成時においては、先ほど示した水素結合による1の水酸基およびレセプター6のアミドプロトンの低磁場シフトの他に、1の5位のメチレン及びメトキシ基のプロトンの高磁場シフトもまた確認された。これらのC-Hプロトンは、錯形成時においてレセプターの橋掛け部位であるビスフェノール由来のベンゼン環の方向に存在することが予想される。従って観測された高磁場シフトは、これらのプロ

トンがベンゼン環により環電流効果を受ける距離まで接近していることを示唆している。以上の結果より、1と6の錯体はスキーム2のような状態をとっている可能性がある。

3. 人工レセプターを用いるリボースの固液抽出

我々はこのメチル β -D-リボフラノシド(1)に対して高い会合定数を示した人工レセプター6~8を用いて、本来有機溶媒に不

スキーム2

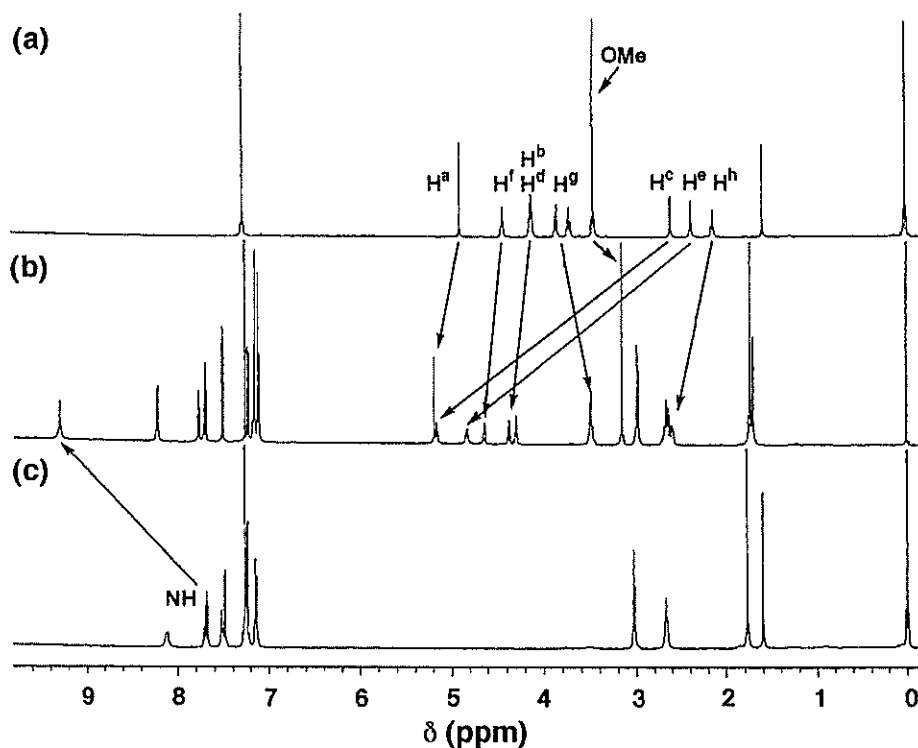
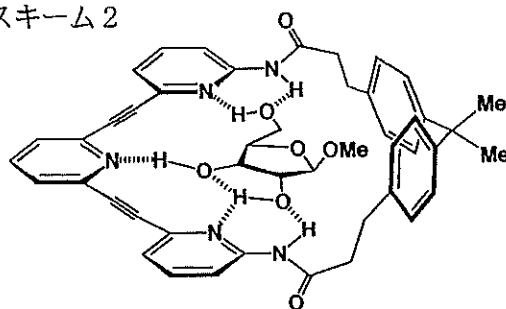


図1 CDCl_3 中での ^1H NMR スペクトル, (a) 1, (b) 1・6, (c) 6.

溶なりリボースそのものが非プロトン性溶媒中に抽出されることを発見した。更に我々はこの結果を基に、他の単糖についても同様に抽出実験を行い、その選択性について検討した(図2)。それによると我々の調べた単糖の中では、六炭糖(グルコース、マンノース、ガラクトース)は全くと言っていいほど抽出されず、五炭糖においてもリボースが最もよく抽出されることが分かった。糖の人工レセプターによる認識の研究において、“狙って”サイズと形の選択性を持たせることができた数少ない例である。

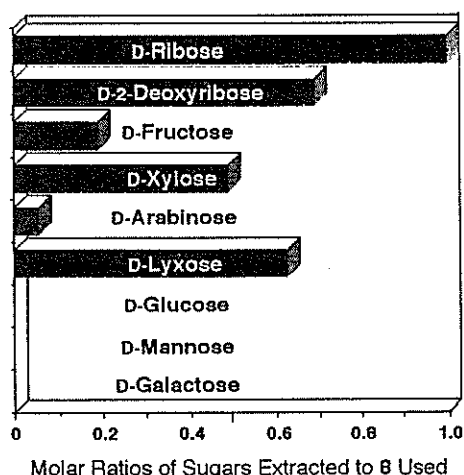


図2 8を用いた各種単糖のCDCl₃中への抽出。

4. 人工リポフラノースレセプターのセンシング機能

最後に、我々の研究室で行っている情報発信型人工レセプターの開発へと展開していくことを踏まえ、糖の取り込みによるレセプター8の蛍光強度の変化を追跡した。8は糖を取り込むことにより、蛍光強度が増大し、またその度合いは先ほどの¹H NMRによる抽出実験の傾向とほぼ一致していることが分かる。従ってこのレセプターにおいては、糖の取り込みを蛍光という

“情報”により追跡することで、リボースセンシングシステムの構築が可能となる。現在は、この糖の取り込みによる蛍光強度の増大についてより詳細な検討を行っている。

今後の課題と発展

人工リポフラノースレセプターに関する研究は、核酸塩基認識部位の連結による、“native”なヌクレオシドやヌクレオチドに対する人工レセプターへと現在展開中である。本研究も含めて我々が開発した各人工レセプターは、確かに概念的に新規なものと自負している。しかし、「診断薬に使える可能性がある」などと書いてはみても、実際問題としては我々自身が懐疑的である。では、なぜこのような研究を行っているのか？生体の複雑な機能を我々なりに素因子まで分解してみると、そこにあるのは“分子認識に連動した動的機能”と結論される。そこに分子レベルでの生命の起源を感じさせる何かがあるからである。

地球という与えられた環境の中で、生命は生まれた。遺伝子として核酸を使用したことも、機能素子としてアミノ酸重合体を選んだのも化学進化の必然である。その場でのベストチョイスは、制約条件のない実験室で評価すれば最善でなくても不思議ではない。“我々生命の起源は分子間相互作用にあり、地球環境下における必然という偶然である”。ペプチドワールドを用いることなく、石油化学産物より出発し、生体の機能を模倣し、もし可能なら凌駕しようとする研究の意味がそこにある。分子認識の研究を通してサイエンティフィックな夢を見続けたい。

発表論文リスト

- 1 Inouye, M. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12416-12425.
- 2 井上將彦 他 *有機合成化学協会誌* **1996**, *54*, 311-322.