

研究課題別評価書

1. 研究課題名

極性基が配列した低エントロピー型分子認識アレイの開発

2. 氏名

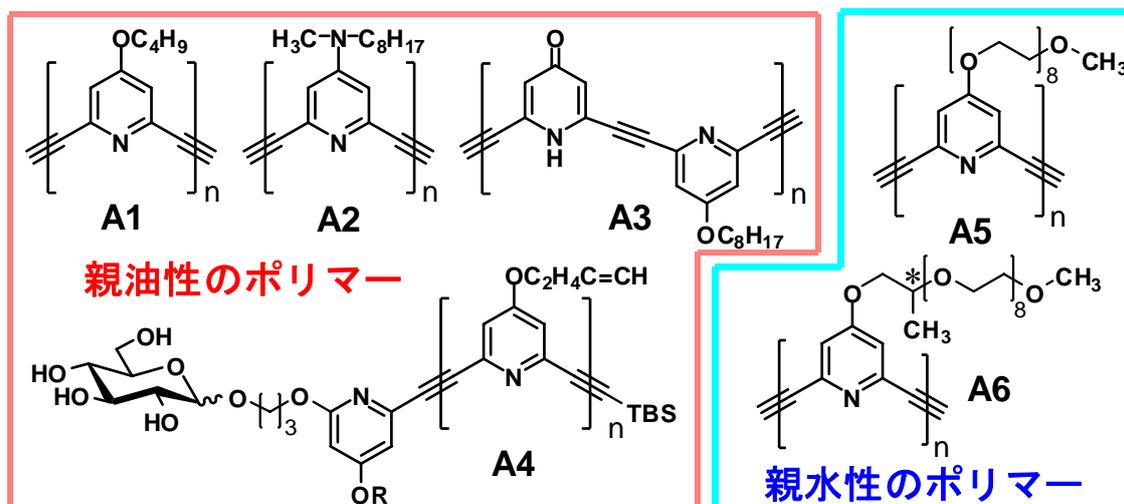
阿部 肇

3. 研究のねらい

有機ホスト-ゲスト化学の手法と知見を基に新しい人工ホスト分子を設計・合成し、生体分子、特に糖質の分子認識系の開発を目指した。研究者は過去に水素結合を駆動力として小分子を認識するホスト分子の研究を行ってきた。そのような分子認識を起こすための会合自由エネルギーは、水素結合によるエンタルピー項の利得と、系の自由度が失われるゆえのエントロピー項の損失から成っている。本研究では特にエントロピー項の損失を抑えるため、ピリジンやフェノールといった極性ユニットを剛直な骨格上に並べたアレイ状のポリマー、オリゴマーをホスト分子として設計・合成し、エンタルピー項の利得を最大限に生かして分子認識を効率化することを目論んだ。生体分子の中でも糖質は特に水との親和性が高いため、水中で水分子に打ち勝って糖を捕らえる人工ホスト分子の例はホスト-ゲスト化学の分野でも皆無であった。本研究では 100%水中で単糖や多糖を認識できるホスト分子の実現を最重要な達成目標とした。さらに生体中の糖認識に会合強度・選択性の面で近づくことと、糖質の新たな検出・計測系へ繋げることを目指した。

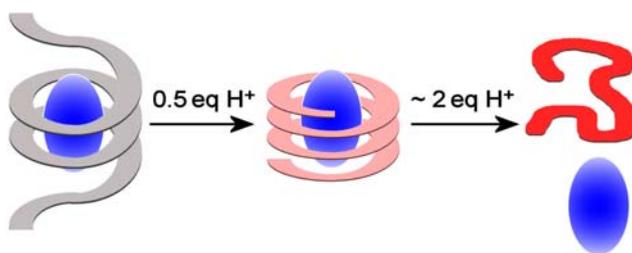
4. 研究成果

「研究のねらい」の項目で述べた目的のもと、ピリジン環を多数連ねたホスト分子A1～A6を設計・合成することができた。下にその単位構造を挙げる。実際のホスト分子は以下の単位構造が数個～数十個連なった鎖状構造を持っており、菌頭反応を利用して得られる。



まず最も構造が単純なA1を使って、ピリジンポリマー構造が実際に糖を巻き取れるかどうかを調べた。A1の塩化メチレン溶液に糖を加えたところ、円二色性(CD)スペクトル上に、非対称ならせん型錯体の形成を示すバンドが現れた。計算化学(Monte-Carlo法)で求めた錯体の構造を図1に示す(中心の球棒モデルがβ-D-グルコシド、取り囲む棒モデルがA1、側鎖のプトキシ基は省略)。この図では2ピッチのらせんで糖を捕えている。このらせんは糖のD,L-キラリティ(右手/左手の関係)に応じて向きが反転することが誘起CD(図2)から分かった。そしてA1を出発点として、別の機能を持たせた親油性ポリマーA2, A3, A4、親水性ポリマーA5, A6を設計・合成した。

A2は側鎖のアミノ基によりポリマー全体が強い塩基性を持つため、下式のように酸の添加によって糖認識を調整できる。A2に0.5当量の酸を添加すると糖に対する親和性が高まり、さらに酸を加えると逆に親和性が失われる。



A3はピリジン環とピリジン環との共重合体とすることでらせん型が有利となり、環が5個の短いオリゴマー長でも糖を捕らえてらせんを巻くことができる。これはさらに自己集合性を示した。

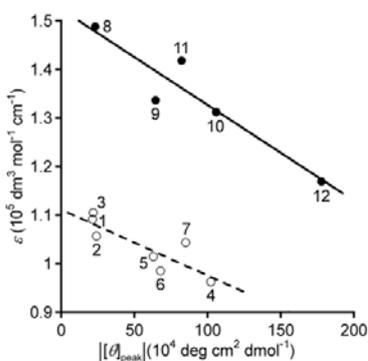


図4 A4群におけるCD強度とUV吸光度のプロット。実線は14量体、破線は10量体。

A4の末端へはあらかじめ、糖部位を共有結合で取りつけた。これにより外部から糖を加えずとも分子内の水素結

合によりらせん型を作らせ強い誘起CDを観測することができた(図3)。このA4には続くGrubbs反応により側鎖のアルケンを架橋らせん型を固定することができた。また、らせん形成でピッチ間のπスタッキングが強まることで紫外スペクトル(UV)上の淡色効果とCD強度の相関から分かった(図4)。

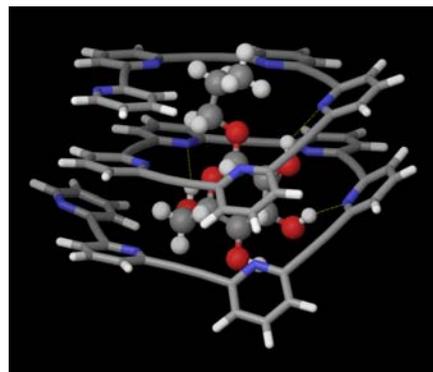


図1 ピリジンポリマーによる糖認識(錯体の構造/Monte Carlo-MM法)

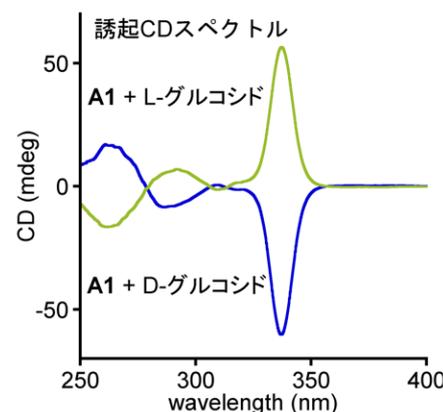


図2 らせん型錯体の形成を表すCDバンド。塩化メチレン中、A1とオクチルβ-グルコシドを混合。

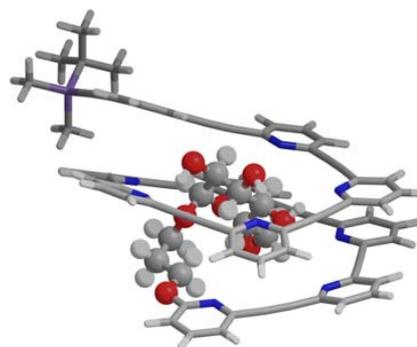


図3 A4の高次構造。分子内水素結合による。(Monte-Carlo-MM法で導出)

A5,A6 は側鎖としてオリゴエチレングリコール基を持たせることで、ポリマー全体に親水性を持たせ、水に溶かせるようになった。すると興味深いことに、ポリマーA5,A6は水中で自発的にらせんを巻くことが分かった。その中空にはピリジン環の窒素

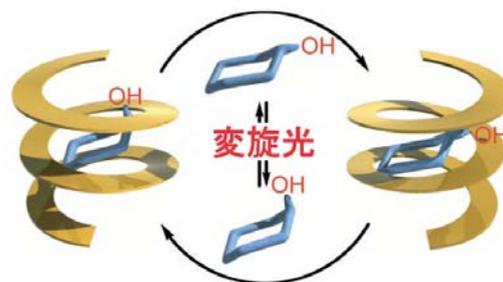


図5 水溶性A5による糖の変旋光の検出

が集まり糖を取り込みやすい構造となっているため、水との親和性ははるかに高いはずの糖を、水と競合しながらポリマー構造中に取り込むことができた。マンノースに対する会合定数は 14 M^{-1} 、熱力学的な解析により会合自由エネルギー $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ の式に現れるエンタルピー項 ΔH とエントロピー項 $T\Delta S$ はそれぞれ $-24, -17 \text{ kJ/mol}$ と求められ(25 °C)、 $\Delta H < T\Delta S$ 、すなわち糖の認識が水素結合によるエンタルピーの利得に基づいていることが分かった。これは逆に言えばエントロピーの損失がポリマーの対称性と剛直性により抑えられたことを示している。

A5は取り込む糖のわずかな構造変化に対応してらせん型の向きを反転させることがある。グルコースの α 体と β 体は、水中で互いに平衡の関係にある(変旋光)が、A5はOH基1個の立体の違いを検出してらせんが巻く向きを変え(図5)、誘起CDの符号を反転させる。

A6では、A5の側鎖にさらにメチル基 (CH_3) を加えた。ここでメチル基の根元の炭素はキラル中心となっているためポリマーA6自身が単独でキラリティを持ち、水系中で自発的にとらせん構造ではすでに右/左巻きが片寄っている。このことではらせん型のばらつきが減り、安定化や選択性の発現につながった。特に、GPCで分画した高分子量の成分 A6(long) は自分自身が高次構造を持ち、さらに特徴的な糖認識を示した。例えばS体のA6(S-long) は水/メタノール系中でマンノースのD体のみを識別してCDシグナルを現した(図6)。A6(S-long),

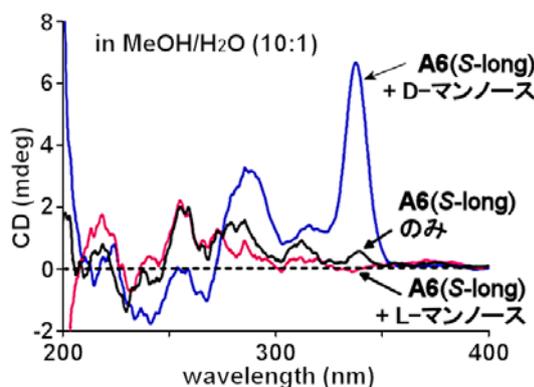


図6 A6はD-マンノースを検出したときのみ誘起CDを現す。

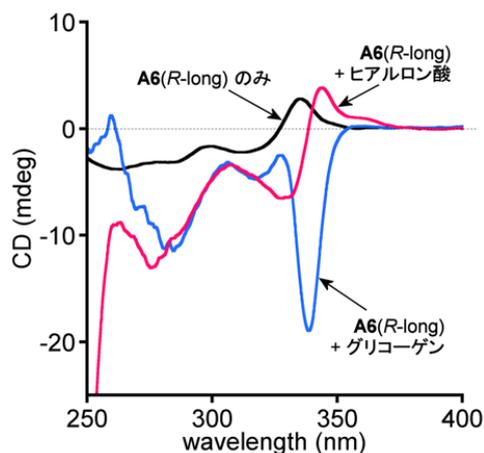


図7 A6が糖鎖を認識した際のCD変化

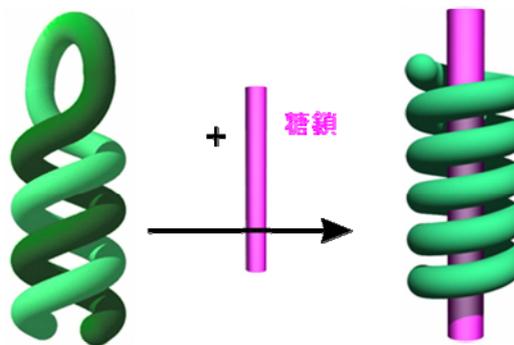


図8 A6 による糖鎖の取り込み・想像図

A6(R-long) はともに、グリコーゲンやヒアルロン酸などの多糖類を認識してCDを大きく変化させる(図7)。このとき図8のように、らせんかららせんへの高次構造変化が起こっているのではないかと考えている。特に**A6**のように人工分子が水中で糖鎖を検出したことは、有機ホスト-ゲスト化学ではかつて例のなかったことである。生体が営んでいる糖の分子認識の一端を人工的に再現したもののとして意義が高いものと考えている。

もうひとつの分子設計、3個、6個のフェノール性ヒドロキシ基を配列させたホスト分子 **B1**, **B2** は、鈴木カップリングによりその骨格を合成できた。それらはそれぞれ C_{3v} , D_{3h} の対称性を持つ(図9)。鍵となっているのは同じ方向(図の上方)を向いた3個のヒドロキシ基で、協同的に作用して糖と会合する。有機溶媒中、オクチルマンノシドと**B1**, **B2**の会合定数が 33000 M^{-1} (CH_2Cl_2 中), 2210 M^{-1} (CDCl_3 中)と求められた。**B1**では中央ベンゼン環上のメチル基により軸回転が妨げられた結果ヒドロキシ基が上方に固定され、**B2**では軸回転が起こったとしても必ず3個のヒドロキシ基が上、下に向く構造となっている。**B2**はさらに滴定実験により、グルコサミン誘導体との間で1:1, 1:2の二段階の会合を行うことが分かった。Monte-Carlo-MM計算により、1:2錯体について図10のような両面構造が導出された。

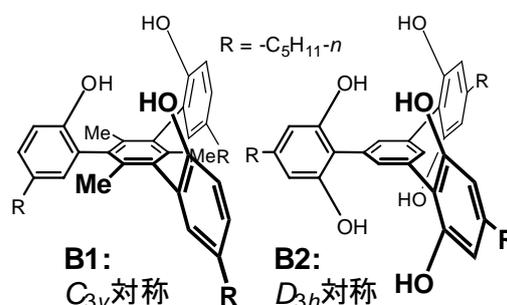


図9 ポリフェノール性ホスト分子**B1,2**

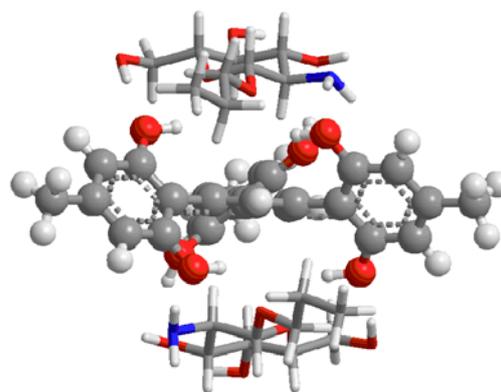


図10 **B2**とグルコサミン誘導体との1:2会合図。上下がグルコサミン、中が**B2**。(Monte-Carlo-MM法で導出)

5. 自己評価

人工的に構造を設計・合成した有機ホスト分子を用いて100%水中で単糖を、さらに多糖を分子認識することは本研究の最大の達成目標であった。そして研究成果の項目で述べたように、親水性ポリマーを用いてその目標へたどりつけた。これは非常に大きな成果であり、生物の行う分子認識作用に大きく近づけたものと自負している。熱力学的知見からホスト分子の低エントロピー的な性質が分子認識に効果をもたらしたことが分かり、本研究で提案した分子設計の妥当性が示された。さらに糖質の分子認識だけではなく、ホスト分子自身も水素結合により自己会合して分子間高次構造を作る(**A3**, **B1**, **B2**)、あるいは疎水性相互作用により分子内二次構造を示す(**A6**)ことは分子設計当初に予期していなかった新たな特性であった。人工ホスト分子による糖認識の機構として会合・解離だけの単純な認識ではなく、高次構造同士のダイナミックな相互変化をとまなう高度な認識作用の存在が明らかになったことは、構造化学的に興味深いだけでなく糖認識を計測に適したシグナルに翻訳する点で有望であり、有機ホスト-ゲスト化学にさらなる奥行きと可

能性を加えたと考えている。

6. 研究総括の見解

分子認識に伴うエントロピー低下を抑制するユニークな設計理念による新しい人工宿主分子と、それを利用した糖認識系を実現する研究である。ピリジンやフェノールのような極性化合物を剛直な骨格状に配置した新たな糖認識のための宿主を各種合成し、この設計理念の実証に挑戦した。主たる成果は次の2点である。

①ピリジンまたはフェノール誘導体をアセチレン結合で連ねた親油性および親水性各種ポリマーを合成し、塩化メチレン中また水中で糖のキラリティーまで識別できることを錯体の CD スペクトル測定により示した。

②計算化学(Monte-Carlo 法)の結果と実験結果とから、宿主分子の水素結合による自己会合、疎水性相互作用による分子内二次構造の存在を明らかにした。糖認識にともない高次構造同士のダイナミックな相互変化の存在も明らかとした。

これらの研究成果は4篇の原著論文、3件の学会招待講演にまとめられている。

これらの成果を通じて、「剛直かつ対称性の高い低エントロピー型分子認識アレイ」という研究者のユニークな思想の正当性が実証されたことは高く評価できる。とくに水中で人工宿主分子による糖認識に成功したことは特筆すべきである。今回の研究で開発された糖認識システムの分析計測への応用が示されることが強く望まれる。その結果、医療診断、環境、食品など幅広い分野に対して安価で信頼性の高いセンシング技術が提供されることを期待する。

7. 主な論文等

(A)さきがけの個人研究者が主導で得られた成果

(1)論文(原著論文)発表

論文(国際)

- ・ Hajime Abe, Yoshinobu Aoyagi, Masahiko Inouye, "A Rigid C_{3v} -Symmetrical Host for Saccharide Recognition: 1,3,5-Tris(2-hydroxyaryl)-2,4,6-trimethylbenzenes" *Organic Letters* **2005**, *7*, 59–61.
- ・ Hajime Abe, Nozomi Masuda, Minoru Waki, Masahiko Inouye, "Regulation of Saccharide Binding with Basic Poly(ethynylpyridine)s by H^+ -Induced Helix Formation" *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 16189–16196.
- ・ Minoru Waki, Hajime Abe, Masahiko Inouye, "Helix Formation in Synthetic Polymers by Hydrogen Bonding with Native Saccharides in Protic Media" *Chemistry—An European Journal* **2006**, *12*, 7639–7647.
- ・ Minoru Waki, Hajime Abe, Masahiko Inouye, "Translation of Mutarotation into Induced CD Signals Based on Helix Inversion of Host Polymers" *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46*, 3059–3061.

(2)特許出願 なし

(3)学会発表

口頭発表(国内)

- ・ 阿部 肇・脇 稔・井上将彦、“含水系におけるエチニルピリジンポリマーの糖認識”、第1回ホスト・ゲスト化学シンポジウム、2006年5月
- ・ 阿部 肇・脇 稔・井上将彦、“らせん構造により糖を取り込むポリピリジン分子の開発”、日本薬学会第127年会(シンポジウム講演)、2007年3月
- ・ 阿部 肇・村山大輔・栢森史浩・井上将彦、“糖テンプレートを連結させた人工ポリマーの誘起らせん構造”、第37回構造有機化学討論会、2007年10月

ポスター発表(国際)

- ・ 阿部 肇・脇 稔・井上将彦、“Polypyridine Host Molecules for Binding Saccharides in Water by Helical Structures”、International Conference on Molecular Machines and Sensors (ICMMS' 07)、2007年5月
- ・ 阿部 肇・町口博志・井上将彦、“Pyridine/Pyridone Co-oligomers Transformed by Saccharide Recognition from Duplex into Single Helix”、12th International Symposium on Novel Aromatic Compounds (ISNA-12)、2007年7月

(4)招待講演

招待講演(国内)

- ・ 阿部肇・井上将彦、“糖質との水素結合によりらせんを形成する人工ポリピリジン分子の開発”、分子研研究会「多様な水素結合系と量子効果」、2005年7月
- ・ 阿部肇、“単純な構造で分子認識・会合を行う人工分子の開発”、九州大学大学院理学研究院セミナー ～機能性物質の新潮流～、2006年3月
- ・ 阿部 肇、“糖を認識するポリマーの開発”、とやまの未来を拓く科学技術交流会、2006年9月

(B) その他の主な成果

なし