

機能集積型高次構造を有する人工レセプター

「形とはたらき」領域 久保 由治

1. 研究のねらい／目的

生体という高度に維持された組織体は複雑系における精密な認識と協調によって達成されているといえます。近年の有機合成技術の進歩は任意の超微細空間の構築を可能にしました。よって生体の織りなす様々な作用機構を人工的に再現できれば、生理活性物質の薬理学的作用の解明や新しい治療薬開発に対する知見を提供するかもしれません。さらに、その微細空間への光学的性質や制御機能の付与は分子センサーや分子機械を意識した精密分子素子を創製に結びつくものと期待されます。本研究では、天然のレセプターに迫る“認識空間”を合成分子を通して構築し、そこへ多彩な化学的・物理的機能を連携させ、新しい分子システムに拡張することを検討しています。そこで、物質認識空間を人工的に設計する方法論の確立から展開し、高選択性・汎用性に優れたセンサー材料や薬理学的作用の動作概念をモデル化した機能ユニットの開発、そして任意に制御可能な反応場を有する次世代分子材料の基盤研究に発展させることを狙いとしました。

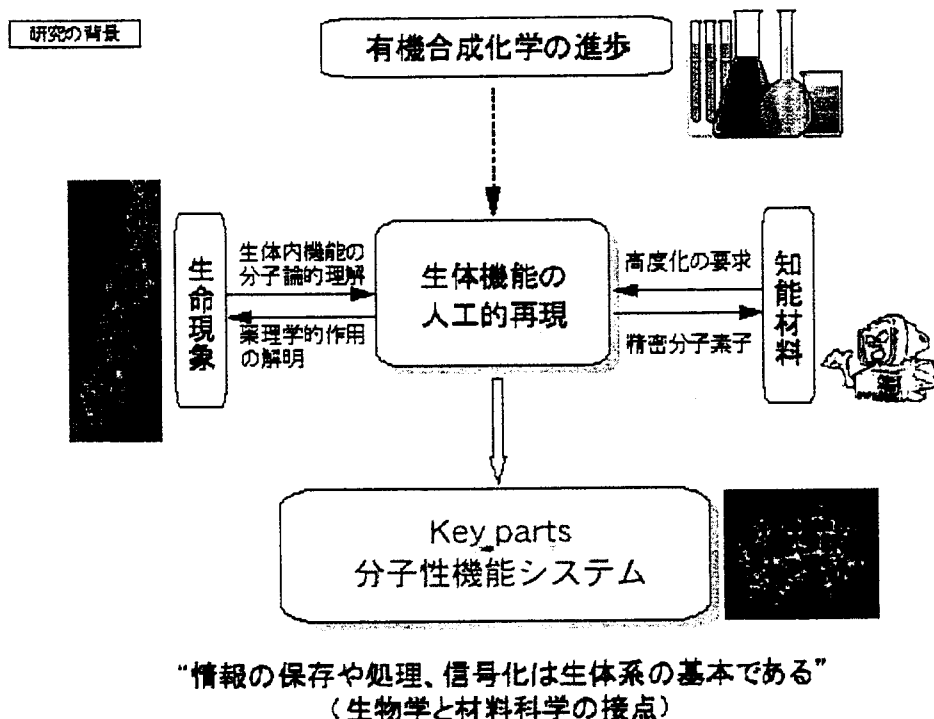


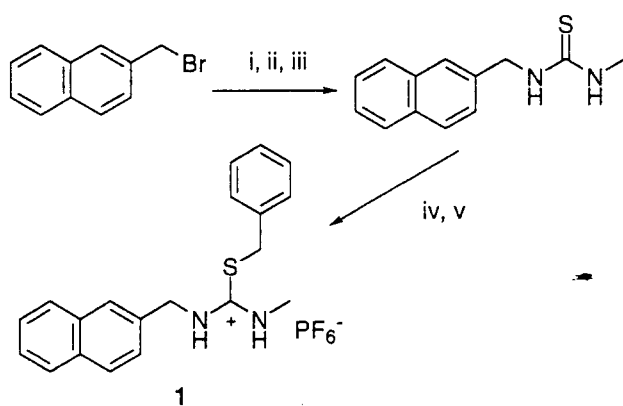
図1 当該研究課題の理念

2. 研究方法と成果

本研究では、生命現象と材料科学の接点のひとつが情報の保存・処理・信号化であると仮定し、生命現象を機能開拓のヒントに、材料としての拡張性やハイブリッド化を視野に入れる限りシンプルな合成システムの開発を目指しました。具体的には、物質入力情報の処理・信号化や外部情報による機能コントロールを目標に標的分子を設計・合成しました。そして、第2ステージとして、それらの集積化をはかり高度化を目指す研究を計画しました。目下進行中のものもありますが、現時点で得られた成果を報告します。

2-1 物質情報を処理・発信

細胞膜 G タンパク質共役型レセプターの例をあげるまでもなく、天然のレセプターはリガンドの選択的授受を通じてシグナル伝達をおこなうアンテナの働きをしています。その動作概念を低分子で再現し、そこへ読み出し機能としてクロモフォアを連結させれば分子センサーとなります。これらは医療分析化学への適用にとどまらず、動的生体作用を直接リアルタイムに観察できる分子プローブに利用できます。われわれはあるハロゲン化アルキルからアルキルチオールへと誘導する際の鍵中間体として得られるチオウロニウム基がカルボン酸イオンやリン酸イオン等のオキソアニオン類と強い親和性を発現することに着目し、これをセンサー分子に組み込む戦略を考えました。チオウロニウム基は基底状態では電子欠損型で存在するため、蛍光ユニットとの適当な組み合わせを施すことで、その蛍光特性を光誘起電子移動プロセスを用いて制御できます。そこで、今後不斉認識用センサーに拡張することを念頭に以下のナフタレン-チオウロニウム型誘導体 (1) を合成・評価しました。



Scheme 1 Reagents and conditions: i, K^+ phthalimide⁻, dry DMF; ii, $NH_2NH_2 \cdot H_2O$, THF-EtOH; iii, MeNCS, $CHCl_3$; iv, benzylbromide, dry EtOH; v, $AgPF_6$, dry EtOH.

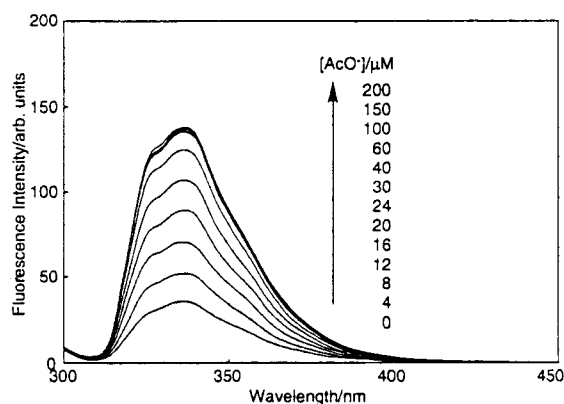
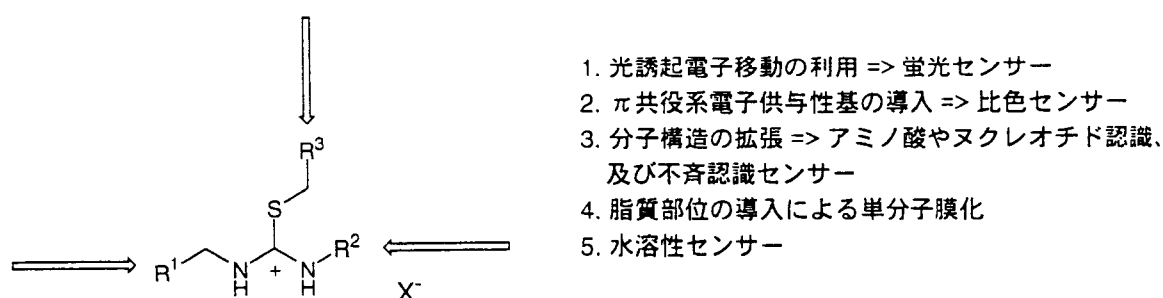


Fig. 2 Emission spectra of 1 (20 μM) in MeCN at 25 $^{\circ}C$ excited at 270 nm upon addition of AcO^- as a Bu_4N salt.

合成経路を Scheme 1 に示す。2-(プロモメチル)ナフタレンを出発原料に三段階で鍵中間体のナフタレン-チオウレア誘導体を合成し、そしてベンジルブロミドとの反応後、アニオン交換を施すことにより目的物(1)を得ました。チオウロニウム基の導入はその電子的性質を反映してナフタレン環の蛍光を効果的に消光させました。これは励起したナフタレン環の一重項状態からチオウロニウム基への効果的な光誘起電子移動によるものと類推され、電気化学的測定に基づき ΔG を算出しました($\Delta G = -29.8 \text{ kcal/mol}$)。このような性質をもつ当該分子のチオウロニウム基にオキソアニオン類を作用させると面白い結果を得ました(Fig. 2)。すなわち、1にカルボン酸イオンを添加したところ、340nm 付近の蛍光強度の増大が観測され、さらにその蛍光発光は添加するアニオン類に対して選択的であることがわかりました。以上の結果は当該分子は極めて単純な構造でありながら、生体重要アニオン種に対するセンサー機能を有していることを示しています。これをプロトタイプに様々な合成的拡張を施し、たとえばキラリティー導入による不斉認識センサーや脂質ユニットの結合から達成される単分子膜の開発など実用を目指した発展を検討したいと考えています。



1. 光誘起電子移動の利用 => 蛍光センサー
2. π 共役系電子供与性基の導入 => 比色センサー
3. 分子構造の拡張 => アミノ酸やヌクレオチド認識、及び不斉認識センサー
4. 脂質部位の導入による単分子膜化
5. 水溶性センサー

図3 合成的発展性

2-2 レセプターの薬理学的作用をモデル化した分子デバイス動作原理の提案

物質認識情報をカスケードシグナリングできる人工光学レセプターの合成開発は、分子センサー材料と関連させて、ホスト・ゲスト化学及び分析化学の主要研究テーマのひとつになっています。これらはある特定の物質を高感度・高選択性でセンシングすることを目標とするので、一般にホスト・ゲスト物質間相互作用が強くなればなるほど、応答が大きくなるという方法論が適用されます。しかしながら、人間や生物に近い情報処理をおこなうシステムを究極的に狙うことを考えると、天然のレセプターはそのような linear な情報処理をおこなっていないことが気になっていました。レセプターの働きは化学認識特性と刺激応答特性に集約されますが、その中でわれわれが着目したのはリガンド親和性と情報伝達に直結する薬効

が必ずしも連結していない事実であります。特にレセプターに強く結合しながら、一連の応答を禁止するアンタゴニストの作用概念は分子薬理学的に重要であります。これを情報処理機能の面からみれば、一種のゲート作用なのかもしれません。そこで、この概念を低分子で再現し、新しい分子デバイスに発展させる試みをおこなってみました。

本研究では、次のシグナル応答を発現する分子システムを目的としました。すなわち、その分子は first イオンの結合に伴って比色効果を通じシグナル発信 “off-on” をおこないます。もし、second イオンが first イオンより親和性が大きいだけでなく、ほとんど比色効果を誘起しないのであれば、その second イオンが効果的に first イオンを放し、“on-off” シグナルコントロールをもたらすことができます。以上の概念に基づいて、合成されたインド

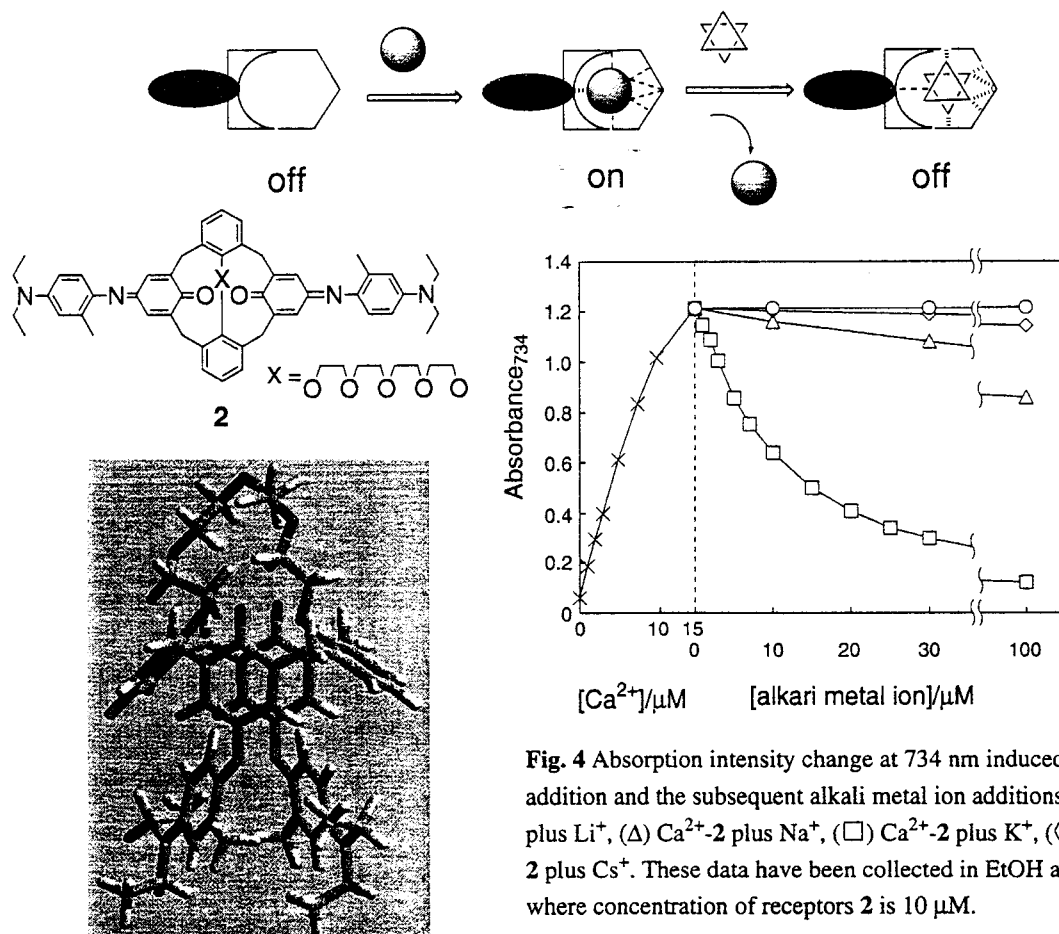


Fig. 4 Absorption intensity change at 734 nm induced by Ca^{2+} addition and the subsequent alkali metal ion additions: (O) Ca^{2+} -2 plus Li^+ , (Δ) Ca^{2+} -2 plus Na^+ , (\square) Ca^{2+} -2 plus K^+ , (\diamond) Ca^{2+} -2 plus Cs^+ . These data have been collected in EtOH at 25 °C where concentration of receptors 2 is 10 μM .

アニリン誘導型カリックス[4]クラウン-5 (2) の特徴は互いに性質の異なる配位部位を cavity (金属イオン結合部位) に導入したことです。すなわち、crown-strapped 部位はアルカリ金属イオンに親和性を持つものと予想されますが、より極性な官能基であるカルボニル基は二価のアルカリ土類金属イオンと親和性を示すものと思われま

strapped 部位におけるアルカリ金属イオン親和性が勝れば、アルカリ土類金属イオンが誘起する色調の変化をコントロールできるものと考えました。

得られた結果を Fig. 4 に示します。分子 (2) の EtOH 溶液に Ca^{2+} を添加すると 734nm に新たに吸収バンドを生じ、溶液は青から緑へと変化しました ($K_a = 1.8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$)。しかしながら、アルカリ金属イオンである K^+ の添加はそのシグナル発信を選択的にオフコントロールしました。競争的滴定実験の結果から、 K^+ の高い親和性 ($K_a = 7.2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) が示唆されましたが、 $K_a(\text{K}^+) / K_a(\text{Ca}^{2+})$ がたかだか 4 倍程度で効果的 “off-on-off” シグナルコントロールを発現したことに注目したい。またこの現象の構造化学を FAB MS、及び COSY や NOESY を含む NMR 実験より考察しました。比較的シンプルな分子であるにもかかわらず、有機分子のもつ固有なスイッチング機能やメモリー機能を活用すれば、分子デバイスの一形態を示すものができるかもしれません。生体のもつ機能を概念的にできる限りシンプルな系で再現する本研究は材料開発の新しい切り口に繋がるものと期待します。

2-3 分子性機能制御システム

レセプターの「形とはたらき」から想起される重要な作用のひとつに、機能制御があります。精密な分子材料を構築していくには、如何に分子レベルで機能をコントロールしていくかが肝心となります。本研究ではこの点を意識して次の研究を実施しました。

2-3-1 NLO 活性レセプター

近年、光による情報処理が注目される中で、光波を分子レベルで制御できる人工レセプターの開発は興味ある研究対象であります。われわれは非線形光学 (NLO) 特性が波長や屈折率などの光の属性を操作できることに着目し、そこへ物質認識機能を連携させる “NLO 活性レセプター” (図 5) を提案しました。

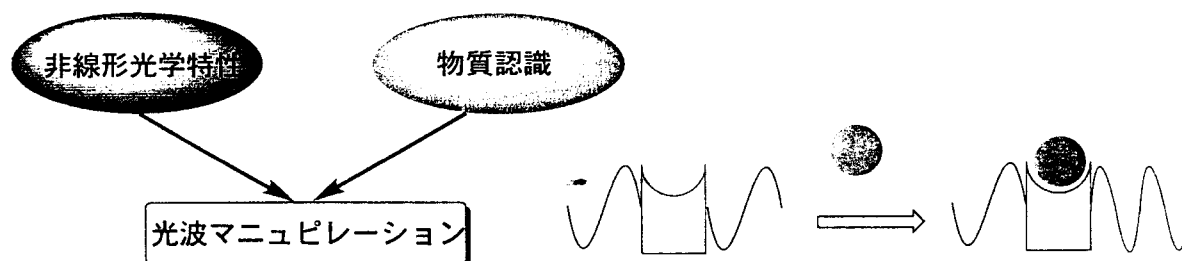
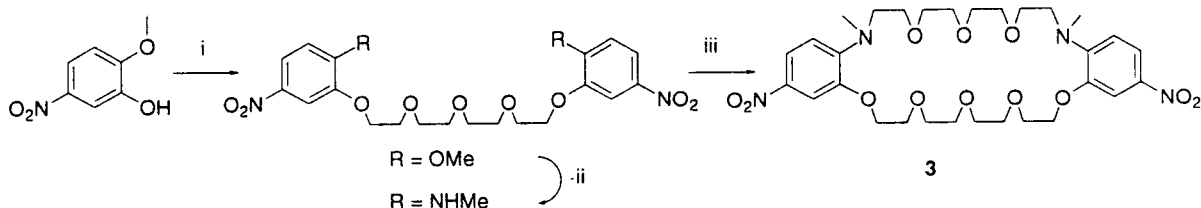


図5 NLO 活性レセプター

ミクロスコピックな 2 次非線形光学特性は分子超分極率 (β) の見積もりにより評価され

ます。溶液中で簡便に測定できる系として、1,064nm を基本波とする Nd:YAG レーザーを用いたハイパーレーザ散乱法 (HRS) 法を採用しました。しかし、被検体が HRS 光に吸収がある場合、2 光子蛍光によって β 値が過大評価される可能性があるため、Nd:YAG レーザーの SHG に対応する 532nm に吸収をもたず、また蛍光を持たないクロモフォアが望ましい。そこで、その条件に見合う *p*-ニトロアニリン系色素を両末端に二つ導入した大環状クラウンエーテル誘導体を分子設計しました。ここでゲスト会合に伴う配座変化が β 値に影響を与えるかどうかにも興味を持ちました。合成は Scheme 2 のように市販の 5-ニトログアイアコールを出発原料に三段階で達成されました。



Scheme 2 Reagent and conditions: i, 3,6,9-trioxaundecane-1,11-diyl bistosylate, K_2CO_3 , dry acetone, reflux, quant.; ii, methanolic solution of MeNH_2 (40% v/v), in sealed tube, 100°C , quant.; iii, 3,6,9-trioxaundecane-1,11-diyl bistosylate, NaH , dry DMF, 80°C , 22%.

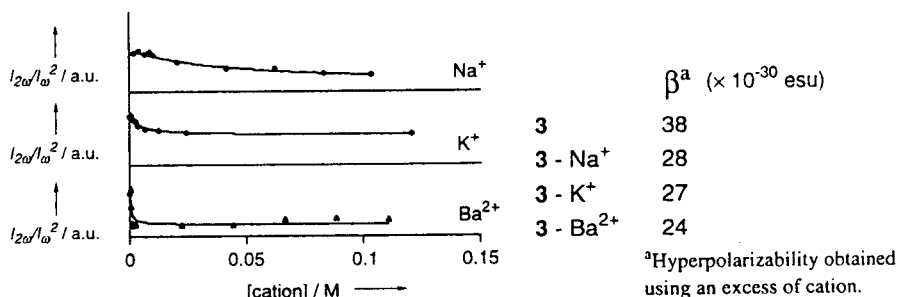


Fig. 6 HRS signal in a function of the cation concentration.

分子 (3) の β 値は 38×10^{-30} esu ありますが、カチオン存在下の HRS 測定をおこなったところ、カチオン依存性の HRS シグナル変化が観測され、物質認識に連携した分子超分極率の制御をおこなうことができました。観測された HRS シグナル挙動はメチルプロトンのシフトに着目した ^1H NMR 適定実験の結果とよく一致したので、この β 値の変化は錯体形成に基づく色素双極子モーメントの軽減によるものと考察し、配座変化に伴う寄与はほとんど観測されませんでした。目下、得られた知見をもとに、非線形光学特性を増幅できるシステムの開発に挑んでいます。

2-3-2 大環状クラウンエーテルに基づく機能制御

折角作った大環状クラウンエーテル類を他の用途に利用できないか。特徴は位置特異的に

ニトロ基が結合していることです。ニトロ基はアミノ基に容易に還元できるので、様々な機能性官能基の導入を可能にします。これは本分子のコンホメーションの柔軟性とリンクさせると機能制御分子の合成基体としての有効性を示唆するものです。この発想からカチオンとアニオンを協同認識できる multi-site レセプター (4) を合成しました。当該分子は金属イオンのアシストによって、ジフェニルリン酸アニオンを強く結合できることがわかりましたので、そのチオウレア基末端に塩基点をつけて、リン酸エステルのトランスエステル化反応に対する制御型人工酵素システムを開発しています。

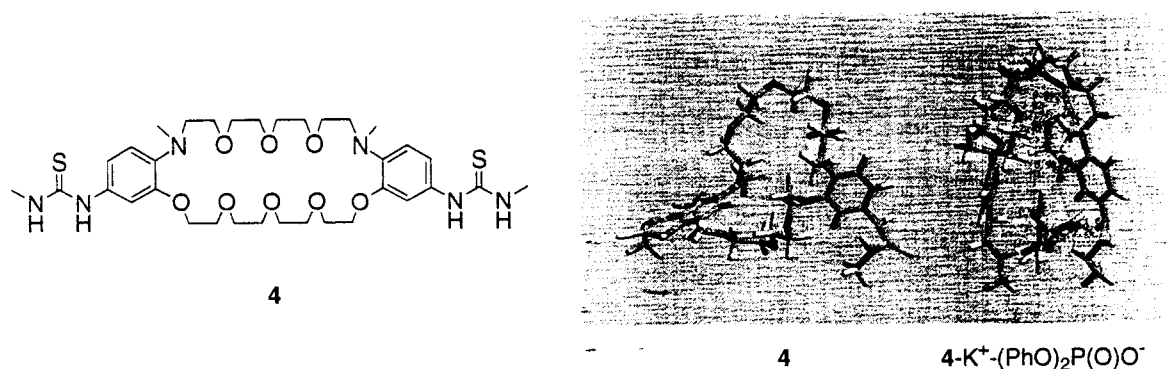


Fig. 7 An energy-minimized structures of 4 and 4-K⁺-(PhO)₂P(O)O⁻.

2-4 機能集積化を目指して：分子性アロステリーを利用した不斉転写制御の試み

機能を集積させて生命現象に近い化学プロセスを構築したい欲求は有機合成化学者にもあります。分子生物学のセントラルドグマにおいてその根幹をなすのは正確な遺伝情報の保持・発現・伝達に基づく機能素子（タンパク質）の合成であります。その一連の情報伝達が周辺のタンパク質によって精密に調節されていることは極めて興味ある知見です。このことを情報媒体として不斉を用いて自分なりの分子システムでアプローチしてみたいと考え、アロステリーに基づく不斉転写制御を試みています。力及ばずしていまだ検討中ではありますが、その途中経過を記します。

当該分子 (5) は二つのポルフィリン部位をビフェニル誘導型 20-クラウン-6 で連結しています。2,2'-ビフェニル部位をスペーサーにもつ本分子は、二つのキラルコンホマーの存在が考えられますが、通常低い回転障壁であるため相互変換が迅速であると思われます（円二色性 (CD) スペクトルはサイレンス）。しかしながら、その分子システムにダイトピックに、かつある方向で結合できる不斉誘起剤はその効果的な錯体形成を通じて、不斉情報をこの分子に転写できるかもしれません。そして、アロステリック effector (金属イオン類) によって、不斉誘起剤の自動解除がおこなわれれば、その不斉情報のみが保存されると予想し

ました。一方、effector を先ず作用させ negative アロステリーを機能させれば、不斉誘起剤は今度は結合できず不斉転写阻害を誘起できるかもしれません。以上の概念を具現化させ、任意に不斉をコントロールできる特殊な反応場の構築をおこない、そして、亜鉛ポルフィリンのもつ様々な機能と連携させることを考えました。

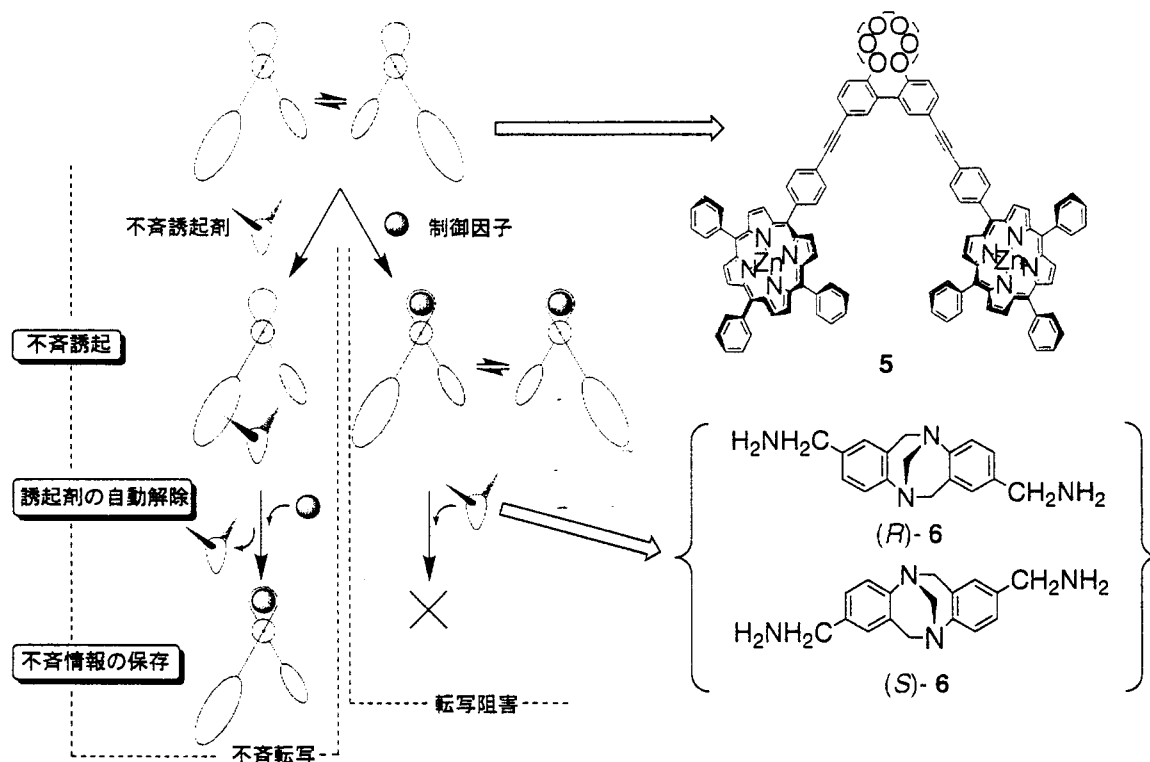
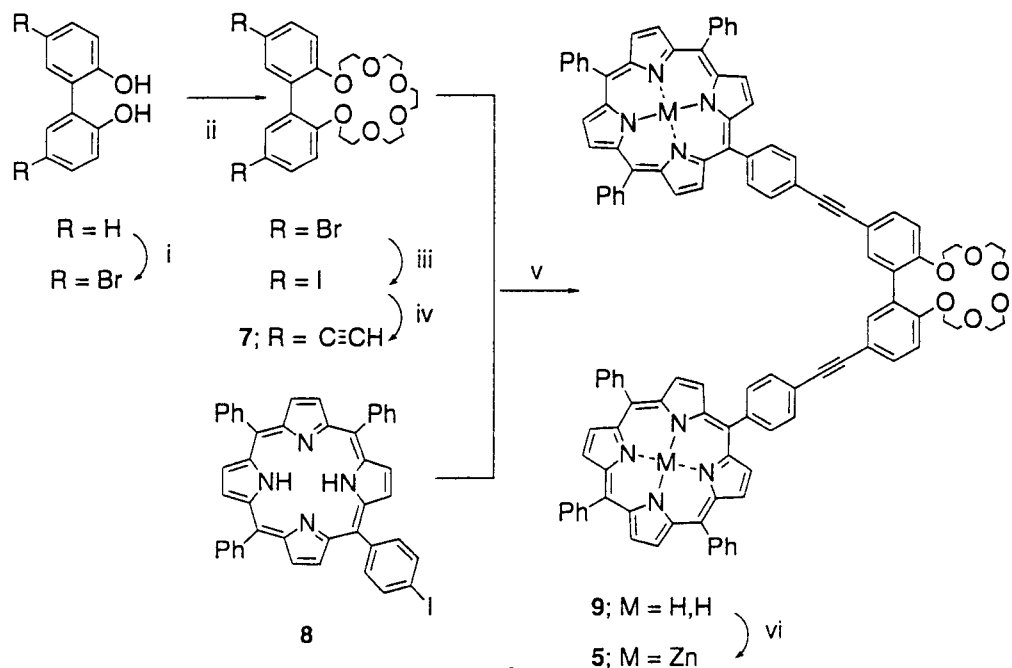


図8 不斉転写制御の分子設計

合成経路を Scheme 3 に示します。crown-strapped biphenyl 部位は 2,2'-ビフェノールからジブロモ化、ウィリアムソン合成によるクラウン化、ハロゲン交換をおこなったのち、トリメチルシリルアセチレンを作用させ 7 に誘導しました。一方、ポルフィリン部位は常法によってヨウ素体 (8) を合成し、その 8 と 7 をパラジウム触媒下クロスカップリング反応を施し、フリーベースポルフィリン二量体 (9) に誘導しました。その後、酢酸亜鉛を用いて亜鉛錯体とすることで目的化合物 (5) を得ました。化合物の同定は ^1H NMR、 ^{13}C NMR、MALDI-TOF MS、及び元素分析によっておこないました。

次に効果的に不斉情報を伝達できる誘起剤を設定しました。CPK モデルによる検証の結果、5 にダイトピックに結合できる分子として、両末端にアミノ基を有する Tröger's base 誘導体 (6) に決めました。これは gable タイプの面不斉を有し、かつ方向性を持ちます。また、N --- N 距離が 12Å と見積もられ充分錯体形成可能と判断しました。



Scheme 3 Reagents and conditions: i, Br_2 , dry CHCl_3 , 97 %; ii, pentaerythritol ditosylate, K_2CO_3 , dry CH_3CN , reflux, 91 %; iii, KI , CuI , HMPA , 160°C , 64 %; iv, TMSA , $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$, CuI , dry $(i\text{-Pr})_2\text{NH}$ -dry DMF (5:1 v/v), 70°C , and then 1N KOH aq., MeOH , room temp., 78 %; v, $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$, dry DMF -dry NEt_3 (5:1 v/v), 35°C , 66 %; vi, $\text{Zn}(\text{AcO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, MeOH - CH_2Cl_2 , room temp., 64 %.

この6は4-ニトロベンジルブロミドから合成され、得られたラセミ体は光学活性体分離カラム (CHIRALCEL OJ) を装備したリサイクル分取 HPLC で光学分割されました。まだ予備実験の段階ですが、各エナンチオマー (6) を添加するとポルフィリンのソーレーバンドのシフトとともに励起子分裂型の CD スペクトルが観測され、ポルフィリンダイマーに不斉が誘起されていることが示唆されました。尚、(R)-6 体の添加で正の励起子キラリティーを、また (S)-6 体の添加では負の励起子キラリティーを発現したことは、ポルフィリンダ

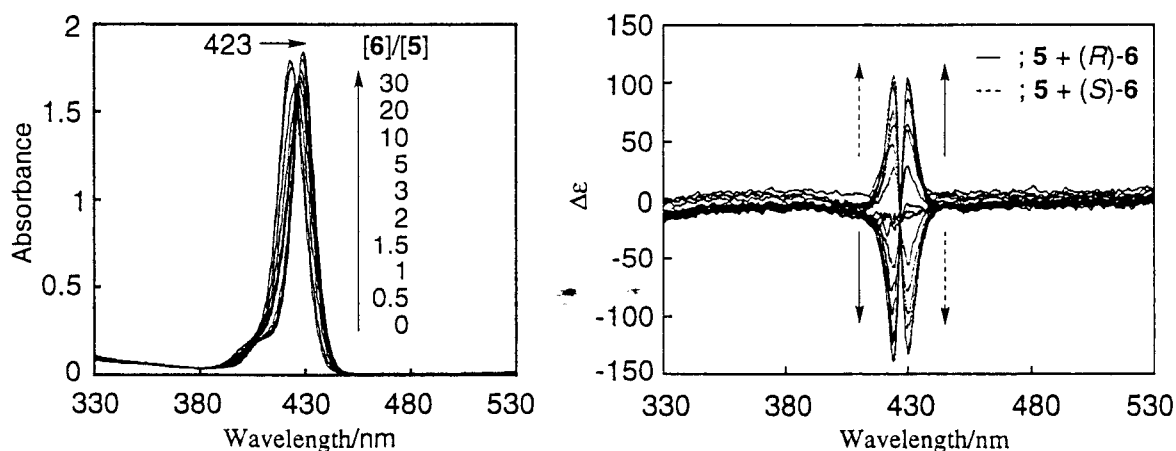


Fig. 9 UV/Vis and CD Spectra of **5** ($2.0 \mu\text{M}$) upon addition of **6** (0 - 30 equiv.) in CH_2Cl_2 - CH_3CN (9:1 v/v) at 25°C .

イマーに対して、逆さ向きに配位するモチーフを支持しています。現在、アロステリック effector の添加に基づくこの不斉誘起の制御に関するデータを集積しているところです。

3. 今後の展望

本研究では、次世代機能性材料に要求される作用概念は生体機能にそのヒントがあるという考えの基に、有機合成化学的手法を用いて原子と原子を結びながら機能部位を構築し、そして分子内でうまく連携させていく手法で極小のシステムを仕立てることに挑んできました。できる限りシンプルな分子でできる限りインテリジェンスなものを創ることは一見矛盾して難しいことですが、やりがいのあるテーマとして今後とも追求していきたいと思います。このようなシステムは性質を明らかにできる分子上での構成を目指すので、それらを組み込み、操作するデバイスやモジュールの開発が容易になるという利点があります。

4. 発表リスト

(1) 論文リスト

- 1) S. Houbrechts, Y. Kubo, T. Tozawa, S. Tokita, T. Wada and H. Sasabe "Second-order nonlinear optical properties of functionalized ionophores: cation steered modulation of the first hyperpolarizability" *Angew. Chem.*, in press.
- 2) T. Tozawa, Y. Misawa, S. Tokita and Y. Kubo "A Regioselectively bis (thiourea)-substituted dibenzo-diaza-30-crown-10: a new strategy for the development of multi-site receptors" *Tetrahedron Lett.*, **41**, 5219-5223 (2000).
- 3) Y. Kubo, M. Tsukahara, S. Ishihara and S. Tokita "A simple anion chemosensor based on a naphthalene-thiouronium dyad" *Chem. Commun.*, 653-654 (2000).
- 4) Y. Kubo, S. Obara and S. Tokita "Effective signal-control (off-on-off action) by metal ionic inputs on a new chromoionophore-based calix[4]crown" *Chem. Commun.*, 2399-2400 (1999).
- 5) Y. Kubo, Y. Murai, J. Yamanaka, S. Tokita and Y. Ishimaru "A new biphenyl-20-crown-6-derived zinc(II) porphyrin dimer with a potentially heterotropic allostery" *Tetrahedron Lett.*, **40**, 6019-6023 (1999).

(2) 総 説

Y. Kubo "Chromogenic receptors as hyper-structured molecules" *Hyper-*

structured Molecules III : Chemistry, Physics and Applications, Gordon and Breach Sci. Pub., in press.

(3) 国際学会招待講演

- 1) Y. Kubo "Colorimetric chiral recognition by a chromogenic receptor" XXIII International Symposium on Macrocyclic Chemistry, Turtle Bay, Oahu, Hawaii, U.S.A. June, 1998.
- 2) Y. Kubo "Chromogenic receptors as nanoscopic molecular sensors" The 62nd Okazaki Conference, Okazaki, Japan, January, 1999.
- 3) Y. Kubo "Chromogenic receptors as potentially hyper-structured molecules" 4th International Forum on Hyper-Structured Molecules for Organic Quantum Device Applications, Oiso, Japan, July, 1999.

(4) 特許

久保 由治 "チオウロニウム基を有する新規な化合物および前記化合物のアニオン種認識蛍光センサー" 平成12年 特許願第2000-40785.

(5) 取材等

- 1) "Calixcrown acts as ion-sensitive switch" *Chemical & Engineering News*, American Chemical Society, December 13, 1999, p.35.
- 2) "金属イオンの結合で Off-On-Off と色が変わる分子" 現代化学 FLASH 欄、2000年4月号、P.14 (東京化学同人)。

(6) 受賞

第10回 (1997年度) 有機合成化学協会東レ研究企画賞

外部発表33件 (論文 5 件、総説 1 件、特許 1件、口頭発表 : 国際会議 8 件、国内会議18件)