

論文の内容の要旨

論文題目 **Design of Novel Functional Molecules based on Nucleobases**
(核酸塩基を用いた新規機能性分子の設計)

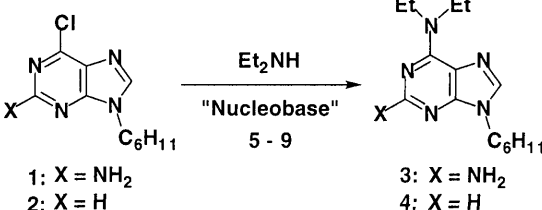
氏 名 富 永 昌 英

核酸塩基は、生物化学の分野だけではなく、超分子システムにおけるビルディングブロックとしても極めて魅力的な化合物である。すなわち、相補的な多点水素結合・金属との相互作用が可能であり、ウラシル・シトシンなどのピリミジン塩基は、紫外光照射によって可逆的に二量化する。本研究ではこれらの点に着目し、核酸塩基を基本ユニットとする新規な機能モジュールを設計し、それを用いた物質変換、分子認識機能などの開拓を目的とした。なかでも、1) 核酸塩基の多点水素結合による触媒作用、2) ウラシルを基本ユニットとする新規な樹木状高分子（ウラシル dendrimer）の合成と機能、の2点について詳細な検討を行った。

1 核酸塩基の触媒作用 多点水素結合を利用した物質変換は、超分子化学の分野における中心的な興味である。核酸塩基は相補的な多点水素結合を形成する代表的化合物であるが、それ自身が「触媒」として働く例はほとんど知られていなかった。そこで、本研究では、核酸塩基の多点水素結合による「触媒作用」について検討した。

2-アミノ-6-クロロプリン (**1**) への Et_2NH の求核置換反応 (Scheme 1) を核酸塩基の存在下 (**5-9**) で試みた。**1** はウラシル (**5, 7, 8**)、シトシン (**9**) と2点の水素結合を介して相補的塩基対を形成し、 ^1H NMRの滴定から、いずれも同程度の会合定数を示した。ベンゼン中30°Cで、**1** (5 mM) Et_2NH (125 mM) の条件でアミノ化反応試みたところ、ウラシル (**5, 6**) の存在下で反応が著しく加速されることが分かった。例えば、15 mMの**5** の存在下、反応は無触媒系に比

Scheme 1



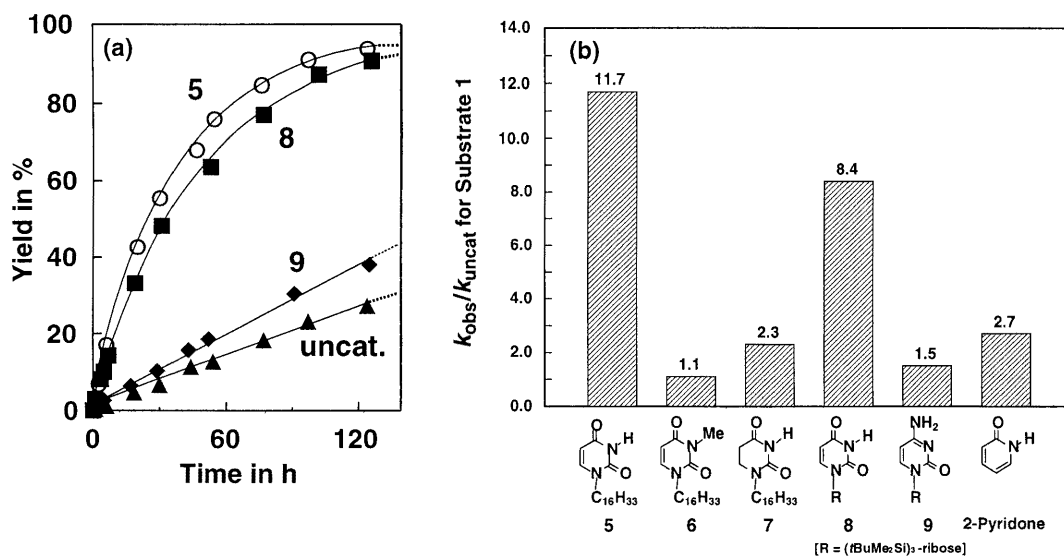
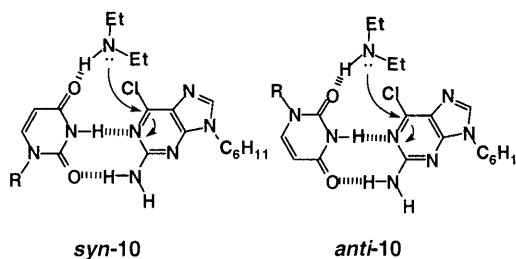


Figure 1. (a) Time courses of the reaction of **1** (5 mM) with Et₂NH (125 mM) in the absence (▲) and presence of **5** (O), **8** (■), and **9** (◆) in C₆H₆ at 30 °C. (b) Acceleration effects ($k_{\text{obs}}/k_{\text{uncat}}$) of the aminolysis in the presence of nucleobases **5-9** and 2-pyridone (15 mM).

べて11.7倍加速された (Figure 1a, O)。また、ウリジン誘導体 (**8**) も同様の触媒活性を示した (Figure 1a, ■)。対照的に、ウラシルと1点でしか水素結合できない6-クロロプリン (**2**) と Et₂NH の反応を同条件下で行った場合、**5** による加速は2.8倍にとどまった。また、**1** と Et₂NH の反応に、3-メチルウラシル (**6**) を用いた場合には、反応の加速はほとんど観察されなかった (Figure 1b)。

次に**1**とEt₂NHの初期濃度を固定し、**5**の濃度を増加させたところ、反応速度に明確な飽和挙動が観察され (最大28倍の加速)、**1**と**5**の間に形成される2点水素結合錯体が触媒作用に関与していることがわかった。同様の飽和挙動はEt₂NHの濃度を増加させた場合にも観察され、Et₂NHと**1**との複合体も反応に関与していることが示された。従って、ウラシルは両基質と水素結合で三元錯体を形成し (*syn-10* and/or *anti-10* (下図))、**5**とEt₂NHを近接させることにより反応を加速しているものと考えられる (エントロピーロスの減少)。一方、三元錯体の形成は可能であるが配位したEt₂NHが反応点に近接できないシトシン (**9**) (Figure 1a, ◆)、**1**と2点で水素結合できるがEt₂NHの配位部位がない2-ピリドンを用いた場合には、反応の加速は極めて小さく (Figure 1b)、これは上記のメカニズムと矛盾しない。一方、**5**と同様の三元錯体を形成するが、カルボニル酸素の塩基性が低い5,6-ジヒドロウラシル (**7**) は、アミンを十分に捕捉・活性化できず、反応の加速は著しく減少した。これらのエントロピー的要素に加えて、多点水素結合によるイオン性中間体の安定化も重要な役割を果たしているものと考えられる。



Plausible ternary complexes among 6-chloroguanine (**1**), Et₂NH, and uracil.

2. 核酸塩基からなる新規な樹木状高分子の合成と機能 樹木状多分岐高分子である dendrimer は、三次元的な擬ネットワーク構造をもつことから、ホスト分子としてのポテンシャルを有している。さらに、その擬ネットワーク構造に可逆的に架橋を導入できれば、取り込んだゲスト分子の閉じ込め・放出を制御できる可能性がある。これらを念頭に、ウラシルを基本ユ

ニットとする樹木状高分子（ウラシルデンドリマー）を分子設計した。ここでは合成したウラシルデンドリマーを用いて、(1) 紫外光照射によるデンドリマー組織内での可逆的架橋を検討するとともに、(2) カルボニル酸素への配位による金属イオンのトラップを調べた。

2. 1 ウラシルデンドリマーの分子設計

ウラシルの1,3位の二つの窒素原子をアンカーとして、convergent法によりデンドリマー構造を構築した (Scheme 2)。すなわち、(i) 5-ベンジルオキシメチルウラシル誘導体 (L_nU-OBn) のブromo化、(ii) 得られた5-ブromoメチルウラシル誘導体 (L_nU-Br) と5-ベンジルオキシメチルウラシル (11) の縮合反応、を繰り返すことにより、ウラシルデンドリマー L_nU-OBn ($n = 2-4$) を合成した。生成物はいずれも、計算値と一致する単一のMALDI-TOF-MS シグナル、単分散のSECを示し、欠陥のない樹木状構造をとっていることが示された。

2. 2 光照射によるデンドリマー分子内での可逆的架橋反応 ウラシル、チミンなどのピリミジン塩基は280 nmの紫外光照射で、[2+2] 2量化によりシクロブタン環を形成し、さらにここに240 nmの紫外光を照射するとダイマーが開裂してモノマーへと戻ることが知られている (Scheme 3)。そこで $L4U-OBn$ (7.5 μM in CH_3CN at 20°C) に280 nmの単色光を照射したところ、

Figure 2a に示すように、ウラシルに由来する吸収 ($\lambda_{max} = 275.6$ nm) が時間とともに減少し、ウラシルユニット間で2量化反応が進行したことがわかった。一方、反応混合物は、光照射前と同一のMALDI-TOF-MS、SECを示し、架橋反応が分子内で選択的に進行することが明らかとなった。光照射80時間で、吸収強度は照射前の約65%にまで減少した (Figure 2a)。これは、デンドリマー1分子あたり、平均3個のダイマーが生成したことに相当する。一方、 $L4U-OBn$ の光2量化反応は、世代が1つ小さい $L3U-OBn$

(Figure 2b)、モノメリックな1,3-ジメチルウラシルに比べて速

Scheme 2

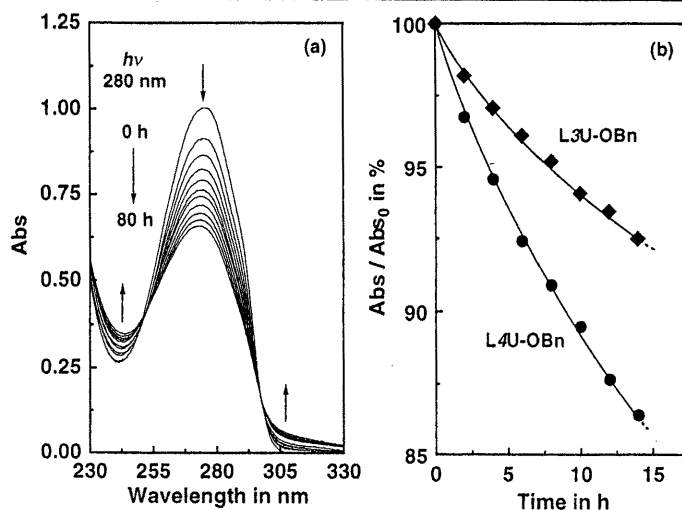
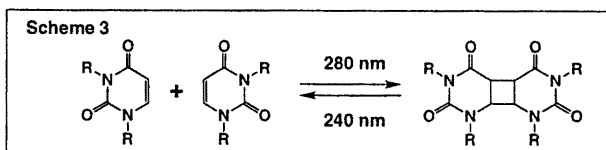
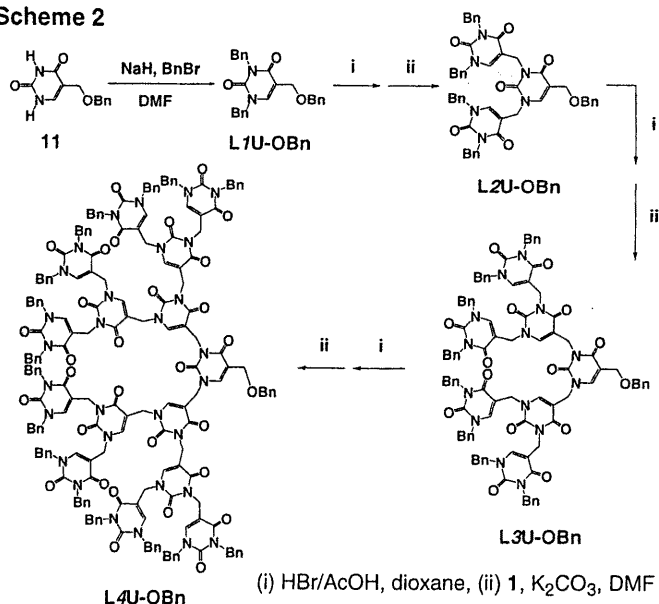


Figure 2. Irradiation of L_nU-OBn ($n = 3,4$) with UV light (280 nm) in CH_3CN at 20°C. (a) Absorption spectral change of $L4U-OBn$. (b) Plots of the absorbance at 275.6 nm versus time.

いものであった。これは dendrimer 分子中でのウラシルユニットの濃縮効果に起因すると考えられる。

架橋した **L4U-OBn** に 240 nm の紫外光を照射したところ、吸収の増加が観測され、フォトダイマーの解裂反応が進行した。本結果は、照射する光の波長によって、dendrimer 分子内に、可逆的に「鍵」をかけることができることを示すものであり興味深い。

2. 3 ウラシル dendrimer による金属イオンの捕捉 ウラシル dendrimer は、金属種と相互作用可能なカルボニル酸素を分子内に複数個有する。そこで各種金属イオンとの相互作用を検討したところ、希土類イオンを特異的に捕捉することが分かった。例えば、**L3U-OBn** を CH_3CN 中 (20 μM)、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ で滴定したところ、ウラシル由来の吸収が等吸収点 (248.2, 282.8 nm) を持ちながら、長波長側にシフトした (275.2 \rightarrow 294.2 nm) (**Figure 3a**)。299.6 nm の吸光度を $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ の当量でプロットしたところ、1 当量程度加えた時点で屈曲点が観察され、1:1 の当量比で錯体が形成されたことが明らかとなった (**Figure 3b**)。これは Job's plots の結果もからも支持され、さらに両者の混合物の MALDI-TOF-MS は、**L3U-OBn** と Sc^{3+} の 1:1 錯体に相当するピークを示した。同様の吸収スペクトル変化は、 La^{3+} , Eu^{3+} , Lu^{3+} などの希土類イオンで滴定した場合にも観察され、いずれも 1:1 の stoichiometry で **L3U-OBn** と相互作用することがわかった。対照的に他の金属イオン、例えば、 Na^+ , K^+ , Cs^+ , Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} などは **L3U-OBn** と混合しても全くスペクトル変化を示さなかった。すなわち、ウラシル dendrimer はその分子中に存在するカルボニル基の Multiple な配位により、希土類イオンをトラップしている。

L3U-OBn とは対照的に、**L1U-OBn** は希土類イオンと相互作用しなかった。一方、**L3U-OBn** (ウラシルユニット数 = 7) より一世代大きい **L4U-OBn** を用いて (ウラシルユニット数 = 15) Sc^{3+} との相互作用を調べたところ、予想通りウラシルユニットの数に比例して、1 分子あたり 2 個の Sc^{3+} を取り込んだ。興味深いことに、 La^{3+} など Sc^{3+} 以外の希土類イオンは **L4U-OBn** と 1:1 の stoichiometry で錯形成した。

次に、 Sc^{3+} とその他の希土類イオンとの競争的捕捉を試みたところ、極めて高い選択性が発現することがわかった。例えば、**L3U-OBn** に対して Sc^{3+} , La^{3+} を各々 40 当量加えたとき、 La^{3+} のみ選択的に錯形成した。一方、

Sc^{3+} , Lu^{3+} を競争的にとりこませた場合には、逆に Sc^{3+} が選択的に捕捉された。この結果は、ウラシル dendrimer の特異的なイオン認識能を示すものであり興味深い。

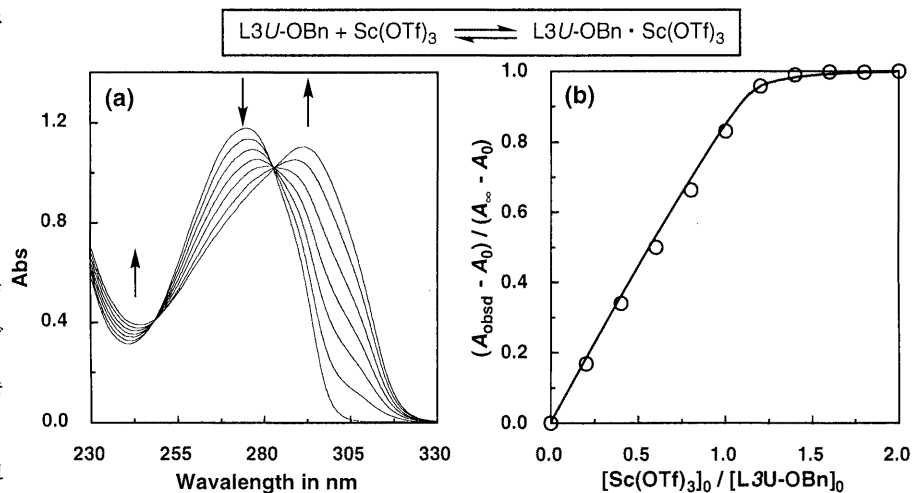


Figure 3. Spectroscopic titration of **L3U-OBn** with $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ in CH_3CN at 25°C. (a) Absorption spectral change of **L3U-OBn**: $[\text{Sc}(\text{OTf})_3]_0 / [\text{L3U-OBn}]_0 = 0 \rightarrow 1.2$. (b) Plots of the absorbance at 299.6 nm versus $[\text{Sc}(\text{OTf})_3]_0 / [\text{L3U-OBn}]_0$.