

氏名	楠 本 友 和
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	薬博第562号
学位授与の日付	平成17年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科創薬科学専攻
学位論文題目	機能性フェノールフタレインを用いた呈色型認識

論文調査委員 (主査) 教授 川端 猛夫 教授 富岡 清 教授 竹本 佳司

## 論文内容の要旨

### 序論

分子認識化学は、共有結合に比べ遙かに弱い結合力である水素結合、静電相互作用、ファンデルワールス力などを巧みに組み合わせて機能を開発する研究領域であり、近年盛んに研究されている。ゲスト分子には生体関連物質を用いる例は非常に多いが、化学的に修飾を加え誘導体とし用いる場合が多い。一方、水、又はプロトン性溶媒中での分子認識は大きな研究課題であるが、その報告例は少ない。その理由として以下の点が考えられる。

- 1) 生体関連物質は有機溶媒に難溶である。且つ、ホスト化合物は水に難溶な場合が多く同じ認識場に共存させる事が難しい。
- 2) ホスト分子を水溶性としても、錯形成の最も大きな駆動力である水素結合が水やプロトン性溶媒中ではほとんど期待できない。

以上の背景のもと私は、機能性フェノールフタレインを用いてプロトン性溶媒中での分子認識を行い、ゲスト分子の構造的特徴を可視化することを目標とし研究をおこなった。

### 第3章 機能性フェノールフタレインを用いたトリアミン類の呈色型認識及び、不斉トリアミン類の簡便合成法の確立

当研究室において開発した18-crown-6構造とフェノールフタレイン構造を併せ持つホスト化合物は、メチレン鎖が7個以上のジアミン類を認識し赤紫の呈色を示す。その呈色錯体として、一分子のジアミンが、ホスト分子の二カ所のクラウンエーテル部に橋掛けし、カルボキシレートの対カチオンとしてもう一分子のジアミンが消費された構造をとると推測されていた。そこで私は、分子内にアミノ基を持つトリアミン類であれば、内部アミノ基がカルボキシレートを捕捉し、ホスト:ゲスト=1:1の錯体を形成すると考えた。そこで、様々な長さを持つトリアミンについて検討した。結果は予想通り1:1錯体を形成し、ジアミン類よりも厳密な長さ認識を示す事がわかった。用いたトリアミン類には spermidine も含まれている。Spermidine は代表的な生体内ポリアミンであり、細胞の増殖過程への関連が指摘され、生化学的、医薬的にも重要な化合物である。様々な誘導体が報告されているが、不斉トリアミンの簡便合成法は報告されていない。そこで、入手容易なアミノ酸を出発原料とした合成法を検討した。Z-アミノ酸メチルエステルを出発原料として、4工程で対応する臭化アリル誘導体へと導いた。ここまでの過程で、窒素の $\alpha$ 炭素の部分ラセミ化が見られたが、2分子のこの化合物をベンジルアミンと反応させると、メソ体とdl体が生成するため、dl体は光学純品として得ることができた。次に、水素雰囲気下、パラジウムによる脱保護、不飽和結合の還元を一挙に行い、目的とする不斉 $\alpha$ ,  $\alpha'$ -dialkyl-dibutylenetriamine類を合成した。

### 第4章 機能性フェノールフタレインを用いたジペプチド類の呈色型配列認識

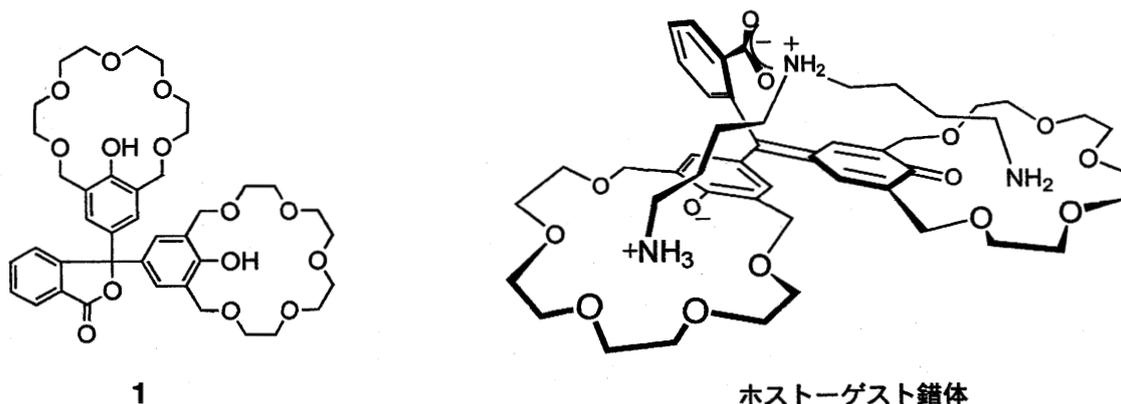
無保護ジペプチドの配列の認識は、非常に成功例が少ない。そこで私は、無保護ジペプチドをプロトン性溶媒中で呈色型認識する事を目標とした。Lysを含むジペプチドは、N末端と側鎖アミンの二箇所にアミノ基を持ち、対イオンの形成を考

慮に入れなければジアミンと同様の挙動を示す可能性がある。そこで、アミノ酸20種類からなる400個のジペプチドを固相法で合成し、ビーズ上での評価を試みた。その結果、呈色が見られたのはわずか6種類のみであった。これらジペプチドはC末端に固層がついた状態であり、保護アミノ酸と同義である。呈色が見られた6種(H-Gly-Lys-OH, H-Ala-Lys-OH, H-Ser-Lys-OH, H-Thr-Lys-OH, H-Arg-Lys-OH, H-Lys-Lys-OH)を別途調整し、溶液中での挙動を検討した。メタノール-水(10:1)溶液中、H-Gly-Lys-OH, H-Ala-Lys-OHは呈色し、逆の配列では無色であった。この呈色型配列認識は、メタノール-水(2:8)溶液や、水のみ、HEPPSO buffer (pH=8.4)といった系においても同様に認められた。次に、N末端アミノ酸の側鎖の大きさが及ぼす影響について注目し、側鎖にEt基, *n*-Pr基, *n*-Bu基を持つジペプチドを別途合成し、呈色の有無を確認した。その結果、呈色はH(Gly), Me(Ala)基では認められ、Et基より大きな側鎖では認められなかった。H-Gly-Lys-OHと比べジアミン間の長さがメチレン鎖一つ短いOrnを組み込んだH-Gly-Orn-OHでは、呈色が見られなかった。また、H-Ser-Lys-OH及びH-D-Ser-Lys-OHのジアステレオマーについて検討した所、前者では呈色が見られたが、後者では非常に弱い呈色しか示さなかった。以上のように、無保護ジペプチドの配列及び立体特異的呈色型認識に成功した。この呈色型認識は、ジペプチドの配列の違い、側鎖上のMeとEtの差、メチレン鎖一つの長さの差、ジペプチドのLLとDLの差等を厳格に区別し、呈色の差として表現するものである。

### 論文審査の結果の要旨

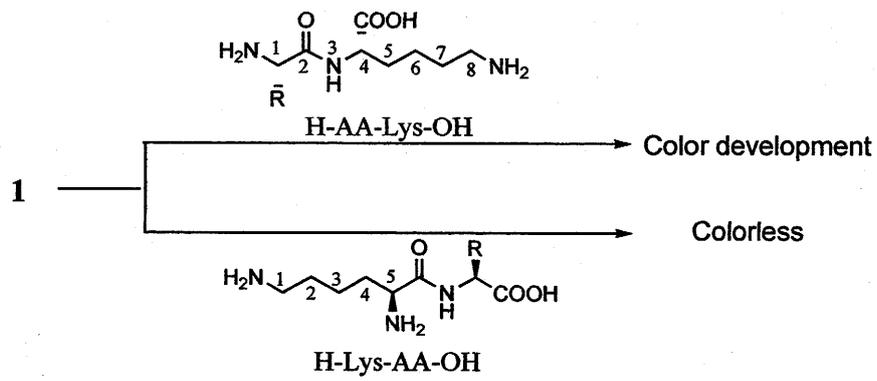
本研究はフェノールフタレイン型ホスト分子1を用いるプロトン性溶媒中での水素結合駆動の呈色型分子認識に関するものである。

ホスト分子1は直鎖ジアミン類の分子長に応じた呈色を示すことを当研究室ですでに報告していたが、そのホスト-ゲスト錯体の構造は不明であった。筆者は直鎖トリアミン類をゲストに用いる実験を精査し、ホスト-ゲスト錯体としてホスト分子の二つのクラウンエーテル部とゲスト分子の末端アミノ基、ホストのカルボキシレートとゲスト内部アミノ基が強固に相互作用した橋架け構造を提唱した。また、ホスト分子1が直鎖トリアミン類の長さを厳密に識別し呈色の差として表すことを示した。特にこの呈色の強弱が単に会合定数の大小に由来するのではなく、モル吸光係数( $\epsilon$ )の大小と連動して相乗的に表れるという極めて稀な現象を見いだした。



この知見を活かし筆者は、無保護ジペプチドの呈色型配列認識に取り組んだ。まず400個のジペプチドライブラリーを作成し、ホスト1による呈色の有無を固相上で評価した。その結果、6種類のジペプチドが呈色を示す事がわかった。次に液相で無保護ジペプチドとホスト1との呈色を検討したところ、Gly-Lys, Ala-Lys, Arg-Lys, Lys-Lysの四種類のみが室温で呈色を示した。この特異的呈色はC末端リジン側鎖のアミノ基とN末端アミノ基の間の8原子の距離をホスト分子が精密に認識した結果と考えられる。また本呈色型識別は80%含水メタノールのみならずPEPPSO緩衝溶液中でも認められた。このように水素結合を錯形成の主な駆動力とするにも拘わらず、水中での分子認識を達成した点で本研究は異彩を放っている。

本研究の応用として、N末端にAla-Lysを含むオリゴペプチドの呈色検出を検討した。オリゴペプチドとして10残基からなるサイリオルヒニンIと17残基からなる $\beta$ -アミロイドA4蛋白前駆体<sub>770(394-410)</sub>を用いて評価したところ、10<sup>-6</sup>M



程度の感度でホスト分子による検出が可能であった。これは診断薬開発への端緒となる成果と考えられる。

以上のように、本研究はプロトン性溶媒中で水素結合を駆動力とする分子認識系を構築し、無保護ジペプチド類の呈色型配列認識を達成した。本成果は超分子化学、分子認識化学に重要な知見を供すると同時に、診断薬開発への応用も期待されるものである。

よって本論文は博士（薬学）の論文として価値のあるものと認める。

更に、平成17年3月4日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。