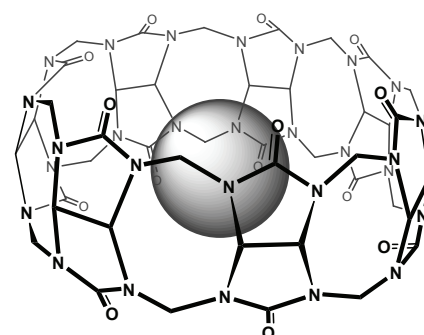


# Cucurbiturils: Synthesis and Binding Behaviors towards Bio-inspired Guest Molecules

(キューカービチュリル：合成とバイオインスパイアードゲスト分子への結合挙動)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 Mostafa M. Ahmed

[目的] 分子認識機能は、生物をランダムな外界と区別された自律的な組織にする最小必要機能である。分子認識を可能とする分子を設計・合成しその機能を明らかにすることが、分子認識を基盤とする分野における研究の始まりともいえる。従来では、シクロデキストリンやクラウンエーテル、シクロファンなどの大環状化合物が分子認識素子として研究されてきた。近年、複数個のグリコウリル単位がメチレン基を通じて環状につながった Cucurbit[*n*]uril (CB[*n*]と略) は、従来の分子認識素子と全く異なる分子認識現象を示し、注目を集めてきている。特に2000年頃 Kim らが通常サイズの分子の包接に十分な大きさの空洞をもつ CB[7]を発見し、Inoue らが CB[7]を用いて、万能な生体接着剤と呼ばれるビオチン-アビジン生体超分子系を凌駕する最強の人工超分子系を創出することに成功し、超分子化学に革新を起こそうとしている。しかし、純粋な CB[7]は入手困難であり、修飾し難い。また、CB[7]の分子認識機能に関しても未解明の部分が多くあると思われる。本研究は、CB[7]による新規の分子認識能の発見および CB[*n*]の機能化を目的とする。



CB[7]:Bio-inspired Guest complex

[結果] 1. CB 誘導体の合成: CB[7]の逆相クロマトグラフ分離精製法を初めて確立し、純粋な CB[7]を効率的に入手することを可能にした。また、メチルグリコウリルおよびグリコウリルを 1:6:14 のモル比で反応させ、モノメチル CB[6]を初めてのモノ置換 CB 誘導体として 14%の収率で合成し、2次元 NMR スペクトル解析により構造を決定した。2. 分子認識: CB[7]とアミノ酸、ジペプチド、Ach 類縁体、カルボン酸、アミドなど多種のゲスト分子との結合定数は、アクリジンオレンジを指示薬とした競合的蛍光滴定により求めた。主な結果は Table 1 にまとめる。

[考察]  $\alpha$ -アミノ酸の分子認識: 8種類の  $\alpha$ -アミノ酸について調査した結果、Gly の結合は最も弱く、His、Trp、Lys、Met、Leu の順に結合定数が少しずつ増加したが、いずれも弱い結合しか示さなかった。一方では、Tyr および Phe ははるかに強い結合を示した。NMR 測定の結果に基づき、Gly、Trp および Lys では、 $H_3N^+$ 基が CB[7] の入口に結合し、親水性置換基は空洞の外に位置していると推測される。一方、Leu、Tyr および Phe は  $H_3N^+$ 基を通じて CB[7] の入口に結合しながら、疎水性の置換基を空洞内に配置させている。

$\omega$ -アミノ酸の分子認識: カルボン酸基の CB 空洞への包接はこれまで報告がなく、 $\alpha$ -アミノ酸の検討においてもそれを証するデータは得られなかった。ところが、 $\omega$ -アミノ酸については、極性のカルボン酸基が CB 空洞に包接されるという驚くべき結果を得た。Table 1 に示すように、 $\omega$ -アミノ酸の結合能は、 $CH_2$ 数の増加に伴い有意に向上し、7-アミノヘプタン酸で最大となる。これは、カルボン酸基が CB[7]の空洞内に包接されていることを強く示唆する結果である。直接的証拠は NMR 測定から得ら

**Table 1. Association constants for the 1:1 complexes of CB[7] with some bio-inspired guests**

Guest	$K_a$ /mM	Guest	$K_a$ /mM	Guest	$K_a$ /mM
$\alpha$ -Aminoacids		$\omega$ -NH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH		Quaternary ammoniums and related species	
L-Ph-alanine	44	n = 2	0.76	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH•Cl <sup>-</sup>	1200
L-tyrosine	11	3	2.6	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OAc•Cl <sup>-</sup>	310
L-tryptophan	0.47	4	15	Me <sub>4</sub> N <sup>+</sup> OH <sup>-</sup>	600
D-leucine	1.8	5	145	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> Ph•I <sup>-</sup>	4900
L-methionine	1.1	6	347	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	7.8
L-histidine	0.26	8	1560	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH(OAc)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.9
L-lysine	1.0	Tulobuterol	2670	Bu <sub>3</sub> N <sup>+</sup> •I <sup>-</sup>	0.59
glycine	0.12	H(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CO <sub>2</sub> H		Me <sub>3</sub> CCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	830
$\omega$ -NH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CO <sub>2</sub> H		n = 1	0.11	Me <sub>3</sub> P <sup>+</sup> Ph•I <sup>-</sup>	1030
n = 2	0.6	2	0.42	Me <sub>3</sub> S <sup>+</sup> O•Br <sup>-</sup>	18
3	9.4	3	1.3	Me <sub>3</sub> S <sup>+</sup> •Br <sup>-</sup>	136
4	13	4	2.8	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CH <sub>3</sub> •Br <sup>-</sup>	880
5	130	5	3.0	Me <sub>3</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CH <sub>3</sub> •Br <sup>-</sup>	290
6	230	6	7.7	Neostgmime bromide	63
7	200	7	28	Cetyl pyridinium chloride	80
dipeptides		8	67	Vercuronium Bromide	82
Gly-Phe	0.9	<i>t</i> -BuCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	1400	Succinylcholine cholride	1560
Phe -Gly	815	Aromatic guests		Steroids and sugars and o-carborane	
Gly-Trp	0.28	Phenol	24	cholesterol	142
Trp-Gly	138	p-Chlorophenol	5.2	Chenodeoxycholic acid	213
Gly-Tyr	0.57	p-Cresol	6.1	Lithocholic acid	79
Tyr-Gly	524	p-Ethyl phenol	3.9	Ursodeoxycholic acid	53
N-acyl-L-homoserine lactone		p- <i>i</i> -Pr-phenol	7.3	Glucose	0.052
N-pentanoyl	1.6	p- <i>t</i> -Bu PhOH	146	Galactose	0.043
N-hexanoyl	2.9	p- <i>t</i> -Bu PhNH <sub>2</sub>	1460	Fructose	0.182
N-heptanoyl	29	p- <i>t</i> -Bu PhCO <sub>2</sub> H	214	Mannose	0.455
N-octanoyl	125	Me <sub>3</sub> SiPh	119	o-carborane	145

れた。β-アラニン錯体を形成すると、α-H および β-H にそれぞれ-0.77 ppm および-0.48 ppm の大きな高磁場シフトを示した。これは、β-アラニンの二つの CH<sub>2</sub> が CB[7] の空洞に位置し、α-CH<sub>2</sub> よりも β-CH<sub>2</sub> が空洞の中心に近いことを表している。また、各々の CH<sub>2</sub> のケミカルシフト変化から、ゲスト分子の長さの増加に伴い、COOH が空洞の中心に向かって伸びていき、そして、中心を通り越して出口へ向かうイメージを容易に作ることができる。さらに、包接に関わる自由エネルギー変化 (ΔG<sup>0</sup>) と CH<sub>2</sub> 数 (2~6) との間に良い直線関係が得られた。

ジペプチドの分子認識：3組のジペプチドについて調査した結果、芳香環を N 末端にもつジペプチドは、逆の配列を取ったジペプチドより 500 倍以上強く認識されることが分かった。この高い選択性は、CB[7] の疎水性空洞および極性の入口の共同的働きによるものと推測される。空洞に結合しながらも入口と静電気相互作用または水素結合形成できるゲストがより強く認識される。

アセチルコリン類縁体の分子認識：神経伝達物質として重要な役割を演じているアセチルコリン (Ach) は、Ach レセプターの Trp や Tyr 残基から成る結合部位にカチオン-π相互作用により結合すると考えられている。シクロデキストリンなど主に疎水性相互作用を利用するホスト分子は Ach に対して殆んど結合能を示さないため、現在まで報告されている人工 Ach レセプターの多くはカリクスアレーンに基づくものであり、

**Table 2. Isothermal calorimetric titration data for the complexation of CB[7]**

Guest	$K_a / 10^6 \text{ M}^{-1}$	$H (\text{K/M}^{-1})$	$S (\text{cal/M}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	$n$
choline	$4.26 \pm 0.23$	$-7.8 \pm 0.0081$	$4.16 \pm 0.018$	$0.99 \pm 0.001$
acetyl choline	$1.93 \pm 0.11$	$-8.7 \pm 0.027$	$-0.55 \pm 0.027$	$0.99 \pm 0.002$
neohexanol	$3.68 \pm 0.23$	$-13.1 \pm 0.037$	$-13.9 \pm 0.037$	$1.02 \pm 0.001$

Ach のセンシングを目的としている。本研究において、Ach およびその類縁体に対する CB[7] の結合能について調査したところ、CB[7] は  $\text{Me}_3\text{N}^+$  を強く認識することが分かった。驚いたことに、十分に競合できる疎水部位が存在しない限り、 $\text{Me}_3\text{N}^+$  は負の電荷を帯びる空洞入口ではなく、空洞の奥に結合する。類似構造を持つコリンおよびネオヘキサノールは荷電状態が異なるが、ほとんど同じ強度で CB[7] に結合し類似した錯体構造を形成する。これは、コリンが主に疎水性相互作用により包接錯体を形成していることを強く示唆する。また、このことは、ICT 滴定による熱力学的検討結果 (Table 2) によって支持されている。面白いことに、コリンと

ネオヘキサノールはほぼ同じ結合能を示したが、錯体の動的特性が明らかに異なる (Fig. 1)。コリンは CB[7] の空洞を貫通しやすく、速やかに CB[7] の空洞を出入りすることができるが、中性のネオヘキサノールは CB[7] 空洞の入口を通過し難く、NMR スペクトル上では空洞内外のネオヘキサノール分子が明白に区別されている。

その他のゲスト:胆汁酸や細菌の情報伝達物質である N-アシルホモセリンラクトン類縁体など多種の生体関連物質に対する CB[7] の分子認識挙動について検討を行い、結合能を評価した。CB[7] はこれらのゲスト分子に強い親和能を示すことが明らかとなった。CB[7] が N-アシルホモセリンラクトン誘導体に対して  $1.25 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  に及ぶ強い結合能を示したことは特に興味深い。これは、細菌の増殖に影響を与えず、耐性を起こさない新型抗菌剤の開発に寄与すると期待される。各種のゲスト分子に対する親和能および錯体の構造などに関する情報を総合的に解析し、CB[7] の超分子形成を制御する重要なファクターについて検討を行い、重要な知見を得た。

[基礎となった学術論文]

1. Mostafa, M. A.; Koga, K.; Fukudome, M.; Sasaki, H.; Yuan, D.-Q., Synthesis and Binding Behaviors of Monomethyl Cucurbit[6]uril, *Tetrahedron Lett.* **52**, in press (2011)
2. Mostafa, M. A.; Koga, K.; Fukudome, M.; Sasaki, H.; Yuan, D.-Q.; Cucurbit[7]uril: a Green Method for Its Preparation and Complex Formation with o-Carborane, *Tetrahedron Lett.*, submitted.

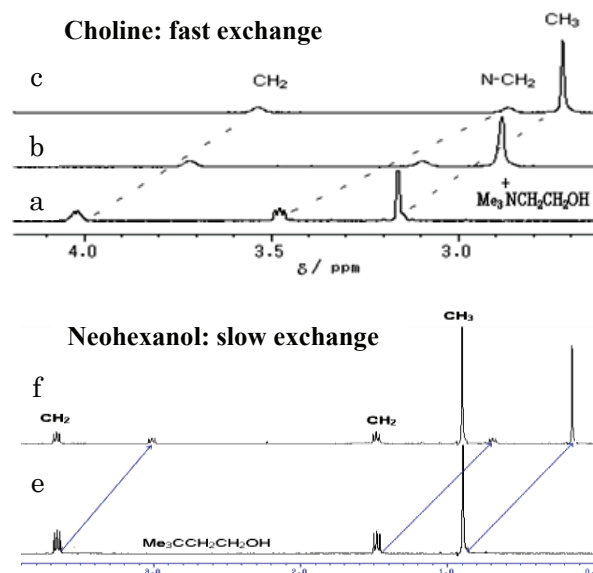


Fig. 1  $^1\text{H}$ -NMR spectra of choline in the absence (a), and presence of 0.66 (b), 1 eq CB[7] (c), and neohexanol in the absence (e) and presence of 0.5 eq CB[7] (f)