

シクロデキストリン学会貢献賞を受賞して

東京工業大学 生命理工学院
池田 博

1983年11月から戸田不二緒教授(東京工業大学)の研究室に研究生としてお邪魔し始めたのがシクロデキストリン(CD)との出会いでした。その1ヶ月後の1983年12月に東京大学で開催された第3回シクロデキストリンシンポジウムに参加しました。私は、天然化合物や医薬品の合成を専門としていましたので、発表・質疑応答の様子は大変新鮮であり感銘を受けた記憶があります。

2,6-ジメチル- β -CDの3位に触媒官能基を結合させて、キモトリプシンよりも活性が高い人工酵素の作成に成功し博士論文としてまとめました。有機合成化学を専門としていたので、構造化学的に修飾CDの機能を説明できないかと考えていたところ、幸運にも500MHz NMRを使用できる機会を得ました。また、1986年に、後にノーベル賞を受賞した化学者である Büthrich 教授が、NMRから得られた情報を元に構造最適化したタンパク質の三次元構造を *J.Mol.Biol.*に報告しました。別の研究者が独立にX線結晶解析から求めた構造が同じ雑誌に掲載され、両者が一致していることが明らかとなり、NMRを利用したタンパク質の構造解析が盛んに研究されるようになりました。修飾CDも同様なことができないかと試行錯誤したところ、修飾CDの¹H NMRのピークを全て帰属することに初めて成功し投稿することができました (*J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10980-10988 (1996), *J. Org. Chem.*, **62**, 1411-1418 (1997))。ダンシル基の自己包接に伴う環電流効果により、ダンシル基と向かい合っているグルコース残基のピールのみが高磁場シフトしている様子を示すことができました。しかし、最安定構造を知るためには分子力学計算、分子動力学計算がやはり必要であると考えました。

分子動力学計算で水分子の効果がハッキリと現れたのが、CDダイマーの系でした。真空中ではCDの水酸基同士の水素結合が安定化に寄与し、CDが向かい合った構造(シス型)が安定でした。一方、水中ではCD水酸基は水との水素結合を優先し、CDが向かい合わない構造(トランス型)が安定でした。水溶液中ではトランス型が主成分であり、両者は平衡状態にあると思われます。実際に、CDダイマーに触媒官能基を導入し、エチレングリコール鎖を有するカルボン酸のエステルを基質として加水分解反応を行うと、反応速度の基質濃度依存性がS型を示す、アロステリック酵素類似活性を示しました。最初、トランス型であったダイマーが基質の包接に伴いシス型に変化し、2分子目の基質の包接を誘発したと思われます(*J. Mol. Catal. A: Chem.*, **328**, 1-7 (2010))。

そして、CDを利用した chemosensor としての選択性を劇的に変化させられないかと考え、学生と一緒に新たな手法を試みてみました。 β -CDはコール酸類と強く結合します。コール酸類は水に対する溶解性が低いので正確な結合定数は報告されていませんが、結合定数が数万とも数十万ともいわれています。しかし、新型 chemosensor はコール酸類を添加してもほとんどけい光強度が変化しませんでした。一方、1-アダマンタノール(1-AdOH)を添加

すると大きなけい光強度増加が見られました。何が起きているかをはっきり示す証拠が不十分なまま論文として発表をしました(*Org. Biomol. Chem.*, **3**, 4262-4267 (2005))。その後、私が α -CD 誘導体を合成し、ゲスト選択性を調べたところ、予想外にも 1-AdOH 添加に伴い大きなけい光強度の増加が観測されました。そこで、新型の chemosensor の構造、ゲスト包接体の構造を分子力学計算を用いて求めてみました(*Chemosensors*, **8**, 48 (2020))。新型 chemosensor は、色素(NBDamine)が β -CD 空洞に蓋をした構造と色素が立ち上がって一級水酸基側に空間がある構造の平衡状態であることが分かりました。コール酸類の一つである UDCA は β -CD 空洞高さよりも長い分子であり、 β -CD 一級水酸基と UDCA 側鎖のカルボキシ基とが水素結合をすることにより包接体が安定化されています。新型 chemosensor と UDCA との包接複合体も同様な構造を取るために、色素が立ち上がった構造と複合体を形成することが分子力学計算で確認できました。この構造では色素は親水的環境にありますので、けい光強度の増加は望めません。 α -CD 誘導体、 β -CD 誘導体共に、1-AdOH を添加すると色素プロトンの $^1\text{H NMR}$ ピークがブロードとなり色素の運動性が減少していることが分かりました。特に α -CD の空洞径は 1-AdOH よりも小さく、包接しても非常に浅い包接しかできず、色素と 1-AdOH が直接相互作用することはできないので、直接相互作用以外の原因で色素の運動性が減少したことになります。CD 環は常にコンホメーションが変化している柔軟な構造ですが、球状分子である 1-AdOH を包接すると、CD 環は対称構造を取り、運動性が低下します。CD 環の揺らぎが減少することにより、色素である NBD のニトロ基と CD の水酸基との間で、安定した相互作用が可能になり、NBDamine の運動性が低下し、けい光強度の増加に寄与していることがわかりました。

n-オクタノールを添加してもけい光強度があまり変化しないのに対して、官能基が同じであり、炭素数も同じである *c*-オクタノールを添加すると大きなけい光強度増加が観測されたのも、1-AdOH の場合と同様に CD 環の揺らぎを減少させる包接構造を取ることが原因の一つであることが分子力学計算により確認できました。

このように新型の chemosensor は包接構造に依存した応答性を示し、従来型とは異なり応答性が結合定数には依存しないことが明らかとなり、新たなゲスト選択性を示すことができました。これまであまり注目されてこなかった CD 環の揺らぎ制御が応答性に大きく影響しているためだと思われます。また、新型 chemosensor を利用することにより浅い包接しかできないゲストを有効に検出できることが明らかとなりました。これまで、深い包接ばかりに注目しがちでしたが、浅い包接も有効に活用できることがわかり、今後の CD の活用方法が広がることが期待されます。

最後に、CD の研究のきっかけをくださり、CD 研究の楽しさを教えて下さった戸田不二緒先生、上野昭彦先生に感謝いたします。また、有益なご助言、ご指導をくださった池田宰先生、中村朝夫先生に感謝いたします。そして、研究データの取得にご協力くださった戸田・上野研究室の学生に感謝いたします。