総 説

オリゴ糖の不斉認識

加 納 航 治

同志社大学工学部機能分子工学科

(〒610-03 京都府綴喜郡田辺町多々羅都谷 1-3)

Chiral Recognition by Oligosaccharides

Koji KANO

Doshisha University

Department of Molecular Science and Technology, Faculty of Engineering

(Tanabe-cho, Kyoto-fu, 〒610-03)

Cyclodextrins (CDxs) are cyclic oligosaccharides produced by enzymatic reactions of starch. Since CDxs are composed of the D-(+)-glucopyranose units and have chiral cavities, CDxs can recognize the chiralities of guest molecules.

Pyrene dimer as well as pamoic acid becomes optically active when these guest molecules are included in the γ -CDx cavity. Lock and key mechanism may interpret these phenomena. Meanwhile, the conformational enantiomerism of bilirubin is performed by the intermolecular hydrogen bonding between the CO_2^- groups of bilirubin and the secondary hydroxyl groups of CDx.

Peralkylated CDxs well recognize the chiralities of the binaphthyl derivatives. The determined thermodynamic parameters indicate that the complexation of the preferable enantiomer is entropically favorable, which also suggests the lock and key mechanism. Complete optical-resolution of binaphthyl derivatives has been achieved by capillary zone electrophoresis using CDxs as separating agents.

1 はじめに

分子認識の中でも、「不斉認識」は学術および応用の両面から最も興味深い研究課題の1つである。一般に不斉認識は光学活性なホスト分子がキラルなゲスト分子の一方の光学異性体と選択的に分子錯体を形成することによって実現される。もちろんその見事な例は酵素の立体選択性（あるいは特異性）に見られる。しかし実用の面からすると、人工系の不斉認識を伴うホスト-ゲスト錯体の例をできる限り多く発見すること、それらの不斉認識機構を解明することが重要であろう。不斉認識に用いることのできる光学活性で安価なホスト分子として糖が注目される。特に不斉点を多数有し、かつ環状構造のシクロデキストリン (CDx) は、結合部位としての疎水性空洞と不斉認識のための光学活性中心とを合わせ持つ入手容易な分子認識用ホスト分子、言い換えれば酵素モデルである。これまでに CDx による分子認識については比較的多くの研究がなされてきた¹⁾。デンプンを酵素

処理して合成される未修飾 CDx (Fig.-1) はかなりリジッドな構造を持っているので、ゲスト分子の形状を認識して包接錯体を形成することができる。さらに CDx は、光学活性な D-(+)-グルコピラノースが構成単位であるため、弱いながらもゲスト分子のキラリティーを認識することが知られている。しかし、実用に供することができるほどの高い不斉選択性を示す系はまだ報告されていなかったし、不斉認識の機構については全く手つかずの状態であった。そこで我々は、環状および非環状オリゴ糖の不斉認識機構の解明を目指して研究を開始した。いまだ充分な結果は得られないが、現状をまとめてみたい。なお、1990 年までに報告されている CDx による分子認識の研究紹介については他の総説¹⁾を参照されたい。

2 シクロデキストリンの構造とその特性

未修飾 CDx および我々が用いている化学修飾 CDx の構造を Fig.-1 に示す。グルコピラノース単位が 6, 7

β-CDx deriv.

β-CDx: $R_2=R_3=R_6=OH$
 TMe-β-CDx: $R_2=R_3=R_6=OMe$
 DMe-β-CDx: $R_2=R_6=OMe, R_3=OH$
 EtDMe-β-CDx: $R_2=R_6=OMe, R_3=OEt$
 NH₂-β-CDx: $R_2=R_3=OH, R_6=NH_3Cl$
 NH₂DMe-β-CDx: $R_2=R_3=OMe, R_6=NH_3Cl$
 C₁₆S-β-CDx: $R_2=R_3=OH, R_6=SC_{16}H_{33}$

Fig.-1 Space-fill drawing of β-cyclodextrin (above) and abbreviations of cyclodextrin derivatives (below).

および 8 個の CDx をそれぞれ α-, β-および γ-CDx と呼び、内径が約 0.44, 0.70 および 0.85 nm の空洞を有している。X 線結晶構造解析から、CDx の隣り合ったグルコピラノースの第二級ヒドロキシル基同士は分子内水素結合していることが分かっており、このために CDx の環構造が安定化されている^{2)~5)}。CDx 環が完全な C_n 対称性を持っているとすれば、環をマクロに見たときには環そのものに不斉なひずみは存在しない。しかし、CDx は光学活性な D-(+)-グルコピラノースから構成されているため、ミクロに見た場合には多くの不斉認識点をもっているといえる。さらに CDx 環構造は、C_n 対称性から一部ずれた構造を有していることが X 線結晶構造解析から分かっており、CDx 空洞はキラリなひず(歪)みを持つ。また、CDx の第一級および第二級ヒドロキシル基は化学修飾することができるため、その機能の高度化を図ることもできる。

最も良く用いられる修飾 CDx は、未修飾 CDx のすべてのヒドロキシル基を箱守法によりメトキシル基に変

換したトリメチル CDx (TMe-CDx) である。TMe-CDx は第二級ヒドロキシル基間の水素結合の形成が不可能であるため、ゲスト分子の形状に応じてその空洞の形を変化させ得るホスト分子である。つまり“induced fit”形の分子錯体を作る可能性がある。ただし TMe-CDx の空洞の形が変化しやすいということは、未修飾 CDx よりもゲストの形状を認識する能力や不斉を認識する能力が低下するという予想も成り立つことになる。グルコピラノースの 2 および 6 位のヒドロキシル基をメトキシル化し、3 位のみをヒドロキシル基で残したジメチル CDx (DMe-CDx) は、CDx 環空洞のキラリなひずみを増幅するための化学修飾用原料として便利に利用できる。我々はその 1 例として、EtDMe-β-CDx (Fig.-1) を合成して用いている。

CDx の第一級ヒドロキシル基は S_N2 反応を起こすことができる。そのため (C₆H₅)₃P-Br₂ 試剤を用いて -OH を -Br に変化することが可能である⁶⁾。このブロム化 CDx を出発物質としてカチオン性の NH₃⁺-CDx⁷⁾ や両親媒性の C₁₆S-CDx⁸⁾ などを合成し、静電相互作用の関与する不斉認識や単分子膜の不斉認識の研究に使うことができる。

3 シクロデキストリン空洞の不斉を反映する現象

CDx が不斉なひずみのある空洞を有しているということを証明する 1 つの例を偶然に見出すことができた。CDx の 1 つの空洞に複数個のゲスト分子を包接させるという CDx 多成分錯体⁹⁾ について研究している中で、空洞サイズの大きな γ-CDx がピレンを 2 分子同時に包接するために、ピレンエキシマーの蛍光が観察された¹⁰⁾。このピレン蛍光の円偏光蛍光スペクトルを測定

Pyrene

Pamoic acid

すると、かなり強い左巻き円偏光蛍光が γ-CDx に包接されたピレン二量体から発せられていることが分かった^{11),12)}。このことは γ-CDx 空洞中のピレン二量体が光学活性であることを示しており、その後の研究から 2 個のピレン分子が (S)-ヘリックス構造をとっていることが明らかとなった¹³⁾。ピレン分子はホストの γ-CDx と水素結合のような特殊な分子間力で結合できないため、γ-CDx 空洞はピレン二量体が光学活性になるようなキラリな形の空洞を提供していることになる。

Fig.-2 Absorption and CD spectra of pamoic acid in aqueous γ -CDx solution at pH 10.8.

同じような γ -CDx 空洞によって誘起される立体配座光学異性化 (conformational enantiomerism) は、パモン酸をゲスト分子とした場合にも観察された¹⁴⁾。もちろん、パモン酸は水溶液 (pH 10.8) 中ではアキラルであるが、 γ -CDx 空洞中に包接されると極めて強い分裂型の円二色性 (CD) Cotton 効果が観察される (Fig.-2)。分裂形の Cotton 効果は、よく知られた exciton coupling に基づくものであり、長波長側から正 (+) → 負 (-) に分裂している場合には、exciton coupling を起こす 2 つの発色団の遷移モーメントが (R)-ヘリックス配置をとっていることを意味する。パモン酸は pH 10.8 ではジアニオン形となっており、この CO_2^- が γ -CDx のヒドロキシル基と水素結合する可能性がある。しかし、パモン酸に結合しているヒドロキシル基やカルボキシル基を取り除いたジナフチルメタン誘導体でも、 γ -CDx に包接されるとこれらのアキラルなゲスト分子に不斉が誘起されることから、ホスト-ゲスト間の水素結合は γ -CDx によるジナフチルメタン類の不斉誘起に本質的な役割を果たしていないものといえる。このような結果も、CDx がゲスト分子の不斉な幾何学的構造に合った不斉な結合部位を提供していることを意味する。おそらく、ゲスト分子が CDx 空洞に挿入されてきたときに、CDx はその形を一部変化させてゲスト分子を包

接しやすくしているものと思われる。一方の光学異性体の形に適合するように空洞のわずかな構造変化を起こすことはできるが、もう一方の光学異性体に対しては安定な錯体を形成するための構造変化を起こせない場合に、CDx による不斉認識が可能となるのかも知れない。この仮説を証明することが将来の研究課題の 1 つである。

4 シクロデキストリンによる軸不斉の認識

ピレンやパモン酸の γ -CDx による不斉誘起は CDx の不斉認識を研究する上でのモデル系であり、全く実用的な価値はない。このモデル系の結果から誘導される 1 つの予測は、不斉なアミノ酸のように C_1 対称性のゲスト分子よりも、キラルなピレン二量体のように C_2 対称性を持つゲスト分子の不斉をかなり高度に認識するのではないかということである。そこで我々は軸不斉を持つ

ビナフチル類の CDx による不斉認識について検討することにした^{15), 16)}。

まず、最も入手しやすい 1,1'-ビ-2-ナフトール (BN) について検討した。まず TMe- β -CDx をホスト分子に用いたときの BN に対する顕著な不斉認識現象を視覚的にとらえるために、TMe- β -CDx 濃度を変えていったときの (S)-および (R)-BN の蛍光強度変化を Fig.-3 に示す。(R)-BN に比べて (S)-BN の蛍光強度の増加が著しい。この図を見ても分かるように、TMe- β -CDx は BN の (S)-エナンチオマーとより強く結合する。Fig.-3 の結果を解析して各光学異性体と CDx との結合定数を求めた。結果の一部が Table-1 に示されている。未修飾 β -CDx も弱いながら (S)-エナンチオマーに対する選択性を示す。BN-TMe- β -CDx 錯体では、(R)-BN と (S)-BN とでその化学量論が異なるため結合定数の値からだけでは判断し難いが、明らかに BN に対する不斉選択性は TMe- β -CDx の方が β -CDx よりも優れている。

では BN 以外のゲスト分子ではどうであろうか? BN 以外にここに示す様なビナフチル類について結合定数を

Fig.-3 Fluorescence intensity changes of (S)-BN (●) and (R)-BN (○) upon addition of TMe-β-CDx.

求めた。結果は Table-1 にまとめてあるが、いずれのビナフチル誘導体に対しても TMe-β-CDx や EtDMe-β-CDx は未修飾 CDx よりも高い不斉選択性を示す。このパーアルキル化 CDx の高い軸不斉認識能の機構は現在検討中であるが、最近、TMe-β-CDx と BNP および BNC との錯形成に対する熱力学的パラメーターを決定した (Table-2)。いずれのゲスト分子に対しても、安定な錯体を形成するエナンチオマーはエントロピー的に有利な過程で錯体を作るが、もう一方のエナンチオマーについてはエントロピー的に不利な錯形成過程となっている¹⁷⁾。疎水性相互作用には水素結合や双極子相互作用とは異なり、その結合に方向性がない。それゆえ、仮にエントロピー的に有利な過程が疎水性相互作用によるものと考ええると、キラルなゲストとキラルなホストとの形状の適合性が不斉選択性を決定するということになるのかも知れない。もしそうだとすると、“鍵と鍵穴”機構 (lock and key mechanism) がこの系に適用されることになる。結論を引き出すには、さらに慎重な検討が必要であろう。

5 オリゴ糖を分離剤とするキャピラリー電気泳動によるビナフチル類の光学分割

あるホスト分子がどのようなゲスト分子の不斉を認識することができるかを知るための最も一般的な方法は、それぞれの光学異性体について結合定数を求めることである。しかし、結合定数の決定はかなり手間がかかるうえに光学異性体間での結合定数の差が小さいときには、仮に弱い不斉認識系であったとしてもその差は結合定数

の測定誤差の中に入ってしまうことが多い。不斉認識が簡単な手段で判別できれば、不斉認識機構を含め、この分野の研究が飛躍的に発展するものと期待される。このようなニーズから我々は、理論段数の極めて大きな分離分析手段として近年注目されているキャピラリー電気泳動 (CE) を、簡便な不斉認識研究手段として用いることを検討することにした。

CE の原理やその応用については最近の著書等に詳述されている^{18),19)}。我々は、CDx をキラル分離剤として用い、電荷を有するキラルなゲスト分子の光学分割を試みることにした。基本的な原理は寺部らにより開発されたキャピラリーゾーン電気泳動 (CZE) 法²⁰⁾を用い、キラル分離剤である CDx には電荷をもたせず、分離される側のキラル化合物をアニオンとして CE により光学分割することを試みた。簡単に CDx-CZE 法の原理を紹介する。原理図を Fig.-4 に示す。我々は、内径 50 μm、有効長 300 mm の熔融シリカをキャピラリーとして用いている。このキャピラリーに電解質溶液を満ちし、両端を同じ溶液につけておく。キャピラリーの表面はシラノール基の解離により負に帯電している。当然のことであるが、このときシラノール基の負電荷の数と同数の正電荷がキャピラリー内に存在する。シラノールの負電荷を中和するために正電荷はキャピラリー表面に固定され、ここに電気二重層を形成する。しかし、この正電荷のすべてが電気二重層内に固定されているわけではなく、若干量の正電荷が水中の正味の正電荷として分布する。この状態でキャピラリーの両端に高電圧をかけると、水中にある正電荷は負極の方へ移動する。この正電荷の移動に伴って水が負電荷方向へ流れることになる。この水の流れを電気浸透流 (electroosmotic flow) と呼ぶ。電気浸透流速 v_{eo} は次式で与えられる：

$$v_{eo} = \varepsilon E \xi / 4 \pi \eta \quad (1)$$

$$\xi = 4 \pi \eta \mu_{eo} / \varepsilon \quad (2)$$

ここで ε 、 ξ および η はそれぞれ溶液の誘電率、ゼータ電位および溶液の粘度であり、 E は電場の強さ (V/L) である。 V はキャピラリー両端にかけた電圧であり、 L はキャピラリーの有効長である。また μ_{eo} は電気浸透移動度とよばれている。一方、被分離試料が水中においてイオン化していれば、このもののアニオン部分は陽極の方へ、カチオン部分は陰極の方へ電気泳動 (electro-

Fig.-4 Explanation of CDx-CZE.

Table-1 Binding constants (K) for complexation of BN and BNP with various CDxs at 25°C^{a)}.

Guest	Host	CDx : Guest	$K(\text{M}^{-1})$ or $K_1K_2 (\text{M}^{-2})$
(S)-BN	β -CDx	1 : 1	245
(R)-BN	β -CDx	1 : 1	176
(S)-BN	TMe- β -CDx	2 : 1	5×10^4
(R)-BN	TMe- β -CDx	1 : 1	17
(S)-BN	EtDMe- β -CDx	2 : 1	2.5×10^5
(R)-BN	EtDMe- β -CDx	1 : 1	132
(S)-BNP	β -CDx	1 : 1	542
(R)-BNP	β -CDx	1 : 1	188
(S)-BNP	DMe- β -CDx	1 : 1	210
(R)-BNP	DMe- β -CDx	1 : 1	207
(S)-BNP	TMe- β -CDx	1 : 1	398
(R)-BNP	TMe- β -CDx	1 : 1	81
(S)-BNP	EtDMe- β -CDx	1 : 1	902
(R)-BNP	EtDMe- β -CDx	1 : 1	64
(S)-HBNC	β -CDx	1 : 1	309
(R)-HBNC	β -CDx	1 : 1	339
(S)-HBNC	TMe- β -CDx	1 : 1	375
(R)-HBNC	TMe- β -CDx	1 : 1	420
(S)-BNC	β -CDx	1 : 1	ca. 0
(R)-BNC	β -CDx	1 : 1	28
(S)-BNC	DMe- β -CDx	1 : 1	583
(R)-BNC	DMe- β -CDx	1 : 1	675
(S)-BNC	TMe- β -CDx	1 : 1	114
(R)-BNC	TMe- β -CDx	1 : 1	691

^{a)} The measurements were carried out at pH 5.5 for BN and BNP, at pH 10.8 for HBNC, and at pH 2.0 for BNC.

Table-2 Thermodynamic parameters for complexation of BNP (pH 5.5) and BNC (pH 2.0) with TMe- β -CDx

System	$\Delta H/\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta S/\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta \Delta G/\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
TMe- β -CDx-(R)-BNP	-12.9 ± 0.4	-6.9 ± 0.4	4.0
TMe- β -CDx-(S)-BNP	-11.9 ± 0.2	$+10.1 \pm 0.3$	
TMe- β -CDx-(R)-BNC	-12.7 ± 0.3	$+12.0 \pm 1.3$	4.5
TMe- β -CDx-(S)-BNC	-22.7 ± 1.1	-35.4 ± 2.4	

phoresis) する。この電気泳動速度 v_{ep} は式 (3) となる :

$$v_{\text{ep}} = \mu_{\text{ep}} E = \mu_{\text{ep}} V/L \quad (3)$$

ここで μ_{ep} は電気泳動移動度である :

$$\mu_{\text{ep}} = q/6\pi r \eta \quad (4)$$

ここで q は試料の荷電量, r は試料の Stokes 半径であ

る。(1)~(3) から溶質イオンの移動速度 v は,

$$v = v_{\text{eo}} + v_{\text{ep}} = (\mu_{\text{eo}} + \mu_{\text{ep}}) E \quad (5)$$

となる。キャピラリー中に複数のイオン性被分離試料が存在する場合には、この電気泳動速度の違いにより、お互いが分離して電極方向へ移動することになる。

電解質水溶液中に、キラル分離剤として CDx を入れ

ておくと、2つの光学異性体間にわずかでも結合定数に差がある場合には、CDx に包接されている時間の長さの違い（平衡定数の違い）により光学分割されることになる。

CDx-CZE 法により BN のそれぞれの光学異性体を

Fig.-5 Electropherogram of (±)-BN obtained by CZE using carbonate buffer at pH 11 containing TMe-β-CDx.

完全に分離した例を Fig.-5 に示す¹⁶⁾。TMe-β-CDx を光学分割用の分離剤として用い、BN がイオン解離する pH の緩衝溶液を電気泳動溶液とした場合に、極めて良好な分離が実現されている。このエレクトロフェログラムを見ると、水中において結合定数の大きい光学異性体 [(S)-BN] が小さい異性体 [(R)-BN] よりもその保持時間が短いということが分かる (Table-1 参照)。この事実は、CDx と錯体を作っていない遊離の光学異性体の電気泳動速度は、錯体のそれよりも速いということの意味している。ある条件における分離の良否を表現するパラメーターとして分離係数 α が用いられている。 α は式 (6) のように定義される：

$$\alpha = (t_1 - t_0) / (t_2 - t_0) \quad (6)$$

ここで t_1 および t_2 はそれぞれ被分離試料 1 および 2 の保持時間であり、 t_0 は CDx とは相互作用せず、かつ電気泳動しない化合物の保持時間である。我々の場合にはこの基準物質としてメタノールを使うことが多い。Table-3 に BN, BNP および HBNC のラセミ体を被分離試料としたときの CDx-CZE の結果をまとめた。BN の pK_a はまだ正確に求められていないようであるが、吸収スペクトルの pH 変化から、 $pH > 9.0$ の水中で BN の酸解離が起きていることがわかる。Table-3 を見ると、 pH 10.46 のリン酸緩衝溶液を用いたとき、 α 、 β および γ -CDx については $\alpha=1.00$ であり、このような条件でこれらの未修飾 CDx の BN に対する不斉認識能は極めて低いことが推測される。しかし、TMe-β-CDx

Table-3 Relative retentions α for optical resolution of racemic BN, BNP, and HBNC by CDx-CZE^a

Sample	pH	Buffer ^b	CDx ^c	Applied voltage/kV	Current/ μ A	α
BN	10.46	A	α -CDx	6	14-15	1
BN	10.46	A	β -CDx	6	17-18	1
BN	10.46	A	γ -CDx	6	14-15	1
BN	10.46	A	TMe-β-CDx	6	17-18	1.22
BN	11.0	A	TMe-β-CDx	6	13	1.32
BN	12.0	B	TMe-β-CDx	6	13	1.42
BNP	5.40	C	β -CDx	12	13	1.12
BNP	5.40	C	TMe-β-CDx	12	12	1.45
HBNC	4.78	C	TMe-β-CDx	13	15	1.06
HBNC	5.32	C	TMe-β-CDx	8	9	1.04
HBNC	5.32	C	TMe-β-CDx	12	15	1.03
HBNC	6.11	C	TMe-β-CDx	12	15	1.03
HBNC	7.00	C	TMe-β-CDx	12	14	1.02
HBNC	8.00	C	TMe-β-CDx	12	16	1

^a The concentration of the samples of BN, BNP, and HBNC was 4×10^{-4} M. The CZE measurements were carried out at ambient temperature. ^b The buffers denoted by A, B, and C are 0.04 M carbonate, 0.025 M phosphate, and 0.03 M phosphate buffers, respectively. ^c The concentration of CDxs was 1×10^{-2} M.

の同一条件における α 値は1.22であり、完全な光学分割が達成されている。Table-1を見れば分かるように、BNの不斉は β -CDxにより弱いながらも認識されるのにもかかわらず、CZEからはこの事実と反するような結果が得られた。まだ詳しいことは分からないが、緩衝溶液の使用が不斉認識の様相を変えるのかも知れない。BNPに関しては、Table-1に示した水中の結合定数の相違とよく対応して、 β -CDxでもTMe- β -CDxでもBNPの完全光学分割を行うことができる。この場合には予想どおり、エナンチオマー間の結合定数の差のより大きなBNP-TMe- β -CDx系の方が β -CDxの場合よりも α 値はより大きくなる。

まだデータの蓄積が不足しているが、これらの簡単な実験から、CZEはあるゲスト分子に対するCDxの不斉認識能の有無と認識能の大小を大雑把に評価する極めて簡便な方法ということができる。今後の課題は、CZEの結果を不斉認識の定量化に用いる手法を開発することであろう。定量化にはCEのハード面での問題を解決しなければならない。例えば、キャピラリーに高電圧をかけることにより発生するジュール熱の問題がある。エレクトロフェログラムの再現性の悪さの原因の1つにこのジュール熱が挙げられる。キャピラリー内の温度を厳密に制御することは原理的に不可能かも知れないが、なんとかして解決しなければならない問題である。

CZEを用いると、CDx類のアミノ酸に対する不斉認識能は非常に低いことが推察された。CDx空洞内に包接するには芳香環が必要と思われるので、トリプトファンを被分離試料として検討してみた。トリプトファンそのものはCDx-CZEによって光学分割することはできなかったが、アセチルトリプトファンは β -CDxによって光学分割できることを最近見いだした。アミノ酸をダンシル化するとよいという報告例は多数あるが、アミノ酸を修飾しないでCZEで光学分割した例は全くないと思われる。

最近、マルトース(G2)からマルトヘプタオース(G7)までの非環状オリゴ糖がBNC、BNPおよびHBNCの不斉を認識するという新しい興味ある事実が、これらの非環状オリゴ糖を分離剤とするCZEから見いだされた²¹⁾。

G2: Maltose ($n=0$)G3: Maltotriose ($n=1$)G4: Maltotetraose ($n=2$)G5: Maltopentaose ($n=3$)G6: Maltohexaose ($n=4$)G7: Maltoheptaose ($n=5$)

6 水中の水素結合と分子認識

CDxによる分子認識、特に不斉認識の機構を研究する上で、どうしても水中における水素結合形成についての基礎的な知見を得る必要がある。一般に単純な分子同士間在水中で水素結合を形成させることはできない。そ

の原因は水素結合点への強い水和にある。しかし、生体高分子のように疎水性の環境をそれ自身が作り出すような場合には、周りに水分子が存在しても水素結合を形成し、この結合が例えば酵素の三次元構造や核酸のらせん構造を構築するために使われる。それゆえ、極めて単純に考えると、水素結合点近傍を疎水的にし、水素結合点の脱水和を起しやすくしておけば、水中でも水素結合錯体を作れるものと思われる。

そこでこの仮説を確かめる目的で、我々は胆汁酸の水中における自己会合について調べることにした。胆汁酸はコレステロールの代謝産物であり、生体内でミセルを形成して体内に入ってきた油状物を可溶化する作用がある。この胆汁酸ミセルの構造についてはFig.-6に示すように、ステロイドの疎水部同士で会合したback-to-back二量体が基本となりミセルを形成するという説^{22),23)}と、 α -ヒドロキシル基同士の水素結合により会合したface-to-face二量体がミセルの基本となるという説^{24),25)}の2つがあり、これまではback-to-backモデルが一般には受け入れられていた。我々は、直感的にback-to-backモデルではコレステロールのエピメリ化が生体内で起こらなければならない必然性が説明できないと感じ、胆汁酸ミセルのbuilding blockがback-to-back形かあるいはface-to-face形かを確定する研究を開始した。back-to-back形の場合には、疎水性相互作用とvan der Waals力が、一方、face-to-face形

Small circles attached to the steroid skeleton denote the hydroxyl group.

Fig.-6 Back-to-back and face-to-face models of deoxycholate dimer.

の場合には van der Waals 力と OH 基間の水素結合が主たる分子間相互作用となろう。まず基本となる胆汁酸としてデオキシコール酸ナトリウム (NaDC; $R^3=R^{12}=\alpha\text{-OH}$, $R^7=\text{H}$, $R^{24}=\text{COONa}$) を選び、この NaDC と水に不溶な胆汁酸誘導体との相互作用をその系の濁りを測定することにより検討した。仮に NaDC とその相手分子との間に相互作用があれば、生じる分子錯体は NaDC の水溶性により水に溶けるため系の濁りは少なくなるが、相手分子が NaDC と錯体を作らなければ、系は濁ったままということになる。種々のコレステロールおよび胆汁酸誘導体を NaDC の相手分子として用いて検討した結果、ミセルを形成する以前の NaDC 分子と相互作用するためには、相手分子が $R^3=R^{12}=\alpha\text{-OH}$ を有することが必須であることが分かった²⁶⁾。NaDC 分子と疎水性相互作用しやすいと思われる分子でも、3 および 7 位に 2 つの α -ヒドロキシル基を持たない場合には、ミセルを形成する以前の NaDC とは相互作用しなかった。これらの事実は明らかに back-to-back モデルでは説明できない。NaDC はその $\alpha\text{-OH}$ 基同士の水素結合と van der Waals あるいはまた疎水性相互作用との協同的分子間力で face-to-face 形の二量体 (Fig.-7) を形成しているもの結論される。良く似た例としてカルボン酸の二量体生成がある。非プロトン性無極性溶媒中でカルボン酸はカルボキシル基間の水素結合形成による二量体を作るが、水のようなプロトン性極性溶媒中ではモノマーとして存在することは良く知られている。しかし、疎水的なカルボン酸は水中でも水素結合錯体を生じることが質量スペクトルの測定結果から確かめられている²⁷⁾。

水中でも水素結合錯体の生成が可能であることが確かめられた。では実際に水中の水素結合によって不斉認識が実現されるような系があるのだろうか？ ビリルビン (BR) と呼ばれるテトラピロールはヘムの代謝産物であり、黄だん (疸) 細胞毒素として知られている (Fig.-8)。この化合物は不斉中心を持ってはいないが、溶液中では分子内水素結合によりキラルな化合物となる。もちろん、2 つの異性体間の相互変換は速く、お互いを分離することはできない。しかし BR が CDx と分子錯体を形成することにより BR が光学活性になるということが CD スペクトルにおける分裂型 Cotton 効果の観察か

Fig.-7 Hydrogen-bonded dimer of deoxycholate.

ら明らかにされた²⁸⁾。この CDx によって誘起される BR の立体配座光学異性化 (conformational enantiomerism) には、奇妙なことに CDx の空洞の大きさの影響がほとんど認められない。この点に興味を持ち我々は、CDx による BR の不斉誘起の機構を研究することにした^{29),30)}。実験は BR のカルボキシル基が酸解離する pH (10.8) の水中で行った。まず β -CDx を含む水中で BR は (-) $\rightarrow$ (+) に分裂した CD シグナルを与えることを再確認した。exciton coupling の理論から、 β -CDx に結合した BR は (S)-ヘリックス構造をとる光学活性な化合物であるといえる。 β -CDx を TMe- β -CDx に変えるとこのシグナルが完全に消失し、BR の不斉が観察されなくなった。この事実から直感的に BR の CO_2^- と β -CDx の OH との間の水素結合が不斉誘起に関与しているらしいことが分かる。さらに G 2 から G 7 までの非環状オリゴ糖も BR の分裂型 CD Cotton 効果を引き起こす。とくに、G 7 などには β -CDx とほぼ同じくらいの不斉誘起能が認められる。これらのことから、BR の CDx による不斉誘起には、CDx 環の空洞は本質的に重要な働きをしていないことが示唆される。このことを確かめるために、第 2 のゲスト分子による追い出し効果を調べてみた。Fig.-9 には β -CDx により誘起された BR の CD シグナル強度に及ぼすシクロオクタノールの添加効果が示されている。シクロオクタノールは β -CDx とは安定な包接錯体を作る (結合定数 $K=2000 \text{ M}^{-1}$)³¹⁾。このような第 2 のゲスト分子を BR- β -CDx 系に添加していくと、もし不斉誘起に CDx の空洞が関係しているのであれば、シクロオクタノールによる追い出し効果によって BR は空洞外へ追い出され、それゆえ CD シグナルは弱まっていくはずである。ところが Fig.-9 の結果は逆にシクロオクタノールの添加が CD シグナル強度を強める働きをしていることを示している。BR の β -CDx による不斉誘起に CDx の空洞は重要でないという先の推論の正しさを支持す

The chirality of this compound is arisen from intramolecular hydrogen bonds.

Fig.-8 Structure of bilirubin.

Fig.-9 Effect of cyclooctanol on the CD spectrum of bilirubin in aqueous β -CDx solution at pH 10.8.

Fig.-10 A plausible structure of hydrogen-bonded complex of (S)-helix bilirubin and β -CDx.

る。また pH 13 のアルカリ水溶液中では β -CDx による BR の不斉誘起は観察されなくなる。 β -CDx の第二級ヒドロキシル基の pK_a は 25°C で 12.20³²⁾ であるので、この結果は BR の CO_2^- と β -CDx のイオン解離した第二級ヒドロキシル基との間の静電反発により、高 pH 水溶液中ではホスト-ゲスト錯体を形成できないものと解釈される。以上の結果をまとめると以下のようなことがいえる。BR は β -CDx と結合することにより不斉が誘起される。BR の解離したカルボキシル基と β -CDx の不斉炭素に直結した第二級ヒドロキシル基の間の水素結合により光学活性な BR の CDx 錯体 (Fig.-10) が生じ、この際、CDx のキラルな空洞は本質的に重要な働きをしていない。先述の胆汁酸である NaDC も BR と水素結合錯体を作り、BR の不斉を誘起する³³⁾。

7 おわりに

CDx による不斉認識についてはかなり古くから研究されてきた。しかし多くの場合、CDx は実用に向くほどの高いエナンチオ選択性を示さないためあまり注目されてこなかった。また CDx による不斉認識の機構については全くといってよいほど検討されていなかった。シクロデキストリンの化学は、Bender, Breslow あるいは田伏らの先達によって Bioorganic Chemistry の華やかな一分野を形成してきた。しかし最近では、ややもするとシクロデキストリン化学は一段低いレベルで評価されるきらいがある。このような評価は明らかに間違っている。未修飾シクロデキストリンは毒性がなく、水溶性であり、疎水性化合物をその立体構造を認識して包接することができ、かつ可視、紫外部の波長に対して透明である。しかも不斉点に直結し S_N2 反応に不活性な第二級ヒドロキシル基と不斉点から少し離れた位置に S_N2 反応しうる第一級ヒドロキシル基を有しているため、多様な化学修飾により機能化することもできる。これほど優れた特性を持つ人工ホスト分子が他にあるだろうか？ まだまだ今後の研究により高度な利用が期待される分子である。有機化学の分野においてシクロデキストリンに限らずオリゴ糖の化学は、当分の間不斉認識を含めた分子認識の機構に関する研究と、それに関連した糖の選択的修飾法の開発に焦点があてられるものと思われる。糖は天然資源に乏しい我が国にとって、高機能物質開発のための貴重な原材料である。この分野のさらなる発展が望まれる。

〔平成 6 年 (1994 年) 4 月 14 日受理〕

文 献

- 1) K. Kano, "Bioorganic Chemistry Frontiers", Vol. 3, Springer-Verlag, Berlin (1993) p. 1
- 2) W. Saenger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 19, 344 (1980)
- 3) K.K. Chacko, W. Saenger, *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 1708 (1981)
- 4) T. Steiner, S.A. Mason, W. Saenger, *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 6184 (1990)
- 5) K. Harata, *Chem. Lett.*, 1984, 641
- 6) A. Gadelle, J. Defaye, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 30, 78 (1991)
- 7) J. Boger, R.J. Corcoran, J.M. Lehn, *Helv. Chim. Acta*, 61, 2190 (1978)
- 8) 高橋久雄, 入夏裕一, 辻本宗一, 幸塚正見, 太垣和一郎, 日化, 1987, 293
- 9) 加納航治, *Dojin News*, 1986, 3
- 10) K. Kano, I. Takenoshita, T. Ogawa, *Chem. Lett.*, 1982, 321
- 11) K. Kano, H. Matsumoto, S. Hashimoto, M. Sisido, Y. Imanishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 6117 (1985)
- 12) K. Kano, H. Matsumoto, Y. Yoshimura, S. Ha-

- shimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 204 (1988)
- 13) 穴戸昌彦, *Jasco Report*, **34**, 37 (1992)
- 14) K. Kano, M. Tatsumi, S. Hashimoto, *J. Org. Chem.*, **56**, 6579 (1991)
- 15) K. Kano, K. Yoshiyasu, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 1278
- 16) K. Kano, Y. Tamiya, C. Otsuki, T. Shimomura, T. Ohno, O. Hayashida, Y. Murakami, *Supramolecular Chemistry*, **2**, 137 (1993)
- 17) 加納航治, 平成5年度文部省科学研究費補助金(重点領域研究)研究成果報告書(1994)
- 18) S.F.Y. Li, "Capillary Electrophoresis. Principles, Practice and Applications", Elsevier, Amsterdam (1992)
- 19) P. Camilleri 編, "Capillary Electrophoresis. Theory and Practice", CRC, Boca Raton (1993)
- 20) 寺部 茂, ふんせき, **1991**, 599
- 21) 加納航治, 堀口和美, 日本化学会第67春季年会講演要旨集II(東京都) p. 1151 (1994)
- 22) D.M. Small, S.A. Penkett, D. Chapman, *Biochim. Biophys. Acta*, **176**, 178 (1968)
- 23) M.C. Carey, D.M. Small, *Am. J. Med.*, **49**, 590 (1970)
- 24) D.G. Oakenfull, L.R. Fisher, *J. Phys. Chem.*, **81**, 1838 (1977)
- 25) D.G. Oakenfull, L.R. Fisher, *J. Phys. Chem.*, **82**, 2443 (1978)
- 26) K. Kano, S. Tatamoto, S. Hashimoto, *J. Phys. Chem.*, **95**, 966 (1991)
- 27) K. Yamamoto, N. Nishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 549 (1990)
- 28) D.A. Lightner, J.K. Grawronski, K. Gawronska, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 2456 (1985)
- 29) K. Kano, K. Yoshiyasu, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 801
- 30) K. Kano, K. Yoshiyasu, H. Yasuoka, S. Hata, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **II**, **1992**, 1265
- 31) Y. Matsui, K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **52**, 2808 (1979)
- 32) R.I. Gelb, L.M. Schwartz, J.J. Bradshaw, D.A. Laufer, *Bioorg. Chem.*, **9**, 299 (1980)
- 33) K. Kano, N. Tsujino, M. Kim, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **II**, **1992**, 1747