

核酸を用いた高効率光増感機能の発現



研究ノート

和田健彦*, 井上佳久**

Enantiodifferentiating Photosensitization using DNA as Chiral Sensitizer and/or Reaction Field

Key Words : enantiodifferentiating photosensitization, DNA, weak interaction, chiral complex, reaction field

1. はじめに

現在、医学や薬学だけでなく化学・生化学・農学など多くの分野で光学活性物質の必要性が高まっており、今後さらにその需要が増大すると予想され、不斉合成は現在最も注目されている分野の一つである。我々はこれまでに、2分子系での不斉光増感異性化反応等に関する一連の研究を行い、生成物のキラリティーが反応温度により反転し、反転温度以上では生成物の光

学収率が温度と共に上昇するという先例の全くない特異な現象を見い出している¹⁻⁴⁾。また、この系における圧力効果や、溶媒効果などについても詳細に検討している。しかし、光励起された光学活性増感剤とプロキラルな基質との間で形成される励起錯体(エキサイプレックス)の寿命は短く、相互作用も強いものではない。

一方、単分子系のホストや、分子集合系のホストを用いる超分子化学が盛んに研究されている。我々はシクロデキストリンやクラウンエーテルを用いた系⁵⁻⁷⁾、さらには核酸モデルやポリアミノ酸とDNA間で形成される超分子について検討してきた⁸⁻¹⁰⁾。これらの超分子化学は「基底状態における分子認識」を目指したものである。

私達は現在、上記の不斉光反応により得られた知識と経験を基に、分子集合体を単なる「分子認識」から一歩進んで反応制御(励起状態における)に利用しようとしており、これまでの不斉光増感反応に新たな展開をもたらす研究となるべく努力している。本稿では特に、近年の分子生物学や遺伝子工学の発展に伴って注目されている核酸を増感剤として用いる可能性について、ごく最近得られた結果を紹介し、さらに今後の展望について述べたい。

1980年代はじめからの分子生物学者や生化学者によるDNAをターゲットとした研究は膨大な数に上る。その結果、遺伝子の分子レベルでの機能発現・調節機構が、急速に解明されつ

* Takehiko WADA

1961年2月3日生

1989年大阪大学大学院・工学研究科・応用精密化学専攻博士後期課程修了

現在、大阪大学工学部、分子化学専攻、助教授、工学博士、有機光化学・核酸化学・生体機能関連化学

TEL 06-879-7922

FAX 06-879-7923

E-Mail hiko@chem.eng.

osaka-u.ac.jp



** Yoshihisa INOUE

1949年12月27日生

1977年大阪大学大学院・工学研究科・石油化学専攻博士後期課程修了

現在、大阪大学工学部、分子化学専攻、教授、工学博士、有機光化学・分子認識化学・超分子化学

TEL 06-879-7920

FAX 06-879-7923

E-Mail inoue@chem.eng.

osaka-u.ac.jp



つある。さらに、これらの研究を通じてDNAが持つ様々な可能性に多くの研究者が注目し、DNAに対する化学分野からのアプローチは分子認識に関する研究も含めると急激に増えている。

光化学の分野からDNAを眺めてみると、古くから知られているチミン塩基の光二量化反応を中心に、1960年代後半から70年代にかけて多くの研究がある¹¹⁾。ここ数年は、ガンなどの疾病の治療を目的としたDNAの光を用いた部位特異的開裂が大きなターゲットとなって多数の報告がなされている。さらに、BartonとTurroらによりDNA鎖を用いた光誘起長距離電子移動、いわゆるDNAのモレキュラーワイヤー(π -Way)に関する研究¹²⁾が報告されてから、DNAをターゲットとする光誘起電子移動に関する研究も盛んに行われるようになってきている。

しかし、ほとんどの研究は核酸に対する増感反応であり、核酸自身を増感剤・増感システムとする報告は見受けられない。核酸を増感システムとして用いる方法は大きく分けて二つのアプローチがある。一つは核酸あるいはその構成成分そのものを増感剤として用いる方法で、もう一つはDNAの有する右巻二重らせん構造を利用して増感剤を人工的に組織構造化することにより、高効率なエキサイプレックス形成を促進すると共に核酸のグループ(溝)を「不斉反応場」として応用する方法である。後者の方法はDNAとの超分子形成法の確立と、形成された超分子を用いDNAのグループを制御されたキラルな反応場として利用した不斉光増感反応制御が必要となる。

まず、分子認識や超分子形成の基礎となる「弱い相互作用」による不斉光増感反応の制御について得られた結果を述べた後に、核酸系を増感システムとする系について紹介する。

2. 「弱い相互作用」による不斉増感反応の制御

触媒量のキラルな光増感剤を用いるだけで、大量の光学活性物質が得られる不斉光増感反応は、光によるキラリティーの増殖を達成する方法として極めて魅力的なプロセスである。この

不斉光増殖系では、キラルな増感剤が光を吸収して励起状態になり、プロキラルな反応基質と励起状態で錯体(エキサイプレックス)を形成し、それに続く反応過程で不斉誘起が起こり、キラルな生成物が得られる。

我々は、シクロオクテンの光増感エナンチオ区別シストランス異性化反応を詳細に検討し、光学活性なベンゼンポリカルボン酸エステルを増感剤として用い、高い光学収率を達成しているが、これらの系を含めて従来の不斉光増感反応では、いずれも増感剤自身にキラル部位を導入したものを用いている。しかし、増感剤の発色団部位とキラル部位は必ずしも共有結合でつながる必要はないと考えられる。まず両部位を弱い相互作用で結びつけたキラル錯体が、果たして不斉光増感剤として作用するかをシクロオクテン(1Z)の不斉光異性化系を用いて検討した。

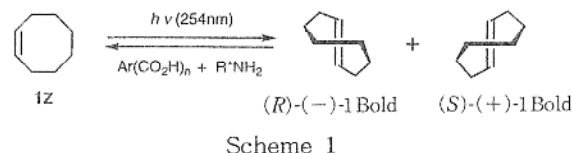
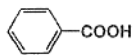
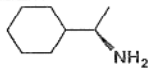
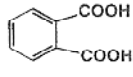
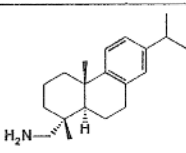


Table 1 に結果の一部を示すが、発色団分子とキラル分子との間の水素結合で *in situ* に形成されるキラル錯体でも1Zの不斉光増感反応が可能である事が明らかとなった。また、この増感系では発色団分子とキラル分子の相互作用が決定的に重要であるので、用いる溶媒により ee は大きく影響されることも明らかになった。例えば、メタノール等の高極性溶媒中ではラセミ体しか得られなかったが、エーテル等の低極性溶媒中では最高+21.2%の ee が得られた。また、生成物の ee はカルボン酸とアミンのモル比にも依存することから、溶液中でのキラル錯体の安定度定数が ee を決める大きな因子の一つであることが明らかになった。実際、25℃でもアミンの濃度を上げていくことで ee の大きな向上が認められた。

すなわち、水素結合や双極子-双極子相互作用などの「弱い相互作用」によって不斉光増感反応系の構築と制御が可能であることが明らかとなり、核酸系増感システム構築のための基礎が得られた。

Table 1 Enantiodifferentiating Photoisomerization of (Z)-cyclooctene sensitized by chromophore-chiral amine pair

sensitizer		solvent	molar ratio ^b	temp. (°C)	irrad. time (min.)	1 E/1 Z	yield (%)	ee (%)
Chromophore	Chiral amine							
		methanol	1	-40	60	0.32	—	+0.3
		methanol	2	25	60	0.36	23.8	0.0
		ether	2	25	20	0.07	6.9	+1.6
			10	25	20	0.03	2.7	+9.0
			2	-40	60	0.01	1.3	+21.2

a [Cyclooctene] = 5.0 mM. b [Chiral amine]/[Chromophore]

3. 核酸系を増感剤とする不斉光化学反応

核酸を用いた増感剤の組織構造化については、超分子形成に用いる核酸によるシクロオクテン、シクロオクタジエンなど環状オレフィンの不斉光増感異性化反応について、構成単位であるヌクレオシド・ヌクレオチド系と生体高分子であるDNA系の両系から検討し、核酸系の増感反応に関する基礎的な知見が得られている。

まず、生体の遺伝情報を担うDNA・RNAの構成成分であるヌクレオシド・ヌクレオチド類に注目し、これらをキラル増感剤とする環状オレフィン類の光増感異性化反応について検討した。ヌクレオシドは増感部位として核酸塩基、キラル部位としてフラノース環を有するが、ウ

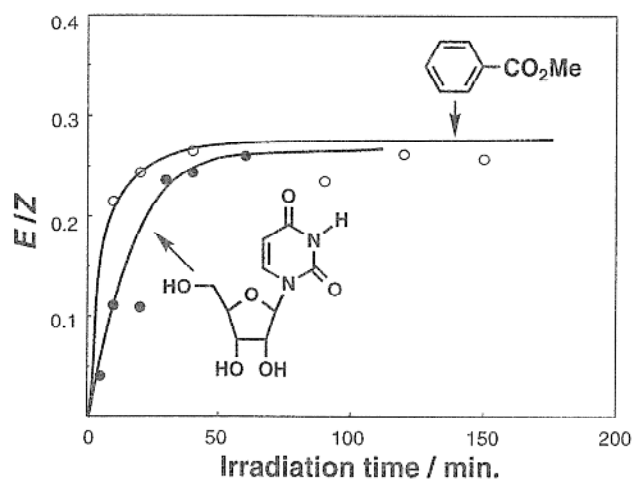


Figure 1 Photoisomerization of (Z)-COT (5mM) sensitized by Urd (1mM in MeOH) and methyl benzoate (3mM in pentane) at 25°C

リジン(Urd)などのピリミジン系と、アデノシン(Ado), グアノシン(Guo)などのプリン系では環状オレフィン類に対する光増感能に大きな差異が観測された。また、フラノース環水酸基の修飾による光増感能、エナンチオ選択性への影響についても検討した。

Urdを増感剤とする(Z)-シクロオクテンの光増感反応を行ったところ、これまで増感剤として用いてきたキラルなベンゼンポリカルボン酸エステル類と最終的には同程度の効率で光定常状態に達する事が明らかとなり、Urdでも環状オレフィンの異性化反応を光増感可能であることを初めて明らかとした(Figure 1)。

次にピリミジン系ヌクレオシドであるUrdとプリン系のAdoおよびGuoを増感剤とした光増感反応を行った結果、Ado, Guo両系共に異性化反応はほとんど進行しなかった(Table 2)。また反応溶媒を変化させて同様に光増感異性化反応について検討したが、ほとんど異性化反応は進行しなかった。以上の結果より、(Z)-シクロオクテンに対してはプリン塩基よりピリミジン塩基が高い増感能を示すことが明

Table 2 Enantiodifferentiating Photosensitization of Cyclooctene by Nucleosides and Nucleoside Derivative at 25°C.

Sensitizer	MeOH		MeOH-H ₂ O (1:1)	
	(E/Z) _{pss}	%ee	(E/Z) _{pss}	%ee
Urd	0.24	+2.2	0.15	+3.7
IPU	0.24	+3.5	0.11	+5.8
Ado	0.006	+0.3	0.01	+1.0
Guo	0.002	+1.0	0.004	+1.5

[COT] = 5 mM, [Sens] = 1 mM.

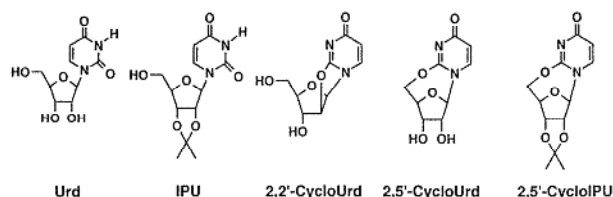
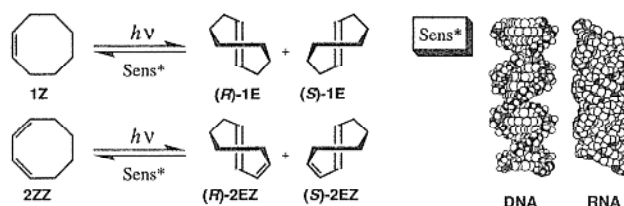


Figure 2



Scheme 2

らかとなった。

比較的高い増感効率を示したウリジンの種々の誘導体(Figure 2)を合成し、その構造のE/Z比、エナンチオマー過剰率におよぼす影響について検討した(Table 3)。光定常状態におけるE/Z比は塩基部-糖部環状誘導体である2, 2'-CycloUrd, 2, 5'-CycloUrd, 2, 5'-CycloIPUいずれもがUrdに比較し高い値を示した。これは環状誘導体のUVスペクトル λ_{max} が短波長側へ移動していることから、シングレットエネルギーがUrdに比較して増加していることに基づくと考えられる。

エナンチオマー過剰率(% ee)はUrdの場合、値は小さいものの反応温度を25℃から-40℃に変化させることにより生成物キラリティーが反転したのに対し、環状誘導体においてはeeの若干の向上は観察されたものの温度効果はほとんど示さなくなった。これは糖部と塩基部を環状に結合し、構造固定したため温度効果を受け難くなったことに基づくとと思われる。また、Urdの2', 3'位水酸基をインプロピリデン基で保護したIPU, 2, 5'-CycloIPUにおいてはその母骨格の場合よりeeの向上が観測され、キラル部位である糖部の修飾により更なるeeの向上が期待されることが明らかとなった。

ヌクレオシドで環状オレフィンの異性化反応が増感可能であること、ならびに塩基の種類が

増感能に大きく影響することが明らかとなったので、つぎに4種類の塩基がランダムに存在し、二重らせん構造を有するDNA・RNAを用いた光増感反応について検討した。

まず、光照射によるDNAの変化について254 nm光照射に伴うUVスペクトルの変化を検討した結果、DNAは紫外光照射に対し比較的安定で増感剤として十分用いることが可能である事が示唆された。つぎに基底状態における環状オレフィン類とDNAの相互作用について検討した結果、B型DNAに基づくCDスペクトル260nm付近のピークが環状オレフィンの添加に伴い増大し、基底状態における相互作用が示唆された。

つぎに実際にDNAを増感剤とする光増感異性化反応について検討した。基質としてシクロオクテン(1Z)を用いた場合、水中ではほとんど反応の進行は観測されなかったが、水-メタノール混合溶媒中では効率は低いものの異性化反応の進行が確認された。

一方、1, 3-シクロオクタジエン(2ZZ)を基質とした異性化反応は、水中でもDNA, RNAを増感剤とする両系で比較的効率よく進行することが明らかとなった。

また、DNAの種類、反応溶媒も大きくE/Z比、エナンチオマー過剰率に影響をおよぼすことも明らかとなってきている。

今後の展望

以上の「弱い相互作用」による不斉光化学反応の制御ならびに核酸の増感システムへの応用について紹介してきた。核酸は代表的な生体高分子であり、分子レベルでの現象の理解が困難であると思われがちである。確かに核酸塩基の種類のみならず、配列に依存した三次元的・空間的構造も大きく(光)反応性に影響し、全てを

Table 3 Enantiodifferentiating Photosensitization of Cyclooctene by Urd and Urd Derivatives at 25°C.

Sensitizer	Solvent	25°C		-40°C	
		(E/Z) _{pss}	%ee	(E/Z) _{pss}	%ee
Urd	MeOH	0.26	+2.2	0.28	-4.8
IPU	MeOH-H ₂ O (1:1)	0.11	+5.8	0.18	+6.9
2,2'-CycloUrd	MeOH	0.37	-3.5	0.45	-2.1
2,5'-CycloUrd	MeOH	0.32	+1.6	0.38	-0.9
2,5'-CycloIPU	MeOH	0.23	+4.6	0.39	+6.1

a) [COT] = 5 mM, [Sens] = 1 mM.

統一的に理解できているわけではない。しかし、核酸は多彩な機能を有し、化学者にとっても極めて魅力的な分子であることに疑いはない。今後は核酸との超分子形成法を確立すると共に、均一系では観測されない核酸との組織構造体形成に基づく「場のキラリティー」を活用した光不斉反応の制御という新たな機能の開拓を目指して努力していきたい。

文 献

- 1) Y. Inoue, *Nature* (London), **341**, 225 (1989)
- 2) Y. Inoue, *Chem Rev.*, **92**, 471 (1992)
- 3) Y. Inoue, et al., *J. Org.Chem.*, **57**, 1332 (1992)
- 4) 井上佳久, 有機合成化学協会誌, **53**, 348 (1995)
- 5) "Cation Binding by Macrocycles", ed by Y. Inoue and G. W. Gokel, Marcel Dekker, NY (1990)
- 6) Y. Inoue, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 11033 (1995)
- 7) Y. Inoue, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 475 (1993)
- 8) T. Wada, et al., *The Polymeric Materials Encyclopedia : Synthesis, Properties and Applications*, J. C. Salamone and M. Lowell Eds., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, US (1996)
- 9) T. Wada, et al., *Industrial Biotechnological Polymers*, **121** (1996)
- 10) T. Wada, et al., *Nucleic Acids Res.*, **34**, 189 (1995)
- 11) 例えば S. Y. Wang (ed.), "Photochemistry and Photobiology of Nucleic Acids", Academic Press, New York (1976).
- 12) M. D. Purugganan, C. V. Kumar, N. J. Turro, and J. K. Barton, *Science*, **241**, 1645 (1988); C. J. Murphy, M. R. Arkin, Y. Jenkins, N. D. Ghatilia, S. H. Bossmann, N. J. Turro, and J. K. Barton, *ibid.*, **262**, 1025 (1993).

