

氏名(本籍)	みなと 湊	しん 信	ご 吾
学位の種類	博士(薬学)		
学位記番号	薬第340号		
学位授与年月日	平成5年6月16日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		

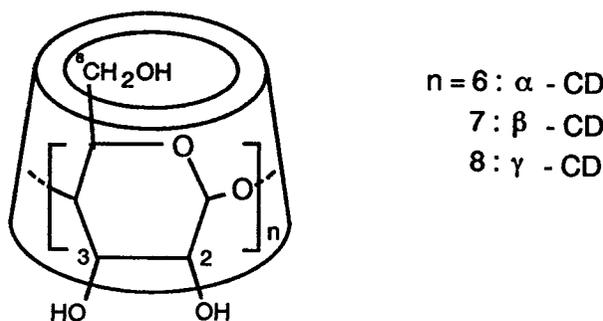
学位論文題目      Studies on Inclusion Behavior of Chromophore-Modified  $\beta$ - and  $\gamma$ -Cyclodextrins and Their Applications to Molecular Sensing  
(発色団修飾 $\beta$ -および $\gamma$ -シクロデキストリンの包接挙動と分子センサーへの応用に関する研究)

(主査)  
論文審査委員      教授 長      哲 郎      教授 後 藤 順 一  
教授 鈴木 康 男

# 論文内容要旨

シクロデキストリン (CD) は D-グルコースが環状に複数個  $\alpha$ -1,4 結合した構造を有す。グルコースの結合数が 6, 7, 8 個のものはそれぞれ  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -CD と呼ばれる。ドーナツ状の構造を有し、その一方の口は狭く一級水酸基を、もう一方の口は広く二級水酸基をもっている。このため CD は水によく溶けると同時に空洞内は疎水性の環境にある。一般に CD は水溶液中で有機化合物を空洞中に取り込む。この作用は包接と呼ばれ、包接時、CD はホスト、空洞内の有機化合物はゲストと呼ばれる。

CD に関する研究は古くから行われ、エステルの加水分解の酵素モデル、有機化合物の不斉識別などが知られている。



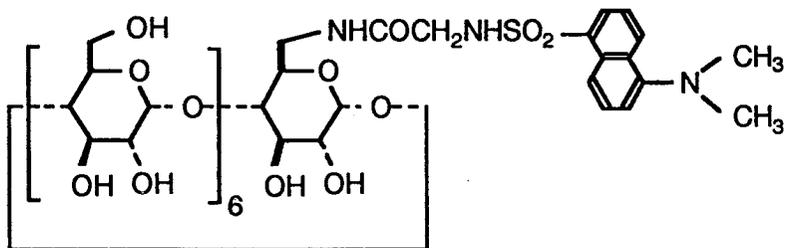
シクロデキストリンの構造

本論文提出者の所属した東北大学薬学部薬品物理化学講座では 1988 年に CD の一置換体をホストとして用い、有機化合物を取り込む際に変化する蛍光スペクトルから修飾 CD の包接挙動について報告している。その中で  $\gamma$ -CD の一級水酸基側に一個のピレン基を修飾した誘導体は水溶液中で会合二量体を形成するが、ゲストの取り込みにより単量体のホスト-ゲストコンプレックスを形成し、しかも蛍光スペクトルの変化はゲストによって異なることがわかり、センサーへの可能性が示された。

本論文では、この成果を踏まえ一級水酸基側を一個の発色団で修飾した  $\beta$ -CD ならびに二個の発色団で修飾した  $\beta$ -および  $\gamma$ -CD の包接挙動を研究した。またスペクトルの変化を利用したセンサーの可能性についても検討した。

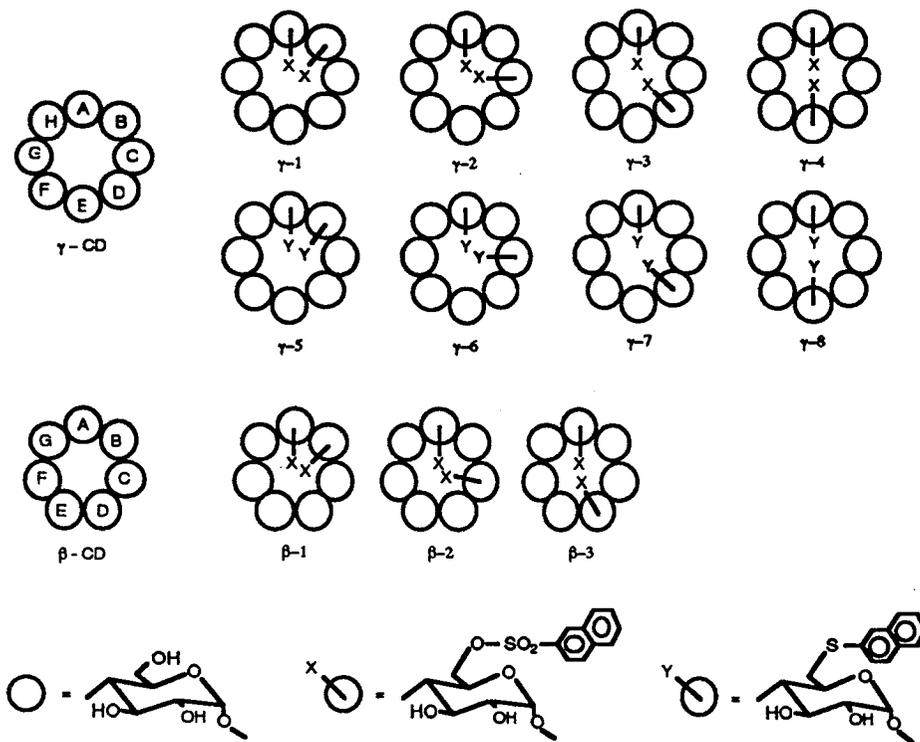
## 1. ダンシル修飾 $\beta$ -CD の包接挙動とステロイド化合物の検出

ダンシル基が  $\beta$ -CD の一級水酸基側に一個修飾された修飾  $\beta$ -CD を合成した。ゲストの濃度の増加とともに蛍光スペクトルが減少することから、水溶液中でダンシル基は空洞内に位置してい



ダンシル修飾β-シクロデキストリン

るが、ゲスト濃度の増加に従い空洞外に移動するものと考えられる。これはダンシル基が疎水環境で強い蛍光を示すが水溶液中では蛍光が弱くなるという事実に一致する。また、ゲストとして各種の有機化合物を用いて蛍光スペクトル強度の変化を調べたところ、それぞれ固有の値を示すことがわかった。特にケノデオキシコール酸とウルソデオキシコール酸について著しい変化が見られ、分子を認識するセンサーとしての可能性が確かめられた。



βおよびγ-シクロデキストリンの2置換修飾体

## 2. 二置換修飾 $\beta$ -および $\gamma$ -CDの包接挙動

2-ナフチルスルホニル基を2個CDの一級水酸基側にもつ $\beta$ -および $\gamma$ -CDを合成した( $\beta$ -1~ $\beta$ -3,  $\gamma$ -1~ $\gamma$ -4)。また, 2-ナフチルスルフェニル基を2個CDの一級水酸基側に有する $\gamma$ -CDも合成した( $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8)。これらの修飾CDの包接挙動が蛍光および円偏光二色性スペクトルにより調べられた。

円偏光二色性スペクトルから, 水溶液中で $\gamma$ -1と $\gamma$ -3の二つのナフチル基はCD空洞内で時計まわりにねじれて相互作用していること, 一方,  $\gamma$ -2と $\gamma$ -4の二つのナフチル基は反時計まわりにねじれて相互作用していることがわかった。またゲスト添加時に円偏光二色性スペクトルの減少が見られることから, 空洞内にあった二つのナフチル基はゲストが空洞内に取り込まれることにより空洞外に位置を変えるものと想定される。

さらに蛍光スペクトルの観測から $\gamma$ -1はモノマー蛍光のみを示したので,  $\gamma$ -1の二つのナフチル基はエキシマー蛍光を発するに必要な対面型の相互作用を及ぼしにくい位置に存在しているものと推定された。 $\gamma$ -2と $\gamma$ -3はエキシマー蛍光も示すがゲスト添加時にさらにその強度が増すことから, 二つのナフチル基が空洞外に移動してエキシマーを形成しやすい位置に存在するものと考えられる。また,  $\gamma$ -4はエキシマーを形成しやすい位置に二つのナフチル基があるが, ゲスト添加時にエキシマー蛍光が減少することからエキシマーを形成しにくいと考察される。

エキシマー蛍光の遅延についての解析結果は二つのエキシマーの存在を示唆した。また, ゲスト添加時に二つのエキシマーの強度が逆転することから, これらのうちでエキシマーを形成しやすいものが優先的に選択されるものと考えられる。

円偏光二色性スペクトルから水溶液中で $\gamma$ -6~ $\gamma$ -8の二つのナフチル基はCD空洞内で反時計まわりにねじれて相互作用していることが判明した。しかし,  $\gamma$ -5については正の領域が観測されるのみであった。またゲスト添加時に円偏光二色性スペクトルの減少が見られることから空洞内にあった二つのナフチル基は位置を変えているものと解釈した。

$\gamma$ -5~ $\gamma$ -8の蛍光スペクトルがほぼモノマー蛍光を示すのは二つのナフチル基がエキシマー蛍光を発するに必要な対面型の相互作用を及ぼしにくい位置に存在しているためと考えられる。また,  $\gamma$ -1~ $\gamma$ -4との構造上の違いは,  $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8がチオエーテル結合によりナフチル基がよりCDに密接に結合している点にある。従ってナフチル基の動きが制限されると考えられる。

ゲスト添加時に蛍光の強度が増加するのは, ナフチル基がホスト-ゲストコンプレックス形成時に位置を変えるためと考えられる。発色団のまわりの極性は蛍光量子収率の決定にあたり重要な因子となっている。いままでの多くの報告は疎水的環境が蛍光量子収率を高めているので, 本研究の $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8の場合にもナフチル分子は水中に移動せずナフチル分子のまわりの疎水的環境が蛍光の挙動に影響を与えていると考えるのが妥当である。

$\beta$ -1~ $\beta$ -3の蛍光および円偏光二色性スペクトルについてはすでに報告されている。ここでは蛍光スペクトルと包接挙動の関係について考察した。 $\beta$ -1~ $\beta$ -3の蛍光スペクトルはほぼモノマー蛍光のみを示した。これはナフチル基の一つが空洞内にもう一つが空洞外に位置し、二つのナフチル基が相互作用を取れない状態になっているためと考えられる。ところがゲストを添加することにより著しいエキシマー蛍光の増加が観測された。空洞内のナフチル基が空洞外に移動してエキシマーによるキャップを形成するためと推測される。

### 3. 二置換修飾 $\beta$ -および $\gamma$ -CDによる有機化合物の検出

次に、ホストのゲストに対する分子認識能を数値化するために、ゲスト添加後と添加前の蛍光スペクトル強度の差を、ゲスト添加前の蛍光スペクトル強度で割った値を感度因数として用いた( $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8については、ゲスト添加後の蛍光スペクトル強度を、ゲスト添加前の蛍光スペクトル強度で割った値を感度因数とした)。

$\gamma$ -1~ $\gamma$ -4についてエキシマー蛍光の変化が調べられた。 $\gamma$ -2と $\gamma$ -3はコール酸とシクロドデカノールを選択的に検出し得ることが判明した。また、*l*-ボルネオールは $\gamma$ -1~ $\gamma$ -4のいずれについても感度因数が小さかった。これは、コール酸のような大きな分子が $\gamma$ -CDの空洞内に取り込まれやすいという事実と一致した。結合定数の値の順はほぼ感度因数の大きさの順に等しかった。このことからエキシマー蛍光の強度はコンプレックスの構造に依存しているものと考えられる。

$\gamma$ -5~ $\gamma$ -8ではモノマー蛍光の変化が調べられた。 $\gamma$ -5~ $\gamma$ -7はステロイド類に対し、コール酸<デオキシコール酸<ケノデオキシコール酸<ウルソデオキシコール酸の順の感度因数であった。一方、 $\gamma$ -8はこの逆の順を示したが、その理由は不明である。しかし、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコール酸について異なる感度因数が得られるということは $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8に分子認識能力があることを示している。*l*-ボルネオール、シクロヘキサノール、シクロドデカノールについてはシクロドデカノールについての感度因数が最も大きかった。これはシクロドデカノールのような大きな分子が $\gamma$ -CDの空洞内に取り込まれやすいためと考えられる。ゲラニオール、ネロール、*l*-メントールについて幾何異性的な違いが期待されたが、感度因数に大きな違いは見られなかった。結合定数の値の比較からは、 $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8はそれぞれのゲストについて異なる結合能力を示すようである。 $\gamma$ -6は結合定数の順と感度因数の順がほぼ一致するが、他のホストと比較して必ずしも感度の値は大きくない。このことはコンプレックス形成に関する何等かの影響が蛍光に反映されていると考えられる。また、*l*-ボルネオールに関する $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8の結合定数は $\gamma$ -CDを用いた場合の値より小さいことから、 $\gamma$ -5~ $\gamma$ -8の空洞内に取り込まれたナフチル基はゲスト包接時に空洞外に移動しにくいものと考えられる。

$\beta$ -1 $\sim\beta$ -3についてはエキシマー蛍光とモノマー蛍光の変化が調べられた。感度因数はシクロヘキサノール<シクロドデカノール<*l*-ボルネオールの順であった。*l*-ボルネオールが $\beta$ -シクロデキストリン空洞中に取り込まれるのに適した大きさであることを示している。ゲラニオール、ネロール、*l*-メントールに関する比較では*l*-メントールに関する感度因数が最も大きかった。しかしゲラニオールとネロールの幾何異性体については識別できなかった。コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコール酸はモノマー蛍光に大きな変化を示した。特に $\beta$ -1はケノデオキシコール酸とウルソデオキシコール酸を検出する能力が高い。ステロイド化合物は大きな分子のため全体が $\beta$ -CD空洞に取り込まれないものと推定される。その結果、空洞中のナフチル基は完全に外に出ない。このことはエキシマー蛍光が抑制されているという事実と一致する。コール酸は三つの水酸基を有し親水性のため、感度因数が小さいものと思われる。デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコール酸は二つの水酸基を有する立体異性体であるが、デオキシコール酸は他のものに較べ感度因数が小さい。これらの結果は、ゲストとホストとの間の水素結合が重要な役割を持っているものと考えられる。結合定数について考察すると、*l*-ボルネオールと1-アダマンタンカルボン酸(1-ACA)に関して $\beta$ -2は $\beta$ -1と $\beta$ -3より大きな値であった。また $\beta$ -1 $\sim\beta$ -3の結合定数値は*l*-ボルネオールより1-ACAの方が大きかった。すなわち、ホストの蛍光変化の感度因数が*l*-ボルネオールより1-ACAの方が大きいということと一致する。それゆえ $\beta$ -1 $\sim\beta$ -3の結合能力はほぼゲスト応答性の蛍光変化に反映されると結論づけられる。

以上CDの一置換体および二置換体はゲストを取りこむ際に固有の蛍光スペクトル変化を示すことが判明した。従ってこのゲスト応答性の蛍光スペクトルの変化から逆にこれらのホストが分子認識センサーとして用いられるものと期待される。

## 審査結果の要旨

シクロデキストリン (CD) はデンプンの微生物分解により生成する環状オリゴ糖であり、その疎水性空孔に種々の分子を包接するため基礎および応用の両面で広く研究されている。この CD にさらに機能性を有する残基を修飾すると、CD 本来の機能性を高めるほか、新しい機能性を発現するようになる。修飾 CD の研究は本論文主査の研究室で 10 年来行っており、 $\gamma$ -CD (グルコースの環状八量体) の一級水酸基をピレン残基一個で修飾した誘導体の水溶液中での包接挙動、蛍光スペクトル変化の研究に引き続き、本論文提出者が研究を進展させたものである。

まず、ダンシル修飾  $\beta$ -CD (グルコース環状七量体の一級水酸基を修飾) の 10% ジメチルスルホキシド水溶液での包接挙動を明らかにし、ステロイド類の包接を蛍光スペクトルの変化から解析し、分子認識センサーの可能性を確かめた。

ついで、二個の 2-ナフチルスルホン基を CD の一級水酸基で修飾した  $\beta$ -および  $\gamma$ -CD、二個の 2-ナフチルスルフェニル基を同様に一級水酸基で修飾した  $\gamma$ -CD を合成し、 $\gamma$ -体の 4 種位置異性体と  $\beta$ -体の 3 種位置異性体をカラムクロマトグラフィーにより分離精製した。この純粋な各異性体に対し、ステロイド類など 14 種のゲストとの包接挙動を円偏光二色性スペクトルおよび蛍光スペクトルから研究した。溶液にはゲストの溶解度を増すために主に 10% エチレングリコール水溶液を用いた。ゲスト添加前後の発色団残基の CD 空孔との位置関係を解析したが、位置異性体や  $\beta$ -CD と  $\gamma$ -CD の違いにより包接挙動は変化した。また一部のホストに対する *l*-ボルネオールのゲストとの包接に関しエキシマー蛍光の減衰曲線の解析から 2 種類のエキシマーの存在を推定した。

さらに、修飾 CD 体のゲスト添加によるモノマー蛍光およびエキシマー蛍光の強度比の変化を感度因子としてステロイド類などの分子認識による検出を詳細に検討した。ゲストの分子の大きさ、形状、水酸基数や位置などにより感度因子の大きさは変化し、分子認識センサーとしての評価が行われた。感度因子とホスト-ゲストの結合定数との間には必ずしも相関関係はなく、感度因子の評価にはそれに影響するゲストの物性の幅広い検討が必要であることを認めた。しかしながら、10 種のステロイド類のうちのあるゲストに対し複数のホストとの感度因子を求めれば、分子の識別および定量ができることが明らかとなり、分子認識センサーとして利用できることを確認した。

上述のように、本研究は発色団修飾シクロデキストリンのゲストの包接挙動およびステロイド類の分子認識に関し新しい多くの知見を与え、生物有機化学の発展に寄与するものであり、学位論文として適当であるものと認める。