

自己制御機能を指向した知的分子材料の創製と集積化

研究代表者	研究員	千喜良 誠 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	山崎 博史 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	芳賀 正明 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	新藤 斎 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	石塚 盛雄 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	福沢 信一 (中央大学理工学部応用化学科)
共同研究者	研究員	船造 俊孝 (中央大学理工学部応用化学科)

1 はじめに

数十億年の進化の過程で生体が獲得した物質変換やエネルギー変換システムは蛋白質、核酸、脂質、糖類と、さまざまな微量の金属イオンとが巧みに配置された多様な分子認識と生合成機構により組立られている。しかしながらこれらのシステムは生物進化の制約を受けており、化学進化の総てを網羅しているとはいえない。環境に優しくエネルギー変換効率の良い連続不斉合成システムの実用化、地球規模での二酸化炭素や窒素酸化物の効率的な処理、癌のみならず種々の遺伝子性疾患やウイルス性あるいは細菌性疾患への対策、さらには情報化社会を支える新しい超分子素子や高感度センサーの開発などの多くの諸課題に対処するためには、ある種の生体分子にみられる自己制御機能（自己集合機能、アロステリック調節機能）や基質-反応パターン学習能力を有する新しい知的分子材料の創製が不可欠である。またこれらを高分子単体に組み込み、あるいは多重相分子膜として固体表面に集積化して（超分子複合制御システム化）、さらに進化した機能を付与することも重要である。本研究は有機化学、無機化学、物理化学、生化学、化学工学のそれぞれ異なる専門家集団の共同作業により上記の目的を達成しようとする試みの第一歩である。

なお、本研究プロジェクトは2000年度より日本私立学校振興・共済事業団の学術研究振興資金による研究プロジェクト「分子材料の創製と集積化」(代表者：研究員芳賀正明)に引き継がれた。

2 それぞれの研究の概要

2.1 DNA塩基配列を認識し切断する分子素子のモデル分子となるプレオマイシンおよびデグリコペプロマイシン金属錯体とDNAとの結合構造の解析^[1]

細胞内のDNA塩基配列を認識し切断する機能は一つの分子にさまざまな機能が集積化されていることが必要である。プレオマイシン(BLM)は梅沢らによって単離された制癌作用を持つ抗生物質(図1(a))であるが、この物質はDNA認識部位、金属配位部位、糖鎖部位などからなり、それらの部位がどのようにDNAに結合しどのように反応が進行するかを明らかにすることは新しい生理活性機能を持った分子素子の設計に資するものである。

Fe^{3+} , ON-Fe^{2+} , Cu^{2+} , および $\text{O}_2\text{-Co}^{2+}$ などの常磁性金属イオンと結合したBLMや糖鎖部位を除いたデグリコペプロマイシン(dPEP)(図1(c))を含むDNAのファイバーを調整し、その電子スピン共鳴(ESR)スペク

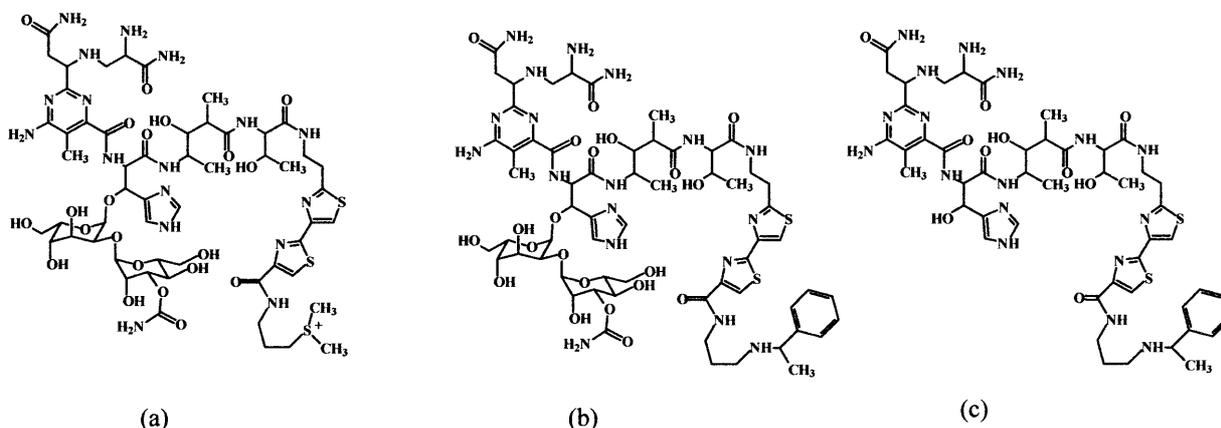


図1 (a) プレオマイシン A2(BLM), (b) ヘプロマイシン(PEP), (c) デグリコペプロマイシン(dPEP)

トルから、主として金属配位部位の DNA 二重螺旋軸に対する配向性を調べた。その結果、BLM 錯体ではいずれの金属配位部位も配位平面が DNA 螺旋軸から $10^\circ \sim 20^\circ$ 傾き配向すると共に、NO あるいは O_2 分子の結合軸は一定方向に強く固定されていることが明らかになった。一方、Fe(III)dPEP では A-型 DNA ファイバーの調製過程で不活性な高スピン型に不可逆的に変化した。また Cu(II)BLM と比較して Cu(II)dPEP は DNA に対しかなり乱雑に結合している。さらに、 O_2 -Co(II)dPEP は DNA に対し O_2 -Co(II)BLM と類似した配向性を示すが、糖鎖が無いと容易に Co(III)に酸化される。以上のことから従来その機能があまり明らかでは無かった糖鎖部位は、酸素分子を活性化するために必要な配位構造を DNA 上で保持するとともに、DNA 高次構造認識においても重要な役割を果たしていることが明らかになった。

2.2 パイ共役系有機金属ポリマーによる分子素子材料の創製^[2]

分子内に 2 個以上の遷移金属を含み、金属間に結合を持つ多核錯体（クラスター）は単核錯体にはない新しい触媒反応の場を提供し、また新しい物性材料としての応用の可能性を持つために興味もたれている。しかし、金属-金属結合は本質的に弱いために、クラスター錯体は反応系中で分解し易く、その特徴が生かされた例は少ない。この問題点を克服し、クラスター錯体の新しい利用法を開発するためにはクラスターを安定化する架橋配位子の選択が重要である。本研究では金属との結合が強固なシクロペンタジエニル基を架橋配位子として用いる二核錯体の合成を試みた。

エチニルシクロペンタジエニル金属錯体（図 2, 1）を

ルテニウム触媒を用いて二量化することによりブタトリエン結合により共役した二核錯体（図 2, 2）を得た。（図 2, 2）は相当するブタジイン型二核錯体よりも金属間の相互作用が大きいことをサイクリックボルタンメトリーにより明らかにした。また、エンジン結合で共役した二核錯体（図 2, 3）を（図 2, 1）と 1,2-ジクロロエチレンの Pd/Cu 系触媒によるカップリング反応を利用して合成し、X 線結晶構造解析を行なった。これらの電気化学的性質について測定を行なっている。

2.3 次元性を制御した反応場での錯形成を利用して金属錯体を自己集積させ、機能性物質を合成することを目的とした両親媒性ルテニウム錯体ユニットによる分子構築^[3-10]

表面での錯形成過程を層成長過程と結び付けて、分子エレクトロニクス創成の基盤技術として二次元表面での新しい分子構築法を研究することを目的とした。

電極表面への表面錯体膜の基板への選択吸着性を調べるために、アンカー部分としてジオクチルジスルフィド基およびジオクチルジホスホン酸基をもつルテニウム / オスmium 錯体を合成した。SAM 膜固定のための基板としては金あるいは ITO 電極を用いたところ、金表面上にはジスルフィド基をもつ錯体が、ITO 電極上にはホスホン酸基をもつ錯体が選択的に固定化されていることが XPS ならびにサイクリックボルタモグラム (CV) の測定よりわかった。また、今回合成した錯体 SAM 電極の特徴は、溶液の pH により電位が変化するプロトン共役電子移動系を示すことで、プルバー図から表面錯体系の pKa を見積ると、 $pK_{a1}=6.0$, $pK_{a2}=7.8$ となり、溶液中で得られた pKa 値と大きな変化は見られない。

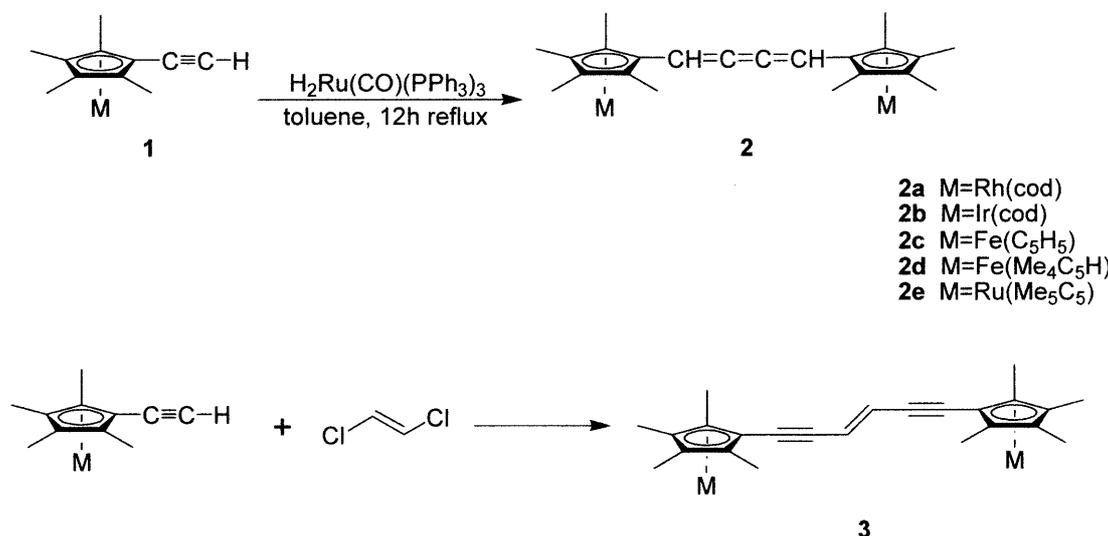
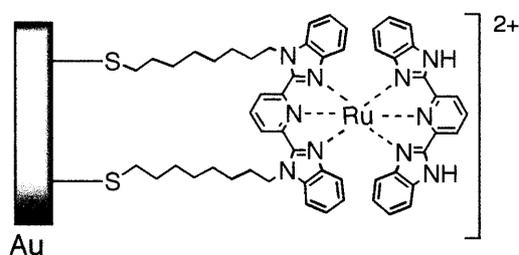


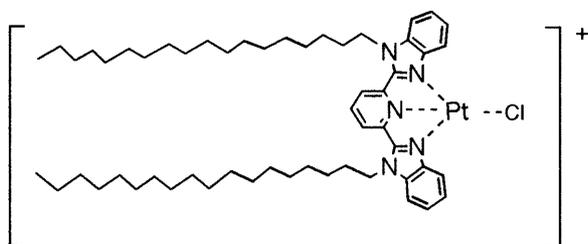
図 2

さらに、表面のマイクロ環境に関する情報を得るために錯体 SAM 膜の還元脱離を行った。Ru 錯体 SAM 膜の還元脱離では -0.72 と -1.14V に 2 個のピークが観測される。オクタンチオールでは -1.08V に一個観測されることから配向制御されたドメインと無配向のドメインの二つが形成されると考えられる。時間変化からはじめは配向したドメインが主に形成されることがわかった。

気水界面での単分子膜上での錯体の集合状態のコントロールを行うために、ビス(N-オクタデシルベンズイミダゾリル)ピリジン配位子とする白金錯体を気水界面に展開し、発光挙動を溶液状態と比較検討した。溶液からのキャスト膜では白金-白金相互作用をもつ二量体が主に生成するのに対して、気水界面では単量体が生成することが発光スペクトルから明らかになった。



Ru(bimpyH₂) SAM



[Pt(bobimpy)Cl]⁺

図 3

2.4 原子レベルの摩擦特性^[11-14]

摩擦顕微鏡 (FFM) を用いて S-O 結合が一方にそろって傾斜した CaSO₄(100) 表面を掃引すると、図 4 (a) のように摩擦力にコントラストのついた FFM 像が得られる。明るい領域と暗い領域の間には原子層 1 層の段差があり、ここで S-O の傾斜方向が図中に示したように反転している。H と L はそれぞれ摩擦力の大きい領域と小さい領域を示す。明暗のコントラストは結合の傾斜方向の違いを反映しているのである。

(a) で上下の掃引をやめ、探針を左右にのみ掃引したときの測定探針の実際の傾斜を表す電気信号を (b) に示す。(b) ではわずかに現われた摩擦の非対称成分が、

(a) でははっきりした明暗のコントラストになって検出されているのである。掃引方向を変えた二つの曲線間の開きを見れば、表面の全摩擦力が分かる。掃引の開始部で波形が乱れるのは、探針の急加速によるスティック-スリップ現象によるものである。

結合の傾斜方向が摩擦に現われる理由を直感的に説明するには、探針と表面原子の衝突を考えればよいが、結合の振動の周波数、格子振動の周波数、表面にかかる荷重などを総合的に検討すると、衝突モデルは不十分である。そこで、多点接触を考慮した力学モデルを考案し、現実的な答えを得た。分子の方向が容易に決められるとすることは、知的分子材料の集積化を研究する上で有効な手段となる。

また、全摩擦の測定は表面の摩擦の異方性の検討に用いることができる。岩塩型結晶の (001) 表面では [100] 方向と [110] 方向の摩擦力の違いを測定し、電荷-双極子相互作用により半定量的な説明を与えることができた。さらに、原子レベルで畝構造を持った表面でも摩擦の異方性を検出することができた。

2.5 リパーゼ・スーパーインデューサー作用システムの解明と応用への可能性^[15-16]

主要生体物質のうち、核酸、蛋白質、糖鎖については

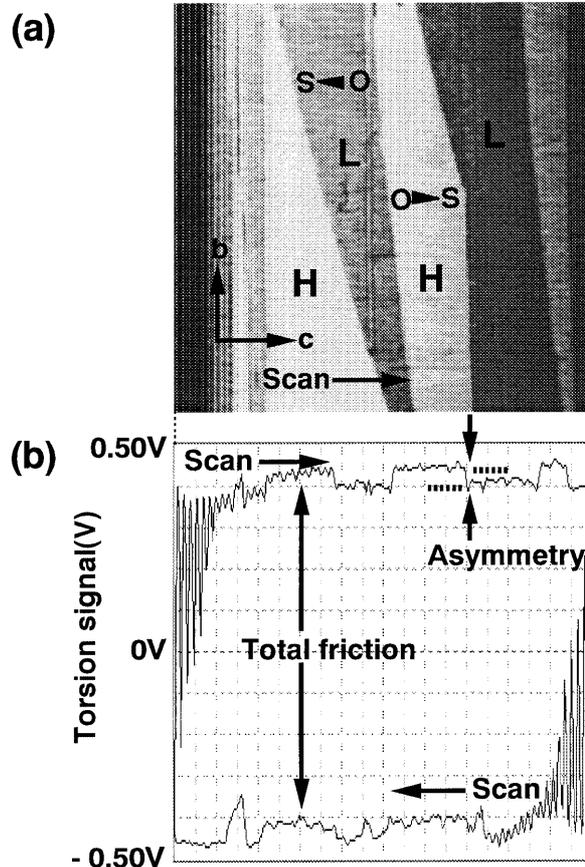


図 4

基礎的研究とその応用が急速に進展しつつあるが、脂質に関する基礎研究と応用はようやく堵についたところである。最近、Pseudomonas sp.由来リパーゼの一連のスーパーインデューサー群を発見したが (Biotechnol. Tech. 10(4), 267-272, 1996), その作用の分子機構解明の過程で、リパーゼ・スーパーインデューサー添加によるリパーゼの高発現に伴って、機能未知の蛋白質の大量発現現象を発見した。新たに見い出された機能未知の菌体外分泌蛋白質はリパーゼの分解断片ではなかった。スーパーインデューサーの作用システム解明の新たな手掛りになる事が期待される。また、スーパーインデューサー添加効果のある三種のリパーゼ生産菌由来カルボン酸エステル加水分解酵素 (高光学活性収率かつ熱安定なリパーゼ及びエステラーゼ) 遺伝子のクローニングと大腸菌体中での発現に成功した。反応溶媒系の工夫や組換え DNA 技術による反応特異性の改良については、多くの研究者によってされているが、目的キラル物質を大量かつ高効率で生産できる生体触媒の自在な設計が 21 世紀の重要課題となってきた。上記の研究経緯から、スーパーインデューサー機能の分子機構解明、クローン体による大量発現とスーパーインデューサー添加との相乗効果による超発現システム確立、及び高頻度の変異と進化の圧力 (進化分子工学) による高立体選択性リパーゼ創成のための基本的条件がほぼ整備された。この研究に目処がつき次第、バイオリアクター生産システムと結合させた実用化をめざす予定である。

従来法

反応溶媒系の工夫等

蛋白工学、ランダム変異技術等

我々のめざす方法

リパーゼ・スーパーインデューサー

進化分子工学的手法

相乗効果

安定かつ高立体選択性リパーゼの創成と超発現システムの確立

図 5 従来法と我々の方法の比較

2.6 キラルなアミノホルミルフェロセンへの有機金属試薬の立体選択的な求核付加反応と生成するフェロセンアミノアルコールの触媒作用・変換反応の研究^[17]

キラルなアリールセレノ基を不斉補助基として有する一連の α -セレノケトンを合成し、これらの不斉還元反応、アルキル化反応および酸化的不斉転位反応に関し立体化学の研究を行った。キラルアリール基としてはフェロセンアミン、フェロセンオキサゾリンおよび比較検討のためアルコキシベンゼンを用いた。キラルなフェロセ

ン系セレノメチルアルキルケトンの還元反応を種々の還元剤を用いて検討したところ、ジイソブチルアルミニウムヒドライド (DIBALH) を使用したときにほぼ単一の生成物が得られたが、ベンゼン系の誘導体では選択性は非常に低かった (27% de)。フェロセン系のセレノメチルケトンとグリニャール試薬や有機スズなどの有機金属試薬とある程度の選択性でアルキル化反応が進行したが (36% de)、ベンゼン系の化合物ではほとんど選択性が発現しなかった (5% de)。生成した、 α -ヒドロキシセレン化合物は、スズヒドライドやオキサボレーとで処理することで、それぞれ対応するアルコールやエポキシドへと立体化学を保持したまま変換できた。セレノプロピオフェノンに対応する α -セレノアセタールへと変換し、メタクロロ過安息香酸 (m-CPBA) による酸化的フェニル転位反応を試みた。いくつかの方法により鍵となる α -セレノアセタールの合成を試みたが、成功に至らなかった。 α -アルコキシセレニドの酸化的転位反応の可能性に関し検討を行った。メタノール中でセレニド対し 5 倍過剰の m-CPBA を酸化剤として用いて反応を行ったところ低収率ながらフェニル基の転位した生成物、すなわち 3-フェニルプロパナールの生成が確認できた (7%)。本来の酸化的フェニル転位は、 α -セレノアセタールにおいて高収率で進行しているが、これはアセタール基で安定化されるカルボカチオンの中間体の安定性が反応の推進力になっているからである。一方、本反応においてはメトキシ基が十分にカルボカチオンを安定化できず、結果として転位反応生成物の収率が低いと考えるのが妥当であろう。

2.7 Taylor 法を用いた超臨界二酸化炭素中におけるアセトンの分子拡散係数の測定と応答曲線のフィッティング誤差解析による測定精度の厳密な評価^[18-20]

超臨界流体中の有機化合物の相互拡散係数は、各種反応装置や分離装置の設計に不可欠な物性値であるが、その報告は限られた物質や狭い温度・圧力範囲で測定されているにすぎない。また、その値の推算方法についても十分に確立されていない。Taylor 法は測定精度が高く、比較的測定時間が短く、高圧中の無極性あるいは微極性溶質の相互拡散係数測定に優れている。しかし、極性物質については、拡散管壁への吸着のため測定精度が著しく低下する。本研究はこの欠点を補うために、内側を高分子 (ポリエチレングリコール) 薄膜でコーティングしたキャピラリーカラムを用いた非定常応答法を用いて、極性物質のフェーノールについて、高精度 (3%以内) の拡散係数測定が可能であることを示した。そして、Tay-

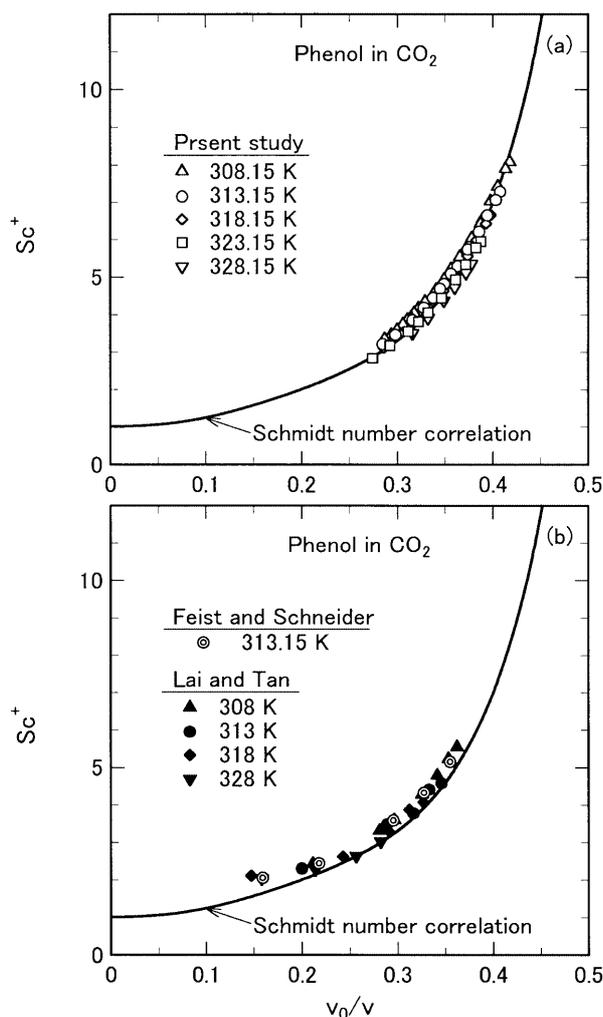


図6 超臨界二酸化炭素中のフェノールの相互拡散係数についてのシュミット数の相関(a)本研究による測定値, (b)文献値

lor法は何もコーティングしていないステンレスカラムを用いるが, Taylor法でも測定可能なアセトンについて, ポリエチレングリコールをコーティングした非定常応答法とTaylor法とによる値とを比較し, 35-55°C, 8-30MPaの範囲で両者が実験誤差範囲内の精度で一致することを示した。また, 超臨界二酸化炭素中の α -トコフェロールの相互拡散係数を測定した。

参 考 文 献

[1] M. Chikira, T. Iiyama, K. Sakamoto, W. E. Antholine, and D. H. Petering: "Orientation of Iron Bleomycin and Porphyrin Complexes on DNA Fibers", *Inorg. Chem.*, 39, 8, 1779-1786, 2000.

[2] Y. Suzuki, R. Hirotsu, H. Komatsu, and H. Yamazaki: "Dimerization of Ethynylcyclopentadienylmetal Complexes", *Chem. Lett.*,

12, 1299-1300, 1999.

[3] Y. Kotani, A. Matsuda, M. Tatsumisago, T. Minami, and M. Haga, "Absorption and Emission Behavior of Bis(2,2'-bipyridine)(2-(2-pyridyl)benzimidazole)-Ruthenium(II) Doped to Silica Gel Matrix", *J. Mater. Chem.*, 9, 3041-3044, 1999.

[4] M. D. Hossain, R. Ueno, M. Haga, "Synthesis and tuning of chemical properties of protonation/deprotonation of novel dinuclear ruthenium complexes containing 2,6,2',6'-tetra(4,5-dimethylbenzimidazol-2-yl)-4,4'-bipyridine", *Inorg. Chem. Commun.*, 3, 35-38, 2000.

[5] M. F. Ryan, R. A. Metcalfe, A. B. P. Lever, and M. Haga, "A Novel ruthenium surfactant: electronic spectra, ZINDO analysis and Langmuir-Blodgett studies of trans-dichloro(6,6'-bis(N-dodecylbenzimidazol-2-yl)-2,2'-bipyridine) ruthenium(II)", *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2357, 2000.

[6] T. Teranishi, M. Haga, Y. Shozawa, and M. Miyake, "Self-Organization of Au Nanoparticles Protected by 2,6-Bis(1'-(8-thiooctyl)-benzimidazol-2-yl)pyridine", *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 4237, 2000.

[7] K. Wang and M. Haga, "Chemical Transformation of Amphiphilic Ru Complexes Containing 2,6-Pyridinedicarboxylate at the Air-water Interface", *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 342, 225, 2000.

[8] M. Haga, H.-Gi Hong, Y. Shiozawa, Y. Kawata, H. Monjushiro, T. Fukuo and R. Arakawa, "Synthesis and Proton-Coupled Electron Transfer Reaction of Self-Assembled Monolayers of Ruthenium(II) Complex Containing Tridentate 2,6-Bis(benzimidazol-2-yl)-pyridine on Gold Surface: Comparison of Acid/Base Chemistry With Bulk Solution", *Inorg. Chem.*, 39, 4566-4573, 2000.

[9] K. Wang, M. Haga, H. Monjushiro, M. Akiba and Y. Sasaki, "Luminescent Langmuir-Blodgett Films of Platinum(II) Complex, [Pt(L18)Cl] (PF6) (L18 = 2,6-Bis(1-octadecylbenzimidazol-2-yl)pyridine)", *Inorg. Chem.*, 39, 4022-4028, 2000.

[10] T. Fukuo, H. Monjushiro, H. Hong, M. Haga, and R. Arakawa, "Matrix-assisted laser desorption/

- ionization time-of-flight mass spectrometry of self-assembled monolayers of ruthenium complexes on gold”, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 14, 1301, 2000.
- [11] Y. Namai and H. Shindo, "Frictional Force Microscopic Anisotropy on (001) Surfaces of Alkali Halides and MgO", *Jpn. J. Appl. Phys.*, 39(7B), 4497-4500, 2000.
- [12] H. Shindo, K. Shitagami, T. Sugai and S. Kondo, "Detection Mechanism of S-O Tilt Directions on CaSO₄(100) with Frictional Force Microscopy", *Jpn. J. Appl. Phys.*, 39(7B), 4501-4503, 2000.
- [13] H. Shindo, K. Shitagami, T. Sugai and S. Kondo, "Evidence of the Contributions of Molecular Orientations on the Surface Force Friction of Alkaline Earth Sulfate Crystals", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 1(7), 1597-1600, 1999.
- [14] H. Shindo, A. Seo and T. Watabe, "Structures of CaSO₄(001) Surface Studied with Atomic Force Microscopy in Air and in Solutions", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, in press.
- [15] M. Ishizuka, K. Ogawa, Y. Takahashi, M. Onda, K. Tsujimoto, and M. Shinozaki, "DNA Sequence of the Flagellar Gene Cluster from the Thermophilic Bacillus PS3: Switch, Ring, Hook, and Biosynthetic Proteins of the Flagellar Motor", *Biochim.*, 81 (sup. 6), S204, 1999.
- [16] M. Ishizuka, Y. Shibahara, F. Okura, M. Kato, H. Nakatogawa, and K. Ushio, "Molecular Cloning of The Genes Coding for Thermostable Lipases from Several Pseudomonas Strains Induced by Fatty alcohols", *Abstract Book of 18th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*, 181, 601, 2000.
- [17] S. Fukuzawa, D. Tsuchiya, K. Sasamoto, K. Hirano, M. Ohtaguchi, "Diastereoselective Alkylation of Chiral Formyl Ferrocenes with Organometallic Reagents Leading to Enantiomerically Pure Ferrocenyl Aminoalcohols: Application to Asymmetric Dialkylzinc Addition to Aldehydes and Synthesis of Symmetrical Chiral 1,2-Disubstituted Ferrocenes", *Eur. J. Org. Chem.*, 2000, 2877-2883.
- [18] T. Funazukuri, and Y. Ishiwata, "Diffusion Coefficients of Linoleic Acid Methyl Ester, Vitamin K3, and Indole in Mixtures of Carbon Dioxide and n-Hexane at 313.2 K, and 16.0 MPa and 25.0 MPa," *Fluid Phase Equilibria*, 164, 117-129, 1999.
- [19] T. Funazukuri, C. Y. Kong, and S. Kagei: "Binary Diffusion Coefficients of Acetone in Carbon Dioxide at 308.2 and 313.2 K in the Pressure Range from 7.9 to 40 MPa," *Int. J. Thermophysics*, 21, 651-669, 2000.
- [20] T. Funazukuri, C. Y. Kong, and S. Kagei, "On the measurement of Anomalous Binary Diffusion Coefficients in the Near-Critical Region," *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39, 835-837, 2000.