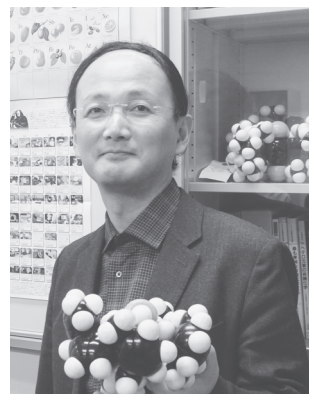


# ボウル型分子で反応を解析する

## 化学専攻 後藤 敬 研究室

後藤 敬 教授 1966年愛媛県生まれ。東京大学大学院理学系研究科化学専攻博士課程修了。2010年より、東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻教授。



後藤研究室ではユニークな形の有機分子を用いた研究を行い、新しい反応を発見したり、未知の反応機構の解明を行ったりしている。その研究で解明した事実は多岐に渡る。その中でも本稿では後藤研究室が最近取り組んでいるボウル型の分子を用いた研究について紹介する。くわえて、ある実験のエピソードから後藤先生の考える理想の研究者像について紹介する。

### ナノサイズの反応空間

皆さんは薬を買ったり医師から処方されたりしたときに、その薬が体内でどのように作用するのか気になったことはないだろうか。鎮痛剤、解熱剤などのさまざまな薬があるが、こういった薬の効用はすべて化学反応によるものである。従来、生体内の化学反応を研究する際は、反応前の物質と反応後の物質だけに注目していることが多かった。しかし、最近の研究では反応前と反応後の物質を見るだけではなく、反応がどのような仕組みで起こり、反応中にどのような現象が起きているのかも分析することが求められているのである。

反応の仕組みを調べる際には反応中間体、すなわち反応の途中で分子がとっている一時的な構造を調べるのが重要である。そのため、生化学者や有機化学者は生体内で生じる反応中間体を分析する手法を編み出そうとしている。

有機化学において、これまでに知られていない種類の物質を研究するためには、その物質の標準物質を用意する必要がある。標準物質を使ってスペクトルなどの物質固有の性質を調べ、そして別の物質との反応を分析する。そのようにして得られた物性や反応性に関する基本的な情報をもとに、さまざまな状況下での物質の挙動を解釈するのである。

しかし、生体内で作られる反応中間体を分析するために、その反応中間体に固有の官能基をもつ標準物質を実験室のフラスコの中で作ろうとしても、多くの反応中間体は不安定なためすぐに別の物質へと変化してしまう。かといって、生体内の反応中間体を直接分析しようとしても容易にはできない。他の物質が混ざっているためそのままでは分析できず、また、目的の反応中間体を取り出そうとしてもすぐに壊れてしまうからである。

反応中間体の分析がうまくいかない場合には、反応機構について仮説が立てられ、それが正しい

という前提で以降の研究が進められることになる。ただし、その仮説が正しいものなのかは依然としてわからない。もし、正しいと信じられ使われていた仮説が後の研究により間違っていることが判明した、ということが起こると、関連する長年の研究全てが水の泡になってしまうかもしれない。そのため、反応中間体の分析を諦めるわけにはいかないのだ。

そのままでは壊れてしまう反応中間体をうまく分析する方法には以下のようなものがある。反応中間体である高反応性官能基Aはそのままにしておくとすばやく二量化してしまう、つまりAとAの間で結合を作って不活性化してしまうものとする。このとき、官能基Aと反応物Bの反応を見ようとしても、それが起こる前にAが二量化してしまい、Bとの反応が起こらなくなる(図1-①)。

このような官能基Aを分析する手法として、Aを付けた分子を作る際に、Aの周りを大きな部位で覆うように分子を設計する方法が考えられる。このような部位を立体保護基と呼ぶ。こうすれば、立体保護基がAとAの接近を妨げるので、Aは二量化による不活性化を起こしにくくなる。それにより、反応中間体の構造を崩さないまま目的の物質を取り出せるようになる。

しかし、この方法には欠点がある。官能基Aの周りを覆ってしまえば確かにA自体は保護され、Aが二量化するのは防ぐことができる。その反面、反応物Bと官能基Aが反応することを確かめるためにBを近づけても、立体保護基が邪魔をして反

応しにくくなってしまう(図1-②)。つまり、立体保護基で頑丈に覆いすぎるとBとの反応も阻害されるため、AとBの反応が分析できなくなってしまう。

そこで先生は、このような官能基Aと反応物Bの反応を確かめたい場合に、AとBの反応は起こるようにしつつA同士は近づけないようにするため、ボウル型の立体保護基を使用することを考えた(図1-③)。これは、生体内で酵素全体がAのような官能基を保護するボウルのような形になっていることから得た着想である。このボウル型の部分はA同士が結合するのを妨げる機能をもつとともに、AB間で反応を起こすための容器、いわばナノサイズの反応空間となるのだ。

## ブラックボックスだった反応

では、ここからは先生がボウル型の分子を使ってどのような反応を分析したのかを見ていこう。

## ■ セレノールの解析

まず、セレンを含む官能基を活性中心としてもつ酵素の分析について紹介しよう。活性中心とは、反応物質の化学反応を促進する、酵素の部位のことである。セレンという元素の名前は最近、健康食品やサプリメントの宣伝に利用されているので、聞いたことがある人もいるかもしれない。

グルタチオンペルオキシダーゼという酵素の活性中心はセレノール(-SeH)である。このセレノー

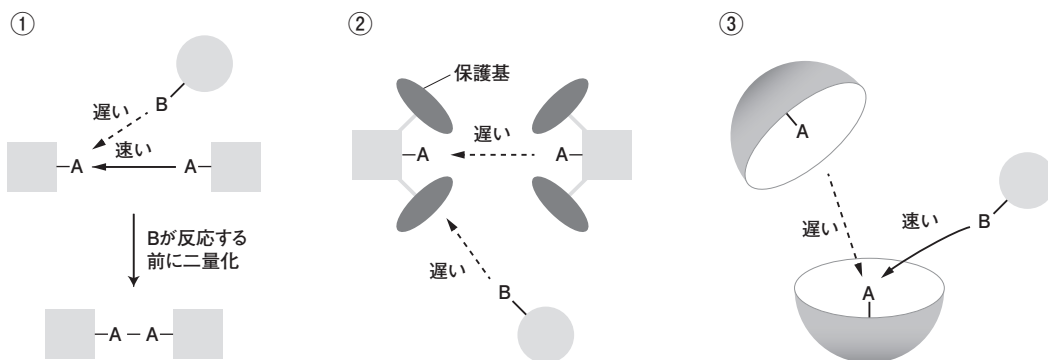


図1 覆うタイプの保護基とボウル型の保護基

AとAの二量化が速い場合、①のようにBを反応させられない。かといって②のように、Aを覆うような保護基を付けるとAとBの反応も阻害される。③のようにボウル型分子を使えば、A同士の反応は妨げつつAとBを反応させることができる。

ルは活性酸素から生じるペルオキシド(ROOH)によってセレン酸(-SeOH)になり、セレニルスルフィド(-SeSG)を経て再びセレノールに戻るといふ反応サイクルをもっている(図2)。ここでGはグルタチオンと呼ばれるペプチドで、ここでは反応部位のチオール基(-SH)以外は省略している。

グルタチオンペルオキシダーゼは、この反応サイクルにより、活性酸素によって生じる有害なペルオキシドを無害なアルコール(R-OH)や水に変化させる。すなわち、グルタチオンペルオキシダーゼは体内で活性酸素を無害化する役割をもっている。ペルオキシドは細胞の老化やがん化を引き起こすため、この酵素は生化学の中でも特に重要視されている。

反応サイクル中において、セレノールとセレニルスルフィドはその存在が実験的に確認されていた。また、セレニルスルフィドからセレノールへ変化する反応の反応機構もわかっていた。しかし、反応中間体であるセレン酸の存在は仮説にすぎず、実験的には確認されていなかった。つまり、反応サイクルのその部分はブラックボックスであった。なぜならば、セレン酸は保護をせずに取り出すと直ちにセレン同士で結合を作って、不活性化してしまうからである。これではセレン酸の反応を分析することができない。

この問題に対し先生は、カリックスアレーンと呼ばれる分子を改造し、ボウル型の分子を合成した。そして、ボウル型の底の部分に結合させたセレン酸を単離することにも成功した(図3-左)。

この分子を標準物質とすることで、セレン酸

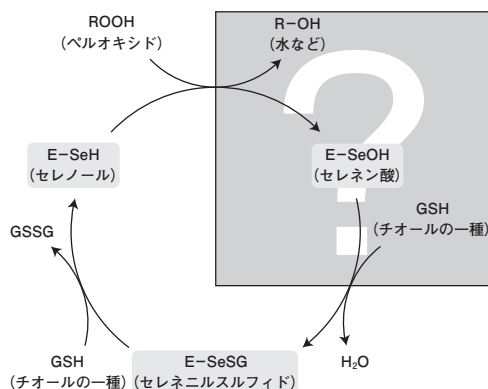


図2 グルタチオンペルオキシダーゼの反応サイクル

グルタチオンペルオキシダーゼのうち、活性中心のセレノール以外はEと表記して省略している。

の物性について調べることができた。しかし、カリックスアレーンから作ったボウル型分子の中のセレン酸はチオールなど他の物質とうまく反応しなかった。その原因として先生は、カリックスアレーンのボウル型の内部空間が狭く、反応空間として利用できなかったのが原因ではないかと考えた。そこで、より広い反応空間をもつボウル型分子が必要だと感じたのだ。

先生が分子模型を手で触りながら新たなボウル型分子を考えていたところ、ベンゼン環同士を繋いでボウル型にしなくても、ベンゼン環に大きな炭化水素基をうまく付けければ自然とボウルのような形になる分子を作れることに気がついた。この着想から得られたのがBmtと呼ばれる分子である(図3-右)。Bmtは周りのベンゼン環に付いている炭化水素基が相互に影響しあって、結果的にボ

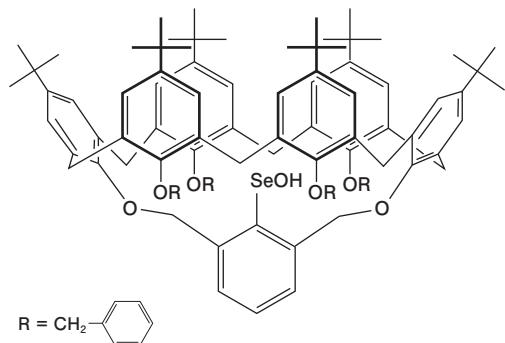


図3 カリックスアレーン型分子とBmtの構造

左がカリックスアレーン型の分子で、右がBmt。Bmtの方が広い内部空間をもつ。

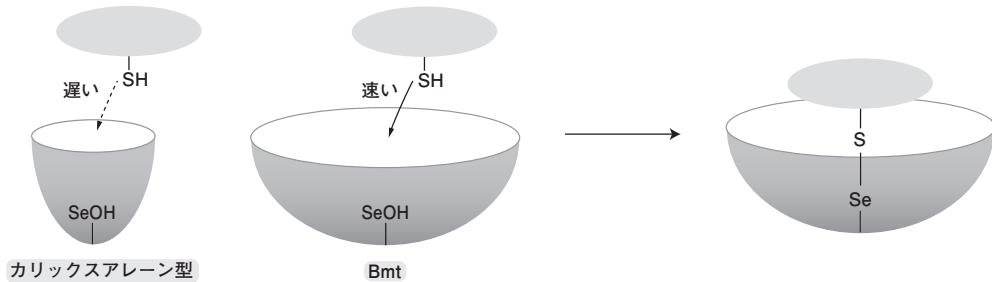


図4 カリックスアレーン型の分子とBmt分子の反応空間の違い

カリックスアレーン型の分子はセレン酸(-SeOH)の周りの空間が狭いのでチオール基(-SH)との反応が遅すぎて反応がほとんど起こらなかったが、Bmtならば空間が広いのでうまく反応させることができた。

ウル型になるように設計されている。

Bmtはカリックスアレーンから作った分子よりも広い内部構造をもっており、ナノサイズの反応空間として利用できる(図4)。この結果、中心部のセレン酸をチオール基をもつ物質と反応させることが可能になり、セレン酸を含むグルタチオンペルオキシダーゼの全反応過程を実験で証明することができた。

## ■ ヨウ化セレネニルについての新発見

反応空間が広いボウル型分子によって解析できた反応としてもう一つ、甲状腺ホルモンの活性が強くなる反応について紹介しよう。

甲状腺ホルモンにはT4と呼ばれるものとT3と呼ばれるものがあり、T4よりT3の方がホルモンとしての活性が強い。ID-1と呼ばれる酵素がT4分子の1カ所のヨウ素を水素に置換することにより、T4分子はT3分子に変化する(図5)。ID-1は

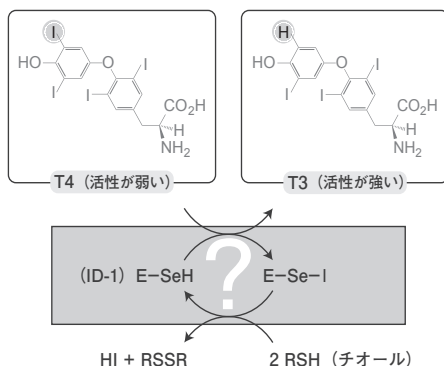


図5 ヨウ化セレネニル(-SeI)の反応

ID-1という酵素のセレンールがT4の左上のヨウ素を水素に換えると、T4はT3に変化して活性が強くなる。

活性中心であるセレンールをヨウ化セレネニル(-SeI)にすることにより、T4のヨウ素を引き抜くと考えられている。

しかし、セレンールからヨウ化セレネニルになる反応とその逆反応の詳しい機構についてはブラックボックスであった。他のチオールがその反応に関わっていることは確からしいものの、ヨウ化セレネニル同士は近づくともセレン同士で結合を作り不活性化してしまう。そのためヨウ化セレネニルの標準物質を単離することが難しく、提唱された反応過程を実証できていなかったのである。

そこで先生は、Bmtと同様に広い反応空間をもつBpqを用いてボウル型分子を作成し、安定なヨウ化セレネニルの合成と単離に成功した(図6)。そして、このヨウ化セレネニルを用いて、今までブラックボックスであったヨウ化セレネニルの反応とその機構を証明することができた。

さらなる調査をヨウ化セレネニルについて行なったところ、予想外の性質が多数発見された。例えば、この官能基は今までずっと不安定だろうと言われてきた。しかし、実際にBpqを用いてヨウ化セレネニルを単離してみると、空气中で1年間放

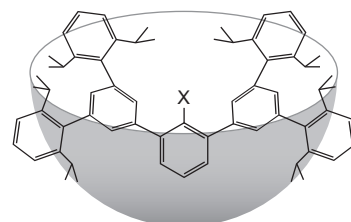


図6 Bpqの構造

Xは分析したい官能基をつける部分である。

置しても、トルエン溶液を作って110℃での加熱を1週間行なっても、ほとんど分解しなかった。有機化学で一般的に使われる試薬でも、ここまで安定なものは少ない。つまり、ヨウ化セレンニル同士が近づいて不活性化する反応さえ防げれば、ヨウ化セレンニルは非常に安定な物質であるということが判明したのである。

## 予想外の連続

後藤研究室では、ヨウ化セレンニルが安定な物質だったこと以外にも、予想外の反応がボウル型分子により多数発見されている。その例を2つ紹介しよう。

### ■ 証拠に基づいた仮説

1つ目は、ニトロキシル(HNO)という化合物の体内での反応である。この化合物は血管拡張作用をもつため、心臓血管系を保護する薬として実用化を目指した研究が行われている。その体内での反応において、ニトロキシルは他のチオールと反応し、中間体として*N*-ヒドロキシルスルフェンアミド(-SNHOH)を作り、その後種々の反応を起こすという仮説が提唱されていた。しかし、*N*-ヒドロキシルスルフェンアミドの存在には実験的証拠がなかった。

そこで先生はBpqを用いることにより、*N*-ヒドロキシルスルフェンアミドをもつ物質を作ること成功した。そして、仮説を確かめるためにさまざまな実験を繰り返すうちに、予想されていなかった反応を数多く発見した。

例えば、ニトロキシルとチオールから*N*-ヒドロキシルスルフェンアミドが生じる反応は以前から予想されていたが、実際にはその逆反応も起きていることがわかった。この事実、*N*-ヒドロキシルスルフェンアミドがニトロキシルを比較的稳定な状態で貯蔵し、さらにニトロキシルを必要なところに運搬して放出するという役割をもつ可能性を示唆している(図7)。

このようにして、先生はボウル型分子を用い、ボウル型分子と官能基だけの単純な系において新しく逆反応を確認した。そして、*N*-ヒドロキシル

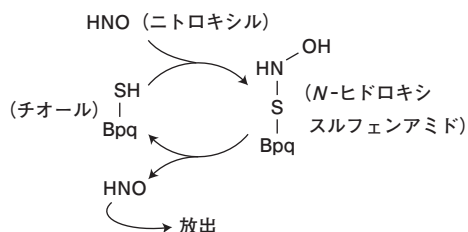


図7 ニトロキシルとチオールの反応と逆反応

チオールがニトロキシルを捕捉し、*N*-ヒドロキシルスルフェンアミドになって貯蔵・運搬、そしてニトロキシルが必要なところで放出するという仮説が立てられる。

ルフェンアミドがニトロキシルを貯蔵・運搬する役割をもっているという新しい仮説を生み出した。この仮説は実験による証拠に基づいており、今までのような机上の仮説より強い説得力をもつ。

### ■ 失敗からブレイクスルーへ

2つ目の予想外の反応は、失敗から生まれた発見である。

先生の指導のもと、学生がITmtというカルベン配位子をもつパラジウム(Pd)の錯体を作った。カルベンとは、非共有電子対をもつ炭素を含む化合物である。非共有電子対をもつ炭素は不安定だが、ITmtの場合は周りの大きな炭素骨格部分によって保護されている(図8)。そしてITmtがパラジウムに2つ配位し、中心のパラジウムも保護される形になる。

ある日、学生がパラジウム錯体の結晶を誤って空気と触れさせてしまった。空気にパラジウム錯体を晒すと空気中の酸素によって酸化されてしまうため、パラジウム錯体は空気に晒さないのが原則である。ところが、不思議なことに結晶構造を綺麗に保ったまま結晶の色が赤色から無色に変わった。普通はただ酸化するだけだと結晶構造が崩れてしまう。その不思議な現象に学生が興味をもち、先生に報告した。

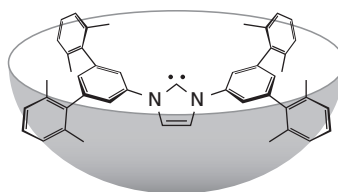


図8 ITmtの構造



詳細な分析の結果、パラジウム錯体には酸素だけでなく二酸化炭素も結合していることがわかった(図9)。金属錯体の結晶による空気中の二酸化炭素の固定は世界初の発見である。そして、二酸化炭素が固定された原因は、ボウル型の構造が広い反応空間を形成していたためだと判明した。酸素が結合したPdO<sub>2</sub>という構造は以前にも発見されていたが、それが作られたときは周りを完全に覆うタイプの配位子を使用しており、二酸化炭素が反応することはできなかった。しかし、ITmtの場合には二酸化炭素が反応できる空間を作り出すことができ、PdO<sub>2</sub>が本来もっている二酸化炭素への反応性を引き出したのだ。

地球温暖化が問題になっている今日、二酸化炭素を固定して資源化するための研究が進められている。しかし、二酸化炭素は空気中にわずか0.040%しか存在せず、かつ二酸化炭素の反応性は低いので、空気中の二酸化炭素を固定するのは難しい。今回のボウル型分子による反応がもしかすると、二酸化炭素の資源化技術の第一歩となるかもしれない。

このように後藤研究室は、ボウル型分子を用いることにより、ターゲットの反応性をあらゆる視点から検証し、多くの新発見をしている。その内容は以前立てられた仮説の実証をするだけでなく、予想外の連続でもあると先生は語る。予想外の反応が起きても、そこから生み出される仮説は実際の証拠に基づいているため、机上の仮説よりもずっと強い説得力をもつのである。

## 先生が考える理想の研究者像

先に書いたような空気中の二酸化炭素の固定は、学生が実験をしたとき、そこで実際に起きた現象を追求した結果生まれたブレイクスルーである。ただ言われた通りに実験をするだけでは、そのような発見ができる注意力や感覚は身に付かない。何か予想外のことが起きたとき、原因の仮説を立て、証明する方法を考えて実証実験を行う。これこそが自然科学の実験である。

仮説を立てて実証をするには、予想外なことが起きるまでにどんな操作を行なったか、そしてど

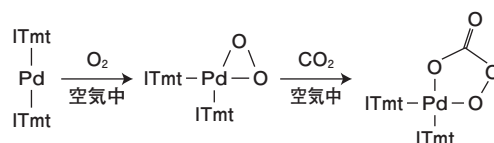


図9 Pd-ITmt錯体による二酸化炭素の固定

この反応が結晶状態で起きた。金属錯体結晶による空気中の二酸化炭素の固定は世界初の発見である。

のような結果が出てきたかが重要である。例えば、実験に使うための物質を精製するために再結晶を行なったとする。得られた結晶は、スペクトルにおいて再結晶に用いた溶媒以外の不純物は観測されず、一見綺麗である。しかし実験結果はあまり綺麗でなく、原因もわからない。このようなとき、実験者の思考の中では溶媒は反応に影響しないから無視をしてよいというフィルターが無意識のうちにはたらいってしまうことがある。こうなると、再結晶操作の溶媒が原因であるかもしれないのに、その可能性を取り除いてしまう。

そのようなフィルターを除去して、物事を正確に捉え、解釈して仮説を立てる。さらに仮説を実証する方法を考え、実験を行なって実証する。これらができる力をもつことが自然科学の研究者の前提である。自然科学とは、「実際のところどうなのか」が全ての世界である。「こうなってほしい」、「こういうことが起こると言われている」というフィルターを通して見るのではなく、「実際に起きていること」の全体像を正確に捉えると、思いもよらない宝石を見つけることができるだろう。東工大の学生には将来そんな研究者になってほしいと、先生は語る。

## 執筆者より

先生は取材で、身近な例からわかりやすく、ボウル型分子のような“変わった形の分子”を用いた有機化学の興味深い世界について説明してくださいました。また、後藤先生の考える理想の研究者像に感銘を受けました。質問や記事の内容に関しても懇切丁寧に答えていただきました。

お忙しい中、取材に協力して下さった後藤研究室の皆様へ深く御礼を申し上げます。

(安井 雄太)