

DNA 塩基を持つ Pd(II)-2 位置換 8-キノリノール錯体の合成と立体構造

大淵 真一*、宮岡 祐士**

The Synthesis and Steric Structure of Pd(II)-2-Substituted 8-Quinolinol Complexes Having DNA Base as External Ligands.

Shinichi OHFUCHI, Yuji MIYAOKA

ABSTRACT

In the presence of external ligands (ExL), Pd(II) and 8-Quinolinol ligands having C donor atom at 2-position give not only usual 2:1 complexes but also 1:1:ExL complexes. These complexes have interaction between 2-substituted group and ExL, and various heterocyclic bases are inserted as ExL. In this study, it carried out that synthesis of complex coordinated cytidine as ExL toward Pd(II). In addition to structure analysis by ^1H NMR, the structure optimization of 1:1:ExL complexes was carried out by the Quantum chemical calculation for the examination of the steric structure. It coordinated in the heterocyclic nitrogen in the Pd(II), and the hydrogen bond was confirmed. Because of these complexes was imitated Watson-Click bonds observed in the DNA double helix, it is possible to apply as the DNA artificial receptor.

Keywords: 8-Quinolinol, Cyclometalated complex, DNA artificial receptor, Quantum chemical calculation

1. 序論

過去 10 年以上にわたり、生体系に見られる分子が示す分子認識機能と同等あるいは類似の機能を人工的に再現した DNA 塩基に対する人工レセプターの発展に関心もたれている。医学界では、理論的に病因と推定される物質の特異的あるいは選択的除去のための人工レセプターの開発が進展している。これらの人工レセプターの中には純粋な有機化合物¹⁾のほかに、遷移金属を利用した金属錯体^{2), 3)}も知られ、研究されている。

これまでに 2-アミノメチル-8-キノリノールを三座配位子として用いた金属錯体の DNA 塩基のレセプター分子に関する報告がある⁴⁾。2-アミノメチル-8-キノリノールを用いた例では、金属配位と水素結合による相

乗的相互作用によりシチジンと選択的に強く結合する人工グアニンを目指したものである。シチジン人工レセプターをデザインする際、F. Mancin らはグアニン-シトシン間のワトソン-クリック相互作用を模倣しようとした。人工レセプターには Cd(II)錯体を用いており、合成した人工レセプターとシトシン間の相互作用は、ワトソン-クリック水素結合の一つが配位結合で置き

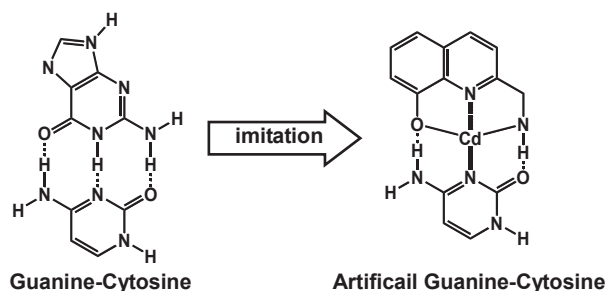


Figure 1. Watson – Crick hydrogen bond.

* 応用化学科 教授

**神戸合成(株)(平成 17 年度応用化学専攻修了)

換わっていることを除いて、グアニン-シトシン相互作用によく似ている。

8-キノリノールは窒素、酸素の二座配位子として多数の金属ときわめて安定な 2:1 錯体を形成することから、古くから分析試薬として研究されてきた⁵⁾。これまでに 2 位置換基に炭素原子を含む 2 位置換 8-キノリノール配位子が合成された。しかし、この炭素原子はなんらドナー性を持たず、単なる立体障害としてのみ作用する。そこで、炭素原子上に電子求引性基を結合させることで、メチンプロトン放出してドナー性炭素原子の形成が行われた⁶⁾。外部配位子(ExL)存在下、C, N, O 三ドナー原子を含むキノリノール配位子はパラジウムや白金などのソフトな金属を用いて錯体を合成すると、8-キノリノールに見られる 2:1 型錯体から、外部配位子(ExL)導入による 1:1:ExL 型シクロメタラト錯体を与える⁶⁾。この錯体は 5,5-あるいは 5,6-縮合キレート環を形成するのが特徴であり、その結果錯体として大きな安定性を持つことになる⁷⁾。

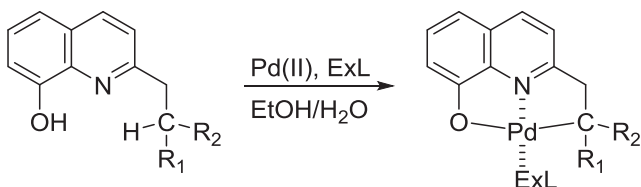


Figure 2. Pd(II) 2-(β -substituted ethyl)-8-quinolinol complex.

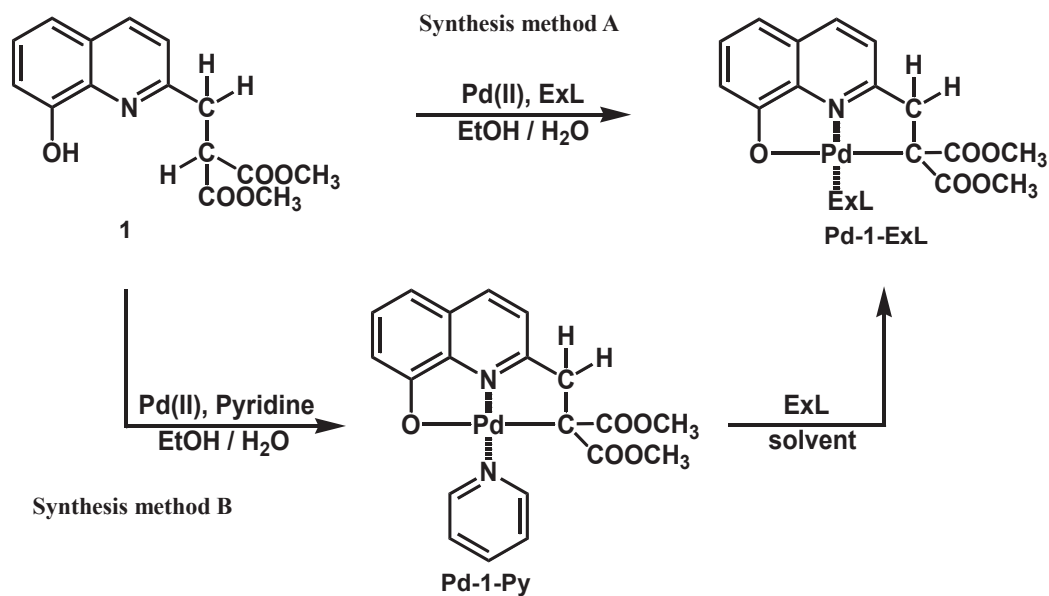
外部配位子には、N ドナー原子試薬であるピリジンを用いた場合が最も多く、標準物質的な役割を果たしている。アミン系や複素環塩基試薬にはそれぞれ特有の性質を持つものが多い。そのため、シクロメタラト錯体にこれらの特徴ある外部配位子を結合させることで、その物質が本来所有している物性に新たな性質を付与できることが期待される。また、外部配位子には様々な複素環塩基が導入できることから、この錯体においても、人工レセプターへの応用が可能となる。

そこで本研究では、外部配位子としてシトシン、シチジンを用いたシクロメタラト錯体の合成を試み、¹H NMR、量子化学計算による構造最適化により錯体構造の解析を行った。

2. 実験

2.1 測定装置

機器分析には次の機種及び測定条件を用いた。融点：柳本微量融点測定装置。IR：日本分光 JASCO FT-IR-300 赤外分光光度計(KBr 錠剤法)。¹H NMR：BRUKER DRX500 500MHz：溶媒、CDCl₃(内部標準 TMS, 0ppm)、DMSO-*d*₆。元素分析：柳本 CHN-Corder MT-5 型。質量分析：JEOL JMS-AX505W(DM-1)(イオン化法 FAB, イオン化電圧, 3kV)。



ExL = cytosine, cytidine, 2-aminopyridine

Scheme 1

2.2 Dimethyl-2-(8-hydroxy-2-quinolyl)methylmalonate (1) の合成

既報⁷⁾に従い合成した。融点 89~90°C (lit.⁷⁾ 90°C)。

2.3 錯体の合成

2.3.1 {Dimethyl-2-[(8-oxy-κO-2-quinolyl-κN)methylene]malonato-κC} (Pyridine) palladium(II) (Pd-1-Py.) の合成

配位子 1 (187 mg, 0.646 mmol) のエタノール溶液(40 ml)とテトラクロロパラジウム(II)酸カリウム(K₂PdCl₄) (211 mg, 0.646 mmol) の水溶液 (20 ml) と水酸化カリウム (KOH) (100 mg, 1.76 mmol) の水溶液(10 ml) を 200 ml ナスフラスコ中で混合した。室温で 20 分攪拌後、外部配位子として Pyridine (2 ml) を加え、さらに 54 時間攪拌した。反応終了後、溶媒をロータリーエバポレーターで留去し、残留物をクロロホルムで抽出した。水洗後、クロロホルム層に無水硫酸ナトリウム (Na₂SO₄) を加えて乾燥した。ろ過後、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を除去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ワコーゲル C-200, 溶離液 酢酸エチル : エタノール = 9 : 1) によって精製し、黄色固体 **Pd-1-Py** を 140.5 mg (0.297 mmol, 46%) 得た。¹H NMR δ [ppm] 3.43(s, 6H, esterCH₃), 3.93(s, 2H, C_αH₂), 6.81(d, 1H, J = 7.7 Hz, 7-quiH), 6.85(d, 1H, J = 7.9 Hz, 5-quiH), 7.20 - 7.30(m, 2H, 3,5-PyH), 7.62 - 7.64(m, 2H, 3,6-quiH), 7.76(t, 1H, J = 7.4 Hz, 4-PyH), 8.04(d, 1H, J = 8.7 Hz, 4-quiH), 8.83(d, 1H, J = 4.9 Hz, 2,6-PyH)。

2.3.2 {Dimethyl-2-[(8-oxy-κO-2-quinolyl-κN)methylene]malonato-κC} (cytosine) palladium(II) (Pd-1-cytosine) の合成

Pd-1-Py (310 mg, 0.66 mmol)、シトシン(365 mg, 3.3 mmol)、DMSO (40 ml) を 200 ml ナスフラスコに混合し 35°C で 3 日間攪拌した。反応後、クロロホルムで抽出、有機層を水で洗浄、無水硫酸ナトリウム (Na₂SO₄) で乾燥した。ろ過後、ろ液をロータリーエバポレーターにて減圧濃縮し、残渣を 40°C の水中で 2 時間攪拌した後ろ過した。沈殿物を乾燥させクロロホルムに不溶な物質を集めた。これにアセトンを加え、遠心分離にてアセトンに不溶な物質を集め **Pd-1-cytosine** を 43 mg (0.085 mmol, 13%) 得た。融点(259~260°C 分解)。¹H NMR δ [ppm] 3.59(s, 6H, ester-CH₃), 3.96(s, 2H, C_αH₂), 5.94(d, 1H, J = 7.4 Hz, 5-CtyH), 6.10(s, 1H, 4-CtyNH^b), 6.76 (d, 1H, J = 7.9 Hz, 7-quiH), 7.07(d, 1H, J = 7.9 Hz, 5-quiH), 7.22(d, 1H, J = 7.4 Hz, 6-CtyH), 7.38(dd, 1H, J = 7.9, 7.9 Hz, 6-quiH), 7.55(d, 1H, J = 8.7 Hz, 3-quiH), 8.36(d, 1H, J = 8.7 Hz, 4-quiH), 10.95(s, 1H, 4-CtyNH^a), 11.22(s, 1H, 1-CtyNH)。元素分析値 C, 44.10; H, 3.82; N,

10.43%. C₁₉H₁₈N₄O₆Pd + H₂O としての計算値 C, 43.65; H, 3.85; N, 10.72%。

2.3.3 {Dimethyl-2-[(8-oxy-κO-2-quinolyl-κN)methylene]malonato-κC} (cytidine) palladium(II) (Pd-1-cytidine) の合成

配位子 1 (187 mg, 0.646 mmol) のエタノール溶液(40 ml) とテトラクロロパラジウム(II)酸カリウム (K₂PdCl₄) (211 mg, 0.646 mmol) の水溶液 (20 ml) と水酸化カリウム(KOH) (100 mg, 1.76 mmol) の水溶液 (10 ml) を 200 ml ナスフラスコ中で混合した。40°C で 20 分攪拌後、シチジン (786 mg, 3.23 mmol) の水溶液 (20 ml) を加え、さらに 24 時間攪拌した。反応終了後、希塩酸で中和し、クロロホルムで抽出、Na₂SO₄ で乾燥した。ろ過後、ろ液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、薄層クロマトグラフィー (展開溶媒; 酢酸エチル) を行い、黄色固体 **Pd-1-cytidine** を 50.4 mg (0.165 mmol, 20%) 得た。融点 (300°C 以上分解)。¹H NMR δ [ppm] 3.51 - 3.54(m, 3H, 2-RibCH₂OH, 2-RibH), 3.60(s, 6H, esterCH₃), 3.96(s, 2H, C_αH₂), 4.12(s, 2H, 3,4-RibH), 5.17(s, 1H, 3-RibOH), 5.30(s, 1H, 4-RibOH), 5.47(s, 1H, 2-RibCH₂OH), 5.70(s, 1H, 5-RibH), 6.26(s, 1H, 4-CtyNH^b), 6.54(d, 1H, J = 6.9 Hz, 5-CtyH), 6.76(d, 1H, J = 7.2 Hz, 7-quiH), 7.08(d, 1H, J = 7.4 Hz, 5-quiH), 7.39(dd, 1H, J = 7.2, 7.4 Hz, 6-quiH), 7.56(d, 1H, J = 8.1 Hz, 3-quiH), 7.70(d, 1H, J = 6.9 Hz, 6-CtyH), 8.36(d, 1H, J = 8.1 Hz, 4-quiH), 11.5(s, 1H, 4-CtyNH^a)。質量分析 (FAB+) m/z 636.2 [M⁺]。

2.4 量子化学計算

量子化学計算は、*ab initio* 法の代表的なソフトウェアである Gaussian 98 で実行した⁸⁾。計算方法は密度汎関数法である B3LYP、基底関数には LanL2DZ を用いて最適化構造を計算し、各錯体の最低エネルギーを比較した。

3. 結果と考察

3.1 錯体の合成

錯体の合成は、Synthesis method A, B の二通り (Scheme 1) の方法で行った。

Synthesis method A は一段階で目的錯体を合成できる。溶媒はエタノール、水に限られる。Synthesis method B はピリジン錯体を經由してから外部配位子を交換する二段階の方法である。種々の溶媒を用いることができる。

3.1.1 Pd-1-Py の合成

Synthesis method A を用いて合成を行った。精製はクロロホルムによる抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより行った。

3.1.2 Pd-1-cytosine の合成

Synthesis method B を用いて合成を行った。溶媒にはシトシンに対する溶解性が高い DMSO を用いた。精製は水洗(40°C)による過剰のシトシンの除去、クロロホルム洗浄による原料 (Pd-1-Py) の除去、さらにアセトンによる洗浄を行った。シトシンにはアミノ基と複素環窒素原子があるために、二成分の錯体(Figure 3)の生成が考えられる。

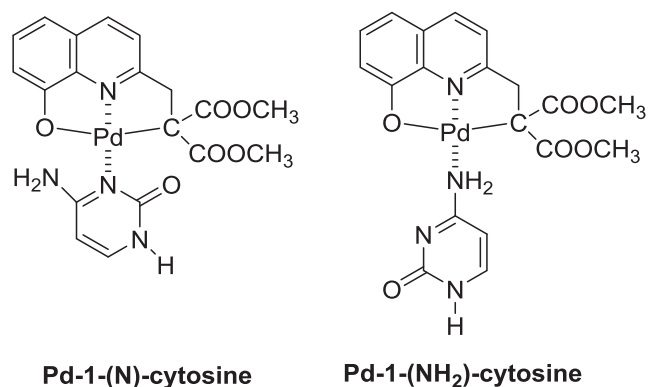


Figure 3. Expected structures of Pd-1-cytosine.

しかし、得られた錯体は ^1H NMR の結果より一成分のみであった。元素分析結果を Table 1 に示す。

Table 1. Elemental analysis of Pd-1-cytosine

Pd-1-cytosine	Found [%]			Calcd. [%]		
	H	C	N	H	C	N
$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{Pd}$ + H_2O	3.82	44.10	10.43	3.85	43.65	10.72

3.1.3 Pd-1-cytidine の合成

Synthesis method A を用いて合成を行った。反応後の生成物中には、目的物、シチジンが含まれており、そのほかに副生成物があった。シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製は目的物がシリカゲルに吸着するため不可能であった。そこで、薄層クロマトグラフィーを利用して精製を行った。シチジンにもシトシンと同様にアミノ基と複素環窒素原子があるために、二成分の錯体(Figure 4)の生成が考えられる。しかし、一成分のみの錯体の生成が確認された。

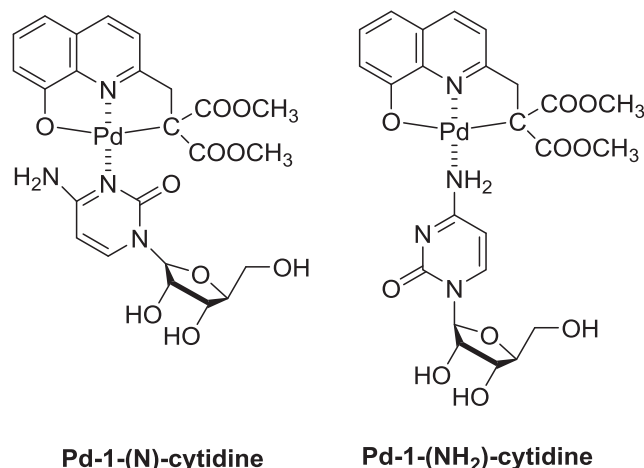
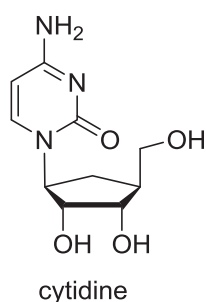


Figure 4. Expected structures of Pd-1-cytidine.

3.2 Pd-1-ExL 錯体の構造

2.1 節で合成した錯体の構造を ^1H NMR、量子化学計算により検討した。本シクロメタラト錯体は、5,5-縮合キレート環をもつため、外部配位子はシクロメタラト環、2つのエステル基から立体相互作用を受けることが分かっており⁷⁾、錯体の構造解析には、特にキノリノール配位子と外部配位子間の水素結合形成に着目した。

量子化学計算は、*ab initio* 法の代表的なソフトウェアである Gaussian 98 で実行した⁵⁾。計算方法は密度汎関数法である B3LYP、基底関数には LanL2DZ を用いて最適化構造を計算した。

3.2.1 Pd-1-cytosine の構造

シトシンはアミノ基と複素環窒素原子を持つため、二成分の錯体(Figure 3)の形成が考えられたが、得られた錯体は一成分のみであった。そこで、配位点があミノ基と複素環窒素原子のどちらなのか問題となる。

まず、量子化学計算によりそれぞれについて最もエネルギーの安定な最適化構造を計算し、そのエネルギー差から配位点の検討を行った。計算は、シクロメタ

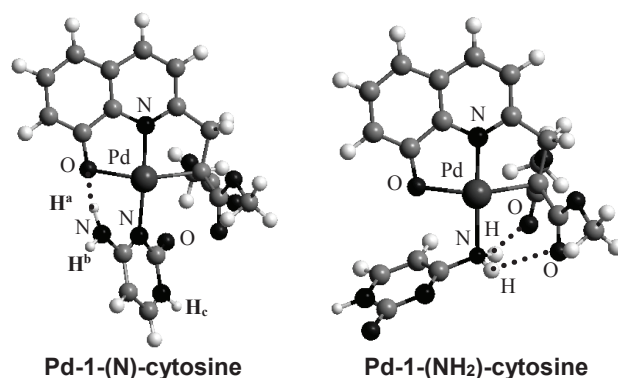


Figure 5. Optimized Structures of Pd-1-cytosine.

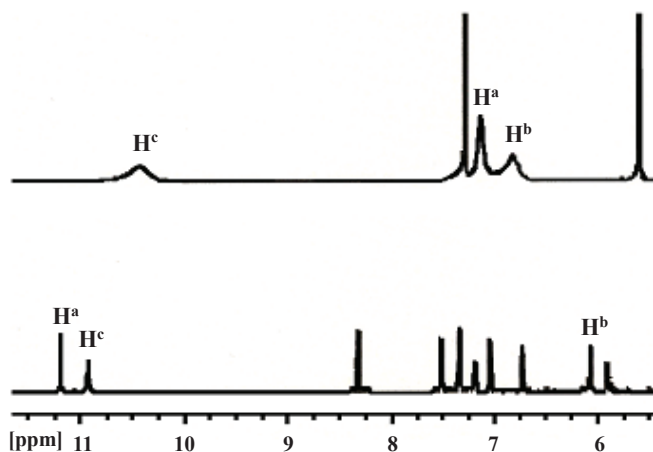
Table 2. Minimum energy of Pd-1-cytosine

compound	minimum energy	ΔE
	[hartree]	[kJ/mol]
Pd-1-(N)-cytosine	-1531.861	-
Pd-1-(NH ₂)-cytosine	-1531.843	47.259

ラト環に対し外部配位子が直交するような構造からスタートした。それぞれの得られた最適化構造を Figure 5 に示す。

Figure 5 に示している点線は近接している水素原子と酸素原子を示しており、複素環窒素原子が Pd に配位した場合、アミノプロトンは 8-キノリノール部位の酸素原子と 1 つの水素結合を形成し、その距離は 1.75 Å であった。この水素結合距離はグアニン-シトシン間のワトソン-クリック相互作用に見られる水素結合に類似しているが、約 1.00 Å 短い結合距離をとることが分かった。シクロメタラト環とシトシンの二面角は 48.17° とシクロメタラト環に対しややねじれた構造となることが分かった。一方、アミノ基が Pd に配位した場合は両方のアミノプロトンがエステル部位と水素結合を形成し、その距離は 1.91 Å, 2.40 Å であった。また、計算結果から複素環窒素原子が Pd に配位した Pd-1-(N)-cytosine の方が安定であることが分かった (Table 2)。これより、生成する錯体は Pd-1-(N)-cytosine であることが考えられる。

得られた錯体のアミノプロトンの ¹H NMR 挙動を観察することで配位点の検討を行った。得られた ¹H NMR スペクトルを Figure 6 に示す。

Figure 6. ¹H NMR spectra of Cytosine (Upper), Pd-1-cytosine (Lower).

アミノプロトンのピークは D₂O 置換法により決定した。アミノプロトン (H^a, H^b) に着目すると、H^a は 7.23 ppm から約 4 ppm の大きな低磁場シフトを示し、一方

の H^b は逆に小さいながらも高磁場シフトを示した。Pd にアミノ基が配位した場合、2 つのアミノプロトンは 2 つのエステル基からの立体相互作用により、電子密度が低下し、いずれも低磁場にシフトすることが考えられる。ところが、一方のみが低磁場シフトしていることから、配位点は複素環窒素原子であると考えられる。

これらの結果は量子化学計算による考察と一致した。従って、複素環窒素原子が Pd に配位した錯体(Pd-1-(N)-cytosine) の生成を確認した。

3.2.2 Pd-1-cytidine の構造

シチジンもシトシン同様、アミノ基と複素環窒素原子を持つため、二成分の錯体(Figure 4)の形成が考えられた。量子化学計算は同様に行った。

複素環窒素原子が Pd に配位した場合、アミノプロトンは 1 つの水素結合を形成し、その距離は 2.72 Å であった。

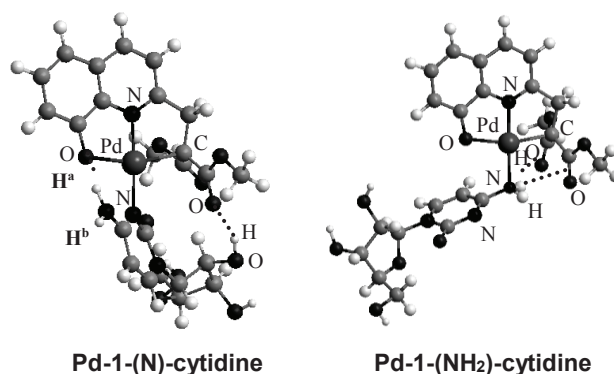


Figure 7. Optimized structures of Pd-1-cytidine.

この水素結合距離はグアニン-シトシン間のワトソン-クリック相互作用に見られる水素結合 (2.70 Å) とほぼ同じ結合距離をとることが分かった。また、Ribose の OH 基とエステル基との間にも 2.78 Å の水素結合が見られた。シクロメタラト環とシチジンの二面角は 53.12° となり、ねじれた構造をとることが分かった。一方、アミノ基が配位した場合は両方のアミノプロトンが 8-キノリノールのエステル部位のカルボニル酸素と水素結合を形成し、その距離は 1.90 Å, 2.39 Å であった。

Table 3. Minimum energy of Pd-1-cytidine

compound	minimum energy	ΔE
	[hartree]	[kJ/mol]
Pd-1-(N)-cytidine	-2028.024	-
Pd-1-(NH ₂)-cytidine	-2027.995	75.369

また、計算結果から複素環窒素に配位した Pd-1-(N)-cytidine の方が安定であることが分かった (Table 3)。こ

れより、生成した錯体は **Pd-1-(N)-cytidine** であると考
えられる。

次に、実際に得られた錯体の ^1H NMR から配位点の
検討を行った。錯体の生成は確認できたが、いくつか
のピークは同定できなかった。得られた ^1H NMR スペ
クトルを Figure 8 に示す。

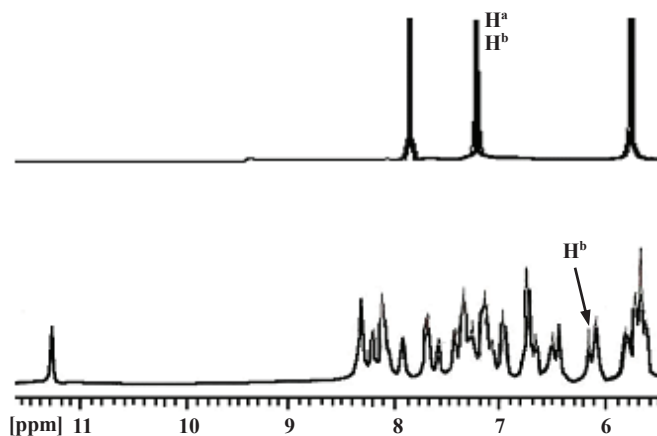


Figure 8. ^1H NMR spectra of Cytidine (Upper), **Pd-1-cytidine** (Lower).

アミノプロトンのピークは D_2O 置換法により決定し
た。シトシン同様、アミノ基のプロトン (H^a , H^b) に着
目すると、 H^a は 7.25 ppm から約 4 ppm の大きな低磁場
シフトを示し、一方の H^b は逆に高磁場シフトを示した。
シチジンについてもアミノプロトンの一方のみが低磁場
シフトしていることから、配位点は複素環窒素原子
であると考えられる。

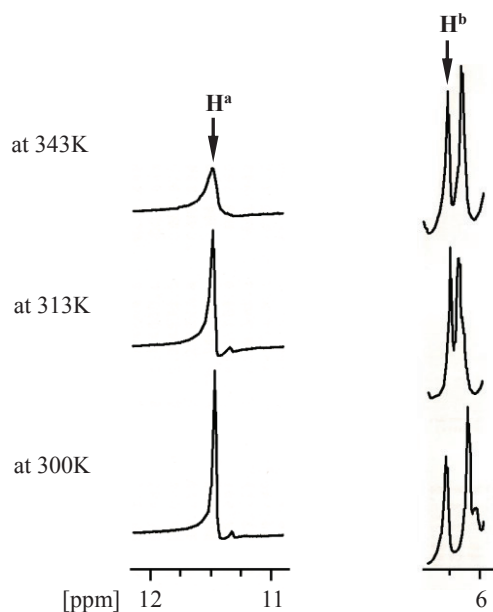


Figure 9. Temperature dependence of ^1H NMR spectra of
Pd-1-cytidine (H^a , H^b).

次に、 ^1H NMR の温度条件を変えて測定することで、
置換基の回転運動を制御し、この低磁場のピークがキノ
リノール配位子と外部配位子間の水素結合形成による
ものかどうかを検討した。これより、 H^a のピークは
温度上昇とともに減少した。しかし、 H^b のピークには
あきらかな変化は認められなかった (Figure 9)。

このことから完全な構造を決定することは難しいが、
 H^a はキノリノール配位子との間で水素結合が形成され
ていると考えられる。しかし、 H^b の水素結合形成は認
められず、まったく別の環境にあると考えられる。

これらの結果は、量子化学計算による考察と一致し
た。従って、複素環窒素原子が Pd に配位した錯体
(**Pd-1-(N)-cytidine**) の生成を確認した。

4. 総括

2-(β 位置換エチル)-8-キノリノール配位子 **1** に、外部配
位子としてシトシン、シチジンを導入した錯体
(**Pd-1-cytosine**, **Pd-1-cytidine**) が得られた。共に、 ^1H
NMR から複素環窒素原子に配位した錯体の生成を確認
した。量子化学計算によりシトシン、シチジンでは
複素環窒素原子に配位した場合の方がエネルギー的に
安定であり、配位点は複素環窒素原子であると予想さ
れる。また、エステル基及びシクロメタラト環は立体
障害として作用するだけでなく、水素結合を形成する
ことが分かった。外部配位子がシクロメタラト環と水
素結合を有するとき、二面角はねじれた構造となるこ
とが分かった。これらの量子化学計算による考察と ^1H
NMR の結果は一致した。2-(β 位置換エチル)-8-キノリ
ノール配位子 **1** と外部配位子のアミノ基との水素結合は、
 ^1H NMR 測定において温度条件を変化させることによ
りアミノ基の回転運動を制御することで確認できた。

参考文献

- 1) C. J. Wilds, M. A. Maier, V. Tereshko, M. Manoharan, M. Egli, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 115.
- 2) L. G. Marzilli, T. J. Kistenmacher, *Acc. Chem. Res.*, **1977**, 10, 146.
- 3) M. Shinoya, T. Ikeda, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 3848.
- 4) Fabrizio Mancin, Jik Chin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 10946.
- 5) 関戸栄一, *化学*, **1979**, 34, 917.
- 6) A. Yoneda, G. R. Newkome, K. J. Theriot, *J. Organomet. Chem.*, **1991**, 401, 217.
- 7) 大淵真一, 北村千寿, 前川嘉彦, G. R. Newkome, 米田昭夫, *日化誌*, **1999**, 3, 151.
- 8) *Gaussian 98*, Revision A. 7, M. J. Frisch et al. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, (**1998**).