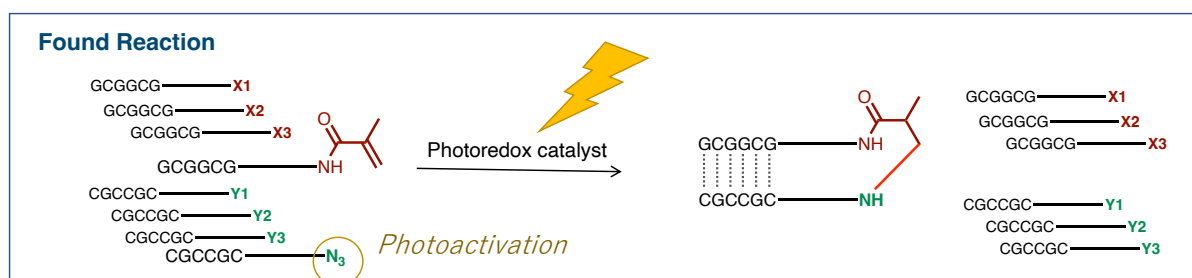


当初の研究目的は、「中分子医薬品ライブラリーの効率的な構築システムを開発すること」である。研究の進捗状況の変化に伴い、「中分子医薬品ライブラリー構築に有用な新規分子連結反応の開発」へと変更された。

## 研究成果（概要）

新規分子連結反応を発見するべく、1度に複数の反応の評価が可能なスクリーニングシステムを構築した。具体的には、ペプチド核酸（PNA）の親和性を利用した種々の連結反応を MALDI-TOF MS を用いて一挙に評価した。その結果、**可視光照射条件によるアジドからのアミニルラジカル生成を契機とした新規分子連結反応**を発見することができた。



注：G (Guanine), C (Cytosine), X, Y (任意の官能基)

## 研究成果

### 1. PNA を用いたハイスループット反応評価系の有効性の確認

PNA は、核酸塩基を有しハイブリダイゼーションによって相補鎖と接近する。したがって、PNA 末端に種々の反応性官能基(X, Y)を導入し種々の反応条件に付すことで、近接効果を利用した2分子連結反応を検討することが可能である。

今回は、新規反応を発見すべく5種類以上のPNAを混合し、一挙に複数の反応をMALDI-TOF MSにて解析した。

### MALDI-TOF MS と PNA を用いた本評価系(次頁左図)

-連結体の分子量が、基質/試薬/副生成物いずれの分子量とも大きく離れるため、連結反応が進行するかしないかの判定が容易である。

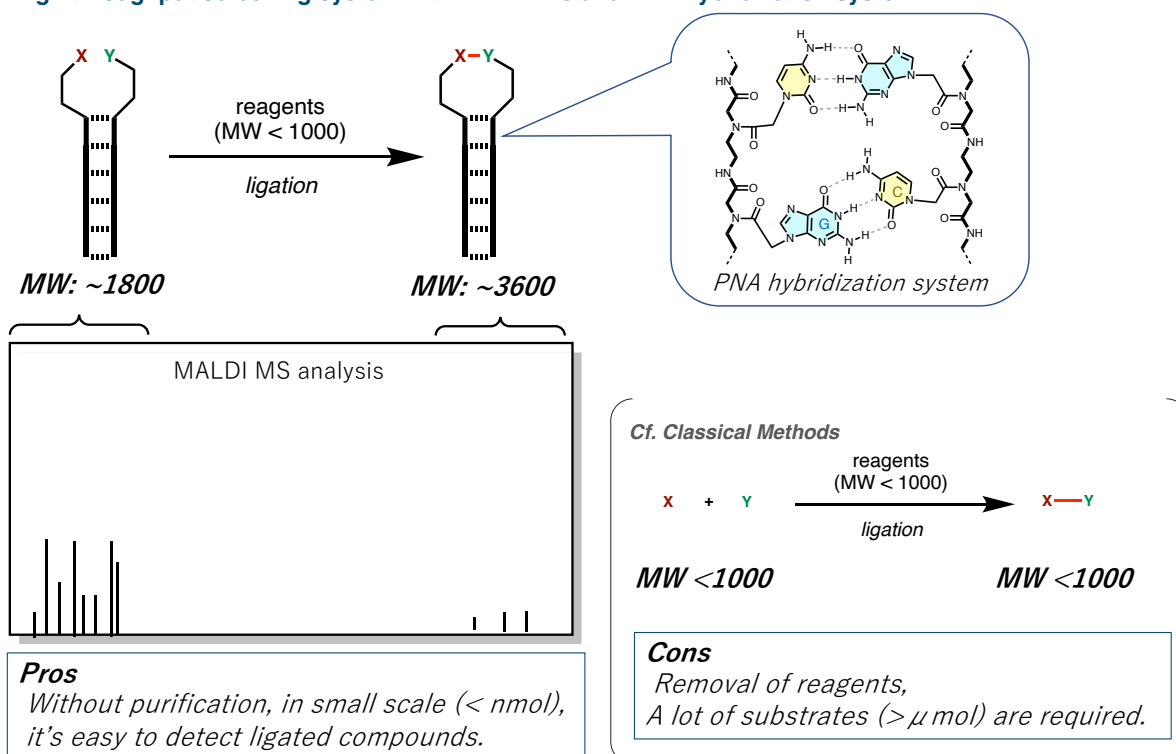
-測定にはサブ nmol 以下の基質があれば十分であり、小スケールでの検討を可能とする。

### cf) 従来の小分子を用いた反応評価系(次頁右図)

-基質と試薬、副生成物の分子量が近く、精製操作がしばしば必要である。

-LC-MS 解析が可能ではあるが、少なくとも  $\mu\text{mol}$  以上の基質を必要とする上、大過剰の試薬を使用した場合、検出が困難になる。

How to find a novel reaction?  
High throughput screening system with MALDI MS and PNA hybridization system



まずは、本評価系の有効性を示すために、既知のアミド縮合反応やクリック反応において連結体の検出が可能であるかどうかを調べた。その結果、80種類以上の基質を混合した場合でもこれらの反応生成物の検出は可能であった。

## 2. 可視光を利用した連結反応の開発

反応評価系の有効性が確認できたので、新規連結反応の発見に向けた検討を行った。

### 研究背景

反応性官能基としてアジドを選択し、可視光を利用して生成するアミニルラジカルを利用することを計画した。可視光酸化還元触媒作用下でアジドからアミンへの還元する反応は既知<sup>1</sup>である。しかし、そこで生成するアミニルラジカルを利用した分子間での連結反応はほとんど報告がなされていない。

### 実験結果

今回私は種々のアジド分子をPNA末端に導入し、アミニルラジカルと反応しうる種々のラジカルアクセプターをパートナーPNA末端に導入し、反応を検討した。その結果、可視光(455 nm)照射下、Ir(dtbbpy)ppy<sub>2</sub>とトリエタノールアミンを用いた時、連結体が観測された。この反応条件にてPNA 1対1の反応を調査した結果、特定の脂肪族アジドとアクリルアミドが反応していることがわかった。反応機構として、Photoredox反応条件下で生成したアミニルラジカルがPNAの親和性で近接していたアクリルアミドと反応したともの現在推定している。

Reference 1) Chen, Y., *et al.* (2011). "A biomolecule-compatible visible-light-induced azide reduction from a DNA-encoded reaction-discovery system." *Nat Chem* 3(2): 146-153.