

ピリジルボロン酸と糖類とのキレート錯体形成反応の平衡論的解析

著者	金光 優希, 大原 秀隆, 村岡 沙紀, 岩月 聡史
雑誌名	甲南大学紀要. 理工学編
巻	64
号	1
ページ	17-28
発行年	2018-01-22
URL	http://doi.org/10.14990/00003088

ピリジルボロン酸と糖類とのキレート錯体形成反応の 平衡論的解析

金光優希, 大原秀隆, 村岡沙紀, 岩月聡史

甲南大学大学院自然科学研究科化学専攻

(受理日 2017年9月19日, 採択日 2017年9月21日)

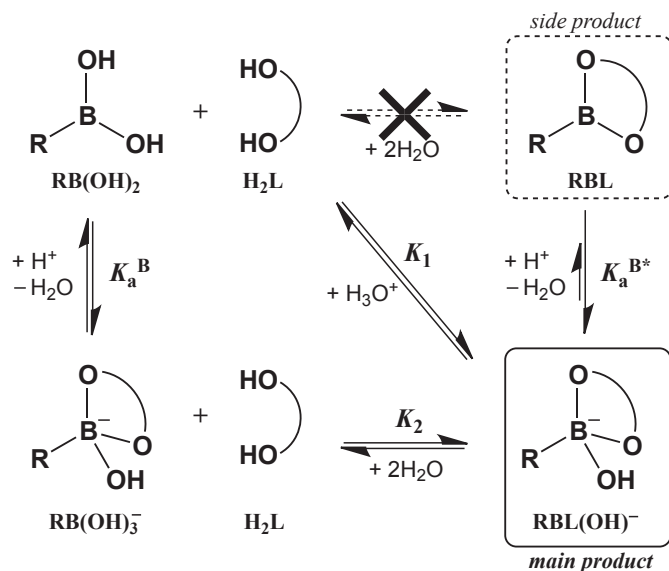
要旨: 2つの酸解離部位を有する3-および4-ピリジルボロン酸と糖類(D-フルクトース, D-マンノース, D-ガラクトース, D-グルコース)との複雑なキレート錯体形成平衡について平衡論的解析を試み, すべての平衡定数を決定することに成功した. また, 得られた生成定数を用いて生理学的pH (pH=7.4)における条件生成定数を見積もり, 他のフェニルボロン酸誘導体と比較検討することにより, ボロン酸を基本骨格とする糖認識センサーの生理学的条件下での平衡論的な反応性について議論した.

1. 緒言

ボロン酸 ($\text{RB}(\text{OH})_2$, R = 有機置換基) は, 糖類などの多価アルコールと安定なキレート化合物を生成することが知られており, ボロン酸を基本骨格とする糖認識化学センサーの開発研究は今なお数多く行われている[1-4].

ボロン酸と糖類との反応において最も基本的な反応過程は, ジオール部位を配位子とするボロン酸の二座キレート錯体形成反応である. 我々は近年, この錯体形成反応について, Scheme 1 に示すすべての化学平衡を考慮した精密な解析を行い, 三配位ボロン酸キレート RBL の酸解離定数 ($K_a^{\text{B}*}$) が, 反応物のボロン酸 $\text{RB}(\text{OH})_2$ の酸解離定数 (K_a^{B}) と比較して $\text{p}K_a^{\text{B}*} \ll \text{p}K_a^{\text{B}}$ となることを明らかにした[5]. これは, キレート生成物が反応前のボロン酸よりもはるかに強い酸となり, 比較的幅広い pH 領域で水素イオンを放出して共役塩基となることを示している. また, Scheme 1 の反応経路に示すように, $\text{RB}(\text{OH})_2$ と H_2L から直接 RBL が生成するより, 水素イオン (H_3O^+) を放出して $\text{RBL}(\text{OH})^-$ が生成するほうが反応機構論的に合理的であることも, 過去の速度論的研究により明らかにしている[6].

一方, 我々はこれまでに, Scheme 1 の錯体形成平衡にはボロン酸のみならず, ジオール配位子の酸性度 (H_2L の酸解離定数 K_a^{L}) が関与することを指摘してきた[7]. 反応が平衡論的に最もよく進行する最適 pH 条件 (pH_{opt}) は, 条件生成定数の pH 依存性に関する理論的解釈を用いれば, ボロン酸と多価アルコールの酸解離定数 (K_a^{B} および K_a^{L}) を用いて式(1)で表される.

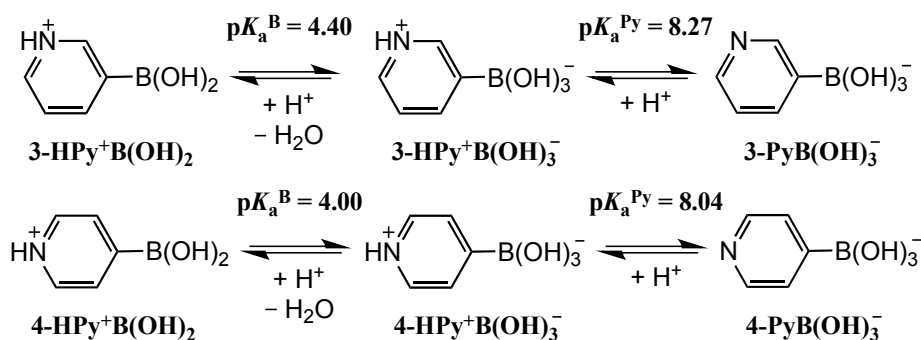


Scheme 1. Possible equilibria for the complex formation of boronic acids (RB(OH)_2) with diols including saccharides (H_2L having $\text{p}K_a > 12$) at $\text{pH} < 10$.

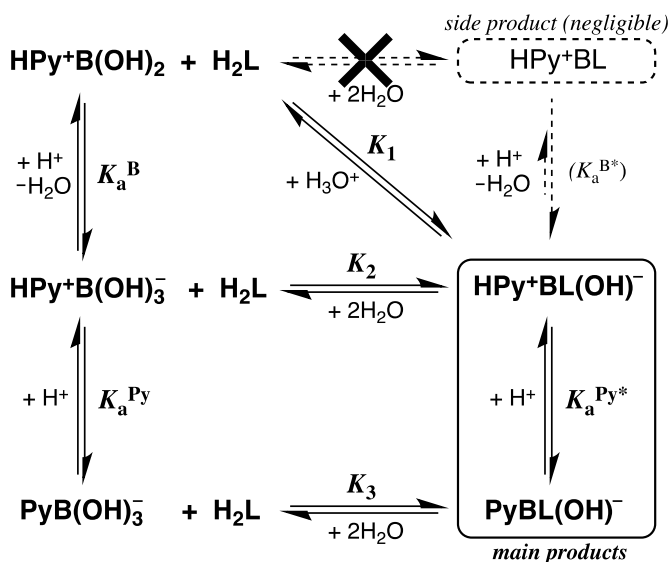
$$\text{pH}_{\text{opt}} = (\text{p}K_a^{\text{B}} + \text{p}K_a^{\text{L}})/2 \quad (1)$$

式(1)に従えば、生理学的 pH のような中性条件下で、 $\text{p}K_a^{\text{L}} = 12$ 程度の多価アルコールである糖類と効果的に反応する糖認識センサーとしては、 $\text{p}K_a^{\text{B}} = 4$ 程度以下の高い酸解離能を有するボロン酸を選択する必要がある。この観点から、従来の糖認識化学センサー分子としてよく用いられるフェニルボロン酸誘導体（酸解離定数 $\text{p}K_a = 7-9$ 程度）は極めて弱い酸であるため[1,8]、中性 pH で最も効果的にはたらく糖認識センサーの分子骨格として適切とは言い難い。そこで、この問題点を解決するボロン酸を探索した結果、3-および4-ピリジルボロン酸が $\text{p}K_a = 4$ 程度の特異的に高い酸解離能を有していることがわかった[9]。したがって、これらのピリジルボロン酸と糖類とのキレート錯体形成反応の研究は、より優れた糖認識センサー開発に資する重要な情報を与えると考えられる。

しかしながら、ピリジルボロン酸は Scheme 2 に示すように、ボロン酸のみならずピリジル基の共役酸であるピリジニウム基にも酸解離平衡が存在する[9]。それゆえ、錯体形成反応の平衡論的解析は Scheme 3 に示すように、(i) 反応前のボロン酸に関する3つの化学種 ($\text{HPy}^+\text{B(OH)}_2$, $\text{HPy}^+\text{B(OH)}_3^-$, PyB(OH)_3^-) の間の酸解離平衡、(ii) それらの各化学種と糖配位子 (H_2L) とのキレート錯体形成平衡、(iii) 生成物のボロン酸イオンキレートに関する2つの化学種 ($\text{HPy}^+\text{BL(OH)}^-$, PyBL(OH)^-) の間の酸解離平衡のすべての平衡を考慮する必要がある。Scheme 3 は、これまで解析を行ってきた他のボロン酸の錯体形成反応の化学平衡 (Scheme 2) よりもはるかに複雑となる。そこで本研究では、3-および4-ピリジルボロン酸と糖類との錯体形成反応の複雑な平衡論的解析を試みた。



Scheme 2. Acid dissociation equilibria and the pK_a values of 3- (top) and 4-pyridylboronic acids (bottom) in aqueous solution [9].



Scheme 3. Possible equilibria for the reaction of pyridylboronic acids (PyB(OH)_2) with diols having $pK_a^L > 12$ (saccharides) at $\text{pH} < 10$.

2. 実験

2.1 試薬

3-ピリジルボロン酸 (3-PyB(OH)₂) および 4-ピリジルボロン酸 (4-PyB(OH)₂) は和光純薬工業製試薬を用いた。糖類として用いた D-フルクトース、D-マンノース、D-ガラクトースおよび D-グルコースは和光純薬工業製特級試薬を用いた。イオン強度調整用の塩化ナトリウムおよび pH 調整用の塩基である水酸化ナトリウムは和光純薬工業製特級試薬を、pH 調整用の酸である塩酸は和光純薬工業製精密分析用試薬を用いた。測定溶媒は蒸留水または超純水 (Milli-Q 水) を用いたが、これらの精製法の違いは測定値に影響を与えなかった。

2.2 測定

pH 変化に伴うピリジルボロン酸と糖類の反応の化学平衡の移動に関する条件定数 (K_{a1}^{app} および K_{a2}^{app}) は, ピリジルボロン酸と糖との混合水溶液を島津製作所製 UV-2550 紫外可視分光光度計を用いて分光光度滴定し, 得られた吸収スペクトルの pH 依存性を SPECFIT プログラム[10]を用いて解析することによって決定した. すべての試料溶液の濃度は, 配位子である糖の総濃度 (C_L) がボロン酸の総濃度 (C_B) に対して少なくとも 100 倍以上となる大過剰条件 ($C_L \gg C_B$) とした. 水溶液の pH は, 塩酸あるいは水酸化ナトリウムを用いて調整し, 東亜ディーケーケー製 pH メーターHM-25R を用いて測定した. すべての試料溶液のイオン強度は, 塩化ナトリウムを用いて 0.1 M に調整し, 測定温度は $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ とした.

3. 結果と考察

3.1 分光光度滴定によるピリジルボロン酸と糖類との錯体形成平衡の条件定数の測定

ピリジルボロン酸 (3-PyB(OH)₂ および 4-PyB(OH)₂) と糖類 (D-フルクトース, D-マンノース, D-ガラクトース, および D-グルコース) の混合溶液の吸収スペクトルの pH 依存性を分光光度滴定法により測定した. 例として, 3-PyB(OH)₂ とフルクトースの混合溶液の結果を Fig. 2 に, 4-PyB(OH)₂ と D-フルクトースの混合溶液の結果を Fig. 3 に示す. いずれのピリジルボロン酸と糖の混合溶液の吸収スペクトルについても, pH 変化に伴って異なる二種類の等吸収点をもつ変化が観測された. この変化は, 溶液の pH 変化に対して二段階の酸塩基平衡が存在することを示している. そこでこれらの吸収スペクトルの pH 依存性を SPECFIT プログラム[10]により解析し, pH 変化に伴う化学平衡の移動に関する 2 つの条件定数 (K_{a1}^{app} および K_{a2}^{app}) を得た (Table 1).

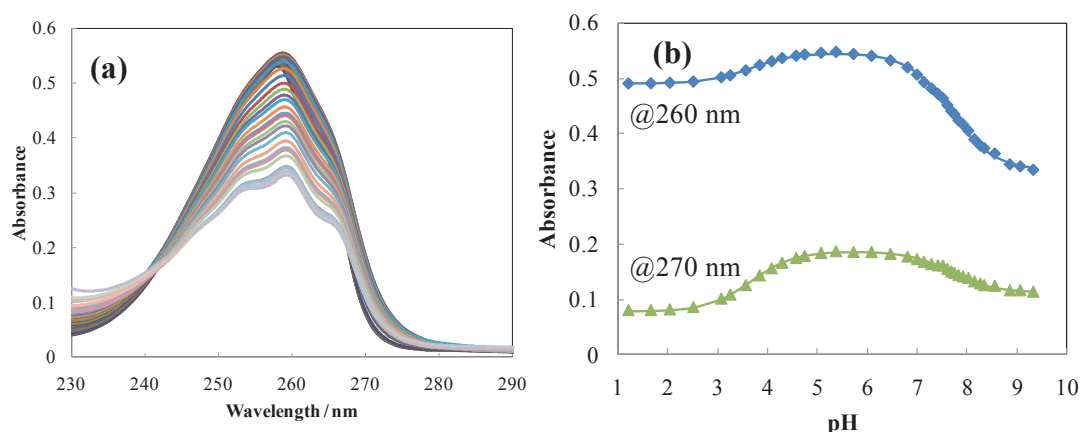


Fig. 2. (a) Absorption spectra of the mixture of 3-pyridylboronic acid (0.1 mM) with D-fructose (10.1 mM) at pH 1.21-10.94, and (b) pH dependence of absorbances at 260 and 270 nm in (a).

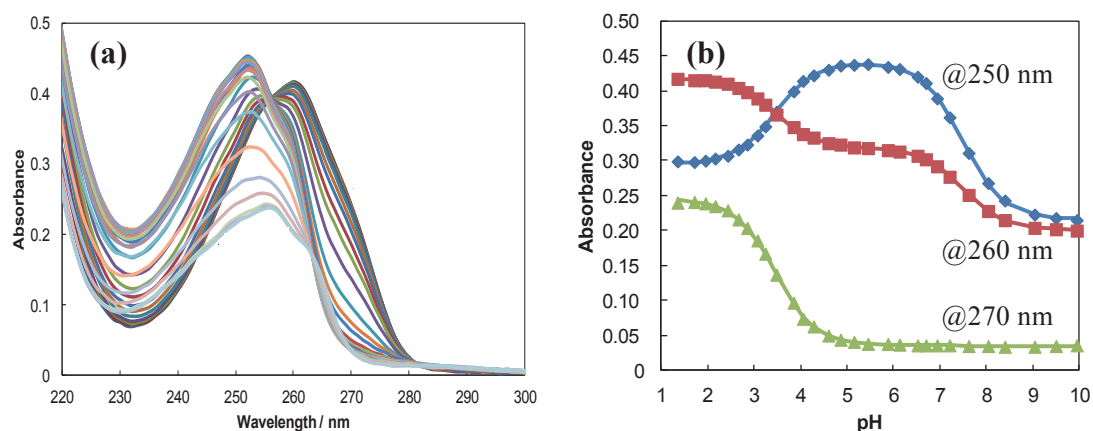


Fig. 3. (a) Absorption spectra of the mixture of 4-pyridineboronic acid (0.1 mM) and D-fructose (5.01 mM) at pH 1.35-9.95, and (b) pH dependence of absorbances at 250, 260 and 270 nm in (a).

Table 1. Experimental conditions and conditional constants (K_{a1}^{app} and K_{a2}^{app}) for the reactions of pyridylboronic acids with saccharides at $I = 0.1$ M (NaCl) and 25°C ^a

Saccharide	3-Pyridylboronic acid ($pK_a^B = 4.40$, $pK_a^{Py} = 8.27^b$)			4-Pyridylboronic acid ($pK_a^B = 4.00$, $pK_a^{Py} = 8.04^b$)		
	C_L / mM	pK_{a1}^{app}	pK_{a2}^{app}	C_L / mM	pK_{a1}^{app}	pK_{a2}^{app}
D-Fructose	10.1	3.7	7.7	10.2	3.2	7.5
D-Mannose	50.2	4.0	7.9	50.0	3.6	7.7
D-Galactose	50.0	4.1	7.7	49.9	3.6	7.6
D-Glucose	50.3	4.2	8.1	50.0	3.7	7.8

^a $C_B = 0.1$ mM. ^b Ref [9].

ピリジルボロン酸と糖類の混合溶液の吸収スペクトルの pH 依存性から得られた 2 つの条件定数の帰属を行うため、重水 (D_2O) を溶媒として ^{11}B NMR 測定を行った。その結果、 pK_{a1}^{app} 値の pD ($= -\log [D^+]$) 付近で ^{11}B シグナルが大きくシフトしたが、一方で pK_{a2}^{app} 値の pH 付近ではそれほど大きなシフトは観測されなかった。この結果は、 pK_{a1}^{app} 値付近の pH でボロン酸部位の関わる化学平衡が移動し、それに伴うホウ素原子まわりの電子状態や立体構造の大きな変化が起こっていることを示唆している。また、 pK_{a1}^{app} 値は pK_a^B 値に、 pK_{a2}^{app} 値は pK_a^{Py} 値にそれぞれ近い値であり (Table 1), 前者はボロン酸部位に関する化学平衡、後者はピリジル基に関する化学平衡の情報をそれぞれ含むと予想される。これらのことから、 K_{a1}^{app} はボロン酸部位の反応 (平衡) を含む条件定数であり、 K_{a2}^{app} はピリジル基の反応 (平衡) を含む条件定数であると帰属した。

3.2 ピリジルボロン酸と糖類との錯体形成反応の平衡論的解析

3.1 節で得られた条件定数を用いて, Scheme 3 のキレート錯体形成反応に含まれる化学平衡を解析し, すべての平衡定数の算出を試みた. なお, 3.1 節における測定条件はすべて $\text{pH} < 10$ であり, 配位子である糖類の酸解離平衡の寄与は無視できるほど小さい. また, 生成物については, Scheme 3 に示すような酸解離平衡に伴う 3 つの化学種 (HPy^+BL , $\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-$, $\text{PyBL}(\text{OH})^-$) が可能であるが, 緒言で述べたように, 三配位ボロン酸キレート HPy^+BL は反応前のボロン酸 $\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2$ よりはるかに酸解離能が高く, ほとんど存在しないと考えられる. この仮定は, HPy^+BL を生成物の一つとして考慮した解析で有意な平衡定数が得られないことから支持される. したがって, 生成物としては四配位ボロン酸イオンキレートのピリジニウム基の酸解離平衡 (酸解離定数を $K_a^{\text{Py}^*}$ とする) のみを考慮することとした (Scheme 3).

以上の反応物と生成物のそれぞれの酸解離平衡は, 式(2)–(4)に示す酸解離定数として表される.

$$K_a^{\text{B}} = \frac{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-][\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2]} \quad (2)$$

$$K_a^{\text{Py}} = \frac{[\text{PyB}(\text{OH})_3^-][\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-]} \quad (3)$$

$$K_a^{\text{Py}^*} = \frac{[\text{PyBL}(\text{OH})^-][\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-]} \quad (4)$$

キレート錯体形成平衡は, Scheme 3 に示すように, それぞれの反応物と生成物に対して最も単純な経路で示すことができ, 反応物である $\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2$, $\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-$, $\text{PyB}(\text{OH})_3^-$ のそれぞれに対する生成定数は式(5)–(7)で与えられる.

$$K_1 = \frac{[\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-][\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2][\text{H}_2\text{L}]} \quad (5)$$

$$K_2 = \frac{[\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-][\text{H}_2\text{L}]} \quad (6)$$

$$K_3 = \frac{[\text{PyBL}(\text{OH})^-]}{[\text{PyB}(\text{OH})_3^-][\text{H}_2\text{L}]} \quad (7)$$

また 3.1 節の帰属より, 条件定数 K_{a1}^{app} はボロン酸部位に関するすべての酸解離平衡を含んでおり, K_{a2}^{app} はピリジル基の共役酸であるピリジニウム基に関するすべての酸解離平衡を含んでいることから, それぞれ式(8)および(9)の関係式として表すことができる.

$$K_{a1}^{\text{app}} = \frac{([\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-] + [\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-])[\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2]} \quad (8)$$

$$K_{a2}^{\text{app}} = \frac{([\text{PyB}(\text{OH})_3^-] + [\text{PyBL}(\text{OH})^-])[\text{H}^+]}{[\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-] + [\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-]} \quad (9)$$

式(8)について、式(2)および(5)を用いて変形・整理して K_1 についての関係式を導出し、さらに 2.2 節で述べた試料濃度条件 ($C_L \gg C_B$) より $[\text{H}_2\text{L}] \approx C_L$ と近似できることを考慮すると式(10)が得られる。

$$K_1 = \frac{K_{a1}^{\text{app}} - K_a^{\text{B}}}{[\text{H}_2\text{L}]} \approx \frac{K_{a1}^{\text{app}} - K_a^{\text{B}}}{C_L} \quad (10)$$

式(10)より、生成定数 K_1 は条件定数 K_{a1}^{app} とピリジルボロン酸の K_a^{B} 、ならびに糖濃度 (C_L) を用いて求めることができる。また、式(6)について、式(2)および(5)を用いて変形・整理すれば式(11)が得られる。

$$K_2 = \frac{K_1}{K_a^{\text{B}}} \quad (11)$$

したがって、生成定数 K_2 は K_a^{B} および式(10)で求めた K_1 から求められる。一方、式(9)について、式(3)、(6)、および(7)を用いて変形・整理して K_3 についての関係式を導出し、さらに $[\text{H}_2\text{L}] \approx C_L$ の近似を適用すると式(12)が得られる。

$$K_3 = \frac{K_{a2}^{\text{app}}(1 + K_2 C_L) - K_a^{\text{Py}}}{K_a^{\text{Py}} C_L} \quad (12)$$

式(12)より、生成定数 K_3 は条件定数 K_{a2}^{app} 、ピリジルボロン酸の K_a^{Py} 、糖濃度 C_L 、ならびに式(11)で求めた K_2 を用いて求めることができる。さらに、式(3)、(4)、(6)、および(7)を用いて $K_a^{\text{Py}*}$ について整理すると式(13)が得られる。

$$K_a^{\text{Py}*} = \frac{K_3}{K_2} K_a^{\text{Py}} \quad (13)$$

したがって、生成物のボロン酸イオンキレートの $K_a^{\text{Py}*}$ は K_a^{Py} 、 K_2 、および K_3 を用いて求めることができる。このように、反応物および生成物の酸解離定数、ならびに条件定数の関係式を巧みに用いることにより、Scheme 3 のすべての平衡定数を決定することに成功した。本研究で決定したすべての平衡定数を Table 2 に示す。

Table 2. Equilibrium constants for the reactions of pyridylboronic acids with saccharides determined at $I = 0.1$ M (NaCl) and $T = 25^\circ\text{C}$

Saccharide	K_1	K_2 / M^{-1}	K_3 / M^{-1}	$\text{p}K_{\text{a}}^{\text{Py}*}$
3-Pyridylboronic acid ($\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}} = 4.40$, $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{Py}} = 8.27^{\text{a}}$)				
D-Fructose	1.6×10^{-2}	4.0×10^2	1.8×10^3	7.6
D-Mannose	1.2×10^{-3}	3.0×10	9.7×10	7.8
D-Galactose	7.9×10^{-4}	2.0×10	1.3×10^2	7.5
D-Glucose	4.6×10^{-4}	1.2×10	2.7×10	7.9
4-Pyridylboronic acid ($\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}} = 4.00$, $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{Py}} = 8.04^{\text{a}}$)				
D-Fructose	5.2×10^{-2}	5.2×10^2	2.0×10^3	7.4
D-Mannose	3.0×10^{-3}	3.0×10	8.9×10	7.6
D-Galactose	3.0×10^{-3}	3.0×10	1.2×10^2	7.4
D-Glucose	2.0×10^{-3}	2.0×10	5.0×10	7.6

^a Ref [9].

3.3 生理学的pHにおけるピリジルボロン酸と糖類との錯体形成平衡の条件生成定数

Table 2のように生成定数の値が求めれば、任意のpHにおけるボロン酸と糖類とのキレート錯体形成反応が平衡論的にどの程度進行するか知ることができる。その際には、式(14)に示す条件生成定数 (K') を用いる。



式(14)において、 $[\text{B}']$, $[\text{L}']$, および $[\text{P}']$ は、平衡状態における未反応のボロン酸全化学種の総濃度、未反応の糖（配位子）の総濃度、および生成物のキレート錯体全化学種の総濃度をそれぞれ表す。同じ糖濃度であれば、 K' は未反応のボロン酸全化学種に対する生成物全化学種の比（生成比）に比例するため、 K' 値を比較すればボロン酸と糖との反応性（化学平衡）に関する定量的知見が得られる。

Scheme 3に基づくピリジルボロン酸と糖類との反応の場合、 $[\text{B}']$, $[\text{L}']$, $[\text{P}']$ はそれぞれ式(15)–(17)で表される。

$$[\text{B}'] = [\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_2] + [\text{HPy}^+\text{B}(\text{OH})_3^-] + [\text{PyB}(\text{OH})_3^-] \quad (15)$$

$$[\text{L}'] = [\text{H}_2\text{L}] \quad (16)$$

$$[\text{P}'] = [\text{HPy}^+\text{BL}(\text{OH})^-] + [\text{PyBL}(\text{OH})^-] \quad (17)$$

式(14)に式(15)–(17)を代入し、さらに式(2), (3), (5), (7)を用いて変形・整理すると、 K'

は K_a^B , K_a^{Py} , K_1 , および K_3 を用いて式(18)のように表される. なお, 式(18)の K_1 および K_3 は, それぞれ式(11)および(13)を用いれば, K_2 や K_a^{Py*} を含む関係式にも変形できる.

$$K' = \frac{K_1[H^+] + K_3 K_a^B K_a^{Py}}{[H^+]^2 + K_a^B [H^+] + K_a^B K_a^{Py}} \quad (18)$$

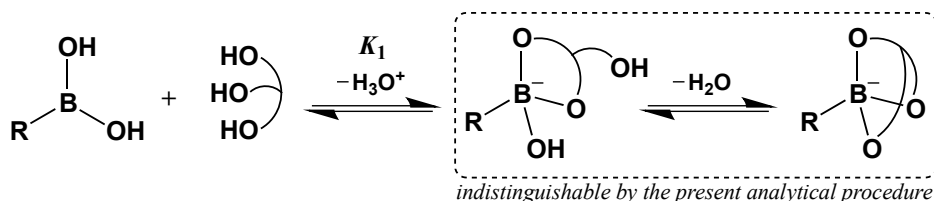
式(18)と Table 2 の平衡定数から求めた生理学的 pH (pH = 7.4) における K' 値を, 糖認識センサーの基本骨格として用いられるフェニルボロン酸と合わせて Table 3 に示す.

Table 3. Estimated conditional formation constants (K') for the reactions of pyridylboronic acids with saccharides at physiological pH 7.4

Boronic acid	pK_a^B	K' / M^{-1} at pH 7.4			
		D-Fructose	D-Mannose	D-Galactose	D-Glucose
3-Pyridylboronic acid	4.40	5.7×10^2	3.8×10	3.3×10	1.3×10
4-Pyridylboronic acid	4.00	8.2×10^2	4.2×10	4.8×10	2.6×10
Phenylboronic acid ^a	8.8	1.6×10^2	-	1.5×10	4.6

^a Experimental data in Ref. [11]. Measured at pH 7.4 using 0.1 M phosphate buffer.

本研究で検討した 4 種類の糖について化学平衡としての反応性を比較すると, おおむね D-フルクトース \gg D-マンノース \approx D-ガラクトース $>$ D-グルコースの順に K' 値が小さくなり, 特に D-フルクトースに対して高い反応選択性があることがわかった. このような反応選択性は他のボロン酸と同様であり [1-4], Table 3 のフェニルボロン酸の結果とも一致している. この理由として, D-フルクトースは Scheme 4 に示すように二座キレート配位子のみならず三座キレート配位子としてボロン酸と錯体形成することができるからであるといわれている [4]. しかしながら, 水溶液中における二座キレート錯体と三座キレート錯体の平衡に関する詳細な研究は見当たらない. 三座キレート錯体が生成する過程は二座キレート錯体からの脱水過程であるため (Scheme 4), 本研究で用いた溶液の pH 変化に基づく平衡論的測定・解析手法ではこの過程の詳細を明らかにできない. したがって, 反応選択性に関する知見を得るためには, 他の分析化学的手法による検討が必要不可欠である.



Scheme 4. Tri-coordinate complex formation of boronic acids with triols including D-fructose.

Table 3 に示したように、 $\text{pH} = 7.4$ においてピリジルボロン酸はフェニルボロン酸よりも条件生成定数 K' が大きく、同じ糖濃度ではピリジルボロン酸のほうがフェニルボロン酸よりも多く反応することがわかった。ボロン酸部位の酸解離定数を比較すると、3-および 4-ピリジルボロン酸（それぞれ $\text{p}K_a^{\text{B}} = 4.40$ および 4.00 [9]）はフェニルボロン酸（ $\text{p}K_a^{\text{B}} = 8.8$ [11]）よりも酸解離能が高い。これらの $\text{p}K_a^{\text{B}}$ 値から D-フルクトース（ $\text{p}K_a^{\text{L}} = 12.03$ [12]）との反応の最適 pH （ pH_{opt} ）を式(1)に基づいて求めると、3-および 4-ピリジルボロン酸はそれぞれ $\text{pH}_{\text{opt}} = 8.2$ および 8.0 となり、フェニルボロン酸は $\text{pH}_{\text{opt}} = 10.4$ となる。したがって、 pH_{opt} 値が生理学的 pH に近いピリジルボロン酸のほうが、糖との反応がより進むと解釈できる。この観点から、酸解離能の高い（ $\text{p}K_a^{\text{B}}$ の小さい）ボロン酸は生理学的 pH で糖類と効果的に反応すると考えられる。

しかし一方で、メタ位にニトロ基を導入した 3-ニトロフェニルボロン酸（ $\text{p}K_a^{\text{B}} = 7.21$ ）と D-フルクトースとの反応の $\text{pH} = 7.4$ における条件生成定数は $K' = 2.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ であり [13]、フェニルボロン酸のみならずピリジルボロン酸の K' 値（Table 3）よりも大きい。最適 pH の観点から、3-ニトロフェニルボロン酸の最適 pH （ $\text{pH}_{\text{opt}} = 9.6$ ）はフェニルボロン酸（ $\text{pH}_{\text{opt}} = 10.4$ ）よりも生理学的 pH に近い値であるため反応がより進むと解釈できるが、ピリジルボロン酸（ $\text{pH}_{\text{opt}} = 8$ 程度）より遠い値であるにもかかわらず、反応がより進む点で矛盾する。したがって、生理学的 pH における糖類との平衡論的反応性を向上させるためには、ボロン酸の酸解離能に基づく最適 pH の観点のみならず、その他の要因（反応に伴う立体構造や電子状態の変化など）についても検討する必要があると考えられる。

4. 結言

本研究ではボロン酸を基本骨格とする糖認識センサーの機能解明の一環として、高い酸解離能を有する 3-および 4-ピリジルボロン酸について糖類（D-フルクトース、D-マンノース、D-ガラクトース、D-グルコース）とのキレート錯体形成反応の平衡論的解析を行い、生成定数を含むすべての平衡定数を決定することに成功した。生理学的 pH （ $\text{pH} = 7.4$ ）における平衡論的な反応性を比較検討するため、生成定数を用いて $\text{pH} = 7.4$ における条件生成定数（ K' ）を見積ったところ、ピリジルボロン酸はフェニルボロン酸よりも K' 値が大きく、平衡論的に反応がより進むことがわかった。反応の最適 pH の観点から、高い酸解離能を有するボロン酸は生理学的 pH における糖類との反応に確かに有利であると考えられる。一方で、酸解離能がピリジルボロン酸より低くフェニルボロン酸よりも高い 3-ニトロフェニルボロン酸は、ピリジルボロン酸よりも大きな K' 値であることから、生理学的 pH における糖類との平衡論的反応性を向上させるためには、ボロン酸の酸解離能のみならず、その他の要因についても検討する必要があると考えられる。

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（21750082 および 15K05551）、ならびに、ひょうご科学技術協会（平成 29 年度学術研究助成）の助成を受けて実施した。

文献

- [1] D. G. Hall (Ed.): “*Boronic Acids*”, 2nd Ed., (2011), (Wiley-VCH, Weinheim).
- [2] (a) T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai: “*Boronic Acids in Saccharide Recognition (Monographs in Supramolecular Chemistry)*”, Edited by J. F. Stoddart, (2006), (RSC Publishing, Cambridge). (b) T. D. James: “*Creative Chemical Sensors Systems (Topics in Current Chemistry 277)*”, Edited by T. Schrader, p. 107 (2007), (Springer, Berlin).
- [3] R. Smoum, M. Srebnik: “*Contemporary Aspects of Boron: Chemistry and Biological Applications (Studies in Inorganic Chemistry 22)*”, Edited by H. Abu Ali, Chapter 7, (2005), (Elsevier, Amsterdam).
- [4] C. D. Geddes, J. R. Lakowicz (Eds.): “*Glucose Sensing (Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. 11)*”, (2006), (Springer, New York).
- [5] Y. Furikado, T. Nagahata, T. Okamoto, T. Sugaya, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, A. Odani, K. Ishihara: *Chem. Eur. J.*, **20**, 13194–13202 (2014).
- [6] E. Watanabe, C. Miyamoto, A. Tanaka, K. Iizuka, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, K. Ishihara: *Dalton Trans.*, **42**, 8446–8453 (2013).
- [7] (a) S. Iwatsuki, S. Nakajima, M. Inamo, H. D. Takagi, K. Ishihara: *Inorg. Chem.*, **46**, 354 (2007). (b) C. Miyamoto, K. Suzuki, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, K. Ishihara: *Inorg. Chem.*, **47**, 1417 (2008). (c) E. Nakano, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, K. Ishihara, *Talanta*, **74**, 533 (2008).
- [8] Y. Yamamoto, T. Matsumura, N. Takao, H. Yamagishi, M. Takahashi, S. Iwatsuki, K. Ishihara: *Inorg. Chim. Acta*, **358**, 3355–3361 (2005).
- [9] (a) S. Iwatsuki, Y. Kanamitsu, H. Ohara, E. Watanabe, K. Ishihara, *J. Phys. Org. Chem.*, **25**, 760 (2012). (b) 岩月聡史, 大原秀隆, 金光優希, 石原浩二, *分析化学*, **12**, 1041–1047 (2012).
- [10] R. A. Binstead, B. Jung, A. D. Zuberbühler: “*SPECFIT/32™ Global Analysis System*”, ver. 3.0 for 32-bit Windows systems, (2000), (Spectrum Software Associates, Marlborough).
- [11] G. Springsteen, B. Wang: *Tetrahedron*, **58**, 5291–5300 (2002).
- [12] S. Soundararajan, M. Badawi, C. M. Kohlrust, J. H. Hageman: *Anal. Biochem.*, **178**, 125–134 (1989).
- [13] S. Muraoka, S. Iwatsuki: unpublished results.

Equilibrium Analysis for Chelate Complex Formation Reactions of Pyridylboronic Acids with Saccharides

Yuki Kanamitsu, Hidetaka Ohara, Saki Muraoka, and Satoshi Iwatsuki

Department of Chemistry, Graduate School of Natural Science, Konan University,
Kobe 658-8501, Japan

(Received September 19, 2017, Accepted September 21, 2017)

Abstract: Equilibrium analyses for the chelate complex formation reactions between pyridylboronic acids (3- and 4-pyridylboronic acids) having two acid-dissociation sites and saccharides (D-fructose, D-mannose, D-galactose, and D-glucose) in aqueous solutions were carried out by using spectrophotometric pH titration methods. All the equilibrium constants involved in the boronic acid–saccharide reaction systems were successfully determined at $I = 0.1$ M and $T = 25^\circ\text{C}$. Further, the conditional formation constants (K') at $\text{pH} = 7.4$ for all the systems were estimated to obtain the information of the thermodynamic reactivity of boronic acids with saccharides at physiological pH. On the basis of the K' values, the thermodynamic reactivity of the boronic acid-based chemosensors for saccharide recognition under the physiological conditions was discussed.