



Title	リボフラビン及びその関連物質の構造研究
Author(s)	田中, 信夫
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30481
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

[18]

氏名・(本籍)	たなかのぶお 田 中 信 夫
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2352 号
学位授与の日付	昭和46年6月15日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	リボフラビン及びその関連物質の構造研究
論文審査委員	(主査) 教 授 角 戸 正 夫 (副査) 教 授 宮 澤 辰 雄 教 授 森 本 信 男

論 文 内 容 の 要 旨

生体内では種々の酸化還元反応が行なわれこれが生体のエネルギー源と考えられている。実際にはこの反応は一段階で起るのではなくて、種々の酵素系によっていくつかの反応にわけられ、その反応毎にエネルギーを少しづつ放出する。

リボフラビン(ビタミンB₂)は、FADやFMNの形で flavin-linked anaerobic dehydrogenase 等の補酵素として働き、基質と酵素の間の水素原子又は電子の移動の橋渡しの役目をする。そのためその電子状態、特にその構成成分のイソアロキサチン環の電子状態について興味もたれ、量子化学による計算やEPRの測定が行なわれている。更に、イソアロキサチン環が diketo 形であるか、enol 形であるかということについても種々議論されているが確証はない。

本研究では、このような観点からリボフラビン及びその関連物質の X線構造解析を行ない、その構造と機能の関連について研究した。構造解析を行なった物質は次の3ケでその結晶学的データとともに表1に示す。

riboflavin hydrobromide monohydrate	lumiflavin	9-(2-methylphenyl)-isoalloxazine
$C_{17}H_{20}N_4O_6 \cdot H_2O \cdot HBr$	$C_{13}H_{12}N_4O_2$	$C_{17}H_{16}N_4O_2$
$P2_12_12_1$	$P1$	$P2_1$
$a=18.211A^\circ$ $b=6.953A^\circ$ $c=14.729A^\circ$	$a=19.63A^\circ$ $b=7.84A^\circ$ $c=8.39A^\circ$ $\alpha=70.9^\circ \beta=108.3^\circ \gamma=102.4^\circ$	$a=10.83A^\circ$ $b=7.33A^\circ$ $c=9.56A^\circ$ $\beta=111.0^\circ$
$z=4$	$z=4$	$z=2$

データはすべて四軸型自働回折計を用いて測定した。リボフラビン臭化水素酸塩一水和物については特に Cu の限界球以上 ($\frac{2\theta}{\lambda} < 0.705$) のデータを集めた。解析はリボフラビン臭化水素酸塩一水和物については重原子法によって行ない、他の2ケについては、パターン関数の解釈から6員環の方位、位置を決定して行なった。精密化はいずれの場合にも、Block-diagonal 最小二乗法により行なった。

現在までに本研究以外にイソアロキサチン環を持つ化合物の報告が2報あるのでこれらの結果をも参照しながら検討する。イソアロキサチン環へのプロトン附加は2ケの結晶で N(1) で起っている。これは、Pullman 等による計算結果と一致するが、Guzzo 等による EPR 測定からの推論には反する。この結果、図1に示された還元過程のうち、

(I)の方が期待される。又イソアロキサチン環はプロトン附加が起らない場合も起った場合も総て diketo 形で enol 形のものは見出されていない。

表2に、5ケの結晶解析の結果の結合距離を示す。左の3例はプロトン附加が起っていない場合で他の3例は起っている場合である。全体として、C-Nの結合距離に特長がある。即ち3本の σ 結合を有する窒素原子の2本のC-N結合は等価と考えられるが ($1.375 \pm 0.035 \text{ \AA}$) 2本の σ 結合を有する窒素原子の場合には、C-N結合は非対称で長い方は $1.373 \pm 0.037 \text{ \AA}$ 、短い方は、 $1.309 \pm 0.021 \text{ \AA}$ となっている。プロトン附加が起っていない場合、量子化学による計算が J. L. Fox 等によ

って行なわれているが、それを実験値と比較した場合、環外のC=O結合以外よく一致する。最大のずれはC(4)-C(4a)の 0.023 \AA である。

図2にプロトン附加が起った場合と起らない場合の結合距離の平均値を示す。プロトン附加の結果 N(1)-C(9a) 結合が大きく変化している。そして、N(1)-C(2)結合から一つおきの結合、C(4)-N(3)、N(9)-C(9a)、C(4a)-C(9a) 結合が少し影響を受けている。しかしながら、水素受容力があると考えられているN(10)原子までその影響が及んでいない。

イソアロキサチン環はプロペラの様に少しねじれている。両端の6員環の作る平面の間の角度によってねじれの程度を表現すると、リボフラビンの場合には7°、ルミフラビンの場合には4°と3°となっている。

3次元パッキングについてみれば、3つの6員環のうち、真中の環が上方又は下方の陰性原子 (Brイオン又はN(1)、N(10)原子) と接触している。このような接触はイソアロキサチン環にとって本質的な

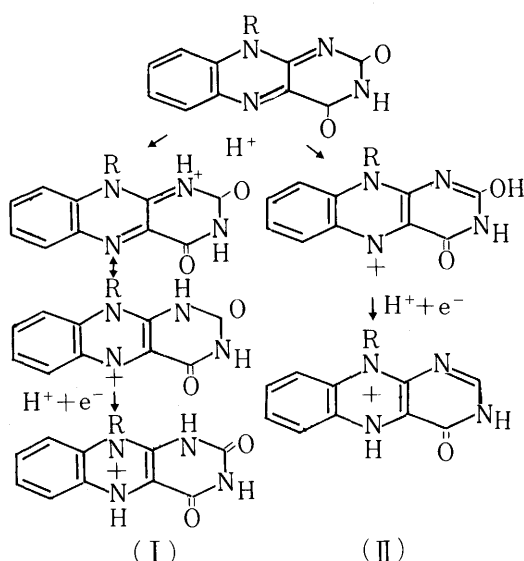


図1 イソアロキサチン環の還元過程

ものと考えられる。

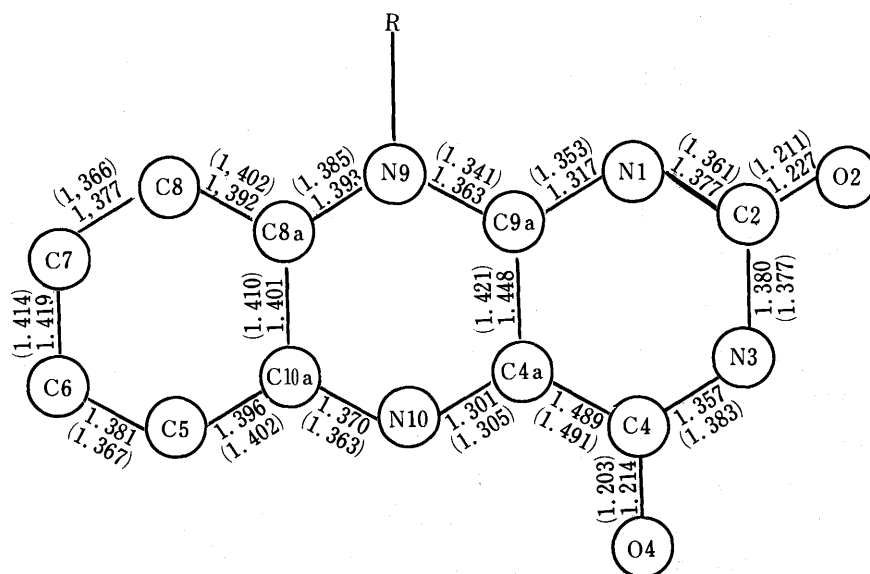


図2 イソアロキサチン環の平均結合距離
() : プロトン附加した場合の平均結合距離

リボフラビンのリビチル基は、フラノース環を形成せず直鎖状になっている。そして、骨格は内部回転角の計算より TGT の conformation をとっていることがわかった。最近、京極氏等によって水溶液中での FAD の構造が研究されているが、彼らはリビチル基の conformation が本研究の結果と一致すると報告している。

論文の審査結果の要旨

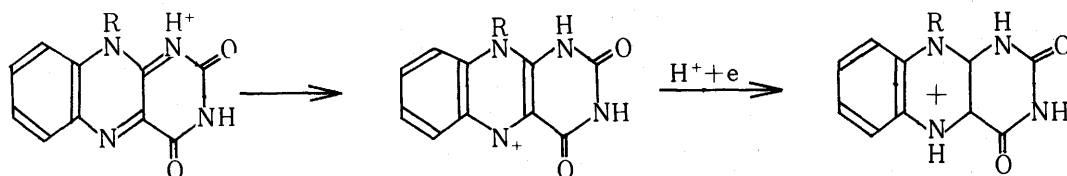
田中信夫君の論文は、FAD や FMN の形で脱水素酵素の補酵素として基質と酵素間の水素原子又は電子の移動の橋渡しの役目をする重要な物質であるリボフラビン(ビタミンB₂)の分子構造を X 線解析により決定し、またイソアロキサチン環を含む他の類似化合物2種の構造をも決定し、これらの精密な構造上の比較からこのプロトンの附加の反応機構を追求したものである。

X 線解析はリボフラビン臭素酸塩、ルミフラビン、9-ジメチルフエニールイソアロキサチンの3種の結晶について行なった。前者はイソアロキサチン環にプロトンの附加した場合で、また後者の2種は共にプロトンの附加していない場合である。解析は、リボフラビンでは通常の方法により、また他の2種についてはイソアロキサチン環の原子間ベクトルセットをパターンソン空間内で数値計算により直接求像を行なう方法に成功した。また一方規格化構造因子を用いる確率法によって位相を求め

表2 イソアロキサチン環とプロトン附加したイソアロキサチン環の結合距離

	Lumi A	Lumi B	Isoa	Mean	calc	Ribo HBr	Isoa HBr	Isoa HI	Mean	calc
N (1) - C (2)	1.37	1.36	1.41	1.377	1.379	1.39	1.41	1.37	1.399	1.38
N (1) - C (9a)	1.33	1.31	1.32	1.317	1.323	1.34	1.36	1.37	1.353	1.38
N (3) - C (2)	1.37	1.39	1.38	1.380	1.379	1.37	1.38	1.33	1.377	1.36
N (3) - C (4)	1.37	1.35	1.35	1.357	1.366	1.38	1.39	1.37	1.383	1.35
N (9) - C (8a)	1.39	1.39	1.40	1.393	1.379	1.39	1.39	1.35	1.385	1.33
N (9) - C (9a)	1.35	1.37	1.37	1.363	1.363	1.35	1.34	1.32	1.341	1.31
N (10) - C (4a)	1.30	1.31	1.30	1.301	1.308	1.30	1.30	1.30	1.301	1.30
N (10) - C (10a)	1.38	1.38	1.36	1.370	1.368	1.35	1.38	1.36	1.363	1.33
C (4a) - C (9a)	1.45	1.45	1.45	1.448	1.450	1.42	1.42	1.41	1.421	1.42
C (8a) - C (10a)	1.39	1.41	1.40	1.401	1.414	1.41	1.41	1.44	1.410	1.42
C (4) - C (4a)	1.49	1.48	1.50	1.489	1.466	1.49	1.49	1.54	1.491	1.47
C (5) - C (6)	1.36	1.40	1.39	1.381	1.387	1.39	1.35	1.40	1.367	1.38
C (5) - C (10a)	1.40	1.41	1.38	1.396	1.415	1.39	1.41	1.41	1.402	1.41
C (6) - C (7)	1.44	1.41	1.41	1.419	1.407	1.41	1.42	1.32	1.414	1.40
C (7) - C (8)	1.38	1.39	1.37	1.377	1.389	1.37	1.36	1.44	1.366	1.38
C (8) - C (8a)	1.41	1.38	1.39	1.392	1.411	1.39	1.42	1.47	1.402	1.41
C (2) - O (2)	1.23	1.23	1.21	1.227	1.273	1.21	1.21	1.27	1.211	
C (4) - O (4)	1.22	1.21	1.22	1.214	1.268	1.19	1.21	1.23	1.213	
C (6) - C (6m)	1.52	1.52				1.48				
C (7) - C (7m)	1.50	1.50				1.53				

るいわゆる直接法をも併用し構造を決定することができた。この解析で決定された構造からリボフラビンへのプロトン附加は、



の形で行なわれるという説を立証することとなった。またリビートール基がフラノース環ではなく直鎖状であることもわかった。

イソアロキサチン環自体の構造では特にC-N結合距離に興味ある特徴が発見された。すなわち側鎖を持つN原子の2本の σ 結合のC-N距離は共に $1.375 \pm 0.035 \text{ \AA}$ の範囲で3種の分子共に良く一致し、側鎖を持たないNの2本のC-Nは、いずれも $1.373 \pm 0.037 \text{ \AA}$ と $1.309 \pm 0.021 \text{ \AA}$ の長短2種の結合からなることが正確に一致した。

以上同君の論文は、リボフラビンおよびその同族体の分子構造をはじめて解析し、しかもその精度を極めて高く決定することができたこと、またこの結果は脱水素酵素の反応機構考察に対して重要な資料を与えたことなど多くの新しい知見を得たので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。