



Title	ビタミンB6誘導体（ピリドキサルリン酸水化物及びピリドキサルリン酸・メチルヘミアセタール）の分子構造と結晶構造
Author(s)	藤原, 隆二
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30537
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	藤 ^{ふじ}	原 ^{わら}	隆 ^{たか}	二 ^じ
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2353	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	ビタミンB ₆ 誘導体(ピリドキサルリン酸水化物及び ピリドキサルリン酸・メチルヘミアセタール)の分 子構造と結晶構造			
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

§ 序

ビタミンB₆は広く天然の食物中に、ピリドキシン、ピリドキサル、ピリドキサミン、ピリドキサミンリン酸及びピリドキサルリン酸(PLP)の形で存在し、特にPLPはcodecarboxylase 或いはcotransaminaseとも呼ばれ、ほとんどの窒素原子を有する天然有機化合物の代謝をつかさどる酵素の補酵素として働くことが知られている。酵素の作用機序と構造との関係を追求する目的で、筆者はまずその活性中心の立体構造から解明していくことにし、PLPの二種類の誘導体、ピリドキサルリン酸水化物(PLPHYD)及びピリドキサルリン酸メチルヘミアセタール(PLPMHA)の結晶構造をX線解析法によって決定した。得られた分子構造及び結晶構造に比較検討を加えると共に、回折反射の位相決定の段階での知見をも併せて論じた。

§ 実験

解析に用いたPLPHYD結晶は市販のピリドキサルリン酸を蒸留後イオン交換した水に溶解、冷時析出した淡黄色針状晶を、PLPMHAはPLPHYDを90%メタノール水溶液に加熱溶解後冷時析出した黄色プリズム形結晶を用いた。PLPHYDの格子定数、反射強度測定は、CuK α 線による自動4軸型回折装置を使用し、PLPMHAについては、プリセプション及びワイセンベルグカメラを用いた写真法によった。PLPHYDの結晶は単斜晶系に属し、 $a=10.503$ 、 $b=13.608$ 、 $c=7.488\text{\AA}$ 、 $\beta=93.71^\circ$ 、空間群は $P2_1/C$ 、 $z=4$ である。一方PLPMHAの結晶は三斜晶系に属し、 $a=9.42$ 、 $b=10.61$ 、 $c=6.20\text{\AA}$ 、 $\alpha=105.6^\circ$ 、 $\beta=95.7^\circ$ 、 $\gamma=99.7^\circ$ 、空間群はWilsonの統計よりPT、単位格子中に2分子のPLPMHAを含む。

位相決定は対称心のある場合の直接法(Symbolic addition法)により行った。この場合に従来論じられていないが大体の目安として重要な関係である「 Σ_2 リストにおけるEの値と Σ_2 interaction数と

の関連性」について二三の検討を試みた。この直接法とは独立に従来の重原子法による位相決定も試み、両位相決定法の比較検討をした。構造はブロック近似の最小二乗法により精密化された。D合成図より求めた水素原子も含めた最終のR因子はPLPHYD及びPLPMHAに対してそれぞれ0.093及び0.112である。

§ 解析法の考察

Eの大きさと平均 $\sum_2$ interactionの数との関係は、結晶内での原子の配列及び原子の種類により変るが、原子数による変化は少ないと考えて、7種類の物質について検討した結果、対称中心をもつ結晶系については $E \geq 1.5$ 、 $P \geq 0.97$ で $\sum_2$ リストをとった場合には平均 $\sum_2$ interactionの数は、 $E=1.5$ で2、 $E=2.0$ で5、 $E=2.5$ で12、 $E=3.0$ で23個位が標準である。

直接法と重原子法とを比較すると、PLPHYDでは直接法によって140個の位相が決り、位相の誤りは2個である。一方PLPMHAでは245個の反射の位相が全部正しく決められ、それぞれのE合成図より、ピークの高いものから順にとると水素原子以外の全原子の位置が一義的に定められた。一方重原子法では、リン原子の位相のみを用いると観測反射の22.5% (PLPHYD) 及び17.4% (PLPMHA) の反射の位相が誤ってIFolにつけられ、それぞれのフーリエ合成図には、正しい原子のピークに相当する高さの偽のピークが出現する。重原子法における新しい試みとして、重原子の位相をEの大きい反射につけたフーリエ合成(EFR)を行うと、偽のピークの点では改善されないが、少い反射の数で従来の重原子法に勝るとも劣らぬ結果を得ることがわかった。

§ 解析結果の考察

一般にアルデヒド類は安定な水化物をつくりにくいと言われているが、ピリドキサルリン酸は、水からの再結晶により gem-diol 型の安定な水化物が結晶 (PLPHYD) として取出されることがわかった。このものの分子構造は、リン酸基につく2個の水素原子のうち1個が遊離してピリジン環の窒素原子に結合しており、分子自身は両性イオンの形で存在する。このことから、生体内においてもPLPはアルデヒド基のままで存在するよりもむしろ安定な水化物、gem-diol として存在する確率が高いと考えられる。この gem-diol 型配置をとる二つの水酸基の酸素原子は、ピリジン環を構成する6個の原子のつくる平均平面を、あたかも鏡面にみだてた様な配置をとって上下に存在する。又ピリドキサルリン酸は特に酸触媒を使用しなくてもPLPHYDをメタノール水溶液として加熱溶解することにより、メチルヘミアセタールの安定な結晶 (PLMHA) として取出すことが出来た。PLPMHAでは、リン酸基につく2つの水素原子のうち1つはPLPHYDと同様ピリジン環の窒素原子にプロトネーションしているが、残る1つは、所謂 'Symmetrical hydrogen' として、リン酸基の1つの酸素原子に結合しておらずに、結晶学的対称中心上に存在すると言える。

PLPHYD及びPLPMHA共3位の水酸基の水素の解離は認められず、PLPHYDではリン酸基の酸素原子との間に分子間水素結合を形成し、PLPMHAでは分子内水素結合をしている。PLPHYDのC4-C8を軸とする回転を考えると、ピリドキサルリン酸がアミノ酸とシッフ塩基を形成した場合、この3位の水酸基は、イミン残基の窒素原子との間に分子内水素結合の供与体となり得ることを示している。

PLPHYDとPLPMHAの原子間距離について特に興味あるのは、 $[\text{RPO}_4\text{H}]$ 型リン酸基の5種類の結合距離についての結果で、それぞれのP—O結合の種類で $0.02\sim 0.03\text{\AA}$ の差異が認められ、Symmetrical hydrogenを有するP—O結合距離は、平均 $1.520\text{\AA}$ で、P—O—HとP—Oとの中間の値を有することがわかった。

論文の審査結果の要旨

藤原隆二君の論文はビタミンB₆として知られている物質の一つの形であるピリドキサルリン酸およびその同族化合物のX線解析による分子構造決定に関するもので、決定された構造からこれらが生体内の窒素代謝に関する補酵素としての反応機構の考察を行なったものである。

用いた試料は、ピリドキサルリン酸 $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$ とピリドキサルリン酸メチルヘミアセタールの2種で、構造解析は共に確率法を用いて位相決定を行ない、フーリエ法を経て最小自乗法により構造パラメーターの精密化を行なっている。

PLPはB₆酵素の補酵素として特にアミノ基転移反応の触媒作用が重要である。その機構についてはほとんど不明であるが、このPLPの分子構造から次の事が明らかにされた。

まずPLPの水化物は水がアルデヒドに附加してdiol型になっていることがわかったが、これは有機化合物でも数少ない例であって、PLPとアミノ酸で作る Schiff塩基の生成の機構がこれによって無理なく解釈できるようになった。次にPLPメチルヘミアセタールについてはリン酸基の2個の水素原子の一つはPLPの場合と同様ピリジン環のNにプロトンとして附加している。今一つの水素原子がほぼ対称的水素結合として存在していることがわかったが、これもまた少ない例として構造化学的には興味ある結果を与えた。以上の結果は構造としての新しい知見を得ただけでなく、生化学的に重要な反応であるトランスアミネーション反応などにおける Schiff塩基の生成機構や、酵素蛋白質とPLPとの結合安定化に対する考察などにも重要な資料を与えたこと、また上記2種の構造解析自体においても、確率法による位相決定について、その応用の可能性に関する数値的判断の基準を示したことなど多くの重要な知見を得たもので、本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。