



Title	X線解析法による芳香族アミノ酸、特にトリプトファン代謝産物の分子構造に関する研究
Author(s)	若原, 章男
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31059
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

【7】

氏名・(本籍)	わか 若	はら 原	あき 章	お 男
学位の種類	薬	学	博	士
学位記番号	第	3069	号	
学位授与の日付	昭和49年3月25日			
学位授与の要件	薬学研究科薬品化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	X線解析法による芳香族アミノ酸、 特にトリプトファン代謝産物の分子構造に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授	池原 森男		
	(副査) 教授	鎌田 皎	教授	上原喜八郎
	教授	枅井雅一郎		

論文内容の要旨

緒 論

X線解析法は結晶状態の分子構造に限定されるものの、その結果得られる知見は、分子内の原子結合状態、回転可能なすべての結合まわりの conformation、水素原子も含めた全原子の相対位置、さらには分子間相互作用の様式にまでおよび、低分子量の物質の構造を決定することに関しては極めて有効な方法といえる。

しかしながら本研究でとり扱う芳香族アミノ酸代謝産物に關与する代謝酵素は単純な反応を触媒するわりには大きな分子量(X線解析法をもってしても現段階では原子レベルの解明は不可能である)をもっていること、および完全に精製されているものが殆どないために酵素側の構造は全く解明されていないのが現状である。

一方この代謝の基質(代謝産物)は低分子で、しかも分子内に大きな芳香環をもっているために分子自身のとり得る conformation が限定されるという点においてX線解析および分子構造研究の対象として好都合である。もしこの分子構造が判明することになれば、E. Fischer が提唱した鍵・鍵穴モデルのうちで、鍵にあたる基質(代謝産物)の分子構造上の特徴が得られることになり、ひいては相補的な酵素側の結合部位の立体構造を推定する手がかりも得られるであろう。

本研究はまずX線解析によって代謝産物の結晶構造を明らかにし、これらをその立体的特徴に従って分類し、それを代謝経路にあてはめて分子の立体構造が代謝においてどのような係わり合いをもっているのかについて考察したものである。

また芳香族アミノ酸代謝産物は種々の薬理作用を有することが古くから知られているので、X線解析法によって明らかにされた代謝産物の分子構造が薬理作用発現に対してどのような関連性をもっているのかについて調べてみることは興味深い研究課題であると考え、トリプトファン代謝産物の分子

構造とその放射能防護剤としての薬理作用との関連性についても考察してみた。

本 論

第1章 芳香族アミノ酸代謝産物の結晶構造解析

芳香族アミノ酸代謝産物の分子構造上の特徴を求める目的で 5-hydroxytryptophan (5-HTP), tryptamine, N-acetyl-5-methoxytryptamine (melatonin), 5-methoxyindole-3-acetic acid (5-MIAA), tyramine の X 線構造解析を行なった。その結果すでに報告されている関連物質と比較することにより代謝機構を考察する手がかりを得ることができた。以下順に解析により得られた結晶構造および分子構造の特徴を示す。

第1節 5-Hydroxy-DL-tryptophan (5-HTP) の結晶構造

5-HTP 分子は結晶内において他のアミノ酸の場合と同様に zwitter ion 型で存在している。分子の conformation についてみると、側鎖の $C\alpha-C\beta$ 結合まわりにおいて indole 環は carboxyl 基に対して trans, amino 基に対して gauche 配位をとっている。このような conformation は芳香族アミノ酸およびその代謝産物において今回初めて見出されたものである。この配位においてもアミノ酸の骨格部の原子結合距離および結合角は従来報告されている値となら相違はない。また Carboxyl 基の平面と indole 環がつくる dihedral angle は 40.1° である。

結晶内での分子配列の様子を調べたところ、5-HTP の D 型と L 型は異なる水素結合によって 2 種類の DL-dimer を形成している。さらに $CH\cdots O$ 型水素結合がみられる点、および分子が D-form 層と L-form 層の層状構造をとっていることも大きな特徴である。

第2節 Tryptamine 塩酸塩の結晶構造

構造解析の結果、tryptamine 分子の側鎖部は folded conformation をとっていることが判明した。すなわち側鎖の C-C 結合まわりにおいて amino 基と indole 環は gauche 配位をとっている。また aminoethyl 基 (N-C-C) の平面と indole 環がつくる dihedral angle は 83.9° である。結合可能な水素原子はすべて隣接した塩素イオンとの間で水素結合を形成し、各塩素イオンは 4 本の水素結合の受容体となっている。結晶内において indole 環と塩素イオンは各々 2 重層を形成して配列している。

第3節 N-Acetyl-5-methoxytryptamine (Melatonin) の結晶構造

分子は典型的な fully extended form をとっている。N-Acetyl 部は indole 環に対して trans 位に配位しており、さらに殆どの原子が indole 環と同一平面上にある。このような conformation は serotonin creatinine sulphate complex の結晶構造においてもみられる。他の代謝産物の amino 基にあたる窒素原子は acetyl 基との共鳴により SP^2 混成軌道をとっている。これは代謝産物中、唯一の解析例である。また indole 環の窒素原子と隣接した分子の acetyl 基の酸素原子との間の水素結合により分子は二量体を形成している。Methoxyl 基の水素原子は indole 環上に固定されており、さらに結晶内においてこの methyl 基同志の接触がみられる。

第4節 5-Methoxyindole-3-acetic acid (5-MIAA) の結晶構造

分子は隣接した carboxyl 基同士の間で対称心をはさむ 2 本の $OH\cdots O$ 型の水素結合により二量体を形成している。しかしながらこの 5-MIAA の配位は同じ様に二量体を形成している indole-3-

acetic acid のそれとは全く異なっている。Indole 環と carboxyl 基の平面がつくる dihedral angle は 59.5° である。

分子は結晶内において水素結合により 2 重層を形成して配列している。また 2 回らせん軸まわりに methyl 基同志の極めて短い接触 ($3.596\text{\AA}$) がみられる。

第 5 節 Tyramine 塩酸塩の結晶構造

側鎖の aminoethyl 基は extended form をとっている。すなわち $C\alpha-C\beta$ 結合まわりに amino 基は benzene 環に対して trans 位に配位している。Aminoethyl 基は benzene 環の平面から大きく立ち上がっており、N-C-C の平面が 6 員環とつくる dihedral angle は 72° である。全く独立な 2 個の塩素イオンが 2 回軸上に存在するという極めてまれな結晶構造をとっている。Cl (1) は 2 本の $\text{OH} \cdots \text{Cl}^-$ と 2 本の $\text{NH} \cdots \text{Cl}^-$ 、Cl (2) は 2 種類 4 本の $\text{NH} \cdots \text{Cl}^-$ 型の水素結合の受容体となっており明らかに 2 個の塩素イオンの水素結合様式は異なっている。

代謝産物の分子構造を比較することが第 2 章以下の討論に必須であるので、現在までに X 線解析されたすべての芳香族アミノ酸代謝産物の原子座標を program DAPH により数値処理した。

第 2 章 芳香族アミノ酸代謝産物の結晶構造においてみられる分子の conformation について

本章においては X 線解析によって明らかにされた芳香族アミノ酸代謝産物の結晶構造を分子の側鎖部の conformation に従って分類し、相互の比較を行なって分子構造上の特徴を調べた。

まず代謝産物の conformation を厳密に表現するために φ と χ なる 2 つの torsion angle を定義した。

そしてこの φ と χ が各々酵素のもつ 2 つの普遍的な基質特異性である不整炭素原子まわりの立体構造認識性と enantiomorphous な面の表裏認識性と直接対応していることを示した。次いで $\varphi \cdot \chi$ -map を作製したところ X 線解析により得られた分子構造はきわめて限られた領域に存在しており基質のとり得る conformation がかなり厳しく限定されていることが判明した。また分子軌道法を用いたエネルギー計算の結果とも一致していることと結晶構造から求められた分子構造が本来その物質の有している固有の性質の反映であることを示した。

A-Form の tryptophan をとりあげ、1 つの form に対して全く異なる 4 個の立体構造異性体が考えられることを指摘した。

また現在までに解析されている芳香族アミノ酸 (tryptophan, phenylalanine, tyrosine, histidine) 代謝産物の torsion angle を計算することにより、それらの結晶構造を直接比較することができた。代謝産物の分子構造を比べた報告は今までになく今回が最初の例である。

第 3 章 代謝産物の分子構造とその生物活性との関連性についての考察

第 1 節 芳香族アミノ酸代謝産物の分子構造と代謝機構との関連性

代謝機構解明の手がかりを得るために X 線解析により明らかにされた代謝産物の結晶構造上の特徴を求め、これを代謝経路に代入し酵素の触媒作用がどのようにして発現するかについて考察した。

Tryptophan および 5-HTP の結晶構造において見出された B-form は酵素による脱炭酸反応を受け易い form であると考えられること、および脱炭酸されて生成するアミンにおいても代謝前駆体の conformation が維持されていることを示した。さらにすでに X 線解析されている α -chymotryps-

in-N-formyl-L-tryptophan 複合体の分子構造を用いて脱炭酸機構およびこの代謝酵素の活性中心部位の立体構造を推定した。

現在までに解析されているすべての tryptophan 代謝産物の結晶構造を代謝経路にあてはめてみると、代謝分岐点における2つの form, 酵素作用前後の代謝産物の結晶構造における conformation の保持、indole 面の表裏の無変化など酵素反応に対して最小限必要とされる場合にのみ conformation 変化が見出されており、このような事実は酵素のもつ合目的性をよく表わしているものと考えた。

第2節 放謝能防護作用と分子構造との関連性

薬物の分子構造とその薬理作用との関連性を調べる一例として放射能防護作用を有する tryptophan 代謝産物を取りあげた。まずこれらの防護剤の分子構造をX線解析法によって明らかにし、相互の比較を行なうことにより分子構造上の類似点を見出すことができさ。さらに放射線によって損傷を受ける生体高分子のうちで DNA を取りあげ、この DNA と防護剤との結合様式に対して検討を加え防護機構をうまく説明できるモデルを推定した。

結 論

芳香族アミノ酸代謝産物の結晶構造をX線解析法により明らかにした。その結果すでに報告されている関連物質と比較することにより分子構造上の特徴を求めることができた。さらにその代謝産物の分子構造と生物活性との関連性について結晶構造の面から考察した。

1. 芳香族アミノ酸代謝産物の分子構造を求めるために、5-HTP, tryptamine, melatonin, 5-MIAA, tyramine のX線構造解析を symbolic addition 法を用いて行なった。

解析の結果判明した結晶構造上の特徴は次のとおりである。

(i) 5-HTP は側鎖の C (α) -C (β) 結合まわりにおいて、indole 環は carboxyl 基に対して、trans, amino 基に対して gauche 配位をとっている。(B-form)

(ii) Tryptamine·HCl の分子の側鎖部は folded conformation をとっている。すなわち amino 基は indole 環に対して gauche 配位をとっている。(B-form)

(iii) 5-HTP および tryptamine·HCl において見出された配位は従来に例のない全く新しい conformation (Bb-form と命名) である。この解析後、他の代謝産物においても同様の構造が存在することが相次いで報告された。

(iv) Melatonin 分子は fully extended form (C-form に対応) をとっている。分子は結晶内において二量体を形成している。

(v) 5-MIAA は先に報告されている IAA と同様に二量体を形成しているが、その配位は全く異なるものである。

(vi) Tyramine·HCl は extended form (C-form) をとっている。また結晶中においては、全く独立な2個の塩素イオンが2回軸上に存在するという極めてまれな分子配列をしている。

2. 芳香族アミノ酸代謝産物の conformation を厳密に表現するために φ (分子の form に対応) と χ (芳香環より出ている側鎖の方向に対応) なる2つの torsion angle を定義した。

φ, χ -Map を作製したところX線解析により得られた分子構造は非常に限られた領域にのみ存在しており、分子のとり得る conformation がかなり厳しく限定されていることがわかった。

また tryptophan 代謝産物の結晶構造においてはAa, Bb, Cc の3つの form が見出された。これらの form がすべて分子軌道計算によって得られた ϕ, χ -energy contour map の低エネルギー部分に対応していることより結晶構造においてみられた分子の配位は分子自身が本来有している固有の性質の反映である。ことを見出した。

3. 結晶解析の結果得られた代謝産物の分子構造上の特徴を代謝経路にあてはめ、基質の分子構造が代謝においてどのような係わり合いをもっているのかについて結晶構造の面から考察した。

また放射能防護作用を有する tryptophan 代謝産物を取りあげ、分子構造と作用機構との関連性についても考察してみた。

論文の審査結果の要旨

X線構造解析法によって tryptophan 誘導体である 5-hydroxytryptophan, tryptamine, N-acetyl-5-methoxytryptamine, 5-methoxyindole-3-acetic acid, および tyrosine 誘導体である tyramine の結晶構造ならびに分子構造を決定した。とくに、5-hydroxytryptophan および tryptamine の分子構造において側鎖の conformation はこれまでに見出されていない全く新しいものであった。

またこれらの物質の分子構造と、その生体内代謝経路との間に密接な関連性のあることを見出し、代謝機構解明への手がかりを得たこと、および放射能防護作用を有する tryptophan 誘導体の分子構造上の類似性とその作用機構との関連性を見出したことは学位論文として十分価値があるものと認める。