



Title	インドール化合物と生体関連環状有機化合物との相互作用に関する構造化学的研究
Author(s)	石田, 壽昌
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32384">https://hdl.handle.net/11094/32384</a>
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</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	石 田 雄 嘉
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 4481 号
学位授与の日付	昭和 54 年 2 月 13 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	インドール化合物と生体関連環状有機化合物との相互作用に関する構造化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 富田 研一 (副査) 教授 枝井雅一郎 教授 池原 森男 教授 佐々木喜男

### 論文内容の要旨

#### 緒 言

インドール系化合物には生物活性を有する重要な物質が数多く存在している。とりわけ植物生長ホルモンであるインドール酢酸や神経伝達物質であるセロトニンなどが有名であり、これらインドール化合物のとる分子コンホメーションが生理活性発現に重要な役割を果たしていると考えられる。すでに著者はインドールカルボン酸系(インドール酢酸, 5-メトキシインドール酢酸等)およびインドールアルキルアミン系(セロトニン, トリプタミン等)化合物について、その最も安定なコンホメーションをX線解析および分子軌道法を用いて考察し、有用な知見を得ている。一方、これらインドール化合物は、分子自身が持つ生理活性のほかに、他の環状化合物との間で複合体を形成し、生命現象に重要な役割を果していることもよく知られている。例えば、補酵素FADおよびNAD<sup>+</sup>と蛋白質中のトリプトファン残基の持つインドール環との間には強い電荷移動相互作用が働いており、これら分子間で形成される錯体は酵素と補酵素との結合および酵素触媒反応において重要な役割を果している。他方、インドール環と核酸塩基との間にも特異的相互作用の存在が示され、蛋白質と核酸との相互作用におけるインドール環の役割も明らかにされつつある。

それ故、インドール化合物とこれら環状化合物との相互作用における特異的な結合様式や結合部位を分子レベルで解明することは極めて重要であると考えられる。

本研究において、これら分子間相互作用研究に最も適した一連のモデル複合体を合成しその立体構造を主にX線解析法により明らかにし、得られた知見を基にインドール環とNAD<sup>+</sup>, FADおよび核酸塩基との結合様式について検討を加えた。

## 本論

### 1. インドール環と $\text{NAD}^+$ との相互作用研究

#### 1-1. アデニン-9-イル酢酸:トリプタミン (1:1) 複合体の結晶構造

$\text{NAD}^+$  のアデニン部分とインドール環との相互作用様式について分子レベルで解明すべく表題複合体を合成し、その結晶構造を X 線解析法により明らかにした。複合体結晶の  $c$ -軸投影図は図 1 に示してある。点線は可能な水素結合を示している。

図 1

図から明らかな様に、インドール環とアデニン環とのなす 2 面角は  $73^\circ$  で、ring 間には  $3.5\text{\AA}$  以下の short contacts は見られなかった。このことは、アデニン環とインドール環との間には特異的に強い相互作用は存在していないことを示し、又、溶液実験においても同様の結果が得られた。

#### 1-2. 1-メチル-3-カルバモイルピリジニウム ( $1-\text{MNA}^+$ ): インドール酢酸(IAA) (1:1) 複合体の結晶構造

$\text{NAD}^+$  のビリジニウム部分とインドール環との結合様式を明らかにすべく、表題複合体の結晶構造を X 線解析法により明らかにした。この複合体結晶では、インドール環とピリジニウム環との間に、電荷移動相互作用による顕著な ring 間 stacking が見られた(図 2)。これら ring 間のなす 2 面角は  $3.1^\circ$  (上部ペア) と  $1.8^\circ$  (下部ペア) で、互いにほぼ平行をなし、面間隔はそれぞれ  $3.36\text{\AA}$ ,  $3.39\text{\AA}$  といずれも van der Waals 距離  $3.4\text{\AA}$  より短い。

これらの値は、 $\pi-\pi$  型電荷移動相互作用に特徴的である。一方、溶液実験において、本複合体は結晶場と同様、1:1 複合体を形成し、又、PMR 測定での各プロトンの chemical shift の変化(図3)より、溶液中でも、結晶中で見られたもの(図 2)と同様の stacking 相互作用様式が考えられた。

他方、ニコチンアミド: IAA (1:1) 複合体結晶の X 線解析より、 $\text{NAD}^+$  中のピリジン環窒素原子の quaternization がインドール環との電荷移動相互作用にとって重要であることが明らかになった。

### 2. インドール環と FAD との相互作用研究

#### 2-1. 6, 7-ジメチルイソアロキサチニ-10-酢酸(DIA) : トリプタミン(TPA)(1:1) 複合体の結晶構造

FAD のアデニン部分とインドール環との相互作用はアデニン-9-イル酢酸:トリプタミン複合体結晶の X 線解析結果から弱いと考えられる。従って著者は、イソアロキサチニ部分とインドール環との相互作用様式を分子レベルで解析する為、表題複合体を合成し、その結晶構造を X 線解析法によ

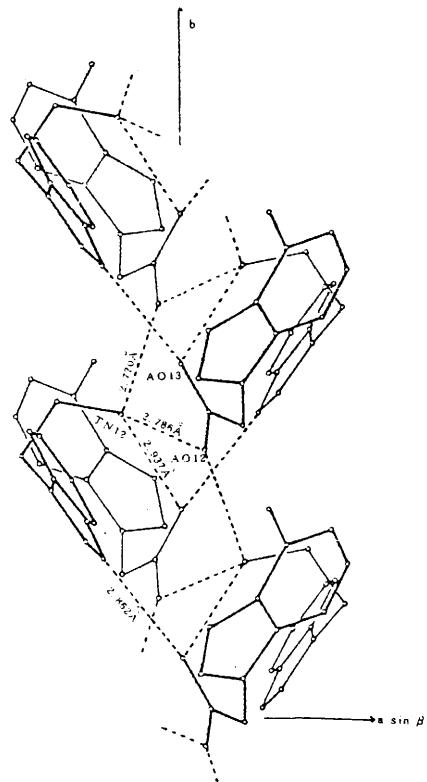


図 2

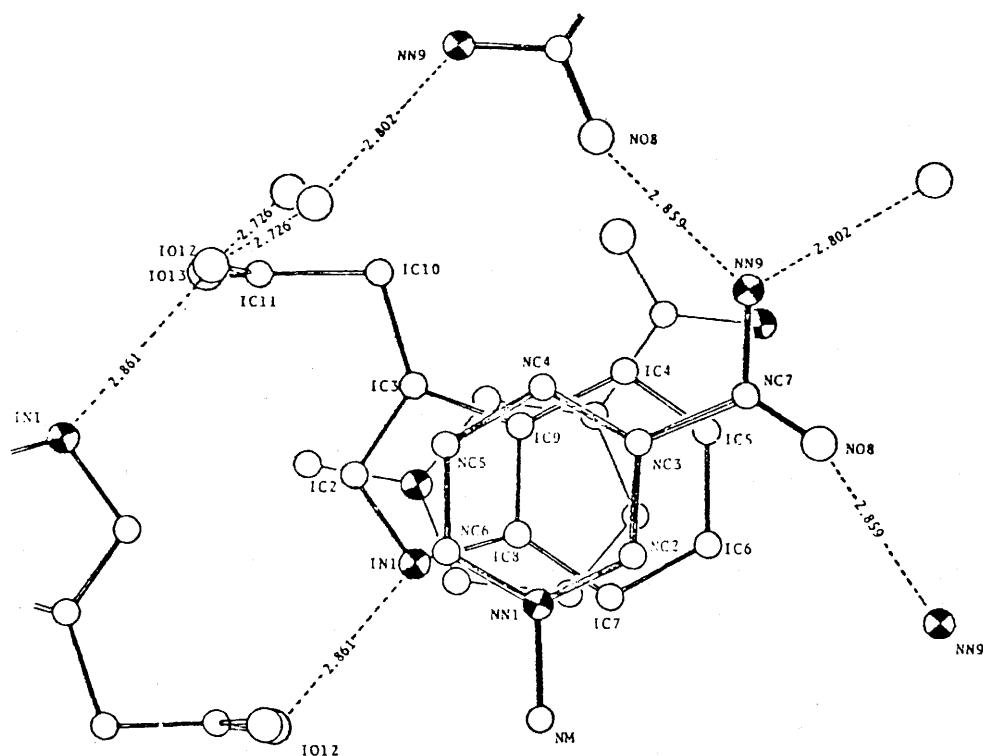
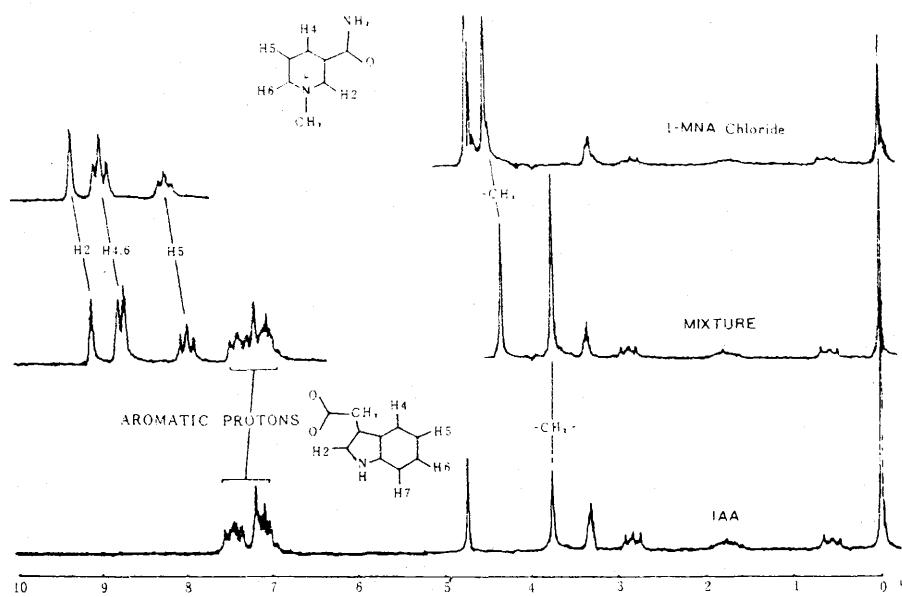


図 3



り明らかにした。図4は得られた結晶構造のb軸投影図を示している。点線は可能な水素結合様式を示している。DIA分子は対称心をはさんだNH---O型の水素結合により2量体を形成し、上下からインドール環は、顕著な $\pi$ - $\pi$ 型電荷移動相互作用によりstackingしている。

このようなインドール環とイソアロキサチニ環との顕著なstackingの例は今回が最初である。図5はそのスタッキング相互作用様式を示している。ring間の2面角は、Stack I及びII共に2.8°でほぼ平行であり、面間隔はIで3.40 Å、IIで3.23 Åである。特にStack IIの場合、その距離はvan der Waals距離(3.4 Å)よりもかなり短く、このことは、基底状態においても両ring間に強い

図4

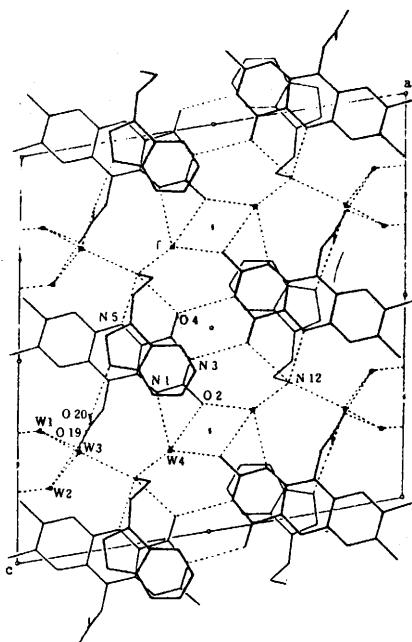
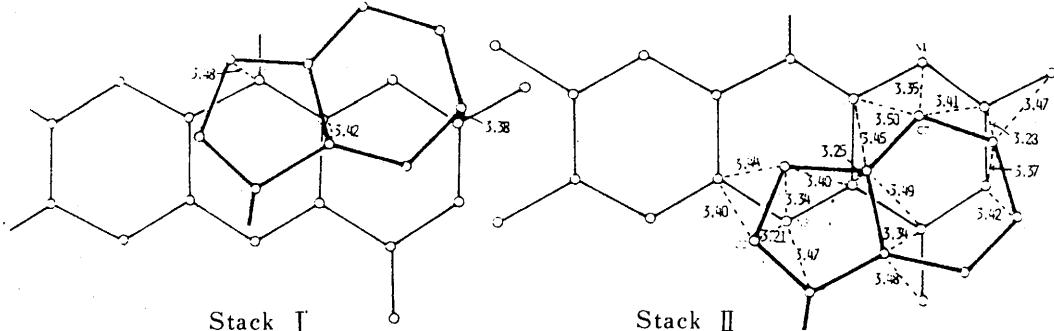


図5.



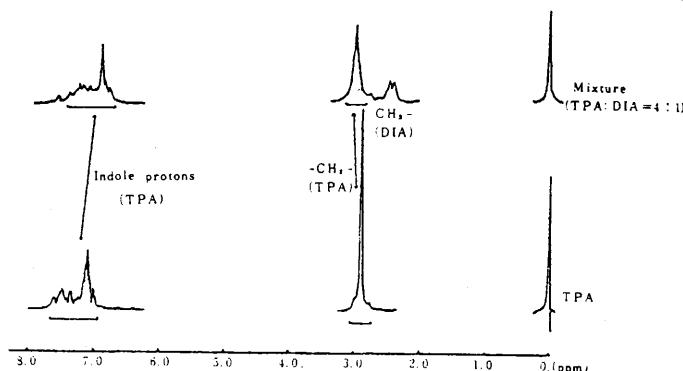
$\pi$ - $\pi$ 電荷移動相互作用の存在していることを示している。一方、Stack I, II共にインドール環と相互作用をしている部位はイソアロキサチニ環のウラシル、及びピラチニ環で、フラボドキシンなどのフラビン蛋白質への補酵素FMNの結合に、この部分が重要であることが考えられる。

## 2-2. 溶液状態におけるDIA:TPA複合体の相互作用研究

DIA:TPA複合体は、460 nmから600 nm領域にかけてcharge transfer band ( $\lambda_{\text{max.}} = 512$  nm)が観測され、又、Job-plotの実験より、結晶状態と同様1:1複合体を形成している。又、トリプトファン:FADにおいても全く同様であったことから、DIA:TPA複合体はFAD:インドール相互作用研究において極めて良いモデル物質と考えられる。図6は、この複合体のPMRスペクトル(50%CD<sub>3</sub>OD·D<sub>2</sub>O)を示している。

プロトンのchemical shift値の変化から、溶液中でも、結晶構造で見られたと同様のスタッキング相互作用が存在しているものと考えられる。

図6.



## 3. インドール環と核酸塩基との相互作用研究

## 3-1. 水素結合によるインドール環とチミン環との相互作用

表1はインドール環と核酸塩基との複合体形成について、X線粉末法により調べた結果を示している。

表1 Purine Adenine Guanine Uracil Thymine Cytosine

Indole	+	0	0	0	+	0
Trp	+	±	±	±	+	±
TPA	+	+	+	+	±	+
5-MT	+	0	+	±	0	±
5-HTP	+	0	+	±	+	±
Serotonin	+	±	+	+	±	+
IAA	0	+	+	±	0	+

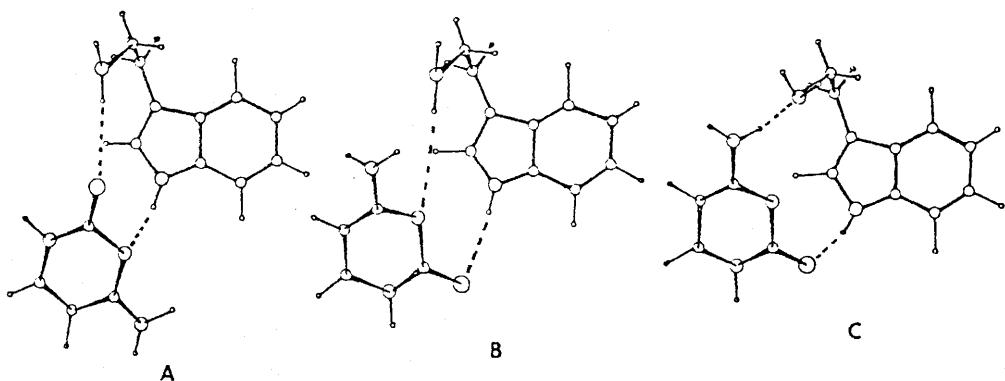
十印は複合体形成を示している。UV, IR研究から、いづれの複合体結晶も水素結合により形成していることが考えられた。その内、シトシン：トリプタミン複合体についてIRスペクトルの結果を表2に示してある。この結果、トリプタミン側鎖あるいはシトシンのアミノ基、インドール環のイミノ基、およびシトシンのカルボニル基が水素結合に関与していることが考えられ、図7にその結合様式が示してある。いづれの場合も2本の水素結合により結ばれていて、この結合様式は蛋白質と核酸との相

互認識において、かなりの特異性を示すものと考えられる。

表2 Tentative Assignments of Tryptamine-Cytosine Complex

	Complex (cm <sup>-1</sup> )	Mixture (cm <sup>-1</sup> )
NH <sub>2</sub> str.	3380 (s) 3340 (m)	3420 (m) 3370 (m)
NH str.	3150 (s)	3180 (s)
C=O str.	1630 - 1660 (s)	1640 - 1670 (s)
NH bending	1590 (m)	1595 (s)
Ring str.	1500 (m) 1460 (s) 1380 (s) 1345 (s) 1280 (s)	1490 (s) 1455 (s) 1380 (s) 1340 (s) 1295 (s)
NH bending	1240 (s)	1240 (s)
unassigned	1110 (m) 1010 (s) 940 (s) 880 (m)	1090 (s) 1010 (m) 940 (m) 880 (m) 815 (s)

図7



### 3-2. エネルギー計算によるインドール環とピリミジン環との stacking 相互作用

インドール環の stacking 相互作用 ( $\pi$ - $\pi$  電荷移動相互作用) による核酸認識の可能性を明らかにする目的の為、インドール環とピリミジン環について、CNDO/2法によるエネルギー計算を行なつた。変化させるパラメーター ( $\theta$  及び  $r$ ) は図8に示してある。

ピリミジン環の中心点がインドール環の5員環の中心(A-stacking), 5.6員環の中心(B-stacking)および6員環の中心(C-stacking)とそれぞれ重なる3通りの場合について、 $\theta = 0^\circ \sim 360^\circ$   $r = 1.8 \sim 3.4 \text{ \AA}$ における安定化エネルギー( $\Delta E$  kcal/mol)を求めた。

最も安定な stacking は B-stacking の場合で表3にその結果を示してある。この結果、安定化エネルギーは donor 分子のインドールの  $E_{\text{HOMO}}$  値と逆比例関係にある。このことから、これら ring 間 stacking には電荷移動相互作用が大きな役割を果していることが明らかである。

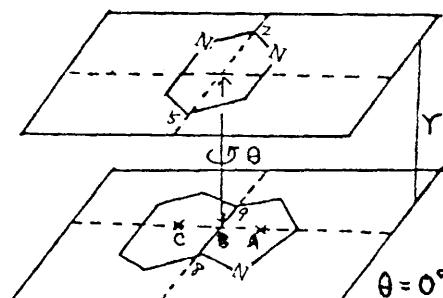
表3 B-type Stacking( $R=2.0 \text{ \AA}$ )

$\theta$ (°)	$\Delta E$ (A. U.)	$E$ (HOMO)(A. U.)
0.0	0.4706	- 0.3087
90.0	- 0.0025	- 0.3014
180.0	- 0.0713	- 0.2937
270.0	- 0.0576	- 0.3242

B-type Stacking( $\theta=180^\circ$ . $0^\circ$ )		
$R$ (A)	$\Delta E$ (A. U.)	$E$ (HOMO)(A. U.)
3.4	- 0.0013	- 0.4084
3.0	- 0.0056	- 0.4083
2.5	- 0.0265	- 0.4068
2.25	- 0.0485	- 0.3732
2.1	- 0.0634	- 0.3276
2.0	- 0.0713	- 0.2937

図8



## 結論

- (1) 一連のインドール：NAD<sup>+</sup> モデル複合体のX線構造解析を行ない、インドール環がNAD<sup>+</sup>のピリジニウム環との間で電荷移動相互作用により互いに平行に stacking すること、およびインドール環とアデニン環との相互作用力は小さく、又、電荷移動相互作用にはピリジン環窒素原子の quaternization が重要であることを明らかにした。
- (2) インドール：FAD相互作用はインドール環とイソアロキサチン環との強い電荷移動相互作用によることをX線構造解析により初めて明らかにした。又、インドール環との結合にはイソアロキサチン環のウラシル及びピラチン環が重要であることを示した。
- (3) 一連のインドール化合物と核酸塩基との相互作用研究から、2つの相互作用様式を提唱した。即ち、その1つはトリプタミンとシトシン間で形成される2本の水素結合による特異的相互作用であり、他の1つはインドール環とピリミジン環との間の電荷移動相互作用による stacking である。これら2つの相互作用様式は蛋白質中のトリプトファン残基の核酸認識に対する役割を解明する上で、極めて有用な知見を与えているものと考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

生体内に存在する異なる分子間の相互作用は種々考えられるところであるが、石田寿昌君は生物活性を有するインドール化合物をとりあげ、これと他の生体関連環状有機化合物との間の特異的相互作用に着目し、一連のモデル複合体結晶についてのX線構造解析から多くの新らしい知見を得るとともに、相互作用の本質についての詳細なる検討を加えた。

これらの業績は、構造化学、分子生物学に寄与するところ大で、薬学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。