



Title	α -および β -cyclodextrin包接化合物のX線構造解析法による研究
Author(s)	徳岡, 良二
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32776
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)	とく 徳岡良二
学位の種類	おか 薬学博士
学位記番号	りょう 第 5098 号
学位授与の日付	じ 昭和 55 年 10 月 21 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	α -および β -cyclodextrin 包接化合物の X 線構造解析法による研究
論文審査委員	(主査) 教授 富田 研一 (副査) 教授 池原 森男 教授 佐々木喜男 教授 田村 恭光

論文内容の要旨

緒論

最近、酵素をはじめ¹⁾種々の生体高分子のモデル物質²⁾として、注目されている Cyclodextrin (以下 CD と略す) は、D-glucose が α -1,4 結合した環状の oligosaccharide である。そのうちで特に、D-glucose が 6,7,8 残基結合したものは、それぞれ α -, β -, γ -CD と呼ばれている。

この物質の発見以来、CD 及びその包接化合物について、多くの研究がなされているが、そのうち CD の分子構造及び包接化合物形成などについては紫外線吸収³⁾、円偏光二色性⁴⁾、核磁気共鳴⁵⁾、X 線解析⁶⁾などの方法で行なわれている。特に、X 線構造解析法は、最近の技術の進歩に伴い、分子構造決定のもっとも有力な手段となってきている。

そこで、筆者は、この CD 包接化合物について

1. 結晶構造解析上でもっとも重要な各構造因子の位相問題を解決する新しい方法を見出し、これを高分解能 X 線データに適用して、CD 包接化合物の分子構造を原子レベルで解明すること。
2. 1. で明らかにした分子構造より、結晶状態での host 分子(CD) と、guest 分子との間の、分子間相互作用を明らかにするとともに包接現象をより詳細に、解明することを目的として本研究を行なった。

本論

第 1 章 α -CD・ γ -aminobutyric acid 包接化合物の X 線構造解析

(1) 実験

等モルの α -CD, γ -aminobutyric acid (以下 GABA と略す) 及び水酸化カリウムを含む水溶液を徐冷することにより、無色透明な結晶を得た。この結晶は、空気中で、不安定なため、母液とともに、

ガラスキャビラリーに封入し、X線強度データは理学製自動四軸型回析計でCu-K α 線を用いて測定した。表1. に α -CD・GABA $^-$ ・K $^+$ 包接化合物、及び α -CD・CH₃COO $^-$ ・K $^+$ 包接化合物⁷⁾の結晶学的データを示す。

表1. CRYSTAL DATA

Guest	γ -aminobutyric acid	acetic acid
Chemical Formula	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀ C ₄ H ₈ O ₂ NK 11.4H ₂ O	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀ 1.54C ₂ H ₃ O ₂ K 9.7H ₂ O
Molecular weight	1319.4	1297.1
Crystal system	Orthorhombic	Orthorhombic
Cell constants	a = 21.859(2) Å b = 16.621(3) c = 8.281(1)	a = 21.89 Å b = 16.54 c = 8.30
Cell volume	V = 3008.6 Å ³	V = 3005.1 Å ³
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2	P2 ₁ 2 ₁ 2
Z	2	2
Density	D _m = 1.457 g cm ⁻³	D _m = 1.434 g cm ⁻³

α -CD・GABA $^-$ ・K $^+$ 包接化合物の結晶は、格子定数及び空間群を α -CD・CH₃COO $^-$ ・K $^+$ 包接化合物と比較すると、同型であることが明らかなので、同型法及び差フーリエ法を用いて構造を決定した。構造の精密化は、まずBusing-Levyの完全マトリックス最小二乗法⁸⁾を用い、結合距離及び結合角に、束縛を加えまた各原子には等方性温度因子を考慮して行ない、次に、ブロック近似最小二乗法で、異方性温度因子を考慮して行なった。最終のR値は、反射数1655個(F₀≠0)で9.1%である。

(2) 結果及び考察

得られた結晶構造で特に興味ある点を要約すると、次の通りである。

2-1) α -CD分子のO4原子のつくる平面(図1)

O4原子が作る最適平面からの各O4原子のずれは±0.02 Åより小さい。(図中アンダーラインをつけた数値) 6ヶのglucose環のC2, C3, O5, C5が作る平面と上記のO4平面とのなす角はいずれも82°である(図中のカッコ内の数値)。すなわち、6ヶのO4原子は、ほぼ完全な平面上にあり、各glucose環は、この平面と垂直に近い角度で、配向している。

図1.

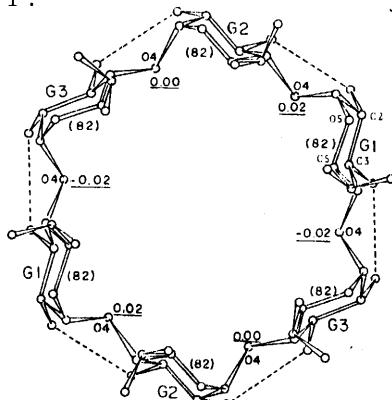
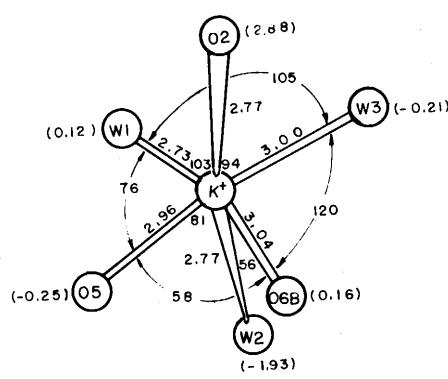


図2.



2-2) 水素結合及びカリウムイオンの配位

α -CDのO2原子とO3原子の間にO-H-O型分子内水素結合がみられ、disorderしたO6原子は、 α -CDの隣接分子間にある水分子との間で、水素結合するか、またはカリウムイオンと配位結合をしている。カリウムイオンはW1, W2, W3の3つの水分子及び α -CDのO2, O5, O6酸素原子との間で、歪んだ6配位の結合をしている。この配位子の中でW1, W3, O5, O6Bはほぼ平面をなしでいる。(図2, 図3)

図3.

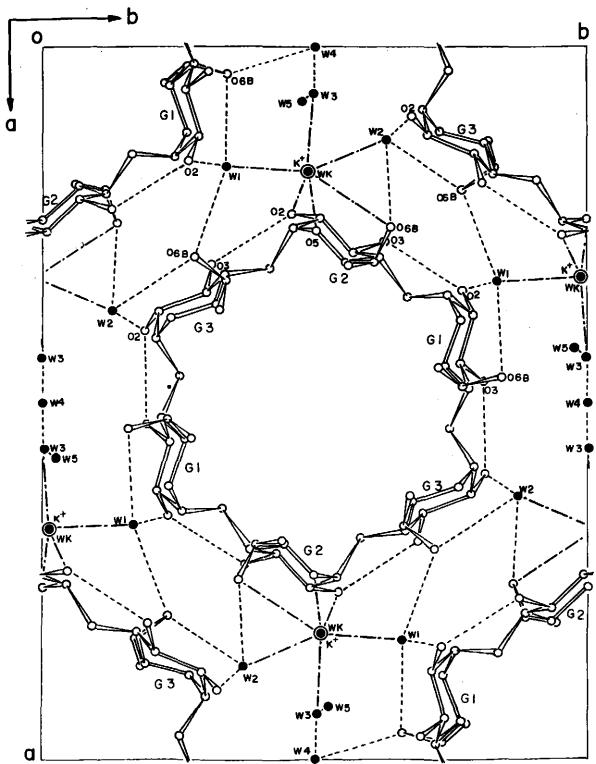
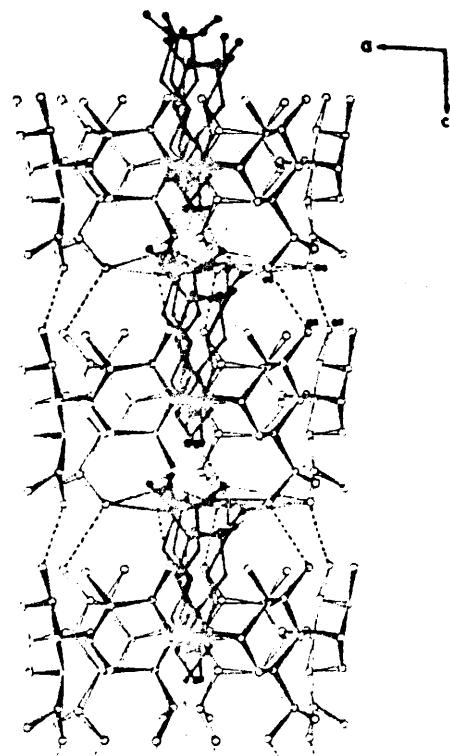


図4



2-3) 包接されたGABA分子の構造と、host-guest相互作用（図4）

α -CD同志はO6原子とO3原子の間で分子間水素結合し、head to tail型のchannel構造を作っている。包接されたGABA分子はtrans zigzag構造をとり、高度なdisorderのためその1分子が、空洞内の12ヶ所に統計的存在し、カルボキシル酸素は、 α -CDのO6原子との間で、水素結合を形成して固定され、 α -CDとvan der Waals相互作用で、接触し、空洞内に、包接されている。GABAの γ -アミノ基と隣接のGABA分子のカルボキシル基との間にはNH…O型分子間水素結合がみられ、 α -CDのchannelの中で、c軸方向に、無限につながっている。

第2章 β -CD-EtOH包接化合物のX線構造解析

(1) 実験

β -CDを60%エタノール水溶液に加熱溶解し、徐冷して得られた結晶を用い、強度dataの収集については、第1章の記述と同様の方法で行なった。表2には、本結晶ならびに参考のためすでに構造解析がなされているメタノール包接化合物及び水包接化合物⁹⁾の結晶学dataを示す。

表2

	CRYSTAL DATA of β CD COMPLEXES	β CD-EtOH-8H ₂ O	β CD-MeOH-7H ₂ O	β CD-12H ₂ O
Chemical Formula	$C_{44}H_{80}O_{44}$	$C_{43}H_{80}O_{43}$	$C_{42}H_{80}O_{47}$	
a (Å)	21.115 (± 0.004)	21.029	21.290	
b (Å)	10.190 (± 0.003)	10.110	10.330	
c (Å)	15.214 (± 0.003)	15.232	15.110	
β (°)	111.40 (± 0.02)	111.02	112.39	
V (Å ³)	3047.79 (± 1.13)	3022.88	3070.53	
Crystal System	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic	
Space Group	P2 ₁	P2 ₁	P2 ₁	
Z	2	2	2	
D _x (Mg/m ³)	1.443	1.426	1.453	
D _m (Mg/m ³)	1.443	1.419	1.452	
MW	1325.18	1293.13	1351.17	

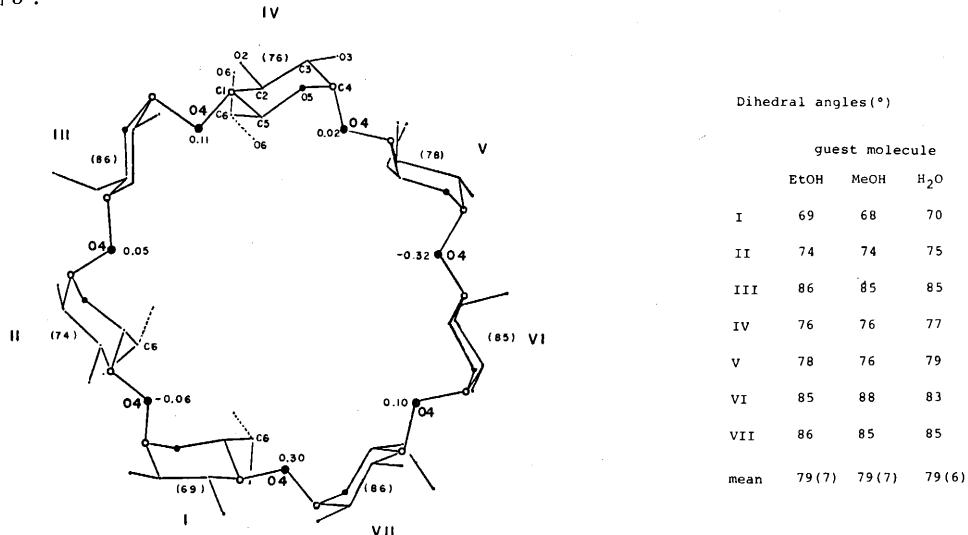
第1章の場合と同様、表2から明らかなように、本結晶は β -CD・メタノール包接化合物と同型であることを利用して、構造決定及び精密化を行なった。最終のR値は11.4%である。

(2) 結果及び考察

2-1) β -CDのO4原子のつくる平面(図5)

β -CDの7ヶのO4原子は、ほぼ同一平面上にあり、その平面に対する7ヶのglucose環の配向は、第1章の場合と同様にglucose環の傾きで表わすと、69°から86°までの値をとっているが、メタノール包接化合物や水包接化合物の場合の β -CDのglucose環の配向とよく似ている。(図5の右に示す2面角の表)

図5.



2-2) 結晶中での β -CD分子のつまり方

図6に示すように、 β -CD分子はcage型構造をとり、隣接する β -CD分子間には水分子が多く存在する部分と、 β -CDが重なり合って水分子の少ない部分とがあるのが特徴である。このうち図6-1の矢印のような転移がおこるとhead to headとhead to tailの構造ができると考えられる。

図6.

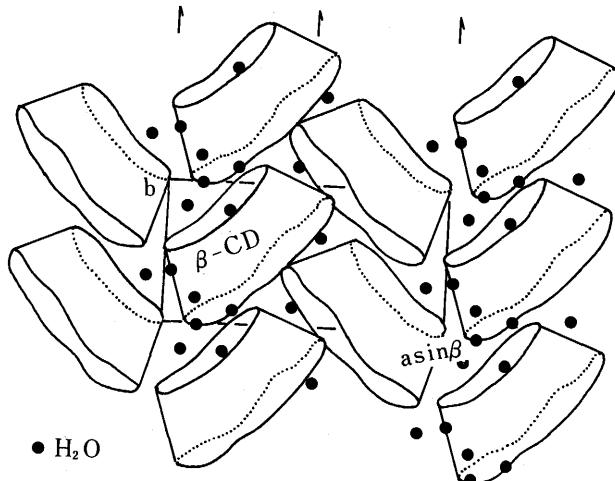
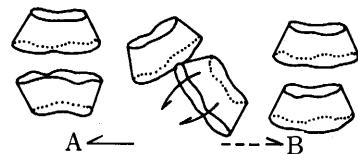


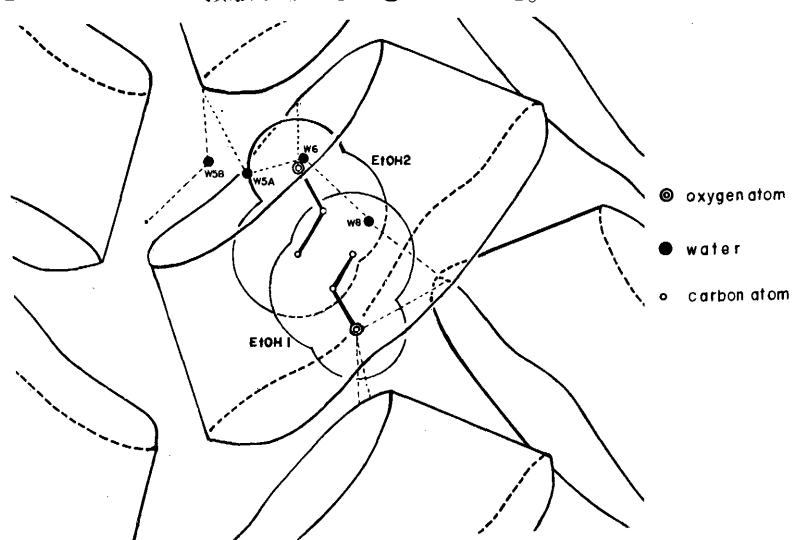
図6-1



2-3) 包接されたエタノール分子の構造とhost-guest相互作用 (図7)

エタノール分子は、2ヶ所にdisorderしている。一方のエタノール(EtOH1)の酸素原子は、横隣り及び下隣りの β -CDのO2及びO6原子と、水素結合し、疎水部分(エチル基部分)は β -CDの空洞内にあり、 β -CDの各原子とvan der Waals接触している。もう1つのdisorderの場所にはいるエタノール分子(EtOH2)は β -CDのO6原子及び空洞内の水分子(W6)と水素結合し疎水部分は、空洞内で β -CDとvan der Waals接触していることがわかった。

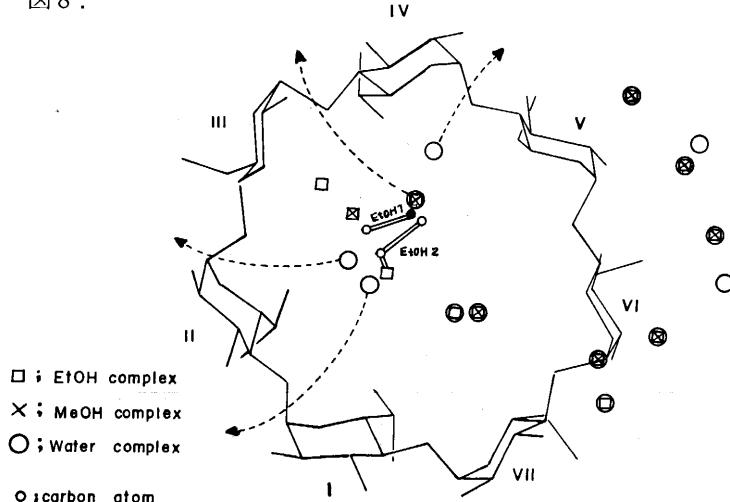
図7.



2-4) 水及びメタノール包接化合物との比較

エタノール、水、およびメタノールの各包接化合物での、guest分子の位置を比較して示したのが図8である。2ヶ所に disorder しているエタノール分子の一方(EtOH1)は、水及びメタノール分子と同位置をしめ、もう一方のエタノール分子(EtOH2)は、水やメタノール分子が占める位置とは全く異なる場所を占めていることがわかった。水包接化合物と比較すると図8の矢印をつけた4つの水分子がエタノール分子とおきかわることがわかる。

図8.



第3章 β -CD・p-ethylaniline 包接化合物のX線構造解析

3-1) 同型置換法による、低分子と高分子の中間領域に属する化合物の位相決定の試み。

分子量1,000～10,000の化合物の結晶では、決定しなければならない原子パラメーターの数に対して、X線による測定可能な反射数が少ないこと、および同型の重原子導入結晶がえられないことなどの理由によって、今まで解析例が少なく、X線解析法においてもっとも困難な分野として注目されている。

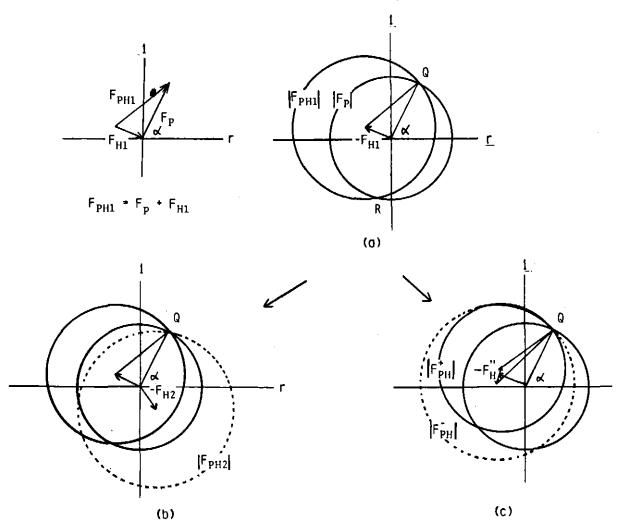
p-ethylaniline 包接化合物の場合、わずかに1つの重原子同型置換体、p-iodoanilineしか得られず、いわゆる single isomorphous replacement 法を適用することにした。

3-2) 同型置換法の原理¹⁰⁾ (図9)

F_p , F_{ph_1} , F_{h_1} はそれぞれ位相空間でのある ($h k l$) 反射に対する、解析を試みようとする物質の構造因子、その重原子誘導体の構造因子及び重原子のみの構造因子ベクトルを表わす。 $|F_p|$ を半径とする円を描き、 F_{h_1} ベクトルの先端を中心として半径 $|F_{ph_1}|$ の円を描けば2点(Q, R)で交わる。 $(h k l)$ 反射の構造因子の位相角は α_1 と α_2 の2つが可能である。(図9(a))もう1ヶの重原子誘導体が得られたとすれば、その構造因子の絶対値 $|F_{ph_2}|$ で点線の円を描けば、1点Qで交わり解がかえられる。(図9-(b))しかし、今回は、重原子同型置換体が1つしか得られなかつたので、

図9.

Harker diagram for the isomorphous replacement.



重原子（今回はヨウ素原子）の異常分散効果 $|F_{H''}|$ を用いて、3つの円の交点Qから解をえることができる。(図9-(c))

3-3) p-ethylaniline及びp-iodoaniline包接化合物の構造決定

実験

結晶は β -CD及びp-ethylanilineあるいはp-iodoanilineの等モル水溶液を70°Cまで加熱溶解後、徐冷することによって、いずれも無色透明な三角柱状結晶を得た。強度data収集については、第1章、2章と同様な方法で行なったがp-iodoaniline包接化合物については、ヨウ素原子の異常分散効果を見るため $\theta=30^\circ$ までBijvoet pair強度も測定し、更に反射強度にはFurnasの吸収補正¹¹⁾を考慮した。表3にそれぞれの包接化合物の結晶学的dataを示す。

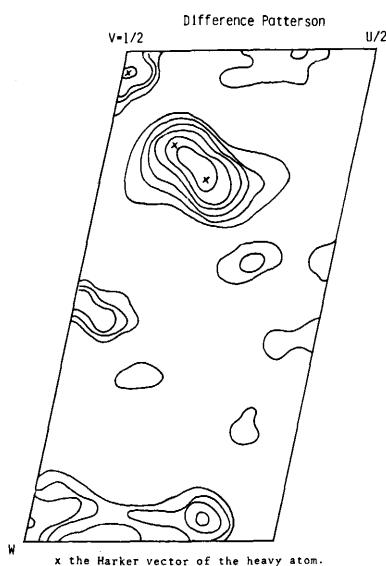
表3. CRYSTAL DATA

Guest	p-ethylaniline	p-iodoaniline
Chemical formula	$(C_{42}H_{70}O_{35})_2(C_8H_{11}N)_2^{32}H_2O$	$(C_{42}H_{70}O_{35})_2(C_6H_6N I)_2^{38}H_2O$
Molecular weight	3088.8	3392.6
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Cell constants	$a = 15.300(1) \text{ \AA}$ $b = 32.311(2)$ $c = 15.584(2)$ $\theta = 102.40(1)$	$a = 15.292(3) \text{ \AA}$ $b = 32.490(5)$ $c = 15.531(4)$ $\theta = 102.62(2)$
Cell volume	$V = 7524.4 \text{ \AA}^3$	$V = 7530.0 \text{ \AA}^3$
Space group	$P2_1$	$P2_1$
Z	4	4
Density	$D_m = 1.367 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$	$D_m = 1.494 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

重原子の位置決定は、図-10に示す様に、差パターソン合成図を用いて行なった。(図中の×印)

図10

表5



Mean figure of merit m and root mean squared lack of closure errors as a function of resolution.

Resolution (Å)	Number of reflection	m	r.m.s. lack of closure error
6.5 - 5.5	36	0.79	39.8
5.5 - 4.5	51	0.79	26.1
4.5 - 3.8	61	0.76	27.0
3.8 - 3.4	59	0.75	22.5
3.4 - 3.0	68	0.75	26.5

表4

Refinement of heavy atom parameters.

site	x	y	z	occup.	B	R_K	R_C
I-1	0.02633	0.31196	0.10643	0.6951	23.72	0.16	0.58
I-2	0.90403	0.66441	0.88548	1.0000	0.10		
I-3	0.00623	0.54949	0.04757	0.7404	0.10		

$$R_K = \frac{\sum |F_{PH} - F_P e^{i\alpha} + F_H|}{\sum F_{PH}} \quad R_C = \frac{\sum |F_{PH} - F_P e^{i\alpha} + F_H|}{\sum |F_{PH} - F_P|}$$

3 Å 分解能での、重原子パラメーター(座標、占有率、温度因子)の精密化及び位相角精度の判定の結果は、表4と表5に示す通りである。この条件下で行なった最適フーリエ図の2つの異なる断面を示したのが図11と図12である。これより、非対称単位中にある独立な2分子の β -CD(A, B)の位置及び配向をみつけることができた。なお図中の太い点線で囲んだ部分を1ヶの β -CD分子が占めている。

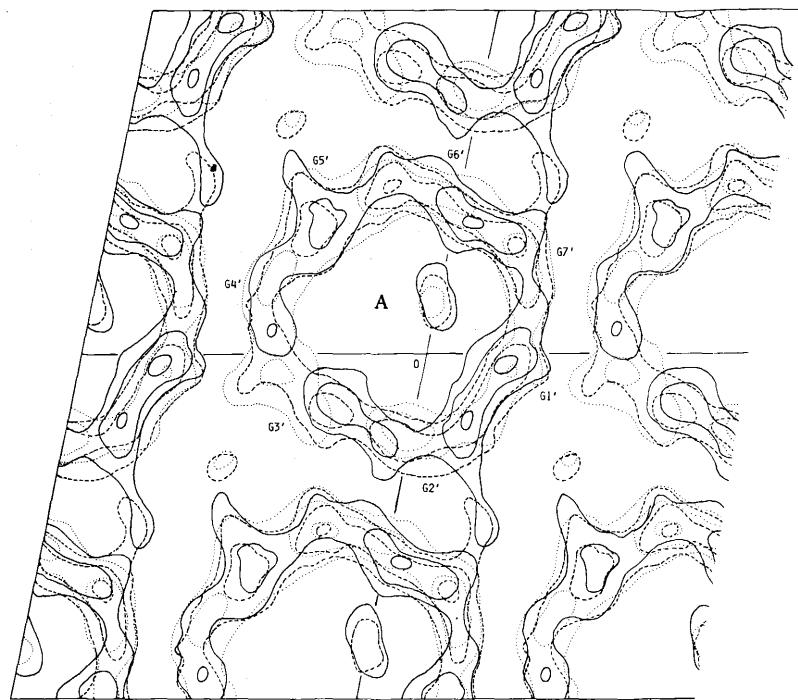
3-4) 構造の精密化

最適フーリエ図より求められた、各原子パラメーターを第1章及び第2章と同様の方法で精密化し現在のR値は反射数4499個について23.3%である。

3-5) 結晶中での β -CD分子のつまり方

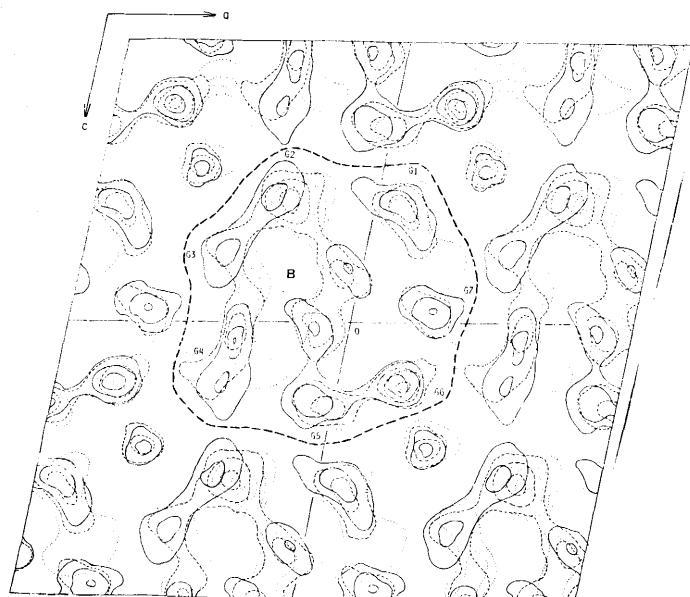
図13に示すように、 β -CD分子間に、水が多く集まっている部分と、少ない部分とがあるが全体としては水の中に β -CDが浮んでいるとも言える。

図11.



The B-CD-p-ethylaniline inclusion complex best Fourier map
at 3 Å resolution. The section of $\Psi = 60/100$, $63/100$
and $66/100$ are shown. $\Psi = 60/100$ (···), $63/100$ (---), $66/100$ (—).

図12.



The B-CD-p-ethylaniline inclusion complex best Fourier map
at 3 Å resolution. The section of $\Psi = 38/100$, $41/100$
and $44/100$ are shown. $\Psi = 38/100$ (···), $41/100$ (---), $44/100$ (—).

図14からわかるように、 β -CD A分子及びB分子からなるdimerが形成され、1単位となり、各dimer同志は互いに相手側の β -CD空洞にフタをしてguest分子が空洞内から外へ出られない様なpackingをしている。これは従来の報告にない新しいつまり方である。

3-6) 包接されたp-ethylanilineの分子構造とhost-guest相互作用

図15に示したように、 β -CDのO2とO3原子の間に分子内水素結合がみられ、隣接 β -CD分子間には、互いにO3原子同志で水素結合がみられ、tail to tail型のdimerを形成していることがわかった。包接されたp-ethylanilineの位置としては、2ヶ所見出された。その一方(PA)は、dimerの中に完全に、包接されておりアミノ基から、空洞内に存在する水分子との間で、水素結合を形成している。もう一方のp-ethylaniline分子(PB)は、dimerを形成する2ヶの β -CD分子の片方のC5, C6原子のつくる疎水部分に囲まれ、PAと同じように、空洞内の水と水素結合し安定化している。

結論

1)両端に、親水性の基をもつGABA分子と α -CDとの包接化合物の結晶構造が、初めて明らかになったが、この場合、GABA分子はchannel構造をとる α -CDの空洞内をつらぬいてNH \cdots O型水素結合で無限につながっているこ

図13

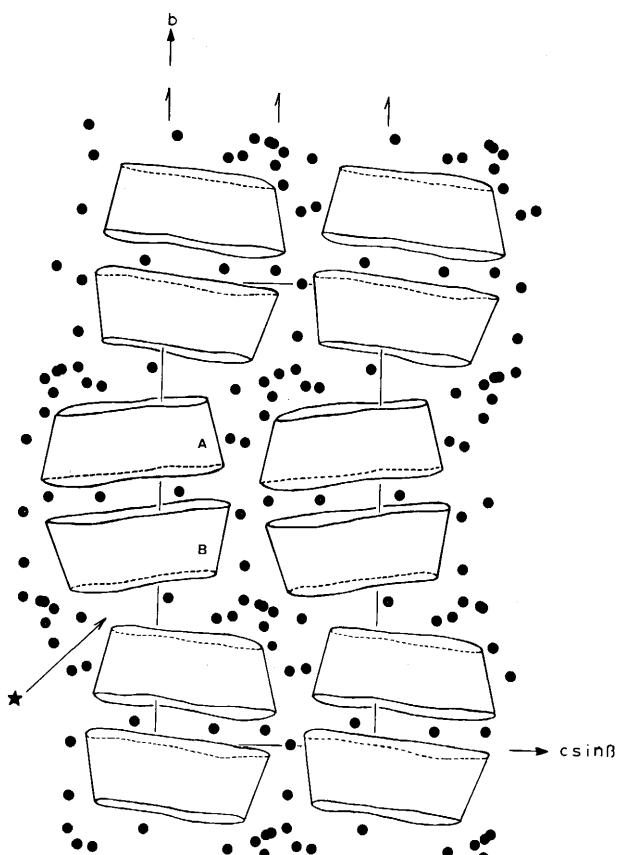


図14 β -CD·p-ethylaniline complex

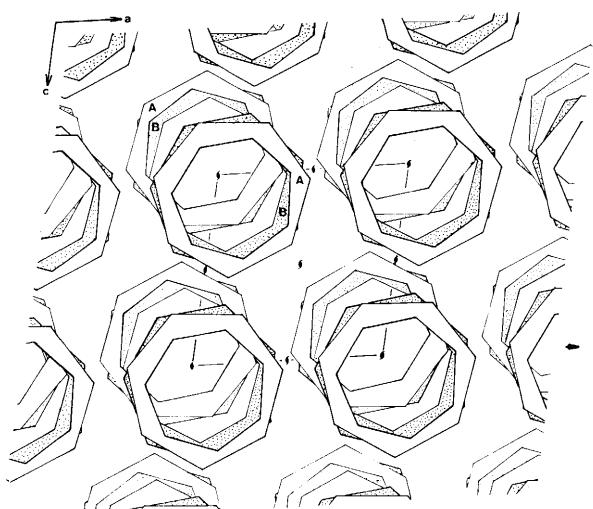
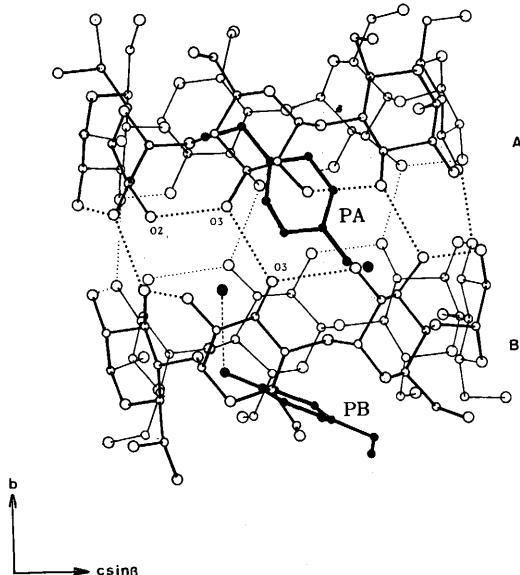


図15 β -CD·p-ethylaniline complex



とがわかった。

2) β -CD·ethanol 包接化合物の結晶構造を明らかにし、 β -CD·水包接化合物の場合と比較検討することによって、ethanol分子が4つの水分子とおきかわって β -CD内に、位置を占めることがわかった。結晶中での β -CD分子のつまり方より、お互いに重なりあっていいる2分子の β -CDを1単位と考えると、 β -CD propanol 包接化合物の結晶構造でみられたdimer構造²⁾への構造転移が容易に理解できることがわかった。

3) β -CD·p-ethylaniline 包接化合物の構造解析には、重原子同型置換法、および重原子の異常分散効果を適用し、独立な β -CD2分子(分子量2,270)の各原子の位置を決定した。

4) β -CD·p-ethylaniline 包接化合物の結晶構造決定より、2ヶの β -CD分子が水素結合で結ばれたtail to tail型dimerで存在していること、又、p-ethylanilineはこのdimer内の2ヶ所の位置に存在することが明らかとなった。

引用文献

- 1) D. W. Griffiths and M. L. Bender, Adv. Catalysis, **23**, 209 (1973)
- 2) J. J. Stezowski, K. H. Jogun, E. Eckle and K. Bartels, Nature, **274**, 617 (1978)
- 3) F. Cramer, W. Saenger, and H.-Ch. Spatz, J. Am. Chem. Soc., **89**, 14 (1967)
- 4) K. Uekama, F. Hirayama, S. Yamasaki, M. Otagiri, and K. Ikeda, Chem. Lett., **1977**, 1389
- 5) D. J. Wood, F. E. Hruska, and W. Saenger, J. Am. Chem. Soc., **99**, 1735 (1977)
- 6) R. K. McMullan, W. Saenger, J. Fayos, and D. Mootz, Carbohydrate Res., **31**, 37 (1973)
- 7) A. Hybl, R. E. Rundle, and D. E. Williams, J. Am. Chem. Soc., **87**, 2779 (1965)
- 8) W. R. Busing, K. O. Martin, and H. A. Levy, ORXFLS4 Crystallographic Structure-factor least-squares Program.
- 9) K. Lindner and W. Saenger, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **17**, 694 (1978)
- 10) D. Harker, Acta Cryst., **9**, 1 (1956)
- 11) T. C. Furnas, "Single Crystal Orienter Instruction Manual," General Electric Co., Milwaukee (1957)

論文の審査結果の要旨

環状オリゴ糖であるcyclodextrinは種々の低分子化合物を包接し、工業的にも実用化されているが徳岡良二君は γ -アミノ酪酸、エタノールおよびp-エチルアニリンをそれぞれ包接したcyclobextrinの結晶構造をX線解析法によって決定し、多くの新らしい知見を得るとともに、host分子-guest分子間の特異的相互作用の本質について種々検討を加えた。これらの業績は、構造物理化学、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。