

環境・生命工学専攻			
申請者 氏名	藤澤 郁英	紹介教員	菊池 洋

## 論文要旨 (博士)

論文題目	環状四量体複合体結晶構造を基にした分子認識様式としてのカチオン $\cdots\pi$ 相互作用と C-H $\cdots\pi$ 相互作用の研究
------	---

(要旨 1,200 字程度)

分子の構造や挙動を考える上では分子内や分子間で働く結合についてよく理解することが重要である。共有結合のように結合距離や結合角が周りの環境に影響されにくいものはモデル化しやすく理解されやすい。一方、水素結合やイオン結合も比較的結合が強く特徴が見えやすい場合では、よくモデル化されて理解されている。しかし、特に高分子では多くの原子が関与するため、弱い相互作用であっても数多く存在すれば、その構造や挙動に大きな影響を与えると考えられる。タンパク質などの生体高分子の構造や挙動も従来の強い結合のみを考慮するだけでは、全てを説明することはできない。このため、弱い相互作用の研究が近年盛んに行われ、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用や C-H $\cdots\pi$ 相互作用もそのうちの一つである。

本研究はカチオン $\cdots\pi$ 相互作用や C-H $\cdots\pi$ 相互作用の正確な三次元構造を得て、その特徴を把握することを目的とした。正確な三次元構造を得るには X 線結晶構造解析法が最も適している。特に高分解能の構造を得るには良質の結晶が得られやすいため、低分子結晶の方が高分子結晶より一般的に良いとされる。一方、結晶構造を維持するために結晶中には強い相互作用が分子間にネットワーク状に働いていることが多いため、低分子の場合、観察したい弱い相互作用が働いている基に強い相互作用が同時に働いていることが多くなる。この場合、得られた構造から弱い相互作用の影響を見出すのは難しい。これらの点を留意して、本研究では環状四量体 PCT (C-ethyl-pyrogallol[4]arene, Pyrogallol Cyclic Tetramer), RCT (C-ethyl-resorcin[4]arene, Resorcinol Cyclic Tetramer), MRCT (C-ethyl-5, 11, 17, 23-tetramethyl-resorcin[4]arene, Methyl Resorcinol Cyclic Tetramer) を使用し、トリメチルアンモニウム基をアルキル鎖の先に持つカルニチン、ベタイン、ホスホコリンとの複合体結晶を作成し、X 線結晶構造解析により高分解能の三次元構造を決定した。また、ピペコリン酸との複合体結晶ではカチオン $\cdots\pi$ 相互作用ではなく、C-H $\cdots\pi$ 相互作用の構造が観察された。それらの構造は、環状四量体のベンゼン環で形成された  $\pi$  電子豊富な窪みにトリメチルアンモニウム基がカチオン $\cdots\pi$ 相互作用で、アルキル基が C-H $\cdots\pi$ 相互作用で結合していた。これらの相互作用している基には直接強い水素結合は観察されなかった。これにより、弱い相互作用による構造を正確に観察できたと思われる。ベンゼン環の中心と相互作用していると考えられるアルキル基炭素との距離は、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用では、室温での測定で 3.32~4.05 Å、凍結状態での測定で 3.16~3.90 Å、C-H $\cdots\pi$ 相互作用では凍結状態での測定で 3.45~3.68 Å であった。温度による違いは熱運動により誤差が生じた可能性もあり、違いがあるかどうかはさらにデータを増やして統計的にみる必要がある。相互作用による距離の違いは、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用が C-H $\cdots\pi$ 相互作用よりも強いことを示していると考えられる。

実験に使用したトリメチルアンモニウム基を含むカルニチン、ベタイン、ホスホコリンと反応するタンパク質の結合部位は、構造が解明されたタンパク質ではほぼ全ての場合に芳香環を持ち、その構造からカチオン $\cdots\pi$ 相互作用を形成すると考えられる。タンパ

ク質や反応分子が異なってもトリメチルアンモニウム基の結合部位の多くに芳香環があることは、認識機構に重要な役割を担っていることを示している。また、芳香環、カチオン、C-Hといった構成要素はタンパク質中に多く存在するため、タンパク質の構造形成や分子間相互作用に大切な働きをしていると推察できる。

year month day  
2013 12 26

Department	Environment and Life Engineering	Supervisor	Yo Kikuchi
Name	Ikuhide Fujisawa		

A b s t r a c t

Title	The research of cation $\cdots\pi$ interactions and C-H $\cdots\pi$ interactions as molecular recognition patterns based on the crystal structures of cyclic tetramers complexes
-------	--

(800 words)

For examining the molecular structures and reactions, it is important to understand well the bonds existing in intra-molecules and inter-molecules. Like covalent bonds, the bonds whose distances and angles are hardly influenced by surrounding environment are easy to model and to understand. And hydrogen bonds and ion bonds are well modeled and understood when those bonds are relatively strong and easy to see the features. While, because many atoms concern about especially macromolecules, even weak interactions make large influences to the structures and reactions when many weak interactions gathered. It is also difficult to explain all mechanism of the structures and reactions of macromolecules like as proteins only with canonical strong interactions. So, the weak interactions are investigated well in recent years, and the cation $\cdots\pi$  interactions and C-H $\cdots\pi$  interactions are one of them.

This research aims to the grabs of the features of the cation $\cdots\pi$  interactions and C-H $\cdots\pi$  interactions through obtaining the precise three dimensional structures. X-ray crystallography is the best way to obtain the precise three dimensional structures. Especially to obtain the high resolution, crystals of small molecules are usually better than crystals of macromolecules because small molecules are tend to become good crystals. While, to maintain the crystal structures, strong interactions among molecules like network exist in many crystals, so strong interactions work on the groups of targets to observe weak interactions in the case of small molecule crystals. In such case, it is difficult to distinguish influences of the weak interactions in the determined structures. With attention to these problems, using cyclic tetramers, PCT (C-ethyl-pyrogallol[4]arene, Pyrogallol Cyclic Tetramer), RCT (C-ethyl-resorcin[4]arene, Resorcinol Cyclic Tetramer), and MRCT (C-ethyl-5, 11, 17, 23-tetramethyl-resorcin[4]arene, Methyl Resorcinol Cyclic Tetramer) and making them complexed with carnitin, betaine, and phosphocholine which have trimethylammonium group on the end of alkyl chain, I determined the three dimensional structures with high resolution by X-ray crystallography. While, not cation $\cdots\pi$  interactions, but C-H $\cdots\pi$  interactions structures are observed in pipecolinic acid complex crystal. The  $\pi$  electron-rich cavities formed by benzene rings of cyclic tetramers binded to trimethylammonium groups with cation $\cdots\pi$  interactions and to alkyl groups with C-H $\cdots\pi$  interactions. These groups with weak interactions do not be observed to have directly the strong interactions. So, the structures formed by weak interactions seem to be observed precisely. The distances between the centers of benzene rings and carbon atoms of interacting alkyl groups are 3.32 – 4.05 Å of cation- $\pi$  interactions with room temperature measurement, 3.16 – 3.90 Å of cation $\cdots\pi$  interactions with cryo-temperature measurement, and 3.45 – 3.68 Å of C-H $\cdots\pi$  interactions with cryo-temperature measurement. The difference of distances according to temperature may be caused by disturbance with thermal motion, so statistical examination with more data is necessary to judge whether the difference is meaningful. The difference of distances according to the type of interactions may show that cation $\cdots\pi$  interactions are stronger than C-H $\cdots\pi$  interactions.

The binding sites of the structure-determined proteins reacting with carnitine, betaine, and phosphocholine containing trimethylammonium groups used in this experiment have aromatic rings in the almost all cases and cation $\cdots\pi$  interactions seem to be formed decided with the structures. The fact that the various types of many proteins and reaction molecules have aromatic rings around binding sites of trimethylammonium groups shows that cation $\cdots\pi$  interactions play the important role for the recognition sites of trimethylammonium groups. The weak interactions are inferred to have serious influence on the structure formation and intermolecular interactions of proteins because structural factors like aromatic rings, cation, and C-H exist abundantly in proteins.