

## ビタミン A 関連分子の紫外光電子分光および ab initio 理論計算による研究<sup>1)</sup>

ビタミン A は動物の成長、視覚に必須の物質、さらに免疫機構を維持する脂溶性ビタミンであり、その生体内での構造や機能が研究されている。Fig. 3-1 に示すビタミン A (retinol) の関連物質として  $\text{CH}_2\text{OH}$  基が  $\text{COOH}$  や  $\text{CHO}$  に置き換わったビタミン A 酸 (retinoic acid) やレチナール (retinal)、それに  $\beta$ -カロチン ( $\beta$ -carotene) があり、それぞれいくつかの異性体が知られている。最近、ロドプシンやバクテリオロドプシンの分子レベルの詳細な働きが Nature 誌に続けて発表された<sup>2-5)</sup>。我々

哺乳動物は光を情報源として利用するための視覚物質として光受容タンパク質ロドプシンを使っている。この中では、タンパク質と結合した 11-cis-レチナールが光を吸収して分子構造が all-trans-型に変る、それが周りにあるタンパク質の構造に連鎖反動的に影響した結果、光の情報が脳に伝

達され何が見えたのが認識される。一方、バクテリアなどは光をエネルギー源として利用するためにバクテリオロドプシンを使っており、all-trans-レチナールを 13-cis-型に構造変化する機構を使っている。このように生体機能にはタンパク質の神秘的な高次構造があって発現するのであるが、その発端となる分子であるレチナールの構造変化は化学の目で見る事が出来る。ビタミン A と関連分子を構造と電子状態さらに生体内機能との関連を求めて HeI 光電子分光法による研究を行った。ビタミン A、ビタミン A 酸については既に発表したもので<sup>6)</sup>レチナール異性体について考察する。

### 1.1 実験

光電子分光装置は日本分光(株)製 PE-A1 である。室温で気化しにくい試料を加熱気化して測定するため、別途赤外線加熱炉を利用した試料加熱系を備えている。Fig. 3-2

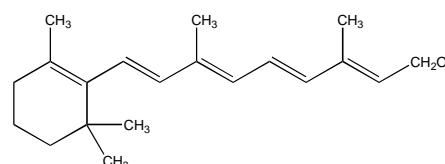


Fig. 3-1 ビタミン A; all-trans-retinol  
の分子構造

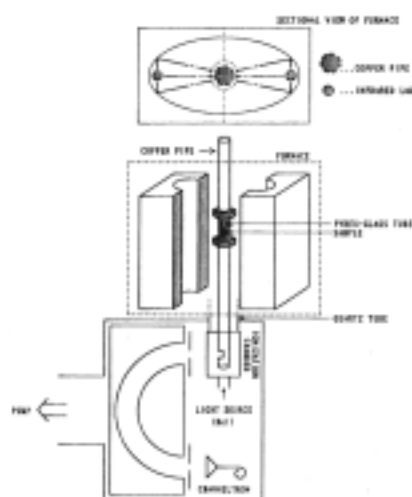


Figure 3-2. Heating apparatus based on irradiation with infrared ray and ultraviolet photoelectron spectrometer.

にその概略を示す。光電子分光装置の真空チェンバーと加熱系は石英管でつなげ真空を保つ。石英管の中には気化した試料をイオン化室に導入する銅パイプがある。試料を入れたパイレックスガラス管は銅パイプをつなげるステンレス製の swagelock 内に入れる。赤外線ランプによって銅パイプを加熱し、熱伝導によって試料が加熱気化されイオン化室に導入される。試料の加熱温度は熱電対によって計測する。試料は 100 mg 程度あれば測定可能である。光電子スペクトルの信号強度を見ながら温度を徐々に上げていく。大抵、まず H<sub>2</sub>O のスペクトルが増え、次いで比較的揮発性の不純物と思われるスペクトルが現れ消えていく。

市販の all-trans-retinal (SIGMA)、13-cis-, 9-cis-retinal (Aldrich Chem. Co.) をそのまま使用し、それぞれ、約 99, 117, 103 °C の加熱によって光電子スペクトルを測定した。イオン化エネルギーを決める標準試料として Ar、Xe が一般的であるが、この実験では Ar (15.759 eV) と H<sub>2</sub>O (12.62 eV) のピークを使っている。測定誤差は ±0.05 eV である。11-cis-retinal は入手出来なかったため理論計算による考察だけとなった。

### 1.2 Ab initio 分子軌道計算

Ab initio SCF MO 計算は Windows 上で動くソフト Gaussian 98W を使い、基底関数には 6-311G を用いた。エネルギー勾配法によって最適化構造が決められる。その構造で得られる分子軌道エネルギー  $E$  は Koopmans の定理、 $-E = I_{\text{obs}}$ 、によって、光電子スペクトルから得られるイオン化エネルギー  $I_{\text{obs}}$  と対応づけられる。各イオン化エネルギーがどのような分子軌道の性格なのか分子軌道図を描いて判断することが出来る。それにはソフト CS Chem3D を使用した。またイオン化した陽イオンの基底状態の構造は光電子スペクトルの第 1 バンドの形に反映されるので、中性分子の基底状態と比較するため、陽イオンの最適化構造を計算した。

### 1.3 実験結果

Fig. 3-3 に 6 ~ 12 eV の範囲に現れる (a)

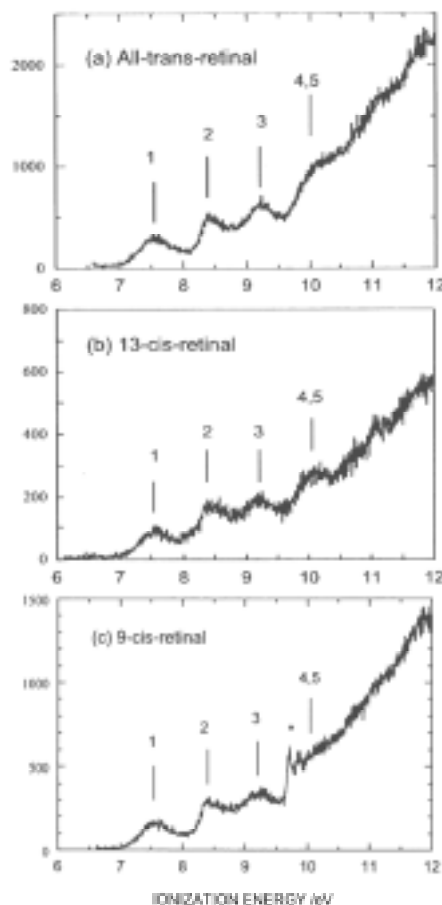


Fig. 3-3 HeI photoelectron spectra of (a) all-trans-, (b) 13-cis-, and (c) 9-cis-retinal

all-trans-, (b) 13-cis-, (c) 9-cis-retinal の HeI 光電子スペクトルを示す。それぞれのスペクトルにおいて縦線で番号付けしたように 10.5 eV までに 4 個のバンドが識別できる。Koopmans の定理による分子軌道エネルギーとの対応は最初の 3 番目のピークまでは 1:1 に、4 番目のバンドは強度も大きくなっていることを考えてエネルギーの接近した 2 個の分子軌道に対応すると思われる。Fig. 3-3 (c) の\*印の微細構造は時間変化したので微小な分解物と考えている。また、12 eV 以上ではブロードなバンドとなり分子軌道との対応が難しいため省略した。

#### 1.4 理論計算による最適化構造

4 種類のレチナル異性体について中性基底状態と陽イオン基底状態の最適化構造が計算された。all-trans-retinal の両状態に対する最適化構造を Fig. 3-4 に示す。シクロヘキセン環に 4 個の炭素 - 炭素二重結合からなるポリエン鎖、その末端にアルデヒド基 CHO がある。ビタミン A やビタミン A 酸は末端の CHO が  $\text{CH}_2\text{OH}$  や  $\text{COOH}$  に置き換わったものである。中性分子と陽イオンにおける結合長やねじれ角の最適化構造パラメータについて考察する。レチナルの構造の特徴は - イオン環とポリエン平面とのねじれ角 ( $\text{C}_5=\text{C}_6$  と  $\text{C}_7=\text{C}_8$  のなす角度) で 11-cis-retinal の  $60.4^\circ$  に対して、all-trans-retinal ほかは  $57.5^\circ$  である。陽イオンになると 11-cis-retinal のみ  $172.4^\circ$  となり 6-s-trans 型となってしまうが、他は Fig. 3-4 に示すようにほぼ  $19^\circ$  となって 6-s-cis 型を保って平面に近づく。ビタミン A は中性では  $60.6^\circ$ 、イオンでは  $21.5^\circ$  であった。C=C 結合や C-C 結合距離も大きい変化を示した。All-trans-retinal において  $\text{C}_7=\text{C}_8$ 、 $\text{C}_9=\text{C}_{10}$  はイオン化によって  $0.064$ 、 $0.076 \text{ \AA}$  長くなり、 $\text{C}_6-\text{C}_7$ 、 $\text{C}_8-\text{C}_9$  は  $0.077$ 、 $0.070 \text{ \AA}$  短くなる。ロドプシン内の 11-cis-retinal はタンパク質を構成するリジン残基と Schiff 塩基  $\text{RCH}=\text{NH}^+\text{R}'$  を形成し、周りの隣接したアミノ酸残基や水との影響を受けてプロトン化していることが分かっている。この構造がこれまで  $^{13}\text{C}$  NMR や CD を使って調べられて 6-s-cis 型であることが提案されていたが、最近、メチル基を重水素化した高分解固体重水素 NMR によって 3 次元構造が提案された。結果はイオン環のねじれが  $\text{C}_6-\text{C}_7$  軸で  $28^\circ$  か  $70^\circ$  となること、 $70^\circ$  は 6-s-cis か 6-s-trans 型のどちらにも該当する境界値であるけれども 6-s-trans 型と示唆された。

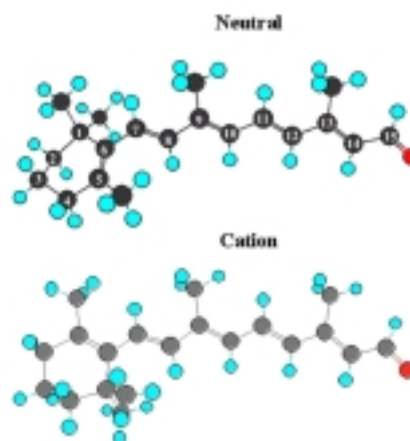


Fig. 3-4 Optimized geometries of the neutral and the cationic ground state of all-trans-retinal,

今回のレチナールの計算結果は、分子間相互作用によって分子骨格は大きく変形しないと考えると、プロトン化によって 11-cis-retinal が陽イオンに近い状態とすれば 6-s-trans 型を支持することになる、この場合ねじれ角は小さくポリエン鎖面と同じ平面になる。

その他、陽イオンでは  $C_{11} = C_{12}$  結合は弱まり結合距離は 0.069 Å も伸びるので、11-cis-から all-trans-retinal への変化も中性状態に比べれば起こりやすいことが予想される。ねじれ角が大きければ中性状態に近く 6-s-cis 型が望ましい結果となる。バクテリオロドプシンに存在する all-trans-retinal

も同様に考えれば、プロトン化によって陽イオン構造に近い骨格が示唆される。最後に、各種レチナールの光電子スペクトルの分子軌道計算による帰属を Table 1 にまとめておく。

#### 参考文献

- 1) S. Katsumata, Bull. Chem. Soc. Jpn. **74**, 1611 (2001).
- 2) G. Gröbner, I. J. Burnett, C. Glaubitz, G. Chol, A. J. Mason, and A. Watts, *Nature*, **405**, 810 (2000).
- 3) W. Kühlbrandt, *Nature*, **406**, 569 (2000).
- 4) A. Royant, K. Edman, T. Ursby, E. P-Peyroula, E. M. Landau, and R. Neutze, *Nature*, **406**, 645 (2000).
- 5) H. J. Sass, G. Büldt, R. Gessenich, D. Hehn, D. Neff, R. Schlesinger, J. Berendzen, and P. Ormos, *Nature*, **406**, 649 (2000).
- 6) S. Katsumata and N. Ikehata, J. Electron Spectrosc., **107**, 139 (2000).

Table 1  
Comparison of experimental  $I_{\text{ph}}$ 's with  $-E$ 's, and MO characters for retinals.

Band	Exptl. $I_{\text{ph}}$ (eV)	Ab initio SCF MO [6-311G]	
		$-E$ (eV)	MO Character
All-trans-retinal [Total energy = -23083.408 eV]			
1	7.55		(HOMO, 78) chr π c...c(4)
2	8.40	9.02	(HOMO-1) chr π c...c(3)
3	9.21	10.11	(HOMO-2) chr π c...c(2)
4	10.02	11.32	(HOMO-3) chr π c...c(1)
5	10.02	11.38	(HOMO-4) n(O), σ (CH-CHO)
13-cis-retinal [Total energy = -23083.391 eV]			
1	7.54	7.65	(HOMO, 78) chr π c...c(4)
2	8.38	9.05	(HOMO-1) chr π c...c(3)
3	9.21	10.12	(HOMO-2) chr π c...c(2)
4	10.06	11.31	(HOMO-3) n(O), σ (CH-CHO)
5	10.06	11.34	(HOMO-4) chr π c...c(1)
9-cis-retinal [Total energy = -23083.386 eV]			
1	7.55	7.65	(HOMO, 78) chr π c...c(4)
2	8.40	9.06	(HOMO-1) chr π c...c(3)
3	9.20	10.12	(HOMO-2) chr π c...c(2)
4	10.05	11.34	(HOMO-3) chr π c...c(1)
5	10.05	11.36	(HOMO-4) n(O), σ (CH-CHO)
11-cis-retinal [Total energy = -23083.173 eV]			
1		7.67	(HOMO, 78) chr π c...c(4)
2		9.06	(HOMO-1) chr π c...c(3)
3		10.11	(HOMO-2) chr π c...c(2)
4		11.36	(HOMO-3) n(O), σ (CH-CHO)
5		11.38	(HOMO-4) chr π c...c(1)