

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

2013年 12月

博士（工学）

藤澤 郁英

豊橋技術科学大学

## 論文要旨

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… $\pi$  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。

## Abstract

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 pipicolinic 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 mechanism. 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.

## Abbreviations

PCT: Pyrogallol Cyclic Tetramer,

RCT: Resorcinol Cyclic Tetramer,

MRCT: Methyl Resorcinol Cyclic Tetramer,

CCDC: Cambridge Crystallographic Data Centre

CSD: Cambridge Structural Database

PDB: Protein Data Bank

## 目次

要旨 (in Japanese)	i
Abstract (in English)	iii
略語	v
第 1 章 序論	
1.1 弱い水素結合	1
1.2 カチオン… $\pi$ 相互作用	2
1.3 C-H… $\pi$ 相互作用	2
第 2 章 実験方法	
2.1 結晶の調製	4
2.2 X 線結晶構造解析	8
2.3 NMR 測定	13
2.4 エネルギー計算	14
第 3 章 カチオン… $\pi$ 相互作用について	
3.1 L-カルニチン複合体	
3.1.1 序	15
3.1.2 X 線構造解析による結晶構造	17
3.1.3 NMR 測定による溶液中のカチオン… $\pi$ 相互作用	28
3.2 ベタイン複合体	
3.2.1 序	31
3.2.2 X 線構造解析による結晶構造	34
3.2.3 NMR 測定による溶液中のカチオン… $\pi$ 相互作用	42
3.3 ホスホコリン複合体	
3.3.1 序	45
3.3.2 X 線構造解析による結晶構造	48
3.4 非経験的分子軌道法による計算結果	
3.4.1 PCT と RCT の電荷分布	52
3.4.2 分子間相互作用エネルギー	56
第 4 章 C-H… $\pi$ 相互作用について	
4.1 ピペコリン酸複合体	
4.1.1 序	61

4.1.2	X線構造解析による結晶構造	63
4.1.3	NMR測定による溶液中のC-H $\cdots$ $\pi$ 相互作用	71
4.2	プロリン複合体	
4.2.1	序	74
4.2.2	X線構造解析による結晶構造	76
4.2.3	NMR測定による溶液中のC-H $\cdots$ $\pi$ 相互作用	84
4.3	非経験的分子軌道法による計算結果	
4.3.1	プロリンとピペコリン酸のコンフォメーション	87
4.3.2	分子間相互作用エネルギー	89
	第5章 結論	91
	謝辞	92
	参考文献	93



## 第 1 章

### 序論

## 1.1 弱い水素結合

水素結合は 1900 年頃からその存在が認識され[1] [2] [3]、分子内で形成されて分子構造を安定化させたり、分子間で形成され分子認識、相互作用に重要な役割を果たしたり、結晶格子内で形成されて結晶構造を安定化させたりなど、化学の様々な領域で表れ、多くの場合、重要な役割を担っている。特に、一般的なクーロン力やファンデルワールス力と異なり、水素結合には方向指向性があるとされている[4]。この特徴から、ある一定の構造を形成することに寄与する機会が多いとされている。

水素結合は、初期の定義では  $O-H\cdots O$  などのように、電気陰性度の高い原子に水素が共有結合した基と電気陰性度の高い原子の間に働く引力相互作用を指していた[5]。代表的なものに、 $O-H\cdots O$ ,  $N-H\cdots O$ ,  $O-H\cdots N$  などがあり、 $X-H\cdots A$  と表される。この結合の本質は、水素原子の電子が共有結合をしている電気陰性度の高い原子  $X$  に引き寄せられることにより、水素原子が  $\delta^+$ の極性を帯び、対になる電気陰性度の高い原子  $A$  が  $\delta^-$ を帯びている事から静電的な引力が生じる点と、2つの電気陰性度の高い原子  $X$ ,  $A$  の間で水素原子がある割合で共有される（共鳴的な共有結合、 $D-H$  結合距離が長くなり結合が弱くなる一方、 $H\cdots A$  間の距離が短くなり、共有結合に近づく）ことにより結合が強くなる点と、接触する水素原子と原子  $A$  とのファンデルワールス力（分散力を含む）による引力が生じる点の3点から構成されている。この中で静電的な極性は原子  $X$  が水素原子の電子を引き寄せることから生じるため、水素原子の  $X$  から最も離れた部分が最も  $\delta^+$ 電荷が強く、原子  $X$  に近い部分ほど  $\delta^+$ 電荷は弱くなる。このように  $X-H$  の結合に沿って極性のベクトルが生じるため、方向性が生まれる。また、共鳴的な共有結合では電気陰性度の高い原子  $X$ ,  $A$  が最も離れた方が電気的にも安定になるので、 $X-H\cdots A$  は直線状に並ぶ時が最も結合が強いと考えられている。

初期の定義の水素結合は  $X$  線結晶構造解析、IR、NMR 等の実験結果からその結合距離や結合角度などが詳細に調べられ、広く認知されることになった。一方、典型的な組み合わせの水素結合以外にも、組み合わせを変えた水素結合も研究されるようになった。また、水素結合の定義を広げていき、 $H$  と  $A$  の間に引力相互作用がある場合に、水素結合と定義するようになった。これにより水素結合に含まれる分子種が増えたため、初期の定義のような比較的結合力の強い水素結合を強い水素結合、拡張された定義のような比較的結合力の弱い水素結合を弱い水素結合と分類するようになった。

弱い水素結合には、水素供与側の電気陰性度が弱いもの ( $C-H$ ,  $S-H$  等)、水素受容側が弱い電気陰性度のもの ( $S$ ,  $\pi$  電子 (芳香環, 二重結合, 三重結合))、またそれらが組み合わせあったものがある。当然、弱い水素供与体と弱い受容体の組み合わせの場合に最も弱い水素結合になり、代表的な例として、 $C-H\cdots\pi$  がある。荷電していない  $C-H\cdots\pi$  水素結合は代表的な水素結合の  $O-H\cdots O$  水素結合と比較して弱い結合エネルギーしか持っていないと言われている。このため、結晶構造解析で得られる分子構造を観察しても誤差と判別がつかない程度しかその結合距離は変化しない。また、IR の結果でも、一般的な結合性の特徴はみられていない。その他の実験結果でも  $C-H\cdots\pi$  の他の水素結合と同様の明らかな特徴を示し

たものはないため、 $C-H\cdots\pi$  水素結合の存在自体も議論の余地が残っている。これに対して、 $C-H\cdots\pi$  より若干強い水素結合の（カチオン） $-C-H\cdots\pi$  では、X 線結晶構造解析でも IR でも構造の変化が報告され、水素結合が存在すると考えられている。

弱い水素結合は一つ一つの結合は弱く溶液中では熱運動で簡単に結合が切れてしまうと思われるが、生体高分子中には関与する基（ $C-H$ ,  $O$ ,  $N-H$ , 芳香環の  $\pi$  電子等）が多数あるため、構造によっては同時に多くの基が弱い水素結合を形成する可能性がある。これが分子認識に大きな役割を果たしている可能性があり、現在広く研究されている。

## 1.2 カチオン $\cdots\pi$ 相互作用

アセチルコリンなどのシグナル分子とその受容体の相互作用部位の構造では、アセチルコリンのカチオン性のトリメチルアンモニウム基の周りを受容体タンパク質のアミノ酸残基の芳香環側鎖が取り囲むように配置されている[6]。この他にもコリンなどのカチオン性トリメチルアンモニウム基を持つ分子と相互作用するタンパク質の多くはその結合部位に芳香環が配置され、構造的に（カチオン） $-C-H\cdots\pi$  水素結合を形成していると考えられている[7] [8]。また、この（カチオン） $-C-H\cdots\pi$  水素結合がこれらの分子認識に特徴的で重要な役割を担っていると考えられている。

## 1.3 $C-H\cdots\pi$ 相互作用

$C-H\cdots\pi$  相互作用は廣田、西尾らによって提唱され[9] [10] [11] [12] [13]、研究が進められてきた。 $C-H$  基はほとんど分極していないため、この相互作用を一般的な水素結合と呼ぶでよいのかは、まだ議論が残る。広義の水素結合には含まれるが、この相互作用がどのような力によるものなのかが研究され[14]、一つの結論としてファンデルワールス力のうち、分散力が主に影響を及ぼしているのではないかとの説がある[15] [16]。

X 線結晶構造解析は詳細な構造の観察に非常に有用である。IR や NMR は溶液中の相互作用も検知できる利点はあるが、結合距離や結合角に関する 3 次元的な情報を得るのは難しい。X 線結晶構造解析の構造を用いてカチオン $\cdots\pi$  相互作用や  $C-H\cdots\pi$  相互作用を議論する場合、対象とする基について目的の相互作用のみが働いている場合は稀で、直接的または間接的により強い水素結合やイオン結合、錯結合などが働いている場合が多い。このため、目的の結合距離を観察した際に周りの影響で変化している場合が多いと考えられる。

このため、対象となる基の間に目的の相互作用以外の相互作用がなるべくないように化合物を用いた結晶構造解析が望ましい。この目的に合う化合物の一つが環状四量体である。環状四量体は図のような芳香環が 4 つ炭素鎖で結合された構造で、お椀型の  $\pi$  電子リッチな結合部位を形成する。また、そのサイズからトリメチルアンモニウム基などの水素結合対象基が結合した場合、他の分子がお椀型の領域に入り込む余剰の空間がないため、

ほぼ目的相互作用のみの観察が行える。また、上部が開いた形状のため、逃げ場のない圧力のために分子間距離が近くなる可能性も低いと考えられる。また、これらの相互作用の構造を詳細に検討するには、構造の精度や分解能も重要である。

これらのことから、本研究では環状四量体と様々な分子の複合体の構造を X 線結晶構造解析により解明し、その詳細な構造観察からカチオン $\cdots\pi$ 相互作用と C-H $\cdots\pi$ 相互作用の平均的な結合距離や結合角を割り出し、結合様式をより明らかにすることを目的としている。また、これらの相互作用の溶液中の存在と結合の強さを測定するために、NMR の測定も行った。

## 第2章

### 実験方法

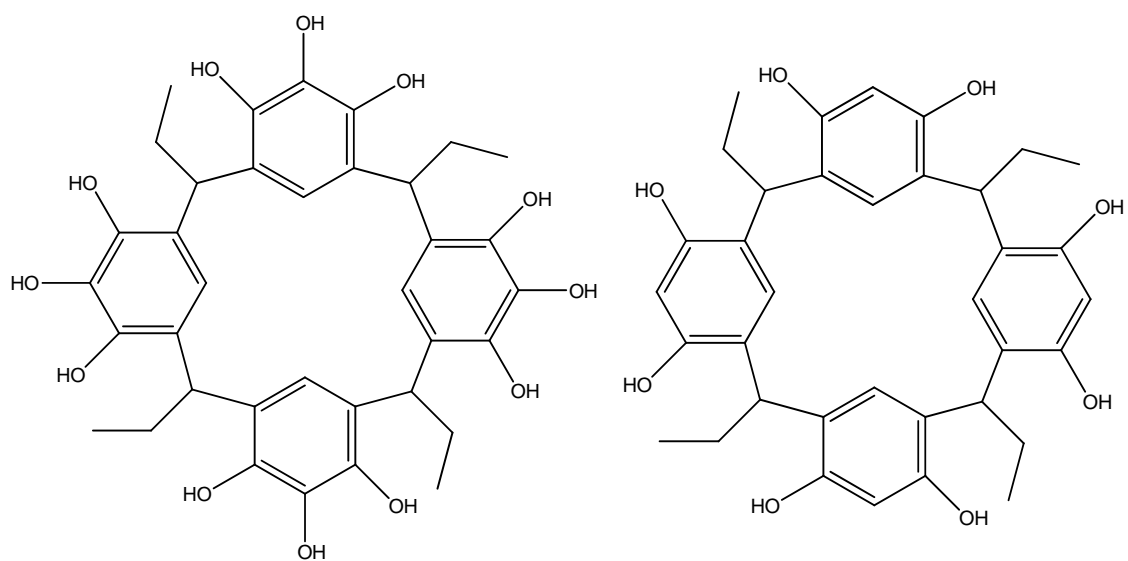
## 2.1 結晶の調製

ホスト分子になる環状四量体の PCT, RCT, MRCT [17]をそれぞれエタノールに溶かした。ゲスト分子の L-カルニチン、ホスホコリン、ベタイン、DL-ピペコリン酸、DL-プロリンをそれぞれ純水で溶かした。これらの溶液を表のような割合で混合してガラス容器に入れ、室温で数週間静置したところ、結晶が得られた。結晶の色は PCT では濃い茶色、RCT では鮮やかなオレンジ色、MRCT では薄い黄色であった。結晶化に使用した分子の構造式を図 2.1 に示す。

表 2.1 結晶が析出した溶液の組成

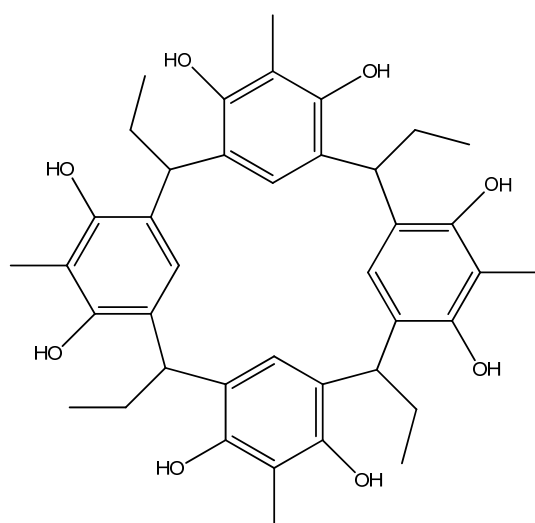
番号	複合体	結晶化溶液組成	結晶析出時期
1)	2PCT·2car·4EtOH [18]	0.1 ml PCT 溶液(0.7 g PCT / 42 ml エタノール), 2 ml L-カルニチン溶液(1.0 g car / 10 ml 純水), 0.4 ml 純水	5 日後
2)	2RCT·2car·EtOH·6H <sub>2</sub> O [19]	0.1 ml RCT 溶液(0.7 g RCT / 42 ml エタノール), 2 ml L-カルニチン溶液(1.0 g car / 10 ml 純水), 0.4 ml 純水	5 日後
3)	2MRCT·2car·3EtOH [19]	0.1 ml PCT 溶液(0.7 g PCT / 42 ml エタノール), 2 ml L-カルニチン溶液(1.0 g car / 10 ml 純水), 0.4 ml 純水	5 日後
4)	PCT·bet·2EtOH·5H <sub>2</sub> O [20]	2.0 ml PCT 溶液(0.05 mol/L), 1.0 ml ベタイン溶液(0.5 mol/L), 1.0 ml 純水, 1.0 ml エタノール	2 週間後
5)	RCT·bet·EtOH·2H <sub>2</sub> O [20]	2.0 ml PCT 溶液(0.05 mol/L), 0.2 ml ベタイン溶液(0.5 mol/L), 1.8 ml 純水, 3.0 ml エタノール	3 週間後
6)	PCT·phos·0.5Ca <sup>2+</sup> ·EtOH·4H <sub>2</sub> O [21]	0.1 ml PCT 溶液(0.7 g PCT / 42 ml エタノール), 2 ml ホスホコリン溶液(1.0 g phos·CaCl / 10 ml 純水), 0.4 ml 純水	5 日後
7)	PCT·pipe·EtOH·4H <sub>2</sub> O [22]	2.0 ml PCT 溶液(2.0 mmol PCT / 40 ml エタノール), 1.0 ml ピペコリン酸溶液(10 mmol pipe / 20 ml 純水), 1.0 ml 純水, 1.0 ml エタノール	10 日後
8)	RCT·pipe·EtOH·8H <sub>2</sub> O [22]	2.0 ml PCT 溶液(2.0 mmol PCT / 40 ml エタノール), 1.0 ml ピペコリン酸溶液(10 mmol pipe / 20 ml 純水), 3.0 ml 純水, 2.0 ml エタノール	20 日後
9)	PCT·pro·EtOH·3H <sub>2</sub> O [23]	2.0 mmol PCT / 5 ml エタノール, 10 mmol DL-プロリン / 3 ml 純水	2 週間後
10)	PCT·2pro·2H <sub>2</sub> O [23]	2.0 mmol PCT / 5 ml エタノール, 10 mmol DL-プロリン / 3 ml 純水	2 週間後

図 2.1 結晶化に使用した化合物の構造式



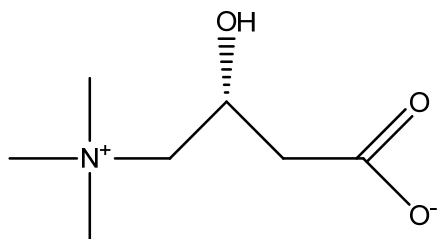
PCT

RCT

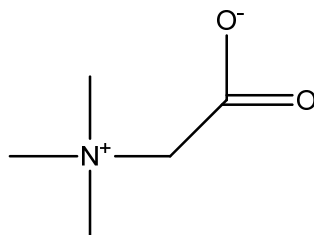


MRCT

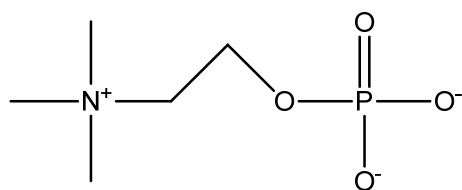




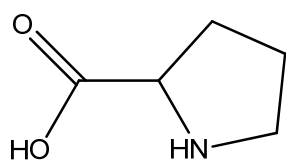
L-カルニチン



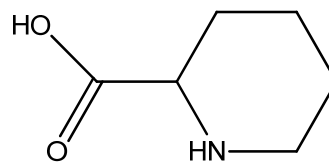
ベタイン



ホスホコリン



DL-プロリン



DL-ピペコリン酸

## 2.2 X 線結晶構造解析

得られた結晶をガラスファイバーの先にマニキュアで固定し、実験室系の X 線回折装置を用いて短波長 X 線 (Cu K $\alpha$  線、波長  $\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$ ) を照射し、X 線回折測定を行った。測定温度は室温で十分な回折点が得られない場合、液体窒素を使用して、低温 (クライオ条件) で測定した。回折装置は岡崎分子研究所機器センター共同利用施設の Raxis-IV (Rigaku Co.) を使用した。回折点の測定には Mercury CCD カメラ (Rigaku Co.) を使用した。デンストメトリー、積分計算、吸収補正はプログラム Crystal Clear (Rigaku Co.) を使用して行った。吸収補正は multi-scan 法 (semi-empirical 法) で行った。

回折点からの構造解析は大学のパソコンで行った。空間群の決定は、Crystal Clear の結果を参考にしながら、プログラム Yadokari-SG2009 [24] で行った。初期構造の決定は直接法により行い、プログラム SIR2004 [25] または SHELXS-97 [26] を使用した。構造の精密化は最小二乗法により行い、プログラム SHELXL-97 [26] を使用した。モデルの構築はグラフィック機能により行った。初期構造の決定から構造決定まではグラフィック機能を有する結晶構造解析プラットフォームソフト Yadokari-XG2009 [24] で行った。構造の精密化はできるだけ非水素原子は異方性温度因子まで決定した。水素は差フーリエ図で安定して位置を特定できるものは束縛なしでモデルに加えた。それ以外で水素を加えることのできる場合は SHELX の束縛条件の 1 つの riding mode を使用してモデルに加えた。メチル基や水酸基などの共有結合を軸とした回転可能な水素はその回転自由度を残した束縛条件を用いた。モデルに加えた水素は全て等方性温度因子で精密化した。決定した構造を基にした作図は Ortep [27] や Mercury (The Cambridge Crystallographic Data Centre) で行った。正確な原子間距離の算出には platon [28] 等を使用した。

類似構造の検索には、低分子に関してはケンブリッジ構造データベース (CSD) をタンパク質分子に関してはプロテインデータバンク (PDB) を使用した。

表 2.2 測定条件と空間群について

番号	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
複合体	2PCT·2car·4EtOH	2RCT·2car·EtOH·6H <sub>2</sub> O	2MRCT·2car·3EtOH
組成式	C <sub>94</sub> H <sub>132</sub> N <sub>2</sub> O <sub>34</sub>	C <sub>88</sub> H <sub>126</sub> N <sub>2</sub> O <sub>29</sub>	C <sub>100</sub> H <sub>142</sub> N <sub>2</sub> O <sub>25</sub>
式量	1834.04	1675.93	1772.19
晶系	Triclinic	Triclinic	Triclinic
空間群	<i>P</i> 1	<i>P</i> 1	<i>P</i> 1
Z	1	1	1
<i>a</i> (Å)	12.7778(9)	11.3793(11)	12.647(5)
<i>b</i> (Å)	12.9479(10)	13.4159(12)	14.252(5)
<i>c</i> (Å)	15.0200(15)	15.3572(15)	15.292(6)
$\alpha$ (°)	89.832(7)	81.207(6)	101.739(8)
$\beta$ (°)	82.108(5)	84.103(7)	91.965(8)
$\gamma$ (°)	69.720(4)	77.890(6)	114.603(7)
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	2306.2(3)	2259.3(4)	2431.5(16)
結晶サイズ (mm)	0.6 x 0.2 x 0.1	1.5 x 0.5 x 0.2	0.6 x 0.6 x 0.1
測定温度 (K)	295	295	295
独立反射数	14,100	13,861	14,742
R 因子			
<i>R</i> <sub>1</sub>	0.1077	0.117	0.131
<i>R</i> <sub>w</sub>	0.2470	0.313	0.307
水素の構造決定の有無	無	無	無

番号	4	5	6
複合体	PCT·bet·2EtOH·5H <sub>2</sub> O	RCT·bet·EtOH·2H <sub>2</sub> O	PCT·phos·0.5Ca <sup>2+</sup> ·EtOH·4H <sub>2</sub> O
組成式	C <sub>43</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>21</sub>	C <sub>43</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>13</sub>	C <sub>43</sub> H <sub>67</sub> Ca <sub>0.5</sub> NO <sub>21</sub> P
式量	964.04	799.93	985.00
晶系	Triclinic	Triclinic	Monoclinic
空間群	<i>P</i> -1	<i>P</i> -1	<i>C</i> 2/ <i>c</i>
Z	2	2	8
<i>a</i> (Å)	12.0178(16)	12.1241(15)	17.524(14)
<i>b</i> (Å)	12.275(2)	13.3655(19)	16.124(13)
<i>c</i> (Å)	17.554(3)	13.964(2)	34.71(3)
$\alpha$ (°)	109.887(4)	86.356(15)	
$\beta$ (°)	91.042(2)	82.010(15)	95.710(14)
$\gamma$ (°)	101.332(3)	73.242(10)	
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	2377.4(6)	2145.1(5)	9759(14)
結晶サイズ (mm)	0.4 x 0.4 x 0.1	0.4 x 0.3 x 0.05	0.3 x 0.3 x 0.1
測定温度 (K)	120	107	296
独立反射数	9,860	8,883	10,360
R 因子			
<i>R</i> <sub>1</sub>	0.1077	0.0722	0.100
<i>R</i> <sub>w</sub>	0.2470	0.1967	0.249
水素の構造決定の有無	有	有	PCT のみ有

番号	7	8	9
複合体	PCT·pipe·EtOH·4 H <sub>2</sub> O	RCT·pipe·EtOH·8H <sub>2</sub> O	PCT·pro·EtOH·3H <sub>2</sub> O
組成式	C <sub>44</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>19</sub>	C <sub>44</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>19</sub>	C <sub>43</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>18</sub>
式量	911.97	920.03	879.95
晶系	Monoclinic	Monoclinic	Triclinic
空間群	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>n</i>	<i>C</i> 2/ <i>c</i>	<i>P</i> -1
Z	4	8	2
<i>a</i> (Å)	10.914(5)	36.48(3)	11.886(4)
<i>b</i> (Å)	12.506(5)	15.579(12)	11.918(9)
<i>c</i> (Å)	32.726(13)	18.365(15)	15.931(6)
$\alpha$ (°)			77.29(4)
$\beta$ (°)	92.406(5)	109.101(7)	89.68(3)
$\gamma$ (°)			85.72(4)
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	4463(3)	9863(14)	2195(2)
結晶サイズ (mm)	0.4 x 0.3 x 0.3	0.5 x 0.3 x 0.2	0.2 x 0.2 x 0.2
測定温度 (K)	120	100	296
独立反射数	7,784	6,404	10,073
R 因子			
<i>R</i> <sub>1</sub>	0.079	0.121	0.078
<i>R</i> <sub>w</sub>	0.203	0.336	0.231
水素の構造決定の有無	無	無	水分子以外有

---

番号	<b>10</b>
複合体	PCT·2pro·2H <sub>2</sub> O
組成式	C <sub>46</sub> H <sub>62</sub> N <sub>2</sub> O <sub>18</sub>
式量	930.98
晶系	Triclinic
空間群	<i>P</i> -1
<i>Z</i>	2
<i>a</i> (Å)	12.082(11)
<i>b</i> (Å)	12.249(7)
<i>c</i> (Å)	15.647(9)
$\alpha$ (°)	103.49(4)
$\beta$ (°)	93.84(6)
$\gamma$ (°)	99.94(6)
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	2204(3)
結晶サイズ (mm)	0.2 x 0.2 x 0.2
測定温度 (K)	296
独立反射数	7,947
R 因子	
<i>R</i> <sub>1</sub>	0.067
<i>R</i> <sub>w</sub>	0.224
水素の構造決定の有無	有

---

### 2.3 NMR 測定

O-H...O などの水素結合では水素周辺の電子密度が変化することにより、低磁場側に関連するピークがシフトする。一方、C-H... $\pi$  相互作用では、水素が芳香環に近づくことにより環電流の影響を受けて高磁場側にピークがシフトすることが知られている。このため、溶液中の C-H... $\pi$  相互作用の存在を確認するために guest 分子 (2 mmol/l) と PCT または RCT (30 mmol/l) との混合溶液の NMR 測定を行った。測定は 293 K で 400 MHz NMR 測定装置を用いた。溶媒は CD<sub>3</sub>OD を使用した。また、NMR 滴定法により、1:1 で結合すると仮定して、結合定数の算出も行った。

## 2.4 エネルギー計算

ホスト分子とゲスト分子の結合の強さや結合中に働く要素を推察するため、プログラム Gaussian 09W (Gaussian, Inc.) を用いて、非経験的分子軌道法により分子間相互作用エネルギーや電荷の計算を行った。計算方法は MP2、基底関数は 6-31+G(d,p) で計算を行った。溶媒分子や溶媒効果は計算に含めなかった。電荷は静電ポテンシャルから Merz-Singh-Kollman 法 (MK) により導出されたものを使用した。ホスト分子とゲスト分子の分子間相互作用エネルギーの計算では、基底関数重なり誤差 (basis set superposition error, BSSE) を考慮した Counterpoise 補正を行った結果を使用した。使用したコンピューターは CPU: Intel Core i7, 3.4GHz、RAM: 3.24GB 使用可能、OS: Windows 7 (32 bit) であった。相互作用エネルギーや電荷の計算では、原子数が多くなると計算量が増大してしまうので、プログラム Mercury 3.1 (The Cambridge Crystallographic Data Centre) を用いて相互作用部分のみの構造にトリミングした。分子力学法による構造最適化計算 (MM2) や Gaussian へのインプットファイルの作成は主に ChemBio3D Ultra (PerkinElmer, Inc.) を使用した。計算結果の表示には GaussView 5.0 (Gaussian, Inc.) を使用した。



## 第3章

### カチオン $\cdots\pi$ 相互作用について

### 3.1 L-カルニチン複合体

#### 3.1.1 序

カルニチンはトリメチルアンモニウム基とカルボキシ基、ヒドロキシ基を持つ分子である。ヒドロキシ基が結合する炭素は不斉炭素であり、D 体と L 体が存在するが、生体内で機能するのは L 体のみと言われている。その主な働きとして長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの輸送への関与が知られている。細胞内で長鎖脂肪酸が代謝されるには、細胞質からミトコンドリアに輸送される必要があるが、その際長鎖脂肪酸の形ではミトコンドリア膜を通過できないため、L-カルニチンと結合したアシル L-カルニチンの状態で膜を通過し、ミトコンドリア内で L-カルニチンは切り離され長鎖脂肪酸は  $\beta$  酸化を受けて代謝される。

カルニチンと結合したタンパク質の構造は現在 9 個、PDB に登録されている。この 9 個のうち 8 個の構造において、リガンドのカルニチンのトリメチルアンモニウム基とタンパク質の結合部位にあるアミノ酸残基の芳香環の間でカチオン $\cdots\pi$ 相互作用を生じる距離が観察された。残りの 1 個の構造 (PDB ID: 1XL8) ではカルニチンと芳香環の距離が 4.23Å で若干離れていたが、結合部位には芳香環が存在していた。相対的な位置関係のパターンは大まかに 2 つに分けられる。カルニチンのカルボキシ基を上、トリメチルアンモニウム基を下になるようにして観察した場合、1 つ目のパターンは、トリメチルアンモニウム基の下に 1 つの芳香環があり、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用をしている (PDB ID: 3PPO 以外) (図 3.1 (A))。2 つ目のパターンはトリメチルアンモニウム基の横に取り囲むように 4 つの芳香環が配置され、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用をしている (PDB ID: 3PPO) (図 3.1 (B))。

由来する種もアミノ酸配列も触媒する反応もさまざまであるが、カルニチンのトリメチルアンモニウム基の結合部位には必ず芳香環が存在し、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用が分子認識に重要な役割を担っていると考えられる。

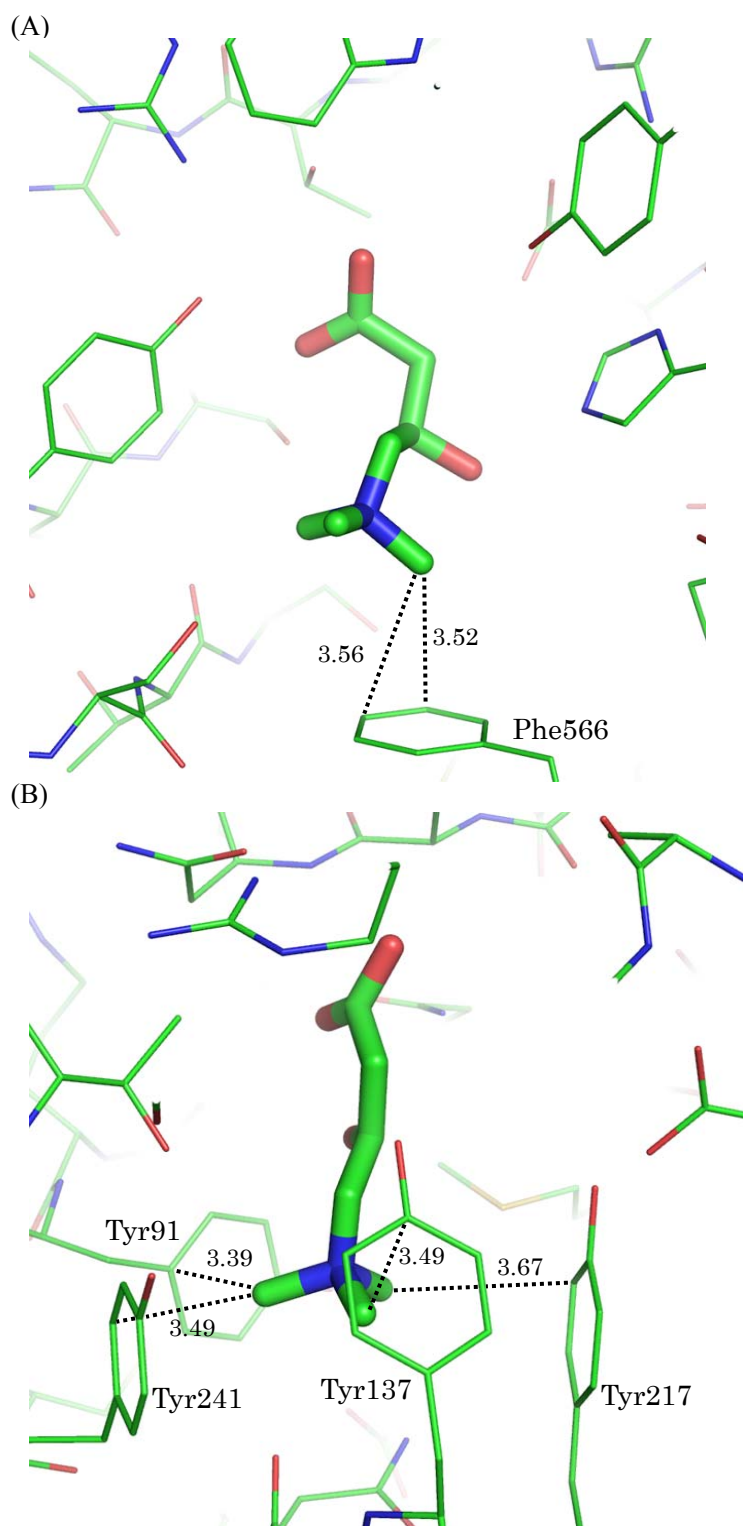


図 3.1 (A) カルニチンアセチルトランスフェラーゼ (PDB ID: 1NDF) の L-カルニチン結合部位 (B) ABC トランスポーター (PDB ID: 3PPO) の D-カルニチン結合構造。点線はカチオン $\cdots\pi$ 相互作用を示す。距離の単位は Å。

### 3. 1. 2 X 線構造解析による結晶構造

PCT, RCT, MRCT と L-カルニチンのそれぞれの複合体の結晶構造を分解能 0.77 Å で決定した。回折実験での測定温度は 295 K であった。L-カルニチンは光学活性分子であるため、結晶は対称中心や鏡面を持たない。このため、他の PCT 複合体でよく見られる *P*-1 の空間群をとることはできず、L-カルニチン複合体結晶の空間群は *P*1 であった。

PCT-L-カルニチン複合体結晶の非対称単位中の構造には 2 分子の PCT と 2 分子の L-カルニチン、結晶化時に溶媒として使用したエタノール 4 分子が含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は異方性温度因子で精密化した。水素原子は反射点/精密化パラメーターの比が小さくなり、精密化結果が不安定になるので、構造に含まれていない。1 分子の L-カルニチンのトリメチルアンモニウム基が 1 分子の PCT のベンゼン環に囲まれた窪みに結合し、PCT を host、L-カルニチンを guest とすると、1 組の host-guest 複合体を形成している。PCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子が加わり、非対称単位中の結晶構造を形成している。2 つの L-カルニチン分子は水酸基とカルボキシル基の間で水素結合を形成している。1 つの L-カルニチン分子のカルボキシル基は PCT の水酸基と水素結合を形成しているが、もう 1 つの L-カルニチン分子は対になっている PCT とは O-H...O の水素結合を形成しておらず、水酸基が PCT のベンゼン環と 3.00 Å の距離にあり、O-H... $\pi$  の水素結合を形成していると考えられる。2 つの L-カルニチン分子のトリメチルアンモニウム基はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン... $\pi$  相互作用が強く反映された結果だと考えられる。カチオン... $\pi$  相互作用を示す結晶構造はこれまでもいくつも報告されているが、このように対象としている基に他の強い水素結合が形成されていない構造はほとんどないため、今回の構造はカチオン... $\pi$  相互作用の正確な構造的データを得る上で貴重な結果である。非対称単位中の構造を図 3. 2 に、形成される強い水素結合距離を表 3. 1 に、カチオン... $\pi$  相互作用をしている可能性があるトリメチルアンモニウム基と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 3. 2 に示した。

RCT-L-カルニチン複合体結晶の非対称単位中の構造には 2 分子の RCT と 2 分子の L-カルニチン、溶媒に使用したエタノールが 1 分子と水が 6 分子含まれていた。非水素原子のうち、最終的には RCT と L-カルニチンの分子は異方性温度因子で、エタノールと水の分子は等方性温度因子で精密化を行った。水素原子は反射点/精密化パラメーターの比が小さくなり、精密化結果が不安定になるので、構造に含まれていない。上下逆の 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が加わり、非対称単位中の構造を形成している。2 組の host-guest 複合体の相対位置や水素結合パターンは PCT-L-カルニチン複合体とは異なっている。2 つの L-カルニチン分子のうち 1 つは分子内水素結合を水酸基とカルボキシル基の間で形成しているが、もう 1 つは形成しておらず、水酸基が RCT のベンゼン環と 3.17 Å の距離にあり、O-H... $\pi$  の水素結合を形成していると考えられる。2

つのL-カルニチン分子は両方とも host-guest 複合体を形成する RCT 分子とは直接 O-H...O 水素結合を形成しておらず、周辺の RCT 分子や水分子、上下逆の位置にある RCT 分子と O-H...O 水素結合を形成している。2つのL-カルニチン分子のトリメチルアンモニウム基はそれぞれベンゼン環に囲まれた窪みにあり、1つのトリメチルアンモニウム基は周辺の RCT のヒドロキシル基の酸素と 3.19 Å の距離にあり弱い水素結合を形成しているが、それ以外の水素結合は観察されなかった。これは今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン... $\pi$  相互作用が強く反映された結果だということを示す。非対称単位中の構造を図 3.3 に、形成される強い水素結合距離を表 3.3 に、カチオン... $\pi$  相互作用をしている可能性があるトリメチルアンモニウム基と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 3.4 に示した。

MRCT-L-カルニチン複合体結晶の非対称単位中の構造には2分子のMRCTと2分子のL-カルニチン、溶媒に使用したエタノールが3分子含まれていた。非水素原子のうち、最終的にはMRCTとL-カルニチンの分子は異方性温度因子で、エタノール分子は等方性温度因子で精密化を行った。水素原子は反射点/精密化パラメーターの比が小さくなり、精密化結果が不安定になるので、構造に含まれていない。上下逆の2組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子が加わり、非対称単位中の構造を形成している。2組の host-guest 複合体の相対位置や水素結合パターンは PCT-L-カルニチン複合体とは異なっている。2つのL-カルニチン分子の水酸基は PCT 複合体、RCT 複合体と異なり、強い水素結合も O-H... $\pi$  水素結合も形成していない。2つのL-カルニチン分子は両方とも host-guest 複合体を形成する MRCT 分子とは直接 O-H...O 水素結合を形成しておらず、周辺の MRCT 分子やエタノール分子、上下逆の位置にある MRCT 分子と O-H...O 水素結合を形成している。2つのL-カルニチン分子のトリメチルアンモニウム基はそれぞれベンゼン環に囲まれた窪みにあり、1つのトリメチルアンモニウム基は周辺の MRCT のヒドロキシル基の酸素と 3.17 Å の距離にあり弱い水素結合を形成しているが、それ以外の水素結合は観察されなかった。これは今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン... $\pi$  相互作用が強く反映された結果だということを示す。非対称単位中の構造を図 3.4 に、形成される強い水素結合距離を表 3.5 に、カチオン... $\pi$  相互作用をしている可能性があるトリメチルアンモニウム基と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 3.6 に示した。

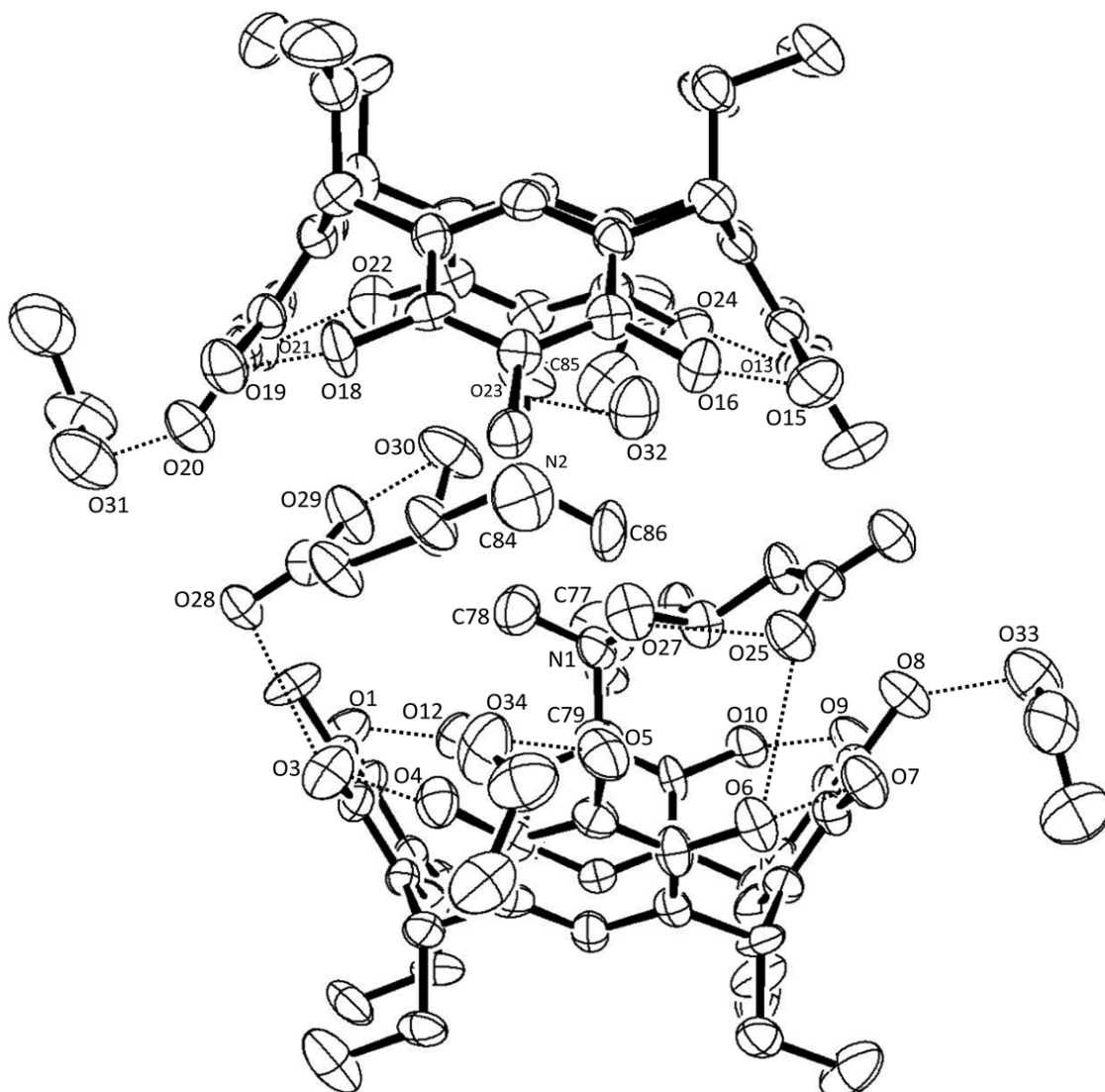


図 3.2 複合体 **1** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3.1 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.647(9)	O13 ... O24	2.776(7)
O3 ... O4	2.739(7)	O15 ... O16	2.634(9)
O3 ... O28	2.951(8)	O18 ... O19	2.805(6)
O5 ... O34	2.646(10)	O20 ... O31	2.697(8)
O6 ... O7	2.736(9)	O21 ... O22	2.819(9)
O6 ... O25	2.907(8)	O23 ... O32	2.606(11)
O8 ... O33	2.775(8)	O29 ... O30	2.668(7)
O9 ... O10	2.771(7)		
O25 ... O27	2.881(7)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O2 ... O16 <sup>a</sup>	2.872(7)	O14 ... O12 <sup>c</sup>	2.874(8)
O9 ... O34 <sup>b</sup>	2.963(9)	O16 ... O2 <sup>c</sup>	2.872(7)
O10 ... O28 <sup>b</sup>	2.709(7)	O16 ... O29 <sup>c</sup>	2.497(7)
O11 ... O26 <sup>a</sup>	2.667(7)	O17 ... O28 <sup>c</sup>	2.697(6)
O11 ... O31 <sup>b</sup>	2.870(8)	O17 ... O33 <sup>d</sup>	2.879(8)
O12 ... O14 <sup>a</sup>	2.874(8)	O18 ... O26 <sup>d</sup>	2.760(8)
O12 ... O25 <sup>a</sup>	2.503(7)	O19 ... O32 <sup>d</sup>	2.966(9)
O25 ... O12 <sup>c</sup>	2.503(7)	O28 ... O10 <sup>d</sup>	2.709(7)
O26 ... O11 <sup>c</sup>	2.667(7)	O28 ... O17 <sup>a</sup>	2.697(6)
O26 ... O18 <sup>b</sup>	2.760(8)	O29 ... O16 <sup>a</sup>	2.497(7)
O31 ... O11 <sup>d</sup>	2.870(8)		
O32 ... O19 <sup>b</sup>	2.966(9)		
O33 ... O17 <sup>b</sup>	2.879(8)		
O34 ... O9 <sup>d</sup>	2.963(9)		

a: x, -1+y, z; b: -1+x, y, z; c: x, 1+y, z; d: 1+x, y, z

表 3.2 C-H $\cdots\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)	面中心 ... C	距離(Å)
A ... C78	3.721	E ... C86	3.615
B ... C77	3.762	F ... C86	3.742
C ... C78	3.628	G ... C86	3.628
D ... C78	3.616	H ... C84	3.763
面 ... C	垂直距離(Å)	面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C79	3.645	E ... C86	3.585
B ... C77	3.610	F ... C86	3.551
C ... C78	3.588	G ... C86	3.593
D ... C78	3.520	H ... C84	3.604

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基, E: C37, C38, C39, C40, C41, C42 で構成されるフェニル基, F: C44, C45, C46, C47, C48, C49 で構成されるフェニル基, G: C52, C53, C54, C55, C56, C57 で構成されるフェニル基, H: C58, C59, C60, C61, C62, C63 で構成されるフェニル基



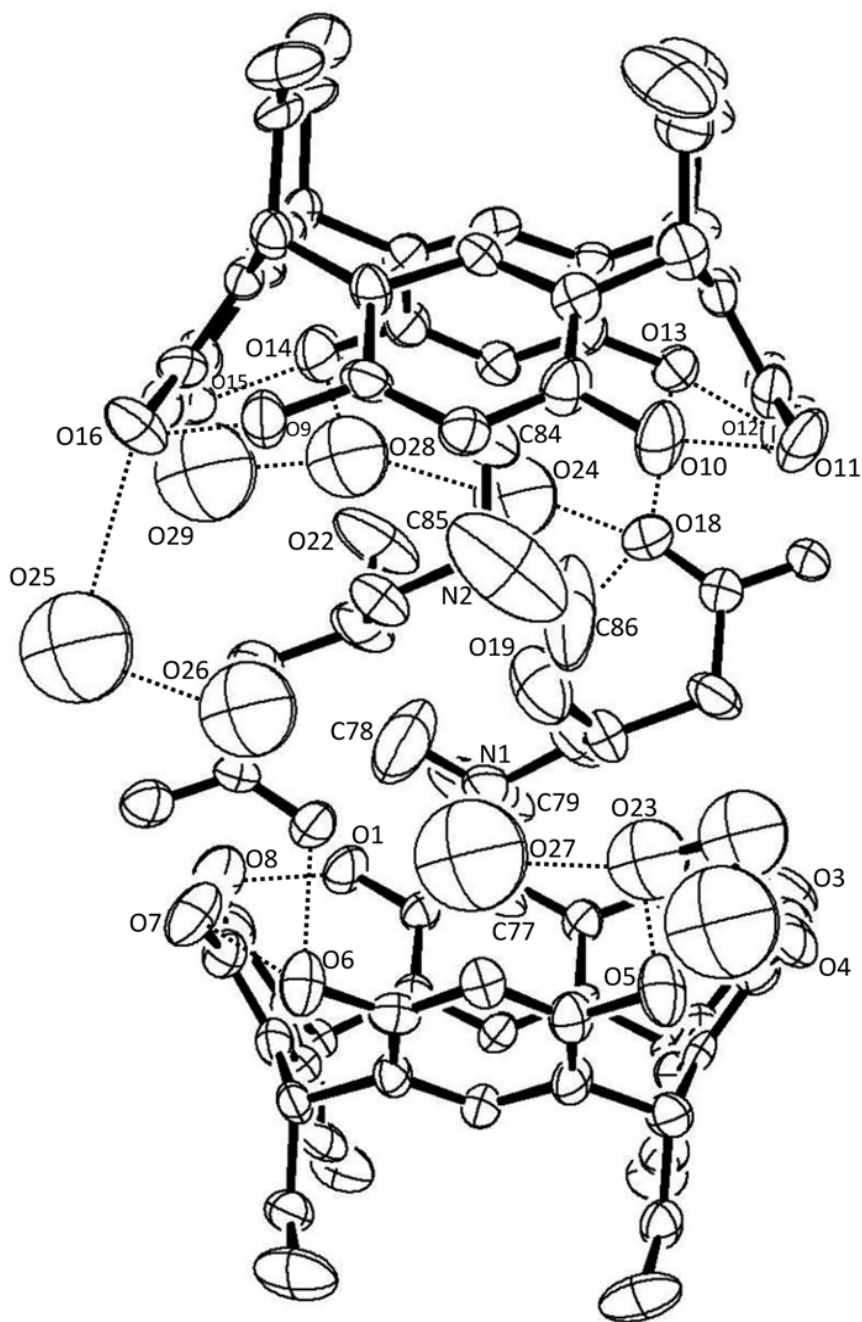


図 3.3 複合体 **2** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3.3 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O8	2.757(8)	O9 ... O16	2.723(7)
O2 ... O3	2.746(8)	O10 ... O11	2.726(7)
O4 ... O5	2.749(7)	O12 ... O13	2.761(7)
O5 ... O23	2.639(10)	O14 ... O15	2.762(8)
O6 ... O7	2.770(8)	O14 ... O28	2.721(11)
O18 ... O19	2.777(9)	O16 ... O25	2.895(17)
O18 ... O13	2.636(8)	O21 ... O6	2.631(7)
O18 ... O24	2.982(13)		
O23 ... O27	2.881(19)		
O25 ... O26	2.340(19)		
O28 ... O24	2.629(15)		
O28 ... O29	2.157(19)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O2 ... O20 <sup>a</sup>	2.618(6)	O9 ... O17 <sup>d</sup>	2.656(7)
O8 ... O17 <sup>b</sup>	2.564(8)	O11 ... O20 <sup>c</sup>	2.621(6)
O17 ... O8 <sup>c</sup>	2.564(8)	O20 ... O2 <sup>d</sup>	2.618(6)
O17 ... O9 <sup>a</sup>	2.656(7)	O20 ... O11 <sup>b</sup>	2.621(6)
O24 ... O25 <sup>a</sup>	2.66(2)		
O25 ... O24 <sup>d</sup>	2.66(2)		

a: x, 1+y, z; b: -1+x, y, z; c: 1+x, y, z; d: x, -1+y, z

表 3.4 C-H $\cdots\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)	面中心 ... C	距離(Å)
A ... C79	3.538	E ... C85	3.798
B ... C77	3.818	F ... C84	3.631
C ... C77	3.333	G ... C84	3.406
D ... C77	3.673	H ... C84	3.782
面 ... C	垂直距離(Å)	面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C79	3.478	E ... C85	3.691
B ... C77	3.701	F ... C84	3.553
C ... C77	3.268	G ... C84	3.311
D ... C77	3.583	H ... C84	3.680

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基, E: C37, C38, C39, C40, C41, C42 で構成されるフェニル基, F: C44, C45, C46, C47, C48, C49 で構成されるフェニル基, G: C52, C53, C54, C55, C56, C57 で構成されるフェニル基, H: C58, C59, C60, C61, C62, C63 で構成されるフェニル基

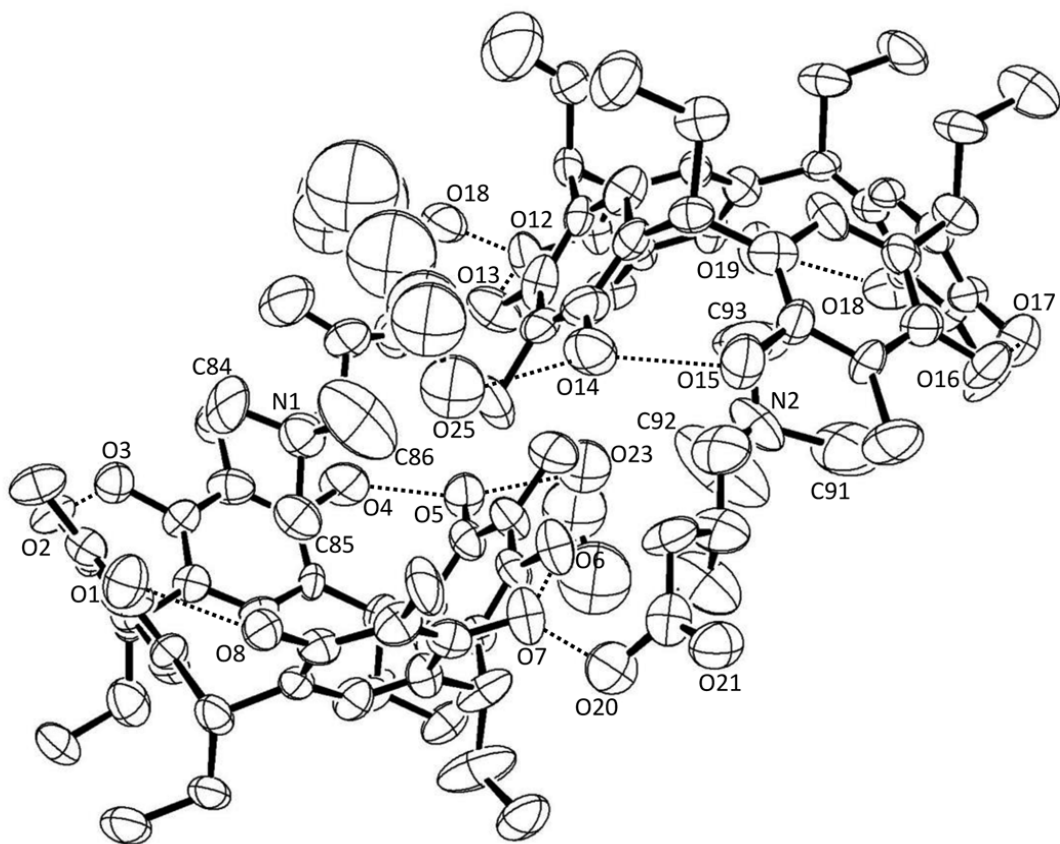


図 3.4 複合体 **3** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3.5 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O8	2.780(11)	O9 ... O16	2.687(12)
O2 ... O3	2.761(12)	O10 ... O11	2.779(11)
O4 ... O5	2.710(12)	O12 ... O13	2.689(12)
O5 ... O23	2.710(14)	O14 ... O15	2.769(12)
O6 ... O7	2.741(12)	O14 ... O25	2.648(14)
O7 ... O20	2.585(11)		
O18 ... O12	2.652(12)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O2 ... O21 <sup>a</sup>	2.607(10)	O9 ... O17 <sup>d</sup>	2.607(11)
O8 ... O17 <sup>b</sup>	2.721(10)	O11 ... O21 <sup>c</sup>	2.861(11)
O17 ... O8 <sup>c</sup>	2.721(10)	O20 ... O23 <sup>b</sup>	2.810(14)
O17 ... O9 <sup>a</sup>	2.607(11)	O21 ... O2 <sup>d</sup>	2.607(10)
O18 ... O25 <sup>c</sup>	2.888(14)	O21 ... O11 <sup>b</sup>	2.861(11)
O23 ... O20 <sup>c</sup>	2.810(14)		
O25 ... O18 <sup>b</sup>	2.888(14)		

a: -1+x, -1+y, z; b: 1+x, y, z; c: -1+x, y, z; d: 1+x, 1+y, z

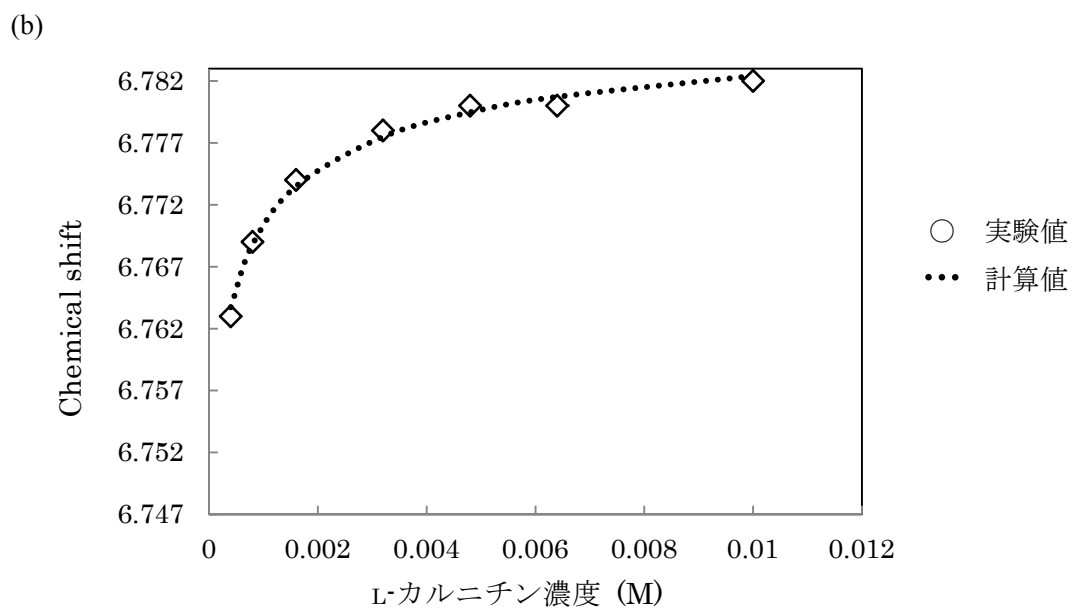
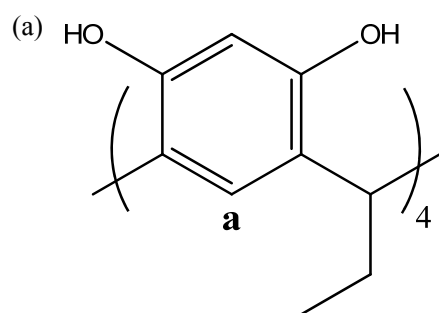
表 3.6 C-H $\cdots\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)	面中心 ... C	距離(Å)
A ... C86	3.523	E ... C94	3.539
B ... C86	3.767	F ... C94	3.885
C ... C86	3.753	G ... C94	3.826
D ... C86	4.053	H ... C94	4.059
面 ... C	垂直距離(Å)	面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C86	3.458	E ... C92	3.351
B ... C86	3.538	F ... C94	3.664
C ... C86	3.713	G ... C94	3.771
D ... C86	3.782	H ... C94	3.853

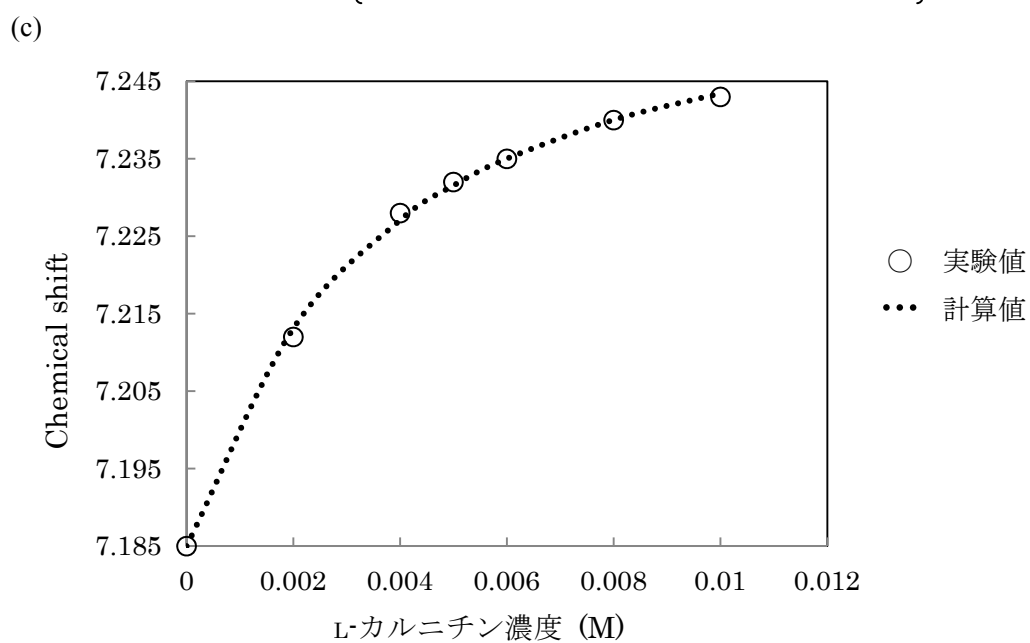
A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C102 で構成されるフェニル基, D: C21, C22, C23, C24, C25, C26 で構成されるフェニル基, E: C40, C41, C42, C43, C44, C45 で構成されるフェニル基, F: C47, C48, C49, C50, C51, C52 で構成されるフェニル基, G: C54, C55, C56, C57, C58, C59 で構成されるフェニル基, H: C61, C62, C63, C64, C65, C66 で構成されるフェニル基

### 3. 1. 3 NMR 測定による溶液中のカチオン… $\pi$ 相互作用

L-カルニチンと PCT, RCT の溶液中での結合の確認と結合定数を求めるため、NMR 滴定実験または希釈実験を行った。結合定数が大きい場合は希釈実験の方が正確に値を計算することができる。PCT, RCT の Ha のプロトン (図 3. 5(a)) の chemical shift 値  $\delta$  はそれぞれ 6.747 ppm, 7.185 ppm であった。guest 分子と host-guest 複合体を形成すると、この値が低磁場側にシフトすることが知られている[23]。溶媒は CD<sub>3</sub>OD を使用し、NMR 滴定法では RCT 濃度を 1.0 mM に固定して、L-カルニチン濃度を 0 mM から 10 mM に変化させて <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) を測定した。希釈法では PCT と L-カルニチンの濃度がともに 10 mM の溶液を調製し、その溶液を溶媒で希釈して 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4 mM の溶液を調製し、<sup>1</sup>H NMR (400 MHz) を測定した。Ha プロトンの chemical shift 値の低磁場側への shift が確認された (図 3. 5 (b), (c))。また、Schneider らの方法[29]により host:guest が 1:1 で結合すると仮定した場合の結合定数を求めた。Fitting Equation より、L-カルニチンと PCT, RCT の結合定数はそれぞれ  $2591.4 \pm 298.3 \text{ M}^{-1}$ ,  $358.0 \pm 15.6 \text{ M}^{-1}$  となった。



$$\delta = \delta_H + \Delta\delta \left[ 1 + \frac{1}{2K_{II}C_0} - \sqrt{\left(\frac{1}{2K_{II}C_0}\right)^2 + \left(\frac{1}{K_{II}C_0}\right)} \right]$$





$$\delta = \delta_H + \frac{\Delta\delta}{2H_0} \left[ \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 - \sqrt{\left(\frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0\right)^2 - 4H_0G_0} \right]$$

図 3.5  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) 滴定実験 (a) chemical shift 値の変化を測定した RCT 分子内のプロトンの位置 (b) L-カルニチン結合による PCT Ha の chemical shift 値の変化と結合定数計算に使用した NMR 希釈法の式[29]。結合定数は  $2591.4 \pm 298.3 \text{ M}^{-1}$  であった。(c) L-カルニチン結合による RCT Ha の chemical shift 値の変化と結合定数計算に使用した NMR 滴定法の式[29]。結合定数は  $358.0 \pm 15.6 \text{ M}^{-1}$  であった。

## 3.2 ベタイン複合体

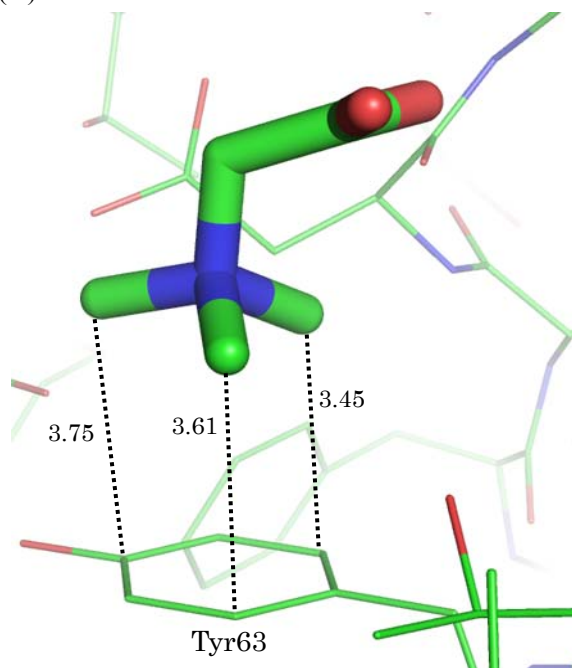
### 3.2.1 序

グリシンベタイン (ベタイン) はトリメチルアンモニウム基とカルボキシ基が 1 つの炭素に結合している分子である。酵素反応における主な役割としては、L-ホモシステインから L-メチオニンを生成する際にメチル基を供与する働きがあることが知られている。

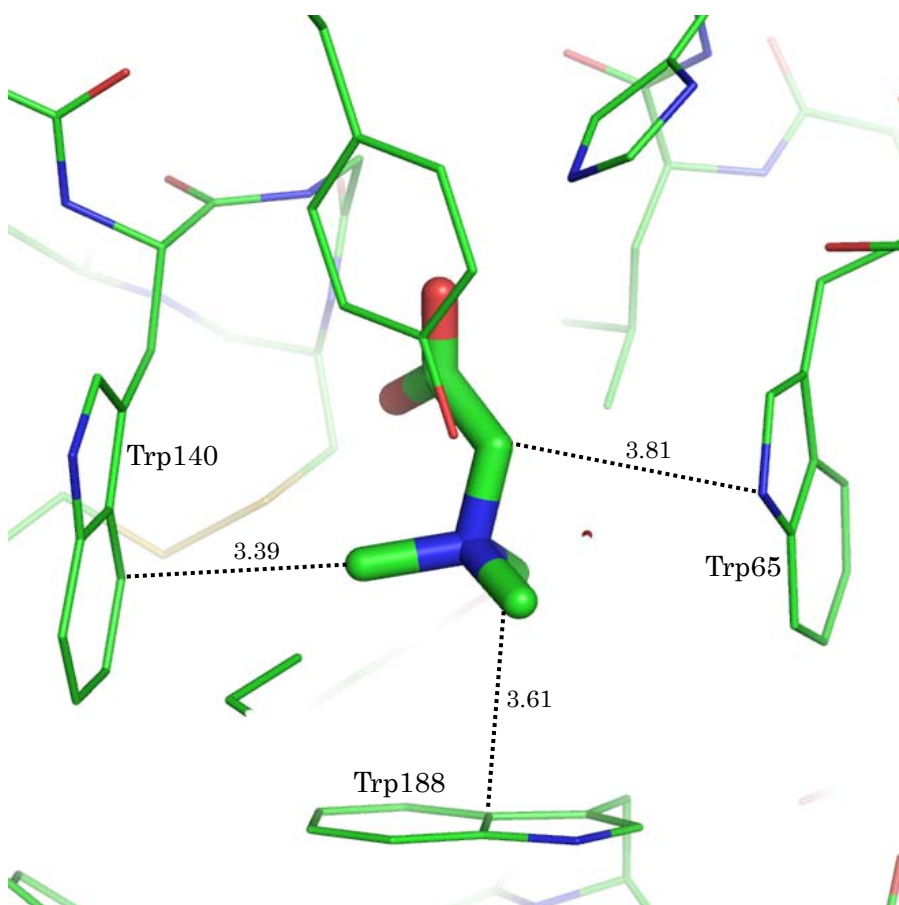
ベタインと結合したタンパク質の構造は現在 18 個、PDB に登録されている。このうちベタインがクライオプロテクタントや pH 緩衝剤として使用され、結晶構造中でタンパク質分子表面にベタインが付着している 8 個の構造 (PDB ID: 1WWJ, 1RCC, 1RCD, 1RCE, 1RCG, 1RCI, 3T27, 3T2J) を除けば、全てのトリメチルアンモニウム基結合部位にタンパク質アミノ酸残基の芳香環が存在していた。そのうちの 9 個の構造ではトリメチルアンモニウム基と周りの芳香環がカチオン $\cdots\pi$  相互作用を生じる距離にあった。カチオン $\cdots\pi$  相互作用をしている芳香環の個数で分類すると、芳香環が 1 つの構造が 1 個 (PDB ID: 3MAM)、芳香環が 3 つの構造が 5 個 (PDB ID: 1R9L, 2B4L, 4AIN, 3TMG, 3L6H)、芳香環が 4 つの構造が 3 個 (PDB ID: 3PPP, 1SW2, 2WIT) であった。それぞれの代表的な構造を図 3.6 に示した。

ベタインがリガンドとして結合したタンパク質は由来する種もアミノ酸配列も触媒する反応もさまざまであるが、トリメチルアンモニウム基の結合部位には必ず芳香環が存在し、カチオン $\cdots\pi$  相互作用が分子認識に重要な役割を担っていると考えられる。

(A)



(B)



(C)

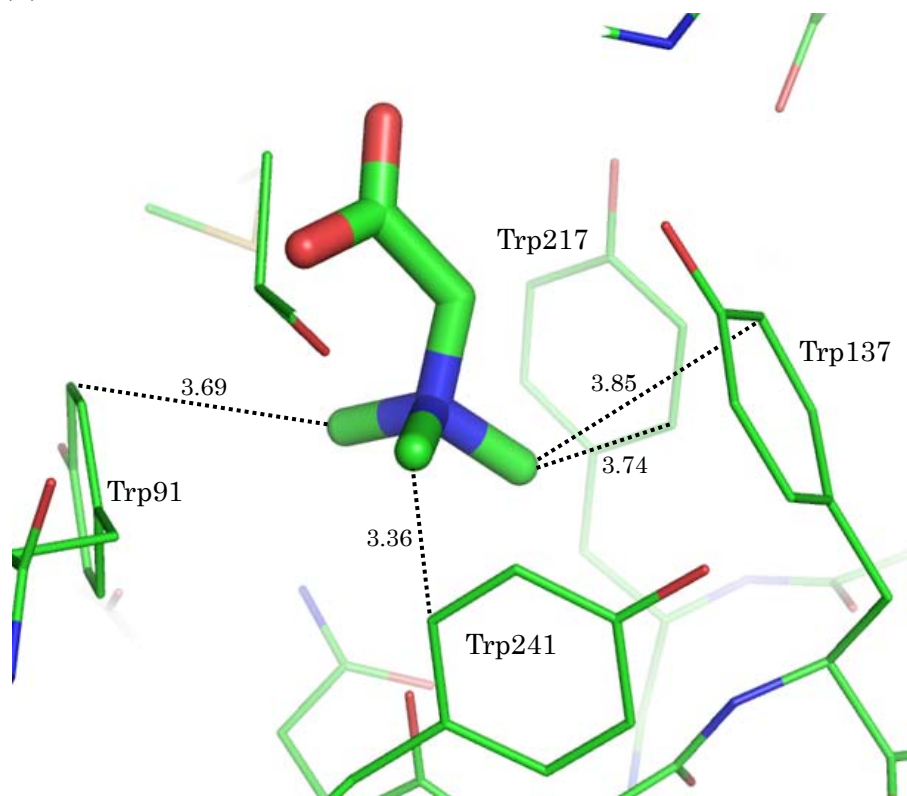


図 3.6 ベタインのトリメチルアンモニウム基とカチオン… $\pi$ 相互作用をしている芳香環が (A) 1つの構造 (PDB ID: 3MAM)、(B) 3つの構造 (PDB ID: 1R9L)、(C) 4つの構造 (PDB ID: 3PPP)。点線はカチオン… $\pi$ 相互作用を示す。距離の単位は Å。

### 3.2.2 X線構造解析による結晶構造

PCT 又は RCT とベタインとの複合体の結晶構造を分解能 0.78 Å で決定した。回折実験での測定温度は PCT との複合体結晶が 120 K、RCT との複合体結晶が 107 K であった。ベタインは光学活性分子ではないため、空間群は 2 種類とも、他の PCT, RCT 複合体でよく見られる *P*-1 をとっていた。

PCT-ベタイン複合体結晶の非対称単位中の構造には 1 分子の PCT と 1 分子のベタイン、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが 2 分子、水が 5 分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。水分子以外の水素原子は SHELX の riding mode を用いてモデルに導入し、精密化した。使用した riding mode では水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるように restrain されるが、C-O-H などの C-O の回転自由度は束縛しなかった。水分子の水素原子は位置を特定できなかったため、モデルに加えなかった。1 分子のベタインのトリメチルアンモニウム基が 1 分子の PCT のベンゼン環に囲まれた窪みに結合し、PCT を host、ベタインを guest とすると、1 組の host-guest 複合体を形成している。結晶格子中では、反転の対象操作により、PCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。ベタイン分子のトリメチルアンモニウム基はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には強い水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン… $\pi$  相互作用が強く反映された結果だと考えられる。非対称単位中の構造を図 3.7 に、形成される強い水素結合距離を表 3.7 に、カチオン… $\pi$  相互作用をしている可能性があるトリメチルアンモニウム基と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 3.8 に示した。

RCT-ベタイン複合体結晶の非対称単位中の構造には 1 分子の RCT と 1 分子のベタイン、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが 1 分子、水が 2 分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。水分子以外の水素原子は SHELX の riding mode を用いてモデルに導入し、精密化した。使用した riding mode では水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるように restrain されるが、C-O-H などの C-O の回転自由度は束縛しなかった。水分子の水素原子の位置は差フーリエ図から決定し、束縛なしで精密化した。1 分子のベタインのトリメチルアンモニウム基が 1 分子の RCT のベンゼン環に囲まれた窪みに結合し、RCT を host、ベタインを guest とすると、1 組の host-gest 複合体を形成している。結晶格子中では、反転の対象操作により、RCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。ベタイン分子のトリメチルアンモニウム基はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には強い水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン… $\pi$  相互作用が強く反映された結果だと考えられる。非対称単位中の構造を図 3.8 に、形成される強い水素結合距離を表 3.9 に、カチオン… $\pi$  相互作用をしている可能性があるトリメチ

ルアンモニウム基と周辺の4つのベンゼン環との距離を表3.10に示した。

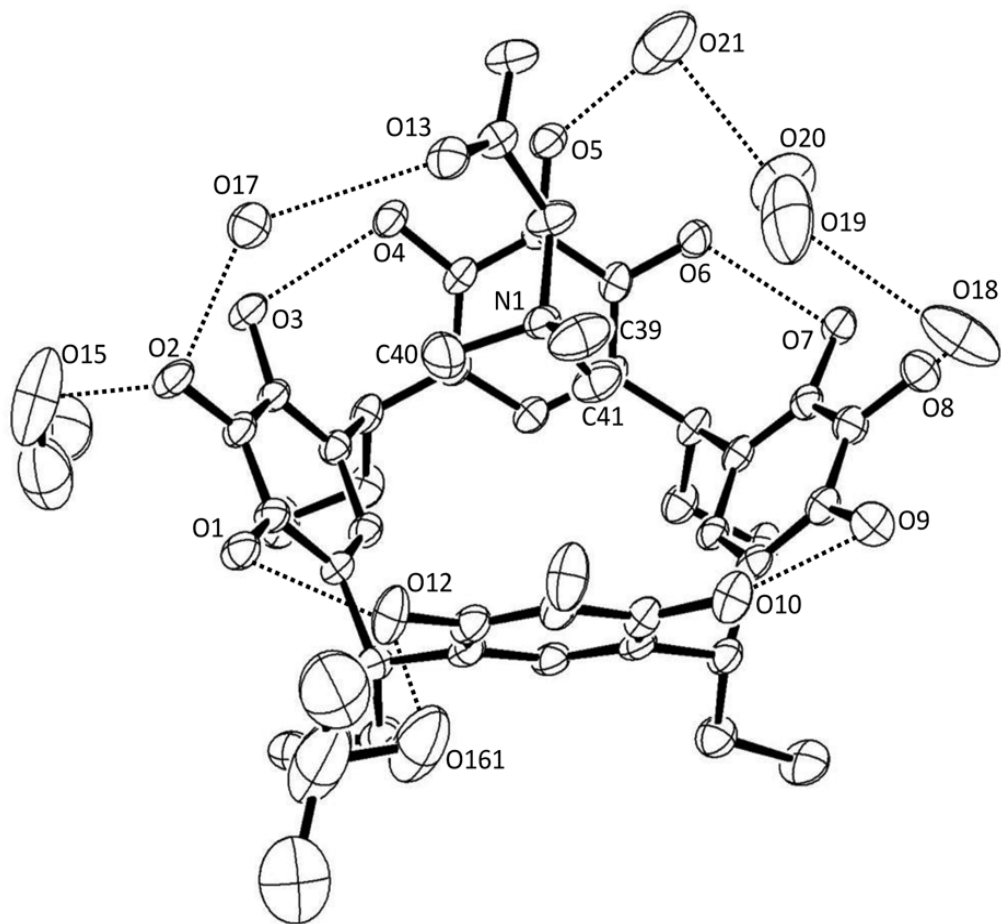


図 3.7 複合体 4 の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3.7 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.689(4)	O18 ... O19	2.888(8)
O2 ... O15	2.652(6)	O19 ... O20	2.565(7)
O2 ... O17	3.031(4)	O20 ... O21	2.693(8)
O3 ... O4	2.770(4)		
O5 ... O21	3.018(7)		
O6 ... O7	2.663(4)		
O8 ... O18	2.803(5)		
O9 ... O10	2.770(4)		
O12 ... O161	2.908(6)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O7 <sup>a</sup>	2.692(4)	O15 ... O161 <sup>g</sup>	2.691(8)
O2 ... O14 <sup>b</sup>	2.880(4)	O161 ... O15 <sup>h</sup>	2.691(8)
O3 ... O14 <sup>b</sup>	2.648(4)	O162 ... O20 <sup>f</sup>	2.581(19)
O4 ... O17 <sup>b</sup>	2.976(4)	O17 ... O4 <sup>b</sup>	2.976(4)
O5 ... O17 <sup>b</sup>	2.769(4)	O17 ... O5 <sup>b</sup>	2.769(4)
O6 ... O21 <sup>c</sup>	2.562(6)	O17 ... O18 <sup>i</sup>	2.768(5)
O7 ... O1 <sup>d</sup>	2.692(2)	O18 ... O7 <sup>e</sup>	3.001(4)
O7 ... O18 <sup>e</sup>	3.001(4)	O18 ... O8 <sup>e</sup>	2.763(5)
O8 ... O18 <sup>e</sup>	2.763(5)	O18 ... O17 <sup>f</sup>	2.768(5)
O10 ... O13 <sup>f</sup>	2.787(4)	O19 ... O11 <sup>f</sup>	2.702(6)
O11 ... O19 <sup>f</sup>	2.702(6)	O20 ... O162 <sup>f</sup>	2.581(19)
O13 ... O10 <sup>f</sup>	2.787(4)	O21 ... O6 <sup>c</sup>	2.562(6)
O14 ... O2 <sup>b</sup>	2.880(4)		
O14 ... O3 <sup>b</sup>	2.648(4)		

a: x, 1+y, z; b: -x, -y, 1-z; c: -x, -1-y, 1-z; d: x, -1+y, z; e: 1-x, -1-y, 1-z; f: 1-x, -y, 1-z; g: -1+x, y, z;  
h: 1+x, y, z; i: 1-x, -y, 1-z;



表 3.8 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C40	3.156
B ... C41	3.562
C ... C41	3.339
D ... C41	3.866
面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C40	3.123
B ... C41	3.512
C ... C41	3.268
D ... C39	3.584

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

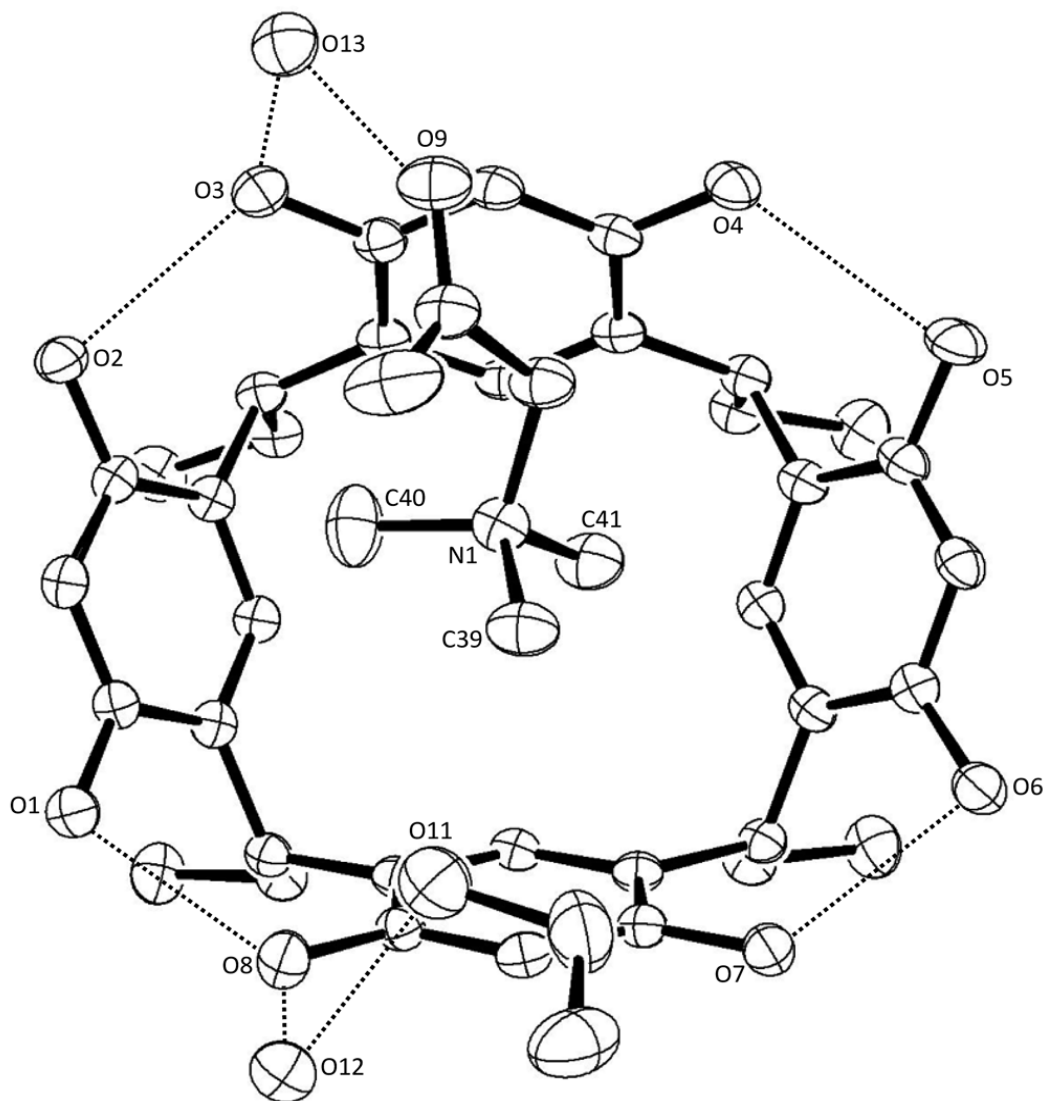


図 3.8 複合体 **5** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3.9 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O8	2.663(3)	O11 ... O12	2.711(3)
O2 ... O3	2.677(3)		
O3 ... O13	2.655(3)		
O4 ... O5	2.779(3)		
O6 ... O7	2.733(3)		
O8 ... O12	2.771(3)		
O9 ... O13	2.771(3)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O10 <sup>a</sup>	2.599(3)	O11 ... O2 <sup>a</sup>	2.796(3)
O2 ... O11 <sup>a</sup>	2.796(3)	O12 ... O7 <sup>c</sup>	2.649(3)
O4 ... O9 <sup>b</sup>	2.639(3)	O12 ... O13 <sup>a</sup>	2.835(3)
O7 ... O12 <sup>c</sup>	2.649(3)	O13 ... O12 <sup>a</sup>	2.835(3)
O9 ... O4 <sup>b</sup>	2.639(3)		
O10 ... O1 <sup>a</sup>	2.599(3)		

a: -x, 1-y, 2-z; b: 1-x, 1-y, 2-z; c: -x, -y, 2-z

表 3. 10 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C40	3.323
B ... C41	3.898
C ... C41	3.350
D ... C41	3.710

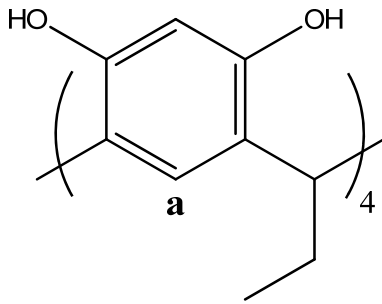
面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C40	3.258
B ... C38	3.655
C ... C41	3.301
D ... C41	3.636

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

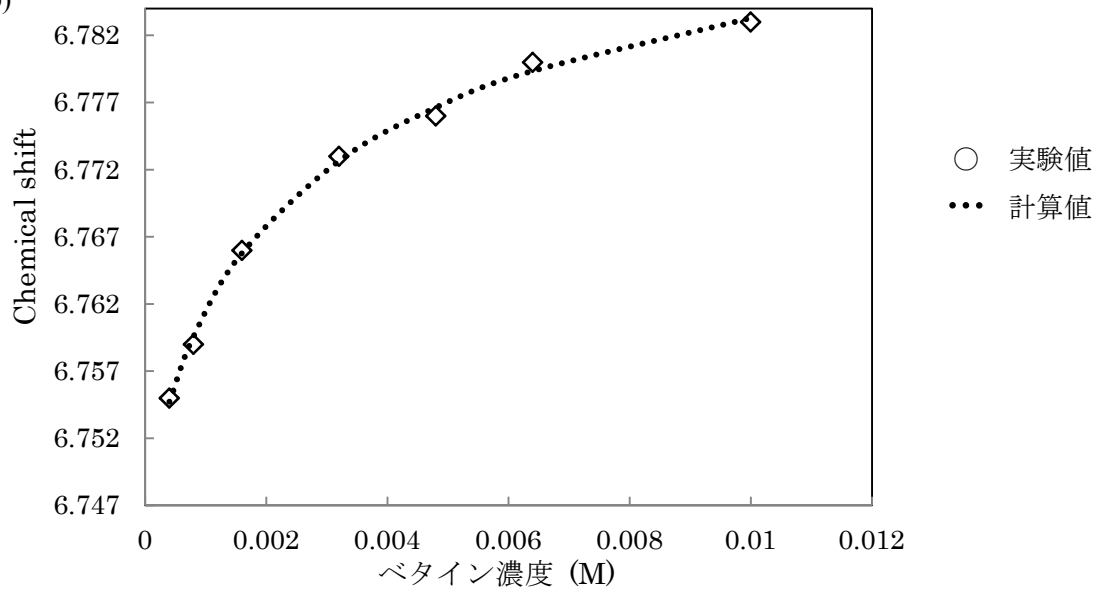
### 3.2.3 NMR 測定による溶液中のカチオン… $\pi$ 相互作用

ベタインと PCT, RCT の溶液中での結合の確認と結合定数を求めるため、NMR 滴定実験又は希釈実験を行った。結合定数が大きい場合は希釈実験の方が正確に値を計算することができる。PCT, RCT の Ha のプロトン(図 3.9 (a))の chemical shift 値  $\delta$  はそれぞれ 6.747 ppm, 7.185 ppm であった。guest 分子と host-guest 複合体を形成すると、この値が低磁場側にシフトすることが知られている[23]。溶媒は CD<sub>3</sub>OD を使用し、NMR 滴定法では RCT 濃度を 1.0 mM に固定して、ベタイン濃度を 0 mM から 10 mM に変化させて <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) を測定した。希釈法では PCT と L-カルニチンの濃度がともに 10 mM の溶液を調製し、その溶液を溶媒で希釈して 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4 mM の溶液を調製し、<sup>1</sup>H NMR(400 MHz)を測定した。Ha プロトンの chemical shift 値の低磁場側への shift が確認された(図 3.9 (b), (c))。また、Schneider らの方法[29]により host:guest が 1:1 で結合すると仮定した場合の結合定数を求めた。Fitting Equation より、ベタインと PCT, RCT の結合定数はそれぞれ  $441.6 \pm 25.3 \text{ M}^{-1}$ ,  $80.2 \pm 8.3 \text{ M}^{-1}$  となった。

(a)

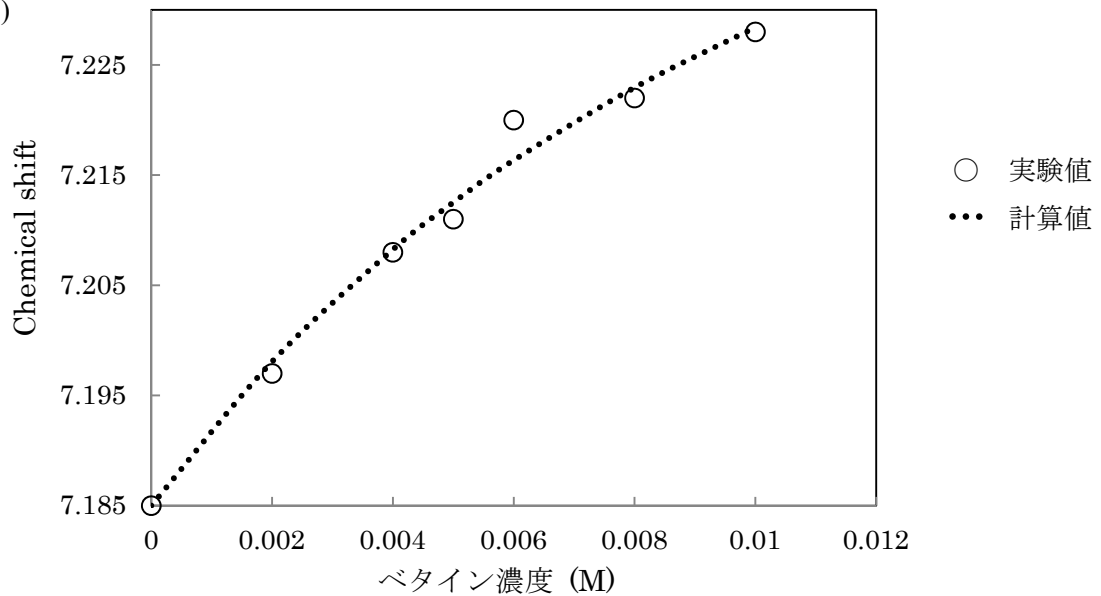


(b)



$$\delta = \delta_H + \Delta\delta \left[ 1 + \frac{1}{2K_{II}C_0} - \sqrt{\left(\frac{1}{2K_{II}C_0}\right)^2 + \left(\frac{1}{K_{II}C_0}\right)} \right]$$

(c)



$$\delta = \delta_H + \frac{\Delta\delta}{2H_0} \left[ \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 - \sqrt{\left(\frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0\right)^2 - 4H_0G_0} \right]$$

図 3.9  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) 滴定実験 (a) chemical shift 値の変化を測定した RCT 分子内のプロトンの位置 (b) ベタイン結合時の PCT Ha の chemical shift 値の変化と結合定数計算に使用した NMR 希釈法の式[29]。結合定数は  $441.6 \pm 25.3 \text{ M}^{-1}$  であった。(c) ベタイン結合時の RCT Ha の chemical shift 値の変化と結合定数計算に使用した NMR 滴定法の式[29]。結合定数は  $80.2 \pm 8.3 \text{ M}^{-1}$  であった。

### 3.3 ホスホコリン複合体

#### 3.3.1 序

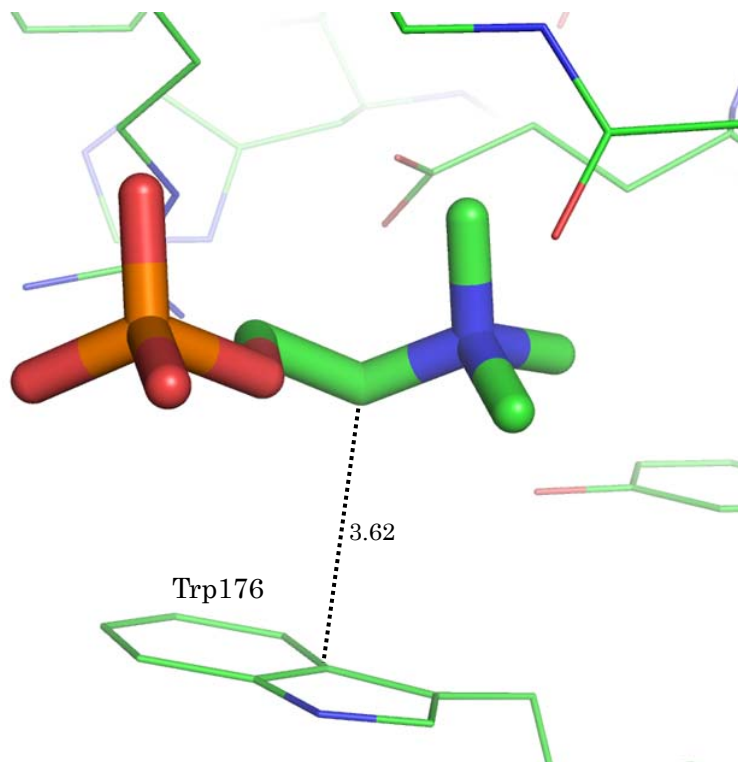
ホスホコリンはトリメチルアンモニウム基とリン酸基を持つ分子である。ホスホコリンはホスファチジルコリン合成経路で ATP からコリンにリン酸基が転移して合成される。また、ホスホリパーゼ C によるスフィンゴミエリンやホスファチジルコリンの分解経路の中でも生じる。

ホスホコリンと結合したタンパク質の構造は現在 9 個、PDB に登録されている。この 9 個全ての構造において、ホスホコリンのトリメチルアンモニウム基とタンパク質の結合部位にあるアミノ酸残基の芳香環の間でカチオン… $\pi$  相互作用を生じる距離が観察された。結合部位の芳香環の数が 1 つの構造は 5 個 (PDB ID: 2X6C, 1WRA, 2B1B, 1B09, 3LKF) あり、芳香環の数が 2 つの構造は 3 個 (PDB ID: 1H8P, 1O72, 2MCP)、芳香環の数が 3 つの構造は 1 個 (PDB ID: 2CKQ) あった。代表的な構造を図 3.10 に示す。

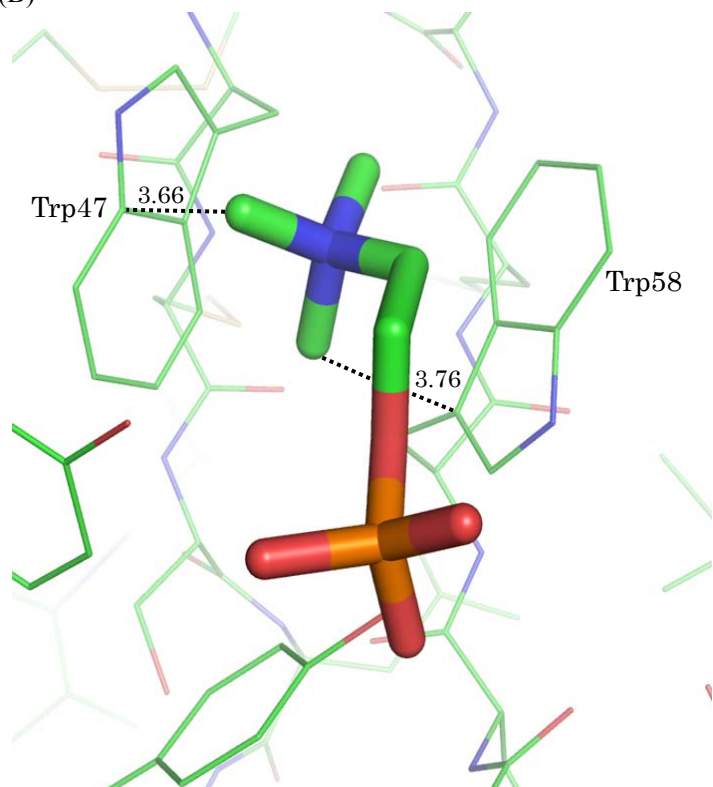
由来する種もアミノ酸配列も触媒する反応もさまざまであるが、ホスホコリンのトリメチルアンモニウム基の結合部位には必ず芳香環が存在し、カチオン… $\pi$  相互作用が分子認識に重要な役割を担っていると考えられる。



(A)



(B)



(C)

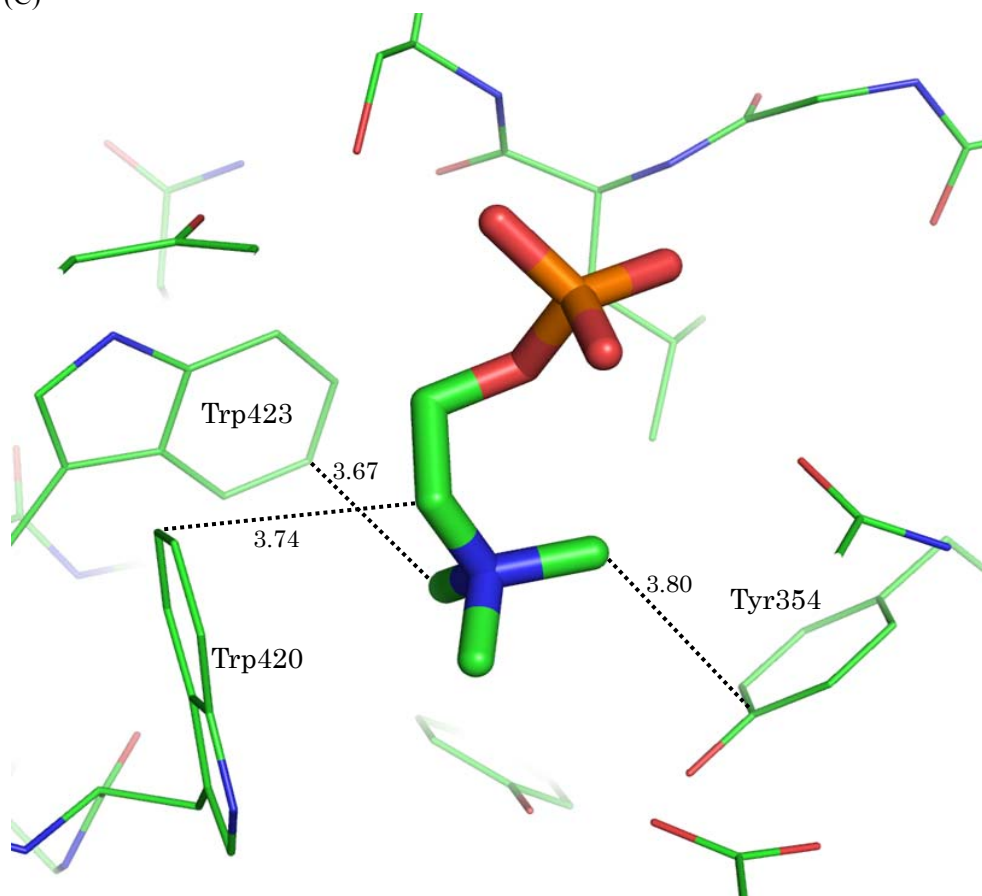


図 3. 10 ホスホコリンのトリメチルアンモニウム基とカチオン… $\pi$  相互作用をしている芳香環が(A) 1 つの構造 (PDB ID: 3LKF)、(B) 2 つの構造 (PDB ID: 1H8P)、(C) 3 つの構造 (PDB ID: 2CKQ)。点線はカチオン… $\pi$  相互作用を示す。距離の単位は Å。

### 3.3.2 X線構造解析による結晶構造

PCT とホスホコリンとの複合体の結晶構造を分解能 0.74 Å で決定した。回折実験での測定温度は 296 K であった。ホスホコリンは光学活性分子ではないため、空間群は  $C2/c$  をとっていた。非対称単位中の構造には 1 分子の PCT と 1 分子のホスホコリン、ホスホコリンのカウンターイオンとして試薬に含まれていたカルシウムイオンが 0.5 分子、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが 1 分子、水が 4 分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。ホスホコリン分子のトリメチルアンモニウム基は **disorder** により 2 つの構造をとり、その占有率は 0.8 と 0.2 であった。PCT の水素原子は差フーリエ図から位置を決定し、束縛を加えずに精密化した。メチル基の 1 つの水素原子は安定的に精密化できなかつたため、最終的なモデルに加えなかつた。PCT 以外の水素原子は位置を特定できなかつたため、モデルに加えなかつた。1 分子のホスホコリンのトリメチルアンモニウム基が 1 分子の PCT のベンゼン環に囲まれた窪みに結合し、PCT を **host**、ホスホコリンを **guest** とすると、1 組の **host-guest** 複合体を形成している。結晶格子中では、映進面の対象操作により、PCT 分子が上下逆向きの 2 組の **host-guest** 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。ホスホコリン分子のトリメチルアンモニウム基はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には強い水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたトリメチルアンモニウム基とベンゼン環の相対的な構造は、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用が強く反映された結果だと考えられる。非対称単位中の構造を図 3.11 に、形成される強い水素結合距離を表 3.11 に、カチオン $\cdots\pi$ 相互作用をしている可能性があるトリメチルアンモニウム基と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 3.12 に示した。

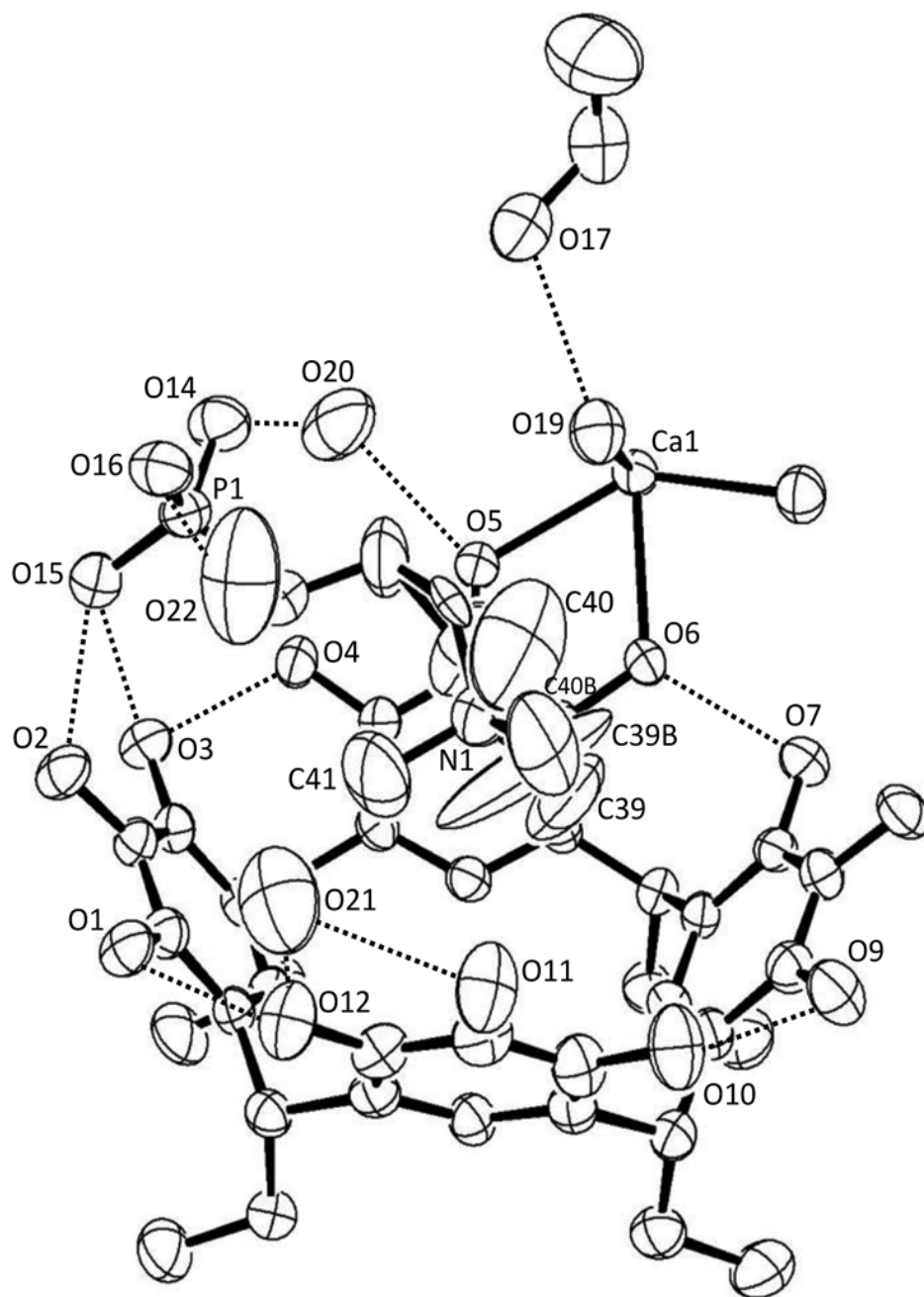


図 3.11 複合体 **6** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、トリメチルアンモニウム基の原子名も表示した。

表 3. 11 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.735(5)	O17 ... O19	2.880(6)
O2 ... O15	2.702(5)		
O3 ... O15	2.577(5)		
O3 ... O4	2.770(5)		
O5 ... O20	2.651(7)		
O6 ... O7	2.816(5)		
O9 ... O10	2.730(6)		
O11 ... O21	3.036(8)		
O12 ... O21	3.030(7)		
O14 ... O20	2.681(7)		
O16 ... O22	2.858(8)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O7 <sup>a</sup>	2.777(5)	O17 ... O9 <sup>f</sup>	2.755(6)
O4 ... O11 <sup>b</sup>	3.032(6)	O17 ... O21 <sup>g</sup>	2.749(8)
O7 ... O16 <sup>c</sup>	2.576(5)	O18 ... O16 <sup>c</sup>	2.691(5)
O7 ... O1 <sup>d</sup>	2.777(5)	O18 ... O16 <sup>d</sup>	2.691(5)
O8 ... O14 <sup>c</sup>	2.589(5)	O19 ... O15 <sup>c</sup>	2.727(5)
O8 ... O21 <sup>d</sup>	2.905(8)	O21 ... O8 <sup>a</sup>	2.905(8)
O9 ... O17 <sup>c</sup>	2.755(6)	O21 ... O17 <sup>g</sup>	2.749(8)
O11 ... O4 <sup>e</sup>	3.032(6)	O22 ... O16 <sup>g</sup>	2.858(8)
O14 ... O8 <sup>c</sup>	2.589(5)		
O15 ... O19 <sup>a</sup>	2.727(5)		
O16 ... O18 <sup>a</sup>	2.691(5)		

a:  $-1/2+x, 1/2+y, z$ ; b:  $1/2+x, 1/2+y, z$ ; c:  $1.5-x, -1/2+y, 1/2-z$ ; d:  $1/2+x, -1/2+y, z$ ; e:  $-1/2+x, -1/2+y, z$ ; f:  $1.5-x, 1/2+y, 1/2-z$ ; g:  $1-x, y, 1/2-z$

表 3. 12 C-H $\cdots\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C41	3.514
B ... C39B	3.690
C ... C39	3.318
D ... C39	3.782
面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C41	3.350
B ... C38	3.583
C ... C39	3.311
D ... C40B	3.542

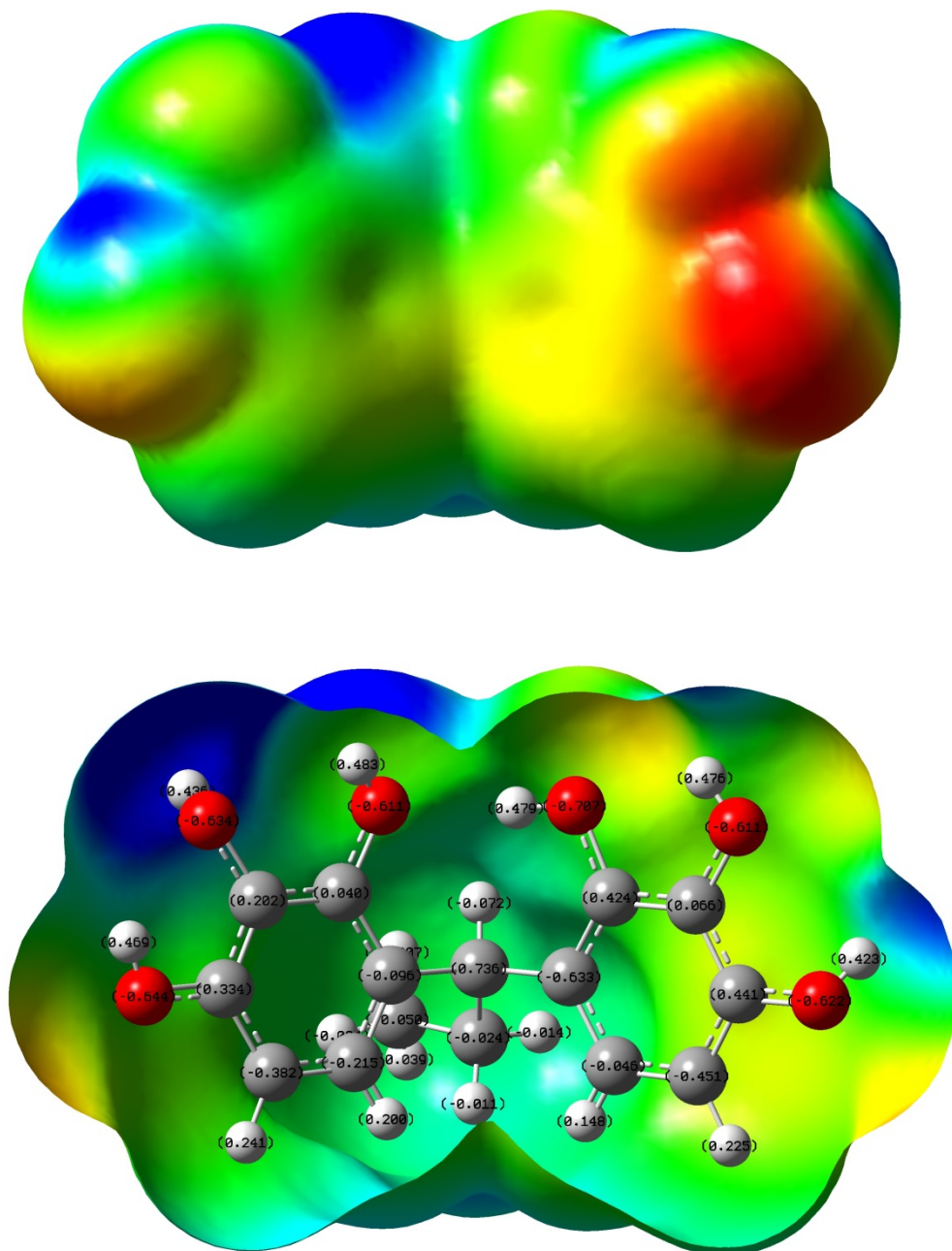
A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

### 3.4 非経験的分子軌道法による計算

#### 3.4.1 PCT、RCT と MRCT の電荷分布

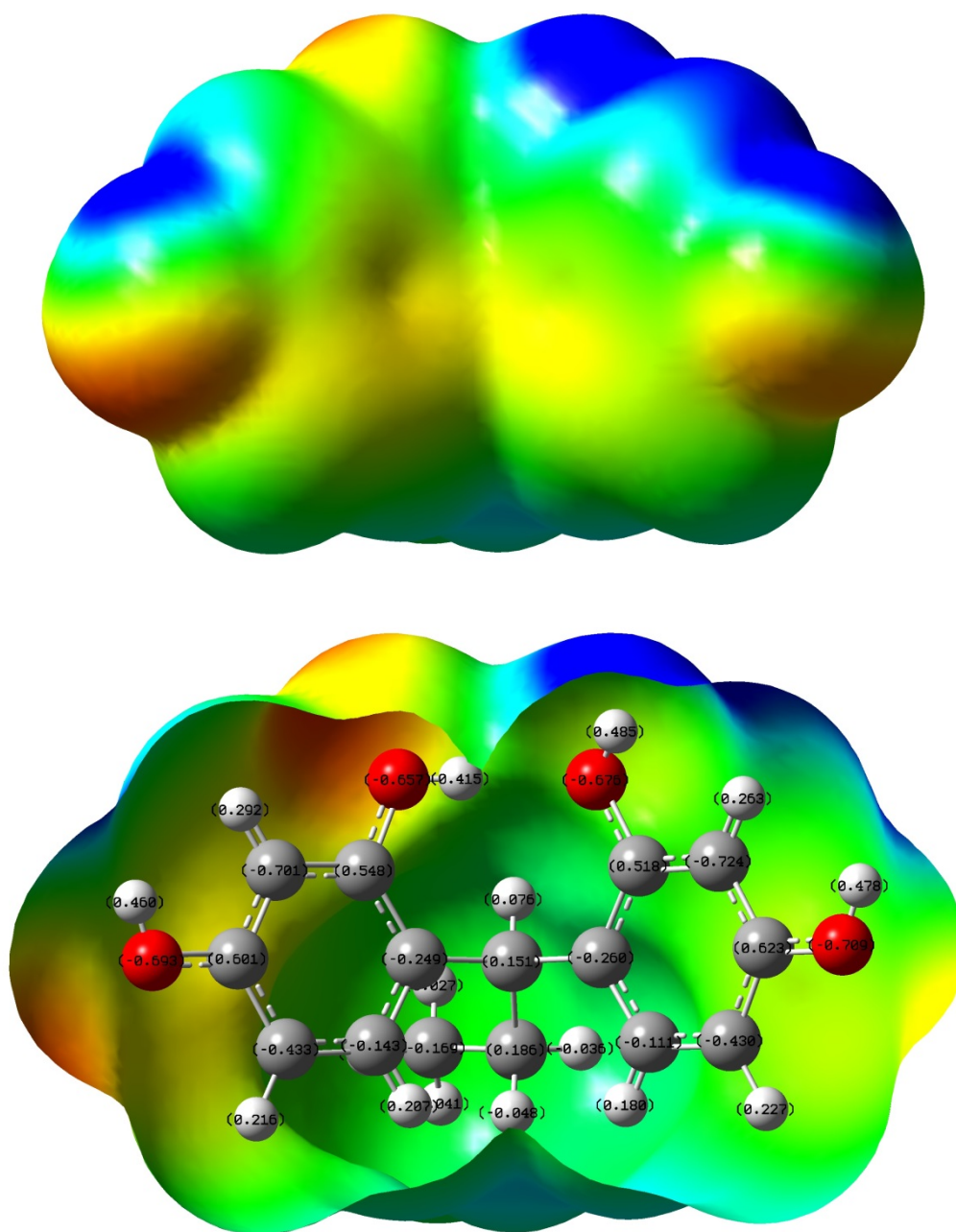
ホスト分子の 1/2 部分の電荷分布を Gaussian 09W (計算方法 MP2、基底関数 6-31+G(d,p)) で計算し、GaussView 5.0 で表示させた (図 3.12)。電荷は Merz-Singh-Kollman 法 (MK) で静電ポテンシャルから計算されたものを電子密度図の表面に色の変化で図示したものである。数値は原子ごとに振り当てられた電荷を示す。

(A) PCT 1/2 分子





(B) RCT 1/2 分子



(C) MRCT 1/2 分子

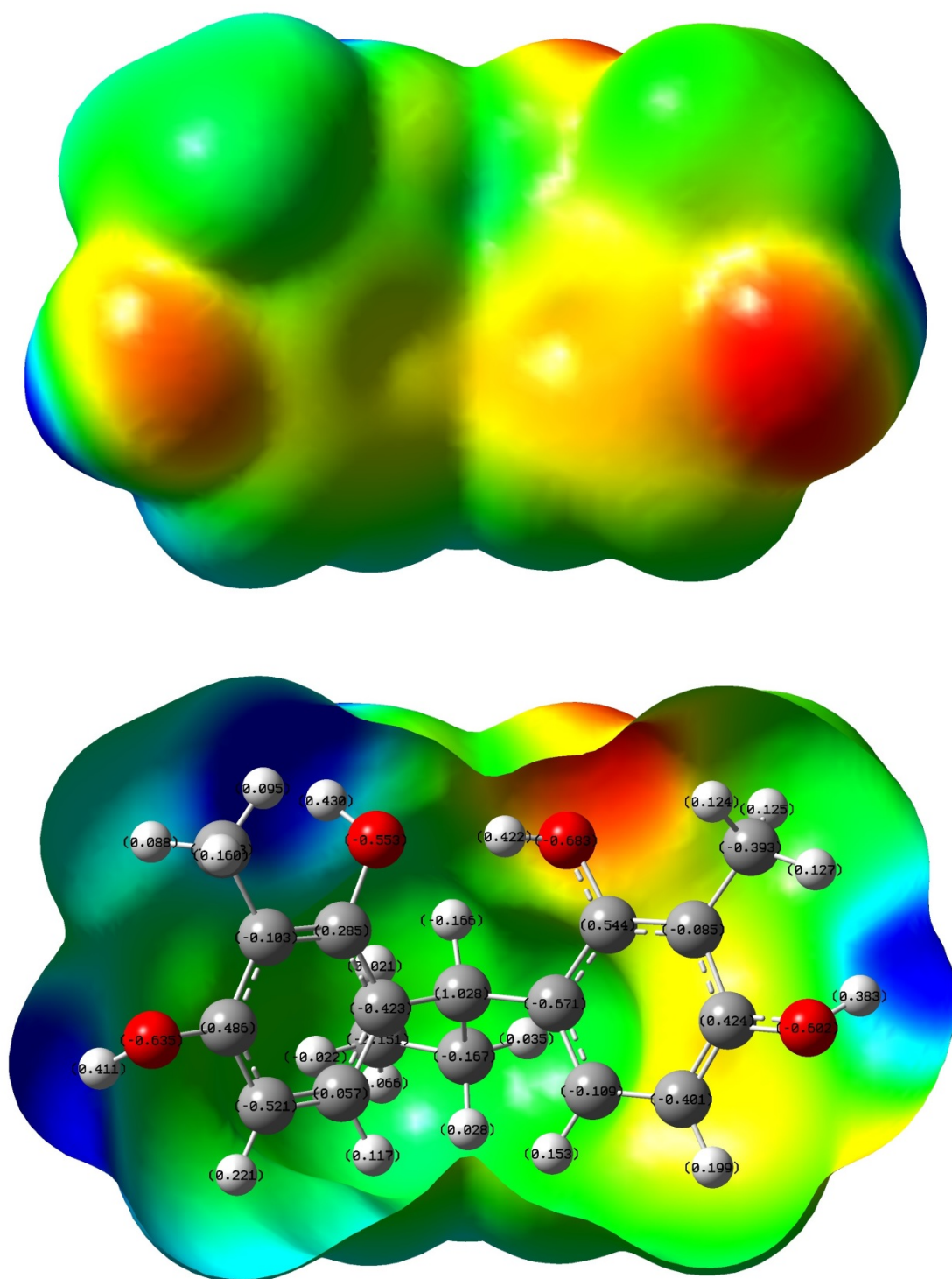


図 3.12 PCT 分子、RCT 分子と MRCT 分子の 1/2 部分の電荷分布図

### 3.4.2 分子間相互作用エネルギー

計算は Gaussian 09W を用いて、計算方法 MP2、基底関数 6-31+G(d,p)、Counterpoise 補正を含めて行った。溶媒分子や溶媒効果は含まず、真空状態での計算を行った。水素を含めた構造解析を行うことのできたベタイン複合体結晶構造において、ホスト分子の 1/4 部分とゲスト分子の分子間相互作用エネルギーを計算した。また、特にトリメチルアンモニウム基と芳香環の相互作用に焦点を当てるため、ベタインのカルボキシル基を削除し、代わりに水素を付加し、テトラメチルアンモニウムイオンにして計算した。結果を表 3.13 に示す。この結果より、結晶構造中の PCT-ベタイン間の相互作用エネルギーは-14.45 kcal/mol、RCT-ベタイン相互作用エネルギーは-19.33 kcal/mol となり、RCT 結晶中の方がホスト-ゲスト間の相互作用エネルギーが大きいということになる。しかし、カルボキシル基を除いて計算した結果では 1.2 kcal/mol 程度 PCT 結晶の方が安定化していることが分かる。これは、特に RCT 結晶中の芳香環 B とベタインの相互作用エネルギーが-9.39 kcal/mol と大きく、カルボキシル基を除くとその相互作用エネルギーが-6.30 kcal/mol に下がっていることから、また RCT との結晶構造中ではベタインのカルボキシル基と RCT の水酸基の間の距離は 3.5 Å 以上であり、通常の水素結合を形成する距離ではないので、これらの基の間のイオン相互作用によるものと思われる。また、全体的にカルボキシル基を除いた方が相互作用エネルギーが少し大きくなるのはカルボキシル基の負電荷と RCT の負電荷が反発しているためと考えられる。一般的な O-H...O 水素結合の結合エネルギーが 5~7 kcal/mol 程度と言われているので、配置によっては、テトラアンモニウム基と芳香環 1 つとのカチオン... $\pi$  相互作用は一般的な水素結合と同程度の結合エネルギーを持っていると言える。また、PCT や RCT などのように芳香環が環状に配置されて相互作用が働くと、全体として 20 kcal/mol 程度の結合エネルギーが得られることが分かった。

更に、芳香環に付加する水酸基の数により、分子間相互作用エネルギーがどのように変化するかを調べるために、PCT-ベタインの結晶構造を基に、相対位置は変更せず、ゲスト分子はテトラメチルアンモニウムイオンに、ホスト分子は 1/4 に分割してそれぞれ芳香環と水酸基のみに変更して計算した。更に、水酸基の数を 2 個、1 個、0 個と変えてそれぞれテトラメチルアンモニウムイオンとの相互作用エネルギーを計算した。その結果を表 3.14 に示す。各芳香環の水酸基の数の増加による相互作用エネルギーの変化を見ると、単純な傾向ではないことが分かる。これは、相互作用するテトラメチルアンモニウムイオンの水素の位置や角度が各芳香環によって異なっていることに起因すると考えられる。また、水酸基が芳香環に付加することにより置換基効果の誘起効果と共鳴効果が複雑に絡み合っていると考えられる。今回の計算方法 MP2 の結果では、芳香環の表面負電荷の値は水酸基が増えるに従い小さくなっている (図 3.13)。これは誘起効果により水酸基に電子が偏っていることを示している。一方、各原子に振り当てた電荷は芳香環の炭素原子 1 つおきに負電荷が強まっていて、これは共鳴効果によるものと思われる。また、電荷のみの影響では水素の位置を考慮に入れても芳香環 A の場合、水酸基 2 つの方が水酸基 3 つより相互作用

エネルギーが強くなると思われるが、計算では逆の結果が得られている。これは分散力によるものかもしれない。今回の計算では、4つの芳香環の相互作用エネルギーの和は1つの芳香環に1つの水酸基が結合しているものが-27.89 kcal/mol と一番大きく、ほぼ同程度のエネルギーを水酸基なしの場合が示した。水酸基2つの場合と3つの場合は0.5 kcal/mol ほど、水酸基3つの場合の方が安定化しているが、どちらとも約-22 kcal/mol の相互作用エネルギーを示した。これは今まで PCT と RCT で極端にどちらかが複合体結晶を得られやすかった訳ではないことと一致している。

表 3.13 ベタイン複合体結晶構造中の分子間相互作用エネルギー

---

PCT-ベタイン複合体結晶

芳香環	対ベタイン (kcal/mol)	対テトラメチルアンモニウムイオン (kcal/mol)
A	-3.56	-6.03
B	-4.68	-7.73
C	-2.14	-2.61
D	-4.07	-5.71
計	-14.45	-22.08

RCT-ベタイン複合体結晶

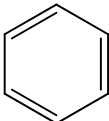
芳香環	対ベタイン (kcal/mol)	対テトラメチルアンモニウムイオン (kcal/mol)
A	-3.48	-4.31
B	-9.39	-6.30
C	-2.40	-3.15
D	-4.06	-7.06
計	-19.33	-20.82

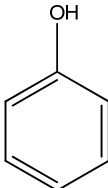
---

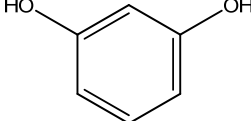
表 3.14 置換した水酸基の個数と分子間相互作用エネルギーの変化

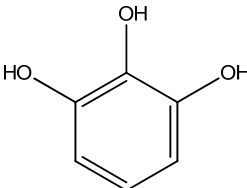
芳香環	水酸基の個数			
	0	1	2	3
A	-6.20	-7.21	-4.97	-6.03
B	-7.60	-7.75	-7.60	-7.73
C	-6.29	-6.01	-2.79	-2.61
D	-7.41	-6.92	-6.13	-5.71
計	-27.50	-27.89	-21.49	-22.08









エネルギー単位 : kcal/mol

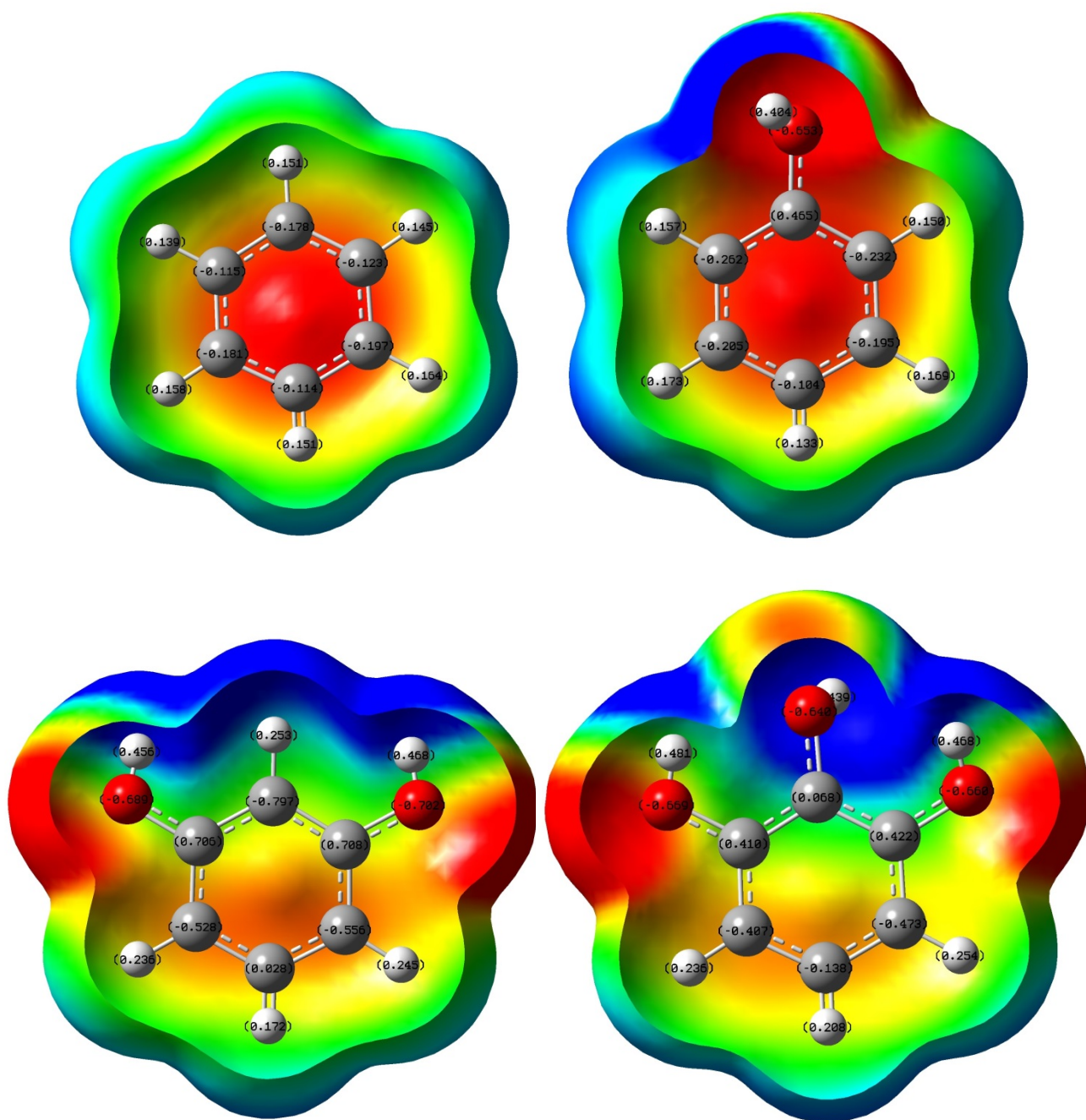


図 3.13 置換した水酸基の個数と表面電荷

## 第4章

### C-H $\cdots$ $\pi$ 相互作用について



## 4.1 結晶構造

### 4.1 ピペコリン酸複合体

#### 4.1.1 序

ピペコリン酸はピペリジンにカルボキシル基が結合した化合物で、生物ではリシンから合成される。ピペコリン酸が結合したタンパク質の三次元構造は PDB 上で見当たらないが、FK-506 などのピペコリン酸構造を含む分子とタンパク質との複合体の構造は 5 個見つかった。そのうち 4 個は FK-506 結合タンパク質の複合体で 1 個がトリプシンと阻害剤の複合体であった。FK-506 結合タンパク質では 3 つの芳香環がピペコリン酸構造と C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用を生じる距離にあった。トリプシン複合体では 1 つのイミダゾイル基がピペコリン酸構造と C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用を生じる距離にあった。どちらとも分子中のピペコリン酸部分の C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用が分子認識に重要な役割を果たしていると考えられる。代表的な構造を図 4.1 に示した。

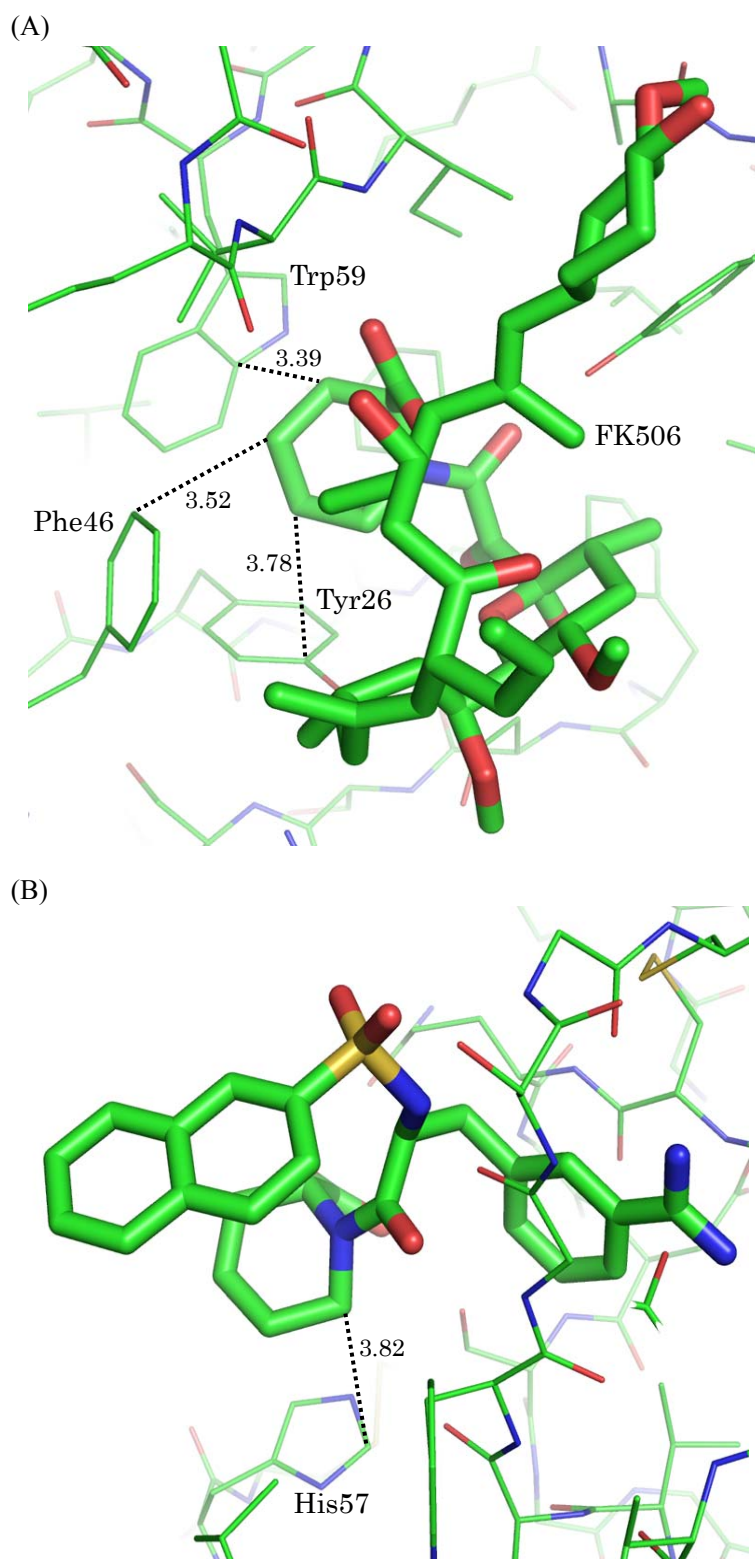


図 4.1 ピペコリン酸構造と C-H $\cdots\pi$  相互作用をしている (A)FK506 結合タンパク質 (PDB ID: 1FKF)、(B) トリプシン (PDB ID: 1K1I)。点線はカチオン $\cdots\pi$  相互作用を示す。距離の単位は Å。

#### 4.1.2 X線構造解析による結晶構造

PCT又はRCTとピペコリン酸との複合体の結晶構造をそれぞれ分解能0.84 Å、0.91 Åで決定した。回折実験での測定温度はPCTとの複合体結晶が120 K、RCTとの複合体結晶が100 Kであった。空間群はPCT-ピペコリン酸複合体結晶が $P2_1/n$ 、RCT-ピペコリン酸複合体結晶が $C2/c$ であった。

PCT-ピペコリン酸複合体結晶の非対称単位中の構造には1分子のPCTと1分子のピペコリン酸、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが1分子、水が4分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。水分子と水酸基、イミノ基以外の水素原子はSHELXのriding modeを用いてモデルに導入し、精密化した。使用したriding modeでは水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるようにrestrainされた。1つの水分子と水酸基、イミノ基の水素は差フーリエ図から位置を決定し、精密化した。それ以外の水分子の水素原子は位置を特定できなかったため、モデルに加えなかった。ピペコリン酸のピペリジン環中の窒素原子の位置は周辺の酸素原子との水素結合距離やカルボキシル基の平面構造との相対位置を参考にして決定した。それによると、イミノ基はPCTのベンゼン環に囲まれた窪みとは逆の向きにあり、上下逆向きのPCT分子の水酸基や水分子と水素結合を形成する距離にあった。このため、PCTのベンゼン環に囲まれた窪みにはアルキル鎖が結合し、PCTをhost、ピペコリン酸をguestとすると、1組のhost-guest複合体を形成している。結晶格子中では、映進の対象操作により、PCT分子が上下逆向きの2組のhost-guest複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。ピペリジン環のアルキル鎖はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたアルキル鎖とベンゼン環の相対的な構造は、アルキル鎖がピペリジン環状構造の一部なので構造的な制約も強く受けるが、C-H $\cdots\pi$ 相互作用が強く反映された結果だと考えられる。非対称単位中の構造を図4.2に、形成される強い水素結合距離を表4.1に、C-H $\cdots\pi$ 相互作用をしている可能性があるアルキル鎖と周辺の4つのベンゼン環との距離を表4.2に示した。

RCT-ピペコリン酸複合体結晶の非対称単位中の構造には1分子のRCTと1分子のピペコリン酸、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが1分子、水が8分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。水分子と水酸基、イミノ基以外の水素原子はSHELXのriding modeを用いてモデルに導入し、精密化した。水酸基の水素も束縛なしの精密化では位置が不安定な場合はriding modeを使用した。使用したriding modeでは水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるようにrestrainされるが、C-O-HなどのC-Oの回転自由度は束縛しなかった。水酸基とイミノ基の水素原子の位置は差フーリエ図から決定し、位置が不安定にならなければ束縛なしで精密化した。水分子の水素原子は位置を特定できなかったため、モデルに加えなかった。ピペコリン酸のピペリジン環中の窒素原子の位置は周辺の酸素原子との水素結

合距離やカルボキシル基の平面構造との相対位置を参考にして決定した。それによると、イミノ基は RCT のベンゼン環に囲まれた窪みとは逆の向きにあり、水分子と水素結合を形成する距離にあった。このため、RCT のベンゼン環に囲まれた窪みにはアルキル鎖が結合し、RCT を host、ピペコリン酸を guest とすると、1 組の host-gest 複合体を形成している。結晶格子中では、映進の対象操作により、RCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。ピペリジン環のアルキル鎖はベンゼン環に囲まれた窪みにあり、周囲には水素結合を形成できる位置に酸素原子はない。このことは、今回得られたアルキル鎖とベンゼン環の相対的な構造は、アルキル鎖がピペリジン環状構造の一部なので構造的な制約も強く受けるが、C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用が強く反映された結果だと考えられる。非対称単位中の構造を図 4. 3 に、形成される強い水素結合距離を表 4. 3 に、C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用をしている可能性があるアルキル鎖と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 4. 4 に示した。

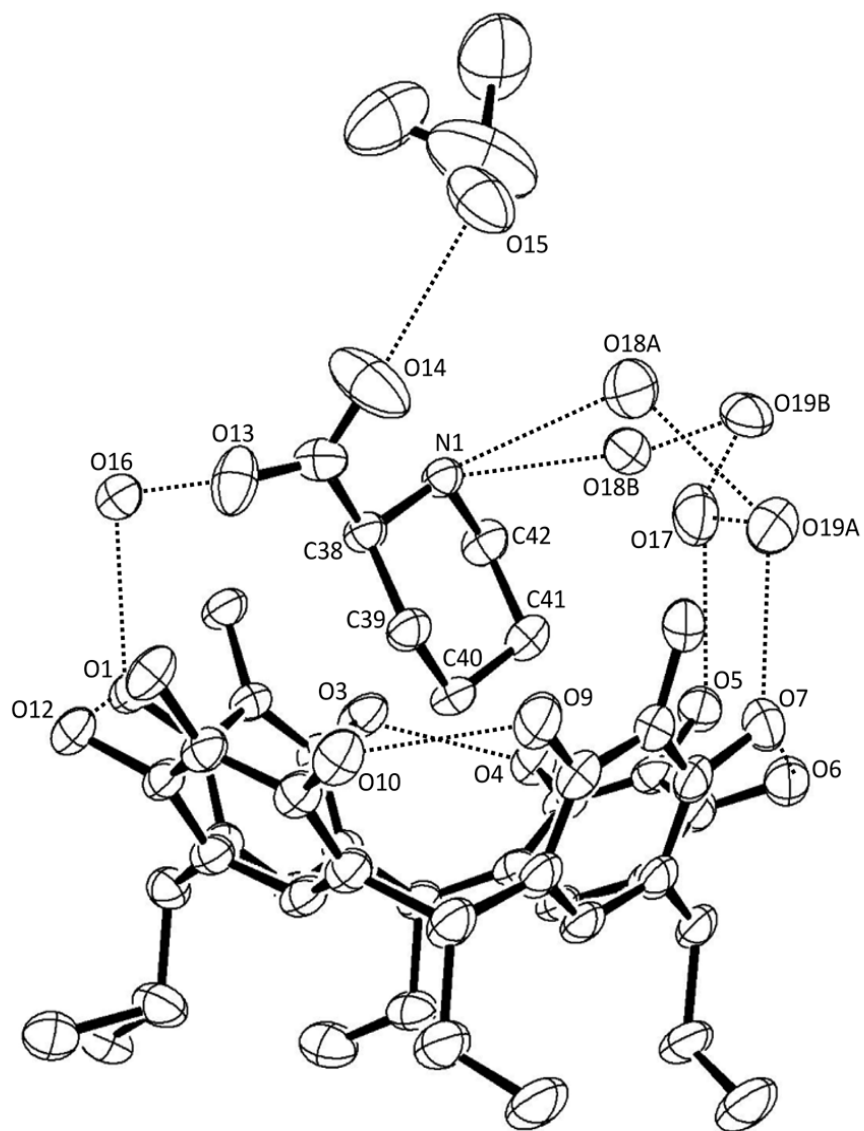


図 4.2 複合体 7 の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、ピペコリン酸のピペリジン環の原子名も表示した。

表 4.1 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.842(4)	N1 ... O18A	2.901(6)
O1 ... O16	2.630(3)	N1 ... O18B	2.924(7)
O3 ... O4	2.732(4)	O17 ... O19A	3.018(7)
O5 ... O17	2.870(4)	O17 ... O19B	2.770(8)
O6 ... O7	2.740(4)	O18A ... O19A	2.827(8)
O7 ... O19A	2.865(6)	O18B ... O19B	2.853(10)
O8 ... O18B	2.788(7)		
O9 ... O10	2.707(4)		
O13 ... O16	2.797(5)		
O14 ... O15	2.759(6)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O8 <sup>a</sup>	2.715(4)	O13 ... O3 <sup>h</sup>	2.948(4)
O2 ... O13 <sup>b</sup>	2.685(4)	O14 ... O3 <sup>h</sup>	2.866(5)
O2 ... O19A <sup>a</sup>	2.930(6)	N1 ... O11 <sup>b</sup>	2.889(5)
O3 ... O13 <sup>b</sup>	2.948(4)	N1 ... O12 <sup>b</sup>	2.989(4)
O3 ... O14 <sup>b</sup>	2.866(5)	O15 ... O5 <sup>f</sup>	2.959(5)
O5 ... O10 <sup>c</sup>	2.780(4)	O15 ... O6 <sup>f</sup>	2.681(5)
O5 ... O15 <sup>d</sup>	2.959(5)	O16 ... O11 <sup>b</sup>	2.749(4)
O6 ... O15 <sup>d</sup>	2.681(5)	O16 ... O17 <sup>h</sup>	2.843(5)
O8 ... O1 <sup>e</sup>	2.715(4)	O17 ... O16 <sup>b</sup>	2.843(5)
O9 ... O18A <sup>f</sup>	3.036(6)	O17 ... O18A <sup>d</sup>	3.024(7)
O9 ... O19B <sup>f</sup>	2.899(7)	O17 ... O18B <sup>d</sup>	2.615(7)
O10 ... O5 <sup>g</sup>	2.780(4)	O18A ... O9 <sup>d</sup>	3.036(6)
O11 ... O16 <sup>h</sup>	2.749(4)	O18A ... O17 <sup>d</sup>	3.024(7)
O11 ... N1 <sup>h</sup>	2.889(5)	O18B ... O17 <sup>f</sup>	2.615(7)
O12 ... N1 <sup>h</sup>	2.989(4)	O19A ... O2 <sup>e</sup>	2.930(6)
O13 ... O2 <sup>h</sup>	2.685(4)	O19B ... O9 <sup>d</sup>	2.899(7)

a: -1+x, y, z; b: 1.5-x, -1/2+y, 1.5-z; c: x, -1+y, z; d: 2.5-x, -1/2+y, 1.5-z; e: 1+x, y, z; f: 2.5-x, 1/2+y, 1.5-z; g: x, 1+y, z; h: 1.5-x, 1/2+y, 1.5-z

表 4.2 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C40	3.534
B ... C41	3.535
C ... C40	3.445
D ... C39	3.595
面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C40	3.533
B ... C41	3.525
C ... C40	3.434
D ... C39	3.584

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

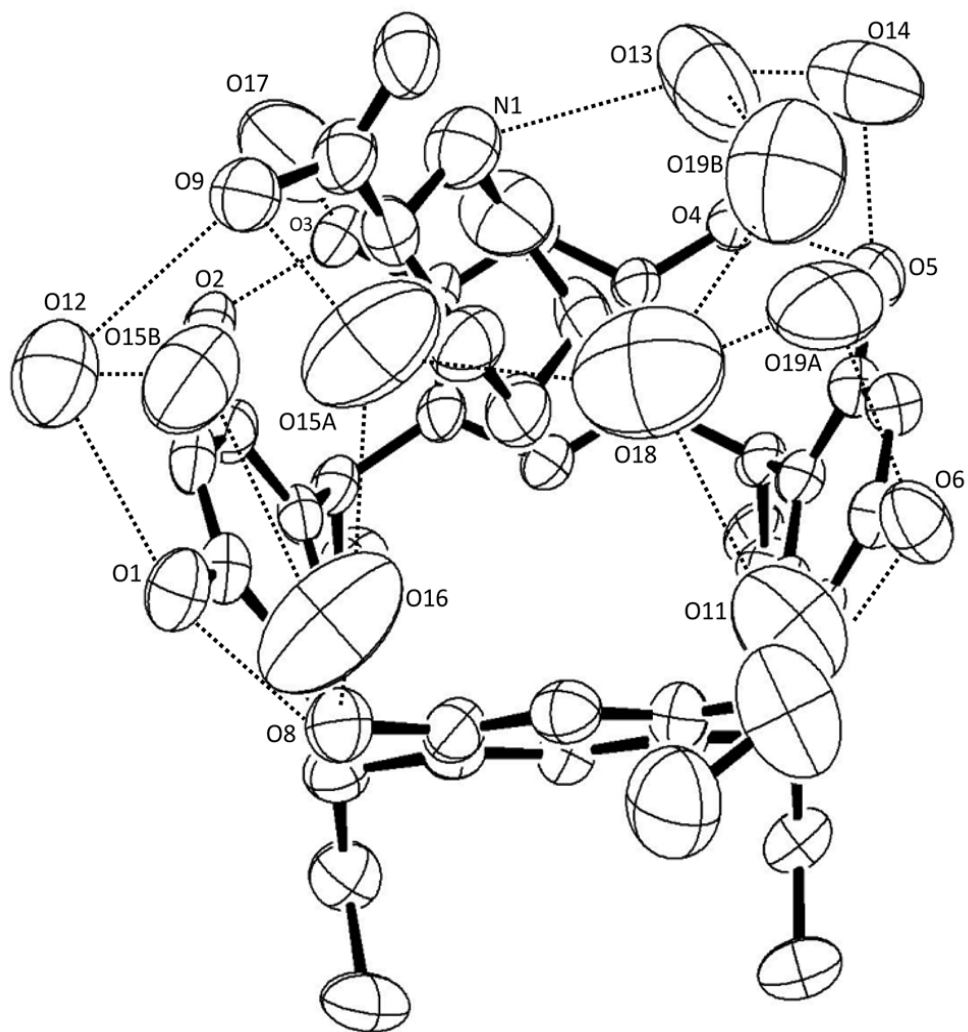


図 4.3 複合体 **8** の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、ピペコリン酸のピペリジン環の原子名も表示した。



表 4.3 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O8	2.690(8)	O12 ... O15B	2.963(18)
O1 ... O12	2.870(10)	O13 ... O19B	2.47(3)
O2 ... O3	2.712(7)	O13 ... O14	2.790(13)
O3 ... O17	2.669(10)	O15A ... O16	2.77(2)
O4 ... O5	2.733(7)	O15B ... O16	2.78(2)
O5 ... O14	2.766(10)	O18 ... O19A	2.953(16)
O6 ... O7	2.678(7)	O18 ... O19B	3.01 (3)
O7 ... O11	2.687(10)		
O8 ... O16	2.630(10)		
O9 ... O12	2.767(9)		
O9 ... O15A	2.916(15)		
O9 ... O15B	2.870(17)		
N1 ... O13	2.979(12)		
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O11 <sup>a</sup>	3.018(10)	O12 ... N1 <sup>c</sup>	2.901(10)
O2 ... O4 <sup>b</sup>	2.921(8)	O13 ... O17 <sup>f</sup>	2.789(14)
O2 ... O9 <sup>c</sup>	2.677(8)	O14 ... O15A <sup>d</sup>	2.608(18)
O3 ... O19B <sup>d</sup>	3.03(3)	O14 ... O15B <sup>d</sup>	2.768(19)
O4 ... O2 <sup>e</sup>	2.921(8)	O15A ... O14 <sup>f</sup>	2.608(18)
O4 ... O10 <sup>d</sup>	2.621(8)	O15B ... O14 <sup>f</sup>	2.768(19)
O9 ... O2 <sup>c</sup>	2.677(8)	O15B ... O19B <sup>a</sup>	2.83(3)
O10 ... O4 <sup>f</sup>	2.621(8)	O16 ... O17 <sup>j</sup>	2.750(11)
N1 ... O12 <sup>g</sup>	2.901(10)	O19B ... O15B <sup>i</sup>	2.83(3)
O11 ... O1 <sup>i</sup>	3.018(10)	O19B ... O3 <sup>f</sup>	3.03(3)

a: x, 1-y, 1/2+z; b: x, -y, 1/2+z; c: 1.5-x, 1/2-y, 1-z; d: 1.5-x, -1/2+y, 1/2-z; e: x, -y, -1/2+z; f: 1.5-x, 1/2+y, 1/2-z; g: 1.5-x, 1/2-y, 1-z; i: x, 1-y, -1/2+z; j: x, 1+y, z

表 4.4 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C40	3.567
B ... C42	3.650
C ... C41	3.551
D ... C40	3.677

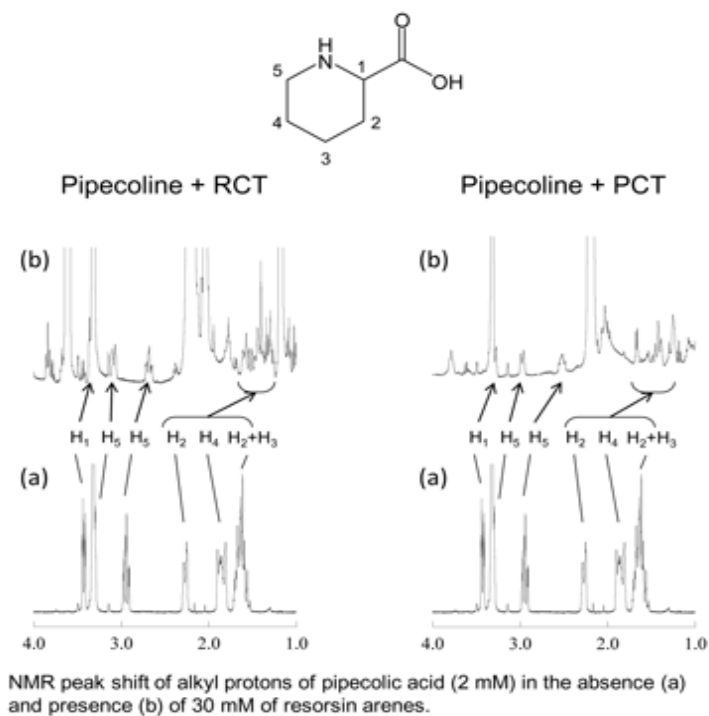
  

面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C38	3.484
B ... C42	3.510
C ... C41	3.435
D ... C40	3.641

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

#### 4. 1. 3 NMR 測定による溶液中の C-H $\cdots$ $\pi$ 相互作用

ピペコリン酸のみの溶液ではそれぞれ C <sup>$\alpha$</sup> , C <sup>$\beta$</sup> , C <sup>$\gamma$</sup> , C <sup>$\delta$</sup> , C <sup>$\epsilon$</sup>  に結合するプロトンの chemical shift 値は、それぞれ 3.42-3.45, 2.26-2.29, 1.57-1.73, 1.78-1.92, 2.92-2.99 ppm であった (図 4. 4)。また、ピペコリン酸と PCT の混合溶液ではそれぞれ C <sup>$\alpha$</sup> , C <sup>$\beta$</sup>  - C <sup>$\delta$</sup> , C <sup>$\epsilon$</sup>  に結合するプロトンの chemical shift 値は、3.27, 1.26-1.69, 2.49-2.56 ppm で、ピペコリン酸と RCT の混合溶液ではそれぞれは 3.36, 1.28-1.70, 2.66-2.72 であった。混合溶液では C <sup>$\beta$</sup>  - C <sup>$\delta$</sup>  に該当すると思われるピークはきれいに分離していなかった。これらのことから、それぞれ混合溶液では 0.2-0.4 ppm の高磁場シフトを起こしており、溶液中で C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用が形成されていると考えられる。また、293 K において、CD<sub>3</sub>OD を溶媒として PCT または RCT 濃度を 1.0 mM に固定して、ピペコリン酸濃度を 0 mM から 10 mM に変化させて <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) を測定した NMR 滴定法[29]により、PCT とピペコリン酸の結合定数は  $26.5 \pm 1.5 \text{ M}^{-1}$ 、RCT とピペコリン酸の結合定数は  $9.7 \pm 0.7 \text{ M}^{-1}$  であることが分かった (図 4. 5)。



	Pipecoline alone	Pipecoline + RCT	Pipecoline + PCT
H <sub>1</sub>	3.452-3.416	3.362*	3.274*
H <sub>2</sub>	2.290-2.256	1.702-1.280	1.688-1.263
H <sub>2</sub> +H <sub>3</sub>	1.730-1.567		
H <sub>4</sub>	1.922-1.782		
H <sub>5</sub>	3.299*	3.108-3.076	2.999-2.968
	2.986-2.917	2.718-2.658	2.559-2.489

\*Signal is partially hidden with CH<sub>3</sub> signal of residual CH<sub>3</sub>OH in CD<sub>3</sub>OD.

図 4.4 PCT または RCT との複合体化による、ピペコリン酸のアルキル基プロトンのピークシフト。ピペコリン酸溶液に PCT または RCT 溶液を混合することにより、ピペコリン酸のアルキル基プロトンの chemical shift が高磁場側にシフトしている。(共著論文[22]の supplementary data より抜粋)

(a)

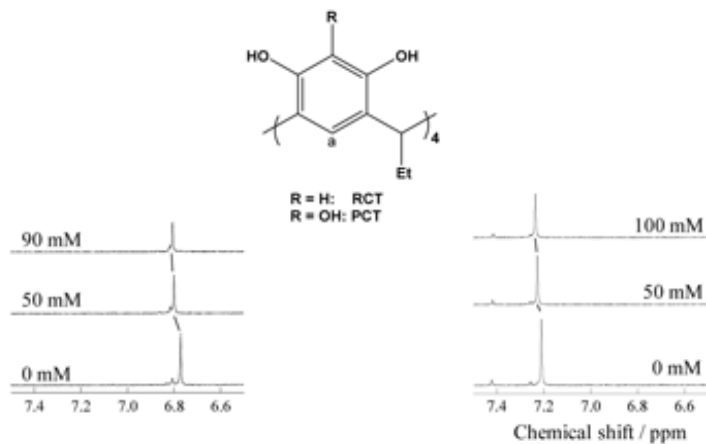


Figure . NMR peak shift of PCT on addition of the pipecolic acid. Solvent : CD<sub>3</sub>OD. [PCT] : 1.0 mM.

Figure . NMR peak shift of RCT on addition of the pipecolic acid. Solvent : CD<sub>3</sub>OD. [RCT] : 1.0 mM.

(b)

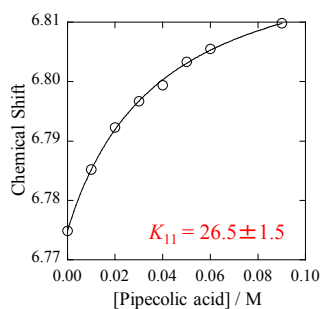


Figure. Changing in the Chemical Shift of PCT on addition of the pipecolic acid. Solvent : CD<sub>3</sub>OD. [PCT] : 1.0 mM.

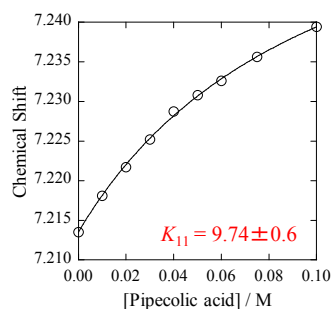


Figure. Changing in the Chemical Shift of RCT on addition of the pipecolic acid. Solvent : CD<sub>3</sub>OD. [RCT] : 1.0 mM.

#### Fitting Equation

(H.-J. Schneider and H. Durr ed. "Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry" 1991, Wiley-VCH Verlag GmbH.)

$$\delta = \delta_H + \frac{\Delta\delta}{2H_0} \left[ \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 - \sqrt{\left( \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 \right)^2 - 4H_0G_0} \right]$$

$K_{11}$  : 1:1 binding constant       $\delta_H$  : Chemical shift of host molecule  
 $\Delta\delta$  : Chemical shift difference between host and host-guest complex  
 $H_0$  : initial concentration of host molecule  
 $G_0$  : initial concentration of guest molecule

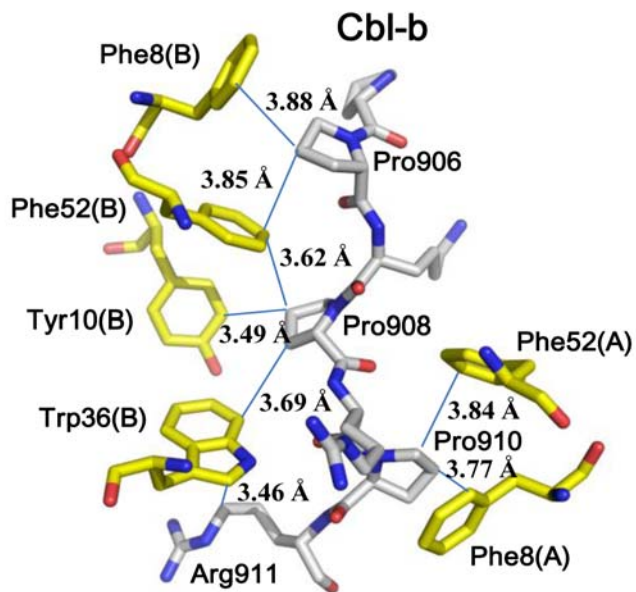
図 4.5 ピペコリン酸と PCT または RCT の複合体についての <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) 滴定実験 chemical shift 値より結合定数を求めた。(共著論文[22]の supplementary data より抜粋)

## 4.2 プロリン複合体

### 4.2.1 序

プロリンはタンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸の一種である。他のアミノ酸との違いは主鎖骨格を含んだ環状構造にある。このため、他のアミノ酸と異なり  $C\alpha$  炭素周辺のねじれ角は大きく制限を受け、構造的な自由度は低くなっており、アルキル鎖部分の水素の方向も比較的固定化されている。この影響からか、タンパク質構造中ではプロリンの C-H と芳香環の  $\pi$  電子との間に C-H $\cdots\pi$  相互作用が働いていると考えられる構造が時々観察される。図 4.6 にその一部を示した。

(a)



(b)

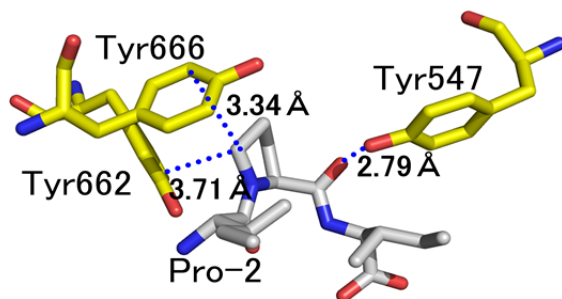


図4.6 プロリンとタンパク質アミノ酸の芳香環との間で見られるC-H... $\pi$ 相互作用 (a) プロリンを多く含むリガンド Cbl-b と結合部位 (CIN85 の SH3A ドメイン) に存在する芳香環との相互作用距離 (PDB ID: 2BZ8) (b) dipeptidyl peptidase IV と阻害剤 Diprotin A の結合部位 (PDB ID: 1WCY) (共著論文[23]の supplementary data より抜粋)

#### 4.2.2 X線構造解析による結晶構造

PCTとプロリンとの2種類の複合体の結晶構造を分解能 0.77 Å で決定した。回折実験での測定温度は両複合体共に 296 K であった。空間群は両方とも *P*-1 であった。

複合体番号 9 (PCT·pro·EtOH·3H<sub>2</sub>O) の PCT-プロリン複合体結晶の非対称単位中の構造には 1 分子の PCT と 1 分子のプロリン、結晶化時に溶媒として使用したエタノールが 1 分子、水が 3 分子含まれていた。分子構造に含まれている非水素原子はエタノール分子を除いて異方性温度因子で精密化した。水分子以外の水素原子は SHELX の riding mode を用いてモデルに導入し、精密化した。使用した riding mode では水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるように restrain された。精密化時にはプロリン分子とエタノール分子中の結合長について束縛をかけた。プロリンのピロリジン環中の窒素原子の位置は周辺の酸素原子との水素結合距離やカルボキシル基の平面構造との相対位置を参考にして決定した。プロリン分子は PCT の窪みの中で上下逆の 2 つの構造に存在比 7:3 で disorder していた。1 つの構造のイミノ基は PCT のベンゼン環に囲まれた窪みとは逆の向きにあり、水分子と水素結合を形成する距離にあった。このため、PCT のベンゼン環に囲まれた窪みにはアルキル鎖が結合しており、主に C-H…π 相互作用が働いていると考えられる。もう 1 つの構造ではイミノ基は PCT のベンゼン環に囲まれた窪みに向いており、その水素はアルキル鎖の水素よりベンゼン環に近い位置にあった。こちらはイミノ基が+電荷を帯びていることから、主にカチオン…π 相互作用が働いていると考えられる。エタノール分子の水酸基も存在比 7:3 で disorder していた。PCT を host、プロリンを guest とすると、1 組の host-guest 複合体を形成している。結晶格子中では、点対称の対象操作により、PCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にエタノール分子と水分子が付加している。非対称単位中の構造を図 4. 7 に、形成される強い水素結合距離を表 4. 5 に、C-H…π 相互作用をしている可能性があるアルキル鎖と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 4. 6 に示した。

複合体番号 10 (PCT·2pro·2H<sub>2</sub>O) の PCT-プロリン複合体結晶の非対称単位中の構造には 1 分子の PCT と 2 分子のプロリン、水が 3 分子含まれていた。類似の結晶化条件にも関わらず、2 種の複合体が得られたのは、結晶化を室温で行っていたため、温度のばらつきにより溶媒の蒸発の速度が異なっていたためと考えられる。分子構造に含まれている非水素原子は全て異方性温度因子で精密化した。プロリン分子の C<sup>γ</sup> と C<sup>δ</sup> に結合する水素原子は SHELX の riding mode を用いてモデルに導入し、精密化した。それ以外の水素原子は差フーリエ図から位置を決定し、束縛をかけずに精密化した。使用した riding mode では水素が結合している原子と水素原子との結合距離や結合角は理論値になるように restrain された。プロリンのピロリジン環中の窒素原子の位置は周辺の酸素原子との水素結合距離やカルボキシル基の平面構造との相対位置を参考にして決定した。1 つのプロリン分子は PCT の窪みの中にあり、イミノ基は PCT のベンゼン環に囲まれた窪みとは逆の向きにあり、PCT の窪みの外にある、もう 1 つのプロリン分子と水素結合を形成する距離にあった。このため、



PCT のベンゼン環に囲まれた窪みにはアルキル鎖が結合しており、主に C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用が働いていると考えられる。もう 1 つのプロリン分子は配列した PCT 分子の間にあり、周りの分子と水素結合を形成していた。PCT を host、プロリンを guest とすると、1 組の host-gest 複合体を形成している。結晶格子中では、点対称の対象操作により、PCT 分子が上下逆向きの 2 組の host-guest 複合体が組み合わさり、その周辺にプロリン分子と水分子が付加している。非対称単位中の構造を図 4.8 に、形成される強い水素結合距離を表 4.7 に、C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用をしている可能性があるアルキル鎖と周辺の 4 つのベンゼン環との距離を表 4.8 に示した。

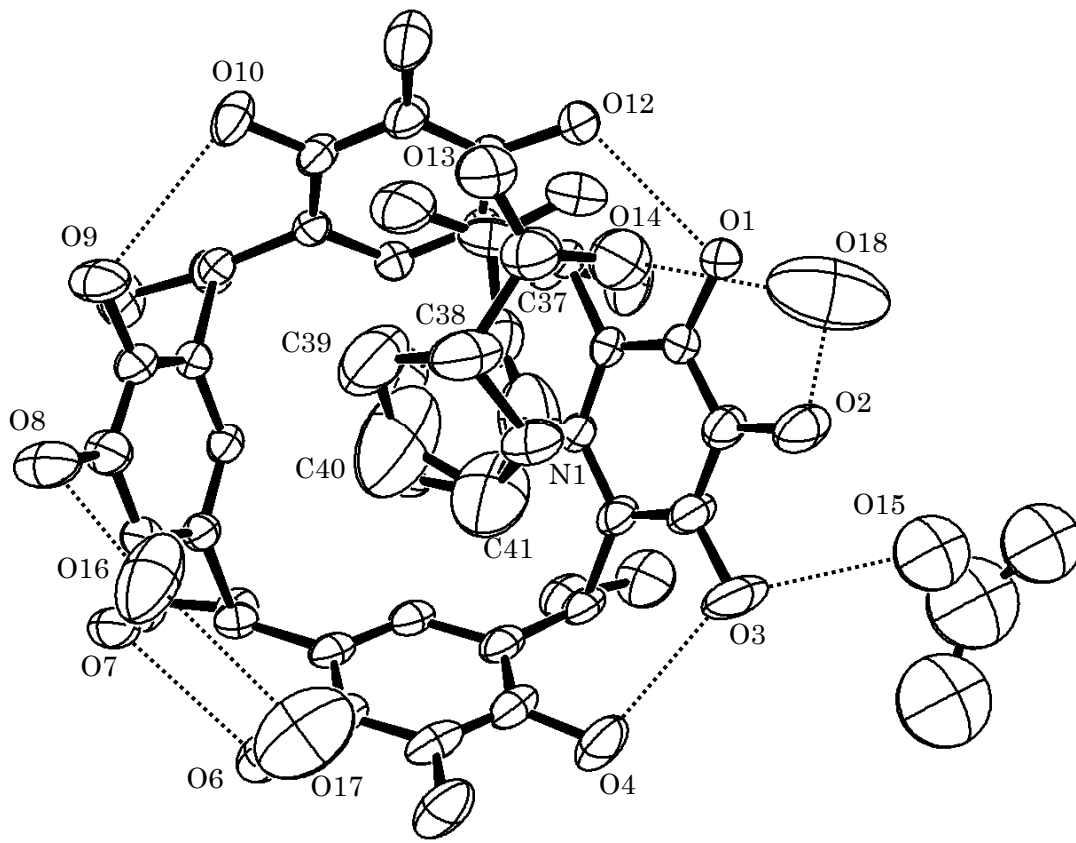


図 4.7 複合体 9 の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、conformer A のプロリンのピロリジン環の原子名も表示した。

表 4.5 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.734(3)	O8 ... O16	2.932(4)
O2 ... O18	2.708(6)	O9 ... O10	2.899(4)
O3 ... O4	2.770(5)	O11 ... O14B	2.95(1)
O3 ... O15	2.953(8)	O14 ... O18	2.736(8)
O6 ... O7	2.705(4)	O16 ... O17	2.773(6)
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O7 <sup>a</sup>	2.801(4)	O12 ... O13 <sup>e</sup>	2.555(6)
O1 ... O8 <sup>a</sup>	2.989(4)	O13 ... O8 <sup>c</sup>	2.647(6)
O5 ... O10 <sup>a</sup>	2.887(4)	O13 ... O12 <sup>e</sup>	2.555(6)
O7 ... O1 <sup>b</sup>	2.801(4)	O14 ... O11 <sup>e</sup>	2.984(6)
O8 ... O1 <sup>b</sup>	2.989(4)	O16 ... O10 <sup>c</sup>	2.697(4)
O8 ... O13 <sup>c</sup>	2.647(6)	O16 ... O11 <sup>c</sup>	2.952(5)
O10 ... O5 <sup>d</sup>	2.887(4)	O16 ... O18 <sup>b</sup>	2.974(9)
O10 ... O16 <sup>c</sup>	2.697(4)	O17 ... O17 <sup>f</sup>	2.889(7)
O11 ... O12 <sup>e</sup>	2.988(4)	O17 ... N1 <sup>f</sup>	3.03(1)
O11 ... O14 <sup>e</sup>	2.984(6)	O18 ... O16 <sup>a</sup>	2.974(9)
O11 ... O16 <sup>c</sup>	2.952(5)	N1 ... O17 <sup>f</sup>	3.03(1)
O12 ... O11 <sup>e</sup>	2.988(4)		

a: x, 1+y, z; b: x, -1+y, z; c: 1-x, -y, -z; d: 1+x, y, z; e: 1-x, 1-y, -z; f: -x, -y, -z

表 4.6 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
(conformer A)	
A ... C41	3.813
B ... C41	3.761
C ... C40	3.676
D ... C39	4.021
(conformer B)	
A ... C41	3.813
B ... C40B	3.436
C ... C40B	3.489
D ... N1B	3.344
面 ... C	垂直距離(Å)
(conformer A)	
A ... C41	3.740
B ... C41	3.655
C ... C40	3.672
D ... C39	3.907
(conformer B)	
A ... C41	3.740
B ... C40B	3.387
C ... C40B	3.435
D ... N1B	3.327

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

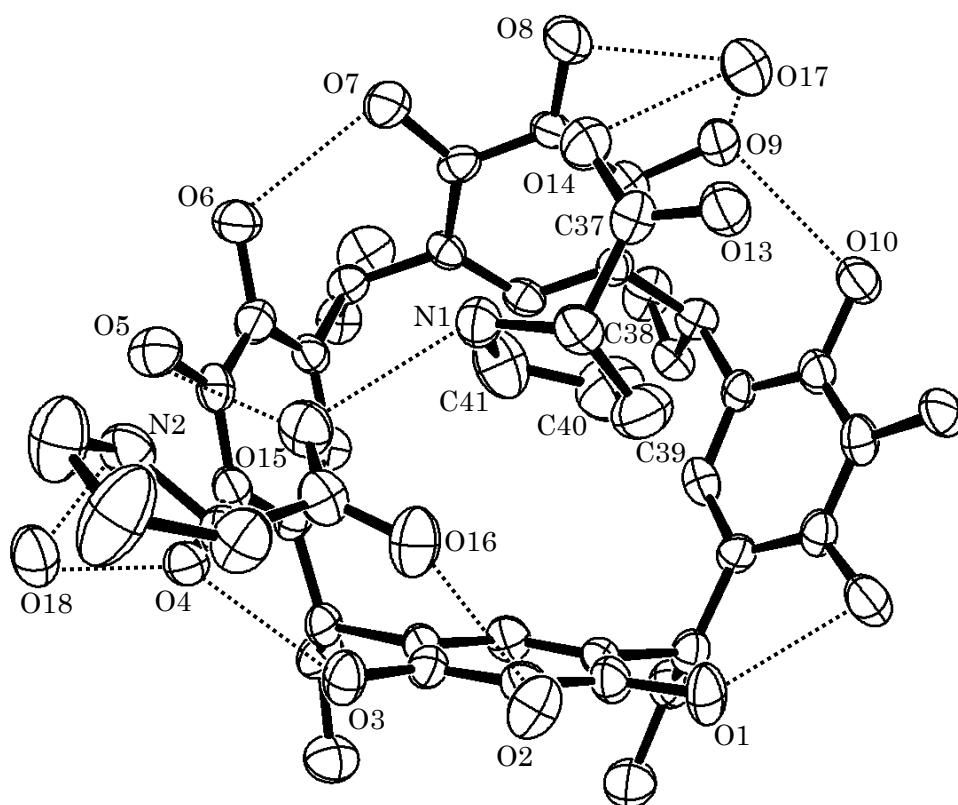


図 4.8 複合体 9 の非対称単位中の分子構造

点線は O-H...O 水素結合を示す。水素結合に関与する酸素原子のモデル中の原子名を表示した。また、プロリンのピロリジン環の原子名も表示した。

表 4.7 O-H...O 水素結合距離

非対称単位内			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O12	2.731(8)	O8 ... O17	3.031(7)
O2 ... O16	2.914(7)	O9 ... O10	2.857(7)
O3 ... O4	2.708(7)	O9 ... O17	2.857(7)
O4 ... O18	2.630(7)	O14 ... O17	2.772(8)
O5 ... O15	2.883(7)	O15 ... N1	2.732(9)
O6 ... O7	2.726(7)	O18 ... N2	2.777(7)
非対称単位周辺原子との水素結合			
水素結合対原子	距離(Å)	水素結合対原子	距離(Å)
O1 ... O13 <sup>a</sup>	2.581(7)	O14 ... N1 <sup>d</sup>	2.911(8)
O2 ... O18 <sup>b</sup>	2.976(8)	O16 ... O11 <sup>a</sup>	2.805(7)
O4 ... O10 <sup>c</sup>	3.006(5)	O17 ... O18 <sup>e</sup>	2.746(8)
O6 ... O13 <sup>d</sup>	2.698(6)	O17 ... N2 <sup>d</sup>	2.869(8)
O10 ... O4 <sup>e</sup>	3.006(5)	O18 ... O2 <sup>b</sup>	2.976(8)
O11 ... O16 <sup>a</sup>	2.805(7)	O18 ... O13 <sup>c</sup>	2.933(7)
O13 ... O1 <sup>a</sup>	2.581(7)	O18 ... O17 <sup>c</sup>	2.746(8)
O13 ... O6 <sup>d</sup>	2.698(6)	N1 ... O14 <sup>d</sup>	2.911(8)
O13 ... O18 <sup>e</sup>	2.933(7)	N2 ... O17 <sup>d</sup>	2.869(8)

a: 1-x, -y, 1-z; b: 1-x, 1-y, 1-z; c: x, 1+y, z; d: -x, -y, 1-z; e: x, -1+y, z

表 4.8 C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用距離

面中心 ... C	距離(Å)
A ... C40	3.911
B ... C41	3.574
C ... C41	3.741
D ... C40	3.462
面 ... C	垂直距離(Å)
A ... C39	3.716
B ... C41	3.537
C ... C41	3.679
D ... C40	3.457

A: C1, C2, C3, C4, C5, C6 で構成されるフェニル基, B: C8, C9, C10, C11, C12, C13 で構成されるフェニル基, C: C15, C16, C17, C18, C19, C20 で構成されるフェニル基, D: C22, C23, C24, C25, C26, C27 で構成されるフェニル基

#### 4.2.3 NMR 測定による溶液中の C-H $\cdots$ $\pi$ 相互作用

プロリンのみの溶液ではそれぞれ C <sup>$\alpha$</sup> , C <sup>$\beta$</sup> , C <sup>$\gamma$</sup> , C <sup>$\delta$</sup>  に結合するプロトンの chemical shift 値は、それぞれ 3.944-3.995, 2.059-2.363, 1.947-2.019, 3.186-3.427 ppm であった (図 4.9)。また、プロリンと PCT の混合溶液ではそれぞれ C <sup>$\alpha$</sup> , C <sup>$\beta$</sup>  - C <sup>$\delta$</sup> , C <sup>$\epsilon$</sup>  に結合するプロトンの chemical shift 値は、3.759-3.796, 1.764-1.987, 1.373-1.452, 2.666-2.944 ppm であった。これらのことから、それぞれ混合溶液では 0.2-0.5 ppm の高磁場シフトを起こしており、溶液中で C-H $\cdots$  $\pi$  相互作用が形成されていると考えられる。また、293 K において、CD<sub>3</sub>OD を溶媒として PCT 濃度を 1.0 mM に固定して、プロリン濃度を 0 mM から 10 mM に変化させて <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) を測定した NMR 滴定法[29]により、PCT とプロリンの結合定数  $K_{11}$  は  $20 \pm 2.0 \text{ M}^{-1}$  であることが分かった (図 4.10)。



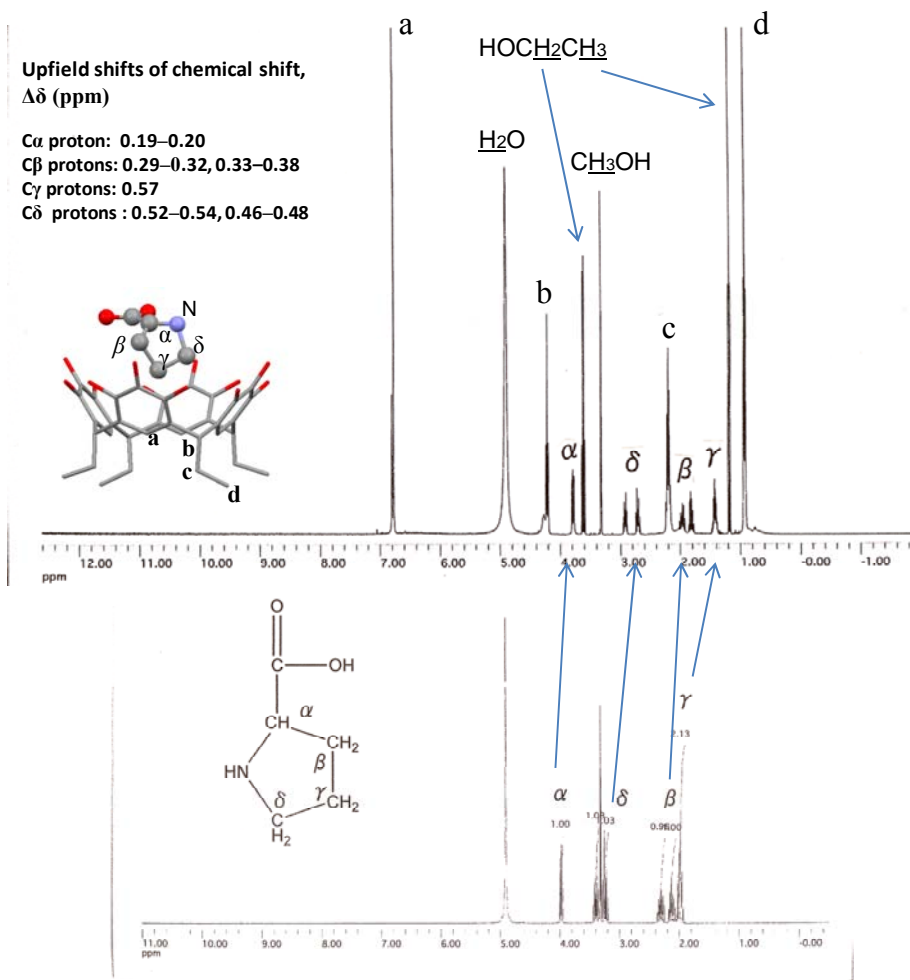
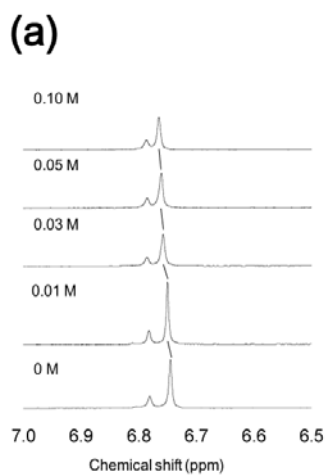
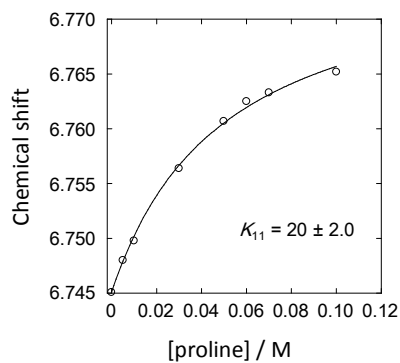


図 4.9 PCT との複合体化による、プロリンのアルキル基プロトンのピークシフト。プロリン溶液に PCT 溶液を混合することにより、プロリンのアルキル基プロトンの chemical shift が高磁場側にシフトしている。(共著論文[23]の supplementary data より抜粋)



(b)



Fitting equation used: (from H.-J. Schneider and H. Durr ed. "Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry" **1991**, Wiley-VCH Verlag GmbH)

$$\delta = \delta_H + \frac{\Delta\delta}{2H_0} \left[ \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 - \sqrt{\left( \frac{1}{K_{11}} + H_0 + G_0 \right)^2 - 4H_0G_0} \right]$$

$K_{11}$ : 1:1 binding constant       $\delta_H$ : Chemical shift of host molecule  
 $\Delta\delta$ : Chemical shift difference between host and host-guest complex  
 $H_0$ : initial concentration of host molecule  
 $G_0$ : initial concentration of guest molecule

図 4.10 プロリンと PCT の複合体についての  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) 滴定実験 chemical shift 値より結合定数を求めた。(共著論文[23]の supplementary data より抜粋)

### 4.3 非経験的分子軌道法による計算

#### 4.3.1 プロリン、ピペコリン酸のコンフォメーション

プロリン、ピペコリン酸の構造最適化を行った。計算時間短縮のため、まず、結晶構造を基に ChemBio3D の MM2 を使用して分子力学法により最適化を行い、その後、Gaussian 09W で構造の最適化を行った。計算方法は MP2、基底関数は 6-31+G(d,p)を使用した。各段階での N-C $\alpha$ -C-O (cis to N)の torsion angle を表 4.9 にまとめた。Cambridge Structural Database に報告されている両性イオン状態のプロリンとピペコリン酸の結晶構造はそれぞれ 37 個と 4 個あり、その中で得られる構造の N-C $\alpha$ -C-O (cis to N)の torsion angle を測定したところ、プロリンでは 2/3 以上の構造で $\pm 15^\circ$ 以下で、平均は $-1.70^\circ$ であり、ピペコリン酸では $-22\sim 14^\circ$ に分布し、平均は $-9.92^\circ$ であった。MP2 によるプロリンの構造最適化後の構造では、水素原子が窒素原子から酸素原子に移ってしまったが、torsion angle に関しては良く実際の構造を再現していると思われる。

表 4.9 プロリン分子とピペコリン酸分子の torsion angle (N-C $\alpha$ -C-O (cis to N))

	プロリン分子	ピペコリン酸分子
結晶構造	3.16°	-21.78°
MM2 構造最適化後	7.24°	5.69°
MP2 構造最適化後	1.69°	24.84°
CSD 構造平均値	-1.70°	-9.92°

#### 4.3.2 分子間相互作用エネルギー

計算は Gaussian 09W を用いて、計算方法 MP2、基底関数 6-31+G(d,p)、Counterpoise 補正を含めて行った。溶媒分子や溶媒効果は含まず、真空状態での計算を行った。水素を含めた構造解析を行うことのできたピペコリン酸複合体結晶構造において、ホスト分子の 1/4 部分とピペコリン酸のベンゼン環に近いプロピル鎖の分子間相互作用エネルギーを計算した。結果を表 4.10 に示す。カチオン $\cdots\pi$ 相互作用と比較すると、1/2 以下の相互作用エネルギーしかないことが分かる。この場合、室温ではカチオン $\cdots\pi$ 相互作用だけでは構造を維持するのは難しいと考えられるが、ピペコリン酸やプロリンの場合はイミノ基が正電荷を帯びているので、それらの影響も加わって安定化していると考えられる。

表 4.10 ピペコリン酸複合体結晶構造中の C-H $\cdots\pi$  相互作用による分子間相互作用エネルギー

---

PCT-ピペコリン酸複合体結晶

芳香環	対プロピル基(kcal/mol)
A	-1.60
B	-1.34
C	-2.15
D	-1.29
計	-6.38

RCT-ピペコリン酸複合体結晶

芳香環	対プロピル基 (kcal/mol)
A	-1.40
B	-1.28
C	-1.02
D	-0.90
計	-4.60

---

## 第 5 章

### 結論

カチオン $\cdots\pi$ 相互作用やC-H $\cdots\pi$ 相互作用はO-H $\cdots$ Oなどの強い水素結合と比較して弱い相互作用である。このため、弱い相互作用を観察しようとする基が強い水素結合などの他の強い相互作用を受けていると、その影響で目的の弱い相互作用の構造の詳細を正確に観察できない。結合距離や相対配置等の構造の詳細を観察するにはX線結晶構造解析は最も有力な解析手段である。特に、詳細構造を正確に観察するには高分解能の構造解析が必要であり、それには低分子化合物の方が高分子化合物よりも良質な結晶が得られやすいため適していることが多い。一方、結晶構造解析には物質を結晶にしなければならないが、結晶構造が維持されるには分子が集合し、分子間にある程度強い一定の相互作用がネットワーク状に働く必要があるため、低分子化合物結晶の場合、弱い相互作用を観察しようとする基にも強い相互作用が働いてしまう場合が多い。このため、弱い相互作用のみを正確に観察することは非常に難しく、例が少ない。また、弱い相互作用の場合、周囲の影響を受けやすいので、その存在や特徴を把握するためには一つの構造の観察だけではなく、多くの構造から総合的に導き出すことが必要となる。

今回の研究では環状四量体化合物PCT, RCT, MRCT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の結晶構造解析からカチオン $\cdots\pi$ 相互作用の構造観察を、ピペコリン酸、プロリンとの複合体の結晶構造解析からC-H $\cdots\pi$ 相互作用の構造観察を行った。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。

弱い相互作用でも数が多く働くと、分子の反応などに重要な働きをすることが考えられる。タンパク質などの高分子ではカチオン、C-H、ベンゼン環が豊富にあり、配置によっては同時に弱い相互作用が働く可能性がある。実際にトリメチルアンモニウム基を含む分子と相互作用するタンパク質の結合部位ではベンゼン環が多く見られ、分子認識などにも大切な役割を担っていると推測できる。これらの弱い相互作用の研究が進めば、分子認識機構の理解が深まり、現在では難しいとされる多分子間反応の正確なシミュレーションなども可能になるかもしれない。



## 謝辞

ご指導いただいた豊橋技術科学大学名誉教授 青木 克之先生に厚く御礼申し上げます。ご助言とご審議をしていただいた豊橋技術科学大学教授 菊池 洋先生、浴 俊彦先生ならびに伊津野 真一先生に厚く御礼申し上げます。NMR の測定でお世話になった豊橋技術科学大学助教 加藤 亮先生に御礼申し上げます。PCT, RCT, MRCT の合成でお世話になった豊橋技術科学大学 青木研究室卒業生に御礼申し上げます。最後にこの場を借りて、大学に通わせ研究を支えてくれた私の両親に感謝いたします。

## 参考文献

1. Werner, A., *Über Haupt- und Nebenvalenzen und die Constitution der Ammoniumverbindungen*. Liebig's Annalen der Chemie, 1902. **332**: p. 261-297.
2. Hantzsch, A., *Über die Isomeriegleichgewichte des Acetessigesters und die sogenannte Isorrhopsis seiner Salze*. Chemische Berichte, 1910. **43**: p. 3049-3076.
3. Pfeiffer, P., *Zur Theorie der Farblacke, II*. Liebig's Annalen der Chemie, 1913. **398**: p. 137-196.
4. Desiraju, G.R. and T. Steiner, *The Weak Hydrogen Bond*. 1999, New York: Oxford University Press.
5. Pauling, L., *The nature of the chemical bond*. 1939, New York: Cornell University Press, Ithaca.
6. Murayama, K. and K. Aoki, Chemical Communication, 1997. **1997**: p. 119.
7. Murayama, K. and K. Aoki, Chemical Communication, 1998. **1998**: p. 607.
8. Murayama, K. and K. Aoki, Chemistry Letter, 1998. **1998**: p. 301.
9. 西尾元宏, 化学の領域, 1977. **31**: p. 998.
10. 西尾元宏, 化学の領域, 1978. **33**: p. 422.
11. 廣田穰 and 西尾元宏, 化学, 1991. **46**: p. 592.
12. Kodama, Y., et al., Tetrahedron Lett., 1977. **18**: p. 2015.
13. Nishio, M., M. Hirota, and Y. Umezawa, *The CH/π Interaction: Evidence, Nature, and Consequence*. 1998, New York: Wiley-VCH.
14. Ehma, R., et al., Bulletin of Chemical Society of Japan, 1993. **66**: p. 814.
15. Sakaki, S., et al., Journal of Chemical Society, Faraday Trans., 1993. **89**: p. 659.
16. Tsuzuki, S., et al., Journal of American Chemical Society, 2000. **122**: p. 3746.
17. Aoyama, Y., Y. Tanaka, and S. Sugahara, *Molecular recognition. 5. Molecular recognition of sugars via hydrogen-bonding interaction with a synthetic polyhydroxy macrocycle*. Journal of the American Chemical Society, 1989. **111**(14): p. 5397-5404.
18. Fujisawa, I., et al., *Crystal Structure of an L-Carnitine Complex with Pyrogallol[4]arene*. Journal of Physics: Conference Series 2012. **352**: p. 012043.
19. Fujisawa, I., et al., *Crystal Structures of Resorcin[4]arene and Tetramethylated Resorcin[4]arene Complexes Incorporating L-Carnitine through Cation-π Interaction*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 2011. **84**(10): p. 1133-1135.
20. Fujisawa, I. and K. Aoki, *Glycine Betaine Recognition through Cation-π Interactions in Crystal Structures of Glycine Betaine Complexes with C-Ethyl-Pyrogallol[4]arene and C-Ethyl-Resorcin[4]arene as Receptors*. Crystals, 2013. **3**(2): p. 306-314.

21. Fujisawa, I., et al., *Crystal Structure of Pyrogallol[4]arene Complex with Phosphocholine: A Molecular Recognition Model for Phosphocholine through Cation- $\pi$  Interaction*. Journal of Molecular Structure, 2013. **1038**: p. 188-193.
22. Fujisawa, I.K., Y.; Kato, R.; Murayama, K.; Aoki, K., *Crystal Structures of Resorcin[4]arene and Pyrogallol[4]arene Complexes with DL-Pipecolinic Acid. Model Compounds for the Recognition of the Pipecolinyl Ring, a Key Fragment of FK506, through C-H $\cdots\pi$  Interaction*. J. Mol. Struct., 2014. **1056-1057**: p. 292-298.
23. Fujisawa, I., et al., *Proline Recognition through C-H $\cdots\pi$  Interaction within Crystal Structures of DL-Proline-Calix[4]pyrogallolarene Molecular Complexes*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 2012. **85**(9): p. 1037-1039.
24. Kabuto, C., S. Akine, and E. Kwon, *Release of Software (Yadokari-XG 2009) for Crystal Structure Analyses*. Journal of the Crystallographic Society of Japan, 2009. **51**(3).
25. Burla, M.C., et al., *SIR2004: an improved tool for crystal structure determination and refinement*. Journal of Applied Crystallography, 2005. **38**(2): p. 381-388.
26. Sheldrick, G.M., *A short history of SHELX*. Acta Crystallogr A, 2008. **64**(Pt 1): p. 112-22.
27. Farrugia, L.J., *ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI)*. Journal of Applied Crystallography, 1997. **30**(5-1): p. 565-565.
28. Spek, A.L., *Structure validation in chemical crystallography*. Acta Crystallographica Section D, 2009. **65**(2): p. 148-155.
29. Schneider, H.-J.a.D., H. ed., *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry*. 1991: Wiley-VCH Verlag GmbH.