

レーザー分光実験と量子化学計算によるエストロゲンの水酸基の水素結合能力と生理活性に関する研究

(広島大院・理) ○森島 史弥, 井口 佳哉, 江幡 孝之

The structure of estrogens and their physiological properties studied by laser spectroscopy and quantum chemical calculation

(Hiroshima University) ○Fumiya Morishima, Yoshiya Inokuchi, Takayuki Ebata

【序論】

estrogen は 3 種の化学種 estrone(E_1)、estradiol(E_2)、estriol(E_3)からなる女性ホルモンである。この三つの化学種のうち E_2 は最も強い生理活性を示すが、それに比べて E_3 はその 0.01 倍以下の活性強度しか示さない。この生理活性には estrogen 分子内の A-ring OH と D-ring OH (Fig.1) の性質が深く関わっている。今回我々は、超音速ジェットを用いたレーザー分光の結果と量子化学計算の比較により、estrogen 分子単体の構造とその水和クラスターの構造を調べ、それぞれの estrogen に特有な水酸基の性質を見出した。それらの性質の違いを基に、 E_2 と E_3 の間に見られるような大きな生理活性の違いについて議論する。

【実験】

粉末試料をポリイミド製のパルスノズルに入れ、ヒーターによりそれぞれ 130-190°C まで加熱し気化させ、直径 1 mm のオリフィスより押し圧 ~3 atm の He ガスと共にパルスとして真空内に噴出させ超音速ジェットを生成した。ジェットに直交して Nd:YAG レーザー励起色素レーザーの 2 倍波を照射し、レーザー誘起蛍光(LIF)スペクトルを測定した。加えて、2 台のレーザーを用いた UV-UV Hole Burning(HB)法、IR-UV 二重共鳴法により分子種の選別並びに振動スペクトルの測定も行った。また、水和クラスターについても同様の実験を行った。水和クラスターはキャリアガスに水蒸気を混合することで生成した。実験結果との比較のために行った密度汎関数計算は、gaussian09 パッケージを用い、計算レベルは全て M05-2X/6-311++G**であった。

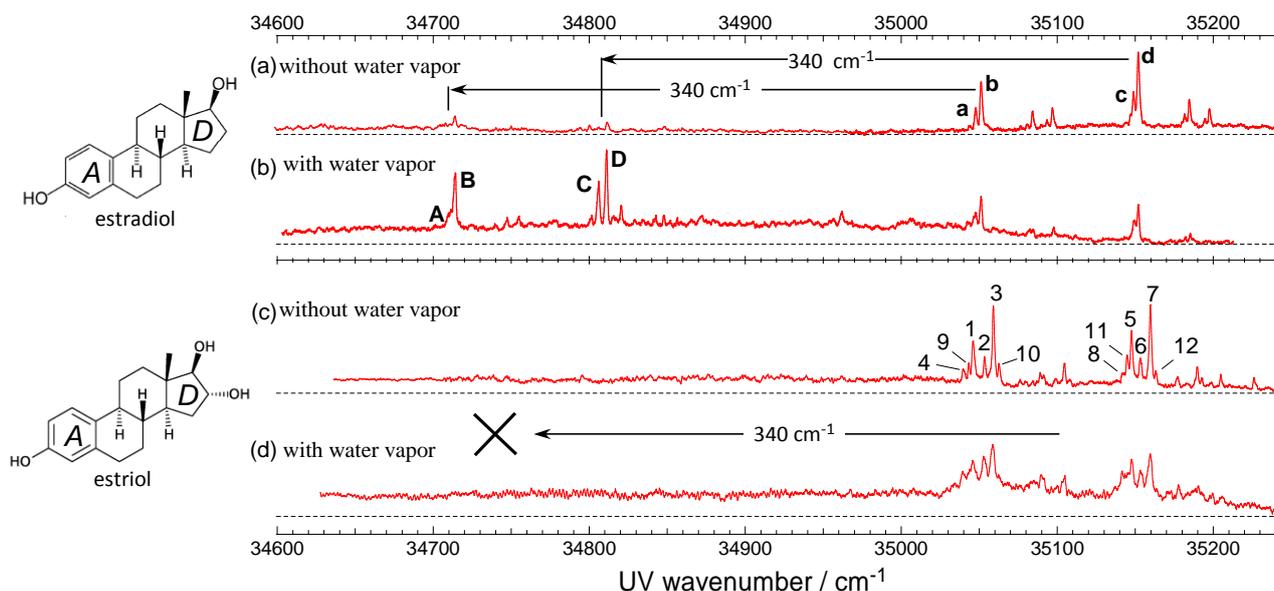


Fig.1 加える水蒸気の量を変えて測定した(a, b)estradiol, (c, d)estriol の LIF スペクトル. 左図は estradiol と estriol の簡略図.

A と D は炭素環の名前.

【結果・考察】

[単体] Fig.1(a), (c)はそれぞれキャリアガス中に水蒸気を加えず、 $34600\text{-}35200\text{ cm}^{-1}$ の領域で測定した E_2 と、 E_3 の LIF スペクトルである。これを見ると $35050\text{-}35150\text{ cm}^{-1}$ の領域にいくつかの鋭いバンドが観測されているのが分かる。それぞれのバンドをモニターして測定した HB 及び IR スペクトルの結果から、スペクトル(a)で観測されたバンド **a-d** と(c)で観測されたバンド **1-8** は、それぞれがすべて異なったコンフォメーションを持った E_2 と E_3 の単体に帰属されることが分かった。更に、DFT 計算によって得られた振動数計算と、安定構造(estradiol:6, estriol:16 個)のエネルギーとの比較により、これらのコンフォーマーは分子内の OH 基の配向の違いによって生じていることが明らかになった。興味深い結果として、 E_3 において予想される異性体数 16 に対して、ジェット中で観測されたそれは、その半分である 8 にまで減少していることが挙げられる。これは *D*-ring に存在する 2つの OH 基が分子内水素結合を形成することで、特定の構造が安定になっているためである。また、*D*-ring の OH 基の回転による次元ポテンシャルエネルギー曲面の計算の結果から、分子内水素結合をしていない異性体はジェット冷却中に分子内水素結合をしている異性体へ構造を変換していると示唆された。

[水和クラスター] 試料気体に水蒸気を加えることで、 E_2 の 1:1 水和クラスターの LIF スペクトルを得た(fig.1 b)。新たに得られたバンド(A, B)および(C, D)はそれぞれ、単体の原点(a, b)および(c, d)から約 340 cm^{-1} Red-shift した位置に現れている。この電子遷移エネルギーの大きな Red-shift は水分子が E_2 の発色団であるフェノール基に水素結合していることを示唆している。バンド **A-D** をモニターした IR スペクトルでも、 E_2 単体の *A*-ring OH の伸縮振動が Free に比べ約 128 cm^{-1} Red-shift した位置に OH バンドが現れた。このことから E_2 は、*A*-ring OH を proton donor として水分子と安定な水素結合を形成する(Fig.2 a)と結論づけた。それに対して、Fig.1 (d)に示してあるのはキャリアガスに水蒸気を加えて測定した E_3 の LIF スペクトルであるが、 E_3 単体の原点である **1-8** から約 340 cm^{-1} Red-shift した位置に新しいバンドは観測されていないことが分かる。一方、バンド **9-12** をモニターして測定した IR スペクトルでは、Free の OH 伸縮振動($\sim 3657\text{ cm}^{-1}$)と水素結合した OH 伸縮振動($\sim 3536\text{ cm}^{-1}$)、水分子の ν_3 ($\sim 3722\text{ cm}^{-1}$)が観測された。この結果は明らかに、バンド **9-12** が estriol 水和クラスターに帰属できることを示唆している。更にバンド **9-12** は、単体の原点バンド **1-8** からみて、水素結合形成による電子スペクトルの shift 値が小さいため、発色団から離れた *D*-ring 側の OH 基と水分子との水和クラスターによると帰属した。したがって、 E_3 は E_2 とは異なり、*A*-ring OH ではなく *D*-ring OH が水分子と安定な水和構造をとると結論づけた。更に、Fig.2 (b)に示す DFT 計算により得られた $E_3\text{-H}_2\text{O}$ 1:1 水和クラスターの安定構造から、水分子が E_3 の 2つの *D*-ring OH と環状の水素結合ネットワークを形成することで特異的な安定構造をとっていることが分かった。このように、同じ estrogen と雖も、水酸基の数が 1つ違うだけで単体構造や水素結合能力、それに付随する水和構造に大きな違いを生じることが明らかとなり、これが生理活性強度に

違いをもたらす要因の 1つであると結論づけた。発表ではここには示さなかった estrogen 単体及び、水和クラスターのコンフォメーションについても議論する。

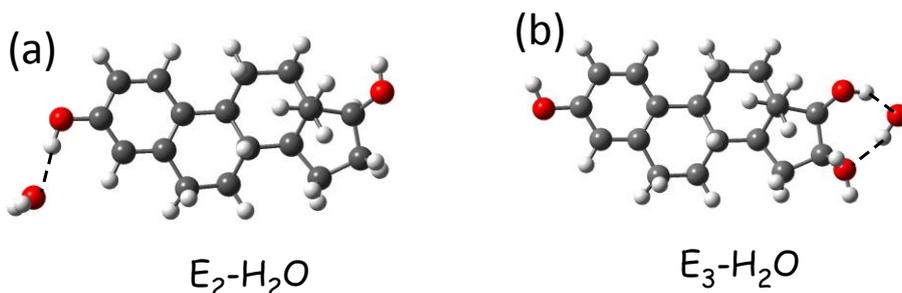


Fig.2 DFT 計算によって得られた 1:1 水和クラスターの異性体の内、最も安定な (a)estradiol- H_2O , (b)estriol- H_2O . 点線は水素結合を表す。