

乙

報告番号 <sup>\*</sup> 第 4221 号

# 主論文の要旨

題名

精密構造認識に基づく  
アントシアニンの分子会合



氏名 吉田久美

## 主論文の要旨

報告番号

※ 第

号

氏名

吉田 久美

アントシアニンの化学的研究は、古くから多数の著名な化学者により行なわれ、複雑なアントシアニンの構造決定法や、単純なアントシアニンの合成法はすでにある程度確立された。しかし、植物に存在する状態、即ち真の色素の姿を明かにした例はこれまで皆無である。アントシアニンは中性水溶液中では不安定で、容易に水和され退色してしまうため、これまでの構造決定は全て強酸性下のフラビリウムイオン型のアントシアニンの構造決定であった。そのため、色素の発色団が天然には数種しか存在しないにも関わらず、なぜ、多様な色を発現するのか、あるいは、単離すると不安定なアントシアニンが、なぜ、植物中では弱酸性ないし中性でありながら安定であるのかという、花色変異と安定化の謎についての、直接的な解は全く得られていなかった。

本研究は、アントシアニンの化学的研究の究極の目的である、上記の2大疑問の答えが、アントシアニンの分子会合機構の精密な解明によって得られるという考えに基づいて行った。解の一つを得ることができ、アントシアニンが、非共有結合性の弱い分子間相互作用に基づく分子会合によって、安定性、色の多様性という新たな機能を獲得することを解明した。同時に、その会合においては、精密な構造認識がなされていることも明かにした。これにより、新しい概念と大きな可能性を含む、「会合分子」の化学的研究に新しい方法論を提供できたものとする。

全体は3章よりなり、第1章「アントシアニンの高速液体クロマトグラフィーによる分析」では、化学的研究の基本である、物質の分析、単離法について、従来法に勝る方法を開発した結果について述べた。第2章「ツユクサ青色花卉色素コンメリニンの構造」は、本論文の中心であり、コンメリニンの $^1\text{H NMR}$ およびCDによる会合構造解析、中心金属を天然型のマグネシウムからカドミウムに変えたコンメリニン様錯体のX線結晶構造解析により、中性状態の、アンヒドロ塩基型アントシアニンの構造解明に成功し、アントシアニンの分子会合を実証した結果を記した。第3章「アシル化アントシアニンの分子会合」では、中性希薄溶液中でも安定なアントシアニンとしてリンドウ色素および紫ヤム色素を取り上げ、その特異な安定化機構である分子内会合構造について $^1\text{H NMR}$ およびコンピュータ支援コンフォーメーション解析を行なった結果を記した。

## 第1章

アントシアニンの分析法は、迅速性、分離能等の点から現在、高速液体クロマトグラフィーが主流になってきている。しかし、アントシアニンの化学的性質から、pHが1以下という苛酷な条件で分析しなくてはならず、再現性に乏しく問題であった。一方、アントシアニンを指標にしたケミタキソノミー研究、食用色素としての利用を目指した安定なアントシアニンの調査、花卉園芸などにおける品種改良を目的とした色素の分析といった面からも、アントシアニンの簡便な分析法の確立は重要な意味を持つ。本章では、従来のオクタデシルシリカゲルを担体とした逆相カラムに替わり、ポリマーにオ

クタデシル基を結合させた逆相カラム (Asahipak ODP-50) とフォトダイオードアレイ検出器を組み合わせたグラジエント分析法を開発し、多岐にわたる極性を有する成分を30～40分間の短時間に分離能よく分析し、同時に、含まれる色素の構造 (芳香族酸の数の推定、母核の推定など) も推定できる有用な方法を確立できた。

## 第2章

ツユクサ青色花卉色素コンメリニンは、1919年の柴田らによる金属錯体説を証明する色素として、1958年に林らによって単離された金属錯体アントシアニン (メタロアントシアニン) である。その構成成分は、後藤、田村らによってマロニルアオバニン6分子、フラボコンメリン6分子にマグネシウム2原子であると決定された。本章では、コンメリニンの分子内に存在する分子会合をその精密構造を明かにすることにより解明した。

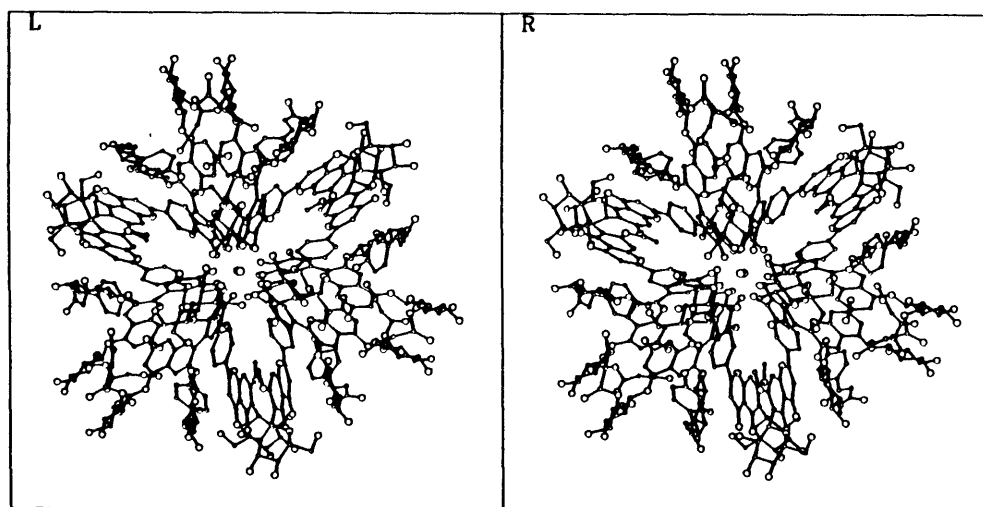
まず、コンメリニンの構成フラボンであるフラボコンメリンの高濃度の水溶液中における $^1\text{H}$  NMR、CDを解析し、母核芳香間同士の左旋的な自己会合を明かにした。

次に、アントシアニン、フラボン、金属を変えたコンメリニン様錯体を再構成した。コンメリニンの生成に必須な最低部分構造を明かにでき、コンメリニンの生成において、厳密な構造認識がなされていることを明かにした。

得られた色素を用いて、 $^1\text{H}$  NMRの1次元、2次元測定を行ない、コンメリニンのスペクトルを完全に帰属した。分子間のNOEを詳細に解析することにより、コンメリニンにおけるアントシアニンとフラボンの会合 (コピグメンテーション) が、母核同士が交差平行に会合したものであることを明

かにした。

$^1\text{H}$  NMR、CDにより得られた知見を基に、中心金属をカドミウムに変えたCd-コンメリニンのX線結晶構造解析に成功した。これは、アントシアニンとしてばかりでなく、糖の結合したフラボノイドとしても始めてのものである。コンメリニンにおいて、アントシアニンは4' ケト3' アンヒドロ塩基アニオン型をとり、B環の3'、4'位の酸素原子に金属イオンが歪んだ三角柱型を取り配位していた。さらに、アントシアニン同士、フラボン同士は左旋的に会合し、アントシアニンとフラボンが右旋的に会合していた。いずれの会合においても、母核芳香間同士の距離は約3.5ないし4Åと、ファンデアワールス半径に近いほど近接しており、分子内部は非常に疎水的で、表面には親水性基が存在して水分子との親水性相互作用によりより会合が強められることが分かった。X線解析によって得られた座標データは、NMR、CDから得られた会合様式と極めてよく一致することも明らかにでき、コンメリニンが溶液中と結晶状態とで同じコンフォーメーションを取る事がわかった。



Stereostructure of Cd-commelinin

さらに、ツユクサ紫色変異種の色が発現機構を明かにした。青色および紫色の花弁成分を単離して様々な条件下で再構成実験を行なうことにより、2種の異なるタイプの変種の存在が明かになった。その一つは、花弁の生理的条件の違いによって青色にならない変種で、コンメリニン錯体は、アントシアニン、フラボンおよび金属成分が揃っているだけでは生成せず、花弁が一旦弱アルカリ性にならないと生成しないことが明らかにできた。もう一方は、アントシアニン成分が異なるためにコンメリニンが生成しないタイプで、会合分子の形成において、糖一つの欠如、あるいはアシル基一つの欠損でも不可能になるなどの厳密な構造認識がなされていることを明らかにした。

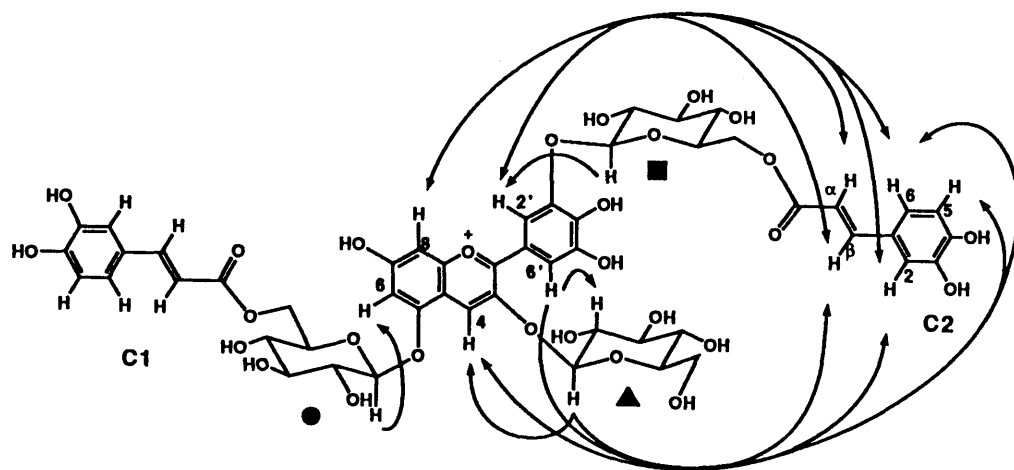
これにより、コンメリニンの青色がアントシアニンのアンヒドロ塩基アニオンによるものであることが実証でき、金属錯体説を有機化学的に証明することに成功した。同時に、アントシアニンが非常に精密な構造認識に基づく疎水結合によって会合することを分子の構造レベルの精度で明らかにし、この会合により色素が安定化されることを証明した。

### 第3章

本章では、分子間でなく分子内での疎水相互作用による会合によって安定化される機構を持つ、アシル化アントシアニンについて研究した。この種のアントシアニンの安定化機構は、後藤らにより、芳香族酸のサンドイッチ型会合モデルが提案されてきたが、会合構造の実証はなされていなかった。そこで、この会合構造の解明を行なった。多アシル化アントシアニンは中性の水に対する溶解性が悪く、アンヒドロ塩基型でのアントシアニンの解析はで

きなかった。しかし、酸性メタノール中でも分子内会合することが分かったので、今回、 $^1\text{H}$  NMRの実験データに基づいてコンピュータ支援のコンフォーメーション解析を行なった。

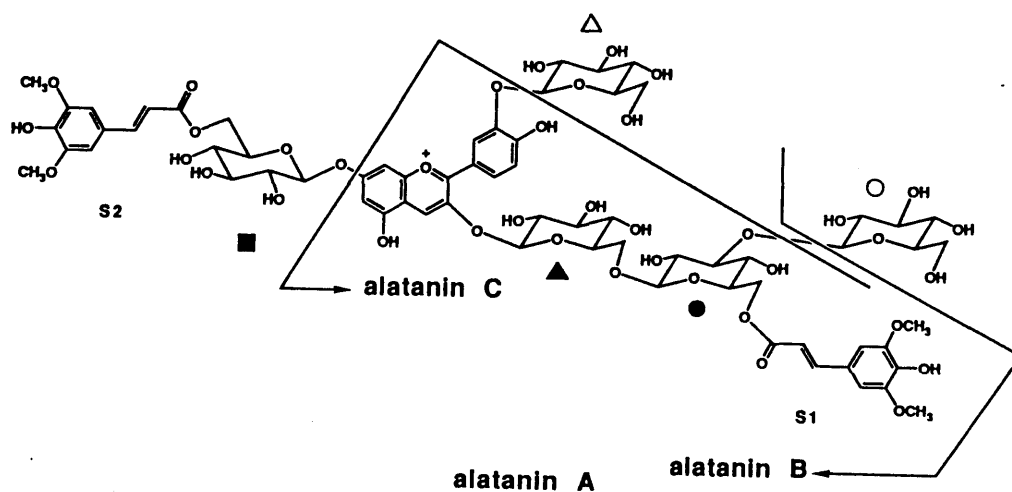
まず、リンドウ青色花卉色素ゲンチオデルフィンのスペクトルを完全に帰属し、結合定数、NOEを詳細に解析した。これにより、分子内に2個あるコーヒー酸のうち、B環に結合した方だけが母核とNOEがあることが明らかになった。この距離データを加味したコンフォーメーション解析を行なった結果、コーヒー酸が約4 Åの距離で分子内会合した構造を得られた。また、母核に結合した糖は、その面がほぼ母核に直角であることが明らかにできた。



Structure of gentiodelphin and its NOEs observed in TFA-d-CD<sub>3</sub>OD

次に、紫色のヤマから3種のアントシアニンを単離し、これらの分子内会合について検討した。正確なアントシアニンの構造を決定し、芳香族酸を分子内に1個しか有しないにも関わらず、多アシル化アントシアニンと同等の

の安定性を持つアントシアニンを見いだした。これらのヤム色素についても、CD、 $^1\text{H}$  NMRを用いて会合構造を解明することができた。特に、アラタニンCに関しては、新しい、入れ子型の会合構造を取り安定化される機構を見出した。



Structures of yam anthocyanins