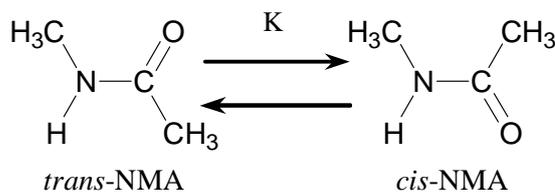


NMR 分光法による *N*-Methylacetamide の *trans-cis* 平衡に及ぼす

溶媒効果に関する研究

(立命館大学) 藤原純一, 長尾友子, 加藤稔

【序】タンパク質の構造安定性や構造に付随する機能の発現について、ペプチド結合のコンフォメーションが大きな影響を与えている。タンパク質中において、立体障害の影響からほぼ全てのペプチドは *trans* 体を取る。しかし、ごく微量に存在するタンパク質中の *cis* 体のペプチドが、タンパク質の機能発現に重要な役割を果たしていることが報告されているが、詳細については明確ではない。そこで、ペプチド結合を持ち、*trans-cis* 平衡における低分子量のモデルとして、*N*-methylacetamide (NMA) を用いて、溶媒中における NMA の *trans* 体から *cis* 体へのコンフォメーション変化(Fig. 1)における熱力学量を決定し、*trans-cis* 平衡に及ぼす溶媒の影響を調べた。今回の研究では、極性溶媒(水溶媒)中において、低濃度の範囲と高濃度の範囲で熱力学量を算出した場合、大きな違いが見られた。

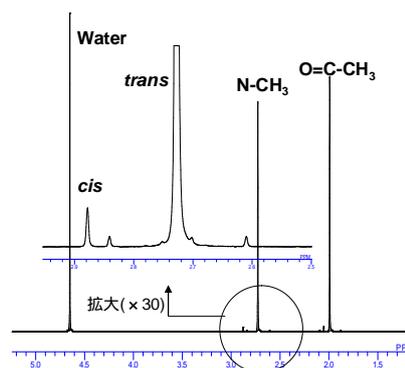
Fig. 1. *Trans-cis* equilibrium of NMA.

【実験】溶媒中における *trans* 体と *cis* 体の存在比は、NMR 分光法を用いて、各コンフォメーションのピーク面積強度から求めた。この存在比からコンフォメーション間における平衡定数 K を算出することで、自由エネルギー差 (G) を決定した。また、 K の温度依存性からエンタルピー差 (H) ならびにエントロピー差 (S) を求めた。得られた熱力学量を NMA のモル分率 (x) に対してプロットし、 $x=0$ における熱力学量を無限希釈時の熱力学量として算出した。

また、密度汎関数法(B3LYP / 6-31G(d,p))を用いて、気相中における NMA のコンフォメーション間の G と H を計算した。

溶媒効果に関する G と H の値は、溶媒中での実験値と気相中の計算値との差をとることにより算出した。

【結果と考察】NMR 分光法により得られたスペクトルを Fig. 2 に示す。Fig. 2 の N-CH₃ 側にある *trans* 体と *cis* 体のピーク面積強度を用いて、平衡定数 K を算出し、平衡定数の対数を縦軸に、温度の逆数を横軸にしたファントホッフプロットを Fig. 3 に作成した。

Fig. 2. NMR spectrum of NMA/Water-d₂ solution

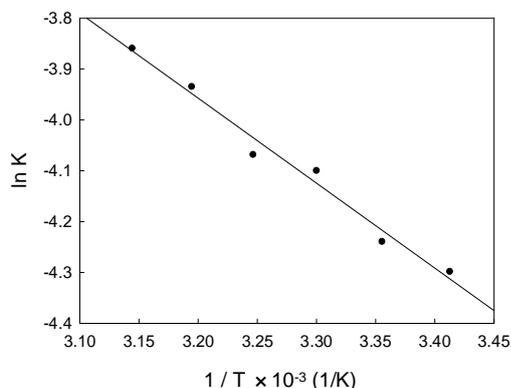


Fig. 3. Van't Hoff Plot for NMA trans-cis equilibrium in various concentrations of 10 mM NMA / Water-d₂ solution.

ファントホッフプロットの直線の傾きから式(1)より H を求め、Fig. 3 から 293 K の時の $\ln K$ の値を用いて、式(2)より G を求め、 H と G の差を用いて S を求めた。

$$\frac{\partial \ln K}{\partial (1/T)} = -\frac{\Delta H}{R} \quad \dots(1)$$

$$G = -RT \ln K \quad \dots(2)$$

(R : 気体定数($J K^{-1} mol^{-1}$), T : 絶対温度(K))

得られた熱力学量を Fig. 4 に示す。

Fig. 4 より、低濃度側 ($x = 0.4 \times 10^3$) と高濃度側 ($x > 0.4 \times 10^3$) では、 G には変化が見られないが、 H や S については大きな変化が見られる。

低濃度側では $x = 0$ とした無限希釈時、高濃度側では平均値として熱力学量を求め、Table 1 に示し、さらに計算から求めた気相中の熱力学量を引くことにより、溶媒効果に関する熱力学量を求めた(式 1)。各々から求められた溶媒効果に関する熱力学量変化を Fig. 5 にヒストグラムとして示す。

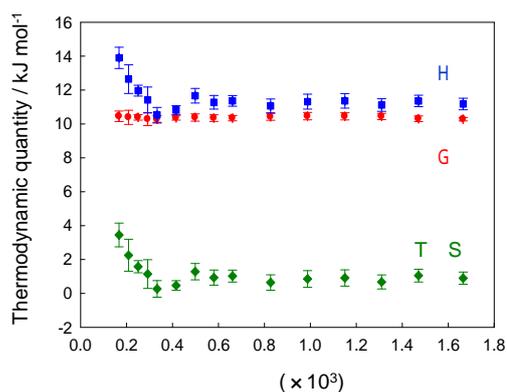


Fig. 4. Concentration dependence of thermodynamic quantities in water.

Table 1 : Thermodynamic quantities for trans-cis equilibrium in water and the gas phase calculated by Density Functional Theory (DFT) (kJ/mol).

Solvent	Permittivity	G_{exp}	H_{exp}	T	S_{exp}
Water	78.4	10.6 ± 0.1	16.9 ± 0.4	6.2 ± 0.4	—
		10.4 ± 0.1	11.3 ± 0.2	0.9 ± 0.2	—
Gas phase		11.4	10.2	-1.2	

(式 1)

$$G_{solve} = G_{exp} - G_{gas}$$

G_{solve} H_{solve} T S_{solve}

0.0004	-0.8	6.7	7.4
> 0.0004	-1.0	1.1	2.1

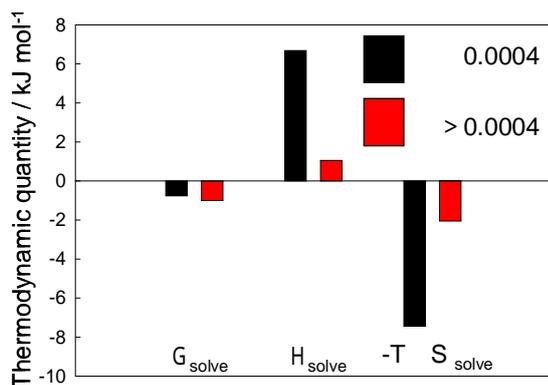


Fig. 5. Histograms for solvation thermodynamic quantities for trans-cis equilibrium.

Fig. 5 より G_{solve} の値は同じような値を示したが、 H_{solve} , $-T S_{solve}$ の値が低濃度範囲の方でより大きな値を取った。このことから、水和の寄与が低濃度範囲には大きく現れたと考えられる。