

3P016

赤外-紫外二重共鳴分光法による人工甘味料アスパルテームの 気相立体構造解析

(横浜市立大学・生命ナノ) ○中村大介、三枝洋之

Gas-phase structural determination of an artificial sweetener aspartame by IR-UV double resonance spectroscopy

(Yokohama City University) ○Daisuke Nakamura, Hiroyuki Saigusa

【序】 人口甘味料アスパルテーム(APM)は、アスパラギン酸(Asp)とフェニルアラニン(Phe)からなるメチルエステル化ジペプチドであり、分子単体で生理活性を持ち、味覚受容体と特異的に結合する構造を持つ事が知られている。また、APMなどのペプチドはタンパク質の部分構造でもあることから、その詳細な構造について古くから興味を持たれている。これまで、X線結晶構造解析などによりタンパク質の構造が調べられてきた。タンパク質中のペプチドが α -helix (α 型)

または、 β -sheet (β 型)と呼ばれる特異的な構造を形成することがわかっている。どちらのコンフォメーションを形成するかはペプチドごとに異なり、アミノ酸側鎖が主鎖に影響を与えていると考えられる。しかし、周囲の環境が存在する固相、液相では、側鎖の影響を調べることは難しかった。この影響を調べるために、孤立気相系におけるペプチドの構造解析が行われた。疎水性側鎖を含むジペプチドでは、 β 型が安定に存在することが報告されている[1]が、側鎖に水素結合サイトを持つジペプチドの検証は不十分であった。そこで、我々は側鎖にカルボキシル基を持つ APM の立体構造解析を行い、側鎖の水素結合サイトが構造に与える影響を検討した。

【手法】 レーザー脱離-超音速分子線法によって APM 分子線を生成し、二光子共鳴イオン化 (R2PI) スペクトル、振動スペクトルを測定した。また、理論計算により、様々な異性体の構造と振動数を計算した。MP2/6-311++G(d,p) のレベルで構造最適化を行い、相対エネルギー 5kJ/mol 以内の安定構造を抽出した。またこれらの構造に対して B3LYP/6-311++G(d,p) のレベルで調和振動計算を行った。

【結果】 図 2 に理論計算により得られた安定構造を示した。異性体 I、II、IV は α 型前駆体、III は β 型前駆体である。どの安定構造も

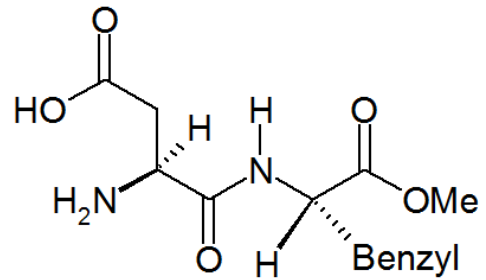


図 1. APM の構造: α 型はアミノ基と NH、側鎖のカルボキシル基と水素結合、 β 型はアミノ基とペプチド結合中の酸素が水素結合. Benzyl 基は -CH₂-C₆H₅ を示す.

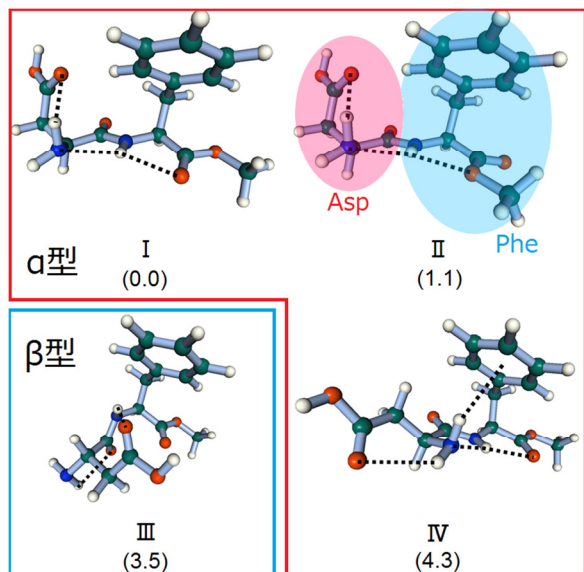


図 2. APM の安定構造.

括弧内の値は MP2/6-311++G(d,p) で計算した相対エネルギー (kJ/mol). 水素結合は破線で示した.

側鎖のカルボニル酸素が主鎖と水素結合を形成しており、側鎖が構造に影響を与えていることがわかる。一方で、Asp 側鎖の OH は強い水素結合サイトになりうるにも拘わらず、OH が水素結合に関わるような構造は相対的に不安定であった。また、主鎖の構造に着目すると、異性体 I と IV では、NH はカルボニル酸素と水素結合を形成しているのに対して、II ではメトキシ酸素と結合している。

図3は APM の UV スペクトルの零点振動付近を示したものである。シャープなピークが三本観測されたが、このうち peak A、peak C をプローブして振動スペクトルを測定したところ、図4のスペクトル(A,C)が得られた。どちらのスペクトルにも Free OH 伸縮が観測され、予想された安定構造と矛盾がない。一方、異性体 I-IV について B3LYP/6-311++G(d,p) で振動スペクトルを計算したところ、図4の下段の結果が得られた。NH 伸縮の振動数が4つの異性体で大きく異なっていることが分かる。この比較から、実験で得られた A の赤外スペクトルは異性体 I、C のスペクトルは異性体 II に帰属した。また、いずれの赤外スペクトルにもアミノ基の対称伸縮振動 (sNH_2) が観測されていないが、これは、吸収強度が弱く、更に、水素結合によりブロードになっているためと考えられる。

一方、peak B は異性体 III、あるいは IV の可能性がある。しかし、IV はフェニル基の π 電子とアミノ基が相互作用しているため、紫外吸収が大きくシフトすると予想される。一方、異性体 III は、観測された異性体 I、II と同様にフェニル基がフリーの状態にあるため、その紫外吸収は異性体 I、II と近いと推測される。従って peak B が異性体 III である可能性が大きい。

peak B の赤外スペクトルは現在測定中である。

【考察】 疎水性側鎖を含むペプチドでは、アミノ基とペプチド結合中の酸素が強く結合し、 β 型前駆体が最も安定に存在する。しかし、今回の結果によれば、APM では α 型前駆体が安定である。これは、アミノ基が N-H、側鎖のカルボキシル基と水素結合することで、ペプチド全体を利用した水素結合ネットワークを形成し、 β 型前駆体の安定性を上回るからだと解釈できる。このことは、側鎖の水素結合サイトは α 型のペプチドを安定化する可能性を示唆している。

【文献】 [1] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 118, 8296.

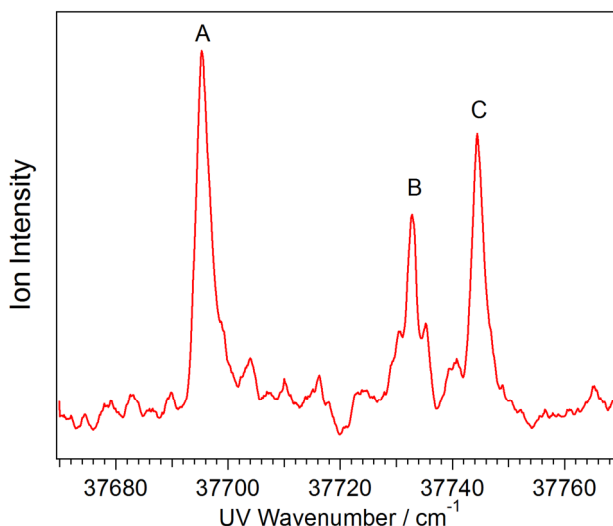


図3. APM の S_1 の零点振動準位付近の UV スペクトル：主要なピークを A,B,C で示した。

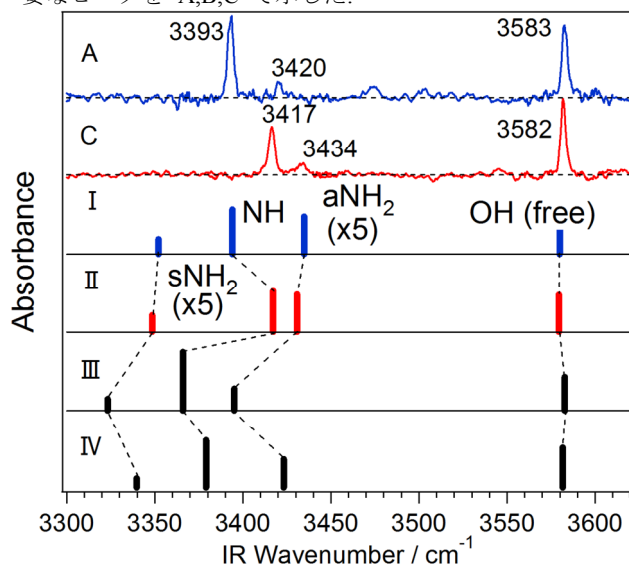


図4. APM の振動スペクトル. A, C: 図3に示した A,C をプローブした時の赤外振動スペクトル, I-IV: 図2に示した安定構造 (I-IV) についての調和振動計算の結果 (Scaling factor: 0.954).