

実験・理論的円二色性分光法による プロリン・ヒドロキシプロリン溶液の構造異性体解析

(産総研・計測フロンティア¹, 早大・先進理工², 神戸大・人間環境³)

○田中真人¹, 朝日透², 中川和道³

Experimental and theoretical circular dichroism study of proline and hydroxyproline solutions for conformer analysis

(Research Institute of Instrumentation Frontier, AIST¹, Waseda University², Kobe University³)

○Masahito Tanaka¹, Toru Asahi², Kazumichi Nakagawa³

【序】

円二色性(Circular Dichroism; CD)はキラル分子の立体構造の変化を強く反映し、近年の CD 計算手法の進展などと合わせて、分子構造解析手法として期待されている[1]。環状アミノ酸であるプロリン(Pro)は最も単純な不斉触媒として知られている[2]が、その触媒機構の解明にはその分子構造を詳細に知る必要がある。Pro は溶液中では Endo 体や Exo 体といった構造異性体 (図 1 参照) が存在し[3]、この異性体比などは温度や pH といった外部要因で変動する可能性がある。

そこで本研究では、Pro ならびに同様に環状アミノ酸である trans-ヒドロキシプロリン(trans-Hyp)、cis-ヒドロキシプロリン(cis-Hyp) 水溶液の pH や温度を変えた CD 計測と分子軌道計算による理論予測から、各条件での Endo 体と Exo 体などの構造異性体の変化を解析したので報告する。これら構造情報は触媒反応の理解に大きな知見を与える。

【実験及び計算方法】

試料として Pro, trans-Hyp, cis-Hyp の各 L 体、D 体を用いた。水溶液の pH は HClO₄ や KCl-NaOH バッファなどで pH1, 7, 12 に調整した。市販の CD 分光計(JASCO J-800)と温度調節ユニット(JASCO PTC-423L)を用いて、温度を 10°C から 70°C まで変化させて各試料の CD スペクトル計測を行った。試料濃度約 5mM で 1cm セルを用いて計測した。

理論計算は Gaussian09W を用いて、時間依存密度汎関数(TDDFT)法で行った。中性水溶液中の Pro の分子構造は既に詳細な計算結果が報告[3]されているため、その結果を用いた。それ以外の条件では B3LYP/6-31+G(d,p)レベルで構造最適化した。また各構造で相対エネルギーを様々な条件で計算した。CD は B3LYP/6-31++G(d, p)レベルで計算した。得られた結果に 0.3eV の半値幅のガウス関数で convolution して、最終的な CD スペクトルを予測した。得られた結果は比較のため 0.3eV レッドシフトさせた。全ての計算で PCM 法によって溶媒効果を考慮した。

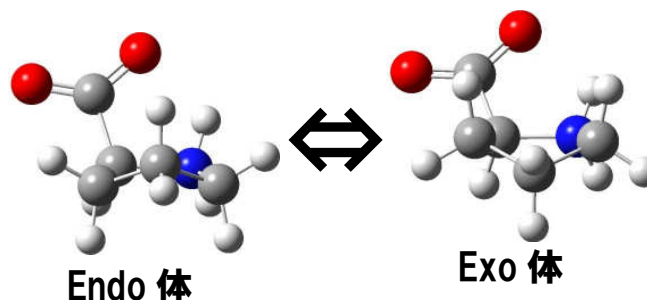


図 1 L-Pro の両性イオン状態での異性体構造
(灰：炭素、青：窒素、赤：酸素、白：水素)

【結果と考察】

図2に pH1, 7, 12 での L-Pro 水溶液の温度 10°C ならびに 70°C での CD スペクトル計測結果を示す。pH1, 7, 12 ではそれぞれ陽イオン、両性イオン、陰イオン状態で存在している。CD スペクトルはイオン状態で大きく変化することがわかる。pH1, 7 ではともに温度によってスペクトルに大きな変化は観測されなかったが、pH12 では CD 符号が反転するなどの大きな変化を観測した。この変化の原因として異性体比が温度によって変化していることが考えられる。

図3に各イオン状態での L-Pro 水溶液の CD スペクトルの計算結果を示す。ここでは Endo 体と Exo 体等の構造異性体それぞれの計算結果にエネルギー計算から見積もった異性体比を積算して、図示したスペクトルを得た。例えば、両性イオン状態では 215 nm の正のピークは Endo 体に、195 nm の負のピークは Exo 体に由来することが分かった。

さらに陰イオンでも Endo 体が主に正の CD を、Exo 体が負の CD を波長 220-250nm 付近に示すことがわかった。このことから実験で観測された温度上昇による CD 符号の正→負の変化は、Endo 体から Exo 体へ優先的な構造異性体移行したことによると考えられる。

講演ではその他の実験・計算結果とそれから予測される構造異性体の存在比などについて詳細に議論する。

【謝辞】

本研究の一部は文科省科学研究費補助金若手 A からの支援を受けて行われました。

【参考文献】

- [1] M. Tanaka *et al.*, *J. Phys. Chem. A*, **114**, 11928 (2010).
- [2] B. List, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2395 (2000).
- [3] J. Kapitan, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 13451 (2006).

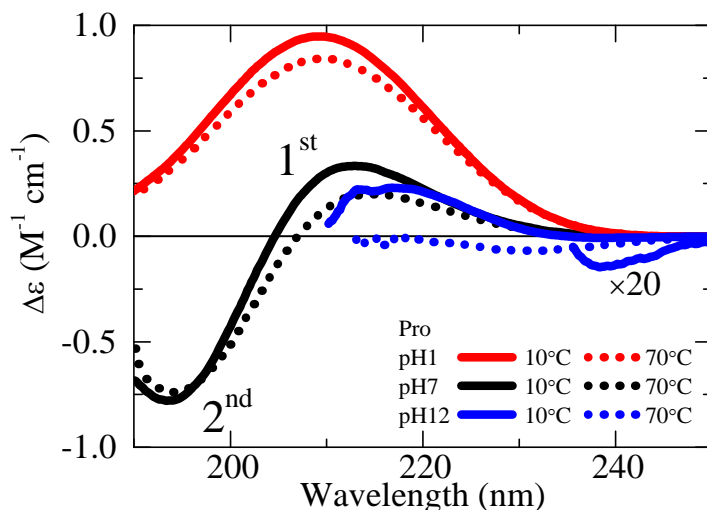


図2 L-Pro 水溶液の CD スペクトル計測結果。黒線：pH7，赤線：pH1，黒線：pH12，実線：温度 10°C，点線：70°C の結果を示す。

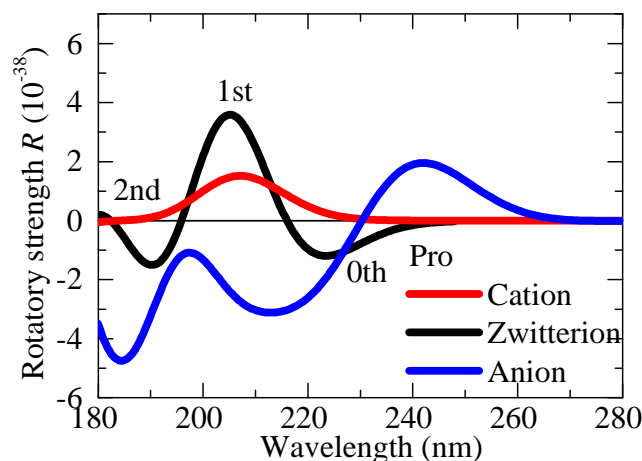


図3 TDDFT 法による L-Pro 水溶液の各イオン状態における CD スペクトル計算結果。(赤線：陽イオン、黒線：両性イオン、青線：陰イオン状態)