

# 1P17

## 赤外-紫外二重共鳴分光法によるアスパルテーム水和クラスターの 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 aspartame-water clusters 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、側鎖に水素結合サイトを持つアスパラギン酸(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る。ペプチドは生体中で様々な機能を持ち、それらの機能はペプチドの特異的な構造によって発現する。生体中でのペプチドの構造は、アミノ酸配列と共に周囲の水との相互作用によって決定される。これまで、孤立気相系においてアミノ酸配列の異なる様々なペプチドの構造情報が報告されてきた。一方で、周囲の水が構造に与える影響を検証した例は少ない。特に、側鎖に水素結合サイトを持つようなジペプチドの水クラスターについての構造情報は全くない。そこで、本研究では水が APM の構造に与える影響を実験的に明らかにするため、APM 一水和物(W1)の微細構造決定を試みた。

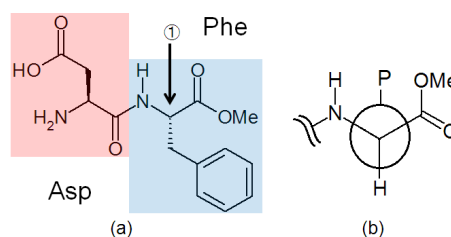


図 1. (a)APM の構造式.側鎖は楔矢印で示す.(b) ①から見た時のニューマン投影図. P は Phenyl 基を示す.

[手法] レーザー脱離-超音速分子線法によって W1 クラスターを生成し、二光子共鳴イオン化スペクトル、赤外-紫外二重共鳴分光法により振動スペクトルを測定した。また、これらの結果を解析する為に理論計算により W1 の各異性体について B3LYP/6-31++G(d,p) のレベルで構造最適化を行った。得られた構造に対して、MP2/6-31++G(d,p)のレベルで 1 点計算を行い、相対エネルギー 3kJ/mol 以内の安定構造を抽出した。またそれぞれの構造に対して 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. に理論計算によって得られた安定構造を示した。主鎖構造違いによって a, b と命名した。水の水素結合に関して、異性体 a1, a3, b1 では free の OH<sub>water</sub> が存在する。一方、異性体 a2 では OH<sub>water</sub> は Asp 側鎖に加えて、Phe 側鎖と相互作用をしている為 free OH<sub>water</sub> は存在しない。また、全ての安定構造において Asp 側鎖の OH(OH<sub>Asp</sub>)は水素結合を形成している。

図 3. に W1 のゼロ点振動付近の UV スペクトルを示す。シャープなピークが二本観測されたが、

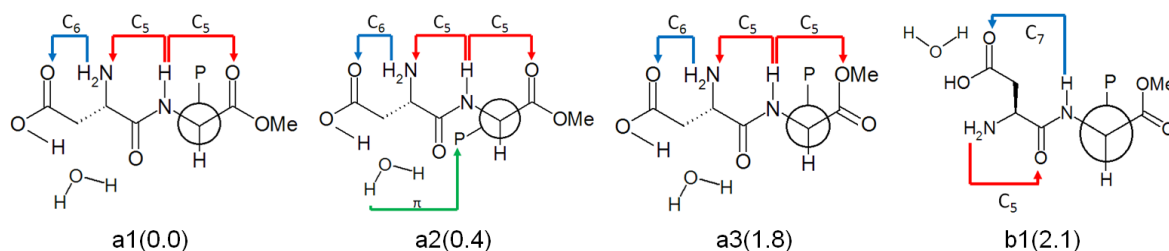


図 2. W<sub>1</sub>の安定構造.主鎖の構造によって a, b と命名した.水素結合の呼称を結合間に含まれる原子数 n で C<sub>n</sub>とした.主鎖間の水素結合は赤線.側鎖主鎖の水素結合は青線. Phenyl 基との相互作用は緑線. 括弧内の値は相対エネルギー(kJ/mol).

バックグラウンドがゼロでないことから、ブロードなピークが重なっている。peak A, peak B それぞれをプローブして振動スペクトルを計測したところ、図 4. 上段(A), (B)に示したスペクトルが得られた。(A)では  $3416\text{cm}^{-1}$  にピークが観測されたが、(B)では観測されなかったため、二つのスペクトルは異なる異性体由来である。(A), (B)どちらのスペクトルにも APM モノマー(M)では観測できた  $\text{free OH}_{\text{Asp}}$  が観測できず、予想された構造と矛盾がない。また、高波数側に二本ピークが観測され、これらのピークは  $\text{free OH}$  と  $\pi\text{OH}$  に帰属できる。しかし、 $\text{free OH}$ ,  $\pi\text{OH}$  を共に持つ異性体は安定ではない。これは peak A, peak B で観測したスペクトルは単一の異性体由来でない事を示唆する。

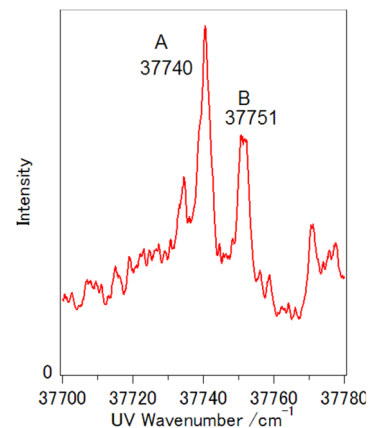


図 3. W1 の  $S_1$  付近の UV スペクトル。主要なピークを A, B で示した。

また、peak A, peak B 共に  $\pi\text{OH}$  が観測されていることから、ブロードな成分は a2 であると帰属できる。図 4.(C), (D)に M で観測された振動スペクトルを示す。(C)は a1, (D)は a3 と同様の主鎖構造に帰属された。[1] (D)の NH 伸縮振動が(A)でも観測された。このピークは主鎖由来の振動であり、peak A で観測した異性体と(D)の主鎖構造が一致している事を示唆している。このことから、peak A は異性体 a3 に帰属できる。次に、図 2. に示した安定構造について調和振動計算したところ、図 4. 下段の結果が得られた。(A)に観測された  $3396, 3437\text{cm}^{-1}$  はそれぞれ、異性体 a3, a2 由来の  $\text{bound OH}_{\text{water}}$  に帰属できる。低波数側の二本のピークは(B)でも観測された

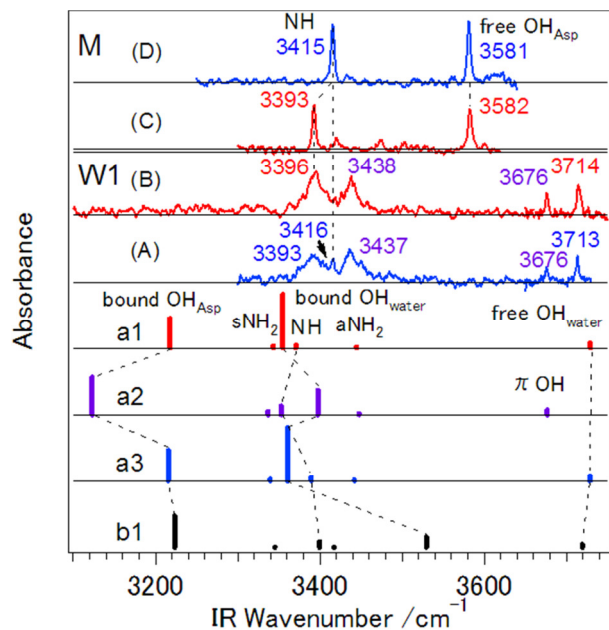


図 4. 上段:(A), (B)図 3. に示した peak A, peak B をプローブした W1 赤外振動スペクトル。(C), (D)APM の振動スペクトル。強度を 2 倍にして表示。(C)は a1, (D)は a3 と同様の主鎖構造。下段:図 2. に示した安定構造についての調和振動計算の結果 (Scaling factor: 0.96)。

ので、peak A, peak B で観測された異性体の水和構造は同一である事がわかる。これより、peak B は a3 と同様の水和構造を持つ異性体 a1 に帰属できる。(B)で  $3416\text{cm}^{-1}$  にピークが観測されない原因は、a1 の NH は a3 に比べてレッドシフトしている為に  $3396\text{cm}^{-1}$  のピークに重なっているからである。以上より、バックグラウンドのブロードなピークは a2、peak A は異性体 a3、peak B は異性体 a1 にそれぞれ帰属した。

本研究では親水性側鎖を含むジペプチドの水クラスターの構造を解析し帰属した。この結果、APM では水分子が配位しても主鎖構造に変化がない事がわかった。また、水分子が親水性の側鎖だけでなく疎水性側鎖にも配位する特異的な構造が観測された。これまで、タンパク質中で疎水基は水とは相互作用しないと考えられてきたが、親水基と隣り合う疎水基は水と相互作用をしやすい可能性を示唆している。