

1Pp056 赤外及び核磁気共鳴分光法による *N*-Methylformamide の立体配座解析

(放送大院) ○新佐依子・倉脇明子・濱田嘉昭

(広島大院理) 新屋慶・大野啓一

(帝京大薬) 戸原明・佐藤三男

【序】 アミド結合はペプチド結合とも呼ばれ、タンパク質の多様な立体構造を作り出す基本的な要素のひとつとなっている。したがって、アミド化合物の性質を知ることは、結果的にはタンパク質の機能を知ることにもつながる。このため、アミド化合物については、これまでさまざまな方面からの研究がなされてきた。中でも分光学的研究の果たした役割は大きく、アミド I, II などのバンドは、タンパク質の 2 次構造の決定に広く使われてきている。本研究では最も基本的なアミド化合物のひとつである *N*-methylformamide (NMFA) について、赤外および核磁気共鳴分光法を使って、気相、液相および溶液中の構造についての解析を行った。

【実験】

・低温マトリックス単離スペクトル

マトリックスガスにアルゴンを用い、NMFA を 2000 倍、1000 倍、500 倍以下の 3 通りに希釈した。これらの混合ガスを、12K まで冷却した CsI 基板上に吹き付け、赤外吸収スペクトルを測定した。また、19K, 24K, 29K, 33K, 39K, 41K の各温度でアニーリングを行い、その後再び 12K まで冷却してスペクトルを測定した。測定回数は 100 回、分解能は 1cm^{-1} に設定した。

・気相の赤外吸収スペクトル

10m の長光路セルに NMFA を 0.4Torr 導入して、気相での赤外吸収スペクトルを測定した。窓は KBr を使った。温度は室温、測定回数は 256 回、分解能は 0.25cm^{-1} に設定した。

・液相および溶液中の赤外吸収スペクトル

neat から 0.003M まで、さまざまな濃度における赤外吸収スペクトルを測定した。溶媒には CCl_4 , CDCl_3 , CS_2 の 3 種類を用いた。窓は BaF_2 を使い、光路長は $15\mu\text{m}$ から 1cm まで、濃度によって変化させた。温度は室温、測定回数は 20 回、分解能は 4cm^{-1} に設定した。

・液相および溶液中の核磁気共鳴スペクトル

赤外吸収スペクトルと同じ濃度における ^1H -NMR スペクトルを、600MHz の NMR 分光器で測定した。溶媒には CCl_4 , CDCl_3 の 2 種類を用いた。

【理論計算】 NMFA には 2 種類の回転異性体 (trans, cis) が存在し得る。さらに、各異性体には、 CH_3 基の内部回転により、それぞれ 2 種類の conformer (eclipsed (ec), staggered (st)) を考えることができる。本研究では Gaussian98 を使い、4 種類の構造すべてについて B3LYP/6-31++G** のレベルで計算を行った。また、NMFA は分子間水素結合により、二量体あるいはそれ以上の多量体構造をとり得る。このうち、可能な二量体構造すべてについて、同じく B3LYP/6-31++G** のレベルで構造最適化を行い、振動数を計算した。

【結果と考察】 Fig.1 に NMFA の 4 種類の構造を示した。trans, cis とともに ec が極小エネルギー構造である。trans, cis の存在比に関しては、これまでもいくつかの報告がなされてきており、cis の存在比は 10~15%程度とされてきた。今回我々が行った研究でも、ほぼ同じ程度の値が得ら

れた。cis-form の存在については、その可能性が強く示唆されていたものの、そのスペクトルの観測例はそれほど多くはなかった。しかし今回、我々が測定したマトリックス単離スペクトルではいくつかのバンドが cis-form に帰属され、気相でのその存在が事実となった。

興味深いことに、上記の trans : cis の存在比は、液相、あるいは濃度の異なる溶液中でもほとんど変わらない。このことから、分子間水素結合は動的なもので、結合と分離を繰り返す中でそれぞれの単量体がボルツマン分布に基づく存在比を維持していると考えられる。

trans と cis の CH₃ 基の回転障壁には大きな差があり、trans のそれは cis のその 1/10 程度でしかない。これは何らかの原因により、trans の

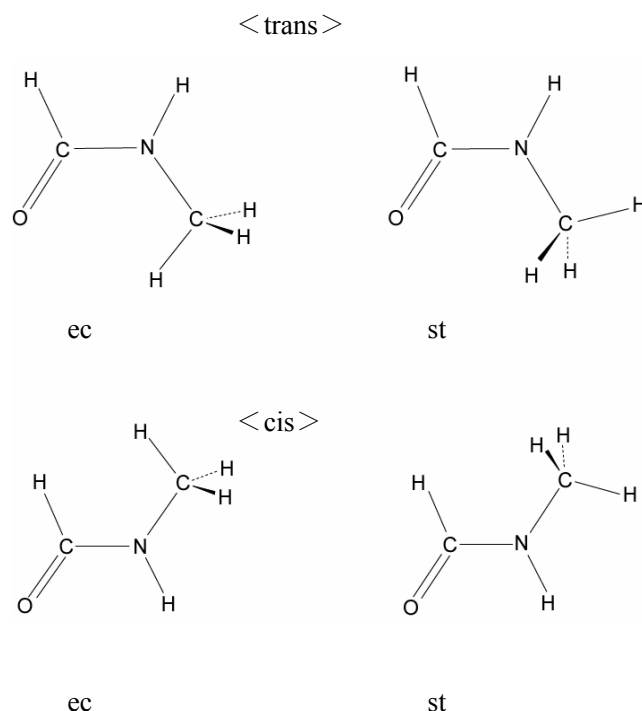


Fig.1
Rotational isomers of NMFA

ec-position が不安定化されたか、st-position が安定化されたか、どちらかであるといえる。trans の場合、ec-position では CH $\cdots$ O 間の距離が 2 つの原子の van der Waals 半径の和より小さく、CH $\cdots$ π 結合の存在が考えられる。一方、st-position の構造を保ったまま CH₃ 基だけを回転させて ec-position にしたときの CH $\cdots$ O 間の距離は、実際の ec-position のものより有意に小さい。このことは ec-position では van der Waals 反発力が働いていることを示している。st-position を安定化させる要因は特に考えられないことから、trans の CH₃ 基の回転障壁の小ささは、ec-position が不安定化されたことによると考えられる。

マトリックス単離スペクトルでは、trans あるいは cis のいずれにも帰属されないバンドがいくつか観測された。我々はこれを二量体構造のものであると考え、理論計算をもとに帰属を試みた。NMFA では全部で 32 種類の二量体構造が可能である。これらすべてについて構造最適化計算を行ったところ、9 種類の構造が得られた。二種類の単量体の組み合わせとしては、tt, tc, ct, cc の 4 通りが考えられる。但し、t は trans、c は cis を表し、1 文字目で表される単量体は H donor、2 文字目で表される単量体は H acceptor であるとする。このうち最も安定な二量体は cc であり、続いて ct、さらに tt および tc という順になる。マトリックス単離スペクトルで帰属できないバンドのうち、いくつかは tt-type のものに帰属された。まだ確定することはできないものの、tc および ct-type と思われるものもいくつか認められた。cc-type は、最も安定であるにもかかわらず、これまでのところマトリックス単離スペクトルとしては観測されていない。これは約 10% という cis の存在比を考えると、むしろ当然のことである。

最も基本的なアミド化合物のひとつである NMFA についての以上の考察は、アミド化合物、ひいては生体分子の、多量体構造形成過程のメカニズムの解明に結びつくことが期待される。