

# ポリアミノ酸の赤外線吸収

教授 増田 幸夫

赤外線吸収スペクトルは、特定の原子団の伸縮振動や変角振動などにもとづくもので、化合物の精密分析に用いられる外に、分子構造の研究にも重要な知見をあたえる。波長範囲は  $0.7\sim 1000\mu$  であるが、最近よく使われる波数単位 ( $\text{cm}^{-1}$ ) によれば、 $14,000\sim 1\text{ cm}^{-1}$  となる。この領域に分子の回転と振動による吸収帯が現われる。普通の赤外分光器は岩塩プリズムをそなえたもので、これで  $4,000\sim 650\text{ cm}^{-1}$  の領域の測定が出来、臭化カリプリズムを用いると  $900\sim 400\text{ cm}^{-1}$  の領域を測定出来る。 $400\text{ cm}^{-1}$  以下の遠赤外部の吸収は回折格子を備えた分光器で測定する。吸収スペクトルには、領域によって、色々の性質の吸収帯が現われる。 $3,600\sim 1,400\text{ cm}^{-1}$  の領域では、原子団に特有の吸収帯が多く認められ、たとえば O-H, N-H, C-H の伸縮振動による吸収帯は  $3,600\sim 2,800\text{ cm}^{-1}$  に、 $\text{RCONH}_2$ ,  $\text{RCONHR}'$ ,  $\text{RCONR}'\text{R}''$  の C=O 伸縮による吸収帯は  $1,700\sim 1,600\text{ cm}^{-1}$  に現われる。これらは分子の他の部分による影響が少いので、定性的に分子の化学構造をしらべたり、これらの原子団の含量をしらべるのに役立つ。 $1400\text{ cm}^{-1}$  より低い波数領域の吸収スペクトルには、個々の分子に特有の吸収帯が多く現われる。この領域は分子の同定に特に役立って、指紋領域とよばれている。 $1400\sim 600\text{ cm}^{-1}$  の領域には、 $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}$ ,  $\text{OH}$  などの変角振動、C-C, C-N, C-O, C-Cl などの単結合の伸縮振動による吸収帯があり、 $600\text{ cm}^{-1}$  以下の領域には、C-C-C, C-O-C などの結合角変角、C-C, C-N, C-O などの結合のまわりの内部回転による吸収帯、水素結合の伸縮や変角による吸収帯などが現われる。これらの振動は分子の特定部分に局在しないので、相互作用が大きい。その相互作用は、分子内におけるいろいろの原子団の配置によって影響される。そのため同じ原子団をもっている、個々の分子の構造によって相違した特有の吸収帯が観測されることになる。

ポリアミノ酸 (合成ポリペプチド) とは、アミノ酸の重合によって合成された高分子化合物で、天然タンパク質の模型物質として重要であり、その工業的応用も有望である。ここでは、数種の代表的なポリアミノ酸について、著者が実際に測定した赤外線吸収スペクトルを示し、それらの解釈と分子構造解明への手がかりについてのべる。

## §1. アミド特性吸収帯

ポリアミノ酸は  $(-\text{CHR}-\text{CO}-\text{NH}-)_n$  の形の分子で、その立体構造は  $\text{CHR}-\text{CO}$ ,  $\text{CO}-\text{NH}$ ,  $\text{NH}-\text{CHR}$  結合の内部回転によって決まっている。このうち  $\text{CO}-\text{NH}$  結合は常に平面トランス形であるが、 $\text{CHR}-\text{CO}$ ,  $\text{NH}-\text{CHR}$  結合にはいくつかの配置があるので、ポリアミノ酸の分子鎖にはいろいろの違った構造が存在することになる。そのうち基本的なものは、Fig. 1 に示すような  $\alpha$ -Helix と  $\beta$  形の二種であり<sup>1)</sup>、その他に、三回らせん構造や、周期的規則性のない不規則コイル (Random Coil) 構造も知られている。 $\alpha$ -Helix では、 $\text{CHR}-\text{CO}$ ,  $\text{NH}-\text{CHR}$  の単結合のまわりは安定なゴーシェ配置であり、C=O, N-H 結合はらせん軸にほぼ平行に並んで分子内水素結合  $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{N}$  を形成する。例えば天然タ

ンパク質でも、 $\alpha$ -ケラチンのような繊維タンパク質は、全部  $\alpha$ -Helix として存在し、球状タンパク質のミオグロビンでは、ポリペプチド鎖の 70% が  $\alpha$ -Helix 構造をとっている

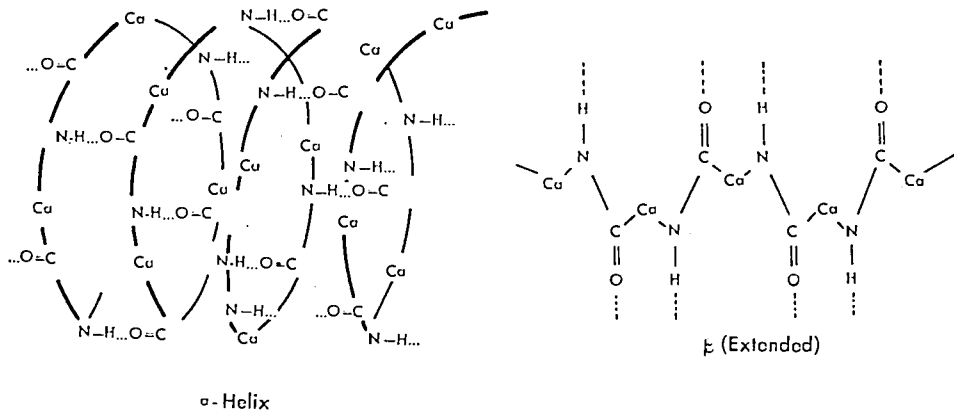


Fig. 1 Two conformations of polypeptide molecules

るといわれている<sup>2)</sup>。 $\beta$ 形構造は、CHR-CO, NH-CHR 結合がトランス形に近い配置であって、分子間の水素結合を作りやすく、例えば絹フィブロインというタンパク質では、伸長したポリペプチド鎖が逆平行に並び、 $\beta$ ケラチンでは同じ方向に並んでいると考えられている。これらの構造をしらべるためには、重要な骨組である CO-NH 結合（ペプチド結合又はアミド結合）による赤外特性吸収帯を用いるのが最適であるが、実際にポリアミノ酸の赤外吸収においてもアミド特性吸収帯がいくつかみとめられている。これらの特性吸収帯が立体構造とどのように関連するかを考えるためには、CO-NH の分子振動をくわしく検討することが必要である。ポリアミノ酸の低分子モデル化合物として、N-メチルアセトアミド  $\text{CH}_3\text{-CO-NH-CH}_3$  がもっともくわしく研究され、CO-NH によるアミド特性吸収帯が液体試料については、Table I のように確認されている<sup>3)</sup>。これらアミド特性吸収帯の帰属は分子振動の理論計算で、その詳細が明らかにされた。以下に、ポリアミノ酸について、その実測スペクトルを示し、アミド特性吸収帯を確定し、立体構造の決定に到る解析結果をのべる。

Table I

The frequencies and approximate descriptions of the amide bands of liquid N-Methylacetamide (Miyazawa et. al., 1956)

Amide A	3280 $\text{cm}^{-1}$	} Fermi resonance {	N-H stretching
B	3090		
I	1653	C=O	stretching
II	1567	N-H	in-plane bending, C-N stretching
III	1299	C-N	stretching, N-H in-plane bending
IV	627	O=C-N	in-plane bending
V	725	N-H	out-of-plane bending
VI	600	C=O	out-of-plane bending
VII	206	C-N	torsion

## §2. ポリグリシン

もっとも簡単で基本的なポリアミノ酸は、ポリグリシン ( $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-$ )<sub>n</sub> である。これには二つの形があって、それぞれポリグリシン I および II とよばれる。ポリグリシン I は X 線回折の結果より、 $\beta$  形構造といわれ<sup>4)</sup>、赤外吸収についても 2-30 $\mu$  の領域の測定がなされている<sup>6)</sup>。またこれについては、分子模型を組立ててその基準振動を詳細に計算し、実測値と比較対照し、分子鎖がジグザグの形をした  $\beta$  形ポリペプチドの本質をしらべようとする研究が完成に近づきつつある<sup>6)</sup>。ポリグリシン II は、X 線回折の結果では、 $\alpha$ ,  $\beta$  両形と違い、これは特殊な 3 回らせん構造と決定されている<sup>7)</sup>。なお調製法としては、ポリマー膜をジクロロ酢酸又はトリクロロ酢酸からひろげて作ると I 型になり、ポリマーを濃臭化リチウム溶液から沈でんさせて作ると II 型が得られる。

赤外スペクトルのアミド I, II 吸収帯が立体構造によって変ることは、以前から見出され<sup>8)</sup>、経験則によって構造の判定に用いられて来たが、最近では、 $\alpha$ -Helix と  $\beta$  形では、CO-NH グループ間の振動相互作用によって、2 本あるいは 3 本に分れることが明らかとなり、立体構造との相関関係も、理論と実測の両方によって確立されている<sup>9)10)</sup>。Table II にその結果を示すが、ポリグリシン I は、絹フィブロインと同じく逆平行  $\beta$  形であることが明らかである。またポリグリシンについては、400~190  $\text{cm}^{-1}$  の領域で、いわゆる遠赤外吸収が測定され、ポリグリシン I では 217  $\text{cm}^{-1}$  に、ポリグリシン II では 365  $\text{cm}^{-1}$  にアミド VII 吸収帯が見出された<sup>10)</sup>。このようにアミド VII 吸収帯の波数は立体構造によってほとんど 2 倍近く変るが、従来判定に用いられて来たアミド I, II 吸収帯では 5% 程度しか変らない。一般に、低波数領域の赤外線吸収は高分子の立体構造によりいちじるしく変って、その研究にきわめて有用である。

Table II

The frequencies ( $\text{cm}^{-1}$ ) and relative intensities of the amide I and II bands of polypeptides in various conformations (Miyazawa and Blout, 1961)

Conformation	Designation	Amide I	Amide II
Random coil (Poly-serine)	—	1655 (s)	1535 (s)
$\alpha$ -Helix (Poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamate)	$\nu$ (0) //	1650 (s)	1516 (w)
	$\nu$ ( $\theta$ ) $\perp$	1652 (m)	1546 (s)
Parallel-chain $\beta$ ( $\beta$ -Keratin)	$\nu$ (0, 0) //	1645 (w)	1530 (s)
	$\nu$ ( $\pi$ , 0) $\perp$	1630 (s)	1550 (m)
Antiparallel-chain $\beta$ (Poly-glycine I)	$\nu$ (0, $\pi$ ) //	1685 (w)	1530 (s)
	$\nu$ ( $\pi$ , 0) $\perp$	1632 (s)	1540 *
	$\nu$ ( $\pi$ , $\pi$ ) $\perp$	1668 *	1550 (w)

Relative intensities are given in parentheses:

(s)=strong; (m)=medium; (w)=weak.

\* Calculated value

## §3. ポリアラニン

ポリアラニン ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{NH}-$ )<sub>n</sub> では、原料アミノ酸の立体配置によって D, L, DL の各種の重合体が合成される。(天然タンパク質はすべて L-アミノ酸の重合で出来ている)。

そして立体構造についても、 $\alpha$ -Helix,  $\beta$ 形, Random Coil の三形が、色々の条件の変化によって生成する。物理的方法としては、X線回折, 赤外線吸収<sup>11)</sup>も多く測定されてい

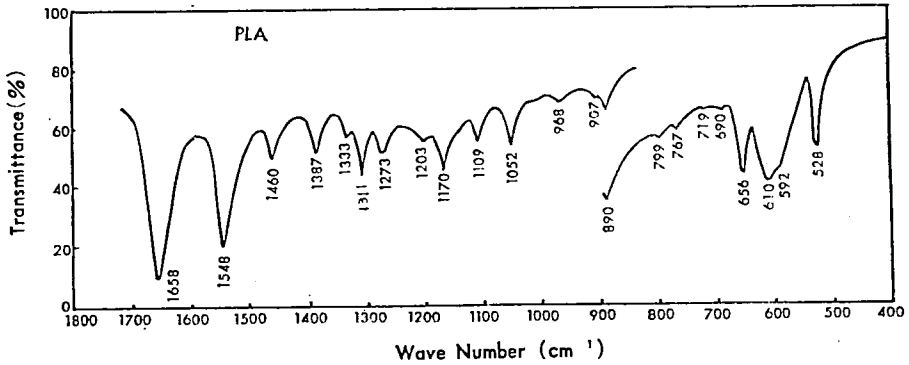


Fig. 2. Infrared spectra of Poly-L-alanine

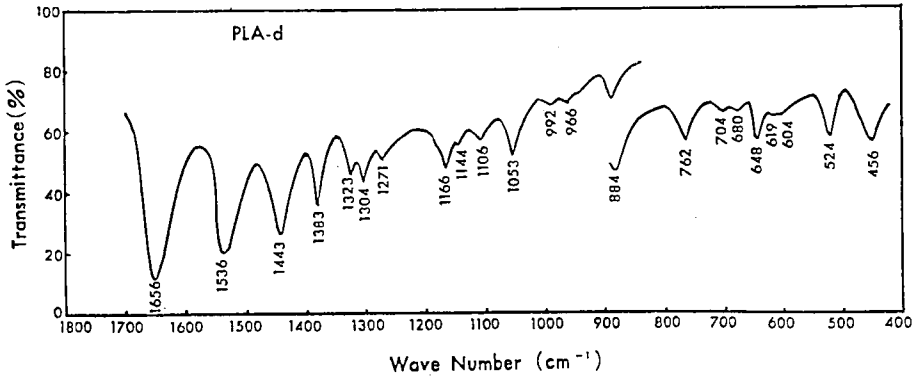


Fig. 3. Infrared spectra of N-deuterated Poly-L-alanine

る。Fig. 2 と Fig. 3 に著者の合成した試料について測定された赤外線吸収の結果の一例を示し<sup>12) 13)</sup>, 説明を加えようとする。Fig. 2 の試料は、高重合度になるように合成したポリ L-アラニン ( $A/I=75$ ) ( $A$ : N カルボキシアミノ酸無水物のモル数,  $I$ : 重合開始剤のモル数) で、そのトリフルオロ酢酸溶液を塩化銀板上にのぼし常温で減圧乾燥したフィルムについて、赤外線吸収スペクトルを測定した。特に N-H の吸収帯をくわしくしらべるために、重水素置換を行った試料についての測定結果が Fig. 3 である。Fig. 2 の試料をトリフルオロ酢酸重水素化合物 ( $CF_3COOD$ ) 溶液とし、塩化銀板上にフィルムとした。試料分子中の N-H は N-D に変化し、吸収帯の波数移動が期待される。まず Fig. 2 において、アミド I 吸収帯は  $1658\text{ cm}^{-1}$ , アミド II 吸収帯は  $1548\text{ cm}^{-1}$  にあらわれ、分子構造は  $\alpha$ -Helix と考えられる。Fig. 3 を見ると、アミド II は N-D 変角によるものが  $1443\text{ cm}^{-1}$  にあらわれている。図の右の部分の吸収スペクトルは、臭化カリブリズムによる測定であるが、この領域では、N 重水素化によって、 $610\text{ cm}^{-1} \rightarrow 456\text{ cm}^{-1}$  という大きな波数の変化が見られた。波数移動比が  $610/456=1.34$  であることから、これはアミド V 吸収帯 (N-H の面外変角振動によるもの) と帰属された。低重合度ポリ L アラニン ( $A/I=4$ ) ( $\beta$ 形構造) では、このアミド V 吸収帯は、 $695\text{ cm}^{-1}$  にあらわれ、 $\alpha\beta$ 両構造によって

85 cm<sup>-1</sup> の相違があることがわかった。これはアミド I, II 吸収帯の相違にくらべると、はるかに大きく構造判別に便利である。

#### §4. ポリグルタミン酸エステル

(-CH-CO-NH-) <sub>n</sub> の形のポリアミノ酸は、高重合度の高分子物の合成が容易で、しかも安定な  $\alpha$ -Helix を作り易く、また条件によっては、 $\beta$  形構造の重合体も作り得るので、きわめて有用である。これらポリグルタミン酸エステルのうちで、R がベンジル基である Poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamate (PBLG) は、今までに多くの研究者によって取上げられている<sup>13)</sup>。物理化学的にも X 線回折<sup>14)</sup>、赤外線吸収<sup>15)</sup>、旋光分散<sup>16)</sup>、など種々の方法が用いられ研究されている。著者も PBLG を取扱ったが、それは後からのべることとして、まず R がメチル基である Poly- $\gamma$ -methyl-L-glutamate (PMLG) の各種重合体の赤外線吸収の測定結果の一例を示すことにしよう。

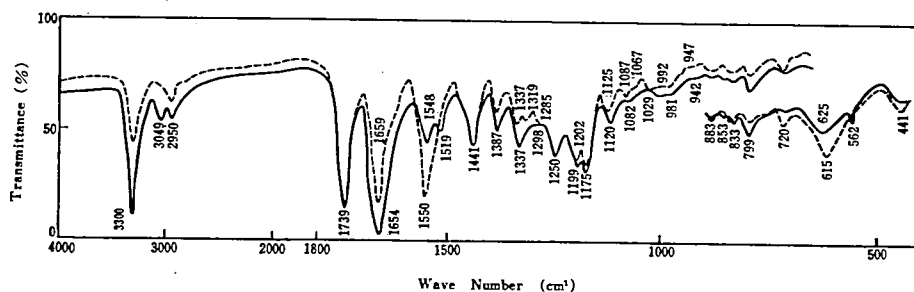


Fig. 4. Infrared spectra of Poly- $\gamma$ -methyl-L-glutamate (oriented film): electric vector of the infrared radiation parallel to the fiber axis (—), perpendicular to the axis (---).

PMLG は、高重合度の試料が得られること、側鎖が簡単であるため結果の解析が比較的楽であることで、注目されている。Fig. 4 は高重合度 PMLG (A/I=200) の赤外二色性スペクトルである。試料はクロロホルム溶液を臭化カリ板上にひろげ、乾燥させつつ指でこすって一定方向に配向させた固体薄膜を用いた。光源赤外線を塩化銀偏光子によって偏光させ、配向試料にあてると、赤外線の偏光方向と試料の配向方向とのなす角度により、吸収強度が変わる。これが赤外二色性である。実際には、赤外線電場が配向方向に平行お

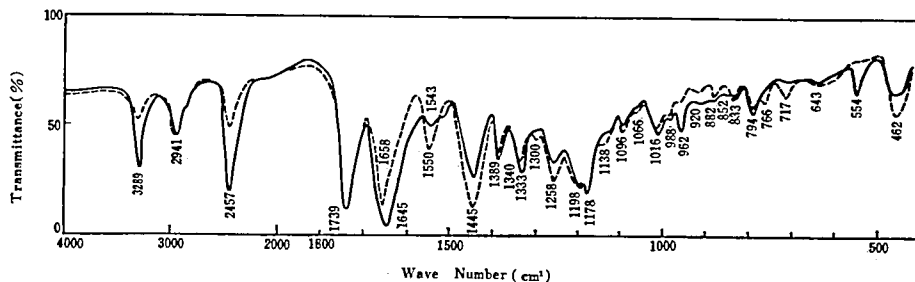


Fig. 5. Infrared spectra of N-deuterated Poly- $\gamma$ -methyl-L-glutamate (oriented film): electric vector of the infrared radiation parallel to the fiber axis (—), perpendicular to the axis (---).

よび垂直になるように試料にあてて、両方の場合の吸収スペクトルを比較する。高分子鎖の規則的配列に対応して、吸収強度の変化が見られる。Fig. 4 で  $3300\text{ cm}^{-1}$  および  $3049\text{ cm}^{-1}$  の吸収帯はそれぞれのアミド A および B の吸収帯であって、 $\alpha$ -Helix では、N-H 結合が繊維軸にほぼ平行なので (Fig. 1 参照)、平行二色性 (赤外線電場が配向方向に平行のとき強く吸収される) を示すのである。もし  $\beta$  形であれば垂直二色性を示すわけである。次に Fig. 5 は、N 重水素化 PMLG の赤外二色性スペクトルを示した。試料は  $\text{CF}_3\text{COOD}$  溶液として、それを多量のエーテル中に加えて再沈澱させ、汙過、洗滌、乾燥したものである。アミド A, B 吸収帯は、Fig. 4 にくらべて強度を減少し、それにかわって  $2457\text{ cm}^{-1}$  に大きな平行吸収帯があらわれる。(アミド A', B' 吸収帯) これは N-H $\rightarrow$ N-D の変化に対応するわけで、重水素置換の度合いが大きいほど、この変化は大きい。その他の吸収帯について、Fig. 4 と Fig. 5 を見くらべてゆくと、まづ  $2950\text{ cm}^{-1}$ ,  $2941\text{ cm}^{-1}$  の吸収帯はおそらく側鎖 C-H の伸縮振動によるものと思われる。  $1739\text{ cm}^{-1}$  の強い吸収帯は、側鎖エステル C=O の伸縮振動によるものである。  $1654\text{ cm}^{-1}$  の強い平行吸収帯は、  $1659\text{ cm}^{-1}$  のいづらか弱い垂直吸収帯とともにアミド I 吸収帯 (主鎖 C=O の伸縮振動) で、重水素化によって  $1645\text{ cm}^{-1}$  にわずかに移動する。Table II を参照すると、この試料分子が  $\alpha$ -Helix 構造であることが確かである。 $\alpha$ -Helix では、Fig. 1 でも明らかなように、CONH の C=O 伸縮振動は、繊維軸に平行のとき強く吸収される筈である。それに対し、  $1550\text{ cm}^{-1}$  の強い垂直吸収帯は、  $1519\text{ cm}^{-1}$  の弱い平行成分とともに、N-H 変角と C-N 伸縮とのカップリングによるアミド II 吸収帯である。 $\alpha$ -Helix のとき、N-H 変角は予想通り垂直成分が強く、重水素化によって N-D 変角の  $1445\text{ cm}^{-1}$  (アミド II 吸収帯) に移動することが明らかに示される。これらのアミド I, II 吸収帯は、もし分子が  $\beta$  形構造であれば、吸収帯波数はいづらか変化するし、アミド I は弱い平行吸収帯と強い垂直吸収帯に分れること、アミド II は強い平行成分と弱い垂直成分に分れることで、 $\alpha$ -Helix とは容易に判別出来るのである。Fig. 4 において、  $1285\text{ cm}^{-1}$  の垂直吸収帯が、Fig. 5 では、消失しているのも、これはおそらくアミド III 吸収帯 (C-N 伸縮と N-H 変角の関与) であると思われる。  $1175$ ,  $1178\text{ cm}^{-1}$  の強い吸収帯は、側鎖エステルの C-O 伸縮振動によるものである。臭化カリプリズム領域で、重要な吸収帯は次のようなものである。

アミド IV (C=O 面内変角)	$720\text{ cm}^{-1}$	$\perp$
V (N-H 面外変角)	615	$\perp$
VI (C=O 面外変角)	562	//
V' (N-D 面外変角)	462	$\perp$

アミド IV, VI 吸収帯については、その帰属はまだ確定的とはいえない。  $615\text{ cm}^{-1}$  の吸収帯は、それが垂直吸収帯であること、重水素化によって  $462\text{ cm}^{-1}$  へ移動し、波数比が  $615/462=1.33$  であることから、 $\alpha$ -Helix 構造のアミド V 吸収帯と確定された。次に、試料として、平均重合度が 4 程度の非常に短い PMLG を用いてその赤外吸収スペクトルを測定すると、Fig. 6 のような結果が得られる<sup>18)</sup>。この分子は、アミド I ( $1695\text{ cm}^{-1}$  と  $1629\text{ cm}^{-1}$ )、アミド II ( $1531\text{ cm}^{-1}$ ) の両吸収帯の存在によって、逆平行  $\beta$  形構造と推定されるが、臭化カリプリズム領域では、  $700\text{ cm}^{-1}$  に強い吸収帯がある。この吸収帯は、重水素化試料では、  $531\text{ cm}^{-1}$  に移動してあらわれる。波数比は  $700/531=1.31$  であるので、これが  $\beta$  形構造のアミド V 吸収帯と確定した。

このように、PMLG での結果はポリアラニンの時の結果とよく対応し、アミド V 吸収帯は、他のポリアミノ酸についての結果ともあわせて、ポリペプチド分子構造 (conformations) の決定に非常に有用であることが、ますます明らかとなった<sup>19) 20) 21)</sup>。例えばメチル基以外のポリグルタミン酸アルキルとしては、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソアミル基のものがしらべられ、いずれも  $\alpha$ -Helix では、 $615\sim 620\text{ cm}^{-1}$ 、 $\beta$  形構造では  $690\sim 700\text{ cm}^{-1}$  にアミド V 吸収帯が見出されている。

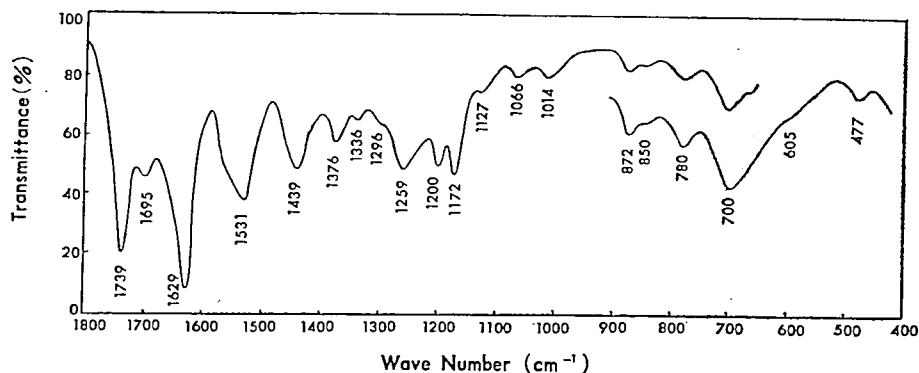


Fig. 6. Infrared spectra of low polymeric  $\gamma$ -Methyl-L-glutamate (A/I=4).

またこのアミド V 吸収帯を用いて、 $\alpha$ -Helix 含量の定量を試み、溶液旋光分散による結果とあわせて、Helix 絶対量 (右巻き、左巻きの各分量) を決定することも可能になった<sup>22) 23)</sup>。

ポリ L アラニンは右巻き Helix を作ることが、X 線回折によって明らかにされているが<sup>24)</sup>、このことは PMLG や PBLG についても確かであるといわれている。またこの Helical sense は、溶液旋光分散の測定結果から計算で求めた Moffitt-Yang の  $b_0$  値によっても決定出来る。例えば PMLG のクロロホルム溶液中の  $b_0$  は  $-670$  で、D アミノ酸の重合体 (PMDG) では  $b_0$  は  $+670$  になり左巻きの Helix を作っていることを示す。著者は、 $\gamma$ -Methyl-D- および L-Glutamate を出発アミノ酸として、分子中に D 残基と L 残基を共に含むような共重合ポリアミノ酸を合成してその赤外線吸収と旋光分散とを測定した。D-L 残基が 1:1 の割合で含まれているいわゆる PMDLG では、アミド V 吸収帯の吸収強度は減少することがみとめられた。旋光分散の  $b_0$  は、このとき 0 となる。アミド V 吸収帯の強度は、右巻きおよび左巻き Helix 含量の和を示すと考えられるが、PMDLG では、強度の測定から Helix 含量を求めると、PMLG (又は PMDG) のときを 100% Helix として、その 80% 程度と出ることがわかった。これが 0% にならないことは、一分子中で D 残基と L 残基は、ある数だけ同じ残基がつながったブロックとなって入りこみ、決して交互に連結して立体構造を打消し合っていないということである。しかもそのブロックの長さが相当に長いことがわかる。旋光分散による  $b_0$  値からは、右巻き左巻き両 Helix 含量の差が求められるので、この赤外吸収と旋光分散の両者の結果を組合せて、右巻き左巻きの Helix それぞれの含量が決定されたわけである。(ただし赤外吸収はフィルムで、旋光分散は溶液で測定したから、両者の Helix 含量は等しいという仮定が必要である)。

次に Fig. 7 には、ポリベンジルグルタマート PBLG (A/I=200) と PBLG-d (重水素

化物)のスペクトルを示した<sup>25)</sup>。1653  $\text{cm}^{-1}$ , 1642  $\text{cm}^{-1}$  は、それぞれアミド I, I' 吸収帯であり, 1550  $\text{cm}^{-1}$ , 1445  $\text{cm}^{-1}$  はアミド II, II' 吸収帯, 1280  $\text{cm}^{-1}$ , 960  $\text{cm}^{-1}$  はアミド III, III' 吸収帯で, 分子は  $\alpha$ -Helix 構造である。赤外二色性については, 他にも研究が

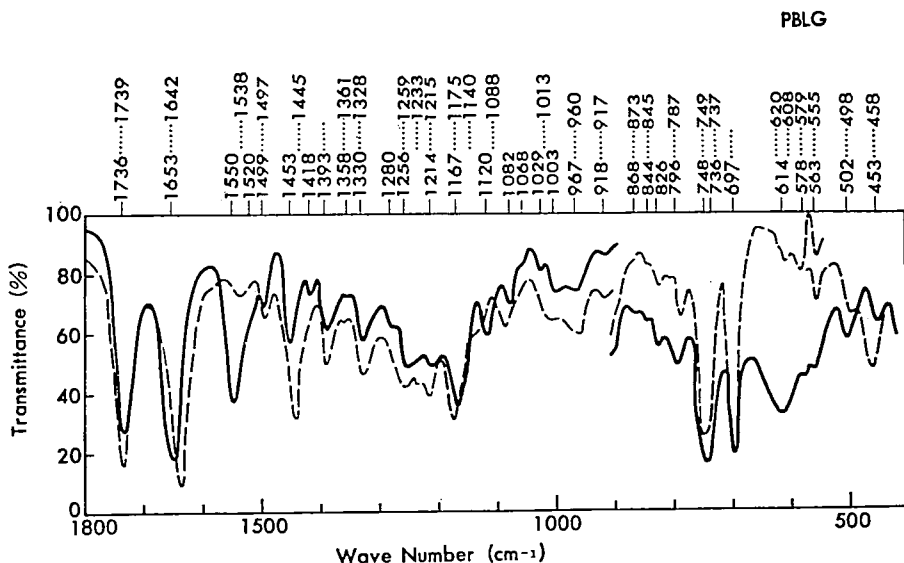


Fig. 7. Infrared spectra of Poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamate (—) and N-deuterated sample (---)

なされている<sup>26)</sup>。低波数領域で, 強い2本の吸収帯 (748  $\text{cm}^{-1}$ , 697  $\text{cm}^{-1}$ ) はベンジル基 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-$ ) 特有のものであるが, 614  $\text{cm}^{-1}$  の強い吸収帯は, 重水素化で消失し, 458  $\text{cm}^{-1}$  に新しい吸収帯があらわれる。この波数移動比が  $614/458=1.34$  であること, 著者による赤外二色性の測定で垂直吸収帯であることがわかったので, 614  $\text{cm}^{-1}$  は  $\alpha$ -Helix PBLG のアミド V 吸収帯と確定された。また低分子量の PBLG についての測定では, N 重水素化によって 520  $\text{cm}^{-1}$  にアミド V' 吸収帯があらわれることから,  $\beta$  形構造のアミド V 吸収帯は, 強いベンジル基の吸収と重なっているが, 695  $\text{cm}^{-1}$  に存在することは明らかである。PBDLG についてもアミド V 吸収帯の強度が減少することがみとめられた<sup>25) 36)</sup>。

Poly Sodium L-glutamate ( $-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-$ )<sub>n</sub> (PSLG) は, 水溶液中で

$$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{Na}^+$$

Coil 構造をとることが知られている<sup>27)</sup>。この物質を塩化銀板上のフィルムとして赤外線吸収を測定すると, アミド I (1658  $\text{cm}^{-1}$ ), アミド II (1577  $\text{cm}^{-1}$ ) の吸収帯に対して, 低波数領域では, 650  $\text{cm}^{-1}$  に幅広い吸収があるが, これが Random Coil 構造のアミド V 吸収帯として新たに考えられる。これは, 低重合度 PMDLG (D:L=1:1) (A/I=20) において, 同じく 650  $\text{cm}^{-1}$  に, 695  $\text{cm}^{-1}$  の吸収とともにあらわれた吸収帯と同じ性格のものと思われる。短い重合体で D 残基と L 残基が同数入っていると, 互いに打消し合って,  $\beta$  形構造もある程度とりにくくなり, Random Coil 構造が生じたのであろう。Random Coil 構造の PSLG のフィルムは一日放置して再び測定すると, アミド I (1621  $\text{cm}^{-1}$ ), アミド II (1565  $\text{cm}^{-1}$ ) およびアミド V (705  $\text{cm}^{-1}$ ) となって,  $\beta$  形構造に変化したことがみとめられる。従来  $\alpha$ -Helix と Random Coil 構造とは, アミド I, II 吸収帯では波数が



あまり変わらないので区別がなかなかつきにくかったが、アミド V 吸収帯の発見によって、両者の共存の場合の構造の判定が容易に出来るようになった。

### §5. ポリアスパラギン酸エステル

グルタミン酸よりメチレン基 ( $\text{CH}_2$ ) が1つだけ少ないアスパラギン酸のエステルからでも、高分子量のポリアミノ酸を合成出来るが、その分子構造は非常に特殊である。すなわち  $(-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-)_n$  ちポリアスパラギン酸エステルが形成する  $\alpha$ -Helix は、今までの  $\beta$  したポリアラニンやポリグルタミン酸エステルの場合と反対の巻き方が安定なのである。これは主として旋光分散の結果から明らかにされたこと<sup>28)</sup>、例えば Poly- $\beta$ -benzyl-L-aspartate (PBLA) は左巻きの Helix を作っている。しかもその Helix の安定性は、他のポリアミノ酸にくらべれば、はるかに小さいといわれている。著者は、この PBLA および PMLA (メチルエステル) について、高分子量、低分子量の各種試料を合成し、赤外二色性および N 重水素化試料の赤外吸収の測定を行った<sup>29)</sup>。PBDA については、その特殊な Helix についての赤外測定は他にもなされている<sup>30)</sup>。また PBLA は、試料の加熱後冷却という処理によって、 $\alpha$ -Helix から  $\omega$ -Helix という違った形に変わるといわれ、その赤外吸収と X 線回折による研究もある<sup>31)</sup>。Fig. 8

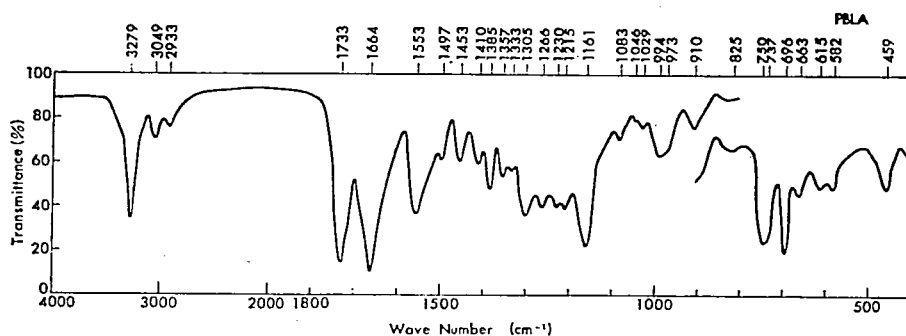


Fig. 8. Infrared spectra of Poly- $\beta$ -benzyl-L-aspartate.

に著者の測定した PBLA ( $\alpha$ -Helix 構造) の赤外スペクトルを示した。特性吸収帯の帰属は次の通りである。

アミド A 吸収帯	3279 $\text{cm}^{-1}$
アミド B "	3049
アミド I "	1664
アミド II "	1553
アミド III "	1305
アミド V "	615

$615 \text{ cm}^{-1}$  の吸収帯は赤外二色性の測定によれば垂直吸収帯であり、N 重水素化では  $459 \text{ cm}^{-1}$  に移動するので(波数比  $615/459=1.34$ )、アミド V 吸収帯と確定した。 $663 \text{ cm}^{-1}$  の吸収帯も、重水素化で消失する垂直吸収帯であり、CONH に関連があるものと思われるが、帰属については未確定である。

ポリアスパラギン酸エステルの低重合度分子についてしらべると、PBLA では、アミド V 吸収帯はベンジル基吸収と重なってよくわからないが、PMLA では  $695 \text{ cm}^{-1}$  にみと

められる吸収帯が、N 重水素化で消失して  $526\text{ cm}^{-1}$  に新たに吸収帯を生ずるので、(波数移動比  $695/526=1.32$ )、これがアミド V 吸収帯と確定した。ある種の低重合度 PMLA では、Random Coil 構造によるものと思われる  $643\text{ cm}^{-1}$  の吸収帯も見出されている。

ポリアスパラギン酸エステルの Helix が不安定でこわれ易いことは、Helix 形成溶媒の種類が少いことでもわかるが、また側鎖に p-ニトロベンジル基を導入してゆくと、Helical sense の反転が起ることもみとめられている<sup>82)</sup>。このニトロベンジル基は通常の  $\alpha$ -Helix とは別の super helix を形成して、いわゆる “Nitroaromatic effect” と呼ばれる反転効果の原因になると考えられているが、これらの解明に、赤外二色性の研究が試みられた<sup>83)</sup>。ニトロ基の繊維軸に対するある程度の配向がみとめられ、現在詳細を追究中である。

## § 6. 結 語

今までのべて来たように、赤外線吸収スペクトルの測定とその解釈は、ポリアミノ酸の分子構造を研究するために、きわめて重要な手段である。著者は、現在までに、ポリアラニン、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸系列の他に、例えばポリ L-ゼリン (Random Coil 構造) やポリ  $\beta$ アラニン ( $\beta$ 形構造) についても測定を行い、特に低波数領域のアミド V 吸収帯として、前者では  $647\text{ cm}^{-1}$ 、後者では  $695\text{ cm}^{-1}$  に存在する吸収帯を帰属させることが出来た<sup>21)</sup>。アミド V 吸収帯は、このようにしてポリアミノ酸分子の conformation の判別に、強力な知見をあたえることが明らかとなったのである。また天然タンパク質において、 $\alpha$ -Helix が他の構造と共存して複雑な状態の場合、このアミド V 吸収帯の応用によって、その構造の決定や Helix 含量の推定も可能になると思われる。ポリアミノ酸の赤外線吸収スペクトルを完全に解析し、すべての吸収帯の帰属を決定することは、今日まだ完成してはいないが、理論計算の分野の進歩は、電子計算機の性能の改良と相まって、非常な発展を示し、取扱う分子についても簡単なものから複雑なものへと、例えばポリグリシンからポリアラニンへと開拓されてゆきつつある現状である。近い将来には、もっとはっきりした帰属の解明が出来ると思われる。また低波数領域におけるアミド特性吸収帯研究の重要性はますます増加し、遠赤外分光光度計のめざましい進歩改良もそれに力を加えて、将来は分子全体の骨格振動に基づくアミド VII 吸収帯のような新しい領域がしらべられてゆくことが期待される<sup>84)</sup>。ポリアミノ酸の赤外線吸収スペクトルとその解析は今後ますます発展を望まれる分野として、高分子化学、生物化学、構造化学の各領域の研究者達によって大いに注目されている<sup>85) 87)</sup>。

## 参 考 文 献

- 1) L. Pauling and R. B. Corey, Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.), 37, 235 (1951).
- 2) J. C. Kendrew et al., Nature, 185, 422 (1960).
- 3) T. Miyazawa et al. J. Chem. Phys., 24, 408 (1956); 宮沢, 日化, 77, 171, 321, 526, 619 (1956).
- 4) C. W. Bunn and E. V. Garner, Proc. Roy. Soc. (London), A189, 39 (1947), etc.
- 5) S. Suzuki et al., Abstract of the International Symposium on Molecular Structure and Spectroscopy, Tokyo (1962), A110.
- 6) K. Fukushima, Y. Ideguchi and T. Miyazawa, Bull. Chem. Soc. Japan, 36, 1301 (1963).
- 7) G. H. C. Crick and A. Rich, Nature, 176, 780 (1950).
- 8) E. J. Ambrose and A. Elliott, Proc. Roy. Soc. (London), A205, 47 (1951).
- 9) T. Miyazawa, J. Chem. Phys., 32, 1647 (1960); T. Miyazawa and E. R. Blout, J. Am.

- Chem. Soc., 83, 712 (1961).
- 10) T. Miyazawa, Bull. Chem. Soc. Japan, 34, 691 (1961).
  - 11) A. Elliott, Proc. Roy. Soc. (London), A226, 408 (1954). etc.
  - 12) 福島, 井出口, 宮沢, 赤外ラマンスペクトル討論会講演 (1961).
  - 13) W. E. Hanby et al. J. Chem. Soc. (London), 3239 (1950).
  - 14) C. H. Bamford et al., Proc. Roy. Soc. (London), A205, 30 (1951).
  - 15) E. R. Blout et al., J. Am. Chem. Soc., 82, 3787 (1960).
  - 16) P. Doty and J. T. Yang, J. Am. Chem. Soc., 78, 498 (1956).
  - 17) 増田, 高分子化学, 20, 161 (1963).
  - 18) 増田, 高分子化学, 20, 166 (1963).
  - 19) T. Miyazawa, Y. Masuda and K. Fukushima, J. Polymer Sci., 62, S 62 (1962).
  - 20) T. Miyazawa, In "Polyamino Acids, Polypeptides and Proteins" (M. Stahmann, ed.), p. 201, The University of Wisconsin Press, Madison (1962).
  - 21) 増田, 高分子化学, 20, 206 (1963). T. Miyazawa, Y. Masuda and K. Fukushima, to be published.
  - 22) 増田, 高分子化学, 20, 210 (1963).
  - 23) T. Miyazawa, In "Aspects of Protein Structure" (G. N. Ramachandran, ed.), p. 257, Academic Press, London (1963).
  - 24) A. Elliott and B. R. Malcolm, Proc. Roy. Soc. (London), A249, 30 (1959).
  - 25) 増田, 高分子化学, 20, 171 (1963); Y. Masuda and T. Miyazawa, to be published.
  - 26) M. Tsuboi, J. Polymer Sci., 59, 139 (1962).
  - 27) A. Elliott et al., Disc. Faraday Soc., 25, 167 (1958).
  - 28) R. H. Karlson et al., J. Am. Chem. Soc., 82, 2268 (1960); E. M. Bradbury et al., Proc. Roy. Soc. (London), A259, 110 (1960).
  - 29) 増田, 宮沢, Goodman, 高分子学会年次大会講演 (1965); Y. Masuda, T. Miyazawa and M. Goodman, to be published.
  - 30) E. M. Bradbury et al., J. Mol. Biol., 2, 227 (1960).
  - 31) E. M. Bradbury et al., J. Mol. Biol., 5, 230 (1962).
  - 32) M. Goodman et al., Biopolymers, 1, 371 (1963); M. Goodman, Y. Masuda and M. Falxa, to be published.
  - 33) 増田, 宮沢, 未発表。
  - 34) 菅野, 宮沢, 日本化学会年会講演 (1965).
  - 35) R. Zbinden, In "Infrared Spectroscopy of High Polymers." p. 29, Academic Press, New York (1964).
  - 36) M. Tsuboi et al., Biopolymers, 1, 297 (1963).
  - 37) M. Tsuboi, Biopolymer Symposia, No. 1, p. 527 (1964).
  - 38) E. M. Bradbury and A. Elliott, Polymer, 4, 47 (1963).