〔原 著 論 文〕

グリシン、ジグリシン、トリグリシンを含む脂肪酸誘導体による
ポリグリシンII構造の形成

野田 卓夢^{*1}・近藤 沙南^{*1}・荷堂 清香^{*2}
長谷川 健^{*3}・山田 哲弘^{*1}

(受付 2015 年 9 月 1 日・審査終了 2015 年 9 月 25 日)

(早期公開 2015 年 12 月 14 日・DOI:10.1295/koron.2015-0059)

要 旨 グリシン、ジグリシン、トリグリシンを部分構造とする脂肪酸型両親媒性分子を合成し、固体試料のFT-IR スペクトルを測定した。これらの化合物は、いずれもアミドI吸収帯が 1650 cm^{-1} と 1640 cm^{-1} に分裂する典型的なポリグリシンII構造(3_1 -ヘリックスの一種)を形成していることがわかった。一方、トリアラニンやトリバリンを含む両親媒性分子を同じ固体試料で測定したところ、 1630 cm^{-1} 付近の強い吸収から平行 β -シートの形成が認められた。以前報告した逆平行 β -シートの赤外スペクトル(1690 cm^{-1} 付近の弱い吸収と 1630 cm^{-1} の強い吸収)をあわせると、トリペプチドが形成できる三つの二次構造(平行 β -シート、逆平行 β -シート、 3_1 -ヘリックス)すべての赤外スペクトルを得ることができ、小さなペプチド断片が作る二次構造を診断するための指標を作ることができた。

1 結 言

二分子膜中では、長鎖アルキル基を有する両親媒性分子が方向を揃え、二次元面内で配列している¹⁾。そのため両親媒性分子に組み込まれた原子団は、両親媒性分子の配向構造を反映して配列する。両親媒性分子の配向によって、さまざまな原子団の集合状態がコントロールできる点は、二分子膜の有用な性質の一つである。

筆者らはこの特徴を利用し、トリペプチド基を導入した両親媒性分子を用いて、ペプチド間水素結合を平行 β -シートや逆平行 β -シートにアレンジすることに成功した²⁾。トリペプチド基を両親媒性分子の部分構造にすれば、二分子膜形成時には平行 β -シートが形成され、伸張方向が異なるトリペプチドを部分構造とした両親媒性分子を混合すれば、逆平行 β -シート構造が得られるのである。

従来ペプチドの二次構造と赤外スペクトルの関係は、結晶構造が既知のオリゴペプチドから得られた赤外スペクトルと比較したり³⁾、単一アミノ酸からなるオリゴペ

プチドについての計算機シミュレーションの結果と比較したり⁴⁾することで議論されてきた。しかし、これらの方法では、シーケンスが一致しない限り二次構造の判別は近似的になる。しかも結晶中の水素結合と超分子のようなソフトマテリアル中で形成される水素結合が同等であるのか論じられたことはない。ジペプチドなど低分子量のペプチド断片を導入した新規分子が散見される超分子化学の現状では、水素結合様式を現実的かつ簡便に診断することが、その構造解析に極めて有効であると考えられる。ペプチド部分の配向状態がわかれば、分子全体の配向構造を推測しやすくなるからである。

トリペプチド程度のオリゴペプチドに焦点を絞るなら、形成可能な二次構造は平行 β -シート、逆平行 β -シート、および 3_1 -ヘリックス^{5)~7)}の三つに限られる。すでに二つの β -シートについては赤外吸収パターンを示したので²⁾、本報では、新たに 3_1 -ヘリックスを形成する両親媒性分子を合成し、その赤外吸収パターンを示すとともに、三つの二次構造を判別するための指標を作成した。また、以前報告したデーターとの比較から、試料の物理状態(固体、キャストフィルム、ゲルなど)や測定法と赤外スペクトルの関係を整理した結果についても議論する。

^{*1} 千葉大学教育学部化学教室 (☎ 263-8522 千葉市稲毛区弥生町 1-33)

^{*2} 千葉大学共用機器センター (☎ 263-8522 千葉市稲毛区弥生町 1-33)

^{*3} 京都大学化学研究所、環境物質化学研究系・分子環境解析化学領域 (☎ 611-0011 宇治市五ヶ庄)

2 実 験

2.1 用いた化合物の合成

原料のN末端保護グリシン (Boc-Gly-OH) とN末端保護ジグリシン (Boc-Gly₂-OH) は渡辺化学 (株) から、その他の化合物は和光純薬 (株) から購入したものを精製せずにそのまま用いた。反応は、TLC (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄; aluminum plate, 展開溶媒; CHCl₃:MeOH 10:1) で追跡した。

合成は、HOCC₃-Leu₃-OC₂CF₈ や N⁺C₁₁-Ile₃-OC₁₂ などの合成方法に従った^{2),9),10)}。以下に HOCC₃-Gly₃-OC₁₂ と HOCC₃-Gly_nNHC₁₂ (n=1, 2) の合成を示した。その他、本報で扱った化合物は Scheme 1 に示した。

2.1.1 O-dodecyl-N-glycinate hydrochloride (HCl・H-Gly-OC₁₂)

グリシン 2.46 g (32.8 mmol), dodecanol 5.66 g (30.4 mmol), *p*-toluenesulfonic acid hydrate 8.79 g (46.2 mmol) をトルエン 250 mL に懸濁し、Dean-Stark-Trap を取り付けて10時間加熱還流した。還流後熱いうちにろ過し、濾液を減圧濃縮して得た黄色オイル状の残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL を加え、酢酸エチル 50 mL で抽出した。さらに酢酸エチル 30 mL で2回抽出した。酢酸エチル層をあわせて無水硫酸マグネシウムで乾燥し、自

然ろ過後溶媒を減圧留去して黄色オイル状残渣を得た。これにアセトン 5 mL 加え、氷冷かくはん下 12M-HCl 2.52 mL (30.4 mmol) を滴下して白色固体を得た。アセトンから再結晶して無色固体を得た。収量 6.32 g (収率 74%), mp 95.0–96.0°C, IR(ATR): 2920 cm⁻¹ (ν_{as}CH₂), 2850 cm⁻¹ (ν_sCH₂), 1750 cm⁻¹ (ν_{C=O}; エステル)。

2.1.2 O-dodecyl-N-tert-butoxycarbonyl-triglycinate (Boc-Gly₃-OC₁₂)

HCl・H-Gly-OC₁₂ 1.01 g (3.61 mmol) を dry THF 30 mL に溶かし、氷冷かくはん下でトリエチルアミン 0.80 g (7.91 mmol) を加えた。この溶液に Boc-Gly₂-OH 1.00 g (4.31 mmol), dry THF 15 mL に溶かした DEPC 0.85 g (5.21 mmol) を加え、塩化カルシウム管を取り付け、遮光しながら2時間氷冷かくはんした後、3日間室温かくはんした。かくはん後、自然ろ過し、溶媒を減圧留去して得た黄色オイル状の残渣に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL と酢酸エチル 50 mL を加えて抽出した。さらに酢酸エチル 20 mL で4回抽出した。酢酸エチル層をあわせて無水硫酸マグネシウムで乾燥し、自然ろ過後溶媒を減圧留去し、固化した残渣を得た。収量 1.41 g (収率 85%), IR (ATR): 3300 cm⁻¹ (ν_{N-H}; アミド A), 2920 cm⁻¹ (ν_{as}CH₂), 2850 cm⁻¹ (ν_sCH₂), 1750 cm⁻¹ (ν_{C=O}; エステル), 1720 cm⁻¹ (ν_{C=O}; ウレタン), 1660 cm⁻¹

Scheme 1. Used materials.

($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1550 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II).

2.1.3 *O*-dodecyl-triglycinate hydrobromide (**HBr · H-Gly₃-OC₁₂**)

Boc-Gly₃-OC₁₂ 1.41 g (3.08 mmol) に, ドラフト内で 25%**HBr** 酢酸溶液 4.99 g (61.7 mmol) を氷冷かくはん下でゆっくり滴下した. 溶けにくいのでクロロホルム (MERCK Lichrosolv) を 10 mL 加えた. 塩化カルシウム管を取り付け, 3 時間氷冷かくはんした. TLC で Boc 基の除去を確認した後 ($R_f=0$ になる), ヘキサンを加えて酢酸を共沸除去すると残渣は固化した. 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL とクロロホルム 50 mL を加えて抽出を試みたが, 乳化したため乳化層を吸引ろ過し, 濾紙上の固体をクロロホルムに溶かして熱時ろ過した. 濾液の溶媒を減圧留去し, 白色固体の残渣を得た. 酢酸エチルで 1 回再結晶し, 白色の固体を得た. 収量 0.49 g (収率 36%), IR (ATR): 3300 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1740 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; エステル), 1650 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1560 , 1540 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II).

2.1.4 *O*-dodecyl-*N*-(3-carboxypropionyl) triglycinate (**HOOC-C₃-Gly₃OC₁₂**)

HBr · H-Gly₃-OC₁₂ 0.49 g (1.12 mmol) を dry THF 15 mL に溶かし, 氷冷かくはん下でトリエチルアミン 0.44 g (4.34 mmol) を加えた. この溶液に無水こはく酸 0.14 g (1.40 mmol) を加え, 塩化カルシウム管を取り付けて室温で 6 日間かくはんした. かくはん後自然ろ過し, 濾紙上の固体をメタノールから 1 回再結晶した後, 熱アセトンで洗浄して無色の固体を得た. 収量 0.17 g (収率 33%), mp $183\sim 188^\circ\text{C}$, IR (ATR): 3300 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1740 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; エステル), 1690 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; カルボン酸), 1651 , 1639 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1554 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II). 元素分析, 計算値 ($\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7$): C, 57.75%; H, 8.59%, N, 9.18%. 実測値: C, 57.69%; H, 8.60%, N, 9.12%.

2.1.5 Dodecylamino-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-diglycinate (**Boc-Gly₂-NHC₁₂**)

1-amino-dodecane 1.00 g (5.40 mmol) を dry THF 50 mL に溶かし, 氷冷かくはん下でトリエチルアミン 1.20 g (11.9 mmol) を加えた. この溶液に **Boc-Gly₂-OH** 0.99 g (4.26 mmol), dry THF 15 mL に溶かした **DEPC** 0.76 g (4.66 mmol) を加え, 塩化カルシウム管を取り付け, 遮光しながら 2 時間氷冷かくはんした後, 3 日間室温かくはんした. かくはん後, 自然ろ過し, 溶媒を減圧留去して得た無色オイル状の残渣に, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL と酢酸エチル 50 mL を加えて抽出した. さらに酢酸エチル 20 mL で 2 回抽出した. 酢酸エチル層をあわせて無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 自然ろ過後

溶媒を減圧留去し, 固化した残渣を得た. 酢酸エチルから 1 回再結晶し, 白色の固体を得た. 収量 1.20 g (収率 71%), IR (ATR): 3300 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1690 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; ウレタン), 1650 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1530 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II).

2.1.6 Dodecylamino-diglycinate hydrobromide (**HBr · H-Gly₂-NHC₁₂**)

Boc-Gly₂-NHC₁₂ 1.20 g (3.00 mmol) に, ドラフト内で 25%**HBr** 酢酸溶液 5.32 g (65.8 mmol) を氷冷かくはん下でゆっくり滴下した. 溶けにくいのでクロロホルム (MERCK Lichrosolv) を 10 mL 加えた. 塩化カルシウム管を取り付け, 3 時間氷冷かくはんした. TLC で Boc 基の除去を確認した後 ($R_f=0$ になる), ヘキサンを加えて酢酸を共沸除去すると残渣は固化した. アセトンに溶かし, 熱時ろ過して, 濾紙上に白色の固体を得た. 収量 1.11 g (収率 97%), IR (ATR): 3280 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1660 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1570 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II).

2.1.7 Dodecylamino-*N*-(3-carboxypropionyl) diglycinate (**HOOC-C₃-Gly₂-NHC₁₂**)

HBr · H-Gly₂-NHC₁₂ 1.11 g (2.92 mmol) を dry THF 15 mL に溶かし, 氷冷かくはん下でトリエチルアミン 0.44 g (4.34 mmol) を加えた. さらに無水こはく酸 0.31 g (3.10 mmol) を加え, 塩化カルシウム管を取り付け, 6 日間室温かくはんした. かくはん後吸引ろ過し, 濾紙上の白色固体を乾燥させた. アセトンに溶かし, 熱時ろ過して濾紙上に白色の固体を得た. 収量 0.18 g (収率 15%), mp $215\sim 217^\circ\text{C}$, IR (ATR): 3290 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1690 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; カルボン酸), 1648 , 1641 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1556 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II). 元素分析, 計算値 ($\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$): C, 60.13%; H, 9.33%, N, 10.52%. 実測値: C, 59.89%; H, 9.34%, N, 10.48%.

2.1.8 Dodecylamino-*N*-(3-carboxypropionyl) diglycinate (**HOOC-C₃-Gly₂-NHC₁₂**)

Boc-Gly-OH を用い 2.1.5~2.1.7 項と同様に合成した. 収率 71%, mp $158\sim 170^\circ\text{C}$, IR (ATR): 3290 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$; アミド A), 2920 cm^{-1} (ν_{asCH_2}), 2850 cm^{-1} (ν_{sCH_2}), 1690 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; カルボン酸), 1651 , 1640 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$; アミド I), 1553 cm^{-1} ($\delta_{\text{N-H}}$; アミド II). 元素分析, 計算値 ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$): C, 61.83%; H, 10.03%, N, 8.01%. 実測値: C, 61.90%; H, 10.03%, N, 8.16%.

2.2 赤外スペクトルの測定

新たに合成した **HOOC-C₃-Gly₃-OC₁₂** と **HOOC-C₃-Gly_n-NHC₁₂** ($n=1, 2$) の赤外スペクトルは, Thermo Fisher Scientific 社製の Nexus 670 フーリエ変換赤外分光計を用い, ATR 法で分解能 4 cm^{-1} とし, 積算を 32 回行って測

定した。試料は再結晶で得られた固体をそのまま用いた。以前報告した化合物のスペクトルのいくつかについては、これと同じ条件で赤外スペクトルを測定し、試料状態の違いや測定法による違いなどを検討した。

3 結果および考察

3.1 3_1 -ヘリックス

アミノ酸残基3個で1回転のねじれを生じる構造が、 3_1 -ヘリックスである。 α -ヘリックスがアミノ酸残基3.6個で1回転のねじれを生ずるのと比較すれば違いは少ないように見えるが、 α -ヘリックスが分子内水素結合で形成されているのに対し、 3_1 -ヘリックスは分子間水素結合で形成されており、両者はまったく異なっている。Figure 1に本報で用いた $\text{HOCC}_3\text{-Gly}_3\text{-OC}_{12}$ を例に、 3_1 -ヘリックスの構造を模式的に示した。すでに 3_1 -ヘリックスの構造は、オリゴグリシンのポリグリシンII構造(PGII)として1955年に明らかにされている⁵⁾。しかし、その赤外スペクトルがオリゴグリシンの逆平行 β -シート構造であるポリグリシンI構造(PGI)と対比して示されたのは1997年になってからで⁶⁾、それまでは 3_1 -ヘリックス構造を断片的なスペクトルデータや計算機シミュレーションの結果から推測せざるを得なかった。

この手法で Kunitake らは、*N*-octadecyl-oligoglycine ethyl ester のLB膜を解析し、PGII構造の形成に言及しているが¹¹⁾、おそらくこれは分子集合体系でPGIIを構築した最初の例である。今回筆者らが合成した $\text{HOCC}_3\text{-Gly}_n\text{-NHC}_{12}$ ($n=1, 2$) と $\text{HOCC}_3\text{-Gly}_3\text{-OC}_{12}$ のFT-IR スペクトルを Figure 2 に示す。これらの化合物では、二本に分裂したアミドI吸収帯が 1650 cm^{-1} 付近と 1640 cm^{-1} 付近に現れる。これは岡林らが報告した *N*-acetyloligoglycine ethylamide のPGII構造と一致する⁷⁾。したがって、Figure 2は典型的なPGIIの赤外スペクトルである。興味深いことに、PGIIのスペクトルを得る上でアミド結合が2個あれば、グリシンは1個でもよい。このことはPGII構造がアミノ酸のシーケンスではなく、水素結合基(アミド基)の配置に依存していることを示唆している。すでにグリシン残基が2個しかなくてもPGIIと同じスペクトルが得られることは報告されている。たとえば、先の Kunitake らの *N*-octadecyl-oligoglycine ethyl ester はジグリシン以上であれば、ほぼ同じスペクトルを示している¹¹⁾。また、Kogiso らはグリシン二個の連鎖しかもたない *N,N'*-bis(carboxymethyl carbamoylmethyl)decane-1,10-dicarboxamide の単結晶についてX-線構造解析を行い、分子間水素結合が 120° ねじれたPGII構造が形成さ

Figure 1. Schematic illustration of a 3_1 -helix structure (below) formed from $\text{HOCC}_3\text{-Gly}_3\text{-OC}_{12}$ (above). Each H-bond is rotated about the screw axis by 120° with respect to neighboring amides.

れていることを確認している¹²⁾。これらの結果は、少なくともグリシン1個と二つのアミド結合があれば、PGII構造が容易に形成されることを示している。二次元方向に120°位相を変えた水素結合が形成されるPGII構造は、水素結合同面を横断する方向にバリエーションをもつと考えられ、また横方向の分子の構造固定を強固にする作用をもつはずである。そのような構造を形成するにあたり、相当数のグリシン残基が必要ないことは、今後の応用展開に朗報である。

3.2 β -シート

Scheme 1 に示したペプチド型両親媒性分子について、赤外スペクトルのアミドI吸収帯とアミドII吸収帯をTable 1にまとめた。平行 β -シート、逆平行 β -シート、 3_1 -ヘリックスが赤外スペクトルから明瞭に判別で

Figure 2. FT-IR Spectra of fatty acid-like amphiphiles that contain a glycine, diglycine, or triglycine residue. **HOCC₃-Gly-NHC₁₂** and **HOCC₃-Gly₂-NHC₁₂** possess two or three amide linkage, respectively. **HOCC₃-Gly₃-OC₁₂** has three-amide linkage because the alkyl chain is linked by an ester linkage.

きる。オリゴグリシンの逆平行 β -シート構造を、とくにポリグリシンI (PGI) 構造と呼ぶ。本報ではPGIのスペクトルを得ることができなかったが、Tagaらによれば、1688 cm⁻¹の弱い吸収と1633 cm⁻¹の強い吸収からなるアミドIと1520 cm⁻¹のアミドIIがPGIの赤外スペクトルとして報告されている⁶⁾。一方、筆者らがすでに報告した逆平行 β -シートは、1690 cm⁻¹付近に弱い吸収と1630 cm⁻¹付近に非常に強い吸収とを与えるアミドIが特徴である。したがってアミドIに関する限り、逆平行 β -シートとPGIの吸収パターンは同じである。一方、平行 β -シートについては、現実はこの構造を形成するオリゴペプチドがあまり知られていない。筆者が知る限り、**H-X₇-OCH₃ · HCl** (X=L-Val, L-Ile, L-Phe) が、平行 β -シートを形成するオリゴペプチドとして初めて報告されたが³⁾、なぜかあまり注目されず、平行 β -シートの赤外スペクトルはモデルを得にくいことを理由に計算機シミュレーションの結果から議論されてきた⁵⁾。一方筆者らは、両親媒性分子の配向を利用して平行 β -シートにアレンジしたトリペプチドの赤外スペクトルを報告した²⁾。その一部をTable 1に示したが、平行 β -シートのアミドIは1630 cm⁻¹よりもやや高い波数で吸収する。逆平行 β -シートのような1990 cm⁻¹付近の弱い吸収を伴わないこと、および強度の大きい1630 cm⁻¹付近の吸収は逆平行 β -シートのそれよりもやや高い波数に出現することが特徴である。アミドIの吸収波数は水素結合強度に依存するが、水素結合 (C=O $\cdots$ H-N) が強ければOはHに引き寄せられ、C=Oの結合強度は弱められるからC=Oの伸縮に要するエネルギーは小さくなり、エネルギー値に比例する波数 (1/ λ) も小さくなる。この点から水素結合の強さは逆平行 β -シートが最も大きく、PGIIは最も弱いことがわかる。以上をまとめ、構

Table 1. Amide modes of the amphiphile containing mono-glycine and the other amphiphiles containing amino acid oligomers

amphiphiles	state	method	Secondary Structure	Amide I/cm ⁻¹	Amide II/cm ⁻¹	Ref.
HOCC₃-Gly-NHC₁₂	solid	ATR	PGII	1651(s), 1640(s)	1553	
HOCC₃-Gly₂-NHC₁₂	solid	ATR	PGII	1648(s), 1641(s)	1556	
HOCC₃-Gly₃-OC₁₂	solid	ATR	PGII	1651(s), 1639(s)	1554	
HOCC₃-Leu₃-OC₂CF₈	solid	ATR	Parallel β -sheet	1638(s)	1544	
N⁺C₁₁-Ala₃-OC₁₂	aqueous soln.	Tr.	Parallel β -sheet	1634(s)	1547	2
	solid	ATR	Parallel β -sheet	1630(s)	1543	
N⁺C₁₁-Val₃-OC₁₂	solid	ATR	Parallel β -sheet	1634(s)	1545	
N⁺C₁₁-Phe₃-OC₁₂	CCl ₄ gel	Tr.	Parallel β -sheet	1636(s)	1545	2
N⁺C₁₁-Ile₃-OC₁₂	CCl ₄ gel	Tr.	Parallel β -sheet	1632(s)	1545	2
C₁₂-Phe₃-OC₁₀N⁺	CCl ₄ gel	Tr.	Parallel β -sheet	1638(s)	1541	2
BrC₁₁-Ala₂Glu(OC₁₂)₂	cast film from CHCl ₃	Tr.	Anti-parallel β -sheet	1686(w), 1628(s)	1537	2
	CCl ₄ gel	Tr.	Anti-parallel β -sheet	1688(w), 1630(s)	1527	2
N⁺C₁₁-Leu₃Glu(OC₁₂)₂	cast film from CHCl ₃	Tr.	Parallel β -sheet	1633(s)	1543	8
	cast film from CCl ₄ gel	Tr.	Parallel β -sheet	1633(s)	1543	8
N⁺C₁₁-Leu₄Glu(OC₁₂)₂	cast film from CHCl ₃	Tr.	Anti-parallel β -sheet	1688(w), 1628(s)	1548	8
	monolayer film	MAIRS	Parallel β -sheet	1637(s)	1543	14

* Tr.: Transmission spectroscopy.

Figure 3. Spectral chart in the amide I region (box width: peak top $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$).

造判別のための指標を作成した (Figure 3). Figure 3 は計算によらない現実の赤外スペクトルを用いて作成した指標としてはおそらく初めてのものである。

3.3 赤外スペクトルに影響する因子について

Taga らは、オリゴグリシンの赤外スペクトルを KBr 錠剤で測定しているのに対し⁶⁾、筆者らはフィルムやゲルを透過法で、また固体は ATR 法で測定している。赤外スペクトルは試料の物理状態を鋭敏に反映し、とくに固体のスペクトルと等方性溶液の違いは顕著であることが多い。そこで、次にこれまで報告した赤外スペクトルを整理し、試料の物理状態や測定法の違いがスペクトルに与える影響を検討した。その結果は、Table 1 から読み取ることができる。結論から言えば、水素結合基を配向系の分子に組み込んだ本研究のようなケースでは、会合体が形成される限り水素結合が形成され、その様式は結晶固体になってもほとんど変化しない。このことは、水溶液二分子膜をキャスト・風乾してフィルムにしても、二分子膜構造や相転移温度などの物理化学的特性が維持されるという Kunitake らの報告^{1),13)}と矛盾しない。そのためたとえば、 $\text{N}^+\text{C}_{11}\text{-Ala}_3\text{-OC}_{12}$ は、水中でミセル繊維を形成している場合でも、再結晶直後の固体を ATR 法で測定した場合でも、アミド I は 1630 cm^{-1} よりも高い波数に一本の非常に強い吸収を示し、固体中でも会合体中でも同じ平行 β -シート構造が形成されていることがわかる。その他 $\text{N}^+\text{C}_{11}\text{-Leu}_3\text{Glu}(\text{OC}_{12})_2$ も等方性のクロロホルム溶液から得たキャストフィルムと四塩化炭素ゲルのスペクトルは等しく、同じ二次構造を含んでいることが明らかである。しかし、もともになる両親媒性分子の配向構造が変われば二次構造は変化する。 $\text{N}^+\text{C}_{11}\text{-Leu}_4\text{Glu}(\text{OC}_{12})_2$ は典型的である。この分子はクロロホルムをゲル化するが、そのゲルのスペクトルは逆平行 β -シートの存在を示す⁸⁾。逆平行 β -シートは両親媒性分子が入れ子構造を形成した場合しか形成されない。そこで、入れ子構造を作ることができない気水界面単分

子膜をゲルマニウム基板に移し取り、赤外スペクトルを測定すると、期待通り平行 β -シートに変化した¹⁴⁾。以上のように、測定法による赤外スペクトルの違いはおなじ会合構造を有する限り、物理状態が結晶か液晶かによる変化はきわめて小さい。

4 結 言

平行 β -シート、逆平行 β -シート、 3_1 -ヘリックスという、トリペプチドが形成できる三つの二次構造すべての赤外スペクトルを得ることができ、アミド I の吸収パターンから二次構造を判別するための指標を計算によらず作成することができた。この結果を利用すれば、小さなペプチド断片を構造要素として組み込んだ、より複雑な構造の分子について、その会合構造を推測することが容易になると期待できる。

謝 辞 本研究は、おもに文部科学省科学研究費補助金、挑戦的萌芽研究 (No. 26600003; 山田) の助成金で行われ、一部京都大学化学研究所拠点共同研究 (No. 2015-86; 山田) の助成金で行われた。

文 献

- 1) T. Kunitake, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **31**, 709 (1992).
- 2) N. Yamada, K. Ariga, M. Naito, K. Matsubara, and E. Koyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 12192 (1998).
- 3) C. Toniolo and M. Palumbo, *Biopolymers*, **16**, 219 (1977).
- 4) J. Bandekar, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1120**, 123 (1992).
- 5) F. H. C. Crick and A. Rich, *Nature (London)*, **176**, 780 (1955).
- 6) K. Taga, M. G. Sowa, J. Wang, H. Etori, T. Yoshida, H. Okabayashi, and H. H. Mantsch, *Vib. Spectrosc.*, **14**, 143 (1997).
- 7) H. Okabayashi, K. Ohshima, H. Etori, K. Taga, T. Yoshida, and E. Nishio, *J. Phys. Chem.*, **93**, 6638 (1989).
- 8) N. Yamada, T. Komatsu, H. Yoshinaga, K. Yoshizawa, S. Edo, and M. Kunitake, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **42**, 5496 (2003).
- 9) N. Yamada, E. Koyama, and K. Maruyama, *Kobunshi Ronbunshu*, **52**, 629 (1995).
- 10) N. Yamada, K. Takahashi, K. Ueno, Y. Yamaya, and T. Hasegawa, *Kobunshi Ronbunshu*, **63**, 476 (2006).
- 11) X. Cha, K. Ariga, and T. Kunitake, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 163 (1996).
- 12) M. Kogiso, M. Masuda, and T. Shimizu, *Supramol. Chem.*, **9**, 183 (1998).
- 13) Y. Wakayama and T. Kunitake, *Chem. Lett.*, 1425 (1993).
- 14) T. Hasegawa, H. Kakuda, and N. Yamada, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 4783 (2005).

[Original Papers]

Formation of Polyglycine II Structure from Fatty Acid Derivatives Containing Mono-, Di- and Tri-Glycinate

Takumu NODA^{*1}, Sana KONDO^{*1}, Sayaka KADO^{*2}, Takeshi HASEGAWA^{*3}, and Norihiro YAMADA^{*1}

^{*1}*Laboratory of Chemistry Faculty of Education, Chiba University (1-33 Inage-ku, Yayoi-cho, Chiba 263-8522, Japan)*

^{*2}*Center for Analytical Instrumentation, Chiba University (1-33 Inage-ku, Yayoi-cho, Chiba 263-8522, Japan)*

^{*3}*Laboratory of Solution and Interface Chemistry, Division of Environmental Chemistry, Institute for Chemical Research, Kyoto University (Gokasho, Uji 611-0011, Japan)*

We newly synthesized fatty acid-like amphiphiles that contain a glycine, diglycine, or triglycine residue, and investigated their hydrogen bonding modes. The FT-IR spectra of these amphiphiles showed a typical amide mode attributed to polyglycine II (PGII), which is called 3_1 -helix in a broad sense. This mode was observed as a splitting band appearing at 1650 and 1640 cm^{-1} . On the other hand, we have already shown the amide modes attributed to a β -sheet structure. The amide I mode of the parallel β -sheet gave a single peak at more than 1630 cm^{-1} , whereas the antiparallel β -sheet absorbed at 1690 cm^{-1} (weak) and 1630 cm^{-1} (strong). The parallel β -sheet, antiparalle β -sheet, and PGII are possible structures for a small peptide such as tripeptide, and hence, the spectral chart of the three structures, demonstrated in this study, should be helpful to diagnose a secondary structure of small peptide-containing molecules.

KEY WORDS Polyglycine II / 3_1 -Helix / FT-IR Spectra / β -Sheet Structure / Oligopeptide /

(Received September 1, 2015: Accepted September 25, 2015: Advance Publication December 14, 2015)

[*Kobunshi Ronbunshu*, **73**, 69—75 (2016)]

©2016, The Society of Polymer Science, Japan