吸収帯は、ポリグルタミン酸メチルの低重合体の β 型構造のとき 700 cm^{-1} に現われ、第 1 報の α -Helix 構造の 620 cm^{-1} との相違が大なることより、分子立体構造の解明にきわめて有用であることがわかった。

付 記：本研究の一部は第 10 回高分子学会年次大会(昭和 36 年 5 月)において発表した。なお本研究は昭和 35 年度大阪大学蛋白質研究所共同研究員制度によって行なわれた。ご指導いただいた同研究所宮沢辰雄助教授、およびご援助いただいた物理構造部の方々に感謝する。

文 献

- 1) 増田幸夫：高化，20，161(1963)
- 2) E. R. Blout, A. Asadourian：J. Am. Chem. Soc., 78, 955(1956)
- 3) 宮沢辰雄：日化，77，526(1956)
- 4) DL 共重合体に関しては、最近に次の文献がある。
M. Goodman et al：J. Am. Chem. Soc., 84, 1288 (1962)

Molecular Structures of Polyglutamate

II. Infrared Absorption Spectra of Low Polymeric γ -Methyl Glutamate

By Yukio Masuda*

Some low polymeric γ -methyl L-glutamates were synthesized. Infrared absorption spectra of these polymers and N-deuterated derivatives were measured. The amide V band of the β (extended) structure of polypeptides was observed at 700 cm^{-1} , which is well distinguished from the absorption band of the α -Helix at 620 cm^{-1} . It is shown that the amide V band is useful for the investigation of the spatial structure of polypeptide molecules.

第 3 報 ポリグルタミン酸 γ -ベンジルエステルの赤外線吸収

(1962 年 8 月 28 日受理)

増 田 幸 夫**

要 旨 従来合成ポリペプチドとしてよく取り上げられてきたポリグルタミン酸ベンジルエステルの固体薄膜の赤外線吸収スペクトルを新たに測定し、その低波数領域において、NH 面外変角振動によるアミド V 吸収帯が、分子の空間構造に鋭敏に対応して変化することを見出した。前報のメチルエステルの場合と同じように、ベンジルエステルにおいても、アミド V 吸収帯は、 α -Helix 構造のとき 615 cm^{-1} 、 β 型構造のときほぼ 700 cm^{-1} に現われることがわかった。

1. 結 言

第 1 報¹⁾で述べたように、高分子量ポリグルタミン酸メチルの固体薄膜の赤外線吸収スペクトルには、 α -helix に特有なアミド吸収帯がいくつか存在し、特に低波数領域の 620 cm^{-1} の強い吸収帯は、赤外二色性と、重水素置換の結果によって、主として NH 面外変角振動による、いわゆるアミド V 吸収帯²⁾であることがわかった。しかも第 2 報で述べたように³⁾、このアミド V 吸収帯は、低分子量のポリグルタミン酸メチルの赤外線吸収では、波数が著しく変化して、約 700 cm^{-1} に現われることもわかり、このように波数差の大きいことは、従来のアミド I, II による立体構造の識別よりも⁴⁾、もっ

と明りょうな認定法になりうることが予想されるに至った。なお DL 共重合体のアミド V 吸収帯の強度を比較すれば、 α -Helix の含量の定量も可能であると思われる。ここでは、このようなポリペプチドのアミド V 吸収帯が他の例、すなわち今までに多くの人達によって用いられてきたポリグルタミン酸ベンジルエステルにおいても、明りょうに存在することを示し、有用性をさらに確認しようとした。

2. 試 料

用いたポリグルタミン酸ベンジルエステルは、すべて NCA 法で合成したもので、方法については特に新しいところはない。高分子量のものは、ジオキサン溶液で重

* Department of Physics and Chemistry, Gakushuin University (1-Chome, Mejiro, Toshima, Tokyo)

** 学習院大学理学部化学教室(東京都豊島区目白町 1 丁目)

合開始剤に CH_3ONa を使い, $A/I=200$ で重合し⁵⁾, 低分子量のものは, 同じくジオキサン溶液で, n -ヘキシルアミンを重合開始剤として $A/I=4, 8, 20$ で重合した⁶⁾. また L-NCA と D-NCA とを $L/(D+L)=100, 95, 75, 60, 50\%$ の割合に混合し, ジオキサン溶媒, CH_3ONa 開始剤, $A/I=200$ で重合し, 共重合体を合成して試料とした。ジクロル酢酸中の溶液粘度測定よりの分子量・重合度⁷⁾は Table 1 に示す。試料 No. 1~5 と 6~8 とは異なった原料エステルから異なった時期に合成したもので, そのまま重合度を比較することは無理であり, 後に述べる赤外線吸収の結果より, 異なった分子構造が推定された。

3. 結果と考察

赤外線吸収スペクトルはいずれも試料重合体を, 5% クロロホルム溶液として, 臭化カリ板上に塗り, 溶媒をとばして固体薄膜として測定した。赤外二色性, N 重水素化についても前報と同様に行なった。

Fig. 1 に高重合度ポリ-L-グルタミン酸ベンジルについての測定結果を示す。アミド I, II よりみて, これは

Table 1. Degree of polymerization of poly benzyl glutamates.

No.	$\frac{L}{D+L}$ or $\frac{A}{I}$ (%)	$[\eta]$ in DCA	$\bar{M}_w$ $\times 10^{-3}$	P_w
1	100	0.11	14.1	64
2	95	0.28*	39.1	180
3	75	0.09	11.4	52
4	60	0.09	11.0	50
5	50	0.07	8.1	37
6	4	0.08	9.7	44
7	8	0.11	14.0	64
8	20	0.17	30.0	140

* Recrystallisation of NCA was much more one time

完全な α -Helix である⁴⁾。低波数領域の 614 cm^{-1} に強い吸収帯があり, この吸収帯は $L/(D+L)=95, 75, 60\%$ と, D 残基が入るに従って, 強度が減少するので見られる。Fig. 2 に示すように, L:D=1:1 の DL

Fig. 1. Infrared spectra of poly γ -benzyl L-glutamate.

Fig. 2. Infrared spectra of poly γ -benzyl DL-glutamate (L:D=1:1).

重合体では、これも α -Helix が存在することは確かだが、 610 cm^{-1} 辺の吸収帯は相当に弱いものとなっている。純 L 重合体のとき右巻き Helix、純 D 重合体のとき左巻き Helix といわれているから⁹⁾、DL 共重合体では、Helix 含量はいくらか変化し減少することが考えら

れる。そこでこの吸収帯は α -Helix によるものと推定できる。さらにこの吸収帯の性格について調べるため、N 重水素化試料について測定した。Fig. 3 に PBLG-d を示す。 $\sim 614\text{ cm}^{-1}$ の強い吸収帯は消失し、かわって 458 cm^{-1} に新しい強い吸収帯が現われている。この波

Fig. 3. Infrared spectra of N-deuterated poly benzyl L-glutamate.

Fig. 4. Polarized infrared spectra of poly benzyl L-glutamate.

Fig. 5. Polarized infrared spectra of N-deuterated poly benzyl L-glutamate.

Fig. 6. Infrared spectra of poly benzyl L-glutamate A/I=4.

数比は $458/614=1/1.34$ で, NH 面外変角振動によるアミド V 吸収帯と推定される²⁾。さらに確認のため, 臭化カリ領域の赤外二色性を測定した結果が, Fig. 4, 5 で, PBLG の 606 cm^{-1} , PBLG-d の 456 cm^{-1} は, 垂直吸収帯であるから, ここで α -Helix 構造をとるポリグルタミン酸ベンジルのアミド V 吸収帯として $\sim 615\text{ cm}^{-1}$ が確定した。

PBLG では, $796, 563\text{ cm}^{-1}$ にも吸収帯があり, これは D 残基が入るに従ってすぐに消失し, PMDLG で全く見られない。これらの吸収帯は N 重水素化 787 cm^{-1} と 555 cm^{-1} に移動するから, CONH の結には関係するものと思われる。 563 cm^{-1} の吸収帯はそらく CO の面外変角振動によるものであろう。これメチルエステルの場合にも存在した。

Fig. 7. Infrared spectra of poly benzyl L-glutamate A/I=8.

Fig. 8. Infrared spectra of poly benzyl L-glutamate A/I=20.

Fig. 9. Infrared spectra of N-deuterated poly benzyl L-glutamate A/I=4.

次に低重合度重合体の β 型構造⁹⁾によるアミド V 吸収帯を調べるのであるが、ポリグルタミン酸メチルでは 700 cm^{-1} に存在したのでベンジルエステルでも、同じあたりに見られると予想される。しかるにベンジルエステルでは $750\sim 700\text{ cm}^{-1}$ にベンゼン核 CH 面外変角振動による 2 本の強い吸収帯があるため、直接には見出しにくいことがわかった。Fig. 6~8 まで、 $A/I=4, 8, 20$ の

PBLG の測定結果を示した。 $A/I=4, 8$ ではアミド I, II より β 型構造をとっていることが明らかである。 615 cm^{-1} あたりは吸収帯はない。 $A/I=20$ では、アミド I, II より α, β 両型の混在が推定されるが、低波数領域では 613 cm^{-1} に吸収帯があり、 565 cm^{-1} のものも見られる。これは両者とも α -Helix によるものである。

次に N 重水素化試料についての測定を Fig. 9~11 ま

Fig. 10. Infrared spectra of N-deuterated poly benzyl L-glutamate $A/I=8$

Fig. 11. Infrared spectra of N-deuterated poly benzyl L-glutamate $A/I=20$.

Fig. 12. Infrared spectra of benzyl *n*-butyrate.

で示す。 $A/I=4$ -d で 518 cm^{-1} に新しい吸収帯がみられる。これはアミド V と推定されるが、理論波数比 1.34 を用いて計算すれば 693 cm^{-1} あたりにあったアミド V が重水素によって移動したものと理解される。 $A/I=8$ -d の試料では 526 cm^{-1} にわずかであるが吸収帯が生じ、これも 700 cm^{-1} あたりより移動したものであろう。 $A/I=20$ -d では 613 cm^{-1} は 455 cm^{-1} へ移り ($455/613=1/1.33$), また 531 cm^{-1} にも新しい β 型のアミド V' が見られる。比較のため同じ側鎖をもつ n -酪酸ベンジルの赤外線吸収を Fig. 12 に示した。注目の $620\sim 600\text{ cm}^{-1}$ には強い吸収帯はないので、アミド V が強く現われうるのである。

以上をまとめると、ポリグルタミン酸ベンジルでもアミド V 吸収帯は、 α -Helix 構造のとき $\sim 615\text{ cm}^{-1}$ に見られ、 β 型構造のときおそらくは $700\sim 690\text{ cm}^{-1}$ あたりに存在していることが明らかになった。このことはメチルエステルの結果とほとんど同じで、分子構造の解明に有用な吸収帯として、ここに確定したわけである。

付 記: 本研究は日本化学会第 14 年会(昭和 36 年)で報告した。本研究は昭和 35 年大阪大学蛋白質研究所共同研究員制

度によって行なわれた。ご指導いただいた同研究所宮沢辰雄教授、およびご援助いただいた物理構造部、溶液学部の方々へ感謝する。また合成に際して、ご助力いただいた北海道大学黒口順蔵教授にお礼を申上げる。

文 献

- 1) 増田幸夫: 高化, **20**, 161(1963)
- 2) 宮沢辰雄: 日化, **77**, 526(1956)
- 3) 増田幸夫: 高化, **20**, 166(1963)
- 4) T. Miyazawa, E. R. Blout: *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 712(1961)
- 5) E. R. Blout, R. H. Karlson: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 941(1956)
- 6) E. R. Blout, A. Asadourian: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 955(1956)
- 7) P. Doty, J. H. Bradbury, A. M. Holzer: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 947(1956)
- 8) E. Elliott, B. R. Malcolm: *Proc. Roy. Soc. London*, **A 249**, 30(1959)
- 9) β 構造の PBLG の研究は、最近ではたとえば A. Wada et al: *J. Phys. Chem.*, **65**, 1119(1961)

Molecular Structures of Polyglutamate

III. Infrared Absorption Spectra of Poly γ -Benzyl Glutamate

By Yukio Masuda*

Solid films of poly γ -benzyl glutamate were prepared, and their infrared absorption spectra were measured. It was observed that in the low frequency region the amide V band due to N-H out-of-plane deformation mode varies sensitively with the change of molecular conformation. The α -Helix amide V band appears at 615 cm^{-1} , while the β -structure amide V band appears at about 700 cm^{-1} . This is a significant difference similarly to that for poly methyl glutamate.

* Department of Physics and Chemistry, Gakushuin University (1-Chome, Mejiro, Toshima, Tokyo)