

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月21日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21550016

研究課題名（和文） 初期構造を規定したプロトン化ペプチドにおけるプロトン・水素原子移動反応の直接観測

研究課題名（英文） Direct observation of the proton/hydrogen-atom transfer reaction under the restricted initial configuration

研究代表者

石川 春樹 (ISHIKAWA HARUKI)

神戸大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：80261551

研究成果の概要（和文）：本研究では、中性水素結合分子クラスターを用いることで、初期構造を規定した条件におけるプロトン・水素原子移動反応の観測から、反応の詳細を理解することを目的とした。対象として、プロトン供与体となるフェノールに種々のアミノ酸や類似構造を持つアミド類とのクラスターを生成し、電子励起スペクトル、赤外スペクトル、及び量子化学計算から検討した。現時点ではクラスターの生成に問題があり、今後も継続して研究を進める予定である。

研究成果の概要（英文）：We have planned to investigate the proton-transfer reaction along the peptides. Using neutral hydrogen-bonded cluster as a precursor, the initial configuration of the reaction can be restricted. In the present study, phenol-amino acid clusters are used as the precursor, where phenol acts as the proton donor. We have recorded resonance-enhanced two-photon ionization and infrared spectra and calculated the optimized structures and their energies. At the present, there are some problems in the cluster production method. Thus, we are planning to continue this study.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：レーザー分光学，反応動力学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：プロトン移動反応・水素結合クラスター・赤外分光

## 1. 研究開始当初の背景

プロトン/水素原子移動反応は溶液中で基本となる反応であり、生体内でも重要な役割を果たしていることは言うまでもない。最近では、従来プロトン移動と考えられてきた反応に対して、水素移動反応の報告がなされる

ようになっている。プロトン/水素原子移動反応で興味を持たれる点の一つは、供与部から受容部へのプロトン/水素原子の移動が直接的なものばかりではなく、いわゆるプロトン/水素原子のリレーにより進行する可能性があることである。特に水やアルコールのような

プロトン性溶媒を介したプロトン/水素原子リレー反応が研究されている。このようなリレー反応は溶媒を介したものばかりではなく、例えば生体関連分子のように一つの分子内に多くの受容・供与基がある場合には分子内でリレー反応が期待される。気相分子クラスターを用いると反応系の単純なモデル化が可能となり、反応の固有の性質を導き出すことができ、凝集系や生体内での反応を議論する基礎となる。国内外を問わず、プロトン化した生体関連分子について質量分析を中心とした非常に多くの研究がなされており、分光学的には光解離反応や赤外分光による構造決定の研究が展開されている。しかしながら、プロトン/水素原子移動反応についてはまだ明らかになっていない部分が多い。

## 2. 研究の目的

本研究では、プロトン・水素原子移動反応のより詳細な情報を得るために、フェノール分子とペプチド分子の中性クラスターを出発点としたプロトン移動反応の観測を行う。フェノールをプロトン源としたプロトン化分子の生成は、既に Simons らによって報告されている(*J. Phys. Chem. A*, **112**, 4608 (2008)など)が、プロトン化分子の生成機構については深く議論していない。申請者は彼らの手法を発展させて、プロトン/水素原子移動反応の前駆体生成を考案した。簡単な例としてフェノール・アラニンクラスターの場合について予備的な量子化学計算を行った結果、中性状態ではフェノールとアラニンのカルボキシル基間の水素結合によりクラスターが安定であるが、このクラスターをイオン化すると、フェノールからアラニンへのプロトン移動が起き、カルボキシル基側にプロトン付加したアラニンが生成する。この構造からプロトン/水素移動反応が起こり、アミノ基へプロトンが付加した最安定構造へと変化することが期待される。このアラニンをポリアラニンのようなペプチド分子に換えると図1に模式的に示したようなC末端からN末端へのプロトン/水素原子のリレー反応を段階的に観測することが期待される。

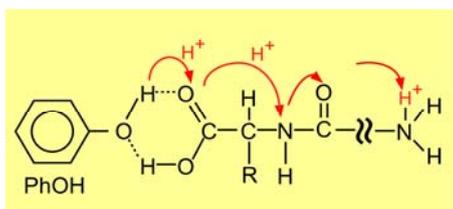


図1 プロトンリレー反応の模式図

そこで、本研究では中性クラスターを利用し、初期構造を規定したプロトン化ペプチドの生成とプロトン/水素原子リレー反応の直接観測を行い、反応の詳細を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では以下のように研究を進める予定であった。

- (1) 量子化学計算によるプロトンリレー反応の検討
- (2) プロトン付加位置を選択したプロトン化ペプチドあるいはその前駆体の生成方法の確立
- (3) 赤外光解離レーザー分光法を用いたプロトン/水素原子移動反応の観測
- (4) 実験結果と量子化学計算を基にした考察
- (5) ペプチド鎖におけるプロトン/水素原子リレー反応の実時間観測の試み

しかしながら、研究成果の項で述べるように、実験条件の確認に手間取り、(5)のペプチド分子を用いた測定には至っていない。

## 4. 研究成果

- (1) 量子化学計算によるプロトンリレー反応の検討

実験を行う前に本研究で考案した反応の可能性を検討した。例としてフェノール-バリン系を対象として、中性基底状態及びカチオン状態について安定構造とそのエネルギーを求めた。その結果、中性基底状態ではフェノールがバリンのカルボキシル基側に水素結合した構造が安定であるが、イオン化状態では、フェノールのプロトンがバリンのアミノ基に移動した構造が最安定になることを確認した。その様子を図2に模式的に示した。

- (2) フェノール-アミノ酸クラス

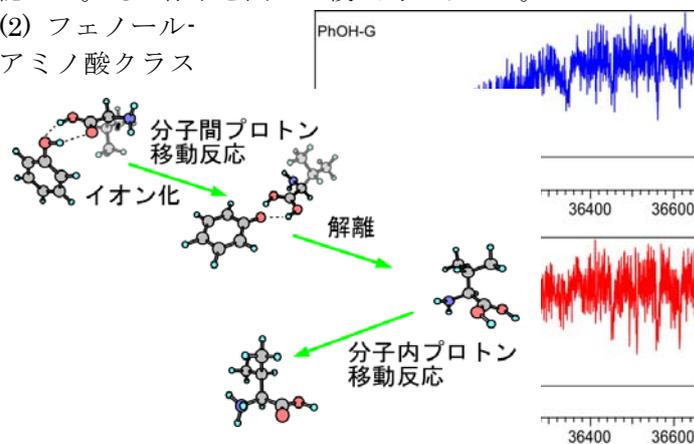


図2 フェノール-バリンクラスターのイオン化に伴うプロトン移動反応の様子 (共鳴2光子イオンル)

ターの生成方法の確立

(1)の量子化学計算の結果を受けて、反応前駆体となるフェノール-アミノ酸中性クラスターの生成とそのイオン化検出を行った。アミノ酸の気化にはアミノ酸を炭素粉末と混合しブタノールを溶媒としたペースト状の混合物を作り、それを銅のロッドに塗って整形したものを試料として、レーザー蒸発法により気化させた。本研究ではアミノ酸としてグリシン、バリンについて実験を行った。フェノールの紫外吸収付近の紫外光を用いて中性クラスターを共鳴2光子イオン化法でイオン化して検出した。図3に得られた質量スペクトルを示した。図中に●で示したピークがフェノール-グリシン1対1クラスターの信号で、○で示したピークがプロトン移動反応生成物のプロトン付加グリシンの信号であり、予想通り、フェノール-グリシン水素結合クラスターのイオン化にともなうプロトン移動が起こっていることが確認された。

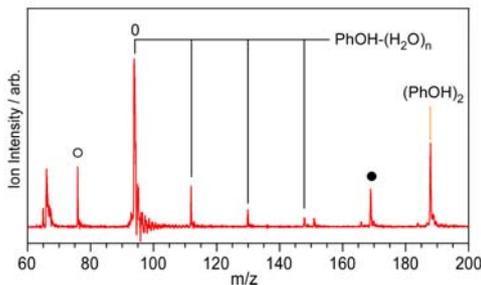


図3 フェノール-グリシンクラスターの質量スペクトル

クラスターの生成には成功したが、電子励起スペクトルを測定すると図4に示したように $36000\text{ cm}^{-1}$ 付近から立ち上がるブロードなバンドになっていることがわかった。当初の計画では、励起スペクトルを利用して、異性体を分離してイオン化しプロトン移動反応を誘起することを考えていたので、測定されたブロードな遷移では異性体の選別に問題が生じる。スペクトルがブロードになる原因として、実験的なクラスター生成条件の問題か、本質的に電子遷移がブロードつまり中性励起状態の寿命が短いかの2つが挙げられる。これらの条件に関しては以下で検討する。

### (3) 赤外光解離レーザー分光法を用いたプロトン/水素原子移動反応前駆体の観測

次に前駆体となる中性クラスターの構造を調べるために、赤外スペクトルの測定を行

った。励起スペクトルがブロードなため、赤外スペクトル中には複数の異性体のバンドが現れている可能性がある。図5に赤外スペクトルを量子化学計算による異性体の赤外バンドの予測とともに示した。

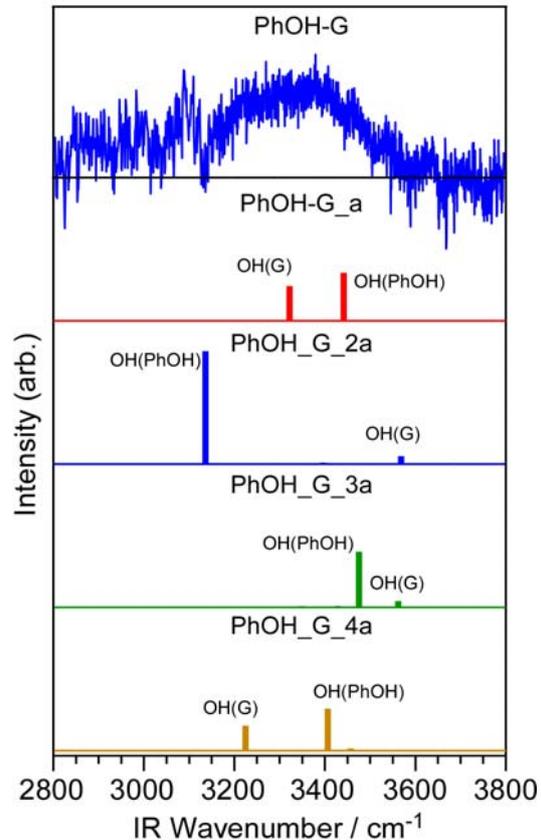


図5 フェノール-グリシンクラスターの赤外スペクトル

図中の異性体の構造は図6に示した。赤外スペクトルからaのようなグリシンのカルボキシル基にフェノールがプロトン供与体として水素結合した異性体が支配的であると考えられる。しかしながら、2aのようにアミノ基側に水素結合した異性体の存在は否定できず、むしろ共存している可能性が高いと考えられる。

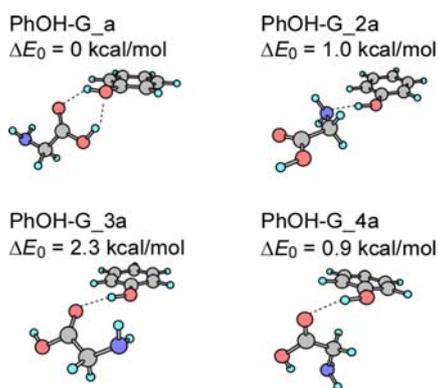


図6 量子化学計算で得られた中性フェノールグリシンクラスターの安定構造とエネルギー差。

#### (4) 実験結果と量子化学計算を基にした考察

##### ①クラスターの冷却条件

(2)で示した電子スペクトルがブロードである理由を検討するために、まずクラスターの冷却条件を検討した。より試料の気化が簡単なペプチド類似の化合物としてアミド結合を持つホルムアミド、N, N-ジメチルアミドとフェノールのクラスターの励起スペクトルを測定した。フェノール-ホルムアミドクラスターではクラスターのバンドと思われる新たなバンドがフェノール-水1対1クラスターの高波数側に確認できた。フェノール単量体の低波数側にバンドが現れているとすると、フェノールがプロトン供与体として働く形に結合していることが考えられる。しかしながら、フェノール-水クラスターに比べると非常にバンド強度が弱いので、事前にフェノールに含まれている水分を除去する必要がある。フェノール-グリシンの場合も質量スペクトルからわかるように非常にたくさんの水を含むクラスターが生成していることから、水を除いた条件で、他の実験条件を確立させる必要がある。

##### ②中性クラスターの励起状態の検討

量子化学計算を行い、クラスターの電子励起状態を検討したところ、実験で励起に用いる $\pi\pi^*$ 励起状態の近傍にアミノ酸のカルボニル基における $n\pi^*$ 型の三重項状態が存在することが示唆された。三重項に関しては、2波長2光子イオン化法などで、関与を検討することができる。本研究では、イオン化を目的としているので、三重項状態の存在自体は大きな問題になるとは考えていないが、項間交差速度が非常に速い場合には、スペクトルのバ

ンドのブロード化に繋がるため問題となる。

#### (5) まとめ

本研究では、凝集系や生体内における反応の中でも基礎的で重要なプロトン/水素原子移動反応に着目し、長距離のプロトン/水素原子リレー反応のモデル系としてペプチド鎖に沿ったリレー反応の観測を計画した。現時点では、研究で狙っていたプロトン移動反応機構を確認するに至らなかったが、クラスターの生成方法についての問題点や改良点についての情報の蓄積が今後の研究を進める上で役立つと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

(1) H. Ishikawa, H. Yabuguchi, Y. Yamada, A. Fujihara, K. Fuke, “Infrared Spectroscopy of Jet-Cooled Tautomeric Dimer of 7-Azaindole: A Model System for the Ground-State Double Proton Transfer Reaction”, *J. Phys. Chem. A*, 114 巻, 2010 年, 3199-3206 頁, 査読有

[学会発表] (計3件)

(1) 藪口紘基・石川春樹・他2名  
「水素結合クラスターを利用したペプチド内プロトン移動反応の研究」  
第3回分子科学討論会, 平成21年9月21日, 名古屋

(2) 藪口紘基・石川春樹・他2名  
「水素結合クラスターを利用したペプチド内プロトン移動反応の研究」  
日本化学会第90春季年会(2010), 平成22年3月28日, 東大阪

(3) NAKANO TAKUMI, ISHIKAWA HARUKI, 他2名, “Infrared spectroscopy of phenol-amino acid clusters” Pacifichem 2010, 平成22年12月17日, ホノルル

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

石川 春樹 (ISHIKAWA HARUKI)  
神戸大学・大学院理学研究科・准教授  
研究者番号: 80261551