

報 文

水溶液中におけるダブシルアミノ酸の会合挙動

林 宏成¹, 佐々木千鶴¹, 国本 浩喜^{®1}, 前田 史郎²,
細井 信造³, 桑江 彰夫⁴, 花井 一彦⁴

Aggregation behavior of Dabsylated Amino Acids in Aqueous Solution

Hiroshige HAYASHI¹, Chizuru SASAKI¹, Ko-Ki KUNIMOTO¹, Shiro MAEDA²,
Shinzo HOSOI³, Akio KUWAE⁴ and Kazuhiko HANAI⁴

¹ Division of Material Engineering, Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa 920-1192

² Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Faculty of Engineering, Fukui University, Bunkyo, Fukui-shi, Fukui 910-8507

³ School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and Welfare, 1714-1, Yoshino-machi, Nobeoka-shi, Miyazaki 882-8508

⁴ Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University, 1, Yamanohata, Mizuho-machi, Mizuho-ku, Nagoya-shi, Aichi 467-8501

(Received 12 April 2005, Accepted 1 July 2005)

A series of dabsylated amino acids (Dabs-AA) were prepared and their aggregation behavior in aqueous solution was studied by UV/Vis absorption and CD spectroscopies. Dabs-AAs show pH-dependent absorption in the visible region, characteristic of the dimethylamio azobenzene chromophore in a dilute aqueous solution. Upon increasing the concentration of Dabs-AAs, the visible absorption around 500 nm of the Dabs-AA monomer decreased its intensity, and a new band due to the Dabs-AA dimer appeared in the 360~400 nm region. Dimer formation depended on the DMSO co-solvent concentration, the solution temperature and the R-groups of amino acids. A split-type induced CD spectrum was observed for the dimer absorption band of Dabs-L-Phe at 363 nm: a negative first Cotton effect at 379 nm and a positive second Cotton effect at 359 nm. These results indicate that a pair of Dabs-L-Phe molecules were stacked with negative exciton chirality.

Keywords : dabsylated amino acids; dimer; induced CD; exciton chirality.

1 緒 言

イオン性色素が溶液中でダイマーあるいはより高次の会合体を形成することは古くから知られている^{1)~5)}。色素分

子の希薄水溶液中での会合は、生体分子の自己会合や生体高分子-リガンド間の相互作用モデルとして研究されている⁶⁾⁷⁾。色素分子が層状 (face to face) あるいは線状 (head to tail) に秩序よく配列し H-会合体や J-会合体などを形成すると、モノマーとは異なる特徴的な紫外可視 (UV/Vis) 吸収スペクトルを示し^{8)~11)}、会合形成によるスペクトル変化は、色素の遷移双極子間の相互作用 (励起子相互作用) を使って説明される^{12)~14)}。また、会合の機構については、ファンデルワールス力、溶質間の水素結合、溶質-溶媒間の水素結合などの分子間力や疎水効果が駆動

¹ 金沢大学大学院自然科学研究科物質工学専攻: 920-1192 石川県金沢市角間町 金沢大学自然科学研究科棟

² 福井大学工学部生物化学工学科: 910-8507 福井県福井市文京3-9-1

³ 九州保健福祉大学薬学部薬学科: 882-8508 宮崎県延岡市吉野町 1714-1

⁴ 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科生体物質情報系: 467-8501 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町山の畑 1

力となることが示されている¹⁵⁾。したがって、色素の会合には、色素の分子構造、溶媒の種類、温度及び電解質の存在など様々な因子が関与する。

代表的なアミノアゾベンゼン系色素であるメチルオレンジ (MO) は、陽イオン界面活性剤やポリカチオンの存在下で会合することが報告されている^{16)~21)}。MO のスルホ基と界面活性剤やポリマーのカチオン性残基がイオンコンプレックスをつくり、疎水性の相互作用により色素分子がスタッキングして会合体を形成する。α-ポリリジンやε-ポリリジンなどのカチオン性のポリアミノ酸の存在下でも、MO ダイマーあるいは高次の会合体が形成されることが報告されている^{22)~26)}。また、MO と構造類似のスルホ基を有するアゾベンゼン色素でも、塩を添加することによりダイマーの形成が促進されることが報告されている²⁷⁾。

著者らは 4-ジメチルアミノアゾベンゼン-4'-スルホニルクロリド (ダブシルクロリド, Dabs-Cl) とアミノ酸との反応で生成するダブシルアミノ酸 (Dabs-AA) が希薄水溶液中でカチオン性残基をもつ界面活性剤やポリアミノ酸あるいは塩が共存していなくても、自己会合することを見いだした。Dabs-Cl は 1 級アミンと反応してスルホンアミド結合を生成し、可視領域に強く安定した吸収帯を有するので、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、キャピラリー電気泳動などでペプチドやタンパク質のアミノ酸組成を分析する際のプレカラム標識試薬として用いられている²⁸⁾。Dabs-Cl を用いた HPLC は通常逆相系の条件で行われるため、Dabs-AA の希薄水溶液中での会合挙動を知ることが重要である。本研究では、一連の Dabs-AA を合成し、UV/Vis 吸収スペクトル及び円二色性 (CD) スペクトル測定により会合挙動を調べた。更に、アミノ酸側鎖の種類、有機溶媒の添加、pH 及び温度などの会合に及ぼす効果について検討した。

2 実 験

2.1 試 薬

アミノ酸はすべてナカライテスク製のグリシン (Gly)、L-アラニン (L-Ala)、L-バリン (L-Val)、L-ロイシン (L-Leu)、L-フェニルアラニン (L-Phe)、L-トリプトファン (L-Trp) 及び D-フェニルアラニン (D-Phe) を用いた。

Dabs-AA は以下の方法で合成した。pH 9.0 の NaHCO₃-Na₂CO₃ 緩衝溶液 150 ml にアミノ酸 (0.9 mmol) を溶解させ、これに東京化成製の Dabs-Cl 339.9 mg (1.05 mmol) をアセトン 120 ml に溶解させた液を混合し、水浴上約 70°C で 10 分間還流させた。反応後、アセトンを減圧留去し、1 M HCl 又は 0.1 M HCl を用い pH 4.0 に調整し沈殿を生成させた。その後、遠心分離により沈殿を取り出し、得られた沈殿を pH 4.0 の希塩酸で 5 回洗浄後、デシケーター中で減圧乾燥し、生成物を得た。得られた生成物は、

エタノール/水 (1:1) から再結晶した。合成した Dabs-AA は ¹H 核磁気共鳴 (NMR) (DMSO-*d*₆) より目的物であることを確認した。

2.2 装 置

2.2.1 IR スペクトルの測定 フーリエ変換赤外吸収 (FT-IR) スペクトルは Perkin Elmer 1650 型分光光度計により測定した。試料を KBr 錠剤とし、分解能 4 cm⁻¹、積算回数 64 回で測定を行った。

2.2.2 Raman スペクトルの測定 FT-Raman スペクトルは、Perkin Elmer System2000R 分光器により測定した。試料をキャピラリーに入れ、レーザー出力 30 mW、分解能 4 cm⁻¹、積算回数 60 回で測定を行った。

2.2.3 ¹H NMR スペクトルの測定 ¹H NMR スペクトルは、日本電子製 JNM-GSX 400 装置により測定した。試料を DMSO-*d*₆ に溶解し、基準物質には TMS を用いた。

2.2.4 UV/Vis 吸収スペクトルの測定 UV/Vis 吸収スペクトルは、島津製 UV-2500PC 形ダブルビーム分光光度計により測定した。測定には光路長 10 mm の石英セルを用いた。試料の pH は、1~10⁻⁴ M HCl 及び NaOH 水溶液を用いて調整した。試料温度は恒温水槽の水をセルに循環させて制御した。

2.2.5 CD スペクトルの測定 CD スペクトルは日本分光製 J-820 円二色性分散計により測定した。また、光路長 10 mm の円筒型石英セルを用い、試料の pH 調整は吸収スペクトル測定と同様の操作で行った。

3 結果と考察

3.1 ダブシルアミノ酸のスペクトル特性

3.1.1 UV/Vis 吸収スペクトルと酸解離定数 (pK_a)

Dabs-AA 水溶液の各種 pH における吸収スペクトルを 300~600 nm の波長範囲で 24.0°C で測定した。また、酸性型及び中性型分子種の吸収極大波長における吸光度の pH 依存性を用いて、酸解離定数 (pK_a) を算出した。試料濃度は 10⁻⁶ M オーダーとし、試料の溶解を助けるため 1% のジメチルスルホキシド (DMSO) を添加した。この濃度領域では吸光度がベール則に従うので、Dabs-AA はモノマーとして存在すると考えてよい。Fig. 1 に Dabs-L-Phe の pH 変化に伴う吸収スペクトルの変化を示す。酸性の pH 領域では 505 nm に吸収極大を示し、これは MO の酸性色に対応している。pH の上昇に伴い 505 nm の吸収が減少し、465 nm の吸収が増加する。等吸収点は 466 nm に観測される。505 nm の吸光度変化より pK_{a1} 値は 2.8 と求めた。この値は、同様にして求めた MO の pK_{a1} 値 3.0 に対応している。pH を更に高くすると、MO とは異なり、中性 pH 領域から高アルカリ性 pH 領域で吸収スペクトルが更に変化を示した。等吸収点は 462 nm に観測される。465

nmの吸収変化より求めた pK_{a2} 値は12.5となった。その他のDabs-AAの吸収スペクトルも同様のpH依存性を示し、求めた pK_{a1} 、 pK_{a2} 及びスペクトルデータをTable 1に示す。Dabs-AAの pK_{a1} 及び pK_{a2} は、それぞれアゾ基へのプロトン付加平衡、スルホンアミド基のプロトン解離平衡に対応している。

3・1・2 IR 及び Raman スペクトル Dabs-AAのIR及び近赤外線励起のRamanスペクトルを測定した。代表例としてFig. 2に、Dabs-L-Pheの結果を示す。IRスペクトルでは、 1700 cm^{-1} 領域に α -位のカルボン酸の吸収と 1370 cm^{-1} 及び 1140 cm^{-1} 領域に2本のスルホンアミド基 $-\text{SO}_2\text{-NH-}$ に由来する吸収が特徴的に観測された。他のDabs-AAsについても類似のIRスペクトルが得られた。この結果は、Linら²⁹⁾の報告と対応している。また、RamanスペクトルもすべてのDabs-AAに対してほぼ同一のものが得られた。すなわち、 1700 cm^{-1} 領域に α -位のカルボン酸のピークは観測されず、 1420 cm^{-1} 付近に $-\text{N}=\text{N}-$ 伸縮、 1140 cm^{-1} 付近にC-N伸縮振動と SO_2 対称伸縮振動の重なったバンドが観測された。その他のバンドは電子が

非局在化したアゾ色素部位に帰属できる。このようにRamanスペクトルでアゾ色素部位のシグナルのみ観測されるのは、近赤外線励起であっても共鳴効果を受けていることを反映している。

3・2 ダブルシリアミノ酸の会合挙動

3・2・1 UV/Vis 吸収スペクトルの濃度依存性 Dabs-AA水溶液のpHを一定に保ち、吸収スペクトルの濃度依存性を 24.0°C で測定した。Dabs-L-Pheについて各pHで濃度を 1.0×10^{-6} から 2.0×10^{-5} Mに変化させたときの吸収スペクトル変化をFig. 3に示す。試料溶液は1%のDMSOを含む。 pK_{a1} 以下のpH 1.9では、濃度の増加に伴い506 nmのモノマーの吸収が減少し、362 nmの吸収が増加し、等吸収点が418 nmに観測された(Fig. 3 a)。また、 pK_{a1} 以上のpH 5.4でも、濃度増加に伴い471 nmのモノマーの吸収が減少し、390 nmに等吸収点を持ちながら365 nm付近に新たな吸収が見られた(Fig. 3 c)。試料濃度増加に伴う360 nm付近の吸収は、 pK_{a1} 付近のpHで最も顕著に現れた(Fig. 3 b)。この短波長側の新たな吸収

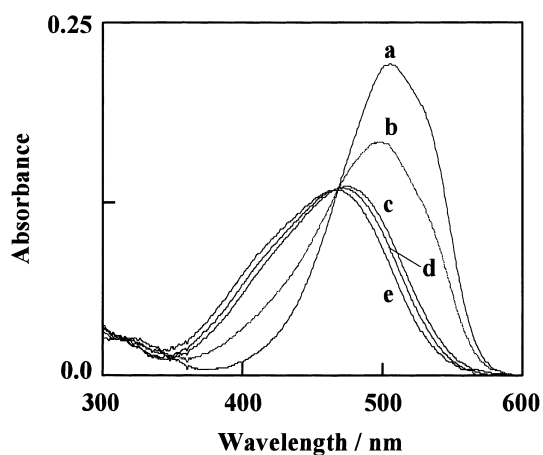


Fig. 1 UV/Vis absorption spectra of Dabs-L-Phe (5.0×10^{-6} M) at different pHs

pH of sample solution — a: 2.0; b: 3.1; c: 5.8; d: 12.1; e: 13.0

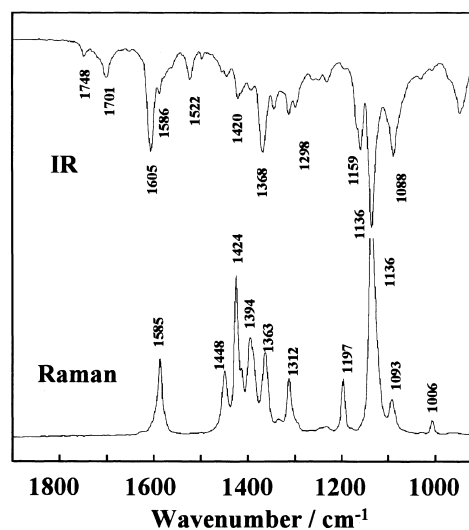


Fig. 2 FT-IR and Raman spectra of Dabs-L-Phe

Table 1 Acid dissociation constants and UV/Vis spectral characteristics of MO and Dabs-AAs

Compound	pK_{a1}	pK_{a2}	Basic form		Neutral form		Acid form	
			$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	ϵ_{max}	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	ϵ_{max}	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	ϵ_{max}
MO	3.0	—	464	2.42×10^4	464	2.42×10^4	509	4.35×10^4
Dabs-Gly	3.0	11.8	469	2.69×10^4	473	2.92×10^4	503	5.37×10^4
Dabs-L-Ala	2.8	12.1	468	2.80×10^4	474	2.93×10^4	504	5.47×10^4
Dabs-L-Val	2.8	12.5	466	2.79×10^4	475	2.83×10^4	504	5.20×10^4
Dabs-L-Leu	2.8	12.3	463	2.86×10^4	475	2.93×10^4	505	5.33×10^4
Dabs-L-Phe	2.8	12.5	465	2.74×10^4	471	2.82×10^4	505	5.12×10^4
Dabs-L-Trp	2.9	12.5	466	2.84×10^4	475	2.86×10^4	511	5.30×10^4

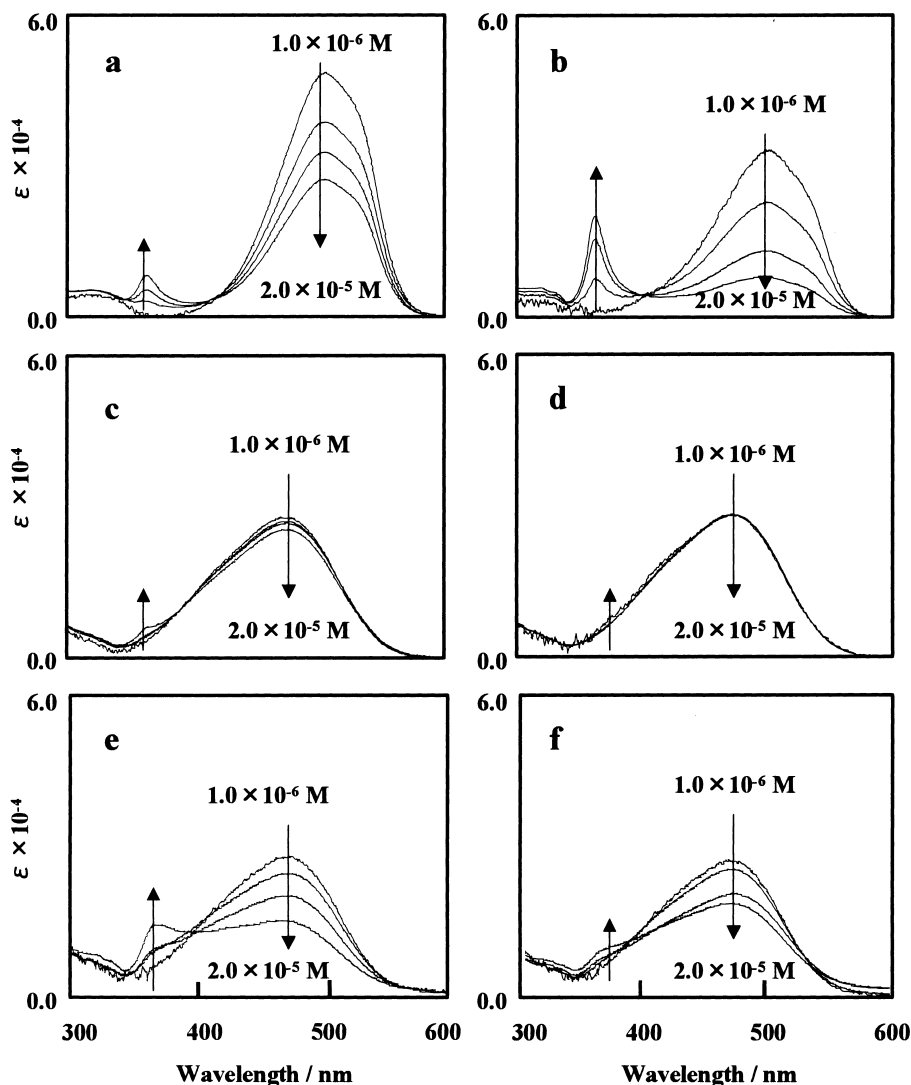


Fig. 3 Concentration dependence of the UV/Vis absorption spectra of Dabs-L-Phe at various pHs

a: pH 1.9; b: pH 3.1; c: pH 5.4; d: pH 8.8; e: pH 10.1; f: pH 12.1

は、塩基性の pH 10.1 及び pH 12.1 においても観測された (Fig. 3 e, f). しかし、明確な等吸収点は得られなかった。これはスペクトル中の 600 nm 付近のベースラインの上昇が示すように、測定溶液中に沈殿が生じたためと考えられる。このようなスペクトルの濃度依存性は、その他の Dabs-AA でも観測されるが、Dabs-L-Phe は最も顕著なスペクトル変化を示した。

等吸収点の存在は、Dabs-AA のモノマー分子種と別の分子種が希薄水溶液中で平衡状態にあることを示している。Min ら³⁰⁾ はシアニン系色素の吸収スペクトルの濃度依存性を調べ、濃度の増加に伴い色素のモノマー吸収 (598 nm) が減少し、543 nm に新たな吸収帯が生じることを報告している。また、Feng ら³¹⁾ は、アクリジンオレンジの吸収スペクトルの濃度依存性を調べており、濃度増加に伴い 492 nm の色素モノマーの吸収が減少し、465 nm に新た

な吸収帯が生じることを示した。一方、Hatano ら²²⁾ は MO の水溶液に α -ポリリジンを添加することにより水溶液中での MO モノマーの吸収 (465 nm) とは別に短波長側の 370 nm 付近に吸収が観測されることを報告している。これらの色素水溶液で観測される短波長側の吸収帯は、平面的な π 電子系をもつ色素分子が層状にスタッキングした、いわゆる H-会合体のダイマーに帰属されている。一般に、H-会合体形成による吸収波長の短波長シフトは、色素の遷移双極子モーメント間の相互作用により生じ、Kasha らの励起子分裂モデル^{12)~14)} により説明されている。

上記の色素と Dabs-AA のスペクトルシフトの類似性から、Dabs-AA の高濃度水溶液ではすべての pH で H-型のダイマーが生成し、水溶液中でモノマーとダイマー間で化学平衡が成立しているものと考えられる。

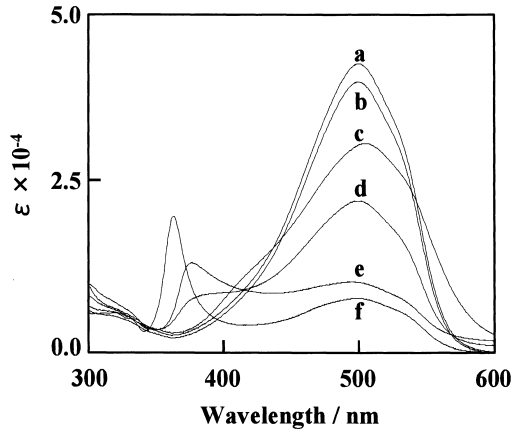


Fig. 4 UV/Vis absorption spectra of various Dabs-AAs (2.0×10^{-5} M, pH 3.1)
a: Dabs-L-Ala; b: Dabs-Gly; c: Dabs-L-Trp; d: Dabs-L-Val; e: Dabs-L-Leu; f: Dabs-L-Phe

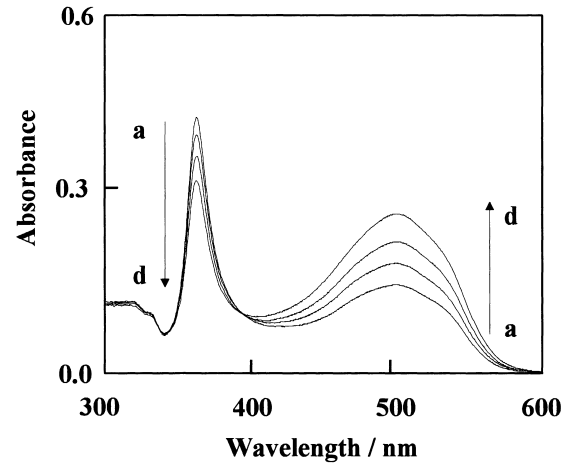


Fig. 6 UV/Vis absorption spectra of Dabs-L-Phe (2.0×10^{-5} M, pH 3.1) at various temperatures
a: 19.3°C; b: 26.9°C; c: 32.7°C; d: 38.0°C

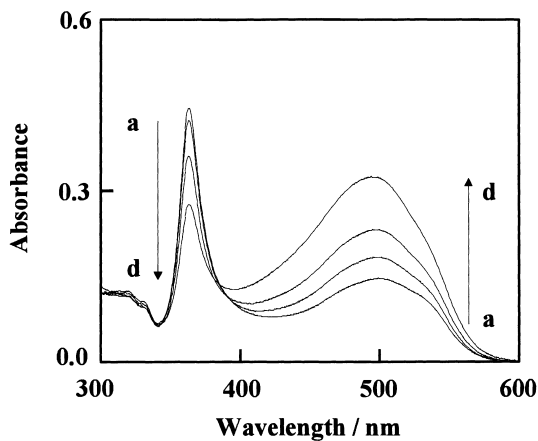


Fig. 5 Effect of DMSO addition on the UV/Vis absorption spectra of Dabs-L-Phe (2.0×10^{-5} M, pH 3.1)
a: 1% DMSO; b: 5%; c: 10%; d: 15%

3・2・2 UV/Vis 吸収スペクトルのアミノ酸の側鎖依存性

Fig. 4 では, 試料濃度を 2.0×10^{-5} M, pH を 3.1 としたときの Dabs-AA の 24.0°C での吸収スペクトルを比較した. 試料溶液には 1% の DMSO を含む. 前述の Dabs-L-Phe 以外では, Dabs-L-Leu と Dabs-L-Val でそれぞれ 376 nm にダイマーの吸収が顕著に観測された. また, Dabs-L-Trp ではダイマーの吸収が 410 nm にショルダーとして観測されたが, 沈殿生成によりベースラインが上昇した. 一方, Dabs-Gly と Dabs-L-Ala に関しては, この濃度ではダイマーに帰属できる吸収は観測されなかった. 以上のように, ダイマーの吸収は Dabs-L-Phe, Dabs-L-Leu, Dabs-L-Val など比較的高く, 極性の低い側鎖を有する Dabs-AA で顕著に観測されることから, ダイマーの形成に

は色素部位間のみならずアミノ酸側鎖の疎水性も寄与していることが示唆される.

3・2・3 UV/Vis 吸収スペクトルの DMSO 濃度及び温度依存性

吸収スペクトルにおけるモノマー及びダイマー吸収の相対強度は, 溶媒に添加する DMSO 濃度や溶液温度に大きく依存した.

Fig. 5 に Dabs-L-Phe の濃度を 2.0×10^{-5} M, pH を 3.1 とし DMSO 濃度を 1% から 15% まで変化させたときの 24.0°C での吸収スペクトル変化を示す. DMSO 濃度が 1% のときには顕著に観測された 363 nm のダイマーの吸収は, DMSO 濃度の増加に伴ってしだいに減少し, 500 nm 付近のモノマーの吸収が増加した. これは, DMSO 濃度の増加に伴い溶媒の誘電率が低下し, ダイマーからモノマーへ平衡が移動したためと考えられる. このとき明確な等吸収点は見られないが, これは DMSO 濃度の増加に伴い実質的な pH がわずかに上昇したためと考えられる. 実際, DMSO の 1% 溶液では 500 nm にあった吸収極大は DMSO 15% 溶液では 494 nm にシフトしている.

Fig. 6 には Dabs-L-Phe の濃度を 2.0×10^{-5} M, pH を 3.1, DMSO 濃度を 1% とし, 溶液の温度を変化させたときの吸収スペクトル変化を示す. 溶液の温度を 19.3°C から 38.0°C まで上昇させると 363 nm のダイマーの吸収は減少し, 500 nm 付近のモノマー由来の吸収が増加した. また, 等吸収点は 394 nm に観測された. このことは, 温度上昇に伴い会合の解離が促進され, ダイマーからモノマーへ平衡が移動したことに起因している. これらの結果は, ダイマーの形成が溶媒の誘電率及び温度に依存していることを示す.

3・2・4 CD スペクトル

ダイマーの分子構造に関して更に詳しい情報を得るために, Dabs-L-Phe の濃度を

2.0×10^{-5} M, pH を 3.1, DMSO 濃度を 1% として 24.0°C で CD スペクトルを測定した. 結果を Fig. 7 に示す. CD スペクトルでは, 379 nm に負の第一コットン効果 ($\Delta \epsilon_1 = -59.7$), 359 nm に正の第二コットン効果 ($\Delta \epsilon_2 = +157.1$) をもつ強い分裂型 CD (A 値 = -216.8) が観測された. CD スペクトルにおけるゼロ交点 (365 nm) は, UV スペクトルにおけるダイマーの吸収極大波長と一致している. 一方, モノマーに帰属される 500 nm の吸収波長には CD は全く観測されなかった. したがって, ここで観測された分裂型 CD はモノマー分子のもつ不斉に由来するのではなく, 色素分子同士がスタッキングした H-会合体の形成による誘起 CD である. Dabs-L-Phe の示す分裂型 CD を励起子キラリティー法の定義³²⁾に基づき解釈する

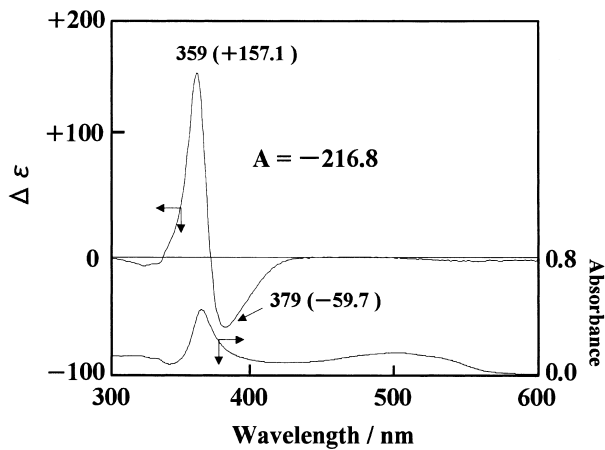


Fig. 7 CD and UV/Vis absorption spectra of Dabs-L-Phe (2.0×10^{-5} M, pH 3.1)

と, Dabs-L-Phe のダイマーは負のキラリティーを示す配向でスタッキングしていることが示唆される (Fig. 8).

更に, Dabs-D-Phe では Dabs-L-Phe と同様に, 368 nm をゼロ交点とする分裂型 CD を与えたが, コットン効果の符号が逆転した CD を与えた (A 値 = $+174.4$). このことはアミノ酸の不斉炭素原子の立体化学がダイマーのスタッキングのキラリティーを制御することを示している. 更に, ラセミ体ではこのような CD スペクトルが観測されなかったことから, L,L と D,D の会合体は互いに鏡像関係にあることが明らかである.

4 結 言

Dabs-AA は濃度, 温度, 溶媒組成などの条件によりダイマーを形成することが明らかとなった. 既に報告した Dabs-L-Trp の X 線結晶解析の結果³³⁾をもとにすると, Dabs-AA の分子構造は溶液中でも, 結晶状態と同様にアゾ N=N 基はトランス型で発色団は平面性を保持していると考えられる. UV/Vis 及び CD スペクトル結果から, Dabs-L-Phe は負のキラリティーを示すような配向で相互作用していると考えられる.

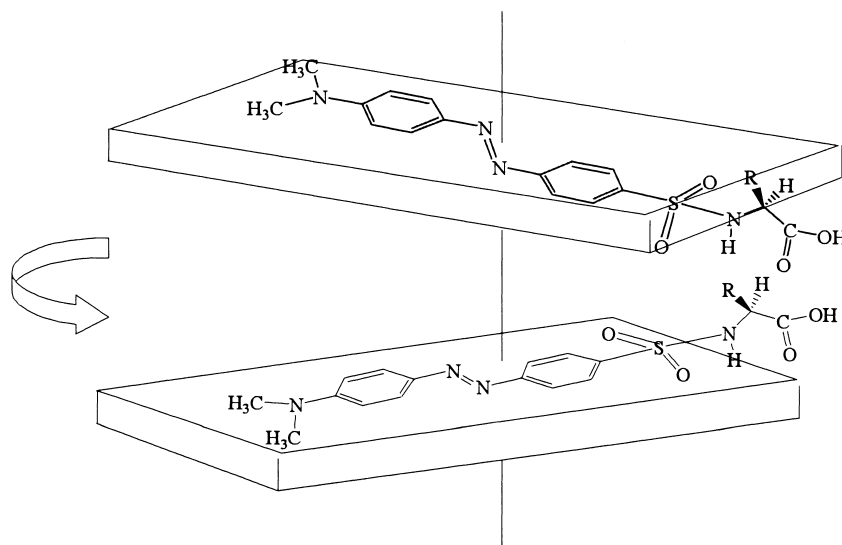


Fig. 8 Proposed structure of Dabs-L-AA aggregates

文 献

- 1) W. West, S. Pearce: *J. Phys. Chem.*, **69**, 1894 (1965).
- 2) M. E. Lamm, D. M. Neville, Jr.: *J. Phys. Chem.*, **69**, 1894 (1965).
- 3) A. R. Monahan, D. F. Brossey: *J. Phys. Chem.*, **74**, 1970 (1970).
- 4) W. Stork, G. Lippits, M. Mandel: *J. Phys. Chem.*, **76**, 1772 (1972).
- 5) A. R. Monahan, J. A. Brado, A. F. Delura: *J. Phys. Chem.*, **76**, 1994 (1972).
- 6) B. H. Robinson, A. Loffler, G. Schwarz: *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **69**, 56 (1973).
- 7) V. Vitagliano: "Aggregation Processes in Solution", Edited By E. Wyn-Jones, J. Gormally, (1983), (Elsevier, Amsterdam).
- 8) T. M. Cooper, M. O. Stone: *Langmuir*, **14**, 6662 (1998).
- 9) J. O. Smith, D. A. Olson, B. A. Armitage: *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 2686 (1999).
- 10) R. Ricceri, C. Neto, A. Abbotto, A. Facchetti, G. A. Pangi: *Langmuir*, **15**, 2149 (1999).
- 11) R. W. Owens, D. A. Smith: *Langmuir*, **16**, 562 (2000).
- 12) E. G. McRae, M. Kasha, "Physical Processes in Radiation Biology", Edited by L. Augenstein, R. Mason, B. Rosenberg, (1964), (Academic Press, New York).
- 13) M. Kasha, H. R. Rawls, M. A. El-Bayoumi: *Pure Apply. Chem.*, **11**, 371 (1965).
- 14) E. G. McRae, M. Kasha: *J. Chem. Phys.*, **28**, 721 (1958).
- 15) O. Valdes-Aguilera, D. C. Neckers: *Acc. Chem. Res.*, **22**, 171 (1989).
- 16) R. T. Buwalda, J. B. F. N. Engberts: *Langmuir*, **17**, 1054 (2001).
- 17) J. M. Kuiper, R. T. Buwalda, R. Hulst, J. B. F. N. Engberts: *Langmuir*, **17**, 5216 (2001).
- 18) C. F. Hiskey, T. A. Downey: *J. Phys. Chem.*, **58**, 835 (1954).
- 19) F. Quadrifoglio, V. Crescenzi: *J. Colloid Interface Sci.*, **35**, 447 (1971).
- 20) R. L. Reeves, S. A. Harkaway, "Micellization, Solubilization, Microemulsions" (Proceedings of International Symposium), Vol. 2, Edited By K. L. Mittal, p. 819 (1977), (Plenum, New York).
- 21) A. B. Scott, H. V. Tartar: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 692 (1943).
- 22) M. Hatano, M. Yoneyama, Y. Sato, Y. Kawamura: *Biopolymers*, **12**, 2423 (1973).
- 23) T. Takagishi, T. Ueno, N. Kuroki, S. Shima, H. Sakai: *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **22**, 1281 (1984).
- 24) H. Yamamoto, A. Nakazawa, T. Hayakawa, M. Mitsuishi: *Polym. J.*, **16**, 791 (1984).
- 25) T. Takagishi, N. Kuroki, S. Shima, H. Sakai, H. Yamamoto, A. Nakazawa: *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, **23**, 329 (1985).
- 26) M. M. El-Fass, N. A. Badawy, A. A. El-Bayaa, N. S. Mousy: *Bull. Korean Chem. Soc.*, **16**, 458 (1995).
- 27) K. Murakami, Y. Kimura, M. Saito: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 115 (1997).
- 28) J. Y. Chang, R. Knecht, D. G. Braun: *Methods in Enzymology*, **91**, 41 (1983).
- 29) J.-K. Lin, J.-Y. Chang: *Anal. Chem.*, **47**, 1634 (1975).
- 30) H. Min, J. Park, J. Yu, D. Kim: *Bull. Korean Chem. Soc.*, **19**, 650 (1998).
- 31) X. Feng, X. He, H. Shen: 日本化学会誌, **10**, 720 (1997).
- 32) K. Berova, K. Nakanishi, R. W. Woody, "Circular Dichroism: Principles and Applications", 2nd Ed., (2000), (VCH Publishers, New York).
- 33) C. Sasaki, S. Kitoh, H. Hayashi, K. Kunimoto: *Anal. Sci.*, **20**, X117 (2004).

要 旨

ダブルシルクロリド (Dabs-Cl) は、高速液体クロマトグラフィーなどによるタンパク質分析の際のアミノ酸標識剤である。著者らは、Dabs-Cl で標識された一連のダブルシリアミノ酸 (Dabs-AA) を合成し、紫外可視吸収スペクトル及び円二色性 (CD) スペクトルを測定し、Dabs-AA の水溶液中での会合挙動を検討した。希薄水溶液では、Dabs-AA の可視部の吸収はジメチルアミノアゾベンゼン色素特有の pH 依存性を示す。Dabs-AA の濃度上昇に伴い、500 nm 付近の Dabs-AA のモノマー由来の吸収は減少し、360~400 nm 領域にダイマーに由来するピークが観測される。ダイマーの形成は共溶媒として用いたジメチルスルホキシド濃度、溶液温度及びアミノ酸側鎖 (R) に依存する。Dabs-L-Phe の 363 nm に観測されるダイマーの吸収帯に対応して、379 nm に負の第一コットン効果、359 nm に正の第二コットン効果をもつ強い誘起分裂型 CD スペクトルが観測された。これらの結果から水溶液中では、Dabs-L-Phe は負のキラリティーを示す配向でダイマーを形成していることが示唆された。