

Amino acid Thiohydantoin 誘導體의 質量分析 (第 I 報)

宋 庚 德

朝鮮大學校 師範大學 家政教育學科

Mass Spectrometric Identification of Thiohydantoin Derived from Amino Acids (I)

Kyung-Duck Song

Department of Home Economics, Teachers College, Cho sun University

Abstract

The thiohydantoin derivative derived from amino acid was used for the stepwise sequence analysis of peptide or protein from the carboxyl termini. Recently, SuZuKI⁽²³⁾ reported the mass spectrometric identification about a part of these compounds.

In this paper, was described the mass spectrometric identification of thiohydantoin derived from 20 amino acids.

Mass spectra were obtained with a mass spectrometer, JEOL model JMS-06H and samples were introduced with a direct inlet probe. The molecular ion peaks and fragment ion peaks were identified easily, because these peaks appeared differently every amino acids and specially, it was easy discrimination between leucine and isoleucine.

It is suggested that mass spectrometry was one of the useful methods to identify thiohydantoin derived from amino acids.

緒 論

蛋白質의 構造는 1, 2, 3 및 4次 構造로 나누어 생각할 수 있으며, 蛋白質을 研究하는 데 있어서 -s-s- (disulfide bond) 結合이나 鹽樣結合을 論하기 위하여서는 第一次 構造인 amino acid의 配列順序가 優先的으로 研究되어야 한다. 다음의 第二次 構造 以上의 高次構造는 第一次 構造에 의하여 規定되어지는 것이 보통이다.

蛋白質의 一次構造分析을 위해서는 긴 peptide 鎖를 酵素分解 (proteolytic enzyme) 에 의하여 切斷하여 部

分 peptide를 얻은 다음, 그들 各各을 N 末端 (amino 末端) 혹은, C 末端 (carboxyl 末端) 으로 부터의 逐次 分析法에 의해서 配列順序를 결정한 뒤, 그 部分 peptide의 構造를 처음의 全體構造에 연결시킴으로써 一次 構造를 元來의 狀態로 組立시킬 수 있다.

Peptide의 N 末端으로부터의 構造分析法에는, 1945 年 Sanger 에 의해서 創案되어 insulin 의 全 amino acid 結合順序의 결정에 高度의 有用성을 나타낸 DNP 法^(1·2·3·4·5·6)을 비롯해서, Edman 의 PTC 法^(7·8) 등이 있다. 現在 Edman 은 PTC 法에 의한 自動式 amino acid 配列分析裝置에 의해서 (protein sequenator)⁽⁹⁾

한편 amino acid thiohydantoin 誘導體의 質量分析에 의한 確認은 鈴木⁽²³⁾ 등에 의하여 提案되어 C 末端으로부터의 逐次分析을 위한 自動化的 立場에서 불 때 薄間 chromatography 나 gas chromatography 등에 限한 確認時의 不充分한 점을 보충할 수 있다는 점에서 다음과 같은 特徵들을 들 수 있다.

(1) 各 誘導體의 解裂樣式에 由來하는 特徵的인 molecular peak 와 fragment peak 에 의해서 切斷된 C 末端 amino acid 의 分離確認이 可能하다.

(2) Amino acid 中 leucine 과 isoleucine 誘導體의 경우 다른 分析手段에 比하여 判別確認이 용이하다. 例로서 薄間 chromatography 의 경우 Rf 值가 一致하기 때문에 分別確認이 不可能하였으나, 質量分析에 의하면 isopropyl 基의 離脫에 의한 fragmentation 으로

부터 용이하게 判別할 수 있다.

(3) 自動分析의 面에서 불 때 gas chromatography 는 極性的 amino acid, 특히 鹽基性 amino acid 의 경우 별도의 手段을 쓰지 않으면 確認이 不可能하다. 그러나 質量分析에 의할 것 같으면 氣化性的 賦與를 위한 前處理가 없이도 全 amino acid 의 確認이 可能하기 때문에 優秀하다.

(4) 여타의 器機分析時에 所要되는 sample 의 量보다 微量을 要하기 때문에 (檢出限界 3 γ程度) 逐次分析에 유리하다.

本稿에서는 常法에 의해서 標準 sample 의 製造가 困難했던 amino acid thiohydantoin 誘導體의 製造 및 質量分析에 의한 이들 誘導體들의 解裂樣式에 對하여 報告하고자 한다.

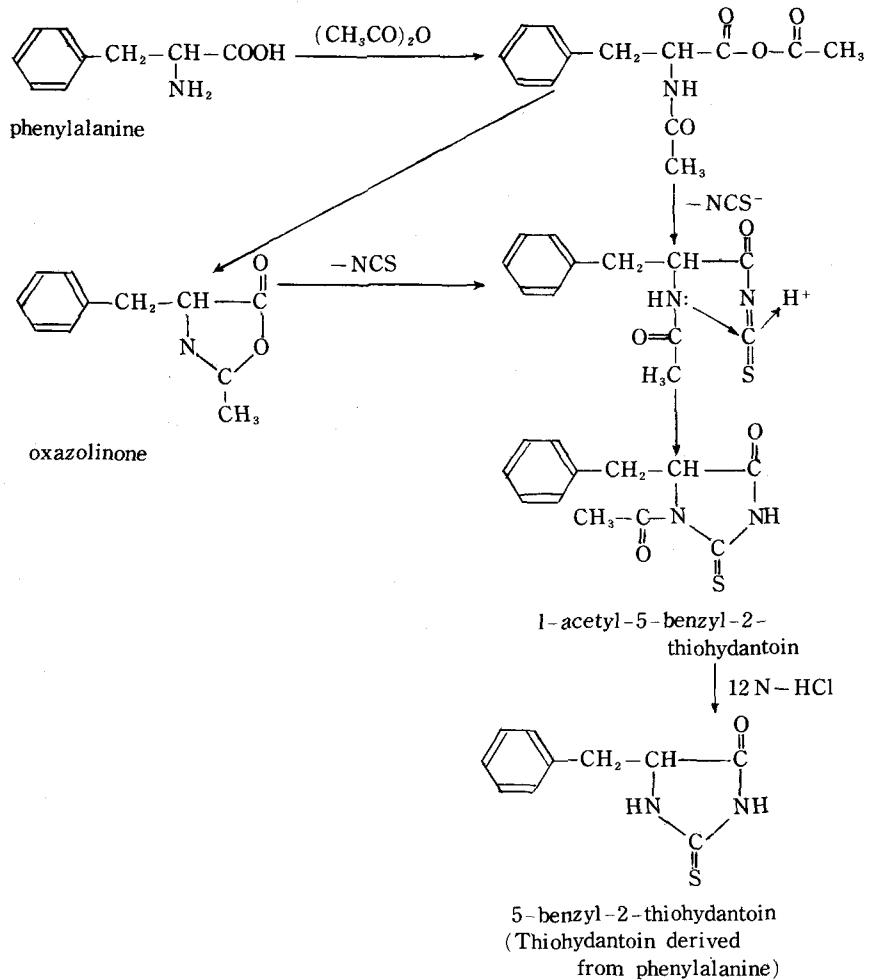


Fig. 2. Preparation of thiohydantoin phenylalanine

L-aspartic acid 13.3g (0.1 mole) 을 benzyl alcohol 150 ml 에 현탁시켜攪拌하면서 conc-HCl 45 ml 를加한다. 沸騰水浴中에서攪拌하면約5分後에均一한溶液이된다. 30分間加熱한뒤冷却하여triethylamine 을加하여pH 6에近接시키면, 糊狀結晶을析出한다. 水室에放置하여濾過한다음ethanol·acetone 順으로洗滌한다. 結晶을熱水 150 ml 에溶解시켜triethylamine 2 ml 를加하여再結晶을얻었다(收量: 10 g (46%), m. p.: 214°C (lit.: 214~215°C)⁽²⁴⁾). 얻어진β-benzyl aspartic acid 4.7 g (0.02 mole) 에 초산 2.6 ml, 無水 초산 20 ml 및 NH₄SCH 1.8 g (1

~2倍 mole) 을加하여常法에 의하여反應시켜1-acetyl-5-carboxymethyl-2-thiohydantoin을結晶으로얻었다. 濾過分離하여結晶에6N-HCl 30 ml 를加하여室溫에서透明하게될때까지攪拌한뒤濃縮하고물을加해放置하여5-carboxymethyl-2-thiohydantoin의結晶이얻어졌다. 초산과물로써再結晶化를行하여收量 2.3 g (66%), m. p.: 220°C의誘導體를얻었다.

實驗 1-3: 5-carboxymethyl mercapto-2-thiohydantoin (thiohydantoin derived from s-carboxymethyl cysteine)의製造

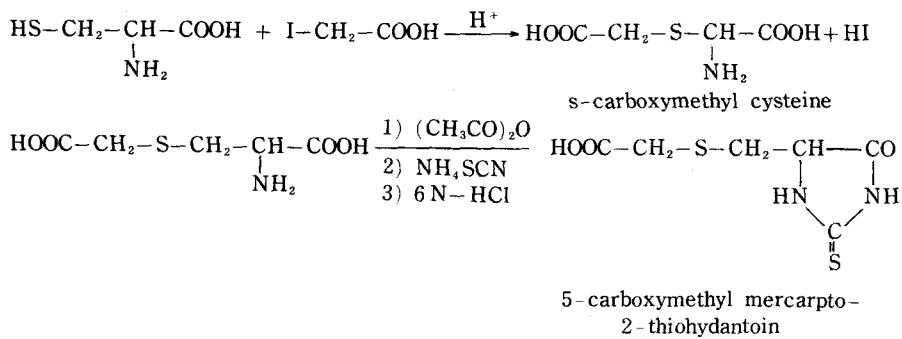
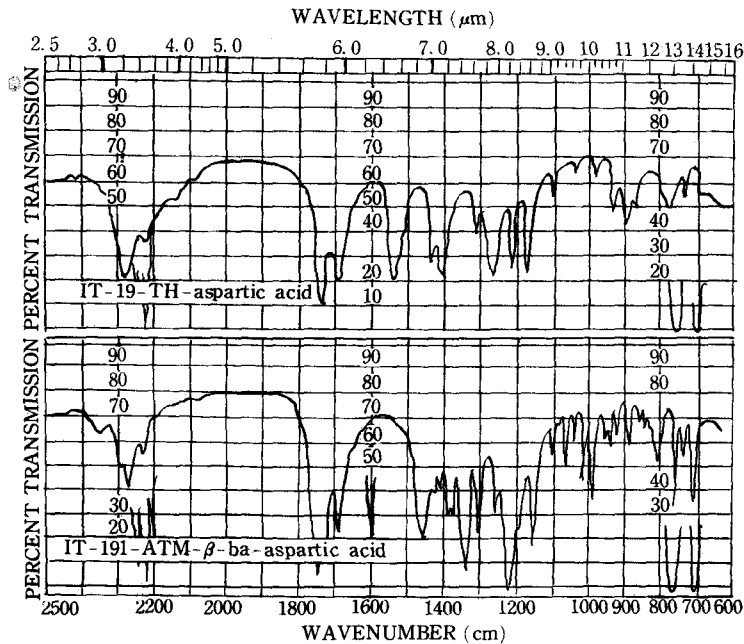
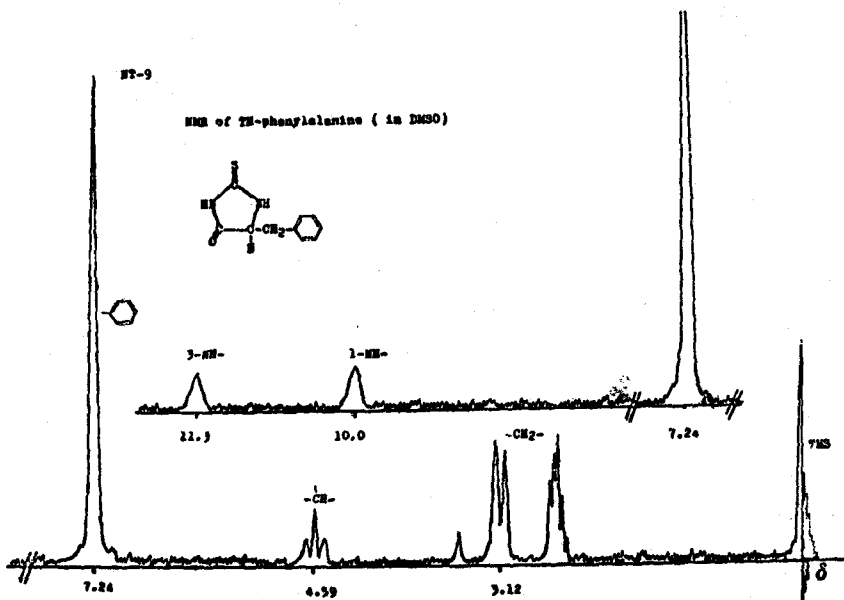
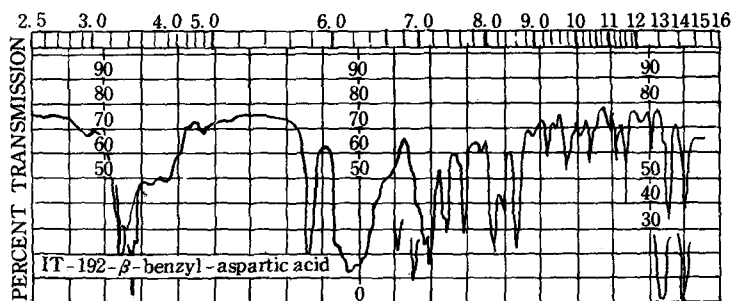


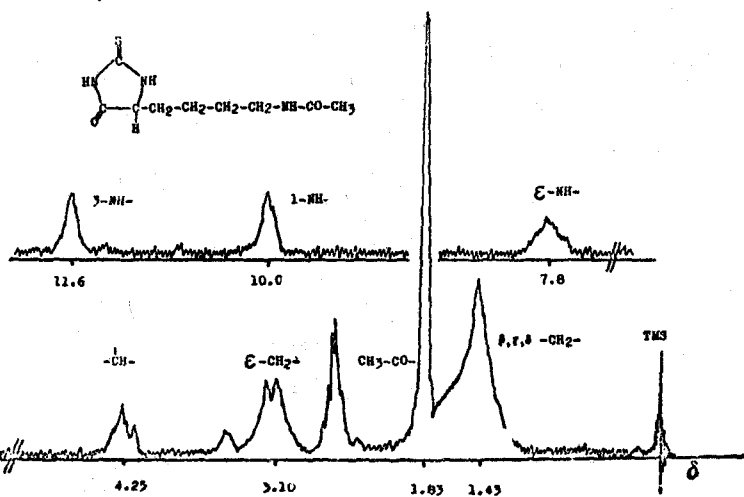
Fig. 4. Preparation of thiohydantoin CM-cysteine

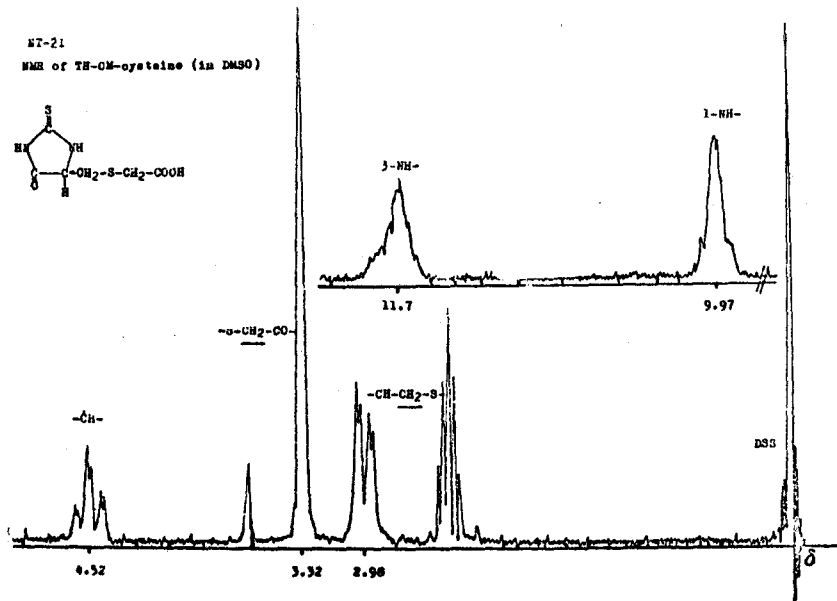
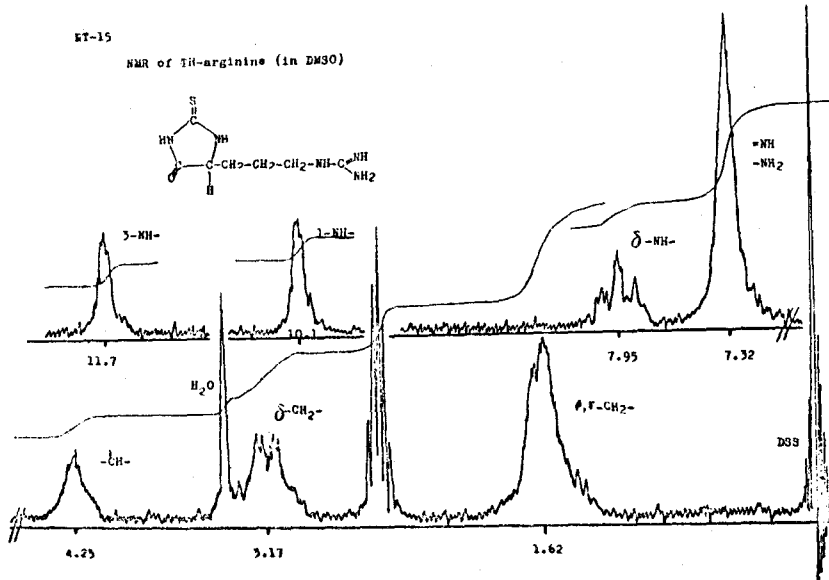




FT-11

NMR of TH-lysine (in DMSO)





Cysteine hydrochloride 5.5 g 과 mono-iodoacetic acid 7.0 g 을 10 ml 의 물에 溶解시켜 6.7 M-KOH 17 ml 를 加하면 反應液은 反應熱과 中和熱에 의하여 뜨거워진다. 5 分後 litmus paper 로 酸性이 될 때까지 水초산을 加하여 2 時間 氷室에 放置하였다. 濾液에 congo red paper 로 靑色이 될 때까지 6N-HCl 을 加하여 다시 氷室에 2 時間 程度 放置하여 結晶化시킨다. 濾取하여 200 ml 의 沸騰水에 溶解시켜 氷室에서 再結晶化시켰다 (收量은 4.1 g (yield 65%) m. p: 178°C).

얻어진 s-carboxymethyl cysteine 을 原料로 하여 常法에 따라서 反應시켜 5-carboxymethyl mercapto-2-thiohydantoin 을 얻었다 (m. p=159~162°C).

實驗 2: 實驗 1 의 1, 2, 3 에서 製造한 amino acid thiohydantoin 誘導體에 대하여 元素分析, 融點, 薄層 chromatography (TLC), 紫外線 吸收 스펙트럼, 赤外線 吸收 스펙트럼, 核磁氣, 共鳴 스펙트럼 등에 의한 標準 sample 의 製造 여부에 대한 確認을 行했다.

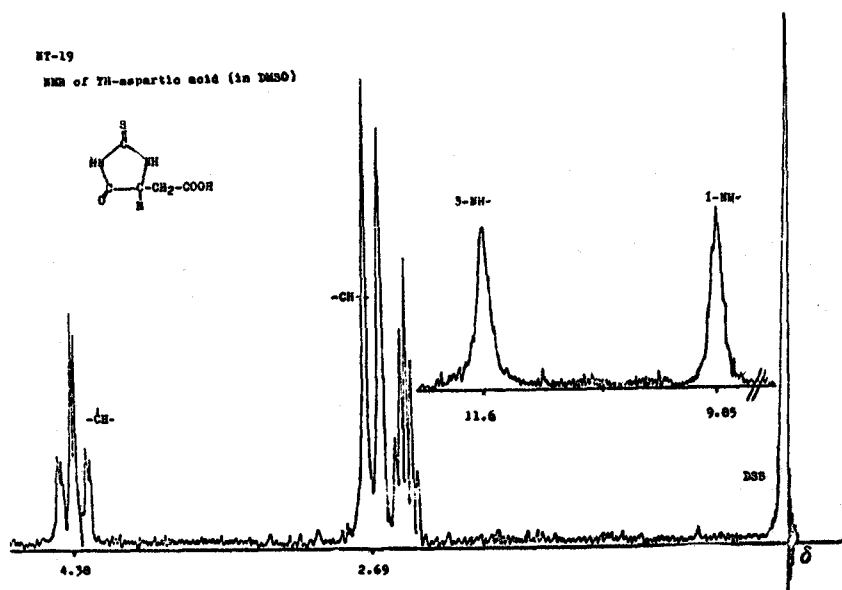
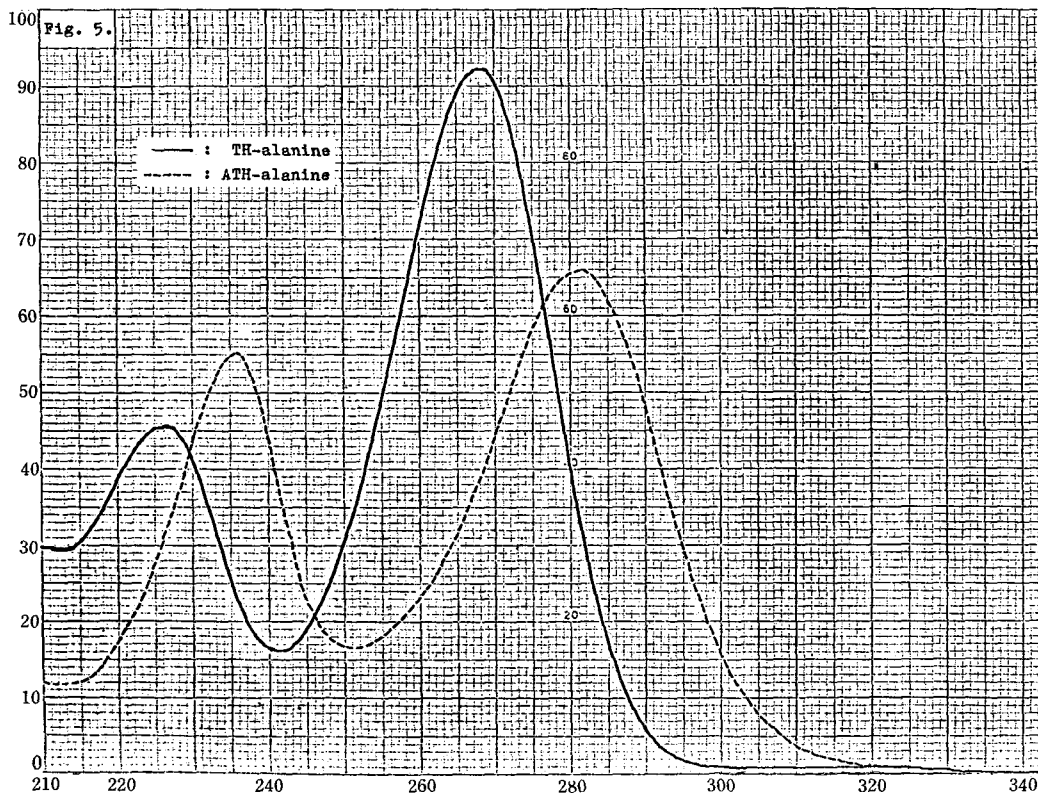


Table 1. Properties of 5-substituted 2-thiohydantoins

Sample No.	TH-amino acid	Melting Found	Point (°C) Literature	TLC	IR-chart	NMR-chart
T-1	TH-gly	227	229-231	pure	IT-1	NT-2
T-2	TH-ala	165	165-166	"	IT-2	
T-3	TH-val	140	139-140	"	IT-3	
T-4	TH-leu	176	177-178	"	IT-4	
T-5	TH-ileu	128	132-133	"	IT-5	
T-6	TH-met	149	147-149	"	IT-6	
T-7	TH-gln	187	189-191	"	IT-7	
T-8	TH-thr*	258	264	"	IT-8	
T-9	TH-phe	180	178-180	"	IT-9	NT-9
T-10	TH-tyr	210	206-208	"	IT-10	NT-11
T-11	TH-lys**	195	189-191	"	IT-11	
T-12	TH-glu	112	115-116	"	IT-12	NT-15
T-13	TH-asn	240	252	"	IT-13	
T-14	TH-pro	172	173	"	IT-14	
T-15	TH-arg	150	148-150	"	IT-15	
T-16	TH-his	277	220	"	IT-16	
T-17	TH-try	190	190-192	"	IT-17	
T-18	TH-ser	soln.	—	"	IT-18	
T-19	TH-asp	220	221-222	"	IT-19	NT-19
T-191	ATH-β-bz-asp	98	—	"	IT-191	NT-21
T-192	β-bz-asp	214	214-215	"	IT-192	
T-20	TH-cys	soln.	—	"	IT-20	
T-21	TH-CM-cys	159-162	—	"	IT-21	NT-21
T-211	S-CM-cys	178	175-176	"	IT-211	

* : Dehydro comp.

** : ε-acetyl comp.



實驗 2-1: 薄間 chromatography (TLC)

Silicagel: Merck 社의 kieselgel CF₂₅₄, 展開溶媒:

(1) n-butanol; CH₃COOH : H₂O=4 : 1 : 2, (2) butyl-acetate : n-heptane; formic acid=5 : 4 : 1

確認: 紫外線檢出器 (thiohydantoin 環의 C=S 의 $\rightarrow\pi^*$ 및 $n\rightarrow\sigma^*$ 에 由來하는 吸收)

實驗 2-2: 紫外線 吸收 스펙트럼

機械: Hitachi Recoding Spectrophotometer

實驗 2-3: 赤外線 吸收 스펙트럼

機械: JASCO MODEL IR-S (infrared spectrophotometer)

實驗 2-4: 核磁氣 共鳴 스펙트럼

機械: 日本電子 MODEL JNM-MH-60-11, Varian Co. T-60)

2. 結果

上述한 實驗 2의 結果는 앞의 表에서 나타내는 바와 같다 (Table 1).

3. 考 察

(1) 21種의 標準 amino acid thiohydantoin 誘導體中 實驗 1-1에서 얻어진 化合物들은 元素分析, 融點,

赤外線 吸收 스펙트럼의 結果로부터 製造되었음이 確認되었다.

(2) 誘導體中 threonine 과 lysine 의 경우 元素分析, 赤外線 吸收 스펙트럼, 核磁氣 共鳴 스펙트럼의 結果로부터 各各 dehydroxy threonine 과 ϵ -acetyl-lysine 의 thiohydantoin 誘導體가 얻어졌음이 確認되었다. lysine 의 경우 NMR 의 chart로부터 thiohydantoin環의 1, 3位의 窒素에 結合되어 있는 水素는 各各 $\delta=10.0$ (b), $\delta=11.6$ (b) 으로서 1 개씩 나타나 있으며, ϵ 位의 窒素에 結合되어 있는 2개의 水素는 $\delta=7.8$ (b) 로서 1 개가 나타나 있는 것으로 보아, acetyl基는 ϵ 位의 窒素에 結合되어 있음이 確認되었다.

(3) 實驗 1-2의 thiohydantoin aspartic acid 의 경우는 赤外線 吸收 스펙트럼의 結果로부터 反應 進行의 推定이 가능하였다.

原料인 β -benzyl aspartic acid는 α -free 의 carboxyl基에 由來하는 carbonyl吸收와 (低) β -benzyl ester 의 carbonyl吸收가 (高) 나타나 있다. β -benzyl aspartic acid의 acetylthiohydantoin 의 경우에는 ester type (1745 cm^{-1}), acetyl type (1682 cm^{-1});

Table 2. Major peaks in the Mass Spectra of acetyl-TH

Acetylthiohydantoin	1	2	3	4	5	6	M
glycine	43	60	73	88	<u>116_a</u>	130	158
alanine	60	69	86	102	<u>130</u>	144	172
valine	60	84	116 _a	<u>158</u>	172	186	200
leucine	43	60	116 _a	129	158	<u>172</u>	214
isoleucine	57	79	116 _a	158	<u>172</u>	185	214
methionine	43	116 _a	129	132	171	<u>190</u>	232
phenylalanine	91	116 _a	<u>206</u>	220			248

a : thiohydantoin ring
 — : molecular peak of thiohydantoin

thiohydantoin 環의 carbonyl 基 (1725 cm^{-1})에 由來하는 3 개의 carbonyl 吸收가 나타나 있다. Thiohydantoin aspartic acid의 경우는 β -free의 carboxyl 基에 의한 吸收 (1690 cm^{-1})와 thiohydantoin 環의 carbonyl 基 (1732 cm^{-1})에 由來하는 吸收와의 2 개가 나타나 있다.

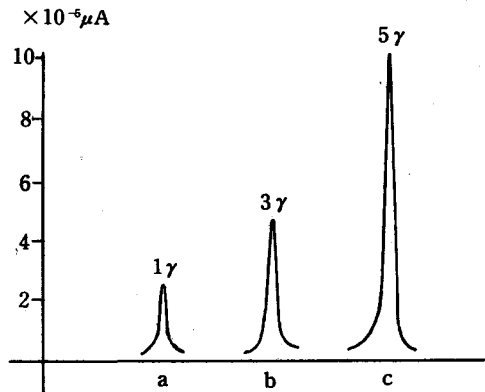
또한, benzyl 基의 離脫은 $700\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 의 面外變角振動帶로부터도 確認되어 β -位의 carboxyl 基는 遊離狀態임이 確實視되었다.

(4) 代表로 測定한 methyl-2-thiohydantoin (thiohydantoin derived from alanine)의 紫外線 吸收 스펙트럼에서는 $268\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.20$) 및 $226.5\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3.36$)에 極大吸收가 나타나 있으며 극소치는 $242\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3.11$)에 나타나 있다. 이들 값은 Elmore의 文獻值⁽²⁵⁾와는 약간 다르나 어떤 것도 $3\text{ m}\mu$ 씩 이므로 測定器의 誤差라고 생각되었다. $268\text{ m}\mu$ 의 極大値는 thio 尿素와의 比較로부터 thiocarbonyl 基의 $\pi \rightarrow \pi^*$ 및 $n \rightarrow \sigma^*$ 遷移로 귀속되었다. Acetyl 誘導體에 있어서는 $12.5\text{ m}\mu$ blue shift를 받아 $281.5\text{ m}\mu$ 에 極大値가 나타나 있다. 이것은 1位의 窒素原子에 대한 acetyl 基의 附加에 의해 共役系가 伸張되었기 때문이라고 解釋되었다.

이상의 考察로부터 標準化合物로서 21種의 amino acid thiohydantoin 誘導體가 얻어졌음이 確認되었다.

4. 質量分析

實驗 4-1 Mass spectrum 測定時의 條件, 機械 : 日本電子 JEOLCO JMS-06型, 試料導入 : 直接導入, 이온화 電位 : 75 eV , 이온화 電壓 : $300\text{ }\mu\text{A}$, 試料溫度 : $0\sim 180^\circ\text{C}$, chamber 溫度 : 300°C , 진공포 : 이온源 ;



Detectable limitation of Alanine thiohydantoin

Fig. 6.

Total ion monitor, full scale $1 \times 10^{-4} \mu\text{A}$

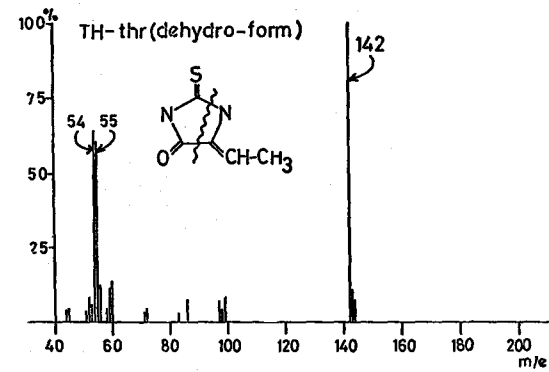
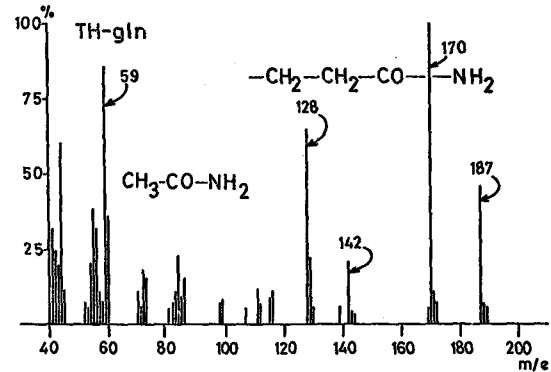
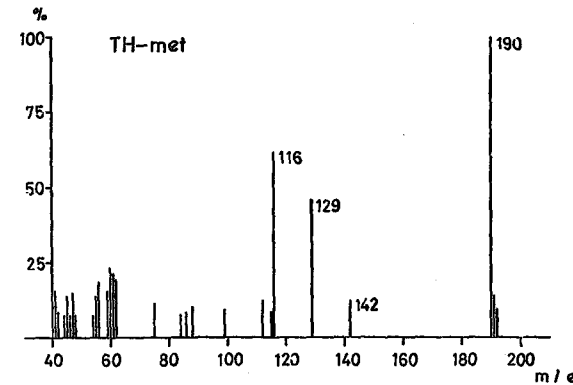
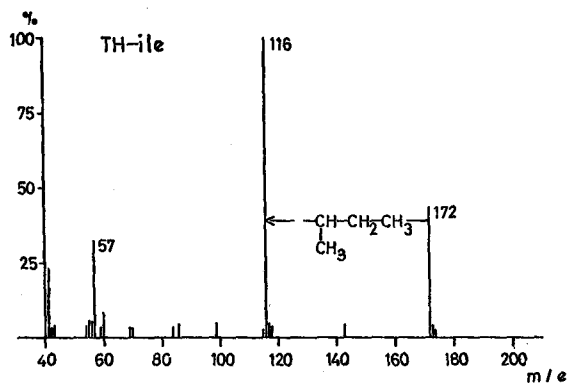
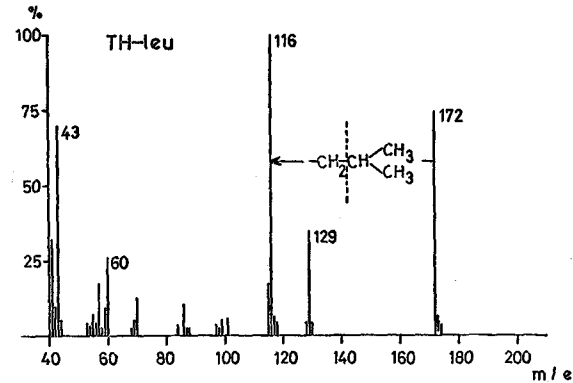
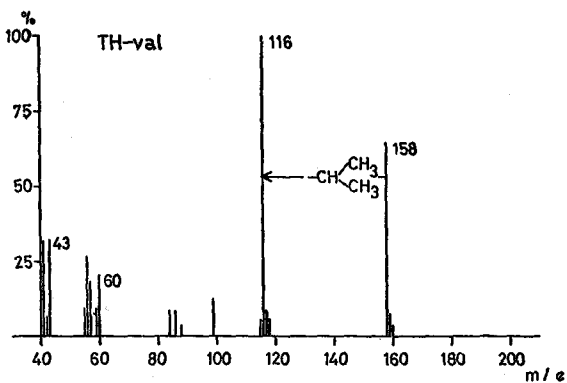
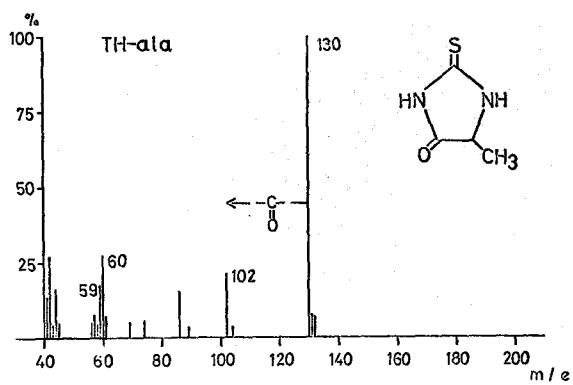
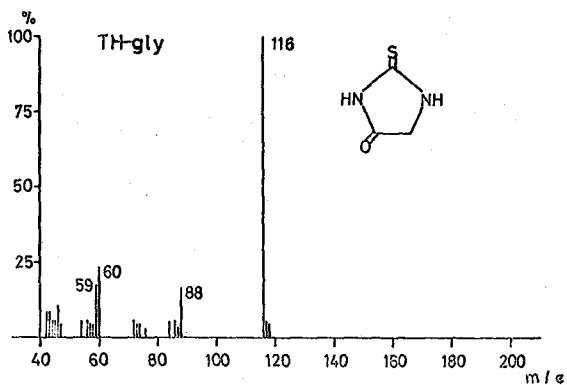
$1.5 \times 10^{-6}\text{ mm Hg}$, 分析管 ; $3.0 \times 10^{-7}\text{ mm Hg}$, set mass range : $m/e\ 10\sim 500\text{ max}$ ($10\text{ cm/sec} \times 10\text{ sec}$)

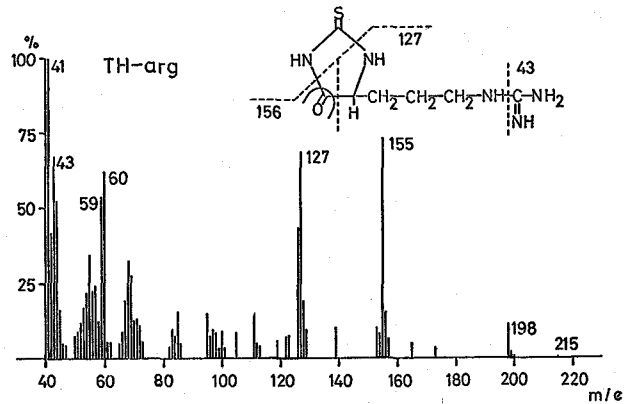
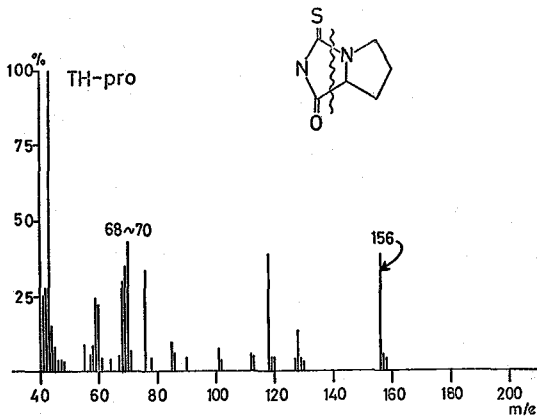
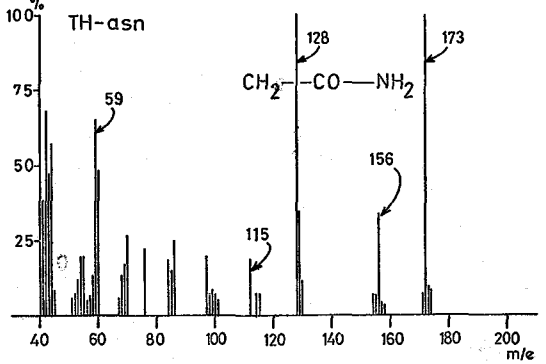
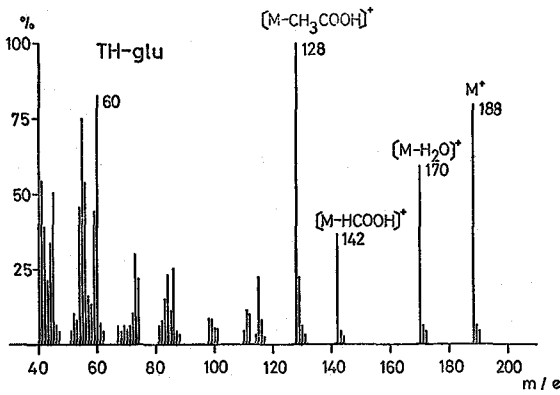
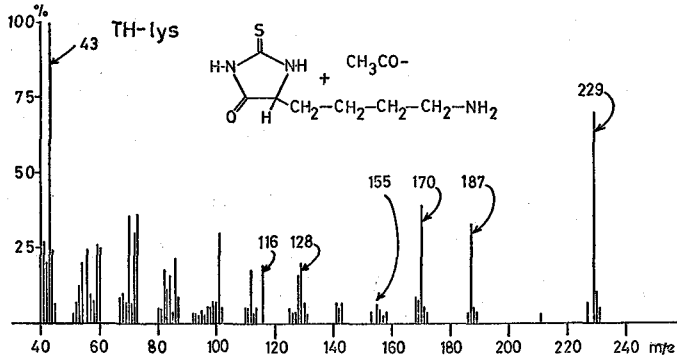
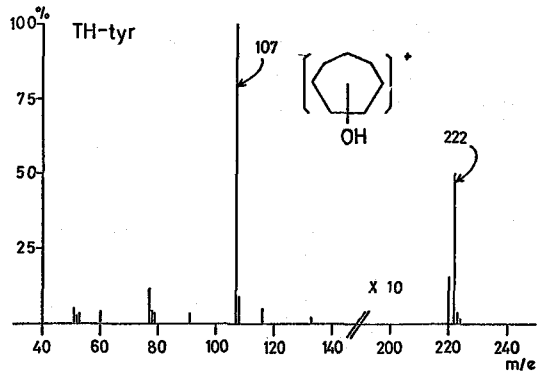
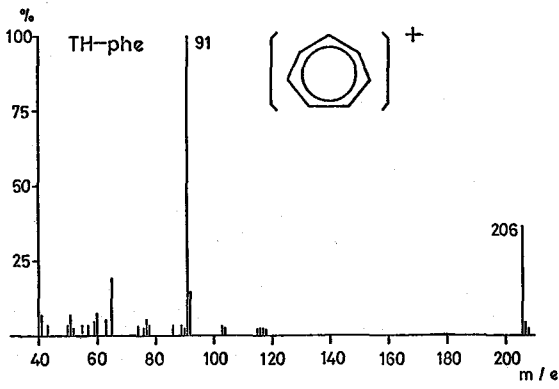
5. 結果

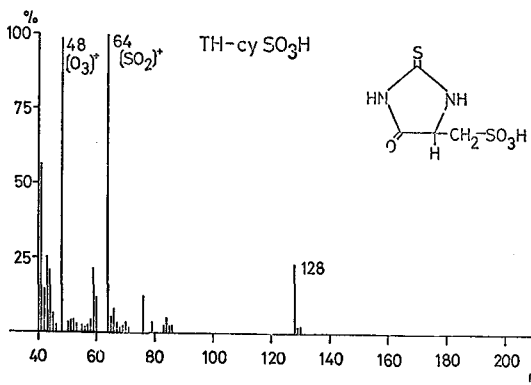
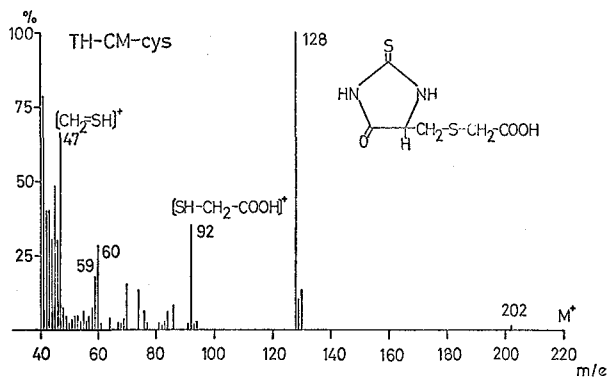
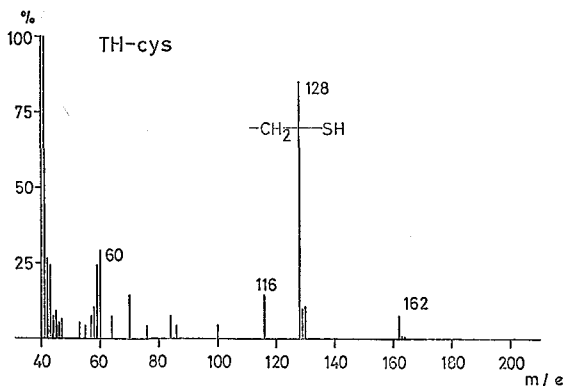
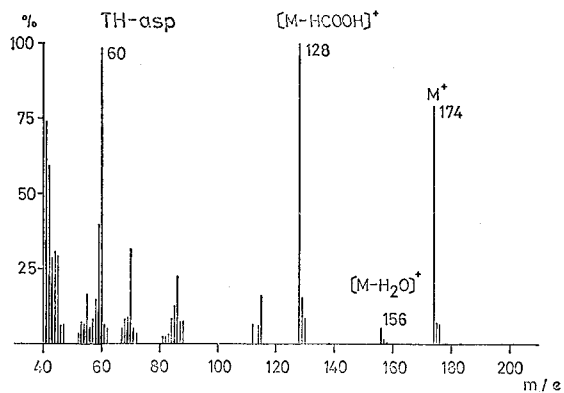
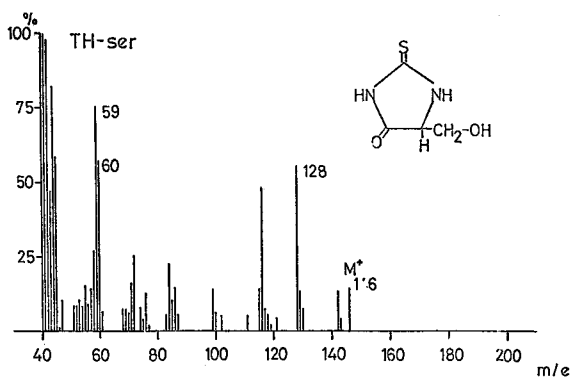
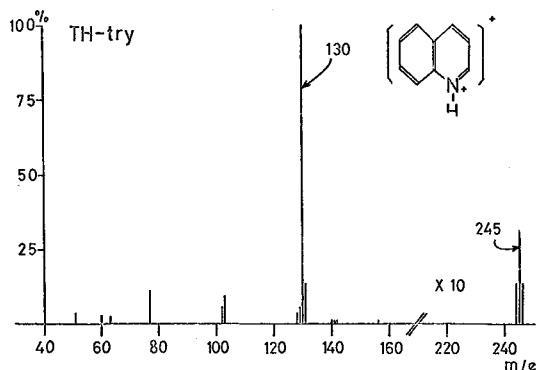
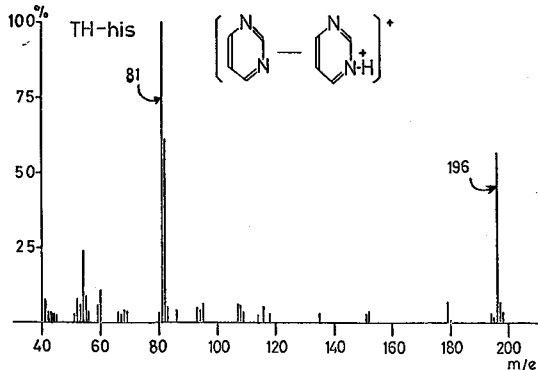
(1) 檢出限界를 決定하기 위한 total ion monitor 에 의한 測定結果는 Fig. 6과 같다.

(2) 反應中間物質로서 얻어진 glycine, L-alanine, L-valine, L-leucine, L-isoleucine, L-methionine, L-phenylalanine의 acetyl thiohydantoin 誘導體의 質量分析에 의한 解裂樣式은 Table 2와 같다.

(3) 21種의 amino acid thiohydantoin 誘導體의 質量分析 結果는 다음의 chart와 Table 3에서 보는 바와 같다.







The Mass Spectra of Thiohydantoin (glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, methionine, glutamine, threonine, phenylalanine, tyrosine, lysine, glutamic acid, asparagine, proline, arginine, histidine, tryptophan, serine, aspartic acid, cysteine, carboxymethyl cysteine, cysteic acid)

Table 3. Molecular peak and main fragment peaks of TH-amino acids

Chart No.	TH-amino acid	M ⁺ peak	M ⁺ peak%	100% m/e	m/e	%	m/e	%	m/e	%
MT-1	TH-gly	116	100	116	60	24	59	18	88	17
MT-2	TH-ala	130	100	130	60	27	42	27	102	21
MT-3	TH-val	158	64	116	43	33	41	32	60	20
MT-4	TH-leu	172	74	116	43	70	129	35	60	26
MT-5	TH-ileu	172	44	116	57	33	41	23	—	—
MT-6	TH-met	190	100	190	116	62	129	46	60	23
MT-7	TH-gln	187	43	170	59	86	128	65	60	36
MT-8	TH-thr	142	100	142	54	64	55	61	60	14
MT-9	TH-phe	206	36	91	65	19	—	—	—	—
MT-10	TH-tyr	222	6	107	77	12	—	—	—	—
MT-11	TH-lys	229	70	43	170	40	187	32	128	20
MT-12	TH-glu	188	79	128	60	83	55	75	170	59
MT-13	TH-asn	173	100	173	128	100	59	65	156	34
MT-14	TH-pro	156	39	43	70	43	69	35	68	30
MT-15	TH-arg	215	—	41	155	73	127	68	60	62
MT-16	TH-his	196	57	81	60	11	—	—	—	—
MT-17	TH-try	245	3	130	77	11	—	—	—	—
MT-18	TH-ser	146	15	41	59	76	60	58	128	56
MT-19	TH-asp	174	79	128	60	99	41	74	59	40
MT-20	TH-cys	162	8	41	128	86	60	29	59	24
MT-201	TH-cySO ₃ H	210	—	64	48	99	128	23	59	21
MT-21	TH-CM-cys	220	—	128	41	79	47	67	92	35

6. 考 察

(1) 檢出限界는 sample 量이 3γ 程度이면 충분히 檢出될 수 있음이 確認되었다. (10n mole).

(2) Acetyl thiohydantoin 誘導體는 解裂機構上 1位의 窒素原子에 結合되어져 있던 acetyl 基가 간단히 離脫하여 M-42의 peak가 thiohydantoin 誘導體의 分子이온 peak에 相當함을 알 수 있었다.

(3) Amino acid thiohydantoin 誘導體의 質量分析에 의한 結果로부터 다음과 같은 解裂에 대한 考察이 行해졌다.

① TH-glycine : m/e=116의 thiohydantoin 環 自體에 基因하는 分子이온 peak와 thiohydantoin 環이 파괴되어 m/e=59.60에 fragment peak가 나타나 있다.

② TH-alanine : m/e=130의 分子이온 peak와 m/e=102에 carbonyl 基의 離脫에 의한 fragment peak가 나타나 있다. 이 때 methyl 基는 thiohydantoin 環에서 離脫되지 않은 것이 特徵이다.

③ TH-valine : m/e=158에 分子이온 peak, m/e=116에 側鎖의 iso-propyl 基가 離脫한 fragment peak가 나타나 있다.

④ TH-leucine : m/e=172에 分子이온 peak, m/e=129에는 iso-propyl 基의 離脫에 의한 peak와 계속하여 methylene 基가 離脫하여 m/e=116에 fragment peak가 나타나 있다.

⑤ TH-isoleucine : m/e=172에 分子이온 peak와 sec-butyl 基가 離脫하여 m/e=116에 fragment peak가 나타나 있다. 이와 같은 解裂樣式의 相異로부터 leucine 과 isoleucine 의 區別이 可能하다.

⑥ TH-methionine : m/e=190에 分子이온 peak, m/e=142에는 CH₃-S- 基가 離脫한 것. 차례로 methylene 基가 離脫하여 m/e=129, m/e=116에 fragment peak가 나타나 있다.

⑦ TH-glutamine : m/e=187에 分子이온 peak, m/e=170은 NH₃가 離脫한 것, -CH₂-CO-NH₂가 離脫하여 m/e=142, methylene 基가 離脫하여 m/e=128에 주된 fragment peak가 나타나 있다.

⑧ TH-threonine : dehydro 體로 되어 있기 때문에 $m/e=142$ 에 分子이온 peak, 側鎖가 thiohydantoin 環과 함께 切斷되어 $(\text{CH}_3-\text{CH}=\text{C}=\text{NH})^+$ 로 되어 $m/e=54, 55$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

⑨ TH-phenylalanine : $m/e=206$ 에 分子이온 peak, tropylium ion에 由來하는 $m/e=91$ 의 fragment peak가 特徵的이다.

⑩ TH-tyrosine : $m/e=222$ 에 分子이온 peak와 $m/e=107$ 에 hydroxytropylium ion에 由來하는 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

⑪ TH-lysine : lysine의 경우 側鎖의 ϵ 位에 結合되어 있는 acetyl 基는 製造時 切斷되지 않기 때문에 $m/e=229$ 에 分子이온 peak가 나타나 있다. 解裂樣式은 acetyl 基가 離脫하여 $m/e=187$, ammonia의 離脫에 의한 $m/e=170$ 을 위치하여 차례로 methylene 基가 離脫된 fragment peak가 나타나 있다.

⑫ TH-glutamic acid : $m/e=188$ 의 分子이온 peak를 비롯하여 H_2O 가 離脫한 $m/e=170$, carboxyl 基가 離脫한 $m/e=142$, 초산이 離脫한 $m/e=128$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

⑬ TH-asparagine : $m/e=173$ 의 分子이온 peak와 ammonia가 離脫한 $m/e=156$, 계속하여 carboxyl 基의 離脫에 의한 $m/e=128$ 등에 fragment peak가 나타나 있다.

⑭ TH-proline : $m/e=156$ 의 分子이온 peak와 thiohydantoin 環이 測鎖와 함께 解裂하여 生成된 이온에 의하여 $m/e=68\sim 70$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

⑮ TH-arginine : 分子이온 peak는 나타나 있지 않으나 ammonia가 離脫하여 $m/e=198$ 의 peak, 環이 側鎖와 함께 解裂하여 $m/e=155, 127$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다. 특히 155의 peak는 arginine의 確認에 有效하다.

⑯ TH-histidine : $m/e=196$ 에 分子이온 peak와 pyrimidium ion에 由來하는 $m/e=81$ 의 fragment peak가 特徵的이다.

⑰ TH-tryptophan : $m/e=245$ 에 分子이온 peak, $m/e=130$ 에는 quinolinium ion에 由來하는 fragment peak가 特徵的이다.

⑱ TH-serine : $m/e=146$ 의 分子이온 peak와 H_2O 가 離脫한 $m/e=128$, 계속하여 methylene 基가 離脫한 $m/e=116$ 에 fragment peak가 나타나 있다.

⑲ TH-aspartic acid : $m/e=174$ 의 分子이온 peak

와 H_2O 가 離脫한 $m/e=156$, carboxyl 基가 離脫한 $m/e=128$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

⑳ TH-cysteine : $m/e=162$ 의 적은 分子이온 peak와 $-\text{SH}$ 基가 離脫하여 $m/e=128$ 에 fragment peak가 나타나 있다. Cysteine의 경우 peptide 등에 應用할 경우, cysteic acid 등으로 誘導되기 때문에 TH-cysteic acid를 製造하여 mass spectrum을 測定한 結果, 分子이온 peak는 나타나지 않았지만 $-\text{SO}_3\text{H}$ 基가 離脫하여 $m/e=128$, O_3^+ 와 SO_2^+ 에 由來하는 $m/e=48, 64$ 에 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

㉑ TH-S-Carboxymethyl cysteine : 分子이온 peak는 나타나 있지 않지만, H_2O 가 離脫하여 $m/e=202$ 에 $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ 가 離脫하여 $m/e=128$, $m/e=47$ 의 $(\text{CH}_2=\text{SH})^+$, $m/e=92$ 의 $(\text{HS}-\text{CH}_2-\text{COOH})^+$ 등의 特徵的인 fragment peak가 나타나 있다.

結 論

蛋白質 및 peptide C 末端으로부터의 逐次分析을 위하여 誘導되어진 一連의 化合物인 標準 amino acid thiohydantoin 誘導體들 중 15種은 常法, 4種은 變法, 2種은 保護基를 導入하여 調製하였으며, 元素分析, 融點, IR, NMR의 結果로부터 製造되었음을 確認하였다. 이들 중 threonine은 dehydro 化合物, lysine은 ϵ -acetyl 化合物로 되어 있었다.

이들에 대한 質量分析 結果 揮發性 賦與를 위한 前處理 操作 없이도 직접 導入法에 의해서 全誘導體의 mass spectrum 測定이 가능함을 알았다.

또한, 分子量과 解裂樣式的 相異에 의해서 判別確정이 가능했다.

그러므로 C 末端으로부터의 逐次分析을 위한 amino acid thiohydantoin 誘導體에 대한 質量分析의 應用은 有效한 것이라고 思料되었다.

謝 意

本實驗을 指導하여 주신 日本國 東北大學 農學部 教授 辻村 克良 博士, 同助教授 目黑照 博士, 同 助手 鈴木 建夫 博士에게 深甚한 謝意를 表한다.

文 獻

- (1) F. Sanger ; *Biochem. J.*, 39, 507 (1945)
- (2) F. Sanger ; *Biochem. J.*, 45, 563 (1949)
- (3) W. A. Schroeder ; *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 5118 (1952) W. A. Schroeder, J. Le Gette ; *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 4612 (1953)
- (4) C. B. Anfinsen, R. R. Redfield, W. L. Choate, J. Page, W. R. Carroll ; *J. Biol. Chem.*, 207, 201 (1954) R. R. Redfield, C. B. Anfinsen ; *J. Biol. Chem.*, 221, 385 (1956)
- (5) T. Ando, M. Yamasaki, E. Abukumagawa ; *J. Biochem.*, 47, 82 (1960)
- (6) H. S. Rhinesmith, W. A. Schraeder, L. Pauling ; *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 609 (1959)
- (7) P. Edman ; *Arch. Biochemistry*, 22, 475 (1949)
- (8) P. Edman ; *Acta chem. Scand.*, 4, 277 ; 4, 283 (1950)
- (9) P. Edman and G. Begg ; *European J. Biochem.*, 1, 80 (1967)
- (10) John J. Pisano, Thomas J. Bronzert ; *J. Biol. Chem.*, 244, 5597 (1969)
- (11) V. M. Stepanoo, V. F. Krivtsov ; *Zhurnal obschei Khimii* ; 35, 53 ; 556 ; 982 (1965)
- (12) H. Maeda, H. Kawauchi ; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 31, 188 (1968)
- (13) 市川宏伸, 谷村魚徳, 中島暉躬, 田村善藏 ; 第七回ペプチド 化学討論會, 東京, XI, 91 (1969)
- (14) S. Katsuki, J. E. Scott, I. Yamashida ; *Biochem. J.*, 97, 25 c (1965)
- (15) W. R. Gray, B. S. Hartley ; *Biochem. J.*, 89, 59 (1963)
- (16) S. Akabori, K. Ohno, K. Narita ; *Bull. Chem. Soc., Japan*, 25, 214 (1952)
- (17) 大野光, 關得一郎 ; 蛋白質 化学(水島, 赤堀編) 共立出版, 東京, 4, 257 (1956)
- (18) H. Matsuo, Y. Fujimoto, T. Tatsuno ; *Biochem. Biophys. Res. Vomm.*, 22, 69 (1966)
- (19) S. G. Waley, J. Watson ; *J. Chem. Soc.*, 2394 (1951)
- (20) George R. Stark ; *Biochemistry*, 7, 2, 1796 (1968)
- (21) Laurence D. Cromwell and George R. Stark ; *Biochemistry*, 8, 12, 4735 (1969)
- (22) Saburo Yamashita ; *Biochem. Biophys. Acta*, 229, 301 (1971)
- (23) Tateo Suzuki, shinichi Matsui, Katura Tuzimura ; *Agr. Biol. Chem.*, 36(6), 1061 (1972)
- (24) 尾履信夫, 内尾材, 山下武 ; *日本化学雑誌*, 79(4), 10 (1958)
- (25) D. T. Elmore and J. R. Ogle ; *J. Chem. Soc.*, 4404 (1957)