

クロム錯塩とコラーゲン蛋白の結合に関する ポーラログラフ的研究 (第7報)

ジペプチッドおよびトリペプチッドとニッケル
およびコバルト錯塩のポーラログラフ

布 浦 弘*

1 緒 言

第5報¹⁾および第6報²⁾において、アミノ酸ニッケル錯塩およびアミノ酸コバルト錯塩について、種々ポーラログラフ的検討を行なって、溶液中に存在する各錯イオンの平衡関係および組成を明らかにしたが、本報においては5種のジペプチッドおよび2種のトリペプチッドとニッケルおよびコバルトとの錯塩の解明に、直流および交流ポーラログラフ法を併用して行なった結果を報告する。

2 実験方法

実験装置はすべて前報におけると同じであるが、本報においては交流ポーラログラフ法を応用するために、底部水銀電極を基準して測定を行ない、アンモニア緩衝溶液の組成は、 $0.1\text{MNH}_3 + 0.1\text{MNH}_4\text{Cl}$ のものを使用した。

供試ペプチッドは市販最純品そのまま使した。その種類はつぎのごとくであった。

glycylglycine, alanylalanine, alanylglycine, alanylserine, alanylaspartate, glycylglycylglycine, および alanylglycylglycine。

3 実験結果および考察

図1は $0.1\text{MNH}_3 + 0.1\text{MNH}_4\text{Cl}$ 溶液中における 10^{-3}M NiCl_2 の直流および交流ポーラログラムである。

図でみられるように直流ポーラログラムにおいては1段波であり、交流ポーラログラムにおいてはピークは1つしか認められない。前報においてすでに述べたごとく、これはニッケル・アンモニア錯イオン $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ の還元波、図で測定された半波電位および頂点電位は、 -0.95V . および -1.03V . であり、溶液中に存在するただ1種の錯塩である。

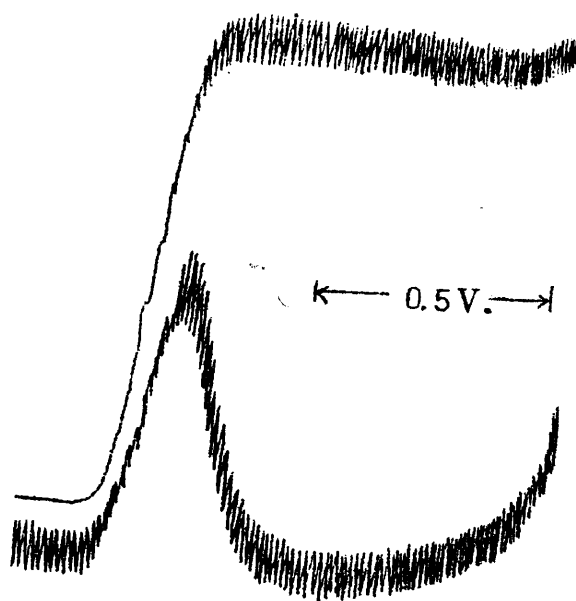


図1 Ni-ammonia 錯塩の直流および交流ポーラログラム

$0.1\text{MNH}_3 + 0.1\text{MNH}_4\text{Cl}$ 溶液中
 NiCl_2 の濃度： 10^{-3}M pH：9.0
記録は -0.7V . vs. Hg より

図2～図7は7種のペプチッドの中から例として、ニッケルの glycylglycinate, alanylaspartate および alanylglycylglycinate を対象として、そのペプチッド濃度を変えて得られた直流ポーラログラムおよび交流ポーラログラムである。図中に付した番号は各溶液中のペプチッド濃度を示している。

図2～図4に見られるように、ペプチッド・ニッケル錯塩の直流ポーラログラムでは、前報で述べたのと異なり、ペプチッドの濃度に応じての還元波に、それ程の変化が認められず、わずかに還元波の上部に第2段波を暗示するような屈曲があらわれている。ペプチッド濃度を漸次高めてゆくと、還元波の全波高は減少するが、第2段波は明瞭にはあらわていない。

* 本学助教授

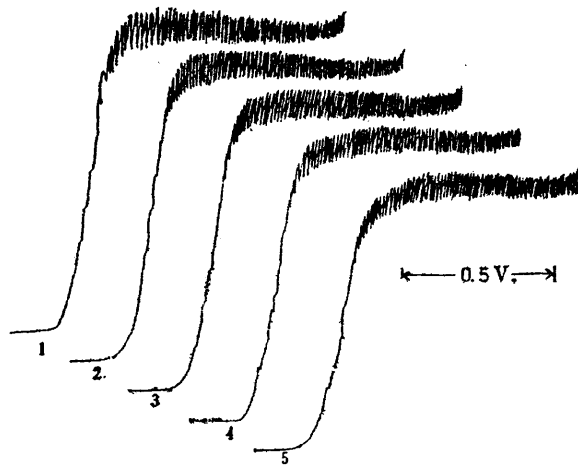


図2 Ni-glycylglycinate (錯塩) の直流ポーラログラム 0.1 MNH₃+0.1 MNH₄Cl 溶液中
 NiCl₂ の濃度: 10⁻³M pH: 9.0 アミノ酸濃度: (M) 1: 10⁻³ 3: 10⁻² 5: 5×10⁻² 2: 5×10⁻³ 4: 2×10⁻²
 各記録は-0.7 V. vs. Hg⁻より

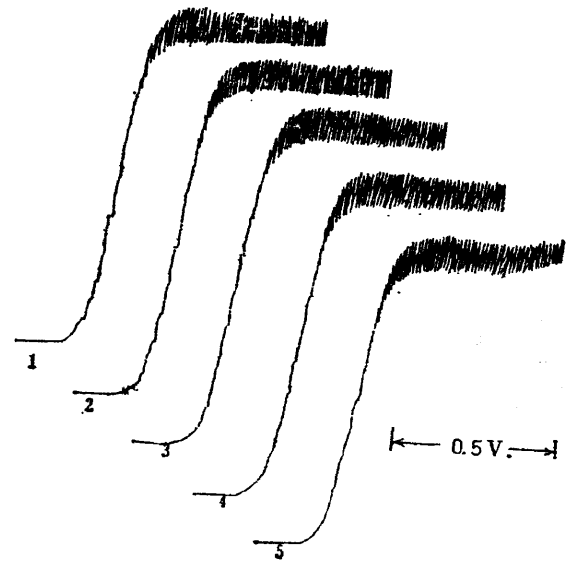


図4 Ni-alanyl-glycylglycinate (錯塩) の直流ポーラログラム溶液組成: 図2と同じ各記録は -0.7 V. vs. Hg より

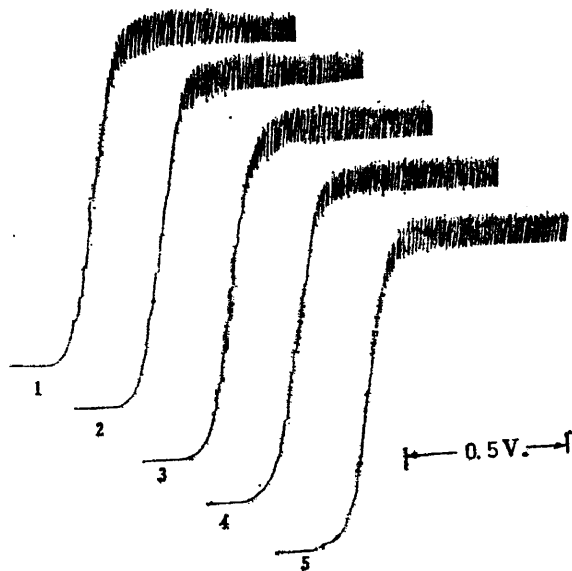


図3 Ni-alanyl-aspartate (錯塩) の直流ポーラログラム
 溶液組成: 図2と同じ各記録は -0.7 V. vs. Hg より



図5 Ni-glycylglycinate (錯塩) の交流ポーラログラム 0.1 MNH₃+0.1 MNH₄Cl 溶液中 NiCl₂ の濃度: 10⁻³ M pH: 9.0 アミノ酸濃度: (M) 1: 10⁻³ 3: 10⁻² 5: 5×10⁻² 2: 5×10⁻³ 4: 2×10⁻² 各記録は-0.7V. vs. Hg より

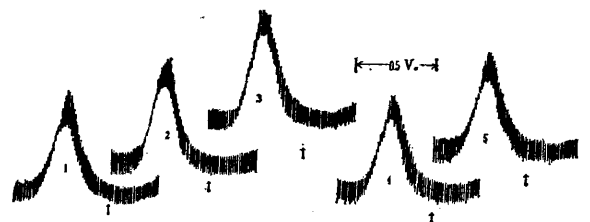


図6 Ni-alanyl-aspartate (錯塩) の交流ポーラログラム溶液組成: 図5と同じ各記録は -0.7 V. vs. Hg より

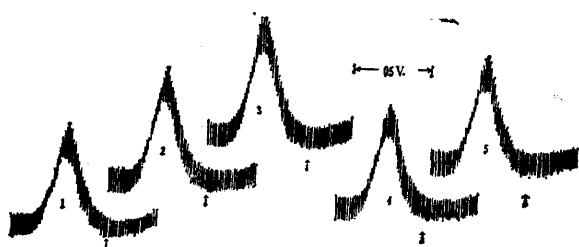


図7 Ni--alanylglycylglycinate] (錯塩) の交流ポーラログラム溶液組成：図5と同じ各記録は-0.7 V. vs. Hg より

図5～図6にみられるように、ペプチッド・ニッケル錯塩の交流ポーラログラムでは、ペプチッドの濃度に応じて、わずかではあるが第2ピークがあらわれてくる。(図中の↑印によって)。しかしながらニッケル・アンモニア錯塩の生ずる第1ピークの高さは、あまり変らなかった。

これは溶液にペプチッドを加えることにより、ニッケル・アンモニア錯イオン $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ の1部がわずかにペプチッドニッケル錯イオン $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ に変化したためと解釈される。しかも図にみられるように、ニッケル濃度の10倍濃度のペプチッドを加えても、ニッケル・アンモニア錯イオン $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ による還元波が全波高の大部分を占め、更に新たな還元波もあらわれない。

すなわちこのような溶液中においてもニッケル・アンモニア錯イオン $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ はペプチッド濃度の増加にかかわらずほとんどそのまま存在し、ペプチッドニッケル錯イオン $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ 生成はわずかであると推定される。

すなわちこのような溶液中においてもニッケル・アンモニア錯イオン $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ はペプチッド濃度の増加にかかわらずほとんどそのまま存在し、ペプチッドニッケル錯イオン $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ 生成はわずかであると推定される。

表1 glycylglycinate の各波高, 各波高の全波高に対する比(直流) および各ピークの波高(交流)

$\text{NiCl}_2, \text{CoCl}_2$ の濃度 10^{-3}M $0.1 \text{MNH}_3 + 0.1 \text{MNH}_4\text{Cl}$ 溶液中 pH 9.0

Wave	Metal	Peptide C(M)	Height (mm)					
			0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
1st	Ni-	D	105	103	99	94	89	80
		id ₁ /idt	1.000	1.000	1.000	0.979	0.947	0.909
	Co-	D	65	59	59	57	57	56
		id ₁ /idt	1.000	0.977	0.965	0.938	0.901	0.900
2nd	Ni-	D	0	0	0	2	5	8
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.021	0.053	0.091
	Co-	D	0	0	0	2	2	4
		id ₂ /idt	0.000	0.023	0.035	0.062	0.099 0.189	0.100 0.281
		A	0	1	1	2	2	3

D : 直流ポーラログラフ法

A : 交流ポーラログラフ法

表2 alanylalanylate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成 表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
			1st WAVE	Ni-	D	105	100	97
id ₁ /idt	1.000	1.000			1.000	1.000	0.977	0.958
Co-	D	108		92	89	88	82	79
	id ₁ /idt	1.000		1.000	0.957	0.946	0.911	0.897
2nd WAVE	Ni-	D	0	0	0	0	2	3
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.042
	Co-	D	0	0	4	5	8	9
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.043	0.054	0.089	0.103
		A	0	1	2	2	3	5

D : 直流ポーログラフ法 A : 交流ポーログラフ法

表3 alanylglycinate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
			1st WAVE	Ni-	D	105	98	97
id ₁ /idt	1.000	1.000			1.000	1.000	0.968	0.934
Co-	D	108		89	87	85	83	79
	id ₁ /idt	1.000		0.989	0.956	0.934	0.922	0.919
2nd WAVE	Ni-	D	0	0	0	0	3	6
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.066
	Co-	D	0	1	4	5	7	7
		id ₂ /idt	0.000	0.011	0.044	0.066	0.078	0.081
		A	0	0	0	1	1	2

D : 直流ポーログラフ法 A : 交流ポーログラフ法

表4 alanylserinate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
1st Wave	Ni-	D	105	95	93	88	86	85
		id ₁ /idt	1.000	1.000	0.989	0.946	0.915	0.895
	Co-	A	65	57	55	55	54	52
		D	108	92	90	90	85	83
		id ₁ /idt	1.000	1.000	0.978	0.967	0.934	0.912
		A	89	72	72	72	65	61
2nd Wave	Ni-	D	0	0	1	5	8	10
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.011	0.054	0.085	0.105
	Co-	A	0	0	0	1	3	5
		D	0	0	2	3	6	8
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.022	0.033	0.066	0.08
		A	0	0	0	1	4	5

D : 直流ポーラログラフ法 A : 交流ポーラログラフ法

表5 alanylaspartate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
1st Wave	Ni-	D	105	102	97	95	90	89
		id ₁ /idt	1.000	1.000	1.000	1.000	0.968	0.957
	Co-	A	65	61	60	60	59	57
		D	108	88	85	83	82	81
		id ₁ /idt	1.000	0.978	0.966	0.965	0.943	0.942
		A	89	80	80	79	70	70
2nd Wave	Ni-	D	0	0	0	0	3	4
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.043
	Co-	A	0	0	0	0	0	2
		D	0	2	3	3	5	5
		id ₂ /idt	0.000	0.022	0.034	0.035	0.057	0.058
		A	0	0	3	3	3	4

D : 直流ポーラログラフ法 A : 交流ポーラログラフ法

表6 glyclyglycylglycinate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	Peptide C (M)					
			0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
1st WAVE	Ni-	D	105	103	103	102	99	96
		id ₁ /idt	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.979
	Co-	A	65	58	58	58	54	52
		D	108	86	86	86	85	84
		id ₁ /idt	1.000	1.000	0.989	0.989	0.974	0.966
		A	89	82	82	81	70	69
2nd WAVE	Ni-	D	0	0	0	0	0	2
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021
	Co-	A	0	0	0	0	0	1
		D	0	0	1	1	2	3
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.011	0.011	0.026	0.034
		A	0	0	0	2	4	5

D : 直流ポーラログラフ法 A : 交流ポーラログラフ法

表7 alanylglycylglycinate の各波高, 各波高の全波高に対する比 (直流)
 および各ピークの波高 (交流)
 溶液組成表1におけると同じ

Wave	Metal	Peptide C (M) Height (mm)	Peptide C (M)					
			0	10^{-3}	5×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}
1st WAVE	Ni-	D	105	103	102	100	99	96
		id ₁ /idt	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.970
	Co-	A	65	59	59	59	58	58
		D	108	85	85	85	85	84
		id ₁ /idt	1.000	1.000	1.000	0.989	0.977	0.976
		A	89	82	82	82	68	66
2nd WAVE	Ni-	D	0	0	0	0	0	3
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.030
	Co-	A	0	0	0	0	0	1
		D	0	0	0	1	2	2
		id ₂ /idt	0.000	0.000	0.000	0.011	0.023	0.024
		A	0	0	1	2	2	4

D : 直流ポーラログラフ法 A : 交流ポーラログラフ法

表1～表7はペプチッドとニッケルおよびコバルト錯塩について、直流においては各波高の値および全波高に対する比、交流においては各ピークの高さを示したものである。これらの表に示されているように、直流ポーラログラフ法においても交流ポーラログラフ法においても、 $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ は溶液のペプチッド濃度の増加と共に少しずつ減少するが、 $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ と思われるものの方はペプチッド濃度の低い間は溶液中には生成されないが、ペプチッド濃度が増すにつれてわずかに増大している。しかし各錯塩の拡散恒数が知り得ないから、ただちにこれらの表から各錯イオンの濃度を知ることは不可能である。

また前報で述べた理由により、交流ピークの波高から溶液中の錯イオンの濃度を知ることはできないが、そのピークの数から溶液中には2種類の錯イオンが存在することは確認できる。そしてそれぞれのピークに対応する直流ポーラログラムの還元波の波高の相対的な関係をみれば、各錯塩の種類とペプチッドの濃度との関係は大体類似している。

したがって、一般にニッケルペプチッド錯塩においては溶液中には $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ およびわずかに $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ なる2種の錯イオンが存在しており、その各錯イオンの濃度は個々のペプチッドによって異なっているが、ジペプチッドとトリペプチッドの間には大きな差が認められず、アミノ酸とペプチッドの間には、錯イオンの種類およびその各錯イオンの濃度に著しい差があることが明らかに認められた。

すなわちアミノ酸・ニッケル錯塩においては溶液中には3種類の錯イオンすなわち $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ 、 $[\text{Ni}(\text{A})_x(\text{NH}_3)_{6-x}]^{2-x}$ および $[\text{Ni}(\text{A})_y(\text{NH}_3)_{6-y}]^{2-y}$ が存在するが、ペプチッド・ニッケル錯塩においては、溶液中の錯イオンは大部分 $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ であってわずかに $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ が存在する。

またそれら錯イオンの濃度はアミノ酸の場合では、加えられたアミノ酸濃度によって大きく変化するが、ペプチッドの場合では、加えられたペプチッドによって決定されるが、各錯イオンの濃度には大きな変化が認められない。

また直流ポーラログラムの波形がペプチッドの種類によってちがうのは、前報にも述べたと同じように、各錯イオンの濃度がペプチッドの種類によって異なることと、その半波電位が配位するペプチッドによって多少変化するためと考えられる。

図8は0.1M NH_3 +0.1M NH_4Cl 溶液中における

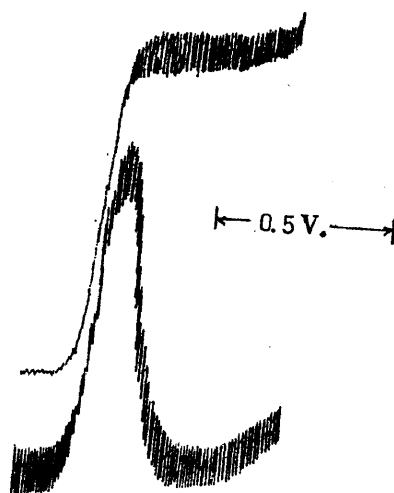


図8 Co-ammonia 錯塩の直流および交流ポーラログラム 0.1 M NH_3 +0.1 M NH_4Cl 溶液中 CoCl_2 の濃度： 10^{-3}M pH: 9.0 記録は-1.0 V. vs. Hg より

10^{-3}MCoCl_2 の直流および交流ポーラログラムである。図でみられるように直流ポーラログラムにおいては1段波であり、交流ポーラログラムにおいてはピークは1つしか認められない。したがって同じようにこれはコバルト・アンモニア錯塩 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ の還元波で、図で測定された半波電位および頂点電位は-1.15V. および-1.25V. であり、溶液中に存在するただ1種の錯塩である。

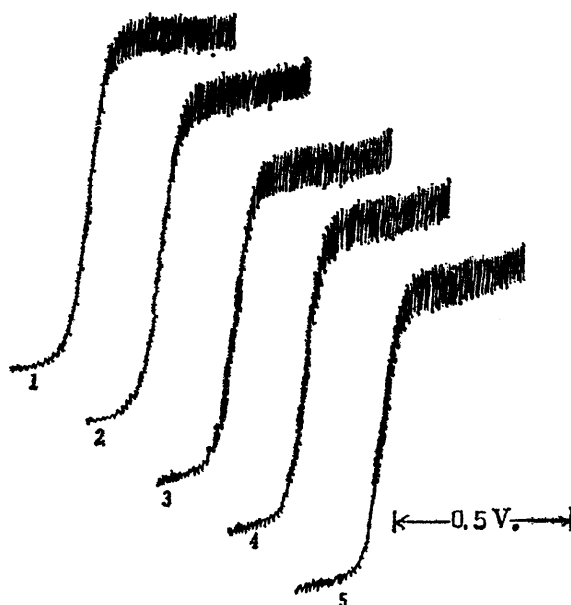


図9 Co-glycylglycinate (錯塩) の直流ポーラログラム 0.1 M NH_3 +0.1 M NH_4Cl 溶液中 CoCl_2 の濃度： 10^{-3}M pH: 9.0 ペプチッド濃度：(M)
1： 10^{-3} 3： 10^{-2} 5： 5×10^{-2}
2： 5×10^{-3} 4： 2×10^{-2}
各記録は-1.0 V. vs. Hg より

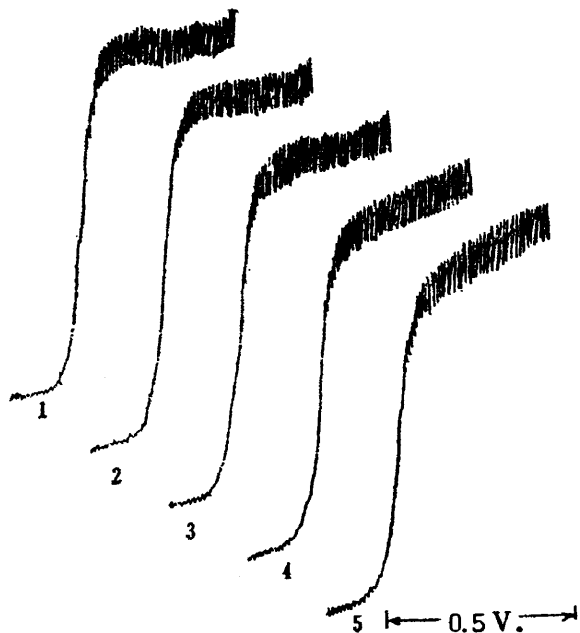


図10 Co-alanylaspartate (錯塩) の直流ポーラログラム溶液組成：図9と同じ各記録は-1.0V. vs. Hg より

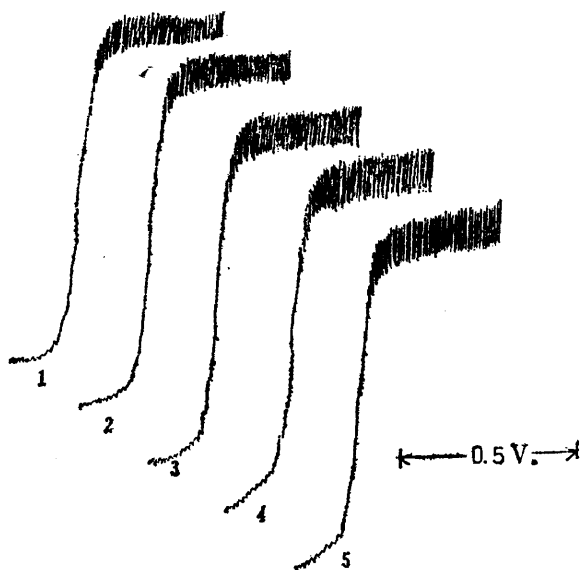


図11 Co-alanylglycylglycinate (錯塩) の直流ポーラログラム溶液組成：図9と同じ各記録は-1.0 V. vs. Hg より

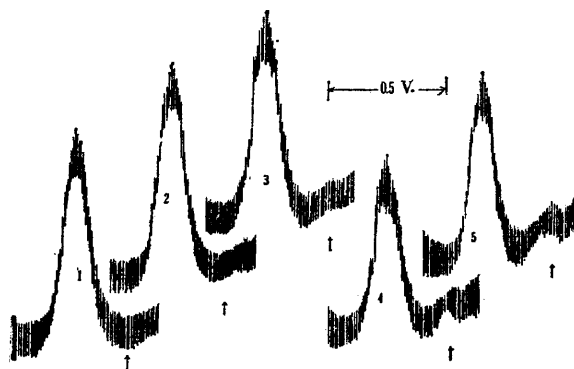


図12 Co-glycylglycinate (錯塩) の交流ポーラログラム 0.1 MNH₃+0.1 MNH₄Cl 溶液中 CoCl₂ の濃度：10⁻³M pH：9.0
ペプチッドの濃度：(M)
1：10⁻³ 3：10⁻² 5：5×10⁻²
2：5×10⁻³ 4：2×10⁻²
各記録は-1.0 V. vs. Hg より

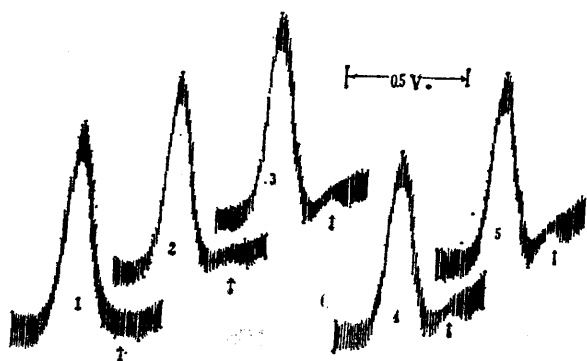


図13 Co-alanylaspartate (錯塩) の交流ポーラログラム溶液組成：図12と同じ各記録は-1.0 V. vs. Hg より

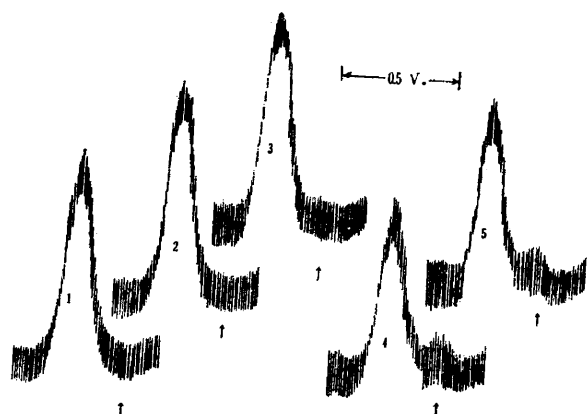


図14 Co-alanylglycylglycinate (錯塩) の交流ポーラログラム溶液組成：図12と同じ各記録は-1.0 V. vs. Hg より

図9～図14はニッケルの場合と同じように、コバルトの glycylglycinate, alanylaspartate および alanylglycylglycinate を対象として、そのペプチッド濃度を変化して得られた直流および交流ポーラログラムである。図中の番号は各溶液中のペプチッド濃度

を示している。

図9～図11に見られるように、ペプチッド・コバルト錯塩の直流ポーラログラムでは、ペプチッドの濃度に応じての還元波に、それ程の変化が認められず、わずかに還元波の上部に第2段波を暗示するような屈曲

があらわれているが、ペプチッドの濃度を高めても、還元波の全波高は減少するが、第2段波はやはり明瞭にあらわれていない。

図12～図14にみられるように、ペプチッドコバルト錯塩の交流ポーラログラムでは、ペプチッドの濃度に応じて、わずかではあるが明らかに第2ピークがあらわれてくる。(図中の↑印)。しかしながらニッケルの場合と同じように、コバルト・アンモニア錯塩の生ずる第1ピークの高さはほとんど変わらなかった。

これはすでに述べたように、ペプチッドを加えることより、コバルト・アンモニア錯塩イオン $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ の1部がわずかにペプチッド・コバルト錯イオン $[\text{Co}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ に変化したものと考えられる。しかもコバルト濃度の10倍濃度のペプチッドを加えても $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ による還元波が全波高の大部分を占め、更に新しい還元波も生じない。

表1～表7において示されているように、直流においても交流ポーラログラム法においても $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ は溶液のペプチッド濃度の増加につれて減少し逆に $[\text{Co}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ と考えられるものの方がわずかに増大している。そしてそれぞれの錯イオンの濃度は、ペプチッド濃度によって決定されている。

したがって、コバルトペプチッド錯塩については、ニッケルペプチッド錯塩について述べたと同じようなことが考えられる。

すなわちアミノ酸コバルト錯塩においては、溶液中には3種類の錯イオンすなわち $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$, $[\text{Co}(\text{A})_x(\text{NH}_3)_{6-x}]^{2-x}$ および $[\text{Co}(\text{A})_y(\text{NH}_3)_{6-y}]^{2-y}$ が存在するが、ペプチッドコバルト錯塩においては、溶液中の錯イオンは大部分が $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{++}$ であって、わずかに $[\text{Co}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ が存在するものと考えられる。

4 要 約

以上まとめて要約すれば、5種のジペプチッドおよび2種のトリペプチッドと塩化ニッケルおよび塩化コバルトとの錯塩について、直流ポーラログラム法および交流ポーラログラム法を応用して、つぎの諸点が明らかとなった。

(1) $0.1\text{MNH}_3+0.1\text{MNH}_4\text{Cl}$ 溶液中におけるペプチッドニッケルおよびコバルト錯塩は、アミノ酸ニッケルおよびコバルト錯塩の場合と異なり、実験した各ペプチッド濃度において2段波とみられる還元波および2つのピークを与えた。

そして第1段波および第1ピークは、すでに明らかにしたように、ニッケルおよびコバルト・アンモニア錯塩より生ずる還元波であることを明らかにした。

(2) つぎに第2段波および第2ピークについて、これらは溶液にペプチッドを加えることによってあらわれ、その波および頂点の高さは、加えられたペプチッドの濃度によってわずかに増減することから、ペプチッド錯基内にアンモニアと置き換って、ペプチッドニッケル錯イオン $[\text{Ni}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ およびペプチッドコバルトイオン $[\text{Co}(\text{P})_z(\text{NH}_3)_{6-z}]^{2-z}$ が溶液中に生成したものと考えられる。そしてそれらの各錯イオン濃度はペプチッド濃度により決定されるが、その影響はニッケルおよびコバルト錯塩いずれの場合も、アミノ酸錯塩におけるよりはるかに少ないものであることを明らかにした。

付記 本研究の概要は1962年5月19日、日本農芸化学会関西支部例会において発表し、また京都大学審査学位論文である。

文 献

- 1) 布浦, 日皮技協誌., 9, (1964).
- 2) 布浦, *ibid.*, 9, (1964)