

平成3年度化学教室研究報告

並木 博・栗原 良枝・永瀬 茂・前田 安昭
西川 恵子・村山 治太・中村 栄子・大谷 裕之

Annual Report of the Department of Chemistry-1991

Hiroshi NAMIKI, Yoshie KURIHARA, Shigeru NAGASE, Yasuaki MAEDA,
Keiko NISHIKAWA, Haruta MURAYAMA, Eiko NAKAMURA, and Hiroyuki OTANI

平成3年度の化学教室の研究成果を報告する。本報告は以下のように分類してある。
なお、各項の文末のカッコ内は学部学生である。

1. 無機・分析化学および地球化学
2. 物理化学
3. 有機化学および生物化学

1. 無機・分析化学および地球化学

- (1) 強酸性陽イオン交換樹脂懸濁液を用いたポストカラム反応による微量陰イオンのクロマトグラフィー

サプレッサを備えたイオンクロマトグラフでは、炭酸塩系溶離液を用い、イオン交換膜型サプレッサにより溶出液のもつ電気伝導率(バックグラウンド)を低下させるとともに、対イオンの電気伝導率を高めることによって、陰イオンの高感度な測定を行っている。それに対し、D.T.Gjerdeらは、ノンサプレッサ方式の装置で、イオン交換樹脂懸濁液を用いて感度を高める陰イオンクロマトグラフィーを報告したが、その詳細は明らかでない。本研究では強酸性陽イオン交換樹脂を用い、懸濁液の調製法、粒子径、懸濁液濃度、注入条件およびその効果を詳細に検討し、陰イオンの高感度な定量法を確立した。

炭酸塩系の溶離液による分離カラムからの溶出液は、電気伝導率約 $520\mu\text{S}/\text{cm}$ であるが、本研究で調製した樹脂懸濁液を注入すると約 $15\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下に低下する。この効果はサプレッサによるものより優れている。この方法により低濃度の陰イオン7種(F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-})を含む試料について測定を行ったところ、良好なピークが得られ、その感度は、サプレッサを用いた場合に匹敵した。それぞれのイオンを含む混合標準溶液の10回の繰り返し測定での変動係数は、各イオン $1\mu\text{g}/\text{ml}$ の場合、1.3~8.7%、塩化物イオン $0.05\mu\text{g}/\text{ml}$ の場合3.4%であった。(面川 浩史)

(2) 水中の全シアン定量におけるシアン化水素の異常生成

排水や環境水中の全シアン化合物は、工場排水試験方法（JIS K 0102）ではりん酸酸性、EDTA の存在下で加熱蒸留し、シアン化水素として留出分離した後、4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン吸光光度法によって定量している。しかし、試料中に亜硝酸イオンが存在すると、加熱蒸留時にこれが添加した EDTA と反応してシアン化水素を生成することが知られている。この場合 JIS では、スルファミン酸を添加し亜硝酸イオンをあらかじめ分解することによってシアン化水素の生成を防いでいる。ところが、スルファミン酸を添加してもシアン化水素が生成する試料があることが報告されている。この原因として、試料中に含まれる物質が加熱蒸留時に反応して徐々に亜硝酸イオンが生成し、これがスルファミン酸によって完全に分解されずに、一部が EDTA と反応するためと考えられる。本研究では、この推定の可否を確かめ、反応の詳細を考察するため、種々の条件下でのシアン化水素の生成を検討した。その結果、加熱蒸留時に徐々に亜硝酸イオンが生成した場合も、これはスルファミン酸により完全に分解されることがわかった。また、鉄粉と濃硝酸とから生じる窒素酸化物を用いてシアン化水素の生成を検討した結果、硝酸イオン、亜硝酸イオン以外の水に溶けやすい窒素酸化物が EDTA と反応してシアン化水素を生成することが推定された。（小宮 聡）

(3) 降水中の化学成分の変動

現在、地球規模での様々な環境汚染が大きな社会問題となっている。このうち酸性雨問題は1950年代以降の工業化の進展に伴う、化石燃料消費量の増大によって引き起こされたものである。ヨーロッパや北米では酸性雨の被害が多発しているが、我が国ではまだあまり深刻になっていない。しかし近い将来、ヨーロッパや北米なみの被害が我が国においても顕在化するものと思われる。横浜の現状を把握するために、夏～冬期における10回の降雨の降り始めから降り終わりまでを適当な時間間隔で採取した。試料総数139個について、pH・電気伝導率と各種化学成分（ Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} ）濃度を測定し、雨水の低 pH 値化に寄与する化学成分の役割や、各化学成分の相関関係を考察した。

低 pH の雨水（pH 4.5 未満）は電気伝導率が低くなれば pH 値が高くなり、高 pH 値（pH 5.5 以上）ではその逆になる傾向のあることがわかった。化学成分の濃度変化は降雨初期に最大で時間経過とともに減少するが、降雨終期に増大したり、特殊な例として台風18号の通過に伴って降雨中期に大きく変化する場合もあった。また、pH 値が小さい程 N/S 比（窒素酸化物の含有量を硫黄酸化物の含有量で除した値）が大きくなっていることから、低 pH 値になるにしたがって硝酸イオンの寄与が大きくなり、本州の他の都市域でみられる結果と同じになった。陽イオンのモル濃度の和と陰イオンのモル濃度の和はほぼ等しかった。（本峰 利彦）

(4) 身近な二次鉱物について

建造物を侵食した水から再結晶し、ツララのような形になって生成している二次鉱物に興味をもち本研究を行った。建造物からの二次鉱物の生成は建造物の強度を低下させるために防災の見地から危険が指摘されるばかりでなく、建造物の美観を損なうため経済的な価値を減少させ、建築上の大きな問題となっている。身近にある二次鉱物を採集し、粉末X線回折および化学分析の結果から分類を行い、街中の二次鉱物について考察した。

採集した二次鉱物18種を主成分により4種類に分類した。①炭酸カルシウム（カルサイト）を主成分とするもの、②硫酸ナトリウム・十水和物を主成分とするもの、③炭酸ナトリウム・一水和物を主成分とするもの、④酸化水酸化鉄（Ⅲ）を主成分とするもの。

また産出状態により3種類に分類した。1) ツララのような形で生成するもの：①がこれに該当し、一般に壁に固くへばり付いた形に生成するが、長時間水滴が滴り落ちるような特別な条件のところでは鍾乳石状のツララとなる。2) 粉をふいたような形に生成するもの：②③がこれに該当し、②は始めは綿状に生成するが、時間が経つと結晶水を失って粉状になった。③は最初からがさがさした形で生成し、成長の段階であまり変化しなかった。3) 水中で沈澱するもの：④がこれに該当し、地下水に含まれていた2価の鉄イオンが、空気中の酸素で酸化され、3価になり酸化水酸化鉄（Ⅲ）として沈澱していた。（青野 和彦）

(5) 都市型河川の物質移動

降雨による増水時の河川には、平常時に比べて多数の起源から様々な移行経路を経た物質が流入する。特に流域の都市化が進んだ中小河川では、道路の舗装化や宅地化のために雨水が地中に浸透し難く、降雨直後の短時間に急激な流量の変化が起こる。流量の変化に伴って水質も変わり、物質移動の様子が平常時とは大きく異なる。都市型河川として帷子川を選び、相鉄線和田町駅付近の和田橋を定点に決めて採水し、降雨増水時の河川水の水質を平常時と比較した。また、大河川として信濃川・阿賀野川を選び、物質運搬の様子を帷子川と比較した。参考のために、新潟市を流れている都市型河川である新井郷川（帷子川とよく似た流域条件）とも比較した。

- 1) 帷子川の1991年6月と12月の水質は前年度-1990年の澤の結果とほぼ同じであった。
- 2) 1991年12月23日23時20分～24日00時20分に3.0ミリの降雨があった。降雨1時間半後に和田橋の流量は最大（平常時の2.8倍）となり、同時にCOD・懸濁物質（SSと略記）共最大濃度（COD値27倍・SS値41倍）となった。しかしpH・電気伝導度および Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} の濃度は平常時とほぼ同じであった。
- 3) 信濃川は流域に大きな都市を多数持つが、長さは日本一で流域も広く、流水量も多い。多少の降雨では流量も溶存物質の濃度もあまり変動しなかった。

（袖山 敏明）

(6) 二次鉱物の生成機構について

コンクリート構造体のひび割れを伝わって浸みこんだ水に、セメント中の水溶性成分が溶解し、水の移動と共に表面に運ばれ、水が蒸発した跡に取り残されて、結晶（二次鉱物）を析出することがある。その外観は綿状を呈したり、粉状だったり、希にはツララ状（鍾乳石状）の場合もある。1991年6月4日に本学構内の学生会館入口天井で、鍾乳石状に生成しつつある現場を発見した。二次鉱物の生成機構に興味を持ち、鍾乳石の先端から滴り落ちている水を採取した。生成母体のコンクリートなどの化学分析も行った。

- 1) 鍾乳石を生成しつつある水は、雨が降り始めて30分～2時間後に滴下し始め、雨が止んで12時間後には殆ど滴下しなくなった。
- 2) 試料水の pH は 9.6～12 といずれも塩基性を示した。
- 3) 水溶液中の Na^+ , K^+ , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 濃度は滴下し始めてから30分後に最大値をとるが、時間の経過と共に減少し、滴下しなくなる少し前に再び極大値をとった。しかし、 Ca^{2+} だけは例外で、温度に対応した溶解度とほぼ同じ値を示した。
- 4) 陰イオンの量は何れも雨水中の存在量より多かった。しかも、雨水には殆ど存在しない亜硝酸イオンが硝酸イオンより多く存在していた。亜硝酸イオンの起源をコンクリートに求めることは無理があり、還元機構の存在を示唆している。

（鷗崎 典子）

2. 物理化学

(1) リンと窒素のクラスターの構造と安定性

テトラヘドラン、プリズマン、キューバンなどのプリズマン型クラスターは美しく特異な幾何学的構造を持つ。このため新奇的な物性を期待する面からも興味ある対象となる。しかしこれらを15族元素に置き換えたものについてはまだあまり研究されていない。またリンクラスタについても同様のことが言える。そこで、本研究では15族元素飽和化合物であるプリズマン型クラスターとリンクラスタについて、ab initio 分子軌道法を用いてその構造を明かにするとともに、14族元素との比較を行った。

プリズマン型クラスターについて15族元素では14族元素と同様に高周期になるほど低歪となる傾向が見られた。またテトラヘドランと(3)−プリズマンが14族元素とは異なり低歪になるということがわかった。

リンクラスタについては奇数個より偶数個の分子の方が安定であり、中でもテトラヘドランが一番安定な構造となる。またリンと窒素の構造の比較よりリンは結合手を多く出すことが可能であることがわかった。また、1原子または2原子を増やしてリンクラスタ (P_2 – P_8) の安定な構造を決定する方法の上で、原子数が大きくなると新たに原子は辺ではなく面に加わる方が安定な構造となり、1原子より2原子を加えた方が安定な構造を導くということがわかった。(西村 洋紀)

(2) ケイ素フラーレンの理論的研究

ケイ素は炭素と同じ14族に属するので、炭素と同様のあるいは高周期元素ならではの特性を示すことが期待される。近年、炭素化学において注目されているフラーレン(C_{60} や C_{70})の骨格炭素をケイ素に置き換えるとどのような特性が現れるかは非常に興味深く思われこれらの特性を明らかにするために *ab initio* および AM1 分子軌道計算を行った。

球状構造 (I_h 対称) の Si_{60} は C_{60} と同様、2種類の結合 (2.189 Å, 2.266 Å) で6員環を構成している。結合交替は 0.077 Å で C_{60} とほぼ同じ値を示し、小さな Si_{24} クラスタ (O_h 対称; 0.137 Å) の約 1/2 になっている。これに対応して Si_{60} の1原子当りの結合エネルギーは Si_{24} より 10 kcal/mol 安定である。この値は C_{60} の約 1/2 で、 Si_6H_6 と C_6H_6 の芳香族エネルギーと同様の傾向を示す。しかし、異性体の stacked naphthalene (D_{2h}) や stacked benzene (C_{2v}) に比べ I_h 対称の球状構造は非常に安定で Si_{60} は炭素と同様の球状構造をとると考えられる。

Si_{60} の内部にイオンや原子を入れた endohedral complex の安定化は炭素と逆の傾向を示す。また、外部に水素を飽和させた $Si_{60}H_{60}$ は結合角の歪みと水素原子の立体反発の面から炭素より安定である。

ケイ素の結合角の歪みと電子の非局在化は炭素に比べて小さいため、主なケイ素フラーレンの結合エネルギーは炭素ほど原子の数に依存しないことがわかった。(小林 郁)

(3) 高周期15族元素を骨格にもつベンゼン類似体の理論的研究

ベンゼン (C_6H_6) および窒素を骨格にもつベンゼン類似体は正六角型の平面構造をとり、原子価異性体と比較すると非常に安定である。しかし、高周期14族元素 (Si, Ge, Sn, Pb) を骨格にもつベンゼン類似体は、イス型に折れ曲がった非平面構造となり、原子価異性体より幾分不安定となることが報告されている。本研究では、高周期15族元素 (P, As, Sb, Bi) を骨格にもつベンゼン類似体は平面構造で安定に存在するか、また原子価異性体 (プリズマン, ベンズバレン, デュアーベンゼン) との特徴を明らかにすることを目的とし、*ab initio* 分子軌道法を用いて理論的に研究した。

本研究により高周期15族元素を骨格にもつベンゼン類似体は、高周期14族元素と異なり平面構造をとることが判った。また、ベンゼン類似体と原子価異性体との相対安定性は、炭素骨格では非常に高歪みで不安定なプリズマン, ベンズバレンが比較的安定となり、ベンゼンが最も不安定となる。この傾向は高周期にゆくにつれ更に顕緒になる。これは、高周期元素が不飽和結合よりも飽和結合を形成しようとする強い傾向と比較的低歪みの化合物を形成できる性質があるためと考えられる。一方、ベンゼン類似体は熱力学的に原子価異性体の中で最も不安定であるが、異性化にはウッドワード・ホフマン則の対称禁制のためかなりのエネルギーが必要であり、速度論的に安定に存在すると考えられる。(三浦 秀樹)

3. 有機化学および生物化学

(1) アキアカネ複眼中における視物質の精製

アキアカネ複眼中において、背側にある大個眼には 11-シス-レチナールが、腹側にある小個眼には 11-シス-レチナールと、11-シス-3-ヒドロキシレチナールを含む視物質がある。本研究では、主として最も安定な小個眼の 11-シス-3-ヒドロキシレチナールを含む視物質を指標として、その精製方法の確立を試みた。視物質が含まれるマイクロビライの精製が困難であるため、界面活性剤 SM1200 の 4% 水溶液を使用し視物質を抽出し、それをクロマトグラフィーにかける方法を行った。充填剤として DEAE-Sephacel を用い陰イオン交換クロマトグラフィーにかけると、30 mM sodium phosphate buffer 0.2% SM1200 (pH6.5) 溶離液で溶出された。さらに充填剤 Con A-Sepharose を用いてアフィニティークロマトグラフィーにかけると、1.5 mM Mannoside + 0.1 M NaCl histidine-Mn-Ca buffer + 0.2% SM1200 (pH6.5) 溶離液で溶出されることがわかった。

以上の操作で、小個眼における 11-シス-3-ヒドロキシ-レチナールを含む視物質の精製方法のめどがたったと思われる。11-シス-レチナールを含む視物質は、非常に不安定であることがわかった。大個眼のこの物質は、陰イオン交換クロマトグラフィーにより存在が確認され、小個眼のものとは安定性に相違があることがわかった。

(鈴木 彫子・配島 尚範)

(2) クルクリンのジスルフィド結合の位置決定

西マレーシア原産の植物 *Curculigo latifolia* (きんばいざさ科) の果肉に含まれているタンパク質クルクリンは、酸っぱいものや水を甘くする作用を持っている。精製クルクリンの分子量は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により、還元剤が存在するときは 14,000、還元剤が存在しないときは 26,000 の値を示した。このことは、クルクリンは 2 量体を形成していることを示唆している。これまでの研究で単量体クルクリンは 114 個のアミノ酸残基から構成され、その中に 4 個のシステイン残基 (29, 52, 77 および 109 番目) が存在し、そのうち、29 番と 52 番のシステイン残基はペプチド鎖内でジスルフィド結合を形成し、77 番目はペプチド鎖間でジスルフィド結合を形成していることが明らかにされている。本研究では、109 番のシステイン残基がジスルフィド結合を形成しているかどうかを確認することを目的とした。クルクリンをペプシンを用いて消化し、109 番のシステイン残基を含むペプチドを分画・精製した。このペプチドをアミノ酸組成分析およびアミノ酸配列分析した結果、109 番のシステイン残基が単量体間でジスルフィド結合を形成していることを確認した。以上の結果から、クルクリンのジスルフィド結合は 2 組はペプチド鎖間で、1 組はペプチド鎖内で形成していることが明らかにされた。クルクリンは比較的安定なタンパク質であり、室温に放置してもその活性を失わない。ジスルフィド結合がクルクリンの熱安定性に寄与しているものと思われる。(沖 砂緒里)

(3) 耐熱性甘味タンパク質マビンリンの精製およびその一次構造について

マビンリンは、中国雲南省地方に自生するつる性の低木 *Capparis masaikai* の種子に含まれている甘味タンパク質であり、100℃ に加熱してもその甘味が失われない。中国で採取した種子をヘキサンで脱脂したのち、0.5M 食塩水で抽出し、抽出液をイオン交換クロマトグラフィー、続いてゲルろ過を行って精製した結果、甘味活性をもつ画分として、マビンリンI、マビンリンII-1、マビンリンII-2、マビンリンIII、マビンリンIVの5種類の同族体が単離された。本研究ではマビンリンII-2の一次構造の決定を行った。精製マビンリンII-2をジチオスレイトールで還元した後、S-カルボキサミドメチル化し、得られたS-カルボキサミドメチルマビンリンII-2を逆相HPLCで分析したところ、3本のピークが得られた。溶出順にA鎖、A'鎖、B鎖とした。A鎖、A'鎖のアミノ酸組成分析および配列分析を行った結果、A鎖、A'鎖はいずれも33個のアミノ酸残基から構成されており、N末端がピログルタミル基であること、および両者のアミノ酸配列はN末端から10番目のアミノ酸残基がPhe(A鎖)かTyr(A'鎖)かの違いだけであとは全く同じペプチドであることが明らかにされた。

以上、マビンリンII-2は、3種類のポリペプチド鎖からなるタンパク質であり、これらのうちA鎖とA'鎖の一次構造が決定された。今後、B鎖の一次構造が決定されることにより、マビンリンIとの構造を比較することによって、甘味および熱安定性との関係を知るてがかりとなることが期待される。(藤岡 真紀)

(4) 耐熱性甘味タンパク質マビンリンIのジスルフィド結合位置の決定

耐熱性甘味タンパク質マビンリンはI~IVの同族体が存在する。マビンリンIは、33個のアミノ酸残基からなるA鎖と72個のアミノ酸残基からなるB鎖から構成されており、A鎖とB鎖にはそれぞれ2個、6個のシステイン残基が存在することが明かにされている。本研究ではマビンリンIのジスルフィド結合位置の決定を行った。マビンリンIをサーモリシンにより消化したのち、生成したペプチドを逆相高速液体クロマトグラフィーにより分離した。これらのうち、シスチンを含むペプチドを精製し、アミノ酸配列分析を行った。その結果、A鎖内の5番と18番、B鎖内の10番と11番、21番と23番および59番と67番のシステイン残基がジスルフィド結合を形成していることが明らかとなった。このように、A鎖とB鎖間にはジスルフィド結合が存在しないが、両鎖は100℃で30分間の加熱しても、または8M尿素、6Mグアニジン塩酸塩、ドデシル硫酸ナトリウムのような変性剤存在下でも解離しない。一方、ジチオスレイトール、 β -メルカプトエタノールのような還元剤存在下で初めて解離する。このことは、マビンリンI分子中の4個のジスルフィド結合が、マビンリンIの構造を強固に固定していることを示唆しており、これがマビンリンIの耐熱性に寄与しているものと思われる。(韭澤 悟)

(5) 3(4'-ヒドロキシフェニル)-8,8-ジシアノヘプタフルベンを発色団とする色素化クラウンエーテルの合成

取り込むイオンの種類によって生成する錯体の色調が変化する色素化クラウンエーテル類の開発研究の一環として、3(4'-ヒドロキシフェニル)-8,8-ジシアノヘプタフルベンを発色団とする色素化クラウンエーテル類の合成法の確立をめざして研究を行った。

本研究では、8,8-ジシアノヘプタフルベンの3位に4-ヒドロキシベンゾ [18] クラウン-5 が置換した色素化クラウンエーテルの合成について検討した。その結果、目的とする色素化クラウンエーテルの前駆体である3(4'-メトキシベンゾ [18] クラウン-5)-8,8-ジシアノヘプタフルベンを効率良く合成するルートを確立することができた。

まず最初に、4-ブロモ-2,6-ジメチルフェノールから3段階で4-ブロモ-1-メトキシベンゾ [18] クラウン-5 に誘導した。次いで、このベンゾ [18] クラウン-5 の4位ブロムを *tert*-ブチルリチウムでリチオ化し、ついで塩化亜鉛(II)と金属交換してアリアル亜鉛試薬を one-pot で調製した。このようにして調製したアリアル亜鉛試薬と3-ブロモ-8,8-ジシアノヘプタフルベンとを Pd(0) 触媒存在下で交差カップリング反応させ、色素化クラウンエーテルの前駆体を赤橙色針状晶 (mp 154~156°C) として収率良く得ることができた。

なお、前駆体のフェノール性水酸基のメチル保護基は既知の方法により容易に脱離することができるものと考えている。(大木 淳一)