

# 琉球大学学術リポジトリ

## フェリシアン化カリウムによる L-システインの酸化反応速度

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学理工学部 公開日: 2012-02-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 金城, 嘉昭, Kinjo, Yoshiaki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/23452">http://hdl.handle.net/20.500.12000/23452</a>

# フェリシアン化カリウムによる L-システインの酸化反応速度

金城嘉昭

## Oxidation Kinetics of L-cysteine by Potassium Ferricyanide in Aqueous Solution

Yoshiaki. KINJO\*

### Summary

The oxidation kinetics of cysteine by potassium ferricyanide(F) in aqueous solution has been studied in the pH range of 1.90-2.26 at 32.0° C. The two compounds react in equimolar ratio and in excess of cysteine; the rate law- $d[F]/dt=k[F]^2$  was found to be applied. The order in cysteine is two. The observed rate constant ( $k$ ) was found to increase with increasing pH, to decrease with increasing initial ferricyanide ion concentration and with added small concentration of ferrocyanide, and to be unaffected by added cystine and the salts. These results are discussed in terms of a mechanism in which an initial reversible electron transfer is followed by another irreversible reactions.

### 結 言

システインのフェリシアン化カリウムによる酸化反応は、中性付近で迅速かつ定量的に反応し、システインの定量に用いられているが、<sup>1,2)</sup>反応速度論的知見は少ない。本実験は反応の機構を明らかにするため、酸化反応速度を種々検討したものである。

### 実 験

試薬は市販特級品をそのまま用いた。システインおよびフェリシアン化カリウムの水溶液は、蒸留水をイオン交換樹脂で脱塩し、煮沸後窒素ガスで洗った水を用いて、実験のつど新しく調整した。反応は塩酸一塩化カリウムpH緩衝液中、窒素気流下で進行させた。pHの測定は堀場製のF-5型pHメーターによった。

光の作用をふせぐために外側に黒のペイントを塗った三角フラスコにシステイン溶液を入れ、32.0°Cの恒温槽中に保ち、それにフェリシアン化カリウム溶液を加え、反応させる。このときを0時間とし、その後一定時間ごとに10mlの反応液をとり出し、これを濃塩1ml中に入れ、反応を停止させ、420 m $\mu$ におけるフェリシアン化カリウムの吸光度を測定し、反応速度を追跡した。

受付：1970年12月15日

\* 理工学部化学科

## 結果と考察

1. 検量線：厚さ10mmの石英セルを用いた。フェリシアン化カリウムは420m $\mu$ で吸収曲大を示すが、同じ波長でフェロシアン化カリウムの吸収は殆んど無視できる。この波長でフェリシアン化カリウムの濃度を横軸に、吸光度を縦軸にとると Fig 1のような直線関係が得られた、Lambert および Beer の法則に適合するからこれを検量線として用い、未反応のフェリシアン化カリウムの量が追跡できる。吸光度は pH (0~5.8) によって変化せず、また温度 (10~32.0°C)，およびイオン強度 (0.046~0.46) の影響を受けない。なおこの波長でシステイン、その酸化生成物であるシスチンの吸収は全く観察されなかった。

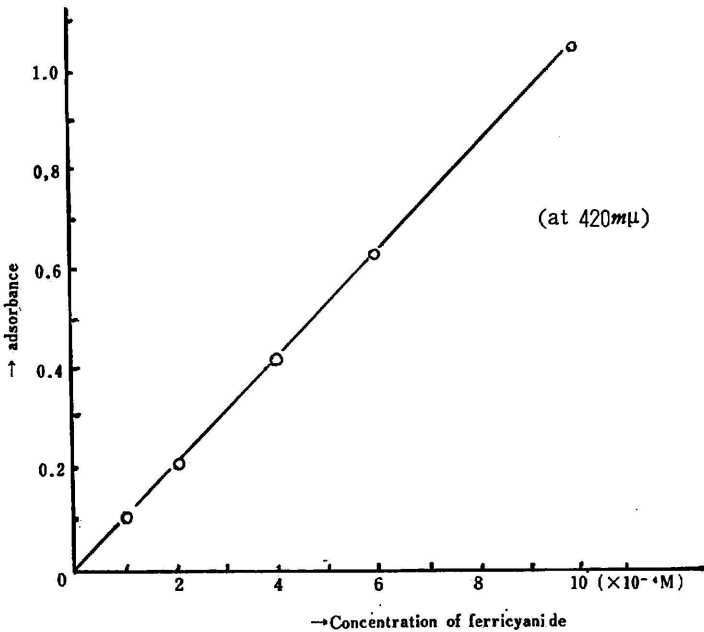


Fig. 1 Caribration curve for ferricyanide

2. 化学量論：システインとフェリシアン化カリウムは中性付近で等モル比で反応し、シスチンを生成する<sup>1,2)</sup>。酸性側、pH 2.01でシステインに対しフェリシアン化カリウムを過剰に加え、室温で約15時間放置し、反応を完結させた後、残りのフェリシアン化カリウムの測定から、相互の反応量の関係を求めた (Fig 2)。直線が45°の勾配を示すことから、pH 2付近でも両者が等モル比で反応し、シスチンを生成するものと思われる。

3. フェリシアン化カリウム(F)の濃度の逆数と反応時間：10~20倍過剰のシステインとフェリシアン化カリウムと反応させた。そのときの反応時間を横軸に、フェリシアン化カリウムの濃度の逆数を縦軸にとると Fig 3のような直線関係が得られた。この図はこの反応速度がフェリシアン化カリウムに関して二次であることを示している。また、各直線の勾配から求まる擬二次反応の速度定数  $k$  の対数と、それに対応するシステイン濃度の対数との関係を Fig 4 に示した。直線の勾配は1.94である。システインのさまざまな濃度に対し、フェリシアン化カリウムの濃度は一定に保ってあるので Fig 4 の直線の勾配はシステインの反応次数を与える。従って速度式は、
$$-\frac{d[F]}{dt} = k'[F]^2 [CYSH]^2$$
 となる。[CYSH] > [F] では 
$$-\frac{d[F]}{dt} = k[F]^2$$
 となる。

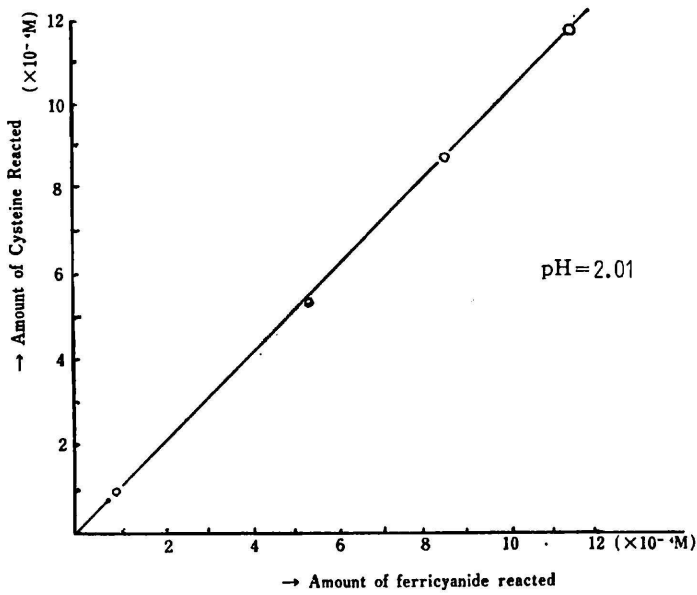


Fig. 2 Stoichiometry for ferricyanide and cysteine

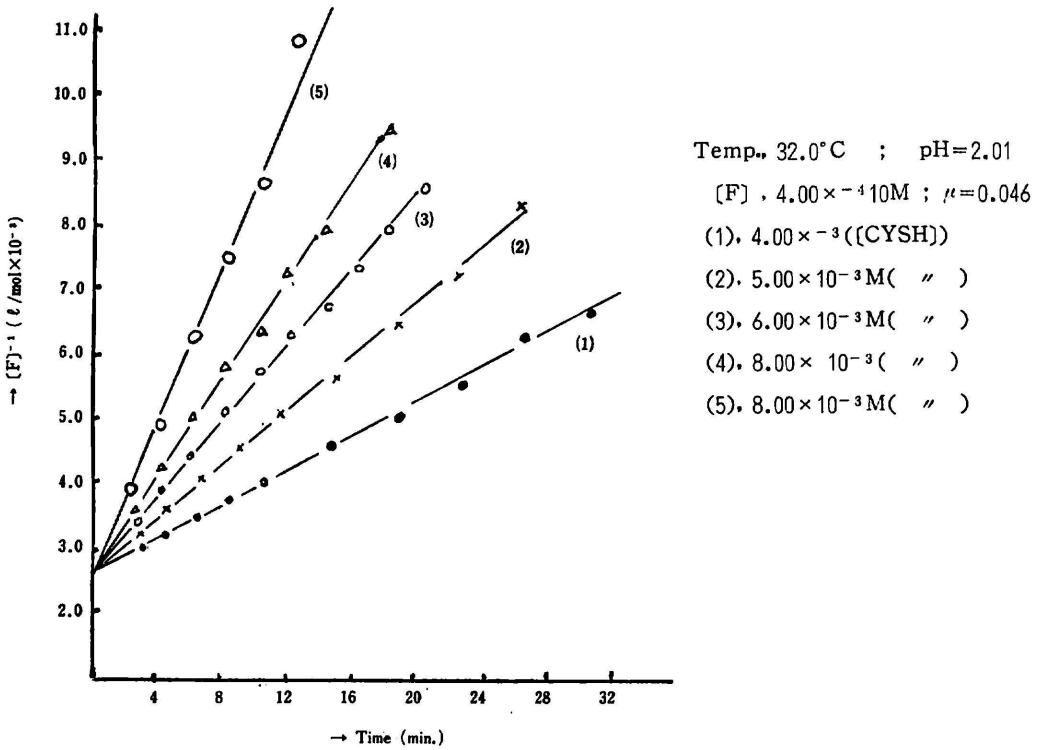


Fig. 3 Plots of ferricyanide vs. time

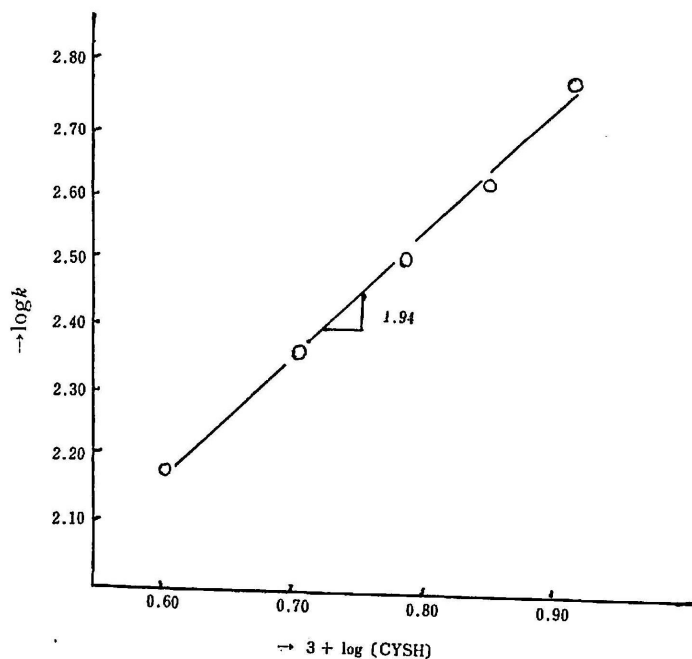
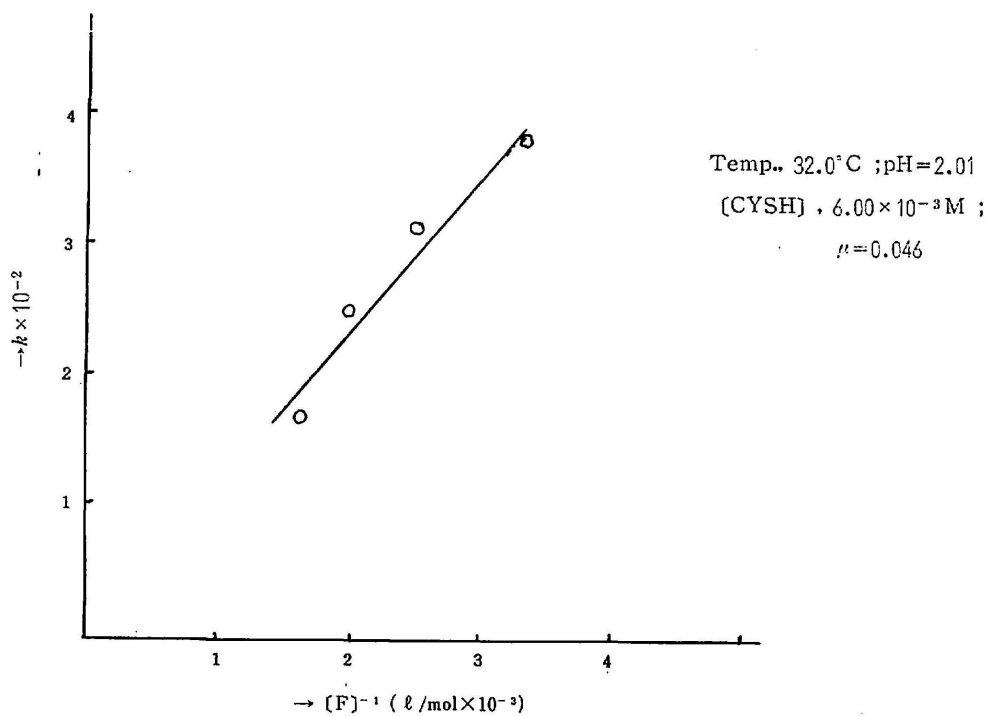
Fig. 4 Relation between  $\log [\text{CYSH}]$  and  $\log k$ 

Fig. 5 Dependence of the rate on initial concentration of ferrocyanide

4. フェリシアン化カリウムの初濃度の影響：反応速度はフェリシアン化カリウムの初濃度によって変化する。その関係を見出すため、他の問題になる条件を一定にして、フェリシアン化カリウムの初濃度を種々変えて実験を行った。おもしろいことに反応体であるフェリシアン化カリウムの濃度を増すと、逆に反応速度が減少する。フェリシアン化カリウムの初濃度の逆数を横軸に、速度定数を縦軸にとると Fig 5 のような直線関係が得られた。フェリシアン化カリウムの初濃度  $[F]$  と速度定数  $k$  は次の式で表わされる。

$$k \propto 1/[F]$$

5. フェロシアン化カリウムの添加効果：フェリシアン化カリウムの濃度を一定にし、反応系に、反応生成物であるフェロシアン化カリウム ( $F'$ ) を添加すると反応速度が変化する。添加量が少量 ( $0.2 \sim 4 \times 10^{-4} M$ ) の間はフェロシアン化カリウムを添加するにつれて、反応速度は減少する、フェリシアン化カリウムと添加したフェロシアン化カリウムの濃度の和  $\{[F]_0 + [F']\}$  の逆数を横軸に、反応速度定数  $k$  を縦軸にとると Fig 6 のような直線関係が得られた。この関係はほぼ次式で表わされる。

$$k \propto \frac{1}{\{[F]_0 + [F']\}}$$

フェロシアン化カリウムを更に多量に加えると今度は逆に添加に従って反応速度は増加する。しかしこの関係は複雑で別の反応が起ってあると思われるので、今後検討を続けて行きたい。

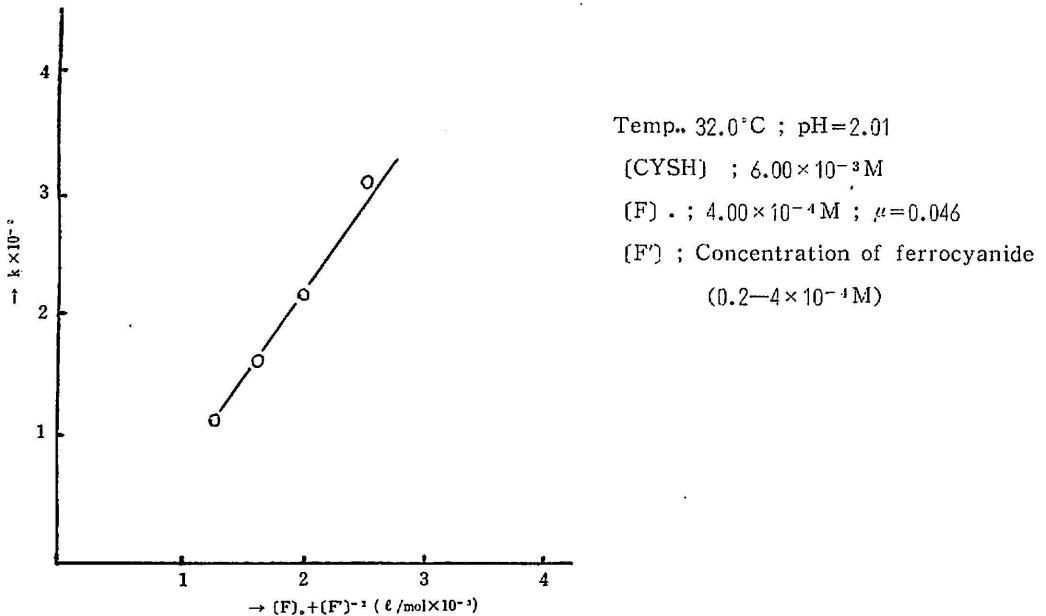


Fig. 6 Dependence of the rate on Concentration of ferrocyanide added

6. 水素イオン濃度の影響：水素イオン濃度が増加すると逆に反応速度は減少する (table I)。その関与の仕方は複雑なようである。 $k$  と  $\{K_1 + [H^+]\}^2$  の積がほぼ一定になること、反応がシステインに関して二次であることから、両者の関係はほぼ次式で表わされる。

$$k \propto \frac{1}{\{[H^+] + k_1\}^2}$$

ここで $k_1$ はシステインの第一段階の酸解離定で、 $\{[H^+] + k_1\}$ はシステインの各イオン種中、反応に直接関与すると思われるイオン種の濃度と水素イオン濃度との関係を求める際、現われる近似の項である(後述)。

Table 1. Dependence of the rate on the concentration of hydrogen ion

	[F],	$4.00 \times 10^{-4} M$			
	Temp.,	$32.0^\circ C$			
	[CYSH],	$6.00 \times 10^{-3} M$			
	$\mu$ ,	0.046			
[H <sup>+</sup> ]	$k(1/\text{mol}/\text{min.})$	$k[H^+]$	$k[H^+]^2$	$k([H^+] + k_1)^2$	
$1.26 \times 10^{-2}$	189	2.38	$3.01 \times 10^{-2}$	$1.05 \times 10^{-1}$	
$1.07 \times 10^{-2}$	265	2.84	$2.85 \times 10^{-2}$	$1.25 \times 10^{-1}$	
$9.77 \times 10^{-3}$	316	3.08	$3.05 \times 10^{-2}$	$1.36 \times 10^{-1}$	
$6.53 \times 10^{-3}$	456	2.94	$1.95 \times 10^{-2}$	$1.46 \times 10^{-1}$	
$5.50 \times 10^{-3}$	555	3.05	$1.68 \times 10^{-2}$	$1.51 \times 10^{-1}$	

### 7. シスチン、塩化カリウムの添加

反応生成物であるシスチンを添加しても、また塩化カリウムの濃度を0.046Mから10倍の0.46Mまで変えても反応速度への影響は観察されなかった。

8. システインの解離：システインは次の(1), (2), (3)式に従って解離する。ここで $HRSH^+ = HSCH_2CHNH_3^+COOH$ ,  $RSH^\pm = HSCH_2CHNH_3^+COO^-$ ,  $RS^\pm = -SCH_2CHNH_3^+COO^-$ ,  $RS^- = -SCH_2CHNH_2COO^-$ , である。



各解離式に質量作用の法則を適用するとそれぞれ(4), (5), (6)式を得る。

$$k_1 = [RSH^\pm] [H^+] / [HRSH^+] \quad (4)$$

$$k_2 = [RS^\pm] [H^+] / [RSH^\pm] \quad (5)$$

$$k_3 = [RS^-] [H^+] / [RS^\pm] \quad (6)$$

今システインの全濃度を $[HRSH]$ 。で表わすと

$$[HRSH]_0 = [HRSH^+] + [RSH^\pm] + [RS^\pm] + [RS^-] \quad (7)$$

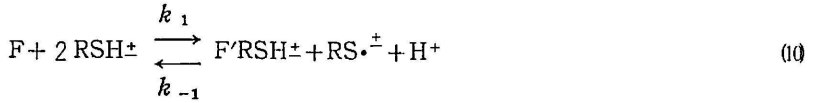
反応に直接関与するものと思われるイオン種 ( $RSH^\pm$ ) の濃度と水素イオン濃度との関係を求めると(4), (5), (6), と(7)式より

$$[RSH^\pm] = \frac{[HRSH]_0 k_1 [H^+]^2}{[H^+]^3 + k_1 [H^+]^2 + k_1 k_2 [H^+] + k_1 k_2 k_3} \quad (8)$$

30°C で  $pk_1=1.96$ ,  $pk_2=8.18$ ,  $pk_3=10.28$  であるので, pH 2 付近で, (8)式の分母の第三項, 第四項は第一項, 第二項に比べて無視できる。従って近似的に(8)式は(9)式で表わしてよい。

$$[RSH^\pm] = \frac{[HRSH]_0 k_1}{[H^+] + k_1} \quad (9)$$

9. 反応機構: 次の反応式(10)~(12)を仮定すれば, 実験結果が定量的に説明できる。



このメカニズムは Waters と Fieser によって提出された可逆的な電子移動反応 とそれに続く不可逆な酸化過程からなっている。硫黄の原子から電子を引抜いた形の反応中間体,  $RS^{\cdot\pm}, RS^{\pm}$ , は kolthoff, kapoor 等によってその存在が支持されている。

フェリシアン化カリウム (F) の消失速度は  
(1)式より

$$-\frac{d[F]}{dt} = 2 k_2 [RS^{\cdot\pm}] [F] [H^+] \quad (13)$$

定常状態でラジカル  $RS^{\cdot\pm}$  の濃度は一定と見なしうから

$$\frac{d[RS^{\cdot\pm}]}{dt} = 0$$

反応式(10), (11), (12)より

$$[RS^{\cdot\pm}] = \frac{k_1 [F] [RSH^\pm]^2}{[H^+] \{k_{-1} [F'RSH^\pm] + k_2 [F]\}} \quad (14)$$

この値を(13)式に代入する

$$-\frac{d[F]}{dt} = \frac{2 k_1 k_2 [F]^2 [RSH^\pm]^2}{k_{-1} [F'RSH^\pm] + k_2 [F]} \quad (15)$$

これに(9)式を代入

$$-\frac{d[F]}{dt} = \frac{k' [F]^2 [HRSH]_0^2}{k_{-1} [F'RSH^\pm] + k_2 [F]} \quad (15)$$

ここで

$$k'' = \frac{2 k_1 k_2 k_1^2}{\{[H^+] + k_1\}^2}$$

今  $k_2 \approx k_{-1}$  とすると

$$-\frac{d[F]}{dt} = \frac{k'' [F]^2 [HRSH]_0^2}{k_{-1} \{ [F'RSH^\pm] + [F] \}} \quad (16)$$

$$= \frac{k'' [F]^2 [HRSH]_0^2}{k_{-1} [F]} \quad (17)$$



システインが過剰に存在するので生成するフェロシアン化カリウム ( $F'$ ) はほとんど錯体  $F'RS\text{H}\pm$  をつくと考えれば,  $[F'RS\text{H}\pm] + [F]$  はフェリシアン化カリウムの初濃度  $[F]$  に等しい。

$[HRS\text{H}] \rightarrow [F]$  のとき,

ある与えられたフェリシアン化カリウムの濃度で上式は

$$-\frac{d[F]}{dt} = k[F]^2 \quad (18)$$

$k$  は実験的に求まる擬二次反応速度定数である。

全ての実験データが仮定した反応式(10)~(12)から導いた速度式で説明できるので, そのメカニズムは妥当なものと思われる。

(1970年, 日本化学会九州支部沖繩特別常会講演)

#### 文 献

- 1) 日本化学会編 \*実験化学講座。「生物化学」, 丸善 (1965) P 152
- 2) 梶田昭彦 生化学26, 547 (1954)
- 3) J. A. Ibers and N. Davidson, J. Amer. Chem. Soc., 73, 476 (1951)
- 4) ホワイト・ハンドラー・スミス 鈴木旺 共訳 生化学[1] 広川書店 (1969) P 112~114
- 5) C. G. Haynes, A. H. Turner and W. A. Waters, J. Chem. Soc., 2823 (1956)
- 6) L. F. Fieser, J. Amer. Chem. Soc., 52, 5204 (1930)
- 7) E. J. Meehan, I. M. Kolthoff, and H. Kakiuchi, J. Phys. Chem., 66, 1238 (1962)
- 8) I. M. Kolthoff, E. J. Meehan, M. S. Tsao, and Q. W. Choi, J. Phys. Chem., 66, 1233 (1962)
- 9) R. C. Kapoor, O. P. Kachhwaha, and B. P. Sinha J. Phys. Chem., 73, 1627 (1969)