

Title	7-Hydroxyindole化合物の酵素的形成について
Author(s)	稲守, 寛治
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28216
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【14】

氏名・(本籍)	稲 守 寛 治
	<small>いな もり かん じ</small>
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 46 号
学位授与の日付	昭和34年6月3日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	7-Hydroxyindole 化合物の酵素的形成について
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 市原 硬 教授 今泉 礼治 教授 須田 正巳

論 文 内 容 の 要 旨

研究目的

1931年市原等は Scatolylhydantoin を投与した家兔尿が酸性のまま Diazo 反応赤色を呈することを認め、最近坂本等は 7-Hydroxyindole 体 (Hydroxy を OH と略す) がこの反応に特異的で、5 OH Indole 体は発色に時間を要し且つ発色度が弱いことを明らかにした。

著者は更に種々の Indole 化合物に肝臓酵素液を作用させた場合に形成される酸性 Diazo 反応赤色物質について検討し、これが 7 OH Indole 化合物であることを明らかにした。

研究方法

酵素は家兔肝臓抽出液を用い、基質と共に Nicotinamide, Citrate, TPN を加え 37.5°C 30分反応した。化学反応は Udenfriend 等の Ascorbic acid, FeSO₄, EDTA の系を用いた。反応生成物は2倍量の Acetone-alcohol で除蛋白除塩を行ない減圧濃縮を行って、その濃縮液について Paperchromatography (PCG) 及び Columnchromatography (CCG) を行った。

研究結果

In ole 醋酸 (IAA), Indole プロピオン酸 (IPA), Indole 酪酸, Indole 乳酸, Tryptamin (TA) を基質にして酵素反応を行ない、その反応生成物について PCG を行なうと基質以外に酸性 Diazo 反応で直ちに赤色 Ehrlich 氏 aldehyde 反応で直ちに緑青色を呈する Spot が現れ、7 OH Indole 化合物と思われる。同時に別に 5 OH Indole 化合物と考えられる Spot が現れる場合もある。この場合 Tryptophan, Indole カルボン酸, 5OH-TA 等は、同じ酵素系で反応しても酸性 Diazo 物質を形成しない。化学反応でも同様に酸性 Diazo 物質を形成し、PCG を行なうと酵素反応のものと Rf が一致する。次に IAA の酵素的反応生成物と 7OH-IAA を10種の溶媒を用いて PCG を行ない Rf 及び発色について比較し、これが完全に一致し、5OH-IAA でないことを明らかにした。又 Amberlite IRC 50 を用いて CCG を行なうと、

酸性 Diazo 物質の Fraction の位置は 7OH-IAA の位置と一致した。化学反応で生成する酸性 Diazo 物質も同様の態度を示した。この物質を Ion 交換樹脂を用いて精製し集めて紫外部吸収をとると、7OH-IAA の紫外部吸収と一致した。

IAA, Indole 酪酸の酵素反応条件を検討すると、TPN, Citrate が必要で、Mitoma 等の認めた TPNH を必要とする非特異的水酸化酵素により反応すると考えられる。

又、この様な Indole 化合物を白鼠に注射した場合にも同様の酸性 Diazo 物質の生成が見られる。著者は又同様の酵素系を用いて Benzoic acid, Phenyl 醋酸, OH-Benzoic acid, OH-Phenyl 醋酸が水酸化される事を認めた。これらの成績を考え合すと、化学反応で酸化を受け易い場所が Indole 化合物でも水酸化されると考えられる。IAA を基質とした場合の酸性 Diazo 物質は種々の点で 7OH-IAA と一致し、5OH-IAA と異り且つ還元反応を呈することから 7OH-IAA と推定される。Mason 等の報告している Peroxidase, Dihydrofumaric acid による水酸化系や、Mitoma 等の報告している Tryptophan から 5OH-Tryptophan を形成する Chromobacterium violaceum を用いた場合にも、酸性 Diazo 物質は形成されなかった。

総 括

1. IAA, Indole プロピオン酸, Indole 酪酸, Indole 乳酸, TA を基質として肝酵素を用いて酸性 Diazo 反応赤色物質の生成を認め、化学反応によっても同じ Spot を Paper 上に認めた。この Spot は 7OH-Indole 化合物と考えられる。
2. IAA を基質として生成される酸性 Diazo 反応赤色物質は合成 7OH-IAA と PCG, CCG, 紫外部吸収で一致し 5OH-IAA と異なる。従って 7OH-IAA と考えられる。
3. Indole 化合物より 7OH-Indole 化合物の形成には TPNH が関与する。

論文の審査結果の要旨

1931年市原等は Scatolyl hydantoin を投与した家兔尿が酸性のまま Diazo 反応赤色を呈することを認め、最近 7-Hydroxyindole 体がこの反応に特異的であることを明らかにした。著者は更に種々の Indole 化合物に肝酵素液を作用させた場合に形成される酸性 Diazo 反応赤色物質について検討した。

酵素反応は家兔肝臓抽出液を用い、Indole 醋酸, Indole プロピオン酸, Indole 酪酸, Indole 乳酸, トリプタミンを基質にして TPN, Citrate を加えて酵素反応を行い、その反応生成物について Paper-chromatography を行なうと、基質以外に酸性 Diazo 反応で直ちに赤色、Ehchliir 氏 Aldehyde 反応で直ちに緑青色を呈する spot が現れ 7-Hydroxyindole 化合物と思われる。又、この様な Indole 化合物を白ネズミに注射した場合の尿にも同様の酸性 Diazo 反応赤色物質の生成が見られた。Ascorbic acid, FeSO₄, EDTA の系による化学反応でも酸性 Diazo 反応赤色物質を形成し、Paper chromstography を行なうと酵素反応のものと Rf が一致する。

次に Indole 酪酸の酵素的反応生成物と 7-Hydroxyindole 醋酸とを10種の溶媒を用いて Paper chromatography を行ない Rf 及び発色について比較するとよく致し、5-Hydroxyindole 醋酸でないことを明

らかにした。又 Amberlite IRC50 を用いて Column chromatography を行った時の Fraction の位置や紫外部吸収は 7-Hydroxyindole 醋酸の場合と一致した。化学反応で生成する酸性 Diazo 反応赤色物質も同様の態度を示した。

Indole 醋酸, Indole 酪酸の酵素反応条件を検討すると, TPN, Citrate が必要で Mitoms 等の認めた TPNH を必要とする非特異的水酸化酵素により反応すると考えられる。

以上の結果から Indole 醋酸を基質とした場合の酸性 Diazo 反応赤色物質は種々の点で 7-Hydroxyindole 醋酸と一致し, 5-Hydroxy-indole 醋酸と異り, 且つ還元反応を呈することから 7-Hydroxy-indole 醋酸と推定され, 今迄 5-Hydroxyindole 化合物以外に報告されていなかった Indole 核の Benzene 部分の酸化をより明らかにした。