九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

トリオースレダクトンとイソロイシンとの縮合物

篠原，和毅
九州大学農学部食糧化学教室

朱，光枝
九州大学農学部食糧化学教室

曽，耀崑
中国文化学院家政学研究所

村上，浩紀
九州大学農学部食糧化学教室

他

https://doi.org/10.15017/23212

出版情報：九州大學農學部學藝雜誌. 30 (4), pp.157-161, 1976-03. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

九大農学芸誌 (Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.)
第30巻 第4号 157-161 (1976)

トリオースレダクトンとイソロイシンとの縮合物*

篠原和毅・朱 光枝・曽 耀崑†
村上浩紀・大村浩久
九州大学農学部食糧化学教室
(1976年1月19日受理)

Condensation Product of Triose Reductone with Isoleucine

KAZUKI SHINOHARA, KWANG JEE JOO, YAW-KUN TSENG,
HIROKI MURAKAMI and HIROHISA OMURA
Food Chemistry Institute, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka

代表的レダクトンであるトリオースレダクトン(TR)は種々のアミノ化合物と縮合して，アミノレダクトンを形成することが知られている．このアミノレダクトンは食品の加工，貯蔵等の過程における褐変や変香反応の重要な中間体であるが，われわれはこれらアミノレダクトンの生理的機能に着目し，その解明のためにまず，TR と種々のアミノ酸との縮合物の調製を行なつてきた．その結果，徳山ら(1970)，および小幡・徳山(1971 b)と同じく，TR とグリシン，ロイシン，メチオニン，フェニルアラニンとの縮合物を結晶状に単離し，それらの物理的および化学的諸性質を明らかにするとともに，それらの生理的機能の一つとして核酸切断作用を確かめた(大村ら，1974 b；篠原ら，1974)．そのほか，バリン，アラニンとの縮合物も得られているが，他のアミノ酸とのそれは上述のアミノ酸に対して用いられた調製法では得ることはできない．篠原ら(1975)は調製法を種々検討することによつて，最近 TR とトリプトファンとの縮合物を単離結晶化することに成功した．本報においては同様な方法によつて，TR とイソロイシンとの縮合物を得たので，その調製法ならびに生成物の性質について報告する．

実験材料および方法

トリオースレダクトン(TR) 常法(大村ら，1974 a)によりブドウ糖をアルカリ処理して調製した．

ペーパークロマトグラフィー 東洋濾紙 No. 51 を用い，上昇法により行なつた．検出試薬として，0.05 % 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール(DPI) 50 % エタノール液と 0.2 % ニンヒドリン液を使用した．

紫外吸収スペクトル 島津マルチパーパス自記分光光度計 MPS-50 型で測定した．

赤外吸収スペクトル ベックマン IR-20 型で KBr 錠剤法により測定した．

Mass スペクトル 日立製 RMS-4 型を用い，直接導入方式で測定した．

NMR スペクトル 日立 Perkin Elmer R 20 型を用い，重ジメチルスルホキシド(hexadeuterodimethylsulfoxide；DMSO-d_6)を溶媒として測定した．内部標準にはテトラメチルシラン(TMS)を使用した．また重水(D_2O)交換を行なつたものについても測定した．

結果および考察

1．TR-Ile[1] の調製

TR-Trp[1] の調製法と同様に，終濃度が1モルになるように Ile を 100°C の油浴上，N_2 ガス通気下で 0.2N HCl に溶解したのち，等モルになるように TR を加える．引き続き，N_2 ガスを通気しながら，また同時に攪拌して 100°C の油浴上で反応させた．反応開

* レダクトン類の機能に関する研究 第19報
† 現在中国文化学院家政学研究所
[1] TR-Ile, TR-Trp；TR とイソロイシン，トリプトファンとの縮合物を表わす．

Table 1. Yield, melting point and elemental analysis of TR-Ile.

Yield (%)	Melting point (°C)	Elemental analysis					
		Calculated			Found		
		C	H	N	C	H	N
29.8	168	53.73	7.46	6.96	53.74	7.57	6.90

始後，約15分で結晶が析出しはじめる．さらに反応を30分継続したのち，1夜冷蔵庫に放置する．結晶を濾集し，活性炭で脱色し，エタノールから再結した．再結は3回繰り返した．Table 1に収率，融点および元素分析値を示す．

収率は29.8%で今まで得られた縮合物の場合よりも若干低かつた．また融点もわずかながら低いようであつた．元素分析の結果は計算値とよく一致した．

TR-Ileの単離結晶化はTR-Trpの調製と同様な方法で容易にできたが，TRと他のアミノ酸，例えば酸性アミノ酸，塩基性アミノ酸についてはこれと同じ方法を用いても縮合物は結晶状に得られなかつた．しかしながら，これらのアミノ酸の場合には縮合物の生成を示す結果が得られているので，他の分離方法を用いることによつて単離結晶化も可能と考えられる．

2．ペーパークロマトグラフィー

Table 2に示したような種々の溶媒を用いてペーパークロマトグラフィーを行なつた結果，いずれの溶媒においてもDPI還元性でニンヒドリンの発色に陽性の単一スポットが検出された．そのR_f値をTR, Ileのものとともに Table 2に示す．展開溶媒としてはブタノール・酢酸・水およびエチルアセテート・酢酸・水が比較的良好な分離を示した．

3．紫外吸収スペクトルおよび安定性

TR-Ileを酸性，中性およびアルカリ性の各緩衝液に溶かし，その紫外吸収スペクトルを測定した．また同時に各溶液を室温に4時間放置したのち，再びスペクトルを測定し，その安定性を検討した（Fig. 1）．

TR-Ileは水に比較的難溶であるのでまず少量のエタノールに溶かしたのち，0.1 M HCl-KCl (pH 2.0)，0.1 M リン酸 (pH 7.0)，あるいは0.1 M NaOH-KCl (pH 12.0) の各緩衝液を加え，終濃度が5 μM になるように調製した．

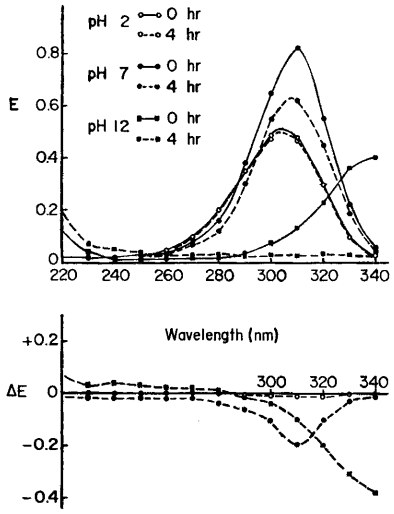

Fig. 1. UV absorption spectrum and its variation of TR-Ile. TR-Ile was first dissolved in a small volume of ethanol, and then 0.1 M HCl-KCl (pH 2.0), 0.1 M phosphate (pH 7.0) or 0.1 M NaOH-KCl (pH 12.0) buffer was added. The final concentration of TR-Ile was 5 μM. UV absorption spectrum was estimated at once and after standing at room temperature for 4 hrs with a Shimazu Multipurpose Recording Spectrophotometer, MPS-50.

Table 2. Paper chromatography of TR-Ile.

Solvent	R_f value		
	TR	Ile	TR-Ile
Butanol saturated with H_2O	0.59	0.48	0.56
Butanol : Acetic acid : H_2O (4 : 1 : 2)	0.68	0.61	0.85
Butanol : Pyridine : H_2O (4 : 1 : 2)	0.58	0.39	0.39
Ethanol : H_2O (9 : 1)	0.77	0.68	0.73
Methanol : H_2O (9 : 1)	0.76	0.76	0.80
Butyl acetate : Acetic acid : H_2O (4 : 2 : 1)	0.56	0.04	0.37
Ethyl acetate : Acetic acid : H_2O (3 : 1 : 1)	0.74	0.47	0.99
Ethyl formate : Formic acid : H_2O (3 : 1 : 1)	0.84	0.98	0.95

TR-Ile was detected with 0.05% sodium 2,6-dichlorophenolindophenol solution (in 50% ethanol) and 0.2% ninhydrin solution.

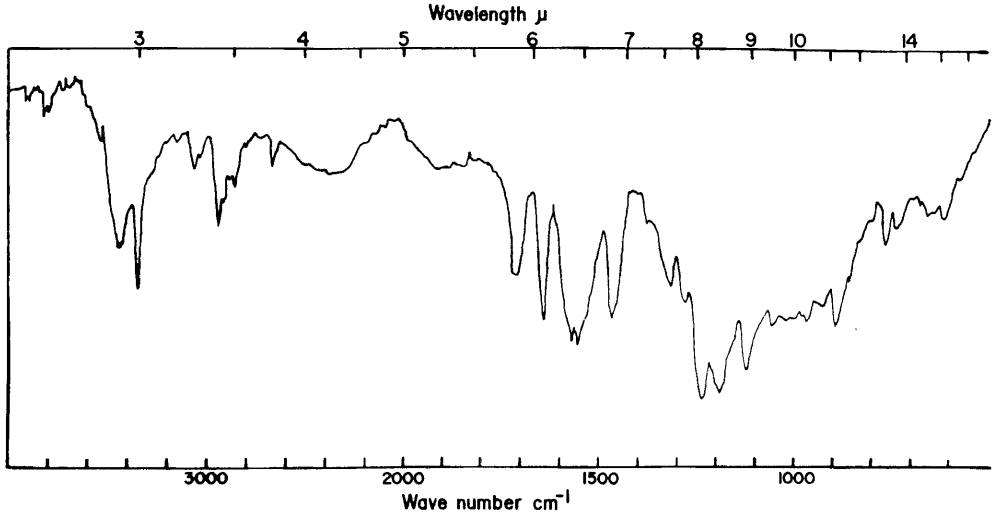

Fig. 2. IR spectrum of TR-Ile. IR spectrum of TR-Ile was estimated by KBr pellet method with a Beckman IR-20.

その結果，他の TR-AA[2] と同様に縮合物に特徴的な吸収スペクトルが得られた．各 pH における吸収極大は pH 2.0 で 304 nm, pH 7.0 で 310 nm, pH 12.0 では 340 nm であつた．このアルカリ性領域における極大の移行は TR-Gly[3], -Leu[3], -Met[3], -Phe[3] においても観察されている．

一方，TR-Ile も他の TR-AA と同様に酸性領域で最も安定で，4 時間後の吸収スペクトルではほとんど変動はみられなかつた．中性領域においてはわずかな 310 nm の吸収の減少が観察されたが，比較的安定であるように思われた．酸性，および中性領域に対して，アルカリ性側では不安定であり，その吸収極大は著しく減少した．他方，Cu^{2+} 共存下では他の TR-AA において観察されたように著しい吸収極大の減少がみられたが，特に pH 7.0 および 12.0 において顕著であつた．

4．赤外吸収スペクトル

Fig. 2 に TR-Ile の赤外吸収スペクトルを示す．縮合物に特徴的な吸収帯が観察された。すなわち，3440 cm^{-1} にNH伸縮振動，2400 cm^{-1} 付近にエノール性水酸基の伸縮振動，1720 cm^{-1} 付近にカルボン酸のCO伸縮振動，1640 cm^{-1} にアルデヒド基のCO伸縮振動が観察された．

5．Mass スペクトル

Fig. 3 に示したように，相対強度 67.7 %の分子イオンピーク (m/e 201) と 30 %以上の 4 つのフラグメントイオンが観察された．m/e 201 は計算値と一致した．TR-AA の開裂について小幡・徳山 (1971 a) は 3 つのパターンが存在すると報告している．TR-Ile の場合には m/e 156 (M-45), 144, 126, 98 のフラグメントイオンが生じるために TR-Ile から COOH が脱離し，さらに Ile 部分の側鎖が脱離する経路と，側鎖が脱離したのち，H_2O, CO が脱離して m/e 98 のフラグメントイオンを与える経路の 2 つのパターンで開裂するように考えられる．

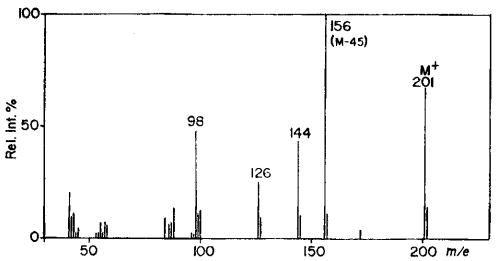

Fig. 3. Mass spectrum of TR-Ile. Mass spectrum of TR-Ile was estimated with Hitachi RMS-4.

6．NMR スペクトル

TR-Ile の DMSO-d_6 を溶媒にしたときの NMR スペクトルを Fig. 4 に，また重水交換を行なつたものを Fig. 5 に示す．

---

[2] TR-AA; TR とアミノ酸との縮合物を表わす．

[3] TR-Gly, -Leu, -Met, -Phe; それぞれ TR とグリシン，ロイシン，メチオニン，フェニルアラニンとの縮合物を表わす．

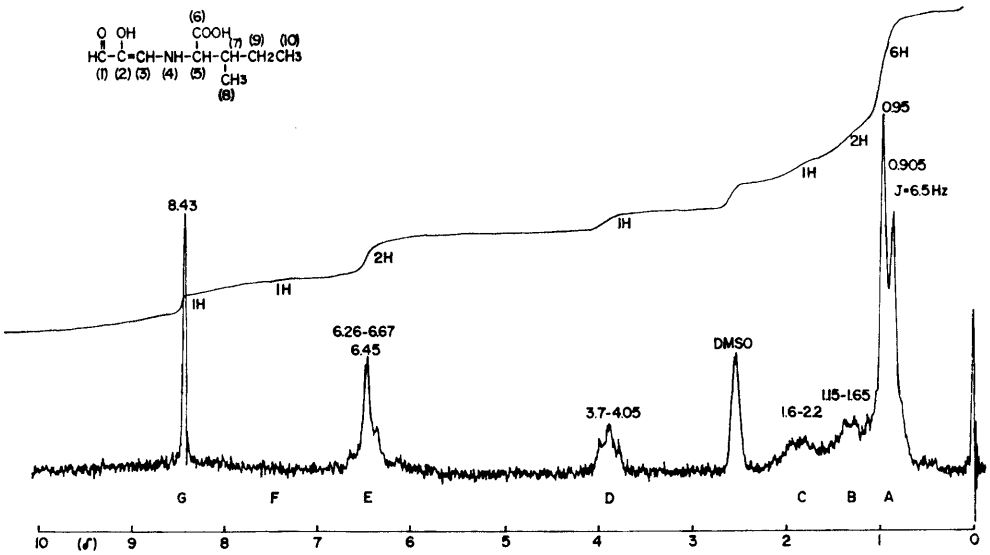

Fig. 4. NMR spectrum of TR-Ile. NMR spectrum was estimated with a Hitachi Perkin Elmer R-20, using hexadeuterodimethylsulfoxide (DMSO-d_6) as solvent and tetramethylsilane as internal standard.

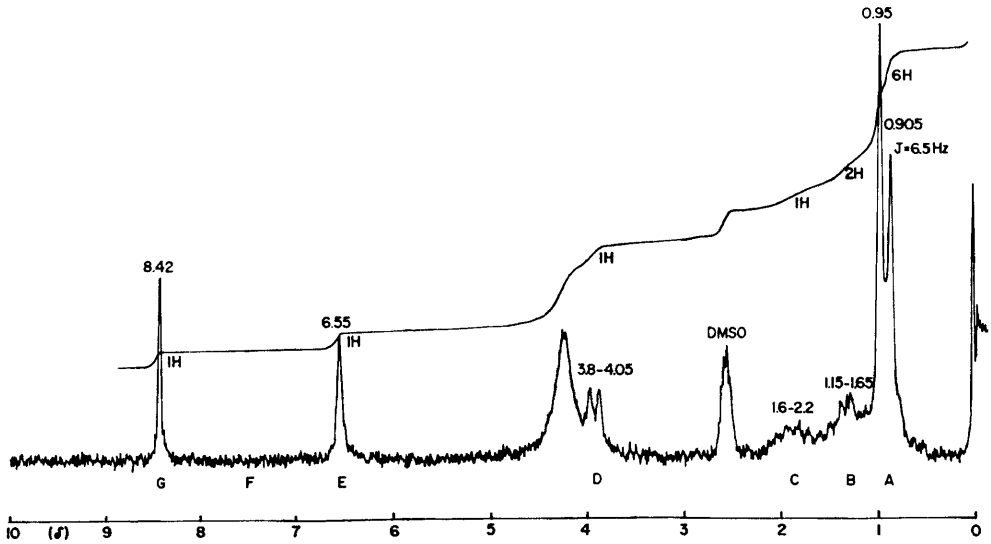

Fig. 5. NMR spectrum of TR-Ile after D_2O exchange. NMR spectrum was estimated as in the case of Fig. 4.

δ 0.95 ppm にピークをもつスピン結合定数 J=6.5 Hz のトリプレットと，δ 0.905 ppm のダブレットが重なつたと思われる6プロトンの吸収（A），δ 1.15～1.65 ppm に2プロトンのマルチプレット（B），δ 1.6～2.2 ppm に1プロトンのマルチプレット(C)，δ 3.7～4.05 ppm にブロードな1プロトンのマルチプレット（D），δ 6.45 ppm にピークをもつシングレットと δ 6.26～6.67 ppm のブロードなピークが重なつた2プロトンからなる吸収（E），δ 7.0～8.2 ppm に積分曲線から1プロトン分の吸収（F），δ 8.43 ppm にシャープな1プロトンのシングレット（G）が観察された（Fig. 4）.

（A）は（8）と（10）のメチルプロトンに帰属される．（B）は（9）のメチレンプロトンに，（C）

は（7）のメチンプロトンに帰属できる．（D）は先に大村ら（1974 b）が報告した TR-Gly の NMR スペクトルとの対応から（5）のメチンプロトンに帰属される．（E）は重水交換により δ 6.55 ppm に1プロトンのシャープなシングレットのピークが現われ，1プロトン消失することから，δ 6.55 ppm のピークは（3）のプロトンに，消失するプロトンは（4）のプロトンに帰属される．（F）は重水交換によつて積分曲線が平坦になることから，（2）のOH基のプロトンに帰属できる．（G）は（1）のアルデヒドプロトンに帰属できる．（6）のカルボキシル基のプロトンは TR-Ile の場合には検出されなかつたが，これらのことから，TR-Ile は Fig. 4 に示した構造をもつことが確認された．

要　　約

Ile を終濃度が1モルになるように 0.2 N HCl に完全に溶解したのち，等モルの TR を加え，窒素ガス通気下に 100°C の油浴上で反応させることによつて反応生成物を結晶状に単離した．

さらに生成物について，元素分析，融点，ペーパークロマトグラム，紫外吸収，赤外吸収，Mass および NMR スペクトルを測定し，その諸性質を検討し，TR と Ile が縮合したアミノレダクトン（TR-Ile）であることを確認した．

文　　献

小幡　斉・徳山　泰　1971 a　トリオースレダクトン誘導体の質量スペクトル．日化，**92**(5)：469-472

小幡　斉・徳山　泰　1971 b　トリオースレダクトンとアミノ酸との縮合物．日化，**92**(6)：566-567

大村浩久・藤田明男・佐藤雅子・大槻　実・飯尾雅嘉　1974 a　トリオースレダクトンと数種含窒素化合物との反応．九大農学芸誌，**28**(2)：79-92

大村浩久・井上　譲・江藤正義・曽　耀崑・篠原和毅　1974 b　トリオースレダクトンと二三のアミノ酸との反応生成物．九大農学芸誌，**29**(1・2)：61-70

篠原和毅・福元裕二・曽　耀崑・井上　譲・大村浩久　1974　アミノレダクトンの核酸に対する作用．農化，**48**(9)：499-506

篠原和毅・曽　耀崑・朱　光枝・内野文弘・大村浩久　1975　トリオースレダクトンとトリプトファンとの縮合物．農化，**49**(9)：463-468

徳山　泰・小幡　斉・大亦正次郎　1970　トリオースレダクトンとアミノ酸との縮合生成物．日本農芸化学会昭和45年度大会講演要旨集，pp. 371-372

Summary

Ile was completely dissolved in 0.2 N HCl to final concentration of 1 M and then equimolar TR was added at 100°C in an oil bath under bubbling with N_2 gas. The reaction mixture was kept for 45 min under the same conditions. The product was separated as crystals. The yield was 29.8 %.

It was confirmed that the crystals were condensation product of TR and Ile by estimating elemental composition, melting point, paper chromatogram, UV, IR, Mass and NMR spectra.