HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海藻の特殊成分の研究：第3報 A物質の確認
Author(s)	矢部, 和夫; 辻野, 勇; 斉藤, 恒行
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 15(3), 181-184
Issue Date	1964-11
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23230
Type	bulletin (article)
File Information	15(3)_P181-184.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

海藻の特殊成分の研究

第3報　A物質の確認

矢部和夫・辻野　勇・斉藤恒行
(北海道大学水産学部水産化学教室)

Studies on the Compounds Specific for Each Group of Marine Algae.

III. Identification of compound A

Kazuo YABE, Isami TSUJINO and Tsuneyuki SAITO

Abstract

In previous papers we have discussed the occurrence of ultraviolet absorbing materials specific for red algae and the method of their isolation.

By cation exchanger, using Dowex-50, they were fractionated into three compounds, namely, A, X, and Y. Their absorption maximum is 260, 318, and 332 mμ respectively. But details of the properties of these compounds have not yet been described. By using absorption spectrum, anion exchange chromatogram, and paper chromatogram, it was observed that compound A may be determined as uridine. This will be described in this paper.

緒　　言

前報[1)2)]において筆者らは海藻の過塩素酸抽出液の紫外部吸収スペクトルを測定した結果，紅藻のみに共通して存在する成分として，320-330mμ に特異的に極大吸収を有する物質の存在することを発見し，その抽出法ならびにイオン交換クロマトグラフィーによる分離方法を確立し，さらにまた本物質の若干の性質についても報告した。すなわちカチオン交換樹脂によるクロマトグラフィーの結果，本抽出液には 260mμ に極大吸収を持つ化合物Aと，それぞれ 320mμ と 330mμ に極大吸収を有する化合物XとYとの3種類の化合物が含有されることを知った。今回はこのうちの化合物Aについて実験を行ない，アニオン交換クロマトグラフィーによる溶出の模様，吸収スペクトルならびにペーパークロマトグラフィーによる結果を綜合して，本物質は Uridine であることを確認したのでここに報告する。

実 験 方 法

試　料：函館市外七重浜で採集した新鮮なツノマタ (*Chondrus ocellatus*) を使用した。

抽出法：前報に述べたのと全く同一の活性炭吸着法によって抽出を行なった。

イオン交換クロマトグラフィー：アニオン交換樹脂としては Dowex-1×10 (Dow Chemical Co.) をカチオン交換樹脂としては Dowex-50×10 (Dow Chemical Co.) をそれぞれ塩酸および水酸化ナトリウムを用いて洗い，洗液に紫外部の吸収が認められなくなるまで洗条を続ける。

ペーパークロマトグラフィー：東洋濾紙 No. 50 または No. 53 を使用した。展開剤としては次の4種を用い，ペーパー上のスポットの位置は紫外線ランプ（東芝 UV-D25 フィルター併用）を用いて確認した。

展開剤[3]: (1) イソプロピルアルコール-飽和硫酸アンモニウム溶液-水 (2:79:19)
(2) n-ブタノール-酢酸-水 (4:1:5)
(3) 水 (アンモニヤ水を用いて pH 10 とする)
(4) n-ブタノールに 10% の尿素溶液を飽和

実験結果および考察

イオン交換クロマトグラフィー:

ツノマタの過塩素酸抽出液を前報通りに活性炭で処理して化合物 A, X, Y を吸着させ, 次ぎにエタノール・アンモニア・水の混液を用いて溶出し, 40°C 以下で減圧濃縮を行って溶剤を濃縮乾固し, これを一定量の水に溶解して不溶物を除き, 塩酸を用いて pH を 4.0 以下に修正してから, Dowex-50 (H^+ 型) を用いてクロマトグラフィーを行なう。このカラムは先ず水を流すことによって 260mμ 附近に極大吸収を持つ化合物Aのフラクションが得れ, 続いて 330mμ 附近に極大吸収を持つ化合物 Y が溶出されてくる。その後さらに 0.5M のアンモニア水を流すことによって 320mμ 附近に極大吸収を持つ化合物Xが得られる。これらの物質の溶出曲線は Fig. 1 に示す通りである。この場合の3者の含量比は A : X : Y = 2.3% : 63.1% : 29.2% であった。

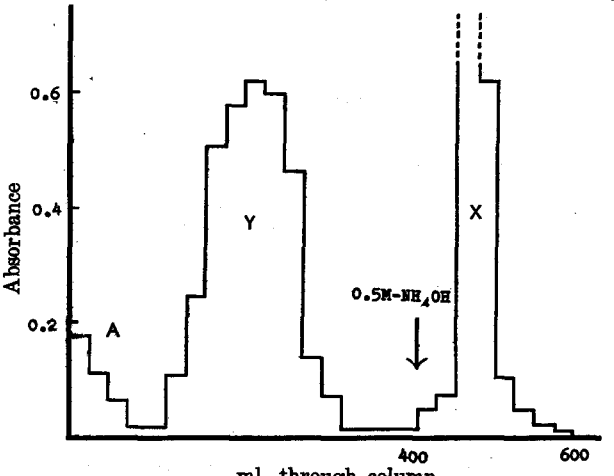


Fig. 1. Chromatographic separation of ultraviolet absorbing materials of *chondrus ocellatus* by using Dowex-50 (H^+)

ここに水で溶出される化合物Aを含むフラクションをさらに Dowex-1 (Cl^-型)を用いたカラムクロマトグラフィーにかける。化合物Aはこれによって吸着され, さらにこのカラムに 0.01 M NH_4Cl の溶液を流すことによって, 吸着された化合物Aの大部分を溶出することができた。その溶出曲線は Fig. 2 に示す通りである。

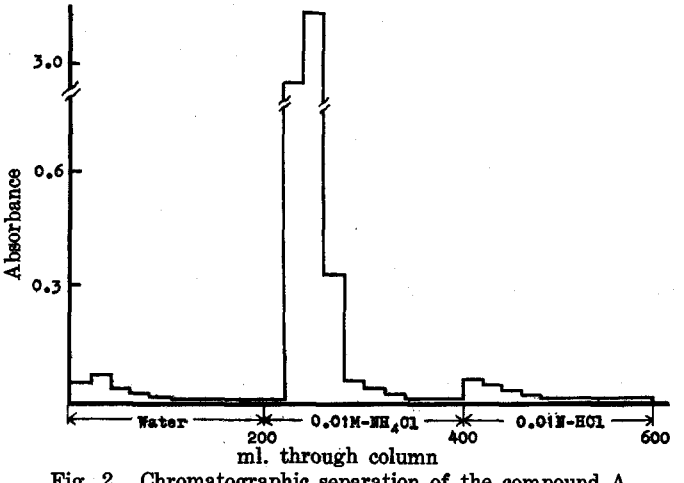
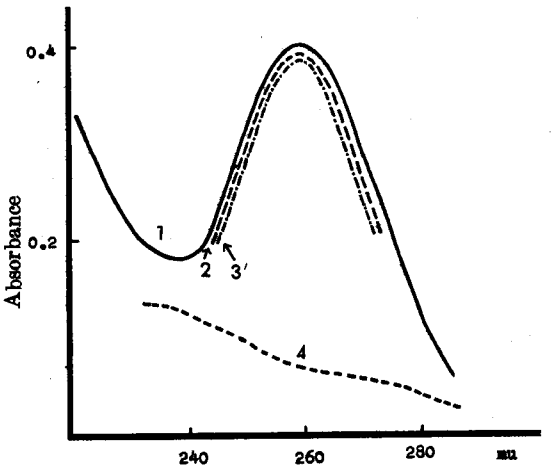


Fig. 2. Chromatographic separation of the compound A by using Dowex-1 (Cl^-)

ここに得られた 0.01M NH_4Cl 溶液についての紫外部の吸収スペクトルを求めた結果を Fig. 3 に示す。

Fig. 3 によれば水溶液,

pH 13, pH 2 とその溶液の条件を変化しても，吸収曲線には変化は認められず，吸収の極大は 260mμ にあった。従って本物質は Adenine あるいは Uracil のような塩基部をその構造の中に含むものではないかと判断される[4]。さらにまた本物質溶液に臭素を添加[5]して，その吸収の変化を調べてみた結果は Fig. 3 の曲線 4 に示すように，その吸収極大は完全に消失することを知つた。この事実から本物質は Adnine 系のものではなくて，Uracil の系統のものと判断される。なおイオン交換クロマトグラフィーによる溶出の位置[6]，およびりん酸基の定性試験[7]の結果りん酸の存在が確認されないことから，本物質は Uracil または Uridine ではないかと考えられる。



1....Dissolved in water
2....pH 13
3....pH 2
4....Compound A (Brominated)

Eig. 3. Absorption spectra of the compound A and its brominated compound

ペーパークロマトグクフィー：

イオン交換クロマトグラフィーによって分別したフラクションをさらに活性炭に吸着させ，これをよく水洗した後に，エタノール-アンモニア-水の混液を用いて溶出し，これを40°C以下で減圧濃縮乾涸した後にこれを水に溶解して前記の4種類の展開剤によって上昇法でペーパークロマトグラフィーを行った。なおこれと同時に本物質を6N-HCl で 120°C で2時間処理を行ない，この加水分解物を減圧濃縮して塩酸を追い出し，これを水に溶かして同様にペーパークロマトグラフィーを行った。その結果を Table 1 に示す。

Table 1 によれば，化合物Aの示す R_F 値は4種の展開剤ともに Uridine のそれと一致している。また，6N HCl による加水分解物については，いずれの展開剤についても2個のスポットが確認され，

Table 1. R_F values of the compound A and its hydrolysate

Sample	Solvent system			
	1(a)	2(b)	3(c)	4(d)
Compound A	0.54	0.38	0.83	0.20
Compound A (hydrolyzed)	0.46 0.54	0.51 0.34	0.72 0.83	0.37 0.20
Uridine	0.53	0.34	0.83	0.20
Uracil	0.46	0.50	0.72	0.36

(a) Isopropyl alcohol-saturated ammonium sulfate-water (2:79:19, V/V/V)
(b) n-butanol-acetic acid-water (4:1:5, V/V/V)
(c) Water (pH 10, with ammonium hydroxide)
(d) n-butanol saturated with 10 per cent of urea

それぞれが Uracil と Uridine の R_F に該当する。これらのペーパークロマトグラフィーの結果からも化合物Aは Uridine であると断定することができる。

以上述べたように，化合物Aはイオン交換クロマトグラフィーによる溶出位置，吸収スペクトル，ペーパークロマトグラフィーなどの諸結果から，Uridine であると断定したのであるが，この物質は既述の化合物XおよびYとはその性質がおのずから異なり，従って紅藻類に特異的に存在するものとも考えられない。その理由は最近の海藻中の酸溶性のヌクレオチドの研究によって，藻体中に可成の量のUracilの誘導体の存在することが明らかとなっている[8-10]ことから当然その存在は想像されるのである。従って Uridine を紅藻中の特異成分として化合物XとYと同列に取扱うことはできないが，筆者らの抽出法によって必らず混在する成分であり，本物質の確認もその研究途上において当然必要な事項であると考えて本報告を行ったものである。

総　　括

紅藻類中に検出される特異成分A，X，Yのうち，ツノマタを用いてAの分離精製を行ない，次の諸事実からAは Uridine であるという結論を得た。

1) 吸収極大は 260mμ にあり，pH を変えても吸収曲線に変化がない。本物質の溶液に臭素添加を行なうと 260mμ における吸収極大は完全に失なわれる。

2) 4 種類の展開剤を使用したペーパークロマトグラフィーの結果，その R_F 値は標準の Uridine と全く同一であった。また化合物Aにはりん酸の含有は認められず，塩酸による加水分解物はそれぞれ Uridine と Uracil の R_F 値を与えた。

3) 精製段階においてイオン交換樹脂，Dowex-50, Dowex-1 に対する態度からも nucleoside の可能性が想像された。

文　　献

1) 辻野　勇・斉藤恒行 (1961). 北大水産彙報 12 (1), 49-58.
2) 辻野　勇 (1961). 北大水産彙報 12 (1), 59-65.
3) 渡辺　格・三浦謹一郎 (1956). 実験化学講座 Vol. 23. 生物化学 I. 309p. 丸善株式会社.
4) Chargaff, E. and Davidson, J.N. (1955). The nucleic acids Vol. 1. 493 p. New York; Academic Press.
5) Suzuki, T. and Ito, E. (1958). J. Biochem. (Japan) 45, 403.
6) Chargaff, E. and Davidson, J.N. (1955). The nucleic acids Vol. 1. 220p. New York; Academic Press.
7) 大村京生 (1956). 実験化学講座 Vol. 23. 生物化学 I. 544p. 丸善株式会社.
8) Bean, R.C. and Hassid, W.Z. (1955). J. Biol. Chem. 212, 41.
9) 斉藤恒行・辻野 勇 (1960). 日本水産学会年会講演発表.
10) Su. G.C. and Hassid, W.Z. (1960). J. Biol. Chem. 235, 36.