(昭和31年11月21日受理)

日光によるフィブロイン分子の崩壊について

第4報 ポリチロジンの変化

東京農工大学繊維学部 岡本 奨・山谷恒夫

THE DECOMPOSITION OF SILK FIBROIN BY SUNLIGHT (IV) ON
THE CHANGES OF POLYTYROSINE BY LIGHT

By Susumu Okamoto and Tsuneo Yamaya

(Tokyo University of Agriculture and Technology, Faculty of Textile Industry, Tokyo, Japan)

It is believed that yellowing of silk fibers by light is based upon the photochemical changes of tyrosine groups in fibroin.

The authors prepared tyrosine polymer and confirming this point, applied it on the white rayon clothes and then irradiated them with Atlas fade-O-meter. The yellowing of the clothes was hardly recognized. Same colour reactions such as Neubauer-Rhode's, Nessler's or xanthoprotein reactions were tested on the treated clothes. The states of colouring were very different from the case of silk fabrics. Adding a small quantity of tryptophan on them, however, the states of yellowing and other reactions became similar to those of the silk fabrics. These results show that the yellowing of proteinous fibers is not due to the changes of tyrosine but those of tryptophan.

It was also recognized that tyrosine residues of the polymer were promptly decomposed by light. The authors tried to identify the decomposed products and got some unknown substances coloured by Pauli's diazo reagent, but neither amino, imino acids, indole compounds nor other expected substances were identified.

(Received 21. 11. 1956)

1. 緒 言

前報¹⁾において、絹の光による黄褐変はチロシン残基のインドール核形成にもとづくとする説は、事実と一致しがたい点があり、黄褐変の主要な原因は微量に存在するトリプトファンによる可能性が大きいことを指摘した。絹そのほか蛋白繊維の組成は極めて複雑で

あるので、モデル物質をつくりこれによって黄褐変の真因をつきとめようと思い、まずチロシンのみからなるポリチロジンを合成し、これを照射することによってその変化を確かめようとした。絹において、チロシン→インドール核生成があるとすればポリチロジンにおいても次の変化が起りうると考えられる。

本研究においてはポリチロジンが照射によって果して黄褐変現象を起すか、またその際変化はこのコースをとるか否かを確かめんとするものであるが、結果は予想と反していたのでここに報告する。

2. 実験方法

試料ポリチロジンは絹糸より常法によって分離精製したチロジンを、融点測定、旋光度測定およびペー

パークロマトグラフによって純粋と認めうる原料とし、野口氏²⁾のN-カルボン酸無水物法によって合成した。本実験においては合成試料が僅少であったため重合度の点は不明であるが、その中間生成物および最終生成物の性状は原報とよく一致する。すなわち最終生成物について言えば、アルコール可溶で多量のエーテルで沈澱し、ビュレット反応を呈するがミロン反応微弱であり、アルコール溶液を濃縮すればもろい皮膜を形成する傾向がある。

(1) ポリチロジン固定布の照射

次の2種の溶液 50cc にスフ白布 (径15cm) 2枚を浸漬し、静かに蒸発させながら、ポリチロジンおよびトリプトファンをできるだけ布に固定させる。

a. ポリチロジン 0.1g/50cc アルコール

b. ポリチロジン 0.1g, トリプトファン0.005g/50cc アルコール

布1枚は約2gであるから、均一にことごとく固定したとすれば、布のポリチロジン含量は約2.5%, トリプトファンは約0.125% (チロジンの $\frac{1}{80}$) に当る。そのまま風乾後、AtlasのFade-O-meter 30hrで照射した。照射布および対照布の一部で黄褐変度、Neubauer-Rhode 反応、キサントプロテン反応、Millon 反応およびNessler 反応を前報の如く布上で検した。

(2) 照射ポリチロジンのチロジン基の消長

照射布の他の一部を用い、同一布から照射部分と無照射部分とを切りとり1.1g宛のサンプルをつくる。これをソックスレー抽出器でエタノールを用いて10hr浸出し、浸出液は一旦蒸発乾固して蒸留水を加えて加温抽出し、これを1ccに濃縮した。その0.01ccをとりペーパークロマトグラフにより水溶性のニンヒドリン発色物質の有無を検した。この残渣は6N塩酸で完全加水分解して3ccに濃縮し、濃縮液の一定量(0.006, 0.01, 0.016cc)を供試し同じくペーパークロマトグラフによりニンヒドリンで顕色した。展開剤はいずれもブタノール・酢酸・水(4:1:1)である。

(3) 照射ポリチロジンの分解生成物の検索

照射および無照射ポリチロジンの加水分解液については、その展開後別に次の顕色剤³⁾を噴霧して顕色させ各種分解生成物を検索した。なお括弧内は検索目標物質である。

i. B. P. B. の0.1%メタノール溶液 (酸性物質)

ii. ニンヒドリンブタノール溶液, 110°C 5分 (イミノ酸)

iii. Millon試薬 (チロジン性フェノール)

iv. 1%塩化鉄溶液 (フェノール性物質)

v. Ehrlich 試薬 (インドール化合物)

vi. 赤血塩溶液 (DOPA)

vii. Pauli ジアゾ試薬 (芳香族アミンおよびイミダゾール系物質)

3. 実験結果

(1) 第1表の如く照射によるポリチロジンの黄褐変度およびNeubauer-Rhode 反応は極めて軽微であってほとんど問題にならぬが、微量のトリプトファンを加えると黄褐変度、Neubauer-Rhode 反応ともいずれも著るしくなる。またNeubauer 反応による呈色もトリプトファン添加区は無添加区に比し著るしく呈色する。これらの3点はトリプトファン添加区が絹布と全く一致するところである。絹の場合はキサントプロテン反応は照射区で陰性となるのであるが、この点は本実験では不明瞭でむしろ照射区が若干呈色が強い位である。またMillon反応によってもポリチロジン自体が非常に鈍感であるので判定しがたかった。いずれにしてもポリチロジン単独では絹と共通する反応はほとんど認められない。

(2) 温水抽出液のペーパークロマトグラムはトリプトファン添加無照射区にトリプトファンの小斑点を認めるだけで、他にニンヒドリンで発色するものを認めない。すなわちポリチロジンが照射によって分解し、水溶性低級ペプチッドまたはアミノ酸になることは一

第1表 ポリチロジン固定布の諸反応の照射による変化

		黄褐変度	Neubauer-Rhode 反応	キサントプロテン 反応	Millon 反応	Nessler 反応
ポリチロジン	無照射	—	黄色	淡黄色	変化を認めず	淡黄色
	照射	極めて軽微	変化を認めず	やや濃い黄色	わずかに黄色	淡褐色
{ ポリチロジン トリプトファン	無照射	—	やや濃い黄色	淡黄色	黄色	淡黄色
	照射	著るしく着色	濃紫青色	黄褐色	淡紅色	濃褐色

応ないと考えてよい。

	SAMPLE	R _f										
		0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7			
POLY TYROSINE	D	x										
	L	x										
	D	x										
	L	x										
	D	x										
	L	x										
POLY TYROSINE TRYPTOPHAN	D	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	L	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	D	x										
	L	x										
	D	x										
	L	x										

D...non-exposed, L...exposed to light

Fig. 1

温水抽出残渣の塩酸加水分解液のクロマトグラムは第1図の通りである。図示の如く遊離チロジンの場合と異なり、ポリチロジンの光変化は極めて著しい。すなわち酸分解によって得られた構成アミノ酸としては、チロジンと同じ R_f の斑点以外には検出されぬが、その量は急速に減少する。トリプトファンを添加した際の変化は複雑となり、供試料 0.016cc では多数のニンヒドリン呈色物質がえられるが、チロジン自体の変化は却って阻止されるようである。供試量 0.016cc の

第 2 表
各種呈色試薬による光分解生成物の検出

試 薬	検 出 目 標	斑 点 数	
		無照射	照 射
ニンヒドリン ブタノール溶液	チロジン, アラニン, セリンその他のアミノ酸	1	—
ニンヒドリン ブタノール溶液 (110° 5分)	イミノ酸 (6-オキシインドール α -カルボン酸)	—	—
赤血塩溶液	DOPA	—	—
ブロムフェノール ブルーメタノール 溶 液	6-オキシインドール α -カルボン酸, アスパラギン酸その他の酸性物質	—	—
Millon 試 薬	チロジン	1	—
1%塩化鉄溶液	フェノール性物質	—	—
Ehrlich 試 薬	インドール核	—	—
Pauli ジ ア ゾ 試 薬	イミダゾール系物質 (橙)	—	2
	芳香族アミン (赤橙)	1	2

		R _f					
		0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
MILLON'S REAGENT	D	x					
	L	x					
PAULI'S REAGENT	D	x					
	L	x					

Red orange Orange

Fig. 2

場合無照射区でもチロジン、トリプトファン以外の斑点が認められるのは、酸分解の際にトリプトファンが一部分解したためであって、照射区ではこれ以外の斑点が明瞭に認められる。なお Neubauer-Rhode 反応で呈色する物質はトリプトファン添加区の無照射区でトリプトファン R_f 位置に認められるだけであった。

(3) 図の如く無照射区では Millon試薬およびPauliのジアゾ試薬によりチロジンを認めたのであるが、照射区では Millon 試薬でチロジンと認められる斑点があらわれない。したがって照射区の Pauli 試薬および前記ニンヒドリンで呈色するチロジン位置の斑点も必ずしもチロジン残存物とは言えず、部分的に変化した誘導体と考えられる。照射区においては Pauli 試薬による反応以外はすべて陰性である。文献によれば Pauli 試薬によりヒスチジンなどのイミダゾール系化合物は橙色に、フェノールおよび芳香族アミンは赤橙色に呈色すると言う。上の結果から見れば照射生成物としてチロジン性フェノール以外のフェノールもしくは芳香族アミンが2個 (R_f 0.42, 0.12) とイミダゾール系物質が2個 (R_f 0.33, 0.18) 生じたことになり、ポリチロジンの分解型式は予想したのと全く異なる方向をとっていることがわかる。

4. 考 察

チロジンは絹の黄褐変原因と見られているが、チロジン残基のみよりなるポリチロジンの照射実験の結果は、絹の場合と全く異なる。これに反して微量のトリプトファンを共存させると絹フィブロインの光変化と多数の点で一致点を見出すことから、絹の黄褐変原因はチロジン残基によるとするよりもトリプトファン残基にもとづくと考えた方が妥当である。

しかし本実験結果によるとチロジン自体も急速に分解していると見なされる。チロジンの光による変化についてはすでに前報に述べたが、赤堀氏⁹⁾らは遊離チ

Fig. 3

ロジンの場合とジペプチッドの場合とでは、かなり反応が異なることを認めた。すなわち合成グリニルチロジンの水溶液に交流水銀灯を一定時間照射すると、若干の不明物質とともに、グリニンおよびセリンが生成することを認めた。これに対し遊離チロジンの場合であるとセリン、グリニンの他にアラニン、DOPA、アスパラギン酸および若干の不明物質がえられる。このことから氏は遊離アミノ酸はかかる研究には蛋白モデル物質として適切でないと述べている。

チロジン、トリプトファン（インドール化合物）、チロジン含有ペプチッドならびに絹フィブロインの光分解で直接分離されたり、あるいは推定されたりした分解生成物に関する諸家の説を基礎として、可能性のあるポリチロジン光分解生成物およびその塩酸加水分解物を推定すると第3図の如くなる。

しかるに本実験ではこれらに相当する斑点をほとんど認めることができなかった。わずかに Pauli のジアゾ試薬によって顕色する4つの斑点のうち赤橙色に呈色する2斑点が(1)の芳香族アミンに相当するのではないかと推定される。ポリチロジンを固定したスフ布が照射によってトリプトファン添加区ほど著しくはないが、Nessler 反応陽性となる事実にかかるアミン類が生成していることを裏づけていると考えられる。

この結果はチロジンがペプチッド鎖中にある場合は、遊離状態の場合とはもちろん、ジペプチッドに含まれ

る場合とも光分解の様式は著しく異なることを推定させるに足るものである。なおチロジン残基のかかる変化によってポリチロジン分子全体の形態も変化していると考えられるがこの点については今後更に研究を重ねる予定である。

5. 総 括

絹その他の蛋白繊維が光によって黄褐変する現象は、蛋白中のチロジン残基の光分解によると信ぜられている。この点を確めるためにチロジンポリマーを合成し、これをスフ白

布に固定して照射したが、黄褐変微弱であり、かつ布上の Neubauer-Rhode 反応、キサントプロテン反応、Nessler 反応などは照射絹布と全く異なることを認めた。これに反し微量のトリプトファンを添加した区では黄褐変著しく諸呈色反応も類似してくるので、蛋白繊維の黄褐変は主としてトリプトファン基にもとづくものとするのが妥当である。なおポリチロジンのチロジン基は光によって急速に分解するが、その分解生成物は遊離チロジン、チロジン含有ジペプチッドなどの場合ならびに従来絹について推定されていた変化とはかなり異なり、チロジンがペプチッド鎖中にある場合は予期に反した分解過程をとる如く思われる。

終りにポリチロジン合成に御援助いただいた本学大和田悦郎助教授ならびに実験の一部を担当した今井其枝嬢に深謝する。本報文の要は昭和31年繊維学会秋季研究発表会で講演した。

文 献

- 1) 岡本；本誌，13，139（1957）
- 2) 野口順蔵；高分子化学，6，196（1949）
- 3) 大須賀昭夫；化学の領域，8，181（1954）
- 4) 赤堀四郎，谷久也，大泉千尋；農林省「絹の合成樹脂加工その他処理の研究（昭和28，29年度分）」113（1955）