速 報

補酵素 PQQ によるオクチルアミンの酸化的脱アミノ化反応
におよぼすレシチンの影響菊田 博茂・名窪 芳晃・中川 正俊・大城 芳樹
近畿大学理工学総合研究所 (〒577-8502 東大阪市小若江 3-4-1)Effects of Lecithin on the Oxidative Deamination of Octylamine
by Coenzyme PQQHiroshige KIKUTA, Yosiaki NAKUBO, Masatoshi NAKAGAWA, and Yoshiki OHSHIRO
Research Institute for Science and Technology, Kinki University
(3-4-1, Kowakae, Higashi-Osaka 577-8502)

Abstract : Lecithin was found to be a better reaction site than CTAB micellar system for the oxidative deamination of octylamine by coenzyme PQQ under an aerobic conditions. The bimolecular layer produced by lecithin may be considered not to incorporate a substrate into the micellar hydrophobic core, in contrast to CTAB micellar system.

Key words : oxidation, PQQ, lecithin, alkylamine, bimolecular layer

1 緒 言

キノプロテインの補酵素の一つとして PQQ (ピロロキノリンキノン) の構造¹⁾が確定してから、その触媒的機能の解明が注目され、生体関連基質に対して、好気性条件下で PQQ の酸化還元サイクル²⁾が明らかにされてきた。特にアミン類に対する反応機構が詳細に検討された³⁾。

アミン類の酸化的脱水素反応では、ミセル表面が良好な反応の場を提供していることが明らかにされ、ヘキサデシルトリメチルアンモニウム=プロミド (CTAB) ミセルの反応促進効果が報告されている^{4),5)}。

しかし、CTAB ミセルを用いた酸化的脱アミノ化反応では、アルキルアミンに対する反応性が低いといった問題点がみられた。

本研究では、一枚膜リポソームとして脂質二分子膜を形成することが知られているレシチンに着目し、補酵素 PQQ によるアルキルアミンの酸化的脱アミノ化反応におけるレシチンと CTAB 両者の触媒作用を比較検討した。

2 実 験

基質のアルキルアミンとしてオクチルアミンを使用した。

連絡者：菊田博茂

100 mL の三角フラスコに、オクチルアミン 1.54 mmol, PQQ 0.006 mmol, ホウ酸緩衝液 (pH 9.18⁶⁾) 30 mL および所定量 (0.04 mmol および 0.08 mmol) のレシチンを入れ、空気存在下、室温で所定時間 (1~24 時間) 攪拌しながら反応させた。反応終了後、酸化生成物のオクタナールと未反応オクチルアミンで形成しているイミンを加水分解させるため、系を酸性 (pH 2) にし 1 時間還流加熱した。冷却後、ヘキサンで生成オクタナールを抽出し、濃縮後ガスクロマトグラフィーにより同定定量した。

比較のために、オクチルアミン (1.54 mmol) と CTAB (0.08 mmol), ならびにベンジルアミン (1.87 mmol) とレシチン (0.04 mmol) を用いて同条件下で 24 時間反応させた。

3 結果および考察

PQQ によるオクチルアミンの酸化的脱アミノ化反応におよぼすレシチンの影響を Table 1 に示した。

オクチルアミンの反応時間を 1 時間、4 時間、24 時間とし、ターンオーバー数を比較した結果、反応は 4 時間後に飽和に達していることがわかった。レシチンを 0.08 mmol 加えた方が、0.04 mmol の時よりも反応性が高く、レシチンを 0.08 mmol 加えて 24 時間反応させた時のターンオーバー数は最も高い 98.4 であった。

ベンジルアミンの CTAB ミセル表面での PQQ によ

Table 1 Effects of Lecithin on the Oxidation of Octylamine

Lecithin (mmol)	Reaction Time (h)	Yield ^a (%)	Turnover No. ^b
0.04	1	9.5	24.6
0.04	4	16.0	41.0
0.04	24	15.5	39.3
0.04	24 ^c	27.0	68.9
0.08	1	23.0	59.0
0.08	4	35.0	90.2
0.08	24	38.5	98.4

a : Yield of octanal.

b : (Product mmol)/(PQQ mmol) ; based on PQQ.

c : Ultrasonic irradiation was carried out for 0.5 h prior to the reaction.

る酸化反応のターンオーバー数については、すでに大城らによって 54.5 であると報告³⁾されているが、今回おこなったオクチルアミンの CTAB ミセル系での同じ条件下の反応のターンオーバー数は 7.7 と低かった。ところが、ベンジルアミンのレシチン系での反応のターンオーバー数は 49.2 で、CTAB ミセル系での反応と大きな差は認められなかった。

この理由としてはつぎのような要因が複合的に絡んでいるものと思われる。すなわち、CTAB 系では、オクチルアミンの α 位プロトンの方がベンジルアミンの α 位プロトンよりも酸性度が低いこと⁶⁾が影響し、また、レシチン系では、オクチルアミンの疎水基と界面活性剤の疎水基との大きな親和性が、基質の反応場への配向吸着の効率に大きく影響したことなどである。さらに、オクチルアミンについては、反応に関与しない CTAB ミセ

ル内部に取り込まれる確率が高まるのに対し、レシチンの二分子膜系ではそれが避けられるのも、触媒効率が高まった一因ではないかと考えられる。

レシチンを 0.04 mmol 用いたオクチルアミンの反応で、超音波処理をしなかった場合と、反応開始前に反応系を 30 分間超音波照射した場合を比べると、前者のターンオーバー数が 39.3 に対し、後者のそれは 68.9 と大きく増加した。レシチンによる二分子膜としては、系を超音波処理しなかった場合は多重層リポソームで、超音波処理によって一枚膜リポソームになる⁷⁾ことが知られている。このことも、反応に大きく影響しているように思われるが、現在のところその理由は明らかでない。

レシチンによる酸化反応の加速効果の詳細、ならびに基質と反応場の相関関係について現在検討中である。

謝 辞

本研究は文部省科学研究費補助金（基盤研究 C 0965 0966）の援助によって遂行した。記して謝意を表する。（受付：1997 年 11 月 11 日，受理：1998 年 4 月 13 日）

文 献

- 1) S.A. Salisbury, H.S. Forrest, W.B.T. Cruse, O. Kennard, *Nature*, **280**, 843 (1979).
- 2) Y. Ohshiro, S. Itoh, *Bioorg. Chem.*, **19**, 169 (1991).
- 3) Y. Ohshiro, S. Itoh et al., *Tetrahedron Lett.* **24**, 3465 (1983).
- 4) S. Itoh, Y. Kitamura, Y. Ohshiro, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **35**, 91 (1986).
- 5) S. Itoh, M. Mure, Y. Ohshiro, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **36**, 882 (1987).
- 6) S. Itoh, M. Mure, N. Ogino, Y. Ohshiro, *J. Org. Chem.*, **56**, 6857 (1991).
- 7) 野島庄七, 砂本順三, 井上圭三編, “リポソーム” 南江堂 (1988) p. 21.

[ノート] エイコサペンタエン酸のメチルエステル及び トリグリセリドの自動酸化で生成する モノヒドロペルオキシド位置異性体

河津 智絵・遠藤 泰志・藤本健四郎

東北大学農学部応用生物化学科 (〒981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1)

エイコサペンタエン酸 (EPA) メチルエステルと 3 種類の EPA 含有トリグリセリド (EEE, triecosapentaenoylglycerol ; EEP, 1,2(or 2,3)-dieicosapentaenoyl-3 (or 1)-palmitoylglycerol ; EPP, 1,2 (or 2,3)-di-palmitoyl-3 (or 1)-eicosapentaenoylglycerol) を自動酸化し, それらのモノヒドロペルオキシド (MHP) 異性体を順相系高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析した。EPA メチルエステルの自動酸化において, 8 種類の MHP 異性体 (18-, 15-, 14-, 12-, 11-, 9-, 8-, 5-,) が検出され, 主成分は 18-MHP であった。EEE, EEP, EPP の自動酸化においても同様に 8 種類の MHP 異性体の存在が確認できたが, 5-MHP は生成されにくい傾向にあった。これらの結果から, 脂質の構造が EPA の MHP 異性体組成に影響を与えていることが明らかとなった。

(連絡者: 河津 智絵) Vol. 47, No. 7, 709 (1998)

[速報] 補酵素 PQQ によるオクチルアミンの酸化的 脱アミノ化反応におよぼすレシチンの影響

菊田 博茂・名窪 芳晃・中川 正俊・大城 芳樹

近畿大学理工学総合研究所 (〒577-8502 東大阪市小若江 3-4-1)

補酵素 PQQ による好気性条件下でのオクチルアミンの酸化的脱アミノ化反応において, レシチンは CTAB ミセルに比べてより効率的な反応場を形成することを明らかにした。レシチンによって形成される二分子膜では, CTAB ミセルの場合のようなミセルの疎水場内部への基質の取り込みが避けられたためと推察される。

(連絡者: 菊田 博茂) Vol. 47, No. 7, 713 (1998)