

胆汁色素の分光化学的研究

第 2 編

Biliverdin, Bilirubin 及びその分解によつて生ずる各種色素の分光化学的諸性状について

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂教授)
指導: 九州大学山岡教授

日 伝 二 雄

〔昭和 34 年 9 月 30 日受稿〕

緒 言

Biliverdin が血色素分解時 Bilirubin の前段階物質として生ずることは, Warburg, O. & Negelein の "grünes Haemin" の研究以来, Fischer, H., Lemberg, R. ら及びその門下の研究により明かにされている。一方 Biliverdin は室温下に Bilirubin を放置することにより容易に生ずることも一般に知られている。Fischer, H. は Bilirubin を室温下に放置すれば Biliverdin を経て Propentdyopent へと分解する可能性をも示唆し, 教室の岩原 (定) は Propentdyopent の性状よりその一部を明かにしている。

然しながら分光化学的にこれら諸性状の検討は殆んどなされていないので, 著者は先ず Biliverdin, Bilirubin の吸収スペクトルに検討を加えた後, その分解過程を分光化学的に検討し, 興味ある成績をえたので報告する。

実験材料並びに方法

1. Biliverdin の調製法

牛血液より Engel, M. 法により血色素液を調製し, これに *l*-ascorbin 酸と分子酸素を作用させ, 生ずる Verdohaemoglobin より分離抽出して調製したものと及び家兎胆汁より教室の岩田の方法で分離抽出したものを使用した。

2. Bilirubin

Kodak 製結晶 Bilirubin を使用した。

3. Chromatograph 法

吸着剤は Silica gel を用い, 展開剤には Chloroform, 醋酸エチル, 5% 塩酸等を夫々使用した。

4. 吸収スペクトルの測定

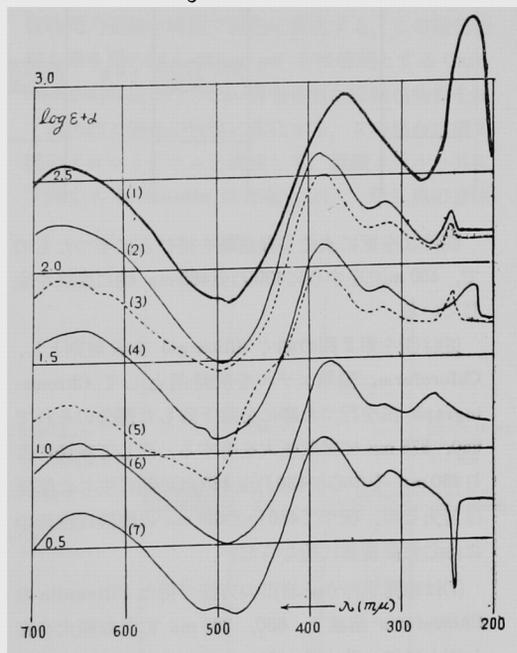
島津製 QB-50 型光電分光光度計を使用した。

実験成績並びに考按

1. Biliverdin

Biliverdin の吸収スペクトルは第 1 図の如くであ

Fig. 1 Biliverdin



る。即ち

(1)は血色素より Engel, M. 法により得た Biliverdin の 0.5% 塩酸溶液のそれで, 666, 364 mμ に吸収極大を有する。なお 222 mμ の吸収極大は第 1 編でのべた如く溶媒質に非特異的な吸収線で除外視

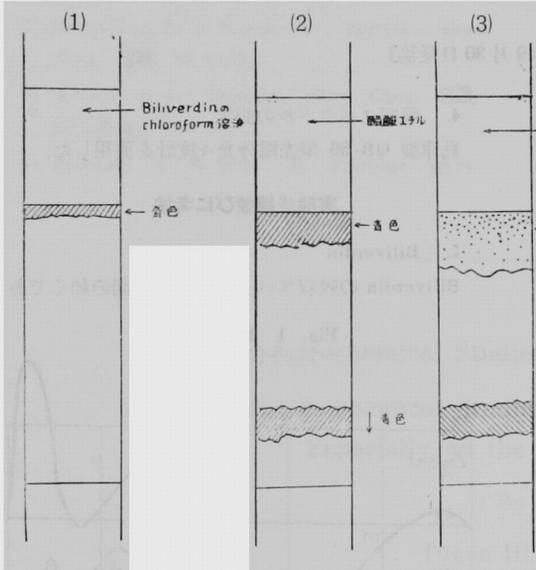
される。

(2)は(1)を Chloroform に移したもので、吸収極大は670, 384 m μ に移動する。

(3)は(2)を数回水洗したもので長波長側の吸収が比較的小さくなり、多少吸収曲線の変形がみられる。

(4)は(2)を蒸発乾固した後 Methanol に溶かしたもので、640, 382 m μ に吸収極大を有する。Lemberg, R. によれば Biliverdin の Methanol 溶液は640, 392 m μ に吸収極大を示すといひ、紫外部の吸収極大に多少のずれがほぼ一致したこととなる。

Fig. 2



(5)は(3)を更に水洗し緑色調を帯びるに至つたもので、450 m μ を中心に430乃至480 m μ 間に膨隆を生じている。

(6)は(5)を第2図の如く Silica-gel を吸着剤とし、Chloroform, 醋酸エチルを展開剤として Chromatograph 法を行つた際に分離下降した部分のそれで650, 378 m μ に吸収極大を有する。而して本法により450 m μ を中心に430乃至480 m μ 間に生じた膨隆は消失した。従つて430乃至480 m μ の膨隆は操作中に生じた副産物に他ならない。

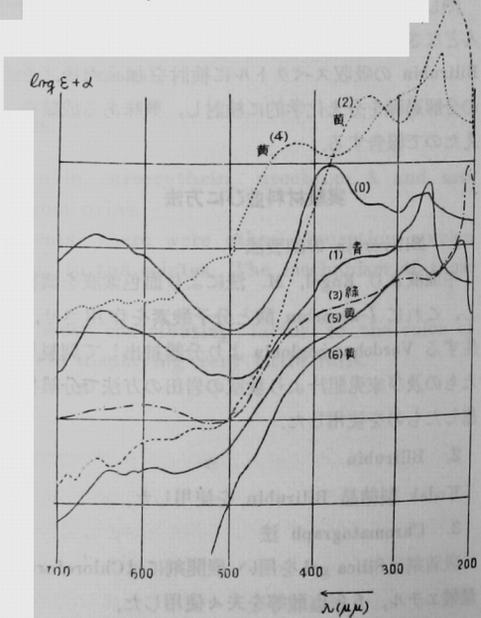
(7)は家兎胆汁から岩田の方法で得た Biliverdin の Chloroform 溶液で、650, 380 m μ に吸収極大を有し(6)とほぼ一致する。而して(2)とその吸収極大が多少相違するのは(2)においてなお塩酸の混入があり、塩酸複塩の形成がみられたためと思われ、その水洗による(3)が変形はするが(6), (7)に近づくのはそれを裏証するものと思われる。

以上のように、Biliverdin は比較的不安定な物質で、単に水洗するだけで分解し吸収スペクトルは形を変化する。0.5%塩酸で洗つても同様であるから pH の変化によるわけではない。Biliverdin を取扱つている際、屢々肉眼的に微妙な色調の変化を経験するが、以上の吸収スペクトルの変化はそれを説明するわけである。なお、Biliverdin の Chloroform 溶液にそれぞれ等量の Aceton 及び Alcohol を加えた場合、吸収スペクトルには有意の差意を認めなかつた。

2. Biliverdin から誘導された色素

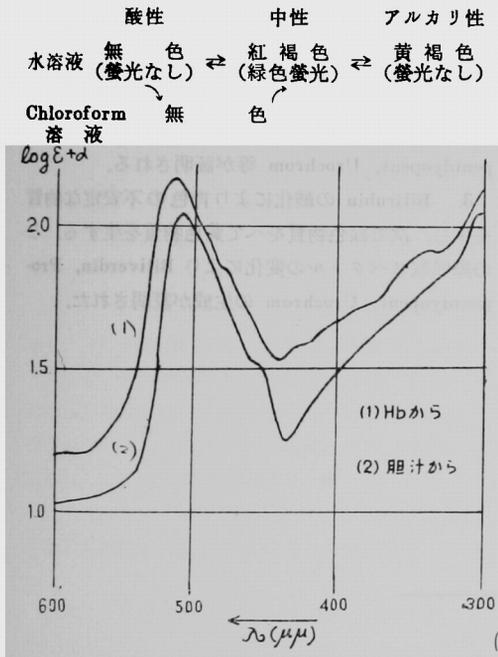
Biliverdin の Chloroform 溶液を水洗して一部分分解したものを Silica-gel を用いて第2図のように Chromatograph 法を行つと、上述のように650, 378 m μ に吸収極大をもつ Biliverdin 第3図(0)が分離下降するが、ある程度水洗が強い場合には第3図(1)の如き648, 600, 380, 350 m μ 等の不明確な吸収スペクトルをもつ青色物質が分離下降する。この物質は Biliverdin 648, 380 m μ の外にその分解産物を含有することは明かである。上端に固着した青色物質は既に変化して不安定なもので、5%塩酸で容易に緑色に変化し下降中更に黄色に変化する。この黄色物質は第3図(2)の吸収スペクトルを示し、

Fig. 3 Bilirubinoid の分解過程



650 m μ の吸収極大は僅かに残すが、380 m μ のそれは消失し、510 m μ 附近より短波長側へ急峻に上昇し、338 m μ 附近に極大を示した。この黄色物質は時間の経過と共に(5)、(6)に変化し、これは第1編で明かにした Urochrom B のそれに近似した。又(1)、(5)において282、276 m μ 附近の吸収をみとめたが、これは Propentdyopent のそれに一致する。なお Biliverdin を水洗中、時として生成されて水中に移行して来る紅褐色の色素があるが、これは第4図の

Fig. 4 Choletelin

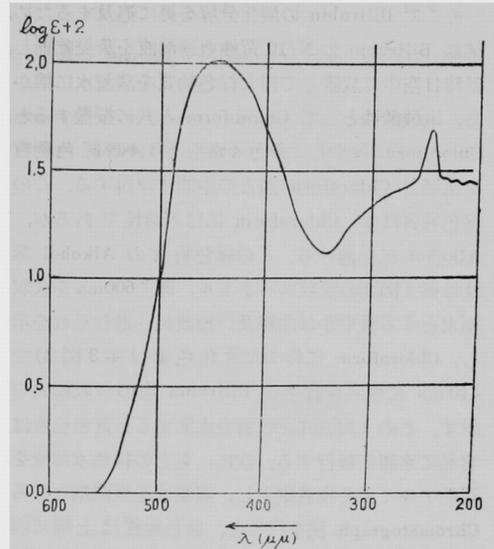


如く綠色螢光をもち、酸性にすれば無色に、アルカリ性にすれば黄褐色に変じ、螢光を消失し Chloroform に抽出してその吸収スペクトルを描くと、血色素よりえた Biliverdin を水洗中に生じたものは514、胆汁より抽出したそれより生じたものは508 m μ に吸収極大をもち、ほぼ同一の吸収曲線を示した。即ちこれらは Choletelin である。斯くて Biliverdin は容易に酸化されて Choletelin へ、更には分解されて Propentdyopent、Urochrom B へと分解される。

3. Bilirubin

結晶 Bilirubin の Chloroform 溶液の吸収スペクトルは第5図の如く、450 m μ に単一な吸収極大をもつ。これは教室岩田、

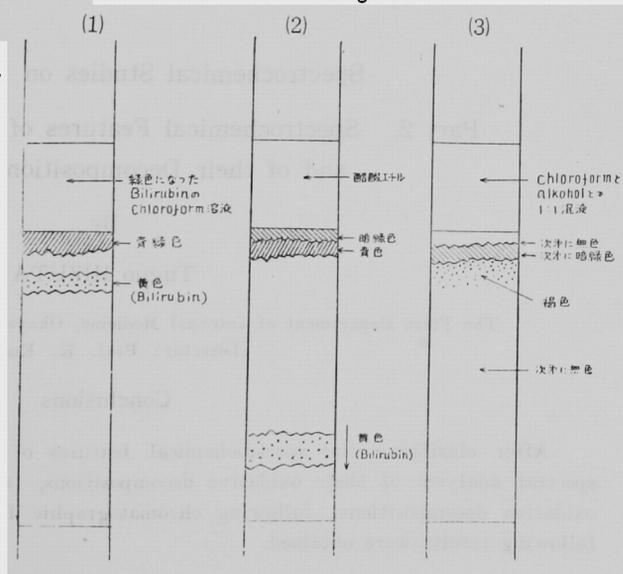
Fig. 5 Bilirubin (Kodak) in Chloroform



吉岡の成績に一致する。なお240 m μ の吸収極大は第1編でふれた溶質に非特異的な吸収線で、除外視される。

4. Bilirubin の Chloroform 溶液を放置すると数時間乃至数十時間で綠色に変化する。この綠色物質を第6図の如く Silica-gel を吸着剤とする Chromatograph 法を行うと、青色物質が暗綠色物質を経て褐色次で無色の物質に変化する。この場合は第2図のクロマトグラムと比較して、醋酸エチルと共に下降する Biliverdin は存在しない。即ち真の意味

Fig. 6



の安定な Biliverdin は出来ていない。

そこで Bilirubin の酸化分解を更に追及するため、結晶 Bilirubin の N/10 苛性曹達溶液を蒸発乾固し、長時間日空中に放置して得た緑色物質を蒸留水に溶かし、塩酸酸性として Chloroform と共に振盪すると、Chloroform は少しく黄色々素をとり、暗緑色物質が水層と Chloroform 層との中間に浮遊する。この緑色物質は水、Chloroform には不溶性であるが、Alkohol には溶ける。この緑色物質の Alkohol 溶液は第 3 図(3)の吸収スペクトル、即ち $600\text{m}\mu$ を吸収極大とする緩やかな曲線及び短波長へ進むそれを示し、Chloroform に移った黄色色素は第 3 図(4)で $410\text{m}\mu$ に極大を有する Bilirubin 塩の吸収極大を示す。この Chloroform 層を水洗すると黄色色素は容易に水層に移行する。次に、もとの緑色水溶液を活性アルミナを吸着剤とし、蒸留水を展開剤とする Chromatograph 法を行うと、緑色物質は上端に固着して不動で、黄色物質が速かに下降する。この黄色水溶液のスペクトルは第 3 図(5)で $628, 584\text{m}\mu$ に小さい吸収極大をもち、 $540\text{m}\mu$ より短波長側へ上昇し 440 乃至 $370\text{m}\mu$ に僅かに膨隆を示し更に $278\text{m}\mu$ に吸収を示した。 $628\text{m}\mu$ は Biliverdin の極大であり、 $278\text{m}\mu$ は Propentdyopent のそれで、他は Bilifuscin のそれに近似する。更に(1), (3), (5)の吸収スペクトルを比較すると、明らかに類似性を認める事が出来、同一物質の一連の変化の過程を示すも

のと考えられる。第 3 図(6)は(5)を硫酸アンモンで過飽和として約 1 時間放置し、生じた洗滌を除去したものである。

斯くて Bilirubin は酸化されて Biliverdin, Propentdyopent, Urochrom への分解を示すものと考えられる。

結 論

Biliverdin, Bilirubin の分光化学的諸性状を明かにすると共に、その酸化分解産物を Chromatograph 法により分割して、吸収スペクトルによる解析を行い、次の結果をえた。

1. Biliverdin は不安定な物質で、水洗することにより容易に副産物を生ずる。
2. Biliverdin の酸化により、Choletelin, Propentdyopent, Urochrom 等が証明される。
3. Bilirubin の酸化により青色の不安定な物質を生じ、次で緑色物質をへて黄色物質を生ずる。この際吸収スペクトルの変化により Biliverdin, Propentdyopent, Urochrom の生成が証明された。

Spectrochemical Studies on Bile Pigment

Part 2. Spectrochemical Features of Biliverdin, Bilirubin and of their Decomposition Pigments.

By

Tuguo HIZUTA

The First Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School.
(Director: Prof. K. Kosaka)

Conclusions

After clarifying the spectrochemical features of biliverdin and bilirubin, absorption spectral analyses of their oxidative decompositions, absorption spectral analyses of their oxidative decompositions, following chromatographic fractions, were performed, and the following results were obtained.

1. As biliverdin was unstable chemically, accessory products were easily formed by washing bilirubin with water.

2. Choletelin, propentdyopent urochron etc, were proved, following the oxidation of biliverdin,

3. A blue colored chemically unstable substance was present after the oxidation of bilirubin, at which time the formations of biliverdin, propentdyopent and urochrom were proved in the absorption spectra.
