

液体クロマトグラフィーによる脳グアニ ジノ化合物の分析に関する研究

Studies on guanidino compounds in brain
by automatic liquid chromatography

岡山大学医学部脳代謝研究施設機能生化学部門 (主任: 森 昭胤教授)

細 谷 光 彦

[昭和48年8月12日受稿]

緒 言

脳組織中にはarginineのほか, glycoyamine (guanidinoacetic acid)¹⁾²⁾, γ -guanidinobutyric acid³⁾⁴⁾, taurocyamine⁵⁾などのグアニジノ化合物が存在することが知られており, また1969年, 教室の大楠および森⁶⁾はウシ脳組織中に α -N-acetyl-L-arginine を発見している。

森らはここ数年来, 脳の機能と脳内グアニジノ化合物代謝との関係について研究を行っている^{7) 8)}, 最近とくに γ -guanidinobutyric acid⁹⁾¹⁰⁾, taurocyamine¹¹⁾¹²⁾あるいは α -N-acetyl-L-arginine¹³⁾などが脳内に一定濃度にまで高まった場合には, それぞれ特異な痙攣発作をおこすことが明らかにされるにおよび, とくに脳内グアニジノ化合物の代謝的研究が必要となってきた。

現在までグアニジノ化合物の系統的分離定量は一般にpaper chromatography法にもとづいて行なわれるものが主であり, 1960年 Blass⁵⁾もそれにもとづいてラットおよびモルモットの脳組織を分析しており, arginine, γ -guanidinobutyric acid および glycoyamine を確認するほか, taurocyamine の脳内に存在することをはじめて報告している。しかし, 一般的にみて, これら paper chromatography にもとづく方法は分離が完全でなく, 再現性にも乏しく, また坂口反応それ自身の不安定性のため測定値の正確さに欠けることはいうまでもない。

最近, われわれ¹⁴⁾は, これらのグアニジノ化合物をより正確, かつ系統的に分離定量するために, イオ

ン交換樹脂 LCR-I あるいは Aminex A-5 を用いた液体クロマトグラフに坂口反応試薬を導入したグアニジノ化合物自動分析装置を作成することに成功したので, ここでは本装置を用いて動物脳試料中のグアニジノ化合物の系統的分離定量を行なってえられた諸知見を報告する。

実験方法

1 実験動物

主として体重2~3kgの正常ウサギを使用した。その他比較研究などのため, マウス(dd系およびEI系)ラット(Wister系) およびモルモットを使用した。

2 試料の調製

上記の実験動物より摘出した組織をただちに液体窒素中に投入し, 凍結固定し, 秤量後約10倍量の1%ピクリン酸液を加え homogenize し, 遠心分離により除蛋白後, 上清を Dowex 1×8 (Cl型) カラムを通じてピクリン酸を除き, 溶出液を減圧濃縮したのち, 0.01N 塩酸溶液に溶解したものを分析試料とした。

3 グアニジノ化合物自動分析装置

われわれによって開発されたグアニジノ化合物自動分析法¹⁴⁾によるが, 液体クロマトグラフは日本電子株式会社製 JLC-3 BC II 型を使用した。その構成の概略はつぎのごとくである。

分離系は8mm (diameter) ×150mm (length) のカラムを使用し, イオン交換樹脂は LCR-1 (日本電子) あるいは Aminex A-5 (Bio-Rad Laboratories) を使用した。分析試料は試料添加用パイプよ

り1.0ml注入し、コックを切りかえて分離系に導入したのち、まずpH4.26のクエン酸緩衝液にて溶出するが、LCR-1の場合は30分後、Amine×A-5の場合は45分後にpH5.28のクエン酸緩衝液に切りかえた。この操作はあらかじめプログラマーにセットしておくことができる。カラム外筒の温度は全過程を通じて50℃に保った。流量は溶離液0.8、水酸化ナトリウム液（坂口反応第1液）1.8、オキシシン液（坂口反応第2液）1.8、次亜臭素酸ソーダ液（坂口反応第3液）1.8ml/minに設定した〔図1〕。図1はそれらの、flow diagramである。なお、反応は氷冷下で行なっている。

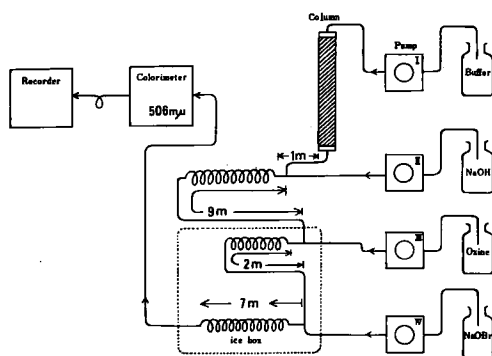


Fig. 1 Flow Diagram of Automatic Guanidino Compound Analyser.

4. 試 薬

1) pH4.26クエン酸緩衝液 (0.38N)

クエン酸ソーダ・2H ₂ O	379g
濃塩酸	152ml
カプリル酸	1ml
Brij-35溶液 (1g/2ml)	20ml
全量: 蒸留水を加えて	10l

2) pH5.28クエン酸緩衝液 (0.35N)

クエン酸ソーダ・2H ₂ O	343g
濃塩酸	65ml
カプリル酸	1ml
Brij-35溶液 (1g/2ml)	20ml
全量: 蒸留水を加えて	10l

3) 0.01N 塩酸 (試料溶解用)

4) 0.2 N 水酸化ナトリウム液: カラム洗浄用

5) 5% 水酸化ナトリウム液 (坂口反応第1液)

6) 0.02% オキシシン溶液 (坂口反応第2液)

オキシシン0.2gをエタノール50mlに溶解後、蒸留水を加えて全量1lとする。

7) 次亜臭素酸ソーダ溶液 (坂口反応第3液)

臭素25gを5%水酸化ナトリウム液1.5lに溶解し冷暗所に保存(約1週間使用可能)

8) 標準試料

a) taurocyamine; taurineとS-methylisothiourea H₂SO₄とから合成した¹⁵⁾ mp 272℃

b) glycoeyamine; 東京化成製品

c) N-acetyl-L-arginine; L-arginineをBergmann¹⁶⁾の方法でacetyl化して精製した。mp 270℃

d) β-guanidinopropionic acid; β-alanineに同モルのS-methylisothiourea H₂SO₄を加え、濃アンモニア水中にて50℃1時間放置後、さらにボンベンロール中に2週間放置、減圧乾固後、再び水に溶かし、Amberlite CG 120 (H型)のカラムに吸着せしめ、2-Nのアンモニア水にて脱着、減圧乾固後、少量の熱水に溶かし放冷後、エタノールを加えて放置、析出する結晶をさらに同様の方法で再結晶を繰返した。

mp. 218—221℃

分析値, 実験値C36.78, H6.96, N32.50%

理論値C₄H₈O₂N₃としてC36.62, H6.99N32.04%

e) γ-guanidino-β-hydroxybutyric acid HCl; 小野薬品工業株式会社より恵与された¹⁶⁾。

mp. 152—3℃

f) γ-guanidinobutyric acid; γ-アミノ酪酸とS-methyl-isothiourea H₂SO₄とから合成した¹⁷⁾。mp. 245℃

g) arginine; 和光純薬製品

h) γ-hydroxyarginine; Talbotら¹⁸⁾の方法にしたがいhydroxyornithineを合成したのち、S-methyl-isothiourea法にしたがい、これのguanidine化を行なった。

mp. 173—5℃

j) γ-guanidinobutyramide; γ-guanidinobutyric acidよりγ-guanidinobutyric acid methylester塩酸塩²⁰⁾を合成し、これをメタノール中に溶かしたのち、乾燥NH₃ガスを飽和させ、封管中で60日間反応させたのち減圧濃縮するとγ-guanidinobutyramide HClとNH₄Clの混合物が残るが、Dowex 2×4でCl⁻を除き、減圧濃縮してNH₃を完全に除くと、粗γ-guanidinobutyramideの沈澱が生ずるから、これを水に溶かし、稀塩酸でpH5.4にし、減圧濃縮後、エタノールで洗浄してγ-guanidinobutyramide塩酸塩がえられた。mp.105—9℃。分析値, 実験値 C32.39

H7.14, N30.65 (%) ; 理論値 $C_2H_{12}N_4O \cdot HCl$

として, C33.24, H7.20, N31.02 (%)

その他, α -N-acetyl- γ -hydroxyarginine²⁰⁾, agmatine (和光純薬), canavanine (和光純薬) などを使用した。

以上の標準試料はそれぞれ $0.1 \mu\text{mole/ml}$ になるとく $0.01N$ 塩酸溶液に混合溶解せしめ, -20°C に凍結保存し, 必要に応じ溶解して使用した。

5. 計算

記録用紙に記録されたピークの面積を直接プランメーターで測定し, 標準試料と検体試料との面積比から, それぞれの分析値を計算した。

実験成績

1. 標準試料の溶出 pattern について

taurocyamine, glycoyamine, α -N-acetyl-L-arginine, β -guanidinopropionic acid, γ -guanidino- β -hydroxybutyric acid, γ -guanidino-butyric acid, arginine, γ -hydroxyarginine および γ -guanidinobutyramide 各 $0.1 \mu\text{mole/ml}$ を含む標準試料を既述の条件にて, 液体クロマトグラフィーを行なったところ, 図2に示すごとく溶出記録がえられた。このさい, それぞれの単一試料についてまったく同一条件にて分析操作を行なって, これらの各々の peak がそれぞれ図に示すごとくグアニジノ化合物と対応することを知った。

上述の標準試料のほか, 豆類についてその存在が知られている canavanine²²⁾, agmatine²³⁾ およびヒト胎盤から発見された α -N-acetyl- γ -hydroxy-L-arginine²⁰⁾ についてその溶出 peak の位置をしらべた

ところ, agmatine は arginine より約60分おけて出現し, α -N-acetyl- γ -hydroxy-L-arginine の peak は N-acetylarginine のすぐ後に一部重なって出現した。しかし canavanine は arginine の溶出後さらに2時間観察したがその peak は出現しなかった。その他, 塩酸 guanidine の peak も canavanine と同様の観察時間内では出なかった。

ついで, 脳組織中に比較的多量に含まれ, 実際の測定にさいして問題となる taurocyamine, γ -guanidinobutyric acid, arginine のほか glycoyamine について calibration curve を作成した。

図3. A, B, C および D はその実験結果を示すが, いずれの場合も $0 \sim 0.2 \mu\text{moles}$ の間で, 各 peak の面積とそれぞれの含有量の間には直線関係が成立した。

2. ウサギ大脳組織グアニジノ化合物の分離同定

正常ウサギ脳試料について, 同様にグアニジノ化合物の分析を行なったところ, 図4に示すごとく, 標準試料についての分析例から考えて, taurocyamine, glycoyamine, γ -guanidinobutyric acid および arginine と一致する諸 peak が出現した。このさい, これらの諸 peak に一致する溶出液を一部分, 反応液を加える以前にとり出し, thin layer chromatography により, 事実それぞれに対応する peak であることを確認することができた (表1)。

これらグアニジノ化合物の測定値を示せば表2のごとくである。

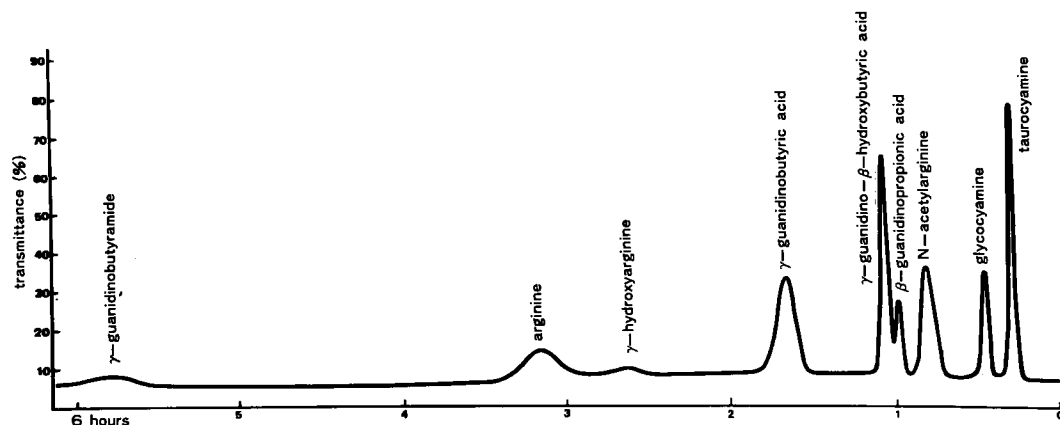


Fig. 2 Standard Sample of Guanidino Compounds ($0.1 \mu\text{moles/ml}$) by the Automatic Analysing System Using LCR-1.

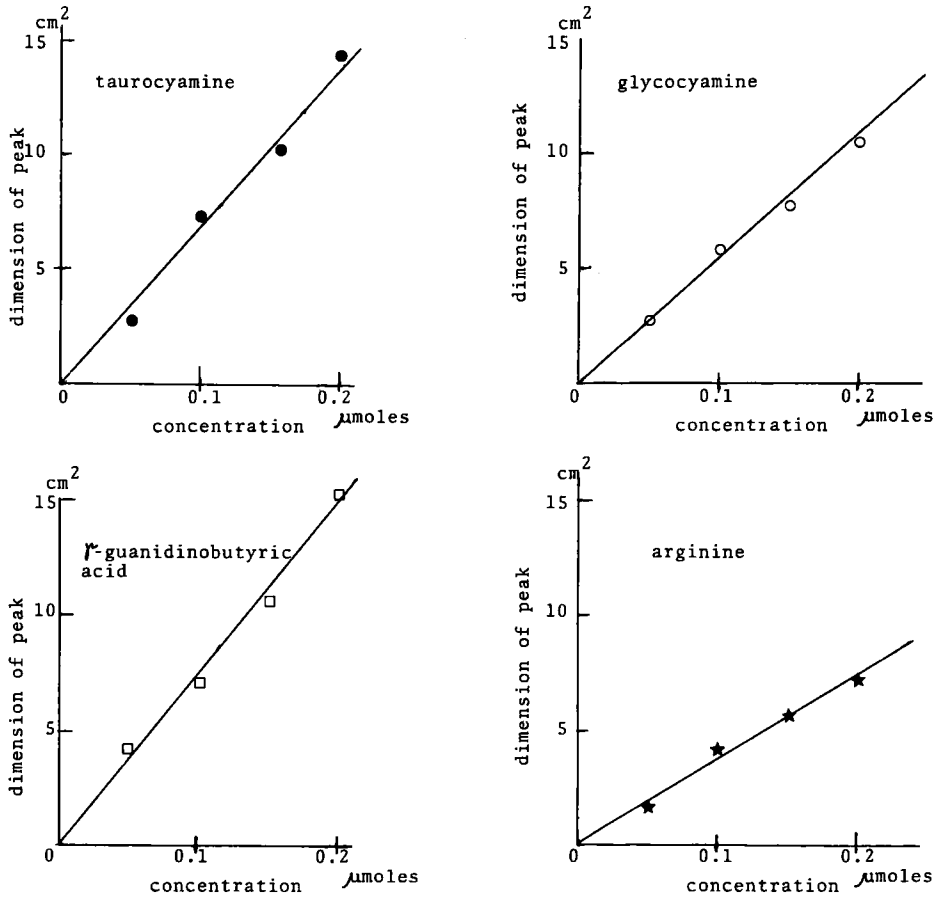


Fig. 3 Calibration Curve of Guanidino Compounds.

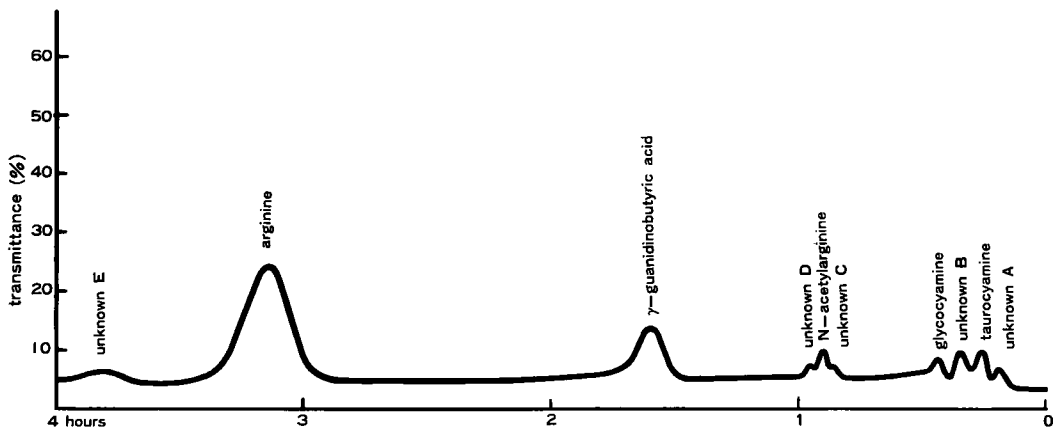


Fig. 4 Guanidino Compounds of Rabbit Brain by the Automatic Analysing System Using LCR-1.

Table 1 Elution Time in the Analysing System, and Rf-Values in TLC of Guanidino Compounds.

guanidino compounds	Times for Elution (min.)		Rf in TLC				
	(A) LCR- 1	(B) Aminex A - 5	n-butanol formic water 75 : 15 : 10	n-butanol pyridine water 33 : 33 : 33	n-butanol acetic water 60 : 15 : 25	iso-propa nol acetic water 75 : 5 : 20	phenol ethanol ammonia water 75:20:0.5: 1
taurocyamine	16	22	0.18	0.65	0.44	0.73	0.56
glycoyamine	26	27	0.48	0.54	0.55	0.65	0.49
N-acetyl-arginine	53	44	0.44	0.50	0.55	0.61	0.53
β -guanidino-propionic acid	57	74	0.58	0.51	0.70	0.71	0.52
γ -guanidino- β -hydroxybutyric acid	62	80	0.53	0.50	0.63	0.71	0.35
γ -guanidino-butyric acid	92	90	0.61	0.53	0.70	0.80	0.53
γ -hydroxy-arginine	156	191	0.13	0.20	0.35	0.45	0.10
arginine	192	165	0.10	0.18	0.35	0.44	0.15
γ -guanidino-butyramide	255	255	0.45	0.57	0.57	0.71	0.65

Thin layer chromatogram : Eastman Chromagram (No. 6060) was used.

Table 2 Guanidino Compounds in Rabbit Brain

guanidino compound	content (μ moles/g) (mean of 8 expts \pm S.D.)
unknown A	T
taurocyamine	0.006 \pm 0.002
unknown B	T
glycoyamine	0.009 \pm 0.001
α -N-acetylarginine	NC
unknown C	
unknown D	
γ -guanidinobutyric acid	0.014 \pm 0.004
arginine	0.158 \pm 0.058
unknown E	T

T : trace, NC : not calculable

なお図 4 に示すごとく、以上の 5 つの peak のほかに、小さいながら未知の peak が若干出現しているが、これらを溶出順に unknown A, B, C, D および E と仮称することにする。

3. ウサギ諸組織中のグアニジノ化合物の含有量について

本装置を用いてウサギの血清、肝、腎および尿中 (各 5 例) のグアニジノ化合物を測定した。その結果は表 3 に示すごとく、血清中には arginine や γ -

guanidinobutyric acid は比較的少量に存在するの
に、taurocyamine や glycoyamine は検出できな
かった。肝は arginine をはじめすべての guanidi-
no 化合物を豊富に含有しており、脳と比較すると、
いずれもおよそ 2 倍前後である。腎は γ -guanidino-
butyric acid が多い以外は脳とほぼ同程度であ
る。また、尿中には arginine は比較的少ないが、
taurocyamine や glycoyamine は著明に排泄され
ている。

4. マウス、ラットおよびモルモットの脳内グアニ
ジノ化合物について

マウス、ラットおよびモルモットの脳組織につ
いてウサギの場合と同様にグアニジノ化合物の含有
量をしらべてみたが、その結果は表 4 に示すごとく、
これら動物間においては、とくに著しい相違は認め
られず、またその動物に特有なグアニジノ化合物の
存在も認めなかった。

5. ウサギ大脳皮質グアニジノ化合物の痙攣による
変動について

正常ウサギに Metrazol を静注して痙攣を惹起せ
しめ、その痙攣中および痙攣直後に大脳を摘出し、
グアニジノ化合物の分析を行なった。その結果は図
5 に示すが、痙攣中においては、 γ -guanidinobuty-

Table 3, guanidino compounds in rabbit organs (μ moles/g)

	Taurocyamine	Glycoeyamine	γ -Guanidino-butyrac acid	Arginine
Brain	0.006 \pm 0.002	0.009 \pm 0.01	0.014 \pm 0.004	0.158 \pm 0.058
Liver	0.01-0.02	0.02-0.03	0.02-0.03	0.2-0.3
Kidney	<0.01	<0.01	0.02-0.03	0.1-0.2
Serum	—	—	0.01-0.02	0.3-0.4
Urine	0.08-0.1	0.1-0.2	0.01-0.02	0.04-0.05

Table 4 Guanidino Compounds in the Brain of Mouse, Rat and Guinea-pig (μ moles/g)

animal exp. no.	mouse (2)	rat (3)	guinea-pig (2)
unknown A	T	T	T
taurocyamine	<0.01	<0.01	<0.01
unknown B	T	T	T
Glycoeyamine	<0.01	<0.01	<0.01
γ -N-acetyl-arginine	NC	NC	NC
unknown C			
unknown D			
γ -guanidino-butyrac acid			
arginine	0.010	0.015	0.012
unknown E	T	T	T

T : trace, NC : not calculable

ric acid が著明に増加 ($P < 0.001$ にて有意) するとともに arginine が減少 ($P < 0.05$ にて有意) することがわかった。なお、このさい taurocyamine および glycoeyamine は減少の傾向がある。また、痙攣直後においては γ -guanidinobutyric acid および arginine は正常値に回復している (それぞれ $P < 0.001$ および $P < 0.05$ にて有意)

6. E1 マウス大脳グアニジノ化合物について

E1 マウスは生後 6 週を過ぎると痙攣発作の誘発が可能となるが、まだ痙攣準備性をもたないもの (生後第 5 週以前) および生後第 6 週を過ぎて痙攣準備性をもったもの (生後 8 週から 10 週) について、大

脳内グアニジノ化合物を分析した。このさい、痙攣準備性をもつにいたったものについてはさらに痙攣発作中および痙攣直後のものについて分析を行なった。それらの成績を表 5 に示すが、E1 マウスは痙攣準備性をもつにいたると arginine が増加の傾向 ($t = 2.73$, $df = 4$, $0.05 < P < 0.10$) を示すこと、および taurocyamine も同様な傾向にあることがわかった。

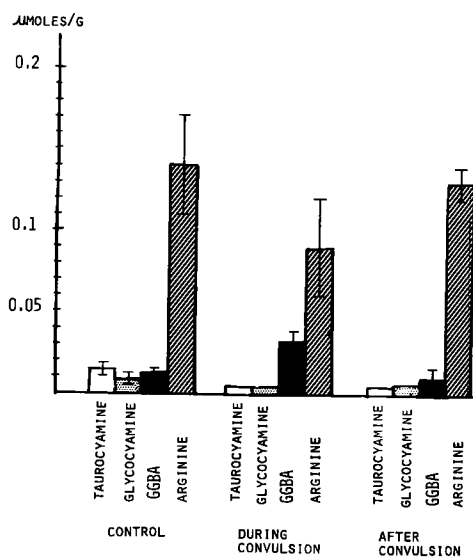


Fig. 5 Guanidino Compounds in Rabbit Brain with Metrazol Convulsion, (Av. of 5 Rabbits)

Table 5 Guanidino Compounds in E1-mouse Brain (μ moles/g)

	5 weeks after birth	8 weeks after birth	during convulsion	after convulsion
taurocyamine	<0.01	0.016 \pm 0.004	<0.01	<0.01
glycoeyamine	0.015 \pm 0.004	0.012 \pm 0.008	<0.01	<0.01
γ -guanidino-butyrac acid	0.022 \pm 0.009	0.010 \pm 0.02	<0.01	0.014 \pm 0.004
arginine	0.147 \pm 0.050	0.300 \pm 0.081	0.293 \pm 0.089	0.267 \pm 0.047

考 按

大脳組織に常存する γ -guanidinobutyric acid, taurocyamine, α -N-acetyl-L-arginine などの guanidino 化合物が痙攣誘発作用を有することがわかって以来、これらの諸物質の脳内代謝の研究が必要となってきた。以前はこれらグアニジノ化合物の分析的な研究は paper chromatography に基づいてなされ、定性的にはかなりの成果があげられており、とくに豆類、軟体動物、棘皮動物については数多くの研究が報告されてきたが、やはり、分離性、正確性あるいは再現性などの点で多くの問題が残っていた。

われわれは¹⁴⁾グアニジノ化合物を強陽イオン交換樹脂 LCR-1 あるいは Aminex A-5 に吸着させたのち、クエン酸緩衝液で溶出すると、種々の guanidino 化合物、すなわち taurocyamine glyco-cyamine, α -N-acetylarginine, β -guanidinopropionic acid, γ -guanidino- β -hydroxybutyric acid, γ -guanidinobutyric acid, γ -hydroxyarginine, arginine および γ -guanidinobutyramide などが都合よく、順次溶出することを知り、自動液体クロマトグラフ装置を用いて、この操作を行ない、ついでこの溶出液に坂口反応試薬を順次繰り込んで、テフロンチューブ内で反応させ、これを flow cell 中に誘導し、そのまま分光光度計を用いて波長 506 m μ における吸光度を連続記録するようにした。この方法を用いると通常のグアニジノ化合物は 0.01 μ mole まで正確に分離定量が可能であり、生体試料の場合には一般に 1 g 以下の組織標本でも十分測定が可能である。

本研究では、われわれの考案したこの guanidino 化合物分析装置を応用して、脳組織における諸グアニジノ化合物の系統的分析を行なった。その結果、まずウサギ脳の分析結果として、従来から知られている taurocyamine, glyco-cyamine, γ -guanidino-butyric acid および arginine の 4 つの peak が明瞭に出現するのが認められ、以前には概略値のみしか知られていなかった前 3 者の、より正確な含有量を知ることができた。すなわち、今日までに、arginine のみは Stein and Moore のアミノ酸分析法により分離定量が可能であったため、数多くの報告がなされており、いずれも本報告とほぼ同じ値が示されていた。しかし他のグアニジノ化合物については Blass⁹⁾ がモルモット脳について paper chromatography により arginine, glyco-cyamine, tauro-

cyamine および γ -guanidinobutyric acid の spot を得て、その略値を示していたにすぎないが、本法による脳のグアニジノ化合物の系統的分析方法は、われわれの今後の、脳のグアニジノ化合物代謝の研究に有力な手段をもたらしたといえよう。また α -N-acetyl-L-arginine は最初われわれの研究室において大楠および森⁶⁾によりウシ脳より発見されたグアニジノ化合物であるが、本物質はウサギ脳など他の哺乳動物にも存在することが確認された。その他、図 2 に見られるごとく少なくとも unknown A, B, C, D および E の peak が認められた。このうち unknown A, B についてはまったくわからないが、unknown C は溶出時間から考えて一応 β -guanidinopropionic acid ではないかと推定され、薄層クロマトグラムの実験結果も、ほぼ一致しているが、その同定については今後、さらに詳細な検索をすすめたい。また、unknown D および E についても分離同定がすすめられている。

つぎに比較研究のため、肝、腎、血清、尿中におけるグアニジノ化合物の概略値をしらべたが、肝、腎などの諸組織にも脳と同様にかんりのグアニジノ化合物が存在しており、さらにまた尿中にも taurocyamine や glyco-cyamine が著明に排泄されているという知見から、これら組織におけるグアニジノ化合物の研究にも一層の発展を導くものと考えられる。最近、共同研究者の 1 人戴²⁴⁾は、同一装置によりヒト血清および脳脊髄液の分析を行なった結果、肝硬変患者血清中では α -N-acetyl-L-arginine が著明に減少していること、てんかん患者や分裂症患者の脳脊髄液中には taurocyamine が著明に減少していることのほか、脳腫瘍などの体液中におけるグアニジノ化合物の変動を明らかにしているが、このような神経系疾患の病因解明に対する何らかの糸口を与える手段となるかもしれない。

さて大脳組織についてみると、グアニジノ化合物含有量は各動物において比較的一定の量を保っているように考えられ、われわれの検索したマウス、ラット、モルモットなどにおいてもウサギとほぼ同程度の含有量を示しているが、これが何らかの脳機能の変動にともなって変化するか否かは興味ある問題である。このような問題に関連して、ウサギにメトラゾール痙攣を起させたところ、痙攣にさいしては γ -guanidinobutyric acid の増加が観察されたが、先に沢井^{9) 10)}らは γ -guanidinobutyric acid をウサギ大槽内に注入すると間代性痙攣を主とする発作がおこることを見出す一方、ninhydrin 反応によって

も、痙攣の直前および痙攣中の脳内には γ -guanidinobutyric acid が増加していると報告しているが、ここに観察された現象と同一の所見であると思われる。また、このさい arginine が減少し taurocyamine や glycoyamine もやや減少の傾向にあるのは transamidation 反応調節機構の結果と思われる。これらの所見は、グアニジノ化合物代謝異常と痙攣との間に何らかの関係があると考えている陣内および森の説⁸⁾とあわせて考えると興味深いものがある。

また同様に、特異な強直性痙攣をおこすE1-マウスの場合には生後6週間を過ぎて痙攣準備性をもつに至ると arginine と taurocyamine が増加の傾向を示すが、すでに知られているごとく taurocyamine をウサギ大槽内注入すると特異な強直性痙攣がおこること⁹⁾とも密接な関係があるように思われる。しかし、ここに観察された2, 3の事実はグアニジノ化合物による痙攣発作機序の一端のあらわれであり、今後グアニジノ化合物の脳内代謝の見地から、さらに詳細に検索されねばならない領域であると考えられる。

結 論

1. 強陽イオン交換樹脂 LCR-1 あるいは Aminex A-5 を固定相とする液体クロマト分析装置に坂口反応を導入したグアニジノ化合物の自動分析装置を用いて、従来不可能であった taurocyamine, glycoyamine, α -N-acetyl-L-arginine, β -guanidinopropionic acid, γ -guanidino- β -hydroxybutyric acid, γ -guanidinobutyric acid, arginine, γ -hydroxyarginine, γ -guanidinobutyramide などの分離定量を行なった。
2. ウサギ脳についてグアニジノ化合物の分析を行ない、taurocyamine, glycoyamine, γ -guanidinobutyric acid および arginine を定量するとともに、その他5つの未知の peak の存在を確認した。
3. ウサギの血清、肝、腎および尿中のグアニジノ化合物を定量し、肝はすべてのグアニジノ化合物を豊富に含有すること、腎には γ -guanidinobutyric acid の多いこと、および尿には taurocyamine や glycoyamine が多く排泄されていることなどを明らかにした。
4. ウサギ、マウス、ラットおよびモルモットの脳内グアニジノ化合物の含有量を定量比較したところこれらの間にはとくに著しい相違がなく、ほぼ一定

であった。

5. ウサギについてメトラゾール痙攣時の脳内グアニジノ化合物の変動を調べた結果、痙攣中に taurocyamine, glycoyamine および arginine が減少し、 γ -guanidinobutyric acid が増加することを観察した。
6. E1-マウスは痙攣準備性をもつに至ると arginine および taurocyamine が増加の傾向を示すことがわかった。

稿を終るに臨み、本研究に常に御懇篤なる御指導と御校閲を賜った森昭胤教授に感謝の意を捧げるとともに、終始御指導、御鞭達いただいた大阪大学医学部陣内伝之助教授に深甚の謝意を表します。

文 献

1. Borsook, H. and Dubnoff, J. W. ; J. Biol. Chem., **138**, 389 (1941)
2. Ciouet, D. H., Gaitonde, M. K. and Richter, D. : J. Neurochem., **1**, 228 (1957)
3. Irreverre, F. and Evans, R. L. : J. Biol. Chem., **234**, 1438
4. Irreverre, F., Evans, R. L., Hayden, A. R. and Silber, R. : Nature, **180**, 704 (1957)
5. Blass, J. P. : Biochem. J., **77**, 484 (1960)
6. Ohkusu, H. and Mori, A. : J. Neurochem. **16**, 1485, (1969)
7. 森 昭胤 : 第17回日本医学会総会講演集, **1**, 396 (1967)
8. Jinnai, D., Mori, A., Mukawa, J., Ohkusu, H., Hosotani, M., Mizuno, A., Tye, L. C. : Jap. J. Brain Physiol., **106**, 28 (1969)
9. Jinnai, D., Sawai, A., and Mori, A. : Nature., **212**, 617 (1966)
10. 沢井愛次郎 : 阪大医誌., **22**, 171 (1970)
11. Jinnai, D., Mori, A., Mukawa, J., Ohkusu, H. and Mizuno, A. : Excerpta Medica, **193**, 234, 1969.
12. 水野 晃 : 阪大医誌, **23**, 13 (1971)
13. 大楠 晴美 : 阪大医誌, **22**, 49 (1970)
14. Mori, A., Hosotani, M., and Tye, L. C. : Biochem. Med. in press.
15. Schütte, E. : Hoppe-Seyl. Z. Physiol. Chem., **279**, 52 (1943)

- | | |
|---|--|
| <p>16. Bergmann, M. and Zervis, L. : Biochem. Z., 203, 28 0 (1928)</p> <p>17. 平田文雄 : 特許公報., 昭38—2860</p> <p>18. 大戸敬二郎 : 日化., 74, 1 (1953)</p> <p>19. Talbot, G., Gaudry, R., Berlingnet, L. : Canad. J. Chem. 34, 911, (1956)</p> <p>20. 高橋日出彦, 清水正夫, 越 克己 : 特許公報, 昭38—20564</p> | <p>21. Mori, A., Tanaka, K., Tomita, T., Nakamura, K. and Hayashi, T. : Biochim. Biophys. Acta, 192, 555 (1959)</p> <p>22. Kitagawa, M. : J. Biochem., 16, 339(1932)</p> <p>23. Roche, J., Thoai, N.v, Robin, Y., Garcia, I. et Hatt, J. L. : Compt, rend, Soc, biol. 146, 1899 (1952)</p> <p>24. 戴 礼忠 : 阪大医誌., 24 : 97 (1972)</p> |
|---|--|

Studies on Guanidino Compounds in

Brain by Automatic Liquid Chromatography

Mitsuhiko Hosotani

Division of Neurochemistry, Institute for Neurobiology
Okayama University Medical School

(Director : Prof. A. Mori)

1. Guanidino compounds, taurocyamine, glycoyamine, α -N-acetyl-L-arginine, β -guanidinopropionic acid, γ -guanidino- β -hydroxybutyric acid, γ -guanidinobutyric acid, γ -hydroxyarginine, arginine and γ -guanidinobutyramide, were analysed by the automatic guanidino compound analysing system, based on liquid chromatography with an ion exchange resin LCR-1 (or Aminex A-5) column and Sakaguchi reaction.
2. The concentrations of taurocyamine, glycoyamine, γ -guanidinobutyric acid and arginine in rodent brain tissue were determined. On the other hand, five unknown peaks with positive Sakaguchi reaction were observed in the rabbit brain.
3. Guanidino compounds level in liver, kidney, serum and urine of rabbit were determined and compared with in brain.
4. It was observed that γ -guanidinobutyric acid in the rabbit brain was increased, and on the contrary, taurocyamine, glycoyamine and arginine were decreased during convulsion induced by Metrazol injection.
5. Arginine and taurocyamine levels in the El-mouse were tended to increase after having the convulsive disposition.