ナガスクジラのカルジオリピン

高 橋 隆*・橋 本 喬*・渡 辺 昭 一 郎**
長 谷 川 黎**・原 一 郎***

* 北里研究所（港区芝白金三光町）**北里大学衛生学部（港区芝白金三光町）
*** 東京医科歯科大学教養部（千葉県市川市）

Cardiolipin of Fin Whale

Takashi TAKAHASHI*, Takashi HASHIMOTO*, Shoichiro WATANABE**,
Rei HASEGAWA** and Ichirō HARA***

* Kitasato Institute (Sankō-cho, Shiba-Shirogane, Minato-ku, Tokyo)

** Faculty of Hygienic Science, Kitasato University (Sankō-cho, Shiba-Shirogane, Minato-ku, Tokyo)

*** Tokyo Medical and Dental University. (Ichikawa, Chiba)

Cardiolipin was prepared from the frozen heart muscle of fin whale according to Pangborn's method. Every step in the course purification was pursued by T.L.C., and the sample after the last step showed only single spot corresponding to cardiolipin on T.L.C.

From chemical analysis its characteristics were as follows: P(%)—4.2%, N(%)—<0.1, I.V.—107.

There was no difference between the pattern of IR spectrum of ox cardiolipin and that of fin whale cardiolipin.

The composition of fatty acid calculated from the pattern of G.L.C. was as follows: Palmitic acid—23.5%, palmitoleic acid—4.5%, Oleic acid—44.5%, Linoleic acid—25.0%, Linolenic acid—1.4%, but the observed IV value did not coincide with that calculated from the composition of fatty acid based on G.L.C.

In comparison with ox cardiolipin, cardiolipin of fin whale was found adaptable to the antigen for the routin test for syphilis.

1 緒 言

クジラリン脂質についてはすでに五十嵐らの報告があり¹⁾、イワシクジラのカルジオリピンよう物質についても同氏の発表がある²⁾。一方セミクジラ、ナガスクジラなどのクジラの体の各部の脂質、脂肪酸分布について佐野らが最近くわしく報告している³⁾。

カルジオリピン (C.L. と略す) は Pangborn の単離⁴⁾以来、多くの報告があり^{5), 6)}、MacFarlane と Gray⁷⁾ はカルジオリピンの構造を Diphosphatidyl glycerol と決定した。また、これの類似化合物の合成も行なわれ^{8)~10)} Van Deenen らは最近これの完全合成を発表している¹¹⁾。

クジラ資源の利用という見地からナガスクジラ心筋からカルジオリピンを抽出し、これが梅毒血清反応の試薬 (抗原) として充分に使用できることがわかったので報告したい。

2 実 験

2・1 実験材料および実験方法

原料は冷凍したナガスクジラの心臓で、これを室温で溶融してから、アセトン中で細粉し、さらにアセトンで脱脂、脱水した乾燥細粉を 95%-メタノールで室温で抽出した。メタノール抽出は 2 回行ない、抽出液を一緒にして Fig.-1 に示す Pangborn¹⁾ の過程により精製した。

溶剤はすべて蒸留、精製したものを用いた。

つぎに分析に関しては、リンは King 法¹²⁾、窒素はミクロケルダール法、ヨウ素価は臭化ピリジンを用いる安田法¹³⁾、赤外線吸収スペクトルは EPI-S₂ 型装置 (日立製) を用い、ブロムカリ法によった。

T.L.C. は一般方式¹⁴⁾に従い、溶剤系はクロロホルム-メタノール-水 (65:25:4) で、リン脂質はモリブデンブルーによるリンの発色により、また脂質全体は硫酸噴霧後カ(煨)焼して調べた。

ガスクロマトグラフィー (G.L.C.) のために、C.L. を 1 N-塩酸、メタノール溶液に溶解し、60°C, 1 hr 静置してメタノリシスを行なった。なお、G.L.C. の装置は Kotaki GU-12 型で、条件は、

カラム: polyethylenglycol succinate (担体 Celite

*T.L.C.-1, T.L.C.-2, etc corresponded to the numbers in Fig.-2.

Fig.-1 Procedure of cardiolipin preparation.

545) 2 m, 210°C

キャリアガス：ヘリウム，流速：50 ml/min

2・2 実験結果および考察

Fig.-1 に示す精製法の各段階における精製の度合は Fig.-2 の T.L.C. に示す。

The numbers in Fig.-2 presented the step of purification procedure.

Fig.-2 T.L.C. of phospholipid in each step of purification.

Fig.-2 に示すように各段階においてレシチン，ケファリンを除去されていくことがよくわかる。しかし，Ba-C.L. および Cd-C.L. をエーテル，アセトンで処理するとき，かなりの量の C.L. が逃げており，この回収を考えないと収率をあげるわけにはいかない。この点，Gray, MacFarlane らあるいはその他の研究者によるケイ酸カラムクロマトグラフィーによる C.L. の抽出精製の収率 (0.5 g/1 kg 新鮮ウシ心臓) は非常に良いといえる。精製した C.L. は Table-1 のような化学分析値を有している。

この C.L. の赤外線吸収スペクトルは Fig.-3 に示す

Fig.-3 IR spectra of cardiolipin.

Table-1 Chemical analysis of cardiolipin.

P(%) 4.2, N(%) <0.1, I.V. 107

ようにウシ C.L. のと良く一致し，スペクトルのパターンと構造式との矛盾はない。

つぎに C.L. の脂肪酸分布をみるために，上述の方法

Fig.-4 G.L.C. of fatty acid methyl ester of cardiolipin.

によって脂肪酸のメチルエステルを作り、これを G.L. C. にかけた。さらに脂肪酸のメチルエステルを Adams の白金触媒を用いて水素添加した。これらの試料の G. L.C. のパターンは Fig.-4 に示す。

Fig.-4 の図型から計算すると、分取された脂肪酸の組成はパルミチン酸 23.5%, パルミトレン酸 4.6%, オレイン酸 44.5%, リノール酸 25.0%, リノレン酸 1.4% であって、これ以上長鎖の脂肪酸はみられない。この組成を C.L. の式にあてはめるとその分子式は $C_{19}H_{34}O_2$ となる。パルミトレン酸、リノレン酸が少量あることを考慮に入れても、計算による I.V. は約 80 となり、測定された I.V. 107 よりはるかに低い。これはメチルエステルの分取が悪く、リノール酸をあるいはリノレン酸などを損失したと考えられる¹⁵⁾。この点

Table-2 Serological reactions for syphilis sera with cardiolipin of fin whale.

Composition of antigen Cardiolipin 0.03%
Lecithin 0.17~0.19%
Cholesterol 0.90%

Antigen	Ox C.L.	Fin whale C.L.			
Lecithin%	0.18	0.17	0.18	0.19	
Serum No. 1	++	++	++	++	
2	++	++	++	++	
3	+	+	++	++	
4	++	++	++	++	
5	++	++	++	++	
6	+	+	++	+	

については目下再検討中である。

つぎにこの C.L. の生化学的性状である梅毒血清反応における抗原性については、Table-2 に示すように V DRL 方式によってウシ C.L. と比較しながら、調査し、それらの梅毒陽性血清との反応をみると、両者ともよく一致し、また Table-2 には省略したが梅毒陰性血清とは反応せず、実用上、本 C.L. が充分日常の検査に用いられうることを示している¹⁶⁾。

油化学研究発表会 発表 昭和 40 年 10 月 (東京)

(昭和 40 年 11 月 9 日受理)

文 献

- 1) 五十嵐, 座間, 片田, 農化, **30**, 110 (1956)
- 2) 五十嵐, 座間, 片田, 農化, **30**, 116 (1956)
- 3) 佐野, 鮎川, 村瀬, 油化学, **14**, 171 (1965)
- 4) M.C. Pangborn, *J. Biol. Chem.*, **143**, 247 (1942)
- 5) M. Faure, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **30**, 333 (1948)
- 6) 原, 日化, **76**, 910 (1955)
- 7) G.M. Gray, M.G. MacFarlane, *Bioch. J.*, **70**, 409 (1958)
- 8) E. Baer, *J. Biol. Chem.*, **198**, 853 (1952)
- 9) 野島, 井上, 日本脂質生化学研究会第 7 回研究会発表 昭和 40.6 月
- 10) 原, 金子, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **46**, 339 (1964)
- 11) G.H. de Haas, L.L.M. van Deenen, *Rec. Trav. Chim.*, **84**, 436 (1965)
- 12) E.J. King, *Bioch. J.*, **26**, 292 (1932)
- 13) M. Yasuda *J. Biol. Chem.*, **94**, 401 (1931~2)
- 14) 金子, 川西, 油化学, **12**, 597 (1963)
- 15) L.W. Wheeldon, Z. Schumert, D.A. Turner, *J. Lipid Res.*, **6**, 481 (1965)
- 16) 緒方 “梅毒の新しい血清学的検査法” 第 2 版 p.37 (1954) (南山堂)

高級脂肪酸エステルと短鎖第三アミンを 原料とする高級第三アミンの製造

池 田 功・阿 河 利 男・小 森 三 郎

大阪大学工学部応用化学教室 (大阪市都島区東野田)

Preparation of Higher Tertiary Amine from Higher Fatty Acid Ester and Lower Tertiary Amine

Isao IKEDA, Toshio AGAWA and Saburō KOMORI

Faculty of Engineering, Osaka Univ. (Higashinoda-chō, Miyakojima-ku, Osaka)

Mono higher alkyl tertiary amine was prepared by a new one-step process from fatty acid ester:

Ethyl laurate and triethyl amine were reacted at the condition of hydrogenolysis in an autoclave.

Good yield(83%) of diethyl lauryl amine was obtained at 200~250 kg/cm², 300°C for 3 hrs using 15~20% of Cu-Cr-O catalyst to raw ethyl laurate, and 5~7 mols of triethyl amine to 1 mol of raw ester.