量を測定した。

2. 牡牛精液中の精子の含量は精液の 8.2% に相当し、従つて精清の含量は 91.8% となる。
3. 精液、精子及び精清の水分含量は夫々 89.94, 81.09 及び 90.40% であった。
4. 精液、精子及び精清の新鮮物 100 g 中のチロシンは夫々 351.2, 445.3 及び 441.1 mg 及び各区分の乾燥物中チロシンの含量は夫々 3.49, 2.33 及び 4.54% であった。

(本報告は昭和 24 年 10 月 22 日熊本市で開かれた日本農藝化学會西日本支部例會で講演した)

- (1) 西川：家畜人工授精法, 197 (1944)
- (2) C.A. ZITTLE and R. O'DELL : *J. Biol. Chem.*, 140, 899 (1941)
- (3) C.A. ZITTLE and B. ZITIN : *J. Biol. Chem.*, 144, 105 (1942)
- (4) C.A. ZITTLE and B. ZITIN : *J. Biol. Chem.*, 144, 99 (1942)
- (5) O. FOLIN and A. D. MARENZI : *J. Biol. Chem.*, 83, 103 (1929)
- (6) H. THIERFELDER : HOPPE-SEYLER/*Physiol. pathol. chem. Analyse*, 295 (1924)

Summary

Samples of the Holstein bull semen obtained by the artificial vagina method were examined for their spermatozoa and seminal fluid contents and the distribution of water and tyrosine in each fraction.

The amount of spermatozoa was 8.2 per cent of bull semen, and the seminal fluid was then theoretically amounted to 91.8 per cent of the semen.

The content of water in semen, spermatozoa, and seminal fluid was 89.94, 81.09 and 90.40 per cent, respectively.

The amount of tyrosine per 100 g of fresh samples of semen, spermatozoa, and seminal fluid were determined to be 351.2, 445.3, and 441.1 mg, respectively and these values were also determined to be 3.49, 2.33, and 4.54 per cent, respectively, in dried samples.

コリンのアセチル誘導體に就て

佐々木 周 郁, 小 林 啓 (九州大學農學部農化教室)

昭和 24 年 11 月 30 日 受理

Studies on the Acetyl Derivatives of Choline.

By S. SASAKI and K. KOBAYASHI (Agricultural Chemical Laboratory, Kyushu Univ.)

コリン及び其の誘導體は近年各方面より著しい關心と期待とを以つて迎えられているが、特にアセチルコリンは一種の強力な自律神経毒として知られ、其の特異な藥理作用、即ち血壓降下、筋肉收縮及び内分泌作用等生理學的並びに治療學的應用に於いて注目されている。

一方コリンの誘導體の合成に關しては 1867 年 BAEYER⁽¹⁾ の研究に端を發し、幾多の研究者⁽²⁾⁻⁽⁴⁾ の對象となつて來たが、JONES 及び MAJOR⁽⁵⁾ は 1930 年に始めてアセチルコリンクロライドを純粹鹽類の形に分離し、其の物理的並びに化學的性質を明かにした。其の後共同研究者である CLINE⁽⁶⁾⁻⁽⁸⁾ はコリンの鹽類を脂肪酸無水物で醋酸化して二、三のアセチルコリン鹽類の合成を報告している。

筆者等は之等の文獻に基き種種のアセチル誘導體系列を合成し、併せて二、三の新製法に就いて行つた實驗を報告する。

實 驗 の 部

現在コリン (Trimethyl- β -oxyethyl ammonium hydroxide) (Ⅲ) の鹽及びアセチル誘導體として考え得る物質には次の 5 種がある。即ちコリンクロライド (Trimethyl- β -oxyethyl ammonium chloride) (I), アセ

出する。得量 4.9 g, 収率 84 %, 水, アルコールに易溶, エーテル, アセトン, 二硫化炭素に不溶である。コリンのアセチル誘導体は凡て烈しい吸湿性を有し, 容易に加水分解する故, 常に溶剤及び試薬の水分除去並びに操作中の湿気防止に注意を要する。特にコリンアセテートは強い加水分解性を有している。

	N %	COCH ₃ %	Au %
分 析 値	8.50	26.29	42.30
理 論 値 (C ₇ H ₁₇ O ₃ N とし) 8.59	26.37	(C ₇ H ₁₇ O ₃ N·AuCl ₃ とし)* 42.26	
* 金鹽の融點 263°			

(c) アセチルコリンアセテート (Ⅵ) の合成: コリンアセテートのアセチル化には氷醋酸及び無水醋酸に依る二法があるが, 本法では後者を採用した。前記コリンアセテート 4.9 g と 25 g の無水醋酸を封管し 110° で 2 時間処理する。冷却後その 2 倍量のアルコールに溶解し, 次いで 10 倍量のエーテルを添加し振盪して放置すればアセチルコリンアセテートは褐色油状に沈澱する。エーテル層と分離し, 硫酸デシケータ中で減圧乾燥すれば結晶を析出する。結晶は更にアルコールに溶解し骨炭で脱色して再結晶する。得量 3.8 g, 収率 62 %, 結晶は白色無定形塊, 水, アルコールに易溶, エーテルに不溶である。

	N %	COCH ₃ %	Au %
分 析 値	6.77	41.83	38.88
理 論 値 (C ₉ H ₁₉ O ₄ N とし) 6.83	41.95	(C ₉ H ₁₉ O ₄ N·AuCl ₃ とし)* 38.77	
* 金鹽の融點 147°			

本法に依るコリンクロライドよりアセチルコリンアセテートの収率は 26.7 % である。

(2) アセチルコリンクロライド (Ⅱ) に酸化銀を作用する方法

(a) アセチルコリンクロライド (Ⅱ) の合成: アセチルコリンクロライドはコリンクロライドを氷醋酸或いは無水醋酸でアセチル化すれば得られる。アセチル化に際し助剤としてはアセチルクロライド, 醋酸ソーダ, ピリジン等を使用した。之等の助剤を使用する事は, むしろ操作を煩雑にするのみで純度及び収率の向上は認められなかつたから, 実験の記載は省略する。

(イ) 氷醋酸を用いる方法 少量の無水醋酸と共に蒸溜して完全脱水した氷醋酸 100 g と, コリンクロライド 20 g を逆流冷却器を附して完全防湿下に 100° で 40 時間処理する。温時約 1 g の骨炭で脱色し, 冷却後 10 倍容のエーテルを添加して振盪し放置すれば, アセチルコリンクロライドは油状に沈澱する。エーテル層と分離し硫酸デシケータ中で減圧乾燥すれば結晶を析出する。得量 18.2 g, 収率 68 %, 結晶は白色針状塊, 水, アルコールに易溶, エーテル, クロロホルムに不溶である。

	N %	COCH ₃ %	An %
分 析 値	7.64	23.69	23.64
理 論 値 (C ₇ H ₁₆ O ₂ NCl とし) 7.71	23.64	(C ₇ H ₁₆ O ₂ NCl·AuCl ₃ とし)* 23.69	
* 金鹽の融點 156°			

(ロ) 無水醋酸を用いる方法 本法に於いては次の二法を行つた。

1. コリンクロライド 20 g と無水醋酸 80 g を用い, 前記氷醋酸を用いる方法と同一處理に依る方法。得量 22.8 g, 収率 85 %。
2. コリンクロライド 10 g と無水醋酸 50 g を封管し, 110° で 2~3 時間處理し, 以下前法と同一處理する方法。得量 6.5 g, 収率 48.5 %。

(b) アセチルコリン (Ⅳ) の製造: (A)(I)(a) の方法と同様に 5 g のアセチルコリンクロライドを計算

量の濕つた酸化銀で處理する。この際過剰の酸化銀は反應の終了後、更にアセチル基と作用して醋酸銀を生成し従つてアセチルコリンは遊離のコリンとなる故注意を要する。

アセチルコリンクロライドよりの得量 1.3 g, 收率 29%, アセチルコリンはコリンと同様鹽基性で常溫ではシラップ狀を呈し、加水分解を受け易く、長時間放置する事は困難である。

(c) アセチルコリンアセテート(VI)の合成: 前記脱クロール反應の終了後、アセチルコリンの水酸基を氷醋酸で中和すれば容易に得られる。其の操作方法是 (A)(I)(b) と同様である。アセチルコリンクロライド 5 g よりの得量 1.8 g, 收率 31% である。

本法に依るコリンクロライドよりアセチルコリンアセテートの收率は、(イ)(b)(c) 法 21%, (ロ) の 1(b)(c) 法 26%, (ロ) の 2(b)(c) 法 15% である。本法による製品の確認試験は前法 (1) に依り合成したアセチルコリンアセテートとほぼ同一結果が得られたので記載を省略する。次の (B) 法に依る製品に就いても同様省略する。

(B) 醋酸銀法 筆者等は醋酸銀と氷醋酸或いは無水醋酸を用いコリンクロライドの活性基であるアルコール性水酸基とクロールを段階的にアセチル化する方法、及び兩者を同時にアセチル化する 2 つの方法を考案し前者を間接法とし、後者を直接法として述べる。

(1) 間接法: 本法にはコリンクロライドの有する 2 つの活性基中アルコール性水酸基を先ずアセチル化し次いでクロールのある位置をアセチル化する方法及び之と逆の方法とがある。即ち前者は最初にコリンクロライドをアセチルコリンクロライドとし、之に醋酸銀を作用してアセチルコリンアセテートとする方法であり、後者は醋酸銀をコリンクロライドに作用してコリンアセテートとし、次いでアセチルコリンアセテートとする方法である。

(イ) アセチルコリンクロライド(II)に作用する方法

(A)(2)(a) の (イ), (ロ) の 1 及び (ロ) の 2 の各法に依り合成したアセチルコリンクロライド 5 g を 25 g の氷醋酸に加温溶解し、之に 4.7 g の醋酸銀を加え防濕下に逆流冷却器を附して時々攪拌しながら 40° で 3 時間處理する。反應終了後放冷し、鹽化銀は遠心分離法に依り除去する。次いで上澄液に過剰のエーテルを加えればアセチルコリンアセテートは油狀に沈殿する。沈殿は前記同様減壓乾燥して結晶に導く。此の際過剰の醋酸銀は一部氷醋酸中に溶解し、爾後の精製操作に支障を來す故計算量の使用を要する。アセチルコリンクロライドよりの得量 3.2 g, 收率 56% である。

本法に依るコリンクロライドよりアセチルコリンアセテートの收率は (a)(イ) 法より 38%, (a)(ロ) の 1 法より 48% 及び (a)(ロ) の 2 法より 26% である。

(ロ) コリンクロライド(I)に作用する方法

10 g のコリンクロライドを 50 g の氷醋酸に加温溶解し、之に 12.0 g の醋酸銀を加え 60° で 3 時間處理する。以下 (B)(I)(イ) と同様處理すればコリンアセテートが得られる。得量 5.5 g, 收率 47%。

此處に得られたコリンアセテートは更に (A)(I)(c) と同様にアセチルコリンアセテートの合成に供す。本法に依るコリンクロライドよりアセチルコリンアセテートの收率は 29.1% である。

(2) 直接法:

5 g のコリンクロライドを 50 g の氷醋酸に加温溶解し、之に 6.0 g の醋酸銀を加え逆流冷却器を附し、90°

で 35~40 時間處理する。以下前法と同一處理を施せばアセチルとコリンアセテートが得られる。得量 3.3 g. 本法に依るコリンクロライドよりアセチルコリンアセテートの収率は 23 % である。

要 約

(1) コリンのアセチル誘導體は何れも強い吸濕性を有し、且つ容易に加水分解する爲、収率の向上を期するには完全に脱水した試薬を使用し、出来るだけ乾燥状態で操作する事が最も重要な條件である。

(2) アセチルコリンアセテートの種々の合成法を記した。其の内で筆者等の考案した (B)(I)(イ) に依る方法が最も容易であり、亦良い収率で得られる。

- (1) A. BAYER : *Ann. Chem.*, 142, 325 (1867)
- (2) G. NOTHNAGEL : *Arch. Pharmazie*, 232, 265 (1894)
- (3) FOURNEAU and PAGE : *Bull. Soc. Chem.*, (4) 15, 552 (1914)
- (4) E. ABDERHALDEN und PAFFRATH : *Fermentforschung*, 8, 299 (1925)
- (5) R. T. MAJOR and JONES : *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 309 (1930)
- (6) J. K. CLINE : *U. S. P.* 2012268 (1935)
- (7) R. T. MAJOR and J. K. CLINE : *U. S. P.* 2013731 (1935)
- (8) J. K. CLINE : *U. S. P.* 1957443 (1935)
- (9) R. ADAMS and C. S. MARVEL : *Org. Synthesis*, 1, 19 (1921)

Summary

We synthesized systematically the derivatives of choline, namely, choline chloride, acetyl choline chloride, acetyl choline, choline acetate and acetyl choline acetate. We succeeded to synthesize directly pure choline acetate and acetyl choline acetate by treating choline chloride or acetyl choline chloride with silver acetate. These methods are simpler and give more yield than the silver oxide method of CLINE.

バイラス病體のプロテアーゼに関する研究 (第 3 報) オキシム添食による蠶體蛋白分解酵素の變化

吉 原 典 子 (九州大學農學部農産製造學研究室)

昭和 24 年 9 月 20 日 受 理

Studies on the Proteases in the Virus-diseased Tissues.

Part III. Changes of Proteases in the Silkworm Fed with Oxime.

By Fumiko YOSHIHARA (Agricultural Chemistry Institute, Kyushu University.)

緒 言 ヒドロキシルアミン、過酸化バリウム、の如き簡單なる化學藥品による實驗的バイラス發病を特に家蠶幼蟲に於いて成功した後、之に基いて生體内バイラス生成の機構に就いて考察が重ねられた結果、極く最近に到り同じく當研究室に於いては、アセトオキシムの給與によつて同様蠶兒體細胞内にバイラス蛋白を新生せしめ得る事を實證した⁽¹⁾。本報は此の新しい手段に因る人爲的バイラス罹病の際に於ける組織蛋白酵素の態度を取扱つたものである。

I. 第 1 回給與實驗 品種は第 2 報に於けると同一のものであるが、飼育は昭和 24 年度春期に於いて試薬投與の方法を変え、數回に分つて行われ、又酵素定量も基質を異にして、それぞれ多少相違する條件の下に施行された。第 2 齡第 1 日幼蟲の尙極めて小なる時期に於いて、本實驗室にて近藤、秋田兩氏が合成し精製せるアセトオキシム結晶⁽²⁾から 1/10 モル溶液を調製して前報所載の注意⁽³⁾を遵守して桑葉に附着せしめ、1 日 1 回施與した。薬品添食試験に於いて、1 晝夜數回の給桑中唯 1 回給與と限定したのは、かような毒物投與の度數多き時は、蠶兒の生育著しく阻害せられたるためであつて⁽⁴⁾、著者等の見解に依ればバイラス新生は、特に成長盛んにして