- (9) O. ROSENHEIM : *Biochem. J.*, 10, 142 (1916).
 (10) T. PURDIE, J. C. IRVINE : *J. Chem. Soc.*, 1903, 1024.
 (11) J. PRIDE, R. W. HUMPHREYS : *Biochem. J.*, 18, 661 (1924).
 (12) T. NAKAYAMA : *J. Biochem., Japan*, 37, 309 (1950).
 (13) P. A. LEVENE, C. J. WEST : *J. Biol. Chem.*, 31, 635 (1917).
 (14) H. E. CARTER, F. L. GREENWOOD : *J. Biol. Chem.*, 199, 283 (1952).

複合脂質に関する研究 (第 7 報)*

糖脂質 Phrenosine における二重結合の立体配置

藤 野 安 彦 (帯広畜産大学生化学研究室)

昭和 31 年 6 月 30 日 受 理

緒 言

糖脂質の構成成分である脂肪性有機塩基 sphingosine の基本的な構造は CARTER⁽¹⁾ 及び大野⁽²⁾によつてそれぞれ独立に次の如く確定せられた。

その炭素原子第 4 位の 2 重結合の立体配置については、最初大野⁽³⁾が sphingosine を酸化して *trans*-hexadecene (2, 3) 酸を得ることから *trans*-型なることを報告したが、酸化反応の経過中に *cis-trans* の異性化の起り得ることが懸念せられた。ついで MISLOW⁽⁴⁾ は sphingosine 及びその誘導体が、赤外線吸収スペクトルにおいて波長 10.3 μ 附近で *trans*-型 2 重結合に特有のピークを示す事実から *trans*-型配置なることを報じ、又 FODOR 及び KISS⁽⁵⁾ は, triacetylsphingosine 及び tribenzoylsphingosine がそれぞれ相当する triacyldihydrosphingosine との混融試験において、融点降下を示さない事実に基き、BRUNI の syncrystallization の法則を適用して同様 *trans*-型なることを記載した。かくして sphingosine の 2 重結合が *trans*-型の立体配置を有することは今や疑ない。

しかしながら sphingosine の *trans* 配置は、必ずしもそのままその母体である sphingolipid 分子中において sphingosine が *trans*-型として存在することを意味しない。と云うのは sphingosine は通常例外なく sphingolipid の強烈な酸による加水分解を経て調製せられるが、この水解の途上において *cis*-型のものが *trans*-型に異性化されることが十分予想されるからである。従つて sphingosine が sphingolipid 分子中に自然のままで存在するときの 2 重結合が *cis*-型であるか *trans*-型であるかは、極く穏かな条件の下で分離された sphingolipid についての観察に俟たなくてはならない。此処において自然状態のままの sphingolipid に対して赤外線吸収スペクトルに依る分析を行い、*trans*-型 2 重結合に特有のピークが存在するか否かを検討する方法は極めて有用適切なものと考えられる。MISLOW⁽⁴⁾ は初めて糖脂質 phrenosine の赤外線吸収スペクトルを提示してその 2 重結合が *trans*-型なることを報告したが、一方 MARINETTI 及び STOTZ⁽⁶⁾ は磷脂質 sphingomyeline の赤外線吸収スペクトルによる研究において、磷酸基が *trans*-型 2 重結合と殆ど同位置でピークを示すから、phrenosine 調製の際に混入し易い sphingomyeline 除去には特に留意しなければならないことを指摘し、磷酸反応を全く呈しない糖脂質 (おそらくは phrenosine と cerasine の混合物) 及び lignoceryl sphingosine を調製してその赤外線吸収スペクトル中に *trans*-型 2 重結合のピークを認め、更にそれらの還元生成物が *trans* のピークを消失していることを観察した。

著者は前報⁽⁷⁾において分離した純 phrenosine について、同様の見地から赤外線吸収スペクトルによる分析を試みたところ、第 1 図に示す如く波長 10.3 μ の箇所に明瞭な *trans* のピークを認めると共に、第 2 図の dihydrophrenosine 標品においてはそれが全く閉塞されていることを確めて、MISLOW や MARINETTI 及び STO-

* Studies on the Conjugated Lipids. Part VII. Configuration of the Double Bond in Phrenosine.
 By Yasuhiko FUJINO (Laboratory of Biochemistry, Obihiro Zootechnical University)

第1図 Phrenosine の赤外線吸収スペクトル (Nujol)

ピーク : 2.95, 3.05, 3.45, 3.52, 6.12, 6.46, 6.80, 7.22, 7.30, 7.45, 7.72, 7.95, 8.17, 8.50, 8.72, 8.88, 9.20, 9.65, 10.30, 10.60, 11.22, 11.42, 12.75, 13.95, 14.80 μ

第2図 Dihydrophrenosine の赤外線吸収スペクトル (Nujol)

ピーク : 2.95, 3.05, 3.45, 3.50, 6.12, 6.46, 6.80, 7.22, 7.30, 7.45, 7.55, 7.95, 8.18, 8.49, 8.71, 8.87, 9.20, 9.35, 9.68, 11.22, 11.42, 12.70, 13.93, 14.72 μ

TZ の報じた如く糖脂質の2重結合が *trans*-型なることを立証し得た*。なお dihydrophrenosine の諸性質については文献に記載されてあるのを見ないので、その化学的性状をも併せ記して茲に報告する次第である。

実 験

1. Phrenosine から Dihydrophrenpsine の調製

1) ニッケル触媒法 : 純 phrenosine (磷酸を全く含まない) 10 g を 1 l の 95% アルコールに加熱溶解し、中匙に約半量の Raney Nickel を添加して還元装置中で圧力 60 lbs, 温度 80° において烈しく振盪しつつ水素化を行う。5 時間後熱時濾過して Raney Nickel を除き、濾液を冷室 (4°) に放置する。生成した沈澱を濾別して減圧乾燥すれば白色の結晶性粉末を得る。収量 9 g。

2) 白金触媒法 : 新たに塩化白金から調製した ADAMS の酸化白金 200 mg を 15 ml の氷酢酸に入れ、還元フラスコの中で水素ガスを通して活性の白金黒とする。純 phrenosine 1.5 g を 50 ml の氷酢酸に加熱溶解し、上記の白金黒-氷酢酸液の中に注入して、微量水素化装置の中で水素ガスを通しつつ 35° の恒温において常圧の下に磁気攪拌器で絶えず攪拌して還元を行わしめる。2 時間後最早水素ガスの吸収を認めざるに至つてフラスコを還元装置から外し、氷酢酸液を加熱濾過して白金黒を除去する。濾液を室温に放置し、生じた沈澱を濾別してアセトンでよく洗い減圧乾燥すれば白色の結晶性粉末約 1.2 g を得る。此の方法では触媒の活性度如何によつてしばしば還元が不十分に終ることがあつた。

* この結果は、著者が 1953~1955 年米国 Illinois 大学留学中に得られたもので、当時指導教授 CARTER 博士によつて MARINETTI 博士に私信を以て通報された。更に著者ら⁽⁸⁾は 1955 年 10 月に Canada, Ontario 州の London で開かれた Symposium on the Chemistry and Physiology of Phospholipids においてこの問題に触れ、MARINETTI 博士によつて討議支持された。

2. Dihydrophrenosine の性状

1) 溶解性 : Phrenosine と殆ど同様の溶解性を示す。即ち水, アセトン, エーテル及び石油エーテルに冷熱時共不溶, メタノール, クロロホルム, 90%アルコール, 無水アルコール, ベンゼン及び氷酢には常温で難溶であるが, 沸騰せしめると可溶, ピリジンには極めて易溶であつた。

2) 熔融点 : 微量の試料を取り顕微鏡の下で極めて徐々に温度を上げて行くと 130° で結晶形が崩れ始め, 漸次崩壊が進んで 220~222° においてきれいに熔融することが観察された。此の際分解を伴わない。

3) 元素分析 : Dihydrophrenosine $C_{48}H_{95}NO_9$ (分子量 830.2)

計算値 C 69.48%, H 11.46%, N 1.68%

実測値 C 69.21%, H 11.50%, N 1.75%

4) 2 重結合の飽和化 : HANUS のヨウ素液を用いヨウ素価を測定したところヨウ素は全く消費されなかつた。又第 2 図に示す如く波長 10.3 μ のところに *trans*-型 2 重結合のピークを全く認めなかつた。

5) 旋光度 : 0.3 g の試料を 15 ml のピリジンに溶かした液を用い, 23° において旋光度を測定したところ +0.59° の値を得た。 $[\alpha]_D^{23} = +14.8$ 。

3. Dihydrophrenosine のアセチル誘導体

アセチル化の方法は概ね前報⁽⁷⁾の hexaacetylphrenosine の調製法に従つた。1.0 g の dihydrophrenosine を 50 ml のエルレンマイヤーフラスコに取り, 4 ml のピリジン及び新たに蒸溜せる 4 ml の無水酢酸を添加して少しく加温した後密栓して室温に越夜する。反応液を氷冷し, 冷室で 10 ml のメタノールを少量宛加えて過剰の無水酢酸を分解する。ついで全液を, 6 ml の冷濃塩酸と小さい氷塊を入れた分液ロートに移し, 40 ml のエーテルを加えて静かに振盪, アセチル化物をエーテル層に移行せしめる。エーテル層を 20 ml の水で 5 回洗滌した後無水硫酸ソーダで越夜乾燥し, 硫酸ソーダを濾別した濾液を溜去乾燥した結果 0.95 g の白色粉末を得た。m. p. 37.5~38.0°, $[\alpha]_D^{23} = +8.15^\circ$ (c 1.0, クロロホルム-メタノール溶液)

分析値 : Hexaacetyldihydrophrenosine $C_{60}H_{107}NO_{15}$ (分子量 1082.4)

計算値 C 66.57%, H 9.96%, N 1.29%

実測値 C 66.58%, H 9.82%, N 1.31%

鹼化価 0.1197 g の試料を 0.1 N のアルコール性苛性カリ溶液 20 ml に溶かし, 室温で 12 時間反応せしめたところ, 0.1 N 塩酸溶液 6.71 ml に相当する苛性カリが鹼化に消費された。鹼化価=314.5 (計算値 310.9)。

総 括

1. 糖脂質 phrenosine の 2 重結合は, *trans*-型の立体配置を有することが証明せられた。
2. Dihydrophrenosine 及び hexaacetyldihydrophrenosine の調製法とそれらの性状が記載せられた。

本研究の中主として赤外線吸収スペクトル分析に関する部分は, 著者が米国 Illinois 大学留学中に実施したものである。当時研究を指導された同大学化学部長 H. E. CARTER 教授に深く感謝すると共に, 御教示と御助言をいただいた北海道大学農学部中村幸彦教授に厚く御礼を申し上げる次第である。

(1) H. E. CARTER, F. J. GLICK, W. P. NORRIS, G. E. PHILLIPS : <i>J. Biol. Chem.</i> , 142, 449 (1942); <i>ibid.</i> , 170, 285 (1947).	(1953).
(2) 大野公吉 生化, 18, 151 (1944).	(6) G. MARINETTI, E. STOTZ <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 76, 1347 (1954).
(3) 大野公吉 : 生化, 19, 133 (1947).	(7) 藤野安彦 : 本誌, 30, 764 (1956).
(4) K. MISLOW : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 74, 5155 (1952).	(8) H. E. CARTER, D. S. GALANOS, Y. FUJINO : <i>Canad. J. Biochem. Physiol.</i> , 34, 320 (1956).
(5) G. FODOR, J. KISS : <i>Nature</i> , 171, 651	