307. 為政 脩*：脂肪酸の代謝（第1報） 2-フェニルステアリン酸の代謝様式について その1

Osamu Tamemasa: Fatty Acid Metabolism. I. On the Mode of Metabolic Cleavage of the Carbon Chain of 2-Phenylstearic Acid. (1).

(Department of Chemistry, Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo)

生体内に於ける脂肪酸の炭素直鎖の分解様式については、Knoop (1905) に依つて提称された β -酸化説¹⁾ が最も古く且つ脂肪酸代謝の中核をなしているが、其の後 Verkade (1934) の ω -酸化説²⁾, Quastel (1935) の multiple alternative oxidation 説³⁾ 等が現れた。此等 β -酸化及び ω -酸化両説の根拠は主として置換基を有する脂肪酸について行われた実験に基いて居り、その脂肪酸の炭素数は次に示す如く大抵中級の脂肪酸以下である。

(I) $C_6H_5(CH_2)_nCOOH$ $n=0\sim4$ Knoop¹⁾ (II) $C_6H_5(CH_2)_nCOOH$ $n=2\sim5, 8, 9$ Raper, et al.⁴⁾
(III) $C_6H_5SO_2 > N(CH_2)_{10}COOH$ (Flaschenträger) Hosoda⁵⁾ (IV) $CH_3(CH_2)_9CH(N < SO_2C_6H_5)COOH$ Flaschenträger, et al.⁶⁾ (V) $CH_3(CH_2)_8C(CH_3)=CHCOOH$ Kuhn, et al.⁷⁾ (VI) $cyclo C_6H_{11}(CH_2)_9 \cdot COOH$ Bernhard⁸⁾ (VII) $C_6H_5(CH_2)_xCH(CH_3)COOH$ $x=0\sim2$ Carter, et al.⁹⁾ (VIII) $C_6H_5CH((CH_2)_y \cdot CH_3)CH_2COOH$ $y=1\sim5$ Carter, et al.⁹⁾

高級の置換脂肪酸に就いては実験例に乏しく、且つ明確な結果の得られた場合も少い。例えば Schoenheimer, Rittenberg (1937)¹⁰⁾ は油酸、リノール酸を重水素化して得たステアリン酸 (IX) を鼠に與えて、その体脂肪より重水素含有パルミチン酸を分離証明し、又 Bernhard, Vischer (1946)¹¹⁾ は之と同じ構想に基いて重水素含有の Behenic acid (X) からステアリン酸、パルミチン酸及びミリスチン酸の生成を確証して、高級脂肪酸に於いても β -酸化の行われる事を証明したが、Hill, Robinson が合成し、Stewart がその代謝実験を行つた 15-phenylpentadecanoic acid (XI) 及び 22-phenylbehenic acid (XII)¹²⁾ の場合にはその代謝産物を捕捉する事が出来なかつた。* 又 Kuhn 等⁷⁾ は 3-methylstearic acid (XIII) を家兎に注射し、その尿中より少量の酸性物質を得たがその構造に就いては精査しなかつた。尚 Flaschenträger 等⁶⁾ は cetylsulfonic acid (XIV) 及び α -(N-methyl-N-benzenesulfo)-aminostearic acid (XV) について代謝実験を行わんとしたが、前者はその塩が水に難溶な為、後者はその合成に成功していない為、何れも動物実験を行うに至つていない。

然し最近山川¹³⁾ は 2-propyltridecanoic acid (XVI) 及び 2-propyltetradecanoic acid (XVII) を家兎に注射して、夫々の酸に於いて ω -酸化とそれが更に β -酸化を受けて生成したと考えられる二塩基性酸を尿中から得た。(IX) $CH_3(CH_2)_7CHDCHD(CH_2)_7COOH$, $CH_3(CH_2)_4CHDCHDCH_2CHDCHD(CH_2)_7COOH$

* Present address: No. 1, Asahimachi, Niigata. Department of Pharmacy, Niigata University School of Medicine

- 1) F. Knoop: Beitr. Chem. Physiol. u. Path. **6**, 150 (1905).
- 2) P. E. Verkade, J. van der Lee: Biochem. J. **28**, 31 (1934); Z. physiol. Chem. **225**, 230 (1934), **227**, 213 (1934).
- 3) M. Jowett, J. H. Quastel: Biochem. J. **29**, 2143, 2159, 2181 (1935). See. H. J. Deuel, Jr., associates: J. Biol. Chem. **109**, 597 (1935); **116**, 621 (1936).
- 4) H. S. Raper, E. I. Wyne: Biochem. J. **22**, 188 (1928).
- 5) T. Hosoda: Z. physiol. Chem. **192**, 264 (1930).
- 6) B. Flaschenträger, K. Bernhard, C. Löwenberg, M. Schläpfer: ibid. **225**, 157 (1934).
- 7) R. Kuhn, F. Köhler, L. Köhler: ibid. **242**, 171 (1936).
- 8) K. Bernhard: ibid. **256**, 49 (1938).
- 9) H. E. Carter, E. Osman, H. Levine, S. Gamm: J. Biol. Chem. **128**, XIII (1939).
- 10) R. Schoenheimer, D. Rittenberg: ibid. **120**, 155 (1937).
- 11) K. Bernhard, E. Vischer: Helv. Chim. Acta **29**, 929 (1946).
- 12) G. M. Hill, R. Robinson: J. Chem. Soc. **1936**, 281.
- 13) 山川: 本誌 **70**, 633 (1950); J. Biochem. Japan. **37**, 343 (1950).

** J. Harmon, C. S. Marvel (J. Am. Chem. Soc. **54**, 2515 (1932)) も脂肪酸を合成したがその動物実験については文献に記載がない様である。

尙種々の位置にアルキル基を有する中級脂肪酸 (Keil¹⁴⁾, Dziewiatkowski¹⁵⁾), アルキルマロン酸 (Bernhard¹⁶⁾), アルキル琥珀酸 (Emmrich¹⁷⁾, Bernhard¹⁸⁾, Thomas¹⁹⁾), アルキルアデピン酸 (Emrich²⁰⁾, Weitzel²¹⁾) 等についても代謝実験が行われている。

著者は芳香環を有する脂肪酸の抗菌性の研究に従事し²²⁾²³⁾²⁴⁾ 各種の置換脂肪酸を得て居るので、Knoop の古典的構想に倣つて之等置換脂肪酸を用いて高級脂肪酸の代謝様式を研究せんとした。本実験に用いた 2-フェニルステアリン酸 (XVIII) (以下 PSA と略称する) は (IV), (XVI), (XVII) の化合物と同様に酸基からの β-酸化が阻害される事を期待され、従つてそれ以外の炭素鎖の分解様式が見られる筈である。

今回少量の PSA を家兎に與えてその尿中より ω-酸化と更に 6 回 β-酸化を受けて生成したと考えられる α-phenyladipic acid (PAA と略称する) が得られたので之に関して報告する。

動物実験に用いた PSA (XVIII) は他の α-位にベンゼン核を置換した脂肪酸²¹⁾の場合と同様に次の方法で合成した mp 61~62° の板狀品である。そのアルカリ塩は水に難溶で水溶液として注射するに適しないから大豆油に

溶かして動物に注射を行つた。高級脂肪酸を用いての動物実験の難点の一つは他の例 (XI, XII, XIV の場合) にも見られた如く塩類が水に難溶な事であつてこの実験に於ける如く大豆油に溶かして注射を行う方法は比較的良好の結果を與えたと信ずる。

全量 17.7 g の PSA を 2 匹の家兎の背部の皮下に注射し、尿を採集する。注射完了後該動物は 2 匹共斃死した。解剖の結果は、注射部位に於いて大豆油は良く吸収されているが PSA は一部未吸収のまま沈着している事を知つた。動物の死因は局所の傷害に依るものと考えられる。全量 3400 cc の尿を弱酸性として濃縮後先ず 20 時間エーテル抽出を行い 4.5 g の粗安息香酸を得た。更に 120 時間エーテル抽出を行う事に依り 6.0 g の液体を得た。この液体の重曹可溶部をデアゾメタンでメチルエステル化し、後、蒸溜を行つて次の 2 溜分を得た。1) bp₃₈ 117~119° (0.7 g)。2) bp_{0.5} 150~155° (1.2 g)。此等を夫々鹼化して 1) より安息香酸を、2) より mp 137~139° の結晶 (粗品 1.0 g) を得た。本品の p-phenylphenacyl ester (PPE と略称する) は mp 135~137.5° である。メチルエステルの沸点、遊離酸の融点、元素分析値、アルカリ滴定値、及びその PPE の分析値等より、mp 137~139° の結晶は α-phenyladipic acid (XIX) と推定される。そこで次の方法で PPA を合成し尿中から得られた酸と比較検討した。

茲に得られた合成 PAA は mp 138~140° の柱狀晶で、その PPE は mp 135~138° である。尿から得られた酸 (mp 137~139°) 及びその PPE (mp 135~137.5°) と夫々混融試験を行うに融点の降下を認めない。従つて尿から得られた mp 137~139° の結晶は α-phenyladipic acid である。尙他の部分より安息香酸並びに PPA を得たがその詳細は実験の部に譲る。

さて、家兎体内に於ける PSA より PAA の生成は現在迄に多くの著者²⁵⁾⁶⁾⁷⁾¹³⁾ に依つて主張されている如くに、先ず脂肪酸炭素鎖の末端のメチル基が酸基に酸化されて C₁₈-二塩基性酸を生じ (ω-酸化)、之が更に 6 回 β-

14) W. Keil: C. A. **37**, 5943, 6728 (1943).

15) D. D. Dziewiatkowski, S. A. Venkatarmann, H. B. Lewis: J. Biol. Chem. **178**, 169 (1949).

16) K. Bernhard: Z. physiol. Chem. **269**, 135 (1941).

17) R. Emmrich, P. Neumann, I. Emmrich-Gläser: ibid. **267**, 228 (1941).

18) K. Bernhard, H. Lincke: Helv. Chim. Acta. **29**, 1457 (1946).

19) K. Thomas, G. Weitzel, P. Neumann: Z. physiol. Chem. **282**, 192 (1950).

20) R. Emmrich: ibid. **261**, 61 (1939).

21) G. Weitzel: ibid. **285**, 58 (1950).

22) 浅野, 本松, 為政: 本誌 **70**, 622 (1950).

23) 浅野, 為政, 本松: 本誌 **69**, 381 (1949).

24) T. Ukita, O. Tamemasa, H. Motomatsu: 本誌 **71**, 289 (1951).

酸化を受けて生じたと解釈するのが最も妥当である。ω-酸化生成体 (XX) が尿中に排泄されない事は C₁₈-直鎖二塩基性酸を動物又は人間に與えた場合完全に燃焼するか或は少量 C₁₀, C₈, C₆ 二塩基性とし尿中に排泄される

という知見²⁵⁾で説明出来る。PAA の収率は PSA が注射部位で沈着残留していたので算出する事が出来ない。尙 PAA の更に β-酸化の進んだ phenylsuccinic acid は捕捉出来なかつた。

之を要するに本実験に依つて、今迄に試みられた事のないベンゼン置換高級脂肪酸に於いても尙 ω-酸化の行われる事が明かになった。之は單に脂肪酸の代謝の問題のみでなく一般に生体内でのアルキル基の代謝、広くは下毒の問題にも寄與するものと考えられる。安息香酸の排泄は草食動物に於いて見られる事実で本代謝上に意義を附することは出来ない。

終りに本研究の動機を與えられた恩師故浅野三千三教授、終始御指導御鞭撻を賜つた恩師秋谷七郎教授に謹んで感謝し、併せて御助言を賜つた浮田忠之進助教授に深謝する。又元素分析を行われた鈴木、入江、栗原の諸氏に厚く感謝する。

実 験 の 部

2-Phenylstearic acid (PSA) の投与実験 後述の方法で合成した PSA 2 g を 10 cc の大豆油に加温して溶かし、体温に冷却後、体重 2.5~3 kg の 2 匹の家兎の背部の皮下に、朝夕 2 回に分けて注射を行う（1回 0.5 g, 1日 1 g）。注射完了後尙 1 週間尿を集め（全量 3400 cc）、固形物を除去後、酸性で約 500 cc に濃縮し下図の如く処理する。

A の処理（安息香酸の証明） 水に溶かし脱色炭で脱色後再結晶を行い、mp 119~120° の板状晶を得た。4.0 g。本品は安息香酸と混融するに融点の降下を認めない。

B の処理（PPA の証明） 液体 3.1 g をエーテルに溶かし、ジアゾメタンでメチル化後蒸留を行い 1) bp₃₈ 117~119° (0.7 g), 2) bp_{0.5} 150~155° (1.2 g) の 2 留分を得た。1) は鹼化後安息香酸 (mp 119~120°) 0.5 g を得た。留分 2) を 10% アルコール性カリ液 20 cc で鹼化し、常法に従つて処理後固化する物質を得た。本物質は稀アルコール又は稀醋酸より再結晶出来アルコールから析出した結晶は mp 137~139° の粉末状晶である。その分析値は PPA のそれと一致する。C₁₂H₁₄O₄ 計算値 C 64.85, H 6.35, COOH 40.51。実験値 C

25) R. Emmrich, I. Emmrich-Glaser: Z. physiol. Chem. **266**, 183 (1940).

64.98, 64.99, H 6.12, 6.13, COOH 40.24, 40.35. PPE: 上記の酸 0.1 g をアルコールに溶かし, $n/50$ -NaOH で滴定し, 溶媒を大部分去り, アルカリ対應量より少し少量の *p*-phenylphenacyl bromide のアルコール溶液を加えて3時間水浴上に還流する. 約 $2/3$ 量のアルコールを留去後, 多量のエーテルにとり, 炭酸ソーダ, 水の順序で洗滌後乾燥しエーテルを留去すれば固化する物質が得られる. 之を純アルコールから再結晶して mp 135~137.5° の簇晶を得る. 本品の分析値は PAA の Di-PPE に一致する. $C_{40}H_{34}O_6$ 計算値 C 78.67, H 5.61, 実験値 C 78.70, H 5.61. 前記の遊離酸 (mp 137~139°) 及びその PPE (mp 135~137.5°) は後述の方法で得た PAA (mp 138~140°) 及びその PPE (mp 135~138°) と夫々混融するに融点の降下を認めない. 従つて家兎尿中より得られた mp 137~139° の結晶は α -phenyladipic acid である.

C の処理 粗結晶を水から再結晶を行い, mp 120° の安息香酸を得た.

D の処理 B の処理と同様にメチルエステルとなし, 分留後 1) 0.3 g の安息香酸メチルエステルと 2) bp_{0.2} 浴温 160~170° (0.3 g) の留分を得た. 2) は鹼化後結晶化せず, その PPE は mp 132~135° を示し, それ以上精製出来なかつたが, 合成 PAA の PPE と混融するに融点の降下を示さない. 従つて元の結晶化しない酸は不純な PPA と考えられる.

解剖所見* 薬物を注射後斃死した家兎の注射局所には黄色パスタ様の濃い膿汁の入った膿瘍が形成され, その大きさは経約 2 cm 程度である. その被膜は反応少く比較的薄い. リンパ腺は膨れていない. 又内臓には肉眼的変化は見られない.

注射部位の白色部をとり, アルコールで抽出し, そのアルコール液を放置すると mp 60° の板状晶を析出する. 本品は投与物質と混融するも融点の降下を示さない. 之は未吸収の PSA である.

投与脂肪酸 (PSA) の合成 フェニルマロン酸エステル²⁰⁾ とアルキルハライドを反応させる方法²²⁾ で得た. 例えば純アルコール 225 cc に金属 Na 4.6 g を溶かし, 47.2 g のフェニルマロン酸エステルを加えて 30 分間加熱し, 冷後 70.4 g の cetyl iodide を加えて 20 時間還流する. 以下常法に従つて処理し bp_{1.5} 235~242° の液体 55 g を得た. 鹼化後醋酸より再結晶して mp 61~62° の板状晶を得た. $C_{24}H_{40}O_2$ 計算値 C 79.94, H 11.18, COOH 12.48, 実験値 C 80.30, H 11.22, COOH 12.80.

α -Phenyladipic acid の合成 allyl bromide より得られた trimethylene bromide 20 g, KCN 4.8 g をメタノール 50 cc 中で反応させ bp₁₂ 90~95° の γ -bromobutyronitrile 2.9 g を得た. 別に純アルコール 10 cc に金属 Na 0.4 g を溶かし, 此の液に 4.5 g のフェニルマロン酸エステルを加え 30 分間還流する (この前処理を行わないと収量が悪い). 冷後前記ブロマイドを加え 4 時間煮沸し, 以後常法に従つて処理し bp₅ 185~195° の液体を得た. 之を再留して bp₄ 185° の粘稠な液体 1.7 g を得, 此のチアノエステルを 10% アルコール性カリ液 30 cc で鹼化, 脱炭酸後 1.3 g の酸性物質を得た. 稀醋酸より再結晶して mp 139~140° の柱状晶となる. $C_{12}H_{14}O_4$ 計算値 C 64.85, H 6.35, COOH 40.51, 実験値 C 64.60, H 6.42, COOH 40.12. PPE: 上記の方法に従つて製する. 簇晶 mp 135~138° (純アルコールより). 計算値 C 78.67, H 5.61, 実験値 C 79.33, H 5.92.

東京大学傳染病研究所第七研究部

Summary

In order to study the metabolism of higher fatty acids, Knoop's classic idea was followed and 2-phenylstearic acid was injected into a rabbit and α -phenyladipic acid was recovered from its urine. The latter acid was assumed to have been formed from the former by one ω -oxidation and six β -oxidations, which confirms the fact that ω -oxidation also takes place in phenyl-substituted, long chain fatty acids.

(Received May 9, 1951)

* 解剖所見を寄せられた当研究所病理学研究室の草野信男博士に感謝する.

26) "Org. Synth." Coll. Vol. II, 572.