427. 水谷 彰： パロチンの化学的研究 その4 パロチン中の糖について (2)
(唾液腺ホルモンの研究 第22報*)

Akira Mizutani: Studies on the Salivary Gland Hormones. XXII.
Chemical Studies on Parotin. (4). Studies on Sugar in Parotin. (2)

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo)

前報¹⁾に記した如くパロチン中の糖の種類は未だ決定するまでに至らなかったが mannose と推定される公算が最も大きいので一応 mannose と仮定し、 α -naphthol- H_2SO_4 法²⁾によつて定量した。

Devor²⁾は蛋白製品中の糖の定量に関しては全く触れていないが、本法をパロチン製品に適用するに当り予備実験を行い、定量に使う 570 m μ 附近の吸光度が蛋白の有無により影響を受けるか否かを調べたところ、蛋白の存在下にも定量が出来かつ galactose と mannose の場合は、570 m μ に於ける mol 当りの吸光度の差が非常に少ないが、基準にした糖と実存の糖の種類が異つても著しい誤差を来さないことが判つた。即ちこの方法により発色させた場合 galactose と mannose の吸収曲線は Fig. 1 に示す如く極めて近似しており、両者の単位重量当りの吸光度の差が少ない。然し一面に於いては吸光曲線により両者を区別することは困難である。更に蛋白の存在する場合の影響を調べる為、馬血清 albumin 溶液に galactose を加えた場合に於ける呈色を 570 m μ の波長により測定したところ Fig. 2 に示す如く、galactose のみについて得られた直線の上に殆ど重なることが判つた。従つて 570 m μ 附近では吸光度に蛋白の影響は殆ど現われないものと考えて差支えない。また同図より明らかな如く、糖の量に比例して吸光度は直線的に変化する。但しこの実験には検液、糖の基準溶液及び盲検を必ず同時に同一条件で発色測定する必要があることは原報にも記載しているが著者もこれを認めた。

Fig. 1

Absorption spectra of both solutions of galactose and mannose treated by α -Naphthol- H_2SO_4 method, respectively. Curve Ga: galactose 80.43 γ /cc. Curve Ma: mannose 73.85 γ /cc. The broken curve is presumptive.

Fig. 2

Absorption spectra (at 570 m μ wave length) of galactose solutions at various concentrations and the solutions of horse serum albumin to which various amounts of galactose are added, treated by α -naphthol- H_2SO_4 method, respectively.

- galactose only.
- ⊗ albumin only.
- × The differences of the absorptions between albumin solution (10 mg./cc.) to which galactose was added and albumin solution only (10 mg./cc.).

* 伊藤四十二：唾液腺ホルモンの研究 第22報。

1) 水谷：本誌 72, 1513 (1952).

2) A. W. Devor: J. Am. Chem. Soc. 72, 2008 (1950).

Fig. 3 Electrophoretic patterns of the precipitate appeared when the supernatant solutions which were obtained by fractional precipitations of pH 5.4-precipitate with ammonium sulfate*), were adjusted to the isoelectric points.

pH 7.9, 0.05 mole phosphate buffer, 12.0 mAmp., 17°.

The existence of three components are illustrated in the ascending pattern.

The content of the effective component (indicated in middle peak by arrow) is approximately 45%.

The content of the component of smaller mobility than that of the effective component is approximately 38% (right side peak).

The content of the greater mobility is approximately 17% (left side peak).

パロチン製品中の糖の測定に際しては、殆んど無いと思われるが可及的に蛋白の影響を避けるために、試料の N-HCl 加水分解液について定量した。パロチン精製品の糖含有率は mannose と仮定して 0.73%であつた。測定に使つたパロチン精製品は前報¹⁾ Fig. 1 の電気泳動図を示す約 93%の純度のものであるから約 7%の不純物が存在し、この不純物の部分に糖が含まれているとすれば最大 10%の含有率に達することになる。このような可能性も有り得るから、パロチン自体に糖があるか否かは不明となる。この点を更に検索する為、精製母液回収製品について定量した所、糖含有率 1.78%であつた。此の製品は精製の際、硫酸濃度 20%, 15%及び 12%で析出する沈澱をそれぞれ分離した母液を集め、液の pH を等電点に調製して析出した沈澱を透析し、透析液の pH を再び等電点に調製して析出した沈澱を冷アセトンで脱水後減圧下に乾燥したもの（精製母液回収製品と呼ぶ）で電気泳動分析の結果によると Fig. 3 に示す如く 3 成分から成り、有効成分が約 45%で、易動度の小さい不純物（精製品中の 7%の不純物と同一物）が 38%、易動度の大きい不純物（回収製品の中に存在）は 17%であるから（前報¹⁾ Fig. 1 及び本報 Fig. 3 参照）糖の含量と関係させて次の式が成立する。

$$93x + 7y = 0.73$$

$$45x + 38y + 17z = 1.78$$

x は有効成分 1g の含む糖の g 数、 y は有効成分より易動度小なる不純物 1g の含む糖の g 数、 z は有効成分より易動度大なる不純物 1g の含む糖の g 数。上の方程式から x, y, z の限界を求めると、

$$0.0079 \geq x \geq 0.0048; \quad 0.0413 \geq y \geq 0; \quad 0.083 \geq z \geq 0 \quad \text{となる。}$$

各 z の値に夫々 100 を掛れば各成分の糖の百分率となり、それらの相互関係をまとめると Table の如くなる。

有効成分の糖 (%)	易動度小なる不純物の糖 (%)	易動度大なる不純物の糖 (%)
0.48	4.13	0
0.79	0	8.3

即ち、有効成分の糖含有率は 0.48%から 0.79%の限界内にあり、当然零にはなり得ないわけである。

Hexosamine について：先ずパロチン精製品の N-HCl 加水分解液について、Nilson²⁾ に従い検液を予め acetylacetone で処理した後 Ehrlich のアルデヒド試薬を加えた場合に淡桃色を呈した。ところが対照として、acetylacetone を加えずに他は同様に処理した場合もやはり淡桃色を呈した。従つて検液中には Ehrlich 試薬で直接に発色するものが既に存在していることになる。これはパロチン製品の水溶液の呈する淡黄色の色素(pyrrole 系と思われる)によるものと想像される。acetylacetone 処理を行つた場合と対照（無処理）の場合の呈色度には肉眼的には明瞭な差が認められなかつた。一方 ovomucoid を調製して、その N-HCl 加水分解液についてパロチンの場合と同様に処理したところ、acetylacetone 処理の場合は濃赤色を呈したが、対照（無処理）の場合は全く呈色しなかつた。このことから ovomucoid 中には hexosamine は存在するが pyrrole 系の物質は無いもの

*) This is illustrated in the previous paper¹⁾ (cf. Fig. 1).

3) Hinsberg, Lang: "Medizinische Chemie" 191.

と考えられる。次にパロチン製品の N-HCl 加水分解液について acetylacetone 処理の場合と対照の場合の吸光度の差を electrophotometer により filter S 47 を用い測定し、その結果から試料 10 mg に相当するように換算すると cell 5 mm の場合では、パロチン精製品では $E: 0.022$ 、精製品の一段階前の製品では $E: 0.029$ 、精製母液回収製品では $E: 0.038$ となる。これ等の値からパロチン製品は精製度の高まるに従い、hexosamine に由来すると思われる吸光度の減少する傾向が認められる。かつ 3 製品の何れの場合も対照との吸光度の差は非常に小で、パロチン精製品の如きは殆んど実験誤差に近い。以上の理由からパロチン自体は hexosamine を含んでいないか、或いはたとえ含んでいるとしても非常に微量であろうと考えられる。

本研究にあたり終始御指導御鞭撻を賜つた伊藤四十二教授並びに熱心に御援助下さった緒方章名誉教授に対し深甚の謝意を表す。又原料を提供された帝國機器製菓株式会社、精製に協力された沢田光雄氏、電気泳動分析を施行された東大医学部生化学教室の平井秀松博士並びに鳥尾和男博士の諸氏に対し深謝する。尙本研究の費用の一部は文部省科学研究費によつた、併せて深謝する。

実 験 の 部

α -Naphthol- H_2SO_4 反応 検液 1 cc を試験管にとり氷冷下に振盪しつつ、 α -naphthol- H_2SO_4 試薬 (濃硫酸 10 cc に α -naphthol 40 mg を溶解) 3 cc を徐々に滴加、次いで沸騰水浴中に 10 分間加熱後とり出し、30 秒後氷水中に浸す。冷後 Beckman spectrophotometer により吸光度を測定。5 mm の cell 使用。(I) galactose 及び mannose に於ける吸収曲線: galactose 溶液 (80.43 γ /cc), mannose 溶液 (73.85 γ /cc) の各々につき発色後、407.5 $m\mu$ から 625.2 $m\mu$ に至る波長につき吸光度を測定。対照として水 1 cc 及び α -naphthol- H_2SO_4 3 cc の場合について測定し、検液の場合の測定値を補正 (Fig. 1)。

(II) 濃度の異なる糖液及び蛋白溶液に糖を添加した場合: galactose 溶液の 11.7 γ /cc, 23.0 γ /cc, 46.0 γ /cc の各検液につき発色測定。又馬血清 albumin 溶液 (2.0%) に galactose 溶液 (22.98 γ /cc) を添加し、検液 1 cc 中 albumin はすべて 10 mg/cc と定め、添加 galactose は 11.49 γ , 6.90 γ , 4.60 γ , 0.00 γ の 4 検液を調製し、各々につき発色、測定。対照として、(A) 水 1 cc, α -naphthol- H_2SO_4 3 cc, (B) 2.0% albumin 溶液 0.5 cc, 水 0.5 cc, 濃硫酸 3 cc の各々の場合につき、同様に処理、測定し、各検液に於ける測定値を補正した (Fig. 2)。

(III) パロチン製品の加水分解液について糖の定量。パロチン精製品の加水分解: 試料 55.8 mg を硬質試験管にとり、少量の水と N-NaOH とで溶解後 N-HCl 2 cc を加え細いガラス棒で攪拌後、軽くガラス栓をなし、沸騰水浴中に時々軽く振盪しつつ 3 時間加熱後冷却し、小分離管に移し遠心分離、上澄液を内容 5 cc のメスフラスコに移す。更に N-HCl で試験管を洗い、洗液を分離管に加え、細いガラス棒で攪拌後遠心分離し上澄液を先のメスフラスコ中に加える。かくして分離管内の沈澱を数回洗滌、洗液をメスフラスコ中に加え最後に標線まで水を加う。この溶液 1 cc 中には試料 11.16 mg に相当する糖が含まれる。上述の加水分解液及び mannose 溶液 (84.4 γ /cc 及び 52.55 γ /cc) の各々につき発色、測定。対照として、パロチン加水分解液と濃硫酸の混液及び水と α -naphthol- H_2SO_4 の混液の各々につき同様に操作。グラフより、試料 11.16 mg は 81.5 γ の糖を含有 (0.73%) す。パロチン精製母液回収製品は、同様にして定量。1.78% の糖を含有。

Hexosamine の検出 試料の N-HCl 加水分解液 1~0.5 cc を試験管にとり、等容量の acetylacetone 溶液 (acetylacetone 0.5 cc を 2N-NaOH 25 cc に溶解) を加え、95° の水浴中で 20 分間加熱後水道水で冷却、次いで検液と等容量の Ehrlich 試薬 (dimethylaminobenzaldehyde 0.4 g をアルコール 30 cc に溶解し、更に濃塩酸 30 cc を加える) を加え、90° 前後の水浴中に約 10 分間加温し、最高の呈色度に達せしめる。少くも 20 分間は安定。対照として検液に acetylacetone の代りに 2N-NaOH を等容量加えて同様に処理。次いで acetylacetone 処理の場合と無処理 (対照) の場合を発色後左右の cell (5 mm) に容れ両者の吸光度の差を electrophotometer により測定。

Ovomucoid の調製 卵白 65 cc (鶏卵 2 ケ分) に 2% 食塩水 185 cc を加えて攪拌、飽和食塩水 24 cc を加えた後酢酸を滴加しリトマスに対して弱酸性となし、次いで沸騰水浴中に浸し、攪拌しつつ約 10 分間加熱する。凝固完了後冷却し、予め水道水で長時間洗滌して糖分を除いた濾紙で濾過。濾液に攪拌しつつ結晶硫酸を加えて飽和させる。放置後沈澱を遠心分離して透析する。透析液 45 cc を得、屈折率から濃度約 1% と推定。

東京大学医学部薬学科

Summary

Based on the assumption that the sugar in parotin is mannose, the amount of sugar contained in parotin of approximately 93% purity was 0.73%. Less pure parotin, recovered from the precipitation mother liquor, obtained during the purification of parotin, contained 1.78%

of sugar. From these results, it is assumed that the sugar content of parotin itself is in a range of 0.79 to 0.48%. It is also assumed that hexosamine is either non-existent or is contained in a minute amount, and that a very minute amount of pyrrole dye is contained in parotin preparation.

(Received July 27, 1952)

428. 伊藤四十二, 青沼 繁: 顎下腺の研究 (第1報) 顎下腺抽出物の
血清燐及びカルシウム量に及ぼす影響について

Yosoji Ito and Shigeru Aonuma: Studies on the Submaxillary Gland. I.
Effect of Submaxillary Gland Extracts on Serum
Phosphate and Calcium.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo*)

緒方知三郎¹⁾等は唾液腺ホルモンは専ら耳下腺でつくられ、顎下腺はこれに協調して補助的に働くものとして
いるが、これに対して桂, 大山²⁾等はこの両腺は形態学的にも、発生学的にも全く異なるもので作用も全く相反し、
例えば耳下腺は血清デアスターゼ量低下性物質を、顎下腺は上昇性物質を内分泌するし、また耳下腺が血清 Ca
量低下性物質を内分泌するに対して、顎下腺はこれを上昇する物質を内分泌するといっている。更に岡本³⁾は顎
下腺は血清 Ca の調節上は之を上昇し、他は之を低下させる物質を血中に分泌し、前者はアルブミン、後者は
ステロイドであるとしている。このように顎下腺の内分泌機能については諸説区々として一致していない。

著者等は唾液腺ホルモン研究の一環として顎下腺抽出物の血清燐量及び Ca 量に及ぼす影響を調べた所、既報⁴⁾
の如く耳下腺とは反対に血清燐量を減少することを認めた。そこで予試験として家兎及び牛の顎下腺の生理食塩
水抽出液を製して、血清燐及び Ca 量に及ぼす影響を調べた所 Table I に示す如く Ca は耳下腺と同じく低下
させるがその効力は弱く、燐は著明に減少させることを知った。また血清燐低下効力は家兎よりも牛の方が強い
ようである。次にこのような作用をもつた有効部分がリポイドフラクシオンと水溶性フラクシオンのいずれの部
分に来るかを見るため Fig. 1 の如き分割を行つた。即ち牛顎下腺の摺漬物を 2 分し、一方はソックスレーで 6
時間エーテル抽出を行い、エーテル可溶性フラクシオン [G6] を得、腺残渣は更に 94%アルコールで抽出して
アルコールエキス [G7] を得、この場合の腺残渣は更に pH 8.0 で水で 2 日間浸出し、後 pH 2.8 に調製して
析出する沈澱 [G8] を集めた。他の部分は pH 8.0 で 2 日間水浸し、水溶液を pH 4.5 に調製し析出する沈澱
[G4] をとる。ここに得た pH 4.5 沈澱は一部を再び pH 8.0 で水に溶かし、pH 4.5 で沈澱させる [G4a]。
pH 4.5 沈澱の他の一部は pH 8.0 で水に溶かし、濾過して濾液を水浴上で加熱して濃縮し [G5] とする。先に
pH 8.0 で水抽出した時の腺残渣を再び pH 8.0 で水抽出し、pH 4.5 に調整すると第 1 回抽出時よりも多量に
沈澱 [G9] を得る。(再びこの腺残渣を抽出しても収量は少い。)

上述の如くして得た各フラクシオンに就き、既報⁴⁾の方法で家兎血清無機燐量と酸可溶性有機燐量に及ぼす影
響を調べた所、Table II, III, IV に示した如く、そのいずれのフラクシオンも燐量、殊に無機燐量を低下するが、
その効力順位は $4a > 9 > 5 > 8 > 7 > 6$ となる。即ち水溶性フラクシオン [G9, G4a] はエーテル可溶性 [G6] 及
びアルコール可溶性部分 [G7] に比し著しく強力である。またこの水溶性フラクシオン [G4] の精製 [G4a] に
よつて更に効力が増強されることから恐らく血清燐低下作用を有する有効部分は水溶性フラクシオンに来るもの
と考える。[G6] 及び [G7] がやや有効なのは水溶性有効部分の一部がエーテル、アルコールに移つたためと考

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 緒方: 医事衛生 41, 9 (1939); 緒方: 病理学雑誌 3, 332 (1943) 等。

2) 桂, 大山: 日本内分泌学会誌 20, 19 (1944)。

3) 岡本: 日本内分泌学会雑誌 26, 291 (1951)。4) 伊藤, 青沼, 東: 本誌 72, 1465 (1952)。