321. 秋谷七郎, 中澤泰男: 牡蠣中の新含糖類脂体の研究 (第1報)

その単離及び精製

Shichiro Akiya and Yasuo Nakazawa: Studies on the New Glycolipide in Oyster. I. Its Isolation and Purification.

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

牡蠣は古来水産食料品として珍重され、その栄養学的意義についても夙に認められている。その軟体部の化学的成分の内、脂質については古くから多くの研究報告があり、増本及びその共同研究者¹⁾は広島産牡蠣 *Ostrea gigas* の脂質の含有量は季節により変動があり、且つその化学的性状即ち比重、沃素価、酸価及び不飽和物の量等も変化するが、一般にその脂肪酸の組成は特に C_{20} の脂肪酸の量が多く、且つ平均不飽和度が特に大であることを報告し、又辻本、小柳²⁾ は牡蠣脂肪の不飽和部より一種のステロールを抽出し、ostreasterol と命名し $C_{29}H_{48}O$ なる分子式を与えている。しかし牡蠣に含有せられる磷脂質、糖脂等の所謂複合脂質に関する報告は内外を通じ殆んど見られない。

今回、著者等は牡蠣の如き軟体動物には従来、糖脂質の研究対象とされている脊椎動物の各臓器或いは血液等に存在するものとは異つた糖脂質の存在することを予想し、この研究に着手したが、従来知られている糖脂質とはその構造上全く異つた型式の、ある種の含糖類脂体を単離した。

牡蠣に含有される類脂体としては、著者等の目的とする物質以外に普通の磷脂質、糖脂質も勿論存在するのでこれらよりの分離はその化学的性質が類似しているので極めて困難であつたが、我々是有機溶媒に対する溶解性の差やカドミウム塩の溶解性の差を利用し、最後にはクロマトグラフィーを利用して分離し、一応の目的を達した。原料としては市販の牡蠣の軟体部を用いた。牡蠣等における脂質、炭水化物、その他の成分の含有量或はその性状は生活環境、栄養の良否、季節及び生活条件等により消長のあることが報告せられているが、今回は一応これらの条件による変動を無視し、大体 10月～4月のものを用いた。又我々の目的とする含糖類脂体が牡蠣の何れの臓器に存在するかは未だ検討を加えていないので、原料として軟体部全体を用いた。

市販の牡蠣の“むきみ”をアセトンに浸漬して脱水後、肉挽きで磨砕し、朝比奈式連続抽出器を用い、アセトンで約 20 日間脱水、脱脂を行う。この際色素、中性脂肪と共に多量のステロール類が除去される。次いで溶媒をかえてエーテルを用い完全脱脂すると共に、エーテル可溶性の磷脂質も、その大半はエーテルに移行する。エーテル抽出後、風乾し脱脂せる牡蠣粉末を得 (Fig. 1, A)。これをメタノール・クロロホルム (3:1) の混合溶媒で水浴上加熱抽出を数回行い、全抽出液 (B) を合し、減圧で濃縮し溶媒を全く留去すると赤褐色のシラップを得る。之をメタノールに溶解し、不溶部分を汙別後、メタノール溶液 (C) にアセトンの大過剰を加えると黄白色の沈澱 (D) を生ずる。この沈澱 (D) は目的とする含糖類脂体の他、一般磷脂質、糖脂質及び微量の蛋白質の混合物である。即ち biuret 反応、ninhydrin 反応、Molisch 反応何れも陽性であり、且つモリブデン酸アンモンによる磷の定性試験も陽性である。この沈澱を遠心分離後、更にメタノールに溶解し若干の不溶物を汙別後アセトンの大過剰を加えて再沈澱させる。この再沈澱を数回行うことにより殆んど白色の沈澱を得る。この操作により蛋白質は除かれ biuret 反応陰性となるが ninhydrin 反応はなお、微陽性で低分子のペプチドが混在すると思われ、且つ磷の定性も陽性である。この沈澱をメタノールに溶解し、メタノール溶液 (E) に 10% 酢酸カドミウムのメタノール溶液を沈澱が生じなくなるまで加える³⁾。ここに生じた沈澱は大部分通常の磷脂質のカドミウム塩である。この沈澱を遠心分離した上澄液 (F) に硫化水素を導通して過剰のカドミウムを除き、減圧下に濃縮した液 (G) に過剰のアセトンを加えて沈澱させる。この沈澱を遠心分離し乾燥した後、無水ピリジンに溶解し、易溶部分と不溶部分とに分離する。易溶部分のピリジン溶液に大過剰のアセトンを加えて、沈澱 (H) を得。これを更にピリジンに溶解せしめ、若干の不溶物を汙別しアセトンで再沈澱させる。このピリジンによる

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 増本: 日化 62, 547,740(1941).

2) 辻本, 小柳: 工化 37 下, 998(1934); 38 上, 270(1935).

3) E. Klenk: Biochem. J. (London). 10, 146, 152(1916).

再沈澱を 2~3 回行い. しかし再沈澱法によつては完全に精製を行うことは出来ない. 即ち ninhydrin 反応は陰性となり低級ペプチドを除去できたが, 燐の定性はなお陽性で, 燐脂質の混在が予想される. そこでクロマトグラフィーによる精製を試みた. 燐脂質及び糖脂質等のクロマトグラフィーには普通アルミナ⁴⁻⁶⁾, 酸化マ

Fig. 1

- 4) S. Thannhauser, P. Setz and J. Benotti: J. Biol. Chem. **126**, 785(1938).
- 5) E. Klenk: Z. physiol. Chem. **273**, 76(1942).
- 6) E. Klenk, F. Rennkamp: Z. physiol. Chem. **273**, 253(1942).

グネシウム⁷⁾等が用いられている。我々はこれら吸着剤を検討し、吸着層としてアルミナ、酸化マグネシウム等を用い、展開溶媒としてピリジン、メタノール及びエタノール等或いはこれらの混合溶媒を用いて種々試みたが、結局吸着層としてアルミナ、展開溶媒にピリジンを用い最良の結果を得た。即ち前記アセトンで沈澱させた物質 (I) をピリジン溶液としアルミナのクロマト柱により展開すると強い吸着能を示す二つの吸着帯と吸着能の弱い一つの吸着帯とに分離する。吸着能の強い部分は混在する含磷物質であつて、目的とする含糖類脂体は吸着能の弱い部分である。之をメタノールで溶出し、減圧濃縮しアセトンで沈澱させて目的物 (J) を得る。本物質は水、メタノール及びピリジンに易溶、クロロホルムに難溶、ベンゼン、エーテル、石油エーテル及びアセトン等に不溶である。再結晶については各種の混合溶媒について試みたが、何れも成功しなかつた。又本物質は白色粉末であるが吸湿性甚だ大であつて定気中で水を吸つて赤褐色シラップとなる。Molisch 反応陽性、ninhydrin 反応陰性で且つ燐の定性も陰性である。mp 258~260° (decomp), 分子量約 1050 (Akiya-Barger 法), 分析値 C 49.09, H 7.64, N 2.55.

本研究は文部省科学研究費を用いて行つた。ここに感謝の意を表する。

実 験 の 部

抽 出 市販の牡蠣 4 kg をアセトンに浸漬し、ある程度脱水後肉挽きで磨碎、朝比奈式連続抽出装置でアセトンを溶媒とし、約 150 時間脱水脱脂を行う。次いでエーテルで同様に脱脂を行い、エーテル層が殆んど無色となる迄続ける。次いで吸引濾過、風乾、牡蠣粉末 (A) 650 g を得。これにメタノール・クロロホルム (3:1) の混合溶媒 1.2 L を加え、水浴上で煮沸抽出、冷後吸引濾過。このメタノール・クロロホルムによる抽出を数回繰返し、全抽出液 (B) を合し、減圧下に濃縮し赤褐色粘稠なシラップを得。このシラップに無水メタノール 1.5 L を加え、微温を与えて溶解し、この際生ずる不溶物を濾去し、濾液は減圧濃縮して約 1/3 容となし、これに約 10 倍容のアセトンを攪拌しつつ加えると、黄白色の沈澱 (D) を生ずる。この沈澱 (D) を遠心分離し、アセトンで洗滌した後、再びメタノール 400 cc に溶解し不溶物を濾別し、濾液に 7~8 倍容のアセトンを加え再沈澱させる。この再沈澱を 3~4 回繰返し、最後に得られた白色沈澱をメタノール 800 cc に溶解し、このメタノール溶液 (E) に酢酸カドミウムの 10% メタノール溶液を加えると直ちに黄白色沈澱を生ずる。酢酸カドミウムを更に沈澱が生じなくなる迄加えた後、遠心分離して沈澱を除き、上澄液 (F) に乾燥硫化水素を導通して、過剰のカドミウムを沈澱させ、生じた硫化カドミウムを遠心分離して除き、上澄液 (G) を約 1/2 容に減圧濃縮した後、アセトン 10 倍容を攪拌しつつ加え白色沈澱を得。この沈澱をアセトンでよく洗滌した後、デシケーター中に乾燥、吸湿性白色粉末 2.2 g を得。この白色粉末に無水ピリジン 30 cc を加え、微温を与え攪拌して溶解せしめると約半量が溶解。遠心分離して不溶部分を除き、上澄液に約 10 倍容のアセトンを攪拌しつつ加え白色沈澱 (H) を得。アセトンで洗滌し、遠心分離後乾燥、1.0 g。これを再びピリジン 20 cc に溶解せしめ、若干の不溶部分を濾別し濾液にアセトン 10 倍容を加え、再沈澱。この再沈澱を数回繰返し最後に白色吸湿性粉末 (I) 0.6 g を得。

クロマトグラフィーによる精製 径 2 cm のガラスのクロマト管にアルミナ (和光純薬製クロマトグラフ吸着用, 200 mesh) を 3 時間熱灼して活性化し、長さ 30 cm に充填したクロマト柱に前記白色粉末 (I) 0.6 g を無水ピリジン 15 cc に溶解して注入し、更にピリジン 15 cc を加えて展開すると、吸着能の強い 2 つの吸着帯と弱い 1 つの吸着帯とに分離。各吸着帯は紫外線の照射により識別できるのでメタノールにて溶出し、吸着能の弱い部分を分離し、これを濃縮した後、アセトン過剰を攪拌しつつ加えて沈澱、遠心分離後乾燥、白色吸湿性粉末。得量 0.15 g。

東京大学医学部薬学科

Summary

A new glycolipide, structurally different from the known types of cerebrosides, was extracted from the soft tissues of an oyster and was purified by chromatography.

(Received June 24, 1955)

7) A. Taurog, C. Entenmann, B. A. Fries, I. L. Chaikoff: J. Biol. Chem. **155**, 19(1945).