322. 秋谷七郎, 中澤泰男: 牡蠣中の新含糖類脂体の研究 (第2報)

構成糖について

Shichiro Akiya and Yasuo Nakazawa: Studies on the New Glycolipide in Oyster. II. A New Sugar Component of Glycolipide.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo)

従来, 糖脂質に含有されている糖として知られるものは, D-galactose, D-glucose, D-mannose 及び hexosamine 等であつて, L-fucose は生物体内では主として植物界特に褐藻類¹⁾, gum, tragacanth 等に存在し, 又動物界ではある種の血液型物質²⁻⁴⁾, 蛙卵の mucin⁵⁾ 及び乳汁中の寡糖体⁶⁾ 等に見出されるのみで, 生物体内で脂質の構成因子として含有されているものは未だ発見されていない. 著者等は前報で牡蠣より抽出分離した含糖類脂体 (前報 Fig. 1-J, 以下 J とする) の構成糖を検索した結果 D-glucose の他に L-fucose を含有することを発見し, 次いでこれら単糖類の定量及び単糖類相互間の結合順序を検討し, (J) の糖部分は D-glucose 2 分子, L-fucose 1 分子よりなる trisaccharide であつて, 又単糖類相互間の結合は C₁-C₄ 結合であることが判明したのでここに報告する.

即ち (J) を 1N 硫酸で封管中 3 時間加水分解したものについて, ブタノール, ピリジン, 水及びフェノール, 水を溶媒としてペーパークロマトグラフィーを行つたところ, D-glucose, L-fucose を検出し, 他の単糖類の存在は認められなかつた. 更に之を確認するため D-glucose 及び L-fucose の分類を企てた. 即ち同様に加水分解して得た溶液を減圧濃縮し, ペーパークロマトグラフィーと同様に展開し, それぞれのスポットに相当する部分を切りとり, 水で抽出して D-glucose 及び L-fucose をそれぞれ分離し, D-glucose は *p*-nitrophenylhydrazone, L-fucose は diphenylhydrazone としてそれぞれ確認した. 次いで Dische の cysteine-硫酸反応^{7,8)} を用いて, これら単糖類の定量を行つた結果 L-fucose 15.5%, D-glucose 30.4% で, この結果よりして L-fucose 及び D-glucose の mol 比は 1:2 であることを知つた. また糖部分の総量は 45.9% であり, 更にこの含糖類脂体 (J) の分子量は約 1050 であるので (J) に含有される糖部分は L-fucose 1 分子, D-glucose 2 分子よりなる trisaccharide であると考えられる. 次いでこの三単糖の相互間の結合順序及び結合位置を決定するためにメチル化を行つた. (J) はアルカリに極めて不安定なため, アルカリ, ジメチル硫酸によるメチル化は極めて得量わるく用いられないので, Purdie 法を用いた. (J) はピリジン, メタノール及びエタノールのそれぞれに溶解するのみであるので, 先ずメタノールを溶媒としてメチル化を行つた. 初期の段階ではメチル基の導入が非常におそいが, メチル化の進行するに伴い, クロロホルム等にも溶解するようになるので, 溶媒をクロロホルムに変え, 最後にヨードメチルに直接溶解してメチル化を行い, 最早メチル基の導入不可能に到るまでに約 100 時間を要した. このメチル化体はエーテル, クロロホルム, アセトン及びメタノール等に易溶で石油エーテルに不溶であつて, クロロホルム溶液に大過剰の石油エーテル添加により沈澱せしめ得るので, 之により精製した. 微黄色粉末で OCH₃ 22.81% である. 次いでこのメチル化体について 5% メタノール性塩酸でメタノライシスを行い, 得られた各メチル化単糖類のメチルグリコシドを 4% 塩酸と共に加熱してグリコシド結合を切り, ブタノール・エタノール・アンモニア・水 (40:10:1:49) の溶媒を用い, ペーパークロマトグラフィーにより定性した. この結果 R_F 0.80, 1.05 の 2 つのスポットが得られる. 0.80 のスポットは 2,3,6-trimethyl-D-glucopyranose に一致する. また文献⁹⁾ の記載によれば 2,3,4-trimethylrhmannose の同溶媒に対する R_F は 1.01 であり, ペーパ

- 1) J. Conchie, E. G. V. Percival: J. Chem. Soc. **1950**, 827.
- 2) E. A. Kabat, H. Baer, V. Knaub: J. Exptl. Med. **89**, 1(1949).
- 3) E. A. Kabat, H. Baer, V. Knaub: Ibid, **91**, 105(1950).
- 4) E. F. Anison, W. T. J. Morgan: Biochem. J. (London). **52**, 247(1952).
- 5) B. F. Folkes, R. A. Grant, J. K. N. Jones: J. Chem. Soc. **1950**, 2136.
- 6) R. Kuhn, A. Gauhe, H. H. Baer: Chem. Ber. **87**, 289(1954).
- 7) Z. Dische, L. B. Shettles, M. Osnos: Arch. Biochem. **22**, 169(1949).
- 8) Z. Dische, L. B. Shettles: J. Biol. Chem. **175**, 595(1948).
- 9) E. L. Hirst, L. Hough, J. K. N. Jones: J. Chem. Soc. **1949**, 298.

ークロマトグラフィーに於いては L-fucose と L-rhamnose とは殆んどの溶媒に対して類似の挙動を示すところから、1.05 のスポットは trimethylfucose であると考えられる。またこのスポットは 2,3,4,6-tetramethyl-D-glucopyranose のスポットと近接して居りまぎらわしいが、検体と 2,3,4,6-tetramethyl-D-glucopyranose とを同一点に重ねてつけて展開した結果は、明らかにスポットは二つに分かれ、検体中に含まれるものは 2,3,4,6-tetramethyl-D-glucopyranose ではなく、trimethylfucose であることは明らかである。2,3,4-trimethyl-L-fucopyranose の標準品が得られなかつたため、証明し得なかつたが、D-glucose のメチル化体として 2,3,6-trimethyl-D-glucopyranose のみを得られ、2,3,4,6-tetramethyl-D-glucopyranose が得られず、また L-fucose のメチル化体として dimethylfucose が存在しない点よりして、この trisaccharide の末端は D-glucose ではなく、L-fucose であることは明らかであり、またその R_G 及び天然に存在する L-fucose が総べて pyranose 構造を有し、furanose 構造のものは見られない等の理由から、このメチル化によつて得られた trimethylfucose は 2,3,4-trimethyl-L-fucopyranose であると思われる。従つてこの含糖類脂体 (J) に含有される糖部分は trisaccharide であつて、その構造は Fig. 1 の如く、最も末端に L-fucopyranose が存在し、之に 2 分子の D-glucopyranose が C₁—C₄ 結合で結合しており、他端の D-glucose はグリコシド結合で (J) の他の部分に結合しているものと考えられる。

Fig. 1

本研究は文部省科学研究費によつて行つた。ここに感謝の意を表する次第である。

実 験 の 部

単糖類の定性 (J) 25 g に 1 N 硫酸 0.5 cc を加えて、これを小ボンベロールに封管し、沸騰水浴中に 3 時間加水分解、冷後ボンベロールの一端を開き、計算量の炭酸バリウムを加えて中和し、遠心分離し、上澄液をペーパークロマトグラフィーに用いた結果、二つのスポットを得。これらはそれぞれ D-glucose, L-fucose に一致する。

1. 溶 媒 ブタノール・ピリジン・水 (5:3:1) J-hydrolysate: 0.42, 0.30. standard: D-glucose 0.31, D-galactose 0.24, L-fucose 0.42.

2. 溶 媒 フェノール・水 (5:1) J-hydrolysate 0.64, 0.38. standard: D-glucose 0.39, D-galactose 0.44, L-fucose 0.64. 発色剤: aniline hydrogen phthalate (AHP) 及び $\text{NH}_3\text{-AgNO}_3$. 濾紙: 東洋濾紙 No. 50, 温度 $20 \pm 0.3^\circ$.

D-Glucose 及び L-Fucose の分離 (J) 0.6 g に 5% 硫酸 100 cc を加え、沸騰水浴中で 5 時間加水分解、冷後分離せる脂肪酸等の不溶物を濾別した後、炭酸バリウムを少量づつ加えて中和し、硫酸バリウムを濾別。濾液を水浴上 $50 \sim 55^\circ$ にて減圧濃縮。このものを東洋濾紙 No. 50 (40×40 cm) の下辺 3 cm に細長く線状につけ、ブタノール・ピリジン・水 (5:3:1) の混合溶媒で上昇展開し、乾燥後両側辺を AHP にて発色し D-glucose 及び L-fucose の位置を確めて濾紙を細長く切りとり、これより両者をそれぞれ水にて抽出し、水浴上 $50 \sim 55^\circ$ で減圧乾固し、D-glucose, L-fucose を分離した。

D-Glucose p-nitrophenylhydrazone 上記分離せる D-glucose より常法に従い作成。mp 189° . D-glucose p-nitrophenylhydrazone と混融して融点降下せず。C₁₂H₁₇N₂O₇ 計算値 C 45.71, H 5.36, N 13.33, 実験値 C 45.60, H 5.18, N 13.20.

L-Fucose diphenylhydrazone 分離せる L-fucose につき Muther, Tollens¹⁰⁾ の方法に従つた。即ち L-fucose 10 mg を少量の水に溶解し、これに diphenylhydrazine 10 mg をエタノール 0.5 cc に溶解して加え

10) Muther, Tollens: Ber. **37**, 308(1904).

更にビリジンを1~2滴を加えて水浴上暫時加温し, 冷後これに約倍量のエーテルを加え, 24時間室温に放置するに微黄色針状晶を析出, これを含水エタノールより再結晶. mp 200°. 秋谷, 鈴木¹¹⁾の合成せるL-fucoseよりつくつたL-fucose diphenylhydrazoneと混融して融点降下せず. $C_{18}H_{21}O_4N_2$ 計算値 N 8.48, 実験値 N 7.96.

D-Glucose 及び L-Fucose の定量 Dische の cysteine-硫酸法に従い, ベックマン光電比色計を用い比色定量した. その結果 L-fucose 15.5%, D-glucose 30.4%であつた.

メチル化 (J) 1.0 g をメタノール 50 cc に溶解し, ヨードメチル 30 g, 新たにつくつた酸化銀 20 g を少量ずつ加え 40 時間水浴上に煮沸後, 酸化銀, 沃化銀の沈澱を汙別し, 溶媒を減圧下に留去し, 褐色シラップを得. OCH_3 2.25%. これをクロロホルム・メタノール (1:1) 50 cc に溶解, 前回同様にヨードメチル 30 g, 酸化銀 20 g を少量ずつ加え 30 時間水浴上に煮沸. 沈澱を汙別し減圧下溶媒留去, 褐色シラップを得. OCH_3 7.71%. 次にこのシラップをクロロホルム 50 cc に溶解, ヨードメチル 30 g, 酸化銀 15 g で同様に5時間メチル化を行い, シラップを得. OCH_3 21.47%. このシラップをヨードメチル 50 g に溶解, 酸化銀 20 g を加えて水浴上5時間煮沸, 沈澱を汙別した後, ヨードメチルを留去し残つた褐色シラップをクロロホルム 20 cc に溶解し, 約4倍容の石油エーテルを加えるとメチル化体は沈澱, 汙取乾燥. 微褐色粉末. OCH_3 22.5%. 更にこのメチル化体につき, 前回同様の操作で2回, ヨードメチル, 酸化銀によりメチル化を繰返し, 石油エーテルで沈澱. クロロホルムに溶解し, 石油エーテルで数回再沈澱せしめる. OCH_3 22.81%. 得量 0.12 g. 微黄色粉末. mp 105°(decomp). 分子量約 1200 (Akiya-Barger 法).

メチル糖の定性 Hirst, Hough, Jones⁹⁾の方法に従つた. 即ちメチル化体 30 mg に5%メタノール性塩酸 0.6 cc を加え, 小ボンベロールに封管し, 沸騰水浴中で5時間加熱. 冷後開管し4%塩酸 3 cc を加え, 沸騰水浴中で3時間加熱. 冷後炭酸銀を加え塩酸を中和し, 炭酸銀, 塩化銀の沈澱を遠心分離後, 上澄液に硫化水素を通じて硫化銀を沈澱, 再び遠心分離して硫化銀を除いた上澄液を減圧濃縮し, 黄色シラップを得. このシラップにつきペーパークロマトグラフィーを行つた. 溶媒: ブタノール・エタノール・水・アンモニア (40:10:49:1) の上層. R_f 検体 0.80, 1.05, 2,3,6-trimethyl-D-glucopyranose 0.82. 発色剤: NH_3-AgNO_3 , 汙紙: 東洋汙紙 No. 50, 温度 $20 \pm 0.5^\circ$.

東京大学医学部薬学科

Summary

The sugar portion of the new glycolipide obtained from oyster was examined and its structure was assumed to be D-glucopyranose $\longleftrightarrow$ D-glucopyranose $\longleftrightarrow$ L-fucopyranose, a trisaccharide composed of 2 moles of D-glucose and 1 mole of L-fucose.

(Received June 24, 1955)

11) 秋谷, 鈴木: 本誌 74, 1296(1954).