170 cc, Amberlite IR-120 (H) 乾燥 5 g を混じ 5.5 hr 加熱下攪拌還流. その間 $[\alpha]_D^{20}$ は $+54.3^\circ$ から -5.12° に変化 (溶媒 MeOH, $[\alpha]_D$ はすべて methyl ester として計算) した. resin を汙別し減圧濃縮すると (III) 析出. EtOH より再結. β 型 3.2 g, mp 139.0° , $[\alpha]_D^{20} -57.5^\circ$ (5 min, H_2O , $c=1.0$). IR は既知物質と一致し, かつ混融しても融点降下を示さない.

(II) の過ヨード酸化 (II) 468 mg を 8.90% $NaIO_4$ 溶液 40 cc に溶解し, H_2O で全容 100 cc として冷暗所に放置. 0.5, 1.0, 1.5, 16, 48 hr 後における $NaIO_4$ 消費量はそれぞれ 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0 mol/mol. 他方 HCO_2H 生成量は同時刻にそれぞれ 2.8, 3.1, 3.3, 3.7, 3.94 mol/mol を与えた.

Ethyl D-glucopyranuronate (IV) 結晶の単離 (I) 30 g, Amberlite IR-4B (OH) 15 g および abs EtOH 300 cc を混合し, 攪拌下加熱還流する. 2 hr 後反応液を paper chromatography で検すると (IV) の生成が確認された. $BuOH \cdot AcOH \cdot H_2O$ (4:1:5) による上昇展開で (I) および (IV) の Rf 値はそれぞれ 0.32 および 0.48 である. 反応開始より 6 hr. 後 $N EtONa$ 1 cc を加えてさらに 4 hr 還流し resin および未反応の (I) 15 g を回収汉別し, 汉液を濃縮して析出する (I) をふたたび汉別. 汉液を活性炭で脱色後濃縮すると (IV) の結晶が析出した. Me_2CO より再結晶して針状晶を得. 収量 3.0 g. mp $133 \sim 134^\circ$, $[\alpha]_D^{20} +76.0^\circ$ (3 min, EtOH, $c=1.02$). $C_8H_{14}O_7$ Anal. Calcd. C 43.24, H 6.30. Found C 43.49, H 6.10.

実験の一部に協力された松永功君に感謝いたします.

中外製薬株式会社浮間工場

UDC 576.882.8.076 : 547.485

宮崎利夫: 真菌多糖類の研究 (第4報^{*1}) *Candida albicans* から分離した
マンナンの化学構造について

Toshio Miyazaki: Studies on Fungal Polysaccharides. IV. On the
Chemical Structure of Mannan from *Candida albicans*.

(Tokyo College of Pharmacy^{*2})

Mannan of *Candida albicans* was isolated by modified Vogel's method and purified by preparation of its copper complex. This material showed $[\alpha]_D +53^\circ$, molecular weight of 4500 (Akiya-Barger method and from reducing end-group assay). Its infrared spectrum showed no β -configuration of mannopyranose.

Periodate oxidation products of this mannan were identified with glyoxal (as *p*-nitrophenylosazone, m.p. 310° , and by infrared spectrum) and glyceraldehyde (as *p*-nitrophenylhydrazone, paper chromatography and electrophoresis). From these results, it was concluded that the mannan has been 1-2, 1-6, or 1-2-6 α -linkages, but not 1-3 or 1-4 linkages.

(Received May 7, 1962)

Candida albicans (*Monilia albicans*) はいわゆるカンジダ症をひき起こす病原性酵母よう真菌の I 種であって, 菌交代症の主原因菌として近時とくに注目されているものである.

本菌から分離した多糖体分画の血清学的研究については, これまでに多数の報告¹⁻⁵⁾ があるが, それら多糖体分画の化学的単一性ははなはだ疑問であり, またそれらの化学構造に関する糖化学的検討もほとんどなされていない. しかるに最近 Bishop 等⁶⁾ は *C. albicans* の脱脂菌体から熱 3% 水酸化ナトリウムによる抽出で得られ

*1 Part III: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 9, 829(1961).

*2 Kashiwagi 4-chome, Shinjuku-ku, Tokyo.

1) P. Negroni: Rev. Inst. bact., Buenos Aires 7, 568(1936).

2) D. A. Vogel: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 86, 373(1954).

3) L. Rzucidlo, et al.: Med. Doswiadczalna i Mikrobiol. 7, 315, 345(1955).

4) J. Jonsen, S. Rasch, A. Strand: Acta Pathol. Microbiol. Scand. 37, 449(1955).

5) T. Akiba, K. Iwata, S. Inouye: Japanese J. Microbiol. 1, 37, 449(1955).

6) C. T. Bishop, E. Blank, P. E. Gerdner: Can. J. Chem. 38, 869(1960).

た粗多糖類を銅塩法によって電気泳動的にほぼ単一と考えられるグルカンとマンナンとに分別し、それぞれについてメチル化および過ヨウ素酸酸化による検討を試みている。すなわちマンナンについてはそのメチル化体を加水分解後ガスクロマトグラフィーに付して、2,3,4,6-tetra-O-methyl-, 3,4,6-tri-O-methyl-, 2,3,6-tri-O-methyl-, および 3,4-di-O-methyl-D-mannose を検出し、それぞれが 1.65 : 1.00 : 0.18 : 1.90 のモル比を示すとし、さらに本マンナンの過ヨウ素酸酸化によって得られたポリアルデヒドを水素化ホウ素ナトリウムで還元後加水分解し、グリセリンのみを証明、これらの結果からこのマンナンは高度に分岐した構造を有すると述べている。

著者はこれらの点について再吟味するために、つぎのような実験を行なった。すなわち、サブローブドウ糖寒天に培養した *C. albicans* (Duke 株) の菌体を集めて脱脂したのち、0.9% 塩化ナトリウム水溶液で加圧抽出を行ない、実験の部に記載のように処理した後、銅塩法で分別を行ない、2N 硫酸による加水分解で D-マンノースのみを与える多糖類を得た。本物質は窒素、リン、イオウを含まず、秋谷-Barger 法による分子量 4500, $[\alpha]_D + 53^\circ$ を示す。また、Somogyi 法⁷⁾ および次亜ヨウ素酸法⁸⁾ によって還元力を測定すると D-マンノースに対し、それぞれ 1 : 0.036, および 1 : 0.038 の値を与える。このものの IR スペクトルは Fig. 1 のようであって、 $893 \pm 6 \text{ cm}^{-1}$ に特に吸収が認められないので、おそらく本多糖類は β -結合ではなく、D-マンノピラノースが α -結合しているものであることが想像される。⁹⁾

Fig. 1. IR Spectrum of the Mannan

ついて本多糖類について実験の部記載のように過ヨウ素酸酸化を行ない、得られたポリアルデヒドをパラニトロフェニルヒドラゾンとして沈殿させ、このものの希エタノール性硫酸による水解物としてグリオキサールパラニトロフェニルオサゾン (mp 310°) を混融および IR スペクトルによって証明し、さらにグリセリンアルデヒドパラニトロフェニルヒドラゾンを紙電気泳動およびペーパークロマトグラフィーによって検出した。しかし D-マンノースパラニトロフェニルヒドラゾン、同オサゾン、エリスロースパラニトロフェニルヒドラゾンおよび同オサゾンに相当するスポットは検出できなかった。したがって、本マンナン中には 1-3 結合および 1-4 結合の存在はほとんど考えられず、過ヨウ素酸酸化によるグリセリンアルデヒド (C-C-C) およびグリオキサール (C-C) の生成は本マンナン中の 1-2, 1-6, 1-2-6 結合あるいは末端基のいずれかまたはその全部に由来するものと考えられることができる。

これらの結果とメチル化による Bishop 等⁶⁾ の成績から、*C. albicans* の菌体から分離したマンナンは D-マンノピラノースの α -1-2 結合を主体とした分枝の多い構造を有するものと考えられるが、これは本菌と血清学的交叉反応の認められる¹⁰⁾ *Saccharomyces cerevisiae* からのマンナン¹¹⁾ および *Cryptococcus neoformans* から得られるキシログルクロマンナン¹²⁾ あるいはまた *Sacch. rouxii* から得られるマンナン¹³⁾ がいずれも 1-2 結合を主鎖とする分枝構造を有するものであることと関連してはなほ興味深い。

実験の部

抽出および精製 *Candida albicans* (Duke 株) をサブローブドウ糖寒天に 3 日間、 37° で培養後、注意して菌体をかきとり、無水 Me_2CO に 5 日以上浸し、1 回 Me_2CO を更新した後、30 min、水浴上にかかる煮沸、冷後、傾斜して Me_2CO を去り、 $\text{EtOH} \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1 : 1) を加えて 10 日以上室温に放置。ろ過して得られた脱脂菌体に 0.9% saline 8 倍量を加えて一夜放置後、 120° で 30 min 抽出、遠沈後同様な抽出を 3 回繰り返す。抽出

7) M. Somogyi : J. Biol. Chem. **195**, 19(1952).

8) R. Willstätter, G. Schudel : Ber. **51**, 780(1918).

9) S.A. Barker, et al. : J. Chem. Soc. **1954**, 3468.

10) E.E. Evans, et al. : J. Bacteriol. **66**, 287(1953).

11) W.N. Haworth, R.L. Heath, S. Peat : J. Chem. Soc. **1941**, 2358.

12) T. Miyazaki : Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **9**, 829(1961).

13) P.A.J. Gorin, A.S. Perlin : Can. J. Chem. **35**, 262(1957).

液を合し、減圧で約 $\frac{1}{3}$ 量に濃縮、これに 3 倍量の EtOH を加えて析出した沈殿を減圧乾燥後、20 倍量の水に溶かし、isopentyl alcohol-CHCl₃ (1:4) と数 hr 振盪、ゲル状析出物のなくなるまでこの操作を繰り返す。遠沈後、上澄みを流水中に 2 昼夜透析、透析内容を減圧濃縮、ふたたび遠沈後上澄みに 3 倍量の EtOH を加え、析出する沈殿を集め、Me₂CO ついで Et₂O で洗った後減圧乾燥、白色粉末を得。脱脂菌体に対し得量 6.6%。

これを精製するために 0.6% NaOH に溶かし、遠沈して微量の不溶物を除き、上澄みに Fehling 液を沈殿の出なくなるまで加え、得られた青白色の沈殿を遠沈して集め、温湯で微アルカリ性となるまで洗い、conc HCl 1~2 滴を加えて微酸性とし、グラスフィルターで濾過、濾液に 3 倍量の EtOH を加えて析出する沈殿を集め、このものについて同様な操作を繰り返えし、白色粉末を得。

本物質は Molisch 反応強陽性、ニンヒドリン、Biuret、ヨウ素反応いずれも陰性、N, P, S を含有しない。mol. wt. 4500 (秋谷-Barger)。[α]_D²⁰ +53° (c=0.6)。0.05M ホウ酸塩緩衝液、バレイショデンプンブロックによる電気泳動では僅かな tailing が認められるが、単一 (検出は PhOH·H₂SO₄)。

還元力の測定 1) Somogyi 法: 検体 1.068 mg を含む水溶液 5 cc に銅塩試薬 5 cc を加え、沸騰水浴中 40 min 加熱、直ちに水冷、2N H₂SO₄ 1.5 cc を加えて酸性とし、0.005N Na₂S₂O₃ 液でデンプンを標示薬として滴定、同時に盲検および D-マンノースを用いて行なった。0.005N Na₂S₂O₃ 消費 cc 数; 盲検値 3.08, 0.106 mg の D-マンノース 2.86, 検体 3.00。還元力の比; D-マンノース: 検体=1:0.036。

2) 次亜ヨウ素酸法: 検体 12.09 mg を含む水溶液 2 cc に 0.1N I₂ 1 cc および 0.1N NaOH 1 cc を加え、10% KI でしめした栓を付して室温に 3 hr 放置後、0.1N HCl で酸性とし、0.01N Na₂S₂O₃ でデンプンを標示薬として滴定、同時に盲検および D-マンノースを用いて行なった。0.01N Na₂S₂O₃ 消費 cc 数; 盲検値 9.68, 2.006 mg の D-マンノース 7.45, 検体 9.17。還元力の比; D-マンノース: 検体=1:0.038。

構成糖の検出 精製体 12 mg を 2N H₂SO₄ 2 cc と 100°, 4 hr 加水分解後 BaCO₃ で中和、常法処理。得られたシロップを PPC および濾紙電気泳動に付した。R_f 0.20 (BuOH·AcOH·H₂O (4:1:5), 東洋濾紙 No. 51, カ-アニジジン·HCl で検出), R_f 0.45 (水飽和フェノール, 同上)。M_g 0.69 (1% borax, 500 V/22 cm, 1.5 hr, 同上)。いずれも対照 D-マンノースに一致。

グリオキサールパラニトロフェニルオサゾン 多糖類 55 mg を水 2.5 cc に溶かし、NaIO₄ 100 mg を 2.5 cc の水に溶かした液を加え、ときどきふりながら室温に 10 日間放置。これに (AcO)₂Pb の冷飽和水溶液を加えて生ずる沈殿を除き、70 mg のパラニトロフェニルヒドラジンの EtOH 溶液 (5 cc) を加えて振盪すると黄色沈殿が析出。暫時放置後遠沈、40% EtOH で洗い、ついで 5% EtOH 性 H₂SO₄ 4 cc を加えて水浴上に 1 hr 加熱、冷後さらにパラニトロフェニルヒドラジンの EtOH 溶液を加えて析出した沈殿を集め、EtOH で十分洗浄、ビリジンから再結、赤色小針晶 mp 310° を得。グリオキサールパラニトロフェニルオサゾンと混融して降下しない。IR スペクトルも完全に一致。

グリセリンアルデヒドパラニトロフェニルヒドラゾン 上記グリオキサールパラニトロフェニルオサゾンを生分離した上澄みにさらにパラニトロフェニルヒドラジンの EtOH 溶液を加え、水浴上で 1 hr 加熱して生ずる赤色沈殿を除き、BaCO₃ で中和、遠沈、上澄みを減圧濃縮、残留物を PPC および濾紙電気泳動に付した。R_f 0.78 (Me₂CO·H₂O (2:1))。1% borax, 500 V/22 cm, 1.5 hr, 東洋濾紙 No. 51 による濾紙電気泳動では、陰極側より 3 cm のところに点ずると、陽極側へ 36 mm 泳動する。いずれもグリセリンアルデヒドパラニトロフェニルヒドラゾン (モノアセトングリセリンアルデヒドパラニトロフェニルヒドラゾンの AcOH 分解体) の値と一致。同時に行なった D-マンノースパラニトロフェニルヒドラゾン +56 mm, 同オサゾン +2 mm, D-エリスロースパラニトロフェニルヒドラゾン +48 mm, 同オサゾン 0 mm。

本研究に際し、終始御鞭撻を賜った東大名誉教授 秋谷七郎先生ならびに本学 村山学長に謹謝致します。また菌株を分与された東大細菌学教室の松田 明博士、IR スペクトルを測定された本学 三橋 進氏、菌の培養に協力された本学学生 堀端謙吉君に厚く感謝致します。