

## 52.

612.015.21

蝶螈 (*Diemyctylus pyrrhogaster*) 皮膚組織ノ

## Sterin 體ニ就テ〔豫報〕

岡山醫科大學生化學教室 (主任清水教授)

醫學士 岡崎遜也

〔昭和17年1月28日受稿〕

## 緒言

動物、特ニ脊椎動物ノ諸臟器及ビ組織ニ含有サル、Sterin 體ハ主トシテ Cholesterin ニシテ、動物組織全 Sterin 體ノ 95—97% ヲ占ム。併シカ、ル動物組織ニハ Cholesterin ノ外ニ極メテ少量ナガラ他ノ異ツタ 2, 3 Sterin 體ヲ含有ス、即チ Dihydrocholesterin<sup>1)</sup> (Schönheimer 1930) ガ Cholesterin ト共ニ 1—2% 含マレ、7-Oxycholesterin<sup>2)</sup> (Haslewood 1939) ガ牛ノ肝臟ニ始メテ発見サレ、7-Dehydrocholesterin<sup>3)</sup> (Windaus 1937) ガ紫外線吸收 Spektrum 測定法ニヨリ内臟諸器官及ビ皮膚組織ニ證明セラレ特ニ白鼠、豚ノ皮膚ニハ 2—5% モ含マルト云フ。尙ホ動物性 Sterin ノミナラズ植物性 Sterin モ亦動物組織中ニ存在スルコト明カトナレリ。即チ Ergosterin<sup>4)</sup> (Rosenheim 1927, Bills 1928) ガ同様ナル測定法ニヨリ動物體內ニ Provitamin-D トシテ微量含有サレテフルコトガ證明サレ、遂ニ Küster<sup>5)</sup> (1928) ハ之ヲ牛血液カラ分離スルニ至レリ。又 Chen<sup>6)</sup> (1933) ニヨレバ蟾皮膚組織ノ分泌液ニハ Ergosterin ガ 4.7% 含有セラルト云フ。然ルニ Dam<sup>7)</sup> (1934) ハ之ニ反對シ動物組織ノ Ergosterin ハ元來動物體內ニ存セス、食物成分トシテ採取サレタモノナリト云フ。最近 Hüttel<sup>8)</sup> (1937) ガ蟾 (*Bufo vulgaris*, *B. vulg. formosus*, *B. Vulg. arenarum*) ノ皮膚組織ノ Alkohol 抽出液カラ植物性 Sterin

タル  $\gamma$ -Sitosterin ヲ分離シ得タコトヲ報告セルモ眞疑ノ程ヲカラズ。

依ツテ余ハ蟾ノ如キ兩棲類ニ屬スル蝶螈ノ皮膚組織中ノ抗佝僂病性 Vitamin D ノ母體タル Ergosterin 及ビ 7-Dehydrocholesterin ノ存否ヲ檢シ、同時ニ此皮膚組織ニモ果シテ動物性 Sterin ト共ニ植物性ノモノモ存在スルヤ否ヤヲ究メント本實驗ヲ企圖セリ。

## 實驗方法竝ニ其ノ成績

蝶螈 10 萬 2 百匹ノ皮膚 30 kg ヲ充分乾燥シタル後肉切器ニテ細カニ碎破シ、更ニ之ヲ粉末トシテ篩ニカケ、得タル粉末 5 kg ヲ Soxhlet 脂肪浸出器ヲ用ヒテ Aether ニテ浸出シ、殘リノ 25 kg ハ圓底 Kolben 中ニテ Alkohol 抽出ヲナシ、其ノ抽出液ハ實驗ノ項ニ示ス如ク處理シテ Sterin 結晶混合物ノ析出ヲ待チ、更ニ此結晶ヲバ Acetyl 化シテ分割再結晶ヲ繰返シ、粗製ノ Cholesterinacetat ト融點 118—119°C ノ Sterinacetat (爾後之ヲ Steringemisch ト稱ス) ヲ分離シ、更ニ其ノ粗製 Cholesterin ヲ Schönheimer<sup>9)</sup> (1930) ノ分離法ニ從ヒ 1 ツノ飽和 Sterin ヲ分離シ得タリ。

蝶螈 10 萬 2 百匹ヨリ採取セル乾燥皮膚粉末 30 kg ヲリ作レル Alkohol 及ビ Aether 抽出液ヨリ Sterin 體混合物結晶約 50 g ヲ得。此 Sterin 混合物ヨリ第 1 表ニ示ス如ク純 Cholesterin 45 g

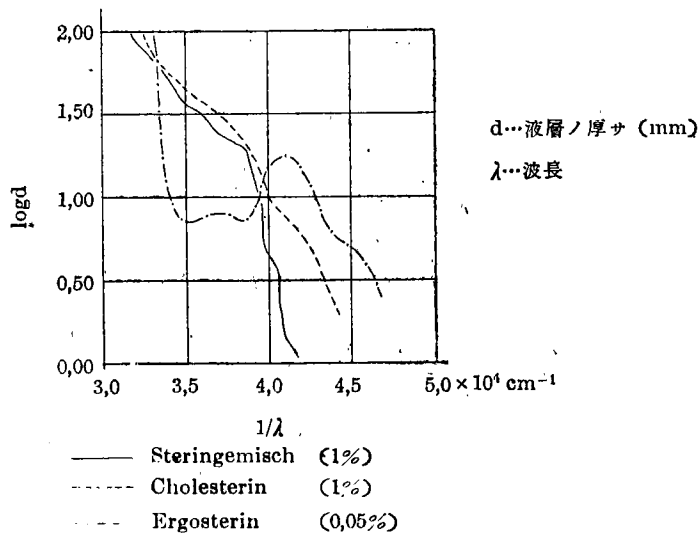
(96,5%) ト物理化學的性質及ビ分析値ノ近似セル (3,1%) 及ビ Dihydrocholesterin 0,2 g (0,4%)  
 Cholesterin 類似體タル Steringemisch 1,3 g ヲ得タリ。

第 1 表

Sterin	得 量 g (%)	融 點 °C		色 彩 反 應	
		Sterin	Acetat	Salkowski	Liebermann
Cholesterin	45 (96,5)	148	114—115	血 紅 色	綠 色
Dihydrocholesterin	0,2 ( 0,4)	140—141	110—111	無 色	無 色
Steringemisch	1,5 ( 3,1)	148—149	118—119	褐 色	赤葡萄酒紅色

此 Steringemisch ハ第 1 表 = 示ス如ク Cholesterin ト異ナリ, Salkowski 反應ハ褐色 = シテ, Liebermann-Burchard 反應ハ赤葡萄酒紅色ヲ呈ス, 併シ Ergosterin = 特有ナル Rosenheim

反應ハ陰性ナリ。又 Ergosterin 及ビ 7-Dehydrocholesterin = 特有ナル Spektrum-吸收曲線アラハレズ, 圖 = 示ス Cholesterin ノ如キ吸收曲線ヲ示ス。



此 Gemischsterinacetat (融點 118—119°C) ト純粹ナル Cholesterylacetat (融點 114,5°C) トノ混融試驗ヲ行フ = 113—116°C = テ熔融シ融點降

下ヲ認ム, 即チ第 2 表 = 示ス如ク其ノ結晶形, 比旋光度, 融點及ビ分析値ハ Cholesterin = 比シ相當ノ差異ヲ認メウベシ。

第 2 表

Sterinacetat	結 晶 形	融 點 °C	分 析		比 旋 光 度 10 cc Chloroform
			C %	H %	
Cholesterylacetat C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	菱 柱 狀	114,5	81,24	11,29	[α] <sub>D</sub> <sup>21</sup> = -30,86
Acetat d. Steringemisch	板 狀	118—119	80,93	11,62	[α] <sub>D</sub> <sup>21</sup> = -47,29
			80,79	11,55	[α] <sub>D</sub> <sup>23</sup> = -47,46

實 驗

1, Aether 抽出液ヨリ Sterin 體ノ分離.

粉末 5 kg フ Soxhlet 脂肪浸出器ニテ 48 時間抽出ヲ行ヒ、此抽出液ノ Aether フ蒸發シテ得タル殘渣ヲ 5% Alkohol 苛性加里溶液ニトカシ重湯煎上ニ 4 時間加温鹼化セリ。此鹼化液ヲ約 10 倍量ノ冷水ヲ加ヘテ強ク稀釋シタル後 Aether ニテ振盪シテ、其ノ Aether 溶液ヲ室温ニテ徐々ニ蒸發セシムル時ハ鱗片狀ノ結晶析出ス、之ヲ吸引濾過ヘ。熔融點 141—143°C。收得量 12 g.

此結晶 12 g フ更メテ蒸溜シタ許リノ失水醋酸 150ccニ溶カシ、之ニ無水醋酸曹達末 3.0g フ加ヘ砂皿上デ 3 時間煮沸シテ Acetyl 化シ、此反應液ヲ冷水 1500 cc 中ニ注入シテ一夜放置ス。此處ニ生ジタ白色沈澱ヲ濾過シテ Aether ニ溶解シ、此 Aether 溶液ヲ充分水洗シタ後之ヲ濃縮ス。此際生ジタ結晶ヲ濾過シタル後之ヲ無水 Alkohol ヨリ分割再結晶ヲ反覆セリ。此分割再結晶ニヨリ先ツ融點 113—115°C ノ結晶 8.0g フ得タリ。此 Sterinacetat ハ Salkowski 反應赤血色ヲ呈シ、Liebermann-Burchard 反應ハ綠色ヲ呈ス。化學的純粹ナル Cholesterylacetat (融點 114.5°C) ト混融試驗スルニ其ノ際融點降下ヲ認メズ。カハル Acetat フ 5% 苛性加里 Alkohol 溶液デ加水分解ヲ行ヒ生ジタル游離ノ Sterin ハ融點 148°C フ示ス。カクシテ純粹ノ Cholesterin フ得タ。

第 2 回ノ分割再結晶ニヨリ融點 118—119°C ノ板狀結晶 0.5 g フ得タリ。此 Sterinacetat ハ Salkowski 反應ガ褐色ヲ、Liebermann-Burchard 反應ガ赤葡萄酒紅色ヲ呈ス。

比旋光度：0,1110 g 物質, 10 cc Chloroform,

$$l=2\text{dm}, \alpha=-1,05 \quad [\alpha]_D^{21}=-47,29$$

之ヲ純粹ナル Cholesterylacetat (融點 114,5°C) ト混融試驗ヲ行フニ 113—116°C デ熔融シ、融點降下アルモノノ如シ、Rosenheim 反應陰性ニシテ

Ergosterin ノ如キモノヲ含有セザルコトヲ知ル。其ノ分析値ハ次ニ示ス如シ。

4,120 mg 物質：12,205 mg CO<sub>2</sub>, 4,255 mg H<sub>2</sub>O.

Cholesterylacetat

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> 計算値 C 81,24% H 11,29%

實驗値 // 80,79 // 11,55

此 Acetat フ加水分解シテ得タル游離 Sterin ハ 148—149°C ノ鱗片狀結晶ニシテ、其ノ比旋光度ハ次ノ如シ。

比旋光度：0,1205 g 物質, 10 cc Chloroform,

$$l=2\text{dm}, \alpha=-0,99 \quad [\alpha]_D^{22}=-41,08$$

2, Alkohol 抽出液ヨリ Sterin 體ノ分離.

25 kg 皮膚粉末ヲ圓底 Kolben ニ入レ Alkohol フ加ヘテ重湯煎上ニ 12 時間加温シ、得タル Alkohol 抽出液ヲ數時間室温ニ放置スルトキハ黃色沈澱ヲ得。之ヲ更ニ 7—10 日間放置シタル後、其ノ沈澱ヲ吸引濾過シ、更ニ冷 Alkohol ニテ充分洗滌ス。得量 10 g.

此處ニ濾過シテ得タル沈澱ヲ粉末ニナシタルモノハ、冷 Alkohol ニ難溶デアアルガ、Aceton, Essigaether, Methanol 等ニハ容易ニ溶ク、ヨツテ始メ Essigaether ヨリ次デ Aceton ヨリ再結晶ヲ行ヘバ熔融點 94°C ノ白雪樣ノ微細ナル針狀結晶 3.0 g フ得タリ。此結晶ハ Liebermann-Burchard 反應ガ赤葡萄酒紅色ヲ、Salkowski 反應ガ褐色ヲ呈ス。此物ハ脂肪酸 Ester ト考ヘラル。依テ之ヲ 5% 苛性加里 Alkohol 溶液デ鹼化シテ其ノ鹼化液ヲ大量ノ冷水ヲ加ヘテ稀釋シ、Aether デ浸出スル時ヘ之ヨリ鱗片狀結晶 1.5 g フ得タリ。無水 Alkohol ヨリ再結晶セシモノハ熔融點 148—149°C ニシテ、Salkowski 反應ハ褐色、Liebermann-Burchard 反應ハ赤葡萄酒紅色ヲ呈シ、Rosenheim 反應ハ陰性ナリ。

比旋光度：0,1125 g 物質, 10 cc Chloroform,

$$l=2\text{dm}, \alpha=-0,93 \quad [\alpha]_D^{22}=-41,34$$

此 Sterin 1.2g ヲ新シク蒸溜シテ間モナキ失水醋酸 50 cc = 溶カシ、無水醋酸曹達 1.0g ヲ加ヘテ煮沸シテ得タル Acetyl 化合物ヲ無水 Alkohol ヲリ再結晶シタルモノハ、熔融點 118—119°C ノ板狀結晶 = シテ、純粹ナル Cholesterylacetat (融點 114.5°C) ト混融スル = 113—116°C = テ熔融シ、融點降下ヲ認ム。又 Salkowski 反應ハ褐色、Liebermann-Burchard 反應ハ赤葡萄酒紅色ヲ呈ス。

比旋光度：0.1085 g 物質、10 cc Chloroform,  
 $l = 2\text{dm}$ ,  $\alpha = -1.03$   $[\alpha]_D^{23} = -47.46$

分析：

3,680 mg 物質：10,920 mg CO<sub>2</sub>, 3,845 mg H<sub>2</sub>O.

Cholesterylacetat

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> 計算値 C 81.24% H 11.29%

實驗値 // 80.93 // 11.62

此處 = 得タル Sterinacetat ハ Aether 抽出液ヨリ分離シタル、熔融點 118—119°C ノ Acetat = 比シ其ノ比旋光度、分析値、結晶形、色彩反應ノ同一ナルコト及ビ兩者ノ混融試驗 = テ融點降下ヲ認メザルコトヨリ、全ク同一 Sterin = シテ、恐ラク Cholesterin ト他ノ類似セル Sterin ノ微量トノ混合物ナラン。

黃色沈澱ヲ吸引濾過シタル濾液ヲ 10% 苛性加里 Alkohol 溶液ヲ加ヘ 5 時間加温鹼化シテ得タル鹼化液ヲ大量ノ冷水 = テ稀釋シ、Aether = テ浸出ス。コレヲ室温ニ蒸發濃縮シテ析出シタル結晶ヲ無水 Alkohol ヲリ再結晶シ分離シタル結晶ハ融點 147—148°C. Liebermann-Burchard 反應ハ綠色、Salkowski 反應ハ赤血色ヲ呈ス。收得量 45 g.

之ヲ既知ノ方法デ Acetat ヲ作り無水 Alkohol ヲリ分割再結晶ヲ行ヒタル = 常 = 融點 114—115°C ノ結晶ヲ得、此場合融點 118—119°C ノ Sterinacetat ハ得ラザリキ。

即チ蠟燭皮膚乾燥末ノ Alkohol 及ビ Aether 抽出液ハ主トシテ Cholesterin ヲ含有シ、此外 = 少量ノ Cholesterin 類似體ガ存在スルモノノ如シ。

### 3, Dihydrocholesterin

Alkohol 及ビ Aether 抽出液ヨリ得タル粗 Cholesterin 50g ヲ Alkohol 1500cc = 溶カシ、之ヲ冷水中 = テ 20—30°C = 冷却スルトキハ少量ノ Cholesterin ガ析出ス。此時計算量ノ 25% 臭素 Alkohol 溶液 85 cc ヲ滴下スル時ハ析出シ始メタル Cholesterin ハ再ビ溶解シ、溫度ハ 30—40°C = 上昇ス。更 = 之 = 同液 5 cc ヲ追加シ 30 分後尙モ臭素ノ色ガ消エザルトキハ、之ヲ再ビ 5°C = 冷却スルト大量ノ二臭素 Cholesterin ノ白色沈澱ガ析出ス、更 = 4 時間冷却シタル後、之ヲ吸引濾過シ、其ノ沈澱ヲ 5°C = 冷却シタル Alkohol = テ沈澱ガ白色 = ナルマデ反復洗滌ス。收得量 75 g.

此臭化物 75 g ヲ 1200 cc ノ Alkohol = 溶カシ、之 = 約 1/2 重量ノ沃度曹達 40 g ヲ加ヘテ 1 時間加温シテ臭化物ヲ分解シ、尙ホ暖マレル内ニ次亞砷酸曹達溶液 45 g ヲ振盪シツ、滴下スルトキハ、沃度ノ褐色ハ消エテ白色沈澱ヲ生ズル = 至ル。之 = 大量ノ冷水ヲ加ヘテ稀釋シタル後重湯煎上 = 加温シテ Alkohol ヲ蒸發セシメテ除キ、室内ニ一夜放置シタル後生ジタル白色沈澱ヲ吸引濾過シテ充分水洗ス。收得量 45 g. 之ヲ無水 Alkohol ヲリ再結晶スルトキハ融點 148°C ノ鱗片狀結晶ヲ得。此結晶ハ Salkowski 反應ガ血紅色、Liebermann-Burchard 反應ガ綠色ヲ呈ス。

分析：

4,355 mg 物質：13,400 mg CO<sub>2</sub>, 4,705 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O 計算値 C 83.86% H 11.99%

實驗値 // 83.92 // 12.00

此 Sterin ヲ既知ノ方法 = ヲリテ Acetat ヲ作り無水 Alkohol ヲリ再結晶スレバ、融點 114—115°C

ノ菱柱狀結晶ヲ得。之ハ純粹ナル Cholesteryla-  
cetate ト混融試驗スルニ融點降下ヲ認メズ。

比旋光度: 0,1215 g 物質, 10 cc Chloroform,

$l=2\text{dm}$ ,  $\alpha=-0,75$   $[\alpha]_D^{24}=-30,86$

分析:

4,575 mg 物質: 13,615 mg CO<sub>2</sub>, 4,590 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> 計算値 C 81,24% H 11,29%

實驗値 " 81,16 " 11,23

ニ臭素-Cholesterin ヲ除去シタ濾液ニ1%

Digitoninalkohol 溶液 250 cc ヲ加ヘ溶液ガ常ニ  
臭素ノ淡黃色ヲ呈スルニ至ル迄追加シテ 48 時間  
冷暗所ニ放置ス。既ニ 3 時間後 Digitonid ノ白色  
沈澱ガ析出シ始ム。此處ニ生ジタ沈澱ヲ濾過シ充  
分 Aether ニテ洗滌ス。收得量 2,0 g。充分乾燥シ  
タ Digitonid 2,0 g ヲ圓底 Kolben ニ入レ Xylol  
20 cc 加ヘテ砂皿上デ加熱, 30 時間煮沸分解ス,  
斯クシテ分解游離シタル Digitonin 及ビ Sterin  
ヲ含有スル Xylol 溶液ニ Aether 200 cc 加ヘテ  
數時間室温ニ放置シ, 白色沈澱トナリ析出スル  
Digitonin ヲ除キ, 此濾液ヲ真空蒸溜シテ褐色ノ  
殘渣 0,8 g ヲ得タリ。

此殘渣ヲ 85% Alkohol ニ溶カシ, 此抽出液ヲ  
蒸發濃縮シ淡黃色ノ結晶 0,2 g ヲ得。之ヲ無水  
Alkohol ヲリ再結晶スルトキハ, 融點 140—  
141°C ノ光輝アル小鱗片狀結晶ヲ得。此結晶ハ臭  
素液ヲ脱色セズ, 又 Salkowski 及ビ Liebermann-

Burchard 反應ハ共ニ無色ヲ呈シ陰性ナリ。

比旋光度: 0,0955 g 物質, 10 cc Chloroform,

$l=2\text{d}$ ,  $m\alpha=+0,64$   $[\alpha]_D^{25}=+33,51$

分析:

3,810 mg 物質: 11,605 mg CO<sub>2</sub>, 4,175 mg H<sub>2</sub>O.

3,265 " " : 9,965 " " , 3,530 " " !

C<sub>27</sub>H<sub>48</sub>O 計算値 C 83,45% H 12,43%

實驗値 " 83,05 " 12,26

83,24 12,10

此處ニ得タル Sterin 60 mg ヲ失水醋酸 15 cc  
ニ溶カシ無水醋酸曹達 0,1 g ヲ加ヘテ煮沸シ, カ  
カル既知ノ方法ニヨリ作リタル Acetat ヲ無水  
Alkohol ヲリ再結晶シ, 融點 110—111°C ノ光輝  
アル菱形結晶 30 mg ヲ得タリ。

分析:

4,680 mg 物質: 1,420 mg CO<sub>2</sub>, 4,070 mg H<sub>2</sub>O.

3,985 " " : 1,210 " " 3,405 " " .

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> 計算値 C 82,80% H 9,59%

實驗値 " 82,75 " " 9,66

" 82,83 " 9,50

稿ヲ終ルニ臨ミ, 終始御懇篤ナル御指導ト  
御校閲ヲ賜ハリシ恩師清水教授ニ對シテ滿腔  
ノ謝意ヲ捧ゲ, 併シテ實驗上種々御助力ヲ賜  
ハツタ數野教授ニ深謝ス。

文 獻

1) Schönheimer, R., Z. physiol. Chem. 192, 73, 1930. 2) Haslewood, G. A. D., Biochem. J. 33, 709, 1939. 3) Windaus, A. u. Bock, F., Z. physiol. Chem. 245, 168, 1937. 4) Rosenheim, O. u. Webster, T. A., Biochem. J. 21, 389, 1927., Bills, C. E. u. Honeywell, E. M., J. of Biol. Chem. 78, 251, 1928, 5) Küster, W. u. Hörth, O., Ber.

d. deutsch. Chem. Ges. 61, 809, 1928. 6) Chen, K. K., Jensen, H. u. Chen, A. L., J. of Pharmacol. 47, 307; 49, 20, 1933. 7) Dam, H. u. Starup, U., Biochem. Z. 274, 117, 1934; 278, 342, 1935. 8) Hüttel, R. u. Behringer, H., Z. physiol. Chem. 245, 175, 1937. 9) Schönheimer, R., Z. physiol. Chem. 192, 91, 1930.

*Aus dem Biochemischen Institut der Medizinischen Fakultät Okayama.*

*(Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu)*

## Über die Sterine aus dem Hautgewebe von *Diemyctylus Pyrrhogaster*.

Von

Yasuya Okasaki.

*Eingegangen am 28. Januar 1941.*

Der Verfasser hat das Hautgewebe von *Diemyctylus Pyrrhogaster* (100200 Tiere) nach dem Trocknen pulverisiert und das Pulver von ca 30 Kg mit Alkohol und Äther erschöpfend extrahiert. Aus diesen beiden Auszügen wurden ca 50 g krystallisiertes Steringemisch gewonnen, aus dem 45 g Cholesterin, 1,5 g Steringemisch und 0,2 g Dihydrocholesterin isoliert wurden, wie in folgender Tabelle 1 gezeigt wird. Das Steringemisch hat spektroanalytisch nicht eine dem Ergosterin und Dehydrocholesterin sondern dem Cholesterin ähnliche Absorptionskurve gezeigt.

Tabelle 1.

Sterine	Ausbeute g (%)	Schmelzpunkt °C		Farbenreaktion	
		Sterin	Acetat	Salkowski	Liebermann
Cholesterin	45 (96,5)	148	114-115	blutrot	grün
Dihydrocholesterin	0,2 (0,4)	140-141	110-111	farblos	farblos
Steringemisch	1,5 (3,1)	148-149	148-149	braun	weinrot

*(Autoreferat)*