

# B.C.G. 菌ヨリ「アニス」酸及ビ「フチオコール」ノ 分離ニ就テ

大阪帝國大學微生物病研究所竹尾結核研究部(主任 今村教授)

岡 田 道 三

(5月4日受理)

## 第一章 緒 論

微生物體ニ關スル化學的研究ハ最近長足ノ進歩ヲ遂ゲ、菌體ヲ構成スル化學的組成ガ各々純粹ニ分離セラレ、全く單體トシテソノ性狀及ビ作用等次第ニ闡明セラレツ、アリ。

結核菌體ニ於テモ此方面ノ研究ハ Johnson<sup>(1)(2)</sup>, Brown<sup>(3)</sup>, Bürger<sup>(4)</sup>, Tamura<sup>(5)</sup>, Koganei<sup>(6)</sup>, Müller<sup>(7)</sup> 武田等ニ依リ遂行セラレ、更ニ進ンデ 1927 年 Anderson<sup>(8)</sup> ノ人型結核菌體ヨリ多量 Lipoid ヲ得テ之ヲ用ヒ種々ナル Fraktion ニ分離シ精細ニ各組成、化學的性質等ヲ明カニシ劃期的業績ヲ公ニセリ。

Anderson & Newman<sup>(9)</sup> ハ 1933 年該 Lipoid ノ Aceton-Aethersoluble Fraktion ヨリ黄色針狀結晶ヲ分離シ、コレヲ化學的ニ研究シ、Phthiocol ト命名シ 2-Methyl 3-hydroxyl-1.4 Naphthogiuonon ノ構造式ヲ與ヘ之ガ Oxydoreduktionssystem ニ屬スル一種ノ色素ナル事ヲ明カニセリ。

氏ハコノ分離操作ノ中、偶然ニ無色ノ「ブリズム」様結晶ヲ分離シ、コノ融解點竝ニ分子量ノ

點ヨリ見テ之ガ全く Anisic Acid 即化學的ニ P-Methoxybenzoic Acid ナル事ヲ證明セリ。更ニ氏ハ Phthiocol β-Methylnaphthalene<sup>(10)</sup> ヨリノ人工合成ニ成功シ、生化學的檢索ニ便ナラシメ、我研究室ニ於テモ<sup>(11)</sup> 外山氏ハ之ヲ用ヒテ種々興味アル成績ヲ發表シ、之ガ家兔血清沃度酸値ヲ上昇セシメ血糖ヲ下降セシムト報告セリ。

サレド Anderson & Newman ハ Phthiocol 竝ニ Anisic Acid ノ分離ニ向ヒテハ何レモ人型結核菌ヲ以テシ、未ダ他ノ菌種ニ就キテノ報告ナク、余ハ特ニコノ點ニ興味ヲ覺エ、人型菌以外ノ菌種殊ニ長期ニ互リテ人工的ニ種々ノ生物學的變化ヲ加ヘラレタル菌種ニ於テ果シテ上記ノ如キ Lipoid ノ化學的組成物質ニ變化ヲ來セルヤ否ヤニ多大ノ疑問ヲ抱キ幸ヒ當研究所ニ於テ一種ノ變型菌ト見做スベキ B.C.G. 菌ヲ多量ノ Long 氏人工合成培地ヲ以テ培養シ、比較的少量ノ Lipoid ヲ得、之ヲ用ヒテ研究スルノ機會ヲ得タレバ此處ニ報告セントス。

## 第二章 實 驗

分離方法ハ總テ Andeson ノ記載ニ隨ヒ最初約 300 本ノ 250 cc. 「ツベルクリン」培養管ヲ以テ B.C.G. 菌ヲ 6 週間培養セシメ然ル後之ヲ Büchner ノ濾過器ヲ用ヒテ菌體ヲ集取シ、約 10 倍量ノ Aether-Alkohol 等分液ヲ加ヘテ 4 週間内

容ヲ屢々振盪シツ、Lipoid ヲ分離セリ。サレド余ハ本操作ニ於テ Anderson<sup>(9)</sup> ノ如ク生菌ヲ用ヒ、且總テ空氣中ニ於ケル酸化ヲ避クルガタメニ嚴重ニ炭酸瓦斯ノ「メデウム」ノ下ニ蒸發行ヒタル操作ハ本實驗ニ於テハ不必要ナリト考

へ、總テ熱及ビ酸化ニ依ル影響ヲ考慮ニ置カズ加熱死菌ヲ用ヒ、且全操作ヲ通ジ空氣中ニ行ヘリ。

分離方法ヲ略記スレバ次ノ如シ。

Aether-Alkoholsoluble Fat (約 20 Gr) ヲ得テ之ヲ更ニ Aethersoluble Fraktion ト Alkoholsoluble Fraktion ニ分ケ此處ニ約 15 瓦ノ Aethersoluble Lipoid ヲ得タリ。

此ノ Lipoid ヲ以テ下記ノ如キ段程ヲ經テ Aethersoluble Fraktion ヨリ Anisic Acid 並ニ Phthiocol ヲ結晶性ニ分離セリ。

Lipoid { Aether insoluble Fraktion (F.-1)  
Aether soluble Fraktion (F.-2) (約 12 瓦)  
↓ 4 時間鹼化 (過剩 KOH ノ Alkohol 溶液ヲ以テ)  
fatty Acid (F.-3)  
↓ 醋酸鉛ヲ以テ Methylation ヲ行フ  
fatty Acid (Methylester) (F.-4)

余ハコノ Fraktion-4 即 Methylester トシテ蓄ヘラレタル fatty Acid ニ於テ Aethersolution ヲ稀薄ナル炭酸曹達液ヲ加ヘ漸時褪色スル事ニ依リ、本 Fraktion 中ニ Phthiocol ノ存在スル事ヲ認メタリ。

更ニコノ Fraktion-4 ヲ Amylalkohol ニテ抽出ヲ行ヒ、鹽酸酸性トナシ、コノ際生ズル鹽化醋ヲ除去セシメ、再ビ Aether ニ溶解シ水洗後蒸發スルニ黃色油狀ノ物質ト共ニ無色ノ細結晶ヲ呈シ、強ク「フェノール」ノ臭アル物質ノ混入セルヲ認メタリ。

以上ノ物質ヲ更ニ Alkohol ニ溶解シ黃色溶液ヲ得、之ノ酸性液ヲ苛性加里液ヲ以テ中和スルニ直ニ深紅色ノ美麗ナル色調ヲ帶ブヲ觀タリ。之ヲ F.-5 トス。

(1) F.-5 ヨリ Anisic Acid ノ分離

コノ F.-5 ヲ更ニ

F.-5 { Aceton insoluble Fraktion F.-6  
Aceton soluble Fraktion F.-7

ニ分チ F.-6 即チ Aceton 不溶性ナル白色沈

澱ヲ集メ水ニ溶解シ、更ニ Norit ヲ以テ吸著セシメ再結晶ヲ行フニ酸性液中ニ於テ白色ノ細結晶ノ析出スルヲ觀タリ。更ニコノ溶液ヲ冷却シ、濾過シ集ムルニ長キ無色結晶ヲ析出シ約 0.005 瓦ノ物質ヲ得タリ。之レ明カニ Anderson ノ Anisic Acid ト一致セル所ニシテ試ミニ化學的檢索ヲ行ヒ溶融點ヲ檢シタルニ次ノ如シ。

融解點 184° 168° デ固形化

依ツテ余ハ Anisic Acid (Kahlbaum) ヲ用ヒ之ヲ Alkohol, Aether デ再製シコノ兩者ノ Mixing Point ヲ見タルニ何等ノ融解點ノ降下ヲ見ザリキ。

(2) F.-5 ヨリ Phthiocol ノ分離

F.-7 即チ Aceton 可溶性部分ヨリ分離ヲ行ヒ、コノ物質ヲ蒸發、酸性液中ニ溶解シ之ヲ蒸氣蒸發スル事ニ依リテ黃色ノ針狀結晶ヲ得タリ。此際余ハ蒸發操作中 Flask ノ溶液ガ加熱ト共ニ漸次赤色ニ變ジ管壁ニ飛散シ Condenser 中ニ移行シ、冷却管ノ上端ハ赤色ナルモ下端ニ移ルニ隨ヒ、即チ冷却サル、ニ隨ヒ黃色ト變ジ結晶トシテ析出セルヲ認メタリ。而シテ Flask 中ノ液ハ加熱ガ進ムニ隨ヒ赤色液ハ漸時無色ニ變ズルヲ觀タリ。更ニコノ黃色蒸溜液ヲ Aether ニ移行セシメ蒸發、Peteroleumaether ニテ再結晶、再ビ一容量ノ Aether 三容量ノ Peteroleumaether 混合液ヲ以テ再結晶セシメ約 0.015 瓦ノ美麗ナル黃色針狀結晶ヲ得タリ。此ノ化學的性質ヲ檢スルニ次ノ如ク

融解點 173—174° 164° デ固形化

Alkalimedium ニ赤色

Aether, Alkohol, Aceton ニ可溶

Peteroleumaether ニ不溶

Ferrichlorid (Alkoholsoution) ニヨリ赤色

ニシテ全ク Phthiocol ト一致セル所ナリ。

更ニ余ハ合成セシ Phthiocol ヲ用ヒ兩者ノ溶融點ヲ檢セルニ降下ナシ。故ニ Anderson ガ人型結核菌體ノ Acetonsoluble Fat ヨリ分離セル Phthiocol ト一致セル事ヲ確メ得タリ。

## 第三章 結 論

人工的ニ結核菌體ノ生物的ニ變化ヲ加ヘラレタル、一種ノ變型菌ト見做スベキ B.C.G. 菌ニ於テモ其ノ Lipoid 中ノ Acetonsoluble Fraktion ハ人型菌ト同様 Anisic Acid 竝ニ Phthiocol

ナル色素ヲ含有ス。

(擲筆スルー今村教授、西垣明治博士ノ御示教ヲ深謝ス)。

## 参考文献

- 1) Johnson T. B. & Brown E. B., J. biol. Chem. 54, 721(1922).
- 2) Johnson T. B. & Coghill R. D., J. biol. Chem. 63, 225(1925).
- 3) Bürger. M., Biochem. Z. 128, 155(1916).
- 4) Coris. A., Ann. Inst. Pasteur. 34, 497(1920).
- 5) 田村, Z. physiol Chem. 87, 85(1913).
- 6) 小金井, J. Biochem Japan 1, 353(1922).
- 7) Mueller, J. H., J. exp. M. 3, 9(1926).
- 8) Anderson, R. J., J. biol Chem. 74, 525(1927).
- 9) Anderson, R. J. & Newman. M. S., J. biol Chem. 101, 773(1933).
- 10) Anderson, R. J. & Newman, M. S., J. biol Chem. 103, 405(1933).
- 11) 外山, 結核, 第十四卷, 第三號.