

(328)

(齋藤) 菌 體 成 分 に 関 す る 研 究 (第9報)

## 菌體成分に関する研究 (第9報) Fungisterol の化学構造(其の3)

齋 藤 耀 (大阪學藝大學)

## I. 緒 言

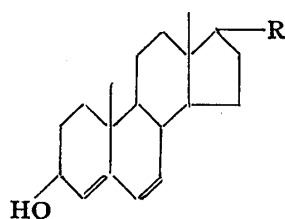
*Penicillium chrysogenum* Q-176 タンク培養菌體より分離した fungisterol は ergosterol の異性體の一種であることがわかつたが<sup>1)</sup>, ergosterol の異性體のうち既知のものは ergosterol -B<sub>1</sub>, -B<sub>2</sub>, -D, -E, -F, u-ergosterol 及び ergosterol の紫外線照射生成物の一群即ち lumisterol, tachysterol, calciferol, suprasterol I, IIがある. 更に calciferol を180°Cに加熱して生ずる pyrocalciferol と iso-pyrocalciferol<sup>2)</sup> の二つの異性體が知られている. fungisterol はC-3 OHがC-10 CH<sub>3</sub>に對シシス位 (normal 系) であることが知られているから<sup>1)</sup>, これら異性體のうち normal 系の ergosterol B群, -D, -E, -F, -G について考慮すればよい. これら異性體の主要な恒数を fungisterol と比較すれば Tab. 1 の如くである.

Table 1. Isomers of Ergosterol

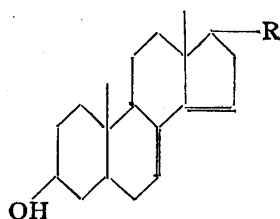
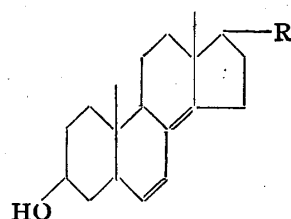
Name of Isomers	Melting Point	Refraction Index [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	Melting Point of Acetate
Ergosterol-B	135/6	-32.6 or -8.7	129/31 or 131/2
-B <sub>1</sub>	148	-40.3	142
-B <sub>2</sub>	126	-88.4	100
-B <sub>3</sub>	135/6	-190	132
-D	165/6 or 170/2	+21 or +24.6	171/4
-E	124/5	-22.9	119/20
-F	151/2	-20	152/3
-G	149/50	-52.2	182
Ergosterol	163/5	-130	131/2
Fungisterol	147.5	-20	158

Ergosterol B(iso-ergosterol)<sup>3)</sup> (I)

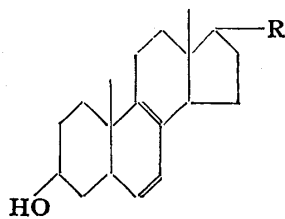
は  $\lambda_{\max}$  248m $\mu$  で  $\Delta$  4:5, 6:7, 22:23-, B<sub>3</sub> (II) は  $\Delta$  7:8, 14:15, 22:23-, -F (III) は  $\Delta$  6:7, 8:14, 22:23 -trienol で何れも共軛二重結合が同一環中になく, -B<sub>1</sub>, -B<sub>2</sub> は無水マレイン酸を附加せず. Ergosterol -D 及び -E は化学構造が判明していないが化学恒数は fungisterol と異なる. Ergosterol -G (IV) は  $\Delta$  6:7, 8:9, 22:23 -trienol と推定されたが<sup>4)</sup>, 吸収を示さず, また無水マレイン酸を附加せず, プロピルアルコール中で Na と反應しない點から上記構造は否定される.

Pyrocalciferol 及び iso-pyrocalciferol (V) の構造は最初  $\Delta$  6:7, 8:9, 22:23 -trienol と推定されたが WINDAUS 等<sup>5)</sup> により ergosterol と同じ核構造をもつ立體異性體であることが確認されている.

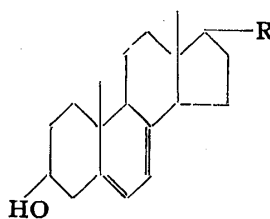
I Ergosterol B

II Ergosterol B<sub>3</sub>

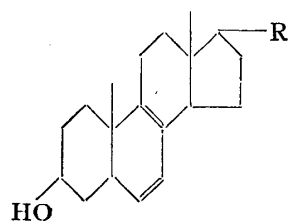
III Ergosterol F



IV Ergosterol G (?)



V { Pyrocalciferol (C-3:C-9 cis, C-9:C-10 cis)  
Iso-pyrocalciferol (C-3:C-9 trans, C-9:C-10 trans)



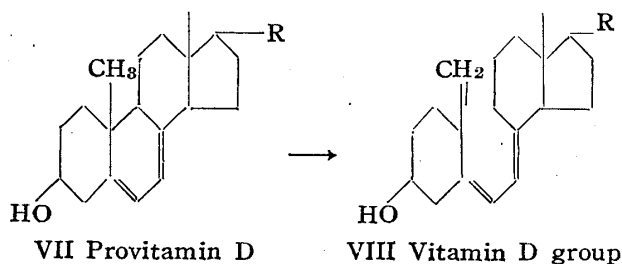
VI Fungisterol  
(C-3 OH: C-10 CH<sub>3</sub> cis)

Fungisterol は既知の ergosterol の異性体の何れとも一致せず新しい構造をもつものと考えられたので、核内の二重結合の位置を究めるために fungisterol 及びその誘導体の紫外線照射、還元及び酸化に対する挙動を調べた結果、fungisterol の化学構造は  $\Delta^{6,7,8,9,22,23}$ -ergostatriene-3-ol (VI) と判つた。

## II. 紫 外 線 照 射

Ergosterol は紫外線照射により順次 lumisterol, tachysterol, vitamin D<sub>2</sub>, suprasterol I 及び II の段階を経て最後に toxisterol を生ずる。現在 provitamin D として知られているのは ergosterol の外に 7-dehydrocholesterol, 22-dihydroergosterol, で紫外線照射により抗クル病性能を有する Vitamin D<sub>3</sub> 及び D<sub>4</sub> となる。その他照射により僅かながら抗クル病性能を有する物質に変化するものとして  $\Delta^{5,7,22}$ -stigmatriene-3-ol 及び  $\Delta^{5,7}$ -sitostadiene-3-ol がある。これらはすべてステロール環中の C-5, 6 及び C-7, 8 に共軛二重結合を有し (VII)  $\lambda_{\max}$  は 260~290m $\mu$  に 4 個ある。照射により B 環の開裂が起り環の二重結合が 1 個増加し、生成物の  $\lambda_{\max}$  は 265m $\mu$  となる (VIII)。

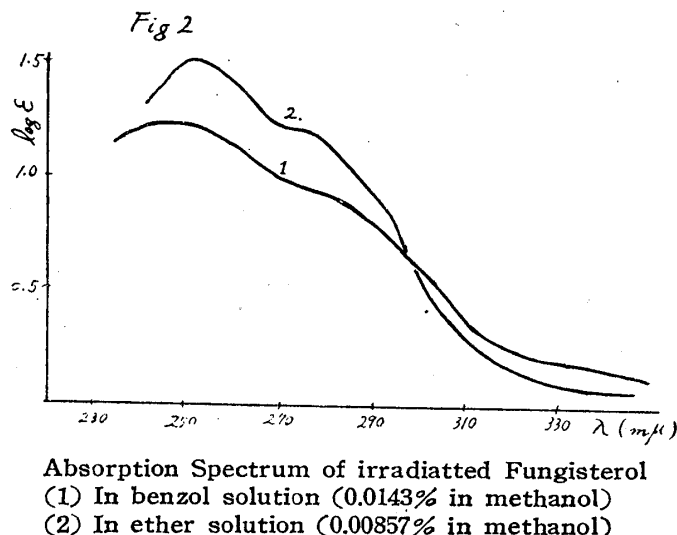
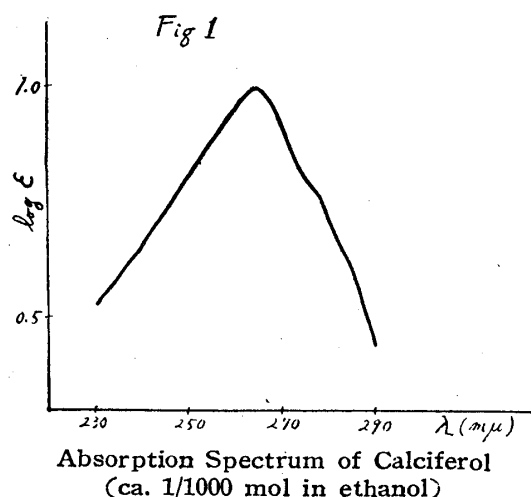
Ergosterol の紫外線照射による calciferol (vitamin D<sub>2</sub>) への変化は反応条件に左右されることが著しく一般にその収量も不良である。筆者は紫外線照射には高圧水銀燈を使用した以外は WINDAUS の方法<sup>7)</sup>に準據した。その結果 ergosterol の照射生成物からは calciferol の結晶 m.p. 114/5°,  $[\alpha]_D +92^\circ$ ,  $\lambda_{\max}$  265 m $\mu$  (Fig. 1) を得た。



VII Provitamin D

VIII Vitamin D group

全く同条件下に fungisterol を照射し反応物を ergosterol の場合と同様に処理したが、結晶化せしめることはできず、樹脂状物を得た。fungisterol のベンゾール溶液及びエーテル溶液中の紫外線照射生成物の吸収スペクトルは Fig. 2 の如く何れも明確な吸収頂点を示さず, toxisterol の吸収と相似たものを得た。



以上の結果から fungisterol の核内の共軛二重結合は  $\Delta^{5,6,7,8}$  に存在しないことが認められた。

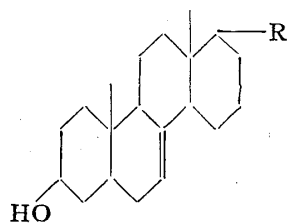
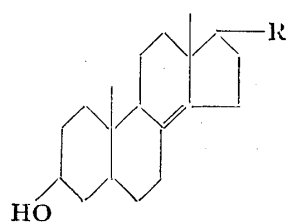
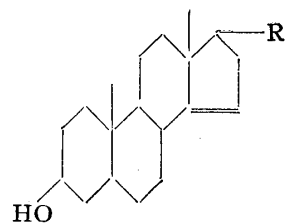
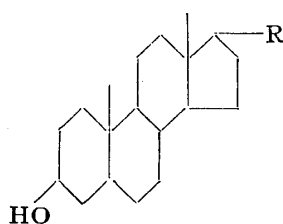
## III. 還 元

ステロールのうち  $\Delta^{5,6,7,8}$  に共軛二重結合を有する 22-dihydroergosterol<sup>9)</sup> 及び 7-dehydrocholesterol<sup>10)</sup> 等はアルコール中 Na で還元すれば  $\Delta^{5,6}$  のみが還元されて  $\gamma$ -stenol ( $\Delta^{7,8}$ ) (IX) を生ずる。この時側鎖に不飽和を有する ergosterol は側鎖の飽和したステロール類よりも容易に還元される<sup>4)</sup>。

一方 ergosterol を酸性溶媒中 Pd 或は Pt を觸媒として接觸還元すれば  $\Delta^{5,6}$  は還元されるが  $\Delta^{7,8}$  には水

(330)

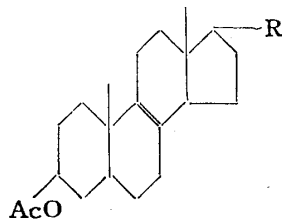
(齋藤) 菌 體 成 分 に 関 す る 研 究 (第9報)

IX  $\gamma$ -StenolR =  $\text{C}_8\text{H}_{17}$  7-dehydroesterolR =  $\text{C}_9\text{H}_{19}$  22-dihydroergosterolX  $\alpha$ -dihydroergosterolXI  $\beta$ -Dihydroergosterol

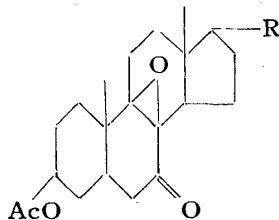
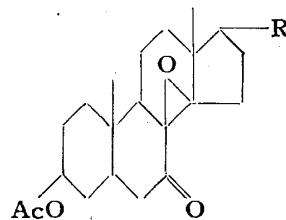
XII Ergosterol

素添加は起らず、二重結合は  $\Delta^{8:14}$  に轉位し  $\alpha$ -dihydroergosterol (X) を生ずる。この構造のものはクロホルム中乾燥鹽酸ガスを通ずれば  $\beta$ -sterol ( $\Delta^{14:15}$ ) (XI) に轉位してこれは接觸還元により ergosterol (XII) となることが知られている。

Fungisterol をアルコール中で Na で還元すれば二重結合の一つが飽和されて dihydrofungisterol を生ずる。これは fungisterol をエーテル溶液中で接觸還元して得られる dihydrofungisterol に一致し、更にこの acetyl 化合物 (XIII) を無水クローム酸により常溫酸化して  $\Delta^{22}$ -ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate (XIV) を生じたことから、この dihydrofungisterol は  $\Delta^{8:9}$  に二重結合を有する  $\delta$ -dihydroergosterol (new compound) と結論づけられた。



XIII Dihydrofungisteryl acetate

XIV  $\Delta^{22}$ -Ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetateXV  $\Delta^{22}$ -Ergosterol-3-one-7-oxide-8,14 acetate

一方 fungisteryl acetate は Pd を觸媒として氷酢酸溶液中で接觸還元すれば 1 モルの水素を吸収して dihydrofungisterol を生ずるが、これはアルコール中 Na で還元して得た  $\delta$ -dihydrofungisterol と異つてゐる。接觸水添は條件を變えてもそれ以上進行せず、得られたものは ergosterol の接觸水添で得られた  $\alpha$ -dihydroergosterol (X) に一致し、核内の二重結合の一つは  $\Delta^{8:14}$  に轉位していることが判つた。更にこの  $\alpha$ -dihydrofungisterol ( $\alpha$ -dihydroergosterol) はクロホルム溶液中で鹽酸ガスにより  $\Delta^{8:14}$  は  $\Delta^{14:15}$  に轉位して  $\beta$ -dihydroergosterol (XI) を生じた。また acetyl 化合物は無水クローム酸酸化により主として  $\Delta^{22}$ -ergosterol-3-one-7-oxide-8,14 acetate (XV) を生じたことから確認し得た。

#### IV. 酸 化

ステロール類の酸化はその化學構造により各種の酸化法がとられ酸化生成物の檢索により元の構造を決定する重要な手段となつてゐる。核の直接酸化には  $\text{CrO}_3$  による高溫酸化、 $\text{HNO}_3$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$  等による酸化が行われるが収量も著しく不良で不飽和化合物の場合は特に反應が困難である。

Fungisterol も側鎖に不飽和結合を有するためその酸化が一般に困難であるが、核を完全に飽和したものを酸化しても核内の重結合の位置の判別はできないので不飽和結合を一部残したまま低温で無水クローム酸々化を行つた。STAVERY 等<sup>10)</sup>が  $\alpha$ -dihydroergosterol の構造決定に用いた方法に據り、 $\delta$ -dihydrofungisterol 及び  $\alpha$ -dihydrofungisterol のアセチル化合物の無水クローム酸々化を行い、夫々  $\Delta^{22}$ -ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate (XIV) 及び  $\Delta^{22}$ -ergosterol-3-one-7-oxide-8,14 acetate (XV) に對應する化合物を得たので、 $\delta$ -化合物は  $\Delta^{8:9}$ 、 $\alpha$ -化合物は  $\Delta^{8:14}$  なることが確認された。

以上の実験結果から fungisterol の核内の二重結合の位置は  $\Delta^{6,7,8,9}$  であることが確認され, fungisterol の化学構造式としては  $\Delta^{6,8,22}$ -ergostatrienol (VI) が與えられる. またこの構造をもつステロールはステロイドホルモン Cortisone 合成の中間體として興味あるものである.

Fungisterol の生成機構に関しては菌體中 ergosterol から二次的に生成されると推定される以外, 未だ解明するに到っていない.

### 実験の部

試料: Fungisterol は第7報<sup>1)</sup>に述べた如く *P. chrysogenum* Q-176 のタンク培養菌體から単離した結晶を使用前エタノールから一度再結晶したものである. m.p. 147/8°.

#### I. 紫外線照射

##### Ergosterol より calciferol の生成

2.5gの ergosterol を50ccの純ベンゾールに溶解し水冷しつゝ高壓水銀燈で照射した. 装置全體は扇風機で冷却した. 4時間照射した後クライゼンコルペンに容れ  $\text{CO}_2$  ガス氣流中でベンゾールを減壓溜去した. 殘溜物を熱メタノール50ccで處理し未反應 ergosterol の析出したものを, ドライアイスで約1時間冷却し生成した結晶を冷却しつゝ濾過し去る. 更に0.2gのジギトニンのメタノール溶液を加えて減壓下にメタノールを溜去した. 殘渣を石油エーテルで抽出し不溶性のステロールジギトニドを濾別した. 石油エーテルは溜去しアセトンに溶解して水冷すれば1夜後 calciferol の粗結晶が析出した. アセトンメタノールより再結晶した. 收量230mg.

m.p. 114/5° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +92.0° 試料 68.2mg, クロロホルム 2.3cc d=1dm  $\alpha$  +7.3°

吸収スペクトルは Fig. 1 の如くである.

窒素ガスを充填密閉しても數日後に結晶は褐色を呈したが  $\lambda_{\text{max}}$  265m $\mu$  で變化しなかつた.

##### Fungisterol の紫外線照射

1.0gの fungisterol を20ccのベンゾールに溶解し ergosterol の場合と全く同條件で紫外線照射を行つた. 反應生成物は ergosterol の場合と同様に處理し未反應 fungisterol をジギトニドとして濾別し, 石油エーテル抽出物から石油エーテルを溜去し油狀物をアセトンに溶解し水冷するも結晶は析出せず. アセトンを溜去しピリジンに溶解し0.2gの 2,4-dinitrobenzoyl chloride のピリジン溶液を冷却しつゝ滴下し放置するも calciferol の 2,4-dinitrobenzoate は得られず. これを再び石油エーテルで抽出し石油エーテルを溜去した殘溜樹脂狀物の吸収スペクトルは Fig. 2a の如くである. Fungisterol をエーテル溶液中で同條件で紫外線照射して上と同様な處理を行つて得た樹脂狀物の吸収スペクトルは Fig. 2b の如くである.

#### II. Fungisterol の還元

##### Na と proryl alcohol による還元, $\delta$ -Dihydrofungisterol

0.5gの fungisterol を20ccの無水プロピルアルコールに溶解し3時間中に9gの Na の135ccプロピルアルコール液を加え, 更に2時間煮沸した. 注意して水を加え生成した洗でんをジギトニン處理を行い, 未反應 fungisterol を除き, 殘部から生成する結晶を無水アルコールから2回再結晶した. 收量280mg.

m.p. 109/11° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -0.47° 試料 48.6mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha$  -0.01°

元素分析 試料 2.3816mg,  $\text{CO}_2$  7.3601mg,  $\text{H}_2\text{O}$  2.4349mg

C 84.28, H 11.36%

$\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}$ として C 84.42, H 11.56%

acetate m.p. 127/9° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -1.7° 試料 26.1mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha$  -0.02°

##### 接觸還元, $\delta$ -Dihydrofungisterol

Fungisterol 274mg をエーテル110ccに溶解し, Pd 觸媒10mgを加えて水素を通じて振盪した. 温度 14°C, 80分間に水素16.5cc (理論量の 1.03モル) を吸収して止まつた. 反應物からエーテルを溜去しエタノールに溶解し1%のジギトニンのアルコール溶液を加えて放置し fungisteryl digitonide の洗でんを濾別する. アルコールを溜去した殘溜物をアセトン及びエタノールで再結晶した. 收量153mg.

## (332) (齋藤) 菌 體 成 分 に 関 する 研 究 (第9報)

ROSENHEIM 反應陰性 m.p. 108/10°  $[\alpha]_D^{20} -0.32^\circ$  試料 71.2mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha-0.01^\circ$

Na とアルコールで還元して得た  $\delta$ -dihydrofungisterol と混融試験の結果融點の降下がみられなかつた。  
また母液より  $\delta$ -fungistenol と推定される結晶の微量を得たが確認には到らなかつた。

 **$\alpha$ -Dihydrofungisterol ( $\alpha$ -Dihydroergosterol)**

fungisteryl acetate 0.8g を200ccの水酢酸に加温溶解し Pd 觸媒100mg を加えて水素ガスを通じて振盪還元した。温度11.8°C, 70分間に水素50.0cc (理論量の1.15モル) を吸収した。反應物から水酢酸を減壓溜去し殘溜結晶を酢酸エチル及びアルコールから再結晶した。

m.p. 178/80°  $[\alpha]_D^{20} -24.2^\circ$

この200mg をメタノール性 KOH でけん化し、冷却後生成した結晶を エーテル+アルコール 及び アルコール から再結晶した。收量約70mg。

ROSENHEIM 反應陰性, LIEBERMANN 反應, SALKOWSKI 反應は  $\alpha$ -dihydroergosterol に一致した。

m.p. 172/3°  $[\alpha]_D^{20} -21.1^\circ$  試料 55.6mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha-0.51^\circ$

 **$\beta$ -Dihydrofungisterol**

0.2g の  $\alpha$ -dihydrofungisterol を 5 cc のクロロホルムに溶解し、氷冷しつつ乾燥鹽酸ガスを通じた。1時間後重紫色の反應液を湯浴上で蒸發し殘渣を 1 cc の酢酸エチルと 5 cc のメタノールとの混液から再結晶した。

m.p. 108/10°  $[\alpha]_D^{20} -23.4^\circ$  試料 83.8mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha-0.34^\circ$

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  248 m $\mu$  (BECKMANN Spectrometer)

**II. 酸化に對する舉動****(1)  $\delta$ -Dihydrofungisterol の  $\text{CrO}_3$  酸化** **$\Delta^{22}$ -Ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate (XIV)**

$\delta$ -Dihydrofungisteryl acetate 1.0g を60ccの水酢酸と30ccのベンゾールとの混液に溶解し、0.8g の $\text{CrO}_3$ の90%酢酸溶液10ccを攪拌しつつ常温で滴下した。一晝夜放置後減壓濃縮し10%稀アルコールを加えて稀釋しエーテル抽出した。エーテルは中性となるまで洗滌し乾燥後エーテルを溜去し 0.75g の酸化生成物を得た。80%のエタノールから數回再結晶した。收量120mg。

m.p. 221/4° (decomp.)  $[\alpha]_D^{20} -42^\circ$  試料 48.3mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm  $\alpha-0.88^\circ$

230m $\mu$  以上に吸収を示さず。

2,4-dinitrophenylhydrazon m.p. 208° (decomp.)

**Ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate**

$\Delta^{22}$ -Ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate (XIV) 60mg を水素を飽和したエタノールに溶解し Pd 觸媒20mg を加えて水素を通じて接觸還元した。約40分に 2.9cc の水素を吸収した (理論量の 1.1モル)。反應生成物は80%エタノールから再結晶した。

m.p. 211°  $[\alpha]_D^{20} -36^\circ$  試料 24.3mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha-0.38^\circ$

元素分析 試料 3.2765mg,  $\text{CO}_2$  9.1362mg,  $\text{H}_2\text{O}$  2.9634mg

C 76.05, H 10.08%

$\text{C}_{80}\text{H}_{48}\text{O}_4$  として C 76.27, H 10.17%

STAVERY 等の得た Ergosterol-3-one-7-oxide-8,9 acetate と化學恒數は一致する。

**(2)  $\alpha$ -Dihydrofungisterol の  $\text{CrO}_3$  酸化** **$\Delta^{22}$ -Ergosterol-3-one-7-oxide-8,14 acetate (XV)**

1.0g の  $\alpha$ -dihydrofungisteryl acetate を60ccの水酢酸及び 30cc のベンゾールとの混合液に溶解し、これに

0.8g のCrO<sub>3</sub> の90%氷酢酸溶液を攪拌しつつ常温で滴下し一晝夜放置した。10ccのエタノールを加えて減壓濃縮し、水を加えてエーテル抽出し、アルカリ及び水で洗滌乾燥後エーテルを溜去した。残留物はヘキサンに溶解しクロマトグラフ 分別を行つた。即ち活性アルミナを充填した25×1.8cmの管を通し、展開剤としてはヘキサン、ヘキサン+ベンゾール (8:2)、ヘキサン+ベンゾール (5:5)、ベンゾール、ベンゾール+エーテル (8:2)、エーテルの各120cc宛を使用した。展開液は6つの區分に分ち、溶剤を溜去すれば結晶が生成する。展開區分2~5からはm.p.143/58°の結晶を得て、これをエタノールから數回再結晶し毛羽狀結晶を得た。收量200mg。

m.p. 153° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -97.6° 試料 58.6mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha$ -2.48°

230m $\mu$  以上に吸収を示さず。

2,4-dinitrophenylhydrazone m.p. 215° (decomp.)

$\Delta^{22}$ -Ergostanol-3-one-7-oxide-8,14 acetate

$\Delta^{22}$ -Ergostenol-3-one-7-oxide-8,14 acetate (XV) 50mg をエタノールに溶解しPd 觸媒20mg を加えて水素を通じて接觸還元した。30分間に2.8ccの水素を吸収した (理論量の1.13モル)。反應液から觸媒を除き濃縮して生成した結晶をエタノールから再結晶した。

m.p. 130° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -72° 試料 18.5mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm,  $\alpha$ -0.58°

元素分析 試料 2.8113mg, CO<sub>2</sub> 7.8465mg, H<sub>2</sub>O 2.5605mg

C 76.12, H 10.12%

C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> として C 76.27, H 10.17%

$\Delta^{8(14),9(11),22}$ -Ergostatrienol-3-one-7acetate

(XV) 100 mg を20ccのエタノールに溶解し1 ccの氷酢酸及び亜鉛末を加えて1時間半還流煮沸した。反應液を50ccの水を加えてエーテル抽出し、エーテルを溜去した。残留物をピリジン+無水酢酸及びメタノールから再結晶した。收量32mg。

m.p. 185/7° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -45.7° 試料 20.1mg, クロロホルム 2.3cc, d=1dm  $\alpha$ -0.40°

(終りに御指導を賜つた京大野津龍三郎教授に深謝し、併せて實驗に御便宜を與えられた大阪府立工業獎勵館佐藤正典博士、大阪市立大學久保田尙志教授及び元素分析の一部に就てその勞を煩わした鹽野義研究所に感謝する)。

#### 文 献

- 1) 齊藤: 本誌, 29, 457(1951), 同, 31, 141(1953).
- 2) ASKEW et al.: Proc. Roy. Soc., 109, 488 (1932), WINDAUS et al.: Ann., 492, 239 (1932), BUSSE: Z. physiol. Chem., 214, 211 (1933), MULLER: ibid., 233, 223 (1935).
- 3) REINDEL, WALTER & RAUCH: Ann., 452, 34 (1927).
- 4) WINDAUS, ANHAGEN, BERGMANN & BUSSE: Ann. 477, 268 (1930).
- 5) NAKAMIYA: Z. physiol. Chem., 203, 255 (1931).
- 6) WINDAUS & DIMROTH: Ber., 70, 376 (1937).
- 7) WINDAUS & LINSERT: Ann. 492, 226 (1932), Z. physiol. Chem., 203, 70 (1931).
- 8) WINDAUS & LANGER: Ann., 508, 105 (1933).
- 9) SCHENCK, BUCHHOLZ & WIESE: Ber., 69, 2396 (1936).
- 10) STAVERY & BOLLENBACK: J.A.C.S., 65, 1290 (1943).

(昭和28, 3, 14受理)