

現世海洋堆積物中のステロール II

—— 4-デスメチルステロールの GC/MS による解析 ——

近藤 寛・石渡 良志*・山本 修一**・上村 仁*

長崎大学教育学部地学教室

(1991年2月28日受理)

Sterols in Recent Marine Sediments II GC/MS Analysis of 4-Desmethyl-Sterols

Hiroshi KONDO, Ryoshi ISHIWATARI*, Shuichi YAMAMOTO**
and Hitoshi UEMURA*

Department of Geology, Faculty of Education
Nagasaki University, Nagasaki, 852 Japan

(Received Feb. 28, 1991)

Abstract

In the course of a gas chromatographi-mass spectrometric (GC/MS) study of sterols from marine sediments, we previously identified the major sterols: 5α -stanols, Δ^5 -, Δ^{22} - and $\Delta^{5,22}$ -sterols (Kondo *et al.*, 1991). The present paper reports successively the identification of 19 different 4-desmethyl-sterols which are classified into 7 groups, including 5β -stanols, $\Delta^{5,24}$ -, Δ^7 -, $\Delta^{5,24(28)}$ - and $\Delta^{24(28)}$ -sterols. The mass spectra data of these sterol trimethylsilyl ether derivatives are presented in Table 2 and Figs 8-11.

5β -Stanols have shorter GC retention times (RRT) than the corresponding 5α -stanols. These derivatives give intense peaks of $b[M-90]^+$ and have molecular ions $[M]^+$ of low density. 3β -Epimer has a shorter RRT and a stronger peak at $m/z108$ than 3α -epimer.

$\Delta^{5,24}$ -Sterols present strong ions d^* , b , r and s at $m/z372$, 366 , 343 and 253 respectively. They also have ions $n[M-129]^+$, $m/z129$ which are intense in the case of Δ^5 -sterols. Δ^7 -Sterols are characterized, as having longer RRT than the corresponding Δ^5 -sterols, and by the base peaks at $m/z255$, and by the intense molecular ions $[M]^+$.

The presence of a $\Delta^{24(28)}$ double bond in the sterol side chain brings about intense fragment ions $p[M-C_{23}\sim C_{26(30)}-H]^+$ and $q[M-C_{23}\sim C_{26(30)}-H-ROH]$, etc. corresponding to the cleavage of the 23-24 double bond due to the McLafferty-type rearrangement. In the case of $\Delta^{5,24(28)}$ -sterols, the characteristic ions p at $m/z386$ and q at $m/z296$ are accompanied by ions $n[M-129]^+$, $m/z145$, 129 all of which are typical of Δ^5 -sterols. $\Delta^{24(28)}$ -Sterols have characteristic ions p at $m/z388$ and g at $m/z215$ which are strong in the 5α -saturated sterols.

* 東京都立大学理学部化学教室 Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University.

** 創価大学教育学部児童教育学科 Department of Child Education, Faculty of Education, Soka University.

1. はじめに

ステロール (sterol) は生物の組織および生理的役割を担う成分であり、生物体では遊離型、脂肪酸と結合したエステル型、さらに植物では配糖体としても存在し、ステロイド骨格 (sterol ring system) と側鎖基 (side chain) の二重結合の位置と数、側鎖基の炭素数、置換基の種類と立体配位の差によって非常に多様である (第1図)。現世の堆積物に認められるステロールは、一般に炭素数は26~30、二重結合は5, 7, 22, 24位にあり、3位のヒドロキシル基 (OH) は β 配位、5位の水素 (H) は α 配位であるものが多く、20位のメチル基 (CH_3) はほとんど β 配位である。また、置換基は23位や24位にあり、4位にメチル基を持つ 4-メチルステロール (4-methyl-sterol) も認められる (Brassell and Eglinton, 1983)。

現世の海洋堆積物中には50種類を越えるステロールが報告されている (Smith *et al.*, 1982; Brassell and Eglinton, 1983)。これらのステロールの分離と同定は、最近めざましい進歩をとげた高分解能をもつキャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィー (GC) およびガスクロマトグフィー/質量分析法 (GC/MS) によって行なわれている。とくに質量分析法 (MS) は分子イオン $[\text{M}]^+$ による分子量の決定および特徴的なフラグメントイオンの検出によって構造が読み取れるため、ステロールの同定に不可欠である (Rahier and Benveniste, 1989)。

筆者らは GC 保持時間と GC/MS によるマスペクトルの解析から沿岸域の海洋堆積物中から18種類の主要な 4-デスメチルステロール (4-desmethyl-sterol) を同定し、その構造により 5α -スタノール、 Δ^5 -, Δ^{22} -, $\Delta^{5, 22}$ -ステロールに分け、それらのマスペクトルの特徴を記載した (近藤他, 1991)。本研究では新たに同定した19種類の 4-デスメチルステロールの GC, GC/MS による解析結果を報告する。

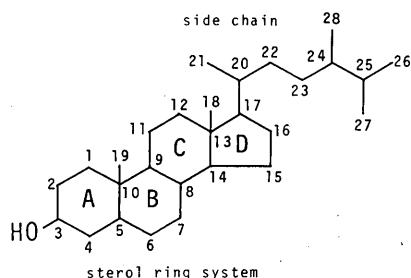


Fig. 1 Structure of sterol

2. 分析方法

2-1. ステロールの抽出・分離

ステロール組成は愛知県伊勢湾 (知多半島沖)、福井県水月湖、長崎県長崎湾、千々石湾、富江湾、伊万里湾、沖縄県宮古島西方海域で採取され、 -20°C で凍結保存した堆積物試料について分析した。ステロールを含む脂質の中性成分は次の方法で抽出・分離した。

凍結乾燥後の試料 3~10 g に 1N KOH/メタノール 50ml を加えて 70°C の湯浴中で 3 時間還流する。遠心分離後の上清液を分液ロートに移し蒸留水 50ml を加えた後、n-ヘキサン/ジエチルエーテル (9 : 1) を入れ分液ロートを振とうして中性成分を 3 回繰り返して抽出する (50, 30, 30ml)。集めた抽出液はロータリーエバポレーターにより減圧下で濃縮す

る。この中性成分は薄層クロマトグラフィー (TLC) により次のようにして分画した。薄層プレート (Whatman, PLK5F, 20×20cm) に試料と標準物質をスポットし, n-ヘキサン/酢酸エチル (9 : 1) で展開させた後, ヨウ素により発色させる。標準物質によって炭化水素・多環芳香族炭化水素・ケトン (Rf 値0.45以上), 脂肪族アルコール・ステロール (Rf 値0.45以下), ステロール (Rf 値0.35以下) の展開位置を確認した後, 各部のシリカゲルを薄層プレートから削り取ってガラスカラムに入れ, n-ヘキサン/ジエチルエーテル (9 : 1) で各成分を流出させて回収し, 濃縮する。以上の分画により脂肪族アルコール・ステロールは 4-メチルステロールを含み, ステロールは 4-デスメチルステロールである (Smith *et al.*, 1982; De Leeuw *et al.*, 1983)。

2-2. ステロールの GC, GC/MS

GC, GC/MS において, ステロールは適当な揮発性をもたせるためにヒドロキシル基 (OH) を誘導体化するのが普通であり (山口, 1989), 一般にトリメチルシリル (TMS) エーテルに導かれている (Brooks *et al.*, 1973)。ステロール試料の誘導体化は, シリル化剤である Silyl-8 (Pierce Chemical), または N, O-ビストリメチルシリルアセタミド (N, O-Bis(trimethylsilyl) acetamide; BSA, ガスクロ工業) を添加し, 80°Cで30分間加熱により行なった。ステロール含有量は cholestanol (H) を標準物質とする外部標準法, または 1 不飽和の炭化水素 C_{22:1} (docosene) を用いる内部標準法により定量した。

GC は Hewlett Packard 製ガスクロマトグラフ 5890A に同製のキャピラリーカラム Ultra-2 (25m×0.32i.d.) を用いて行なった。昇温条件は 50°Cで2分間保持後, 120°Cまで 30°C/分昇温, 310°Cまで 6°C/分昇温, 310°Cで30分間保持である。試料導入部の温度は 310°C, 水素炎イオン型化検出器 (FID) 温度は 315°C, キャリヤガス (He) 流量は 2 ml/分である。

GC/MS は Finniganmat INCOS 50 GC/MS システムである。GC はカラムに Ultra-2 (25m×0.32i.d.) または J & W 製の DB-5 (30m×0.32i.d.) を用い, 昇温条件は 60°Cで1分間保持後, 120°Cまで 30°C/分昇温, 310°Cまで 6°C/分昇温, 310°Cで40分間保持である。質量分析計 (MS) の設定はイオン化室内圧力 0.739 torr, イオン化電圧 1050V, イオン源温度 180°C, スキャンスピード 1.5 sec/scan, 質量範囲 m/z 50~650 である。

3. 結果・考察

3-1. ステロールの同定

ステロールの同定は, ステロール TMS エーテルについてのキャピラリーカラムによる GC 保持時間 (RRT) と GC/MS のマススペクトルを文献データと比較検討して行なった。RRT は文献データと本研究のデータについて 24-norcholesta-5, 22E-dien-3 β -ol (A) と β -sitosterol (U) が同位置になるように各ステロールを図示した (第2図)。GC/MS のマススペクトルは特徴的なフラグメントイオンの生成機構 (Diekmann and Djerassi, 1967; Wyllie and Djerassi, 1968; Brooks, 1979), フラグメントイオンの種類と相対強度 (Knights, 1967; Knights and Laurie, 1967; Brooks *et al.*, 1968; Eichenberger and Urban, 1984; Rahier and Benveniste, 1989; Fernandes-Ferreira *et al.*, 1990; Loeffler and Hayes,

-ol は cholestanol(H) の後にある。IZ は 22E である brassicasterol(I) より早く現われる。分子イオン m/z 470 と $\Delta^{5,22}$ -ステロールに特徴的な m/z 380, 255, 213, 129, 側鎖基を示す m/z 125 が明瞭である (De Leeuw *et al.*, 1983) (第 8-IZ 図)。

h $\Delta^{5,24}$ -ステロールである desmosterol (h) は, m/z 360, 343, 253 が強い (Brooks *et al.*, 1968; Ballantine *et al.*, 1975) (第 8-h 図)。GC では brassicasterol(I) の直前にある (Brassell *et al.*, 1980; Volkman *et al.*, 1981, 1987; Gagosian *et al.*, 1983; Smith *et al.*, 1983)。

J₁ cholest-7-en-3 β -ol の現われ方は文献により異なり, brassicasterol(I) と重なる (Cranwell, 1982; Volkman *et al.*, 1987), 24-methyl-5 α (H)-cholest-22E-en-3 β -ol (J) の前 (Volkman *et al.*, 1981; Gagosian *et al.*, 1983; Harvey *et al.*, 1987), J と重なる (Volkman, 1986), J の後 (Smith *et al.*, 1983) と多様である。分子イオン m/z 458 で示される J₁ は, 分子イオン m/z 472 の J とほぼ同位置に現われる (第 4 図)。なお, J₁ などの Δ^7 -ステロールは分子イオンが強く (Knights, 1967; Brooks *et al.*, 1968) (第 9 図), RRT は相当する Δ^5 -ステロールより遅れる (Knights, 1967)。第 1 表では RRT は Δ^5 -ステロールである cholesterol(G) よりも 0.02 遅い。

1 24-methylcholesta-5, 24(28)-dien-3 β -ol は比較的多量に含まれ, campesterol(M) の前にある (Brassell *et al.*, 1980; Volkman *et al.*, 1981; Cranwell, 1982; Smith *et al.*, 1982, 1983)。 $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールに特徴的な m/z 386 と Δ^5 -ステロールに特有な m/z 129 があ (第 10-1 図)。1 は m/z 386 のマスフラグメントグラムに明瞭に現われている (第 5 図)。

m 24-methyl-5 α (H)-cholest-24(28)-en-3 β -ol の位置は campesterol(M) と重なる (Smith *et al.*, 1982, 1983; De Leeuw *et al.*, 1983)。または M の直後である (Volkman *et al.*, 1981; Cranwell, 1982)。本研究では M の直後に見いだされた (第 5 図)。m は $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに特徴的な m/z 388 が強い (Ballantine *et al.*, 1976) (第 11-m 図)。

R₁ 24-methyl-5 α (H)-cholest-7-en-3 β -ol は 24-ethyl-5 α (H)-cholest-22E-en-3 β -ol(R) の後にある (Volkman, 1986; Volkman *et al.*, 1981; Cranwell, 1982)。J₁ と同様に Δ^7 -ステロールの特徴である分子イオン m/z 472 が強い。RRT は相当する Δ^5 -ステロール (M) より 0.016 遅れる (Knight, 1967) (第 1 表)。

T 23, 24-dimethyl-5 α (H)-cholestan-3 β -ol は β -sitosterol(U) と fucosterol(uE) に重なる (Smith *et al.*, 1982; Gagosian *et al.*, 1983; Volkman, 1986; Volkman *et al.*, 1987)。第 8-T 図では T は分子イオン m/z 488 と 5 α -スタノールの指標である m/z 215 に

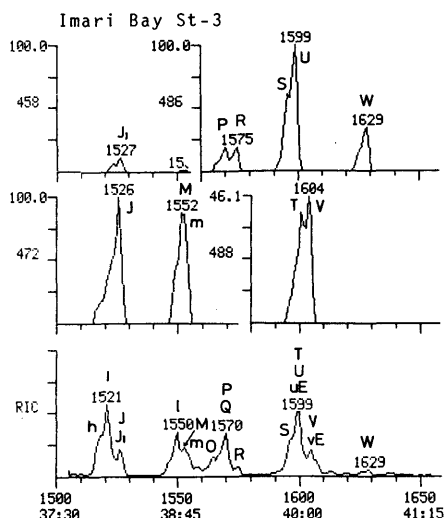


Fig. 4 Selected scan range of RIC and Mass Fragmentgram of molecular ion of the sterol fraction from Imari Bay St-3 analysed as TMS ethers. Peak designations are shown in Table 1.

よって示される。

T 以後にある $\Delta^{24(28)}$ -ステロールは l, m と同様に22位と23位の炭素 (C_{22} - C_{23}) の間で切断され易く, $\Delta^{5, 24(28)}$ -ステロールは m/z 386, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールは m/z 388が特徴的なフラグメントイオンである (Knights, 1967; Knights and Laurie, 1967)。本研究では m/z 386, 388のマスフラグメントグラム (Volkman *et al.*, 1987) (第5図), マスペクトルの特徴, RRT (Brassell *et al.*, 1980; Smith *et al.*, 1982, 1983; Brassell and Eglinton, 1983; Volkman, 1986; Volkman *et al.*, 1987), $\Delta^{24(28)}$ -ステロールの E, Z 異性体の GC における順序 (Brooks *et al.*, 1972) によって次のステロールを同定した。

uE fucosterol は T, U と重なるが, Smith *et al.* (1983) は U の直後としている。

vE fucostanol は uE から RRT で0.003遅れて現われ, stigmastanol(V)と重なる(第1表)。vE は特徴的なイオン m/z 388で示される(第5図)。

uZ isofucosterol は V と vE の直後にある(第5図)。

vZ isofucostanol は isofucosterol(uZ) から RRT で0.003遅い。

W 24-ethyl-5 α (H)-cholest-7-en-3 β -ol は強い分子イオン m/z 486を示す (Knights, 1967)。RRT は C_{29} -ステロールでは最も遅れる。

炭素数30である $\Delta^{24(28)}$ -ステロールが現われる順序は24(E)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol(wE), RRT で0.004遅れて24(E)-propylidene-5 α (H)-cholestan-3 β -ol(xE), 両者の異性体である24(Z)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol(wZ), RRT で0.004遅い24(Z)-propylidene-5 α (H)-cholestan-3 β -ol(xZ)である (Brassell *et al.*, 1980; Brassell and Eglinton, 1983) (第5図)。

3-2. ガスクロマトグラフィー (GC)

ガスクロマトグラムは伊万里湾 St-6 (第6図), 千々石湾 St-5 (第7図) を示す。ステロール含有量は第6図から docosene を内部標準とするピーク面積法により求めた。RRT は GC/MS による scan number (第7図) から cholesterol(G)を基準にして求めた。

第6図には TLC で分離されない C_{26} ~ C_{30} 脂肪族アルコールのピークがある。 C_{30} アルコールは23, 24-dimethylcholesta-5, 22E-dien-3 β -ol(O)と重なり, 含有量は C_{27} , C_{28} アルコールのピークから推定して O 量の約15%である。 C_{27} アルコールは24-norcholest-22E-en-3 β -ol(B), C_{29} アルコールは desmosterol(h)と重なる。奇数員アルコールは偶数員アルコールの約1/7 (近藤他, 1990) とすれば, C_{27} , C_{29} アルコール量はステロールの数%と

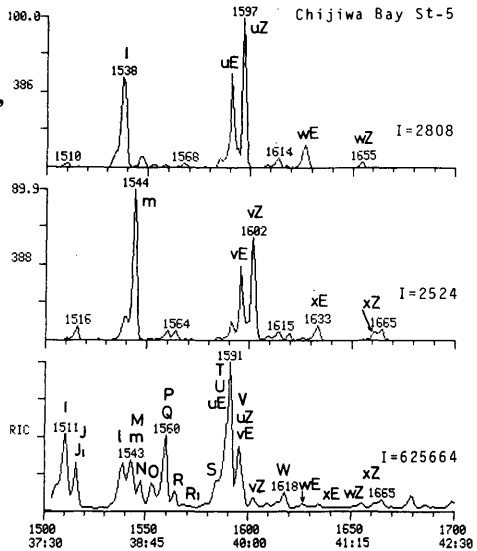


Fig. 5 Selected scan range of RIC and Mass Fragmentgram of m/z 386 ($\Delta^{5, 24(28)}$ -sterols) and m/z 388 ($\Delta^{24(28)}$ -sterols) of the sterol fraction from Chijiwa Bay St-5 analysed as TMS ethers. Peak designations are shown in Table 1.

推定される。 C_{26} , C_{28} アルコールは第7図ではわずかに認められる。

ガスクロマトグラム (第6, 7図) では炭素数が小さいステロールは早く現われる。同一炭素数のステロールは Δ^5 , $22-$, $\Delta^{22}-$, Δ^5 -ステロール, 5α -スタノールの順序で現われる。AB, EF, GH, IJ, MN, QR, UV は組をなし, 前にあるステロールはピークが高く, ステロイド骨格には二重結合をもっている。本研究で同定したステロールは Δ^5 , $22-$ -ステロール (IZ), 5α -スタノール (B_1 , T), 5β -スタノール (B_2 , B_3), Δ^5 , $24-$ -ステロール (h), Δ^7 -ステロール (J_1 , R₁, W), Δ^5 , $24(28)$ -ステロール (l, uE, uZ, wE, wZ), $\Delta^{24(28)}$ -ステロール (m, vE, vZ, xE, xZ) である。そのうち, 24 -methylcholesta-5, $24(28)$ -dien- 3β -ol (I) と 24 -ethyl- 5α (H)-cholest-7-en- 3β -ol (W) はピークが比較的高い。しかし, ほかのステロールはピークは低いか, または別のステロールと重なっている。同じ炭素数のステロールは 5β -スタノールが早く現われ, Δ^7 -ステロールは最も遅く (Knights, 1967) 現われる。また, Δ^5 , $24(28)$ -ステロールは $\Delta^{24(28)}$ -ステロールより早く, 異性体は E, Z の順 (Brooks *et al.*, 1972) に現われる。

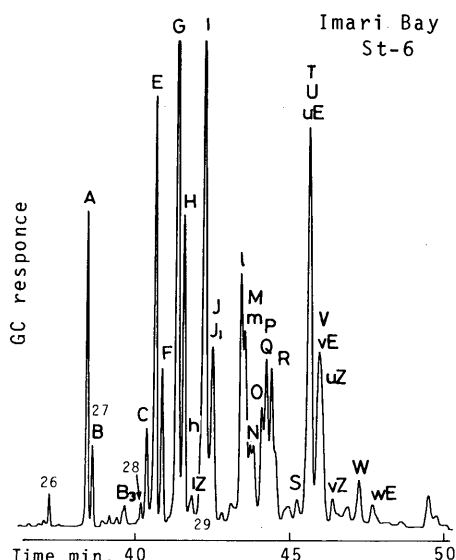


Fig. 6 Capillary gas chromatogram of 4-desmethyl-sterols (TMS ethers) and n-alcohols (26-29, TMS ethers) of sediment from Imari Bay St-6. Ultra-2 (25m \times 0.32 i.d.), fused silica capillary column. Peaks assignments are given in Table 1.

3-3. ガスマトグラフィー/質量分析 (GC/MS)

第8~11図は沿岸域の海底堆積物から抽出して同定した19種類のステロールのTMSエーテルのマスペクトルである。図にはステロールの名称, 炭素数(C), TMSエーテルの分子量(M), 側鎖基(SC)の大きさ, 構造図を示した。マスペクトルにおける $m/z200$ 以上の分子イオンとおもなフラグメントイオンの相対強度(%)は, ステロイド環状骨格と側鎖基の二重結合の有無と場所および異性体によりステロールを分類して第2表に示した。このほか主要な18種類のステロールのマスペクトルは前報 (近藤他, 1991) で報告した。第2表のフラグメントイオンの種類, 側鎖基の有無によるフラグメントイオンの区分および a, b, c……の記号は Knights(1967) に準拠した。表中のフラグメントイオンをおもに Knights (1967) に基づいて説明する。

I : 側鎖基があるフラグメントイオン (Ions retaining side chain)

M は分子イオン $[M]^+$ である。ステロールは環状化合物であり安定性が高く, TMSエーテルは分子イオン M が見られるが, アセチル誘導体では現われにくい (Brooks *et al.*, 1968). a (M-15) は19位のメチル基 (CH_3) の脱離 (Tökés *et al.*, 1968), 18位の CH_3 の脱離 (Rahier and Benveniste, 1989), 3位の ROH からの CH_3 の脱離 (Diekmann and Djerassi, 1967) による $[M-CH_3]^+$ である。b (M-90) は ROH が脱離した $[M-ROH]^+$ であ

Table 1. Identification of 4-desmethyl-sterols (TMS ethers) in marine sediment samples.

Peak ^a	Identification ^b	Cn ^c	D.B. ^d	MW (TMS)	RRT ^e	μg/g ^f
*A	24-norcholesta-5, 22E-dien-3β-ol	26	5, 22	442	0.934	2.35
B	24-norcholest-22E-en-3β-ol	26	22	444	0.937	0.55
B ₁	24-nor-5α(H)-cholestan-3β-ol	26	—	446	0.960	—
B ₂	5β(H)-cholestan-3β-ol (coprostanol)	27	—	460	0.964	—
B ₃	5β(H)-cholestan-3α-ol (epicoprostanol)	27	—	460	0.967	0.27
*C	27-nor-24-methylcholesta-5, 22E-dien-3β-ol	27	5, 22	456	0.978	0.74
*E	cholesta-5, 22E-dien-3β-ol (22-dehydrocholesterol)	27	5, 22	456	0.985	4.03
*F	5α(H)-cholest-22E-en-3β-ol	27	22	458	0.989	1.28
*G	cholest-5-en-3β-ol (cholesterol)	27	5	458	1	7.16
*H	5α(H)-cholestan-3β-ol (cholestanol)	27	—	460	1.003	2.48
IZ	24-methylcholesta-5, 22Z-dien-3β-ol	28	5, 22	470	1.007	0.23
h	cholesta-5, 24-dien-3β-ol (desmosterol)	27	5, 24	456	1.013	—
*I	24-methylcholesta-5, 22E-dien-3β-ol (brassicasterol)	28	5, 22	470	1.016	6.19
*J	24-methyl-5α(H)-cholest-22E-en-3β-ol	28	22	472	1.020	1.49
J ₁	5α(H)-cholest-7-en-3β-ol (lathosterol)	27	7	458	1.020	
*I	24-methylcholesta-5, 24(28)-dien-3β-ol	28	5, 24	470	1.034	2.01
*M	24-methylcholest-5-en-3β-ol (campesterol)	28	5	472	1.038	1.86
m	24-methyl-5α(H)-cholest-24(28)-en-3β-ol	28	24	472	1.038	
N	24-methyl-5α(H)-cholestan-3β-ol (campestanol)	28	—	474	1.041	0.20
O	23, 24-dimethylcholesta-5, 22E-dien-3β-ol	29	5, 22	484	1.044	0.40
P	23, 24-dimethyl-5α(H)-cholest-22E-en-3β-ol	29	22	486	1.049	1.29
*Q	24-ethylcholesta-5, 22E-dien-3β-ol (stigmasterol)	29	5, 22	484	1.049	
*R	24-ethyl-5α(H)-cholest-22E-en-3β-ol	29	22	486	1.052	1.11
R ₁	24-methyl-5α(H)-cholest-7-en-3β-ol	28	7	472	1.054	—
S	23, 24-dimethylcholest-5-en-3β-ol	29	5	486	1.066	—
T	23, 24-dimethyl-5α(H)-cholestan-3β-ol	29	—	488	1.070	5.44
*U	24-ethylcholest-5-en-3β-ol (β-sitosterol)	29	5	486	1.070	
uE	24-ethylcholesta-5, 24(28)E-dien-3β-ol (fucosterol)	29	5, 24	484	1.070	
*V	24-ethyl-5α(H)-cholestan-3β-ol (stigmastanol)	29	—	488	1.073	3.08
vE	24-ethyl-5α(H)-cholest-24(28)E-en-3β-ol (fucostanol)	29	24	486	1.073	
uZ	24-ethylcholesta-5, 24(28)Z-dien-3β-ol (isofucosterol)	29	5, 24	484	1.074	
vZ	24-ethyl-5α(H)-cholest-24(28)Z-en-3β-ol (isofucostanol)	29	24	486	1.077	0.32
W	24-ethyl-5α(H)-cholest-7-en-3β-ol	29	7	486	1.088	0.61
wE	24(E)-propylidenecholest-5-en-3β-ol	30	5, 24	498	1.094	0.33
xE	24(E)-propylidene-5α(H)-cholestan-3β-ol	30	24	500	1.098	—
wZ	24(Z)-propylidenecholest-5-en-3β-ol	30	5, 24	498	1.113	—
xZ	24(Z)-propylidene-5α(H)-cholestan-3β-ol	30	24	500	1.117	—

a : See Figs 2, 3. * : One of the most concentrated components.

b : Trivial names are in parentheses. c : Number of carbon atoms.

d : Positions of double bond.

e : GC retention times relative to cholesterol(G) TMS ethers from Chijiwa Bay St-5.

f : Concentration of sediment (dry weight) from Imari Bay St-6.

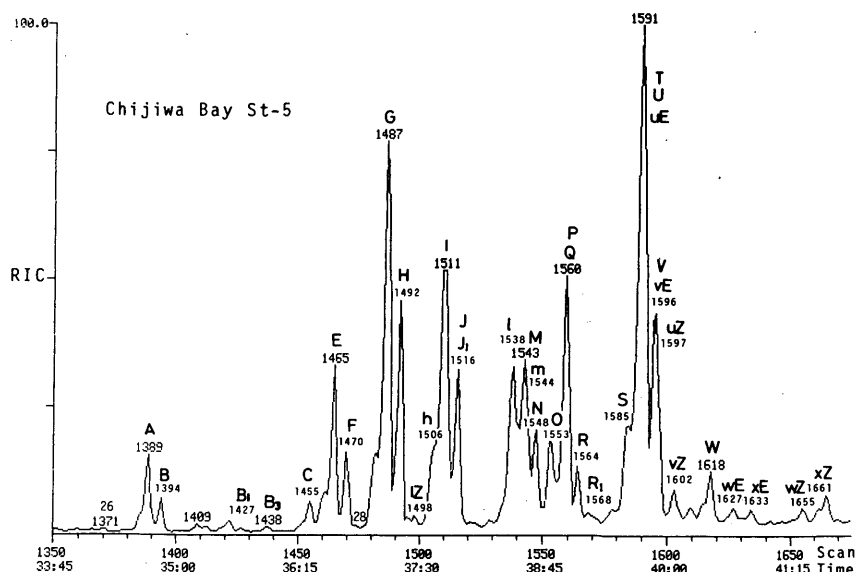


Fig. 7 Reconstructed ion chromatogram (RIC) of 4-desmethyl-sterols (TMS ethers) of sediment from Chijiwa Bay St-5. DB-5 (30m×0.32 i.d.), fused silica capillary column. The identities of the designated peaks are given in Table 1.

る (Diekman and Djerassi, 1967; Eneroth *et al.*, 1976)。 Δ^{22} -ステロールには見られない (近藤他, 1991)。*c* (M-105) は ROH と CH_3 の脱離による $[\text{M}-\text{ROH}-\text{CH}_3]^+$ である (Diekman and Djerassi, 1967)。普通に現われるが Δ^{22} -ステロールでは弱い (近藤他, 1991)。*n* (M-129) はステロイド骨格の 1～3 位の炭素 ($\text{C}_1\sim\text{C}_3$) と ROH の RO が脱離した $[\text{M}-\text{C}_1\sim\text{C}_3-\text{RO}]^+$ である (Diekman and Djerassi, 1967)。*n* (M-129) は $m/z 129[\text{C}_1\sim\text{C}_3+\text{RO}]^+$ と共に 5 位に二重結合があるステロールにおいて特徴的に強く (Brooks *et al.*, 1968; Brooks, 1979), 5α -スタノール, Δ^{22} -ステロールにはほとんどない (近藤他, 1991)。*x* (M-133) は側鎖基末端のイソプロピル基 (C_3H_7) と ROH が脱離する $[\text{M}-\text{ROH}-\text{C}_3\text{H}_7]^+$ であり, Δ^5 , Δ^{22} -ステロールにみられる (Eneroth *et al.*, 1976)。*j* (M-157) は ROH と 2～6 位または 3～7 位の炭素と 2H の脱離により生成する $[\text{M}-\text{ROH}-\text{C}_5\text{H}_7]^+$ であり, Δ^5 -, Δ^5 , Δ^{22} -ステロールに現われる。*k* (M-183) は ROH と 1～7 位の炭素の脱離による $[\text{M}-\text{ROH}-\text{C}_7\text{H}_9]^+$ であり, Δ^5 -ステロールにおい (Brooks *et al.*, 1979)。*o* (M-198) は $[\text{M}-\text{ROH}-\text{C}_8\text{H}_{12}]^+$ である。*l* (M-211) は側鎖基と C, D 環よりなる $[\text{M}-\text{ROH}-\text{C}_9\text{H}_{13}]^+$ であり, おもに Δ^5 -ステロールにおいて強い。

II: 側鎖基が脱離したフラグメントイオン (Ions involving loss of the side chain)

側鎖基の脱離 (M-SC; Ms と略) または側鎖基の一部が開裂して生成するフラグメントイオンを説明する。*p* (M-58～112) は *q* (M-148～202) と共に Δ^5 , $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに特徴的にみられ, $\text{C}_{22}\sim\text{C}_{23}$ が開裂して生成する $[\text{M}-\text{C}_{23}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}]^+$ である。*p* は Δ^5 , $\Delta^{24(28)}$ -ステロールでは $m/z 386$ であり, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールでは $m/z 388$ である。*d** (M-72～126) は Δ^{22} -ステロールにおいて $\text{C}_{20}\sim\text{C}_{22}$ が開裂が起きて生成する $[\text{M}-\text{C}_{22}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}]^+$ である (Ener-

Table 2. Mass-spectral fragmentation ions obtained by analysis of the trimethylsilyl ethers from marine sediments.

Peaks	Signals Fragmentations	Ions retaining the side chain							Ions involving loss of the side chain																	
		<i>M</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>o</i>	<i>l</i>	SC	<i>p</i>	<i>d</i> [*]	<i>t</i>	<i>d</i>	<i>r</i>	<i>f</i>	<i>q</i>	<i>u</i>	<i>y</i>	<i>e</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>i</i> [*]	<i>g</i>	<i>v</i>		
		M	M-CH ₃	M-ROH	M-CH ₃ -ROH	M-C ₁ ~RO	M-C ₆ H ₁₂ -ROH	M-C ₆ H ₁₃ -ROH		M-H	M-H	M-CH ₃	M-SC	M-SC	M-SC	M-H	M-CH ₃	M-H	M-SC	M-SC	M-SC	M-SC	M-SC	M-SC	M-SC	
		M	M-15	M-90	M-105	M-129	M-198	M-211		-C ₂₃ ~	-C ₂₂ ~	-C ₂₃ ~	-C ₂₃ ~	-2H	-C ₃ H ₅	-C ₂₃ ~	-C ₂₃ ~	-C ₂₃ ~	-ROH	-ROH	-ROH	-ROH	-ROH	-ROH	-ROH	
		M	M-15	M-90	M-105	M-129	M-198	M-211		Ms	Ms-2	Ms-42	Ms	Ms-2	Ms-42	Ms	Ms-2	Ms-42	Ms-90	Ms-92	Ms-116	Ms-117	Ms-132	Ms-134		
B ₁	24-nor-5 α (H) -cholestan-3 β -ol	446 (2)	431 (36)	356 (14)	341 (26)	317 (4)	248 (10)	235 —	99 (2)	388 —	374 —	373 —	347 —	345 —	305 (20)	298 —	283 —	259 —	257 (6)	255 (3)	231 (8)	230 (5)	215 (100)	213 (4)		
T	23, 24-dimethyl-5 α (H) -cholestan-3 β -ol	488 (29)	473 (2)	398 (25)	383 (2)	359 (5)	290 (9)	277 (3)	141 (3)	— (4)	— —	— —	— —	U (3)	— (13)	— —	— (14)	— (18)	— (19)	— (19)	— (19)	— (100)	— U			
B ₂	5 β (H) -cholestan-3 β -ol (coprostanol)	460 (4)	445 (4)	370 (100)	355 (40)	331 (2)	262 (3)	249 —	113 (2)	388 —	374 —	373 —	347 —	345 —	305 (3)	298 —	283 —	259 (2)	257 (22)	255 —	231 (8)	230 (10)	215 (50)	213 —		
B ₃	5 β (H) -cholestan-3 α -ol (epicoprostanol)	460 (7)	445 (5)	370 (64)	355 (42)	331 (2)	262 (6)	249 —	113 —	— —	— —	— —	— —	— —	(5) (5)	— —	— —	(2) —	(19) (100)	(9) (27)	(8) —	(7) —	(100) (48)	(3) —		
IZ	24-methylcholesta-5, 22Z-dien-3 β -ol	470 (13)	455 (2)	380 (19)	365 —	341 —	272 —	259 —	125 (52)	386 —	372 —	371 —	345 —	343 (37)	303 —	296 —	281 —	257 —	255 (100)	253 (27)	229 —	228 —	213 (4)	211 —		
h	cholesta-5, 24-dien-3 β -ol (desmosterol)	456 (25)	441 (32)	366 (37)	351 (3)	327 (63)	258 —	245 (34)	111 (7)	386 (3)	372 (35)	371 (6)	345 —	343 (89)	303 —	296 —	281 —	257 —	255 —	253 (100)	229 (11)	228 (16)	213 (53)	211 (23)		
J ₁	5 α (H) -cholest-7-en-3 β -ol (lathosterol)	458 (57)	443 (13)	368 (6)	353 (14)	329 (4)	260 (4)	247 (9)	113 (3)	386 —	372 —	371 —	345 J	343 (7)	303 (4)	296 —	281 —	257 J	255 (100)	253 (9)	229 (45)	228 (10)	213 (51)	211 (9)		
R ₁	24-methyl-5 α (H) -cholest-7-en-3 β -ol	472 (87)	457 (23)	382 (9)	367 (24)	343 (4)	274 (6)	261 (8)	127 (3)	— (2)	— —	— —	(13) (4)	(4) (8)	(8) —	— —	(3) —	(7) —	(100) (100)	(7) (7)	(50) —	(15) —	(70) (53)	(7) (9)		
W	24-ethyl-5 α (H) -cholest-7-en-3 β -ol	486 (70)	471 (19)	396 (7)	381 (14)	357 (2)	288 (4)	275 (4)	141 (3)	— (2)	— —	— —	(11) (6)	(6) (6)	— —	(6) —	(11) —	(100) —	(7) (100)	(37) (7)	(10) —	(53) (16)	(9) (23)			
I	24-methylcholesta-5, 24(28)-dien-3 β -ol	470 (30)	455 (14)	380 (57)	365 (38)	341 (61)	272 (7)	259 (16)	125 (7)	386 (100)	372 (27)	371 (27)	345 (7)	343 (74)	303 —	296 (80)	281 (60)	257 (53)	255 (41)	253 (62)	229 (15)	228 (14)	213 (47)	211 (27)		
uE	24-ethylcholesta-5, 24(28)E-dien-3 β -ol (fucosterol)	484 (6)	469 (5)	394 (16)	379 (18)	355 (44)	286 —	273 —	139 (2)	— (100)	U —	(16) —	U —	(16) —	U —	(37) (52)	(65) (62)	(53) (38)	U (22)	(42) (20)	U (11)	U (10)	U (29)	(39) (30)		
uZ	24-ethylcholesta-5, 24(28)Z-dien-3 β -ol (isofucosterol)	484 (5)	469 (3)	394 (3)	379 (6)	355 (8)	286 —	273 (3)	139 (100)	— (6)	— (19)	— —	(7) —	— —	— (32)	(52) (62)	(62) (38)	(38) (22)	(22) (20)	(20) (11)	(10) —	(29) (16)	(30) (62)			
wE	24(E)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol	498 (4)	483 (4)	408 (3)	393 (4)	369 (7)	300 —	287 (2)	153 —	— (96)	(6) —	(21) —	(3) —	(17) —	(4) —	(100) —	(74) —	(46) —	(27) —	(26) —	(13) —	(15) —	(32) —	(40) —		
wZ	24(Z)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol	498 (25)	483 —	408 (43)	393 (15)	369 (13)	300 —	287 —	153 —	— (38)	(8) —	— —	— —	(32) —	— —	(48) (48)	(86) (86)	(39) (39)	(100) (100)	(47) —	— —	(16) (16)	(62) (62)	(36) (36)		
m	24-methyl-5 α (H) -cholest-24(28)-en-3 β -ol	472 M	457 M	382 M	367 M	343 M	274 —	261 —	125 (2)	388 (96)	374 (9)	373 (26)	347 —	345 (51)	305 (27)	298 (5)	283 (17)	259 —	257 (4)	255 M	231 —	230 (5)	215 (100)	213 M		
vE	24-ethyl-5 α (H) -cholest-24(28)E-en-3 β -ol (fucostanol)	486 —	471 (7)	396 —	381 —	357 —	288 —	275 (25)	139 (2)	(100) (7)	(7) (27)	(27) (5)	(23) —	V (6)	(6) (20)	(20) (20)	(8) —	V (38)	(38) —	V —	V —	V —	— —			
vZ	24-ethyl-5 α (H) -cholest-24(28)Z-en-3 β -ol (isofucostanol)	486 (5)	471 (6)	396 —	381 (3)	357 —	288 —	275 —	139 (2)	(100) (8)	(8) (21)	(21) —	— —	(19) —	(18) —	(7) —	(33) —	— —	(11) —	(34) —	(4) —	(7) —	(47) (47)	(35) (35)		
xE	24(E)-propylidene-5 α (H) -cholestan-3 β -ol	500 (31)	485 —	410 (14)	395 —	371 (17)	302 —	289 (4)	153 —	(50) —	(5) —	(11) —	— —	(11) —	(10) —	(6) —	(27) —	(7) —	(11) —	(27) —	(16) —	(9) —	(100) —	(31) —		
xZ	24(Z)-propylidene-5 α (H) -cholestan-3 β -ol	500 (16)	485 (11)	410 —	395 —	371 —	302 —	289 —	153 —	(64) —	(17) —	(14) —	(10) —	(75) —	(10) —	(5) —	(38) —	(10) —	(84) —	(75) —	(15) —	(14) —	(100) —	(51) —		

Relative abundance(%) of ions above m/z200 are given in parentheses. The signals were attributed to fragments according to Knights(1967).

SC=Side chain, Ms=M-SC(Side chain), ROH=Trimethylsilyl ether ((CH₃)₃SiOH). C₁~RO=C₁~C₂+RO, C₂₃~C₂₃~C₂₄₍₃₀₎, C₂₂~C₂₂~C₂₃₍₃₀₎.

U, J, M, V: Fragment ions were mixed with those of sterols U, J, M, V (Table 1).

oth *et al.*, 1965; Wyllie and Djerassi, 1968; Goad *et al.*, 1972)。 d^* は Δ^{22} -ステロールでは $m/z374$, $\Delta^{5,22}$ -ステロールでは $m/z372$ であり (Huang and Meinschein, 1978), Δ^{22} -ステロールにおいて強い (近藤他, 1991)。 d^* は $\Delta^{5,24}$ -ステロールの desmosterol(h) にもある (Brooks, 1979)。 t (M-73~127) は p から CH_3 が除去された $[\text{M}-\text{C}_{23}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}-\text{CH}_3]^+$ である。 d (Ms) は側鎖基が脱離した $[\text{M}-\text{SC}]^+$, r (Ms-2) は d からさらに 2H が脱離した $[\text{M}-\text{SC}-2\text{H}]^+$ である (Eneroth *et al.*, 1965)。 r は desmosterol(h), $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールで強く $m/z343$ である。 r は $\Delta^{24(28)}$ -ステロールにも見られ, $m/z345$ である。 f (Ms-42) は側鎖基と D 環が除去されて生成する $[\text{M}-\text{SC}-\text{C}_3\text{H}_5-\text{H}]^+$ である (Eneroth *et al.*, 1965)。 q (M-148~202) は $[\text{M}-\text{C}_{23}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}-\text{ROH}]^+$ であり, $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールにおいて最も強く $m/z296$ である。 u (M-163~217) は p から CH_3 と ROH が脱離した $[\text{M}-\text{C}_{23}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{ROH}]^+$ であり, 側鎖基の一部は残っている。 y (M-187~241) は p から $m/z129$ ($\text{C}_1\sim\text{C}_3+\text{RO}$) が脱離した $[\text{M}-\text{C}_{23}\sim\text{C}_{26(30)}-\text{H}-\text{C}_1\sim\text{C}_3-\text{RO}]^+$ である。 e (Ms-90) は $[\text{M}-\text{SC}-\text{ROH}]^+$ である (Goad *et al.*, 1972)。 e は $\Delta^{5,22}$ -ステロールでは $m/z255$, Δ^{22} -ステロールでは $m/z257$ であり, 両ステロールの $m/z255$ と $m/z257$ は $m/z200$ 以上におけるベースピークである (近藤他, 1991)。 s (Ms-92) は $[\text{M}-\text{SC}-\text{ROH}-2\text{H}]^+$ であり, desmosterol(h) では $m/z253$ は強い特徴がある (Brooks *et al.*, 1968)。 i (Ms-116) は RO と D 環の開裂により C_2H_3 が脱離した $[\text{M}-\text{SC}-\text{RO}-\text{C}_2\text{H}_3]^+$ である (Brooks *et al.*, 1968)。 i^* (Ms-117) は D 環の 16位, 17位の炭素が除かれた $[\text{M}-\text{SC}-\text{ROH}-\text{C}_2\text{H}_3]^+$ であり, 5α -, 5β -スタノールにおいて強い (Brooks *et al.*, 1968)。 g (Ms-132) は e から D 環の 15~17 位の炭素が除かれた $[\text{M}-\text{SC}-\text{ROH}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$ である (Eneroth *et al.*, 1965; Knights and Laurie, 1967; Brooks, 1979)。 v (Ms-134) は側鎖基, D 環, ROH が脱離した $[\text{M}-\text{SC}-2\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6-\text{ROH}]^+$ である (Eneroth *et al.*, 1965)。

次に同定したステロールをステロイド骨格と側鎖基における二重結合の有無と位置, 異性体により 5α -, 5β -スタノール, $\Delta^{5,22}$ -, $\Delta^{5,24}$ -, Δ^7 -, $\Delta^{5,24(28)}$ -, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに分類し, I : 側鎖基があるフラグメントイオンと II : 側鎖基が脱離したフラグメントイオンに分けて各ステロールのマススペクトルの特徴を記載する (第 2 表)。

3-4. 5α -スタノール (第 8-B₁, T 図)

B₁ 24-nor- 5α (H)-cholestan- 3β -ol : ベースピークは $m/z75$ である。 $m/z200$ 以上では 5α -スタノールの指標である $m/z215$ は最大である。分子イオン $Mm/z446$, $am/z431$, 389 (M-57), $b356$, $c341$, $n317$, $f305$, 306, $e257$, $o248$, i^*230 がある。

T 23, 24-dimethyl- 5α (H)-cholestan- 3β -ol : 分子イオンは $Mm/z488$ である。 $a473$, $b398$, $c383$, $n359$, $f305$, $o290$, $e257$, $g215$ は T のフラグメントイオンである。 5α -スタノールの特徴である $gm/z215$ は強い。T は β -sitosterol(U) と fucosterol(uE) と重なり, U の分子イオン $Mm/z486$, $a471$, $b396$, $c381$, $n357$, $l275$, $e255$, $g213$, 129 などが強い。また, uE のフラグメントイオンは $p386$, $q296$, $u281$ などがある。

B₁ のベースピーク $m/z75$, T における $m/z75$ は ROH から CH_3 が除かれた $[(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}]^+$ であり, 5α -スタノールでは強い (Brooks *et al.*, 1968)。

I : Δ^5 -ステロールの特徴である $m/z129$, n は B₁ では弱い。第 8-T 図の $m/z129$ と n は β -sitosterol(U) と fucosterol(uE) のものである。 a は M より強く (T では弱い), b は

M より弱く, c は比較的強い。このほかに $[M-C_4H_9]^+$ ($M-57$) である B_1 の $m/z389$, T の $m/z431$ (Wardroper *et al.*, 1978) および o がある。

II : $m/z200$ 以上で最も強い $gm/z215$ は 5α -スタノールを決定づける (Brooks *et al.*, 1968; Ballantine *et al.*, 1985; De Leeuw *et al.*, 1983)。 B_1 における $g215$, 216 , 217 , $f306$, 305 , $e257$, i^*230 , 237 , 201 は 5α -スタノールに共通的にみられる (近藤他, 1991)。

3-5. 5β -スタノール (第8- B_2 , B_3 図)

B_2 $5\beta(H)$ -cholestan- 3β -ol (coprostanol) : 分子イオンは $Mm/z460$ である。ベースピークは $bm/z370$ である。 $cm/z355$, $e257$, i^*230 , $g215$, $m/z75$ が強く, $a445$, 403 ($M-57$), $n331$, $f305$, $o262$, 237 , 201 がある。

B_3 $5\beta(H)$ -cholestan- 3α -ol (epicoprostanol) : 分子イオンは $Mm/z460$ である。ベースピークは $gm/z215$ であり $m/z75$ も強い。フラグメントイオンの種類は B_2 と同一である。

5β -スタノールはベースピークが $bm/z370$ ($M-90$), 分子イオンが弱い (Brooks *et al.*, 1968)。 3β は $m/z108$ が強いことで異性体の 3α と区別される (Eneroth *et al.*, 1965)。第8- B_2 , B_3 図では B_2 は B_3 よりも $m/z108$ が強いので 3β である。また, B_2 は $bm/z370$ がベースピーク, その次のピークは $gm/z215$ であるが, B_3 は $gm/z215$ がベースピーク, その次は $bm/z370$ という相異がある。なお, 5α -スタノールは $m/z75$ が強い (Brooks *et al.*, 1968) が, 5β -スタノールでも $m/z75$ は強い。

I : $bm/z370$ ($M-90$) は最も強い。 $c355$ も強い。分子イオン $Mm/z460$, $a445$, 403 ($M-57$), $n331$ がある。

II : $e257$, i^*230 , $g215$ が強く, $g215$ は B_3 のベースピークである。 $f305$, $y259$, $s255$, 237 , $i231$, $v213$, 201 がある。

3-6. $\Delta^{5,22}$ -ステロール (第8-IZ図)

IZ 24-methylcholesta-5, 22Z-dien- 3β -ol : brassicasterol (I) の22Z異性体である。分子イオンは $Mm/z470$ である。 $em/z255$, 129 , 125 が強く, $b380$, d^*372 , $r343$, 282 , 267 , $s253$, $g213$ がある。

$\Delta^{5,22}$ -ステロールは側鎖基によるフラグメントイオンが強く現われる (Huang and Meinschein, 1976, 1978; Rahier and Benveniste, 1989)。 $m/z125$ は側鎖基のフラグメントイオンである。22位の二重結合の存在は $C_{20}-C_{22}$ が開裂してできる $d^*m/z372$, $m/z282$ [$M-C_{22}\sim C_{28}-H-ROH$] $^+$ (Eneroth *et al.*, 1965; Wylle and Djerassi, 1968) などから確認できる。5位の二重結合は $m/z129$ (Huang and Meinschein, 1978; Brooks, 1979) およびA環の C_1-C_{10} , C_4-C_5 が開裂して生じた $m/z145$ (Brooks *et al.*, 1968) によって示される。なお, 側鎖基に二重結合があると Δ^5 -ステロールの特色は減少する (Knights, 1967)。ベースピーク $m/z69$ は Δ^{22} -ステロールでの24位のメチル基を示す (De Leeuw *et al.*, 1983)。

I : IZ はイオン強度が低く, フラグメントイオンは少ないが $Mm/z470$, $b380$ がある。

II : d^*372 , $r343$, 282 , 267 , $e255$, $s253$, $g213$ がある。 $m/z267$ は [$M-C_{22}\sim C_{28}-H-ROH-CH_3$] $^+$ と考えられる。 $em/z255$ は $m/z200$ 以上で最も強く, $\Delta^{5,22}$ -ステロールの特徴である (近藤他, 1991)。

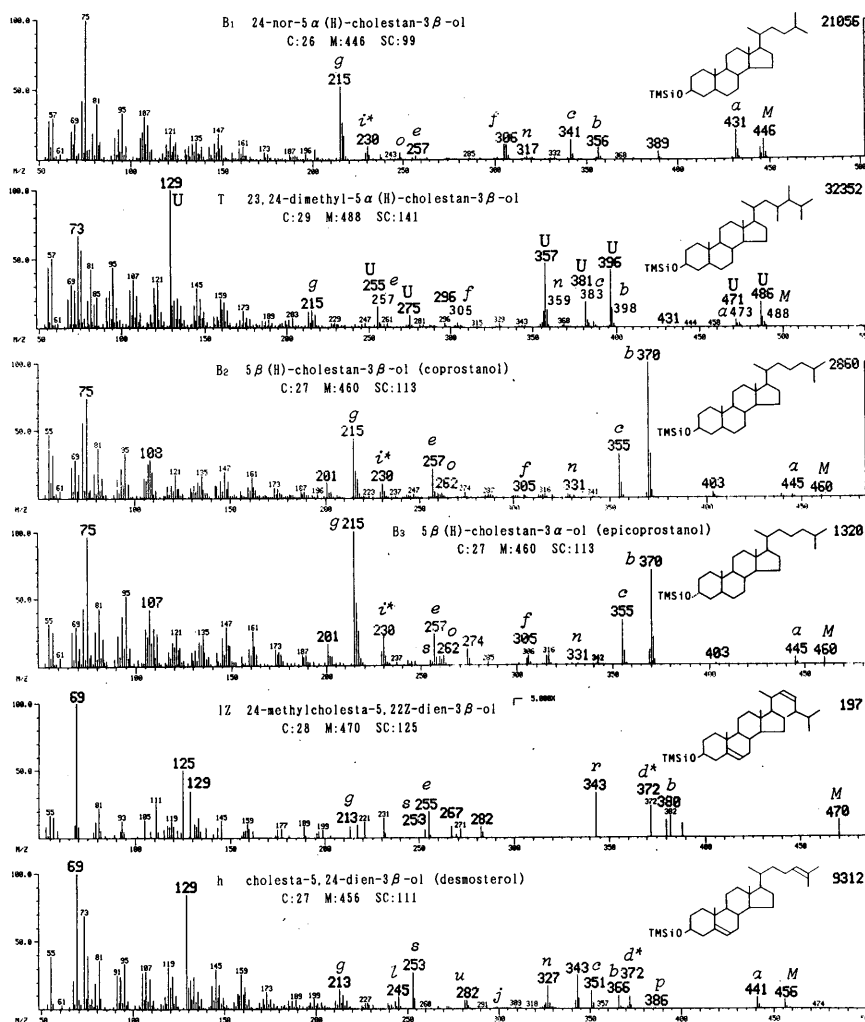


Fig. 8 Mass spectra of 5α -stanol (B_1 , T), 5β -stanol (B_2 , B_3), $\Delta^{5,22}$ -sterols (IZ) and $\Delta^{5,24}$ -sterols (h) trimethylsilyl ether derivatives. U in the mass spectrum of T correspond to the fragmentations of β -sitosterol (U) TMS ether. B_1 : Lake Suigetsu St-2-1. T, h: Tomie Bay St-2. B_2 : Nagasaki Bay St-45. B_3 : Chijiwa Bay St-17. IZ: Ise Bay St-2-1.

3-7. $\Delta^{5,24}$ -ステロール (第8-h図)

h cholesta-5, 24-dien- 3β -ol (desmosterol): 分子イオンは $Mm/z456$ である。a441, p386, d*372, b366, c351, r343, n327, u281, s253, l245, g213, 145, 129がある。

desmosterol(h)は $bm/z366$, r343, s253が強い (Brooks *et al.*, 1968; Ballantine *et al.*, 1975)。また, C_{22} - C_{23} が開裂した $d^*372[M-C_6H_{12}]^+$ (Brooks, 1979), $u281[M-C_6H_{12}-H-ROH]^+$ (Rahier and Benveniste, 1989) がある。r343, s253は Δ^{24} -ステロールに一般的

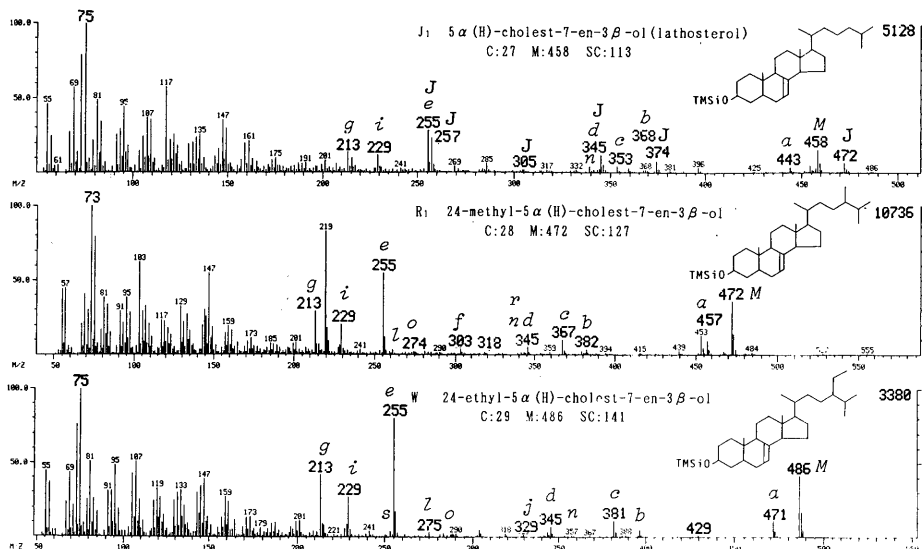


Fig. 9 Mass spectra of Δ^7 -sterol trimethylsilyl ether derivatives. J in the mass spectrum of J_1 correspond to the fragment ions in the mass spectrum of 24-methyl-5 α (H)-cholest-22E-en-3 β -ol(J) TMS ether. J_1 , R_1 : Lake Suigetsu St-2-1. W: Tomie Bay St-2.

にみられる (Brooks *et al.*, 1968)。 Δ^5 -ステロールに特徴的な m/z 327, m/z 129, 145も現われている。ベースピークは m/z 69であるが m/z 129は強い。なお, desmosterol(h)のベースピークは一般に m/z 129である (Brooks *et al.*, 1968)。

I : Mm/z 456, a 441, b 366, c 351, n 327, j 299, k 273, l 245がある。

II : p 386, d^* 372, t 371, r 343, u 281, s 253, i 229, i^* 228, g 213, v 211がある。 sm/z 253は m/z 200以上でのベースピークである。次のピークは r 343である。

3-8. Δ^7 -ステロール (第9図)

J_1 5 α (H)-cholest-7-en-3 β -ol (lathosterol) : 分子イオン Mm/z 458, a 443, b 368, c 353, d 345, e 255, i 229, g 213がある。 J_1 と重なる24-methyl-5 α (H)-cholest-22E-en-3 β -ol(J)は Mm/z 472, d^* 374, r 345, f 305, s 255, e 257, g 215などである。 m/z 345, 255, 257は J_1 とJの両方にある。Jの e 257と s 255の関係(近藤他, 1991)から J_1 の e 255は約30%がJのものと考えられるが, m/z 200以上でのベースピークとした(第2表)。

R_1 24-methyl-5 α (H)-cholest-7-en-3 β -ol : 分子イオン Mm/z 472, a 457, b 382, c 367, d 345, o 274, e 255, i 229, i^* 228, g 213がある。 m/z 200以上のベースピークは e 255である。

W 24-ethyl-5 α (H)-cholest-7-en-3 β -ol : 分子イオン Mm/z 486, a 471, b 396, c 381, d 345, r 343, f 303, l 275, e 255, i 229, g 213がある。

Δ^7 -ステロールは分子イオン M が強く, e 255がベースピークである (Knights, 1967; Brooks *et al.*, 1968)。また, D環が開裂した i 229, g 213が強い (Smith *et al.*, 1973; Ballantine *et al.*, 1981)。第8図では m/z 200以上のベースピークは e 255であり, 次は g 213, i 229である。 Δ^5 -ステロール(近藤他, 1991)に比べて b , n , j , k , l は弱い。

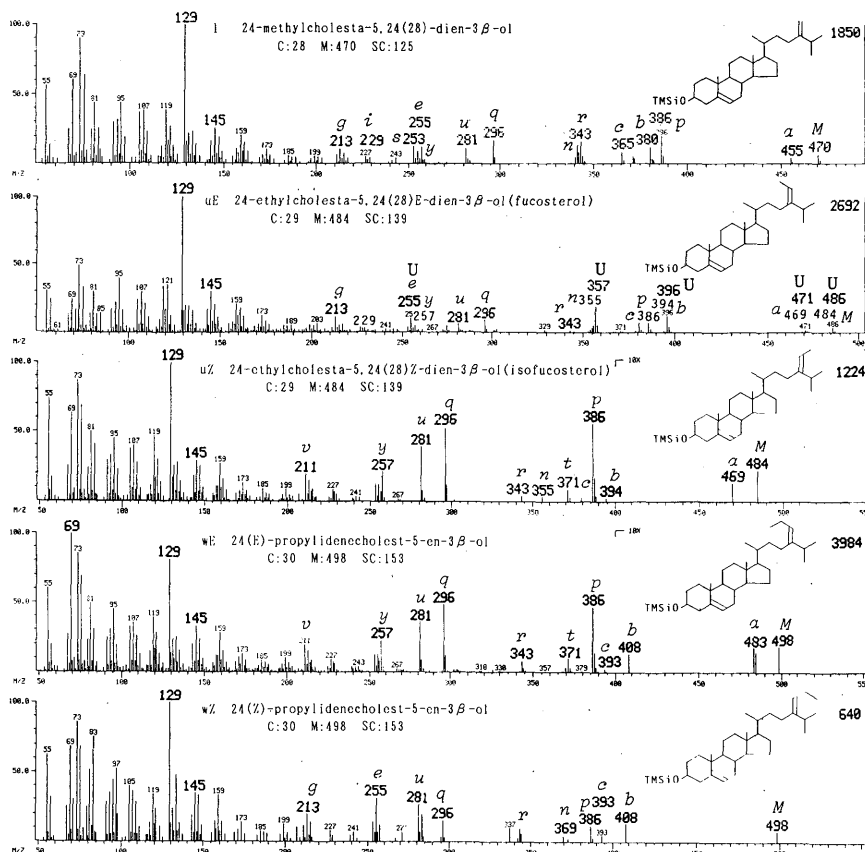


Fig. 10 Mass spectra of $\Delta^5, 24(28)$ -sterol trimethylsilyl ether derivatives. U in the mass spectrum of uE correspond to the fragment ions of β -sitosterol (U) TMS ether. l: Imari Bay St-6. uE: off Miyako-jima Isl. St-B-19. uZ, wZ: Tomie Bay St-4. wE: Tomie Bay St-2.

I : M , a , b , c , n , l , o がある。分子イオン M は最も強い。

II : $d345$, $r343$, $f303$, $e255$, $s253$, $i229$, i^*228 , $g213$, $v211$ および $m/z318[M-SC-C_2H_3]^+$ (Knights, 1967), $m/z241$, 201 がある。 $e255$, $g213$, $i229$ は強い。

3-9. $\Delta^5, 24(28)$ -ステロール (第10図)

l 24-methylcholesta-5, 24(28)-dien-3 β -ol : $Mm/z450$, $a455$, $p386$, $b380$, d^*372 , $c365$, $r343$, $n341$, $q296$, $u281$, $y257$, $e255$, $s253$, $i229$, $g213$, 145 , 129 がある。 $m/z200$ 以上のベースピークは $e255$ である。

uE 24-ethylcholesta-5, 24(28)E-dien-3 β -ol(fucosterol) : 全体的に uE のフラグメントイオンは弱い。 $Mm/z484$, $a469$, $b394$, $p386$, $c379$, $n355$, $r343$, $q296$, $u281$, $e255$, $q213$, 145 , 129 がある。 $m/z200$ 以上のベースピークは $p386$ である。uE と重なる β -sitosterol(U)は $Mm/z486$, $a471$, $b396$, $c381$, $n357$, $j329$, $e255$, $g213$, 145 , 129 が

あり、T のフラグメントイオンは殆どない。

uZ 24-ethylcholesta-5, 24(28)Z-dien-3 β -ol (isofucosterol) : フラグメントイオンの種類は uE と同じである。m/z200以上のベースピークは p386である。q296, u281, y257も強い。

wE 24(E)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol : Mm/z498, a483, b403, c393, p386, t371, r343, q296, u281, y257, e255, s253, g213, v211, 145, 129がある。m/z200以上では q296はベースピークである。p386, u281も強い。

wZ 24(Z)-propylidenecholest-5-en-3 β -ol : フラグメントイオンの種類は wE と同一である。wE と比較すると、m/z200以上のベースピークは e255となり、p386, t371, q296, y257は低くなっている。

$\Delta^5, 24(28)$ -ステロールは、 $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに特徴的な C₂₂-C₂₃が開裂して生成する p386, q296, y257 (Knights, 1967; Brooks *et al.*, 1972; Ballantine *et al.*, 1975), t371, u281, v211 (Eichenberger and Urban, 1984; Fernandes-Ferreira *et al.*, 1990) および Δ^5 -ステロールに特有な m/z129, n(M-129), 145により識別される。第10図では m/z129は wE 以外ではベースピークであり、p386または q296は wZ を除き m/z200以上のベースピークである。wZ は e255のピークが高い。ステロール TMS エステルの Z と E 異性体はマススペクトルに差はないとされる (Brooks *et al.*, 1972)。しかし、wZ は wE よりも p388, t371, q296, y257は低く、e255は高い傾向がある。

I : M, a, b, c, n がある。

II : C₂₂-C₂₃が開裂してできる p386, q296, u281, y257は強く、側鎖基が脱離した r343, e255, s253, q213は弱い。m/z267, 241, 227は共通してみられる。

3-10. $\Delta^{24(28)}$ -ステロール (第11図)

m 24-methyl-5 α (H)-cholest-24(28)-en-3 β -ol : Mm/z472, a457, p388, b382, c367, n343, f305, q298, u283, s255, g215がある。しかし、M472, a457, b382, c367, n343, s255は m の直前にある campesterol(M) のフラグメントイオンでもある。従って、これらの相対強度は第2表に示していない。

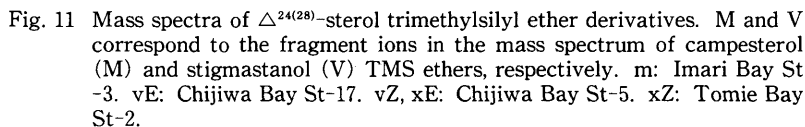
vE 24-ethyl-5 α (H)-cholest-24(28)E-en-3 β -ol (fucostanol) : Mm/z486, a471, p388, r345などは vE であるが、vE に重なる stigmastanol(V) のフラグメントイオンが強い。なお、m/z200以上のベースピークは、g215が V から由来するので、 $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに特有な p388とした (第2表)。

vZ 24-ethyl-5 α (H)-cholest-24(28)Z-en-3 β -ol (isofucostanol) : 分子イオン Mm/z486, a471, b396, p388, t373, r345, f305, u283, s255, g215, v213がある。p388は m/z200以上のベースピークである。

xE 24(E)-propylidene-5 α (H)-cholestan-3 β -ol : 分子イオン Mm/z500, b410, p388, t373, u283, s255, g215などがある。m/z200以上のベースピークは g215である。次は p388が強い。

xZ 24(Z)-propylidene-5 α (H)-cholestan-3 β -ol : フラグメントイオンの種類は xE と同じである。

$\Delta^{24(28)}$ -ステロールに特徴的なフラグメントイオンは p388である (Ballantine *et al.*,



I: 分子イオン M , a , b など全体的に強度は低い。

3-11. GC/MS によるステロールの解析

沿岸域の海底堆積物から抽出したステロールの TMS エーテルの GC, GC/MS により主

要な 5α -スタノール, Δ^5 -, Δ^{22} -, $\Delta^{5,22}$ -ステロール18種類は既に報告した(近藤他, 1991)が, 本研究では新たに19種類のステロールを同定した。そのうちの16種類は 5β -スタノール, $\Delta^{5,24}$ -, Δ^7 -, $\Delta^{5,24(28)}$ -, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに分類される。分類した各ステロール TMS エーテルの GC, GC/MS によるマススペクトルの解析について要点を記述する。

同じ分子量で構造が似たステロールや異性体はマススペクトルも類似するのでステロールの同定には RRT の検討が必要である。その例として, 3 位にある OH 基が β 配位である coprostanol (B_2) は α 配位の epicoprostanol (B_3) より RRT は早く (Brooks *et al.*, 1968), $\Delta^{5,22}$ -ステロールの 22Z は 22E より RRT は早く (Idler and Wiseman, 1971), また, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールでは 24E は 24Z よりも RRT は早い (Brooks *et al.*, 1972)。異性体はマススペクトルに相違が認められることがあり, coprostanol (B_2) は m/z 108 が epicoprostanol (B_3) より強い (Eneroth *et al.*, 1965) (第 8- B_2 , B_3 図)。 $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールの 24E と 24Z のマススペクトルに差はない (Brooks *et al.*, 1972) が, 第 10 図では wE と wZ に p 388, t 371, q 296, y 257, e 255 に差が見られるがなお検討を要する。

Δ^7 -ステロールは同一炭素数のステロールでは RRT は最も遅く, マススペクトルでは分子イオン M が強く, e 255 はベースピークである (Knights, 1967; Brooks *et al.*, 1968) ことによって識別できる (第 9 図)。

$\Delta^{24(28)}$ -, $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールは C_{22} - C_{23} が開裂 (マクラファティー転位) して生成する p , t , q , u , y , v (Knights, 1967; Brooks *et al.*, 1972) から同定できる。また, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールには 5α -スタノールを特徴づける g 215 が強い (第 11 図)。 $\Delta^{5,24(28)}$ -ステロールには Δ^5 -ステロールを示す m/z 145, 129, n (M -129) がある (第 10 図)。

ステロールの分子量は側鎖基がある M , a , b , c , n などから, またステロイド骨格内の二重結合の有無は側鎖基が脱離した e , g , p , q などによって知ることができる。なお, 側鎖基の大きさは M , a , b , c , n と e , g , r , s などから知られる。側鎖基の二重結合の位置はマクラファティー (McLafferty) 転位により生成するフラグメントイオン, 即ち Δ^{22} -ステロールにおける C_{20} - C_{22} の開裂を示す d^* , $\Delta^{24(28)}$ -ステロールにおける C_{22} - C_{23} の開裂を示す p , t , q , u , y , v によって知ることができる。

4. ま と め

海底堆積物のステロール組成は堆積物に含まれる有機物の起源やステロールの続成的変化および堆積環境を知る指標とされている。本研究では沿岸域の現世堆積物試料中のステロール TMS エーテルから GC, GC/MS によるマススペクトルにより 19 種類のステロールを識別した。それらはステロール骨格と側鎖基の構造および立体配位により, 3 種類は既に報告した 5α -スタノール, $\Delta^{5,22}$ -ステロールであり, 16 種類は 5β -スタノール, $\Delta^{5,24}$ -, Δ^7 -, $\Delta^{5,24(28)}$ -, $\Delta^{24(28)}$ -ステロールに分類される。新たに分類したステロールの GC 保持時間 (RRT) と GC/MS によるマススペクトルの特徴は次の通りである。

5β -スタノール: RRT は 5α -スタノールより早く, OH 基が β 配位の B_2 は α 配位の B_3 より早い。分子イオン M は弱く, b (M -90) が強い。ベースピークは b または g 215 である。このほかに a , c , f , e , i^* がある。

$\Delta^{5,24}$ -ステロール: b 366, r 343, s 253 が強い。 C_{22} - C_{23} が開裂した d^* 372, u 281, Δ^5 -ス

テロールに特有な n , $m/z145$, 129がある。このほかに M , a , c , l , p , t がある。

Δ^7 -ステロール：RRT は同一炭素数のステロールでは最も遅れる。 M は強く、 $e255$ はベースピークである。 $i229$, $g213$ も強い。また、 a , b , c , d , r , f , s がある。

$\Delta^{5, 24(28)}$ -ステロール： C_{22} - C_{23} が開裂して生成する $p386$, $q296$, $y253$, $t371$, $u281$, $r211$ および Δ^5 -ステロールに特徴的な n , $m/z145$, 129がある。 p または q は $m/z200$ 以上でのベースピークである。 M , a , b , c , r , e , s , g もみられる。

$\Delta^{24(28)}$ -ステロール： C_{22} - C_{23} が開裂して生成した $p388$ で特徴づけられる。また、 5α -スタノールに特有な $g215$ が強い。 $\Delta^{5, 24(28)}$ -ステロールに比べて q , u , y , e は弱くなっている。このほかに M , a , b , r , f , s , t がある。

謝 辞

本研究は昭和63年度文部省内地研究員として東京都立大学理学部分析化学研究室で行なったものである。研究の機会を与えられました関係の方々、地学教室鎌田泰彦教授、荒生公雄教授に厚く感謝申し上げます。

参 考 文 献

- BALLANTINE J.A., ROBERTS J.C. and MORRIS R.J. (1975): Sterols of the cockle *Cerastoderma edule*. Evaluation of thermostable liquid phases for the gas-liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of the trimethylsilyl ethers of marine sterols. *J. Chromatogr.* **103**, 289-304.
- BALLANTINE J.A., ROBERTS J.C. and MORRIS R.J. (1976): Marine sterols III—The sterol compositions of oceanic jellyfish. The use of gas chromatographic mass spectrometric techniques to identify unresolved components. *Biomed. Mass Spectrom.* **3**, 14-20.
- BALLANTINE J.A., LAVIS A., ROBERTS J.C. and MORRIS R.J. (1977): Marine sterols. V. Sterols of some tunicata. The occurrence of saturated ring sterols in these filter-feeding organisms. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* **30**, 29-44.
- BALLANTINE J.A., LAVIS A. and MORRIS R.J. (1981): Marine sterols. XV. Sterols of some oceanic holothurians. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* **53**, 89-103.
- BRASSELL S.C., COMET P.A., EGLINTON G., ISAACSON P.J., McEVY J., MAXWELL J.R., THOMSON I.D., TIBBETTS P.J.C. and VOLKMAN J.K. (1980): The origin and fate of lipids in the Japan Trench. *In: Adv. in Org. Geochem.* 1979. 375-392, Pergamon Press, Oxford.
- BRASSELL S.C., and EGLINTON G. (1983): Steroids and triterpenoids in deep sea sediments as environmental and diagenetic indicators. *In: Adv. in Org. Geochem.* 1981. 684-697, Wiley, Chichester.
- BROOKS C.J.W. (1979): Some aspects of mass spectrometry in research on steroids. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* **293**, 53-67.
- BROOKS C.J.W., HORNING E.C. and YOUNG J.S. (1968): Characterization of sterols by gas chromatography-mass spectrometry of the trimethylsilyl ethers. *Lipids* **3**, 391-402.
- BROOKS C.J.W., KNIGHTS B.A., SUCROW W. and RADÜCHEL B. (1972): The characterisation of 24-ethylidene-sterols. *Steroids* **20**, 487-497.
- BROOKS C.J.W., HENDERSON W. and STEEL G. (1973): The use of trimethylsilyl ethers in the

- characterization of natural sterols and steroid diols by gas chromatography-mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta* **296**, 431-445.
- CRANWELL P.A. (1982): Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Prog. Lipid Res.* **21**, 271-308.
- DE LEEUW J.W., RIJPSMA W.I.C., SCHENCK P.A. and VOLKMAN J.K. (1983): Free, esterified and residual bound sterols in Black Sea Unit I sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **47**, 455-465.
- DIEKMAN J. and DJERASSI C. (1967): Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CXXV. Mass spectrometry of some steroid trimethylsilyl ethers. *J. Org. Chem.* **32**, 1005-1012.
- EICHENBERGER W. and URBAN B. (1984): Sterols in seeds and leaves of oats (*Avena sativa* L.). *Plant Cell Rep.* **3**, 226-229.
- ENEROTH P., HELLSTROM K. and RYHAGE R. (1965): Identification of two neutral metabolites of stigmasterol found in Human feces. *Steroids* **6**, 707-720.
- FERNANDES-FERREIRA M., NOVAIS J.M. and PAIS M.S.S. (1990): Free triterpenols and sterols produced by *in vitro* cultures and laticifer cells from *Euphorbia characias*. *Phytochem.* **29**, 1855-1860.
- GAGOSIAN R.B., VOLKMAN J.K. and NIGRELLI G.E. (1983): The use of sediment traps to determine sterol sources in coastal sediments off Peru. *In: Adv. in Org. Geochem.* 1981. 369-379. Wiley, Chichester.
- GOAD L.J., RUBINSTEIN I. and SMITH A.G. (1972): The sterols of echinoderms. *Proc. R. Soc. Lond. B* **180**, 223-246.
- HARVEY H.R., EGLINTON G., O'HARA S.C.M. and CORNER E.D.S. (1987): Biotransformation and assimilation of dietary lipids by *Calanus* feeding on a dinoflagellate. *Geochim. Cosmochim. Acta* **51**, 3031-3040.
- HUANG. W.Y. and MEINSCHIN W.G. (1976): Sterols as source indicators of origin of organic materials in sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **40**, 323-330.
- HUANG. W.Y. and MEINSCHIN W.G. (1978): Sterols in sediments from Baffin Bay, Texas. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 1391-1396.
- IDLER D.R. and WISEMAN P. (1971): Identification of 22-*cis*-cholesta-5, 22-dien-3 β -ol and other scallop sterols by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Comp. Biochem. Physiol.* **38 A**, 581-590.
- KNIGHTS B.A. (1967): Identification of plant sterols using combined GLC/Mass spectrometry. *J. Gas Chromatogr.* **5**, 273-282.
- KNIGHTS B.A. and LAURIE W. (1967): Application of combined gas-liquid chromatography-mass spectrometry to the identification of sterols in Oat seed. *Phytochem.* **6**, 407-416.
- 近藤 寛・石渡良志・山本修一 (1990): 大村湾堆積物中の脂質成分の分布. *Res. Org. Geochem.* **7**, 21-26.
- 近藤 寛・石渡良志・山本修一・上村 仁 (1991): 現世海洋堆積物中のステロール I おもなステロールの GC/MS による解析. 長崎大教育自然研報 **44**, 57-75.
- LOEFFLER R.S.T. and HAYES A.L. (1990): Sterols of the plant pathogenic fungi *Botrytis cinerea* and *Pyrenophora teres*. *Phytochem.* **29**, 3423-3425.
- MCEVOY J. and MAXWELL J.R. (1983): Diagenesis of steroidal compounds in sediments from the Southern California Bight (DSDP Leg 63, Site 467). *In: Adv. in Org. Geochem.* 1981. 449-464, Wiley, Chichester.
- RAHIER A. and BENVENISTE P. (1989): Mass spectral identification of Phytosterols. *In: NES W.D.*

- and PARISH E.J. (eds.) Analysis of sterols and other biologically significant steroids. 223-250, Academic Press, San Diego.
- SMITH A.G., RUBINSTEIN I. and GOAD L.J. (1973): The sterol of the Echinoderm *Asterias rubens*. *Biochem. J.* **135**, 443-455.
- SMITH D.J., EGLINTON G., MORRIS R.J. and POUTANEN E.L. (1982): Aspects of the steroid geochemistry of a recent diatomaceous sediment from the Nambian Shelf. *Oceanol. Acta* **5**, 365-378.
- SMITH D.J., EGLINTON G., MORRIS R.J. and POUTANEN E.L. (1983): Aspects of the steroid geochemistry of an interfacial sediment from the Peruvian upwelling. *Oceanol. Acta* **6**, 211-219.
- TÖKÉS L., JONES G. and DJERASSI C. (1968): Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CLXI. Elucidation of the course of the characteristic ring D fragmentation of steroids. *J. Amer. Chem. Soc.* **90**, 5465-5477.
- VOLKMAN J.K. (1986): A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.* **8**, 83-99.
- VOLKMAN J.K., GILLAN F.T., JOHNS R.B. and EGLINTON G. (1981): Sources of neutral lipids in a temperate intertidal sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 1817-1828.
- VOLKMAN J.K., FARRINGTON J.W. and GAGOSIAN R.B. (1987): Marine and terrigenous lipids in coastal sediments from the Peru upwelling region at 15° S: Sterols and triterpene alcohols. *Org. Geochem.* **11**, 463-477.
- WARDROP A.M. K., MAXWELL J.R. and MORRIS R. J. (1978): Sterols of a diatomaceous ooze from Walvis Bay. *Steroids* **32**, 203-221.
- WYLLIE S.G. and DJERASSI C. (1968): Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CXLVI. Mass spectrometric fragmentations typical of sterols with unsaturated side chains. *J. Org. Chem.* **33**, 305-313.
- 山口五十磨 (1989): 生体成分のガスクロマトグラフィー/質量分析. *油化学* **38**, 832-838.