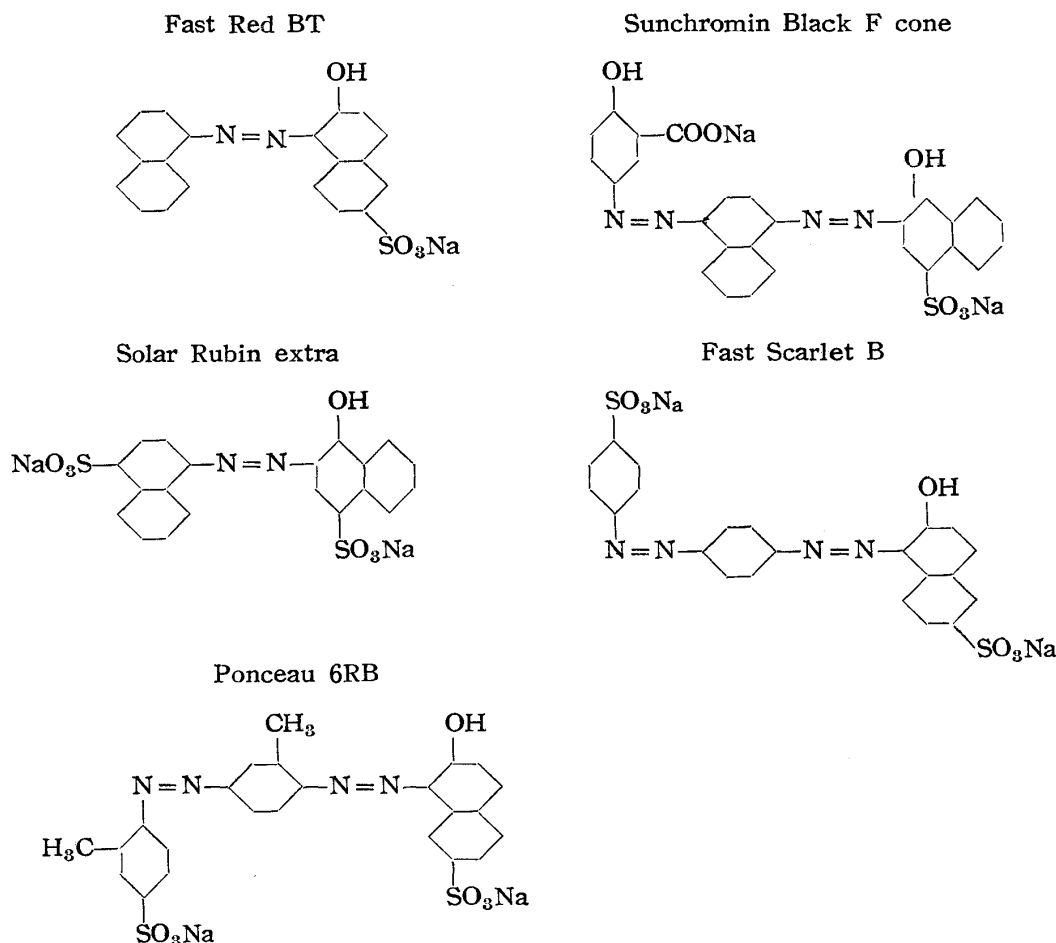


酸, メタノールの脱水酵素も存在することを認めた. ヨハク酸, クエン酸, フマル酸の脱水酵素系は認め得なかつた.

3. エタノール脱水酵素の至適 pH は 37°C で 6.8 (リン酸緩衝液) であつた.

4. ギャゾ基の還元は(II)式の如く水間水素伝達体を必要とし, 基質の脱水酵素系と, ギャゾ基の還元系の両系から組立てられていることを知つた.



嶋野武, 水野瑞夫, 井上純男: トリテルペノイドの研究 (第5, 6報)¹⁾

濾紙微量電気泳動法によるトリテルペノイドの検討 (II, III)^{3) 2)}

Takeshi Shimano Mizuo Mizuno and Sumio Inoue: Studies on Triterpenoids (V, VI)

Examinations of the Triterpenoids by paper Electrophoresis (II, III)

植物中の Sapogenin 及び Triterpenoids は構造未定のものを入れて 80 数種に達する。⁴⁾ 薬用植物を始めとし一般植物中の Triterpenoids を微量化学的方法により検出する目的で ペーパー・パーティション・クロマトグラフィー^{5) 6)} 並びに濾紙微量電気泳動法^{1) 7)} による研究が行われた. 著者等は自製の定電圧, 定電流発生装置を用

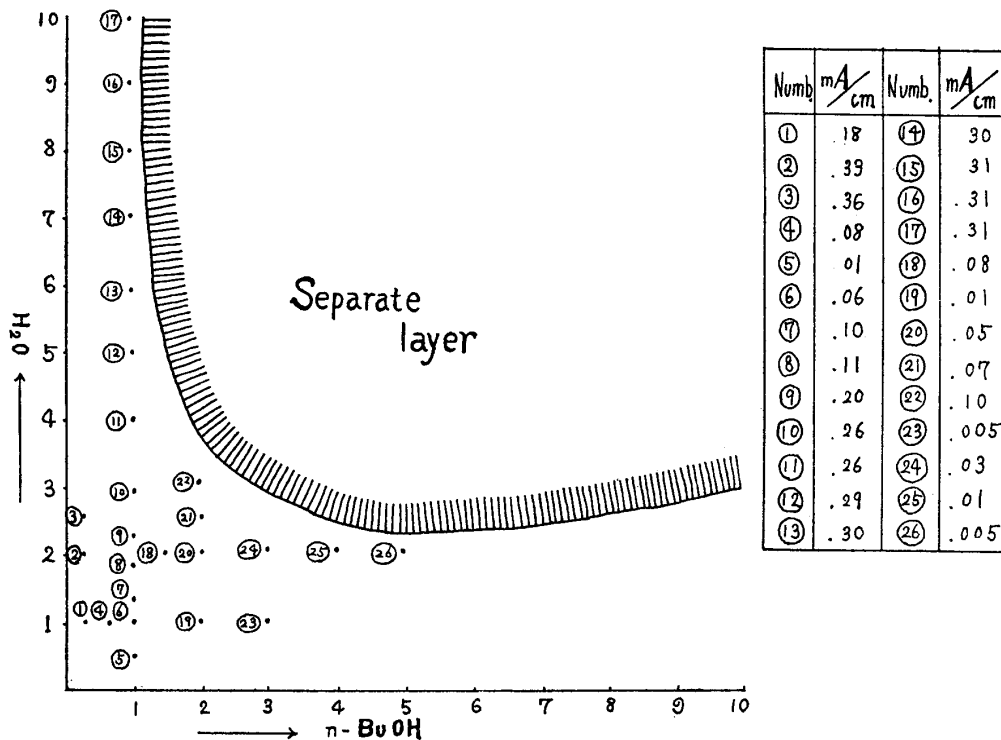
い、Durrum の山型の泳動槽を利用し、泳動液 n-BuOH : HAcO : H₂O (5 : 2 : 5) で 800 V, 5 時間泳動させ好結果を得て、先に報告した¹⁾。その後 n-BuOH-HAcO-H₂O なる泳動液につき検討した結果²⁾と泳動の際の原点位置について得た結果³⁾とを合せてここに報告する。

泳動液 n-BuOH-HAcO-H₂O の割合において n-BuOH の増加は電流量を減少させ、H₂O の増加は電流量を増加させる (Fig. 1), Triterpenoid (Oleanolic acid) の泳動値は H₂O の増加のさい減少し、n-BuOH の増加のとき電流量が減少するため又減少する。実験の結果は溶媒比が 1 : 1 : 1.25 の場合がもつとも好結果を得られることを示した。(Fig. II)

遊離 Triterpenoids 並びに Sapogenin を含有する遠志等生薬 7 種につき、本溶媒により泳動せしめた。遊離 Triterpenoids としては、ワウルシ⁸⁾、コケモモ⁹⁾ 中より Ursolic acid を、センブリ¹⁰⁾ より Oleanolic acid を確認することができた。上記抽出液が微量であると直接に Liebermann-Burchard 反応を行うとき葉緑素等に阻害されて呈色が不明瞭であることが多いが、本法によると全く夾雑物と分離されて泳動するために呈色も明瞭となる。遠志、桔梗、人參、セネガ、甘草等にも Sapogenin を確認することができた。

電気泳動においては、電解質溶液の種類、イオン強度、電気浸透圧、温度、濾紙の傾斜に基づく種々の現象、電極における分極の影響と電解液の量、濾紙の種類、電圧と電流、水平型を使用するために生ずる dark current なるもの等種々の要因が考えられるが、Durrum 型においては試料の泳動開始位置によつて泳動値に相違を生ずる。¹¹⁾ 安来 等も濾紙帯をガラス板上に置き約 1 mm の上を他のガラス板で被い、下側のガラス板を冷却して実施したときほとんど移動値の差を認めず、Durrum 型を用いるとき陰極側或いは陽極側によつた点から泳動させ

Fig. 1 Correlation diagram of Ampere and Buffer*



* Volume ratio of H₂O and n-BuOH for HAcO, one volume

る場合移動値が中央原点にくらべて異なることを報告したが, 著者等は Durrum 型を用い詳細に検討した. 即ち Ginseng-sapogenin, Ursolic acid は 800V, 1 時間で中央原点を出発点として泳動せしめるとき, 各々 +1mm, +3mm であるが, 陰極側 10cm を出発点とする場合同条件で各々 +12.5mm, +24.5 mm, 陽極側 10cm を出発点とする場合, 各々 -8 mm, -16mm 移動することを見出し, 常法の中央を出発点とする方法よりかなりよい分離移動値が得られ, 出発点の選定により短時間でしかも分離能よい結果が得られることを知った.

本研究に際し終始御指導御便宜を賜った本学学長宮道博士に深謝する.

実 験 の 部

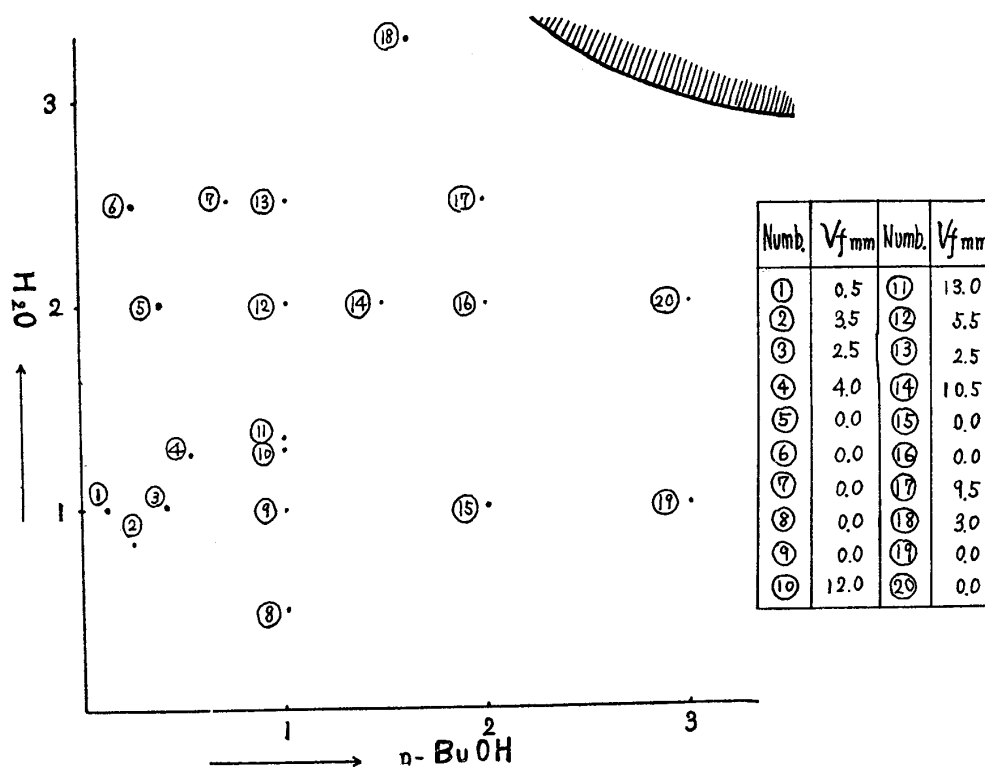
1) n-BuOH-HAcO-H₂O 系泳動液の電流量

Durrum 型について, 定電圧 800V., 東洋濾紙 No. 50, 1 × 40cm を用い各種溶媒比における, 電流量を測定する. HAcO を一定にして, n-BuOH, H₂O との比が 1 : 1 : 1.25 なる時 0.1mA/cm であり n-BuOH の増加は電流量を減少し, H₂O の増加は電流量を増加させる. (Fig. I)

2) n-BuOH-HAcO-H₂O 系泳動液と移動値 (V_f)

Durrum 型にて, 東洋濾紙 No.50, 1×40cm, を用い定電圧 800V., 2 時間, 試料に Oleanolic acid を使用し, 濾紙の中央を原点とし, 各種混合比における泳動液を使用する. 泳動値は n-BuOH-HAcO-H₂O (1 : 1 : 1.25) の混合比において最大の移動値 + 13 mm を示し, 電流量の大なる混合比においても, 移動値の増加は認められなかつた. (Fig. II)

Fig. II Correlation diagram of V_f and Buffer



3) 生葉中の Triterpenoids 及び Sapogenin の検出 (Table I)

使用濾紙=東洋濾紙 No.50, 5×40cm.

泳動液=n-BuOH : HAcO : H₂O (=1 : 1 : 1.25)

泳動条件 Durrum型にて, 定電圧 800V., 2時間, 試料は濾紙帯中央を泳動開始点とする.

呈色試薬=Benzoylchloride : Chloroform : conc. H₂SO₄ (3 : 1 : 2)¹²⁾

試料の調整=生薬を粉末として 10 g をソックスレー抽出器にてクロロホルムを使い充分抽出し, 全容 10 cc 迄濃縮し該液を Triterpenoid の検出に, クロロホルム抽出せる残渣は乾燥し更に同操置によりアルコールにて充分抽出し, 濃縮後 5% H₂SO₄にて 15~20 時間直火で加水分解し, 加水分解後析出する物質を濾取よく水洗し, アルコール溶液とし Sapogenin の検出試液とする.

Ursolic acid はウワウルシ薬より得られる粗 Ursolic acid をエーテルに溶解して 10% KOH 溶液で振盪後両層の中間に析出する白色析出物を濾取し, 稀塩酸に浮遊せしめ, エーテルにて振盪, エーテル層を分取し, 乾燥後エーテルを溜去, 蒸発残渣をメタノール, エタノールから再結晶し, mp 281° の無色針状結晶として得る.

Oleanolic acid はセンブリより Ursolic acid と同様操作により無色針状結晶の mp 303° として得る.

Ursolic acid, Oleanolic acid とともにアルコール溶液とする.

4) 濾紙帯上の出発点の差異による移動値の検討 (Table II)

使用濾紙=東洋濾紙 No. 50, 5×40cm

泳動液=n-BuOH : HAcO : H₂O=1 : 1 : 1.25 (Ginseng-sapogenin, platycodon-sapogenin, Ursolic acid, cholesterin) M/50 Ba (AcO)₂ (Gallic acid methyl ester, Triacetoxymethyl ester)¹³⁾

泳動方法=常法¹⁾に従つて, 濾紙帯の中央, 陰極側, 中央原点より 5cm, 10cm, 陽極側, 中央原点より 5cm, 10cm, を各々泳動開始点とする.

試液の調整=Ginseng-Sapogenin, Platycodon-sapogenin, Ursolic acid は前記のもの.

Cholesterin は市販品を, Gallic acid methyl ester mp 199°, Triacetoxymethyl ester mp 162° は合成せるものをアルコール溶液とし使用した.

Table I. Valency of flow of the Triterpenoids and Sapogenin in the Drugs

Materials	CHCl ₃ Solution		C ₂ H ₅ OH Solution (hydrolysis)	
	Colour by Reagent	Vf(mm)	Colour by Reagent	Vf(mm)
Polygala	—	—	d. Red brown	13.5
Platycodon	—	—	gr. Red brown	11.0
Ginseng	—	—	Magenta	10.0
Uva Ursi	Rose purple	10.0	—	—
Vitis Ideae	Rose purple	10.0	—	—
Senega	—	—	gr. Red brown	9.0
Swertia	Rose purple	12.5	—	—
Glycyrrhiza	—	—	Red brown	9.5
Oleanolic acid	Rose purple	12.5	—	—
Ursolic acid	Rose purple	10.0	—	—

d : dark ; gr : gray

Table II. Valency of flow and flowing position on the filter paper

Material	Vf (mm)					Condition
	* -10	-5	0	+5	+10	
Ginseng-sapogenin	+12.5	+ 6.0	+ 2.0	- 4.0	- 8.0	{ 800V., 0.5~0.7mA/5cm 1 hr
Platycodon-sapogenin	+16.5	+ 9.0	+ 3.0	- 3.0	- 9.0	
Ursolic acid	+24.5	+12.0	+ 3.0	- 7.0	-16.0	
Cholesterin	+28.0	+12.0	+ 2.5	- 9.0	-24.0	
Gallic acid methyl ester	+85.0	+57.0	+24.0	- 9.0	-38.0	3.6v/cm 60min
	+63.0	+38.5	+16.0	- 6.0	-25.0	3.6v/cm 30min
Triaceroxy gallic acid	+37.0	+16.0	- 4.5	-23.0	-44.0	3.6v/cm 60min
	+28.0	+13.5	- 4.0	-19.0	-37.0	3.6v/cm 30min

* Flowing position on the filter paper (cm) from usial arigin(O).

Literature

- 1) 第4報: 嶋野武, 水野瑞夫, 井上純男: 本誌 5, 7, 1955.
- 2) 第5報: 嶋野武, 水野瑞夫, 井上純男: 日本薬学会東海支部12月例会講演, 1955.
- 3) 第6報: 嶋野武, 水野瑞夫, 井上純男: 日本薬学会講演4月 1956.
- 4) 橋本庸平: 薬学研究 22, 184, 1950.
- 5) 嶋野武, 滝和子: 日本薬学会東海支部8月例会 1955.
- 6) 嶋野武, 滝和子: 日本薬学会東海支部8月例会 1955.
- 7) 刈米達夫, 橋本庸平, 飛永精照, 市井武: 植物成分の微量化学的研究報告第1集, 17頁.
- 8.9) Van der Haar: Ber., 55, 1054, 1922; 藤井, 大隅: 薬誌, 59, 711, 1939.
- 10) 刈米達夫, 松島: 薬誌, 47, 143, 1927, 49, 702, 1928. 桑田, 松川: 薬誌, 53, 680, 1933.
- 11) 安永峻五, 下村脩: 薬誌, 74, 778, 1954.
- 12) 嶋野武, 滝和子, 東光男: 本誌 5, 1 (1955).
- 13) 嶋野武, 水野瑞夫: 日本薬学会講演, 1954.