ヒガンバナ鱗莖の炭水化物に関する研究 (第 8 報)*

一新結晶性グルコフラクタン“リコリン”に就て (其の 5)

水 野 卓 (静岡大学農学部農芸化学科)

昭和 30 年 12 月 20 日 受 理

ヒガンバナ鱗莖の冷水或は熱 80% エタノール抽出液から結晶状に単離した新グルコフラクタン“リコリン”の化学構造式として前に [I] 式を推定し報告しておいた⁽¹⁾が、その後 NaIO_4 酸化開裂法に依つて更に構造論的研究を進め [I] 式が“リコリン”の構造式として矛盾する点がないことを確め、また性質上類似のイヌリンとも比較追究し、リコリンとイヌリンとの構造上の関係についても知見を得たのでこれらについて報告する。

発表に当り御指導と御援助を賜つた本学部教授金兵忠雄博士並びに岐阜大学農学部教授林金雄博士に深甚の謝意を表し、過沃素酸化について御教示下さいました松山農科大学の中島敏彦氏に御礼申し上げます。

実 験 の 部

I. 供 試 料

リコリン、イヌリンともに既報⁽²⁾の如く充分良く精製した純品を実験に供した。また酸化剤は LANGLOIS の方法⁽³⁾で調製したメタ過沃素酸ソーダを使用した。

II. リコリンとイヌリンのグリコール開裂による比較

(note) Inulin : $n=30\sim34$ ⁽⁷⁾

以下各項目の実験とも殆ど同一操作によつてリコリンとイヌリンを比較したので、その方法は主にリコリンについて述べることとする。

(1) NaIO_4 酸化開裂により生成する蟻酸の証明 NaIO_4 によるリコリン及びイヌリンの酸化開裂は POTTER and HASSID の方法⁽³⁾に準じて行つた。即ち 4% リコリン水溶液 10 cc に 0.37 M NaIO_4 液 20 cc を加え、良く混合し、密栓・遮光して 5° 以下の冷蔵庫中に 24 時間放置して酸化開裂を行う。反応終了液は分液漏斗に移しエーテル 50 cc を加え良く振盪して生成した蟻酸を抽出する。エーテル層を分けた後更に 2~3 回同

Studies on the Carbohydrates in the Bulb of *Lycoris radiata* HERBERT. Part. VIII. A New Crystalline Glucofructan "Lycorisin" (5).

By Takashi MIZUNO (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University).

* 本報告並びに次報の要旨は昭和 31 年 3 月 30 日 日本農芸化学会年次大会で講演した。

TABLE 1. Paperchromatograms of Formic Acid produced from Lycorisin and Inulin by the NaIO_4 -Oxidation.

Filter paper; Tōvō No. 50, 40×3 cm.
Solvents; Ammoniacal ethanol (A)*¹ and Ammoniacal Butanol (B)*².
Reagent; Acidic bromophenol blue solution*³.
Development method; One dimensional ascending method (8 hrs., 25°).

acids	value of R_F (%)		color of spot	corresponding to
	(A)	(B)		
acetic acid	0.33	0.11	yellow	
formic acid	0.31	0.10	yellow	
butyric acid	0.54	0.29	yellow	
propionic acid	0.44	0.19	yellow	
from Lycorisin	0.31	0.10	yellow	formic acid
from Inulin	0.31	0.10	yellow	formic acid

*1 100 ml 95% ethanol, 1 cc conc. NH_4OH .

*2 Butanol saturated with 1.5 N NH_4OH .

*3 50 mg bromophenol blue and 200 mg citric acid in 100 ml H_2O .

様反復する。得られるエーテル層から注意してエーテルを溜去し、最後に残る少量の液を Table 1 の条件下でペーパークロマトグラフィに供し、生成した蟻酸を証明することが出来た。

即ちリコリシンもイヌリンも NaIO_4 酸化開裂により蟻酸の生成することが明らかになり、リコリシンと同様イヌリン分子中にもグルコースが存在することが既報⁽¹⁾⁽⁴⁾とは別の側面から証明されたわけである。

なお同様に操作した場合、リコリシンの方がイヌリンの場合よりも蟻酸のスポットの面積がかなり大で著明であり、リコリシンがイヌリンに比べ酸化開裂によって生成する蟻酸の量が大、即ちグルコース含有量が大なることがうかがわれる。この際いずれも蟻酸以外の有機酸類は全く認められなかつた。

(2) NaIO_4 酸化開裂により生成する蟻酸の定量 無水無灰物としてリコリシン 0.5 g (イヌリンの場合は 1 g) を精秤し、水 50 cc を加え温浴中で溶解する。冷却後 0.37 M NaIO_4 液 (pH 6.4 に調整) 50 cc と混合し、密栓・遮光して 5° 以下の冷蔵庫中に 24 時間放置して酸化開裂後、分液漏斗に移し、200 cc のエーテルで 3 回振盪して生成した蟻酸を抽出する。エーテル層は合して 40° 水浴中でエーテルを完全に溜去させてから水 10 cc を加え、メチルレッド (フェニールレッドが好結果を得る) を指示薬として 0.02 N $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 液で滴定する (フェノールフタレンを指示薬として 0.02 N NaOH 液で滴定してもよい)。盲験として供試液 50 cc の代りに蒸留水 50 cc を使用して全く同じ操作を行い、先に得られた滴定値から差引いて測定値とする。

TABLE 2. The End Group Assay of Lycorisin and Inulin by the Periodate Oxidation Method.

	Lycorisin* ¹			Inulin* ²		
	test	blank	difference	test	blank	difference
titrating 0.02 N $\text{Ba}(\text{OH})_2$ * ³ cc (5 times Average)	21.17	4.67	16.50	13.19	4.65	8.54
formed HCOOH g.	0.01556	g/0.5 g Lycorisin		0.00805	g/1 g Inulin	
fructan g need to produced 1 mole HCOOH (=Molecular Weight)		1478.1			5714.3	
the grade of polymerization* ⁴		9.12			35.27	
contents of glucose (%)		11.11			2.86	
fructose : glucose (mole ratio)		8 : 1			34 : 1	

*1 0.5000 g of water and ash-free lycorisin was used for testing.

*2 1.0000 g of water and ash-free inulin was used for testing.

*3 $F=1.0247$ as 0.02 N $\text{Ba}(\text{OH})_2$

*4 grade of polymerization = $\frac{\text{fructan g need to produced 1 mole HCOOH}}{162 (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)}$

は無水無灰物 0.5 g 当り HCOOH 15.6 mg を生成するが、イヌリンに於いては無水無灰物 1 g 当り HCOOH 8.1 mg しか生成せず、リコリシンの場合の約 1/4 に過ぎない。また蟻酸生成量から計算したリコリシンの重合度は 9 (分子量 1478) で、先に沸点上昇法により測定した値 1500 ± 80 ⁽¹⁾ に一致し、更にリコリシン分子の非還元性末端グルコース基から 1 モルの蟻酸を生ずるものとして計算したフラクトースとグルコースのモル比は 8:1 で、この値も前に報告した結果⁽¹⁾に全く一致する。

また、イヌリン分子中にも平均 2.9% のグルコースが存在し、リコリシンの場合と同様にして計算される重合度は 35 (分子量 5714) で、またフラクトースとグルコースのモル比は 34:1 で、グルコースの結合部位は非還元性末端基と推察される⁽⁷⁾。

(3) “酸化-リコリシン” 及び “酸化-イヌリン” の結晶化⁽⁶⁾ 2% リコリシン水溶液 100 cc に 0.37 M NaIO_4 液 100 cc を混合し、密栓・遮光して 5° 以下の冷蔵庫中に 2 日間保持して酸化開裂を完全ならしめる。

得られた実験結果並びにそれから計算されるリコリシン及びイヌリンの重合度(分子量)、グルコース含量(%、グルコフラクトン分子の非還元性末端グルコース基から 1 モルの蟻酸を生ずるものとして計算)並びにフラクトースとグルコースのモル比などを纏めて Table 2 に示す。

リコリシン、イヌリンともに NaIO_4 酸化開裂により蟻酸を生成するが、その量は非常に異っている。即ちリコリシンの場合

反応により生ずる蟻酸をエーテルで振つて除き、水層部をコロジオン膜（またはセロハン膜）袋中に入れ流水中（水道水）で 10 日間、次いで蒸溜水中で 1 日間透析を行つて無機物を除去する。得られる液を 50° 以下で減圧濃縮、最後に乾涸する。これを少量の熱 50% エタノールに溶解し 3~5 倍容のアセトンを加えて沈澱させる方法を繰返して精製し、最後に少量の水或は稀薄アルコール水に溶かし冷蔵庫またはデシケーター中で徐々に溶媒の放散を待てば Fig. 1（酸化-リコリシン）及び Fig. 2（酸化-イヌリン）のような結晶が析出する。得られた両結晶の性質を比較して Table 3 に示す。

Fig. 1. "Oxidized-Lycorisin" ($\times 150$)

Fig. 2. "Oxidized-Inulin" ($\times 150$)

TABLE 3. Properties of the Oxidized-Lycorisin and the Oxidized-Inulin.

	Crystalline form	m. p. (Sint)	decomp.	$[\alpha]_D^{23}$ (in H_2O)	Reducing Power*1	Coloring	
						(A)*2	(B)*3
Oxidized-Lycorisin	needle	166°	208°	-70.4°	+	—	—
Oxidized-Inulin	needle	179°	217°	-58.6°	+	—	—

*1 By FEHLING'S solution.

*2 By the aniline phthalic acid reagent.

*3 By the phloroglucinol-HCl-ethanol reagent.

“酸化-リコリシン”，“酸化-イヌリン”ともに美しい針状の結晶で非常に良く類似している。それら無水物の融点及び分解点（炭化点）は半融状となり余り鋭敏でないが、両者間には明らかに差があるようで“酸化-イヌリン”の方がやや高い。比旋

光度は共に左旋性で“酸化-リコリシン”の方がより左旋性である。

(A) 及び (B) に対する呈色反応はともに陰性で、フェーリング液を両者とも還元する。

(4) “酸化-リコリシン” 及び “酸化-イヌリン” の完全加水分解物中の糖類の検索 結晶 100 mg を 0.5% H_2SO_4 10 cc に溶解し、沸騰水浴中に 1 時間保つて加水分解し、分解液は熱い中に過剰の $CaCO_3$ 末で中和後減圧濃縮乾涸し、それを 80% エタノールで熱時抽出・濾過し、濾液からエタノールを追出して得られる濃縮液について、常法に従つてペーパークロマトグラフィを繰返し実施し“酸化-リコリシン”及び“酸化-イヌリン”の最終加水分解産物中のグルコース及びフラクトースの存否を検したが、いずれの場合もそれらの存在は証明出来なかつた。

この事実はリコリシン及びイヌリン分子の枝分れ構造は存在しないことを証明するものであり、また末端基以外にはグルコースが存在しない事を暗示するものである。

(5) 酸化開裂に伴う $NaIO_4$ の消費量 リコリシン 0.2000 g（無水無灰物として）を水 10 cc に加温溶解・冷却後、0.37 M $NaIO_4$ 液 10 cc を加え良く振盪して混合する。密栓・遮光して 30° 恒温水槽中に保持し、一定時間毎に 1 cc ずつを採り、飽和重曹液 5 cc でアルカリ性となし、次いで 10% KI 液 5 cc を加え、遊離する I_2 を $N/20$ または $N/50$ Na_3AsO_3 液で澱粉液を指示薬として滴定し、残存 $NaIO_4$ 量を測定する。

酸化開裂に伴う $NaIO_4$ の消費量をリコリシンまたはイヌリン分子中のフラクトース単位 (C_6 unit) 当りのモル数で比較すれば Table 4 のようで、両者とも C_6 unit 当り 1 モルの $NaIO_4$ を消費し、酸化開裂に要する時間は温度 30° に於いては、リコリシンで約 50 分、イヌリンの場合では約 60 分で充分のようである。

(6) 酸化開裂に伴う $[\alpha]_D$ の変化 2% リコリシン液 10 cc と 0.37 M $NaIO_4$ 液 10 cc を手早く混合し

TABLE 4. Periodate Consumption in the Course of Periodate Oxidation of Lycorisin and Inulin.

Lycorisin		Inulin	
time (min.)	NaIO ₄ consumed (mol./C ₈ unit)	time (min.)	NaIO ₄ consumed (mol./C ₈ unit)
0	0	0	0
5	0.28	5	0.24
10	0.48	10	0.43
15	0.68	15	0.70
20	0.74	20	0.81
25	0.83	30	0.93
30	0.93	45	0.98
40	0.99	60	1.02
50	1.10	75	1.00
60	1.09	90	1.01
80	1.09	105	1.01
100	1.10	120	1.00

TABLE 5. Variation of $[\alpha]_D$ in the Course of Periodate Oxidation of Lycorisin and Inulin.

Lycorisin		Inulin	
time (min.)	$-\alpha]_D^{25}$	time (min.)	$-\alpha]_D^{27}$
0	37.41°	0	40.02°
5	40.26°	5	47.23°
10	43.14°	10	49.66°
15	47.50°	15	52.58°
20	51.91°	20	55.04°
25	53.73°	30	56.97°
30	54.02°	40	57.49°
40	69.47°	50	58.51°
50	70.28°	60	58.75°
60	70.14°	120	58.42°
80	70.37°	300*4	58.80°
100*1	70.53°	1440*3	58.67°
300*2	70.56°		
1440*3	70.58°		

*1 $-\alpha]_D^{28}$ *2 $-\alpha]_D^{29}$ *3 $-\alpha]_D^{25}$ *4 $-\alpha]_D^{25}$

測定管 (2 dm) に入れ, Na-灯 (D 線) 下で一定時間毎に比旋光度を測定し, Table 5 の結果を得た. 両者とも $[\alpha]_D$ の変化曲線は NaIO₄ 消費曲線に良く一致し, リコリスンの場合は混合後約 50 分で $[\alpha]_D = -70.3^\circ$ (H₂O, $c=2$), イヌリンの場合は約 60 分で $[\alpha]_D = -58.8^\circ$ (H₂O, $c=2$) となり一定値に達する.

(7) 酸化開裂に伴う粘度の変化 予め 30° 恒温水槽中で恒温にした 2% リコリスン液 10 cc と 0.37 M NaIO₄ 液 10 cc を素早く混合し, その中 10 cc をオストワルド氏粘度計に採り, 各反応時間毎に流下速度を測定し粘度変化を求め Table 6 の結果を得た.

両者とも酸化開裂の進むに連れて, やや粘度低下を

TABLE 6. Variation of Viscosity in the Course of Periodate Oxidation of Lycorisin and Inulin.

Lycorisin		Inulin	
time (min.)	viscosity dropping speed (sec.)	time (min.)	viscosity dropping speed (sec.)
0	45.1	0	48.3
5	43.3	5	45.7
10	42.9	10	43.5
15	42.0	15	43.0
20	41.2	20	42.8
25	40.3	25	41.9
30	40.0	30	41.0
40	39.1	40	39.2
50	38.8	50	38.9
60	38.7	60	38.4
80	38.8	80	38.7
100	38.9	100	38.7
water 5 cc + 0.37 M NaIO ₄ 5 cc		120	38.6
water		160	38.7

Fig. 3. Variation of Paper Chromatograms in the Course of Periodate Oxidation of Lycorisin and Inulin.

Filter paper; Tōvō No. 50, 40×6 cm.

Solvent; *n*-BuOH : AcOH : HOH (4:1:2 by vol.).

Reagents; Aniline hydrogen phthalate butanol solution (A), Phloroglucinol HCl ethanol solution (B) and Ammoniacal silver nitrate ethanol solution (C).

Development method; One dimensional ascending method or multiple ascending method.

来たし, 特に反応初期に於いて著しい. リコリスンの場合は約 50 分, イヌリンでは約 60 分で一定値に達し, NaIO₄ 消費時間, $[\alpha]_D$ の変化時間に良く一致している.

(8) 酸化開裂に伴うペーパークロマトグラムの変遷 4% リコリスン液 10 cc と 0.37 M NaIO₄ 液 20 cc を混合し, 30° に保ち一定時間毎にその 2 cc ずつを採り, エチレングリコール 0.6 cc を加え過剰の NaIO₄ を分解する. これを透析後濃縮してペーパークロマトグラフィに供し Fig. 3 の結果を得た.

リコリスン, イヌリンともにそのままでは展開剤 *n*-BuOH : AcOH : H₂O (4:1:2) によつては展開されず, 原点に停つてることが呈色剤フロログルシン塩酸エタノール試薬 (B) による現像で明らかであるが,

これを NaIO_4 でグリコール開裂を行うと次第に原点の着色は薄らぎ、原点の上方に帯状の呈色が漸次長さを増し、リコリスンの場合は反応 25 分、イヌリンの場合は 30 分あたりで峠を越し、いずれも 60 分以後になれば原点の着色は勿論、帯状呈色も見られなくなり、両者ともフラクタンとしての性質を全く失つたことが考えられる。また前記呈色剤 (B) 以外にアニリンフタル酸試薬 (A) 及びアンモニア性硝酸銀試薬 (C) によつて現像を試みるも何ら認めるべきスポットは出現しなかつた。

なお NaIO_4 , NaIO_3 いずれも殆ど同一値 R_F 0.06 に (A) 及び (B) によつて淡く呈色されるスポットを示すが、前者はエチレングリコールで分解され、後者は透析に依つて除かれ、またエチレングリコールは (A), (B) 及び (C) によつても呈色されないから実験には何ら支障を来たさない。

III. 摘 要

ヒガンバナ鱗茎から単離した新結晶性グルコフラクタン“リコリスン”の NaIO_4 による酸化を行い、次の結果を得た。

1. “リコリスン”はグルコース 1 モルとフラクトース 8 モルとから成るグルコフラクタン (九糖類) で、グルコースは非還元性末端基として存在することを再確認し、またリコリスン分子の枝分れ構造並びにフラクトース鎖中に於けるグルコースの存在については否定的結果を得た (Table 1, 2 参照)。

2. “酸化-リコリスン”を結晶状に調製し (Fig. 1 及び Table 3 参照)、また過沃素酸酸化に伴う NaIO_4 の消費量, $[\alpha]_D$ の変化, 粘度の変化, ペーパークロマトグラム変遷などについて明らかにした (Table 4, 5, 6 及び Fig. 3 参照)。

(1) 水野 卓, 林 金雄 : 本誌, 28, 78(1954).

(2) 水野 卓, 林 金雄 : 本誌, 29, 533(1955).

(3) A. L. POTTER and W. Z. HASSID : *J. Am. Chem. Soc.*, 70, 3488 (1948).

(4) 水野 卓, 林 金雄 : 本誌, 29, 539(1955).

(5) E. LEDERER and M. LEDERER : *Chromatography* p. 123 (1954).

(6) 前川一之, 中島敏彦 : 本誌, 28, 357(1954).

(7) 水野 卓, 金兵忠雄 : 静岡大学農学部研究報告, 5, 218 (1955).

(8) LANGLOIS : *Ann.*, 83, 153 (1952).

cf. 奥野 訳 : 無機化合物標準合成法, 1, 102 (非凡閣, 1954).

Summary

An experiment was made on the periodate oxidation of “Lycorisin”, a new crystalline glucofructan which was isolated from the bulb of *Lycoris radiata* HERBERT, in comparison with inulin. Results obtained were as follows.

1. It was confirmed again that “Lycorisin” is a nonasaccharide consisted of one part of glucose, which exists as the non-reducing end-group residue, eight parts of fructose, and also, no existence of the branched structures and glucose in the fructose chain in the Lycorisin molecule (see Table 1 and 2).

2. The “Oxidized-Lycorisin” was crystallized by the NaIO_4 -oxidation (see Figure 1 and Table 3).

This is shown by the NaIO_4 -consumption, the variation of $[\alpha]_D$ and viscosity and paper chromatograms in the course of periodate oxidation of “Lycorisin” (see Tables 4, 5, 6 and Figure 3).

3. It was confirmed that glucose exists as the non-reducing residue in the inulin molecule and the mole ratio of fructose : glucose is 34 : 1.

The “Oxidized-Inulin” was prepared as the form of crystalline (see Figure 2 and Table 3), NaIO_4 -consumption, variation of $[\alpha]_D$ and viscosity and paper chromatograms in the course of periodate oxidation of inulin (see Tables 4, 5, 6 and Figure 3) were also shown.