[農化 第 37 卷, 第 11 号, p.663~667, 1963]

漆 に関する 研究 (第 3 報)*

漆ガム質について (その 2) グルキュロン酸の確認

小田圭昭, 田中竜太郎, 本田幸一郎 (大阪府立大学農学部農芸化学教室)

昭和 38 年 5 月 22 日 受 理

緒

論

著者らは第 2 報⁽¹⁾において, 日本産漆より分離した粗ガム質の構成糖成分をイオン交換クロマトグラフィーを用いて検索し, 中性糖成分としてキシロース, アラビノース, ラムノース, ガラクトースを, ウロン酸類としてガラクチュロン酸, グルキュロン酸を検出したことを報告した. しかし, Khym ら⁽²⁾は酢酸型 Dowex-1 を用いてのイオン交換クロマトグラフィーにおいて, 彼らの行なった条件ではグルキュロン酸とマンニユロン酸との分離ができなかったと報告している.

著者らは, 標品としてグルキュロン酸を用いて, Khym らの方法⁽²⁾に従って得たクロマトグラムと, 試料を同様に処理して得たクロマトグラムとを比較して, その存在を推定したのであって, Khym らのいうごとくであれば, われわれがグルキュロン酸と判断した成分が, 実はマンニユロン酸, あるいは両者の混合物であるという可能性も考えられる.

本報は, この点を明らかにするため, 日本産漆のガム質より分離精製した, 濾紙電気泳動的に均一な多糖類 (Bs 分画) の完全加水分解物より分離したウロン酸成分及びガム質の完全加水分解物について水素化硼素ナトリウム還元を行い, 生成する糖アルコールのイオン交換クロマトグラフィーを行なった結果から, グルキュロン酸の存在を確認したものである.

試 料 の 調 製 と 実 験 方 法

1. 粗ガム質の調製: 岩手県産生漆より, 第 2 報⁽¹⁾に記した方法により調製した.
2. Bs 分画の調製: 岩手県産生漆の粗ガム質より, 第 2 報⁽¹⁾に記した方法により調製した.
3. 加水分解物の調製: 粗ガム質, あるいは Bs 分画 100 mg に 1 N 硫酸 10 cc の割合で加え, 還流冷却器をつけ, 沸騰浴上で 13 時間加水分解を行なう. 分解終了後冷却し, 飽和水酸化バリウムで pH 4~5 まで中和する. 生成した硫酸バリウムの沈澱を遠心分離して除き, 上清は Amberlite IR-120 のカラムを通し, 陽イオンを除いた後 40° 以下で減圧濃縮し, 乾涸に至らしめる.
4. ウロン酸成分の分離: Bs 分画の加水分解物を 10 cc の 0.02 N 水酸化ナトリウム溶液に溶解し, 酢酸型 Dowex-1 のカラムに通す. 酸性成分は吸着されるから, カラムをよく水洗し, 0.1 M 硫酸で溶出する. 溶出液のカルバゾール-硫酸反応⁽³⁾陽性区分を集め, 上と同様にして脱硫酸, 脱陽イオンした後, 40° 以下で減圧濃縮をくりかえし, 酢酸を完全に除きウロン酸成分を得た.
5. 糖アルコール類の調製: Abdel-Akher らの方法⁽⁴⁾によって各糖を水素化硼素ナトリウムで還元して調製した.
ダルシトール: ガラクトースより, 収量 70%, m. p. 188~189° (文献値 188.5~189°⁽⁵⁾).
アラビトール: アラビノースより, 収量 80%, m. p. 101° (文献値 102°⁽⁶⁾).
ラムニトール: ラムノースより, 収量 70%, m. p. 123° (文献値 122.5~123°⁽⁷⁾).
キシリトール: キシロースより, シラップ.
6. ガラクチュロン酸の調製: 町田⁽⁸⁾の方法により, 市販ペクチンをペクチナーゼで分解し, 炭酸カルシウムと炭酸ナトリウムで中和し, ナトリウム-カルシウム複塩を得, これを Dowex-50 で脱イオンして遊離酸とした.

* Studies on the "Urushi" (The Latex of the Laquer Tree). Part III. On the Gum of the "Urushi". (2) Identification of Glucuronic Acid.

By Yoshiaki ODA, Ryutaro TANAKA and Koichiro HONDA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Osaka Prefecture)

7. その他の試薬 : マンニュロン酸は京都工芸繊維大学荒木教授より恵与された。その他の試薬は市販品を使用した。

8. 濾紙クロマトグラフィー : 担体として東洋濾紙 No. 52, 展開剤は *n*-ブタノール : 酢酸 : 水 (5 : 1 : 1) を用い, 下降法で展開, 発色剤にはアンモニア性硝酸銀液⁽⁹⁾, あるいは硼酸酸性ブロム・クレゾール・パープル液⁽¹⁰⁾を使用した。

9. イオン交換クロマトグラフィー

(i) ウロン酸 : Dowex-1 酢酸型 0.85×13 cm のカラムを用い, Khym らの方法⁽²⁾に従って実施した。検出はカルバゾール-硫酸反応⁽⁸⁾で行なった。

(ii) 糖アルコール : Dowex-1 硼酸型 0.85×11 cm のカラムを用い, Zill の方法⁽¹¹⁾に従って実施した。検出は West らの方法⁽¹²⁾で行なった。

結 果 と 考 察

1. グルキュロン酸とマンニュロン酸のイオン交換クロマトグラフィー

グルキュロン酸とマンニュロン酸をイオン交換クロマトグラフィーによって分離することができなかったという Khym らの報告⁽²⁾を確認するため, 両者を混じてイオン交換クロマトグラフィーを行なった。結果は第 1 図に示すごとくグルキュロン酸のみのクロマトグラムと全く一致し, 両者を区別することはできなかった。したがってイオン交換クロマトグラフィーでこの両者を分離するためには, なんらかの類縁化合物に導いて行う必要がある。

Zill ら⁽¹¹⁾はソルビトール, マンニトール, ダルシトールをイオン交換クロマトグラフィーによって比較的容易に分離している。そこで Bs 分画の加水分解物のウロン酸成分を糖アルコールにまで還元し, クロマトグラフィーを行うこととした。

2. グルキュロン酸, ガラクチュロン酸の水素化硼素ナトリウムによる還元 : 近年水素化硼素ナトリウムを糖類の還元に応用することが研究され, 従来の還元剤 (ナトリウムアマルガム, 接触還元等) に比して, その有利さが認められてきた。ウロン酸に対する応用としては, Swaden⁽¹³⁾がグルキュロノラクトンを還元してグルコースを得, Wolfrom⁽¹⁴⁾らがガラクトチュロン酸メチルからガラクトースを得た研究等があるが, ウロン酸を糖アルコールにまで還元した報告はないようである。一方 Frush ら⁽¹⁵⁾はアルドン酸ラクトンを特殊な条件の下で還元し, 相当する糖アルコールを得たことを報告している。

一般に水素化硼素ナトリウムにカルボニル基は還元するが, カルボキシル基, ラクトンは還元しないとされている。しかし Frush らの方法⁽¹⁵⁾でアルドン酸ラクトンが糖アルコールにまで還元できるならば, 少なくともグルキュロン酸やマンニュロン酸のようなラクトンを作りやすいウロン酸はこの方法により, 糖アルコールにまで還元できるはずである。そこで Frush らの方法⁽¹⁵⁾に準じてグルキュロン酸及びガラクトチュロン酸の還元を試みた。

(i) グルキュロン酸 : グルキュロン酸 130 mg に 0.05 M 硼酸溶液 10 cc と Amberlite IR-120, 2 cc (乾燥したもの) を加え, 氷冷する。0.3 M 水素化硼素ナトリウム溶液 10 cc を激しく攪拌しながら滴下する。30 分間攪拌をつづけ

第 1 図 グルキュロン酸とマンニュロン酸のイオン交換クロマトグラフィー
(A) グルキュロン酸
(B) グルキュロン酸とマンニュロン酸の混合物

第 2 図 ソルビトールとグルキュロン酸の水素化硼素ナトリウム還元生成物との混合物のイオン交換クロマトグラフィー

第 3 図 Bs の完全加水分解物のウロン酸成分の水素化硼素ナトリウム還元生成物のイオン交換クロマトグラフィー
(A) ウロン酸成分の還元用生成物 (B) 標品

る。約 70mg 得られた。m. p. 96° (文献値⁽¹⁶⁾ 97.5°) でソルビトールに一致する。さらに確認のため、ソルビトールの標品に混じてイオン交換クロマトグラフィーを行なった。結果は第 2 図に示すごとく、一つのピークのみが認められた。濾紙クロマトグラフィーの R_F 値も標品に一致した。

(ii) ガラクチュロン酸： グルキュロン酸の場合と全く同様に還元を行なった。しかしグルキュロン酸の場合

と異なり、最後の脱イオンの過程で反応生成物は全く Amberlite IR-45 に吸着され、通過液を凍結乾燥しても容器中にはなにも残らなかった。反応生成物を吸着した IR-45 のカラムを 0.1 N 硫酸で溶出し、溶出液について West らの方法⁽¹²⁾ により過ヨウ素酸酸化を行なった結果、ホルムアルデヒドの生成が認められた。したがってこの場合にはガラクトン酸が生成しているものと考えられる。

第 4 図 漆粗ガム質加水分解物の還元生成物のイオン交換クロマトグラフィー
(A) 試料 (B) 標品

3. Bs 分画から得られたウロン酸成分の水素化硼素ナトリウムによる還元と、生成物のイオン交換クロマトグラフィー： 以上で水溶液中でラクトン化しないウロン酸は水素化硼素ナトリウムで糖アルコールにまでは還元されないが、ラクトン化しやすいウロン酸は容易に糖アルコールに還元されることがわかったので、Bs 分画 500mg の加水分解物

第5図 漆粗ガム質加水分解物の還元生成物のイオン交換クロマトグラフィー各分画の濾紙クロマトグラフィー

た後メタノールで処理して硝素化合物を除き濾紙クロマトグラフィーを行なった。結果は第5図に示すごとくで、イオン交換クロマトグラフィーの結果と一致する。A分画はラムニトールよりやや高い R_F 値を、B分画はラムニトールより低く、アラビトール、キシリトールより高い R_F 値を示し、おそらく両者とも還元の際の分解生成物であろうと想像される。

以上の如く、日本産漆粗ガム質加水分解物の水素化硝素ナトリウム還元生成物をイオン交換クロマトグラフィー及び濾紙クロマトグラフィーに付すことにより、ソルビトールの存在を確認することができたが、マンニトールは認めることができなかった。第2報⁽¹⁾に報告したごとく、日本産漆粗ガム質中にはグルコース、マンノースは検出されなかったから、ここに確認したソルビトールはガム質中のグルキロン酸に由来するものであり、マンニトールが認められなかったことは、ガム質中にマンニユロン酸の存在しないことを示すものと考えられる。

要 約

(1) グルキロン酸とガラクトン酸を水素化硝素ナトリウムで還元した。前者からはソルビトールを得たが、後者からはガラクトン酸と考えられる物質の生成は認められたが、ダルシトールの生成は見られなかった。

(2) 漆粗ガム質より分離精製して得た、電気泳動的に均一な多糖類——Bs 分画——の加水分解物から分離したウロン酸成分及び粗ガム質の加水分解物について、それぞれ水素化硝素ナトリウム還元を行ない、還元生成物のイオン交換クロマトグラフィーによる検索を試みた。ソルビトールの存在は確認することはできたが、マンニトールは認めることはできなかった。このことから漆ガム質中にはグルキロン酸が存在し、マンニユロン酸は含まれていないことを推定した。

本研究には京都大学農学部館教授、京都工芸繊維大学荒木教授より有益な御助言を賜った。また荒木教授からはマンニユロン酸を恵与された。記して謝意を表す。

(1) 小田圭昭, 神戸 保, 本田幸一郎: 本誌, 37, 132 (1963).	(1936).
(2) J. X. Khym, D. G. Doherty: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 74, 3199 (1952).	(7) K. Gatz, T. Reichstein: <i>Helv. Chim. Acta</i> , 21, 914 (1938).
(3) Z. Dische: <i>J. Biol. Chem.</i> , 167, 189 (1947).	(8) 町田誠之: 蛋白質 核酸 酵素, 5, 482 (1960).
(4) M. Abdel-Akher, J. K. Hamilton, F. Smith: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 73, 4691 (1951).	(9) S. M. Partridge: <i>Biochem. J.</i> , 42, 238 (1948).
(5) O. Ruff: <i>Ber.</i> , 32, 550 (1889).	(10) K. J. Gardner: <i>Nature</i> , 176, 292 (1955).
(6) R. Lespiau: <i>Compt. rend.</i> , 203, 145 (1936).	(11) L. P. Zill, J. X. Khym, G. M. Cheniac: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 75, 1339 (1953).
	(12) C. D. West, S. Rapoport: <i>Proc. Soc. Exptl.</i>

-
- Biol. Med.*, **70**, 141 (1949).
(13) J. C. Swaden : *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4377 (1952).
(14) M. C. Wolf from, K. Anno : *ibid.*, **74**, 5583
(1952).
(15) H. L. Frush, H. S. Isbell : *ibid.*, **78**, 2844 (1956).
(16) E. Fischer : *Ber.*, **23**, 2133 (1890).
-