297. 柴田承二, 今関和泉, 伊藤 宏, 高原末基, 糟谷由助：薬用植物栽培の植物化学的研究（第4報¹⁾） チョウセンアサガオ類の栽培条件とアルカロイド生成の関係 その3

Shoji Shibata*, Izumi Imaseki***, Hiroshi Ito*, Suemoto Takahara** and Yoshisuke Kasuya**: Phytochemical Investigation on Cultivation of Medicinal Plants. IV. The Effect of Nutritional Conditions on the Alkaloidal Content of *Datura Tatura* L. (3).

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty* and Chiba Forestry Experimental Station, Agricultural Faculty, University of Tokyo** and Tsumura Laboratory***)

著者等は本研究の第2²⁾, 第3報¹⁾でヨウシュチョウセンアサガオ (*Datura Tatura* L.) の硫酸アンモニアに依る3要素試験及び窒素容量, 加里容量試験を行い窒素並びに燐酸の施用量がアルカロイド生成に影響がある事を知った。

著者等は更に窒素形態並びに容量試験, 硝酸ソーダに依る3要素試験, 燐酸容量試験を施した。その結果についてここに報告する。

実験方法：窒素形態並びに容量, 硝酸ソーダに依る要素ポット試験 1ポット (1/120000 Wagner 氏ポット) 当り田無無肥料土壌^{a)} 9.0 kg を充填し1区4鉢とし Table I の如く窒素形態並びに容量試験では硝酸ソーダ, 硝酸アンモニア, 硫酸アンモニアの3区に分け此れを更に N:1.0, 3.0, 5.0 の各区に分けた。3要素試験の窒素源は硝酸ソーダを用いた。1950年4月19日に播種し発芽後漸次間引き1鉢1本立とした。

Table I Plan of Experiment (1) Amount of Fertilizers Supplied Per Pot.

Element	Date fertilizer supplied	Test on various nitrogen forms and volumes			Test on three elements in fertilizer			
		N=1.0 (g)	N=3.0 (g)	N=5.0 (g)	-N (g)	-P (g)	-K (g)	Complete (g)
N	Apr. 19	1.0	1.0	1.0	—	1.0	1.0	1.0
	June 6	—	2.0	2.0	—	2.0	2.0	2.0
	July 3	—	—	2.0	—	2.0	2.0	2.0
P ₂ O ₅	Apr. 19	3.0	3.0	3.0	3.0	—	3.0	3.0
K ₂ O	Apr. 19	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	—	1.5

但し要素量 NaNO₃:16.5%N, NH₄NO₃:35.0%N, (NH₄)₂SO₄:21.2%N, CaH₄(PO₄)₂•CaSO₄•2H₂O:17.7%P₂O₅, K₂SO₄:47.9%K₂O

爾後7月22日收穫迄栽培し收穫物を乾燥しその乾燥葉のアルカロイド並びに総窒素の含量を定量した。

圃場試験 上記ポット試験に併行してこれが圃場試験を試みた。即ち i) 燐酸容量試験 前年度同様津村薬用植物園圃場に於て4月18日播種し10月13日に至る試験区を4区に分け Table II の如く硫酸アンモニア, 過燐酸石灰, 硫酸カリを用いて施肥し8月15日 (開花期), 9月14日 (未熟期), 10月13日 (完熟期) の3回に採葉しアルカロイド含量を定量した。

Table II Plan of Experiment (2) Field Test: Fertilizer Element added per Tan. (1 Tan=0.25 Acres)

Elements	No Fertilizers	P ₂ O ₅ added			Remarks
		None	Medium	Much	
N	—	0.86kg	0.86kg	0.86kg	(NH ₄) ₂ SO ₄ :21.0%N

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo. ** Amatsumachi, Awa-gun, Chiba-ken.

*** 500, 8-Chome, Kamimmeguro, Meguro-ku, Tokyo.

1) 本誌 71, 806 (1951).

2) 本誌 71, 166 (1951). a) 田無肥料土壌分析値は第2報参照。

P ₂ O ₅	—	—	1.72	3.43	CaH ₄ (PO ₄) ₂ •CaSO ₄ •2H ₂ O : 17.7% P ₂ O ₅
K ₂ O	—	0.27	0.27	0.27	K ₂ SO ₄ : 47.9%K ₂ O

ii) 窒素形態試験：千葉縣天津千葉演習林東条圃場に於て試験区 150 m² を無肥料，硝酸ソーダ，硝酸アンモニヤ，硫酸アンモニヤ区の4区に分け各窒素形態区は1 m² 当り N : 23 g, P₂O₅ : 9 g, K₂O : 24 g を施肥し4月26日播種し7月17日（開花期），8月10日（未熟期），8月25日（完熟期）の3回に分け採葉しアルカリイド含量を定量した。

Fig. 1

Fig. 2

NaNO₃ Little Medium Much.

Fig. 3

NH₄NO₃ Little Medium Much

Fig. 4

(NH₄)₂SO₄ Little Medium Much

-P -K Complete.

Fig. 1~3 Effect on Growth of Form and Amoun of Nitrogen in Fertilizer (July 22, 1950).

Fig. 4 Effect on Growth Three Elements in Fertilizer (July 22, 1950).

ポット試験実験結果 (写眼参照 Fig. 1~4)

1) 成長度

Table III (Growth)

Treatment	Height of Plant (cm)	Daimeter of Stem (cm)	Surface of Leaf (cm)	Area of	No. of Flowers	No. of Fruits	No. of Branching	Angle of Branching
NaNO ₃	1.0 区	82.3±9.4	1.28±0.02	13.3±1.2 ×10.4±1.0	1.3±1.8	2.3±1.0	4.0±0.8	44.3±8.8°
	3.0	78.3±2.8	1.20±0	14.0±0.5 ×10.2±0.3	0.7±1.2	2.0±1.0	3.7±0.5	39.3±2.6
	5.0 完全区	86.9±4.0	1.46±0.02	16.0±1.4 ×13.3±0.6	1.5±1.2	1.8±1.0	5.0±0	43.5±8.6
NH ₄ NO ₃	1.0	67.4±4.6	1.10±0.04	12.4±0.8 ×8.9±1.0	0.3±0.6	1.3±1.0	3.0±0	29.5±5.6
	3.0	86.6±7.6	1.50±0.04	15.1±1.4 ×12.0±1.2	7.0±1.4	0.5±0.6	5.0±0	52.3±2.8
	5.0	86.8±4.5	1.60±0.05	17.8±0.7 ×15.0±0.5	8.0±1.7	0.3±0.5	5.0±0	56.3±3.5

Effect of 3 Elements	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	79.0±5.8	1.24±0.06	13.3±0.4 ×10.5±0.6	1.0±1.4	1.5±0.6	4.0±0.8	38.0±3.4
		3.0	86.3±6.2	1.69±0.10	18.1±2.4 ×15.1±1.4	10.0±1.2	0.8±0.6	5.0±0	57.5±2.4
		5.0	88.8±2.8	1.59±0.10	17.1±1.0 ×13.6±0.6	8.3±1.8	0.3±0.6	5.0±0	55.8±3.2
	- N	- N	54.9±4.8	0.80±0.04	10.1±0.4 ×7.0±0.4	0.8±1.0	0.8±0.6	1.0±0	26.3±2.8
		- P	38.4±2.2	0.95±0	14.1±0.8 ×10.1±1.4	0.5±0.6	0	2.0±0	37.3±3.8
		- K	82.9±5.0	1.40±0.02	13.5±2.2 ×10.4±2.4	1.3±0.6	1.0±0.8	4.8±0.6	45.0±3.8
	- N	- N	54.9±4.8	0.80±0.04	10.1±0.4 ×7.0±0.4	0.8±1.0	0.8±0.6	1.0±0	26.3±2.8
		- P	38.4±2.2	0.95±0	14.1±0.8 ×10.1±1.4	0.5±0.6	0	2.0±0	37.3±3.8
		- K	82.9±5.0	1.40±0.02	13.5±2.2 ×10.4±2.4	1.3±0.6	1.0±0.8	4.8±0.6	45.0±3.8

2)收穫物乾燥重量

Table IV Weight of Dried Plants

Treatment		Leaves (g)	Fallen Leaves (g)	Fruits (g)	Stems (g)	Ground Parts (g)
NaNO ₃	1.0 区	3.5	2.4	5.5	15.8±4.5	27.2
	3.0	3.0	2.2	6.3	13.7±0.6	25.2
	5.0完全区	16.0	1.1	5.5	24.0±2.5	46.6
NH ₄ NO ₃	1.0	2.0	0.9	3.5	9.1±3.1	15.5
	3.0	8.8	2.0	0.5	32.0±5.5	43.3
	5.0	20.7	1.5	0	33.3±3.5	55.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	3.3	1.6	4.9	13.0±1.4	22.8
	3.0	15.8	2.5	4.8	36.3±4.1	59.4
	5.0	23.5	1.8	1.4	35.8±3.9	62.5
Effect of Three Elements	- N	1.8	0.5	1.6	4.4±0.5	8.3
	- P	5.0	0	0	3.4±0.2	8.4
	- K	16.3	1.1	4.7	21.1±3.0	43.2

3)葉中のアルカロイド並びに総窒素含有量

Table V Alkaloidal Content and Total Nitrogen Content in Leaves

Treatment		Alkaloid			Total Nitrogen		
		Content (%)	Index	Total Content (mg)	Content (%)	Index	Total Content (mg)
NaNO ₃	1.0 区	0.148±0.010	103	8.7	4.18±0.04	109	247
	3.0	0.147±0.007	102	7.7	3.94±0.04	103	205
	5.0 完全区	0.144±0.008	100	24.6	6.27±0.08	164	1072
NH ₄ NO ₃	1.0	0.153±0.007	106	4.4	4.01±0.05	105	116
	3.0	0.162±0.005	113	17.5	4.47±0.08	117	482
	5.0	0.141±0.010	98	31.3	6.94±0.06	181	1540
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	0.156±0.010	108	7.8	3.91±0.02	102	192
	3.0	0.207±0.005	144	39.5	4.73±0.07	123	866
	5.0	0.164±0.005	114	41.5	7.28±0.08	190	1841
Effect of Three Elements	- N	0.144±0.007	100	3.3	3.83±0.03	100	88
	- P	0.164±0.014	114	8.2	6.13±0.03	160	307
	- K	0.188±0.013	131	32.7	6.54±0.10	171	1138

Fig. 5

Effect of Nitrogen Form in Fertilizer on Alkaloidal Content in Leavers.

Fig. 7

Fig. 6

Effect of Nitrogen Form in Fertilizer on Total Nitrogen Content in Leaves

Fig. 8

Effect of Three Elements in Fertilizer on Alkaloidal Content in Leaves

Interrelationship between Alkaloidal and Total Nitrogen Contents by various Nitrogen Forms in Fertilizer

成分含有率分散化

Table VI Analysis of Variance of Alkaloidal and Total Nitrogen Contents in Leaves.

Treatment	Alkaloid (F)	Total Nitrogen (F)	Treatment	Alkaloid (F)	Total Nitrogen (F)
NaNO ₃ 区	$0.19 < F_8^3(0.05) = 4.07$	1511.34**	(NH ₄) ₂ SO ₄	46.60**	1329.54**
NH ₄ NO ₃	4.53*	2052.12**	3 要素	11.28**	1511.34**

* 危険率5%以内で有意性が認められたもの

** 1%以内

4) 葉の総窒素含有率とアルカロイド含有率との関係

本実験に於ける葉のアルカロイドと総窒素含有率との関係は Table 5 並びに Fig. 8 に見られる。

圃場試験実験結果 磷酸容量試験並びに窒素形態試験における各区の時期別アルカロイド含有率の変化は

Table VII 及び Table VIII の通りである。

磷酸容量試験

Table VII Effect of Phosphate Amount in Fertilizer.

Date of leaves Collected	Treatment	Alkaloidal Content (%)	Index	Remarks
Aug. 15	No Fertilizer	0.327 ± 0.029	100	開花期
	P ₂ O ₅ None	0.334 ± 0.026	102	
	P ₂ O ₅ Medium	0.370 ± 0.014	113	
	P ₂ O ₅ Much	0.348 ± 0.018	106	
Sep. 14	No Fertilizer	0.249 ± 0.008	100	未熟期
	P ₂ O ₅ None	0.245 ± 0.010	98	
	P ₂ O ₅ Medium	0.314 ± 0	126	
	P ₂ O ₅ Much	0.355 ± 0.015	143	
Oct. 13	No Fertilizer	0.202 ± 0.018	100	完熟期
	P ₂ O ₅ None	0.188 ± 0.010	93	
	P ₂ O ₅ Medium	0.182 ± 0.015	90	
	P ₂ O ₅ Much	0.250 ± 0.016	124	

窒素形態試験

Table VIII Effect of Nitrogen Form in Fertilizer.

Date of leaves Collected	Treatment	Alkaloidal Content (%)	Index	Remarks
Jul. 17	No Fertilizer	0.138 ± 0.010	100	開花期
	NaNO ₃	0.136 ± 0.006	99	
	NH ₄ NO ₃	0.151 ± 0.010	109	
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.149 ± 0.013	108	
Aug. 10	No Fertilizer	0.109 ± 0.008	100	未熟期
	NaNO ₃	0.133 ± 0.003	122	
	NH ₄ NO ₃	0.134 ± 0.007	123	
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.144 ± 0.003	130	
Aug. 25	No Fertilizer	0.108 ± 0.008	100	完熟期
	NaNO ₃	0.131 ± 0.007	121	
	NH ₄ NO ₃	0.136 ± 0.010	126	
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.141 ± 0.007	131	

Fig. 9

Effect of Phosphate Amount in Fertilizer on Alkaloidal Content in Leaves.

Fig. 10

Effect of Nitrogen Form in Fertilizer on Alkaloidal Content in Leaves.

而してこれが分散分析の結果、磷酸容量試験に於てはその分散比 (F) は容量間 3.09 並時期別変化は 24.32** にして時期別変化のみ危険率 1% 以内で差を認め窒素形態試験では形態間 2.12, 時期別変化 1.95 となり何れも 5% 以内で有意性は認められなかつた。

考察 ポット試験に於てはアルカロイド含有率は窒素並びに磷酸の欠除に依る影響が多であり、加里欠除区にはそれが認められない。窒素の形態では (NH₄)₂SO₄ が最高で次いで NH₄NO₃, NaNO₃ の順である。これ等の区の間でも容量間の差が大きく各 3.0 区が最高を示しそれ以上では却つて減少する。而して成分収量の最高区は (NH₄)₂SO₄ を施用した N:5.0, P₂O₅:3.0, K₂O:1.5 である。葉の総窒素とアルカロイド含有率の相関を見るに NaNO₃ 区では総窒素量の増減に依るアルカロイド含量の変化は極めて少いが、NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄ 区では総窒素含有率 5% 前後が最高でそれ以上になると却つて減少する。

圃場試験の磷酸容量試験では磷酸の施用量が多くなる程アルカロイド含量も増加する。又窒素形態試験ではポット試験同様 (NH₄)₂SO₄ 区が最高で次いで NH₄NO₃, NaNO₃ 区の順である。而して両試験とも開花期に高く果実が完熟するにつれてアルカロイド含量は減少している。

本研究に当り御指導を賜つた東大農学部春井日教授並びに津村研究所佐々木一郎氏に厚く感謝する。

本研究の費用は文部省科学試験研究費を以つて充当した。当局に対し厚く謝意を表する。

東京大学医学部薬学科・農学部千葉縣演習林・津村研究所

Summary

The effect of the form and the volume of nitrogen in the fertilizer against alkaloidal content in the leaves of *Datura Tatura* L., is described, together with the results of examination of three nutrient principles when sodium nitrate is used as the source of nitrogen, and the effect of phosphate. The yield of the alkaloid increases in the order of NaNO₃ < NH₄NO₃ < (NH₄)₂SO₄, the maximum yield being obtained with (NH₄)₂SO₄ when

used in a ratio of N 5.0, P₂O₅ 3.0, K₂O 1.5. Interrelationship between the alkaloidal content and the amount of total nitrogen in the leaves was examined.

(Received April 30, 1951)

298. 木村道也：1,3,5-Trinitrobenzene による強心性配糖体類の
比色定量に就いて

Michiya Kimura: Quantitative Colorimetric Method for some
Cardio-Active Glycosides with 1,3,5-Trinitrobenzene.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo*)

アセトンと *m*-dinitrobenzene 及び其の誘導体とが苛性カリの存在下に呈色反応を行う事は、始め Janovsky によつて 1886 年¹⁾ 及び 1891 年²⁾ に報告されたが、1892 年には Von Bitto によつてアルカリ性に於けるアルデヒド及びケトンと *m*-dinitrobenzene との呈色反応に就いて報告が行われた³⁾。其後アルデヒド、ケトン更には一般に $-\text{CH}_2\text{CO}-$ 基を有する物質とニトロベンゼン誘導体との呈色反応に就いては種々検討を重ねられて現在に至っているが⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾ 最近では T. Canbäck によつて活性メチレン基と芳香族ニトロ化合物との反応に就いての一連の詳細な報告が行われ現在尚続いている⁸⁾⁹⁾。

或種の強心性配糖体即ち不飽和ラクトン環を有し従つて活性メチレン基を有する所の、例えば digitoxin, gitoxin, digoxin, strophanthin, ouabain 等の化学的定量法に就いては既に久しい以前より幾多の試みがなされているが¹⁰⁾¹¹⁾、いずれも満足すべき方法が確立され得ず今日に至っている為に引続き種々の改良法及び新定量法が報告されているのが現状である¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。

石館、赤塚によれば一般に Legal 反応陽性の物質はエールリッヒ試薬によつても発色を行う¹⁵⁾ が、先に著者等は此の事実に基き上記強心性配糖体及び其の非糖体及び二、三の誘導体に就いて *p*-dimethylamino-benzaldehyde による定量を試み、其の結果を報告したが¹⁶⁾ 其の方法によつては発色度が弱く従つて検体が微量である際には比色に困難を生ずる為に更に強力な発色試薬が望まれた。石館、坂口によれば 1,3,5-trinitrobenzene はアルカリ性で活性メチレン基を有する物質と作用して極めて濃厚な赤色を呈する¹⁷⁾。著者は此の事実を上記強心性配糖体に應用して其の比色定量の可否を検討し、比較的良好な結果を得たので茲に報告する。

先ず試薬としては 1,3,5-trinitrobenzene メタノール溶液 (之を TNB 試薬と略称する) 及び苛性カリ水溶液を使用し、以下に述べる (実験の部 IV 参照) 反応条件に従つて発色を行わしめ其の吸光係数を測定して Fig. 1 の様な吸光曲線を得た。即ち II 曲線で明かな様に可視部では 470 mμ 附近と 530 mμ 附近との 2 個所に吸収の

* Bunkyo-ku, Tokyo.

1) Janovsky: Ber. **19**, 2158 (1886).

2) Janovsky: Ber. **24**, 971 (1891).

3) von Bitto: Ber. **25**, 653 (1892).

4) O. Rudolph: Z. anal. Chem. **60**, 239 (1921).

5) R. W. Bost, F. Nicholson: Ind. Eng. Chem. Anal. **7**, 190 (1935).

6) M. Pesez, M. Herbain: Bull. Soc. Chim. France **1948**, 104.

7) M. Jurcek: Chem. Listy **43**, 204 (1949).

8) J. Canbäck: J. Pharm. Pharmacol. **1**, 201 (1949).

9) T. Canbäck: Svensk Farm. Tid. **54**, 1 (1950).

10) A. Knudson, M. Dresback: J. Pharmacol. **20**, 205 (1922).

11) W. D. Raymond: Analyst **63**, 478 (1938).

12) F. Buffoni, A. Giotti: Bull. Soc. ital. biol. Sper. **25**, 108 (1949).

13) T. Bersin: Angew. Chem. **61**, 190 (1949).

14) F. K. Bell, J. C. Krantz: J. Am. Pharm. Assoc. **39**, 319 (1950).

15) 石館、赤塚：化学の領域 **3**, 600 (1949).

16) 石館、木村：日本薬剤師協会学術大会 1949 年。

17) M. Ishidate, T. Sakaguchi: 本誌 **70**, 82 (1950).