は夫々 1:8,000 である。

結 論 以上の如く精油は病原性糸状菌並びに結核菌に対しては割に著しい効果を示すが、一般病原菌に対してはさしたる効果認められず、単に santal 油が葡萄菌に対し著しい成績を示したに過ぎない。

新潟大学医学部薬学教室

Summary

Antifungal action of 13 kinds of essential oils were further tested. Antifungal properties were found to be in the order of sandal > vetiver > rose, nerol, citronella, geranium, bay > patchouli, jasmin, petitgrain, anise > Ilang-Ilang < lemon, sandal being effective in 1:64,000~1:128,000 dilutions. The essential oils were somewhat effective against *Shigella dysenteriae* Shiga, but almost ineffective against *Staphylococcus aureus* 209P and *Escherichia coli*, although sandalwood oil was effective against *Staph. aureus* at 1:64,000 dilution. The oils were also effective against avian type tubercle bacilli in which the sandalwood oil also showed the highest efficacy, being effective in 1:32,000 dilution, followed by citronella oil at 1:16,000 dilution.

(Received January 12, 1953)

107. 石館守三, 高村圭一: つばき実のサポニンの研究 (第1報)

Camellia-saponin の分離とその構成

Morizo Ishidate and Keiichi Takamura: Studies on the Saponin of the Fruit of *Camellia japonica* L. I. Isolation of Camellia-saponin and its Constituents.

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

つばき (*Camellia japonica* L.) の果実のサポニンについては古くは勝山¹⁾, 北村²⁾, 杉山³⁾ 及び青山⁴⁾ の報文があるが当時サポニンの化学は未明の時代で不詳の点が多いので之を再検討することにした。

原料は伊豆大島, 利島産のつばき実の搾油後の粕を利用した。サポニンの抽出に青山は 80% アルコール抽出エキスを水溶液とし之に酸性白土を加えてサポニン部を吸着せしめ, そのアルコール抽出液にエーテルを加えてサポニンを析出せしめ, この操作を繰り返して mp 207~208° (decomp) の柱状晶サポニンを得たと報告している。

著者等は 80% アルコール抽出エキスを水及びエーテルを加えて混和し之を塩酸を以て酸性とし, ここに析出する結晶性サポニン体を集め之をアセトン洗滌後, 醋酸を含む稀アルコールから再結晶することにより恒数一定のサポニンを微細柱状晶 (mp 206.6° (corr)) (Fig. 1) として得た。本物質はメチル赤に明かに酸性を呈する酸性サポニンで Liebermann-Burchard 反応, phloroglucinol 反応, orcinol 反応共に陽性である。起泡性及び溶血性等一般酸性サポニンの性状を具有する。本物質は青山氏の得たサポニンと同一物と思われる。分析値及び分解成績体の結果全面的に訂正の要があるが, その名を保存して camellia-saponin とする。

サポニンを先ず苛性アルカリにて加温すれば一方に mp 217.3° (corr) の柱状晶の分解生成物を得る。之は尚酸性を有する中間体で之を prosapogenin I (Fig. 2) と呼称する。他方に特異を有する不飽和脂肪酸が得られ, 之は殆ど純粋なチグリン酸であることをその分析値並びにアミド体から確認した。prosapogenin I を更にメタノール性稀硫酸 (3%) にて約 10 時間加熱し加水分解を完結せしめアルミナによるクロマトグラフ法を経て精

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) Katsuyama: Arch. Pharm. **213**, 334 (1878).

2) 北村: 本誌 **30**, 702 (1919). 3) 杉山, 福地: 農化 **29**, 297 (1927). 4) 青山: 本誌 **48**, 958 (1928).

製すればここに mp 290.5~292.5° (corr) の柱状品を得る。本物質はもはや糖体を含有せず、之はサボニンの最終段階のゲニン体と見做される。之を *camellia-sapogenol* と命名する。

他方 *prosapogenin I* の酸分解母液よりはペーパークロマトグラフ法 (P.C. と略称す) により、アラビノーズ、ガラクトース及びグルクロン酸様物質の存在が推定された。前二者は別にフェニルオサジンとして分離確認した。グルクロン酸様物質は之をバリウム塩とし *p*-bromophenylosazone に誘導するに mp 194° を示し、既知グルクロン酸のそれ (mp 215°) より低く混融試験も中間値を与える。P.C. の Rf 値、ナフトレゾルチン呈色及びその吸光曲線の最高吸収波長 (565~575 mμ) はグルクロン酸のそれに全く一致することが認められたが、他の uronic acid の可能性も考えられるのでその確証は将来に保留する。以上の結果を略記すれば次の如くなる。

Alkali hydrolysis

↓ Acid hydrolysis

次に *camellia-sapogenin* を最初比較的短時間メタノール性稀硫酸 (3%) にて加水分解すれば糖体割分中からガラクトース、アラビノーズの外に明かにグルコースの存在を P.C. にて検出し之をフェニールオサジンとして確認し得た。この加水分解の条件では uronic acid の検出は不能であつた。前述の *prosapogenin I* の酸加水分解ではグルコースの生成は陰性であつたが、その原因は酸分解に先行したアルカリ分解の為チグリン酸と共にグルコースが分離したと解すべきであらう。而してこの際グルコースはアルカリ加熱によつて容易に変質してその証明が不能になることは対照試験によつて確められる。従つて *prosapogenin I* はサボニンからチグリン酸とグルコースを失つたものと考えられ而もグルコースはチグリン酸を介して結合しているものと推定される。*prosapogenin I* の分子量及び分析値も上述の推定に一致している。

サボニンを直ちに酸分解に附した場合4種の糖体と共に中間分解物として不定形の *prosapogenin II* が得られる。之を次にアルコール性アルカリ鹼化に附すればチグリン酸を放出して *sapogenol* と同時に一部酸性を有する *prosapogenin III* なる物質が得られる。後者のアルカリ塩は美しい絹糸状結晶として析出する。之を更に酸分解すれば最終的に同一の *camellia-sapogenol* を生成する。

Acid hydrolysis

↓ Alkali hydrolysis

+

Tiglic acid

camellia-sapogenol は中性サボゲン体でテトラニトロメタンに対し淡黄色の呈色をなしパラジウム炭水素還元で抵抗を示すがオレオノール酸同様接触還元抵抗する二重結合の存在が推定される。分子量及び分析値より暫定的に $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$ の組成を推定しその構造の研究は後報に譲る。

尙 *camellia-saponin* は上記 *sapogenol* と各1分子のアラビノース、ガラクトース、グルコース、一種のウ

Fig. 1

Camellia-saponin (ca. ×400)

Fig. 2

Camellia-prosapogenin I (ca. ×100)

Fig. 3

Camellia-sapogenol (ca. ×100)

ロン酸 (恐らくグルクロン酸) 及び 1 mol のチグリン酸の結合とすれば $C_{58}H_{92}H_{25}$ (乃至 $C_{58}H_{92}O_{25} \cdot H_2O$) となる. その分析値もほぼ之に相当する. その構成は次式の如くなる.

本研究に於て原料採取に協力されし大島元村役場近藤浩氏に対し, 又元素分析並びにペーパークロマトグラフに協力を得た大畑君, 山田厚君に対し謝意を表す.

実 験 の 部

Saponin の製法 伊豆大島, 利島産のつばき種子を五段式ロールにて搗き碎き更に細粉後之に数分間水蒸気を通じ加温し搾油した残部の搾油粕を材料とす. 之をエーテルにて冷浸して脱油し, 更に之を細粉となしその 1 kg に対し 80% のアルコール 3 L を用いて水浴上 3 時間温浸し熱時濾過, 同様の温浸を 2 回行い, その抽出液を約 1/10 に濃縮. 之に半量の水及び半量のエーテルを加えよく混和. 次に之に塩酸を加えて約 1% 塩酸酸性となし放置すれば漸次微細の結晶析出. 1 夜放置の後之を集めよく水洗し次いでアセトンを用いて可溶性物質を除去. ここに得られた類白色結晶を 70% のメタノール又はエタノールより再結晶. この物質は mp 203~224° (decomp) (corr) の広範囲の融点を示し一定せず. 之はサポニンの塩類の混在の爲と考えられる. 次に之を稀酢酸酸性のアルコールより再結晶することにより融点一定の微細柱状品の純粋な物質を得. mp 206.6° (decomp) (corr). 得量は皮部より 0.2%, 果実部より 1.3% であつた.

性 状 無水のエタノール, メタノールに難溶, 含水アルコール類に熱時可溶, 無水酢酸, 氷酢酸, ピリジンに可溶, 温水には僅かに溶解しサポニン特有の起泡性を示す. 苛性アルカリには易溶, 酢酸酸性にて濁りを生じるも沈澱を生ぜず塩酸酸性にて析出沈澱. 水溶液はメチル赤に明かに酸性を呈する酸性サポニンである. 無水酢酸硫酸にて桃色—紅色—紫色—青緑色の呈色をなす (Liebermann-Burchard 反応). phloroglucinol 反応 (phloroglucinol と塩酸と加温して赤橙色, アミルアルコールに移行) 及び orcinol 反応 (Bial 試薬にて加温すれば青緑色, アルミアルコールに移行) 共に陽性, Legal 反応は陰性である. 溶血指数は家兎血球にて 1:100,000 (37°), $[\alpha]_D^{24}$: +12.5° (c=0.800, 70% アルコール). 150°, 5 時間減圧乾燥. $C_{58}H_{92}O_{25}$ 計算値 C 58.55, H 7.80, 分子量 1188.7, 実験値 C 59.10, 59.15, 58.88, 58.89, 59.00, H 8.30, 9.03, 8.79, 7.69, 8.03, 分子量 (滴定法) 平均 1172, (ラスト法) 1192.

熱時アルカリ消費量: サポニン 1 g を 0.5 N KOH 含有 70% アルコール 20 cc と共に炭酸を遮断しつつ水浴上 5 時間加温. 冷後 0.1 N HCl にて逆滴定す (指示薬フェノルフタレイン). 消費 0.5 N KOH=3.45 cc (空試験値を差引く) 之は 1.99≒2 mol 相当.

Prosapogenin I サポニン 10 g を 10% 苛性ソーダ水溶液 100 cc に溶解し水浴上 5 時間加温. 冷却後水浴の下に塩酸酸性となす. ここに生ずる白色絮状の沈澱を濾取, 水洗し乾燥後熱時含水アセトンに溶解し, 不溶の未分解のサポニンを除去し, アセトンを濃縮すれば微細結晶析出. 之を 70% メタノール又はエタノールより再結晶. mp 217.3° (decomp) (corr) の無色柱状品. 得量 7 g. 性状: Liebermann-Burchard 反応, orcinol 反応, phloroglucinol 反応共に陽性で元サポニンに類似. エタノール, メタノール, 氷酢酸, ピリジンに可溶, メチル赤酸性を呈す. 施光度: $[\alpha]_D^{24}$: +12.31° (c=0.800, 70% アルコール溶液). 150°, 5 時間減圧乾燥. $C_{47}H_{76}O_{19}$ (sapogenin に arabinose, galactose, uronic acid 各 1 mol 結合した推定分子式) 計算値 C 59.71, H 8.11, 分子量 944, 実験値 C 59.60, 59.38, 59.59, H 8.39, 8.34, 8.31, 分子量 (滴定法) 902.

Camellia-sapogenol の製法 1) prosapogenin I より: 前記 prosapogenin I 10 g を 5% 塩酸含有 70% メタノール 100 cc と共に水浴上 3 時間加温. 始め液は黄色を帯び次第に青褐色となり油状物質を析出. 反応液を水中に注入し析出する沈澱物を集め水洗乾燥後 2) の項に記する活性炭によるクロマトグラフ法により精製し少量の結晶を得. 70% アルコールより再結晶. mp 290.5~292.5° (decomp) (corr) の柱状品として得.

2) saponin 50 g を 3% 塩酸含有の 70% メタノール約 550 cc に溶解し約 10 時間水浴上に加温. 液は黄褐色を帯ぶ. 之を 1% 苛性ソーダ液 2 L 中に注げば類白色沈澱を生ず. 之を集め水洗乾燥. ここに不定形の粉末 24 g を得る. 之を prosapogenin II とす. 次にこの prosapogenin II 24 g を更に 3% 苛性ソーダ含有 70% エタノール約 230 cc に溶かし 2 時間加温し加水分解せしむ. 之を放冷すれば美しい絹絲状結晶を析出. 得量 9 g. 本物質の水溶液を酸性となすに絮状の沈澱を生ずるが再結晶を試みるも結晶化せず. 本物質は酸性を呈し無水アルコールに可溶となり之を再び苛性アルカリ溶液に溶かし放置すれば絹絲状のアルカリ塩を析出. 本物質を prosapogenin III とする.

prosapogenin III のナトリウム塩を濾取した前記母液を塩酸酸性の水に投入すれば帯褐色の析出物を得. 水洗乾燥して得量 18 g. 之を次の如く活性炭 (36 g) を充填せる筒 (径 3.5 cm, 高 12 cm) を無水アセトンを溶媒として分配クロマトグラフに附す.

1	300 cc	アセトン劃分	微量	油状物質	稀アルコールより再結晶 mp 290~292.5°
2	"	"	2.5 g	結 晶	
3	"	"	0.5 g	"	
4	"	"	0.2 g	"	
5, 6, 7, 8	各 300 cc	アセトン劃分合計	0.3 g	"	
9	300 cc	アセトン	微量	褐色不定形	
10	300 cc	アセトン：アルコール劃分	"	"	
11	300 cc	アルコール劃分	"	"	

ここに主劃分として結晶の saponin 約 3.5 g を得。

3) prosapogenin III を更に 3%硫酸含有 70%アルコールと共に水浴上 1 時間加熱し後水中に投入しここに析出する沈澱を集め水洗乾燥す。之を稀アルコールより再結晶すれば亦 mp 292.5° の柱状晶 saponin を得。

Saponin の性状 無水エタノール、アセトン、メタノール、ピリジン等の溶媒に可溶、石油系溶剤、ベンゼンに不溶、加熱に際し昇華性を有す。メタル赤に中性、カルボニル試薬に陰性、テトラニトロメタンにより oleanolic acid 類似の淡黄色を呈し二重結合の存在を暗示し、バラヂウム炭水素還元にて抵抗を示す。Liebermann-Burchard 反応にて紫色より緑色の呈色をなし、三塩化酢酸と加熱 (Tschugaev 反応) に於て紅色乃至紫色の呈色をなす。旋光度： $[\alpha]_D^{24}$ ：+22.0° (c=1.00, 94%酒精), 150°, 5 時間減圧乾燥。C₃₀H₅₀O₄ 計算値 C 75.95, H 10.61, 分子量 474, 実験値 C 75.89, 75.57, 76.18, 75.52, 76.95, H 10.26, 10.29, 10.62, 10.55, 10.43, 分子量(ラスト法) 456, 484。

チグリン酸の証明 saponin をアルカリ分解し prosapogenin I を汙取した酸性母液をエーテルにて抽出。エーテル液を水洗乾燥後エーテル留去すれば特臭ある油状物質を得。之を冷放すれば固化。水より再結晶, mp 64°, bp 197° の柱状晶。過マンガニ酸カリ液を瞬時に脱色、一塩基性酸である。元素分析値及び分子量測定値は、C₅H₉O₂ のチグリン酸に一致。更に之を確認する為チオニクロリドにて酸クロリドとしアニリンと縮合せしめて酸アニリドを製す。石油エーテルより再結晶すれば mp 75.5°, チグリン酸アニリドに一致。C₁₁H₁₃ON 計算値 C 75.43, H 7.43, N 8.00, 実験値 C 75.40, H 7.48, N 8.02。又 prosapogenin II のアルカリ分解母液より同様にしてエーテル可溶性酸性物質としてチグリン酸を得。

糖体の検索 1) saponin を 3%硫酸含有 70%エタノールと共に 3 時間加水分解後之を水中に投入し析出する物質を汙過し、汙液を水酸化バリウム次に炭酸バリウムにて中和し完全に硫酸根を除去したる後、減圧濃縮しシロップ状とす。その一部を取りペーパークロマトグラフに附す。展開溶媒：ピリジン：ブタノール：水 (3:5:1), 東洋濾紙 No. 50, 検出試薬 *m*-phenylenediamine 及び *p*-anisidine, 時間 18 時間。

検 体	Rf	{0.17	{0.23	0.26
		{0.176	{0.21	0.27
既知物質	Rf	Galactose	Glucose	Arabinose
		0.17	0.22	0.26

上記シロップ 1 g をとり 10 cc の水に溶解しフェニルヒドラチン 1 g 及び水酢酸数滴と共に加温。析出物を汙取し之を冷時アセトン可溶部 A と不溶部 B に分つ。A 部を更に熱湯可溶の部と不溶の部に分つ。前者より冷時少量の析出物を得るも不詳。後者の熱湯不溶の部を含水アセトンより再結晶すれば mp 192~193° (decomp) (corr) の結晶を得。既知 galactose osazone と混融して一致を見た。次に B 部をエタノールより再結晶して mp 206° (decomp) (corr) の osazone を得た。之を既知 glucose osazone と混融試験するに降下せず。

2) prosapogenin I を材料とし 3%硫酸含有 70%メタノールにて約 10 時間加水分解したる母液を前記 1) の場合と同様に処理して糖体を含有する部をシロップ状となす。之に熱アルコールを加え可溶部と不溶部に分つ。アルコール不溶部はフェーリング液を還元し且ナフトレゾルチン反応強陽性でグルクロン酸様物質の存在を予知し得たから之を再び水に溶解し硫酸にてバリウムを除去、塩化バリウムにて硫酸根の無なるを検し減圧濃縮しシロップとす。液性は強酸性である。その一少部にて前記 P. C. の条件で Rf 値 0.05 を得。既知グリクロン酸のそれと一致す。更にその一部につきナフトレゾルチン及び塩酸と 5 分間加熱後発色せしめ、ベンゾールに移行する色調を Beckman-photometer にて検するに 565~575 mμ に最高吸収を示し、グルクロン酸のそれと一致する吸収曲線を示す。更に確証の為そのバリウム塩につき *p*-bromophenylosazone を製するに mp 194° (decomp) (corr) の物質を得。グルクロン酸の osazone (mp 215°) より遙かに低い混融試験は中間点を示す。稍不純の為と思われる。

熱アルコール可溶部を常法により一部につき P. C. を試みるに Rf 0.17 及び 0.26 の二種を得。即ち galactose, arabinose の存在を予知し得。更に残部の試料につき phenylosazone を製するに熱水可溶部より mp 166° の arabinose osazone を、熱水不溶部分より mp 192~193° (アルコールより) の galactose osazone を得。夫々既知標品と混融試験にて確認した。

東京大学医学部薬学科

Summary

Reinvestigation was carried out on the constitution of camellia-saponin, the principal acidic saponin from the fruit of *Camellia japonica* L. Alkaline hydrolysis of the

saponin, m.p. 206.5°(corr.), converted it into prosapogenin I, with liberation of one mole of tiglic acid and probably one mole of glucose. Acid hydrolysis of prosapogenin I gave a basal genin, camellia-sapogenol, m.p. 290~292.5°(corr.), $[\alpha]_D^{21}$: +22.0 (EtOH), and three sugar components, arabinose, galactose, and an uronic acid (most likely, glucuronic acid). Glucose was detected, in addition to the above three sugars, by the first acid hydrolysis, the identification of sugars having been made by means of paper chromatography as well as by their osazone derivatives. The sapogenol hereby obtained is neutral, colors yellow with tetranitromethane, and corresponds to the formula $C_{30}H_{50}O_4$.

(Received January 12, 1953)

108. 伊藤四十二, 北川晴雄, 石井 宏: クマリン誘導体の薬品的研究 (第5報*)

鎮静・催眠作用に就いて その2**

Yosoji Ito, Haruo Kitagawa, and Hiroshi Ishii: Coumarin Derivatives for Medicinal Purpose. V. Sedative and Hypnotic Actions. (2).

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

緒 論

著者等は第3報¹⁾に引続いて, あらたに 20 種のクマリン誘導体を合成しその鎮静, 催眠作用及び毒性をマウスに就いて調べ化学構造と鎮静, 催眠作用の關係に就いて新たに若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 方 法

合成の部

Coumarin-3-acetic acid diethylamide [(b) 及び (p)] Dey 及び Sankaranarayanan²⁾により合成した coumarin-3-acetic acid 3 g に 10 cc の $SOCl_2$ を加え, 還流冷却器及びガス吸収器を附して水浴上で塩酸ガス発生が止む迄約2時間加温し, 後過剰の $SOCl_2$ を溜去, 生成した酸クロライドは石油エーテルより再結晶, mp 58~59°. これを無水エーテル 20 cc に溶かし滴下漏斗より diethylamine 3 g と無水エーテル 20 cc の溶液中に攪拌下滴下, 滴下後 20 時間攪拌を続けて後吸汙し, 不溶物 (主としてデエチルアミン塩酸塩) を充分無水エーテルで洗滌し, エーテル溜去後残渣をアルコールより再結晶, 無色柱状晶, mp 92.5~93°, 得量 1.12 g (29.5%). $C_{15}H_{17}O_3N$ 計算値 N 5.40, 実験値 N 5.66.

3,4-Dihydrocoumarin-3-acetic acid diethylamide (c) coumarin-3-acetic acid diethylamide 3 g を無水エタノール 30 cc に溶し, これに PtO_2 0.6 g を加え接触還元し, エタノール溜去後減圧蒸溜, bp₁ 157°. $C_{15}H_{19}O_3N$ 計算値 N 5.36, 実験値 N 5.40.

Isocoumarin-3-carboxylic acid diethylamide (e) Bamberger, Kitschelt³⁾によつて合成した isocoumarin-3-carboxylic acid 2 g に $SOCl_2$ 40 g を加え常法に従いクロル化し, 反応終了後過剰の $SOCl_2$ を溜去, ここに得た粗結晶を無水エーテルに懸濁し, 攪拌下 diethylamine 2.5 g に無水エーテル 20 cc を加えた溶液を滴下し, 滴下後 15 時間攪拌を続けて後吸汙し不溶物を充分無水エーテルで洗滌し, エーテルを溜去すると褐色の油状物を得. 冷却下放置して結晶せしめエタノールより再結晶, 無色柱状晶, 得量 0.7 g (27%), mp 65~66°. $C_{14}H_{15}O_3N$ 計算値 N 5.71, 実験値 N 5.82.

* 第4報: 本誌 73, 107 (1953).

** 鎮静・催眠作用に就いてその1: 本誌 71, 686 (1951).

*** Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 伊藤, 北川, 平森, 鈴木, 山形: 本誌 71, 686 (1951).

2) Biman Bihari Dey, Yegnarama Sankaranarayanan: J. Indian Chem. Soc. 8, 819 (1931).

3) E. Bamberger, M. Kitschelt: Ber. 25, 888 (1892).