塚本赳夫, 川崎敏男: 邦産ヤマノイモ科植物のサポニンに就いて (第4報*)

タチドコロの新ジオスゲン配糖体, Gracillin に就いて

Takeo Tsukamoto and Toshio Kawasaki: Saponins of Japanese Dioscoreaceae. IV.

Gracillin, a New Diosgenin Glucoside from *Dioscorea gracillima* Miq.

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

先に我々はペーパークロマトグラフィー (PPC) により, タチドコロ (*Dioscorea gracillima* Miq.) 根茎のメタノールエキスをより得た水不溶性サポニン (I) が, 主として dioscin より成るが, 微量の未詳物質 (Rf=0) と共に, 一新物質 (G) を少量含有すること, 並びに本物質がアルミナを吸着剤とする粗サポニン (I) の液体クロマト精製時の (B) フラクション¹⁾の主成分であることを知った²⁾. 今回この新物質 (G) を純粋に単離し, 且つその性質を検討の結果新ジオスゲン配糖体であることが明らかになった.

前記 (B) フラクションは (G) と共になお若干の dioscin 及び Rf=0 の物質を含有するが, dioscin と異なりエタノールに温時もやや難溶である故, 先ずエタノールよりの再結晶による精製を試みたが満足すべき結果を得なかつた. 然しながら無酢, ピリジンにてアセチル化するにその生成物は冷時メタノールに難溶で, 再結晶により容易に一定且鋭敏な融点を示し純粋と思われる無色微細針状晶 (GA) を析出する. 本結晶はメタノール性加里と加熱鹼化すれば再び温エタノールに難溶性の白色結晶となり, エタノール-クロロフォルム混液より再結晶して無色微細毛状晶を得る. その融点 (分解) は Table I の如く極めて鋭敏であり, 且原料である粗サポニン (I) 及び (B) フラクションと同時に PPC にかけた結果は, ただ1個のスポットのみを現し, その Rf は (G) の Rf と完全に一致する (Table II). 尚アセチル化すれば再び前記 (GA) となる故アセチル化, 再結, 脱アセチルにて得た結晶は明らかに原料粗サポニン (I) 中に混在した新物質 (G) そのものであり, 且純粋であると考えられる.

純粋の (G) 及び (GA) は後記の諸性質を有し, dioscin^{1,3)}と比較するに Rf, 融点, 分析値及びエタノール, メタノール等に対する溶解度に於いて異り, 混融の結果融点降下を認める故, 異物質であることは明らかであるが, その諸呈色反応は全く同一であり, 比旋光度も極めて近似する. これらの諸性質殊に PPC に於ける Rf 及び呈色と dioscin と共に少量の (G) を含有する原料粗サポニン (I) が加水分解によりゲンとしてジオスゲン, 糖としてグルコース, ラムノースの二者のみを得た事実¹⁾を併せ考える時 (G) は dioscin とは異なるが, やはり上記二種の糖の両者又はいずれかを糖部に有するジオスゲン配糖体であることが想像される. dioscin と同様にして加水分解の結果は果してジオスゲンとグルコース及びラムノースを得た. 従つて新物質 (G) は dioscin と同じく糖部はグルコース, ラムノースより成るジオスゲン配糖体であるが, ただこれらの糖の数或は配列等を異にするものと思われる. 近年各種植物よりジオスゲンの分離された報告は多いが, dioscin を除き比較的純粋に分離され, その諸性質について記載のあるジオスゲン配糖体としては *dioscorea-sapotoxin* [mp 220° (decomp) 無晶形, 吸湿性, 水溶性]³⁾, *trillarin* [mp 200° (decomp), diglucoside]⁴⁾, *trillin* [mp 271° (decomp), monoglucoside]⁴⁾ の三者以外を見ないようである. 従つて今回分離したものは新ジオスゲン配糖体であると考え, gracillin と名付ける.

本研究は山内辰郎, 橋本昭典両君の協力を得た.

実 験 の 部

Gracillin の分離精製 タチドコロの水不溶性サポニンのクロマト精製時の (B) フラクション¹⁾を大量のエタノール, 又はエタノール-クロロフォルム混液より再結晶して得た結晶 (PPC によればなお微量の dioscin 及び未詳物質を混在)²⁾ 420 mg を, 無水ピリジン, 無酢各 2.5 cc と 24 hr 放置後水中に投じ析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後メタノールより再結, 無色微細針状晶 470 mg を得 mp 204~206° (corr), mp 202° (Kofler 法).

* 日本薬学会年会講演 (1954 年 4 月).

2) 第3報: 本誌 74, 1089 (1954).

4) G. Jenkins, M. R. Thompson: J. Am. Pharm. Assoc. 27, 457 (1938); R. E. Marker, et al.: J. Am. Chem. Soc. 62, 2548, 3349 (1940); S. Lieberman, et al.: Ibid. 64, 2581 (1942).

1) 第2報: 本誌 74, 984 (1954).

3) 塚本, 上農: 本誌 56, 802 (1936).

uncorr). 再度メタノールより再結すれば夫々 206~207°, 204° と上昇し一定となる. その 120 mg を 5%メタノール性加里 5.7 cc と 1 hr 加熱還流(熱時白色結晶析出), 大部分のメタノールを留去後水を加え, 不溶結晶を浮取水洗, エタノール-クロロフォルム (3:1~2:1) より再結すれば無色微細毛状晶を得(約 90 mg). 同溶媒より再結晶後硫酸上 1 mm にて 24 hr 乾燥したものは Table I の融点(分解)を有す. 原料粗サポニン(I)及び(B)フラクションと併行して PPC の結果は Table II に示した.

性 質*1 dioscin と比較した融点(分解)及び混融結果は Table I. $[\alpha]_D^{25}$: -88° (ビリジン, $c=0.308$) (dioscin, $[\alpha]_D^{25}$: -82°, ビリジン $c=0.317$). 元素分析*2 結果は C 58.88, 58.70, H 8.17, 7.87. Liebermann-Burchard 反応: 赤紫色(無酢層緑色螢光), 刈米, 橋本反応⁵⁾ 60° にて赤紫色, 沱紙上 15% 3 塩化アンチモン-クロロフォルム溶液(Carr-price 試薬)により帯赤橙黄→桃色, Molisch 反応陽性, Bial 反応陰性, 熱時フェーリング溶液を還元せず. エタノール中コレステリンと加温後放冷すれば白沈を生ず*3. 無味, 灰分及び吸湿性なし. 水, アルカリ, エーテル, クロロフォルム, ベンゾール, アセトン, 酢エスに不溶, エタノール, メタノールに温時やや難溶, エタノール(メタノール)-クロロフォルム混液に温時溶, ビリジンに溶. 名種展開溶媒による PPC の Rf 値は既報²⁾. 乾燥結晶 340 mg を無酢, ビリジン各 2.5 cc にてアセチル化, メタノールより再結して無色細針状晶 450 mg を得. mp 206~207° (corr), mp 204° (Kofler 法, uncorr). 前項分離途上の mp 205~206° の物質と混融して降下なし. $[\alpha]_D^{25}$: -47° (クロロフォルム, $c=0.402$). Rf 値は既報²⁾. エーテル, クロロフォルム, ベンゾール, アセトン, 酢エスに溶. 石油系溶媒に難溶, メタノール, エタノール, 正ブタノールに温時溶. Liebermann-Burchard 反応, Carr-Price 試薬による呈色は前記と同じ.

加水分解 乾燥 gracillin 105.8 mg を 2N 塩酸性 50%エタノール 10 cc に懸濁, 5 hr 加熱還流後 20 cc の水を加え各 10 cc のエーテルにて 3 回振取. まずエーテル層は 60 cc の水を数回に分けて洗滌, 芒硝にて乾燥後エーテル留去, 白色結晶性残渣 46.9 mg(硫酸上 1 mm, 恒量)を得. メタノールより再結すれば無色細針状晶 mp 203~206° (corr) となりジオスゲニンと混融して降下なし. 石油エーテル: トルエン: エタノール: 水=40:5:1:9 を溶媒とし PPC の結果(東洋沱紙 No. 50, 上昇法, 1.5 hr, 16°, Carr-price 試薬にて顯色) Rf 0.592 或は 0.585 のスポット 1 個を得(対照ジオスゲニンの Rf 0.591). 無酢と 130° にて 40 min 加熱して得たアセタートは, まず希酢酸, 次にメタノールより再結して無色針状晶 mp 197~198° (corr) となり, ジオスゲニアセタートと混融して融点降下を認めず. 次に水層及び水洗液は水浴中加温し, 含有エーテルを除去後(無色透明)陰イオン交換樹脂 Amberlite-IR-4B のカラムを通し, 減圧下濃縮, 淡黄色シロップ状物質を得. その水溶液を PPC に付し糖を検索す(Table III).

Table I. m.p. (decomp.) and Mixed m.p. of the New Compound and Dioscin (°C, uncorr.)

	New compound (Gracillin)	Mixed	Dioscin
Ordinary method, heated from 200°	273~275	246~250	258~260
Taken in a capillary sealed off at a pressure of 2 mm, heated from 250°	300~305		293~298
Kofler micromethod heated from 100°	284~286		270~272
Kofler micromethod, heated from 200°	290~293	255~270	275~277

Table II. Paper Chromatography of the New Compound (Rf Values)

	Crude saponin (I)	(B) Fraction	New compd. (gracillin)	Dioscin
iso-C ₅ H ₁₁ OH:CHCl ₃ :H ₂ O (10:2:5) 8~13°, 16 hrs., Toyo filter paper No. 50, Ascending	0.55 0.35 0	0.54 0.35 0	0.35	0.55
CHCl ₃ :BuOH:H ₂ O (10:4:5) 13~14.5°, 3 hrs., Toyo filter paper No.50, ascending	0.36 0.18 0	0.37 0.18 0	0.18	0.36

Spray Reagent: SbCl₃ in CHCl₃. The figures in gothic represent small and faint spots.

Table III. Paper Chromatography of Sugar Portion of the New Compound (Rf Values)

	Sugar portion of new compound	Rhamnose	Glucose	Galactose	Fructose	Mannose
BuOH:AcOH:H ₂ O (4:1:5) 8~15°, 27 hrs., Toyo filter paper No. 50, ascending	0.31, 0.14	0.31	0.14	0.13	0.19	0.23
PhOH Saturated with H ₂ O, ca. 25°, 17 hrs., Toyo filter paper No. 2, ascending	0.60, 0.37	0.61	0.38	0.41	0.54	0.47

Spray reagent: Aniline hydrogen phthalate.

九州大学医学部薬学科

*1 融点, 旋光度測定及び元素分析試料はいずれも硫酸上又は塩化カルシウム-苛性加里上 1 mm にて 24 hr 以上放置乾燥.

*2 施行された服部哲靖氏に感謝する.

*3 Dioscin の場合, コレステリンエタノール溶液を加えると, 直ちにその境界面より白色ゼラチン様物質を析出するが, gracillin に於いては混合時白色物質の析出を認めない. 白沈がジギトンド様物質か否かは未詳.

5) 橋本: 薬学研究 22, 340 (1950).

Summary

1) A new substance was isolated in a pure form which was present in a small amount with dioscin in the water-insoluble saponins extracted from the rhizome of *Dioscorea gracillima* Miq.

2) This new substance is a diosgenin glycoside, similar to dioscin, possessing glucose and rhamnose, only the number and or arrangement of sugars were different from those of dioscin.

(Received July 31 1954)

涌井袈裟参, 河内佐十: ラブ酵素の牛乳凝固に影響を及ぼす物質に就いて (第2報*)

Kesami Wakui and Saju Kawachi: On Substances which Affect
Milk Coagulation by Lab Ferment. II.

(Hoshi College of pharmacy**)

ラブ酵素による牛乳の凝固は金属イオンによつて左右されるがその影響は、1) 牛乳の凝固を促進するイオンと、2) 反対に凝固を抑制するイオンとがあり、更に一見凝固促進性と見られるものにも、イオンそのものが促進性であるものと、3) イオンは促進性でなく寧ろ抑制的であるが、イオン化する塩の加水分解により生ずる酸性によつて牛乳の凝固が促進され、恰もイオンそのものが凝固促進性ある如く見られるものとある。1) に属するものに Mn, Cd, Zn, 2) に属するものに Ag, Co, Cu, Ni, 3) に属するものに Pb 等があることは、先に¹⁾ 発表した。

以上の実験は全て生乳について行つたものであるが、我々は此の影響を更に低温加熱乳及び高温加熱乳 (一部煮沸乳) についても同様の検討を行つた。

生乳、低温加熱乳 (以下低温乳と略称) 及び高温加熱乳 (以下高温乳と略称) について第1報記載の方法によつて、初めラブ酵素のみによる牛乳凝固時間を測定した結果は Table I の如く、生乳及び低温乳の間には凝固時間に著しい差は認められない。更に高温乳は加熱 10 分で生乳の約 4 倍、20 分では約 4.5 倍、加熱 30 分で生乳の約 12 倍の長時間を要し、ラブ酵素の働きが高温乳に対しては非常に鈍化するを認める。生乳、低、高温乳に一定濃度の Ca^{++} を添加してラブ酵素による凝固時間を測定するに (Table II), 生乳の酵素のみによる凝固時間の約 1/2 になり、低温乳、加熱 10 分、30 分では共にその時間が約 1/3 に短縮される。高温乳に於いては加熱 10 分で 1/28, 30 分で 1/67 と云う大きな差を認める。これは高温乳に Ca^{++} を添加した凝固時間は生乳のそれと大差はないが、酵素のみの場合の凝固時間が著しく遅延される事による。 Mn^{++} の添加による生乳、低、高温乳に対する凝固時間に於いても同様のことが見られる (Table II)。次に Ca^{++} 添加時と、 Mn^{++} 添加時の牛乳凝固時間を比較すると Mn^{++} の方が若干時間の短縮度が大い。尚、注目すべき事は生乳、低、高温乳に対する酵素のみの凝固時間の比率と、金属イオン添加による凝固時間の比率とに大きな相違があることである。金属イオンを添加した時の凝固時間が生乳、低、高温乳によつて大差のないことは、牛乳に添加したイオンは酵素に対するよりもより多く乳汁成分に影響を与える事に依る。即ち凝固し易い物質を生成させるものと考えられる。 Ca^{++} , Mn^{++} と同様な実験を Cd^{++} , Zn^{++} , Pb^{++} について行つた所、これ等の金属イオンも高温乳の凝固時間を短縮し (Table III), その強さは $\text{Cd} > \text{Zn} > \text{Pb}$ の順となる。尚、加熱乳の酵素のみによる凝固時間は Ca^{++} , Mn^{++} の場合と大体同様であるので省略した。

* 1954 年日本薬学会総会で発表。

** Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo.

1) 涌井, 河内: 本誌 74, 304 (1954).