UDC 582.394 : 547.565.3

63. 稲垣 勲, 久田末雄, 野呂征男: フロログルシノール誘導体を含むシダ植物の
薬学的研究 その 1 酢酸銅によるメンマエキス中有効成分の新定性試験法

Isao Inagaki, Sueo Hisada, and Yukio Noro: Pharmaceutical Studies on
Japanese Ferns containing Phloroglucinol Derivatives. I. A New
Qualitative Test for Effective Constituents in Extractum
Aspidii by Cupric Acetate Solution.

(School of Pharmacy, Nagoya City University*1)

Phloroglucinol derivatives of Extractum Aspidii deposit colloidal precipitate by aqueous cupric acetate in petroleum benzin solution. This reaction can be applied as qualitative test for effective constituents in Aspidium. By this test 111 species of Japanese ferns were examined, in which only Dryopteris genus (24 species) was positive.

(Received August 5, 1960)

メンマ成分の確認試験として第六改正日本薬局方は *p*-dimethylaminobenzaldehyde 試液による赤褐色の呈色と沈殿生成を, 第一版国際薬局方は塩化第二鉄試液による淡褐色の呈色を記載しているが, いずれもまぎらわしい呈色でまたメンマ中の駆虫成分特有の反応とはいいい難い。著者らは従来メンマの駆虫成分に対する確実な試験法の検討を行なってきたが, 今回酢酸銅溶液による方法で駆虫成分と非駆虫成分を一応分離し得るという知見を得た。

まずメンマエキス(メルク製)をつぎの三通りの方法で分離した(Chart 1)。(1) 水酸化バリウム試液不溶部(I)と可溶部(II), (2) 石油ベンジンで処理し不溶部を除いた汙液に酢酸銅水溶液を加えて振り, 石油ベンジンに溶存する部分(塩酸で銅を除く)(III)と生じた銅塩の沈殿から塩酸で銅を除いた部分(IV), (3) エーテルにとかし酢酸銅溶液と振りエーテル溶存部分(塩酸で銅を除く)(V)と沈殿から銅を除いた部分(VI)にわけた。

つぎにこれら(I)~(VI)の各部分につき, ナナ条虫 *Hymenolepis nana* を寄生させたハツカネズミを用いて *in vivo* の駆虫試験¹⁾を行なつた結果を Table I に示す。この結果から(1)および(3)の方法では駆虫成分と無効成分は分離されず, (2)の方法ではこの両者が一応分離された(駆虫成分が(IV)の部分にくる)ことが5%以下の危険率で推定される。

念のため(IV)の部分(Chart 2の経路で処理したところ(VII), (IX), (X)の部分から flavaspidic acid (黄色小板晶 α 型 mp 85~88°/153~155°, β 型 mp 154~156°), albaspidin (白色小針晶, 昇華性 mp 145~147°), filixic acid (淡黄色板晶, mp 178~180°)を得た。(VII)の部分からは少量の油脂状物と微量の塩化第二鉄反応陽性物質を得た。

また別に他の方法²⁾で得た flavaspidic acid (a), albaspidin (b), filixic acid (c) のそれぞれ純品を石油ベンジンに溶かし, これに5%酢酸銅溶液を加えて振ると, いずれも水性層にコロイド状のかさばつた青白色の沈殿を生じた。(a), (b), (c) をエーテルに溶かし酢酸銅溶液を加えて振ると, (a), (b) はその銅塩がエーテルに可溶であるため沈殿を生ぜず, (c) のみ青白色沈殿を生じた。これによつてメンマの駆虫成分は酢酸銅溶液によつてエーテル溶液では分離されず, 石油ベンジン溶液で初めて分離されると考えられる。

なお上記(a), (b), (c)の個々の条虫駆除力は前報³⁾で報告した通り区々であるが, エキスを使用した場合は, これらが相乗的に働いて駆虫力を発揮するものと考えられる。

また前記(1)~(3)の方法で分離した各部分およびメンマ駆虫成分に *p*-dimethylaminobenzaldehyde 試液, 塩化第二鉄試液を加えたときの呈色は Table II の通りで, これらの試液による呈色の如何は有効無効の判別の

*1 Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya.

1) 稲垣, 久田: 本誌 76, 1261(1951).

2) R. Boehm: Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. 38, 35 (1897); A. Aebi, et al.: Helv. Chim. Acta 40, 266(1957).

3) 稲垣, 久田, 他: 本誌 76, 1265(1956).

基準にはならないことが明らかである。

これらの結果からメンマエキスの確認試験としてつぎの方法を提唱する。

i) 予試験：乾燥した根茎の細末少量 (1 g 内外) を石油ベンジン (bp 55~70°) で冷浸した液に 5% 酢酸銅水溶液をほぼ同量加えて振り沈殿生成の有無を検する。沈殿を生じないものは駆虫作用のあるフロログルシノール誘導体を含まない。沈殿を生ずるものについては次の本試験を行なう。

ii) 本試験：乾燥した根茎 (10 g 以上を要する) からエーテルエキスを製し、その 0.1 部の亜硫酸ナトリウム、

Chart 1.

Separation of Extractum Aspidii "Merck"

(2) and (3) were treated by the same procedure as (1).

(1) Ext. Aspid.

dissolvd. in Et₂O, shaken with Ba(OH)₂ soln.

Table I. Anthelmintic Activities of each Fraction *in vivo*

Fraction	Treated ^{a)}	Ineffective ^{a)}	Effective ^{a)}
(I)	6	4	2
(II)	12 (3) ^{b)}	7	2
(III)	6	6	0
(IV)	7	3	4
(V)	12 (1) ^{b)}	7	4
(VI)	18 (2) ^{b)}	8	8

a) No. of mice

b) Dead mice during the experiment.

Chart 2.

Separation of Aspidium Constituents from the Fraction (IV)

5 部の酸化マグネシウムと研磨, 微粉とし 1%の亜硫酸ナトリウムおよび 2%の結晶硫酸マグネシウムを含んだ水 100~200 部で抽出し, 30%酢酸中に投入して酸性とし, 析出する沈殿を水洗乾燥して得られる物質(粗フィリチンに相当する)の少量を石油ベンジンにとかし, 酢酸銅溶液を加えて振り, 沈殿生成の有無を検する. 沈殿を生ずるものは駆虫作用のあるフロログルシノール誘導体を含有する. 定量法については目下検討中である.

つぎにオンダ属 *Dryopteris* 以外にも駆虫力のあるフロログルシノール誘導体を含むものがないかを検討するため, 日本産シダ植物 111 種の根茎についてこの新試験法を実施したところ, オンダ属の中 24 種 (Table III) のみは確実に反応陽性 (石油ベンジン溶液で銅塩を沈殿する) であった. この結果は原田の報告⁴⁾ とほぼ一致する. Table IV 中 a) を付したものは予試験では陽性であるが, 酸化マグネシウム処理による粗フィリチン様物質がほとんど得られず, 詳細はより大量の根茎につき検討を要する.

Table II. Color Reaction for each Fraction or Aspidium Constituents

Fraction or constituent	<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	Ferric chloride
(I)	⦿ (R)	⦿ (RB)
(II)	+ (R)	⦿ (RB)
(III)	⦿ (R)	⦿ (RB)
(IV)	± (Y)	+ (RB)
(V)	⦿ (R)	⦿ (RB)
(VI)	+ (R)	+ (B)
Crude filicin ^(a)	⦿ (R)	⦿ (RB)
Fatty oil ^{b)}	⦿ (R)	+ (RB)
Resin ^{c)}	+ (R)	⦿ (RB)
Flavaspidic acid	⦿ (R)	⦿ (RB)
Albaspidin	—	⦿ (RB)
Filixic acid	— (heat→Y→R)	⦿ (B)

B; brown, RB; reddish-brown, R; red, OR; orange-yellow, Y; yellow.

a) prepared by Aebi's method.

b) extracted with petr. ether from the water-insoluble MgO-mixture.

c) obtained from the MgO-mixture free of fatty oil.

Table III. Ferns Positive to Cupric Acetate Reaction

<i>Dryopteris</i>	ナガサキシダ, イワヘゴ, オオクジャクシダ, タニヘゴ, ミヤマベニシダ, ミヤマクマワラビ, オンダ, オクマワラビ, クマワラビ, シラネワラビ, ミサキカグマ, ナンカイイタチシダ, ヤマイタチシダ, オオイタチシダ, ヒメイタチシダ, マルバベニシダ, ナチクジャク, トウゴクシダベニシダ, サイコクベニシダ, ギフベニシダ, オオベニシダ, スカイタチシダモドキ, スカイタチシダ
-------------------	---

Table IV. Ferns Negative to Cupric Acetate Reaction

<i>Acystopteris</i>	ウスヒメワラビ
<i>Adiantum</i>	クジャクシダ
<i>Angiopteris</i>	リュウビンタイ
<i>Asplenium</i>	トラノオンダ ^{a)} , コウザキシダ, チャセンシダ
<i>Athyrium</i>	ホソバイヌワラビ, イヌワラビ, タニイヌワラビ, ミヤマンケンシダ ^{a)} , キョウタキシダ, ヤマイヌワラビ
<i>Colysis</i>	イワヒトデ
<i>Coniogramme</i>	イワガネゼンマイ, イワガネソウ
<i>Crypsinus</i>	ミツデウラボシ
<i>Ctenitis</i>	キョスミヒメワラビ
<i>Cyathea</i>	クサマルハチ
<i>Cyclosorus</i>	ホシダ
<i>Cyrtomium</i>	オニヤブソテツ, ヤブソテツ
<i>Davallia</i>	シノブ
<i>Dennstaedtia</i>	イヌシダ, オウレンシダ
<i>Dicranopteris</i>	コシダ

4) 原田: 本誌 71, 506(1951).

<i>Diplazium</i>	シマシロヤマシダ ^{a)} , クワレンダ, シロヤマシダ ^{a)} , ミヤマノコギリシダ, ノコギリシダ
<i>Dryopteris</i>	ミヤマイトチシダ ^{a)} , ナガバノイトチシダ ^{a)}
<i>Gleichenia</i>	ウラジロ
<i>Humata</i>	キクシノブ
<i>Hypolepis</i>	イワヒメワラビ
<i>Lastrea</i>	ハリガネワラビ, オオバシヨリマ ^{a)} , ヒメシダ
<i>Lemmaphyllum</i>	マメヅタ
<i>Lepisorus</i>	ノキシノブ
<i>Leptogramma</i>	ミゾシダ
<i>Loxogramme</i>	イワヤナギシダ
<i>Matteuccia</i>	イスガンソク, クサソテツ
<i>Microlepia</i>	フモトシダ
<i>Monachosorum</i>	ヒメムカゴシダ ^{a)}
<i>Neocheiropteris</i>	クリハラシ ^{a)} , ヤノネシダ
<i>Onoclea</i>	コウヤワラビ
<i>Onychium</i>	タチシノブ
<i>Osmunda</i>	ゼンマイ
<i>Phegopteris</i>	ゲジゲジシダ
<i>Phyllitis</i>	コタニワタリ
<i>Plagiogyria</i>	タカサゴキジノオ, オオキジノオ ^{a)} , キジノオシダ ^{a)} , ヤマソテツ ^{a)}
<i>Polypodium</i>	オンジャグジシダ, アオネカズラ ^{a)}
<i>Polystichopsis</i>	ホソバカナワラビ ^{a)} , ナンタイシダ ^{a)} , ナライシダ, シノブカグマ, ハカタシダ, オニカナワラビ, リョウメンシダ
<i>Polystichum</i>	イノデ ^{a)} , ツヤナシイノデ ^{a)} , イノデモドキ, ジュウモンジシダ, ヒメカナワラビ
<i>Pteridium</i>	ワラビ
<i>Pteris</i>	オオバキノモトソウ, アマクサシダ ^{a)} , オオバノハチジョウシダ, イノモトソウ, ナチシダ
<i>Ptilopteris</i>	ヒトツバ ^{a)}
<i>Sphenomeris</i>	ホランシノブ
<i>Struthiopteris</i>	オサシダ ^{a)} , ミヤマシシガシラ ^{a)} , シシガシラ
<i>Vittaria</i>	シシラン
<i>Woodsia</i>	フクロシダ, イワデンダ
<i>Woodwardia</i>	オオカグマ, コモチシダ ^{a)}

a) The ether extract. of these ferns often deposit colloidal precipitate by cupric acetate, but could not be obtained from these water-soluble Mg-salts.

実 験 の 部

メンマエキスの分離 (Chart 1) 1) J.P. VI, Ext. Aspid. の粗フィリチン定量法による. 2) Ext. Aspid. 2 g の petr. benzin (bp 55~70°) 浸出液約 100 cc を分液漏斗に注入し, 5% Cu(AcO)₂ を毎回 50 cc ずつ加えて沈殿の生じなくなるまで繰り返し振り, 沈殿を遠心分離または汜別する. petr. benzin 層は dil HCl と振り水洗, Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒を減圧留去し, 淡褐色油状の (III) 0.8 g を得, 沈殿は dil HCl, Et₂O 各 20 cc と振り Et₂O 層を分取, 水洗, Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒を減圧留去, 褐色エキス状の (IV) 0.3 g を得. 3) Extr. Aspid. 2 g を Et₂O 100 cc にとかし 2) と同様に処理, (V) 1.1 g, (VI) 0.3 g を得.

駆虫試験 試料をオリーブ油にとかし 1.5 mg/0.1 cc 溶液とし, ナナ条虫を寄生させた体重 15~20 g のハツカネズミに 0.15 mg/g, 1 日 1 回連続 2 日間ゾンデを用いて経口投与, 毎回 1~2 hr 後 MgSO₄ の飽和水溶液を 0.01 cc/g 経口投与, 第 3 日に解剖し腸内に生存する条虫の有無を検する.

本研究に当たり御懇篤な御指導と御鞭撻を賜わった京都大学薬学部 木村康一博士, シダ植物の同定について御高教を賜わった京都大学理学部 田川基二博士, 東京教育大学 伊藤 洋博士に深謝致します. また貴重なシダ標本の一部を恵与された静岡薬大 故原田利一博士, 試料植物採集に協力された岡崎市立南中学校 大原準之助氏に感謝します.