紫雲膏の薬学的研究 (第 1 報¹⁾) 紫雲膏の抗菌性について

田中康雄, 小谷 功

近畿大学薬学部²⁾

Pharmacodynamic Study on "Shiunko." I.¹⁾ Antibacterial Effect of "Shiunko"

YASUO TANAKA and TSUTOMU ODANI

Faculty of Pharmacy, Kinki University²⁾

(Received June 4, 1971)

"Shiunko" is an old Japanese medicinal prescription and is an effective purple ointment from *Lithospermi* (or *Macrotomia*) *Radix*, *Angelicae Radix*, *Oleum Sesami*, *Cera Flava*, and *Adeps Suillus*. This ointment have been used for suppurative skin diseases such as eczema, haemorrhoids, pimple, dermatophytosis, callus.

Antibacterial substances in "Shiunko" were found to be coloring compounds contained in "Nanshikon" (a kind of Shikon). These compounds were extracted and isolated. Five naphthoquinone derivatives, β,β -dimethylacryl-shikonin (II), acetyl-shikonin (III), teracryl-shikonin (IV), shikonin (V), and β -hydroxyisovaleryl-shikonin (VI) were obtained and their antibacterial action tested. All the pigments inhibited the growth of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Sarcina lutea*, but not that of *Escherichia coli*.

紫雲膏は華岡青洲の春林軒膏方便覧³⁾に「潤肌膏春林軒号紫雲」と記載されている軟膏であるが、これは青洲が中国明代の外科正宗⁴⁾に記載されている潤肌膏⁵⁾をもとにして改良したもので、紫根、当帰をゴマ油、ミツロウ、豚脂の基剤で加熱抽出して製造される。⁶⁾ 青洲は紫雲膏の適応疾患について春林軒膏方便覧に「禿瘡乾枯白斑為痒毛髮脱落手足破裂等又は膏瘡或ハイヤシに用ユ」と述べ、頭部浅在性白癬、ひび、あかぎれ、膏薬かぶれなどに応用した。

また青洲の弟子の本間棗軒⁷⁾は紫雲膏の薬効を「肌肉ヲ潤シ疼痛ヲ止メ肉ヲ長ズ」と述べ、「湯瀝火焼」の応用処方としてもその効果を認め、当時すでにやけどにも使用していたと思われる。

現在では多くの漢方医書に紫雲膏の治験例が記載され、湿疹、角皮症、水虫、うおの眼、たこ、にきびなどの皮膚疾患、切り傷、火傷、すり傷などの外傷および痔などにも応用されている。

このように紫雲膏は昔から臨床的に多面にわたり効果のあることが知られているが、現在までその効果を裏付ける科学研究がほとんど行なわれていない。筆者らはこの解明のため、先ず紫雲膏の抗菌試験を行なったところ、若干の抗菌性を認めたので、これを基盤に実験を行ない抗菌性物質が確認できたので報告する。

1. 紫雲膏および原料生薬の抗菌試験

実験材料には市販品を用いたが、当帰は北海当帰、紫根は中国産軟紫根⁸⁾を用いた。

抗菌性物質の検索を目的としているため、紫雲膏の製造過程を考慮して次の検体をつくり、それぞれについて *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* を被検菌として paper disk 法により実験を行なった。

1) 日本薬学会 90 年会で発表, 札幌, 1970 年 7 月.

2) Location: Kowakae 321, Higashiosaka, Osaka.

3) 華岡青洲, "春林軒膏方便覧," 1835, p. 25.

4) 陳 実功, "外科正宗," 卷之四, 1617.

5) 潤肌膏の処方: 麻油 4 両, 当帰 5 銭, 紫草 1 銭, 黄蠟 5 銭.

6) 渡辺 武, 後藤 実, 日本東洋医学会誌, 5, 19 (1955).

7) 本間棗軒, "瘍科秘録," 卷之五, 1847.

8) 紫根は現在市場には和紫根, 中国産硬紫根, 中国産軟紫根の 3 種存在し, 実験に用いたのは中国産軟紫根で *Macrotomia euchroma* (ROYLE) PAULS (= *Lithospermum euchromum* ROYLE) と思われるが, 現状では決定し難いので軟紫根と記すことにする.

1) 紫雲膏

2) 軟紫根のゴマ油抽出液

- a. 軟紫根 10.0 g をゴマ油 (局方品) 50 ml で 36 時間冷浸した液
- b. 軟紫根 2.0 g をゴマ油 20 ml で 120—130°, 5 分間抽出した液
- c. 軟紫根 2.0 g をゴマ油 20 ml で 180°, 4 分間抽出した液

3) 当帰のゴマ油抽出液

当帰 (北海当帰) をゴマ油 20 ml で 125—130°, 5 分間抽出した液

4) ゴマ油

- a. 無処理のゴマ油
- b. ゴマ油を 160°, 1 時間加熱したもの

5) ミツロウ (局方品)

6) 豚脂 (局方品)

その結果紫雲膏 1) および軟紫根のゴマ油抽出液 2) a—c のいずれにも抗菌性が認められ、紅色の濃い戸紙ほど細菌の阻止帯が大きく、当帰のゴマ油抽出液 3), ゴマ油 4) a—b, ミツロウ 5), 豚脂 6) の検体には全く抗菌性が認められなかった。したがって紫雲膏中の抗菌性物質は軟紫根中に含まれる紅色色素であろうと推定した。

2. 軟紫根中の抗菌性物質の単離

紫根の中で和紫根すなわちムラサキ *Lithospermum officinale* L. var. *erithrorhizon* MAXIM. の根について黒田ら⁹⁾ は acetyl-shikonin (III), shikonin (V) を分離し、その構造を明らかにしている。また森本らは *Lithospermum erithrorhizon* SIEB. et ZUCC. からこれら以外に isobutyl-shikonin (I), β,β -dimethylacryl-shikonin (II)¹⁰⁾

Chart 1

Chart 2. Fractionation of the Colouring Compounds from Nanshikon

Nanshikon: market name of one kind of "Shikon" and has been considered to be the root of *Macrotomia euchroma* (ROYLE) PAULS (*Lithospermum euchromum* ROYLE).

- 9) T. Majima, C. Kuroda, *Acta Phytochem.*, **1**, 43, (1922); H. Brookmann, *Ann.* **521**, 1, (1936).
- 10) I. Morimoto, T. Kishi, S. Ikegami, Y. Hirata, *Tetrahedron Letters*, **52**, 4737, (1965).

TABLE I. General Aspects of Coloring Compounds in Nanshikon

Comp.	Yield (%)	Character	mp (uncorr.)	mp (in liter.)	Liter.
It	0.004	reddish violet needles	89—90°		a)
(I)				89—90°	10)
II	1.7	reddish violet plate	113.5—114°	113—114°	10)
III	0.5	reddish violet needles	107—108°	85—86°	9)
				107—108°	b)
IV	0.25	dark violet oil			11)
V	0.09	dark violet needles	147—147.5°	147—149°	10)
VI	0.07	reddish violet needles	90—91°	90—92°	11)

a) Melting points of It and I are same but their IR absorbance are not identical.

b) Melting point of III is identical with the sample presented from Dr. Ichiro Morimoto and mixed melting point have no depression.

および β -hydroxyisovaleryl-shikonin (VI)¹¹⁾ を単離し、さらに *Macrotomia euchroma* (ROYLE) PAULS の根から teracryl-shikonin (IV)¹¹⁾ を単離しており、これらの化合物はすべて紅紫色から暗紫色を呈する naphthoquinone 系色素で、それぞれの構造を決定している (Chart 1).

これらの色素を単離するため、まず軟紫根のベンゼン抽出液を Chart 2 に従い分離、精製し、それぞれ単一の 6 種色素化合物を得た (IV は結晶化しない). I は森本ら¹⁰⁾ により isobutyl-shikonin とされているが、ここに単離した化合物は同一融点であって、同一フラクションから得られるが、紫外線吸収スペクトル (UV) 赤外線吸収スペクトル (IR) とともに異なる点が認められるので、異物質と考えるが試料僅少のため精査していない (以下ここに得られた物質を一応 It とする). II—VI については mp, IR および 薄層クロマトグラフィー (TLC) から文献記載と一致し、それぞれ同一化合物であることを確認した (Table I).

紫雲膏をクロロホルムに溶解させ、TLC でシクロヘキサンにより展開すると R_f 値の高い油脂類と R_f 値の低い紅色色素および原点にとどまる暗紫色の物質に分離する. この色素と原点の呈色部分をかきとり、シリカゲルが白色になるまでクロロホルムで抽出した後、再び TLC でクロロホルム展開すると 6 個の赤紫色から紫色のスポットに分離し、原点には暗色の物質がとどまった.

次に軟紫根のベンゼン抽出液を上記と同様にクロロホルムで展開すると、呈色物質は紫雲膏の場合と全く同様に 6 個のスポットと原点部分の物質に分離する. またこれらのスポットは単離した色素成分 It—VI を同時に展開すれば、Fig. 1 に示される順序に分布することがわかった.

単離した 6 種の色素成分と軟紫根のベンゼン抽出物のメタノール不溶部 (Chart 2 中の frac. A) および n -ヘキサン不溶部 (Chart 2 中の frac. B) について *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* を被検菌とし、paper disk 法によって抗菌試験を行なった. その結果 It—VI の各化合物はすべて抗菌性を示したが、frac. A および frac. B はともに抗菌性を示さず、このことから紫雲膏中の抗菌性物質は主に naphthoquinone 系色素であることを確認した (Table II).

Fig. 1. TLC of Benzene Ext. of Nanshikon
mobile phase: chloroform on silica gel G (Merck)

11) I. Morimoto, Y. Hirata, *Tetrahedron Letters*, 31, 3677 (1966).

TABLE II. Anti-bacterial Test on Coloring Compounds and Fractions of Nanshikon by Paper Disk Method

\concent. mg/ml comp.	Bacteria									
	<i>Staphylococcus aureus</i>					<i>Bacillus subtilis</i>				
	1.0	1.25	2.5	5.0	10.0	1.0	1.25	2.5	5.0	10.0
It	-2	-2	-2	-2	-2	±	±	±	±	±
II	-1	-1	-2	-2	-2	±	±	±	±	±
III	-3	-3	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-2	-2
IV	/	-2	-2	-2	-2	/	-2	-2	-2	-2
V	+1	+1	-1	-1	-1	±	±	±	±	±
VI	-3	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-1	-1
Frac. A	/	/	/	+1	+1	/	/	/	+1	+1
Frac. B	/	/	/	+1	+1	/	/	/	+1	+1

-3: remarkable inhibition

-2: inhibition

-1: slight inhibition

±: slight growth

+1: growth

frac. A: confer Chart 2

frac. B: confer Chart 2

3. 軟紫根中の各色素の抗菌力検定

岡崎ら¹²⁾は紫根のアセトン抽出エキ스가 *Staphylococcus aureus* TERASHIMA に対する抗菌性を有することを認め、稲垣ら¹³⁾は各種の病原菌、化膿菌、腐敗菌に対する V の抗菌力を報告しているが、筆者らはここに分離できた各色素について抗菌力の検定を行なうため、次の実験を行なった。

抗菌試験は II—VI について行ない、被検菌は *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli* を用い稀釈法を応用した。It は軟紫根中にはごく少量しか存在しなかったので今回は検定しなかった (Table III-A, Table III-B, Table IV)。

TABLE III-A. Anti-Bacterial Test of Coloring Compounds in Nanshikon (by dilution method in solid media)

Concent. μg/ml comp.	Bacteria													
	<i>Bacillus subtilis</i>							<i>Staph. aureus</i>						
	75	100	125	250	500	CoA	CoB	75	100	125	250	500	CoA	CoB
II	+2	+2	±	—	—	+2	+2	+2	+2	+1	±	—	+2	+2
II	+2	+1	—	—	—	+2	+2	+1	±	—	—	—	+2	+2
IV	+2	+2	—	—	—	+2	+2	+2	+2	+1	—	—	+2	+2
V	+2	+1	—	—	—	+2	+2	+2	±	—	—	—	+2	+2
VI	+2	+1	±	—	—	+2	+2	+1	+1	±	—	—	+2	+2

Concent. μg/ml comp.	Bacteria											
	<i>Sarcina lutea</i>						<i>Escherichia coli</i>					
	25	50	75	100	125	250	CoA	CoB	500	1000	CoA	CoB
II	+2	+2	±	±	—	—	+2	+2	+2	+2	+2	+2
III	+2	+1	—	—	—	—	+2	+2	+2	+1	+2	+2
IV	+2	+2	+1	—	—	—	+2	+2	+2	+2	+2	+2
V	+2	—	—	—	—	—	+2	+2	+1	±	+2	+2
VI	+2	+2	+1	±	—	—	+2	+2	+2	+2	+2	+2

12) 岡崎寛蔵, 加藤 宏, 若田部武男, 薬誌, 71, 101 (1951).

13) 稲垣 勲, 山崎 (神田) 光恵, 高橋 (勝見) 章子, 大江和子, 柴田 (松村) 聡子, 高田ソノ, 名古屋市立大学研究年報, 15, 27 (1967).

TABLE III-B. Estimation of Bacterials by Anti-Bacterial Test of Penicillin G Potassium (by dilution method in solid media)

Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>							
concent. U/ml	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5	10	CoA
	+2	+2	+2	+2	—	—	—	+2
Bacteria	<i>Sarcina lutea</i>							
concent. U/ml	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5	10	CoA
	—	—	—	—	—	—	—	+2
Bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>							
concent. U/ml	1000	1250	2500	5000	10000	20000		CoA
	+2	—	—	—	—	—	—	+2
Bacteria	<i>Escherichia coli</i>							
concent. U/ml	1000	1250	2500	5000	10000	20000		CoA
	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2

+2 : remarkable growth
 +1 : growth
 ± : slight growth
 — : no growth

CoA (Control A): solid media
 CoB (Control B): solid media contained 10% acetone
 Penicillin G potassium: produced in Banyu Seiyaku K.K.

TABLE IV. Minimum Inhibiting Concentration

Bacteria	Compounds					Penicillin G potassium
	II	III	IV	V	VI	
<i>Bacillus subtilis</i>	250 µg/ml	125	125	125	250	1250 U/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	125	250	125	250	1.0
<i>Sarcina lutea</i>	125	75	100	50	125	<0.01
<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>20000

この結果 III および V は *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* に対し他に勝る抗菌性を示したが、軟紫根中には V に比べ III が多量含有されているため、紫雲膏中の抗菌作用は V よりも III によるところが大きいと考えられる。また II の抗菌力は V および III に比べてやや劣るが、軟紫根中には最も多量含有されているため、紫雲膏中の抗菌作用に大いに寄与していると思われる。また *Escherichia coli* に対しては抗菌性は認められなかった。

結 論 お よ び 考 察

昔より効果が高いと称されている紫雲膏について、ほとんど科学的解明が行なわれていなかった現在、抗菌性のあることが認められ、抗菌性物質が軟紫根に存在し、その化合物が確認できたことははなはだ意義のあることと考える。軟紫根から β , β -dimethylacryl-shikonin, acetyl-shikonin, teracrylshikonin, shikonin, β -hydroxyisovaleryl-shikonin が単離され、そのすべてに抗菌性が認められたが、その中 shikonin が最も高い値を示した。しかし他の色素成分もそれほど低い値ではなく、紫雲膏中に含有される量から考えれば、むしろ acetyl-shikonin および β , β -dimethylacryl-shikonin にその有効性が高いと考えざるを得ない。

これら色素化合物の抗菌力は 50—500 µg/ml の範囲の濃度で有効なのであるが、紫雲膏中に含まれる色素含有率は 0.1—0.2% であり、有効量の 2—40 倍の濃度であるため、充分臨床的に抗菌作用は認められると思われる。しかも皮膚面の疾患であるため薬剤の患部への直接接触が効果を確実にするものといえよう。

実 験 の 部

実験材料

- 1) 中国産軟紫根：1969 年 12 月横内製薬株式会社から入手
- 2) 北海当帰（大和産）：1969 年 12 月横内製薬株式会社から入手
- 3) ゴマ油（局方品）：丸石製薬株式会社製造品、1969 年 12 月入手
- 4) ミツロウ（局方品）：1969 年 12 月八洲薬品株式会社から入手
- 5) 豚脂（局方品）：1969 年 12 月八洲薬品株式会社から入手

紫雲膏の製法 ゴマ油 20 ml を 150—160°, 1 時間加熱し、ミツロウ 7.6 g, 豚脂 0.5 g を加えて溶解した

後、当帰 2.0 g を加え 145—155°, 15 分間抽出し、ガーゼで残渣を濾去する。この濾紙で紫根 2.0 g を 120—130° で 5 分間抽出し、ガーゼで残渣を濾去後、濾液が固まるまで攪拌して軟膏とする。

軟紫根から Naphthoquinone 系色素の単離 粗切した軟紫根 500 g をベンゼン 3 liter で 24 時間、室温に放置して、3 回抽出し、減圧濃縮してエキスを 35 g を得る。このエキスをメタノールを加え可溶部と不溶部 (10.5 g) に分離する。可溶部を減圧濃縮してメタノールを留去し、このエキスを *n*-ヘキサンを加え可溶部と不溶部 (5.5 g) に分離する。可溶部から *n*-ヘキサンを留去し、naphthoquinone 系色素の混合物 17 g を得る。その 3 g をシリカゲル (0.08 mm Merck 製) を充填した直径 5 cm のカラムでクロロホルムで展開する。濾過紫外線による蛍光および TLC によるスポットを指標にして、次の順序にしたがって 8 フラクシオンを得る。フラクション: It+II, II, II+III, III, III+IV, IV, V, V+VI. さらに It+II, III+IV, V+VI のフラクションは直径 2 cm のカラムで、II+III のフラクションは直径 3 cm のカラムで再度展開し、それぞれ It—VI の単一溶液を得て、先の単一フラクションに合す。各色素の粗エキスを、It: 0.06 g, II: 10.4 g, III: 3.1 g, IV: 1.45 g, V: 0.75 g, VI: 0.55 g, 各粗エキスを *n*-ヘキサンから再結晶を繰返し、それぞれ単一物質を得た。

It: mp 89—90° 紫紅色針状結晶, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1603, 1450, 754. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 215, 276. VL $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 483, 513, 550. 収率 0.004%. 文献記載¹⁰⁾ の isobutyl-shikonin の TLC とほぼ同一スポットを示し, mp 89—90° に一致したが, 文献上の IR^{10,14)} UV^{10,14)} とともに一致しない故, 異物質と認定した。

β , β -Dimethylacryl-shikonin (II): mp 113.5—114° 紫紅色盤状結晶. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3430, 1780, 1612, 1455, 760. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 215, 278, (3.90) VL $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 488, 519, 559. 収率 1.7%. 融点, IR, UV, TLC とともに文献記載¹⁰⁾ の β , β -dimethylacryl shikonin C₂₁H₂₂O₆ に一致し同一物質であると認定した。

Acetyl-shikonin (III): mp 107—108° 紫紅色針状結晶. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3450, 1730, 1603, 1450, 798. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 215, 276, (3.17) VL $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 491, 522, 562 収率 0.5%. 本品は文献上⁹⁾ mp 85—86° と記されているが, 森本氏より分与頂いた標品と混融し, mp 107—108° で全く降下せず, また TLC, IR, UV とともに一致し acetyl-shikonin C₁₈H₁₈O₆ と認定した。

Teracryl-shikonin (IV): 濃紫色油状物質, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1735, 1605, 1445, 1150, 780 VL $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 485, 515, 553. 収率 0.25%. 本品は文献¹¹⁾ 上 teracryl-shikonin C₂₃H₂₆O₆ の IR と一致したので同一物質と考定した。

Shikonin (V): mp 147—147.5° 青紫色針状結晶. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1607, 1566, 1443, 1110, 770. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 215, 276, (3.48). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 485, 516, 554. 収率 0.09%. 本物質は文献上¹³⁾ shikonin C₁₆H₁₆O₅ の融点 IR, UV 共に一致し, 同一化合物と判定した。

β -Hydroxy-isovaleryl-shikonin (VI): mp 90—91°, 紫紅色針状結晶. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3470, 1730, 1605, 1450, 1115, 780. VL $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 485, 515, 553. 収率 0.07%, 本品は文献上¹¹⁾ の β -hydroxy-isovaleryl-shikonin C₂₁H₂₄O₇ の融点, IR 共に一致し, 同一物質と判定した。

抗菌試験 *Bacillus subtilis* 北研, *Staphylococcus aureus* TERASHIMA, *Escherichia coli* 行俊 B 以上 3 菌株は 1970 年 4 月大阪府立衛生研究所から, *Sarcina lutea* RIMD 3232 は 1970 年 7 月大阪大学微生物病研究所から分与して頂き, これらを被検菌とした。

1. Paper Disk 法——上層培地: ペプトン 10 g, 肉エキス 5 g, NaCl 2.5 g を水 1000 ml に溶解し, これに寒天 10.0 g を加えて溶解させた後, 1% NaOH で pH 7.2—7.4 に調整したもの。

下層培地: 上層培地の寒天量を 20 g に増量したもの。

検定操作: 170°, 30 分乾熱滅菌した内径 90 mm のシャーレに下層培地を入れすばやく平にする。培地が固まった後上層培地 4 ml を 50° に保ち, 試験菌を 1 白金耳接種し, さきの下層培地の上に移してすばやく平にする。上層培地の固まった後あらかじめ検体を浸透させた直径 6 mm の円形濾紙を培地上にのせ, 37° の恒温器に入れ 1 時間後濾紙をとりおきのぞき, 37° 18 時間培養後の阻止帯を観察する。

2. 固体培地希釈法——菌液の調製: 被検菌を肉エキスブイヨン (肉エキス 10 g, ペプトン 10 g, NaCl 2.0 g を蒸留水 1000 ml に溶解させ, pH 7.2—7.4 としたもの) に 1 白金耳ずつ接種し, 37°, 18—24 時間培養する。

培地: 普通寒天培地 (pH 7.2—7.4)

検液のつくり方: 各色素をアセトンに溶解し, それぞれ 10.0 mg/ml, 5.0 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1.25 mg/ml, 1.0 mg/ml, 0.75 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml の検液を作成する。

検定操作: 170°, 30 分乾熱滅菌した外径 12 mm 高さ 75 mm の試験管に, あらかじめ加熱溶解しておいた培地 0.9 ml を入れ, オートクレーブで 121°, 20 分滅菌する。この培地が固まる直前に各色素の各濃度の検液 0.1 ml を加えてよく混和する。培地が固まった後, 菌液をピペットで 1 滴ずつ滴下し, 37° の恒温器で 18 時間培養後, 菌の発育の程度を肉眼的に判定する。なお対照は培地のみと培地にアセトンを 10% の割合で加えたものとしたが, アセトンを加えても菌の生育に影響は認められなかった。

謝辞 本研究を行なうにあたり acetyl-shikonin の標品を分与下された岐阜大学理学部の森本一郎博士, 多くの細菌を頂き有益な御助言を下された大阪府立衛生研究所 北浦敏行博士, 紫根について御助言を頂いた武田薬品工業株式会社 後藤 実博士, 宮下三郎博士, 植物学名について説明頂いた富山大学と漢薬研究施設 難波恒雄博士, 細菌を分与頂いた大阪大学微生物病研究所に併せて厚く御礼申し上げる。

14) Isobutyl-shikonin の IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1735, 1610, 1450, 760, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 273 m μ と記載されている。