

| | |
|------------------|---|
| Title | バクモンドウの水溶性糖質(第1報) : 単糖類および少糖類の単離と定量 |
| Sub Title | Water-soluble carbohydrates of ophiopogonis tuber. I. : isolation and determination of monosaccharides and oligosaccharides. |
| Author | 友田, 正司(Tomododa, Masashi) 加藤, 祥子(Katō, Shōko) |
| Publisher | 共立薬科大学 |
| Publication year | 1966 |
| Jtitle | 共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.11 (1966.) ,p.6- 9 |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | |
| Genre | Technical Report |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000011-0006 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

バクモンドウの水溶性糖質(第1報) 単糖類
および少糖類の単離と定量*

友田正司, 加藤祥子

Water-soluble Carbohydrates of *Ophiopogonis* Tuber. I.
Isolation and Determination of Monosaccharides
and Oligosaccharides.

Masashi TOMODA and Shôko KATO

The water-soluble substances of the tuberous roots of *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawler var. *genuinus* Maximowicz were obtained in 92% yield of the dry crude drug. The water-extract was fractionated by the chromatography on a column of charcoal-Celite, and D-glucose, D-fructose, sucrose and the other five oligosaccharide fractions were obtained. The carbohydrates have been examined by the use of paper partition chromatography and gas-liquid chromatography. D-Glucose, D-fructose and sucrose were identified respectively as D-glucose benzylphenylhydrazone, D-fructose methylphenyllosazone, and sucrose octaacetate. The obtained all oligosaccharides were non-reducing glucofructan. The results of quantitative determinations of the monosaccharides and oligosaccharides showed that the water-extract contains 9.1% of D-glucose, 6.7% of D-fructose, 4.8% of sucrose and 56.7% of the other oligosaccharides.

ジャノヒゲ *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawler var. *genuinus* Maximowicz (*Liliaceae*) の塊根を乾燥調製したバクモンドウ *Ophiopogonis* Tuber は、滋養強壯薬、粘滑薬として煎剤が用いられる。この成分に関しては竹本、米谷¹⁾により、D-glucose と β -sitosterol の存在が明らかにされているのみである。著者らは、本生薬の水溶性部分の過半が糖質で構成され、単糖類として D-glucose の他に D-fructose が存在することを確認し、二糖類の sucrose と、D-fructose および D-glucose を構成糖とする相当多量の少糖類も分離して、単糖類、二糖類、および他に得られた少糖類構成糖の確認と、単糖類および少糖類の定量を行なった。

抽出は試料の 10 倍量の水で加熱して行なったが、滷過残留物についてさらに同様抽出をくり返し、計 3 回の抽出液の還元糖を定量した結果、第 1 回抽出液中の還元糖量は 3 回の合計還元糖量に対して 88% の収率で得られた (Table 1)。試料に吸着された水の損失を考慮すると、この結果は第 1 回抽出でほぼ完全に還元糖の溶出が行なわれたことを示しており、また後述のごとく他に得られた非還元性少糖類もいずれも水に易溶なので、それらの抽出能率も還元糖と同様と推定できる。以上の理由から第 1 回抽出液を用いて以下の分画を行なった。以下に記す糖定量値は第 1 回水抽出で得られた総抽出物に対する値である。

抽出液を減圧濃縮し 4 倍容のメタノールを加えて生じた極少量の沈澱を除き、カラムクロマトグラフィーの試料とした。この試料のガスクロマトグラフィーによる分析結果では、単糖類および少糖類構成糖として D-fructose および D-glucose のみが検出され、glycerol も見出された。

* 生薬学雑誌, 20, 12 (1966) に発表。

1) 竹本, 米谷, : 薬学研究, 29, 698 (1957)。

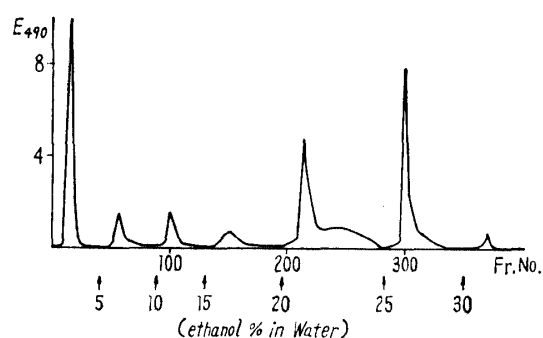


Fig. 1. Chromatograms on charcoal-Celite

活性炭・セライトのカラムクロマトグラフィーによる水溶出部からは、D-glucose および D-fructose, 5%エタノール溶出部から sucrose が沱紙クロマトグラフィーにより検出され、それぞれ D-glucose benzylphenylhydrazone, D-fructose methylphenylosazone および sucrose octaacetate として確認し、また 10~30% エタノールで溶出された数分画は、それら自体 および加水分解物の沱紙クロマトグラフィーと誘導体合成によって、いずれも D-fructose および D-glucose を構成糖とする少糖類であると推定されるが、それ以上のエタノール濃度では糖は溶出されなかった。カラムクロマトグラフィーの水溶出部からは沱紙およびガスクロマトグラフィーにより glycerol も検出された。生薬の水抽出物から得られた各糖質の定量結果は、D-glucose 9.1%, D-fructose 6.7%, sucrose 4.8%, 他の少糖類 56.7% で、この多量の少糖類が単糖類とともに生薬の滋養強壮薬としての効果 および粘滑薬としての性質に関係があると考えられる。Sucrose 以外の少糖類分画は沱紙クロマトグラフィーで展開方向に細長いスポットを示し、各部とも数個の少糖類混合物と思われるが、マルトデキストリンの活性炭・セライトによるカラムクロマトグラフィーにおける展開溶媒のエタノール濃度と溶出される糖重合度の関係²⁾ および maltohexaose の R_{Glc} 値 (Table II) と比較すると、量的に多くを占める少糖類の重合度は 5~9 であろうと推定される。少糖類はいずれも非還元性であり、抽出による二次的産物ではない。

第1回水抽出により生薬乾燥量の 80% が溶出され、計3回で 92% が抽出された。この結果は既述の還元糖定量による抽出効果推定が正しいことを裏付けるもので、単糖類および少糖類の含有量は生薬乾燥全量の 71.1% に達し、sucrose 以外に著者らが得た少糖類のみでも生薬乾燥全量の過半を占める。このような多量の少糖類の存在は天然物化学の見地からも興味深い。

実 験 の 部

抽 出： バクモンドウ*² の乾燥粉末 10 g に水 100 ml を加え、沸騰水浴中で1時間加熱し、吸引沱過、沱液 91 ml を得、残留物 (乾燥量 2 g) にさらに水 100 ml を加え同様の抽出を2回行なった。最終残留物乾燥量は 0.8 g、各抽出液中の還元糖の定量結果を Table I. に示す。ジニトロフタル酸法³⁾ および次亜ヨウ素酸法⁴⁾ による定量値から D-glucose と D-fructose の量を算出した。

カラムクロマトグラフィー： 第1回抽出液を 1/4 容に減圧濃縮し、メタノール 4 倍容を加えて生じた沈澱

*² 大阪府三日市産、1964年4月下旬~5月上旬採集の長麦、中井広進堂 (神戸) より購入

2) W. J. Whelan, J. B. Bailey, P. J. P. Roberts: J. Chem. Soc., 1953, 1293.

3) 百瀬, 向井, 河辺, 鈴木, 山本: 分析化学, 11, 956 (1962).

4) 友田: 薬誌, 80, 1696 (1960).

Table I. Quantitative determination of reducing sugars in water extracts. (Yields)

| | D-glucose | D-fructose |
|--------------------|-----------|------------|
| the first extract | 728 mg | 537 mg |
| the second extract | 79 mg | 65 mg |
| the third extract | 19 mg | 17 mg |

(0.1 g) を分別後減圧濃縮してメタノールを除いた液を、活性炭^{*3}・セライト 535 (1:1, 4×22 cm) のカラムを用いてエタノール濃度を段階的に増した溶出液で 20 ml ずつ分画, フェノール・硫酸法⁵⁾により糖量を測定 (E at 490 mμ) して糖溶出を検出. Fig. 1, fraction No. 12~25, 53~80, 81~127, 128~183, 195~278, 290~330, 356~368 の各部をそれぞれ減圧濃縮乾燥し, Frac. 1~7 とした. Frac. 1 は無色シロップ, 2~7 は水に易溶の白色粉末として得られた.

沱紙クロマトグラフィー: 東洋沱紙 No. 51 を使用, 一端より 3 cm を原点として上昇法で約 25 cm 展開, ベンジジン・酢酸試薬⁶⁾ で検出, 結果を Table II に示す. 展開溶媒は 1. n-Butanol: pyridine: water (5:3:1), 2. n-Butanol: pyridine: water (1:1:1), 3. Phenol: water (5:1).

Table II. R_{G10} values of standard carbohydrates and obtained fractions.

| | Solvent 1. | Solvent 2. | Solvent 3. |
|--------------|------------|------------|------------|
| D-fructose | 1.13 | 1.04 | 1.45 |
| D-glucose | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| sucrose | 0.77 | 0.91 | 1.04 |
| raffinose | 0.27 | 0.73 | 0.78 |
| maltohexaose | 0.03 | 0.45 | 0.27 |
| Frac. 1 | 1.13, 1.00 | 1.04, 1.00 | 1.45, 1.00 |
| Frac. 2 | 0.77 | 0.91 | 1.04 |
| Frac. 3 | 0.65~0.27* | 0.91~0.85* | 1.02~0.56* |
| Frac. 4 | 0.27~0.09* | 0.77~0.70* | 0.56~0.25* |
| Frac. 5 | 0.04 | 0.58~0.33* | 0.10~0.02* |
| Frac. 6 | 0.02 | 0.29~0.17* | 0.01 |
| Frac. 7 | 0.01 | 0.26~0.14* | 0.00 |

* (These spots lengthened.)

Frac. 3~7 は 0.5 N-H₂SO₄ と沸騰水浴中 1 時間加熱後 BaCO₃ で中和して加水分解物を得, 同様の沱紙クロマトグラフィーでいずれも D-glucose および D-fructose に相当するスポットを検出した. Glycerol 検出には過ヨウ素酸・過マンガン酸塩試薬⁷⁾ を用いた. (R_{G10}: solvent 1, 1.92: solvent 3, 2.56).

ガスクロマトグラフィー: 水抽出物の 80% メタノール可溶部乾燥物を 0.5% HCl 含有メタノールで 60°, 2 時間処理してメタノリシス後 TMS 化⁸⁾ し, 10% SE-30 on Chromosorb W (1 m, at 200°C) により日立昇温ガスクロマトグラフ F6D を用いて検出, クロマトグラムを Fig. 2 に示す.

誘導体の合成: Frac. 1, 2 および Frac. 3~7 の加水分解物をそれぞれ東洋沱紙 No. 50 につけ, n-

*3 和光純薬製クロマトグラフ用を酢酸で加熱前処理して使用.

5) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith: Anal. Chem., 28, 350 (1956).

6) J. S. D. Bacon, J. Edelman: Biochem. J., 48, 114 (1951).

7) R. U. Lemieux, H. F. Bauer: Anal. Chem., 26, 920 (1954).

8) T. Yamakawa, N. Ueta: Japan. J. Exp. Med., 34, 37 (1964).

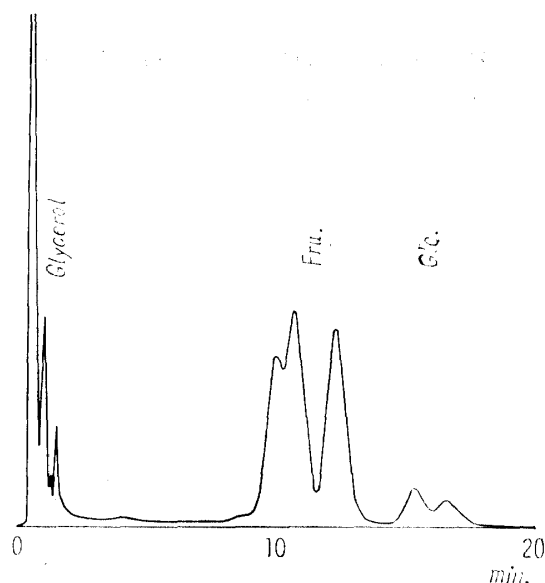


Fig. 2. Gas-chromatogram of TMS-methyl glycosides.

Butylacetate : acetic acid : ethanol : water (3 : 2 : 1 : 1) を展開溶媒とする 沓紙クロマトグラフィーで得た糖部を 50%メタノールで抽出し、各部について次の誘導体合成を行なった。

D-glucose : 試料 250 mg を用いてベンジルフェニルヒドラジンと反応させ⁹⁾, D-glucose benzylphenylhydrazone 130 mg を得、稜柱状晶, m.p. 160°, 別に合成した標品と混融して融点降下せず。

D-fructose : 試料 180 mg を用いてメチルフェニルヒドラジンと反応させ¹⁰⁾, D-fructose methylphenyl-osazone 150 mg を得、黄色針状晶, m.p. 154° (decomp.), 別に合成した標品と混融して融点降下せず。

sucrose : 試料 250 mg を用いてピリジンおよび無水酢酸によりアセチル化し¹¹⁾, sucrose octaacetate 280 mg を得、針状晶, m.p. 86°, 別に合成した標品と混融して融点降下せず。

少糖類の定量 : 各分画の総糖量をアントロン法¹²⁾によって定量し、加水分解後ジニトロフタル酸法³⁾および次亜ヨウ素酸法⁴⁾により D-fructose および D-glucose の構成比を算出した。結果を Table. III に示す。

Table III. Quantitative determination of oligosaccharide fractions in water extract.

| | Yield (mg.) | Carbohydrate (%) | molar ratio of Fru. to Glc. (Fru : Glc) |
|-------------------|-------------|------------------|---|
| Frac. 2 (sucrose) | 418 | 92.5 | 1 : 1 |
| Frac. 3 | 394 | 90.7 | 3.5 : 1 |
| Frac. 4 | 412 | 89.0 | 3.6 : 1 |
| Frac. 5 | 2678 | 92.2 | 5.9 : 1 |
| Frac. 6 | 1337 | 92.9 | 4.8 : 1 |
| Frac. 7 | 102 | 91.2 | 3.9 : 1 |

9) A. Hoffmann : Ann., **366**, 277 (1909).

10) C. Neuberger, I. Mandl : Arch. Biochem., **11**, 451 (1946).

11) C. S. Hudson, J. M. Johnson : J. Am. Chem. Soc., **37**, 2753 (1915).

12) T. A. Scott, Jr., E. H. Melvin : Anal. Chem., **25**, 1656 (1953).