

Title	単糖類のセルロース薄層クロマトグラフィー
Sub Title	Cellulose thin-layer chromatography of monosaccharides.
Author	友田, 正司(Tomododa, Masashi)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1967
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.12 (1967.) ,p.19- 21
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000012-0019

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.

単糖類のセルロース薄層クロマトグラフィー*

友田 正 司

Cellulose Thin-layer Chromatography of Monosaccharides.

Masashi TOMODA

Separation of monosaccharides was attempted by thin-layer chromatography over cellulose, using various solvents and the results obtained are listed in Table I. The most effective procedure for general analysis of monosaccharides was found to be the combined use of a solvent system of butanol-pyridine-acetic acid-water (10 : 6 : 1 : 3), ethyl acetate-pyridine water (10 : 3 : 2), or ethyl acetate-isopropanol-pyridine-water (7 : 3 : 2 : 2) with phenol-1% ammonia water (2 : 1).

単糖類の定性分析には沔紙クロマトグラフィーが常用され、近年はガスクロマトグラフィーの応用も盛んに行なわれており、これらの手段は定量分析にも用いられている。一方、薄層クロマトグラフィーは分析手段として迅速、簡便、鋭敏な長所を有し、糖類に対しても多くの応用例があるが、遊離単糖類のごとき水溶性の高い物質の分離には固定相としてセルロースまたは Kieselgur が適している。^{1,2)}セルロースは結合剤を必要とせず、作成された薄層は極めて安定で扱い易い利点もあり、近年糖類の分析に用いた報告が増加してきたが、^{2~7)}対象の糖の種類および展開溶媒の検討は必ずしも十分ではない。

本報では、通常天然に遊離または多糖類、少糖類、配糖体、糖タンパク質などの構成糖として見出される 14 種類の単糖類について、従来報告されたものを含め約 40 種の展開溶媒によるセルロース薄層クロマトグラフィー（上昇法）を行なった結果について報告する。比較的良好な結果が得られた展開溶媒による各糖の Rf 値を Table I に示す。

糖の構造と Rf 値の関係は全般に沔紙クロマトグラフィーと同様であるが、それより良く分離され、一般にやや Rf 値は高い。展開溶媒 F および I は多くの単糖類の相互分離の目的に適當であるが、スポットがやや拡がり易く、特に Rf 値の高い糖はその傾向が大きい。一般に酢酸エチルまたはアセトン含量の多いもの、およびギ酸を含む溶媒ではスポットが拡がり易い。D を用いた場合は見かけ上の Rf 値の差は前述の両溶媒ほどではないがスポットのまとまりが良く、広範囲の単糖類の分離に適する。ブタノール・ピリジン・水系ではピリジンの量比が Rf 値に決定的な影響をもつが B と D の比較で判るように少量の酢酸を加えると Rf 値にほとんど変化はなく、スポットのまとまりは非常に良くなる。Fucose が存在する場合は M, Q, R または U の使用により他と明瞭に分離できる。多くの溶媒で Arabinose, Fructose, Sorbose, Mannose

* 薬学雑誌, 87, 207 (1967) に発表。

1) J.A. Thoma: Methods. Carbohydr. Chem., 4, 221 (1964).

2) D.W. Vomhof, T.C. Tucker: J. Chromatog., 17, 300 (1965).

3) A. Schweiger: *Ibid.*, 9, 374 (1962).

4) E.V. Dyatlovitskaya, V.V. Voronkova, L.D. Bergelson: Dokl. Akad. Nauk SSSR, 145, 325 (1962); Chem. Abst., 57, 15780b (1962).

5) M.L. Wolfrom, D.L. Patin, R.M. deLederkremer: J. Chromatog., 17, 488 (1965).

6) H. Günther, A. Schweiger: J. Chromatog., 17, 602 (1965).

7) K. Esser: *Ibid.*, 18, 414 (1965).

TABLE I. Rf Values of Sugars in the Various Solvents

Substance	Solvent											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
L-Rhamnose	0.61	0.69	0.71	0.68	0.76	0.86	0.88	0.56	0.89	0.86	0.69	0.70
L-Fucose	0.48	0.56	0.60	0.56	0.68	0.64	0.78	0.30	0.78	0.75	0.65	0.52
D-Ribose	0.49	0.58	0.61	0.58	0.69	0.73	0.86	0.44	0.80	0.78	0.62	0.64
D-Xylose	0.43	0.51	0.57	0.51	0.64	0.60	0.76	0.28	0.74	0.72	0.59	0.48
L-Arabinose	0.37	0.43	0.50	0.44	0.57	0.45	0.65	0.21	0.67	0.62	0.54	0.40
D-Fructose	0.36	0.42	0.49	0.43	0.57	0.42	0.62	0.17	0.65	0.61	0.53	0.37
L-Sorbose	0.34	0.42	0.47	0.42	0.55	0.40	0.60	0.16	0.62	0.61	0.51	0.38
D-Mannose	0.37	0.41	0.49	0.42	0.56	0.41	0.60	0.15	0.64	0.59	0.54	0.40
D-Glucose	0.33	0.36	0.44	0.36	0.51	0.30	0.50	0.11	0.55	0.50	0.48	0.31
D-Galactose	0.27	0.32	0.38	0.31	0.46	0.22	0.33	0.08	0.46	0.38	0.44	0.23
D-Glucuronolactone	0.62	0.72	0.73	0.70	0.80	0.95	0.98	0.88	0.93	0.93	0.64	0.77
D-Glucuronic acid	0.08	0.06	0.17	0.09	0.20	0.02	0.02	0	0.08	0.05	0.31	0.17
D-Galacturonic acid	0.07	0.07	0.15	0.09	0.20	0.02	0.02	0	0.09	0.04	0.40	0.27
D-Glucosamine HCl	0.21	0.22	0.29	0.23	0.39	0.07	0.06	0.02	0.26	0.06	0.40	0.14
D-Galactosamine HCl	0.19	0.18	0.28	0.19	0.35	0.05	0.04	0.01	0.20	0.07	0.38	0.12

Substance	Solvent										
	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
L-Rhamnose	0.73	0.67	0.72	0.59	0.69	0.66	0.72	0.69	0.78	0.83	0.89
L-Fucose	0.62	0.56	0.47	0.47	0.72	0.70	0.67	0.63	0.70	0.76	0.82
D-Ribose	0.56	0.56	0.55	0.51	0.68	0.66	0.63	0.58	0.66	0.73	0.77
D-Xylose	0.50	0.48	0.43	0.41	0.53	0.53	0.58	0.52	0.54	0.65	0.69
L-Arabinose	0.45	0.42	0.33	0.28	0.60	0.60	0.55	0.48	0.51	0.61	0.65
D-Fructose	0.42	0.40	0.26	0.25	0.58	0.57	0.53	0.47	0.46	0.56	0.61
L-Sorbose	0.39	0.38	0.25	0.23	0.48	0.48	0.50	0.43	0.42	0.52	0.56
D-Mannose	0.44	0.41	0.28	0.26	0.50	0.51	0.51	0.44	0.41	0.54	0.57
D-Glucose	0.38	0.33	0.20	0.21	0.45	0.47	0.47	0.38	0.35	0.45	0.48
D-Galactose	0.33	0.29	0.15	0.18	0.48	0.49	0.44	0.36	0.31	0.39	0.44
D-Glucuronolactone	0.66	0.60	0.85	0.70	0.67	0.62	0.58	0.56	0.63	0.76	0.80
D-Glucuronic acid	0.23	0.18	0.21	0.15	0.12	0.18	0.41	0.34	0.26	0.42	0.43
D-Galacturonic acid	0.31	0.26	0.19	0.22	0.22	0.19	0.40	0.33	0.24	0.37	0.41
D-Glucosamine HCl	0.29	0.24	0.05	0.07	0.17	0.61	0.39	0.28	0.12	0.20	0.39
D-Galactosamine HCl	0.27	0.22	0.04	0.06	0.20	0.67	0.38	0.27	0.11	0.18	0.42

は近似の Rf 値を示すが, Q または R で Arabinose および Fructose と, Sorbose および Mannose が分離され, Arabinose と Fructose は U により, Sorbose と Mannose は M によってもっとも良く分離された. フェノール・水系の両溶媒 (Q および R) はいずれもスポットのまとまりが非常に良く, フェノールの量比がかなり異なるのに中性糖では Rf 値は同様であるが, Q では遊離ウロン酸が, R ではヘキソサミンがかなり分離され, 2種のヘキソサミンの Rf 値が著しく異なるのはアンモニアの影響によると考えられる. ヘキソサミンは溶媒 D でも分離されるが, Rf 値の差は I または R による方が大である.

以上の結果から多数の単糖類の存在が予想される未知検体の分析には, 溶媒として D, F, または I のいずれかと, R を用いたセルロース薄層クロマトグラフィーを行ない, これらの他に必要に応じて M および U を併用するのが良いと考える.

検出には一般用として, ベンジジン酢酸試薬⁸⁾ およびアニシジン試薬⁹⁾ を使用したが, アルドヘキソース, アルドペントース, メチルペントース, ウロン酸は両試薬で 0.1 µg. まで検出され, ケトヘキソースはベンジジン酢酸試薬では 0.5 µg., アニシジン試薬では 2 µg. まで検出され, ヘキソサミン塩酸塩はベンジジン酢酸試薬で 0.5 µg., アニシジン試薬では 5 µg. が検出限度であった. ヘキソサミンはニンヒドリン試薬¹⁰⁾ により 0.1 µg. まで明瞭に検出できる. 概して沱紙クロマトグラフィーの 1/10 量の試料で足りる. アニスアルデヒド硫酸試薬¹¹⁾ では全体が着色しアルドースに対する感度も低く, セルロース薄層については不適當である.

実 験 の 部

検 液 単糖類標品は東京化成特級試薬を使用, 遊離グルクロン酸は中外製薬製グルクロンのアルカリ処理で調製, ケトヘキソースおよびヘキソサミン塩酸塩は 5%, 他は 1% 水溶液を検液とした.

薄 層 セルロース 300 MN (Machery, Nagel & Co., Germany) 15 g. に水 90 ml. を加え 2 min. 激しく攪拌後, 常法により 20×20 cm. のガラス板に厚さ 0.25 mm. の薄層を作り, 105°, 10 min. 加熱後室温に放冷し使用.

溶 媒 Table I に示した展開溶媒は A, BuOH-pyridine-H₂O (10 : 3 : 3),⁴⁾ B, BuOH-pyridine-H₂O (5 : 3 : 1), C, BuOH-pyridine-H₂O (6 : 4 : 3),⁴⁾ D, BuOH-pyridine-HOAc-H₂O (10 : 6 : 1 : 3), E, BuOH-pyridine-HOAc-H₂O (60 : 45 : 4 : 30),⁷⁾ F, EtOAc-pyridine-H₂O (10 : 3 : 2), G, EtOAc-pyridine-H₂O (40 : 11 : 6), H, EtOAc-pyridine-H₂O (8 : 2 : 1), I, EtOAc-iso-PrOH-pyridine-H₂O (7 : 3 : 2 : 2),⁶⁾ J, EtOAc-pyridine-HOAc-H₂O (30 : 11 : 1 : 6), K, PrOH-BuOH-H₂O (2 : 1 : 1), L, acetone-BuOH-H₂O (7 : 2 : 1),⁴⁾ M, PrOH-EtOAc-H₂O (7 : 1 : 2), N, PrOH-EtOAc-H₂O (15 : 2 : 3),⁴⁾ O, EtOAc-iso-PrOH-H₂O (65 : 25 : 11),⁴⁾ P, EtOAc-sec-BuOH-H₂O (12 : 8 : 3),⁴⁾ Q, PhOH-H₂O (5 : 1), R, PhOH-1% NH₄OH (2 : 1),³⁾ S, BuOH-HOAc-H₂O (5 : 1 : 2), T, BuOH-HOAc-H₂O (3 : 1 : 1),⁵⁾ U, BuOAc-HOAc-EtOH-H₂O (3 : 2 : 1 : 1), V, EtOAc-HOAc-HCOOH-H₂O (18 : 3 : 1 : 4),⁵⁾ W, tert-BuOH-MeCOEt-HCOOH-H₂O (8 : 6 : 3 : 3).²⁾

展 開 薄層の下端より 1.5 cm. に検液 0.1 µl. をスポットし, 展開槽中で 30 min. 溶媒蒸気予飽和後 25° で 10 cm. 展開 (上昇法), 常温放置または温風を送り溶媒除去.

検 出 試薬噴霧後 100~110°, 10~20 min. 加熱, 呈色は沱紙クロマトグラフィーの場合と同様.

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

9) L. Hough, J.K.N. Jones, W.H. Wadman : J. Chem. Soc., **1950**, 1702.

10) D. Aminoff, W.T.J. Morgan : Nature, **162**, 579 (1948).

11) E. Stahl, U. Kaltenbach : J. Chromatog., **5**, 351 (1961).