

Title	呈色・沈殿反応と電気泳動による大棗の新確認試験法
Sub Title	New methods for identification of zizyphi fructus by means of electrophoresis with color and precipitation reactions
Author	友田, 正司(Tomodara, Masashi) 鈴木, 順子(Suzuki, Junko) 鈴木, 美和子(Suzuki, Miwako)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1981
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.26 (1981. ) ,p.77- 78
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	抄録
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000026-0077">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000026-0077</a>

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.

## 呈色・沈殿反応と電気泳動による大棗の新確認試験法\*

友田 正司, 鈴木 順子, 鈴木美和子

## New Methods for Identification of Zizyphi Fructus by means of Electrophoresis with Color and Precipitation Reactions

MASASHI TOMODA, JUNKO SUZUKI, and MIWAKO SUZUKI

Commercially available Zizyphi Fructus (the fruits of *Zizyphus jujuba* MILLER var. *inermis* REHD. and its related species) were extracted with hot water and identified by a series of methods which consist of color and precipitation reactions and a cellulose acetate membrane electrophoresis. These reactions are due to the presence of acidic polysaccharides in the extract, and the identification methods are also applicable to the examination of the decoctions of medicinal formulae containing Zizyphi Fructus.

大棗は各種の漢方処方に広く用いられる生薬であるが、これまで有効な確認試験法は知られていない。現在日本市場品はほとんど中国産大棗で、*Zizyphus jujuba* MILLER var. *inermis* REHD. の果実とされている。友田ら (1969, 1973) は中国産および日本産大棗の成分として、多量の単糖およびオリゴ糖のほか、アラビナンと酸性多糖の存在を報告したが、今回著者らは酸性多糖による反応に基づく大棗の確認試験について検討した。この方法により大棗を他の生薬と識別でき、漢方処方煎剤中の大棗抽出物の存在も確認できる。

**試料液** 生薬 1 g を細切し、水 10 ml を加えて沸騰水浴中 10 分加熱後直ちに濾過し、濾液を呈色反応および沈殿反応の試料液とした。

**呈色反応** 試料液 1 滴を濾紙につけ、0.5% toluidine blue-3% 酢酸溶液に 5 分浸したのち 1% 酢酸で洗い、赤紫色のスポットとして検出した。

**沈殿反応** 残りの試料液に 5% cetyltrimethyl ammonium bromide 0.6 ml を加え、生じた褐色綿状沈殿を遠心分離 (3000 rpm, 10 min) した。これを 0.5 M 塩化ナトリウム 0.5 ml に溶解 (大棗以外の生薬で不溶分が残る場合には遠心除去) 後、エタノール 2 ml を加えて生じた沈殿を再び遠心分離し、80% エタノール 2.5 ml ずつ 2 回洗滌をくり返したのち、減圧乾燥した。

**電気泳動** 最終沈殿乾燥物を水 0.5 ml に溶解し、水平式濾紙電気泳動装置 (槽内をドライアイスで冷却) を用いて、セルロースアセテート膜 (Separax, 富士写真フィルム製) 6×21 cm の陰極側液面から 7 cm の位置に 1  $\mu$ l をスポットした。酸性緩衝液 (0.08 M ピリジン-0.04 M 酢酸, pH 5.4) またはアルカリ性緩衝液 (0.025 M ホウ砂:0.1 M 水酸化ナトリウム=10:1, pH 9.3) を用いて、420 V の定電圧で 40 分泳動し、風乾後呈色反応の項に記載した条件で検出した。

**呈色反応の結果** 大棗と共に漢方処方に用いられる他の生薬 63 種を含めて呈色反応を行った結果、35 種の生薬は大棗と同様に呈色し、蘇葉は青緑色、黄芩は緑色を呈した。

**沈殿反応の結果** 呈色反応陽性の生薬 37 種について沈殿反応を行った。最初沈殿を生じた 34 種の生薬中、15 種は塩化ナトリウム-エタノール処理と 80% エタノールによる洗浄で、沈殿は消失した。前胡と人参は沈殿の外観が著しく異なり、容易に識別できるので後処理の対象から除

\* 本報告は 生薬学雑誌, 35, 194—199 (1981) に発表。

き、黄芩、杏仁および知母の最終残留物は少量で、それらの水溶液は電気泳動で検出されなかった。

**電気泳動の結果** 呈色および沈殿反応で選別した 14 種の生薬について、酸性緩衝液およびアルカリ性緩衝液を用いて電気泳動を行った結果、大棗市場品はいずれも他の生薬と異なる明瞭な 2 スポットを示した。標準物質としてフェノールレッドを用いて、各スポットの相対泳動値も求めた。

**漢方処方煎剤中の大棗抽出物の確認** 23種のおもな大棗含有漢方処方の一日量を、日本薬局方の規定に従って煎剤に調製し、濾過した透明液について呈色反応を行い、沈殿反応および電気泳動には、処方中の大棗 1g に対応する液量の試料液を用いた。呈色および沈殿反応は大棗と同様に陽性であり、酸性緩衝液を用いた電気泳動の結果は、いずれの処方の場合も大棗自体と同じスポットが明瞭に認められた。

## 考 察

大棗の成分のうち、酸性多糖に基づくと考えられる呈色反応と沈殿反応を行った結果、呈色反応では多くの他の生薬も陽性を示したが、ある程度は区別でき、沈殿反応では生成した沈殿を希塩化ナトリウム液に溶解し、エタノール添加による再沈殿と 80% エタノールを用いた洗浄処理によって、さらに多くの他の生薬と識別できることが分かった。さらにエタノール処理後に得た画分について、セルロースアセテート膜を用いた電気泳動により大棗を確認し、漢方処方煎剤中の大棗抽出物の存在も確認できた。本法では沈殿反応において遠心分離する過程における便宜上、生薬 1g を用いる条件を設定したが、呈色反応および電気泳動には微量の試料でも足りる。

大棗以外の生薬のうち枳実は、酸性緩衝液で類似した泳動像を示したが、アルカリ性緩衝液では先行するスポットは、大棗によるスポットと良く分離して明瞭に識別できる。しかし全体として両緩衝液の分離効果は大差なく、揮発性試薬を用いた酸性緩衝液の方が、アルカリ性緩衝液よりスポットが鮮明に検出されるので、漢方処方煎剤中の大棗抽出物の確認には、これを用いた。

大棗をはじめ、数種の生薬でスポットがテーリングする傾向が認められたが、沈殿反応において沈殿物の 0.5M 塩化ナトリウム溶液をそのまま透析して脱塩後、遠心分離して得られた上清を濃縮して電気泳動の試料液に用いると、分離の良いまとまったスポットが得られ、より明確な判定ができる。しかし透析と濃縮に時間を要する不都合と、エタノール処理によれば多くの生薬と区別できる利点を考慮して、実験の部に記載した方法を確認試験とした。

著者らは本確認試験に用いた反応を呈するもので、電気泳動のスポットとして同定できる大棗成分を単離し、主としてガラクトロン酸、アラビノース、ラムノース、およびガラクトースから成る酸性多糖であることを明らかにしたが、詳細は続報で発表する予定である。大棗以外の生薬にも、特異的な電気泳動像を与えるものがあるので、本法をそれらの生薬の確認試験に応用することもできると考え、検討を進めている。