溶岩地帯に生育する植物の配糖体の Aglycone に関する研究——第1報

船　元　重　春

A Study on the Aglycones of the Glucosides in Lava Zone Plants … No. 1

Shigeharu FUNAMOTO
(Lab. of Chemistry, Dep. of Education, Univ. of Kagoshima, Japan)

I. 緒　　言

いつ，どこから，どのようにして溶岩地帯に住みついたかは分らないが，不毛にさえ見える岩礬の僅かな風化地襞に，生々と生育している幾種類かの植物の呈ましい生活力には目を見張らざるを得ない。これは，植物体の複雑な生理的・形態的連けいによるものであろうが，筆者は現在桜島の大正溶岩地帯に自生している植物体成分を比較することによって，それらに共通な化学成分の存在の有無を検索することに着目した。

溶岩地帯は，植物の生活に対して必らずしも好条件にあるとは考えられないが，植物体成分中の配糖体は，植物体の栄養である糖類の貯蔵，植物体の保護防腐，動物からの蚕食予防，酵素の貯蔵などを始め，植物体の生長にも深い関係があるらしいと言われている[1]。

特に，配糖体に属する Saponin は，植物体の保湿剤として外界の乾燥に際し，組織の水分の蒸散を防止し，その毒性によって害虫を防ぎ，分解によって糖を生成するなど，植物体の生理的な適応面に大きな働らきがあるとも考えられている[1]。

配糖体は糖と非糖部とから成り，特に後者は Aglycone と総称され，各種配糖体の分類の基準ともなっているので，研究の焦点を Aglycone に絞ることとした。

II. 実験材料および方法

1. 試料の調製

植物体の配糖体は，午後4時～5時頃に最も多く含まれている[1]，と言われるので，同時刻頃桜島袴腰の大正溶岩地帯で，コケ・タマシダ・イタドリを，なるべく損傷しないように採集し，コケ・タマシダは植物体全体を，イタドリは葉および根・茎の二部に分けて実験材料とした。水による抽出成分の分劃沈殿法による配糖体エキス調製から，Aglycone への加水分解までの手順を表1—1および表1—2に，またメタノール抽出法による配糖体の加水分解を，表1—3に示す。

表 1―1：分割沈殿法による配糖体の抽出

植　物　体

- 手早く水洗，予め100°Cに保つた乾燥器に入れ，1時間放置
- 冷後，小片とし，約50 g 秤取
- 還流冷却器付，石油エーテルで30分温浸脱脂，2回繰返す
- 石油エーテル揮散
- 沈降性 $CaCO_3$ 50 g を加え，80°C の熱水 1 *l* を注ぎ，3時間80°C で熱浸
- 熱時濾過

水　浸　出　液

- 50°C 付近で飽和酢酸鉛液を滴下し，完全に沈殿させる
- 遠心分離（10,000 r. p. m. で1分間）

沈　殿　A　　**濾　　液**

- 50°C 付近で飽和塩基性酢酸鉛液を滴下し，完全に沈殿させる
- 遠心分離（10,000 r. p. m. で1分間）

沈　殿　B　　濾　　液

- 50°C 付近で飽和水酸化バリウム液を滴下し，完全に沈殿させる
- 遠心分離（10,000 r. p. m. で1分間）

沈　殿　C　　濾　　液（棄却）

表 1―2：配糖体エキスから aglycone への分解

沈殿 A, B, C

- 約10 cc の水で分散
- 2 N 硫酸を滴下，$PbSO_4$ または $BaSO_4$ の新らしい沈殿を生じなくなるまで
- 遠心分離（10,000 r. p. m. 1分間）

配糖体水溶液

- 50°C 以下で減圧濃縮，シロップ状まで
- アルコールで洗い出し，全量 45 cc
- 濾過し，濾液に濃塩酸 15 cc を加える（ここで溶液は約3 N アルコール性塩酸酸性となる）
- 還流冷却器付，金網上で6時間煮沸

加　水　分　解　液

- 水 60 cc を加え，アルコール濃度を下げる
- 飽和硫安 60 cc を加えて塩析
- クロロホルム 50 cc を加え，30分間，還流冷却器付温浸
- クロロホルム層を分離

クロロホルム層

- 2回水洗
- 約1/20量まで濃縮

Aglycone A, B, C

表 1—3：抽出法による配糖体エキスの調製とその加水分解

植　物　体

- 手早く水洗，予め100°C に保つた乾燥器に入れ，1時間放置
- 冷後，小片とし，約50g を秤取
- 還流冷却器付，石油エーテルで30分温浸脱脂，2回繰返す
- 石油エーテル揮散
- 還流冷却器付，メタノール 200 cc で1時間熱浸
- 熱時濾過

メタノール抽出液

- 減圧濃縮して殆んど乾涸させる
- 水 30 cc で，次いでクロロホルム 30 cc で濃縮物を洗い出し，分液ろうとで振る
- 水層をとり出し，さらに 20 cc のクロロホルムで洗う

配糖体の水溶液

- アルコール 20 cc を加え，液を透明にする
- 濃塩酸 20 cc を加える（ここで液は大体 3N HCl アルコール性となる）
- 還流冷却器付，金網上で6時間加水分解
- 冷後 30 cc のクロロホルムで抽出

aglycone D

2. Aglycone の呈色試験

aglycone はそれぞれクロロホルム溶液として抽出してあるので，これを点滴板上に滴下し，室温でクロロホルムを揮散させ，次の10種の呈色試験に供した。

i. 5％ $FeCl_3$ 水溶液1滴を加える

ii. 飽和石灰水1滴を加える

iii. エタノール1滴にとかし，Mg 粉を少量撒布し，さらに濃塩酸1滴を加える

iv. ピリジン1滴に溶かし，0.3％ ニトロプルシドナトリウム1滴，10％ NaOH 1滴を加える

v. 1％ピクリン酸アルコール液1滴と10％ NaOH 1滴とを加える

vi. 1％メタジニトロベンゼン1滴と10％ NaOH 1滴とを加える

vii. 氷酢酸に溶かし，2％ H_2SO_4・無水酢酸1滴を加える

viii. 無水酢酸1滴に溶かし，濃硫酸1滴を加える

ix. 濃硫酸1滴を加える

x. 20％三塩化アンチモンのクロロホルム溶液1滴を加える

3. Aglycone の薄層クロマトグラフィ

Aglycone の点滴呈色試験では，後述するように得られた Aglycone が始めから着色しており，かつその色調もかなり濃厚で試薬による呈色を妨害している疑いがあった。また，得られた Aglycone はさらに幾種類かの Aglycone の混合物から成ることも予想されたので，Aglycone A～D を薄層クロマトグラフィの手法で展開分離することを試みた。用いられた薄層クロマトグラフィの条件は次のとおりである。

i. 試料；Aglycone A〜D のクロロホルム液（点滴呈色反応に用いたものと同一の試料）

ii. 薄層；和光シリカゲル G 5，30 g を水 60 cc と均一に混合してかゆ状とし，0.2 mm の薄層とした後，20 分風乾し，110°C〜120°C で2時間活性化

iii. 展開溶媒；ベンゼン〜ブタノール〜氷酢酸　10：4：5

iv. 展開時間；2時間で 10 cm

v. 顕色法；20% $SbCl_3$ のクロロホルム溶液を噴霧し，100°C で10分間加熱，室温まで冷却後 Rf 値を決定

III. 実　験　結　果

1. 配糖体エキスの抽出と加水分解

多くの配糖体は，水・メタノール・含水エタノールなどに可溶であるが，その加水分解によって得られる Aglycone は，それらの溶媒に溶けず，エタノール・クロロホルム・ベンゼン・氷酢酸などに可溶である。このことは，この方面の研究の基本的な原理で，多くの研究者たちが好んで採用してきたところでもある。

また，配糖体を含む植物は，それが損傷を受けると体内の酵素によって分解を起し易く，従って材料の採集にあたっては，つとめて無傷の状態を保つこと，そしてその処理は出来るだけ短時間に酵素破壊の目的が達せられることが強調されている。

筆者は，このような事情を考慮に入れて数次の予備実験を経て表1—1，表1—2，表1—3の操作法を採用したが，それでもなお，浸出液の変質らしい現象に出合わした。すなわち，始め淡黄緑色の浸出液は操作の進行と共に次第に黄色〜橙色に着色し，特に温度が 100°C に近くなると，その兆候は急速であった。また，操作に伴うpHの変化も変色を明らかに促進する。しかし，このような変色にも拘らず，溶媒に対する溶解性には変化が見られなかった。

分劃沈殿法による試料調製で，コケのみは塩基性酢酸鉛による沈殿物を欠いていることも興味深い。

水による浸出液では，イタドリ・シダ・コケの三者とも，かなりのサポニン性起泡を生じ，イタドリでは煎茶臭を，シダ・コケでは海藻臭を強く感じる。

2. 点滴呈色試験

呈色の判定は，色の濃淡や色調の複雑さなどに幻惑され，客観性が得難いので日本色彩研究所編の新色名帖に準拠して表現することとした。

表2—1〜4に点滴呈色試験の結果を示す。

3. 薄層クロマトグラフィ

予備実験において，薄層の厚みを 0.4〜0.2 mm とし，展開液をベンゼン〜ブタノール（5：2），エタノール〜氷酢酸〜水（4：1：5），氷酢酸〜水（1：2），ブタノール〜メタノール〜水（3：1：3），ベンゼン〜ブタノール〜水（10：4：5）などに変え，各種の組み合わせで試みたが，何れも

表 2—1 ; Aglycone A の点滴呈色

試料 反応	イタドリ 葉	イタドリ 根・茎	シダ	コケ
Blank	Dark yellow	Dark yellow	Dark yellow	Pale yellowish brown
i	—	Grayish brown	Dark gray	—
ii	Pale red purple → fade	Pale red purple	—	—
iii	—	—	—	—
iv	Light reddish orange	Pale red purple → Light reddish orange → dull red	Yellowish brown	Light reddish orange
v	Yellowish orange	Light reddish orange → Dull red	Light brown	Pale yellowish brown
vi	Dull red	Light reddish orange → Dull red	Light brown	Dark yellow
vii	—	—	—	—
viii	Light reddish orange → brown	Light reddish orange → brown	Light reddish orange	Pale purplish pink
ix	Pale red purple → brown	Pale red purple → brown	Yellowish brown	Pale brown
x	Grayish brown → Yellowish orange	Light bluish gray → Brown	Pale red purple → Yellowish brown	Brownish white

表 2—2 ; Aglycone B の点滴呈色

試料 反応	イタドリ 葉	イタドリ 根・茎	シダ	コケ
Blank	Pale yellow	Pale yellow	Dark yellow	なし
i	Gray	Light gray	Gray	
ii	—	Pale red purple → Fade	—	
iii	—	—	—	
iv	Brown	Light reddish purple	Yellowish brown	
v	Brown	Dull red → Light reddish purple	Yellowish brown	
vi	Brown	Dull red → Light reddish purple	Yellowish brown	
vii	—	—	—	
viii	Reddish brown	Light reddish purple → Dull red → Yellowish brown → Fade	Pale red purple	
ix	Brown	Light reddish purple → Fade	Dark brown	
x	Greenish brown	Gray → Dull red → Light gray	Yellowish brown	

表 2—3; Aglycone C の点滴呈色

試料 / 反応	イタドリ 葉	イタドリ 根・茎	シダ	コケ
Blank	Brown	Dark yellow	Yellowish brown	Brown
i	—	—	—	—
ii	—	Pink	—	—
iii	—	—	—	—
iv	Dark brown	Light brown	Brown	Yellowish brown
v	Dark brown	Light reddish orange	Dark brown	Yellowish brown
vi	Dark brown	Light reddish orange	Dark brown	Grayish yellow brown
vii	Yellowish brown	—	—	—
viii	Dark brown → Reddish brown	Brown	Dark brown → Pale red purple	Grayish yellow brown
ix	Dark brown	Brown	Dark brown	Grayish yellow brown → Dark brownish purple
x	Dark brown	Yellowish red	Yellowish brown	Light brown → Grayish yellow brown

表 2—4; Aglycone D の点滴呈色

試料 / 反応	イタドリ 葉	イタドリ 根・茎	シダ	コケ
Blank	Pale red purple, Yellowish brown, Pale yellow	Yellow	Pale brown	Pale brown
i	Light gray	Light gray	Light gray, Green	—
ii	Greenish yellow → Fade	Pale red purple	—	—
iii	Light reddish orange	—	—	—
iv	Yellowish brown	Pale red purple	Yellowish brown	Yellowish brown
v	Dark yellowish green → Yellowish brown	Pale red purple	Yellowish brown	Yellowish brown
vi	Dark yellowish green → Light reddish orange	Pale red purple	Yellowish brown	Yellowish orange → Yellowish brown
vii	Light reddish orange	—	Yellowish brown	Pale yellowish orange
viii	Yellowish brown	Light reddish orange	Yellowish brown	Pale red purple → Yellowish brown
ix	Orange	Pale red purple	Yellowish brown → Greenish purple	Yellowish brown → Grayish purple
x	Yellowish orange	Yellowish orange	Pale yellowish brown	Yellowish brown

Rf 値 0.8 以上でよい分離は得られなかった。ただ，前述のとおりの処理条件でやゝ満足すべき段階に到達した。

また，顕色のための試薬は，さきに実施した点滴呈色試験の結果，Baljet, Raymond, 濃硫酸による方法も試みたが，前二者では顕色が不明瞭であり，濃硫酸では噴霧操作に難があった。従って，6 N H_2SO_4 を噴霧した後 100°C に加熱して濃硫酸噴霧と同一の効果をねらったが，この方法では薄層が剝離しやすく Rf 値の測定に支障をきたした。

以上の曲折を経て決定した本法によるクロマトグラフィの実験結果を表3に掲げる。

表—3；薄層クロマトグラフィによる aglycone の Rf 値

材料	メタノール抽出の試料		分割沈澱の試料		
	発色	Rf	区分	発色	Rf
イタドリ 葉	Grayish red Gray Yellowish orange	0.92 0.89 0.79	A	Pale yellow Yellowish gray Dull yelow Pale pink	1.00 0.98 0.97 0.91
			B	Light gray Yellowish brown	0.98 0.92
			C	Gray Grayish red	0.99 0.94
イタドリ 根・茎	Orange Reddish orange Gray	0.91 0.86 0.82	A	Light gray Yellowish brown Grayish red Grayish red	0.96 0.86 0.75 0.58
			B	Light gray Yellowish brown Grayish red Grayish red Grayish red	0.96 0.91 0.84 0.77 0.55
			C	Pale yellow Yellowish brown Grayish red	1.00 0.92 0.87
タマシダ	Light gray Grayish red Pale yellow	0.96 0.89 0.84	A	Gray Light olive	0.94 0.80
			B	Grayish red Light olive	0.93 0.87
			C	Grayish red Yellowish brown	0.98 0.83
コケ	Light gray Pale yellow	0.96 0.91	A	Gray	0.93
			B	—	—
			C	Grayish red Pale yellow brown	0.96 0.87

IV. 考　　察

1. 配糖体の抽出

浸出液が操作の進行につれて，赤ないし褐色系統に変化することは，配糖体エキスの調製にあたって最も不安な現象であった。変色の大きな原因は濃縮過程における空気酸化にあるのではないかと思われる。事実，成書[1]にうかがえる配糖体抽出法の中では，随所で真空濃縮の操作に遭遇する。

2. 配糖体エキスの加水分解

配糖体の加水分解に関する従来の報文[2]では，それによって得られる糖類の検索と Aglycone の構造決定とを目的としたものである。勿論，本研究においても究局はそこまで要求されるのであるが，さしあたり溶岩地帯に自生する植物体が共通な体成分を持つかどうかの調査であったため，可能な限り同一条件での操作を前提とし，加水分解の程度や収率などは大きな考慮の中に入れなかった。

つまり，同一の操作で得られた植物体成分を同一の条件で比較検定することに焦点が絞られたのである。

表―4；種々の Aglycone の呈色

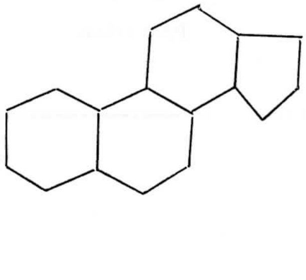
呈色試験番号	呈　色	存在予想物質
1	青 緑　青	ピロガロール カテコール
2	灰～青 紅	ピロガロール カテコール
3	桃	フラボン
4	赤	Digitalis-strophanthus 型 強心配糖体
5	徐々に橙赤	同　上
6	赤　紫	同　上
7	赤～青	Scilla-Bufo 型 強心配糖体
8	赤→紫→ 青→汚緑	反応が早ければ Steroid 緩慢なら Triterpenoid
9	黄～褐 赤～紅 赤～青 黄→赤→ 赤　紫	ピロガロール カテコール Scilla-Bufo 型 強心配糖体 Triterpenoid
10	桃	不飽和 Steroid

註　上記の呈色試験番号のうち，iv は Legal 反応，v は Baliet 反応，vi は Raymond 反応，vii は Liebermann-Burchard 反応とも呼ばれているので，以下必要に応じてこれらの用語でのべることとする。

3. Aglycone の呈色試験

呈色試験 i ～ x について従来知られている物質認定の目安は，表―4のとおりであるので，点滴呈色試験の結果と対比することにより，大約 a b c のような所見が首肯できる。

a. Aglycone A での Legal, Baljet, Raymond の諸反応は，何れも Digitallis 強心配糖体の Aglycone に対応するような呈色の傾向を示している。また，Liebermann-Burchard 反応でも，明らかな Steroid の存在を示す現象があることから，少くとも図のような Cyclopentano perhydrophenanthrene 核を有する Aglyconeが，イタドリ・タマシダ・コケの



三種の植物体に共通に含まれていることを予想させる。

b. Aglycone B からは，コケ成分を欠いているので共通性が発見されない。

c. Aglycone c は，何れも Blank Test でかなり暗い色調をもち，それがため呈色効果が妨害され，共通性の判定は固難であるが，色彩表現に打ち出し得ない呈色試験の過程を考慮に入れると，Aglycone A で見られたような共通性への接近がひそんでいるように思われる。

4. Aglycone の薄層クロマトグラフィ

a. 20% $SbCl_3$ クロロホルム溶液を噴霧した後，70℃ に加熱したものの PC では，試料溶媒クロロホルムメタノール（1：1），展開液ベンゼン～ブタノール～水（10：8：5）で桃色の発色が Rf 0.27，0.4，0.91 の部分にあることが報告されている[2]。イタドリの葉 A に見られる 0.91 の Pale Pink がそれらの何れかと同一物かどうかは分らないが，点滴呈色反応で現われた共通成分は，Aglycone A で何れも Gray 系 Rf 0.95 付近としてかなり接近した Rf 値を示している。しかし，この Gray 系は Aglycone B および Aglycone C でも同様に現われ，かつ高い Rf 値を示しているので更に詳細な検討を必要とする。

b. Aglycone C における共通性は，点滴呈色試験で不明確であったが，薄層クロマトグラフィでの分離で Grayish red に一応の注目が得られる。

c. メタノール抽出の試料と分劃沈殿による試料との比較では，色相の面で前者が後者の重なりと考えると，ほぼ満足な解釈が可能であるが，さらに二次元展開などの手法によって確認することが必要であろう。二次元展開の必要性は，Aglycone A における Yellowish Gray, Light Gray, Graish red Gray の詳細な分析からも要請される。

d. さらに明確な色相の分離のため，薄層成分を変えたクロマト展開の必要があるかも知れない。

V. 摘　　要

1. 桜島袴腰の大正溶岩に自生するイタドリ・タマシダ・コケの3種の植物体を材料とし，その水浸出液から酢酸鉛，塩基性酢酸鉛，水酸化バリウムの飽和水溶液で分劃沈殿させ，これを 2N H_2SO_4 で遊離濃縮によって得た配糖体エキスと，同じ材料をメタノールで抽出し，濃縮後クロロホルムで処理して得た配糖体エキスとが準備された。

2. それらの配糖体エキスをアルコール性 3 N HCl で6時間加水分解し，クロロホルムで抽出された成分を Aglycone として，10種の点滴呈色試験に付した。

3. 10種の呈色試験結果と既知の Aglycone 呈色反応とを対比し，大正溶岩に自生する3種の植物体成分に共通なものとして Steroid 配糖体の存在を予想した。

4. 加水分解で得られた試料を薄層クロマトグラフィによって展開し，Rf 値 0.95 付近に共通成分が認められることを明らかにした。

参 考 文 献

1) 植物成分研究法：宮道悦男編
2) 実験化学講座 22 天然有機化合物取扱い法

Summary

Three kinds of plants which grow in the lava zone of Hakamagoshi, Sakurajima, Japan, were compared with a view to studying the chemical ingredients of their bodies.

1. Ingredients were extracted (1) with hot water and (2) with hot methanol from the plants in solution form.

2. The solution extracted through the first process (hot water) was first precipitated with saturated lead acetate solution, then the filtrate was subjected to saturated vinegar of lead solution, and lastly to saturated bariumhydroxide solution. These precipitates were named ppt. A, ppt. B, and ppt. C in the order of process. Aqueous solution of some glucosides was individually separated from each precipitate by dropping 2 N H_2SO_4, and then the solution was condensed under reduced pressure under 50°C. into coencentrated extracion.

3. The solution extracted through the second process (hot methanol) was condensed into almost dried residue, from which some glucosides were extracted in the form of aqueous solution through the process of shaking it together with water and chloroform.

4. Each aqueous solution of four glucosides (a, b, c and d) was hydrolized with alcoholic solution of 3 N HCl for six hours into aglycones which were agly. A, agly. B, agly. C and agly. D respectively.

5. Each fraction of aglycones extracted with chloroform was examined by using ten kinds of spot color reactions that are usually applied to several aglycones already known.

6. Comparison of the results of color reactions between the four aglycones under study and the known ones indicated the existence of common substances of steroid or its derivatives in the partition from the agly. A and agly. C in all cases of the plants examined.

7. Further research with a thin layer chromatography estimated the Rf values of the common substances at around 0.95.

It might be inferred from the results mentioned above that there is some correlation between the growth of the three plants in the lava zone and the common glucosides contained in their bodies.