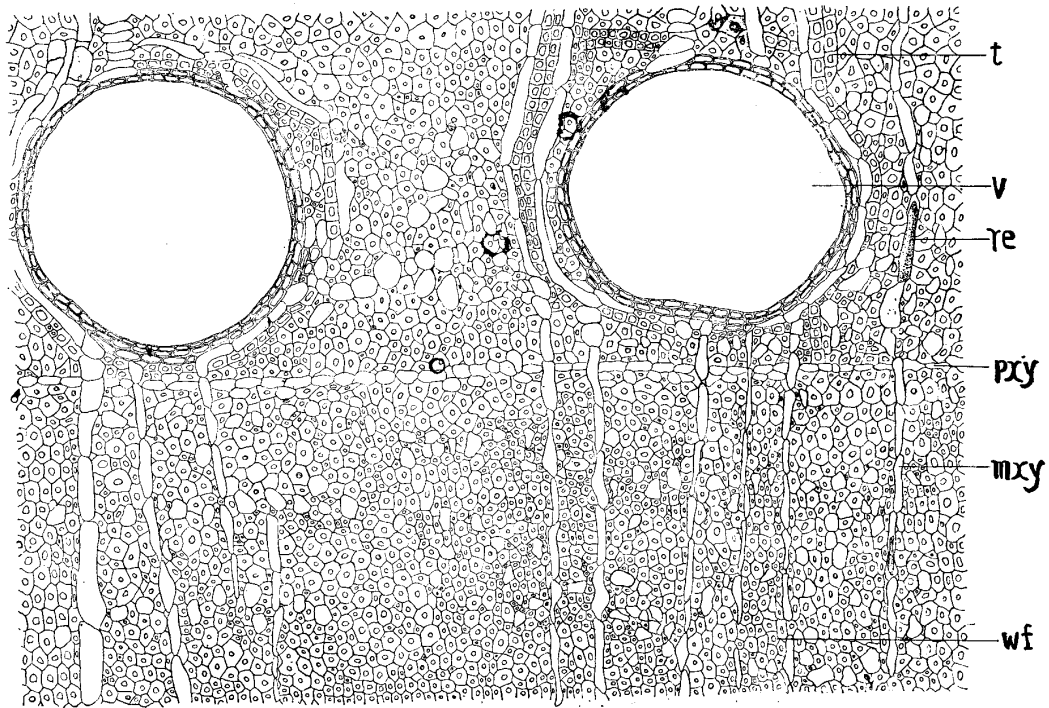


略字解 O: 橙色 YC: 橙黄色 OY: 黄橙色 Y: 黄色 YG: 緑黄色 GY: 黄緑色
 YBr: 茶色 Rose: 桃赤色 Red: 赤色 Pink 桃色: V: 紫色 V.Red: 赤色
 W. Blue: 青白色 l, Gley: 淡灰色

Fig. 1



図版略字解 v: 導管 wf: 木繊維 mxy: 木部髓線 wp: 木部柔組織 t: 仮導管 re: 樹脂

嶋野 武, 水野瑞夫, 井上純男: トリテルペノイドの研究 (第4報)*

濾紙微量電気泳動法によるトリテルペノイドの検討 (I)

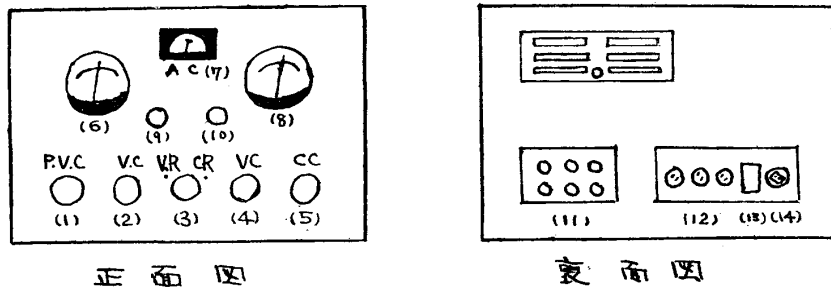
Takeshi Shimano, Mizuo Mizuno and Sumio Inoue: Studies on Triterpenoides. (IV)
 Examinations of the Triterpenoides by Paper Electrophoresis (I)

濾紙微量電気泳動法に関する報告は、¹⁾アミノ酸、²⁾蛋白質、³⁾糖類、⁴⁾植物色素、⁵⁾アルカロイド及び無機イオン等
 については多数あるが、トリテルペノイドに関してはペーパー・パーティション・クロマトグラフィ⁵⁾⁶⁾の有機塩
 基化合物として酢酸酸性ブタノール又はフェノール系展開溶媒を使用した報告が橋本によりなされているのみで
 トリテルペノイド自身を泳動せしめた報告には接して居ない。著者等は植物中に含まれるトリテルペノイドをこ
 の方法により確認し得るかを検討する目的で実験を進め或る条件によりかなり区別し得る事を認めたので報告す
 る。

使用した装置は自製の定電圧定電流発生装置 (Fig I, II) を¹⁾Durrum の山型の装置 (Fig III) に連絡した
 ものである。定電流、定電圧発生装置から 200V より 900V 迄の電圧を自由に発生し得るが、通常 500V—800V
 の高電圧を用いた。高電圧を使用する際は物質の泳動の速度が大となるので短時間で物質の展開分離が行はれる
 利点がある。

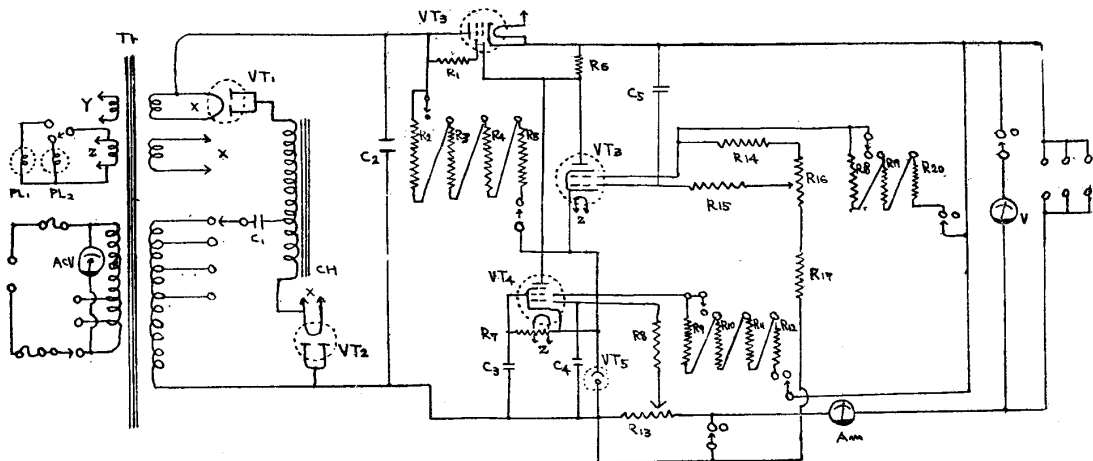
* 第2報及第3報は薬学雑誌に投稿の予定。

Fig 1 定電圧定電流発生装置



- (1) 一次側電圧調整ローリ-スイッチ
- (2) 電圧切換スイッチ
- (3) 定電圧定電流切換スイッチ
- (4) 電圧調節ダイヤル
- (5) 電流調節ダイヤル
- (6) 電圧計(出力用)
- (7) 電圧計(電流用)
- (8) 電流計
- (9) 赤ランプ(定電圧)
- (10) 緑ランプ(定電流)
- (11) 出力ターミナル(3箱)
- (12) コンセント
- (13) フューズホルダー
- (14) 電源入力端子

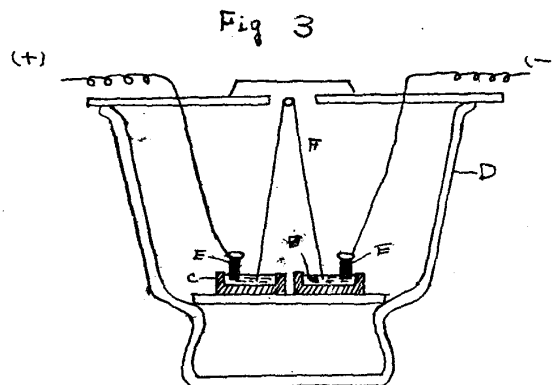
Fig 2 定電圧定電流発生装置配線図



Components

Tr. Prim: 100V-90V-80V,	R13	: 30kΩ.	VT1, VT2	: KX80.	
Sec: 240V-380V-500V-800V,	R14	: 5kΩ.	VT3	: 6SJ7.	
X-5Vx2 Y-6.3V, Z-6.3V,	R15	: 50kΩ.	VT4	: 6SC7.	
R1	: 400Ω 1/4 watt resistor,	R16	: 50kΩ.	VT5	: VR150/30.
R2, R3, R4, R5	: 20kΩ.	R17	: 50kΩ.	CH	: 3端子特殊4-7.
R6	: 500kΩ.	R18	: 100kΩ.	PL1, PL2	: green Pilot & red pilot.
R7	: 5kΩ.	R19, R20	: 50kΩ.	V	: out put voltmeter.
R8	: 500kΩ.	C1	: 4μfd.	Am	: amper meter.
R9, R10, R11	: 30kΩ.	C2	: 8μfd.	ACV	: ac vol meter.
R12	: 20kΩ.	C3, C4, C5	: 0.1μfd.		

泳動液について著者等は 硼砂溶液, ブタノール: 酢酸系等を検したが, ブタノール酢酸, 水飽和ブタノール酢酸, フェノールを泳動液として使用する際は試料が陽極に移動する事を認めた. 特に *n*-BuOH: HAcO: H₂O (5:2:5) の泳動液を使用する時は最高の移動値を示し, β -Amyrin, Oleanolic acid, Hederagenin を試料とするとき 600V 定電圧, 5時間泳動を行うと, その泳動距離は β -Amyrin = 22.5 mm, Oleanolic acid = 21.0 mm, Hederagenin = 17.0 mm である. 電圧を更に 700V 以上にすると泳動値は増大するが, 前記試料間の泳動距離が区別し難くなる. 電圧を 800V 以上にするとかえつて泳動値が減少する結果を示した. *n*-BuOH: HAcO (2:1) では電圧を 800V にして, 泳動時間を5時間とすると試料三者間に区別を認め得る. β -Amyrin とでは 800V の電圧で4時間半泳動させると分離する事が出来る. (Table II, Fig 4)



- B ; Buffer solution
- C ; Glass cup
- D ; Desiccator
- E ; Carbon electrode
- F ; Filter paper

トリテルペノイドの確認は泳動後, 濾紙を風乾してから Benzoylchloride: H₂SO₄ [D = 1.84]: CHCl₃ (3:2:1) の用時調整せるものを spray した, 試料に用いた, β -Amyrin, Oleanolic acid, Hederagenin の各々の呈色は Table I の如くである.

Table I: Colouring on the Filter Papers by the Electrophoresis.

	β -Amyrin	Oleanolic acid	Hederagenin
Directly afterwards	Rose red	Rose red	Rose red
After one min.	Rose red	Reddish Violet	Reddish violet
After five min.	Light rose red	Blue green	Violet green
After ten min.	Light rose red	Light green	Light gray green

湿度の高い日は Benzoylchloride: H₂SO₄ (D=1.84): CHCl₃ (1:1:1) を使用した. 呈色度は前者の場合が良好であるが安息香酸の析出率が大きからである. フェノールを泳動液に使用した場合は完全にフェノールを除いてからでないといと濾紙全体が着色する結果となり spots の確認が困難になる.

終りに際し研究に対し種々御便宜, 御指導を賜った宮道学長及び刈米博士に深謝すると共に研究費に文部省科学研究費 (総合研究) の一部を使用し得た事を感謝します.

実 験 の 部

(A) 濾紙電気泳動の方法

Fig III のガラス製カップ (c) 中に泳動液を入れ, 中央にスタートラインを引き, その上に試液を点じた濾紙を Fig III に示す如く, デシケータの上部に置いたガラス板の中央に懸垂せしめ, ピペットで濾紙に均一に泳動

液を滲透させた後、炭素電極 (E) とターミナル (Fig I の11) を連結し、一次側電圧調整ロータリースイッチ (1) で切換え電圧計(7)の指針が 100V になるようにすると定電圧であれば赤ランプ (9) が点ずる。(定電流の場合は、定電圧、定電流切換えスイッチにより緑ランプ (10) が点ずる。) 次に電圧切換えスイッチ (2) により任意の電圧に切換え更に電圧調節ダイヤル (4) で調整をする。(定電流の場合は電流調節ダイヤル (5) で調節を行う)。一定時間泳動後、一次側電圧調整ロータリースイッチ (1) を廻転し電圧計 (7) の指針を 0 とする。取出した濾紙を風乾する。溶媒がフェノールのときは加熱乾燥器中で充分フェノールを駆逐する。新たに調整した呈色試薬をペトリ皿にとり、試薬が出来るだけ乾燥した濾紙の裏面にのみつく様に、しかも手早く浸すと明瞭な色調の spot が表面に現われる。呈色後は濾紙をガラス板の上に置き移動させない様にする。濾紙の破損を防ぐためでもある。安息香酸の白色結晶により呈色の確認を妨げる様な場合は注意してこれをガラス片で取除く必要がある。湿度の高い場合は多少呈色度は少いが Benzoylchloride : H_2SO_4 (D=1.84) : $CHCl_3$ (1:1:1) を使用すれば析出による妨げを少なくする事が出来る。濾紙は東洋濾紙 50 号、 $5 \times 40cm$ のものを使用した。

(B) 濾紙電気泳動液

泳動液として 1% 硼砂水、水飽和ブタノール酢酸、ブタノール酢酸、5 規定塩酸、5 規定塩酸飽和ブタノールを試みた。1% 硼砂水、5 規定塩酸、5 規定塩酸飽和ブタノール の場合は全く移動しない。ブタノール酢酸、1:2 の容量比で泳動を行う場合、電圧を 800V に、泳動時間を 5 時間とする時 β -Amyrin=16mm, Oleanolic acid=17.5 mm, Hederagenin=15.5 mm 泳動する。(Table II, Fig 4)

Table II : Valency of flow (Vf) of the Triterpenoides.

Voltage (V)	Amperage (mA/cm)	Time of flow (h)	Vf mm		
			β -Amyrin	Oleanolic acid	Hederagenin
800	0.01	2.0	7.0	7.5	7.0
800	0.01	2.5	8.0	8.5	8.0
800	0.01	3.0	10.0	11.0	10.0
800	0.01	5.0	16.0	17.5	15.5

水飽和ブタノール酢酸 Table III に示す如く各種の混合比のものに就いて実験を行い、 n -BuOH : $HAcO$: H_2O (5:2:5) において 600V、5 時間泳動が最もよい結果が得られた。電圧を 700V にすると泳動値は増大するが、 β -Amyrin, Oleanolic acid, Hederagenin, 間に泳動値の差異がなくなる。更に電圧が 800V になるとかえって Vf 値は減少した。

Fig 4

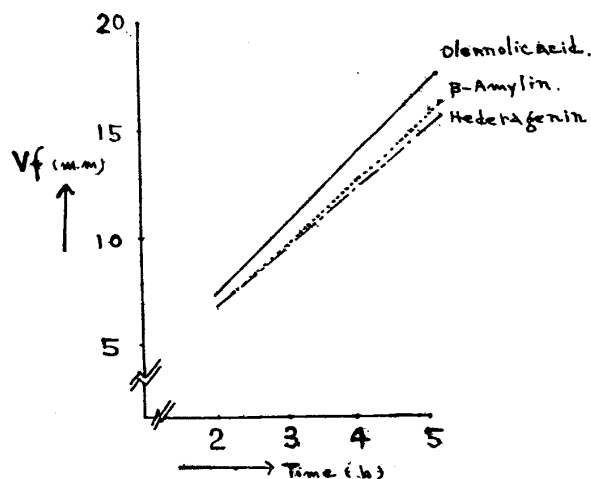


Table III: Valency of flow (V_f) of the Triterpenoides.

Ratio of Buffer solution (<i>n</i> -BuOH : HAcO : H ₂ O)	Voltage (V)	Amperage (mA/cm)	Time of flow (h)	V_f mm		
				β -Amyrin	Oleanolic acid	Hedera- genin
4 : 1 : 2	700	0.1	2.5	3.0	2.8	2.5
	800	0.06	5.0	13.0	11.0	10.5
4 : 1.5 : 2	800	0.06	2.5	8.0	7.0	6.5
	800	0.04	5.0	12.0	11.5	12.0
4 : 4 : 2	800	0.06	2.5	4.0	3.5	4.0
	800	0.06	5.0	11.5	10.0	11.0
5 : 2 : 5	600	0.10	5.0	22.5	21.0	17.0
	700	0.14	5.0	37.0	37.0	37.0
	800	0.10	5.0	10.0	11.0	9.5

Literature

- 1) E. L. Durrrum: J. Am. Chem. Soc., **72**, 2943 (1950)
- 2) H. Cremer, A. Tiselius: Biochem. Z., **320**, 273 (1950)
- 3) 刈米 etc: 薬誌 **73**, 1095 (1953)
- 4) Taenicke (1952) Consden, Stanier (1952) Michl (1952) 森, Nature **170**, 975 (1952)
刈米 etc: 薬誌 **73**, 1095 (1953)
- 5) 刈米 etc: 薬誌 **73**, 805 (1953)
- 6) 刈米 etc: 植物成分の微量化学的研究報告 第1集 14頁.
- 7) 嶋野 etc: 植物成分の濾紙クロマトグラフィーによる検索 第1集 69頁