

嶋野 武, 滝 和子: トリテルペノイドの研究 (第2報)\* \*\*

ペーパークロマトグラフィーによるトリテルペノイドの検出について (その1)

**Takeshi Shimano and (Miss) Kazuko Taki: Studies on Triterpenoids. II  
Detection of Triterpenoids by Paper Chromatography. 1.**

Triterpenoids in several plants were separated on the paper chromatograms by using strip of Toyo filter paper No.50 and with BuOH, EtOH, H<sub>2</sub>O as solvents. The ascending method was applied for separation and the color reaction by benzoyl chloride reagent was utilized in the spot test. (Table 1, Fig. 1, 2)

トリテルペノイドは植物界に広く分布し、その広汎さは動物界におけるステロイドの分布に匹敵するものと考えられている。その種類も80数種<sup>5)</sup>を数える。近年その中のウルソール酸、オレアノール酸には顕著な利尿作用が認められ注目されてきた。また重要な生薬のサポゲニンもこれに属するものが多い。これらの微量検出法としては刈米、橋本らの顕微化学的検出法<sup>6)</sup>及び誘導体 Alkaloidtriterpenylsulfate を生成してペーパークロマトグラフィー (以下PPCと略す) で検出する方法<sup>7)</sup>、小山ら<sup>8)</sup>のウルソール酸、オレアノール酸のPPCが報告されているが植物中のトリテルペノイドを簡単に分離検出する方法は見当らない。

著者らは植物抽出液より PPC によつて各種トリテルペノイドの分離検出を試み明確に spot を検出し得たので報告する。

類似化合物 Steroid の PPC は数多く報告<sup>9)</sup>されているので諸文献を参考に展開溶媒、顕色試薬およびその他の条件を検討した。

展開溶媒は n-BuOH: EtOH: H<sub>2</sub>O (1: 1: 5) が最もよいが15°C以下の室温ではブタノールが分離するのでそれ以下の温度のときは (1: 1: 4), または (1: 1.2: 5) を用いた方がよい。顕色試薬は先に第1報で塩化ベンゾイル反応<sup>10)</sup>が鋭敏で試料により特異の呈色反応を示し、かつ Liebermann-Burchard 反応および小山ら<sup>8)</sup>の反応よりも安定で濾紙の腐蝕も少ないことを知つたのでこれを用いた。

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

Compds→ time (minut) ↓ Reagent ↓	α - Amyrin	β - Amyrin	Ursolic Acid	Oleanolic Acid	Hedera genin	Sanguisorbi genin	Betulin	Thymus quinqueco- status	Ardisia japonica
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCl 3	1 l-Rose	l-Rose	Rose Pink	Rose Pink	Rose Pink	pale Rose	l-Violet	Rose Pink	Rose Pink
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1	10 l-Violet	l-Violet	l-Blue	l-Blue Violet	l-Violet	l-Rose	l-Blue Violet	l-Blue	l-Violet
CHCl <sub>3</sub> 1	30 Gray Violet	Gray Violet	l-Blue	l-Blue Violet	Gray Violet	l-Rose	l-Blue Violet	l-Blue	l-Violet

\* 日本薬学会東海支部創立大会 (1955年8月) で発表, 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 \*\*第1報 本誌 5, 1 (1955).

1) 刈米, 橋本: 薬誌 69, 313 (1949).

2) 刈米, 橋本: 薬誌 69, 314 (1949).

3) 刈米, 橋本等: 薬誌 70, 729 (1950).

4) 刈米, 橋本等: 薬誌 73, 257 (1953).

5) 橋本庸平: 薬学研究 22, 184 (1950).

6) 刈米, 橋本等: 薬誌 70, 716 (1950).

7) 刈米, 橋本等: 植物成分の微量化学的研究報告 1, 14 (1951).

Fig I Paper Chromatograms of Triterpenoids

28~30cm		
○		$\alpha$ -Amyrin
○		$\beta$ -Amyrin
○		Ursolic Acid
○		Oleanolic Acid
○		Hederagenin
○		Sanguisorbigenin
○		Thymus quinquecostatus
○		Ardisia japonica
Solvent; nBuOH: EtOH:H <sub>2</sub> O= 1:1:5 Toyo filter paper No 50, 2 × 40 cm		Temp.; 15-20° C Time; 18 hrs. Ascending Reag.; C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCl: H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : CHCl <sub>3</sub> = 3 : 1 : 1

Fig II Paper Chromatograms of Triterpenoids in the Plants

27~30cm		
○		Ilex pedunculosa (leaf)
○		" (bark)
○		Ilex integra (bark)
○		Cortex Acanthopanax radiceis
○		Uva-Ursi
○		Manila el emi
○		Ardisia Japonica
○		Thea sinensis
○		Camellia Sasanqua
○		Camellia Japonica var hortensis
○		Ursolic Acid
○		Oleanolic Acid
○		Hederagenin
○		$\alpha$ -Amyrin
○		$\beta$ -Amyrin
Solvent; nBuOH: EtOH:H <sub>2</sub> O = 1:1.2:5 Toyo filter paper No 50, 2 × 40 cm		Temp.; 10-12° C Time; 22 hrs. Ascending Reag.; C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCl: H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : CHCl <sub>3</sub> = 3 : 1 : 1

8) Koyama and Kubota: Kumamoto Pharmaceutical Bulletin No1, 44 (1954).

 9) A. Rheiner, A. Hunger et Reichstein: Helv. Chim. Acta **35**, 687 (1952); J. V. Euw. et Reichstein: **35**, 1560 (1952); Reichstein etc: Helv. Chim. Acta **35**, 429, 434, 1073 (1952); C. Sennii etc: C. A. **47**, 5627, 6606 (1953); E. Heftmann etc: J. Biol. Chem **187**, 47 (1952); **194**, 703 (1952); Richard B. Davis etc: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 4483 (1952); D. Kritchevsky etc: J. Amer. Chem. Soc. **72**, 430 (1950).

 10) 嶋野, 滝等: 本誌 **5**, 1 (1955).

試料には標品として  $\alpha$ -Amyrin,  $\beta$ -Amyrin, Betulin, Hederagenin, オレオノール酸, ウルソール酸, Sanguisorbigenin を用い同時にイブキジャコウソウ *Thymus quinquecostatus* Celak 及びヤブコウジ *Ardisia japonica* BI より分離したトリテルペンの結晶を用いた, 各々のクロマトグラムを Fig 1 に示す.  $\alpha$ -Amyrin,  $\beta$ -Amyrin では spot が僅かに分散するが, -COOH 基を有するものは良好である. この結果イブキジャコウソウからの結晶はウルソール酸に全く一致し, ヤブコウジのものは  $\alpha$ -Amyrin と近似していることを認めた.

植物中のトリテルペノイドの検出には 18 種を用い同時に標品も PPC を行い, その結果 Fig II を得た. かくしてウワウルシはウルソール酸, Uvaol, モチノキは 2 種の spot を検出したが, マニラエレミは数種を含んでいるためか spot が大きくなり各々を分離することはできなかつた.

Reichstein らはステロイドの PPC の際に Rf 値が実験の都度異なり Rf 値に再現性がないから Rf 値で示さない方がよいと報告したが, トリテルペノイドにおいても同じように実験の都度変動があるので, 毎回標品を同時に PPC して比較検討する必要がある.

本研究に際し御懇督なる御指導と御便宜を賜った本学学長宮道悦男博士に謹謝する. 研究費の一部は文部省科学研究費により行つたので併せて深謝する.

### 実 験 の 部

標準試料: 第 1 報で用いた結晶を夫々 0.1% エタノール溶液とし毛細管で 10~20  $\gamma$  を濾紙上にスポット後風乾する.

濾紙: 東洋濾紙 No. 50, 長さ 40cm, 幅 2cm, 展開溶媒で洗滌し風乾する. 上昇法とし, 下端より 5cm の原線上にスポットする.

展開溶媒: Table I の 3 種 (混合, 容積比) を使用, 各々よく混合し, シリンダーに取り, 1 日放置後用いる. No. 2 と No. 3 は温度が高くなると spot が僅かに分散するようである.

展開方法: 一次元上昇法により検液を付けた濾紙をシリンダーの中に懸垂し, 12 時間蒸気を飽和した後展開溶媒中に浸す. 溶媒が原点より 25~30cm に達したら濾紙を取り出し, 風乾後 100°C で 30 分間乾燥する.

顕色法: 顕色試薬塩化ベンゾイル:  $H_2SO_4$  (D=1.84):  $CHCl_3$  (3: 1: 1) を用時調製してペトリ一皿にとり, 試薬ができるだけ速やかに濾紙の裏面にのみつくように浸すと直ちに明瞭な色調の spot が表面に現われる. 呈色した濾紙はガラス板上に置き, 呈色の変化を各々の spot につき直後, 10 分後および 30 分後に観察する. spot の色調を Table I に示す. 顕色試薬は湿度の高いときは試薬の分解により生ずる安息香酸の白色結晶が色調を妨げる. この場合試薬の割合を (1: 1: 2) または (1: 2: 2) とすると spot は僅かに分散するが試薬は比較的安定である.

展開溶媒として試みたものは水飽和ブタノール, ブタノール酢酸, ブタノール飽和水, 水飽和トルエン, 水飽和クロロホルム, 水飽和ベンゼン, フェノール水, 水飽和醋酸エチル等の外水の代りにプロピレングリコール, ホルムアミド, グリセリンおよび無機塩類を加え, 種々の混合溶媒を試みたが何れも分離不能または不良であつた.

植物試料: ウワウルシ (局方品), ソヨゴ *Ilex pedunculosa* Miquel (樹皮, 葉), モチノキ *Ilex integra* Thunb. (樹皮), ツバキ *Camellia japonica* L. var *hortensis* Makino (葉), サザンクワ *Camellia Sasanqua* Thunb. (葉), チャノキ *Thea sinensis* Linn. (葉), タラノキ *Aralia elata* Seemann (樹皮), 甘草 (局方品), トチバニンジン *Panax japonica* C. A. Meyer (根茎および根), ヤツデ *Fatsia japonica* Dec, et

Planchon (葉, 根), ムクロジ *Sapindus Mukorossi* Gaertner (果被), イノコズチ *Achyranthus japonica* Nakai (根), マニラエレミ (メルク標本), ヤブコウジ *Ardisia japonica* Bl (葉) 五加皮 (市販品) の乾燥粉末1部に10部のベンゼンを加え, 30分間加熱抽出し, 熱時濾過して得た抽出液を用いる.

標品の場合と全く同様にして, 同時に検液と標品を用いて同一容器でPPCを行ない比較検討する. 結果は Fig II に示す.

Table II: Rf Values of Triterpenoids

Compounds	Solvent system (Ratio in Vol.)	No 1	No 2	No 3	No 4
	Temp.(°C) time(hrs)	n-BuOH 1 EtOH 1 H <sub>2</sub> O 5 15~20° 18hrs	n-BuOH 1 EtOH 1 H <sub>2</sub> O 4 10~12° 22hrs	n-BuOH 1 EtOH 1.2 H <sub>2</sub> O 5 10~14° 18hrs	n-BuOH 1 EtOH 1 H <sub>2</sub> O 5 15~17° 22hrs
$\alpha$ -Amyrin		0.45	0.62	0.52	0.40
$\beta$ -Amyrin		0.47	0.63	0.59	0.45
Oleanolic acid		0.52	0.63	0.54	0.52
Ursolic acid		0.49	0.58	0.62	0.48
Hederagenin		0.62	0.68	0.55	0.62
Sanguisorbigenin		0.59	0.65	0.58	0.66
Betulin			0.66		
Thymus quinquecostatus		0.49	0.58	0.62	0.49
Ardisia japonica		0.46	0.63	0.60	0.45

嶋野 武, 滝 和子: トリテルペノイドの研究 (第3報)\* \*\*

ペーパークロマトグラフィーによるトリテルペノイド配糖体の検出について (その1)

**Takeshi Shimano and (Miss) Kazuko Taki: Studies on Triterpenoids. III. Detection of Triterpenoid Glycosides by Paper Chromatography. 1.**

Triterpenoid glycosides in several plants were detected by paper chromatography. Solvent; EtOAc: n-BuOH: Propyleneglycol 4: 2: 1, reagent; Benzoyl chloride reagent.

These glycosides were colored in red-reddish violet by the reagent, but the spot of glychrrhiza was yellowish. Senega, Polygala and Platycodon gave no separated spot by this method. Results were summarized in Fig. 1.

The glycosides gave only Hederagenin by the hydrolysis with 4% hydrochloric acid but, thereafter they gave oleanolic acid by heating with 5% sulfuric acid (Fig. 11 A, B).

トリテルペノイド配糖体 (サポニン類) は祛痰, 利尿, 強壮剤として用いられる薬用植物中より分離されているが, それらの分離検出にPPCが行なわれた報告は見当らない. 著者らは今回植物中のトリテルペノイド配糖体の分布を調べる目的でPPCを検討し, 配糖体を spot として検出することに成功したので報告する.

\*日本薬学会東海支部創立大会 (1955年8月) で発表; 植物成分の濾紙クロマトグラフィーによる検索 I, 69 (1955)

\*\*第2報 本紙 24