

琉球大学学術リポジトリ

ハエドクソウ (Phryma leptostachya L.) 根中のフェノールカルボン酸について

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: 出版者: 琉球大学農家政工学部 公開日: 2011-04-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 外間, 宏一 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12000/19408 |

ハエドクソウ (*Phryma leptostachya* L.) 根 中のフェノールカルボン酸について

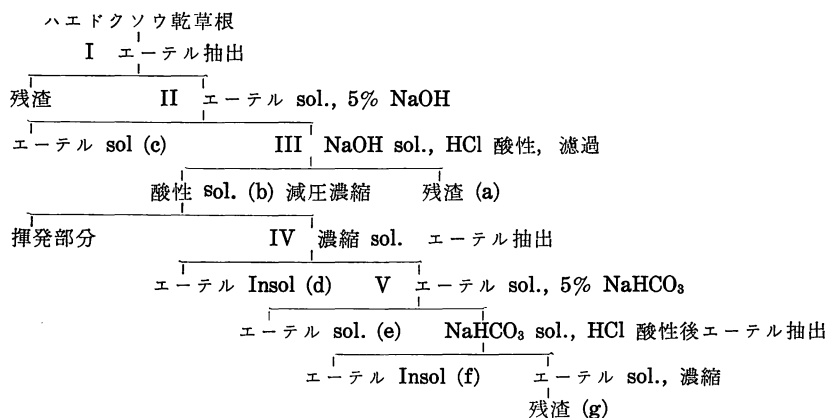
外 間 宏 一*

Koichi HOKAMA: On phenolic carboxylic acid in the root of *Phryma leptostachya* L.

I 緒 言

本研究は九州大学農学部農芸化学科大島研究室で行なったものである。ハエドクソウは日本本土に広く分布する多年生草本でその根はイエバエに対して殺虫力を有する物質を含有し地方によっては古く実用に供されることもある。有効成分を含む中性部分 (第1図フラクション C) については数年来同研究室の谷口⁶⁾ が研究を続けている。著者はその酸性部分中のフェノールカルボン酸 (第1図 g フラクション) について若干の化学的検討を試みた。

第1図 抽出と分離



II 実 験

(1) 実験は第1図に準じて下記の順序で行なった。

Step-I ハエドクソウ根をエーテル中に数日浸漬放置すると脂肪、蠟、樹脂、精油、配糖体、アルカロイド塩基、有機酸などが抽出される。

Step-II Step-I におけるエーテル可溶部分から有機酸を分離するため、5% NaOH 溶液を加えてふって酸性部分をアルカリ液に転溶させ分液した。

Step-III Step-II でえたアルカリ溶液約 800cc を塩酸酸性にして酸を遊離させ、濾過し、水洗し、洗液は濾液に合し、減圧濃縮して約 500cc とした。

* 琉球大学農家政工学部農芸化学科

Step-IV 濃縮酸性溶液はエーテル 250cc とふって酸性部分を転溶させ分液した。

Step-V Step-IV でえたエーテル可溶部分を 5% NaHCO₃ 250 cc にてふってフェノールカルボン酸を転溶させ分液した。

Step-VI Step-V でえた NaHCO₃ 可溶部分は HCl 酸性にしてフェノールカルボン酸を遊離させて後、エーテルとふってこれに転溶させ分液した。エーテル可溶部分はエーテルを蒸溜除去すると茶褐色の粘稠液約 60 mg を得た。これを g-フラクションと称し以下の実験の試料とした。

(2) g-フラクションのペーパークロマトグラフィ (PC)

20% KCl 溶液を展開溶媒とし下記の標品 (第 2 図第 1 表参照) と同時展開を行ない風乾後ジアゾ試薬を吹きつけて発色させた。A'~N' 標品の呈色状況はすべて g-フラクションのそれと相違していたので第 1 図において色調を表示しなかった。

ジアゾ試薬調製

第 1 液 0.7% 亜硝酸ナトリウム水溶液

第 2 液 スルファニール酸 1g に 5N-HCl 50g および水 150g を加えて溶解したもの。

使用にあたっては第 1 液 1, 第 2 液 4 の割合に混ぜたものを吹きつけて後 10% NaOH 水溶液を吹きつける。

第 1 表 標 品

| | |
|--|--|
| A: Isovanilic acid | C': <i>m</i> -hydroxy-benzoic acid |
| B: <i>p</i> -cumaric acid | D': unknown |
| C: 2-hydroxy-3-methoxy-acetic acid | E': 2-(<i>m</i> -hydroxy-phenyl)-ethanol |
| D: Vanillic acid | F': <i>m</i> -hydroxy-phenyl-acetic acid |
| E: Ferulic acid | G': Salicylic acid |
| F: Syringic acid | H': 2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-ethanal |
| G: Gallic acid | I': 5-(3,4-dihydroxy phenyl)-pentanoic- γ -lactone |
| H: Caffeic acid | J': unknown |
| I: unknown | K': 3,5-dihydroxy-phenyl-methyl-ketone |
| J: 3,4-dihydroxy-propionic acid | L': 4-(3-hydroxy-2-methoxy-phenyl)-butanoic- γ -lactone |
| K: Protocatechuic acid | M': 5-(3-hydroxy-phenyl)-pentanoic- α -lactone |
| L: <i>p</i> -hydroxy-phenylacetic acid | N': 3,5-dihydroxy-1-methyl-benzene |
| A': unknown | |
| B': ,, | |

第 2 表 ジアゾ試薬による各フラクションの発色分布

| フラクション No. | {溶離剤 | Spot の数 |
|------------|---------|--------------------------|
| 1-20 | 20% KCl | 0 |
| 21-26 | // | 3 (紫, 橙, 黄) |
| 27-44 | // | 1 (淡橙) |
| 45-63 | // | 2 (紫, 橙, 紫部分は螢光を發す) |
| 64-69 | // | 0 |
| 70-79 | エーテル | 20% KCl にて溶離されず原点は強螢光を發す |

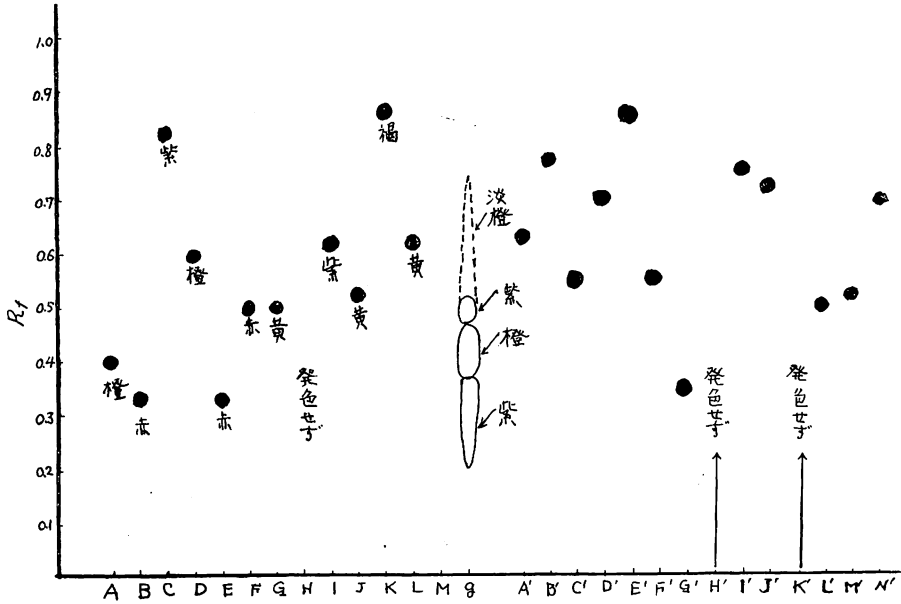
(3) g-フラクションの液体クロマトグラフィ (LC)

g-フラクションをエーテルに溶解してシリカゲルを吸着剤としたカラム (2.5cm×25cm) に流入吸着させ、始めに 20% KCl, 次にエーテルを溶離剤としてフラクションコレクターにて 20ml 宛分画を行ない、各フラクションはエーテルに転溶濃縮してジアゾ試薬を吹きつけて発色の状況を調べた。

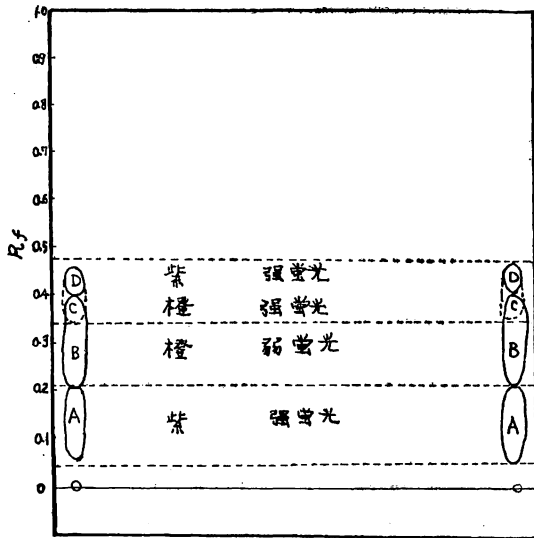
(4) 濾紙から発色部分の抽出

フラクション No. 27-63 (橙, 紫) のエーテル溶液を合して分液漏斗に移し水を加えて残存 KCl を水層に転溶し水層はすてエーテル部分は約 1ml に蒸溜濃縮した。

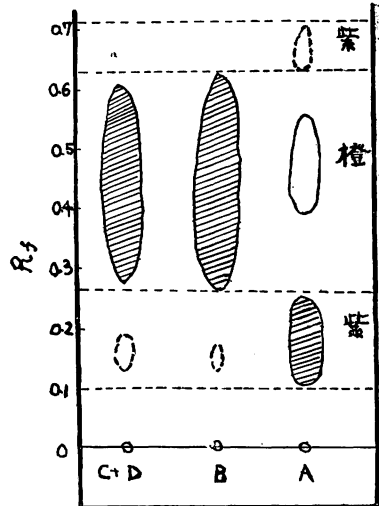
濃縮液は 1cm 間隔で大型濾紙 (東洋濾紙 No. 50) にスポットし 20% KCl にて展開風乾後両端をジアゾ試薬にて発色させ発色部分に相当する部分を切取って細断しソックスレー抽出器にてエーテルで



第2図 g-フラクションおよび対照品のペーパクロマトグラム



第3図 1回目濾紙から抽出に際しての呈色状況
..... 切取線



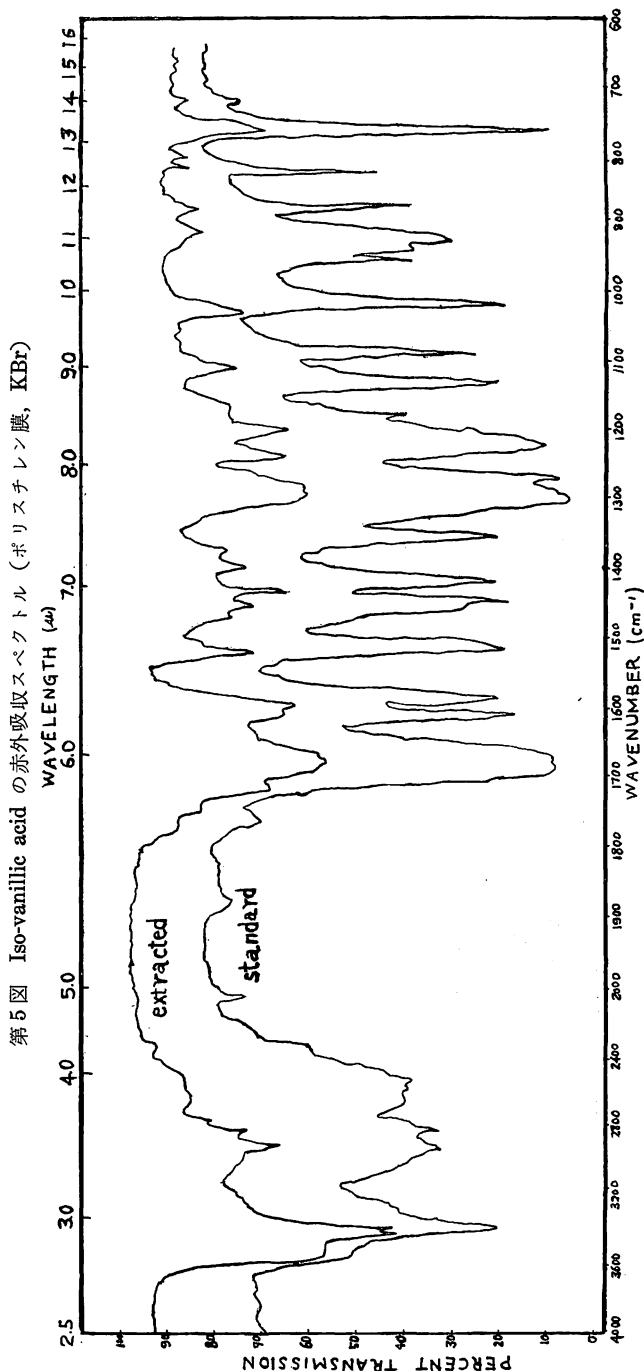
第4図 2回目濾紙から抽出に際しての呈色状況
● 抽出部分
○ 痕跡

抽出した。各抽出部分はお若干ほかの部分を含んでいたの
で、上と同様な方法でさらに濾
紙より抽出し、ジアゾ試薬にて
One スポットの橙(約 3mg),
紫(約 1mg)の2結晶を得た。
(5) ジアゾ試薬にて橙色を与
えた結晶の同定

PCにおいてスポットの位置
と呈色がほとんど標品(合成品)
の Isovanillic acid に一致し、
両者の混融試験においても融点
降下を示さず 160~163°C であ
った。IR スペクトルは合成品
のそれと殊に指紋領域において
若干相違したが傾向としては大
体一致していたので、Isovanil-
lic acid と同定した。

III 考察および結論

Step-I および Step-II は九大
の谷口が行なったもので、Step-
II において得られたエーテル可
溶部分は同氏が目下研究中であ
るハエドクソウの有効成分の試
料として実験に供されている。
筆者は分液して得たほかのアル
カリ可溶部分を実験の試料とし
た。Step-V においてアルカリ
液として 5% NaHCO_3 を用い
たのはエーテル可溶部分中のフ
ェノールカルボン酸だけをそれ
に転溶させるためである。すな
わちフェノールカルボン酸は
 NaOH , NaHCO_3 の両者にとけ
るが、フェノール類は NaOH
にはとけて NaHCO_3 にはとけ
ないからである。Step-III にお
いて塩酸性にした場合灰白
色、水に難溶性の高分子酸性凝



第5図 Isovanillic acid の赤外吸収スペクトル (ポリスチレンレン膜, KBr)

固物を生じたが、このものはイソプロピルエーテル酢酸(4%)を展開剤としバニリン硫酸液を呈色試薬として薄層クロマトグラフィ(TLC)を行なった場合紫色の4スポットを与え、また Lieberman 反応においてトリテルペノイドあるいはステリン類(赤一紫)の呈反応を示したが、Ferric hydroxamate 試験によるカルボン酸の定性試験についてはその陽陰性をよく確認することができなかった。そのものについてはそれ以上の追求は行なわなかった。PC における展開剤は九大鋳塚³⁾が採用したもののうちで分離能がもっともよい 20% KCl 溶液を本実験の展開剤として用いた。フェノールカルボン酸の OH 基の検出方法はいろいろあるがジアゾ反応によって行なった。すなわちジアゾニウム塩とアルカリ性においてカップリング反応を起こさせアゾ化合物となし発色させた。第3図においては肉眼的には B+C は橙色の同一スポットであったが C 部分は蛍光を発した。このことは強蛍光性の D 部分が C において B 部分と重複していることを意味する。また第4図においては第3図における C+D 部分の紫部分すなわち D は消失して A の紫部分の位置に現われているので橙色スポットは紫色スポットの中間に呈色していると思ふ。結局スポットは橙色と紫色の2スポットであった。Isovanillic acid の合成品は純白結晶であったが抽出結晶は若干褐色をおびていた。それは 20% KCl 展開に際して色素も若干展開されるのでそれがスポット位に混入したことによるものであり、したがって IR スペクトルにおいて標品と抽出結晶との間に若干の相違が見られるのは不純物である色素の混入によるものであると思う。紫色のスポットは収量 1mg 程度の少量で融点測定以外の実験はできなかった。その時の M.P. は 47~50°C であった。フラクション No. 70~79 を合して活性炭処理して減圧乾固し、黄色、半透明、強蛍光性の物質を得たがこれ以上追求しなかった。

IV 要 約

- (1) 本研究は九州大学農学部大島研究室で行なったものである。
- (2) 第1図中の g-フラクションを試料とした。
- (3) g-フラクションのペーパークロマトグラフィ(PC)においては 20% KCl を展開剤、ジアゾ試薬を発色剤として用いた。
- (4) g-フラクションの液体クロマトグラフィ(LC)においてはシリカゲルを吸着剤、20% KCl およびエーテルを溶離剤として用いた。その際溶離した各フラクション (No. 1~79) は濾紙にスポットしてジアゾ試薬を吹きつけて発色状況を調べた。
- (5) g-フラクションの LC において得られたフラクション No. 27 から 63 (橙, 紫) を混合して PC にかけた。その際 PC 上橙部分と紫部分から 2 結晶がそれぞれエーテルによって抽出された。
- (6) 濾紙上橙色を与えた結晶は PC, 混融試験, IR 吸収スペクトルから Isovanillic acid と同定したが、紫色を与えた結晶については収量(約 1mg) が少なかったために融点測定以外の実験はできなかった。

終りに当り本研究にあたって器機の使用、試薬の提供などの便宜をはかられ、また有益な助言を与えて下さった九州大学大島康義教授ならびに江藤守総助教授に感謝致します。

引 用 文 献

- 1) 杉山 登 1962 有機物の微量確認法。
- 2) 橋本庸平 1963 薄層クロマトグラフィ。
- 3) 鋳塚昭三 1962 稲ポリフェノール類の化学的研究。

- 4) 宮道悦男 1962 最新植物成分研究法.
- 5) Cheronis, N. D. & J. B. Entrikin 1963 Identification of organic compounds.
- 6) 日本化学会, 日本薬学会, 日本農芸化学会 1963 第7回天然有機化合物討論会講演要旨集.
- 7) 植物化学研究会 1963 植物化学実験書.
- 8) 山口一考 1958 植物成分分析法, 上巻.

Résumé

(1) This study was performed at the Oshima Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyushu University.

(2) Fraction-g shown on Table I was used as samples for this study.

(3) Twenty % KCl solution and diazo reagent were used as developer and revealing agent respectively in the determination of fraction-g by the paper chromatography (PC).

(4) Silica gel, 20% KCl solution and ether were used as adsorbent and eluting agents respectively in the determination of the fraction-g by the liquid chromatography (LC). Each fraction No. 1 through 79 eluted from LC was revealed by spraying diazo reagent on filtering paper for inspection.

(5) The fractions of No. 27 through 63 were mixed together and set on the PC. Two crystals were extracted by ether from the part colored orange and violet on the PC.

(6) The crystal from the orange part was identified as iso-vanillic acid by the PC, mixed melting point and infrared spectra test. While the other crystal from the violet part was not identified thoroughly, because it was too small to be tested for other than measuring the melting point.