

琉球大学学術リポジトリ

沖縄産魚毒植物成分の研究 (2) ー ルリハコベ (Anagallis arvensis L.) サポニンの魚毒作用並びに溶血作用ー

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学文理学部 公開日: 2011-09-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森, 巖, Mori, Iwao メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/21827

沖縄産魚毒植物成分の研究〔Ⅱ〕

— ルリハコベ (*Anagallis arvensis* L.) サポニンの
魚毒作用並びに溶血作用 —

森 巖

Studies on the Components of the Plants on Okinawa which give Poisonous Effect on Fish. 〔Ⅱ〕

— On the poisonous effect on fish and hemolysis
effect of the saponin of Rurihakobe
(*Anagallis arvensis* L.) —

Iwao MORI

Abstract

We extracted saponin from *Rurihakobe* (*Anagallis arvensis* L.) which grows on Okinawa and measured its poisonous effect on fish (*Top minnow*) and its hemolysis effect.

The results are as follows:

1. Hemolysis index is 8895 and foaming stability is 2000. As the poisonous effect on fish (*Top minnow*), the extracted solution is strong. The solution diluted to 1/1750 brings the fish to death in 70 minutes.
2. Color reaction of saponin and sapogenin.

Name of Color Reaction	Saponin	Sapogenin
Liebermann reaction	light-magenta ~ magenta-yellow	light-pink ~ blue-violet
Liebermann-Burchard reaction	blue violet	light rose brown
Salkowsky reaction	H ₂ SO ₄ layer: orange-yellow (green fluorescence)	orange-yellow
	CHCl ₃ layer: colorless	colorless

3. Paper-chromatography of saponin and sapogenin.

Solvent: n-butanol: ethanol: water = 1 : 1 : 5.

Filter paper: Toyo filter paper No. 50, 2 × 40 cm.

Reagent: C₆H₅COCl: H₂SO₄ (d = 1.84): CHCl₃ = 3 : 1 : 1.

Temp.: 18° C. Time: 18 hrs. Ascending.

R_f values of saponin: 0.94; 0.84; 0.57.

R_f values of sapogenin: 0.50; 0.52; 0.62.

緒 論

ルリハコベ (*Anagallis arvensis* L.) はサクラサウ科 (Fam. Primulaceae) のルリハコベ属に属する一年生伏臥草である。このものは日本本州、中南部、九州、琉球、台湾に野生しているが、元来は歐洲、北米、メキシコ、ブラジル、西濠洲の原産だとのことである。

ルリハコベの全草を風乾したものは、肝臓・腎臓疾患、浮腫に効果があり、散剤またはチンキとして用いられるとのことである^{1,2)}。琉球地方では、その全草を採取直後、木灰などと共につき砕いて捕魚の目的に使用している。このものの主成分はサポニンであるとされるが、その詳細については不明である。

筆者は2月から4月にかけて、琉球大学構内に自生するルリハコベを採取し風乾したのについて実験を行い、次のような結果を得たので報告する。

ルリハコベの魚毒作用³⁾ならびに溶血作用⁴⁾は、イジュ樹皮のそれよりも⁵⁾強力であり、このものに含有されるサポニン配糖体水溶液の起泡数⁶⁾は2000、溶血指数は8895であつた。

Liebermann その他の呈色反応⁷⁾は顕著であり、サポニンの含有されることは確実である。さらに、サポニン配糖体のベンゼン抽出物についてのペーパー、クロマトグラフィー⁸⁾による分離の結果、三つのスポットをもつトリテルペノイド系サポニンの存在が推定され、そのものの加水分解物(サポゲニン)のペーパー・クロマトグラフィーについても三つのスポットがあるが、それらについては他日精査の上報告することにする。

実 験 の 部

1 泡 末 試 験

Kofler による起泡数 (Schaum Zahl) の決定法に準じた。ルリハコベの乾燥試料を鉄製乳鉢で粉末にし、その0.1gを水で温浸したのち、1%の炭酸ナトリウム水溶液で中和してその全量の水を加えて100ccとする。同形、同大の試験管に下記の割合に煎剤と水とを分注し各管とも全容を10ccとする。

管 番 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
煎 剤 (cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
水 (cc)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

こように調製したのち、各試験管の口を抑えて激しく振りまぜたあと15分間静置したときの泡沫層の高さを測定し1cmの泡沫層を示す管番号の最も小さい方と取り、次式によつて起泡数を求めた結果、試験管番号が(5)に相当するので起泡数は2000である。起泡数は同一条件で1cmの泡沫層を生ずべき溶液の希釈度を示すものである。

$$\text{起泡数} = \frac{100}{\text{管番号} \times 0.01}$$

2 溶血指数の測定

溶血指数を測定するために、下記のように溶液を調製した。

a) 等張りん酸塩緩衝溶液の調製

Na_2HPO_4 16.0 g, NaH_2PO_4 4.4 g を蒸留水にとかし全量を1lとする。(pH: 7.4)

b) 血液浮遊液

筆者の左腕から採血した血液10ccに3.6%のクエン酸ナトリウム溶液1ccを加え、さ

らに、これに緩衝液 10 cc を加えて混和し、攪拌して凝固を防ぎ、のち緩衝液を追加して全量を 500 cc に希釈し 2% 血液浮遊液とする。

c) 検液の調製

ルリハコベの全草を風乾細切し 35 メッシュ篩を通過する粉末とし、塩化カルシウム乾燥器で十分に乾燥したものの 0.1499 g を正確に秤取する。はじめ緩衝液 70 cc を加えて水浴上で 30 分間加熱抽出し、脱脂綿を用いて 100 cc メスフラスコに熱時濾過し、さらに、残渣に別の緩衝液を 30 cc 加えて 5 分間水浴上で加熱抽出し、前と同じように、前のメスフラスコに濾取する。冷却したのち蒸発した水を補い全量を 100 cc とする。

d) 測定法

清浄な小試験管に検体を 0.05 cc おきに順次増量し、0.1 から 0.7 cc まで注入し、次に緩衝液を加えて各試験管の内容量を 1 cc とする。これをよく混和してのち、血液浮遊液をよく振つて均一にしたものの 1 cc 宛を分注して全量をそれぞれ 2 cc とする。分注直後および 15 分後に泡だちを避けて完全に混和させ室温 (15°C) に静置する。

完全溶血 (管底に血球の存在を認めない状態のもの) したのちから部分溶血 (管底に血球を明視するもの) したのちに移行する最後の完全溶血を起している試験管の検体の希釈倍率でもつて溶血指数 (Hemolysis index) または、粗指数 (R. I.) とする。溶血の有無の判定は 6 時間後に行なつた。実験の結果、血液を完全に溶解する検体の量は 0.15 cc であるので、次式による溶血指数は 8895 となる。

計算式

$$\text{H. I. または R. I.} = \frac{V}{\frac{P}{100} \times S}$$

V = 試験管内の全量

P = 検液中の生薬百分率

S = 用いた溶液量

3 魚毒作用の測定

a) 採取直後の未乾燥のルリハコベ全草の 10 g を鉄製乳鉢でつき砕き、水で温浸して濾過したものに水を加えて全量を 100 cc としたものを原液とする。このものを表-1 のように希釈

Table 1. The poisonous effect of aqueous extract of *Rurihakobe* (*Anagallis arvensis* L.).

Time required for fish to turn over in various dilution. (minute)			
Top minnow No.	1/100*	1/250*	1/500*
1	5'20"	13'05"	78'30"
2	5'50"	13'30"	80'20"
3	6'05"	14'27"	80'45"
4	7'07"	15'40"	84'30"
5	7'25"	16'05"	85'05"
Average	6'21"	14'53"	81'50"

* Rate of dilution

したものについて *Top minnow* (普通, こう呼んでいるが *Gambusia affinius* とは異なるけれども, *Gambusia* 属であるとのことである.) を各5匹宛放ち, それの横転するまでの時間を測定した. *Top minnow* の平均体長は3cmであつた. 本検液では750倍以上に希釈したものについては, 3時間ないし4時間経つても魚毒作用はあらわれなかつた.

b) ルリハコベの風乾試料10g(水分考慮)を細粉し, 前回と同じように処理したものについては表-2の通りであつた. すなわち1750倍に希釈してもなお70分32秒で全部の *Top minnow* は横転し, イジュ樹皮の場合は, 1000倍希釈で平均60分であつたことに比較して, このものの魚毒作用はイジュのそれよりも強いことが明らかである. ちなみに, ルリハコベ採取直後の生草の10gを風乾すれば約0.1gとなる.

Table 2. The poisonous effect of solution which is extracted from dry powder of *Rurihakobe* (*Anagallis arvensis* L.) by water.

Time required for fish to turn over in various dilution. (minute)							
<i>Top minnow</i> No.	1/100*	1/250*	1/500*	1/750*	1/1000*	1/1250*	1/1750*
1	5'20"	7'10"	15'25"	21'50"	33'30"	39'25"	60'35"
2	5'40"	7'55"	16'35"	22'05"	44'40"	41'30"	61'30"
3	6'05"	8'10"	17'00"	22'10"	45'45"	49'25"	62'35"
4	6'25"	8'20"	17'20"	22'30"	47'30"	51'55"	83'15"
5	6'45"	8'35"	18'20"	23'20"	48'20"	52'15"	84'45"
Average	6'03"	8'02"	16'56"	22'23"	43'55"	46'34"	70'32"

* Rate of dilution

4 ルリハコベ-サポニンの抽出

風乾したルリハコベの全草1.5kgを細切し, メタノール5lで温浸すこと3回. 全浸液を合して濃縮し, 2~3日間放置して析出する夾雑物を汙別する. このものに多量の水を加え, さらに, 析出する夾雑物を除いて再び濃縮する. このものに必要量の酢酸鉛水溶液を加え, 生じた沈でんを遠心分離して除く. この母液に約5倍量のアセトンを加えて生ずる多量の水沈でんを汙取する. これを水に浮遊させて硫化水素で充分脱鉛する. この汙液を再び濃縮して放冷する. これにアセトンを加えて生じた粗サポニンをメタノールに溶解汙過したのち, エーテルを加えてサポニンを析出せしめる操作を繰返したが, 純品を得ることは出来なかつた. このものは淡褐色で, 粗品の収量は1.5gで灰分を含有する.

a) ルリハコベ-サポニンの呈色反応

- i) Liebermann-反応: light-magenta ~ magenta-yellow
- ii) Liebermann-Burchard-反応: blue ~ violet
- iii) Salkowsky-反応: 硫酸層: Orange-yellow で蛍光性 green を呈す.

クロロホルム層: 無色

b) ルリハコベ-サポニンのペーパー・クロマトグラフィー

乾燥したルリハコベの全草1に対してベンゼン10の割で温浸したものを適量になるまで濃縮してペーパー・クロマトグラフィーにかける.

展開剤 Butanol: Ethanol: H₂O = 1:1:5

の割に混じたものをシリンダーに入れ一昼夜飽和させたのち使用する。

顕色剤 Benzoylchloride : H_2SO_4 ($d = 1.84$) : Chloroform = 3 : 1 : 1

濾紙 東洋濾紙 No. 50, 2 × 40 cm

展開時間 18時間, 温度 18°C 上昇法による。

Rf 値 0.94, 0.84, 0.57

このスポットの呈色は明白でない, 上記三つのスポットを認めることは可能であるが, Rf値が大きすぎるので, 展開溶媒を検討する必要がある。

5 ルリハコベ-サポニンの加水分解

10 g の乾燥ルリハコベの全草を 80% エタノール 400 cc で 3 回にわたつて抽出し, アルコールを追い出し, 冷却したとき析出する夾雑物を除く。このものにエーテルを加えて振りまぜ, エーテル可溶物を除いたものに 7% になるように硫酸 ($d = 1.84$) を加えて 3 時間加熱分解する。冷却したのち析出してくるものをエタノールに溶かし, 活性炭を加えて脱色する。この溶液をさらに濃縮してから水を加えると粗サポゲニンが析出する。このものは白色の結晶性粉末で収量は 0.01% であつた。

a) ルリハコベ-サポゲニンの呈色反応

i) Liebermann-反応 : light pink ~ blue violet

ii) Liebermann-Burchard-反応 : light rose brown

iii) Salkowsky-反応 : 硫酸層 : Orange-yellow

クロロホルム層 : 無色

b) ルリハコベ-サポニンのペーパー・クロマトグラフィー

サポゲニンの 0.1% エタノール性溶液をクロマトグラフィーにかける。

展開剤, 濾紙, 顕出剤, 展開時間, 温度, 展開法は前回と同じ。

Rf 値は, 明白でないが三つのスポットを確認した。

0.50, 0.52, 0.62 であつた。

これらの値は, Oleanolic acid の 0.52, Ursolic acid の 0.49, Hederagenin の 0.62 と一致しているが, それらの存在の確認については明らかでない。あらためて研究の上後日報告する予定である。

総 括

1) ルリハコベの乾燥全草について魚毒効果, 溶血効果を調べそれらが, このものに含まれるサポニンの作用であることを確かめた。魚毒作用については, 乾燥試料 10 g を水で温浸し, 全量を 100 cc としたのものについて測定した結果, 1750 倍に希釈しても効果が大きいことがわかつた。溶血指数は 8895 で, 起泡数は 2000 であつた。

2) ルリハコベに含有されるサポニンおよびサポゲニンについては, 溶血作用, 起泡数ならび Liebermann その他の呈色反応の結果, その存在が明らかであり, ペーパー・クロマトグラフィーなどからトリテルペノイド系サポニンであることがわかる。

サポニン・サポゲニンについてのペーパー・クロマトグラフィーの結果, Rf 値はそれぞれ 0.94, 0.84, 0.57 の三つのスポットと 0.50, 0.52, 0.62 の三つのスポットが認められた。前者については展開溶媒を改良する必要がある, 後者ではその Rf 値がオレアノール酸, ウ

ルソール酸やヘデラゲニンなどのそれと一致するが、それらの存在については確認していないので不明である。サポニン、サポゲニンならび糖部については精査の上後日報告する予定である。

参 考 文 献

- 1) 大村：綜合薬用植物 p. 104~105 広川書店 (昭和18年刊)
- 2) 木村, 大島：薬用植物学各論 p. 215 広川書店 (昭和31年刊)
- 3) Steiner, Peach, Trach: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse III, 69 (1955)
- 4) 藤田, 西本：薬誌 72, 1645 (1952)
- 5) 森：本誌, No. 4, 50 (1960)
- 6) 武田, 吉城：薬誌 63, 193, 197 (1943)
- 7) 嶋野, 滝, 東：岐阜薬科大学紀要 5, 1 (1955)
- 8) 嶋野, 滝：岐阜薬科大学紀要 8, 24, 27 (1958)