

天然物中の有効成分の単離とその性質および応用に関する研究

The Study of Isolations, Characters and Utilizations of the Useful Components in the Natural Products

赤池 照子・佐藤 雅, 宇高 京子

卜部 澄子・松山しのぶ, 山口 功・女鹿 紀子

このテーマによる研究は二年目になるが、各研究分担者の実験結果も徐々にまとまりつつあるところである。昨年度に引き続き、赤池・佐藤らは、コチニールと展着剤との係わりについて研究を行った。すなわちコチニールを杉板上に三種の展着剤（鹿膠、三千本、調合膠）と混合して塗布し、紫外線照射による変退色を調べた。20時間毎にそれらの変退色の程度を測定したが、最初の20時間内の変退色が最大となり、その後徐々に変退色が起こった。200時間後では $A_{E}=5.64$ （三千本）、 5.53 （鹿膠）となった。このことから、鹿膠による展着が最も変退色の程度が少なかったとの結果を得た。宇高は大豆貯蔵タンパク質の生化学的および生物に対する影響に関する研究で、今回も昨年と同様に発芽大豆の経時的変化にともなう大豆貯蔵タンパク質の変化を取り上げ、その中で特に顆粒内タンパク質を基質とするプロテアーゼの性質およびタンパク顆粒との関係に重点をおいて研究を行った。貯蔵大豆は休眠が解除されると、形態的にも生理的にも未分化な部分の代謝が急激に活性化し、いわゆる、*ergastic* な細胞内貯蔵成分の分解成分の胚の成長が起こり、幼根が種皮を破って成長を続ける。この発芽現象の中で最も劇的な生理化学的变化は、タンパク顆粒内のタンパク質（protein bodies）の分解であり、そこにはプロテアーゼが関与している。従

来から、発芽とプロテアーゼの研究が多く成されているが、それらの大部分は、*natural substrate* であるタンパク顆粒内タンパク質を用いない場合が多く、また、顆粒との関連性についても触れることが少なかった。そこで、発芽各時期（発芽大豆の経時的変化）の子葉組織から分離した顆粒内タンパク質を免疫化学的手法とスラブゲル電泳動法を用いて、その分解過程を追及した。主要貯蔵タンパク質成分の一つである11S-タンパク質（グリシニン）の場合では、免疫化学的定量法（*simple radial immunodiffusion*）による分析の結果から、発芽8日目までの抗原性の低下は、完熟時の10%程度であり、発芽12日目を経ても、なお、その存在が認められた。これは7S-タンパク質（コングリシニン）に比べて、11S-タンパク質成分が分解されにくいことを意味しているとの結論を得た。卜部らは、今回、花卉色素の繊維への染色性を検討し、最適染色条件による染布の染色堅牢度、測色およびこれらの染布の発色の仕組みを研究した。すなわち、花卉色素材料としてチューリップ（品種；クイーン・オブ・ザ・ナイト、濃赤紫色、キャンニー濃赤）、カーネーション（品種；スケニヤ、真赤）花しょうぶ（紫）を選び、それらの花卉を生花卉、凍結乾燥花卉、花卉色素の配糖体および配糖体のアグリコンなどの処理別に布に対する染色性を比較した。まず、色素

抽出液のpH, 温度, 時間などの各種染色条件を定め, 処理別の色素と多織交織布(9種の繊維を織り込んだ布)を色素抽出液に入れ, 所定の条件で染色した。その後, 3種の金属塩によって媒染を行い, 最も濃色に発色した部分の色素を再抽出し, 改めてその条件による染布を作成し, 堅牢性や測色などの染色効果を比較検討した。その結果, 生花卉と乾燥花卉は類似した染色性を示し, 花卉の色に近い色に性着するが, 染色堅牢度は弱く, 媒染によって2~3級向上した。3種の花弁色素のアグリコンは, デルフィニジン, ペラルゴニジンおよびマルビジンで, ここで特に注目すべきことは, デルフィニジンがアクリルを濃赤色(補色主波長493nm), マルビジンはアクリルを明赤紫(補色主波長499nm)およびペラルゴニジンの配糖体は毛を濃赤色(補色主波長493nm)に染め, 耐光堅牢度は劣るが, 洗濯や汗に対して堅牢であった。山口らのアロエベラ中に含まれる有効成分の抽出と単離およびその化学構造の決定に関する研究は本誌に掲載しておるので, ここでの説明は省略する(山口 記)

天然物中の有効成分の単離と

その性質および応用に関する研究

Aloe vera (L.) Burm. f. 中の成分について

研究分担者 山口 功, 女鹿 紀子

序

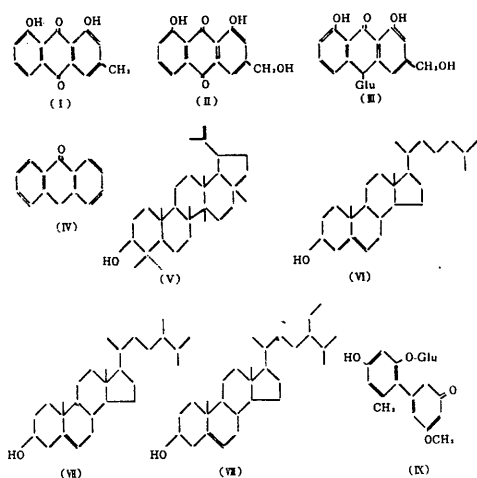
アロエはユリ科アロエ属の植物で, 最初はアフリカ南部などに繁殖していたが, 今日では世界中で「医者いらず」の植物として栽培され, 品種も多く300種類以上あると云われている。日本ではアロエといえば, キダチアロエ (*Aloe arborescens* Mill) を指している場合が多いが, 欧米では大抵アロエベラ (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) を意味する。これはアロエベラの葉が大きく, 葉肉が厚いので, 古代の中近東やヨーロッパでは, この葉肉だけを乾燥し, 獣肉などの食べ過ぎの際に, 胃腸薬として服用していたことにもよる。また, 戦場で負傷した兵士の傷の手当てにも用いられた。Webster's Third New International Dictionary での Aloe の項には, 「アロエ植物の葉の乾燥した苦味ジュースは便通剤, 強壯剤, 月経促進剤として用いられる。」と示されている。

1964年に Lorenzetti ら¹⁾は凍結乾燥したアロエベラの抽出液がある種の *Staphylococcus*, *Corynebacteria*, *Streptococcus*, *Salmonera* などに對し抑制作用のあることを明らかにした。

1966年と1969年に添田ら^{2~4)} Cape Aloe (*Aloe ferox*, *Aloe vera*, *Aloe africana*)に着目し, それを持つ火傷, 凍傷および昆虫刺傷などに対する治療効果やバクテリアやカビに対する軽度の抗菌性, 白癬症や特に創傷などにはびこる緑膿菌に顕著な殺菌性のあることを見つけ, それより以前にある種の成分が放射線照射による白血球減少症に対する予防効果と抗腫瘍性のあることを発見した。1973年に Zawahryら⁵⁾はアロエベラには, 潰瘍部に正常な細胞を再生

させる効果のあること、さらに脂漏性皮膚炎や軽度の脱毛症にも効果があること、また、1982年に鈴木ら⁶⁾はアロエベラ中のある種のグリコプロテインが細胞分裂促進作用のあることを報告している。1979年に Coats⁷⁾はアロエベラジェルがビタミンCにより安定化させることの特許を日本で取得している。1984年にライオン(株)の応用研究所⁸⁾により高分子の抗腫瘍性物質の製造に関する特許が出された。1988年には McDaniel⁹⁾によりアロエベラ葉肉中からのアセマンナンがエイズに効果があると報告されている。

このように比較的高分子量の多糖類や多糖類とタンパク質が結合したものに顕著な生理活性が認められるが、アロエベラ中に含まれている比較的低分子の有機化合物の中で、これまでに明らかになった代表的な化合物をあげると、各種アミノ酸類、グルコース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ウロン酸(ガラクトツロン酸)などの糖類やその誘導体、サリチル酸、乳酸、尿酸などの酸類、クリソフェノール(I)、アロエエモジン(II)、バルパロイン(アロイン)(III)、アントラノール(IV)などのフェノール類、ルペオール(V)、コレステロール(VI)、カンベステロール(VII)、 β -シトステロール(VIII)などのステロイド類などがあるが、それらの生理活性についての研究はつぎのような結果が出ている。



菅ら¹⁰⁾は Cape Aloe やキダチアロエから得られたフェノール類の一種のアロエニン(IX)をネズミに与えたところ、アロエニンは最初の24時間に肝臓と腎臓に、その60%が留まり、つぎの24時間以内に尿尿に排泄されてしまう。バルパロイン(III)は外皮の直く下部に黄色粘液として含まれる苦味物質であるが、結腸組織にプロスタグランジンの産生を促し、便通をよくする作用があるとされる。また微量のアロエエモジン(II)やバルパロイン(III)のようなアントラキノ誘導体は生体内でサリチル酸誘導体となり、プロスタグランジンやトロンボキサンの合成を抑制することにより、火傷などの患部の疼痛を、マグネシウムと共にやわらげるものと考えられている。

筆者らは、上記以外の簡単な化合物で、有効な生理活性を持つものの存在を確かめるために n-ヘキサンとアセトンによる抽出を試み、その成分をガスクロマトグラフィ質量分析装置で分析を行い、若干の知見を得たのでここにその一部を報告する。

1. 実験方法

1988年2月に、栃木県の郡司農場より購入したアロエベラの葉の外皮をナイフで切りとり、白色のやや透明なゼリー状のゲル物質だけを集め、凍結乾燥した。1.9kgのゲルから白色繊維状物質87.5gを得た。その乾燥ゲル87gを朝比奈式抽出装置を用いて20日間、n-ヘキサンおよびアセトンにより個々に抽出を行った。n-ヘキサンとアセトンによる抽出液はそれぞれ濾過後、ロータリエバポレーターにより溶媒をすべて除去して、それぞれ淡黄色オイル状液8.3gおよび3.39gを得た。それらの濃縮液をカラムクロマトグラフィ(カラム; 240×24.4mm, ワコーゲルC-300)による精製を試みたが、n-ヘキサシのNo.15フラクション(ベンゼン溶出)の濃縮液から白色針状結晶(0.03g)を得たのみであった。n-ヘキサシのその他のフラクションはそれ

以上精製が困難であるので、そのままガスクロマトグラフィ質量分析装置で分析した。アセトン抽出液も同様の操作で精製を試みたが、単一物を得るに至らず、No.2フラクション（濃縮液120mg；ベンゼン：酢酸エチル=2：1溶出）が比較的分量が多かったので、これを直接ガスクロマトグラフィ質量分析装置に導入した。溶媒：市販1級品を一回蒸留して、実験に供した。

ガスクロマトグラフィ質量分析装置：日本電子（株）製JMX-DX-30型、n-ヘキサン抽出液に関しては、カラム；ガスクロ工業（株）製25m、内径0.25mm、OV-1、試料注入部温度；200°C、キャリアーガス；He、1.62ml/min、アセトン抽出液に関しては、カラム；信和化工（株）製ULBON HR-1、30m、内径0.25mm、試料注入部温度；260°C、キャリアーガス；He、1.62ml/minいずれもスプリット経路を用いて通常EIマスペクトルを測定した。

2. 実験結果

上記の方法による測定の結果、かなりのデータを得たが、ここではその一部を報告する。

(1) n-ヘキサン抽出液中の成分

①β-シトステロール (C₂₉H₅₀O, m/e=414) : No.15フラクションの白色針状結晶はさらにn-ヘキサンにより再結晶して精製し、ガスクロマトグラフィ質量分析装置（この場合の測定条件は一部上記と異なり、Inj. temp ; 300°C, Col. temp ; 280°C, 0.25mm×25m, OV-1である）にかけ、m/e 414に分子イオンピークを得た。マスペクトルの開裂様式、結晶の融点、赤外、紫外吸収スペクトル、NMR-H₁, C₁₃スペクトルから、これをβ-シトステロールであると同定した。この同定に関しては、別報¹⁾に発表した。ここではマスペクトルのみ掲載する。

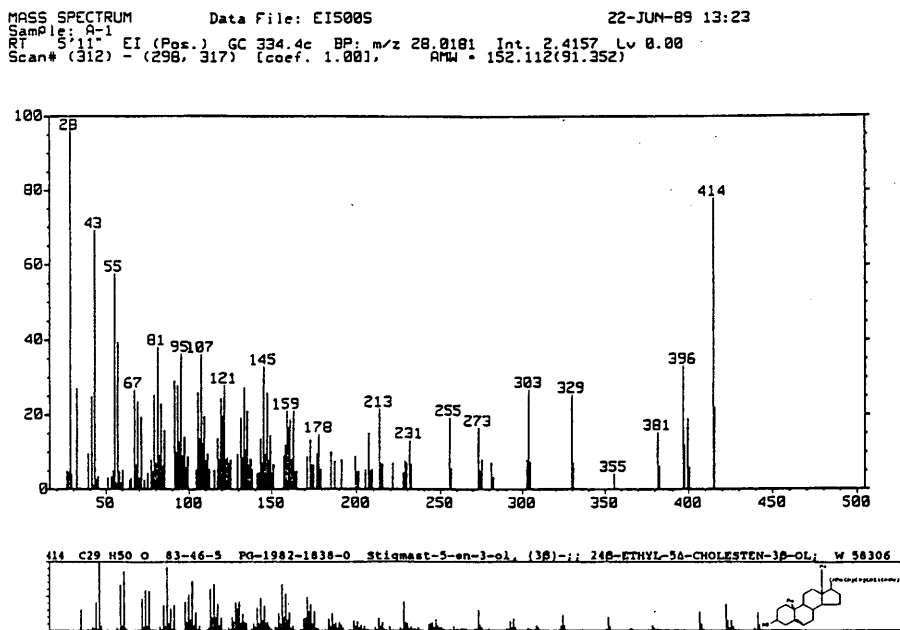


図1. β-シトステロール含有試料の実測マスペクトラム (上) と標準マスペクトラム (下)。

天然物中の有効成分の単離とその性質および応用に関する研究

MASS SPECTRUM Data File: E15005.DAT:62 22-JUN-89 11:22
 Sample: A-1
 RT: 2.91 EI (Pos.) GC 253.1c BP: m/z 57.0733 Int: 6.3129 Lvl: 0.00
 Scan# (122) - (115, 236) (coef. 1.00), AMU = 71.565(56.910)

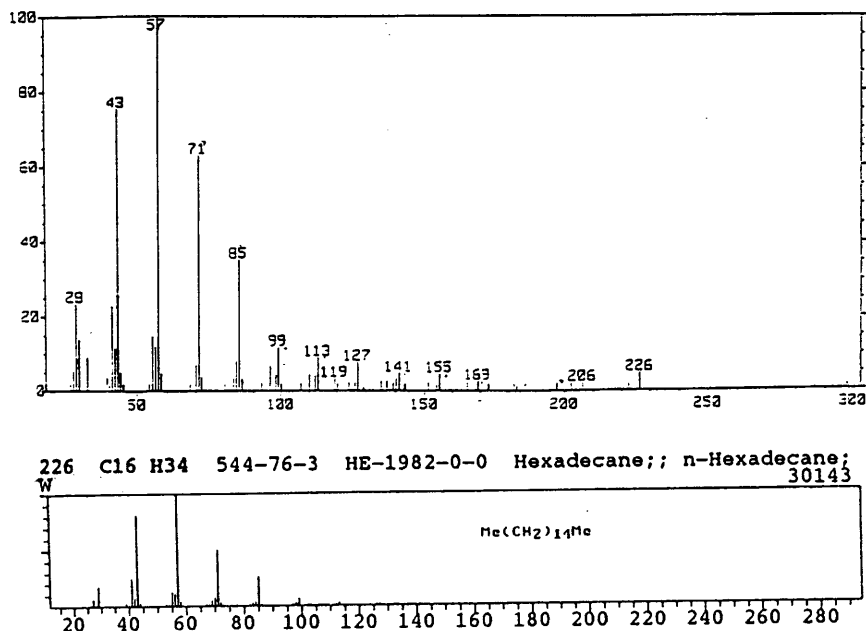


図2. n-ヘキサデカン含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

②n-ヘキサデカン ($C_{16}H_{34}$, $m/e=226$): これ以下のマススペクトルに関しては The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data を参考にして同定した。この測定においては、トータルイオンスペクトル (ガスクロマトグラム) のベースラインが山になっており、各々のマススペクトルには、狭雑物の混入が予想されるが、このチャートを含めて、それら狭雑物までの同定は示さなかった。n-ヘキサデカンの化学構造は $CH_3(CH_2)_{14}CH_3$ である。

③10-ドデセニルシクロヘキサン ($C_{18}H_{34}$, $m/e=250$): 狭雑物としてその他の化合物の混入が認められるが、 m/e 82, 83着目して化学構造を推定した。したがって、分子イオンピークで示される化合物の化学構造は $C_6H_{11}-(CH_2)_9-CH=CHCH_3$ で示される。

④1-オクタデセン ($C_{18}H_{36}$, $m/e=252$): 狭雑物の混入が考えられるが、 $M^+-28=224$ が存在しており、したがって、分子イオンピークの示す化合物の化学構造は $CH_3(CH_2)_{14}CH=CH_2$ である。

⑤トリデシルベンゼン ($C_{19}H_{32}$, $m/e=260$): m/e 91, 92に着目し、ベンゼンにアルキル基が置換した化学構造を想定した。狭雑物の混入がかなり多いが、マスフラグメントの開裂様式から、ここに含まれている化合物はトリデシルベンゼンと予想され、その化学構造式は $C_6H_5-(CH_2)_{12}CH_3$ で示される。

⑥2-ノナデセン ($C_{19}H_{38}O$, $m/e=266$): m/e 237の存在により、1-ノナデセンではなく、2-ノナデセンではないかと推定した。そして、 m/e 223は認められなかったが、それより小さ

MASS SPECTRUM Data File: E15005.DAT:62 22-JUN-99 11:22
 Sample: 2-1
 Run: 2:55:17 EI (Pos.) GC 253.1c BP: m/z 53.0726 Int. 4.3670 Lv 0.00
 Scan# (162) - (115, 235) [coef. 1.00], AMW = 99.377(77.856)

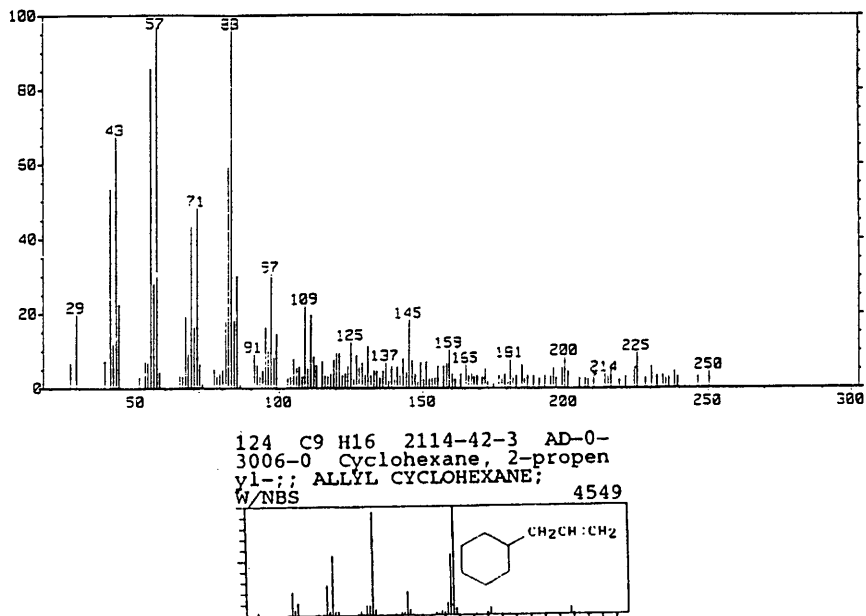


図3. 10デセニルシクロヘキサンの実測マススペクトラム (上) と参考標準マススペクトラム (下)。

MASS SPECTRUM Data File: E15005.DAT:62 22-JUN-99 11:22
 Sample: 2-1
 Run: 2:55:17 EI (Pos.) GC 253.1c BP: m/z 57.0723 Int. 4.3254 Lv 0.00
 Scan# (176) - (115, 235) [coef. 1.00], AMW = 97.358(76.305)

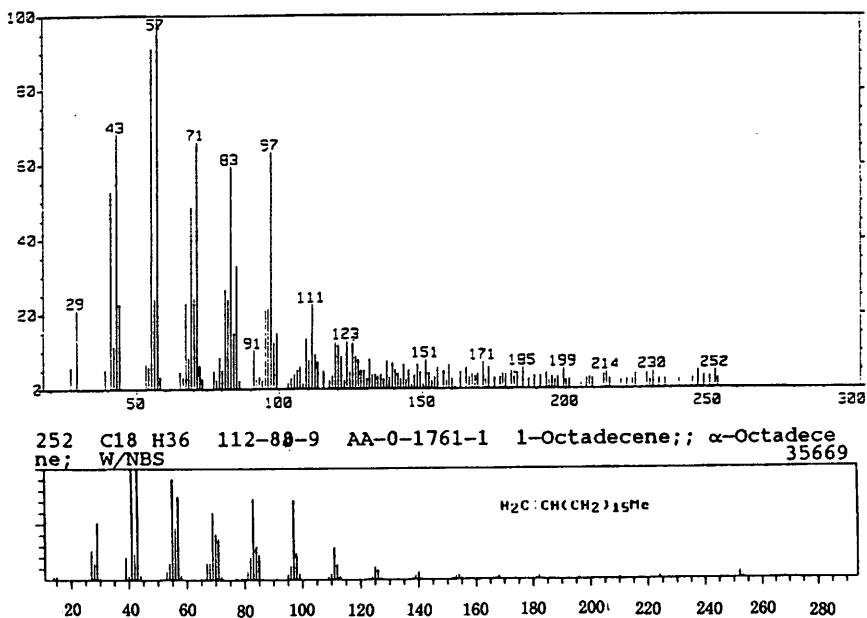


図4. 1-オクタデセン含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

天然物中の有効成分の単離とその性質および応用に関する研究

MASS SPECTRUM Data File: E1500S.DAT:62 22-JUN-89 11:22
 Sample: 2-1
 RT: 3.21 EI (Pos.) GC 263.1c BP: m/z 55.2552 Int: 2.2292 Lv 0.00
 Scan# (202) - (115, 236) (coef: 1.001), AMW = 107.529(85.151)

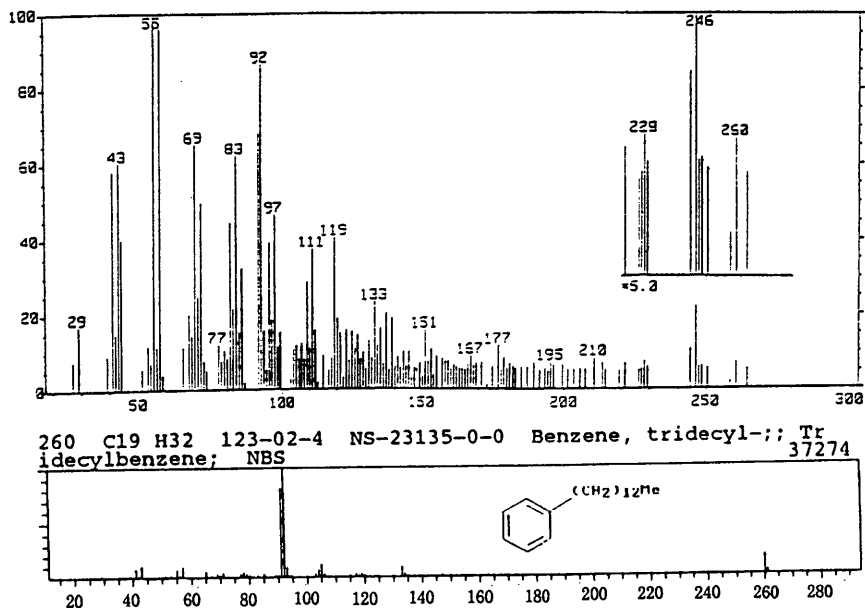


図5. トリデシルベンゼン含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

MASS SPECTRUM Data File: E1500S.DAT:62 22-JUN-89 11:22
 Sample: 2-1
 RT: 3.12 EI (Pos.) GC 263.1c BP: m/z 57.2733 Int: 3.7542 Lv 0.00
 Scan# (153) - (115, 236) (coef: 1.001), AMW = 102.257(79.488)

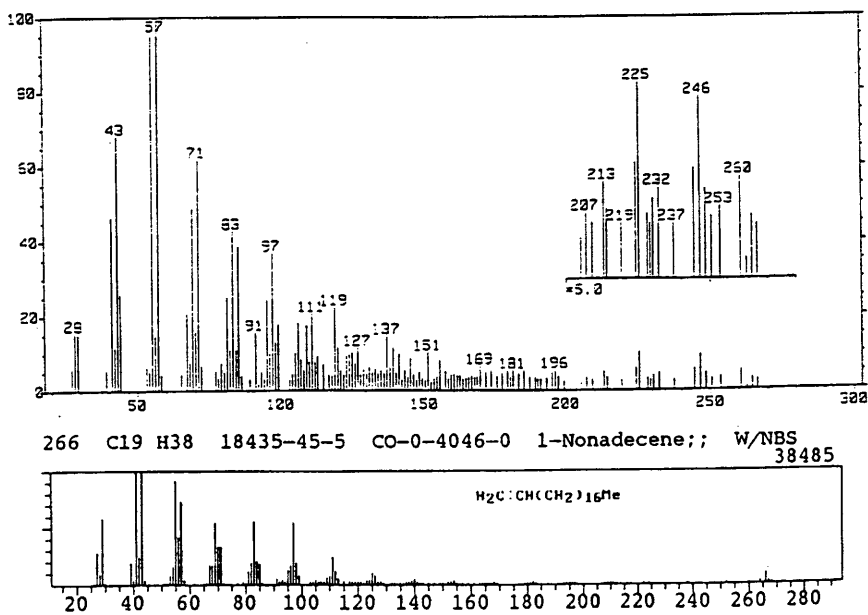
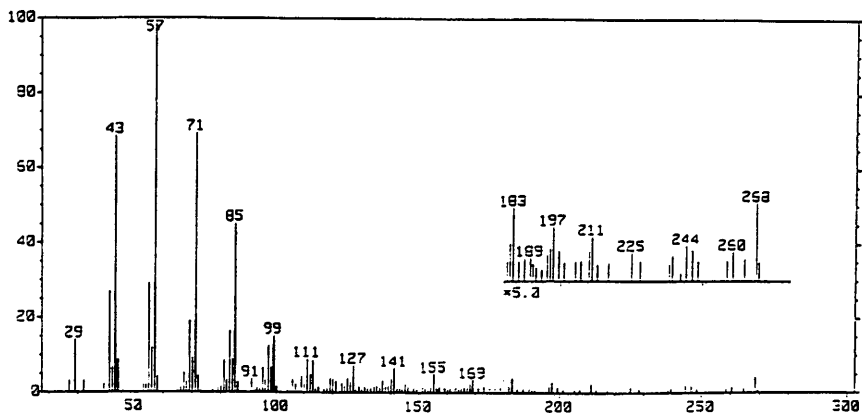


図6. 2-ノナデセン含有試料の実測マススペクトラム (上) と参考標準マススペクトラム (下)。

東京家政大学生活科学研究所研究報告 第14集

MASS SPECTRUM Data File: EI5005.DAT:62 22-JUN-89 11:22
 Sample: A-1
 RT 3.27 EI (Pos.) GC 263.1c BP: m/z 57.3733 Int: 11.4344 Lv 0.00
 Scan# (200) - (115, 236) (coef. 1.00), AMW = 29.318(69.174)



268 C19 H40 629-92-5 HE-1982-0-0 Nonadecane;; n-Nonadecane;
 W/NBS 38872

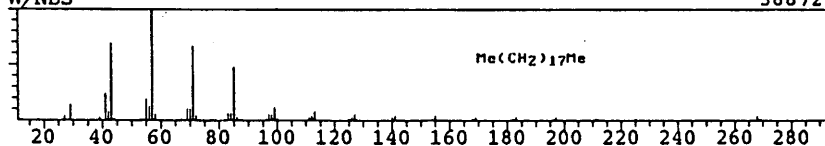
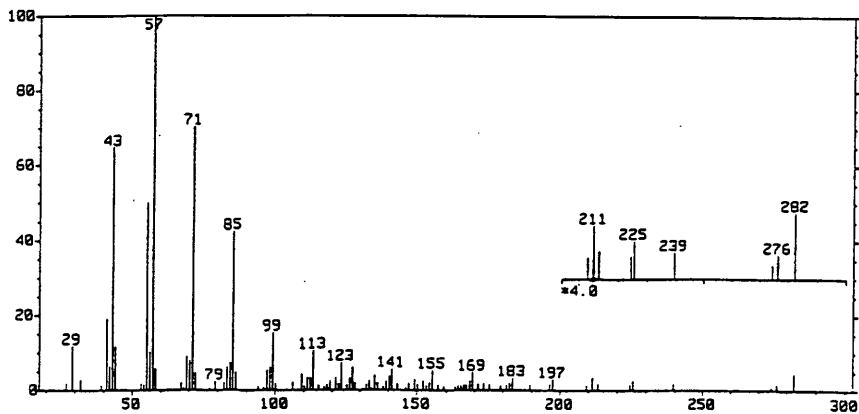


図7. ノナデカン含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

MASS SPECTRUM Data File: EI5005.DAT:62 22-JUN-89 11:22
 Sample: A-1
 RT 4.29 EI (Pos.) GC 263.2c BP: m/z 57.3733 Int: 6.9238 Lv 0.00
 Scan# (261) - (259, 267) (coef. 1.00), AMW = 85.172(67.476)



282 C20 H42 112-95-8 HE-1982-0-0 Eicosane;; n-Eicosane; W
 77053

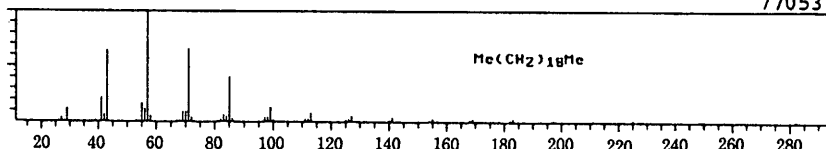


図8. n-エイコサン含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

天然物中の有効成分の単離とその性質および応用に関する研究

い開裂イオンである m/e 111, 125, 139, 153...が認められることから、この化合物の化学構造式を $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}=\text{CHCH}_3$ とした。

⑦ノナデカン ($\text{C}_{19}\text{H}_{40}$, $m/e=268$): マスフラグメントの開裂様式は典型的な直鎖アルカンを意味している。標準スペクトルともよく一致している。この化合物の化学構造式は $\text{CH}_3(\text{C}\text{H}_2)_{17}\text{CH}_3$ である。

⑧n-エイコサン ($\text{C}_{20}\text{H}_{42}$, $m/e=282$): これも典型的な直鎖アルカンであり、標準スペクトルともよく一致している。この化合物の化学構造式は $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_3$ である。

(2) アセトン抽出成分

①テトラデカン酸メチルエステル ($\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$, $m/e=242$): $M^+-31=211$ の存在からメチルエステルであることが解る。そして $m/e=211$ は $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{O}$ で、低質量数領域の開裂様式から、直鎖のカルボニル基である。したがって、この

MASS SPECTRUM Data File: EI600S.DAT;16 19-OCT-89 17:51
 Sample: ACETONE FRACTION
 RT: 5.18 EI (Pos.) GC 275.5c BP: m/z 28.0052 Int. 12.7992 Lv 0.00
 Scan# (128) - (90, 471) [coef. 1.00], AMU = 43.120(34.665)

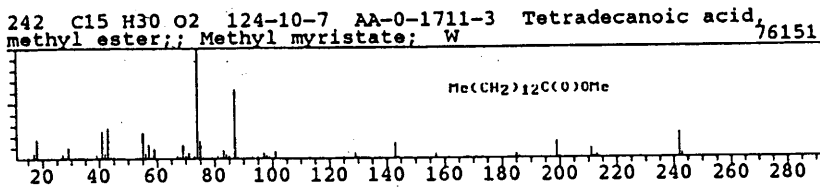
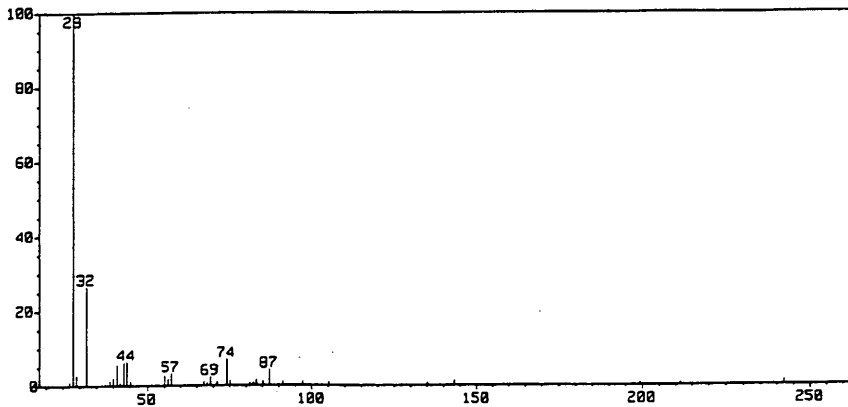


図9. テトラデカン酸メチルエステル含有試料の実測マススペクトラム (上) と標準マススペクトラム (下)。

MASS SPECTRUM Data File: E16005.DAT;16 19-OCT-89 17:51
 Sample: ACETONE FRACTION
 RT: 4.22 E1 (Pos.) GC 275.5c BP: m/z 28.0000 Int. 12.3141 Lv 8.00
 Scan# (257) = (90, 471) (coef. 1.00), AMW = 55.069(39.243)

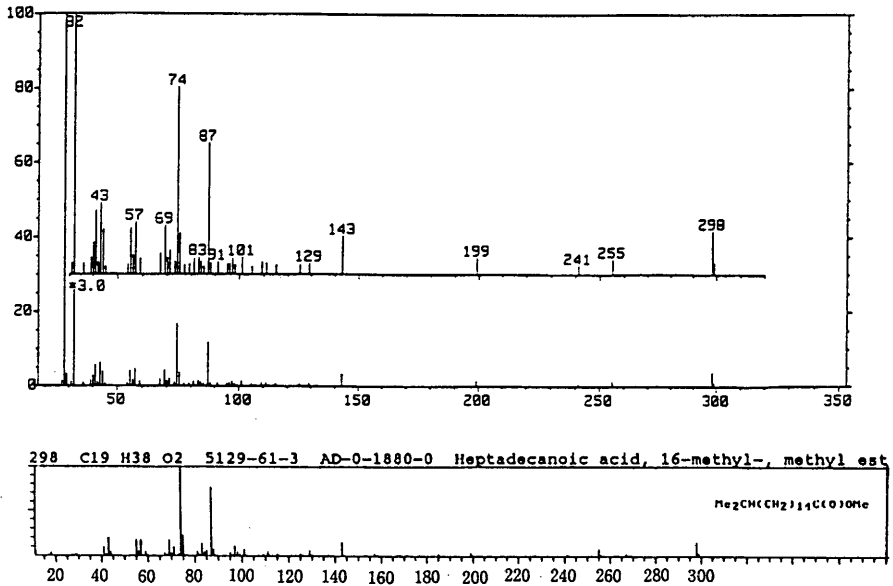


図10. 16-メチルヘプタン酸メチルエステル含有の実測マススペクトラム (上)
 と標準マススペクトラム (下)。

スペクトルから提起される化学構造式は $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ である。

3. 考察

②16-メチルヘプタン酸メチルエステル ($\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$, $m/e=298$): $M^+ - 31 = 267$ にピークが存在しないが、これは化合物の分子量が大きくなるにつれてイオン強度が小さくなり、枝分かれ側鎖を持つ化合物ではこの傾向が顕著であるという事実に基づく。すなわち $298-255=43$ は $\text{C}_3\text{H}_5 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{CH}$ -を意味しており、この開裂がエステルの α 開裂より優先していることを示している。 $m/e=59, 73, 87, 101 \dots$ の存在は $\text{CH}_3\text{OCO}(\text{CH}_2)_n^+$ に関して特徴的なフラグメントであるので、このスペクトルから提起される化合物の化学構造式は $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})-\text{OCH}_3$ である。

上記の化合物はいずれも炭化水素や高級脂肪酸メチルエステルであることから、これらの化合物はアロエの水分保持のために働いているおり、これらを飲用することにより、一部は皮膚に潤いを与えており、また脂肪酸の代謝経路に入るものと考えられる。また、火傷などの傷部に塗布することにより、その部分の保護の役目も果たしているものと考えられる。今回の実験では、成果の一部を紹介するに留まったが、他のフラクションもまだ測定されずにあるので、より生理活性を持つ化合物の追及を図って行くつもりである。

4. 参考文献

1. L. J. Lovenzetti *et al* : *J. Pharm Sci.*, 53, 1287(1964)
2. 添田 百枝 : 日本細菌学雑誌, 21, 609 (1966)
3. 添田 百枝 : 東邦医学会誌, 16, 365(1969)
4. 添田 百枝ら : 日本医学放射線学会雑誌, 24, 1109(1964)
5. M. E. Zawahry *et al* : *Int. J. Dermatol.* 12, 68(1973)
6. 鈴木 郁夫 : *Eur.pat.Appl.*, 790627. CA : 92/02/011216A.
7. B.C.Coats : 日本公開特許公報, 790914. CA:92/12/099563V.
8. ライオン(株) : 日本公開特許公報, 840124. CA:100/18/145012V.
9. H. R. McDaniel : *Privileged Breakthrough Information*, Mar. 1 (1988)
10. 菅 利之, 平田 俊文 : *Cosmet. Toiletries*, 98, 105(1983)
11. 安藤 紀子, 山口 功 : 東京家政大学研究紀要, 30, 15(1990)