



1981 No.2
(通巻100号)

100号記念

CHEMICAL TIMES

目 次 (通巻ページ)

「ケミカルタイムス」通巻100号を記念して	取締役社長	野澤俊太郎	1770
NAD グリコヒドラーゼと類縁酵素	東京大学応用微生物研究所 農学博士	大石邦夫	1771
— その生理機能 —			
シダ植物の栄養葉と孢子葉の成分研究 その3	明治薬科大学助教授 薬学博士	奥山 徹	1774
生体に使用する pH 緩衝剤 (II)	東京大学医学部講師 理学博士	大沢 一 爽	1778
	生理学教室	藤田 幸 江	
プラハのかぜ薬	山形大学理学部教授 理学博士	中沢 信 午	1781
新しい化学計測法とそれに必要な試薬	工業技術院化学技術研究所 工学博士	間宮 真 佐 人	1784
薬学ゆかりの外国人 (II)	薬学博士	根本 曾 代 子	1790
~~~~~ エイクマン Johann Frederik Eijkmann			
編 集 後 記 .....			1792

KANTO CHEMICAL CO., INC.

昭和五十六年四月一日 発行

発行者 関東化学株式会社

ケミカルタイムス編集委員会  
編集責任者 山田 博

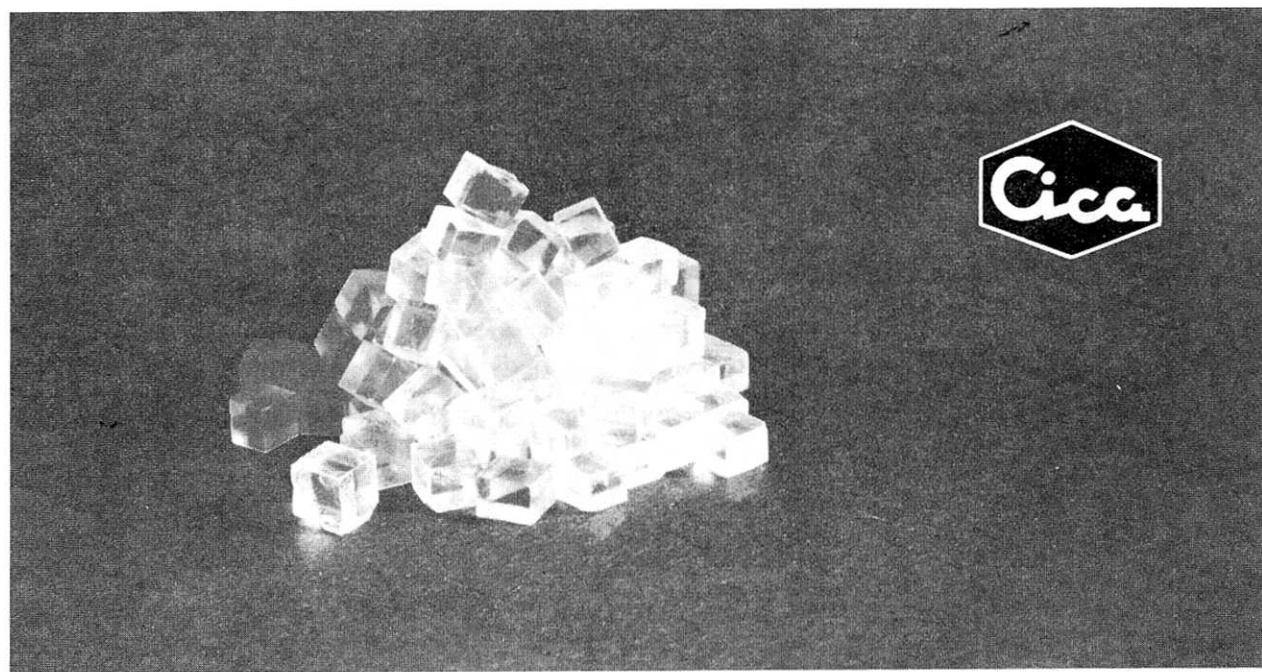
## 「ケミカルタイムス」通巻100号を記念して

取締役社長 野澤俊太郎

第2次大戦の傷あとがまだ癒えない昭和25年3月、巷には数多の戦災にさいなまれた人々が溢れていたその頃、弊社は祖国再建のための新生息吹きの中で、戦後日本の荒廃した化学界復興のために健闘致しておりました。当時の記録を見たり、先輩諸兄のお話などを伺いますと、その有様には実に壮絶なものがあったようです。丁度その頃に「ケミカルタイムス」は産声を上げたのでした。それ以来、わが国の科学振興と労苦を共にし、各位からのご叱声、ご激励を頂戴し、30有余年を経て今日に至り、通巻第100号出版を達成することに相成りました。これも一重にご愛読者の皆様のお蔭と、ご執筆戴いた多数の先生方の心からのご厚情の賜と存じ、衷心から感謝致しております。

顧みれば、この間、弊社は多少の変遷はありましたが、関係各位のお引立により現在の基礎を築くことができました。この成果の一部には「ケミカルタイムス」の果たした多少の役割りがあったものと確信致しております。

101号からは新たな決意で技術革新の激しい流れに対応して、内容の充実を計り、皆様方のお仕事の上での一助にもなればと念願致しております故、ご指導ご助言の程を切にお願い申し上げます。末筆ですが、創刊以来、編集に当られた諸先輩、関係者の方々にも一言お礼を申し上げ、100号発行記念のご挨拶と致します。



# NAD グリコヒドロラーゼと類縁酵素

## — その生理機能 —

東京大学応用微生物研究所 農学博士 大石 邦夫

### 1. はじめに

ニコチナマイドアデニンジヌクレオチド (NAD) は、ニコチナマイドアデニンジヌクレオチドリリン酸 (NADP) と並び、生体内で 300 以上の酸化還元反応において補酵素として働いている重要な物質である(図)¹⁾ NAD は主として異化代謝においてエネルギー獲得のための酸化反応に関与し、NADP は主として同化代謝において物質合成のための還元反応に用いられると云う役割の違いはあるが、いずれも全ての細胞中に存在し、細胞中の一般的な電子伝達体である点で、互いによく似ている。NAD も NADP も、ビタミン B の 1 種であるニコチナマイド (NA) をその分子内に含んでいる。

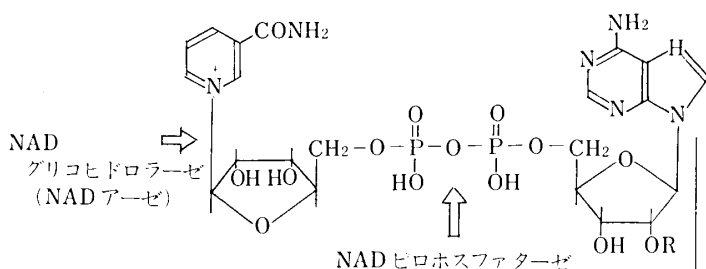


図 NAD, NADP とそれらに作用する分解酵素

NAD, NADP の NAm 部分は、生体内で嫌気的には糖の代謝物ジヒドロキシアセトンリン酸やギ酸から、好気的にはアミノ酸の 1 種トリプトファンの分解物から作られる。また、栄養として与えられたニコチン酸 (NA) や NAm をそのまま取り込むことも出来る²⁾ 細菌の中には、NAD 生合成系の中間の酵素が欠損しているために生育にその中間体を要求するものがあり、その性質を利用して微生物定量 (バイオアッセイ) に用いられている。乳酸菌には、生育に NA を必要とするもの、NA を必要とするもの、NA と NAm のいずれかを必要とするものが存在する。

一方、ヒト型結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* は培養中に大量の NA を生成する性質を持っている。この性質は、ウシ型結核菌 *M. bovis* やトリ型結核菌 *M. avium* 及び非結核性の *Mycobacterium* では見られないので、ヒト型結核菌の鑑別に用いることが出来る³⁾ この NA 産生は、NAD 生合成の中間反応がブロックされた結果ではなく、むしろいったん産生された NAD の分解の結果であるらしい。NAD の分解は、NAD グリコヒドロラ

ーゼ (NAD アーゼ)、NAD ピロホスファターゼなどによって NAD 分子が開裂されることに始まる(図)。NAD アーゼは細菌には比較的稀にしか分布しないと云われてきた酵素であるが、ヒト型結核菌はこの酵素を持っており、NAD を NAm と ADP-リボースに開裂する。この菌は分解で生じた NAm を NAD 生合成に再利用出来ないで、NAD アーゼは結局細胞内 NAD レベルを低下させ、増殖阻害をする。こう云うわけで、抗結核剤として用いられている NAm のアナログ、イソニアジドは NAm から NAD 合成の拮抗阻害剤ではなく、結核菌の菌体内に存在する NAD アーゼのナチュラルインヒビターの作用をブロックし、NAD アーゼを活性化することによって抗結核菌作用を示すのだと考えられている²⁾

### 2. NAD アーゼとその類縁酵素

最近、NAD の持つ酸化還元補酵素として以外の生理機能が、急速に注目されてきた。云いかえると、NAD は補酵素としてのみでなく、基質として重要視されてきたのである。

大腸菌 *Escherichia coli* は、損傷を受けた DNA の修復に NAD を利用する。この際 NAD は AMP とニコチナマイドモノヌクレオチドに開裂し、生じた AMP は DNA 修復に関与する酵素 DNA リガーゼに転移される⁴⁾ また、種々の動物、植物、微生物に存在するある種の NAD アーゼは、NAD を ADP-リボースと NAm に開裂し、生じた ADP-リボースを種々のタンパクに転移し、生理的に重要な機能を表わす。いずれも図に示した分解反応であるが、たんなる加水分解ではなく、それぞれ AMP、ADP-リボースの転移反応であることが特徴である。

NAD アーゼには、加水分解活性のみが知られているものと、ADP-リボース転移活性が知られているものの 2 種がある。後者の場合も、条件によっては加水分解活性を示すことは云うまでもない。

1950 年代には、NAD アーゼは微生物、とくに細菌では生理機能どころか存在さえ殆んど知られていなかった。わずかに Kaplan らによって *Neurospora crassa* の酵素が研究され、これは加水分解活性は示すが転移活性は示さないこと、イソニアジドによって阻害も促進もされないことがわかったにすぎなかった⁵⁾ これに対し、動物組織由来の酵素ではいくつかの興味ある性質が見出された⁶⁾ Kaplan らによると、動物酵素はイソニアジドやその他の NAm アナログによって阻害される。また、NA アナログと NAD の混合物から NAD アナログを作ることが出来る。云いかえると、NAD 分子中の ADP-リボ

KUNIO OISHI

Institute of Applied Microbiology,  
The University of Tokyo.  
Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

ース部分を NAm アナログへ転移させ得る。これらのアナログは、NAD 関連酵素の性質を調べたり、利用したりする上できわめて有用と考えられ、動物酵素を利用した工業的な NAD アナログ製造法が、多数報告されるようになった。

1960年代に入ると、Chambon ら、杉村ら、早石らによって動物細胞の核クロマチン画分にポリ ADP-リボースが存在することが見出された⁶⁾ この物質の生理機能はまだ十分明らかでないが、細胞の分化、ガン化に関与する可能性を示す多くのデータが発表され、注目をあびた。また、DNA の合成や修復に関連すると云う報告も多い。ポリ ADP-リボースの合成は、クロマチン画分に局在する 1 種の NAD アーゼ (ポリ ADP-リボース合成酵素) により、NAD を基質として行なわれる。まず、NAD 分子中の ADP-リボース部分が核のヒストンタンパクへと転移され、以後次々と ADP-リボースがその上に転移される。ヒストン上の ADP-リボースの直接の受容体は、グルタミン酸残基であるらしい。反応には DNA が必須に要求される。DNA とヒストンの重量比は 1:1 が最も好ましく、ヒストン過剰の条件下ではポリ ADP-リボースは合成されず、NAD の ADP-リボースと NAm への加水分解反応が進行する。

類似の ADP-リボースのタンパクへの転移反応は、1970 年代に至ってミトコンドリアでも見出されている。この場合、出来るのはオリゴ ADP-リボースであるらしい⁷⁾

*E. coli* の RNA ポリメラーゼの  $\alpha$ -ペプチド鎖が、T₄ ファージ感染時にモノ ADP-リボシル化されることも明らかにされた⁸⁾ ADP-リボースの直接の受容体はアルギニンと云われる。この反応の生理的役割はきわめて興味深い、まだ明らかでない。ADP-リボシル化は、RNA ポリメラーゼの活性や性質に殆んど影響を与えていないように見える。

### 3. 細菌外毒素、植物毒と NAD アーゼ活性

現在、NAD アーゼ類縁酵素による ADP-リボース転移反応の生理的役割が最もはっきりしているのは、細菌外毒素の場合であろう。

古く 1964 年に Collier と Pappenheimer は、ジフテリア菌 *Corynebacterium diphtheriae* の毒素の示す致死的な動物細胞障害作用はタンパク合成の阻害によるものであり、この作用に NAD が必須であることを報告した。その 3 年後には、動物のタンパク合成系でこの毒素の作用を受ける成分は、ペプチド鎖伸長因子の 1 つ EF-II であることが明らかにされ、さらに 1 年後には Honjo らによって NAD は ADP-リボースの供与体として利用されているのであり、EF-II の ADP-リボシル化が毒作用の本体であることが証明された⁹⁾ EF-II は GTP、アミノアシル-tRNA と複合体を作り、リボゾーム上でポリペプチド鎖を延長させる反応に関与している。ADP-リボシル化された EF-II は GTP と複合体を作ることが出来、かつリボゾームとも結合出来るが、それ以上の働きを示すことが出来ない。ADP-リボシル化によるタンパク合

成阻害は、調べられた限りで全ての真核細胞の系で見ることが出来るが、原核細胞のペプチド鎖伸長因子 EF-G は、ADP-リボース転移を受けない。

ジフテリア毒素では、毒素の構造と機能の関係がみごとに説明された。この毒素は分子量 62,000~63,000 ダルトンの単一のペプチド鎖から成っているが、このままでは NAD アーゼ (ADP-リボース転移酵素) の活性は見られない。これにプロテアーゼと還元剤処理を行なうと、共に毒素活性の無い 2 つのフラグメント (A, 分子量約 24,000; B, 分子量 38,000~39,000) に解離する。フラグメント A にはもとの毒素に見られなかった強力な ADP-リボース転移酵素活性が出現する。一方、フラグメント B には酵素活性は無いが、動物細胞膜上の毒素レセプターと結合する活性が分布している。以上の知見を総合すると、ジフテリア毒素はまずそのフラグメント B 部分で毒素感受性の細胞に結合し、ついでフラグメント A 部分が解離して細胞内に侵入する。解離し、酵素として活性化されたフラグメント A は EF-II を ADP-リボシル化し、タンパク合成を阻害すると云うことになる。

同様な現象が緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* の毒素 A でも見出されている¹⁰⁾ この毒素の場合、分子量約 71,000 の 1 本鎖ペプチドで、これを尿素やチオールで変性させると分子量 26,000 の NAD アーゼ (ADP-リボース転移酵素) 活性のあるフラグメントを生じる。ジフテリア菌が典型的なグラム陽性桿菌であるのに対し、緑膿菌は典型的なグラム陰性桿菌であり、両毒素も化学的、免疫学的に大きく違うにもかかわらず、機能の面で本質的に同一と云ってよい類似が見られるのはきわめて興味深いことである。

ヒマ種子から取れる毒素 (Ricin リシン) は、その分子構造が詳細に検討された植物毒素の 1 つであるが、この場合も毒素の作用は EF-II の ADP-リボシル化にあることがわかっている¹¹⁾ ヒマ毒には種々の成分が混っているが、大別すると毒性の強いものと、赤血球凝集活性の強いものに分けることが出来る。前者の分子量は 60,000~64,000 ダルトンで、後者の分子量はほぼその倍である。前者は分子量 28,500~32,000 と 30,500~34,000 の異なる 2 つのサブユニットが 1 個の S-S 結合で結ばれている。この毒素の作用は、まず分子量の大きい方のサブユニットに依存する細胞との特異的結合、それに伴う細胞膜の構造または性質の変化、引き続く分子量の小さい方のサブユニットの解離と細胞内侵入、リボゾーム-EF-II-GTP 複合体の形成阻止から成り立っている。この一連の反応とジフテリア毒素の作用を比較すると、リシンがサブユニット構造を持つに対しジフテリア毒素は 1 本鎖ペプチドである違いがあるにもかかわらず、作用は本質的に同一と云ってよい。

さらに以上ときわめて類似した例が、コレラ菌 *Vibrio cholerae* の毒素でも見出されている¹²⁾ この毒素については詳細な構造研究が進められており、分子量 84,000 ダルトンの毒素が、5 本のペプチド鎖からなるサブユニッ

ト B (分子量55,000)と、1 個のS-S結合で結ばれた 2 本のペプチド鎖からなるサブユニット A (分子量29,000)から出来ていることが知られている。サブユニット B は細胞との特異的結合とサブユニット A の細胞内侵入の促進に関与しており、サブユニット A は NAD アーゼ (ADP-リボース転移酵素) 活性を持っている。この点で、コレラ毒素は機能的にリシンと同じである。ただ、コレラ毒素の動物細胞に対する最も重要な作用はアデニレートサイクラーゼの活性化にあると考えられている。これは、コレラによる異常な下痢が、細胞内アデニレートサイクラーゼの異常亢進による細胞内サイクリック AMP レベルの上昇でよく説明されるからである。アデニレートサイクラーゼ活性促進のメカニズムは、EF-II の ADP-リボシル化によるタンパク合成阻害のメカニズムに比べると不明な点が多いが、コレラ毒素のサブユニット A が細胞膜タンパクのアルギニン残基を ADP-リボシル化すること、このタンパクは GTP 結合性であること、このタンパクを ADP-リボシル化することにより GTP の加水分解が抑制され、それがアデニレートサイクラーゼの活性型から不活性型への転換を抑制することなどが知られてきている。

全く同じことが、*E. coli* の易熱性毒素においても起っている¹³⁾ 非コレラ菌による激しい急性下痢の多くが、この毒素によるものと考えられている。これは免疫学的にコレラ毒素ときわめて似ているが、化学構造の上では多少異なるところがある。

コレラ毒、大腸菌毒とよく似た作用をするタンパクが、七面鳥の赤血球で見出されている¹⁴⁾ このタンパクは、NAD 依存のアデニレートサイクラーゼ活性化を示し、NAD アーゼ活性を持ち、NAD の ADP-リボース部分をタンパクのアルギニン残基に移すことが出来る。

サイクリック AMP は、動物の多くの組織で、種々のホルモンや生理活性物質の刺激に対応して働く細胞内二次メッセンジャーとして有名な物質である。細胞の分化やガン化にも、もちろん関与しているであろう。NAD アーゼ (ADP-リボース転移酵素) の生理・病理作用は、さらに広い分野で注目の的となるに違いない。

#### 4. ま と め

未知の酵素系にたまたま NAD を添加したところ、著しい反応の促進が見られたとしよう。また、ニコチン酸やそのアナログを扱っていて、新しい薬理作用や副作用を見出したとしよう。まず多くの場合、我々は酸化還元系の関与を想定し、やがて袋小路に入ってしまったのではなかろうか。ADP-リボース転移反応の重要性を初めて見出した人は、まさしくこの分野でのコロンブスであった。初期の報文を見ると、すでに結果を知っている我々の目には、研究の進め方がいかにももどかしく、データの出し惜しみをしているのではないかと疑う程である。しかし、いくつもの材料で NAD アーゼ (ADP-リボース転移酵素) の構造と作用と生理機能が明らかになった今では、それらの酵素が異なる材料から得られ、その構

造も異なるにもかかわらず、統一された、ある場合には本質的に全く同一の作用と役割を演じていることを知っているから、我々の研究はより効率化されるだろう。ポリ ADP-リボースの生理的役割がさらに明らかにされ、あるいは細胞膜タンパクの ADP-リボシル化によるアデニレートサイクラーゼの活性化の機構がさらに明らかにされ、それらの知見を積極的に利用出来るようになった時、我々が受ける恩恵は現在考えられているよりずっと大きなものになると私は確信する。

私共の研究室では、多くの細菌が菌体外に NAD アーゼを分泌していること¹⁵⁾ そのうちの相当数のものはポリアルギニンへの ADP-リボース転移活性を持っていること¹⁶⁾ を明らかにしてきたが、これらの酸素の構造と生理機能の研究が将来いかに発展するかを楽しみにしている。

#### 文 献

- 1) M. Ishimoto, S. Minakami, S. Mizushima, T. Oshima & H. Wada: *Metabolic Maps*, 3rd Ed. Kyoritsu Pub. Co., Ltd. (1971).
- 2) J. W. Foster & A. G. Moat: *Microbiol. Rev.* **44**, 83 (1980).
- 3) S. T. Cowan (坂崎利一訳): "医学細菌同定の手びき" 2 版, 近代出版 (1974).
- 4) 近藤宗平: "分子放射線生物学" p. 113, 学会出版センター (1972).
- 5) N. O. Kaplan: *Methods Enzymol.* **11**, 660, 664 (1955).
- 6) 上田国寛, 三輪正直: *生化学* **52**, 1 (1980).
- 7) E. Kun, P. H. Zimber, A. C. Y. Chang, B. Puschendorf & H. Grunicke: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 1436 (1975).
- 8) C. G. Goff: *J. Biol. Chem.* **249**, 6181 (1974).
- 9) R. J. Collier: *Bacteriol. Rev.* **39**, 54 (1975).
- 10) D. W. Chung & R. J. Collier: *Infect. Immun.* **16**, 832 (1977).
- 11) 船津重喜: "レクチン" 大沢利昭, 森良一編, p. 25, 講談社サイエンティフィック (1976).
- 12) J. Moss & M. Vaughan: *Ann. Rev. Biochem.* **48**, 581 (1979).
- 13) T. V. Znsner & J. F. Metzger: *Infect. Immun.* **10**, 503 (1974).
- 14) J. Moss & M. Vaughan: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 3621 (1978).
- 15) H. Kubo, K. Oishi & K. Aida: *Agric. Biol. chem.* **44**, 3011 (1980).
- 16) 久保英夫, 大石邦夫, 相田浩: 昭和55年度日本農芸化学会関東支部大会予講集 (1980).

## シダ植物の栄養葉と孢子葉の成分研究(その 3)

## — ゼンマイの孢子葉から得られる biflavonoid の化学 —

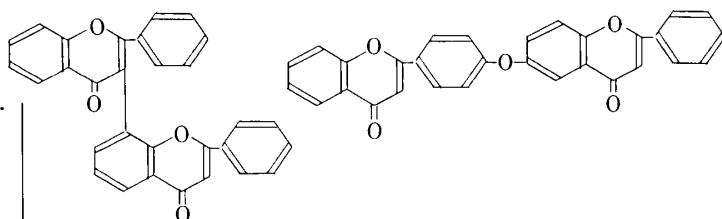
明治薬科大学 助教授 薬学博士 奥 山 徹

ある種のシダ植物の孢子は栄養葉とは別にでてくる孢子葉上で生育する。このようなシダ植物の代表的な例としての *Osmunda* 属のゼンマイ *Osmunda japonica* Thunb. とヤマドリゼンマイ *Osmunda asiatica* Ohwi (*Osmunda* *ceae*) を取り上げ両者の栄養葉と孢子葉の成分の比較検討を行った^{1-a, b)}。一方, ヤマドリゼンマイ *Osmunda asiatica* Ohwi の新鮮な栄養葉から asiaticalin (kaempferol 3-alloside) と名付けた新 flavonol glycoside を単離しその構造を明らかにした^{2-a, b)}。

今回, ゼンマイ *Osmunda japonica* Thunb. (*Osmunda* *ceae*) の孢子葉 sporophyll から 4 種の二重分子フラボン biflavonoid と 1 種の flavonol glycoside (astragalin) を単離したので報告する³⁾。

## 二重分子フラボノイド biflavonoid の植物中の分布状態

biflavonoid には 2 つのフラボン核が直結する A タイプと 2 つのフラボン核は直結せず橋状酸素で結合する B タイプの 2 種に分類できる。



A タイプ

B タイプ

Biflavonoid の研究は古く, 1932 年古川⁴⁾ がイチョウ *Ginkgo biloba* の葉から結晶として単離したことに始まり, その後 W. Baker らの研究⁵⁾ そして 1941 年になり中沢⁶⁾ により最初の biflavonoid の構造が明らかとなった。

その後刈米, 沢田, 河野らにより数多くの研究報告がなされ, 裸子植物に豊富に存在すること, 中でもマツ科 *pinaceae* に限り含まれないもののその他の松柏類には常に含まれることを明らかにしている。

さらに近年, 裸子植物に限らずシダ植物 *pteridophyta* にもその存在が明らかになり, Table 1 に示すようなシダ植物について biflavonoid の検索がなされた。

Table 1. Distribution of Biflavonoids in Pteridophyta

Family	Species	Japanese name	Biflavonoid
Psilotaceae	<i>Psilotum nudum</i> Beauv.	—	Am. -O-glucoside ⁷⁾
	<i>P. triquetrum</i> Swartz	—	Am., Hi ⁸⁾
	<i>Tmesipteris tannensis</i> Bernh.	—	Am. -O-glucoside ^{7) 9)}
Lycopodiaceae	<i>Huperzia selago</i> Bernh.	—	—
	<i>Lepidotis cernua</i> Beauv.	—	—
	<i>L. inundata</i> C. Börner	—	—
	<i>Lycopodium annotinum</i> L.	スギカズラ	—
	<i>L. clavatum</i> L.	ヒカゲノカズラ	—
	<i>Diplazium alpinum</i> Rothm.	—	—
Selaginellaceae	<i>Selaginella bellula</i> Cesati	—	Am.
	<i>S. canaliculata</i> Spring	—	Am.
	<i>S. cuspidata</i> Link	—	Am.
	<i>S. delicatula</i> Alston	—	Am.
	<i>S. denticulata</i> Spring	—	Am.
	<i>S. erythropus</i> Spring	—	Am.
	<i>S. galeottii</i> Spring	—	Am.
	<i>S. gracillima</i> Spring ex Salom.	—	Am.
	<i>S. helvetica</i> Link	エゾノヒメクラマゴケ	Am.
	<i>S. kraussiana</i> A. Br.	—	Am.
	<i>S. martensii</i> Spring	—	Am.
	<i>S. mutabilis</i> Hort. ex A. Br.	—	Am.

Family	Species	Japanese name	Biflavonoid
Selaginellaceae	<i>S. nipponica</i> Franch	タチクラマゴケ	Am. ¹⁰⁾
	<i>S. pachystachys</i> Koidz.	カ タ ヒ バ	Am. ⁹⁾
	<i>S. spinulosa</i> A. Br.	—	Am.
	<i>S. tamariscina</i> Spring.	イ ワ ヒ バ	Am., Hi., Isocr. ¹⁰⁾
	<i>S. uncinata</i> Spring	—	Am. ⁹⁾
	<i>S. usta</i> Vieill. ex Baker	—	Am.
	<i>S. watsoniana</i> Hort.	—	Am.
Isoetaceae	<i>Isoetes delilei</i> Rothm.	—	—
	<i>I. duriei</i> Bory	—	—
Osmundaceae	<i>Osmunda japonica</i> Thunb.	ゼ ン マ ン	Isogi., Triam., ³⁾ Sc., Tetraam.,

Am. = Amentoflavone, Hi. = Hinokiflavone, Isocr. = Isocryptomerin, Isogi. = Isoginkgetin, Triam. = Tri-O-methylamentoflavone, Sc. = Sciadopitysin, Tetraam. = 4', 4'', 7, 7''-Tetramethylamentoflavone.

科, 属は“原植日本羊歯植物図鑑”, 田川基二, 保育社, 1965年に従い, 種名はアルファベット順に配列した。

すなわち, 5 科, 9 属, 31 種のシダ植物について biflavonoide の検索がなされ, ヒカゲノカズラ科 (Lycopodiaceae) とミズニラ科 (Isoetaceae) からは検出されなかったものの, マツバラン科 (Psilotaceae) とトウゲシバ科 (Selaginellaceae) さらに筆者が扱ったゼンマイ科 (Osmundaceae) の計 3 科 23 種に biflavonoid の存在が明らかとなった。

#### ゼンマイの孢子葉から biflavonoid の単離

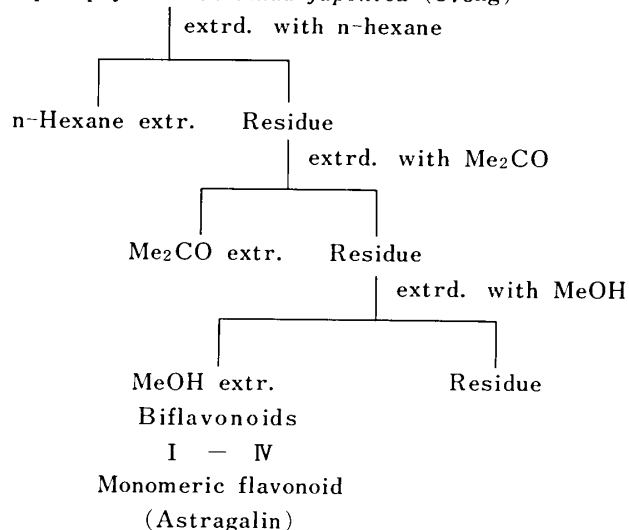
最初に, ゼンマイ *Osmunda japonica* Thunb. (Osmundaceae) のどの部分に monomeric flavonoid と biflavonoid が存在しているのかを知る目的で TLC 上で比較検討を行ったところ, monomeric flavonoid は根茎, 栄養葉および孢子葉のすべての部分に含まれているものの, 一方の biflavonoid は孢子葉にのみ存在していることが確認された (ゼンマイの孢子形成については前々報で報告^{2-b)})。

Occurrence of monomeric flavonoid and biflavonoids in *Osmunda japonica* detected by the colour reaction on TLC.

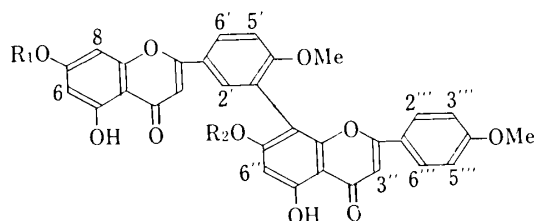
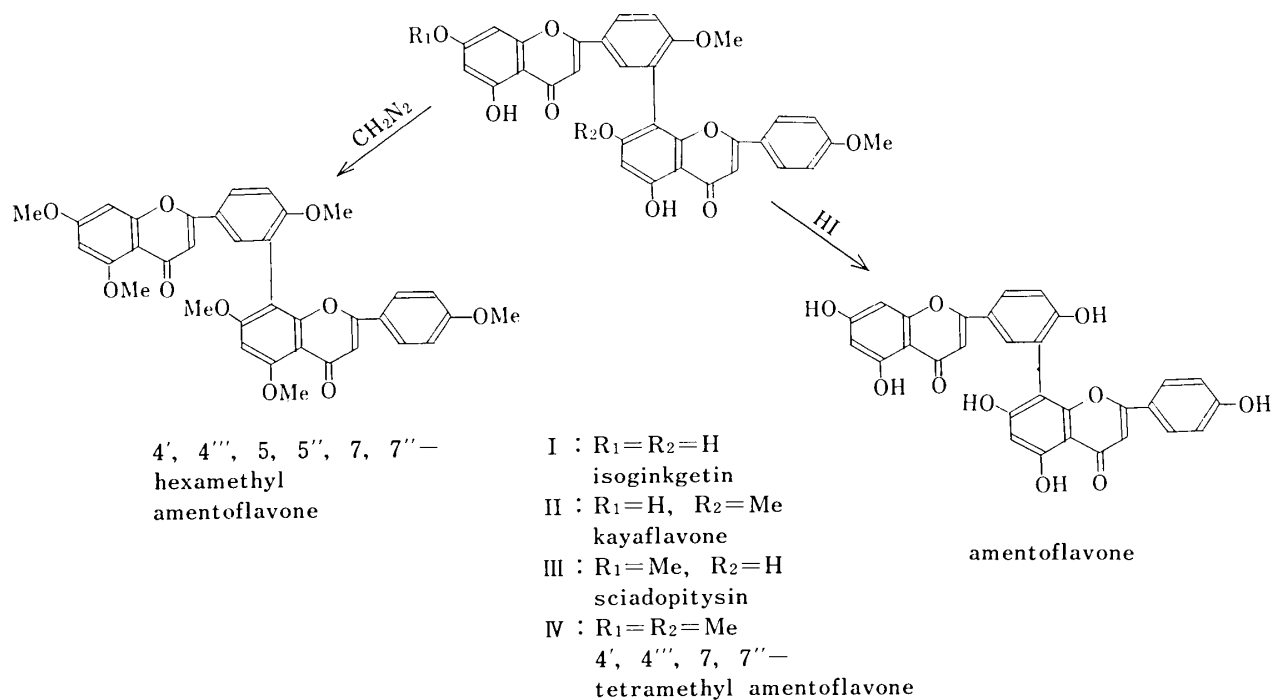
Part	Monomeric flavonoid	Biflavonoid
Rhizoma	+	—
Trophophyll	+	—
Sporophyll	+	+

そこで八ツ岳清里にある本学学校寮周辺および筆者の故郷山形を中心にして集めた孢子葉を chart に示すようにして抽出分離し, monomeric flavonoid としての astragalin と 4 種の biflavonoid (I : mp 350°, II : mp 312°, III : mp 295–297°, IV : mp 292–294.5°) を単離した。これら 4 種の biflavonoid は常法に従い CH₂N₂ で完全メチル化することによりいずれも 4', 4'', 5, 5'', 7, 7''-hexamethylamentoflavone が, 一方常法に従い H

#### Sporophyll of *Osmunda japonica* (5.8kg)



を用い脱メチル化によりいずれも対応する amentoflavone が得られる。この中の化合物 III と IV はそれぞれの標品の sciadopitysin と 4', 4'', 7, 7''-tetramethylamentoflavone と直接比較することにより同定した。さらに 4 種の biflavonoid の DMSO-d₆ 中での ¹H NMR および ¹³C NMR スペクトル (Table II. と Table III. を参照) は一部を除き非常によく似ている。

Table II. ¹H NMR Signals of Biflavonoids (in DMSO-d₆, ppm from TMS)

Protons Compounds	2'	3, 3''	2''', 6'''	3''', 5'''	5'	6	6'	6''	8
I : R ₁ =R ₂ =H Isoginkgetin	8.08 ^{a)}	6.77 ^{b)} or 6.87	7.52 ^{c)}	6.80 ^{c)}	7.34 ^{c)}	6.26 ^{d)}	8.12 ^{e)}	6.47 ^{b)}	6.53 ^{d)}
II : R ₁ =H, R ₂ =Me Kayaflavone	8.03 ^{a)}	6.86 ^{b)} or 6.89	7.59 ^{c)}	6.88 ^{c)}	7.34 ^{c)}	6.21 ^{d)}	8.16 ^{e)}	6.42 ^{b)}	6.48 ^{d)}
III : R ₁ =Me, R ₂ =H Sciadopitysin	8.03 ^{a)}	6.84 ^{b)} or 6.91	7.56 ^{c)}	6.90 ^{c)}	7.33 ^{c)}	6.32 ^{d)}	8.12 ^{e)}	6.46 ^{b)}	6.68 ^{d)}
IV : R ₁ =R ₂ =Me 4', 4'', 7, 7''- tetramethyl amentoflavone	8.10 ^{a)}	6.78 ^{b)} or 6.86	7.54 ^{c)}	6.86 ^{c)}	7.39 ^{c)}	6.26 ^{d)}	8.16 ^{e)}	6.41 ^{b)}	6.63 ^{d)}

a) br singlet b) singlet c) doublet (J=9.0) d) doublet (J=2.0) e) double doublet (J=9.0, 2.0)

以上のことから考えて I を isoginkgetin, II を kayaflavone とにそれぞれ同定した。

最後に、ここで述べた裸子植物とシダ植物は植物の分類学上いずれも進化の程度が低いものばかりである。さらにゼンマイはシダ植物の中において同じように biflavonoid が単離された Psilotaceae マツバラ科、

Selaginellaceae トウゲシバ科に次いで分類されているものである。さらに胞子葉にのみ含まれていたことなどを考え併せてみるに biflavonoid をケモタキシノミー的な見地からとらえさらに biflavonoid の生合成機構を考える上で興味あることと思われる。

Table III.  $^{13}\text{C}$  NMR Signals of Biflavonoids (in DMSO- $d_6$ , ppm from TMS)

Compounds					Compounds				
Signal numbers	I	II	III	IV	Signal numbers	I	II	III	IV
1	55.7×2	55.0×2	55.3	55.5	14	157.3	130.7	127.7×2	127.7×3
2	94.0	55.6	55.8×2	55.8×3	15	160.2	154.0	128.2	130.9
3	98.7×2	94.0	92.6	92.6	16	160.5	157.1	130.8	154.3
4	102.5	98.8×2	97.9	98.0	17	160.8×2	160.1	154.3	157.1
5	103.5×3	102.9	98.7	98.7	18	161.0	160.5	157.1	160.6×2
6	111.6	103.3	103.1	103.1	19	161.3	161.3	160.6×2	161.0
7	115.7×2	103.5×2	103.6×2	103.6×2	20	163.2	161.5	161.2	161.7
8	121.2	111.5	104.7	104.7	21	164.0	161.7	161.8	162.1
9	121.6	114.1×2	111.7	111.7	22	181.5	162.6	162.2	162.8
10	122.3×2	121.5	114.4×2	114.4×2	23	181.8	163.1	162.8	163.5
11	127.9×3	122.4×2	121.7	121.7	24		164.0	163.5	165.1
12	130.6	122.5	122.3	122.3	25		181.4	165.1	181.9×2
13	154.1	127.3×3	122.7×2	122.7×2	26		181.7	181.9×2	

#### 参 考 文 献

- 1) a) K.Koyama, F.Fuke (Née Sato), J.Kimura and T.Okuyama, *Shoyakugaku Zasshi*, **32**, 126 (1978).  
b) 奥山 徹, 本誌, **2**, 1694 (1980).
- 2) a) T.Okuyama, K.Hosoyama, Y.Hiraga, G.Kurono and T.Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3071 (1978).  
b) 奥山 徹, 本誌, **3**, 1712 (1980).
- 3) T.Okuyama, Y.Ohta and S.Shibata, **33**, 185 (1979).
- 4) Furukawa, *Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res.*, **19**, 27 (1932); **21**, 278 (1933).
- 5) W.Baker and W.H.C.Simonds, *J. Chem. Soc.*, **1940**, 1370.
- 6) Nakazawa, 薬誌, **61**, 174 (1941); **61**, 228 (1941).
- 7) J.W.Wallace and R.Markham, *Phytochemistry*, **17**, 1313 (1978).
- 8) Voirin and Lebreton, *Compt. Rend.* **262D**, 707 (1966).
- 9) B.Voirin, *Phytochemistry*, **11**, 257 (1972).
- 10) M.Okigawa, C.W.Hwa and N.Kawano, *Phytochemistry*, **10**, 3286 (1971).

## 生体に使用する pH 緩衝剤 (II)

東京大学 医学部講師 理学博士 大 沢 一 爽

東京大学 医学部 生理学教室 藤 田 幸 江

2) 水溶性で溶解度が高い。

Good's buffer の溶解度を表 4 に示すが、これは水溶液

に依存する生物に対する緩衝剤としては不可欠の条件である。

表 4 合成された緩衝剤の特性 (pKa,  $\Delta pKa/^{\circ}C$ , 分子量, 金属結合定数) (Good et al. より引用)

構 造 式	分子量	名 称	pKa(20°C)	$\Delta pKa/^{\circ}C$	0°Cでの 飽和溶液 (M)	金 属 結 合 定 数 Log $K_M$			
						Mg ²⁺	Ca ²⁺	Mn ²⁺	Cu ²⁺
O NHCH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	195.23	MES	6.15	-0.011	0.65	0.8	0.7	0.7	Negl
H ₂ NCOCH ₂ N ⁺ H CH ₂ COO ⁻ CH ₂ COONa	212.15	ADA	6.6	-0.011	—	2.5	4.0	4.9	9.7
NaO ₃ SCH ₂ CH ₂ N ⁺ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	342.26	PIPES	6.8	-0.0085	—	Negl	Negl	Negl	Negl
H ₂ NCOCH ₂ NH ⁺ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	182.20	ACES	6.9	-0.020	0.22	0.4	0.4	Negl	4.6
(CH ₃ ) ₃ N ⁺ —CH ₂ CH ₂ NH ₂ Cl ⁻		Cholamine chloride	7.1	-0.027	4.2	Negl	Negl	Negl	Negl
(HOCH ₂ CH ₂ ) ₂ NH ⁺ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻		BES	7.15	-0.016	3.2	Negl	Negl	Negl	3.5
(HOCH ₂ ) ₃ NH ⁺ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	229.25	TES	7.5	-0.020	2.6	Negl	Negl	Negl	3.2
HOCH ₂ CH ₂ N ⁺ H CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻	238.31	HEPES	7.55	-0.014	2.25	Negl	Negl	Negl	Negl
H ₂ NCOCH ₂ NH ⁺ CH ₂ COO ⁻		Acetamido- glycine	7.77	—	Very large	—	—	—	—
(HOCH ₂ ) ₃ CN ⁺ H ₂ CH ₂ COO ⁻	179.18	Tricine	8.15	-0.021	0.8	1.2	2.4	2.7	7.3
H ₂ NCOCH ₂ NH ₂	110.56	Glycinamide	8.2	-0.029	4.6	—	—	—	—
(HOCH ₂ ) ₃ CN ⁺ H ₂	121.13	Tris	8.3	-0.031	2.4	Negl	Negl	Negl	—
(HOCH ₂ CH ₂ ) ₂ NH ⁺ CH ₂ COO ⁻	163.17	Bicine	8.35	-0.018	1.1	1.5	2.8	3.1	8.1
H ₃ N ⁺ CH ₂ CONHCH ₂ COO ⁻	132.13	Glycylglycine	8.4	-0.028	1.1	0.8	0.8	1.7	5.8

KAZUAKI OHSAWA

YUKIE FUJITA

Biological reagent of pH buffer

Department of Physiology Faculty of Medicine

University of Tokyo, Tokyo 113, Japan

3) 生体膜を通過せず、生体膜に作用しない。

phosphate buffer は生体がリン酸を必要としたり、消費したりする生化学的過程を持つことから、これを緩衝剤として生物に使用すると、生体に対して直接あるいは間接的に作用していないとは言えず、carbonate buffer などは膜を通過することが知られている。また、Tris buffer は酸化的リン酸化の脱共役剤として作用する。その他、従来の緩衝剤が持つ欠点のいくつかを表5に示すことができる。このように生体との間に相互作用を持つことは、緩衝剤として適しているとは言えない。

表5 従来の緩衝剤の欠点

従来の緩衝剤の種類	影響事項	一般的な過程
	pH 7.4	
phosphate	緩衝作用が少ない	陽イオンと結合、沈殿し易い。代謝産物に関係し、阻害する。
Tris	pH 7.5以下では緩衝作用がない	1級アミンに関係する。アルカリホスファターゼに作用する。
Carbonate		CO ₂ 溶解度に関係
Borate	HCl 又は NaOH を使用	呼吸系代謝産物と複合体を形成する。

4) Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺ 等の金属イオンとの結合定数 (log Km) が無視できるか、又は、その相互作用が十分に確認されていることが緩衝剤の条件に必要となる。

Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ などの2価の金属イオンは、特に生物では何らかの毒物作用又は毒性効果を示すのが普通である。従って、緩衝剤により pH の変化がなくても、それらの金属イオンの濃度などに変化が生ずることは実験において予想外の結果をもたらすことになりかねない。然も、従来の緩衝剤は、この金属イオン効果まで考えて作製したものであるかは疑わしい。

5) 温度や濃度変化などによる係数 ( $\Delta pK_a/^\circ C$ ,  $r$  等) が表示されている。温度と濃度について、

#### a. 温度

温度による  $pK_a$  の変化の割合を表わす係数  $\Delta pK_a/^\circ C$  を表4に示した。Tris を例にとれば  $\Delta pK_a/^\circ C = -0.031$  である。25 $^\circ C$  で 0.05M の Tris-HCl は  $pK_a = 8.30$  (pH 7.76) で、これを 5 $^\circ C$  に冷やすと  $pK_a = 8.765$  となる。また 37 $^\circ C$  にすると  $pK_a = 7.773$  (pH = 6.91) となる。

(TRIZMA, Sigma technical bulletin より数値引用)

緩衝作用の効果範囲を前述したように  $pH = pK_a \pm 1$  とすると、Tris の場合 5 $^\circ C$  から 37 $^\circ C$  まで温度を変化させると  $pK_a$  において 1 以上のずれが生ずることから  $pH = pK_a \pm 1$  に従えば、この温度範囲で Tris を使用することは適当とは言えない。このように  $\Delta pK_a/^\circ C$  の値を知る

ことは作製した緩衝液がどの程度の温度範囲で緩衝能を持つかを知る上で大切である。

#### b. 濃度

濃度も温度と同様、解離定数  $K_a$  に影響を与える。

溶質が無限に希釈された理想溶液の状態であれば、解離定数(1)は次のように表わされる。

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = \frac{a_{H^+} a_{A^-}}{a_{HA}} \quad (3)$$

ここで  $a$  はイオンの解離活量を表わして、この場合の溶質の活量  $a$  はその濃度  $M$  に等しい。しかし、溶質の濃度の上昇にともない、イオン間の相互作用が生ずると、その活量は理想溶液の活量からずれを生ずるようになる。この理想溶液からのずれを表わす尺度として活量係数  $\gamma$  を導入し、活量  $a$  は、

$$a = \gamma M$$

と表わされる。これを解離定数の式(3)に代入すると、

$$K_a = \frac{\gamma_{A^-} \gamma_{H^+} [H^+][A^-]}{\gamma_{HA} [HA]}$$

となる。溶質の濃度により、たとえ  $[H^+][A^-]/[HA]$  が一定であっても、活量係数  $\gamma$  が変化するので、その結果として解離定数  $K_a$  も変化することになる。表6には生物に使用する水溶性イオンの活量係数  $\gamma$  を示した。また、両性イオンの緩衝剤は、両性イオン作用により濃度変化により  $pK_a$  の変化 ( $\Delta pK_a$ ) がわずかである。

表6 各種水溶性イオンの活係数  $\gamma$

ION	緩 衝 液 濃 度		
	0.001M	0.01M	0.1M
H ⁺	0.98	0.93	0.86
OH ⁻	0.98	0.93	0.81
OAc ⁻	0.98	0.93	0.82
H ₂ PO ₄ ⁻	0.98	0.93	0.74
HPO ₄ ²⁻	0.90	0.74	0.45
PO ₄ ³⁻	0.80	0.51	0.16
H ₂ Cit ⁻	0.98	0.93	0.81
HCit ²⁻	0.90	0.74	0.45
Cit ³⁻	0.80	0.51	0.18

6) 化学的に安定である。

溶液中に含まれる他の物質と反応し、沈殿を生じたり、 $pK_a$  に変化を生じたりするようでは困ることが容易に理解できる。

7) 光学的に 240~270nm に吸収帯を持ち UV に対しては小さな吸収帯を持つものの、可視光に対しては透明である。

生体の酵素系あるいは糖、アミノ酸などの物質を比色により定量することがしばしば行なわれる。従って、その為に利用される波長範囲で吸収を生ずるような緩衝剤は、その目的には適さない。

8) 容易に精製品が購入できる。

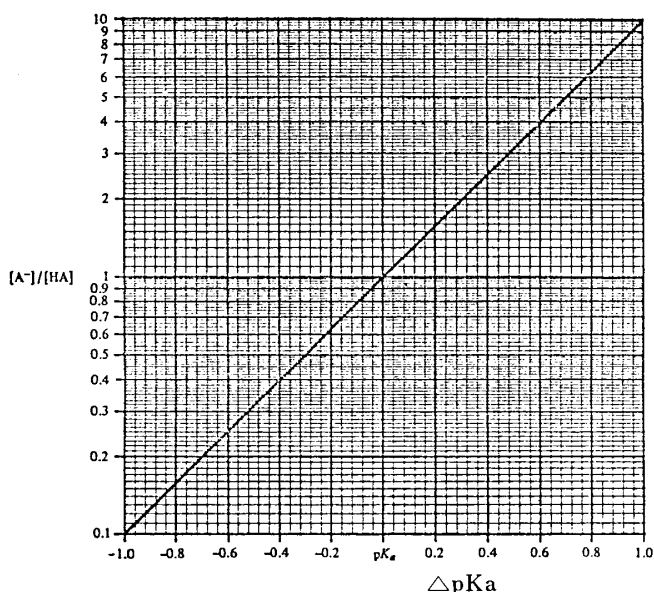
緩衝液はふんだんに使用するものだけに、たとえば理想

的なものであっても、入手がむずかしかったり高価であれば使いにくくなってしまいうので適当とはいえない。

Good's buffer は、上に述べたような特性を持ち合わせているので、今までの緩衝剤に比べて明確な比較ができる。しかしここでもう一度強調しなければならないのは、Good らの緩衝剤が完全に理想的なものであるかどうかはわからない。

それは、測定機器の精度と感度の上昇により、いつ、どのようなところに問題が生ずるかは、予断を許さない。例えば今までに、人工的あるいは人為的なもので完全なものは存在していない。それ故に、生体にはない人工緩衝剤が、どうして自然の生体内物質と何のかかわりもなく、相互作用もなく存在することができるのだろうか。この問題は従来の緩衝剤と丁度 vice versa であろう。

図2  $\Delta pK_a$  と  $[A^-]/[HA]$  の関係



#### おわりに

最後に緩衝剤の作製および pH メーターによる pH の確認についてふれる。

20°C で 0.1M Hepes-Tris Buffer, pH 7.4 を 1 ℓ つくことを例にとって考えてみよう。この時何モルの Tris を準備すればよいだろうか。

表3より20°CでのHepesのpKaは7.55である。

$$pH\ 7.4 - pK_a\ 7.55 = \log \frac{[A^-]}{[HA]} = \Delta pH = -0.15$$

図2のグラフより  $\Delta pH = -0.15$  のとき、

$$\frac{[A^-]}{[HA]} = \frac{\text{モルOH}^-}{\text{モルHepes} - \text{モルOH}^-} = 0.7$$

モル  $OH^- = y$  とおくと

$$0.7 = y / (0.1 - y)$$

$$\therefore y = 0.04 / \text{モル}$$

従って、Tris 試薬を 0.041 モル準備すればよい。(0.1 M Hepes + 0.041 モル Tris) / 1.0 ℓ  $H_2O$  より求めたい緩衝液が得られることになる。ところが実際は表7に示すように計算によって求めた pH と測定値の間には若干ではあるがずれが認められる。従って緩衝液を作製する場合には、最後には必ず pH メーターにより pH を正確に合わせなければならない。

表7 MES, TES, Hepes 緩衝液の混合比

緩衝液 + 緩衝液		MES		TES		HEPES	
無酸型 %	Na塩型 %	測定値	計算値	測定値	計算値	測定値	計算値
100		3.48		4.34		5.15	
90	10	5.17	5.19	6.45	6.54	6.52	6.60
80	20	5.52	5.54	6.84	6.90	6.88	6.95
70	30	5.77	5.78	7.08	7.13	7.13	7.18
60	40	5.95	5.97	7.29	7.32	7.33	7.37
50	50	6.15	6.15	7.48	7.50	7.52	7.55
40	60	6.30	6.33	7.68	7.68	7.70	7.73
30	70	6.51	6.52	7.88	7.86	7.89	7.92
20	80	6.78	6.75	8.11	8.10	8.13	8.15
10	90	7.22	7.10	8.44	8.45	8.53	8.50
	100	10.22		10.04		10.21	

生体用の緩衝液は、多量に使用したり、使用頻度回数が多くなる。そのような場合には、あらかじめ濃い溶液をつくらせて保存しておき、使用直前に混合し希釈する方法をとる。また実験の途中で他の塩溶液などを加えることもある。このような時にも混合、希釈後に、pHを確認するか、あらかじめ pH がどうなるかを確かめておくように心がける。

pH 測定に使用される pH メーターは、電極にガラス薄膜を用いて、そのガラス薄膜内外の水素イオン濃度差によって薄膜に生ずる内部電位を電氣的に測定したもので、その電位を pH に換算して示す機器である。理論的にも裏付けがあるので、pH メーターによる測定値は、計算で求めた値よりも信頼がおけるとみなされている。pH メーターの説明は紙面の都合により別稿に後述する。

実験の際に使用せざるを得なかったが故にあたり前として利用している緩衝剤、それ自体に考慮すべき多くの問題点が含まれているということが明らかになってきたので、今後、すぐれた緩衝剤の生まれることを期待している。

#### 文 献

- (1) Gomori & Sørensen  
Meth. Enzymol., **1**, 143, (1955).
- (2) Green  
J. Phys. Chem., **55**, 2331 (1933).
- (3) Good, N.E. et al  
Biochem., **5**, 467, (1966).

## プラハのかぜ薬

山形大学理学部教授 理学博士 中 沢 信 午

去る5月2日、ウィーン空港に下り立った。例年ならばマロニエの花さく季節であるが、ことしはまだ異常に寒く、花どころか、葉もまだようやく出はじめたばかりである。こういう寒い5月上旬に、ほとんど毎日雨が降りつづいた。だが、せっかくウィーンへ来て、ホテルで寝すごすのも惜しいから、冷たい雨の中を出る。みぞれになるかと思われるほど、冷たい雨の中を。その結果かぜをひいた。熱が38.5度もある。せきが出る。そして声がつぶれた。

こうしてウィーンの数日を過ごし、プラハへ着いた。プラハもまた小雨である。空港へ出迎えてくれた友人たちには、オーストリアでかぜをひき、こんな声になったことを弁解せねばならなかった。しかし、プラハでもまた毎日外へ出る。それゆえか、かぜひきは一段とひどくなった。肺炎でもひきおこしたら大変だと思い、用心はしたが、とにかく雨の晴れ間をえらんで歩きまわった。

プラハの友人 Sosna 博士に事情をはなし、かぜ薬をすこしもって来てくれるよう依頼したところ、さっそく翌朝4種類のかぜ薬を持参してくれた。その後 Brno へ行ったときにも、こんどは Otava 博士が内服薬1個を買ってきてくれた。それらのかぜ薬を紹介してみよう。

**Ga-Fo** 水薬、25ml、褐色びん入り、うがい(含嗽)用。15~20滴をコップ1杯の温湯に希釈し、日に数回使用する。成分は Formaldehydum solutum 2.5g, tinct. bistortae 375mg, mentholum 130mg, spiritus, aqua ad 25ml。プラハ連合製薬工場 (United Pharmaceutical Works, Praha) 製。びんのふたをはずして、倒立すると、プラスチックの管から水薬が滴下するようになっている。

成分のうちの tinct. bistortae はタデ科の植物イブキトラノオおよびその近縁種で、根茎のエキスをアルコールにとかしてチンキ状にしたものである。タンニンを含み、解毒作用、消腫作用、収れん作用がある。

**Pleumolysin** 水薬、10ml、褐色びん入り、内服用、約10滴を希釈して食後2~3時間に服用する。成分は Saponinum rad. gypsophilae 50mg, codeinium dihydrogenphosphoricum 32mg, tinct. aconiti 400mg, extr. thymi, spiritus, aqua ad 10ml。プラハ連合製薬工場製、びんを倒立して水薬が滴下できる。成分中の aconiti は有毒植物トリカブトの根の抽出物で、アルカロイドのアコニチンを主成分とするものにちがいない。一種の細胞

活化剤で、多量に服用すると有毒である。少量のときは解熱作用もあるといわれる。gypsophilae はナデシコ科植物で根にサポニンを含んでいる。

**Ipecarin** 水薬、10ml、褐色びん入り、内服用、15~20滴を希釈して日に3~4回食後に服用する。成分は Emetinum dichloratum 1mg, pilocarpinium chloratum 15mg, ephedrinum chloratum 130mg, codeinium chloratum 93mg, extr. liquiritiae, ol. thymi, ol. anisi ad 10ml。プラハ連合製薬工場製。容器を倒立すると水薬が滴下する。成分中 extr. liquiritiae はカンゾウ(甘草)抽出物である。生薬の本によると、この抽出液はグリシリジンその他を含み、人体には各種の作用をもつが、漢方では解毒剤で、また胃潰瘍に有効、鎮せき作用もある。また ol. thymi はタチジャコウソウから水蒸気蒸留したチモールを含む油性の液体で、粘膜刺激性があり、発作性のせきに効果があるという。ol. anisi はセリ科植物ダケゼリ属の *Pimpinella anisum* の果皮や種子から抽出した精油で、かぜ薬によく用いられるものである。

**Superpyrin** 10錠入り、1~2錠ずつ日に3回服用。成分は1錠中 Aloxiprinum (trialuminium dioxydatum pentakisacetylosalicilicum) 400mg フロホウェツ・スロバコファルマ製薬所 (Slovakofarma narodnypodnik Hlohovec) 製。日本のアスピリンと類似のものである。

**Codein** 10錠入り、1錠ずつ日に3回服用。成分は1錠中 Codeinium dihydrogenphosphoricum 30mg を含有。容器は無色の管びん、フロホウェツ・スロバコファルマ製薬所製、箱には Codein と記してあるが、びんのレットには codeinium とある。

さて私のかぜひき症状は相当なもので、毎日高熱とせきと軽い頭痛になやまされた。食欲はおとろえ、何か食べると吐き気がするようになった。それで、まずうがい薬 Ga-Fo を使用してみた。なるほど使用直後には気分がよろしいが、しばらくすると、またおなじである。実は当初は成分を見ないで、ただ使用法を読んで、その通りにやっていたが、ふと成分を読んでみるとフォルムアルデヒドと記されていたので、飲みこんだら大変だと思い、この薬の使用はやめた。うがい (Gargle) の薬でフォルムアルデヒドだから Ga-Fo というわけか、なるほどと感心した。

つぎに内服水薬の Pleumolysin を服用してみた。しかし、いっこうに好転しないまま経過した。実はかぜひきを薬で治そうとしても、そう簡単にいくものでないこと

SINGO NAKAZAWA

Department of Biology, Faculty of Science,  
Yamagata University.

は、もちろん知ってはいたが、何しろ外国でこんなことになる、気がいら立つものである。それで、こんどは夕食後の9時ごろ、錠剤 Superpyrin を1錠のんで寝た。すると、30分ほどして、胃酸過多のような気分になり、しだいに苦しくなって、ついには食道から胃にかけて焼けるような感じにおそわれた。水道水を多量に飲んでみたが、いっこうに治らない。だんだん不安がつのってきた。日本から「パンシロン」を持参してきたので、これで中和すればーと考えたが、その結果有害な化学反応もおこしたらと思うと、おそろしくなる。だがついに「死んだら、それでもよいではないか。ボヘミアに死すーというのもロマンチックでおもしろい。ままよー」とばかりに、持参したパンシロンを2服(2.8g)、水とともに飲みみくだした。

さてしかし、もしこのまま死んだら自殺とみられるだろうから、紙一枚に由来をしたためてテーブルの上に置き、ベッドに横たわって、何か辞世の歌でもと考えているうちに眠った。朝3時ごろに、ふと目ざめると、ひどく頭が痛かった。まだ生きていたか、と思いながらまた眠り、7時半に目がさめた。頭痛はすっかりとれている。熱も下がったようだ。苦痛もほとんどない。そして空腹になっている。

この朝の食事はパンとレモン入り紅茶とハムだ。パンにはバターとあんずジャムをたっぷり付けて、2人前たべた。こうして私のかぜひきは、やや好転したが、なおその後20日間ぐらひは、せきが出る日がつづいた。

電車の中でも、道のあるいていても、まわりにせきをしている人が多いのに気づいた。異常気象のせい、か、現地の人たちもたくさんかぜをひいたのである。とにかく、異郷の地で肺炎にならなくてよかった。

さて薬剤の容器については、なかなかよく出来ていると思う。液体の場合は、倒立して管口から滴下する。そのあとはふたが完全で、もれる心配がない。びん入りの錠剤では、びん内で転がりくだけののを防ぐように、ふたの内側にラセン状のビニールのバネがあり、それが錠剤をおさえている。生薬のエキスを希釈して内服するようになっているものが多いには感心した。速効性が低いかもしれないが、生物体である人体には害が少ないのではなかろうか。

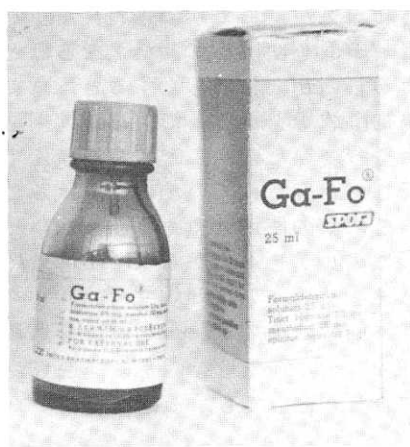


図1 Ga-Foの箱とびん

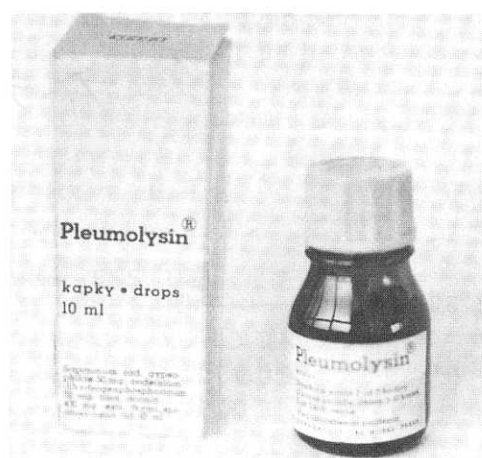


図2 Pleumolysinの箱とびん

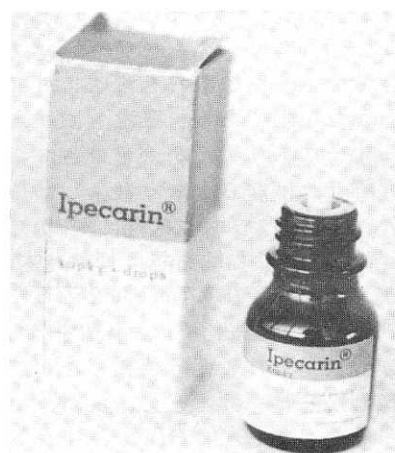


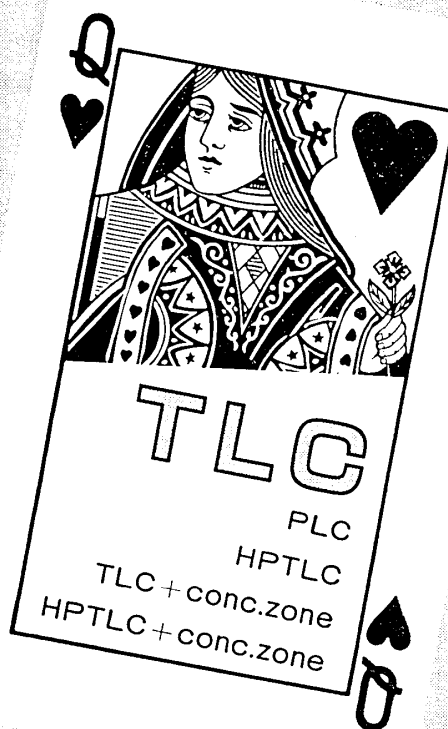
図3 Ipecarinの箱とびん、ふたを除いたところ



図4 Superpyrin



図5 Codeinの箱とびんと錠剤

**MERCK**

微量分析から分取スケールまで

**切札は****MERCK クロマトグラフィー製品****液体クロマトグラフィー**

- ハイパーカラム  
(高速液クロ用充填カラム)
- 高速液体クロマト用充填剤  
LiChrosorb  
LiChrospher  
Perisorb
- ローバーカラム  
(低圧分取用充填カラム)
- 分取液体クロマト用充填剤  
LiChroprep

**微量分析****定性・定量分析****分取分析****薄層クロマトグラフィー**

- HPTLCプレート
- 濃縮ゾーン付HPTLCプレート
- TLC用プレート・粉末担体
- 濃縮ゾーン付TLCプレート
- PLC用プレート・粉末担体

各製品の日本語パンフレットを用意しております。

**関東化学株式会社 メルク試薬部**103 東京都中央区日本橋本町4-6 東興ビル 03(663)7631  
541 大阪市東区瓦町3丁目1番地 06(222)2796**MERCK**

# 新しい化学計測法とそれに必要な試薬

工業技術院 化学技術研究所 工学博士 間宮真佐人

化学計測の手段としていろいろな種類の分析機器が使われている。しかし測定対象の物質を直接装置にセットし測定することは稀れで、通常は試薬を用いて前処理、溶解などの操作をして測定している。分析機器の性能が向上するに従い、用いる試薬の純度、特性なども高度なものが要求されてくる。最近の分析機器で注目されるのはコンピュータを利用する測定装置である。それも測定操作の自動化、データ処理、と云う単純な利用ではなく、コンピュータの性能を高度に利用したアダマール、フーリエなど変換手法を用いたデータ変換計測の装置である。これらの装置は極めて感度が高く、詳細な化学情報が得られるため、使用する試薬もそれなりに高度な品位が要求される。すでに関東化学株式会社メルク試薬部で取扱っているNMR測定用溶媒、 $^{13}\text{C}$ 用試薬はこの種の高度な試薬であるが、このデータ変換測定方法とその必要な試薬について解説して見たい。

## 1. データ変換測定法 の概念

最もポピュラーな吸光分光測定を例に説明しよう¹⁾。従来の測定装置は図1aのように光源の光をプリズム、回折格子で分散し、スリットを通るスペクトル成分のみを試料に照射、その透過光を検出測定するもので、極めて効率の悪い測定法である。最近エレクトロニクス素子製造技術の発展により、微少な検出素子を並列に揃えた多チャンネル測定方法bもあるが、検出素子の性能、均一性に未だ不満足な点がある。図1cはアダマール変換測定法である²⁾。

アダマール巡回行列に適合するスリットマスクを用い、それを1ステップずつ移動させながらマスクを通過する多数のスペクトル成分を1つの検出器で検出する方法で、その測定値の1つ1つがアダマール行列の要素データである。これを高速アダマール逆変換計算してスペクトルを得るもので、光スペクトルでは $2^{10}$ 程度のデータを用いるが演算は単純、マイクロコンピュータでも数秒で行える。この方法は多重スペクトル成分測定法であるため、その多重度だけaの測定よりS/Nがよい高精度の測定ができる。

フーリエ変換測定法は2光束干渉計を用い光路差を変えながら干渉図型(インターフェログラム)を測定し、その一定光路差間隔ごと(時間リニヤーなら時間ドメイン)の測定値を用い高速フーリエ逆変換してスペクトルを求めるのである。云い換えればコンピュータを分散子の役割に用いるものであり、測定は非分散、スペクトル要素を全て同時に測定するため最も測定効率のよい方法

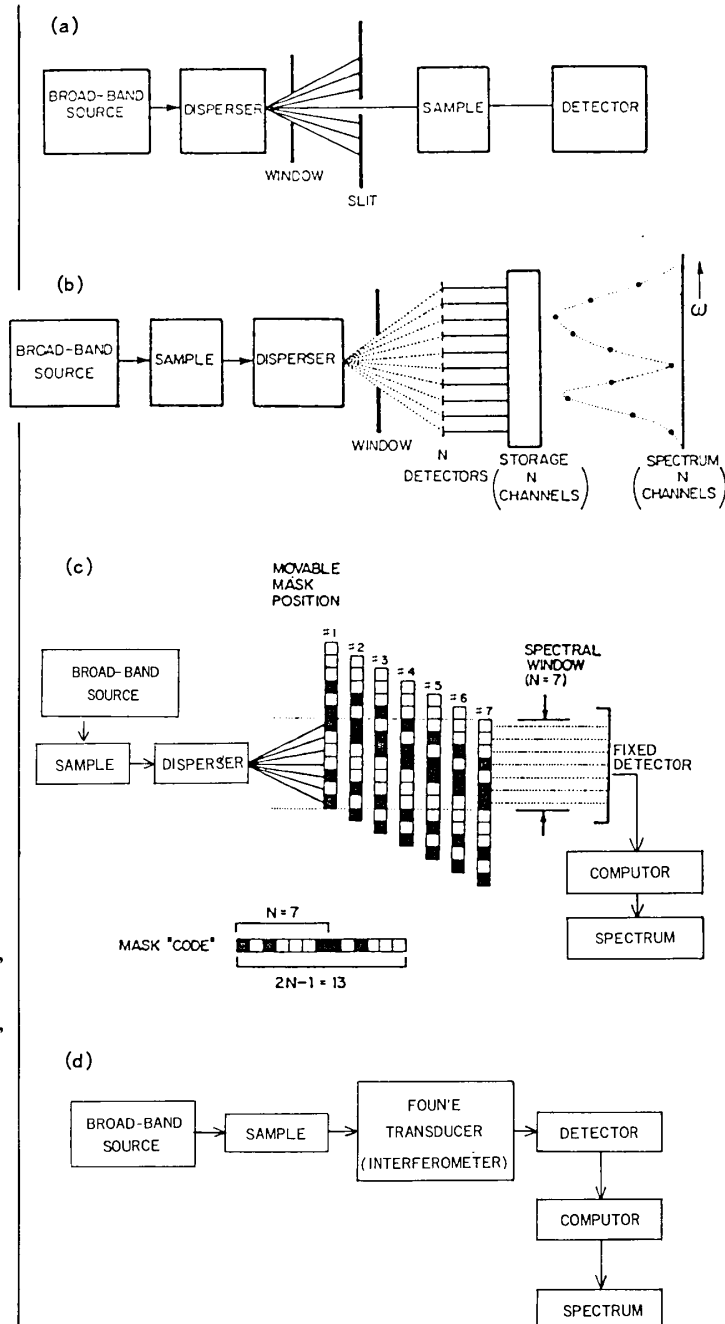


図1 吸収スペクトル測定装置

- (a) 分光光度計 (b) 多重検出器方式  
(c) アダマール変換方式 (d) フーリエ変換方式

である。

## 2. データ変換測定法の応用

データ変換測定法は光、磁気共鳴など電磁波のスペクトル及びイオン、荷電粒子などのスペクトル測定に有効で、すでに多くの分野で利用されている。この方法は光スペクトロメトリーの領域ではすでに前世紀マイケルソン、フーリエなどの偉大な科学者によりその基礎は研究されていた。しかしこの方法が実際に使える見通しを得て、研究され始めたのはコンピューターが使えるようになった1950年代からである。光関係では多くの人々によって盛んに研究されたが、実際に化学測定に利用されるようになったのは、パルスフーリエ変換NMR法により $^{13}\text{C}$ の測定が行なわれてからである。

$^{13}\text{C}$ のNMRスペクトルは有機化合物の骨格状態を知るのに極めて有効で、現在では有機化学者の常套手段となっている。この技法は $^{13}\text{C}$ の天然存在率1.108%より少な

い $^{15}\text{N}$ 天然存在率0.365%の測定も可能になり、化学研究に新しい分野を開きつつある³⁾。

光スペクトロメトリーの分野でもフーリエ変換測定法は高感度、高精度な測定法として注目され、微量成分、高分解能スペクトルの測定に利用されている。しかし $^{13}\text{C}$ NMR程画期的な重要測定が生じなかったため、その普及度は遅れているが、除々に赤外部を中心に利用されるようになって来た。特にクロマトグラフィーとの結合測定は化学計測上極めて有効なものであり、近い将来急激に普及して行くものと予想される。

その他の分野では光音響スペクトロメトリー、質量分析、ESCA、プロトン共鳴吸収などではアダマール変換測定法が、直流、交流ポーラログラフィー、ボルタメトリーなどの電気化学的分野では非ファラデー電流、非直線性成分、電極面での活性現象、光音響、イオンサイクロトロンによる質量分析などの測定にフーリエ変換法が用いられている。

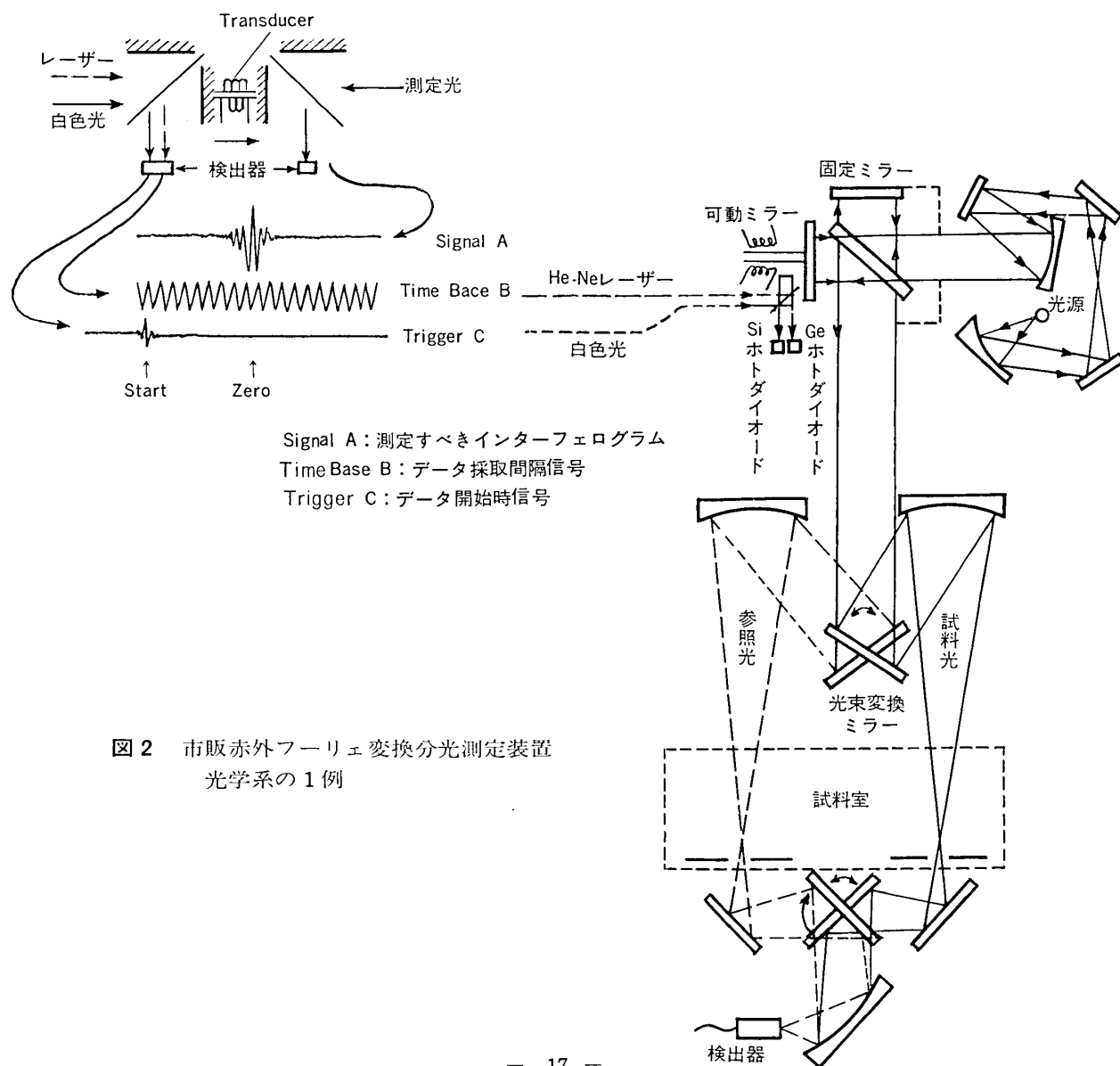


図2 市販赤外フーリエ変換分光測定装置  
光学系の1例

### 3. 有効な分析法とその試薬

データ変換測定法は多くの原理的利得があり、独自の発展がなされているが、ここで詳しく記述する余裕はない。幸い最近、優れた参考書が出版されたので詳しくはそれを参照して頂きたい。ここでは化学計測で最も有効と思われる方法を2, 3取り上げ、その試薬との関係を述べるに止める。

#### 3.1 フーリエ変換NMR法と試薬

NMRは共鳴磁場を大きくすればする程分解能が上り、現在では超電導磁石を利用し500MHzの装置が市販され600MHzの装置も試作されている。しかし測定技術の進歩に大きく貢献したのはコンピューターである。フーリエ変換NMRは時間  $t = 0$  で静磁場に対して一定方向にある磁気モーメントの回転屋標軸に対して、 $90^\circ$ パルス又は $180^\circ$ パルスを与えその自由誘導減衰 (free induction decay) を時間ドメインで測定、それをフーリエ逆変換してスペクトルを求めるものである。1回の測定は数秒であるが、信号は弱く、十分なスペクトルを得るには $^{13}\text{C}$ の場合でも1000回以上の繰返し測定が必要である。コンピューターにより極めて高い繰返し測定精度が得られるため、この測定法が実用化されたと云ってもよい。 $^{13}\text{C}$ の化学シフトは $^1\text{H}$ より圧倒的に大きいので分解能の点では問題はないが、この測定に用いる溶媒の $^{13}\text{C}$ は天然存在率より低い溶媒を用いることが望まれる。この点 $^{13}\text{C}$ の含量を1/20以下にしたメルクの $^{12}\text{CCl}_4$ ,  $^{12}\text{CDCl}_3$ ,  $^{12}\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $^{12}\text{CD}_3\text{I}$ ,  $^{12}\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $(^{12}\text{CD}_3)_2\text{SO}$ などの試薬は有効である。

窒素や酸素を含む化合物では $^{15}\text{N}$ や $^{17}\text{O}$ の測定も可能になり、その測定例もある。 $^{15}\text{N}$ の天然存在確率は $^{13}\text{C}$ より更に低いので1晝夜~2晝夜の連続測定が必要である。⁴⁾ この貴重なデータを生かすには $^{15}\text{N}$ や $^{17}\text{O}$ -NMR用の試薬の開発、市販が望まれる。

#### 3.2 クロマトグラフィー・フーリエ変換赤外分光法と試薬

クロマトグラフィーは試料成分の分離には適しているが、その成分を同定するには付属検出器での測定では難しい。GC-MSはこの点を解決した一つの方法であるが、赤外吸収スペクトル法はMSに優るとも劣らない情報量を有している。しかし通常の方法では測定感度が不足してクロマトグラフ流出成分を直接測定することはできない。フーリエ変換分光法は高感度でありGC, HPLC, TLCなどのクロマトグラフィーと直接結合してスペクトルを測定することが可能で、急速に普及する状況にある。

i) GC-FTIR これはガスクロマトグラフの出口に内面を金メッキした毛細管をセルとして設置し、そこを赤外線を通しFTIRで吸収スペクトルを測定する方法である。

インターフェログラムの測定は2~3秒程度で繰返し測定ができるが、それをスペクトルに変換するにはFFTを用いてもミニコン級のコンピュータでは同程度の時間を必要とする。そこでインターフェログラムをコンピュータのディスクメモリーに順次ファイリングし、測定終了後スペクトルに変換クロマトグラフの時間分割スペクトルを測定する方法が行なわれている。(図4)

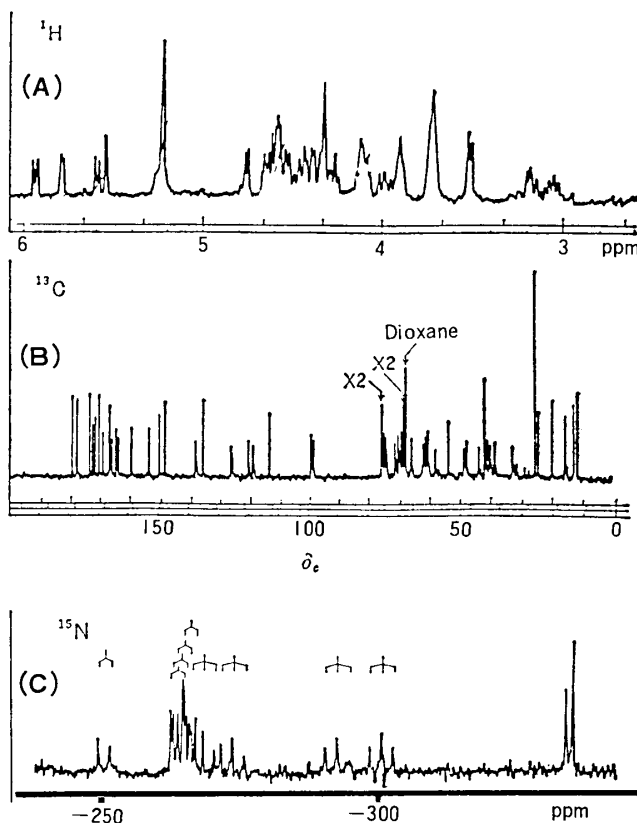


図3 プレオマイシンの $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ 及び $^{15}\text{N}$ のスペクトル  
A: プレオマイシンB₂の $^1\text{H}$ (300MHz)  
B: プレオマイシンA₂の $^{13}\text{C}$ (252MHz)  
C: プレオマイシンA₂の $^{15}\text{N}$ (36,48MHz)の拡大スペクトル

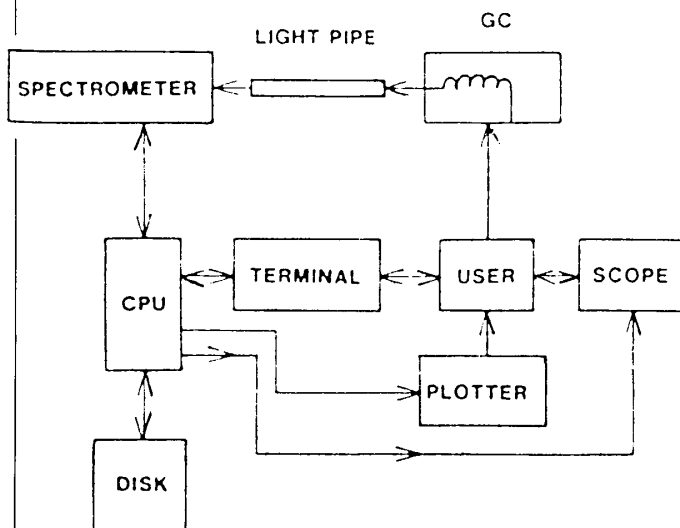


図4 測定者の関係から見たガスクロマトーフーリエ変換赤外分光法(GC-FTIR)のブロックダイアグラム⁶⁾

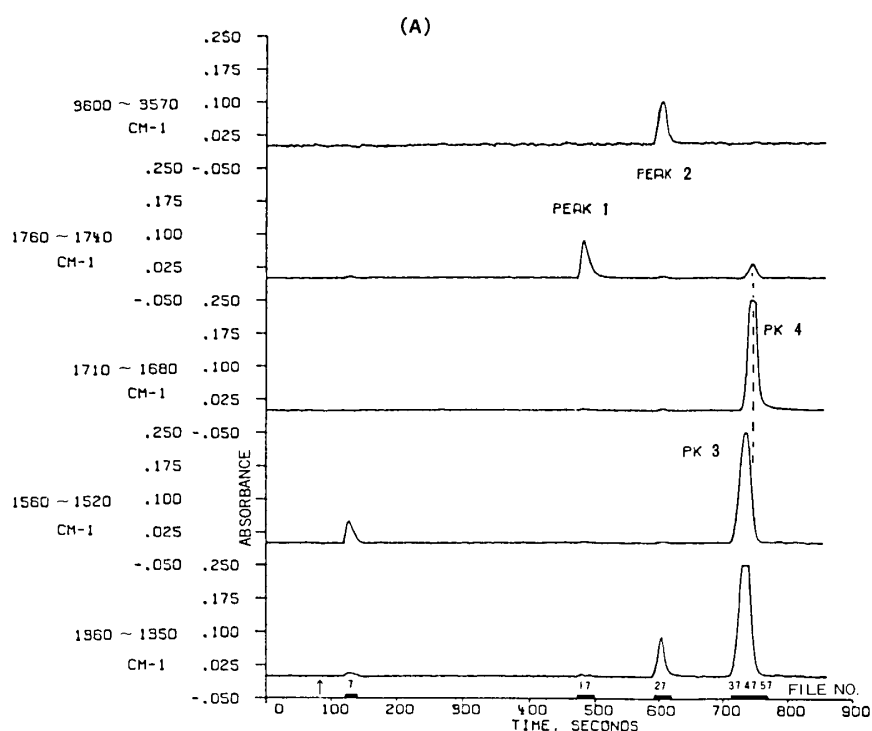


図 5

ジメチルフタレート、グアイヤコール、*O*・ニトロトルエン及びサルチル酸メチル混合試料のガスクロマトケミグラム(A)とピーク3 (*O*・ニトロトルエン)及び4 (ジメチルフタレート)の時間分割スペクトル(B)⁶⁾

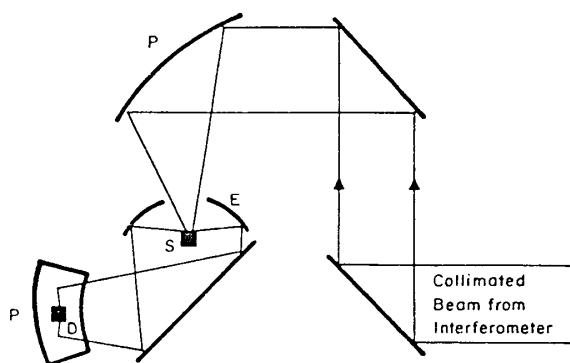
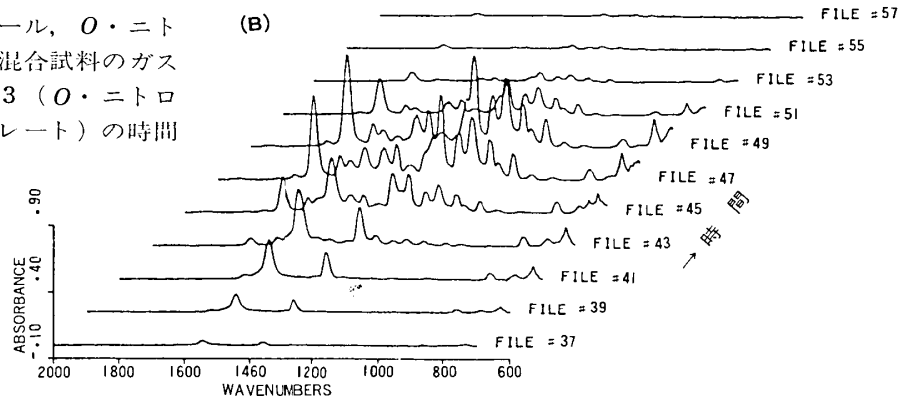


図 6 フーリエ変換分光装置に用いられる粉体反射装置の例

P: パラボラ集光ミラー, E: 半球ミラー,  
S: 試料設置個所, D: 検出器

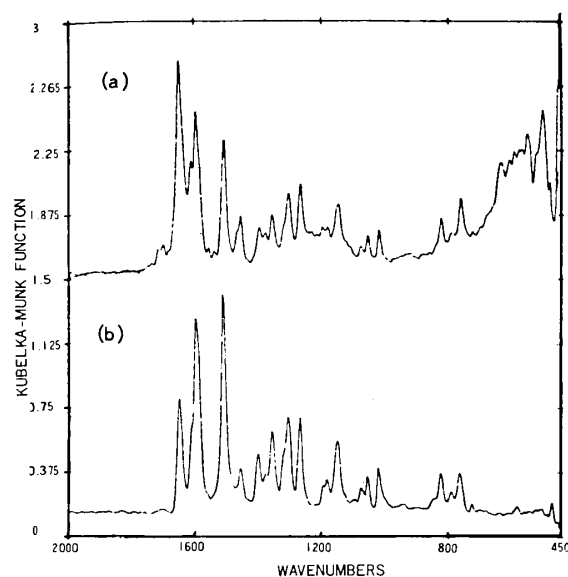


図 7 HPLC流出成分の粉体反射スペクトル  
成分インドフェノール (a) 100ng, (b) 1µg⁹⁾

この場合は気体測定であり、試薬はシリル化剤など試料前処理に用いるだけで余り問題となることはない。

ii) HPLC-FTIR これには3つの方法が研究されている。その1つはマイクロフローセルを用い、GCと同様インターフェログラムを順次コンピューターにファイリングして、後でスペクトル変換をする方法である。2つ目はインターフェログラム中の光路差の小さな部分、すなわちスタート点から数十又は数百点を用いてFFT計算をし、非常に分解能の悪い状態ではあるが、CH, OH, COなどの特性吸収帯の強度変化をリアルタイムで計算、そのデータを記録紙上に画かせる方法である。この図型はケミグラムとも云ってGC-FTIRにも使用されている⁷⁾。

HPLCで問題なのは溶離溶媒の吸収である。赤外吸収スペクトル法で用いる四塩化炭素、二硫化炭素、流動パラフィンなどが目的成分の溶離に適していれば好都合であるが一般にその様な例は少ない。しかしFT法は通常の方法に比べ吸収がある程度あっても赤外光が数%透過すればその溶離液中で流出成分の吸収スペクトルを測定することは可能である。この点従来の赤外溶媒と異なる。

HPLCの溶離能と赤外溶媒の特性を合せ持つ試薬溶媒が開発されればHPLC-FTIR法は極めて有効な分析法となるであろう。3番目のHPLC-FTIR法は赤外粉体反射⁶⁾を利用する方法である。これは、溶離液は揮散性のあるもの、測定成分は揮散性のないものに制限されるが、興味ある測定法である。HPLCからの溶離液を厚さ1-2 mmのアルカリハライド粉体を入れた試料皿に添加し、それを風乾又は真空加熱して溶離液を揮散させる。成分は粉体に吸着されるので、その粉体反射スペクトルを測定すると数ng程度の成分でも有意な赤外スペクトルを得ることができる⁹⁾。この方法では溶離能が高く、揮散性の優れ、残留物が皆無の溶媒と、表面の汚染が少ない粒径10 $\mu$ m程度のアルカリハライド(KCl, KBr, CsIなど)の試薬があれば好都合である。

iii) TLC-FTIR これも赤外粉体反射スペクトルを利用する方法である。TLCプレートはスペクトル測定の障害となるバインダーを用いず、アルミナ、シリカなどの保持体のみで作成する。保持体層の厚みは<50 $\mu$ mであり、粉体反射の光散乱状態からそのままでは大部分の光は薄層を透過してしまう。そこでプレート基板上に反射率のよいアルミ箱などを張付けるか、塩化銀などをコーティングして置き、その上に薄層を作る。粉体反射の有意なスペクトルを得る試料量の下限は10 ngであり、一回の展開で必要量の成分スポットが得られない場合は展開-乾燥-展開……の多重展開をしてスポット成分量を増す必要がある。展開時間を $t_a$ とするとRf値が非常に低い試料では同じ $Ta$ で多重展開してもよいが、通常の試料では $t_a$ を順次大きくしないとスポットが拡大し、多重展開による成分量の増加効率は落ちる。それには表に示す3つのモードがあり、試料に適したモードで多重展開する必要がある。

表. 多重展開のモード

モード	n 回目の展開時間
1	$nt_a$
2	$\sum_{i=1}^n int_a$
3	$n^2 t_a$

このTLCスポットの赤外粉体反射スペクトルは成分のスポットが完全に分離しなくても位置分割測定をすることにより、それぞれの成分測定をすることが可能である¹⁰⁾。

この測定法で要求される試薬は展開溶媒としては薄層粒子との相互関係が少なく揮発し易く、残留しないもの、粒子は粒径が数十 $\mu$ mで揃っており、反射率が一定であるものがよい。

#### 4. むすび

新しい化学計測法であるデータ変換測定法は極めて高感度かつ高精度の測定が可能であり、又コンピューターの特性を利用して微量な差スペクトルを容易に測定することができる。この特徴は従来法では測定困難であった微量成分や微弱な化学変化の測定を可能とすると共に溶媒や基質の性質がある程度測定を妨害するものであっても測定できる。この点、試薬としては楽な条件ではあるが、測定感度が極めて高いため微量な不純物、揮散残分などが非常に問題となる。

この新しい測定法は最近の目覚ましいコンピュータの性能向上と価格の低下により、その普及は急速に拡がろうとしている。試薬もこの計測、特性に適したものを供給して頂ければ幸である。

#### 文 献

##### 参考書

- P.R.Griffiths, Ed., : "Trans form Techniques in Chemistry" plenum press New York (1978).  
J.R.Ferraro and L.J.Basile, Ed., : "Fourier Trans form Infrared Spectroscopy" Application to Chemical Systems Vol.1,2 (1979) Academic press New York.

間宮真佐人, 西川利夫, 田中達博: "化学計測におけるフーリエ変換測定法入門" 共立出版(1981)印刷中

##### 引用文献

- 1) 間宮真佐人: ふんせき, '75, 106(1975).
- 2) N.J.A.Sloane, T.Fine, P.G.Philips and M.Horwit: Appl Opt., **8**, 2103 (1969) など.
- 3) 荒田洋治: 化学と工業, **33**, 518 (1980).
- 4) H.Naganawa, Y.Muraoka, T.Takita and H.Umezawa: J.Antibiotics, **30**, 388 (1977); H.Naganawa, T.Takita, H.Umezawa W.E.Hull: ibid **32**, 539 (1979).
- 5) D.R.Mattson and R.L.Julian: J.Chromat. Sci. 416 (1979) など.
- 6) D.W.Vidrine: "Fourier Transform Infrared Spectroscopy" Application to Chemical System Vol.2, P129 (1979) など.
- 7) 間宮真佐人: Jasco Report **5**, No.4 (1968) など.

- 9) D.Kuehl and P.R.Griffiths : J.Chromat. Sci., **17**, 471 (1979). 10) M.M.Gomez-Taylor, D.Kuehl and P.R.Griffiths : Anal. Chem., **30**, 447 (1976), Appl. Spectrosc., **30**, 447 (1976) 女川修ら : 第41回分析化学討論会 (1980) など.
- 間宮真佐人, 石井榮善, 村上徹朗 : 分析化学 5月 掲載予定 (1981) など.

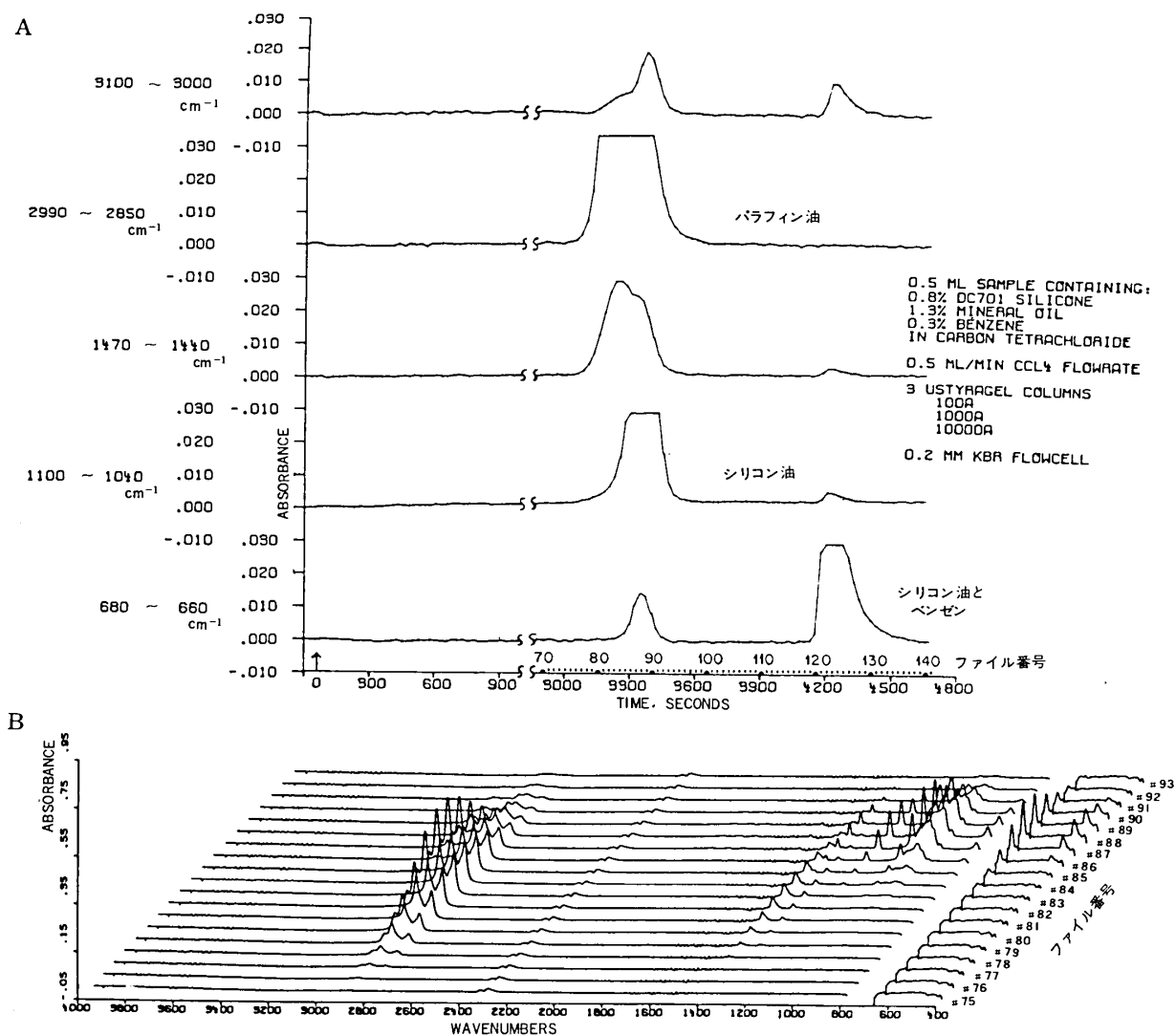


図8 シリコン油, パラフィン油及びベンゼンの分子サイズ分離のケミグラム(A)と⁸⁾時間分割スペクトル(B), このケミグラムは光学フィルターにより測定した



## 薬学ゆかりの外国人 (2)

## エイクマン Johann Frederik Eijkmann

薬学博士 根本 曾代子

## わが国植物化学・栄養化学の開拓者

オランダ人エイクマン先生は草創期の薬学領域に、植物成分研究の有機化学と、栄養分析の学術方法を指導して、新分野の基礎を築いた恩人である。栄養化学の学殖は、ビタミン発見でノーベル医学賞受賞(1926)の弟の医師 C.Eijkmann が、争われぬ血筋を引いている。

兄の J.F.Eijkmann 先生が日本政府に招かれて、長崎司薬場教師に赴任したのは、明治10年(1877)2月初めで26歳であった。その業績を述べる前に、薬学初期の動向を概説しておきたい。

## お雇い外国人教師の役割

110余年前の日本は、世にいう発展途上国で、政権を掌握した新政府は、速やかに日本の国際的地位を高めて近代国家を建設するため、欧米先進諸国から各界の専門家を「お雇い外国人教師」と称して招く一方、俊秀を海学に留学させて、先進学術の導入をはかった。

医学薬学は鎖国時代からの伝統であったオランダ系をやめて、一時英国流医学を取り入れたが、当時世界で最も進歩したドイツを範とすることに政府の方針が一決した。

ことに薬学教育の急務を迫られたのは、西洋薬品に対する無知に付け入る悪徳外国商人が、不良薬品を流すため、生命や健康保持に危害を及ぼすのを防止する緊急対策であった。

こうして明治6年(1873)9月、東京医学校製薬学科(東京大学薬学部の前身)が創設される一方、翌明治7年(1874)3月、薬品試験機関として東京司薬場が開設され、続いて京都、大阪両司薬場が設置された。明治9年、京都司薬場を廃して、長崎、横浜の開港場に司薬場が設立され、長崎司薬場教師としてエイクマンが招かれたのである。

## 薬学修業の道

エイクマンは1851年(嘉永4年)1月19日、オランダ・ゲルデルランド州ネイケルクウェアに生まれる。父はホルランド州学校長を務める教育者であった。

父のもとで学修して成人した彼は、18歳のとき製薬学を志して、当時の薬学教育の慣例であった薬局見習生および数学科の試験に及第して、ハーグの薬局助手の任務に就く。

18世紀から19世紀中頃にかけて、正規の薬学教育機関が発達しない頃、ヨーロッパの薬学教育のあり方は、薬

局が実権を持っていた。薬局の役割は、本来の調剤、投薬、管理等の一般業務のほかに、併設した実験室で製薬の化学的実験がおこなわれた。つまり薬局は薬学の実習室の性格と役割を与えられていた。従って設備のよい薬局実験室は、総合大学の化学実験室に指定され、学識のある薬局所有者の薬剤師は、その大学の教授として学生指導を委任された。それゆえ薬局での修業は、重要な学歴証明の一つに加えられる。

エイクマンはハーグの薬局で2年間、助手の仕事に従事した後、アムステルダムに出て、製薬学の研究に励み、翌年21歳で薬師補の試験を受けて合格する。その資格を得て、グムング博士の化学試験所に入り、助手として製薬学士、医学士、理学士達の実験指導および博士の研究に協力する。

そのかわり個人的に製薬学生、医学生に化学、製薬化学、毒物学等を教授する。その間、薬剤師試験に及第して、1875年24歳のとき学力試験を受けてライデン大学に入り、分析化学等を修め、学位試験に及第する。

## 長崎司薬場時代

ドクトル・エイクマンが日本政府の内務省衛生局の招きに応じて、長崎の任地に到着したのは明治10年(1877)2月上旬であった。

長崎司薬場は長崎新橋町幸町に設置され、辻岡精輔が場長となり、ドクトル・エイクマンの指揮を受けて、薬品試験に必要な機器類、薬品、図書類すべて輸入品で準備を整えて、同年11月開場の運びとなる。

本来なら薬学はドイツ系に拠ることが規定されているにもかかわらず、オランダ系に逆行する観があるのは、当時の国情から言って、やむを得ない手段であったと思わざるを得ない。日独間の交流は歴史が浅く、日本に対する認識が足りず、適任者を得るのが極めて困難であった。その点、オランダは鎖国以前からの長い交易歴による友好関係にあった。そのうえ長興専齋衛生局長は幕末蘭学を修め、明治初年オランダに留学して衛生学および公衆衛生事業の機構を調査した経歴から、オランダ系を導入する便宜があった。かつドイツは帝制統一後間もなくで、各州の制度がまちまちであるのに反して、オランダは小国でまとまっているなどの利点があった。

東京司薬場の最初の外人教師であったマルチン G.Martin はドイツ人であったが、明治9年満期となり、後任のプリュー P.C.Pluggy および大阪司薬場のドワルス B.W.Dwars、横浜のゲールツ A.J.C.Geerts はいずれもオランダ人で

占められ、エイクマンをはじめ、わが国公衆衛生の基礎づくりに鋭意裨益した貢献者たちである。

ところで司薬場の要務は薬品試験であるが、薬品の基準となる日本薬局方が未刊のため、基準の異なる外国薬局方に拠ることから、市場に同名異質品が流れるおそれが生じた。例えば、ヨード鉄舎利別は仏国局方を基準にして製造する者が多かった。同国局方のヨード鉄の含量はわずか0.5%に過ぎないが、英独局方はその10倍、蘭局方は40倍という比率で、効力と価格の点で大きな開きがあった。

エイクマンは長崎司薬場で薬品試験の実務および指導に努めて2年が経過した。たまたま明治12年(1879)3月、東京司薬場のプリュヘが満期解任の後任として上京することになった。大阪司薬場のドワルスも満期となったが後任をおかず、これで大阪、長崎司薬場は外人教師の手を離れて自主経営となる。

#### 東京司薬場での栄養分析開発

エイクマンが着任した神田和泉町の東京司薬場(国立衛生試験所の前身)は、司薬場の中枢機関として規模も大きく、試験依頼の薬品も多数に上り、30数名の場員が各自分担の任務に服していた。

明治10年に原因不明のコレラが大流行した時、前任のプリュヘは衛生局の緊急命令で、わが国では始めて輸入品の石炭酸の国産化に成功した前例があった。

エイクマンが東京司薬場の新しい試験事務として着目したのは、国民の健康を左右する食品の栄養分析の分野開発であった。その頃国民病といわれた脚気は、とりわけ青少年層の罹病率が高かった。病因が判らぬまま、政府や医学者の間で論争が繰り返されたが、確たる結論には達しなかった。その傾向は、多数若者が集団生活する軍隊で毎年多数患者が発生するところから、食物との関係が推論されたが、科学的の裏付けには至らなかった。

衛生局の委嘱を受けたエイクマンが、解明に力を注いだ要点は、日本人の常用食品の化学分析を行い、栄養分の比率から、その適否を判定して食生活の改善をはかるというのが狙いであった。

エイクマンは国民の標準保健食料の調査研究を進めるため、協力者を同伴して、陸軍士官学校ほか各学校の寄宿舎や住込み店員が生活する商店などへ出張した。1カ月にわたって彼らの3度の食事について綿密な食品分析をおこなった。彼の試験報告によると、ヨーロツパの衛生化学者17人の調査研究を参照している。例えば、ミュンヘン大学のウォイト教授の選定した保健食料と、エイクマンが調査した士官学校生徒食料との対比(1日量)を次表で示している。

この表によると、炭水化物の米を主食とする日本人の食料は、ヨーロッパ人と比較して、蛋白質と脂肪の摂取量が少ないことを示している。彼はこの試験結果から、日本人の標準保健食料を1日当り蛋白質96g、脂肪20g、炭水化物450gと算定して報告している。

栄 養 素	ウォイト氏 保 健 食 料	士官学校 生徒食料
蛋 白 質	118 g	83.0 g
窒 素	19	13.0
脂 肪	56	13.7
水 化 炭 素 (炭水化物)	500	630.0 *

当時は電気もガスもなく、幼稚粗雑な器具や炭火を使用する実験装置で、元素分析をおこなっている。

国民の保健衛生上、栄養改善を目的とする食品分析は、司薬場の衛生試験として組織が拡張された。重要な分野を開拓指導したエイクマンは、明治14年(1881)5月末日の満期解任を前にして、特に明治天皇に拝謁して慰労の御言葉を賜わる。30歳の彼は前年11月、日本薬局方編纂委員に推薦されている。

#### 東大製薬学科の植物成分研究のさきがけ

エイクマンは帰国を前にして明治14年12月、東京大学医学部製薬学科教師ランガルトA. Langgaardの後任となる。

製薬学、化学、薬剤学の授業のかたわら、日本産有毒植物成分研究の糸口を開く。不備の実験設備を克服して、有機化学の黎明期に注目し値する多くの業績を発表している。

ケシ科のタケニグサ *Macleya cordata* からアルカロイド・マクレインを抽出して、炭火で元素分析を行なった方法が、「薬学雑誌」2~13号に協力者によって12報が発表され、意欲をうかがわせる。アセビ *Andromeda japonica* より有毒成分のアセボトキシン、アセボチン、アセボクエルチトリンを分離している。莨菪 *Scopolia japonica* からは非アルカロイド成分スコポレチンを抽出し、白屈菜 *Chelidonium* からヘリドニンを、南天 *Nandium domestica* からアルカロイド・ナンジニンを、茵芋 *Skimmia japonica* (ミヤマシキミの葉茎) より一種のテルペン・スキメンのほか配糖体スキミンを抽出している。彼は1883年(明治16年)これら日本産植物成分研究論文を1冊の本にまとめて発刊し、日本植物研究の世界的名声を得た。

東京大学の最初の契約期限は2年で、その間の授業時数は1日5時間以内とし、月俸は350円であった。明治16年で満期となったが、さらに期限が2年延長されて、月俸は370円に増給する。宿料は1カ月30円、授業は1日4時間以内に短縮されたが、製薬学科最後の外人教師の任務に熱意を傾ける。

授業の余暇は、わが国最初の日本薬局方編纂の大業完成に力を注ぐ。内外人の医薬系委員が編纂に尽力したが、指導的立場の薬系の外人委員のうち、ランガルトが満期帰国し、ゲールツが病没して、エイクマン一人となる。主査の柴田承桂委員も公用で渡独したため、エイクマンは独力でドイツ文稿本の最後の修正に最大の努力を惜しまなかった。

*「国立衛生試験所百年史」1975。

日本薬局方草案（日本文、ラテン文、独文）が完成した明治18年（1885）8月、エイクマンは満期の12月を待たず帰国の途についた。政府は在任中の多大の功績に対して、勲四等を贈るとともに、「薬局方註釋」の原稿を依頼した。

エイクマンは帰国後アムステルダムの大学教授に就任して、日本政府との約束を果たした。その原稿を翻訳して、内務省衛生局は明治23年（1890）最初の「日本薬局方註釋」を刊行した。画期的な第1版日本薬局方はこれより先、明治19年（1886）6月25日公布され、470品目が収載される。明治20年7月1日施行となる。

#### 弟エイクマンのビタミン発見の動機

因みに、エイクマンの弟で医師の Christian Eijkmann は1926年、「抗神経炎ビタミン発見」の業績により、ノーベル医学賞を受賞したが、その発見の動機に触れておきたい。

C. Eijkmann がジャワの監獄医師に勤務中、残飯で飼育した鶏が脚気様の多発性神経炎（polyneuritis gallinarum）を呈した。囚人の脚気の病因を調査していた Eijkmann は、鶏の飼料に玄米や米糠を与えたところ効果があった。そこで多数囚人について、それぞれ白米、上記混合物、半搗米を与えて実験の結果、白米では39人に1人、混合物では419人に1人、半搗米では1,000人に1人の罹病率を確めて、1897年この実験報告を発表した。

鈴木梅太郎博士が米糠中の有効成分オリザニン oryzanin（ビタミンB）を発見したのは、それから13年後の1910年（明治43年）であった。

約1年後に英国の Funk が同様の有効成分を抽出し、ビタミン Vitamin と命名したが、ビタミンの名称が世界的に優先された。

#### 〔編集後記〕

ケミカルタイムスも本号をもって通巻100号となりました。編集責任者として誠に嬉しい限りです。昭和25年3月の創刊ですから丁度31年目になります。現在は年4回の発行ですが、創刊当初は年3回でした。また昭和30年前後は会社の事情もあってか、2回、1回のこともあったようです。1口に30年といいますが、現在の人の平均寿命に比しても約半近いという長さです。この間、種々本誌をご支援下さった関係者の皆様に感謝申し上げる次第です。

101号からはまた表紙も趣を変え、数多くの化学分野と深く関りある弊社の有り様を表現してみました。記事には協業会社 E.メルク社の発行するPR紙「KONTAKTE」の中からも、興味あるものを収載することにしました。今回の通巻100号達成を記念して5月初めに、通巻100号の総目次集を刊行します。今後尚一層のお力添えを下さるよう、お願い申し上げます。（山田）

## 関 東 化 学 株 式 会 社

本 社	〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目7番地 電話 03(279)1751(代)、1755(代)、1761(代)、1767(代) TELEX.2223446(CICAJ)
第 一 別 館	〒103 東京都中央区日本橋本町4丁目6番地 東興ビル7階 TEL 03(663)7631~9
草 加 工 場	日本工業規格表示許可工場 無機試薬 第6835号・有機試薬 第6836号 〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地 TEL 0489(31)1331
伊勢原工場	〒259-11 神奈川県伊勢原市鈴川21番地 TEL 0463(94)8531
柵原工場	〒708-15 岡山県久米郡柵原町藤原70番地 TEL 08686(2)0713
大阪支店	〒541 大阪市東区瓦町3丁目1番地 TEL 06(231)1672~4
札幌出張所	〒061-01 札幌市豊平区里塚314-3番地 TEL 011(882)1511~4
仙台北出張所	〒983 宮城県仙台市日の出町1丁目7番9号 TEL 0222(94)0175~6
埼玉出張所	〒364 埼玉県北本市中丸3丁目82番地 TEL 0485(92)2361
国分寺出張所	〒185 東京都国分寺市東元町3丁目4番19号 TEL 0423(24)5311~3
京葉出張所	〒260 千葉県千葉市今井町2丁目14番15号 TEL 0472(61)1303~4
京浜出張所	〒223 神奈川県横浜市港北区新羽町2055番地 TEL 045(542)0801~3
湘南出張所	〒254 神奈川県横浜市大神2153番地 TEL 0463(55)2051~3
静岡出張所	〒422 静岡県静岡市中村町393番地 TEL 0542(81)2010
中京出張所	〒491 愛知県一宮市大和町妙興寺字中之町4番地 TEL 0586(24)1725
九州出張所	〒804 北九州市戸畑区天神2丁目2番14号 TEL 093(881)3961~2
宇都宮営業所	〒321-01 栃木県宇都宮市雀の宮4丁目737番58号 TEL 0286(53)3724
広島営業所	〒730 広島県広島市南区大州1丁目7番2号 TEL 0822(85)6221~2
筑波営業所	〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町大字通横場2336 TEL 02975(6)1438
草加営業所	〒340 埼玉県八潮市南後谷740番地 TEL 0489(97)0472~3

昭和五十六年四月一日 発行

発行者 関 東 化 学 株 式 会 社

ケミカルタイムス編集委員会  
編集責任者 山田 博