

アドレナリン抽出実験の再現

石川県立金沢泉丘高等学校理数科2年
8班 北澤 聡、國近 元都、田中 誠道、西村 愛香、羽野 泰河

研究要旨

金沢の偉人、高峰譲吉博士は世界で初めてアドレナリン抽出に成功したといわれているが、彼の論文には不明瞭な点が多い。私達は彼の論文を入手、訳読し、実験の定量化を目標として再現実験を行った。しかし、抽出した液にはアドレナリンは含まれていなかったようであった。そこで、アドレナリン抽出に失敗した原因を考察、改善し、純粋なアドレナリンを使用した操作では結晶化に成功した。

1 研究背景

金沢出身の偉人高峰博士はタカジアスターゼの製造の他に、世界で初めてアドレナリンの抽出に成功したといわれている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。しかし、高峰博士の功績は世界に知れ渡らず、後にアメリカの研究者ジョン・ジェイコブ・エイベルが行った研究が評価を受けることとなった。

また、高峰博士の論文には詳細な分量などが書かれていない。論文が正当な評価を受け、将来の研究に活かされるためには再現性が必要となるため、私達は彼の実験手順をまとめ直すことにした。

2 予備調査

金沢ふるさと偉人館から高峰博士の論文⁵⁾⁶⁾を拝借し、訳読した。彼の論文には牛の副腎を用いた副腎主成分の抽出に成功したと書かれており、これはアドレナリンのことであると考えられる。

3 実験方法と結果

金沢ふるさと偉人館から拝借し訳読した論文には、使用する物質の量や濃度の記述が無かった。その部分は適宜推測しながら実験手順をまとめ、実験1を行った。

《実験1》

(実験器具)

ミキサー、ビーカー、ホットプレート、枝付きフラスコ、リービッヒ冷却器、分液漏斗、吸引漏斗、アスピレーター

(ねらい)

訳読した論文の方法で、アドレナリンの結晶化を目指す。

(実験操作)

①ミキサーを用いて副腎(90g)を破碎した。

②酢酸(94g)を加え、純水(338g)を加えた。

③酸化防止のため、アスコルビン酸を加え、サラダ油で水面に蓋をした。

④50～80℃を保ち、5時間加熱した。

⑤90～95℃で1時間加熱した。

⑥副腎をガーゼで圧搾したが、固形物が取り除けなかったため、吸引濾過をした。

⑦分液漏斗を用いて油分を除去した。

⑧分離した水溶液を減圧蒸留により193gに濃縮した。

⑨エタノールを濃縮液の2倍量加え、一晩放置した。

⑩上澄み112g、沈殿203gに分離し、それぞれを減圧蒸留により30gと60gに濃縮した。

⑪濃縮液のpHが10になるまでアンモニアを投入した。

⑫結晶化させるために一晩放置した。



図1：減圧蒸留の様子

《結果1》

一晩放置後、結晶化は起こらなかった。以下、結晶化が起こらなかった原因が濃度であるかを確認するための検証を行った。

①塩化鉄(III)による呈色反応

図2の通り、純粋なアドレナリンは緑色の反応だが、抽出液は褐色の呈色反応を示した。酸化したアドレナリンによる反応だと思われる。

②薄層クマトグラフィー

ジクロロメタン、ベンゼンを展開溶媒に用い展開を試みたが上手くいかず、同定できなかった。図3にジクロロメタンを用いた展開の様子を示す。

③メダカの生体反応

顕微鏡観察で血流速度を調べたところ、純粋なアドレナリンでは血流速度の上昇が見られたが、抽出物では見られなかった。

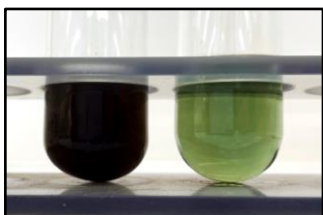


図2：呈色反応の様子



図3：薄層クロマトグラフィーの様子

《実験2》

(実験器具)

ビーカー、ホットプレート、枝付きフラスコ、リービッヒ冷却器、分液漏斗、吸引漏斗、アスピレータ

(ねらい)

アドレナリン量が十分なとき、実験1の手法でアドレナリンが結晶化することを確認する。ただし、実験1の操作①、⑥は不要のため割愛した。

(実験操作)

- ①純粋アドレナリン(100mg)を純水(150g)に加えた。
- ②十分に混ぜ、pH4になるまで酢酸(10滴)を加えた。
- ③酸化防止のため、サラダ油2.36gを加えた。
- ④5時間加熱した。最後の1時間は90℃で加熱した。
- ⑤油分を分液漏斗で除去した後、残った水溶液を30gまで濃縮した。
- ⑥濃縮液にエタノールを76mL加え、一晩放置した。
- ⑦今回は分離が見られなかったため、その溶液を30gまで再濃縮した。
- ⑧pHが10になるまでアンモニア水を加えた。
- ⑨一晩放置した。

《結果2》

非常に微細な結晶が浮遊していたため、遠心分離により結晶を分取した。塩化鉄(III)水溶液で呈色させた後、吸光度計で測定したところ、抽出物のスペクトルは緩やかであったがアドレナリン試薬の呈色液とよく似た吸光ピークを示した。

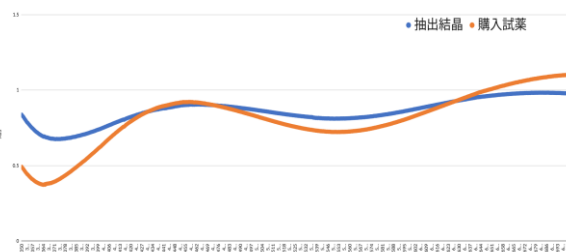


図4：吸収スペクトル

4 考察

副腎を用いた実験ではアドレナリンを抽出できなかったが、純粋なアドレナリンを用いた実験ではアドレナリンを抽出し、結晶化させることに成功した。適量のアドレナリンを含む副腎を用いればアドレナリンを結晶化させることができると分かった。

高峰の論文によれば、4.0kgの副腎から0.80gのアドレナリンを結晶化させていたと読み取れるので、実験2のスケールで結晶化を行うためには少なくとも0.50kgの副腎が必要となることがわかった。

しかし、アドレナリンは非常に酸化されやすく、実験中もどんどん酸化され褐色のアドレノクロム⁷⁾へと変化していった。特に実験1ではミキサーを用いたことにより酸化が進んだと考えられ、手法の改善が必要であることがわかった。

5 今後の課題

アドレナリンの結晶化には副腎の確保と酸化されない実験方法が必要である。他にも酵素の影響も考慮する必要がある。

そのために、次回はミキサーを用いずに副腎の被膜を剥がす。更に、窒素雰囲気下で実験を行うなど、高度な実験手法を必要とする。また、実験の各過程でアドレナリンが含まれていることを逐次確認しながら実験を行っていく。

6 参考文献

1) 高峰 譲吉 博士研究会. 世界初、アドレナリンの抽出結晶化

https://npo-takamine.org/who_is_takaminejokichi/scientist_inventor/adrenaline/

2022年5月25日

2) れきし上の人物.com. 高峰 譲吉を5分で！アドレナリン発見の苦労やその生涯は？

<https://r-ijin.com/takamine-joukiti/>

2022年5月25日

3) 石田 三雄 2009年 流出頭脳がアドレナリンを活性化

https://www.jstage.jst.go.jp/article/rcmcjs/7/0/7_0_25/_pdf

2022年6月1日

4) アドレナリンの生成方法の論文 2010年 特許公報 (B2) アドレナリンの調製方法 https://dbsearch.biosciencedbc.jp/Patent/page/ipdl2_JPP_an_2001516884.html 2022年6月1日

5) 副腎主成分「アドレナリン」及び其ノ製法 1901年6月23日 高峰讓吉 2022年5月25日

6) 「科学史研究」上中啓三: アドレナリン実験ノート 1966年1月6日 山下愛子

7) アドレノクロム 2022年5月25日

<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%A2%E3%83%89%E3%83%AC%E3%83%8E%E3%82%AF%E3%83%AD%E3%83%A0>