- (1) EKMAN : *Acta Chem. Scand.*, 2, 383 (1948).
- (2) S. M. PARTRIDGE : *Nature*, 164, 443 (1949).
- (3) A. GOTTSCHALK, S. M. PARTRIDGE : *Nature*, 165, 684 (1950).
- (4) L. A. Æ. SLUYTERMAN, H. J. VEENENDAAL : *Rec. trav. chim.*, 68, 717 (1949).
- (5) M. LEDERER : *Australian. J. Sci.*, 11, 208 (1949).
- (6) W. H. LONGENECKER : *Anal. Chem.*, 21, 1402 (1949).
- (7) S. M. PARTRIDGE : *Biochem. J.*, 42, 238, 251 (1948).
- (8) J. ISHERWOOD : *Biochem. J.*, 44, 403 (1949).

Summary

The paper chromatography of the *N*-glycosides of *o*-, *m*-, and *p*-aminobenzoic acids, *p*-sulfanilamide, sulfanilic acid, and their derivatives have been studied, using as solvents phenol-0.1% NH_4OH (10%), butanol saturated with water-ethanol (9:1), butanol saturated with 3*N* NH_4OH -ethanol (9:1), and butanol saturated with water and as NH_2 -group coloring reagent, dimethylaminobenzaldehyde solution (0.5 g. in 100 ml. of H_2SO_4 -acidic ethanol).

The compounds were chromatographed on paper by one-dimensional ascending method and the color was produced by keeping the paper strip at 80°C for 10 minutes in order to break the *N*-glycosidic linkage to free the base and then spraying the coloring reagent.

The *N*-glycosides of *m*- and *p*-compounds gave the yellowish spots and that of *o*-compounds the yellow-brownish spots. And it was found that the *N*-glycosides of the compounds mentioned above gave lower R_F -values than those of their aglycons. There were evident differences among the R_F -values of methylpentoside, hexoside, and pentoside in the order from the highest to the lowest.

トキワマンサクの花よりケルセチン及び イゾケルチトリンの分離^{(1)*}

中 林 敏 郎 (九州大学農学部生物化学研究室)

昭和27年3月17日受理

Quercetin and Isoquercitrin in the Blossom of *Tokiwamansaku* (*Loroetatum chinense* olive.).

By Toshio NAKABAYASHI. (Biochemical Laboratory, Fac. Agr., Kyushu University.)

トキワマンサク (*Loroetatum chinense* olive) はイバラ科の常緑灌木で4月頃淡黄色の小花を多数開く。この花のアルコール浸出液中のフラボン類を paper chromatography⁽²⁾⁽³⁾ で調べると2個の spot が検出される

Table 1. The Chromatogram of Flavones in the Blossom of *Loroetatum chinense*.

Substance	R_F	color	R_F	color
Blossom of <i>L. chinense</i>	0.97	red	0.43	yellow
Quercetin	0.97	red		
Isoquercitrin			0.41	yellow

Developing solvent ; Et. O. Ac. : AcOH :

H_2O = 50 : 2 : 50 (vol. %).

Spraying reagent ; Basic lead acetate.

(Table 1).

之より本花中には quercetin か或は之に類似した遊離の flavone 類及び isoquercitrin か或は之に類似した monoglucoside の存在する事が予想せられたので其の分離を試みた。その結果鮮黄色の針状結晶及び淡黄色の柱状結晶を得、分析の結果、前者は quercetin に、後者は isoquercitrin に一致した。著者は

先に paper chromatography による flavone 類の検出法⁽³⁾ によりシキミ (*Illicium anisatum* L.) の花中に quercetin を予想し、之を分離確認したが⁽⁴⁾、今回更に上述の如く予想通りのものを結晶に分離し得て著者の検出法を更に確認した。

実 験 の 部

1. 抽出分離 : 1951年4月 本学部内に於て新鮮な花約 1 kg を集め、之をメタノールを以て煮沸抽出をくり返し、全抽出液を濾過して集め、之を減圧下に濃縮してメタノールを溜去し、残液を放置すれば沈澱 (I) を

* 分配クロマトグラフ法によるタンニン及び色素の研究 第8報, Studies on Tannins and Pigments by Partition Chromatography. Part 8.

生ずる。之を除いた濾液 (II) をエーテルで充分抽出し、エーテル層を集めエーテルを溜去して得られる残渣と沈澱 (I) とを合してアルコールに溶解し、湯浴上に濃縮しつつ多量の熱トルオールを注加し冷所に放置すれば赤色の粗結晶を生ずる。之を集めエーテルで洗つて不溶物を除き、エーテルを溜去、残渣をアルコール及び水醋酸より再結晶を繰返して鮮黄色の微針状結晶、1.56 g (III) を得る。又エーテルで洗つた残渣 (II) を醋酸エチルを以て数回抽出し、醋酸エチルを脱水後減圧下に乾固し、残渣を少量の温水に溶しトルオール少量を加えて冷所に放置。2 カ月の後生じた粗結晶を集めエーテルで洗つて可溶物を除き残物を 50% アルコールより再結晶を繰返して淡黄色の微柱状結晶 3.21 g (IV) を得る。之を 5% 硫酸を以て湯浴上に加水分解して得られる黄色針状結晶 (V) を除いた濾液を炭酸バリウムで中和、濃縮してシラップ (VI) とする。

2. Paper chromatography による分析：東洋濾紙 No. 4 を用い $n\text{-BuOH} : \text{AcOH} : \text{H}_2\text{O} = 4 : 1 : 5$ (vol.%) で上述の分離した結晶 III, IV, V, 及び糖液 VI を分析すれば Table 2 の如くなる。

Table 2. R_F Values of Flavones and Sugars

Substance	R_F value	color	Substance	R_F value	color
III.....	0.80	red*	quercetin	0.81	red*
IV.....	0.83	yellow*	isoquercitrin	0.84	yellow*
V.....	0.81	red*	quercetin	0.81	red*
VI.....	0.20	brown**	glucose	0.21	brown**

Developing solvent; $n\text{-BuOH} : \text{AcOH} : \text{H}_2\text{O} = 4 : 1 : 5$ (vol.%)

Spraying reagent; * basic lead acetate.

** benzidine reagent.

之より結晶 III は quercetin であり、IV は isoquercitrin である事が推定される。

3. 結晶 III の分析 結晶 III は塩化第二鉄により暗緑色を、塩酸とマグネシウムで還元すれば濃紅色を呈し、醋酸鉛で赤色沈澱を生ずる。mp. 314°

Anal. Found: C, 52.19, H, 4.54. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ C, 53.25, H, 4.14.

結晶 III を無水醋酸及び濃硫酸でアセチル化せば無色針状結晶が得られる。mg 191~195°. 別に純 quercetin より製した 3,5,7,3',4'-pentaacetyl quercetin と混融して融点の降下をみない。

Anal. Found: C, 58.22, H, 4.08. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_5\text{O}_7(\text{CH}_3\text{CO})_5$: C, 58.59, H, 3.91.

以上より結晶 III は quercetin である。

4. 結晶 IV の分析：結晶 IV は塩化第二鉄により暗緑色を、塩酸とマグネシウムで還元すれば紅色を呈し、醋酸鉛により黄色沈澱を生ずる。mp. 215~217°, 先に著者が桑葉より得た isoquercitrin⁽⁵⁾ と混融して融点の降下をみない。

Anal. Found: C, 46.88, H, 5.23. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 47.01, H, 5.22.

結晶 IV を加水分解して得られた結晶 V は定性反応及び mp. は quercetin のそれと一致する。

Anal. Found: C, 52.98, H, 4.46. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 53.25, H, 4.14.

結晶 V のアセテートは無色針晶。mp. 191~195° で純 3,5,7,3',4'-pentaacetyl quercetin と混融して融点の降下をみない。

Anal. Found: C, 58.61, H, 3.82. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_5\text{O}_7(\text{CH}_3\text{CO})_5$: C, 58.59, H, 3.91.

結晶 IV をアセトンに溶解しジメナル硫酸及び炭酸カリでメチル化後生成物を硫酸で加水分解すれば黄色針状結晶を得る。mp. 217~219°. 別に純 rutin を同様に処理して得られた 5,7,3',4'-tetramethyl quercetin と混融して融点の降下をみない。

以上より結晶 IV は quercetin-3-glucoside 即ち isoquercitrin である。

Anal. Found: C, 63.61, H, 5.15. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_8(\text{OCH}_3)_4$: C, 63.69, H, 5.03.

本研究を行うにあたり終始御指導を頂いた大島康義教授に深く感謝する。

(1) 中林：日本農芸化学会西日本支部第 45 回例会 (昭和 27 年 2 月 9 日) にて発表。

(2) 大島, 中林, 今川：農化, 25, 487 (1952)

(3) 中林：九州大学農学部学芸雑誌, 13, 154 (1951).

- (4) 中林：農化，26，140 (1952)
 (5) 大島，中林：農化，25，21 (1951).

Summary

By the paper chromatographic method, I have detected two spots of flavonoid pigments in the blossoms of Tokiwamansaku (*Loroptalum chinense* olive.) and obtained quercetin from the ether-extract and isoquercitrin from the ethyl acetate-extract of fresh blossoms.

フェノール類のペーパークロマトグラフィに於ける 展開溶媒及び呈色試薬の研究^{(1)*}

中 林 敏 郎，西田眞一郎 (九州大学農学部生物化学研究室)

昭和 27 年 3 月 17 日 受 理

The Developing Solvent and Spraying Reagent to the Paper Chromatography of Phenols.

By Toshio NAKABAYASHI and Shin-ichiro NISHIDA.

(Biochemical Laboratory, Fac. of Agr., Kyushu University.)

Phenol 類の paper chromatography に就ては既に幾多の報告があるが、其等の結果は必ずしも満足すべき R_F 値を与えず、Table 1 に見る如く重要な phenol 類の R_F 値は極めて近接しており、個々の分離確認が困難である。

Table 1. R_F Values of Phenols by the Present and Other Authors.

Substance	Developing solvent	(2)		(3)		(4)		*
		<i>n</i> -BuOH 1 pyridine 1 H ₂ O 2	amyl alc. sated. with H ₂ O	<i>n</i> -BuOH 1 C ₆ H ₆ 19 H ₂ O 20	<i>n</i> -BuOH 4 AcOH 1 H ₂ O 5	<i>m</i> -cresol 1 AcOH 1 H ₂ O 5	<i>n</i> -BuOH 1 C ₆ H ₆ 5 AcOH 1 H ₂ O 0.5	
Catechol		0.96	0.86	0.38	0.91	0.74	0.86	
Resorcinol		0.97	0.83	0.13	0.91	0.63	0.80	
Hydroquinone		0.90	0.80	0.08	0.88	0.69	0.75	
Protocatechuic acid		0.74	—	—	0.85	0.35	0.57	
Pyrogallol		0.94	—	—	0.77	0.38	0.48	
Oxy-hydroquinone		—	—	—	—	—	0.25	
Phloroglucinol		0.96	0.61	0.00	0.76	0.16	0.16	
Gallic acid		0.43	—	—	0.68	0.08	0.08	

* The present authors.

そこで著者等は之等の結果を検討しつつ、研究を行つた結果、*n*-butanol 1, benzene 5, 醋酸 1 及び水 0.5 (Vol.%) の混合展開溶媒が満足すべき結果を与える事を知つた (Table 1).

又 chromatogram の phenol 類の spot の呈色試薬としては従来 diazobenzene sulfonic acid⁽²⁾, 麟モリブデン酸⁽³⁾等が報告されているが著者等は、刈米・橋本⁽⁵⁾が生薬中のアルブチンの検出に用いた *p*-benzoquinone 及び *p*-nitrosodimethyl aniline を phenol 類の spot の呈色試薬として試みた結果、有効に用い得られる事を知つた。

実 験 の 部

本研究に使用した hydroquinone, resorcinol, pyrogallol, phloroglucinol 及び gallic acid は市販品を protocatechuic acid 及び catechol は protocatechualdehyde より *p*-benzoquinone 及び oxy-hydroquinone は aniline より、*p*-nitrosodimethyl aniline は dimethyl aniline よりそれぞれ文献⁽⁶⁾に従つて合成した

東洋濾紙 No. 2 (2×40 cm) を用い、室温 (20~25°) に於て上昇法で 30 cm 展開した。

1. *p*-Benzoquinone 及び *p*-Nitrosodimethyl aniline による Phenol 類の Spot の現像：各種の条件下に於ける両試薬による chromatogram 上の phenol 類の spot の検出限度を求めた結果 *p*-benzoquinone

* 分配クロマトグラフィによるタンニン及び色素の研究 第 7 報 Studies on Tannins and Pigments by Partition Chromatography. Part 7.