o-Anisidin	o-Chloranilin	Schmelzpunkt (korr.)		Erstarrungspunkt (korr.)	
		α -Form	β -Form	α -Form	β -Form
26,03%			-16,03°	-26,10° (?)	-18,85°
26,84%			-14,85°	-27,33° (?)	-18,25°
28,36%			-14,73°	-27,25°	-17,75°
30,25%			-13,87°	-25,20° (?)	-19,53°
36,65%			-11,45°	—	-14°
45,93%			-10,08°	ca -30°	-11,40°
49,81%			-10,28°	—	-11,30°
51,50%			-10,43°	—	-11,98°
51,63%			—	-30°	-11,38°
54,77%			-10,75°	—	-13,25°
54,80%			-10,65°	—	-13,50°
58,32%			-10,90°	-28,58°	-14,30°
58,43%			-11,20°	—	-14,58°
65,04%			-12,23°	—	-15,50°
68,63%			-13°	—	-15,55°
70,07%			-11,08°	-19° (?)	-16,95°(?)
71,41%			- 9,60°	—	-16,10°
73,28%			- 8,75°	—	-16,10°
78,49%			- 5,15°	(?)	
88,81%			+ 0,73°	(?)	
93,95%			+ 3,10°	-2,40°	
100%	0%		+ 6,22°	(?)	

**Colouring Matters of the Corolla of *Rhododendron obtusum*
f. *hinode*. I. The Isolation of Quercetin.**

By

Kozo Hayashi

(Received 15th. Sept. 1933)

Rhododendron obtusum Planchon, forma *hinode*, Komatsu¹⁾, a garden

¹⁾ Synonym: *Azalea hinodegiri* Fränke.

shrub called "Hinode-kirishima," is nowadays planted in abundance only in the Botanical Gardens of Tokyo Imperial University. Early in May, when this plant is in full blossom, the whole hill-side at a corner of the Garden, where it grows, looks as if painted in beautiful scarletred.

Through kind permission of Prof. Dr. T. Nakai, Director of the Garden, I was able to gather a large quantity of fresh perianths of the plant, and extracted them with cold 1 per cent. methyl-alcoholic hydrochloric acid. From this methyl-alcoholic extract the main portion of anthocyanin was precipitated as lead salt, which was preserved for later investigation. The dark bluishred mother liquor was then slightly acidified with concentrated hydrochloric acid, and after removal of the lead chloride formed, the filtrate was evaporated under reduced pressure at a temperature beneath 50° , until it amounted to about $1/5$ of the original volume. On standing for several weeks, dirty reddish-brown products precipitated in quantity, from which a yellow substance in almost pure state has been extracted with ether. After several recrystallisations from dilute alcohol, it was obtained in pale yellow minute needles, which decomposed at 316° . By the combustion analysis and estimation of the water of crystallisation (2 mol. H_2O) of the pure air-dried substance, it was made very probable that it possesses the formula $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$ (Found: C, 53.40; H, 4.45; H_2O , 10.53. Calc.: C, 53.25; H, 4.14; H_2O , 10.65%), and the anhydrous substance, $C_{15}H_{10}O_7$ (Found: C, 59.91; H, 3.52. Calc.: C, 59.60; H, 3.31%). The alcoholic solution of this substance becomes dark green with ferric chloride, and when reduced with magnesium powder and conc. hydrochloric acid, a violet-red solution is obtained. From these results it might be concluded that this yellow colouring matter is quercetin, which is known as most commonly occurring in plant kingdom, and the identity was confirmed by the mixed melting-point of the acetyl derivatives as shown below. The yield of pure substance was rather poor, and was only 0.35 g from 10.7 kg. of fresh flowers.

The acetyl derivative of this pigment crystallises from alcohol in colourless silky needles, mp. 195–196°, for which by elementary analysis the molecular formula $C_{27}H_{20}O_{12}$ (Found: C, 58.30; H, 4.19. Calc.: C, 58.59; H, 3.90%) is ascertained. When this acetate was mixed with the authentic specimen of pentaacetyl quercetin (mp. 195–196°)¹⁾, no depression of the melting-point was observed. It has been thus determined, that in scarlet-red flowers of *Rhododendron obtusum* f. *hinode* the yellow colouring matter quercetin is found accompanying the main anthocyanin pigment.

I will take this opportunity to call attention to the methylation process of quercetin. Contrary to the remarks of some previous authors, I have found it very easy to manage the complete methylation of quercetin, with a method, which had been first tried by Dr. T. Tasaki²⁾ for a few flavone pigments and employed afterwards by other members of our laboratory for similar purposes with good results.

This method consists in mixing the crystals of quercetin with dimethyl sulphate (2.5 mols. for every one hydroxyl group), and treating under vigorous stirring with 10 per cent. solution of sodium hydroxide in many portions, until an almost colourless oily substance separates out from slightly alkaline brown reaction mixture. This oil solidifies on standing, and is collected, together with some quantity of colourless crystals separating from the mother liquor, washed thoroughly with water, and recrystallised several times from 50 per cent. alcohol (with addition of animal charcoal); when it is pure it melts at 148° and is free from the water of crystallisation. As far as my own experience is concerned, the yield of pure pentamethyl quercetin amounts to about 50 per cent. of the theoretical value. When

¹⁾ The specimen was prepared from quercetin, the hydrolysis product of rutin, that was extracted from the unopen flower-buds of *Styphnolobium japonicum*, by usual method, i.e. the acetylation with acetic anhydride and a drop of pyridine. After manifold recrystallisations from alcohol, it melts at 195–196° while in literature it is given to melt at 191–195° (J. Allan & R. Robinson: J., 1923, 2334).

²⁾ Acta Phytochim., 2 (1924–1926) 121.

this pentamethyl quercetin is recrystallised from very dilute alcohol, it separates out in colourless needles, melting at about 113° . This lower melting-point is due to the presence of one molecule of the water of crystallisation, which is easily removed by drying in a vacuum at 100° over phosphorus pentoxide or even by merely standing on the unglazed porcelain plate. (Found: H_2O , 4.73, 4.74, 4.64. Calc. for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$: H_2O , 4.62%). The anhydrous substance melts at 148° (Found: C, 64.40; H, 5.23; OMe, 41.14. Calc. for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$: C, 64.51; H, 5.37; OMe, 41.66%).

Berichtigungen.

Nr. 619 (1933) S. 167. 2. Zeile v. u. lies „Anissäure“ statt „Anissure“; S. 168. 3. Zeile v. o. „Salzsäure rote Farbenreaktion gibt und bei der Alkalisplaltung neben“ soll gestrichen werden.

Nr. 619 (1933) S. 173. 12. Zeile v. o. lies „Matsubusa“ statt „Matubasa“; 3. Zeile v. u. lies „ $D_0^{120} = -5,^{\circ}78$ “ statt „ $D_0^{120} = 578$ “; S. 175, 8. Zeile v. o. lies „ m_2 -Diphenol“ statt „2-Diphenol“; 3. Zeile v. u. lies „Chromsäure Eisessig-Essigsäureanhydridlösung“; 14. Zeile v. u. lies „Barett“ statt „Sarett“; S. 177, 10. Zeile v. o. lies „Di-*p*-tolylenoxyd“; S. 178, 11. Zeile v. o. lies „Fp. 166° “ statt „Fp. 166° “; 1. Zeile v. u. lies „Fp. 166° “ statt „Fp. 156° “.

54.77%		—	-13.25°
54.8%		—	-13.5°
58.32%		-28.58°	-14.3°
58.43%		—	-14.58°
65.04%		—	-15.5°
68.63%		—	-15.55°
70.07% *		- 19°	-16.95°
71.41%		—	-16.1°
73.28%		—	-16.1°
78.49% *		—	-131°,-11.1°
88.81% *		-8.35°, -8.9°, -7.8°(?)	-0.3°(?)
93.95%			-2.4°
100% *	0%	+ 5.87°, + 5.15°, + 4.33°, + 3.68°	

(昭和 8 年 9 月、東京衛生試験所製薬部にて)

ヒノデキリシマ花被の色素 (第一報)

クエルセチンの分離

附 クエルセチンのメチル化

林 孝 三

(東京帝國大學理學部植物學教室)

(昭和 8 年 9 月 15 日受理)

K. Hayashi: Colouring Matters of the Corolla of
Rhododendron obtusum f. *hinode*. (I.) The Isolation of Quercetin.

ヒノデキリシマ [*Rhododendron obtusum* Planchon, forma *hinode* Komatsu ¹⁾] はツツジ科 (Ericaceae) に屬する灌木にして、五月初旬紫調を帯びたる赤色の花を開き、世人専ら之を庭園に栽植して觀賞に供す。此植物は其の名の示すが如くキリシマ (*R. obtusum* Planchon) の一品にして、往時大久保なる日の出園主が數多きキリシマの實生より偶々一株を得、その花の朝暾に映ぜる様殊の外美麗なりしが故に名けてヒノデキリシマと呼べるに始まると言ふ。此植物は往年日の出園より小石川植物園に移植せられ、現今増殖して數百株に達し年毎に其美觀を誇り

つつあり。

該植物花瓣の美麗なる赤色はアントチアン類色素に基因すべきは先づ想像せらるる所なるが、予は本年之が研究を企圖し、理學部附屬植物園長中井教授の特別な許諾を得て同園に於て花瓣を採集して研究せる結果、アントチアン色素の單離に先ち圖らずも黄色のフラヴォン色素を分離してそのケルセチンなることを決定することを得たり。以下其の概要を報告せんとす。

最初アントチアン色素分離の目的を以て、雌雄蕊等除去せる新鮮花瓣のみを集め、特に乾燥することなくして 1%メチルアルコール性鹽酸にて一夜冷浸せるに比較的淡色なる浸出液を得たるを以て、同一溶媒に數回鮮鮮なる花瓣を投入して漸次其の液色を濃厚となせり。この操作の結果浸出液中に多量の水分含有せらるるに至り、エーテルにて色素を沈澱せしむること不可能となれり。故に浸出液に醋酸鉛の飽和水溶液を徐々に注加しアントチアンをその鉛鹽として沈澱せしめこれを除去せる母液を以て本研究に當てたり。

汚青綠色の鉛鹽を除去せる母液は猶汚暗赤色を呈し居たれども醋酸鉛にては最早沈澱せず。依つて母液を良く攪拌しつつ之に濃鹽酸を滴下して微酸性となし、生ぜる鹽化鉛を濾別し、濾液を 50° 以下の浴温にて眞空蒸溜を行ひ約 $\frac{1}{5}$ 容に濃縮せり。之を數日間放置せるに赤褐色の物質器底に沈澱するに至れり。鏡檢により赤色粒狀物質と殆んど無色なる無晶形物質とが混在するを知る。これを濾紙上に集め、乾燥後試に此一部をとりエーテルと共に振盪すればエーテルは黄色に著色物質の之に溶解し來れるを知れり。依つてソックスレー浸出器を用ひて全乾燥粉末をエーテルにて完全に浸出して黄色物質を分離せり。該物質は、これを稀薄なるアルコールより再結純製せるに、拘縁黄色の針狀結晶をなし、316° に於いて分解す、元素分析の結果は $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$ に一致し、そのアセチル誘導體は Fp. 195-6° にして $C_{15}H_8O_7(COCH_3)_5$ に相當する分析値を與へ、Zeisel-Pregl 法によりてはメトキシル基の存在を示さず。又該黄色物質の鹽化鐵反應は暗綠色にして、そのアルコール溶液を $Mg + HCl$ にて還元すれば紫紅色を呈す。これらの性狀はケルセチンのそれに良く一致するを以て、嘗て予がエンジュ (*Styphnolobium japonicum* Schott) ²⁾ の蕾より分離せるケルセチンのペンタアセチル誘導體 [Fp. 195-6° ³⁾] と混融せるに融點の降下を來さず。斯くして本色素はケルセチンに他ならざることを知れり。

文獻を按ずるにケルセチンは配糖體として植物界に極めて廣汎なる分布を有するものにして、又屢々遊離の状態に於いて存在することあり⁴⁾。今ヒノデキリシマの赤色花瓣中に於いてケルセチンが果して遊離して存在するや否やは速斷するを得ざれども、如上の分離條件より推察するに之を遊離して存するとするも大過なからん、又その收量は實驗部に記載せるが如く極めて微量なりしも、これは色素が醋酸鉛に依りて沈澱せらるる性質⁵⁾あること及び操作上極度の加熱濃縮を避けたる⁶⁾に歸すべく、實際花瓣中に於ける含有量は相當大なるものなるが如し。

從來屢々論ぜられたるアントチアン-フラヴォン間の植物體に於ける生成的關聯の存否及び最近 R. Robinson 氏等⁷⁾に依りて提唱せられたる花色變異に關する“Co-pigment”說等を想起して余は茲に本報を公にせり。ヒノデキリシマの花瓣中にてケルセチンと共存するアントチアンが如何なる化學構造を有するや否やを知るは此見地よりして少からざる意義あるべく、次報に於いて確報するあらんことを期す。

實 驗 の 部

新鮮なる花瓣のみ 3.2kg を集め、これを 6L の 1%メチルアルコール性鹽酸にて一夜冷浸せるに淡赤色の溶液を得たるに止まりしを以て同一溶媒を用ひ、新鮮なる花瓣を一夜宛反覆浸出すること5回に及べり。即ち浸出期は最初より5日に互り、花瓣は總計 10.7kg、浸出液は毎回使用せる洗滌木精を合せて 10L に達せり。濃赤色浸出液を一回濾過せる後良く攪拌しつつ、これに醋酸鉛 200g の水溶液を注加せるに先づ鹽化鉛の白色沈澱を多量に生じたるを以つて直ちに之を濾別し、濾液に更に醋酸鉛 200g の水溶液を加へたるに青綠色の沈澱を生じたり。母液は已にして醋酸鉛にて沈澱せず。一夜放置せる後沈澱を集め乾燥後アントチアン研究の材料として保存せり。

鉛鹽を除去せる母液は猶汚赤褐色を呈す。試にこの一部をとり鹽酸酸性となせるに美麗なる赤色を復歸し溶液中に尙多量のアントチアンの溶在せるを示す。依つて全液を良く攪拌しつつ、濃鹽酸を滴下して微酸性となし、生ぜる鹽化鉛の沈澱を濾別し濾液を減壓 50° 以下の浴温にて濃縮して 2.3L となせり、斯くして數日間放置せるに赤褐色の沈澱を得たり。之を集め乾燥後粉末となし Soxhlet 浸出器を用ひエーテルにて完全に浸出して黃色物質を分離し、之を一回少量のアルコホ

ルより再結晶を施せるに其量 0.35g ありき。アルコール母液を蒸發して残れる粗物質はアセチル誘導體の生成に使用せり(後述)。上に得たる黄色物質は更に數回 50%アルコールより再結晶を反覆せるに終に枸橼黄色綿狀に析出し鏡檢すれば微細なる針狀結晶をなす。鹽化第二鐵に對する反應は暗綠色にして鹽酸+マグネシウムに依る還元反應は紫紅色なり。又該物質は 300° 附近に於いて暗褐色となり、316° に於て泡沸して分解す。⁸⁾ Zeisel-Pregl 法に依りてはメトキシ基の存在を示さず。而して風乾物質は次の如き分析値を與へたり。

物質	10.05mg:	CO ₂	19.68mg,	H ₂ O	4.03mg.	
„	12.54mg:	眞空, 118°, P ₂ O ₅	上に乾燥せる際の減量 1.32mg.			
	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ ·2H ₂ O	⁹⁾ 理論數	C 53.25,	H 4.14,	H ₂ O 10.65%	
		實驗數	C 53.40,	H 4.45,	H ₂ O 10.53%	

乾燥物質の元素分析

物質	11.22mg:	CO ₂	24.65mg,	H ₂ O	3.66mg.	
	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	理論數	C 59.60,		H 3.31%	
		實驗數	C 59.91,		H 3.52%	

アセチル化

曩にアルコール母液の蒸發によりて得たる粗物質を乾燥器内に數日間放置して乾燥したる後無水醋酸及び無水醋酸ナトリウムにてアセチル化せるに、全く無色にして絹絲光澤を有する針狀結晶(アルコールより再結)を得たり。鹽化第二鐵反應は陰性にして Fp. 195-6° なり。余が嘗てエンジュの花蕾より得たるクェルセチンのペンタアセチル誘導體(Fp. 195-6°)と混融せるにその融點は降下せず。故にヒノデキリシマ花瓣の第一色素はクェルセチンに他ならず。

アセチル化物の元素分析

物質	10.01mg:	CO ₂	22.40mg,	H ₂ O	3.78mg.	
	C ₂₅ H ₂₀ O ₁₂	理論數	C 58.59,		H 3.90%	
		實驗數	C 58.30,		H 4.19%	

〔附〕 クルセチンのメチル化に就きて

クェルセチンを直接メチル化してペンタメチルエーテルを製するは從來極めて難事なるものの如く記載せられ、唯比較的迂遠なる Frevdenberg の方法¹⁰⁾ 即ちアセチル誘導體をアルカリ及びデメチル硫酸にて處理し鹼化すると同時に水酸基をメチル化する方法を最良となす。余は嘗てクェルセチン、ミリセチン等のメチル

化を行ひたる際従來諸學者に依りて經驗せられたるが如き困難に遭遇することなく、容易にペンタメチルクエルセチンを製するを得たり。依つて茲に實驗操作を略記して参考に資せんとす。

實 驗

風乾せるクエルセチン 2g をデメチル硫酸 10g と混じ良くこね合せたるに結晶は灰黃色又は煉瓦色を呈せり。之を攪拌しつつ 10% の苛性ソーダ液を少量づつ滴下して反應せしめ、適宜流水にて冷却して過度の發熱を避く、反應完結後全液を微にアルカリ性に保ちて一夜放置すれば油狀に析出せるメチル化物は全く固結す之を集め水洗後、50% のアルコールに溶解し獸炭にて脱色して放冷し生ぜる殆んど無色の結晶を尙一回 50% のアルコールより再結すれば、殆んど無色の短きプリズムを得。この操作を経たる物質は 0.95g に達し、Fp. 148° を示し從來の記載に一致す¹¹⁾。鹽化鐵反應は陰性なり。

物質 10.30mg: CO₂ 24.32mg, H₂O 4.85mg.

„ 1.20mg: AgJ 3.74mg (Zeisel-Pregl).

C ₂₀ H ₂₀ O ₇ :	理論數	C 64.51,	H 5.37,	OCH ₃ 41.66%
	實驗數	C 64.40,	H 5.23,	OCH ₃ 41.14%

此物質を更に一回極めて稀薄なるアルコールより再結晶すれば約 113° に於て融解する無色の針狀結晶を得べく、これを 100°, 眞空にて無水磷酸上に乾燥するか、又は素焼板上に數週間放置すれば 148° に於て融くる物質に復す。これは恐らく極めて緩く結合せる結晶水の失はるるに基くものにして、次の如くにして定量的測定を行へり、極めて稀きアルコールより析出せる結晶を濾紙上に集め、吸引しつつ先づ少量の無水アルコールにて洗滌して機械的に附著せる水分を除きたる後 30 分間素焼板上に乾燥し、この物質を眞空無水磷酸にて最初 100° 次に 118° にて乾燥したるに下記の如き減量を示し、一分子の結晶水を含有せしことを示したり。

1) 物質 0.0317g: 減量 0.0015g.

2) „ 0.0864g: „ 0.0041g.

3) „ 0.1249g: „ 0.0058g.

C₂₀H₂₀O₇·H₂O 理論數 H₂O 4.62%

實驗數 „ 1) 4.73, 2) 4.74, 3) 4.64%

本研究に際しては柴田先生より終始懇篤なる御指導を忝くし、又實驗操作上服

部先生より有益なる助言を賜りたること尠からず。茲に兩先生に對して滿腔の謝意を表す。又材料植物の採集を快諾され且植物の來歴に關して御教示下されし中井先生の御厚意を深く感謝す。尙本研究の費用には文部省より交附されたる自然科學研究獎勵金の一部を以て充當せり。茲に記して謝意を表す。

註

- 1) 一名 *Asalea hinodegiri* Franke と呼ばる。2) 該植物材料は槐花と稱して臺灣にて販賣せらるるものにして、醫學博士吳揚氏が當教室服部靜夫博士の手を経て余に供與せられたるものなり。茲に兩博士に對して篤く感謝の意を表す。3) R. Robinson & J. Allan [Journ. Chem. Soc., **1926**, 2334] によれば Penta-acetylquercetin の合成品は Fp. 191-195° とあれども、余の精製せるものは Fp. 195-196° を示す。4) A.G. Perkin & A.E. Everest: Natural Organic Colouring Matters, (1918), 166 ff.; E. Abderhalden: Biochem. Handlexikon, 1911. Bd. 6, 32ff. 5) E. Abderhalden: loc. cit. 6) 母液中に存在するアントシアンの分離の可能性を考へ、これの分解を可及的防止せんとせるによる〔林：植雜, **47** (1933), 394 参照〕。7) R. Robinson & G.M. Robinson: Biochem. Journ., **25** (1931), 1687; **26** (1932), 1647. 8) 合成品は Fp. 312-316° (R. Robinson & J. Allan: loc. cit.) 9) 舊くは Quercetin に 1 分子の結晶水を與へたる例あれども最近は之に 2H₂O を附するに至れり〔van Rijn-Dieterle: Die Glykoside, 2 Aufl. (1931), S. 98〕。10) Liebigs Ann., **433** (1923), 230. 11) T. Tasaki: Acta Phytochim., **1** (1924-1926), 126. 猶最近 F. A. Anderson [Chem. Zentralbl., **1932**, II, 3891] の報告に據れば Fp. 151-152° とあれども、余は茲にては物質の純製を目的とせざるが故に Fp. 148° を示す程度にて再結を中止せり。
(昭和 8 年 9 月)

正 誤 表 第 53 卷 第 9 號

頁	行	誤	正
950	上より 10 行	H. D. Dakni	H. D. Dakin
952	上より 3 行	2,2'-Dioxydiphenol	2,2'-Dioxy-5,5'-dimethyldiphenyl
956	上より 3 行	Deacetyldiphenylen	Diacytyldiphenylen
„	上より 16 行	<i>p</i> -Kresylenoxyd	Di- <i>p</i> -Kresylenoxyd 957
957	下より 10 行	受理 に	處理して
„	下より 9 行	<i>p</i> -Kresylenoxyd	<i>p</i> -Kresyloxyd
958	上より 1 行	250-280°	260-280°
962	下より 2 行	Teitel's	Jeitel's
963	上より 15 行	Xanthon (Fp.)	Xnthen (Fp.)
964	上より 8 行	Di- <i>p</i> -tolyleneoxyd	Di-tolylenoxyd
„	上より 15 行	Xanthon	Xanthen
„	下より 2 行	Xatron	Xanthon
„	„	Xanthen	Xanthon
965	下より 7 行	<i>m</i> -Thymol	Thymol
966	上より 7 行	少量の Xanthen	少量の Xanthon
„	上より 11 行	Xanthen	Xanthon
„	下より 7-8 行	(CH ₃) ₂ O	(CH ₃ O) ₂ O
967	上より 2 行	2,1-Di-methylxanthon	2,7-Dimethylxanthon
„	上より 8 行	2-Xanthondi	2,7-Xanthondi-
„	下より 7 行	886,	1886
975	上より 8 行	C ₁₅ H ₁₄ O	C ₁₅ H ₁₄ O
977	上より 7 行	C ₁₆ H ₁₂ O ₂	C ₁₆ H ₁₂ O ₅