3	15分 微紅色	60分: 淡紫色	2分: 微黄色	60分: 紫色
2	20〃 〃	〃 〃	7〃 〃	〃 〃
1	25〃 〃	〃 微紫色	10〃 〃	〃 〃
0.5	60〃 〃	〃 〃	20〃 〃	〃 淡紫色
0.1	60〃 僅微紫色	〃 僅微に紫色	60〃 微紫色	〃 淡紫色
0.05	〃 殆ど無色	〃 殆ど無色	〃 殆ど無色	〃 殆ど無色
Control	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃

Glucose と Fructose との共存の場合 10% glucose 液 0.25 cc に第1表記載 fructose の各2倍濃度液 0.25 cc を混和した検液について, 60 分後に観察した結果によるとケトヘキソースのヴァイオレットが識別される範囲は glucose 200 : fructose 1 の割合 (被検液 0.5 cc 中に前者 25 mg, 後者 0.125 mg を含む) である。
東京薬科大学植物化学研究室

Summary

Addition of 4 cc. of fuming HCl to a mixture of 0.5 cc. of 0.05–0.1% aqueous solution of sugar and 0.1 cc. of 1% alcoholic solution of isoevodianine, and placing the mixture at about 37°, result in the development of a reddish purple color within 5 minutes which changes to an intensive violet color if ketohexose is present. There is no such color reaction in the presence of aldohexose, methylpentose and pentose. Detection of ketohexose by this method is successful even in a concentration of 0.0001% (0.5 γ in 0.5 cc.) in 60 minutes. Isoevodianine used in these tests was a product derived from evodianine, an alkaloid of *Evodia rutaecarpa* Hook. fil. et Thoms.

(Received June 10, 1950)

115: 刈米達夫, 橋本庸平: 植物成分の微量化学的検出法 (第6報)***

フラボノール誘導体の検出並に定量法について¹⁾

Tatsuo Kariyone and Yohei Hashimoto: Microchemical Detection of Plant Components. VI. Detection and Colorimetry of Flavonol Derivatives.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto* and Kobe Women's College of Pharmacy**)

モリン (5,7,2',4'-Flavonol) は Al^{+++} によつて鮮黄色を呈し, 其の反応が鋭敏 (1:250,000) である為, Al^{+++} の検出試薬として用いられる. 余等は Al^{+++} が他のフラボノール類にも鋭敏であり,²⁾ 殊にルチンはモリンよりも (1:500,000) 更に鋭敏であることを知つた.

余等は此の呈色反應を partition paper chromatography (以下 PPC と省略) に用いてフラボノール類の鑑別に應用し, 又比色定量にも利用し好結果を得たので茲に報告する.

Al^{+++} による黄色反應は pH 3~6 で概ね安定であるが, 濃塩酸を加え強酸性にすると消失する. 従つて余等は 2.5%醋酸アルミニウム溶液 (pH 3.74) を使用した. 本溶液は相当強い緩衝性を有し, 呈色反應試薬として好適である.

醋酸アルミニウムの 0.3%溶液にルチンを溶解し 1 万分の 1 モル溶液となし, 吸収スペクトルを検すると 268

* Yoshidakonoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

** Motoyama-cho, Higashinada-ku, Kobe.

*** 第5報 本誌 70, 721 (1950).

Fig. I.

$m\mu$ ($\log \varepsilon=4.65$), 及び $416 m\mu$ ($\log \varepsilon=4.54$) 附近に吸収の極大を有する (ルチンは $362 m\mu$ に極大を有する). 又 10 万分の 1 モル溶液を検すると同様の極大を示すが, 図に於ける $340 m\mu$ 附近の吸収の極大は 1 万分の 1 モル溶液の場合明瞭に認め得なくなつた.

I. フラボノール類の PPC

ルチン, クエルシトリン, ミルシトリン等の配糖体は過飽和水溶液を, クエルセチン, ミルセチン, モリン, ケンフェロール等の難溶性のアグリコン類はメタノール溶液となし, これ等の $10\sim 30$ を巾 2 cm, 長さ約 45 cm の濾紙 (東洋濾紙 2 号) に点じ, 醋酸酸性ブタノール ($BuOH:H_2O:AcOH=5:4:1$, 振盪後 $4\sim 5$ 日静置したもの)

又は醋酸酸性フェノール ($PhOH:H_2O:AcOH=40:9:1$) で $16\sim 18$ 時間上昇法を以て展開する. 乾燥後 2.5% 醋酸アルミニウム溶液を噴霧し, 乾燥するとフラボノールの存在する位置は黄色を呈する. 又紫外線で透視すると日光より更に明瞭に変色部分を検し得る. 本法により得られた各種フラボノールの R_f は Table 1 の如くである.

Table 1

Flavonols	$BuOH:H_2O:AcOH=5:4:1$	$PhOH:H_2O:AcOH=40:9:1$
Rutin	0.60	0.62
Myricitrin	0.78	0.53
Quercitrin	0.56	0.57
Quercetin	0.78	0.44
Myrcetin	0.54	0.14
Morin	0.91	0.68

又各種フラボノール含有植物に就き実験した結果は実験の部に記す.

II. フラボノール類の比色定量法

各種フラボノールが 0.75% 醋酸アルミニウム溶液中で呈する黄色の濃度は Klett 比色計 (Duboscq 型) により検すると一定の範囲内でその濃度に比例し比色定量が可能であることは実験の部にも記した通りである. 尙この色調はクロム酸カリ溶液と殆ど同様なので, 予め永久標準比色列を調製しておくと便利である. 最近 Couch 等³⁾ は尿中のルチンの比色定量にアンモニアを加えた塩化アルミニウムの水溶液を使用しているが, 余等の使用した醋酸アルミニウムは更に良好な緩衝性を有し, 呈色を一定に保たしめるので好適であると信ずる. Table 2 は各種フラボノールが 0.75% 醋酸アルミニウム水溶液中で呈する黄色と, これと同濃度を有するクロム酸カリ溶液の濃度を Klett 比色計で求め比較したものである. Table 2. に示した各フラボノールの濃度を順次小として $1/10$ とし, 又クロム酸カリ溶液の濃度を同じく順次 $1/10$ としても黄色の濃度は概ねフラボノール溶液の呈色濃度と比例して減少しクロム酸カリ溶液を永久標準比色列として使用し, これ等の濃度の範囲内で各フラボノールを比色定量し得ることを知つた.

Table 2.

Rutin	$C_{27}H_{30}O_{15}\cdot 2H_2O$	$0.5\text{ mg}\%$,	K_2CrO_4	0.0506%
Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7\cdot 2H_2O$	$2\text{ mg}\%$,	K_2CrO_4	0.0170%
Myricitrin	$C_{31}H_{20}O_{12}\cdot H_2O$	$5\text{ mg}\%$,	K_2CrO_4	0.0388%

1) 西部薬学会講演 (Jan. 1950, 京都).

2) Al^{+++} の他 Mg^{++} もフラボノールにより黄色を呈する.

3) Couch, et al.: C. A. **43**, 7992 (1949).

Myrcetin $C_{15}H_{10}O_8 \cdot H_2O$ 50 mg%, K_2CrO_4 0.0466%
 終りに実験の一部を担当された京大薬学科生薬学教室小池幸子嬢に謝意を表する.

実 験 の 部

ルチン及びケンフェロール含有植物の Rf 数種のルチン含有植物の極く少量をとり, そのメタノールエキスを製し, ブタノール: H_2O : $AcOH$ = 5:4:1 (振盪後 4~5 日静置したもの) で 16~18 時間上昇法を以つて展開し, 乾燥後 2.5%醋酸アルミニウム溶液を噴霧し, 乾すとルチンの存する点は黄色を呈するので Rf を求めると次の如き結果を得る.

キョウチクトウ <i>Nerium odorum</i> ⁴⁾	0.60
タバコ <i>Nicotiana tabacum</i>	0.60
ミシマサイコ <i>Bupleurum falcatum</i>	0.60
マンシウミシマサイコ <i>B. chinense</i>	0.61

これ等植物の抽出エキスを 3%硫酸と共に 30 分間湯浴上で加温しルチンを分解したものにつき Rf を求めるとクエルセチンの Rf 0.78 に概ね一致する. 但しマンシウミシマサイコに就いては未だルチンの存在が証明されていないが, その Rf よりルチンの存在が推定される.

嘗実, ハブサウ葉, 鼠李子等のメタノールエキスを 3%硫酸で加水分解したものの Rf は約 0.78 を示しケンフェロールの Rf 0.77 に概ね一致する.

其の他のフラボノール含有植物の Rf フラボノールを含有すると推定せられるがその Rf より種類を十分に判定し得ない植物は次の如くであつた.

ウメ (花) 0.68, イブキトラノヲ 0.69, ウウウルシ (葉) 0.65, サザンタワ (花) 0.85, コノテガシワ (葉) 0.83 (加水分解後 0.87)

ルチンの比色定量 ルチンの 2.5 mg%水溶液 2 cc に 2.5%醋酸アルミニウム溶液 3 cc を加え, 水を加えて全量を 10 cc とすればルチンの濃度は 0.5 mg%となる. この黄色溶液を Klett 比色計のキュベットに入れる. 本溶液の Factor=1.000 とし, 2.5%ルチン溶液の添加量を漸次減じて 1.8 cc, 1.6 cc...0.2 cc となし, その場合の比色計による Factor を求めると, 次記の如く呈色の濃度を表わす Factor の数値は概ねルチン溶液の添加量に比例し, ルチンの濃度と呈色の濃度はこの範囲内で直線的関係を示し, 比色定量が可能であることを示す.

2.5 mg% Rutin の添加 cc 数	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
Factor	1.000	0.913	0.775	0.683	0.602	0.479	0.390	0.280	0.173	0.093

クエルセチン, ミルシトリン, ミルセチンの比色定量 ルチンの場合と同様に Klett 比色計を用い実験した結果何れも次表の濃度の範囲内で比色可能であつた. 但しクエルセチン, ミルセチンの如きアグリコン類は水に全く不溶であるので少量の 2%苛性ソーダ溶液に溶解し, 注意して醋酸で中和し直に使用すればフラボノールの析出が起らず透明溶液として取扱うことが出来る.

2 mg% Quercetin の添加 cc 数	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
Factor	1.000	0.917	0.787	0.722	0.601	0.523	0.394	0.305	0.214	0.102
25 mg% Myricitrin の添加 cc 数	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
Factor	1.000	0.878	0.788	0.676	0.600	0.502	0.406	0.315	0.211	0.105
250 mg% Myrcetin の添加 cc 数	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
Factor	1.000	0.893	0.782	0.712	0.598	0.516	0.413	0.331	0.232	0.117

京都大学薬学科, 神戸女子薬科大学

Summary

Flavonol derivatives, such as rutin, show a sensitive yellow coloration by aluminum

4) 中沖太七郎: 本誌 69, 321 (1949).

ion. For example, absorption spectrum of the aluminum compound of rutin shows absorption maxima at $274\text{ m}\mu$ and $416\text{ m}\mu$. The authors carried out determination of flavonols by the colorimetry of their yellow coloration in 0.75% aluminum acetate solution (pH 3.74). The yellow coloration of the flavonol derivatives produced by aluminum or magnesium ion is very similar to that of potassium chromate solution so that it would be convenient to prepare a series of standard solutions of the chromate prior to colorimetry. Partition paper chromatography of flavonols, such as rutin, myricitrin, quercitrin, quercetin, myrcetin and morin, was carried out and, after development with $\text{BuOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}=5:4:1$, or $\text{PhOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}=40:9:1$ as solvents, flavonol spots were sprayed with 2.5% aluminum acetate, dried, and their R_f values measured. Further, crude methanolic extracts of about ten kinds of plants containing flavonol, such as rutin and kaempherol, were also studied by the above method.

(Received June 12, 1950)

116. 刈米達夫, 橋本庸平: 植物成分の微量化学的検出法 (第7報)

ペーパークロマトグラフによる塩基類の検出法¹⁾

Tatsuo Kariyone and Yohei Hashimoto: Microchemical Detection of Plant Components. VII. Detection of Alkaloids by Paper Chromatography.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto and
Kobe Women's College of Pharmacy)

余等は Dragendorff 試薬 (以下 D 試薬と記す) を用い毛細管反應²⁾ により塩基類を微量検出する方法に就いて既報したが,³⁾ 結晶性沈澱を生じないものは塩基の種類を判別し得なかつた。今回 50 余種の塩基類及びアルカロイド生薬類の抽出物を通常の方法により partition paper chromatography (略称 PPC) に附し, D 試薬を噴霧して塩基の存する部分を橙色乃至赤橙色に変化せしめ R_f を求める方法を行つたので茲に報告する。

純粹の塩基類の鉍酸塩の水溶液 (5~20 γ の塩基を含有) を幅 2 cm, 長さ 45 cm の濾紙 (東洋 2 号) に点じ醋酸酸性ブタノール (ブタノール: 水: 氷醋酸 = 5:4:1. 振盪後 4~5 日靜置したもの) を用い 16~18 時間上昇法により展開せしめ, 乾燥後 5 倍稀釈 D 試薬を噴霧し, その儘乾燥し変色点の R_f を計算する。D 試薬と極めてよく反應する塩基 (毛細管確認限度²⁾ 0.08 γ /0.002 cc 以下) では D 試薬を作用後水洗して不用の D 試薬を流去後乾燥すると変色点が明瞭となり更に好結果を得る。D 試薬による難溶性沈澱は濾紙繊維に固定しているので水洗により流去される惧れはない。

D 試薬と沈澱し難い塩基は次の方法により N メチル化²⁾ を行い, 而る後 D 試薬を作用せしめると好結果を得る。即ち展開後デメチル硫酸の 10% メタノール溶液及び 5% メタノール性カリを順次噴霧後 70° の電氣乾燥器中で約 5 分間加温し N メチル化を完結せしめ, 更に 10% 醋酸を噴霧して過剰のアルカリを中和して後, D 試薬を噴霧し, 直ちに水洗して乾燥すると塩基の存在する点を確認に見出し得る。かかる N メチル化法を併用すれば D 試薬によりあらゆる塩基性窒素有する化合物が検出可能となる。例えばエフェドリン, アミノ酸, スルファミン類, テオブロミン, ビリドキシン等の稀溶液を濾紙に点じたものは上記の N メチル化法により始めて D 試薬と沈澱を生ずるに至る。スルファミン類はワニリン塩酸と作用して黄色結晶⁴⁾ を生成するから余等はこれを PPC 用の噴霧試薬に利用した。然しホモスルファミンのみは呈色しないので N メチル化法を適用して検出し得るに至つた。

1) 西部薬学会講演 (Jan. 1950, 京都)。

3) 本誌 70, 721 (1950) 第 5 報。

2) 本誌 70, 716 (1950) 第 3 報。

4) Marquest, et al.: C. A. 43, 3973 (1949)。