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 余种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た後, 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) Marques, et al.: C. A. 43, 3973 (1949).

D試薬と塩基類とが生ずる沈澱は屢々特有の結晶形を示し塩基の確認に利用し得ることは既報したが,²⁾ D試薬を噴霧して生ずる濾紙上の呈色部を切抜き, 少量の熱湯で抽出後濃縮して更に 1~2 滴の D 試薬を加えて放冷後検鏡すると塩基により特有の結晶を認め得ることが多い。但し幅 2 cm の濾紙 1 枚より切抜いたのみでは塩基類の量が少いので, 同一に操作した濾紙の切抜きを同時に 3~4 枚抽出すると好結果を得る。例えばコーヒーの抽出物に試薬を作用せしめたのみでは, カフェイン錯塩の結晶形を認め難いが, 一度 PPC に附しカフェインの存する点のみを切抜けばカフェインは精製されており, 上記の操作によりカフェイン特有の菱形錯塩結晶を確認し得るに至る。

融点その他より純粹と見做される塩基でも PPC に附すと濾紙上で不純物を分離し得ることが屢々ある。例えば再溜を繰返したピリジンも殆んど例外なしにピコリン様の不純物を含有することを PPC により証明出来る。又純粹の塩基を使用した場合中和に使用した酞酸の量が不足すると濾紙上に 2 箇の点となつて現われる。例えばニコチン又はキニーネに不足量の硫酸を加えたものについてこの現象が見られる。これは硫酸が 2 箇の塩基性窒素の 1 箇のみを中和したもの及び 2 箇共中和したものと計 2 種の塩が生成している為と起ると考えられる。従つてアルカロイド生薬類を PPC に附する際には抽出物に過剰の酞酸を加えて後行い必要がある。

ベルベリン, サンギナリン硫酸塩, ケレトリン硫酸塩, リボフラビン等の有色塩基, ヒドラステチンの如き紫外線により螢光を発する塩基及びそれ等を含有する植物に就き PPC を行つた場合は必ずしも D 試薬を用いる必要はないが, D 試薬を使用すれば濾紙上の存在位置を更に明瞭となし得ることが多い。

以上述べた方法はあらゆる塩基類の検出に適用し得るので既知並びに未知の塩基類及び塩基を含有する生薬類の試験等広汎な範囲に應用されることを期待する。

終りに実験に協力された京大薬学科生薬学教室小池幸子嬢に謝意を表す。

実 験 の 部

I. 各種塩基の Rf 幅 2 cm 長さ 45 cm の東洋濾紙 2 号を使用し, ブタノール: 水: 氷醋酸 = 5: 4: 1 を使用し, 上昇法により 16~18 時間展開後 D 試薬により Rf を測定した。本溶媒は分液漏斗でよく振り, 4~5 日静置したものを使用した。M は前記の方法により N メチル化を行つたもの, F は D 試薬を使用せず螢光を検したものの, P はフェノール: 水: 氷醋酸 = 40: 9: 1 を使用した場合の Rf である。括弧内は含有不純塩基と見做されるものの Rf である。

Rf of Alkaloids

Solvent; BuOH: H₂O: AcOH = 5: 4: 1, M; N-methylation, F; Fluorescence by U. V., P; Phenol: H₂O: AcOH = 40: 9: 1

- (1) Alkalines, etc.: *dl*-ephedrine-HCl 0.78 M, *l*-ephedrine-HCl 0.79 M, *d*- ϕ -ephedrine-HCl 0.82 M, Anesthesine 0.97 M, benadryl 0.87, β -naphthylamine 0.41 M, *N*-methyltyrosine 0.68, marphanyl 0.53 M, sulfanylamide 0.62 M, urotropine 0.43.
- (2) Pyridine and piperidine derivatives: pyridine-H₂SO₄ 0.30, pyridine-HCl 0.33, nicotinic acid 0.75 M, nicotine-H₂SO₄ 0.49, nicotine-HCl 0.57, sulfapyridine 0.82 M, pyribenzamine 0.89, pelletierine-HCl 0.55, pelletierine-H₂SO₄ 0.35 (0.19), pyridoxine 0.61 M.
- (3) Quinoline and isoquinoline derivatives: quinoline H₂SO₄ 0.42, quinoline 0.92, 8-hydroxyquinoline-H₂SO₄ 0.73, 8-hydroxyquinoline-H₂S₂O₇ 0.86, quinine-H₂SO₄ 0.32, 5-aminodihydroquinine 0.74 cinchonine-H₂SO₄ 0.78, plasmochin 0.89, hydrastine-H₂SO₄ 0.54 F, hydrastine-HCl 0.59 F, tetrahydropalmatine 0.89, tetrahydroberberine 0.90, berberine 0.67, emetine-HCl 0.79, β -homochelidonine 0.82, 0.81 P, sanguinarine-H₂SO₄ 0.60, 0.92 P, chelerythrine-H₂SO₄ 0.62, 0.79 P, 1-piperonyl-3-methyl-6,7-dimethylisoquinoline (neuspa) 0.89.
- (4) Indol derivatives: strychnine-HNO₃ 0.79, brucine-H₂SO₄ 0.70, brucine-HCl 0.69.
- (5) Piperidine-pyrolidine derivatives: hyoscyamine-H₂SO₄ 0.77, *l*-scopolamine-HI 0.65,
- (6) Purine derivatives: Caffeine 0.78, theobromine 0.56 M.

- (7) Acridine derivatives: atabrin (HCl) 0.86, acrinol 0.80.
 (8) Pyrimidine derivatives: sulfamerazine 0.91 M, riboflavine 0.35.
 (9) Lupinane derivatives: sparteine- H_2SO_4 0.17, sparteine 0.65, solanine- HClO_4 0.92.

II. アルカロイド生薬類の Rf 各生薬の少量をとり粉末となし、メタノールで 30 分～1 時間還流抽出して得られるメタノールエキスを稀鉱酸で抽出 (但しカフェイン、ベルベリン生薬は鉱酸を用いない) した液を PPC に附した。括弧内の数値は副塩基と見做される塩基の Rf を示す。ヒイラギナンテンのアルカロイドに就いては未だ報告がないが、本実験によりベルベリンの存在が推定される。又タケニグサ根中に含まれる 4 種のアルカロイドは一次元法では分離出来ないが二次元法を用うれば分離可能である。

Rf of alkaloid drugs ($\text{BuOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}=5:4:1$)

Drugs		Rf fd.	Rf of alkaloids
<i>Folium Theae</i>	茶葉	0.78	caffeine, 0.78
<i>Semen Cacao</i>	カカオ子	0.79, 0.55 M	theobromine, 0.56 M
<i>S. Coffeae</i>	コーヒー	0.78(0.21, 0.26)	caffeine, 0.78
<i>S. Kolae</i>	コラ実	0.78(0.61, 0.41, 0.24)	"
<i>Folium Stramonii</i> H_2SO_4	マンダラ葉	0.76(0.26)	hyoscyamine- H_2SO_4 0.77
<i>Rhizoma Scopoliae</i> H_2SO_4	ロート根	0.78(0.08)	"
<i>Cortex Chinae</i> H_2SO_4	キナ皮	0.31(0.86)	quinine- H_2SO_4 0.32
<i>C. Punica</i> H_2SO_4	石榴皮	0.37(0.22)	pelletierine- H_2SO_4 0.35
<i>Folium Cystidis</i> H_2SO_4	エニシダ葉	0.18(0.91)	sparteine- H_2SO_4 0.18
<i>F. Nicotianae</i> H_2SO_4	タバコ	0.49(0.67)	nicotine- H_2SO_4 0.49
<i>Lignum Mahoniae japonicae</i>	ヒイラギナンテン	0.65	berberine 0.67
<i>Rhizoma Hydrastidis</i> HCl	ヒドラスチス根	0.58 F (0.35, 0.69, 0.79)	hydrastine-HCl 0.59 F
<i>R. Macleyae</i> H_2SO_4	タケニグサ根	0.79, 0.62	β -homochelidonine- H_2SO_4 0.82 0.81 P, protopine- H_2SO_4 0.77, 0.94 P, sanguinarine- H_2SO_4 0.60, 0.92 P, chelerythrine- H_2SO_4 0.62, 0.79 P,
<i>Semen Strychni</i> HNO_3	ホミカ	0.79	strychnine- HNO_3 0.79
<i>Herba Ephedrae</i> HCl	麻黄	0.80 M	<i>l</i> -ephedrine-HCl 0.79 M

京都大学薬学科, 神戸女子薬科大学

Summary

Paper partition chromatography was carried out using $\text{BuOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}=5:4:1$, or $\text{PhOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}=40:9:1$, as developing solvents, on over 50 kinds of basic compounds (I). Dragendorff's reagent (II), diluted to 5 volumes, was sprayed on the dried filter paper, and the spot of (I) was observed. Since some of the primary, secondary and tertiary bases do not precipitate with (II), 5% methanolic KOH and 10% methanolic solution of dimethyl sulfate are sprayed consecutively, and warmed at 70° for 5 minutes to complete *N*-methylation. This is sprayed with 10% acetic acid to neutralize the excess of the alkali, and (II) sprayed, by which all of (I) can be identified. The orange colored portion by (II) is a precipitate and is not washed out by water. The colored portion is cut out, extracted with a small amount of hot water, (II) added, and cooled slowly, by which orange precipitate having characteristic crystalline form can be detected under the microscope. This, therefore, is another method of identifying (I), besides its Rf value. This method is thought to have an extensive application. The authors examined methanolic extracts containing corresponding mineral acid of over 10 kinds of crude drugs containing (I) by this method and proved the presence of (I) in each.

(Received June 12, 1950)