258. 清水正夫, 桐沢 誠, 小川隆三：フラボノイドの可溶化に関する研究
（第1報）ルチン及びクエルセチンの可溶化*

Masao Shimizu, Makoto Kirisawa and Ryuzo Ogawa: Solubilization
of Flavonoids. I. Solubilization of Rutin and Quercetin.

(Yanagishima Research Laboratory, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.**)

ルチンは古くより知られたクエルセチン-3-ラムノグルコシドであるが、近來、毛細血管強化物質として使用せられる様になった。主として錠剤又は末剤として投與せられているが、動物実験では投與量を正確にする為、或は臨床上注射として使用せざるを得ぬ場合もあるので種々水溶性化の試みが報告されているが、満足すべきものはない様である。著者等は溶解補助剤或は非水溶媒を使用しても充分な成績を得なかつたので、ルチンの化学的性状を検討して解決点を求めんとした。ルチンは冷水に僅かに 0.13%しか溶解せぬが、苛性アルカリ、炭酸アルカリ、脂肪族アミンに可溶で、此の際、アルカリ 2 当量を要求する。然し此の溶液は空氣酸化を受けて次第に変色分解し過剰のアルカリ或は加熱は分解を促進する。著者等はアルカリ 2 当量に溶解せる溶液の pH を低下せしめんとして種々の酸を添加したるに硼酸の場合にのみ 4 モル位加えてもルチンの析出起らず且つ空氣中安定にして不変なる事実を発見し、之に興味を感じ種々定量的に条件を追究する事にした。

実験の部、Table I の如き溶解原液を調製した。原液 10 cc にルチン 0.2 g を溶解すれば、ルチン 1 モルに対し 2 モルになる如く苛性ソーダを含有し、No. 1 硼酸 4 モルより次第に硼酸を減量し No. 6 は苛性ソーダのみを有する。此の内 No. 1 は硼砂の、No. 3 はメタ硼酸ソーダの溶液に相当する。各原液 10 cc にルチン 0.2 g を溶解し pH 色調、放置間の変化を観察し、58 時間後塩酸性として析出するルチンを重量法に依り定量し、且つ酸性濃液の色を観察した。其の結果 No. 1~3 はレモン黄色に溶解し放置間変化なく回収率略定量的なるに反し、No. 4~6 は色調、回収率より見て次第に分解の度大となり、且つ濃液の色は No. 1~3 が無色なるに反し、着色を示し、No. 1~3 と No. 4~6 には明かに差のある事が判つた。（実験 (1) Table II）。次に之と同一条件で唯 100°1 時間加温の条件を加えた所やはり No. 1~3 と No. 4~6 の間には判然たる差があつた。然し実験 (1) に比すれば No. 1~3 に於ても若干の分解が起り回収率は多少減じ酸性濃液は微に着色するに到つた。（実験 (2) Table III）次に溶解原液の過剰が及ぼす影響を見る為に原液 20 cc を加えて見た。其の結果 No. 1~3 に於て多少色調が淡くなつた事を除いて実験 (1) と同様であるのに反し No. 4~6 では逆に変色の度大で且つ分解度も大であつた。故に No. 1~3 の処方である限り其の過剰量は影響を與えぬ事が結論される。（実験 (3) Table IV）次にルチンのアグリコンたるクエルセチンに就いて実験 (1) と同様に其の溶解性を檢したが、此の場合にも同様に No. 1~3 と No. 4~6 の間に明かな差のある事が認められた。但し此の場合溶解後の pH は No. 1~6 を通じて余り差の無い事がルチンの場合と異なる点である。（実験 (4) Table V）以上の結果を図示すれば Fig. 1~2 の如くなる。

硼酸苛性ソーダの組合せは緩衝作用を有し Clark-Lubs の処方が存在する。ルチン、クエルセチンを安定に溶解せしむるのは緩衝作用に依るものか否かを檢する為 No. 1~3 の pH に略々等しき pH を有する Michaelis の塩化アンモン-アンモニア緩衝液を調製し、其の 10 cc 中に含有するアンモニア 2 モルに対するルチン 1 モルの量を加えた所、各液共に少量しか溶解せず、対照として行つた 10 分定規アンモニア溶液も頗る難溶で、溶液はすべて時間の経過と共に変色する事を認めた。即ちルチンを安定に溶解せしむるのは緩衝作用には依らぬものと考えられる。（実験 (5) Table VI）

以上の結果に於てルチン、クエルセチンを安定に溶解せしむる為には No. 1~3 が必須の条件なる事が判明したが、此の原液の一定量が溶解し得る量を決定する為、原液 10 cc に対し実験 (1) の倍量を加え良く振盪し 48 時間各不溶物を重量法に依り秤量して溶解率を決定せんとした。其の結果ルチンの場合 No. 1~3 に就き苛性

* 1951 年 2 月 17 日、日本薬学会例会で「ルチン及びクエルセチンの溶解性に関する研究」として講演

** Hirakawabashi, Sumida-ku, Tokyo.

Fig. 1

Fig. 2 実験(1)と溶解原液の pH

ソーダ 1 モルに対しルチン $\frac{2}{3}$ モルが溶解する。クエルセチンの場合には必ずしも一定せず、 $\frac{1}{2} \sim \frac{2}{3}$ でいづれとも決定し難い。(実験 (6) Table VII) 之を更に確める為予めルチン、クエルセチン 1 モルに対し硼酸 1.5 モル及び 2 モルを加え更に水を加え之に振盪しつつ 10 分定規苛性ソーダ 1.5 モル及び 2 モルに相当する量を加えた所硼酸苛性ソーダ各 1.5 モルの場合にはルチン、クエルセチン共に決して全溶せざるに反し、硼酸苛性ソーダ各 2 モルの場合には両者とも全溶する。(実験 (7) Table VIII)

実験 (6) (7) の結果は相矛盾し、何れ共決定し難いが、実験 (6) の場合、不溶物を瀧過後水で洗滌すると必ず洗滌水が濁濁し放置すれば沈澱を生ずる事を経験したので、或は此の為溶解量が過大に出た事も考慮せられるので、実験 (7) の方が正確らしく考えられるが尙明瞭にし得ず、暫定的に 1.5~2 モルの苛性アルカリ、硼酸が 1 モルのルチン、クエルセチンを溶解する事にする。以上の実験を要約すると次の如くなる。

(1) ルチン、クエルセチン各 1 モルは 2 モルの苛性アルカリに溶解するが、pH 大で且つ空气中で次第に赤色となり分解が進行する。(2) 此の溶液に塩酸、磷酸、醋酸を加えて pH を調整せんとしても pH 8.5 位でルチンを析出し始めるに反し、硼酸を以てする時には硼酸 4 モル位加えても沈澱は析出せず空气中極めて安定に溶存する。硼酸に特異的な現象である。(3) ルチン、クエルセチンを空气中安定に溶解せしむる為には苛性ソーダ：硼酸=1:1~2 モルのモルを有する水溶液なる事を要する。(4) 加熱は若干此の安定性を侵害する。(5) ルチン、クエルセチン 1 モルを溶解せしむる為に必要なる上の溶液の量は苛性ソーダとして 1.5~2 モルを含有する量である。但し (3) の条項のモルに合致する限り其の過剰量は安定性を侵害しない。(6) 斯して溶解せる溶液はルチンの場合にはレモン黄色、クエルセチンの場合には黄色でかなり鮮明である。(7) 此の水溶液の pH はルチン、クエルセチンを單に苛性ソーダ 2 モルに溶解せるものに比して遙かにアルカリ性が弱い。(8) 溶解せしむる要因は硼酸、苛性ソーダの組合せの有する緩衝作用には関係がない。塩化アンモン、アンモニア緩衝液に於いてはかかる現象は見られない。

本研究に当り御鞭撻を賜つた第一製薬株式会社社長篠田淳三博士及び柳島工場長上枝誠一氏に厚く謝意を表する。

実 験 の 部

溶解原液 Table I

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
NaOH (100 cc 中) g	0.228	0.228	0.228	0.228	0.228	0.228
H ₃ BO ₃ (100 cc 中) g	0.704	0.5287	0.3523	0.176	0.118	
NaOH : H ₃ BO ₃ モル比	1 : 2	1 : 1 $\frac{1}{2}$	1 : 1	1 : $\frac{1}{2}$	1 : $\frac{1}{3}$	
pH	8.42	9.77	10.35	11.79	11.95	12 以上
摘 要	硼砂に相当す		メタ硼酸ソーダに相当す			

実験 (1) Table II ルチンの溶解性 (68 時間放置)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
溶解原液の cc	10	10	10	10	10	10
ルチン溶解量 mg	198.5	192.7	196.1	193.2	194.5	194.3
溶 解 性	全 溶					
溶液の色	レモン黄色			中間色		橙色
放置間の変色	不 変			時間の経過と共に次第に濃化		
溶液の pH	8.11	8.19	8.55	9.45	10.21	10.59
ルチン回収量 mg	190.5	188.7	202.2	173.3	150.3	62.9
回収率 %	96	95.2	104	92.5	77.4	32.4
酸性濾液の色	無 色			淡 橙 色		

回収は 10%塩酸を計算量の 1.5 倍加へ 1 夜放置後濾過秤量。

実験 (2) Table III ルチンの溶解性 (100° 1 時間加温 65 時間放置)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
溶解原液の cc	10	10	10	10	10	10
ルチン溶解量 mg	193.4	193.1	194.9	192.3	196.8	196.1
溶 解 性	全 溶					
加熱後の色	黄 色			中間色		黄褐色
実験 (1) と比較	より濃厚					
放置間の変色	不 変			時間の経過と共に次第に濃化		
ルチン回収量 mg	180.4	179.4	166.2	114.5	60.6	0
回 收 率 %	93.8	93.6	85	59.5	31	0
酸性濾液の色	微 黄 色		淡橙色	橙 色		

実験 (3) Table IV ルチンの溶解性 (過剰の溶解原液 24 時間放置)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
溶解原液の cc	20	20	20	20	20	20
ルチン溶解量 mg	191.2	192.1	194	194	192	192
溶液の色	レモン黄色			中間色		赤 色
実験 (1) と比較	より淡			より濃厚		
放置間の変色	不 変			時間の経過と共に次第に濃化		
ルチン回収量 mg	194.4	189.1	189.2	126.6	72.5	0
回 收 率 %	101.2	98.5	98	65.3	37.7	
酸性濾液の色	無 色			黄 色		橙 色

実験 (4) Table V クエルセチンの溶解性 (24 時間放置)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
溶解原液の cc	20	20	20	20	20	20
クエルセチン溶解量 mg	182.2	182.3	182.3	182.2	182.7	182.4
溶解性	全 溶					
溶液の色	黄 色			暗黄色	黄赤色	赤 色
放置間の変化	不 変			時間の経過と共に次第に濃化		
pH	8.02	8.14	8.26	8.76	8.81	8.89
クエルセチン回収量 mg	183.6	189.9	188.7	171.4	168.9	89.0
回収率 %	100.5	104.0	103.5	94.1	92.3	48.7
酸性濾液の色	無 色			微黄色	橙 色	赤 色

溶解原液 10 cc では全溶しない. 20 cc ではクエルセチン 1 モルに対し苛性ソーダ 2 モルの比になる. No. 1 ~3 は微に緑色の螢光を有す.

実験 (5) Table VI Michaelis の緩衝液

	(a)	(b)	(c)	(d)
N/10 NH ₄ OH cc	30	340	480	
N/10 NH ₄ Cl cc	480	170	60	
pH 実測	8.15	9.7	10.4	12 以上
相当する溶解原液	No. 1	No. 2	No. 3	対照 N/10 NH ₄ OH
10 cc に対するルチン計算量 g	0.0195	0.2215	0.2955	0.3307

10 cc 中の水酸化アンモニア 2 モルに対しルチン 1 モルの計算量を加えて 48 時間観察.殆んど不溶. 上澄液は黄色であるが次第に赤色となる.

実験 (6) Table VII ルチン, クエルセチンの溶解量決定

	No. 1	No. 2	No. 3		No. 1	No. 2	No. 3
溶解原液の cc	10	10	10	溶解原液の cc	10	10	10
ルチン秤取量 mg	382.2	382.0	383.6	クエルセチン秤取量 mg	182.8	182.6	182.5
不溶ルチン量 mg	113.7	117.8	130.8	不溶クエルセチン量 mg	86.8	68.7	63.3
溶解率 %	70.4	70.9	66.2	溶解率 %	52.5	62.9	65.4
濾液の色	レモン黄色			濾液の色	淡黄色	橙黄色	橙黄色

不溶物を濾過し 10 cc の蒸留水で洗滌し附着せる無機物を洗滌することにしたが, 此の際ルチン・クエルセチン共に洗滌液はこん濁し放置すれば沈澱を生じた.

実験 (7) Table VIII 溶解原液最少量の決定

	I	II		I	II
ルチン秤取量 g	1.3282	1.3287	クエルセチン秤取量 g	0.6761	0.6763
硼酸添加量 g	0.1874	0.2485	硼酸添加量 g	0.1861	0.2485
ルチン: 硼酸モル比	1: 1 $\frac{1}{2}$	1: 2	クエルセチン: 硼酸モル比	1: 1 $\frac{1}{2}$	1: 2
N/10 NaOH 添加量 cc	32 (NaOH 1 $\frac{1}{2}$ モル)	42 (NaOH 2 モル)	N/10 NaOH 添加量 cc	31.5 (NaOH 1 $\frac{1}{2}$ モル)	42 (NaOH 2 モル)
溶解性	全溶せず	殆んど全溶	溶解性	全溶せず	殆んど全溶
濾液の pH	8.05	8.85	濾液の pH	7.96	7.97
不溶残渣 g (%)	0.1786 (13.5)	0.002 (0.15)	不溶残渣 g (%)	0.1716 (25.4)	0.0399 (5.9)

ルチン・クエルセチン各 1 モルに硼酸 1.5 モル及び 2 モルの比に加え水 50 cc を加えフェノールフタレイン溶液数滴を加えて良く振盪し乍ら N/10 苛性ソーダ溶液 (F=0.9501) 計算量を加え全溶し得るや否やを検した.

第一製薬株式会社柳島工場

Summary

Studies were carried out to obtain water-soluble preparation of rutin for clinical purposes. An aqueous solution containing sodium hydroxide and boric acid in 1:1~2 molar ratio specifically dissolves rutin. The aqueous solution is stable in air and has a low pH but is affected by warming. The amount of sodium hydroxide and boric acid necessary to dissolve rutin is 1.5~2 moles each, but as long as the above ratio is adhered to, the presence of excessive amounts of these compounds is not interfering. There is no likelihood of the buffer action of the combination of sodium hydroxide and boric acid acting on this solution mechanism. A completely similar effect was found to exist with quercetin, an aglycone of rutin. (Received March 5, 1951)

259. 清水正夫, 太田元吉: フラボノイドの可溶性に関する研究 (第2報)

ルチン及びクエルセチンの部分的メチル化

Masao Shimizu and Genkichi Ohta: Solubilization of Flavonoids. II.
Partial Methylation of Rutin and Quercetin with Diazomethane.

(Yanagishima Research Laboratory, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.)

前報¹⁾でルチン及びクエルセチンは特異的に苛性ソーダ硼酸一定モル比の水溶液に安定に溶解する事を報告したが、此の際何等かの結合が生じて居る事が考えられる。ルチン及びクエルセチンの主たる反応基はフェノール基であるので、此の内幾何かが結合に與つて居るかを明かにする為著者等は研究に着手した。

従来のメチル化の文献を参照し先ずメタノール溶液中でルチンをデアゾメタンに依りメチル化した後、加水分解して A. G. Perkin²⁾ 報告せる如くクエルセチンの 5,7,3',4'-テトラメチルエーテル Fp 194~196° を得た。クエルセチンに就いてはデメチル硫酸苛性カリに依つては、3,7,3',4'-テトラメチルエーテル³⁾ Fp 157~158° のみを得るに反し、ペンタアセタートを経て行ふ Freudenberg 法⁴⁾ 或はメタノール溶液中デアゾメタンに依つては⁵⁾ 3,5,7,3',4'-ペンタメチルエーテル Fp 147~148° を得る事を確認した。即ちルチン及びクエルセチンは共にデアゾメタンに依つて遊離のフェノール性水酸基は悉くメチル化せられる。著者等の行わんとする場合は pH の変化は原溶液の状態に変化を來す恐れがある。故にデアゾメタンを以てするメチル化が最も好適の手段である。第1報ではメタ硼酸ソーダ乃至は硼砂に相当する水溶液を使用したのであるが、前者はデアゾメタンエーテル溶液と振盪しても殆んど発泡せざるに反し後者は盛に発泡するので反應の進行状況を観察するに便なる為メタ硼酸ソーダ溶液を以て研究を進める事にした。

先ずクエルセチン1モルに対し苛性ソーダ2モル硼酸2モルの比になる如く水溶液を調製し、之にデアゾメタンエーテル溶液の大過剰を加え振盪し24時間後、之を反復し48時間後処理した (A. G. Perkin²⁾ のルチンのメチル化と同一条件)。其の結果 Fp 227~230° の物質が得られた。本法に依る時は得率良好ならず又物質も充分純粹とは云い得なかつたので次にクエルセチン1モル硼酸2モルをメタノールに溶解し、之に10%メタノール性苛性ソーダ溶液を苛性ソーダ2モルの比になる如く加えて前記の通りメチル化を行つた所、得率良く Fp 232~235° の物質を得。之は前回得たるものと混摺すると中間で熔融したので同一物と考えられ、従つてメタノール溶液中でも水溶液中に於けると同一状態に在るものと考えられる。故に爾後此の条件に依る事にした。Fp 232~

1) 第1報: 本誌 71, 875 (1951)。

2) G. F. Atree, A. G. Perkin: J. Chem. Soc. 1927, 234~240.

3) Waljasckko: Ber. 42, 727; Gomm, Nierenstein: J. Am. Chem. Soc. 53, 4408 (1931)。

4) Freudenberg: Ann. 433, 242.

5) Herzig: Monatsh. 33, 690 (1912)。