crystals of m.p. 193~194° (decomp.). Acid decomposition of the product yielded myricetin and rhamnose which proved the crystals to be those of myricitrin. The yield was 5.5% which was far inferior to that of 7.5% obtained by warm methanol extraction. Warm methanol extraction of the heartwood gave myricitrin in 0.19% yield. Presence of ampeloptin, the flavanone corresponding to myricetin, was not detected either in the bark or in the heartwood.

(Received November 16, 1951)

97. 清水正夫：フラボノイドの可溶化に関する研究（第10報）

フラボノール-3-グルコシッドの一新識別法

Masao Shimizu: Solubilization of Flavonoids. X. A New Method for Distinguishing Flavonol-3-glucosides from Flavonols.

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

本研究第6報¹⁾に報告せる flavone, flavonol 類の硼砂溶液に於ける可溶化試験に於て、著者並びに協力者等は化学構造と可溶化現象との間の関係を或る程度明かにした。一方 flavonoid の呈色反応としては、古くより $Mg+HCl$ に依る還元呈色反応があり、特に篠田淳三博士²⁾は之を flavanone, chalcone 類の識別に利用した。然し本呈色反応は必らずしも flavanone に特有なるものではなく、flavonol, flavone 類或は xanthone 類中の或るものでも呈色するものである。著者は前記可溶化試験に使用せる標品に就き本呈色反応を吟味し、可溶化試験の結果と比較せんとした。Table V, VII に示せる如く、本呈色反応は水酸基或はメトオキシ基の増加に従い次第に黄色→橙色→赤色に呈色する。既存の文献の記載^{2,3)}と総合すれば、色の変化は主として之等の基の数如何に依るものの如くである。然るに著者等の可溶化は遊離の水酸基の或る一定位置を必要とする。Table X に示す如く quercetin の種々のメチルエーテルに就き第6報の如く可溶化試験を行つた所、3,7-dimethyl ether 以外は(一)で遊離の水酸基が必要条件なること明かで、著者の推定⁴⁾せる可溶化機構を支持するものと云える。之等のメチルエーテルは $Mg+HCl$ 反応に依つては quercetin と大差なき呈色を示し水酸基とメトオキシ基の間に差がない。以上の事より本呈色反応と可溶化試験とは根本的に機構を異にするもので、両者を比較して其の間に相関々係を求むる事は出来ず、寧ろ重金属に依る染色性と可溶化試験を比較する方が合理的である。

J. C. Pew⁵⁾は最近 $Zn+HCl$ に依る還元呈色反応に就いて同一置換基を有する flavonol, flavanone は呈色せざるに反し 3-hydroxy-flavanone (flavanonol) のみに特有の呈色を行ふ事を報告している。Pew の試みた範囲は狭く又此の呈色反応の適用に関する例も他に聞かないので、著者は前記 $Mg+HCl$ 反応と共に種々な flavonoid に就き試みた結果概ね Table I の如き結果を得た。勿論著者の試みた検体は限られた数であり、将来例外を

Table I

	chalcones	flavanones	flavones	flavanonols	flavonols	isoflavones
Mg+HCl reaction (A)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
Zn+HCl reaction (B)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)

生ずるかも知れないが、両反応の大体の比較は出来る。表中の (+) (-) も其の程度の意味のものである。

先ず chalcone 類は両反応共に悉く呈色しない (Table II). isoflavone 類も同様である (Table III). 次に

1) 清水, 太田, 吉川: 本誌 **71**, 1488 (1951). 2) 篠田: 本誌 **48**, 214 (1928).

3) G. B. Marini Bettols, A. Ballio: Gazz. chim. ital. **76**, 410 (1946); C. A. **41**, 6565 (1947).

4) 清水: 本誌 **71**, 882 (1951).

5) J. C. Pew: J. Am. Chem. Soc. **70**, 3031 (1948).

flavanone 類は実施例乏しきも Pew の記載せる naringenin, eriodictyol の場合と同様に (A) 反応は赤紫色に呈色するに反し (B) 反応は呈色せざるか微にピンク色に止まり明に (−) と判定し得る (Table IV). flavone 類は前述の如く水酸基又はメトオキシ基の増加に従い、黄色→橙色→赤色となる事は両反応とも大体同様で其の間に大差はない。著者の試みた中で赤色となるのは luteolin 並びに其の 7-glucoside のみであつた (Table V). flavanone 類に就いては Pew は kaempferol, quercetin に相当するもののみしか試みていないが、著者は更に fustin, ampeloptin も之と同様の結果を得る事を確めた (Table VI). flavanol 類は (A) 反応に就いては前述の如くであり、flavone 類に比較すると赤色を帯びるもの多く 3 位の水酸基が呈色度に及ぼす影響大なる事を思わせる。(B) 反応は悉く無色乃至は微ピンク色で全く Pew の記載を拡張し得る事を知つた (Table VII). 但し之等の検体もアセタートにすると両反応共全く呈色しない。

flavanol-3-glucoside たる rutin に就き両反応を試みた所、(A) 反応は勿論 aglycone たる quercetin と同様な呈色をするが、(B) 反応によつては前記の如く quercetin は (−) なるに反し、呈色の発現は遅いが赤色に呈色し而も其の色調は安定な事を発見した。此の關係は kaempferol, quercetin, myricetin の 3-glucosides に就き試みた所、全く rutin の場合と同様であつた (Table VIII). 更に 3 位の水酸基が糖の代りにメチル基で結合されている種々のメチルエーテルに就き試みても同様であつた (Table IX). 即ち Zn+HCl に依る呈色は 3 位の水酸基が遊離の場合は (−) で糖或はメチル基が結合している場合には (+) になる事が確実となつた。一般に Mg + HCl に依る (A) 反応の色調は安定で容易に褪色しないのであるが、Zn+HCl による flavanone 呈色は紫色に富み呈色の発現も速かであるが、不安定で褪色し易い。然るに flavanol-3-glucoside 或は 3-methyl ether の Zn+HCl に依る呈色は発現は遅いが、安定で (A) 反応の場合と大差なく色調は赤色に富んでいる。

著者は以上の呈色反応を吟味するに当り、Mg+HCl 反応の詳細なる試験法の記載を文献中求めたが、National Formulary, Ninth Edition の rutin の実性反応の項に記載を見るのみであつた。其処で之を基にして実験の部

Table II Coloration of Chalcones

	Position of Substituents				m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl
	2'	4'	3	4				
(1)	-OH				88~89°	(−)	Colorless (−)	Colorless (−)
(2)	"			-OCH ₃	92~93°	(+) ?	"	"
(3)	"		-OCH ₃	-OCH ₃	114~115°	(+)	"	"
(4)	"	-OCH ₃			105~106°	(−)	"	"
(5)	"	"	-OCH ₃		113~114°	(+) ?	"	"
(6)	"	"	-OCH ₃	-OCH ₃	155~157°	(−)	"	"

Table III Coloration of Isoflavones

(G. = glucose)

	Position of Substituents						Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl
	5	6	7	3'	4'	5'					
(1)	-OH	-OCH ₃	-OH		-OH		Tectoridin	258°	(−)	Colorless (−)	Colorless (−)
(2)	"	"	-OG	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	Iridin	208°	(−)	"	"

Table IV Coloration of Flavanones.

(G.=glucose, R.=rhamnose)

Position of Substituents					Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl
	5	7	3'	4'					
(1)						72.5~75°	(-)	Colorless (-)	Colorless (-)
(2)	-OH	-OCH ₃		-OH	Sakuranetin	150°	(-)	Violet-red (+)	pale pink (-)
(3)	-OH	-OG.R.	-OH	-OCH ₃	Hesperidin	251°	(-)	Violet-red (+)	"
(4)	-OH	-OG.R.		-OH	Naringin	171°	(-)	Red-violet (+)	"

Table V Coloration of Flavones

Position of Substituents						Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl	Solubili- zation Test
	5	7	8	3'	4'						
(1)						Flavone	94~96°	(-)	colorless	pale yellow	(-)
(2)		-OH					238~240°	(-)	"	light yellow	(-)
(3)		-OH			-OH		312~315°	(+)	yellow	yellow	(-)
(4)		-OH			-OCH ₃	Pratol	259~261°	(+)	light yellow	light yellow	
(5)		-OH		-OH	-OH		320~325°	(+)	orange	orange	(±)
(6)		-OH		-OCH ₃	-OCH ₃		252~255°	(+)	orange	orange	
(7)	-OH	-OH				Chrysin	274~277°	(-)	yellow	yellow	(-)
(8)	-OH	-OH			-OH	Apigenin	340~345°	(+)	orange	orange	(-)
(9)	-OH	-OH			-OCH ₃	Acacetin	254~257°	(+)	yellow orange	orange	
(10)	-OH	-OH		-OH	-OH	Luteolin	323~325°	(+)	orange red (+)	violet red (+)	(+)
(11)	-OH	-OG.		-OH	-OH	Luteolin 7-glucoside	255°	(+)	orange red (+)	red (+)	(+)
(12)	-OH	-OH	-OCH ₃			Wogonin	200~203°	(-)	light orange red (+)	light orange red (+)

Table VI Coloration of Flavanonols

Position of Substituents							Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl
	3	5	7	3'	4'	5'					
(1)	-OH		-OH	-OH	-OH		Fustin	216~218°	(+)	violet red (+)	violet red (+)
(2)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH		Dystilin	230~232°	(+)	violet red (+)	violet red (+)
(3)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	Ampeloptin	239~241°	(+)	violet red (+)	violet red (+)

Table VII Coloration of Flavonols.

* Solubilization Test

Position of Substituents							Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl	*
	3	5	7	3'	4'	5'						
(1)	-OH						Fisetin	167~170°	(-)	lemon yellow	pale yellow	(-)
(2)	-OH					-OH		273~275°	(+)	yellow	yellow	(-)
(3)	-OH					-OCH ₃		249~251°	(+)?	lemon yellow	lemon yellow	
(4)	-OH			-OH	-OH			288~290°	(+)	orange red (+)	yellow	(±)
(5)	-OH			-OCH ₃	-OCH ₃			199~201°	(+)	orange	pale yellow	
(6)	-OAc			-OAc	-OAc			199~200°	(-)	colorless (-)	colorless (-)	
(7)	-OH		-OH					256°	(-)	lemon yellow	pale yellow	(-)
(8)	-OH		-OCH ₃					178~179°	(-)	lemon yellow	pale yellow	
(9)	-OH		-OH		-OH			300~302°	(+)	orange	pale yellow	(-)
(10)	-OH		-OCH ₃		-OCH ₃			194~195°	(+)	orange yellow	pale pink	
(11)	-OH		-OH	-OH	-OH			300°	(+)	orange red (+)	pale pink (-)	(+)
(12)	-OH		-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃			185~186°	(+)	orange (+)	colorless (-)	
(13)	-OAc		-OAc	-OAc	-OAc			200~201°	(-)	colorless (-)	colorless (-)	
(14)	-OH	-OH	-OH				Galangin	216~217°	(-)	pink (+)	colorless (-)	(-)
(15)	-OH	-OH	-OH		-OH			274~275°	(+)	red (+)	colorless (-)	(-)
(16)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH			313°	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)
(17)	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH		Quercetin	287~294°	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)
(18)	-OAc	-OAc	-OAc	-OAc	-OAc			196°	(-)	colorless (-)	colorless (-)	
(19)	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃		Rhamnetin	194~195°	(+)	orange red (+)	yellow (fading)	(-)
(20)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH		330° <	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)

G.=Glucose.
Ga.=Galactose.)
R.=Rhamnose.
* Solubilization Test

Table VIII Coloration of Flavonol-3-glucosides.

Position of Substituents							Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl	*
	3	5	7	3'	4'	5'						
(1)	-OH	-OH	-OH		-OH		Kaempferol Kaempferitrin Robinin	274~275°	(+)	red (+)	colorless (-)	(-)
(2)	-OR.	-OH	-OR.		-OH			201~203°	(+)?	orange (+)	orange (+)	
(3)	-Ga.R.	-OH	-OR.		-OH			217~219°	(+)	orange (+)	orange (+)	
(4)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH		Quercetin	313°	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)
(5)	-OG.R.	-OH	-OH	-OH	-OH		Rutin	186°	(+)	red violet (+)	red (+)	
(6)	-OR.	-OH	-OH	-OH	-OH		Qercitrin	183~185°	(+)	red violet (+)	red (+)	
(7)	-OG.	-OH	-OH	-OH	-OH		Isoquercitrin	217~218°	(+)	red violet (+)	red (+)	
(8)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	Myricetin	330° <	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)
(9)	-OR.	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	Myricitrin	195~197°	(+)	violet red (+)	red (+)	(+)

Table IX Coloration of Flavonol-3-methyl ethers.

* Solubilization Test

	Position of Substituents					Name	m.p.	with HCl	with Mg+HCl	with Zn+HCl	*
	3	5	7	3'	4'						
(1)	-OH	-OH	-OH			Galangin	216~217°	(-)	pink (+)	colorless (-)	(-)
(2)	-OCH ₃	-OH	-OH				285°	(-)	pink (+)	pink (+)	
(3)	-OCH ₃	-OAc	-OAc				176~177°	(-)	colorless (-)	colorless (-)	
(4)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃				142~145°	(-)	pink (+)	pink (+)	
(5)	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃				191~193°	(-)	orange yellow (+)	yellow orange (+)	
(5)	-OH	-OH	-OH		-OH	Kaempferol	274~275°	(+)	red (+)	colorless (-)	(-)
(6)	-OCH ₃	-OH	-OH		-OCH ₃		234°	(+)	red (+)	red (+)	
(6)	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	Quercetin	313°	(+)	red violet (+)	pale pink (-)	(+)
(7)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH		234~235°	(+) ?	red violet (+)	red violet (+)	(+)
(8)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃		157~158°	(+)	orange red (+)	orange red (+)	(-)
(9)	-OCH ₃	-OH	-OH	-OCH ₂ φ	-OCH ₂ φ		189~190°	(+)	red violet (+)	red violet (+)	
(10)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OCH ₂ φ	-OCH ₂ φ		122~123°	(+)	red violet (+)	red violet (+)	
(10)	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃		147~148°	(+)	orange red (+)	orange red (+)	(-)

記載の如き試験法を定めた。上述諸 Table 中の呈色は之に従つて行つた結果を示すものである。更に呈色反応を実施中の知見として、flavone, flavonol 類のメタノール溶液に無色の濃塩酸を滴下する場合に黄色になるか、或は黄色が濃くなるものは、2位のフェニル核上に水酸基或はメトオキシ基を有するもので、裸のフェニル基を有するものにはかかる現象は見られなかつた。此の事も化学構造研究上の一助となり得るであらう。

以上の知見は flavonol-3-glucoside を其の aglycone たる flavonol と識別する有力な手段を提供するものである。即ち植物体より glucoside を得て、之が Mg+HCl, Zn+HCl 反応で共に呈色するが、之を酸で加水分解して得たる aglycone が glucoside 同様に呈色するものは flavone-glucoside であり、呈色せざるものは flavonol-3-glucoside である事が判る。flavanonol 類も両反応で呈色するが、Zn+HCl に依る之の呈色は不安定で褪色し易く、且つ色調が特有の紫色を呈する事に依り区別し得られる。最近 meliternin⁶⁾ の如き flavonol-3-methyl ether も天然に見出されているが、之等に対しても化学構造研究上の手段として応用し得るものと考えられる。

Mg+HCl 反応, Zn+HCl 反応の呈色の差或は Zn+HCl に依る flavonol と flavonol-3-glucoside の間に於ける差を説明する反応機構は、文献中参考となるべき記載も散見されるが、之等に言及するには著者の実験データは猶乏しいので将来の研究に譲る。

本研究に使用した検体中 robinin, kaempferitrin, quercitrin, isoquercitrin は服部教授より fustin, sakuranetin, hesperidin, naringin, isoflavone 類は柴田教授より luteolin-7-glucoside は福地博士より分与されたものであり、rutin, myricitrin, wogonin は植物体より各抽出し、quercetin, myricetin は各 glucoside の加水分解に依り、distylin, ampeloptin は本研究第7報⁷⁾の還元法に依り製造したる他は悉く合成品で第6報⁶⁾記載の合成法に依つた。

以上の研究に対し絶えず御鞭撻を賜つた第一製薬株式会社社長篠田淳三博士、柳島工場長上枝誠一氏に謹んで謝意を表す。試料の合成に當つた太田元吉、吉川徹両君の労を謝す。貴重な標品を惠与せられた東京大学理学部植物学科服部静夫教授、医学部薬学科柴田承二教授、三共株式会社福地言一郎博士に厚くお御礼申上げる。最

6) L. H. Briggs, R. H. Locher : J. Chem. Soc. **1949**, 2157; C. A. **44**, 1498 (1950).

7) 清水, 吉川 : 本誌 **72**, 331 (1952).

後に常に激励の言葉を下さる恩師近藤，落合両先生に衷心より感謝の意を表す。

実 験 の 部

(1) Quercetin methyl ether の可溶化試験（太田元吉実験）

本研究第6報¹⁾の記載と全く同様にして行う（Table X）。

Table X Solubilization Test of Quercetin-Methyl Ethers

	Position of Substituents					mg. Weigh- ed	0.1 M Borax Solu- tion cc.	Mol. ratio Sample: Na	Unsolv. mg. Recov. mg.	Unsolv. % Recov. %	Deci- sion
	3	5	7	3'	4'						
(1)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	26.5	1.6	1 : 4	$\frac{0}{25.5}$	$\frac{0}{97}$	(+)
(2)	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	27.8	1.57	1 : 4	$\frac{25.6}{0}$	$\frac{92}{0}$	(-)
(3)	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	40.2	2.2	1 : 4	$\frac{38.9}{0}$	$\frac{95}{0}$	(-)
(4)	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	40.9	2.0	1 : 4	$\frac{39.5}{0}$	$\frac{96}{0}$	(-)

(2) 呈色反応

(a) 試薬 メタノール：再蒸留して使用する。塩酸：三共化学工業所製，規格特級，比重 1.18，無色。亜鉛：武田化学製化学用純粋，（無砒素）As 0.00002%以下，砂状。マグネシウム：武田化学製，リボン状のものを長さ 10 mm に切る。

(b) 試験法 約 3~5 mg の検体をメタノール 1 cc に溶解し，塩酸 2 滴を加える。若し此の際発熱したら冷却して後，亜鉛約 20~25 mg（スパーテル一ノ尖量）を加えて直ちに 5 分間劇しく振盪する。此の際にも最初発熱したら流水中で冷却する。10 分後に呈色度を観察する。若し疑わしい場合には 2~3 時間静置して呈色が褪色するや否やを観察する。褪色は（-）を意味する。マグネシウムは亜鉛の代りに一片を加えて上と同様に行う。

(c) 注意 亜鉛は市販の還元用亜鉛（不純物銅，鉄，鉛，カドミウム，砒素）でも代用し得る。但し此の場合，上の試験法の記載以上の時間放置すると不純物の為か呈色する場合がある。上記の試験法の時間では大体誤ることはない。微粉状なる為，砂状の無砒素亜鉛より良い場合がある。然し発熱する度は此の方が強い。冷却するのは glucoside 結合の切断を避ける為である。塩酸のみの添加による黄色化乃至は黄色の濃化は Table 中（+）で示し無色乃至は不変なるものは（-）で示したが，之等は塩酸無添加の対照と比較すると明かに判る。

第一製薬株式会社柳島工場

Summary

As a result of the comparison between solubilization tests using aqueous solution of borax and reduction coloration using magnesium and hydrochloric acid in flavones and flavonols, it was found that in order to effect the former reaction it would be necessary for the presence of hydroxyl groups in a certain position of flavones and flavonols while the latter reaction necessitated the presence of a certain number of hydroxyls or methoxyls. In this respect, the mechanism of these two reactions was found to be fundamentally different. Results of the reduction coloration by magnesium or zinc and hydrochloric acid carried out on various flavonoids are shown in Table I. Tables II to VII show individual results on these flavonoids. As shown in Table VIII, there is a distinct difference between flavonols and flavonol-3-glucosides, although coloration by magnesium and hydrochloric acid is the same in both cases. Flavonols do not color with zinc and hydrochloric acid but flavonol-3-glucosides color red by it. The same is true, as shown in Table IX, of those compounds in which methyl group is attached to

the hydroxyl in 3-position, instead of the sugar residue. These observations offer useful means for the distinction between flavonol-3-glycosides and flavonols.

(Received November 16, 1951)

98. 三橋監物：フェナントリジン誘導体の研究 (第6報¹⁾)

Kemmotsu Mitsuhashi: Studies on Phenanthridine Derivatives. VI.

(Pharmaceutical Faculty, University of Toyama*)

著者は本研究第2報²⁾で *N*-(*o*-アミノベンゾイル)-ベンジルアニリン及びその誘導体にブショル閉環反応を施して *N*-ベンジルフェナントリドン及び1,2,3,4-環に置換基を有するフェナントリドン類の合成に成功した事を報じた。この方法が5,6,7,8-環に置換基を有するフェナントリドンの合成にも適用し得るか否かを吟味する目的で次の経路で示す実験を行った。

o-ニトロベンゾイル-*N*-ベンジルアニリン (I) をラネー・ニッケル触媒, 常圧下に水素添加してアミン体 (II) を収率 90% で造り, (II) のメタノール・硫酸溶液をジアゾ化して (III) の溶液となし之に分子銅を加えればアルコールに比較的難溶性の白色針晶 (mp 178~179°) 及び易溶性の白色四角菱板晶 (mp 159~161.5°) を得る。

(a) アルコール難溶性針晶: この物質の分析実験値は C 76.82, H 5.17, N 4.402 であつて之を推定構造式 (IV) と (V) に就いての計算値と比較すれば,

ラスト法による分子量測定値は 572 を示した。

次にこの物質をオキシ塩化リンと五塩化リンと共に閉管内 130° に加熱し, その生成物を接触還元 (Raney-Ni, H₂) して得る成績体は白色微細針晶 (アルコール), mp 132° であつて, その分析実験値, C 72.86, H 5.14, N 6.78 を (イ) (ロ) (ハ) (ニ) の諸可能推定構造式のそれと比較すれば次の如くである。

* Okuda, Toyama.

1) 第5報: 本誌 71, 1235 (1951).

2) 三橋: 本誌 63, 177 (1943).