

日本産アザミ属植物から分離したフラボン体の
5-グルコシドの特性と同定*

岩科 司**・伊藤 勉***・大谷俊二****

IWASHINA, Tsukasa**, Tsutomu ITO*** and Shunji OOTANI****: Characterization
and Identification of 5-glucosides of Flavones Obtained
from Japanese *Cirsium* Species

(キク科アザミ属 (*Cirsium*) 植物の葉に含まれるフラボノイド化合物については、わが国では森田らの一連の分析研究によって apigenin と luteolin を基本骨格とした種々の誘導体が分離同定され、その様相が次第に解明されてきた (Lin *et al.* 1978, 森田 1976, 森田・清水 1963, 森田ら 1964, 1965, Morita *et al.* 1973, 中沖・森田 1959, 1960)。最近、著者ら (岩科ら 1988) もまた日本産アザミ属植物の分類に関連して9種類の葉のフラボノイドを分析し、pectolinarin (5, 7-dihydroxy-6, 4'-dimethoxyflavone 7-O-rutinoside) をアズマヤマアザミ (*Cirsium microspicatum* Nakai) から、pectolinarin と linarin (5, 7-dihydroxy-4'-methoxyflavone 7-O-rutinoside) をエゾノサワアザミ (*C. kamtschaticum* Ledeb. subsp. *pectinellum* (A. Gray) Kitam.) とノアザミ (*C. japonicum* DC.) から、また日本産アザミ属植物では従来報告のなかったフラボノール配糖体の kaempferol 3-O-glucoside を上記2種類のフラボンとともにカツラカワアザミ (*C. lucens* Kitam. var. *opacum* Kitam.), オハラメアザミ (*C. microspicatum* Nakai var. *kiotoense* Kitam.), トネアザミ (*C. nipponicum* (Maxim.) Makino var. *incomptum* (Franch. et Savat.) Kitam.) およびサワアザミ (*C. yezoense* (Maxim.) Makino) から、そして luteolin 7-O-glucoside をタチアザミ (*C. inundatum* Makino) から分離し、それぞれの化学構造を解明した。

今回は、前報に引きつづいて日本産アザミ属植物の化学分類学的な研究の一環として、カガノアザミ (*Cirsium kagamontanum* Nakai), イナベアザミ (*C. magofukui* Kitam.), ナガエノアザミ (*C. longepedunculatum* Kitam.) およびキセルアザミ (*C. sieboldii* Miq.) のフラボン成分の分離同定を行なった。

材料および方法

材料

実験材料として用いた4種のアザミ属植物の採集地は次の通りである。カガノアザミ：滋賀県滋賀郡志賀町武奈ヶ岳。イナベアザミ：滋賀県坂田郡伊吹町伊吹山。ナガエノアザミ：滋賀県高島郡マキノ町明王ノ禿。キセルアザミ：滋賀県高島郡マキノ町三国山。これらの植物はすべて東京大学

* Contribution from the Research Institute of Evolutionary Biology, No. 96.

** 国立科学博物館 筑波実験植物園。Tsukuba Botanical Garden, National Science Museum, Tsukuba, 305.

*** 北興化学工業(株), 〒461 名古屋市東区東桜, Hokko Chemical Industry Co. Ltd., Nagoya, 461.

**** (財)進化生物学研究所, 〒158 東京都世田谷区上用賀, The Research Institute of Evolutionary Biology, Tokyo, 158. 現在: 東京農業大学生物産業学部勤務, 〒099-24 北海道網走市八坂, Faculty of Bio-industry, Tokyo University of Agriculture, Abashiri-shi, Hokkaido, 099-24.

総合研究資料館の上野達也氏によって採集され、 腊葉標本として 東京大学理学部附属植物園標本館に納められている。

方法

フラボノイド化合物の分離・精製：イナベアザミ (125 g), カガノアザミ (22 g), ナガエノアザミ (20 g) およびキセルアザミ (21 g) の各新鮮葉をメタノールで抽出し、減圧下で濃縮する。濃縮液を 5°C で 1 夜放置すると淡黄色の微細針状晶 (1) が析出する。この結晶を濾集してエーテルで洗い、70% メタノールから再結晶するとフラボノイド (1) が得られる。結晶を濾別した母液 (水性メタノール溶液) をさらに濃縮し、展開溶液 BAW と 15% AcOH (Table 1 参照) による mass-PC にかけて、フラボノイド (2) と (3) とを分離した。これらのフラボノイドは Sephadex LH-20 カラム (溶出は 70% メタノール) によって最終的に純化された。

フラボノイド化合物の同定：単離されたフラボノイドは各種試薬添加による紫外・可視吸収スペクトルの測定 (Mabry *et al.* 1970, 林ら 1984), 酸加水分解とその生成物の調査 (Markham 1982) などによって同定された。

結果および考察

今回の実験に用いた 4 種の日本産アザミ属植物では二次元濾紙クロマトグラフィー (2D-PC) によって、いずれの種からも 3 種類のスポットが出現した (Table 1)。これらのスポットのうち、淡黄色の微細針状晶として得られた化合物 (1) は UV 下で芳香族有機酸 (例えば、カフェー酸 caffeic acid やフェルラ酸 ferulic acid) やそれらの誘導体に類似した青色の蛍光を示すが、しかしそれらとは明らかに異なり、PC (特に 15% AcOH) ではかなり低い Rf 値を示した (Table 1)。この物

Table 1. Chromatographic properties of flavone glycosides and their aglycones in leaves of four *Cirsium* species

Flavonoids	Rf values				Colors	
	BAW	BEW	TBA	15% AcOH	UV	UV/NH ₃
glycosides						
(1)	0.42	0.44	0.33	0.12	dull blue	bright yellow
(2)	0.57	0.49	0.49	0.11	blue	greenish blue
(3)	0.27	—	—	0.17	blue green	bright blue green
aglycones						
(1)	0.85	0.78	0.74	0.05	dark purple	greenish yellow
(2)	0.96	0.93	0.84	0.07	dark purple	greenish yellow
authentic apigenin	0.96	0.93	0.84	0.07	dark purple	greenish yellow
luteolin	0.85	0.78	0.74	0.05	dark purple	greenish yellow

BAW=n-BuOH/AcOH/H₂O (4: 1: 5, upper phase),
 BEW=n-BuOH/EtOH/H₂O (4: 1: 2.2),
 TBA=t-BuOH/AcOH/H₂O (3: 1: 1),
 15% AcOH=AcOH/H₂O (15: 85).

Table 2. UV spectral properties of flavone glycosides in leaves of four *Cirsium* species

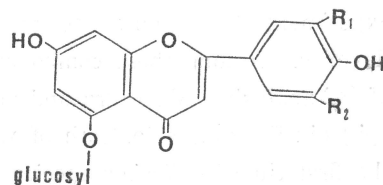
Flavones	λ_{\max} (nm)					
	in MeOH	+NaOMe	+AlCl ₃	+AlCl ₃ /HCl	+NaOAc	+NaOAc/H ₃ BO ₃
(1)	245sh	246	260sh	248sh	258	250sh
	342	309	375	345	311	306sh
		405↑		405sh	391	365
(2)	252	268	249sh	249sh	269	261
	260	316	260	260sh	304	333
	330	387↑	331	332	376	
				395sh		

sh=shoulder, ↑=remarkable in intensity relative to methanol spectrum.

質の酸加水分解で生成するアグリコンは典型的な 5-, 7-, 3'- および 4'-位に遊離水酸基をもつ luteolin 型のフラボン体であることが紫外・可視の吸収スペクトル特性によって示唆された (Table 2)。そこで相当する luteolin の結晶標品と co-PC によって比較したところ両者はよく一致した (Table 1)。また糖も基準標品との co-PC による比較から glucose と同定された。glucosyl 基の結合位置はもとの配糖体の吸収極大の移動, すなわちメタノール溶液中で Band II (短波長側の吸収ピーク) がきわめて小さいこと (A 環の遊離水酸基の減少), AlCl₃ 添加によって Band I (長波長側の吸収ピーク) の深色移動 (Bathochromic shift) が生ずるが, HCl 添加によってもとの吸収曲線がほぼ復活すること (5-OH の置換と B 環における隣接水酸基の存在), 酢酸ナトリウム (NaOAc) の添加により Band II に明瞭な深色移動の起ること (遊離の 7-OH の存在) などから, 5-位であることが判明し (Mabry *et al.* 1970), 化合物(1)は luteolin 5-O-glucoside (galuteolin) と同定された。

化合物(2)もまた 5-位の水酸基が欠失しているか, または置換されているフラボンやフラボノールに見られる特徴的な青色の蛍光を UV 下で示した。この配糖体はナトリウムメチラート (NaOMe) の添加で Band I の吸収強度の増加する深色移動が生じ (遊離の 4'-OH の存在), NaOAc の添加でも Band II の深色移動が生じる (遊離の 7-OH の存在)。しかしながら, AlCl₃ および AlCl₃/HCl の添加では顕著な吸収極大の移動が認められない (遊離の 5-OH の置換) (Table 2, Mabry *et al.* 1970)。また, 酸加水分解によって得られる生成物は基準の結晶標品との co-PC によって apigenin と同定され, 糖として glucose も検出された。これらの事実から glucose 分子は apigenin の 5-位の水酸基上にあると考えられるので, この化合物(2)は apigenin 5-O-glucoside と同定された。

第3の化合物(3)もまた UV 下で青色を示すことなどから, 上記2化合物と同様に 5-位に糖を結合したフラボンと推定され, BAW による PC で luteolin 5-O-glucoside よりもさらに低い R_f 値を与えることから, B 環の水酸基またはメトキシル基が luteolin (B 環の水酸基が2個) よりもさらに多いフラボンと考えられる。この化合物の構造は現在検討中である。



- R₁=R₂=H:
apigenin 5-O-glucoside (2)
R₁=OH, R₂=H:
luteolin 5-O-glucoside (1)
R₁=R₂=OCH₃:
tricin 5-O-glucoside

Fig. 1. Structures of flavone 5-O-glucosides isolated from *Cirsium* species.

植物界で知られているフラボノイド配糖体のうちで、4-位にカルボニル基を持たないアントシアニンを除くと、5-位の水酸基に糖を結合するものは少ない (Harborne and Williams 1988)。それは5-位の水酸基と4-位のカルボニル基の間の水素結合のせいであるといわれている (Harborne 1967)。今回検出された apigenin および luteolin の 5-O-glucosides もまた極めてまれな配糖体で、前者はマメ科のイタチハギ (*Amorpha fruticosa* L.) の葉 (後藤・溪 1938) で、後者は同じくマメ科のヒトツバエニシダ属 (*Genista*) 植物の葉 (Harborne 1969)、セリ科の *Torilis* 属植物の葉 (Harborne 1967)、キク科の *Cotula turbinata* L. (Glennie and Harborne 1971) などで知られているにすぎない。アザミ属では以前に *Cirsium arvense* (L.) Scopili (*Carduus arvensis*) で triclin 5-O-glucoside (Fig. 1) が知られており (Wallace 1974)、今回のイナベアザミ、カガノアザミ、ナガエノアザミおよびキセルアザミからの apigenin および luteolin の 5-O-glucosides の検出とあわせて、これらの配糖体のアザミ属での存在は化学分類学的見地から非常に興味深いことである。

今回の分析に用いた4種のアザミ属植物のうち、カガノアザミからは以前に pectolinarin が、またキセルアザミからは luteolin 7-O-glucuronide が報告されている (中沖・森田 1960, 森田ら 1965)。しかし本研究では、UV 下で非常に特徴的な蛍光をもつフラボン体の 5-O-glucosides のみが検出された。このことは、これらのアザミ属植物にフラボノイド組成の変異があることを示唆しており、個々のアザミ属の種の化学的特徴を明確にすることと平行して、それぞれの種の集団間でのフラボノイド組成をも調査する必要があると思われる。

謝 辞

本研究にあたって終始ご指導を頂いた(財)進化生物学研究所主任研究員林孝三博士に篤く感謝の意を表す。また、植物材料の収集と同定をお願いした東京大学総合研究資料館植物部門上野達也氏および本論文作成にあたって懇切な指導と校閲の労を賜った国立科学博物館筑波実験植物園園長黒川 進博士にも深甚な謝意を表す。

Summary

In a series of our flavonoid survey in Japanese *Cirsium* species, the flavonoid compounds in leaves of *C. magofukui* Kitam., *C. kagamontanum* Nakai, *C. longepedunculatum* Kitam. and *C. sieboldii* Miq. were studied. The four *Cirsium* species treated in this experiment were shown to have a similar flavonoid pattern involving three kinds of flavones. Among these components, two kinds of glycosides were determined, by means of PC-analysis, UV-spectra and acid hydrolysis, as luteolin 5-O-glucoside (galuteolin) and apigenin 5-O-glucoside, both of which are quite rare in nature, and were found here for the first time in *Cirsium* species.

文 献

- Glennie, C. W. and J. B. Harborne, 1971. Flavone and flavonol 5-glucoside. *Phytochemistry* 10: 1325-1329.
- 後藤良輔・溪 正夫, 1938. イタチハギの成分に就て (第一報)(イタチハギ葉部より 5,7,4'-Trioxo-flavone の分離). *薬学雑誌* 58: 933-938.
- Harborne, J. B., 1967. Comparative biochemistry of flavonoids—V. Luteolin 5-glucoside and its occurrence in the Umbelliferae. *Phytochemistry* 6: 1569-1573.

- , 1969. Chemosystematics of the Leguminosae. Flavonoid and isoflavonoid patterns in the tribe Genisteae. *Phytochemistry* 8: 1449-1456.
- and C. A. Williams, 1988. Flavone and flavonol glycosides. p. 303-328. In Harborne, J. B. (ed.), *The flavonoids: Advances in research since 1980*. Chapman and Hall, London.
- 林 孝三・岩科 司・川崎 勝・大谷俊二, 1984. ヒメシヤガ *Iris gracilipes* の花のフラボノイド成分. 進化生研研究報告 2: 75-83.
- 岩科 司・伊藤 勉・大谷俊二, 1988. 日本産アザミ属植物の葉から分離されたフラボノイド成分の同定とその特殊性. 筑波実験植物園研究報告 7: 149-158.
- Lin, C.-N., M. Arisawa, M. Shimizu and M. Morita, 1978. The constituents of *Cirsium japonicum* DC. var. *takaoense* Kitamura. Isolation of two new flavonoids, cirsitakaoside (IV) and cirsitakaogenin (VI). *Chem. Pharm. Bull.* 26: 2036-2039.
- Mabry, T. J., K. R. Markham and M. B. Thomas, 1970. The systematic identification of flavonoids. p. 35-164. Springer-Verlag, Berlin.
- Markham, K. R., 1982. Techniques of flavonoid identification. p. 37-51. Academic Press, London.
- 森田直賢・清水岑夫, 1963. 薬用資源の研究 (第21報). 日本産あざみ属の Flavonoid について その3. はまあざみの葉の成分について. 薬学雑誌 83: 615-618.
- ・福田昌子・清水岑夫, 1964. 日本産あざみ属植物の Flavonoid について (その4). おはらめあざみ, もりあざみ, しまあざみ, はくさんあざみ, やくしまあざみ, ひめあざみ, よしのあざみ, おいらんあざみ, おおのあざみ, えぞのきつねあざみの葉の成分について (薬用資源の研究 第23報). 生薬学雑誌 18: 9-11.
- ・———, 1965. 日本産あざみ属植物の Flavonoid について (その5). てりはあざみ, ぎょうじゃあざみ, びっちゅうあざみ, きせるあざみの葉の成分について (薬用資源の研究 第25報). 生薬学雑誌 19: 8-10.
- Morita, N., M. Shimizu and A. Arisawa, 1973. Two new flavone glycosides from *Cirsium lineare*. *Phytochemistry* 12: 421-423.
- 森田直賢, 1976. 植物の分類と成分の関連性について. 一特にフラボノイドの Chemotaxonomy への応用について一. 化学教育 22: 475-493.
- 中沖太七郎・森田直賢, 1959. 薬用資源の研究 (第13報). 日本産あざみ属植物の Flavonoid について その1. あずまやまあざみ, たてやまあざみ, のあざみ, ししあざみ, ふじあざみの葉の成分について. 薬学雑誌 79: 1338-1340.
- ・———, 1960. 薬用資源の研究 (第14報). 日本産あざみ属植物の Flavonoid について その2. かがのあざみ, たちあざみ, けはくさんあざみの葉の成分について. 薬学雑誌 80: 1296-1297.
- Wallace, J. W., 1974. Tricin 5-O-glucoside and other flavonoids of *Cirsium arvense*. *Phytochemistry* 13: 2320-2321.