Studies on the Flavonoids from the Fresh Seedling of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

ベニバナ芽生えに含まれるフラボノイドの分離および化学構造

Takao HONMA, Akira NARUSE, Yasuhiro MATSUHISA

Department of Industrial Chemistry, School of Engineering, Tokai University, 1117, Kitakaname, Hiratsuka-shi, 259-12, JAPAN. TEL. 0463-58-1211.

(Received 9, November 1989, Accepted 31, May 1990)

Luteolin-7-glucoside have been isolated from the fresh seedling of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). The chemical structure of Luteolin-7-glucoside as 3',4',5-trihydroxyflavon-7-O- β -D-glucoside is proved on the basis of chemical and spectroscopical evidences.

Key words: carthamus tinctorius, fresh seedling, flavonoids isolation, luteolin-7-O-glucoside

1. 緒言

ベニバナ(*Carthamus tinctorius* L.)は、植物分類学上ききょう目、きく科(Compositae)に位置し、古来より紅の製造原料および生薬等に広く用いられている。

ベニバナのフラボノイド類に関する研究は、古く1844年 Preisser 1)に始まり多くの報告があるが、それらの研究は筒花状の黄色および赤色色素の研究に集中し、筒花状以外でベニバナの葉を材料とした研究は、1960年中沖、森田ら 2)の報告を除いて他に見られない。

著者らは、カルタミン合成酵素の分離をベニバナ芽生えを材料として行った実験の際 3)、この幼植物中に数種のフラボノイド類の存在を確認した。本研究では、ベニバナを発芽させ1週間以内の芽生えを材料として温メタノールでフラボノイド類を抽出し、二次元ペーパークロマトグラフィーを行ったところ10種類のフラボノイド類を確認することができた。その中で、NH₃/UV下で黄色の発色をするクロマトグラムをSLF-9と仮称し、それを単離、その化学構造を明らかにしたので報告する。

2. 方法

2-1. ベニバナ種子の芽生え

国産ベニバナ(最上ベニバナ)種子を一晚流水に浸漬し、1000倍に希釈したウスブルン液で約一時間消毒した後、湿らしたVermiculite上にまき、暗所(28℃)で発芽させた。5~7日間で長さ平均4cm

に達した暗所発芽体を本実験に用いた。

2-2. フラボノイド類の抽出、分離

暗所発芽体5.3kgを温70%メタノールに浸漬しメタノール抽出物を濃縮後、n-ヘキサン洗浄を行った。ついでn-ブタノール抽出を2回行い、下層を濃縮し、Polyvinyl polypyrrolidone(以下PVPと略す)にフラボノイド類を吸着させ、糖その他を水で展開後、70%メタノールでフラボノイド類を溶出させた。さきのn-ブタノール抽出物とPVPカラム溶出物を濃縮後セルロースカラムクロマトグラフィー(7X150cm)を用い展開溶媒n-ブタノール：酢酸：水=4：1：2(vol.比)で分離精製を行った。

得られたSLF-9分画を濃縮後メタノールで再結晶を2回行い、融点235~238℃の結晶44.4mgを得た。

2-3. SLF-9の加水分解

SLF-9 10mgに2N-塩酸5.0mlを加え、70分間還流加熱し、冷却後遠心分離により得られた黄色沈澱物を十分に水洗し、メタノールからの再結晶を繰り返す。SLF-9 Aglycone 5.1mg(融点 326~327℃)を得た。遠心分離上澄液は中和し、減圧濃縮乾固し、メタノールを加え不溶物をろ別し、ろ液を減圧濃縮後デシケーターにて充分乾燥させ、糖の同定のための試料とした。

3. 結果および考察

3-1. SLF-9のIR吸収スペクトル

SLF-9は融点 235~238℃の黄色粉末結晶、SLF-9 Aglyconeは融点 326~327℃の黄色針状の結

Table.1. UV spectral data for SLF-9 and SLF-9 Aglycone

	$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm)	$\Delta \lambda_{\text{max}}$ (nm)				
		NaOMe	NaOAc	NaOAc +H ₃ BO ₃	AlCl ₃	AlCl ₃ +HCl
SLF-9	257 Band(II)	8	0	3	16	15
	350 Band(I)	39	2	17	64	5
SLF-9 Aglycone	255 Band(II)	2	14	5	12	15
	350 Band(I)	51	7	17	56	1

晶であった。

SLF-9 のIR吸収スペクトルでの各官能基の伸縮振動 $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ は：3400, 2950, 2900, 1655, 1605, 1495, 1440, 1260, 1175, 1070, 840であり、SLF-9 Aglyconeの IR吸収スペクトル $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ は：3370, 1650, 1605, 1505, 1440, 1360, 1258, 1165, 840であった。いずれもフラボノイド骨格に特徴的な共役カルボニル伸縮振動、また芳香族骨格振動の吸収が見られた。

3-2. SLF-9 のUV吸収スペクトルと

マススペクトル (MSスペクトル)

SLF-9 のメタノール溶液中でのUV吸収スペクトルの吸収極大値 $\lambda_{\text{max}}(\text{nm})(\log \epsilon)$ は、254(4.61), 350(4.59)、またSLF-9 Aglyconeの $\lambda_{\text{max}}(\text{nm})(\log \epsilon)$ は255(4.40), 350(4.44)であり、450nm 以上に吸収をもたない。これは一般のフラボン骨格を有するB環を含むシンナモイル系を主体とするBand I 280~400nm、A環のベンゾイル系に由来するBand II 240~280nmに2つの吸収極大をもつことに一致している 4)。

Table. 1 にNaOAc, NaOMe, AlCl₃ 等を添加したときのSLF-9 およびSLF-9 AglyconeのUV吸収スペクトルの結果を示した。まず、NaOMe を少量加えて直ちに測定したときは、SLF-9で39nm、SLF-9 Aglyconeで51nm長波長シフトし、さらに添加ししばらく放置するといずれの吸収もBand IIの吸収が減少した。これはB環の4'位、または3'、4'位にOH基の存在を推定させる。つぎに、NaOAc を添加した場合、SLF-9 はBand IIに変化なくBand Iに2nmのシフトが見られ、SLF-9 AglyconeではBand IIに14nm、Band Iに7nmの長波長シフトが見られたことにより、SLF-9 Aglyconeの7位にOH基の存在が推定されたがってSLF-9 では糖の置換位置が7位と推定することができる。さらにNaOAc+H₃BO₃添加の場合、SLF-9、SLF-9 Aglycone 両者ともBand Iが17nm長波長シフトすることより、B環上にO-ジヒドロキシ

グループがあることが予想される。AlCl₃ を添加した場合、SLF-9 ではBand Iが64nm、Band IIが16nm長波長シフトし、AlCl₃/HCl を添加した場合Band IIに15nmの長波長シフトが見られることよりB環上の3'、4'位にOH基の存在が、またA環上の5位にOH基の存在が推定される。SLF-9 Aglyconeにおいても同程度のシフトが見られるので隣接水酸基の存在が考えられる 5)。

SLF-9 AglyconeのMSスペクトル分子イオンピークの値よりC₁₅H₁₀O₆(286)の分子式をもつものと推定した。MSスペクトルにおいてA環に由来する

B環上3'、4'位の水酸基の存在が予想される。

3-3. 結合糖の同定

結合糖はセルロースTLC (展開溶媒 vol. 比ノ n-ブタノール：酢酸：水=4：1：2、メタノール：ピリジン：水：酢酸=6：6：4：1、i-ブタノール：ピリジン：水：酢酸=12：6：4：1 i-プロパノール：ピリジン：水：酢酸=8：8：4：1、発色剤ノアニリンフタル酸)と、TMS化したガスクロマトグラフィー分析の結果、いずれの場合もD-glucose を示唆する結果となった。

3-4. SLF-9 Aglyconeの¹H-NMRスペクトル

Fig-1 にSLF-9 Aglyconeの¹H-NMRスペクトルを示す。7.4~6.0ppm に1個の孤立プロトンを含む6個のベンゼン環上のプロトンが、また低磁場に4個のOHプロトンが認められる。これらのプロトンはこれまでの事実と合わせて次のように帰属できる。すなわち、最も低磁場側12.98ppm(1H, s)は4位のカルボニル基と水素結合をしている5位のOHプロトン、10.83ppm(1H, s)は7位OH、9.92ppm(1H, s)は

4' 位OH、9.41ppm(1H,s)は3' 位OH、7.41ppm(1H,d)は2' 位CHプロトンでメタ位の6' 位のプロトンとカップリング(J=2.3Hz)して二重線となり7.40ppm(1H,dd)は6' 位のCHプロトンで、隣接する5' 位のプロトンとカップリング(J=8.4Hz)し、さらにメタ位の2' 位のプロトンともカップリング(J=2.3Hz)して4本に分れている。6.89ppm(1H,d)は5' 位のプロトンで隣接する6' 位のプロトンとカップリング(J=8.4Hz)し二重線となっている。6.67ppm(1H,s)は他のプロトンの影響を受けていない3位CHプロトンで、6.45ppm(1H,d)は6位CHプロトン6.19ppm(1H,d)とカップリング(J=2.0Hz)している8位CHプロトンであり、それぞれ二重線となっている。

3-5. SLF-9 とSLF-9 Aglyconeの¹³C-NMR スペクトル

SLF-9 Aglyconeの¹³C-NMR スペクトル(Fig.2)では15本のシグナルが見られ、この数は分子式C₁₅H₁₀O₆のフラボノイド骨格の炭素数に一致する。これらのシグナルは9本の一重線と6本の二重

線とからなっている。

SLF-9(Fig.3)とSLF-9 Aglyconeの¹³C-NMR スペクトルのシグナルの帰属は、構造の類似したフラボノイド配糖体およびそれらの誘導体のデータを参考に行った。帰属の結果は、Table.2 に示す通りである。

以上の結果より、SLF-9 Aglyconeは3',4',5,7-tetrahydroxyflavoneすなわち Luteolin と一致しSLF-9 はFig.4に示したLuteolin-7-O-D-Glucosideであると推定した。

4. 結言

1、植物からのフラボノイド類の単離操作の過程において、PVPの吸着クロマトグラフィーを行うことにより、糖類その他不要物を容易に取り除くことができ、目的物であるフラボノイドを容易に単離することが可能になった。

2、ベニバナ(*Carthamus tinctorius* L.)の芽生え中に、成葉中に見いだされているLuteolin-7-O-D-glucosideの存在を明らかとした。なお、暗所発芽

Fig.1. ¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz) spectrum of SLF-9 Aglycone

Fig.2. ^{13}C -NMR spectrum of SLF-9 Aglycone

Fig.3. ^{13}C -NMR spectrum of SLF-9 Glucoside

Table.2 ^{13}C -NMR spectra of SLF-9 Aglycone and SLF-9 glucoside (in DMSO-d_6)

Carbon No.	Aglycone	Glucoside
2	163.86(s)	162.92(s)
3	102.84(d)	103.12(d)
4	181.62(s)	181.85(s)
5	161.44(s)	161.11(s)
6	98.79(d)	99.51(d)
7	149.66(s)	150.00(s)
8	93.80(d)	94.68(d)
9	145.70(s)	145.78(s)
10	103.67(s)	105.32(s)
1'	121.47(s)	121.30(s)
2'	115.98(d)	115.95(d)
3'	157.25(s)	156.92(s)
4'	164.08(s)	164.45(s)
5'	113.34(d)	113.52(d)
6'	118.95(d)	119.13(d)
1''		99.87(d)
2''		73.09(d)
3''		77.14(d)
4''		69.53(d)
5''		76.37(d)
6''		60.59(t)

Fig.4 Structure of SLF-9

体中に、成葉中に存在するフラボノイドが合成されている事実は生合成の立場から大変興味深く、現在この点を検討中である。

References

- 1) F.Preisser, J.Pr.Chem. [i] 32 (1844) 142
- 2) T.Nakaoki and N.Morita,Yakugaku Zasshi 80(1960) 1473
- 3) T.Honma, M.Sawaguchi, H.Kawai, Y.Takahashi and K.Saito, Acta. Soc. Bot. Pol. 54(1985) 403
- 4) K.Hayashi, "Plants pigments". Yokendo. Ltd., Tokyo. (1980) 176-180
- 5) T.J.Mabry, K.R.Markham and M.B.Thomas, "The Systematic Identification of Flavonoids", Springer-Verlag. Berlin. (1970) 35-61