[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 53, No. 1, pp. 13~15, 1979]

桑葉よりアストラガリンの単離†

内 藤 謙 一

(武田薬品工業株式会社 畜産事業部 畜産研究開発部)

昭和 53 年 7 月 13 日 受 理

Studies on the Micro Constituent in Mulberry Leaves Part IX. Isolation of Astragalin from Mulberry Leaves

Ken-ichi NAITO

*Department of Research and Development, Animal Health Products
Division, Takeda Chemical Industries, Ltd., Juso, Osaka 532*

A flavonoid was extracted from mulberry leaves with 80% methanol, and the physicochemical properties were as follows: mp. 193~6°C, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 267 nm (log ϵ 4.10), 350 nm (log ϵ 3.96), elementary analysis: C, 53.09%; H, 4.42%.

Kaempferol and glucose were detected by P.P.C using five solvents after hydrolysis, and binding site and number of glucose were decided by UV absorption and P.P.C. A mulberry flavonoid was identified finally as kaempferol-3-glucoside, Astragalin, by comparing with an authentic sample of Astragalin on the basis of IR spectra and the R_f values of P.P.C.

(Received July 13, 1978)

緒 言

桑葉中のフラボノイドとしては、今までにクエルセチン⁽¹⁾、イソクエルシトリン⁽²⁾、ルチン⁽¹⁾、モラセチン⁽³⁾等が報告されているが、これらはいずれもクエルセチンとその配糖体である。今回、桑葉よりアストラガリンを単離、同定したが、この色素はケンフェロールの配糖体で、中林によりゲンゲの花から単離、命名され、その後、ワラビ⁽⁵⁾、ホップ⁽⁶⁾、茶⁽⁷⁾、ヨウシュヤマゴボウ⁽⁸⁾、オニヤブソテツ⁽⁹⁾等からも分離されている。

桑葉中のフラボノイドのカイコに対する生理作用の一つとして摂食促進効果⁽¹⁰⁾が報告されている。

実 験 の 部

I) 桑葉よりフラボノイドの抽出

乾燥桑葉粉末 1 kg を用いて Fig. 1 のように抽出した。すなわち、乾燥桑葉粉末を 80% メタノールで抽出し、抽出液をエーテルと振盪してエーテル可溶物を除き、水層部に酢酸鉛を加えて生じる沈澱を濾去する。ついで濾液にアンモニアを加えて生じる沈澱を濾集し、水

Table I. Comparison of R_f Values

	Flavonoid from mulberry leaves	Hydrolyzate				Astragalin
		Aglycon	Kaempferol	Sugar	Glucose	
Solv. I ^a	0.79	0.72	0.75	0.46	0.45	0.80
II ^b	0.82	0.56	0.54	0.82	0.79	—
III ^c	0.77	0.88	0.88	0.20	0.20	0.77
IV ^d	0.74	0.94	0.94	—	—	—
V ^e	0.71	0.86	0.87	0.10	0.10	0.73

^a Phenol. ^b 60% acetic acid. ^c Buthanol: acetic acid: water=4:1:5. ^d Buthanol: acetic acid: water=4:1:1. ^e Buthanol.

† 桑葉中の微量成分に関する研究 (第 9 報), 文献 (3) 参照.

Fig. 1. Isolation of Astragalin from Mulberry Leaves.

に懸濁して硫化水素で脱鉛する。硫化鉛を除いた濾液を酢酸エチルで抽出し、酢酸エチル層を濃縮して得られた粗結晶を熱水より再結晶をくりかえして、純粋な結晶を得た。

II) 桑葉フラボノイドの同定

a) 桑葉フラボノイドの性質

桑葉より単離したフラボノイドは、淡黄褐色の小針状結晶で、冷水難溶、アルコール可溶で苛性アルカリ、アンモニアに溶解して黄色を呈する。呈色反応としては、モーリッシュ反応陽性、塩化鉄反応陽性（暗緑色）、Mg-HCl 反応陽性（Hg の存在下で赤橙色）、Zn-HCl 反応陽性（紅色）を示す。

融点 193~196°C, 紫外吸収スペクトルは $\lambda_{\max}$ 267 nm (log ϵ 4.10), 350 nm (log ϵ 3.96), アルコール

性酢酸ナトリウム添加では, $\lambda_{\max}$ 276 nm, 366 nm. 元素分析値は実験値: C, 53.09%; H, 4.42%; 理論値 ($C_{21}H_{20}O_{11} \cdot \frac{1}{2} H_2O$ として): C, 53.05%; H, 4.21%.

ペーパークロマトグラフィーの結果を Table I に示す。

b) 桑葉フラボノイドの加水分解 桑葉フラボノイドを 5% H_2SO_4 で加水分解して、析出するアグリコンを濾取し、濾液は糖の検索に用いた。

1) アグリコンの同定: アグリコンは黄色の結晶で冷水難溶、アルコール可溶で苛性アルカリ、アンモニアに溶解して黄色を呈する。呈色反応としては、モーリッシュ反応陰性、塩化鉄反応陽性（緑褐色）、Mg-HCl 反応陽性（Hg の存在下で橙黄色）、Zn-HCl 反応陰性。融点 276~278°C, 紫外吸収スペクトル $\lambda_{\max}$ 268 nm, 368 nm. 元素分析値は実験値: C, 62.48%; H, 3.61%; 理論値 ($C_{15}H_{10}O_6$ として): C, 62.94%, H, 3.52%。ペーパークロマトグラフィーの結果を Table I に示す。アグリコンはこれらの諸性質からケンフェロールを推定し、標品のケンフェロールと比較したところ、よく一致したのでケンフェロールと同定した。

2) 糖の同定: アグリコンを濾取した濾液を水酸化バリウムで中和し、硫酸バリウムを濾去した濾液を減圧濃縮してペーパークロマトグラフィーにかけたところ、Table I のようにグルコースによく一致したので糖部分をグルコースと同定した。

c) 桑葉フラボノイドの同定 桑葉から単離したフラボノイドは、ケンフェロールグルコシドであるので、次に糖の数と、その結合位置を検討した。

1) 糖の数: ケンフェロールグルコシドをブタノール: 酢酸: 水 = 4: 1: 5 の展開剤で展開すると、次のような規則性がある⁽¹¹⁾。Rf=0.70 (ケンフェロール-3-モノグルコシド), Rf=0.43 (ケンフェロール-3-ジグルコシド), Rf=0.31 (ケンフェロール-3-トリグルコシド) となり、結合する糖の数の増加にしたがって Rf 値が小さくなる。桑葉フラボノイドはその Rf 値から、モノグルコシドが予想される。

2) 糖の結合位置: 糖の結合位置として、3, 5, 7, 4' の -OH との結合が考えられるが、Zn-HCl 反応 (Pew's reaction) が陽性であること⁽¹²⁾、および長波長側の吸収 (350 nm) がアグリコンの長波長側の吸収 (368 nm) より 18 nm 短波長側に shift していることから⁽¹³⁾、3 位の -OH は結合している。4' の -OH の場合には 2~10 nm shift する⁽¹⁴⁾。

Fig. 2. IR Spectra of Mulberry Flavonoid and Authentic Astragalin (KBr).
I, Mulberry flavonoid; II, Astragalin.

次に短波長側の吸収 (267 nm) が, アグリコンの短波長側の吸収 (268 nm) とほとんど変わらないことから, 5位の -OH は free である⁽¹⁵⁾. さらに CH_3COONa を添加した際の短波長側の吸収が 267 nm から 276 nm に 9 nm 長波長側に shift していることから, 7位の -OH は free である⁽¹⁶⁾. 以上のことから, 糖の結合位置は3位の -OH が推定される. 糖の数およびその結合位置から, 桑葉フラボノイドはケンフェロール-3-グルコシドすなわちアストラガリンである可能性が高い.

そこで, アストラガリンの標品と同時にペーパークロマトグラフィーを行ったところ, Table I のようによく一致し, また赤外線吸収スペクトルも Fig. 2 のようによく一致したので, この桑葉フラボノイドをアストラガリンと決定した.

最後に, 標品のアストラガリンを供与していただいた岐阜大学農学部今村博之教授に厚く御礼を申しあげる.

また, 発表を許可された武田薬品工業株式会社畜産事業部長武田六郎博士ならびに畜産研究開発部長大和谷三

郎博士に深く感謝する.

- (1) 内藤謙一: 農化, **42**, 423 (1968).
- (2) 奥 正巳: 農化, **10**, 1029 (1934).
- (3) 内藤謙一: 農化, **42**, 450 (1968).
- (4) 中林敏郎: 農化, **26**, 539 (1952).
- (5) T. Nakabayashi: *Bull. Agric. Chem.*, **19**, 104 (1955).
- (6) P. R. Bhandari: *J. Chromatog.*, **16**, 130 (1964).
- (7) 大島康義, 中林敏郎: 農化, **27**, 756 (1953).
- (8) 太田達男, 宮崎利夫: 生薬, **10**, 7 (1956).
- (9) 岸本安生: 薬誌, **76**, 250 (1956).
- (10) Y. Hamamura, K. Hayashiya, K. Naito, K. Matsuura and J. Nishida: *Nature*, **194**, 754 (1962).
- (11) J. B. Harborne: *J. Chromatogr.*, **2**, 581 (1959).
- (12) 清水正夫: 薬誌, **71**, 1329 (1951).
- (13) T. A. Geissman: "The Chemistry of Flavonoid Compounds," Pergamon Press, 1962, p. 117.
- (14) T. A. Geissman: *ibid.*, p. 115.
- (15) T. A. Geissman: *ibid.*, p. 117.
- (16) L. Jurd and R. M. Horowitz: *J. Org. Chem.*, **22**, 1618 (1957).