ノート

[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi*
Vol. 54, No. 4, pp. 275~277, 1980]

だったんそば (*Fagopyrum tataricum*
Gärtner) 種子のフラボノイド

佐藤博二, 古川恵理, 坂村貞雄
(北海道大学農学部農芸化学科)

昭和 54 年 10 月 17 日 受 理

Isolation and Identification of Flavonoids
in Tatari Buckwheat Seed
(*Fagopyrum tataricum* Gärtner)

Hiroji SATO, Eri FURUKAWA
and Sadao SAKAMURA
Department of Agricultural Chemistry,
Hokkaido University, Sapporo

Five flavonoids were isolated from seeds of tatari buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gärtner). By the spectral analysis and the direct comparisons of the isolates and their hydrolyzed products with the authentic flavonoids, they were assigned as quercetin, kaempferol, kaempferol 3-rutinoside, rutin and quercetin 3-rutinoside-7-galactoside respectively. (Received October 17, 1979)

だったんそば (*Fagopyrum tataricum* Gärtner) は北方アジアの原産で、アジアの寒冷地でよく生育し、古くから中国で食用とされ、実は苦味があるところから、“にがそば”ともいわれる⁽¹⁾。われわれは前報⁽²⁾において普通の食用そば (*Fagopyrum esculentum* Mönch) の未熟種子のポリフェノール類の検索を行い、4種のケルセチン関連物質の単離・同定を行うとともに、完熟種子ではフラボノイドの種類と量が極端に少ないことを指摘した。

今回普通そばとの成分比較と栽培作物の品種保存上からも興味あるだったんそばの種子成分について研究を進め、ケルセチンを主成分 (含有 2.5%) とする5種のフラボノイドの単離・同定を行ったので報告する。

だったんそば種子 第二次大戦中、樺太からの引揚者によって持ち込まれ、その後北大農場で保存されていただったんそば (*F. tataricum*) を、当大学第一農場で

本実験用に栽培収穫したものである。

抽出と分画 だったんそば種子 (2kg) は粉碎後 70% エタノールでフェノール試薬陰性となるまで抽出した。アルコール抽出液はペーパークロマトグラフィー (以後 PPC と省略、溶媒系-A, *n*-ブタノール-酢酸-水 4:1:2 v/v) で展開するとフェノール試薬陽性スポット、FT-I (*R_f* 値 0.72) を主スポットとして少なくとも、他に FT-II (0.89), FT-III (0.57), FT-IV (0.47) および FT-V (0.10) の *R_f* 値を示す4スポットを認めた。70% エタノール抽出液は減圧濃縮し、遠心分離により析出する黄色沈殿部と上澄部に二分した。黄色沈殿部は熱エタノールに溶解し、析出する FT-I をエタノール-水から再結晶化精製を繰り返して行い、FT-I の黄色針状結晶 50g を得た。また再結晶化の際の母液には FT-I のほかに FT-II が含まれており、ケイ酸のカラムクロマトグラフィーを展開溶媒、ベンゼン-エタノール (9:1 v/v) で行い、FT-II の黄色針状結晶 230mg を得た。

上澄液は酢酸エチル抽出を行い、酢酸エチル抽出部と水層部にさらに二分した。酢酸エチル抽出部は濃縮し、ケイ酸 (Mallinckrodt 製 100 mesh)-セライト (90:30 w/w) とベンゼンで調製したカラムにかけ、ベンゼン中のメタノール濃度を段階的に変えて分画、それぞれ、FT-I, -II を含む Fr-1 区分、FT-III, -IV を含む Fr-2 区分、FT-IV, -V を含む Fr-3 区分の3区分に分画した。Fr-2 および Fr-3 区分はそれぞれ濃縮後、東洋濾紙 No. 50 を用いて調製用 PPC (溶媒系、酢酸エチル-ギ酸-水, 10:2:3 v/v) で精製を行い熱水から再結晶化し、FT-III は黄色結晶として 62mg, FT-IV は淡緑色針状結晶として 44mg を得た。

水層部は濃縮後、ポリアミド C-200 (和光製) を水で調製してカラムを造り、水中のエタノール濃度を変えてクロマトグラフィーを行い、水溶出部から FT-V を含む区分を、10% エタノール溶出部から FT-IV を含む区

	R ₁	R ₂	R ₃
FT-I	OH	H	H
FT-II	H	H	H
FT-III	H	rutinosyl	H
FT-IV	OH	rutinosyl	H
FT-V	OH	rutinosyl	galactosyl

Structures of Isolated Compounds.

分を得た。それぞれ濃縮後水-エタノールで結晶化を行い, FT-IV 440mg また吸湿性の強い粉末として FT-V 180mg を得た。

ケルセチン (FT-I) の同定 FT-I の融点は 300°C であった。FT-I を無水酢酸-ピリジンで一夜室温に放置してアセチル化を行い, アセテート, 融点 195°C を得た。アセテートの PMR (90 MHz)-スペクトルを測定すると $\delta_{\text{Me}_4\text{Si}}^{\text{CDCl}_3}$ 2.34 および 2.42 に合計 5 個分のアセチル基由来のプロトンシグナルが, また 6.88 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H, C-6) 7.32 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H, C-8) 7.35 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, C-5') 7.68 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H, C-2') 7.71 (dd, $J=2, 9\text{Hz}$, C-6') にベンゼン環上の 5 個のプロトンシグナルが認められた。PPC (溶媒系-A) および薄層クロマトグラフィー (溶媒系-B, ベンゼン-メタノール, 3:1 v/v) で標品ケルセチンと R_f 値が一致し, IR-スペクトラム (KBr) もケルセチンとよく一致することなどから, FT-I をケルセチン (3,3',4',5,7-pentahydroxy flavone) と同定した。

ケンフェロール (FT-II) の同定 FT-II は融点 268~272°C を示した。FT-II を常法により FT-II-アセテートに導き融点 125°C を示した。アセテートの MS (m/e) スペクトルを測定すると, M^+ は認められなかったが $412[M^+-C_2H_2O]$ が現われた。PMR-スペクトルを測定すると $\delta_{\text{Me}_4\text{Si}}^{\text{CDCl}_3}$ 2.34, 2.36 および 2.43 に 4 個分のアセチル基のプロトンが, 6.58 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H, C-6) 6.85 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H, C-8) 7.35 (d, $J=9\text{Hz}$, 2H, C-3', 5') 7.74 (d, $J=9\text{Hz}$, 2H, C-2', 6') のベンゼン環上の 6 個のプロトンが認められたこと, メタノール中における FT-II の UV-スペクトラムの測定値および各種試薬添加による移動値はケンフェロールの文献値⁽³⁾ とよく一致することから, FT-II をケンフェロール (3,4',5,7-tetrahydroxy flavone) と同定した。

ケンフェロール 3-ルチノシド (FT-III) の同定 FT-III は融点 180~186°C を示した, FT-III を 1N 塩酸で 100°C 1 時間環流することにより, 完全に加水分解されて沈殿物が生じた。加水分解液を濾別後, 濾液部は炭酸銀で中和し, 濃縮して PPC (溶媒系-A および -C, *n*-ブタノール-ピリジン-水, 6:4:3 v/v) を行い, L-ラムノースと D-グルコースを検出した。残留部はエタノールから結晶化し, 標品のケンフェロール (FT-II) と薄層クロマトグラフィー (溶媒系-B) および IR-スペクトラム (KBr) を比較し一致したことから, ケンフェロール

と同定した。FT-III を常法にしたがいアセチル化を行い FT-III-アセテートを得た。このアセテートの PMR-スペクトラムは δ 1.95~2.45 に 9 個分のアセチル基由来のプロトンが, δ 6.88~8.15 にケンフェロールのベンゼン環上の 6 個のプロトンが認められることにより, FT-III の構成モル比はケンフェロール:グルコース:ラムノース, 1:1:1 であり, また箱守法⁽⁴⁾により完全メチル化を行って得たメチル化物をメタノリシス後加水分解し, PPC (溶媒系, *n*-ブタノール-エタノール-水, 5:1:4 v/v) で展開し標品と比較することにより, 2,3,4-トリ-O-メチル-ラムノースおよび 2,3,4-トリ-O-メチル-グルコースを検出したことから, FT-III はケンフェロールにルチノースが結合していることが明らかとなった。FT-III のメタノール中での UV-スペクトルおよび各種試薬添加による移動値はケンフェロール 3-ルチノシドの文献値⁽⁵⁾ とよく一致した。したがって FT-III をケンフェロール 3-ルチノシドと同定した。

ルチン (FT-IV) の同定 FT-IV は融点 187~189°C を示した。加水分解によりケルセチン, グルコースおよびラムノースを標品と比較することにより同定した。常法により調製したアセテートは標品のルチンアセテートと IR- および PMR-スペクトラムを比較し, 完全に一致したので FT-IV をルチン (ケルセチン 3-ルチノシド) と同定した。

ケルセチン 3-ルチノシド-7-ガラクトシド (FT-V) の同定 FT-V は吸湿性の黄色粉末状物質として得た。塩酸による加水分解により, ケルセチン, グルコース, ガラクトースおよびラムノースを PPC (溶媒系-A, -C) にて標品と比較することにより同定した。FT-V を常法によりアセチル化を行いアセテート (融点 119~124°C) を得た。このアセテートの PMR-スペクトルでは δ 1.89~2.38 に 13 個分のアセチル基のプロトンが, δ 6.53~7.79 にケルセチンベンゼン環上の 5 個のプロトンシグナルが認められることから, FT-V はケルセチン:グルコース:ガラクトース:ラムノースが, 各 1:1:1:1 のモル比で構成されていることが明らかとなった。FT-V の UV-スペクトラムの吸収値はケルセチンの 3,7-ジグリコシドに相当する⁽³⁾。FT-V を β -グルコシダーゼ (P-L Biochemical, Inc. 製) により 37°C で一夜処理し濃縮後, 調製用 PPC (溶媒系-A) にて精製を行い, 糖区分とフラボノイド区分を得た。糖区分は PPC (溶媒系-A, -C) にて展開し, 標品と比較することによりガラク

トースを同定した。フラボノイド区分は常法によりアセチル化を行い、得たアセテートと標品のルチンアセテートと IR-スペクトラム (CHCl_3) を比較し完全に一致した。したがって FT-V は、ルチンの 7 位水酸基にガラクトースが置換したケルセチン 3-ルチノシド-7-ガラクトシドと同定した⁽⁶⁾。

だったんそば (*Fagopyrum tataricum* Gärtner) の種子より、5 種のフラボノイド-ケルセチン、ケンフェロール、ケンフェロール 3-ルチノシド、ルチン、ケルセチン 3-ルチノシド-7-ガラクトシド-を単離・同定した。だったんそばの葉や種子から、フラボノイドとしてはルチンが報告されている⁽⁷⁾。

以上得られた結果を基礎に、普通そばと比較するとき、完熟普通そば種子では微量しか含まれないフラボノイドが、だったんそば種子では多量に含まれ、そばの成分比較上から興味深い。種子の成熟に伴うそば果皮の褐変現象は、普通そばにあっては、未熟時の淡緑色から茶褐色を経て完熟時の烏黒色へと変化するのに対し、だったんそばでは淡緑色から茶褐色を経て、完熟時でも黒化せず、茶褐色にとどまる。普通そばとだったんそばの成熟に伴う果皮の褐変現象は異なり、この褐変化に関与する成分としてフラボノイドを中心とするポリフェノール成分が大きく関与しているものとみなされる。一方、

だったんそばは中国において、粉にひいた後蒸して黄汁を滴去してから食用に供されるが⁽⁸⁾、この黄汁には、本研究で明らかにされた、種子中 2.5% も含まれるケルセチンを主成分としたフラボノイドが浸出され、呈色に関与しているものと思われる。

本研究を行うに当たり、だったんそば種子をご提供くださいました北大農学部農芸化学科下村得治教授、ならびに栽培にご援助くださいました北大農学部付属農場実習部の皆さまに感謝いたします。

- (1) 菅原金治郎：農業技術大系，作物編 7，ソバ，農山漁村文化協会，東京，1977，p.基-13.
- (2) 佐藤博二，坂村貞雄：農化，**49**，53 (1975).
- (3) T. J. Mabry, K. R. Markham and M. B. Thomas: "The Systematic Identification of Flavonoids," Springer-Verlag, Berlin, 1970, p.119, 130, 131.
- (4) S. Hakomori: *J. Biochem.*, **55**, 205 (1964).
- (5) 福地言一郎：薬学雑誌，**59**，258 (1939).
- (6) C. A. Williams and J. B. Harborne: *Phytochemistry*, **10**, 1059 (1971).
- (7) T. Singh and K. L. Handa: *Bull. Reg. Res. Lab., Jammu*, **1**, 56 (1962) [*C. A.* **58**, 8850h (1963)].
- (8) 柴田桂太編：資源植物事典，北隆館，東京，1949，p.399.