ソバ地上部の生育ステージによる抗酸化能と フラボノイド組成の変動

渡辺 満*・伊藤美雪*

Changes in Antioxidative Activity and Flavonoid Composition of the Extracts from Aerial Parts of Buckwheat during Growth Period

Mitsuru WATANABE* and Miyuki ITO*

* National Agricultural Research Center for Tohoku Region, 4 Akahira, Shimokuriyagawa,
Morioka, Iwate, 020-0198

The DPPH radical-scavenging activities and polyphenol contents of methanolic extracts from aerial parts of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) during growth period were investigated. The total polyphenols in the extracts decreased from germination to 15 days after, but thereafter, it increased up to the 23rd day at early in the flowering time. Although the change in the DPPH radical-scavenging activity was similar to that of the total polyphenol content, the activity on the 23rd day was similar to or higher than that on the first. Whereas the HPLC pattern of the extracts during the early stage of development showed five main peaks including rutin, the number of peaks decreased with increasing days, and only rutin was detected on and after the 19th day. UV spectra of the peaks detected in the HPLC chromatogram of the extracts of buckwheat seedlings, revealed that they contained four flavonoid compounds except for rutin. Two peaks of the chromatogram, which were not detected by an electrochemical detector at +300 mV, were identified as vitexin and isovitexin by comparison with HPLC data of the isolated compounds from buckwheat hulls. Other two peaks, which were detected by electrochemical analysis, were isolated by Sephadex LH-20 chromatography, preparative HPLC with ODS and a polymer based column. They were identified as orientin and isoorientin by NMR and FAB-MS spectrometric data. The contents of these flavonoid compounds were abundant in buckwheat seedlings along with rutin.

(Received Aug. 29, 2001 ; Accepted Nov. 28, 2001)

ソバ (*Fagopyrum esculentum* Moench) の種実、粉食あるいは粒食といった形態の主食として、日本、韓国、中国及びその他の国で利用されている¹⁾。ソバ種実はイネ、コムギといった主要穀類と比較してタンパク質含量が12%²⁾と高く、タンパク質もコムギの67に対して81であり、組成も優れている。食物繊維含量は4.3%と白米の5倍程度含まれている³⁾こともあり、栄養的に優れた食品である。加えて穀類の中では唯一、毛細血管強化作用を有するフラボノイドのルチン含有し、強力なアンジオテンシン変換酵素阻害活性を有する食品でもあ

る⁴⁾。最近では、ソバタンパク質にはコレステロール降下作用等の活性が確認されていること⁵⁾⁶⁾、実や殻にはカテキン類やルチン以外のフラボノイド、プロアントシアニジンといったポリフェノール類も含有されていること⁷⁾⁸⁾が明らかとなっている。日本でのソバの利用部位は大部分が種実ということもあり、種実を摂取することの栄養学的及び生体調節機能面での利点が、急速に明らかにされつつある。

一方、最近芽物野菜(スプラウト)がビタミンAやE、ミネラルが豊富であり、自宅で無農薬栽培が可能なこと

* 独立行政法人 農業技術研究機構東北農業研究センター (〒020-0198 岩手県盛岡市下厨川字赤平4)

からも、食材として需要が増加している。グルコシレート等に由来する強い抗ガン性が指摘されているマスタートードやブロッコリーなどととも、ルチンを含有するソバもこうした利用の対象作物の一つとして注目されている。国内でもソバの野菜としての商品化の例は増えており、現在は一部の地域ではあるが利用の場面は増えてつある。これまでに、ソバ植物体のルチン含量は種実よりも多いことが明らかにされており⁹⁾、若葉については乾麺への利用、即ち加工用素材としての利用例がある。しかし、依然その利用はごくわずかなものとどまっているのが現状である。利用度の低い植物体を有効に利用するためにも、機能性を指標とした成分的検索が必要である。そこで本報告では、発芽直後から収穫したソバ地上部植物体を用い、生育ステージによるメタノール抽出物の抗酸化性の変動様式を調査した。さらに、その結果に基づき、幼植物に含まれる抗酸化物質を検索し、生育期間中の含量の変化を調査した。

実 験 方 法

1. 材料

抗酸化能の変動の調査には、階上早生および信濃 1 号の 2 品種を使用した。両品種は平成 11 年 8 月、東北農業研究センター圃場に播種し、発芽後 1 日から 43 日までの計 9 回、地上部をサンプリングした。生育状況は階上早生と信濃 1 号でほぼ同じであり、発芽後 1 日目ではどちらも子葉のみ展開しているが、4 日目から本葉が展開し始め、その後葉数が増加するとともに、階上早生では 15 日、信濃 1 号では 19 日目には花芽の形成が認められた。また発芽後 19 日目には、完全に子葉が消失した。開花はどちらも発芽後 24 日目には始まり、以降開花数は増加し、30 日目では未熟種子の形成が認められたが、43 日目の時点では成熟の指標となる黒化には至っていない。収穫後、植物体は 60℃ で通風乾燥し、振動粉砕器で粉末状にした。抗酸化物質の検索には、同様に生育させた発芽後 4 日目の植物体（岩手在来）を使用した。

2. 抽出およびポリフェノール含量、DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去活性測定法

調製した粉末は、抽出溶媒としてメタノールを使用し、80℃ の湯浴上で 1 時間還流加熱抽出した。これを遠心して沈殿物を除去後、減圧下で濃縮し粗抽出物とした。この粗抽出物について、Folin-Denis 法¹⁰⁾でポリフェノール含量、DPPH ラジカル消去活性測定法¹¹⁾で抗酸化活性を評価した。DPPH ラジカル消去活性測定の手順は以下のとおりである。粗抽出物 10 μ l を 4 ml の蒸留

水に加え攪拌し、250 μ M DPPH メタノール溶液 1 ml を添加した。10 秒間攪拌後、反応液を 30 分間放置し、517 nm の吸光度を測定した。なお、コントロールとして抽出物の代わりに水を添加したものの吸光度を 100% とし、吸光度の減少値を% 換算したものをラジカル消去活性とした。また、抗酸化物質の検索には、77 g の植物体乾燥物を使用し、抽出及び濃縮は上記と同様に行った。

3. Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー

抗酸化物質の単離用として調製した粗抽出物は、濃縮し沈殿物を遠心に除去後、99.5% エタノール（以下単にエタノール）で平衡化した Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー（46 mm $\times$ 910 mm）に添加した。添加後、エタノールで溶出、フラクションコレクターで回収し、280 及び 350 nm の吸光度を測定した。分画したフラクションは濃縮し、フェノール性物質を多量に含むフラクションをさらに HPLC による分取に供試した。

4. 分取 HPLC

(1) ODS カラム

Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにより分画したフラクションは、ODS カラムを接続した HPLC により繰り返しインジェクションを行い、ソバの実及び殻から単離していない主要 2 ピークを単離した。HPLC の条件は下記のとおりである。

カラム：Cosmosil 5C18-AR-II（ナカライテスク社製、20 mm $\times$ 250 mm）、移動相 A 液：メタノール：水：酢酸 = 5 : 92.5 : 2.5、移動相 B 液：メタノール：水：酢酸 = 95 : 2.5 : 2.5、流速 7.0 ml/min、グラジエント：A 液 100 ~ 37.5%，B 液 0 ~ 62.5%，分取時間：50 分、検出：UV 検出器（350 nm）。

(2) ポリマーカラム

ODS カラムによる分取フラクションの純度を高めるため、引き続きポリマー系カラムを接続した HPLC により、繰り返しインジェクションを行い、ピークを回収した。HPLC の条件は下記のとおりである。なお、移動相の組成は ODS カラムでの分取条件に同じである。

カラム：Shodex DE-2013（昭和電工製、20 mm $\times$ 300 mm、流速 7.0 ml/min、グラジエント：A 液 60 ~ 40%，B 液 40 ~ 60% 分取時間：40 分、検出：UV 検出器（350 nm）。

5. 分析 HPLC

下記条件で行った。移動相の組成は、分取 HPLC の条件に同じである。

カラム：Inertsil ODS（ジューエルサイエンス社製、4.6 mm $\times$ 250 mm）、流速 1.0 ml/min、グラジエント：A 液

100~20%, B液 0~80%, 分析時間: 48分, 検出: フォトダイオードアレイ検出器 (200 nm~400 nm) 及び電気化学検出器 (+300 mV).

6. 単離化合物の構造解析

(1) Fast-Atom Bombardment Mass Spectrometry (FAB-MS)

単離化合物の FAB-MS スペクトル (positive ion mode) は, 10 kV の加速電圧を用いた, JMS-AX505H (日本電子製) により測定した. マトリックスは *m*-tert-ブチルフェノールとグリセロールの混液を用い, 単離化合物と混合後, 6 kV のエネルギーで加速した Xe との衝突によりイオン化した.

(2) ^1H , ^{13}C NMR

単離化合物の ^1H (399.65 MHz) 及び ^{13}C NMR (100.40 MHz) スペクトルは, JNM-EX400 核磁気共鳴装置 (日本電子製) により, 溶媒として DMSO- d_6 を使用して測定した. ケミカルシフト値の決定には, DMSO- d_6 のピーク (^1H : δ 2.50, ^{13}C : δ 39.5) を基準とした.

(3) 2次元 NMR

単離化合物のスペクトル帰属のため, ^1H - ^1H COSY (Correlation Spectroscopy), ^{13}C - ^1H COSY (J_{CH} =140 Hz), COLOC (Correlation Spectroscopy via Long-range Coupling, J_{CH} =8 Hz) 測定を行った. DMSO- d_6 を測定用溶媒として使用した.

結 果

1. 生育期間中のソバ植物体抽出物のポリフェノール含量および DPPH ラジカル消去活性の変動

ソバ植物体抽出物のポリフェノール含量の変化を図1に示す. 用いた2品種で概ね同様の変動傾向を示した. 即ち, 植物体のポリフェノール含量は, 発芽後1日目が最も高く, 以降生育が進むにつれて15日目まで低下した. その後ポリフェノール含量は, 開花初期の発芽後23日目まで増加し, 以降はわずかに減少傾向にあった. また, DPPH ラジカル消去活性もポリフェノール含量と同様の変動傾向を示した (図2) が, 発芽後23日目の DPPH ラジカル消去活性は, 階上早生では発芽後1日目と同程度であり, 信濃1号では, わずかに発芽後1日目より高かった. また23日以降は階上早生と信濃1号で多少異なる傾向を示したが, 23日目と比較して, DPPH ラジカル消去活性は低下した.

2. 生育期間中のソバ植物体抽出物ポリフェノール組成の変化

植物体抽出物の HPLC クロマトグラム (350 nm) を図

図1 ソバ植物体メタノール抽出物の総ポリフェノール量

○, 信濃1号; ●, 階上早生. データは3回測定
の平均値±SD

図2 ソバ植物体メタノール抽出物の DPPH ラジカル消去活性

○, 信濃1号; ●, 階上早生. データは3回測定
の平均値±SD

3に示す. 発芽後1日目 (図3A) には5つの主要なピーク (化合物1-5) が認められた. このうち化合物5については, ソバの実⁷⁾ 及び穀⁸⁾ から単離しているルチンと HPLC のスペクトルデータが完全に一致したことから, ルチンと同定した. ルチン以外の4ピークの面積は生育が進むにつれて減少し, 発芽後19日目 (図3C) で完全に消失し, ルチンのみが認められた. なお, これ以降はクロマトグラムのパターンに大きな変化は認められなかった. また, 電気化学検出器 (+300 mV) を用いた分析では, ルチン及び化合物1, 2のピークのみが認めら

図 3 ソバ植物体メタノール抽出物の HPLC クロマトグラム (350 nm) の変化

A, 発芽後 1 日目; B, 発芽後 7 日目. C 発芽後 19 日目

れ, これら化合物はラジカル消去活性を有することが示された. 電気化学検出器でピークの認められなかった化合物 3, 4 については, HPLC クロマトグラムの保持時間及び UV スペクトルが, すでにソバ殻から単離しているビテキシン (アピゲニン-8-C-グルコシド) 及びイソビテキシン (アピゲニン-6-C-グルコシド)⁸⁾ と完全に一致したことから, それぞれ化合物 1: ビテキシン, 化合物 2: イソビテキシンと同一した. 以上の結果から, ルチン以外に主要成分の存在が示された発芽後 4 日目の植物体を用い, 抗酸化物質の単離を進めることにした.

3. ソバ幼植物の抗酸化物質の検索

(1) Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー

Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーのエタノール溶出物は, 3 つのフラクション (F₁-F₃) に分画した. このうち, 粗抽出物の HPLC クロマトグラムで認められた主要ピークを含む F₃ を用い, 抗酸化物質 1, 2 の単離を進めた.

(2) 単離化合物の同定

F₃ の主要ピークのうち, 未同定の化合物 1 及び 2 を分取 HPLC で単離した. それぞれの収量は化合物 1: 27 mg, 化合物 2: 18 mg であった. HPLC の各化合物ピークの UV データ (化合物 1: $\lambda_{\max}$ =256, 267, 294 sh, 346, 化合物 2: $\lambda_{\max}$ =255, 270, 347), 即ち Band I (300-550 nm) および Band II (240-280 nm) の存在から, フラボノイド骨格の存在が示された¹²⁾. 化合物 1, 2 及びルテオリンの ¹H, ¹³C NMR, 2 次元 NMR 測定から, これら化合物はいずれも構成糖がグルコースのルテオリン配糖体であることが示された. 化合物 2 のグルコースの結合位置は, COLOC 測定でグルコースのアノメリックプロトン (H1'') と, フラボノイド骨格の 5 位及び 6 位との間に交差信号 (²J 及び ³J) が認められた (図 4) ことから 6 位と決定した. これに対し, 化合物 1 では, H1'' に

図 4 化合物 2 の COLOC 測定によるグルコース結合位置の決定

表 1 化合物 1, 2 及びルテオリンの¹³C NMR データ

	化合物 1 (ppm)	化合物 2 (ppm)	ルテオリン (ppm)
C2	164.0	163.6	163.8
C3	102.2	102.6	102.8
C4	181.8	181.7	181.5
C5	160.3	160.6	161.4
C6	98.2	108.8	98.7
C7	163.0	163.6	164.0
C8	104.4	93.5	93.7
C9	155.9	156.2	157.2
C10	103.7	103.2	103.6
C1'	121.7	121.2	121.4
C2'	113.8	113.2	113.3
C3'	145.8	145.8	145.6
C4'	149.9	149.9	149.6
C5'	115.7	116.0	115.9
C6'	119.2	118.8	118.9
C1''	73.4	73.1	
C2''	70.8	70.5	
C3''	78.7	78.9	
C4''	70.8	70.2	
C5''	81.8	81.4	
C6''	61.6	61.4	

DMSO-*d*₆ を使用し 40°C で測定.

は交差信号は検出されなかった。そこで化合物 1 とルテオリンの¹³C NMR データ (表 1) を比較すると, C8 のみが 10.7 ppm 低磁場側にシフトしている。C-グリコシド結合したアグリコンカーボンのケミカルシフトは, 約 10 ppm 低磁場側にシフトし, 他のカーボンには影響がない¹³⁾ ことから, 化合物 1 ではグルコース結合位置は 8 位であることが判明した。これに加え, これら化合物のポジティブイオンモードの FAB-MS 分析では, いずれも 449 *m/z* の分子イオンが検出された。以上の結果から, 化合物 1 はオリエンチン (ルテオリン-8-C-グルコシド), 化合物 2 はイソオリエンチン (ルテオリン-6-C-グルコシド) と同定した (図 5)。

(3) ソバ植物体抽出物の生育期間内フラボノイド組成の変化

発芽後のソバ植物体抽出物中の, 各フラボノイド化合物含量の変化を図 6 に示す。信濃 1 号, 階上早生ともフラボノイドの組成変化は同様の傾向を示した。即ち, 発芽後 1 日目では, 6-C-グルコシルフラボン (イソオリエンチン, イソビテキシン) 含量が 8-C-グルコシルフラボ

R₁=Glucose, R₂=H : Orientin
R₁=H, R₂=Glucose : Isoorientin

図 5 化合物 1, 2 の構造

図 6 ソバ植物体メタノール抽出物の各フラボノイド含量

○, オリエンチン; □, イソオリエンチン; ◇, ビテキシン; ▲, イソビテキシン; ●, ルチン

ン (オリエンチン, ビテキシン) 含量よりも多く, ルチン含量もこれらフラボノイドと同程度である。この後, 結果のポリフェノール組成の変化で示したように, ルチン以外のフラボノイド化合物の含量は急速に減少した。これに対しルチン含量は, 発芽後 7~10 日後までは急速

に増加するが、以降は総ポリフェノール含量と同様の変動傾向を示した。即ち 15 日目まで減少し、23 日目まで再度増加、以降は減少する傾向にあった。

考 察

ソバの植物体は、かつては家畜の飼料として利用されてきた歴史を持っているが、最近では若葉の利用等に留まり、その利用はきわめてわずかである。これに対し幼植物は、カイワレソバ、あるいはソバモヤシとして利用が広がっており、身近な食材となりつつある。日本と同じくソバの食習慣のある韓国でも、タンパク質、脂質、ミネラル、ビタミン含量といった一般的な栄養成分については栽培条件による変化も調査されており、野菜としての利用が検討されている¹⁴⁾。

ソバに含まれるフィトケミカルとしては以前からルチンが知られており、種実同様、ソバモヤシの機能性成分としても注目されている。しかし、それ以外のフラボノイド、抗酸化物質の存在は全くと言ってよいほど、認知されていない。本論文で存在を示したルチン以外の C-グルコシルフラボンは、これまでもペーパークロマトグラフィーによる同定で、子葉中に存在が報告されているものである^{15)~19)}。しかし地上部の植物全体を対象とした、個々のフラボノイド化合物含有量の変動についての報告は認められなかった。本研究では初めに、ソバ植物体を機能性食品素材として評価、即ち発芽直後から生育期間を通じた抗酸化能及びポリフェノール量を調査し、幼植物の抗酸化能、ポリフェノール量がどちらも高いこと、即ち機能性食品素材として有用であることを明らかにした。次に幼植物から、2つの主要抗酸化物質を単離、NMR等の機器分析により同定し、生育期を通じてのフラボノイド化合物の含有量変化を初めて調査した。この他にも我々は、アントシアニンが発芽直後には多量に含まれており、その含有量は生育とともに減少していくことを把握しているが、定量値を含め詳しいことについては現在調査中である。

使用したいずれの品種でも、ソバ植物体のルチン以外のフラボノイドが発芽後 19 日目、即ち子葉が消失するとともに検出されなくなることは、これら化合物が子葉に特異的に存在する化合物であり、また本葉にはフラボノイドとしてはルチンのみが高濃度に含有されていることを示している。抗酸化活性の面からは、ルチンの豊富な花器²⁾の増加に伴う、開花初期にあたる発芽後 23 日目の植物体が、機能性食品素材として優れていることを示している。しかし開花初期におけるソバ植物体の特徴と

して、茎はすでに木質化により物理的に強固になっており、さらに花器にはルチン以外にも光増感物質であるアントラキノン類のファゴピリンも含有している²⁰⁾ことから、全体を野菜として利用することは困難である。この時期には、展開後の日数が浅い若葉であればルチン含量が高く、成分面からは、機能性食品素材としての利用価値が高いと考えられる。今後官能検査等も実施することにより、若葉の野菜としての利用可能性を探ることも必要と考えられる。

これまでに、ソバの生理活性物質としてよく知られているルチンについては、化合物としての活性は極めて詳細に明らかにされている²¹⁾。それ以外のフラボノイドについては、本実験でもオリエンチンやイソオリエンチンは電気化学検出器による分析で、カテコール構造に起因するラジカル消去活性を有することが示された。この他にもオリエンチンには抗炎症、cAMP-ホスホジエステラーゼ阻害、ガン予防といった効能が報告されており、ピテキシンについても、抗炎症、抗不整脈、血圧降下、ガン予防といった効能、イソピテキシンには抗腫瘍性が報告されている²⁰⁾。生活習慣病や種々の病態の原因となる活性酸素の消去作用、即ち抗酸化性を有する食品には、特に疾病の予防効果が期待できることから、高い抗酸化能を有し、種実とは異なるフラボノイド組成を有するソバ幼植物には、特徴的な生理機能の存在が期待される。種々の生理活性を有するルチンを含め、フラボノイド化合物含量の高いソバ幼植物を食品として摂取した場合の、各化合物の生体内での動態を含め、具体的効能については今後動物実験により確認を進めていく予定である。

今回供試したサンプルは露地で生育させたものであるが、実際にソバの芽物野菜、あるいはモヤシとして市場に流通している商品は、環境条件を制御した施設栽培のものが大部分であり、生育日数に対する生育量、形状等は両者で異なっている。従って今後は、環境条件によりフラボノイド組成、含有量がどのように変動するかを調査し、機能性食品素材として適した栽培条件を明らかにする必要がある、現在検討中である。

要 約

ソバ植物体の生育時期を通してのポリフェノール含量及び抗酸化能 (DPPH ラジカル消去活性) の変動を調査し、その結果を基に、発芽後 4 日目の幼植物に含まれる主要成分を検索し、同定物質の含量変化を調査した。

(1) ソバ 2 品種 (階上早生、信濃 1 号) の地上部植物

体を発芽後 43 日まで収穫し、メタノール抽出物のポリフェノール含量及び DPPH ラジカル消去活性を測定した。その結果どちらについても、発芽直後が高かった。

(2) 発芽直後の HPLC クロマトグラムでは、ルチン以外に 4 つの主要ピークが認められた。これら 4 つのピークの面積は発芽後減少を続け、19 日目にはルチンのみが認められるようになった。

(3) 発芽後 4 日目の植物体 (岩手在来) を使用し、HPLC クロマトグラムの主要ピークを同定した。その結果、ソバ殻から単離しているビテキシン、イソビテキシンに加えてラジカル消去物質として、オリエンチン、イソオリエンチンを同定した。

(4) 発芽直後には、ルチン以外にもフラボノイド化合物が高含量含まれていることが明らかとなり、ポリフェノールの供給源、即ち機能性食品素材としてソバ幼植物が有用であることを明らかにした。

本研究を実施するに当たり、東北農業研究センター業務第一科・千葉勝義氏には、栽培及びサンプル調製に尽力いただきました。ここに記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 池田清和 : New Food Industry, 38 (10), 67 (1996).
- 2) 科学技術庁資源調査会編 : 五訂日本食品標準成分表 (2000).
- 3) 科学技術庁資源調査会編 : 日本食品食物繊維成分表 (1992).
- 4) SUZUKI, T. ISHIKAWA, N. and MEGURO, H. : *Agric. Chem. Soc. Jpn.*, 57, 1143 (1983).
- 5) KAYASHITA, J., SHIMAOKA, I. and NAKAJOH, M. : *Nutrition Research*, 15, 691 (1995).
- 6) KAYASHITA, J., SHIMAOKA, I. NAKAJOH, M. and KATO, N. : *J. Nutr. Biochem.*, 7, 555 (1996).
- 7) WATANABE, M. : *J. Agric. Food Chem.*, 46 (3), 839 (1998).
- 8) WATANABE, M., OHSHITA, Y. and TSUSHIDA, T. : *J. Agric. Food Chem.*, 45 (4), 1039 (1997).
- 9) HAGELS, H., WAGENBRETH, D. and SCHILCHER, H. : *Current Advances in Buckwheat Research*, 801 (1995).
- 10) AOAC Official Methods of Analysis 14th edn., 187 (1984).
- 11) 玉川浩司・飯塚崇史・小堀真珠子・新本洋士・津志田藤二郎 : 食科工, 45 (7), 420 (1998).
- 12) MARKHAM, K.R. : *Techniques of Flavonoid Identification* (Academic Press, London), p. 37 (1982).
- 13) MARKHAM, K.R. : *Techniques of Flavonoid Identification* (Academic Press, London), p. 82 (1982).
- 14) BYUNG, H.C., KEUN, Y.P. and RAE, K.P. : *Korean J. Crop. Sci.*, 37 (1), 86 (1992).
- 15) MARGNA, U., HALLOP, L., MARGNA, E. and TOHVER, M. : *Biochim. Biophys. Acta*, 136, 399 (1967).
- 16) MARGNA, U., and MARGNA, E. : *ENSV TA Toimet. Biol.*, 18, 40 (1969).
- 17) MARGNA, U., and MARGNA, E. : *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 173 (2), 2 (1978).
- 18) MARGNA, U., and MARGNA, E. : *Soviet Plant Physiol.*, 29, 223 (1982).
- 19) MARGNA, U., and MARGNA, E. and PALUTEDER, A. : *J. Plant Physiol.* 136, 166 (1990).
- 20) SAMEL, D., DONNELLA-DAENA and DEWITTE, P. : *Planta Medica*, 62, 106 (1996).
- 21) DUKE, J.A. : *Handbook of biologically active phytochemicals and their activities* (CRC Press, Boca Raton) (1992).

(平成 13 年 8 月 29 日受付, 平成 13 年 11 月 28 日受理)