

ミズキ属 (*Cornus*) 植物の葉に含まれるフラボノイド配糖体 I.
ミズキ, クマノミズキ, *C. darvasica* および
C. drummondii のフラボノイド

岩科 司*・八田洋章*

IWASHINA, Tsukasa* and Hiroaki HATTA*: The Flavonoid Glycosides in
the Leaves of *Cornus* Species I. The Flavonoids of *C. controversa*,
C. brachypoda, *C. darvasica* and *C. drummondii*

ミズキ属 (*Cornus* L.) は北半球の温帯域を中心に約40種 (大井 1983) ないし60種 (陳 1982) が知られている。本属は花序の形態その他の変化に富む種群を含み、通例これを5~8の節 (Hooker 1867, Rehder 1949) または亜属 (Wangerin 1910, Ferguson 1966a, b) に分類する。さらに研究者によってはミズキ属を4 (Hara 1948) ないし6属 (Hutchinson 1967) に細分したりする。

ミズキ属植物に含まれる主要化学成分としては従来, cornin, loganin, secologanin, geniposide などのイリドイド配糖体 (iridoid glycosides), salidroside, hydroxycyclohexadienone-glucoside のようなシキミ酸由来のキノール配糖体 (quinol glycosides), および β -1, 2, 3-tri-*O*-galloyl-4, 6-(*S*)-hexahydroxydiphenoyl-D-glucose や 2, 3-di-*O*-galloyl-4, 6-(*S*)-hexahydroxydiphenoyl-D-glucose のような水溶性および縮合性のタンニンがよく知られている (Jensen *et al.* 1973a, b, c, d, e, 1975, Bate-Smith *et al.* 1975, 遠藤・田口 1973, Wieffering 1966, Haddock *et al.* 1982)。これらの二次代謝産物のうちで、今まで化学分類学的指標として用いられてきた成分はイリドイドおよびキノール配糖体で、これらの物質の有無により、ミズキ属が2つのグループに大別された。すなわち一つはアメリカミズキ (*C. amomum* Mill.), *C. bretschneideri* Henry, *C. foemina* Mill. などの *Kraniopsis* 亜属 (亜属名は Ferguson, 1966a に従う。以下同様) とミズキ (*C. controversa* Hemsl.), *C. alternifolia* L. などの *Mesomora* 亜属のグループで、キノール配糖体の hydroxycyclohexadienone-glucoside と salidroside を含む。一方、もう一つは *Afrocrania* 亜属 (*C. volkensii* Harms), *Cornus* 亜属 (セイヨウサンシュユ *C. mas* L., サンシュユ *C. officinalis* Sieb. et Zucc. など), *Arctocrania* 亜属 (ゴゼンタチバナ *C. canadensis* L. とエゾゴゼンタチバナ *C. suecica* L.), *Discocrania* 亜属 (*C. disciflora* Mocino et Sesse), *Cynoxylon* 亜属 (アメリカヤマボウシ *C. florida* L. など) および *Benthamia* 亜属 (ヤマボウシ *C. kousa* Hance, ヒマラヤヤマボウシ *C. capitata* Wall. など) のグループでキノール配糖体の代わりにイリドイド配糖体を含んでいる (Jensen *et al.* 1975)。また、これらの2つのグループは形態学的にも前者が総苞片がないかまたはほとんど発達しない散房状集散花序をもつものに対して、後者は総苞片を伴う頭状花序または散形花序を有することでも区別される。またタンニンについても含まれている水溶性タンニン、特にエラギタンニン (ellagitannin) の種類からミズキ属とミズキ科内の他属 (アオキ属 *Aucuba*, ハナイカダ属 *Helwingia* など) との相違、あるいはミズキ科と近縁の科 (例えばウリノキ科

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

Alangiaceae, ハンカチーフノキ科 Davidiaceae, ヌمامズキ科 Nyssaceae) との関係が推考されている (Bate-Smith *et al.* 1975)。

フラボノイドについては, ミズキの葉から isoquercitrin (quercetin 3-*O*-glucoside) (中沖・森田 1958), *C. stolonifera* Michx. の樹皮から hyperin (quercetin 3-*O*-galactoside) (Nair and Rudloff 1960), セイヨウサンシュユの花から rutin (quercetin 3-*O*-rutinoside), isoquercitrin および quercetin 3-*O*-glucuronide (Delaveau et Paris 1961, Egger und Keil 1969), そしてミズキの果実からアントシアニンの cyanidin, delphinidin および malvidin の配糖体, クマノミズキ (*C. brachypoda* Wall.) の果実から前2者の化合物が報告されているにすぎない (Ishikura and Sugahara 1979)。

著者らは化学分類学的見地から, ミズキ属植物に含まれるフラボノイド配糖体を分離同定した。今回はキノール配糖体を含むグループのうち Mesomora 亜属のミズキと, Kraniopsis 亜属のクマノミズキ, *C. darvasica* および *C. drummondii* の葉に含まれているフラボノイド配糖体を報告する。

材料および方法

材料: 今回の分析に用いた植物のうち, ミズキ, クマノミズキは筑波実験植物園植栽のそれぞれ1個体より採集し, *C. darvasica* (Pojark.) Pilip. および *C. drummondii* C. A. Mey. はアーノルド樹木園 (Arnold Arboretum, アメリカ合衆国) に植栽されていたもので, ミズキ属植物の系統学研究用材料として1989年7月におくられてきたものの一部である。

フラボノイド化合物の分離および純化: 新鮮葉を種ごとにメタノールで冷浸し, 濾過後減圧下で濃縮乾涸する。これに少量のメタノールを再度加え二次元濾紙クロマトグラフィー (2D-PC) で各植物のフラボノイドパターンを観察したのち, 展開溶剤 BAW および 15% AcOH (後述) による mass-濾紙クロマトグラフィー (mass-PC) を各フラボノイド成分が単離されるまで反復する。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析によって各成分が単離されたことを確認した後, セファデックス LH-20 (Sephadex LH-20) カラムクロマトグラフィー (溶出は70%メタノール) によっていっそうの純化を行い, 定性に供した。

フラボノイド化合物の同定: 分離した各フラボノイド成分は常法による酸加水分解とその生成物の同定 (林ら 1989), 紫外・可視吸収スペクトルの測定 (Mabry *et al.* 1970) および基準標品との濾紙クロマトグラフィーおよび HPLC による特性 (Rf 値, 保持時間など) の比較によって行った。

濾紙クロマトグラフィー (PC): フラボノイド配糖体の酸加水分解によって得られたアグリコンおよび糖の 2D-PC あるいは mass-PC は展開溶剤 BAW (n-ブタノール/酢酸/水=4:1:5, 上層), BEW (n-ブタノール/エタノール/水=4:1:2.2), 15% AcOH (酢酸/水=15:85), 5% AcOH (酢酸/水=5:95), BBPW (n-ブタノール/ベンゼン/ピリジン/水=5:1:3:3) および Phenol (水で飽和したフェノール) を用いて林ら (1989) に従って行った。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC): フラボノイド配糖体の HPLC 分析はシリカ系逆層カラム Finepak SIL-C₁₈S (内径 4.6 mm×150 mm), 日本分光マルチ 330 型紫外・可視検出器などを用いて, 移動層: アセトニトリル/水/リン酸=22:78:0.2, 流速 1.0 ml/分 で林ら (1989) に従って行った。

結果および考察

今回実験に供した4種のミズキ属植物の葉から4種類のフラボノイド配糖体を単離することがで

きた。

Quercetin 3-*O*-glucoside (isoquercitrin, 1): この物質のメタノール溶液の紫外・可視吸収スペクトルはこの物質がフラボノールの配糖体であることを示唆した (Mabry *et al.* 1970)。またさらにナトリウムメチラート (NaOMe), 塩化アルミニウム (AlCl₃), AlCl₃+HCl, 酢酸ナトリウム (NaOAc) および NaOAc+H₃BO₃ の添加による吸収極大の移動は 5-, 7-, 3'-および 4'-位の遊離の水酸基の存在を示した (Table 2)。酸加水分解によって得られたアグリコンは吸収スペクトルによって 3-, 5-, 7-, 3'-および 4'-位の遊離水酸基の存在を示し, 相当する基準標品の quercetin と co-PC によって直接の比較をおこなったところ両者のクロマト特性は完全に一致した (Table 1)。3-位に結合している糖もまた基準標品との co-PC によって glucose と同定された (Table 3)。以上からこのフラボノールは quercetin の 3-位に glucose を結合している配糖体と推定されたので相当する基準標品の isoquercitrin と co-PC および HPLC で特性の比較をおこなったところ両者は完全に一致した (Table 1)。

Quercetin 3-*O*-rhamnoside (quercitrin, 2): この配糖体もまた 5-, 7-, 3'-および 4'-位に遊離の水酸基が存在し, 3-位の水酸基が置換されているフラボノールであることが紫外・可視吸収スペクトルの移動から判明した (Table 2)。酸加水分解によって得られたアグリコンもまた quercetin と同定されたが (Table 1), 糖は glucose ではなく rhamnose が検出された (Table 3)。従ってこの配糖体は quercetin の 3-位に rhamnose の結合したものであると推定されたので, 相当する基準標品と co-PC および HPLC で比較を行ったところ, その特性は完全に一致した (Table 1)。

Table 1. Chromatographic properties of four flavonol glycosides and their aglycones in leaves of *Cornus* species

Flavonoids	Rf values					Colors	
	BAW	BEW	15%AcOH	5%AcOH	Forestal	UV	UV/NH ₃
Glycosides							
1	0.57	0.62	0.36	0.19	—	dp	y
2	0.72	0.72	0.44	0.28	—	dp	dy
3	0.83	0.78	0.43	0.24	—	dp	gy
4	0.68	0.60	0.26	0.12	—	dp	dy
Authentic quercitrin	0.72	0.72	0.44	0.28	—	dp	dy
isoquercitrin	0.57	0.62	0.36	0.19	—	dp	y
Aglycones							
1	0.67	0.68	0.04	—	0.40	y	bry
2	0.67	0.68	0.04	—	0.40	y	bry
3	0.86	0.90	0.04	—	—	y	y
4	0.67	0.68	0.04	—	0.04	y	bry
Authentic quercetin	0.67	0.68	0.04	—	0.40	y	bry
kaempferol	0.86	0.90	0.04	—	—	y	y

BAW=*n*-BuOH/AcOH/H₂O (4:1:5, upper phase),

BEW=*n*-BuOH/EtOH/H₂O (4:1:2.2), 15%AcOH=AcOH/H₂O (15:85),

5%AcOH=AcOH/H₂O (5:95), Forestal=AcOH/conc. HCl/H₂O (30:3:10).

dp=deep purple, y=yellow, dy=dark yellow, gy=greenish yellow,

bry=bright yellow.

Table 2. UV spectral data of four flavonol glycosides in leaves of *Cornus* species

Glycosides in	λ_{\max} (nm)					
	MeOH	+NaOMe	+AlCl ₃	+AlCl ₃ /HCl	+NaOAc	+NaOAc/H ₃ BO ₃
1	257	274	275	269	273	262
	358	328	437	299	326	379
		411 (inc)		363 401	397	
2	256	272	275	270	272	260
	349	324	433	296sh	325	368
		405 (inc)		356 398	382	
3	266	275	277	274	274	267
	349	325	304	302	311	351
		400 (inc)	354 390sh	350 390sh	389	
4	255	—	272	255	—	—
	351		434	297sh		
				359		
				397sh		

sh=shoulder, inc=remarkable increase in intensity relative to the spectrum of methanolic solution. 1=quercetin 3-glucoside, 2=quercetin 3-rhamnoside, 3=kaempferol 3-glycoside and 4=quercetin-glycoside.

Table 3. Rf values of sugars obtained from *Cornus* flavonoids by acid hydrolysis

Sugars	BBPW	PhOH
1	0.26	0.31
2	0.56	0.52
Authentic		
glucose	0.26	0.31
galactose	0.23	0.39
allose	0.31	0.44
rhamnose	0.56	0.52
xylose	0.42	0.40
arabinose	0.33	0.50

BBPW=n-BuOH/Benzene/Pyridine/H₂O (5:1:3:3),
PhOH=Phenol saturated with H₂O.

以上から配糖体 2 は quercitrin と同定された。

Kaempferol 3-O-glycoside (3): 紫外・可視吸収スペクトルで 5-, 7-および 4'-位に遊離の水酸基の存在を示すこの配糖体を加水分解するとアグリコンとして kaempferol を生成する (Table 1 および 2)。従って、このフラボノイドは kaempferol の 3-位に糖を O-結合した配糖体と考えられるが、結合糖の同定には至っていない。

Quercetin-glycoside (4): 非常に微量に得られたこのフラボノイドは PC 特性や吸収スペクトル特性から quercetin の配糖体 (おそらく 1 や 2 と同じく 3-O-glycoside) と推定されるが詳細な化学構造の決定には至っていない。

HPLC 分析によるフラボノイド組成の調査: 今までミズキ属植物から報告されたフラボノイドは

いずれも quercetin の 3-位に糖を結合した配糖体、すなわち 3-glucoside, 3-galactoside, 3-rutinoside および 3-glucuronide である (中沖・森田 1958, Nair and Rudloff 1960, Delaveau et Paris 1961, Egger und Keil 1969)。今回分析を行った ミズキ属植物でもまた 4 種すべてから quercetin 3-glucoside が主要成分として検出された (Fig. 1)。さらに今まで ミズキ属で報告のなかった quercetin 3-rhamnoside もミズキとクマノミズキから検出された。また *C. darvasica* では quercetin 3-glucoside に伴って微量の kaempferol 3-glycoside が検出された。なお HPLC 分析では紫外域に吸収をもつ数多くのピークが認められるが (Fig. 1), その吸収スペクトルを見るとそれらのほとんどがフラボノイドではなく、芳香族の有機酸エステルか水溶性タンニンと推定さ

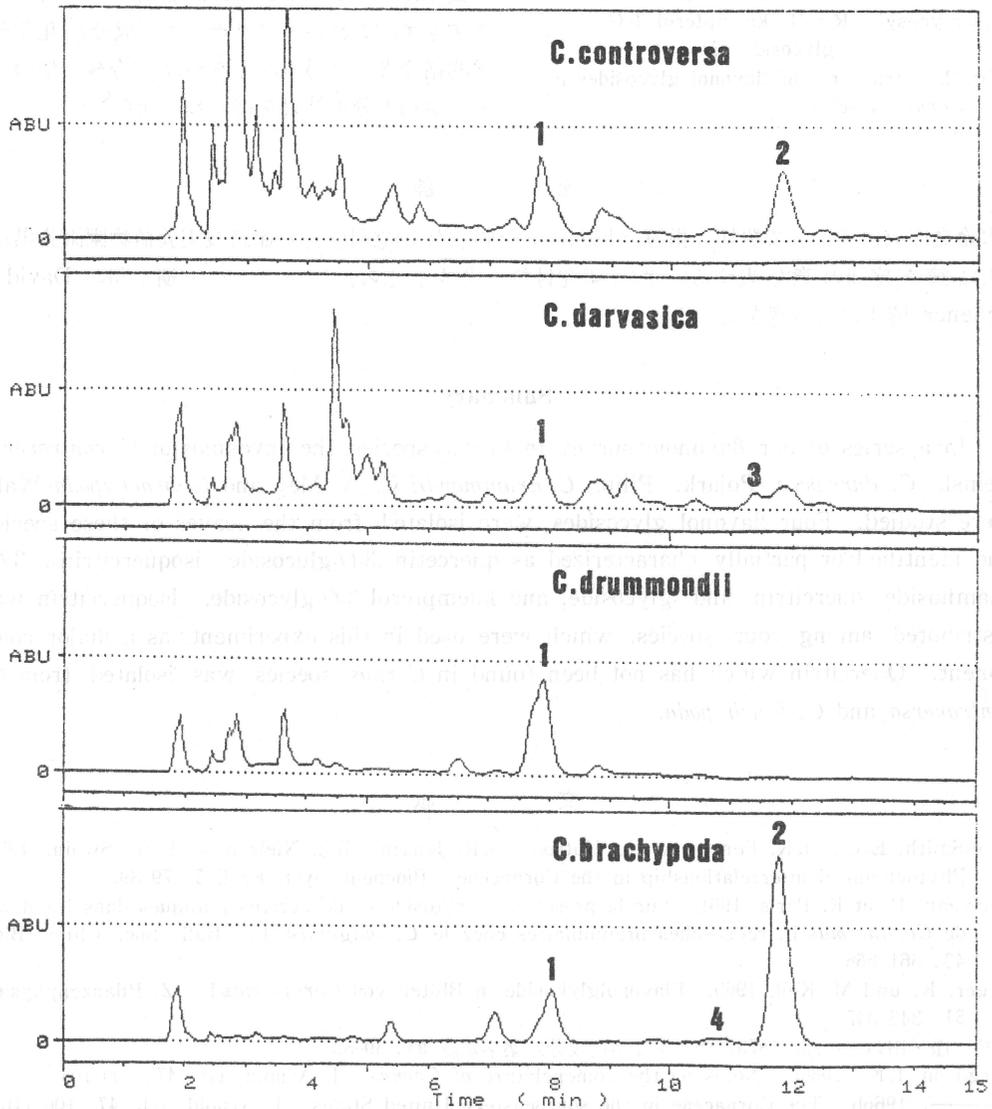
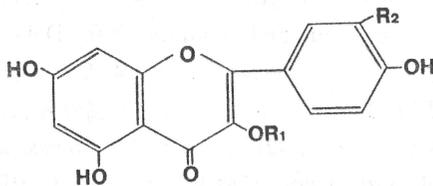


Fig. 1. Separation of flavonoid glycosides in the leaves of four *Cornus* species by HPLC. Eluents: Acetonitrile/ H_2O/H_3PO_4 (22: 78: 0.2). Flow-rate: 1.0 ml/min. Injection: 10 μ l. Detection: $\lambda=350$ nm. 1=quercetin 3-O-glucoside (Rt: 7.83 min), 2=quercetin 3-O-rhamnoside (Rt: 11.78), 3=kaempferol 3-O-glycoside (Rt: 11.35) and 4=quercetin-glycoside (Rt: 10.75).



- R₁=glucosyl, R₂=OH: quercetin 3-O-glucoside (isoquercitrin, 1)
 R₁=rhamnosyl, R₂=OH: quercetin 3-O-rhamnoside (quercitrin, 2)
 R₁=glycosyl, R₂=H: kaempferol 3-O-glycoside (3)

Fig. 2. Structures of flavonol glycosides in *Cornus* species.

れる。これらの HPLC パターンは調査した4種で、それぞれ異なっており、これらの成分の分析も必要とされる。

今回の結果と従来の報告とを合わせて考えると、ミズキ属植物に特徴的なフラボノイドは quercetin を中心としたフラボノール配糖体であると考えられる。しかしながら、分析を行ったのは40から60種といわれるミズキ属のうち *Kraniopsis* 亜属3種および *Mesomora* 亜属の1種の計4種にすぎず、これらのフラボノイド成分が化学分類学的指標となり得るかどうかは、今後の他のミズキ属植物の分析結果を待たねばならない。

謝 辞

本論文作成に当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道博士に篤く感謝の意を表す。また研究材料一式をおくれたアーノルド樹木園の David C. Michener 博士にも謝意を表す。

Summary

In a series of our flavonoid survey in *Cornus* species, the flavonoids of *C. controversa* Hemsl., *C. darvasica* (Pojark.) Pilip., *C. drummondii* C. A. Mey and *C. brachypoda* Wall. were studied. Four flavonol glycosides were isolated from the leaves of these species and identified or partially characterized as quercetin 3-O-glucoside (isoquercitrin), 3-O-rhamnoside (quercitrin) and -glycoside, and kaempferol 3-O-glycoside. Isoquercitrin was distributed among four species, which were used in this experiment, as a major component. Quercitrin which has not been found in *Cornus* species was isolated from *C. controversa* and *C. brachypoda*.

文 献

- Bate-Smith, E. C., I. K. Ferguson, K. Hutson, S. R. Jensen, B. J. Nielsen and T. Swain, 1975. Phytochemical interrelationship in the Cornaceae. *Biochem. Syst. Ecol.* 3: 79-89.
 Delaveau, P. et R. Paris, 1961. Sur la presence de rutoside et de derives galliques dans les fleurs de *Cornus mas* L. recherches preliminaires chez le *C. sanguinea* L. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 43: 661-666.
 Egger, K. und M. Keil, 1969. Flavonolglykoside in Blüten von *Cornus mas* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 61: 346-347.
 遠藤 徹・田口平八郎, 1973. サンジュユの成分. *薬学雑誌* 93: 30-32.
 Ferguson, I. K., 1966a. Notes on the nomenclature of *Cornus*. *J. Arnold Arb.* 47: 100-105.
 ———, 1966b. The Cornaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arb.* 47: 106-116.
 Haddock, E. A., R. K. Gupta, S. M. K. Al-Shafi, K. Layden, E. Haslam and D. Magnolato, 1982. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants: Biogenetic and molecular taxonomic considerations. *Phytochemistry* 21: 1049-1062.
 Hara, H., 1948. The nomenclature of the flowering dogwood and its allies. *J. Arnold Arb.* 29: 111-115.

- 林 孝三・大谷俊二・岩科 司, 1989. ヒオウギアヤメ およびその近縁植物における色素成分の比較分析 — 各種のフラボノイドを中心として —. 進化生研研究報告 6: 30-60.
- Hooker, J.D., 1867. Cornaceae, 947-952. In Bentham, G. et J.D. Hooker, Genera plantarum 1. Reeve, London.
- Hutchinson, J. 1967. The genera of flowering plants. Oxford at the Clarendon Press, London.
- Ishikura, N. and K. Sugahara, 1979. A survey of anthocyanins in fruits of some Angiosperms, II. Bot. Mag. Tokyo 92: 157-161.
- Jensen, S.R., A. Kjaer and B.J. Nielsen, 1973a. Glucosides in *Cornus capitata* and *C. kousa*. Phytochemistry 12: 2301.
- , ——— and ———, 1973b. Loniceroside (secologanin) in *Cornus officinalis* and *C. mas*. Phytochemistry 12: 2064-2065.
- , ——— and ———, 1973c. Geniposide and monotropein in *Cornus suecica*. Phytochemistry 12: 2065-2066.
- , ——— and ———, 1973d. A quinol glucoside isolated from *Cornus* species. Acta Chem. Scand. 27: 367-369.
- , ——— and ———, 1973e. Dihydrocornin, a novel natural iridoid glucoside. Acta Chem. Scand. 27: 2581-2585.
- , ——— and ———, 1975. The genus *Cornus*: Non-flavonoid glucosides as taxonomic markers. Biochem. Syst. Ecol. 3: 75-78.
- Mabry, T.J., K.R. Markham and M.B. Thomas, 1970. The systematic identification of flavonoids. p. 35-164. Springer-Verlag, Berlin.
- Nair, G.V. and E. von Rudloff, 1960. Isolation of hyperin from red-osier dogwood (*Cornus stolonifera* Michx.). Can. J. Chem. 38: 2531-2533.
- 中沖太七郎・森田直賢, 1958. 薬用資源の研究 (第12報). みずき, しんじゅ及びびとうごまの葉の成分について. 薬学雑誌 78: 558-559.
- 大井次三郎, 1983. 新日本植物誌, 顕花篇. 至文堂・東京. pp. 1129-1131.
- 陳 邦余, 1982. 中国種子植物科属詞典. 修訂版, 侯寬昭 (編). 科学出版社・北京 128-129.
- Wangerin, W., 1910. Cornaceae, 1-110. In Engler, A., Das Pflanzenreich, 41. (IV 229). Engelmann, Berlin.
- Wieffering, J.H., 1966. Aucubinartige Glucoside (Pseudointdikane) und Verwandte Heteroside als Systematische Merkmale. Phytochemistry 5: 1053-1064.