비수리 지상부로부터 분리한 Flavone glycosides

권동주 · 김진규 · 함연호[1] · 배영수*

강원대학교 산림환경과학대학 임산공학과, [1]강원도 산림개발연구원

Flavone Glycosides from the Aerial Parts of *Lespedeza cuneata* G. Don

Dong-Joo Kwon, Jin-Kyu Kim, Yeon-Ho Ham[1] and Young-Soo Bae*

Department Wood Sciences & Engineering, College of Forest & Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

[1]Forest Research Institute, Gangwon Province, Chuncheon 200-140, Korea

Received August 6, 2007; Accepted October 31, 2007

The aerial parts of *Lespedeza cuneata* were collected, air-dried and extracted with 95% aqueous EtOH. Then it was successively partitioned with *n*-hexane, CH_2Cl_2, EtOAc and H_2O. Repeated Sephadex LH-20 column chromatography on the EtOAc- and H_2O-soluble fractions gave four compounds. Their structures were elucidated as quercetin (1), kaempferol (2), desmodin (3) and homoadonivernith (4) on the basis of spectroscopic evidences such as ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, 2D-NMR and MS spectrum. Desmodin (3) and homoadonivernith (4) have not been reported from this plant so far.

Key words: *Lespedeza cuneata*, aerial part, desmodin, homoadonivernith, flavone glycosides

서 론

비수리(*Lespedeza cuneata* G. Don)는 콩과(Leguminosae)의 여러해살이 초본성 아관목으로 우리나라 전국의 산야에 분포하며 일본, 중국, 대만, 인도 등지에도 분포한다. 주로 산기슭 이하의 양지 끝에 자라며 줄기는 곧게 서고 가늘고 높이 1 m 정도이고, 가지가 많고 잎은 호생이며 작은 잎이 3장씩 나온 겹잎이다. 작은 잎은 줄 모양의 거꾸로 세운 듯한 바소꼴이고 뒷면에 털이 있으며 길이 10~25 mm, 너비 2~4 mm이다.[1)] 비수리의 지상부는 한약명으로 야관문(夜關文)이라 하며 pinitol, flavonoid, tannin, β-sitosterol 등이 함유되어 있다. 민간에서는 예로부터 간과 콩팥의 기능을 보호해 주므로 유정(遺精), 유뇨(遺尿) 등을 치료하고, 폐를 강화시키므로 해수, 천식, 유방염, 종기, 시력 강화 작용[2)] 및 혈액 순환을 잘 되게 하여 여러 가지 남성 질병, 양기부족 등에 뛰어난 효과가 있다고 알려져 있다.[3)] 국내의 비수리에 관한 연구로는 종자의 열수와 ethanol 추출물의 항산화 활성[4)]과 미네랄, 아미노산, 비타민 분석[5)]만이 보고되었을 뿐 식물화학적인 연구는 전무한 실정이며, 국외의 성분 연구로는 비수리 잎 추출물에서 C-glycosylflavone 화합물인 isoorientin, isovitexin, vicenin II, lucenin II와 quercetin, kaempferol, avicularin, juglanin, trifolin 등이 보고되었다.[6,7)]

따라서 본 연구에서는 추출성분에 대한 연구가 미진한 비수리 지상부의 EtOAc와 H_2O 분획을 대상으로 column chromatography를 이용하여 2개의 flavonol 화합물과 비수리에서 처음 분리된 2개의 flavone glycoside 화합물을 NMR 등의 분광학적 기기분석을 이용하여 구조를 동정하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용한 비수리(*Lespedeza cuneata*)는 2005년 8월 인제군 한계리에서 채취하여 실험실에서 기건 시킨 후 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였으며, 표품은 강원대학교 목재천연물실험실(LCE-0508-WNL)에 보관되어 있다.

사용기기. NMR은 Bruker Avance DPX 400 MHz spectrometer (Germany)를 사용하여 ^{1}H(400 MHz), 13C-NMR(100 MHz) 및 2D-NMR(HMQC, COSY, HMBC)을 측정하였으며, 분석용매로는 TMS를 첨가한 CD_3OD와 $(CD_3)_2CO$을 사용하였다. FAB-MS와 MALDI-TOF-MS 분석은 Micromass Autospec M363 (UK)과 Voyager-DE-STR spectrometer(USA)를 사용하여 positive ion mode에서 측정하였다. Column chromatography용 충진물질은 lipophilic Sephadex LH-20(Sigma, Sweden), TLC plate는 DC-Plastikfolien Cellulose F(Merck, Germany)을 사용하였다. TLC 전개용매는 TBA[*t*-butanol : AcOH : H_2O(3 : 1 : 1, v/v/v)]와 6% AcOH를 사용하였고 vanillin 발색제[vanillin : HCl : EtOH (4.8 : 12 : 480, w/v/v)]를 분무하여 TLC에 반응하는 색을 관찰하였다. 용매 및 기타 시약은 일급 및 특급 시약을 사용하였다.

*Corresponding author
Phone: +82-33-250-8325, Fax: +82-33-256-8320
E-mail: bae@kangwon.ac.kr

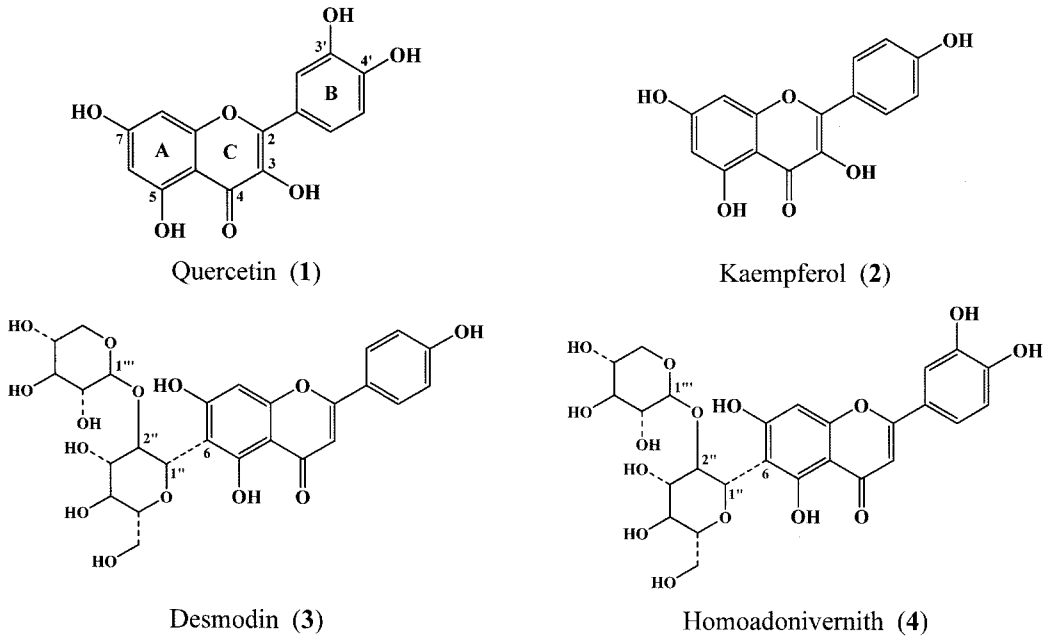


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-4 from the aerial parts of *Lespedeza cuneata*.

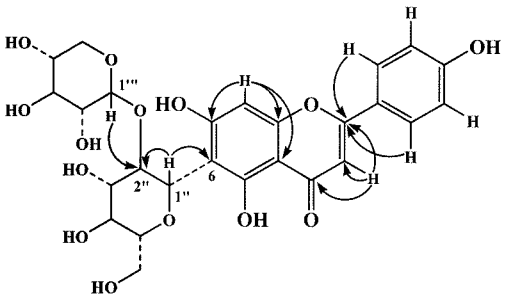
추출 및 분획. 비수리 분말 2.2 kg을 95% EtOH 용액에 약 5일간 실온에서 3회 반복 추출한 후 여과지(Advantec No. 2)로 여과하였다. 여액을 40°C에서 감압농축하고, 농축된 추출물을 물(2 *l*)에 현탁시키고, *n*-hexane(0.5 *l*×2), dichloromethane(CH_2Cl_2, 1 *l*×3), ethyl acetate(EtOAc, *l*×3) 순으로 극성에 따라 분획하였다. 각 분획물은 감압농축하여 유기용매를 제거한 후 동결 건조하여 조추출물(20.9 g, LCC), *n*-hexane 분획(0.01 g, LCHe), CH_2Cl_2 분획(13.8 g, LCD), EtOAc 분획(8.1 g, LCE) 및 H_2O 분획(128.8 g, LCH)을 얻었다.

화합물의 분리. EtOAc 분획(5.5 g)을 Sephadex LH-20으로 충진한 column(3×70 cm) chromatography(C.C.)(MeOH-H_2O = 1 : 1)를 실시하여 19개의 fraction(LCE-1~LCE-19)으로 나누었다. 그 중 LCE-18 fraction에서 생성된 노란색의 결정을 원심분리하여 순수한 결정성 화합물 **1**(10 mg)을 얻었으며, LCE-17 fraction을 Sephadex LH-20 C.C.(1×60 cm, MeOH-H_2O = 1 : 3)로 정제하여 화합물 **2**(LCE-174, 10 mg)을 분리하였다. 또한, H_2O 분획(28.5 g)을 Sephadex LH-20 C.C.(5×70 cm, MeOH-H_2O = 1 : 1)를 실시하여 4개의 fraction(LCH-1~LCH-4)을 얻었다. 그 중 LCH-2 fraction을 Sephadex LH-20 C.C.(1×60 cm, MeOH-H_2O = 1 : 3)를 실시하여 TLC에 하나의 spot으로 보이는 fraction을 다시 모아 Sephadex LH-20 C.C.(1×60 cm, MeOH-H_2O = 1 : 5)로 정제하여 화합물 **3**(LCH-242, 100 mg)을 분리하였으며, LCH-3 fraction을 Sephadex LH-20 C.C.(1×60 cm, MeOH-H_2O = 1 : 3)를 실시하여 vanillin 발색제에 진한 노란색으로 반응하는 spot들을 모아 Sephadex LH-20 C.C.(1×60 cm, MeOH-H_2O = 1 : 6)로 정제하여 화합물 **4**(LCH-322, 158 mg)를 분리하였다.

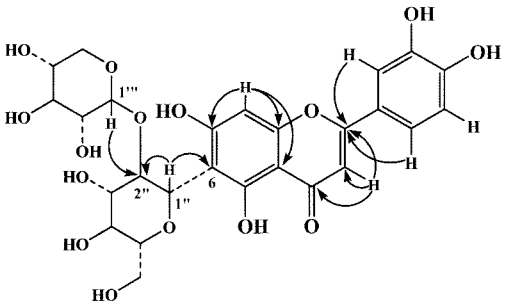
화합물 **1**(quercetin): yellow amorphous powder; R_f: 0.58 (TBA), 0.00 (6% AcOH); FAB-MS *m/z*: 303 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$, δ): 6.30 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 6.55 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 7.02(1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5'), 7.70 (1H, dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, H-6'), 7.80 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 12.18 (1H, s, OH-5); ^{13}C-NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$, δ): 94.94 (C-8), 99.55 (C-6), 104.36 (C-10), 116.11 (C-2'), 116.6 1(C-5'), 121.89 (C-1'), 123.84 (C-6'), 137.04 (C-3), 146.26 (C-3'), 147.89 (C-2), 148.78 (C-4'), 158.03 (C-9), 162.04 (C-5), 165.49 (C-7), 177.03 (C-4).

화합물 **2**(kaempferol): yellow amorphous powder; R_f: 0.55 (TBA), 0.00 (6% AcOH); FAB-MS *m/z*: 287 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$, δ): 6.28 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 6.54 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 7.03 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3',5'), 8.16 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2',6'), 12.18 (1H, s, OH-5); ^{13}C-NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$, δ): 94.51 (C-8), 99.18 (C-6), 104.17 (C-10), 116.35 (C-3',5'), 123.34 (C-1'), 130.48 (C-2',6'), 136.66 (C-3), 147.03 (C-2), 157.79 (C-9), 160.17 (C-5), 162.33 (C-4'), 164.98 (C-7), 176.61 (C-4).

화합물 **3**(desmodin): yellow amorphous powder; R_f: 0.26 (TBA), 0.51 (6% AcOH); MALDI-TOF-MS *m/z*: 565 $[M+H]^+$, 587 $[M+Na]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD, δ): 2.76 (1H, t, *J* = 10.9, 9.5 Hz, H-5'''a), 3.08(1H, t, *J* = 7.7, 8.3 Hz, H-2'''), 3.21 (3H, m, H-5'''b, 3''',4'''), 3.41 (2H, m, H-2'',5''), 3.50 (1H, t, *J* = 9.4, 9.1 Hz, H-4''), 3.66 (1H, t, *J* = 8.8, 8.8 Hz, H-3''), 3.73 (1H, dd, *J* = 5.2, 11.8 Hz, H-6''b), 3.89 (1H, d, *J* = 11.8 Hz, H-6''a), 4.29 (1H, d, *J* = 6.6 Hz, H-1'''), 4.95 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-1''), 6.47 (1H, s, H-8), 6.59 (1H, s, H-3), 7.15 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-3',5'), 7.82 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-2',6'); ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD, δ): 61.42 (C-6''), 65.38 (C-5'''), 69.42 (C-4'''), 70.09 (C-4''), 72.03 (C-1''), 74.11 (C-2'''), 76.10 (C-3'''), 78.41 (C-3''), 80.43 (C-2''), 81.08 (C-5''), 93.31(C-8), 102.32 (C-3), 103.57 (C-10), 105.37 (C-1'''),



Desmodin (**3**)



Homoadonivernith (**4**)

Fig. 2. Selected HMBC correaltions of compounds 3 and 4.

107.57 (C-6), 115.55 (C-3',5'), 121.57 (C-1'), 127.94 (C-2',6'), 157.25 (C-9), 161.29 (C-4'), 163.62 (C-5), 164.61 (C-7), 164.67 (C-2), 182.49 (C-4).

화합물 **4**(homoadonivernith): yellow amorphous powder; R_f: 0.40 (TBA), 0.51 (6% AcOH); FAB-MS *m/z*: 581 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD, δ): 2.75 (1H, dd, J=9.3, 10.9 Hz, H-5'''a), 3.08 (1H, t, J=7.7, 8.4 Hz, H-2'''), 3.20 (3H, m, H-5'''b, 3''',4'''), 3.40 (2H, m, H-2'',5''), 3.49 (1H, t, J=9.5, 9.1 Hz, H-4''), 3.66 (1H, t, J=8.9, 8.9 Hz, H-3''), 3.72 (1H, dd, J=5.5, 12.1 Hz, H-6''b), 3.88 (1H, dd, J=1.7, 12.1 Hz, H-6''a), 4.28 (1H, d, J=7.0 Hz, H-1'''), 4.91 (1H, d, J=9.8 Hz, H-1''), 6.46 (1H, s, H-8), 6.54 (1H, s, H-3), 6.89 (1H, d, J=8.9 Hz, H-5'), 7.36 (2H, m, H-2',6'); ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD, δ): 61.90 (C-6''), 65.87 (C-5'''), 69.91 (C-4'''), 70.59 (C-4''), 72.53 (C-1''), 74.60 (C-2'''), 76.58 (C-3'''), 78.90 (C-3''), 80.93 (C-2''), 81.58 (C-5''), 93.80 (C-8), 102.85 (C-3), 104.07 (C-10), 105.86 (C-1'''), 108.06 (C-6), 113.13 (C-2'), 115.80 (C-5'), 119.31 (C-6'), 122.51 (C-1'), 146.02 (C-3'), 150.03 (C-4'), 157.74 (C-9), 161.30 (C-5), 164.08 (C-7), 165.18 (C-2), 182.96 (C-4).

결과 및 고찰

비수리를 95% EtOH으로 추출한 후 용매의 극성에 따라 분획을 실시하여 동결 건조하였다. 그 중 EtOAc 분획과 H_2O 분획에 대한 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복적으로 실시하여 2개의 flavonol 화합물과 2개의 flavone glycoside 화합물을 분리하고 NMR을 이용하여 그 구조를 규명하였다(Fig. 1).

화합물 **1**과 화합물 **2**는 대표적인 flavonol 화합물로 TLC에 전개하고, vanillin 발색제에 노란색으로 발색되었다. 화합물 **1**의 ^{1}H-NMR spectrum에서 catechol ring의 signal이 δ 7.02, 7.70, 7.80에서 나타나며, ^{13}C-NMR spectrum에서 C-ring의 이중결합 탄소인 C-2, 3이 δ 147.89와 δ 137.04, carbonyl 탄소가 δ 177.03에서 signal이 관찰되는 것으로 보아 flavonol skeleton 임을 알 수 있었으며, 기존의 문헌을 비교하여 화합물 **1**은 quercetin으로 동정하였다.[8,9] 화합물 **2**의 NMR spectrum은 화합물 **1**과 거의 유사하나 ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 8.16과 δ 7.03의 두 개의 doublet (J=8.8 Hz) signal과 ^{13}C-NMR spectrum에서 δ 130.48과 δ 116.35의 signal은 B-ring이 서로 대칭인 phenol ring의 구조임을 알 수 있어 화합물 **2**는 kaempferol로 동정하였다.

화합물 **3**은 노란색 분말로, vanillin 발색제에 노란색으로 반응하였다. MALDI-TOF-MS (positive) spectrum에서 분자 ion peak는 *m/z* 565 $[M+H]^+$, 587 $[M+Na]^+$에서 나타났다. ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 6.59 (1H, s, H-3) signal과 ^{13}C-NMR spectrum의 δ 164.67 (C-2)와 δ 102.32 (C-3), carbonyl 탄소의 signal이 δ 182.49에서 관측되는 것으로 보아 flavone 구조임을 알 수 있었다.[10] ^{1}H-NMR spectrum의 δ 7.82와 δ 7.15에서 나타나는 J=8.3 Hz인 2H의 doublet signal은 H-2',6'과 H-3',5'이 대칭 구조로 서로 ortho coupling임을 알 수 있으며, H-8이 δ 6.47에서 singlet signal로 관측된다. δ 4.95와 δ 4.29의 signal은 glucose와 xylose의 anomeric proton으로 J값이 각각 9.8 Hz와 6.6 Hz인 것으로 보아 β-D-glucose와 β-D-xylose임을 알 수 있었고, 나머지 당의 수소들이 δ 2.76~3.89 사이에서 복잡한 signal로 나타났다. ^{13}C-NMR spectrum에서 C-2',6'과 C-3',5'의 대칭 signal은 δ 127.94와 δ 115.55에서 관측되며, C-6은 aglycone인 apigenin의 C-6과 비교할 때 저자장으로 shift되어 δ 107.57에서 signal이 나타나며, glucose의 anomeric carbon은 δ 72.03에서 signal이 관측되는 것으로 보아 C-glycoside 임을 추정할 수 있었다. 일반적으로 flavonoid C-glycoside의 경우 당과 C-C 결합을 하고 있는 탄소의 chemical shift은 저자장으로 약 δ 10 정도 shift 되지만 주위에 다른 탄소들의 chemical shift에는 상대적으로 영향을 미치지 않는다고 보고된바 있다.[11] Xylose의 anomeric carbon은 δ 105.37에서 signal이 나타나는 것으로 보아 ether 결합을 하고 있음을 알 수 있었으며, glucose의 C-2''이 δ 80.43의 저자장으로 shift 된 것으로 보아 xylose-(1→2)-glucose의 구조임을 추정할 수 있었다. 나머지 glucose와 xylose의 탄소들은 δ 78.41 (C-3''), 70.09 (C-4''), 65.38 (C-5''), 61.42 (C-6''), 74.11 (C-2'''), 76.10 (C-3'''), 69.42 (C-4'''), 65.38 (C-5''')에서 signal이 관측되었다. HMBC spectrum에서 glucose의 1번 수소인 H-1''은 C-6과 C-2'', xylose 1번 수소인 H-1'''은 C-2'', H-3은 C-2와 C-4와의 cross peak가 관측되어 alycone과 glucose의 결합위치 및 glucose와 xylose의 결합위치

를 확인하였으며(Fig. 2), HMQC spectrum에서 H-3은 δ 102.32 (C-3), H-8은 δ 93.31 (C-8), H-1"은 δ 72.03 (C-1"), H-1'"은 δ 105.37 (C-1'") 등의 cross peak를 관찰하여 수소와 결합하고 있는 탄소의 위치를 결정하였다. 위의 결과들로부터 화합물 **3**은 분자식 $C_{26}H_{28}O_{14}$인 desmodin(apigenin-6-C-β-D-xylopyranosyl-(1 → 2)-β-D-glucopyranoside)으로 동정하였다.[12,13]

화합물 **4**는 노란색 분말로, vanillin 발색제에 노란색으로 반응하였다. FAB-MS (positive) spectrum에서 분자 ion peak는 *m/z* 581 $[M+H]^+$에서 나타났다. 화합물 **4**는 화합물 **3**과 구조가 거의 유사하나 aglycone의 B-ring이 catechol 구조인 luteolin으로, ^{1}H-NMR spectrum에서 H-2',6'은 겹쳐서 multiplet signal로 δ 7.36 (2H, m)에서 나타나며, δ 6.89 (1H, J = 8.9 Hz)에서 H-5'의 signal을 관측하였다. 또한, anomeric proton인 H-1"과 H-1'"은 각각 δ 4.91과 δ 4.28에서 doublet signal이 나타나며 J값이 9.0 Hz와 7.0 Hz인 것으로 보아 β 형태임을 알 수 있었다. ^{13}C-NMR spectrum에서 catechol B-ring의 signal이 δ 119.31 (C-6'), 115.80 (C-5'), 113.13 (C-2')에서 관측되었으며, C-6은 δ 108.06, glucose와 xylose anomeric carbon인 C-1"과 C-1'"은 δ 72.53과 δ 105.86에서 signal이 나타났다. HMBC spectrum에서 H-1"은 C-6과 C-2", H-1'"은 C-2", H-3은 C-2와 C-4와의 cross peak가 나타났으며(Fig. 2), HMQC, COSY spectrum 등의 data를 종합한 결과 화합물 **4**는 분자식 $C_{26}H_{28}O_{15}$인 homoadonivernith(luteolin-6-C-β-D-xylopyranosyl-(1 → 2)-β-D-glucopyranoside)으로 동정하였다.[14,15]

Desmodin(화합물 **3**)과 homoadonivernith(화합물 **4**)는 호비수리(*Lespedeza davurica*)에서 분리 보고된 바 있으나,[16] 비수리 지상부에서는 처음 분리하여 보고하는 화합물이다.

초 록

비수리 지상부를 95% EtOH 용액으로 추출하고, 추출물을 *n*-hexane, CH_2Cl_2, EtOAc 및 H_2O로 용매 분획하였다. 이 중 EtOAc와 H_2O 분획을 대상으로 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 4개의 화합물을 분리하였다. 화합물의 구조는 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, 2D-NMR 및 MS spectrum을 분석하여, quercetin (1), kaempferol (2), desmodin (3) 및 homoadonivernith (4)으로 동정하였으며, 그 중 desmodin (3)과 homoadonivernith (4)는 비수리에서 처음으로 분리되었다.

Key words: *Lespedeza cuneata*, aerial part, desmodin, homoadonivernith, flavone glycosides

감사의 글

본 연구의 깨끗한 NMR과 MS 스펙트럼을 얻을 수 있도록 도움을 주신 강원대학교 공동실험관 핵자기공명실의 유지숙 박사님과 질량분석실의 정영림 박사님께 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, T. B. (1985) In *Illustrated Flora of Korea.* Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
2. Ahn, D. K. (1998) In *Illustrated Book of Korean Medicinal Herbs.* Kyohaksa Publishing Co., Ltd, Seoul, Korea.
3. Kee, C. H. (1993) In *The Pharmacology of Chinese Herbs.* CRC Press, China.
4. Kim, S. J. and Kim, D. U. (2007) Antioxidative activity of hot water and ethanol extracts of *Lespedeza cuneata* seeds. *Korean J. Food Preserv.* **14**, 332-335.
5. Ding, J. L., Lim, I. J., Lee, H. D. and Cha, W. S. (2006) Analysis of minerals, amino acids and vitamin of *Lespedeza cuneata*, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **21**, 414-417.
6. Atsushi, N., Kazuko, H. and Hideo, Y. (1980) C-Glycosylflavones in *Lespedeza cuneata*. *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 964-965.
7. Shin, M., Munekazu, L., Emiko, I., Hiromasa, T. and Kengo, K. (1978) Studies on the constituents of the useful plants. VIII. The constituents of *Lespedeza cuneata* G. Don. *Yakugaku Zasshi* **98**, 1542-1544.
8. Agrawal, P. K. (1989) In *Carbon-13 NMR of Flavonoids.* Elsevier, New York.
9. Lee, S. K., Park, W. K. and Bae, Y. S. (1997) Procyanidins from *Lindera obtusiloba* bark. *Mokchae Konghak* **35**, 110-116.
10. Harborne, J. B. and Mabry, T. J. (1982) In *The Flavonoids: advances in research.* Chapman and Hall Ltd., London.
11. Markham, K. R. (1992) In *Techniques of Flavonoid Identification.* Academic press, New York.
12. Saleh, R., Torgils, F. and Anderson, Ø. M. (2005) Flavone C-glycosides from leaves of *Oxalis triangularis*. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 10057-10060.
13. Hideaki, O. and Kaori, K. (2001) An iridoid gentibioside, a benzophenone glucoside and acylated flavone C-glycosides from *Tripterospermum japonicum* (Sieb. et Zucc.). Maxim. *Chem. Pharm. Bull.* **49**, 699-702.
14. Toshihiro, K., Tomomi, M., Shigeru, M., Shingo, S. and Onodera, J. I. (2000) An effective synthesis of isoorientin: the regioselective synthesis of a 6-C-glucosylflavone. *Carbohyd. Res.* **329**, 507-513.
15. Ulubelen, A. and Mabry, T. J. (1980) C-Glycosylflavonoids of *Passiflora serratifolia*. *J. Nat. Prod.* **43**, 162-163.
16. Matsuzaki, K., Wang, Y. Q., Takahashi, K. and Okuyama, T. (1990) Flavonoids glycosides of *Lespedeza* species. *Shoyakugaku Zasshi* **44**, 251-253.