

Monascorubrin	<i>Monascus</i> 属
Monascorubrin 誘導體	<i>Monascus purpureus</i>
Rubropunctatin	<i>Monascus rubropunctatus</i> .
Rubropunctatin 誘導體	<i>Monascus purpureus</i>
3-Trihydroxy-2,6-dimethyl-1-naphthaleneheptanoic acid	<i>Aspergillus terreus</i> および <i>Monascus ruber</i>
Xanthomonasin A	<i>Monascus anka</i> .
Xanthomonasin B	<i>Monascus anka</i> .

#### 4) *Monascus* 菌の安全性試験に関する調査研究 (資料4)

紅麴、*Monascus* 属、及び全ての種、並びに「3) 成分調査」から得られた化合物について RTECS 等を用いて安全性について検索した。

RTECS では、種、紅麴及び *Monascus* 属のキーワードでは検索されるものはなかった。

*Monascus* 属の含有成分について毒性或いは生理活性を有する化合物は次に示した。なお、RTECS では Citrinin と Mevinolin が有害物質として検索された。これらには「化学物質毒性データ総覧(RTECS)登録番号」を付した。

##### (1) Citrinin

基原：*Monascus* 属

皮膚刺激、50%致死量 (マウス, orl) 112 mg/kg. 催奇形性を示した研究がある。その他肝臓毒及び腎毒性作用を有する。

[化学物質毒性データ総覧(RTECS)登録番号] 毒性-DJ2275000.

##### (2) 4,4a-Dihydromonacolin L

基原：*Monascus ruber*.

生理活性：コレステロール生合成を抑制

##### (3) Mevinolin

基原：*Monascus ruber*

生理活性：コレステロール生合成を抑制、HMG-CoA の強い抑制因子、抗脂肪過剰血症作用。

用途：医薬品としても用いる。

[化学物質毒性データ総覧(RTECS)登録番号] 毒性-EK7907000.

##### (4) Monacolin J

基原：*Monascus ruber*.

生理活性：コレステロール生合成を抑制

##### (5) Monacolin L

基原：*Monascus ruber*

生理活性：コレステロール生合成を抑制

(6) Monacolin X.

基原 : *Monascus ruber*.

生理活性：コレステロール生合成を抑制

(7) Monankarin A

基原 : *Monascus anka*

生理活性：モノアミン酸化酵素阻害.

(8) Monankarin B

基原 : *Monascus anka*.

生理活性：モノアミン酸化酵素阻害.

(9) Monankarin C

基原 : *Monascus anka*.

生理活性：モノアミン酸化酵素阻害.

(10) Monankarin D

基原 : *Monascus anka*.

生理活性：モノアミン酸化酵素阻害.

(11) Rubropunctatin

基原 : *Monascus rubropunctatus*.

生理活性：antihyperammonemia 活性.

5) *Monascus* 菌の分類に関する調査研究 (資料5)

*Monascus* 属は、*Ascomycotina* (子のう菌亜門) の *Plectomycetes* (不整子のう綱) の *Monascuseae* (べにこうじ科) に属する。

*Monascus* 属には、*Monascus albidus*、*M. albidus* var. *glaber*、*M. anka*、*M. anka* var. *rubellus*、*M. araneous*、*M. barkeri*、*M. kaoliang*、*M. major*、*M. Olei*、*M. paxii*、*M. pilosus*、*M. pubigerus*、*M. purpureus*、*M. ruber*、*M. rubiginosus*、*M. rubropanctatus*、*M. serurobescens*、*M. vini*、*M. vitreus* などの種が知られている。これらの種は、主として集落の外観、色素の生産などの生理的性質によって分類されたもので、その後このような生理的性質は培地の種類や培養条件で変化することが明らかになり、これらの種は synonym (同物異名) とされている。Hawksworth と Pitt は、固体培地上のコロニーの生育速度、性状及び顕微鏡による観察により、次の *M. pilosus*、*M. purpureus*、*M. ruber* の3種に分類し、他を synonym としている。

*M. pilosus*

*M. pubigerus*

*M. rubropanctatu*

*M. serurobescens*

*M. purpureus*

*Monascus albidus*

*M. albidus* var. *glaber*

*M. anka*

*M. anka* var. *rubellus*

*M. araneous*

*M. kaoliang*

*M. major*

*M. rubiginosus*

*M. vini*

*M. ruber*

*M. barkeri* *M. fuliginosus*

*M. Olei*

*M. paxii*

*M. vitreus*

また、Samoson らの分類では、*M. ruber* の synonym に *M. purpureus* を入れ両者に殆ど差がないことを示している。

ここに示したように、*Monascus* 属は分類が確立できてない。事実、今回の文献調査では、半数の文献では、科及び種が特定されず、*Monascus* 属のみとしか記載されていなかった。成分に関する文献の中の種の記載については、我が国以外の文献では *M. purpureus* と記載した文献がなく、それに相当すると考えられるものは、*M. anka* と記載されていた。これらのことから、*Monascus* 属の分類が確定されていない事がわかった。

## 6) 考察

ベニコウジ色素の安全性を確保するために、市販品のベニコウジ色素の含有成分について研究を行い、市販ベニコウジ色素から新しく5つの主色素成分を得たことから、これらの色素の立体構造を明らかにすると共に、これらの結果を基に、改めて市販品の実態再調査が必要となった。

既存添加物リストには、ベニコウジ色素の基原は、*Monascus pilosus* K.SATO ex D. HAWKSWORTH et PITT、及び *Monascus purpureus* WENT. となり HAWKSWORTH の提案した分類に従っている。しかし、この分類は、確定をしているわけでもないので、各文献の種の記載はまちまちであった。したがって、安全性や含有成分等について文献等を調査する場合には、*Monascus* 属の全てについて検討を行う必要があった。また、分類については、現時点における *Monascus* 属の分類に関する学説を整理し全体的な流れを把握しておく必要を感じた。

安全性については、ベニコウジ及び含有成分について安全性試験が行われている報告は

少なかった。したがって、主要な色素成分であるモナスコルブリン及びルプロバンクタン系の母核構造を有する類似化合物について調査をする必要がある。

含有成分についての、文献調査結果は、以外と成分数が少なく、更に調査の必要を感じた。

安全性については、食用色素として利用する場合は当然のこととして、citrinin を含有しないことが求められる。*Monascus* 属の分類が確定してない以上、種の分類によって、citrinin 非生産性を確保する事は困難であり、種レベルでなく、株レベルでの非生産性を確保する事が必要かもしれない。また、他方、分類が曖昧である以上、citrinin の確認重要となり、citrinin の簡便な分析法開発が求められる。

## 5. 平成11年度以降の研究計画

### 1) 市販ベニコウジ色素の実態調査

#### (1) 各単離化合物のNMRの再確認。

今回、記載したNMRの帰属結果にまだ不十分なところも残っており、更なる確認を行う予定である。

#### (2) 結合しているアミノ酸の光学異性の決定。

佐藤らが報告したアスパラギン酸及びアラニンの誘導体には、光学異性体の存在も示唆されている。今回、単離した5つの化合物について光学異性の決定を行う。

#### (3) ベニコウジ色素市販品の実態調査（市販品の色素成分を確立する）。

- ・ 日本食品添加物協会等を通じて広く市販品を収集する。
- ・ 収集した市販品について色素成分の分析を行い、実態調査を行う。
- ・ 市販品の色素成分を確認する。
- ・ 食品中からのベニコウジ色素の分析法を確立する。

#### (2) シトリンの分析法

citrinin の簡便な分析法の研究開発をする。

### 2) 文献調査

(1) Dialog を用いて二次代謝産物、作用、分析法、食品衛生、生物学的影響、培養、(生産性) 食品への利用、諸外国における紅麴色素の利用、汚染等の文献調査を行う。

(2) RTECS を用いて、安全に関する文献調査を行う。

### 3) ベニコウジ菌の分類

*Monascus* 属の分類は、確立してなく、混乱を招くおそれもあるので、かび類の専門家である元国立衛生試験所微生物部宇田川氏に詳細な調査を依頼し、現時点における分類に関する学説を整理し分類を明確にする。

)

)

資料 1.

市販ベニコウジ色素の実態調査（その1）  
色素成分の化学構造決定

東亜大学大学院 義平邦利  
グリコ栄養食品(株)村上哲也、栗原宏二郎  
三栄源エフ・エフ・アイ(株)加藤嘉昭、西山浩司、中村幹雄  
長谷川香料(株)平井孝昌、治  
ヤエガキ醗酵技研(株)栗山明道、長谷川直樹、宮下信勝  
理研ビタミン(株)園田忠道

# 市販ベニコウジ色素の実態調査 (その1)

## 色素成分の化学構造決定

### 1.研究目的

ベニコウジ色素は、既存添加物名簿収載品目リスト<sup>1)</sup>の中で、「子のう菌ベニコウジカビ (*Monascus pilosus* K.SATO ex D.HAWKSWORTH et PITT, *Monascus purpureus* WENT.) の菌体より、室温時~微温時含水エタノール又は含水プロピレングリコールで抽出して得られたものである。主色素はモナスコルブリン及びアンカフラビン等である。赤色を呈する。」と記載されている。

近年、佐藤ら<sup>2)</sup>は、市販品からモナスコルブリン(I)及びルプロパンクタチン(II) (Fig.1) のピラン環の酸素原子がアラニン並びにアスパラギン酸の窒素と O-N 置換した8つの化合物を単離し、ベニコウジ色素の主成分は、I及びIIの誘導体であることを明らかにしている。

今回、我々が入手した市販品について、色素成分を調査研究した結果、佐藤らの得た色素成分とは異なる5つの成分を単離した。これらの化学構造を明らかにした上で、広く市販品を収集し、市販ベニコウジ色素が含有する色素成分の実態を明らかにし、食品添加物の安全性に資することを研究目的とした。

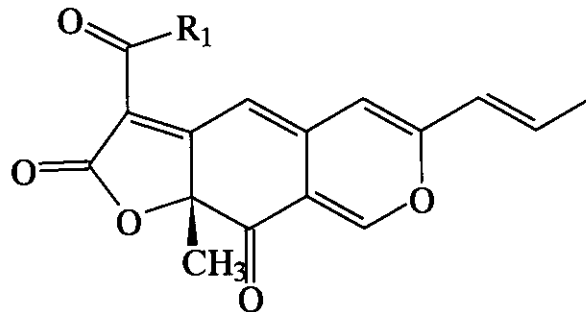
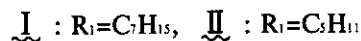


Fig.1 Chemical Structures of Monascorburin and Rubropunctatin



### 2.研究方法

- 1) 試料 市販のベニコウジ色素製品を用いた。
- 2) 試薬 試薬はすべて HPLC 用又は特級を用いた。
- 3) 装置

- (1) 自記分光光度計：島津製作所(株)製 UV-2500PC
- (2) 高速液体クロマトグラフ (HPLC)：ウォータース社製 2690 シリーズ
- (3) 質量分析計：パーキンエルマー社製 API165
- (4) 核磁気共鳴分光計 (NMR)：日本電子(株)製 JNM-LA400.

### 4)分析条件

HPLC 分析 カラム：TSKgel ODS-80T<sub>m</sub> (4.6i.d.× 250mm)  
移動相：10%AcOH・MeOH (50:50) 混液→ MeOH (50min, linear gradient)

流速 : 0.8ml/min、検出波長 : 500nm。

質量分析 モード : Positive、イオン化法 : エレクトロスプレー (ESI)、  
測定範囲 : 200-1000 (*m/z*)。

### 5) 精製方法

ベニコウジ色素試料 5g を少量の  $\text{CHCl}_3$  に溶解した後、Silicagel カラム (4.0i.d.  $\times$  50cm) に注入し、 $\text{CHCl}_3 \cdot \text{MeOH} \cdot 4\% \text{AcOH}$  (8:2:0.1) 混液で溶出した。次に、得られた色素画分を濃縮後、少量の 50%MeOH に溶解し、ポンドエルト C18 (size 60cc  $\times$  5 本) に注入した。

MeOH  $\cdot$  4%AcOH (1:1) 混液で洗浄後、MeOH で溶出し、得られた溶出液を濃縮した。最後に、この画分を Prep.HPLC 及び Prep.TLC を繰り返し、5 種の化合物 3、4、5、6、及び 7 をそれぞれ 17、37、12、12 及び 45mg を得た。

Prep.HPLC 条件カラム : Shim-Pack Prep.ODS (20i.d.  $\times$  250mm)、カラム温度 : 40  $^{\circ}\text{C}$   
移動相 : MeOH  $\cdot$  4%AcOH (4:1) 又は (3:1) 混液  
流速 : 10ml/min、検出波長 : 500nm。

Prep.TLC 条件 plate : Kieselgel 60、展開溶媒  $\text{CHCl}_3 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{AcOH}$  (9:1:1) 又は (9:1:0.5) 混液。

### 6) 合成方法

予め単離したモナスコルプリン及びルプロパンクタチンの濃度が 10mM になるように 50%EtOH に溶解し、その溶液に各種アミノ酸を濃度が 11mM になるように添加して混合した。更に  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  濃度が 5.5mM になるよう調整し、一旦 60  $^{\circ}\text{C}$  に昇温し溶解した。その後、40  $^{\circ}\text{C}$  で 48 時間攪拌した。この液に少量のクエン酸を加えて濃縮乾固した後、少量の AcOEt に溶解してワコーゲル C-200 カラム (1.5i.d.  $\times$  25cm) に負荷した。AcOEt 続いて比率を次第に変えながら AcOEt  $\cdot$  EtOH 混液で溶出し、色素画分を濃縮乾固して I 及び II の各種アミノ酸誘導体を得た。

### 7) 機器分析

1  $\sim$  7 の UV-Vis スペクトルは、MeOH を用いて測定した。NMR スペクトルは、測定溶媒としては、 $\text{CD}_3\text{OD}$  及び  $\text{CDCl}_3$  を、内部標準としては TMS を用いて測定した。

## 3. 結果と考察

### 1) HPLC による各種市販ベニコウジ色素の含有成分の比較。

市販ベニコウジ色素の含有成分の違いを比較するために、5 検体のベニコウジ色素製品の HPLC を行った。その結果、いずれの試料も各成分の割合の違いこそ認められたが、ほぼ同様のクロマトグラムを示した。

そこで、いずれの試料にも共通する主色素 5 成分の単離精製及び構造解析を行った。

Fig.2 に単離精製及び構造解析を行った 3  $\sim$  7 の 5 つの化合物の HPLC チャートを示す。



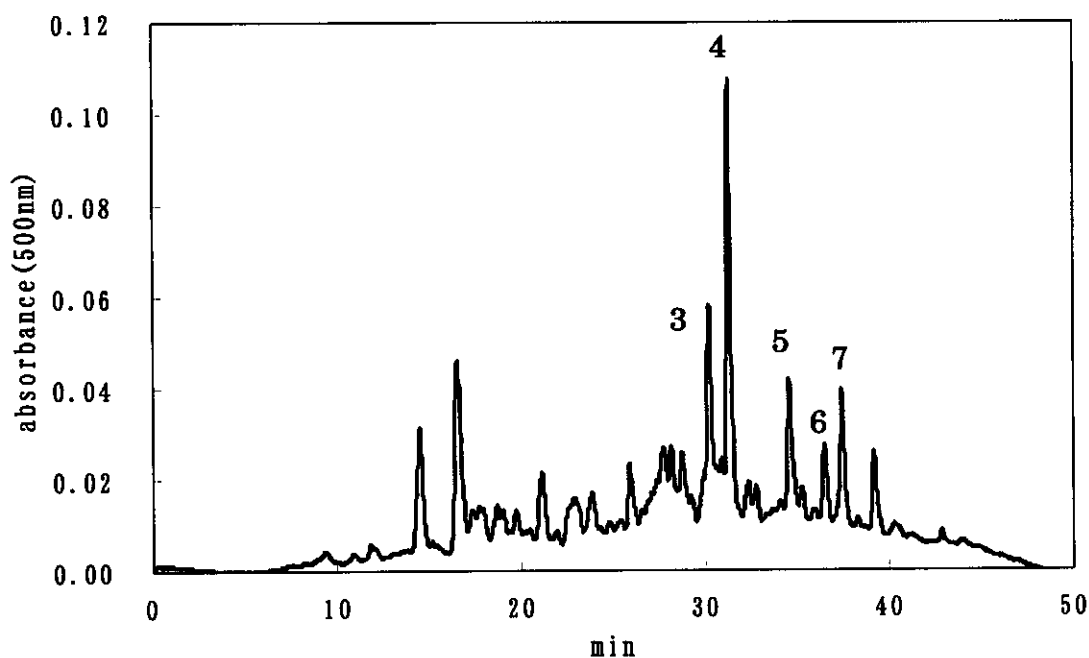


Fig.2 HPLC of Commercial Monascus Color

## 2) 単離成分のESI-MS

Table 1 ESI-MS Data of Compounds (3 ~ 7) isolated from Monascus Color

Compound	Molecular Formula	m/z
3	C <sub>30</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>6</sub>	502 [M+H] <sup>+</sup> , 458 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
4	C <sub>27</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>6</sub>	468 [M+H] <sup>+</sup> , 424 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
5	C <sub>48</sub> H <sub>54</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	819 [M+H] <sup>+</sup> , 775 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
6	C <sub>32</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>6</sub>	530 [M+H] <sup>+</sup> , 486 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
7	C <sub>29</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>6</sub>	496 [M+H] <sup>+</sup> , 452 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>

Fig.2 に示した 3 ~ 7 の 5 つの化合物を方法の部で記した精製方法にて単離し、質量分析(ESI-MS)を行った。その結果、Table1 に示すように、各単離化合物の疑似分子イオンピーク [M+H]<sup>+</sup> が、それぞれ 502、468、819、530、496 に検出された。また、いずれの化合物にも脱炭酸 (m/z=44) の疑似フラグメントピークが検出された。これは、化合物 I 及び II がアミノ酸と結合したために、結合したアミノ酸由来の脱炭酸疑似フラグメントピークであると推定された。よって、検出された疑似分子イオンピークより、化合物 3 は II とフェニルアラニン (C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>6</sub>)、化合物 4 は II とロイシンまたはイソロイシン (C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>6</sub>)、化合物 5 は 2 分子の II とリジン (C<sub>48</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>)、化合物 6 は I とフェニルアラニン (C<sub>32</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>6</sub>)、化合物 7 は I とロイシンまたはイソロイシン (C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>6</sub>) のそれぞれ誘導体

導体と推定された。

### 3) 単離化合物とそれに相当する合成化合物との比較

ESI-MS の結果から、推定されるL-アミノ酸を選抜し、Scheme 1 の方法でI及びIIから計7種の化合物を合成した。これらの合成した化合物とベニコウジ色素中から単離した化合物とをUV-Vis スペクトル、HPLC、ESI-MS 及びNMR にて比較した。

#### Reaction Mixture Composition.

source pigment: 10mmol/l  
amino acids: 11mmol/l\* in 50%EtOH  
added Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.5mmol/l)  
dissolved at 60 °C  
incubated at 40 °C for 48hours with stirring  
acidified to pH 6.0 with citric acid  
concentrated in *vacuo*

#### Residue.

applied to the Silicagel Column  
eluted with AcOEt/EtOH mixture

#### Pigment Fractions.

concentrated in *vacuo*

Amino acid Derivatives

\*Assigned 4.54mmol/l for Lys.

Scheme 1 Synthetic method for amino acid derivatives from I and II

source pigment : Monascorburin, Rubropunctatin

amino acids : L-Phe, L-Leu, L-Ile, L-Lys

### (1) 単離化合物及び合成化合物の HPLC 及び ESI-MS データ

Table 3 HPLC and ESI-MS Data of Compounds isolated from *Monascus* Color and Synthesized Color

No. of Compounds	R.T. (min)	m/z	
		[M+H] <sup>+</sup>	[M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
<u>3</u> (isolated) (R+ <u>L</u> -Phe)	32.2	502	458
	32.2	502	458
<u>4</u> (isolated) (R+ <u>L</u> -Ile) (R+ <u>L</u> -Leu)	33.4	468	424
	33.0	468	424
	33.4	468	424
<u>5</u> (isolated) (2R+ <u>L</u> -Lys)	37.9	819	775
	37.9	819	775
<u>6</u> (isolated) (M+ <u>L</u> -Phe)	39.3	530	486
	39.3	530	486
<u>7</u> (isolated) (M+ <u>L</u> -Ile) (M+ <u>L</u> -Leu)	40.3	496	452
	40.2	496	452
	40.3	496	452

R : Rubropunctatin M : Monascorburin

単離した化合物及び合成した化合物の LC-MS 分析を行った。結果は、Table3 に示すように、化合物 3、5、6 に関しては、保持時間及び疑似分子イオンピーク並びに脱炭酸したと考えられる疑似フラグメントピークは、単離化合物と合成化合物のそれとは一致した。また、化合物 4、7 に関しては単離化合物の保持時間と一致したものは、合成の L-Leu からの誘導体であり、L-Ile からの誘導体とは一致しなかった。よって、化合物 4、7 は、ロイシンが O-N 置換した化合物と推定された。

### (2) UV-Vis スペクトル比較結果

各々相当する単離化合物及び合成化合物の UV-Vis スペクトルを比較した。尚、化合物 4、7 については、LC-MS の結果より、相当するアミノ酸はロイシンと推定して UV-Vis スペクトルの比較を行った。その結果、いずれの化合物もスペクトルは一致した。Fig.3 に結果の一例として、単離化合物 5 とそれに相当する合成化合物の比較スペクトルを示す。両者とも 500nm の吸光度を同じに調整して測定すると完全に一致した。

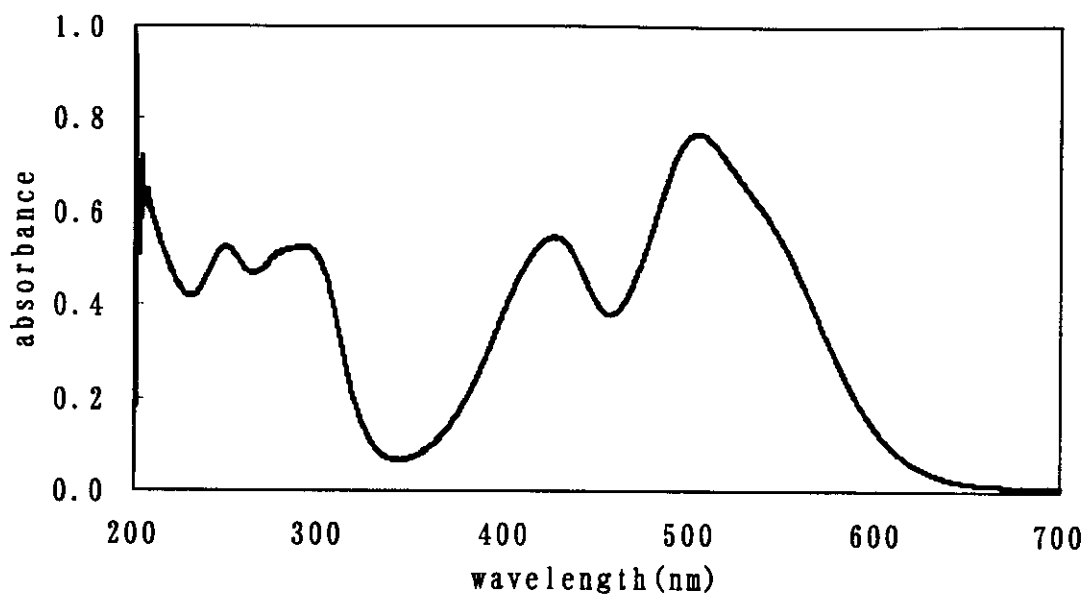


Fig.3. UV-Vis Spectral Date of Isolated and Synthetic Compound 5.

$\lambda$  max (MeOH) nm:249.0,290.5,426.5,502.5

以上の結果から、ベニコウジ色素から単離した5つの化合物の化学構造を Fig.4 及び Fig.5 と推定し、種々のスペクトル解析の手法を用いて、構造解析を行った。

また、Fig.4 及び Fig.5 に示したアザフィロン骨格 9(9')位の不斉炭素原子については、F.C.Chen ら<sup>2)</sup>によるとモナスコルブリン及びブルプロパンクタチンは、左旋性物質と報告しており、9(9')位の光学活性は固定した。

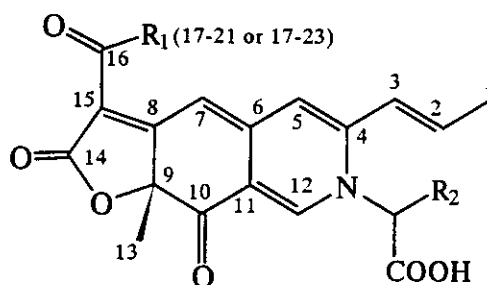


Fig.4 Chemical Structures of Compound 3, 4, 6 and 7

3 :  $R_1=C_6H_{11}$ ,  $R_2=CH_2C_6H_5$     4 :  $R_1=C_6H_{11}$ ,  $R_2=CH_2CH(CH_3)_2$

6 :  $R_1=C_7H_{15}$ ,  $R_2=CH_2C_6H_5$     7 :  $R_1=C_7H_{15}$ ,  $R_2=CH_2CH(CH_3)_2$

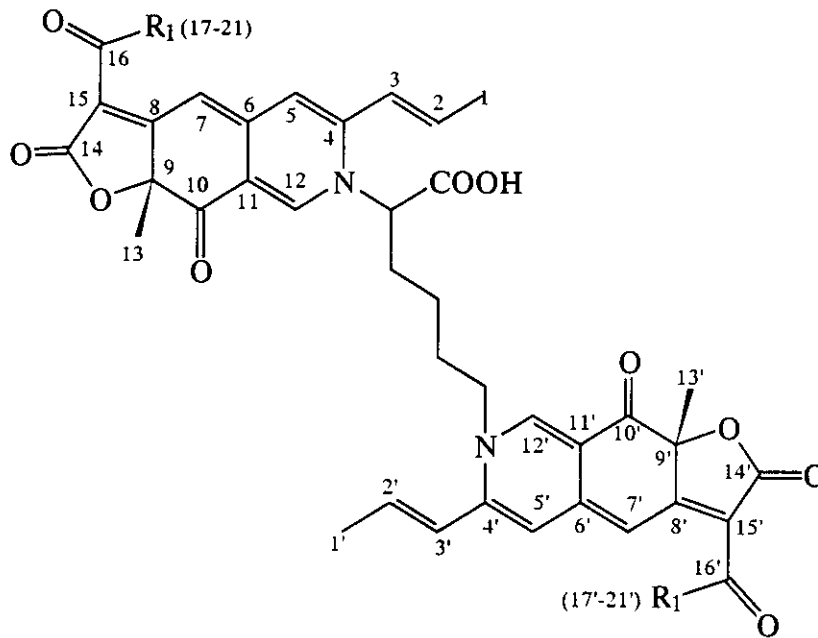


Fig.5 Chemical Structure of Compound 5.

Compound 5 :  $R_1 = C_3H_7$

### (3) NMR データ解析結果

$^1H$ -NMR、 $^{13}C$ -NMR、H-H COSY、C-H COSY 及び HMBC データで検出されたシグナルの帰属は、単離化合物及び合成化合物の両者のそれと比較検討することによって行った。測定溶媒は、化合物 3、4、6、7 については  $CDCl_3$  を、化合物 5 については  $CD_3OD$  を用いて測定した。

各単離化合物とそれに相当する合成化合物の検出されたシグナルの比較検討により、両者のそれは一致した。Table 4-1 ~ 6-2 に各単離化合物の帰属結果を示す。また、I 及び II へのアミノ酸の結合は、Fig.6 に示す化合物 4 の HMBC 結果より、ロイシンの  $\alpha$  位のプロトンからルプロパンクタチンのピラン環の 4 位及び 12 位のカーボンへの相関が観測されたことにより推定された。更に、化合物 5 についてはリジンの  $\alpha$  位及び  $\epsilon$  位のプロトンから 2 分子のルプロパンクタチンの 4 (4') 位及び 12 (12') 位への相関が同様に観測された。その他の化合物も同様な相関が観測されており、これらの結果より、単離された化合物はいずれも、化合物 I 及び II のピラン環の酸素原子とアミノ酸の窒素原子が O-N 置換反応したものと推定された。

Table 4-1 <sup>1</sup>H-NMR data for compound 3 and 6 (solvent : CDCl<sub>3</sub>)

position	3 (rubropunctatin+Phe)	6 (monascorubrin+Phe)
1	1.84 (3H, <i>d</i> ,4.9)	1.84 (3H, <i>m</i> )
2	}	}
3		
5	6.41 (1H, <i>s</i> )	6.44 (1H, <i>s</i> )
7	6.56 (1H, <i>s</i> )	6.62 (1H, <i>s</i> )
12	8.13 (1H, <i>s</i> )	8.15 (1H, <i>s</i> )
13	1.63 (3H, <i>s</i> )	1.64 (3H, <i>s</i> )
17	2.81 (2H, <i>m</i> )	2.84 (2H, <i>t</i> ,7.3)
18	1.58 (2H, <i>m</i> )	1.59 (2H, <i>m</i> )
19	}	}
20		
21	0.85 (3H, <i>t</i> ,6.6)	1.24 (8H, <i>m</i> )
22		
23		
$\alpha$	5.20 (1H, <i>m</i> )	5.23 (1H, <i>m</i> )
$\alpha$ -COOH	10.59 (1H, <i>s</i> )	10.60 (1H, <i>s</i> )
$\beta$	{ 3.26 (1H, <i>m</i> )	{ 3.30 (1H, <i>m</i> )
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -	3',5'位 7.00 (2H, <i>m</i> )	3',5'位 7.02 (2H, <i>m</i> )
	2',4',6'位 7.18 (3H, <i>m</i> )	2',4',6'位 7.20 (3H, <i>m</i> )

Table 4-2 <sup>13</sup>C-NMR data for compound 3 and 6 (solvent : CDCl<sub>3</sub>)

position	3 (rubropunctatin+Phe)	6 (monascorubrin+Phe)
1	18.8	18.8
2	139.7	139.9
3	121.8	121.7
4	149.7	149.9
5	117.3	117.4
6	150.2	150.3
7	98.1	98.4
8	172.4	172.5
9	85.5	85.6
10	194.2	193.9
11	117.5	117.6
12	140.2	139.9
13	29.8	29.8
14	170.0	169.6
15	103.7	103.8
16	197.3	197.6
17	40.5	40.4
18	24.1	24.6
19	31.4	} 29.1 29.3
20	22.4	
21	13.8	} 22.5 31.6
22		
23		13.9
$\alpha$	65.1	65.0
$\alpha$ -COOH	171.4	171.5
$\beta$	38.6	38.5
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -	1' 134.7	1' 134.6
	2',6' 128.7	2',6' 128.7
	3',5' 128.7	3',5' 128.7
	4' 127.5	4' 127.6

Table 5-1 <sup>1</sup>H-NMR data for compound 4 and 7 (solvent : CDCl<sub>3</sub>)

position	4 (rubropunctatin+Leu)	7 (monascorubrin+Leu)
1	1.99 (3H, <i>d</i> ,6.1)	2.00 (3H, <i>d</i> ,6.1)
2	6.45 (1H, <i>m</i> )	6.45 (1H, <i>m</i> )
3	6.34 (1H, <i>m</i> )	6.34 (1H, <i>d</i> ,15.2)
5	6.71 (1H, <i>s</i> )	6.71 (1H, <i>s</i> )
7	6.72 (1H, <i>s</i> )	6.75 (1H, <i>s</i> )
12	8.10 (1H, <i>s</i> )	8.11 (1H, <i>s</i> )
13	1.68 (3H, <i>s</i> )	1.68 (3H, <i>s</i> )
17	2.86 (2H, <i>t</i> ,7.1)	2.88 (2H, <i>t</i> ,7.1)
18	1.59 (2H, <i>m</i> )	1.59 (2H, <i>m</i> )
19	} 1.30 (4H, <i>m</i> )	} 1.25 (8H, <i>m</i> )
20		
21	0.86 (3H, <i>t</i> ,6.5)	
22		
23		0.85 (3H, <i>t</i> ,6.7)
α	4.93 (1H, <i>m</i> )	4.93 (1H, <i>m</i> )
α-COOH	10.60 (1H, <i>s</i> )	10.78 (1H, <i>s</i> )
β	{ 2.06 (1H, <i>m</i> )	{ 2.06 (1H, <i>m</i> )
	{ 2.17 (1H, <i>m</i> )	{ 2.18 (1H, <i>m</i> )
γ	1.52 (1H, <i>m</i> )	1.52 (1H, <i>m</i> )
δ	{ 0.91 (3H, <i>d</i> ,6.6)	{ 0.92 (3H, <i>d</i> ,6.6)
	{ 0.95 (3H, <i>d</i> ,6.3)	{ 0.95 (3H, <i>d</i> ,6.6)

Table 5-2 <sup>13</sup>C-NMR data for compound 4 and 7 (solvent : CDCl<sub>3</sub>)

position	4 (rubropunctatin+Leu)	7 (monascorubrin+Leu)
1	18.9	18.9
2	140.2	140.1
3	121.9	121.8
4	150.1	150.1
5	118.0	118.0
6	150.1	150.1
7	98.6	98.6
8	172.9	172.9
9	89.6	85.6
10	193.8	193.7
11	117.6	117.6
12	139.4	139.4
13	29.8	29.8
14	171.6	171.5
15	103.9	103.9
16	197.8	197.9
17	40.2	40.2
18	24.4	29.2
19	} 22.4 31.4	} 29.0
20		
21	13.8	} 22.4 31.5
22		
23		13.9
α	62.3	62.3
α-COOH	170.1	170.0
β	40.3	40.2
γ	24.7	24.6
δ	21.3 22.5	21.3 22.5

Table 6-1 <sup>1</sup>H-NMR data for compound 5 (solvent : CD<sub>3</sub>OD)

position	5 (rubropunctatin × 2 + Lys)	
1 (1')	1.95 (3H, <i>d</i> ,5.6)	1.98 (3H, <i>d</i> ,6.1)
2 (2')	}	6.55 (4H, <i>m</i> )
3 (3')		
5 (5')		
7 (7')	6.95 (1H, <i>s</i> )	6.97 (1H, <i>s</i> )
12 (12')	8.23 (1H, <i>s</i> )	8.32 (1H, <i>s</i> )
13 (13')	1.56 (3H, <i>s</i> )	1.58 (3H, <i>s</i> )
17 (17')	2.77 (4H, <i>m</i> )	
18 (18')	1.57 (4H, <i>m</i> )	
19 (19')	}	1.32 (8H, <i>m</i> )
20 (20')		
21 (21')		
α	0.90 (6H, <i>t</i> ,6.7)	
β	5.02 (1H, <i>m</i> )	
γ	2.22 (1H, <i>m</i> )	2.39 (1H, <i>m</i> )
δ	1.46 (2H, <i>m</i> )	
ε	1.87 (2H, <i>m</i> )	
	4.19 (2H, <i>m</i> )	

Table 6-2 <sup>13</sup>C-NMR data for compound 5 (solvent : CD<sub>3</sub>OD)

position	5 (rubropunctatin × 2 + Lys)	
1 (1')	19.3	19.4
2 (2')	141.3	141.8
3 (3')	123.0	123.7
4 (4')	151.4	
5 (5')	118.8	
6 (6')	153.0	
7 (7')	98.7	
8 (8')	173.3	
9 (9')	86.8	
10 (10')	196.1	
11 (11')	119.3	
12 (12')	152.4	152.6
13 (13')	30.8	
14 (14')	173.7	
15 (15')	102.9	
16 (16')	198.3	
17 (17')	41.3	
18 (18')	25.9	
19 (19')	32.9	
20 (20')	23.6	
21 (21')	14.4	
α	63.5	
α-COOH	173.3	
β	32.9	
γ	24.1	
δ	30.6	
ε	56.0	



)

)

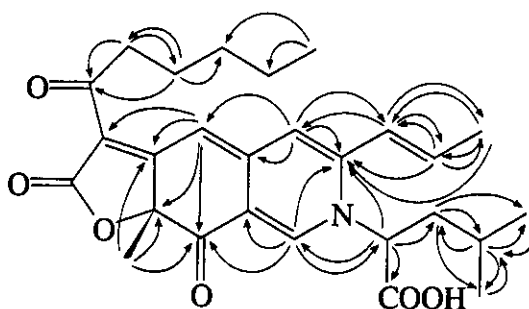


Fig.6 Long-Range Correlation in HMBC Spectrum of Compound 4

これまでの比較検討結果より、今回、市販のベニコウジ色素から単離した5つの化合物は、Fig.7に示すように化合物 3、4、6、7 は I 及び II のピラン環の酸素原子がロイシン又はフェニルアラニンの窒素原子と O-N 置換した化合物であることが判明した。また、化合物 5 は、リジンに2つの II が O-N 置換した構造であることが明らかになり、いずれもモナスコルブリン及びルプロパンクタチンを母骨核とするアミノ酸の誘導體であることが判明した。更に、Fig.2 のクロマトグラムに複数の成分が検出されているが、これら成分のフォトダイオードアレイ (PDA) 検出による吸収スペクトルは、単離した5つの化合物と同様の吸収スペクトルを示していることから、いずれの成分も結合しているアミノ酸又はペプチドが相違する同様の同族体ではないかと推定された。ベニコウジ色素は製法上、菌体培養液から抽出されるので、培養液中のアミノ酸及びペプチドの種類及び含有量の相違がベニコウジ色素成分を数多くのものになっていると思われる。

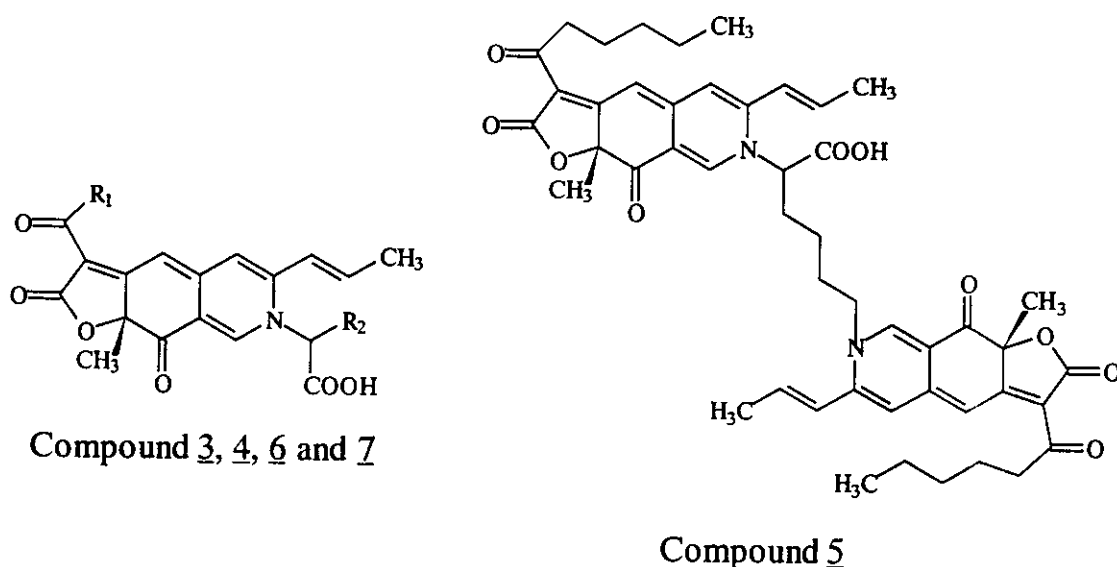


Fig.7 Chemical Structures of Compound 3, 4, 5, 6, and 7

3 :  $R_1 = C_5H_{11}$ ,  $R_2 = CH_2C_6H_5$     4 :  $R_1 = C_5H_{11}$ ,  $R_2 = CH_2CH(CH_3)$  :

6 :  $R_1 = C_7H_{15}$ ,  $R_2 = CH_2C_6H_5$     7 :  $R_1 = C_7H_{15}$ ,  $R_2 = CH_2CH(CH_3)$  :

#### 4.参考文献

- 1) 厚生省生活衛生局長通知：既存添加物名簿収載品目リスト，  
平成8年5月23日付衛化第56号，
- 2) 佐藤恭子：*Chem.Pharm.Bull.* 45(1),227-229, 1997
- 3) F.C.Chen：*J.Chem.Soc. (C)*,3577-3579, 1971
- 4) 石綿 肇：食衛誌. Vol.15,No.1,36-42, 1974
- 5) 平田恵子：*Ann.Rep.Tokyo Metr. Res.Lab.P.H.*,48,178-184, 1997

資料 2.

*Monascus* 菌に関する文献調査

東亜大学大学院 義平邦利

三栄源エフ・エフ・アイ(株) 井上健夫