

かし、一部は純度が不良で十分なデータが得られなかった。

D. 考察

グレープフルーツ種子抽出物の成分は、TLC において非常に沢山のスポットがラダー状に認められ、硫酸噴霧後の加熱による発色の色調もお互いに類似しており、これらの様子から、二重結合の数、アルキル鎖の長さ、酸素官能基の有無、幾何異性等の違いによる多数の脂肪酸誘導体の混合物ではないかと推測される。事実得られた化合物が脂肪酸グリセリド或いは不飽和脂肪酸と推定された。また、分離において、ODS (C-18) カラムを用いると 100 % CH₃CN を用いてもカラムから溶出出来ないほど脂溶性が高いことから脂肪酸等の長いアルキル鎖を持った化合物が数多く含まれることを示している。他のフラクションからも更に成分の分離を行っているところである。メーカーの製品規格書にはパルミチン酸、オレイン酸、パルミトレイン酸の含有の記載があるが、実際にはるかに多数の脂肪酸誘導体が含まれていることがうかがわれる。事実、Fig. 1 で示した Fr. 3, Fr. 4, Fr. 5 よりも極性の高い Fr. 6, Fr. 7 をより極性の高い溶媒を用いて HPLC を行う

と、Fr. 3 - Fr. 5 に至適な溶媒ではほとんどまとまって認められるピークが数多くのピークの混じりであることを示している。現在分離された化合物の NMR 測定を更に行っているところである。なお、グレープフルーツ種子抽出物の TLC 挙動から、脂肪酸誘導体以外と考えられる化合物が存在する情報が全く見られないことは、植物エキスの従来経験からほとんど無かったことであり非常に興味が持たれる。

E 結論

グレープフルーツ種子抽出物から C-4 カラムを用いることで HPLC 分離が可能となり、10種余りの化合物が分離され、更に多くの化合物を分離中である。今までの分離の過程における状況と一部化合物の NMR の結果から、グレープフルーツ種子抽出物中には多数の脂肪酸誘導体が含まれていることが推測された。

F 研究発表

無し

G 知的所有権の取得状況

無し

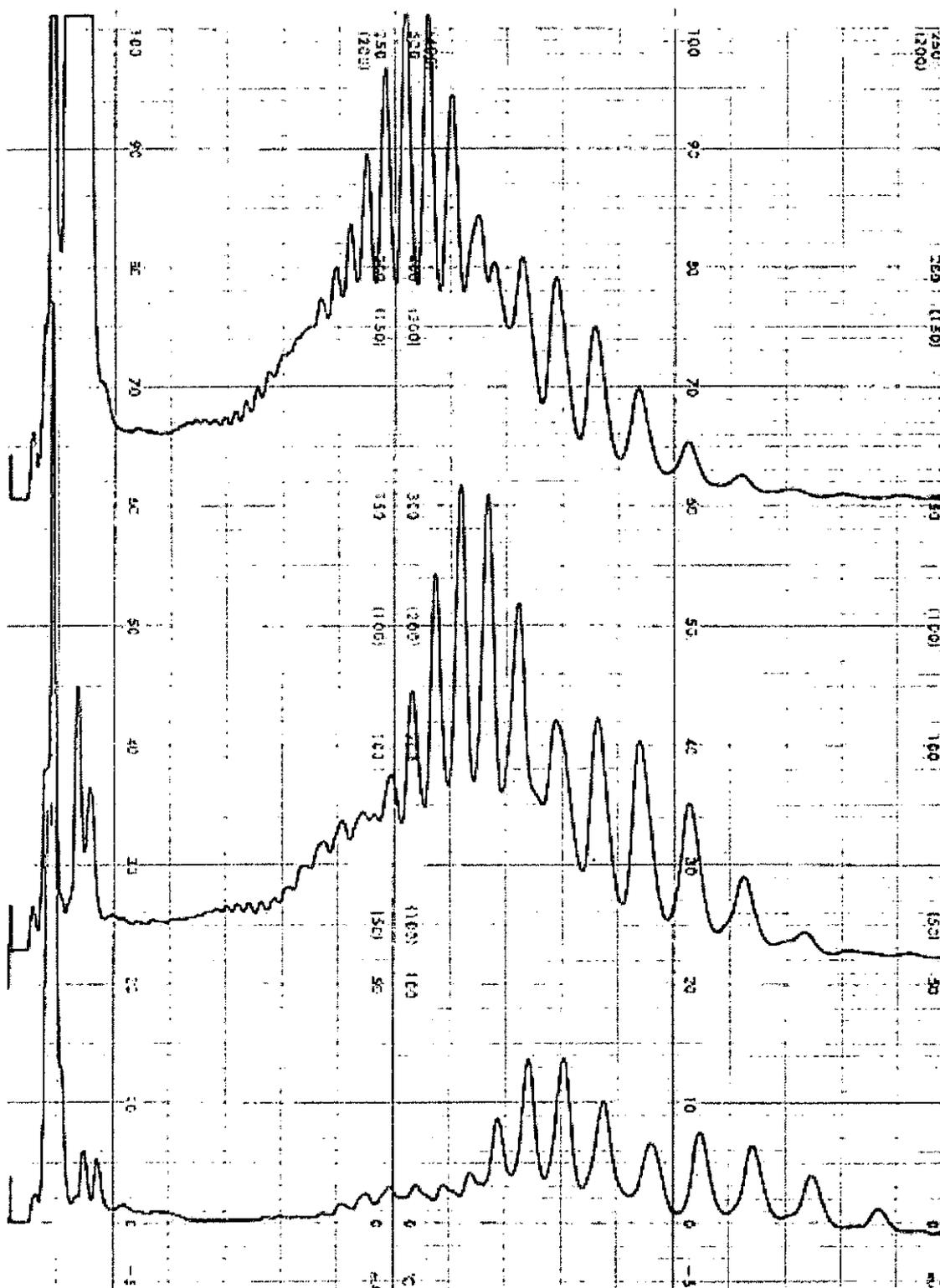


Fig. 1. 上からグレープフルーツ種子抽出物の Fr. 5, Fr. 4, Fr. 3 である。

分析条件は column: C4 (YMC) 6 x 150 mm, Solvent: 85 % CH₃CN, 1.2ml/min
ditect: 210 nm

Fr. 4, C4 column, 85 % CH₃CN, 210 nm

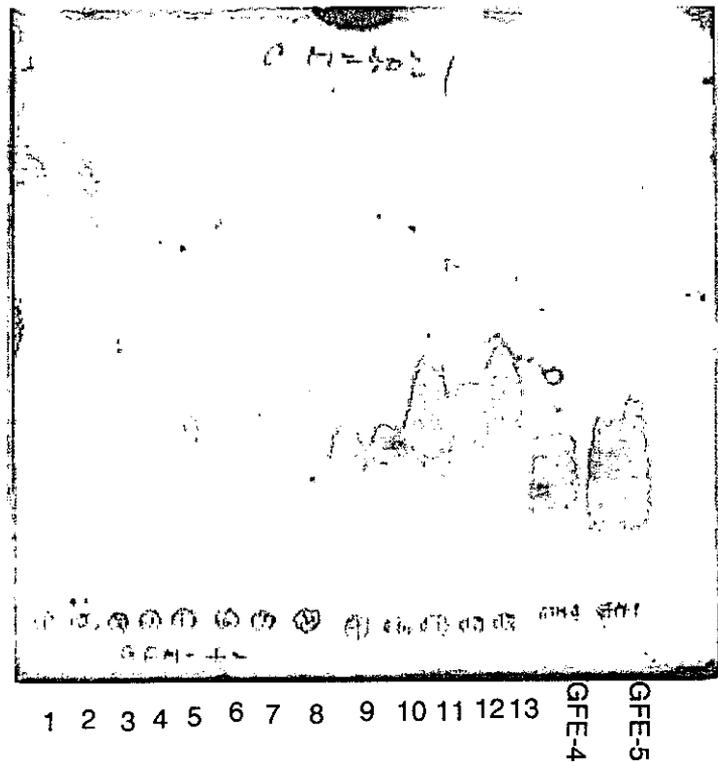
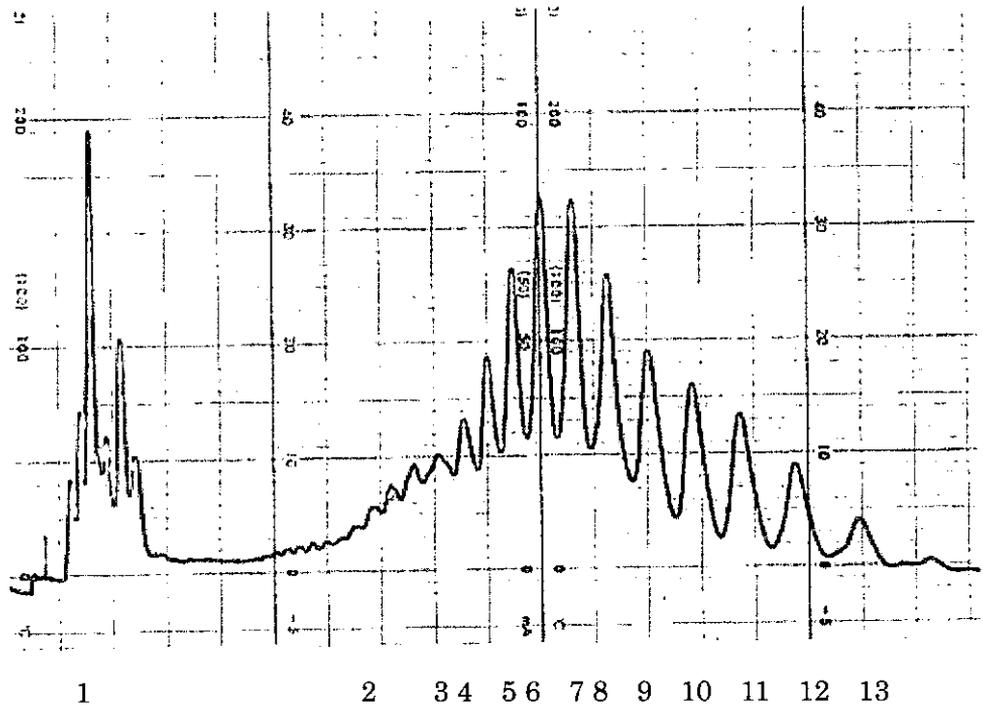


Fig. 2 上記の HPLC の各ピークを分取し、その TLC を行った。

TLC の条件 ; CHCl₃ : MeOH = 30 : 1

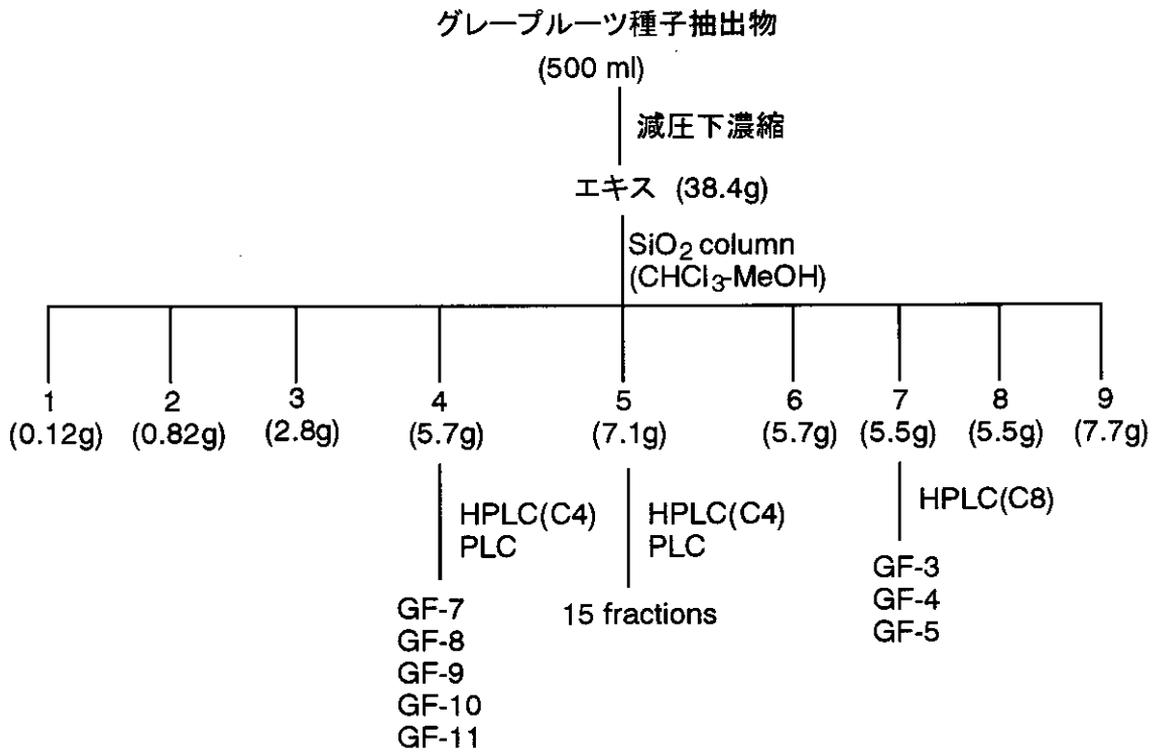


Fig. 3
グレープフルーツ種子抽出物 の分離スキーム

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告

天然苦味料ジャマイカカussia抽出物の成分研究

協力研究者 杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部研究員

研究要旨 天然苦味料ジャマイカカussia抽出物製品の主構成成分について LC/MS, HPLC を用いて検討した。また、主有効成分クアシンを単離・精製し、その構造を MS, NMR により確認した。更に、得られたクアシンを標品として絶対検量線法により製品中のクアシン及びネオクアシンの含有量を検討した結果、それぞれ 21.4%及び 55.5%であることを明らかとした。また、ニガキ抽出物を調製し、ジャマイカカussia抽出物製品と比較したところ、その成分組成が異なることを明らかとした。

A. 研究目的

天然苦味料ジャマイカカussia抽出物は、既存添加物名簿収載品目リスト¹⁾に、その基原・製法・本質として、「ニガキ科ジャマイカカussia (*Quassia excelsa* SW.)の幹枝又は樹皮より、水で抽出して得られたものである。有効成分はクアシン (quassin (1)) 及びネオクアシン (neoquassin (2))である。」と記載されている。基原植物のジャマイカカussiaは、ジャマイカ周辺にのみ自生し、我が国には栽培されていない。即ち、本抽出物製品は、すべて諸外国を通じて輸入されたものと考えられる。また、本抽出物の成分組成についての詳細な報告はない。そこで、本抽出物の化学的安全性を確保するため、主構成成分の分析を行った。また、同時に、同科植物ニガキより調製される天然苦味料ニガキ抽出物の成分組成との比較を行い、その差違について検討した。

B. 研究方法

1) 試料

ジャマイカカussia抽出物 (Jamaica quassia extract)製品は日本食品添加物協会を通じて入手した。ニガキ科ニガキ (*Picrasma quassioides* BENN.)の細木片は、国立医薬品食品衛生研究所生薬部標本を用いた。オープンカラムクロマトには、silica gel 60N (spherical, neutral), 63-200 µm (関東化学 (株)社製, Cat. No. 37565-79)を用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC)には、Silica gel 60 F254 (20 x 20 cm) Merck 社製, Art. 1.05715)を用いた。その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

2) 装置

各種機器データは、次の機器を用いた。
融点(mp): Yanaco MP-3 (柳本製作所(株)製)

(未補正值)。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC): Shimadzu LC-10Avp system (島津製作所(株)製)

液体クロマトグラフ/質量分析装置(LC/MS): Waters LC/MS system (Waters 社製) (LC: 2525 binary high-pressure LC pump, 2767 one-bed injection-collection sample manager. PDA: 2996 photodiode array detector. MS: ZQ-2000 single quadrupole mass spectrometer.)

核磁気共鳴スペクトル(NMR): JEOL alpha-500 (日本電子(株)製). homonuclear shift correlation spectroscopy (COSY), heteronuclear multiple-quantum coherence (HMQC) 及び heteronuclear multiple bonds correlation (HMBC), nuclear overhauser effect (NOE)には磁場勾配システムを用いた。NMR のケミカルシフト値は、TMS (tetramethylsilane) を内部標準とし、 δ 値を ppm 単位で表した。

3) HPLC 条件

Analytical conditions: column, AtlantisTM dC18 (4.6 mm i.d. x 100 mm, 5 µm); column temp., 40°C; solvent, MeOH:H₂O = 40:60; inject, 5 µL; rate, 1.0 mL/min; detect, 255 nm.

4) LC/MS 条件

LC conditions: column, AtlantisTM dC18 (4.6 mm i.d. x 100 mm, 5 µm); column temp., r.t.; solvent, MeOH:H₂O = 40:60 (0 min)→55:45 (25 min)→100:0 (35 min); inject, 10 µL; rate, 1.0 mL/min; splitter, PDA:MS = 4:1; detect, 255 nm.

MS conditions: source temperature, 120°C; desolvation temperature, 350°C; desolvation gas, 350 L/h; cone gas, 60 L/h, capillary, 3.0 kV; cone, 45 V (ESI pos.), -25 V (ESI neg.); scan range, *m/z* 50-600.

5) Quassin (1)の単離・精製

ジャマイカカussia抽出物製品 1 g を silica gel カラムクロマト(移動相: CHCl₃ : MeOH = 19 :

1)に付し、粗 1 (36 mg)を得た。得られた 1 を AcOEt : MeOH により再結晶して 1 (34 mg)を得た。1: colorless powder, mp 222-223°C, MS (ESI pos.): m/z 389 [M+H]⁺, 411 [M+Na]⁺. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.12(3H, d, J = 7.0 Hz, H-18), 1.20(3H, s, H-20), 1.56(3H, s, H-19), 1.81(1H, m, H-5), 1.84(1H, m, H-6a), 1.88(3H, s, H-21), 2.09(1H, ddd, J = 3.0, 3.3, 14.0 Hz, H-6b), 2.42(1H, dd, J = 7.0, 11.6 Hz, H-14), 2.49(1H, m, H-4), 2.60(1H, dd, J = 11.9, 18.5 Hz, H-16a), 2.99(1H, s, H-9), 3.00(1H, dd, J = 7.0, 18.5 Hz, H-16b), 3.59(3H, s, OMe(C-2)), 3.67(3H, s, OMe(C-12)), 4.30(1H, dd J = 2.1, 3.3 Hz, H-7), 5.31(1H, d J = 2.5 Hz, H-3). ¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 25.8(C-6), 31.1(C-4), 31.6 (C-15), 37.0(C-8), 43.2(C-5), 45.8(C-10), 46.2 (C-9), 46.5(C-14), 54.8(C-3-OMe), 59.2(C12- OMe), 81.8(C-7), 116.3(C-3), 137.5(C-13), 147.9(C-2), 148.2(C-12), 169.0(C-16), 190.9(C- 11), 196.1(C-1), 197.7(C-1).

6) ニガキ抽出物の調製

水抽出物: ニガキ細木片 0.5 g に水 50 mL を加えて 90°C の水浴中で 30 分間加熱し、温時棉栓ろ過した。ろ液を減圧留去して残さ 27 mg を得た。MeOH 抽出物: ニガキ細木片 0.4 g に MeOH 40 mL を加えて 70°C の水浴中で 30 分間加熱し、温時棉栓ろ過した。ろ液を減圧留去して残さ 22 mg を得た。

7) LC/MS 分析試料の調製

ジャマイカカussia抽出物製品及びニガキ細木片より調製したニガキ抽出物(水抽出物, MeOH 抽出物)をそれぞれ MeOH に溶解し、濃度 5 mg/mL に調製したものを LC/MS 分析試料とした。

8) HPLC 分析試料の調製及び 1, 2 の定量

ジャマイカカussia抽出物製品 50 mg を精密に量り MeOH 10 mL に溶解し、HPLC 分析試料とした。また、単離・精製した 1 3.0 mg を精密に量り、MeOH 1.5 mL に溶解し、1/2 希釈を繰り返して、2.0, 1.0, 0.5, 0.25 mg/mL に調製した。検出波長 255 nm において、各濃度の 1 のピーク面積より作成した絶対検量線より、ジャマイカカussia抽出物中の 1 及び 2 を定量した。

C. 結果及び考察

1. LC/MS 分析

ジャマイカカussia抽出物製品及びニガキ細木片より調製したニガキ抽出物(水抽出物, MeOH 抽出物)を LC/MS に付した結果を Fig.2 に示した。ジャマイカカussia抽出物製品は、検出波長 255 nm において、保持時間 7.9 分(ピーク A), 13.3 分(ピーク B), 14.2 分(ピーク C)の 3 つ

のピークが観察された。ピーク A は、ESI-MS (pos.)において、 m/z 389 [M+H]⁺, 411 [M+Na]⁺を与えたことから本抽出物の有効成分の 1 つとされるクアシン(quassin) (1)であると推定された。一方、ピーク B, C は ESI-MS (pos.)において、共に m/z 391 [M+H]⁺, 413 [M+Na]⁺を与え、ESI-MS (neg.)においても、共に 389 [M-H]⁻を与えた。また、また、ピーク B, C は、255 nm 付近に極大吸収を持つピーク A とほぼ等しい PDA スペクトルを与えたことから、これらは 1 と同様に分子内に a, b 不飽和カルボニルを含むことが示唆された。よって、ピーク B, C はネオクアシン(neoquassin (2))の 16 位の立体異性体²⁾の混合物であると推定された。次に、検出波長 192-600 nm において本抽出物製品を走査したところ、ピーク A, B, C 以外に特に大きなピークは観察されなかったことから、本抽出物製品が主に 1 及び 2 の成分により構成されるものと考えられた。

次に、ニガキ抽出物は、既存添加物名簿収載品目リストに、その基原・製法・本質として、「ニガキ科ニガキ(*Picrasma quassioides* BENN.)の幹枝又は樹皮より、水で抽出して得られたもの、またはメタノールで抽出したのから得られたものである。有効成分はクアシン(quassin (1))である。」と記載されている。よって、ジャマイカカussia抽出物と同科の植物より調製されるニガキ抽出物は、成分的にほぼ同等である可能性が示唆された。天然苦味料としてのニガキ抽出物は、現在、市場に流通しておらず、入手困難であった。そこで、既存添加物名簿収載品目リストに記載の製法に従って、ニガキ抽出物(水抽出物, MeOH 抽出物)を調製し、ジャマイカカussia抽出物製品との成分組成の差違について検討した。その結果、ニガキ抽出物(水抽出物, MeOH 抽出物)は、ジャマイカカussia抽出物とは異なり、1 及び 2 以外の多数の成分からなる混合物であることが明らかとなった(Fig. 1)。

2. 1 及び 2 の定量

ジャマイカカussia抽出物製品中の 1 及び 2 を定量するために、1 を silica gel カラムクロマトにより単離・精製した。1 の構造³⁾は、融点、NMR, MS により、quassin であることが確認された。HPLC において、1 は保持時間 7.8 分に観察され、また、2 の 2 つの立体異性体は 13.7 分に 1 つのピークとして観察された(Fig. 4)。単離・精製した 1 を標品にその濃度と検出波長 255 nm におけるピーク面積より絶対検量線を作成した(Fig. 5)。なお、1 と 2 は、極大波長 255 nm において同一のモル吸光係数をもつことから、2

の定量には 1 より作成した検量線を用いた。その結果、ジャマイカカシミア抽出物製品 5 mg 中に、1 が 1.07 mg (21.4%)、2 が 2.77 mg (55.5%) 含まれることがわかった。

D. 結論

ジャマイカカシミア抽出物製品の主構成成分について検討した結果、quassin (1)(21.4%)及び neoquassin (2)(55.5%)が含有されることを明らかとした。また、ニガキ抽出物を調製し、ジャマイカカシミア抽出物製品と比較したところ、その成分組成が異なることを明らかとした。

(参考文献)

- 1) 厚生省生活衛生局長通知 “別添1 既存添加物名簿収載品目リスト” (平成8年5月23日). 衛化第56号(1996).
- 2) Bellis, P. De; Lovati, M., NMR analysis of neoquassin, *Fitoterapia*, 65, 314-16 (1994).
- 3) Apers, S., Cimanga, K., Berghe, V. D., Meenen, V. E., Longanga, O. A., Foriers, A., Vilietinck, A., Pieters, L., Antiviral activity of simalikalactone D, a quassinoid from *Quassia africana*, *Planta Med.*, 68, 20-24 (2002).

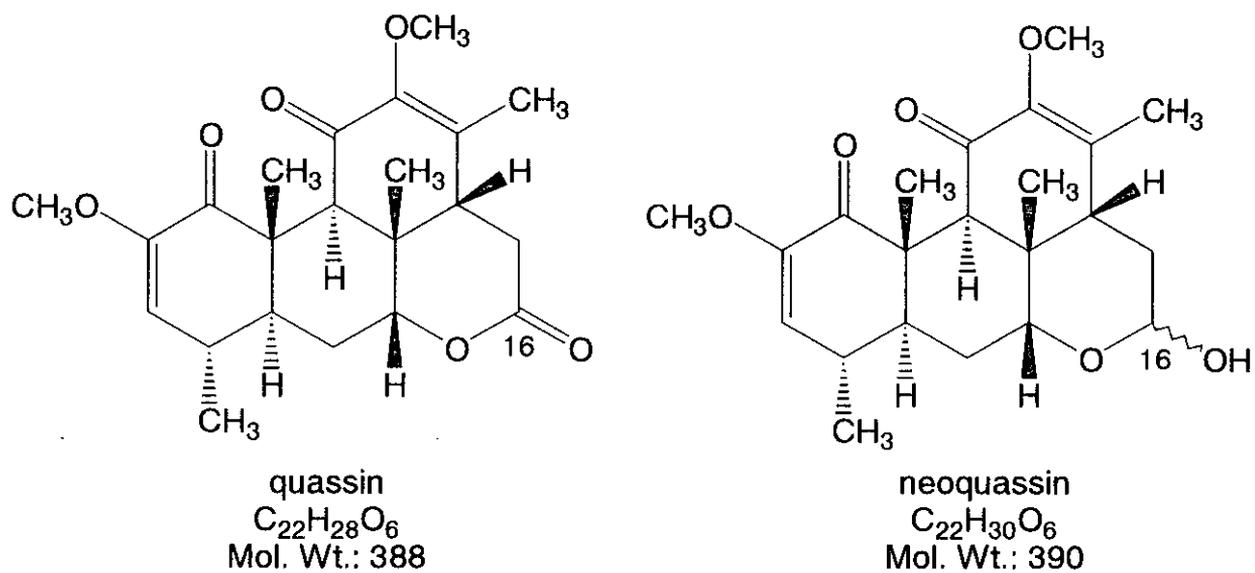


Fig. 1 Structures of Quassin and Neoquassin

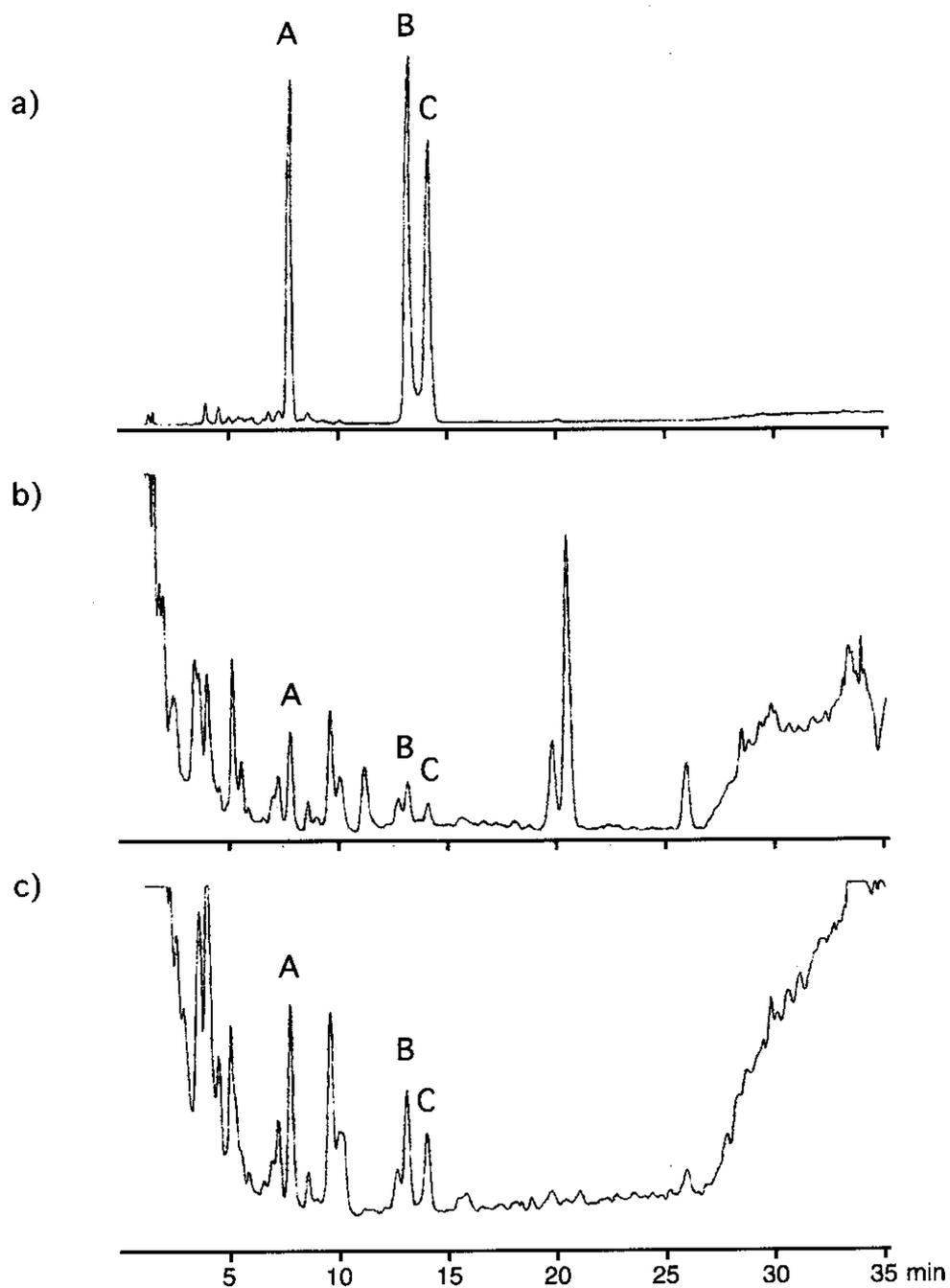


Fig. 2 LC/MS Profiles of Jamaica Quassia Extract and Quassia Extracts

a) Jamaica quassia extract. b) Quassia extract by MeOH. c) Quassia extract by Water. LC/MS conditions were shown in experimental section.

A = m/z 389 $[M+H]^+$, 411 $[M+Na]^+$ (quassin), B and C = m/z 391 $[M+H]^+$, 413 $[M+Na]^+$ (neoquassin isomers)

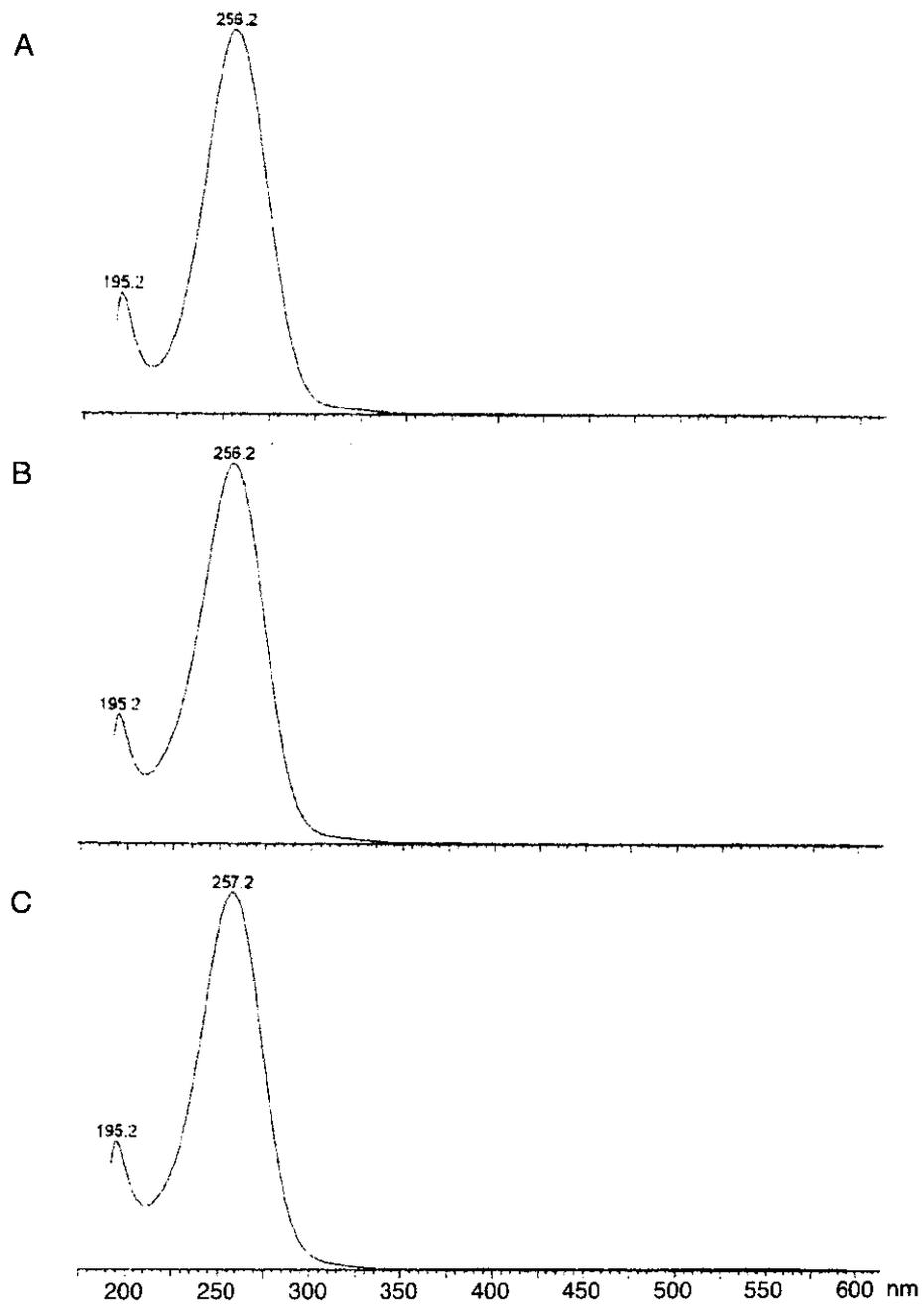


Fig. 3 PDA Spectra of Peak A, B, and C
A = quassin, B and C = neoquassin isomer

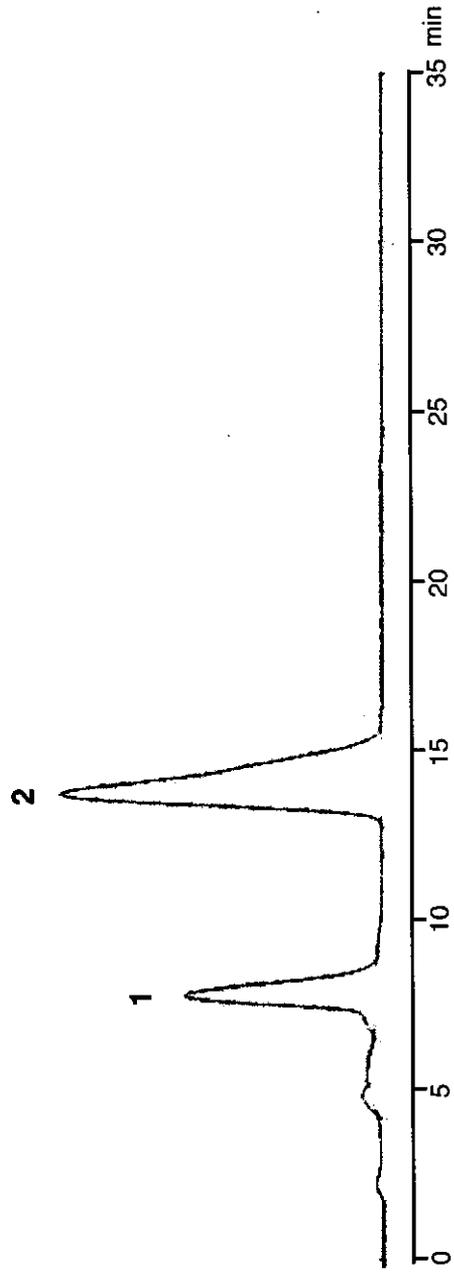


Fig. 4 HPLC Profile of Jamaica Quassia Extra
1 = quassin, 2 = neoquassin

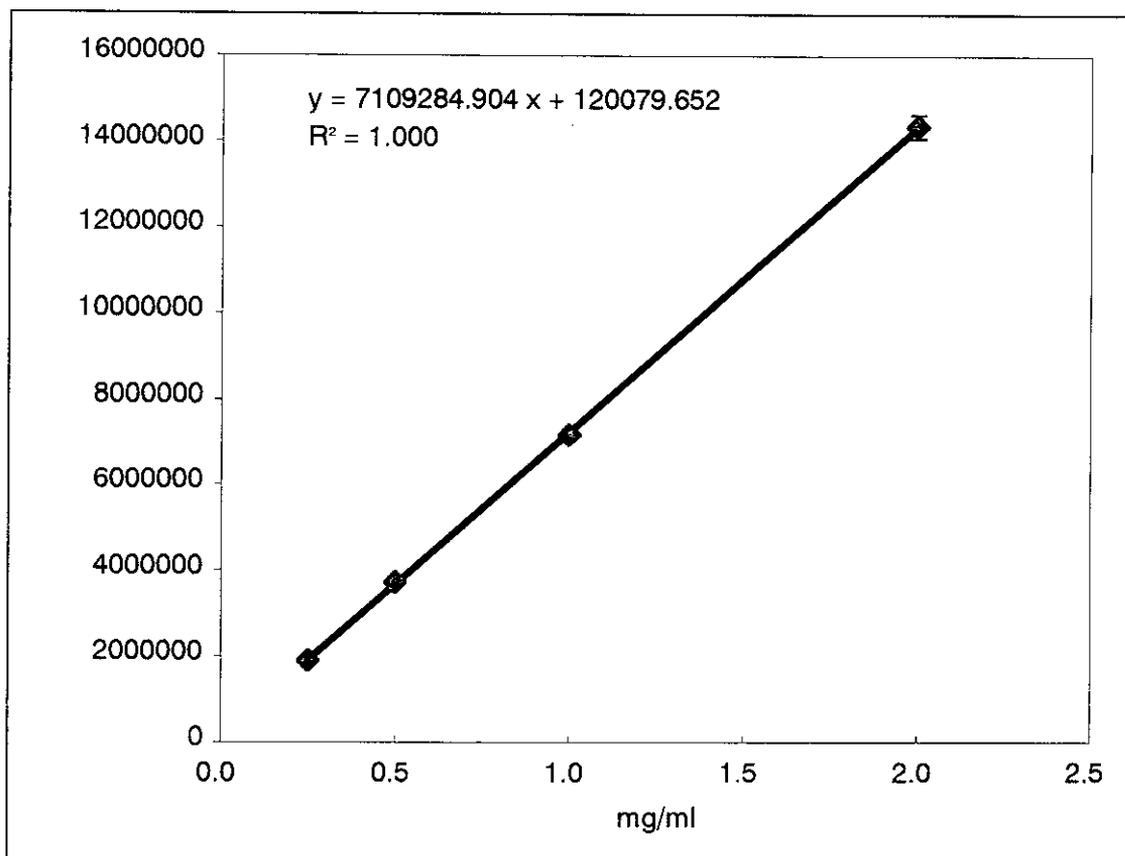


Fig. 5 Calibration Curve of Quassin (1)

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告

天然着色料ログウッド色素の成分研究

協力研究者 杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部研究員

研究要旨 天然着色料ログウッド色素製品の主成分について LC/MS を用いて検討した。また、未知成分については、分取 LC/MS を用いて単離・精製し、その構造を MS 及び NMR により決定した。その結果、ログウッド色素の主色素とされるヘマトキシリン及びその酸化体ヘマテインは検出されなかったが、シタン色素の主色素であるサンタリン A, B が検出された。従って、今回入手したログウッド色素製品が、シタン色素の誤りである可能性が示唆された。

A. 研究目的

天然着色料ログウッド色素は、既存添加物名簿収載品目リスト¹⁾に、その基原・製法・本質として、「マメ科ログウッド (*Haematoxylon campechianum*) の心材より、熱時水で抽出して得られたものである。主色素はヘマトキシリン (hematoxylin (HO)) である。黒褐色を呈する。」と記載されている。基原植物のログウッドは、ベリーズ原産の常緑低木で、ベリーズの国旗には、この木の葉と伐採労働者が描かれている。また、ログウッドの心材には、HO を含んでおり、黒、紫の染料や医薬品の原料や細胞核染色に用いられる。HO 自体は無色ないし淡黄色であり、空気中で酸化されて赤色のヘマテイン (hematein (HE)) になることが知られている (Fig. 1)²⁾。従って、黒褐色を示す天然着色料ログウッド色素の主色素として HO が既存添加物名簿収載品目リスト中に記載されているが誤りであり、HO ではなく HE が主色素であるか、あるいは、全く別の色素が本色素の色素成分本体であると疑われた。そこで、本色素の色素成分本体の構造を確認することを目的とした。

B. 研究方法

1) 試料

ログウッド色素 (Logwood color) 原体は、日本食品添加物協会を通じて入手した。ヘマトキシリン

(hematoxylin (HO)) 及びヘマテイン (hematein (HE)) は、Merck 社より購入したものをを用いた。その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

2) 装置

各種機器データは、次の機器を用いた。

液体クロマトグラフ/質量分析装置 (LC/MS): Waters LC/MS system (Waters 社製) (LC: 2525 binary high-pressure LC pump, 2767 one-bed injection-collection sample manager. PDA: 2996 photodiode array detector. MS: ZQ-2000 single quadrupole mass spectrometer.)

核磁気共鳴スペクトル (NMR): JEOL alpha-500 (日本電子 (株) 製). homonuclear shift correlation spectroscopy (COSY), heteronuclear multiple-quantum coherence (HMQC) 及び heteronuclear multiple bonds correlation (HMBC), nuclear overhauser effect (NOE) には磁場勾配システムを用いた。NMR のケミカルシフト値は、TMS (tetramethylsilane) を内部標準とし、 δ 値を ppm 単位で表した。

3) LC/MS 条件

Analytical LC conditions: column, Waters XTerra MS C18 (4.6 mm i.d. x 250 mm, 5 μ m); column temp., r.t.; solvent, MeOH:H₂O = 10:90 (0 min) \rightarrow 40:60 (20 min) \rightarrow 90:10 (35 min) \rightarrow 90:10 (60 min); inject, 20 μ L; rate, 1.0 mL/min; splitter, PDA:MS = 4:1; detect, 200, 300, 450 nm.

Preparative LC conditions: column, YMC-ODS H80 (19 mm i.d. x 250 mm, 5 μ m); column temp., r.t.; sol-

vent, MeOH:H₂O = 65:35; inject, 200 µL; rate, 10 mL/min; makeup solvent, MeOH 1.0 mL/min, splitter, PDA:MS = 4:1; PDA detect, 300, 450 nm; MS detect, ESI (neg.), *m/z* 255, 581, 595.

MS conditions: source temperature, 120°C; desolvation temperature, 350°C; desolvation gas, 350 L/h; cone gas, 60 L/h, capillary, 3.0 kV; cone, 45 V (ESI pos.), -25 V (ESI neg.); scan range, *m/z* 50-600.

4) LC/MS 分析用試験溶液の調製

ログウッド色素製品 50 mg を MeOH 10 mL に正確に溶解し LC/MS 分析試料とした。

5) 分取 LC/MS による未知成分の単離・精製

ログウッド色素製品 1 g を MeOH 10 mL に正確に溶解し, 分取 LC/MS 用試料とした。分取 LC/MS 用試料 100 µL を分取 LC/MS に付し, ESI (neg.) *m/z* 255, 581, 595 を示すピークを分取した。この操作を 15 回繰り返す, 得られた各分画を合わせて減圧乾燥し, **1** (30 mg), **2** (8 mg), **3** (8 mg) を得た。

1: santalin A. MS (ESI neg.): *m/z* 581 [M-H].

¹H-NMR (CD₃OD) δ: 3.51(3H, s), 3.67(3H, s), 3.89(3H, s), 3.97(1H, d, *J* = 14.6 Hz), 4.03(1H, d, *J* = 14.6 Hz), 6.37(1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.43(1H, s), 6.50(1H, s), 6.56(1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.58(1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.61(1H, s), 6.68(1H, s), 6.85(1H, s), 6.96(1H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.57(1H, s)

2: santalin B. MS (ESI neg.): *m/z* 595 [M-H].

¹H-NMR (CD₃OD) δ: 3.57(3H, s), 3.71(6H, s), 3.93(3H, s), 4.01(1H, d, *J* = 14.9 Hz), 4.11(1H, d, *J* = 14.9 Hz), 6.49(1H, m), 6.50(1H, s), 6.58(1H, s), 6.59(1H, m), 6.58(1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.63(1H, s), 6.68(1H, s), 6.71(1H, s), 6.91(1H, d, *J* = 7.0 Hz), 9.66(1H, s)

3: pterostilbene (3,5-dimethoxy-4'-hydroxystilbene ((*E*)-4-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]phenol)). MS (ESI neg.): *m/z* 255 [M-H]. ¹H-NMR (CD₃OD) δ: 3.80(6H, s), 6.35(1H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.66(2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.76(2H, d, *J* = 8.5 Hz), 6.89(1H, d, *J* = 16.4 Hz), 7.05(1H, d, *J* = 16.2 Hz), 7.38(2H, d, *J* = 8.5 Hz). ¹³C-NMR (CD₃OD) δ: 55.8, 100.3, 105.2, 116.5, 126.8, 128.9, 130.0, 130.3, 141.4, 158.5, 162.5.

6) 色素成分の安定性試験

ログウッド色素製品粉末約 10 g 及び色素製品 250 mg を MeOH 50 mL に溶解したもの(5.0 mg/mL)を毒性試験(反復投与 90 日)と同一条件下に放置し, 1 週間, 1 ヶ月後に少量を取り, 放置

前のログウッド色素製品と LC/MS により成分組成を比較した。なお, 粉末試料は, すべて測定前に MeOH に溶解し, 5.0 mg/mL として安定性試験溶液とした。

C. 結果及び考察

1. LC/MS 分析

ログウッド色素製品及びその主色素成分とされる **HO** とその酸化体 **HE** の標品を LC/MS に付した結果を Fig. 2 に示した。また, **HO** 及び **HE** 標品の PDA スペクトルを Fig. 3 に示した。**HO** 標品は, 検出波長 300 nm において, 保持時間 10.2 分に観察され, **HE** 標品は, 検出波長 450 nm において, 保持時間 19.6 分に観察された。一方, ログウッド色素製品を同一条件の LC/MS に付したところ, 検出波長 300 nm 及び 450 nm において **HO** 及び **HE** に相当する保持時間にピークは全く観察されず, 32.6 分(ピーク **1**), 33.6 分(ピーク **2**), 35.0 分(ピーク **3**)の 3 つのピーク(**1**, **2**, **3**)が観察された。また, 観察された 3 つのピークは, ESI-MS (neg.)において, それぞれ *m/z* 581 [M-H], 595 [M-H], 255 [M-H] を与え, **HO** 及び **HE** とは異なる化合物であることが示唆された。

2. 主成分 **1**~**3** の分取 LC/MS による単離・精製

ログウッド色素製品中の主成分 **1**~**3** の構造を明らかとするために, 分取 LC/MS を用いて, それぞれの単離・精製を行った。分取 LC/MS システムの概略図を Fig. 4 に示した。本システムは, MS をトリガーとして目的の化合物を全自動で単離・精製することが可能である。同様な全自動単離・精製システムとして UV や RI 等の分光計をトリガーもあるが, MS をトリガーとすることで化合物の選択性が高い。即ち, 試料を導入後, 分取 LC 部で分離後, スプリットし, その一部を MS 検出器に導入し, 目的の擬分子イオンが検出されたときのみ, 流出液を収集することで, 目的物を選択性良く単離・精製することができる。Fig. 5 にログウッド色素製品を分取 LC/MS に付した結果を示した。主成分 **1**~**3** の各擬分子イオン *m/z* 581 [M-H], 595 [M-H], 255 [M-H] を SIR モードで走査し, 線で挟まれた部分のみを分画することができた。その結果, 単離・精製した **1**, **2** は赤色, **3** は無色であっ

た。

3. 主成分 1~3 の化学構造

化合物 3 は、ESI-MS (neg.)において、255 [M-H] 与えたことから、分子式 $C_{16}H_{16}O_3$ と推定した。 1H -NMR において、2つの CH_3O 基、2つのオレフィンプロトン、7つの芳香族プロトンが観察された。また、 ^{13}C -NMR 及び各種二次元 NMR 測定により、化合物 3 を pterostilbene ((E)-4-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]phenol) と決定した。この化合物は、マメ科の *Pterocarpus* 属の植物によく見られる化合物であり、ログウッド中に検出された例はなく、今回、成分分析に用いたログウッド色素製品の基原植物に誤りがあることが示唆された。次に化合物 2, 3 についても MS および 1H -NMR により化学構造を検討したが困難であったため、*Pterocarpus* 属の植物の内、赤色素として用いられるシタン色素の文献値³⁾と比較したところ、化合物 2 が、santalin A、3 が santalin B とほぼ一致した。

従って、今回成分分析を行ったログウッド色素製品は、シタン色素の誤りである可能性が高い。ログウッド色素の基原植物の確認には、その植物体入手する必要があるが、マメ科ログウッド (*Haematoxylon campechianum*) は、我が国には分布しておらず、入手が困難である。従って、今後、シタン色素製品を入手し、その成分組成の差違について詳細に検討する必要がある。

4. ログウッド色素製品の安定性

ログウッド色素製品の安定性を確認するために、毒性試験(反復投与 90 日)と同一条件下に色素製品及び MeOH に溶解したものを放置し、1週間後、1ヶ月後の成分組成を LC/MS により測定した。その結果、いずれも放置前の色素製品と完全に等しいクロマトグラムを与えた。従って、今回入手した色素製品は、毒性試験条件下において安定であることを明らかとした。

D. 結論

天然着色料ログウッド色素製品の主成分について分取 LC/MS 及び NMR を用いて検討した結果、pterostilbene (3) 及びシタン色素の主色素とされる santalin A (1), B (2) を同定した。従って、今回入手したログウッド色素は、シタン色素の誤りであると考えられた。

E. 参考文献

- 1) 厚生省生活衛生局長通知 “別添1 既存添加物名簿収載品目リスト”(平成8年5月23日). 衛化第56号(1996).
- 2) Kahr, B., Lovell, S., Subramony, A. J., The progress of logwood extract, *Chirality*, 10, 66-77 (1998).
- 3) Kinjo, J., Uemura, H., Nohara, T., Novel yellow pigment from *Pterocarpus santalinus*: biogenetic hypothesis for santalin analogs, *Tetrahedron Letters*, 36, 5599-5602 (1995).

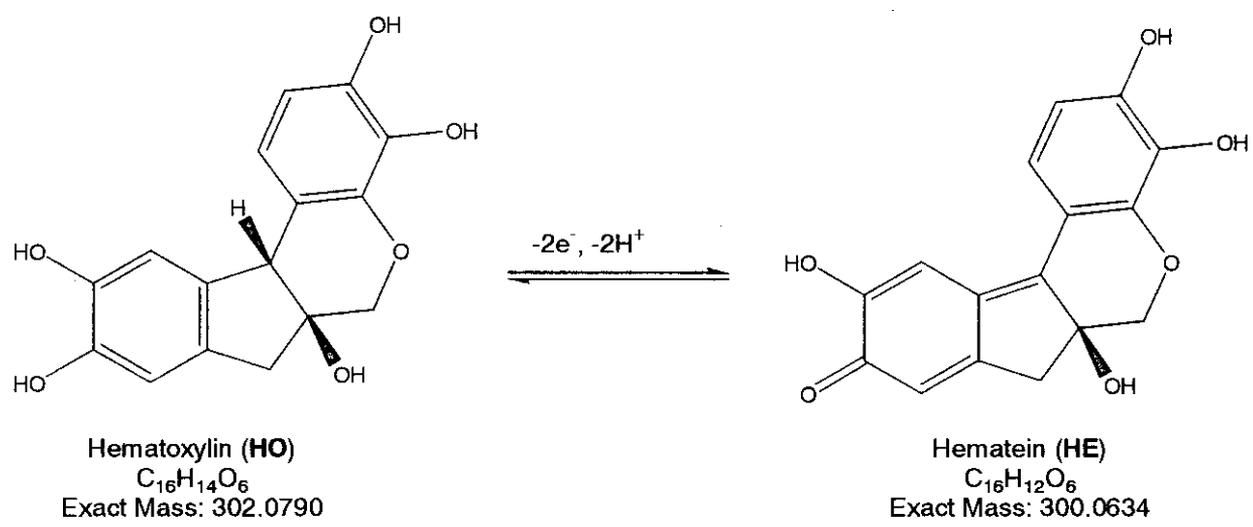


Fig. 1 Structures of hematoxylin (HO) and hematein (HE)

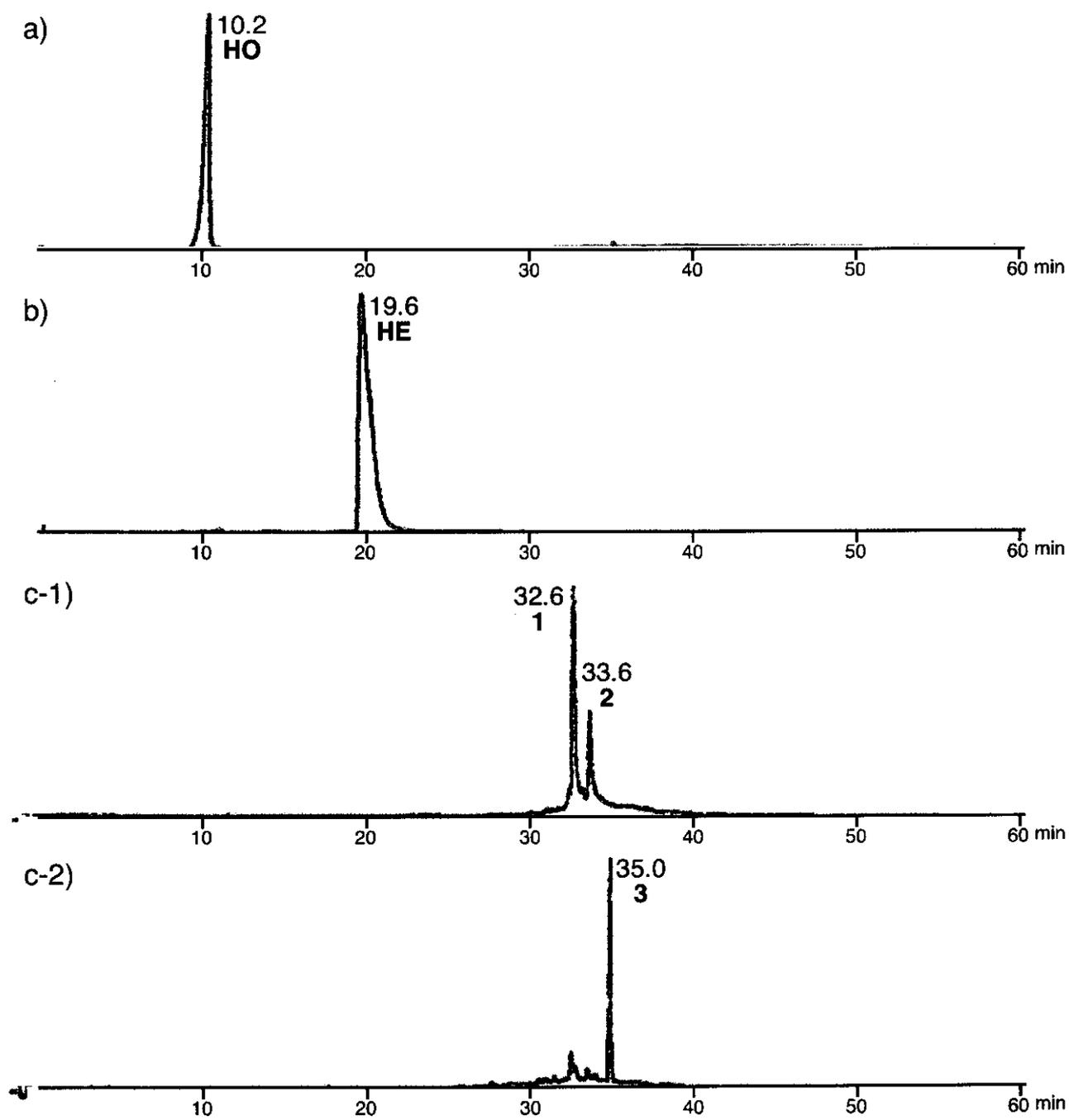


Fig. 2 LC profiles of hematoxylin, hematein, and logwood color
a) hematoxylin (HO) std. at 300 nm. b) hematein (HE) std. at 450 nm. c-1) logwood color at 450 nm. c-2) logwood color at 300 nm.

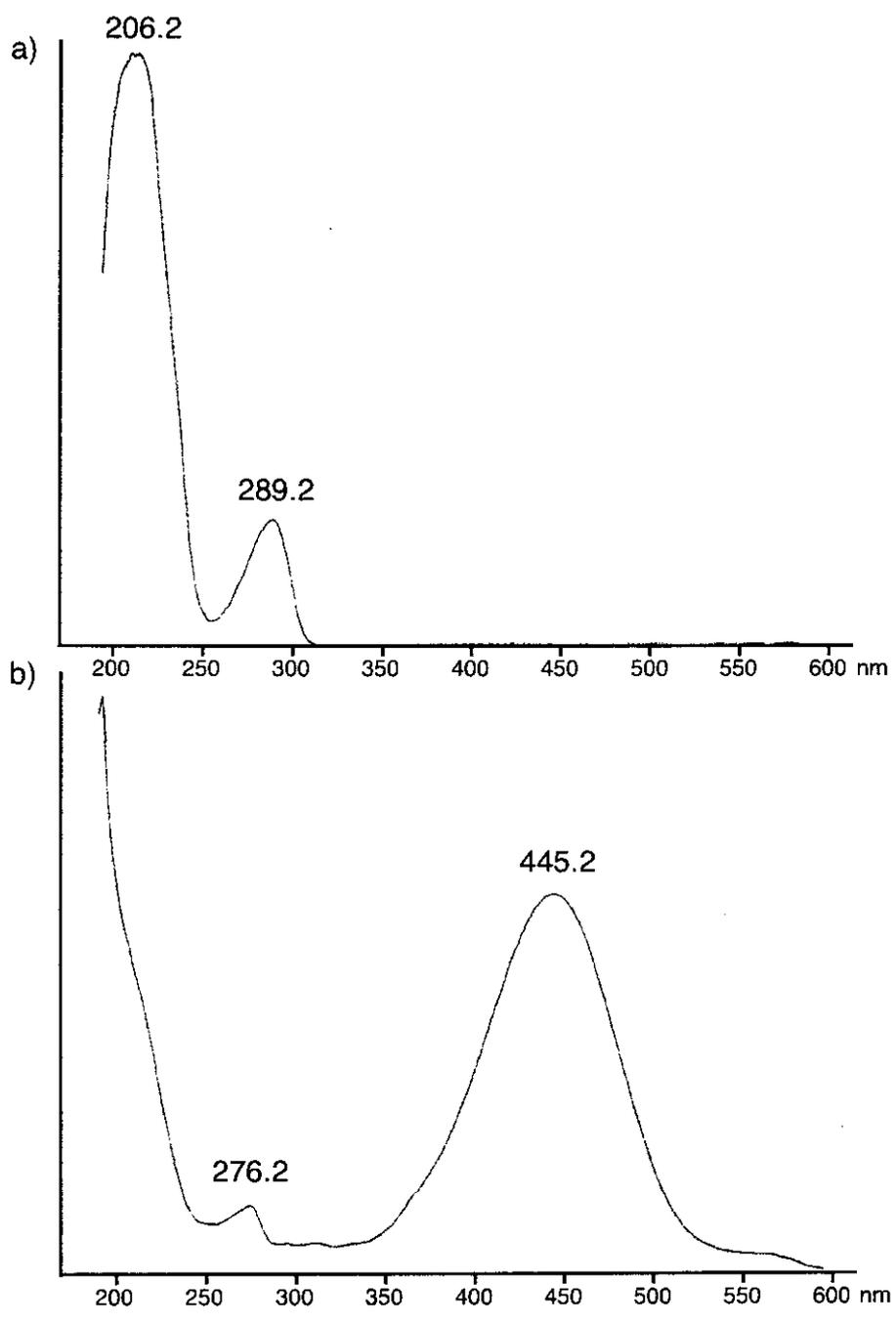


Fig. 3 PDA spectra of hematoxylin (HO) and hematein (HE)

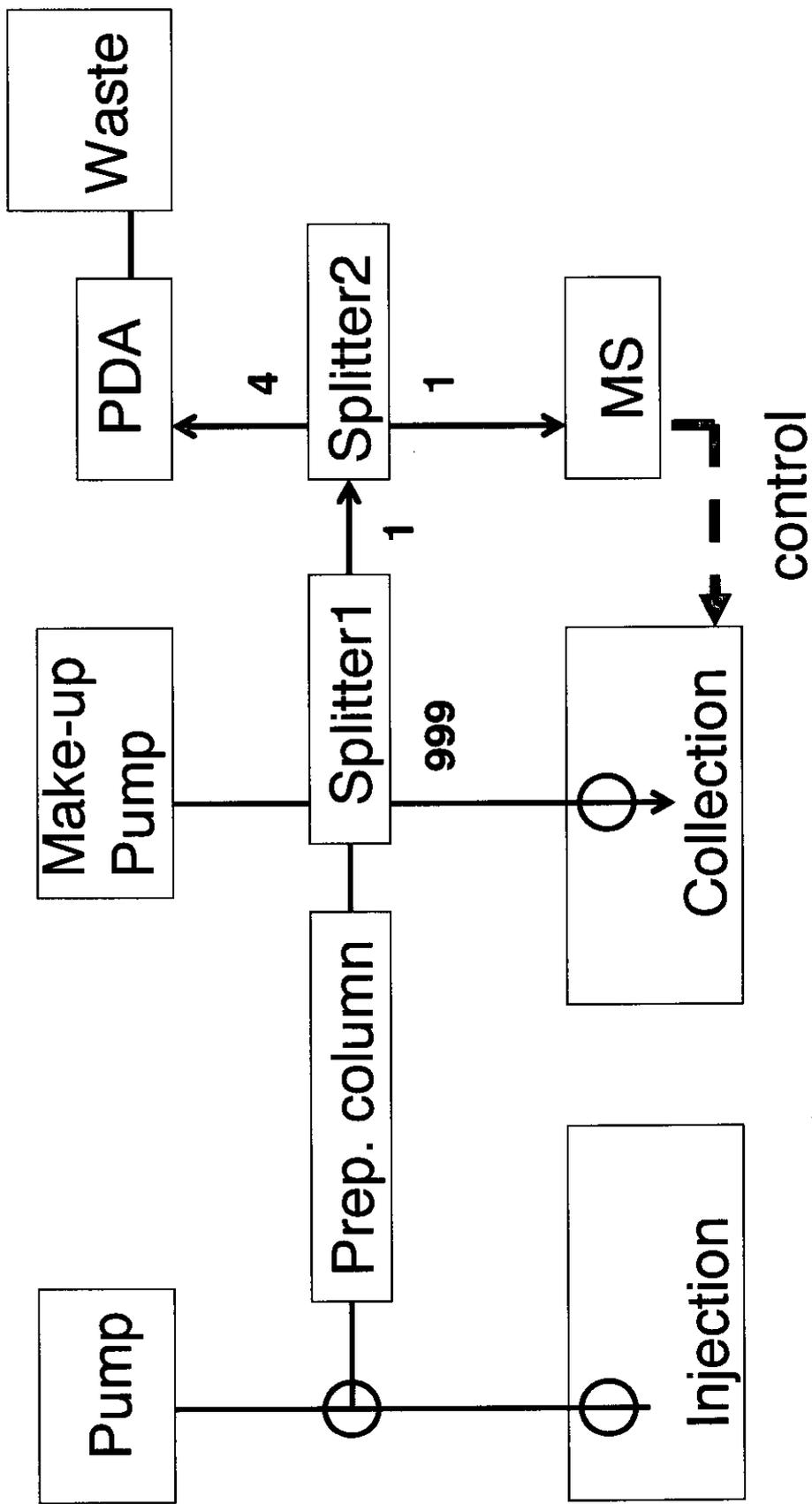


Fig. 4 Schematic diagram of the MS controlled preparative LC system

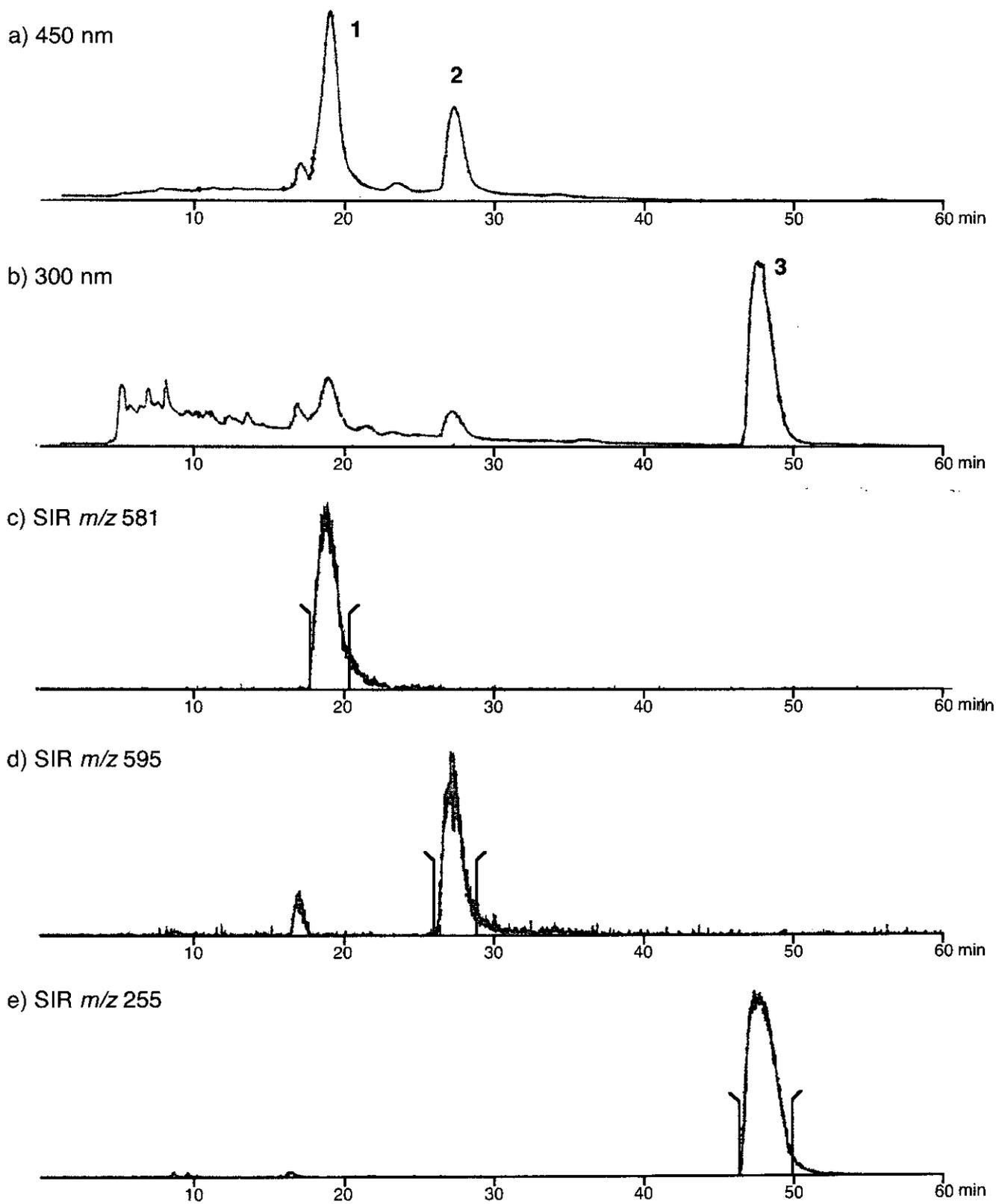


Figure 5. Preparative LC/MS Profiles of logwood color
 a), b) PDA detection at 450 nm and 300 nm. c), d), e) SIR detection at m/z 581, 595 and 255. The fractions collected are sandwiched in lines, with target m/z