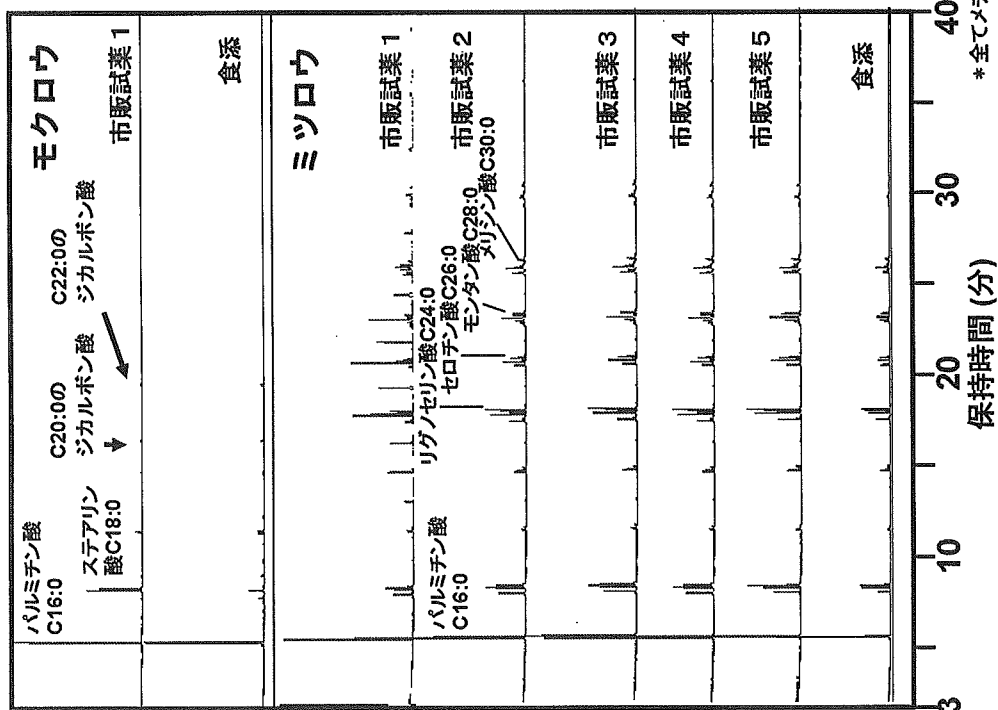


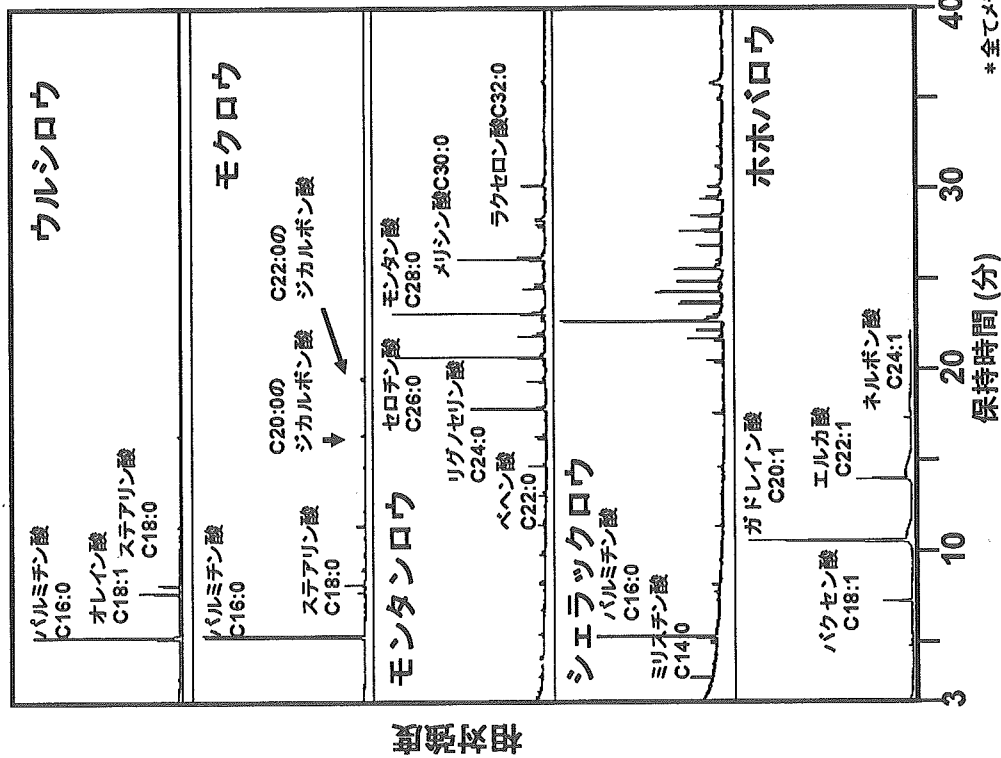
標識検体



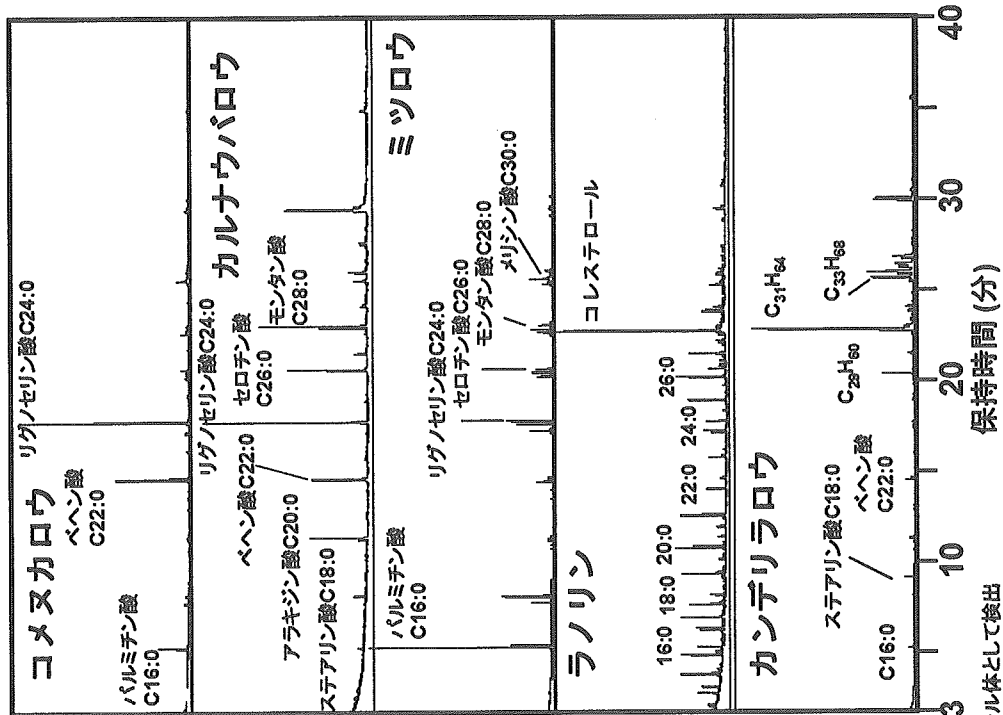
標識検体

\*全てメチルエステル体として検出

図3 GC/MSによるガムベースの脂肪酸組成の分析 ~同一品目内での比較~



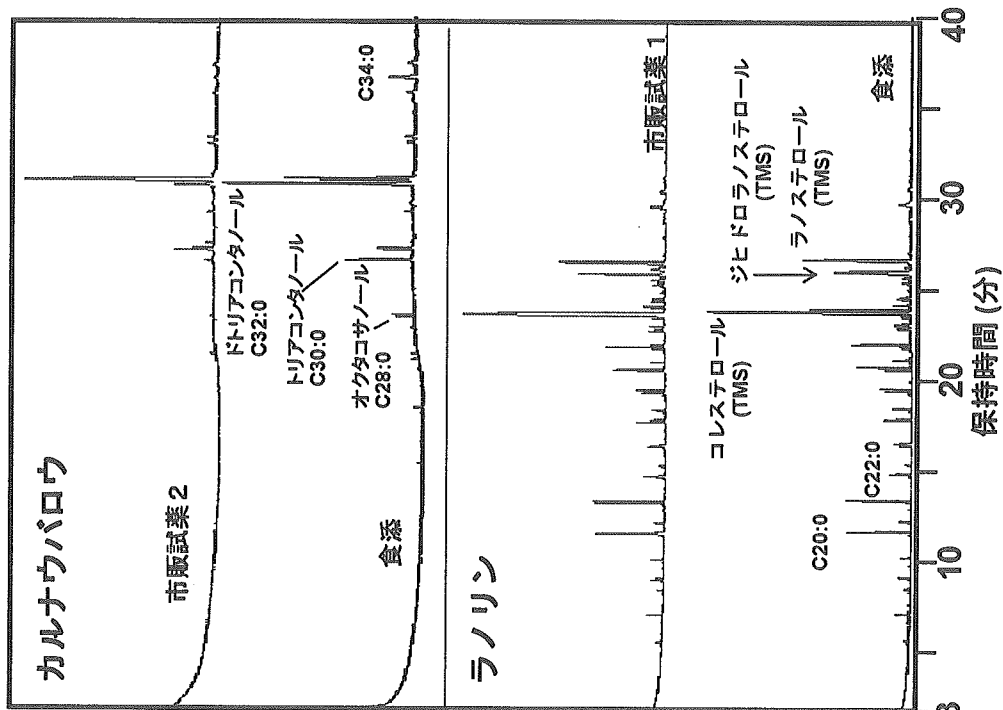
概観図



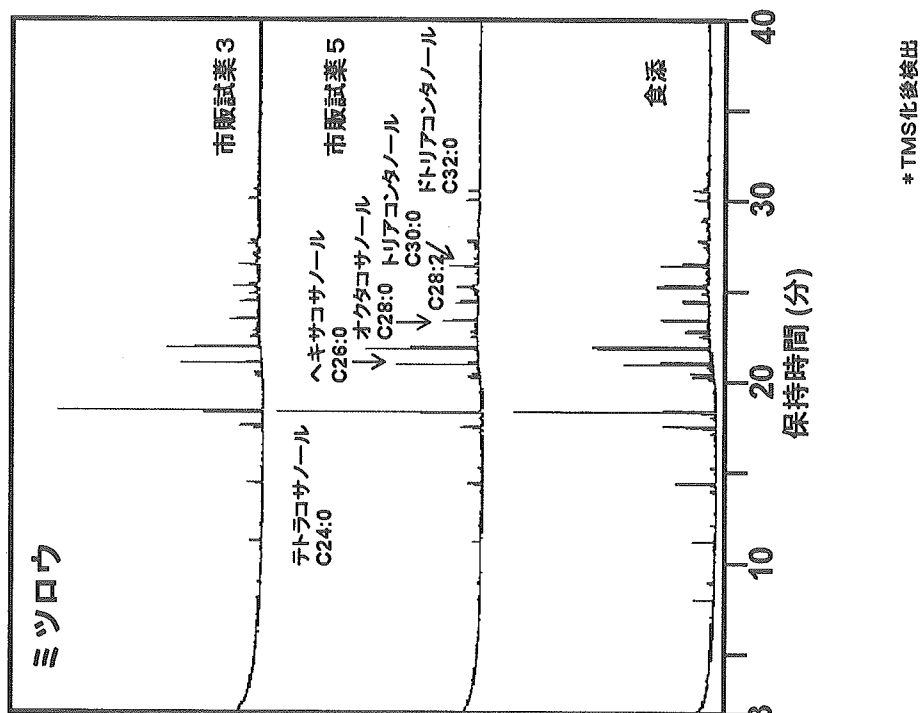
概観図

\* 全てメチルエステル体として検出

図4 GC/MSによるガムベースの脂肪酸組成の分析 ～品目間での比較～

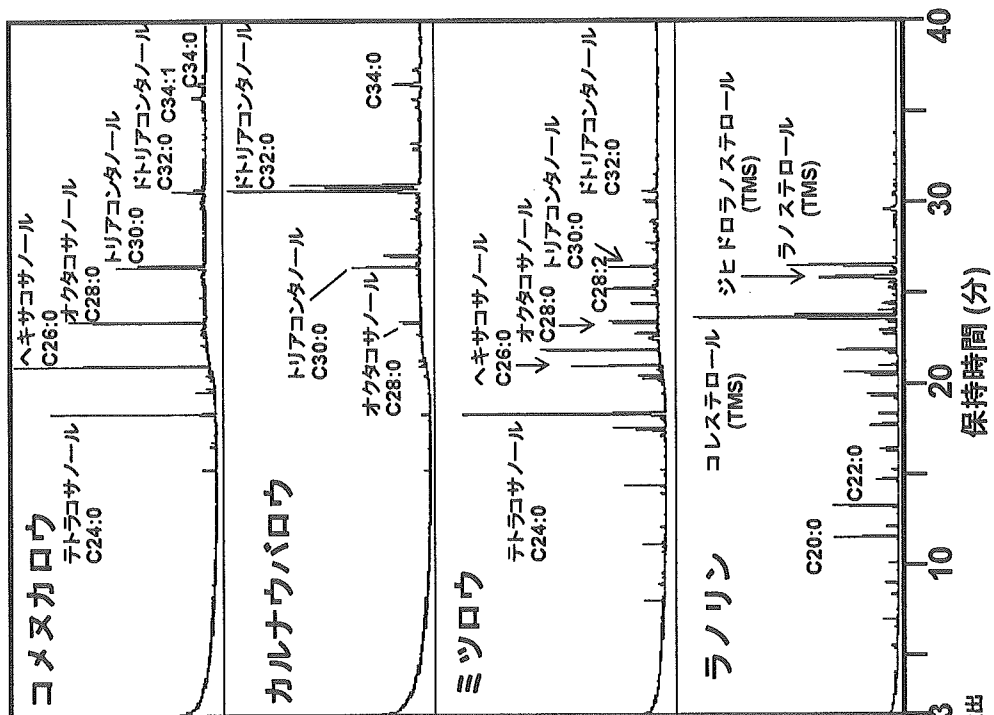


蠟燭長味

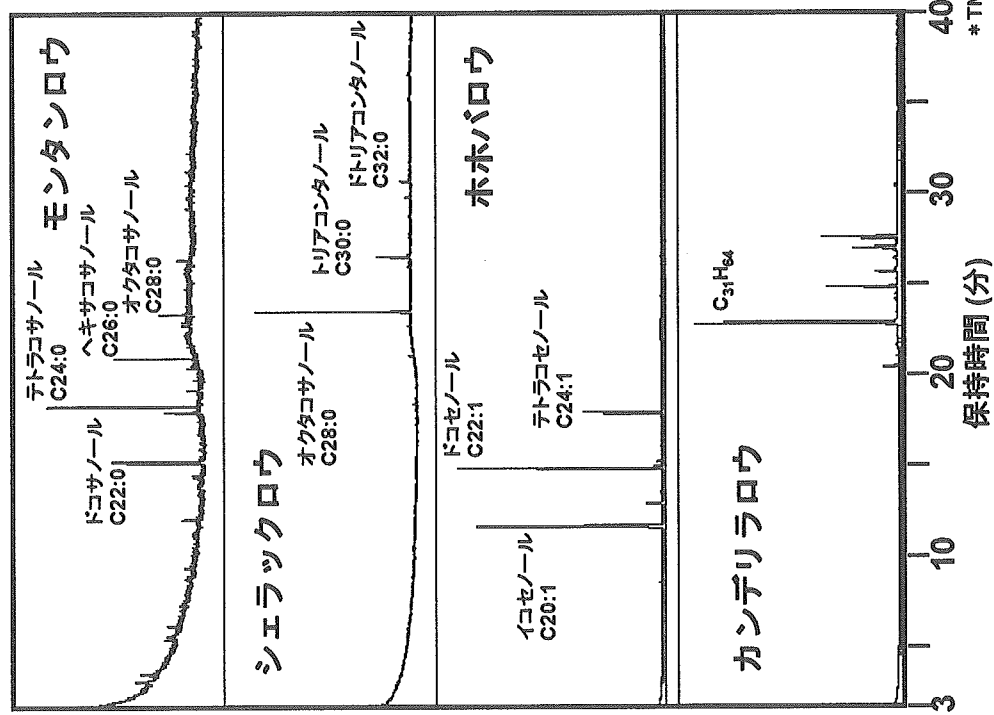


蠟燭長味

図5 GC/MSによるガムベースのアルコールの組成分析 ～同一品目内での比較～



蠟燭検査



蝋燭検査

図6 GC/MSによるガムベースのアルコールの組成分析 ~ 品目間での比較 ~

## 7. 既存添加物の品質規格策定に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

平成 17 年度 分担研究報告書

既存添加物の品質規格策定に関する研究（総括）

分担研究者 山崎 壮 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部第二室長  
協力研究者 高橋仁一 日本食品添加物協会 常務理事  
協力研究者 合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

研究要旨 既存添加物（天然添加物）には国の規格基準設定が未設定である品目が多く残されている。既存添加物 450 品目のうち、国の品質規格が作成されたものは、既存添加物全体の約 1/3 に達したに過ぎない。そこで、公的規格基準設定に向けた既存添加物の成分規格設定作業を推進するために、以下の検討を行った。

1. 既存添加物である酵素 8 品目（アクチニジン、 $\alpha$ -アセトラクタートデカルボキシラーゼ、アントシアナーゼ、イヌリナーゼ、 $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼ、ホスホジエステラーゼ、ラクトパーオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ）と製造用剤 1 品目（高級脂肪酸（ステアリン酸））の業界自主規格を新規作成し、着色料 1 品目（アナトー色素）の業界自主規格を見直し・改訂した。
2. ホウセンカ抽出物の含有成分の解析を行った。既存添加物名簿収載品目リストではホウセンカ抽出物の成分に関する記載が全くない。業界自主規格も設定されていない。今回の研究で、ホウセンカ抽出物抽出物製品から新規ナフトキノン誘導体を含む次の 19 種の化合物を単離し、化学構造を決定した。

#### A. 研究目的

既存添加物（天然添加物）には国の規格基準設定が未設定である品目が多く残されている。既存添加物 450 品目のうち、食品添加物の国際規格である JECFA 規格がある天然添加物を中心に既に 68 成分規格（既存添加物の品目数としては 69 品目）が第 7 版食品添加物公定書に収載され、第 8 版食品添加物公定書改定案には 63 成分規格（既存添加物の品目数としては 61 品目）が新規収載予定である。しかし、それらを合わせても、国の品質規格が作成されたものは、既存添加物全体

の約 1/3 に達したに過ぎない。天然添加物では我が国独自の品目が多いため、依然として多くの品目の公的規格基準が設定されておらず、食品行政における重要課題になっている。そこで、公的規格基準設定に向けた既存添加物の成分規格設定作業を推進するために、以下の検討を行った。

#### A-1. 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究

既存添加物の成分規格設定を目標に、食品添加物業界では日本食品添加物協会

(日添協)を中心に既存添加物の自主規格案の策定を進めている。国の品質規格を設定するのに先立ち、業界自主規格に基づく市場流通製品の品質管理が広く行われることが望ましいとの考えから、我々(国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部)も、これまで業界の自主規格作成を指導・支援してきた。そこで、引き続き業界自主規格案の策定を日添協に依頼した。今年度は、これまで規格作成が遅れている酵素製剤を中心に品質規格を検討することとした。

#### A-2. ホウセンカ抽出物の成分に関する研究

既存添加物「ホウセンカ抽出物」は既存添加物名簿収載品目リストに「ツリフネソウ科ホウセンカ (*Impatiens balsamina* L.)の全草より室温時含水エタノールで抽出して得られたものである。」と記載されている。基原植物であるホウセンカ (*Impatiens balsamina* L.、英名 Garden balsam)の全草および種子が民間薬として風邪、魚肉中毒の治療に用いられるほか、腫れ物や外傷にも効果があるとされている。食品添加物としての用途は酸化防止剤と記載されている。含有成分としてはナフトキノン類、クマリン誘導体、フラボノイド配糖体、トリテルペン配糖体類等が報告されているが、既存添加物名簿収載品目リストでは成分に関する記載が全くない。業界自主規格も設定されていない。そこで、昨年度厚生労働科学研究費補助金研究既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究の一環において、ホウセンカ抽出物の成分研究を実施し、数種類の化合物の

単離と構造決定を行った。そこで、その成果を基にさらに詳細な成分研究を行うこととした。

#### B. 研究方法

##### B-1. 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究

既存添加物の自社規格・試験法の調査と自主規格案の策定を食品添加物業界に依頼した。作業は日本食品添加物協会(日添協)の技術委員会の自主規格専門委員会が中心となって推進した。既存添加物を製造する企業が自社の品質管理に定めている規格・試験法等について調査を行ない、総合的にその規格内容の妥当性を評価・検討した。必要に応じ、新しい試験法の開発検討も進めた。

なお、規格案の策定に当たっては、可能な限り、第8版食品添加物公定書の規格設定の基本的考え方、方法等に準拠した。新規規格策定に当たっては、主成分の確認、定量法の開発検討等を中心に行い、成分規格の設定並びにその妥当性等に関して評価・検討を行った。

今年度は、酵素8品目と製造用剤1品目の業界自主規格を新規作成し、着色料1品目の業界自主規格を見直し・改訂した。

##### B-2. ホウセンカ抽出物の成分に関する研究

市販「ホウセンカ抽出物」は日本食品添加物協会より入手した。「ホウセンカ抽出物」約3200mLを約1000mLとなるまで濃縮し、それぞれ室温でクロロホルム、酢酸エチル、1-ブタノールで順次抽出を行った。各分画を濃縮、乾固した。得られた各分画をシリカゲルクロマトグ

ラフィーで分離し、化合物を単離した。単離下化合物を NMR 分析および質量分析 (FAB・MS) を行って、化学構造を決定した。

## C. 研究結果及び考察

### C-1. 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究

詳細な報告は別冊報告書に記載したので、ここでは研究結果の概要と考察を述べる。

#### 1. 新規自主規格検討品目(9 品目)

##### 1.1. 酵素 (8 品目)

本年度は、次の 8 品目を選定し検討した。なお、これら品目は FCC および JECFA 規格には収載されていない。

アクチニジン、 $\alpha$ -アセトラクタートデカルボキシラーゼ、アントシアナーゼ、イヌリナーゼ、 $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼ、ホスホジエステラーゼ、ラクトパーオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ

それぞれの品目について、性状、確認試験、純度試験、微生物限度、酵素活性測定法及び測定結果について調査研究を行い、この結果に基づいて規格案を策定し、その妥当性について検討した。

規格の記載方法は公定書に準拠したが、第三版既存添加物自主規格の「酵素一般規格」に従って定義及び酵素特性を記載し、参考として EC ナンバーを記載した。確認試験は「それぞれの活性測定法に準じて試験を行うとき、酵素活性を示す」こととした。ただし、アントシアナーゼは、酵素活性測定法で酵素活性を示す方法では一般的な  $\beta$ -グルコシダーゼや  $\beta$ -ガラクトシダーゼと識別できないので、赤色のアントシアン色素が退色すること

を確認する方法とした。また、 $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼについては、酵素活性測定法で酵素活性を示す方法と、酵素活性測定法が特異的でない場合として基質、反応、及び生成物を特定できる 6 つの方法を設定した。

純度試験については「酵素一般規格」に基づいて設定することとした。ただし、第 8 版食品添加物公定書の検討会にて、鉛規格の国際的整合対応として「JECFA 規格に対応でき、JECFA 規格に鉛規格以外の規格がない場合においては、重金属規格を削除できる」こととされ、酵素に関しては第 8 版公定書の成分規格から重金属を除くことで作業が進んでいることから、自主規格においても重金属規格を削除した。

微生物限度試験については、規格項目は「酵素一般規格」と同一としたが、細菌数の限度値は平成 15 年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等、食品添加物規格基準策定「食品用酵素剤の添加物指定に関する指針(案)」調査報告書において 10,000/g 以下を提案したことに基づき、規格値は 10,000/g 以下とした。

日添協としては、各品目ともに規格及び試験方法の妥当性が検証されたと報告している。

#### 1.2. 酵素規格における今後の検討課題

JECFA 規格にある「酵素一般規格」の概念を採用したことは酵素規格の質を高める意味で十分に評価されてよいと思われる。しかし、以下の事項に関しては未解決の部分があり、国際規格の動向も踏まえながら、食品用酵素規格のあり方を今後十分に検討していく必要があると思われる。



1) 各酵素の定義を明確化する際に、特定の酵素の定義が食品分野と生化学分野で一致しない問題

生化学分野では、酵素を系統的に分類するために、酵素に EC 番号と酵素系統名が IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) によって決められている。既存添加物の酵素に EC 番号をつけようとする、ひとつの既存添加物の酵素に複数の EC 番号を割り付けることが必要になる場合がある。「プロテアーゼ」や「リパーゼ」のように、食品分野でも生化学分野でも複数の酵素を包括する総称であることが明確な場合は解決策を見出しやすいと思われる。しかし、生化学分野と食品分野とで酵素慣用名の使い方が異なると思われる場合には、どの酵素を指すのか不明確になる。たとえば「ペクチナーゼ」は、生化学分野ではひとつの酵素 polygalacturonase (EC 3.2.1.15) [pectin depolymerase ともいう]を示す事が一般的であるのに対して、食品分野では3つの酵素ペクチンエステラーゼ、ペクチンデポリメラーゼ、ペクチンリアーゼの総称として用いられることが多い。酵素慣用名が持つあいまいさが原因で起こる問題である。

2) 規格の国際調和 (JECFA 規格、欧米の規格との調整)

日本では、食品用酵素はすべて既存添加物であり、「既存添加物名簿」には 76 品目が収載されている。法規制上は、酵素の品目名 (酵素名) は「機能」を示す名称とされ、酵素名 1 種類に複数基原の酵素を認めている。「既存添加物名簿収載品目リスト」には、参考情報として、そ

の品目の基原・製法・本質が記載されているが、多くの酵素では微生物から動物まで複数の基原が記載されている。プロテアーゼ、ホスホリパーゼのように、酵素の総称を記載した品目名もある。そのため、法規制上では機能が同じであれば同じ酵素とみなすが、基原が異なると「タンパク質」としては別物になるので、各酵素をタンパク質として特定できない。日本の方式は添加物の品目数を最小限にするという観点では利点があるが、食品用酵素の法規制としては、欧米では一般的ではない。

一方、海外 (JECFA、米国、EU) の添加物規制では、酵素名と基原とをセットにして 1 品目とするのが一般的である。酵素一般名が同じでも基原が違えば別酵素 (別品目) として扱う。つまり、タンパク質として特定している。ただし、海外でも食品用酵素の品質規格と法規制体系は十分に整備されているとは言い難い。食品用酵素の positive list 化は世界的にも整備途上である。

従って、今後日本の品質規格のあり方を検討していく際には、海外の動向に留意しながら、酵素の製造基原毎にすでに設定されている海外規格と今後設定していく国内規格との調整をどうするかを十分に検討する必要があると思われる。

3) 酵素活性測定法の提示方法

既存添加物では、酵素の製造基原として広範囲のものを認めている。そのため、酵素の製造基原が異なるごとに、その酵素に適切な酵素活性の測定法を指定する必要がある。個別商品毎の酵素活性測定法をすべて食品添加物公定書に収載することは現実的でないと考えられるので、

実際にはどうするのかを検討する必要がある。

#### 4) 品質規格の対象となる製品（製剤）の本質記載

日本では、添加物は原体と製剤に区別され、品質規格は原体と製剤を区別して規定するのが原則である。食品用酵素は製剤（緩衝液、希釈剤、賦形剤、安定化剤などを含む）としてのみ市場に流通している。一方、食品添加物公定書に既記載の酵素の品目名は酵素原体の名称と同一である。従って、同一名称に対して、酵素原体の意味と市場に流通する酵素製品（製剤）の意味と二つが使われることになり、原体と製剤の区別が不明確になりやすい。今後、多くの食品用酵素を食品添加物公定書に新規記載する必要があるが、各条規格に記載する本質記載については、酵素製品（製剤）の規格であることが明確にわかる表記にするように留意することが必要と考えられる。

#### 2.1. 製造用剤（1品目）

本年度は、高級脂肪酸（ステアリン酸）について検討した。含量、性状、確認試験、純度試験及び定量法について調査研究を行い、その結果に基づいて規格案を策定し、その妥当性について検討した。3サンプルについての繰り返し試験を行った結果、妥当性が確認できたと報告している。なお、確認試験として赤外吸収スペクトルを追加検討したが、パルミチン酸の混在量で赤外吸収スペクトルパターンが異なるので、確認試験法としては不適切と判断し、規格化していない。

#### 2. 既策定規格の見直し品目

##### 1.1. 着色料（1品目）

アナトー色素の自主規格項目と試験法の見直しを行った。ノルビキシンを主成分とする製品とビキシンを主成分とする製品に分けて成分規格案を作成した。規格案について第三者機関およびメーカー各社で試験を行い、妥当性を評価した。

日添協としては、各品目ともに規格及び試験方法の妥当性が検証されたと報告している。なお、JECFAにおいてアナトー色素の規格を審議中であることから、JECFAでの審議の進捗状況を踏まえて、第9版食品添加物公定書への規格記載案作成を進めることとされている。

#### C-2. ホウセンカ抽出物の成分に関する研究

詳細な報告は協力研究者研究報告書に記載したので、ここでは研究結果の概要と考察を述べる。ホウセンカ抽出物抽出物製品から新規ナフトキノ誘導体を含む次の19種の化合物を単離し、化学構造を決定した（Fig.1）。

#### D. 結論

1. 既存添加物である酵素8品目と製造用剤1品目の業界自主規格を新規作成し、着色料1品目の業界自主規格を見直し・改訂した。
2. 既存添加物名簿収載品目リストでは成分に関する記載が全くない。業界自主規格も設定されていない。今回ホウセンカ抽出物の含有成分の解析を行い、新規ナフトキノ誘導体を含む次の19種の化合物を単離し、化学構造を決定した。

**E. 研究発表**

なし

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

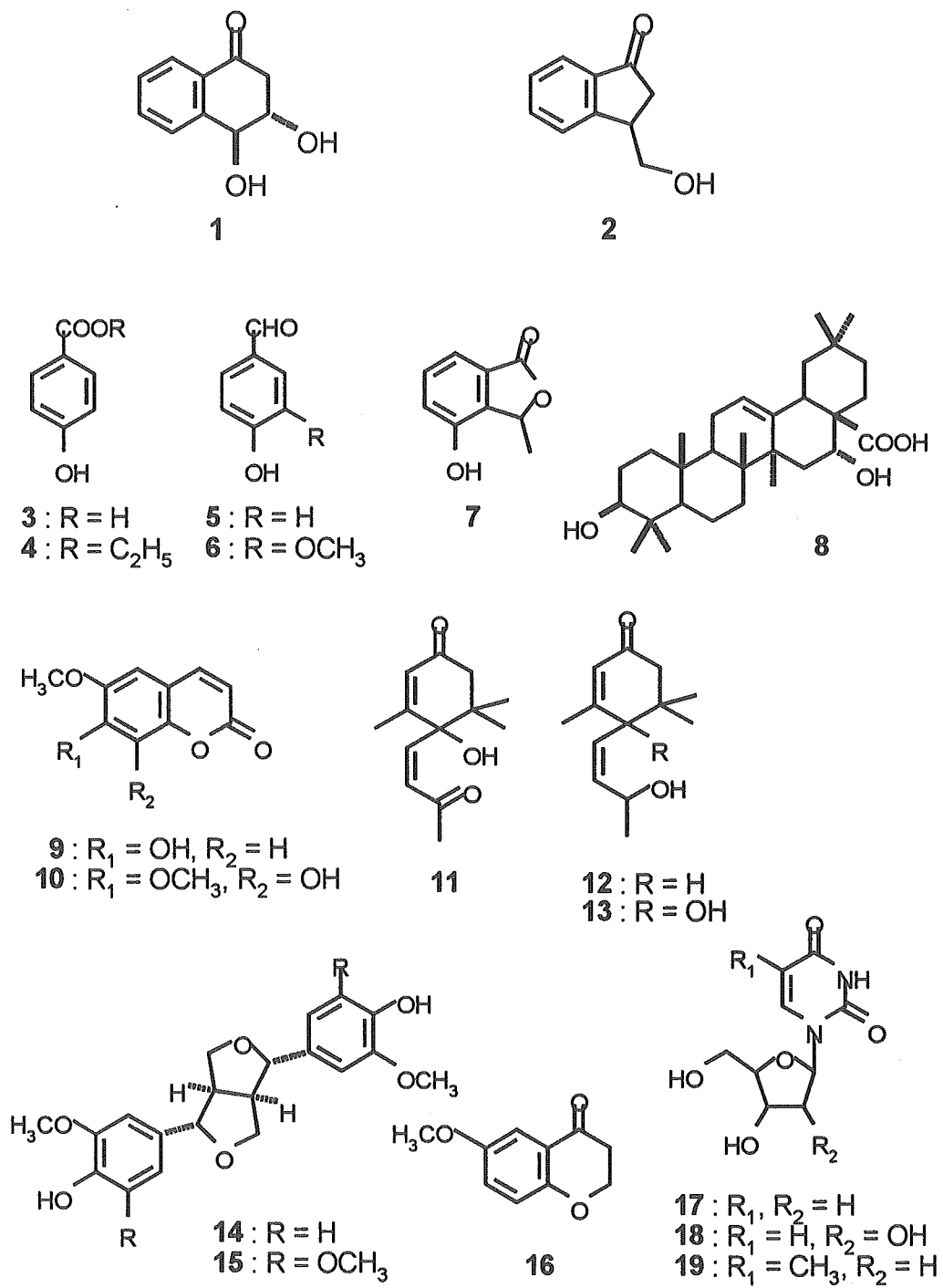


Fig.1 ホウセンカ抽出物から単離した 19 種の化合物

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

平成 17 年度協力研究報告書

—既存添加物「ホウセンカ抽出物」の成分に関する研究—

研究協力者 合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長  
川原信夫 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部室長  
郷 大鵬 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部協力研究員

既存添加物名簿記載「ホウセンカ抽出物」の規格作成に資することを目的として、同製品中に含有される化合物の成分検索並びに構造解析に関する基礎的研究を行い、新規ナフトキノ誘導体を含む 19 種の化合物単離し、それらの構造を明らかにした。

A. 研究目的

「ホウセンカ抽出物」は既存添加物名簿記載品目リストに「ツリフネソウ科ホウセンカ (*Impatiens balsamina* L.) の全草より室温時含水エタノールで抽出して得られたものである。」と記載されている（既存添加物名簿番号、409）。基原植物であるホウセンカ (*Impatiens balsamina* L.、英名 Garden balsam) はインド、マレー半島、中国南部原産で、今日では広く世界の庭園、花壇等で栽培される 1 年草である。全草及び種子が民間薬として風邪、魚肉中毒の治療に用いられるほか、腫れ物や外傷にも効果があるとされている。特に中国では本植物の種子を急性子（きゅうせいし）と呼称し、急性子は中華人民共和国薬典記載生薬である。食品添加物としての用途は酸化防止剤と記載されている。含有成分としてはナフトキノ類<sup>1-4)</sup>、クマリン誘導体<sup>5-6)</sup>、フラボノイド配糖体<sup>7)</sup>、トリテルペン配糖体類<sup>8-10)</sup>等（Chart 1.及び2.）が報告されているが、既存添加物名簿記載品目リストでは成分に関する記載が全くない。

本研究では、既存添加物「ホウセンカ抽出物」の規格作成に資することを目的として、市販「ホウセンカ抽出物」製品を入手し、成分に関する基礎的な研究を行っており、昨年度は数種の化合物を単離、構造決定した。今年度はさらに詳細な成分検索を行い、19 種の化合物を単離、構造決定したので報告する。

B. 研究方法

試料及び試薬 市販「ホウセンカ抽出物」は日本食品添加物協会より入手した。オープンカラムの担体は、Kieselgel 60 (Merck 製)並びに Sephadex LH-20 (Pharmacia 製)を用いた。NMR 溶媒は Methanol-*d*4 99.8% (Isotec 製)を用いた。その他の試薬は、全て試薬特級品を用いた。本研究において、動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

装置及び測定条件 分取 HPLC は島津製作所製 Shimadzu LC-8A system (ポンプ: LC-8A,

紫外可視検出器: SPD6AV, カラムオープン: TOSO RE8000) に、インテグレーターとして Shimadzu CR-5A を接続したものを用いた。

NMR スペクトルは JEOL ECA-500 及び ECA-800 を用いた。<sup>1</sup>H-NMR 及び <sup>13</sup>C-NMR の化学シフト値はテトラメチルシランに対する $\delta$ 値 (ppm) で示した。Chemical Shift Correlation Spectroscopy (COSY) 、Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC) 及び Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC) スペクトルの測定には磁場勾配システムを用いた。

また、単離した化合物の質量分析 (FAB-MS) は、MS700 (JEOL) に直接導入して測定した。FAB イオン化は positive または negative モード、マトリックスには *m*-nitrobenzyl alcohol または glycerol を用いた。

化合物の分画 「ハウセンカ抽出物」約 3200mL を約 1000mL となるまで濃縮し、それぞれ室温でクロロホルム、酢酸エチル、1-ブタノールで順次抽出を行った。各分画を濃縮、乾固し、クロロホルム分画 (3.71 g)、酢酸エチル分画 (0.39 g)、1-ブタノール分画 (5.45 g) 及び水層 (42.3 g) を得た (Chart 3.)。クロロホルム分画 (1.4 g) はシリカゲルクロマト (ヘキサシラン: 酢酸エチル) で分離を行い、5 : 1 の溶出分画 (34.7 mg) より化合物 4 (2.4 mg) が分離され、3 : 1 及び 2 : 1 の溶出分画 (60.1 mg) より化合物 5 (0.7 mg)、6 (2.0 mg)、7 (0.7 mg) 及び 8 (3.3 mg) を得た。また 1 : 1 の溶出分画 (61.1 mg) より化合物 2 (1.4 mg)、3 (2.1 mg)、9 (9.1 mg)、10 (1.0 mg)、11 (0.8 mg)、12 (0.9 mg) 及び 14 (1.0 mg) を得た。さらに酢酸エチルのみの溶出分画 (77.2 mg) より化合物 1

(2.2 mg)、9 (6.0 mg)、13 (2.6 mg)、15 (1.1 mg) 及び 16 (0.8 mg) を得た (Chart 3.)。一方、酢酸エチル分画 (0.39 g) はシリカゲルクロマト (クロロホルム: メタノール) で分離を行い、20 : 1 の溶出分画 (B-1, 37.0 mg 及び B-2, 14.8 mg) より化合物 5 (1.0 mg)、9 (1.5 mg) 及び 1 (2.9 mg) を得た (Chart 4.)。さらに 1-ブタノール分画 (5.45 g) についてもシリカゲルクロマト (クロロホルム: メタノール) で分離を行い、5 : 1 の溶出分画 (C-3, 173.0 mg 及び C-4, 415.7 mg) より化合物 19 (1.5 mg)、17 (1.1 mg) 及び 18 (1.4 mg) を得た (Chart 4.)。

### C. 研究結果

化合物 1 は positive FABMS より MW 179 (M+H)<sup>+</sup> が得られ、HR FABMS より分子式 C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub> と決定された。<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて  $\delta$  7.44 (1H, t, *J*=7.8 Hz), 7.67 (1H, dt, *J*=2.3, 7.8 Hz), 7.69 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 7.93 (1H, d, *J*=7.8 Hz) より 1,2 置換ベンゼン環の存在が示唆された。さらに H-H COSY 及び HMQC スペクトルから -CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)- の部分構造の存在が明らかとなり、HMBC スペクトルの解析 (Fig. 1) より 1 は 2 個の水酸基を有するジヒドロナフタレノン誘導体と決定された。3,4 位の立体配置に関してはプロトンの結合定数 (*J*=12.0 Hz) より、*trans*-diastereomer であることが明らかとなった。なお、本化合物は文献未記載の新規化合物である。

化合物 2 は positive FABMS より MW 165 (M+H)<sup>+</sup> が得られ、<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて  $\delta$  7.59 (1H, t, *J*=7.8 Hz), 7.65 (1H, dd, *J*=0.9, 7.8 Hz), 7.75 (1H, t, *J*=7.8 Hz), 7.86 (1H, d, *J*=7.8 Hz) より 1,2 置換ベンゼン環の存在が示唆された。さらに H-H COSY 及び

HMQC スペクトルから-CH(O-)-CH<sub>2</sub>OH の部分構造の存在が明らかとなり、HMBC スペクトルの解析 (Fig. 2) より 2 は水酸基を有するイソベンゾフラノン誘導体と決定された。なお、本化合物は天然由来の化合物として初めての単離報告である。

化合物 3 は <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトル解析よりカルボン酸を有する 1, 4 置換ベンゼン環の存在が示唆され、そのケミカルシフト並びに標品との直接比較により 4-hydroxybenzoic acid と同定され、また化合物 4 は 3 のエチルエステル体と同定されたが、「ホウセンカ抽出物」はエタノールで抽出されているため、4 は artifact と考えられた。

化合物 5 は <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトル解析よりアルデヒド基を有する 1, 4 置換ベンゼン環の存在が示唆され、そのケミカルシフト並びに標品との直接比較により 4-hydroxybenzaldehyde と同定された。

化合物 6 は <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトル解析よりメトキシ基及びアルデヒド基を有する 1, 2, 4 置換ベンゼン環の存在が示唆され、そのケミカルシフト並びに標品との直接比較により vanillin と同定された。

化合物 7 は <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトル解析より水酸基を有する 1, 2, 3 置換ベンゼン環の存在が示唆され、各種二次元 NMR 解析より 4-hydroxy-3-methylphthalide と推定された。

化合物 8 は negative FABMS より MW 471 (M-H) が得られ、<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて δ 5.29 (1H, br. t) よりオレフィンプロトン、δ 1.37 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.87 (3H, s), 0.79 (3H, s) 及び 0.77 (3H, s) より 7 個のメチル基の存在が示唆された。また <sup>13</sup>C NMR より 1 組のオレフィン

炭素及び 1 個のカルボニル炭素を含む 30 本のシグナルが観測され、DEPT スペクトルより 7 個のメチル炭素、9 個のメチレン炭素、5 個のメチン炭素及び 6 個の 4 級炭素の存在が明らかとなった。5 個のメチンのうち 2 個 (δ 75.3 及び 79.7) はその化学シフトから酸素原子が結合していることが推測された。これらのデータより 8 は、1 組のオレフィン炭素、1 個のカルボン酸及び 2 個の水酸基を有する oleanan 型トリテルペノイド誘導体と考えられた。さらに HMQC 及び HMBC スペクトル解析並びに文献検索の結果、化合物 8 は *Echinocystis* spp. 及び *Aibzzia* spp. より単離、構造決定された echinocystic acid<sup>11)</sup> と同定された。8 は本植物から初めての単離報告である。

化合物 9 及び 10 は TLC 上で強い蛍光を示し、<sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトル解析よりメトキシ基及び水酸基を有するクマリン系化合物と推測された。9 は標品との直接比較により scopoletin と同定され、10 は HMBC スペクトル等の解析より fraxidin と同定された。

化合物 11 は <sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて δ 6.99 (1H, d, *J*=15.6 Hz) 及び 6.42 (1H, d, *J*=15.6 Hz) より一組のトランスカップリングしたオレフィンプロトン、δ 2.30 (3H, s), 1.89 (3H, s), 1.05 (3H, s) 及び 1.01 (3H, s) より 4 個のメチル基の存在が示唆された。また <sup>13</sup>C NMR より 2 組のオレフィン炭素及び 2 個のカルボニル炭素を含む 13 本のシグナルが観測され、HMQC スペクトル解析より 4 個のメチル炭素、1 個のメチレン炭素及び 2 個の 4 級炭素の存在が明らかとなった。さらに HMBC スペクトル解析並びに文献検索の結果、化合物 11 は *Oryza sativa* より単離、構造決定された dehydrovomifoliol<sup>12)</sup> と

同定された。

化合物 12 及び 13 は  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル解析より化合物 11 と同様の骨格を有することが示唆され、各種二次元 NMR 解析の結果、それぞれ 9-hydroxy-4,7-megastigmadiene-3-one<sup>13)</sup> 及び vomifoliol<sup>14)</sup> と同定された。化合物 11-13 は本植物から初めての単離報告である。

化合物 14 は  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル解析よりメトキシ基及び水酸基を有する 1,2,4 置換ベンゼン環の存在が明らかとなり、さらに HMQC 及び HMBC スペクトル解析並びに文献検索の結果、14 はリグナン誘導体 pinoresinol<sup>15)</sup> と同定された。また化合物 15 は  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル解析より化合物 14 と同様の骨格を有するリグナン誘導体であることが示唆され、各種二次元 NMR 解析の結果、syringaresinol<sup>15)</sup> と同定された。化合物 14 及び 15 は本植物から初めての単離報告である。

化合物 16 は  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル解析よりメトキシ基を有する 1, 2, 4 置換ベンゼン環の存在が明らかとなった。さらに HMQC 及び HMBC スペクトル解析並びに文献検索の結果、16 は 6-methoxy-4-chromanone<sup>16)</sup> と同定された。化合物 16 は本植物から初めての単離報告である。

化合物 17-19 は  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル解析より核酸誘導体と考えられ、それぞれ 2'-deoxyuridine, uridine 及び thymidine と同定された。

#### D. 考察

「ハウセンカ抽出物」は既存添加物名簿収載品目リストに「ツリフネソウ科ハウセンカ (*Impatiens balsamina* L.) の全草より室温時含水エタノールで抽出して得られたも

のである。現在までの研究において本植物の二次代謝産物として、ナフトキノン誘導体、トリテルペノイド配糖体類の存在が報告されている。本研究の結果、「ハウセンカ抽出物」に含有される多くの化合物は、既に本植物より報告されている化合物群とは大きく異なる骨格、構造を有していることが明らかとなり、興味深い事実と考えられる。植物体に含有される抗酸化活性を示す二次代謝物は多岐に渡るため、本研究で同定された化合物の抗酸化能の解明も今後の検討課題であると考えられる。

#### E. 結論

昨年度に引き続き、既存添加物名簿収載品目「ハウセンカ抽出物」製品に含有される成分研究を行い、各種抽出分画より 2 種の新規化合物を含む 19 種の化合物を単離、構造決定した。

#### F. 健康危機情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

鄒大鵬、川原信夫、合田幸広：既存添加物「ハウセンカ抽出物」の成分に関する研究。日本生薬学会第 52 回年会，(2005.9)

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

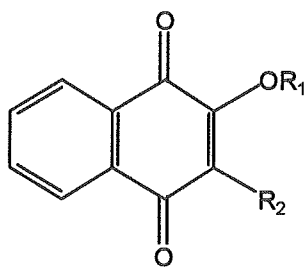
##### 3. その他



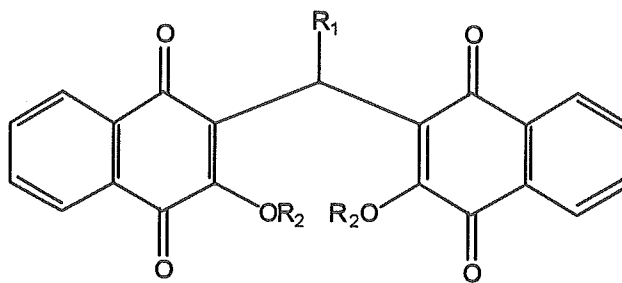
なし

参考文献

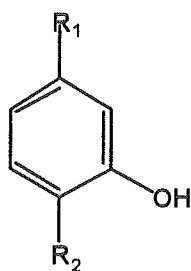
1. Oku, H. *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 658-660 (2002)
2. Oku, H. *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 137-139 (2002)
3. Ishiguro, K. *et al.* *J. Nat. Prod.* **61**, 1126-1129 (1998)
4. Panichayupakaranant, P. *et al.* *Phytochemistry* **40**, 1141 (1995)
5. Afzal, M. *et al.* *Heterocycles*, **22**, 813 (1984)
6. Panichayupakaranant, P. *et al.* *Planta Med.* **64**, 775 (1998)
7. Sosa, F. *et al.*, *Phytochemistry* **9**, 441-446 (1970)
8. Shoji, N. *et al.*, *Tetrahedron* **50**, 4973-4986 (1994)
9. Shoji, N. *et al.*, *Phytochemistry* **37**, 1437-1441 (1994)
10. Shoji, N. *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.* **42**, 1422-1426 (1994)
11. Okada, Y. *et al.*, *Phytochemistry* **26**, 2789-2796 (1987)
12. Takasugi, M. *et al.*, *Chem. Lett.* **3**, 245-248 (1973)
13. Aasen, A. J. *et al.*, *Acta. Chem. Scand.* **27**, 2107-2114 (1973)
14. Siddiqui, B. S. *et al.*, *Helv. Chim. Acta* **86**, 2164-2169 (2003)
15. Vermes, B. *et al.*, *Phytochemistry* **30**, 3087-3089 (1991)
16. Glennon, R. A. *et al.*, *J. Med. Chem.* **25**, 393 (1982)



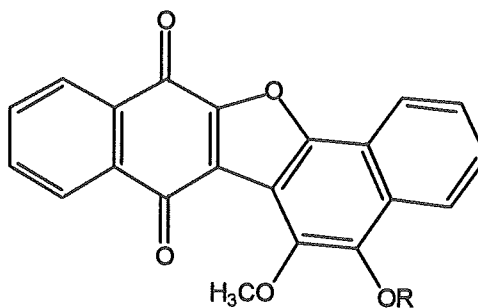
$R_1 = H, R_2 = H$   
 $R_1 = CH_3, R_2 = CH_2CH_2OH$   
 $R_1 = Na, R_2 = CH_2CH_2OH$   
 $R_1 = CH_3, R_2 = OCH_3$



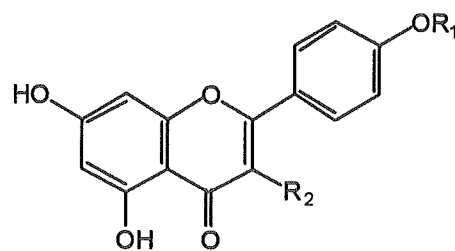
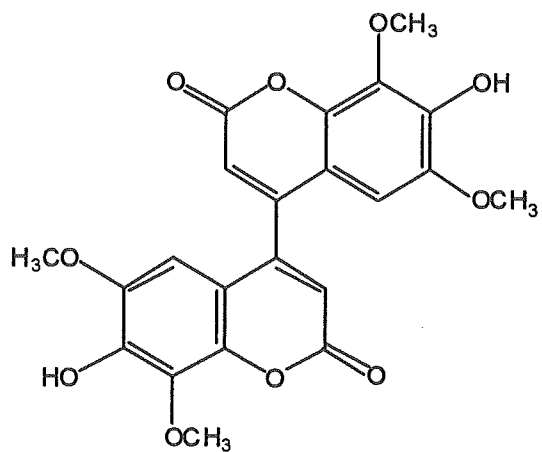
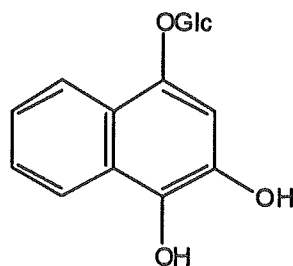
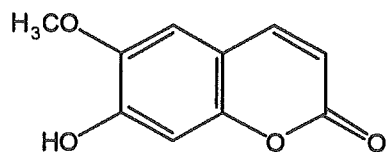
$R_1 = CH_3, R_2 = H$   
 $R_1 = CH_3, R_2 = Na$   
 $R_1 = H, R_2 = H$



$R_1 = COOH, R_2 = H$   
 $R_1 = CH=CHCOOH, R_2 = H$   
 $R_1 = CH=CHCOOH, R_2 = OCH_3$

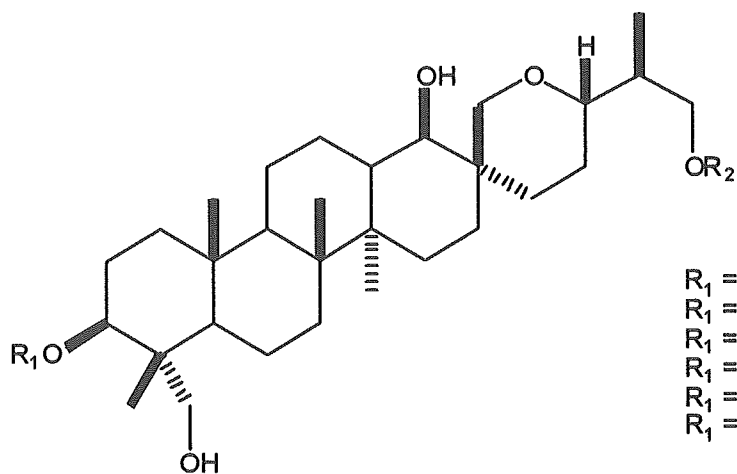


$R = H$   
 $R = Glc$

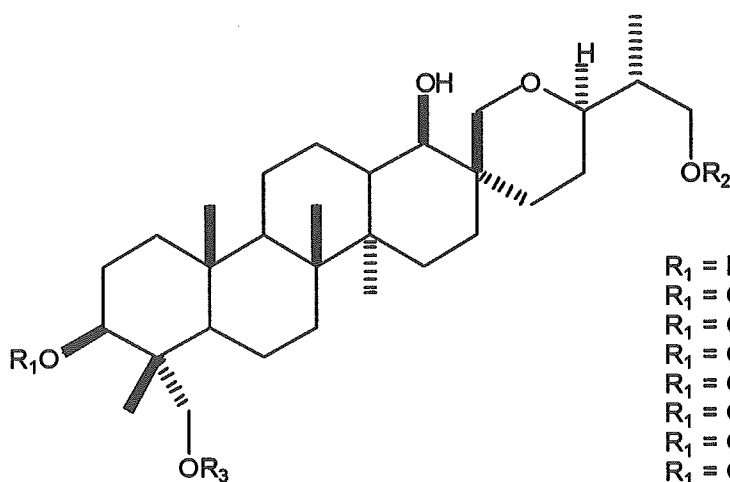


$R_1 = H, R_2 = OGlc-Rha$   
 $R = Glc-Xyl, R_2 = H$

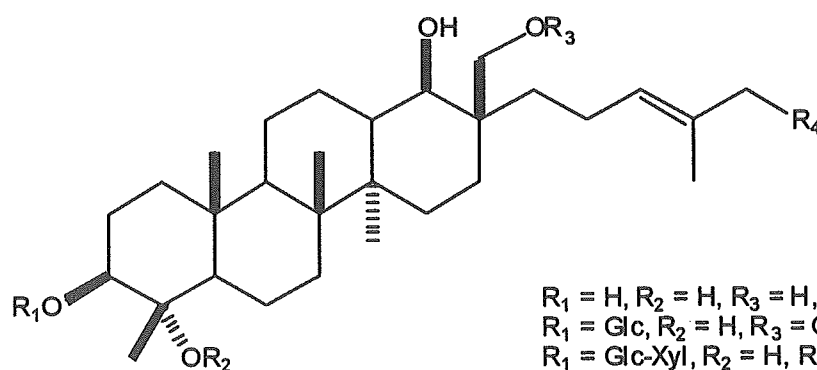
Chart 1 Known compounds isolated from *Impatiens balsamina* (1)



- $R_1 = H, R_2 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = H$
- $R_1 = \text{Glc}, R_2 = \text{Glc}$
- $R_1 = \text{Glc-Xyl}, R_2 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Xyl}, R_2 = \text{Glc}$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = \text{Glc}$



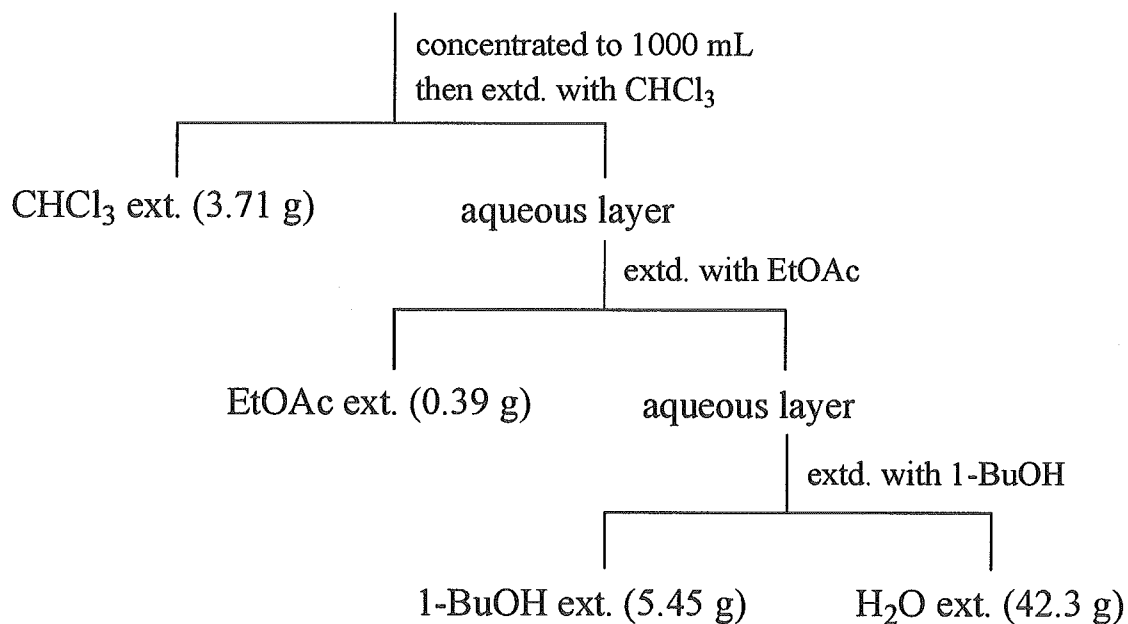
- $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H$
- $R_1 = \text{Glc}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = H, R_3 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Xyl}, R_2 = H, R_3 = \text{Glc}$
- $R_1 = \text{Glc}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = \text{Glc}$
- $R_1 = \text{Glc-Xyl}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = H$
- $R_1 = \text{Glc}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = H$



- $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = OH$
- $R_1 = \text{Glc}, R_2 = H, R_3 = \text{Glc}, R_4 = OH$
- $R_1 = \text{Glc-Xyl}, R_2 = H, R_3 = \text{Glc}, R_4 = OH$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = H, R_4 = OH$
- $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H$
- $R_1 = \text{Glc-Glc}, R_2 = H, R_3 = \text{Glc}, R_4 = H$

Chart 2 Known compounds isolated from *Impatiens balsamina* (2)

ホウセンカ抽出物 3200 mL



CHCl<sub>3</sub> ext. (3.71 g)

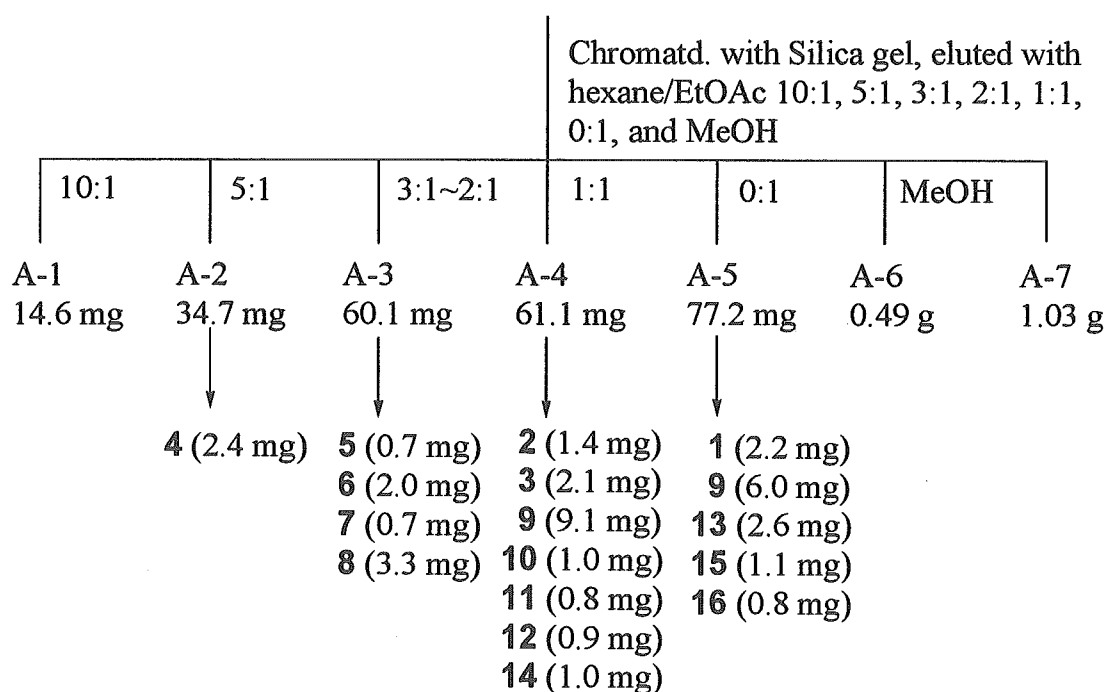


Chart 3. Isolation of compounds from *Impatiens balsamina* (1)