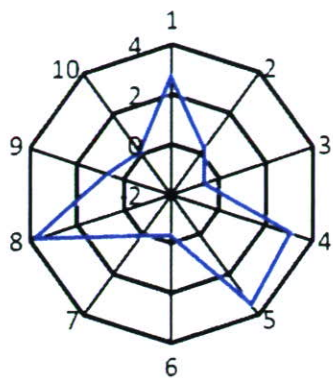
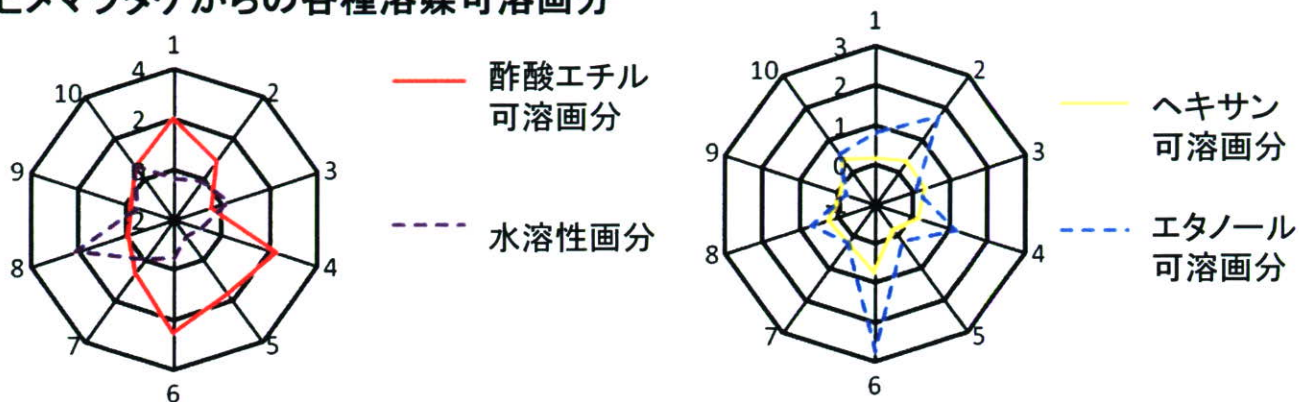


Fig. 5 レイシ抽出物および含有成分の味覚項目値レーダーグラフ

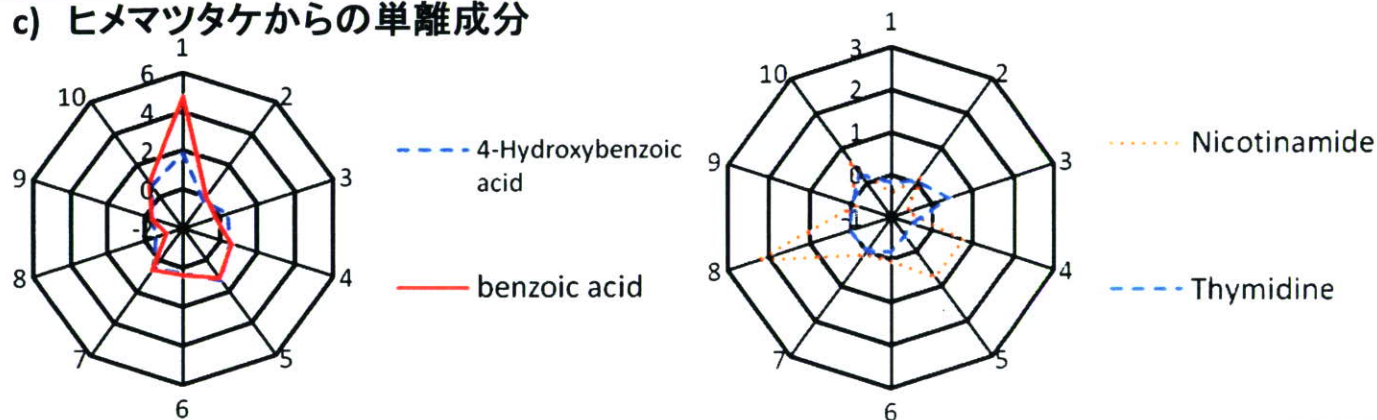
a) 既存添加物ヒメマツタケ抽出物



b) ヒメマツタケからの各種溶媒可溶画分



c) ヒメマツタケからの単離成分



d) ヒメマツタケからの各成分の単離量の比を考慮したグラフ

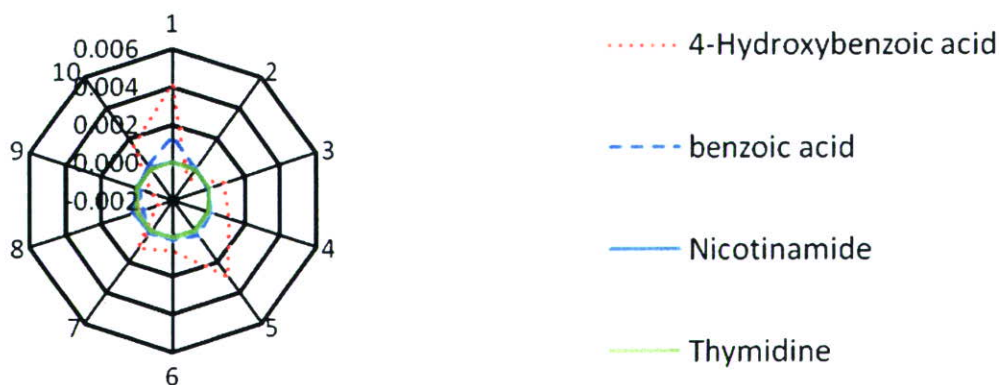


Fig. 6 ヒメマツタケ抽出物および含有成分の味覚項目値レーダーグラフ

#### 4. 苦味料の成分・品質に関する研究

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

平成19年度分担研究報告書

分担研究課題；既存添加物ニガヨモギの成分研究

分担研究者 黒柳 正典 県立広島大学生命環境学部 教授  
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 主任研究官  
多田 敦子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 主任研究官  
瀧野 裕之 独立行政法人医薬基盤研究所 主任研究員

研究要旨 既存添加物であり、苦味料として用いられているニガヨモギから苦味物質を分離し、苦味センサーによる苦味の数値化検討のための素材を提供すると共に、ニガヨモギの品質評価を検討し、ニガヨモギから新たな生理活性を開発する目的で成分分離を行った。その結果、ニガヨモギに特徴的な成分である数種のセスキテルペン2量体を分離すると共に、新規のセコ型セスキテルペン及びトリテルペンを分離し、構造決定した。なお、分離化合物について、抗リーシュマニア活性を測定した。

A 研究目的

苦味料である既存添加物から苦味物質を分離し、苦味センサー試験のための試料を提供すると共に、苦味料の成分を明らかにし、品質保持のための研究に応用すると共に、苦味料中の成分から新たな機能性を開発することを目的として研究を行ってきた。平成17年度、平成18年度は既存添加物であり、苦味料として用いられているヒキオコシ抽出物及び、その原料生薬であるヒキオコシの中国産および日本産の材料に付いて詳細な成分研究を行った。

平成19年度は苦味料ニガヨモギ (*Artemisia absinthium* L., キク科)の成分について分離構造研究及び、新たな機能性の検討を行った。ニガヨモギは大量に摂取すると、嘔吐、神経麻痺、麻酔作用等があり、古くからリキュールである「アブサン」としても用いられている。成分としてはセスキテルペンラクトンの2量体が特徴的な成分として知られており苦味成分と考えられている。今回、日本市場において入手可能なニガヨモギを用いて成分分離と分離化合物の構造研究を行った。

分離化合物の新たな機能性開発の一つとして、熱帯地域に流行しているリーシュマニア

症治療薬開発に何らかの貢献を目的とし、抗リーシュマニア活性の測定を行った。

B 研究方法

1. ニガヨモギ成分の抽出分離：

わが国市場品として入手可能なニガヨモギを入手し、図1に示すように抽出分離を行った。ニガヨモギ 980 g をメタノール (MeOH) を用いて2時間還流抽出を行った。MeOH 抽出溶液は50℃で減圧濃縮し、得られた MeOH エキスは酢酸エチル (AcOEt)、ブタノール (*n*-BuOH) で順次抽出分配し、AcOEt 相、*n*-BuOH 相、水相を得た。このうち AcOEt 相のエキス量が多く、薄層クロマトグラフィー (TLC) による検討の結果、多数の成分の存在が確認されたため、AcOEt 相の成分分離を行った。AcOEt 相 34 g をクロロホルム (CHCl<sub>3</sub>)・MeOH 系溶媒を用い、MeOH の割合を上げながら極性を高くすることによりシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub> c.c.) を行い多数のフラクションを得た。TLC の検討により最終的に12のフラクションにまとめた。これらのうち量的にも多く、特に成分の存在が明確なフラクションについて、分取 TLC (PLC)、逆相系 (ODS, C-8) カラムを用いた高速液体

クロマトグラフィー (HPLC) を丹念に繰り返すことにより分離を行った。

## 2. 分離化合物の構造決定:

分離化合物は、TLC 及び HPLC により純度を確認し、十分な純度を確認できた化合物について、質量分析 (MS)、核磁気共鳴 (NMR) スペクトル ( $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR)、特に 2 次元 NMR (H-H COSY, HMQC, HMBC, NOESY) の測定を行い、それらのデータを解析することにより構造を決定した。特に新規化合物と考えられる化合物については、詳細なデータ解析を行った。

## 3. 分離化合物の抗リーシュマニア活性の測定:

抗リーシュマニア活性の測定は、リーシュマニア原虫 (*Leishmania major*) に対する生育阻害活性を測定した。

## C 研究結果

### 1. ニガヨモギ成分の抽出分離:

図 1 に示すように、ニガヨモギの AcOEt 相のカラムクロマトグラフィーフラクションを、HPLC、PLC 等を丹念にくり返すことにより、Fr. 5 から comp. 2 (13 mg) を分離した。Fr. 6 から comp. 8 (9 mg)、9 (11 mg)、10 (112 mg)、11 (9 mg)、12 (22 mg)、13 (11 mg) を分離した。Fr. 9 から comp. 5 (15 mg)、6 (24 mg) を分離した。Fr. 11 から comp. 1 (14 mg)、3 (12 mg)、4 (9 mg) を分離した。Fr. 12 から comp. 7 (16 mg) を分離した。

### 2. 分離化合物の構造決定:

分離した化合物について、各種スペクトルデータの解析により構造を決定した。

Comp. 3~14 は ESI-MS、 $^1\text{H}$ -NMR、 $^{13}\text{C}$ -NMR、2D-NMR データの解析から図 2 に示すように既知化合物であり、comp. 3~6 はニガヨモギに特徴的なセスキテルペン 2 量体である、absintholide、caruifolin B、absinthin、anabsinthin と、comp. 7 はグアイアンラクトン構造を持つセスキテルペン artemisininolide と決定した。Comp. 8、9 はサイクロアルタン型のトリテルペン 3 $\beta$ -hydroxycycloartan-24-one、3 $\beta$ -hydroxy-

29-norcycloartan-24-one と、comp. 10、11 は 7-hydroxy-3,3',4',5,8-pentamethoxyflavone、5,7-dihydroxy-3',4',6,8-tetramethoxyflavone と、comp. 12~14 は diayangambin、yangambin、7-epiyangambin と決定した。

新規化合物と考えられる comp. 1 は  $[\alpha]_D +1.1^\circ$  ( $c = 0.04$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) を示し、ESI-MS において  $m/z$  303  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  が認められたこと及び、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルにおいて 15 本のシグナルが認められたことから、分子式は  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$  と決定した。 $^1\text{H}$ -NMR スペクトルにおいて、ダブルットメチル 1 本 ( $\delta_{\text{H}}$  1.25, 3H, d,  $J = 6.9$  Hz), 2 本の低磁場シフトしたシングレットメチル基 ( $\delta_{\text{H}}$  2.04, 3H, s, 2.10, 3H, s)、2 つのカービニールメチンプロトン ( $\delta_{\text{H}}$  4.58, 1H, br d,  $J = 5.1$  Hz, 4.71, 1H, d,  $J = 6.3$  Hz) 等が認められた。 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルにおいては、2 つのカルボニール基 ( $\delta_{\text{C}}$  204.3, 208.4), 1 つのラクトンカルボニール基 ( $\delta_{\text{C}}$  179.0), 2 つの 4 級オレフィン炭素 ( $\delta_{\text{C}}$  135.7, 176.0) が認められた。特に大きく低磁場シフトした  $\delta_{\text{C}}$  176.0 の炭素はカルボニールに共役した二重結合の  $\beta$ -位の炭素と考えられる。この構造は HMQC, HMBC を丹念に解析することにより決定した。HMBC データにおいて、15 位のオレフィン炭素上のメチル基プロトンから 3 位のカービニールメチン炭素、4, 5 位のオレフィン炭素への相関; 13 位のダブルットメチルのプロトンから 12 位のラクトンカルボニール炭素、7 位のメチン炭素、11 位のメチン炭素への相関; 14 位メチル基プロトンから 10 位カルボニール炭素、9 位メチレン炭素への相関; 6 位カービニールメチンプロトンから 4 位、5 位オレフィン炭素、7 位メチン炭素、8 位メチレン炭素への相関; その他、図 4 に示すような相関からその平面構造を決定した。H-H COSY 相関もこの構造を指示している。6, 7 位の立体配置は、既知化合物である comp. 7 の立体配置から推定しているが、立体配置に関する検討は行っていない。

もう一つの新規化合物 comp. 2 は  $[\alpha]_D +78^\circ$  ( $c = 0.04$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) を示し、ESI-MS において、 $m/z$  427  $[\text{M}+\text{H}]^+$  を示したこと及び、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルにおいて 30 本の

ピークを示したことより、分子式は  $C_{30}H_{50}O$  と決定した。 $^1H$ -NMR スペクトルにおいて、4本のダブルットメチル基 ( $\delta_H$  0.89, 3H, d,  $J=4.6$  Hz, 0.97, 3H, d  $J=6.0$  Hz, 1.02, 6H, d,  $J=6.9$  Hz)、2本のシングレット ( $\delta_H$  0.89, 3H, s, 0.96, 3H, s)、エキソメチレン ( $\delta_H$  4.66, 1H, br s, 4.71, 1H, br s)、カービニールメチン ( $\delta_H$  3.21, 1H, triplet like)、サイクロプロパン環状のメチレン ( $\delta_H$  0.14, 1H, d,  $J=4.1$  Hz, 0.38, 1H, d,  $J=3.8$  Hz) 等が観測された。このことから、シクロアルタン型トリテルペンの 29-nor タイプの化合物と推測され、一方、側鎖にエキソメチレンの型で C-1 ユニットが付加した C30 のトリテルペン誘導体と考えられた。構造と置換基の位置を確認するために H-H COSY, HMQC, HMBC スペクトルデータを詳細に検討した。図4に示すように、H-H COSY のつながりから一部の部分構造が明らかになると共に、HMQC スペクトルから、直接結合したプロトンと炭素の関係が明らかになった。HMBC スペクトルにおいて、29位のメチル基プロトンから3位のカービニールメチン炭素、5位のメチン炭素への相関；30位のメチル基プロトンから8位メチン炭素、13位4級炭素、15位メチレン炭素への相関；18位メチル基プロトンから12位メチレン炭素、4位4級炭素、17位メチン炭素への相関；21位メチル基プロトンから17位メチン炭素、20位メチン炭素、22位メチレン炭素への相関；26, 27位のメチル基プロトンから25位メチン炭素、24位オレフィン炭素への相関；28位エキソメチレンプロトンから24位オレフィン炭素、23位メチレン炭素、25位メチン炭素への相関；19位しくロプロパンのメチレンプロトンから11位メチレン炭素への相関等からその構造を決定した。立体配置については、 $^1H$ -NMR、 $^{13}C$ -NMR スペクトルを既知化合物 comp. 9 のものと比較した結果、良く一致することより、A、B、C、D 環部分の構造は comp. 9 と一致することが明らかになった。

### 3. 分離化合物の抗リーシュマニア活性の測定：

分離化合物のうち、量的に十分な化合物に

ついて抗リーシュマニア活性について検討した結果、表1に示すような結果が得られた。その結果、リグナン誘導体 comp. 12、14 及び、高度にメトキシ化したフラボン誘導体 comp. 11 に比較的強い活性が認められた。その他の化合物にも中程度の活性が認められた。

## D 考察

ニガヨモギから苦味物質の分離と、品質評価のための成分解明及び、新たな生理活性の探索を行った結果、ニガヨモギの特徴的な成分であり苦味の本体と考えられる、新規グアイアノライド2量体の分離を目指したが、新規のセスキテルペン2量体は分離することが出来なかったが、苦味物質として、4種類の既知セスキテペン2量体を分離構造決定した。新規化合物としてセコ型グアイアノライド誘導体と、構造がユニークなシクロアルタン型トリテルペンを分離し、構造を決定した。

ニガヨモギ成分の新たな機能性を開発するため、本研究室が関連し研究を行っている抗リーシュマニア活性について検討した。その結果、ニガヨモギから分離した多くの化合物に、表1に示すような抗リーシュマニア活性が認められた。市場品ニガヨモギから苦味セスキテルペン2量体の分離が可能であることが明らかになると共に、ニガヨモギ成分の多くに抗リーシュマニア活性のあることが明らかになった。

## E 結論

### 1. 平成19年度の結論：

今年度のニガヨモギ成分に関する成分研究において、新規化合物2種類を含む14種の化合物を分離し、その構造を明らかにした。なお、分離化合物の一部について抗リーシュマニア活性の測定を行い、いくつかの化合物に活性が認められた。

### 2. 平成17年度、18年度の結論：

一方、平成17年度、18年度に涉って行った研究においては、日本市場に流通している苦味料ヒキオコシ抽出物について成分研究を行った。その結果、市場品のヒキオコシ抽出物の成分が、既存添加物リストの記載内容である「ヒキオコシを原料とし製造され、

enmein を主成分とする」に合わないことが明らかになり、原材料に問題があることが明らかになった。我が国の市場から入手したヒキオコシとの比較で、我が国の生薬市場においては、ヒキオコシとして、日本産に代わって、中国産ヒキオコシが広く流通しており、ヒキオコシ抽出物の原材料として、この中国産ヒキオコシが用いられている可能性が示唆された。そこで中国産ヒキオコシを我が国市場で入手し、その成分を分析した結果、中国産ヒキオコシとヒキオコシ抽出物から全く同じ化合物が得られ、成分的に完全に一致した。しかも、存在すべき enmein は確認されなかった。一方、日本産ヒキオコシについても詳細に成分研究を行った結果、日本産ヒキオコシは、中国産ヒキオコシ及びヒキオコシ抽出物と比べたところ、ursolic acid 以外は全く成分が異なっていることが明らかになり、日本産ヒキオコシには enmein が含まれていることも確認され、既存添加物リストの記載に合うものであった。図5には中国産ヒキオコシ及びヒキオコシ抽出物から得られた化合物を、図6には日本産ヒキオコシから得られた化合物を示す。

以上の結果、我が国生薬市場では、ヒキオコシとして中国産のものが広く流通しているため、本来の既存添加物リストの記載に合わない中国産生薬ヒキオコシがヒキオコシ抽出物の抽出材料として用いられている可能性が示唆された。

#### F 健康危機情報 特になし

#### G 研究発表

##### 1, 論文発表

Maruyama T, Sugimoto N, Kuroyanagi M, Kim IK, Kamakura H, Kawasaki T, Fujita M, Shimada H, Yamamoto Y, Tada A, Goda Y. 2007. Authentication and chemical study of *Isodonis Herba* and *Isodonis* extracts, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 55: 1626-1630.

##### 2, 学会発表

黒柳正典、佐藤さゆり、杉本直樹、佐藤

恭子、山崎壮；苦味料ヒキオコシ抽出物および中国産ヒキオコシの成分、第51回香料・テルペンおよび精油に関する討論会、2007年、長浜。

#### H 知的所有権の取得状況 なし

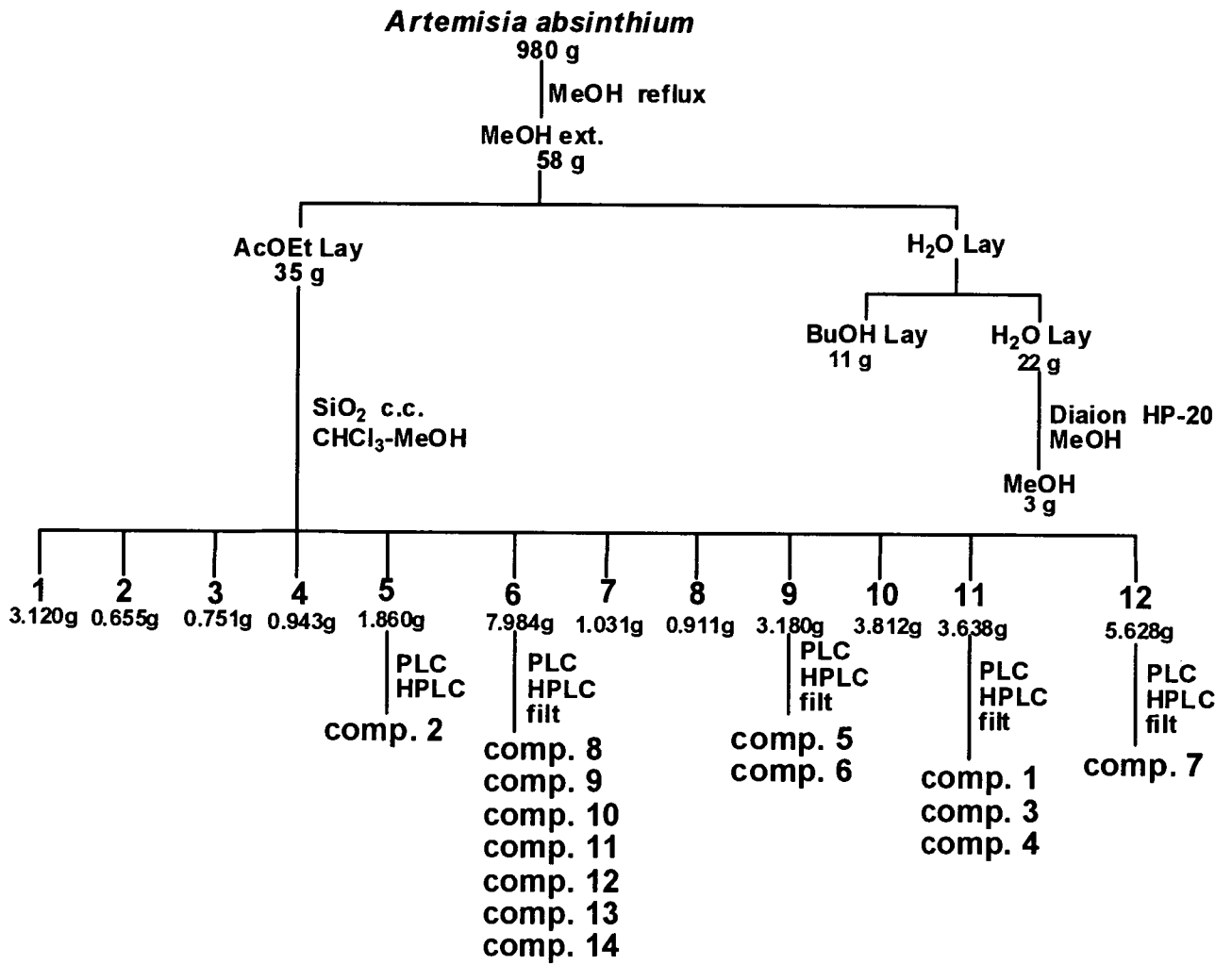


図1 ニガヨモギの抽出分離の流れ。



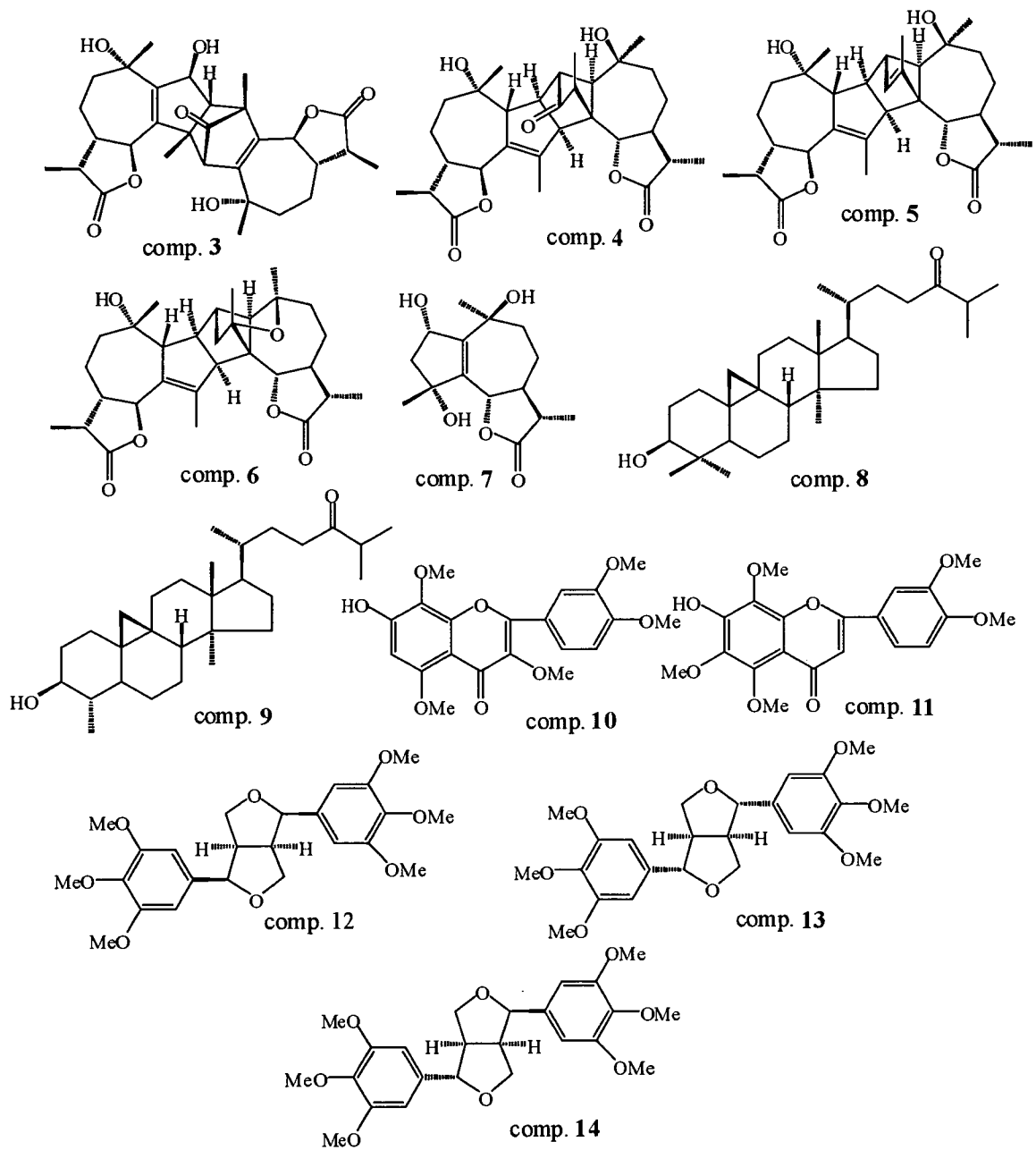


図2 ニガヨモギから分離した既知化合物。

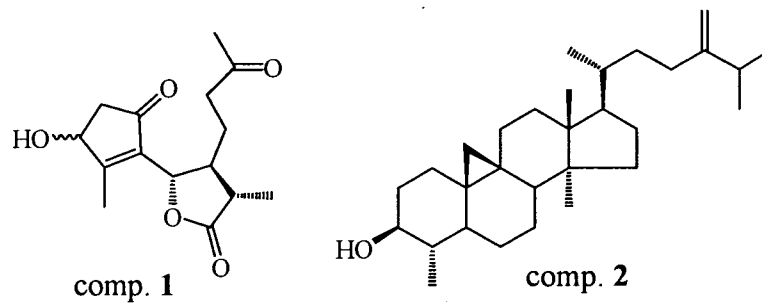


図3 ニガヨモギから分離した新規化合物

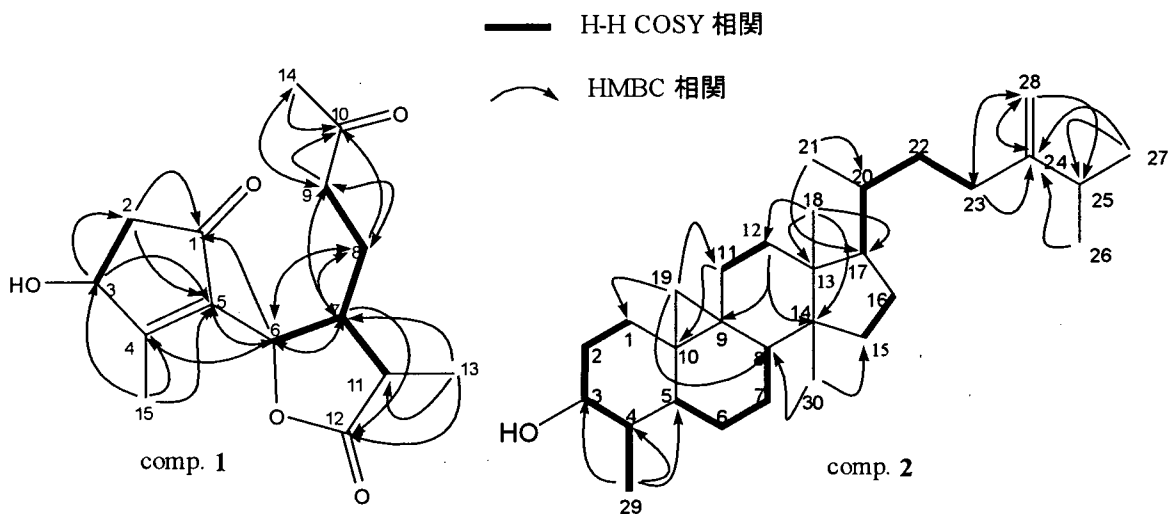


図4 Comp. 1 及び 2 の HMBC と comp. 2 の H-H COSY 相関

表1 ニガヨモギ成分の抗リーシュマニア活性\*

サンプル名	IC <sub>50</sub> (μg/ml)
comp. 2	20.8
comp. 3	46.3
comp. 4	31.4
comp. 5	35.1
comp. 6	35.2
comp. 9	32.7
comp. 10	35.4
comp. 11	3.9
comp. 12	6.5
comp. 13	22.9
comp. 14	8.6

\* *L. major* に対する生育阻害活性

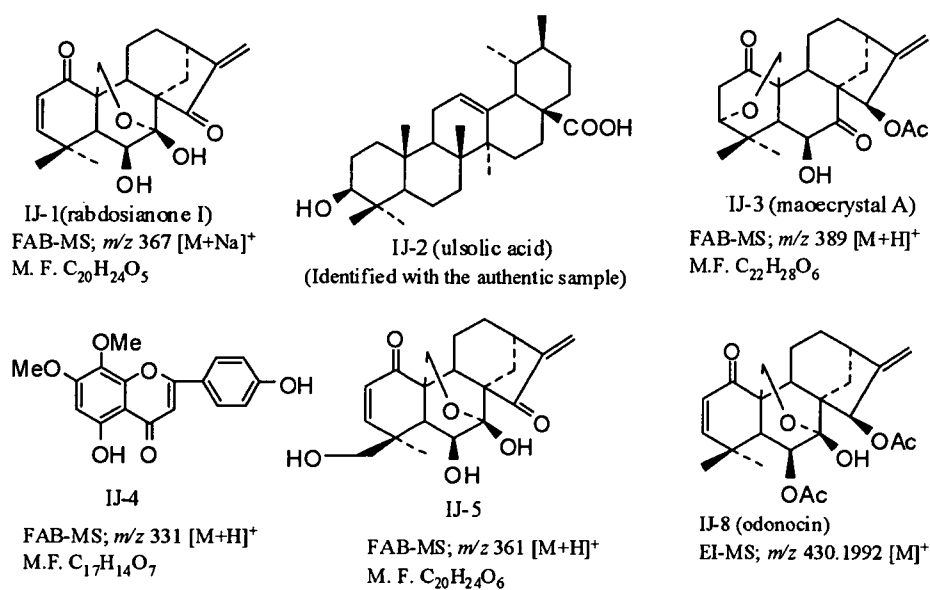


図5 ヒキオコシ抽出物及び中国産ヒキオコシから得られた化合物

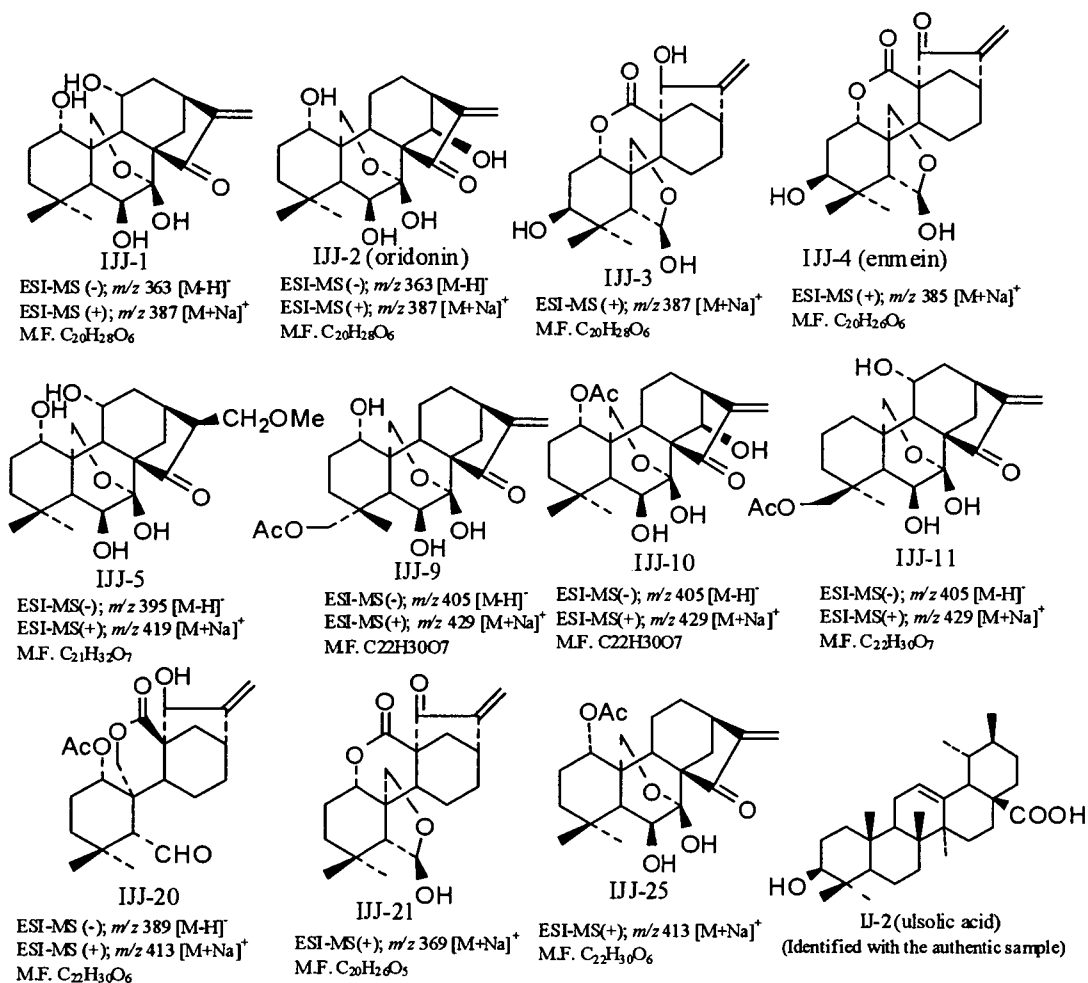


図6 日本産ヒキオコシから得られた化合物

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

平成 19 年度分担研究報告書

霊芝苦味成分に関する研究

研究分担者 服部征雄 富山大学・和漢医薬学総合研究所教授

研究要旨

4種の colossolactone I, colossolactone II, colossolactone III, colossolactone IV と命名した新規ラノスタン型トリテルペンと 5 種の既知化合物を黄芝 *Ganoderma colossum* (Fr.) C. F. Baker から単離した。これら化合物は MS、NMR、CD などの分光学的データをもとに決定した。

A. 研究目的

霊芝の苦味成分の構造と活性相関を考察するうえの標準物質を得る目的で赤芝、紫芝、黄芝の成分を単離、構造決定する。また味覚センサーを用いてこれら成分の味の数値化・質の解析を試みる。

これまでに赤芝 *Ganoderma lucidum*, 紫芝 *Ganoderma sinense* の成分化学的研究をおこない新規化合物を含む多くの高度に参加されたトリテルペンの単離に成功し、その一部は味覚センサーによる味や質の検討を行ってきた。今回、中国の最古の薬物書「神農本草経」の霊芝の項に記載されている赤芝、青芝、黄芝、白芝、黒芝、紫芝のうち、ベト

ナムで栽培されている黄芝の成分化学的研究を行なった。

B. 研究方法

ベトナムで栽培されている黄芝を輸入し、子実体を粉末にした後、粉末をクロロホルムに 5 日間ほど冷浸し、濾過した後、同じ抽出操作をさらに 3 回繰り返した。抽出溶液は減圧下、濃縮した後合わせた。この濃縮液を再度メタノールに溶解し、ヘキサンで抽出し脂肪酸などを除いた。脱脂後のメタノール可溶性画分、不溶性画分はそれぞれシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって数種の分画に分け、次いでクロマトグラフィーを繰り返して化合物を単離した。それぞれの化合物の構

造は  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 質量分析、赤外吸収、円偏光二色性などのスペクトルをもとに構造決定を行なった。なお、実験機器は特にこだわらない限り、以下の装置、条件によった。

核磁気共鳴スペクトル(NMR) : Varian UNITY Plus 500 ( $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) 核磁気共鳴装置で測定。

カラムクロマトグラフィー : Silica gel BW-820MH (Fuji Silysia) , ODS DM 1020T (Fuji Silysia)を使用。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) : 東ソーCCPM-II & 8020 & 8022 システム、島津C-RA chromatopac を使用し、分析には、東ソーTSKgel ODS-80Ts Column (4.6i.d. × 150mm) を、分取には、東ソーTSKgel ODS-80Ts Column (20i.d. × 250mm)を使用。

#### C. 研究結果

今回 *G. colossum* 3.5 kg をクロロホルムで室温にて抽出しクロロホルム抽出物 582g を得、これをさらにメタノールに溶解させヘキサンで脱脂し、メタノールを留去後、シリカゲルカラムにかけ G1—C5 を得た。それぞれの構造は核磁気共鳴 (図 2、表 1、2)、質量分析計などの手段により図 1 に示す構造を

有する化合物と決定した。これら化合物の構造的特徴としてラノスタン骨格の側鎖カルボン酸が閉環し 6 員環ラク톤を形成していること (colossolactone I, II, III, IV)、A,B 環が環拡大し 7 員環となっている極めて希な構造をとっている (colossolactone III, IV) ことである。これら成分の味覚作用と同時に、細胞毒性、抗腫瘍活性、抗酸化作用、種々のウイルス特異的酵素の阻害作用、肝保護作用などに興味もたれる。

#### D. 考察

*G. colossum* の成分研究はドイツの Hans-Knoll-Institute の Peter Kleinaachter とハノイ国立大学の Udo Grafe によって 7 種の新トリテルペンが報告されている。これらの化合物は通常の霊芝 *G. lucidum* に含まれる成分とは非常に異なった構造をもち、特に側鎖が 6 員環ラク톤、あるいはトリテルペンの A 環が開裂しさらに 7 員環ラク톤となっており、これら化合物の苦味作用に興味もたれた。

#### E. 結論

黄芝 *G. colossum* の子実体から colossolactone I, colossolactone II,

colossolactone III, colossolactone IV と命名した4種の新規ラノスタン型トリテルペンと5種の既知化合物を単離した。

#### F. 健康危害情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

El-Dine R. S., El-Halawany A. M., Nakamura N., Ma C., Hattori M.: New lanostane triterpene lactones from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum* (Fr.) C. F. Baker. *Chem. Pharm. Bull.*, 56, 642-646 (2008).

El-Dine R. S., El-Halawany A. M., Ma C., Hattori M.: Anti-HIV protease active triterpenes from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum*. *J. Nat. Prod.*, in press (2008).

##### 2. 学会発表

Salah El Dine R., El-Halawany A. M., Ma C. M., and Hattori M.: Anti-HIV lanostane triterpenes from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum* (Fr.) C. F. Baker. 日本生薬学会第54回年会, 2007, 9, 14-15, 名古屋.

#### 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

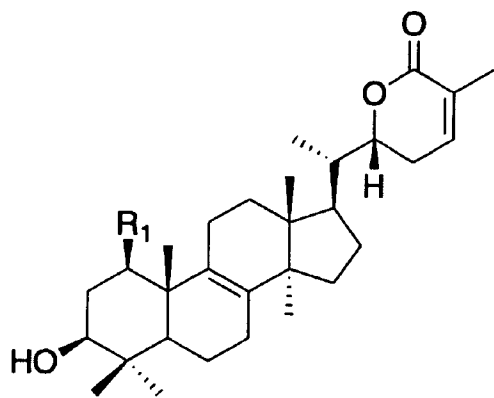
なし

##### 3. その他

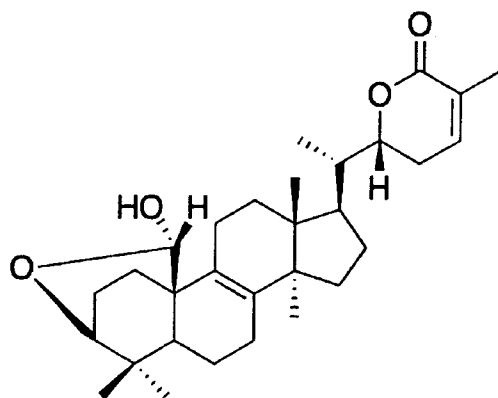
なし

#### 参考文献

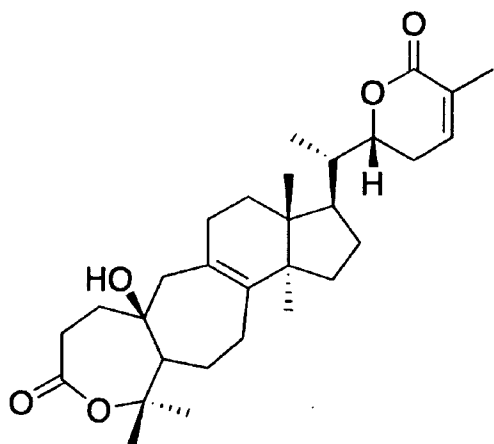
1. Kleinwachter P., Anh N., Kiet T. T., Schlegel B., Dahse H. M., Hartl A., Grafe U., *J. Nat. Prod.*, 64, 236-239 (2001).



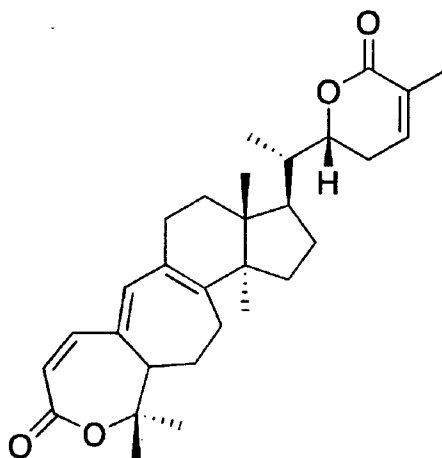
Colossolactone I ( $R_1=H$ )  
Colossolactone II ( $R_1=\beta-OH$ )



Colossolactone III



Colossolactone IV



Colossolactone V

図1 黄芝から単離された新規トリテルペン

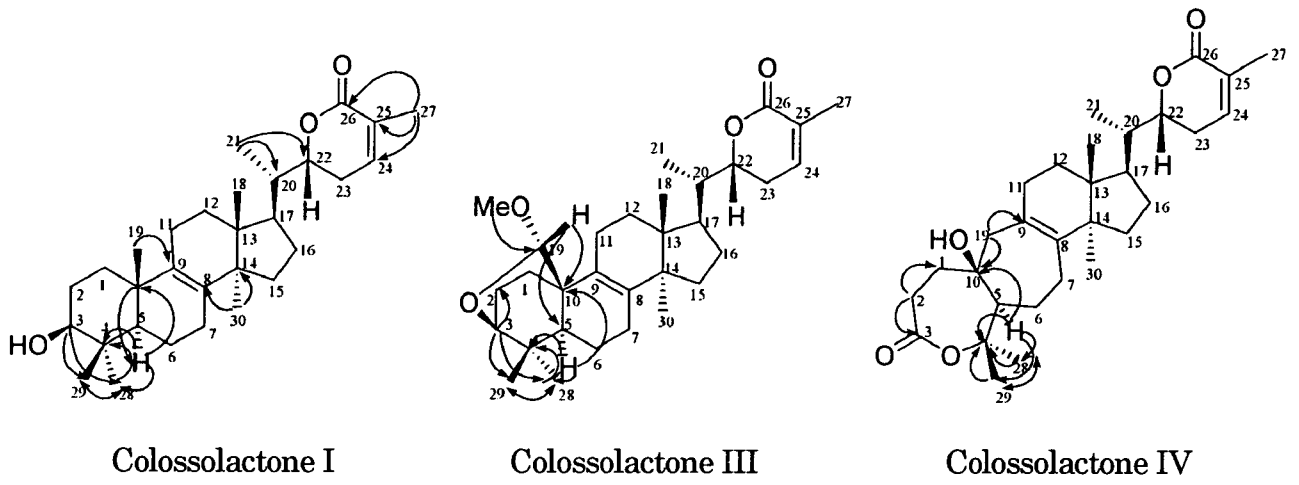


図 2 新規化合物の代表的な HMBC 相関



表 1. 新規化合物の  $^1\text{H-NMR}$  のケミカルシフト (colossolactone II を除き全て  $\text{CDCl}_3$  中で測定)

Position	Colossolactone I	Colossolactone II	Colossolactone III	Colossolactone IV
1	1.70, 1.24m,2H	3.70 dd,1H(4.5, 11.1)	0.95, 2.18 m, 2H	1.99m, 2H
2	1.56, 1.65m,2H	2.35, 2.39m, 2H	1.80, 1.98m, 2H	2.56m, 2H
3	3.20 dd,1H(4.0,11.5)	3.46dd, 1H (5.7, 12.3)	3.29dd,1H (2.7, 5.4)	-
5	1.21dd, 1H (4.4, 12.0)	1.19m, 1H	1.30 m, 1H	1.80 m, 1H
6	1.70 m, 2H	1.78 m, 2H	1.54m, 2H	2.40 m, 2H
7	2.08m, 2H	2.05m, 2H	2.08m,2H	2.08m,2H
11	2.12m, 2H	2.11m, 2H	2.02m, 2H	2.41m, 2H
12	1.80, 1.66 m,2H	1.90 m, 2H	1.28m, 2H	1.79 , 2.46m, 2H
15	1.26, 1.62 m,2H	1.68m, 2H	1.25, 1.58m,2H	1.25, 1.64m, 2H
16	1.28 , 2.03m,2H	1.80 m, 2H	1.28, 2.03m, 2H	2, 2.5m, 2H
17	2.06m,1H	2.50 m, 1H	2.10 m, 1H	2.11m, 1H
18	0.68s, 3H	0.68s, 3H	0.69s, 3H	0.74s, 3H
19	0.97s, 3H	1.22s, 3H	4.60 s, 1H	1.60m, 3.18,d,(14.4)
20	1.52 m,1H	1.47m,1H	1.52m,1H	1.58m,1H
21	1.02d, 3H(6.3)	0.94 d, 3H (6.3)	1.03d, 3H(6.5)	1.01d, 3H(6.5)
22	4.50 dd, 1H (4.0, 13.5)	4.42dd, 1H (4.0, 13.5)	4.50 dd, 1H (4.0, 13.5)	4.52, dd, 1H (2.5, 13)
23	1.98, 2.56 m, 2H	2.41m,2H	2.00, 2.58m, 2H	1.96, 2.55m, 2H
24	6.59m,1H	6.60 m, 1H	6.53m, 1H	6.61m, 1H
27	1.90 s, 3H	1.87s, 3H	1.91s, 3H	1.92s, 3H
28	0.99s, 3H	1.13s, 3H	0.97 s, 3H	1.28s, 3H
29	0.80 s, 3H	1.00s, 3H	1.02s, 3H	1.32s, 3H
30	0.90s, 3H	0.81s, 3H	0.94s, 3H	0.94s, 3H
OMe			3.40 s, 3H	

表 2. 新規化合物の  $^{13}\text{C}$ -NMR のケミカルシフト (colossolactone II を除き全て  $\text{CDCl}_3$  中で測定)

Carbon	Colossolactone	Colossolactone	Colossolactone	Colossolactone
	I	II	III	IV
1	35.4	73.8	29.7	27.5
2	27.7	39.8	22.8	27.1
3	78.8	75.5	77.5	177.3
4	38.8	40.2	36.4	74.5
5	50.2	49.1	47.7	55.1
6	18.2	17.6	20.4	33.8
7	26.4	26.0	25.7	27.1
8	134.1	134.1	137.6	139.2
9	134.4	137.0	128.3	121.7
10	36.9	44.1	39.4	91.5
11	20.9	25.1	22.5	33.0
12	30.7	32.0	31.0	30.7
13	44.4	44.3	44.3	44.5
14	49.8	50.4	50.4	50.5
15	30.7	31.6	31.1	30.1
16	27.7	28.7	27.6	27.1
17	45.7	46.6	45.7	45.5
18	15.5	16.2	15.7	15.5
19	19.1	15.5	104.0	41.5
20	40.4	40.7	40.4	40.3
21	13.3	13.8	13.3	13.3
22	80.2	80.5	80.1	80.1
23	27.7	28.7	27.9	27.9
24	139.7	140.5	139.0	139.7
25	128.1	127.8	128.0	128.0
26	166.6	166.2	166.5	166.5
27	17.1	18.7	17.2	17.1
28	27.9	28.2	23.8	32.0
29	15.4	15.4	25.7	25.2
30	24.3	24.9	23.2	24.5
OMe			55.2	

平成 19 年度厚生労働省科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業)  
分担研究報告書

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

分担研究課題 苦味料ヒメマツタケ (アガリクス) 抽出物の成分・品質  
に関する研究

分担研究者 大塚 英昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授  
協力研究者 松浪 勝義 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 講師  
協力研究者 末吉 恵津子 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 助教

研究要旨 アガリクス茸は、ブラジル原産で正式名をカワラハラタケ、若しくはヒメマツタケという。人工栽培は困難であったが、近年、栽培法が確立されて以来、暗に何らかの薬効を期待するような文言が並べられ、多くが健康食品として市販されている。一部、アガリクス含有製品に発癌が認められたという報告もあるが、必ずしも因果関係が明らかになったとはいえない。厚生労働省研究班の調査により、がん患者が利用する補完代替医療の中で最も多く利用されていることが判明した。同班が安全性評価を目的とした臨床試験の実施を発表している。また、生食を目的としてスーパーでも市販されている。既に幾つかの成分研究はあるが、更に詳細に含有成分を検討する。

A. 研究目的

アガリクスは、学名 *Agaricus blazei* Murril、和名をカワリハラタケ (ヒメナツタケ) といい、担子菌類、ハラタケ科、ハラタケ属のきのこである。

原産地はブラジルの東南部、サンパウロ郊外のピエダーテ地域で、天然のアガリクスは昼間の気温が 35 度、夜間は 20~25 度で平均湿度が 80%、夕方にはスコールがくるといふ特殊な気候で育つということ、人工栽培が非常に難しいきのこであったが、近年人工栽培技術が確立され、大量の製品

が巷にあふれている。昨今、広告などでよく目にする「アガリクス」という名前は、ハラタケ属のキノコの総称であって、特定のキノコをさしているわけではない。また、ハラタケ属のキノコの中に「アガリクス茸」という固有のキノコも存在しない。

有用成分として脂肪酸、エルゴステロール、 $\beta$ -グルカン、ビタミン類などを含んでいるとの報告があるが、更に成分を精査して、薬効を有する化合物があるか検討する。



写真 1 食用の生カワリハラタケ



写真 2 薬用として用いる乾燥品

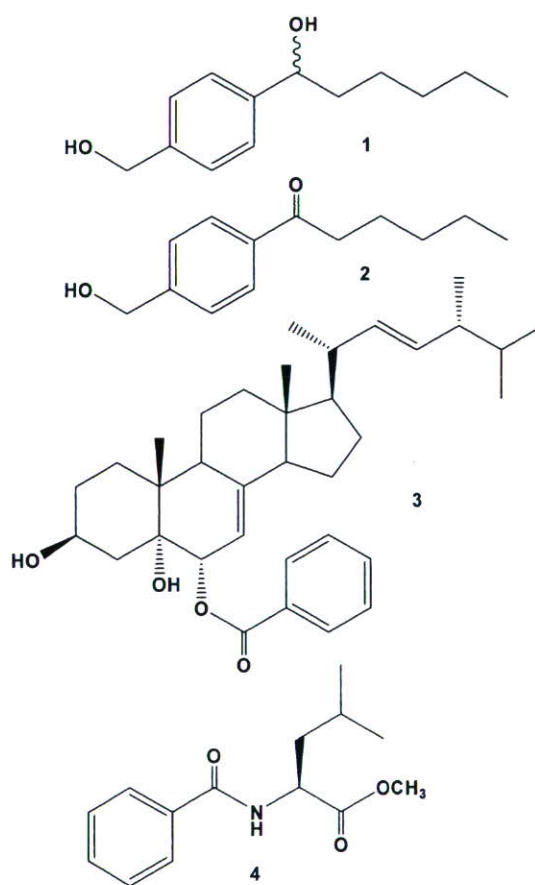
## B. 研究方法

日本での栽培品入手し（乾燥重量 11.0 kg）、それを粉碎後、MeOH で抽出した。MeOH エキスは溶媒分配を行い、EtOAc 可溶画分 70.9 g を得た。本画分を順層、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーを用いて分離、精製を行う。精製した化合物の核磁気共鳴スペクトルや質量分析スペクトルを測定し

て構造を解析する。

## C. 研究結果

各種クロマトグラフィーを用いて分離精製を行ない、そこに示す収量で、化合物 1 から 7 を得た。化合物 1、2、および 3 は未知化合物であり、また既知化合物の構造は文献記載のスペクトル値と比較して、同定した。



化合物 1 はパラ置換ベンゼン環とカルピノール及びヘキサノールが結合した構造を有しており、化合物 2 は 1 のアルコールがケトン基に酸化された化合物であった。

化合物 3 は非晶系粉末としてえられ、高分解能質量スペクトルより分子式は  $C_{37}H_{50}O_4$  と決定された。 $^1H$ -、 $^{13}C$ -NMR ス