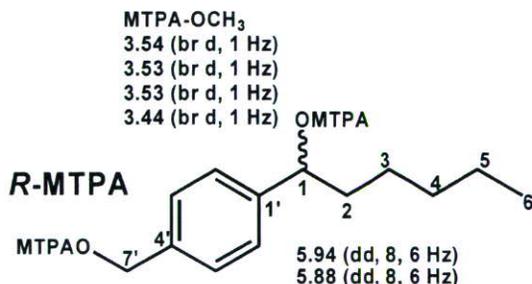
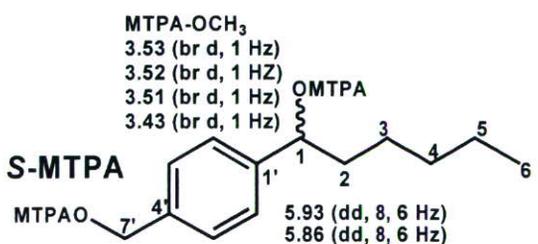


ペクトルより本材料に多く含まれている、ステロールの誘導体であると予想して解析を試みた。その結果上に示すような、ステロール母核の7位の水酸基に安息香酸がエステル結合した化合物であると結論した。

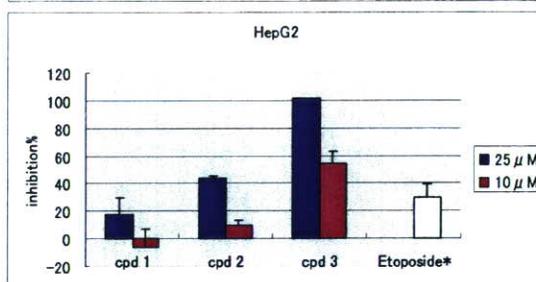
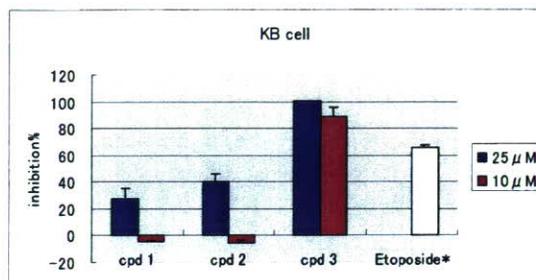
化合物4は非晶系粉末としてえられ、質量スペクトルが与える分子量は272であるとより窒素を含むことが予想され、高分解能質量スペクトルより分子式は $C_{14}H_{19}NO_3$ と決定された。 $^{13}C$ -NMR スペクトルに見られる51.2 ppm (d)のシグナルはアミノ酸の $\alpha$ 炭素に由来することが予想され、それを基に構造解析を進めると、ロイシンの窒素がベンゾイル化され、さらにカルボン酸がメチルエステルとなった化合物であると結論された。本化合物は合成品としての報告はあるが、天然よりの単離は初めてである。

化合物2の比旋光度は極めて小さく $[\alpha]_D^{25} +1.80$  ( $c=1.18$ ,  $CHCl_3$ )であった。そこで、水酸基を有する炭素の絶対配置をモッシャー変法を用いて検討した。



その結果MTPAに由来するメトキシ基が

いずれの誘導体も4本観測され、また水酸基付け根の水素も同様に2個観測されたことにより、本化合物はラセミ体であると結論された。



細胞増殖抑制活性の1次スクリーニングとして用いられるMTTアッセイを行った。使用細胞はヒト口腔内類表皮癌細胞であるKB細胞と、ヒト肝癌由来細胞であるHepG2細胞である。

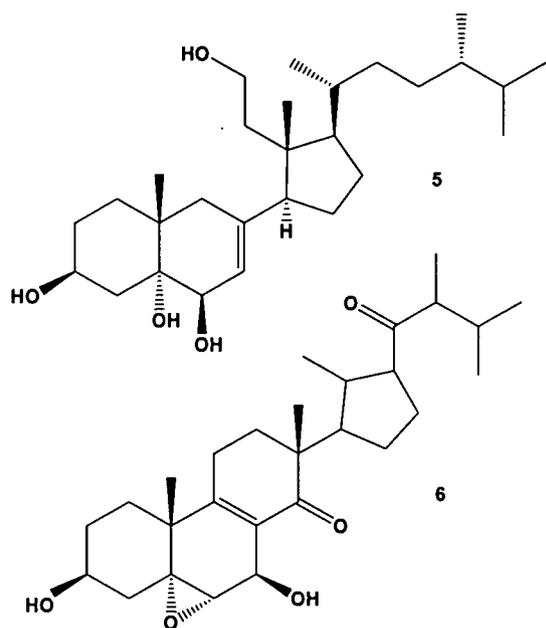
グラフはコントロールであるDMSOを加えたときの抑制率を0%としたときのそれぞれの抑制率を示しており、ポジティブコントロールとしてエトポシドを用いた。

アッセイ結果から、化合物3では化合物1、化合物2と比較してかなり強い細胞増殖抑制活性が認められた。

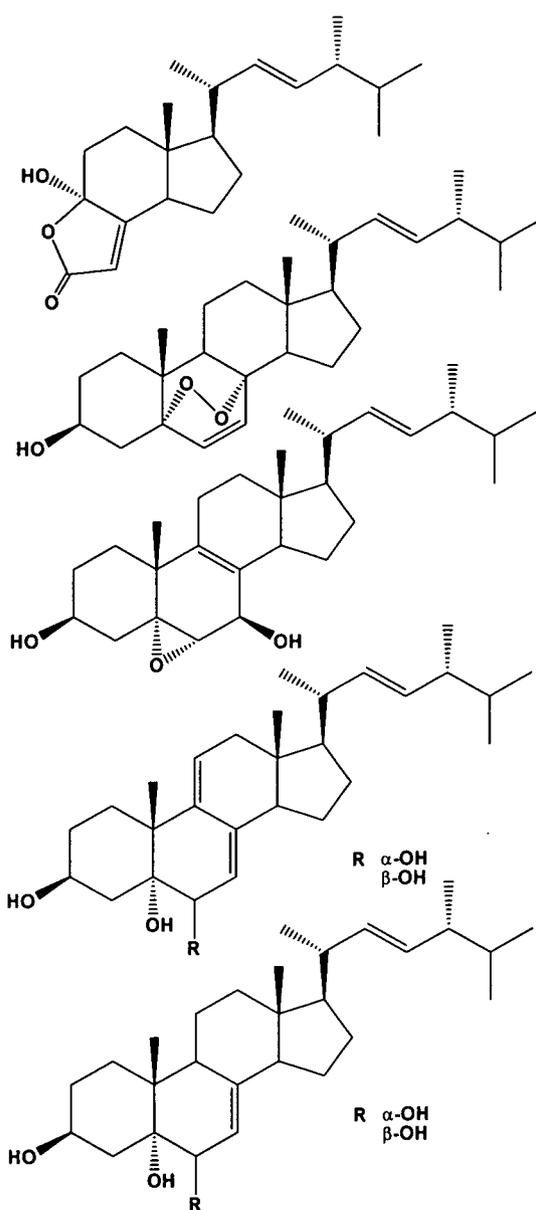
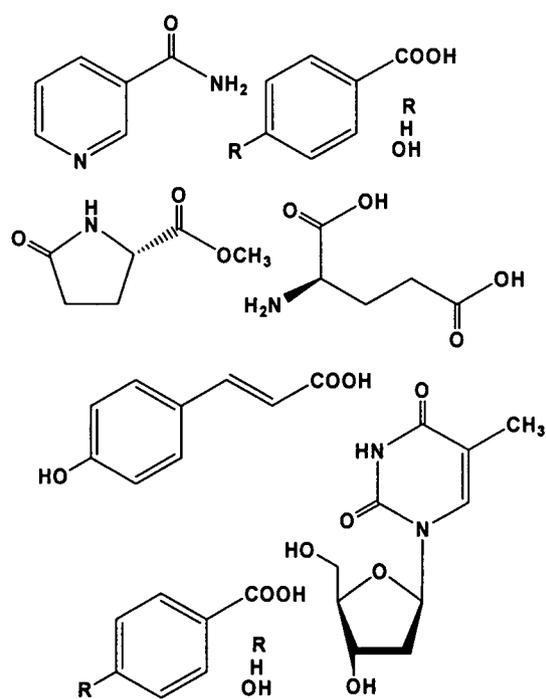
また、このような構造を有する化合物の単離が単離された。化合物5については類似化合物Aplidiasterol Aとの関連からその構造には信頼性があるが、化合物6については今後詳細な検討を行う予定である。

その他の得られた既知化合物を示している。ニコチンアミド、パラヒドロキシ桂皮酸、安息香酸、パラヒドロオキシ安息香酸、

グルタミン酸、デオキシウリジン、ピログルタミン酸メチルエステルが得られている。また7種のエルゴスタン型ステロイドが得られている。



既知化合物



#### D. 考察

化合物4は化学合成はされているが、天然からははじめて得られことになる。これまで多くの活性が報告されており、今後、当教室で稼働している、生物検定法を用いて検討する予定である。また、合成も比較的容易であるので、ロイシン以外のアミノ酸についても同様の誘導体化を行ない、活

性の検討を行う予定である。また、その他の化合物についても、生物活性の検討を行うが、得られた量が少ないため合成が不可欠となる。

#### E. 結論

これまで精力的に探索研究を行ない、新規化合物を6種得ることができた。化合物3には比較的強い細胞毒性が認められた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表等

上口有美、松浪勝義、大塚英昭

アガリクス (*Agaricus blazei* Murril) の成分研究 (第2報)

日本薬学会年会 第128年回 (横浜) 2008年3月29日、講演要旨集2 11頁

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

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 19 年度分担研究報告書

既存添加物苦味料 ジャマイカカссия抽出物中の副成分の分析

分担研究者 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

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

協力研究者 尹 永淑 東京薬科大学生命科学部 助手

研究要旨 既存添加物苦味料ジャマイカカссия抽出物の国内流通 4 製品を、TLC および LC/MS で比較した結果、主成分のクアシンおよびネオクアシンに加え、他の副成分の組成もよく一致し、4 製品の基原が同じであるものと推定された。次に、本抽出物の製品に含まれる微量アルカロイド 4 成分を同定した。また、製品の基原を考察するため、本品目の基原として記載されているジャマイカカссия *Picrasma excelsa* と同科の、アメリカニガキ *Quassia amara* およびニガキ *Picrasma quassioides* の抽出物を調製し、添加物製品で同定した副成分 4 種の含量を比較した。その結果、ジャマイカカссия抽出物製品の成分検出パターンは、アメリカニガキと類似していた。ジャマイカカссия *Picrasma excelsa* は絶滅危惧種であることや、ジャマイカカссия抽出物として輸入される *Quassia extract* の基原として、米国 CFR ではアメリカニガキ *Quassia amara* も挙げられていること等も考慮に入れると、国内流通製品の基原植物は、アメリカニガキである可能性が考えられた。

#### A. 研究目的

ジャマイカカссия抽出物は、既存添加物名簿収載品目リスト<sup>1)</sup>に記載される天然由来の苦味料の一つで、トニックウォーターを始めとする清涼飲料水、チョコレート等の製菓に広く使用されている。また、香料としても使用されている。海外では *Quassia extract* の名称で使用されており、国内流通量はそれほど多くはないものの、少量で強い苦味を示すため苦味づけには有用とされている。

既存添加物名簿収載品目リスト<sup>1)</sup>の基原・製法・本質には、「ニガキ科ジャマイ

カカссия (*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及びネオクアシン (図 1) である。」と記載されている。基原であるニガキ科ジャマイカカссия *Quassia excelsa* (現在ではこの植物の優先的学名として *Picrasma excelsa* が用いられる。) は、国内には自生していない。よって、主に *Quassia extract* と称される海外製品が輸入され、ジャマイカカссия抽出物製品として国内で流通している。一方、米国 CFR には” *Quassia* ” の項目があり、その基原植物として *Picrasma excelsa*

(ニガキ科ジャマイカカссия)に加え *Quassia amara* (ニガキ科アメリカニガキ (別名スリナムニガキ)) の2種が記載されている。したがって、国内流通品の基原は上記2種の植物の可能性があり、基原が異なれば製品により成分組成が異なる可能性が考えられる。既存添加物ジャマイカカссия抽出物成分は、これまでに当研究室の杉本らが1製品について検討し、主成分がクアシン 21.4%, ネオクアシン(2つの立体異性体の混合物) 55.5%であることを報告<sup>2)</sup>している。しかし、他に既存添加物製品の成分や副成分の報告は無く、製品間の成分組成の差についても明らかにされていない。また、国の成分規格は未だ定められておらず、規格設定の上でも、基原植物および含有成分に関する情報が必要である。

そこで本研究では、ジャマイカカссия抽出物の流通製品の実態を把握するため、国内流通4製品の成分組成の差異を調査した。また、製品の基原について考察するため、ジャマイカカссияと同じニガキ科植物 アメリカニガキ(*Quassia amara*) およびニガキ(*Picrasma quassioides*) の成分調査を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試料

既存添加物ジャマイカカссия抽出物製品には、これまでに厚生労働科学研究費補助金研究の試料として日本添加物協会を通じて入手した3社4製品(製品A~D, BとCは同じ販売元)を分析に用いた。

標準植物として次の3種類を用いた。*Quassia amara* (アメリカニガキ, 別名スリナムニガキ) (0056-94TN) は, (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センタ

一種子島研究部より分与されたもの, *Picrasma quassioides* (ニガキ) (0054-79TS) は, 同センター筑波研究部より分与されたものを, 常温で乾燥させて用いた。また, 内田和漢薬より局方ニガキ(*Picrasma quassioides* (ニガキ) の乾燥品“ニガキM”)を購入した。

クアシン市販試薬は, ナカライテスク(株)より購入した。この試薬はアメリカニガキからの精製品ということであり, 製品成績書にクアシン 51.1%およびネオクアシン 43.6% = 合計 94.7% (HPLC 面積百分率) の混合物であることが記載されていた。

その他の試薬はすべて市販特級品あるいはHPLC用を用いた。

### 2. 装置

各種分析には, 次の機器を用いた。

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置(LC/MS/MS): Waters LC/MS/MS system (Waters社製) (LC: Alliance 2695 separations module, PDA: 2996 Photodiode array detector, MS: Quattro micro™)

分取液体クロマトグラフ/質量分析装置(分取LC/MS): Waters LC/MS-controlled preparative LC system (Waters社製) (Sample Manager: 2767, LC: 2525 Binary high-pressure pump, PDA: 2996 Photodiode array detector, MS: ZQ-2000)

### 3. 試料の調製

添加物製品は, 5 mg/mL メタノール溶液を作製し, TLCおよびLC/MS分析に用いた。クアシン試薬は, 1.5 mg/mL メタノール溶液を作製して用いた。

各標準植物の熱水抽出物: 添加物製品Bの製造, 加工方法として「熱湯で抽出」と記載があったことを参考にして, 各植物の

枝（直径約 1cm 以下，樹皮を含む）乾燥品 0.3g をスクリー栓付分解管に入れ，2mL の精製水を加えて 90 度で 40 分加温し抽出を行った．LC/MS 分析には，上清をそのまま用いた．TLC には，上清の 5 倍濃縮液を用いた．

#### 4. TLC

薄層板：Silica gel 60 F<sub>254</sub> HPTLC (Merck)  
展開溶媒：CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 10:1

発色：10%硫酸を噴霧した後加熱した．

#### 5. HPLC および LC/MS 分析

カラム：XTerra RP<sub>18</sub> (2.1 mm i. d. x150 mm, 5 μm) 30°C

流速：0.2 mL/min

溶媒：H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN=90:10 (0 min) - 85:15 (7 min) - 85:15 (22 min) - 50:50 (80 min) - 50:50 (95 min)

MS条件：ソース温度 120°C，脱溶媒温度 350°C，脱溶媒ガス流量 400 L/h，コーンガス 50 L/h，コーン電圧 30 V，キャピラリー電圧 3.0 kV

検出：UV 200-600 nm, MS scan (*m/z* 100-1000, ESI (pos., neg.)), SIM (ESI (pos.))

#### 6. 大量分取

シリカゲルクロマトグラフィー：4.5cm i. d. x 30cm (CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 1:0→1:1)

分取 LC/MS:

カラム：XTerra Prep RP<sub>18</sub> (19 mm i. d. x100 mm, 5 μm) 常温

流速：10 mL/min

溶媒：H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN グラジエント

MS条件：ソース温度 120°C，脱溶媒温度 350°C，脱溶媒ガス流量 350 L/h，コーンガス 50 L/h，コーン電圧 30 V，キャピラリー電圧 4.0 kV

検出：UV 210-500 nm, MS scan (*m/z* 100-600, ESI (pos.))

### C. 結果及び考察

(1) ジャマイカカссия抽出物製品間での成分比較

TLC により，ジャマイカカссия抽出物製品の成分組成の比較を行った (Fig. 2 - A~D)．クアシン試薬では，Rf 値 0.7 および 0.5 付近に，クアシン，ネオクアシンが溶出され，製品 A~C では，この 2 種の化合物が主に検出された．製品 D では，原点に濃いスポットが認められたが，これは製品化時に加えられる (賦形剤等の) 水溶性物質によるものと考えられ，それ以外の成分では，やはりクアシン，ネオクアシンの 2 種の化合物が主成分として検出された．また，副成分由来の特徴的なバンドも検出され，その組成は 4 製品でよく一致した．

次に，製品間の成分比較を，逆相系の ODS カラムを用いた HPLC により行った．Fig. 3-a) は，製品 A~D を，PDA を用いて UV 200-600nm で検出した結果であり，クアシンと，ネオクアシンの 2 異性体が主成分として検出され，その組成比は，4 製品でよく一致した．しかし，クアシン，ネオクアシンはニガキ科の種々の植物で報告されているので，次に，副成分についても製品間の成分比較を行った．Fig. 3-b) は，Fig. 3-a) のベースライン付近を拡大したもので，クアシン，ネオクアシン以外に多数の副成分が検出された．その種類は，4 製品で共通しており，相互の組成もほぼ一致した．したがって，TLC, LC を用いた製品間での成分比較では 4 製品の結果が一致し，これら製品の基原が同一であるものと推定された．

(2) 製品中の副成分の同定

Fig. 3-b) で検出された多数の副成分の内，分離が容易であったピーク 1, 2, 3,

4をFig. 4に示す方法で単離した。即ち、ジャマイカカссия抽出物製品Bの酢酸エチル可溶画分を液々分配し、クロロホルム層を順相系のシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した後、ピーク1~4を含む各画分を分取LC/MSおよびセミ分取LCでさらに精製し単離した。

ピーク1~4の構造解析結果をFig. 5に示す。いずれも<sup>1</sup>H-および<sup>13</sup>C-NMR (ECA 500 (JEOL))のシフト値は、既知の文献<sup>3~5)</sup>と一致し、また、各種二次元NMR相関にも矛盾がなかった。ピーク1は分子量378の11-dihydro-12-norneoquassinであると同定した。この化合物は、ネオクアシン<sup>11</sup>位がジヒドロ化され、<sup>12</sup>位のメトキシ基からメチル基が外れた化合物であり、ネオクアシンと同様に<sup>16</sup>位での立体異性がある。ピーク2~4も同様に構造解析を行い、ピーク2は分子量220のcanthin-6-one、ピーク3は分子量224の4-methoxy-1-vinyl-β-carboline、ピーク4はさらに<sup>9</sup>位にメトキシ基がついた分子量254の4,9-dimethoxy-1-vinyl-β-carbolineであると同定した。

### (3) 添加物製品とニガキ科植物熱水抽出物の成分比較

本来であれば、製品で検出された主成分・副成分が、ジャマイカカссия *Picrasma excelsa*の植物体で同様に検出されることを確認すべきだが、残念ながらジャマイカカссияの入手ができなかった(ジャマイカカссияは国際自然保護連合のレッドリストに記載がある絶滅危惧Ⅱ類に分類されており、入手は難しいと思われる)。そこで、製品の基原について考察するため、試料としてジャマイカカссияと同じニガキ科の2種の類縁植物、アメリカニガキ *Quassia amara* およびニガキ

*Picrasma quassioides*を用い、その熱水抽出物の成分を調べた。また、局方ニガキから調製した熱水抽出物およびアメリカニガキ由来のクアシン試薬も比較試料として用いた。調製した抽出物の成分比較は、ODSカラムを用いたLC/MSにより行った。

Fig. 6に、クアシン類の極大吸収波長であるUV 257nmで検出した結果を示した。その結果、2, 3段目に示したアメリカニガキ由来の2種の試料では、共にクアシンおよびネオクアシンが明瞭に検出されたが、下2段に示したニガキからの抽出物2種では、微量にしか検出されず、添加物製品の検出パターンは、アメリカニガキからの試料に似ていた。

Fig. 7に、添加物製品から同定したピーク1~4の、ESI<sup>+</sup>、SIM測定でのピーク面積の比較結果を示した。Fig. 7-a)には、ピーク2の検出例を示し、Fig. 7-b)には、SIM測定での各ピーク面積の結果をまとめた。その結果、2, 3段目に示したアメリカニガキ由来の2種の試料では、ピーク1が非常に顕著に検出され、一方、下2段のニガキからの抽出物2種では、ピーク1が検出下限以下であり、ピーク2が最も高いというパターンであった。添加物4製品は、互いに類似した検出パターンを示し、代表として最上段に添加物製品製品Bの例を示すように、上述のUV 257 nmでの主成分の比較結果と同様に、アメリカニガキ由来試料2種の検出パターンによく類似しており、今回の研究では、添加物製品の基原がアメリカニガキである可能性も考えられる結果が得られた。

ジャマイカカссия *Picrasma excelsa*は絶滅危惧種であることから、その入手は困難であり、成分を直接解析し本抽出物製品と比較することはできなかった。しかし

ながら、以上の LC/MS における各種分析では、ジャマイカカシヤ抽出物製品が、アメリカニガキより調製した熱水抽出物に類似した結果を示した。

#### D. 結論

既存添加物苦味料ジャマイカカシヤ抽出物の国内流通 4 製品を、TLC および LC/MS で比較した結果、主成分のクアシンおよびネオクアシンに加え、他の副成分の組成もよく一致し、4 製品の基原が同じであるものと推定された。次に、本抽出物の製品に含まれる微量アルカロイド 4 成分を同定した。また、製品の基原を考察するため、本品目の基原として記載されているジャマイカカシヤ *Picrasma excelsa* と同科の、アメリカニガキ *Quassia amara* およびニガキ *Picrasma quassioides* の抽出物を調製し、添加物製品で同定した副成分 4 種を分析した。その結果、ジャマイカカシヤ抽出物製品の成分検出パターンは、アメリカニガキと類似していた。

米国 CFR の” *Quassia* ” の項目には、基原植物として *Picrasma excelsa* (ニガキ科ジャマイカカシヤ) に加え *Quassia amara* (ニガキ科アメリカニガキ (別名スリナムニガキ)) の 2 種が記載されているが、*Picrasma excelsa* が絶滅危惧種であることから、現在 *Quassia* の基原植物としては、主に *Quassia amara* が用いられていると予想される。国内に流通するジャマイカカシヤ抽出物製品が *Quassia extract* の名称の海外製品の輸入品であることを踏まえると、上述の理由からその基原植物は *Quassia amara* である可能性が考えられる。したがって、ジャマイカカシヤ抽出物製品とアメリカニガキ (*Quassia amara*) から調製した抽出物の成分組成比が類似した

と考えられる。

#### 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. 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎壮, 棚元憲一, 天然苦味料ジャマイカカシヤ抽出物の成分分析, 食衛誌 (*J. Food Hyg. Soc. Japan*), 44, 328-331 (2003)
3. Grandolini G., Casinovi C.G., Barbetti P. Fardella G., A new neoquassin derivative from *Quassia amara*, *Phytochemistry*, 26, 3085-3087 (1987)
4. Koike K., Ohmoto T., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance study of cathin-6-one alkaloids, *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 5239-5244 (1985)
5. Ohmoto T., Koike K., Studies on the constituents of *Picrasma quassioides* BENNET. II, On the alkaloidal constituents, *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 3198-3204 (1983)

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表

多田敦子, 杉本直樹, 秋山卓美, 山崎壮, 棚元憲一, 尹永淑, 麻野間正晴: 既存添加物ジャマイカカシヤ抽出物中の副成分の分析, 日本食品衛生学会第 94 回学術講演会, 静岡 (2007. 10)

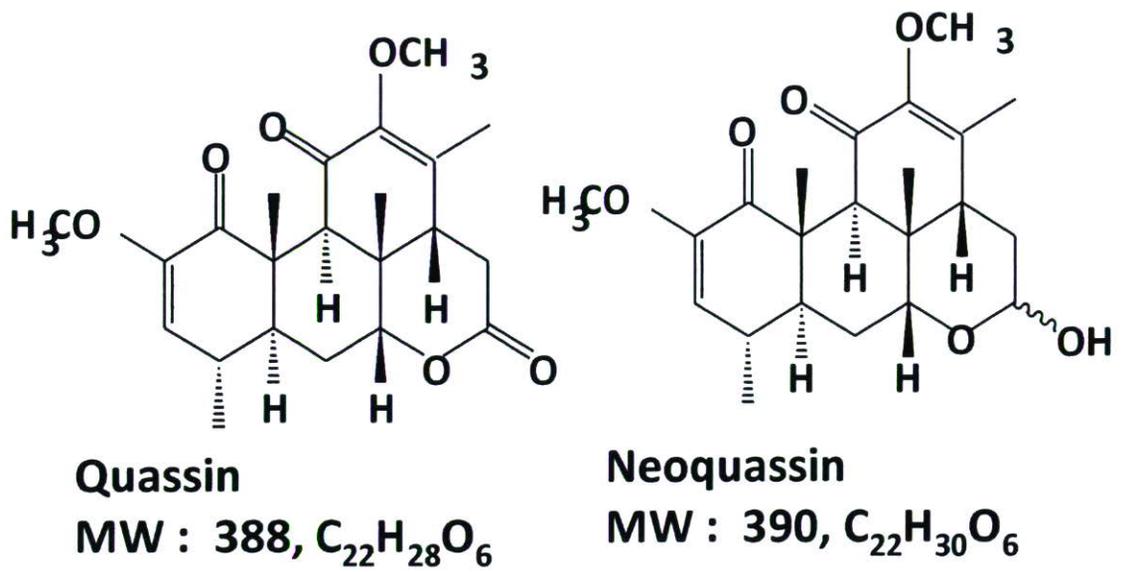


Fig. 1 ジャマイカカссия抽出物の主成分

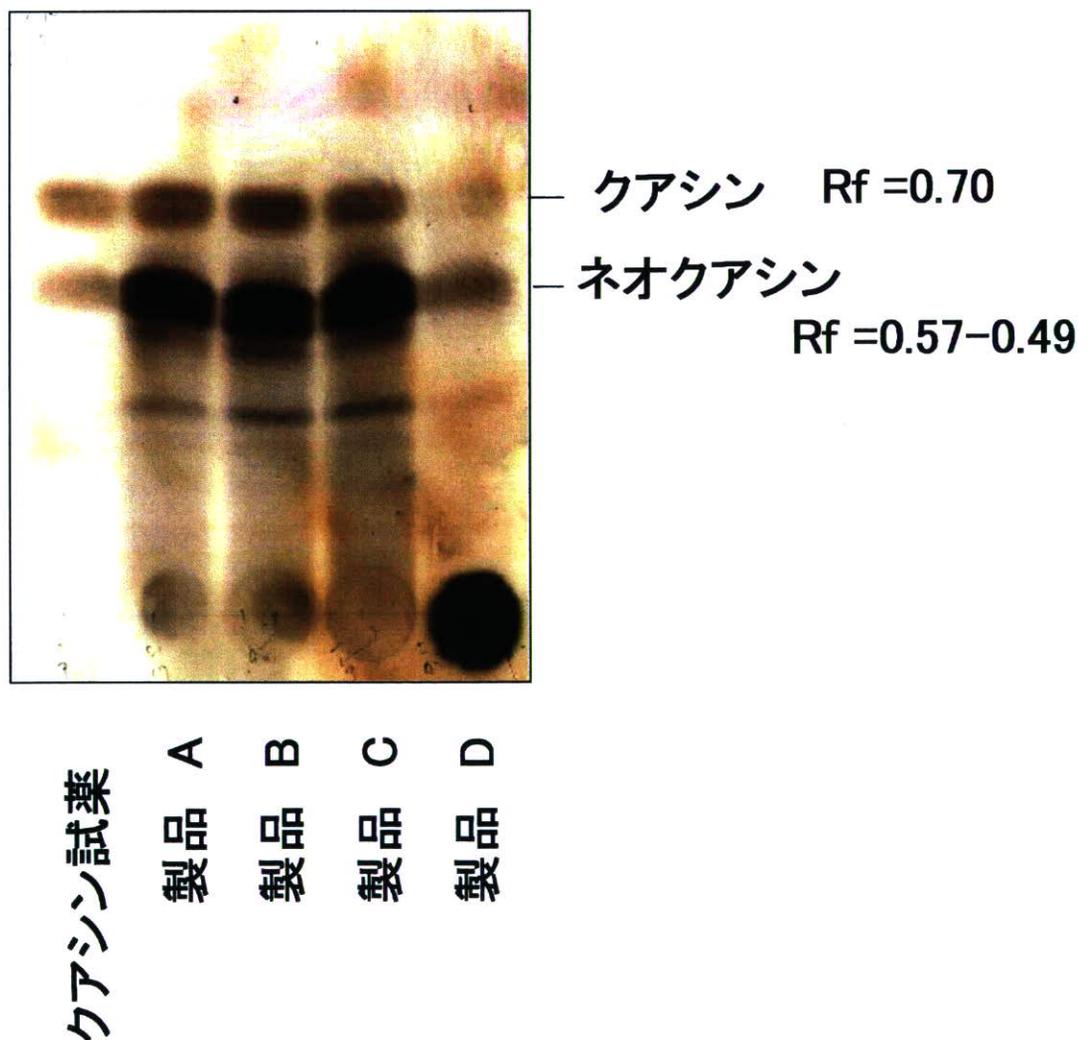


Fig. 2 TLCによるジャマイカカссия抽出物製品間の比較

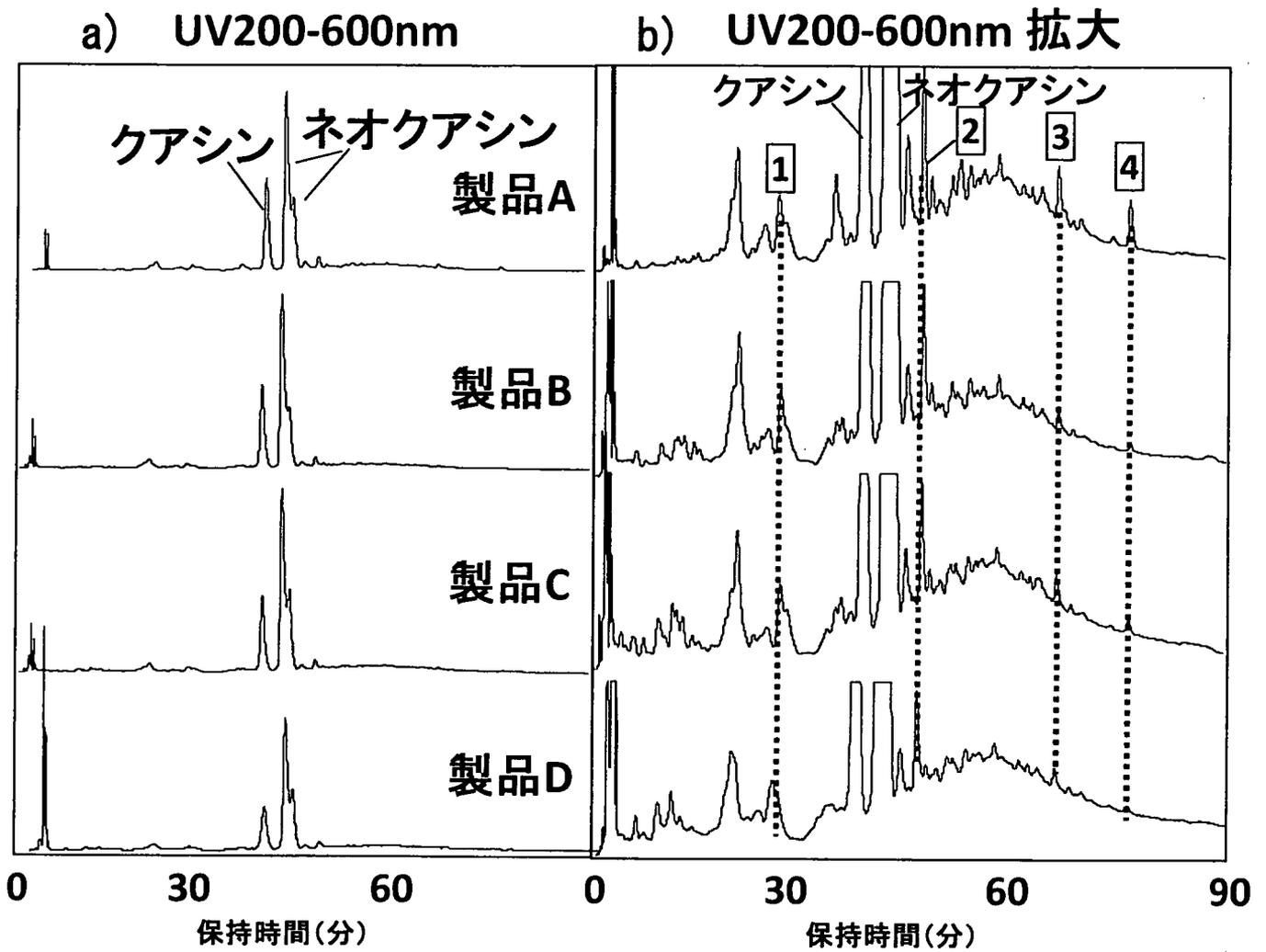


Fig. 3 HPLCによるジャマイカカссия抽出物製品間の比較

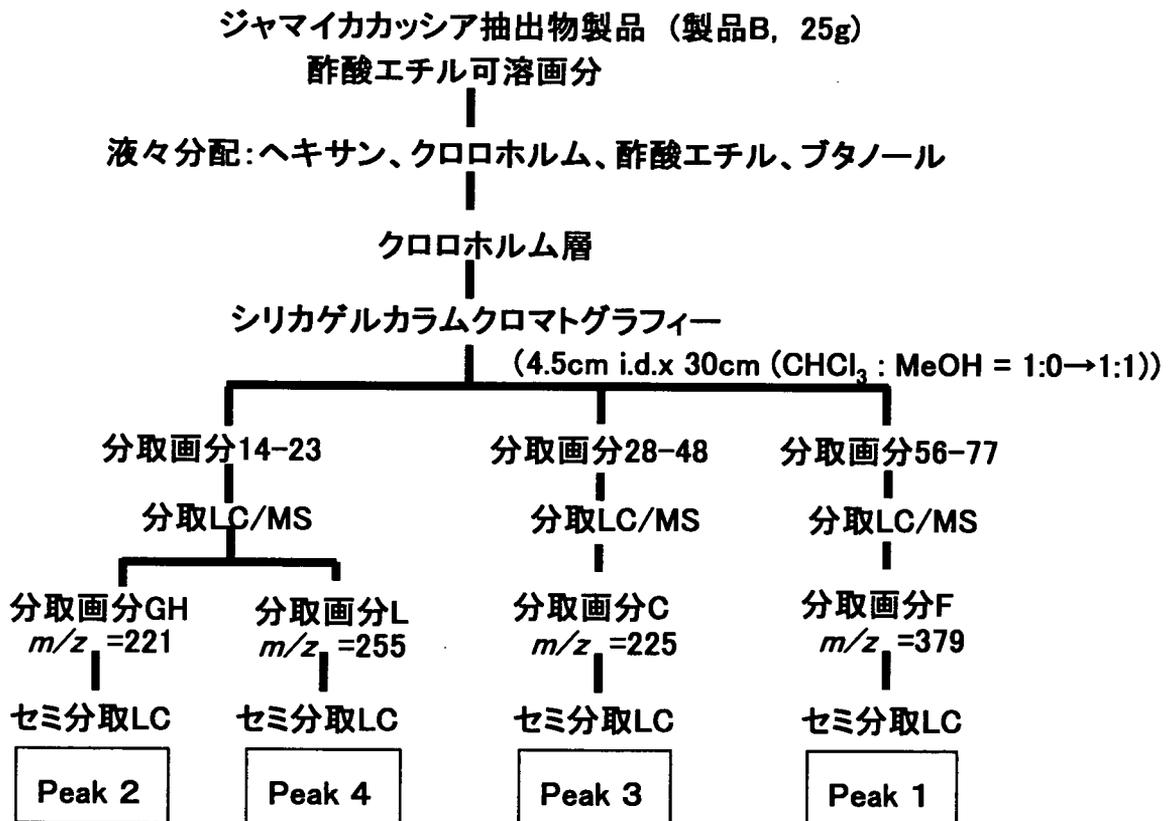
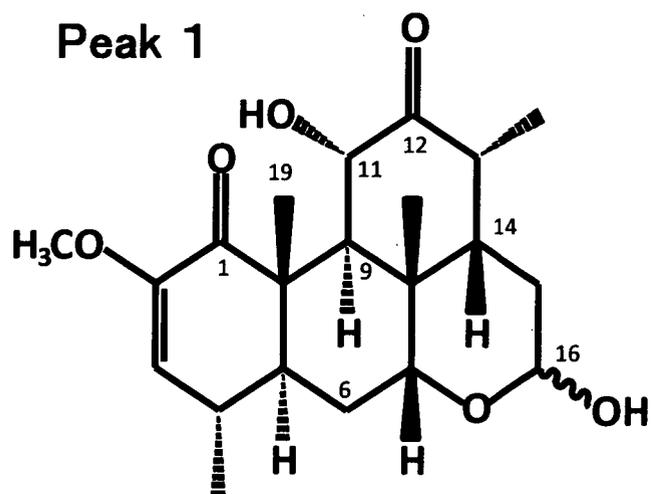


Fig. 4 ジャマイカカссия抽出物製品中の副成分4種の単離

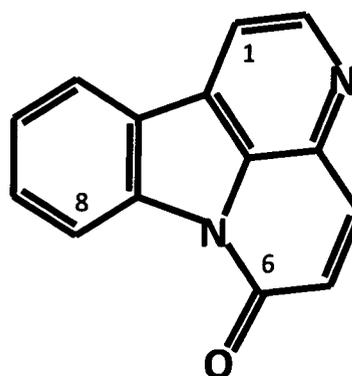


**11-Dihydro-12-norneoquassin**  
(in CDCl<sub>3</sub>)

**MW : 378, C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>**

G. Grandolini, et al., *Phytochemistry*,  
**26**, 3085-3087 (1987)

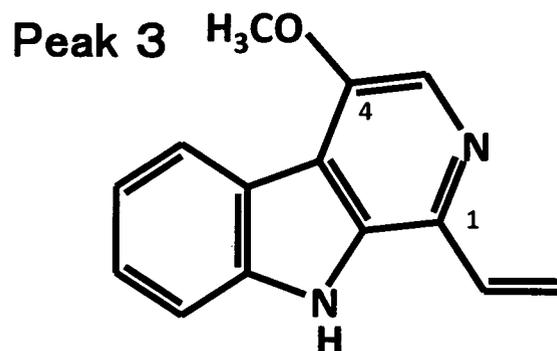
Peak 2



**Cathhin-6-one** (in  
CD<sub>3</sub>OD)

**MW : 220, C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O**

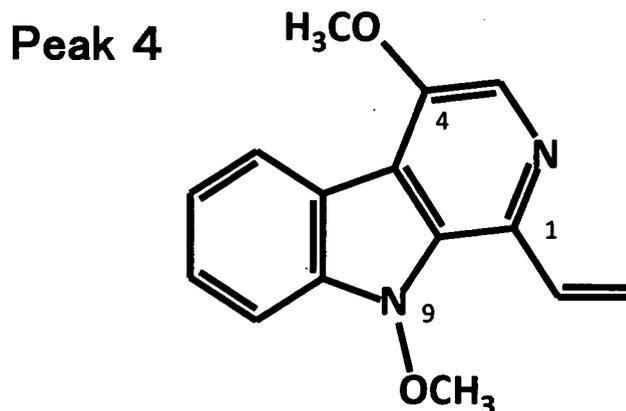
K.Koike and T.Ohmoto,  
*Chem. Pharm. Bull.*, **33**,  
5239-5244 (1985)



**4-Methoxy-1-vinyl-β-carboline**  
(in CDCl<sub>3</sub>)

**MW : 224, C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O**

T.Ohmoto and K.Koike, *Chem. Pharm.*  
*Bull.*, **31**, 3198-3204 (1983)



**4,9-Dimethoxy-1-vinyl-β-carboline**  
(in CDCl<sub>3</sub>)

**MW : 254, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

T.Ohmoto and K.Koike, *Chem. Pharm. Bull.*,  
**31**, 3198-3204 (1983)

Fig. 5 ジャマイカカシア抽出物製品中の副成分

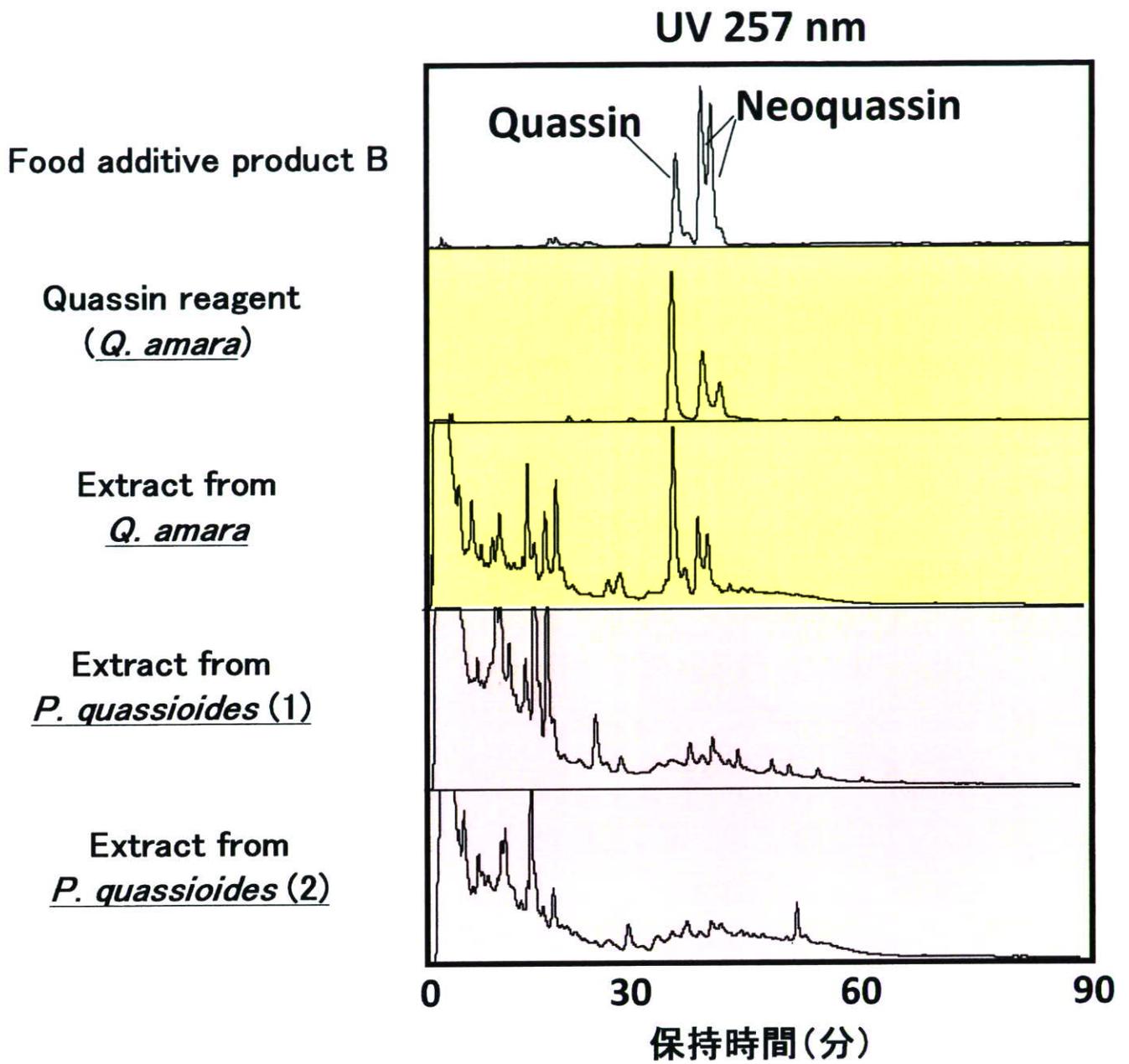


Fig. 6 ニガキ科植物より調製した抽出物のHPLCを用いた成分比較

a) SIM測定 (ESI<sup>+</sup>)

b) SIM測定(ESI<sup>+</sup>)での各ピーク面積

Peak 2,  $m/z = 221$

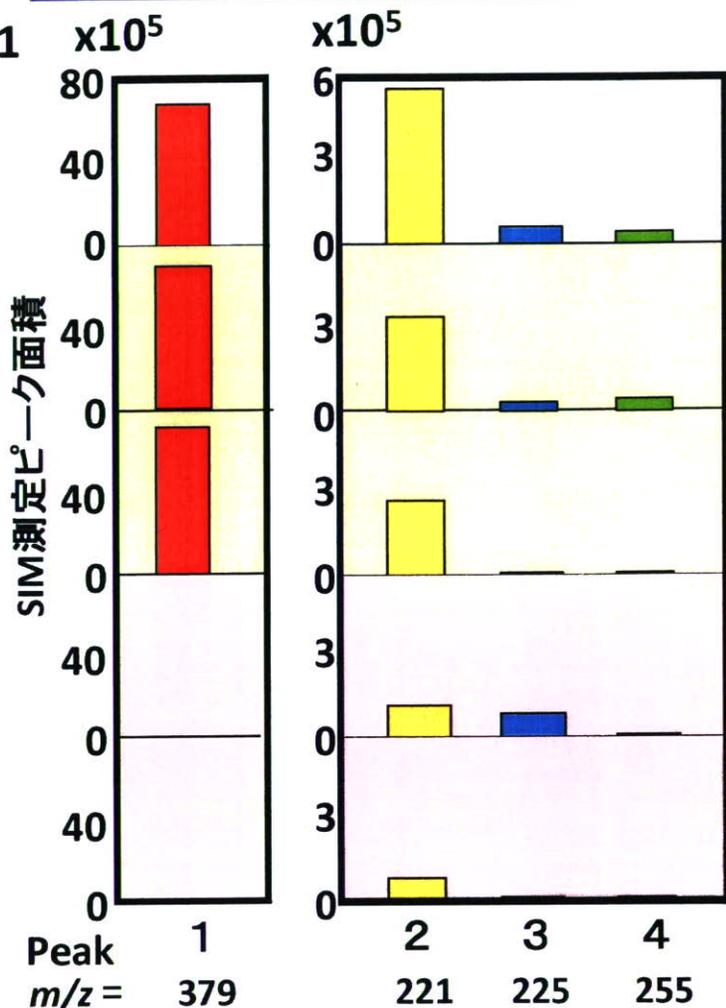
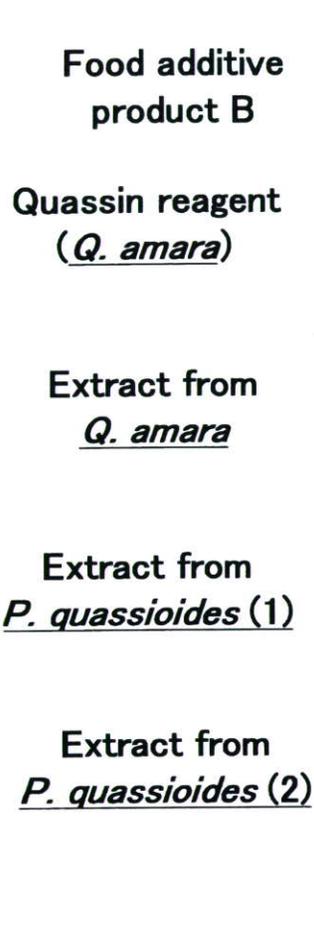


Fig. 7 ニガキ科植物より調製した抽出物の LC/MSを用いた成分比較

## 5. 増粘多糖類の成分と品質に関する研究

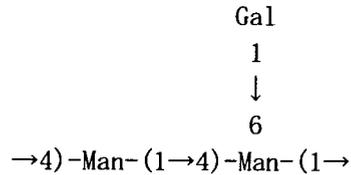
厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

グァーガムの成分に関する研究

分担研究者 李 貞範 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）助教

研究要旨

グァーガムより、主成分である多糖体を調製し、各種分析を実施した結果、マンノースとガラクトースを約2:1で含み、以下の様な構造であることを認めた。



A. 研究目的

グァーガムは「マメ科グァー (*Cyamopsis tetragonolobus* TAUB.) の種子の胚乳部分を、粉碎して得られたもの又はこれを温時～熱時水で抽出して得られたものである。主成分は多糖類である。」と定義されている。今回、3ロットについて、分画操作を行い、それぞれについて各種分析を行った。

B. 研究方法

試料：成分分析に供したグァーガム(3ロット)は日本食品添加物協会を通じて入手した。

装置及び測定条件：HPLCは島津製作所製 Shimadzu Prominence システム（ポンプ：LC-20AD、カラムオープン：CTO-20A、システムコントローラー：CBM-20A）および LabSystem 製 RI 検出器 (RI-2000) を用い、データ処理は島津製作所製 LC ワークステーション (LCsolution) により解析した。GPC は下記条件で実施した。

カラム：TSKgel GMPW<sub>XL</sub> (7.6 mm × 300 mm × 2, Tosoh 社製)、移動相：0.1 M NaNO<sub>3</sub>、流速：0.6 mL/min、カラム温度：40℃、検出：RI

GCはGLサイエンス社製GC-353ガスクロマトグラフに、インテグレーターとして日立社製D-7000を接続したのを用い、下記条件で測定した。

カラム：SP-2330 (3.2 mm × 30 m, Spelco 製)、キャリアーガス：N<sub>2</sub>、検出器：FID、カラム温度 160-210℃ (2℃/min), 210-240℃ (5℃/min), 240℃ (9 min)

GC-MSは島津製作所製QP-5000システムを用いて、下記の条件で実施した。

カラム：DB-5MS (3.2 mm × 30 m, J&W 製)、キャリアーガス：He、検出器：MS、カラム温度 100-200℃ (2℃/min)、200-300℃ (20℃/min)

試料の分画：試料 (1 g) に 80% EtOH (20 ml) を加え、室温で 20 分間攪拌した後、遠心分離を行った。得られた沈殿部を EtOH、アセトン、およびジエチルエーテルで順次洗浄した後乾燥した。ここに蒸留水 (100 ml) を加え、室温で一晩攪拌した。遠心分離により可溶部を得た後、これに 2 倍量のアセトンを加え、多糖を沈殿させた。生じた沈殿に蒸留水 (100 ml) を加え、80℃で加温し、再度溶解し、可溶部を得た。ここに 2 倍量の EtOH

を加え、生じた沈殿部を EtOH、アセトン、およびジエチルエーテルで洗浄後、乾燥し、グァーガムを得た。(収率 1: 63.6%, 2: 55.0%, 3: 53.7%)  
単糖組成分析: 多糖試料 (1 mg) に *myo*-inositol 水溶液 (50 mg/ml, 50  $\mu$ l)、蒸留水 (200  $\mu$ l)、および 4 M TFA (250  $\mu$ l) を加え 120 °C で 2 時間加水分解した。これを放冷後、窒素気流下 50 °C で乾固した。さらにアセトニトリル 0.5 mL を加え窒素気流下で乾固する操作を行った。得られた酸加水分解物を水素化ホウ素ナトリウムで還元し、アルジトールを得た。ここに 1-メチルイミダゾール (0.2 mL) および無水酢酸 (2 mL) を加え、室温で 1 時間アセチル化を行った。

メチル化分析: 試料を DMSO (1 mL) に溶解後、NaOH 粉末 (30 mg) を加え、室温で 5 分間攪拌した。ここにヨウ化メチル (0.1 mL) を加え、さらに室温で 10 分間攪拌した。窒素ガスを当て過剰なヨウ化メチルを除去後、蒸留水とクロロホルムで分配し、得られたクロロホルム相を乾燥した。メチル化多糖を 2 N TFA 中、120°C で 2 時間加水分解した後、これを上述の単糖組成分析と同様の操作を行い、部分メチル化アルジトールアセテート誘導体を得て、GC および GC-MS で分析した。

### C. 研究結果

得られた精製グァーガムについて、それぞれ GFC により重量平均分子量を求めたところ、 $3.37 \times 10^6$ 、 $4.82 \times 10^6$ 、および  $6.54 \times 10^6$  であった (Fig. 1)。また、それぞれの多分散度 ( $M_w/M_n$ ) は 2.38、2.13、および 1.70 であった。

続いて、それぞれの構成糖を分析したところ、Table 1 に示したように、いずれの標品もマンノースとガラクトースで構成されており、その比は約 2:1 であった。しかしながら、いずれも痕跡量のグルコースが検出された。次にメチル化分析を

行ったところ、Table 2 に示したようにマンノース残基は 1,4-結合残基と 1,4,6-結合残基であり、ガラクトース残基は全て非還元末端に結合していることが示唆された。

### D. 考察

今回、検討した試料はいずれもグァーガムが主成分であることが認められた。重量平均分子量が大きく異なっていたが、今回分析した検体はそれぞれ供給元や品名が異なっており、粘度等が異なっていることと一致している。いずれにしても、構成糖の種類や結合様式はほぼ同一であったことから、同等の多糖であることが示された。しかしながら、1,4-結合したマンノース残基の量に若干の差が認められたことから、分岐度に差があることも考えられた。

### E. 結論

グァーガム中の多糖の構造は Fig. 4 に示したように、1,4 結合したマンナン主鎖にガラクトース残基が結合した構造を有するガラクトマンナンであることが示唆された。

### F. 研究発表

なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

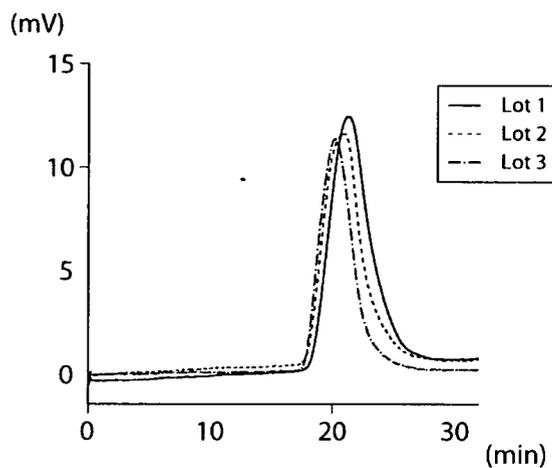


Fig. 1. GFC Patterns of Guar Gums

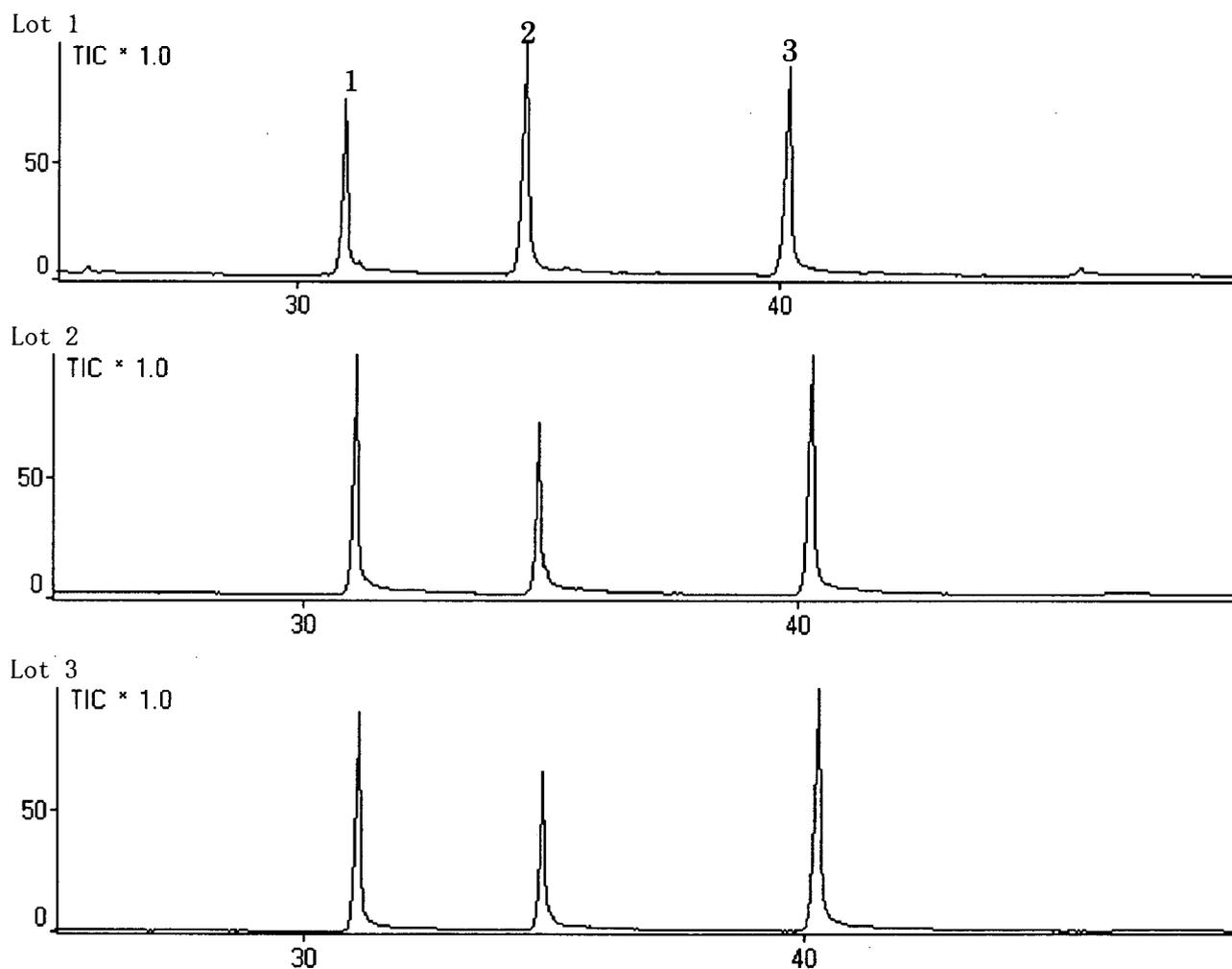
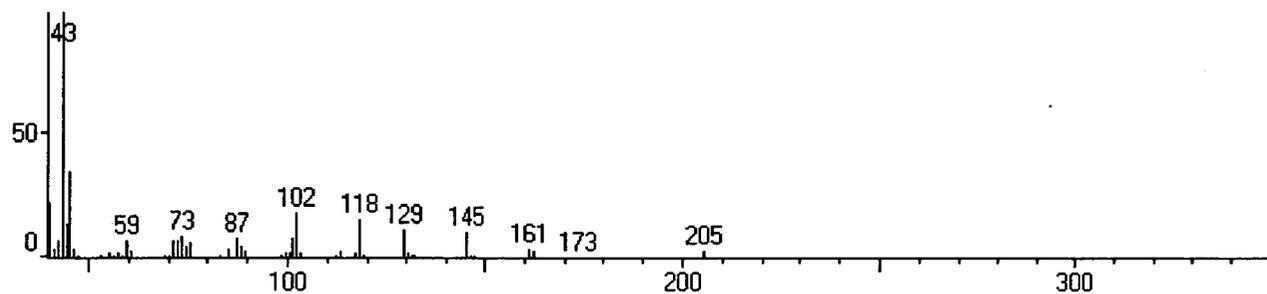
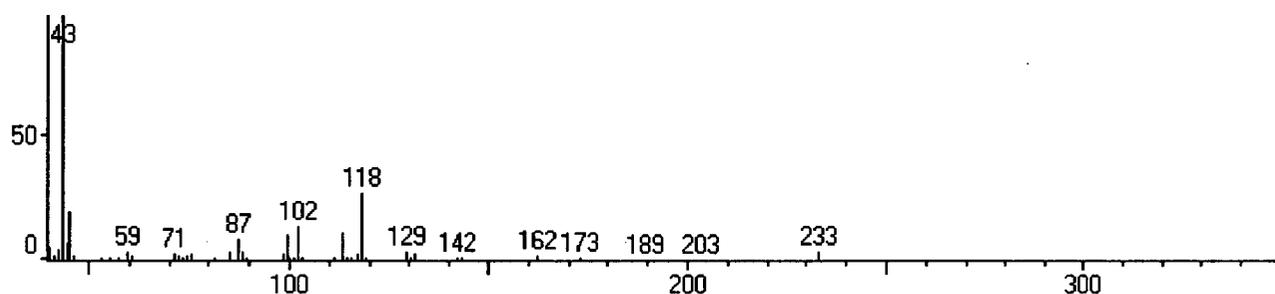


Fig. 2. Total Ion Chromatograms of Partially Methylated Alditol Acetates from Guar Gums  
 Peak 1: 1,5-di-*O*-acetyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl galactitol  
 Peak 2: 1,4,5-tri-*O*-acetyl-2,3,6-tetra-*O*-methyl mannitol  
 Peak 3: 1,4,5,6-tetra-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-methyl mannitol

Peak 1



Peak 2



Peak 3

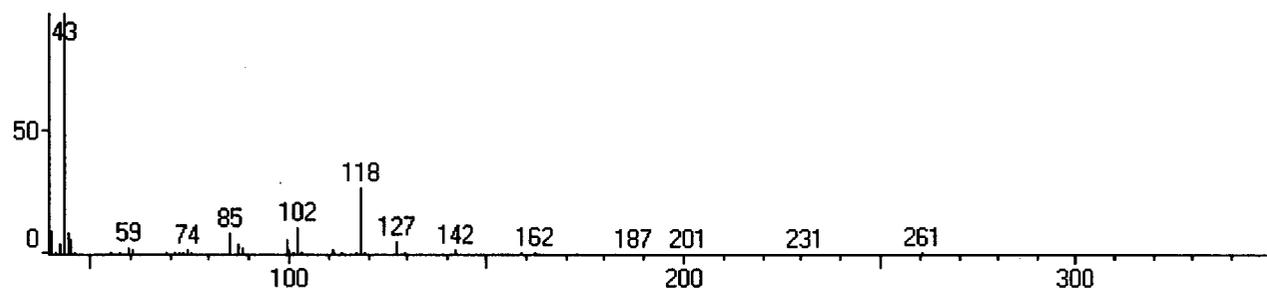


Fig. 3. Mass spectrum of Peak 1, 2 and 3.

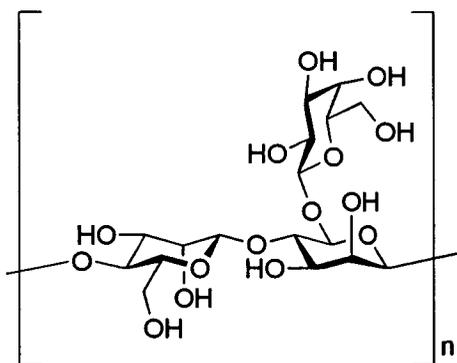


Fig. 4. Proposed Structure of Guar Gum

Table 1. Sugar composition of guar gums

Monosaccharides	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Man	63.9%	62.1%	62.0%
Gal	36.1%	37.9%	38.0%
Glc	trace	trace	trace

Table 2. Methylation analysis of guar gums

Identification	Deduced linkage	Lot 1	Lot 2	Lot 3
2,3,6-Me <sub>3</sub> ·Man*	→4)·Man·(1→	37.2%	26.5%	25.7%
2,3-Me <sub>2</sub> ·Man	→4,6)·Man·(1→	32.2%	37.4%	38.0%
2,3,4,6-Me <sub>4</sub> ·Gal	Gal·(1→	30.7%	36.1%	36.3%
2,4,6-Me <sub>3</sub> ·Hex	→3)·Hex·(1→	trace	trace	trace

\* 2,3,6-Me<sub>3</sub>·Man = 1,5-di-*O*-acetyl-2,3,6-tri-*O*-methyl mannitol.

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）  
分担研究報告書

カシアガムの成分に関する研究

分担研究者 李 貞範 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）助教

研究要旨

カシア Gum より、主成分である多糖体を調製し、各種分析を実施した結果、少なくとも 2 種のガラクトマンナンを含むことが分かった。それらは分岐度が異なることが認められた。

A. 研究目的

カシア Gum は「マメ科エビスグサモドキ (*Cassia tora* Linne) の種子の胚乳部分を、粉碎して得られたものである。主成分は多糖類である。」と定義されている。今回、2 種のロットについて、分画操作を行い、それぞれ得られた画分について各種分析を行った。

B. 研究方法

試料：成分分析に供したカシア Gum (2 ロット) は日本食品添加物協会を通じて入手した。

装置及び測定条件：HPLC は島津製作所製 Shimadzu Prominence システム（ポンプ：LC-20AD、カラムオープン：CTO-20A、システムコントローラー：CBM-20A）および LabSystem 製 RI 検出器 (RI-2000) を用い、データ処理は島津製作所製 LC ワークステーション (LCsolution) により解析した。GPC は下記条件で実施した。

カラム：TSKgel GMPW<sub>XL</sub> (7.6 mm × 300 mm × 2, Tosoh 社製)、移動相：0.1 M NaNO<sub>3</sub>、流速：0.6 mL/min、カラム温度：40°C、検出：RI

GC は GL サイエンス社製 GC-353 ガスクロマトグラフに、インテグレーターとして日立社製 D-7000

を接続したのを用い、下記条件で測定した。

カラム：SP-2330 (3.2 mm × 30 m, Spelco 製)、キャリアーガス：N<sub>2</sub>、検出器：FID、カラム温度 160-210°C (2°C/min) , 210-240°C (5°C/min) , 240°C (9 min)

GC-MS は島津製作所製 QP-5000 システムを用いて、下記の条件で実施した。

カラム：DB-5MS (3.2 mm × 30 m, J&W 製)、キャリアーガス：He、検出器：MS、カラム温度 100-200°C (2°C/min)、200-300°C (20°C/min)

試料の分画：試料 (1 g) に 80% EtOH (20 ml) を加え、室温で 20 分間攪拌した後、遠心分離を行った。得られた沈殿部を EtOH、アセトン、およびジエチルエーテルで順次洗浄した後乾燥した。ここに蒸留水 (100 ml) を加え、室温で一晩攪拌した。遠心分離により可溶部を得た後、これに 2 倍量のアセトンを加え、多糖を沈殿させた (CWSP)。

一方、沈殿部については、蒸留水を加え、80°C で加温し、遠心分離により可溶部を得た後、これに 2 倍量のアセトンを加え、多糖を沈殿させた (HWSP)。

CWSP および HWSP いずれについても、蒸留水 (100 ml) を加え、80°C で加温し、再度溶解し、可溶部を得た。ここに 2 倍量のエトOH を加え、生じた沈殿部を EtOH、アセトン、およびジエチル