甘茶エキスの成分分析

金子 肇, 藤森 嶺, 松下 肇, 野口正雄

(日本専売公社中央研究所)

昭和 48 年 5 月 14 日 受理

Chemical Constituents in "Amacha" Extract

By Hajime KANEKO, Takane FUJIMORI, Hajime MATSUSHITA
and Masao NOGUCHI

The Central Research Institute, Japan Monopoly Corporation

The contents of amino acids, sugars, amino acid-sugar compounds, non-volatile organic acids and ash in the extract of *Hydrangea macrophylla* Seringe var. *Thunbergii* Makino ("Amacha") were determined and a few isocoumarin derivatives were isolated from the benzene extractable fraction.

1) Compared with the composition of the fruit extracts in the previous paper,⁽¹⁾ the following differences were observed:

- i) Total sugar represents a small part in the dry matter of "Amacha" extract.
- ii) The main non-volatile organic acids in the extract are citric and malic acids.
- iii) The chemical composition of "Amacha" extract seems much more complicated than those of the fruit extracts.

2) Hydrangenol, phyllodulcin and hydrangenol monomethylether were isolated. They are isocoumarin derivatives and have the same carbon skeleton. This paper is the first to report the occurrence of hydrangenol and its monomethylether in "Amacha."

(Received May 14, 1973)

緒 言

甘茶 (*Hydrangea macrophylla* Seringe var. *Thunbergii* Makino) はユキノシタ科の植物で、生葉を発酵させ、もんで乾燥すると黒色となり甘味をもつようになる。本研究では甘茶乾葉の水抽出物である甘茶エキスのアミノ酸、糖、アミノ酸-糖化合物、不揮発性有機酸、粗灰分の分析を行なった。また、これら 5 項目以外の成分の分離をすすめた結果、甘茶甘味成分の主体であるフィロズルチンのほかにヒドランゲノール、ヒドランゲノールモノメチルエーテルの存在を新たに確認し、これらのタバコに対する添加効果について若干の検討をしたので報告する。

実験方法および結果

1. 試 料

甘茶エキスは甘茶の生葉を発酵させ、もんで乾燥した

後、温수에浸して浸出液をとり濃縮したもので、本研究に用いた甘茶エキス(含水 57.5%)は、甘茶乾葉(45 年長野産)とともに小川香料株式会社より購入した。

2. アミノ酸、糖、アミノ酸-糖化合物、不揮発性有機酸、粗灰分の分析

分析方法は前報⁽¹⁾と同様に行なったが、概略は以下のとおりである。

i) アミノ酸、アミノ酸-糖化合物: アミノ酸自動分析器 "Beckman/Spinco 120 C" を用いて分析を行なった。

ii) 糖: 全糖量はフェノール-硫酸法により、またその組成は、液体クロマトグラフ "日本電子 JLC Type 3 BC" によって調べた。

iii) 不揮発性有機酸: "日立ガスクロマトグラフ 063" により、内部標準としてグルタル酸を用いて定量した。

iv) 粗灰分: 電気炉の中で、550°C、5 時間灰化後、その重量変化を測定した。

得た結果は Table I~IV, Fig. 1 に示した。

Fig. 1. Chemical Composition of "Amacha" Extract.

The figures express the percentage on dry basis.

Table I. Contents of Sugars

	mg/g dry wt.
Total sugar	233 (100)
Fructose	33.3 (14.3)
Glucose	75.1 (32.2)
Others	125 (53.5)

The figures in parentheses express the percentage of each sugar in total sugar content.

Table II. Contents of Amino Acids

	μg/g dry wt.
Lysine	46.1
Histidine	4.38
Arginine	50.1
γ-Aminobutyric acid	341
Aspartic acid	579
Threonine	123
Serine	187
Glutamic acid	318
Proline	131
Glycine	119
Alanine	447
Valine	161
Methionine	3.48
Isoleucine	112
Leucine	122
Tyrosine	426
Phenylalanine	213
Total	3390
% on dry basis	0.339

3. フィロズルチン, ヒドランゲノール, ヒドランゲノールモノメチルエーテルの単離

甘茶エキスを 1 kg を連続抽出器を使って, ベンゼン 1.8 kg で 48 時間抽出し, 抽出液は減圧濃縮 (40°C) した。この操作を 3 回繰り返して, 第 1 回目の抽出物, 3.9 g, 第 2 回および第 3 回抽出物合計 8.0 g を得た。第 1 回目の抽出物 (3.9 g) をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにより, 4 つのフラクションにわけた。すなわち Mallincrodt 製ケイ酸 (100 g) をベンゼンで円筒カ

Table III. Contents of Amino Acid-Sugar Compounds

	μg/g dry wt.
Aspartic acid-fructose	144
Asparagine-fructose	206
Glutamine-fructose	184
1-Deoxy-1-L-alanine-D-fructose	202
1-Deoxy-1-L-valine-D-fructose	128
1-Deoxy-1-L-threonine-D-fructose	
Total	864
% on dry basis	0.0864

Table IV. Contents of Non-volatile Organic Acids

	mg/g dry wt.
Malic acid	10.4
Citric acid	44.0

ラム (40×205 mm) に充てんして, カラム上部に抽出物を吸着させ, 最初ベンゼン, ついでベンゼン-ジクロロメタン系でジクロロメタンの量を増加させつつ展開し, 溶出液は 50 ml ずつ分取した。溶出液 1~13, 14~15, 16~31, 32~38 をそれぞれ合わせて, フラクション I, II, III, IV とした。フラクション I, III, IV は Fig. 2 に示すような薄層クロマトグラムを示した。そこで, Fig. 2 と同じ条件で分取薄層クロマトグラフィーを行ない, 図に示した A, B, C の各スポットを単離した。物質 A, B, C はいずれもジクロロメタンから再結晶を行ない, それぞれ 1.3 g, 1.0 g, 31.1 mg の結晶が得られた。

甘茶乾葉からのベンゼン抽出と成分の単離は, 下記のように行なった。再乾燥 (40°C, 24 時間) した後の甘茶乾葉 462 g をベンゼン 2.1 kg で 4 日間温浸 (50°C) し, そのベンゼン層を 50°C 以下で減圧濃縮して暗黒色残物 35 g を得た。これを, Mallincrodt 製ケイ酸 (800 g) をベンゼンで充てんした円筒カラム (67×480 mm) の上部に吸着させ, ベンゼンおよびジクロロメタンで溶出し

Fig. 2. Thin-layer Chromatograms of Fractions I, III and IV.

A : hydrangenol (R_f 0.13), B : phyllodulcin (R_f 0.34), C : hydrangenol monomethylether (R_f 0.57).

Adsorbent : silica gel GF₂₅₄, solvent : CH_2Cl_2 , spray reagent : $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-H}_2\text{SO}_4$ aqueous solution.

て 100 ml ずつ分取した。各フラクションごとに濃縮し、薄層クロマトグラフィーによりチェックして前述の物質 A, B, C を含むフラクションを集め、ジクロロメタンからの再結晶により精製した。こうして得られた物質 A, B, C は、甘茶エキスより単離されたものと同一であることは、それぞれの赤外吸収スペクトル、融点、薄層クロマトグラムの R_f 値が各々一致することから確認された。収量は A, B, C 各々について 9.4 g, 6.6 g, 35.9 mg であった。

物質 B は融点 $120\sim 121^\circ\text{C}$ の微細な結晶で、そのマススペクトルは m/e 286 に強い親イオンピークを与えた。赤外吸収スペクトルでは、ベンゼン環 ($3040, 1618, 1585, 1515\text{ cm}^{-1}$)、会合した水酸基 (3350 cm^{-1})、ラクト

ンの C=O (1670 cm^{-1}) が認められる。 C=O の吸収が低波数側にシフトしているのは、フェノール性水酸基と分子内水素結合をしているためと考えられる。以上より、物質 B を甘茶の甘味成分として、すでに朝比奈ら⁽²⁾、上野⁽³⁾らにより構造決定されているフィロズルチンと同一とした。融点も文献値 (120°C)⁽⁴⁾ とよく一致した。

物質 A は、ジクロロメタンより再結晶すると柱状晶を与える。この赤外吸収スペクトルはフィロズルチンのそれとよく似ており、これら 2 つの物質が同じ骨格をしていると推定された。マススペクトルは m/e 256 に強い親イオンピークを与え、これはフィロズルチンより分子量が 30 少ない。一方 NMR スペクトル ($\delta_{\text{TMS}}^{\text{DMSO-d}_6}$ ppm) は 3.33 (m, 2H), 5.62 (q, 1H), 6.80 (m, 4H), 7.41 (m, 3H), 9.55 (s, 1H), 10.87 (s, 1H) に吸収を示したが、これらは各々メチレン、メチン、2 置換ベンゼン、3 置換ベンゼン、2 つのフェノール性水酸基のプロトンと同一定できる。以上のデータから物質 A の構造として、朝比奈ら^(5,6) がアジサイより単離し構造決定したヒドラングエノールが推定された。ヒドラングエノールの融点 (文献値 181°C)⁽⁵⁾ と物質 A の融点 $180.5\sim 181.5^\circ\text{C}$ とはよく一致し、物質 A をヒドラングエノールと同一定した。

物質 C は融点 124°C を有する結晶であり、物質 A (ヒドラングエノール)、物質 B (フィロズルチン) と赤外吸収スペクトルが似ている。その NMR スペクトル ($\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ ppm) の 3.18 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 5.55 (q, 2H), 6.78 (m, 4H), 7.35 (m, 3H), 10.84 (s, 1H) の吸収はそれぞれメチレン、メトキシル基、メチン、2 置換および 3 置換ベンゼン、フェノール性水酸基のプロトンと同一定された。マススペクトルより親イオンピークは m/e 270 で、ヒドラングエノールの水酸基の 1 つをメトキシル

Fig. 3. Infrared Spectra of Hydrangenol Monomethylether.
(1) isolated sample, (2) monomethylated hydrangenol.

Fig. 4. Structure of Hydrangenol, Phyllodulcin and Hydrangenol Monomethylether.

(A) hydrangenol, (B) phyllodulcin,
(C) hydrangenol monomethylether.

基にかえたものに相当している。以上から物質 C として、ヒドランゲノールモノメチルエーテルが推定された。そこで朝比奈、浅野の方法⁽⁵⁾によりヒドランゲノールにジアゾメタンを作用させモノメチル化した生成物(融点 124°C)と、物質 C の赤外吸収スペクトルを比較したところ、Fig. 3 のように両者は完全に一致した。以上より物質 C は、ヒドランゲノールモノメチルエーテルと同定された。今まで述べてきた 3 つの物質 A, B, C の構造式は、Fig. 4 に示すとおりである。

4. たばこに対する添加効果

中骨刻みを巻きあげたたばこの表面に、前記の 3 つの物質のジクロロメタン溶液を塗布し乾燥後、香嗅味を試験により検討した。フィロズルチンはわずかに甘味を感じさせ、中骨特有のにおいを抑制する効果が大きいように思われた。一方、ヒドランゲノール、ヒドランゲノールモノメチルエーテルの添加による効果はなかった。

考 察

1. アミノ酸、糖、アミノ酸-糖化合物、揮発性有機酸、粗灰分の分析について

前報⁽¹⁾において梅、サクランボ、桃、スモモエキスのこれら 5 項目についての分析結果を報告したが、果汁エキスの場合に比較して甘茶エキスは、これらの成分の含有量に大きな差が認められた。アミノ酸含量はエキス乾物中の 0.338% あり、果汁エキスの場合よりも多く、その種類も多い。80% アルコールに可溶な糖の組成は、果汁エキスではほとんどショ糖、フルクトース、グルコースであったが、甘茶エキスではフルクトース、グルコースのほか未同定物質が全糖に対して 53.5% 含まれ、ショ糖は検出されなかった。また全糖の量はエキス乾物中に約 20% と少なく、果汁エキスの場合と対照的である。揮発性有機酸の分析はリンゴ酸、クエン酸について行なったが、ガスクロマトグラムはその他の有機酸が少量ずつ存在していることを示した。アミノ酸-糖化合物

物の含量は比較的少なく、その組成は果汁エキスと大差ない。灰分は乾物中 14.8% を占めるが、梅、スモモよりは少ない。エキス中に占めるこれら分析された 5 項目の成分は 44.7% であり、またベンゼン抽出物は 2.8% で、分析がなされない部分は 52.5% 残されている。

2. フィロズルチン、ヒドランゲノール、

ヒドランゲノールモノメチルエーテルについて

ヒドランゲノールはアジサイの花より単離され、朝比奈、浅野^(5,6)により構造決定された。その後多方面で研究されているが、すべてアジサイから単離されたものであって、甘茶から単離されたという報告はまだない。一方、甘茶の甘味成分であるフィロズルチンは丹波⁽⁷⁾により甘茶から単離され、朝比奈と浅野⁽⁵⁾、間庭⁽⁸⁾、上野⁽⁹⁾らにより構造が決定された。また不整炭素のまわりの絶対配置が R であることを決定した荒川⁽⁹⁾の研究があるが、ヒドランゲノールに比較して、あまり研究対象にとりあげられていなかった。またヒドランゲノールモノメチルエーテルは、ヒドランゲノールの構造決定を目的として、ヒドランゲノールのメチル化^(5,10)により合成された物質であるが、天然から単離されたのは本研究が最初である。これらフィロズルチン、ヒドランゲノール、ヒドランゲノールモノメチルエーテルは Fig. 4 に見るごとくイソクマリン誘導体であって、同一の炭素骨格をもっている。甘茶と分類学上近縁であるアジサイより、ヒドランゲノールのみが単離されていることを考えあわせると、これらが甘茶の成分として単離されたことは、これらの生合成を考えるうえで示唆するものが多い。官能基のみを異にするこれら 3 つの物質のうち、フィロズルチンのみが甘味を感じさせる生理活性をもつ点は、化学構造と生理活性との関連を考えるうえで興味深い。

要 約

甘茶エキス中のアミノ酸、糖、アミノ酸-糖化合物、揮発性有機酸、粗灰分の分析と、甘茶エキスおよび甘茶乾葉ベンゼン抽出物中よりのフィロズルチン、ヒドランゲノールおよびヒドランゲノールモノメチルエーテルの単離と同定を行なった。

上記 5 項目の分析結果は果汁エキスと比較して、1) 全糖のエキス中に占める割合は小さく、全糖中の構成成分の数は多い、2) 揮発性有機酸としてリンゴ酸、クエ

ン酸以外に未同定の物質が少量ずつ存在している。3) 分析された 5 項目の成分が、エキス乾物中に占める割合は小さい。

ヒドランゲノールとそのメチルエーテルは、甘茶からはじめて単離されたもので、甘茶の甘味成分であるフィロズルチンと炭素骨格が全く同じイソクマリン誘導体である。

甘茶成分のうち中骨特有のにおいを抑制する効果をもつと考えられるものは、試喫の結果によれば現在のところフィロズルチンのみである。

終りにアミノ酸分析, 糖分析, 不揮発性有機酸分析をご指導いただいた当所加藤邦雄博士, 野間正名氏, 日本専売公社小田原試験場菅原志朗博士に深謝いたします。

-
- (1) 金子 肇, 藤森 鋭, 松下 肇, 野口正雄: 専売中研報, **114**, 125 (1972).
 - (2) Y. Asahina and J. Asano: *Ber.*, **62 B**, 171 (1929).
 - (3) 上野 周: 薬誌, **51**, 207 (1931).
 - (4) 朝比奈泰彦, 上野 周: 同上, No. 408, 146 (1961).
 - (5) Y. Asahina and J. Asano: *Ber.*, **63 B**, 429 (1930).
 - (6) 朝比奈泰彦, 浅野順太郎: 薬誌, No. 580, 573 (1917).
 - (7) 丹波敬三: 同上, No. 156, 127 (1895).
 - (8) 間庭秀夫: 同上, No. 507, 348 (1924).
 - (9) H. Arakawa: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33**, 200 (1960).
 - (10) 上農義雄: 薬誌, **57**, 602 (1937).