羅漢果の成分研究 (第1報) 甘味成分の検索¹⁾

竹本常松, *,^a 在原重信,^a 中島 正,^b 奥平 恵^b

徳島文理大学生薬研究所,^a 日本商事(株)医薬研究所^b

Studies on the Constituents of Fructus Momordicae. I. On the Sweet Principle¹⁾

TSUNEMATSU TAKEMOTO, *,^a SHIGENOBU ARIHARA,^a TADASHI NAKAJIMA^b
and MEGUMI OKUHIRA^b

Institute of Pharmacognosy, Tokushima-Bunri University,^a Yamashiro-cho,
Tokushima and Research Laboratories, Nippon Shoji Kaisha, Ltd.,^b
2-24-3, Sho, Ibaraki, Osaka

(Received June 1, 1983)

Fructus Momordicae (fruit of *Momordica grosvenori* SWINGLE, Cucurbitaceae) is a special crude drug of Kwangsi, China. Isolation and some properties of new sweet triterpene glycosides, named mogrosides IV, V, and VI from Fructus Momordicae, were described.

Keywords—sweet principle; mogroside; Fructus Momordicae; *Momordica grosvenori*; Cucurbitaceae

羅漢果 Fructus Momordicae²⁾ は中国南部の広西壮族自治区の永福、臨桂、竜勝など三県の高冷地に栽培されているウリ科 (Cucurbitaceae) の多年生草本である *Momordica grosvenori* SWINGLE (中国名: 光果木鱧³⁾) の果実を基原とする生薬である。生では虫害をうけやすいので 8、9 月頃その果実の成熟するのを待って採集し、約 7 昼夜加熱乾燥し、さらに太陽光にさらして保存しやすいよう処理したものが市販されている。その名称は罗汉果、罗汉果とも記載されている。²⁾ この羅漢果という名称は南方産の果物であるマンゴスチン *Garcinia mangostana* L. の中国名“都念子”の別名として、⁴⁾ また羅漢松 (ラカンマキ *Podocarpus chinensis* WALL.) の果実⁵⁾ にも使用されており混乱がみられる。

本品は卵形または球形で、これらは長漢果または円漢果と呼ばれることもある。卵形のものは長さ約 5 cm、直径約 4.5 cm で外面は暗褐色または濃褐色を示し、比較的光沢がありわずかに短い毛がある。比較的深色の縦条紋を有する。果実の頂端はふくれている。基部は少し細長く果柄の痕があり質はもろく破碎しやすい。破碎すると内表面は淡褐色で密でなく海绵状である。中果皮を除くと明瞭な縦背紋があり、種子 (6 列) は褐色の偏平短円または類円で、長さ約 1.5 cm 厚さ 2 mm である。中央部がわずかにくぼみ縁が比較的厚く、胚子葉 2 枚を内臓している。

本品は極めて甘い。特に果皮の甘さが強い。古本草には記載されていないが広西地方では清熱、潤肺、去痰、咳止などに民間薬として用いられ、また清涼飲料の製造原料および調味料としても用いられている。⁶⁾

著者らが研究を開始した 1974 年頃には羅漢果の成分研究については多量のブドウ糖の存在が報告されているのみで、その他の成分についての記載はみあたらなかった。ただ、その後 1975 年に Lee の報文⁷⁾ があるが、著者らはこの報告を知らぬまま研究を続けた。Lee は本生薬の水または 50% エタノール抽出液の Sephadex G-25 または Amberlite XAD-2 カラム処理物を分取用薄層クロマトグラフィーで分画し、得られた甘味成分が蔗糖の約 150 倍の甘味をもつこと⁸⁾ ならびにその構造がトリテルペン配糖体であることを予見しているが報文中にそれ以上の記載はない。

著者らは本生薬の成分研究を実施中、その強い甘味に興味を持ち、その糖成分を薄層クロマトグラフィー (TLC) ならびにガスクロマトグラフィー (GLC) で検討した結果、従来いわれているブドウ糖ではなく果糖であることを確認した。さらにその定量を行い 14% の値を得た。この数値を基に羅漢果の甘味を調べたが果糖のみ

TABLE I

Fraction No.	Solvent (mixed ratio by volume)	Amount of fraction (l)
1	CHCl ₃ -MeOH (90 : 10)	10.0
2	CHCl ₃ -MeOH (80 : 20)	10.0
3	CHCl ₃ -MeOH (75 : 25)	5.0
4	CHCl ₃ -MeOH (75 : 25)	5.0
5	CHCl ₃ -MeOH (75 : 25)	5.0
6	CHCl ₃ -MeOH (75 : 25)	2.5
7	CHCl ₃ -MeOH (70 : 30)	2.5
8	CHCl ₃ -MeOH (70 : 30)	5.0
9	CHCl ₃ -MeOH (70 : 30)	5.0
10	CHCl ₃ -MeOH (60 : 40)	5.0

では説明できない強い甘味を認めた。そこで成分検索を続けたところ、佳良な著しい甘さを持つ新甘味成分の単離に成功した。

香港市場で入手した羅漢果を粉碎し、脱脂後 25% エタノールで冷時浸出、得られた浸液を濃縮後メタノールで再抽出しメタノールエキスを得た。これを水に溶かしセライトを混合した活性炭カラムに通導し、水 (画分 I) ついで 20% エタノール (画分 II) で溶出した。画分 I, II は主として果糖を含んでいた。しかしそれぞれの甘味度は 25% エタノール浸液のそれに比較して非常に弱く、活性炭カラムになお甘味成分が残存していることが考えられた。そこでさらにピリジンで溶出し、強い甘味と微かな苦味

を有する画分 III を得た。本画分は果糖を含有していなかったが、TLC で多数のスポットが認められた。そこで画分 III を少量のメタノールに溶かし、活性アルミナカラムに通導し、メタノールで溶出した画分 IV と 50% メタノールで溶出した画分 V を得た。画分 V は微に苦味を伴った著しい甘味を有し、TLC で少なくとも 3 個のスポットが観察された。そこでさらにクロロホルム・メタノール混液を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーを TLC を指標として行い、画分 1—10 を得た (Table I)。画分 6, 7 を合わせ、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーを数回繰り返し、TLC 上単一の甘味成分を得た。

本品は mp 197—201°C (dec.), $[\alpha]_D^{20}$ -9.4° (H₂O), 組成 C₆₀H₁₀₂O₂₉ · 2H₂O を示す無色粉末で、佳良で著しい甘味を有していた。その IR ならびに核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトル等の所見から本品は新甘味配糖体であることが判明したので、mogroside V と命名した。⁹⁾ なお甘味副成分としてさらに 2 成分を得、それぞれ mogroside IV, VI と称することにした。

これらの甘味は蔗糖に近い良質のもので、mogroside V の 0.02% 水溶液は蔗糖の約 260 倍の甘味を有し、ステビア属植物からのステビオシドに比べて同等もしくはそれ以上の甘味を有することが、甘味テストの結果判明した。¹⁰⁾ なお mogroside VI の甘味度は約 125 倍であった。

現在、先進国でのカロリー過多からの栄養学的問題または世界の人口急増による食料危機の問題等の観点から、糖類以外の優良な甘味料の開発が望まれている。さらに最近、合成甘味料が安全性問題から順次姿を消している現状で、より安全と考えられる天然系甘味剤への期待は大きいものがあり、その点からも興味のもたれる物質であると考えられる。

TABLE II. The Sweetness of Mogroside

	Aqueous solution of sweetening materials	Relative to sucrose value	The fold of sweetness to that of sucrose
Mogroside V	7.7 mg/100 ml	2.65 g/100 ml	344
	20 mg/100 ml	5.11 g/100 ml	256
Mogroside VI	10 mg/100 ml	1.25 g/100 ml	125
	20 mg/100 ml	2.50 g/100 ml	125
Stevioside	10 mg/100 ml	2.26 g/100 ml	226
	20 mg/100 ml	4.66 g/100 ml	233

実験の部¹¹⁾

実験材料 香港市場からの輸入品を使用した。本文記載中、試料細末とあるのは生薬をそのままミキサーにかけ粉碎して得た細末状のものである。果皮部とは内容物 (果肉と種子に相当) を除いた薄くかたい果皮のみを粉碎して得たもの、果肉部とは果皮を除いた内容物を粉碎したものをいう。

果糖の定性 a) TLC——試料細末の水抽出液 (活性炭処理) を試料として Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) プレ

ートを用い、展開溶媒 $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$ (3:1:1), $\text{iso-PrOH-NH}_4\text{OH}$ (3:2) の2種で展開。標品の glucose, fructose と比較。Rf 値からは両者の差が小さく、そのいずれであるかを同定できなかったが、オルシン硫酸による呈色が褐色を示し、fructose の呈色に一致した。

b) GLC—a) で使用した試料を濃縮乾固、常法に従いトリメチルシリル化し、10% polyethylene glycol 20 M (Chromosorb WAWDMCS, 80—100 mesh) 3 mm i.d. $\times$ 2 m column で測定し、標品の fructose と同定した。Column temp. 170°C, N_2 flow rate 42 ml/min. t_R (min): fructose 2.32, 4.41.

c) Phenyl Osazone—試料細末を MeOH で抽出、得られた MeOH エキスに常法に従い過剰のフェニルヒドラジン塩酸塩溶液を加え、phenyl osazone を製した。希 EtOH から再結晶, mp 208°C. 混融ならびに IR スペクトルで標品の glucose phenyl osazone と同定した。

果糖の定量 試料細末 500 mg を水 80 ml で 30 分加熱、冷後抽出液を濾過、得られた濾液を減圧濃縮したのち再び水を加え正確に 5 ml にして検液とし、(A) アンスロン法¹²⁾ならびに (B) 3,5-ジニトロサリチル酸法¹³⁾を用いて定量した。果皮部: (A) 14.2% (B) 13.1%; 果肉部: (A) 14.3% (B) 14.4%。

羅漢果の甘味 1) 果糖水溶液—果糖 280 mg (羅漢果に果糖が 14% 含まれているとして羅漢果 2 g 中の果糖量) を 100 ml に溶かして調製した。

2) 果皮部試料溶液—果皮部試料細末 2 g を約 50 ml の石油エーテルで脱脂、ついで水 80 ml で熱時 30 分抽出、抽出液を別し水を加えて全量を 100 ml とした。

3) 果肉部試料液—果肉試料細末 2 g を 2) と同様に処理し、全量を 100 ml とした。

これら 3 種溶液の甘味を比較した。1) はほとんど甘味が感じられなかったが、2) と 3) は強い甘味を認めたので、甘味を感じなくなるまで水で希釈し、その希釈倍数を求めた。希釈倍数: 2) 22 倍, 3) 4 倍。

甘味画分の製造 試料細末 530 g をクロロエチレンで脱脂し、脱脂物 500 g を得た。これを 25% EtOH 3 l で一夜浸出、浸液を除いた残渣に 25% EtOH 3 l を加え浸出を繰り返した (2 回繰り返すと残渣は甘味を呈さなくなる)。得られる浸液を合して濾過、濾液を約 0.5 l まで減圧濃縮した。褐色粘稠の濃縮物に MeOH 2 l を加え不溶物を析出させた。この不溶物を各 2 l の MeOH で 2 回洗い、得られた MeOH 溶液を合して減圧濃縮、136 g の褐色粘稠のエキスを得た。これを適量の水に溶かし、活性炭 (精製白鷺, 武田薬工) 80 g とセライト-535 160 g で調製したカラム (4.5 $\times$ 40 cm) に通導、吸着させた。水 7 l でカラムを洗浄、通過液と洗液を合した画分 I, ついで 20% EtOH 4 l で溶出した画分 II, さらにピリジン 2 l で溶出した画分 III をそれぞれ得、これらの溶液を減圧濃縮して, I: 94.2 g, II: 6.5 g, III: 42.8 g のエキスを得た。画分 III を少量の MeOH に溶かし、活性炭アルミナ (neutral, activity grade I, Woelm) 500 g で調製したカラム (4.5 $\times$ 30 cm) に通導, MeOH 3 l で溶出した画分 IV (0.3 g) と 50% MeOH 7 l で溶出した画分 V (13.4 g) を得た。IV は甘味がなく, V は淡黄色粉末として得られ著しい甘味を有し, TLC¹⁴⁾ で主として 3 個のスポットが検出された。

甘味成分 Mogroside V の単離 上述の画分 V 30.5 g をセライト-535 50 g にまぶし、シリカゲル (ワコーゲル C-200, 100—200 mesh, 和光) 300 g で調製したカラム (4.5 $\times$ 40 cm) 上に層積, CHCl_3 2 l で展開、さらに $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ 混合溶媒 (混合比を 95:5 から 60:40 まで順次変える) で溶出, 500 ml 宛分画, TLC¹⁴⁾ を指標にして Table I に示す各画分を得。画分 6, 7 を合し TLC を指標にして、上記のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを繰り返し、単一成分 5 g を得。これを少量の MeOH に溶かし不溶物を除き濃縮乾固。収量は生薬から通常 1%。TLC¹⁴⁾: Rf i) 0.10; ii) 0.22. HPLC¹⁵⁾: t_R (min) 13.25. mp 197—201°C (dec.). $[\alpha]_D^{20} -9.4^\circ$ ($c=0.50$, H_2O). Anal. Calcd $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 54.45; H, 8.07. Found: C, 53.90; H, 8.01. 本品は佳良な甘味を有し、水、ピリジン、MeOH, EtOH に可溶、石油エーテル、エチルエーテル、酢酸エチル、 CHCl_3 に不溶である。

甘味副成分 mogroside IV, VI の単離 a) Mogroside IV—Table I の画分 3, 4 を合し減圧濃縮、淡黄色粉末 4.9 g を得。シリカゲルカラムクロマトグラフィーを繰り返し (2—3 回), TLC 上単一であることを確認し, mogroside V と同様に精製し, 3.5 g の無色粉末を得。本品は佳良な甘味を有す。TLC¹⁴⁾: Rf i) 0.21; ii) 0.35. HPLC¹⁵⁾: t_R (min) 19.48. mp 185—188°C (dec.). $[\alpha]_D^{17} -4.2^\circ$ ($c=0.52$, MeOH). Anal. Calcd $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 55.85; H, 8.33. Found: C, 55.47; H, 8.41.

b) Mogroside VI—Table I の画分 8, 9 を合し減圧濃縮、淡黄色粉末 3.5 g を得。これを mogroside IV と同様にシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し, 450 mg の無色粉末を得。本品は佳良な甘味を有す。TLC¹⁴⁾: Rf i) 0.05; ii) 0.14. HPLC¹⁵⁾: t_R (min) 12.39. mp 198—204°C (dec.). $[\alpha]_D^{20} -4.2^\circ$ ($c=1.24$, MeOH). Anal. Calcd $\text{C}_{66}\text{H}_{112}\text{O}_{34}$: C, 54.68; H, 7.79. Found: C, 54.64; H, 7.79.

Mogroside V, VI の甘味度 蔗糖の 2—6% まで 5 段階の水溶液を調製し、これを標準甘味液系列とした。

別に調製した mogroside V ならびに VI の一定濃度の水溶液の甘味度がこの標準甘味液系列のどの位置に相当するかを 11 名のパネルに判定させ、その平均値から蔗糖等価濃度を推定した。これより蔗糖の甘味度に対する倍数を算定した。なお対照として stevioside (小城商店製) の 10 mg/100 ml ならびに 20 mg/100 ml の水溶液を用いた。これらの結果は Table II に示した。

引用文献および注

- 1) 日本薬学会中四国支部第 46 回例会 (徳島, 1976 月 7 月) で一部発表。
- 2) 南京薬学院編, “薬材学,” 人民衛生出版社, 北京, 1961, p. 925.
- 3) 中国科学院北京植物研究所主編, “中国高等植物图鉴,” IV, 科学出版社, 北京, 1975, p. 359.
- 4) 甘偉松編著, “台湾薬用植物誌,” 第 3 卷, 国立中国医薬研究所, 台北, 1970, p. 547.
- 5) G. A. Stuart, “Chinese Materia Medica,” Vergetable Kingdom, Shanghai, 1911.
- 6) 程月光, 人民中国, **266**, 84 (1975).
- 7) C.-H. Lee, *Experientia*, **31**, 533 (1975).
- 8) その後 Dr. Lee からの私信 (Dec. 3, 1976) によれば蔗糖の 400 倍とのことである。
- 9) 従来 S-5 と仮称していた。
- 10) 石間紀男, 片山 修, 食品総合研究報告, **31**, 80 (1976).
- 11) 融点はすべて未補正である。
- 12) 百瀬 勉, “有機定性分析,” 広川書店, 東京, 1966, p. 191.
- 13) 百瀬 勉, “有機定性分析,” 広川書店, 東京, 1966, p. 194.
- 14) TLC condition-plate: Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck), solvent: i) CHCl₃-MeOH-H₂O (65 : 35 : 10, the lower layer), ii) n-BuOH-AcOH-H₂O (4 : 1 : 1), detection: 30% H₂SO₄.
- 15) HPLC condition-column: steel column, 4 mm i.d. × 250 mm filled with Nucleocil C₁₈, solvent: 42% EtOH, flow rate: 0.5 ml/min, detection: refractive index.