抗酸化剤に関する研究 IV^{*1}ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の光分解^{*2} (1)呉 地 伝 夫 (東京薬科大学^{*3})Studies on the Antioxidants. IV^{*1}Photodegradation of Butyl Hydroxyanisole (BHA)^{*2}. (1)Tsutao Kurechi (Tokyo Pharmacy College^{*3})

Photodegradation of BHA exposed to sunlight was studied. As a result, two types of oxidation products were separated in the form of white crystal. IR, MR, NMR and elementary analyses showed their chemical structures to be 2,2'-dihydroxy-5,5'-dimethoxy-3,3'-di-*tert*-butyl biphenyl and 2',3-di-*tert*-butyl-2-hydroxy-4',5'-dimethoxy-biphenyl ether. Both substances are dimers with a molecular weight of 358, the former being a diphenyl compound with a melting point of 224,5° and the latter being a diphenyl ether compound with a melting point of 78-79°.

(Received March 27, 1967)

ある種の有機物が空気中で酸化変質するのは、自動酸化にもとづく現象であることは、古くからよく知られた事実であるが、近年 Farmer¹⁾, Bolland²⁾ らによりフリーラジカルの連鎖反応機構が明らかにされてからは、これらに関する研究はいちじるしい進展を示した。自動酸化を防止する抗酸化剤についても、古くから研究が行なわれており、数多くの報告がなされているが、近時抗酸化剤の利用範囲が拡まって、多方面で使われるようになってからは、その理論的な解明が急務となってきた。食品や医薬品の抗酸化剤は、酸化の初期において連鎖をたち切り、酸化の進行を遅延させる作用をもついわゆる連鎖停止 (切断) 剤^{3,4)} であって、大部分がフェノール系⁵⁾ のタイプに属する。ところでこれらがどのような機作で効力を発揮するかということについては、いまだ十分に解明されていない^{6,7)}。ことに、ある化合物を抗酸化剤として作用させた場合、その分子の運命には多くの重要な問題が関連していると考えられるが、これについての研究は必ずしも十分ではないようである。今までに検討されてきた抗酸化剤は主としてトリアルキルフェノールで、その代表的なジ-*tert*-ブチルヒドロキシトルエン (BHT) に関するものが多い^{4,8,9)}。ブチルヒドロキシアニソール (BHA) については、生体内の代謝産物の報告

例¹⁰⁾はあるが、光酸化によって得られる分解産物についての報告は見ない。しかし、Rosenwald ら¹¹⁾ は BHA の異性体である 2-*tert*-ブチル-4-メトキシフェノールを酸化剤で処理して 2 量体を得ており、油脂中の自動酸化でも同一物質が生成するであろうと述べている。また Baltes¹²⁾ や Hewgill ら¹³⁾ も同様な方法で同じ 2 量体を得ている。

そこで著者は、抗酸化剤がその作用の過程において酸化を受けたとき、とくに酸化性または還元性物質の存在しない場合に、自動酸化によっていかなる物質が実際に形成されるかを知ることならびにそのときの量的変化を経時的に追求する目的で本研究をはじめた。

本報では抗酸化剤 BHA がベンゼン溶液中で光酸化を受けたとき生じた酸化生成物を探索し、単離してその構造を確認したので報告する。すなわち、酸化生成物として 2 種の 2 量体を得た。1 つは 2 分子間の芳香核水素の離脱によって生じたジフェニル化合物 2,2'-dihydroxy-5,5'-dimethoxy-3,3'-di-*tert*-butyl biphenyl (2a) であり、他は芳香核水素と水酸基水素との離脱によって生じたエーテル結合をもつ化合物 2',3-di-*tert*-butyl-2-hydroxy-4',5'-di-methoxy-biphenyl ether (2b) である (Chart 1)。このうち前者は Rosenwald, Baltes および Hewgill らが化学的処理によって得た化合物と同一物質であることを確認したが、後者については、酸化生成物として見出されたという報告は見ないようである。

なお著者の得た 2 つの酸化生成物が抗酸化剤としてもはや不活性であるか、あるいはなお抗酸化力を保持して

*1 前報 (I), (II), 本誌, 10, 247, 261 (1964); (III), 食衛誌, 6, 453 (1965)

*2 本論文の要旨は第 86 年 年会 (1966) で発表

*3 東京都新宿区柏木 4 の 600; Kashiwagi, Shinjuku, Tokyo.

さらに酸化を受け、どのような物質に変化してゆくかについては研究続行中である。

Chart 1 Degradation Products of BHA

抗酸化剤BHAは、2つの異性体すなわち 2-*tert*-ブチル-4-メトオキシフェノール（以下 II A と略称する）と3-*tert*-ブチル-4-メトオキシフェノール（以下 III A と略称する）の混合物で、その組成はII A が約90%以上を占めていて効力もすぐれている¹⁴⁾。

本実験はII Aについて行なったものである。

II Aの光酸化 II Aのベンゼン溶液を直射日光下で光分解すると、溶液の色は初め淡黄色になるが、次第に褐色から黒褐色に変わって、フェノールよう臭気を発するようになる。反応の進行は薄層クロマトグラフィー（TLC）で追跡し、同時に生成物の確認を行なった。その結果は Fig. 1 に示すとおりである。Fig. 1 のクロマトグラムでは、2,6-ジクロロキノンクロロイミド溶液で発色させたとき、原物質II AはRf値0.25に青紫色のスポットを与えるが、その上方に2種の生成物(Rf 0.46, 0.51)が認められる。Rf 0.46のスポットの呈色はII Aと同じ青紫色であるが、Rf 0.51のスポットは赤味を帯びた紫色を呈した。別に硫酸溶液を噴霧したとき、Rf値0.62を示すスポットが新たに検出されたが、これについては現在検討中である。

Fig. 1 Thin-layer Chromatograms of II A and Its Degradation Products

酸化生成物の単離 分解物は石油エーテル溶液として

カラムクロマトグラフィー にかきシリカゲル柱を通すと、上層に茶～紫褐色、下層に黄色および無色帯を分離する。これを石油エーテル、ベンゼンおよびクロロホルムで順次溶出した。すなわち石油エーテル溶出部からTLCでRf 0.62の液状物質を得た。つづいて溶出する黄色帯は粘着性物質を混有するが、シリカゲルクロマトによる分離精製をくり返し、エタノールから再結晶して白色結晶を得た。TLCのRf値は0.51を示し、Fig. 1のそれと一致することから酸化生成物の一つであることを確認した。以下この物質を2bと略称する。ベンゼン溶出部からは、分画した褐色帯が溶出するが、TLCでRf 0.25（未反応原料）、0.46, 0.51に3スポットを検出した。シリカゲルクロマトによる精製をくり返し、Rf 0.46を示す部分のみを分離した。酢酸エチル再結晶から白色結晶を得た。赤褐色のクロロホルム溶出部からは、大部分がRf 0.46のスポットを検出するが、わずかに未反応原料(Rf 0.25)の混在が認められる。同様にシリカゲルクロマトおよび酢酸エチル再結晶により精製し白色結晶を得た。両結晶ともTLCのRf値は0.46の単一スポットを示すことから、Fig. 1の酸化生成物に相当する物質であることがわかった。以下この物質を2aと略称する。Rf 0.51を示すスポットはさきの2bの残留によるものと思われる。なお残留する茶褐色の分画帯は酢酸エチルで大部分溶出されるが、明瞭なスポットを与えず、結晶化できなかった。

酸化生成物の構造 単離した2物質のうち、2aはm. p. 224.5°の白色サイコロ状結晶、熱時クロロホルムおよび酢酸エチルに溶けるがその他の多くの有機溶媒には溶け難い。その分子量は358で、元素分析値は(C₁₁H₁₅O₂)₂に一致し、そのアセチル化物(2a-Ac)の分析値から本品は水酸基2つを有することが知られる。2bはm. p. 78~79°の軽い白色結晶で、多くの有機溶媒に溶け易いが、エタノールには難溶で、2aと同様水には不溶である。2bの分子量は358で、元素分析値は(C₁₁H₁₅O₂)₂に

Fig. 2 Mass Spectrum of 2a

一致し、そのアセチル化物 (2b-Ac) の分析値から本品は水酸基1つをもつことが考えられる。マスペクトルを Fig. 2, Fig. 3 に示す。

Fig. 3 Mass Spectrum of 2b

元素分析と分子量から両物質とも2量体が推定されるが、2aはその低い溶解性と高い融点を示す事実から、橋かけ結合を有する対称性構造の化合物を考え、一方2bについては、2aと全く同じ分子量を示すが、分子量の割に蒸気圧が高く、110~140°で10 μ 程度のガス圧ができること(マスペクトル測定時)、溶解性やいちじるしく低い融点を示すことなどからエーテル結合を有する非対称性構造の化合物を考えた。

構造の基本骨格、結合部位の解析は主として赤外吸収スペクトル (IR)、核磁気共鳴スペクトル (NMR) によって行なった。IR スペクトルは Fig. 4~8 に示した。

Fig. 4 Infrared Absorption Spectrum of II A (CCl₄)

Fig. 5 Infrared Absorption Spectrum of 2a (CHCl₃)

Fig. 6 Infrared Absorption Spectrum of 2b (CCl₄)

Fig. 7 Infrared Absorption Spectrum of 2a-Ac (CCl₄)

Fig. 8 Infrared Absorption Spectrum of 2b-Ac (KBr)

酸化生成物 2a ならびに 2b の基本骨格を推定するために、原物質 II A との IR スペクトルの比較を行なった。原物質にみられる吸収位置は両物質においてもよく一致しており、類似した構造をもつことが予想できる。すなわち II A の芳香核によるものと考えられる吸収群はいずれも定位置 (3000cm⁻¹, 1600cm⁻¹, 1490cm⁻¹付近) に 2a および 2b に認められる。また置換基については、-C(CH₃)₃ が 925cm⁻¹, 1220cm⁻¹ 付近に、-OCH₃ が 1025cm⁻¹, 2840cm⁻¹ 付近に吸収を示すほか、3600cm⁻¹ 付近に -OH と思われる吸収があるが、この吸収が -OH によるものであることはアセチル体 (2a-Ac, 2b-Ac) において、その吸収バンドが完全に消失し、新しくエステル基に対応する吸収 (1765cm⁻¹ 付近) が出現していることから確認できる。

900cm⁻¹ 以下の領域 (KBr錠剤法) における面外変角振動帯の吸収によって、その芳香核の置換様式を原物質との対比から求めたところ明らかな帰属は得られなかったが、IR による検討ではそれらの化学構造は II A にきわめて類似しており、本質的な変化はないものと思われる。

NMR スペクトルは Fig. 9~11 に示し、Chemical shifts (τ 値) と coupling constants (c. p. s.) は TABLE I および TABLE II に示す。

Chart 2 BHA and Its Degradation Products

Fig. 9 Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of II A

Fig. 10 Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of 2a

Fig. 11 Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of 2b

NMRスペクトルでは, *tert*-Bu基, OMe基, OH基の存在を示し, シグナル強度(積分値)はOH-1H, OMe-3H, *tert*-Bu-9H分を与えている。重水処理により消失するプロトン各1個がII Aは5.20 τ , 2aは4.99 τ , 2bは4.40 τ に存在するが, アセチル化(2a-Ac, 2b-Ac)によって

TABLE I Chemical Shifts (τ units) and Coupling Constants (c/sec.) for II A, 2a and 2b

com- pound	t-Bu	OMe	OH	Ar. H					
				H ₃	H _{3'}	H _{5'}	H ₅	H ₆	
II A	8.62	6.26	5.20	3.13				3.42	
2a	both 8.57	both 6.25	both 4.99	3.03				3.37	
				(d:3.0)				(d:3.0)	
2b	8.60	6.40	4.40	3.05	3.84	3.42	3.31		
	8.58	6.23			(d:3.5)	(d:3.5)			

TABLE II Chemical Shifts (τ units) and Coupling Constants (c/sec) for 2a-Ac and 2b-Ac

com- pound	t-Bu	OAc	OMe	Ar. H			
2a	both 8.67	both 8.18	both 6.25	3.33	3.08	(d:3.0)	(d:3.0)
2b	8.63	7.75	6.38 6.23	3.85	3.42	(d:3.5)	(d:3.5)

も消失することから, OH基のプロトンに帰属できる。

2aにおいて, *tert*-Bu基(8.57 τ), OMe基(6.25 τ)のプロトンはそれぞれ鋭いシングレットとして1本のシグナルを示しているが, これは元素分析, 分子量から対称構造をもつ2量体であることを明らかにしている。2bでは, OMe基(6.23 τ , 6.40 τ)が2本のシグナルを示し, *tert*-Bu基(8.58 τ , 8.60 τ)のシグナルにさけ目がみられるのは, 元素分析, 分子量から2量体であるが, その構造は対称型ではなく, しかもOH基(4.40 τ)が1個のみ存在するのは, 別のOH基でエーテル結合していることを示している。

芳香核プロトン(Ar-H)領域については, II Aの場合3.42 τ , (強度比1:2), 3.13 τ (強度比1:1)にトリプレットのシグナルを与えるが, 2aではこれに対応するシグナルが1個消えていることから, この部位での2量化が考えられる。3.37 τ , 3.03 τ にJ=3.0 c. p. s. でカップリングしたシグナル(ダブルット)はメタ関係にあると考えられるので, これは3位, 5位の水素に帰属できる。

2bにおいては, 3.05 τ , 3.31 τ にみるシグナルは原物質(II A)と同様の部分構造が2bに存在することを示している。5位または6位のプロトンは3位のプロトンとJ=3.0 c. p. s. でカップリングしているが, これはこのAr-Hがメタ関係にあることを意味している。

2aにおける3位の水素は3.03 τ に, 2bの3位の水素は3.05 τ のシグナルに, それぞれ帰属できることからこの部位での置換の可能性は考えられない。

高磁場側にみられる3.42 τ (d)のシグナルは, 両オルト位が酸素を挟んで結合したときの芳香位のシグナルを示しているが, これが3.84 τ (d)とJ=3.5 c. p. s.のカップリングコンスタントをもっているのは, このAr-Hがメタの関係にあることを示している。よって5'位は3.42 τ , 3'位は3.84 τ のシグナルに帰属できる。

以上の結果, 元素分析, マススペクトル, IRスペクトル, NMRスペクトルなどから酸化生成物はChart 1に示す構造をもつことを確認した。

む す び

BHA 異性体の 2-*tert*-butyl-4-methoxy phenol のベンゼン溶液を直射日光下光酸化すると、複雑な分解現象がみられるが、そのとき生ずる分解物のうち、酸化生成物として2種類の白色結晶を単離し、構造を確認した。その1つは 2,2'-dihydroxy-5,5'-di-methoxy-3,3'-di-*tert*-butyl biphenyl で、芳香核水素の離脱した分子間で結合したものであり、他の物質は 2',3-di-*tert*-butyl-2-hydroxy-4',5-di-methoxy-biphenyl ether で、芳香核と他の水酸基の脱水素により酸素橋結合したジフェニルエーテル化合物である。このように酸化生成物から見て抗酸化剤の脱水素が行なわれていることは明らかであるが、脱水素する部位によって異なる酸化生成物が得られることはトリアルキルフェノール(BHT)^{4,5)}においても見られる現象で、抗酸化剤の複雑な消長を知る上に興味深いものがある。

以上の事実は、抗酸化剤の効果はその酸化されやすさすなわち脱水素されやすさ^{3,7)}によると一般に信じられているが、反応の環境および条件によっては光あるいは分子状酸素自身によっても抗酸化剤が酸化を受ける可能性を示しているとともに、脱水素した分子の運命について一つの示唆を与えていると考えられる。この反応は抗酸化剤分子の終焉、すなわち消費を意味すると考えられるが、抗酸化剤は微量でもある期間効力を保つ事実からして、これらの挙動に対してはさらに深く探究されねばならぬ余地がある。

実験の部

試料 実験に供した 2-*tert*-ブチル-4-メトオキシフェノール(II A)は、ブチルヒドロキシアニソール(BHA: 日本揮発油サステン)を石油エーテルからくりかえし再結晶して得た。m. p. 64°。

カラムクロマト用シリカゲルは国産化学製、メッシュ 100~200のものを用了。

TLC 用シリカゲルはワコーゲル B-5を用了。

スポットの呈色試薬は、2,6-ジクロロキノンクロリミド溶液(1%エタノール溶液)または硫酸溶液を用了。

TLC 条件 プレートは約 250 μ とし、110°, 1時間加熱して使用した。試料は下端より1.0cmの位置にスポットし、10cm 展開した。

マススペクトルは C·E·C 103 C 型、イオン化電圧 70V で測定した。

NMR スペクトルは日立 60 形、60 Mc. p. s で測定、溶媒は CDCl₃、Chemical shift は TMS を内部標準とした τ 値で表わした。

光酸化および生成物の単離 II A 20 g をベンゼン 300 ml に溶かした液をシャーレ(内径15cm)にいれ、10月から12月上旬の間直射日光下で約50時間曝露した。この間蒸散するベンゼンは適宜補った。

反応生成物の単離はカラムクロマトグラフィーによった。光酸化した分解液は、TLC にて分解物の生成を確かめてから、ベンゼンを減圧留去したのち、少量の石油エーテルに溶かし、シリカゲル柱(シリカゲル 80 g, 70×3cm)を通して展開した。カラムは上層から茶~紫褐色黄色および無色帯に分画する。これを石油エーテル、ベンゼン、クロロホルムおよび酢酸エチルを用いて順次溶出した。各溶出液における溶出物の終末はその一部をとり TLC で確めた。各溶出液は減圧で溶媒を留去し、生成物の単離を試みた。

溶媒石油エーテルではじめに流出する無色の画分から、TLC により硫酸溶液で Rf 0.62 のスポットを示す液状物質を得た(この物質は未検討である)。つづいて溶出する画分は、Rf 0.51 の物質を主成分とし、これに未反応原料(II A, Rf 0.25)の一部が混在する黄色液で、粘性性の黄色帯を含む。これを上記同様のシリカゲルカラムクロマトをくり返し行なって精製し、最後にエタノールから再結晶して m. p. 78~79° の白色結晶を得た。この物質は TLC で Rf 0.51 の単一スポットを示し Fig. 1 のそれと一致する(酸化生成物 2b)。

つぎに石油エーテル 溶出液中に 2b の減少を認めてから、溶媒をベンゼンに変えて展開をつづけた。ベンゼン溶出部は、TLC によって検するとき Rf 0.46, 0.51, 0.25 に3スポットを認めた。とくに Rf 0.46 の呈色はきわめて顕著であったので、再カラムクロマトにより精製し、Rf 0.46 を示す部分のみを分離した。酢酸エチル再結晶から白色結晶を得た。

クロロホルム溶出部は赤褐色を呈し、TLC で検するとき、Rf 0.46 のほか、混在する Rf 0.25 のスポットを認めた。再カラムクロマトによる精製をくり返し、Rf 0.46 を示す部分のみを分離した。酢酸エチル再結晶から白色結晶を得た。ここに得た結晶および前記ベンゼン溶出で得た Rf 0.46 を示す結晶は、ともに m. p. 224.5° を示し、TLC で Rf 0.46 の単一スポットを呈し、Fig. 1 のそれと一致する(酸化生成物 2a)。

酢酸エチル溶出部は、濃褐色を呈するが明らかなスポットを認めることはできなかった(この場合、酢酸エチルによって茶褐色の分画帯のほとんどが溶出された)。溶媒留去後樹脂様物質が残留するが、これは結晶化しなかった。

アセチル化 2a のアセチル化は、2倍量の無水ピリジ

ン溶液中に塩化アセチル5倍量を加え、水浴中30分間加熱した。反応終了後ピリジン、塩化アセチルを減圧留去、残留物をエタノールから再結晶した。2bのアセチル化は、各5倍量の無水酢酸、無水ピリジンと水浴上約1時間加熱し、反応終了後溶媒を減圧留去、エタノールから再結晶した。

酸化生成物の性状および組成 2a: 白色サイコロ状の堅い結晶、エタノール、石油エーテルなど多くの有機溶媒にきわめて難溶。わずかにクロロホルム、酢酸エチルに熱時可溶、水には不溶。m. p. 224.5° (未補正)。分子量358。($C_{11}H_{15}O_2$)₂ *Anal.* Calcd.: C, 73.71; H, 8.44。Found: C, 73.58; H, 8.21。

2b: 軽い白色サイコロ状結晶。ベンゼン、石油エーテルなど多くの有機溶媒に溶ける。エタノールには比較的溶け難い。水には不溶。m. p. 78~79° (未補正)。分子量358。($C_{11}H_{15}O_2$)₂ *Anal.* Calcd.: C, 73.71; H, 8.44。Found: C, 73.59; H, 8.39。

2a-Ac: 2aより誘導されるアセチル体はプリズム状白色結晶。m. p. 149。 (未補正)。(C₁₃H₁₇O₃)₂ *Anal.* Calcd.: C, 70.56; H, 7.74。Found: C, 70.42; H, 7.92。

2b-Ac: 2bより誘導されるアセチル体は白色針状結晶。m. p. 97~98° (未補正)。C₂₄H₃₂O₅ *Anal.* Calcd.: C, 71.97; H, 8.05。Found: C, 71.93; H, 7.95。

本研究に多大の便宜と発表の機会を与えられた東京薬科大学寺阪学長、長瀬男子部長に深甚の謝意を表す。また実験の一部を担当された川田久美子嬢に感謝する。元素分析、IR スペクトルを測定された東京薬大中央分析室の諸氏に深謝する。

試料は日本揮発油KKより提供を受けた。NMRは山之内製薬中央研究所測定課長山崎喜三郎氏、市村孝道氏

の測定によった。Mass スペクトルは東工試和佐田氏の測定によった。茲に厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) E. H. Farmer, H. P. Koch: *J. Chem. Soc.*, 121 (1942), 541 (1943).
- 2) J. L. Bolland: *Proc. Roy. Soc.*, **186** A, 218 (1946); *Quat. Rev.*, No. 3, 1 (1949).
- 3) J. L. Bolland: *Trans. Faraday Soc.*, **43**, 201 (1947).
- 4) T. W. Campbell, G. M. Coppinger: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 1469 (1952).
- 5) 厚生省編: “食品添加物公定書”
- 6) C. E. Boozer, G. S. Hammond: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3861 (1954); *ibid.*, **77**, 3238 (1955).
- 7) K. U. Ingold: *Ind. Eng. Chem.*, **51**, 1319 (1959).
- 8) R. F. Moore, W. A. Waters: *J. Chem. Soc.*, 243 (1954).
- 9) 浮田忠之進, 星野乙松, 原納靖子: 日本薬学会第86年年会で発表 (1966).
- 10) J. C. Dacre, F. A. Denz, T. H. Kennedy: *Biochem. J.*, **64**, 777 (1956).
- 11) R. H. Rosenwald, J. A. Chenicek: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **28**, 185 (1951).
- 12) J. Baltes, F. Volbert: *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **57**, 660 (1955).
- 13) F. R. Hewgill, B. R. Kennedy, D. Kilpin: *J. Chem. Soc.*, 2904 (1965).
- 14) M. Krell, K. Whetsel: *J. Agr. Food Chem.*, **5**, 602 (1957).