〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
26 (1) 1-7 (1980)

リノール酸の自動酸化におけるシステインおよびシステイン含有
ジペプチド誘導体の抗酸化作用と抗酸化剤に対する相乗効果

岡田幸蔵,^{1a)} 永井外夫,^{1b)} 番匠悦子^{1c)}
近畿大学薬学部,^{1a)} 北陸大学薬学部,^{1b)} 金沢大学薬学部^{1c)}

Antioxidative Activities of Cysteine Derivatives and Cysteine-containing
Dipeptides and Their Synergism with Antioxidants
in the Autoxidation of Linoleic Acid

KOZO OKADA,^{1a)} SOTOO NAGAI^{1b)}
and ETSUKO BANSHO^{1c)}

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University,^{1a)}
School of Pharmacy, Hokuriku University^{1b)} and Faculty
of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University^{1c)}

(Received July 9, 1979)

Antioxidative and synergistic activities of 14 cysteine derivatives and 10 dipeptide derivatives with the sequences Cys(R)-Ser and Ser-Cys(R) were investigated, using an autoxidative system of linoleic acid, and the following results were obtained :

- 1) None of the tested compounds showed any marked antioxidative activity against autoxidation of linoleic acid.
- 2) In general, S-alkylcysteines were synergistically effective with both *dl*- α -tocopherol and dibutylhydroxytoluene (BHT). On the other hand, cysteine markedly increased POV of the system in the presence of BHT, while it showed synergistic activity toward α -tocopherol.
- 3) Blocking of the amino group of cysteine and S-alkylcysteines caused the loss of their synergistic activities, while blocking of the carboxyl group gave products with prooxidative activity in the presence of antioxidants.
- 4) Both Cys(Bzl)-Ser and Ser-Cys(Bzl) showed synergistic effect nearly equal to their constituent amino acids. In analogy with S-alkylcysteines, blocking of the terminal groups, especially the carboxyl group, caused appreciable loss in the synergistic activities of the dipeptides, and a potent prooxidative activity was observed with some blocked peptides including Ser-Cys(Bzl)-OBzl, BOC-Ser-Cys(Bzl)-OBzl, and Z-Cys(Bzl)-Ser-OMe.

These results suggested that the synergistic action of cysteine derivatives and cysteine-containing peptides might be caused by cooperative action of blocked SH group and free NH₂ and COOH groups.

Keywords— α -tocopherol ; dibutyl hydroxytoluene ; amino acids ; cysteine derivatives ; cysteine-containing dipeptides ; linoleic acid ; autoxidation ; prooxidation ; antioxidative activity ; synergist

緒 言

アミノ酸の油脂ないし不飽和脂肪酸に対する抗酸化作用については多くの報告があるが、その結果は研究者に

よって必ずしも一致していない。一般に芳香族アミノ酸およびメチオニンが抗酸化力の強いアミノ酸としてあげられ、また α -トコフェロール (α -Toc) に対してメチ

- 1) Location : a) Kowakae, Higashi-Osaka 577, Japan (東大阪市小若江 321) ; b) Kanagawa-machi, Kanazawa 920-11, Japan (金沢市金川町ホ 3) ; c) Takara-machi, Kanazawa 920, Japan (金沢市宝町13-1).

オニン, トリプトファン, フェニルアラニンが強い相乗効果をもつことが報告されている。²⁾

一方, システインの作用については, 名武ら³⁾ は不飽和脂肪酸の自動酸化を促進すると報告しているのに対し, Matsushita ら,^{4a)} Marcuse ら,^{4b)} 梶本ら^{4c)} はメチオニンより優れた抗酸化力をもつことを認め, また, そのエステル類も強い抗酸化力をもつことが報告されている。⁵⁾

われわれは各種アミノ酸の α -Toc ならびにジブチルヒドロキントルエン (BHT) の抗酸化作用に対するアミノ酸の影響を調べたところ, システインは α -Toc に対して相乗効果をもつが, BHT の存在下では酸化促進的に働くことを認めた。⁶⁾

今回, 不飽和脂肪酸の自動酸化および上記抗酸化剤に対するシステインの構造と作用の相関を明らかにし, その作用機構の一端を知る目的で, システイン誘導体のリノール酸自動酸化および α -Toc と BHT の作用に対する相乗効果につき検討した。

また近年, 山口ら⁷⁾ は, いくつかのジペプチドの油脂に対する抗酸化作用を測定した結果, ペプチドがそれらを構成するアミノ酸よりも大きい抗酸化力を示すことを報告した。一方, これまでにシステインを含むペプチドの抗酸化力, 相乗作用についての系統的研究は行なわれていない。そこで, α -Toc と BHT のいずれにも強い相乗作用をもつことが判明したセリンと S-ベンジルシステイン [Cys (Bzl)] から成るジペプチドとその誘導体を数種合成し, それらの作用についても検討したので, 併せて報告する。

実験方法

1. 試料およびその調製 リノール酸 (和光純薬製), dl - α -Toc (純度 99.2%, エーザイ K K 製) ならびに BHT (和光純薬製) はエタノールにそれぞれ 0.1M, 6.5×10^{-4} M, ならびに 1.25×10^{-4} M 濃度に用時溶解して使用した。アミノ酸はすべて L 型を使用した。システイン塩酸塩 (Cys·HCl), セリンおよび Cys (Bzl) は蛋白質研究奨励会製, システインメチルエステル (Cys-

OMe) は半井薬品製, アセチルシステイン (Ac-Cys), S-メチルシステイン [Cys (Me)], S-エチルシステイン [Cys (Et)] は Sigma 社製, S-アリルシステイン [Cys (All)] は NBC 社製を用い, その他のシステインおよびペプチド誘導体は, 特に記さない限り別報⁸⁾ にしたがって調製した。アミノ酸誘導体ないしペプチドは, 水または 0.01 N HCl に溶解し, 終濃度が 2×10^{-5} M および 2×10^{-4} M となるように反応液に添加した。

2. 抗酸化試験 100 ml 三角フラスコに 0.1 M リノール酸溶液 10 ml を入れ, これにアミノ酸ないしペプチドの溶液 1 ml を添加し, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて全量を 50 ml とした後, 密栓して 37° の恒温器中に保存し, 一定時間後に反応液を取り出し過酸化物質 (POV) をロダン鉄法⁹⁾ により測定した。なお, 抗酸化剤に対するアミノ酸ないしペプチドの添加効果の試験には, α -Toc を 1.3×10^{-5} M もしくは BHT を 0.25×10^{-5} M の終濃度になるように加え, 37° で 5 日間静置し, POV を測定した。

実験結果

1. システイン誘導体およびジペプチドの抗酸化力

Table I にシステインとその誘導体ならびにセリンと Cys (Bzl) より構成される 2 種のジペプチドとその誘導体のリノール酸の自動酸化に対する抗酸化力を対照に対する POV 百分比で示した。

使用した実験条件下で対照の酸化進行度は POV の経時変化の測定データー (Fig. 2 参照) よりみて, POV の対数増加期に相当するとみられるが, この条件下で, Ac-Cys (Me) が弱い抗酸化作用を示し, Ser-Cys (Bzl)-OBzl がいく分酸化促進的に働くことを除いては, 他の化合物はいずれも認めうる程の作用を示さなかった。

2. 抗酸化剤の作用に対するアミノ酸, システイン誘導体およびペプチドの添加効果

(1) **アミノ酸** α -Toc と BHT の抗酸化力に対する各種アミノ酸の影響を調べた結果は Table II のごとくである。

α -Toc に対して試験したほとんどすべてのアミノ酸

2) a) 渡辺幸雄, 綾野雄幸, 栄養と食糧, **25**, 621 (1972); b) 山口直彦, 油化学, **25**, 249 (1976).

3) 名武昌人, 団野源一, 栄養と食糧, **26**, 251 (1973).

4) a) S. Matsushita, F. Ibuki, *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 792 (1965); b) R. Marcuse, P. Fredriksson, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 448 (1971); c) 梶本五郎, 池辺洋子, 吉田弘美, 山田司志郎, 古武弥人, 栄養と食糧, **32**, 41 (1979).

5) 小嶋 操, 末次良子, 日本薬学会第93年会, 東京, 1973年4月.

6) 番匠悦子, 福原 裕, 永井外夫, 岡田幸蔵, 日本薬学会第94年会, 仙台, 1974年4月.

7) 山口直彦, 横尾良夫, 藤巻正生, 食品工誌, **22**, 425 (1975).

8) 永井外夫, 福原 裕, 岡田幸蔵, 薬誌, **100**, 110 (1980).

9) 満田久輝, 安本教伝, 岩見公和, 栄養と食糧, **19**, 210 (1966).

TABLE I. Antioxidative Activities of Cysteine, Its Derivatives, and Cysteine-containing Dipeptides for the Autoxidation of Linoleic Acid^{a)}

Compds ^{b)}	POV (%)	Compds ^{b)}	POV (%)
Control	100	Cys (Me)-OMe	120
Cys	100	Cys (All)-OMe	99
Ac-Cys	120	Cys (Bzl)-OMe	90
Cys-OMe	120	Cys (Bzl)-OBzl ^{d)}	120
Cys (Me)	120	Cys (Bzl)-Ser	100
Cys (Et)	110	Ser-Cys (Bzl)	98
Cys (All)	110	BOC-Cys (Bzl)-Ser	97
Cys (Bzl)	110	BOC-Ser-Cys (Bzl)	98
Ac-Cys (Me)	75	Z-Ser-Cys (Bzl)	110
Ac-Cys (All) ^{c)}	90	Ser-Cys (Bzl)-OMe	100
Ac-Cys (Bzl)	100	Ser-Cys (Bzl)-OBzl	140
Z-Cys (Bzl)	110	BOC-Cys (Bzl)-Ser-OMe	98
		BOC-Ser-Cys (Bzl)-OMe	100
		Z-Cys (Bzl)-Ser-OMe	120

a) The reaction mixture containing 10 ml of 0.1 M linoleic acid in ethanol and 40 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) with or without test compound (final conc., 2×10^{-4} M) was incubated at 37° for 60 hr. Antioxidative activity was measured by peroxide value (POV) and represented as per cent of the control.

b) The abbreviations used to denote amino acids, peptides, and their derivatives are those recommended in *J. Biol. Chem.*, 247, 977 (1972).

c) Prepared by treating Cys (All) with Ac₂O/AcOH (1:1) in the usual manner.

d) Prepared according to the method of Zervas *et al.* [L. Zervas, M. Winitz, and J.P. Greenstein, *J. Org. Chem.*, 22, 1515 (1957)].

が 2×10^{-5} — 2×10^{-4} M で相乗効果を示した。これは渡辺ら^{2a)}の報告にほぼ一致している。ただ、今回の実験においてはアミノ酸添加量を増加しても POV の減少はほとんどのアミノ酸で認められなかった。他方 BHT に対しては 2×10^{-5} M のセリン、アスパラギン酸、リシン、ヒスチジンが弱い相乗性を示したのに対し、3種の含硫アミノ酸はいずれも酸化促進的に作用した。この傾向はシステインでもっとも著明であり、チオール基の存在に起因するものとみられる。他方、このような含硫アミノ酸の酸化促進効果は高濃度 (2×10^{-4} M) で著しく減少もしくは消失するか、あるいはメチオニンのごとく BHT のシネルギストとして働くようになる。したがって、上記のごとき BHT 存在下でみられた含硫アミノ酸の POV 増加は微量でのみ起こる接触的な作用によるものと推定される。上記のアミノ酸を除く他のアミノ酸では 2×10^{-5} M では目立った作用を示さないが、 2×10^{-4} M になるとシステインを除くすべてのアミノ酸は BHT のシネル

TABLE II. Effects of Amino Acids on the Antioxidative Activities of BHT and α -Toc for the Autoxidation of Linoleic Acid^{a)}

Amino acid	POV (%)			
	BHT		α -Toc	
	(I)	(II)	(I)	(II)
Control	100	100	100	100
Gly	120	22	79	70
Ala	130	30	64	58
Val	100	24	58	48
Leu	130	32	59	50
Ile	130	18	63	58
Ser	54	13	45	40
Thr	98	13	45	40
Asp	73	65	69	58
Glu	93	14	33	32
CySH	820	210	48	42
(CyS-) ₂	200	70	56	47
Met	200	12	51	41
Phe	110	16	49	43
Trp	120	16	49	43
Pro	88	52	31	25
Arg	120	22	48	45
Lys	79	13	47	33
His	70	11	31	21

a) Experimental condition was the same as in Table I, except that linoleic acid containing 0.25×10^{-5} M (in final conc.) BHT or 1.3×10^{-5} M α -Toc was used instead of linoleic acid as a substrate and amino acids in concentrations of 2×10^{-5} M (I) and 2×10^{-4} M (II) were added as test compounds. Antioxidative activity was represented as per cent of the control.

ギストとして働く傾向を示し、なかでもセリン、トレオニン、グルタミン酸、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファン、リシン、ヒスチジンにおいてその効果が顕著であった。

(2) システイン誘導体 α -Toc と BHT に対してみられたシステインの相反する効果すなわち相乗作用と酸化促進作用がシステイン分子のどの部位に由来するかをみるため、システインのアミノ基、カルボキシル基ないしチオール基をマスクした誘導体について α -Toc と BHT の抗酸化作用に及ぼす影響を調べた。その結果は Table III のごとくである。

Ac-Cys および Cys-OMe は BHT のみならず α -Toc に対しても酸化促進作用を示した。すなわち、システインのアミノ基ないしカルボキシル基のいずれか一つをマスクすることにより、 α -Toc に対する効果はシステインにおける場合と全く逆になった。この事実はシステインが α -Toc と相乗作用を示す上で、そのアミノ基とカ

Fig. 1. Effects of Cysteine and S-Ethyl Cysteine on POV of Linoleic Acid in the Presence of Antioxidants

The composition of reaction mixture was the same as described in Table II, except that $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ test compound was added instead of amino acid. The mixture was incubated at 37° , and aliquots were taken out at the indicated times and allowed to react with a mixture of 75% EtOH (4.7 ml), 30% NH_4SCN (0.1 ml) and $2 \times 10^{-2} \text{ M}$ FeCl_3 -3.5% HCl (0.1 ml) for 3 min and then absorbancies at 517 nm were measured.

—●—: Control, —△—: Citric acid, —□—: Cys, —○—: Cys (Et).

TABLE III. Effects of Cysteine Derivatives on the Antioxidative Activities of BHT and α -Toc for the Autoxidation of Linoleic Acid^{a)}

Cysteine deriv.	POV (%)			
	BHT		α -Toc	
	(I)	(II)	(I)	(II)
Control	100	100	100	100
CySH	820	210	48	42
Ac-Cys	240	300	190	86
Cys-OMe	300	290	250	480
Cys (Me)	34	50	94	48
Cys (Et)	21	68	93	21
Cys (All)	24	28	41	9
Cys (Bzl)	50	23	67	10
Ac-Cys (Me)	120	120	100	90
Ac-Cys (All)	130	—	110	—
Ac-Cys (Bzl)	140	120	92	93
Z-Cys (Bzl)	100	72	88	62
Cys (Me)-OMe	240	300	100	180
Cys (All)-OMe	120	140	120	140
Cys (Bzl)-OMe	210	280	100	170
Cys (Bzl)-OBzl	340	470	88	170

a) Experimental condition was the same as in Table II, except that cysteine derivatives in final conc. of $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ (I) and $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ (II) were added as test compounds.

ルボキシル基がいずれも遊離していることが不可欠であることを示す。また、BHT 存在下でのシステインの酸化促進作用はシステインの α -アミノ基と α -カルボキシル基をマスクしてもそれ程大きく影響されないことがわかる。

一方、システインのチオール基をアルキル化すると α -Toc のみならず BHT と相乗効果を示すようになる。この際のアルキル基の違いによる相乗力の差はそれほど大きくはないが、おおよそ $\text{All} > \text{Bzl} > \text{Et} > \text{Me}$ の順とみられる。

つぎに、S-アルキルシステインのアミノ基をアシル化すると抗酸化剤との相乗性が減弱するか全く消失した。また、カルボキシル基をマスクしても同様に相乗性が失われ、特に、Cys (Me)-OMe, Cys (Bzl)-OMe, Cys (Bzl)-O-Bzl においては、BHT 共存下で逆に強い酸化促進作用を示すようになった。

Fig. 1 は抗酸化剤の存在下でのリノール酸の自動酸化に対する Cys (Et) の相乗効果を、等モル濃度のシステイン、クエン酸の効果と比較した結果である。 α -Toc に対して、システイン、Cys (Et) は共に使用した条件下で、クエン酸より強い相乗効果を示した。BHT に対しては、Cys (Et) がほぼクエン酸と同程度の相乗効果をもつのに対し、システインは逆に顕著な酸化促進作用を示した。

以上の知見よりシステイン誘導体が α -Toc と BHT

TABLE IV. Effects of Dipeptide Derivatives on the Antioxidative Activities of BHT and α -Toc for the Autoxidation of Linoleic Acid^{a)}

Peptide ^{b)}	POV (%)			
	BHT		α -Toc	
	(I)	(II)	(I)	(II)
Control	100	100	100	100
Cys (Bzl)-Ser	33	30	43	14
Ser-Cys (Bzl)	23	5	56	5
Ser-Cys (Bzl)-OMe	93	150	82	20
Ser-Cys (Bzl)-OBzl ^{c)}	190	210	98	38
BOC-Cys (Bzl)-Ser	30	46	100	84
BOC-Ser-Cys (Bzl)	60	19	72	28
Z-Ser-Cys (Bzl)	93	120	99	62
BOC-Cys (Bzl)-Ser-OMe	84	130	120	99
Z-Cys (Bzl)-Ser-OMe	240	330	85	26
BOC-Ser-Cys (Bzl)-OMe	150	200	120	150

a) Experimental condition was the same as described in Table III.

b) The final conc. of peptides: 2×10^{-5} M (I) and 2×10^{-4} M (II).

c) Powdery product obtained by the treatment of Z-Ser-Cys (Bzl)-OBzl with HBr/AcOH [D. Ben-Ishai, *J. Org. Chem.*, 19, 62 (1954)] was used; the thin-layer chromatogram (Kieselgel G, Merck) showed a single spot (R_f 0.04 in CHCl_3 -MeOH-AcOH (95:5:3) or R_f 0.41 in CHCl_3 -MeOH-pyridine (95:5:3)).

に対し相乗効果を示すための構造要件として α -アミノ基と α -カルボキシル基が遊離していることが最低限必要であり、これに加えるに BHT に対してはチオール基のブロックが不可欠である。反対に、システイン誘導体のカルボキシル基をマスクするか、遊離チオール基の存在下でアミノ基をマスクすると程度の差はみられるが、BHT, α -Toc の共存下において酸化促進方向に作用するといえる。

(3) システイン含有ジペプチド誘導体 BHT, α -Toc のいずれとも顕著な相乗効果を示すセリンと Cys (Bzl) から構成される10種のペプチド誘導体の抗酸化剤に対する作用を検討した結果を Table IV に示す。

Cys (Bzl) 含有ペプチドにおいても前記 S-アルキルシステインでみられたとほぼ同様の構造-活性相関が認められた。すなわち、N-, C- 両末端基が遊離している Cys(Bzl)-Ser と Ser-Cys(Bzl) は BHT, α -Toc のいずれとも強い相乗効果を示した。これらペプチドの抗酸化剤に対する相乗効果は、構成アミノ酸であるセリンと Cys (Bzl) の抗酸化剤に対する相乗効果 (Table II, III 参

照) にほぼ匹敵するかあるいはいく分強いようであった。しかし、これらのペプチドの N 末端アミノ基をアシル化すると効果の低下が起こり、一部のものでは消失がみられた。また、C 末端基をマスクしたペプチドエステルは α -Toc に対して相乗効果の低下、BHT に対して酸化促進傾向を示すようになり、更に両末端をマスクしたペプチドではこの酸化促進傾向が一層強まった。

考 察

これまでに、不飽和脂肪酸の自動酸化に対してシステインが優れた抗酸化力をもつという報告^{4,5)}と、逆に自動酸化を促進するという報告³⁾とが存在する。

今回われわれが行なった条件下で 0.25×10^{-5} M BHT と 1.3×10^{-5} M α -Toc はそれぞれ明らかに抗酸化作用を示すが (Fig. 2 参照), 2×10^{-4} M のシステインおよびその誘導体は単独で、なんらリノール酸の自動酸化に対し認めうる作用を示さなかった。このようなシステインでの効力の違いは基質の種類や酸化度、実験条件の差異に基づくものとみられる。

他方、 α -Toc の共存下でシステインは強い相乗効果を示す一方、BHT の存在下では逆に酸化促進性を示し抗酸化剤の違いによって全く対照的な結果がえられた。これらの違いがシステインと抗酸化剤あるいはそれらの分解物とリノール酸酸化生成体の相互作用により生じた2次産物に由来するのか、あるいは抗酸化機構と直接関連するものなのか、その説明は今後の検討にまたねばならない。

さらに、興味あることに、システインの遊離チオール基をアルキル化すると BHT に対しても明らかに相乗効果を生じ、システインのチオール基のマスクが BHT への相乗性を発揮する必要条件であることがわかった。また、S-アルキルシステインのエステル化によって遊離カルボキシル基をマスクするか (Table III), あるいは反応を pH 6 以下の酸性領域で行なうと S-アルキルシステインの相乗効果が消失した (Fig. 3 参照)。すなわち相乗活性の発現に解離形カルボキシル基の存在とチオール基のマスクが最低限必要であり、これに遊離 α -アミノ基の影響が加味され、三者の協同作用の結果、抗酸化剤に対する相乗性が生ずるものと考えられる。

メチオニンはリノール酸の自動酸化過程においてメチオニンスルホキシドへ酸化される。¹⁰⁾ 今回の反応系においては、Fig. 4 のごとく Cys (Et) はリノール酸の酸化とともにスルホキシド体へ移行することを認めており、その速度は抗酸化剤の存否に大きく左右されることがわ

10) 名武昌人, 栄養と食糧, 24, 63 (1971)。

Fig. 2. Antioxidative Activities of α -Toc and BHT for the Autoxidation of Linoleic Acid at pH 7

The composition of reaction mixture was the same as described in Table I, except that α -Toc or BHT was added as test compound. The mixture was incubated at 37° and POVs at the indicated times were determined.

—●—: Control, —▲—: $0.65 \times 10^{-5} M$ α -Toc, —■—: $1.30 \times 10^{-5} M$ α -Toc., —△—: $0.125 \times 10^{-5} M$ BHT, —□—: $0.25 \times 10^{-5} M$ BHT.

Fig. 3. Synergistic Action of S-Benzyl Cysteine with α -Toc at Various pH Levels

The composition of reactions mixture was the same as described in Table I, except that $1.3 \times 10^{-5} M$ α -Toc or $1.3 \times 10^{-5} M$ α -Toc + $2 \times 10^{-4} M$ S-benzyl cysteine [Cys (Bzl)] were added as test compound and pH values were varied from 4.0 to 10.0 by Clark-Lubs buffer. The mixtures were incubated at 37° for 4 days and then absorbancies at 517 nm were measured; ○---○: Control, △---△: α -Toc, □---□: α -Toc + Cys (Bzl).

かった。したがって、このような抗酸化剤とカップルした反応が基質のフリーラジカル生成ないしヒドロパーオキシドの生成¹¹⁾を抑制する上に重要な働きを有するのかもしれない。

他方、システインないしその誘導体の抗酸化剤とカップルしたリノール酸の酸化促進作用が如何なる機構により起るかは現在不明であるが、システインのチオール基とカルボキシル基が大きく関与していることは明白である。渡辺ら^{2a)}は油脂類に対して酸化防止剤のシネルギストであるクエン酸が、リノール酸を基質にすると、むしろ酸化促進的に作用することを認めたが、その機構は明らかでない。

BHTや α -Tocに対して強い相乗性を示したCys(Bzl)とセリンを構成成分とするジペプチドはアミノ酸と同様に、上記抗酸化剤に対し著しい相乗力を示した。Cys(Bzl)-SerとSer-Cys(Bzl)はほぼ等しい活性を示し、ペプチドにおけるアミノ酸配列の影響はほとんど認められなかった。一方、ペプチドのN-、C-末端基ブロックの影響はシステイン誘導体におけると同様であったが、セリンの親水側鎖の存在の故かシステイン誘導体ほどブロックの影響が顕著でないものもみられた。

アミノ酸のほかに、タンパク質の加水分解物がTocや各種フェノール物質と著しい相乗性を示すことが報告

11) G.L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1958); 名武昌人, 団野源一, 栄養と食糧, **26**, 245 (1973).

Fig. 4. Changes of S-Ethyl Cysteine in the Autoxidation of Linoleic Acid

The reaction mixture containing 1.0 ml of 0.1 M linoleic acid in EtOH, 1.0 ml of 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) with 1×10^{-3} mmol of S-ethyl cysteine [Cys (Et)] and 3.0 ml of 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) with or without antioxidant (6.5×10^{-5} mmol α -Toc or 1.27×10^{-5} mmol BHT) was incubated at 37° for 0 (A), 2 (B), 4 (C) or 9 (D) days and then analyzed by thin layer chromatography on silica gel (solvent, *n*-BuOH/AcOH/H₂O=4:15:1; detection, ninhydrin).

1: Cys (Et), 2: Cys (Et) + BHT, 3: Cys (Et) + α -Toc, 4: S-ethyl cysteine sulfoxide (authentic).

されている。¹²⁾ それらの抗酸化機構については現在推定の域を出ないが、アミノ酸に共通した金属封鎖能¹³⁾のほか、構成アミノ酸の構造や水素結合、静電結合などに由来する分子の会合状態が関与し、これらがペプチド結合することによって機能も多面的になるのであろうと推定される。今回のシステインおよびそのジペプチド誘導体での結果はその一端を明らかにしたものと云えよう。

結 論

システインとその誘導体14種ならびにシステイン含有ジペプチド10種のリノール酸に対する抗酸化作用ならびに BHT, α -Toc の抗酸化作用に対する相乗効果を検討し、つぎの結果を得た。

(1) システインとその誘導体およびジペプチドは、それぞれ単独ではリノール酸の自動酸化に顕著な作用を示さない。

(2) システインは α -Toc に対し強い相乗効果を示したが、BHT 存在下で逆に酸化促進作用を示した。

(3) システインのカルボキシル基をマスクすると α -Toc の共存下で強い酸化促進性を示し、アミノ基のマスクでも α -Toc との相乗性の低下ないし酸化促進傾向を生じた。また、システインのチオール基をアルキル化すると BHT, α -Toc の両方の抗酸化剤に強い相乗効果を示した。

(4) S-アルキルシステインのアミノ基をマスクすると相乗性は著しく低下するか活性が消失した。また、カルボキシル基をマスクすると顕著な酸化促進作用を示した。

(5) BHT および α -Toc に対して強い相乗作用を示した2種のアミノ酸、Cys (Bzl) とセリンで構成されたジペプチド Cys (Bzl)-Ser と Ser-Cys (Bzl) はいずれも BHT, α -Toc に対し強い相乗効果を示した。これらのペプチドの末端基のマスクの影響は S-アルキルシステインにおいてみられたものとほぼ同様の傾向であった。

12) a) S. J. Bishov, A. S. Henick, *J. Food Sci.*, **37**, 873 (1972); *ibid.*, **40**, 345 (1975); b) 山口直彦, 横尾良夫, 藤巻正生, 食品工誌, **22**, 431 (1975); *ibid.*, **26**, 65 (1979).

13) 梶本五郎, 吉田弘美, 油化学, **24**, 292 (1974); S. Gorinstein, *J. Food Sci.*, **39**, 953 (1974).