報 文

1,3-ジオキサインダン誘導体の酸化防止力 (第4報) 酸化防止力に影響を及ぼす要因

磯部 次男・清野 肇

北里大学衛生学部 (〒228 相模原市北里 1-15-1)

Study on the Antioxidative Activity of 1,3-Dioxaindan Derivatives. IV. Factors Influencing These Parameters

Tsugio ISOBE and Hajime SEINO

Faculty of Hygienic Sciences, Kitasato University

(1-15-1, Kitasato, Sagamihara-shi, 〒228)

The authors previously reported 2-alkyl-2-methyl-1,3-dioxaindans to possess antioxidative activity toward lards, and alkyl groups at the 2-position of these compounds to be a determining factor of activity. The introduction of the *t*-butyl group into the aromatic ring in these compounds resulted in high antioxidative activity.

2,2-Dialkyl-1,3-dioxaindans were synthesized for comparison of the effects of the alkyl group at the 2-position on antioxidative activity. Methyl, *t*-butyl or amino group was introduced into the aromatic rings of these compounds. Based on the antioxidative activity of these compounds, assessment was made of the influence of the functional groups on the aromatic ring. These groups were found to have greater antioxidative effect than that of the alkyl group at the 2-position.

1 緒 言

酸化防止剤の多くは分子内にフェノール性ヒドロキシル基が存在し、フェノール性ヒドロキシル基を有する化合物には細菌や真菌に対する抗菌力が期待される。そこでセサモール (5-ヒドロキシ-1,3-ジオキサインダン) の抗菌力試験を試みた。その結果、ある種の細菌や真菌に対し抗菌力が認められた¹⁾。

2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンはセサモールと同様に1,3-ジオキサインダン骨格を有するが、フェノール性ヒドロキシル基は存在しない。著者らは、これらの化合物に油脂の自動酸化の誘導期を延長する作用、すなわち酸化防止力を認め、また、ある種の細菌や真菌に対する抗菌力も認めた^{2)~5)}。このように2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンはあたかもその分子内にセサモールと同様、フェノール性ヒドロキシル基が存在するかのような性質を示す、興味深い化合物である。

最近、食品に使用されるフェノール系の酸化防止剤の

一部に、DNA やタンパク質などの酸化による損傷を促進するとの報告があり、新たに非フェノール系の酸化防止剤の開発が望まれている^{6)~8)}。

前報⁹⁾で、2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンの芳香環に電子供与性の高い*t*-ブチル基を導入することにより、芳香環に同基をもたない化合物に比べ著しく酸化防止力が増大することを報告した。

そこで、本報では2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンの油脂に対する酸化防止力に及ぼす芳香環上の官能基の影響を調べるため、芳香環にメチル基、*t*-ブチル基あるいはアミノ基を有する1,3-ジオキサインダン誘導体を合成した。得られた化合物の酸化防止力の測定は従来より使用してきたAOM法に代え、RANCIMAT法で行った。

その結果、2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンの芳香環にこれらの官能基を導入することにより、ほとんどの化合物で油脂に対する酸化防止力の増大が認められた。また、化合物の一部に既存の酸化防止剤をしのぐ酸化防止力が認められた。

注 前報：油化学，39，931（1990）

連絡者：磯部次男

2 実験および結果

2.1 実験材料

4-メチル-1,2-ベンゼンジオール：市販品を純度確認した後使用した（以後、メチルカテコールと略称する）。

4-*t*-ブチル-1,2-ベンゼンジオール：市販品を純度確認後使用した（以後、*t*-ブチルカテコールと略称する）。

ケトン類：市販品及びチッソ株式会社から恵贈されたものを純度確認後使用した。

ラード：ミヨシ油脂株式会社より恵贈された添加物を含まないものを使用した。

2.2 合 成

本研究に使用した4種の2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサインダンの構造、略号及び名称を、Fig.-1にOriginal group化合物として示す。更に、Fig.-2にOriginal groupの芳香環に官能基を置換した化合物を示す。以後、官能基の種類によりM group化合物、B group化合物、A group化合物と呼称する。これらの化合物は、Fig.-1に示した各略号の前にM-, B-あるいはA-をつけて区別した。以後、各化合物は略号により表記する。

2.2.1 Original group化合物の合成

MEとMBは、前報⁹⁾で合成したものを純度を確認した後、本研究に使用した。同様に、EEとEPも既に合成し、抗菌力試験で使用したものを純度確認後使用した⁵⁾。

2.2.2 M group化合物の合成

(1) 2-エチル-2,5-ジメチル-1,3-ジオキサインダン(M-ME)の合成

Hartmanの方法に準じ¹⁰⁾、メチルカテコールと2-ブタノンから合成した。

検水管付き還流冷却器を備えたフラスコに、ベンゼン50 mL、メチルカテコール6.21 g (0.05 mol)、2-ブタノ

Fig.-1 Structures, abbreviations and names of original group compounds (2,2-dialkyl-1,3-dioxindans).

Fig.-2 Structures, abbreviations and names of derivatives of original group compounds.

ン7.20 g (0.10 mol) 及び

-トルエンスルホン酸0.15 gを入れ、かくはんしながら4 h加熱、還流した。反応終了後、ベンゼンを留去し、残留物を乾燥後減圧蒸留により精製した。その結果、沸点84.0~85.0 °C/mmHgの無色透明の液体留分7.85 gを得た。

(2) その他のM group化合物の合成

他の3種のM group化合物は、2.2.2 (1)に記載した方法に従い、メチルカテコールと相当するケトンから合成した。ただし、M-EEとM-EPは減圧蒸留後、更にシリカゲルカラムにより精製した。

2.2.3 B group化合物の合成

B-MEとB-MBは前報⁹⁾で合成したものを純度を確認した後使用した。

(1) 5-*t*-ブチル-2,2-ジエチル-1,3-ジオキサインダン(B-EE)の合成

2.2.1 (1)に記載した方法に準じ、*t*-ブチルカテコール4.99 g (0.03 mol)、3-ペンタノン5.17 g (0.06 mol)、*p*-トルエンスルホン酸0.10 g及びトルエン40 mLを入れ、かくはんしながら11 h加熱、還流した。反応終了後、トルエンを留去し残留物を乾燥後減圧蒸留を行った。次に主留分中に未反応の原料が認められたので、シリカゲルカラムによる精製を行った。その結果、純度99.2%の無色透明の液体4.99 gを得た。

(2) 5-*t*-ブチル-2-エチル-2-イソプロピル-1,3-ジオキサインダン(B-EP)の合成

t-ブチルカテコールと2-メチル-3-ペンタノンを原料に、2.2.3 (1)に記載した方法に従い合成した。減圧

蒸留による精製が充分でなかったため、シリカゲルカラムにより精製した。

2・2・4 A group 化合物の合成

4 種の A group 化合物はいずれも既に合成し、抗菌力試験に使用したものを再精製し、純度を確認した後使用した¹¹⁾。

2・3 反応生成物の確認

本研究のために新たに合成した 6 種の化合物について、構造の確認を行った。

2・3・1 M-ME の構造の確認

M-ME の元素分析の結果を、新たに合成した他の 5 種の化合物の結果と共に Table-1 に示す。

M-ME の ^{13}C -NMR スペクトルの測定結果を Table-2 に示す。

また、IR スペクトルの測定結果から、環状エーテル結合の存在を示す $\text{C}=\text{O}-\text{C}-$ の逆対称伸縮振動に由来する吸収が、 $1,252\text{ cm}^{-1}$ に認められた。

以上、元素分析、 ^{13}C -NMR スペクトル及び IR スペクトルの測定結果から、反応生成物が目的とする化合物 M-ME であることを確認した。

2・3・2 他の反応生成物の構造の確認

その他 5 種の反応生成物についても、元素分析と共に ^{13}C -NMR スペクトル及び IR スペクトルを測定し、それぞれ目的の化合物であることを確認した。

2・4 酸化防止力の測定

2・4・1 酸化防止力の測定法

16 種の 1,3-ジオキサインダン誘導体の油脂に対する酸化防止力は、以下に述べる方法により測定した。

各 1,3-ジオキサインダン誘導体を 0.05 % の濃度になるようにラードに溶かしたものを試料とし、RANCIMAT 法により酸化防止力を測定した。測定条件を以下に示す。

Operation conditions of RANCIMAT

Measuring temperature 100.0 °C

Air flow rate 20.0 L/h

Sample size 3.0 g

同一の測定条件で、セサモール、BHA、BHT、トコ

Table-1 Elementary analysis of 1,3-dioxaindan derivatives.

Compound	C (%)	H (%)
M-ME	74.42 (73.98)	7.94 (7.96)
M-MB	75.85 (75.69)	8.77 (8.79)
M-EE	74.50 (74.97)	8.58 (8.39)
M-EP	74.89 (75.69)	8.75 (8.79)
B-EE	76.88 (76.88)	9.46 (9.47)
B-EP	77.70 (77.37)	9.69 (9.74)

(): Calculated value.

Table-2 ^{13}C -NMR data of 2-ethyl-2,5-dimethyl-1,3-dioxaindan (M-ME).

Signal (ppm)	Structure
a: 147.797 b: 145.652 c: 130.537 d: 120.737 e: 119.177 f: 109.133 g: 107.573 h: 32.195 i: 23.711 j: 21.078 k: 7.478	

フェロール [$\alpha:\beta:\gamma:\delta=8.2:1.2:67.5:23.1$ (%)] についても酸化防止力を測定した。

2・4・2 酸化防止力の測定結果

RANCIMAT 法により測定される誘導時間 (Induction time) をもって各誘導体の酸化防止力とした。酸

Table-3 Antioxidative activities of 1,3-dioxaindan derivatives obtained by RANCIMAT.

Compound	Induction time (h)	Antioxidation factor
ME	2.12	1.07
MB	2.08	1.05
EE	3.30	1.66
EP	3.27	1.65
M-ME	2.02	1.02
M-MB	7.96	4.02
M-EE	5.98	3.01
M-EP	6.45	3.25
B-ME	6.14	3.10
B-MB	14.17	7.14
B-EE	16.63	8.39
B-EP	12.04	6.07
A-ME	11.27	5.68
A-MB	18.47	9.31
A-EE	12.43	6.27
A-EP	13.27	6.69

Table-4 Antioxidative activities of antioxidants obtained by RANCIMAT.

Antioxidant	Induction time (h)	Antioxidation factor
BHT	11.73	5.92
BHA	21.50	10.84
Sesamol	13.77	6.94
Tocopherol	27.63	13.94

BHT : dibutyl hydroxytoluene

BHA : butyl hydroxyanisole

化防止係数は下記の式より算出した¹²⁾。

$$\text{Antioxidation factor} = \frac{\text{Induction time of the lard containing 1,3-dioxaindan derivative}}{\text{Induction time of the lard}}$$

測定結果を、1,3-ジオキサイندان誘導体はTable-3に、セサモール等の酸化防止剤はTable-4に示す。

3 考 察

2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサイندانの芳香環上の官能基の酸化防止力に及ぼす影響を明確にするため、Original group 化合物と各 group 化合物の酸化防止係数を比較した。その結果をFig.-3, Fig.-4及びFig.-5に示す。

2,2-ジアルキル-1,3-ジオキサイندانの芳香環へのメチル基、*t*-ブチル基あるいはアミノ基の導入は、酸化防止力の増大をもたらした。特に、*t*-ブチル基あるいはアミノ基をもつ化合物に顕著であった。

著者らは先に、1,3-ジオキサイندان誘導体の酸化防止力を2位の炭素原子に結合したアルキル基の電子供与性により、同原子に隣接した酸素原子の周囲の電子密度が高まり、ラジカル捕そく性が生じるためではないかと推定した。

M group 化合物やB group 化合物の酸化防止力の増大も、芳香環に存在する官能基の電子供与性により1,3位の酸素原子の周囲に電子密度がより一層高まるためと考えられる。しかし、Original group 化合物のMEあ

Fig.-3 Antioxidation factors of M group compounds obtained by RANCIMAT.

Fig.-4 Antioxidation factors of B group compounds obtained by RANCIMAT.

Fig.-5 Antioxidation factors of A group compounds obtained by RANCIMAT.

るいはMBは、同様の官能基を1,3位の酸素原子の隣接炭素原子に持つにもかかわらず酸化防止力が認められなかった。これらのことを考慮すると、酸化防止力に対する芳香環上の官能基の影響は単にその官能基がもつ電子供与性だけではなく、他に何らかの影響を及ぼしているものと思われる。しかし、本研究ではその影響を具体的に明示するまでには至らなかった。

強い酸化防止力を示したA group 化合物は他のgroup 化合物と異なり、芳香環上のアミノ基がプロトン化し、フェノール性ヒドロキシル基に近い性質を帯びるためではないかと推定している。

6種の1,3-ジオキサイندان誘導体の酸化防止係数を、Table-4に示した酸化防止剤の同係数と比較した。その結果をFig.-6に示す。

3種の1,3-ジオキサイندان誘導体にセサモールをしのぐ酸化防止力が認められた。また、1,3-ジオキサイندان誘導体の2位の炭素原子に結合したアルキル基として、エチル基あるいはイソプロピル基が存在すると同誘導体の酸化防止力を強める傾向が認められた。

MBのRANCIMAT法で得られた酸化防止係数は1.05であった。一方、既に報告したように同化合物の

Fig.-6 Antioxidation factors of 1,3-dioxaindan derivatives and other antioxidants evaluated by RANCIMAT.

Table-5 Comparison of antioxidation factors obtained in the two different ways.

Compound	AOM	RANCIMAT
ME	2.14	1.07
MB	4.47	1.05
B-ME	5.71	3.10
B-MB	10.71	7.14

AOM 法で測定した結果は 4.47 である³⁾。このように、同一の化合物でありながら測定法の違いによりその評価は全く異なる。

そこで今回酸化防止力を測定した 16 種の 1,3-ジオキサイندان誘導体の中で、既に AOM 法により測定した 4 種を選び両測定法で得られた酸化防止係数を比較した。その結果を Table-5 に示す。

わずか 4 種の 1,3-ジオキサイندان誘導体の比較であるが、いずれも AOM 法での測定値の方が大きい値を示した。したがって、両測定法から得られた結果を単純に比較することは危険を伴う。

4 総 括

3 種の 1,3-ジオキサイندان誘導体にセサモールをしのぐ酸化防止力が認められ、このような構造の化合物に新たな非フェノール系の酸化防止剤としての展開が期待される。

1,3-ジオキサイندان誘導体の芳香環上の官能基は、2 位の炭素原子に結合したアルキル基より油脂に対する酸化防止力に強い影響を与える。

AOM 法と RANCIMAT 法で得られた酸化防止係数の相違は、AOM 法が油脂の酸化の一次生産物である過

酸化物の量を測定するのに対し、RANCIMAT 法では水溶性の二次酸化生成物による水の電気伝導度の変化を測定するためである。したがって、AOM 法で測定したこれまでの 1,3-ジオキサイندان誘導体の測定結果と今回報告した結果とを比較するには、両測定方法間の相関を詳細に検討する必要がある。

AOM 法には測定時間、使用する溶媒あるいは熟練度等多くの問題がある。これらの点を考慮すると、より簡便な測定法である RANCIMAT 法を使用すべきであると考える。

終わりに、ケトン類を提供いただいたチッソ株式会社、並びにラードを提供していただいたミヨシ油脂株式会社に深謝いたします。

〔平成 6 年 (1994 年) 3 月 31 日受理〕

文 献

- 1) 清野 肇, 磯部次男, 渡辺昭一郎, 防菌防黴, 9, 119 (1981)
- 2) 磯部次男, 清野 肇, 渡辺昭一郎, 油化学, 34, 349 (1985)
- 3) 磯部次男, 清野 肇, 油化学, 38, 161 (1989)
- 4) 磯部次男, 防菌防黴, 13, 495 (1985)
- 5) 磯部次男, 清野 肇, 防菌防黴, 16, 453 (1988)
- 6) M.J. Laughton, B. Halliwell, P.J. Evans, J.R.S. Hoult, *Biochem. Pharmacol.*, 38, 2859 (1989)
- 7) O.I. Aruoma, P.J. Evans, H. Kaur, L. Sutcliffe, B. Halliwell, *Free Radical Res. Commun.*, 10, 143 (1990)
- 8) O. I. Aruoma, B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Loiger, *Xenobiotics*, 22, 257 (1992)
- 9) 磯部次男, 清野 肇, 油化学, 39, 931 (1990)
- 10) L. Hartman, *Chem. Ind. (London)*, 1960, 711
- 11) 磯部次男, 清野 肇, 防菌防黴, 18, 3 (1990)
- 12) K. Kovats, F.B. Kraszner, *Nahrung*, 11, 671 (1967)