総 説

抗酸化活性を示すフェノール性天然物の電気化学的特性

千葉 一 裕

東京農工大学農学部応用生物科学科 (〒183-8509 府中市幸町 3-5-8)

Electrochemical Characterization of Naturally Occurring Phenolic Antioxidants

Kazuhiro CHIBA

Laboratory of Bio-organic Chemistry, Tokyo University of Agriculture and Technology
(3-5-8, Saiwai-cho, Fuchu-shi, Tokyo 183-8509)

Abstract : Many phenolic compounds are essential to the regulation of electron transfer and show antioxidative activity and/or biological activity. Some of these compounds therefore give rise to unstable intermediates through oxidation, which subsequently may be converted to related natural products. The electron transfer and chemical reaction of phenolic compounds *via* oxidation process should play important role in the evaluation of their antioxidative property and biogenesis of phenolic metabolites. The electrochemical characterization of phenolic antioxidants including the compounds isolated from *Eucalyptus* spp are highlighted here.

Key words : antioxidant, phenol, euglobal, *Eucalyptus*, oxidation, biosynthesis

1 はじめに

食品にとって酸化は、品質を低下させる代表的な要因である。一方、自然界に生育する植物は、酸素や光の厳しい条件の下に曝されており、必然的にその防御策を講じていると考えられる。また、そればかりではなく、むしろこの酸素や光により促進される化学反応（あるいは生合成、生分解反応）を積極的に活用し、多様な物質変換やエネルギー変換を行うことにより、現在のところ未知なる部分がまだ多く残される、様々な生命現象を発現していると考えられる。

筆者らは植物成分の酸化的な構造変化、酸化的活性化をキーステップとする生物活性物質の生合成反応や、脂質などの酸化を抑制する作用について電気化学的、あるいは生物有機化学的な見地から研究を行っている^{1)~6)}。酸化とは、突き詰めれば電子の移動であるが、この過程を制御することは、新しい反応システムを構築し、より高い機能を有する抗酸化物質を得る上で、重要なことであると考えられる。今回は、主としてユーカリなど天然に由来するフェノール系の化合物に焦点を当て、その酸化による構造や反応性の変化、抗酸化活性物質の化学構造の特徴、植物由来の新しい抗酸化活性物質の効率的な探索方法などについて解説する。

2・1 フェノール性抗酸化物質の構造とその特性

トコフェロール (1) (Fig. 1) はフェノール性天然抗酸化物質として代表的なものであるが、天然からはすでに他にも多様な抗酸化活性物質が分離されており、これらはトコフェロールに匹敵するか、それを凌ぐ作用を示すものもある^{7)~9)}。一方、合成抗酸化物質としては BHA (2), (3), BHT (4) などが広く用いられている。一般に BHA や BHT などの合成抗酸化活性物質は、トコフェロールよりも強い抗酸化活性を示すが、フェノール特有の化学反応などによって共存する成分や生物との相互作用を引き起こすことも考えられる。このような性質は、フェノールの化学構造から予想されることが多い。そこで、まずはじめに一見多様に見えるフェノール系の化合物の、酸化反応に伴う構造の変化、酸化的活性中間体の反応性について考えてみたい。

ある物質が酸化されるということは、電子を奪われることである。たとえば最も単純な、置換基を持たないフェノール (14) が酸化される場合、まず一電子酸化を受けるとフェノキシラジカル (15) になり、さらに一電子酸化によってカチオン (16) となる。水溶液中でこの反応が進行すると、水がこのカチオンを攻撃し、二つのフェノール性水酸基を有するハイドロキノン (17) に変化し、このハイドロキノンは、さらに二電子酸化によ

Fig. 1 Structures of some phenolic antioxidants.

てキノン (18) に変化する。このように単純なフェノールでもキノンになることにより四電子放出することができる。

次に、より酸化されやすい、あるいはより酸化されにくいフェノールとはどのようなものであるかという点について、系統的に理解する必要がある。フェノールは置換基の種類や位置関係によって生成物や中間体の構造、安定性は大きく異なり、キノン、キノンモノケタール (19)、キノンメチド (20) などに変換された後、他の分子と反応することが多い。たとえばフェノール性水酸基のパラ位、またはオルト位に水酸基を有するものは、二電子酸化を経て、パラまたはオルトベンゾキノンへと変換される。また同じ位置に、水酸基の代わりにアルコキシ基が存在するものでは、酸化の過程でアセタール構造を有するキノンモノケタールなどに変換され、その後加水分解、またはアルコールの脱離によってキノンに変

換される。この反応は、トコフェロールの酸化過程などで確認されている。さらに、フェノール性水酸基のパラ、またはオルト位にアルキル基が結合している場合には、酸化反応の進行と共にキノンメチドが形成される。アビエタン骨格を有するジテルペン (21) などからは数種類のキノンメチド体 (22) が分離されており、同様の酸化経路を経て生成したものと考えられる。また、多くの場合この中間体は水などによる求核攻撃を受けることにより、アルコール等の官能基を新たに有した物質へと変換される。また、フェノールに特有のラジカルカップリング反応等による二量化も多く見られる。

それではこのような数多くのフェノール類の酸化反応はどのようにして予想し、評価することができるであろうか。ある化学物質を酸化する時には多くの場合、酸化剤を用いる (その酸化剤が空気であることもある)。このとき、その酸化剤によって酸化を受けるかどうかは酸

Fig. 2 Oxidation process of varied phenolic compounds.

化されやすい物質であるかどうかの一つの指標になる。フェノールは一般的には酸化されやすい物質であると理解されるが、これは、Fig. 2 に示すように、一電子酸化によってラジカルへと変換されたときの中間体 (15) が共鳴安定化するためである。特に、電子供与基を多く有するものではより安定になる。

このようなラジカルの生成は先に示した、いくつかの置換基を有するフェノールでもそれぞれ見られ、キノンなどに変換される第一段階として経由するステップとなる。しかし、個々のフェノールについてその性質を比較すること、あるいは予測することはなかなか困難なことである。そこで、我々は電気化学的な方法を用いることによって、フェノール類の電子の放出しやすさを系統的に解析しようと考えた。Fig. 4 には置換基を有するハイドロキノン (23) の典型的なサイクリックボルタモグラムを示す。この方法では、上向きおよび下向きのピーク位置から、それぞれ酸化および還元過程が明らかになる。フェノール類の酸化還元電位を測定すると、特にホルミル基やアセチル基など、電子求引性の置換基を有するフェノール類では酸化電位が高いことがわかる。このようなフェノールは酸化されにくく、酸化により生成した物質は一般には不安定であり、様々な化学反応に関与することが多い。一方、アルキル基、アルコキシル基など、電子供与性の置換基が結合したフェノール類では酸

化電位は低く、酸化されやすい性質を示す。

この手法を用いて化学合成によって得た天然物アナログの酸化電位を測定した (Fig. 5)。その結果、電子供与性の水酸基を三つ有するフロログシノールでも他に電子求引基を有するものは酸化電位が高い一方で、電子求引基の数が減少すれば、酸化電位は低くなる。また、タンニンのアナログとして合成した (30) などのようにベンジル位の活性なメチン基を有するものでは酸化電位が極めて低いことがわかった。またこの物質では還元ピークも顕著に観測され、酸化還元過程が可逆的に進行することも示された。これは、カテキンが酸化的に重合してベンジル位にフェニル基が結合することにより生成したタンニンは、酸化電位が低下し、優れた抗酸化活性を示すようになることを定性的に示すものである。

2.2 フェノール類の酸化反応を経由した構造変換

これまでにフェノールの酸化のプロセスから抗酸化活性との関連について一般的な知見を述べたが、このような酸化過程は生物の中でも巧みに利用され、ある時には脂質成分などの酸化の抑制に、またある時には様々な有用物質の生産に利用している。そこで次に、ユーカリ中に多量に含まれる様々な構造を有するフェノール性天然物を例にして、酸化に伴うフェノール類の多様な構造変換について示す。

コアラの食物として有名なユーカリは、実際には 3~

Fig. 3 Proposed oxidation process of phenolic antioxidants.

Fig. 4 Cyclic voltammogram of ethyl 3,4-dihydroxybenzoate.

4 属 800 種類以上の種が存在する。このユーカリには多量の油が含まれており、ユーカリ油の起源としても、あるいは木材、紙の原料としても人間生活に密着した植物である。そればかりではなく、古来よりユーカリは万能薬として注目されており、葉の熱水抽出物には消毒作用、かゆみ止め作用などがある他、熱帯地方ではマラリア、赤痢などに対する薬効があることが広く知られている。また、ユーカリの多くは葉を食べる害虫に対する抵抗性が強いなど、植物としての自己防御機能にも優れ、様々な生物活性物質を生産していることも容易に予測できる。このような背景もあって、近年ユーカリの中でも、とりわけユーカリノキ属 (*Eucalyptus*) の植物から、様々な化学物質が単離、構造決定された。これらの成分の多くはフロログルシノールを基本とするフェノール性の物質である。そして、このフロログルシノールを基本とした物質が、極めて多様な構造となって存在していることがユーカリ成分の大きな特徴と言える。

ユーカリには多量の油が存在しているため、抗酸化活性を有する物質も多く含まれていることが予想される。

Oxidation potentials vs. SCE in 1 M LiClO₄/CH₃NO₂

Anode (W) : glassy carbon

Cathode (C) : Pt

Fig. 5 Oxidation potentials of natural phenolic compounds and their analogues.

実際のところ、ユーカリから見いだされているフロログルシノール誘導体の中には、低い酸化電位を示すものも多く、(48)などは、抗酸化活性物質としても優れた作用があると考えられる。また、ユーカリの成分で興味深いことは、フェノール成分が酸化されるプロセスをそのまま多様な二次代謝産物の生産に利用していることである。Fig. 7に、ユーカリに含まれるフェノール性物質の予想される生成経路を示した。これらのフェノール成分は、ポリケタイドの Claisen 縮合および芳香環のメチル化を経て、酸化的に変換されて生成する。最初の酸化プロセスは (27) のベンジル位の酸化である。この物質を化学合成によって得た後、酸化電位を測定したところ 1.24 V であり、比較的酸化され易い物質であることが確認され、容易に (25)、(53) などに変換されることが考えられる。

一方、ユーカリからは、さらに酸化されたプロセスを経て生成した、ユーグロバール (32)–(38)、(41)–(45)あるいはロブスタジアール (39)、(40) と呼ばれる、一連の生理活性物質が分離、構造決定されている^{10)–14)}。これらの物質は、EB ウィルスによる皮膚癌プロモーターの活性化を抑制する作用や抗マラリア活性を示す一方で、その特異な化学構造から生成反応機構にも関心が高まっている。すなわち、ポリフェノール (多価フェノール) の一種であるフロログルシノール誘導体とテルペン類が付加環化反応することにより生成すると予想される。このような反応を経由しているとする、反応途中でフロログルシノール誘導体から酸化的にキノンメチ

ドが生成し、この不安定な中間体がテルペンと反応していることになる。この反応はホルミル基、あるいはアシル基など、電子求引性の置換基を二つ有するため、酸化電位が高くなる。それではこのような酸化電位が比較的高いフェノールはどのように酸化されるのであろうか。まずはじめに、電極を用いて種々の条件下、直接酸化的にキノンメチドに変換することを試みた。この物質は過塩素酸リチウムを支持塩としたニトロメタン溶液中では 1.50 V (Et₄ NOTs を支持塩とした時には 1.25 V) であり、この電解電位で酸化したところ、目的とする反応は全く進行せず、分解反応だけが起った。そこで新たに、より酸化電位の低いものを介して電子を奪う方法について探索することにした。すなわち、(63) よりも酸化電位が低いフェノールであっても、生じた中間体の酸化力が強く、この化合物から電子を奪う作用があれば、酸化還元メディエーターとして作用することにより、最終的には容易に酸化物を得られるのではないかと期待した。このような観点から様々なフェノール性物質を探索したところ 2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-hydroquinone (DDHQ) (62) に優れたメディエーターとしての作用があることが明らかになった。この物質のサイクリックボルタモグラムを測定すると、(63) よりも酸化電位は遙かに低く、また酸化波が二つのピークとして観測された。これは、第一酸化波が最初の一電子移動によるラジカルの生成を示していると考えられ、第二酸化波が二電子目の移動によるキノンへの変換過程を示している。そこで、わずかな DDHQ 存在下、第一酸化波の電位よ

Fig. 6 Structures of natural englobals and related compounds isolated from *Eucalyptus* spp.

りも低い電位に設定し、(25)の酸化を試みたところ、このような低い電位でも酸化反応が進行し、各種テルペンを共存させた場合は、キノンメチドを経由して生成したと考えられる生理活性天然物をフラスコ内で高い収率で得ることに成功した。

これらの結果は、適切なメディエーターと酸化を受ける基質を組み合わせることによって、このメディエーター自身が優れた抗酸化作用を微量で示すようになるという可能性を示すものである。ユーカリ自身が何らかのメディエーターを用いてユーグロバールの生合成に至る最終段階の反応を行っているかどうかについては未だ解明されていないが、酸化電位の高い基質に対して、より低い電位で酸化が進行して生成物ができる経路があるこ

とは明らかであり、酸化電位の高いフェノール性化合物でも、酸化還元メディエーターとの組合せによっては容易に酸化されることを示すものである。

3 優れた抗酸化剤の探索

これまで、フェノール類の酸化反応における電子移動過程、構造変化について述べてきたが、それでは優れたフェノール系抗酸化物質として必要な性質はどのようなものであろうか。一つには酸化還元電位が低いことが望ましく、さらに電子移動過程が可逆であること、酸化状態の安定性が高いこと、他の分子との反応性が低いことなどの条件があげられる。また、ユーカリ成分の酸化反応過程を例に示したように、たとえ酸化電位が高いもの

Fig. 9 Cyclic voltammograms of DDQ and phloroglucinol derivatives in 50 mM of Et_4NOTs in CH_3NO_2 .

Fig. 10 Electrochemical synthesis of natural euglobals using a redox mediator.

が最終的な電子供与体となったとしても、ここに介在して電子移動を進める物質が存在するならば、このメディエーターこそが再生可能な抗酸化剤になる可能性もある。このような物質を天然から探索するための方法として、サイクリックボルタンメトリー (CV) 法に注目している。この方法を用いると、酸化還元電位その他、酸化還元反応を繰り返した時の、波形形状の変化から、ある物質の電子移動過程の可逆性、酸化状態の安定性を評価することができるため、複数の分子の組合せによって作用を示す抗酸化剤を探索するのに好都合である。また、他の成分が共存しても、酸化還元反応を示す物質を

高感度に、短時間で検出することができる。これまでにユーカリなど、フトモ科植物や青シソなどシソ科植物に含まれるフェノール系物質の電気化学的特性を調べることにより、これらに優れた抗酸化活性があることを確認した^{15)~17)}。

4 おわりに

植物は自己防御の手段として抗酸化活性物質を生産し、巧みに利用している。その多くは、産業上も有用であり、実際に単一物質、粗抽出物の形で、あるいは食品の原料成分の機能をそのまま活かす形で利用されている。

また、一方で化学合成によって得られた抗酸化物質には優れた活性が見られながら、大量に使用したときの問題点なども指摘され、天然由来の新しい、強い活性を有した物質への期待は大きい。このような天然抗酸化物質は今後も、多数の物質が見いだされると予想されるが、天然物をヒントに、より優れたものを天然物から変換して得るということも新たな取り組みとして必要なことではないかと考えられる。これまで、述べたように優れた抗酸化活性を示すフェノールの、構造的、電気化学的な特性が明らかになってきた。これらの特性を有する物質の原料は植物界に多く認められ、きわめて簡単な構造変換によって達成することができるものが多い。また、この構造変換によって、抗酸化活性の増加ばかりでなく、色、臭い、あるいは有害な性質の低減、安定性の増加等、産業上必要となる機能をもたせることが可能になると考えられる。

謝 辞

本研究は文部省科学研究費（重点領域研究 No. 283）、（財）飯島記念食品科学振興財団、三栄源食品化学研究振興財団ならびに（財）旗影会の研究助成により行われた。（受付：1998年4月20日，受理；1998年6月6日）

文 献

- 1) K. Chiba, M. Tada, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 2485.
- 2) K. Chiba, J. Sonoyama, M. Tada, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 1381.
- 3) K. Chiba, J. Sonoyama, M. Tada, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1996, 1435.
- 4) K. Chiba, T. Arakawa, M. Tada, *Chem. Commun.*, 1996, 1763.
- 5) 千葉一裕, 多田全宏, 有機合成化学協会誌, 54, (8), 686 (1996).
- 6) K. Chiba, M. Jinno, A. Nozaki, M. Tada, *Chem. Commun.*, 1997, 1403.
- 7) T. Kawada, T. Watanabe, T. Takahashi, T. Tanaka, K. Iwai, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 183, 250 (1986).
- 8) T. Kawada, S. Sakabe, T. Watanabe, M. Yamamoto, K. Iwai, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 188, 229 (1988).
- 9) T. Kawada, K. Iwai, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 441 (1985).
- 10) M. Kozuka, T. Sawada, F. Kasahara, E. Mizuta, T. Amano, T. Komiya, M. Goto; *Chem. Pharm. Bull.*, 30, (6), 1952 (1982).
- 11) M. Kozuka, T. Sawada, E. Mizuta, F. Kasahara, T. Amano, T. Komiya, M. Goto, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, (6), 1964 (1982).
- 12) M. Takasaki, T. Konoshima, K. Fujitani, S. Yoshida, H. Nishimura, H. Tokuda, H. Nishino, A. Iwashima, M. Kozuka, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, (10), 2737 (1990).
- 13) M. Kokumai, T. Konoshima, M. Kozuka, *J. Natl. Products*, 54, (4), 1082 (1991).
- 14) M. Takasaki, T. Konoshima, M. Kozuka, M. Haruna, K. Ito, S. Yoshida, *Chem. Pharm. Bull.*, 42, (10), 2177 (1994).
- 15) M. Tada, T. Hara, C. Hara, K. Chiba, *Phytochemistry*, 45, (7), 1475-1477 (1997).
- 16) M. Tada, R. Matsumoto, H. Yamaguchi, K. Chiba, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, (7), 1093-1095 (1996).
- 17) M. Tada, R. Matsumoto, K. Chiba, *Phytochemistry*, 43, (4), 803 (1996).

日本油化学会誌本号掲載 論文要旨

[総説]

抗酸化活性を示すフェノール性天然物の
電気化学的特性

千葉 一 裕

東京農工大学農学部応用生物科学科 (〒183-8509 府中市幸町 3-5-8)

天然には様々なフェノール性物質が存在し、多様な生物活性を示す他、有用な機能を持つ物質も多数知られている。とりわけフェノール性物質は、電子移動過程に関与し、酸化還元反応などに重要な役割を果たすものも多い。また、酸化的に活性化された状態では、高い反応性を示し、多くの関連化合物に変換されることがある。このようなフェノール類の酸化的な反応過程は、抗酸化活性の発現機構や、多様な生物活性物質の生成過程を考える上でも重要なステップとなると考えられる。今回、天然由来の抗酸化活性物質やユーカリに含まれるフェノール性化合物に焦点をあて、それらの生成機構、酸化過程における活性中間体の反応性についての電気化学的な特性解析法に関する筆者のこれまでの研究を中心に解説する。

フェノールは置換基の種類およびその結合位置によって性質が大きく変化する。特に電子供与性の置換基を多く持つものは低い酸化電位を示し、電子を放出することによって、フェノキシラジカルを経てキノン、キノンメチド、キノンモノケタールなどに変換される。この電子の放出しやすさは電気化学的に評価できる。また、酸化電位の高いフェノールも適切な酸化還元メディエーターが存在すれば低い酸化電位で酸化することができる。優れた抗酸化剤は電子を容易に供与する他、酸化状態が安定であること、電子移動について可逆であることなどが重要である。これらの性質を解析する上で電気化学的な方法は重要な役割を果たすと考えられる。

(連絡者：千葉一裕) Vol. 47, No. 8, 743 (1998)

[報文]

オゴノリによるプロスタグランジンの生産

中島 一郎^{*1}・砂崎 和彦^{*2}・大場 健吉^{*3}^{*1} ライオン株式会社研究開発本部生物科学センター (〒256-0811 神奈川県小田原市田島 100)^{*2} ライオン株式会社薬事部 (〒130-0004 東京都墨田区本所 1-3-7)^{*3} ライオン株式会社研究開発本部 (〒132-0035 東京都江戸川区平井 7-13-12)

寒天の原料として汎用される紅藻類の海藻オゴノリ (*Gracilaria verrucosa*) は、海に生息している状態ではプロスタグランジン (PG) を含まない。しかし、物理的刺激を受けると、藻体内に保有する酵素と基質を利用して多量の PG を生成した。

PG 生成量は乾重量あたり約 2 g/kg に達し、組成の 90% は PGE₂ であった。生成される PG 組成は、藻体に含まれる高度不飽和脂肪酸の組成を反映するが、各 PG に対応した前駆体の添加により制御可能であった。

オゴノリの単藻培養により、この海藻自身が PG を生成することを確認した。また、数種のオゴノリ近縁種に少量の PG 生成が認められた。

(連絡者：中島一郎) Vol. 47, No. 8, 753 (1998)