油脂の酸化防止に関する研究 (第2報) Caffeic 及び Dihydrocaffeic ester 類の抗酸化性

田村三郎, 大熊和彦, 林 忠彦 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 27 年 4 月 1 日 受理

Studies on the Inhibition of the Autoxidation of Fats and Oils. Part 2. On the Antioxygenic Property of Caffeic and Dihydrocaffeic Esters.

By Saburo TAMURA, Kazuhiko OHKUMA and Tadahiko HAYASHI

(Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

ま え が き

ポリフェノールカルボン酸及びそのエステル類が抗酸化性を有することは古くから知られており、とくに没食子酸のエステル類の有効性及び実用性は広く認められているところである。o-デフェノールカルボン酸たる protocatechuic acid 及びそのエステルの抗酸化性については LEA⁽¹⁾, 大島⁽²⁾らが報告を行つているが, caffeic ester に関する文献はほとんどなく又 dihydrocaffeic ester^{(3),(4)} についても十分な検討が行われていない。著者らは dihydroxyphenyl-alkanoic ester 類の化学構造と抗酸化性との関係を系統的に検討して行く第一の段階として、つぎのように caffeic 及び dihydrocaffeic ester 類を合成してその抗酸化を鰵肝油中のビタミン A を対象として検討した。

Caffeic ester 類の合成については HELFRICH⁽⁵⁾の報告があるが、それにはメチルエステルの合成法のみが述べられており、その方法に準じてエチル及びプロピルエステルを合成しようとすると生成物の中に樹脂様物質が混入して来て収量は極めて悪い。著者らは後述の如くその合成法に改良を加えて比較的好収量でこれらのエステルを合成することができた。

Dihydrocaffeic ester 類の合成については文献に記載がないので caffeic ester の合成に準じて合成した。

なお caffeic acid をメタノール溶媒中で触媒還元により dihydrocaffeic acid とする場合 methyl dihydrocaffeate が副成して生成物中に混入して来るが、これを桂皮酸の還元の場合に準じて水酸化ナトリウムで加水分解しようとする生成物全体が樹脂化する。著者らは稀塩酸で加水分解を行うことにより好収量で純粋な dihydrocaffeic acid が得られることを知った。

実 験

A. 被検物質の合成

Protocatechualdehyde “Organic Syntheses” 記載の方法⁽⁶⁾により piperonal 54 g より本物質 32 g (計算量の 66%, 文献⁽⁶⁾ 62%) を得た。mp. 151~153° (文献⁽⁶⁾ mp. 153~154°)

Caffeic acid “Organic Reaction” 記載の方法⁽⁷⁾により protocatechualdehyde 32 g より本物質 31 g (計算量の 80%, 文献⁽⁷⁾ 87%) を得た。mp. 200° (文献⁽⁸⁾ mp. 198°).

Methyl caffeate Caffeic acid 5 g, 無水メタノール 50 cc 及び濃硫酸 1.5 cc を 1.5 時間加熱還流した後水約 50 cc を加えて放置するとエステルが析出する。エーテル-リグロインから再結すると mp. 162° (文献⁽⁹⁾ mp. 162°) の紫色針状結晶が 4.7 g (計算量の 90%) 得られる。

Ethyl caffeate Caffeic acid 5 g, 無水エタノール 50 cc 及び濃硫酸 1.5 cc を 1.5 時間加熱還流した後炭酸ガスを通じつつアルコールを減圧下に追出し, さらに水を加えてアルコールを完全に追出してから生成物をエーテルで抽出する。エーテル溶液を少量の 1% 炭酸ナトリウム水溶液と振とうして未反応の酸及び反応間に生成した樹脂様物質を除き, ついで少量の水で洗つてから脱水硫酸ナトリウムで乾燥する。エーテルを溜去し残渣を稀アルコールから再結すると mp. 147° (文献⁽⁶⁾ mp. 149.5°) の無色鱗片状結晶が 2 g (計算量の 58%) 得られる。

n-Propyl caffeate エチルエステルの製法に準じて合成する。収量は計算量の 70%, エーテル-リグロインより再結すると mp. 124° (文献⁽⁵⁾ mp. 127°) の無色針状結晶が得られる。

Dihydrocaffeic acid a. ナトリウムアマルガムによる還元 HLASIWETZ の方法⁽⁹⁾ に準じて caffeic acid を 3% ナトリウムアマルガムで還元し計算量の 87% の収量で mp. 137° の結晶を得た。エーテル-ベンゼンより再結すると mp. 139~140° (文献⁽⁹⁾ mp. 140°)。

b. 接触還元 GATTERMAN⁽¹⁰⁾, 赤堀ら⁽¹¹⁾の桂皮酸の還元法に準じて caffeic acid をパラジウム触媒を用いて還元し, ほとんど定量的の収量で mp. 130° の結晶を得た。反応間副成するメチルエステルを稀塩酸で加水分解しベンゼンから再結すると純品が得られる。

Methyl dihydrocaffeate Dihydrocaffeic acid 3 g, 無水メタノール 30 cc 及び濃硫酸 1.5 cc を 1.5 時間加熱還流した後炭酸ガスを通じつつアルコールを減圧下に追出し, さらに水を加えて完全にアルコールを追出してから生成物をエーテルで抽出する。エーテル溶液を少量の 1% 炭酸ナトリウム水溶液と振とう, 水洗後脱水硫酸ナトリウムで乾燥する。エーテルを溜去し残渣をエーテル-リグロインから再結すると mp. 74~75° の無色針状結晶が 2.5 g (計算量の 80%) 得られる。

$C_{10}H_{12}O_4$ として計算値 C 61.21, H 6.16; 実験値 C 61.09, H 6.44.

Ethyl dihydrocaffeate メチルエステルの製法に準じて合成した。mp. 46~47°. 収量は計算量の 70% $C_{11}H_{14}O_4$ として計算値 C 62.84, H 6.71; 実験値 C 62.78, H 6.24.

n-Propyl dihydrocaffeate メチルエステルの製法に準じて合成したが結晶化しないので減圧蒸溜により精製した。bp. 166~170/0.03 mm. 収量は計算量の 80%. $C_{12}H_{16}O_4$ として計算値 C 64.26, H 7.19; 実験値 C 63.98, H 7.53.

Protocatechuic acid "Organic Syntheses" 記載の方法⁽¹²⁾に準じ vanillin をアルカリ熔融して合成した。mp. 189° (文献⁽¹²⁾ mp. 190°). 収量は計算量の 92% (文献⁽¹²⁾ 89~99%).

Ethyl protocatechuate HESSE⁽¹³⁾の合成法によらず上述の ethyl caffeate の合成法に準じて protocatechuic acid をエステル化した。mp. 132~134° (文献⁽¹³⁾ mp. 134°). 収量は計算量の 95%.

Ethyl gallate 市販品を稀アルコールから再結した。mp. 152~155° (文献⁽¹⁴⁾ mp. 154~155°).

B. 抗酸化力の検定

500 cc の三角フラスコに被検抗酸化剤の一定量 (ethyl gallate を肝油中におけるその濃度が 0.05% になるように秤取し, その他の物質は ethyl gallate の量に相当するだけのモル数を秤取する) をとつて iso-プロパノール 0.5 cc にとかし, これに鱈肝油 (産地及び採油法不明, $E_{1\text{cm}}^{1\%} 328 \text{ m}\mu = 7.90$) 20 g を加えた後 rotary shaker (190~200 回/min. 偏心 3 cm) にのせて 24° の恒温室中で振とうを続ける。一定時間毎に約 20 mg の油を秤取し, 無水エタノール 50 cc にとかして Beckman spectrophotometer にて波長 328 $\text{m}\mu$, 300 $\text{m}\mu$, 350 $\text{m}\mu$ における吸光係数を測定して肝油中のビタミン A の自己酸化による単位の減少を測定し, ビタミン A の単位が 50% 減少するまでの日数を Stability Value とした。本検定法によりビタミン A の単位が減少して行く状態は Table 1 の如くであり, 被検抗酸化剤の抗酸化能を表示すれば Table 2 の通りである。

Table 1. The Changes of $E_{1\text{cm}}^{1\%} 328 \text{ m}\mu$ of Cod-Liver Oil at 24°.

Days	0	4	7	8	11	12	13	14	21	25	29	30	31	32	33
Compd. added															
None	7.90	7.78	7.12	6.70	5.54	0.80	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Et protocatechuate	7.90	7.52	—	6.47	—	—	5.10	0.64	—	—	—	—	—	—	—
Me caffeate	7.90	8.29	—	7.69	—	—	—	7.35	7.23	6.87	6.18	—	6.02	5.30	0.71

Table 2. The Antioxygenic Activity of Antioxidants for Vitamin A in Cod-liver Oil at 24°.

Compd.	Molecular weight.	Wt. of compd. added, (g.)	Stability Value, (days)
Me caffeate	194	0.0093	32
Et caffeate	208	0.0105	32
<i>n</i> -Pr caffeate	222	0.0112	32
Me dihydrocaffeate	196	0.0098	35
Et dihydrocaffeate	210	0.0107	35
<i>n</i> -Pr dihydrocaffeate	224	0.0113	38
Et protococatechuate	182	0.0092	13
Et gallate	198	0.0010	46
none	—	—	11

む す び

o-Dihydroxyphenyl-alkanoic ester 類の抗酸化性を系統的に検討するための第一段階として caffeic 及び dihydrocaffeic ester 類を合成してその系列の最も簡単な化合物である ethyl protococatechuate の抗酸化能と比較したが, caffeic 及び dihydrocaffeic ester 類がかなり顕著な抗酸化性を示したのに反して ethyl protococatechuate は本実験の濃度(約 0.05%)においてはほとんど抗酸化性を示さなかつた。フェール基とカルボニル基との間に炭素-炭素二重結合を導入すると抗酸化能の著しい増加が認められ、

しかもそれを飽和すると一層の増加が認められることについてはこの実験のみではその原因を明かにしえないので、今後さらにフェール基とカルボニル基との間の chain の長さ及び形をいろいろ変えたエステル類を合成して、化学構造と抗酸化性との関係を明かにし、有効な新抗酸化剤を合成する基礎を見出したいと考えている。

なお本実験に用いた抗酸化能検定法は常温においてよく各被検物質の誘導期を確認しうるので検定法としては適当なものと思う。

終りにのぞみ本研究に関し終始いろいろと指導を与えて下さった恩師住木教授に厚く感謝の意を表わします。なお分析を担当された当農芸化学科分析室の山本, 中山嬢ならびにビタミンAの定量を担当された当農学部太田嬢に感謝します。本研究に要した費用は文部省試験研究費によつたことを附記する。

(1) LEA : <i>J. Soc. Chem. Ind.</i> , 63, 107 (1944) (<i>C. A.</i> 38, 5319).	(7) <i>Organic Reactions</i> , Vol. I, 250.
(2) 大島, 有馬 : 農化, 26, 344 (1952).	(8) PAULY, NEUKAM : <i>Ber.</i> , 40, 3494 (1907).
(3) ELDEN, LEVENSON : <i>U.S.P.</i> 2,437,731 (1948).	(9) HLASIWETZ : <i>Ann.</i> , 142, 354 (1867).
(4) BICKOFF : <i>J. Am. Oil Chemists' Soc.</i> , 28, 65 (1951).	(10) GATTERMANN : <i>Die Praxis des org. Chemikers</i> , 27. Auf., 373 (1940).
(5) HELFRICH, VORSATZ : <i>J. prakt. Chem.</i> , 142, 191 (1934).	(11) AKABORI, SUZUKI : <i>Chem. Zentr.</i> , II, 2033 (1929).
(6) <i>Organic Syntheses</i> , Vol. XVIII, 75.	(12) <i>Organic Syntheses</i> , Vol. XXIX, 85.
	(13) HESSE : <i>Ann.</i> , 114, 295 (1860).
	(14) E. FISCHER : <i>Ber.</i> , 42, 1022 (1909).

Summary

To examine the relation between the structure of *o*-dihydroxyphenyl-alkanoic acid and their antioxygenic property, caffeic and dihydrocaffeic esters were synthesized and their effectiveness for stabilizing vitamin A in cod-liver oil was determined using the Beckman spectrophotometer. As the standard antioxidant ethyl gallate was added to liver oil in concentration of 0.05% and other compounds to be tested were incorporated with it on an equivalent molecular basis. The liver oil was shaken on a rotary shaker (190~200 r./min) at 24°. The stability value of the control (i. e., the time in days for 50% loss of vitamin A in the absence of antioxidants) was 11 days. The stability value of ethyl protococatechuate was 13 days, but introduction of C=C double bond between phenyl and carbonyl groups as in caffeic esters led to marked enhancement in effectiveness to 32 days. Moreover, hydrogenation of the double bond as in dihydrocaffeic esters increased activity to 35 days but activity of these compounds was inferior to that of ethyl gallate (stability value, 46 days).