トコフェロールの脂質過酸化抑制作用と酸化生成物†

山 内 亮

(岐阜大学農学部)

はじめに

トコフェロール (Toc) は食用油脂の酸化変敗を防ぐ天然の抗酸化剤としてよく知られており、生体内での主な役割も脂質過酸化物の生成を抑制するラジカルスカベンジャーであると考えられている。Toc は脂質過酸化の抑制過程で種々の酸化生成物に変わる。これまでに Toc の酸化生成物についての報告は多数あり、成書^(1,2)にも詳しく述べられている。しかし、実際の脂質過酸化抑制時に Toc が何に変わるかについては未だ不明な点が多い。Toc 同族体、とくにビタミン E 活性の最も高い α -Toc の酸化生成物を明らかにすることは、Toc の抗酸化機構を解明する上で重要である。本稿ではまず Toc の抗酸化作用について述べ、次いで抗酸化作用の結果生ずる α -Toc 酸化生成物の最近の研究について述べる。

1. トコフェロールの抗酸化作用

Toc は脂質ラジカル連鎖反応に対して、脂質ペルオキシラジカルを捕捉して連鎖反応を停止させることによって抗酸化作用を行っている⁽³⁾。ラジカル連鎖反応は脂質を LH で表すと以下のように書ける。

すなわち、(1)と(2)の反応で生じた脂質ペルオキシラジカル $\text{LOO}^\bullet$ は、(3)と(2)の連鎖反応を起こし脂質過酸化が進行する。この反応系に Toc が存在すると、以下の(4)と(5)の反応によってラジカル連鎖反応は停止する。

脂質ペルオキシラジカルが Toc のフェノール性水素

を引き抜く(4)の反応で、Toc は脂質ペルオキシラジカルに水素を供与すると同時に Toc ラジカル $\text{Toc}^\bullet$ となる。Toc 同族体の抗酸化能の差異は、(4)の反応における脂質ペルオキシラジカルとの反応性の差に基づくものである。この(4)の反応速度定数は、表1に示したように種々のラジカルに対して決定されている⁽⁴⁻⁶⁾。

いずれのラジカルに対しても Toc の反応速度定数は α -Toc > β -Toc $\cong$ γ -Toc > δ -Toc の順であり、Toc のビタミン E 活性に比例した。Toc ラジカルは比較的安定であり、(5)あるいは以下の(6)の反応によって非ラジカル生成物になる。

α -Toc の場合には脂質中の濃度が高くなると、生成した α -Toc ラジカルは脂質を攻撃して以下の(4)の逆反応あるいは(7)の反応を起こす⁽⁷⁾。

ここで生じた脂質ペルオキシラジカル $\text{LOO}^\bullet$ 、脂質ラジカル $\text{L}^\bullet$ はさらに(2)と(3)によって反応が進行し、結局多量の脂質とドロペルオキシンド LOOH の蓄積をもたらす。

一方、 α -Toc ラジカルはアスコルビン酸 AsA と反応して(8)のように α -Toc を再生することができる⁽⁸⁾。

α -Toc とアスコルビン酸が共存する反応系では、脂質ペルオキシラジカルと反応して生じた α -Toc ラジカルは再び α -Toc に戻るため α -Toc の抗酸化能は高まる⁽⁹⁾。

以上のように、Toc は脂質ペルオキシラジカルと速やかに反応してペルオキシラジカルに水素を供与してラジカル連鎖反応を止め、Toc 自身はラジカルとなり、それがさらに別のラジカルと反応して安定化することにより抗酸化作用を発揮しているものである。

2. α -トコフェロールからの酸化生成物

Toc が抗酸化剤であるとの認識から、モデル実験とし

† Antioxidant Effect of Tocopherols on Lipid Peroxidation and Their Oxidation Products.
Ryo YAMAUCHI (Department of Agricultural Chemistry, Gifu University, Gifu 501-11)

て各種酸化剤で処理したときの Toc の酸化生成物について検討がなされている。すなわち、 α -Toc を FeCl_3 等で酸化すると α -Toc-quinone (I) を生じ、アルカリ性 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ で酸化すると α -Toc-dimer (II) が生じる⁽¹⁾。油脂の自動酸化反応系でもこれらの α -Toc 酸化生成物が報告されている⁽¹⁰⁾。生体系で同定された酸化生成物としては α -Toc-quinone があるが、その存在比はほとんど認められない場合⁽¹¹⁾から多量に存在する場合⁽¹²⁾が報告されている。また α -Toc-dimer, α -Toc-trimer が存在するとの報告もある⁽¹³⁾。生体膜モデルであるレシチンリポソームを用いた α -Toc 酸化生成物の研究からは α -Toc-quinone を HPLC により検出している⁽¹⁴⁾。

Toc が抗酸化作用を行ったあとに生じた Toc ラジカルは前述の反応式 (5) と (6) に従えば、Toc ラジカルと脂質ペルオキシラジカル、あるいは Toc ラジカル同士が反応して非ラジカル生成物を形成するはずである。そこで Toc とペルオキシラジカルの反応生成物の検討がなされてきている。Winterle ら⁽¹⁵⁾は α -Toc をアセト

図 1 1 mol % α -Toc を添加したリノール酸メチルの自動酸化におけるペルオキシド量の変化と α -Toc 酸化生成物量の変化

A, ペルオキシド量の変化. ●, 無添加; ○, 1 mol % α -Toc 添加. B, α -Toc および酸化生成物量の変化. ○, α -Toc; △, α -Toc-dimer; □, α -Toc-trimer.

ニトリルあるいはヘキサン中でアルキルペルオキシラジカルと反応させると、 α -Toc の 8a 位にペルオキシラジカルが結合した化合物 III が生成することを示した。この III は前述の反応式 (5) で示した脂質ラジカルと α -Toc ラジカルの反応生成物として興味深い。Matsumoto ら⁽¹⁶⁾も α -Toc のモデル化合物と *t*-ブチルペルオキシラジカルを反応させ、同様に 8a 位に *t*-ブチルペルオキシ基が結合した化合物を得ている。Sumarno ら⁽¹⁷⁾は α -Toc と *t*-ブチルヒドロペルオキシドをエタノール存在下で反応させると、5a 位にエトキシ基が結合した化合物 IV ができることを示し、IV の反応中間体として quinone methide を推定した。quinone methide は α -Toc-dimer, α -Toc-trimer 生成の中間体としても考えられている⁽²⁾。

われわれは食品中における α -Toc の抗酸化機構を解明するために、まずリノール酸メチルに α -Toc を添加

表 1 トコフェロール同族体とラジカル類の反応速度定数

	Burton <i>et al.</i> ⁽⁴⁾ $\times 10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	Niki <i>et al.</i> ⁽⁵⁾ $\times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	Mukai <i>et al.</i> ⁽⁶⁾ $\times 10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
α -Toc	2.35 $\pm$ 0.50	10.1	5.12 $\pm$ 0.36
β -Toc	1.66 $\pm$ 0.33	5.44	2.24 $\pm$ 0.04
γ -Toc	1.59 $\pm$ 0.42	5.00	2.42 $\pm$ 0.16
δ -Toc	0.65 $\pm$ 0.13	4.76	0.51 $\pm$ 0.01
Technique	O ₂ Consumption	ESR	Stopped-flow
Radical	Poly-(styrylperoxyl)	Galvinoxyl	Phenoxy
T/°C	30	30	25

して 37°C で自動酸化させ、 α -Toc の酸化生成物を分析した⁽¹⁸⁾。その結果、酸化生成物として立体異性の関係にある 2 つの α -Toc-trimer (Va, Vb) の構造を明らかにした。さらに、リノール酸メチルに対し 1 mol% の α -Toc を添加して自動酸化させた場合の α -Toc の主要酸化生成物を HPLC で分析したところ、 α -Toc の抗酸化の初期過程でまず α -Toc-dimer が生成し、ついで α -Toc-trimer が蓄積した (図 1)。本自動酸化反応条件では今まで α -Toc の主要酸化生成物であると考えられていた α -Toc-quinone は検出されず、 α -Toc-dimer は反応の初期にわずかに生成しただけであった。この結果は、リノール酸メチルの自動酸化抑制過程で α -Toc ラジカルができると α -Toc ラジカルは互いに反応し、最終的に非ラジカル生成物である α -Toc-trimer を形成することを示している。食品中や生体内の α -Toc の抗酸化過程においてもこれらの α -Toc 酸化生成物が生成するかどうかは、今後さらに検討する必要がある。

おわりに

Toc の脂質過酸化抑制には、Toc と脂質ペルオキシラジカルとが反応して生成する Toc ラジカルが大きく関与している。そこで Toc の抗酸化機構を知るためには Toc ラジカルがさらに何に変化するかが明らかにする必要がある。今まで Toc の酸化生成物については定性的なデータが多かったが、最近の分析方法、とりわけ HPLC 法の進歩により Toc の酸化生成物の定量的取り扱いが可能となってきた。したがって、脂質過酸化反応より生ずる Toc の酸化生成物を詳細に分析すれば、Toc が食品中あるいは生体内でフリーラジカルスカベンジャーとしてどのように作用しているかより明確になるであろう。

- (1) 勝井五一郎:「ビタミン E」, 島薺順雄, 勝井五一郎編, 朝倉書店, 1973, p.3.
- (2) 貴島静正:「ビタミン E」, 島薺順雄, 勝井五一郎編, 朝倉書店, 1973, p.130.
- (3) 二木鋭雄:「ビタミン E」, 五十嵐脩編, 医歯薬出版, 1985, p.59.
- (4) G. W. Burton and K. U. Ingold: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6472 (1981).
- (5) E. Niki, J. Tsuchiya, Y. Yoshikawa, Y. Yamada and Y. Kamiya: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**, 497 (1986).
- (6) K. Mukai, Y. Watanabe, Y. Uemoto and K. Ishizu: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**, 3113 (1986).
- (7) J. Terao and S. Matsushita: *Lipids*, **21**, 255 (1986).
- (8) J. E. Packer, T. F. Slater and R. L. Willson: *Nature*, **278**, 737 (1979).
- (9) E. Niki, T. Saito, A. Kawakami and Y. Kamiya: *J. Biol. Chem.*, **259**, 4177 (1984).
- (10) A. S. Csallany, M. Chiu and H. H. Draper: *Lipids*, **5**, 63 (1970).
- (11) J. G. Bieri and T. J. Tollirer: *Lipids*, **16**, 777 (1981).
- (12) P. E. Hughes and S. B. Tove: *J. Biol. Chem.*, **255**, 7095 (1980).
- (13) H. H. Draper, A. S. Csallany and M. Chiu: *Lipids*, **2**, 47 (1967).
- (14) H. Weenen and N. A. Porter: *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 5216 (1982).
- (15) J. Winterle, D. Dulin and T. Mill: *J. Org. Chem.*, **49**, 491 (1984).
- (16) S. Matsumoto, M. Matsuo, Y. Iitaka and E. Niki: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1986**, 1076.
- (17) M. Sumarno, E. Atkinson, C. Suarna, J. K. Saunders, E. R. Cole and P. T. Southwell-Keely: *Biochim. Biophys. Acta*, **920**, 247 (1987).
- (18) 山内 亮, 加藤宏治, 上野良光, 日本農芸化学会昭和 62 年度大会講演要旨集, 1987, p.782.