

リコピンの抗酸化に関する化学的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 横田, 正 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2668

氏 名 (本 國 籍)	横 田 正 (岡山県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 327 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学 位 論 文 題 目	リコピンの抗酸化に関する化学的研究
審 査 委 員 会	主査 静岡大学 教 授 衛 藤 英 男 副査 静岡大学 助教授 轟 泰 司 副査 岐阜大学 教 授 加 藤 宏 治 副査 信州大学 教 授 茅 原 紘

論 文 の 内 容 の 要 旨

自然界に広く分布する黄色、橙色、紅色の色素であるカロテノイドは、様々な生理機能を持つことが明らかになっている。中でも、リコピンは抗酸化作用・発ガン予防作用などの生理作用で注目されている。これは、リコピンの持つ高い活性酸素消去能であると言われている。そこで、リコピンと一重項酸素をはじめとした様々な活性酸素種との反応が行われてきた。リコピンとメタクロロ過安息香酸 (*m*CPBA) および過酸化水素水との反応において、末端に 5 員環を有した酸化体 (2,6-cyclolycopene) が単離されている。以前、我々はトマトピューレ中より 2,6-cyclolycopene-1,5-diol を単離した。今回、トマトピューレより新たなリコピン酸化体の単離を試みた。また、リコピンと *m*CPBA およびペルオキシナイトライト (ONOO^-) の反応生成物を解析し、リコピンの抗酸化機構の解明を行った。

1. トマトピューレからのリコピン酸化体の単離: トマトピューレ 3Kg に水を加え遠心分離し、その沈殿物にメタノールを加えさらに遠心分離を行った。この上澄みは、減圧濃縮後ジクロロメタンで抽出した。一方、沈殿物はベンゼンで抽出し、減圧濃縮後、ジクロロメタン-メタノールの再結晶によりリコピンを取り除いた。この母液と先ほどのジクロロメタン抽出物を合わせて減圧濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、逆相 HPLC (ODS および C-30) により 1,16-didehydro-2,6-cyclolycopene-5-ol (1; 5mg) と 1-methoxy-2,6-cyclolycopene-5-ol (2; 5mg) を得た。これらは、共役二重結合を 10 個有し生理活性が期待できる。

2. リコピンと *m*CPBA の反応: リコピンを THF に溶解させ、そこに *m*CPBA の THF 溶液を添加し、4 時間反応させた。その結果、lycopene 1,2-epoxide および lycopene 5,6-epoxide と考えられる酸化体が生成し、この lycopene 5,6-epoxide は不安定で、環化して各種イリダン骨格を有する化合物が生成した。今回、トマトピューレから単離された化合物 1 および 2 を単離した。ま

た、これらの化合物はこれまで単離されている 2,6-cyclolycopene-1,5-diol と同じ立体であり、その生成機構は SN2 タイプの反応で生成すると考えられた。

3. リコピンとペルオキシナイトライトとの反応: リコピンを THF に溶解させ、ペルオキシナイトライト溶液を最終濃度 1mM になるように添加し、遮光下室温にて 1 分間反応させた。反応生成物の構造から、①酸化開裂により生成した各種リコペナル、②開裂を伴わない酸化体、③シス異性体、の大きく 3 つのグループに分類できた。

4. リコピンの抗酸化機構: 以上の結果より、リコピンは *m*CPBA と反応し、lycopene 1,2-epoxide および lycopene 5,6-epoxide を生成し、その後、さらに環化して 2,6-cyclolycopene となり、ペルオキシナイトライトに対しては、直接反応しジオキセタンを経由して apo-lycopenal、2,6-cyclolycopene が生成する。または、エネルギーを受け取り、励起状態(ビラジカル)となり、この状態から基底状態に落ちる際にシス化した化合物へ誘導したと考えられ、この結果は *m*CPBA による酸化とは異なっていることも明らかに出来た。

審 査 結 果 の 要 旨

平成 16 年 1 月 29 日(木)に、静岡大学農学部において審査員を含む関連教官、学生の出席のもと、横田正氏の博士論文の公開発表会が行われ、引き続き質疑応答が行われた。

横田正氏の博士論文は、トマトピューレからリコピン酸化体を単離し、また、リコピンとメタクロロ過安息香酸およびペルオキシナイトライトの反応を行い、これらの反応生成物の解析によって、リコピンの抗酸化機構を推定したものである。

トマトピューレから、水およびメタノールを加え遠心分離および再結晶などを行ない、その後、各種クロマトグラフィーに供し、分離精製後、スペクトルデータの解析により、1,16-didehydro-2,6-cyclolycopene-5-ol (1) と 1-methoxy-2,6-cyclolycopene-5-ol (2) を天然物として初めて単離した。これらは、共役二重結合を 10 個有し生理活性が期待できる。

続いて、これらリコピン酸化体の生成メカニズムを明らかにするため、リコピンと *m*CPBA、ペルオキシナイトライトとの反応を行った。*m*CPBA との反応では、lycopene 1,2-epoxide と lycopene 5,6-epoxide と考えられる酸化体が生成し、この lycopene 5,6-epoxide は不安定で、環化して各種イリダン骨格を有する化合物が生成した。今回、トマトピューレから単離された化合物 1 および 2 が生成することが分かった。また、これらの化合物は、これまでに単離、報告されている 2,6-cyclolycopene-1,5-diol と同じ立体であり、その生成機構は SN2 タイプの反応で生成すると考えられた。ペルオキシナ

イトライトとの反応では、酸化生成物を①酸化的開裂により生成した各種リコペナール、②開裂を伴わない酸化体、③シス異性体、の大きく 3 つのグループに分類できた。これらの生成物のうち、①および②は中間体としてジオキセタンを経由すると考えられ、③のシス異性体はエネルギーの授与により生成すると推定され、*m*CPBA の酸化とは異なる機構であった。

本研究は、リコピンとペルオキシナイトライトとの反応生成物を解析し、これらの反応生成物からその抗酸化メカニズムが、ジオキセタン経路であることを世界ではじめて明らかにした。また、自然界やヒトの血清中に存在する 2,6-cyclolycopene 類が、エポキシサイドだけでなく、ジオキセタンから生成する可能性も示唆したものである。

以上について、審査員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

「基礎となる学術論文」

1. Oxygenated lycopene and dehydrated lutein in tomato puree., Yokota, T., Etoh, H., Oshima, S., Hayakawa, K., and Ishiguro, Y., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(12), 2644–2647 (2003).
2. Quenching of peroxyxynitrite by lycopene *in vitro.*, Yokota, T., Ohtake, T., Ishikawa, H., Inakuma, T., Ishiguro, Y., Terao, J., Nagao, A., and Etoh H., *Chemistry Letters*, 33(1), 80-81 (2004).