

グアヤコール骨格を有するショウガの含有成分における 抗酸化活性に関する基礎的研究

早藤 幸隆*, 須賀 一翔**, 猪本 大翔***,
中原 光翼****, 中西 勇義*****

(キーワード: 抗酸化活性, ショウガ, グアヤコール関連化合物)

1. はじめに

ヒトを含む好気性生物は、酸素に基づく代謝機構を備えた生物である事から、生存のため呼吸により酸素を取り込んでいる。体内に取り込まれた一部の酸素は、エネルギー代謝の際に電子伝達系において、還元反応により、スーパーオキシドアニオンラジカル、過酸化水素、ヒドロキシルラジカル及び一重項酸素などの活性酸素種に変化する¹⁾。これらの活性酸素種は、体内に侵入する細菌やウイルスに対する生体防御に関わるなど健康維持に重要な役割を果たしている。一方活性酸素種は、ラジカル連鎖反応により、生体中のタンパク質や脂質などの高分子と反応し、タンパク質の変性や過酸化脂質の生成などを引き起こし、生活習慣病の発症や老化の促進をもたらすと考えられている。これらの酸化的傷害を防ぐために、生体にはスーパーオキシドディスムターゼやカタラーゼのような活性酸素種を除去する酵素によるメカニズムが備わると共に、生体中に存在する低分子量の抗酸化物質も同様に働いている。しかしながら、現代における大気汚染や紫外線などの環境要因や生活習慣などにより、生体内のバランスが崩れ、様々な活性酸素種を消去しきれず、酸化的ストレスを受けやすい状況になっている。そのため、生体に備わったメカニズムに加え、食品由来の抗酸化物質の摂取が健康維持に重要と考えられるようになり、積極的な摂取が奨励されてきている。

本研究は、食品由来の抗酸化物質を含有する実験素材として、ショウガ(*Zingiber officinale*)に着目した。ショウガは、ショウガ科に属する香辛料として、広く薬用(解熱、鎮痛)に用いられてきた^{2,3)}。ショウガに含有される香気成分は、セスキテルペンのジンギベレン⁴⁾であり、辛味成分として高い抗酸化活性を示すギンゲロール及びショウガオールが報告されている⁵⁾。また、Dugasaniらの培養実験では、総合的な抗酸化活性は、6-ショウガオール>10-ギンゲロール>8-ギンゲロール>6-ギンゲロールと報告されている⁶⁾。6-ショウガオールが6-ギンゲロールよりも抗酸化活性が強い事は、過熱による脱水の構造変化と考えられている⁷⁾。一方、細菌やウイルス等の病原体を攻撃する役割のマクロファージや好中球の中で、ギンゲロールとショウガオールは、核因子カッパBという核転写因子の活性を抑制する事により、炎症やガン化を加速させる誘導型一酸化窒素合成酵素やシクロオキシナーゼの合成を抑え炎症を防ぐ働きをする⁸⁾。ショウガの含有成分のNO産生抑制効果は、6-ショウガオール>8-ギンゲロール>10-ギンゲロール>6-ギンゲロールであり⁹⁾、プロスタグランジン-E2産生抑制効果は、6-ショウガオール>8-ギンゲロール>10-ギンゲロール>6-ギンゲロールと報告されている⁸⁾。また、Saugらの培養実験では、ヒトの大腸がん細胞や肺がん細胞において、6-ショウガオールが6-ギンゲロールよりも約18倍NF-κBの活性化を抑え、アポトーシスの感受性を高めてがん細胞の消滅を誘導する事が報告されている¹⁰⁾。

*鳴門教育大学 自然系コース(理科)

**鳴門教育大学附属中学校(鳴門教育大学 ジュニアドクター)

***徳島文理中学校(鳴門教育大学 ジュニアドクター)

****徳島県立城ノ内中学校(鳴門教育大学 ジュニアドクター)

*****徳島市八万中学校(鳴門教育大学 ジュニアドクター)

2. 研究の目的

ショウガに含有するショウガオールとギンゲロールの生理活性に関しては詳細に報告されているが、グアヤコール骨格の抗酸化活性におけるフェノール性ヒドロキシ基の科学的な反応性を速度論的に解析すると共に、二成分共存下における抗酸化活性を考察した報告は著者が調査した限り見当たらない。本研究は、安定ラジカルとして知られる1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル（以下 DPPH と略記）が、ラジカル消去物質が存在すると非ラジカル体である1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジンに変化する性質を利用しながら、Fig. 1に示すように6-ショウガオールと6-ギンゲロールと共に数種の関連化合物であるグアヤコール、バニリン、4-ビニルグアヤコールを用いて、グアヤコール骨格を有する関連化合物の抗酸化活性の評価を速度論的・分子論的に解明する事を研究の目的とした。

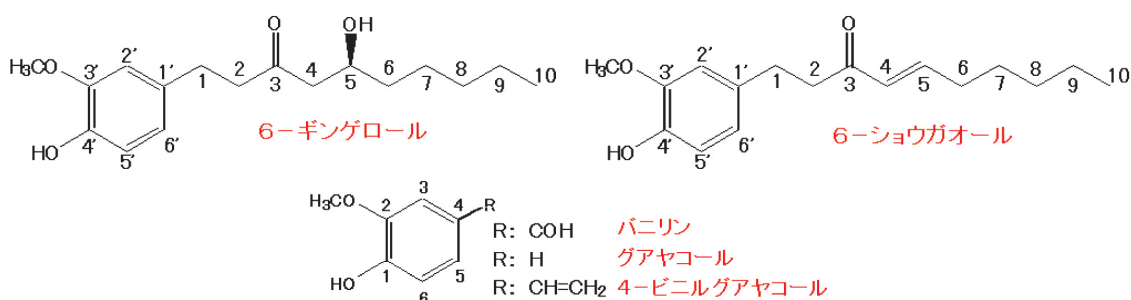


Fig. 1 グアヤコール関連化合物の構造式

3. グアヤコール関連化合物による DPPH ラジカル消去反応

DPPH を用いた抗酸化活性の評価法は、電子スピン共鳴により残存する DPPH ラジカルを捉え、ラジカル消去物質の活性を求めることが出来る。一方、分子構造に由来する DPPH 溶液の紫色が次第に茶褐色に変化していくため、分光光度計でラジカル消去活性を測定した報告も多い。DPPH を用いた吸光光度法は、Fig. 2に示すようにフリーラジカルを有する DPPH の窒素上のラジカルが抗酸化物質(RH)中から引き抜かれた水素ラジカルが付加する事により消去され、極大吸収波長(λ_{max})520 nm の吸光度が減少する事を利用した方法である。

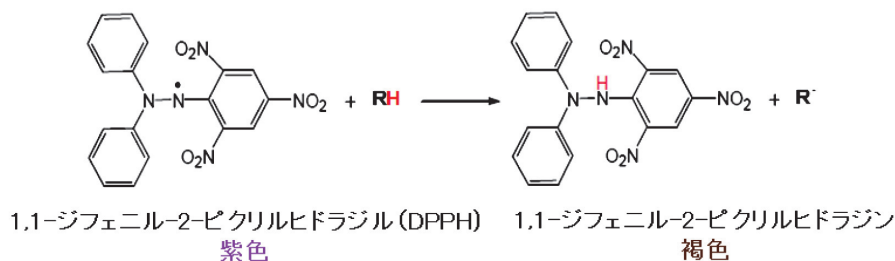


Fig. 2 DPPH ラジカル消去反応

グアヤコール関連化合物 RH による DPPH のラジカル消去反応は、Fig. 2に示す反応式により進行すると考えられる。DPPH は不対電子を持つ安定ラジカルであり、その溶液は紫色を呈するが、抗酸化物質によるラジカル消去反応の進行と共に褐色へと変化していく。DPPH がラジカル消去反応の進行と共に減少する速度 v は①式で表される。 $v = k_1[\text{DPPH}][\text{RH}] = -d[\text{DPPH}]/dt = -d[\text{RH}]/dt \dots \dots \textcircled{1}$

①式における k_1 は反応速度定数であり、 $[\text{DPPH}]$ と $[\text{RH}]$ は各々のモル濃度を表している。 k_1 を求めるために、測定開始時の各濃度を $[\text{DPPH}]_0$ と $[\text{RH}]_0$ 、反応開始より t 時間経過後の濃度を x として、微分方程式を立てると、 $v = dx/dt = k_1([\text{DPPH}]_0 - x)([\text{RH}]_0 - x)$ となり、 $\int \frac{dx}{([\text{DPPH}]_0 - x)([\text{RH}]_0 - x)} = \int k_1 dt$ が導かれる。

上式の左辺 $\int \frac{dx}{([\text{DPPH}]_0 - x)([\text{RH}]_0 - x)}$ は、

$1/([\text{DPPH}]_0 - [\text{RH}]_0) \ln\{[\text{RH}]_0([\text{DPPH}]_0 - x)/([\text{DPPH}]_0([\text{RH}]_0 - x))\}$ となる。

以上のことから、反応速度定数 k_1 を含む②式が得られる。

$$1/([\text{DPPH}]_0 - [\text{RH}]_0) \ln\{[\text{RH}]_0([\text{DPPH}]_0 - x)/([\text{DPPH}]_0([\text{RH}]_0 - x))\} = k_1 t \dots \dots \textcircled{2}$$

ここで、本実験に用いるグアヤコール関連化合物 RH 濃度は、DPPH 濃度に対して大過剰に存在するため、ラジカル消去反応の進行における RH 濃度は無視出来ると考えられる。従って、①式は、 $-d[\text{DPPH}]/dt \approx k_2[\text{DPPH}]$ と近似的に表され、擬一次反応と見なすことができる。反応速度定数 k_2 は、 $\ln\{[\text{DPPH}]_0/[\text{DPPH}]\} = k_2 t$ で求められる。時間 t に対して $[\text{DPPH}]$ をグラフ上にプロットすれば、その傾きから反応速度定数 k_2 が決定出来る。

3.1 DPPH 濃度を求める検量線の作成

10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ の DPPH エタノール溶液を調製し、紫外可視分光光度計 (JASCO V-530) により固定波長 520nm で各々の溶液の吸光度を測定した。

3.2 グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における反応速度の測定

200 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ の DPPH エタノール溶液をホールピペットで 4 mL を紫外可視分光光度計用の測定ガラスセルに入れた。これに 80 mmol/dm^3 のグアヤコール関連化合物 (6-ショウガオール, 6-ギンゲロール, バニリン, グアヤコール, 4-ビニルグアヤコール) をホールピペットで 0.1 mL を加えた後、直ちにガラス棒で攪拌すると同時に時間計測を開始した。紫外可視分光光度計により固定波長 520nm で各々の反応溶液の吸光度を測定した。以上の測定は、同一条件で三回繰り返し測定し、測定結果を平均値として求めた。

4. グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における反応速度の測定の結果と考察

4.1 DPPH 濃度を求める検量線について

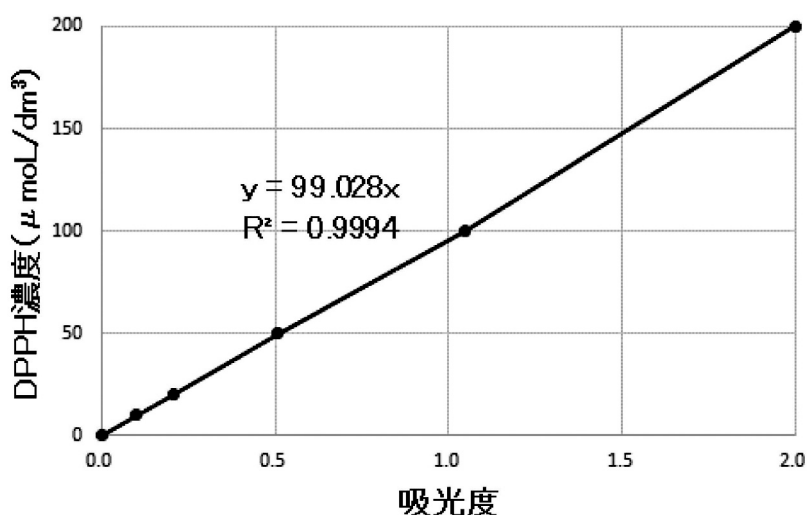


Fig. 3 DPPH 濃度を求める検量線

DPPH 濃度を求める検量線を Fig. 3 に示した。DPPH は、溶液として安定ラジカルが保持されており、直線性の良好な DPPH 濃度を求める検量線のグラフが得られた。グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応において、DPPH 濃度を算出する検量線として活用可能と考えられた。

4.2 グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における反応速度について

Fig. 4 は、グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における DPPH 濃度の経時変化を示した。また Fig. 5 は、DPPH 濃度を自然対数に変換した経時変化を示した。ショウガにおけるグアヤコール骨格を有する含有成分の 6-ショウガオールと 6-ギンゲロールは、反応開始から DPPH ラジカル消去反応が進行し、600 秒程度で平衡 (反応が終了) に達した。その反応速度定数は、6-ショウガオールが 7.3×10^{-3} (/秒)、6-ギンゲロールが 8.8×10^{-3} (/秒) であった。6-ショウガオールと 6-ギンゲロールの抗酸化活性に関する研究では、6-ショウガオールが 6-ギンゲロールよりも高い抗酸化活性を示す事が報告されているが、本反応では 6-ギンゲロールの反応速度が大きい結果となった。一方、4-ビニルグアヤコールは、反応開始当初から DPPH ラジカル消去反応が激しく進行し、反応速度定数 9.9×10^{-3} (/秒) を示すと共に、200 秒程度で平衡に達した。バニリンは、5 種のグアヤコール関連化合物の中で DPPH ラジカル消去反応が最も穏やかに進行し、反応速度定数 4.0×10^{-4} (/秒) を

示した。また、4位が無置換体のグアヤコールは、反応速度定数 4.5×10^{-3} (/秒)を示し、400秒程度で平衡に達する結果となった。以上より、5種のグアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における反応速度は、4-ビニルグアヤコール>6-ギンゲロール>6-ショウガオール>グアヤコール>バニリンの結果となった。

5種のグアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における速度論的な解析は、4位の置換基効果により考察する事が出来る。最も大きな反応速度定数を示した4位にビニル基が置換された4-ビニルグアヤコールは、ビニル基による共役系の延長と共に電子供与性の効果により、フェノール性ヒドロキシ基の酸素原子の電子密度の増加で水素ラジカルの引き抜きが容易に起こり、反応速度が大きくなる事が推察された。一方、最も小さな反応速度定数を示した4位にホルミル基が置換されたバニリンは、ホルミル基の電子吸引性の効果により、水素ラジカルの引き抜きが起こり難くなったと推察された。

また、4位に電子供与性のアルキル基が置換された6-ショウガオールと6-ギンゲロールは、ほぼ類似した反応速度定数を示した。6-ギンゲロールの長いアルキル鎖中には、3位にケトン基及び5位にヒドロキシ基が含まれており、これらは水素結合により安定化されていると考えられ、電子供与性の効果により反応速度定数が大きくなったと考えられた。6-ショウガオールでは、3位にケトン基及び4, 5位に不飽和結合を有する α , β -不飽和ケトン基の影響により、電子供与性の効果が下がり反応速度定数が小さくなったと考えられた。また、無置換体のグアヤコールは、6-ショウガオールと6-ギンゲロールよりも反応速度定数が小さい結果となった。

以上の事から、5種のグアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における速度論的な解析は、グアヤコール骨格の4位の置換基の電子的な効果が反応速度定数に影響を与える事が示唆された。

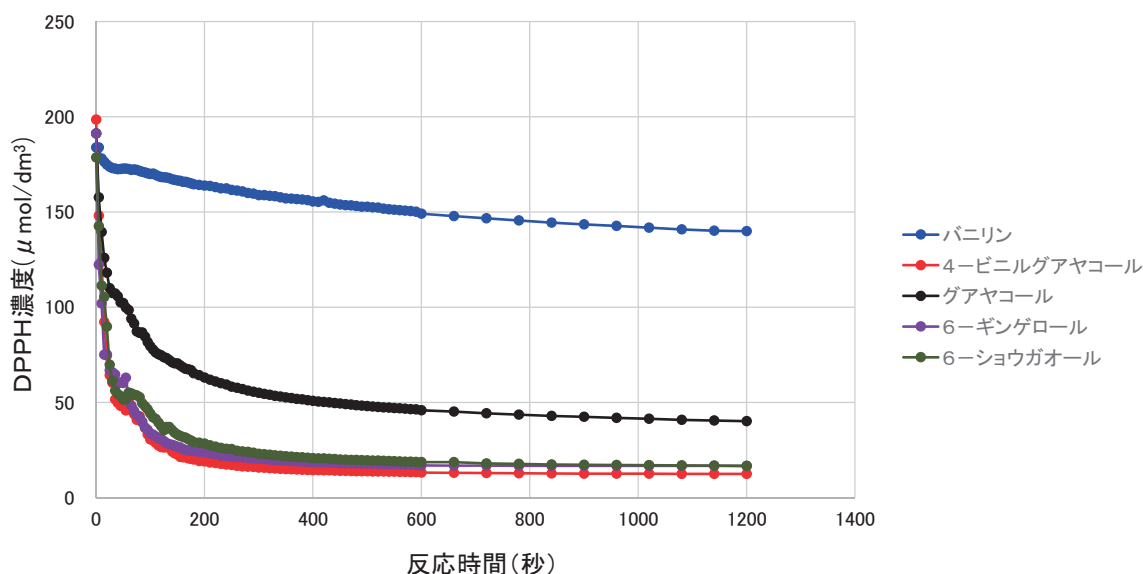


Fig. 4 グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応における DPPH 濃度の経時変化

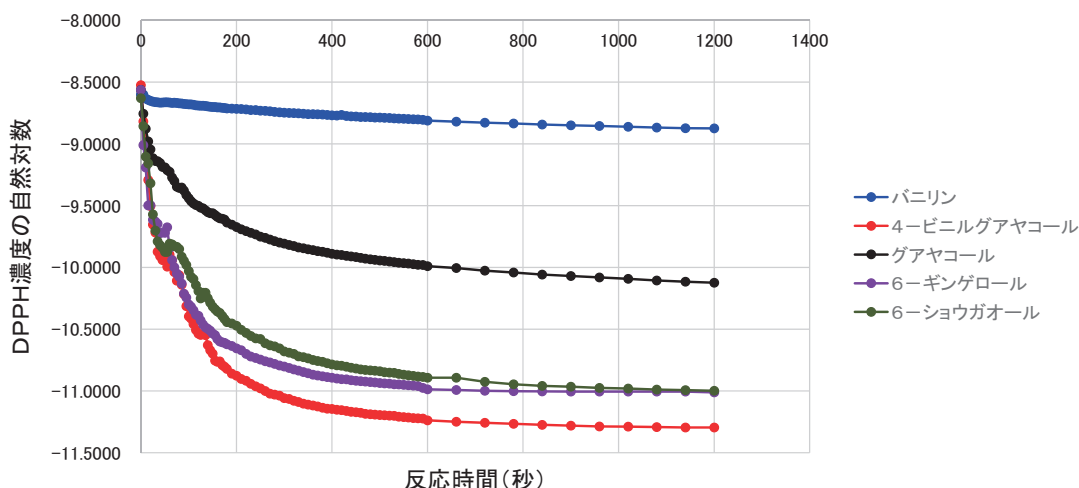


Fig. 5 グアヤコール関連化合物の DPPH ラジカル消去反応の自然対数変換による DPPH 濃度の経時変化

5. 二成分共存下におけるグアヤコール関連化合物の抗酸化活性の評価

二成分の抗酸化物質の共存下において DPPH ラジカルを消去する競争反応により、抗酸化活性を評価するために、核磁気共鳴（以下 NMR と略記）装置を用いて、二成分の抗酸化物質が DPPH ラジカルと反応する様子を観測する手法を導入した。NMR 測定チューブ内で二成分の抗酸化物質と DPPH ラジカルを反応させた¹³C-NMR スペクトル測定により、二成分の抗酸化物質が DPPH ラジカルを消去する際の分子構造の変化を通して抗酸化活性が評価できると考えた。二成分の抗酸化物質の共存下における組み合わせは、DPPH ラジカル消去反応の反応速度の実験結果と考察を基にして、①バニリンとグアヤコール、②グアヤコールと 6-ショウガオール、③ 6-ショウガオールと 6-ギンゲロール、④ 6-ギンゲロールと 4-ビニルグアヤコールとした。

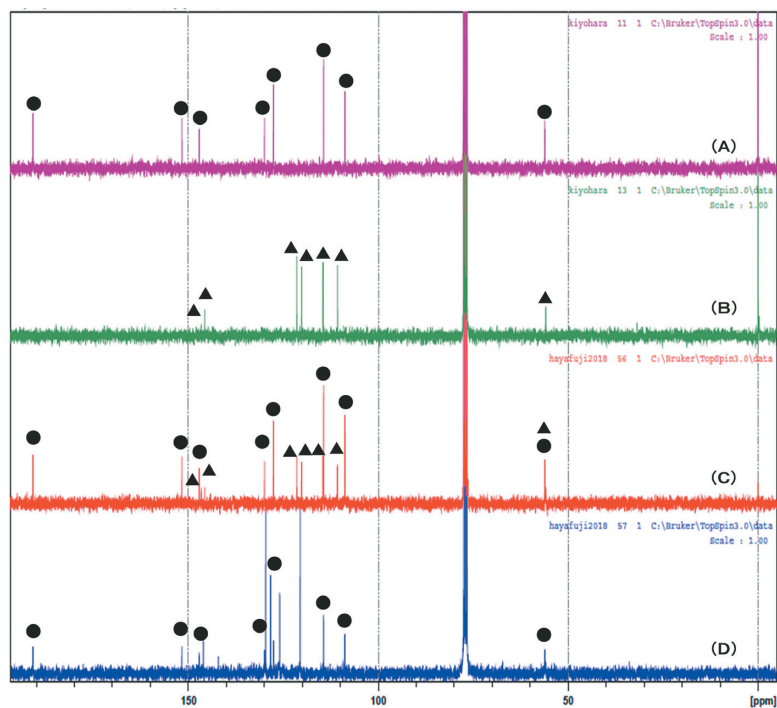
5.1 二成分のグアヤコール関連化合物の共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応

重水素化溶媒に溶解した各試料は、5 φ の測定チューブに入れ、核磁気共鳴装置(Bruker AVANCE III)を用いて測定した (¹³C complete decoupling 測定, 測定範囲: -20~220ppm, 測定温度: 27°C, 測定時間: 60分)。内部標準物質は、テトラメチルシラン（以下 TMS と略記）を用いた。測定試料の調製は、重クロロホルム: CDCl₃ (0.70 mL)に試料(15 μmol)を溶解し、¹³C-NMR スペクトル測定を行った後、もう一つの試料(15 μmol)を加えた混合物の¹³C-NMR スペクトル測定を行った。最後に、DPPH(15 μmol)を加えて紫色が茶褐色に変化した時点で再度¹³C-NMR スペクトル測定を行った。測定後の¹³C-NMR スペクトルは、各スペクトルをスタックプロットにより表示し、各試料に由来するシグナルの状況を解析する事により、二成分の抗酸化物質の共存下における抗酸化活性の評価を試みた。

6. 二成分共存下におけるグアヤコール関連化合物の抗酸化活性の結果と考察

6.1 バニリンとグアヤコールの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

Fig. 6には、DPPH とバニリンおよびグアヤコールの競争反応における¹³C-NMR スペクトルを示した。Fig. 6の(C)に観測されるようにバニリンとグアヤコールの共存下では、互いに影響を及ぼさず各々の¹³C-NMR スペクトルのシグナルが確認された。



(A)●: バニリン(15 μmol) (B)▲: グアヤコール(15 μmol)
 (C)●: バニリン(15 μmol)と▲: グアヤコール(15 μmol)の混合物
 (D)DPPH(15 μmol)と●: バニリン(15 μmol)及び▲: グアヤコール(15 μmol)の反応混合物

Fig. 6 バニリンとグアヤコールの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応の¹³C-NMR スペクトル

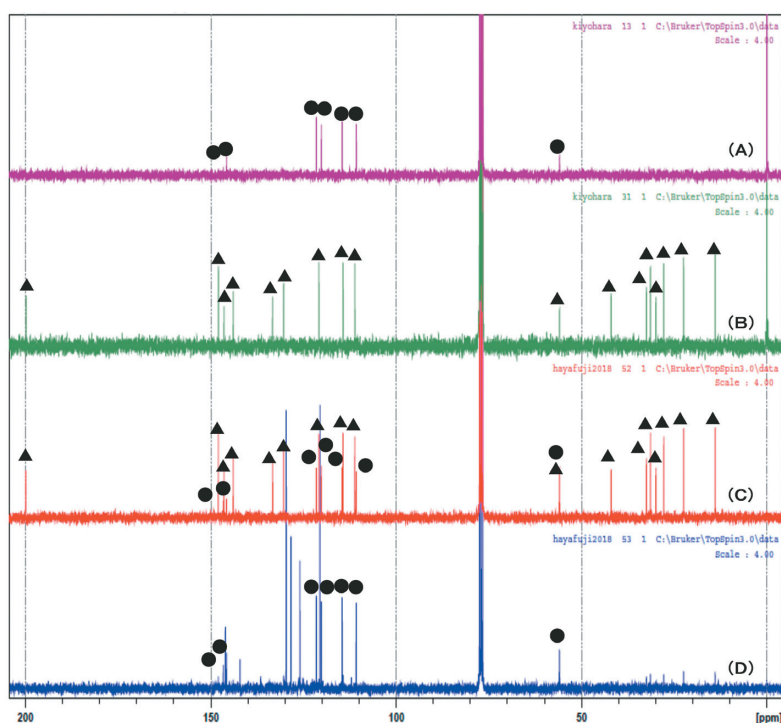
バニリン： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 151.7(C-1), δ 147.2(C-2), δ 108.7(C-3), δ 129.9(C-4), δ 127.6(C-5), δ 114.4(C-6), δ 190.9(-CO), δ 56.1(-OCH₃) (Fig.6 A)。

グアヤコール： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 145.6(C-1), δ 146.6(C-2), δ 110.7(C-3), δ 120.1(C-4), δ 121.5(C-5), δ 114.5(C-6), δ 55.9(-OCH₃) (Fig.6 B)。

また、バニリンとグアヤコールの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応は、(D) に観測されるようにグアヤコールに由来する全ての ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが消失した事から、グアヤコールのフェノール性ヒドロキシ基から水素ラジカルが引き抜かれてフェノキシラジカルへと変化した事が推察された。以上より、バニリンとグアヤコールの共存下では、グアヤコールが優先的に DPPH ラジカル消去反応を進行し、バニリンよりもグアヤコールが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。

6.2 グアヤコールと 6-ショウガオールの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

Fig. 7には、DPPH とグアヤコールおよび 6-ショウガオールの競争反応における ^{13}C -NMR スペクトルを示した。Fig. 7の (C) に観測されるようにグアヤコールと 6-ショウガオールの共存下では、互いに影響を及ぼさず各々の ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが確認された。



(A)●: グアヤコール(15 μmol) (B)▲: 6-ショウガオール(15 μmol)
(C)●: グアヤコール(15 μmol)と▲: 6-ショウガオール(15 μmol)の混合物
(D)DPPH(15 μmol)と●: グアヤコール(15 μmol)及び▲: 6-ショウガオール(15 μmol)の反応混合物

Fig. 7 グアヤコールと 6-ショウガオールの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応の ^{13}C -NMR スペクトル

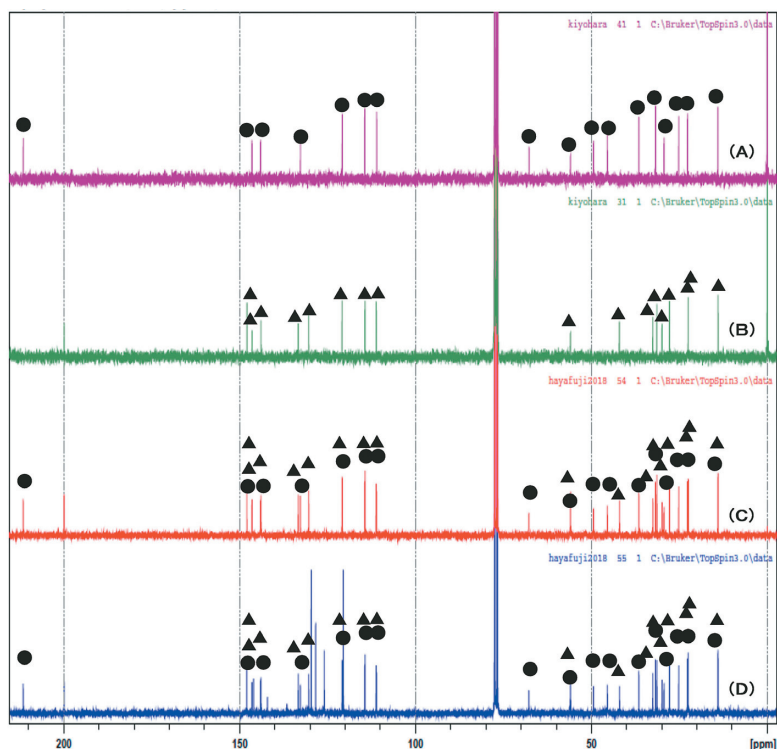
グアヤコール： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 145.6(C-1), δ 146.6(C-2), δ 110.7(C-3), δ 120.1(C-4), δ 121.5(C-5), δ 114.5(C-6), δ 55.9(-OCH₃) (Fig.7 A)。

6-ショウガオール： ^{13}C -NMR スペクトル(CDCl_3 , 75 MHz) δ 31.4(C-1), δ 42.0(C-2), δ 199.8(C-3), δ 130.3(C-4), δ 147.8(C-5), δ 32.5(C-6), δ 27.8(C-7), δ 29.9(C-8), δ 22.4(C-9), δ 13.9(C-10), δ 133.0(C-1'), δ 111.1(C-2'), δ 146.4(C-3'), δ 143.8(C-4'), δ 114.3(C-5'), δ 120.8(C-6'), δ 55.8(-OCH₃) (Fig.7 B)。

また、グアヤコールと 6-ショウガオールの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応は、(D) に観測されるように 6-ショウガオールに由来する全ての ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが消失した事から、6-ショウガオールが優先的に DPPH ラジカル消去反応を進行し、グアヤコールよりも 6-ショウガオールが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。

6.3 6-ショウガオールと6-ギンゲロールの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

Fig. 8には、DPPHと6-ショウガオールおよび6-ギンゲロールの競争反応における¹³C-NMRスペクトルを示した。Fig. 8の(C)に観測されるように6-ショウガオールおよび6-ギンゲロールの共存下では、互いに影響を及ぼさず各々の¹³C-NMRスペクトルのシグナルが確認された。



(A)●: 6-ショウガオール(15 μmol) (B)▲: 6-ギンゲロール(15 μmol)
 (C)●: 6-ショウガオール(15 μmol)と▲: 6-ギンゲロール(15 μmol)の混合物
 (D)DPPH(15 μmol)と●: 6-ショウガオール(15 μmol)及び▲: 6-ギンゲロール(15 μmol)の反応混合物

Fig. 8 6-ショウガオールと6-ギンゲロールの共存下でのDPPHラジカル消去の競争反応の¹³C-NMRスペクトル

6-ショウガオール：¹³C-NMRスペクトル(CDCl₃, 75 MHz)δ 31.4(C-1), δ 42.0(C-2), δ 199.8(C-3), δ 130.3(C-4), δ 147.8(C-5), δ 32.5(C-6), δ 27.8(C-7), δ 29.9(C-8), δ 22.4(C-9), δ 13.9(C-10), δ 133.0(C-1'), δ 111.1(C-2'), δ 146.4(C-3'), δ 143.8(C-4'), δ 114.3(C-5'), δ 120.8(C-6'), δ 55.8(-OCH₃) (Fig.8 A)。

6-ギンゲロール：¹³C-NMRスペクトル(CDCl₃, 75 MHz)δ 31.7(C-1), δ 45.4(C-2), δ 211.4(C-3), δ 49.4(C-4), δ 67.7(C-5), δ 36.4(C-6), δ 25.1(C-7), δ 29.3(C-8), δ 22.6(C-9), δ 14.1(C-10), δ 132.7(C-1'), δ 110.9(C-2'), δ 146.4(C-3'), δ 143.9(C-4'), δ 114.4(C-5'), δ 120.7(C-6'), δ 55.9(-OCH₃) (Fig.8 B)。

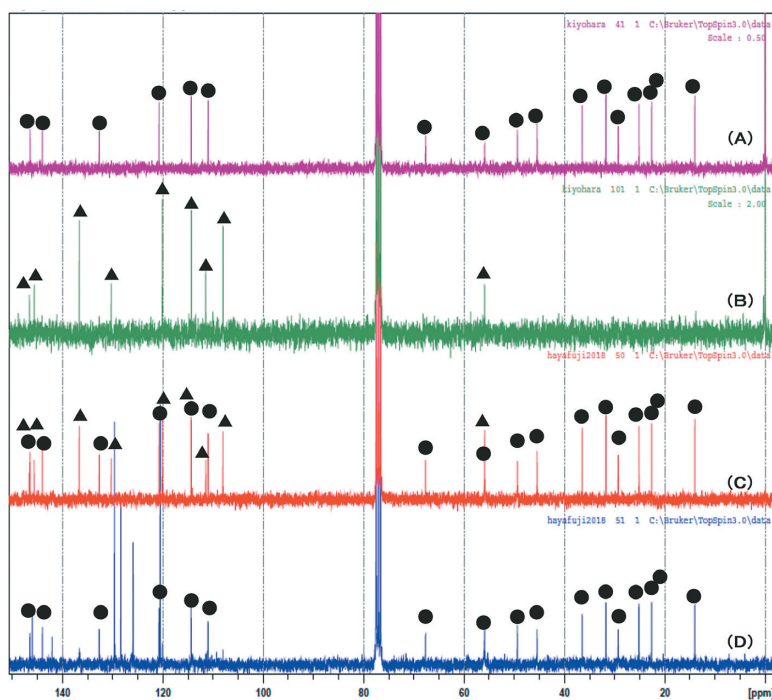
また、6-ショウガオールと6-ギンゲロールの共存下でのDPPHラジカル消去の競争反応は、(D)に観測されるように6-ギンゲロールに由来する¹³C-NMRスペクトルのシグナルが減少したことから、6-ギンゲロールが優先的にDPPHラジカル消去反応を進行し、6-ショウガオールよりも6-ギンゲロールが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。

6.4 6-ギンゲロールと4-ビニルグアヤコールの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

Fig. 9には、DPPHと6-ギンゲロールおよび4-ビニルグアヤコールの競争反応における¹³C-NMRスペクトルを示した。Fig. 9の(C)に観測されるように6-ギンゲロールおよび4-ビニルグアヤコールの共存下では、互いに影響を及ぼさず各々の¹³C-NMRスペクトルのシグナルが確認された。

6-ギンゲロール：¹³C-NMRスペクトル(CDCl₃, 75 MHz)δ 31.7(C-1), δ 45.4(C-2), δ 211.4(C-3), δ 49.4(C-4), δ 67.7(C-5), δ 36.4(C-6), δ 25.1(C-7), δ 29.3(C-8), δ 22.6(C-9), δ 14.1(C-10), δ 132.7(C-1'), δ 110.9(C-2'), δ 146.4(C-3'), δ 143.9(C-4'), δ 114.4(C-5'), δ 120.7(C-6'), δ 55.9(-OCH₃) (Fig.9 A)。

4-ビニルグアヤコール：¹³C-NMRスペクトル(CDCl₃, 75 MHz)δ 145.6(C-1), δ 146.6(C-2), δ 108.0(C-3), δ 130.3



(A)●: 6-ギンゲロール(15 μmol) (B)▲: 4-ビニルグアヤコール(15 μmol)
 (C)●: 6-ギンゲロール(15 μmol)と▲: 4-ビニルグアヤコール(15 μmol)の混合物
 (D)DPPH(15 μmol)と●: 6-ギンゲロール(15 μmol)及び▲: 4-ビニルグアヤコール(15 μmol)の反応混合物

Fig. 9 6-ギンゲロールと4-ビニルグアヤコールの共存下でのDPPHラジカル消去の競争反応の ^{13}C -NMRスペクトル

(C-4), δ 120.1(C-5), δ 114.3(C-6), δ 136.6(-CH), δ 111.5(-CH₂), δ 55.9(-OCH₃) (Fig.9 B)。

また、6-ギンゲロールと4-ビニルグアヤコールの共存下でのDPPHラジカル消去の競争反応は、(D)に観測されるように4-ビニルグアヤコールに由来する ^{13}C -NMRスペクトルのシグナルが減少した事から、4-ビニルグアヤコールが優先的にDPPHラジカル消去反応を進行し、6-ギンゲロールより4-ビニルグアヤコールが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。

6.5 二成分の抗酸化物質の共存下におけるグアヤコール関連化合物の抗酸化活性の評価について

Fig. 6から Fig. 9に示したように、二成分の抗酸化物質の共存下におけるグアヤコール関連化合物の抗酸化活性の強さは、DPPHラジカル消去能力において、4-ビニルグアヤコール>6-ギンゲロール>6-ショウガオール>グアヤコール>バニリンと評価された。これらは、5種のグアヤコール関連化合物のDPPHラジカル消去反応の反応速度定数における速度論的な解析と同様の結果であった。即ち、グアヤコール骨格の4位の置換基の電子的な効果は、DPPHラジカル消去反応の反応速度と二成分の抗酸化物質の共存下におけるDPPHラジカル消去能力との相関が示唆された。NMR測定での二成分のグアヤコール関連化合物の共存下におけるDPPHラジカル消去の競争反応は、 ^{13}C -NMRスペクトルの非破壊測定から、分子レベルでDPPHラジカル消去能力における抗酸化活性を評価する事が出来た。 ^{13}C -NMRスペクトル測定による本手法の特徴は、DPPHラジカルと反応した直後のグアヤコール関連化合物の構造的な変化を分子レベルで明らかにする事が出来た事である。また、本手法により抗酸化物質のDPPHラジカル消去能力を新しい尺度で評価する事が出来た。

7. まとめ

ショウガにおけるグアヤコール骨格を有する含有成分として、6-ショウガオールと6-ギンゲロールと共に、数種のグアヤコール関連化合物であるバニリン、グアヤコール、4-ビニルグアヤコールを用いてDPPHラジカル消去反応における反応速度を検討し、5種のグアヤコール関連化合物のDPPHラジカル消去反応における反応速度は、4-ビニルグアヤコール>6-ギンゲロール>6-ショウガオール>グアヤコール>バニリンである事を明らかにした。また、二成分の抗酸化物質の共存下におけるグアヤコール関連化合物のDPPHラジカル消去

能力の強さは、4-ビニルグアヤコール>6-ギンゲロール>6-ショウガオール>グアヤコール>バニリンと評価され、グアヤコール骨格の4位の置換基の電子的な効果は、DPPHラジカル消去反応の反応速度と二成分のグアヤコール関連化合物の共存下におけるDPPHラジカル消去能力との相関がある事を明らかにした。

謝辞

本研究は、科学技術振興機構(JST)の「ジュニアドクター育成塾」(徳島県高等教育機関連携型 ジュニアドクター発掘・養成講座)の助成を受けて行われた。また、本研究の一部は、JSPS 科研費 17K01034 (代表者：早藤幸隆)の助成を受けて行われた。

引用文献

- 1) 今田伊助, 佐藤英介, 井上正康, 生体における活性酸素・フリーラジカルの産生と消去., 化学と生物, Vol.37, No.6, 1999, pp.411-419
- 2) Ali, B.H. et al., Some phytochemical pharmacological and toxicological properties of ginger., A review of recent research., Food Chemical Toxicol.,46, 2008, pp.409-420
- 3) Baliga,M.S.,et al.,Update on the chemopreventive effects of ginger and its phytochemicals., Crin.rev.Food Sci.Nutr.,51, 2011, pp.499-523
- 4) Rasna Gupta, Pradeep Kumar Singh, Rajani Singh and Ram Lakhan Singh, PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF ZINGIBER OFFICINALE (GINGER) AND ITS ACTIVE INGREDIENTS: A REVIEW., International Journal of Scientific and Innovative Research,Vol.4, No.1, 2016, pp.1-18
- 5) Yumiko Hori, Yukiye Wakabayashi, Kayoko Mizui, Motonori Fukumura, Pharmacognostic Studies on Ginger and Related Drugs-part 2: Constituents of Zingiberis., Processum Rhizome (Kankyo), 昭和大学薬学雑誌, 第3巻, 第1号, pp.67-76
- 6) Dugasani,S.,Pichika,M.R., Nadarajah,V.D.,Balijepalli,M.K.,Tandra,S. and Korlakunta,J.N., Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of[6]-gingerol,[8]-gingerol, [10]-gingerol and[6]-shogaol., J. Ethnopharmacol.,127, 2010, pp.515-520
- 7) Bhattarai, S., Tran, V. H. and Duke, C. C., The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions., J.Pharm.Sci., 90,2001,pp.1658-1664
- 8) Richard B. van Breemen, * Yi Tao, and Wenkui Li, Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (Zingiber officinale), Fitoterapia,Vol.82, No.1, 2016, pp.38-43
- 9) Ippoushi K., Azuma K., Ito H., HorieH., Higashio H., [6]-Gingerol inhibits nitric oxide synthesis in activated J 774.1 mouse macrophages and prevents peroxynitrite-induced oxidation and nitration reactions.,Life Sci. 73, 2003, pp.3427-3437
- 10) Sang S, et al., Increased growth inhibitory effects on human cancer cells and anti-inflammatory potency of shogaols from Zingiber officinale relative to gingerols., J Agric Food Chem.,57(22),2009, pp.10645-10650
- 11) 澤井祐典, NMRによる茶成分の抗酸化機構の解析-安定ラジカルとポリフェノール類との反応., 野菜茶業研究所研究報告, 第6号, 2007, pp.23-58

Basic research on antioxidant activity in the constituents of ginger having a guaiacol skeleton

HAYAFUJI Yukitaka^{*}, SUGA Kazuma^{**}, INOMOTO Haruto^{***},
NAKAHARA Kousuke^{****} and NAKANISHI Yuuki^{*****}

We investigated the reaction rate on DPPH radical scavenging reaction using 6-gingerol and 6-shogaol as the constituents of ginger having a guaiacol skeleton. Furthermore, we investigated the reaction rate of vanilin, guaiacol, 4-vinylguaiacol as the several kinds of guaiacol related compounds. As a result, we revealed that the order of reaction rate on DPPH radical scavenging reaction of five guaiacol related compounds is 4-vinylguaiacol > 6-gingerol > 6-shogaol > guaiacol > vanilin.

And also, the strength of DPPH radical scavenging ability of guaiacol related compounds under the coexistence of two kinds of antioxidants was evaluated the order of 4-vinylguaiacol > 6-gingerol > 6-shogaol > guaiacol > vanilin. Finally, we revealed that electric effect on 4-position substituent of guaiacol skeleton was the relationship of the reaction rate on DPPH radical scavenging reaction and DPPH radical scavenging ability of guaiacol related compounds under the coexistence of two kinds of antioxidants.

^{*}Naruto University of Education, Faculty of Science

^{**}Fuzoku Middle School Attached To Naruto University of Education
(Naruto University of Education, junior doctor)

^{***}Tokushima Bunri Junior High School
(Naruto University of Education, junior doctor)

^{****}Tokushima Prefectural Johnouchi Junior High School
(Naruto University of Education, junior doctor)

^{*****}Hachiman Junior High School
(Naruto University of Education, junior doctor)