

茶カテキンの抗酸化活性に関する基礎的研究

早 藤 幸 隆*, 猪 本 大 翔**, 須 賀 一 翔***,
中 西 勇 義****, 中 原 光 翼*****

(キーワード: 抗酸化活性, 茶, カテキン)

1. はじめに

近年, 癌や心臓病などの生活習慣病の発症や老化促進の原因と考えられている酸化ストレスの関与が明らかになるにつれて, 予防目的として天然抗酸化物質を含有する食品や飲料及びサプリメント等の摂取が話題となっている。天然物に含有する抗酸化物質は, 脂質過酸化におけるラジカル連鎖反応の停止や DNA の酸化損傷の原因となる活性酸素種を消去する事により, 生体内で発生する酸化ストレスを抑制して, 生活習慣病及び老化の予防的効果を示すと考えられている。天然物に含有する抗酸化物質の分子構造的な特徴としては, ポリフェノールや共役二重結合を有する成分が多い事が知られている。代表的なポリフェノールとしては, カテキンやアントシアニン等のフラボノイド類があり, また共役二重結合を有する成分としては, リコピンやカロテンやアスタキサンチン等のカロテノイド類がある。現在, これらの天然抗酸化物質が含まれる様々なサプリメントや機能性食品が生活習慣病の予防及び改善の目的として利用されている。

これまでに著者らは, 食品由来の抗酸化物質を含有する研究素材として, ショウガに着目し, 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, ラジカル消去物質である抗酸化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に示すようにショウガに含まれる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骨格を有する関連化合物 (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>バニリンと評価し, 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性がある事を明らかにした¹⁾。

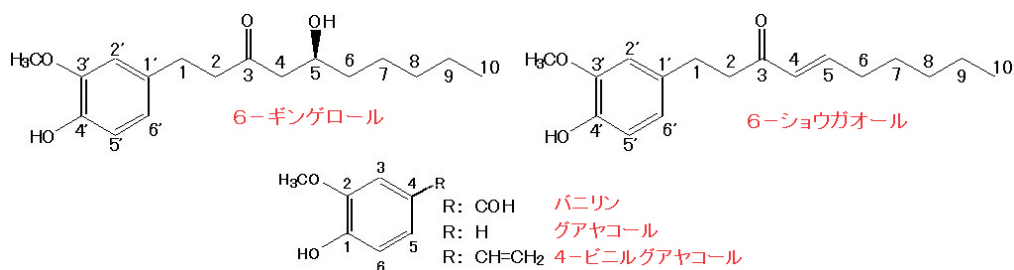


Fig. 1 グアヤコール関連化合物の構造式

*鳴門教育大学 自然系コース (理科)

**徳島文理中学校 (鳴門教育大学 ジュニアドクター)

***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)

****徳島県立城南高等学校 (鳴門教育大学 ジュニアドクター)

*****徳島県立城ノ内中等教育学校 (鳴門教育大学 ジュニアドクター)

本研究は、1つから複数のフェノール性ヒドロキシ基における抗酸化活性を検討するために、多種類の抗酸化物質を含有する研究素材として、茶に含まれるカテキンに着目した²⁾。茶は、ツバキ科に属する植物で古くから飲料として利用されてきた。近年、健康維持に関係する食品成分の研究が非常に盛んであり、その中で茶は理想的な機能性食品の条件である、①経口摂取が可能、②有効成分や作用機序が明らか、③低価格で安全であることから、茶の機能性に関する研究は活発に行われている事が報告されている^{3,4,5)}。茶の機能性成分の中心で強い抗酸化作用を有するカテキンは、無色・無臭のフラボノイド化合物であり、野菜中のフラボノイドは配糖体での存在が多いのに対し、茶カテキンはアグリコンとして存在する事が知られている。茶に含まれる代表的なカテキンは、Fig. 2に示す(-)-エピガロカテキンガレート、(-)-エピガロカテキン、(-)-エピカテキンガレート、(-)-エピカテキンの4種類で、その量は乾燥葉重量の10~18%にもなると報告されている³⁾。また、心疾患や癌等の生活習慣病のリスク低減において、茶カテキン類が関与するとの報告⁶⁾があり、生体内において茶カテキン類が生理機能を発揮する事が示唆されている。更に、茶カテキンのホルムアルデヒドによる求電子置換の反応性を半経験的分子軌道法(AM1)により検討し、C-3位へのガロイル基の導入により、反応性が高くなる事も報告されている⁷⁾。

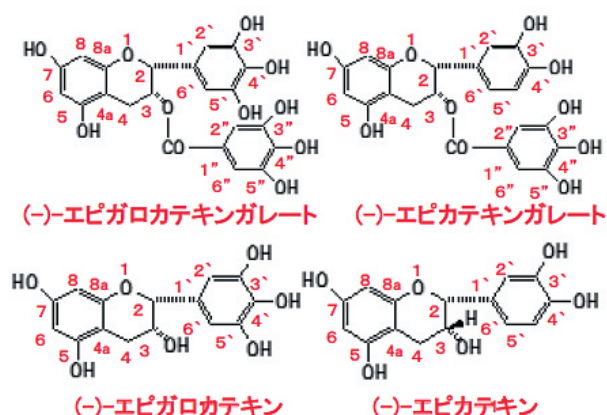


Fig. 2 茶カテキンの構造式

2. 研究の目的

本研究は、安定ラジカルとして知られる DPPH 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. 3に示すように4種の茶カテキンとして、(-)-エピガロカテキンガレート、(-)-エピガロカテキン、(-)-エピカテキンガレート、(-)-エピカテキンを用いて、茶カテキンのB環のピロガロール骨格及びカテコール骨格のフェノール性ヒドロキシ基並びにガロイル基に着目した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。

3. 茶カテキンによる DPPH ラジカル消去反応

DPPH を用いた吸光光度法による抗酸化活性の評価は、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})520nm の吸光度が減少する事を利用した方法である。

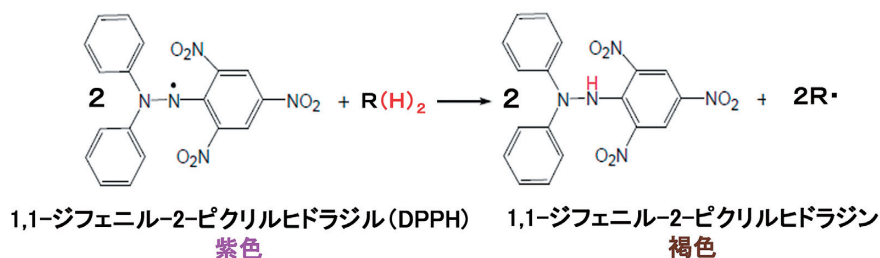


Fig. 3 DPPH ラジカル消去反応

茶カテキン $R(H)_2$ による DPPH のラジカル消去反応は、Fig. 3に示す反応式により進行すると考えられる⁸⁾。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。

$$v = k_1 [DPPH]^2 [R(H)_2] = - (1/2) d[DPPH]/dt = -d[R(H)_2]/dt \quad \cdots \textcircled{1}$$

①式における k_1 は反応速度定数であり、 $[DPPH]$ と $[R(H)_2]$ は各々のモル濃度を表している。

ここで、本実験に用いる茶カテキン $R(H)_2$ 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 $R(H)_2$ 濃度は無視出来ると考えられる。従って、①式は、 $-d[DPPH]/dt \approx k_2 [DPPH]^2$ と近似的に表され、二次反応と見なすことができる。反応速度定数 k_2 は、測定開始時の各濃度を $[DPPH]_0$ として、変数分離後に積分を行うと $(1/[DPPH] - 1/[DPPH]_0) = k_2 t$ で求められる。時間 t に対して $1/[DPPH]$ 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 茶カテキンの 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 の茶カテキン ((-)-エピガロカテキンガレート, (-)-エピガロカテキン, (-)-エピカテキンガレート, (-)-エピカテキン) 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. 茶カテキンの 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

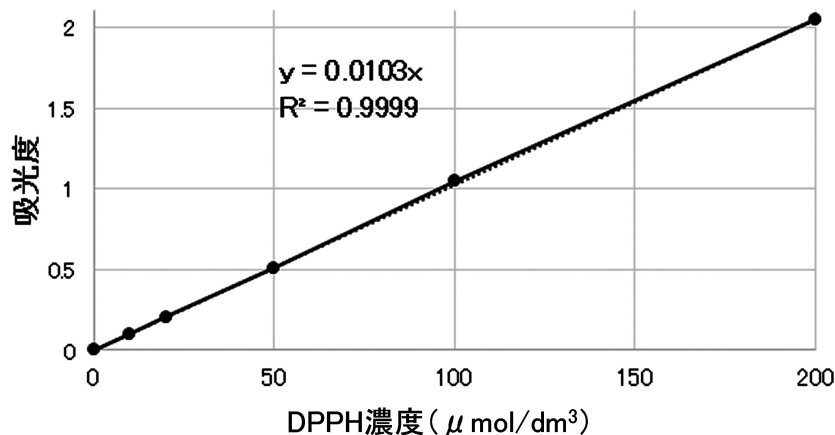


Fig. 4 DPPH 濃度を求める検量線

DPPH 濃度を求める検量線を Fig. 4に示した。DPPH は、エタノール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。茶カテキンの 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 茶カテキンの DPPH ラジカル消去反応における反応速度について

Fig. 5は、茶カテキンの 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. 6は、DPPH 濃度を逆数に変換した経時変化を示した。更に、Fig. 7は、20秒迄の拡大グラフを近似直線と共に示した。

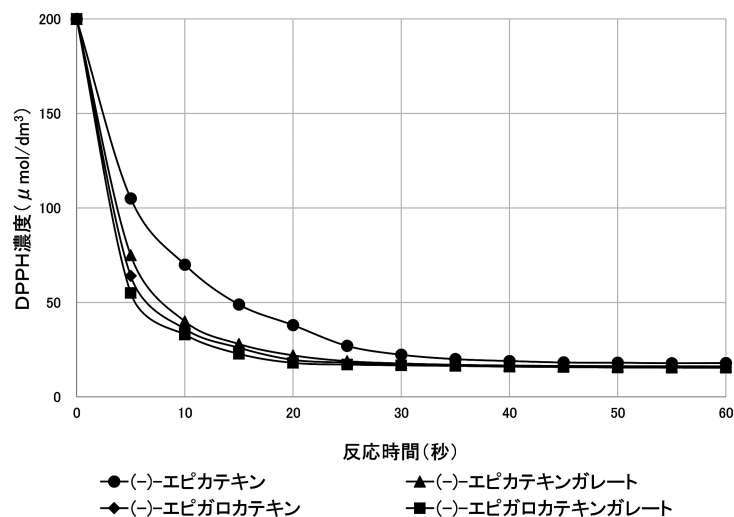


Fig. 5 茶カテキンのDPPHラジカル消去反応におけるDPPH濃度の経時変化

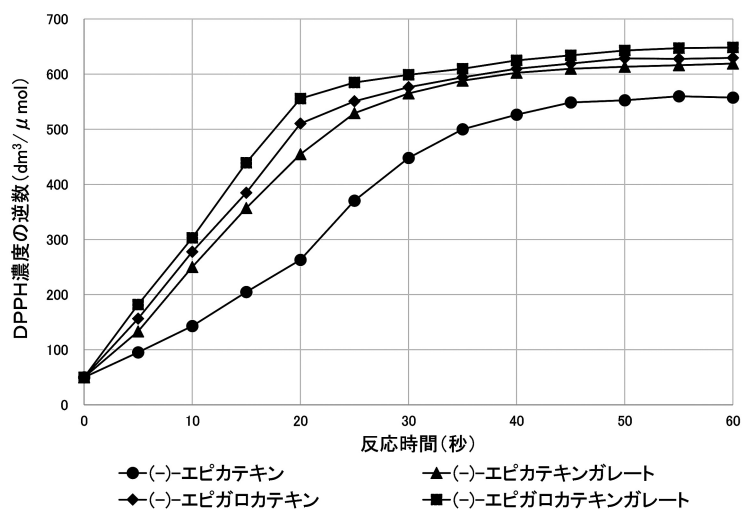


Fig. 6 茶カテキンのDPPHラジカル消去反応の逆数変換によるDPPH濃度の経時変化

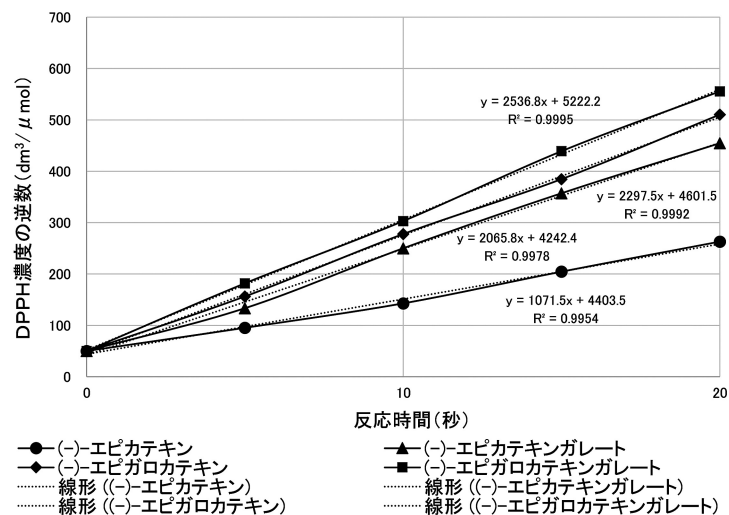


Fig. 7 茶カテキンのDPPHラジカル消去反応の逆数変換によるDPPH濃度の経時変化（拡大）

Fig. 5及びFig. 6に示すように4種の茶カテキンにおけるDPPHラジカル消去反応は、反応開始から急激に進行し、60秒程度で反応が終了することが確認された。また、Fig. 7に示すように、DPPH濃度の逆数における近似直線の傾きから4種の茶カテキンの反応速度定数は、(-)-エピカテキンが $1071.5 \text{ dm}^3/(\text{mol}\cdot\text{s})$ 、(-)-エピカテキнгаレートが $2065.8 \text{ dm}^3/(\text{mol}\cdot\text{s})$ 、(-)-エピガロカテキンが $2297.5 \text{ dm}^3/(\text{mol}\cdot\text{s})$ 、(-)-エピガロカテキнгаレートが $2536.8 \text{ dm}^3/(\text{mol}\cdot\text{s})$ であった。以上より、4種の茶カテキンのDPPHラジカル消去反応における反応速度は、(-)-エピガロカテキнгаレート>(-)-エピガロカテキン>(-)-エピカテキнгаレート>(-)-エピカテキンの結果となった。4種の茶カテキンのDPPHラジカル消去反応における速度論的な解析は、B環のピロガロール骨格及びカテコール骨格並びにガロイル基の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(-)-エピガロカテキнгаレートと(-)-エピガロカテキンを比較した場合、ガロイル基の有無により、反応速度定数の違いが確認された。このことから、B環のピロガロール骨格よりもガロイル基がDPPHラジカル消去反応に影響を及ぼす事が示唆された。また、B環にカテコール骨格を有する(-)-エピカテキнгаレートと(-)-エピカテキンにおいても、同様の効果が確認された。一方、B環にピロガロール骨格を有する(-)-エピガロカテキンとB環にカテコール骨格及びガロイル基を有する(-)-エピカテキнгаレートを比較した場合、(-)-エピガロカテキンが大きな反応速度定数を示したことから、ガロイル基よりもB環のピロガロール骨格がDPPHラジカル消去反応に影響を及ぼす事が示唆された。

以上のことから、4種の茶カテキンにおけるDPPHラジカル消去反応における速度論的な解析は、ガロイル基及びB環のピロガロール骨格の効果が反応速度定数に影響を与える事が確認された。

5. 二成分共存下における茶カテキン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⁹⁾。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(-)-エピガロカテキнгаレートと(-)-エピガロカテキン、②(-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキнгаレート、③(-)-エピカテキнгаレートと(-)-エピカテキンとした。

5.1 二成分の茶カテキンの共存下における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、5φ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℃、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、重アセトン： CD_3COCD_3 (0.70mL)に試料(10μmol)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(10μmol)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(20μmol)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茶カテキンの抗酸化活性の結果と考察

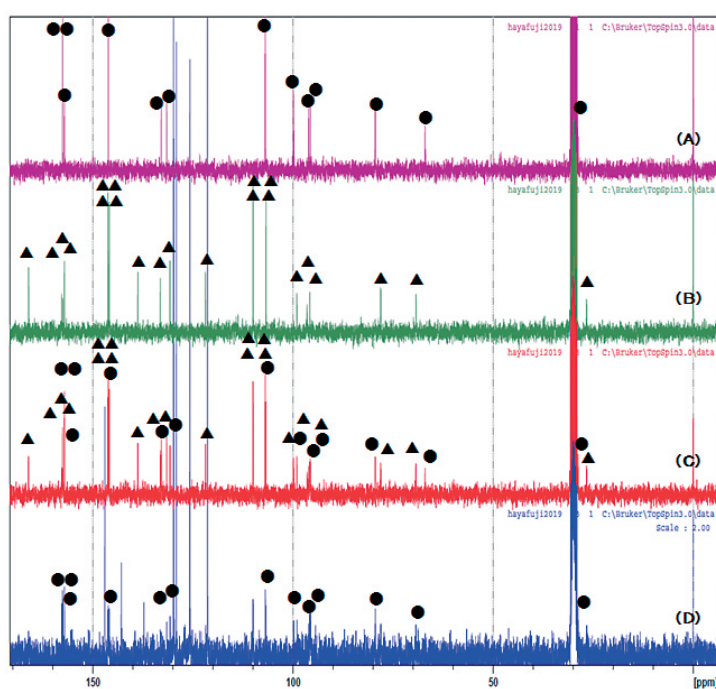
6.1 (-)-エピガロカテキнгаレートと(-)-エピガロカテキンの共存下におけるDPPHラジカル消去の競争反応について

Fig. 8には、DPPHと(-)-エピガロカテキнгаレートおよび(-)-エピガロカテキン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(-)-エピガロカテキнгаレートと(-)-エピガロカテキンの共存下では、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¹⁰⁾。

(-)-エピガロカテキン：¹³C-NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 79.4(C-2), δ 66.9(C-3), δ 28.8(C-4), δ 99.9(C-4a), δ 96.1(C-6), δ 95.7(C-8), δ 157.6(C-5), δ 157.6(C-7), δ 157.1(C-8a), δ 131.5(C-1'), δ 106.9(C-2'), δ 146.1(C-3'), δ 132.9(C-4'), δ 146.1(C-5'), δ 106.9(C-6')(Fig.8 A)。

(-)-エピガロカテキングレート： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 78.1(C-2), δ 69.3(C-3), δ 26.6(C-4), δ 99.0(C-4a), δ 96.5(C-6), δ 95.8(C-8), δ 157.5(C-5), δ 157.8(C-7), δ 157.1(C-8 a), δ 130.7(C-1'), δ 106.7(C-2'), δ 146.2(C-3'), δ 133.1(C-4'), δ 146.2(C-5'), δ 106.7(C-6'), δ 121.9(C-1''), δ 110.0(C-2''), δ 145.9(C-3''), δ 138.7(C-4''), δ 145.9(C-5''), δ 110.0(C-6''), δ 166.0(CO)(Fig.8 B)。

また, (-)-エピガロカテキングレートと(-)-エピガロカテキンの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応では, Fig. 8の (D) に観測されるように(-)-エピガロカテキングレートに由来する全ての ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが消失したことから, (-)-エピガロカテキングレートの B 環のピロガロール骨格における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, (-)-エピガロカテキングレートと(-)-エピガロカテキンの共存下では, (-)-エピガロカテキングレートが優先的に DPPH ラジカル消去反応を進行し, (-)-エピガロカテキンよりも(-)-エピガロカテキングレートが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。



(A)●：(-)-エピガロカテキン(10 μmol) (B)▲：(-)-エピガロカテキングレート(10 μmol)
(C)●：(-)-エピガロカテキン(10 μmol)と▲：(-)-エピガロカテキングレート(10 μmol)の混合物
(D)DPPH(20 μmol)と●：(-)-エピガロカテキン(10 μmol)および▲：(-)-エピガロカテキングレート(10 μmol)の反応混合物

Fig. 8 (-)-エピガロカテキングレートと(-)-エピガロカテキンの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応の ^{13}C -NMR スペクトル

6.2 (-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキングレートの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

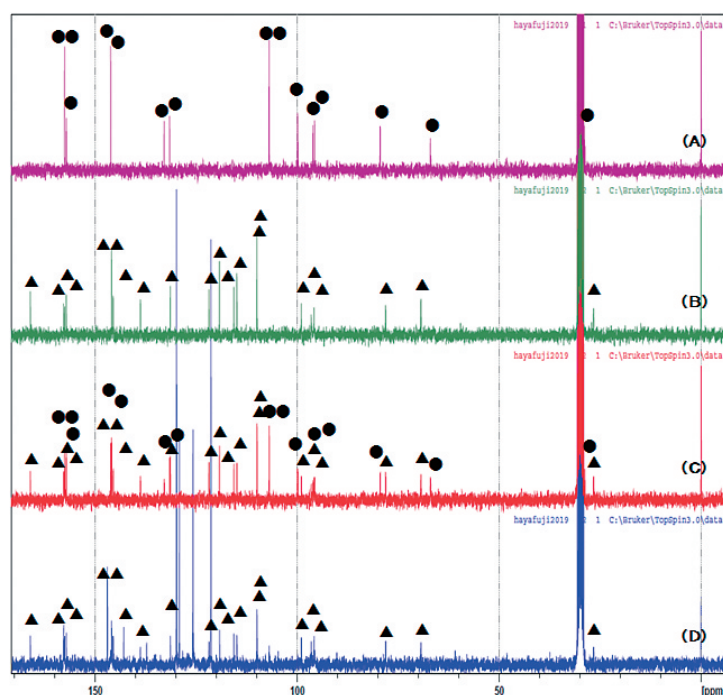
Fig. 9には, DPPH と(-)-エピガロカテキンおよび(-)-エピカテキングレートの競争反応における ^{13}C -NMR スペクトルを示した。Fig. 9の (C) に観測されるように(-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキングレートの共存下では, 互いに影響を及ぼさず各々の ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが確認された¹⁰⁾。

(-)-エピガロカテキン： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 79.4(C-2), δ 66.9(C-3), δ 28.8(C-4), δ 99.9(C-4a), δ 96.1(C-6), δ 95.7(C-8), δ 157.6(C-5), δ 157.6(C-7), δ 157.1(C-8a), δ 131.5(C-1'), δ 106.9(C-2'), δ 146.1(C-3'), δ 132.9(C-4'), δ 146.1(C-5'), δ 106.9(C-6')(Fig.9 A)。

(-)-エピカテキングレート： ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 78.1(C-2), δ 69.4(C-3), δ 26.6(C-4), δ 98.9(C-4a), δ 96.5(C-6), δ 95.8(C-8), δ 157.5(C-5), δ 157.8(C-7), δ 157.1(C-8a), δ 131.4(C-1'), δ 114.9(C-2'), δ 145.6(C-3'), δ 145.5(C-4'), δ 115.6(C-5'), δ 119.2(C-6'),

δ 121.8(C-1'), δ 109.9(C-2'), δ 145.9(C-3'), δ 138.8(C-4'), δ 145.9(C-5'), δ 109.9(C-6'),
 δ 166.0(CO)(Fig.9 B)。

また, (-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキンガレートの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応では, Fig. 9の (D) に観測されるように(-)-エピガロカテキンに由来する全ての ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが消失したことから, (-)-エピガロカテキンの B 環のピロガロール骨格における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, (-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキンガレートの共存下では, (-)-エピガロカテキンが優先的に DPPH ラジカル消去反応を進行し, (-)-エピカテキンガレートよりも(-)-エピガロカテキンが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。



(A)●: (-)-エピガロカテキン(10 μ mol) (B)▲: (-)-エピカテキンガレート(10 μ mol)
 (C)●: (-)-エピガロカテキン(10 μ mol)と▲: (-)-エピカテキンガレート(10 μ mol)の混合物
 (D)DPPH(20 μ mol)と●: (-)-エピガロカテキン(10 μ mol)および▲: (-)-エピカテキンガレート(10 μ mol)の反応混合物

Fig. 9 (-)-エピガロカテキンと(-)-エピカテキンガレートの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応の ^{13}C -NMR スペクトル

6. 3 (-)-エピカテキンガレートと(-)-エピカテキンの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応について

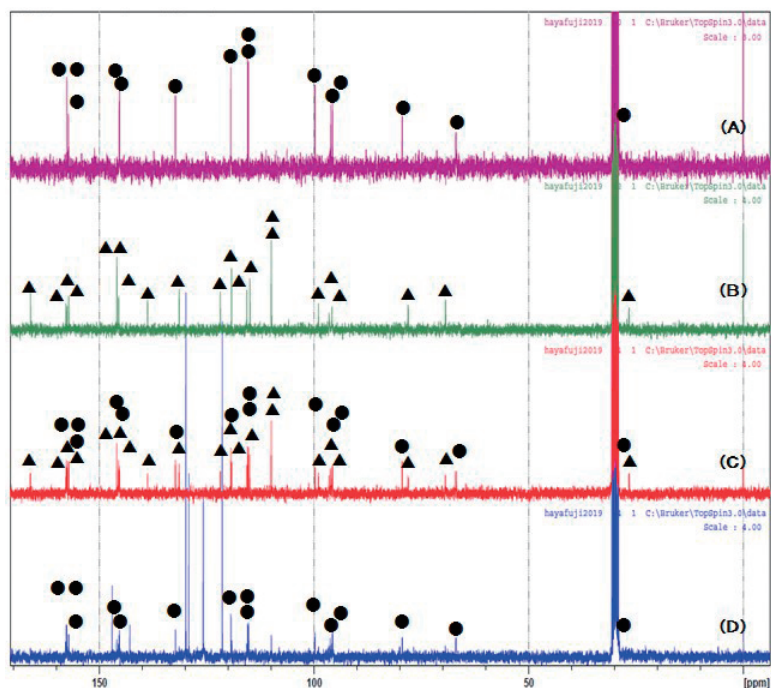
Fig.10には, DPPH と(-)-エピカテキンガレートおよび(-)-エピカテキンの競争反応における ^{13}C -NMR スペクトルを示した。Fig.10の (C) に観測されるように(-)-エピカテキンガレートと(-)-エピカテキンの共存下では, 互いに影響を及ぼさず各々の ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが確認された¹⁰⁾。

(-)-エピカテキン: ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 79.4(C-2), δ 66.9(C-3), δ 29.0(C-4), δ 99.8(C-4a),
 δ 96.1(C-6), δ 95.7(C-8), δ 157.6(C-5), δ 157.5(C-7), δ 157.2(C-8a), δ 132.3(C-1'),
 δ 115.3(C-2'), δ 145.4(C-3'), δ 145.3(C-4'), δ 115.5(C-5'), δ 119.4(C-6')(Fig.10 A)。

(-)-エピカテキンガレート: ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75 MHz) δ 78.1(C-2), δ 69.4(C-3), δ 26.6(C-4),
 δ 98.9(C-4a), δ 96.5(C-6), δ 95.8(C-8), δ 157.5(C-5), δ 157.8(C-7), δ 157.1(C-8a),
 δ 131.4(C-1'), δ 114.9(C-2'), δ 145.6(C-3'), δ 145.5(C-4'), δ 115.6(C-5'), δ 119.2(C-6'),
 δ 121.8(C-1''), δ 109.9(C-2''), δ 145.9(C-3''), δ 138.8(C-4''), δ 145.9(C-5''), δ 109.9(C-6''),
 δ 166.0(CO)(Fig.10 B)。

また, (-)-エピカテキンガレートと(-)-エピカテキンの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応では, Fig.10の (D) に観測されるように(-)-エピカテキンガレートに由来する全ての ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルが

消失したことから, (-)-エピカテキングアレートの B 環のカテコール骨格における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, (-)-エピカテキングアレートと(-)-エピカテキンの共存下では, (-)-エピカテキングアレートが優先的に DPPH ラジカル消去反応を進行し, (-)-エピカテキンよりも(-)-エピカテキングアレートが強い抗酸化活性を示す事が示唆された。



(A)●: (-)-エピカテキン(10μmol) (B)▲: (-)-エピカテキングアレート(10μmol)
(C)●: (-)-エピカテキン(10μmol)と▲: (-)-エピカテキングアレート(10μmol)の混合物
(D)DPPH(20μmol)と●: (-)-エピカテキン(10μmol)および▲: (-)-エピカテキングアレート(10μmol)の反応混合物

Fig. 10 (-)-エピカテキングアレートと(-)-エピカテキンの共存下での DPPH ラジカル消去の競争反応の¹³C-NMR スペクトル

6. 5 二成分の抗酸化物質の共存下における茶カテキンの抗酸化活性の評価について

Fig. 8から Fig. 10に示したように, 二成分の抗酸化物質の共存下における茶カテキンの抗酸化活性の強さは, DPPH ラジカル消去能力において, (-)-エピガロカテキングアレート>(-)-エピガロカテキン>(-)-エピカテキングアレート>(-)-エピカテキンと評価された。これらは, 4 種の茶カテキンの 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, 4 種の茶カテキンのガロイル基及び B 環のピロガロール骨格の効果は, 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 測定での二成分の茶カテキンの共存下における DPPH ラジカル消去の競争反応は, ¹³C-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。¹³C-NMR スペクトル測定による抗酸化活性の特徴は, DPPH ラジカルと反応した直後の茶カテキン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。本手法により抗酸化物質の DPPH ラジカル消去能力を新たな尺度で評価する事が出来た。

7. まとめ

代表的な茶カテキンとして, (-)-エピガロカテキングアレート, (-)-エピガロカテキン, (-)-エピカテキングアレート, (-)-エピカテキンを用いて, DPPH ラジカル消去反応における反応速度を検討し, 4 種の茶カテキンの DPPH ラジカル消去反応における反応速度は, (-)-エピガロカテキングアレート>(-)-エピガロカテキン>(-)-エピカテキングアレート>(-)-エピカテキ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茶カテ

キンの DPPH ラジカル消去能力の強さは、(-)-エピガロカテキンガレート>(-)-エピガロカテキン>(-)-エピカテキンガレート>(-)-エピカテキンと評価され、茶カテキンにおけるガロイル基及びB環のピロガロール骨格の効果は、DPPH ラジカル消去反応の反応速度と二成分の茶カテキンの共存下における 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20K03230(代表者:早藤幸隆)の助成を受けて行われた。

引用文献

- 1) 早藤 幸隆, 須賀 一翔, 猪本 大翔, 中原 光翼, 中西 勇義, 生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, 鳴門教育大学研究紀要, 35巻, 2020, pp. 293-302.
- 2) Mitsuru Watanabe, Catechins as Antioxidants from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Groats., J. Agric. Food Chem., 46, 1998, pp. 839-845.
- 3) 佐野 満昭, 茶カテキンの機能と調理時における構造的変化., 日本調理科学会誌, Vol. 40, No. 4, 2007, pp. 223-230.
- 4) 原 征彦, 茶カテキン類の機能性とそれらの応用例., 日本調理科学会誌, Vol. 26, No. 1, 2000, pp. 47-54.
- 5) Ryota Seto, Hironori Nakamura, Fumio Nanjo, Yukihiro Hara, Preparation of Epimers of Tea Catechins by Heat Treatment, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 61(9), 1997, pp. 1434-1439.
- 6) 馬場 星吾, 寺尾 純二, 生体におけるポリフェノールの代謝と生理機能 — カテキン類について —, オレオサイエンス., 第4巻, 第7号, pp. 271-277.
- 7) 田村 克浩, 松本 高利, 長嶋 雲兵, 茶カテキン類のC-6位またはC-8位におけるヒドロキシメチル化の反応性を高めるためには? — C-3位のガレート基導入効果の理論的研究 —, J. Chem. Software, Vol. 7, No. 2 2001, pp. 57-64.
- 8) Patricia Janeiro, Ana Maria Oliveira Brett, Catechin electrochemical oxidation mechanisms., Analytica Chimica Acta, 518, 2004, pp.109-115.
- 9) 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.
- 10) Adrienne L. Davis, Ya Cai, Alan P. Davies, J. R. Lewis, ¹H and ¹³C NMR Assignments of Some Green Tea Polyphenols., MAGNETIC RESONANCE IN CHEMISTRY, Vol. 34, 1996, pp. 887-890.

Basic research on antioxidant activity in tea catechin

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

We investigated the reaction rate of DPPH radical scavenging reaction using four kinds of tea catechins ((-)-epigallocatechin gallate, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epicatechin). As a result, we revealed that the order of reaction rate of DPPH radical scavenging reaction of four kinds of tea catechins is (-)-epigallocatechin gallate > (-)-epigallocatechin > (-)-epicatechin gallate > (-)-epicatechin. And also, the strength of DPPH radical scavenging ability of four kinds of tea catechins under the coexistence of two kinds of antioxidants was evaluated the order of (-)-epigallocatechin gallate > (-)-epigallocatechin > (-)-epicatechin gallate > (-)-epicatechin. Finally, we revealed that the effect on galloyl group and pyrogallol skeleton of B ring of tea catechins was the relationship of the reaction rate on DPPH radical scavenging reaction and DPPH radical scavenging ability of four kinds of tea catechins under the coexistence of two kinds of antioxidants.

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

^{**}Tokushima Bunri Junior High School

(Naruto University of Education, junior doctor)

^{***}Fuzoku Middle School Attached To Naruto University of Education

(Naruto University of Education, junior doctor)

^{****}Tokushima Prefectural Johnan High School

(Naruto University of Education, junior doctor)

^{*****}Tokushima Prefectural Johnouchi Junior High School

(Naruto University of Education, junior doctor)