

图 6. ^{13}C -NMR Spectrum of myricanone 5-O-(6'-O-galloyl)-glucoside (12)

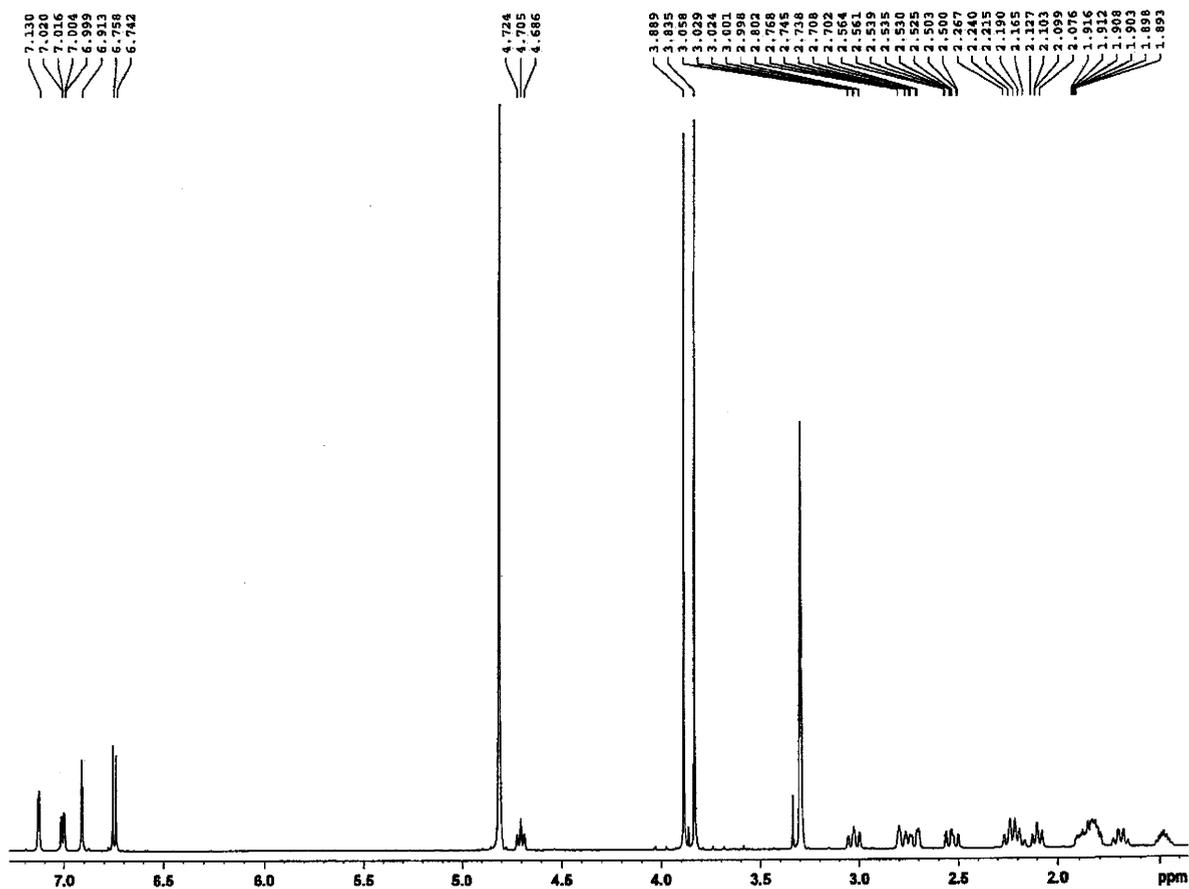


图 9. $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of myricanol 11-*O*-sulfate (13)

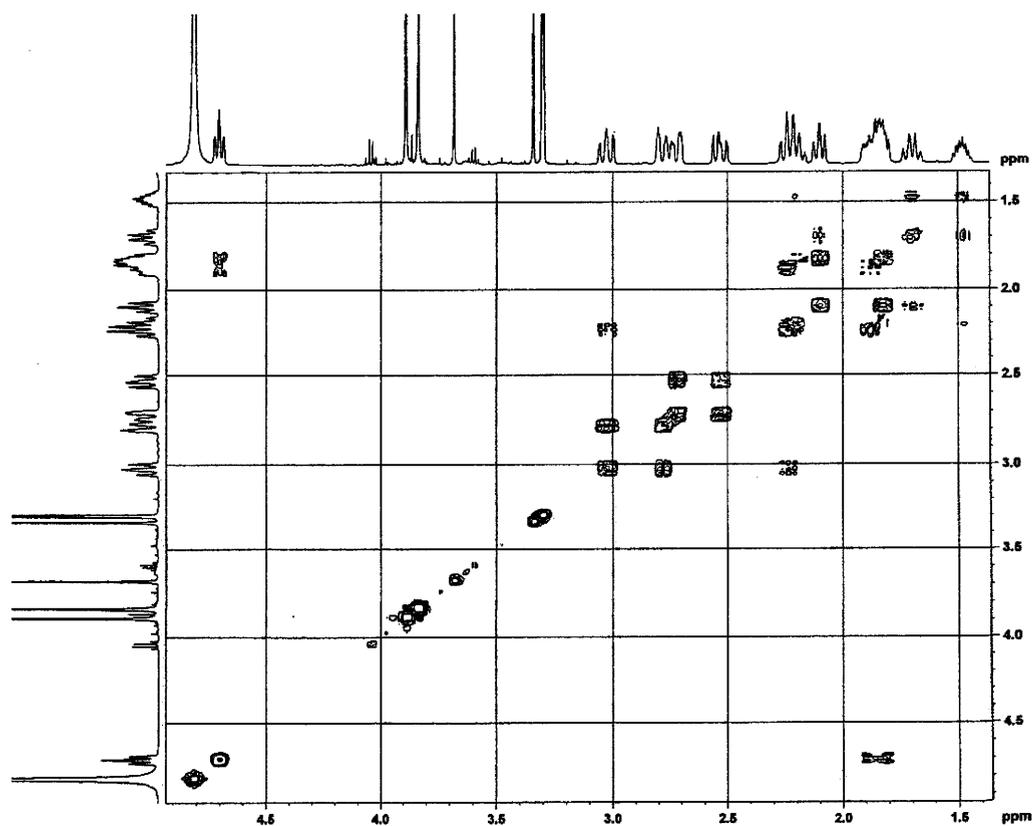
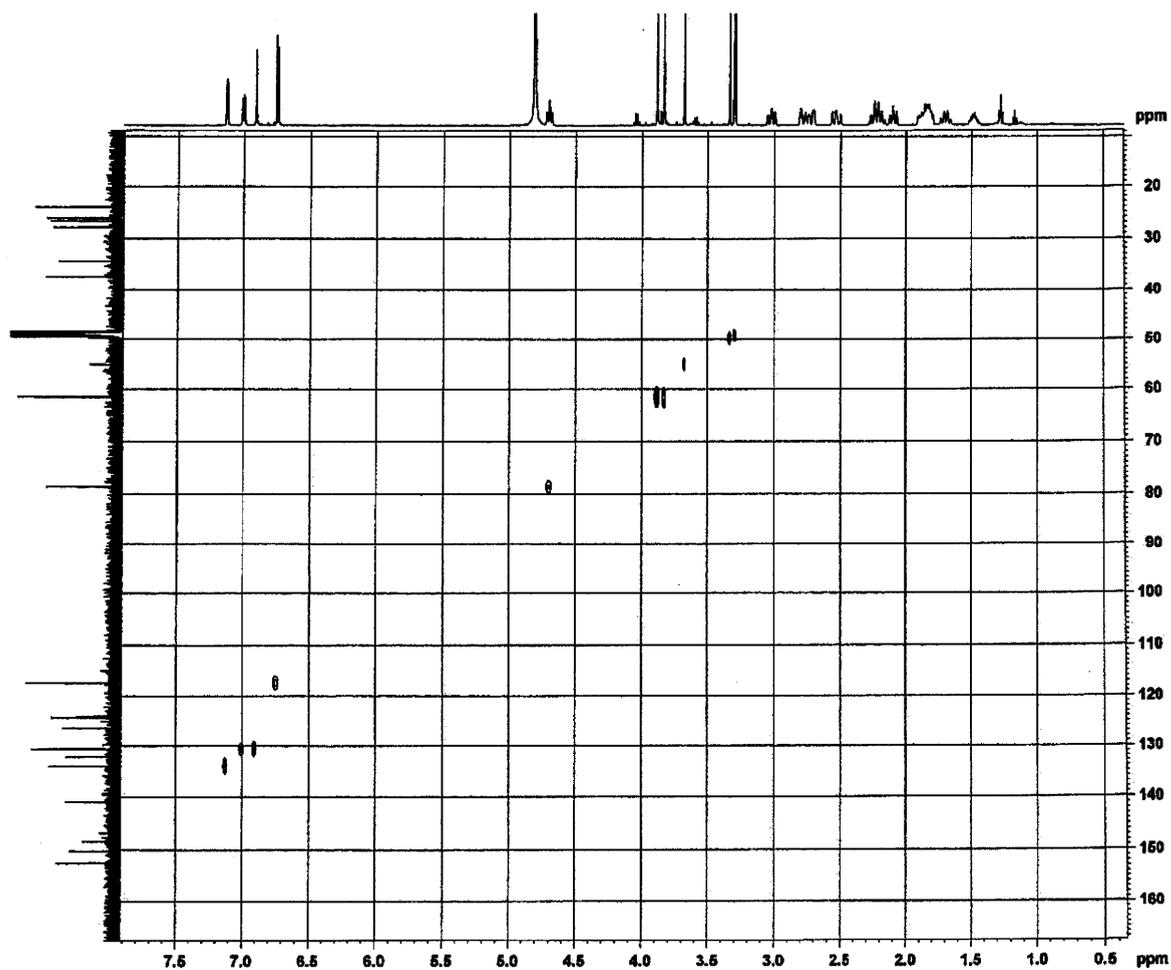
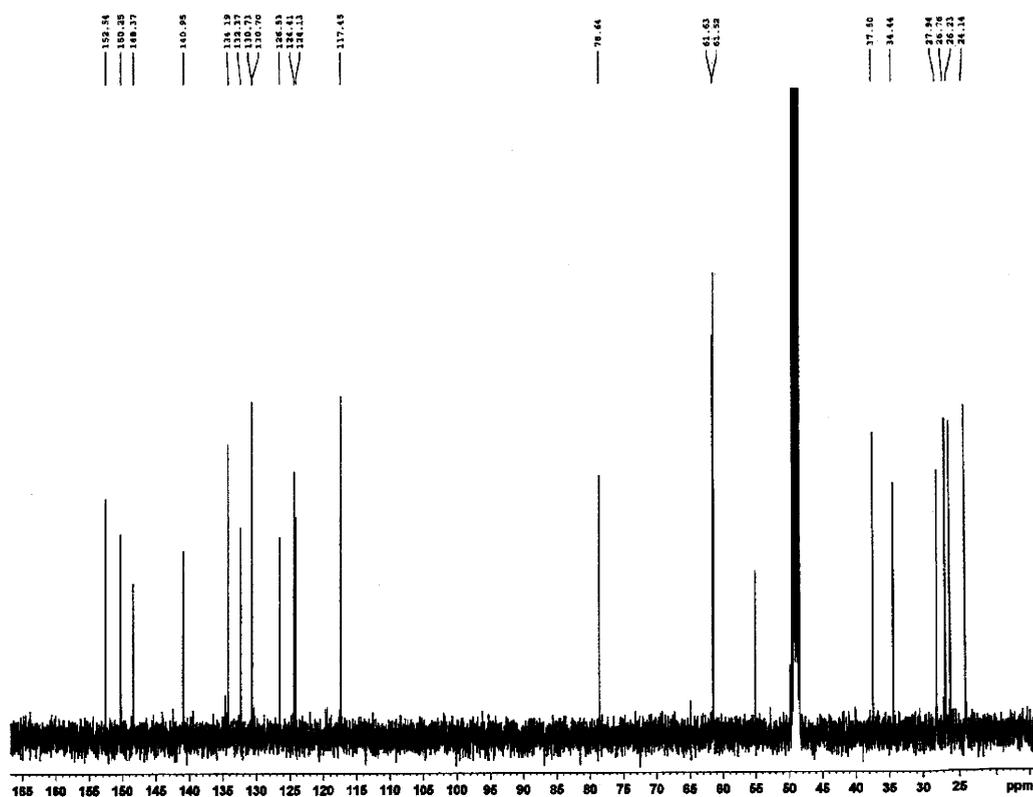


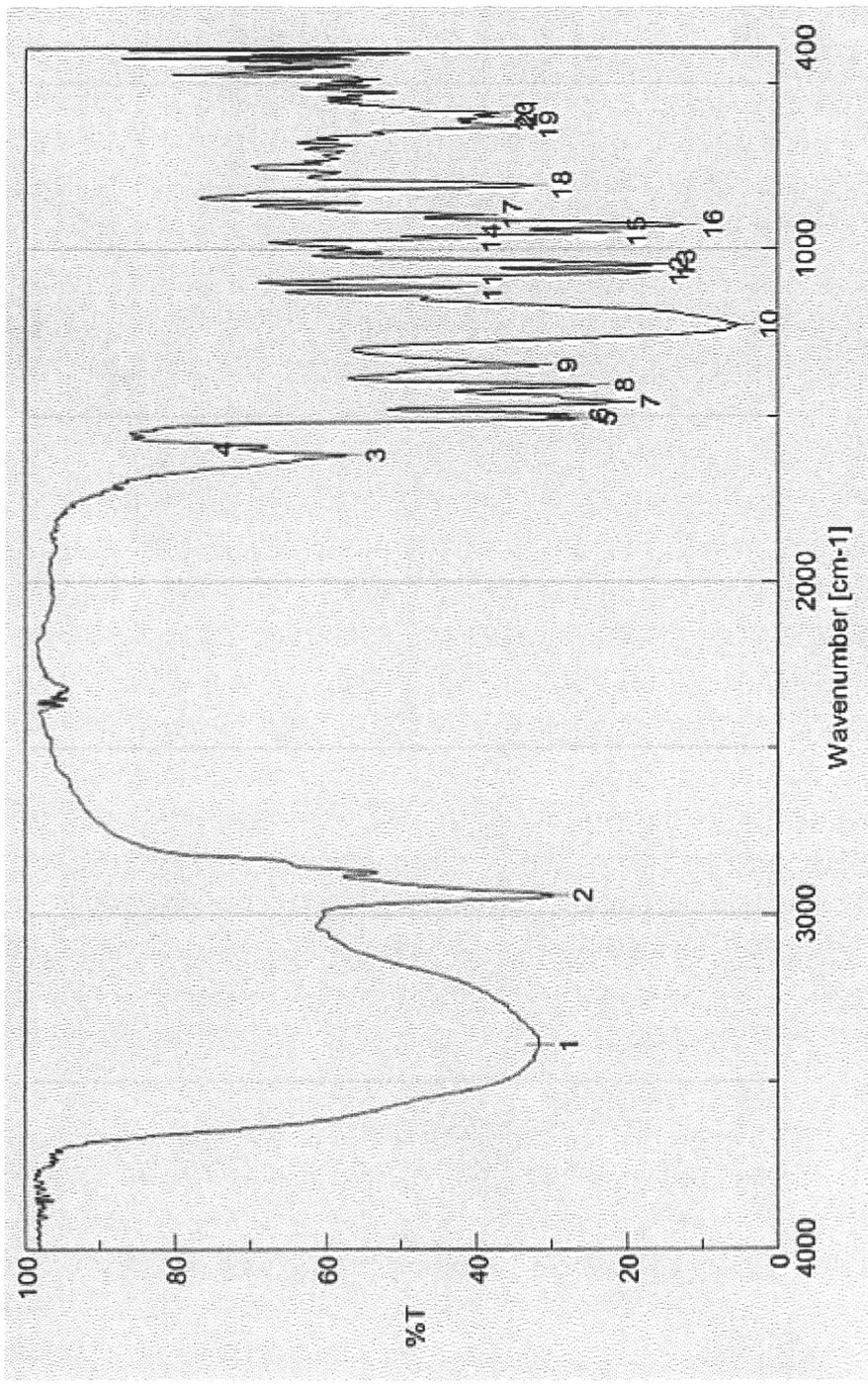
图 10. $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY Spectrum of myricanol 11-*O*-sulfate (13)



⊠ 11. HSQC Correlations of myricanol 11-*O*-sulfate (13)



⊠ 12. ^{13}C -NMR Spectrum of myricanol 11-*O*-sulfate (13)



ピーク検出結果

No.	位置	強度	No.	位置	強度
1	3390.24	31.4902	2	2939.95	29.5975
3	1617.02	57.2347	4	1594.84	69.6744
5	1506.13	26.3922	6	1495.53	27.4718
7	1456.96	20.6973	8	1408.75	24.0953
9	1348.96	31.7374	10	1231.33	4.98094
11	1113.69	41.647	12	1067.41	16.9814
13	1044.26	15.9248	14	966.162	41.8914
15	947.842	22.5549	16	927.593	12.3674
17	896.737	39.0563	18	808.992	32.4674
19	625.788	34.2528	20	595.896	37.4757
21	586.254	37.0054			

☒ 13. IR Spectrum of myricanol 11-O-sulfate (13)

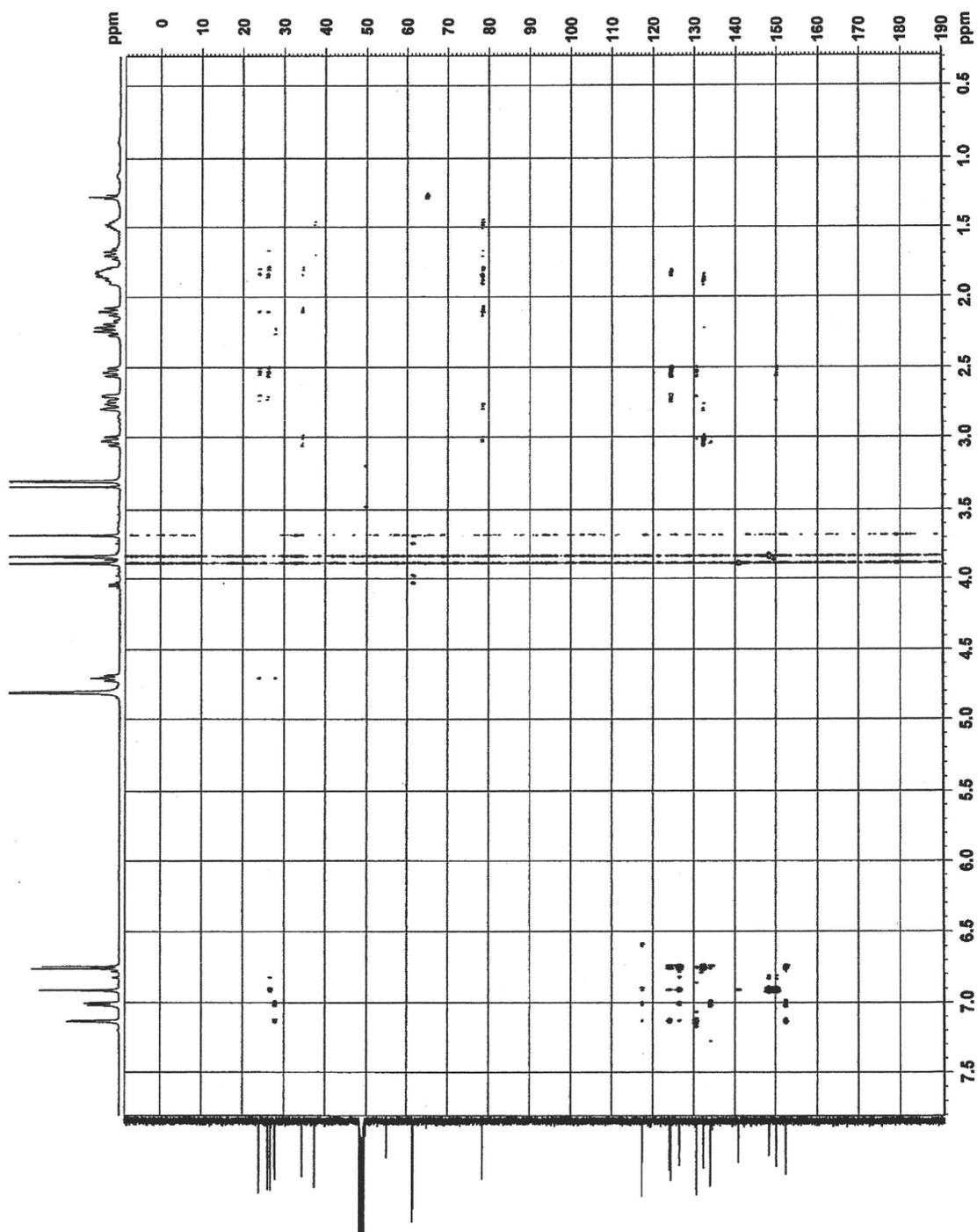


图 14. HMBN Correlations of myricanol 11-O-sulfate (13)

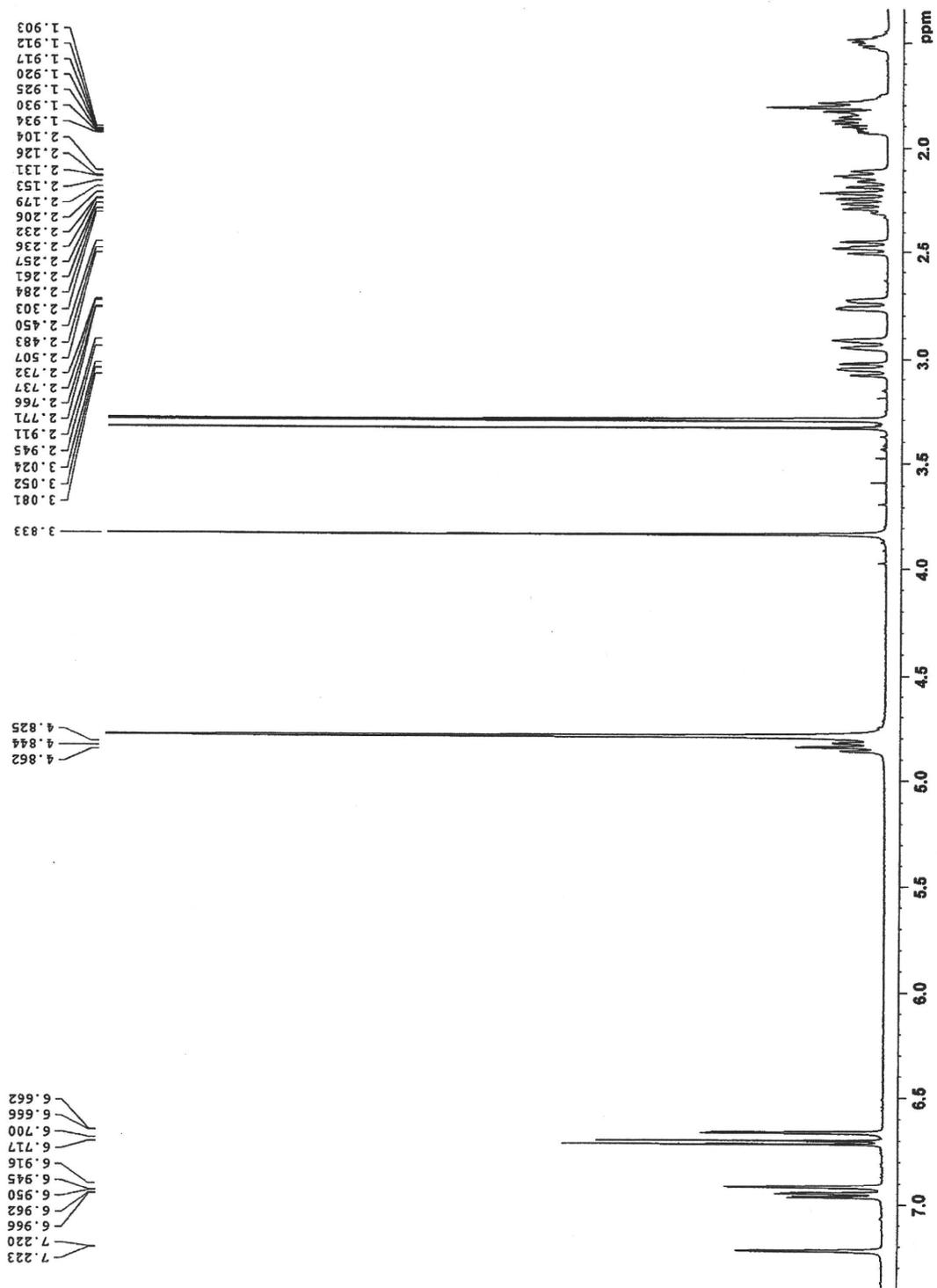
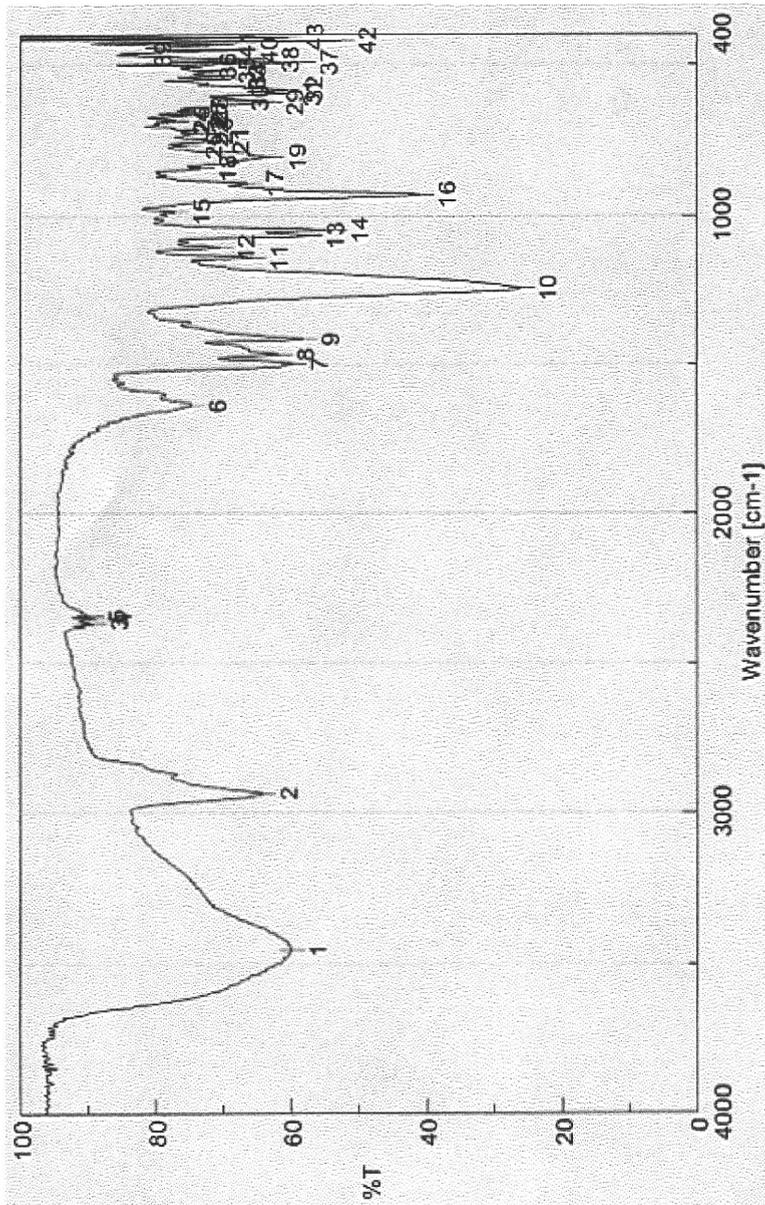


图 15. $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of juglanin B 11-*O*-sulfate (14)



ピーク検出結果

No.	位置	強度	No.	位置	強度
1	3452.92	59.732	2	2932.23	64.04
3	2361.41	89.2158	4	2342.12	88.6758
5	2332.48	89.6553	6	1634.38	74.6332
7	1496.49	59.5768	8	1464.67	81.5682
9	1413.57	58.01	10	1241.93	25.8961
11	1136.83	65.5052	12	1104.05	70.4206
13	1064.51	57.25	14	1045.23	53.7057
15	983.518	77.0021	16	928.557	40.7759
17	890.952	66.1433	18	841.776	73.1153
19	806.089	62.8265	20	767.53	75.1864
21	763.066	71.1398	22	729.925	74.255
23	719.318	73.5451	24	689.427	77.0532
25	680.749	76.9947	26	668.214	74.3968
27	657.607	74.3892	28	648.929	74.2473
29	625.788	63.225	30	610.36	68.3971
31	595.890	60.6666	32	584.325	60.346
33	546.72	68.7517	34	535.15	68.6526
35	520.686	70.2808	36	505.293	73.0666
37	493.688	58.1956	38	482.117	63.8897
39	464.761	82.7205	40	451.261	66.9872
41	432.941	70.3156	42	420.406	52.5342
43	408.835	60.2845			

☒ 16. IR Spectrum of juglanin B 11-O-sulfate (14)

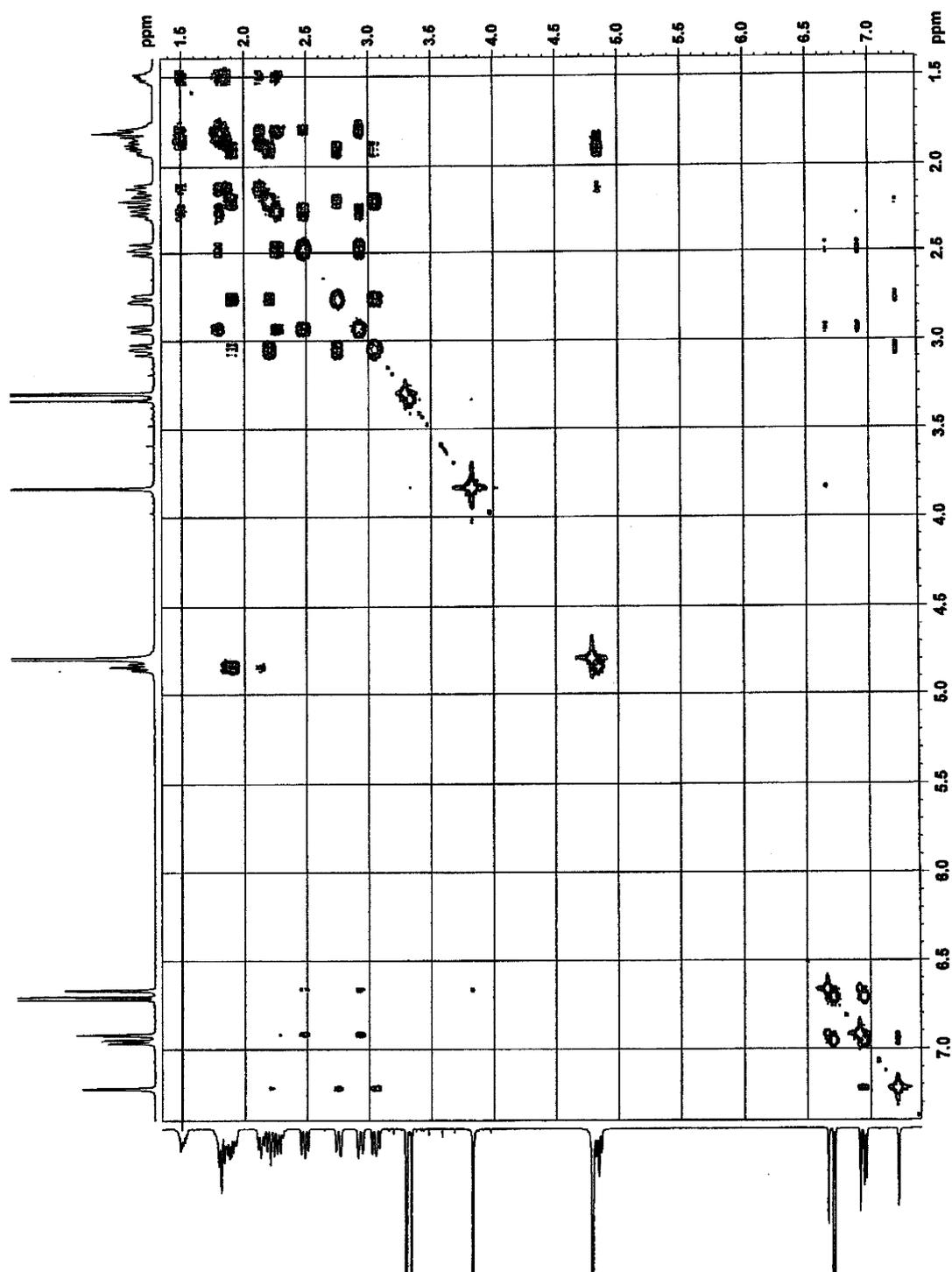
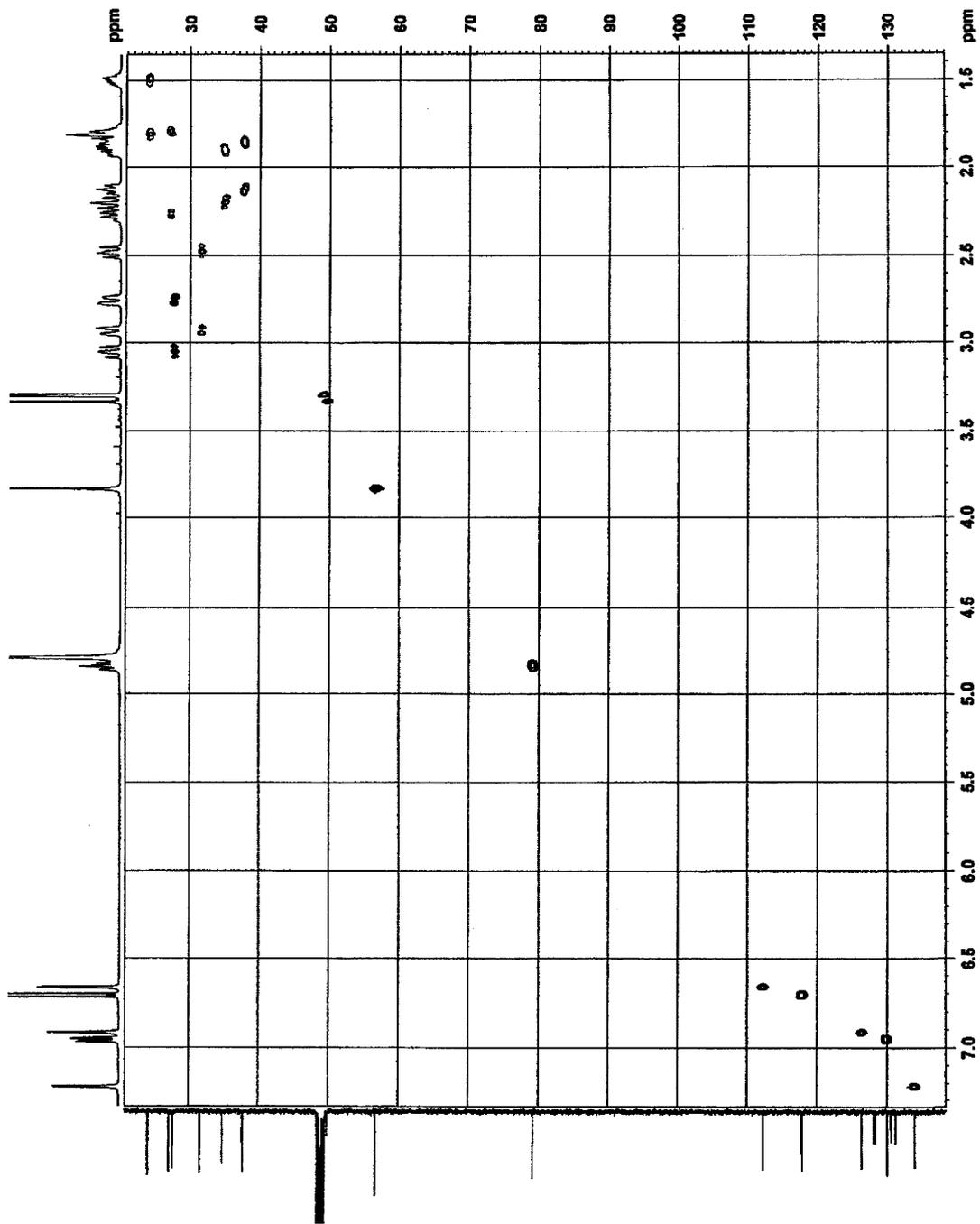


图 17. ^1H - ^1H COSY Spectrum of juglanin B 11-O-sulfate (14)



18. HSQC Correlations of juglanin B 11-*O*-sulfate (14)

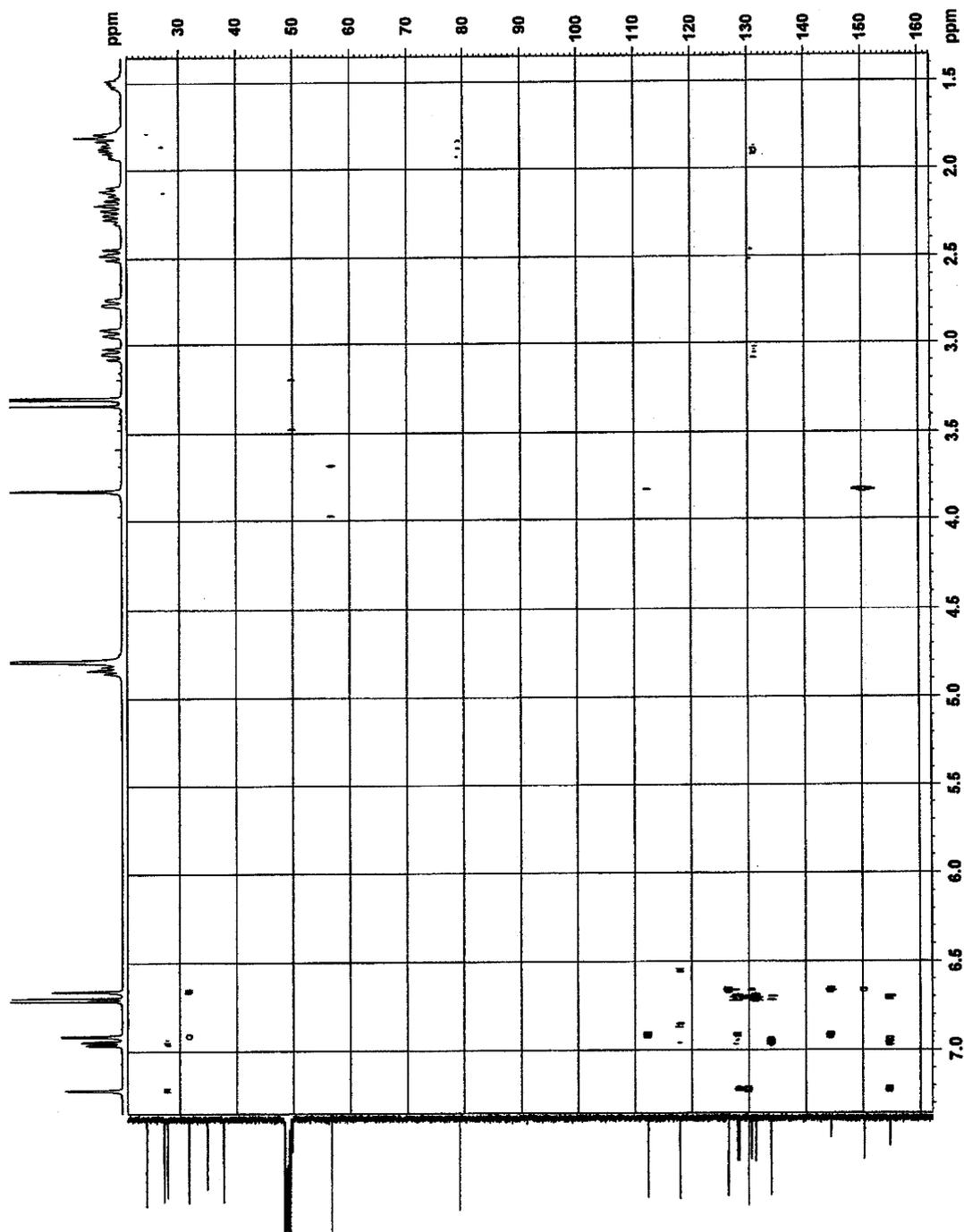


图 19. HMBC Correlations of juglanin B 11-O-sulfate (14)

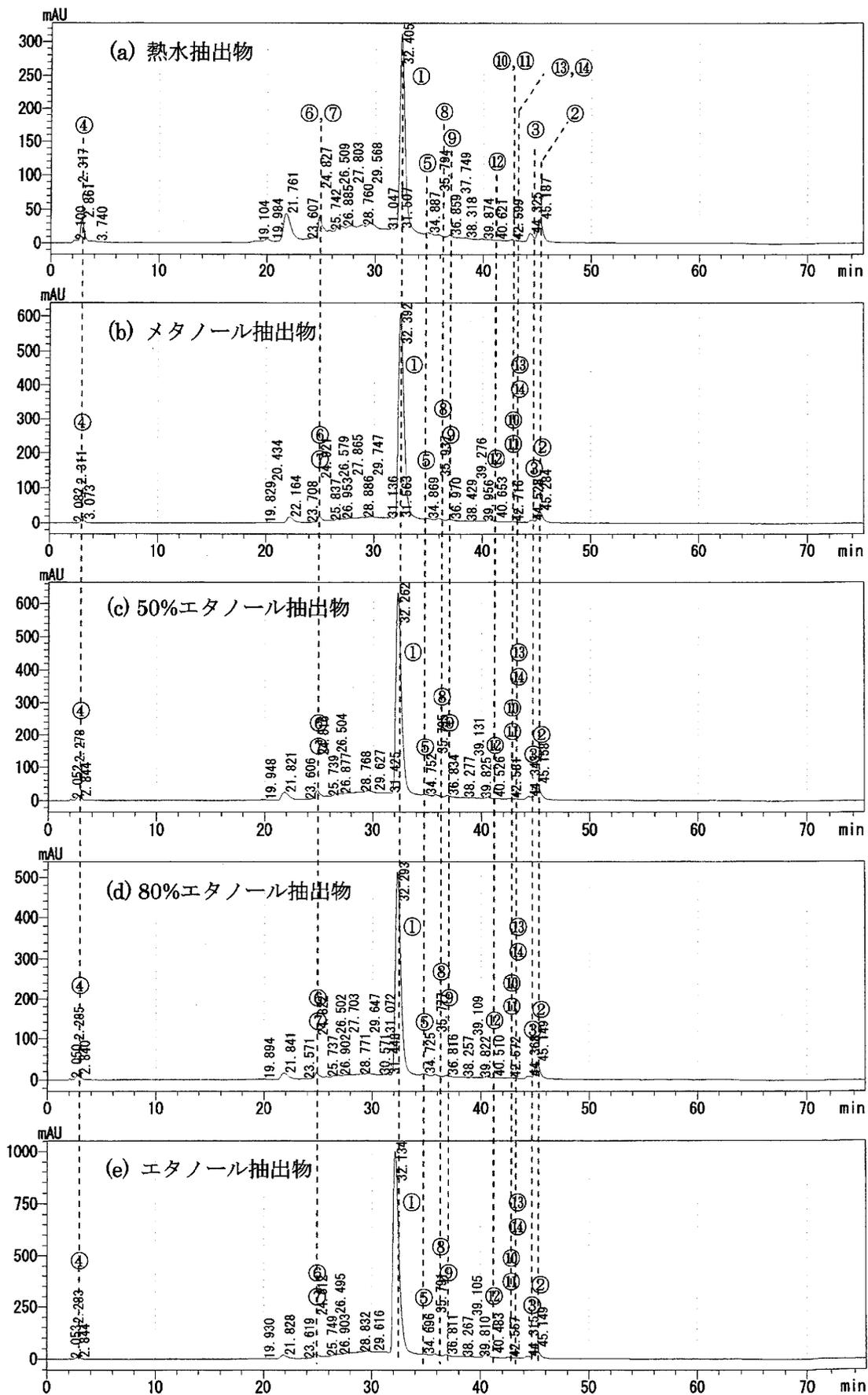


図 20. ヤマモモ抽出物の HPLC クロマトグラム (検出波長: 280 nm)
 (a) 熱水抽出物, (b) メタノール抽出物, (c) 50%エタノール抽出物,
 (d) 80%エタノール抽出物, (e) エタノール抽出物
 [クロマトグラム中の数字は化合物番号を示す]

II. 分担研究報告書

2. 天然酸化防止剤の製法による主要成分の提案

既存添加物「酸化防止剤」の製法による抗酸化能及び主要成分の変動解析
天然酸化防止剤の製法による主要成分の提案

分担研究者 吉田隆志 松山大学薬学部 教授

研究要旨

今年度実施した抽出物（ヒマワリ種子、ローズマリー、チャ、生コーヒー豆、ヤマモモ）の製法による成分分布と抗酸化活性の比較検討結果に基づき、酸化防止剤として有効な抽出法および指標となり得る成分について考察した。ヒマワリ種子においては、エタノールのみ抽出よりも含水エタノールとすることで抗酸化活性が高まることが認められた。主検出成分は chlorogenic acid で、それを含めたカフェー酸誘導体の抗酸化能への寄与が示された。ローズマリーについては、50%含水アルコール抽出物が高い抗酸化活性を示し、主検出成分および有効成分として rosmarinic acid が同定された。チャ抽出物については、全体的に強い抗酸化能が認められたが、アルコールまたは水以外の有機溶媒（アセトン、酢酸エチル）のみによる抽出物は、他と比べ活性が弱かった。抽出物の抗酸化活性画分を分析したところ、主成分として epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG) および caffeine が検出され、これら化合物の抗酸化活性を評価したところ、EGCG, ECG に強い抗酸化活性が認められたが、caffeine の抗酸化活性は低かった。従って、EGCG, ECG を主とするカテキン類の抗酸化能への寄与が示唆された。生コーヒー豆抽出物についても、全体的に強い抗酸化能を示した。抗酸化活性画分について分析した結果、主成分として chlorogenic acid, caffeine が検出され、caffeine の抗酸化値が低いことから、本抽出物の指標成分として chlorogenic acid を主とするカフェー酸誘導体が示唆された。ヤマモモ抽出物については、調製した抽出物すべてにおいて強い抗酸化活性が認められた。調製した抽出物について比較すると、熱水のみによる抽出よりも含水アルコールの活性が強い傾向があった。抽出物の活性画分を分析したところ、myricitrin が主ピークとして検出され、指標成分としての有効性が示唆された。

研究協力者

天倉吉章 松山大学薬学部 准教授
好村守生 松山大学薬学部 助教

た製法を提案し、食品添加物の適正使用のための規格化に寄与する科学データの集積を目的とする。

A. 研究目的

規格整備が遅れている既存添加物中の単一成分でない酸化防止剤について、複数の製法により調製した抽出物の成分分布および抗酸化活性の変動解析を行うことで、使用目的に適し

B. 研究方法

今年度実施した抽出物（ヒマワリ種子、ローズマリー、チャ、生コーヒー豆、ヤマモモ）の製法による成分分布と抗酸化活性の比較検討結果に基づき、酸化防止剤として有効な

抽出法および指標となり得る成分について得られた知見を整理し、考察した。

C. 研究結果および考察

ヒマワリ種子、ローズマリー、チャ、生コーヒー豆、ヤマモモ抽出物において、調製した抽出物、分画物の抗酸化活性についてデータをまとめたグラフを図1に示す。また抽出物の指標として提案される成分の化学構造式を図2に示す。各抽出物における知見について、以下の(1)～(5)にまとめた。

- (1) ヒマワリ種子抽出物については、水、50%エタノール抽出物およびエタノール抽出物を調製し、比較検討した結果、主成分として chlorogenic acid が検出された。抗酸化能を ORAC 測定により評価した結果、50%エタノール抽出物が高い抗酸化能を示した。抽出物の分画物 (*n*-ヘキサン、酢酸エチル、水分画物) について、抗酸化能を評価したところ、酢酸エチル分画物が顕著に強かった。酢酸エチル分画物について含有成分を分析した結果、主成分である chlorogenic acid に加えて 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid のピークが主ピークとして検出された。それゆえ、これらカフェー酸誘導体が活性成分として抗酸化能に寄与していることが示唆された。
- (2) ローズマリー抽出物については、各種抽出物 (エタノール、50%エタノール、メタノール、50%メタノール、水、ヘキサン抽出物) について比較検討した結果、その大半で主成分として rosmarinic acid が検出された。抗酸化能を ORAC 測定により評価した結果、含水アルコールで抗酸化活性が強い傾向が認められた。抽出物の分画物 (*n*-ヘキサン、酢酸エチル、水分画物) について、抗酸化能を評価したところ、酢酸エチル分画物が顕著に強かった。酢酸エチ

ル分画物について含有成分を分析した結果、rosmarinic acid が主成分として検出された。その抗酸化能を評価したところ、顕著な抗酸化活性を示し、抗酸化能に寄与していることが示唆された。一方で、低極性画分に分布する carnosol や carnosic acid にも抗酸化活性が認められ、これらも指標にすることで、添加する用途に応じたより効果的な添加物利用が可能になることが示唆された。

- (3) チャ抽出物については、茶葉の水、熱湯、50%エタノール、エタノール、メタノール、アセトン、酢酸エチル抽出物について比較検討した結果、いずれも主成分として、caffeine, epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG) が検出された。抗酸化能を ORAC 測定により評価した結果、ほぼ全ての抽出物で抗酸化能を示したが、アセトンや酢酸エチルといった有機溶媒のみでの抽出よりも、水、アルコールまたは含水アルコールで抽出したものの方が高抗酸化能を示した。抽出物の分画物 (*n*-ヘキサン、酢酸エチル、水分画物) について、抗酸化能を評価したところ、酢酸エチル分画物が顕著に強かった。酢酸エチル分画物について含有成分を分析した結果、caffeine, EGCG, ECG が主成分として検出され、その他のカテキン類もマイナー成分として検出された。3化合物について抗酸化能を評価したところ、caffeine を除く化合物 (EGCG, ECG) は顕著な抗酸化活性を示し、これらが抗酸化能に寄与していることが示唆された。
- (4) 生コーヒー豆抽出物については、水、50%エタノール、エタノール抽出物について比較検討した結果、いずれからも主成分として、caffeine, chlorogenic acid が検出された。抗酸化能を ORAC 測定により評価した結

果、ほぼ全ての抽出物で抗酸化能を示したが、水のみよりもアルコールまたは含水アルコールで抽出したものの方が高抗酸化能を示した。抽出物の分画物 (*n*-ヘキサン、酢酸エチル、水分画物) について、抗酸化能を評価したところ、水、酢酸エチル分画物の順に活性が強かった。水分画物について含有成分を分析した結果、**chlorogenic acid** が主成分として検出され、その他のカフェー酸誘導体もマイナー成分として検出され、これらが抗酸化能に寄与していることが示唆された。

(5) ヤマモモ抽出物では、各抽出物（熱水抽出物、50%エタノール抽出物、80%エタノール抽出物、エタノール抽出物、メタノール抽出物）について抗酸化能を比較した結果、80%エタノール抽出物に最も強い活性を認めた。得られた化合物を標準試料として各抽出物との HPLC による成分比較を行った結果、いずれの抽出物においても主成分として **myricitrin** が検出された。

今回、5 抽出物の主成分、有効成分について考察した。試料調製における指標の一つとして、これら成分を目安に試料調製をすることで効果的な添加物供給に繋がると考察される。一方で、他のマイナー成分の寄与や相乗効果なども考慮に入れるべきである。活性を発揮しそうなマイナー成分は、主成分と関連化合物であるものが多く、それゆえ主成分を抽出することで共存することが考えられ、本結果からもそのような傾向が観察された。

D. 結論

今回、5 抽出物（ヒマワリ種子、ローズマリー、チャ、生コーヒー豆、ヤマモモ）の製法とそれによる抗酸化能および成分分布について検討し、ヒマワリ種子および生コーヒー豆では **chlorogenic acid**、ローズマリーでは

rosmarinic acid、チャでは EGCG, ECG, ヤマモモでは **myricitrin** を指標成分とした調製法が効果的である結果が得られた。

E. 研究業績

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

($\mu\text{mol Trolox equivalent/g}$)

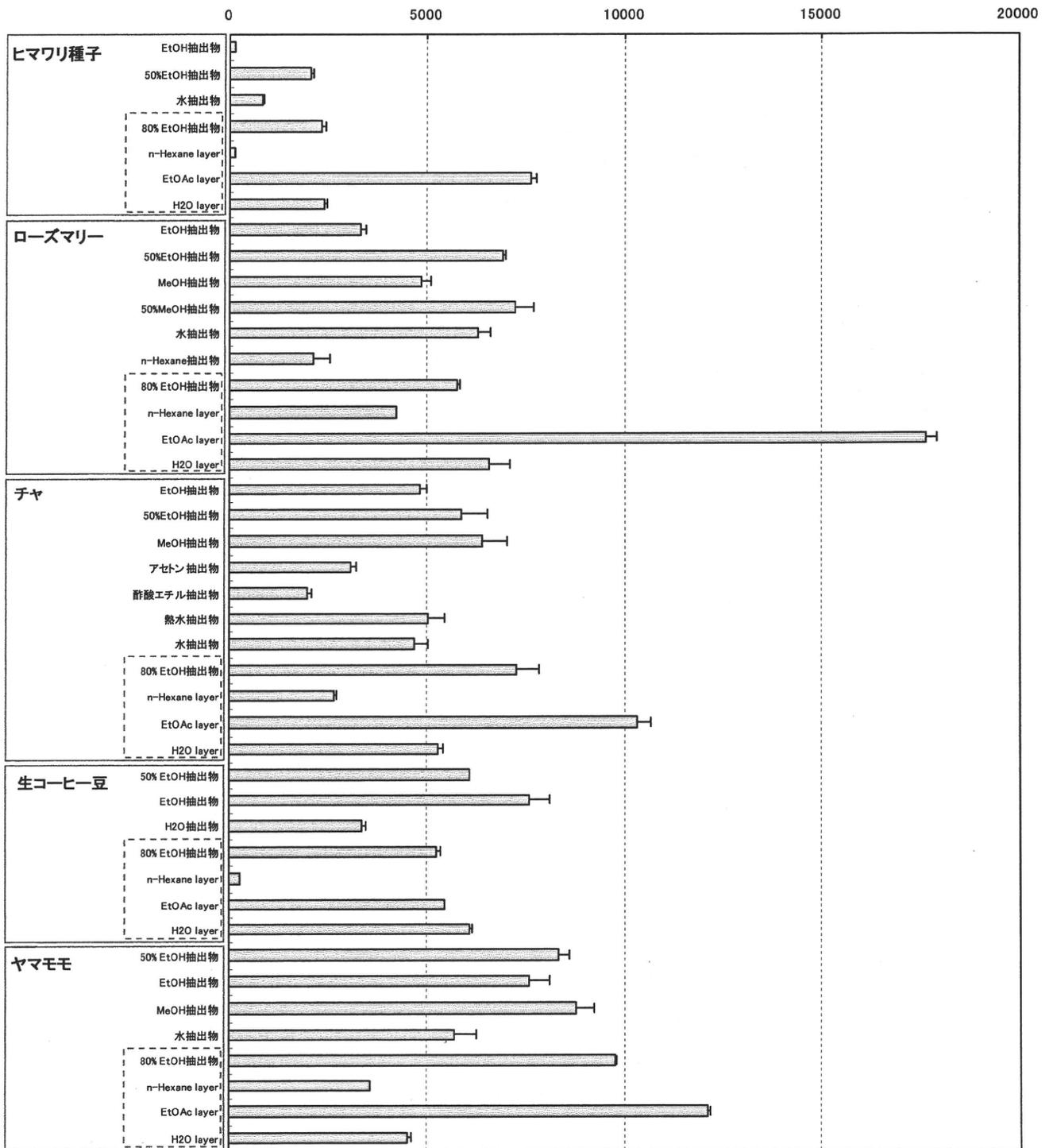


図 1. 各抽出物および分画物の抗酸化活性 (ORAC 活性)

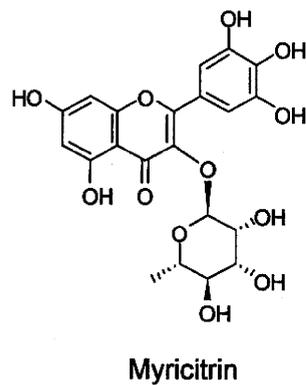
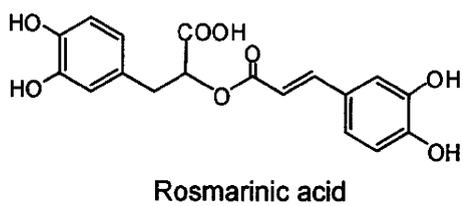
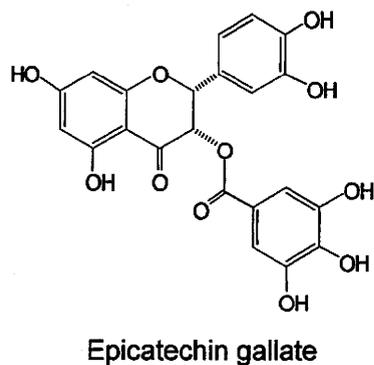
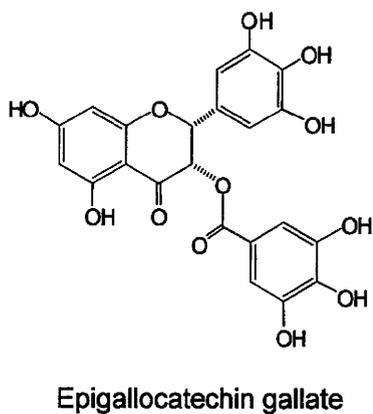
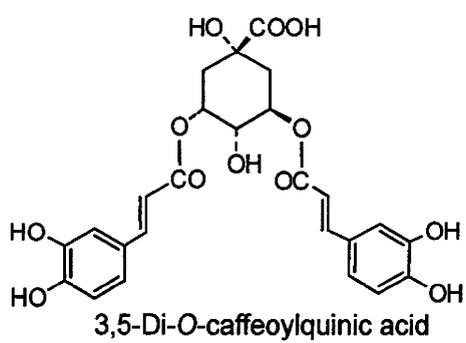
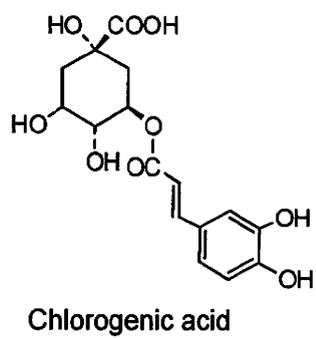


図 2. 指標となる化合物の構造(抜粋)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshida T., Yoshimura M., Amakura Y.	Polyphenols in myrtaceous plants: polyphenolic compounds in clove and pimento and their antioxidative activities	Planta Med.	76	1377	2010
Amakura Y., Yoshimura M., Yoshimura A., Yoshida T.	Variational analysis of marker constituents and antioxidative potencies by preparation methods of natural antioxidants as food additives	Jpn. J. Food Chem. Safety	18	25-34	2011
Amakura Y., Yoshimura M., Ouchi K., Yoshida T.	Polyphenolics from sunflower seed extract	in preparation			
Yoshimura M., Amakura Y., Yoshida T.	Antioxidative constituents in clove and pimento	in preparation			