

れたことから、ケルセチンおよびカフェ酸を対象として経時的な活性測定を行い、DPPH 法と ABTS 法での反応挙動の違いを確認した (図は省略)。その結果、いずれの化合物の場合も ABTS 法では反応時間の延長による活性値 (TEAC) の増加は確認されなかった。一方、DPPH 法では反応時間とともに活性値の増加が認められた。DPPH 法に関しては、カテコール構造を有する化合物が、DPPH ラジカル消去後にキノン構造に変化後、溶媒であるエタノールの求核攻撃の影響により再生され、再度活性を発現することが報告されている。したがって、DPPH 法ではカテコール構造を有する化合物が 30 分間の反応時間中に再生され活性が増加し、ABTS 法との活性値の差が生じた可能性があることが推察された。

続いて、抗酸化物の併用効果の解析を試みた。本研究では測定時の試料濃度の適正化を図ったことにより再現性の高いデータが得られた。本法により、トコフェロール類を中心とした併用効果の解析を計 51 通りの組合せで検討した (表 2-4)。まず、 α -トコフェロールでは 21 の組合せ、 γ -トコフェロールでは 20 の組合せで併用効果を確認した結果、相乗効果を示す組合せが多数 (CI 値が 0.9 以下の組合せは計 19 通り) 確認された。EGCg・ECg などのカテキン類との組合せでは比較的強い相乗効果が認められた。EGCg は、 α -トコフェロキシルラジカルの α -トコフェロールへの再生効果が大きいことが、ESR を用いた研究により明らかにされている²⁾。したがって、本実験で認められた相乗効果も ECg 及び EGCg による α -トコフェロール再生効果に起因する可能性が高いと推察された。しかしながら、相乗効果が高い組合せは一部であり、全体的に見るとそのほとんどが弱い相乗効果しか示さず、ほぼ相加的なものであった。カテキン類に関しては、4 種のトコフェロールとの併用効果を検証し、一部でトコフェロール間での違いが認められたが、その差は小さく、各化合物の構造と併用効果の関係を明確に論じるには至らなかった。さらに、レスベラトロールでは唯一相乗効果が確認されたが、その原因についても不

明であり今後検討の必要があると推察された。

D. 結論

本年度の研究では、DPPH 法と ABTS 法の反応特性の違いが、主として抗酸化物のカテコール構造の有無に起因することを示した。また、薬剤の併用効果判定に汎用されている Median effect analysis を用いて、トコフェロール類を中心とした併用効果の解析を試みた。その結果、51 通りの組合せの約半数で相乗効果を確認したが、いずれの効果も比較的小さく、ほぼ相加的であることが明らかになった。

DPPH 法と ABTS 法の反応特性の違いについては、カテコール構造の反応性が異なる要因等が不明である。また、併用効果の解析についても、相乗・相殺効果のメカニズムに関して不明な点が多い。以上の点に重点を置き、次年度以降の研究を進める必要があると考えられる。

E. 研究発表

(1) 論文発表
なし

(2) 学会発表

1. Median effect analysis による抗酸化成分の併用効果の解析 山元 涼子, 石川 洋哉, 藤原 幸江, 受田 浩之, 山崎 壮, 松井 利郎, 松本 清 第 48 回化学関連支部合同大会 (福岡) 2011 年 7 月
2. 各種抗酸化物のトコフェロール類に対する併用効果の解析 山元 涼子, 石川 洋哉, 松本 奈実子, 受田 浩之, 山崎 壮, 松井 利郎 日本農芸化学会 2011 年度大会 (京都) 2012 年 3 月

参考文献

- 1) T. C. Chou and P. Talalay Adv. Enzyme Regul., **22**, 27-55(1984)
- 2) M. Pazos, M. L. Andersen, I. Medina, and L. H. Skibsted, J. Agric Food Chem., **55**, 3661-3666 (2007).

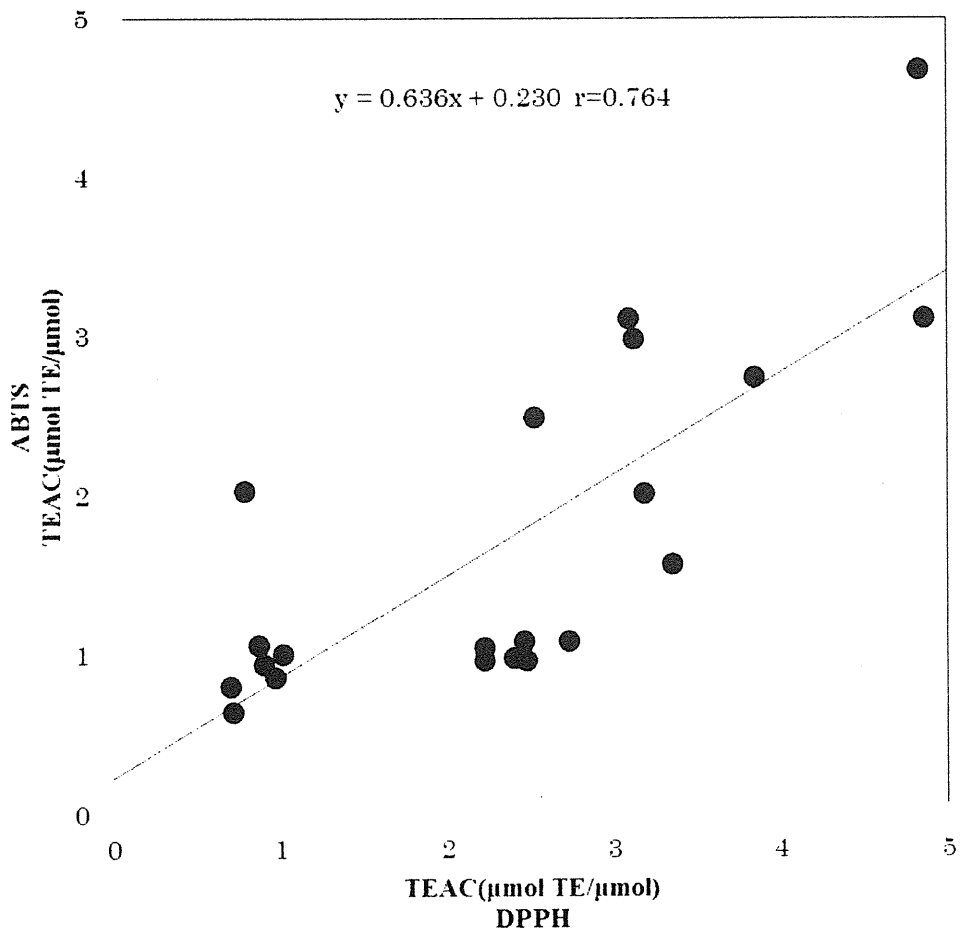


図1 DPPH法とABTS法により評価した抗酸化活性値の相関

表 1 DPPH 法と ABTS 法により評価した各種抗酸化物の活性値

測定化合物		DPPH (μ mol TE/ μ mol)	ABTS (μ mol TE/ μ mol)	
フラボノイド系	フラバノール類	カテキン	2.47±0.09	0.96±0.05
		エピカテキン(EC)	3.35±0.10	1.57±0.08
		エピガロカテキン(EGC)	3.12±0.05	2.98±0.06
		エピカテキンガレート(EGC)	4.86±0.21	3.11±0.13
		エピガロカテキンガレート(EGCG)	4.83±0.18	4.67±0.08
	糖体 フラボノール類とその配	ケンフェロール	1.01±0.01	1.00±0.01
		ケルセチン	3.18±0.03	2.01±0.09
		ミリセチン	3.09±0.11	3.11±0.19
		モリン	0.97±0.01	0.86±0.12
		ケルセチン-3-グルコシド	2.22±0.11	0.96±0.04
		ルチン	2.40±0.11	0.98±0.04
	フラボン類	ルテオリン	2.22±0.07	1.04±0.26
	その他	フェルラ酸	0.71±0.04	0.64±0.06
		ピロカテコール	2.73±0.09	1.08±0.03
		カフェ酸	2.46±0.01	1.08±0.04
		没食子酸	2.52±0.06	2.49±0.20
		セサモール	0.78±0.02	2.03±0.09
		エラグ酸	3.84±0.30	2.74±0.32
		アスコルビン酸	0.87±0.00	1.06±0.04
グルタチオン (還元型)		0.70±0.00	0.80±0.04	
α -トコフェロール		0.90±0.05	0.94±0.01	

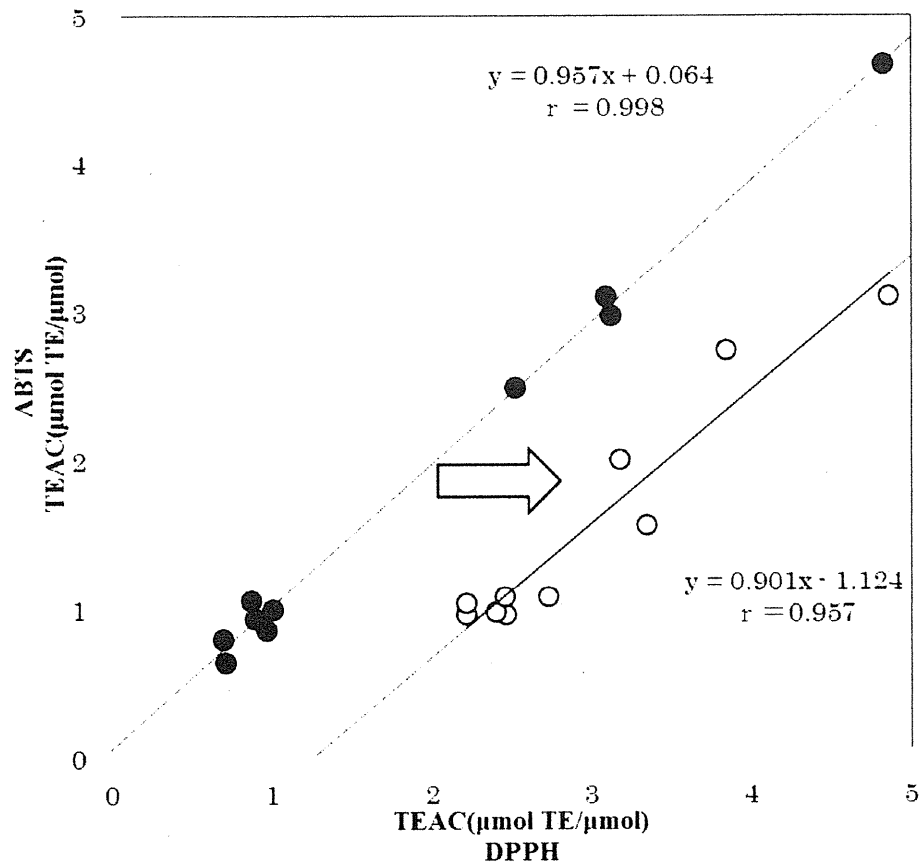


図2 DPPH法とABTS法の活性値に及ぼす抗酸化物カテコール構造の影響
 カテコール構造無 (●), カテコール構造有 (○)

表 2 α -トコフェロールと各種抗酸化物の併用効果の解析結果

試薬名	併用割合	CI値の範囲(CI \pm 2SD)	判定
カテキン水和物(CT)	1 : 0.21	0.87 \pm 0.04 ~ 1.17 \pm 0.14	相乗 (fa:0.7以上)
エピカテキン(EC)	1 : 0.17	0.96 \pm 0.05 ~ 1.03 \pm 0.07	相加
エピガロカテキン(EGC)	1 : 0.16	0.92 \pm 0.07 ~ 0.95 \pm 0.04	弱相乗
エピカテキンガラート(ECg)	1 : 0.17	0.80 \pm 0.04 ~ 1.03 \pm 0.05	相乗 (fa:0.4以上)
エピガロカテキンガラート(EGCg)	1 : 0.16	0.75 \pm 0.01 ~ 1.13 \pm 0.02	相乗 (fa:0.5以上)
ケンフェロール	1 : 0.47	0.81 \pm 0.01 ~ 1.12 \pm 0.05	相乗 (fa:0.6以上)
ミリセチン	1 : 0.21	0.89 \pm 0.06 ~ 1.08 \pm 0.06	弱相乗 (fa:0.7以上)
ケルセチン	1 : 0.17	0.85 \pm 0.01 ~ 1.05 \pm 0.07	相乗 (fa:0.6以上)
ルチン	1 : 0.54	0.83 \pm 0.05 ~ 1.15 \pm 0.10	相乗 (fa:0.4以上)
セサモール	1 : 0.21	0.92 \pm 0.03 ~ 1.01 \pm 0.11	相乗 (fa:0.6以上)
モリン	1 : 0.54	0.92 \pm 0.04 ~ 1.00 \pm 0.07	弱相乗 (fa:0.4以上)
エラグ酸	1 : 0.17	0.92 \pm 0.04 ~ 1.05 \pm 0.02	弱相乗 (fa:0.7以上)
フェルラ酸	1 : 0.68	1.02 \pm 0.08 ~ 1.10 \pm 0.01	相加
没食子酸	1 : 0.17	0.96 \pm 0.07 ~ 1.11 \pm 0.09	相加
ケルセチン-3-グルコシド(Q-3-G)	1 : 0.45	0.87 \pm 0.02 ~ 0.97 \pm 0.08	相乗 (fa:0.4以上)
ルテオリン	1 : 0.32	0.87 \pm 0.04 ~ 1.04 \pm 0.01	相乗 (fa:0.4以上)
グルタチオン	1 : 1.22	1.02 \pm 0.04 ~ 1.07 \pm 0.06	相加
レスベラトロール	1 : 0.75	0.93 \pm 0.09 ~ 1.47 \pm 0.28	相殺
ピロカテコール	1 : 0.09	0.93 \pm 0.02 ~ 1.06 \pm 0.03	弱相乗 (fa:0.5以上)
プロトカテキ酸	1 : 0.19	0.99 \pm 0.07 ~ 1.02 \pm 0.01	相加
カフェ酸	1 : 0.24	0.84 \pm 0.02 ~ 0.95 \pm 0.02	相乗

表3 γ -トコフェロールと各種抗酸化物の併用効果の解析結果

試薬名	併用割合	CI値の範囲(CI \pm 2SD)	判定
カテキン水和物(CT)	1 : 0.26	0.94 \pm 0.01 ~ 1.00 \pm 0.05	弱相乗 (fa:0.4以上)
エピカテキン(EC)	1 : 0.22	0.87 \pm 0.07 ~ 1.14 \pm 0.04	相乗 (fa:0.7以上)
エピガロカテキン(EGC)	1 : 0.21	0.86 \pm 0.06 ~ 1.11 \pm 0.06	相乗 (fa:0.5以上)
エピカテキンガラート(ECg)	1 : 0.21	0.85 \pm 0.03 ~ 0.98 \pm 0.04	相乗 (fa:0.3以上)
エピガロカテキンガラート(EGCg)	1 : 0.22	0.91 \pm 0.02 ~ 1.00 \pm 0.04	相乗 (fa:0.4以上)
ケンフェロール	1 : 0.64	0.98 \pm 0.06 ~ 1.15 \pm 0.05	相加
ミリセチン	1 : 0.28	0.97 \pm 0.04 ~ 1.14 \pm 0.02	相加
ケルセチン	1 : 0.29	0.80 \pm 0.04 ~ 1.12 \pm 0.06	相乗 (fa:0.5以上)
ルチン	1 : 0.79	0.80 \pm 0.08 ~ 1.07 \pm 0.04	相乗 (fa:0.3以上)
セサモール	1 : 0.46	0.80 \pm 0.03 ~ 0.99 \pm 0.04	相乗 (fa:0.3以上)
モリン	1 : 0.62	0.82 \pm 0.04 ~ 1.02 \pm 0.02	相乗 (fa:0.3以上)
エラグ酸	1 : 0.19	1.07 \pm 0.13 ~ 1.09 \pm 0.08	相加
フェルラ酸	1 : 0.77	1.00 \pm 0.05 ~ 1.01 \pm 0.04	相加
没食子酸	1 : 0.17	0.91 \pm 0.05 ~ 0.97 \pm 0.03	弱相乗
アスコルビン酸	1 : 0.45	0.96 \pm 0.04 ~ 1.01 \pm 0.02	相加
ケルセチン-3-グルコシド(Q-3-G)	1 : 0.60	0.84 \pm 0.07 ~ 0.93 \pm 0.04	相乗
ルテオリン	1 : 0.37	0.81 \pm 0.02 ~ 1.06 \pm 0.02	相乗 (fa:0.4以上)
グルタチオン	1 : 1.37	0.90 \pm 0.04 ~ 1.03 \pm 0.07	相乗 (fa:0.4以下)
レスベラトロール	1 : 0.81	1.02 \pm 0.18 ~ 1.57 \pm 0.25	相殺
ピロカテコール	1 : 0.09	1.02 \pm 0.01 ~ 1.06 \pm 0.04	相加

表4 β -、 δ -トコフェロールとカテキン類の併用効果の解析結果

β -トコフェロール併用					
試薬名	併用割合	CI値の範囲(CI \pm 2SD)		判定	
カテキン水和物(CT)	1 : 0.36	0.97 \pm 0.07	~	1.13 \pm 0.09	相加
エピカテキン(EC)	1 : 0.17	1.03 \pm 0.03	~	1.06 \pm 0.14	相加
エピガロカテキン(EGC)	1 : 0.24	0.97 \pm 0.02	~	1.04 \pm 0.01	相加
エピカテキンガレート(ECg)	1 : 0.20	1.04 \pm 0.05	~	1.12 \pm 0.03	相加
エピガロカテキンガレート(EGCg)	1 : 0.21	0.76 \pm 0.02	~	0.97 \pm 0.03	相乗(fa:0.2以上)

δ -トコフェロール併用					
試薬名	併用割合	CI値の範囲(CI \pm 2SD)		判定	
カテキン水和物(CT)	1 : 0.36	0.98 \pm 0.04	~	0.99 \pm 0.04	相加
エピカテキン(EC)	1 : 0.19	1.06 \pm 0.14	~	1.07 \pm 0.02	相加
エピガロカテキン(EGC)	1 : 0.19	0.94 \pm 0.03	~	0.95 \pm 0.03	弱相乗
エピカテキンガレート(ECg)	1 : 0.22	0.87 \pm 0.09	~	0.98 \pm 0.05	弱相乗(fa:0.4以上)
エピガロカテキンガレート(EGCg)	1 : 0.23	0.95 \pm 0.04	~	1.11 \pm 0.33	相加

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

該当する刊行物 なし

