

論文内容の要旨

論文題目「フェノール性硫酸化代謝物の機能性とハーブティーの抗酸化作用に関する研究」

学位申請者 菅原 進太郎

キーワード：フェノール性化合物、硫酸化代謝物、ハーブティー、抗酸化作用、スーパーオキシドアニオンラジカル

我々の身体は低分子性の外来成分によって良きにも悪しきにも影響を受けることがある。例えば、フェノール構造を有するポリフェノール類などの食材成分は生体リズムの調節を担うために、生活習慣病予防またはリスク低減を企図した低分子生理活性物質の本体として考えられている。しかしながら健康有益性を提供する際には薬効や生理機能として、生体に不利益を与える際には毒性として評価されることも多い。我々の身体は外来成分を異物として認識し、それらを薬物代謝反応の過程で硫酸体などに代謝変換して体外に排出する仕組みを備えている。一般的にこの硫酸化代謝は活性成分を不活化に導く反応として知られている。このため、摂取後の標的化合物およびその代謝物の種類や量を計測し、生理機能性や毒性までを網羅的に解析する研究は、その複雑さゆえに未だ詳細な解明には至っていない。本研究では、フェノール性硫酸化代謝物の機能性を調べるため、naphthalene より薬物代謝後に生じるフェノール性一次代謝物 naphthol (Nap) および硫酸化二次代謝物を用いて、これらフェノール性化合物の代謝前後での抗酸化活性について比較評価することとした。次に、地域の健康食材の機能特性を調べるため、ポリフェノール成分に富む熊本県産のハーブティーであるヤーコン茶およびモリンガ茶を用いて活性酸素の 1 つスーパーオキシドアニオン(O₂⁻)ラジカルに着目した抗酸化作用の検証を行うこととした。

ナフタレンは燻蒸剤または農薬として広く使用される工業用化学物質である。肝臓にて代謝され、第 1 相薬物代謝反応においてシトクロム P450 の作用でフェノール性の異性体 1-naphthol (1-Nap) および 2-naphthol (2-Nap) が生成される。さらに第 2 相反応において硫酸化され、それぞれ 1-naphthyl sulfate (1-NapS) と 2-naphthyl sulfate (2-NapS) が生じる。これらをフェノール性化合物の代謝前後のモデルとして使用し、確立された 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation (ABTS⁺) および chlorpromazine cation (CPZ⁺) ラジカルに対する 1-NapS と 2-NapS の抗酸化活性について定量的に調べ、さらにこれらの非硫酸化前駆体 1-Nap および 2-Nap との比較評価を行なった。EC₅₀ 値を算出して活性を比較した結果、1-NapS は 1-Nap よりも 5.60 から 7.35 分の 1 倍の低い抗酸化活性を有していた。対照的に、2-NapS は非硫酸体である 2-Nap と同

等の活性を示した。

ヤーコン(yacon, *Smallanthus sonchifolius*)はアンデス原産のキク科スマランサス属の一種で、南米アンデス原産の作物である。糖尿病、消化・腎障害を患う人々のための民間伝承薬としても知られる。塊根を食用とするほか、地上部はハーブティー等の地域に特化した健康食材としても消費されている。ここでは熊本県産ヤーコン茶の多面的なラジカル消去作用と還元力、特に異なる O_2^- 産生系に及ぼす抗酸化作用について調べた。その結果、メタノール、エタノール、酢酸エチルの各抽出物よりも熱水抽出物でより高いポリフェノール含量と収率ならびに DPPH ラジカルに対する抗酸化活性を認めた。ヤーコン茶熱水抽出物は DPPH、ABTS⁺、CPZ⁺および galvinoxyl の 4 種類の化成品ラジカル種に対して異なるレベルで抗酸化活性を示し、とくに O_2^- ラジカルに対しては phanazine methosulfate (PMS)-NADH-nitroblue tetrazolium (NBT)法および xanthine oxidase 法の両方で代表的な抗酸化剤である Trolox よりも強い抗酸化活性を示した。さらに、ヒト顆粒球好中球様細胞の O_2^- ラジカル産生に及ぼす同抽出物の影響を調べた結果、Trolox 処理時よりも細胞由来の O_2^- ラジカルを効果的に軽減させた。

モリンガ(*Moringa oleifera* L.)はケシ目ワサビノキ科であるインド原産の植物で、高温や乾燥に強く熱帯地域で広く栽培されている。野菜として食用とされるほか伝統的なアーユルヴェーダの薬用植物として炎症や感染症等の治療にも用いられてきた。ここでは熊本県産モリンガの葉茶と茎茶について、特に O_2^- 産生系での特徴的な抗酸化作用について調べた。その結果、モリンガの両熱水抽出物は、DPPH、ABTS⁺、CPZ⁺および galvinoxyl の 4 種類の化成品ラジカル種に対して抗酸化活性を示すものの、Trolox よりも低いものであった。これに対し、PMS-NADH-NBT 法および xanthine oxidase 法においては Trolox よりも強い O_2^- ラジカル消去作用を示した。次に、ヒト顆粒球好中球様細胞の O_2^- ラジカル産生に及ぼすモリンガ茶熱水抽出物の影響を調べた結果、ここでもまた細胞由来の O_2^- ラジカルを効果的に軽減させた。活性成分に関する知見を得るため、HPLC による成分分析とモリンガ葉部中の 8 つの既知フェノール性化合物について抗酸化活性試験を行った。その結果、少なくともカフェ酸およびクロロゲン酸が、Trolox よりも強力で O_2^- ラジカル消去に特異的な抗酸化作用を有する物質である可能性を認めた。

本研究では、naphthalene 由来の硫酸化代謝物を用いて抗酸化活性を調べ、フェノール性化合物が薬物代謝の過程で硫酸化代謝されても、必ずしも常に活性が低下する訳ではないこと、硫酸化される位置に依存して活性が保持されることを明らかにした。次に、地域の健康食材の機能特性について検証し、熊本県産のヤーコン茶およびモリンガ茶が有する抗酸化作用として、とくに O_2^- ラジカルに対する特異性を明らかにした。我々の身体に影響を与える低分子性の外来因子の挙動や代謝、毒性または有効性等の機能特性を明らかにすることは、毒性学および食材機能科学の発展の面からも重要である。今後は、本研究で用いたハーブティー中の抗酸化成分に加えて他のフェノール性化合物およびそれらの代謝物の機能性や毒性等についても比較検証を行う必要がある。現状では活性試験に供するほど

の十分量の食材由来フェノール性硫酸体の入手が困難であるものの、代謝物合成法の検討とともに、代謝物を用いた活性の比較評価をより幅広く行うことよって、体内における機能性発現や毒性発現の機構解明も進むことと期待される。