

# 論文内容の要旨

## 紅茶ポリフェノール解明のための *in vitro* モデル酸化による茶カテキン酸化機構の解析

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 生命薬科学専攻 李 岩

### [背景]

古くから薬や飲料として利用されてきた茶 (*Camellia sinensis* L.) は、生葉中に (-)-epicatechin、(-)-epigallocatechin 及びそれらの gallate を乾燥重量の 10%以上含む特異な植物である。収穫直後葉を加熱処理して作られる緑茶の成分組成は生葉と類似しているが、加熱処理する前に葉を揉捻して発酵させる紅茶の場合は、カテキン類が酵素酸化されて生成した酸化生成物を多量に含有する。紅茶のポリフェノール成分には、抗菌、抗酸化作用、発ガンプロモーション抑制作用などの生物活性が報告されており、ポリフェノールを日常的に摂取できる重要な飲料として注目されている。紅茶ポリフェノール成分のうち、低分子成分については、幾つかの構造が提出されているが、紅茶ポリフェノールの大部分は化学的に未解明の部分が多く残されている。本研究では、紅茶成分を直接分離するのではなく、カテキン類を用いたモデル酸化実験を駆使して、その酸化生成物を分離し、さらに分離された生成物の生成機構を検討して紅茶製造過程でどのような反応がどのような頻度で起こっているのかを明らかにすることにより、紅茶ポリフェノールのを化学的に解明することを目的にして研究を行った。

### [結果及び考察]

#### I Galloyl 基が関与する酸化経路の解明

茶葉の主成分である Epigallocatechin-3-*O*-gallate (EGCg)が酵素酸化して生成する不安定な *o*-キノン中間体を安定に分離するため、それらを *o*-phenylenediamine を用いて、phenazine あるいは quinoxaline 誘導体に導き生成物の確認を行った。その結果、Chart 1 に示す化合物 **7** など四つの EGCg 三量体の phnazine 誘導体を単離した。これまで茶カテキンが酸化される際に、カテキンの B 環は酸化反応に関与することが知られていたが、この結果から galloyl 基も酸化に関与することが始めて明らかになった。EGCg の主な酸化生成物である dehydrotheasinensin A (**2**)は分解して theasinensin A (**3**), D (**4**)

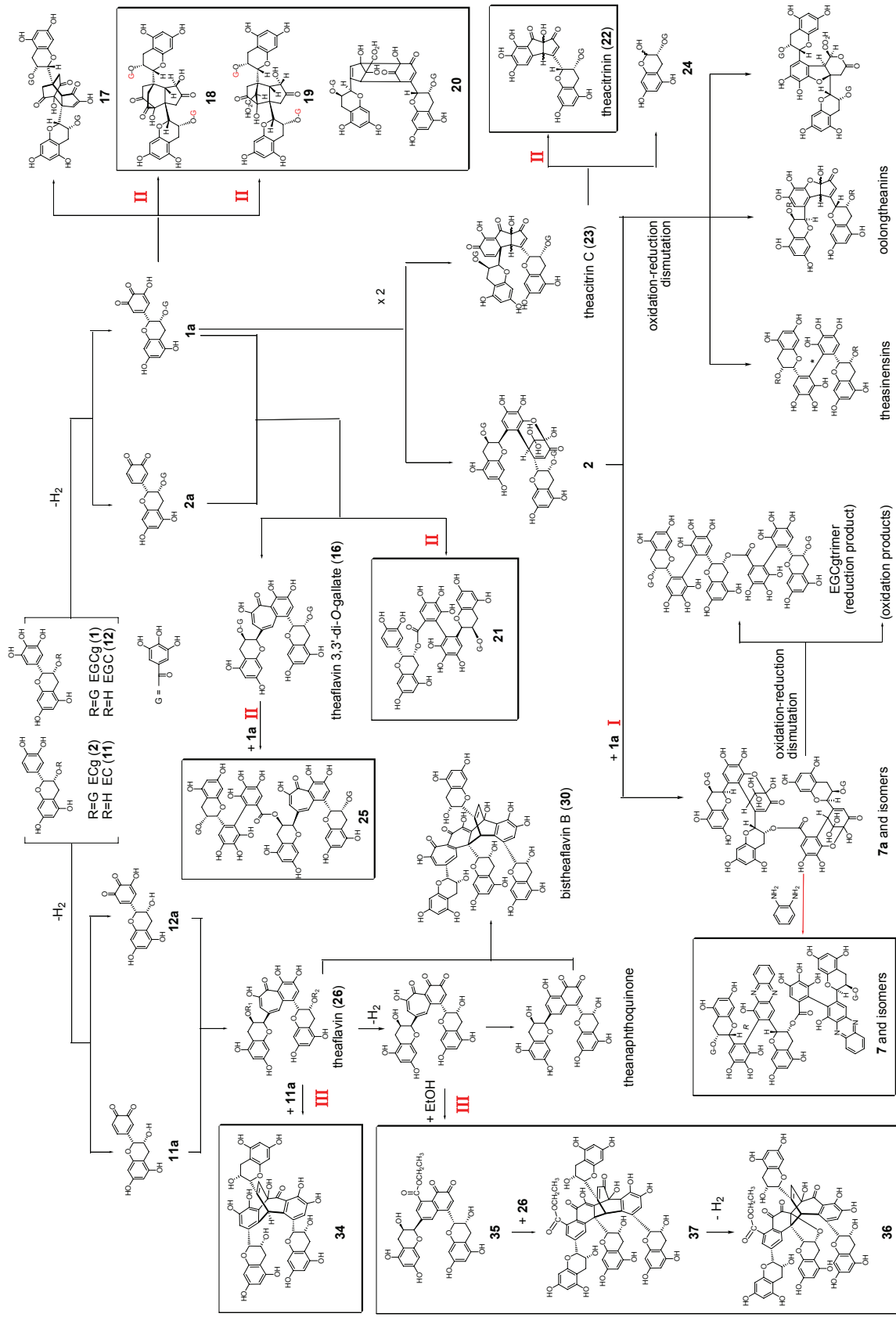


Chart 1 カテキン酸化機構 □ : 新規化合物

や oolongtheanin-3'-O-gallate (**16**)など多くの生成物を与えることが知られている(Chart 1)。それから類推すると **7** のもととなる **7a** からは、さらに多数の分解生成物が生成すると予想され、この結果は紅茶ポリフェノールの未知成分を理解する上で重要と考えられる。

## II EGCg の Epicatechin-3-O-gallate (ECg)共存下の酸化に関する知見

茶葉の主成分である EGCg と ECg の共存下で酵素酸化を行い、6 種の新しい酸化生成物(**18**~**22** 及び **25**)を得た。新化合物のうち **18** と **19** はすでに紅茶から分離された化合物 **17** の構造と類似しており、化合物 **17** と同じ酸化ルートで生成したものと推定された。また新化合物 **20** も EGCg の B 環が分子間で酸化縮合したものと推定した。以上のことから、EGCg の酸化において、化合物 **2** が生成する主反応経路とは別に、マイナーな反応経路が存在することが分かった。化合物 **21** 及び **25** は、**I** の実験で推定した EGCg 三量体の生成機構と同様に galloyl 基が酸化されて B 環とカップリングして生成したものと考えられる。これらの化合物の存在が明かにされたことにより、galloyl 基のカテキン酸化における重要な役割が示された。化合物 **22** は紅茶の不安定な既知黄色色素 theacitrin C (**23**)の分解生成物の一つとして得られ、さらに市販紅茶にも **22** と関連する化合物が含まれていることから、紅茶の製造過程において theacitrin 類が生成した後、その多くがさらに反応が進行していることが示唆された。

## III Theaflavin の新しい酸化機構

Theaflavin は紅茶の重要な黄赤色色素である。これまでの研究により theaflavin も酸化されることが知られているが、その酸化生成物については充分検証されてない。Theaflavin の酵素酸化において酵素反応を止めるために EtOH を加えると、不安定な反応中間体がトラップされることを見出した。この時、新化合物 **35** が得られたことで、既知の theaflavin 酸化生成物 theanaphthoquinone (**27**)の生成に際して推定していた反応経路の一部が裏付けられた。また、同時に得られた新化合物 **34** と **37** が既知化合物 bistheaflavin B (**30**)と類似の生成機構で生成することが明らかになった。さらに **37** が酸化されて **36** になることも明らかになった。以上のことから、benzotropolone の二量化反応が theaflavin の酸化と紅茶色素形成において、非常に重要であると考えられる。

今回著者は様々な条件下でモデル酸化実験を行い、14 個の新規カテキン酸化生成物及び酸化生成物の誘導体を分離、構造解析した。さらに得られた酸化生成物をもとにして、新しいカテキン酸化反応機構を提案した。これらの新しい酸化機構を明らかにしたことで、紅茶に含まれるポリフェノール成分の詳細な解明が進むものとする。