

27[P1]I-259

[Separation and purification of the TAHEEBO tea-derived antioxidative substance and its characteristics]

タヒボ茶由来抗酸化性物質の分類精製とその性状

Azusa Mizutori¹⁾, Makoto Otsuki¹⁾, Fuminori Suzuki¹⁾, and Hiroshi Shimofuruya²⁾¹⁾ Department of Clinical Nutrition, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Sciences²⁾ Material Science and Engineering, Suzuka National College of Technology

[目的]

活性酸素は体内の至る所で発生し、大気汚染、残留農薬、食品添加物、ストレス等により増加し老化の原因になる。お茶には、カテキンやアスコルビン酸などが含まれており、この活性酸素を消去する抗酸化作用や抗菌作用等が報告されている。お茶の中でも特に緑茶はよく知られているが、南米のタヒボ茶はほとんど知られていない。タヒボ茶の水抽出物には強い抗酸化能があり、日本薬学会第122年会で報告した。今回、我々は抗酸化性能をタヒボ茶水抽出物から単一成分にまで分離精製しその抗酸化作用について検討した。

[方法]

分離精製法:タヒボ茶水抽出物を蒸留水に溶解した後、クロロホルムを加え振とう抽出し静置した。その後、クロロホルム層を回収しエバポレーターで濃縮乾燥した。得られた固形物をシリカゲルカラム。(酢酸エチル:ヘキサン=2:1)、シリカゲルカラム〔酢酸エチル:ヘキサン=3:1〕により順次処理し、最後にSephadex LH-20 (エタノール)により精製した。最終物の純度はTLC (酢酸エチル:ヘキサン=2:1)とHPLC (ODS、アセトニトリル5%液)で確認した。また、最終物の抗酸化能を評価する方法として、ロタン鉄法及びDPPH法を用いた。

[結果・考察]

タヒボ茶水抽出物から分離精製した抗酸化性物質はTLC上で1スポットありHPLC分析でも1本のピークを示し、ほぼ単一成分にまで分離精製できたと判断した。この最終物の抗酸化能をロタン鉄法及びDPPH法で測定したところ、両者ともに標準物質として用いたTroloxよりも強い抗酸化活性を示した。また、スペクトル分析の結果から、268nm付近に強い吸収を示したことからこの物質は芳香環を有するカテキンやポリフェノール類に類似したものと考えられる。

ate reactive oxygen species through their antioxidative action and anti-bacterial action. Among teas, particularly the effects of green teas are widely known, but little is known regarding TAHEEBO tea from South America. The water extract of TAHEEBO tea has potent antioxidative ability, which we reported it in the 122nd Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan. In the present study, we separated and purified the antioxidative substance from the water extract of TAHEEBO tea to a single component, and investigated the antioxidative action of the component.

[Methods]

Separation and purification procedures: The water extract of TAHEEBO tea was dissolved in distilled water. The solution was extracted with chloroform by shaking, followed by standing. Then, the chloroform layer was collected and evaporated to dryness. The solid substance obtained was subjected to silica gel column I (ethyl acetate: hexane = 2 : 1), followed by silica gel column II (ethyl acetate and hexane [3 : 1]), and finally purified by Sephadex LH-20 (ethanol). The purity of the final product was confirmed by TLC (ethyl acetate: hexane = 2 : 1) and HPLC (ODS, 5% acetonitrile solution). The antioxidative ability of the final product was assessed by the ferric thiocyanate assay and DPPH assay.

[Results and Discussion]

The antioxidative substance obtained from the water extract of TAHEEBO tea through the separation/purification procedures was detected as 1 spot on TLC and as 1 peak by HPLC. Therefore, it is judged that the extract was separated and purified into almost a single component. The antioxidative ability of this final product was determined by the ferric thiocyanate assay and DPPH assay. In both assays, the component exhibited more potent ability than Trolox, which was used as a reference standard. The spectrum analysis revealed strong absorption at around 268 nm. Therefore, the chemical structure of this substance is considered to be similar to those of catechins and polyphenols, both of which possess aromatic rings.

■ English translation

[Objectives]

Reactive oxygen species can occur anywhere in the body, and increase due to air pollution, pesticide residues, food additives, stress, etc., becoming a cause of aging. Teas contain catechins and ascorbic acid, which act to elimin-

第43回 米国生薬学会

■2002年7月27日～31日 米国ニュージャージー州・ニューブランズウィック

43rd Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy

[CHEMOPREVENTIVE ACTIVITY OF NATURALLY OCCURRING COMPOUNDS AGAINST ADVANCED GLYCATION ENDPRODUCTS INDUCED CARCINOGENESIS]

後期段階生成物誘発発がん作用に対する天然物由来化合物の発がん予防効果

Harukuni Tokuda

Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, 602-0841; JAPAN.

Advanced glycation end products (AGE) is generally recognized as several complications including cancer and increased the volume in diabetes mellitus patients. In course of our human related carcinogens studies for cancer chemoprevention, we were investigated the AGE (BSA and glucose mixture) sample for carcinogenic activity and were found the significant tumor initiating potency on two-stage mouse skin test. SENCAR mice were initiated with single dose of 100 μg AGE and promoted with 1 μg TPA twice a week for 20 weeks. Recently, we also found some anti-oxidant materials (Tabebuia avellanae ext. betanin) showed the inhibitory effect against AGE induced carcinogenesis. For this study, from 1 week before to 1 week after initiation treatment by anti-oxidants, they delayed the formation of papillomas and reduced the number of papillomas per mouse. These findings are important for the interpretation of intervention studies of anti-oxidants in rodent and for the design of clinical.

■ 日本語訳

後期段階生成物 (AGE) はがんを含む種々の病態疾患の起因になると思われ、糖尿病患者ではこの化合物の増加が認められている。われわれのヒト関連発がん物に対するがん予防作用の研究で、AGE (牛血清アルブミンとグルコースの混合物) の発がん性を検討したところ、マウス皮膚二段階発がん実験モデルで顕著な発がんイニシエーション効果を認めた。100 μg の AGE を SENCAR マウス皮膚に1回塗布、発がんイニシエーション作用した後、1 μg の TPA で発がんプロモーション作用を週2回、20週間続けた。最近われわれはいくつかの抗酸化物質を含む化合物 (タバブイアアベラネダエ抽出物やベタンニン) が AGE 誘発発がんに対して抑制効果を示すことを認めた。この研究において発がんイニシエーション処理の前後1週間、天然物化合物を作用させると、腫瘍の発生が遅れるとともに腫瘍の発生率が減少した。これらの知見は動物を用いた抗酸化物質研究の検討とともに、ヒトでの病態の解析にとって重要と考えている。