

《様式B》

研究テーマ	「次世代抗酸化物質の精製技術の開発と機能解明」		
研究責任者	所属機関名	名城大学 理工学部 化学教室	
	官職又は役職	准教授	
	氏名	本田 真己	メールアドレス honda@meijo-u.ac.jp

(令和6年度募集) 第37回 助成研究 完了報告書

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要

本研究では、機能性素材として注目されるシス型カロテノイドを対象に、高純度精製技術の確立と機能評価を行った。とくに、リコピン前駆体の幾何異性体に着目し、高純度単離法の構築と各異性体の機能性評価を通じて、それぞれの異性体が有する特性を明らかにした。

具体的には、CRTISO (carotenoid isomerase) 欠損トマト (オレンジトマト) に含まれるリコピン前駆体を対象に、順相 HPLC 条件の最適化を行い、phytoene、phytofluene、 ζ -carotene、neurosporene、lycopene の各幾何異性体を 95%以上の高純度で単離することに成功した。さらに、NMR 解析により、(15Z)-phytoene、(15Z,9'Z)-phytofluene、(9Z,9'Z)- ζ -carotene、(9Z,7'Z,9'Z)-neurosporene、(7Z,9Z,7'Z,9'Z)-lycopene をそれぞれ同定し、リコピン前駆体異性体の構造情報を明確化した (図 1)。

得られた高純度試料を用いて、分光学的特性および抗酸化活性を評価した。その結果、(15Z)-phytoene および (15Z,9'Z)-phytofluene は高い紫外線遮蔽能を示し、無色であるという特性から、着色性を付与せずに機能性を付加できるサンスクリーン素材としての可能性が示された。また、(9Z,7'Z,9'Z)-neurosporene や (7Z,9Z,7'Z,9'Z)-lycopene は、ヒドロキシルラジカルおよび DPPH ラジカルに対して高い消去活性を示した。すべてのリコピン前駆体異性体は高い一重項酸素消去活性を示したが、その活性はおおよそ共役二重結合の数と相関することを確認した。

以上より、CRTISO 欠損トマトに蓄積するシス型リコピン前駆体は、抗酸化と紫外線防御に関与する多面的な機能性を有する有望な天然由来成分であることが明らかとなった。また、天然資源中では複数の異性体が混在して存在することが多い一

方、それぞれを高純度で単離し、個別に機能評価した例は極めて限られている。本研究は、その点において異性体レベルでの機能解明を可能にした点でも意義が大きい。とくに、リコピン前駆体異性体を高純度で精製し、異性体ごとの構造と機能に対応づけて示した点に意義がある。この知見は、食品、サプリメント、化粧品分野における新規機能性素材の開発に資するだけでなく、カロテノイド異性体の構造-機能相関の理解を深化させる成果と位置づけられる。

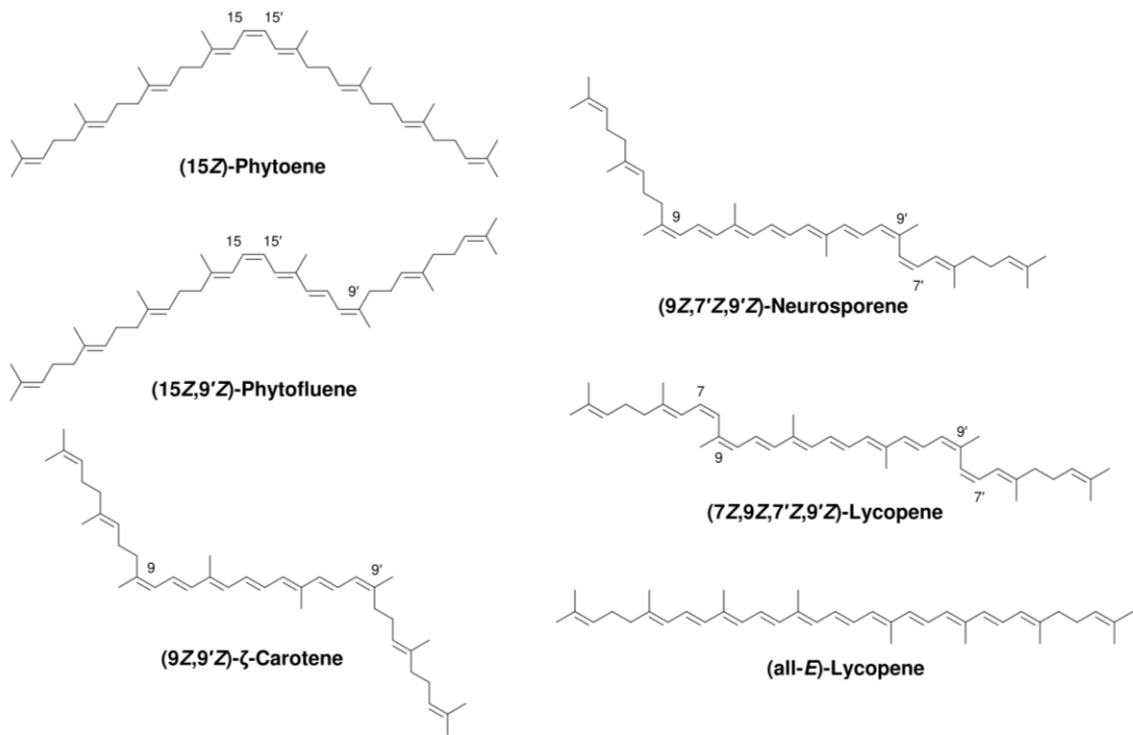


図1. リコピンおよび前駆体の化学構造

2. 実施内容および成果の説明

2. 1. はじめに

リコピン前駆体である phytoene、phytofluene、ζ-carotene、neurosporene および lycopene は、植物中に広く存在するカロテノイドである。しかしながら、これらは天然中で複数の幾何異性体が混在して存在し、それぞれを高純度で単離することが困難であることから、異性体を明確に同定したうえで、その分光特性や機能性を評価した知見は限られていた。とくに、CRTISO (carotenoid isomerase) 欠損トマト (オレンジトマト) では、リコピン生合成過程の中間体が主としてシス型異性体として蓄積することが知られており、これらはリコピン生合成中間体の実態を反映し

た興味深い素材群と位置づけられる [1,2]。一方で、それらの多くは異性体混合物として存在するため、個々のカロテノイドの特性は十分に明らかにされていなかった。そこで本研究では、CRTISO 欠損トマトに蓄積するリコピン前駆体の異性体を高純度で単離・精製し、構造同定した上で、分光特性、色調、紫外線遮蔽能および抗酸化活性を体系的に評価し、それぞれの異性体が有する特徴を明らかにすることを目的とした。

2. 2. 実験内容

CRTISO 欠損トマト（オレンジトマト）を試料とし、凍結乾燥後にヘキサン抽出を行い、得られた抽出物を分離精製の出発試料とした。各カロテノイド異性体の分離は、既報を基に最適化した順相クロマトグラフィー条件を用いて行われた [3,4]。その結果、phytoene、phytofluene、 ζ -carotene、neurosporene および lycopene の各幾何異性体を 95%以上の高純度で単離することに成功した。各リコピン前駆体については、質量分析により分子量を確認するとともに、UV-Vis スペクトルに基づく同定を行った後、 ^1H および ^{13}C NMR 測定 (COSY、NOESY を含む) により異性体構造を決定した (図 1)。

得られた高純度試料を用いて、分光学的特性の評価を行い、吸収スペクトル (λ_{max} 、スペクトル形状) を測定するとともに、これに基づき色調 (L^* 、 a^* 、 b^* 値) および紫外線遮蔽能 (UV-A および UV-B 領域) を算出した。さらに、抗酸化活性については、一重項酸素消去能およびラジカル消去活性 (ヒドロキシルラジカル、DPPH ラジカル) を既報の手順に従い評価した [5]。

2. 3. 結果と考察

順相クロマトグラフィーの最適化により、リコピン前駆体の主要幾何異性体である (15Z)-phytoene、(15Z,9'Z)-phytofluene、(9Z,9'Z)- ζ -carotene、(9Z,7'Z,9'Z)-neurosporene および (7Z,9Z,7'Z,9'Z)-lycopene を高純度 (純度 95%以上) で単離することに成功した。さらに、NMR 解析により各異性体の構造を明確に同定し、異性体レベルでの信頼性の高い構造情報を得た。

分光特性の解析により、共役二重結合数の増加に伴い吸収波長が長波長側へシフトする傾向が確認されるとともに、シス異性体ではスペクトルの微細構造が不明瞭

化することが明らかとなった（図 2）。これらは、シス配置による分子の非平面化および有効共役長の低下に起因するものと考えられる。

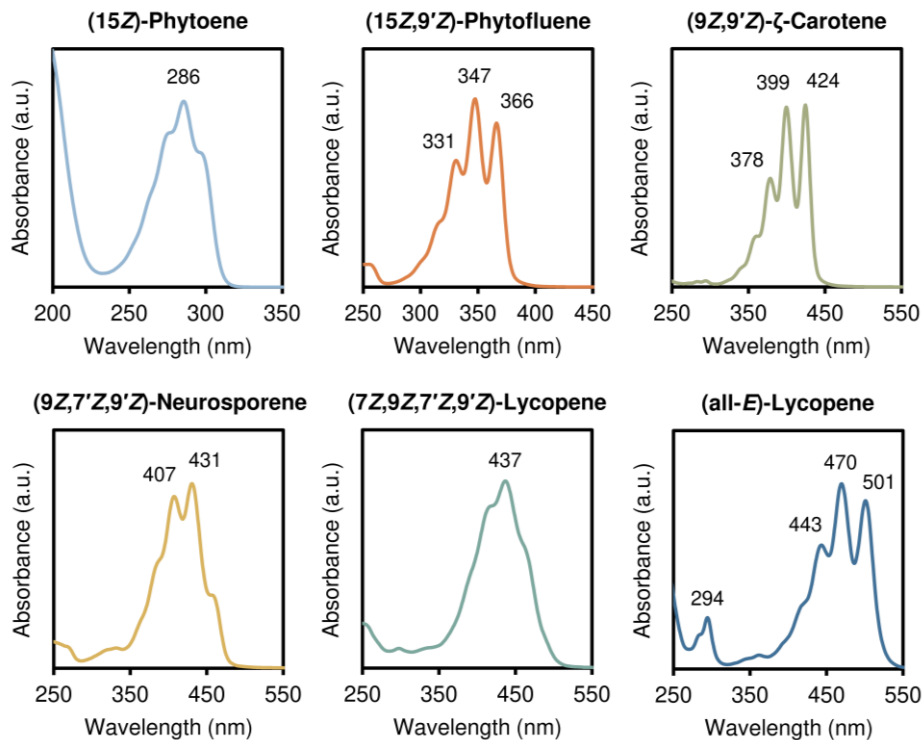


図 2. リコピンおよび前駆体の吸収スペクトル

色調評価の結果、(15Z)-phytoene および (15Z,9'Z)-phytofluene はほぼ無色である一方、共役系の延長に伴い黄色から赤色への発色が増大することが示された。この結果は、カロテノイドの着色特性が共役系の長さおよび異性化状態に強く依存することを示している。紫外線遮蔽能の評価では、(15Z,9'Z)-phytofluene が UV-A 領域で高い吸収能を示し、(15Z)-phytoene は UV-B 領域で顕著な遮蔽能を示した（図 3）。これらの結果は、phytoene および phytofluene は無色でありながら紫外線吸収能を有するという特徴を示しており、従来の着色性カロテノイドとは異なる機能的価値を持つことを示唆する。

抗酸化活性については、すべてのリコピン前駆体が高い一重項酸素消去能を示し、その活性は概ね共役二重結合数と相関する傾向が認められた。一方、ヒドロキシルラジカルおよび DPPH ラジカルに対する消去活性はカロテノイド間で異なり、(9Z,7'Z,9'Z)-neurosporene および (7Z,9Z,7'Z,9'Z)-lycopene で高い活性が確認された。

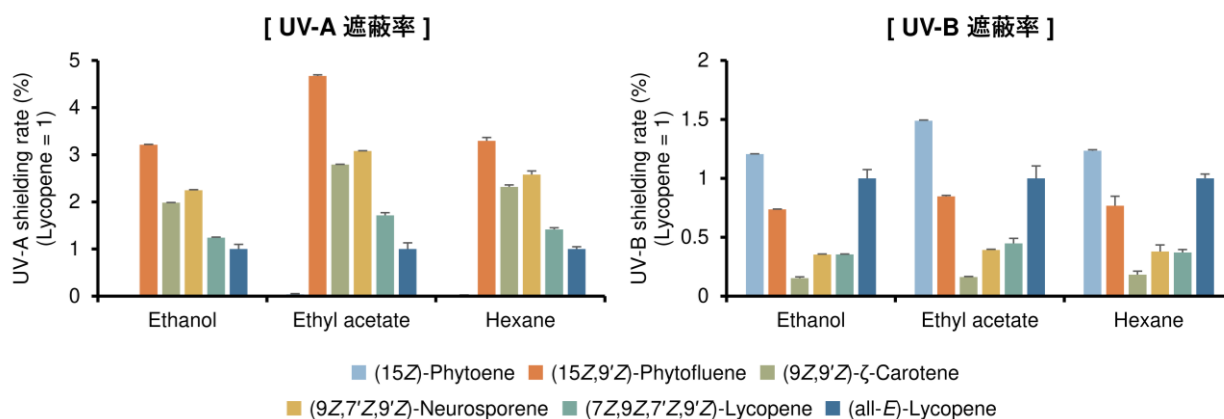


図3. リコピンおよび前駆体の紫外線遮蔽率
(トランス型リコピンを基準とする)

2. 4. 結言

以上の結果より、リコピン前駆体はそれぞれ異なる分光特性、色調、紫外線遮蔽能および抗酸化特性を示すことが明らかとなった。高純度で単離した各異性体について、構造を明確化したうえでその特性を評価した点に本研究の意義があり、カロテノイド異性体の理解を深化させるとともに、機能性素材としての活用に資する基盤的知見を提供するものである。最後に、本研究の一部は一般財団法人東海産業技術振興財団の研究助成（研究育成型）によって実施されたものであり、ここに記して深く感謝申し上げます。

2. 5. 参考文献

- [1] Clough, J. M., & Pattenden, G. (1983). Stereochemical assignment of prolycopene and other poly-Z-isomeric carotenoids in fruits of the tangerine tomato *Lycopersicon esculentum* var. 'Tangella'. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 3011–3018. <https://doi.org/10.1039/P19830003011>
- [2] Cooperstone, J. L., Ralston, R. A., Riedl, K. M., Haufe, T. C., Schweiggert, R. M., King, S. A., ... & Schwartz, S. J. (2015). Enhanced bioavailability of lycopene when consumed as cis-isomers from *tangerine* compared to red tomato juice, a randomized, cross-over clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(4), 658–669. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400658>

- [3] Honda, M., Kudo, T., Kuwa, T., Higashiura, T., Fukaya, T., Inoue, Y., Kitamura, C., & Takehara, M. (2017). Isolation and spectral characterization of thermally generated multi-Z-isomers of lycopene and the theoretically preferred pathway to di-Z-isomers. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *81*(2), 365–371. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1249454>
- [4] Honda, M., Takahashi, N., Kuwa, T., Takehara, M., Inoue, Y., & Kumagai, T. (2015). Spectral characterisation of Z-isomers of lycopene formed during heat treatment and solvent effects on the E/Z isomerisation process. *Food Chemistry*, *171*, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.004>
- [5] Honda, M. (2023). Z-Isomers of lycopene and β -carotene exhibit greater skin-quality improving action than their all-E-isomers. *Food Chemistry*, *421*, 135954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135954>