



フラボノイド系植物色素の化学・生物学および応用研究

名古屋大学大学院情報学研究所 吉田久美

はじめに

フラボノイドは、植物特有のポリフェノール成分で、C₆-C₃-C₆骨格を持つ。フラボノイド系色素としては、高等植物に含まれ、赤、紫、青色に至る広い領域の色を呈するアントシアニンが代表的である。植物においては紫外光の防御、ラジカル消去(抗酸化性)、虫鳥媒の誘因シグナルとして働く一方、これらの機能を活用して、食品着色料や化粧品、健康食品、創薬リード化合物や機能性材料としても利用される。

筆者は、卒業研究、大学院博士前期課程と製薬企業所属の計9年間、有機合成化学研究に携わった。その後、椋山女学園大学に奉職し、名古屋大学に移り現在に至るまで、化学を基盤としたフラボノイド系植物色素の研究を行ってきた。主に研究対象としたアントシアニンは、植物の生理条件下では、単独では青色を発色しない上に極めて不安定で容易に退色する。そのため、青色発色機構は長年の研究課題となっていた。一方、食用植物の色素研究から派生して、アントシアニンではない色素を見いだした。さらに、アントシアニンの化学合成研究は、生合成研究に繋がった。本稿では、筆者が行ってきたフラボノイド系植物色素研究の経緯と結果について解説する。

1. 花色発現の分子機構の解明¹⁾

アントシアニンとは、発色団のアントシアニジンに糖が一残基以上結合した構造を持つ化合物の総称である。水溶性でpH変化により構造が変化し、酸性で赤、中性で紫、アルカリ性で青色を呈する。しかし、中性~アルカリ性域の化学種は不安定で、試験管内では速やかに退色する。そのため「なぜ、花卉では多彩な色が安定して発色するのか」が長年疑問とされてきた。アントシアニンによる花色研究の歴史は古く、1910年代には既に、ドイツのWillstätterらによる「赤色と青色の違いは、細胞の酸性、アルカリ性による」とするpH説と、日本の柴田桂太、柴田雄次らによる「弱酸性の花弁細胞中ではアントシアニンは金属と錯体形成して青色を発色する」とする金属錯体説との間に論争がなされていた。筆者は、ツユクサ、アサガオ、アジサイ、リンドウといった一般にもなじみの深い青色花を対象に研究を進め、その多様な発色機構を明らかにし、pH説と金属錯体説のいずれをも実証した¹⁾。

1-1. 自己組織化超分子金属錯体色素(メタロアントシアニン)による青色発色

ツユクサ(*Commelina communis*)は、柴田桂太の研究を継いだ林孝三らが研究した花で、青色色素はコンメリニンとよばれる。ツユクサの搾汁は、濃厚な時には極めて安定であるが、薄めると速やかに退色する不思議な性質を示す。ツユクサの栽培品種であるオオボウシバナは、手描き友禅の下絵に用いられる青紙の原料で、琵琶湖近傍で長年栽培されてきた。この花から純粋な成分を大量に調製し、それらを混合することによりコ

ンメリニンを再構築した。そして、X線結晶構造解析により精密化学構造を解明した(図1)。

コンメリニンは、6分子のアントシアニン、6分子のフラボン、2原子の金属イオンからなり、分子内にはアントシアニンと金属イオンとの錯体形成、アントシアニン同士、フラボン同士、アントシアニンとフラボンの3種類の疎水相互作用に基づく分子会合が存在した(図1)。ここに初めて、金属錯体による青色発色を証明したことになる。コンメリニンは、或る条件下で成分を混合すると、ひとりで分子が集合する自己組織化超分子金属錯体色素(メタロアントシアニン)である。その後、ヤグルマギク、青色サルビア類、ネモフィラからも同様の仕組みにより青色を発色するメタロアントシアニンを発見した(表1)。いずれも構成成分の構造はわずかに異なるが、それぞれ、精密な構造認識に基づき分子会合することがわかった。

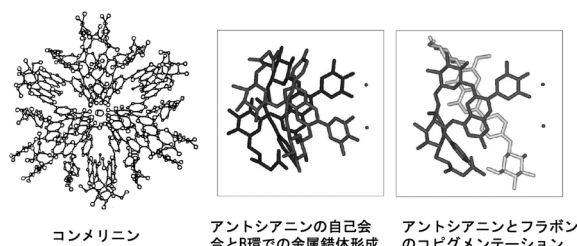


図1. コンメリニンのX線結晶構造

表1. 報告したメタロアントシアニンと構成成分

| 植物と超分子の名称 | アントシアニン | フラボン | 金属イオン |
|------------------------------------|---------|------|-------------------------------------|
| ツユクサ コンメリニン | | | Mg ²⁺ |
| ヤグルマギク プロトデルフィン | | | Mg ²⁺ , Fe ³⁺ |
| サルビアパテンス サルビアマクロフィア プロトデルフィン | | | Mg ²⁺ |
| サルビアウリギノサ シアノサルビアニン | | | Mg ²⁺ |
| ネモフィラ ネモフィリン | | | Mg ²⁺ , Fe ³⁺ |

1-2. 液胞pHのアルカリ化による青色発色

空色西洋アサガオ(*Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue)の花弁には、多アシル化アントシアニンであるヘブンリーブルーアントシアニンだけが含まれる。この花は、ツボミは赤く開花すると美しい空色に変化するが、開花前後でアントシアニンは変化しない。空色花弁の搾汁は瞬時に紫色となり、これは、花卉組織において表層の着色細胞のpHと無色の海綿状組織の

pH とが異なることを強く示唆した。着色細胞の液胞pHを直接測定することが必要と考え、細胞内微小電極法による測定に挑戦した。その結果、赤から青色への花色変化に伴い着色細胞の液胞pHだけが6.6から7.7へ上昇し、無色細胞は6.0のまま変化しないことが明らかになった。すなわち、pH説に基づく青色発色も実在したのである(図2)。

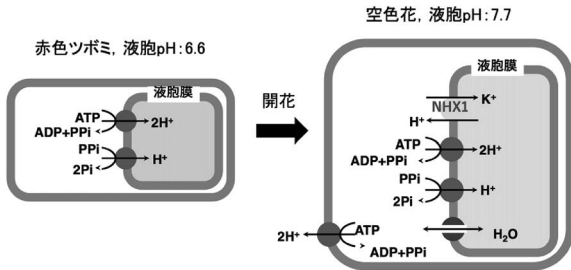


図2. アサガオの開花に伴う液胞pHの上昇の仕組み

次に、なぜ液胞pHが上昇するのかの解明に取り組んだ。開花12時間前から着色細胞の液胞膜だけにナトリウム-プロトン対抗輸送体(NHX1)が発現し、これが実際には、液胞内へ K^+ を入れ H^+ を排出することで液胞内の浸透圧を上げ、水の流入による細胞の伸長成長を促してアサガオが開花する仕組みを明らかにした(図3)。液胞pHの上昇は、アサガオの開花と連動した現象で、無色のアサガオや赤色アサガオでも同様のシステムが働いていることがわかった。

1-3. アジサイの花色素変異機構²⁾

アジサイ(*Hydrangea macrophylla*)の花は装飾花で実はガク片である。原種の花色は青であるが、土壌のpHにより花色は変化する。酸性土壌では溶解した Al^{3+} が吸収されて青色になり、中性土壌では Al^{3+} が不溶なため赤となる。花色にかかわらず同じデルフィニジン3-グルコシドと3種類の助色素(キナ酸エステル類)が含まれるなど、不思議なことの多い花である。

ガク片組織で着色細胞は二層目にあり、紫色の花の細胞は、青、紫、赤色とモザイク状であった。即ち、アジサイは環境がほぼ同じ隣同士の細胞ですら、色が変わるのだ。この解明には、単一細胞で化学分析をする他にないと考えた。ガク片をプロトプラスト化し、細胞の色、液胞pH、有機・無機成分を同時に分析する方法を考案し、色と成分との関係を明らかにした。その結果、細胞が青くなるほどアントシアニンに対する Al^{3+} の当量と5-アシル化キナ酸の当量が増加することがわかった。試験管内での色再現実験によりこれを実証し、アジサイの色変異は、わずかな構成成分比の違いで起きることを解明した。

さらに、合成した助色素を用いた色再現実験と機器分析により、アジサイ青色錯体がアントシアニン-5-アシル化キナ酸- Al^{3+} が1:1:1で錯体形成した構造であること(図3)、および、ガク片の質量分析イメージングにより、青色ガク片組織の青色細胞だけにこの青色錯体が局在することを明らかにした。

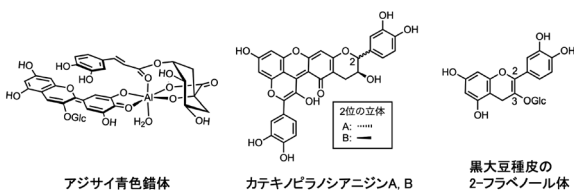


図3. 構造解明したフラボノイド類

2. 食用植物由来の色素の構造解明とその応用³⁾

様々な食用植物に含まれるアントシアニンを研究し、赤シソ、紫ヤムなどの他、有色豆種皮色素の化学分析を行った。筆者自身も当初アントシアニンであると誤解していた赤アズキ(*Vigna angularis*)の種皮色素は、実はアントシアニンではなかった。カテキノピラノシアニジンA, Bと名付けた紫色色素は、糖を持たず、シアニジンとカテキンが縮環した新規構造を持つ(図3)³⁾。光に不安定で、水に溶けず、強酸性から中性域で紫色を呈する不思議な化合物である。さらし餡の紫色は、洗切りで褐色物質が除去され、製餡中に熱水に溶けた色素が餡粒子に吸着して発色することも明らかにした。

3. アントシアニンの化学合成法と新規生合成経路の発見

アントシアニンの合成法は、1930年代以降めぼしい進展がなかった。フラボノールの金属還元によるアントシアニンへの変換反応の過程を詳細に解析し、この反応が二段階で進行し、中間体として2および3-フラベノール体を経由することを見いだした。これを基盤に、多様なアントシアニンを高収率で合成する方法を確立し、色素増感太陽電池研究やアントシアニンのホスト-ゲスト安定化研究を進めることができた。

黒大豆の登熟種皮の色素はシアニジン3-グルコシドである。未熟な緑色豆を莢から出して空気中で明所に置くと、通常2ヶ月以上かかる登熟が、一日で完了して黒色となる。この未熟種皮に、合成研究で見いだした2-フラベノール体が含まれることがわかった(図3)⁴⁾。成分変化の過程を解析することにより、先に3位に配糖化がおきて得られた無色の2-フラベノール体が空気酸化されてアントシアニンに変換されるという、従来の定説とは異なる新しい生合成経路を見いだした⁴⁾。

おわりに

筆者の中・高校生時代は分子生物学研究の勃興期で、その研究分野に強く惹かれた。ただ当時は「生物は有機分子で構成されているのだから、まず有機化学を学んでそれから生物学へ」と青臭く考えていた。有機化学の研究自体そんな生やさしいものでは無かったが「植物色素」を研究対象にしたことで、図らずも生物学にも関わることができた。ある意味ニッチな領域で、自然現象に対する「なぜ?」という好奇心を大事に研究を続けてきた。アントシアニンの新しい生合成機構や赤アズキ種皮の由来など、まだまだ未知なることは多くあるが、興味と好奇心を原動力に研究を続け、一歩でも解明に近づきたいと考えている。

(引用文献)

- 1) Yoshida, K. et al., *Nat. Prod. Rep.*, 26, 884-915 (2009).
- 2) Yoshida, K. et al., *Proc. Jpn. Acad. Ser. B*, 97, 51-68 (2021).
- 3) Yoshida, K. et al., *Sci. Rep.*, 9, 1484 (2019).
- 4) Yoshida, K. et al., *Sci. Rep.*, 10, 17184 (2020).

謝辞 相山女学園大学に助手として勤め始めた際に「ツクサ色素をやってみませんか?」とおっしゃって頂き、X線構造解析の結果を議論した直後に逝去された故後藤俊夫先生と当時から対等な研究者(実態はともなわず気持ちだけでしたが)として扱ってくださった近藤忠雄さんに心から感謝いたします。多くの共同研究者の方、研究室で時間をともにした学生の皆さん、相山女学園大学と名古屋大学の同僚の先生方、中部支部の先生方、研究会や学会で議論くださった皆様をはじめ、私に関わってくださった全ての方にお礼申し上げます。