

第3章 テトラヒドロクルクミン-鉄 (II, III) 錯体の 水系における安定度定数の決定

3.1 緒言

クルクミノイドの抗酸化活性, 抗菌活性などの強い生理活性を持つことが知られるにともなって, その金属錯体の生理活性にも関心が持たれてきている¹⁾. 特に鉄(II, III) イオンとの錯体形成^{2,3)}の報告はクルクミノイドが生体内で重要な役割を果たしている鉄(ヘモグロビンなどの構成元素)と錯形成することを示唆し, 抗酸化システムに大きく関与している可能性を示している. また, Holderらはクルクミンを腹膜内投与した場合, 胆汁中よりテトラヒドロクルクミンのグルクロン酸配糖体を確認しており⁴⁾, これはクルクミンが生体内でテトラヒドロクルクミンに還元された後, 生理活性作用を示す可能性が高いことを示唆するものである.

この章では条件により, 酸化剤, 還元剤の両方の側面を持つ⁵⁾といわれているクルクミンと比較しながら抗酸化機構の解明に結びつけるためクルクミン, テトラヒドロクルクミンの鉄(II, III)錯体の安定度定数を求めた. 合わせて, 電気化学的挙動検討の為, サイクリックボルタンメトリーを測定した.

3.2 実験

3.2.1 装置

吸収スペクトルは日立製の分光光度計 HITACHI U - 2000A Spectrophotometer に 1 cm 石英セルを用いて測定した. pH は Horiba F - 21 pH メーターに複合電極を装着して測定した. pH メーターは 25°C で pH 4.01, 6.86, 9.18 の標準溶液を用いて校正した. 試料及びセル室は, ヤマト製恒温槽 Low Constant Water Bath BQ 100 を用いて 25°C とした. サイクリックボルタンメトリーは ECO CHEMIE 社製の μ AUTOLAB TYPE III を使用して測定した. 作用電極は BAS 社製カーボンペースト電極を用い, カーボンペースト Oil Base を充填して測定した. 白金線対極と飽和 KCl カロメル

参照電極はインターケミ社製を使用した。

3.2.2 試薬

クルクミンは和光純薬製（試薬特級）を 2.2.3 に従って精製して用いた。テトラヒドロクルクミンは 2.2.4 に従って合成し、精製して用いた。FeCl₃·6H₂O、（関東化学、特級）、モール塩 Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O（関東化学、特級）、L(+)-アスコルビン酸（関東化学、特級）、HCl（関東化学、特級）、NaOH（関東化学、特級）、NaCl（関東化学、特級）、純水はオルガノ製純水製造器 Organo G-10 C で精製したものをを用いた。

3.2.3 分光光度滴定

3.2.3.1 クルクミン・Fe(II) 及びテトラヒドロクルクミン・Fe(II) 系

クルクミンは DMSO に溶解し、遮光下で貯蔵した。クルクミン溶液 0.20 ml（ $5.92 \times 10^{-3} \text{ M}$ ）、モール塩（ $2.02 \times 10^{-2} \text{ M} / 0.1 \text{ M HCl}$ ）溶液 0.058 ml に 0.1 M NaCl を含有する pH 4 の HCl 水溶液を加えて 100 ml とし、被滴定溶液とした。ただし、pH 4.6 ~ 5.8 の範囲ではスペクトルの再現性がやや低かったので還元剤としてさらに L(+)-アスコルビン酸を 1 g 加えて 100 ml とした。

測定は pH 4.6 ~ 5.8, pH 7.2 ~ 8.3, pH 9.6 ~ 11.4 の 3 箇所 pH に区切り、それぞれ 390 nm, 410 nm, 475 nm の波長で測定した。25°C の恒温条件下アルゴンガスを通気し、被滴定液を攪拌しながら、これに水酸化ナトリウム水溶液を滴下した。pH メーターの数値が安定した後、攪拌とアルゴンガス通気を停止し pH を記録した。試料溶液は石英セルに分取し吸光スペクトルを測定後、セル内の溶液をビーカーに戻した。各実験は 3 回行った。

一方、テトラヒドロクルクミンはメタノールに溶解し冷蔵した。メスフラスコにテトラヒドロクルクミン溶液 0.08 ml（ $1.80 \times 10^{-2} \text{ M}$ ）とモール塩（ $2.026 \times 10^{-2} \text{ M} / 0.1 \text{ M HCl}$ ）溶液 0.069 ml をとり、0.1 M NaCl を含有する $1.0 \times 10^{-4} \text{ M HCl}$ を加えて 50 ml とし、被滴定溶液とした。測定は pH 4.0 ~ 5.0, pH 6.5 ~ 8.0, pH 9.6 ~ 12.0 の 3 箇所 pH に区切り、いずれも 300 nm の波

長で測定し、上記と同様に滴定を行った。

3.2.3.2 クルクミン・Fe(III) 及びテトラヒドロクルクミン・Fe(III) 系

3.2.3.1 と同様に 25°C アルゴン雰囲気下、3 回繰り返し実験を行った。被滴定液の調製と測定波長は以下の通りである。

クルクミンDMSO 溶液 0.20 ml ($5.92 \times 10^{-3} \text{M}$)、塩化第二鉄溶液 0.118 ml ($1.006 \times 10^{-2} \text{M}$, 12 M HCl 5 ml/l) に 0.1 M NaCl を含有する pH 2 の HCl 水溶液を加えて 100 ml とし、被滴定溶液とした。ただし、pH 2.5 ~ 4.0 の範囲ではさらに L(+)-アスコルビン酸を 1 g 加えて 100 ml とした。

測定は pH 2.5 ~ 4.0, pH 7.0 ~ 8.5, pH 9.5 ~ 11.6 の 3 箇所の pH に区切り、それぞれ 427 nm, 517 nm, 475 nm の波長で測定した。

テトラヒドロクルクミンの場合メタノール溶液 0.08 ml ($1.80 \times 10^{-2} \text{M}$)、塩化第二鉄溶液 0.143 ml ($1.006 \times 10^{-2} \text{M}$, 12 M HCl 5 ml/l) に 0.1 M NaCl を含有する pH 2 の HCl 水溶液を加えて 100 ml とし、被滴定溶液とした。

測定は pH 2.5 ~ 4.5, pH 5.5 ~ 8.0, pH 9.5 ~ 11.5 の 3 箇所の pH に区切り、それぞれ 295 nm, 280 nm, 298 nm の波長で測定した。

3.2.4 サイクリックボルタンメトリー

すべての測定は 25°C, アルゴン雰囲気下で行った。溶液はイオン強度 (KCl : 0.1 M), FeCl_3 ($2.50 \times 10^{-5} \text{M}$), もしくはモール塩 ($2.56 \times 10^{-5} \text{M}$), クルクミン ($2.70 \times 10^{-5} \text{M}$), もしくはテトラヒドロクルクミン ($2.80 \times 10^{-5} \text{M}$), 及び KCl 0.1 M を含んだ水酸化ナトリウム溶液または HCl を滴下して pH を調節した。レファレンスとして飽和カロメル電極, 対極は白金線, 作用電極はカーボンペースト電極を使用した。

3.3 結果と考察

3.3.1 クルクミン・Fe(II) 錯体の生成定数

代表的 pH におけるクルクミン・Fe(II) 系水溶液の吸収スペクトルを

Fig. 3 - 1 に示す.

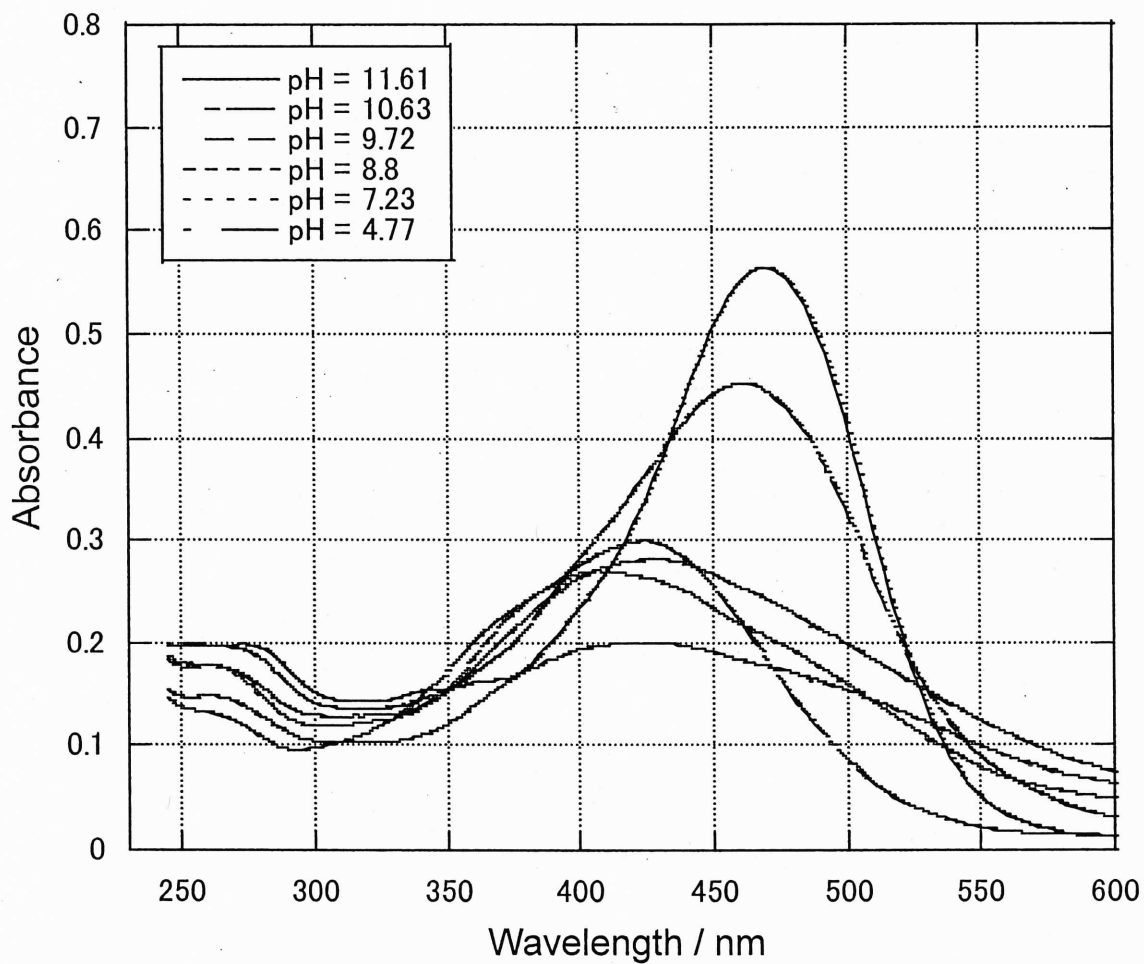


Fig. 3 - 1 Typical UV - vis absorption spectra for curcumin - Fe²⁺
as a function of pH. $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$,
25°C .

目視によれば遊離のクルクミン同様、酸性では淡黄色、アルカリ性では赤褐色を示した。遊離のクルクミンより pH の上昇に伴いクルクミン・Fe(II) 錯体は高波長側へ極大波長を若干シフトさせられた。Fig. 3-2 にクルクミン-鉄 (II, III) 錯体の 475 nm における pH 変化に伴う吸収スペクトルを示す。遊離のクルクミンと比較するとアルカリ側で鉄 (II, III) 錯体はやや低く、中性・酸性側ではやや高い吸光度を示した。クルクミン (H_3cur) は各フェノール部位に 1 つ、アセチルアセトン部位に 1 つの解離可能なプロトンをもつ三プロトン酸 (H_3A) である。

Fig. 3-2 の 475 nm における pH 変化に伴う吸収スペクトルで pH 4.5 ~ 5.5 の変化を錯形成 (式 (1)), pH 7.2 ~ 8.3, pH 9.5 ~ 11.4 の変化を酸解離反応 (式 (9), (16)) と仮定し、それぞれ 390, 410, 475 nm の吸光度を用いて解析した。式 (1), (9), (16) より FeH_2L^+ , $FeHL$, FeL^- の生成定数 K は式 (2), (11), (17) で与えられる。

又、 H_3L , FeH_2L^+ , $FeHL$, FeL^- の各測定波長におけるモル吸光係数 ϵ_{H_3L} , $\epsilon_{FeH_2L^+}$, ϵ_{FeHL} , ϵ_{FeL^-} を用い吸光度 Abs はそれぞれ式 (3), (11), (18), で与えられると仮定し、 H_3L , FeH_2L^+ , $FeHL$, FeL^- の ϵ は L_{Total} , Fe_{Total} と各 pH 区間の吸光度より求めた。

安定度定数は pH に対し式 (5), (13), (20) の左辺をプロットして求めた。

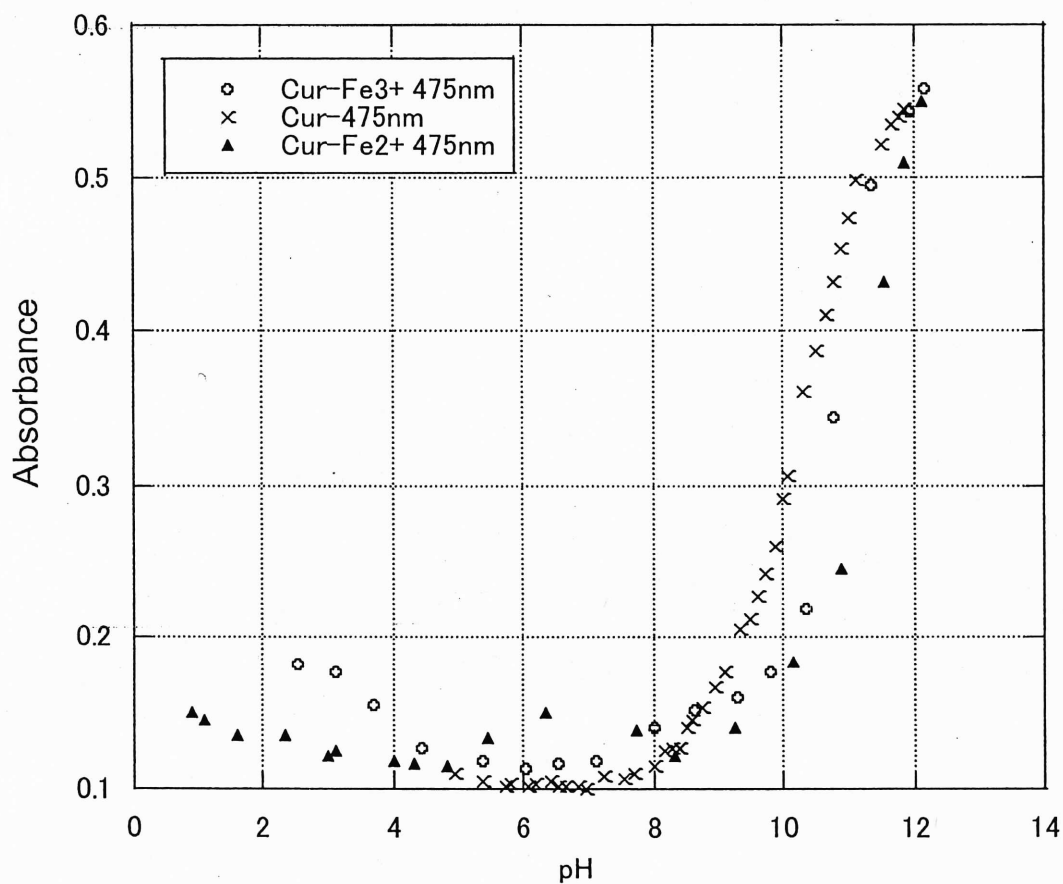
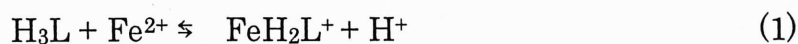


Fig. 3 - 2 pH - Dependence of absorbance of curcumin, curcumin - Fe^{2+} , curcumin - Fe^{3+} at 475 nm. $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

(L: cur)



$$K = \frac{[\text{FeH}_2\text{L}^+] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}_3\text{L}] \cdot [\text{Fe}^{2+}]} \quad (2)$$

$$\text{Abs} = \varepsilon_{\text{H}_3\text{L}}[\text{H}_3\text{L}] + \varepsilon_{\text{FeH}_2\text{L}^+}[\text{FeH}_2\text{L}^+] \quad (3)$$

$$L_{\text{Total}} = [\text{H}_3\text{L}] + [\text{FeH}_2\text{L}^+] \quad (4)$$

$$\log \frac{[\text{FeH}_2\text{L}^+]}{[\text{H}_3\text{L}] \cdot [\text{Fe}^{2+}]} = \text{pH} + \log K \quad (5)$$

式 (5) 左辺の各濃度項は式 (6) ~ (8) で求めた.

$$[\text{Fe}^{2+}] = \text{Fe}_{\text{Total}} - [\text{FeH}_2\text{L}^+] \quad (6)$$

$$[\text{H}_3\text{L}] = \frac{\text{Abs} - \varepsilon_{\text{FeH}_2\text{L}^+} \cdot L_{\text{Total}}}{\varepsilon_{\text{H}_3\text{L}} - \varepsilon_{\text{FeH}_2\text{L}^+}} \quad (7)$$

$$[\text{FeH}_2\text{L}^+] = \frac{\text{Abs} - \varepsilon_{\text{H}_3\text{L}} \cdot L_{\text{Total}}}{\varepsilon_{\text{FeH}_2\text{L}^+} - \varepsilon_{\text{H}_3\text{L}}} \quad (8)$$



$$K_{\text{ac1}} = \frac{[\text{FeHL}] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{FeH}_2\text{L}^+]} \quad (10)$$

$$\text{Abs} = \varepsilon_{\text{FeH}_2\text{L}^+} [\text{FeH}_2\text{L}^+] + \varepsilon_{\text{FeHL}} [\text{FeHL}] \quad (11)$$

$$\text{Fe}_{\text{Total}} = [\text{FeH}_2\text{L}^+] + [\text{FeHL}] \quad (12)$$

$$\log \frac{[\text{FeHL}]}{[\text{FeH}_2\text{L}^+]} = \text{pH} + \log K_{\text{ac1}} \quad (13)$$

式 (13) 左辺の各濃度項は式 (14), (15) で求めた.

$$[\text{FeHL}] = \frac{\text{Abs} - \varepsilon_{[\text{FeH}_2\text{L}^+]} \cdot \text{Fe}_{\text{Total}}}{\varepsilon_{[\text{FeHL}]} - \varepsilon_{[\text{FeH}_2\text{L}^+]}} \quad (14)$$

$$[\text{FeH}_2\text{L}^+] = \frac{\text{Abs} - \varepsilon_{[\text{FeHL}]} \cdot \text{Fe}_{\text{Total}}}{\varepsilon_{[\text{FeH}_2\text{L}^+]} - \varepsilon_{[\text{FeHL}]}} \quad (15)$$



$$K_{\text{ac2}} = \frac{[\text{FeL}^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{FeHL}]} \quad (17)$$

$$\text{Abs} = \varepsilon_{\text{FeHL}} [\text{FeHL}] + \varepsilon_{\text{FeL}^-} [\text{FeL}^-] \quad (18)$$

$$\text{Fe}_{\text{Total}} = [\text{FeHL}] + [\text{FeL}^-] \quad (19)$$

$$\log \frac{[\text{FeL}^-]}{[\text{FeHL}]} = \text{pH} + \log K_{\text{ac2}} \quad (20)$$

式 (20) の各濃度項は式 (21) , (22) で求めた.

$$[\text{FeHL}] = \frac{\text{Abs} - \epsilon_{[\text{FeL}]} \cdot \text{Fe}_{\text{Total}}}{\epsilon_{[\text{FeHL}]} - \epsilon_{[\text{FeL}]}} \quad (21)$$

$$[\text{FeL}] = \frac{\text{Abs} - \epsilon_{[\text{FeHL}]} \cdot \text{Fe}_{\text{Total}}}{\epsilon_{[\text{FeL}]} - \epsilon_{[\text{FeHL}]}} \quad (22)$$

. pH 4.5 ~ 5.5, pH 7.2 ~ 8.3, pH 9.5 ~ 11.4 におけるそれぞれの結果を Fig. 3 - 3, 4, 5 に示す.

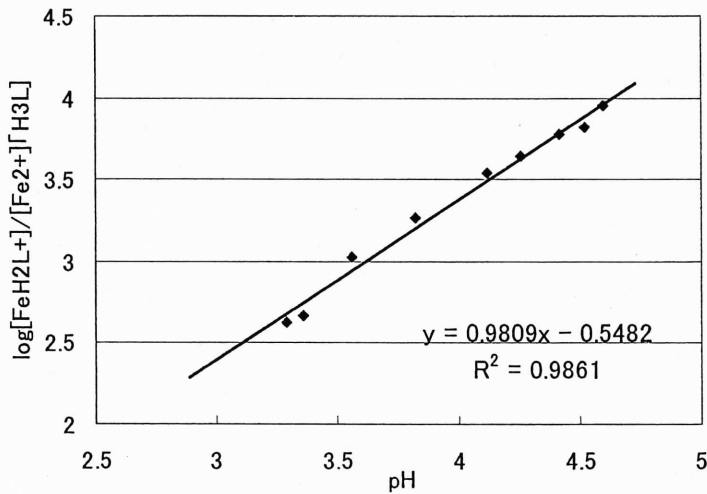


Fig. 3 - 3 pH vs. $\log[\text{FeH}_2\text{L}^+]/[\text{Fe}^{2+}] [\text{H}_3\text{L}]$ plot of Fe(II) · H₃cur (pH 4.5 ~ 5.5) C_{cur} = 1.18 × 10⁻⁵ M, C_{Fe2+} = 1.17 × 10⁻⁵ M, 25°C .

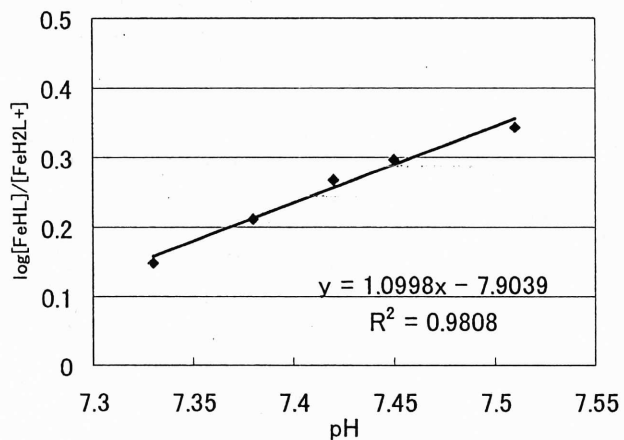


Fig. 3 - 4 pH vs. $\log\frac{[\text{FeHL}]}{[\text{FeH}_2\text{L}^+]}$ plot of Fe(II) - $\text{H}_{3\text{cur}}$ (pH 7.2 ~ 8.3) $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

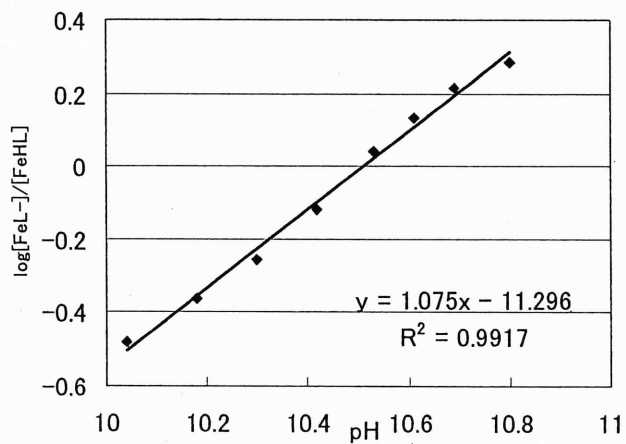


Fig.3 - 5 pH vs. $\log\frac{[\text{FeL}^-]}{[\text{FeHL}]}$ plot of Fe(II) - $\text{H}_{3\text{cur}}$ (pH 9.5 ~ 11.4) $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

いずれも、ほぼ傾き 1 の直線が得られた。各 β 値は式 (23) ~ (25) より得た。クルクミン、テトラヒドロクルクミンの pK_{a1} , pK_{a2} , pK_{a3} はそれぞれ 8.39 ± 0.03 , 9.35 ± 0.02 , 10.51 ± 0.03 及び 8.51 ± 0.06 , 9.45 ± 0.01 , 10.65 ± 0.02 , ($I = 0.1$, 25°C) である⁶⁾。

$$\beta_{110} = \frac{K \cdot K_{ac1} \cdot K_{ac2}}{K_{a1} \cdot K_{a2} \cdot K_{a3}} \quad (23)$$

$$\beta_{111} = \frac{\beta_{110}}{K_{ac2}} \quad (24)$$

$$\beta_{112} = \frac{\beta_{111}}{K_{ac1}} \quad (25)$$

求めた安定度定数 β 値を Table 3-1 に、 ϵ 値を Table 3-2 に示す。

クルクミン-Fe(II) 錯体の $\log \beta_{112}$, $\log \beta_{111}$, $\log \beta_{110}$ のうち、 $\log \beta_{111}$ は Ref. 6 にほぼ一致したが $\log \beta_{112}$, $\log \beta_{110}$, については多少差が見られる (Table 3-1)。これは測定条件の違いによるものと思われるが Ref. 3 の条件が不明であるので比較はできない。

3.3.2 テトラヒドロクルクミン-Fe(II) 錯体の生成定数

代表的 pH における テトラヒドロクルクミン-Fe(II) 系水溶液の吸収スペクトルを Fig. 3-6 に、300 nm おける Fe(II)-テトラヒドロクルクミンの pH 変化に伴う吸収スペクトルを Fig. 3-7 に示す。

Table 3-1
The formation constants of the complexes.

Fe ²⁺	curcumin (H ₃ cur)	tetrahydrocurcumin (H ₃ thc)	conditions
[FeH ₂ cur] ⁺	log β ₁₁₂ 27.71 ± 0.01	[FeH ₂ thc] ⁺ log β ₁₁₂ 28.21 ± 0.02	I = 0.1, 25°C
[FeHcur]	log β ₁₁₁ 19.81 ± 0.01	[FeHthc] log β ₁₁₁ 20.47 ± 0.02	I = 0.1, 25°C
[Fecur] ⁻	log β ₁₁₀ 8.56 ± 0.04	[Fethc] ⁻ log β ₁₁₀ 9.39 ± 0.04	I = 0.1, 25°C
*[FeH ₂ cur] ⁺	log β ₁₁₂ 28.11 ± 0.02		unknown
*[FeHcur]	log β ₁₁₁ 19.76 ± 0.03		unknown
*[Fecur] ⁻	log β ₁₁₀ 9.20 ± 0.04		unknown
Fe ³⁺	curcumin (H ₃ cur)	tetrahydrocurcumin (H ₃ thc)	conditions
[FeH ₂ cur(OH)] ⁺	log β 30.02 ± 0.03	[FeH ₂ thc(OH)] ⁺ log β 30.23 ± 0.01	I = 0.1, 25°C
[FeHcur(OH)]	log β 21.44 ± 0.03	[FeHthc(OH)] log β 22.82 ± 0.04	I = 0.1, 25°C
[Fecur(OH)] ⁻	log β 10.39 ± 0.04	[Fethc(OH)] ⁻ log β 11.89 ± 0.04	I = 0.1, 25°C
*[Fecur(OH)] ⁻	log β 12.14 ± 0.03		unknown

*) Ref. 3

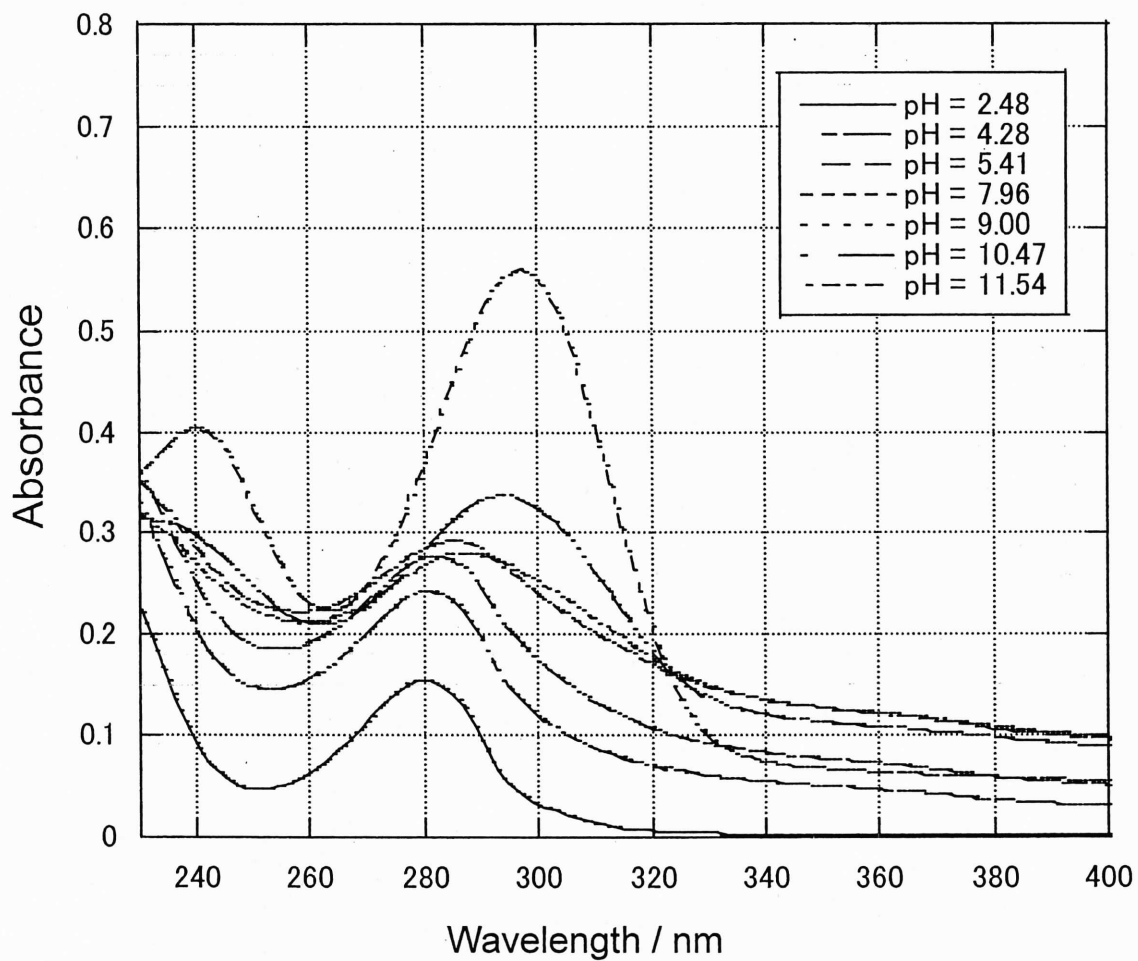


Fig.3 - 6 Typical UV - vis absorption spectra for tetrahydrocurcumin · Fe²⁺ as function of pH.

$C_{\text{thc}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

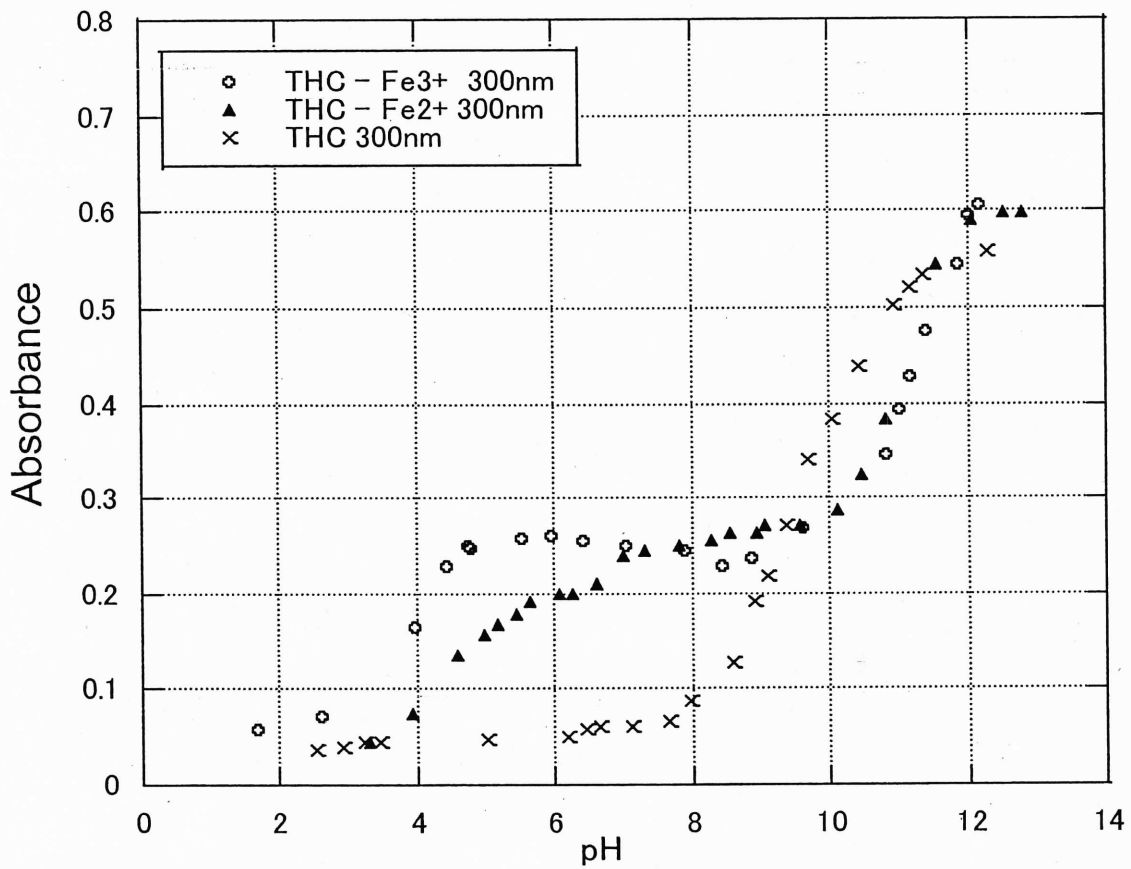


Fig.3 - 7 pH - Dependence of absorbance of tetrahydrocurcumin, tetrahydrocurcumin · Fe²⁺, tetrahydrocurcumin · Fe³⁺.

$C_{\text{thc}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$,
25°C .

目視によれば溶液は検討した pH 範囲で無色だったが、pH の上昇に伴い極大波長の高波長側へのシフトと吸光度の増大が見られた。Fig. 3・7 で遊離のテトラヒドロクルクミンと錯体とのスペクトルを比較すると pH 4 ~ 9 付近では鉄 (II) 錯体はかなり高い吸光度を示し、pH 9 以上では逆に錯体の方がやや低くなっている。

クルクミン同様テトラヒドロクルクミン (H_{3thc}) も解離可能な 3 つのプロトンをもつ三プロトン酸 (H_3A) である。

pH 4.0~5.0 の変化を錯形成 (式 (1)), pH 6.5~8.0, pH 9.6~12.0 の変化を酸解離反応 (式 (9), (16)) と仮定し、いずれも 300 nm のデータを用いてクルクミン・Fe(II) 錯体の場合と同様に解析した。

pH に対して左辺に式 (5), (13), (20) の左辺をプロットし、いずれも、ほぼ傾き 1 の直線が得られた (Fig. 3・8, 3・9, 3・10)。β 値を Table 3・1, ε 値を Table 3・2 に示す。

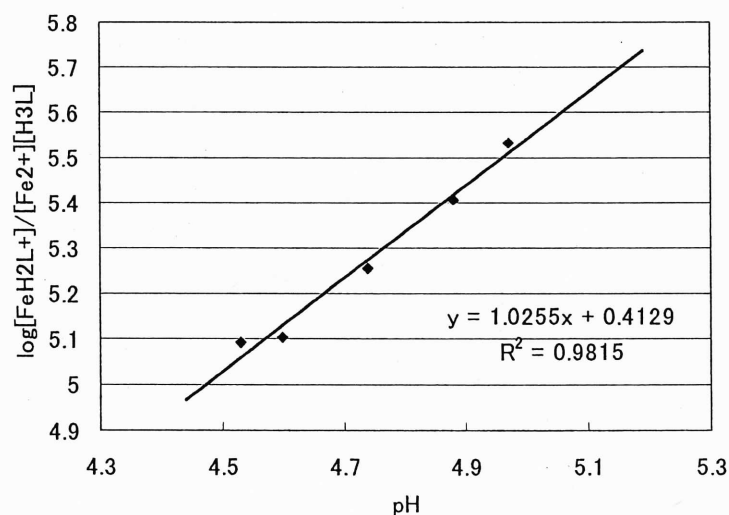


Fig. 3・8 pH vs. $\log\frac{[FeH_2L^+]}{[Fe^{2+}][H_3L]}$ plot of Fe(II) · H_{3thc} (pH 4.0-5.0)
 $C_{cur} = 2.8 \times 10^{-5} M$, $C_{Fe^{2+}} = 2.8 \times 10^{-5} M$, $25^\circ C$.

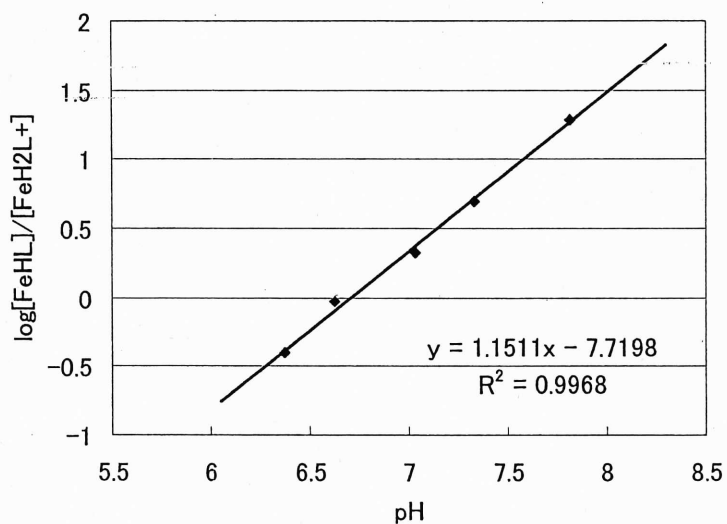


Fig. 3 - 9 pH vs. $\log[\text{FeHL}]/[\text{FeH}_2\text{L}^+]$ plot of $\text{Fe}(\text{II}) \cdot \text{H}_{3\text{thc}}$ (pH 6.5-8.0)
 $C_{\text{thc}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

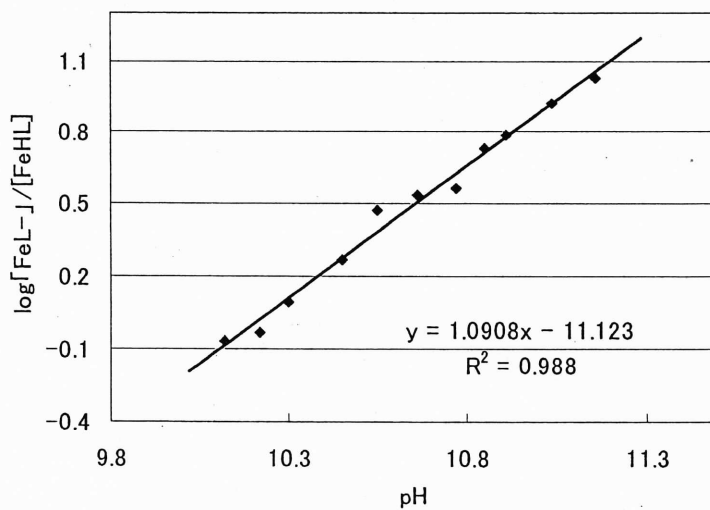


Fig. 3 - 10 pH vs. $\log[\text{FeL}^-]/[\text{FeHL}]$ plot of $\text{Fe}(\text{II}) \cdot \text{H}_{3\text{thc}}$ (pH 9.6-12.0)
 $C_{\text{thc}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

本実験で求めた値 (Table 3 - 1) を使用して得たクルクミン-Fe(II), テトラヒドロクルクミン-Fe(II) 各系における錯体の存在比分布を Fig. 3 - 11 に示す.

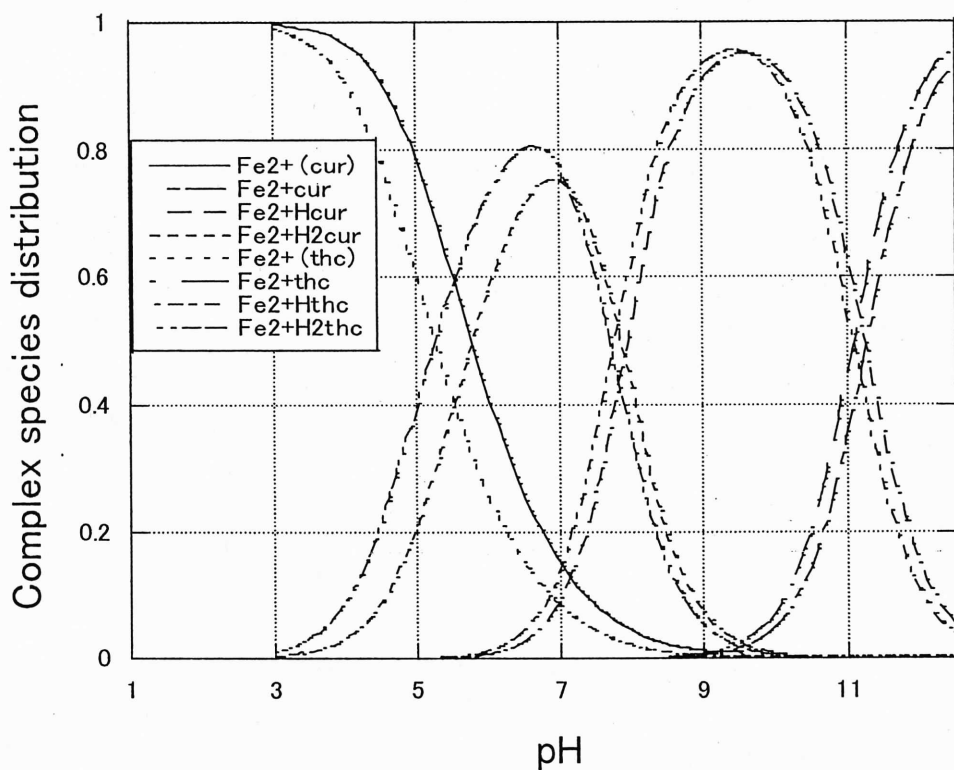


Fig. 3 - 11 Species distribution curves for Fe^{2+} / curcumin and Fe^{2+} / tetrahydrocurcumin systems.

$$(C_{\text{cur}} = 1.184 \times 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.184 \times 10^{-5} \text{ M}),$$

$$(C_{\text{thc}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{Fe}^{2+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}), 25^\circ\text{C}.$$

pH の増加と共に錯体種 FeH_2L^+ , FeHL , FeL^- が段階的に優先化学種となっていることが確認される.

得られた各 pK_{ac} 値がクルクミン-Fe(II) 系の方が大きいため、分布曲線はテトラヒドロクルクミン-Fe(II) 系より若干高 pH 側にシフトしている

テトラヒドロクルクミン-Fe(II) 錯体の $\log \beta_{112}$, $\log \beta_{111}$, $\log \beta_{110}$ はクルクミン-Fe(II) 錯体のそれらより、すべてほぼ 1 大きい値へシフトしている。この結果、クルクミン-Fe(II) 錯体に比べテトラヒドロクルクミン-Fe(II) 錯体の安定度定数の方が若干大きいという結果を与えた。

3.3.3 クルクミン-Fe(III) 錯体生成定数

代表的 pH における Fe(III)-クルクミン水溶液の吸収スペクトルを Fig. 3 - 12 に示す。

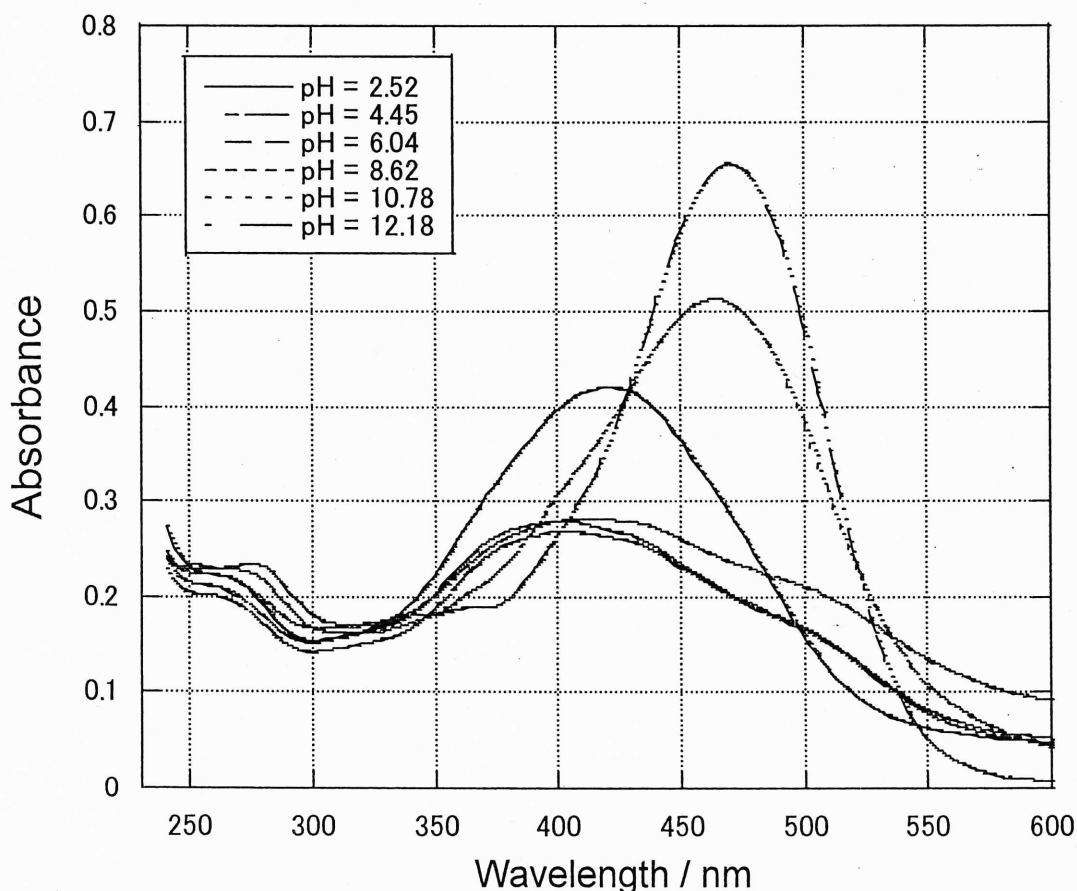


Fig. 3 - 12 Typical UV - vis absorption spectra for curcumin - Fe^{3+} as function of pH. ($C_{cur} = 1.184 \times 10^{-5} M$, $C_{Fe^{3+}} = 1.174 \times 10^{-5} M$), $25^{\circ}C$.

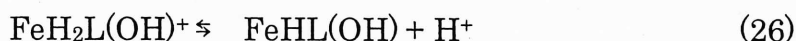
目視によれば、クルクミン・Fe(II) 系同様、酸性では淡黄色、アルカリ性では褐色を示した。pH の上昇に伴うクルクミン・Fe(II) 系とのカーブの違いはあまり認められない。

Fig. 2 の 475 nm おける pH 変化に伴う吸収スペクトルで pH 2.5 ~ 4.0, の変化を錯形成 (式 (23)), pH 7.0 ~ 8.5, pH 9.5 ~ 11.6 の変化を酸解離反応 (式 (26) (29)) と仮定し, $[\text{Fe}(\text{OH})^{2+}]$ の存在を考慮し¹⁰⁾, それぞれ 427 nm, 517 nm, 475 nm のデータを用いて Fe(II)-クルクミン錯体の場合と同様に解析した。



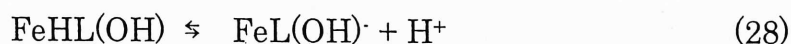
$$K = \frac{[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}_3\text{L}] \cdot [\text{Fe}(\text{OH})^{2+}]} \quad (24)$$

$$\log \frac{[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+]}{[\text{H}_3\text{L}] \cdot [\text{Fe}(\text{OH})^{2+}]} = \text{pH} + \log K \quad (25)$$



$$K_{\text{ac1}} = \frac{[\text{FeHL}(\text{OH})] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+]} \quad (27)$$

$$\log \frac{[\text{FeHL}(\text{OH})]}{[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+]} = \text{pH} + \log K_{\text{ac1}} \quad (28)$$



$$K_{\text{ac2}} = \frac{[\text{FeL}(\text{OH})^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{FeHL}(\text{OH})]} \quad (30)$$

$$\log \frac{[\text{FeL}(\text{OH})^-]}{[\text{FeHL}(\text{OH})]} = \text{pH} + \log K_{\text{ac}2} \quad (31)$$

pH に対して左辺に式 (25), (28), (31) をプロットするといずれも、ほぼ傾き 1 の直線が得られた (Fig. 3 -13, 14, 15) . また β 値を Table 3 - 1, ϵ 値を Table 3 - 2 に示す.

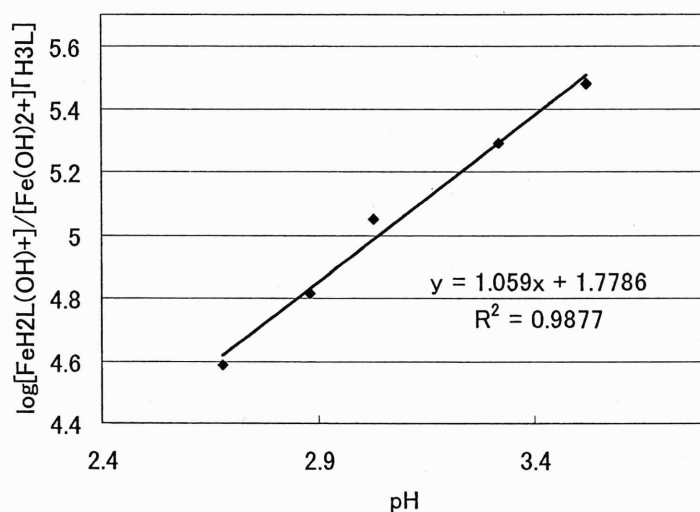


Fig. 3 - 13 pH vs. $\log[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+]/[\text{Fe}(\text{OH})_2^+][\text{H}_3\text{L}]$ plot of Fe(III) - $\text{H}_{3\text{cur}}$ (pH 2.5 ~ 4.0) $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

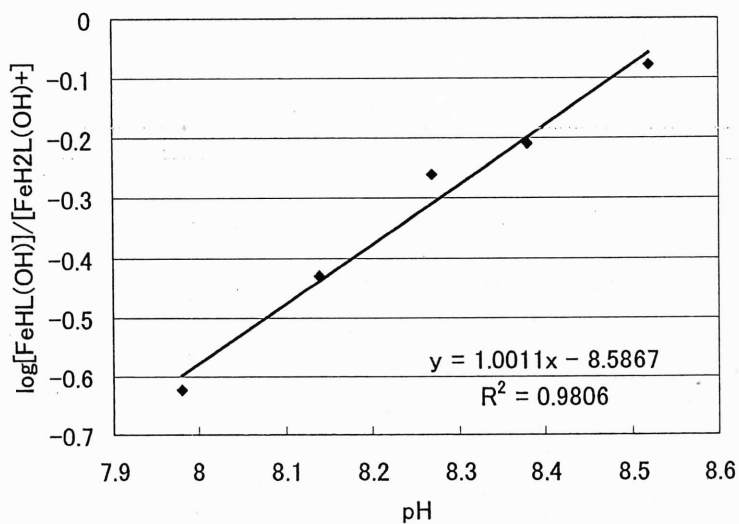


Fig. 3 - 14 pH vs. $\log\frac{[\text{FeHL(OH)}]}{[\text{FeH}_2\text{L(OH)}^+]}$ plot of Fe(III) - $\text{H}_{3\text{cur}}$ (pH 7.0 \sim 8.5) $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

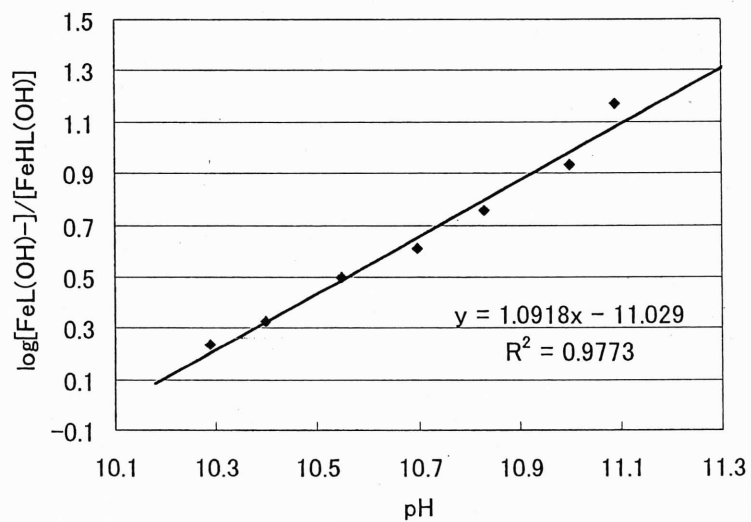


Fig. 3 - 15 pH vs. $\log\frac{[\text{FeL(OH)}^-]}{[\text{FeHL(OH)}]}$ plot of Fe(III) - $\text{H}_{3\text{cur}}$ (pH 9.5 \sim 11.6) $C_{\text{cur}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.18 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

3.3.4 テトラヒドロクルクミン Fe(III) 錯体生成定数

代表的 pH における Fe(III) -テトラヒドロクルクミン水溶液の吸収スペクトルを Fig. 3 - 16 に示す.

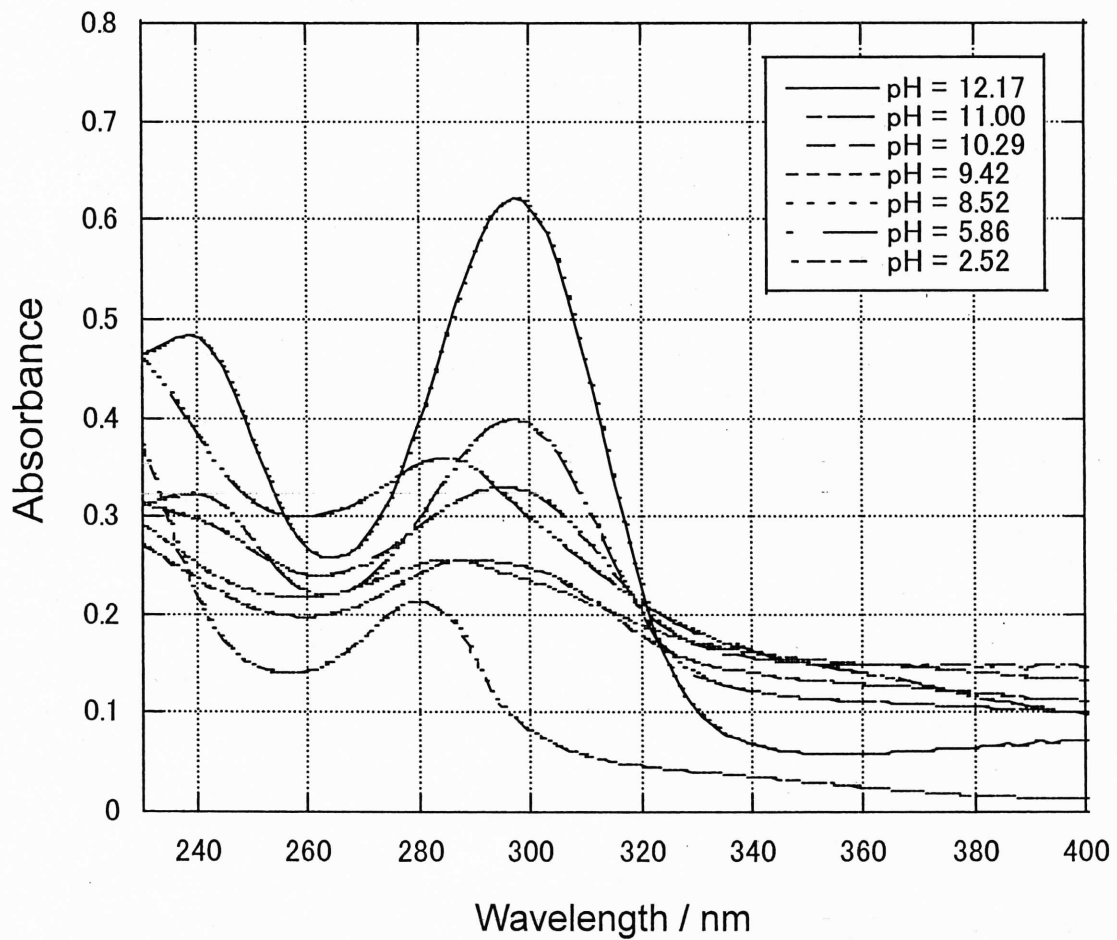


Fig.3 - 16 Typical UV - vis absorption spectra for tetrahydrocurcumin - Fe³⁺ as a function of pH

目視によれば、無色でpHの上昇に伴うテトラヒドロクルミン・Fe(II)系とのカーブの違いはあまり認められない。

Fig. 3-2 の 300 nm おける pH 変化に伴う吸収スペクトルで pH 2.5 ~ 4.5 の変化を錯形成 (式 (23)), pH 5.5 ~ 8.0, pH 9.5 ~ 11.4, の変化を酸解離反応 (式 (26), (29)) と仮定した. $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$ の存在を考慮し⁶⁾, それぞれ 295 nm, 280 nm, 298 nm のデータを用い Fe(II)-クルミンの場合と同様に解析した. pH に対して左辺に式 (25), (28), (31) をプロットするといずれも, ほぼ傾き 1 の直線が得られた (Fig. 3-17, 18, 19). また β 値を Table 3-1 に ϵ 値を, Table 3-3 に示す.

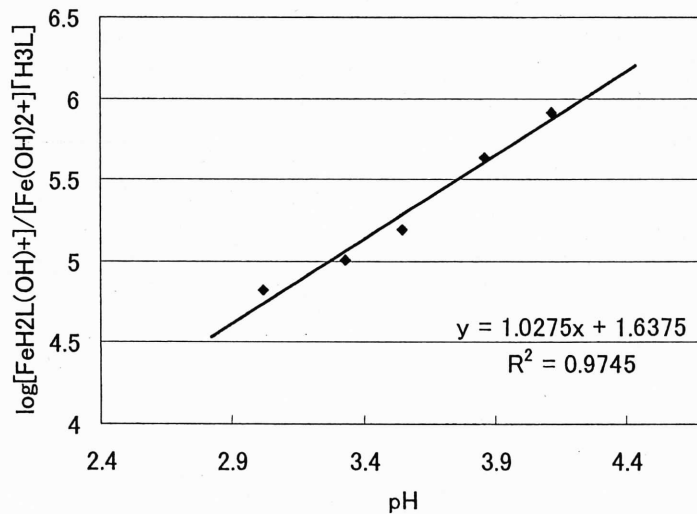


Fig. 3-17 pH vs. $\log\left[\frac{[\text{FeH}_2\text{L}(\text{OH})^+]}{[\text{Fe}(\text{OH})_2^{2+}][\text{H}_3\text{L}]}\right]$ plot of Fe(III) · $\text{H}_{3\text{thc}}$
 (pH 2.5 ~ 4.5) $C_{\text{thc}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$,
 25°C

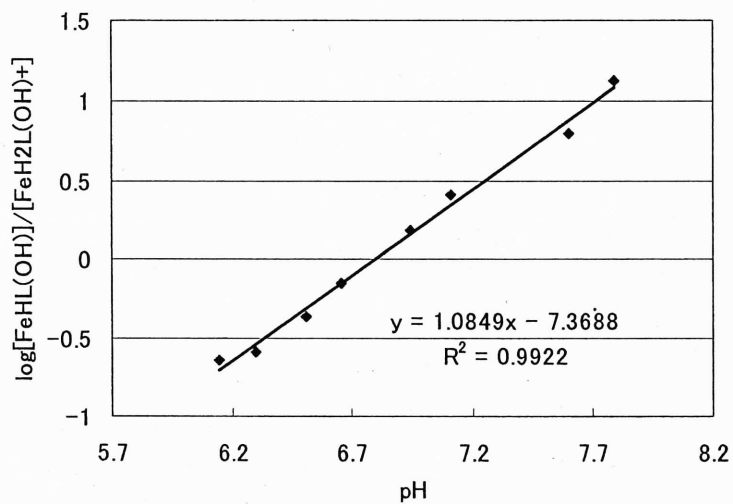


Fig. 3 - 18 pH vs. $\log[\text{FeHL(OH)}]/[\text{FeH}_2\text{L(OH)}^+]$ plot of Fe(III) - $\text{H}_{3\text{thc}}$ (pH 5.5 ~ 8.0) $C_{\text{thc}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

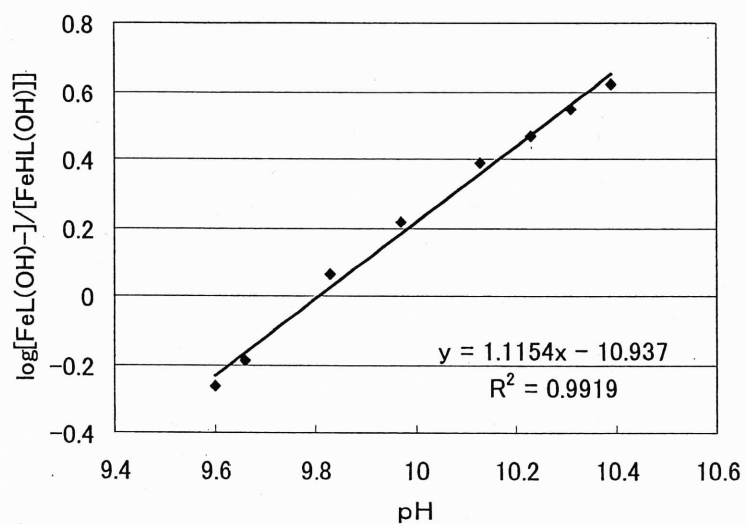


Fig. 3 - 19 pH vs. $\log[\text{FeL(OH)}^-]/[\text{FeHL(OH)}]$ plot of Fe(III) - $\text{H}_{3\text{thc}}$ (pH 9.5 ~ 11.4) $C_{\text{thc}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.80 \times 10^{-5} \text{ M}$, 25°C .

Table 3-2 Molar absorptivities ϵ of curcumin - complexes

	$\epsilon_{\text{Hcur}} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[FeH2cur]}^+} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[FeHcur]}} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[Fecur]}^-} (\lambda/\text{nm})$
Fe ²⁺	27984 ± 49.0 (390 nm)	18666 ± 49.0 (410 nm)	12851 ± 491 (475 nm)	45106 ± 0 (475 nm)
Fe ³⁺	34459 ± 0 (427 nm)	$\epsilon_{\text{[FeH2cur(OH)]}^+} (\lambda/\text{nm})$ 48141 ± 0 (517 nm)	$\epsilon_{\text{[FeHcur(OH)]}} (\lambda/\text{nm})$ 22128 ± 0 (475 nm)	$\epsilon_{\text{[Fecur(OH)]}^-} (\lambda/\text{nm})$ 59296 ± 0 (475 nm)

Table 3-3 Molar absorptivities ϵ of tetrahydrocurcumin - complexes

	$\epsilon_{\text{H3thc}} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[FeH2thc]}^+} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[FeHthc]}} (\lambda/\text{nm})$	$\epsilon_{\text{[Fethc]}^-} (\lambda/\text{nm})$
Fe ²⁺	3535 ± 0 (300 nm)	4392 ± 0 (300 nm)	16023 ± 20.2 (300 nm)	22678 ± 0 (300 nm)
Fe ³⁺	5250 ± 0 (295 nm)	$\epsilon_{\text{[FeH2thc(OH)]}^+} (\lambda/\text{nm})$ 10785 ± 0 (280 nm)	$\epsilon_{\text{[FeHthc(OH)]}} (\lambda/\text{nm})$ 16035 ± 0 (298 nm)	$\epsilon_{\text{[Fethc(OH)]}^-} (\lambda/\text{nm})$ 22676 ± 0 (298 nm)

クルクミン・Fe(III), テトラヒドロクルクミン・Fe(III) 各錯体の分布曲線を Fig. 3-20 に示す.

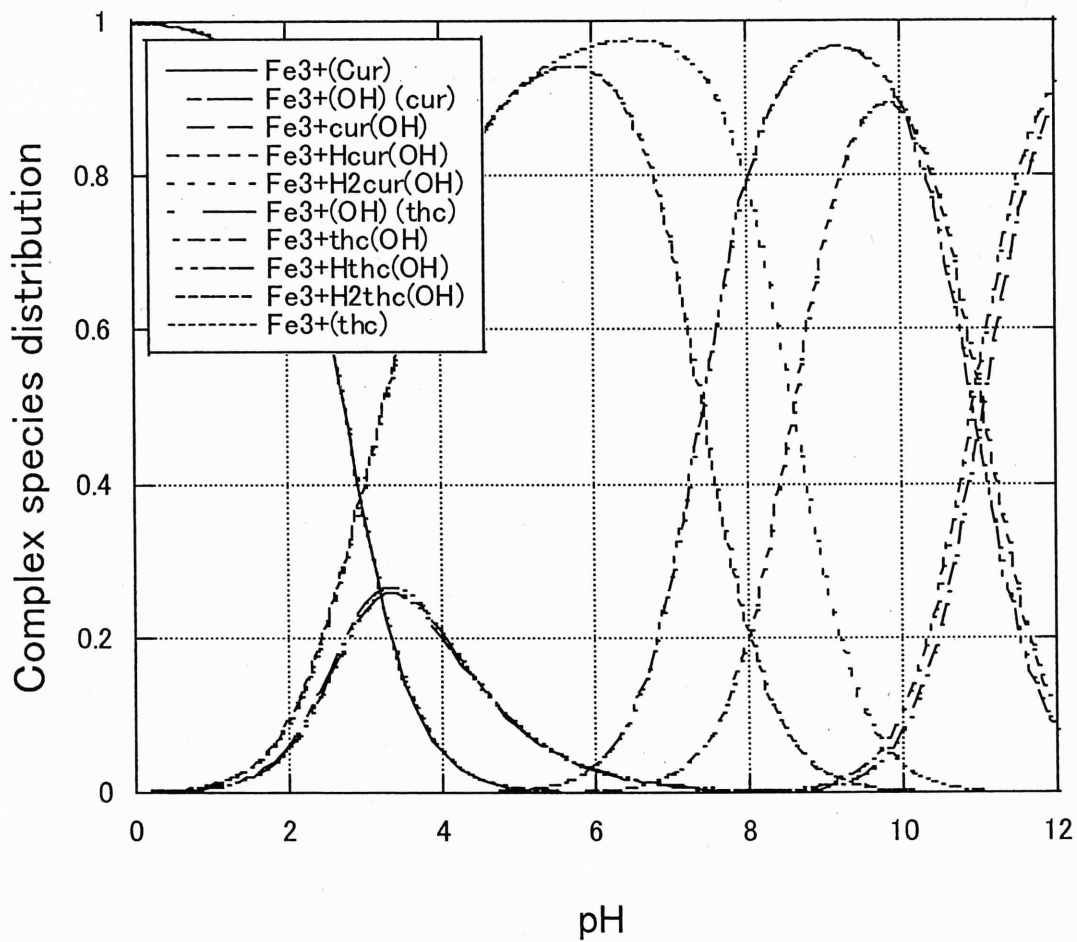


Fig. 3 - 20 Species distribution curves for Fe^{3+} / curcumin and Fe^{3+} / tetrahydrocurcumin systems.

($C_{\text{cur}} = 1.184 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.174 \times 10^{-5} \text{ M}$),

($C_{\text{thc}} = 2.800 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.800 \times 10^{-5} \text{ M}$), 25°C .

pH 5 以下では両方は近似した濃度分布があるが、それ以上の pH 範囲ではクルクミン・Fe(III) 系の分布曲線の方がテトラヒドロクルクミン・Fe(III) 系より高 pH 側へシフトしている。特に pK_{ac1} の差が大きいため、この近辺の pH (pH = 7.0 から 9.0) での差が大きく見られる。

クルクミン・Fe (III) 錯体、テトラヒドロクルクミン - Fe (III) 錯体系では $\log \beta [FeH_2cur(OH)]^+$ と $\log \beta [FeH_2thc(OH)]^+$ がほぼ等しいが、 $\log \beta [FeHcur(OH)]$ と $\log \beta [FeHthc(OH)]$, $\log \beta [Fecur(OH)]^-$ と $\log \beta [Fethc(OH)]^-$ ではテトラヒドロクルクミン錯体の方が 1 ほど大きな値が得られた。

Fe (III) 錯体の場合もまた Fe (II) 錯体と同様、テトラヒドロクルクミン錯体の方が若干高い安定度定数を与えた。なお、筆者らの $\log \beta$ (10.39) $[Fethc(OH)]^-$ と Ref. 6 の $\log \beta$ (12.14) $[Fecur(OH)]^-$ との間には差が見られた。Ref. 3 の測定条件が不明であり比較はできない。

3.3.5 酸化還元挙動

クルクミンはアルカリ条件で Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元する可能性を指摘されている^{3,7)}。そこでこれを電気化学的に検証する目的で遊離のクルクミン、テトラヒドロクルクミン、及び各々の Fe(II) , Fe(III) 錯体のサイクリックボルタモグラムを測定した (Fig. 3 - 21 ~ 24 , 及び Table 3 -4, 5)。

明確に読み取れるピークのうち、 $E_{pa}(I)$ はカテコール構造類似部分の酸化³⁾と思われ、それも特にフェノール部位の OH の酸化⁸⁾を示し、 $E_{pc}(II)$ はその還元ピークと推定される^{3, 8)}。

Fig. 3 - 21 は pH 3 における遊離のクルクミン、テトラヒドロクルクミンのアノードイタックスキャンである。

クルクミンに比べ、テトラヒドロクルクミンの酸化還元 ($E_{pa}(I)$, $E_{pc}(II)$) ピーク電位はやや低い値にシフトしている。

pH 3 の場合、遊離、Fe(II) , Fe(III) 錯体、すべてにおいてテトラヒドロクルクミンの方のピーク電位がアノードイタックスキャン、カソードイタックスキャ

ン共, やや低い値にシフトした.

Fig. 3・22 は pH 10 における遊離のクルクミン, テトラヒドロクルクミンのアノードイットクスキャンである. pH 3 の場合と比べて $E_{pa}(I)$, $E_{pc}(II)$ とも低くシフトしており, スペクトルのカーブも大分異なっている.

Fig. 3・23 にクルクミン・ Fe^{2+} , Fe^{3+} 系の pH 10 におけるアノードイットクスキャンを示す. アノードイットクスキャン, カソードイットクスキャン共, $E_{pa}(I)$, $E_{pc}(II)$ 値はほぼ一致し, 両系は同じ挙動を示した (Table 3・4). 故に pH 10 ではまずクルクミンが $Fe(III)$ を $Fe(II)$ に還元し, その後, 錯形成をしていると推測できる. この結果は, M. Bernabé⁶⁾ らが塩基媒体 (pH 10) でクルクミンが Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元すると述べていることと一致する.

一方, テトラヒドロクルクミン・ Fe^{2+} , Fe^{3+} 系の場合, 対応するアノードイットクスキャン, カソードイットクスキャン値はクルクミンの場合ほどには一致せず, クルクミンようにテトラヒドロクルクミンが Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元する傾向は認められるものの還元しているとは言い切れない (Table 3・5).

pH 3 では酸化ピークと還元ピークの電位差 (ピークセパレーション) ΔE_p がクルクミンの場合よりいずれも小さい値であり, これはテトラヒドロクルクミンの方が可逆性の高い酸化還元反応をしているものと考えられる. 理由はクルクミンよりテトラヒドロクルクミンの方が分解しにくい為と思われる⁹⁾.

pH 10 では ΔE_p はいずれもテトラヒドロクルクミンの方が大きな値となっており, この pH ではクルクミンより電子授受速度が遅いことを示している. 理由は不明であるが, 興味深い結果である (Table 3・6).

今回の測定条件 (pH 3, pH 10) 中, クルクミン, テトラヒドロクルクミン鉄錯体両系の幾つかにおいてはその CV データから明確な規則性を指摘することは難しかった.

しかし, 本実験では pH 3 においてクルクミン系に比べ, テトラヒドロクルクミン系の酸化還元ピーク電位はいずれもやや低い値にシフトしていた. この事実はテトラヒドロクルクミンがクルクミンより抗酸化力が大きい (電子を与えやすい)¹⁰⁾ ことと無関係ではないと推測され, 抗酸化作用には酸化還元電位も密接な関係があると考えられる.

また, Fe^{2+} (フェントン反応でヒドロキシラジカルを発生 : $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow$

Fe³⁺ + OH· + ·OH) の捕捉という観点からみるとテトラヒドロクルクミンの方がクルクミンより錯体の安定度定数が高いということはクルクミンより若干抗酸化力が高いといえる。

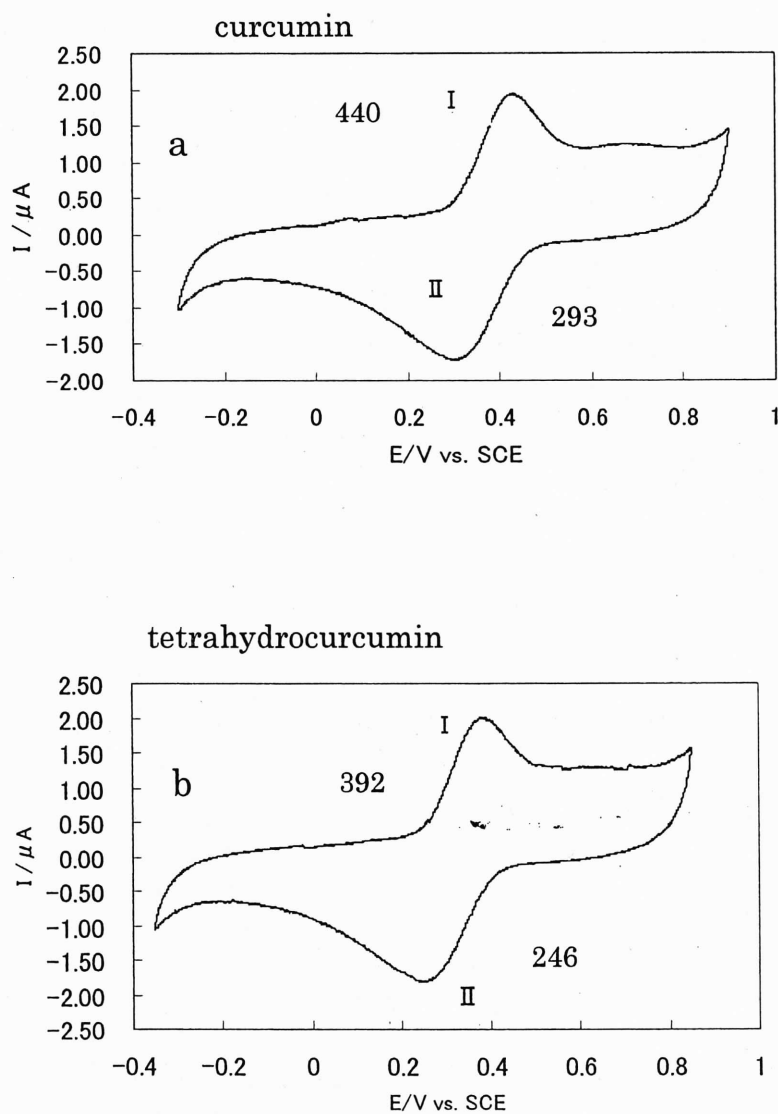


Fig. 3 - 21 Cyclic voltammograms of the system at pH 3 by curcumin a), and tetrahydrocurcumin b) with a potential scan rate of 100 mVs^{-1} in anodic direction. ($C_{\text{cur}} = 2.700 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{thc}} = 2.800 \times 10^{-5} \text{ M}$), 25°C .

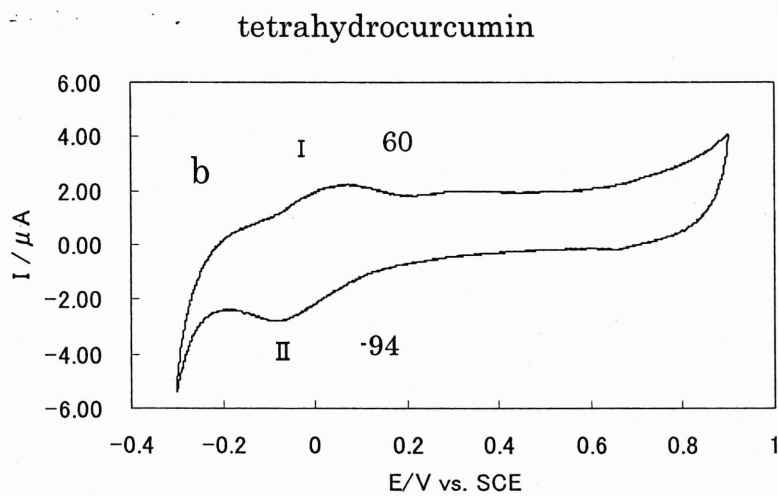
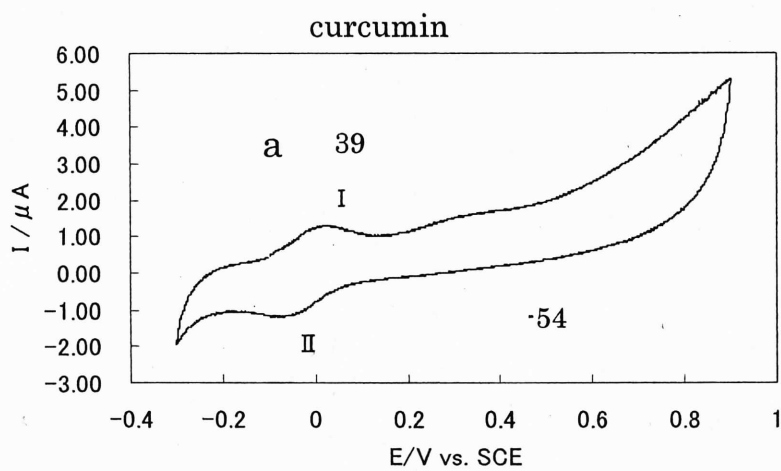


Fig. 3 - 22 Cyclic voltammograms of the system at pH 10 by curcumin a), and tetrahydrocurcumin b) with a potential scan rate of 100 mVs^{-1} in anodic direction. ($C_{\text{cur}} = 2.700 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{thc}} = 2.800 \times 10^{-5} \text{ M}$), 25°C .

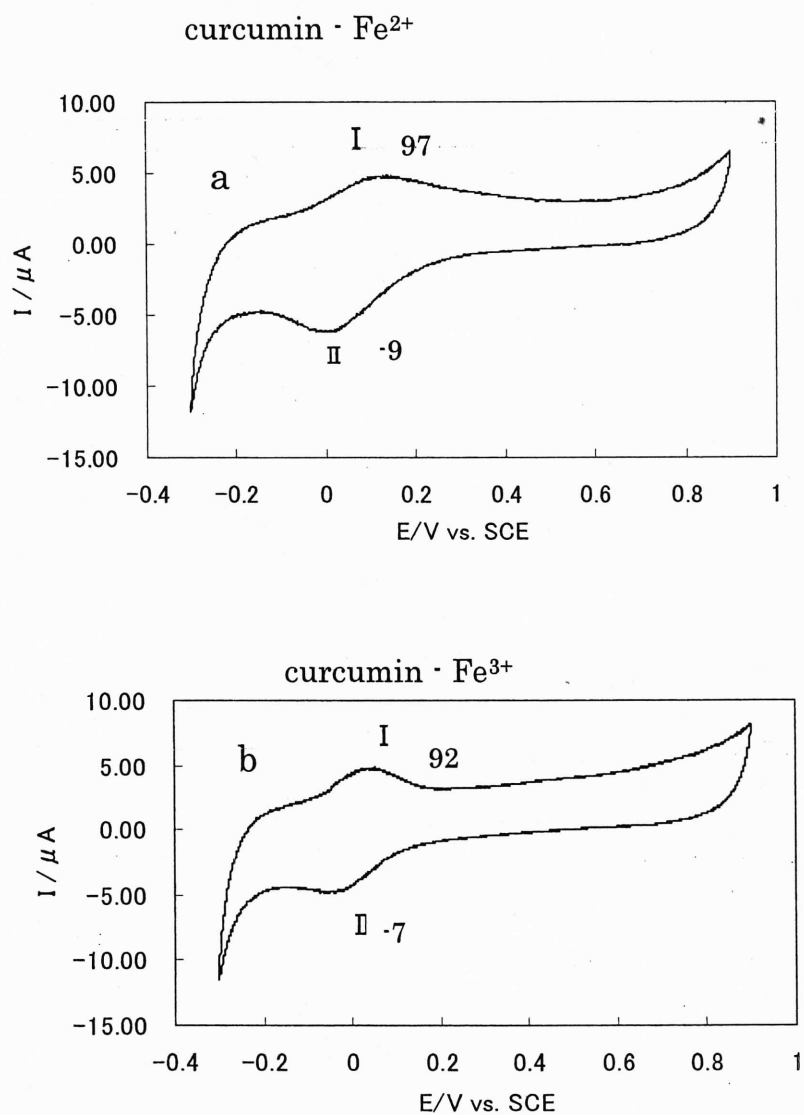


Fig. 3 - 23 Cyclic voltammograms of the system at pH 10 by curcumin · Fe²⁺ a) , and curcumin · Fe³⁺ b) with a potential scan rate of 100 mVs⁻¹ in anodic direction. ($C_{\text{cur}} = 1.184 \times 10^{-5}$ M, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.174 \times 10^{-5}$ M, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1.184 \times 10^{-5}$ M), 25°C .

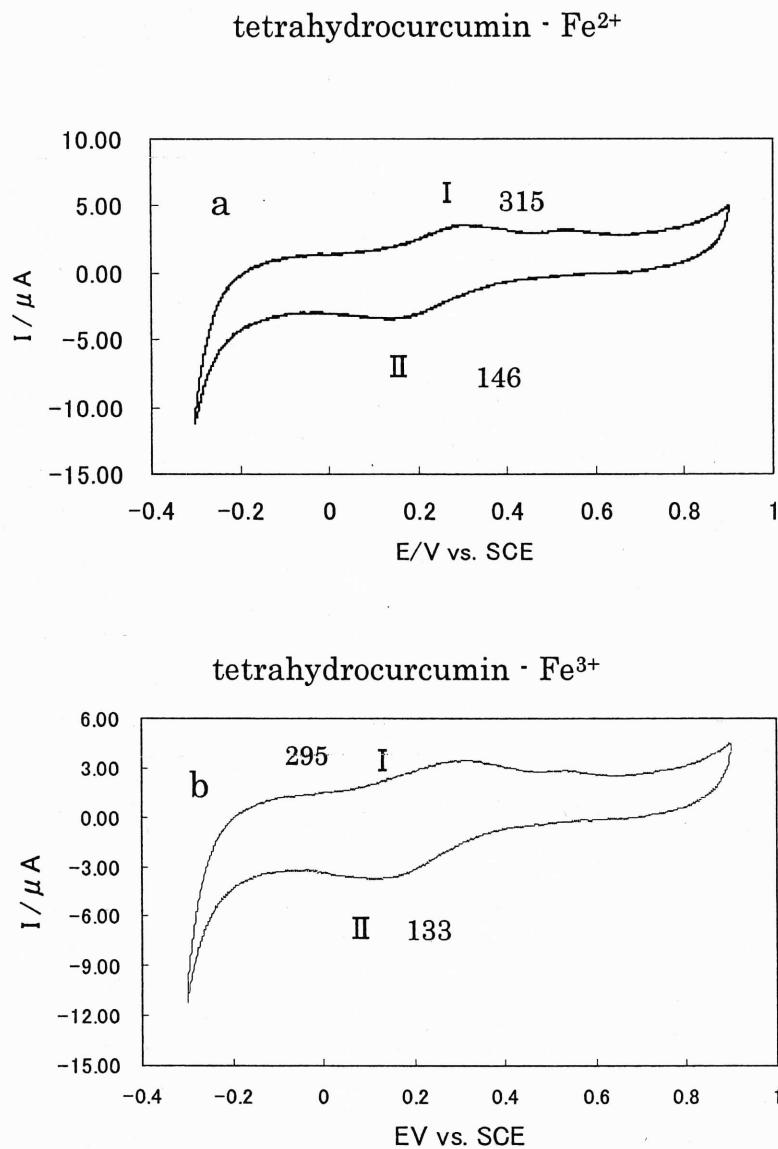


Fig. 3 - 24 Cyclic voltammograms of the system at pH 10 by tetrahydrocurcumin · Fe²⁺ a), and tetrahydrocurcumin · Fe³⁺ b) with a potential scan rate of 100 mVs⁻¹ in anodic direction. ($C_{\text{thc}} = 2.800 \times 10^{-5}$ M, $C_{\text{Fe}^{2+}} = 1.174 \times 10^{-5}$ M, $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2.800 \times 10^{-5}$ M), 25°C .

Table 3 - 4

Potential values of the electrochemical processes of the systems curcumin, curcumin - Fe²⁺ and curcumin - Fe³⁺.

	$E_{pa} (I)$ (mV vs. SCE)	$E_{pc} (II)$ (mV vs. SCE)	$E_{pa} (I) - E_{pc} (II)$ (mV)
curcumin (pH 3)			
Anodic scan	440	293	147
Cathodic scan	456	295	161
curcumin (pH 10)			
Anodic scan	33	- 54	87
Cathodic scan	5	- 9	14
curcumin - Fe ²⁺ (pH 3)			
Anodic scan	483	348	135
Cathodic scan	481	356	125
curcumin - Fe ²⁺ (pH 10)			
Anodic scan	97	- 9	106
Cathodic scan	150	0	150
curcumin - Fe ³⁺ (pH 3)			
Anodic scan	478	368	110
Cathodic scan	466	378	88
curcumin - Fe ³⁺ (pH 10)			
Anodic scan	92	- 7	99
Cathodic scan	152	- 4	156

Table 3 - 5

Potential values of the electrochemical processes of the systems
 tetrahydrocurcumin, tetrahydrocurcumin - Fe²⁺ and
 tetrahydrocurcumin - Fe³⁺.

	E_{pa} (I)	E_{pc} (II)	E_{pa} (I) - E_{pc}
(II)	(mV vs. SCE)	(mV vs. SCE)	(mV)
tetrahydrocurcumin (pH 3)			
Anodic scan	392	246	146
Cathodic scan	427	279	148
tetrahydrocurcumin (pH 10)			
Anodic scan	60	- 94	154
Cathodic scan	30	- 56	86
tetrahydrocurcumin - Fe ²⁺ (pH 3)			
Anodic scan	382	343	39
Cathodic scan	321	350	-29
tetrahydrocurcumin - Fe ²⁺ (pH 10)			
Anodic scan	315	146	169
Cathodic scan	90	- 78	168
tetrahydrocurcumin - Fe ³⁺ (pH 3)			
Anodic scan	381	333	48
Cathodic scan	379	340	39
tetrahydrocurcumin - Fe ³⁺ (pH 10)			
Anodic scan	295	133	162
Cathodic scan	105	- 67	172

Table 3 - 6

$E_{pa} (I) - E_{pa} (II)$ values of the electrochemical processes of the systems
 curcumin, curcumin $\cdot Fe^{2+}$, curcumin $\cdot Fe^{3+}$,
 tetrahydrocurcumin, tetrahydrocurcumin $\cdot Fe^{2+}$ and tetrahydrocurcumin $\cdot Fe^{3+}$

$E_{pa} (I) - E_{pa} (II)$ mV			$E_{pa} (I) - E_{pa} (II)$ mV	
	Anodic scan	Cathodic scan	Anodic scan	Cathodic scan
cur (curcumin)			thc (tetrahydrocurcumin)	
pH 3	147	161	146	148
pH 10	87	14	154	86
cur $\cdot Fe^{2+}$			thc $\cdot Fe^{2+}$	
pH 3	135	125	39	-29
pH 10	106	150	169	168
cur $\cdot Fe^{3+}$			thc $\cdot Fe^{3+}$	
pH 3	110	88	48	39
pH 10	99	156	162	172

3.4 結 言

水系におけるテトラヒドロクルクミンの鉄錯体形成反応に関してクルクミンと比較しながら鉄錯体安定度定数の決定とサイクリックボルタンメトリーを測定した。その結果、安定度定数はテトラヒドロクルクミンの方が若干大きな値を与えた。また CV では、pH 3 においてテトラヒドロクルクミンの方が ΔE_p が小さく、可逆性の高い酸化還元反応をしていることが確認された。しかし、クルクミンと異なりアルカリ側で、 Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元しているとは必ずしも言い切れなかった。これまでの報告によれば 生体内でクルクミンがテトラヒドロクルクミンに還元された後、抗酸化過程に寄与する可能性が指 4, 10) されている。今後、生体内条件に近い pH においてテトラヒドロクルクミン挙動を調べ、新たな側面を検討する予定である。

また、皮下注入剤デフェロキサミン- Fe^{3+} 錯体¹¹⁾ ($\log \beta_1 = 30.6$)、経口キレート剤デフェラシロクス- Fe^{3+} 錯体¹¹⁾ ($\log \beta_2 = 36.9$)、それぞれの安定度定数と比べるとテトラヒドロクルクミン- Fe^{3+} 錯体のそれは $[FeH_2thc(OH)]^+$ $\log \beta = 30.23 \pm 0.01$ であり、医療薬剤としての応用可能性は十分あると考えられる。

参 考 文 献 (3 章)

- 1) K. Krishnankuy, P. Venugopalan:
SYNTH. REACT. INORG. MET. – ORG. CHEM., 28(8), 1313 (1998).
- 2) H. H. Tønnesen, G. Smistad, T. Ågren, J. Karlsen: *Int. J. Pharm.*,
90, 221 (1993).
- 3) M. Bernabé, M. Teresa, M. Alberto, E. González, A. Rojas:
Spectrochim. Acta. PartA, 60, 1105 (2004).
- 4) G. M. Holder, J. L. Pulummer, A. J. Ryan: *Xenobiotica*, 8, 761 (1978)
- 5) K. C. Das, C. K. Das: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 295, 62
(2002).
- 6) A. E. Martell, R. M. Smith: "CRITICAL STABILITY
CONSTANTS", 5, 394 (1982), (Plenum Press, New York and London).
- 7) E. kunchandy, M. N. A. Rao: *Int. J. Pharm.*, 57, 173 (1989).
- 8) M. Born, P. A. Carrupt, R. Zini, F. Brée, J. P. Tillement, K.
Hostettmann, B. Testa: *Helvetica Chimica Acta*, 79 1147 (1996).
- 9) 佐藤きよ子, 壹岐伸彦, 高橋 透, 星野 仁: 分析化学 (Bunseki
Kagaku), 57, 257, (2008).
- 10) T. Osawa, Y. Sugiyama, M. Inayoshi, S. Kawakishi: *Biosci. Biotech.
Biochem.*, 59, 1609 (1995).
- 11) P. V. Bernhardt : [www.rsc.org / dalton](http://www.rsc.org/dalton), 5 (2007)