

■報告書■ 2004年度神奈川大学総合理学研究所助成共同研究

速度定数と抗酸化性；UV照射によるOH生成

天野 力^{1,3} 長崎 淳¹ 中嶋康乃¹ 大石不二夫¹
西本右子¹ 峯岸安津子¹ 渡部徳子²

Rate Constant and Anti-oxidant Property; OH Generation by UV-irradiation

Chikara Amano^{1,3}, Jun Nagasaki¹, Yasuno Nakajima¹, Fujio Oh-ishi¹,
Yuko Nishimoto¹, Atsuko Minegishi¹ and Tokuko Watanabe²

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Kanagawa 259-1293, Japan

² Department of Management, Aoyama Gakuin Women's Junior College, Shibuya-Ku, Tokyo 150-8366, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: amano@chem.kanagawa-u.ac.jp

Abstract: The anti-oxidant property toward hydroxyl radicals was expressed by reaction rate constants for basic organic substances and some amino acids. The hydroxyl radicals were generated by UV-irradiation of hydrogen peroxide. The pH was controlled in the range 6.5–7.5 and the dependence on the concentration of anti-oxidant substances was examined.

Keywords: anti-oxidant property, reaction rate constants, hydroxyl radical, organic substances, amino acid, UV-irradiation

序論

活性酸素が健康に悪影響を及ぼす場合があること、また、ある種の物質が活性酸素の効果的な消滅作用すなわち抗酸化性を持つこと、が指摘されてから久しい^{1,2)}。著者等は活性酸素の一つのヒドロキシルラジカルに対する物質の抗酸化性を反応速度定数により定量的に表現する研究を行ってきた。ヒドロキシルラジカルの生成にはフェントン反応系を用いてきた。信頼性向上のため、もう一つのヒドロキシルラジカル生成系である過酸化水素の紫外線光分解³⁾を用いて同様の研究を行い、その結果と前の結果を比較検討する。目標はヒドロキシルラジカルに対する種々の物質の抗酸化性を反応速度定数として定量的に表現し、速度定数の値に基づき物質の抗酸化性を理解することである。具体的には分子内の基の抗酸化性の加減が得られることを期待している。その理解の上で効果的な抗酸化物質の探索および合成のための分子設計を目指している。

材料と方法

抗酸化性の測定には ESR スピントラッピング法を用いた。スピントラッピング試薬として DMPO を用いた。紫外線照射装置は Ushio UV (500W) を使用

した。抗酸化物質として基本的な有機物であるアルコール類、カルボン酸類、アミン類、およびアミノ酸類を用いた。各試薬の濃度は過酸化水素 0.20 M、DMPO 88 mM、抗酸化物質 0.25 mM–0.25 M である。解析の妥当性を確かめるため、また、電離性物質の場合には分子と解離イオンの異なる速度定数を求めるため、速度定数の抗酸化物質濃度依存性を広い濃度範囲で測定した。溶液の pH は塩酸と水酸化ナトリウムにより 6.5–7.5 の範囲に調節した。溶液内で起きる反応の速度式を検討して、抗酸化性を反応速度定数により表現する式を導出した。ヒドロキシルラジカルに対する DMPO と抗酸化物質 (SODL) の競合反応



から次の式が得られる。

$$\frac{k_2}{k_1} \cong \frac{b(a-x)}{cx} = \frac{b(1-f)}{cf} \quad (2)$$

ここで a, b, c は OH, DMPO, SODL の各初期濃度

表 1. 基本的有機化合物の抗酸化性 (速度定数)

物質	速度定数/ $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (文献値)
グリシン	0.0023 (0.017)
バリン	0.40 (0.76)
ロイシン	0.50 (1.7)
イソロイシン	0.80 (1.8)
リシン	0.20 (0.35)

表 2. アミノ酸類の抗酸化性 (速度定数)

物質	速度定数/ $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (文献値)
メタノール	1.5 (0.97)
エタノール	2.5 (1.9)
蟻酸	5.0 (0.13)
酢酸	0.15 (0.085)
メチルアミン	0.15 (1.8)
エチルアミン	1.5 (5.1)

(M)、 x は DMPO-OH の最終濃度 (M)、 $f = x/a$ は信号減衰率である。文献値 $k_1 = 2.1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を用いて、 k_2 を計算した。

結果

抗酸化物質は速度定数の濃度依存性の違いから、(1) 速度定数が濃度に依存しないもの (メタノール、エタノール、メチルアミン、エチルアミン、グリシン)、(2) 濃度に比例するもの (蟻酸、酢酸、バリン、ロ

イシン、イソロイシン)、(3) 濃度に指数関数的に依存するもの (リシン)、の3種に分類される。速度定数は一般には抗酸化物質の濃度に依存するが、それらの平均値を文献値とともに表 1-2 にまとめた。

討論

(1) 濃度依存性を理解する。(2) 濃度依存性から中性分子とそれが解離して生じるイオンの各速度定数を求める。(3) 文献値との違いを検討し、速度定数の信頼性の向上をはかる。(4) 得られた速度定数に基づいて物質の抗酸化性の大小について検討する。(5) フェントン反応によるヒドロキシルラジカル生成法を用いた同趣旨の実験結果との比較を行う。今後は以上のことを明らかにしたい。また、濃度の高い領域で得られた反応生成物ラジカルのスペクトルを同定し、反応機構を決定することも大切である。

文献

- 1) Totter JR (1980) Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**: 1763-1767.
- 2) Kuchino Y, Mori F, Kasai H, Inoue H, Iwai S, Miura K, Ohtsuka E and Nishimura S (1987) Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. *Nature* **327**: 77-79.
- 3) Finkelstein E, Rosen GN, Rauchman EJ (1980) Spin trapping. kinetics of the reaction of the superoxide and hydroxyl radicals with nitrones. *J. Am. Chem. Soc.* **102**: 4994-4999.