

健康科学(2)

J-3. 「ヒドロキシルラジカルに対する抗酸化能の反応速度定数としての表現」

神奈川大学理学部化学科 渡邊実千、天野 力

1. 緒言

大気中の酸素は私たち生物にとって必要不可欠なものである。しかし、この酸素が「活性酸素」に変化した時、生命にとって危険因子となる。活性酸素の1つであるヒドロキシルラジカルは、きわめて反応性の高いラジカルであり、活性酸素による生体損傷の多くはこのヒドロキシルラジカルによるものとされている。物質は多かれ少なかれ活性酸素と反応し、消滅させる働き、すなわち抗酸化能を持つ。

ヒドロキシルラジカルは短寿命不安定であるため通常の ESR 法では信号を与えない。そのため、スピントラップ試薬との反応により寿命の長い準安定ラジカルに変換して ESR を測定する。先に、この反応の速度を解析して、ヒドロキシルラジカルに対する物質の抗酸化能を反応速度定数として表現した¹⁾。本研究では、基礎的な有機物（アルコール、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、アミン類）について実験を行い、それらの物質とヒドロキシルラジカルとの反応速度定数を求めた。

2. 実験

ヒドロキシルラジカルの生成は、過酸化水素を鉄の DTPA 錯イオンで分解する Fenton 反応によった。ヒドロキシルラジカルの検出は、DMPO を用いるスピントラッピング法により行った。従って、物質の抗酸化能はヒドロキシルラジカル・DMPO 付加物の ESR 信号強度の減少という形で現れる。各試薬の濃度は以下の通りである。過酸化水素 0.5 mM、鉄の DTPA 錯イオン 0.1 mM、DMPO 0.44 M、メタノール 1.0 M、エタノール 1.0 M、1-プロパノール 1.0 M、ホルムアルデヒド 1.0 M、アセトアルデヒド 1.0 M、アセトン 1.0 M、ギ酸 0.1 M、酢酸 0.1 M、メチルアミン 2.5 mM、エチルアミン 2.5 mM。過酸化水素は一番最後に加えた。スピン数の測定は TEMPOL 水溶液 1 mM を標準物質として面積強度の比較により行った。

3. 解析と結果

ヒドロキシルラジカルと DMPO との単純な 2 体反応を仮定する反応式を示す。



反応速度定数の比は次の式により化学種の各濃度により表される。

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\ln(1 - \frac{y}{c})}{\ln(1 - \frac{x}{b})} = \frac{\ln(1 - \frac{a-x}{c})}{\ln(1 - \frac{x}{b})}$$

ここで、各初濃度 $[\text{OH}] = a$ [M], $[\text{DMPO}] = b$ [M], $[\text{SODL}] = c$ [M] とし、ある時刻 t における $[\text{DMPO}\cdot\text{OH}] = x$, $[\text{SODL}\cdot\text{OH}] = y$ とした。

k_1 の値はヒドロキシルラジカルとエタノールの反応速度定数を基準にして求められていて、⁽¹⁾ $k_1 = 2.1 \times 10^9$ l/(mol·s) または 3.4×10^9 l/(mol·s) とされている。ここでは $k_1 = 2.1 \times 10^9$ l/(mol·s) とし k_2 wo

求めた。

表 1 は、それぞれの物質の反応速度定数である。全般的に大きすぎる値であるが、DMP0 の純度が低く実際の濃度が仮定した濃度よりも低いことがまず考えられよう。濃度の見積もりと補正が必要である。官能基別にみると、炭素原子の数が多き物質ほど反応速度定数は大きい。このことから、炭素原子の数が多き物質ほど抗酸化能も高いと言える。次に、官能基だけに着目してみると、 $-\text{NH}_2 > -\text{CHO} > -\text{OH} > -\text{COOH} > =\text{CO}$ の順に抗酸化能が高くなっていることが分かる。これらのことを応用して各々の官能基やアルキル基の反応速度定数が分かれば、物質の抗酸化能の予測に役立つと思われる。この点を今後の課題としてさらに検討していきたい。

表 1 抗酸化物質のヒドロキシルラジカルとの反応速度定数

抗酸化物質	反応速度定数 (M s^{-1})
CH ₃ OH	2.69×10^8
C ₂ H ₅ OH	3.86×10^8
C ₃ H ₇ OH	8.18×10^8
HCHO	4.18×10^8
CH ₃ CHO	1.39×10^9
CH ₃ COCH ₃	1.04×10^8
HCOOH	1.26×10^8
CH ₃ COOH	1.95×10^8
CH ₃ NH ₂	1.02×10^{11}
C ₂ H ₅ NH ₂	1.18×10^{11}

参考文献

- (1) E. Finkelstein, G. N. Rosen, and E. J. Rauchman, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 4994-4999 (1980).