



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ビタミンEフリーラジカル捕捉反応生成物の高感度分析法の開発と生態への応用

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山内, 亮 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/496

はじめに

ビタミン E は脂溶性のフリーラジカル捕捉剤として、生体内脂質過酸化反応の抑制に関与する。すでにモデル反応系では、1 分子のビタミン E が 2 分子の脂質ペルオキシラジカルを捕捉することを反応生成物であるビタミン E-脂質ペルオキシラジカル付加体の形成から明らかにされている。しかし生体ではビタミン E の含有量は脂質分子の 1000 分の 1 と微量であるため、そのフリーラジカル捕捉反応生成物からビタミン E の役割を明らかにすることは非常に困難であった。そこで、本研究はビタミン E のフリーラジカル捕捉反応生成物の高感度分析法を開発して、その手法を生体内脂質過酸化反応におけるビタミン E 反応生成物の挙動解析に応用することを目的とするものである。

まず、化学発光試薬を用いたポスト HPLC 法を開発した。この方法は分子内にペルオキシル基を持つ化合物に特異的であり、ビタミン E-リン脂質ペルオキシラジカル付加体を最大 1 pmol の感度で検出することが可能となった。しかしながら、この方法はシステムが複雑で、また発光試薬が不安定で長時間の分析にて適さないなどの問題点が認められた。次に、比較的高感度の分析に適する HPLC 電気化学検出法を検討することとした。ビタミン E のフリーラジカル捕捉反応物を直接電気化学検出するためには還元側で測定する必要があり、安定性や検出感度の低下など、操作上の問題点が生じた。そこで HPLC で分離した化合物をオンラインで還元してヒドロキノン体とすることによって酸化電位側で検出する方法を検討した。その結果、HPLC で分離した化合物を、キノン体やエポキシキノン体の分析には亜鉛粉末を充填した反応カラムに酸性溶離液を通すことによって、一方、酸に不安定なビタミン E と脂質ペルオキシラジカルの付加体はプラチナ触媒を充填した反応カラムを通すことによって、それぞれがヒドロキノン体へと還元された。本電気化学検出法の検出限界はいずれの化合物でも約 0.2 pmol と高感度であり、本分析法をヒト血漿の過酸化反応時のビタミン E 挙動分析に応用することができた。

以上の本研究によって、生体組織中におけるビタミン E 脂質ペルオキシラジカル捕捉反応生成物の高感度分析が可能になったので、この成果が今後の生体内脂質過酸化反応におけるビタミン E の抗酸化作用機構の解明に役立てば幸いである。

おわりに、本研究を遂行するにあたり様々な実験上の協力をしてくれた岐阜大学大学院生 原 裕司、野呂啓樹、尾崎恵子の諸氏に感謝します。