

ラジカル反応機構に基づくヒドロキソコバラミンの色調変化

¹東京理科大・薬

○小林拳志郎¹, 寶彩香¹, 島田洋輔¹, 大塚裕太¹, 後藤了¹

Color changes of Hydroxocobalamin based on radical reaction mechanism

○Kobayashi Kenshiro¹, Takara Ayaka¹, Shimada Yohsuke¹, Otsuka Yuta¹, Goto Satoru¹,

¹ Faculty of Pharmaceutical Science, Tokyo University of Science, Japan

【Abstract】 Edaravone (EDA), a free radical scavenger, has recently been found to have an effect of suppressing the progression of dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). However, no other antioxidant was found to be effective in altering ALS progression. Finding features that contribute to the therapeutic effect of radical scavenging reaction of EDA leads to identification of improved candidate for ALS therapeutic agents. In this study, we examined the reaction of various antioxidants, including EDA, to characterize the reaction of antioxidants. Since Hydroxocobalamin (OHCb) which is a metal complex coenzyme has a variety of reaction mechanisms, color changes based on the reaction mechanism of antioxidants were expected. UV-vis spectra of OHCb reacted with antioxidants were analyzed. Some antioxidants shifted the isolated peak of OHCb, while other antioxidants including EDA did not shift the peak. Observed spectral changes reflected the reaction mechanism of the antioxidant. Therefore, OHCb may be useful for determining the reaction mechanism character of antioxidants.

【序】 Edaravone (EDA) は、脳虚血後の主な傷害因子である有害なラジカルを消去することで、脳細胞の酸化的障害を抑制する脳保護剤である。EDA は近年、治療困難な筋萎縮性側索硬化症 (ALS) における機能障害の進行抑制にも効果があることが発見された。しかし、ラジカル消去活性をもつ他の抗酸化物質には同様の効果は見出されていない。EDA のラジカル消去について、治療効果に寄与する特徴を見出すことができれば、ALS 治療薬の候補となる抗酸化物質を特定できると考えた。

金属錯体酵素は様々な酸化還元メカニズムによる基質多様性をもつため、基質の反応機序的特徴に応じて異なった反応が観測されることが期待される。ビタミン B₁₂ 安定誘導体 Hydroxocobalamin (OHCb) は特徴的な色調を有する金属錯体補酵素であり、抗酸化物質との反応させることで、色調変化から反応の特徴づけができると考えた。我々はこれまでに複数の抗酸化物質についてラジカル消去機構を解析してきた[1]。そこで本研究では、モデル抗酸化物質を OHCb 反応させ、その色調変化を解析した。モデル抗酸化物質は EDA, L-ascorbic acid (ASC), L-Cystein (CYS), Trolox (TRO) を用いた。

【方法】 モデル抗酸化物質存在下の OHCb の紫外可視吸収スペクトルは、水：エタノール = 2:8 溶媒中、室温・遮光条件で経時的に測定した。スペクトルのピーク分離は、Microsoft Excel の solver を用いてガウス関数 (1) にフィッティングして行った。

$$y = y_0 + \sum_{i=1}^n A_i \exp\left(-\frac{(x - \lambda_{\max i})^2}{2\sigma_i^2}\right) \quad (1)$$

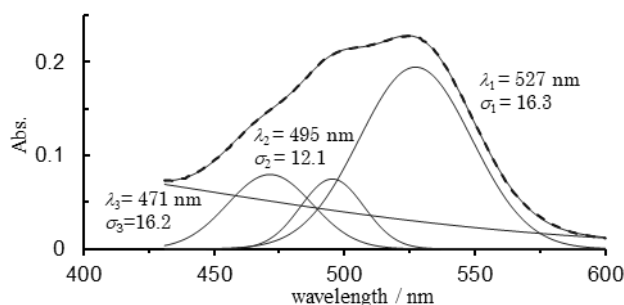


Fig.1 Visible absorption spectrum of OHCb solution and its Gaussian fitting results. (continuous line) calculated, (broken line) experiment.

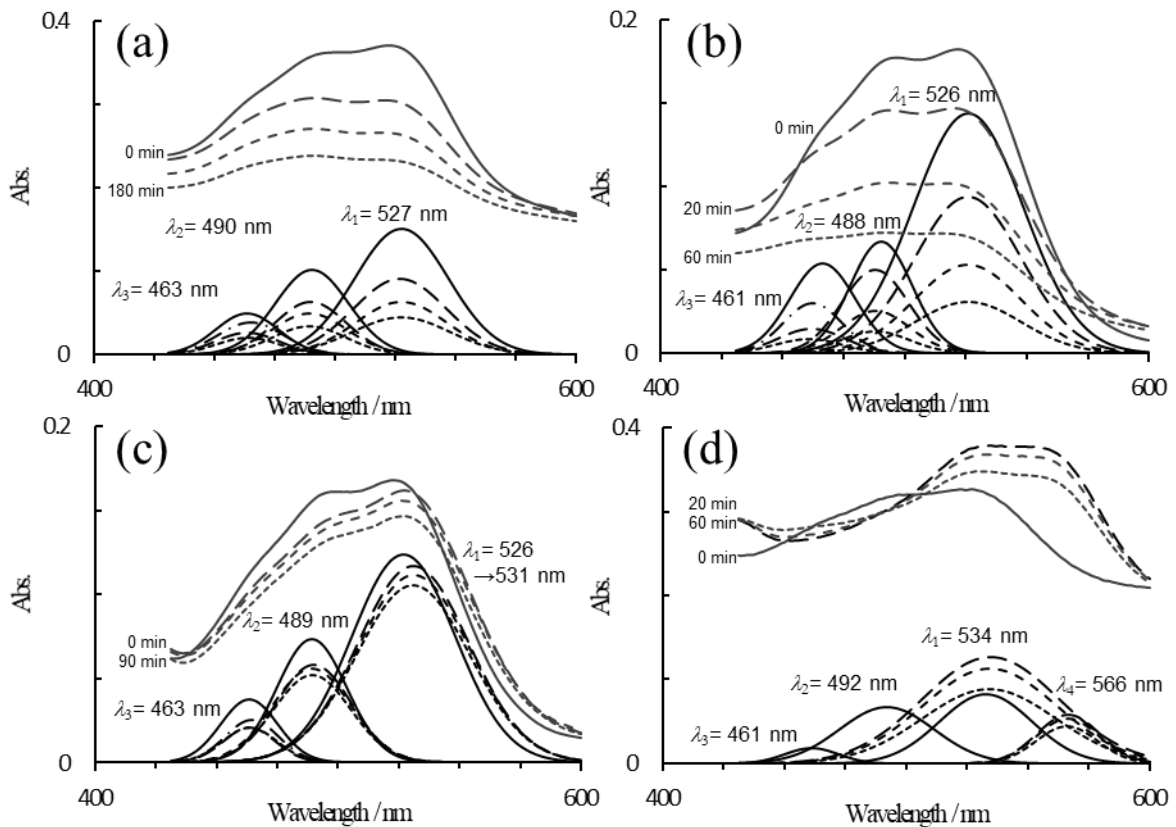


Fig.2 Spectral changes of OHCb under existing of Antioxidants: (a) EDA, (b) ASC, (c) TRO, (d) CYS.

【結果・考察】

OHCb 単独スペクトルの三階微分スペクトルから変曲数を求め、成分数 (n) を決定した。可視領域の吸収は 3 成分から構成されることが明らかになり、ピーク分離の結果、各成分の波長はそれぞれ $\lambda_1=527$ nm, $\lambda_2=495$ nm, $\lambda_3=471$ nm であった (Fig.1)。

EDA 存在下では OHCb 由来の 3 成分の強度は時間に対して指数関数的に減少した (Fig.2(a))。これは OHCb が一次反応で分解することを示唆した。ASC 存在下でも吸収成分の強度は同様に減少したが、減少速度は EDA 存在下よりも大きかった (Fig.2 (b))。

TRO 存在下では、 λ_1 が OHCb 由来の 526 nm から 531 nm にレッドシフトした (Fig.2 (c))。CYS 存在下では反応開始直後の λ_1 が 534 nm であり (Fig.2 (d))、反応開始後、直ちにレッドシフトが起こったと考えられた。

以上より、レッドシフトの起こった TRO と CYS、シフトの起こらなかった ASC と EDA について OHCb に対する反応挙動に類似性を見出し、それぞれに共通する反応機序的特徴があることが示唆された。

【参考文献】

[1] A. Takara, Y. Shimada, S. Goto, *et al. J Photochem Photobiol A Chem* **333**:208-212 (2017)