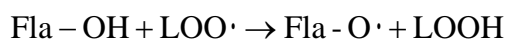


3P077 Flavonoid の抗酸化作用におけるトンネル効果の研究

(愛媛大理) 垣内 拓大, 小原 敬士, 長岡 伸一, 向井 和男

【緒言】 近年、話題の天然抗酸化剤に Flavonoid (Fla-OH) がある。これらは、専ら植物のみによって合成され、生体内に取り込まれることにより有害な過酸化脂質ラジカル (LOO·) を抑制する働きが知られている。



Fla-OH による抗酸化反応は、プロトン移動によるものであり、以前 Vitamin E 及び Vitamin C 等による抗酸化反応のメカニズム中にトンネル効果の寄与が確認されており、今回の Fla-OH についてもその効果が期待された。ここでいうトンネル効果とは、電子・原子の微視的世界において活性化エネルギーの障壁を越えるのに必要なエネルギーを得なくても、粒子が障壁をすり抜けて向こう側に行くことができることをいう。本研究では、Fla-OH の抗酸化作用におけるトンネル効果の寄与を確認するために速度論的同位体効果を研究した。

【実験】 今回、測定に用いた Fla-OH は、Morin, Fisetin, Flavonol (Fig. 1) である。脂質過酸化ラジカルのモデルとして 2,6-Di-*t*-butyl-4(4-methoxyphenyl)phenoxy radical (ArO·) を合成して用いた。測定装置として、Stopped-flow 分光光度計および吸収分光光度計を用いた。同位体効果を確認するために、Fla-OH を Ethanol- d_1 に溶解させることで Fla-OD を得ることができ、この事実は、 $^1\text{H-NMR}$ により確認している。各 Fla-OH と ArO· の反応は、溶媒 Ethanol 及び Ethanol- d_1 において 15 ~ 35 の範囲 5 おきに測定し、ArO· が擬一次反動的減衰を示したので、その減衰から実測の速度定数 (k_{obsd}) を算出し、 k_{obsd} vs [Fla-OH の濃度] でプロットし、その傾きから二次反応の速度定数 (k_s) を求めた。求めた k_s を Arrhenius の式に代入することで活性化エネルギーを算出した。

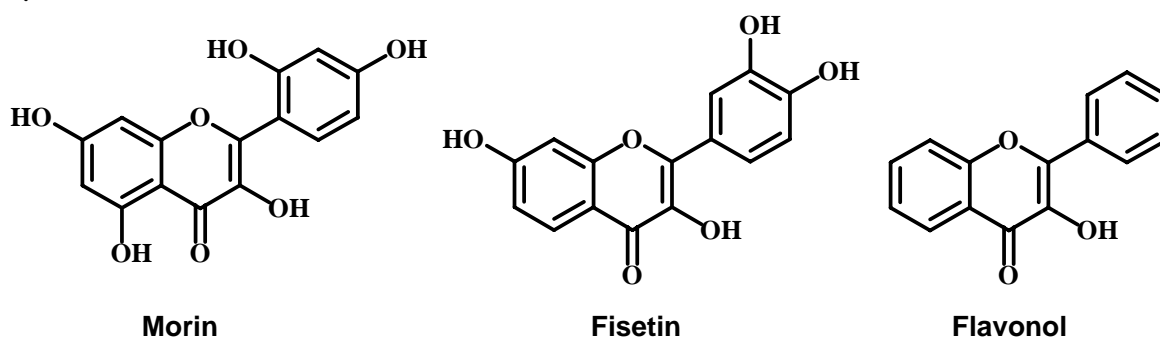


Fig. 1 測定に用いた Flavonoid

【結果・考察】 測定結果の解析図 [k_{obsd} vs Fla-OH の濃度] を Fig. 2 (Morin) に、Fla-OH と Fla-OD (Morin) の Arrhenius plot を Fig. 3 に示した。また、同位体効果による二次反応の速度定数比及び活性化エネルギーの差を Table 1 に示した。

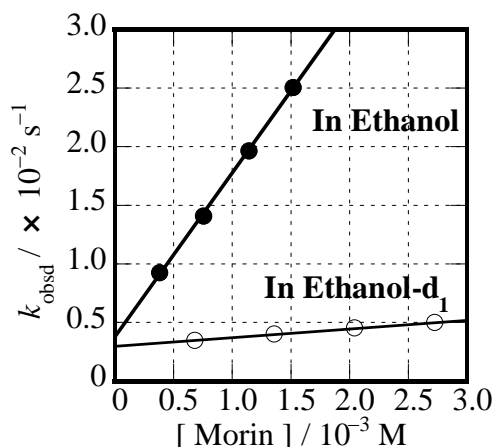


Fig. 2 Morin の 25 °C で、Ethanol 及び Ethanol-d₁ における k_{obsd} と濃度 plot

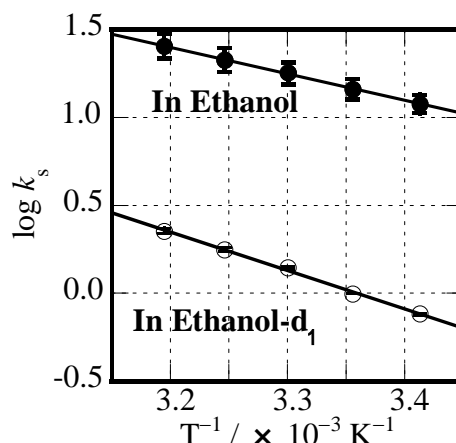


Fig. 3 Morin の二次反応の速度定数の Arrhenius plot

	k_s^H / k_s^D	$E_{\text{act}} / \text{kJ mol}^{-1}$
Morin	14.5	13.1 ± 0.2
Fisetin	8.31	18.3 ± 0
Flavonol	6.91	12.4 ± 4.3

Table 1 抗酸化反応における 25 °C で、Fla-OH と Fla-OD の二次反応の速度定数比 (k_s^H / k_s^D) と活性化エネルギー - の差

それぞれ Fla-OH と Fla-OD 速度定数は重水素置換することにより 1/6 以下の小さい値となり、活性化エネルギーは 10 kJ/mol 以上増大した。今回の測定結果を、Fla-OH の O-H の伸縮振動を調和振動子として考え、古典的ジャンプによってのみ反応が進行するとした準古典的モデルで考え、反応の進行は Fla-OH と ArO \cdot の間で H が直線的に移動していると仮定する。このモデルでは、活性化エネルギーの差が Fla-OH の O-H と O-D のゼロ点振動エネルギーの差に匹敵し、速度定数比も約 8 程度になる。しかし、今回の測定結果は、どれもこのモデルでは説明がすることができない。そこで、量子力学的メカニズムであるトンネル効果が寄与していると考えられる。

トンネル効果が寄与すると、高温領域で古典的ジャンプとトンネル効果の両方で反応が進行するため Arrhenius plot に従うが、低温領域ではトンネル効果の影響のみで反応が進行するため、ある一定の値を示すようになる (Fig. 4)。今回の測定において反応速度を温度変化することで、活性化エネルギーの差はゼロ点振動エネルギーの差よりも大きく、速度定数比も古典的モデルよりも大きい値となっている。これは、観測している温度領域がちょうど高温と低温の中間の領域 (Fig. 4) と考えられる。よって、Fla-OH と ArO \cdot の間の反応にはトンネル効果が寄与していることが期待される。

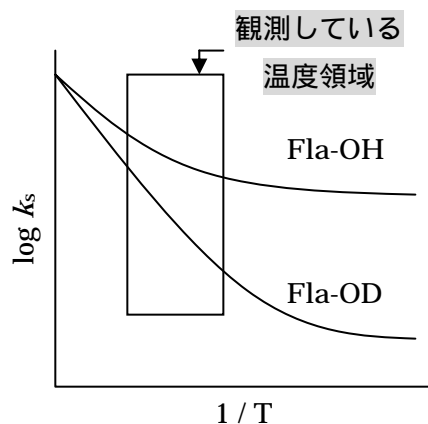


Fig. 4 トンネル効果による活性化エネルギーの曲線図