

【緒言】病態の誘導・進展におけるラジカル産生は、それに先立つレドックスバランスのダイナミックな変動に付随すると考えられる。この現象を解析するためには、レドックスバランス変動とラジカル産生を同時に評価することが望まれる。本研究では、この目的に適した HPLC 解析用プローブの開発を試みた。

【実験】ニトロキシルラジカルであるアミノ TEMPO とカルボキシル PROXYL を酸アミド結合により縮合させ、ピラジカル (TEMPO-PROXYL) を調製した。ピラジカルの還元はアスコルビン酸との反応により行った。ラジカル反応は、グルタチオン存在下キサンチン/キサンチンオキシダーゼ系によるスーパーオキシド産生系を用いた。反応産物の一斉分析は、クーロアレイ検出器を用いた逆相 HPLC により行った。

【結果および考察】TEMPO-PROXYL をアスコルビン酸と共存させることで、TEMPO ユニットがヒドロキシルアミンに還元され、TEMPO(H)-PROXYL が産生した。TEMPO-PROXYL をグルタチオン存在下スーパーオキシド産生系に共存させたところ、TEMPO ユニットが二級アミン体となった TEMPO(N)-PROXYL が産生した。TEMPO-PROXYL、TEMPO(H)-PROXYL および TEMPO(N)-PROXYL は逆相 HPLC により一斉分離することができた。また、酸化電位 500mV に設定したクーロアレイ検出器により、これらの化合物を高感度かつ選択的に検出することができた。