

スピントラップラジカルクロマトスペクトロメトリー による生体フリーラジカルの解析

Analysis of Biological Free Radicals by Spin-trap Radical Chromato-spectrometry

波多野 博 行*

1. 序 論

フリーラジカル (Free Radical) とは不対電子が存在する化学種 (Chemical Species) と定義され、遊離基と呼ばれる。生体内では生化学反応の中間体として生成するが、寿命が短く反応性に富むのでその捕捉、証明は難しい。

一般に、不安定な短寿命活性種の物理的解析においても、フリーラジカルが関与する化学反応の機構を解明するに当たっても、あるいは、生体内化学反応の中間体を捕捉し証明する場合においても、不安定短寿命活性種を解析する方法には、静的な方法と動的な方法とがある。静的な方法では液体ヘリウムや液体窒素などの極低温で凍結して測定するか、あるいは、スピントラップ剤で捕捉安定化して測定する方法が採られ、動的な方法では高速反応測定法が用いられる。高速反応測定法には、活性種の寿命がミリ秒域のものは連続流通法、マイクロ秒域のものは温度や圧力のジャンプ法、ナノ秒のものは閃光分解法、そしてそれ以下の短寿命のものは放射線分解法があり、分光法や電子スピン共鳴法で検出される。しかしながら、何れの方法を用いるにしても、測定系には多種類の、しかも、多量と少量の活性種が同時に存在することが多く、それらを分離しないままに検出し測定することは容易ではない。フリーラジカルの解析もその例外ではなく、ことに生体内に生成するフリーラジカルの解析は甚だ難しい。

著者らは生体物質の単結晶ラジカルの解析には極低温凍結分光法¹⁻⁷⁾を、そして溶液中のラジカルの解析には連続流通分光法⁸⁻¹³⁾や放射線分解法³⁶⁾を用いてきた。しかしながら、生体フリーラジ

カルの生成系には複雑な構造のラジカルと簡単な構造のラジカルとが、ある時は高濃度に、またある時には微量が、共存することが多く、それらの総てについて各々のラジカルを解析し証明することは極めて困難であった。

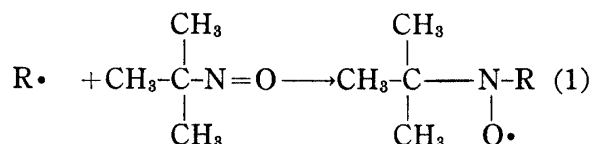
生体におけるフリーラジカルの解析の目標の一つは、生きたままの状態におけるフリーラジカルの存在状態を決定することであり、もう一つは、生きたままの状態においてフリーラジカルがその状態に存在する時にのみ現れる特異的な振舞いを選択的に明らかにすることである。

不対電子の検出には、すなわち、フリーラジカルの検出には、高性能特異的検出法として電子スピン共鳴分光法 (Electron Spin Resonance Spectroscopy : ESR) が用いられる。この場合の ESR スペクトルの解析においては、フリーラジカルを特徴付ける g 値の決定と、不対電子と原子核との相互作用に基づく超微細構造 (hyperfine structure : hfs) の解析とが不可欠である。そのために生体フリーラジカルの ESR スペクトルのように多数のスペクトルが重畳したスペクトルの解析にはシミュレーション法が用いられ、ラジカル混合系から得られる複雑な見掛けのスペクトルの予想される成分スペクトルを予め想定し、それらの混成スペクトルと観測したスペクトルとの近似によって解析する方法が採られてきた。この方法は、しかしながら、あくまで近似法であって、微量の成分を見逃す危険があり、また、予め想定した成分スペクトルの適否にも疑義が伴うのを避けることができない。これらの難点を克服する方法として、著者らはスピントラップラジカルクロマトスペクトロメトリー (Spin-trap Radical

* 神奈川歯科大学化学教室, Hiroyuki HATANO

Chromato-spectrometry : ST-HPLC-ESR 法) と名付ける新しい方法を開発確立した^{14, 15)}。

この方法は、多種類存在するフリーラジカルをスピントラップ剤と同時に式(1)により反応させてスピニアダクトとして安定化し、生成した長寿命のスピニアダクトの混合物を高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) により単一のスピニアダクトに分離し、分離された個々の単一スピニアダクトについて ESR スペクトルを測定し、それぞれの ESR スペクトルを解析してその結果から元の不安定短寿命フリーラジカルの構造を決定する方法である。



この方法によれば、微量のラジカルでも多量に存在するラジカルに妨害されることなく、そのスペクトルを正確に測定し解析し、そのラジカルの構造を決定することができる。

この方法を用いて、著者らは、アミノ酸^{16~25)}、ペプチド^{26~28)}、ヌクレオチド^{29~31)}、などの水溶液に放射線を照射した際に生成するラジカルとか、酵素反応⁴²⁾や光化学反応⁴³⁾の中間体ラジカル、電極表面における電解酸化還元反応中間体ラジカル³²⁾、あるいは、超音波分解によって生成するラジカル³³⁾などを実験的に捕捉し、その構造を決定し、それによってそれらが関与する反応の機構が解明された^{34, 37)}。

これらの ESR スペクトルの解析においては、たとえ HPLC によって純粋なスピニアダクトの単一スペクトルが得られても、生体フリーラジカルの場合には、なお、超微細構造の不明瞭な分解能の低いスペクトルを示す場合が少なくない。このような場合には、フーリエ変換、デコンボリューション、セプストラル解析などの数値演算技術をコンピューターにより効果的に用いることによって、スペクトルの分解能を強化することができる³⁵⁾。

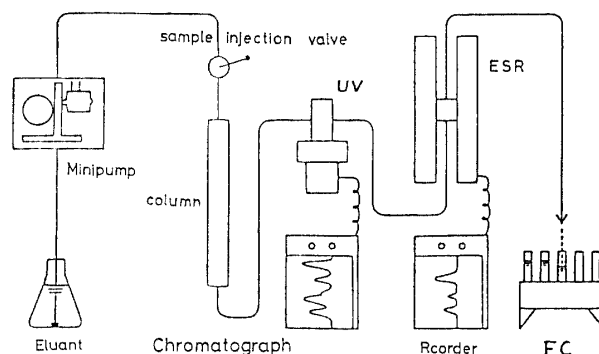
本報では、この分解能強化スピントラップラジカルクロマトスペクトロメトリー (Resolution Enhanced ST-HPLC-ESR 法) について述べ、これによる生体物質のフリーラジカルの解析につ

いて報告する。

2. スピントラップラジカルクロマトスペクトロメトリー (ST-HPLC-ERS 法)

2.1. ラジカルクロマトスペクトロメーター (HPLC-ESR 装置)

HPLC と ESR とをオンラインで連結した HPLC-ESR 連結システム⁴⁵⁾の HPLC には紫外可視分光計 (UV-VIS) が検出器として用いられている。これに ESR を直列に連結し、HPLC-UV-VIS-ESR とし、この装置をラジカルクロマトスペクトロメーター (Radical Chromato-spectrometer : HPLC-ESR) と名付けた。図 1 はこの装置のブロックダイアグラムを示し、その外観の写真を掲げる。



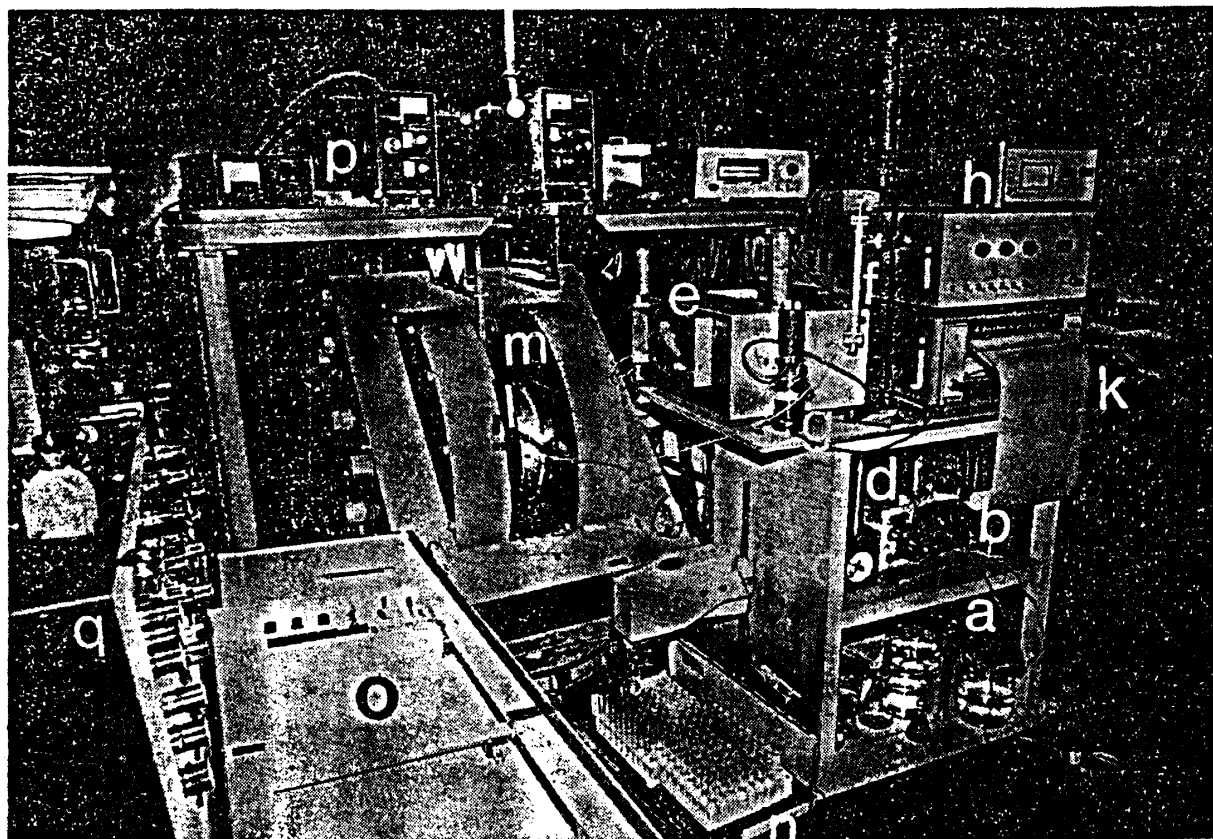
Flow diagram of chromatograph with ESR

図 1 HPLC/ESR 連結システム

この装置に用いた HPLC は東ソー製 HLC-803 型で、カラムは E, Merck 製シリカカラムまたは東ソー製イオン交換カラム TEX-210 SC, 75mm × 60cm を用いた。検出器は Schoeffel 製 SF-770, または日本分光製 JASCO UVIDEC 100 を用いた。ESR は日本電子製 PE-3X, X バンド, 100 kHz 磁場変調を用いた。

2.2. スピントラップ剤

スピントラップ法は短寿命の反応性に富むフリーラジカルを、ニトロソ化合物やニトロン化合物などのスピントラップ剤と反応させて、ニトロキシルラジカルやニトロキソドラジカルなどの常磁性の安定なスピニアダクト化合物に変える方法である。この方法に用いられるスピントラップ剤は数多く合成されていて、捕捉すべきフリーラジカルの寿命や反応性に応じて適不適がある。この適性はフリーラジカルとスピントラップ剤との構造



ラジカルクロマトグラフ

a 溶離液溜 b 送液ポンプ (ミルトンロイミニポンプ) c 圧力ゲージ d パルスダンパー
 e, i 分光光度型可視紫外検出器及び電源 (日立 034 型) f カラム (メルクシリカプレパックカラムまたはイオン交換耐圧カラムなど) g, h 紫外検出器及び電源 (日本分光 UV 254nm)
 j, k, o 記録計 l ESR 検出器流通型キャビティ m ESR 検出器マグネット n フラクションコレクター
 p, q ESR 検出器操作部

上の親和性と、加うるにフリーラジカルの寿命とスピントラップ剤との反応速度との両方に関係する。したがって、この方法をフリーラジカルの捕捉と解析に用いるには、捕捉すべきフリーラジカルと用いるべきスピントラップ剤との構造上の相関と、スピントラップ反応の反応速度とを予め検討しておく必要がある。例えば、著者が放射線分解法で測定した核酸塩基のチミンラジカルとスピントラップ剤の 2-メチル-2-ニトロプロパンとのスピントラップ反応の反応速度定数は $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$ である³⁶⁾。一般にあるスピントラップ剤によって多種類のフリーラジカル混合物中に共存する総てのフリーラジカルが捕捉できるとは限らない点は、スピントラップ法でフリーラジカルを解析する場合には注意すべきことである。

本研究に用いたスピントラップ剤を表 1 に掲げる。実験にはスピントラップ反応のセルフトラッピングなどがよく研究されている^{38~41)} 2-メチ

ル-2-ニトロプロパン (2-Methyl-2-nitrosopropane: MNP) が主として用いられたが、このニトロソ化合物の他のニトロソ化合物も、あるいはニトロ化合物も用いられた。

3. スピントラップラジカルクロマトスペクトロメトリーによる生体物質のフリーラジカルの解析

生体内でフリーラジカルが生成することは多くの生化学反応や代謝過程で予測され、比較的安定なセミキノンラジカルなどはその存在が証明されている。光合成における光エネルギーの化学結合エネルギーへの転換に際しても、また、生体内酸化還元の間においてもフリーラジカルが生成することが測定されている。さらに、放射線や超音波など医療に用いられるエネルギーの照射により生体内で生体物質の分子からフリーラジカルが生成することも知られている。

表 1 スピントラップ剤

<i>spin trap</i> : diamagnetic compound	
Evans, C.A. <i>Aldrichim. Acta</i> 1979, 12(2), 23.	
2-Methyl-2-nitrosopropane dimer (N-t-B)	$(\text{O}=\text{N}-\text{C}(\text{CH}_3)_2)_2$
N-tert-Butyl-α-phenyl-nitron (PBN)	$\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{N}(\text{O})=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$
α-(4-Pyridyl 1-oxide)-N-tert-butyl nitron, 99% (4-POBN)	$\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{N}(\text{O})=\text{CH}-\text{C}_5\text{H}_4\text{N}^+\text{O}^-$
N-tert-Butyl-α-(2-sulfo-phenyl)nitron, sodium salt, 97%	$\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{N}(\text{O})=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4(\text{SO}_2\text{Na})$
Nitrosobenzene, 97%	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}(\text{O})$
2,4,6-Tri-tert-butyl nitrosobenzene, 99% (BNB)	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)_3-\text{N}(\text{O})$
3,5-Dibromo-4-nitrosobenzenesulfonic acid, sodium salt hydrate, 98%	$\text{C}_6\text{H}_3(\text{Br})_2(\text{SO}_3\text{Na})-\text{N}(\text{O}) \cdot x\text{H}_2\text{O}$
5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide, 97% (DMPO)	$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}(\text{O})$
3,3,5,5-Tetramethyl-1-pyrroline N-oxide, 95%	$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}(\text{O})$

3.1. アミノ酸, ペプチド, たんぱく質の水溶液中で放射線照射により生成するフリーラジカル

アミノ酸 0.1 ~ 0.2 M の水溶液に ^{60}Co の γ 線を 3.0×10^5 rad, 氷冷下空气中で照射して生成するアミノ酸のフリーラジカルを, スピントラップ剤 MN P 約 75 mM 水溶液として共存させ, スピントラップ反応で生成したスピニアダクト混合物 0.1 ml を, 陽イオン交換樹脂のカラム, TSK IEX 210C, 75 mm \times 60 cm に添加し, りん酸ナトリウム緩衝液で溶出した。HPLC-ESR 装置は前述のものを用いた。

アミノ酸は, グリシン¹⁶⁾, アラニン¹⁶⁾, バリン^{17,18)}, ロイシン¹⁹⁾, イソロイシン¹⁹⁾, メチオニン^{20,21)}, プロリン^{22,23)}, ヒドロキシプロリン^{22,23)}, およびグルタミン, グルタミン酸, アスパラギン

ン, アスパラギン酸, セリン, スレオニン^{24,25)} について, フリーラジカルを分離同定した。その結果を表 2 に掲げる。

水溶液中では, 水の放射線分解によって, 水和電子 (e^-_{aq}), 水素原子 ($\text{H}\cdot$), ヒドロキシルラジカル ($\text{HO}\cdot$) が, また, 溶存酸素によるパーオキシルラジカル ($\text{HO}_2\cdot$) が溶質分子と反応してフリーラジカルが生成することが知られている。アミノ酸の場合, 水溶液中で生じるフリーラジカルには, 水和電子によるアミノ酸から脱アミノ反応で生じる脱アミノラジカル $\text{R}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COO}^-$ (I) と, ヒドロキシルラジカルによるアミノ酸の α 炭素からの水素原子の引抜き反応で生じるラジカル $\text{H}_3\text{C}^+\text{N}-\dot{\text{C}}-\text{COO}^-$ (II) との 2 種の型のフリーラジカルがあることが解析された。

グリシンとアラニンとより成るジペプチドやトリペプチドについてもアミノ酸の場合と同様の実験を行い, フリーラジカルを解析した。

ジペプチドは, ジグリシン (Gly-gly), グリシル L アラニン (Gly-L-ala), L-アラニルグリシン (L-Ala-gly), L-アラニル-L-アラニン (L-Ala-L-ala) について, トリペプチドは, トリグリシン (Gly-gly-gly), ジグリシル-L-アラニン (Gly-gly-L-ala), グリシル-L-アラニルグリシン (Gly-L-ala-gly), L-アラニルジグリシン (L-Ala-gly-gly) について得られた結果を表 3 に掲げる。

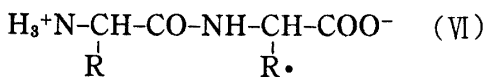
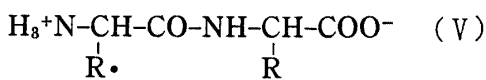
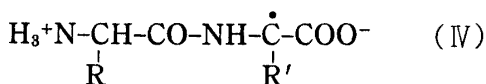
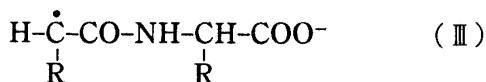
ジペプチドの場合は水溶液中に, 水和電子がジペプチドのアミノ末端残基のカルボニル基に付加して還元的脱アミノ反応の結果生じた脱アミノペプチドの脱アミノ炭素に不対電子が存在する脱アミノラジカル III と, ヒドロキシルラジカルによるジペプチドのカルボキシル末端残基の炭素からの水素原子の引抜き反応によって生じるラジカル IV と, 同じくジペプチドの側鎖からの水素原子の引抜き反応によって生じるラジカル V, VI とが存在することが解析された。この場合, 水素原子はペプチド主鎖のカルボキシル末端残基から引抜かれるが, 側鎖からはアミノ末端残基とカルボキシル末端残基とのいずれの側からも引抜かれることが示された。

表 2 γ 線照射によって生成するアミノ酸

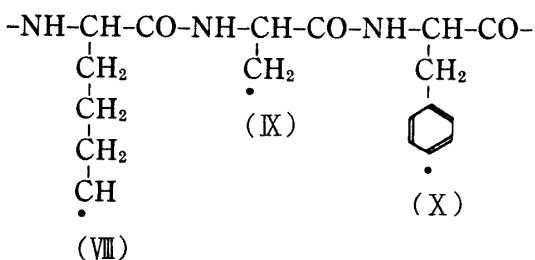
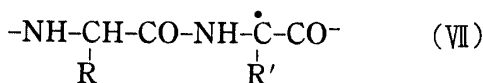
Gly	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{NH}_2)\text{COO}^-$	DL-met	$\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\dot{\text{C}}\text{HCOO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COO}^-$
L-ala	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$	L-pro	$\dot{\text{C}}\text{H}_3$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$
L-val	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}\dot{\text{C}}\text{HCOO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ isomer I isomer II		$\dot{\text{C}}\text{HCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH}_2^+$ $\dot{\text{C}}\text{HCH}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH}_2^+\text{CH}_2$ isomer I isomer II
L-ile	$(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\dot{\text{C}}\text{HCOO}^-$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\dot{\text{C}}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{HCH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\dot{\text{C}}\text{H}_2)\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\dot{\text{C}}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ isomer I isomer II	cis-4-Cl-L-pro	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{CHClCH}_2\text{NH}_3^+$ $\dot{\text{C}}\text{HCH}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH}_2^+\text{CH}_2$ isomer I isomer II
L-leu	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\dot{\text{C}}\text{HCOO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\dot{\text{C}}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\dot{\text{C}}\text{HCH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$	cis-4-OH-L-pro	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ $\dot{\text{C}}\text{HCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH}_2^+$ isomer I isomer II
		trans-4-OH-L-pro	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ $\dot{\text{C}}\text{HCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH}_2^+$ isomer I isomer II

表 3 γ 線照射によって生成するペプチドのラジカル

Gyl-gly	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CONHCH}_2\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}_2\text{NH}_3^+$	Gly-gly-gly	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CO-Gly-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{NH-Gly-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CO-Gly})\text{NH-Gly}$
Gly-L-ala	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CONHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}(\text{CH}_3)(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}_2\text{NH}_3^+$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}_2\text{NH}_3^+$	Gly-gly-L-ala	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CO-Gly-L-Ala}$ $\dot{\text{C}}(\text{CH}_3)(\text{COO}^-)\text{NH-Gly-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CO-L-Ala})\text{NH-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NH-Gly-Gly}$
L-ala-gly	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)\text{CONHCH}_2\text{COO}^-$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}(\text{CH}_3)\text{NH}_3^+$ isomer I isomer II	Gly-L-ala-Gly	$\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CO-L-Ala-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{NH-L-Ala-Gly}$ isomer I isomer II
L-ala-L-ala	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)\text{CONHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$ isomer I isomer II $\dot{\text{C}}(\text{CH}_3)(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}(\text{CH}_3)\text{NH}_3^+$ isomer I isomer II $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{COO}^-)\text{NHCOCH}(\text{CH}_3)\text{NH}_3^+$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{CONHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$	L-ala-Gly-Gly	$\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)\text{CO-Gly-Gly}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{COO}^-)\text{NH-Gly-L-Ala}$ $\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CO-Gly})\text{NH-L-Ala}$ $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{CO-Gly-Gly}$



たんぱく質の場合も同様な水和電子とヒドロキシルラジカルが関与する反応が起こり、ペプチド主鎖からのヒドロキシルラジカルによる水素原子の引抜き反応により主鎖炭素ラジカルVIIが、また、側鎖からの水和電子による脱アミノ反応による側鎖炭素ラジカルVIIIと、側鎖からのヒドロキシルラジカルによる水素原子の引抜き反応により側鎖炭素ラジカルIXや側鎖フェニールラジカルなどが生成することが明らかにされている。



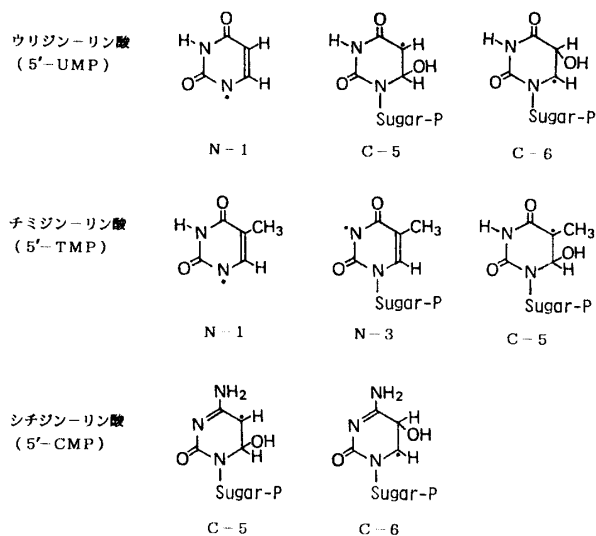
3.2. ヌクレオチドの水溶液中に放射線照射により生成するフリーラジカル

ヌクレオチドの、ウリジン5'モノリン酸(5'UMP), チミジン5'モノリン酸(5'TMP), シチジン5'モノリン酸(5'CMP)についても同様の実験を行った。その結果を表4に掲げる。ヌクレオチドのラジカルとしては、その塩基成分の1位および3位の窒素ラジカル, 5位および6位の炭素ラジカルの存在が証明された。

3.3. 超音波照射により水溶液中のチミンから生成するフリーラジカル

超音波は臨床医学における診断や治療に広く用いられているにも拘らず、超音波照射の生物に及ぼす影響については未だ明らかにされているところが少ない。これまでに生体関連化合物の水溶液について超音波照射の影響が研究されてきた結果により、放射線照射の場合と同様に、水の超音波分解によって生成する水和電子, 水素原子, ヒド

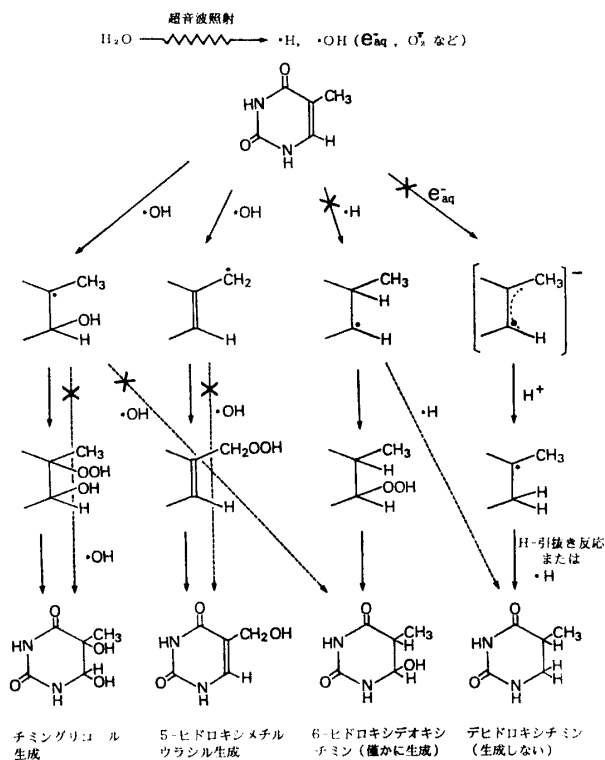
表4 ヌクレオチドのラジカル



ロキシル(•OH)ラジカルなどが関与するラジカル反応が、また、生体内では酸素が存在することが多いからパーオキシ(•O₂H)ラジカルが反応する過程も、存在することが予想される。

核酸塩基のチミンを例にとって、その水溶液に超音波を照射し、ST-HPLC-ESR法により解析した結果を表5に掲げる。チミンはヒドロキシルラジカルと反応して5, 6ジヒドロキシ-5, 6-ジヒドロチミン(チミングリコール; TG)および、5-ヒドロキシメチルウラシル(HMU)が

表5 超音波分解によって生成するチミンラジカル



生成することが明らかになった³³⁾。さらに、 γ 線照射の実験の結果と比較することによって、TGとHMUの生成はヒドロキシルラジカルがチミンの5, 6位の二重結合に付加する反応と、5位のメチル基から水素が引抜かれる反応とによって生成したものであることが明らかになった。さらに、超音波の場合には、 γ 線照射の場合とは異なり、ジヒドロチミン(DHT)は生成しないことから、水和電子を生成しないので、それによるラジカルが生成しないことが明らかになった。

文 献

- 1) S. Kominami et al., Chem. Phys. Letters **9** (6), 510 (1971)
- 2) K. Akasaka et al., J. Phys. Chem., **75**, 3746 (1971)
- 3) S. Kominami et al., J. Phys. Chem., **76**, 1729 (1972)
- 4) K. Kawatsura et al., Rad. Effects, **22**, 267 (1974)
- 5) A. Naito et al., J. Mag. Res., **24**, 53 (1976)
- 6) A. Naito et al., Chem. Phys Letters, **47**, 171 (1977)
- 7) A. Naito et al., Mol. Phys., **44**, 427 (1981)
- 8) H. Taniguchi et al., J. Phys. Chem., **72**, 1926 (1968)
- 9) H. Taniguchi et al., J. Phys. Chem., **74**, 3063 (1970)
- 10) H. Taniguchi, J. Phys. Chem., **74**, 3143 (1974)
- 11) H. Taniguchi J. Phys. Chem., **76**, 135 (1972)
- 12) H. Taniguchi et al., Bull Chem. Soc. Japan, **45**, 3380 (1972)
- 13) H. Taniguchi et al., Chem. Letters, 531 (1974)
- 14) H. Taniguchi et al., Chem. Letters, 9 (1975)
- 15) S. Rokushika et al., Anal Letters, **8** (3) 205 (1975)
- 16) F. Moriya et al., J. Phys. Chem., **84**, 3085 (1980)
- 17) K. Makino et al., Anal. Letters, **13**, 301 (1980)
- 18) K. Makino et al., J. Phys. Chem., **84**, 1016 (1980)
- 19) K. Makino, J. Phys. Chem., **84**, 1968 (1980)
- 20) K. Makino et al., Chem. Letters, 119 (1980)
- 21) K. Makino. J. Phys. Chem., **83**, 2520 (1979)
- 22) N. Suzuki et al., J. Phys. Chem., **85**, 263 (1981)
- 23) H. Hatano et al., J. Rad. Res., **23**, 9 (1982)
- 24) F. Moriya et al., J. Phys. Chem., **88**, 2373 (1984)
- 25) N. Iguchi et al., Can. J. Chem., **62**, 1722 (1984)
- 26) F. Moriya et al., J. Phys. Chem., **84**, 3614 (1980)
- 27) F. Moriya et al., J. Am. Chem Soc., **104**, 830 (1982)
- 28) F. Moriya et al., Can. J. Chem., **62**, 2206 (1984)
- 29) S. Kominami et al., Int. J. Rad. Biol., **30**, 525 (1976)
- 30) H. Hatano et al., Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., **55**, 23 (1977)
- 31) S. Kominami et al., Rad. Res., **72**, 89 (1977)
- 32) K. Nozaki et al., Chem. Sos. Japan, Chem, Letters, 511 (1989)
- 33) K. Makino et al., Rad. Phys. Chem., **23** (1-2), 217 (1984)
- 34) K. Makino et al., J. Chromatogr., **332**, 71 (1985)
- 35) K. Nozaki et al., Bull. Chem. Soc., **62**, 1715 (1989)
- 36) H. Hatano et al., J. Rad. Res., **17**, 23 (1976)
- 37) 波多野博行, 化学の領域, **30**, 612 (1976) ; ぶんせき, (5), 358 (1980)
- 38) K. Makino et al., Chem. Letter, 675 (1978)
- 39) K. Makino et al., J. Phys. Chem., **84**, 1012 (1980)
- 40) K. Makino et al., Anal. Letter., **13**, 311 (1980)
- 41) K. Makino et al., Rad. Res., **86**, 294 (1981)
- 42) H. Aoshima et al., J. Biochem., **82**, 1559 (1977)
- 43) T. H. Ho et al., Royal Soc. Chem., Chem. Comm., 206 (1989)