



クロルプロマジンの電子スピン共鳴法による定量

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 日本法医学会 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 南方, かよ子, 鈴木, 修, 浅野, 稔 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1805

南方かよ子, 鈴木 修, 浅野 稔 (浜松医大)

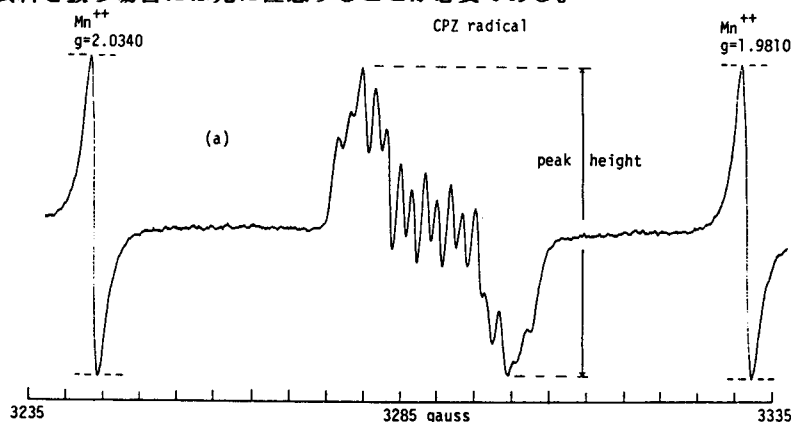
クロロプロマジン (CPZ) は酸化剤によりラジカルを生成することが知られている。しかしながら電子スピン共鳴法 (ESR) を用いて, このラジカルを定量することは, いまだ報告されていない。今回我々はこのラジカルを測定することにより, 血液, 血清, 尿, 組織ホモジエネート中の CPZ を精製することなく, 迅速, 簡便に定量する方法について報告する。

まずラジカルを室温で安定に生成する条件について検討した。種々の酸化剤を検討したが, 2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノ-p-ベンゾキノン (DDQ) を酸化剤として用い (終濃度 $3\mu\text{g}/\text{ml}$), 過塩素酸終濃度 47~70% の場合に, 瞬時にラジカルが生成し, 室温で 24 時間後も 95% 以上保たれていることを見出した。過塩素酸濃度 35% 以下では 1 時間でもラジカルの減少が観測される。

試料を 20 μl のキャピラリー (Drummond 社製) に入れ, 下部をパテで封じ日本電子の ESR 装置で測定した。図に ESR スペクトルを示す。X-band, 中心磁場 3285 gauss, mod 巾 1 gauss, マイクロ波出力 10 mW, response 1 sec, sweep time 8 min, sweep range ± 50 gauss。ピークの中心位置を示す g 値 2.0063, 及び hyperfine structure (ピークの数 16 本, その間隔は低磁場側から 1.78 gauss と 1.67 gauss が交互に繰返す) はこのラジカルの同定に利用される。ラジカルの定量には図のピーク幅を用いた。検出限度は 10 ng ($0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ の試料 20 μl)。ESR 法の利点として, 目的とするラジカルと同じ位置にシグナルを与えるラジカル以外は全く測定妨害とならず試料を精製する必要がないことである。血液, 血清, 尿, 組織ホモジエネートの場合, サンプル 1 ml に対し DDQ 45 μg , 過塩素酸 2 ml を加えてそのまま測定可能である。この濃度の過塩素酸は生体試料のタンパク質を沈澱させるのではなく, かえって可溶化させるため, 測定に支障はない。しかしながら生体試料の場合, 直後の, また 1 時間後 (括弧内) のラジカル量は水溶液の場合の血液 95 (70), 血清 95 (60), 尿 100 (98), 組織ホモジエネート 80-100 (60-80) % であり, 水溶液中の場合ほどには安定ではない。また DDQ も水溶液中より多く必要とされる。

この方法によるラジカル生成はフォルマリン, ジエチルエーテル, エタノール, メタノール, アセトンの場合 10% 濃度においても全く影響されないが, 0.001% のアスコルビン酸はラジカル生成を 10% までに抑制する。しかしこの場合 DDQ を増量し, 終濃度が 10-20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ならば 100% ラジカルが生成する。

過塩素酸中でのラジカルは室内光に対しても全く安定であるが, 水溶液中の CPZ それ自身は室内光に 1 時間さらされると褐色の異なる物質が生じ, DDQ を含んだ過塩素酸を加えてもラジカル生成は 70% 以下となる。従って試料を扱う場合には光に注意することが必要である。



クロロプロマジンラジカルの ESR スペクトル