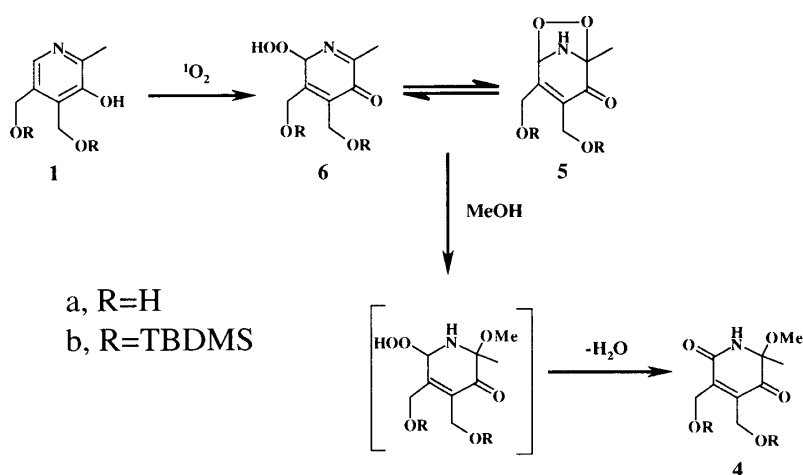


ピリドキシンと一重項酸素の反応生成物

酸素は生物にとって必要不可欠であると同時に有毒である。スーパーオキシドや一重項酸素($^1\text{O}_2$)など、酸素分子から発生するさまざまな活性酸素種がときによって生体に害を及ぼすためである。中でも、一重項酸素は脂質、アミノ酸、DNA、その他の生物学的に重要な分子に損傷を与える原因となっている¹⁾。ビタミン B_6 生合成経路に関与するタンパク質をコードしている遺伝子 PDX1 (= SOR1) が、一重項酸素抵抗に必須であることが見いだされた²⁾。続いて、ピリドキシン(PN)が $^1\text{O}_2$ のクエンチャーとして作用すること、さらにはPNに限らず他のビタミン B_6 化合物についてもこの機能を有することが報告され³⁾、ビタミン B_6 の新規機能として注目を集めている。ビタミン C やビタミン E については、強い抗酸化作用や活性酸素種のスキャベンジャーとしての機能について数多く研究されているが、 $^1\text{O}_2$ と PN の反応についてはその生成物はいまだ明らかとなっておらず、その反応機構を含めて反応の詳細についての解明が期待されていた。

最近、PN と $^1\text{O}_2$ の反応による生成物が NMR と MS によって解析され、その構造が明らかとなった⁴⁾。Ohta と Foote により明らかにされたその反応過程と生成物をスキーム 1 に示した。PN をメタノール中で $^1\text{O}_2$ と反応させると、90% 以上を占めるその主要な生成物は置換型 2,5-pyridonedione のメタノール付加物(**4a**)であった。この化合物中のメトキシ基は外れやすく、また化合物自体も高濃度で不安定であった。彼らは、この反応中間体を追跡するために、PN(**1a**)の有機溶媒に可溶性誘導体(**1b**)を用いて $^1\text{O}_2$ と反応させた。この誘導体を -80°C で 50% レベルまで酸化し、その生成物を NMR で調べると、生成物の 60% は置換型 6,7-dioxa-8-aza-bicyclo[3,2,1]-octeone (**5b**)であり、残り 40% は hydroxyperoxide (**6b**)であった。この比率は反応中変化することなく、おそらく平衡状態になっていると考えられた。スキーム 1 の反応を彼らは次のように説明している。すなわち、 $^1\text{O}_2$ は PN のフェノール性水酸基のパラ位にある 5 位の炭素に付加し、プロトンの移動がおこると化合物 **6** を生成する。この hydroperoxide は endoperoxide である **5** と平衡関係にあり、メタノールのようなプロトン性溶媒中では **5** の加溶媒分解あるいは **6** に直接的に溶媒が付加することにより水素の移動が生じて中間体を生じ、それから水が脱離すると **4** の最終生成物が生ずる。この最終生成物は不安定であり、さらに分解するが、その分解物について、彼らは解析していない。

この反応様式からわかるように $^1\text{O}_2$ との反応性に関して、ビタミン B_6 化合物の種類を決めている 4



スキーム 1 (Ohta BK, Foote CS (2002) *J Am Chem Soc* **124**, 12064-12065 より引用)。

位の官能基は影響を与えない。このことはすでに報告されているように、すべてのビタミン B₆ 化合物が ¹O₂ のクエンチャーになりうる結果と一致する。

ビタミン B₆ 化合物の ¹O₂ クエンチャーとしての機能に関連して、最近興味深い結果が得られた。メラニン色素生合成の初発の反応を触媒するチロシナーゼに対して、ビタミン B₆ 化合物が阻害作用を示すことが分かったのである⁵⁾。チロシナーゼのジフェノラーゼ活性は、クミンアルデヒド等によって阻害されることが知られていた⁶⁾。PN は類似した芳香族アルデヒドであり、チロシナーゼを阻害する可能性があった。そこで、ビタミン B₆ 化合物を用いてマッシュルーム由来のチロシナーゼに対する阻害を調べたところ、ピリドキサル(PL)のみならず、PN、ピリドキサミン(PM)ならびにピリドキサミン 5'-リン酸(PMP)も本酵素を阻害した(ピリドキシン 5'-リン酸は調べておらず、ピリドキサル 5'-リン酸は基質である L-DOPA と反応するため阻害効果を測定できなかった)。阻害効果は PL, PN, PMP でそれほど大きな差はなかったが、PM が最も強い阻害を示した。また、PM と PN の阻害様式は混合型であり、これらビタミン B₆ 化合物はチロシナーゼ反応の過程で生ずる ¹O₂ と反応し、阻害していることが予想された。そこで、代表的な ¹O₂ クエンチャーによる本酵素阻害効果を調べると、PM, PN 同様に阻害を示し、濃度に依存した効果がみられた。また、蛍光性 ¹O₂ クエンチャーを用いて反応中の蛍光を追跡したところ、チロシナーゼ反応の過程で ¹O₂ が生成されていることが強く示唆された。

このように、ビタミン B₆ 化合物と ¹O₂ との反応の生成物が同定されその反応の機構が明らかとなつて、ビタミン B₆ 化合物が活性酸素(ROS)のクエンチャーとなりうることがより一層はっきりした。しかし、ビタミン B₆ 化合物は ¹O₂ と反応することで消費されてしまうことや有機溶媒に不溶性であることから、ビタミン E 等とは異なり、生体膜で生ずる ROS のクエンチャーとしての機能はないと考えられる。今後、細胞内で生理的に重要な ROS のクエンチャーになっているかどうかさらに検討が必要である。

(高知大農 生物資源 横地 奈菜, 八木 年晴)

文 献

- 1) 高柳輝夫, 大坂武男 編 (1999) 活性酸素 日本化学会 監修, 丸善株式会社
- 2) Ehrenshaft M, Bilski P, Li M Y, Chignell C F, Daub M E (1999) A highly conserved sequence is a novel gene involved in *de novo* vitamin B₆ biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci* **96**, 9374-9378
- 3) Bilski P, Li M Y, Ehrenshaft M (2000) vitamin B₆ (Pyridoxine) and its derivatives are efficient singlet oxygen quencher and potential fungal antioxidants. *Photochem Photobiol* **71**, 129-134
- 4) Ohta B K, Foote C S (2002) Characterization of endoperoxide and hydroperoxide intermediates in the reaction of pyridoxine with singlet oxygen. *J Am Chem Soc* **124**, 12064-12065
- 5) Yokochi N, Morita T, Yagi T (2003) Inhibition of diphenolase activity of tyrosinase by vitamin B₆ compounds. *J Agric Food chem*, in press
- 6) Mercedes J, Soledad C, Josefa E, Juana C, Francisco G (2001) Competitive inhibition of mushroom tyrosinase by 4-substituted benzaldehydes. *J Agric Food chem* **49**, 4060-4063