

| | |
|------|-----------|
| 報告番号 | ※ 第 3309号 |
|------|-----------|

主論文の要旨

題名 わらび発癌物質の単離、構造と反応性

氏名 小 鹿 一

主論文の要旨

| 報告番号 | ※ 頁 第 | 号 | 氏名 | 小 鹿 一 |
|---|-------|---|----|-------|
| <p>食用植物わらびは世界中に広く分布している植物であり、その発癌性の発見は、19世紀末から知られている家畜のわらび中毒の研究が端緒となっている。1960年、G. Rosenberger らによりわらびの発癌性が見出され、1965年に I. A. Evans らによりラットを用いて発癌性が確認された。その後、長年にわたる多数の研究陣の努力にもかかわらずわらびの発癌性本体は不明であった。わらびの発癌物質の抽出分離が困難な理由は、(1)発癌物質が不安定であること、(2)抽出分離の指標とする生物試験法のおつかれさなどである。</p> <p>著者はわらび発癌物質検索上のこれらの問題点を克服し、温和な条件下ラットに対する発癌性を指標とする独自の分離法を考案した。その結果、わらびの発癌性の本体であり、かつ牛の急性わらび中毒の原因物質でもある不安定な化合物プロタキロサイドを純粋に分離することができた。ついで、著者はこの新規発癌物質プロタキロサイドの化学構造を決定し、さらに生体構成化合物(アミノ酸、ヌクレオシドおよびヌクレオチド)に対する化学反応性を明らかにすることができた。また、プロタキロサイドを含有するわらび発癌性画分から一連の新しいp-ヒドロキシステレン配糖体を単離し、構造決定を行い、1種の配糖体についてはその合成を行った。</p> <p>1. わらび発癌物質プロタキロサイドの抽出分離。</p> <p>ラットに対する発癌性が確認されたわらびの熱水抽出物を出発原</p> | | | | |

料として用い、一段階の分離操作で2画分とし、それぞれの画分をラットに経口投与し発癌性を検討しつつ分離を進めた。2種類の中性樹脂（アンバーライト XAD-2 およびトヨパール HW-40(C)）に対する吸着の難易性と水-n-ブタノール溶媒系を用いた分配とを組み合わせた分離操作により強い発癌性を有する画分を調製した（乾燥わらびより 0.4% の収率）。この発癌性画分を3種のクロマトグラフィー（シリカゲルカラムクロマトグラフィー、逆相中圧カラムクロマトグラフィーおよび逆相高速液体クロマトグラフィー）により分離精製すると、不安定な新規物質ポタキロサイドを無色無定形の粉末状に得ることができた（乾燥わらびより 0.014% の収率）、また分子式を高分解能 FAB 質量スペクトルにより $C_{20}H_{30}O_8$ と決定することができた。分離精製した純粋なポタキロサイドを経口投与すると、わらびを経口投与した場合と同様、乳癌、回腸癌が高率で発生し、ポタキロサイドがわらび発癌性の本体であることが判明した。また、牛に対する経口投与実験の結果、ポタキロサイドは牛の急性わらび中毒原因物質でもあることが明らかになった。

2. わらび発癌物質ポタキロサイドの化学構造。

ポタキロサイドの化学構造は各種のスペクトルデータ、特に核磁気共鳴スペクトル（ 1H NMR および ^{13}C NMR）により解析を行った。ポタキロサイドは5個の4級炭素を有しているため通常の 1H 核磁気共鳴スペクトルの解析方法で、その平面構造を推定することは困難であった。そこで4級炭素を含む炭素間の結合様式を明らかに

するため選択的遠隔スピンドカップリング (LSPD) 法を適用し、フタキロサイドの平面構造を推定した。絶対配置を含むフタキロサイドの全立体構造はフタキロサイドテトラアセタートのX線結晶構造解析により決定し、フタキロサイドが天然では稀なスピロシクロプロパン環を有するイルダン型ノルセスキテルペン配糖体であることを明らかにすることができた。

3. カラビ発癌物質フタキロサイドの化学反応性.

フタキロサイドは酸性、塩基性いずれの条件でも不安定であり、グルコースを脱離して最終的には1-インダノン骨格を有する芳香族化合物プロロシンBへと変化することが明らかになった。特に、塩基性条件では室温で、直ちにグルコースを脱離し、反応性に富む極めて不安定なジエノンを生成する。このジエノンはさまざまな求核剤と容易に反応しプロロシンBなどの安定な1-インダノン化合物を生成し易いことから、フタキロサイドによる発癌の初期段階はジエノンによる生体高分子 (DNAやタンパク質など) のアルキル化と考えられる。そこでこれら生体高分子の構成成分であるアミノ酸、ヌクレオシド、ヌクレオチドとジエノンとの反応を検討した結果、ジエノンは含硫アミノ酸のイオウ原子やヌクレオチドのリン酸部位を効率良くアルキル化することが判明した。また、ヌクレオシドに関しては1-2種類のアルキル化生成物が得られ、これらアルキル化生成物のスペクトルデータ (特に紫外吸収スペクトル) を解析することによりこれらの構造を決定した。

4. β -ヒドロキシステレン配糖体類の単離，構造および合成

逆相高速液体クロマトグラフィーによりわらびの発癌性画分をさらに分離するとプロタキロサイドの他に4種の β -ヒドロキシステレン配糖体が得られた。これらのうち新規配糖体であるプロテラトサイドAおよびプロテラトサイドBの構造をスペクトルデータと化学反応の結果に基づいて決定した。また，プロテラトサイドAの合成を行い，その構造を確認することができた。

以上，著者は温和な抽出分離法を独自に案出し，1960年以来懸案であったわらびの発癌性本体を純粋に単離し，この新規発癌物質プロタキロサイド $C_{20}H_{30}O_8$ の全化学構造を確立し，さらに生体構成化合物（アミノ酸，ヌクレオシド，ヌクレオチド）に対するアルキル化反応の特性を明らかにした。